

# ちょっとやってみての発見～オニヒトデの共生細菌 とアオサンゴの種分化について～

Symbiotic bacteria of crown of thorns starfish and hidden speciation of a living fossil, blue coral  
～discoveries from curiosity-driven science～

宮崎大学農学部海洋生物環境学科 准教授 安田 仁奈 (Yasuda, Nina)

私が大学院生時代からずっと研究対象として関わり続けている対象種に、オニヒトデとアオサンゴがある。今回、これらの生物について、ちょっとした好奇心でやってみることで偶然に見つけられて嬉しかったこと、楽しかったことを書かせていただきたい。

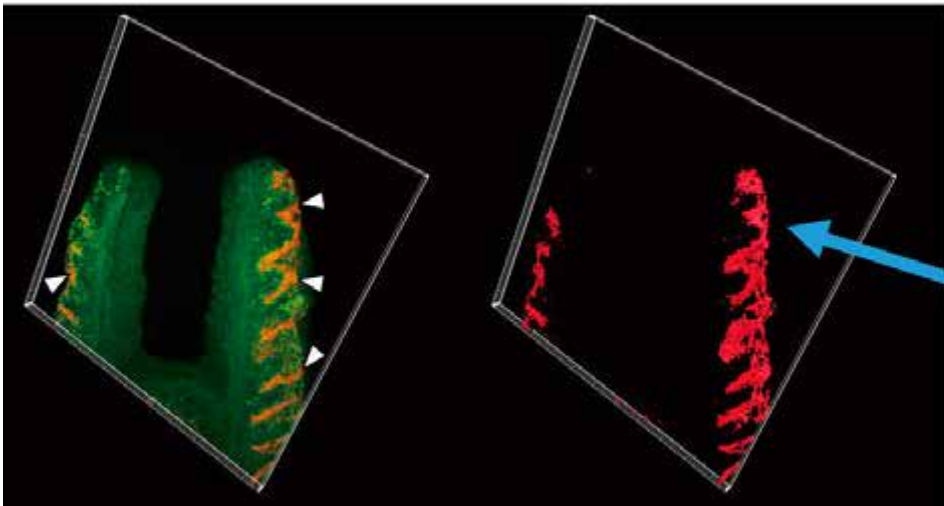
## オニヒトデから発見された謎の共生細菌について

オニヒトデはサンゴを食べる大型のヒトデで、インド洋・太平洋に幅広く分布する生物である。オニヒトデは1960年代以降オーストラリアを中心に時に大量発生してサンゴを食い荒らす生物として認識されるようになる。現在、この予測不能なオニヒトデの大量発生(図1参照)は、気候変動による高水温白化などと並び、サンゴ礁生態系を脅かす最も大きな原因のひとつとして問題となっている。私はこれまで、主に大量発生のカギとなるオニヒトデの子供時代、すなわち、プランクトン幼生期の初期生態(産卵から幼生分散の解明)について野外調査や集団遺伝解析、海洋物理シミュレーションなどを組み合わせることにより取り組んできた。その過程で、ゲノム支援により現九州大学林哲也先生・久留米大学小椋義俊先生、東京工業大学の伊藤武彦先生梶谷嶺先生、国立遺伝学研究所豊田敦先生のご協力の元、ご助力オニヒトデ全ゲノム解析をやっていただけることになった。管足から抽出したゲノムDNAのデータを東京工業大学の伊藤武彦先生のところで解析していただいたところ、オニヒトデ以外の謎の共生細菌の遺伝子が見つかった。何か面白そうだと話していたものの、既知の細菌とはあまりにも系

統が離れていたため、遺伝情報からだけではどこで何をしている細菌なのかわからないまま、しばらく手を出せずにいた。しばらくして、FISH法(蛍光 in situ ハイブリダイゼーション: 蛍光物質などで標識したDNAプローブを用い、目的の遺伝子とハイブリダイゼーションさせ蛍光顕微鏡でその遺伝子がどこにあるのかを視覚的に検出する手法)を得意とするサンゴの病気や細菌について研究していた現在台湾アカデミアシニカに所属している和田直久博士が、3か月という短期間ででありながらポストドクとして私のところに来てくれた。せっかくなのでゲノム配列だけわかっている謎のオニヒトデの細菌が一体オニヒトデの体のどこにいるかをFISHで試してほしいとお願いしたところ、快諾してくれた。結果は、なんと、オニヒトデの体表を覆うように細菌が光るという結果だった(図2)。さらにオニヒトデの様々な体の部位を菌叢解析してみたところ、オニヒトデの体表胃袋を除く、棘や管足、体表面では、この細菌が単一で優占していることがわかった。一方、内臓系にはあまり検出されず、あくまで体表面をバイオフィームのように覆って他の細菌を排除しながらクチクラ層を占有していると考えられた。単一菌種の細菌が、このように海洋生物の体表を覆っていることは非常に珍しいこと、またこの共在細菌の系統解析を行った結果、海洋スピロヘータの仲間であることはわかったものの、既知の細菌とは系統が大きく離れており、少なくとも未知の科に属する細菌であることが推定された。研究室内にあった、インド洋太平洋各地のオニヒトデDNAを用いて、この細菌の有無を検出した結果、西はインド洋側の紅海から東は太平洋の中

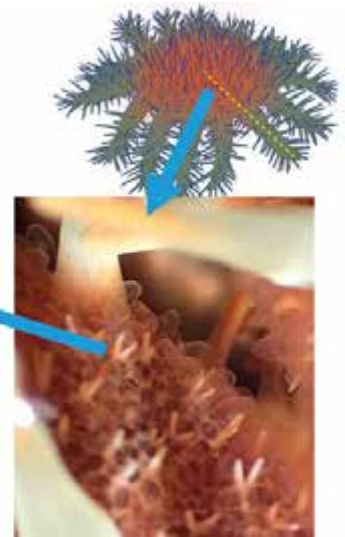


図1 宮古島におけるオニヒトデの大量発生(梶原健二博士撮影)。



3Dイメージ：赤く光っているのが共生細菌

図2 赤く光っているのがオニヒトデのゲノム解析から見つかった謎の共生細菌（撮影：和田直久博士）。



オニヒトデの体表面

心に位置するハワイまで、全ての海域でPCR ポジティブとなり、太平洋種、インド洋種2種のオニヒトデにおいてこの細菌がオニヒトデと共存していることがわかった。すなわち、太平洋種、インド洋種2種が種分化したと考えられる（「オニヒトデ」には、氷河期に種分化したと考えられるインド洋・太平洋に複数種が含まれている）200万年以上前からオニヒトデとこの共生細菌は共生してきた可能性がある。これらの結果は、無事論文として発表出来たものの（Wada et al. 2020）まだこの謎の細菌がオニヒトデの体表面で何をしているのかはわからない。海洋生物の体表細菌は存在こそ知られており、栄養の供給やホストの免疫に関与するなど様々な仮説が立てられているが、実証した例は少ない。一方、愛媛大学の三浦先生らの研究により、オニヒトデを入れている養殖用マダイの水槽では、マダイが白点病にかかりにくく、成長速度も速いということが知られ、その原因として、オニヒトデの体表で作られる粘液には魚の免疫を高める物質が含まれるということが指摘されている。まだ何一つこの共生細菌の機能や役割は実証がなされている段階ではないが、今後、この偶然に発見した未知の共生細菌のオニヒトデとの共生関係と、こうした体表面の粘液を通じた他の生物との相互作用から、これまで全く知られていなかった共生細菌を通じた生態系の動態をもひそかに変動させ得る相互作用の存在に気づかされる日が来るかもしれない。

### 生きる化石アオサンゴから次々と見つかった隠蔽種について

2億年前のジュラ紀から現世種と形態の類似する化石のみつかる「生きる化石」アオサンゴ (*Heliopora coerulea*) に関してもちょっとやってみたかったからやってみて今に続く研究がある。サンゴ礁生態系には、イシサンゴと呼ばれる六放サンゴの仲間で、炭酸カルシウムの固い骨格を作りサンゴ礁生態系の基盤となるサンゴの仲間と、ソフトコーラルと呼ばれる、外骨格を作らない触ると柔らかい八放サンゴの仲間がいる。アオサンゴは、非常にかわりもので、八放サンゴの仲間でありながら唯一、六放サンゴと同様に固い石のような骨格を作るサンゴで、骨格は青色を呈す。このことから、1899年に Gregory が Proceedings of the Royal Society of London に書いた論文の緒言に、“*Heliopora* は現存する種の中で近縁の種というものが存在せず、祖先も何者なのかわからない生き物である”，と記述され、長らく1目1科1属1種であった。近年、Miyaza & Reimer (2015) によって、*Heliopora* と最も近縁な

*Nanipora* が *Heliopora* と同じ目として報告されたものの、未だに *Helioporidae* は1科1属のままであった。

時は少しさかのぼって、2003年、私が大学院に入ってからすぐの頃、当時所属研究室の助手だった現琉球大学准教授波利井先生がアオサンゴの着底に関する実験を行っていて、お手伝いをさせていただいた。アオサンゴは、基本的に雌雄異体で（実は近年雌雄同体の群体も発見したのだが）、夏に雄が放精し、雌の体内で受精が起こり、雌は1週間ほどの間、幼生を保育し、その後幼生は水中に放出される（図3）。当時、造礁サンゴ類は、他の動物の系統地理解析で利用されるミトコンドリア遺伝子は進化速度が遅くて使えず、1990年代から台頭してきた高度多型なりピート領域を増幅するマイクロサテライトマーカーについても遺伝子内に褐虫藻がコンタミすることなどから開発が困難であった。波利井先生の実験を手伝う中で、アオサンゴの幼生は真っ白＝褐虫藻をもっておらず、年に一度の産卵期を狙えば、褐虫藻を含まないアオサンゴだけのDNAが取れることに気が付き、せっかくなので試しにマイクロサテライトマーカーを開発して解析をしてみた。その結果、思いがけずいくつかの発見をすることができた。まず、沖縄東岸の大浦湾で発見された巨大アオサンゴ群落と石垣島西岸の大アオサンゴ群落で、4mごとのトランゼクトラインを2本ひき、40サンプルずつ採集して遺伝解析をしたところ、大浦湾では単一の遺伝子型しか見つからなかったのに対し、石垣島では全て異なる遺伝子型を持つことがわかった（図4）。同じような高密度の大群落であっても、大浦湾と石垣島東岸の白保では、大浦湾では完全に無性生殖で増えているのに対し、白保では頻繁な有性生殖による

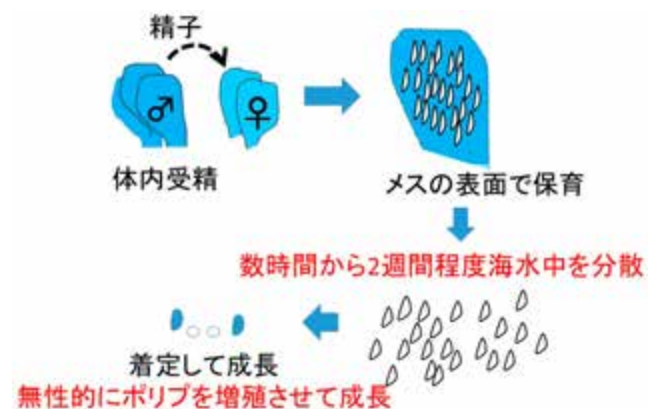


図3 赤ちゃんである幼生保育をするアオサンゴの生活史。



図4 生殖様式の大きく異なるアオサンゴ大群落. 左：大浦湾のアオサンゴ群落（谷中絢貴撮影）. 右：石垣島東岸白保で大群落を形成するアオサンゴ.

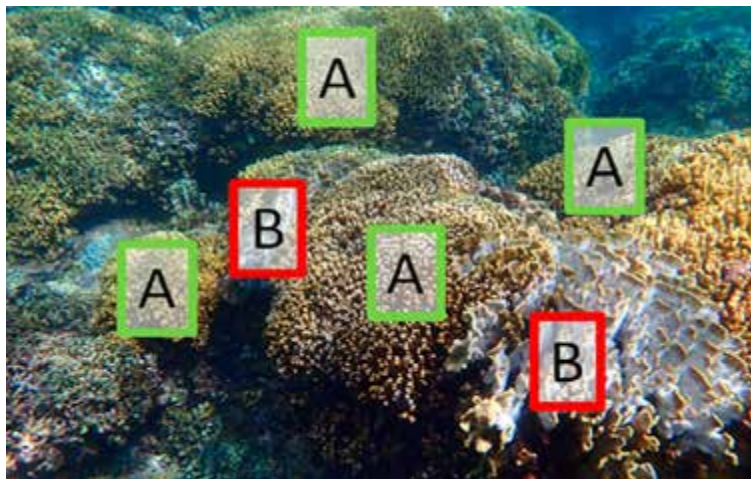


図5 同じ環境下で産卵期の異なるアオサンゴ. 同所的に分布しているも、アオサンゴBは保育行動をしている（白い部分）のに、アオサンゴAは全く保育行動をしていない。

群落の形成がなされていることがわかった。次に、黒潮流域のあちこちでアオサンゴを採集し、集団遺伝解析を行ったところ、地理的な距離とは関連のない2系統の存在が浮き彫りとなった。当時1目1科1属1種と考えられていた孤独（そうに見える）アオサンゴには実は隠蔽種が存在していたのだ。さらに現地調査を行っていた際、この2系統の間には全く同じ環境下で同所的に存在していても産卵期が約1か月異なるということがわかった（図5）。すなわち遺伝的にプログラムされた産卵期の違いが、全く同じ環境下でも異なる産卵時期の違いを生み、生殖隔離を成立させているということを意味する。その後、西オーストラリアの海域で白いちょっと変わったアオサンゴがあるので解析してほしいと依頼が来て、調べてみたところ、やはり同所的にいても遺伝的に大きく異なる系統であることがわかった。そして、やはり西オーストラリアにおいてもこれら2系統は、生殖時期が異なることが示唆された。さらにそのうち、博士課程の谷中絢貴君がゲノムワイドな系統解析を進めてくれたところ、インド洋・太平洋において、アオサンゴには大きくわけて3系統存在し、さらにその中にも生理的・生態的に異なる系統が、少なくとも8系統程度はいることがわかった。大きな系統は生殖時期の異なる異時性をもった生殖隔離が、小さな系統は、生理学的な違いなど、より局所的な適応分化による分化が

カギとなり、細かい系統へと種分化してきたのではないかと考えられた。かくして、長らく1目1科1属1種として孤立した種として認識されていたアオサンゴが実は異時性や異所性、生態学的・生理学的な遺伝的分化（種分化）をインド太平洋各地で遂げている可能性が見えてきた。

研究ではちょっと面白そうだからやってみて、思いがけない展開があるとワクワクする。自然界には思いがけない事実があちこちにある。近年、研究環境は金銭的・時間的にもなかなか厳しくなる傾向にあるが、ちょっとやってみたいな、と思ったことは大事にして、ひとまずやってみることができることは本当にありがたいと思う。

#### 引用文献

- Wada, N., Yuasa, H., Kajitani, R., Gotoh, Y., Ogura, Y., Yoshimura, D., ... & Yasuda, N. (2020). A ubiquitous subcuticular bacterial symbiont of a coral predator, the crown-of-thorns starfish, in the Indo-Pacific. *Microbiome*, 8(1), 1-14.
- Miyazaki, Y. & Reimer, J. D. (2015). A new genus and species of octocoral with aragonite calcium-carbonate skeleton (Octocorallia, Helioporacea) from Okinawa, Japan. *ZooKeys*, (511), 1.