

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25年5月9日現在

機関番号：18001

研究種目：新学術領域研究

研究期間：2008～2012

課題番号：20121002

研究課題名（和文） 複合ストレスに対するサンゴ-褐虫藻共生系の応答

研究課題名（英文） Responses of coral-zooxanthella symbiotic system to combined stresses

研究代表者

日高 道雄 (HIDAKA MICHIO)

琉球大学・理学部・教授

研究者番号：00128498

研究成果の概要（和文）：

本研究では、様々な生活史特性を持つサンゴのストレス応答を、特に初期生活史に焦点を当てて調べた。褐虫藻の存在がプラヌラ幼生のストレス感受性を高めること、褐虫藻のタイプによりサンゴ幼群体のストレス応答が異なること、ストレス特異的に反応して発現が変化する遺伝子があることを発見した。さらに群体型や遺伝子型などの違いによるサンゴのストレス応答の違い、各種ストレスによる群体死亡要因や新規加入の変動などを解析し、野外の群集モニタリング結果と関連づけた。

研究成果の概要（英文）：

We aimed to understand responses of coral-zooxanthella symbiotic system to combined stresses. Our major findings are; (1) algal symbionts become a burden for the host under stressful conditions, (2) symbiont type affects the stress response of coral juveniles, and (3) some coral and algal genes exhibit stress-specific changes in expression. Colonial morphology and host genotypes also affect stress susceptibility of corals. The cause of death of corals, changes in recruitment rate, and population dynamics of corals in Okinawa were analyzed.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	16,300,000	4,890,000	21,190,000
2009年度	17,100,000	5,130,000	22,230,000
2010年度	15,300,000	4,590,000	19,890,000
2011年度	14,900,000	4,470,000	19,370,000
2012年度	12,200,000	3,660,000	15,860,000
総計	75,800,000	22,740,000	98,540,000

研究分野：サンゴ礁生物学

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、

1. 研究開始当初の背景

サンゴ礁生態系が地球温暖化や海洋酸性化などの環境変動にどのように応答するか、特にサンゴ礁の基盤を形成するサンゴ-褐虫藻共生体の環境ストレス応答の理解は、サンゴ礁の将来を予測する上できわめて重要で

ある(Hoegh-Guldberg et al. 2007)。一方で、海水温の上昇や海洋酸性化のようなグローバルな環境変動と富栄養化、汚染物質や堆積物など陸域起源のローカルな環境ストレスが複合的に作用した場合のサンゴ礁への影響はほとんど理解されていない。

これまで、サンゴのストレス耐性は少数の種について生理学的に調べられてきた。近年サンゴやサンゴ体内に共生する褐虫藻の EST ライブラリーが作成されはじめ、ストレス関連遺伝子の発現解析がサンゴ (Edge et al. 2008 など) や褐虫藻 (Leggat et al. 2008) においてなされてきた。ただし、このような解析はサンゴではミドリイシ属などの少数種に限られ、褐虫藻では 1 タイプのみである。サンゴは多様な生活史を取り、生活史や発生段階によりストレス応答が異なると考えられる。また同種のサンゴでも共生する褐虫藻タイプによりストレス耐性が異なる (Suwa et al. 2008)。従って、サンゴ礁生態系が環境変動に対してどのように応答するかを予測するためには、異なる生活史戦略をもつサンゴ種のストレス応答の理解が必要である。また、サンゴ礁の回復には幼生の新規加入が重要であるが、サンゴの初期発生時のストレス応答については十分研究されていない。

2. 研究の目的

本研究課題では、生殖様式、褐虫藻獲得様式など生活史戦略の異なるサンゴについて、それぞれ代表的なサンゴ種を用いて、そのストレス応答を、特に初期生活史段階に焦点を当てて調べることを目的とした。ストレス要因としては、主に高温と強光を用い、他に水流や海水 pH、栄養塩濃度などの影響も調べた。ストレス応答のパラメータとしては、生残率や脂質組成などの栄養状態、成長の他、褐虫藻の光合成能、骨格の微細形態と微量元素組成、そして細胞内酸化ストレス、石灰化、細胞死関連の遺伝子発現に着目して解析を行った。また、野外のサンゴの死亡要因や新規加入個体の変動を解析し、野外のサンゴ群集モニタリング結果と関連づけることも目的とした。

3. 研究の方法

サンゴの初期発生時のストレス応答については、褐虫藻を含まない卵を産むミドリイシ属のサンゴを用いて、人工授精により発生させた幼生を実験に用いた。幼生に人工的に褐虫藻を感染させることにより、褐虫藻を含む幼生を作成し、幼生のストレス応答に褐虫藻の存在がどのような影響を与えるかを調べた。ストレス応答としては、生残率、褐虫藻密度、コメットアッセイによる DNA 損傷、活性酸素除去酵素 (SOD) 活性、脂質過酸化の指標である MDA、そしてストレス関連遺伝子の発現変化を解析した。また、呼吸速度と呼吸の温度依存性も解析した。

沖縄本島北部の本部町海域 9 地点でのサンゴ群集モニタリングを 2005 年から開始し、サンゴ群集の変動および新規加入個体の変動を調査した。

4. 研究成果

(1) ストレス特異的な遺伝子発現変化

ウスエダミドリイシの一次ポリブを、高温ストレス、有機スズ (TBT)、光合成阻害剤 (DCMU) に暴露し、発現変化する遺伝子を調べた結果、各ストレスに特異的に反応して発現が上昇する遺伝子が見つかった (図参照)。これらの遺伝子は、ストレス特異的に応答する可能性があり、将来遺伝子発現を調べることでサンゴの受けているストレスを推測することができるようになる可能性が示唆された。

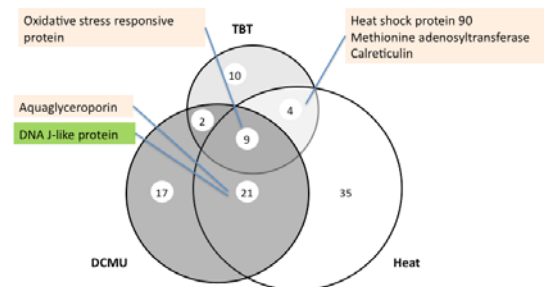


図 高温、有機スズ、光合成阻害剤により発現が上昇したウスエダミドリイシ幼群体の遺伝子

(2) 褐虫藻のタイプにより宿主サンゴの遺伝子発現が変化

ウスエダミドリイシ一次ポリブを高温処理した時のストレス関連遺伝子発現変化の方向が、クレード A とクレード D のどちらの褐虫藻と共生しているかにより異なることを明らかにした。褐虫藻タイプによる宿主遺伝子発現の違いが、サンゴ細胞内の酸化ストレス強度の違いによるものなのか、宿主と褐虫藻との相互作用の結果であるのか、今後の研究が待たれる。

(3) サンゴ幼生のストレス耐性

ミドリイシ属サンゴの幼生に人工的に褐虫藻を感染させると、高温や強光ストレス感受性が高まる。ストレス条件下では褐虫藻が活性酸素発生源となるためと考えられる。一方褐虫藻を親から受け継ぐ垂直伝播型のハナヤサイサンゴの幼生は、多くの褐虫藻を含むにもかかわらず、高いストレス耐性を示すことが分かった。ハナヤサイサンゴ幼生の高ストレス耐性の秘密を解明することができれば、サンゴのストレス耐性を高めるヒントが得られると考えられる。

ウスエダミドリイシとハナヤサイサンゴ 2 種の幼生と成群体とで呼吸の温度依存性を調べた結果、幼生は成群体に比べて Q_{10} (温度依存性を示す値) と呼吸速度のどちらも低く、幼生はエネルギー消費を抑えて高温ストレス耐性を高めている可能性が示唆された。

ミドリイシ属の2種トゲスギミドリイシとサボテンミドリイシの中間形態を持つ群体を野外で発見した。これら2種の種間交配は、種内交配に比べて受精率は低いものの、高いプラヌラ生残率を示す場合があり、雑種体が生き残る可能性は高いと考えられた。

(4) サンゴ遺伝子型間における環境応答差について

ミドリイシ属サンゴおよびハマサンゴの同種内遺伝子型間で生理的な環境応答に著しい差がみられることが分かった。1990年代から継続して行っている沖縄本島北部(本部町海域)のサンゴ群集及び幼生定着数のモニタリングの結果、通常はミドリイシ属サンゴ幼生の分散距離は比較的短く、ローカルな環境変化にサンゴ群集が適応できる可能性が示唆された。

造礁サンゴにとっての極限環境ともいえるサンゴ礁辺縁部に生息するサンゴ種に焦点を当て、飼育系における各種ストレス影響実験を行った。

(5) 野外モニタリングとサンゴ死亡要因

沖縄本島北部の本部町海域9地点でのサンゴ群集モニタリング結果を取りまとめるとともに、西表島で量的に卓越するミドリイシ属において、群体形の違いによる高水温と台風の物理ストレスへの反応の違いを明らかにした。

アザミサンゴより単離した褐虫藻と海水中の微量元素の定量結果から、Fe, Co, Cu, Znなどの生体必須微量元素の多くが 10^4 以上の高い濃縮係数を示した。特にFe, Zn, Cdは 10^5 以上の高い濃縮係数を示し、特異的であった。

2011年2月に見られたコモンサンゴ類の局所的な大量死は、冬季の急激な水温低下がサンゴの組織収縮を引き起こし、露出した骨格に付着珪藻が大量繁茂することが原因となったことを明らかにした。珪藻やシアノバクテリア等の微小生物の付着はサンゴの生理機能を低下させた。

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 38 件)

① Isomura N, Iwao K, Fukami H (2013) Possible natural hybridization of two morphologically distinct species of *Acropora* (Cnidaria, Scleractinia) in the Pacific: fertilization and larval survival rates. PLoS ONE 8(2) e56701. doi:10.1371/journal.pone.0056701. 査読有

② Yuyama I, Ito Y, Watanabe T, Hidaka M,

Suzuki Y, Nishida M (2012) Differential gene expression in juvenile polyps of the coral *Acropora tenuis* exposed to thermal and chemical stresses. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 430-431: 17-24. doi: 10.1016/j.jembe.2012.06.020. 査読有

③ Yuyama I, Harii S, Hidaka M (2012) Algal symbiont type affects gene expression in juveniles of the coral *Acropora tenuis* exposed to thermal stress. Mar. Environ. Res. 76: 41-47. 査読有

④ Nesa B, Baird AH, Harii S, Yakovleva I, Hidaka M (2012) Algal symbionts increase DNA damage in coral planulae exposed to sunlight. Zool. Stud. 51: 12-17. 査読有

⑤ Yasuda N, Nakano Y, Yamashiro H, Hidaka M (2012) Skeletal structure and progression of growth anomalies in *Porites australiensis* in Okinawa, Japan. Diseases of Aquatic Organisms 97: 237-247. doi: 10.3354/dao02408. 査読有

⑥ Iguchi A, Ozaki S, Nakamura T, Inoue M, Tanaka Y, Suzuki A, Kawahata H, Sakai K (2012) The effect of acidified seawater on coral calcification and symbiotic algae of a massive coral *Porites australiensis*. Mar. Environ. Res. 73: 32-36. doi: 10.1016/j.marenvres.2011.10.008. 査読有

⑦ Yamashiro H, Mikame Y, Suzuki H (2012) Localized outbreak of attached diatoms on the coral *Montipora* due to low-temperature stress. Sci. Rep. 2, 552. doi:10.1038/srep00552. 査読有

⑧ Inoue M., Shinmen K., Kawahata H., Nakamura T, Tanaka Y., Kato A., Shinzato C., Iguchi A, Kan H., Suzuki A., Sakai K. (2012) Estimate of calcification responses to thermal and freshening stresses based on culture experiments with symbiotic and aposymbiotic primary polyps of a coral, *Acropora digitifera*. Global and Planetary Change 92-93: 1-7 doi: 10.1016/j.gloplacha.2012.05.001 査読有

⑨ van Woesik R., Irikawa A., Anzai R., Nakamura T. (2012) Effects of coral-colony morphologies on mass transfer and susceptibility to thermal stress. Coral Reefs 31: 633-639 doi: 10.1007/s00338-012-0911-2 査読有

⑩ Shinzato C, Hamada M, Shoguchi E, Kawashima T, Satoh N. (2012) The repertoire of chemical defense genes in the coral *Acropora digitifera* genome. Zool. Sci. 29: 510-517 (Faculty of 1000 recommended) 査読有

⑪ Shinzato C, Shoguchi E, Tanaka M, Satoh N. (2012) Fluorescent protein candidate genes in the coral *Acropora digitifera* genome. *Zool. Sci.* 29: 260-264 (Cover photo) 査読有

⑫ 新里宙也 (2012) サンゴの遺伝子研究のこれまでの歩みとゲノム解読による新展開 『海の研究』 第21号第4号 p119-130 査読有

⑬ Nakamura M, Ohki S, Suzuki A, Sakai K (2011) Coral larvae under ocean acidification: survival, metabolism, and metamorphosis. *PLoS ONE* 6 e14521. doi:10.1371/journal.pone.0014521. 査読有

⑭ van Woesik R, Sakai K, Ganase A, Loya Y (2011) Revisiting the winners and the losers a decade after coral bleaching. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 434: 67–76. doi: 10.3354/meps09203. 査読有

⑮ Shinzato C, Shoguchi E, Kawashima T, Hamada M, Hisata K, Tanaka M, Fujie M, Fujiwara M, Koyanagi R, Ikuta T, Fujiyama A, Miller DJ, Satoh N (2011) Using the *Acropora digitifera* genome to understand coral responses to environmental change. *Nature* doi:10.1038/nature10249. 査読有

⑯ Nakamura M, Sakai K (2010) Spatiotemporal variability in recruitment around Iriomote Island, Ryukyu Archipelago, Japan: implications for dispersal of spawning corals. *Mar. Biol.* 157: 801-810 査読有

⑰ Yakovleva IM, Baird AH, Yamamoto HH, Bhagooli R, Nonaka M, Hidaka M (2009) Algal symbionts increase oxidative damage and death in coral larvae at high temperatures. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 378: 105–112 査読有

⑱ Harii S, Yasuda N, Lodoriguez-Lanetty, Irie T, Hidaka M. (2009) Onset of symbiosis and distribution patterns of symbiotic dinoflagellates in the larvae of scleractinian corals. *Mar. Biol.* 156: 1203-1212 査読有

⑲ Nesa B, Hidaka M. (2009) High zooxanthella density shortens the survival time of coral cell aggregates under thermal stress. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 368: 81-87 査読有

⑳ Itoh A (2009) Multi-element profiling analyses of seawater in coral reef area and the biogeochemical processes of trace metals in bivalve with symbiotic zooxanthellae. 査読有 *Geochem. Cosmochim. Acta.* 73: A576-A576.

[学会発表] (計 90 件)

① Nakamura T., 2012. Risk and benefits of photosynthesizing symbiont in marine invertebrates. Amakusa Biodiversity Symposium, 天草 (熊本) 2012 年 12 月 2 日

② Hidaka, M., (2012) 招待講演 Stress response and life history trait of reef-building corals. The 9th Okazaki Biology Conference “Marine Biology II”, 2012 年 10 月 18 日 岡崎・沖縄

③ Dwi Haryanti, Harii, S., M. Hidaka, 2012. Temperature dependence of respiration rate of planulae and adult colonies of *Acropora tenuis* and *Pocillopora damicornis*. 12th Int. Coral Reef Symp., 2012 年 7 月 13 日 Cairns, Australia.

④ Nakamura T., A. Suzuki, A. Iwase, A. Iguchi, 2012. Variation of growth and symbiont photosynthesis among corals. 12th Int. Coral Reef Symp. 2012 年 7 月 13 日 Cairns, Australia.

⑤ Harii, S., Sinniger, F., Nakano, Y., M. Hidaka, 2012. Changes in symbiont types in juveniles of the coral *Acropora tenuis* at different depth. 12th Int. Coral Reef Symp., 2012 年 7 月 9 日 Cairns, Australia.

⑥ Yasuda, N., Dwi Haryanti, M. Hidaka, 2012. Cell death in planula larvae of *Pocillopora damicornis* under thermal stress. 12th Int. Coral Reef Symp., 2012 年 7 月 9 日 Cairns, Australia.

⑦ Nakaema, S., Uchikoshi, T., M. Hidaka, 2012. Fluorescent protein content and stress tolerance of a coral. 12th Int. Coral Reef Symp., 2012 年 7 月 9 日 Cairns, Australia.

⑧ Yamashiro H. 2012. Outbreak of diatoms and cyanobacteria on corals in Okinawa, Japan. 12th Int. Coral Reef Symp. 2012 年 7 月 9 日(Cairns, Australia).

⑨ Itoh, S., Ganaha, 2012. Concentrations and chemical forms of trace metals in coastal seawater in coral reefs and their relationship to coral mucus. The 22 nd V. M. Goldschmidt Conference (Goldschmidt 2012), Montréal, Canada. 2012 年 6 月 28 日

⑩ Yasuda N, Hidaka M. Apoptotic cell death and cell proliferation in the growth anomaly of scleractinian corals. European International Society for Reef Studies 2010 年 12 月 15 日 Netherland

⑪ Harii S, Sampayo E, Yorifuji M, Sinniger F,

Hidaka M. Do coral larvae acquire symbionts in nature European International Society for Reef Studies 2010年12月15日 Netherland

⑫ Dwi Haryanti, Nakaema S, Yuyama I, Hidaka M. Survivorship and bleaching of planulae of *Acropora tenuis* and *Pocillopora damicornis* under thermal stress. 日本サンゴ礁学会第13回大会 2010年12月4日つくば

⑬ Hidaka M. 招待講演「Stress responses of coral-zooxanthella symbiotic system」4th Bilateral Seminar Italy-Japan: Physical and Chemical Impacts on Marine Organisms 2010年10月25日 愛知

⑭ Yuyama I, Harii S, Hidaka M. Algal symbionts affect gene expression of planulae and primary polyps of *Acropora tenuis* exposed to thermal stress. 2nd Asia Pacific Coral Reef Symposium 2010年6月23日 Phuket, Thailand

〔図書〕(計4件)

① 日高道雄 (2011) 第6章「サンゴの生活史と共生」日本サンゴ礁学会編「サンゴ礁学未知なる世界への招待」東海大学出版会 120-152

② 酒井一彦 (2011) 第11章「サンゴ礁生物の変遷」日本サンゴ礁学会編「サンゴ礁学未知なる世界への招待」東海大学出版会 259-273

③ 伊藤彰英 (2011) 日本分析化学会編「試料分析講座 元素の分析」丸善出版 77-111

④ 日高道雄 (2010) 2章 造礁サンゴのからだ、5章 造礁サンゴのライフスタイル 2009年度沖縄県立博物館企画展「造礁サンゴ-楽園を作った偉大な建築家-

〔産業財産権〕

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

〔その他〕

ホームページ

「サンゴ礁学」ホームページ

<http://www.coralreefscience.jp/>

琉球大学理学部海洋自然科学科日高研究室

<http://www.cc.u-ryukyu.ac.jp/~hidakom/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

日高 道雄 (HIDAKA MICHIO)

琉球大学・理学部・教授

研究者番号：00128498

(2) 研究分担者

伊藤 彰英 (ITO AKHIDE)

琉球大学・教育学部・教授

研究者番号：60273265

山城 秀之 (YAMASHIRO HIDEYUKI)

沖縄工業高等専門学校生物資源工学科・教授

研究者番号：80341676

酒井 一彦 (SAKAI KAZUHIKO)

琉球大学・熱帯生物圏研究センター・教授

研究者番号：50153838

中村 崇 (NAKAMURA TAKASHI)

琉球大学・理学部・講師

研究者番号：40404553

磯村 尚子 (ISOMURA NAOKO)

沖縄工業高等専門学校生物資源工学科・助教

研究者番号：90376989

(3) 連携研究者

新里 宙也 (SHINZATO CHUYA)

沖縄科学技術大学院大学

研究者番号：70524726

井口 亮 (IGUCHI AKIRA)

日本学術振興会特別研究員

研究者番号：50547502