

平成22年 5月10日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2007～2009

課題番号：19405031

研究課題名（和文）熱帯サンゴ礁環境変化から読み解く魚類の測季システム

研究課題名（英文）Comparative studies on reproductive cycle of reef fishes: approach from environmental changes in tropical waters

研究代表者

竹村 明洋（TAKEMURA AKIHIRO）

琉球大学・理学部・教授

研究者番号：40222103

研究成果の概要（和文）：

熱帯モンスーン環境下に適応している魚類（主にゴマアイゴ）の繁殖年周期の成立要因を明らかにした。インドネシア中部ジャワに生息するゴマアイゴの卵発達は年二回の雨季と乾季の変わり目にあり、この時期には海域の一次生産量が大きく変動している可能性が示された。ゴマアイゴの視床下部で発現する光及び栄養環境関連遺伝子群が、実験的に再現した熱帯モンスーン環境と共に変化し、これら遺伝子群の発現変動が生殖内分泌系へ外部環境の情報を伝達している可能性があった。

研究成果の概要（英文）：

The aim of the present study was to clarify how fish adapted to tropical monsoon environments repeat their annual reproductive cycle. The orange-spotted spinefoot inhabit coral reefs in Indonesia started their gonadal maturation between rainy and dry season. Annual change in primary production in the coral reefs was roughly correlated with that in gonadal maturation, suggesting that in addition to photoperiod and temperature, nutritive condition play a role in initiation of reproductive activity in this fish species. Several light- and nutrition-related genes expressed in the hypothalamus changed according to experimental conditions that mimicked monsoon environments. It was suggested that these genes transduce changes in aquatic environments and activate the higher parts of the reproductive endocrine axis.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	4,300,000	1,290,000	5,590,000
2008年度	3,600,000	1,080,000	4,680,000
2009年度	2,400,000	720,000	3,120,000
年度			
年度			
総計	10,300,000	3,090,000	13,390,000

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：サンゴ礁、アイゴ、熱帯、年周期、環境

### 1. 研究開始当初の背景

温帯域から極域にかけて分布する魚類の繁殖活動には明確な年周性が認められる。魚種による差はあるが、水温や日長の周期的変化が繁殖活動の開始もしくは終息に重要な役割を持つ。一方、熱帯地域の水温や日長の変化は温帯域から極域に比較して大きくない。熱帯地域の魚類がこれらの環境要因を繁殖活動の同期に利用する可能性は低く、地域特性に応じた環境要因を繁殖活動の同期に利用していることが考えられる。

研究代表者は平成15年度から17年度にかけて科学研究費補助金(海外学術調査)によって、インドネシア(スマラン市近郊)ジャワ海のサンゴ礁に棲息する魚類(主にアイゴ類)の繁殖特性について調査を行い、以下のことを明らかにしてきた。

- (1) 研究対象とした6種類のアイゴ類にはそれぞれ明確な生殖年周期がある。多くの場合(ゴマアイゴなど)、年2回の繁殖期を持つ。沖縄にも同種の魚種が分布しているが、これらの魚類の繁殖期は4月から7月にかけての一回である。インドネシアと沖縄に棲息するアイゴ類の繁殖期には地理的な差が認められ、地域的な環境要因の周期的変動が繁殖期を規定すると考えられた。
- (2) 繁殖期に繰り返される産卵には月周性があり、シモフリアイゴは新月付近、そしてゴマアイゴは上弦の月付近で同調して産卵した。沖縄に棲息する同一魚種も同じ月齢付近で産卵しており、繁殖期における産卵リズムには地理的な差が認められなかった。アイゴ類の産卵の同期には月から得られる情報が重要であると推測された。

インドネシアのジャワ島は熱帯モンスーン気候帯に属し、雨季と乾季の2つの季節がある。季節の変わり目ではインドネシア沿岸海域の塩分濃度、餌生物の種類や密度、さらには海流の方向などが大きく変化している。多くのアイゴ類にみられる年2回の繁殖期の開始時期は雨季から乾季、もしくは乾季から雨季への季節の変わり目にほぼ相当し、インドネシア沿岸水域で起こっている環境変化が魚たちの生殖腺の発達の引き金として利用されている可能性がある。一方、明確な四季がある沖縄の亜熱帯サンゴ礁に生息するアイゴ類における繁殖期の開始は日長や水温の上昇時期に相当するため、魚たちはこれらの環境変化を感受し、視床下部—脳下垂

体—生殖腺系が活性化されて生殖腺の発達を開始すると考えられる。

### 2. 研究の目的

インドネシアと沖縄でこれまでに得られてきた結果を比較すると、同種のアイゴ類が異なった環境要因を繁殖の開始に利用していることになる。生息環境の年変化の内容が異なる同一魚類を比較することによって、環境変動に応じた繁殖開始の引き金の第一段階が体内の何処でどのように引かれるのかを明らかにできる可能性がある。本研究では沖縄とインドネシアのサンゴ礁に広く棲息するゴマアイゴを研究対象として、インドネシアに広がる熱帯サンゴ礁に棲息するアイゴ類の成熟開始に関係する環境要因を特定することを第一の研究目的とする。第二に、視床下部—脳下垂体—生殖腺系の上位に位置する脳部位にターゲットを絞り、地域特性に応じた環境変化の比較から魚類の環境センサーの存在と役割を明らかにすることを目的とする。

### 3. 研究の方法

- (1) 調査研究実施国はインドネシア、調査地点は中部ジャワスマラン市近辺のサンゴ礁海域(ジェバラとカリムンジャワ)に設定した。
- (2) 海外共同研究者・研究協力者は、ディボネゴロ大学海洋科学科 Endang Sri Susilo 講師(魚類生物学)・Chrisna Adhi Suryono 講師(餌料生物学・浮遊生物学)・Baskoro Rochadi 講師(海洋物理化学)であった。
- (3) 各年度に1ないし2回の海外調査をインドネシアの季節変動にあわせて設定した。日本側研究者と海外共同研究者(協力者)が共同で調査を行うことを基本とし、ゴマアイゴを定期的に採集するか、もしくは市場で購入した。得られた魚について、体重、体長及び生殖腺重量を記録し、生殖腺の一部は組織学的観察用にホルマリンもしくはブアン氏液に保存した。コンディションファクターの変化も記録した。採集したアイゴ類の胃内容物から食性を把握し、採取場所の餌生物の種類と分布の変化を調べた。また、採集地点の水域環境の物理的・化学的变化も調べた。
- (4) 海外調査のための国内実験として、視物質 Vertebrate ancient long (VAL)、Vasoactive Intestinal Peptide (VIP)、そして甲状腺ホルモン合成に関係する Iodothyronine deiodinase 遺伝子 (Type II; D2 及び Type III; D3) のクローニング及び発現部位の

確認、そして発現パターンの解析をした。ゴマアイゴの脳深部に発現が推定される視物質のクローニングを行うために、ゼブラフィッシュ等の既知遺伝子からプライマーを設計し、cDNA を得、全塩基配列を決定した。*In situ hybridization* もしくはリアルタイム PCR で各遺伝子発現部位や発現パターンを明らかにした。

#### 4. 研究成果

##### 海外調査から

調査地点はインドネシア中部ジャワ(ジェパラ市)とカリムンジャワ群島であった(図1)。採集したゴマアイゴの産卵期は乾季及び雨季開始時期にほぼ一致し、これまでの結果が裏付けられた。魚の食性を調べた結果、ゴマアイゴは主に植物プランクトンを摂食していることが判明した。植物プランクトンの増加時期は雨季開始時期とほぼ一致し、熱帯モンスーンに伴う海況の変化がプランクトン増加、そして魚の繁殖期開始と関連があることが考えられた。

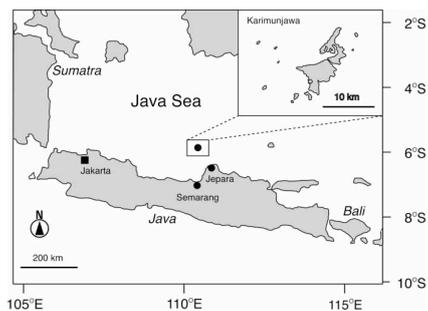


図1. 調査地点

##### 国内研究から

全塩基配列を決定したゴマアイゴの脳深部における VAL と VIP 遺伝子の日周変化を Real-time PCR で行った結果、両種のいずれの遺伝子も視床下部域に強い発現は認められたが、明確な日周変動は認められなかった。D2 は肝臓に強く発現していたのに対し、D3 は肝臓と脳に強く発現していた。ゴマアイゴの栄養状態とこれらの遺伝子の発現との関連を昼と夜で調べた結果、D2 遺伝子発現は栄養条件との関連が示唆され、肝臓における発現は飢餓状態で減少した。一方、D3 遺伝子は栄養状態には左右されず、昼夜での変動が大きかった。また D2 と D3 遺伝子の発現は温度で変化することも明らかとなった。これら遺伝子の発現を制御する要因が異なっていることが示唆された。

以上の結果から、熱帯サンゴ礁に生息する魚では日長や水温が常に生殖可能な状態にあると考えられ、栄養状態の改善が生殖開始要因の一つになっていると考えられた。すなわち、生殖を左右する要因は複数考えられ、

全ての要因が生殖可能な範囲にある時だけ生殖腺が発達すると思われる。温帯域では水温や日長の変動が、そして熱帯域では熱帯モンスーンに基づく一次生産量変動が生殖開始の制限要因として考えられる。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計9件)

1. Bapary MAJ, Fainuulelei P, Takemura A (2009). Environmental control of gonadal development in the tropical damselfish *Chrysiptera cyanea*. *Marine Biology Research*, 5: 462-469. 査読有り
2. Sri Susilo E, Harnadi L, Takemura A (2009). Tropical monsoon environments and the reproductive cycle of the orange-spotted spinefoot *iganus guttatus*. *Marine Biology Research*, 5: 179-185. 査読有り
3. Iwamoto K, Takemura A, Yoshino T, Imai H (2009). Molecular ecological study of *iganus spinus* and *S. guttatus* from Okinawan waters based on mitochondrial DNA control region sequences. *Journal of Oceanography*, 65: 103-112. 査読有り
4. Sugama N, Park JG, Park YJ, Takeuchi Y, Kim SJ, Takemura A (2008). Moonlight affects nocturnal *Period2* transcript levels in the pineal gland of the reef fish *iganus guttatus*. *Journal of Pineal Research*, 45: 133-141. 査読有り
5. Pisingan RS, Takemura A (2007). Apparent semilunar spawning rhythmicity in a brackish cardinalfish. *J Fish Biol*, 70: 1412-1422. 査読有り
6. Park YJ, Park JG, Jeong HB, Takeuchi Y, Kim SJ, Lee YD, Takemura A (2007). Expression of the melatonin receptor *Mellc* in neural tissues of the reef fish *iganus guttatus*. *Comp Physiol Biochem*, 147A: 103-111. 査読有り
7. Park JG, Park YJ, Sugama N, Kim SJ, Takemura A (2007). Molecular cloning and daily variations of the *Period* gene in a reef fish *iganus guttatus*. *J Comp Physiol A*, 193: 403-411. 査読有り
8. Park YJ, Park JG, Hiyakawa N, Lee YD, Kim SJ, Takemura A (2007). Diurnal and circadian regulation of a melatonin receptor, *MT1*, in the golden rabbitfish, *iganus guttatus*. *Gen Comp Endocrinol*, 150: 253-262. 査読有り
9. Ayson FG, Takemura A (2007). mRNA expression patterns for GH, PRL, SL, IGF-I and IGF-II during altered nutritional status in rabbitfish, *iganus guttatus*. *Gen Comparative Endocrinology*, 150: 196-204. 査読有り

[学会発表] (計 23 件)

1. Bapary MAJ, Takemura A (2010). Effects of temperature and photoperiod on the reproductive activities of a tropical damselfish. 平成22年度日本水産学会春季大会 (26-30/March, 日本大学生物資源科学部).
2. 竹村明洋 (2010). サンゴ礁の不思議な共生関係. 第15回いのちの科学フォーラム. (6/February, 京大会館)
3. 下山紗代子・竹村明洋 (2009). ゴマアイゴ脳下垂体におけるメラトニン受容体遺伝子の発現. 平成21年度日本水産学会春季大会 (27-31/Mar, 東京海洋大学).
4. Park YJ, Park JG, Takeuchi Y, Takemura A (2009). Extra-retinal photoreceptors and their regulation in the brain of reef fishes. 平成20年度琉球大学21世紀COE成果報告会 (14 Mar, 琉球大学)
5. Bapary MAJ, Takemura A (2009). Effect of photoperiod and temperature on the reproductive performance of a tropical damselfish *Chrysiptera cyanea* during different phases of reproductive season. 平成20年度琉球大学21世紀COE成果報告会 (14 Mar, 琉球大学)
6. Park JG, Park YJ, Takemura A (2009). Identification of light-induced genes in the golden rabbitfish brain. 平成20年度琉球大学21世紀COE成果報告会 (14 Mar, 琉球大学)
7. Takeuchi Y, Park YJ, Bapary MAJ, Hur SP, Takemura A (2009). Photoperiodic regulation of VAL-opsin and VIP mRNA expression in the brain of sapphire devil *Chrysiptera cyanea*. The 7th International Workshop on the Oceanography and Fisheries Science of the East China Sea (4-5/Dec, Shanghai Ocean University).
8. Bapary MAJ, Takemura A (2009). Effects of temperature and light on the reproductive performance of a tropical damselfish *Chrysiptera cyanea*. The 7th International Workshop on the Oceanography and Fisheries Science of the East China Sea (4-5/Dec, Shanghai Ocean University).
9. Bapary MAJ, Takemura A (2009). Importance of environmental factors in the reproductive activities of a tropical damselfish *Chrysiptera cyanea* during different phases of reproductive season. 日本サンゴ礁学会第12回大会 (27-29/Nov, 本部町中央公民館).
10. 竹内悠記・朴龍柱・許成杓・竹村明洋 (2009). サンゴ礁魚類の脳内光受容体—クロニンゲンと発現解析—. 日本サンゴ礁学会第12回大会 (27-29/Nov, 本部町中央公民館).
11. 竹村明洋 (2009). サンゴ礁に生息する魚類の産卵リズムに及ぼす月の影響. シンポジウム「生物リズムをあやつる情報伝達分子研究の新展開」第34回日本比較内分泌学会大会 (22-24/Oct, 千里ライフサイエンスセンター).
12. 福代真・竹内崇裕・洲鎌望・竹村明洋・久保葉子・岡野恵子・岡野俊行 (2009). 月齢応答性をもつゴマアイゴにおけるCry3の同定および発現解析. 日本比較生理生化学会第31回大会 (22-24/Oct, 千里ライフサイエンスセンター).
13. 竹村明洋・大角玉樹・今井秀行 (2008). 環境を利用して環境を守る: サンゴ礁生物利用した沖縄型アクアヒーリング産業創生. 沖縄産学官イノベーションフォーラム2008 (3/Dec, 沖縄産業支援センター)
14. Park YJ, Park JG, Bapary MAJ, Takeuchi Y, Takemura A (2008). Photoperiodic regulation on expression of extra-retinal opsins in the brain of reef fishes. 5th World Fisheries Congress. (20-24/Oct, Pacifico Yokohama).
15. Bapary MAJ, Takemura A (2008). Environmental control of gonadal development in the tropical damselfish *Chrysiptera cyanea*. 5th World Fisheries Congress. (20-24/Oct, Pacifico Yokohama).
16. 朴龍柱・朴智権・竹内悠記・竹村明洋 (2008). サンゴ礁魚類の脳深部における光受容体と周期性発振機構. 第79回日本動物学会 (5-7/Sep, 福岡大学).
17. Bapary MAJ, Fainuulelei P, Takemura A (2008). Risk of higher temperature on reproductive performance of a tropical damselfish. VIIIth International Congress on the Biology of Fish (27/Jul-1/Aug, Doubletree Hotel).
18. Bapary MAJ, Takemura A (2008). Influence of photoperiod and temperature in the regulation of gonadal development of the sapphire devil *Chrysiptera cyanea* in subtropics. 平成19年度琉球大学21世紀COE成果報告会 (1/Mar, 琉球大学).
19. Takemura A, Park JG, Park YJ, Sugama N, Takeuchi Y, Kim SJ (2007). Moonlight induces period2 transcripts in the pineal gland of a reef fish *Siganus guttatus*. Clocks and Rhythms (30/May-4/Jun, Cold Spring Harbor Laboratory).
20. Park YJ, Park JG, Takeuchi Y, Kim SJ, Takemura A (2007). Daily and monthly variations in melatonin receptors of a reef fish with lunar-synchronized periodicity. Clocks and Rhythms (30/May-4/Jun, Cold Spring Harbor Laboratory).
21. Takemura A, Morita M, Sri Susilo E, Harnadi L, Park YJ (2007). Importance of cues in

environments for regulation of reproductive and spawning cycles in reef fishes. 21th Pacific Science Congress (12-18/May, Okinawa Convention Center).

22. 朴龍柱・竹内悠希・竹村明洋 (2007) . ゴマアイゴの神経組織におけるメラトニン受容体遺伝子の発現パターンとその調節. 平成18年度琉球大学21世紀COE成果報告会 (10/Mar, 琉球大学) .
23. 柏木朋美・竹村明洋・朴龍柱・朴智権・金世宰・三輪哲也・林純子・山本啓之 (2007) . 魚類の網膜におけるメラトニン合成酵素遺伝子発現の日周性と光応答能. 平成18年度琉球大学21世紀COE成果報告会 (10/Mar, 琉球大学) .

[図書] (計3件)

1. 竹村明洋 (2008) . 生殖周期 (その他) . 時間生物学辞典. 石田直理雄・本間研一 (編), 朝倉書店, 東京. pp. 26-27.
2. 竹村明洋 (2008) . 概月周リズム. 時間生物学辞典. 石田直理雄・本間研一 (編), 朝倉書店, 東京. pp. 30-31.
3. 竹村明洋 (2008) . サンゴ礁に潜む月世界, リズム生態学, 体内時計の多様性とその生態機能. 清水勇・大石正 (編), 東海大学出版会, 東京. pp. 1-24.

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
出願年月日 :  
国内外の別 :

○取得状況 (計0件)

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
取得年月日 :  
国内外の別 :

[その他]

ホームページ等

<http://www.takemura-lab.jp>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

竹村 明洋 (Takemura Akihiro)  
琉球大学・理学部・教授  
研究者番号 : 40222103

(2) 研究協力者

Endang Sri Susilo  
ディポネゴロ大学・海洋科学科・講師

Chrisna Adhi Suryono  
ディポネゴロ大学・海洋科学科・講師

Baskoro Rochadi  
ディポネゴロ大学・海洋科学科・講師