

原著論文

DNAバーコーディングを用いた伊豆諸島における サザエ消化管内容物中の微細海藻片の同定

飯島純一*1・高瀬智洋*2

Identifying the main forage algal species of horned turban *Turbo sazae* from the Izu Islands using DNA barcoding

Junichi IJIMA and Tomohiro TAKASE

An attempt was made to identify forage algal species of the horned turban *Turbo sazae* from four sea areas of the Izu islands by DNA barcoding to test homology in the *cytochrome c oxidase subunit I (COXI)* gene in the mtDNA from fractions of seaweeds in the gut contents of the horned turban. The *COXI* of one of the four dominant algal species in the gut contents showed complete homology to that of *Gelidium elegans* registered in the National Center for Biotechnology Information (NCBI) GenBank; thus it was identified just according to the homology of the gene. The other three forage species, whose genes were not available in GenBank, could not be identified using gene homology. However, the analysis results demonstrated that the species from the gut contents and dominant algal species from the habitats of the horned turban belonged to the same families and therefore it appears possible to determine more general taxonomic categories such as families of species by NCBI Mega Basic Local Alignment Search Tool using *COXI*.

キーワード：サザエ, 消化管内容物, DNAバーコーディング
2017年3月1日受付 2019年1月10日受理

東京都の伊豆諸島御蔵島以北の海域において、サザエ *Turbo sazae* はアワビ類 *Haliotis* spp. やイセエビ類 *Panulirus* spp. と並び磯根の重要な漁業対象種である。そこで東京都では人工種苗放流によるサザエ増殖事業を2000年から継続して行っている。葎矢ら(1986)はサザエ種苗の生残や成長は、放流する場所により大きく異なるとしていることから、サザエの種苗放流による増殖事業を行うにあたり、放流適地を選定することは重要である。

サザエ種苗の生残や成長は放流時の殻高や放流時期(伊藤・太刀山1994)、放流場所周辺の海藻植生などの生物学的要因や放流する水深、波浪の状況などの物理学的要因といった様々な要因(葎矢ら1986)が相互に影響

し合っており、統一的な基準でサザエの放流適地を見つけることは難しい。そのため、サザエの放流適地を見つけるためには、放流する海域ごとに調査を行い、その海域における適正な環境条件を探す必要がある。特にサザエの餌料となる海藻の植生については、放流する海域で大きく異なっているため、放流する海域ごとにサザエの摂餌生態を把握し、生残や成長に適した海藻植生を探す必要がある。そこで各県の水産試験場職員や放流を行う漁協の職員においては、技術の熟練度や経験の有無に左右されない調査手法の開発が求められている。

天然海域でのサザエ摂餌生態に関して、葎矢ら(1987b)が京都府青島地先におけるサザエの食性を、山川・林(2004)が新潟県粟島地先におけるサザエの消化管内容

*1 東京都産業労働局農林水産部水産課
〒163-8001 東京都新宿区西新宿2丁目8番1号
Tokyo Metropolitan Government Bureau of Industrial and Labor Affairs Fishery Section, 2-8-1, Nishishinjuku, Shinjuku-ku, Tokyo 163-8001, Japan
Junichi_Iijima@member.metro.tokyo.jp

*2 東京都鳥しょ農林水産総合センター振興企画室

物と周辺の高藻植生との関係を報告しているが、これらの報告の前提としてサザエの消化管内容物中の藻類の同定は必須の作業となっている。しかし、サザエ消化管内の高藻片は微細であり、形態と色調から仕分けて大まかな分類は可能であるが、高藻によっては細胞組織の構造や生殖器官の形態確認が必要になるなど、種までの同定には熟練した技術や知識が必要になる。しかしながら、現実的にはその同定作業を行う人的資源に乏しい。

近年、特定の遺伝子のDNA塩基配列を指標に機器分析による生物種の同定を行う手法としてDNAバーコーディングが提唱されている。これまで、荒見ら(2011)が市販されている切り身や加熱加工された水産加工品などを対象に、*COX1*領域を用いたNCBI(National Center for Biotechnology Information)のBLAST検索を行い、31検体中30検体を判別できたとしているほか、河合ら(2017)は広島湾における魚類分離浮遊卵を対象に*COX1*領域を用いたNCBIのBLAST検索を行い、572個の魚卵から20種を同定している。また、魚類の食性調査ではハナミノカサゴ *Pterois volitans* の消化管内容物を対象に*COX1*領域に注目し、BOLD(Barcode of Life Data System)のGenbankデータベースを用いて、テンジクダイ科魚類 *Apogonidae* spp. やハゼ科魚類 *Gobiidae* spp. など34種を同定したことが報告されている(Isabelle et al. 2013)。このように魚類においてもDNAバーコーディングの手法を用いた種同定が行われている。

その一方で、DNAバーコーディングを利用した植食性動物の食性解析の研究事例は、松木ら(2008)がノウサギ *Lepus brachyurus* やカモシカ *Capricornis crispus*、ヤマドリ *Syrnaticus soemmerringii* の糞から食性を解析しているが、海産植食性動物の食性解析を行った研究事例は見当たらない。

そこで、本報告では熟練した技術や経験が必要な微細高藻片の同定について、簡便な同定法の開発を目指し、DNAバーコーディングによるサザエ消化管内容物中の優占微細高藻片の種同定を試みた。

材料と方法

サザエの採集と周辺の高藻植生調査 2014年7月23日、10月20日、9月17日、10月30日にそれぞれ伊豆大島の南東(カキハラ地先)の水深約18mの自然石投石漁場、利島の南(亀石地先)の水深約18mの自然石投石漁場、式根島の南(御釜湾地先)の水深約17mの自然石投石漁場および三宅島の東(アラキ地先)の水深約1mの天然岩礁漁場において(図1)試料を採集した。試料はスクーバ潜水を行い、付近に生息していたサザエを採集した。サザエは伊豆大島で8個体、利島で16個体、式根島で11個体、三宅島で30個体採集した。

さらにサザエを採集した周辺の海底に1×1m(ただし、三宅島では1×0.5m)の方形枠を設置し、枠内に生育し

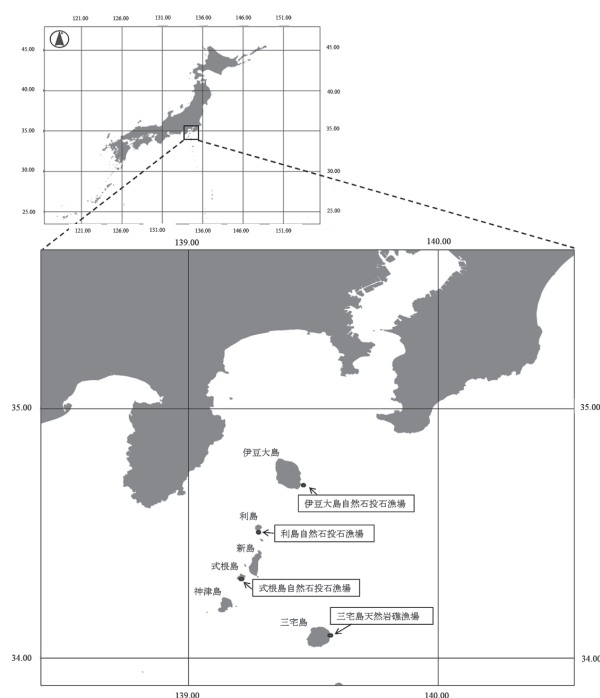


図1. 試験海域の位置

ている高藻を素手で採集した。採集したサザエと高藻は実験室に持ち帰り、高藻は市販の洗濯機の脱水機能を用いて5分間脱水し、種類別に湿重量を測定した。湿重量が一番大きかった高藻種をその海域における優占高藻種とした。また、サザエは消化管内容物の仕分けに供した。

消化管内容物の分類と内容物中の優占高藻種の決定
実験室に持ち帰ったサザエは、殻高と重量を測定後、殻を割って軟体部を取り出し、解剖ばさみと葉さじを用いて個体毎に消化管内容物をシャーレ(直径90mm)上にかき出した。シャーレ上の消化管内容物は多種類の高藻片であり実体顕微鏡を用いて色調と形態から同一種と考えられる高藻片別に仕分けした。なお、仕分けされた高藻片が同一種であるかの確認を一次仕分け人とは別人により行った。仕分けした高藻片は一辺5mmの方形マスが印字されたシャーレ(直径60mm)に移し高藻片同士が重ならないよう広げ、占有したシャーレのマス目の個数を数えて、その高藻種の消化管内容物量とし、個体毎に消化管内容物の高藻種別占有率を求めた。仕分けしたサザエ消化管内容物の高藻種の内、各採集地点での個体別占有率の平均が50%を超えた高藻種1種類をその採集地におけるサザエ消化管内容物中の優占高藻種とし(図2 伊豆大島: 紅藻A, 利島: 紅藻D, 式根島: 紅藻F, 三宅島: 紅藻H), DNA抽出に供した。

DNAバーコーディングに用いた遺伝子領域およびデータベースの選定 サザエの消化管内容物中の優占高藻種を同定するにあたり、遺伝子の対象領域については、藤田(2003)が、サザエは紅藻類のマクサ *Gelidium elegans* の重要な食害生物としていること、および東京都(1974)が伊豆諸島はマクサの主要な産地としている



図2. 各海域のサザエ消化管内容物
() はサザエの採集された場所 (図1) を示す。なお、方形マスの大きさは5×5mmである。

ことから、伊豆諸島におけるサザエの主餌料は紅藻類のマクサである可能性が高いと考えられた。そこで、紅藻類でDNAバーコーディングの実績があったCOXI領域 (Sherwood *et al.* 2010, Saunders 2005) を選択した。

また、データベースについては荒見ら (2011) や河合ら (2017) がNCBIのデータベースを使用していること、およびマクサのCOXI領域のデータ数が多いためNCBIのデータベースを使用した。

DNAの抽出およびmtDNA COXI領域遺伝子の相同性解析 DNAの抽出は各海域におけるサザエ消化管内容物の中で最も占有率の高い海藻片を、その海域におけるサザエ消化管内容物中の優占海藻種として、分析に供した。優占種毎に多数の海藻片の中から1つの海藻片 (湿重量2~9mg) を選び、ハサミで裁断し、Maxwell 16 automated system (プロメガ社製) のPurification Kit AS1030によりDNAの抽出を行った。その後、COXI領域において紅藻綱テングサ目テングサ科マクサの遺伝解析で使用されたプライマーCOXI 43F- COXI 1549R (Kim *et al.* 2012) を用い、PCR法によりmtDNAのCOXI領域を増幅した。得られた増幅産物について、(株)ユーロフィンジェノミクスにテンプレート調整を含むDNAダイレクトシーケンス分析を委託し、COXI遺伝子の部分塩基配列を分析した。シーケンス分析結果をMEGA6.06にて

アライメント処理し、各検体のmtDNA COXI領域の部分塩基配列約1500bpを確定した。その後、確定した塩基配列を基にNCBIのmegablast検索サービスサイトにより最も相同性の高い海藻種を検索した。

結 果

サザエ消化管内容物の仕分け 消化管内容物の仕分けについて、一次仕分け人と別人による海藻片の分類結果は一致した。

各海域で採集されたサザエの殻高、重量および消化管内容物の組成を表1に示した。伊豆大島から採集されたサザエは平均殻高85.8mm、平均重量159.8gであった。消化管内容物の海藻種は11種に仕分けられたが、紅藻A~C、褐藻A、褐藻Bおよび石灰藻以外の海藻はいずれも微量であったため、その他にまとめた。全個体の消化管内容物平均占有率は紅藻Aが86.4%、紅藻Bが2.7%、紅藻Cが1.6%、褐藻Aが2.5%、褐藻Bが0.9%、石灰藻が2.5%、その他が3.4%であった。

利島から採集されたサザエは平均殻高116.2mm、平均重量455.4gであった。消化管内容物は、9種に仕分けられたが、紅藻D、E、褐藻C、Dおよび石灰藻以外の海藻はいずれも微量であったため、その他にまとめた。

表1. 各海域で採集されたサザエの殻高、重量および消化管内容物の組成
表中の下線は消化管内容物中に確認された海藻種の内、優占海藻種を示す。

	伊豆大島 (N = 8)		利島 (N = 16)		式根島 (N = 11)		三宅島 (N = 30)	
	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差
殻高 (mm)	85.8	17.4	116.2	10.1	77.9	27.4	57.9	13.3
重量 (g)	159.8	73.6	455.4	117.6	140.7	115.7	64.3	38.2
	消化管内容物中の海藻種別占有率 (%)							
	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差
紅藻A	<u>86.4</u>	11.1						
紅藻B	2.7	5.0						
紅藻C	1.6	4.6						
紅藻D			<u>52.0</u>	21.9				
紅藻E			6.8	17.4				
紅藻F					<u>83.0</u>	13.5		
紅藻G					6.5	9.0		
紅藻H							<u>90.9</u>	11.1
紅藻I							3.9	10.8
褐藻A	2.5	2.9						
褐藻B	0.9	2.7						
褐藻C			2.3	6.2				
褐藻D			1.7	3.7				
褐藻E					1.8	3.1		
褐藻F					2.0	4.4		
石灰藻	2.5	3.0	35.2	25.6	3.3	5.6	3.8	4.3
その他	3.4	2.4	2.0	4.8	3.4	3.5	1.4	2.6

全個体の消化管内容物平均占有率は紅藻Dが52.0%、紅藻Eが6.8%、褐藻Cが2.3%、褐藻Dが1.7%、石灰藻が35.2%、その他が2.0%であった。

式根島から採集されたサザエは平均殻高77.9mm、平均重量140.7gであった。消化管内容物は13種に仕分けられたが、紅藻F、G、褐藻E、Fおよび石灰藻以外の海藻種はいずれも微量であったため、その他にまとめた。全個体の消化管内容物平均占有率は紅藻Fが83.0%、紅藻Gが6.5%、褐藻Eが1.8%、褐藻Fが2.0%、石灰藻が3.3%、その他が3.4%であった。

三宅島から採集されたサザエは平均殻高57.9mm、平均重量64.3gであった。消化管内容物は8種に仕分けられたが、紅藻H、Iおよび石灰藻以外の海藻種はいずれも微量であったため、その他にまとめた。全個体の消化管内容物平均占有率は紅藻Hが90.9%、紅藻Iが3.9%、石灰藻が3.8%、その他が1.4%であった。

これらの結果から伊豆大島では紅藻Aを、利島では紅藻Dを、式根島では紅藻Fを、三宅島では紅藻Hをそれぞれの採集地点におけるサザエ消化管内容物中の優占海藻種とした。

各島における海藻植生調査 伊豆大島、利島、式根島、三宅島の各漁場に設置した方形枠内から採集された海藻種と重量および海藻種ごとのCOXI領域遺伝子情報のNCBIデータベースのGenBank登録の有無を表2に示した。伊豆大島の自然石投石漁場に設置した方形枠内からは10種の海藻が確認され、内4種はCOXI領域遺伝子情報が登録されていた。最も優占した海藻種は紅藻綱であるテングサ科のマクサであり、次いで紅藻綱サンゴモ科のカニノテ *Amphiroa dilatata* が優占していた。利島の自

然石投石漁場に設置した方形枠内からは3種の海藻が確認され、内1種はCOXI領域遺伝子情報が登録されていた。優占種は紅藻綱ムカデノリ科のヒラキントキ *Prionitis patens* であり、その他の海藻は僅かであった。式根島の自然石投石漁場に設置した方形枠内からは8種の海藻が確認され、内3種はCOXI領域遺伝子情報が登録されていた。最も優占した海藻種は紅藻綱テングサ科のヒラクサ *Ptilophora subcostata* であり、次いで紅藻綱ムカデノリ科のヒラキントキが優占していた。三宅島のアラキ天然岩礁漁場に設置した方形枠内からは5種の海藻が確認され、内3種はCOXI領域遺伝子情報が登録されていた。最も優占した海藻種は紅藻綱オキツノリ科のハリガネ *Ahnfeltiopsis paradoxa* であり、次いでユカリ *Plocamium telfairiae* であった。

海藻片 COXI 領域遺伝子の相同性解析 伊豆大島、利島、式根島、三宅島より採集されたサザエ消化管内容物中の優占種の海藻片から得られたPCR産物のゲル電気泳動結果を図3に示した。各海藻片からはそれぞれ約1500bp付近に明瞭なバンドが出現し、COXI領域が増幅されていることを確認した。各海藻片のmegablast検索結果を表3に示した。伊豆大島の投石漁場より採集されたサザエ消化管内容物中の優占種（紅藻A）はテングサ科のマクサ（Accession number：JN605781）と最も相同性が高かった（相同性100%）。利島の自然石投石漁場より採集されたサザエ消化管内容物中の優占種（紅藻D）はムカデノリ科の *Yonagunia zollingeri*（Accession number：JX62744）と最も相同性が高かった（相同性98%）。式根島の自然石投石漁場より採集されたサザエ消化管内容物中の優占種（紅藻F）はテングサ科のハイテングサ

表2. 各海域における海藻植生調査結果
表中の登録の有無は確認された海藻種についてのNCBIのGenBankにおける登録の有無を示す。

採集場所	採集年月日	綱	科	標準和名	学名	重量 (g/m ²)	登録の有無
伊豆大島カキハラ地先	2014年7月23日	緑藻	イワツタ科	キザミヅタ	<i>Caulerpa subserrata</i>	7.8	無
		褐藻	アミジグサ科	コモングサ	<i>Spatoglossum pacificum</i>	4.7	無
		紅藻	テングサ科	マクサ	<i>Gelidium elegans</i>	309.2	有
			サンゴモ科	カニノテ	<i>Amphiroa dilatata</i>	235.2	無
			カギノリ科	タマイタダキ	<i>Delisea japonica</i>	39.5	無
			ミリン科	トサカノリ	<i>Meristotheca papulosa</i>	10.9	無
			テングサ科	オバクサ	<i>Pterocladia tenuis</i>	7.5	有
			カヤモノリ科	セイヨウハバノリ	<i>Petalonia fascia</i>	3.9	有
			テングサ科	オオブサ	<i>Gelidium pacificum</i>	3.9	有
			ムカデノリ科	トサカマツ	<i>Prionitis crispata</i>	3.3	無
利島亀石地先	2014年10月20日	紅藻	ムカデノリ科	ヒラキントキ	<i>Grateloupia patens</i>	309.0	無
			ユカリ科	ユカリ	<i>Plocamium telfairiae</i>	0.1	有
			カギノリ科	タマイタダキ	<i>Delisea japonica</i>	-	無
		褐藻	アミジグサ科	シマオウギ	<i>Zonaria diesingiana</i>	17.7	有
式根島御釜湾地先	2014年9月17日	紅藻	テングサ科	ヒラクサ	<i>Ptilophora subcostata</i>	140.1	無
			ムカデノリ科	ヒラキントキ	<i>Grateloupia patens</i>	100.8	無
			カギノリ科	タマイタダキ	<i>Delisea japonica</i>	54.9	無
			ミリン科	トサカノリ	<i>Meristotheca papulosa</i>	29.9	無
			ムカデノリ科	キントキ	<i>Grateloupia angusta</i>	16.2	無
			カギノリ科	カギケノリ	<i>Asparagopsis taxiformis</i>	6.6	有
			テングサ科	オバクサ	<i>Pterocladia tenuis</i>	0.6	有
			オキツノリ科	ハリガネ	<i>Ahnfeltiopsis paradoxa</i>	141.7	無
三宅島アラキ地先	2014年10月30日	紅藻	ユカリ科	ユカリ	<i>Plocamium telfairiae</i>	14.9	有
			テングサ科	オバクサ	<i>Pterocladia tenuis</i>	8.6	有
			ムカデノリ科	トサカマツ	<i>Prionitis crispata</i>	4.2	無
			テングサ科	オオブサ	<i>Gelidium pacificum</i>	1.4	有

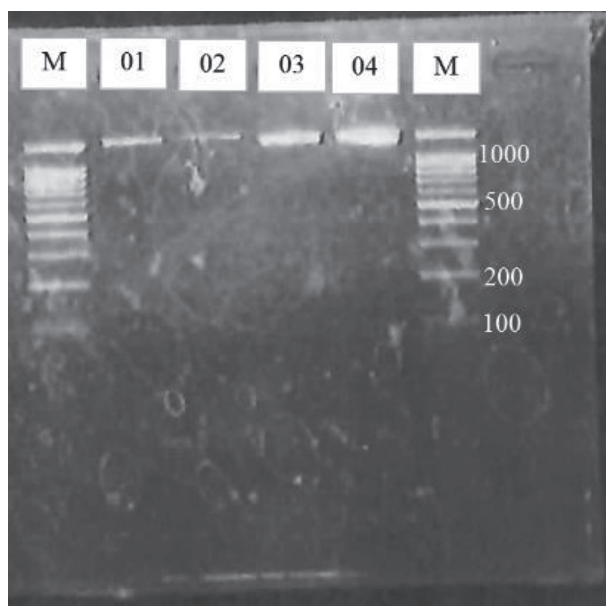


図3. COXI 領域遺伝子の増幅を目的とした特異的プライマーを用いた海藻片 PCR 産物のゲル電気泳動結果
M : DNA 分子マーカー
01 : 伊豆大島サザエ消化管内容物, 02 : 利島サザエ消化管内容物
03 : 式根島サザエ消化管内容物, 04 : 三宅島サザエ消化管内容物

Gelidium pusillum (Accession number : HM629872) と最も相関性が高かった (相関性 85%)。三宅島の天然岩礁漁場より採集されたサザエ消化管内容物中の優占種 (紅藻 H) はオキツノリ科の *Besa papillaeformis* (Accession

number : GC380033) と最も相関性が高かった (相関性 95%)。

各採集地点において方形枠内で優占した海藻種と消化管内容物中の優占海藻種の相関性解析の結果を比較すると、伊豆大島ではともにテングサ科のマクサであったが、利島では、ムカデノリ科のヒラキントキと *Y. zollingeri*、式根島ではテングサ科のヒラクサとハイテングサ、そして三宅島ではオキツノリ科のハリガネと *Besa papillaeformis* と伊豆大島では種まで一致し、他島では科までは一致したが、種では不一致であった。

考 察

手賀ら (2016) は稚アオリイカの消化管内容物について、mtDNA の 16S rDNA において NCBI の BLAST 検索を用いて相関性解析を行い、相関性 99.7% 以上で同一種と判断している。対象生物や解析領域は本研究と異なるものの、本研究でも手賀ら (2016) の判断基準である相関性 99.7% 以上を同一種の判断基準とすると、伊豆大島のサザエ消化管内容物の優占海藻種である紅藻 A は、マクサと相関性が 100% であったことよりマクサと判断される。マクサは NCBI の GenBank に COXI 領域遺伝子情報が 2016 年 6 月時点で 39 件登録されており、高い相関性での種同定が可能であったと考えられた。

その一方で、利島、式根島、三宅島で採集したサザエの消化管内容物中の優占海藻種それぞれ紅藻 D、紅藻 F、

表3. サザエ消化管内容物中の優占海藻種の種同定結果

検体		megablast 検索結果				備考
採取場所	種類	海藻種	標準和名	Accession No.	相同性 (%)	
伊豆大島	紅藻 A	<i>Gelidium elegans</i>	マクサ	JN605781	100	テングサ科
利島	紅藻 D	<i>Yonagunia zollingeri</i>	和名無し	JX62744	98	ムカデノリ科
式根島	紅藻 F	<i>Gelidium pusillum</i>	ハイテングサ	HM629872	85	テングサ科
三宅島	紅藻 H	<i>Besa papillaeformis</i>	和名無し	GC380033	95	オキツノリ科

紅藻 H については、相同性が98%, 85%, 95%と、伊豆大島の結果と比べると低く、明らかにマクサでないことは分かったが、その結果をもって種の同定結果とするのは難しかった。植生調査の結果からは、4島で17種の海藻が確認されたものの、*COX1* 領域遺伝子が登録されているのは7種と少なく（表2）、相同性解析の結果をもって、種の同定とする判断には至らなかった。ただし、相同性検索は、登録されている中で最も類似するものを示しており、例えば、ある種が登録されていなくても科の同定ならば、登録数も増え十分に利用可能と考えられる。つまり利島のサザエの消化管内容物で最も優占していた海藻はムカデノリ科、式根島ではテングサ科、そして三宅島ではオキツノリ科の海藻であると推定された。

周囲の海藻植生とサザエ消化管内容物の関係について、西岡・大橋（1977）および葭矢（1990）は周囲に優占する海藻と消化管内容物中の優占種は一致し、サザエは周囲に生えている海藻を主に食べるとしていることから、生息場所周辺に生えている海藻を食べることはサザエの一般的な摂餌特性と言える。今回のDNAバーコーディングの結果では、伊豆大島においては消化管内容物の種同定結果と周囲で優占していた海藻は一致した。また、利島、式根島、三宅島においては消化管内容物中の海藻片の種同定結果と周囲で優占していた海藻種は種の段階では一致しなかったが、科の段階までは一致した。このことから、消化管内容物中の微細な海藻片であっても *COX1* 領域を用いたNCBIのmegablast検索で、科の段階までは絞り込めると考えられた。

その一方、DNAバーコーディング法を用いて、消化管内容物を種の段階まで同定するには、比較する遺伝子領域や検索するライブラリの選定に課題が残る。川井ら（2010）は鉄鉱石輸送船の船底に付着した藻類の核ITS領域を用いてDDBJ DNA塩基配列データベースおよび自身の研究で得られた様々な海藻類のDNA塩基配列情報をもとに23種の微細藻類を同定している。また、松木ら（2008）は葉緑体DNAの*rbcL*領域を用いて、独自に構築したデータベースよりノウサギの糞から餌植物を特定している。これらのことから、微細な海藻類であっても適切な遺伝子領域とデータベースを選択すれば、DNAバーコーディング法を用いて種の段階まで同定することが可能と考えられる。例えば、DDBJ DNA塩基配列データベースには2018年4月25日時点で、本報告における植生調査で確認された17種類の海藻のうち、*COX1* 領域の登録がある種は7種であったが、葉緑体

DNAの*rbcL*領域の登録がある種は15種であった。このため、本報告においては海藻の*rbcL*領域に焦点を当て、DDBJ DNA塩基配列データベースを用いれば、より精度の高い同定が可能であったと考えられる。

DNAバーコーディングによる海藻種の同定は形態や色調から同定が困難な微細海藻片の同定において、高度な知識ならびに豊富な経験に頼る必要がなく、PCR反応と塩基配列分析および相同性解析という簡便な手法により行うことができる利点がある。一方、塩基配列の種間変異が小さい場合や種内変異が大きい場合には塩基配列の類似性だけでは正確に同定することが難しく、さらに塩基配列のデータベースへの登録が無い種については同定が不可能である（神保ら2008）ことから、DNAバーコーディングのみに頼った微細海藻片の同定には限界があると考えられる。今後、従来用いられてきた色調や形態の情報や周囲の海藻植生の情報と、今回用いたDNAバーコーディング法を組み合わせることで、知識や技術が不足している人でも消化管内容物中の微細な海藻片を種の段階まで同定することが可能になると考えられる。さらに、信頼性の高いデータを得るため、海藻植生調査において確認できた種については自身でDNAのシークエンスを行い、塩基配列をデータベースに登録する必要もあると考えられる。

伊豆諸島におけるサザエの摂餌生態について、消化管内容物中の優占海藻種と、周囲で優占的に生えていた海藻種が一致したことから、伊豆諸島においてもサザエは周辺に生えている海藻を主に摂餌していることが分かった。ただし、葭矢ら（1987a）は、放流したサザエ種苗の成長は周囲の餌料環境と密接に関係しており、テングサ類が優占する水域での成長はホンダワラ類や有節サンゴモ類などが優占する水域と比較して非常に良かったとしている。このことから、周囲の海藻を食べているからといって、その場所がサザエの放流に適しているとは限らない。また、伊藤・深川（1993）は、サザエは餌料を求めて盛んに移動すると報告している。このような報告を受け、今後、種苗放流を行うに当たり周囲の海藻植生から、放流適地を判断するには天然海域における餌料選択性を評価するほか、様々な餌料環境において成長や増殖性を評価していく必要があると考えられる。

また、Lasse *et al.*（2010）はヨーロッパウナギ *Anguilla anguilla* の消化管内容物について、18S rRNA メタゲノム解析を用いて61匹のヨーロッパウナギ幼生のうち42匹の消化管内容物からヒドロ虫綱や多泡綱など多種類の海

生プランクトンのDNAを検出している。このようなメタゲノム解析を用いれば、天然海域におけるサザエの稚貝の消化管内容物を同定でき、摂餌生態を解明できる可能性がある。

DNA バーコーディング法を用いた種の同定法は、各成長段階別でのサザエの食性を把握することも可能と考えられ、今後サザエの餌料選択性や蝸集性を調べるうえで有効なツールに成りうると考えられる。

謝 辞

本研究の実施にあたり、東京都島しょ農林水産総合センター大島事業所の職員各位および漁業調査指導船「かもめ」船長向山常比古氏には潜水作業および測定作業にご協力いただいた。また、本論文を校閲していただいた元東京都小笠原水産センター工藤真弘所長に深く感謝する。

文 献

- 荒見真一郎・佐藤恵美・布藤 聡 (2011) DNA バーコードの魚種同定への適用性. 食衛誌, **3**, 205 - 210.
- 藤田大介 (2003) 藻場の海藻と造成技術. 成山堂書店, 東京. pp. 145 - 160.
- Isabelle MC, Stephanie JG, James AM, John LA, Dirk S (2013) Diet richness of invasive Indo-Pacific lionfish revealed by DNA barcoding. *Mar Ecol Prog Ser.*, **472**, 249 - 256.
- 伊藤輝昭・深川敦平 (1993) 築前海におけるサザエの成長と移動. 福岡水技研報, **1**, 137 - 144.
- 伊藤輝昭・太刀山透 (1994) サザエ人工種苗の放流手法. 福岡水技研報, **2**, 59 - 66.
- 神保宇嗣・吉武 啓・伊藤元己 (2008) DNA バーコーディングによる同定支援システムとJBOLI構想. 日本生態学会誌, **58**, 123 - 130.
- 川井浩史・羽生田岳昭・岡村秀雄・河地正伸・功刀正行・出村幹英 (2010) 遺伝子マーカーを用いた船体付着藻類の多様性解析と、防汚塗料の違いが付着藻類の種組成に及ぼす影響について. 日本マリンエンジニアリング学会誌, **45** (3), 86 - 90.
- 河合賢太郎・岡崎隆真・菅野哲史・海野徹也 (2017) DNA種同定による広島湾における分離浮遊卵の季節変化. 日水誌, **83**, 215 - 217.
- Kim KM, Galice G, Sung MB (2012) Genetic structure and distribution of *Gelidium elegans* (Gelidiales, Rhodophyta) in Korea based on mitochondrial *cox1* sequence data. *Aquat. Bot.*, **98**, 27 - 33.
- Lasse R, Hanna A, Michael MH, Thomas DA, Torkel GN, Peter M, Kim A, Gregory EM, Henrik S, Michael LP, Mirjam B, Martin C (2010) Qualitative assessment of the diet of European eel larvae in the Sargasso Sea resolved by DNA barcoding. *Biol. Lett.*, **6** (6), 819 - 822.
- 松木吏弓・阿部聖哉・島野光司・竹内 享・梨本 真 (2008) 植物 *rbcL* 遺伝子データベースの構築と植食性動物の食性解析への適用. 日本生態学会誌, **58**, 105 - 112.
- 西岡 純・大橋 徹 (1977) 磯地先におけるサザエの餌料環境について (資料). 京都海洋セ研報, **1**, 134 - 165.
- Saunders GW (2005) Applying DNA barcoding to red macroalgae: a preliminary appraisal holds promise for future applications. *Philos. Trans. R. Soc. Lond., B, Biol. Sci.*, **360**, 1889 - 1895.
- Sherwood AR, Kurihara A, Conklin KY, Sauvage T, Presting GG (2010) The Hawaiian Rhodophyta biodiversity survey (2006 - 2010) : a summary of principal findings. *BMC Plant Biol.*, **10**: Article No. 258.
- 手賀太郎・丹羽健太郎・張 成年 (2016) PNAクラッピングを用いたヒラメ稚魚と稚アオリイカにおける食性解析の試み. 日水誌, **82**, 102 - 111.
- 東京都 (東京都水産試験場) (1974) 伊豆諸島におけるテングサ漁業の最近の動向について. pp. 1 - 3.
- 山川 紘・林 育夫 (2004) 新潟県粟島におけるサザエの消化管内容物と海藻植生の関係. 水産増殖, **52**, 57 - 63.
- 葭矢 護 (1990) サザエ増殖のための資源・漁場管理方法の開発. 京都海洋セ研報, **2**, 1 - 43.
- 葭矢 護・桑原昭彦・浜中雄一 (1987a) サザエ稚貝の成長と生残に及ぼす生息環境条件の影響. 日水誌, **53**, 239 - 247.
- 葭矢 護・桑原昭彦・浜中雄一・和田洋藏 (1987b) 京都府青島地先におけるサザエの食性. 日水誌, **53**, 1359 - 1366.
- 葭矢 護・和田洋藏・桑原昭彦・浜中雄一 (1986) 放流サザエの成長と生残. 日水誌, **52**, 41 - 47.

