

魚類の産卵周期にみられる月を利用した時刻あわせ

竹村 明洋^{1✉}・福永 耕大²・宇田川 伸吾²・武方 宏樹³・竹内 悠記¹

1: 琉球大学 理学部 海洋自然科学科

2: 琉球大学 理工学研究科 海洋環境学専攻

3: 琉球大学 研究推進機構 戦略的研究プロジェクトセンター

熱帯・亜熱帯域の沿岸域に広がるサンゴ礁に生息する魚類の多くは、繁殖活動や摂餌活動などの時刻あわせに月から得られる環境周期を利用する場合がある。特定の月相にあわせて産卵（月周性産卵）したり、満潮時刻付近にあわせて産卵（潮汐性産卵）したりすることで、成熟した雌雄が出会う機会を増やしたり、捕食者からの捕食圧を減らしたりすることにメリットがあると考えられている。これまでの研究によって、月周性産卵や潮汐性産卵の時刻あわせには、それぞれ月光の量的変化や水圧の変化が体内情報へと変換され、生殖内分泌軸が周期的に活性化することがわかってきた。この総説では、魚類（アイゴ類、ハタ類、ベラ類）に見られる月周性産卵と潮汐性産卵の例を紹介しつつ、月を利用した魚類の産卵時刻あわせに関わる最近の研究の一端を紹介する。

1. はじめに

日本人は古来より「月を愛でる」習慣を持つ。我々は、「八月一五夜（旧暦8月15日）」に見える月を中秋の名月と呼び、秋の実りや収穫に感謝して月を眺められる場所に置いた月見台にお供え物を飾る。明治時代以前の日本では、月の満ち欠けの繰り返しを基本とした太陰暦に太陽暦の要素を組み入れた太陰太陽暦を使っていたことから、月の周期性は生活の中心にあった。月食や日食などの天体ショーはいまでもニュースになることから、今日でも月は魅力的な存在であるが、人工照明の下で生活していると月が地球に及ぼす様々な影響や重要性は忘れ去られているようである。

自然の中で暮らす生物には、月が地球に及ぼす様々な環境変化を、成長、摂餌、回遊、さらには繁殖の時刻あわせに利用しているものがあり、彼らにとって月は個の生存と種の繁栄にとって欠かすことのできないものとなっている場合がある。中でも、熱帯域に起源をもつ生物には月を利用した時刻あわせを行っているものが多い。これは、この地域の日長や温度の変動が、温帯域から極域のそれらに比べて大きくなく、結果として月から得られる規則正しい変化が相対的に大きくなるために、熱帯域に生息中心をもつ生物にとって利用価値の高い情報源となっているためと説明されている^{1,2}。

月が地球に及ぼす環境周期は基本的には日周期から独立している（図1）。これは地球の太陽に対する自転周期が24時間であるのに対し、月に対する自転周期は月が公転する分やや長くなり、約24.8時間となることに起因する。月が関連する環境変化として、月の満ち欠けや潮の満ち引きがあげられる。潮の満ち引きは主に地球と月の重心からの遠心力によって生み出される。便宜上、他の要因をすべて無視すると、月側とその反対側の潮が引き上げられることで満潮となり、地球上では約12.4時間周期で潮汐が起こる。また、遠心力は太陽と地球の重心にも発生しているため、地球と太陽と月が直線上に並ぶときに潮汐の変動が大きい大潮となるが、太陽と月が直角になるときにその変動の小さい小潮となる。月と太陽の位置関係は主に月の公転によって変化するため、大潮と小潮は月の公転周期の半分の約14.8日周期で繰り返される。潮に関連する周期は、地形や気候、緯度の影響を大きく受け、地域によっては潮汐周期が約24.8時間であったり、小潮の時は潮汐が起こらなかつたりする場合がある³。

生き物が示す、特定の月相にあわせて約29.5日間隔で繰り返される周期性を月周リズム（lunar rhythm）、大潮や小潮などにあわせて約14.8日間隔で繰り返される周期性を半月周リズム（semi-lunar rhythm）、そして満潮や干潮にあわせて約12.4時間

✉ takemura@sci.u-ryukyu.ac.jp

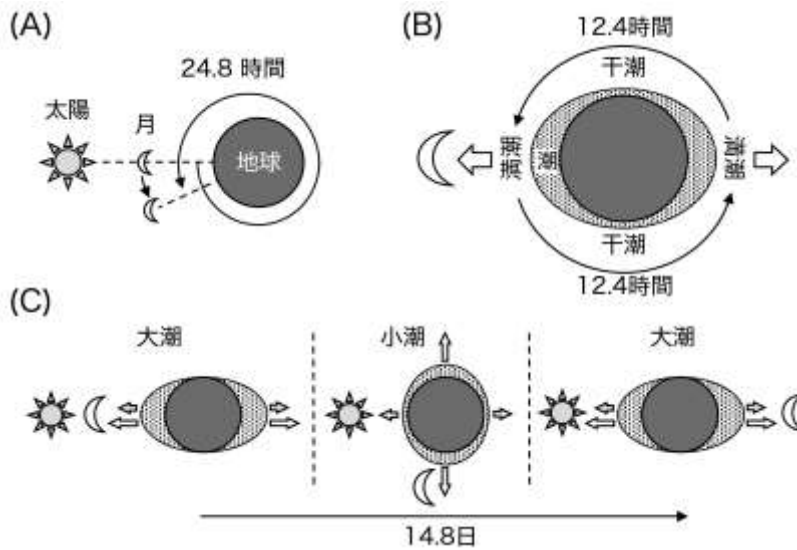


図1 月と潮汐の関係性。
 (A) 月が公転しているため、地球の月に対する自転周期は約24.8時間周期となる。
 (B) 潮汐は主に月と地球の重心からの遠心力によって生み出されるため、12.4時間周期で繰り返される。
 (C) 太陽と月の位置関係によって潮汐の大きさが変化し、大潮と小潮が約14.8日周期で繰り返される。

間隔で繰り返される周期性を潮汐リズム (tidal rhythm) と呼ぶ。これらの周期性が恒常条件下で繰り返された場合、それぞれ概月リズム (circalunar rhythm)、概半月リズム (circasemilunar rhythm)、そして概潮汐リズム (circatidal rhythm) と呼ぶ²。これまでのところ、月に関係する生物時計を駆動する特定の遺伝子群は脊椎動物では同定されていない。一方、造礁サンゴのハイマツミドリイシや複数の魚類において、概日時計の構成遺伝子群の月周期性産卵への関与が疑われている⁴。月に関わる生物の周期性は時間生物学的な視点から興味もたれるが、概日時計の分子基盤の解明に比して非常に遅れているのが現状である。

2005年に筆者らは本誌にサンゴ礁魚類の産卵同調現象にみられる月周リズムと半月周リズムについて紹介した。この総説では主に生理機構を中心に、サンゴ礁魚類の月周性産卵リズムと潮汐性産卵リズムにかかわる我々の研究成果を織り交ぜつつ、魚類における月を利用した時刻あわせについて概説する。

2. 月周性産卵リズム

魚類の産卵に月周リズムがみられるかどうかを判断するには生殖腺 (卵巣) の組織学的観察は有効である。月相にあわせて毎週採集した魚の卵巣内の卵母細胞の有無と排卵後濾胞の存在を調べると、ハタ科魚類のカンモンハタ (*Epinephelus merra*) の卵巣では、新月から満月に向けて卵黄形成途上の卵母細胞が確認できるのに対し、下弦の月では未熟な卵母細胞と排卵後濾胞のみ確認できる。この卵発達と産卵の周期が産卵期間中繰り返されるため、カンモンハタは満月付近で産卵する月周リズムを有することが分かる⁵。同

様の手法でアイゴ科魚類の卵発達の変化を調べると、アマアイゴ (*Siganus spinus*) やシモフリアイゴ (*S. fuscescens*) では新月付近に^{6,7}、ハナアイゴ (*S. argenteus*) では下弦の月付近 (満月から7日目付近) に⁸、そしてゴマアイゴ (*S. guttatus*) では上弦の月付近 (新月から7日目付近) に⁹、それぞれ産卵を繰り返すことが判明した。近縁種で産卵月相が異なっているのは、同所的に生息する種の生殖に時間的隔離が起こっていると考えられている^{1,2}。

月周性産卵リズムを示す魚類の視床下部—脳下垂体—生殖腺軸 (HPG軸) から分泌されるホルモン類も月周変動している。すなわち、ゴマアイゴの卵巣片をヒト絨毛性ゴナドトロピン (hCG) 存在下で生体外培養し、培養液中に分泌されるステロイドホルモンを測定した結果、新月付近では estradiol-17 β (E2) の産生が、そして上弦の月付近では 17 α ,20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one (DHP) の産生がそれぞれ高まっていることが判明した¹⁰。この結果は、脳下垂体から分泌される生殖腺刺激ホルモンの影響で、新月付近では E2 が肝臓における卵黄蛋白前駆物質 (ビテロジェニン) の合成を活性化して卵母細胞での卵黄の蓄積が進行すると考えられる。また上弦の月付近では DHP が誘導する卵母細胞の最終成熟が進行していることが考えられる。カンモンハタを用いて間脳で発現する生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH1) 遺伝子と脳下垂体で発現する生殖腺刺激ホルモンの β サブユニット (FSH β と LH β) 遺伝子を測定した結果、いずれの発現も月周リズムを示した¹¹。以上の結果は、月周性産卵リズムは、HPG軸よりも上流のカスケードが月相の情報を処理し、ホルモン産生を周期的に刺激することで生み出されていることを示している¹¹。

月周リズムを示す魚たちは月から得られるどのような環境刺激を時刻あわせに利用しているのだろうか。ゴマアイゴを人工月光（新月や満月）条件で飼育したところ、恒常新月条件と同満月条件で産卵月相の4週間前から飼育した場合には産卵が起らなかった¹²。一方、これらの条件で2週間前から飼育した場合、恒常新月条件でのみ産卵が確認できた。これらの結果は、夜間の光量の変化が月周リズムに影響を与えている可能性を示す¹³。また、多くの脊椎動物と同じく、ゴマアイゴの血中メラトニン量は、昼間に低く夜間に高くなる明確な日周リズムを示す¹²。興味深いことに、暗黒状態で飼育したゴマアイゴを深夜に満月光に曝露すると、血中メラトニン量は減少した¹²。同様に、生体外培養した松果体を満月光に曝露した場合にも、培養液中に分泌されるメラトニン量が減少した¹³。さらに、月光曝露したゴマアイゴの松果体内のメラトニン受容体発現量も減少した¹⁴。メラトニンが多くの魚類の生殖に関与することをふまえると¹⁵、ゴマアイゴの松果体が月光の情報から月相を読み取り、メラトニンを介して産卵の月周リズムに変換している可能性が考えられる。松果体がメラトニン分泌量を調節することで、HPG軸のホルモン合成や分泌を制御しているのかもしれない。

自然条件

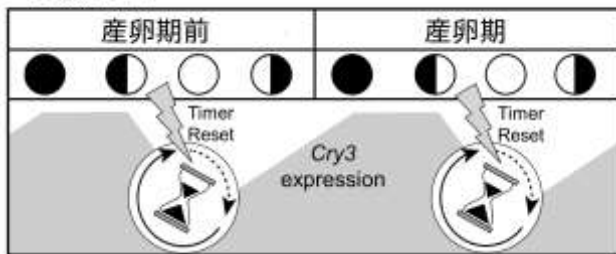


図2 ゴマアイゴの月周性産卵の時刻合わせに関する砂時計型タイマー仮説。自然光条件では産卵期前の月光の量的変化によって砂時計型タイマーが駆動すると考えられる。Cry3は砂時計型タイマーの状態変数もしくはそのアウトプットとして機能していると考えられる。

夜間の光（月光）の受容が月周性の発動に関連することから、時計遺伝子が月周リズムに関与するかを調べてみた。ゴマアイゴの脳で発現している時計遺伝子として2種の *Bmal*、2種の *Clock*、4種の *Per*、および4種の *Cry* が確認されている¹⁶。これらのうち、*Per*と *Cry*の一部の発現が、自然条件で飼育しているゴマアイゴの間脳において月周リズムを示すことが明らかとなっている。とりわけ、*Cry3*は明確な日周リズムは示さないものの、その発現が新月付近で高く満月付近で低くなる明瞭な月周リズムを示す（図2）^{16,17,18}。この *Cry3*の月周リズムは、新月から2週間、月光の無い恒常新月条件においても維持されるが¹⁷、2カ月間、恒常新月条件で飼育すると消失する。前述の飼育実験において、ゴマアイゴが2週間を超える恒常新月条件では産卵しないことも考慮すると、ゴマアイゴの月周性産卵リズムは砂時計型のタイマーによって生み出されており、*Cry3*がその状態変数かアウトプットとして組み込まれていると考えられる（図3）。また、*Cry3*の発現が、1晩のみ人工月光を与えても影響しないことから¹⁶、この砂時計型タイマーは一定期間の連続した月夜によって駆動するのだろう。

3. 潮汐性産卵リズム

沖縄周辺の潮汐周期は約12.4時間なので、潮の干満は毎日50分ずつ遅れてくることになる。そのため、魚の採集を数日おきに同時刻におこなうと、干潮、上げ潮、満潮、そして下げ潮の時刻の魚の生殖腺の状態を把握することができる。沖縄のサンゴ礁における普通種であるミツボシキウセン (*Halichoeres trimaculatus*)の雌を数日おきに午前9時に採集し、卵巣の発達を組織学的に観察した結果、干潮付近では卵黄形成盛期にまで発達した卵母細胞と成熟を開始した卵母細胞（核移動期）が確認できた¹⁹。上げ潮付近でも成熟期の卵母細胞が観察できたが、満潮付近では排卵後濾胞と卵黄形成初期の未成熟の卵母細胞のみが認められるだけであった。次いで、採集する潮を

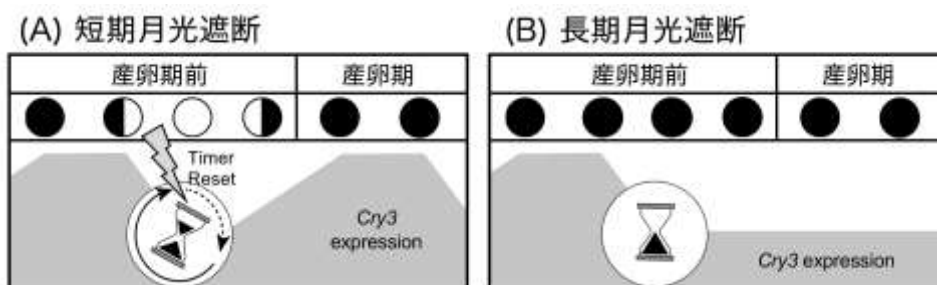


図3 短期月光遮断 (A) を行った場合と長期月光遮断 (B) における *Cry3* の変動。産卵期における *Cry3* の変動は、産卵期前における長期の月光操作によって影響をうける。

満潮に固定し、様々な時刻に魚を採集した結果、卵巣発達は午前中の満潮時刻（9：00）にピークを示すことが判明した。この結果は、ミツボシキウセンはほぼ毎日産卵するが、午前中の満潮時刻にあわせて産卵していることを示している¹⁹。多くの熱帯性のベラ類は潜砂行動を伴う明確な日周活動を行うことが知られており、日の出時刻にあわせて砂から出てきて摂餌や生殖を活発に行うが、日の入り時刻が近づくと砂に潜ってしまう^{20,21}。ハワイで多く見られるベラ科魚類（*Thalassoma duperrey*）でも満潮時刻にあわせた毎日産卵が見られるが、この種の産卵時刻は満潮時刻にあわせて毎日ほぼ50分ずつ遅れてくる。潜砂時刻が迫ってくる夕方には満潮でも産卵せず、翌朝の満潮付近に砂から出てきて産卵することが報告されている^{22,23}。このようなことから、ベラ類の産卵にみられる潮汐リズムは潜砂等の活動にみられる日周リズムと密接に関連している可能性がある²。

ミツボシキウセンの時計遺伝子（*wPer1* と *wPer2*）をクローニングし、脳と胸鰭における両時計遺伝子の発現変動と日周活動との関連を調べた。明暗条件（LD=12:12）で飼育したミツボシキウセンの *wPer1* は明期開始前に、そして *wPer2* は明期開始後にそれぞれピークを示した。恒暗（DD）条件下で飼育したミツボシキウセンでは、*wPer1* の発現は概日変動を示したのに対し、*wPer2* の発現は変動しなくなった。ミツボシキウセンの活動を DD 条件下で観察すると、潜砂を含む日周性の活動リズムを示すが、砂から出てくる時間は毎日少しずつ遅れてくる。それに合わせて *wPer1* の発現ピークも毎日遅れた。一方、*wPer2* の発現は DD 条件下では抑制されたが、LD 条件に戻すと、明期開始後にその発現が上昇した²⁴。このように、*wPer1* と *wPer2* は本種の日周リズム

に重要な働きを持つことが考えられるが、これらの遺伝子が潮汐性の産卵リズムに関わっているのかについては現在不明である。

ドーパミンは魚類において生殖腺刺激ホルモン放出抑制因子として働き、脳下垂体からの生殖腺刺激ホルモンの分泌を抑制する場合がある。ボラ（*Mugil cephalus*）では、Domperidone（ドーパミンの拮抗剤）の単独投与もしくは生殖腺刺激ホルモン放出ホルモンアナログとの併用投与することで、卵形成や産卵が促進されることが報告されている²⁵。また、ルリスズメダイ（*Chrysiptera cyanea*）では、1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine（MPTP）で処理すると、脳内ドーパミンやドーパミン代謝物（3,4-dihydroxyphenylacetic acid；DOPAC）の量、ならびにドーパミン代謝率（DA/DOPAC）が減少すると共に、人為的に退縮させた生殖腺が再発達した²⁶。ミツボシキウセンに水深3mの水圧を3時間もしくは6時間付加し、脳内のドーパミン量及びDOPAC量を測定した結果、水圧を付加した魚のドーパミン代謝率が減少した²⁶。さらに、水圧を付加した魚の卵巣片をhCGの存在下で培養した結果、成熟誘起ステロイドホルモン（DHPや17 α , 20 β , 21-trihydroxy-4-pregnen-3-one）の産生量が増加した²⁸。水圧はドーパミン代謝率の変動を介してHPG軸からのホルモン分泌を調節している可能性がある。

脳内ドーパミン量とDOPAC量の日内変動を測定した結果、ドーパミン代謝率が明期に高く暗期に低くなった²⁷。さらに、メラトニンを投与することにより、ドーパミン代謝率は減少した²⁷。以上の結果から、脳内ドーパミン代謝率は水圧の影響にある潮汐周期とメラトニンの影響にある日周期の両方に応じて変化を繰り返すと考えられる（図4）。

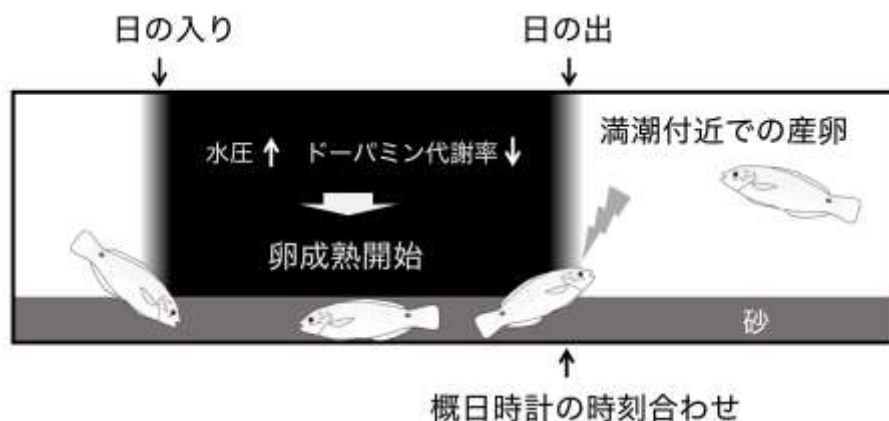


図4 ミツボシキウセンの日周活動と潮汐性産卵の関係性。日の入り前に潜砂し、砂中で定位している時に水圧変化を受けた場合には脳内ドーパミン代謝率が変化し、生殖内分泌軸が活性化されることで卵母細胞の成熟が開始して排卵に至る。日の出時刻にあわせて砂から出てきて、満潮付近で産卵を行う。

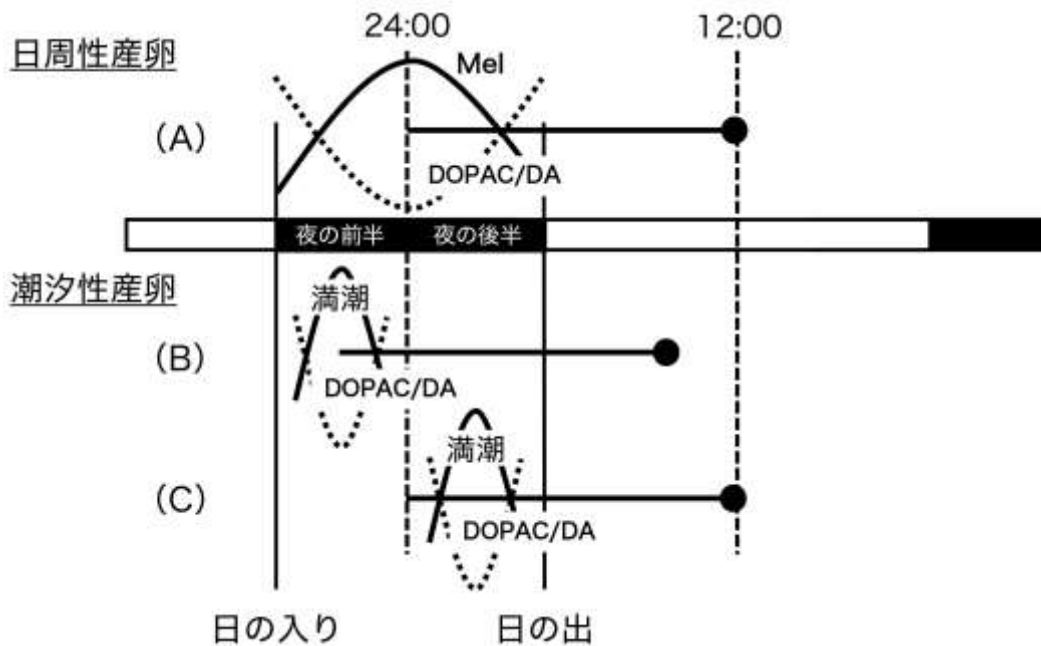


図5 ミツボシキュウセンの潮汐性産卵の制御機構の仮説。産卵のタイミングを(●)で示す。

(A) 潮汐刺激が無い場合：メラトニン (Mel) の増加に伴い、脳内ドーパミン代謝率 (DOPAC/DA) が低下し、生殖内分泌軸が活性化される。そのため毎日決まった時間に産卵する。

(B) 夜の前半に満潮が来る場合：水圧変化によって脳内ドーパミン代謝率が低下し、生殖内分泌軸が活性化される。そのため、潮汐性の産卵が行われる。

(C) 夜の後半に満潮が来る場合：日周性の脳内ドーパミン代謝率が優先されるため、潮汐性の産卵を示さず、毎日決まった時間に産卵する。

ミツボシキュウセンの潮汐性産卵リズムの時刻あわせに関しては、以下の様な説明ができると思われる(図5)。

- ① ミツボシキュウセンは日没前に潜砂する。
- ② 潜砂開始とともに血中メラトニン量は増加し始める。メラトニンの影響により日周期に対応して脳内ドーパミン代謝率が変化する。
- ③ 潜砂中には潮汐変動にともなう水圧変化をうけ、潮汐周期に対応して脳内ドーパミン代謝率が変化する。
- ④ 満潮が夜の前半に来る場合、潮汐性の水圧の影響が日周性のメラトニンの影響より先に起こる。そのため潮汐性の脳内ドーパミン代謝率の低下によって HPG 軸が刺激され、卵黄形成以降の卵成熟過程を開始し、半日ほどかけて卵成熟を完了する。その結果、産卵が午前中の満潮付近に行われる。
- ⑤ 満潮が夜の後半に来る場合、日周性のメラトニンが潮汐性の水圧より先に影響する。そのため日周性の脳内ドーパミン代謝率の低下によって HPG 軸が刺激され、卵成熟が開始し、半日ほどかけて卵成熟を完了する。その結果、正午頃には産卵を終えるため、産卵に潮汐性が反映されない。

以上の仮説に基づくと、熱帯性のベラ類にみられる潮汐性の産卵リズムは、魚が潜砂した場所の環境条件(水温や深さ)や潮汐条件(小潮や大潮などの水圧条件)の影響を大きく受けることが予想される。

4. おわりに

我々は、沖縄のサンゴ礁海域に生息するゴマアイゴ、カンモンハタ、さらにはミツボシキュウセンを実験対象種として用い、熱帯性魚類の生殖現象にみられる月周期リズムや潮汐リズムの時刻あわせの解明を試みている。これまでの研究は、月周期リズムの時刻あわせに夜間光の量的変動が関与した時計遺伝子の発現変化が重要であること、また潮汐リズムの時刻あわせは概日時計の制御下にある行動と潜砂環境との相互関係が重要であることを明らかにしている。

近年、月に関連した生物リズムの生理機構研究が無脊椎動物において盛んになりつつある。歩行活動に明瞭な概潮汐リズムを示すマングローブスズ (*Apteronemobius asahinai*) では、時計遺伝子の RNAi や概日時計を司る脳領域である視葉の除去が概潮汐リズムに影響しないことから、これらが概潮汐リズムに重要でないことが示されている²⁹。また、甲殻類のスナホリムシの一種 (*Eurydice pulchra*) においても、時計遺伝子の RNAi が概潮汐リズムに影響し

ないことが確認されている³⁰。生殖行動に明瞭な概月リズムを示すイソツルヒゲゴカイ (*Platynereis dumerilii*) では、時計遺伝子が概月リズムには関与しない可能性が示されている³¹。イソツルヒゲゴカイでは、ゲノム編集の手法も確立されており³²、概月リズムを生み出す時計の実体に迫る研究成果が期待される。また、羽化に概半月周リズムを示すウミユスリカ的一种 (*Clunio marinus*) では、羽化の日周リズムに関して、量的形質遺伝子座解析から羽化時刻の地域系統間の違いの原因となる遺伝子の候補が明らかになっている³³。同様の手法で概半月周リズムに関与する遺伝子を探索することも不可能ではないだろう。月が関係する環境周期に対し概日時計のように普遍的な生理機構が存在するのか、今後、比較研究によって明らかにされることが期待される。

参考文献

1. Takemura, A., Rahman, M.S., Nakamura, S., Park, Y.J. & Takano K. Lunar cycles and reproductive activity in reef fishes with particular attention to rabbitfishes. *Fish. Fish.* **5**: 317-328 (2004).
2. Takemura, A., Rahman, M.S. & Park, Y.J. External and internal controls of lunar-related reproductive rhythms in fishes. *J. Fish Biol.* **76**, 7-26 (2010).
3. Pugh, D.T. (Ed) Tides, surges and mean sea-level. John Wiley & Sons (1987).
4. Levy, O. *et al.* Light-responsive cryptochromes from a simple multicellular animal, the coral *Acropora millepora*. *Science* **318**, 467-470 (2007).
5. Lee, Y.D., Park, S.H., Takemura, A. & Takano, K. Histological observations of seasonal reproductive and lunar-related spawning cycles in the female honeycomb grouper *Epinephelus merra* in Okinawan waters. *Fisheries Sci.* **68**, 872-877 (2002).
6. Hoque, M.M., Takemura, A., Matsuyama, M., Matsuura, S. & Takano, K. Lunar spawning in *Siganus canaliculatus*. *J. Fish Biol.* **55**, 1213-1222 (1999).
7. Harahap, A.P., Takemura, A., Nakamura, S., Rahman, M.S. & Takano, K. Histological evidence of lunar-synchronized ovarian development and spawning in the spiny rabbitfish *Siganus spinus* (Linnaeus) around the Ryukyus. *Fisheries Sci.* **67**, 888-893 (2001).
8. Rahman, M.S., Takemura, A., Park, Y.J. & Takano, K. Lunar cycle in the reproductive activity in the forktail rabbitfish. *Fish Physiol. Biochem.* **28**, 443-444 (2003).
9. Rahman, M.S., Takemura, A. & Takano, K. Correlation between plasma steroid hormones and vitellogenin profiles and lunar periodicity in the female golden rabbitfish, *Siganus guttatus* (Bloch). *Comp. Biochem. Physiol. B* **127**, 113-122 (2000).
10. Rahman, M.S., Takemura, A. & Takano, K. Lunar synchronization of *in vitro* steroidogenesis in ovaries of the golden rabbitfish, *Siganus guttatus* (Bloch). *Gen. Comp. Endocrinol.* **125**, 1-8 (2002).
11. 福永耕大 月周性産卵魚カンモンハタの脳内における生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン遺伝子と時計遺伝子 *Cryptochrome* の月周性変動. 琉球大学大学院理工学研究科修士論文 (2018).
12. Takemura, A., Sri Susilo, E., Rahman, M.S. & Morita, M. Perception and possible utilization of moonlight intensity for reproductive activities in a lunar-synchronized spawner, the golden rabbitfish. *J. Exp. Zool.* **301A**, 844-851 (2004).
13. Takemura, A., Ueda, S., Hiyakawa, N. & Nikaido, Y. A direct influence of moonlight intensity on changes in melatonin production by cultured pineal glands of the golden rabbitfish, *Siganus guttatus*. *J. Pineal Res.* **40**, 236-241 (2006).
14. Park, Y.J. *et al.* Influence of moonlight on mRNA expression patterns of melatonin receptor subtypes in the pineal organ of a tropical fish. *Mar. Genom.* **14**, 67-70 (2014).
15. Maitra, S.K., Chattoraj, A., Mukherjee, S. & Moniruzzaman, M. Melatonin: A potent candidate in the regulation of fish oocyte growth and maturation *Gen. Comp. Endocrinol.* **181**, 215-222 (2013).
16. Takeuchi, Y. *et al.* Moonlight controls lunar-phase-dependency and regular oscillation of clock gene expressions in a lunar-synchronized spawner fish, Goldlined spinefoot. *Sci. Rep.* **8**, 6208 (2018).

17. Toda, R. *et al.* Hypothalamic expression and moonlight-independent changes of *Cry3* and *Per4* implicate their roles in lunar clock oscillators of the lunar-responsive goldlined spinefoot. *PLOS One* **9**, e109119 (2014).
18. Fukushiro, M. *et al.* Lunar phase-dependent expression of cryptochrome and a photoperiodic mechanism for lunar phase-recognition in a reef fish, goldlined spinefoot. *PLOS One* **6**, e28643 (2011).
19. Takemura, A. *et al.* Role of the tidal cycle in the gonadal development and spawning of the tropical wrasse *Halichoeres trimaculatus*. *Zool. Sci.* **25**, 572-579 (2008).
20. Nishi, G. Locomotor activity rhythm in two wrasses, *Halichoeres tenuispinnis* and *Pteragogus flagellifera*, under various light conditions. *Jap. J. Ichthyol.* **36**, 350-356 (1989).
21. Gekema, M.P. *et al.* Photic entrainment of circadian activity patterns in the tropical labrid fish *Halichoeres chrysus*. *Chronobiol. Int.* **17**, 613-622 (2000).
22. Ross, R.M. Annual, semilunar, and diel reproductive rhythms in the Hawaiian labrid *Thalassoma duperrey*. *Mar. Biol.* **72**, 311-318 (1983).
23. Hoffman, K.S. & Grau, E.G. Daytime changes in oocyte development with relation to the tide for the Hawaiian saddleback wrasse, *Thalassoma duperrey*. *J. Fish Biol.* **34**, 529-546 (1989).
24. Ito-Takeuchi, H. *et al.* Importance of sandy bottoms in coral reefs to the oscillation of daily rhythms in the tropical wrasse *Halichoeres trimaculatus*. *Chronobiol. Int.* **34**, 1014-1025 (2017).
25. Aizen, J., Meiri, I., Tzchori, I., Levavi-Sivan, B. & Rosenfeld, H. Enhancing spawning in the grey mullet (*Mugil cephalus*) by removal of dopaminergic inhibition. *Gen. Comp. Endocrinol.* **142**, 212-221 (2005).
26. Badruzzaman, M., Imamura, S., Takeuchi, Y., Ikegami, T. & Takemura, A. Effects of neurotoxin 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) treatment on ovarian development of the sapphire devil, *Chrysiptera cyanea*. *Fish Physiol. Biochem.* **41**, 61-71 (2015).
27. Takemura, A., Uchimura, M. & Shibata, Y. Dopaminergic activity in the brain of a tropical wrasse in response to changes in light and hydrostatic pressure. *Gen. Comp. Endocrinol.* **166**, 513-519 (2010).
28. Takemura, A. *et al.* Effects of hydrostatic pressure on monoaminergic activity in the brain of a tropical wrasse, *Halichoeres trimaculatus*: Possible implication for controlling tidal-related reproductive activity. *Gen. Comp. Endocrinol.* **175**, 173-179 (2012).
29. Goto, S.G. & Takekata, H. Circatidal rhythm and the veiled clockwork. *Curr. Opin. Insect Sci.* **7**, 92-97 (2015).
30. Zhang, L. *et al.* Dissociation of circadian and circatidal timekeeping in the marine crustacean *Eurydice pulchra*. *Curr. Biol.* **23**, 1863-1873 (2013).
31. Zantke, J. *et al.* Circadian and circalunar clock interactions in a marine annelid. *Cell Rep.* **5**, 99-113 (2013).
32. Zantke, J., Bannister, S., Rajan, V.B.V., Raible, F. & Tessmar-Raible, K. Genetic and genomic tools for the marine annelid *Platynereis dumerilii*. *Genetics* **197**, 19-31 (2014).
33. Kaiser, T.S. *et al.* The genomic basis of circadian and circalunar timing adaptations in a midge. *Nature* **540**, 69-73 (2016).