

## 論文の内容の要旨

### 論文題目

「東南アジアにおけるクラゲ類の分類、集団遺伝および初期生活史に関する研究」

学位申請者 飯田 茜

キーワード: 東南アジア・クラゲ・ブルーム・遺伝的多様性・初期生活史

クラゲ類の大量発生(ブルーム)は世界中の様々な海域で報告されており、しばしば人間社会に悪影響を及ぼしている。一方で、一部の種は漁獲され人間の食料や化粧品として利用されている。これらクラゲ類の生物、生態学的研究はこれまで主として亜熱帯・亜寒帯域に生息する種でなされており、熱帯域におけるそれらの研究は限られている。本研究は東南アジアの広範囲の地域においてブルームを起こし、漁獲されている大型根口クラゲ類のヒゼンクラゲ *Rhopilema hispidum* とミノクラゲ *Lobonemoides robustus* を対象とし、集団遺伝学的解析により遺伝的構造を明らかにするとともに、地域個体群間の遺伝的連結性を明らかにした(第1章)。また、無性生殖を通してブルームの発生に重要な役割をもつ初期生活史のポリプ期について、飼育実験により体成長および無性生殖における水温、塩分の好適環境の推定を行った(第2章)。

ヒゼンクラゲとミノクラゲの遺伝的多様性を調べた研究(第1章)では、2010年から2018年にかけて東南アジア地域の4か国11地点において採集した試料に基づき、ミトコンドリアDNAのCOI領域と核DNAのITS1領域をPCR増幅し、得られた配列からハプロタイプネットワーク図を作成し、遺伝的分化指数( $\Phi_{ST}$ )によって地域個体群間の遺伝的距離を算出した。ミノクラゲのITS1配列については、フラグメント解析によって各地域の祖先集団数から遺伝構造の差異を検出した。その結果、ヒゼンクラゲは主要ハプロタイプを中心とした全採集地域が含まれるクレードと、半数をマレーシアの個体が占めるクレードの2群が確認された。 $\Phi_{ST}$ はほとんどの地域間で有意差がなかつたが、最も地理的距離が離れているマレーシアとベトナム間、タイ南部とベトナム間では有意差が認められた( $p < 0.05$ )。 $\Phi_{ST}$ と地理的距離の間には有意な正の相関が認められ(Spearman順位相関、 $\rho = 0.718$ ,  $p < 0.01$ )、距離による隔離が示唆された。一方、ミノクラゲのCOI解析では、各地域ごとにまとまった3つのクレードが確認された。また、 $\Phi_{ST}$ は全ての調査地域間で有意差が認められ( $p < 0.001$ )、本種は地域個体群の遺伝的独立性が高いと考えられた。ITS1配列のフラグメント解析でも、COIの解析と同様に地域ごとのクレードに分かれ、本種は地域間で遺伝的交流がほぼ無いことが示唆された。タイとフィリピンで採集された本種の成体(メデューサ)について、クレード間で詳細な形態比較を行った。その結果、ほとんどの計測部位で有意差は認められず、別種として識別できる明確な形態的差異は認められなかった。以上、東南アジアでブルームするこれら大型クラゲ類は、2種で異なる遺伝構造パターンを示すことが初めて明らかになった。この要因について、更新世紀における氷期、間氷期サイクルによる海水面変動にともなう分布域の拡大・縮小、現在の分布域における海流の強さ、2種の生物学的特徴における差異から議論した。

ヒゼンクラゲとミノクラゲのポリプ世代における体成長および無性生殖における水温、塩分の影響を調べることにより、それらの好適環境を推定した研究(第2章)では、両種とともにプラヌラ幼

生から変態したポリップを用いて、飼育実験を実施した。飼育塩分は 5–35 まで 5 間隔で 7 段階、水温は 15–35°C まで 5°C 間隔で 5 段階に設定し、各実験区で口盤直径の経時変化(体成長)と芽体産生数(無性生殖)を 35 日間記録した。「体サイズおよび無性生殖について、水温・塩分による差はない」という帰無仮説を設定し、統計学的検定を行った。本研究により、両種ともに初めて実験室内で安定的なポリップの飼育に成功し、この過程で根口クラゲ類におけるポリップの新たな無性生殖方法(ヒゼンクラゲ: 口盤部分離後に着底・再生、ミノクラゲ: 出芽とモノディスクタイプ・ストロビレーションの組み合わせ)が発見された。飼育実験の結果、ヒゼンクラゲは体成長、芽体産生数が低塩分(15, 20)で有意に高かった(ANOVA + Tukey-Kramer test,  $p < 0.05$ )。一方、ミノクラゲは、体成長は塩分 10–30 で有意に高く( $p < 0.05$ )、塩分 10 で最も高かった。また、芽体産生数は、塩分 15 で最も高かった。すなわち、2 種の体成長および無性生殖は、どちらも低塩分で好適であることが示された。一方、水温の実験区では、ヒゼンクラゲ、ミノクラゲとともに 30°C で最も体成長、芽体産生数が高かった。しかしながら、ヒゼンクラゲは低水温(15°C)でも生存したのに対し、ミノクラゲは低水温では全て死亡した。また、ヒゼンクラゲでは成長の低かった 35°C でもミノクラゲは高い成長を示した。以上のことから、2 種でポリップの好適生息環境は異なり、ヒゼンクラゲは熱帯から亜熱帯域の沿岸域に、ミノクラゲは熱帯域の沿岸域に適応した生物学的特性をもつと考えられた。

上記 2 つの研究により、近接地域間で遺伝的連続性を示し、ポリップが広温性であったヒゼンクラゲは比較的高い分散力をもつと考えられ、物理的な集積によりブルームを起こしている可能性が示唆された。一方、ミノクラゲは各地域で独立した遺伝構造をもち、高水温に適応していることから、分散範囲は比較的狭いと考えられ、各地域個体群が生物学的特性により独立してブルームを起こす傾向があることが示唆された。

東南アジアで行った調査により、ベトナムで初報告となる *Blackfordia* sp. (ヒドロ虫綱) が 2 か所で採集された。それらの形態的、遺伝学的解析を実施し、分類学的な検討を行った(第 3 章)。その結果、ベトナム産 *Blackfordia* sp. は触手数が最大 113 あり、これは *B. polytentaculata* の 200–250 より少なく、これまで原記載を含め多くの地域で報告されている *B. virginica* の約 80 より多かった。また、触手数はブラジルなど 3 地域で *B. virginica* として報告された種と類似していた。遺伝子解析では、COI, 16S とともに *Blackfordia* sp. はこれまでに多くの地域で報告されている *B. virginica* とは異なる遺伝構造をもち、ブラジル産 *B. virginica* と近縁であることが明らかになった。以上のことから、ベトナム初報告の *Blackfordia* sp. は、形態的にも遺伝的にも同属他種と異なり、未記載種の可能性が高いことが示唆された。

以上、本研究により、これまで知見が限られている東南アジア地域に生息するクラゲ類について、遺伝的多様性や初期生活史、初報告種の分類学的位置などが明らかになった。