

平成 30 年 6 月 19 日現在

機関番号：12614

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K18728

研究課題名(和文)地球温暖化が沿岸性魚類の性決定へ与える影響評価

研究課題名(英文)Assessment of the impact of global warming on sex determination in coastal marine fish

研究代表者

山本 洋嗣(Yamamoto, Yoji)

東京海洋大学・学術研究院・助教

研究者番号：10447592

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文):異常水温が魚類性決定へ与える影響評価の一環として、温度依存型性決定機構を持つギンイソイワシを指標種とし、国内複数箇所における性転換率を経年調査した。その結果、各調査地、年度において比較的低頻度(~20%)の雌雄両方向への性転換が確認されたが、2016年に捕獲された東京湾の野生集団では雄性転換率が40%と突出して高かった。そこで当該集団の耳石解析から孵化時期を推定したところ、本集団は東京湾における他年度の捕獲集団と比較して産卵期が遅く、稚魚がより高温を経験していることが明らかとなった。従って本種は野生集団でも水温依存的な性転換が生じ、将来的な地球温暖化は本種性決定に影響を与える可能性が示された。

研究成果の概要(英文):To assess impacts of global warming on sex determination in marine fish, we selected cobaltcap silverside as an indicator species and screened wild populations for the presence of sex-reversals. Relatively low numbers of sex-reversals (~20%) from both sexes were detected in each area/year, except the population of Tokyo Bay in 2016 (40%~ XX-males observed). To assess the relationship between high temperature and observed XX-males, we conducted otolith increment analysis using fish from 2014-2016 in Tokyo Bay and estimated the hatching date/period and the temperature each individual experienced shortly after hatching from thermal records for the region. The results showed that fish were born later and experienced higher temperatures during the first weeks of life in 2016 than in other years and suggested that exposure to relatively low and high water temperatures had induced development of XY-females and XX-males, respectively, and thus TSD is occurring in wild cobaltcap silverside.

研究分野：繁殖生理学

キーワード：地球温暖化 気候変動 指標生物 温度依存型性決定機構 性分化 性転換 ギンイソイワシ トウゴロウイワシ目魚類

### 1. 研究開始当初の背景

多くの魚類の性は、受精時の性染色体の分配という遺伝的要因により決定されるが、一部の魚類では性決定期に高水温、あるいは低水温を経験した場合に遺伝的性が上書きされ、「遺伝的性」と「表現型性」の一致しない性転換個体が頻出することが報告されている。近年、地球温暖化に伴う海水温の上昇が懸念されているが、このような水温上昇が今後も続けば、前述の魚種では、性比のバランスが崩れることで集団としての再生産能力が低下し、結果として当該集団の絶滅、さらには周辺生態系の崩壊が引き起こされる可能性が危惧される。申請者はこれまで、性の温度感受性が高いトウゴロウイワシ目魚類を「地球温暖化に伴う水温変化が沿岸性海産魚の性決定に与える影響を評価する指標生物」として利用するための基盤研究に取り組み、日本沿岸に生息する海産トウゴロウイワシ目魚類であるギンイソイワシ *Hypoatherina tsurugae* の性が温度の影響を強く受け、水温に依存して雌雄の割合が大きく偏ること(高温-雄性転換増加、低温-雌性転換増加)を示した。また、本種の耳石輪紋(日輪)を用いた孵化日推定技術を確立し、野生個体が孵化直後に経験した水温を推定できるようになった。さらに、Y染色体上に存在する雄性決定因子 *amhy* を見だし、これまで不可能だった性転換個体(XY-雌、XX-雄)の検出を可能にした。本研究における次のステップは、実際にギンイソイワシを「地球温暖化に伴う水温変化が沿岸性海産魚の性決定に与える影響を評価する指標生物」として利用可能か否かを、野生集団を用いて実証するとともに、現時点の国内における地球温暖化の魚類性決定への影響度を把握することである。

### 2. 研究の目的

本研究では、ギンイソイワシ *H. tsurugae* を「地球温暖化に伴う水温変化が沿岸性海産魚の性決定に与える影響を評価する指標生物」として利用可能かを明らかにするため、国内の複数の港湾部において本種の捕獲調査を行い、環境水温と性転換率の関係性を調査した。

### 3. 研究の方法

#### ギンイソイワシ野生個体の捕獲

過去にギンイソイワシの捕獲実績があり、定置水温が継続的に測定されている国内の複数の港湾部(東京湾、三重県英虞湾、紀伊水道、長崎五島列島)においてサンプリングを行なった。捕獲対象は、捕獲年度の水温影響を受けている1歳未満の当歳魚とした。

各調査地における野生個体の性転換率(水温影響度)の算出

全捕獲個体の生殖腺組織学的解析から表現型性の判別を行った。次に、各個体の *amhy*

遺伝子の有無をPCR法で調査し、遺伝的性(XX/XY)を判別した。最後に、遺伝的性と表現型性が不一致な性転換個体を検出し、各集団における雄性転換率(高温影響度)、雌性転換率(低温影響度)を算出した。

#### 耳石輪紋解析による捕獲集団の孵化時期と水温の推定

各調査地・年度における捕獲集団の孵化時期を推定するため、各集団の体長ヒストグラムから全体サイズをカバーするようにランダムに個体を選出し、耳石輪紋解析により推定した孵化日を基に集団の孵化時期を特定した。さらに、捕獲地で実測された海水温データから、その集団が孵化時期に晒された水温を推定し、性転換と水温の因果関係を調査した。

#### 飼育環境下における水温と性転換の因果関係の検証

産卵時期の親魚より得た仔魚を、異なる水温区(18, 22, 26)にて性決定/性分化が終了するまで約3ヶ月間飼育し、各水温区における雌雄の性転換率を算出した。本飼育試験で得られた水温と雌雄の性転換率の値を基準に、各野生集団で得られた性転換率を精査した。

### 4. 研究成果

本研究では、2014-2017にかけて各調査地で捕獲したギンイソイワシを解析に用いた。性転換率は以下の通りとなった。

#### 2014年

- ・東京湾(n=337)  
雄性転換率-14%, 雌性転換率-8%

#### 2015年

- ・東京湾(n=243)  
雄性転換率-17%, 雌性転換率-10%
- ・英虞湾(n=226)  
雄性転換率-6%, 雌性転換率-9%

#### 2016年

- ・東京湾(n=100)  
雄性転換率-43%, 雌性転換率-0%
- ・英虞湾(n=202)  
雄性転換率-15%, 雌性転換率-4%
- ・紀伊水道(n=96)  
雄性転換率-11%, 雌性転換率-12%
- ・五島列島(n=64)  
雄性転換率-16%, 雌性転換率-6%

#### 2017年

- ・東京湾(n=88)  
雄性転換率-12%, 雌性転換率-2%
- ・英虞湾(n=111)  
雄性転換率-20%, 雌性転換率-2%
- ・五島列島(n=43)  
雄性転換率-7%, 雌性転換率-0%

次に年度間で性転換率に大きな差が認められた東京湾に着目し、各捕獲集団から抽出した個体の耳石輪紋解析から孵化時期推定を行い、記録された捕獲地周辺における過去

の水温情報から水温と性転換の因果関係を調査した。その結果、雄性転換率の高かった2016年度孵化群は、孵化時期が他年度より遅く(8月初旬から9月末) 孵化時期に経験した水温が他年度より約3度も高い(26.2±0.9)ことが明らかとなった。よって、2016年度に東京湾で確認された高い雄性転換率は、その年度に特徴的に観られた産卵時期の遅れと、その結果稚魚が経験した高水温に因るものと推察された。また、この野生環境下で確認された性転換率および水温の関係性は、飼育試験においても同様に確認された。本研究の結果から、ギンイソイワシは野生環境下においても性転換が生じ、またその性転換は温度に因る可能性が示唆された。よって、本種は「地球温暖化に伴う水温変化が沿岸性海産魚の性決定に与える影響を評価する指標生物」として利用可能であること、さらに、将来的な地球温暖化に起因する異常水温は本種性決定に影響を与える可能性が示された。

#### 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3件)

- 1) Yan Zhang, Ricardo S. Hattori, Munti Sarida, Estefany L. Garcia, Carlos Augusto Struussmann and Yoji Yamamoto. Expression profiles of *amhy* and major sex-related genes during gonadal sex differentiation and their relation with genotypic and temperature-dependent sex determination in pejerrey *Odontesthes bonariensis*. *General and Comparative Endocrinology*, in press, 2018 (DOI:10.1016/j.ygcen.2018.03.013)
- 2) Ricardo S. Hattori, Seiya Tashiro, Yan Zhang, Naoya Kakuta, Masashi Yokota, Carlos Augusto Struussmann and Yoji Yamamoto. Demonstration of viability and fertility and development of a molecular tool to identify YY supermales in a fish with both genotypic and environmental sex determination. *Ecology and Evolution*, in press, 2018 (DOI: 10.1002/ece3.4148)
- 3) D.K. Bej, K. Miyoshi, R.S. Hattori, C.A. Struussmann and Yoji Yamamoto. A duplicated, truncated *amh* gene is involved in male sex

determination in an Old World silverside. *G3-Genes Genomes Genetics*, 7(8) 2489-95, 2017.

[学会発表](計18件)

- 1) Kaho Miyoshi, Beji Dillip, Ricardo Hattori, Carlos Struussmann and Yoji Yamamoto. Application of otolith analysis to study the possibility of temperature dependent sex determination in wild cobaltcap silverside. The JSFS 85th Anniversary Commemorative International Symposium. Tokyo, Japan (23 Sep. 2017)
- 2) Yoji Yamamoto, Yan Zhang, Munti Sarida, Ricardo S. Hattori and Carlos Struussmann. Genotypic and temperature dependent sex determination in pejerrey. 18<sup>th</sup> International Congress of Comparative Endocrinology. Alberta, Canada (7<sup>th</sup> June, 2017) 招待講演
- 3) Yoji Yamamoto, Ricardo S. Hattori and Carlos Struussmann. Coexistence of genotypic and temperature-dependent sex determination in Atheriniformes. The Workshop on Turnover of Sex Chromosomes in Frogs and Fish. Hiroshima, Japan (23<sup>th</sup> August, 2016) 招待講演
- 4) Yoji Yamamoto, Seiya Tashiro, Ricardo S. Hattori, Yan Zhang, Leandro A. Miranda, Dario C. Colautti, Gustavo E. Berasain, and Carlos A. Struussmann. Development of methods to identify the sex chromosomal genotype (XX, XY, YY) in pejerrey and its application in a field survey of sex-reversals and super-males. 8<sup>th</sup> International Symposium on Fish Endocrinology. Göteborg, Sweden (28<sup>th</sup> June, 2016).
- 5) Dillip Bej, Kaho Miyoshi, Ricardo Hattori, Carlos Struussmann and Yoji Yamamoto. Identification of two *amh* paralogues and its expression profiles during gonadal sex differentiation of cobaltcap silverside *Hypoaetherina*

- tsurugae* 8<sup>th</sup> International Symposium on Fish Endocrinology. Göteborg, Sweden (28<sup>th</sup> June, 2016).
- 6) Kaho Miyoshi, Beji Dillip, Ricardo Hattori, Carlos Strüssmann and Yoji Yamamoto. Effect of temperature on sex determination of cobaltcap silverside *Hypoatherina tsurugae* and its usefulness as a bioindicator species of the effects of abnormal water temperature on fish sex determination. 8<sup>th</sup> International Symposium on Fish Endocrinology. Göteborg, Sweden (28<sup>th</sup> June, 2016). 優秀発表賞受賞
- 7) Munti Sarida, Yoji Yamamoto, Zhang Yan, Ricardo S Hattori and Carlos A Strüssmann. Studies on the molecular mechanisms underlying the histological gradient of gonadal sex differentiation in pejerrey. 8<sup>th</sup> International Symposium on Fish Endocrinology. Göteborg, Sweden (28<sup>th</sup> June, 2016).
- 8) Estefany L. García Cruz, Yoji Yamamoto, Carlos A. Strüssmann, Ricardo S. Hattori, Masashi Yokota. Do non-thermal environmental factors also affect sex determination, in the temperature-sex determined pejerrey *Odontesthes bonariensis*? 8<sup>th</sup> International Symposium on Fish Endocrinology. Göteborg, Sweden (28<sup>th</sup> June, 2016).
- 9) Yan Zhang, Yoji Yamamoto, Ricardo S. Hattori, Munti Sarida, Kano Matsunaga, Kunihiro Futami and Carlos A. Strüssmann. Transcriptional regulation of *amha* by cortisol in TSD in pejerrey. 8<sup>th</sup> International Symposium on Fish Endocrinology. Göteborg, Sweden (28<sup>th</sup> June, 2016).
- 10) Munti Sarida, Yoji Yamamoto, Yan Zhang, Ricardo S. Hattori and Carlos A. Strüssmann. Spatiotemporal coordination of *amh* and aromatase gene expression and apoptosis during differentiation in pejerrey *Odontesthes bonariensis*. 平成 28 年度日本水産学会春季大会, 東京海洋大学, 東京 (平成 28 年 3 月 29 日)
- 11) 山本 洋嗣, Carlos A. Strüssmann. 地球温暖化が魚類の性へ与える影響 –トウゴロウイワシ目魚類を指標種に用いた評価法の確立– 第17回 マリンバイオテクノロジー学会シンポジウム S-7, 東京海洋大学, 東京 (平成 27 年 5 月 31 日) 招待講演
- 12) Yoji Yamamoto, Yan Zhang, Munti Sarida, Ricardo S. Hattori and Carlos A. Strüssmann. Genetic sex determination at intermediate temperature in pejerrey *Odontesthes bonariensis*, a fish with marked temperature-dependent sex determination. 7<sup>th</sup> International Symposium On Vertebrate Sex Determination. Kona Hawaii, USA (15<sup>th</sup> April, 2015).
- 13) Carlos A. Strüssmann, Gustavo M. Somoza, Leandro A. Miranda, Ricardo S. Hattori and Yoji Yamamoto. Environmental effects on sex determination and fertility of fish, with special reference to temperature and Atheriniforms. 7<sup>th</sup> International Symposium On Vertebrate Sex Determination. Kona Hawaii, USA (15<sup>th</sup> April, 2015).
- 14) Dillip Bej, Kaho Miyoshi, Ricardo S. Hattori, Yoji Yamamoto and Carlos A. Strüssmann. Expression profiles of two *amh* homologues during gonadal sex differentiation of cobaltcap silverside *Hypoatherina tsurugae*, an atherinid fish from the Northwest Pacific Ocean. 7<sup>th</sup> International Symposium On Vertebrate Sex Determination. Kona Hawaii, USA (15<sup>th</sup> April, 2015).
- 15) Kaho Miyoshi, Beji Dillip, Ricardo S. Hattori, Yoji Yamamoto and Carlos A. Strüssmann. Effects of temperature on sex

determination of cobaltcap silverside *Hypoatherina tsurugae*, an atherinid fish from the Northwest Pacific Ocean. 7<sup>th</sup> International Symposium On Vertebrate Sex Determination. Kona Hawaii, USA (15<sup>th</sup> April, 2015).

- 16) Munti Sarida, Yan Zhang, Ricardo S. Hattori, Yoji Yamamoto and Carlos A. Strüssmann. Male gonadal differentiation in pejerrey *Odontesthes bonariensis*: co-occurrence between apoptosis and anti-mullerian hormone gene expression. 7<sup>th</sup> International Symposium On Vertebrate Sex Determination. Kona Hawaii, USA (15<sup>th</sup> April, 2015).
- 17) Seiya Tashiro, Ricardo S. Hattori, Yan Zhang, Yoji Yamamoto, Leandro A. Miranda, Dario C. Colautti, Gustavo E. Berasain, and Carlos A. Strüssmann. Occurrence of sex genotype/sex phenotype mismatches and YY super-male (YY) in wild populations of pejerrey *Odontesthes bonariensis*. 7<sup>th</sup> International Symposium On Vertebrate Sex Determination. Kona Hawaii, USA (15<sup>th</sup> April, 2015). 優秀発表賞受賞
- 18) Yan Zhang, Munti Sarida, Ricardo S. Hattori, Yoji Yamamoto and Carlos A. Strüssmann. Roles of *amhy*, *amha* and *amhr11* in temperature-dependent sex determination of pejerrey *Odontesthes bonariensis*. Kona Hawaii, USA (15<sup>th</sup> April, 2015).

〔図書〕(計1件)

- 1) J.Adam Luckenbach and Yoji Yamamoto. Elsevier, Encyclopedia of Reproduction Volume 6, Chapter 29, 2018, in press.

6. 研究組織

(1)研究代表者

山本 洋嗣 (Yamamoto, Yoji)

東京海洋大学・学術研究院・助教

研究者番号：10447592