

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(e.g. 沖縄県環境部自然保護・緑化推進課、恩納村オニヒトデ対策ネットワーク、八重山環境ネットワーク)、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。駆除されたオニヒトデの個体群動態を解析した結果、個体群動態と、降雨量や台風の数、水温など周辺環境の物理的要因との間には関係性が見られなかった。しかし、一定量の10cm以上サイズ個体が継続して駆除されていることから、恩納村沿岸域には、毎年継続して新規の幼生加入があることが示唆された(Nakamura et al. 2014)。また、2013年の恩納村沿岸域での稚ヒトデ分布調査結果によると、北側の沿岸でより多くの個体が見つかる、という結果が得られている(沖縄県自然保護課オニヒトデ総合対策事業、Nakamura et al. in submission)。

恩納村沿岸域に新規加入する稚オニヒトデはどこからやってきたのか?このオニヒトデの幼生の分散過程の理解は、オニヒトデの異常発生メカニズムを明らかにする上で不可欠である。そのためには、個体群分布の把握、幼生供給量や加入量の定量化、幼生浮遊期間の表層流の動きの推定が必要である。これまでに恩納村漁業共同組合が蓄積してきたオニヒトデ駆除データにより、個体群分布はある程度把握されている。また、加入量や表層流の動きについてもスキューバによる野外調査やGPS搭載表層漂流ブイによる調査によりデータが蓄積され始めている。しかし、恩納村沿岸域にどれくらいのオニヒトデ幼生の供給があるのか、どのように分布しているのか、といった情報は殆ど見られない。

そこで2014年度の本研究では、沖縄島恩納村沿岸域における幼生供給量や分布パターンを定量化することを目指した。具体的には、恩納村の北から南までの沿岸行きに7地点をとり、各地点において、プランクトンネットの牽引を行い、採取されたプランクトンサンプル中のオニヒトデの幼生の有無および量を分子生物学的手法と顕微鏡観察を用いて定量化することを目指した。さらに、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の推定を試みた。

2) 研究方法

沖縄島恩納村沿岸域の7地点（図1）において、50 μ mメッシュのプランクトンネット（改良型北原式表層ネット）を3分間牽引した。各地点において、3回の牽引を行った。プランクトンネットには、深度計、温度計、濾水計を取り付けた（図2）。

オニヒトデの産卵は海水温が28 $^{\circ}$ Cを越えた時期から始まる傾向との報告（Yasuda et al. 2010）があることから、調査時期は、沖縄科学技術大学院大学が恩納村沿岸域に設置している水温計（図3）の温度をもとに決定した。そのため、水温が28 $^{\circ}$ Cを越えたことが記録された6月後半からをオニヒトデの幼生分散時期と推定し、7月の毎週土曜日（7月5日、12日、19日、26日）にプランクトンネットの牽引を行った。

採取されたサンプルは船上にて99.5%エタノールで保存した。保存したサンプルはそれぞれ実験室内で、プランクトン標本分割器を用いて四等分にし、そのうち一つは、DNA抽出用とした。残りのサンプルは、顕微鏡観察用とした。

各サンプルから次の手順でDNAを抽出した。プロテナーズKとPCRバッファを加え、熱処理（55度で3時間、98度で5分）をし、遠心（15000 rpm 1～2分）して、上澄みを新しいマイクロチューブへ移した。その後、エタノール沈殿を行い、抽出されたDNAはTEに溶かした。抽出されたDNA中に、オニヒトデDNAが入っているかを確認するために、AmpliTaq Gold(Life Technologies)によるPCR（ポリメラーゼ連鎖反応、polymerase chain reaction）法を用いて（95度2分、94度30秒→57度30秒→72度1分を40サイクル、72度3分）、オニヒトデDNAの増幅が見られるかを確認した。この際用いたプライマーは、昨年度開発したLeft 5'-GCTCACTCCTCCAAGACGAC-3'およびRight 5'-GGATGCCCAAAGAATCAGAA-3'である。

DNAの増幅がみられたサンプルに関しては、DNA抽出用以外のサンプルを顕微鏡下で観察し、実際のヒトデ幼生の有無を確認した。

3) 結果

恩納村沿岸域の 7 地点において、7 日に 1 回のサンプリングで 7 月中に合計 4 日間、プランクトンネットによるサンプル採集を行った。その際のサンプリングにおける濾水量、サンプリングの平均水深、サンプリング地の平均水温は表 1 にまとめた。

採取されたサンプルの内、PCR により DNA の増幅が確認され、また、ミトコンドリアの塩基配列からもオニヒトデの存在が確認されたのは全部で 9 サンプルであった（表 2、図 4）。7 月 5 日のサンプルでは、恩納村沿岸域の南側の 3 地点（C1-C3）でオニヒトデの存在が確認された。1 週間後の 7 月 12 日には、南から北にかけての 5 地点（C1, C3-C5, C7）でその存在が確認されている。また、地点 C6 においても、うっすらと DNA の増幅がみられたが、DNA 量が少なく、塩基配列からの確認が不可能であった。一方で、7 月 19 日採取のサンプルからは DNA の増幅がみられず、オニヒトデの存在は確認できなかった。ただし、7 月 12 日の地点 C6 サンプル同様、少量の DNA 増幅がみられたのが地点 C2 サンプルであるが、これも DNA 量が少なく、塩基配列からの確認が不可能であった。最後に採集を行った 7 月 26 日のサンプルでは、地点 C1 において、ミトコンドリアの塩基配列からオニヒトデの存在が確認された。これら DNA の増幅がみられたサンプルについて、残りの分割サンプルを用いて顕微鏡下でヒトデ幼生の有無を確認したが、ヒトデ幼生らしきものは確認されず、今回はオニヒトデ幼生量の定量化には至らなかった。

4) 考察

恩納村沿岸域におけるオニヒトデ浮遊幼生の分布パターンを調査したところ、7 月の前半 2 週間に行った 2 回のサンプリングでその存在が多く確認された。そのうち、7 月の 1 週目のサンプリングでは、恩納村沿岸域の南部で確認され、その 1 週間後には恩納村沿岸のほぼ全域、主に中部域でその存在が確認された。その 2 週間後に再度、恩納村沿岸域南部の調査地点で、オニヒトデ浮遊幼生の存在が確認された。このことから、恩納村沿岸域のオニヒトデが 6 月後半から 7 月下旬に産卵を行った、または、その頃に恩納村周辺域でオニヒトデの産卵があり、浮遊幼生が恩納村沿岸域にたどり着いた、と予想される。また、恩納村沿岸域南部でまずオニヒトデ幼生の存在が確認され、その後全域に広がっていることで、南部に供給されたオニヒトデ幼生が海流によって恩納村北部に輸送された可能性が考えられる。これは、7 月 3 週目にオニヒトデ幼生の存在が確認されず、再度 4 週目に南部で確認されたことから支持されると考える。8 月まで観察を続けていたのであれば、7 月の 1 週目から 2 週目にみられたような分布パターンが見られた可能性も否めない。さらにこの南→北への浮遊幼生の輸送仮説は、これまで行ってきた先行研究とも一致する部分がある。

沖縄県自然保護課オニヒトデ総合対策事業の一部として、2013-2014 年の 2 年間、オニヒトデの産卵時期に恩納村沿岸域の 5 地点から放流した GPS 搭載ブイ（以下、ブイ）の軌跡によると、放流したブイの多くは、まず恩納村沿岸を沿うように北東向きに流れ、その後名護湾内に数時間～数日滞留した後、本部半島沿岸を北上する傾向が観察されている（Nakamura et al. in submission ; Appendix 1）。およそ 3 日以内に、恩納村沿岸域から放流したブイは、恩納村沿岸域から離れてしまう（Nakamura et al. in submission ; Appendix 1）。また、沖縄科学技術大学院大学の海洋生態物理学ユニットの数値海流シミュレーションによると、恩納村沿岸域には、北東⇔南西方向の潮流が見られ、ブイで観測された恩納村沿岸に沿った流れは、潮流の影響がある可能性が考えられている（Mitarai et al. in prep.）。これらの結果とオニヒトデ幼生の初期生態を考え合わせると、恩納村沿岸で産まれたオニヒトデ幼生は、その最短浮遊期間（11 日）中に恩納村沿岸を離れ、外洋に出てしまう可能性が高いことが考えられる。そのため、恩納村沿岸域に加入してくるオニヒトデ幼生の多くは、恩納村以外の地域からの加入であると推察されるが、恩納村沿岸域では北部域において比較的多くの幼生加入がみらえていること

（Nakamura et al. in submission）から、基本的に恩納村沿岸に入ってきたオニヒトデ幼生の多くは、沿岸の北東⇔南西方向の流れに捉えられ、恩納村沿岸域を北東に向かって移動していくであろうことが推察される（Nakamura et al. in submission）。

本研究とこれまでの先行研究から、恩納村沿岸域にたどり着いたオニヒトデ幼生は、南から北向きに向かって流れる沿岸流によって輸送されていることが推察された。しかし、顕微鏡観察により、どの発生段階の幼生が恩納村沿岸域を浮遊していたかが確認されていないことから、本研究からは、恩納村沿岸域に供給された幼生のソースを判断することは難しい。今後、蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション法を用いた多量サンプルからオニヒトデ幼生を選別する手法を開発することで、どの発生段階のオニヒトデ幼生がどこの海域を浮遊しているかを明らかにし、ソースからシンクまでのオニヒトデ幼生の分散過程の詳細の推定を行うことが必要である、と考えられる。

5) 謝辞

本研究を行うに辺り、恩納村漁業協同組合の比嘉義視氏、林一也氏から多大なるご協力を頂いた。また、GPS 搭載漂流ブイのデータを画像化するにあたり、沖縄科学技術大学院大学海洋生態物理学ユニットの仲田尚平氏から貴重なご助言を頂いた。さらに、本研究は、TaKaRa ハーモニストファンドに加え、沖縄県自然保護課オニヒトデ総合対策事業および、沖縄科学技術大学院大学海洋生態物理学ユニットからの支援により実施された。

6) 引用文献

Nakamura, M., Okaji, K., Higa, Y., Yamakawa, E., Mitarai, S. (2014) Spatial and temporal population dynamics of the Crown-of-Thorns Starfish, *Acanthaster planci*, over a 24-year period along the central west coast of Okinawa Island, Japan. *Marine Biology*, 161:2521-2530

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 Res.* 5(4):156-164

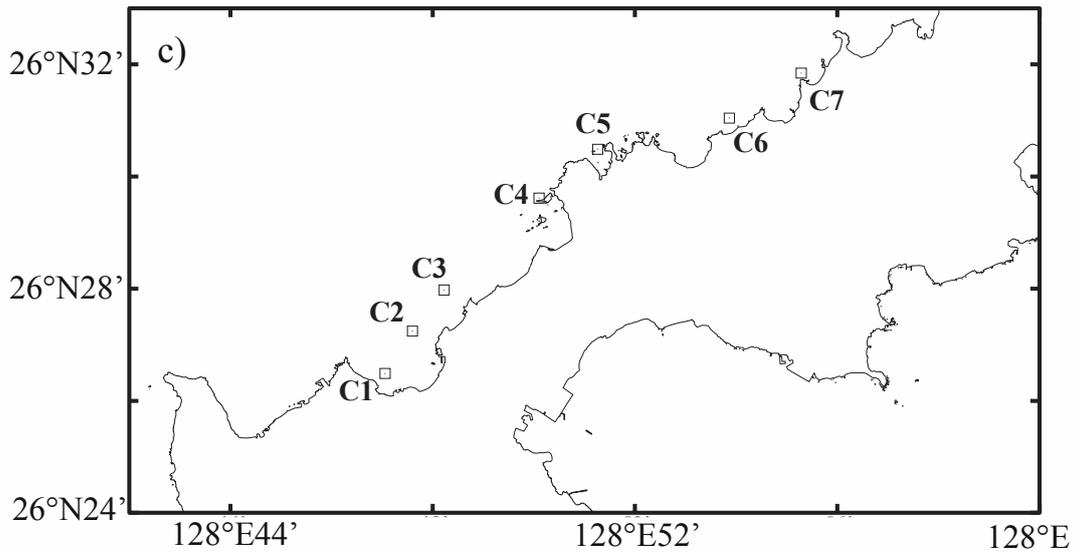


図 1. 沖縄県恩納村沿岸域における調査地。各地点においてプランクトンネットの牽引を行った：C1, 山田；C2, 前兼久；C3, 富着；C4, ギシフ；C5, 万座；C6, 熱田；C7, 伊武部。

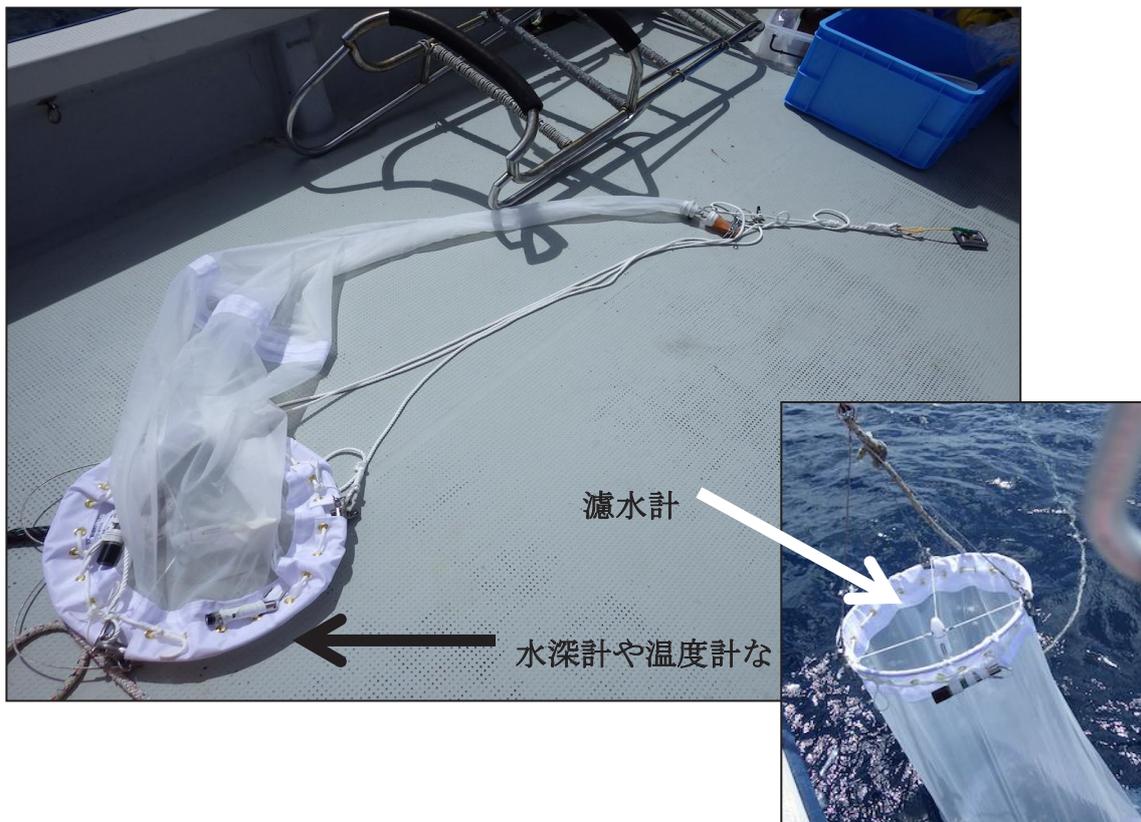


図 2. 採集に用いたプランクトンネット。

a)



b)

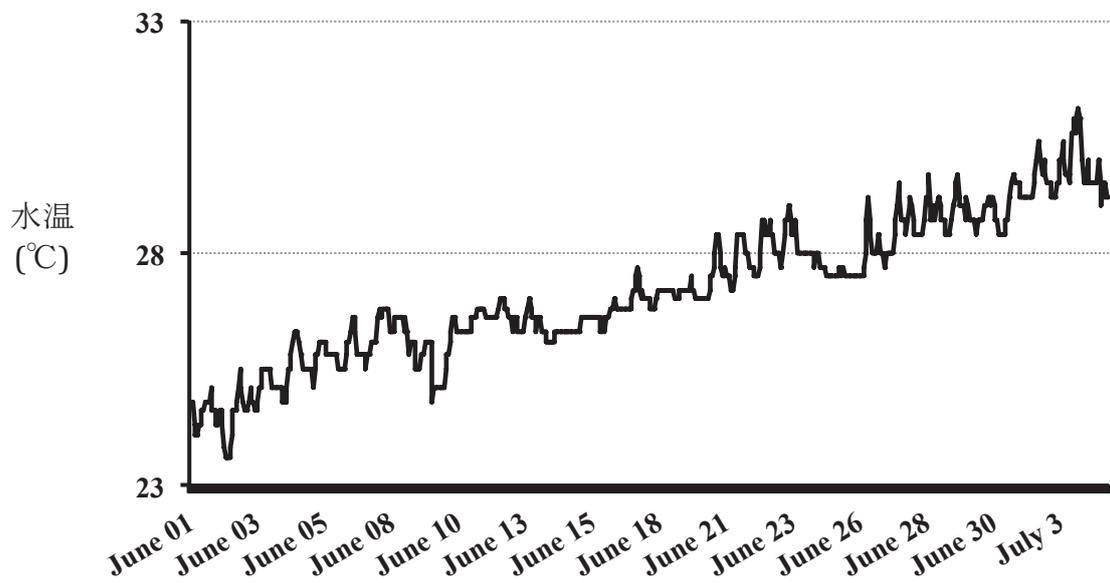


図 3 .

a) 沖縄科学技術大学院大学海水温プロジェクトにより、沖縄県内に設置してある簡易水温モニタリングシステム（プロジェクト HP より）、b) 簡易水温モニタリングシステム（a）より観測された恩納村前兼久沿岸の 2014 年 6 月から 7 月の水温変化。

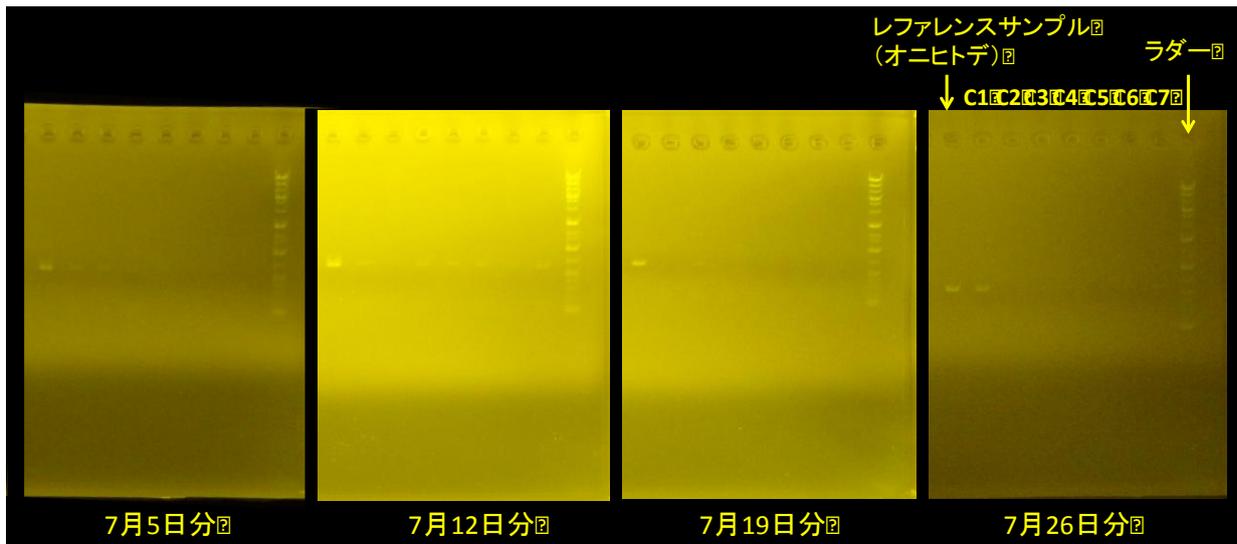


図 4. PCR 産物の電気泳動結果。左から、7 月 5 日、12 日、19 日、26 日の結果。各泳動結果は、左から、飼育オニヒトデ幼生から得られた DNA、C1 から C7 までの各地点で得られたプランクトンサンプルから抽出した DNA を基に PCR 法を行い、それらの PCR 産物を泳動したもの。

表 1. プランクトンネットを用いたサンプリング時の各調査地点における 1) 濾水量、2) 平均水深、3) 平均水温。

1) 濾水量

Site	濾水量 (kL)			
	7 月 5 日	7 月 12 日	7 月 19 日	7 月 26 日
C1	18.94	22.16	16.125	7.275
C2	11.70	14.89	12.45	16.35
C3	4.39	4.05	9.4125	14.6625
C4	5.63	11.78	8.9625	9.2625
C5	4.58	10.43	6.9375	10.5
C6	3.60	8.29	6.0375	7.0125
C7	1.09	4.58	4.875	7.725

平成 25 年度（第 28 回）タカラ・ハーモニストファンド研究助成報告

2) 平均水深

Site	平均水深 (m)							
	7月15日		7月12日		7月19日		7月26日	
	Av.	S.D.	Av.	S.D.	Av.	S.D.	Av.	S.D.
C1	5.32	1.35	7.82	0.90	5.83	1.20	3.22	2.26
C2	4.18	0.77	6.49	0.64	5.34	0.50	4.45	1.37
C3	4.24	0.97	5.91	1.66	4.69	0.75	3.70	2.45
C4	4.48	1.61	5.10	1.00	6.24	1.65	4.28	2.35
C5	5.75	1.02	5.27	1.69	4.78	0.46	3.46	2.34
C6	2.47	1.13	4.24	1.21	4.75	1.47	3.98	2.42
C7	2.64	1.99	3.72	0.44	5.45	1.29	7.31	0.76

3) 平均水温

Site	平均水温 (°C)							
	7月15日		7月12日		7月19日		7月26日	
	Av.	S.D.	Av.	S.D.	Av.	S.D.	Av.	S.D.
C1	27.80	0.08	26.74	0.11	27.03	0.16	29.20	0.24
C2	27.93	0.03	27.48	0.20	26.86	0.04	29.11	0.11
C3	28.13	0.09	27.47	0.62	27.10	0.08	29.04	0.39
C4	28.32	0.26	27.69	0.28	27.12	0.13	28.93	0.10
C5	28.52	0.14	27.55	0.05	27.07	0.30	29.10	0.06
C6	29.12	0.09	27.58	0.02	27.68	0.38	28.68	0.11
C7	30.78	2.88	27.49	0.03	27.54	0.14	28.63	0.04

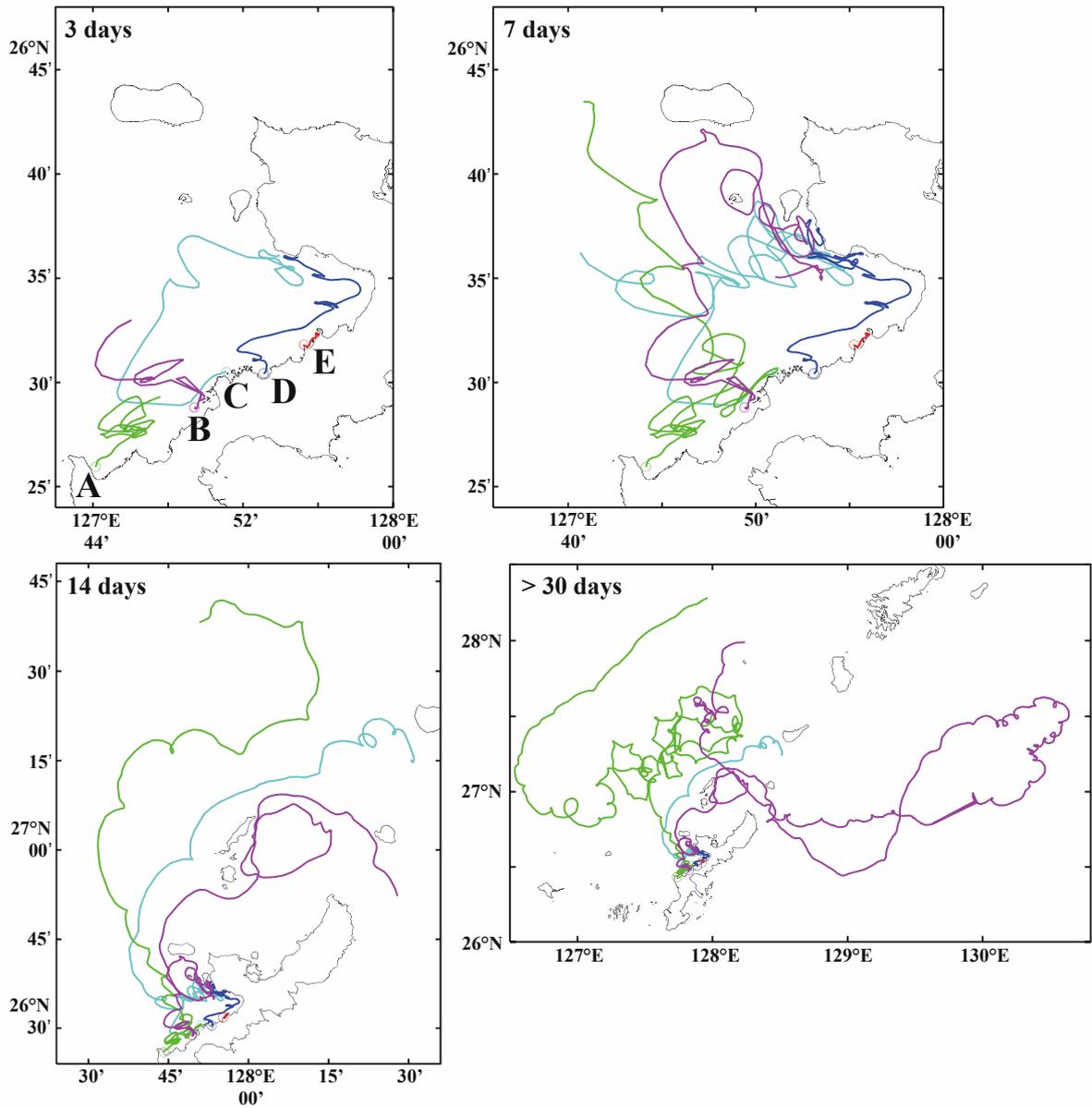
表 2. オニヒトデの存在が DNA より確認されたサンプル：実線の丸印，DNA の増幅が見られ、塩基配列からオニヒトデであることが確認されたサンプル；破線の丸印，DNA の増幅がかろうじてみられたサンプル。

調査日	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7
7月 5日	○	○	○				
7月12日	○		○	○	○	○	○
7月19日		○					
7月26日	○						

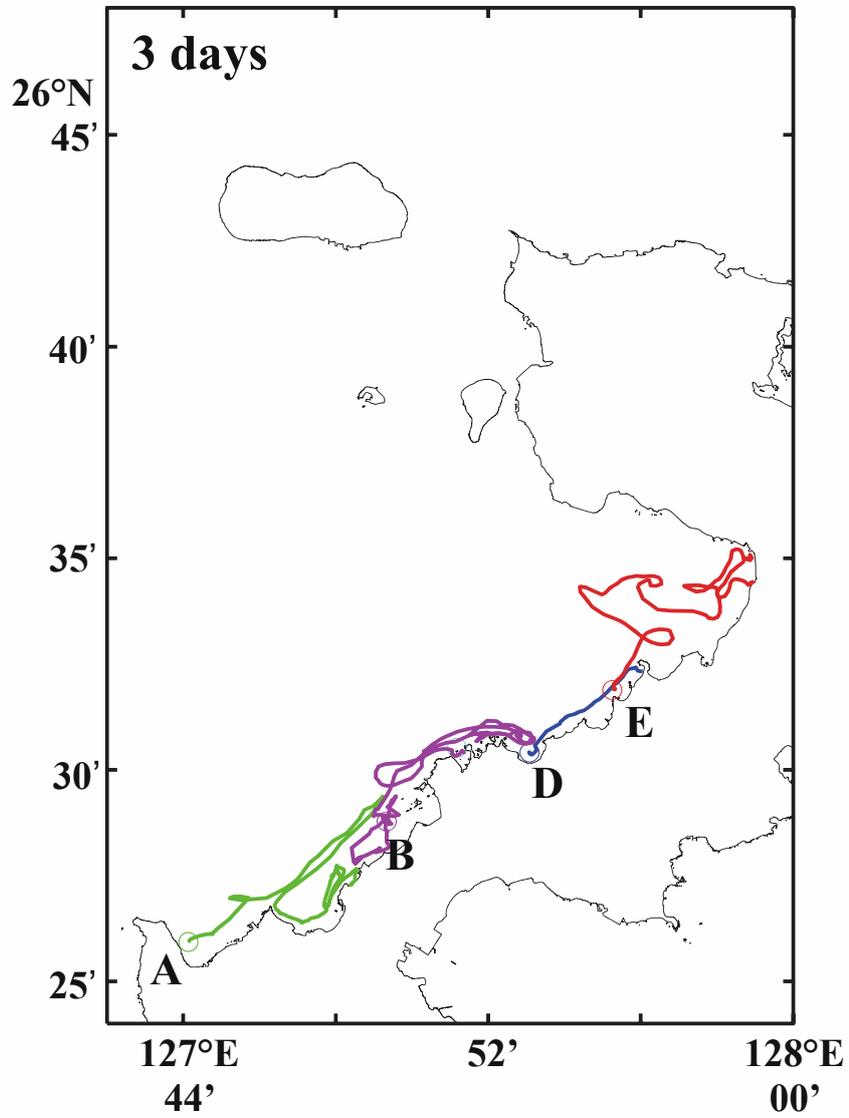
Appendix 1

オニヒトデ産卵期に恩納村沿岸域の 5 地点から放流した GPS 搭載ブイの軌跡。沖縄県自然保護課オニヒトデ総合対策事業 26 年度報告書および Nakamura et al. (in submission) より。

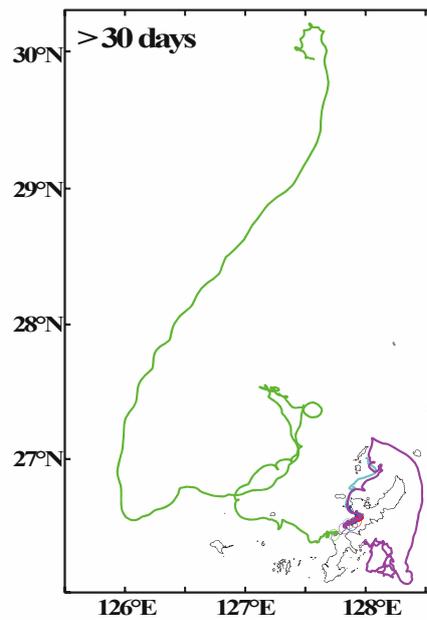
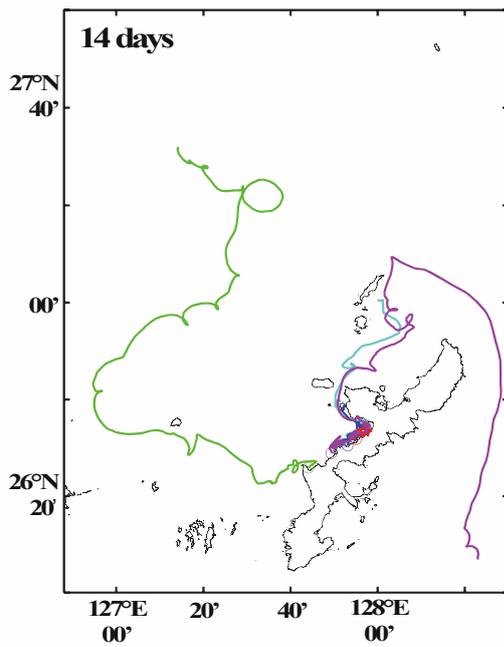
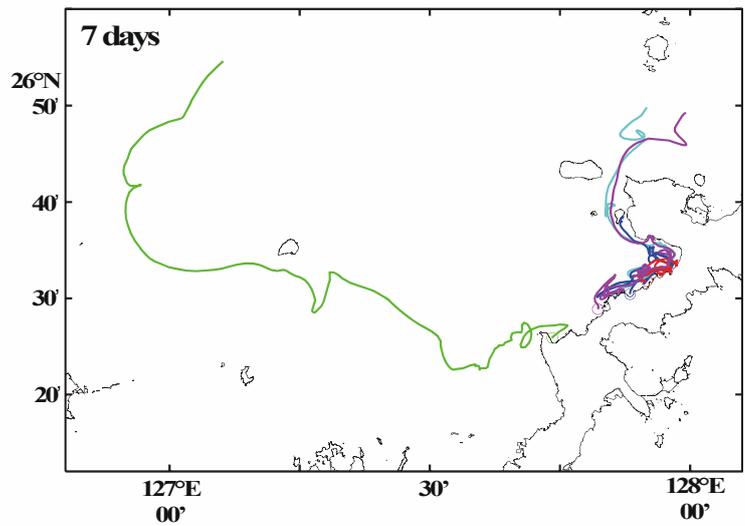
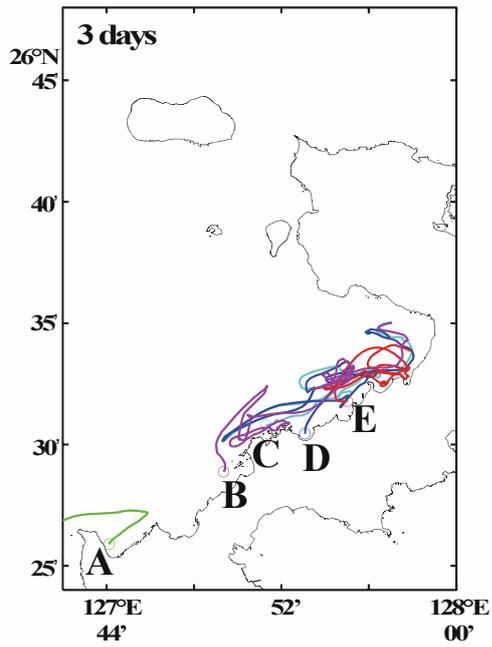
A. 2013 年 7 月 4 日放流分の GPS 搭載漂流ブイの軌跡



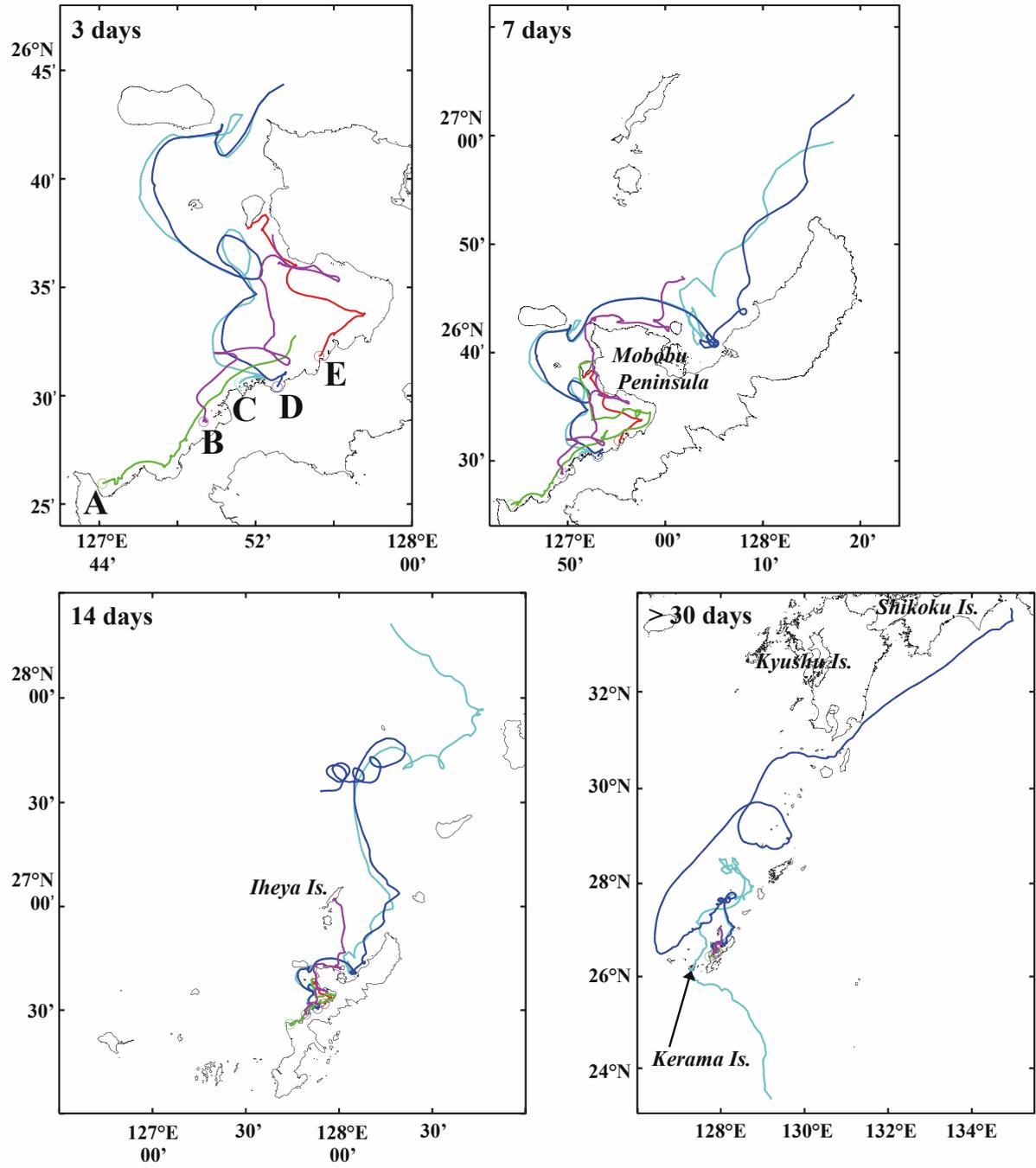
B. 2013 年 7 月 23 日放流分の GPS 搭載漂流ブイの軌跡



C. 2013 年 8 月 23 日放流分の GPS 搭載漂流ブイの軌跡



D. 2014 年 6 月 30 日放流分の GPS 搭載漂流ブイの軌跡



E. 2014 年 7 月 12 日放流分の GPS 搭載漂流ブイの軌跡

