#### 科学研究費助成專業 研究成果報告書



平成 29 年 6 月 2 0 日現在

機関番号: 58001

研究種目: 基盤研究(C)(一般)

研究期間: 2014~2016

課題番号: 26440225

研究課題名(和文)ミドリイシ属サンゴの雑種種分化-雑種体の妊性と多種同調産卵からの解明-

研究課題名(英文)Hybridization and speciation of Acropora - Elucidation from fertility of hybrids

and multi specific synchronous spawning -

#### 研究代表者

磯村 尚子(Isomura, Naoko)

沖縄工業高等専門学校・生物資源工学科・准教授

研究者番号:90376989

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文):トゲスギミドリイシとサボテンミドリイシを対象に、ミドリイシ属サンゴの雑種種分化を検証した。多種同調産卵する地域では、両者の中間形態群体が複数みられた。遺伝子解析により中間形態群体と対象2種は共通のハプロタイプが見つかり、遺伝子浸透していることが示唆された。一方、人為的に作出した雑種体は妊性を持ち、雑種体同士での交配および親種との戻し交配が可能であった。さらに、雑種体はミドリイシ属サンゴではみられない自家受精がみられた。以上のことから、多種同調産卵する場所では雑種体が形成され、新たな種として存続できる可能性が高いと考えられた。

研究成果の概要(英文):We elucidated hybridization and speciation of Acropora using Acropora intermedia and A. florida. Colonies with morphologies intermediate (suspected hybrids) between two target species were found in the fields where multi specific synchronous spawning occurred. These three species, A. interemedia, A. florida and suspected hybrids, may perform introgression each other because common haplotypes were found among them. Real F1 hybrids which were produced artificially were fertile, and they could cross both other hybrid and parent species. Furthermore, more than 90% self-fertilization was achieved in a real F1 hybrid. These results suggest that some products of interspecific hybridization may persist as the offspring of self-fertilizing F1 hybrids in the field where multi specific synchronous spawning occurs.

研究分野: 分子繁殖生態学

キーワード: 雑種体の妊性 雑種第二代 多種同調産卵 自家受精

#### 1.研究開始当初の背景

サンゴ礁生態系の基盤構成種である造礁 サンゴ (以下、サンゴ)の中で、ミドリイシ 科ミドリイシ属 (Acropora) は、熱帯・亜熱 帯および温帯の海域において重要な構成要 素であり、最も種数の多い(約150種)グル ープである。その種数の多さから、植物のよ うに一度分化した種の間で交雑が生じて雑 種が形成され、その雑種体が種として確立さ れる「雑種種分化」が生じていると考えられ てきた(Veron 1995)。 ミドリイシにおける 雑種種分化の根拠として、1)指状や樹枝状、 テーブル状と多様な形態を持つが、それらの 中間形態が多くみられること、2)多くの種 が同調して同じ日時に精子と卵を放出する ため(以下、多種同調産卵)物理的に交雑 が起きやすいと考えられること、が挙げられ

1)については、カリブ海に生息するミドリイシ3種のうち、1種が雑種であることが明らかになっている(Volmer and Palumbi 2002)。雑種であることを確定したのは遺伝的な情報であったが、この種が雑種ではないかと予想できたのは、他の2種の中間形態を持っていたためである。2)については、ミドリイシの多種同調産卵がオーストラリアのグレートバリアリーフで報告されて以来(Babcock et al. 1985)、各地で種間交配実験が行なわれ、遺伝的に近い種間では受精できることが示された(例えば、Willis et al. 1995; Hatta et al .1999)。

しかし、これらは「交雑できる能力はあり、 雑種体はできる」ことを明らかにはしている が、「雑種種分化」が生じたことを示してい ない。雑種種分化が生じるには、雑種体が妊 性を持って次世代を残し、独立種として存在 することが必要であるが、雑種体の妊性につ いてはミドリイシを含め、どのサンゴでも明 らかになっていない。

また、多種同調産卵は自然界において交雑が起こる絶対条件であるが、グレートバリアリーフや日本の一部以外の地域では、年によっては種間で産卵日や時間が異なることが多い(例えば、沖縄の瀬底島)。さらに、種間交配は可能であったとしても、同種と異種の精子が同時に存在するときは、優先的にる(Willis et al. 2006)。このことから、交雑者よび雑種種分化は起こりにくい、または同種のミドリイシ数が少ない辺境地域などの環境でまれに起こると考えられている。

#### 2.研究の目的

本研究では、群体形態の極めて異なるトゲスギミドリイシとサボテンミドリイシの2種に加え、これまで継続してきた研究成果の中で得られた推定雑種および人為的な異種間交雑により作出した確定雑種を用いて雑種種分化に関する実証的な研究を行なう。サンゴ群体レベルでの系統学的・集団遺伝学的解

析、さらに地域特異的な繁殖生態学の視点を 含めた総合的な解析を実行することで、ミド リイシの雑種形成の実態を探り、そのプロセ スを解明することを目的としている。

## 3.研究の方法

本研究では、阿嘉島(多種同調産卵が毎年確認されている)と瀬底島(多種同調産卵の頻度が低い)を調査地とし、以下の実験項目を設定した:

(1)分子系統学的アプローチ:十分なレベルでの遺伝的な系統推定による雑種性の検討。

(2)生態学的アプローチ:多種同調産卵する場所(阿嘉島)としない場所(瀬底島)における雑種形成の違いについての調査。 推定維種の分布調査 同調産卵状況の調査 (3)確定雑種を用いた解析:確定雑種の繁殖能力について、 生殖細胞の形成 産卵 親種との交雑能の各点に着目した形態学的観察および交配実験。

## 4. 研究成果

(1)分子系統学的アプローチ:エクソン領域2つの配列でハプロタイプネットワーク解析を行ったところ、野外で見つかった推定雑種とトゲスギミドリイシ、サボテンミドリイシで共通のハプロタイプを持っていることがわかった。推定雑種は対象2種の雑種体である可能性が高いこと、さらに、対象2種を含め同所的に生息しているミドリイシ属サンゴで遺伝子浸透が生じている可能性がある。

一方、2b および ezRAD の結果を用いて系統 樹を作成したところ、対象種と雑種体が入り 交じるクレードが形成された。こちらは、サ ンプル数を増やすこと、さらに他地域のサン プルを加えることで詳細な系統解析が行え ると考える。

(2)生態学的アプローチ:初年度の瀬底島における分布調査において、阿嘉島でみられた対象2種の推定雑種は確認されなかった。また、対象2種各5群体について産卵を確認したところ、産卵日が7日間異なっており、種間交配は行うことができなかった。今後さらに多くの群体数について野外における産卵調査は必須であるが、これらの結果から、雑種形成には種間の同調産卵が必要であると考えられた。

しかし、次年度の瀬底島における分布調査において、昨年までは確認できなかった阿嘉島でみられた対象2種の推定雑種が確認できた。瀬底島では、数年ぶりにミドリイシ類の多種同調産卵がみられたが、水槽内において対象2種はそれぞれ別の日に産卵した。これらの結果から、稀に同調産卵をおこなう地域でも雑種体が形成される可能性がある。

(3)確定雑種を用いた解析:確定雑種の配

偶子(卵と精子)形成と産卵が確認され、雑種体は妊性を持つことが示された。また、雑種体同士での交配がみられたため、雑種体は種として存続できる可能性がある。一方で、親種との戻し交配もみられたことから、雑種体が独立した種として存続していくためには、親種が周りに分布していない等の条件が必要であると考えられた。

また、確定雑種はミドリイシ類ではみられない自家受精を行うことがわかった。さらに、自家受精由来の胚はプラヌラ幼生まで正常に発生し、その後定着した。このことから、親種がいない場所に雑種が加入した際、自家受精により集団を形成・維持していくことができると考えられる。

## 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 11件)

Kitanobo S, <u>Isomura N, Fukami H</u>, Iwao K, <u>Morita M</u> (2016) The reef building coral *Acropora* conditionally hybridize under sperm limitation. Biology Letters

DOI: 10.1098/rsbl.2016.0511(査読有)

<u>Isomura N</u>, Iwao K, <u>Morita M</u>, <u>Fukami H</u> (2016) Spawning and fertility of  $F_1$  hybrids of the coral genus *Acropora* in the Indo-Pacific. Coral Reefs

DOI: 10.1007/s00338-016-1461-9 ( 査読有 )

Nozawa Y, <u>Isomura N</u>, <u>Fukami H</u> (2015) Influence of sperm dilution and gamete contact time on fertilization rate of scleractinian corals. Coral Reefs

DOI: 10.1007/s00338-015-1338-3(査読有)

<u>磯村尚子・深見裕伸</u> (2015) 阿嘉島におけるミドリイシ属サンゴの雑種種分化. みどりいし 26: 15-19. (査読無)

政木清孝・<u>磯村尚子</u>・山本広美 (2015) 海 洋生物の生成する炭酸カルシウムのX線回折 測定.沖縄高等専門学校紀要 9: 1-12 (査読 有)

Yamashiro H, <u>Isomura N</u>, Sakai K (2014) Bloom of the cyanobacterium *Moorea* bouillonii on the gorgonian coral *Annella* reticulata in Japan. Scientific Reports DOI: 10.1038/srep06032 (查読有)

Kawabata K, Takemura F, Suzuki T, Sawai K, Kuraya E, Takahashi S, Yamashiro H, <u>Isomura N</u>, Xue J (2014) Underwater image gathering by utilizing stationary and movable sensor nodes -Towards observation of symbiosis system

in the coral reef of Okinawa-. International Journal of Distributed Sensor Networks DOI: 10.1155/2014/835642 ( 査読有 )

磯村尚子・殿岡裕樹(2014)バイオテクノロジーと生物多様性条約:遺伝資源の保護と活用に関する近年の動向.沖縄高等専門学校紀要 8:1-9(査読有)

Suzuki T, Kato K, Makihara E, Kobayashi T, Kono H, Sawai K, Kuniaki K, Takemura F, <u>Isomura N</u>, Yamashiro H (2014) Development of underwater monitoring wireless sensor network to support coral reef observation.

International Journal of Distributed Sensor Networks.

DOI: 10.1155/2014/189643 ( 査読有 )

<u>Isomura N</u>, Nozawa Y, Fukami <u>H</u> (2014) Reproduction and distribution of the temperate-living morphotype of *Favites flexuosa* in subtropical region, Lyudao, Taiwan. Invertebrate Reproduction and Development.

DOI: 10.1080/07924259.2013.875952 ( 査読有 )

<u>深見裕伸・磯村尚子</u>・岩尾研二・立川浩之 (2014)-総説-ミドリイシ科ニオウミドリ イシ属(新称)Isopora の分類および生態. 日本サンゴ礁学会誌 15: 1-14(査読有)

[学会発表](計 8 件)

<u>磯村尚子</u>・岩尾研二・<u>守田昌哉・深見裕伸</u> ミドリイシ属サンゴの雑種体はすべて生き 残れるのか?

日本生態学会第 64 回大会 早稲田大学(東京都早稲田) 2017 年 3 月 19 日

<u>磯村尚子</u>・上江洲清貴・岩尾研二・<u>深見裕</u> 伸

ミドリイシ雑種体における自家受精の検証 日本サンゴ礁学会第 19 回大会 タイムスビル(沖縄県那覇市) 2016 年 12 月 3 日

<u>Isomura N</u>, Iwao K, <u>Morita M</u>, <u>Fukami H</u> (2016) Fertility and spawning of  $F_1$  hybrids of the coral *Acropora* in the Indo-Pacific. The joint meeting of the 22nd International Congress of Zoology and the 87th Meeting of the Zoological Society of Japan, 15-19 November 2016, Ginowan, Okinawa, Japan.

<u>Fukami H.</u> Iwao K, <u>Morita M</u>, <u>Isomura N</u> (2016) Morphological features of F<sub>1</sub> hybrids of the coral genus *Acropora*. The joint

meeting of the 22nd International Congress of Zoology and the 87th Meeting of the Zoological Society of Japan, 15-19 November 2016, Ginowan, Okinawa, Japan.

Isomura N, Iwao K, Morita M, Fukami H (2016) Implications of the role of hybridization in speciation of the genus *Acropora*: features of reproduction of hybrids in the Indo-Pacific species. 13th International Coral Reef Symposium, 19-24 June 2016, Honolulu, Hawaii, USA.

Masaki K, <u>Isomura N</u>, Yamamoto HH and Hisamori N (2016) A basic study bending fracture behavior of *Acropora intermedia*.13th International Coral Reef Symposium, 19-24 June 2016, Honolulu, Hawaii, USA.

磯村尚子・岩尾研二・守田昌哉・深見裕伸 雑種の繁殖特性の違いによる種分化と交配 隔離の両立の可能性. 日本生態学会第 63 回大会 国際センター(宮城県仙台市) 2016 年 3 月 24 日

<u>Isomura N</u>, Iwao K, <u>Morita M</u>, <u>Fukami H</u> (2015) Hybridization and speciation of the coral genus *Acropora* in the Indo-Pacific. KIKAI international symposium for coral reef sciences 2015, 23th, August, 2015, Central community centre, Kikai Island, Japan.

# 〔その他〕

ホームページ等

沖縄工業高等専門学校・生物資源工学科・環 境生物資源研究の紹介

https://sites.google.com/site/onctenvbi
ores/home/isomuralab/naokoisomura

### 6. 研究組織

# (1)研究代表者

磯村 尚子(Isomura Naoko)

沖縄工業高等専門学校・生物資源工学科・

准教授

研究者番号:90376989

# (2)研究分担者

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

# (3)研究分担者

守田 昌哉 (Morita Masaya) 琉球大学・熱帯生物圏研究センター・准教 授 研究者番号:80535302

## (4)研究協力者

岩尾 研二 (Iwao Kenji) 阿嘉島臨海研究所・研究員