

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 18 日現在

機関番号：82708

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23770032

研究課題名(和文) サンゴからの褐虫藻放出パターンに関する研究

研究課題名(英文) Discharge pattern of symbiotic zooxanthellae from corals

研究代表者

山下 洋(Yamashita, Hiroshi)

独立行政法人水産総合研究センター・西海区水産研究所・研究員

研究者番号：00583147

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円、(間接経費) 1,050,000円

研究成果の概要(和文)：サンゴは共生する褐虫藻を過剰に放出してしまうと白化されると言われるが、サンゴがいつ、どのくらいの量の褐虫藻を放出しているかは不明である。本研究では、サンゴからの褐虫藻放出パターンを明らかにするため水槽実験、野外調査を行った。特にサンゴを高水温に晒す水槽実験においては、サンゴから放出される褐虫藻細胞数は水温が上昇すると増加する一方で、サンゴ内褐虫藻の細胞分裂は水温上昇により抑制されることが明らかとなった。したがって水温上昇時のサンゴの白化現象には、褐虫藻放出量の増加とサンゴ内褐虫藻の増殖力の低下の二つの要因が関与していると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Corals harbor zooxanthellae (dinoflagellate genus *Symbiodinium*) as symbionts. Discharge of zooxanthellae from corals is closely linked to coral bleaching. Although discharge can take place under non-stress conditions, little is known about the timing of discharge or the quantity of cells discharged. We performed field and laboratory experiments to clarify the pattern of zooxanthellae discharge from corals. The results revealed that (1) the number of cells discharged varied among coral colonies; (2) the corals tended to release more zooxanthellae during the daytime than during the night; (3) more cells were discharged when the water temperature was high; and (4) high water temperatures also inhibited cell division of zooxanthellae within coral tissues. Thus, it is plausible that an increased number of cells discharged from corals and fewer cell divisions within corals are involved in coral bleaching under high water temperature conditions.

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・生態・環境

キーワード：サンゴ礁生態系 白化現象 褐虫藻放出現象 生物圏現象 海洋生態 共生

1. 研究開始当初の背景

サンゴ礁海域はあらゆる海洋環境の中でもトップクラスの生物多様性と生産性を有す。この土台となっているのは造礁サンゴと呼ばれるイシサンゴ目のサンゴである。サンゴには褐虫藻と呼ばれる *Symbiodinium* 属の渦鞭毛藻が共生し、サンゴは褐虫藻の作り出す光合成産物を利用して生存・成長している。つまり豊かなサンゴ礁生態系は、サンゴと褐虫藻の健全な共生関係が根幹となっている。近年、この共生関係が崩壊し、サンゴの大量死につながる白化現象が各地で観察され問題となっている。大規模なサンゴの白化はサンゴ礁生態系の崩壊に直結するため、白化のメカニズム解明、あるいは白化予測技術の開発は急務であるが、これらは未だ解決されていない。白化は水温上昇などのストレスにより、多量の褐虫藻が放出される、あるいは死滅する等してサンゴが体内の褐虫藻を失う現象である。サンゴからの褐虫藻放出現象はサンゴの白化に密接に関係しているものの、研究の遂行は非常に困難である。なぜならば、褐虫藻は細胞が小さく、また形態的特徴に乏しいため、一度サンゴから放出されてしまうと顕微鏡下で観察、計数することが難しいためである。申請者らのグループはサンゴから放出された褐虫藻を検出・定量するため、顕鏡に依らない定量 PCR 法を利用したシステムを構築した。本定量 PCR システムを用いてこれまでに、野外のサンゴから放出される褐虫藻細胞数を初めて定量することに成功し、また予備的な水槽実験ではあるが、水温上昇によりサンゴから放出される褐虫藻細胞数が増加することを明らかにした。ここで、サンゴの白化には褐虫藻の放出が密接に関係するが、特にストレスがかかっていない状態のサンゴも褐虫藻を放出していることから、褐虫藻の放出自体は通常の生理現象であると考えられる。しかしながら、サンゴがいつ、どのぐらいの量の褐虫藻を放出しているのか、そして一体どのぐらいの量の褐虫藻を放出すると白化にいたるのかは不明である。

2. 研究の目的

サンゴの白化に密接に関係するサンゴからの褐虫藻放出現象であるが、サンゴからはいつ、どのぐらいの量の褐虫藻が放出されているのか、定量的な知見はほとんどない。しかしながら、白化が異常な褐虫藻放出の結果であるとするれば、平時の褐虫藻放出量を基準として白化の兆候を褐虫藻放出量の観点から予測することも期待できる。そのためにはサンゴがいつ、どのぐらいの量の褐虫藻を放出しているのか、その放出パターンを把握することが必須となる。本研究では、水槽実験、フィールド調査を通じて、サンゴからの褐虫藻放出パターンを把握することを目的とする。本研究では、サンゴから放出される褐虫藻は、サンゴ内で細胞分裂により増殖した余

剰分の褐虫藻であるとする作業仮説のもと、褐虫藻放出量とともにサンゴ内での褐虫藻の細胞分裂も同時に観察する。また、サンゴの白化に影響があると考えられる水温上昇時の褐虫藻放出パターンも明らかにする。

3. 研究の方法

(1) サンゴからの日周期的な褐虫藻放出パターンを明らかにするため、石垣島周辺で採取したスギノキミドリイシを2週間以上、明暗周期 12 時間 : 12 時間の屋内水槽で馴致飼育した。水槽は放出褐虫藻の採取用に 12L 水槽を3基、サンゴ内褐虫藻の分裂細胞の割合を観察するための水槽を3基の合計6基で行い、それぞれ 27°C の調温海水をかけ流し (3L/min.) とした。放出褐虫藻はかけ流しの状態で各水槽から3L採水し、採水直後に水槽内に流入する海水をストップし、1時間後に再度水槽内から3Lずつ採水を行った。採水試料は直ちに目合い 20 μm のふるいを通し夾雑物を除き、さらに孔径 0.8 μm のポリカーボネートフィルターで吸引ろ過を行い、放出された褐虫藻をフィルター上に捕集した後、冷凍保存した。サンゴ内褐虫藻の分裂割合は、1時間の止水中にそれぞれのサンゴからサンゴ組織を剥がし、ただちに顕微鏡下で観察、ランダムに300細胞以上の褐虫藻の分裂の有無を記録し、その割合を求めた。これらの作業を3時間おきに行った。

(2) 水温上昇時のサンゴからの褐虫藻放出パターンを明らかにするため、石垣島周辺で採取したタチハナガサミドリイシを水温 27°C、およびやや高水温条件である 30°C におき、放出褐虫藻量及びサンゴ内褐虫藻の分裂割合を見積もった。すなわち、6つの水槽にタチハナガサミドリイシを収容し、27°C で馴致後、3時間おきに10回、放出褐虫藻細胞数定量用の試料を3つの水槽から、また分裂細胞の観察のための試料を残りの3つの水槽からそれぞれ採取した。

(3) 野外のサンゴからの褐虫藻放出を観察するため、同一のコブハマサンゴに褐虫藻トラップを昼間の3時間装着し放出量を冬季と夏季と比較した。水槽実験、野外調査ともに褐虫藻の定量は申請者らの開発した定量 PCR システム (Yamashita et al., 2011, *Marine Biology*, 158) を用いて行った。

4. 研究成果

(1) 平成 23 年度に実施したスギノキミドリイシを用いた水槽実験の結果を図1及び図2に示す。スギノキミドリイシから放出される褐虫藻細胞数 (図1) は、サンゴ間で大きなばらつきがあったが、おおむね夜間よりも昼間の方が多くの褐虫藻を放出しているようであった。また、2日間の実験期間、3つの水槽ともに明け方の2時から5時にかけては一様に放出量の減少が見られた。一方で、

サンゴ内褐虫藻の分裂はすべての水槽で同調しており、消灯直後から徐々に分裂細胞の割合は増加し、点灯直前にピークとなった(図2)。したがって、スギノキミドリイシの場合、夜間サンゴ内で細胞分裂により増加した褐虫藻が昼間放出されていると考えられる。また、分裂細胞の割合がピークとなる明け方付近の褐虫藻放出量が少ないことから、分裂中の細胞を放出してしまうことを避けていることが示唆される。

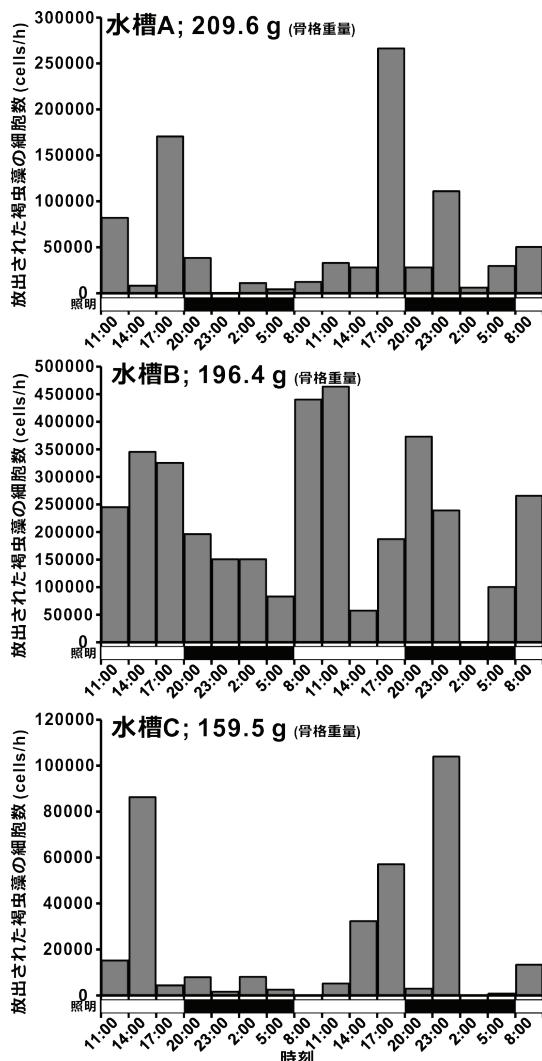


図1 水槽実験において各時間にスギノキミドリイシから放出された褐虫藻細胞数

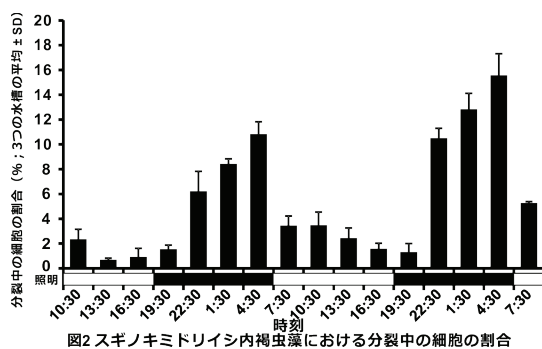


図2 スギノキミドリイシ内褐虫藻における分裂中の細胞の割合

(2) 水温 27°C と水温 30°C においたタチハナガサミドリイシから放出される褐虫藻細胞数およびサンゴ内褐虫藻における分裂細胞の割合を図3および図4に示す。27°C及び30°Cで3時間おきにそれぞれ10回、放出された褐虫藻細胞数を定量し、その結果を合計し水温別に比較したところ、いずれの水槽においても30°C時の方が放出量が多かった(図3)。すなわち、27°Cの放出量と比較すると、水槽Aで約1.7倍、水槽Bで約1.5倍、水槽Cで約2.7倍の褐虫藻が放出されていた。一方でサンゴ内褐虫藻における分裂中の細胞の割合は、スギノキミドリイシの場合と同様に、分裂細胞の出現ピークは明け方付近であったが、27°C時に最大で $10.5 \pm 1.3\%$ であった分裂細胞の割合は、水温30°C時においては $6.2 \pm 0.3\%$ と6割程度に減少していた(図4)。以上の結果から、水温上昇はサンゴからの褐虫藻放出を促進し、一方でサンゴ内褐虫藻の分裂を抑制する、と考えられる。したがってサンゴの白化現象(サンゴ内褐虫藻の細胞密度の低下)には、これら二つの要因が関与していると考えられる。

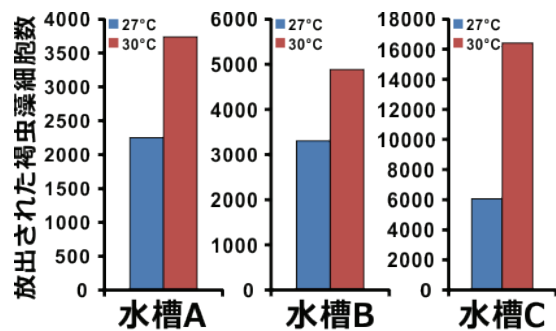


図3 水温27°C及び30°C時にタチハナガサミドリイシから放出された褐虫藻細胞数。10回の定量結果の合計。

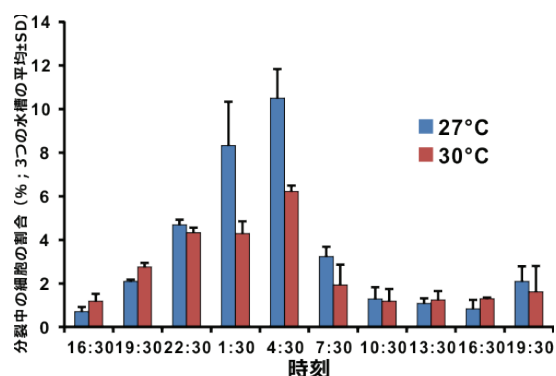


図4 タチハナガサミドリイシ内褐虫藻における分裂中の細胞の割合

(3) 石垣島浦底湾において、夏季と冬季に同一のコブハマサンゴから放出される褐虫藻細胞数を定量したところ、1時間にサンゴの表面積1 cm²あたりから放出される褐虫藻細胞数は8月で約50細胞、1月で約3細胞と、夏季の方が多くの褐虫藻を放出していた(図5)。

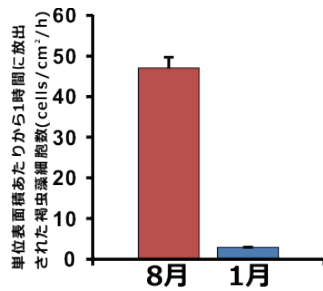


図5 夏季と冬季に野外のコブハマサンゴから放出された褐虫藻細胞数。

(4) サンゴの白化に密接に関係するサンゴからの褐虫藻放出現象であるが、本研究から褐虫藻の放出パターンは一様ではなく、同種さらには同一の群体においても日によって褐虫藻放出量あるいは放出のピークなどに差異があることが明らかとなった。しかし、サンゴ内褐虫藻細胞の分裂は、サンゴ種やサンゴ群体間でもよく保存されていた。明け方付近に分裂細胞の出現がピークとなるのは、動物から離して単独で培養中の褐虫藻ともよく一致するため、サンゴ内での褐虫藻の細胞分裂パターンはサンゴによって乱されていないことが解る。しかしながら、本研究からサンゴ内褐虫藻の分裂は水温上昇により抑制されることが明らかとなった。したがって、これまでサンゴが褐虫藻を失うことと考えられてきた白化現象であるが、サンゴからの褐虫藻放出量の増加だけでなく、サンゴ内褐虫藻の細胞分裂の抑制もサンゴ内褐虫藻細胞密度の低下に影響していると考えられる。

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2件)

- 1) Yamashita H. and Koike K. (2013) Genetic identity of free-living *Symbiodinium* obtained over a broad latitudinal range in the Japanese coast. *Phycological Research*. 61:68-80. doi: 10.1111/pre.12004 (査読有)
- 2) Yamashita H., Suzuki G., Hayashibara T., Koike K. (2013) *Acropora* recruits harbor "rare" *Symbiodinium* in the environmental pool. *Coral Reefs*. 32:355-366. doi: 10.1007/s00338-012-0980-2 (査読有)

[学会発表] (計7件)

- 1) 山下 洋, 鈴木 豪, 甲斐清香, 林原 毅, 小池一彦 「サンゴと褐虫藻の初期共生系 パートナーを選ぶのはサンゴか? 褐虫藻か?」 日本サンゴ礁学会第15回大会, 2011年11月22日, 東京大学本郷キャンパス

- 2) Yamashita H., Suzuki G., Kai S., Hayashibara T., Koike K. 「*Acropora* corals select preferable *Symbiodinium* clade in early symbiosis stages.」 12th International Coral Reef Symposium, 2012年7月9日, Cairns, Australia
- 3) Yamashita H., Suzuki G. 「Cell division cycle and discharge pattern of a symbiotic dinoflagellate *Symbiodinium* within *Acropora* coral」 10th International Phycological Congress, 2013年8月6日, Orlando, Florida, USA
- 4) 山下 洋, 鈴木 豪, 甲斐清香, 林原 毅, 小池一彦 「サンゴと褐虫藻の初期共生一両者の関係構築はランダムかそれとも選択的か?」 日本動物学会第84回大会関連集会(招待講演), 2013年9月26日, 岡山大学津島キャンパス
- 5) Yamashita H., Suzuki G., Kai S., Hayashibara T., Koike K. 「The mysterious ecology of the symbiotic relationship between corals and algal symbionts」 International Symposium on Aquatic Metagenomics(招待講演), 2013年11月24日, 北里大学白金キャンパス
- 6) 山下 洋, 鈴木 豪, 甲斐清香, 小池一彦 「様々な褐虫藻培養株を用いた観察実験 -cladeが違うと何が違うのか?-」 第16回日本サンゴ礁学会, 2013年12月13日, 沖縄科学技術大学院大学
- 7) 山下 洋, 小池一彦 「様々な遺伝子型褐虫藻の遊泳パターンと走光性」 日本藻類学会第38回船橋大会, 2014年3月15日, 東邦大学習志野キャンパス

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山下 洋 (YAMASHITA HIROSHI)
独立行政法人水産総合研究センター・
西海区水産研究所・任期付研究員
研究者番号: 00583147

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

鈴木 豪 (SUZUKI GO)
独立行政法人水産総合研究センター・
西海区水産研究所・研究員
研究者番号: 30533319