

令和元年6月7日現在

機関番号：18001

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H05796

研究課題名(和文) 降雨条件の異なる熱帯モンスーン環境比較から解き明かす魚類の測季システム

研究課題名(英文) Comparative studies on seasonal reproduction of fish in tropical monsoon environments

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,100,000円

研究成果の概要(和文)：サンゴ礁に棲息するアイゴ類を研究对象魚とし、地域環境要因の周期的変化が魚の成熟開始に及ぼす影響を明らかにした。ベトナム中部フエ市近郊のラグーンに生息するゴマアイゴの繁殖活動は4～5月に増加した。この時期は水温と日長の上昇期に相当するため、これらの要因が性成熟に関係すると考えられた。インシュリン様成長因子とレプチン遺伝子の発現量を給餌の有無条件で測定した結果、給餌制限区の魚の間脳と肝臓におけるレプチン遺伝子発現量は上がった。以上の結果から、栄養状況は栄養代謝遺伝子の発現に影響を与えることが示された。ベトナム中部に生息するゴマアイゴの性成熟は亜熱帯の特性と熱帯の特性を併せ持つことが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

熱帯モンスーン気候帯は雨季と乾季の季節変化を示すが、赤道から南北へ離れるに従って、日長や温度の周年変化が現れるようになる。これまで、インドネシア(中部ジャワ)や沖縄で同じ手法を用いて行ってきた結果と比較した場合、ベトナム中部に生息するゴマアイゴは、熱帯と亜熱帯の環境変動を巧みに利用した繁殖戦略を持っていることが明らかとなった。これらの結果は、当該地域の水産業の振興に利用できる考えられる。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to evaluate involvement of periodical changes in environmental factors in tropical waters in reproductive activity of reef fishes. When the goldlined spinefoot *Siganus guttatus* were collected monthly in the lagoon, Hue city, Vietnam, the gonadal activity of this species increased from April to May, suggesting that increases in water temperature and photoperiod are related to initiation of gonadal development in this species. Realtime quantitative PCR revealed that the transcript levels of leptin in the brain and liver increased when fish were reared under food-limited conditions, suggesting that food availability becomes a driver of gonadal development of this species. It is concluded that the goldlined spinefoot inhabiting in Vietnam shares characteristics of environmental perception between tropical and subtropical waters.

研究分野：魚類生理学

キーワード：ベトナム ゴマアイゴ 日長 水温 栄養

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

中・高緯度に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に重要な役割を持つ。一方、低緯度地域の水温や日長の変化は中・高緯度地域ほど大きくない。低緯度地域に適応した魚類が水温や日長を繁殖活動の開始に利用する可能性は低い。そのため地域特性に応じた環境要因を繁殖活動の開始に利用していることが考えられる。研究代表者は熱帯モンスーン気候帯のサンゴ礁に生息する魚類の繁殖特性を明らかにする海外学術調査を行い、以下の成果を得てきた。

- (1) インドネシア中部ジャワ沿岸域に生息する6種類のアイゴ類には明確な生殖年周期があり、それぞれ年2回の繁殖期を持つ。沖縄に分布する同種の繁殖期は年一回である。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(平成15~17年度海外学術調査の成果)。
- (2) 沖縄に生息するアイゴ類は日長や水温の上昇時期に繁殖を開始していた。一方、インドネシア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。熱帯モンスーン域の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、親魚の栄養状態の改善が生殖活性の増大に影響を及ぼす(平成19~21年度海外学術調査の成果)。
- (3) インドネシアと赤道をはさんでほぼ同緯度に位置するフィリピンの熱帯モンスーン気候帯に観測地点を設けてゴマアイゴの繁殖特性を調べた結果、季節の変わり目に主たる繁殖期が認められた。主たる繁殖期はインドネシアとは半年ずれていた。繁殖期以外にも散発的な産卵が認められ、個体の栄養状態が生殖活性に関わっていた(平成22~24年度海外学術調査の成果)。
- (4) 全ての調査地点において採集したアイゴ類の産卵周期には月周性があり、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産卵を繰り返した。産卵周期には地理的な差がなく、アイゴ類は月から得られる情報を産卵の同期に利用している(全ての海外学術調査の成果)。

インドネシア、フィリピン、そして沖縄で行ってきた調査結果から、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、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と考えられた。すなわち、海域の一次生産量増大による餌生物増が栄養状態の改善となり、親魚を生殖へと向かわせている可能性がある。この可能性を検証するためには、降雨以外の環境条件がほぼ同一の地域に調査地点を設定して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

本研究では、熱帯モンスーン気候帯で繁殖している魚類が繁殖活動の同期に利用している環境要因を特定し、この地域の繁殖活動の時刻あわせの成立機構を明らかにすることを目的とする。ベトナム中部に設置した調査地点(フエ)における海況変化と魚類の繁殖活動を比較して繁殖に利用される環境要因を特定する。加えて、視床下部 下垂体 生殖腺軸の上位に位置する脳部位にターゲットを絞り、モンスーンに関わる魚類の環境センサーの存在と役割の解明を行う。

### 3. 研究の方法

ベトナムに設置する調査拠点のフエ市近郊のラグーンにおいてゴマアイゴ成魚を毎月新月に採集する。採集した魚について、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する。コンディションファクターの変化も記録する。魚類を採集した場所の水域環境の物理的・化学的变化のモニターを開始する。生殖と水域の環境変化の年周期が明らかになった段階で、フエ農林大学の臨海実験施設において、性成熟期の環境変化を再現し、非生殖期間のゴマアイゴに性成熟の誘導を試みる。

国内予備実験として、栄養関連遺伝子(インシュリン様成長因子やレプチン)のクローニングと遺伝子発現を様々な栄養条件下で明らかにする。

### 4. 研究成果

平成28年度から30年度にかけての海外調査は以下の通りであった(表1)

表1. 調査回数と日程

平成28年度	平成29年度
第1回調査: 2016年4月15日~4月21日	第2回調査: 2017年6月25日~6月29日
第2回調査: 2016年5月29日~6月2日	第3回調査: 2017年8月19日~8月23日
第3回調査: 2016年8月4日~8月9日	第4回調査: 2017年12月2日~6日
第4回調査: 2016年10月29日~11月2日	
第5回調査: 2017年2月2日~2月5日	平成30年度
	第1回調査: 2018年8月31日~9月5日
平成29年度	第2回調査: 2019年1月10日~1月14日
第1回調査: 2017年3月29日~4月2日	

(1) 海外調査で得られた結果

フエ市近郊で採集したゴマアイゴの生殖腺体指数 ( Gonadosomatic index; GSI )、肝体指数 ( Hepatosomatic index; HSI )、そしてコンディションファクター ( K ) の周年変化を図 1 に示す。本種の GSI は雌雄ともに 4 月ごろから上昇し、5 月にピークを示した後に減少した。その他の採集月ではこの値は低値で推移した。HSI 及び K には周年大きな変化が認められなかった。

4 月と 5 月に採集した雌個体の生殖腺 ( 卵巣 ) を組織学的に観察すると、卵黄形成途上の卵母細胞が確認できた。一方、同時期に採集した雄個体の生殖腺 ( 精巣 ) を同様に観察すると、精子形成を活発に行い、様々な発達段階にある精母細胞が確認できた。これらのことから、4 月と 5 月がベトナム中部フエ近郊のラグーンに生息するゴマアイゴの産卵期と考えられた。

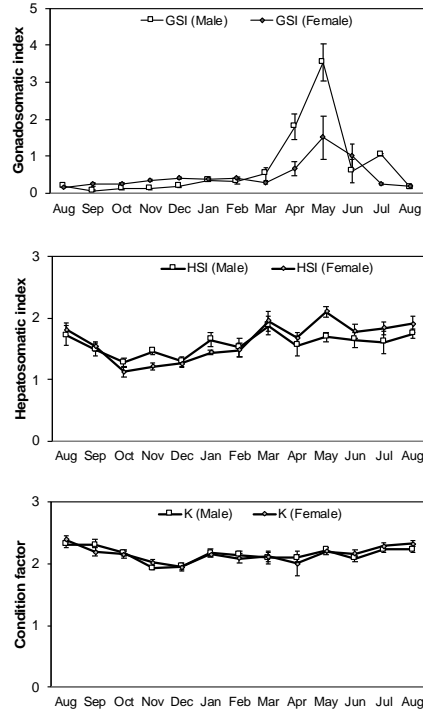


図 1 .ベトナム中部( フエ市近郊のラグーン ) に生息するゴマアイゴ雌雄の生殖腺体指数 ( 上段 ) 肝体指数 ( 中段 ) コンディションファクター ( 下段 ) の周年変化 .

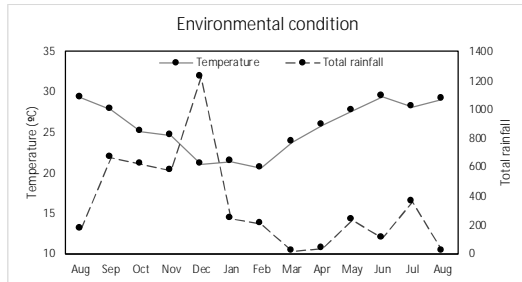


図 2 .ベトナム中部( フエ市 ) における温度と降水量の周年変化.

同時期に測定した温度と降水量の変化を図 2 に示す。温度は 12 月から 2 月に低値を示し、その後上昇して 6 月から 8 月にかけて高値を示した。一方、降水量は 9 月から 12 月にかけて多く、3 月から 8 月にかけて少なかった。

得られた結果から、フエ市近郊 ( 北緯 16° 28' ; 東経 107° 36' ) では、乾季における水温 ( 若干の日長変化 ) の上昇が性成熟を開始する要因の一つと考えられた。先行研究で行ったインドネシア中部ジャワカリムジャワ群島周辺 ( 南緯 5° 83' ; 東経 110° 46' ) での調査では、繁殖期が乾季から雨季 ( 9 月 ~ 11 月 ) と雨季から乾季 ( 3 月 ~ 5 月 ) の変わり目の二回あることが判明している。一方、沖縄本島近海 ( 北緯 26° 64' ; 東経 127° 86' ) では、本種の繁殖期が 6 月と 7 月で、日長と水温の上昇期に一致した。以上の結果から、ベトナム中部のフエ近郊では、熱帯 ( モンスーン気候帯 ) から亜熱帯の水域環境特性を併せ持つことから、この海域に生息する魚は、性成熟の開始と終息に日長、水温、降水量 ( 海域の一時生産量の変動 ) を複合的に利用している可能性があった。

なお、本研究では調査最終年度にフエ農林大学の臨海実験所で環境操作実験を行う予定であった。しかしながら、採集したあとに実験水槽で馴致を始めた魚の状態が悪く、環境操作実験を始める前に斃死してしまったため、この実験を本研究では行うことができなかった。

(2) 国内予備実験で得られた結果

国内予備実験では、本調査に必要な栄養関連遺伝子 ( インシュリン様成長因子、レプチン、の遺伝子のクローニングを開始し、これらのうちのいくつかにおいてはクローニングを完了するとともに real-time quantitative PCR による測定系を用いて脳や肝臓に発現している遺伝子量の測定を行った。

ゴマアイゴを給餌制限の有無の条件で飼育し、肝臓と間脳におけるインシュリン様成長因子 ( *igf1* 及び *igf2* ) とレプチ

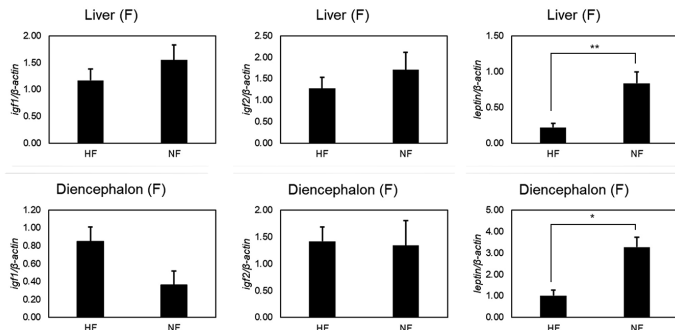


図 3 . 給餌制限をゴマアイゴ雌に肝臓と脳における栄養関連遺伝子の発現パターン . HF ; 給餌制限無し , NF ; 給餌制限有り . 図中のあるアルファベットは統計的有意差を示す。

ン (*leptin*) を測定した結果、*igf1* 及び *igf2* の発現量は肝臓と脳ともに変動はなかったが、給餌制限を行った魚の *leptin* 発現量は両組織で増加した (図 3)。同様の結果は雄魚でも得られた。この結果は、レプチンが魚の栄養状態を示す体内情報物質として働いている可能性を示している。レプチンが Kiss ニューロンを介して生殖腺刺激ホルモンニューロンや生殖腺刺激ホルモン細胞に影響を与える可能性が示されており、今後、レプチンに注目して研究を進める必要がある。

## 5. 主な発表論文等

### 〔雑誌論文〕(計 4 件)

Mahardini A, Takeuchi Y, Dinda R, Takekata H, Takemura A (2018). Changes in mRNA abundance of insulin-like growth factors in the brain and liver of a tropical damselfish, *Chrysiptera cyanea*, in relation to seasonal and food-manipulated reproduction. *General and Comparative Endocrinology*, 269: 112-121. doi.org/10.1016/j.ygcen.2018.09.001

宇田川伸吾・矢田文・竹村明洋 (2018). 組織ネットワーク解明をめざした魚類における組織および全身透明化の試み, *魚類学会誌*, 65(1): 49-57.

Oh DJ, Bouchekioua S, Hur SP, Takeuchi Y, Udagawa S, Aluru N, Park YJ, Kim SJ, Moon TW, Vijayan MM, Takemura A (2018). Tide-related changes in mRNA abundance of aromatase and estrogen receptors in the ovary and brain of the threespot wrasse *Halichoeres trimaculatus*. *Ocean Science Journal*, 53: 239-249.

Bouchekioua S, Hur SP, Takeuchi Y, Lee YD, Takemura A (2018) Effects of temperature and melatonin on day-night expression patterns of arginine vasotocin and isotocin mRNA in the diencephalon of a temperate wrasse *Halichoeres tenuispinis*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 44: 817-828. doi: 10.1007/s10695-018-0471-7

### 〔学会発表〕(計 7 件)

Yamauchi C, Miyagi H, Mahardini A, Takemura A (2018). Long-day conditions with green light stimulate mRNA expressions of insulin-like growth factors in the liver of a tropical fish. 13<sup>th</sup> International Congress on the Biology of Fish. (15-19 July, University of Calgary, Canada)

Rizki R, Mahardini A, Takekata H, Takemura A (2018). Molecular cloning of insulin-like growth factors and its expression in the tissues of the sapphire devil, a tropical damselfish. 日本動物学会第 89 回大会. (9 月 13-15 日、札幌)

Mahardini A, Miyagi H, Yamauchi C, Takeuchi Y, Takemura A (2017). Involvement of insulin-like growth factors in the reproduction of tropical fishes in response to nutritive condition. 11th International Workshop on the Oceanography and Fishery Science in the East China Sea. (8-10 November, Nagasaki University, Nagasaki, Japan)

岡野俊行, 竹内悠記, 兜森 椋, 山内千裕, 宮城ひとみ, 竹村明洋, 岡野恵子 (2017). 月齢同調性産卵を示すゴマアイゴにおける時計遺伝子の月光応答および砂時計型月齢タイマー機構. 日本分子生物学会. (12 月 6-9 日、神戸)

Mahardini A, Miyagi H, Nakatani S, Takeuchi Y, Ayson FG, de Jesus-Ayson EGT, Takemura A (2016) Food availability as an additional permissive factor for gonadal activity in the tropical goldlined-spinefoot rabbitfish. Joint events of the 22<sup>nd</sup> International Congress of Zoology and the 87<sup>th</sup> meeting of Zoological Society of Japan (14-19 November, OIST and OCC, Okinawa, Japan)

Mahardini A, Miyagi H, Nakatani S, Takeuchi Y, Takemura A (2016). Seasonal reproduction of a reef fish in tropical monsoon. The 64<sup>th</sup> NIBB Conference Evolution of Seasonal Timers. (22-24 April, Okazaki Conference Center, Okazaki, Japan)

Takemura A, Takeuchi Y, Hur SP (2016). How do fishes know the time for getting up and going to bed in ocean? The International Conference of the Genetics Society of Korea, 2016 (10-11 November, Ramada Plaza Jeju Hotel, Republic of Korea)

### 〔図書〕(計 2 件)

竹村明洋 (2018). 活動のリズム. 魚類学の百科事典. 日本魚類学会 (編), 丸善, 東京. pp. 366-367.

竹村明洋 (2016). 集団とリズム. 「ホルモンから見た生命現象と進化」シリーズ7巻, 生体防御・社会性-守-. 水澤寛太・矢田崇 (編), 裳華房, 東京. pp. 219-232.

### 〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕  
ホームページ等  
<http://www.takemura-lab.jp/index>

## 6 . 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：竹内 悠記

ローマ字氏名：(TAKEUCHI, Yuki)

所属研究機関名：早稲田大学

部局名：理工学術院

職名：助教

研究者番号(8桁): 00754904

### (2)研究協力者

研究協力者氏名：グエン ゴック フォック

ローマ字氏名：(NGUYEN, Ngoc Phuoc)