

2020年度学生論文賞 第2次審査用論文

将来の餌に応答した孵化直後の
エゾサンショウウオ幼生の
表現型可塑性

2020年12月24日

小樽商科大学商学部

2017064 岡村翔（経済学科）

2017219 谷村恵奈（商学科）

目次

要旨	1
緒言	2
材料と方法	3
材料	
実験の基本デザイン	
実験 1	
実験 2	
実験 3	
統計処理	
結果	6
実験 1	
実験 2	
実験 3	
考察	7
孵化直後の表現型可塑性	
表現型可塑性の誘導シグナル	
表現型可塑性のコスト	
結論	
謝辞	10
引用文献	11
図	13

要旨

表現型可塑性はあらゆる生物の分類群で見られる現象であり、これまでも多くの事例が報告されてきた。しかし、従来の表現型可塑性に関する研究の多くは、個体発生が進んだ生活史ステージに焦点を当てており、発生初期の可塑性にはほとんど着目されていない。多くの動物では、発生初期（孵化直後）は脆弱なため、その時期をいかに生き抜き、備えるかは、その後の生物の生存と成長を大きく左右する。そのため、発生初期の可塑性を調べることは、生物の生存戦略の全貌を明らかにする上で重要な課題である。

エゾサンショウウオは北海道に生息する両生類で、その生息地にはエゾアカガエルが産卵する場合がある。肉食性のエゾサンショウウオ幼生は、うまく成長できればエゾアカガエルのオタマジャクシを捕食するが、エゾアカガエルの方が先に孵化するため、孵化後しばらくは、エゾサンショウウオはオタマジャクシを捕食できない。もし孵化直後から幼生がオタマジャクシに反応して体や顎を大きくするなら、その可塑性を示さない個体よりも、将来の食う-食われる関係で有利となるだろう。

本研究の目的は、オタマジャクシに反応したエゾサンショウウオの孵化幼生の表現型可塑性の実証と、その可塑性を誘導するシグナルの特定である。そのために、3つの飼育実験を行った。まず、孵化幼生を単独あるいはオタマジャクシと飼育し、幼生の成長速度と形態形質の大きさを比較した。その結果、孵化幼生はオタマジャクシの存在下で大きく成長し、顎を発達させていた。そこで次に、この可塑性を誘導するシグナルを特定するため、オタマジャクシからの化学シグナル（オタマジャクシが水中に放出する化学物質）と、視覚シグナル（透明なガラス容器に入れたオタマジャクシ）を独立に操作する実験を実施した。その結果、視覚シグナルではなく、化学シグナルによって成長の加速と大顎化の可塑性は誘導された。これらの結果をもとに、「将来、餌となりうるオタマジャクシに反応したエゾサンショウウオの孵化幼生の表現型可塑性の意義」について考察した。

キーワード：表現型可塑性・誘導シグナル・食う-食われる関係・大顎化・成長の加速

緒言

生物は一般に、温度や湿度などの非生物的要因や、同種や他種の密度などの生物的要因が変動する環境に生息する。生物はこれらの変動環境を生き抜くために、同じ遺伝子を保有する個体でも環境に応じて個体の形態や行動などの表現型を変化させる。このような同一遺伝子型が環境条件に応じて表現型を変化させる能力を、表現型可塑性と呼ぶ (Pigliucci, 2001)。表現型可塑性は、変動する環境に応じて異なる表現型を発現できる遺伝子を持つ個体が生存競争を勝ち抜き、その遺伝子が集団中に増えることで進化する (Pigliucci, 2005)。つまり、生物が現在の生息環境で最も有利な表現型を発現させるなら、その表現型可塑性は適応的な生存戦略といえる。

表現型可塑性はあらゆる分類群の生物でみられる普遍的な現象である。これまでも表現型可塑性に関して多くの事例が報告され、その適応的意義について議論されてきた (Price et al., 2003)。しかし、これまでの研究の多くは、個体発生 (成長) がある程度進んだ生活史ステージの表現型可塑性に着目しており、発生初期の生活史ステージの表現型可塑性についてほとんど焦点が当てられていない (Kishida et al., 2014)。多くの動物では、発生初期 (孵化直後) は体のサイズが小さく、機能が未熟なため、捕食者からの攻撃や同種他個体からの共食いに対して最も脆弱な生活史ステージである。そのため、この脆弱な時期をいかに生き抜き将来に備えるかは、その後の生物の成長や生存を大きく左右する (Miller et al., 1988; Fuiman and Magurran, 1994; Cowan et al., 1996)。したがって、発生初期の表現型可塑性について調べることは、生物の生存戦略の全貌を明らかにする上で重要な課題である。

発生初期の生活史ステージにおける表現型可塑性について調べた数少ない研究の 1 つに、Kishida et al. (2014) がある。彼らは、孵化直後のエゾサンショウウオ (*Hynobius retardatus*) の幼生 (孵化幼生) を実験水槽に単独あるいは複数で飼育し、その後の幼生の成長速度や形態形質について調べた。その結果、孵化幼生は複数で飼育した場合に速く成長し、口幅や頭胴長、尾長など、全ての形態形質を大きく発達させることを実証した。さらに、Kishida et al. (2014) は、「速く成長することで孵化幼生は、自身より大きな同種他個体からの共食いに対する回避能力を向上させ、その後の共食い成功率を高めていること」も明らかにした。孵化直後で体が小さく脆弱なエゾサンショウウオの幼生は、この表現型可塑性によって他個体よりも速く成長することで将来の共食い環境を生き抜くことができる。さらに、成長の加速によって共食いに成功した個体は、早い段階で外部から栄養を取り込むことで他個体よりも加速的に大きく成長する。そのため、孵化直後に成長を加速させる表現型可塑性は、現在だけでなく将来の種内相互作用においても、サンショウウオに優位性を与えると考えられる。

Kishida et al. (2014) では、種内相互作用 (共食い環境) における孵化直後の表現型可塑性の存在とその可塑性の適応的側面を示した。しかし、まだいくつかの課題が残されている。1 つ目の課題は、「孵化幼生がどのような種類のシグナルにตอบสนองして表現型可塑性を発現させるか」である。現在の状況を的確に感知し適応的な表現型可塑性を発現させることで、その生物の適応度は最大となる。しかし、多くの場合、表現型可塑性の発現にはコストが伴うため (DeWitt et al., 1998)、シグナルを誤認することで効果的でない表現型可塑性を発現した場合には、その生物の成長や発育に負の影響をもたらさう。また、状況に合わない表現

型の発現は、捕食の危険性を増すなど生存を脅かす可能性もある (Kishida and Nishimura, 2005) . したがって、表現型可塑性の進化と維持についての我々の理解を深めるには、「表現型可塑性を示す生物がどのようなシグナルを手がかりに現在の状況を検知しているか」を明らかにする必要がある.

2つ目の課題は、「エゾサンショウウオの孵化幼生が同種以外の他個体の存在に対してどのように反応するか」である. 成長を加速させることは、同種との共食い相互作用だけではなく、異種との食う-食われる関係においても同様に有利に働くと考えられる. 例えば、エゾサンショウウオが生育する北海道の池には、エゾアカガエル (*Rana pirica*) というもう1種の両生類が同じ池に産卵する場合があるが、エゾアカガエルはエゾサンショウウオよりも先に産卵し孵化するため、エゾサンショウウオが自然の池で孵化した時には、エゾサンショウウオの孵化幼生よりも大きなオタマジャクシが存在する. オタマジャクシと同居した池のエゾサンショウウオ幼生は、孵化から1~2週間経過し大きく成長できた時に、エゾアカガエルのオタマジャクシを捕食し始める (Nosaka et al., 2015) . エゾサンショウウオ幼生はオタマジャクシを頭から丸呑みするため、サンショウウオ幼生がオタマジャクシを捕食できるか否かは、エゾサンショウウオの顎幅とオタマジャクシの頭幅のバランスに依存する (Kishida and Nishimura, 2004 ; Nosaka et al., 2015) . したがって、将来の食う-食われる関係において優位性を示すために、エゾサンショウウオの孵化幼生は、異種であるオタマジャクシに対しても成長を加速させることで顎幅を大きくするかもしれない. 自然界での生物の適応戦略を理解するためには、異種に対する孵化直後の表現型可塑性も調べる必要がある.

本研究の目的は、異種の存在に応じたエゾサンショウウオの孵化幼生の表現型可塑性の実証と、その可塑性を誘導するシグナルの特定である. そのために、3つの室内飼育実験を行った. はじめに、孵化直後のエゾサンショウウオ幼生を単独あるいは異種他個体 (エゾアカガエルのオタマジャクシ) と同じ水槽で飼育し、これらの条件でエゾサンショウウオ幼生の成長と形態形質の大きさを比較した (実験1) . その結果、エゾサンショウウオ幼生は異種他個体の存在下で大きく成長し (成長の加速) , 顎を大きく発達させていた (大顎化) . そこで次に、これらの可塑性を誘導するシグナルを特定するため、異種他個体からの化学シグナル (オタマジャクシから放出された水を介して伝播される化学物質: 実験2) と、視覚シグナル (透明なガラス容器に入れたオタマジャクシの存在: 実験3) を独立に操作する実験を実施した. これらの結果をもとに、「エゾサンショウウオの孵化幼生が異種他個体からのどのようなシグナルに応答し、どのような可塑性を発現するか」について検討した.

材料と方法

材料

実験には、2019年5月に北海道大学天塩研究林 (北海道幌延町; 北緯44.91°, 東経142.01°) で採取した30個の卵塊由来のエゾサンショウウオ幼生を使用した. 採取した卵塊を小樽商科大学 (北海道小樽市; 北緯43.19°, 東経140.97°) に持ち帰り、卵塊ごとに1Lの脱塩素水道水を加えたポリプロピレン製の水槽 (15.4×11.8×8.0 cm) に入れて実験に使用するまでガラス製冷蔵ショーケース (5°C, 自然日長) で保管した. 実験開始前にエゾサンショウウオ

の卵塊は、温度 15°C、明期 12 時間、暗期 12 時間の日長サイクルに設定したインキュベーター内に水槽ごと移し、実験開始に合わせて孵化タイミングを調整した。

実験に使用したエゾアカガエルの幼生（以降、オタマジヤクシ）は、2019 年 5 月に小樽商科大学で採取した 1 個の卵塊（約 500 卵）由来のものである。採取した卵塊は 6 L の脱塩素水道水を加えたポリプロピレン製の水槽（35.4×23.4×13.8 cm）に入れ、実験室（18～22°C、自然日長）で孵化させた。孵化後、週に 2 度、水槽の水換えを行なった。水換えの際に、市販のウサギの餌（株式会社 LIZIL ビバの商品）を水槽あたり 2 個与えて、約 1 ヶ月間オタマジヤクシを飼育し、実験に使用した。

実験の基本デザイン

全ての実験には、孵化後 5 時間以内のエゾサンショウウオ幼生（孵化幼生）を用いた。実験開始日に孵化幼生の周りに付着した卵殻を慎重に取り除き、実験水槽に卵塊由来の有機物が入らないように新しい水で孵化幼生を 2 回リンスした。リンス後の孵化幼生を卵塊由来ごとに改めて 1 L の脱塩素水道水を加えた水槽（15.4×11.8×8.0 cm）に入れ、幼生の奇形の有無を確認した。おおよそ 2 時間後、奇形ではない個体を実験に応じて 4～6 個体選抜した。幼生の成長に及ぼす各処理の影響を評価するため、孵化幼生を 80 mL の脱塩素水道水を加えたポリプロピレン製の小型水槽（8×5×4 cm）に移し、インキュベーター内（15°C、自然日長）で飼育した。実験個体は実験開始日（1 日目）と計測日（計測日は実験によって異なる）にスキャナー（Canon 9000F Mark II）で腹部側から撮影し、ImageJ を用いて 4 つの形態形質（頭胴長、尾長、顎幅および頭幅）を計測した（図 1）。全長は頭胴長と尾長を足した値として評価した。なお、実験開始日の孵化幼生は体が小さく、体軸が定まっていないので、個々の形態形質の測定は困難であった。そこで、孵化幼生に関しては全長のみを測定した。これらの全長データを用いて以下の式から幼生の 1 日当たりの成長速度を計算した（Katayama et al., 2016 を参照）；

$$\text{成長速度 (mm/日)} = (L_y - L_x) / (t_y - t_x)$$

ここで、 L_x と L_y はそれぞれ x 日目 (t_x) と y 日目 (t_y) の幼生の全長である。なお、孵化幼生は口が未発達で餌を食べることができないため、実験期間中は幼生に餌を与えなかった。

実験 1

エゾアカガエルのオタマジヤクシの存在に応じてエゾサンショウウオの孵化幼生が表現型可塑性を発現するかを調べるため、飼育実験を実施した。孵化幼生を (i) 単独あるいは (ii) オタマジヤクシと飼育する（以降、オタマ共存）という 2 種類の処理を設定し、飼育後 7 日間の全長の成長速度と形態形質の大きさを処理間で比較した。オタマ共存処理では、飼育水槽からほぼ同サイズのオタマジヤクシ（頭胴長：7.20±0.54 mm [平均±標準偏差]）を選抜し、各水槽に 1 個体ずつ入れた。なお、本実験で使用したオタマジヤクシは、実験期間中にサンショウウオ幼生が食べることでできないサイズである（実験開始時のオタマジヤクシ

の平均頭幅：4.39±0.56 mm [平均±標準偏差]，エゾサンショウウオ孵化幼生の平均顎幅：2.77±0.12 mm）。実験期間中は水換えを行わなかった。1日目（実験開始日）と8日目にサンショウウオ幼生の形態形質を測定した。

本実験は、同じ卵塊由来の孵化幼生からほぼ同サイズの個体を各処理に割り当て、卵塊由来をランダム効果とするブロックデザイン（14卵塊；全部で28個体）で実施した。

実験2

エゾアカガエルのオタマジャクシから放出された化学シグナル（排泄物や溶存物質等）が水を介してエゾサンショウウオの孵化幼生の成長や形態に及ぼす影響を調べるため、飼育実験を行なった。事前にオタマジャクシ1個体を入れたポリプロピレン製の小型水槽（8×5×4 cm；80 mLの脱塩素水道水を注入）を用意し、インキュベーター内に設置した。1日後に水槽内のオタマジャクシを取り除き、オタマジャクシが生息していた水（以降、オタマ水）を作成した。これらの水槽に実験個体としてエゾサンショウウオの孵化幼生を入れた。実験1と同様な条件で6日間幼生を飼育し、幼生の成長速度を計測した。本実験では、水の劣化の影響を少なくするために水換えを毎日行い、水換え毎に上述の方法でオタマ水を新たに作成して実験に使用した。なお、環境水の作成に使用したオタマジャクシは実験1で使用したものと同サイズの個体である。

本実験では、エゾサンショウウオの孵化幼生を (i) オタマ水で飼育、あるいは (ii) コントロール水で飼育するという2種類の処理を設定した。本実験では8つの卵塊を用意し、卵塊内の個体を3個体ずつそれぞれの処理に振り分けた。つまり、本実験のデザインは孵化幼生48個体を使用したブロックデザインである。各個体の測定は1日目（実験開始日）と5日目と7日目に行い、1日目に全長、5日目と7日目に各形態形質の大きさを測定した。なお、コントロール水およびオタマ水処理のそれぞれ1個体は実験開始後、奇形であったことを確認したため、これらの個体は全ての統計処理から取り除いた。加えて、コントロール水処理の2個体は7日目の撮影に失敗したため、7日目に関連する統計処理から取り除いた。

実験3

エゾサンショウウオの孵化幼生が視覚でオタマジャクシを認知し、成長速度と形を変化させるかを検証するため、飼育実験を実施した。実験1で使用したものと同サイズの水槽に約30 mLの脱塩素水道水を入れた無色透明のガラス容器（φ35×80 mm）を設置し、その中に視覚シグナルの誘導個体としてオタマジャクシを入れた（片山ら、2020を参照）。そして、実験個体としてガラス容器の外にエゾサンショウウオの孵化幼生を入れて、実験1と同様な条件（ただし、水槽内の水は60 mL）で6日間孵化幼生を飼育した（視覚処理）。ネガティブコントロールとして、ガラス容器の中に誘導個体を入れずに水槽に孵化幼生のみを入れる処理（コントロール水処理）、ポジティブコントロールとしてガラス容器の外に孵化幼生とオタマジャクシを入れる処理（オタマ共存処理）を設け、6日間飼育した。以上の3種類の処理を1セットとし、セット内の実験個体は同じ卵塊由来の幼生を用いた。なお、水

換えは1日おきに行った。各個体の測定は1日目（実験開始日）、5日目および7日目に行い、1日目に全長、5日目と7日目に各形態形質の大きさを測定した。本実験での卵塊の繰り返し数は8、卵塊内の繰り返しは3（実験個体は全部で72個体）である。なお、視覚処理およびオタマ共存処理のそれぞれ1個体は実験開始後、奇形であったことを確認したため、これらの個体は全ての統計処理から取り除いた。加えて、オタマ共存処理の2個体は7日目の撮影に失敗したため、7日目に関連する統計処理から取り除いた。

統計処理

本実験では、卵塊由来をランダム効果、処理を主効果とする正規分布を仮定した一般線形混合モデル（general linear mixed model；GLMM）で成長速度と測定日の形態形質の大きさを比較した。加えて、エゾサンショウウオ幼生の形の違いを評価するため、頭胴長と処理を独立変数、尾長、顎幅あるいは頭幅を従属変数とするGLMMを実施し、頭胴長に対する尾長（相対尾長）と顎幅（相対顎幅）の比較を行った。この解析では、相対顎幅が大きいほど大顎化した形態であることを示している。実験3では事後検定として、ボンフェローニ補正後のGLMM（有意水準 < 0.05 ）を実行した。なお、全ての統計モデルにおいて交互作用は検出されなかった（有意水準 > 0.05 ）。

結果

実験1

1日目（実験開始日）の時点では、各処理間で幼生の全長に有意差はみられなかったが（単独： 16.57 ± 0.13 mm [平均 \pm 標準誤差]；オタマ共存： 16.47 ± 0.15 mm, $F_{1,23.19} = 0.342, P = 0.564$ ），8日目（実験終了日）では、単独処理よりもオタマ共存処理の幼生の方が全長は有意に大きかった（図2a）。同様に、この間の成長速度も単独処理よりもオタマ共存処理で有意に速かった（ $F_{1,23.17} = 24.807, P < 0.001$ ；図2b）。また8日目では、全ての形態形質は、単独処理よりもオタマ共存処理で有意に大きかった（頭胴長： $F_{2,37.96} = 17.126, P < 0.001$ ；顎幅： $F_{2,36.27} = 34.082, P < 0.001$ ；頭幅： $F_{2,36.25} = 21.534, P < 0.001$ ；図2c-f）。頭胴長に対する顎幅の大きさ（相対顎幅）は、単独処理よりもオタマ共存処理で有意に大きかったが（ $F_{1,21.51} = 15.306, P < 0.001$ ；図3a），頭胴長に対する尾長の大きさ（相対尾長）は、処理間で有意差はみられなかった（ $F_{1,22.67} = 0.227, P = 0.639$ ；図3b）。

実験2

1日目（実験開始日）の幼生の全長は、各処理間で有意差はみられなかった（コントロール水： 18.76 ± 0.23 mm [平均 \pm 標準誤差]；オタマ水： 18.91 ± 0.25 mm, $F_{1,38.01} = 0.345, P = 0.561$ ）。一方、実験開始後5日目の全長は、コントロール水処理よりもオタマ水処理の方が有意に大きく（ $F_{1,37.00} = 8.720, P = 0.005$ ；図4a），この間の全長の成長速度も、オタマ水処理の方が速かった（ $F_{1,36.96} = 15.982, P < 0.001$ ；図4b）。実験開始後5日目の頭胴長（ $F_{1,36.96} = 5.836, P = 0.021$ ；図4c），尾長（ $F_{1,37.02} = 6.428, P = 0.016$ ；図4d），顎幅（ $F_{1,37.04} = 29.993, P <$

0.001 ; 図 4 e) , 頭幅 ($F_{1,37.05} = 31.776, P < 0.001$; 図 4 f) は, コントロール水処理よりもオタマ水処理で大きかった. さらに, 5 日目の相対顎幅は, コントロール水処理よりもオタマ水処理で有意に大きかった ($F_{1,36.82} = 18.612, P < 0.001$; 図 5 a) . 一方で, 相対尾長は処理間で有意に異ならなかった ($F_{1,35.62} = 2.351, P = 0.134$; 図 5 b) .

なお, 実験開始後 7 日目の結果も 5 日目と同様の傾向がみられた (データは省略) .

実験 3

1 日目 (実験開始日) の幼生の全長は処理間で異ならなかったが (コントロール水 : 18.43 ± 0.22 mm [平均 \pm 標準誤差] ; 視覚処理 : 18.58 ± 0.22 mm ; オタマ共存 : 18.38 ± 0.21 mm, $F_{2,52} = 1.389, P = 0.257$) , 7 日目 (実験終了日) の全長 ($F_{2,58.06} = 9.944, P < 0.001$; 図 6 a) および成長速度 ($F_{2,58.1} = 17.562, P < 0.001$; 図 6 b) は処理間で有意に異なった. 加えて, 頭胴長 ($F_{2,58.13} = 6.526, P = 0.003$) , 尾長 ($F_{2,58.06} = 7.636, P = 0.001$) , 顎幅 ($F_{2,58.07} = 30.576, P < 0.001$) , 頭幅 ($F_{2,58.09} = 33.445, P < 0.001$) も, 処理間で有意に異なっていた (図は省略) . ただし, いずれの場合でも, 容器外にオタマジヤクシが存在した処理 (オタマ共存) では, 他の 2 つの処理と比較して孵化幼生は有意に大きく成長を速めたのに対し, 容器中のオタマジヤクシが存在した処理 (視覚シグナル) は, 孵化幼生の形態サイズと成長に有意な影響を及ぼさなかった (図 6) . また, 7 日目の相対顎幅も処理間で異なっていたが ($F_{2,55.39} = 19.176, P < 0.001$; 図 7 a) , 視覚シグナルは相対顎幅に有意な影響を与えなかった ($F_{1,35.6} = 0.040, P = 0.842$; 図 7 a) . 一方で, 相対尾長は処理間で有意に異ならなかった ($F_{2,55.23} = 2.606, P = 0.083$; 図 7 b) .

なお, 実験開始後 5 日目の結果も 7 日目と同様の傾向がみられた (データは省略) .

考察

孵化直後の表現型可塑性

本研究では, エゾアカガエルのオタマジヤクシと同じ水槽で飼育したエゾサンショウウオの孵化幼生は, 単独で飼育した場合と比較して測定した全ての形態形質を大きくし, 成長速度を速めていた (図 2) . サンショウウオの幼生は, 尾を発達させることで遊泳能力が高まることが知られている (Kishida et al., 2014) . しかし, 本研究の孵化幼生では, 頭胴長に対する尾長の大きさ (相対尾長) に対して処理の効果がみられなかった (図 3 b) . 一方で, オタマジヤクシと飼育していた幼生は, 頭胴長に対する顎幅の大きさ (相対顎幅) が単独で飼育した個体よりも大きかった (図 3 a) . これらの結果は, オタマジヤクシがいる環境では, エゾサンショウウオ幼生は孵化後 7 日以内に大顎化していたことを示す. さらに, 実験 2 の結果から, この成長の加速と大顎化の表現型可塑性は, オタマジヤクシそのものがないとしても, オタマジヤクシが存在していた水によって孵化後 4 日以内に発現することが判明した (図 4 と 5) . 一方で, 透明なガラス容器内のオタマジヤクシの存在によっては成長の加速や大顎化の表現型可塑性は発現しなかった (図 6 と 7) . 以上の結果から, オタマジヤクシに応答した孵化直後のエゾサンショウウオ幼生の表現型可塑性は, 視覚シグナルではなく, 少なくとも水を介した化学シグナル (オタマジヤクシから水中に放出された排泄物や

溶存物質等) によって誘導されると考えられる.

表現型可塑性の誘導シグナル

発生初期の表現型可塑性に関してこれまであまり調べられてこなかったが, エゾサンショウウオの孵化幼生は, 同種他個体の存在に応答して成長を加速させることが知られている (Kishida et al., 2014 ; 片山ら, 2020) . 例えば, Kishida et al. (2014) は, 孵化直後により早く捕食能力や遊泳能力を発達させることが, 共食い環境を生き抜く上で鍵となることに着目し, エゾサンショウウオの孵化幼生が同種他個体の存在下で成長を速めることを実証した. しかし, エゾサンショウウオの孵化幼生が同種他個体からどのような種類のシグナルに反応して成長を速めているかについて, 明らかではなかった. そこで片山ら (2020) は, Kishida et al. (2014) の実験条件を踏まえた上で, 同種他個体からの化学シグナル (他個体から放出された, 水を介して伝播される化学物質) と, 視覚シグナル (透明なガラス容器に入れた他個体の存在) を独立に操作する実験をデザインし, 同種他個体の存在に反応した成長加速の誘導シグナルの探索を試みた. その結果, エゾサンショウウオの孵化幼生は同種他個体と同じ飼育環境にいるときには大きく成長したものの, 他個体が生息していた水や, ガラス容器内の他個体の存在によって成長を加速させなかった. 他個体と同じ飼育環境にいる場合, 他個体からの化学シグナルや視覚シグナルだけでなく, 他個体との直接的な接触のような物理シグナルが幼生に加わる. これらの状況を考慮し, 片山ら (2020) は, 同種他個体に反応したエゾサンショウウオの孵化幼生の成長加速には, 他個体との物理シグナルが少なくとも必要と考察している.

本研究では, 片山ら (2020) の結果とは異なり, エゾサンショウウオの孵化幼生はオタマジャクシからの水を介した化学シグナルによって表現型可塑性を発現させた. 多くの水棲生物は, 溶存物質を他個体の存在を感知するシグナルとして利用している (Tollrian and Harvell, 1999) . 例えば, ミジンコ (*Daphnia pulex*) は, 捕食者であるフサカ幼虫 (*Chaoborus*) から放出される化学物質に反応して後頭部突起を伸ばす (Hebert and Grewe, 1985) . このような形態の変化により, ミジンコは捕食されにくくなる (Krueger and Dodson, 1981) . 加えて, エゾアカガエルやエゾサンショウウオのような両生類の幼生も, 同じ生息環境に存在する天敵のヤゴが放出する溶存物質を感知し, 尾部やエラを発達させて遊泳能力や潜水時間を向上させている (Kishida and Nishimura, 2006 ; Iwami et al., 2007) . ヤゴは水域生態系の頂点に君臨する獰猛な捕食者であり, その強靱な下顎と牙を利用して多くの水棲生物を捕食する. 多くの餌生物にとって, 天敵である捕食者との直接接触は生命を危険にさらす状況となる. そこで, 比較的長距離まで拡散し, 直接出会わなくても相手の存在を感知できる溶存物質を手がかりとすることで, 水域生態系の餌生物は, 捕食者の存在を感知し, 捕食の危険を回避していると考えられている (Ferrari et al., 2010) .

孵化直後で体が小さく脆弱なエゾサンショウウオ幼生でも, 同時期に孵化した同種他個体は体サイズも似ていて口も未発達なため, 互いに接触しても共食いされる危険がない. しかし, 先に孵化した体の大きいオタマジャクシの存在は, 遊泳能力が低くあまり動けないエゾサンショウウオの孵化幼生にとって脅威 (被食対象) となる可能性がある (岡村・片山の観察) . したがって, エゾサンショウウオの孵化幼生は, 水を介した化学シグナルによ

ってオタマジャクシの存在を感知し、成長の加速と大顎化の可塑性を発現するのかもしれない。この表現型可塑性によって他個体よりも早い段階でオタマジャクシを捕食する可能性が高まると予想される。なぜなら、サンショウウオ-オタマジャクシの相互作用における捕食成功は、捕食者（サンショウウオ幼生）の顎幅と餌（オタマジャクシ）の頭幅のバランスに依存するからである（Kishida and Nishimura, 2004）。つまり、成長の加速と大顎化によってオタマジャクシの頭幅よりもエゾサンショウウオ幼生の顎幅の方が大きくなるなら、発育の早い段階から捕食成功は高まるだろう。加えて、捕食に成功した個体は、そうでない個体よりも飛躍的に大きく成長するため（Nosaka et al., 2015 ; Yamaguchi and Kishida, 2016）, 孵化直後の成長の加速と大顎化は、将来の種間相互作用において有利に働くと考えられる。

表現型可塑性のコスト

多くの生物では、捕食者から逃れるための誘導防御として表現型可塑性を発現させる（Karban et al., 1997 ; 岸田と西村, 2007）。しかし、その代償として成長が遅くなるなどのコストがかかることが報告されている（Trussell and Nicklin, 2002）。例えば、捕食性のワムシ（*Asplanchna*）の存在下では、餌種のワムシ（*Keratella slacki*）は捕食回避のため、大きな体と長い前棘を発達させるが、その結果、餌種のワムシの成長は劇的に遅くなる（Abrusán, 2003）。エゾサンショウウオの幼生では、同種を捕食するために大顎化の表現型可塑性を発現した場合、通常の個体よりも変態までにかかる期間は短縮するが、変態時の体サイズが小さくなる（道前と若原, 2007）。両生類にとって、変態時の体サイズはその後の生存率や繁殖に大きく影響するため（Scott, 1994 ; Altwegg and Reyer, 2002）、変態時の体サイズの小型化はエゾサンショウウオの適応度を低下させると考えられる。本研究では、大顎化に伴うコストを検証していないが、将来餌となるオタマジャクシに応答したエゾサンショウウオの孵化幼生の大顎化にも、変態時の体サイズの小型化のようなコストがかかると予想される。

孵化直後に急速に成長を加速させる可塑性にも、コストが伴うと予想される。例えば、(a) 成長にはエネルギーを伴うため発生後期に飢餓のリスクが高まること（Voronezhskaya et al., 2004 ; Voronezhskaya et al., 2008）や、(b) 器官が未発達のまま急速に成長することで機能不全を引き起こすこと（Van Buskirk, 2001 ; Callahan et al., 2008）、などのコストが想定される。

(a) のコストは、エゾサンショウウオの孵化幼生は口が未発達で固形物を食べられないため、幼生自身が保有している卵黄のエネルギーを成長加速のために優先的に消費することで生じる可能性がある。特に、エゾサンショウウオは餌が少ない春に孵化するため、孵化直後の環境は貧栄養になりやすい。大きな体を維持するには基礎代謝も多く必要とするため、オタマジャクシが少ない状況で成長を加速させてしまうと飢餓リスクが高まる可能性がある。このような飢餓リスクを回避するには、成長を遅らせた方が有利である。実際に、飢餓に晒されたカタツムリや多毛類は同じく飢餓に晒された同種からのシグナルにตอบสนองして卵黄の消費を遅らせることで、飢餓リスクを回避している（Voronezhskaya et al., 2004 ; Voronezhskaya et al., 2008）。(b) のコストに関しては、これまであまり検証されたことがないため、サンショウウオ類を含めて、今後検証する必要がある。

表現型可塑性のコストは、変動環境に生物がどのように適応しているかを知るための鍵である。表現型可塑性の進化と維持についての我々の理解をさらに深めるためにも、「孵化

直後に成長を加速させることがエゾサンショウウオの孵化幼生にどのようなコストをもたらすか」について、今後も検討を続ける必要がある。

結論

本研究では、エゾサンショウウオの孵化幼生は将来餌となる異種のおたまじゃくしに応答して、成長の加速と大顎化の表現型可塑性を発現することを実証した。さらに、この表現型可塑性は、視覚シグナルではなく、水を介した化学シグナルによって誘導されることも明らかにした。水を介した化学シグナルは、直接出会わなくても相手の存在を感知する手がかりとなるため、孵化直後で体が小さく脆弱なエゾサンショウウオの孵化幼生は、水を介した化学シグナルによっておたまじゃくしの存在を感知し、成長の加速と大顎化の可塑性を発現するのかもしれない。この表現型可塑性によって他個体よりも早い段階でおたまじゃくしを捕食する可能性が高まるなら、その幼生は将来の食う-食われる関係を有利に生き抜くことができるだろう。したがって、本研究で実証した孵化直後の表現型可塑性は、エゾサンショウウオにとって適応的な戦略と考えられる。

謝辞

本研究を行うにあたり、北海道大学の天塩研究林のスタッフの方々にはエゾサンショウウオの卵塊の採取にご協力して頂いた。また、北海道大学苫小牧研究林の岸田治博士には研究の実施方法に関してご助言を頂いた。本実験に関わって頂いた方々に深くお礼を申し上げます。本研究は、文部科学省教育関係共同利用拠点（北海道大学・森林圏ステーション）の支援を受けて実施した。

引用文献

- Abrusán, G. (2003): Morphological variation of the predatory cladoceran *Leptodora kindtii* in relation to prey characteristics. *Oecologia* **134**: 278-283.
- Altwegg, R., Reyer, H.U. (2002): Patterns of natural selection on size at metamorphosis in water frogs. *Evolution* **57**: 872–882.
- Callahan, H.S., Maughan, H., Steiner, U.K. (2008): Phenotypic plasticity, costs of phenotypes, and costs of plasticity toward an integrative view. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1133**: 44–66.
- Cowan, J.H., Houde, E.D., Rose, K.A. (1996): Size-dependent vulnerability of marine fish larvae to predation: an individual-based numerical experiment. *Ices Journal of Marine Science* **53**: 23–37.
- DeWitt, T.J., Sih, A., Wilson, D.S. (1998): Costs and limits of phenotypic plasticity. *Trends in Ecology and Evolution* **13**: 77–81.
- Ferrari, M.C.O., Wisenden, B.D., Chivers, D.P. (2010): Chemical ecology of predator-prey interactions in aquatic ecosystems: a review and prospectus. *Canadian Journal of Zoology* **88**: 698–724.
- Fuiman, L.A., Magurran, A.E. (1994): Development of predator defenses in fishes. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* **4**: 145–183.
- Hebert, P.D.N., Grewe, P.M. (1985): *Chaoborus*-induced shifts in the morphology of *Daphnia ambigua*. *Limnology and Oceanography* **30**: 1291–1297.
- Iwami, T., Kishida, O., Nishimura, K. (2007): Direct and indirect induction of a compensatory phenotype that alleviates the costs of an inducible defense. *PLoS ONE* **2**: e1084.
- Karban, R., Agrawal, A.A., Mangel, M. (1997): The benefits of induced defenses against herbivores. *Ecology* **78**: 1351–1355.
- Katayama, N., Makoto, K., Kishida, O. (2016): An aquatic vertebrate can utilize amino acids from environmental water. *Proceedings of the Royal Society B* **283**: 20160996.
- 片山昇, 寺田みなみ, 清水希望, 近藤倫生. (2020): 孵化直後のエゾサンショウウオ幼生における成長の加速を誘導する同種他個体由来のシグナルの探索. *爬虫両棲類学会報* **2020**: 11–20.
- Kishida, O., Nishimura, K. (2004): Bulgy tadpoles: inducible defense morph. *Oecologia* **140**: 414–421.
- Kishida, O., Nishimura, K. (2005): Multiple inducible defences against multiple predators. *Evolutionary Ecology Research* **7**: 619–631.
- Kishida, O., Nishimura, K. (2006): Flexible architecture of inducible morphological defenses. *Journal of Animal Ecology* **75**: 705–712.
- 岸田治, 西村欣也. (2007): 臨機応変ーオタマジャクシの柔軟な防御形態変化ー. *日本生態学会誌* **57**: 40–47.
- Kishida, O., Tezuka, A., Ikeda, A., Takatsu, K., Michimae, H. (2014): Adaptive acceleration in growth and development of salamander hatchlings in cannibalistic situations. *Functional Ecology* **29**: 469–478.

- Krueger D.A., Dodson, S.I. (1981): Embryological induction and predation ecology in *Daphnia pulex*. *Limnology and Oceanography* **26**: 219–223.
- 道前洋史, 若原正己. (2007): エゾサンショウウオの適応的な表現型可塑性—「頭でっかち型」
57: 33–39.
- Miller, T.J., Crowder, L.B., Rice, J.A. Marschall, E.A. (1988): Larval size and recruitment mechanisms in fishes: toward a conceptual framework. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **45**: 1657–1670.
- Nosaka, M., Katayama, N., Kishida, O. (2015): Feedback between size balance and consumption strongly affects. *Oikos* **124**: 225–234.
- Pigliucci, M. (2001): Phenotypic plasticity: beyond nature and nurture. Baltimore, Maryland, USA, The Johns Hopkins University Press.
- Pigliucci, M. (2005): Evolution of phenotypic plasticity: where are we going now? *Trends in Ecology and Evolution* **20**: 481–486.
- Price, T.D., Qvarnström, A., Irwin, D.E. (2003): The role of phenotypic plasticity in driving genetic evolution. *Proceedings of the Royal Society B* **270**: 1433–1440.
- Scott, D.E. (1994): The effect of larval density on adult demographic traits in *Ambystoma opacum*. *Ecology* **75**: 1383–1396.
- Tollrian, R., Harvell, C.D. (1999): The ecology and evolution of inducible defenses. Princeton, New Jersey, USA, Princeton University Press.
- Trussell, G.C., Nicklin, M.O. (2002): Cue sensitivity, inducible defense, and trade-offs in a marine snail. *Ecology* **83**: 1635–1647.
- Van Buskirk, J. (2001): Specific induced responses to different predator species in anuran larvae. *Journal of Evolutionary Biology* **14**: 482–489.
- Voronezhskaya, E.E., Khabarova, M.Y., Nezhlin, L.P. (2004): Apical sensory neurones mediate developmental retardation induced by conspecific environmental stimuli in freshwater pulmonate snails. *Development* **131**: 3671–3680.
- Voronezhskaya, E.E., Glebov, K.I., Khabarova, M.Y., Ponimaskin, E.G., Nezhlin, L.P. (2008): Adult-to-embryo chemical signaling in the regulation of larval development in trochophore animals: cellular and molecular mechanisms. *Acta Biologica Hungarica* **59**: 117–122.
- Yamaguchi, A., Kishida, O. (2016): Antagonistic indirect interactions between large and conspecific prey via a heterospecific predator. *Oikos* **125**: 271–277.

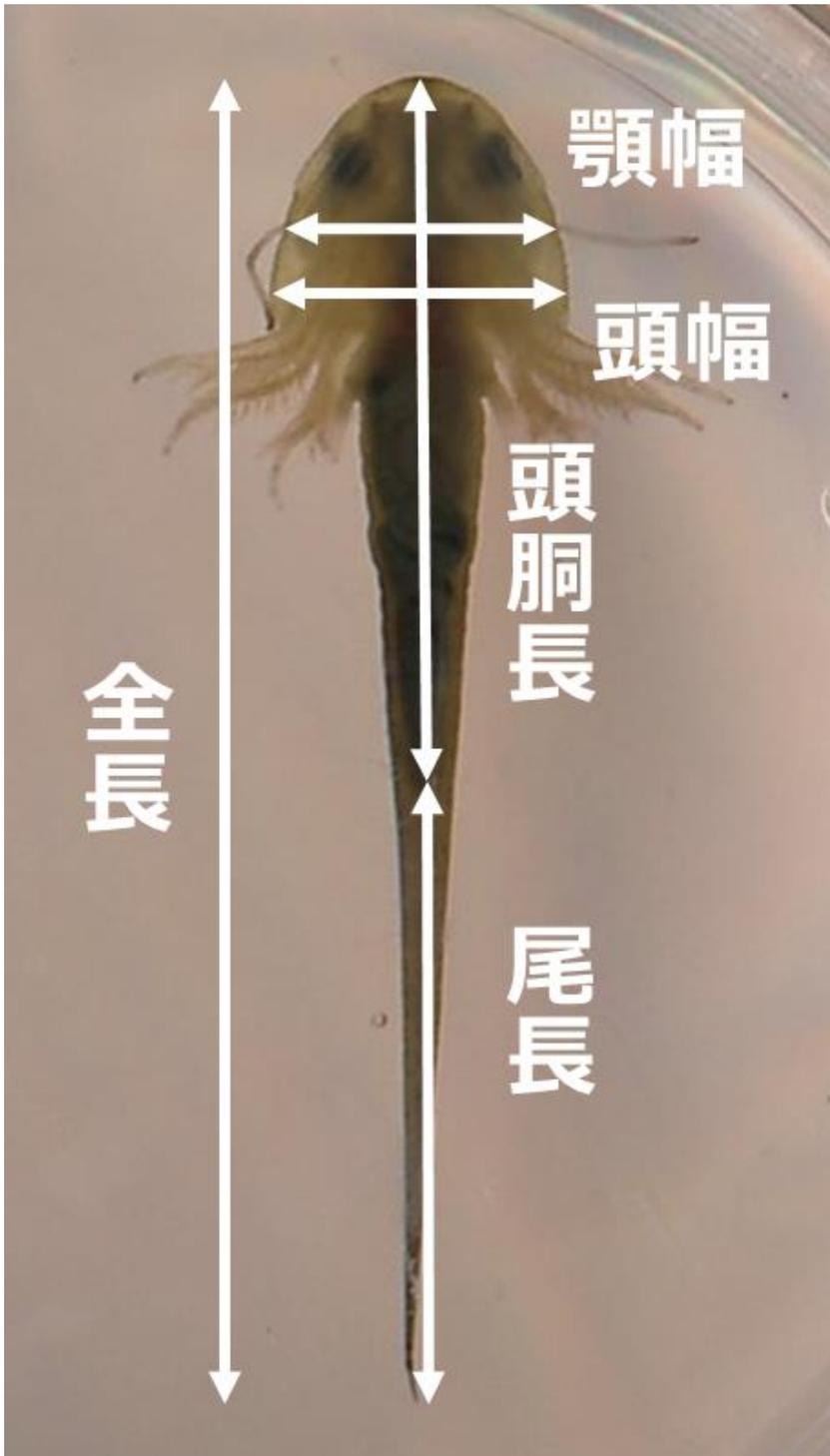


図1. エゾサンショウウオ幼生の形態形質（写真は孵化後8日目の幼生）。

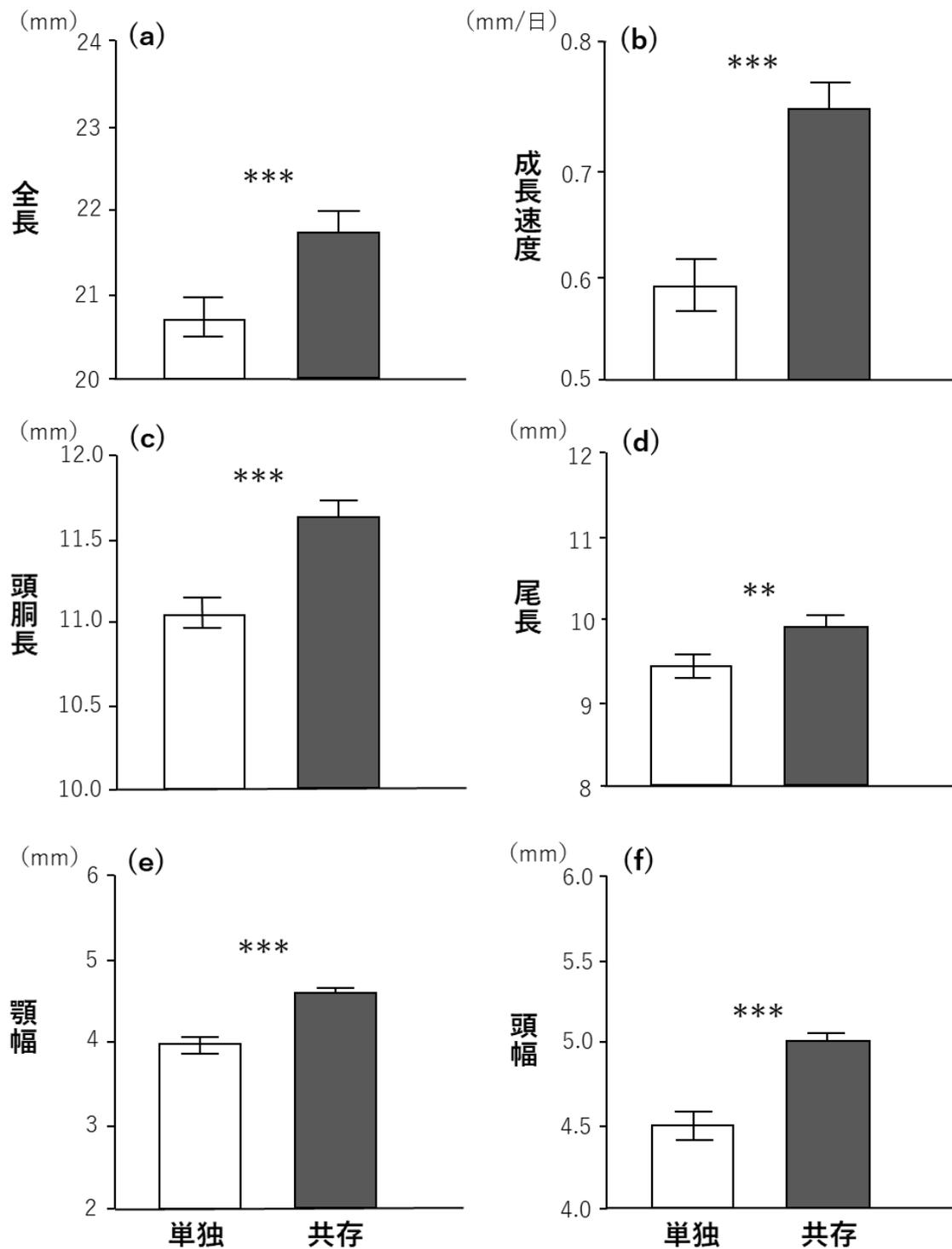


図2. オタマジャクシに応答したエゾサンショウウオ幼生の (a) 全長, (b) 全長の成長速度, (c) 頭胴長, (d) 尾長, (e) 顎幅, (f) 頭幅 (エラーバーは標準誤差). (a) および (c) - (f) は孵化後8日目の結果で, (b) は孵化後7日間 (実験期間中) の結果. 白のカラムは単独処理, 黒のカラムはオタマジャクシとの共存処理を示す. *は有意水準を示す (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$) .

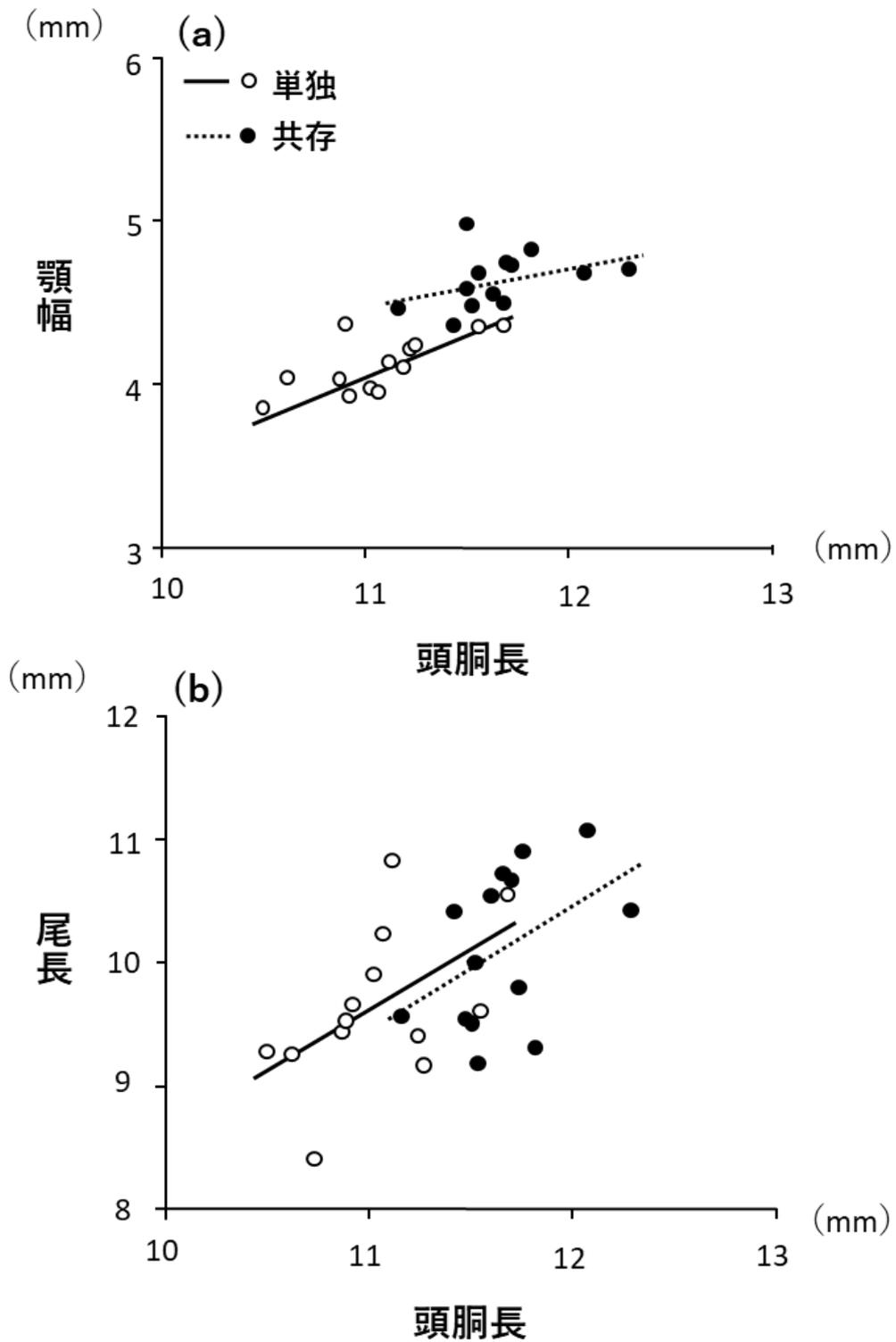


図3. オタマジャクシに応答したエゾサンショウウオ幼生の形の違い. 8日目の (a) 頭胴長と顎幅の関係 (相対顎幅) および (b) 頭胴長と尾長の関係 (相対尾長). 白丸と実線は単独処理, 黒丸と点線はオタマジャクシとの共存処理を示す.

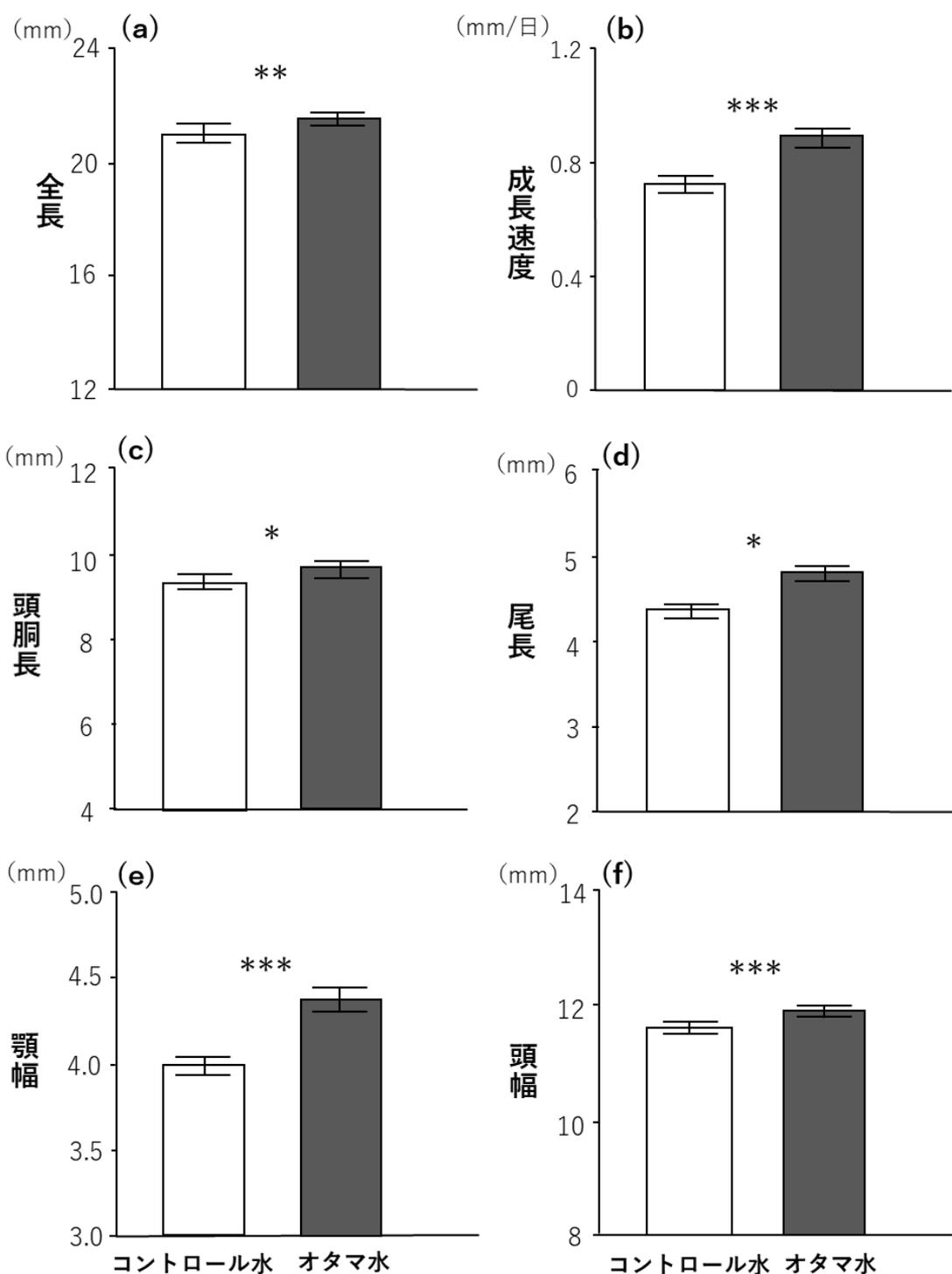


図4. オタマジックがいた水に反応したエゾサンショウウオ幼生の (a) 全長, (b) 全長の成長速度, (c) 頭胴長, (d) 尾長, (e) 顎幅, (f) 頭幅 (エラーバーは標準誤差). (a) および (c) - (f) は孵化後5日目の結果で, (b) は孵化後4日間の結果. 白のカラムはコントロール水処理, 黒のカラムはオタマジックがいた水の処理を示す. *は有意水準を示す (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$).

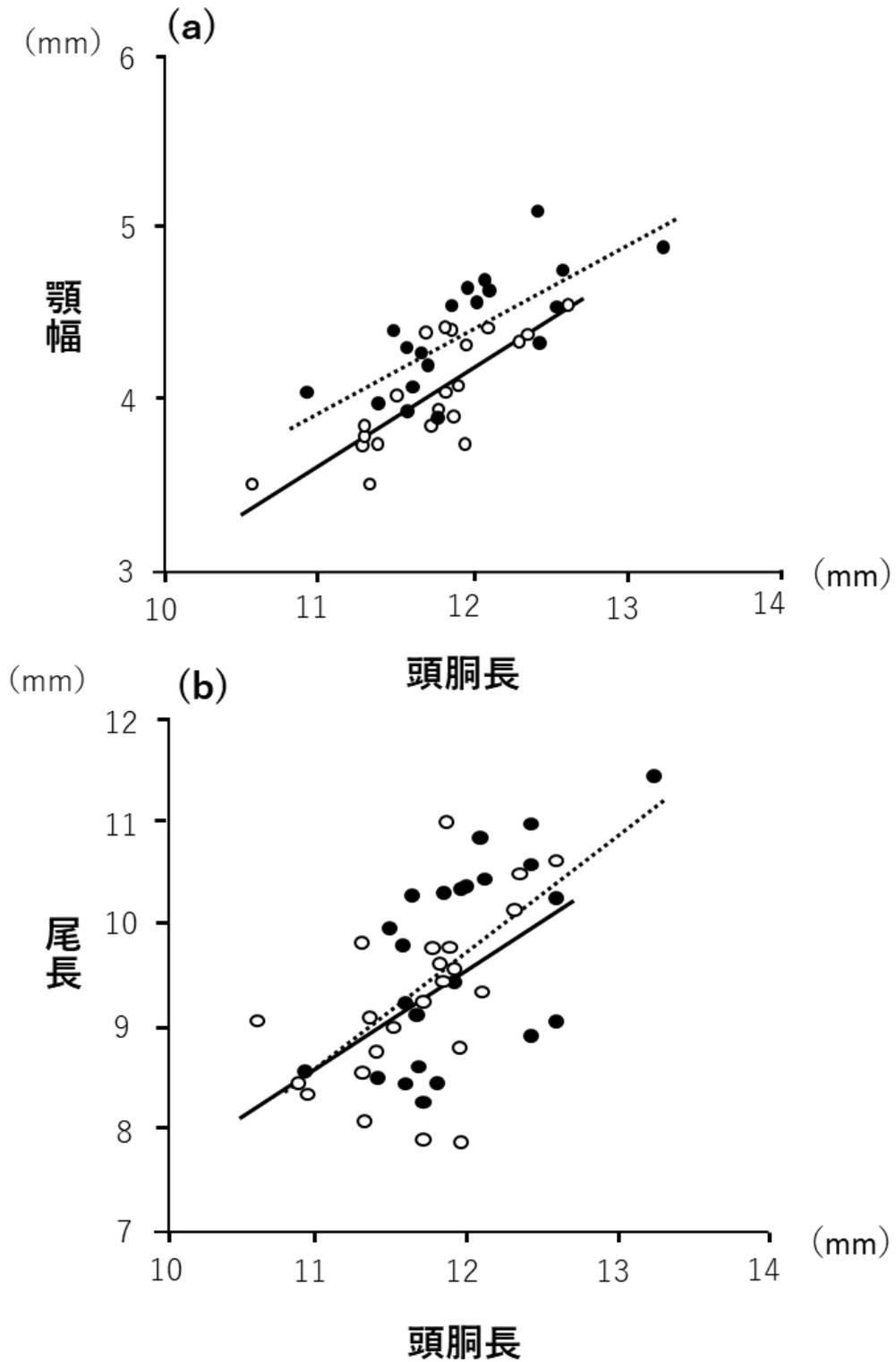


図5. オタマジャクシがいた水に反応したエゾサンショウウオ幼生の形の違い. 5日目の(a) 頭胴長と顎幅の関係(相対顎幅) および (b) 頭胴長と尾長の関係(相対尾長). 白丸と実線はコントロール水処理, 黒丸と点線はオタマジャクシがいた水の処理を示す.

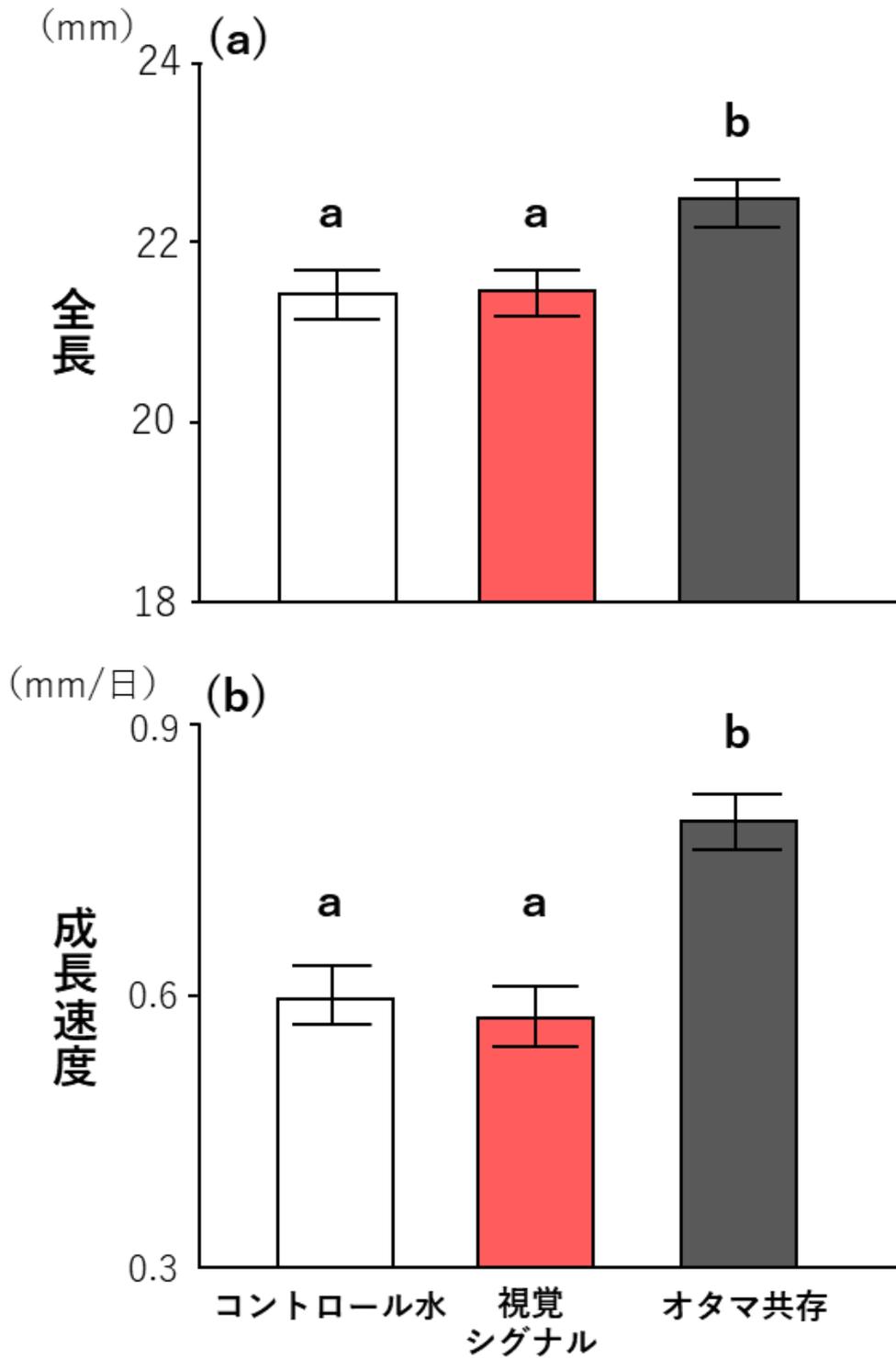


図6. エゾサンショウウオ幼生の (a) 7日目の全長と (b) 孵化後6日間の全長の成長速度に対する視覚効果の検証 (エラーバーは標準誤差)。白、赤および黒のカラムは、それぞれコントロール水処理、視覚シグナル処理およびオタマジャクシとの共存処理を示す。図中の異なる文字は、処理間の有意な違いを表す (ボンフェローニ補正後のGLMM, 有意水準 < 0.05)。

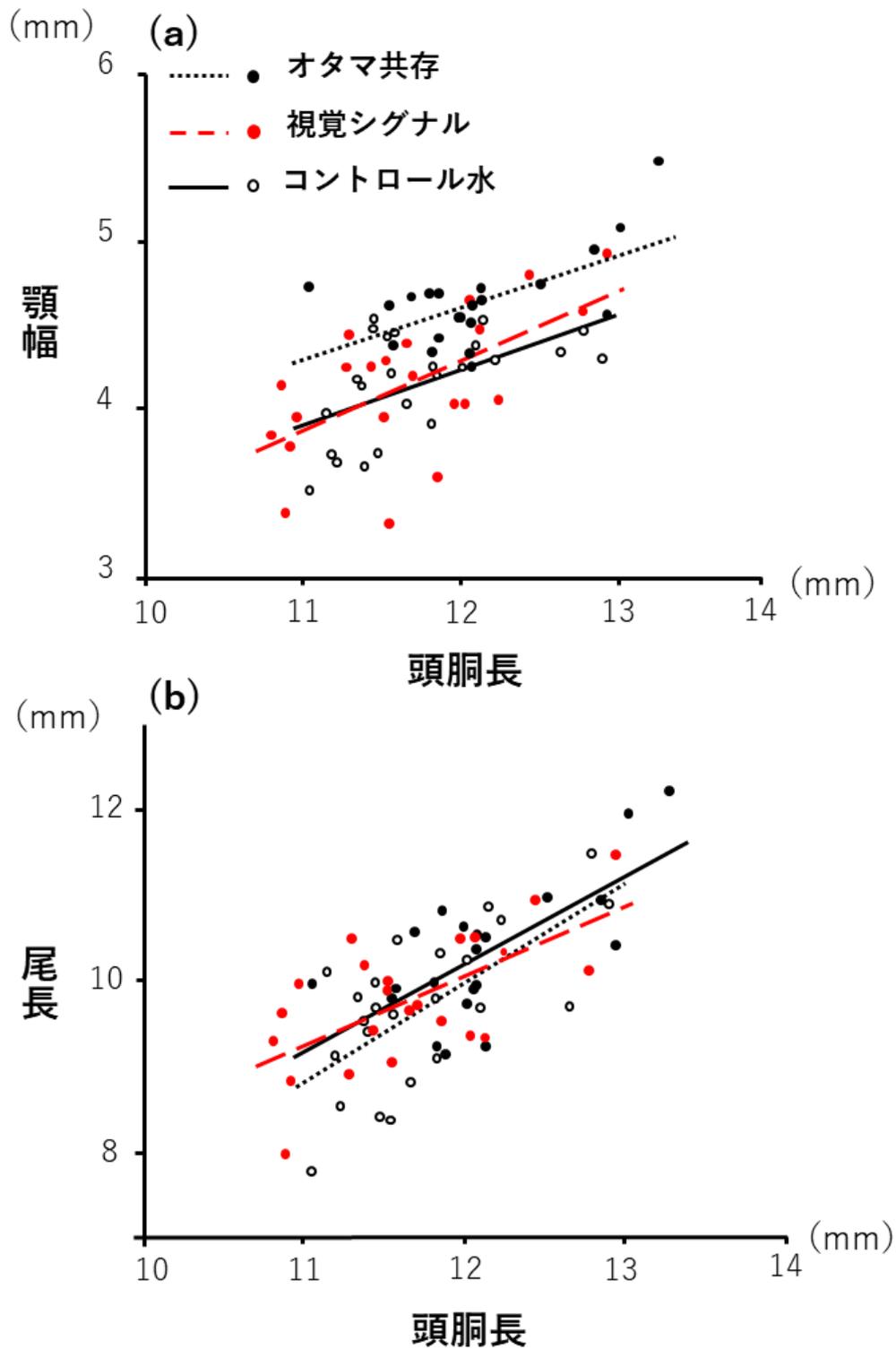


図7. エゾサンショウウオ幼生の7日目の (a) 頭胴長と顎幅の関係 (相対顎幅) および (b) 頭胴長と尾長の関係 (相対尾長) に対する視覚効果の検証。白丸と実線はコントロール水処理, 赤丸と破線は視覚シグナル処理, および黒丸と点線はオタマジヤクシとの共存処理を示す。