

令和 6 年 6 月 6 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02266

研究課題名(和文) サンゴ礁生態系における褐虫藻供給源としてのシャコガイ類の役割

研究課題名(英文) Role of giant clams as a route to supply Symbiodiniaceae to coral reef ecosystems

研究代表者

小池 一彦 (Koike, Kazuhiko)

広島大学・統合生命科学研究科(生)・教授

研究者番号：30265722

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、サンゴの多くの種が幼生や稚サンゴの時に環境中から褐虫藻を取り込むことを念頭に、シャコガイの糞に含まれる褐虫藻がその共生ソースとなるとの仮説の下に、自然環境下で稚サンゴとシャコガイ(ヒレジャコ)の混合飼育を試みた。その結果、稚サンゴにはもともとヒレジャコに含まれていた遺伝子型の褐虫藻が共生し、また、2022年の高水温後に、これもヒレジャコに含まれていた高温耐性をもつ褐虫藻(Durusdinium属)が稚サンゴにおいて100%を占めた。この結果は、シャコガイに由来する褐虫藻がサンゴに移行しうることを、さらに高水温等の悪環境では、その環境に適した褐虫藻が供給しうることを示す。

研究成果の学術的意義や社会的意義

海水温の上昇に伴いサンゴ礁は危機に瀕している。稚サンゴの再移植等によりサンゴ礁再生の試みも多く行われているが、一度失われたサンゴ礁を復活させるのは難しい。我々はサンゴの生育や白化からの回復には、サンゴの共生藻である褐虫藻の供給が必要であり、それはサンゴ同様に褐虫藻を持ち、糞として体外に大量に放出するシャコガイが利用できるというアイデアのもとに、沖縄県宮古島市の現場環境で実験を行ってきた。シャコガイ(ヒレジャコ)と稚サンゴを混合養殖したところ、前者から後者への褐虫藻の意向が確認され、さらに高水温時期には、高水温に耐性をもつ褐虫藻がシャコガイからサンゴへ供給されている可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：In this study, we tried mixed rearing of juvenile corals and giant clams under natural environment under the hypothesis that zooxanthellae contained in the feces of giant clams are the symbiotic source, considering that many species of corals take up zooxanthellae from the environment when they are larvae and juveniles. As a result, zooxanthellae of the genotype originally included in the giant clams were found in the juvenile corals, and after high water temperature in 2022, zooxanthellae (genus Durusdinium) with high temperature tolerance, also included in the giant clams, occupied 100% in the juvenile corals. These results indicate that zooxanthellae derived from giant clams can be transferred to corals, and that zooxanthellae suitable for the environment can be supplied in adverse environments such as high water temperature.

研究分野：海洋生物学

キーワード：サンゴ礁 シャコガイ 褐虫藻 サンゴの白化

## 1. 研究開始当初の背景

サンゴ礁の維持には、サンゴの幼生が十分に供給され、着生・成長することが重要である。その際、放卵放精型のサンゴの 80%以上の種は環境中から褐虫藻を取り込む。また、サンゴは白化から回復する際にも環境中の褐虫藻を取り込む。すなわち、サンゴ礁の維持と回復には「環境中の褐虫藻」が極めて重要な役割を果たす。我々は、この環境中の褐虫藻の一部はシャコガイ類の「糞（ふん）」から供給されると考えている。シャコガイにはサンゴ同様に褐虫藻が共生するが、サンゴとは異なり、胃から伸びる毛細管様のチューブに褐虫藻を共生させている。増えた褐虫藻はチューブから胃に落ち、大部分は消化されず「糞」として大量に放出される。ウスエダミドリイシの幼生にシャコガイの糞を与えたところ、驚くべきことにサンゴ幼生もシャコガイの糞の褐虫藻を共生させた (Umeki, Yamashita, Suzuki, 他 2 名, Koike, *PLoS One*)。興味深いことに、糞として与えたほうが、褐虫藻を単独で与えた実験区よりも共生率が高かった。さらに、シャコガイの糞が、シャコガイ内で増加しオーバーフローしてきた褐虫藻であることを考えると、この機能はサンゴの環境適応性を高めている可能性もある。シャコガイ類は高水温に強く、32 程度まで水温が上昇しても白化しない。この様な高水温下で増殖できる褐虫藻が糞として多く放出され、それがサンゴに供給されれば、サンゴ・サンゴ礁の高水温に対する耐性を高めていると考えることができる。

## 2. 研究の目的

シャコガイの糞が、サンゴ等の褐虫藻を環境から獲得する生物に共生ソースを与え、それを促進し、しかも、サンゴ礁生態系が曝される環境変動（特に高水温）に応じた褐虫藻が供給されることにより、サンゴ礁全体の環境適応性を高める、これらを現場環境において明らかにすることを目的とする。そのために、実際の現場環境において、シャコガイと親サンゴを混合養殖することで、産まれたサンゴ幼生が褐虫藻を獲得しやすくなり、共生率・生残率は向上するか？高水温環境下でそれに適した褐虫藻がシャコガイから排出され、さらにサンゴに共生することで、サンゴの環境耐性を高めるのか？糞からサンゴへの褐虫藻の感染メカニズムはどのようなものなのかを明らかにした。

## 3. 研究の方法

### (1) 現場混合養殖

沖縄県宮古島市池間島沖のミズハマ海域 (N 24.921° E 125.246° 水深約 10m) とエビアナ海域 (N24.927° E 125.234° 水深約 7m) の 2 地点に鉄筋を溶接して作り上げた、縦 × 100 cm、横 × 200 cm、高さ × 40cm のケージを計 4 台設置した。ここに、2022 年 5 月に採卵したウスエダミドリイシの幼生（角筒ブロックに付着）を設置した。この角筒ブロックを各ケージにつき 20 個設置し、さらにエビアナ・ミズハマの各海域につき一つずつのケージに、沖縄県宮古島市海業センターで養殖されたヒレジャコ（2020 年産）200 個体ずつを設置した（図 1）。各海域の残りのケージ（ヒレジャコ未設置）は対照区とした。ヒレジャコは海中に設置する前に糞を回収し、共生する褐虫藻の遺伝子解析試料とした。

設置後、5 月、7 月、10 月、11 月にサンゴ及び周辺環境（海水・底質）の試料を回収し、主に褐虫藻の遺伝的多様性解析（NGS 分析による）もしくは褐虫藻属別定量 PCR（Yamashita et al. 2011）に供した。

### (2) シャコガイ糞からの褐虫藻の遊泳行動の観察

7 日齢のウスエダミドリイシ (*Acropora tenuis*) のプラヌラ幼生を人工海水に入れたもの（以下、P）、同様にプラヌラ幼生を入れて 1 日置きその後幼生を取り除いた人工海水（PS）、人工海水のみ（Control）を 6 ウェルプレートにそれぞれ 3 ウェルずつ用意し、ヒメジャコ *T. crocea* から採取した糞を各ウェルに加えた。P、PS においてはプラヌラ幼生の密度を 10 個体 mL<sup>-1</sup>、1 個

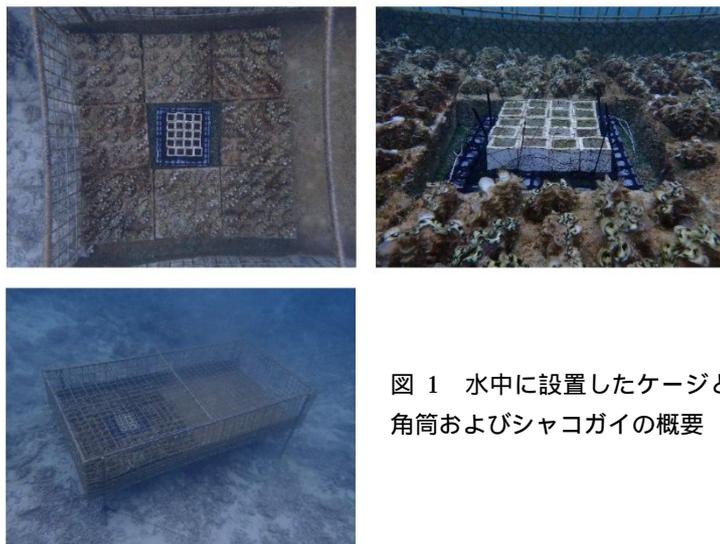


図 1 水中に設置したケージと角筒およびシャコガイの概要

体 mL<sup>-1</sup> のそれぞれ 2 通りの条件で行った。ウェルプレート午後 4 時にインキュベーター内に静置し、翌 10 時に P, PS で褐虫藻の遊泳を確認したので、その時点で全てのウェルを化学固定した。それぞれの区で褐虫藻細胞を透過型電子顕微鏡 (TEM) で観察・無作為に 30 細胞を撮影し、不動細胞、不動細胞から遊泳細胞への形態変化過程の細胞、遊泳細胞、の 3 つに、それぞれの形態の特徴から判断し、各形態の細胞割合を算出した。プラヌラ幼生以外に成体のサンゴによる影響も調べた。成体の *A. tenuis* を糞と同時にインキュベートする区 (以下, AT), *A. tenuis* をインキュベートしその後取り除いた人工海水区 (ATS), 人工海水のみの区 (control) を用意した。

#### 4. 研究成果

##### (1) 現場混合養殖

今回の NGS を用いた解析により、ケージ設置前のヒレジャコの糞と 10 月各ケージから採集した稚サンゴから、総有効リード数 546,101 リード、4 属 22 種もしくはリボタイプ別の褐虫藻が検出された (*Symbiodinium* 属 3 種, *Breviolum* 属 1 種, *Cladocopium* 属 11 種, *Durusdinium* 属 7 種)。これらを検出されたリード数を褐虫藻タイプ別のヒートマップに表した (図 2)。

5 月採集のヒレジャコの糞から最も多くのリード数を得られたのは、*Symbiodinium* 属タイプ A6, その次に *Symbiodinium* 属タイプ A3c であり、これらのタイプは各ケージから採集した全ての稚サンゴからも多く検出された。*Durusdinium* 属に関しては、各ケージから採集した稚サンゴ 15 サンプルのうち、8 サンプルからタイプ D1 が最も多くのリード数を得られただけでなく、*Durusdinium* 属群集の優占種であった。タイプ D1 は 5 月採集のヒレジャコ糞からも同様に検出をされた。また、*Cladocopium* 属はほとんどの稚サンゴ、ヒレジャコの糞からは検出されなかった。そこで、NGS 解析で検出された *Symbiodinium* 属と *Durusdinium* 属に着目をして、褐虫藻タイプ別にそれぞれ組成比を 100% 棒グラフで表した (図 3)

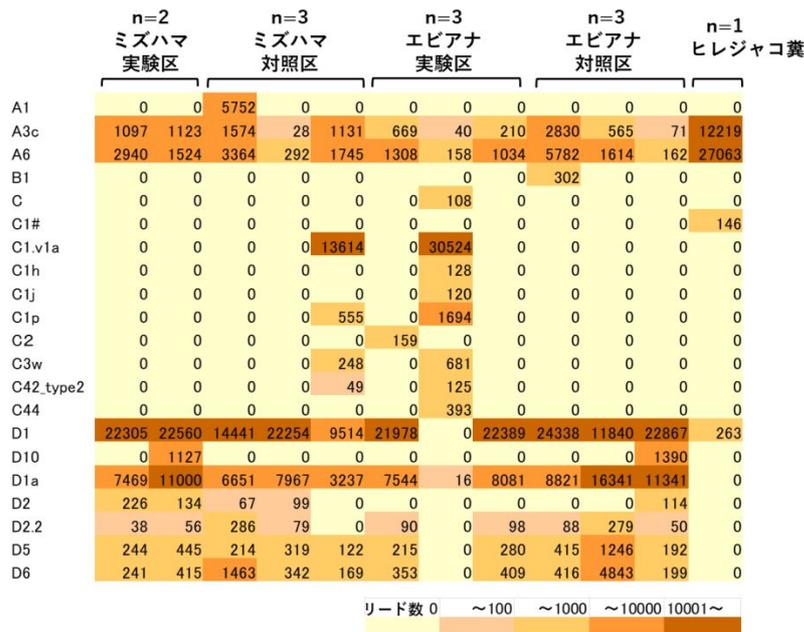


図 2 10 月に採集した稚サンゴサンプルとシャコガイに含まれる褐虫藻の遺伝子タイプの比較

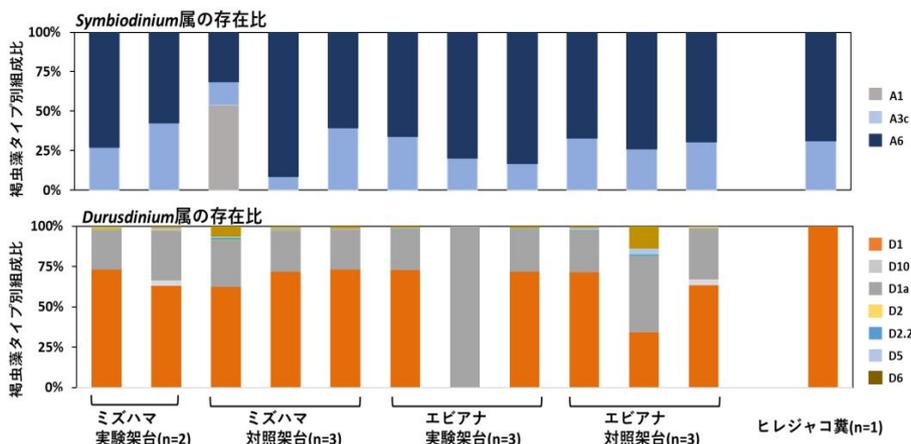


図 3 10 月に採集した稚サンゴサンプルとシャコガイに含まれる *Symbiodinium* 属および *Durusdinium* 属褐虫藻の遺伝子タイプの比較

グラフから、ヒレジャコの糞の *Symbiodinium* 属はタイプ A6, A3c の 2 種のみで占めているだけでなく、稚サンゴの *Symbiodinium* 属もミズハマ海域対照区の 1 サンプルを除いて、

これら 2 種のみで占められていた。また、これらの褐虫藻タイプ A6, A3c は *Symbiodinium tridacnidorum* と同定されており、主にシャコガイ類に共生することが多いことが知られている (Ikeda et al, 2017)。ヒレジャコの糞の *Durusdinium* 属はタイプ D1 のみで占められていた。このタイプ D1 はほとんどの稚サンゴサンプルの *Durusdinium* 属のタイプ別組成比において、50%以上を占めていた。定量 PCR の結果と同様に、*Durusdinium* 属の褐虫藻が多く検出されたことから、高水温の環境に適応するために稚サンゴが本属を取り込んだと推測できる。今回、NGS 解析を行ったサンプルから検出されたリード数の褐虫藻属別の組成比と、定量 PCR で検出された細胞数ごとの褐虫藻属別の組成比がほとんど同じ結果であることから、褐虫藻のリード数と細胞数に相関があると仮定をした。ヒレジャコの糞から検出されたシャコガイに多く共生する褐虫藻タイプ A6, A3c が、稚サンゴからも同様に検出されたことから、シャコガイ由来の *Symbiodinium* 属が、稚サンゴに供給されたことを示唆するものとなった。5 月の実験開始前の稚サンゴから検出されなかった *Durusdinium* 属が 10 月稚サンゴから検出された。さらに、シャコガイの糞から検出された褐虫藻タイプ D1 が稚サンゴから検出された *Durusdinium* 属群集の優占種であった。しかし、シャコガイの糞から検出された褐虫藻タイプ D1 のリード数は 263 リードと微量であるのに対し、稚サンゴから検出された本タイプの平均リード数は 19,965 リードと 2 桁も異なっていた。タイプ D1 がシャコガイの糞から供給された後に、上述したように高水温下などで稚サンゴ内で増殖したためだと思われるが、それ以外にも海水や底質の砂などの環境中から *Durusdinium* 属が稚サンゴに供給された可能性も考えられる。

## (2) シャコガイ糞からの褐虫藻の遊泳行動の観察

TEM 観察の結果、遊泳細胞への変化過程の と、遊泳細胞そのものの の合計の平均は、Control では  $47.8 \pm 3.14\%$  だったのに対して、P の 10 個体  $\text{mL}^{-1}$ , 1 個体  $\text{mL}^{-1}$  でそれぞれ  $74.4 \pm 4.16\%$ ,  $78.9 \pm 9.56\%$  PS の 10 個体  $\text{mL}^{-1}$ , 1 個体  $\text{mL}^{-1}$  でそれぞれ  $84.4 \pm 6.85\%$ ,  $71.1 \pm 7.86\%$  であった。P・PS では Control と比べて遊泳細胞に変化している割合が有意に高かった (図 4)。

シャコガイ糞中の褐虫藻をサンゴへの共生ソースとして考えると、糞がサンゴ幼生に接していない以上、糞から褐虫藻がサンゴ幼生へ能動的に到達する必要がある。本結果は、プラヌラ幼生が海水中に放出する何らかの成分が糞中の褐虫藻の球形不動ステージから遊泳ステージの尻の形態変化を促進することを示すものである。

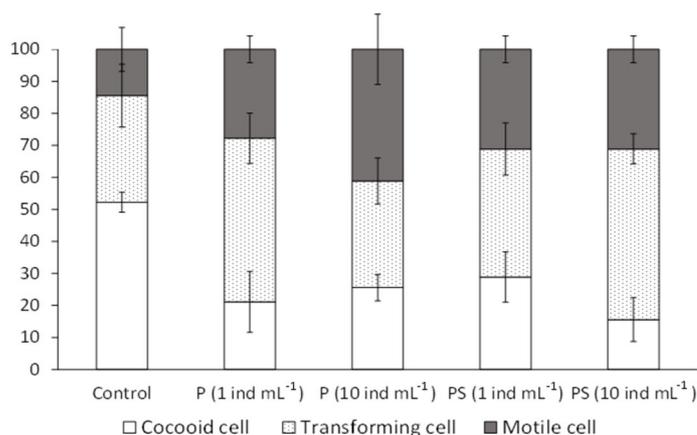


図 4 ヒメジャコ糞の褐虫藻の形態変化。Control は糞を人工海水にいれ、P はウスエダミドリイシのプラヌラ幼生を混合、PS はプラヌラ幼生の飼育海水を入れたもの

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 山本 心、山下 洋、鈴木 豪、佐藤太紀、小池一彦
2. 発表標題 シャコガイ糞中の褐虫藻の形態変化
3. 学会等名 日本サンゴ礁学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kazuhiko Koike
2. 発表標題 Giant clams may help conserving coral reefs!
3. 学会等名 ST John's Island National Marine Laboratory Research Seminar (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Sato T, Yamashita H, Suzuki G, Koike K
2. 発表標題 Genus composition and population of Symbiodiniaceae in the water columns of Sekisei Lagoon, Okinawa, Japan
3. 学会等名 Ocean Science Meeting, Hawaii, USA (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤 太紀、山下 洋、鈴木豪、小池 一彦
2. 発表標題 Symbiodinium属褐虫藻の3つの系統に対する定量PCR法の開発
3. 学会等名 日本サンゴ礁学会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 三本木 至宏、上田 晃弘、杉野 利久、鈴木 卓弥、富山 毅、船戸 耕一	4. 発行年 2021年
2. 出版社 共立出版	5. 総ページ数 256
3. 書名 SDGsに向けた生物生産学入門	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	山下 洋  (Yamashita Hiroshi)  (00583147)	国立研究開発法人水産研究・教育機構・水産技術研究所(長崎)・主任研究員   (82708)	
研究分担者	神保 充  (Jimbo Mitsuru)  (10291650)	北里大学・海洋生命科学部・教授   (32607)	
研究分担者	鈴木 豪  (Suzuki Go)  (30533319)	国立研究開発法人水産研究・教育機構・水産技術研究所(長崎)・主任研究員   (82708)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------