科学研究費助成事業 研究成果報告書



平成 28 年 6 月 24 日現在

機関番号: 18001

研究種目: 基盤研究(C)(一般)

研究期間: 2012~2015

課題番号: 24570030

研究課題名(和文)緯度勾配下における造礁サンゴの共生成立過程

研究課題名(英文)Symbiont acquisition in coral juveniles at different latitudes

研究代表者

波利井 佐紀(Harii, Saki)

琉球大学・熱帯生物圏研究センター・准教授

研究者番号:30334535

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文):造礁サンゴは、浮遊幼生が分散・定着する生活史初期に、定着環境に分布している複数の遺伝的タイプの共生藻類(褐虫藻)を取り込んで共生を成立させる。本研究では、地球温暖化に伴う生物の分布域北上に関連し、サンゴ幼生が低緯度から高緯度へと分散した後、親サンゴとは異なる水温・光環境下でどの褐虫藻タイプと共生を成立するかを明らかにした。その結果、稚サンゴは両海域で定着後3ヶ月間は生き残った。また、両海域の共生褐虫藻タイプは、親サンゴでは同一だったものの稚サンゴでは異なった。これより、稚サンゴは定着初期に特定の褐虫藻タイプを選択するのではなく、地域的な環境から利用できるものを取り込むことが示唆された。

研究成果の概要(英文): Reef building corals disperse to new environments through their planktonic larvae. During the larval stages corals acquire symbiotic algae (zooxanthellae) from the environment. The pupose of this study was to study the symbiont acuisition in a context of poleward shift in distribution range, as is currently observed with global warming. We examined how coral develop symbiosis with different algae when transplanted in regions with different water temperature and light conditions. The results obtained suggest that juvenile corals originating from Okinawa and reaching temperate area such as Kochi can survive at least until three months. However, although temperate and tropical native adults harbor the same symbiont types, the symbionts acquire are different between juveniles grown in their original location and transplants. This finding suggest that more than species specific preferences, juvenile corals acquire mainly available types present in the environment.

研究分野: 海洋生物学

キーワード: 造礁サンゴ類 共生褐虫藻 初期生活史 緯度勾配

1.研究開始当初の背景

近年、世界各地で地球温暖化に伴う海水温の上昇が観測されており、黒潮流域でも、海洋全体の平均水温よりも高くなってきている。この様な海水温の上昇は、しばしば沿岸域に生息する海洋生物の生態系に大きな沿響を与え、一部の造礁サンゴ類(以下、サンゴ)でも、その分布が熱帯・亜熱帯海域はより、温帯海域へと北上していることが報告されている。サンゴは固着性であることから、れている。サンゴ種の分布域が拡大したとすると、他の海域からの浮遊幼生が分散・定着し、生残したことが考えられる。

一方、サンゴは褐虫藻と呼ばれる渦鞭毛藻類の一種と共生している。褐虫藻は分子生物学的に9つの遺伝的系統に分類され、さらに複数のサブタイプに分けられる。成体サンゴはある海域では特定の褐虫藻タイプと共生するが、異なる海域では他の褐虫藻タイプと共生する。多くのサンゴは褐虫藻と共生しない卵を生み(水平伝搬型)、幼生を分散・定着させ、稚サンゴ時期に、生息環境に適した褐虫藻タイプと共生すると考えられる。

これまでに、サンゴ幼生の分散過程の成果から、野外では親サンゴとは別な礁へ分散することや、またサンゴ幼生が1ヶ月以上も浮遊し定着できることがわかっている。しかしながら、サンゴの産卵後、幼生が黒潮の下流へと分散、すなわち低緯度から高緯度海域へと緯度の勾配がある海域へと分散し定着で、設サンゴとは全く異なる光・水温環境し、生残・成長し、どのように褐虫藻を選択し、共生を成立させていくのかについてはわかっていない。

2.研究の目的

本研究では、サンゴ幼生が低緯度から高緯度という緯度勾配のある海域へ分散した後、生残し、異なる水温・光環境下でどのような褐虫藻タイプと共生するのかを明らかにし、サンゴの異なる分散先の環境への適応心程を考察する。そのため、分布域の異なる成体サンゴ数種を対象に、稚サンゴを緯度の異なる海域で飼育し、環境中にどの褐虫藻タイプを選択し獲得するのか、長期にどのようにこれらの褐虫藻タイプを変化させ共生を成立させるのかを検討した。具体的には以下を明らかにした。

(1)稚サンゴの初期の褐虫藻獲得

沖縄に生息する水平伝搬型サンゴより幼生を採集、高緯度海域に移動・定着させ、野外で飼育を行い、定着初期にどの褐虫藻タイプを獲得するのかを調べた。また、対照区として沖縄でも同様に調べて比較を行った。

(2)稚サンゴの共生成立(長期変化)

1で設置した稚サンゴを長期的に飼育し、 定期的に採集して褐虫藻タイプを特定し、最 終的にどのタイプと共生が成立するのかを 調べた。

(3)環境中に分布する褐虫藻タイプ

稚サンゴが利用できる環境中に分布する 褐虫藻タイプを明らかにするため、サンゴの 定着時期に様々な海域より水柱から試料を 得て遺伝子解析を行った。これより、稚サン ゴがどの褐虫藻タイプを獲得する可能性が あるのかを検討した。

3.研究の方法

対象海域およびサンゴ種、採卵

対象海域は水温・光量の違いがみられる緯度勾配のある沖縄(低緯度,亜熱帯)および高知(高緯度,温帯)とした。沖縄周辺海域にはミドリイシ属、キクメイシ属、ハマサンゴ属、ハナヤサイサンゴ属等のサンゴ類が生息している。また、温帯域にある高知海域にはミドリイシ属やハナヤサイサンゴ属、キクメイシ属等が主に生息している。

対象種は、ミドリイシ属サンゴで高緯度へ 分布域の拡大が記録されている種類とそう ではない種類を選定した。はじめに、ミドリ イシ属サンゴを採取し、産卵後、サンゴから バンドルを採集し、屋内の実験室にて数群体 の精子と卵を海水と一緒にプラスチック容 器内で混合し受精させ、幼生を作成し、実験 に用いた。

稚サンゴの生残率と成長

各幼生は水槽内にて、沖縄及び高知海域それぞれの地域で、ろ過海水中でのタイル上に定着させた。タイルは予め各調査海域に2-3ヶ月ほど沈めていたもの(サンゴ藻などを付着させ、幼生の定着を促進させるため)を使用した。

タイル上に定着した稚サンゴより、生残、 大きさ、ポリプ数を測定し、また、下記の遺 伝子解析用試料を作成した。

遺伝子解析

共生褐虫藻の遺伝子解析のために、親サンゴおよび数ヶ月おきに稚サンゴを採取した。 サンゴ組織からの DNA を抽出した。

また、サンゴの共生褐虫藻のソースとなる環境中の褐虫藻相を調べるため、各地点においてサンゴの飼育海域付近で採水し、吸引ろ過によりフィルター上に採集し、DNAを抽出した。

褐虫藻タイプをサブタイプレベルまで特定するために変性剤濃度勾配ゲル電気泳動(DGGE: Denaturing Gradient Gel Electrophoresis)を用いた。本研究では褐虫藻の核リボソーム遺伝子の内部転写スペーサー2(ITS2) 領域を PCR にて増幅し、DGGE

法を行った。DGGEによってふるい分けられた褐虫藻のDNA断片は、塩基配列に応じて異なるバンドとして観察される。観察された各バンドがどの褐虫藻タイプに相当するのかを知るために、各バンドをDGGEゲルより切り出し、シーケンスに供し、既知の褐虫藻遺伝子データと照合し、褐虫藻タイプを同定した。

4. 研究成果

稚サンゴは、両海域共に3ヶ月目まで生き残り、その生残率は、どの種も沖縄海域よりも高知海域で飼育したものが有意に高かった。これらの結果から、対象サンゴ種が亜熱帯から温帯域へと分散した場合、どの種も少なくとも秋季までは生存し、温帯域でも亜熱帯域同様に成長することがわかった。

獲得褐虫藻相については、沖縄で飼育した 稚サンゴからは4つのクレード 10 サブタイ プが、高知からは同クレード 9 サブタイプが 検出された。一方、それぞれのサンゴ種の成 体からはクレード C の同じサブタイプのみ がみられた。海水試料では、瀬底で3つのク レードが、高知西泊からは2つのクレードが 検出された。クレードレベルで稚サンゴの獲 得褐虫藻相についてクラスター分析を行う と、沖縄グループと高知グループで概ね分かれ、成長段階でも異なった。

以上より、稚サンゴは定着初期に特定の褐虫藻タイプを選択するのではなく、地域的な環境から利用できるものを取り込むことが示唆された。また、獲得褐虫藻相は地点間での差があったこと、採取時期ごとに分かれたことから、稚サンゴは種間の差よりも生息環境の環境条件や成長段階に合わせて褐虫藻を獲得し、共生することが示唆された。

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3件)

Mohamed AR, Cumbo V, <u>Harii S</u>, Shinzato C, Xin C, Ragan M, Bourne D, Willis B, Ball EE, Satoh N, Miller DJ (2016) The transcriptomic response of the coral *Acropora digitifera* to a compatible *Symbiodinium* strain: the symbiosome as an arrested early phagosome. Mol Ecol. In press(査読あ 1)

Harii S, Hongo C, Ishihara M, Ide Y, Kayanne H. (2014) Impacts of multiple disturbances on coral communities at Ishigaki Island, Okinawa, Japan, during a 15-year survey. Mar Ecol Prog Ser 509: 171-180 (査読あり)

Baird AH, Cumbo VR, Figueiredo J, <u>Harii S</u> (2013) A pre-zygotic barrier to hybridization in two con-generic species of scleractinian corals. F1000Research 1 Nov 2013, 2:193. [v2; ref status: indexed, http://f1000r.es/27i] doi:10.12688/f1000research.2-193.v2 (査読あり)

[学会発表](計11件)

中 辻 裕・依藤 実 樹 子・ <u>Frederic Sinniger・波利井佐紀</u> (2015) 高水温下における垂直伝播型稚サンゴの生残と褐虫藻組成の変化. 日本サンゴ礁学会第 18 回大会. 11 月 27-30 日. 慶応大. 東京.

依藤実樹子・<u>波利井佐紀</u>・中村良太・内田智・中村浩介(2015)稚サンゴの遺伝的差異と高水温下における共生褐虫藻の変化.日本サンゴ礁学会第18回大会.11月27-30日.慶応大.東京.依藤実樹子・<u>波利井佐紀</u>・中村良太・西崎孝之・渡邊則仁(2014)高温環境下における稚サンゴの共生褐虫藻相の変化.日本プランクトン学会・日本ベントス学会合同大会.9月4-7日.広島大学東広島キャンパス.広島.

武藤絢子・安田直子・Camille Paxton・松崎吾郎・<u>波利井佐紀</u>(2014)獲得共生藻の違いによる生活史初期サンゴの高温ストレス応答.日本サンゴ礁学会第17回大会.11月27-30日.高知城ホール.高知.

依藤実樹子・波利井佐紀・中村良太・西 崎孝之・渡邊則仁(2014)高水温環境下 で稚サンゴの共生褐虫藻はどう変 化 す るか? 日本サンゴ礁学会第 17 回大会. 11月27-30日. 高知城ホール. 高知. 波利井佐紀・依藤実樹子(2013)サン ゴ初期生活史における褐虫藻共生成 立・維持過程と地球温暖化応答. Onset and maintenance of symbiosis in early stage of corals and its response on to global warming. 関連集会:刺胞 動物と共生―川口四郎先生に端を発す る研究の最新成果- Symbiosis in cnidarians -Recent advances of research originatinged from. Dr. Siro Kawaguti 日本動物学会第84回大会.9 月 26-28 日. 岡山大. 岡山.

依藤実樹子・<u>波利井佐紀</u>・中村良太・安藤 亘・石岡 昇・西崎孝之・小森健史 (2013) 高温環境下における稚サンゴの 共生褐虫藻相の変化. 日本サンゴ礁学会第 16 回大会. 12 月 12-14 日. 沖縄科学技術大学院大学.沖縄.

木島大雅・依藤実樹子・<u>Frederic</u> <u>Sinniger</u>・目崎拓真・<u>波利井佐紀</u> (2013) 沖縄 - 高知海域の稚サンゴの成 長および共生褐虫藻相の比較、日本サ ンゴ礁学会第 16 回大会 . 12 月 12-14 日沖縄科学技術大学院大学.沖縄. Harii S, Sinniger F, Nakano Y, Hidaka M (2012) Changes in symbiont types in juveniles of the coral Acropora tenuis at different depth. 12th Inter Coral Reef Symp., 9-13 July. Cairns, Australia Harvanti D. Harii S. Hidaka M (2012) Comparison of survivorship zooxanthella-free planulae of Acropora tenuis and zooxanthellate planulae of Pocillopora damicornis under thermal stress. 12th Inter

Australia 木島大雅・依藤実樹子・<u>Frederic</u> <u>Sinniger</u>・<u>新垣誠司</u>・目﨑拓真・<u>波利</u> <u>井佐紀</u>(2012)緯度勾配下における 稚サンゴの獲得褐虫藻タイプの比較. 日本サンゴ礁学会第 15 回大会.11 月 22-25 日.東京大学本郷キャンパス.

Coral Reef Symp., 9-13 July. Cairns,

[図書](計 0 件)

〔産業財産権〕

東京.

○出願状況(計 0 件)

名称: 発明者: 権利者: 種類: 番号: 出願年日

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

波利井 佐紀 (Saki Harii) 琉球大学熱帯生物圏研究センター・ 准教授

研究者番号: 30334535

(

)

(2)研究分担者

研究者番号:

(3)連携研究者

フレデリック シニゲル

(Frederic Sinniger) 琉球大学熱帯生物圏研究センター・

ポスドク研究員

研究者番号: 10625940

新垣 誠司 (Seiji Arakaki)

九州大学理学部・助教 研究者番号:10452963