

研究助成 平成30年度 報告書

公益財団法人 黒潮生物研究所
理事長 深田 純子 殿

作成日のみ記入して下さい

作成日 令和 3年 6月 1日
受領日 令和 3年 6月 3日

貴財団の研究助成により、下記の成果を上げましたので報告いたします

助成者対象者氏名	幸島 和子
----------	-------

学生の方はこちらに記入してください

学校名		学部 学科 講座 等	
学 年		区 分	卒研・修研・博研・その他 ()
指導教官 氏 名		指導教官の所属・職	

一般の研究者の方はこちらに記入してください

所属	京都大学野生動物研究センター	職名	(特任研究員)
最終学歴	お茶の水女子大学修士課程修了	学位等	京都大学理学博士

研究課題名	クマノミ (A. clarkii) の化学的宿主認知機構の解明
-------	---------------------------------

助成を受けた研究内容について、学会等での発表、学術誌等への公表を行った場合には、下欄にその内容（講演の場合：学会名、期日、タイトル、発表者名等、著作の場合：著者、発行年月、タイトル、雑誌名等）を記入して下さい

研究の内容(研究成果)報告書の作成要領

- ・別途研究成果をA4の用紙1枚にまとめて下さい。
- ・言語は日本語とします
- ・1行目に研究課題名、2行目に研究の実施者名(助成対象者名に○印をつける)を記入してください
- ・本文は図表、テキスト等、自由にレイアウトして結構です
- ・報告書は、MS-Word 2010、MS-Excel 2010、MS-PowerPoint 2010、一太郎2010、花子2010、Adobe Reader X、Adobe-Photoshop CS2、Adobe-Illustrator CS2で表示可能なファイル形式で作成してください
- ・標準フォント以外のフォントは埋め込んで下さい
- ・成果報告書は当財団のホームページ等に公表しますので、著作権やデータの取り扱い等には十分ご注意下さい
- ・報告書(この紙と成果報告書の2枚)は、出力したものを郵送した上で、ファイルを電子メール(mezaki@kuroshio.or.jp)でお送り下さい
- ・提出期限は平成31年3月末日とする

<背景> クマノミ類と大型イソギンチャクの共生関係のメカニズムに魅了され長年解明に携わって来たが、最後に残った難問2つのうちの1つにこの度黒潮生物研究所に助成を頂いた。底生に入った直後の稚魚がそれぞれの共生種イソギンチャクの種特異的な匂いを手がかりに宿主を探し出していることは、1989年串本、沖縄で人工繁殖した5種のクマノミ類稚魚で証明していた。更に2014年、親がイソギンチャクのすぐそばに産卵するのは単に捕食者から卵を守るためだけではなく、孵化直前直後に子ども達が親の宿主の匂いを学習して、底生期に入った稚魚が最初に宿主を探す際の手がかりにしているということのカクレクマノミで突き止めた。その際、それまでは共生が見られれば全て共生種と考えられて来たが、実は本来の共生種と、重複した宿主をめぐる種間競争などで共生種に棲めない場合に共生する代替的な共生種「準共生種」が存在することがわかった。また、幸島が稚魚で生得的保護の存在を証明するまで通説となっていた“クマノミは保護が無く順応過程が必要”と結論づけられた*A. clarkii*-ハタゴと紅海の*A. bicinctus*-ハタゴの組み合わせが、実は準共生種との共生であり、この2組だけが特殊だったことが判明し、生得的保護とは真逆のかつての通説の謎が遂に解けた。沖縄では*A. clarkii*とハタゴとの共生は見られず、インド・太平洋でも数ヵ所でしか見られない。*A. clarkii*の若齢期稚魚はハタゴに保護は無く触れれば殺されてしまうが、孵化後2カ月前後から不完全な保護が発達し順応行動により共生できるようになる。近年の遺伝学的系統分析から*A. clarkii*は最も分化の進んだ種と考えられている。クマノミ類の中で唯一最も多く10種のイソギンチャクとの共生が見られ、保護の不完全なハタゴにまで共生を可能にする戦略を確立させていると考えられ、準共生種の手がかりへの戦略も含めて宿主認知機構の解明を目指した。

<目的> ①沖縄では*A. clarkii*は5種のイソギンチャクとの共生が見られる。クマノミでの宿主認知機構の詳細と、刷り込みとの関わり、共生種と準共生種の内訳を明らかにする。
②ハタゴイソギンチャクはクマノミにとって準共生種であるのか否かを明らかにするーハタゴのそばで孵化した子供達がハタゴに刷り込まれれば準共生種と証明できる。

<結果> *A. clarkii*の繁殖は非常に難しいが、2018年に*A. clarkii*ペアを敢えて問題のハタゴと共生させ人工繁殖を試み、何とか28匹の稚魚を育成でき、2mの塩ビのといを使った実験を行い内7匹がハタゴに刷り込まれていると判断できた。つまり、ハタゴイソギンチャクは*A. clarkii*にとって間違いなく準共生種であると考えられる。また、ハタゴに刷り込まれた稚魚はハタゴの化学的因子に惹きつけられるが、粘液を付着させたガーゼには決して口をつけなかった。クマノミ類の稚魚が共生種イソギンチャクの匂いに惹きつけられた際には、必ず匂い因子のみで接触行動も解発されるが、どんなに近くまで来ても決して接触しなかった。この結果はかつて串本で、共生種オオサンゴイソギンチャクに刷り込まれた孵化後2ヶ月以降の稚魚でも観察されており、この結果から*A. clarkii*は、共生種に刷り込まれた場合もハタゴに刷り込まれた場合にも、ハタゴに対しては匂い因子だけでは

接触行動が解発されないことがわかった。ハタゴに対して若齢稚魚期の保護粘液は無効、孵化後数ヶ月以降でも不完全であることを考えると、不用意な接触が抑止されていることは大変興味深い。本来の共生種であるシライトイソギンチャクに対しては、非刷り込み個体は弱い誘引が確認されたが、ハタゴ刷り込み稚魚では、カクレクマノミで得られたような準共生種による刷り込みによって本来の共生種への誘引が明らか抑制されるという結果は得られなかった。共生種ではないタマイタダキイソギンチャクには、非刷り込み個体もハタゴ刷り込み個体も全く誘引されなかった。2019年は、2種の共生種にペアを共生させて繁殖を試みたが高水温のせいか完全に産卵が止まり繁殖に至らなかった。期待された2020年はコロナの感染拡大によりやむなく瀬底への渡航を断念した。感染が落ち着き次第、2年間に判明した様々な問題点を改善し、本研究を完遂する予定である。

<付記>

今後の改善点

- ①実験場所の検討(屋根の無い屋外水槽域での実験は過酷を極め、日の出前に起き準備して開始しても、落ち着きのない稚魚達が落ち着くまでに時間を要し匂い実験を2回くらいしかできない上に、早くも午前中のうちに熱中症で倒れそうになってしまう。また、悪天候の日は全く実験ができない。様々困難や不自由があっても次回には室内で実験を実施できるよう条件は難しいがベストな場所を検討して研究所に交渉する予定である)
- ②実験個体の日齢をかなり引き下げる(成長に従ってこれまで串本でも沖縄でも経験したことがないくらい動き回り落ち着きがなかったので、できるだけ早い時期の稚魚、孵化後3-4週間以内に実験を実施する)
- ③引き合わせ実験を行う(ハタゴに刷り込まれた稚魚の数が限られて貴重だったためか、しばしば熱中症になりかかり正常な思考ができなかったか、肝心な保護が無い状態の若齢稚魚が匂いで惹きつけられてその先どうなるのかを確認するべく直接引き合わせ実験を行わなかったことが最も悔やまれる。インド・太平洋で数ヶ所A. clarkiiとハタゴの共生が報告されている地域で、ハタゴのそばで繁殖しているペアがいるかどうか、若齢の稚魚が触手間に見られるかなどについてはこれまで全く情報が無く、実際そのような致死性的出会いが果たして自然界で起こっているかどうかは不明であるが是非可能性を確かめたい)
- ④有り余る食欲は良いとしても、クマノミに関してはこれまであまりに問題の多いペアが多かったため、良く産卵しかつ卵のケアも勤勉にこなし(手抜きケアはこの種の特徴である可能性もある)、性格が従順そうなペアの誘致を目論み準備進行中である。