

## 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 6月30日現在

機関番号：82706

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21580238

研究課題名（和文）サンゴの蛍光蛋白質の変動と漁場環境変動との応答に関する研究

研究課題名（英文）Development of simple and easy-to-use apparatus for long-term *in-situ* monitoring of coral fluorescence, and fluctuation of fishing ground environment

研究代表者

古島 靖夫（FURUSHIMA YASUO）

独立行政法人海洋研究開発機構・海洋・極限環境生物圏領域・技術研究主任

研究者番号：90359159

研究成果の概要（和文）：時系列的にサンゴの蛍光画像と通常画像を撮影できる「サンゴ蛍光撮影装置」を開発した。本装置を用いて、石西礁湖においてサンゴ蛍光撮影調査を行った。その結果、約26日間（620枚の画像）連続してサンゴの蛍光を撮影することに成功した。同時に環境計測の結果とサンゴ蛍光輝度との対応を調べるところ、輝度と照度には明瞭な関係が見られなかったものの、水温や流速変動との応答が示唆できた。さらに、巻貝によるサンゴの食害過程を経時的に観察することが出来た。また、本装置に用いた撮影手法を用いて、3次元的な生物調査の可能性が見出せた。

研究成果の概要（英文）：Simple and easy-to-use apparatus for long-term *in-situ* monitoring of coral fluorescence. Fluorescent proteins, which are very common in reef corals, play an important role in protecting coral zooxanthellae against excessive sunlight. Thus we developed a simple and easy-to-use Coral Fluorescent Monitoring System that can be used for long-term *in-situ* monitoring of coral fluorescence. This apparatus can capture fluorescence and normal images every hour for 26 days during both night and day. The responses of coral activity to environmental changes in coral reef regions were evaluated by carrying out simultaneous measurements of coral fluorescence and environmental parameters.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,800,000	1,140,000	4,940,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：水産学・水産学一般

キーワード：水圏環境・保全

## 1. 研究開始当初の背景

サンゴ群集は、海域の高水温化にともなう白化現象や、オニヒトデ、シロレイシガイダマシ類の大量発生による食害等の影響を受け、年々荒廃が進んでいる。例えば、石西礁湖（沖縄県石垣島と西表島の間に位置するさ

んご礁海域）では、海域の高水温化が原因とされるサンゴの白化現象が1998年以降頻発し、特に2007年には大規模なサンゴの白化現象が起こり、礁湖内のサンゴは壊滅的なダメージを受けた。Okamoto et al. (2007)は、礁湖内の水温変動と石垣島の気温変動から

白化気温指数を定義し、気温が 30℃以上の日が 30 日以上続き、その指数が 10 以上の年には大規模なサンゴの白化が生じる可能性が高いことを示した。サンゴ礁海域は、藻場や干潟と同様に魚卵・稚子の生育の場、潜水漁業等の社会活動の場として重要な役割を持つが、採貝、採藻等の漁業生産量は減少傾向にあり(古島・菅野 2003)、漁場環境の悪化が懸念されている。Furushima et al.(2002)、古島・岡本(2002)は、流動観測から 1998 年夏季のサンゴの白化は、石西礁湖の比較的水深が浅く地形的に閉鎖性の強い(海水交換の悪い)海域で発生し、2001 年夏季のサンゴの白化は、流動環境が比較的良好な海域で発生したことを示した。また、礁湖内の水温観測と既存資料解析から、台風の通過経路の違いによる海域の擾乱の強弱や、沖合から波及する黒潮系沖合水の離接岸 (Furushima et al. 2004) が、礁湖内の高水温化に影響を及ぼすことを示した。しかしながら、これらサンゴ群集の荒廃に関する事実は、そのほとんどが現場における事後観察等によるものであり、実際に、サンゴが時々刻々と水温変動等の影響を受け、どのように衰弱(或いは回復)していくかの過程を現場観察によって捉えた例はほとんどない。

サンゴには、蛍光蛋白質を持つものが多いことが知られている(宮脇 2003)。例えば、アザミサンゴ(*Galaxea fascicularis*)からは日本で初めての緑色の蛍光を放つ Azami-Green (AG)、ミドリイシ(*Acropora* sp.)からは青緑色の蛍光を放つ Midoriishi-Cyan (MiCy) とよばれる蛍光蛋白質がそれぞれ単離同定されている(唐澤・宮脇 2007)。また、1998 年にグレートバリアリーフで生じた大規模なサンゴの白化現象時のサンプリングから、蛍光蛋白質を発現する個体ほど白化しない傾向があることが報告されている(Salih et al. 2000)。この結果は、サンゴの蛍光蛋白質が、サンゴに共生している褐虫藻を太陽の強い光から保護する役割があることを示唆する(宮脇 2003)。したがって、サンゴの蛍光の変動は対象とするサンゴの健康状態を表す指標となり得る。ゆえに、環境計測とサンゴの蛍光の変動を現場で同時にかつ経時的に捉えることが出来れば、漁場環境変動とサンゴの健康状態との応答を知ることができる。だから、我々は、サンゴの蛍光蛋白質の変動と環境変動とを現場で同時にかつ経時的に捉えることが出来れば、サンゴの状態を時系列的に見ることができると考えた。さらに、画像を得ることによってサンゴ自身の変化を可視化することも併せて可能になると考えた。

## 2. 研究の目的

本研究では、石西礁湖において、海水温などの環境変動とそれに対するサンゴの蛍光蛋白質の変化を現場で連続的に観測し、サンゴ活性がサンゴ礁海域の漁場環境変動に対してどのように応答しているのかを解明することを目的とする。そのために、(1) サンゴの蛍光蛋白質モニタリング装置の開発、(2) 装置の実海域試験、(3) 石西礁湖における長期観測、(4) 環境変動とサンゴ活性の解析(データ解析および画像解析)を実施する。

## 3. 研究の方法

### (1) サンゴ蛍光撮影装置の開発

サンゴ蛍光撮影装置(図 1)は、2 台のデジタルカメラとストロボライト、タイマーユニット、バッテリーユニットで構成されている。励起光としてストロボライト前面に蛍光フィルター(Fluorescence excitation filter: BE1, Naightsea LLC)を取り付け、蛍光撮影用のデジタルカメラのレンズ前面には、ブルーカットフィルター(BlueBlock Filter: Naightsea LLC)を取り付け、おおよそ 460-480nm の青色光で励起された緑色より長い波長域の蛍光が撮影できる。また、デジタルカメラの特性を生かし、高速のシャッタースピードと強い励起光により、昼夜を問わず蛍光撮影が可能になるよう調整した(Mazel 2005)。さらに、通常撮影のデジタルカメラのストロボライトは電力消費を少

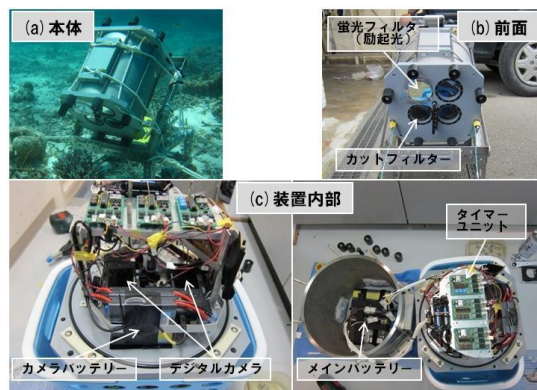


図 1 サンゴ蛍光撮影装置

(a) 装置本体の長さは約 45cm、本体の直径は 30cm。(b) 前面に 4 個の円形窓とワイパーを装備。左側が蛍光撮影用、右側が通常撮影用。上側窓にフラッシュライト、下側窓にデジタルカメラを配置。(c) 内部には、カメラ用バッテリー、デジタルカメラ、メインバッテリー、タイマーユニット等を装備。

なくするため弱めにし、撮影用窓への生物付着防止のため前面にはワイパーも装備した。

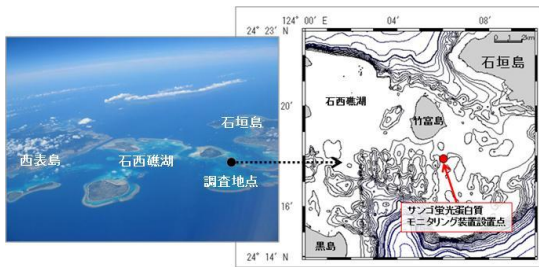


図2 サンゴ蛍光撮影調査地点  
撮影調査は、石西礁湖の竹富島南海域（24-17.928' N, 124-06.020' E, 水深 8m）で実施。

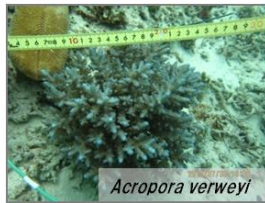


図3 撮影対象のサンゴ  
(*Acropora verweyi*)  
直径約 20cm。

#### (2) 石西礁湖における調査

サンゴ蛍光撮影装置を用いたサンゴの蛍光画像と通常画像の撮影調査は、石西礁湖の南東海域（竹富島の南側）の水深 8m の地点で実施した（図 2）。撮影の対象としたサンゴは、群体の直径がおよそ 20cm の *Acropora verweyi*（図 3）で、種の同定は九州大学理学部付属水草臨海実験所の野島 哲先生にして頂いた。対象としたサンゴから約 30cm 離れた場所にサンゴ蛍光撮影装置を設置するための架台を固定し、その上に本体を設置した（図 1 (a)）。蛍光画像と通常画像は、1 時間毎に撮影するように設定した。

また、サンゴ蛍光撮影装置の架台に水温計（超小型メモリ水温計 MDS-MkV/T）と照度計（超小型メモリ照度計 MDS-MkV/L）を（図 4(a)）、装置から約 10m 離れた地点に超音波ドップラー流速計（ADP：Nortek Aquadopp Profiler）を（図 4(b)）それぞれ設置し、水温、光、流れの環境データを取得した。水温と照度は 10 分間隔、流れは 30 分間隔でそれぞれ計測を行った。

石西礁湖におけるサンゴ蛍光撮影装置を用いた調査は、2010 年 8 月 1 日～8 月 27 日、2010 年 10 月 2 日～10 月 27 日、2011 年 3 月 8 日～4 月 3 日の 3 回実施した。併せて、環境計測も行った。

なお、2010 年 5 月～7 月に、中央水産研究

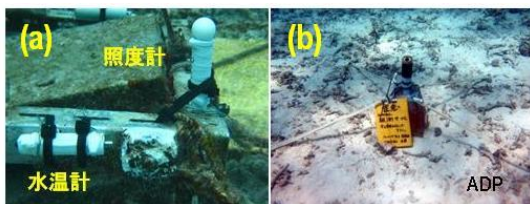


図4 サンゴ蛍光撮影地点における環境計測  
(a) サンゴ蛍光撮影装置に設置した水温計と照度計  
(b) 超音波流速計

所横須賀庁所（横須賀市荒崎）の陸上水槽（長さ 2.3m × 幅 1.2m × 深さ 0.9m）にて、イソギンチャクを対象にした事前撮影試験を実施した。装置の回路の作動チェック、デジタルカメラの絞り、シャッタースピード等の調整を行った。

#### 4. 研究成果

##### (1) サンゴ蛍光撮影装置の開発と実海域における撮影調査

サンゴ蛍光撮影装置を開発し、石西礁湖において、長期的なサンゴの蛍光・通常撮影に成功した。図 5 に示すサンゴの蛍光画像と通常画像が、1 時間毎に約 26 日間（撮影枚数：約 620 枚）連続で取得することが出来た。この結果から、本装置は、現場においてサンゴの変化を知る新たなモニタリングツールとなり得ると考えられた。



図5 サンゴ蛍光撮影により得られた蛍光画像と通常画像

得られた画像を動画化することにより、夜間のサンゴポリプの動きや、小型魚類の動き、サンゴの季節変化、食害等を捉えることができた。また、現状では、期間ごとに画角が多少ずれる、蛍光画像と通常画像の画角を合わせるのが困難と言った問題点も示された。

石西礁湖における撮影調査は 3 回実施し（表 1）、現状では、概ね 26 日間前後の撮影が可能であるが、内部バッテリーを増やせばさらに長期的な撮影が可能であることが分かった。

表 1 サンゴ蛍光撮影装置による撮影調査日時と取得画像

撮影調査は、2010 年夏季から 3 回実施。

撮影調査	撮影期間	蛍光画像	撮影枚数	通常画像	撮影枚数
1回目	2010年8月1日11:00～8月27日07:00	○	618	○	620
2回目	2010年10月2日14:00～10月27日06:00 (通常画像の取り回し設定を間違えた)	○	592	×	592
3回目	2011年3月8日16:00～4月3日08:00 (蛍光画像後のフラッシュが3月27日10:00に切れた)	△	616 (後半168枚×)	○	616

##### (2) サンゴ蛍光画像の輝度と環境変動との応答

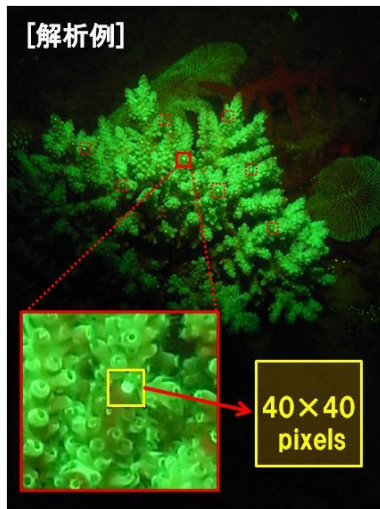


図6 蛍光画像の輝度情報の抽出 (蛍光画像処理)

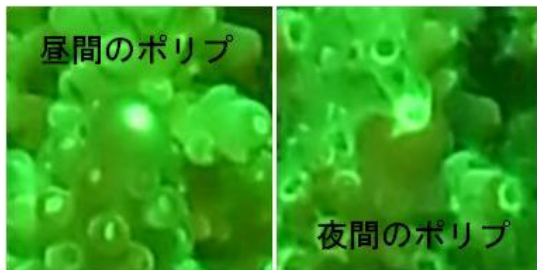


図7 昼間と夜間のポリプの違い

本調査で得られた蛍光画像を環境変動と比較するためには、蛍光画像を数値化する必要があった。そこで、得られた蛍光画像の中の1個のポリプ(撮影開始から終了時まで、明瞭に見られるポリプを抽出)に着目した(図6)。対象としたサンゴのポリプ全体が収まる範囲内(40×40 pixel)の輝度平均値と横方向の輝度平均値を、画像解析ソフトウェア(Image-J\_Plot Profile, MATLAB)を用いて算出しサンゴの状態を表す1時間毎の時系列データを得た。なお、サンゴのポリプは昼間と夜間で形状が変わる(夜間は触手を広げる)ので(図7)、40 pixel四方の範囲内の輝度平均をサンゴの状態データとした。画像中の別のポリプについても同様の解析を行った。

図8(a)~(f)に、2010年8月1日~8月28日行った実海域調査で得られた蛍光画像の輝度の変化と環境変動との関係を示した。図8(a)は水温(°C)、(b)は照度( $\mu\text{m}^2 \cdot \text{sec}$ )、(c)はポリプ枠内平均輝度、(d)は流速(m/sec)、(e)は水深(m)、(f)はポリプ横方向平均輝度をそれぞれ表す。図8(f)の縦軸はpixel番号を、図中の点線はポリプの中央をそれぞれ表す。また、調査期間中の8月8日~12日にかけて、八重山諸島付近を台風4号(980hPa)が通過した。

図8の結果から、サンゴ蛍光画像の輝度と

環境変動との応答について以下のことが分かった。

- ・蛍光画像の輝度の変化(図8(c)、(f))と照度変動(図8(b))との間に応答は見られなかった。この結果は、昼間の蛍光画像が太陽光の影響を受けていない、すなわちストロボライトによる一定の光環境下で撮影が出来ていたことを証明するものであった。

- ・蛍光画像の輝度の変化(図8(c))と水温変動(図8(a))との間に応答が見られた。台風通過により8月8日~11日にかけて水温が下降すると同時に輝度も下降傾向を示した。そして、台風通過後は、水温が緩やかに上昇傾向を示すのに同様に輝度も上昇傾向を示した。この結果は、サンゴに共生している褐虫藻を高水温から保護するために、蛍光蛋白質の発現が活発化した影響を示唆していることが推察された。

- ・蛍光画像の輝度(図8(f))の変化と流速変動を見ると、流速が強くなっている期間(8月9日~17日頃)に、ポリプ中央の輝度が低くなっていた。流速の強弱が輝度に影響を与える可能性が示唆された。他のポリプ、他の期間についても同様の結果が得られるのかさらなる解析が必要だと考えられた。

サンゴの蛍光は、サンゴの健康状態を示す指標となり得ると我々は考えてきた。本研究において、時系列的にサンゴの蛍光輝度の値を得ることは出来たが、どのくらいの値ならばサンゴは健全で、どのくらいの値を越えるとサンゴは危機的な状況にあるのかといった判断を下せる値を得ることは出来なかった。これらは、今後の課題となった。この課

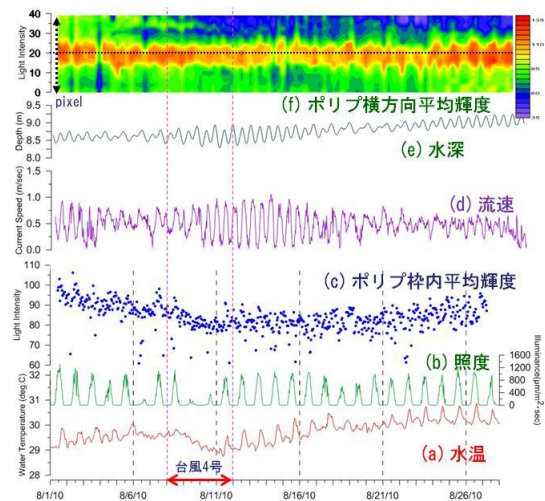


図8 蛍光画像の輝度の変化と環境変動

- (a) 水温 (°C)
- (b) 照度 ( $\mu\text{m}^2 \cdot \text{sec}$ )
- (c) ポリプ枠内平均輝度
- (d) 流速 (m/sec)
- (e) 水深 (m)
- (f) ポリプ横方向平均輝度 (縦軸: pixel番号, 図中の点線: ポリプの中央)

題を解決するためには、さらに長期的な観察を続けること、多種のサンゴから蛍光輝度の変化情報を得ることによって解決可能であると考えている。しかしながら、現場海域においてサンゴの変化と環境データとの応答を調査した研究例は稀である。ゆえに、我々が開発した、サンゴ蛍光撮影装置は画期的なものであり、今後のサンゴ礁海域のモニタリング等に有効利用できると考えている (Furushima et al., MTS Journal submitted)。

### (3) 巻貝によるサンゴの食害過程

2011年3月の通常画像を動画化したところ、対象サンゴの一部が白色に変化していく様子が得られた (図9)。画像を精査したところ、夜間の画像に小型の巻貝 (シロレイシガイダマシ類: *Drupella* spp.) が出現しているのが分かった (図10)。得られた画像から、シロレイシガイダマシ類の食害によってサンゴの白色部分が拡大していく過程を観察できた。シロレイシガイダマシ類は、19:00頃にサンゴの根元から出現し翌朝7:00頃にはサンゴの根元 (奥部) に移動していた。また、サンゴ群体の1つの枝の根元部分から先端に向けて食害は進行した。シロレイシガイダマシ類5-7個体によって、1週間から10日で1つの枝が食害によって白色化することが観察できた。シロレイシガイダマシ類は、1つの枝を食い尽すと、隣接する枝に移動し同様に根元部分から食害を始め、一度白色化させた部分には出現しない。白色化した枝の部分には藻が繁茂し、枝状部分が崩落あるいは朽ちた状態で残ることも画像から分かった。

サンゴ蛍光撮影装置は、サンゴの健康状態を時系列的に把握するために開発した装置である。しかし、我々は、時々刻々と変化するシロレイシガイダマシ類の食害過程の現場画像を得ることができた。この結果は、高水温化にともなうサンゴの白化現象や、オニヒトデの食害によるサンゴの減少に比べると規模の小さなものかも知れない。しかしながら、実際の現場におけるサンゴが時々刻々どのように変化しているのかを観察し把握できたことは非常に重要なことであり、本装置の有効性を示すことができたと考えてい

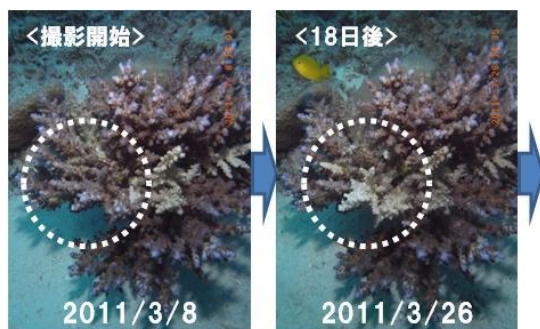


図9 サンゴ蛍光撮影装置で得られた通常画像がとらえた食害によるサンゴの変化



図10 画像に写されたシロレイシガイダマシ類 (*Drupella* spp.)

る。サンゴ礁海域のモニタリング、調査研究を行うには現場の可視化が必要不可欠であると我々は考えているので、今後、本装置がこれらの調査の一助をなせることを期待している (古島ら, 2012)。

### (4) 深い海に生息する生物の蛍光撮影調査への応用 (今後の展望)

本研究では、定点における対象サンゴの状態の時間変化を捉えることができた。我々は、対象とするサンゴを決定する際に、複数種のサンゴの蛍光撮影を行った。発する蛍光の強弱はあるものの、ほとんどのサンゴから蛍光画像を得た。したがって、サンゴ蛍光撮影装置のシステムを小型 ROV に搭載し、サンゴ礁海域においてモザイク状の撮影を行えば、定点のみならず面的にサンゴの分布と状態を捉えることが可能になると考えている。また、小型 ROV を用いることにより、ダイバーが潜水するよりも長時間の連続的な観察が可能になり、人間が潜水するには困難な深さ (水深 30 以深) においても調査研究が可能になると考えている (図11)。

さらに、我々は本装置のフィルターセットを用いて、実験室の水槽や調査船上において深海生物の蛍光撮影も試みた。多くの深海生物で蛍光画像を得ることができた。深海生物が発する蛍光は何であるのか? 生物学的な知見は非常に少ない。しかしながら、深海生物に対して蛍光物質をマーカーとして使い、併せて蛍光撮影を駆使すれば、現場における個々の生物の行動・移動等を知るための重要

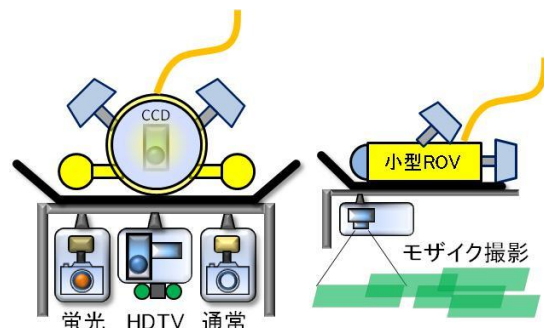


図11 小型 ROV を用いた生物マッピング概略図  
小型 ROV の下部に蛍光撮影カメラ、通常撮影カメラ、ハイビジョンカメラを下向きに取り付け、モザイク画像と映像を取得する。海底地形と併せて3次元マッピングが可能。

なツールになり得ると考えている。

## 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3件)

- ①古島靖夫, 鈴木貞男, 丸山正, サンゴ蛍光撮影装置が捉えた巻貝によるサンゴの食害, みどりいし, 査読無, 23, 2012, pp.25-30.
- ②Furushima Y., S. Suzuki, T. Maruyama, W. C. PHOEL, M. NAGAO, Development of a coral fluorescent protein monitoring system., Proceedings of the OCEANS 2011 MTS/IEEE KONA Conference & Exhibition, 査読無, 2011, ISBN CD-ROM: 978-0-933957-39-8.
- ③Furushima Y., M. Nagao, A. Suzuki, H. Yamamoto, T. Maruyama, Periodic Behavior of the bubble jet (Geyser) in the Taketomi Submarine Hot Spring, southern part of Yaeyama Archipelago, Japan. Marine Technology Society Journal (MTS) Summer issue, 査読有, Volume 43, Number 3, 2009, pp. 13-22.

[学会発表] (計5件)

- ①古島靖夫, 鈴木貞男, 丸山正, 長尾正之, Marc Humblet, サンゴの蛍光蛋白質モニタリング装置の開発. 日本地球惑星科学連合2010年大会, 2010.5.26, 千葉県(幕張)
- ②古島靖夫, 鈴木貞男, 丸山正, 長尾正之, 実海域におけるサンゴの蛍光撮影装置の開発と試験. 日本サンゴ礁学会第12回大会, 2010.12.3, 茨城県(つくば)
- ③Furushima Y., S. Suzuki, T. Maruyama, W. C. PHOEL, M. NAGAO, Development of a coral fluorescent protein monitoring system., OCEANS 2011 MTS/IEEE KONA, 2011.9.21, 米国(ハワイ島)
- ④古島靖夫, 鈴木貞男, 丸山正, サンゴ蛍光撮影装置が捉えた実海域におけるサンゴの変化. 日本サンゴ礁学会 第14回大会, 2011.11.4, 沖縄県(那覇)
- ⑤古島靖夫, 丸山正, 鈴木貞男, William C. PHOEL サンゴ蛍光撮影装置が捉えたサンゴの変化と深海生物調査への応用. 日本地球惑星科学連合2012年大会, 2012.5.25, 千葉県(幕張)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

古島 靖夫 (FURUSHIMA YASUO)

独立行政法人海洋研究開発機構・海洋・極限環境生物圏領域・海洋生物多様性研究プログラム

研究者番号：90359159

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

丸山 正 (MARUYAMA TADASHI)

独立行政法人海洋研究開発機構・海洋・極限環境生物圏領域・海洋生物多様性研究プログラム

研究者番号：90373464

長尾 正之 (NAGAO MASAYUKI)

独立行政法人産業技術総合研究所・地質情報研究部門・海洋資源環境研究グループ

研究者番号：70251626