

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 18 日現在

機関番号：12614

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24780184

研究課題名(和文)地球温暖化が海産魚の性決定機構に与える影響を評価するバイオアセスメント魚の確立

研究課題名(英文)Development of an indicator species for assessing the impact of global warming on sex determination of marine teleost fish

研究代表者

山本 洋嗣 (Yamamoto, Yoji)

東京海洋大学・海洋科学技術研究科・助教

研究者番号：10447592

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円、(間接経費) 1,020,000円

研究成果の概要(和文)：異常水温が魚類の性決定機構へ与える影響を評価する指標生物選定の一環として、日本沿岸域に生息するトウゴロウイワシ目魚類であるギンイソイワシが温度依存型性決定機構(TSD)を保持するかを検証した。捕獲した野生個体を、耳石の日輪数から推定した孵化日により春期孵化群(5月、6月孵化：平均水温20.2℃)と夏期孵化群(7月孵化：23.9℃)に分類し、各群の性比を調査した。その結果、春期孵化群では性比が約1:1であったが、夏期孵化群では雄に偏っていた。高温による雄への性比の偏りは、孵化稚魚の水温別飼育試験でも確認され、本種はTSDを保持することが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：The occurrence of temperature-dependent sex determination in *Hypoatherina tsurugae* was examined as a first step to develop an indicator species for assessing the impact of global warming on sex determination of marine teleost fish. Wild *H. tsurugae* young-of-the-year were collected by fishing net and ascribed into two hatching date groups (spring- or summer-hatched) as inferred from the number of daily rings in their otoliths. Male/female sex ratios of each group were then calculated. The sex ratio of the spring-hatched group was approximately 1:1 while that in the summer-hatched group was highly male-biased. The average water temperature at hatching for the spring- and summer-hatched groups was 20.2°C and 23.9°C, respectively. Laboratory rearing of larvae at two temperatures during the supposed period of gonadal sex differentiation confirmed the formation of more males at high temperature. These data suggest that the sexual fate of *H. tsurugae* can be affected by elevated temperature.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：水産学・水産学一般

キーワード：地球温暖化 指標生物 魚類 再生産能力 温度依存型性決定機構 性転換 耳石 日齢査定

1. 研究開始当初の背景

魚類の性決定機構は、先天的な遺伝情報のみで決定される「遺伝型」の性決定機構と、外的環境要因に左右される「環境型」の性決定機構に大別される。遺伝型性決定機構に支配される魚種では、例えば XX 個体は雌へ、XY 個体は雄へと分化する。一方、環境型の性決定機構では、代表的なものとして温度依存型性決定機構 (Temperature-dependent Sex Determination; TSD) があげられ、本特徴を有する魚類では、性決定時期 (多くの魚種では孵化後の仔稚魚期) の環境水温が、中間水温域 (雌雄比が 1:1) より高温になると雄化、低温になると雌化というように水温に依存して雌雄の性比が変動する。

近年、地球温暖化に伴う海水温の上昇が世界規模で懸念されている。このような水温上昇が今後も続けば、TSD の特徴を有した魚類の中でも特に遊泳力の低い沿岸性魚類では、性比のバランスが崩れること (例えば高温に因る著しい雄化) で集団としての再生産能力が低下し、結果として種の絶滅、さらには周辺生態系の崩壊が引き起こされると危惧されている。地球温暖化に起因した水温異常が魚類の「性」にもたらす悪影響を事前に予測・評価する為には、「性」が水温に敏感な指標生物を選定し、継続的に性比のバランスをモニタリングすることが有効であるが、特定の魚種を指標生物として利用するという具体的な試みはこれまでなされていない。

2. 研究の目的

魚類において、「性が温度によって変わる」という TSD の存在は、北米原産トウゴロウイワシ目魚類である大西洋産シルバーサイド *Menidia menidia* により初めて報告され、その後多くの魚類でもその存在が報告されている。しかし、現在までのところ、野生集団において水温変動に起因するとみられる性比の偏りが報告されているのは、北米/南米原産のトウゴロウイワシ目魚類のケースのみである。換言すれば、トウゴロウイワシ目魚類の性決定機構は他魚種に比べ温度の影響を受けやすく、本目魚類は水温変動が「性」へ与える影響を評価する指標生物として適しているといえる。

一方、日本沿岸海域にも数種のトウゴロウイワシ目魚類 (ギンイソイワシ等) が生息しており、前述の大西洋産シルバーサイドと同様に TSD の特徴を有している可能性が高い。しかし、日本産トウゴロウイワシ目魚類の性決定機構が TSD を保持するのか否か、また保持する場合は温度に対してどのような感受性 (すなわち環境水温が何°C以上で雄に何°C以下で雌にどの程度偏るのか) を示すのかは全く明らかにされていない。そこで、本課題では、異常水温が魚類の性決定機構へ与える影響を評価する指標生物選定の一環として、日本沿岸域に分布しているギンイソイワシ *Hypoatherina tsurugae* の性決定機構が環境

水温にどのような感受性を示すのかを耳石輪紋解析を利用した新しいアプローチで調査した。

3. 研究の方法

(1) 耳石輪紋形成の日周性の検証

ギンイソイワシ耳石の輪紋形成が日周性を示すか否かを検証するため、産卵期に捕獲した親魚から得た孵化稚魚を産卵期の中間的な水温である 22°C で一定期間飼育した。51, 73, 108 日齢の稚魚より耳石 (扁平石) を摘出・研磨・封入した後、顕微鏡下で核から縁部までの輪紋数を計測した。

(2) 野生個体の耳石を用いた性決定機構の温度依存性の検証

2013 年 10 月、11 月に千葉県館山市周辺で野生個体当歳魚を捕獲し、輪紋解析から孵化日推定を行った。推定孵化日から捕獲個体を春期孵化群 (5 月下旬-6 月上旬孵化: 平均水温 20.2°C) と夏期孵化群 (7 月孵化: 23.9°C) に分類した後、各群の性比を比較検証した。

(3) 孵化稚魚の水温別飼育試験による性決定機構の温度依存性の検証

3.1 と同じ親魚から得た孵化稚魚を、捕獲地におけるギンイソイワシの産卵時期 (5 月から 8 月末) に実際に観測された最高水温である 26°C、中間的水温である 22°C に調温した 30L 水槽で、組織学的に雌雄が判別可能になるまで約 11 週間飼育した。飼育試験終了後、生殖腺の組織学的解析から雌雄を判別し、各水温区の雌雄比を算出した。

(4) 耳石を用いた経験水温履歴推定技術の確立へ向けた基礎的研究

2012 年 5 月 (水温: 19.7°C) および 8 月 (水温: 26.5°C) に捕獲したギンイソイワシ野生個体の耳石を摘出・研磨後、電子線マイクロアナライザ (EPMA) に供し、各耳石に含まれる微量元素ストロンチウム (Sr) のマップ解析を行った。さらに、捕獲直前の水温情報を最も反映していると考えられる耳石最外縁部の Sr 値をそれぞれ測定し比較した。

4. 研究成果

(1) 耳石輪紋形成の日周性の検証

孵化稚魚輪紋数 (Y) は孵化後日数 (X) とともに直線的に増加し、回帰式の傾きは 1.0 と有意な差は認められず ($p > 0.01$, t 検定)、本種の扁平石には輪紋が 1 日に 1 本ずつ形成されることが示唆された。

(2) 野生個体の耳石を用いた性決定機構の温度依存性の検証

比較的水温の低い産卵期初期に孵化した春期孵化群では、雄の割合が 42.3% であったのに対し、水温の高い夏期孵化群では、70.4% と大きく雄に偏っていた。以上の結果から、ギンイソイワシは TSD を保持し、野生集団に

においても温度による性比の偏りが生じている可能性が示唆された。

(3) 孵化稚魚の水溫別飼育試験による性決定機構の温度依存性の検証

22°C飼育区では雄の割合が 58.7%であったのに対し、26°C飼育区では、雄の割合が 66.2%であったことから、飼育試験においても水溫上昇に伴う雄への性の偏りが認められた。以上の結果から、水溫管理した飼育条件下において、ギンイソイワシが TSD を保持していることが実証された。

(4) 耳石を用いた経験水溫履歴推定技術の確立へ向けた基礎的研究

EPMA を用い、各耳石に含まれる Sr 含量のマップ解析を行ったところ、耳石上 Sr 含量には輪紋状の明らかな周期性が認められた。さらに、5 月に捕獲した個体の耳石最外縁部の Sr 値は、8 月に捕獲した個体の Sr 値よりも有意に高く、水溫と Sr 値間に負の関係性が認められた。一般に耳石 Sr 値は塩分濃度や個体の生理状態など水溫以外の要因の影響も受けることが知られている。今後、耳石外縁部以外の Sr 値の測定を詳細に行い、水溫との関係性をより詳細に調査する予定である。

(5) まとめ

本研究課題は、耳石輪紋解析から、対象魚種の野生集団における TSD 存在の有無を検証した初めての報告例であり、本法により野生条件下で TSD を保持していることが示唆されたギンイソイワシは、「地球温暖化に伴う水溫変化が海産魚の性決定機構に与える影響を評価するバイオアセスメント魚」として利用可能であることが示された。今後は、本種野生個体の雌雄比と環境水溫のモニタリングを継続し、地球温暖化に起因する水溫変動が魚類の「性」へ与える影響を長期的に評価する。さらに、個体レベルでの経験水溫履歴推定技術の確立に向け、環境水溫変化により増減する耳石内微量元素の網羅的な探索を行い、性比の偏りと経験水溫の因果関係を証明する新しい技術の開発を目指す。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

- ① Yoji Yamamoto, Ricardo S. Hattori, Ai Kitahara, Hiroyuki Kimura, Michiaki Yamashita and Carlos A. Strüssmann. Thermal and endocrine regulation of gonadal apoptosis during sex differentiation in pejerrey *Odontesthes bonariensis*. Sexual Development, 査読有, Vol. 7(6), 2013, pp. 316-324. DOI:10.1159/000353506

〔学会発表〕(計 7 件)

- ① Yoji Yamamoto, Yan Zhang, Munti Sarida, Ricardo S. Hattori and Carlos A. Strüssmann. Genetic versus temperature-dependent sex determination in pejerrey: evidence from the testis-determining gene, *amhy*. 10th International Symposium on Reproductive Physiology of Fish. Olhão, Portugal (27th May 2014).
- ② Yan Zhang, Munti Sarida, Ricardo S. Hattori, Yoji Yamamoto and Carlos A. Strüssmann. Expression profile of *amhy* and *amha* genes at high and low temperatures during early larval development in pejerrey *Odontesthes bonariensis*. 10th International Symposium on Reproductive Physiology of Fish. Olhão, Portugal (26th May 2014).
- ③ Munti Sarida, Ricardo S. Hattori, Yan Zhang, Yoji Yamamoto and Carlos A. Strüssmann. Apoptosis and anti-müllerian hormone gene expression during gonadal sex differentiation in pejerrey *Odontesthes bonariensis*. 10th International Symposium on Reproductive Physiology of Fish. Olhão, Portugal (29th May 2014).
- ④ 山本洋嗣, 荒川晴基, 三好花歩, Carlos A. Strüssmann. 耳石を用いたギンイソイワシ性決定機構の温度依存性の検証. 平成 26 年度日本水産学会春季大会. 函館 (2014 年 3 月 30 日).
- ⑤ 田代誠也, 服部ヒカルド修平, 張燕, 山本洋嗣, Carlos A. Strüssmann. ペヘレイ *Odontesthes bonariensis* における超雄(*amhy*^{+/+})個体の作出. 平成 26 年度日本水産学会春季大会. 函館 (2014 年 3 月 30 日).
- ⑥ Yan Zhang, Yoji Yamamoto, Munti Sarida, Ricardo S. Hattori and Carlos A. Strüssmann. Genetic sex determination in pejerrey; evidence from the testis-determining gene, *amhy*. 7th International Symposium of the Asia Oceania Society for the Comparative Endocrinology. Keelung, Taiwan (20th March 2014).
- ⑦ Yan Zhang, Munti Sarida, Ricardo S. Hattori, Yoji Yamamoto and Carlos A. Strüssmann. Temperature effects on the expression of *amhy* and *amha* during gonadal development in Pejerrey *Odontesthes bonariensis*. 第 15 回マリンバイオテクノロジー学会大会. 那覇 (2013 年 6 月 1 日).

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山本 洋嗣 (Yamamoto, Yoji)
東京海洋大学・海洋科学技術研究科・助教
研究者番号：10447592