

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 24 年 5 月 25 日現在

機関番号：17601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2009 ～ 2011

課題番号：21657025

研究課題名（和文）

温帯域イシサンゴ類に共生および寄生する大型無脊椎動物の多様性および進化の研究

研究課題名（英文）

Biodiversity and evolution of symbionts of the temperate-living corals

研究代表者

深見 裕伸 (FUKAMI HIRONOBU)

宮崎大学・農学部・准教授

研究者番号：50402756

研究成果の概要（和文）：日本の温帯域に生息するイシサンゴ類と共生するサンゴヤドリガニを主体にして研究を行った。ミトコンドリアCOI遺伝子を用いた分子系統の結果、イシサンゴ類の“科”特異的に、異なる種類のサンゴヤドリガニが生息していることが明らかとなり、それらが共進化していることが強く示唆された。しかも、温帯特異種も発見された。また、温帯域のイシサンゴ類の共生藻である褐虫藻も温帯に特化していることが明らかとなってきた。以上のことから、温帯域では、多くの部分でイシサンゴ類に共生している生物が温帯独自に特化した可能性を示した。

研究成果の概要（英文）：I study mainly coral-inhabiting crabs on the temperate region of Japan, based on the molecular analyses using mitochondrial COI gene. The results showed that the different coral families had different type of coral-inhabiting crabs. Also temperate-specific coral-inhabiting crabs were found in this study. Furthermore, temperate specific zooxanthellae, which are main coral symbionts, also existed. Thus, symbionts of corals on the temperate region of Japan might have evolved independently this region.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	700,000	0	700,000
2010年度	1,000,000	0	1,000,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	2,400,000	210,000	2,610,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・生物多様性・分類

キーワード：イシサンゴ、共生、温帯、共進化、サンゴヤドリガニ

1. 研究開始当初の背景

これまで、イシサンゴ類（以下、サンゴ）に共生もしくは寄生する無脊椎動物の研究は分類が中心で、生態についても沖縄など亜熱帯域で多少行われている程度である。また、温帯域ではサンゴの研究すら未だ進んでお

らず、温帯域のサンゴ内外に生息している生物となるとほぼ情報が無い。また、最近の研究で、温帯に生息している大部分の種が実は沖縄周辺の種類とは別種であり、数多くの隠蔽種がいることが分かってきた（Fukami et al. 未発表）。このことから、そのサンゴに共生/寄生している生物も実は温帯に特化しているのではないかと考えた。

共生の研究については、造礁性イシサンゴ類が体内に褐虫藻を共生させていることもあり、サンゴ-藻類の共生関係については熱帯域のみであるが研究が進んでいる。しかし、数多くの無脊椎動物がイシサンゴの組織や骨格内に生息している。それにも関わらず、それらの生態的・進化的な関係は全くといってよいほど調べられていない。

2. 研究の目的

温帯域のサンゴ類の内外に生息する大型無脊椎動物（目視できるもの）の調査を行い、どのサンゴの種類に、またどのような環境において、どのような種類の無脊椎動物が共生/寄生しているのかを調べる。その後、どの生物もしくはグループが種特異的に宿主を決めているのかを確かめ、調査対象とする生物を限定し、分子学的手法を用いて、サンゴとそれら生物との進化的な関係を調べると共に温帯域におけるサンゴ類と共生/寄生者との進化的な関係を明らかにする。

3. 研究の方法

試料採集および観察はスクーバダイビングによって行なった。調査地点は和歌山県の白浜町および串本町を中心として、壱岐・対馬、にて観察および試料採集を行なった。また、温帯域の比較として鹿児島県トカラ列島中ノ島、小笠原および沖縄県での調査も行なった。まずは、和歌山において10 cm程度のサンゴを20種程度採集した後、それを実験室にて細かく破壊することで、内在生物の有無や種類を確認した。結果的に、サンゴヤドリガニとサンゴフジツボが最も多く見られたが、サンゴフジツボは現在台湾で精力的に研究が行われていることを考慮し、知見の少ないサンゴヤドリガニ（図1）を調査対象とした。

サンゴおよびサンゴヤドリガニを上記の地点で採集して分子系統解析および形態解析に用いた。分子系統解析では、サンゴは1cm程度を、サンゴヤドリガニは片側の第4胸脚および第5胸脚をグアニジン溶液にいれ、ゲノムDNA用とした。DNA用以外の部分は形態解析のため、標本として保存した（サンゴは漂白し骨格を残し、サンゴヤドリガニはエタノールに固定）。またサンゴヤドリガニの種の同定は武田正倫氏の文献(1980, 1981)を参考にした。

DNA抽出はフェノール・クロロフォルム法によって行い、その後、ミトコンドリアCOI遺伝子を用いて分子系統解析を行なった。サンゴヤドリガニのCOIは動物共通のuniversal primerを用い、サンゴCOIではサ

ンゴ専用の primer を用いた。PCRにてCOI遺伝子を増幅したあとに、ダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定し、系統解析ソフトMEGAにて分子系統樹を作成した。

さらに、サンゴの共生生物で最も重要である共生藻についても、温帯域での宿主との特異性の比較のため、核リボソーム遺伝子を用いて分子系統解析を行なった。

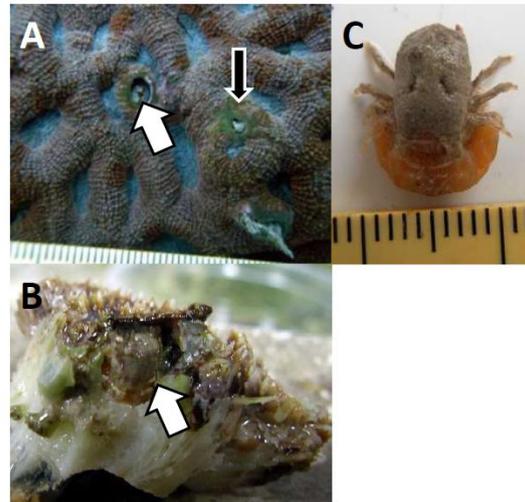


図1. サンゴの中に住むサンゴヤドリガニ
A. オオトゲサンゴ科に孔を開けているサンゴヤドリガニ（白矢印）。黒矢印はサンゴフジツボ。B. サンゴヤドリガニが入っている穴の断面。矢印がサンゴヤドリガニ。C. サンゴヤドリガニ。

4. 研究成果

4-1. サンゴヤドリガニ採集

サンゴは種類を問わず200群体以上採集し、サンゴヤドリガニの有無を調べたが、和歌山では塊状のキクメイシ類やオオトゲサンゴ類のサンゴに多く見られたため、対象をそれらサンゴに絞って調査を行なった。結果として、サンゴ84群体にサンゴヤドリガニ53個体を発見できた。サンゴヤドリガニが入っていた種のサンゴを含め102群体のサンゴと、51個体のサンゴヤドリガニのミトコンドリアDNAのcox1遺伝子の配列を得た。

サンゴヤドリガニが見られたサンゴは、ウミバラ科、オオトゲサンゴ科、キクメイシ科、サザナミサンゴ科であった。全てキクメイシ亜目に属するサンゴであった。地域ごとにみると、温帯である和歌山県にはかなり多く（サンゴ1群体あたり3-4個体程度）のサンゴにサンゴヤドリガニが生息していたが、沖縄方面ではその割合が少なくなっていく（サンゴ3群体あたり1個体程度）傾向が見られた。ただし、もっとも高緯度である壱

岐・対馬ではサンゴヤドリガニが見られなかった。おそらく、サンゴに比べ低水温に対して耐性が弱いと思われる。

参考までに、対馬では、サンゴヤドリガニの代わりに、コツブムシがサンゴに穿孔しているのが観察された。おそらくフトゲコツブムシ *Cymodoce acuta* であると思われる。この属のコツブムシはサンゴ礫や死サンゴに生息していることは知られているが (Kussakin and Maljutina, 1993)、生きているイシサンゴ類に穿孔していた観察例はこれが初めてである。

分子系統解析

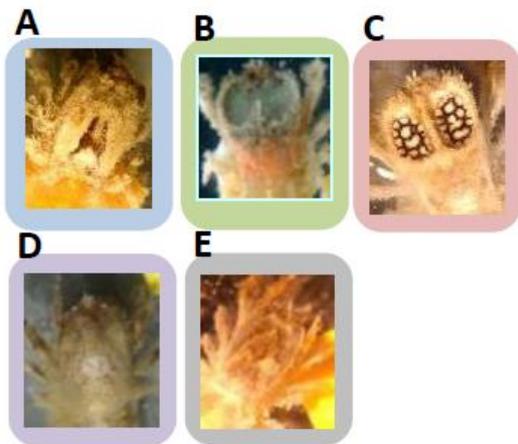
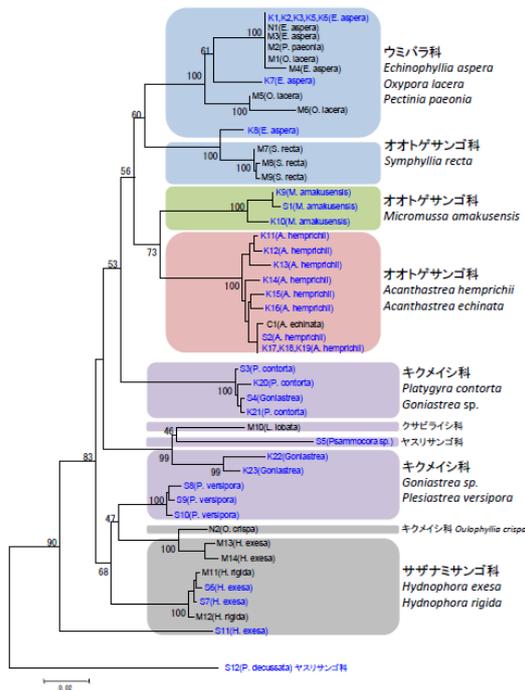


図2. NJ法で描いたサンゴヤドリガニ mtDNA CO1 遺伝子の系統樹。グループ分けは宿主のサンゴ、色分けはサンゴヤドリガニ。

サンゴヤドリガニ:

A: キッカサンゴヤドリガニ、B: クボミサンゴヤドリガニ属の一種、C: モヨウクボミサンゴヤドリガニ、D: ケブカサンゴヤドリガニ、E: キッカサンゴヤドリガニ類似種

系統樹内の名称:

採集地・標本番号・(宿主名)を示す

K (青): 串本 23 個体、S (青): 白浜 11 個体、N: 中之島 2 個体、C: 久米島 1 個体、M: 宮古島 15 個体 計 51 個体

サンゴヤドリガニの COI 分子系統樹を図2に示す。結果として、サンゴヤドリガニはイシサンゴの科レベルで宿主特異的に生息する事が分かった。

まず、サンゴのウミバラ科3種にキッカサンゴヤドリガニが特異的に生息していた。ただし、オオトゲサンゴ科の1種 *Symphyllia recta* でもキッカサンゴヤドリガニが見られた。しかしながら、この種の系統は遺伝的にある程度クレードで分かれており、とくに、*Symphyllia recta* のキッカサンゴヤドリガニが他と遺伝的に大きく離れていたため、隠蔽種がいる可能性が高い。

次にオオトゲサンゴ科の *Micromussa amakusensis* には形態的に他のオオトゲサンゴ科に生息するクボミサンゴヤドリガニ属の一種が特異的に生息していた。遺伝的にも独自クレードを持っており、これらの結果から、これは、新種の可能性が高く、記載に向けて現在も引き続き調査中である。特に、この宿主となるサンゴは温帯に特化している種であるため、このサンゴヤドリガニも温帯特異種である可能性が高い。

またオオトゲサンゴ科の *A. hemprichii* と *A. echinata* にはモヨウクボミサンゴヤドリガニのみが生息していた。*A. hemprichii* と *A. echinata* は遺伝的に分化して間もないという仮説を支持する結果となった。

ケブカサンゴヤドリガニは主にキクメイシ科に生息していたが、クサビライシ科やヤスリサンゴ科といった系統的に離れているサンゴでもまれに(それぞれ1個体)見られた。ただし、これらも遺伝的に別々のクレードを作っており、隠蔽種かもしれない。

最後に、サザナミサンゴにはキッカサンゴヤドリガニに非常に類似した種が生息していたが、キッカサンゴヤドリガニとは遺伝的に大きく離れており、別種であると思われる。この種に関しても継続した研究が必要だろう。

また、これらサンゴヤドリガニとサンゴの分子系統関係を比較したところ、ほぼ同じような樹形を取ることが判明した(図3)。サンゴヤドリガニは定着後ほとんどを巢穴の中、またはサンゴ表面で粘液を食べて生活し

ているため、イシサンゴにかなり依存していると考えられる。そのため、結果として、イシサンゴ類とサンゴヤドリガニは共進化していると考えられる。

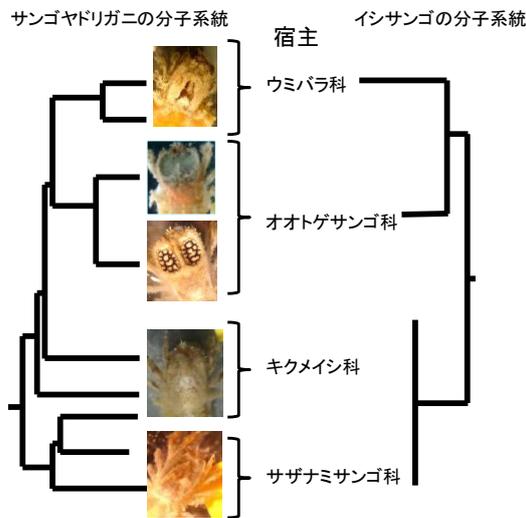


図3. サンゴヤドリガニとイシサンゴの共進化

サンゴの種の同定は、その骨格形態の単純さと変異の大きさから非常に困難である。今後、サンゴヤドリガニの観察によって、サンゴの種を判断できれば、非常に有意義だろう。

一方、温帯である和歌山と沖縄の種を比較したところ、上記の新種候補を含めて、遺伝的にある程度異なっているように見える。現在のところ、まだ温帯に特化した集団がいるかどうかは不明だが、少なくとも遺伝的にことなる集団が温帯に生息していることが明らかになった。

4-2. 共生藻

上記の結果を基に、比較として、サンゴの最も主要な共生生物である褐虫藻について解析した。特に温帯域のサンゴでは情報がなかったこともあり、この主要な褐虫藻では温帯域に特化したものがあるのかどうか調べた。その結果、褐虫藻でも温帯に特化したグループあることが分かってきた。

総合考察

温帯域はこれまで熱帯からの生物が移入して生息していると考えられてきたが、実際には様々な種で温帯に特化してきていると考えられる。今後、このような研究を続けていくことで、温帯、特に日本沿岸域の種多様性が大幅に増加することが見込まれる。

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1件)

1. Y-T Lien, H Fukami, Y Yamashita (2012) *Symbiodinium Clade C Dominates Zooxanthellate Corals (Scleractinia) in the Temperate Region of Japan*. *Zoological Science* 29:173-180. 査読有り

[学会発表] (計4件)

1. H. Fukami, S. Nagata, K. Sugihara (2010) Morphological and phylogenetic variations of *Favia* in Japan and its taxonomic implication. The second Asia Pacific Coral Reef Symposium, Phuket, Thailand Jun20-24 2010

2. Y. Zayasu, K. Nomura, Y. Shirayama, H. Fukami (2010) Species boundary between *Acanthastrea hemprichii* and *A. echinata*. The second Asia Pacific Coral Reef Symposium, Phuket, Thailand Jun20-24 2010

3. Y.-T. Lien, Y. Yamashita, H. Fukami (2010) Genetic variation of *Symbiodinium* sp. from reef corals in high latitudinal Japan. The second Asia Pacific Coral Reef Symposium, Phuket, Thailand Jun20-24 2010

4. 座安佑奈・野村恵一・白山義久・深見裕伸 (2010) 造礁性イシサンゴ類とそれらに共生するサンゴヤドリガニとの共進化を探る、日本サンゴ礁学会13回大会 12月2日 筑波

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0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0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

深見 裕伸 (FUKAMI HIRONOBU)
宮崎大学・農学部・准教授
研究者番号：50402756

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：