

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：82104

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06217

研究課題名(和文) アワビはいつどこで産卵するのか? : 大気中の過酸化水素が産卵に及ぼす影響

研究課題名(英文) Where and when do abalone spawn?: effect of the hydrogen peroxide in the atmosphere on spawning

研究代表者

松本 有記雄 (Matsumoto, Yukio)

国立研究開発法人国際農林水産業研究センター・水産領域・研究員

研究者番号：60700408

交付決定額(研究期間全体) : (直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文) : エゾアワビの産卵は低気圧通過などの荒天時に観察されるが、なにが産卵のトリガーとなっているかは分かっていなかった。本研究は、荒天時に雨水や海水中に含まれる過酸化水素と二価鉄イオンの化学反応によってヒドロキシルラジカルが生じ、これが産卵を促している可能性を示した。

低気圧が産卵に与える影響は、深い場所よりも浅い場所の方が受けやすいと想像される。アワビの餌となる大型褐藻群落の季節消長に合わせて、アワビは浅い場所に移動する可能性が示された。この浅場への移動タイミングは繁殖期と重なっているため、海藻の季節消長に合わせた移動が結果的に繁殖にとっても機能的だと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

巻貝や二枚貝、サンゴ類などの海産無脊椎動物では、ヒドロキシルラジカルをはじめとするフリーラジカルが産卵を促すことが水槽実験で示されてきたが、野外でフリーラジカルが産卵に関与する可能性は全く議論されてこなかった。本研究は、野外におけるフリーラジカルの発生要因となりえるフェントン反応に着目することで、海産無脊椎動物の一斉産卵のトリガーに関する新しい仮説を提唱した。また、アワビの実際の移動データとドローンによって習得した環境データを統合した新しいシミュレーションモデルを構築することで、動物の行動に基づいた資源管理技術開発への道筋を作った。

研究成果の概要(英文) : Previous studies observed spawning of Ezo abalone mainly occur during stormy weather, however, the stimulus of spawning had not been revealed. This study propose the possibility that water layers in the ocean are mixed and the surface layer containing H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and Fe<sup>2+</sup> interacts with the ocean bottom; this leads to conditions suitable for the occurrence of the Fenton reaction, which generate Hydroxylradicals ( $\cdot$ OH). We observed that Ezo abalone released eggs after salinity decreased as a result of rainfall during stormy conditions. Our tank experiment demonstrated that  $\cdot$ OH generated by the Fenton reaction induced synchronous spawning behavior between the sexes.

The effect of stormy weather could be stronger in shallower area than deeper area. Our simulation model indicated abalone move to shallower area from deeper area in response to phenology of brown kelp that is abalone food. The food-searching behavior may induce abalone to move to shallower area wherespawning stimulus reach them.

研究分野：動物行動学

キーワード：バイオリギング 個体ベースモデル ドローン フェントン反応 一斉産卵 ヒドロキシルラジカル

## 1. 研究開始当初の背景

エゾアワビやキタムラサキウニ、サンゴ、カキなどの海産無脊椎動物は体外受精の種である。これらの種では雌雄の放卵・放精のタイミングを一致させなければ、受精率が大きく低下する。放卵・放精のタイミングを一致させる方法の1つは、何らかの環境変化に合わせて放卵・放精をすることである。例えば、サンゴ類は満月前後に一斉に産卵し、エゾアワビやキタムラサキウニは低気圧通過時に放卵・放精する。しかし、これらの環境変化の何が放卵・放精の鍵刺激となっているかは不明である。

他方、エゾアワビの個体群動態を理解する上で、浮遊幼生期における分散の実態の把握が重要となる。幼生は、時空間的に変動する海流の影響を受けて分散する。そのため、詳細な産卵場所とタイミング、そしてそれらを決定する産卵を促す環境要因が、分散を予測する上で重要な情報となるが、それらは不明なままである。

## 2. 研究の目的

上述のように、エゾアワビは低気圧が通過時に産卵することが知られているが、低気圧の何が産卵の鍵刺激となっているかは分かっていない。一方で、生理学的研究に目を向けるとヒドロキシルラジカルやヒドロペルオキシラジカルなどのフリーラジカルと呼ばれる酸化力が強い物質が体内でプロスタグランジン(PG)の合成を促し、そしてこのPGが放卵・放精を促していることが分かっている。それでは、このフリーラジカルが天然域で発生し放卵・放精を促している可能性はあるのだろうか。本研究では、天然域におけるフリーラジカルの発生要因として雨水に着目した(研究1)。雨水には種苗生産において使用される過酸化水素( $H_2O_2$ )が含まれており、これが産卵を促していると当初は予想していたが、予備実験において雨水に含まれる濃度の $H_2O_2$ は効率的には産卵を促さないことが示された。そこで、同じく雨水に含まれる二価鉄イオン( $Fe^{2+}$ )に着目した。 $Fe^{2+}$ が $H_2O_2$ に酸化される過程で、強力な酸化力を持つヒドロキシルラジカル( $\cdot OH$ )が発生する(フェントン反応)。本研究では、このフェントン反応が本種の産卵に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした(研究2)。フェントン反応が時化による海の攪乱を介して産卵に与える影響は、生息水深が浅い場所で受けやすく、深い場所では受けにくくなる。調査地である三陸沿岸の大型海藻が深場まで生育する年と、浅場のごく一部しか生育しない年があるため、餌料である海藻の生育に応じて、本種が深浅移動する可能性を検討することとした。そして、アワビの移動および産卵生態を模した個体ベースモデルを構築し、大型海藻の生育が本種の産卵タイミングや産卵場所に与える影響を検討することとした(研究3)。

## 3. 研究の方法

各研究の方法を以下に示す。

### (1) 加速度ロガーを用いた放卵タイミングのモニタリング(研究1)

野外における動物の行動を連続的かつ長期にわたって記録する手法の1つに、加速度ロガーを動物に装着する方法がある。本装置はX, Y, Zの3軸で重力加速度を記録する。重力加速度は、体の向きや動きによって変化する。この重力加速度の時系列データを波形として解析することで、波形の振幅や周波数から行動を推測することが可能となる。

本種は殻をゆっくり振り呼水孔から放卵する行動を繰り返す。水槽内で放卵を誘発して、その時の加速度変化を観察したところ、放卵時に特徴的な波形が記録できることが分かった。研究1では、この手法を用いて野外における放卵を記録することを試みた。2016年、2017年、2019年にロガーを装着したアワビを放流し、ロガーを回収することができた2016年のデータを解析した。

## (2) フェントン反応が放卵・放精に与える影響(研究2)

研究2により低気圧通過時の塩分低下が放卵に関連する可能性が示された(研究成果を参照)。上述のように、雨水内には  $\text{Fe}^{2+}$  と  $\text{H}_2\text{O}_2$  が含まれており、 $\text{Fe}^{2+}$  が  $\text{H}_2\text{O}_2$  に酸化される過程で  $\cdot\text{OH}$  が発生する。この  $\cdot\text{OH}$  が本種の放卵・放精を促しているか否かを水槽実験により検証した。実験では、低気圧通過時の海中に存在する濃度の  $\text{H}_2\text{O}_2$  (40  $\mu\text{M}$ ) と  $\text{Fe}^{2+}$  (55 nM) を 20L 水槽に添加し、放卵・放精の有無と放卵・放精に至るまでの時間を記録した。対象区として、低濃度の  $\text{H}_2\text{O}_2$  (40  $\mu\text{M}$ ) を添加する  $\text{H}_2\text{O}_2$  区、飼育水に何も加えないコントロール区を設けた。

## (3) 大型褐藻類の生育がアワビ繁殖期の分布に与える影響(研究3)

本種の分布と移動に与える大型褐藻の季節消長の影響を明らかにするため、本種の移動を超音波テレメトリー(発信機: v9-2H, 受信機: VR-2W, Vemco 社)により、海藻の生育を UAV (Phantom4, DJI 社) による空撮でモニタリングした。GIS (地理情報システム; QGIS ver. 2.18.0) 上で空撮画像にアワビの移動軌跡をプロットすることで、海藻の有無やその動態に対する本種の移動を可視化した。そして、本種の移動に海藻の有無が与える影響を統計モデルとして定式化した。これら観測データを元に個体ベースモデルの開発環境である NetLogo 6.0.3 を用いて、海藻群落の季節消長とアワビの移動をモデルとして再現することで、産卵期におけるアワビの分布を予測した。

## 4. 研究成果

放卵行動と環境変化の関係を調べたところ、本種は低気圧通過時に、海中が攪乱され海面の低塩分水(雨水)が海底に届いた後に放卵していた(研究1)。前述のように、雨水内には  $\text{Fe}^{2+}$  と  $\text{H}_2\text{O}_2$  が含まれている。 $\text{Fe}^{2+}$  が  $\text{H}_2\text{O}_2$  に酸化される過程で、フリーラジカルの1種であるヒドロキシルラジカル( $\cdot\text{OH}$ )が発生する(フェントン反応)。そこで、低気圧通過時の海中に存在する濃度の  $\text{H}_2\text{O}_2$  と  $\text{Fe}^{2+}$  を水槽に添加した結果、高い放卵・放精率が観察された(研究2)。すなわち、エゾアワビが低気圧通過時に放卵・放精するのは、 $\text{Fe}^{2+}$  と  $\text{H}_2\text{O}_2$  を含む雨水が海底に到達し、そこで生じた  $\cdot\text{OH}$  が原因となっている可能性が示された。他方、上記の水槽実験の条件下において  $\cdot\text{OH}$  が発生していることは確認できているものの、低気圧通過時の海底においても  $\cdot\text{OH}$  が発生していることは確認できていない。これは、荒天時の採水が困難であることや  $\cdot\text{OH}$  が非常に短命で観測が難しいためである。フリーラジカルを連続的に記録するためのセンサーの開発が今後望まれる。

研究3で構築した個体ベースモデルは、海藻群落が夏～秋にかけて深い場所から枯死していくにつれて、海藻が残る浅い場所へ本種が移動することを示した。アワビの分布が浅い場所に集中することで個体間距離が近くなり、受精率が高くなると予想される。大型褐藻類の生育が悪かった2018年と生育が比較的良好であった2019年におけるアワビの分布を比較した結果、繁殖期における生息水深に差はないものの、2018年は2019年よりも集中分布の度合いが高くなることが示された。詳細を以下に示す。

### (1) 加速度ロガーを用いた放卵タイミングのモニタリング(研究1)

2016年8月12日—19日に放流した2個体(ID1, 2)のアワビからは産卵波形が抽出されなかった。この期間、低気圧の通過は確認されず急減な水温や塩分変化は観察されなかった(図1a)。2016年9月6日に放流された2個体のアワビにおいては、産卵波形が抽出された。調査地では、9月6日から10日にかけて低気圧が通過し、塩分の急激な変化が観察された(図1b)。ID3の放卵は急激な塩分低下の3時間後、そしてID4の放卵は

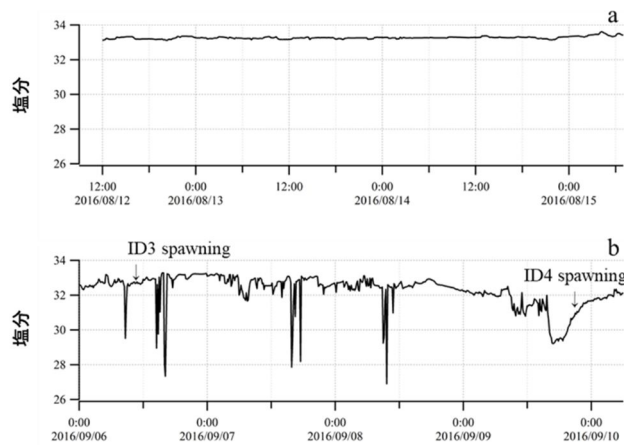


図1. (a) ID1とID2, (b) ID3とID4を放流した際の海底の塩分変化。

塩分低下中に観察された。塩分低下は低気圧通過に伴う降雨と海水のかく乱によってもたらされたと考えられた。観察数はわずかであるが、本種が低気圧通過時に放卵することを再確認するとともに、雨水由来の塩分低下が放卵に影響する可能性が示された。

### (2) フェントン反応が放卵・放精に与える影響(研究2)

フェントン区では、放卵率と放精率がそれぞれ72%(26/36)と76%(16/21)となった。特に、メスにおいては放卵個体の割合が、水槽に何も添加しないコントロール区とH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>のみを添加した実験区(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>区)よりも有意に高かった(図2)。コントロール区とH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>区においても、放卵・放精が見られたが、ごくわずかに放出したに過ぎなかった。一方で、フェントン区では、多数の配偶子の放出が観察され、実験後に生殖腺の縮小が見られた。供試個体は1個体ずつ水槽に收容されており、他個体のフェロモン等が放卵・放精に与える影響はないと考えられる。放卵・放精は、刺激を添加してから60—180分に集中しており、実験で得られた卵と精子の受精率を調べた結果、平均98.3%と高い受精率を示した。これらの結果から、フェントン反応によって高い放卵・放精率が得られることと、受精可能な範囲で雌雄の放卵・放精が同調することが示された。

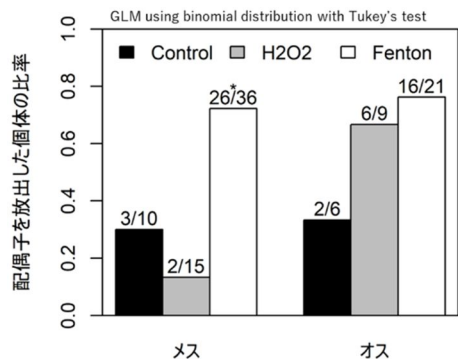


図2. 配偶子放出個体の比率の比較。\*は、統計的有意差(p < 0.005)を示す。

### (3) 大型褐藻類の生育がアワビ繁殖期の分布に与える影響(研究3)

超音波テレメトリーによるアワビの移動の追跡の結果、大型褐藻の近くでは短い移動距離が優占し、大型褐藻類から離れると短い移動に長い移動が混在するパターンが見られた。また、移動方向と海藻群

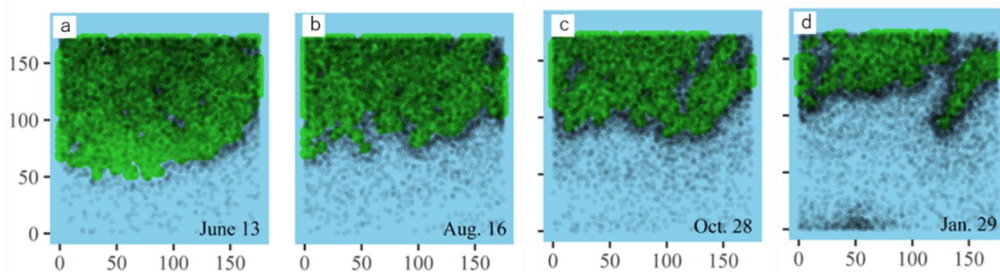


図3. 個体ベースモデルのシミュレーション結果(2019年7月13日~2020年1月29日)。緑の領域が大型褐藻群落を、黒のプロットがアワビ(10000個体)を示している。1メモリは1mに相当する。

落との位置関係を解析したところ、本種は海藻群落に向かって進んでいるわけではなかった。

これらの移動パターンを基にした個体ベースモデルは、海藻群落が深い場所から枯死するにしたがって、浅い場所へアワビが移動することを示した(図3)。また、海藻群落のエッジ付近へ蛸集することがモデル内で観察された。蛸集、すなわち個体間距離が縮まることは体外受精の種にとって受精率を高める上で重要と考えられている。これらの結果から、餌である大型褐藻の季節消長に応じて動く本種の特性は、結果的に繁殖行動においても機能的だと想像される。

調査地となった岩手県沿岸では、2018年に大型褐藻類の生育が浅場のごく一部に限られた一方で、2019年は大型褐藻が水深10m付近まで観察された。両年の海藻群落の空撮画像を個体ベースモデルに取り込みアワビの移動を追跡した結果、繁殖期における利用水深に大きな差が見られなかったが、2018年は2019年よりも岸側に分布している傾向が見られた。また2018年は2019年よりも分布が特定の場所に偏ることが観察された。このことは、海藻群落の範囲が浅場に限定される年はそうではない年よりも、低気圧の影響を受けやすい浅い場所に移動するだけでなく、繁殖相手と遭遇しやすい状況になっている可能性が示唆された。

#### (4) 本研究の波及効果

エゾアワビをはじめとする海産無脊椎動物の種苗生産においては、採卵の際に高濃度の $\text{H}_2\text{O}_2$ と水酸化ナトリウムが用いられることがある。これは、pHがアルカリに傾いた海水中において、 $\text{H}_2\text{O}_2$ が分解される過程でフリーラジカルが発生しやすくなることを利用している。しかし、pH調整の煩雑さと、高濃度の $\text{H}_2\text{O}_2$ が配偶子と親貝の生残率を低下させるため広くは普及していない。またアワビ類以外の海産無脊椎動物では、放卵・放精率が高いとはいえない。アワビ類では強い紫外線を海水に照射することでフリーラジカルを発生させる手法が普及しているが、紫外線照射をどの程度当てれば放卵・放精を誘発できるかは装置によって異なると考えられ、誘発が不安定である現場も多い。他方、紫外線殺菌装置を使った手法は、他の海産無脊椎動物では放卵・放精率が著しく低い。低濃度の $\text{H}_2\text{O}_2$ から効率的に $\cdot\text{OH}$ を発生させるフェントン反応は、他の海産無脊椎動物の採卵法としても有効かもしれない。

研究3で構築した個体ベースモデルは、エゾアワビの資源評価の改善に貢献できるかもしれない。一般的に、漁業資源の評価は漁獲データに基づいて行われるが、漁獲のしやすさが一定であることやアワビの漁場内外への移動が無いことが前提となっている。しかし本研究では、海藻群落が縮小した年にはアワビが特定の場所に集中分布することや漁期中にアワビが漁獲しやすい浅い場所へ移動することが示唆された。つまり、同じ資源量でも海藻群落が縮小した年はアワビが漁獲しやすくなるため、その年の単位努力量あたりの漁獲量(CPUE:資源状態を示す1つの指標)は、海藻群落が良好に生育した年よりも高くなる可能性がある。また、漁場における移出・移入が無いという前提もエゾアワビは満たしていないと考えられる。今後、個体ベースモデル内で仮定の漁業と資源評価を実施することで、本種の深淺移動が資源評価に与える影響を推測できるようになるだろう。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Matsumoto Yukio	4. 巻 8
2. 論文標題 Effects of mucus trail following on the distance between individuals of opposite sex and its influence on the evolution of the trait in the Ezo abalone <i>Haliotis discus hannai</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PeerJ	6. 最初と最後の頁 e8710 ~ e8710
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7717/peerj.8710	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Matsumoto Y, Yatsuya K	4. 巻 669
2. 論文標題 Fenton reaction as a possible stimulus to induce spawning in Ezo abalone <i>Haliotis discus hannai</i> during stormy weather	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Marine Ecology Progress Series	6. 最初と最後の頁 241 ~ 246
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3354/meps13742	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 松本 有記雄, 八谷 光介
2. 発表標題 エゾアワビの一斉産卵誘発物質の探索：フェントン反応が産卵に与える影響
3. 学会等名 第39回日本動物行動学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松本 有記雄, 高見 秀輝
2. 発表標題 大型海藻の生育がエゾアワビの移動パターンに与える影響
3. 学会等名 日本動物行動学会第38回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松本 有記雄, 高見 秀輝
2. 発表標題 大型褐藻類の季節変動とアワビの移動 に関する個体ベースモデル
3. 学会等名 令和4年度日本水産学会春季大会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

当該研究の成果が令和3年度岩手県三陸海域研究論文岩手県知事賞を受賞。

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関