

学術調査ワーキンググループからの報告

環境省環境研究総合推進費プロジェクト（H25-27年度）「島嶼－サンゴ礁－外洋統合ネットワーク系動態解明に基づく石西礁湖自然再生への貢献」

サブテーマ1：数値シミュレーションモデル解析と現地調査に基づく「島嶼－サンゴ礁－外洋」統合ネットワーク系の構造解明（担当：東工大・灘岡、渡邊、中村）

・現地観測

石西礁湖海域の広域多点一斉採水を2013/6/17、6/18（台風前）、6/21（台風直後）および8/27（台風前）、9/5（台風後）の計5回実施した。採水項目は、栄養塩（ NO_2 、 NO_3 、 NH_4 、 PO_4 、 SiO_2 ）、TDN・TDP、DOC、炭酸系（TA、DIC、pH など）、Chl-a、メタゲノム用サンプリングである。また、各地点でのAAQによる鉛直プロファイル測定も行った。オニヒトデ幼生の浮遊期間である6月にはプランクトンネットによるオニヒトデ幼生サンプリングも行った。また、8月の調査では、水温計や流速計、波高計、塩分計、クロロフィル-濁度計を多点展開した。

現在、栄養塩と炭酸系の分析は全て終了している。TDN、TDP、DOCは6月のサンプルについては分析を終え、引き続き8月分の分析を進める予定である。

これらの現地観測データはオニヒトデの大量発生メカニズムの解明や、陸源負荷の実態把握に利用するとともに、後述のモデル開発の検証データとして使用していく予定である。

・モデル開発

オニヒトデ幼生の生存率は餌となる植物プランクトンの濃度に非常に強く依存することが知られている。植物プランクトンの発生は陸域からの栄養塩流入によって引き起こされることが多いため、オニヒトデの大量発生と栄養塩との関係性が示唆されている（『栄養塩仮説』）。オニヒトデの大量発生は石西礁湖のサンゴ群集の減衰を引き起こした大きな要因の一つである。そこで、オニヒトデの発生プロセスをモデル化することが石西礁湖のサンゴ群集の将来を予測し、陸源負荷の影響評価をするうえで非常に重要である。まず、そのために第一ステップとして、幼生期の餌環境を再現するために物質循環－低次生態系モデルの開発を行った。さらにこの物質循環－低次生態系モデルに堆積物中の物質循環モデルを組み込むことで栄養塩のリサイクルプロセスを再現し、栄養塩の挙動をより詳細に表現できるようにした。さらにこのモデルは3次元流動モデルとカップリングし、現在このモデルの検証とチューニングを行っている。今後は、オニヒトデ幼生の発生・死滅過程もこのモデルに組み込みオニヒトデの発生プロセスを再現できるようにする予定である。

サンゴの白化現象も石西礁湖のサンゴ群集の減衰に大きな影響を与える要因の一つである。そこで、サンゴの白化現象のモデル化も行った。これはすでに開発を進めていたサンゴの内部応答を詳細に記述したモデル（サンゴポリプモデル）に、共生藻の増殖・死滅過程やサンゴによる共生藻の放出過程を組み込んでモデル化を行った。共生藻は光合成を行いサンゴに有機物を供給するとともに、活性酸素を放出し（活性酸素の放出量は光と温度に依存）サンゴに害を与えることが知られている。このモデルでは、共生藻数をコントロールすることで、サンゴ体内の活性酸素濃度をコントロールしていると仮定し、白化プロセスをモデル化した。さらに、このモデルも3次元流動モデルに組み込むことで、サンゴ礁域の熱環境の局所的なバラつきに反応したサンゴの白化の分布が計算された。現在モデルのさらなる高度化と検証作業を進めている。

これらのモデルを、石西礁湖スケールへと発展させるため、上述の生態系モデルが組み込まれた3次元流動モデルを石西礁湖スケールの計算領域で回せるようにした。石西スケールの流動モデルは、今後多重ネスティングを行うなどの境界条件の工夫を行い、精度向上を目指す。石西礁湖スケールで流動計算することで、(1) 生態系モデルとカップリングさせ石西礁湖内のオニヒトデの発生や白化を再現する、(2) リーフコネクティブティを解明することなどにより、サンゴ群集の将来予測や影響評価モデルへと発展させる予定である。

サブテーマ 2：メタゲノム解析による生物多様性の把握とサンゴ礁レジリエンス過程の観察 (担当：水産総合研究センター中央水産研究所・長井)

背景： 2008年から本年にかけて相次いで商品化された第2世代シーケンサー（生物の持つゲノム情報、塩基配列を読む器械）の登場により、生命科学とバイオ産業に大きな変革が起きている。次世代型と呼ばれるシーケンサーは、従来型シーケンサーの数百～数万倍の性能を発揮する。このような新しい技術革新により、大量に得られるゲノム情報をフル活用した新しい技術により、海洋に何種類の生物がいるのかに対する解答が、それほど難しくなく得られるようになってきている。全ての海洋プランクトンの染色体上にコードされている共通の遺伝子領域について遺伝子増幅を行い、第2世代シーケンサーを用いた配列解析（メタゲノム解析）を行うことで、海域間のほぼ全ての出現種の記録と出現種の多様性比較が可能となった。

研究内容：

1. 石西礁湖内外における島嶼からの陸源負荷が生物多様性・分布密度・種組成に及ぼす影響、とりわけ栄養塩の陸源負荷の影響をメタゲノム解析により解明

- 1) 石西礁湖4定点における周年調査（月1回）：プランクトン出現種の季節性等の把握
- 2) 広域多点調査（6月と8月に実施、16地点を2、3回）：陸源負荷の影響をプランクトンの出現種組成から推定。メタゲノム解析が終了し、現在、特に台風通過後の陸水の影響評価のため、珪藻の出現状況を詳しく解析中。8月サンプルは、メタゲノム解析データを取得中。
- 3) サンゴ着底坂に付着する生物のモニタリング（年3回を予定）

各地点におけるサンゴ幼生の着底後の成長、初期減耗に影響する要因解明を目的とする。現在、着底坂から付着生物を回収中、2月中にメタゲノム解析予定。

4) オニヒトデ幼生の分布調査

オニヒトデの大量発生機構解明のため、幼生の分布調査と餌生物の特定を目的とし、特に、周辺海域の栄養塩濃度上昇による餌生物の供給による幼生の生存率向上が大量発生の原因とする仮説を検証する。このため、分子同定と胃内容物のメタゲノム解析による好適餌料生物の解明を目指す。6月の調査時のネットサンプルに幼生が多数含まれている可能性が大きく、現在、70個体以上を採取し、これからDNA抽出予定。葉緑体遺伝子のPCR増幅が複数のサンプルで見られる場合は、好適餌生物特定に向けたメタゲノム解析を実施予定。

2. サンゴに共生しているクレードC褐虫藻の単離・培養とストレス応答遺伝子の定量

今年度、複数のサンゴから石西礁湖のサンゴに優占して共生する褐虫藻クレードCの単離を試みるも、クレードAおよびDのみが約20株ずつ単離された。炭酸ガス供給、シャコガイからの抽出液の添加等、いろいろ試みたが全て失敗に終わり、クレードCの培養株確立の困難さを実感した。次年度は、天然のサンゴ（褐虫藻を含む）の遺伝子発現をモニタリングすることで、高水温等によるストレス応答の解析を試みる。

今年度の今後の予定は、スライド 13 枚目に示し、次年度の予定は 14 枚目に示した。次年度の大きな変更点としては、2. 褐虫藻の単離・培養の部分で、次年度もクレード C の培養株を単離は困難が予想されるため、天然サンゴ群落の遺伝子発現をモニタリングすることにより、夏季の水温上昇等のストレス応答の解析を実施する点である。

サブテーマ 3 石西礁湖における reef-scape connectivity の解明 (担当：宮崎大・安田)

サンゴ・オニヒトデなどのサンゴ礁生物の多くは、子供時代にプランクトン幼生として海流に流されて親とは異なる場所に分散する（幼生分散）。そのため、海洋保護区などを設定して効率的にサンゴを保全するためには、どこの海域の集団からどこの海域の集団に幼生が供給されているかという幼生分散（コネクティビティ）を知ることが重要である。そこで本サブテーマでは、実際にサンゴ礁生物の幼生分散がどのように起こっているかを推定するために遺伝子マーカーを使った集団遺伝解析を行った。

25 年度実施項目

- 1) サンゴ類（アオサンゴ・ハナヤサイサンゴ・クシハダミドリイシの採集）
- 2) アオサンゴ・ハナヤサイサンゴの集団遺伝解析（ITS2・マイクロサテライト）
- 3) アオサンゴの共生褐虫藻の遺伝子型パターン推定
- 4) 全体調査で行った幼生採集の PCR による 1 次スクリーニング方法の探索・顕微鏡による幼生の単離。

結果：石西礁湖内の 6 地点から同所的にアオサンゴ・ハナヤサイサンゴ・クシハダミドリイシを採集した。この際、GPS カメラを用いて採集位置を明確にし、サンプリングの範囲や環境を詳細に把握できるようにした。

アオサンゴおよびその共生褐虫藻の幼生分散推定：

遺伝子マーカーを使って石西礁湖内のアオサンゴ集団の遺伝構造を調べた結果、アオサンゴには形態は似ているが、実際には生殖が起こりにくい隠ぺい種 2 種が存在することが分かった。これら 2 種のうち片方は石西礁湖の内側に多く存在しており、もう片方の種は外洋側に面した場所に多く存在していた。これらアオサンゴに共生している共生褐虫藻の遺伝子も調べてみたところ、片方の種にしか共生しない共生褐虫藻がいることもわかった。共生褐虫藻はサンゴの温度耐性や生理などに深く関わってくるので、これら隠ぺい種 2 種は異なる生態学的な特性を持っている可能性があり、2 種を区別して保全することが重要であると考えられた。アオサンゴ集団の石西礁湖内の幼生分散を遺伝子マーカーで推定した結果、石垣島側では集団間の遺伝的な距離が近く、幼生分散によるコネクティビティが強いことが推定された。

海流データを見ると、石垣島東岸から石西礁湖南東部にかけて岸をそのような比較的強い流れが存在しており、海流が幼生分散を促していることが示唆された。同時に海流の石垣島側の集団は上流海域にあたるため、下流域（石西礁湖南側）の集団の維持にとって石垣島側の集団の存続が重要な役割を果たす可能性がある。西表島側では、地理的に近いにも拘らず、アオサンゴ集団は遺伝的に異なる傾向が強く、幼生分散による集団間のコネクティビティは弱いことが推定された。そのため、西表側のサンゴを守るにはより小さなユニットごとに保護区を設定する必要があると考えられた。

ハナヤサイサンゴの幼生分散：

ハナヤサイサンゴについても、アオサンゴと同様に、遺伝子マーカーを使って集団遺伝解析を行い、幼生分散を推定した。その結果、アオサンゴと同様に隠ぺい種が2種類いることが分かった。興味深いことに、隠ぺい種2種の分布はアオサンゴと非常に似ており、外洋側に多い種と石西礁湖の内側に多い種がいることがわかった。これらは遺伝的にことなることから異なる種として別々に保全する必要があると考えられた。アオサンゴとハナヤサイサンゴの遺伝子解析の結果から、サンゴ礁内の集団はサンゴ礁内と、外洋側にいるサンゴは外洋側にいるサンゴとコネクティブティを持っていることが示唆された。

全体調査における幼生分布：

オニヒトデのコネクティブティを明らかにすることは石西礁湖の保全上非常に重要である。これまでオニヒトデ幼生は存在密度が低かったため、まずサンプルの中にオニヒトデ幼生がいるかないかを推定する方法の開発を遺伝子で試みた。プランクトンネットで水深7mから採集したサンプルを半分にわけ、半分のサンプルからDNAを抽出してオニヒトデの遺伝子が存在するかどうかをテストした。遺伝子増幅が見られたサンプルのスペアのサンプルを顕微鏡で観察すると、2サンプルを除いて1個体以上のヒトデ幼生が発見された。3日間合計で発生2日目までのガストルーラ幼生が25個体、発生2から5日程度までのビピンナリア幼生が36個体発生から1週間以上たった発生後期のブラキオラリアが201個体見つかった。ブラキオラリア幼生が多かったことから6月初旬に産卵のピークがあり、幼生の生存・発生が順調であった（飢餓による死亡が比較的すくない）ことが示唆された。

集団遺伝解析：生物の集団を遺伝子で解析して、集団ごと、集団間の遺伝的な構造を明らかにする解析

隠ぺい種：形態では区別がつかないが、実際は別種である種のこと

サブテーマ4：石西礁湖におけるサンゴ礁性生物の再生産および関連する環境動態の把握 (担当：西海区水産研究所亜熱帯研究センター・鈴木、亀田、福岡、名波、山下)

H25年度実施項目と結果および課題

・オニヒトデ浮遊幼生期の餌環境調査

近年、白化と並んで最もサンゴ礁の衰退を招いている要因＝オニヒトデの大発生。大発生の原因は明らかになっていないが、幼生の生き残りが突発的に増えることが疑われている。この機構を解明することは、本推進費課題全体のテーマであるが、ここでは、オニヒトデ幼生の餌状況に注目して、週1回程度の高頻度で集中的に調査することで、石西礁湖での実態を明らかにすることを目的とする。

⇒オニヒトデの繁殖期にあたる5月下旬から7月上旬にかけて、オニヒトデ幼生のサンプリングおよび植物プランクトン（クロロフィルa）・栄養塩分析用の採水を実施した。調査地点は、名蔵湾内の3地点（北・奥・南）、竹富島北、石垣港西、石垣港東南（桜口）の6か所を設定した。その結果、オニヒトデ幼生の出現ピークは6月下旬で、名蔵湾南、竹富島北、桜口の3か所に多い傾向がみられた。出現ピーク前からの餌環境要因を比較すると、出現が多い地点で、オニヒトデ幼生が餌として利用できると思われる $2\mu\text{m}$ 以上の植物プランクトン量は特に多くなかったが、硝酸・亜硝酸濃度は高い傾向がみられた。今後は、モニタリングを継続するとともに、両者の関係について詳細に調査する必要がある。

・サンゴ幼生加入調査

石西礁湖では、1980年代から度々サンゴが激減するイベントが起きているが、比較的回復が早い場所と遅い場所がみられる。原因として、サンゴの再生産、特に幼生加入が阻害されている可能性が考えられるが、正確に特定できていない。ここでは、サンゴの幼生加入の空間パターンを把握するとともに、着生後の生残を石西礁湖内の様々な環境で比較することで、着生直後の稚サンゴに影響する環境要因を明らかにする。

⇒サンゴ加入量調査は、北礁から西表にかけての礁斜面の3地点および石西礁湖中央部の8地点に桜口を加えた合計12地点で実施した。その結果、幼生加入は礁斜面に集中し、礁内および桜口にはほとんど加入していないことが分かった。また、一斉産卵の同調性が低く、少なくとも3回に分かれて産卵していたことが示唆された。今後は、着生後の死亡要因の解明に向けた調査を実施する。

・ナミハタの卵分布調査

サンゴ礁生態系の保全・再生という観点では、土台的役割を果たすサンゴ以外にも、魚類などの上位捕食者も重要な構成要素である。また、大型魚類は、重要な水産資源でもある。多くの大型魚類は、特定の時期・場所に多数のオスとメスが集まって、「集合産卵」という繁殖を行う。この産卵イベントで生じた受精卵がどのように散らばるか、また、どの程度サンゴの生息範囲と結びついているか、などの疑問を解明することは、捕食者の動態を把握するのみならず、水産資源の持続的利用を達成する上で重要である。ここでは、集合産卵の代表的な魚種として「ナミハタ」に注目し、その卵分布を調査する。

⇒毎年ナミハタの大規模な集合産卵があるヨナラ水道周辺で、産卵後の数日間実施し、産卵直後に水道の北と南に分散する傾向がみられた。今後もモニタリングを継続し、卵の分散範囲予測を目指す。

・定期海洋観測

陸からの負荷要因の影響を解明する上で、海水の流れを把握・予測することが必須であるが、複雑な地形をもつ石西礁湖では、季節変動なども影響し、正確な実態把握は容易でない。ここでは、定期的に海洋観測することで、海洋環境の基礎データを蓄積する。

⇒2013年4月から、ほぼ毎月、石西礁湖全域をカバーする14地点で、水温・塩分・栄養塩・植物プランクトン量などのデータを採取した（一部の項目は代表的な4地点のみ）。