

機関番号：15401

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20570022

研究課題名 (和文) 魚類における保護者の性の決定因に関する研究-行動の潜在能力と制御機構からの検証

研究課題名 (英文) Experimental study on potential plasticity of the care-taker's sex in fishes.

研究代表者

坂井 陽一 (YOICHI SAKAI)

広島大学・大学院生物圏科学研究科・准教授

研究者番号：70309946

研究成果の概要 (和文)：

通常オスが単独で卵保護をみせるスズメダイ科魚類を研究対象に、メスにも潜在能力が備わっているのかを飼育実験により検証し、加えて保育行動の制御に関するミクロメカニズムの探索を実施した。産卵後のペアからオスを除去する実験を実施した3種のうち2種のメスに卵保護行動が確認された。但し、オスとは少し異なる行動パターンから成るものであった。加えて、保育行動をみせたメスにおける脳下垂体におけるホルモン物質の分泌傾向をリアルタイムPCR法による定量評価により分析した。

研究成果の概要 (英文)：

We examined potential ability of parental care in female damselfishes, in which males alone perform egg-guarding and egg-care behaviors in nature. We removed males from breeding pairs just after spawning. Of 3 species being studied genera *Dascyllus* and *Chrysiptera*, two showed egg-care behaviors to spawned eggs in females. The behavioral components of the females' egg care were slightly different from those of males. By real-time PCR analyses, we confirmed that females performing egg care tended to have higher hormone levels in pituitary than normal females.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：魚類行動生態学

科研費の分科・細目：基礎生物学・生態・環境

キーワード：保育行動, 性的役割, *Dascyllus*属, スズメダイ科, 脳下垂体, 硬骨魚類, 雌雄異体, 性転換

1. 研究開始当初の背景

魚類において雄が子育て (以下、保育行動とよぶ) をみせる種は少なくなく、沈性卵を産む魚類の約6割に保育行動がみられる。その子育て (保育行動) は片親および両親で担

当され、総じて雄が関わることが多い。

動物における「いずれの性が保護を担うか」という生物学問題については、配偶子生産速度の雌雄差、血縁関係の確かさ、それぞれ種の繁殖社会の特性、系統的制約などが複合的に関わり、これらの要因の影響の下で、

雌雄それぞれの立場での将来の適応度をいかに高めるかという戦略的視点から理解できるものと考えられている。魚類における保護者の性の決まり方については、系統関係とフィールドで観察された生態行動データを基に議論検討が進められてきた (Gross & Sargent 1985)。具体的に、産みつけられた卵を親魚が側で世話をする「見張り型保護」の進化プロセスにおいては、無保護から雄保護、両親保護、そして雌保護へと移行していったと推察する見解が有力視されている。

しかしながら、この仮説に沿わない魚類分類群などの実例も存在し、また代替仮説も提示されているものの、議論を進展させるための新たな生物学的な手がかりが得られておらず、いまだ明確な理論的な決着には至っていないままにある。

特に欠落しているものが、保育行動の発現・制御に関するマイクロメカニズムに関する情報である。また、近年、性転換魚類を中心に、魚類の性表現の潜在的な可塑性についての理解が進められ (例えば、双方向性転換など)、自然状況下でみられる性表現 (性転換) パターンが行動の潜在能力を反映したものではないことがさまざまな魚種で指摘されている。それゆえに、野外でみられる保育パターンと潜在能力の一致・不一致を確認した上で、保育行動の進化プロセスを再検討する必要がある。

2. 研究の目的

そこで本研究では、卵保護をみせる魚類をモデル生物に、行動学と細胞化学の両輪による実験的アプローチから、「潜在能力の視点から保護者の性を再整理し」、「保育行動の発現・制御因子を明確にする」ことを目的とした。

3. 研究の方法

オス親が単独で保育を担うスズメダイ科魚種に研究対象を絞り込み実験を実施した。保育を担当する性の消失などに対して、他方の性がその事態を認識する機会が確保される条件が揃う生物でなければ、保育行動の潜在性が維持・機能されると考えにくいと予測されるため、雌雄が同居あるいは近接して暮らす習性を有する *Dascyllus* と *Chrysiptera* の2属を被験魚種として選定した。

保育の潜在能力の有無を検証する実験は、水槽飼育ペアの産卵後、オス親を除去し、残

されたメスの卵に対する行動を観察した。

なお、本実験の実施においては、安定した繁殖をみせるペアの確保が鍵であり、実験ペアの飼育において神戸市立須磨海浜水族園のご協力をいただいた。

また、保育行動との発現と関連する可能性の高いホルモン物質を絞り込むことを目的に、水槽飼育個体の脳下垂体のホルモンを Real-time PCR 法により分析した。

4. 研究成果

(1) 保育潜在能力の検証実験

産卵後に繁殖ペアからオスのみを取り除き、メスの保育行動の潜在能力を探る実験を、雄単独保護タイプのスズメダイ科 *Dascyllus* 属フタスジリュウキュウスズメダイ (以下フタスジとする) に魚種を絞って集中的に実施し、メス単独で卵をふ化 (産卵の約3日後) まで保育しうることを確認した。

メスの保育行動はオス除去後からすみやかに開始されるわけではなく、除去の翌日からみられていた。また、保育行動パターンも単純なものであった。しかしながら、オス除去直後に頻繁にみられる卵食がほとんど見られなくなり、卵の側に滞在するように変化していた。卵の直接的な世話に関する行動頻度はオスの通常保育に比べて有意に低いものであった。

オスの通常保育よりも孵化率は有意に低かった。メスのみせた行動型は、捕食者からの卵を防衛することを主とするものと判断された。しかし、メス保護を経た卵のふ化率は親魚のない状態の卵よりも有意に高いものであった。これは、卵の側に滞在することで、新鮮な海水が卵へと送られ、間接的な効果として生残率が改善されたものと推察された。

このように本種メスにおいて潜在的な保育能の存在を確認することに成功したが、本科における普遍性についてはさらに検討を進める必要性があった。フタスジリュウキュウスズメダイはメスがオスへと性転換しうることが知られており、メスに保育行動を含めたオス型の性行動を発現させるメカニズムが潜在的に備わっている可能性が棄却できないため (上記実験結果は実験前後にメスとしての産卵を継続している状態で実施しているため、性転換により保育行動が誘発したのではないが)、性転換しない雌雄異体種を用いてさらに追加の実験を実施した。

雌雄異体魚種 *Chrysiptera* 属のルリスズメ

ダイとレモンスズメダイを材料に同様に実験を実施した結果、前者ではメスが保育行動をみせる例が確認されたものの、その頻度はフタスジリュウキュウスズメダイよりも低く、メスが卵を食べ尽くす事例が多かった。また、後者魚種では、保育行動は一切みられず、除去当日に卵を食べ尽くしていた。このように魚種によって、メスの保育行動の発現頻度に差異が存在することが明らかとなった。

以上の結果をまとめると、本実験より以下の傾向が明らかとなった。①オス隔離後、すべての魚種でまず卵食が生じた。②卵食行動がみられる間はメスに保育行動は発現しなかった（3魚種とも）。③保育行動が一旦スタートすると以後、卵食行動はほとんどみられなかった（フタスジリュウキュウスズメダイとルリスズメダイ）。④メスの保育の潜在能の有無は、雌雄同体性とは無関係であった（ルリスズメダイ）。⑤メスの保育はオスほどうまくなかった（直接的な世話に特化した行動がみられず、卵の孵化成功率も低い）。

④のように雌雄異体種においても潜在的な保育能力が存在することが確認されたことから、スズメダイ科のオス単独保育行動は、その行動面の表現形の1側面のみを確認したものに過ぎず、広い魚種で両性ともに保育に関する行動プログラムが存在している可能性がある。

メスが肩代り保育をみせる能力を有するものの、あくまでも条件付きでの発現(①)、かつ機能的にも制限された単純な行動型であったこと(⑤)から、メスのみせた保育行動は、祖先的な行動形質である可能性が考えられた。もしそうならば、スズメダイ科に広くみられる主要な保育形態であるオス保育は、これまで考えられていたように無保護を由来として進化したのではなく、両親保護あるいはメス保護を祖先として進化してきた可能性も検討する余地があることを示唆するものと考えている。

野外ではメス単独による卵保護が発現せざるを得ないような状況が生じることがなく、これまでスズメダイ科魚類に関するメスに潜在する保育能力の存在はほとんど知られていなかった。本研究の発見は、これまで想定されていた、魚類におけるオス親保育の進化が、両親保育から生じた可能性を提起するものであり、理論的再検討を進めるきっかけを分野に問いかける成果が得られたと考えている。

(2) 保育行動のマイクロメカニズムの探索

メスによる肩代りの保育行動が確実に発現することを確かめられたフタスジリュウキュウスズメダイをモデル生物として保育行動の制御に関与する体内物質の探索を実施した。

脳内の神経ペプチド類の探索を進めるベースとなる分子生物学分析として、保育行動に関与する有力な候補物質の1つであるプロラクチン(PRL)を含め、FSH, LH, POMCの単離と塩基配列の解析を実施した。このうちPRLは337塩基、112アミノ酸から成り、スズメダイ科と比較的近縁にあるカワスズメ科と類似した配列であることが判明した。これは本種のPRLの特殊性が保育行動の可変性に関与している可能性を棄却するものである。

この研究で設計したPRL-1プライマーは、脳下垂体のmRNA量の定量化を可能にするものであり、リアルタイムPCRによる定量評により保育行動を発現させたメス、通常のメス、保育オスとの性状の比較を実施した。その結果、保育行動を発現させたメスが通常のメスよりもPRLの高い値を示すことを確認した。但し、PRLの他にも同様の傾向を示すホルモンが存在し、現在さらに詳細な分析の実施を計画している。

保育行動の発現に関する分子メカニズムの探索においては、通常保育行動を発現しない性の存在に注目する視点は従来にないものであり、解析対象魚種の遺伝子情報がほとんど解析されていなかったために本解析を実施するまでに時間を要したが、保育潜在能についての未知領域の知見を獲得する方法論を確立しており、本研究結果によりメカニズム面からも保育行動の進化に関する議論上に有意義な情報を提供しうるものと考えている。保育行動の発現制御メカニズムに関与する物質の探索については、現在、データの確かさを追認する実験個体を生成する作業を進めており、追試の完了次第、論文を発表する予定である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

1. 中山寛美・坂井陽一。フタスジリュウキュウスズメダイの母親は卵を守ることができるのか? うみと水ぞく。2010, 査読なし, 29: 10-11.

[学会発表] (計 2 件)

1. 坂井陽一・国吉久人・松下佳津也・橋本博明・中山寛美・馬場宏治, 魚類における保護者の性の潜在的柔軟性-雌雄異体スズメダイ類での検証. 日本動物行動学会第 29 回大会, 2010 年 11 月 20-21 日, 沖縄県那覇市
2. 坂井陽一・村中 優・国吉久人・橋本博明・中山寛美・馬場宏治, 魚類における保護者の性の潜在的柔軟性-スズメダイ類に焦点をあてて. 日本動物行動学会第 28 回大会, 2009 年 11 月 28-29 日, 筑波大学

6. 研究組織

(1) 研究代表者

坂井 陽一 (SAKAI YOICHI)
広島大学・大学院生物圏科学研究科・准教授
研究者番号：70309946

(2) 研究分担者

国吉 久人 (KUNIYOSHI HISATO)
広島大学・大学院生物圏科学研究科・講師
研究者番号：60335643

(3) 連携研究者

桑村 哲生 (KUWAMURA TETSUO)
中京大学・国際教養学部・教授
研究者番号：00139974