

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 4 月 13 日現在

機関番号：16301
 研究種目：若手研究(B)
 研究期間：2010 年度～2012 年度
 課題番号：22770024
 研究課題名（和文）藻食魚と藻類との種特異性と栽培共生：水域の「植物-植食者」種間ネットワークの解明
 研究課題名（英文）Cultivation mutualism and species-specific interactions between herbivorous fishes and algae
 研究代表者
 畑 啓生 (HIROKI HATA)
 愛媛大学・大学院理工学研究科・助教
 研究者番号：00510512

研究成果の概要（和文）：水域生態系の一次生産者藻類と、それを利用する藻食魚とのネットワーク関係をアフリカの古代湖、タンガニカ湖で調査した。ザンビア国カセンガ岩礁域では、14 種に及ぶ藻食性シクリッド類が共存している。それらシクリッド類の藻園となわばり外から藻類を採集し、またシクリッド類の胃内容物を採集し、16SrDNA 領域を用いてメタゲノミクス解析を行い、藻類の組成を明らかにした。結果、シアノバクテリア類と珪藻類が主な餌として利用されていることが分かり、また DNA の塩基配列レベルで微小な藻類を種レベルで分類することで、同じギルドに属する種間でも、防衛する資源や、その利用が異なることが分かった。

研究成果の概要（英文）：Network structure between algae (primary producers in aquatic ecosystems) and herbivorous fishes were analyzed in an African Great Lake, Lake Tanganyika. At Kasenga Point in Zambia, 14 herbivorous cichlids coexist. Algae were collected from the territories of these cichlids and from their stomachs. Using metagenomics analysis on 16SrDNA algal species compositions of the algal matrices were surveyed. As a result, these fishes utilized mainly on cyanobacteria and diatoms. Detailed classification of micro-algae using by molecular techniques revealed that each cichlid species defended specific algal composition in its territory and utilized specific mixture of algae, even among species belonging to a similar guild.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2012 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・生態・環境

キーワード：なわばり性藻食魚、サンゴ礁、タンガニカ湖、生態学、種特異的関係

1. 研究開始当初の背景

植物（広義の植物、藻類を含む）と植食者

との相互作用のネットワークを紐解いていくことは、私たちがこの地球上の生物多様性や、生態系の仕組みを理解する上で不可欠で

ある。植物は生産者として有機物を生み出し、植食者はその一次生産物を利用し、生態系の次の栄養段階へとエネルギーと物質を受け渡す。陸上生態系においては、植物と植食者との間に高い種特異性が見出され、両者の間の共進化や共種分化、そして頻繁に生じる寄主転換が両者の爆発的な多様化を生み、現在地球上の生物多様性の大半を担うに至ったと考えられている (Janz et al. 2006)。一方、水域生態系では、一次生産の多くを担う植物は微小な藻類であり、それらは形態が単純で可塑性に富み、異型世代交代を行うものも多く、採集や観察が困難なため、多くの隠蔽種の存在が予測されている (Bickford 2006)。そのため水域の藻類と藻食者との関係において両者の種特異性は著しく過小評価されてきた。しかし近年、藻類の多様な二次代謝物の存在や、その毒性、そして捕食忌避効果が明らかとなり (McClintock & Baker 2001)、藻類と藻食者との間にも極めて複雑な種間相互作用のネットワークが発達している可能性が高い。近年、DNA 塩基配列を用いることで微小藻類の簡便な分類法が確立してきたため (Soltis et al. 1998)、これを用いることで水域生態系においても藻類と藻食者との相互作用を種のレベルで研究し、両者のネットワーク構造や、その時空間的変動を捉えることが可能であろう。

そこで私は、水域における藻類と藻食者との種間ネットワークを明らかにするため、サンゴ礁の藻食性スズメダイ類と、そのなわばり内に成立する糸状藻類群落である藻園を一つのモデル系として研究を進めてきた。これらのスズメダイ類は、ブダイやニザダイ、ウニなどの藻食者を追い払い、各個体が一つずつ自らの摂餌の場となる藻園を維持する。DNA 塩基配列を用いてこの藻園に繁茂する微細な糸状紅藻イトグサ類を分類したところ、一部のスズメダイ類とイトグサ類との間に高い種特異性が見られた。なかでもクロソラスズメダイは、他の藻類種を藻園から摘み取ってなわばり外に捨てるという除藻を行うことで、イトグサの一種を藻園に繁茂させていた (図 1)。行動観察と胃内容分析、さらに安定同位体と脂肪酸組成をマーカーとした食物網解析から、クロソラスズメダイはイトグサを主食としていることが分かった (Hata & Umezawa 2011)。一方で、このイトグサ sp.1 もクロソラスズメダイのなわばり外には全く生息せず、このスズメダイに保護されていないとすぐに他の藻食者に食べ尽くされ、また他の藻類に被覆され消失してしまう (Hata & Kato 2002, 2003)。このように、両者の関係は人と栽培植物のようで、互いの生存を依存しあい、絶対栽培共生とすることができる (Hata & Kato 2006)。このような栽培共生は、ヒト以外では、わずかな昆虫類 (キノ

コアリ、キノコシロアリ、キクイムシ類) にしか知られておらず、さらに一次生産者である植物との間に結ばれたものとしては、ヒトと栽培植物に次ぐ二例目の発見にあたる。その後の調査で、広くインド-太平洋でクロソラスズメダイとイトグサの間には高い種特異性が維持されているが、スズメダイのイトグサへの依存度は海域によって異なり、この栽培共生関係は地理的な変異を示すことが分かってきた (Hata et al. 2010)。

また私は 2005 年にアフリカのタンガニカ湖を訪れ、藻食性のシクリッド科魚類について研究を行ってきた。タンガニカ湖のシクリッド類は、食性を著しく分化させて爆発的な適応放散を遂げており、いくつかの系統に属する多種の藻食性シクリッド類が極めて高密度に生息し、岩礁上になわばりを張り巡らせている。これらシクリッド類は特異的な歯の形態を持つなど、藻類の利用・管理をそれぞれに発達させており (Yamaoka 1997)、それぞれ藻類と種特異的な関係を築いている可能性が高い。タンガニカ湖岩礁域では、藍藻類が主要な一次生産者として知られているが (De Wever 2006)、最も盛んになわばり防衛を行う *Variabilichromis moorii* の藻園には、種特異的な藍藻が生息し、特異な藍藻群落が成立していることを明らかにしつつある。

2. 研究の目的

水域生態系の主要な一次生産者である藻類と、それを利用する主要な藻食者である藻食魚において、種のレベルで両者の種特異性や関係性を明らかにし、種間相互作用のネットワークを紐解き、その時空間的な変容を追跡することを目的とする。そのために、アフリカのタンガニカ湖の藻食性シクリッド類とそのなわばり内の藻類との関係性を、潜水調査と分子生物学的手法を併せ用いて種レベルで明らかにする。そして、サンゴ礁のスズメダイ-紅藻類で見られる関係性との比較を行い、水域生態系における藻類と藻食者との種間相互作用系について、新たなパラダイムを拓く。

3. 研究の方法

2010 年 10 月から 12 月にザンビア国、タンガニカ湖南端のカセンガ村を訪れ、藻食性のシクリッド科魚類について研究を行った。タンガニカ湖固有種のシクリッド科 4 族、計 13 種について、各種より 5 個体採集し、うち摂餌なわばりを持つ 10 種について、なわばり内の藻園を 3 から 5 つ採集した (表 1)。得られた魚体から胃を取り出し、胃内容物を 99.9% エタノールに保存した。また藻園から得られた藻類サンプルも同様にエタノールで固定した。藻園標本は実験室に持ち帰

り、CTAB 法により DNA を抽出し、16SrDNA 領域において真核藻類とシアノバクテリア類に広く適合するプライマーを(Toju, et al. 2012)の方法で作成し、得られた PCR 増幅物を 454 GS Junior を用いて網羅的にシーケンスした。

表 1. 調査対象とした藻食シクリッド類。

種	略号	摂餌なわばり	摂餌様式
カダヤシ目			
<i>Lamprichthys tanganicanus</i>	Ltan	なし	プランクトン食
ティラピア族			
<i>Oreochromis tanganicae</i>	Otan	なし	摘み取り食
Lamprologini			
<i>Telmatochromis temporalis</i>	Ttem	あり	摘み取り食
<i>T. vittatus</i>	Tvit	なし	摘み取り食
<i>Variabilichromis moorii</i>	Vmoo	あり	摘み取り食
Tropheini			
<i>Limnotilapia dardennii</i>	Ldar	なし	摘み取り食
<i>Interochromis loocki</i>	lloo	あり (イタドリオスのみ)	梳き取り食
<i>Pseudosimochromis curvifrons</i>	Pcur	なし	摘み取り食
<i>Petrochromis famula</i>	Pfam	なし	梳き取り食
<i>Petro. fasciolatus</i>	Pfas	なし	梳き取り食
<i>Petro. macrogathus</i>	Pmac	あり	梳き取り食
<i>Petro. polyodon</i>	Ppol	あり	梳き取り食
<i>Petrochromis sp.</i>	Prot	あり	梳き取り食
<i>Petro. trewavasae</i>	Ptre	あり	梳き取り食
<i>Simochromis diagramma</i>	Sdia	なし	摘み取り食
<i>Tropheus moorii</i>	Tmoo	あり	摘み取り食
Eretmodini			
<i>Eretmodus cyanostictus</i>	Ecya	なし	削り取り食

4. 研究成果

タンガニカ湖の藻食性シクリッドの藻園と、胃内容のメタゲノミクス解析の結果、計 74,992 リードのシーケンスを得た。一サンプルあたり 112 ± 65 (平均 \pm 標準偏差) の OTU (3% dissimilarity) が見つかった。出現した生物の系統は計 32 門からなり、プロテオバクテリア門が 603OTU と約 25% を占め、優占していた。光合成生物ではシアノバクテリア門が 203OTU、クロロフレクサス門が 136OTU、続いて主に珪藻類からなる不等毛植物門が 71OTU と多かった。藻園からは光合成生物としては、シアノバクテリア門のネンジュモ目や、シアノバクテリアと考えられるが類似配列が知られていないものがシクリッドの種を超えて優占しており、一方真核藻類では、緑藻のカモジシオグサや珪藻が優占していることが分かった (図 1)。またどの種のシクリッドの藻園も稀な OTU (リード数にして 5% にも満たない) が大半を占めていた。胃内容を見ると、シアノバクテリア門のネンジュモ類と珪藻類が、多くのシクリッドで共通してみられた (図 2)。一方、藻園内で多くみられた緑藻類のカモジシオグサは、胃内容にはほとんど見られず、特に梳き取り食者にはほとんど利用されていないことが分かった。シクリッド種間や、食性間で藻園の藻類組成、胃内容物組成を比較すると、食性

間よりも、同じ食性をもつ種間で変異が大きかった。これらの解析により、タンガニカの藻食シクリッドは、藻園内に極めて多様な、9 門に亘る光合成生物を行う生産者を持つことが分かった。胃内容分析の結果、これらのうち、シアノバクテリア類と珪藻類を主な餌としていると考えられる。また DNA の塩基配列レベルで微小な藻類を種レベルで分類することで、同じギルドに属する種間でも、防衛する資源や、その利用が異なることが分かった。さらなる解析により、このシクリッド類と、シアノバクテリアや藻類という一次生産者との間の、種特異性などのネットワーク構造が明らかになると期待できる。

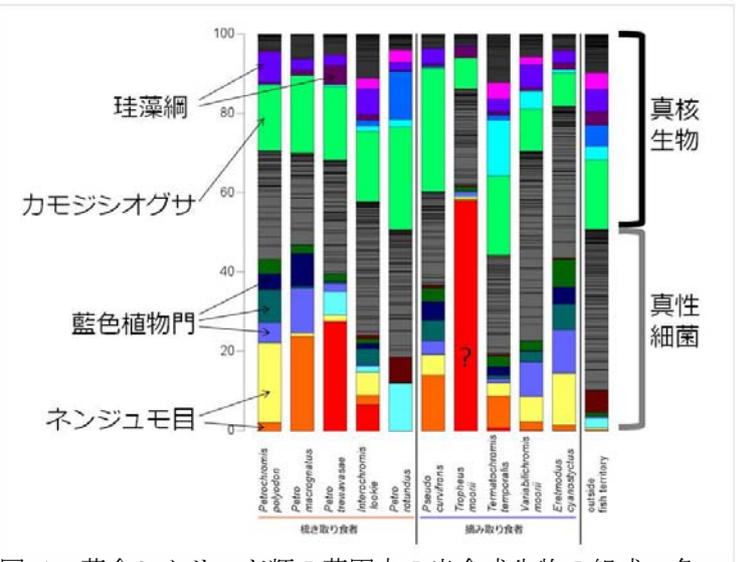


図 1. 藻食シクリッド類の藻園内の光合成生物の組成。色がついている OUT はリード数にして 5% を超える各藻園内で優占するもの。

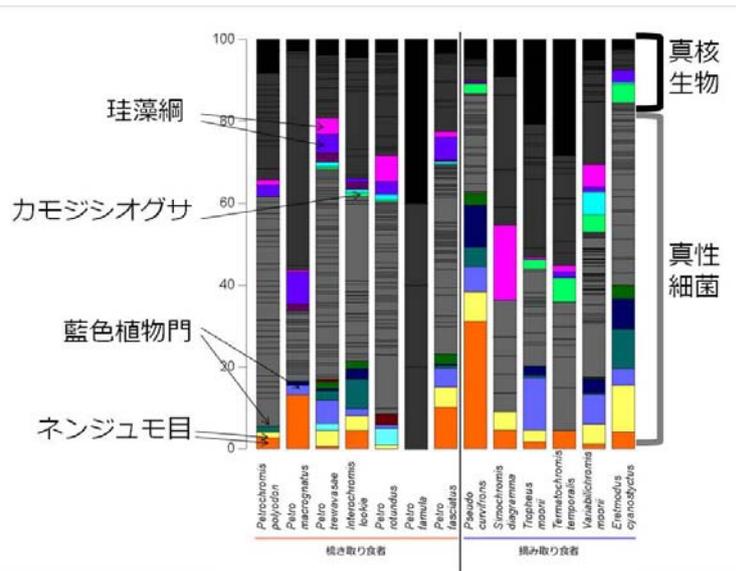


図 2. 藻食シクリッド類の胃内容に含まれる光合成生物の組成。色がついている OUT は図 1 と同じ。

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 5 件)

- ① Hata, H., I. Hirabayashi, H. Hamaoka, Y. Mukai, K. Omori, H. Fukami. 2013. Species-diverse coral communities on an artificial substrate at a tuna farm in Amami, Japan. *Marine Environmental Research* 85: 45-53. 査読有り. DOI: 10.1016/j.marenvres.2012.12.009
- ② Hata, H. & M. Hori. 2012. Inheritance patterns of morphological laterality in mouth opening of zebrafish, *Danio rerio*. *Laterality: Asymmetries of Body, Brain and Cognition* 17: 741-754. 査読有り. DOI: 10.1080/1357650X.2011.626563
- ③ Hata H., R. Takahashi, H. Ashiwa, S. Awata, T. Takeyama, M. Kohda, M. Hori. 2012. Inheritance patterns of lateral dimorphism examined by breeding experiments with the Tanganyikan cichlid (*Julidochromis transcriptus*) and the Japanese Medaka (*Oryzias latipes*). *Zoological Science* 29: 49-53. 査読有り. DOI: 10.2108/zsj.29.49
- ④ Hata, H., M. Yasugi & M. Hori. 2011. Jaw laterality and related handedness in the hunting behavior of a scale-eating characin, *Exodon paradoxus*. *PLoS ONE* 6: e29349. 査読有り. DOI: 10.1371/journal.pone.0029349
- ⑤ Hata, H., Y. Umezawa. 2011. Food habits of the farmer damselfish *Stegastes nigricans* inferred by stomach content, stable isotope, and fatty acid composition analyses. *Ecological Research* 26: 809-818. 査読有り. DOI: 10.1007/s11284-011-0840-5

[学会発表] (計 6 件)

- ① 畑啓生、田辺晶史、山本哲史、大久保智司、東樹宏和、宮下英明、幸田正典、堀道雄。タンガニイカ湖のなわばり性藻食シクリッド類の多種共存：メタゲノミクス解析を用いたシクリッド類の藻食性における特殊化と種間の多様化の解明。日本生態学会第 60 回大会。2013 年 3 月 7 日。静岡県コンベンションアーツセンター。
- ② 畑啓生、平林勲、日比野紘大、向井良夫、深見裕伸。奄美大島のクロマグロ養殖場の人工基盤上に形成された種多様性の高いサンゴ群集。日本生態学会第 59 回大会。2012

年 3 月 19 日。龍谷大学。

- ③ 大久保智司、石川輝、畑啓生、宮下英明。環境中から新たに分離したクロロフィル f 産生シアノバクテリアの多様性。ラン藻の分子生物学。2011 年 12 月 2 日。かずさアカデミアホール
- ④ 大久保智司、石川輝、畑啓生、宮下英明。近赤外光培養によって分離されたクロロフィル f 産生シアノバクテリアの多様性。日本微生物生態学会第 27 回大会。2011 年 10 月 8 日。京都大学
- ⑤ 畑啓生、柴田淳也、大森浩二、幸田正典、堀道雄。安定同位体分析からみたタンガニイカ湖藻食性シクリッドの餌資源分割。日本進化学会第 13 回大会。2011 年 7 月 31 日。京都大学
- ⑥ 畑啓生、八杉公基、堀道雄。鱗食カラシンの左右性：顎形態の左右非対称性と対応する捕食行動の利き。日本進化学会第 12 回大会。2010 年 8 月 3 日。東京工業大学

6. 研究組織

(1) 研究代表者

畑 啓生 (HIROKI HATA)

愛媛大学・大学院理工学研究科・助教

研究者番号：00510512