

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 26 日現在

機関番号：32649

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K18599

研究課題名(和文) イシサンゴ目における2つの新亜目の設立：発生様式はサンゴの分類形質となりうるか

研究課題名(英文) Restructuring the Traditional Suborders in the Order Scleractinia Based on Embryogenetic Morphological Characteristics

研究代表者

大久保 奈弥 (Okubo, Nami)

東京経済大学・経済学部・准教授

研究者番号：50401576

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：受精後、刺胞動物に特徴的なハートの形から、サンゴの卵割は始まる。桑実胚の後、扁平胚を経て丸型胚となるが、その過程もしくはその後には原腸形成が起こり、二胚葉が形成される。そして、遊泳プラヌラ幼生となり、適当な基質を見つけて着底・変態し、ポリプとなる。これらイシサンゴ目の発生様式は、胞胚腔の有無により大きく2つに分かれ、原腸形成に関わる遺伝子の発現時期も2つの様式で異なることが分かってきた。また、イシサンゴ目の亜目に相当する2つのクレードの分類形質としても使えることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：The order Scleractinia includes two distinct groups, which are termed “complex” and “robust” as indicated by the molecular phylogeny of mitochondrial 16S ribosomal gene sequences. Since this discovery, coral taxonomists have been seeking morphological characters for grouping this deep division in the order Scleractinia. Recently, morphological characteristics during embryogenesis that facilitate grouping the two clades as “complex” and “robust” were reported, thus clarifying a deep division in the Scleractinia. In the present report, I establish two new suborders, Refertina and Vacatina, on the basis of the embryogenetic morphological characteristics, molecular data, and new observations of *Tubastraea coccinea* and *Cyphastrea serailia* embryogenesis. The new suborder Vacatina is composed of the families that fall into the “robust” clade and have an apparent blastocoel.

研究分野：サンゴ

キーワード：サンゴ 亜目 発生 系統

## 1. 研究開始当初の背景

刺胞動物門花虫綱イシサンゴ目は、分子系統解析の結果によると Robust と Complex という2つのサブグループに分かれる。しかし、サンゴの群体形や微細骨格の形態と、それら分子系統解析の結果には全く関係性が見られないことから、世界中で分類形質の探索が行われている。そのような中、申請者は偶然、イシサンゴ目の発生様式、特に胞胚腔の有無と、原腸形成の様式が、Robust と Complex に一致する可能性を見つけた。本研究では、イシサンゴ目の発生様式を形態と遺伝子発現の両面から調べ、発生様式がイシサンゴ目の分類形質となるか、また、分類形質となる場合には、上記のサブグループをイシサンゴ目の2つの新亜目として設立する。

## 2. 研究の目的

近年、刺胞動物門の分子系統解析が多く行われており、その中の花虫綱イシサンゴ目についてもmtCO1やrDNAの配列などから得られた様々な系統樹が発表されている。これらのコンセンサスとして、イシサンゴ目は、Complex と Robust という2つのサブグループ(亜目に相当)に分かれることが知られている(Romano and Palumbi 1996, Science, 他多数)。しかし、イシサンゴの群体形や骨格の微細形態と、これら2つのサブグループには全く関係性がみられず、サブグループの分かれ方がどのような形の差異に一致するのかは未だに不明であり、イシサンゴ目における最大の謎とされている(Kitahara et al. 2010)。

一方、申請者は研究生活を始めてからずっと、熱帯・亜熱帯に生息する造礁サンゴの種苗と移植苗による保全・増殖を目的として、様々なイシサンゴの産卵と発生様式を研究してきた(業績 1,2,4,7-16)。上記のサブグループで言えば、全21科のうち、Complex グループからは5科、Robust グループからは8科である(図1)。これら13科は、形態・遺伝的に多種多様なサンゴを保全するという目的で、イシサンゴ目の分子系統樹からまんべんなく選んできた。そして、研究を進めるにつれ、イシサンゴ目の発生様式が、胞胚腔の有無によって大きく2つのグループに分かれること(図2)また、その発生形態の差異が、イシサンゴ目において長年の謎であった Complex と Robust という分子系統樹で示された2つのサブグループに相当する可能性を発見した(業績3、図1)。

ここで、イシサンゴ目の発生様式について説明する。Complex グループのサンゴでは、桑実胚の後、えびせん胚と呼ばれる形(図2a)になる。その後、丸形の胚になる際(図2b,c)、移入や陥入が組み合わさって外胚葉と内胚葉が形成される(図2d)。一方、Robust グループのサンゴでは、えびせん胚に似た平たい胚(図2g)の後、丸形となる際に胞胚腔が形成され(図2h-j)。その後、明らかな陥入(図2k-m)により外胚葉と内胚葉が形成される(図2n)。過去の知見も全て、この2種類の発生様式に当てはまることが分かった(図1)。

従って、本研究では、「イシサンゴ目における2つの新亜目の設立：発生様式はサンゴの分類形質となりうるか」という包括的目標のもと、発生様式の不明な科の調査

Complex と Robust で胞胚期と原腸形成期に発現する遺伝子を比較 サンゴの分類体系、特に亜目について再構築 2つの新亜目の設立と論文投稿、を申請期間内に完了させる。

## 3. 研究の方法

イシサンゴ目の分類形質として発生様式を利用し、分子系統樹の結果と合わせて2つの新亜目が設立出来るかどうか、現時点で信頼性の高い Fukami et al. (2008)のグループ分け(表2)に沿って、発生形態を調べる。論文によると、イシサンゴ目で科に相当するグループは21あり、発生形態の知見が無いのは10グループ、そのうち採取可能な5グループについて、発生過程を調べる。同時に、表1で示したデータベースから Complex と Robust の胞胚期と原腸形成期で発現する遺伝子を探索し、In situ hybridization により、遺伝子の発現時期や発現部位を両者で比較する。そして、発生形態と遺伝子発現の両方の結果に骨格形態の知見も加味し、まずは亜目のレベルでの分類体系を再構築し、新亜目を設立するための論文を投稿する。

## 4. 研究成果

刺胞動物の発生様式が多様であることに着目し、発生様式と系統関係に何らかの繋がりがどうかを調べた。まず、Complex グループからは *Pseudosiderastrea tayamai*, *Galaxea fascicularis*, *Montipora digitata*, *M. hispida*, *Pavona decusata* の5種を、Robust グループからは *Oulastrea crispata*,

*Platygyra contorta*, *Favites abdita*, *Echinophyllia aspera*, *Goniastrea favulus*, *Dipsatraea speciosa*, *Phymastrea valenciennesi* の7種の卵と精子を採取し、未受精卵からプラヌラ幼生になるまで、ホルマウントと組織切片による観察を行った。これら11属は、イシサンゴ目の分子系統樹からまんべんなく選んでいる。その結果、原腸形成の様式が Complex と Robust グループで明らかに異なることが分かった。

Complex グループでは、桑実胚の後、えびせん胚と呼ばれるいびつな形になり、その後、丸形の胚になる際に、移入や陥入が組み合わさって外胚葉と内胚葉が形成される。一方、Robust グループでは、えびせん胚に似た平たい胚の後に丸形の胚となる際、胞胚腔が形成されます。そしてその後、明らかな陥入により外胚葉と内胚葉が形成されます。過去に研究された Complex に属する *Acropora* と *Porites* (Okubo and Motokawa 2007, Hirose and Hidaka 2006) においても、本研究で明らかになった Complex の原腸形成様式が当てはまる。これらの結果から、分子系統学的解析で得られていた2つのクレードの差異は、生息環境の影響をあまり受けることのない発生胚の短期的な形態にも現れていたと考えられた。

そこで、本助成金により、新たに採取したイボヤギと *Cyphastrea* の発生様式の結果を含めて、Okubo (2016) では、発生様式と分子系統解析の結果を分類形質として、イシサンゴ目で多系統に出ていた既存の亜目に属する科を全て再構成し、2つの新亜目を提唱した。その第一の亜目は、発生過程で胞胚腔がない若しくはほとんど見られず(図1A-E)、分子系統解析で complex に属するサンゴです。静かにいつのまにか内側が満ちていく原腸形成の特徴から、シズカテマリ亜目 (Suborder Refertina Okubo 2016) と名付けた。また、第二の亜目は、明らかな胞胚腔が見られ、分子系統解析で robust に属するサンゴです。丸型の胞胚がまるで波に浮かぶ風船のようである様子(図1F-L)から、ナミフウセン亜目 (Suborder Vacatina Okubo 2016) と名付けた(添付論文)。

しかしながら、本特集の深見氏による総説からもわかるように、現在、サンゴの分類は大きな変革期にある。ナミフウセン亜目の定義とした、胞胚腔の見られる robust クレードでは、単系統性が安定して支持され、発生様式の例外も見つかっていないことから、今後も亜目レベルでの分類に変わりはないと

考えられる。一方、シズカテマリ亜目の定義にある complex クレードについては、分子系統解析の結果、Gardineriidae と Micrabaciidae がイシサンゴ目の祖先的な科であるとして、新たに basal クレードして分けられた (Stolarski *et al.* 2011, Huang 2012)。さらに、シズカテマリ亜目と名付けたグループでは、*Pavona* だけが胞胚腔を持ち、Robust グループの原腸形成様式である胞胚腔を持っていた (Pavona exception, Okubo *et al.* 2013)。分子系統解析の結果を考えると、今後、complex グループのサンゴで胞胚腔の有る種がさらに見つかる可能性は高く、シズカテマリ亜目を幾つかの下目に分けたり、シズカテマリ亜目自体を幾つかの亜目に分けたりすることが必要になると思われる。

これからは、他の刺胞動物でもサンゴと同じように、発生様式が分子系統解析の結果と合うかどうか調べていきたい。

## 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 6 件)

N. Okubo\*, D. Hayward, S. Foret, E.E. Ball\* (2016) A comparative view of early development in the corals *Favia lizardensis*, *Ctenactis echinata*, and *Acropora millepora* - morphology, transcriptome, and developmental gene expression. *BMC Evolutionary Biology* 16:48

大久保 奈弥\* (2016) 発生：多様なサンゴの発生様式からようやく見えてきた共通性 *生物科学* 68 巻1号

大久保 奈弥\* (2016) 概論：サンゴとさんご礁 *生物科学* 67 巻4号

N. Okubo\* (2016) Restructuring the traditional suborders in the Scleractinia based on embryogenetic morphological characteristics. *Zoological Science* 33:116-123

N. Okubo, A. Onuma\* (2015) An economic and ecological consideration of commercial coral transplantation to restore the marine ecosystem in Okinawa, Japan. *Ecosystem Services* 11:39-44

Y. Zayasu\*, K. Miyazaki, Y.T. Lien, N. Okubo\* (2015) Direct evidence of sexual reproduction in the zebra coral, *Oulastrea*

crispata (Anthozoa, Scleractinia), in Japan. Invertebrate Reproduction & Development, 1-5

〔学会発表〕(計 3 件)

大久保奈弥 発生様式はイシサンゴ目の分類形質となりうるか - サンゴにおける2つの新亜目の設立に向けて 2015年 日本プランクトン学会・日本ベントス学会 合同大会 (2015.9.2-9.5)

大久保奈弥 発生様式はイシサンゴ目の分類形質となりうるか - サンゴにおける2つの新亜目の設立に向けて 第86回 日本動物学会 (2015.9.16-9.19)

Nami Okubo Restructuring the Traditional Suborders in the Order Scleractinia Based on Embryogenetic Morphological Characteristics Joing meeting of the 22<sup>nd</sup> international Congress of Zoology & the 87<sup>th</sup> meeting of the ZSJ (14-19 Nov.2016)

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 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 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

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

大久保 奈弥 (OKUBO Nami)  
東京経済大学・経済学部・准教授

研究者番号：50401576

(2) 研究分担者 ( )

研究者番号：

(3) 連携研究者 ( )

研究者番号：

(4) 研究協力者 ( )