

造礁サンゴ類の初期生活史 における共生成立過程

波利井 佐紀

琉球大学熱帯生物圏研究センター

Establishment of symbiosis in early developmental stages of hermatypic corals

S. Harii

E-mail: sharii@lab.u-ryukyu.ac.jp

●はじめに

さんご礁生態系の主要な生物である造礁サンゴ類(以下、サンゴ)は、褐虫藻(*Symbiodinium* spp.)とよばれる単細胞の渦鞭毛藻類の一種と相利共生している。褐虫藻は宿主であるサンゴにグルコースなどの光合成産物の約95%を渡し、サンゴはそれをエネルギーとして使い、一方で褐虫藻は光合成に必要な無機物をサンゴから受け取り光合成に利用している(Muscatine 1990)。従来、褐虫藻はその形態により1種と考えられていたが、近年、分子生物学的手法によって9つの遺伝的系統(クレード clade)に分類され、さらにそれぞれのクレードはいくつかのサブタイプ(以下、褐虫藻タイプまたは単にタイプと呼ぶ)に分けられている(Coffroth and Santos 2005; Pochon and Gates 2010)。サンゴは、1~数タイプの特定の褐虫藻と共生するとともに、海域や水深の違いによって異なるタイプを持つことが知られている。共生する褐虫藻タイプの違いによってサンゴの生理特性が異なり、温度耐性や成長などが違ってくるのが明らかになってきており(例えば Baker 2003; Berkelmans and van Oppen 2006; Jones et al 2008)、白化後のサンゴの回復や環境変

化に対する適応過程を理解する上で、褐虫藻との共生関係を解明することは重要な研究課題である。

サンゴはいつ褐虫藻との共生を成立させるのだろうか。それを説明する前に、サンゴの生活史に触れておきたい。サンゴは有性生殖によって産卵・受精(または幼生放出)し、プラナラと呼ばれる幼生をつくる。プラナラ幼生はある期間、海中を浮遊(分散)した後、海底へと定着・変態してポリブ(本稿では稚サンゴと呼ぶ)となり、それが無性的に分裂・出芽しながら増殖する。例えば沖縄県阿嘉島周辺海域では、ミドリイシ属サンゴなどの多くの種類が5-6月に一斉に産卵する(Hayashibara et al. 1993)。ミドリイシ属の幼生は受精3-4日後から定着を開始するが、1ヶ月以上浮遊して定着・変態することもできる(Babcock and Heyward 1987; Harii et al. 2007)。

サンゴと褐虫藻の共生は、この初期生活史の時期に成立する。共生成立には、親サンゴ由来の褐虫藻を引き継ぐ「垂直伝播型」と毎世代、外界より褐虫藻を獲得する「水平伝播型」の2つの様式がある(図1)。幼生を放出する繁殖様式のサンゴ(幼生保育型)の多くが垂直伝播型であるのに対し、卵と精子を海中に放出する様式のサンゴ(放卵放精型)では約80%が水平伝播型である(Baird et al. 2009)。現存するサンゴの多くは放卵放精型であること(Baird et al. 2009)を考えると、ほとんどのサンゴが水平伝播型であるといえる。垂直伝播型サンゴの卵・幼生は親と同じ褐虫藻タイプを持ち、水平伝播型は周辺環境中に褐虫藻が存在しないと共生関係を結ぶことができな

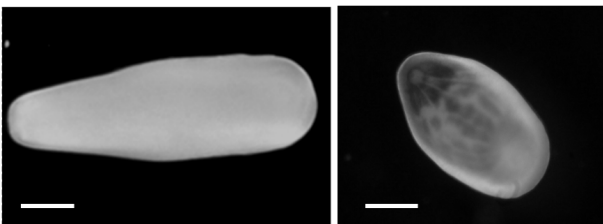


図1 水平伝播型の *Acropora tenuis* (左:スケール=100 μ m)と垂直伝播型の *Pocillopora damicornis* (右:スケール=200 μ m)のプラナラ幼生

いというリスクがあるものの、定着した環境に適した褐虫藻タイプを獲得できるというメリットがある。サンゴの初期生活史は共生が成立する重要な時期であるが、共生成立機構については不明な点が多い。本稿では、この「水平伝播型」サンゴの初期生活史における褐虫藻獲得・共生成立過程について、私が取り組んでいる研究を中心に紹介したい。

●サンゴ幼生による褐虫藻獲得

通常、水平伝播型サンゴでは定着後、稚サンゴの時期になってから褐虫藻を獲得して共生を成立させると考えられている(Hirose et al. 2008b)。一方、ハワイ産の *Fungia scutaria* (クサビライシ) などが実験的に浮遊幼生期でも獲得することや (Schwarz et al. 1999; Weis et al. 2001)、ある特定の褐虫藻タイプと共生する成体サンゴと異なり、幼生が多様な褐虫藻タイプと共生可能なことが知られていた (Rodriguez-Lanetty et al. 2004, 2006) が、様々な種類のサンゴが幼生の時期に褐虫藻を獲得できるのか、またどのような発生段階で獲得するのかは分かっていなかった。

そこで、筆者らが、太平洋のさんご礁に生息する代表的な種類である *Acropora* (ミドリイシ属サンゴ) 数種をはじめ、*Favia* (キクメイシ属サンゴ) 2 種、*Ctenactis echinata* (トゲクサビライシ) など、全 9 種類のサンゴの幼生に実験的に褐虫藻を与えたところ、すべての種類において幼生の段階で褐虫藻を取り込むことが確認された (Harii et al. 2009)。

次に、筆者らはどの時期に幼生が褐虫藻を獲得することができるかを調べることにした。*Acropora tenuis* (ウスエダミドリイシ) および *A. digitifera* (コユビミドリイシ) について、毎日、成体サンゴから単離した褐虫藻を未共生のプラヌラ幼生に与え、蛍光顕微鏡下で幼生体内の褐虫藻の有無と褐虫藻数を観察した結果、*A. tenuis* では受精後 5 日目に、*A. digitifera* では受精後 6 日目に褐虫藻の獲得が開始され、さらに、受精後の経過日数とともに藻類獲得率が増加し、幼生体内に取り込まれた褐虫藻数も増加した (Harii et al. 2009)

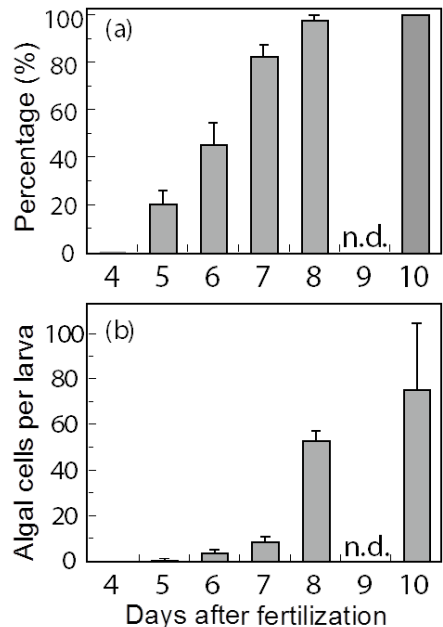


図2 ウスエダミドリイシ *Acropora tenuis* の幼生の褐虫藻獲得率 (a) と獲得数 (b) の経時変化
Harii et al. (2009) を Springer より許可を得て転載 (License Number: 2860560548853)。一部、改変した。

(図 2)。幼生の組織学的観察より、口部の発達とともに褐虫藻獲得が開始されること、胃腔の発達とともに多くの褐虫藻を体内に取り込むことから、幼生の褐虫藻獲得と内部構造の発達には密接な関係があることがわかった。これらの実験結果は、機会があれば水平伝播型のサンゴ幼生は浮遊期間中に褐虫藻との共生を開始する可能性を示している。

●自然界での幼生の褐虫藻獲得とそのメリット/デメリット

これまで、幼生が褐虫藻を獲得するかどうかは室内実験でしか調べられてこなかった。通常、室内で実験的に幼生に与える褐虫藻密度は自然界の密度よりはるかに高いことが想定される。それでは、実際に幼生は、海洋環境中から褐虫藻を獲得し共生を成立させるのだろうか。最近、Adams et al. (2009) は、ろ過海水にさんご礁海域から採取した堆積物を混ぜたもの、さんご礁から採水した海水、ろ過海水 (すなわち褐虫藻がない海水) の 3 条件で *Acropora monticulosa* (サンカ

クミドリイシ)の幼生を室内飼育して自然に近い条件で幼生が褐虫藻を取り込むかどうかを観察し、さんご礁の堆積物や海水で飼育した幼生が褐虫藻を獲得し、その褐虫藻はクレード A のものであることを示した。

筆者らはさらに自然に近い条件で調べるため、ウスエダミドリイシの幼生をさんご礁で数日間飼育し、褐虫藻を取り込むかを調べた(波利井ら 投稿準備中)。回収した幼生を蛍光顕微鏡下で観察したところ、多くの個体で体内にわずかな数ではあったが褐虫藻がみられた。幼生の組織学的標本を作製し観察したところ、これらの褐虫藻は幼生の内胚葉に分布していたことから、共生が成立していることがわかった。さらに、これらの褐虫藻の rDNA の ITS2 (ribosomal internal transcribed spacer) 領域を増幅し、変性剤濃度勾配ゲル電気泳動法 (DEEG) を用いて褐虫藻タイプを詳細に調べたところ、成体サンゴと同じものを含む 9 つのタイプが特定された。このことから、水平伝播型サンゴの幼生は自然界でも浮遊期間中に褐虫藻を獲得可能であること、また、成体サンゴとは異なり様々なタイプの褐虫藻を海洋環境中から選択せずに獲得し、共生を成立させることが示唆された。

垂直伝播型サンゴの卵や幼生は、光合成産物をエネルギーとして利用していることが知られている (Richmond 1981, 1987; Harii et al. 2010)。例えば、垂直伝播型の *Montipora digitata* (エダコモンサンゴ) や *Pocillopora damicornis* (ハナヤサイサンゴ) の幼生では、明条件 (光合成が可能な条件) で飼育すると体内の貯蔵脂質をエネルギーとして使用する以外に、必要エネルギーの約 40% を光合成産物に頼っていることが示されており、それによって、垂直伝播型サンゴの幼生は水平伝播型の幼生よりも長期間浮遊し、定着することが可能であると考えられている (Richmond 1981, 1987; Harii et al. 2002, 2010)。水平伝播型サンゴ幼生でも外界から褐虫藻を獲得した場合、体内で褐虫藻類が十分量増殖すれば、その光合成産物を利用して浮遊期間を延長し、より遠くの海域へと分散・定着する可能性があるかもしれない。

共生藻類を持っていたほうがエネルギー面でのメリットがあるにもかかわらず、なぜ多くのサンゴが水平伝播型の様式を取るのだろうか。実は、高水温や強光といった環境ストレス下では、褐虫藻と共生していることが幼生にとってデメリットになることが指摘されている。高水温の環境では、褐虫藻が宿主となる幼生へ酸化ストレスを与えるため、幼生の生残率が低くなる (Yakovleva et al. 2009)。また、*Acropora tenuis* の幼生に褐虫藻を獲得させて自然光下で飼育すると、非共生の幼生よりも DNA の損傷が頻繁にみられる (Nesa et al. 2012)。多くの水平伝播型の卵は海水よりも軽いため産卵後浮上し、発生が進むまで海面にとどまるため、こうした環境ストレスの影響を受けやすい。そのため、多くのサンゴが褐虫藻を持たないように適応したのかもしれない (Baird et al. 2009)。

● 褐虫藻タイプはどのように変化するのか

これまでに、サンゴ幼生が様々な褐虫藻タイプを獲得し、特異性がないことを述べた。それでは、定着した稚サンゴはどのような褐虫藻タイプと共生するのだろうか。ヤギの仲間 2 種 (*Plexaura kuna*, *Pseudoplexaura porosa*) の稚ポリブを野外で飼育すると、はじめはクレード A、B、または C に属する褐虫藻タイプ (*P. porosa* のみ) を獲得するが、3 ヶ月後には *Plexaura kuna* では 77% のポリブが成体と同じクレード B のタイプに変化する (Coffroth et al. 2001)。イシサンゴ類でも同様に、稚サンゴが様々な褐虫藻タイプと共生する (Little et al. 2004; Gomez-Cabrera et al. 2008; Abrego et al. 2009)。Little et al. (2004) は、褐虫藻タイプ C1 または C2 をもつ *Acropora tenuis* の稚サンゴをグレートバリアリーフのマグネティック島 (Magnetic Island) で飼育し、体内での褐虫藻タイプの変化を調べた。実験開始から 1 ヶ月後の稚サンゴからは D と C1、およびその混合タイプが確認されたが、約 9 ヶ月後には多くが D タイプへと変化した。Gomez-Cabrera et al. (2008) の報告によると、*Acropora longicyathus* では、定着後 10 日目の稚サンゴのほとんどがクレード A を獲得したが、

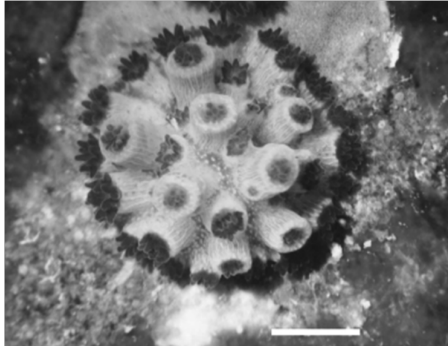


図3 定着後4ヶ月目の *Acropora tenuis* の稚サンゴ
(スケール=2mm)

約3ヶ月後ではクレードA以外にCやD、その混合という複数のタイプを持つようになった。この種の成体の約87%がクレードCを持つことを考えると、多くの稚サンゴは成体とは異なる褐虫藻タイプを獲得していることがわかる。

より長期間にわたり観察した研究例もある。Abrego et al. (2009)は3.5年間にわたり、3海域から採集した異なる褐虫藻タイプを持つミドリイシ属2種、*Acropora tenuis*と*A. millepora*(ハイマツミドリイシ)の稚サンゴをマグネティック島で飼育し、褐虫藻タイプの変化を明らかにした。C1タイプを持っていたマグネティック島産の*A. tenuis*の多くは3.5年後までに成体と同じC1タイプへと移行したが、C2タイプと共生していた他の海域産の同種の稚サンゴではそれと異なるDやC1とDの混合タイプが多く観察された。一方、*A. millepora*の稚サンゴでは、起源に関係なくDタイプが優占した。サンゴの種類によっても褐虫藻獲得や維持機構が異なるのかもしれない。

筆者らも沖縄の海域で*Acropora tenuis*の稚サンゴを長期的に飼育し、褐虫藻タイプがどのように変化するかを調べている。これまでのところ、定着後3週間程度ではグレートバリアリーフの研究例よりも多くの褐虫藻タイプが確認され、その数ヶ月後も複数のタイプと共生していた(図3; 波利井ら 未発表)。このことは、稚サンゴの褐虫藻獲得には定着した生息環境が影響する可能性を示している。

●おわりに

本稿では、さんご礁に生息する水平伝播型サンゴの幼生や稚サンゴが、多様な褐虫藻タイプを獲得することを述べた。サンゴ幼生や稚サンゴがどの褐虫藻タイプと共生するかは、獲得時の海洋環境中にどのような褐虫藻タイプが分布しているかが重要となる。海洋環境中に存在する褐虫藻タイプについては、山下・小池(2011)を参照されたいが、例えば海底のサンゴ砂礫、水柱、海草の表面などから様々な褐虫藻タイプが報告されている(例えば Hirose et al. 2008a; Manning and Gates 2008; Porto et al. 2008; Littman et al. 2008)。現在、筆者らは共生成立期の海洋環境中の褐虫藻タイプの分布を調べ、幼生や稚サンゴが獲得したタイプとの関連を検討している。

冒頭に述べたが、共生する褐虫藻タイプによりサンゴの環境に対する耐性は異なってくる。サンゴは初期生活史の段階では褐虫藻の選択性が低いため、産卵後に幼生となって分散し、他の海域で定着した稚サンゴは、分散先に分布するその場所の環境に適した褐虫藻を取り込み、共生できるかもしれない。さらに、サンゴの産卵は晩春～夏に起こるため、定着した稚サンゴはすぐに高温にさらされる可能性があり、褐虫藻タイプにより環境ストレスへの耐性が異なることから、稚サンゴが様々なタイプと共生しているメリットは大きいかもしれない。こうした点を踏まえ、今後、筆者らは長期的な視野で様々な海域での稚サンゴの共生成立過程や、環境ストレス応答を解明する予定である。現在、地球規模や地域規模の環境変動によってさんご礁が衰退してきている。サンゴの初期生活史における褐虫藻獲得・共生成立過程の研究により、新たに加入した稚サンゴの新しい生息環境や環境変動への応答や適応過程を理解することができ、その結果が衰退したさんご礁回復や保全の一助となることを期待する。

●謝辞

本原稿で紹介した一部は、文部科学省科学研究費補助金(科研費)若手研究B(SH, 30334535)、平成

22 年度公益信託ミキモト海洋生態研究助成基金 (SH)、琉球大学 21 世紀 COE プログラム「サンゴ礁島嶼系の生物多様性の総合解析」および科研費新学術領域研究「サンゴ礁学」の一環として行われた。

●引用文献

- Abrego D, van Oppen MJH, Willis BL (2009) Onset of algal endosymbiont specificity varies among closely related species of *Acropora* corals during early ontogeny. *Molecular Ecology* 18: 3532-3543
- Adams LM, Cumbo VR, Takabayashi M (2009) Exposure to sediment enhances primary acquisition of *Symbiodinium* by asymbiotic coral larvae. *Marine Ecology Progress Series* 377: 149-156
- Babcock RC, Heyward AJ (1986) Larval development of certain gamete-spawning scleractinian corals. *Coral Reefs* 5: 111-116
- Baird AH, Guest JR, Willis BL (2009) Biogeographical and evolutionary patterns in the reproductive biology of scleractinian corals. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 40: 551-571
- Baker AC (2003) Flexibility and specificity in coral-algal symbiosis: diversity, ecology, and biogeography of *Symbiodinium*. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 34: 661-689
- Berkelmans R, van Oppen MJH (2006) The role of zooxanthellae in the thermal tolerance of corals: a 'nugget of hope' for coral reefs in an era of climate change. *Proceedings of the Royal Society B* 273: 2305-2312
- Coffroth MA, Santos SR, Goulet TL (2001) Early ontogenetic expression of specificity in a cnidarian-algal symbiosis. *Marine Ecology Progress Series* 222: 85-96
- Coffroth MA, Santos SR (2005) Genetic diversity of symbiotic dinoflagellates in the genus *Symbiodinium*. *Protist* 156: 19-34
- Gomez-Cabrera M, Ortiz J, Loh W, Ward S, Hoegh-Guldberg O (2008) Acquisition of symbiotic dinoflagellates (*Symbiodinium*) by juveniles of the coral *Acropora longicyathus*. *Coral Reefs* 27: 219-226
- Jones AM, Berkelmans R, van Oppen MJH, Mieog JC, Sinclair W (2008) A community change in the algal endosymbionts of a scleractinian coral following a natural bleaching event: field evidence of acclimatization. *Proceedings of the Royal Society B* 275: 1359-1365
- Harii S, Kayanne H, Takigawa H, Hayashibara T, Yamamoto M (2002) Larval survivorship, competency periods and settlement of two brooding corals, *Heliopora coerulea* and *Pocillopora damicornis*. *Marine Biology* 141: 39-46
- Harii S, Nadaoka K, Yamamoto M, Iwao K (2007) Temporal changes in settlement, lipid content and lipid composition of larvae of the spawning hermatypic coral *Acropora tenuis*. *Marine Ecology Progress Series* 346: 89-96
- Harii S, Yamamoto M, Hoegh-Guldberg O (2010) The relative contribution of dinoflagellate photosynthesis and stored lipids to the survivorship of symbiotic larvae of the reef-building corals. *Marine Biology* 157: 1215-1224
- Harii S, Yasuda N, Rodriguez-Lanetty M, Irie T, Hidaka M (2009) Onset of symbiosis and distribution patterns of symbiotic dinoflagellates in the larvae of scleractinian corals. *Marine Biology* 156: 1203-1212
- Hayashibara T, Shimoike K, Kimura T, Hosaka S, Heyward A, Harrison P, Kudo K, Omori M (1993) Patterns of coral spawning at Akajima

-
- Island, Okinawa, Japan. Marine Ecology Progress Series 101: 253-262
- Hirose M, Reimer JD, Hidaka M, Suda S (2008a) Phylogenetic analyses of potentially free-living *Symbiodinium* spp. isolated from coral reef sand in Okinawa, Japan. Marine Biology 155: 105-112
- Hirose M, Yamamoto H, Nonaka M (2008b) Metamorphosis and acquisition of symbiotic algae in planula larvae and primary polyps of *Acropora* spp. Coral Reefs 27: 247-254
- Little AF, van Oppen MJH, Willis BL (2004) Flexibility in algal endosymbioses shapes growth in reef corals. Science 304: 1492-1494
- Littman RA, van Oppen MJH, Willis B L (2008) Methods for sampling free-living *Symbiodinium* (zooxanthellae) and their distribution and abundance at Lizard Island (Great Barrier Reef). Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 364: 48-53
- Manning MM, Gates RD (2008) Diversity in populations of free living *Symbiodinium* from a Caribbean and Pacific reef. Limnology and Oceanography 53: 1853-1861
- Muscatine L (1990) The role of symbiotic algae in carbon and energy flux in reef corals. In: Dubinsky Z (ed) Ecosystems of the World 25: Coral Reefs. Elsevier, Amsterdam. pp75-87
- Nesa B, Baird A, Harii S, Yakovleva I, Hidaka M (2012) Algal symbionts increase DNA damage in coral planulae exposed to sunlight. Zoological Studies 51(1): 12-17
- Pochon X, Gates RD (2010) A new *Symbiodinium* clade (Dinophyceae) from soritid foraminifera in Hawai'i. Molecular Phylogenetics and Evolution 56: 492-497
- Porto I, Granados C, Restrepo JC, Sanchez JA (2008) Macroalgal associated dinoflagellates belonging to the genus *Symbiodinium* in Caribbean Reefs. PLoS ONE 3:e2160
- Richmond RH (1981) Energetic consideration in the dispersal of *Pocillopora damicornis* (Linnaeus) planulae. Proceedings of the 4th International Coral Reef Symposium 2: 153-156
- Richmond RH (1987) Energetics, competence, and long-distance dispersal of planula larvae of the coral *Pocillopora damicornis*. Marine Biology 93: 527-533
- Rodriguez-Lanetty M, Krupp DA, Weis VM (2004) Distinct ITS types of *Symbiodinium* in Clade C correlate with cnidarian/dinoflagellate specificity during onset of symbiosis. Marine Ecology Progress Series 275: 97-102
- Rodriguez-Lanetty M, Wood-Charlson EM, Hollingsworth LL, Krupp DA, Weis VM (2006) Temporal and spatial infection dynamics indicate recognition events in the early hours of a dinoflagellate/coral symbiosis. Marine Biology 149: 713-719
- Schwarz JA, Krupp DA, Weis VM (1999) Late larval development and onset of symbiosis in the scleractinian coral *Fungia scutaria*. Biological Bulletin 196: 70-79
- Weis VM, Reynolds WS, deBoer MD, Krupp DA (2001) Host-symbiont specificity during onset of symbiosis between the dinoflagellate *Symbiodinium* spp. and planula larvae of the scleractinian coral. Coral Reefs 20: 301-308
- Yakovleva I, Baird AH, Yamamoto HH, Bhagooli R, Nonaka M, Hidaka M (2009) Algal symbionts increase oxidative damage and death in coral larvae at high temperature. Marine Ecology Progress Series 378: 105-112
- 山下 洋・小池一彦(2011)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. みどりいし (22): 14-20
-