

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年5月31日現在

機関番号：12101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23651246

研究課題名（和文）湖沼における外来性捕食者の匂いに対する学習を介した底生動物の捕食回避機構の研究

研究課題名（英文）Study of predation avoidance mechanism of benthic animals through the learning for the smell of invaded predators in lake

研究代表者

中里 亮治 (NAKAZATO Ryoji)

茨城大学・広域水圏環境科学教育研究センター・准教授

研究者番号：30292410

研究成果の概要（和文）：ユスリカ幼虫は外来魚の匂いのみで捕食回避行動を示すのか、さらにはその反応が、次世代に引き継がれるのかを確かめる実験をした。その結果、餌と外来魚の匂水のみでウスイロユスリカ幼虫を飼育した場合、外来魚の匂水に対して捕食回避反応を示さなかったが、匂水と仲間の血水で飼育した幼虫では、外来魚の匂水を投与しただけで餌の探索時間が前者の半分以下となり、明らかな回避反応を示した。しかし、その反応が次世代に引き継がれるかどうかは不明であった。

研究成果の概要（英文）：To investigate the predation avoidance behavior of chironomid larvae to the smell of exotic fish and to make sure the larval behavior whether taken over to the next generation, some experiments were conducted in laboratory. As a result, In case of *Chironomus kiiensis* larvae grew up in an environment that was exposed to the exotic fish smell water only, the larvae showed no predation avoidance response to the fish smell water. On the other hand, in case of *C. kiiensis* larvae were fed with blood water of same species larvae and the fish smell water, when the larvae were exposed to the fish smell water, the larvae showed a predator avoidance behavior clearly which the search feeding time was shortened. However, it was unknown that the reaction is either carried over to the next generations.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	1,600,000	480,000	2,080,000

研究分野：保全生態学

科研費の分科・細目：複合新領域・資源保全学・在来種保全

キーワード：外来魚への適応、ユスリカ幼虫、霞ヶ浦

1. 研究開始当初の背景

湖沼や池の底泥に生息するユスリカ幼虫は個体数・現存量ともに優占する底生動物である。このユスリカ幼虫は魚類など二次消費者の主要な餌資源でもある。そのため水中のユスリカ幼虫は常に魚類による被食のリス

クにさらされているが、ある種のユスリカ幼虫の場合は捕食者を回避するために「捕食者の匂い」に反応して特異的な行動を示す例が知られている。例えば、捕食者に捕まらないように底泥に深く潜る、あるいは被食リスクの高い底泥表面での摂餌行動を抑制するな

どの行動変化である (Hölker & Stief, 2005)。
しかしながら、ある種のユスリカ幼虫におけるこれらの捕食回避に関する適応行動は、その水系における在来捕食者と被食者が共存してきた長い歴史の中で培われてきたものと考えられるので、新たに水系に侵入した外来生物に関しては「不慣れな匂い」のため十分な捕食回避行動を取れない可能性がある。

私のこれまでの研究により、近年霞ヶ浦で大増殖し、大きな環境問題になっている特定外来生物チャネルキャットフィッシュ *Ictalurus punctatus* (CCF) に着目し、当該魚種が底生動物群集の現存量におよぼす影響について調べた。その結果 CCF は霞ヶ浦での優占種であるオオユスリカ幼虫を大量に捕食すること、また時期によっては湖内の当該ユスリカ幼虫をすべて食べつくす可能性もあることを指摘した (中里, 2009)。さらに室内での予備実験では外来種の CCF と在来魚であるハゼ科魚類の 1 種を用い、それらの匂いに対するオオユスリカ幼虫の応答を調べたところ、在来魚のハゼに対しては底泥表面に体を出さないという捕食回避行動を示したのに対し、CCF に対してはそのような行動を一切示さなかった。

このまま CCF による捕食を受け続けると霞ヶ浦のオオユスリカ幼虫の個体数は激減し、近い将来絶滅に近い状態に陥る可能性もある。それでは将来的にオオユスリカは CCF の匂いを学習し忌避行動を示すように適応するのだろうか？

外来魚の侵入を受けた水系における在来生物群集の捕食者に対する適応機構の一端を解明し、さらに「捕食者の匂いを学習した結果が次の世代に引き継がれる」というこれまで否定されてきたが近年植物でその例が示されつつある「獲得形質の遺伝」が動物にも存在するかどうかを明らかにすることは非常に意義のあるものと考えられる。

2. 研究の目的

(1) 霞ヶ浦のオオユスリカがその捕食者である在来魚 (ヌマチチブとモツゴ) および外来魚 CCF の匂いに対する捕食回避行動の有無を定量的な実験で明らかにする。申請書を準備・提出する前に実施した予備実験では、在来魚のヌマチチブの匂いに対して底泥表面に体を出さないという捕食回避行動を示し、一方で外来種の CCF の匂いに対しては、このような回避反応を示さなかった。しかし、この予備実験では、捕食者への匂いに対する定性的な回避行動のみを観察したものであった。そこで、本研究では、被食回避行動の指標として、捕食のリスクが高まる泥表面での滞在時間 (餌の探索時間) と一定時間あたりに底泥表面に頭を出す頻度等を指標とし

て、オオユスリカが在来魚および外来魚の匂いに対する捕食回避行動の有無を定量的に明らかにすることを目的とした。

(2) 湖沼や池の底泥に生息するユスリカ幼虫が、その捕食者である外来魚の匂いを学習した結果、捕食者の匂いのみで被食回避行動を示すようになるか、さらにはその学習した幼虫を成虫まで飼育しその卵から生まれた幼虫が、外来魚の匂いに対する忌避反応を示すかを明らかにすることを目的とした。

本研究では、霞ヶ浦に生息しているオオユスリカだけでなく、これまで外来魚に接したことのない場所に生息するユスリカ幼虫 (ウスイロユスリカ) を材料に用い、当該ユスリカ種が外来魚の匂いを学習した結果、捕食者回避行動を示すのかも調べた。

これらの成果により外来魚の侵入を受けた水系での在来生物群集の捕食者に対する適応機構の一例を示すと同時に、「捕食者の匂いを学習した結果が次の世代に引き継がれる」という「獲得形質の遺伝」が動物にも存在する可能性について考察する。

3. 研究の方法

(1) 霞ヶ浦産オオユスリカにおける在来魚および外来魚の匂いに対する捕食回避行動の有無の定量的実験について

霞ヶ浦湖岸周辺で採取したオオユスリカのメス成虫を実験室に持ち帰り、ろ過湖水を満した小型の水槽内に入れ、卵塊を産卵させた。回収した卵塊は 20°C の恒温器内でインキュベートし、孵化した 1 齢幼虫は霞ヶ浦底泥と濾過湖水を満した水槽に入れ、テトラミン (テトラミン・ベビー、Tetra 社) 粉末を餌として投与しながら、4 齢幼虫まで育てた。この幼虫を用いて以下 2 つの実験をした。

- ① 餌および在来魚 (モツゴ *Pseudorasbora parva* およびヌマチチブ *Tridentiger brevispinis*) の匂いに暴露された場合の反応
- ② 餌および外来魚 CCF の匂いに暴露された場合の反応

「餌の匂い水」は幼虫の飼育に使用したテトラミン粉末を蒸留水に懸濁させ、その懸濁液をメッシュでろ過した水溶液を「餌の匂い水」として用意した。また、「魚の匂い水」は、上記の魚種を適切な採捕許可のもとに霞ヶ浦から採取し、それぞれの魚について蒸留水を満した水槽内で 24 時間飼育した後、その水槽の水のみをガラスフィルターでろ過した。この濾過した水溶液をそれぞれの魚種の「魚の匂い水」として実験に用いた。

実験手順は、①②ともに餌および魚の匂いに対するオオユスリカ幼虫の摂餌活動反応の差異を明らかにするために、各種の匂いをつけた水溶液を投入する前と投入した後における当該幼虫の活動変化を調べた。実験中は活動の様子をビデオカメラで撮影し、摂餌活動反応の評価には、各水溶液投入前後5分間の間に堆積物表層に頭を出す幼虫の個体数、頭だし回数、および頭だし時間を用いた。

(2) 捕食者の匂いに対する捕食回避行動の学習の有無を明らかにするための、捕食者の匂いとそれに関係づけられた「捕食の脅威」の暴露・非暴露環境下で累代飼育したユスリカ幼虫における外来魚の匂いに対する捕食回避反応を調べる実験について

上記実験には前述のオオユスリカならびに、これまでの長い歴史の中で外来魚 CCF に決して遭遇したことがないと考えられるウスイロユスリカ幼虫を用いた。

当該ユスリカ種幼虫は茨城県美浦村にある農業集落排水処理場内の壁面にとまっているメス成虫を採集し実験室に持ち帰った。産卵した卵塊の回収ならびに幼虫の飼育方法は前述のオオユスリカの場合と同様である。これらの実験には、はじめにオオユスリカおよびウスイロユスリカの累代飼育方法を確立する必要があるため、以下の方法でその検討をした。

① 累代飼育方法の確立

オオユスリカの場合

当該種は、蚊柱を作ることで交尾をするので、卵塊を得るためには大型のゲージ内で成虫を飼育し、蚊柱を形成させることが必要であると考へた。そのため、高さ約 2.5m の 1 坪サイズのビニールハウスを用意した。その中に設置した泥を敷き詰めた大型の水槽内 (70L の衣装ケースで代用) に当該種の卵塊を投入し、幼虫を飼育して自然に成虫が羽化・交尾をできるような環境を整えた。この方法で成虫が交尾し卵塊を得られるかを検討した。

ウスイロユスリカの場合

ウスイロユスリカの場合には、私のこれまでの研究から、非常に狭い空間で閉所交尾する (オスとメスがペアになり、壁等に止まって交尾する) ことが分かっており容易に受精卵が得られると考へられた。また予備実験から当該種がユスリカ種の中でも卵から成虫になるまでの期間が短いことが分かったため、以下のような方法で累代飼育法の確立を検討した。

泥とろ過湖水を満した直径 15cm 高さ 10cm の丸型水槽に、当該種の卵塊を投入し、

20℃、25℃および 30℃のインキュベータで飼育した。この方法で成虫が交尾し卵塊を得られるか、また卵塊が得られた場合には、上記設定温度における卵から成虫までに要する日数を調べた。

② 捕食者の匂いとそれに関係づけられた「捕食の脅威」の暴露・非暴露環境下で累代飼育したウスイロユスリカ幼虫における外来魚 CCF の匂いに対する捕食回避反応について

研究成果でも後述するように、上記実験①においてウスイロユスリカについて、累代飼育方法が確立されたので、当該種について、CCF の匂いと「捕食の脅威」暴露の有無など条件を変えた環境下で当該幼虫を累代飼育した。

本実験で定義する「捕食の脅威」とは自分の仲間が捕食者に食われる際に起きる現象、すなわち幼虫の体液 [血液] が周囲に拡散する現象を指す。飼育により大量に培養した幼虫を乳鉢ですり潰し蒸留水で希釈したものを血水として調整し、この血水を水槽に投与することで捕食の脅威とみなした。

事前準備として CCF の匂いが無い環境で幼虫を飼育した。次にこれらの幼虫を CCF の匂いと捕食の脅威に暴露された環境で飼育したものを (CCF の匂い水+ウスイロユスリカの血液を混ぜた水) を毎日添加して、4 齢後期に成長するまで幼虫を飼育) と、CCF の匂い水のみを混ぜた湖水で飼育した。

これらの幼虫を用いて次のような実験をした。各条件で飼育した幼虫の水槽に、最初にテトラミン水溶液 (餌) を投与し、1 分後に CCF の匂い水みを水槽に添加して、その後 5 分間の捕食回避行動の有無を確認した。

これらの実験は 1 世代目、2 世代目、3 世代目のそれぞれの幼虫について行った。

4. 研究成果

(1) 霞ヶ浦産オオユスリカにおける在来魚および外来魚の匂いに対する捕食回避行動の有無の定量的実験の結果と考察

在来魚であるモツゴおよびヌマチチブの匂いに対しては、泥の表面に体を出さない、捕食のリスクが高まる泥表面での滞在時間の短縮、滞在時間を短縮して頭を出す頻度を高くするなどの捕食回避反応を示した。このことは、在来魚の捕食者に対しては、捕食を警戒しながらも、より餌資源を獲得できるように行動変化させたと考へられる。一方で、外来魚 CCF の匂いに対しては一切の回避反応を示さなかった。

このような在来魚と外来魚の匂いに対するオオユスリカ幼虫の振る舞いの差は、オオ

ユスリカが共存の歴史が長い在来魚の匂いに対してはすでに学習しており、その学習効果が子孫に遺伝した結果、このような反応を示したものと推測された。

一方で、CCFの匂いに対しては、オオユスリカがまだ十分に学習できていないか、オオユスリカ幼虫が当該魚種の匂い自体を感知できない可能性、あるいは匂いを感知はしていたものの、共存の歴史が10年程度と浅いため、捕食者として認識しなかった可能性が考えられた。いずれにしても、チャンネルキャットフィッシュの匂いに関係なく摂餌行動を続ける事が、オオユスリカ幼虫の捕食されやすさを生み、それが近年の霞ヶ浦で見られるオオユスリカ幼虫密度の減少の要因の一つである可能性があることが示唆された。

Shave *et al.* (1994)によれば、ニュージーランドの河川に生息するザリガニの一種 *Paranephrops zealandicus* は、導入種のブラウントラウトよりも在来種のウナギ *Anguilla dieffenbachii* に対し強い防御反応を示すとされている。彼らは、このザリガニがウナギの体から放たれる匂いを察知して防御反応をする一方、ブラウントラウトの匂いには無反応で、この魚と直接接触しない限り防御反応を示さないことを見出した。Shave *et al.* (1994)はこの現象の解釈として *P. zealandicus* が外来種であるブラウントラウトよりも在来種のウナギとの共進化の歴史が長いと結論づけた。

本研究においても、オオユスリカ幼虫が、共存期間の長いヌマチチブおよびモツゴの匂いにさらされ続けてきたため、2種を捕食者と認識し、回避反応を示すようになったと考えられた。本研究におけるこれらの成果は国内事例としては初めてであり、非常にインパクトの強い発見と思われる。

(2) 捕食者の匂いに対する捕食回避行動の学習の有無を明らかにするための、捕食者の匂いとそれに関係づけられた「捕食の脅威」の暴露・非暴露環境下で累代飼育したユスリカ幼虫における外来魚の匂いに対する捕食回避反応を調べる実験の結果と考察

最初に2種の累代飼育方法の確立を試みた。オオユスリカの場合、蚊柱を作って交尾行動をするため、大型ケージでの飼育を試みたが成功しなかった。一方でウスイロユスリカの場合は、閉所交尾をするため容易に累代飼育が可能であることが分かり、25℃の飼育環境下では約2週間で生活環を完了させることができた。

このように、ウスイロユスリカについては累代飼育方法が確立できたので、この方法によって実験室内で累代飼育した当該幼虫を

用いて、実験をした。

その結果、餌と外来魚 CCF の匂い水のみで4 齢幼虫まで飼育した場合（1 世代目）、その匂水に対しては一切の捕食回避反応を示さなかった。その一方で CCF 匂水とウスイロユスリカの血液を混ぜたものを投与して飼育した幼虫の場合には、実験の際に、一部の幼虫については外来魚の匂水に暴露されただけで餌の探索時間が前者の半分以下となり、明らかな回避反応を示すことが分かった。

このように、CCF の匂水のみで餌の探索時間が短縮されるようになったという事実は、ウスイロユスリカの幼虫が外来魚の匂いを学習している可能性を意味するものである。

次に、幼虫時代に CCF の匂いとウスイロユスリカの血液に暴露させて成長した親の卵から孵化した幼虫（2 世代目）について、CCF の匂い水のみ投与する環境下で飼育し、その幼虫について、上記と同様の実験をしたところ、CCF の匂い水に対しては、探索時間の短縮という捕食回避反応は示さなかった。一方で、1 世代目と同様にウスイロユスリカの血液を暴露させて飼育した 2 世代目の幼虫については、1 世代目と同様な回避反応を示した。3 世代目も同様の結果であった。

このことから、挑戦的方萌芽研究として当初期待したような「獲得形質の遺伝」という画期的な発見には至らなかったが、今後は累代飼育をさらに重ね、この捕食者の回避反応が獲得形質として長く次世代に引き継がれるかを確かめる実験を継続する予定である。

また、ウスイロユスリカ以外にも累代飼育が容易なユスリカ種を見つけ出し、同様の実験を実施する予定である。

5. 主な発表論文等

〔学会発表〕(計1件)

中里亮治・瀬谷宣言・井垣勇太ほか『霞ヶ浦におけるユスリカ幼虫の長期変遷 (2)』第47 回日本水環境学会大会年回、2013. 3. 10、大阪

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中里 亮治 (NAKAZATO Ryoji)

茨城大学・広域水圏環境科学教育研究センター・准教授

研究者番号：30292410