

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年5月20日現在

機関番号：18001

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22405029

研究課題名（和文）赤道南北に広がる熱帯モンスーンの環境比較から読み解く魚類の測季システム

研究課題名（英文）How do tropical fish recognize season? A comparative approach of tropical monsoon around the equator

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）：

本研究は、熱帯サンゴ礁起源の魚類が繁殖の同期に利用している環境要因の特定とその内的伝達機構を明らかにすることを目的として行われた。2種類のアイゴ類（シモフリアイゴとゴマアイゴ）が明確な生殖年周期を熱帯モンスーン地域で持つことを確認するとともに、産卵期には特定の月相で産卵を繰り返すことを明らかにした。生殖年周期を規定する要因には地域差があるが、モンスーンに関連する環境変動が生殖活動を規定していると考えられた。

研究成果の概要（英文）：

The aim of the present study was to clarify environmental factor(s) in relation to reproductive activity in tropical fish and to examine a possible mechanism that transduces environmental stimuli into the internal signal. Two spinefoots species used in the present study had a clear reproductive cycle that is closely correlated with tropical monsoon. During the spawning season, each species spawned around the species-selective lunar phase. We also focused on the expression of clock gene (*Cry*) in the hypothalamus of the goldlined spinefoot. The expression pattern of this gene fluctuated with lunar cycle and peaked around the first quarter moon, suggesting that clock genes is related to oscillation of lunar-related activity including reproduction.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	5,900,000	1,770,000	7,670,000
2011年度	4,300,000	1,290,000	5,590,000
2012年度	4,100,000	1,230,000	5,330,000
年度			
年度			
総計	14,300,000	4,290,000	18,590,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：水圏応用科学・水圏生命科学

キーワード：サンゴ礁、アイゴ、モンスーン、年周期、環境、フィリッピン、インドネシア

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ほど大きくない。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 15～17 年度及び平成 19～21 年度の二回、インドネシア(中部ジャワ)のサンゴ礁に棲息するアイゴ類の繁殖特性と季節性について調査を行い、以下のことを明らかにした。

- (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り、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、これらの魚種の繁殖期は 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同種の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。(平成 15～17 年度海外学術調査の成果)
- (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。(平成 15～17 年度海外学術調査の成果)
- (3) 四季がある沖縄の亜熱帯サンゴ礁に生息するアイゴ類の繁殖期開始は日長や水温の上昇時期に相当し、これらの環境要因を生殖腺の発達に利用していると考えられた。一方、インドネシアのサンゴ礁に生息するアイゴ類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た。このうち、主たる繁殖期は乾季から雨季の変わり目であった。(平成 19～21 年度海外学術調査の成果)
- (4) 熱帯モンスーンに基づく季節の変わり目では海域の塩分濃度、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(Johannes, 1978)。これらのうち、アイゴ類の繁殖は海域の一次生産量の変動とほぼ一致し、個体の栄養状態の改善が生殖活性の増大に影響を及ぼす可能性があった。(平成 19～21 年度海外学術調査の成果)

インドネシアと沖縄で行ってきた比較研究の結果から、熱帯サンゴ礁に起源をもつ魚類は水温や日長の感受機構を基本型としつつも、熱帯モンスーンに基づく海域環境を感受・利用しながら繁殖を繰り返している可能性があった。熱帯起源の魚類の繁殖に及ぼす熱帯モンスーンの影響を詳細に検討するためには、季節の位相が逆になる赤道南北の同緯度地域に定点調査地点を設け、魚類の繁殖活性と環境変動を比較することが必要となる。

2. 研究の目的

この研究ではサンゴ礁に広く棲息し、東南アジア諸国で漁業対象重要魚類であるアイゴ類を研究対象とし、モンスーン変動が魚の成熟開始に関係する環境要因を確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した。

3. 研究の方法

本研究は 3 年計画とし、赤道をまたがったほぼ同緯度に広がる熱帯モンスーン気候帯に調査地点を設定して行う。調査地点はインドネシア(スマラン市近郊)及びフィリピン(イロイロ市近郊)のサンゴ礁域とし、研究初年度と次年度で熱帯モンスーンの季節の変わり目で研究対象魚(ゴマアイゴやシモフリアイゴ)の定期的採集を行うと共に海洋環境変動をモニタリングする。季節の位相が全く逆の調査地点の研究結果の比較から、繁殖に利用される環境要因を推定する。時刻あわせに関係する時計遺伝子をクローニングし、月周性の発現パターンをリアルタイム PCR で明らかにする。

4. 研究成果

2010 年度調査

フィリピンタバコ市周辺での調査を平成 22 年 9 月 6 日～11 日にかけて行った。タバコ市周辺の沿岸調査を網羅的に行い、調査定点を Lagonoy 湾(13° 35' N, 123° 45' E)沿岸サンゴ礁に設定し、このサンゴ礁周辺から得られる研究対象魚類の定期サンプリングを開始した。第一回目の採集で得られた魚から生殖腺を組織実験用に固定した。また、インドネシアにおいてはカリムンジャワ群島サンゴ礁の調査を平成 23 年 5 月 12 日～18 日に行った。フィリピンと同条件での魚類採集を行い、魚類の組織学観察用のサンプルを得た。

海外調査とへ並行して、視床下部域及び脳下垂体で発現が予想される本研究に関連する遺伝子のクローニングを開始した。今回の実験対象となっている遺伝子は、生殖関連、光受容関連、体内時計関連、そして栄養関連の遺伝子であった。これらのうち、体内時計遺伝子として、*Period(Per)* および *Cryptochrome(Cry)* の部分塩基配列を得た。

2011 年度調査

フィリピンタバコ市周辺での調査を平成 23 年

9月26日～10月1日にかけて行った。昨年度のタバコ市近辺の沿岸調査に基づき設定したLagonoy湾のサンゴ礁域から実験対象種を定期的に採集して生殖腺体指数(Gonadosomatic index; GSI)の変動を調べた。その結果、周年サンプリングが可能であったシモフリアイゴ(*Siganus canaliculatus*)のGSIは、3月から増加し、4月にピークが認められた。GSIは6月まで高い値を維持した後減少し、その後低い値で推移した。ホルマリン固定した生殖腺を組織学的に観察した結果、GSIが高い時期には卵黄形成期から成熟期に達する卵母細胞が卵巣内に認められた。これらの結果から、Lagonoy湾におけるシモフリアイゴの産卵期は3月～6月頃であることが判明した。また、産卵期以外にも卵黄形成を行っている個体が散見された。産卵期に毎週シモフリアイゴを採集して産卵の月周性を確認した結果、GSIのピークは新月付近に認められ、卵巣内は最終成熟期にある卵母細胞で満たされていた。Lagonoy湾内にあるサンミゲル島民への聞き取り調査の結果、ゴマアイゴ(*S. guttatus*)の幼魚の沿岸域への回遊が4月及び5月の新月付近で見られることが判明した。Lagonoy湾におけるアイゴ2種の産卵活動には月周性がみとめられた。

海外調査と並行して、視床下部域及び脳下垂体で発現が予想される本研究関連の遺伝子群のクローニングを引き続き行い、アッセイ系を確立した。時計遺伝子のうち、視床下部域におけるCryptochrome(*Cry*)遺伝子の発現が産卵月相(上弦の月)付近で上昇していることが判明した。

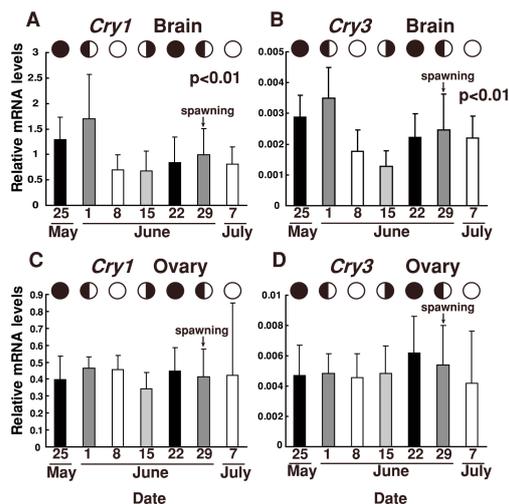


図1. 時計遺伝子(Cry1とCry3)の視床下部と卵巣における月周発現変動。

2012年度調査

前年度まで行ってきた国内実験の結果も考慮しつつ、研究対象魚類の生殖活動に環境要因(表面海水温、降雨量、光周期)がどのように関わっているのかを中心に調査を進めた。得られた結果は以下の通りである。

フィリピンタバコ市周辺での調査を平成24年9月27日～10月3日にかけて行った。タバコ市近辺の沿岸調査海域に設定したLagonoy湾における環境データを回収してその年変動を調べた結果、表面海水温、降雨量、日長の周年変動は、それぞれ28.00-30.98℃、29.6-54.7mm、11.21-12.53hourであった。これをもとにシモフリアイゴとゴマアイゴの生殖活性の変動と環境要因との関連を調べた。その結果、シモフリアイゴの産卵期(3月～6月頃)には表面海水温、降雨量、日長とも増加していたが、このうち日長との間に低いながら相関が認められた。一方、ゴマアイゴの産卵期はいずれもこれらの環境要因との間での相関関係が認められなかった。

調査海域においてシモフリアイゴの産卵期に月齢に従って魚のサンプリングを繰り返していたところ、産卵期後半には、その年の産卵期前半に産まれたと考えられる小型個体(概ね体長で14cm)が産卵群として加入していることが再確認された。これらの個体の卵巣内には成熟途上の卵母細胞が多数組織学的に観察され、産卵個体として加入していた。この結果は、シモフリアイゴは産卵後2ヶ月で成熟して月周性の産卵を繰り返す可能性を示すものであった。

本年度計画していた沖縄におけるシモフリアイゴの早期成熟実験は、幼魚の捕獲が出来なかったことで断念した。

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4件)

- (1) Fukushima, M., Takeuchi, T., Takeuchi, Y., Hur, S.P., Sugama, N., Takemura, A., Kubo, Y., Okano, K. and Okano, T. (2011). Lunar phase-dependent expression of cryptochrome predicts a photoperiodic mechanisms for lunar phase-recognition in rabbitfish. PLoS ONE 6: e28643. (査読有) DOI: 10.1371/journal.pone.0028643
- (2) 竹村明洋 (2010). サンゴ礁生物における共生とは. 環境と健康 23, 261-270. (査読無)
- (3) 竹村明洋 (2010). 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. 比較内分泌学 36, 101-106. (査読有)
- (4) Takemura, A., Rahman, M.S. and Park, Y.J.

(2010). External and internal controls of lunar-related reproductive rhythms in fish. *Journal of Fish Biology* 76:7-26. (査読有)
DOI: 10.1111/j.1095-8649.2009.02481.x

[学会発表] (計 10 件)

- (1) Takemura, A. (2012). Coral reef crisis: How do we conserve biodiversity in this paradise? 4th Bangladesh JSPS Alumni Symposium (1st December), Dr. Anwar Hossain auditorium, Bangladesh.
- (2) 竹村明洋 (2012). 概月周リズムの月の満ち欠けへの同調機構: 魚類の生殖活動を例として. 日本時間生物学会 (9 月 15-16 日), 北海道大学学術交流会館, 北海道.
- (3) Takemura, A. (2012). Endocrine and molecular mechanisms controlling circalunar rhythms in fishes. 日本動物学会第 83 回大会 (9 月 13-15 日), 大阪大学豊中キャンパス, 大阪.
- (4) Bouchekioua, S., Hur, S.P., Takeuchi, Y. and Takemura, A. (2012). Dopamine receptor D2r2 in a tropical wrasse: molecular cloning and expression. International Symposium on Human Well-being and the Marine Environment in the Pacific Islands. (5 月 17-18 日), Okinawa Convention Center, Okinawa
- (5) Bouchekioua, S., Hur, S.P., Takeuchi, Y. and Takemura, A. (2012). Molecular cloning and expression of the dopamine receptor DRD2 in a tropical wrasse. 沖縄生物学会 (5 月 15 日), 琉球大学, 沖縄.
- (6) Wambiji, N., Park, Y.J., Kim, S.J., Hur, S.P., Takeuchi, Y. and Takemura, A. (2011). Expression patterns of type II iodothyronine deiodinase (D2) gene in the hypothalamus of *Siganus guttatus*. 7th Western Indian Ocean Marine Association (WIOMA) Symposium. 7th Western Indian Ocean Marine Association (WIOMA) Symposium (24th October), Mombasa, Kenya.
- (7) Wambiji, N., Park, Y.J., Kim, S.J., Hur, S.P., Takeuchi, Y. and Takemura, A. (2011). Molecular cloning, characterization and expression of iodothyronine deiodinase (Type II and III) in the liver of the golden spinefoot, *Siganus guttatus*. 7th Western Indian Ocean Marine Association (WIOMA) Symposium. 7th Western Indian Ocean Marine Association (WIOMA) Symposium. 7th Western Indian Ocean Marine Association (WIOMA) Symposium (24th

October), Mombasa, Kenya.

- (8) 岩本健輔・佐久川尚樹・張至維・竹村明洋・今井秀行 (2010). 集団遺伝構造からみるルリスズメダイの地理的色彩変異. 2010 年度日本魚類学会年会 (23-26 September), 三重県文化会館, 三重.
- (9) 福代真・竹内崇裕・竹内悠記・許成杓・洲鎌望・竹村明洋・久保葉子・岡野恵子・岡野俊行 (2010). 月齢周期同調性の魚類におけるクリプトクロム遺伝子の月齢依存的な発現変動. 第 33 回日本分子生物学会年会 (7-10 December), 神戸ポートアイランド, 神戸.
- (10) 福代真・竹内崇裕・竹内悠記・許成杓・洲鎌望・竹村明洋・久保葉子・岡野恵子・岡野俊行 (2010). 月齢周期に応答する熱帯産魚類ゴマアイゴにおける *Cry* 遺伝子の解析. 第 17 回日本時間生物学会学術大会 (20-21 November), 早稲田大学国際会議場井深大記念ホール, 東京

[その他]

ホームページ等

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

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: 4 0 2 2 2 1 0 3