沖縄島恩納村沿岸海域における海流による オニヒトデ幼生輸送パターンの推定(中間報告)

中村雅子沖縄県

1)研究背景&目的

オニヒトデは、サンゴ補食者であり、その異常発生は熱帯・亜熱帯海域に広がるサンゴ群集とそれに支えられたサンゴ礁生態系の存続を脅かす脅威のひとつである。

90年代半ばの異常な大発生以降、琉球列島中部(沖縄本島、慶良間諸島)および南部(八重山諸島)では、数百~数万のオニヒトデが毎年のように捕獲されており、小~中規模な異常発生がほぼ慢性的に起こっていると考えられる。このような状況下で、サンゴ群集及びサンゴ礁生態系を保全し、維持していくには、継続的なオニヒトデの駆除作業だけでなく、オニヒトデの異常発生メカニズムの解明が不可欠である。

沖縄島恩納村沿岸域では、継続的にオニヒトデの駆除作業を行っているが、オニヒトデの駆除数は近年も年間に数千~数万におよぶ。特にここ数年は個体数密度が、大発生指標を越えている。このような状況が起こる理由のひとつとしては、① 恩納村沿岸に毎年、ある一定量の幼生の新規供給があることが考えられる。つまり、どこからどこへオニヒトデの浮遊幼生が分散しているか、という分散過程の推定は、オニヒトデの異常発生メカニズムの解明には欠かせない。また、恩納村沿岸には、② 浮遊幼生の生存に適した環境や、大量のオニヒトデを保持するだけの③ 餌としてのサンゴが垂直および水平方向に広がっていることが考えられる。実際に恩納村沿岸の一部では、水深5~15m程の浅海域だけでなく、水深40m付近に大きなサンゴ群落が見つかっている。

本研究では、上記の仮説のうち、① に着目し、沖縄島恩納村沿岸域おけるオニヒトデ個体群の動態と、幼生供給の間にどのような関係があるのかを明らかにすることを目指す。具体的には、同域において継続的に収集されているオニヒトデの駆除データから、沖縄島恩納村沿岸域におけるオニヒトデの個体群動態を明らかにする。さらに、幼生の供給や加入量を定量化し、その結果を、GPS 搭載表層漂流ブイの輸送データと比較することから、オニヒトデ幼生の分散過程を推定する。

本研究成果は、琉球列島中部海域のみならず、西太平洋海域で起こるオニヒトデの異常発生の原因解明に繋がるものになると期待される。また、今後のサンゴ礁生態系の維持、保全を考える上で、基礎となる重要な知見を与えるものである。

2) 研究方法

本研究では、(1) 恩納村沿岸域おいて、恩納村漁業協同組合により 1980 年代から 継続して行われているオニヒトデ駆除作業の結果をもとに、オニヒトデの個体群動態の把 握を行う。また、オニヒトデ幼生分散過程を推定するために、(2)幼生の供給量や(3)新規加入した稚オニヒトデ個体数を定量化し、それらの結果を、(4)GPS 搭載表層漂流ブイの輸送パターンと比較する。ただし、本助成範囲内では、(3)と(4)を行うことが難しいために、本助成では、(1)と(2)を中心に行った。(3)と(4)については、他の研究助成資金を基に展開しているため、本報告書では、成果の中で概要を記載するに留まる。

(2-1) 個体群動態

恩納村漁業協同組合では、恩納村沿岸域を5地域にわけ、駆除作業を行っている(図1)。駆除作業は、1969年より行われているが、データが残っていない年等があることから、本研究においては、1989年から2012年のデータについて、解析を行った。

駆除作業は、毎回、日中($10:00\sim15:00$)、午前と午後に約 2 時間ずつ、シュノーケリングにより行われている。対象範囲は、水深 $1\sim5$ メートルのリーフ内からリーフエッジにかけてである。オニヒトデ個体を見つけると、トングやフックなどの道具を用いて、採取し、船に揚げる。その後、船上にて駆除個体数を数える。2003 年からは、個体の直径から、7つのサイズクラスに分けて、個体数を記録している。サイズクラスは、C1:0 cm \sim <5 cm、C2:5 cm \sim <10 cm、C3:10 cm \sim <15 cm、C4:15 cm \sim <20 cm、C

オニヒトデ個体群の大発生指標として、サンゴの被度が30%以下のサンゴ礁では、1~クタールに15個体以上のオニヒトデが見つかった場合、そのオニヒトデ個体群は大発生している、と見做されている(Moran and De'ath 1992)。恩納村沿岸域ではサンゴの被度が30%以下である、という報告がなされている(Sakai et al. 1988, Okinawa Prefecture 2009) ため、前述の指標を大発生指標として用いることとした。そのため、共同研究者である山川氏(沖縄環境科学センター)にGISソフトウェアを用いて、オニヒトデ駆除を行っている5地域の面積の計測をお願いした。それらの面積をもとに、恩納村沿岸域におけるオニヒトデの個体密度を計算した。

データの解析には、以下の方法を用いた。オニヒトデの平均個体密度の年変動について、一元配置分散分析を行った。また、5地域間での年間変動には、Kruskal-Wallis 検定を用いた。さらに、これらの個体群変動が、降雨量や海水温などといった環境要因の変動と関係性があるかを回帰分析により明らかにした。サイズ構成については、サイズクラスと年を要因に、二元配置分散分析法を用いて、各サイズクラスに属するオニヒトデの個体数がサイズクラス間および年間で異なるのかを調べた。また、地域毎の年変動を比較するために、地域と年を要因として、二元配置分散分析を行った。これらの統計解析には、統計解析用ソフトウェア R (version 3.0.3) を用いた。

(2-2) 幼生の供給量の定量化:

本実験では、大量海水濾過装置(プランクトン収集用ポンプのことを指し、以下、ポンプをする)を設置し、収集されたポンプ内にどれくらいのオニヒトデ幼生が入っているのかを、時空間的に調べることを目的とした。

平成25年度は、主にポンプの設置&回収試験を目的とした。産卵が予想された時期から約3週間後にポンプを設置し、約12時間後に回収した。

オニヒトデの産卵が、これまでに水温が 28 度を越えた後(Yasuda et al. 2010)や 7月の 2 回目の大潮前後(personal communication)に観察されていること、また、野外ではオニヒトデの幼生が着底能力を持つ後期ブラキオラリアに発生するのに 2-3 週間かかる(personal communication)ことから、(1)水温が 28 度を越えた 7 月頭から約 3 週間後の 7 月 23 日および(2) 7 月の 2 回目の大潮の約 3 週間後にあたる 8 月 15 日に設置した。 7月の調査は、ポンプの設置&回収の確認に主眼を置き、港から近いリーフにて行った。一方、8 月は、過去のオニヒトデ大発生前に多くの稚オニヒトデが見つかった地域に設置した(図 2 、3)。

海水を濾過するためのメッシュは、目合 50 μm を用いた。濾過されたプランクトン類は、メッシュごと、99.5%エタノールで固定し、その後、実験室にて、実体顕微鏡下でサンプルを観察し、ヒトデ幼生を探した。

また、バックアップデータとして、7月24日および25日に、恩納村沿岸にて、目合 $50\mu m$ のプランクトンネットの牽引を行った(図4)。プランクトンネットは、水深7mで3分間牽引した。25日の採集では、プランクトンネットがサンゴ礁に引っかかり、切れてしまったため、2サンプルのみの採集となった。採集されたプランクトンサンプルは99.5%エタノールで固定した。プランクトンネットでは、一度に多量のサンプルが採取されるため、サンプルを2分し、半分を形態観察用、もう半分をDNA抽出用とした。まず、DNA抽出用のサンプルを用いて、サンプル内にオニヒトデ幼生がいないかを調べた。

500ml コニカルチューブに入ったサンプルを遠心機にかけ、プランクトンペレットを1.5ml チューブに写し、DNA 抽出用の DNeasy® Blood & Tissue Kit (QIAGEN) を用いて、プランクトンサンプルから DNA の抽出を行った。その後、PCR をかけ、シトクロームオキシダーゼサユニット I (COI) の領域を増幅し、オニヒトデ幼生がプランクトンサンプル内に見つかるか、を確かめた。PCR 用プライマーには、Vogler (2008)より、COTS_COI_F4734 5'-GCCTGAGCAGGAATGGTTGGAAC-3' と COTS_COI_R5433 5'-CGTGGGATATCATTCCAAATCCTGG-3' を用いた。また、その他に、新しいプライマーを新たに開発し、オニヒトデで使える事を確認した(図5)。新しく開発したプライマーはLeft 5'-GCTCACTCCTCCAAGACGAC-3' および Right 5'-GCATGCCCAAGACGAA-3' である。

3) 成果

(3-1) 個体群動態

恩納村沿岸域において、オニヒトデの個体密度は年間で大きな変動を見せた (ANOVA. p < 0.001; 図 6) 。1989年から2002年までは、大発生が頻繁に起こっていたが、2003年 以降、個体群密度が減少した。しかし、2011年に急激に密度が上昇し、大発生指標を越 えた。Birkeland (1982) は、オニヒトデの大発生と、その2-3年前の幼生浮遊期間の降 雨量との間に関係性があることを示した。また、浮遊期間中の水温は幼生の生存や成長に 大きな影響を与える(Lamare et al. 2014)。これらの先行研究をもとに、前述の個体群 変動を、幼生浮游期間中の降雨量、台風の数、水温と比較したが、関係性は見られなかっ た ($\mathbb{R}^2 < 0.03$. $\mathbb{R}^2 < 0.01$, $\mathbb{R}^2 < 0.09$, respectively) (図 7-9)。また、個体密度は地域間で大 きく異なり (Kruskal-Wallis test, p < 0.01; 図 10) 、大発生のパターンは地域間で異な った。さらに、サイズ頻度分布も年間およびサイズクラス間で有意に異なり (Two-way ANOVA, p < 0.05; 図 11)、駆除個体は主にサイズクラス C3-C5に属していた。個体サイ ズが小さいうちは岩陰や穴に隠れ、見つけ難いが、15cm以上になると見つけ易くなり駆 除される、と考えられる。つまり、C3-C5クラスが毎年のように駆除される、というこ とは、毎年継続して新規の幼生加入があることを示唆している。また、サイズクラス C3 -C5の個体数の変動は、地域間年間で有意であった(Two-way ANOVA, p < 0.001; 図 12)。 2003年頃は南側の地域 (Maeda, Maeganeku) で多くの個体が見られたが、その後減少し、 一方、北側の地域(Afuso, Seragaki)では2008年頃から個体数が上昇し始めた。

(3-2) 幼生の供給量の定量化

プランクトンポンプで採集されたサンプルの中には、砂粒が多く、また、プランクトン類内にヒトデ幼生は見つからなかった。プランクトンポンプは25L/分で6時間可動予定であったが、濾過量が10L/分を下回ると停止する。そのため、砂粒によりメッシュがすぐに詰まってしまったためか、3時間程度で作動を停止していた。これらのことから、底質の砂粒の巻き上げが起こり、水深の安いサンゴ礁内では、ポンプによる幼生供給量の定量化は難しいことが明らかとなった。一方プランクトンネットサンプリングでは、3分間の牽引で多くのプランクトンサンプルが採取された。しかし、サンプルから抽出したDNAからはオニヒトデの存在を確認することが出来なかった。

恩納村沿岸域の複数地点において、同年に新規加入したと考えられる1cm以下の稚 オニヒトデの個体量を潜水調査により定量化した。その結果、恩納村沿岸の万座より北側 でより多くの稚ヒトデが見つかった。これは、報告者が別途、2011年から行っているサ ンゴ幼生加入量調査の結果と似通ったパターンである (Ocean Science 2014, Hawaii にて口 頭発表)。

恩納村沿岸5地点から、オニヒトデの産卵時期と予想された、7月4日および23日 にGPS 搭載表層漂流ブイを放流した。その結果、同じ場所からでも流す時期によって流れ て行く方向が違う、という傾向が見られた。また、この時期は、北側に向けて流れる傾向 が比較的多く見られた。

4) 今後の取り組み

H25 年度における予備実験により、幼生の供給量の定量化には、プランクトンポンプよりもプランクトンネットによるサンプリングの方が適している可能性が示された。平成25 年度に採取したプランクトンサンプルのうち、形態同定用のサンプルは観察を終えていないため、形態観察により、サンプル内にヒトデ幼生がいないかを今後確認していく。また、H26 年度7月には毎週1回(合計4回)、プランクトンネットの牽引を行う予定である。

これまでの稚ヒトデ分布調査の結果によると、恩納村の北側で多くの個体が見つかる、という結果を得ている。このため、"オニヒトデ幼生が恩納村の北側沿岸域により多く分布しているか?"という仮説を立て、恩納村沿岸域の北~南までに7地点とり、各地点で3回ずつプランクトンネットの牽引を行う予定である。

未使用分の研究費は、傭船費用($3万 \times 4回$)、プランクトン標本分割器(ネットで採取された大量サンプルを等分に分割する機器、99,400円)、DNA 抽出や PCR にかかる試薬およびシークエンス費用として用いる予定である。

5) その他

(5-1) 学会発表

2013 年9月 日本プランクトン学会・日本ベントス学会合同大会にて口頭発表タイトル:沖縄県恩納村沿岸域におけるサンゴ捕食者オニヒトデ Acanthaster planci 個体群の動態

2013年12月 日本サンゴ礁学会にて口頭発表

タイトル: 恩納村沿岸域のオニヒトデの生態

2014年2月 Ocean Science Meeting 2014にて口頭発表

 \mathcal{I} > \mathcal{I} : Larvae dispersal and recruitment of corals and Crown-of-Thoms starfish around Okinawa Island, Japan

(5-2) 引用文献

Birkeland C (1982) Terrestrial runoff as a cause of outbreaks of *Acanthaster planci* (Echinodermata, Asteroidea). Mar Biol 69:175-185

Lamare M, Pecorino D, Hardy N, Liddy M, Byrne M, Uthicke S (2014) The thermal tolerance of crown-of-thorns (*Acanthaster planci*) embryos and bipinnaria larvae: implications for spatial and temporal variation in adult populations. Coral Reefs 33:207-219

Moran PJ, Death G (1992) Estimates of the abundance of the Crown-of-Thoms Starfish *Acanthaster-planci* in outbreaking and Non-Outbreaking populations on reefs within the Great-Barrier-Reef. Mar Biol 113:509-515

Okinawa Prefecture (2009) Reports of coral reef surveys around Okinawa Island (in Japanese). p.186

Sakai K, Muzik K, Nakamura S, Nishihira M (1988) A note on resurvey of coral communities and *Acnathaster* populations around Okinawa Iskand in 1984. Galaxea 7:41-51

Yasuda N, Ogasawara K, Kajiwara K, Ueno M, Oki K, Taniguchi H, Kakuma S, Okaji K, Nadaoka K (2010) Latitudinal differentiation in the reproduction patterns of the crown-of-thorns starfish *Acanthaster planci* through the Ryukyu Island Archipelago. Plankton & Benthos Research 5:156-164

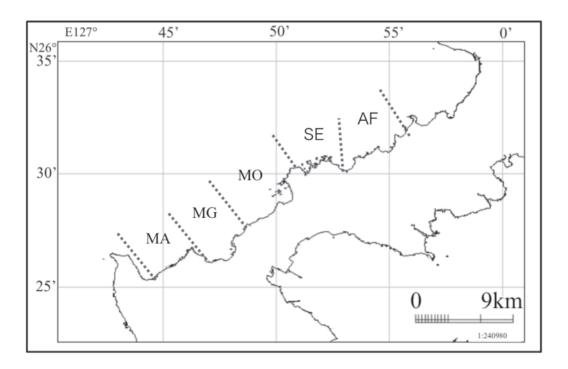


図1. 駆除作業を行っている地域; AF: Afuso, SE: Seragaki, MO: Minai Onna, MG: Maeganeku, MA: Maeda

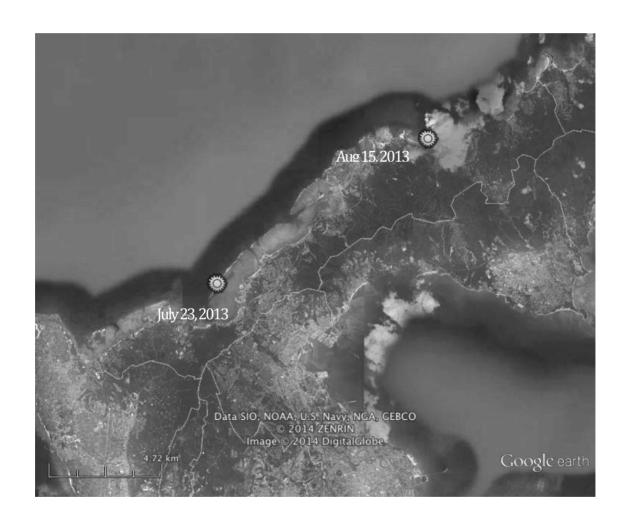


図2. プランクトンポンプの設置場所



図3. プランクトンポンプ設置図

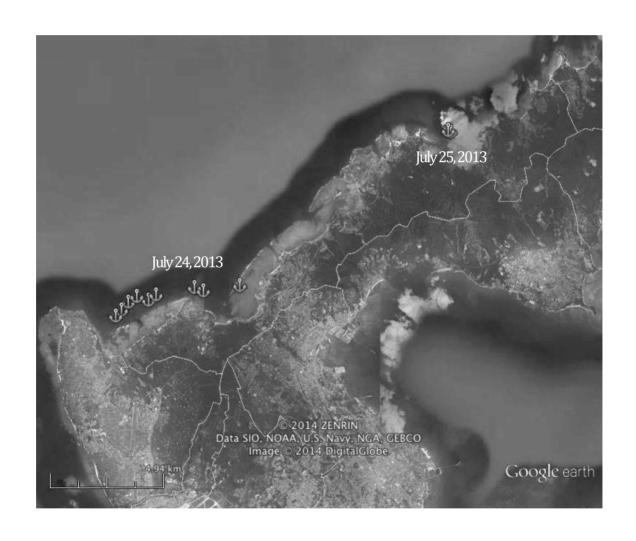


図4. プランクトンネットの牽引開始位置

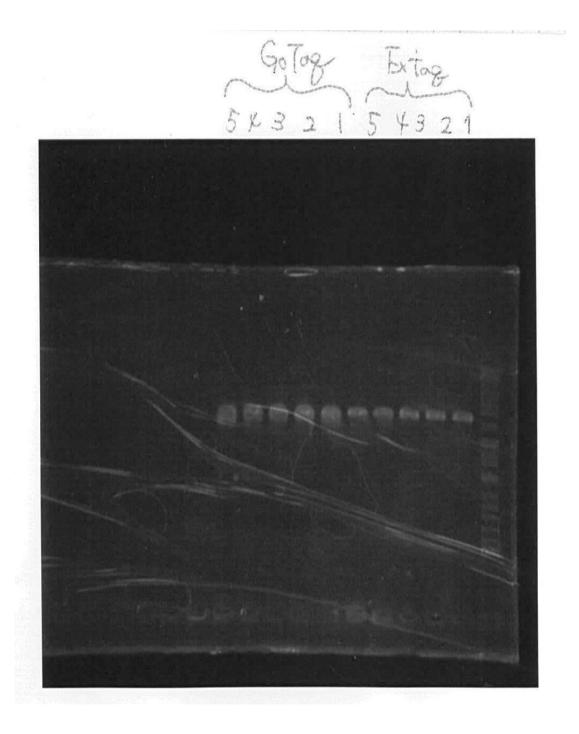


図5. 新規開発プライマーのテストの結果: オニヒトデ幼生の対象領域の塩基配列を増幅 (シークエンスにより配列確認済み)

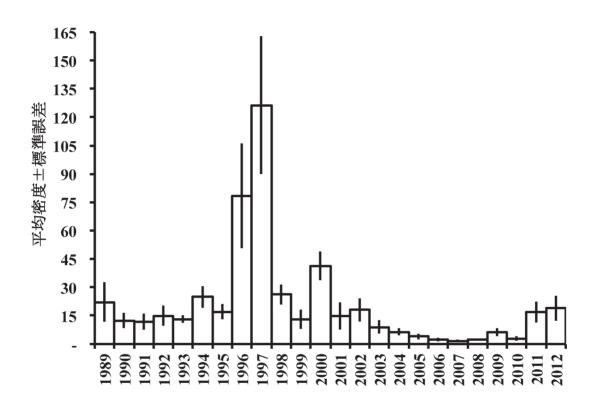
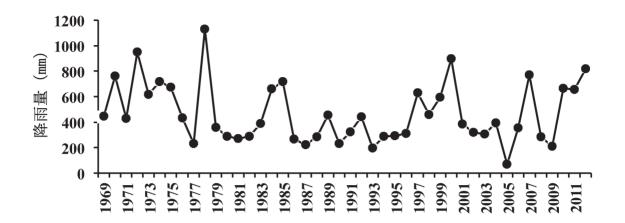


図6. 恩納村沿岸域におけるオニヒトデの平均個体密度

a)



b)

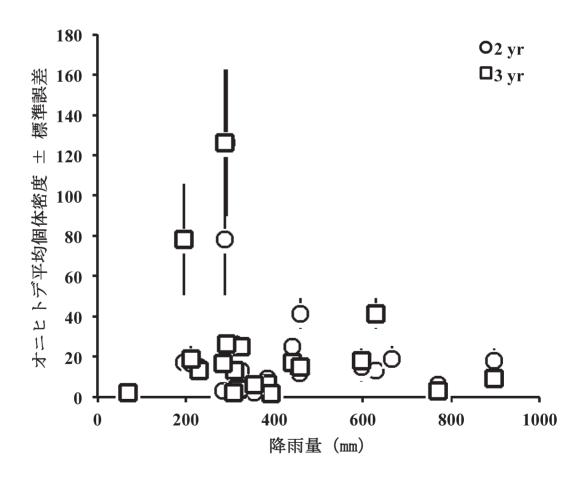


図7. a) オニヒトデ幼生の主な浮遊期間における総降雨量, b) 総降雨量とその2年後および3年後のオニヒトデ個体群密度の関係

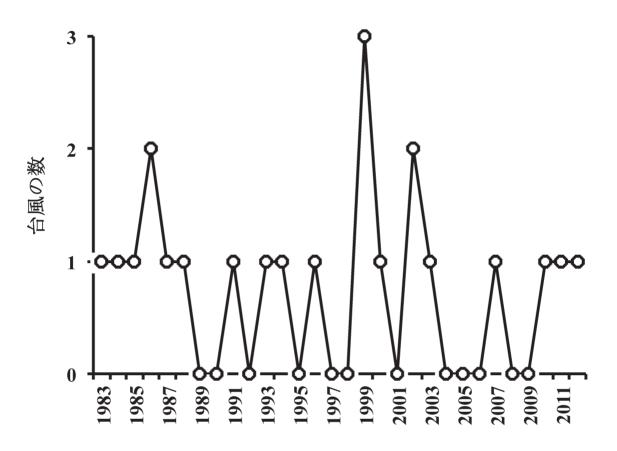


図8. オニヒトデ幼生の主な浮遊期間における総台風通過数

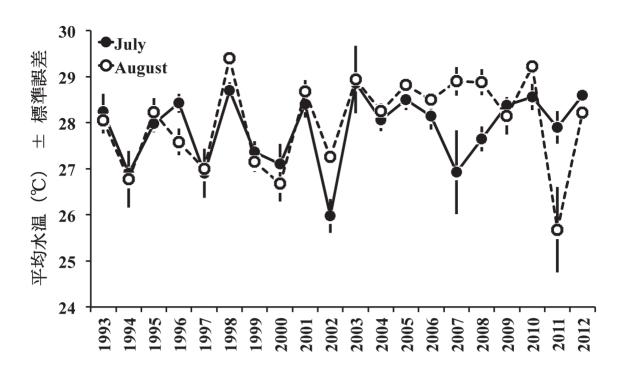


図9. オニヒトデ幼生の主な浮遊期間における平均海水温

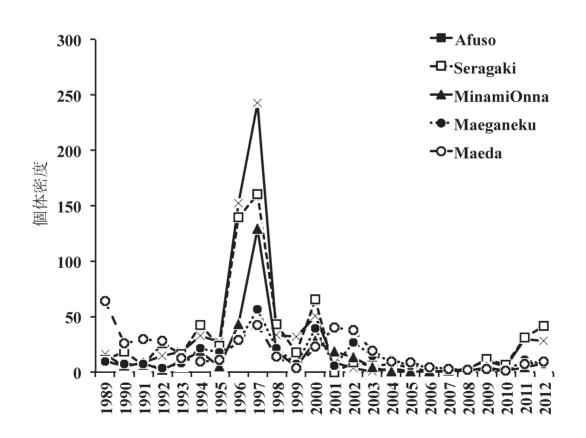


図10. 恩納村沿岸域内の5地域におけるオニヒトデ個体数の変動

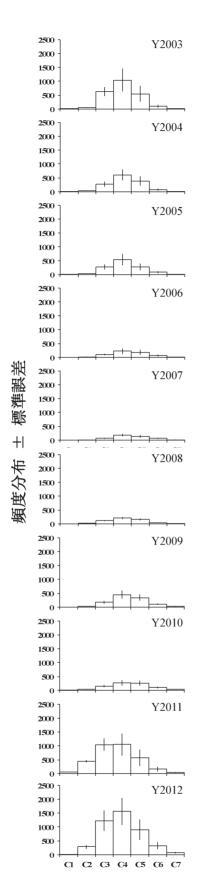


図 11. サイズ頻度組成. 平均個体数 ±標準誤差

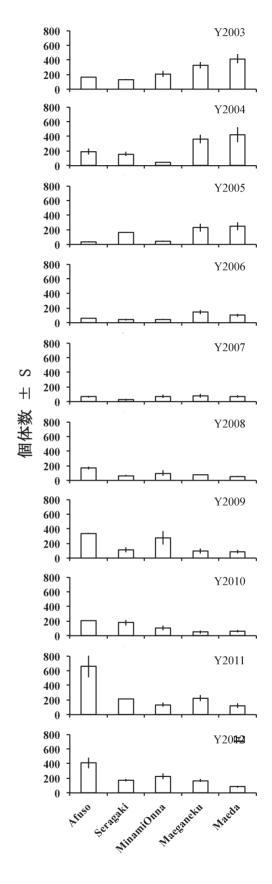


図12. サイズクラス C3-C5 に属するオニヒトデ個体数の地域間および年間変動