



課題番号4-1806

サンゴの白化現象メカニズム究明と大規模白化に対する
生物化学的防止・救済策の確立

体系番号：JPMEERF20184006

重点課題：12生物多様性の保全とそれに資する科学的知見の充実に向けた
研究・技術開発

行政要請研究テーマ(行政ニーズ)：(4-3)大規模白化現象に対応するサンゴ
群集の保全再生技術の開発

課題代表者機関名：琉球大学 課題代表者名：藤村 弘行

研究実施期間：平成30年度~令和3年度

研究分担機関名：東京大学、筑波大学、東京工業大学

1. はじめに

- 近年、特に地球温暖化の影響によるサンゴの白化現象の頻発は大きな問題となり、世界的にサンゴ礁の衰退が危惧
- 2016年には世界中で白化現象が起こり、日本でも沖縄県石垣島近海の石西礁湖などで大規模な白化が発生 → NOAAは水温から白化を予測 エルニーニョと関連しており9年間隔で大規模白化 次は2025年の夏
- 白化現象のメカニズムに対する知見が不足しているためサンゴを白化から守る有効な手段が乏しく、現状ではただ推移を見守るのみ
- 「サンゴ礁の持続性と回復力を増加させる人為的介入」の総説(National Academies Press 2019)
 - ①遺伝・生殖への介入・・・耐性種や株の選抜 交配 遺伝子操作
 - ②生理機能への介入・・・曝露順化 褐虫藻や細菌叢操作 抗生物質や栄養の添加
 - ③個体群と群集への介入・・・移植による管理
 - ④環境への介入・・・遮光 冷水混合 高pH化
- 白化は高水温によって共生藻内で生成する活性酸素種が原因
- 活性酸素種(ROS)を低減・消去することのできる方策は②と④のみ

2. 研究開発目的

- これまでの研究で、**低濃度の無機金属亜鉛**のサンゴへの曝露がROSを消去する**抗酸化酵素活性を向上**させ、白化が軽減される可能性を示唆
- 抗酸化能力や栄養状態の改善など、**生理機能への介入によって**、白化のメカニズムに基づく効果的で**生態系への負荷が小さい白化救済策が実現できる可能性**

研究開発の目的

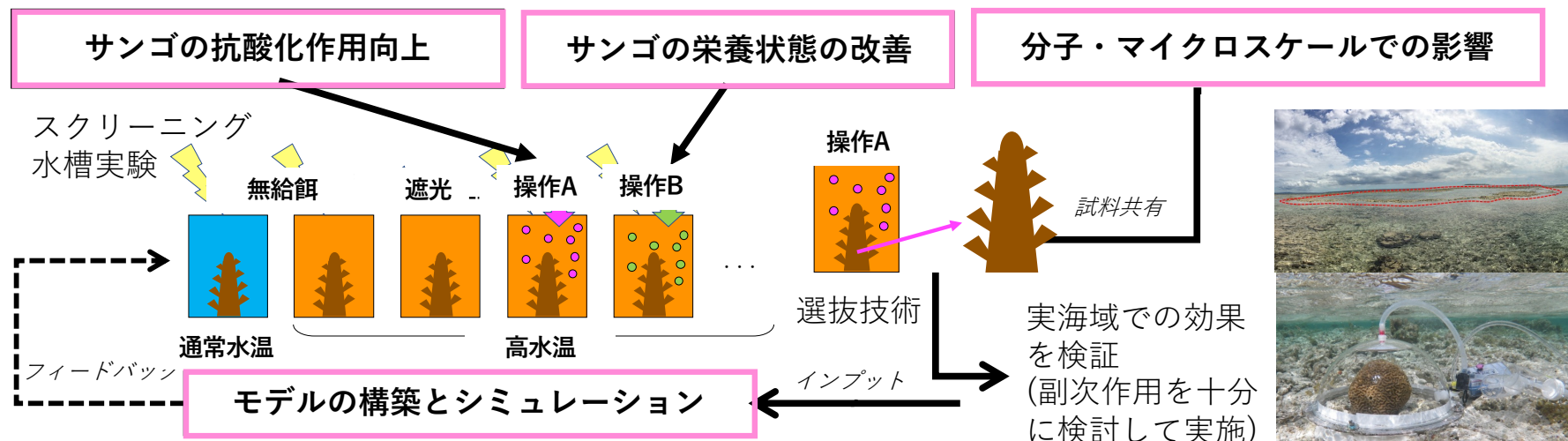
- 本研究では、**サンゴ白化のメカニズム**と諸要因を究明し、白化の素過程の理解を基に**生物化学的観点から**サンゴの白化に対する具体的な**予防、軽減、救済策**を提案するとともに、その効果と実施可能性を実証することを目的とする。

3. 研究目標

- サンゴの**栄養状態**または**抵抗力を人為的に強化**することによって、サンゴの白化現象を生態系スケールで緩和し、**生残率を向上させる**ための方策を提案する
- 白化緩和・救済技術の正負の効果と実用性を説明し検証するための**基礎理論・分析指標・シミュレーション技術**を確立し、提案されている技術を理論的に評価するとともに、実験系において吟味する
- **石西礁湖に適用**されることを前提として、本研究で提案される**技術の実地評価**を行う

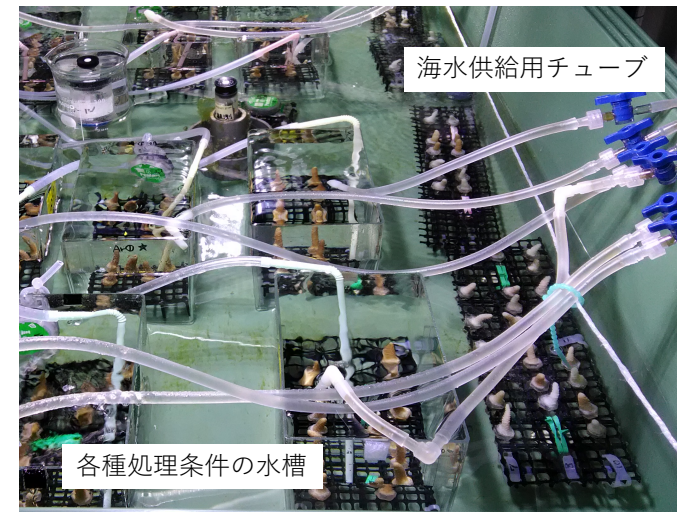
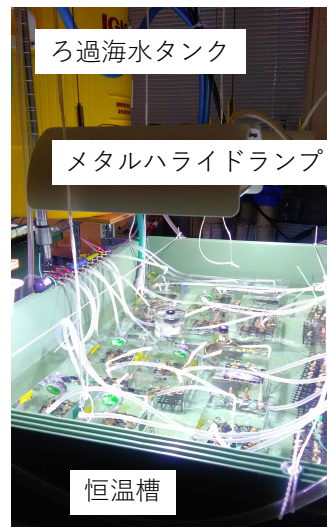
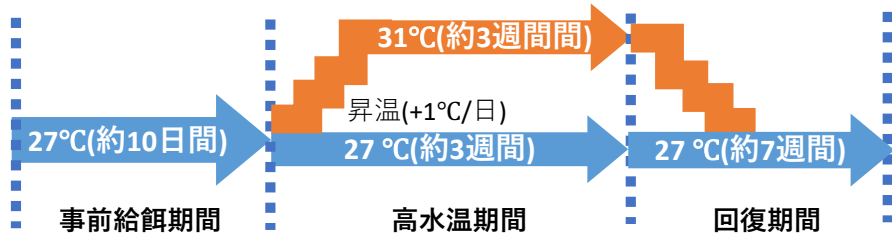
4. 研究開発内容

- サブテーマ1 白化の際の活性酸素種（ROS）防御機構である抗酸化物質とサンゴの栄養状態に着目し、**金属富化による酵素活性の上昇**、UV遮蔽によるROS生成軽減等を試み、**白化の防止に寄与するか検証**
- サブテーマ2 サンゴの栄養供給経路を解明し、栄養供給の改善により**サンゴの健全性・高温耐性を維持増進**することで白化を予防する方法、従属栄養的エネルギー獲得をサポートし**白化回復を促進**する方法を開発
- サブテーマ3 マイクロセンシング技術や網羅的遺伝子発現解析、細菌个体群解析により対策の効果を検証し、**分子・遺伝子レベルでの悪影響を評価**
- サブテーマ4 サンゴの**白化応答・回復モデル**を開発し、さらにサンゴ礁生態系スケールに拡張することで白化抑制効果や回復促進効果を再現
- 防止・救済策の有無で白化状況にどの程度違いが出るかを数値**シミュレーション**によって**推定**することで対応策の実効性を検証



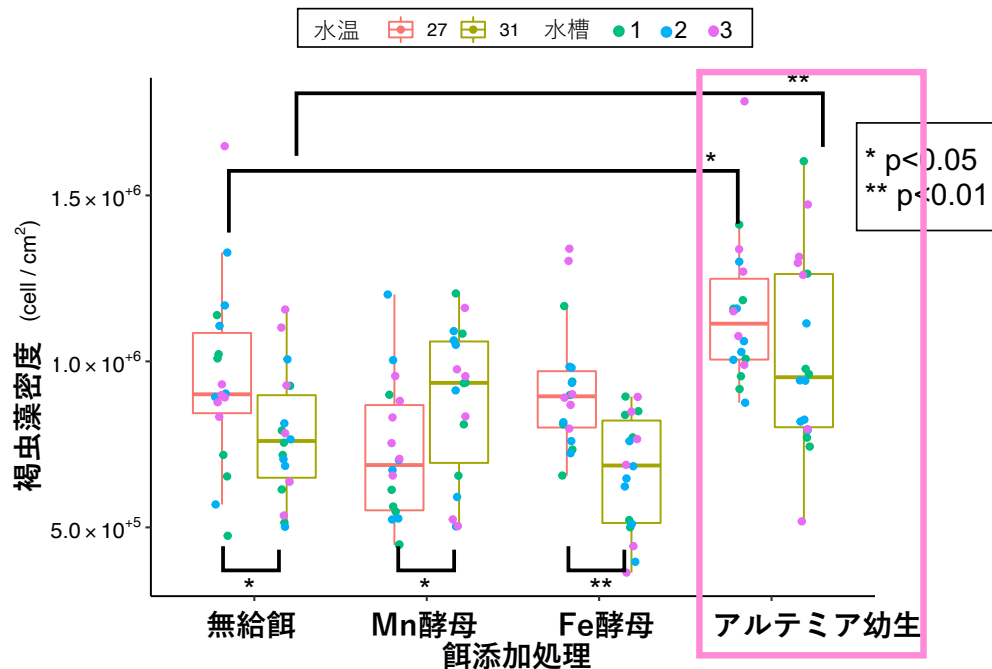
5. 研究成果

5-1. サブテーマ1 サンゴの抗酸化作用向上

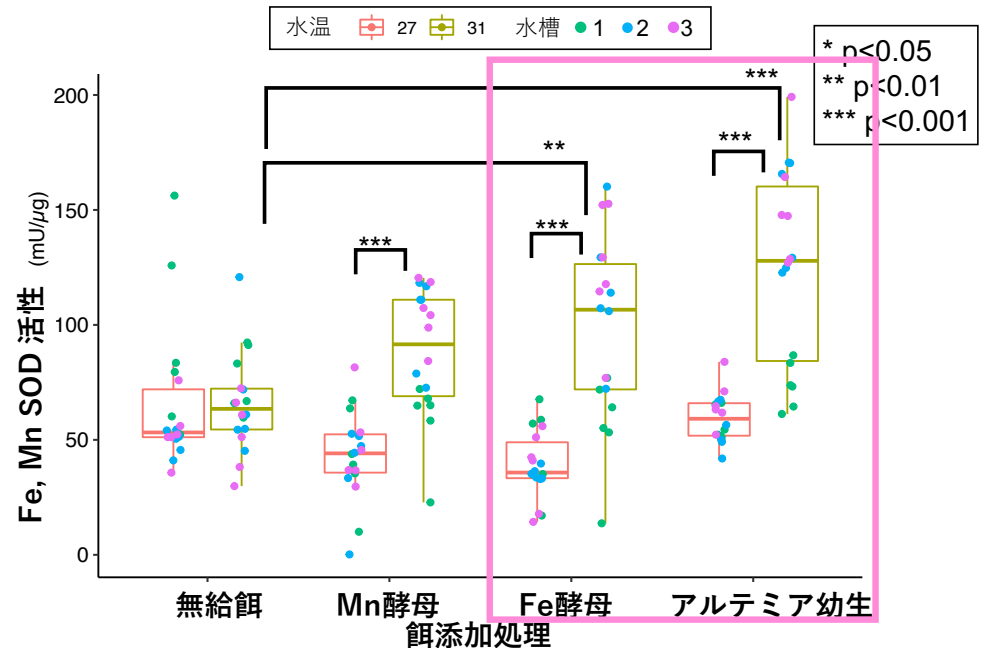


- アルテミア幼生の添加によってサンゴの褐虫藻密度は高水温でも増加したままの状態を維持

- Fe酵母とアルテミア幼生の添加はサンゴの褐虫藻に含まれる抗酸化酵素の活性を強化



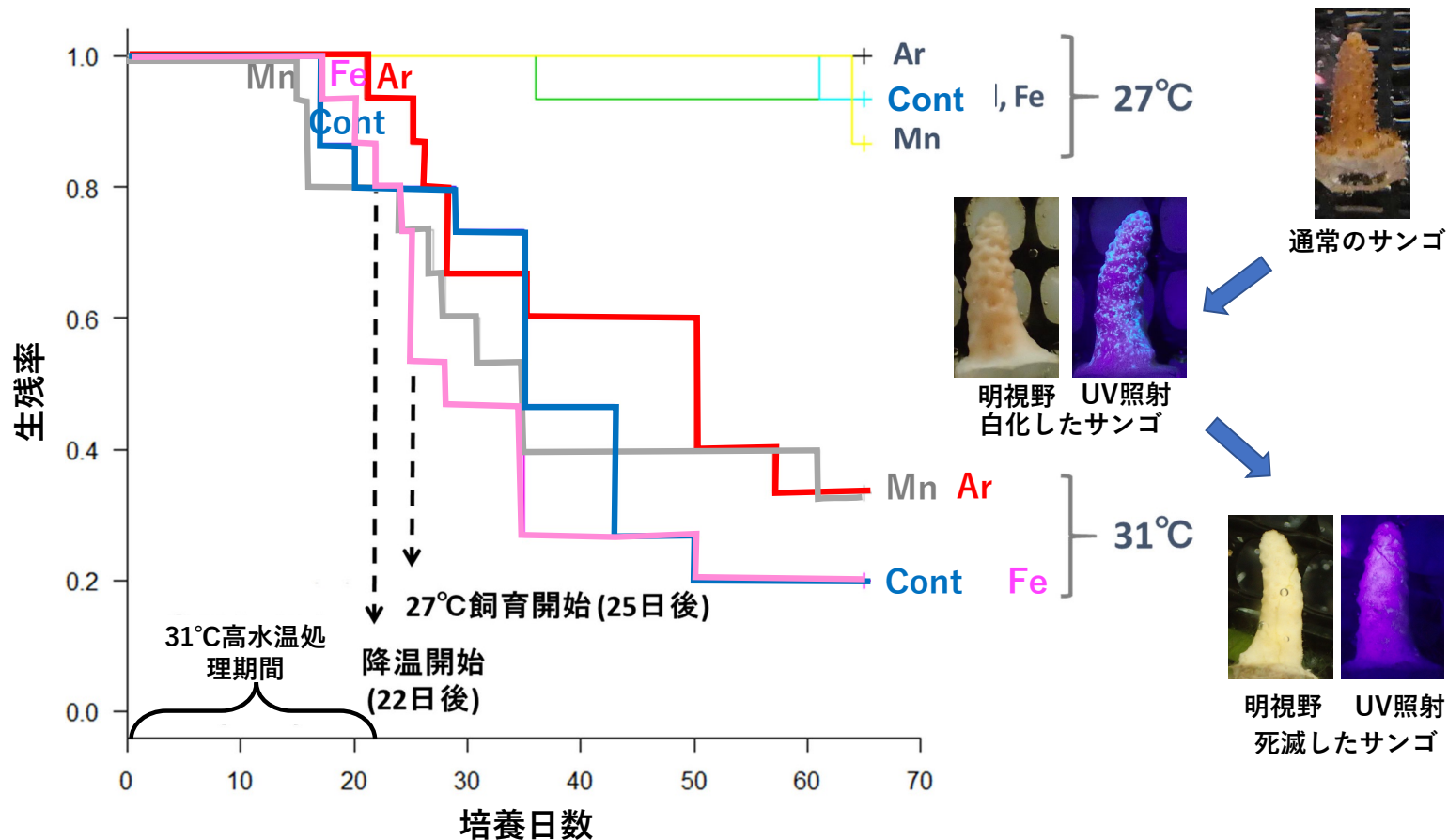
Fe、Mn酵母およびアルテミア幼生添加実験の褐虫藻密度



Fe、Mn酵母およびアルテミア幼生添加実験の褐虫藻に含まれるFe, Mn SOD活性

5-1. サブテーマ1 サンゴの抗酸化作用向上

- アルテミア幼生とMn酵母添加では3週間の高水温処理を経た後に、無給餌のサンゴよりも**生残率が1.6倍高い**
- これらの餌の**給餌により**白化後により多くのサンゴが生き残ることや短い高温期間であれば白化後の**すみやかな回復が期待**できることを示した

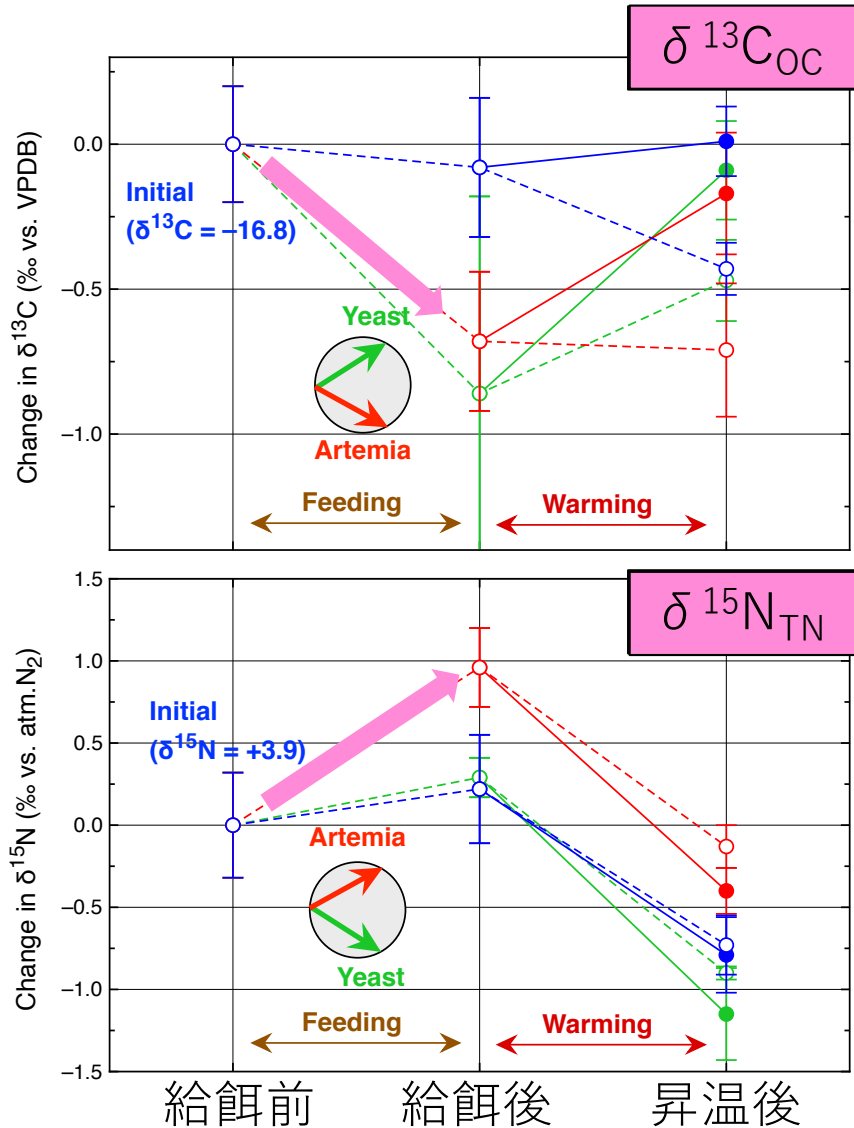


Fe、Mn酵母およびアルテミア幼生添加実験における生残率

5-1. サブテーマ2 サンゴの栄養状態の改善

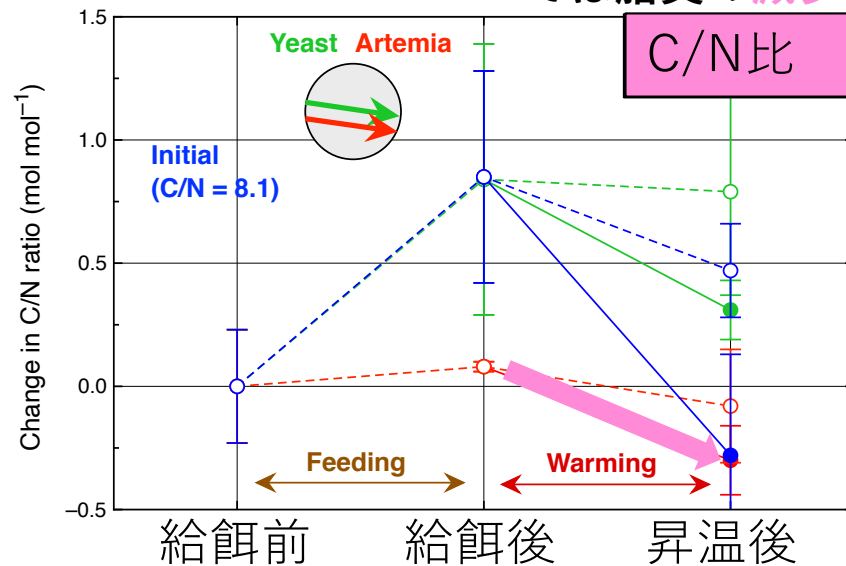
サンゴへの給餌による白化防止効果が、給餌による栄養状態の改善によるものであることを水槽実験において実証

給餌による白化防止効果を検証した共同水槽実験のサンゴ試料に対して、給餌がサンゴの栄養状態をどのように改善しているのかを解明した。



- サンゴの $\delta^{13}\text{C}_{\text{OC}}$, $\delta^{15}\text{N}_{\text{TN}}$ からサンゴは**アルテミアを捕食して栄養源**としていることが確認された。

- 白化温度に達するとエネルギーを補うために**貯蔵脂質が消費される**
- アルテミアを給餌したサンゴでは脂質の**減少が緩やか**



餌添加白化実験におけるサンゴ組織中の $\delta^{13}\text{C}_{\text{OC}}$, $\delta^{15}\text{N}_{\text{TN}}$, C/N比の変化。4個のフラグメントの平均値と標準偏差を示した。グレーの円の中の矢印は、酵母とアルテミアの安定同位体比とC/N比から、それらを摂食した場合に予測される変化の方向を示す。

5-1. サブテーマ2 サンゴの栄養状態の改善

★ 安定同位体比・化学組成に基づく健全性診断指標の開発と高度化

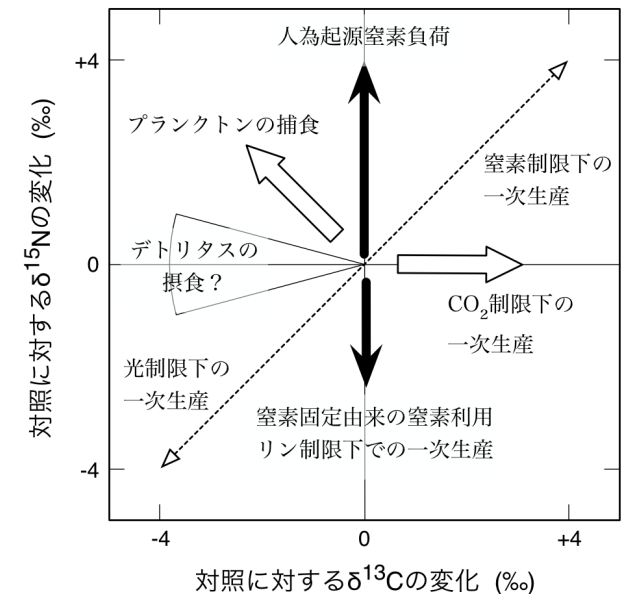
白化救済技術の実験的検証、重点保護区のスクリーニングとモニタリング等に応用することを目的として、栄養供給面からの健全性診断指標を定める。

本研究で取り組んだ指標：

- ① 貯蔵脂質備蓄量の指標（サンゴの $\delta^{13}\text{C}_{\text{OC}}$, C/N比）
- ② 従属栄養による栄養獲得への依存度の指標（サンゴのアミノ酸分子種別 $\delta^{15}\text{N}$ ）
- ③ 富栄養化、特に人為起源窒素負荷の影響度の指標（共生藻の $\delta^{15}\text{N}_{\text{TN}}$ ）
- ④ サンゴ・共生藻間の相互依存度の指標（サンゴと共生藻の間の安定同位体比の差）

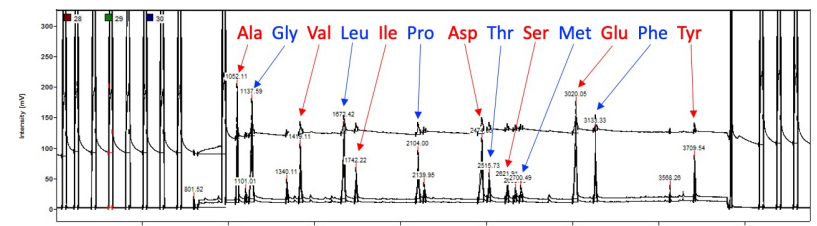
研究成果：

- 上記4種の指標について実生態系のサンゴのデータに基づいてその有効性を検証した。
- ①②③は本研究の水槽実験におけるサンゴの栄養状態のモニタリングに活用した。
- 分析目的のために共生藻とサンゴを分離する実用的で確実な方法を検討・改良した。



サンゴと共生藻のバルク炭素・窒素安定同位体比 ($\delta^{13}\text{C}_{\text{OC}}$, $\delta^{15}\text{N}_{\text{TN}}$) に影響を及ぼす要因

(Miyajima and Umezawa 2010 改変)



アミノ酸分子種別窒素同位体比の分析例

5-1. サブテーマ2 サンゴの栄養状態の改善

★ 各種白化予防救済技術の比較検討と効用の実験的評価

コロナ禍による活動制限で野外での共同実験が実施できなくなったため、簡易な室内実験施設（右図）を用いて各種白化防止技術の比較研究を行った。

白化の抑制と回復の促進にともに効果が認められたもの：

弱光条件・高水温期間中の抗酸化剤（カテキン）処理

白化の抑制にのみ効果が認められたもの：

昇温前の十分な給餌

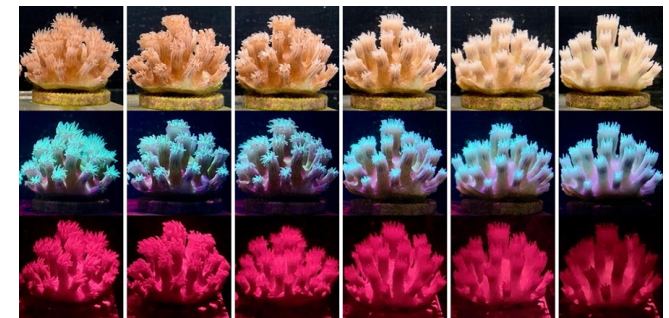
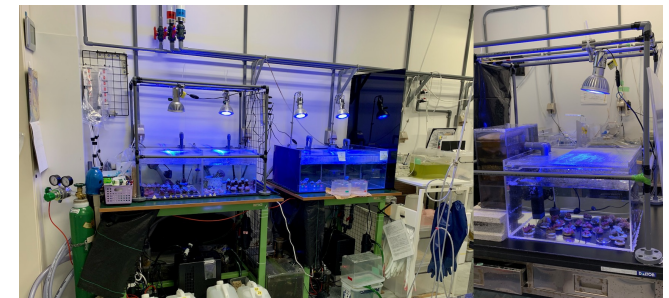
回復の促進にのみ効果が認められたもの：

高水温期間中の抗酸化剤（アスコルビン酸）処理

回復期における栄養補給

暫定的な結論と今後の課題

- **適切な栄養補給**は白化抑制・回復促進に効果がある
- **水温上昇後の栄養補給**を行っても手遅れになる
- **遮光**は局所的・緊急避難的な白化救済策として有効
- **抗酸化剤処理**にも白化抑制・回復促進効果が認められる
- 効果が高く安全な抗酸化剤を見出すためになお継続研究が必要
- **水流**の効果は不明瞭で、今後再検討する必要がある

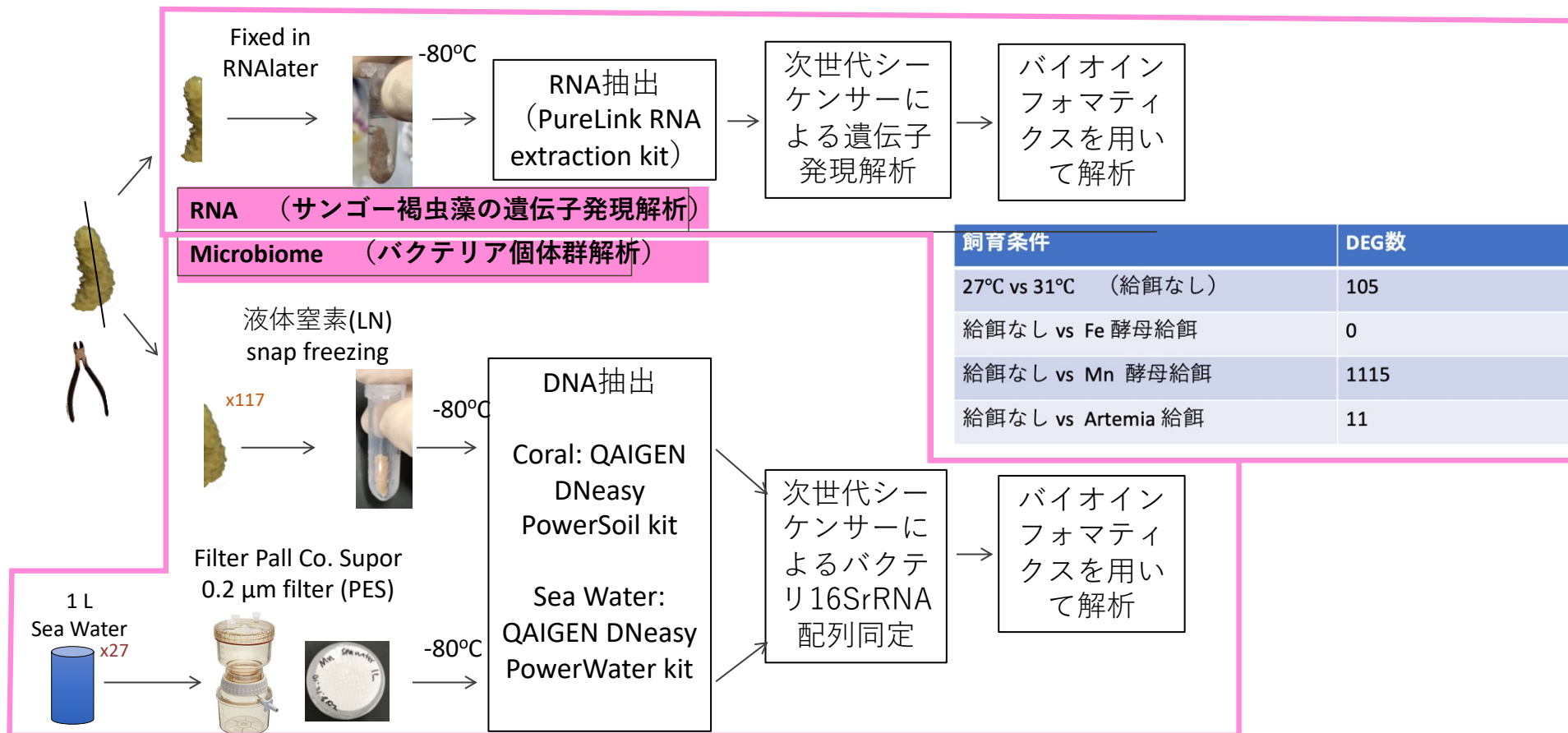


Day-4 Day-8 Day-13 Day-21 Day-25 Day-30

（上）昇温実験用の循環式水槽。
（下）アザミサンゴを32°Cで飼育した場合の白化の進行の様子を自然光(上)、紫外線に対するタンパク質の蛍光(中)、クロロフィルの赤色蛍光(下)で観察したもの。

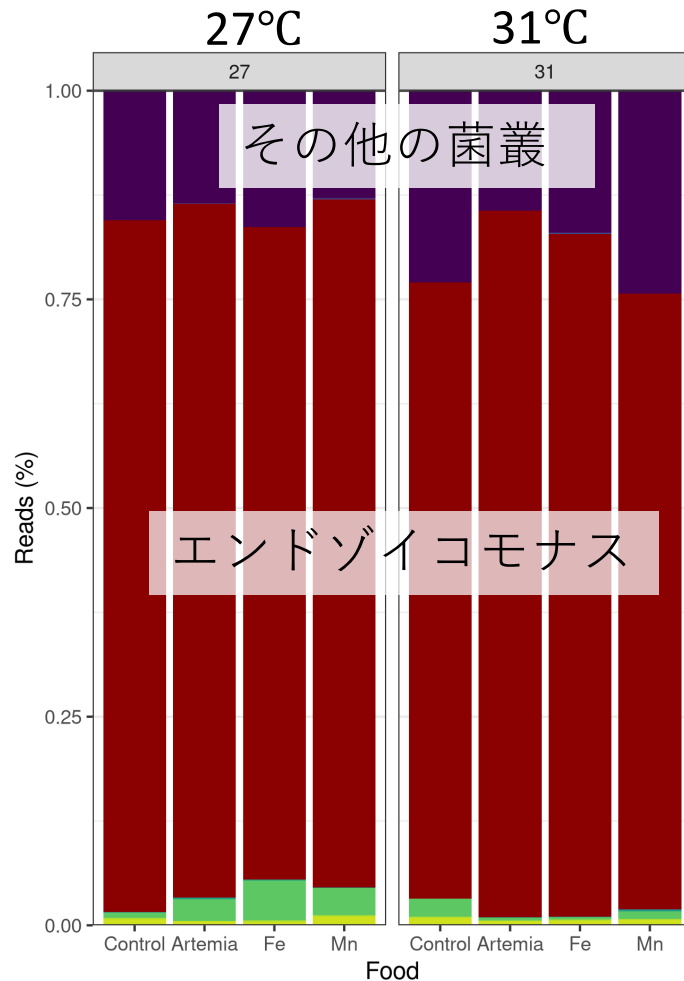
5-1. サブテーマ3 分子・マイクロスケールでの影響

- アルテミア幼生を給餌したサンゴでは有機物や糖代謝などの代謝関連の遺伝子発現が上昇し、温度により発現変動する遺伝子が給餌により抑制 → ストレス緩和効果を示唆
- グルタミン酸合成酵素やアンモニウム輸送に関わる代謝関連の遺伝子発現が高いサンゴほど生残率が高く、逆に細胞毒性に関する遺伝子を発現するサンゴほど生残率が低い



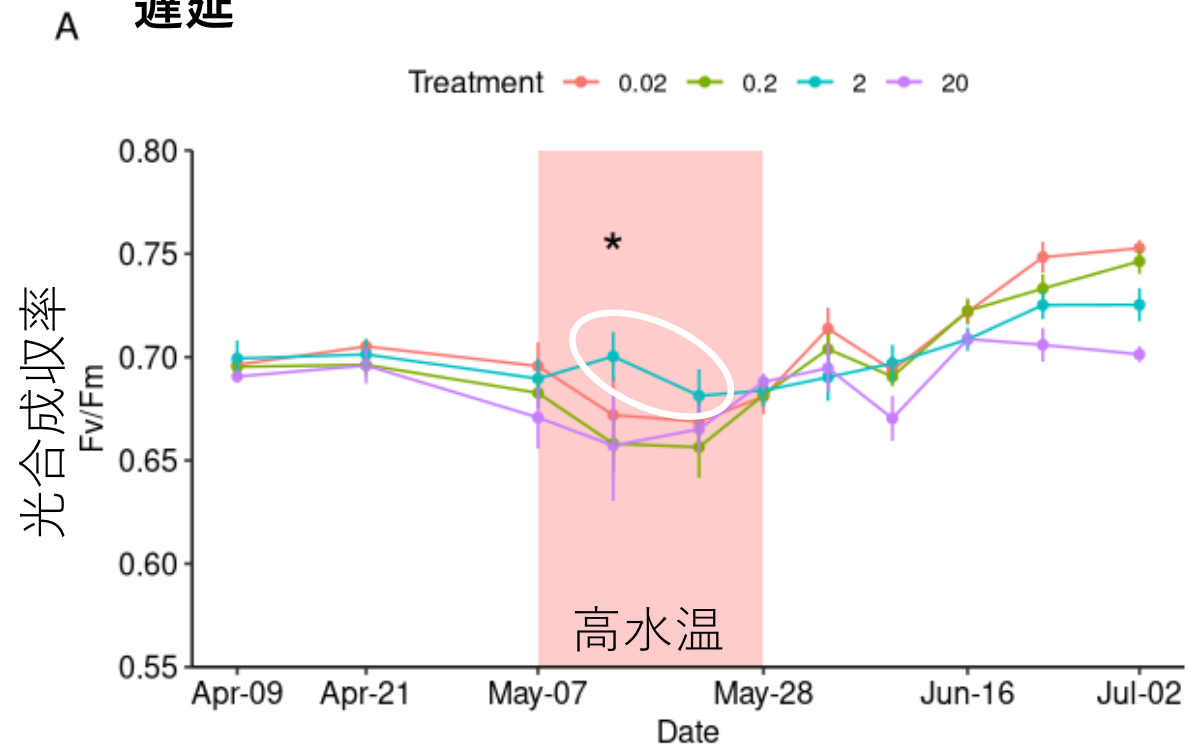
5-1. サブテーマ3 分子・マイクロスケールでの影響

- サンゴの健全度の指標となる共在細菌のエンドゾイコモナスは、給餌の影響で減少する傾向はなく、病原性微生物の増加もない → 給餌がサンゴの細菌叢変化や有害バクテリアの繁殖を引き起こさないことを示唆



金属アルテミア供給実験におけるサンゴの細菌多様性 (属レベル)

- 金属酵母を与えたアルテミア幼生を2個体/mlの濃度で与えることで、白化防止に効果それ以下の濃度では効果がなく、20個体/ml以上では褐虫藻密度や光合成収率の低下と回復の遅延

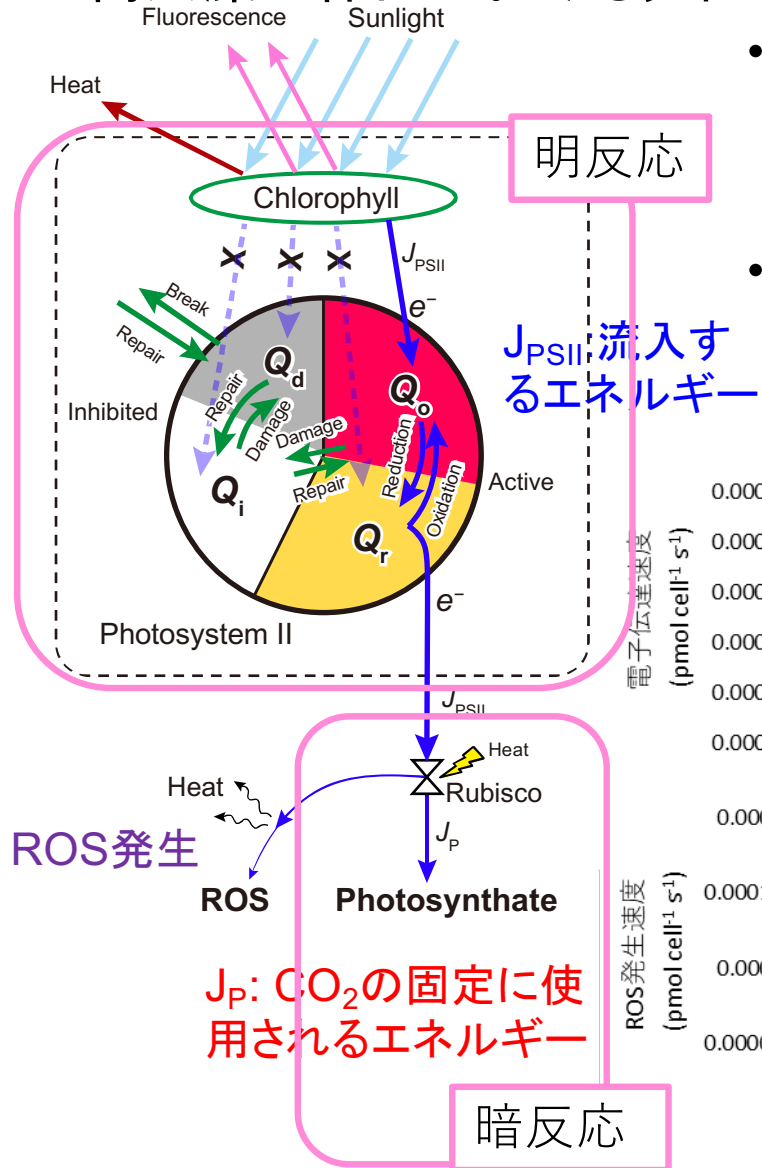


餌(アルテミア)濃度の違いによる光合成の最大量子収率(Fv/Fm)

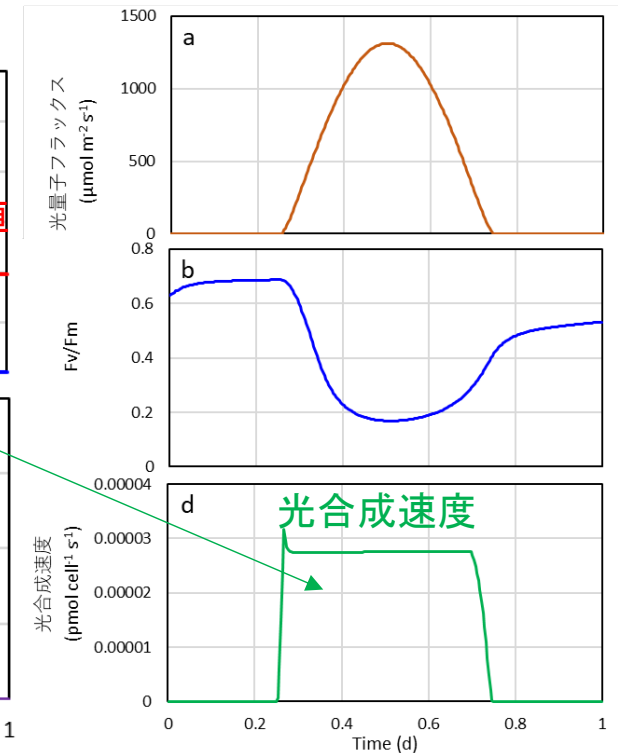
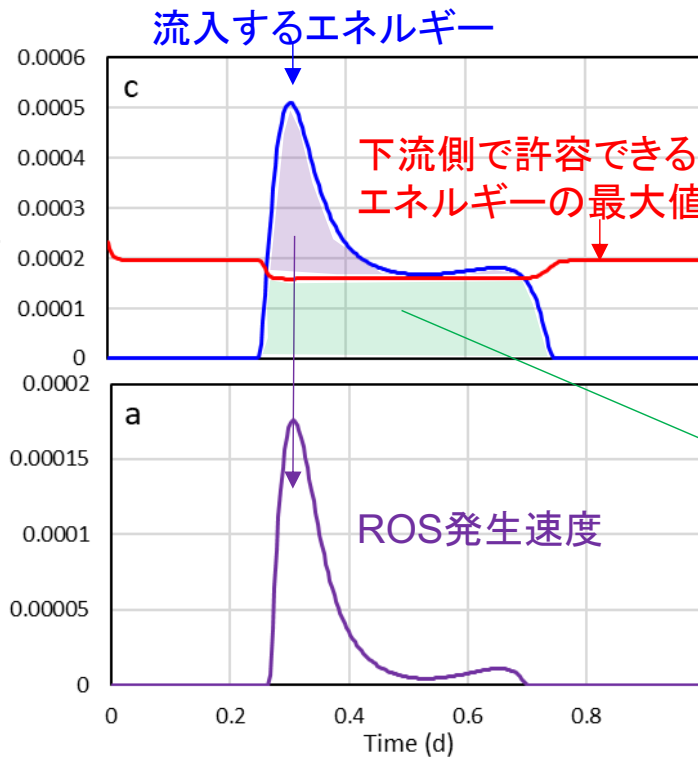
5-1. サブテーマ4 モデルの構築とシミュレーション

サンゴの白化メカニズムの解明とサンゴの生体内反応を考慮したサンゴの白化モデルの開発

褐虫藻生体内における光阻害・ROS発生過程、クロロフィル動態のモデル化



- ROSは光化学系より流入エネルギーが、カルビン回路でCO₂から有機炭素を産生する際に使用されるエネルギーを上回時に発生
- 高温などによるRubiscoの不活化やその他カルビン回路の回転速度が制限されると発生しやすくなる



5-1. サブテーマ4 モデルの構築とシミュレーション

サンゴ生体内での褐虫藻の排出過程を含む褐虫藻の個体群動態のモデル化

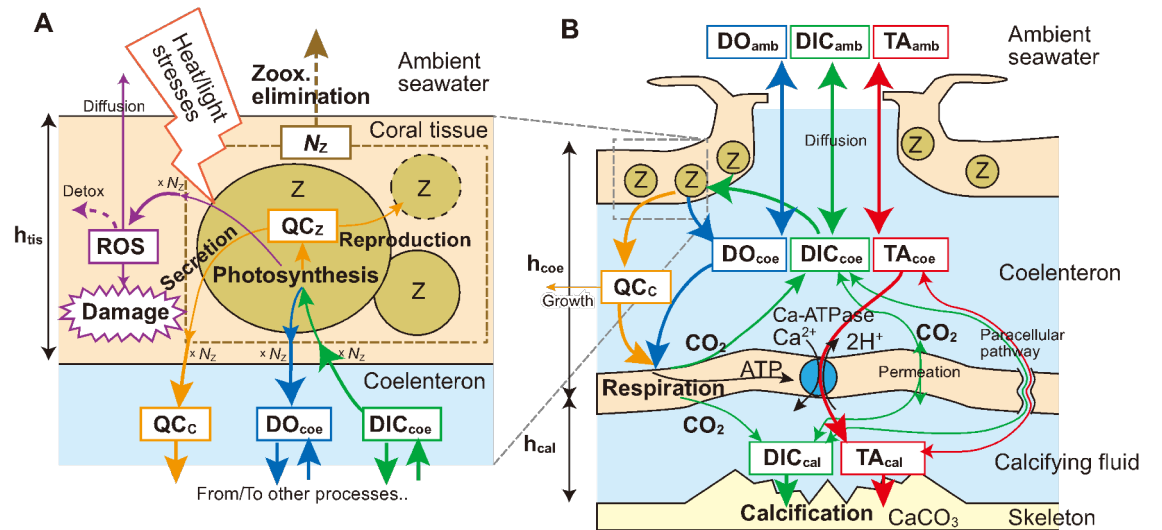
実験結果より白化現象には二つの状態が存在することが分かっている:

- (1) 褐虫藻が自身のクロロフィル量を減らす
- (2) サンゴが褐虫藻を排出し褐虫藻密度を下げる

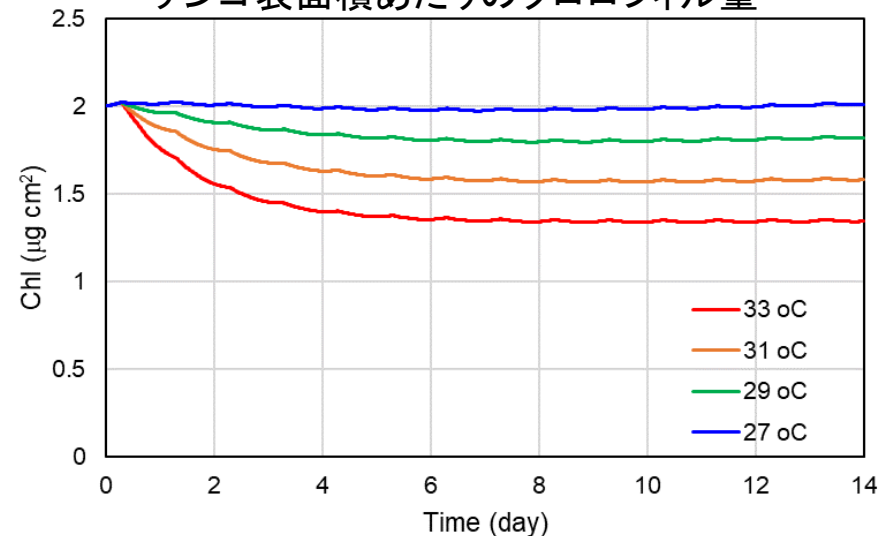
* 褐虫藻がROSを多量に放出し始めた際にはサンゴ側の応答として、ROS濃度上昇を抑えるためにサンゴが褐虫藻を排出すると考えられる。

上記メカニズムを組み込み、サンゴ/褐虫藻の生体内反応を詳細にモデル化

モデルは実際の白化現象を良好に再現できた



異なる水温条件下でシミュレーションした際のサンゴ表面積あたりのクロロフィル量

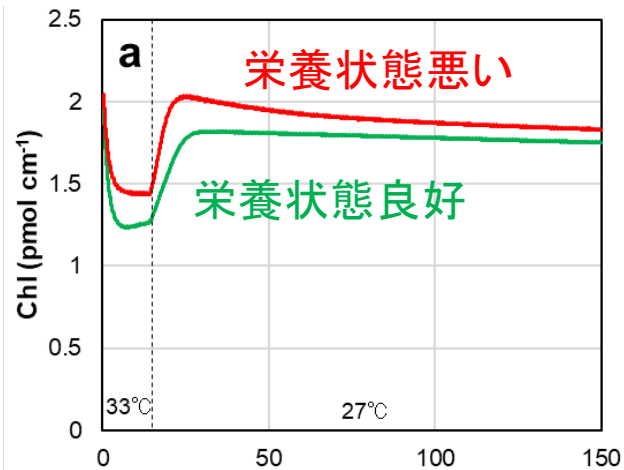


5-1. サブテーマ4 モデルの構築とシミュレーション

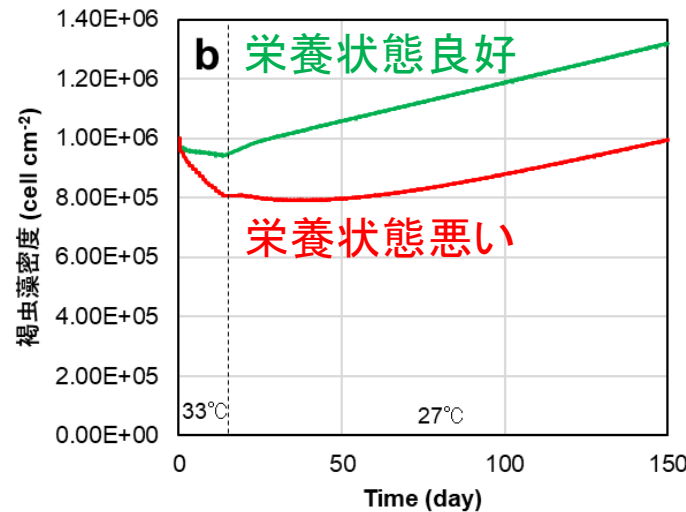
サンゴの栄養状態を変えた際の白化から回復までのシミュレーション結果

初期の14日間を33°Cで、それ以降を27°Cで飼育

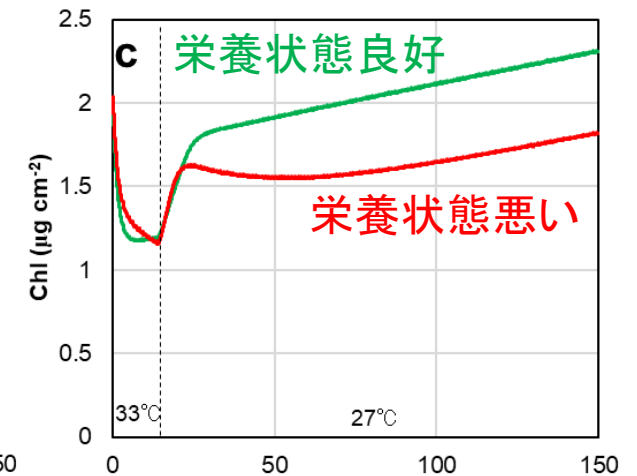
褐虫藻あたりのクロロフィル量



サンゴ表面積あたりの褐虫藻密度



サンゴ表面積あたりのクロロフィル量



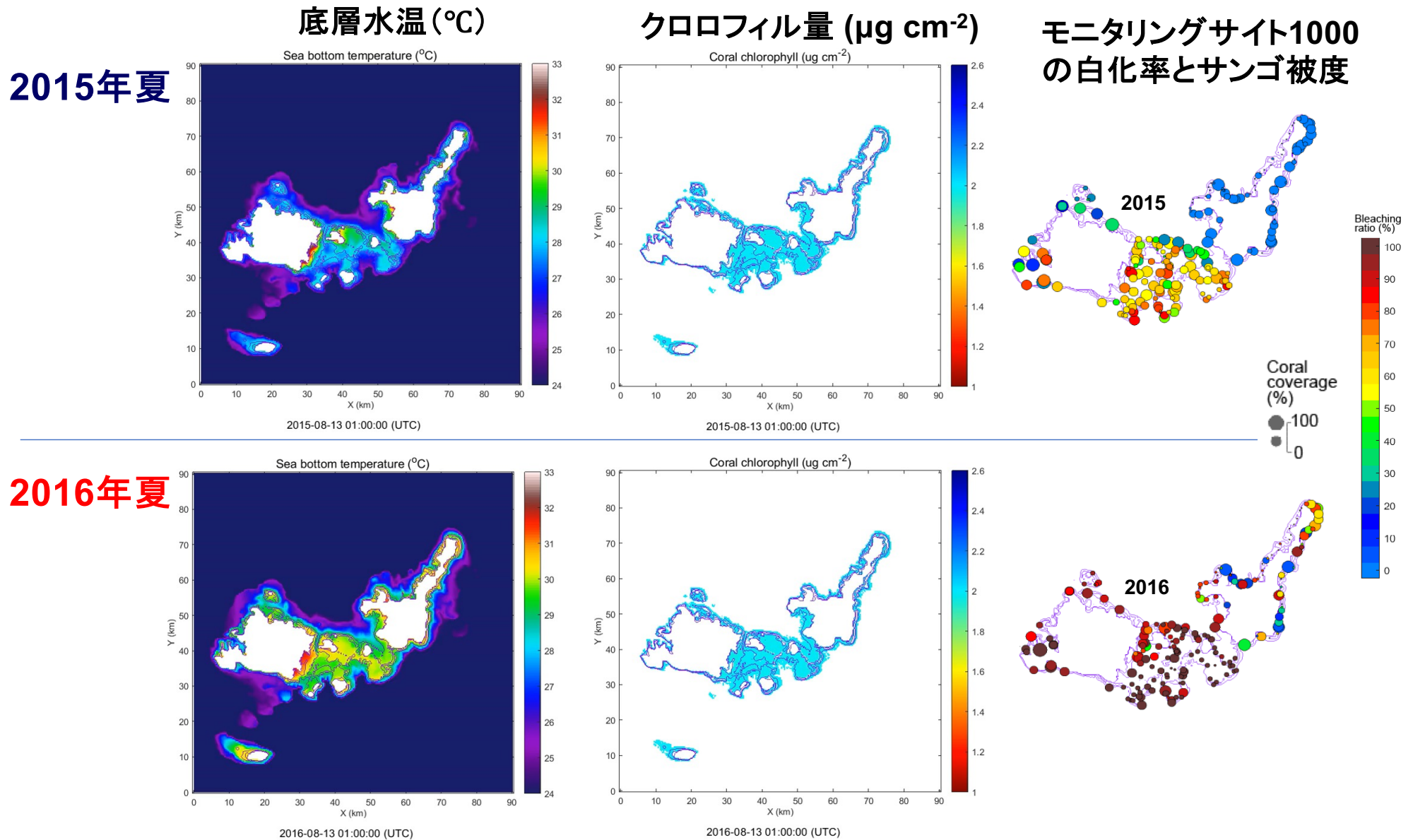
栄養状態が悪い → 栄養枯渇のリスクが高く、褐虫藻はクロロフィル量を下げられない
→ ROS濃度が上がる → サンゴが褐虫藻を排出 → **回復が遅い**

栄養状態が良好 → 栄養枯渇のリスクが低いため、褐虫藻はクロロフィル量を十分に下げられる
→ ROS濃度が抑えられる → サンゴは褐虫藻を排出しないで済む → **回復が早い**

白化の影響の緩和や白化からの回復には、サンゴの栄養状態を良好に保つことが重要であることがモデル研究からも支持された

5-1. サブテーマ4 モデルの構築とシミュレーション

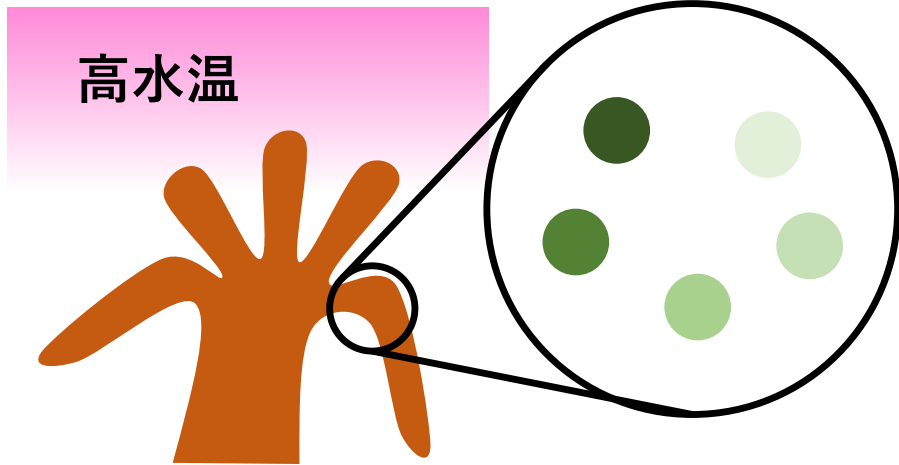
白化モデルを流動モデルとカップリングし、2015年および2016年夏の底層水温とサンゴの白化応答(サンゴの単位表面あたりのクロロフィル量)の空間分布のシミュレーション結果。



ポリスケールの白化モデルを石西礁湖スケールに拡張することに成功。

5-2. 環境政策等への貢献

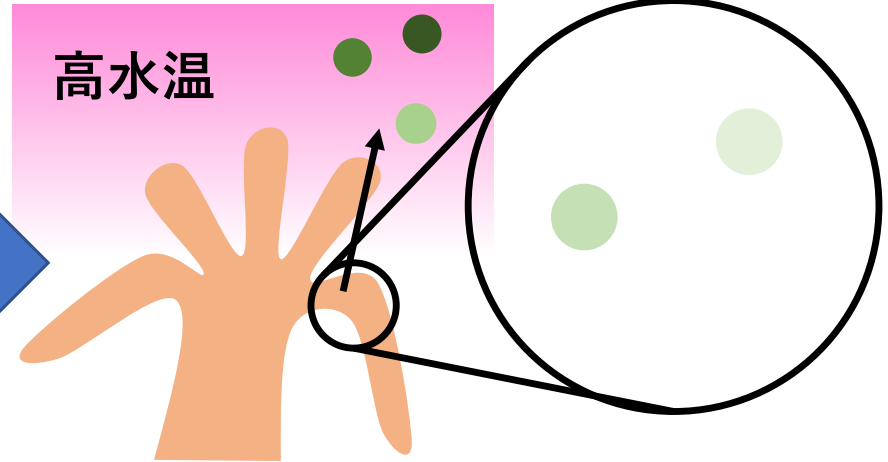
ステップ1



褐虫藻がクロロフィル量を減らす

回復が早い

ステップ2



サンゴが褐虫藻を排出する

回復が遅い

栄養状態が良ければ生残率が上昇

- ・ 栄養状態を良好に保つことで、より多くのサンゴをステップ1の状態に留めておくことが重要
- ・ ステップ2まで白化をしたとしても栄養状態が良いサンゴほど生残率が高い
- ・ 幼生供給の拠点となるような重点保護区域等を設置し、その区域のみに栄養供給の救済技術を適用する
- ・ これらのことを石西礁湖自然再生協議会等で提言していく

6. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表 <査読付き論文 6編>

- Fujii, T., Tanaka, Y., Maki, K., Saotome, N., Morimoto, N., Watanabe, A., & **Miyajima, T.** (2020). Organic carbon and nitrogen isoscapes of reef corals and algal symbionts: Relative influences of environmental gradients and heterotrophy. *Microorganisms*, 8, 1221.
- **Yuyama I, Higuchi T, Mezaki T, Tashiro H, Kazuho Ikeo K** (2022). Metatranscriptomic Analysis of Corals Inoculated with Tolerant and Non-Tolerant Symbiont Exposed to High Temperature and Light Stress. *Frontiers in Physiology*, 13, 806171.
- **中村隆志** (2020) 複合環境影響評価のためのサンゴ礁生態系モデル開発にむけて: サンゴポリプモデルの開発と流動-物質循環モデルとの連成, *日本サンゴ礁学会誌*, 22, 45-60
- 他3編

<その他誌上発表 (査読なし) 2編>

- **藤村弘行**(2021) かけがえのないサンゴ礁生態系を白化の危機から 救うために, *琉球大学環境報告書* 2021
- **中村隆志, 小又寛也, 佐久間魁史, Oumou Kalsom Diegui BA** (2022) ハインドキャストシュミレーションによる過去のサンゴ礁域の環境復元, *月刊海洋*, 印刷中

(2) 口頭発表 (学会等) 16件

- **Hiroyuki Fujimura, Sayaka Higa, Toshihiro Miyajima, Tomihiko Higuchi, Sylvain Agostini, Ikuko Yuyama, Takashi Nakamura**: Enhancement of antioxidant activity of scleractinian coral *Galaxea fascicularis* by feeding treatment. *日本地球惑星科学連合2019年大会*(2019年5月26-30日)
- **Takashi Nakamura, Toshihiro Miyajima, Tomihiko Higuchi, Sylvain Agostini, Ikuko Yuyama, Hiroyuki Fujimura**: Coral Bleaching simulation in the Sekisei Lagoon, Okinawa, Japan, based on a coupled hydrodynamic-biogeochemical-polyp-scale coral bleaching model. *日本地球惑星科学連合2022年大会*(2022年5月22日-6月2日)
- 他14件

「国民との科学・技術対話」の実施 6件

- 琉球大学オープンキャンパス理学部体験ツアーにて本研究課題を紹介し説明
- 東京大学大気海洋研究所（柏キャンパス）一般公開2019にてプロジェクトの紹介
- つくばサイエンスコロボ2018 科学と環境のフェスティバルにて「生物学ひろば イシサンゴ～植物のような石のような不思議な生物～」と題して研究を紹介
- 中村隆志、日本サンゴ礁学会・オンライン企画『サンゴ礁の研究室をオンラインで訪ねてみよう！』にて講演 (<https://sites.google.com/view/jcrs23>)
- 他2件

本研究費の研究成果による受賞 3件

- 1) **Agostini Sylvain** 日本サンゴ礁学会 川口奨励賞 2018年11月受賞
- 2) 寺山玲美, **Agostini Sylvain**, **中村隆志**, **藤村弘行**：日本サンゴ礁学会第23回大会（2020年11月）「サンゴにおける熱ストレスを緩和する戦略としての光阻害」優秀ポスター賞受賞
- 3) **中村隆志** 日本サンゴ礁学会 川口奨励賞 2019年11月受賞



琉球大学オープンキャンパス

東京大学大気海洋研究所
（柏キャンパス）一般公開

つくばサイエンスコロボ2018
科学と環境のフェスティバル