

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月31日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21310011

研究課題名（和文） サンゴ礁の褐虫藻サイクルに関する研究

研究課題名（英文） Zooxanthellal cycle in coral reefs

研究代表者

小池 一彦 (KOIKE KAZUHIKO)

広島大学・大学院生物圏科学研究科・准教授

研究者番号：30265722

研究成果の概要（和文）：

造礁サンゴの枝部にトラップを仕掛け、放出される褐虫藻を遺伝子タイプ別に同定・定量した。その結果、サンゴからは常に多くの褐虫藻が放出されていること、しかし、放出される褐虫藻の遺伝子タイプはサンゴ組織内のタイプ組成を反映せず、一般に水温ストレスに強いと言われるタイプは放出されづらいことを見出した。放出された褐虫藻は周辺の環境水中に蓄積しており、それが別のサンゴの共生ソースとなることを支持する結果も得た。

研究成果の概要（英文）：

To quantify *Symbiodinium* released from corals, traps were set to the branches of corals and the contents were subjected to quantitative PCR, which enable to detect each ribotypes. In the results, we found significant amount of *Symbiodinium* were released from the branches, but the released ribotypes were not congruent to those in the coral tissues, rather, heat-tolerable ribotypes were few among the released ones. In other results, we also found that released *Symbiodinium* biomass accumulated in the surrounding waters and may become “source” to next coral hosts.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	8,000,000	2,400,000	10,400,000
2010年度	4,800,000	1,440,000	6,240,000
2011年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
総計	14,200,000	4,260,000	18,460,000

研究分野：海洋微細藻類学

科研費の分科・細目：環境学・環境動態解析

キーワード：生物海洋

1. 研究開始当初の背景

海洋生物多様性の宝庫であるサンゴ礁は、造礁サンゴによって形成されるが、その根幹となるのは褐虫藻と呼ばれるサンゴ共生藻である。これまでの研究により、水温ストレスなどがサンゴからの褐虫藻の放出を促進す

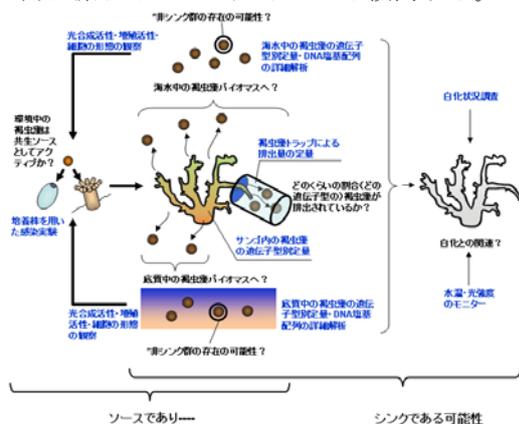
ることがわかっているが、現場での定量的な解析は行われていない。また、サンゴ種の多くは褐虫藻を環境中から取り込むことが知られているが、そのソースとなる褐虫藻が何に由来するかは分かっていない。

2. 研究の目的

我々はこれまでに、サンゴ礁の底質や海水中には、多くの褐虫藻が単独で存在すること、さらに、サンゴからは大量の褐虫藻が放出されていることを認めてきた。この環境中の褐虫藻は、周辺のサンゴから排出された「シンク」であると同時に、新たなサンゴに共生する「ソース」となる可能性もある。本研究では、サンゴ内・外および様々な環境中の褐虫藻を対象に、その分布、消長、多様性、生理・生態的特性を調査し、サンゴ礁における「褐虫藻サイクル」を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

初年度および平成 22 年度は石垣島の浦底湾をモデル海域とした定期的なフィールド調査を行う。ここでは、モデル海域の全ての系の褐虫藻バイオマス（サンゴ内、サンゴから排出されるもの、底質・海水中に存在するもの）を遺伝子型別に定量する。これにより、環境中の褐虫藻の増減（および出現遺伝子型の変遷）と、サンゴからの排出との関連を議論する。加えて、環境変動のモニタリングとサンゴの白化状況調査を実施し、環境中の褐虫藻バイオマスの時系列変化やサンゴ白化との関連を調べる。なお、平成 22 年度は各系の褐虫藻バイオマスの生理状態についても検討する。平成 22 年度後半から 23 年度は、環境中の褐虫藻の、次なる「共生ソース」としての評価に集中して取り組む。前年度までに多数の褐虫藻培養株を作成し、サンゴ幼生への感染実験を行う。これにより、どの時期に出現するどの遺伝子系統の褐虫藻が、サンゴの共生ソースとして再度（新たに）褐虫藻サイクルに入るのかを検討する。



4. 研究成果

(2009 年度)

本年度の研究では特に；1、様々なサンゴから放出される褐虫藻及びサンゴ内に残存する褐虫藻の遺伝子型別定量，2、シンク・ソースとしての環境中の褐虫藻の存在意義

に関して、沖縄県石垣島浦底湾において調査を行った。

1 に関しては、湾内に生息する複数のサンゴ群体に対して 6 月及び 8 月に褐虫藻トラップを装着し、そこに放出される褐虫藻の遺伝子型及びその細胞数を定量 PCR により見積もった。その結果、いくつかのサンゴにおいては、水温の高い 8 月の方が 6 月に比べて多くの褐虫藻を放出していた。また、サンゴ内に残存する褐虫藻量を比較すると、調査した全てのサンゴで 8 月の褐虫藻量は 6 月のそれに比べて約 30% の減少が見られた。これは、6 月と 8 月の調査の間に大規模な褐虫藻放出があったことを示唆するものである。また、放出された褐虫藻は透過型電子顕微鏡観察の結果、目立った損傷は見られず、健康に見えた。

2 に関しては、湾内に 4 つの定点を設置し毎月 1 回の採水を行い、そこに出現する褐虫藻の細胞密度を遺伝子型別に定量した。その結果、水柱にはサンゴ内と同じ遺伝子型の褐虫藻が低密度 (100~200 cells/L) ながら出現していたが、8 月 29 日の採水時には約 4000 cells/L の高密度な出現が認められた。定点に設置していたメモリー式水温計のデータを見ると、高密度な出現が認められた 8 月 29 日の水温は 29.6° C であり、さらにその直前 1 週間は約 30° C 付近の水温で推移していた。これは上記 1 の結果と照らし合わせると、高水温によりサンゴから大量に放出された褐虫藻が水柱にシンクとして蓄積していると考えられる。

(2010 年度)

前年度までにサンゴから褐虫藻がコンスタントに放出されていること、また環境中には褐虫藻が単独で出現していることを明らかにした。環境中の褐虫藻はサンゴから放出された「シンク」であるとともに新たな共生の「ソース」にもなると予想される。本年度は特に放出された褐虫藻の「ソース」としてのポテンシャルを見積もるため、以下の検証を行った；1、サンゴから排出された褐虫藻の微細形態の観察，2、同褐虫藻の光合成活性の測定，3、褐虫藻の光合成関連タンパク質の定量・局在状態，4、同褐虫藻の増殖ポテンシャル。

1 に関しては、サンゴから放出された褐虫藻の透過型電子顕微鏡観察を行ったが、放出された褐虫藻に鞭毛などは確認されなかったが、目立った損傷もなかった。2 に関しては、様々な水深から多種のサンゴを採取し、水槽実験を行った。人工的にサンゴから褐虫藻を分離し、時間を置いて光合成活性を測定した結果、分離した褐虫藻の光合成活性が有意に低下するものと、光合成活性が保たれるものが存在した。これが褐虫藻の遺伝型、あるいは光合成関連タンパク質の違いによるものか確

認するため、遺伝子解析に着手した(3)に
関係)。また、光合成活性が保たれた褐虫藻はその
後、わずかに増殖が見られた(4)に
関係)。さらに、採取したサンゴを高水温に曝したところ
、深場のサンゴほどサンゴ内褐虫藻の光合成
活性が低下しやすかったが、高水温がサンゴ
と褐虫藻どちらに影響したのかは今後の検討
が必要である。以上の結果を合わせると、サン
ゴから放出される褐虫藻「シンク」には、
細胞の損傷がなく、光合成活性も維持され、
増殖が期待でき「ソース」としてのポテンシ
ヤルを有すると予想されるものが確かに存在
する。

(2011年度)

当該年度は2回の石垣島での調査・実験を行
った。実施計画ではフィールドのサンゴにト
ラップを仕掛け、そこに放出されてくる褐虫
藻の状態を観察する予定であったが、これ
では十分な細胞数が得られなかったため、急遽
、水槽実験に切り替えた。10種のサンゴを水
槽で流水飼育し、昼間に一定時間流水を停止
、その間に放出されてくる褐虫藻を定量した
。また、そのカルセイン染色により、褐虫藻
がサンゴ細胞に包まれているか否か、カル
コフロール染色により放出される褐虫藻が自由
遊泳ステージに形態変化している可能性を調
べた。なお、サンゴからの褐虫藻の放出を、
定常的な現象(=健全な排出)とサンゴ白化
に伴う異常現象(=ストレスによる異常排出
)にわけて考えるため、水温27°Cと30°Cで飼
育した。Calcein-AM染色の結果、非ストレス
下(27 °C)より温度ストレス下(30 °C)の時に
放出された褐虫藻の方が、比較的サンゴ組織
に包まれている割合が高いことが分かった。
いずれの温度下で放出された褐虫藻も、形態
的には球形の共生ステージであったが、ほ
ぼすべての細胞がCalcofluorで染色されたこ
とから、鎧板を持つ自由生活ステージ(も
しくは移行状態)にあることが示唆された。
なお、非ストレス下で放出された褐虫藻を海
水中で維持すると、翌日には鞭毛を持ち遊
泳する細胞が多数確認された。光化学系II
の最大量子収率については、非ストレス下
で放出された褐虫藻の方が高いFv/Fmの値
を示した。これらのことから、少なくとも非
ストレス下で放出された褐虫藻は生理的に
activeであり、自由生活ステージに移行可
能である、すなわち、昨今議論が活発にな
っている“ビーコン仮説(自由生活状態の
褐虫藻が他サンゴへ誘引される)”の一端
を支持するものかもしれない

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)

1. Yamashita H, Suzuki G, Hayashibara T, Koike K. Do corals select zooxanthellae by alternative discharge? *Marine Biology*. 査読有. 158 (2011): 87-100.
2. 山下 洋, 小池一彦. サンゴ内外から探る「サンゴ-褐虫藻共生系」解明の手掛かり. *熱帯海洋生態研究振興財団 機関誌「みどりいし」*. 査読無. 22 (2011) 14-20.
3. Yamashita H, Kobiyama A, Koike K. Do Uric Acid Deposits in Zooxanthellae Function as Eye-Spots? *PLoS ONE*. 査読有. 4 (2009) doi:10.1371/journal.pone.0006303

[学会発表] (計14件)

1. 小池一彦, 山下洋. サンゴと褐虫藻の共生確立と崩壊. 日本惑星科学連合 2011 年大会招待講演 (「光エネルギーを巡る進化」セッション). 2011 年 5 月 23 日. 千葉県幕張.
2. 藤瀬里紗, 山下洋, 鈴木豪, 小池一彦. サンゴから放出される褐虫藻の形態と生理: 温度ストレス下と非ストレス下での比較. 日本サンゴ礁学会第 14 回大会. 2011 年 11 月 4 日. 沖縄県那覇市.
3. 山下洋, 鈴木豪, 甲斐清香, 林原毅, 小池一彦. どの遺伝子系統群の褐虫藻がサンゴ幼生への共生ソースとなり得るか? 日本サンゴ礁学会第 14 回大会. 2011 年 11 月 4 日. 沖縄県那覇市.
4. 小池一彦, 山下洋, 鈴木豪, 林原毅. サンゴ礁の褐虫藻サイクルに関する研究. 日本サンゴ礁学会第 14 回大会. 2011 年 11 月 5 日.
5. Yamashita H, Suzuki G, Hayashibara T, Koike K. Quantitative real-time PCR method for enumeration of zooxanthellae released from corals. 28th Scientific Meeting of the Association of Systematic Biologists of the Philippines. 2010 年 5 月 21 日. Laguna (Philippines)
6. 山下 洋, 鈴木 豪, 甲斐清香, 林原 毅, 小池一彦. ミドリイシ属サンゴ幼体に獲得される褐虫藻のクレード ~ 野外調査による追跡 ~. 日本サンゴ礁学会第 13 回大会. 2010 年 12 月 2 日 茨城県つくば市.
7. 高屋陽平, 山下 洋, 鈴木 豪, 小池一彦. 高温ストレス下における造礁サンゴ褐虫藻の光合成活性. 日本サンゴ礁学会第 13 回大会. 2010 年 12 月 2 日. 茨城県つくば市.
8. Yamashita H, Hayashibara T, Liao LM, Koike K. Phylogenetic study of

zooxanthellae (Dinoflagellate genus *Symbiodinium*) occurring in western Pacific coral reef environments. 27th Annual Scientific Conference of the Association of Systematic Biologists of the Philippines. 2009年5月29日. Manila (Philippines).

9. Yamashita H, Hayashibara T, Koike K. Phylogenetic analysis of host-free zooxanthellae (*Symbiodinium*). The 9th International Phycological Congress. 2009年8月4日. 東京都 渋谷区.
10. Yamashita H, Yura A, Hayashibara T, Koike K. Quantification of zooxanthellal clade released from corals. The 9th International Phycological Congress. 2009年8月6日. 東京都 渋谷区.
11. 山下 洋, 鈴木 豪, 林原 毅, 松岡 友, 小池一彦. サンゴから放出される褐虫藻量は時期によって変化するのか：同一サンゴ群体からの追跡. 日本サンゴ礁学会第12回大会. 2009年11月28日. 沖縄県本部町
12. 松岡 友, 山下 洋, 由良 顕子, 鈴木 豪, 林原 毅, 小池一彦. 水温上昇はイシサンゴからの褐虫藻放出を誘発するか？：水槽実験と定量PCRによる検証. 日本サンゴ礁学会第12回大会. 2009年11月29日. 沖縄県 本部町.
13. 小池一彦, 山下 洋. 様々な褐虫藻ストレインの光合成活性. 日本サンゴ礁学会第12回大会. 2009年11月29日. 沖縄県本部町.
14. 山下 洋, 鈴木 豪, 林原 毅, 小池一彦. サンゴ礁の水柱・底質における褐虫藻の出現. 日本サンゴ礁学会第12回大会. 2009年11月29日. 沖縄県 本部町

[その他]

ホームページ等

<http://home.hiroshima-u.ac.jp/~hubol/members/koike/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小池 一彦 (KOIKE KAZUHIKO)

広島大学・大学院生物圏科学研究科・准教授
研究者番号：30265722

(2) 研究分担者

鈴木 豪 (SUZUKI GO)

(独)水産総合研究センター・西海区水産研究所
所重熱帯研究センター・研究員
研究者番号：30533319

林原 毅 (HAYASHIBARA TAKESHI)

(独)水産総合研究センター・西海区水産研究所
所重熱帯研究センター・研究員
研究者番号：60372017

山下 洋 (YAMASHITA HIROSHI)

(独)水産総合研究センター・西海区水産研究所
所重熱帯研究センター・研究員
研究者番号：00583147