#### 研究成果報告書 科学研究費助成事業

今和 元 年 6 月 2 7 日現在

機関番号: 18001

研究種目: 基盤研究(C)(一般)

研究期間: 2016~2018

課題番号: 16K00518

研究課題名(和文)サンゴの石灰化機構と各種リン酸塩の石灰化阻害メカニズムの解明

研究課題名(英文)Elucidation of calcification mechanism of coral and calcification inhibition mechanism of various phosphates

研究代表者

安元 純 (YASUMOTO, Jun)

琉球大学・農学部・助教

研究者番号:70432870

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3.700,000円

研究成果の概要(和文):本研究では,サンゴの稚ポリプを用いた生物活性試験により,海水中のリン酸塩はサンゴの細胞間隙を通り素早く造骨細胞内に到達し,サンゴの骨格形成(石灰化)を阻害している事が明らかになった。陸域の土壌・地下水及びサンゴ礁池内外の海水中の各種リン酸塩の動態解析の結果,海域へのリン酸塩負荷量を考える上で,オルトリン酸以外の形態のリン酸塩が非常に重要であることが分かった。加えて、陸域がら 供給されたリン酸塩は海水中で拡散できずに海底の砂に蓄積されており,サンゴの回復を妨げていることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義 本研究で対象としている海洋生物の石灰化は、地球上の炭素循環や地球の気候システムにも大きく寄与している 可能性かあり,沿岸汚染はサンコ礁海域の生態系を破壊するだけではなく,地球全体の気候システム影響を及ほ している可能性かあるため,研究の意義は大きい。さらに,本研究により陸域から供給されるリン酸塩か,砂や 岩盤に吸着することで海底に蓄積され,サンゴの回復を阻害していることが示唆された。この成果により,今 後,サンコ礁海域における明確な環境基準値の設定か可能となり,海洋環境保全に与える好影響は計り知れな ۱١.

研究成果の概要(英文): In this study, bioactivity tests using juvenile coral polyps revealed that phosphates in seawater rapidly penetrated sub-calicoblastic calcifying medium (SCM), by passing through the intercellular space and inhibited coral skeleton formation. As a result of dynamics analysis of various phosphates in soil and groundwater in land area and seawater in the coral reef pond, it was revealed that phosphates besides orthophosphate such as polyphosphate are very important in considering the total phosphate load to the sea area in this field. In addition, it was suggested that phosphate supplied from land area not only spreads in seawater, but also accumulates in the sand on the seabed, which prevents the recovery of corals.

研究分野: 農地工学, 環境地下水学

キーワード: サンゴ 石灰化機構 各種リン酸塩 石灰化阻害 地下水 海底湧水 石灰岩地域

## 様 式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19(共通)

#### 1.研究開始当初の背景

世界規模のサンゴの減少が危惧されて久しいがその対策は進んでいない。申請者らは生体物質であるポリアミンが大気中の CO2 を補足し,石灰化反応を顕著に促進することを世界で初めて発見すると共に,リン酸塩がサンゴ骨格に吸着し骨格伸張を強く阻害することを見出した。島嶼地域においては,陸域から地下水を経由して海域に流出するリン酸塩が海底の底質に蓄積し,サンゴの石灰化を強く阻害している可能性が極めて高いことが分かった。

#### 2.研究の目的

本研究では、「島嶼特有の水循環とリン酸塩負荷がサンゴの石灰化機構に及ぼす影響」を把握することを目的として、(1)サンゴ稚ポリプ石灰化機構の分子レベルでの検証、(2)土壌・地下水及びサンゴ礁池内のリン酸塩の動態解析と蓄積型リン酸塩の実態把握、(3)実環境を想定したリン酸塩のサンゴ稚ポリプの石灰化阻害機構の解明の3項目を主に実施する。

#### 3.研究の方法

## (1) サンゴ稚ポリプ石灰化機構の分子レベルでの検証

サンゴは,造骨細胞外にある石灰化母液と呼ばれる部位で骨格形成を行い,石灰化母液の pH は周りの海水と比較して pH が 0.5~1 程度高くなるが,この局所的な pH 上昇の分子機構は明らかにされていない。この石灰化に伴う pH 上昇に,生体内に豊富に存在する塩基性物質であるポリアミンが寄与すると考え,ポリアミン輸送体および生合成阻害剤をミドリイシサンゴ稚ポリプの飼育液に添加し,共焦点レーザー顕微鏡を用いた pH imaging 法により,石灰化母液の pH 上昇に及ぼす影響を検証する。

## (2) 土壌・地下水及びサンゴ礁池内のリン酸塩の動態解析と蓄積型リン酸塩の実態調査

土壌・地下水中のリン酸塩濃度を測定するとともに,リン酸塩の各種濃度と形態分析を, <sup>31</sup>P-NMR 及び ICP-AES の組み合わせ分析により実施し,地下水や海底湧水に含まれるリン酸塩の供給源を明らかにする。さらに,サンゴ礁池内において,海底湧水付近の石灰質の底質を各地点で採取し,蓄積型リン酸塩の調査を実施する。

## (3) 実環境を想定したリン酸塩のサンゴ稚ポリプの石灰化阻害機構の解明

蛍光ラベルしたリン酸塩を調整し、共焦点レーザー顕微鏡で、稚ポリプ骨格形成阻害の様子を可視化する。また、(2)で明らかにした実環境の栄養塩負荷量に合わせて稚ポリプ実験を行い、リン酸塩がサンゴ稚ポリプの骨格形成に及ぼす影響を調べる。また、蓄積型のリン酸塩の影響を検証するため、リン酸塩で処理した CaCO₃ 基盤に稚ポリプを着底させ、稚ポリプの骨格形成へ及ぼす影響を調べる。さらに、(2)で採取した実際の底質を敷いたシャーレ内で稚ポリプを飼育し溶脱してくるリン酸塩量を評価すると共に骨格形成への影響を調べる。

## 4. 研究成果

本研究では、「島嶼特有の水循環とリン酸塩負荷がサンゴの石灰化機構に及ぼす影響」を把握することを目的として、(1)サンゴ稚ポリプ石灰化機構の分子レベルでの検証、(2)土壌・地下水及びサンゴ礁池内のリン酸塩の動態解析と蓄積型リン酸塩の実態把握、(3)実環境を想定したリン酸塩のサンゴ稚ポリプの石灰化阻害機構の解明の3項目を共同研究者や連携研究者と共に実施した。

- (1)共焦点レーザー顕微鏡を用いた pH imaging 法により石灰化母液内の pH 上昇を観測した結果,石灰化母液内の pH 上昇にポリアミンが関わっている可能性が示唆された。
- (3)蛍光ラベルしたリン酸塩を調整し、共焦点レーザー顕微鏡で、稚ポリプ骨格形成阻害の様子を可視化した結果、海水中のリン酸塩は、細胞間隙を素早く通過して石灰化母液に到達し、サンゴの骨格となる炭酸カルシウムに吸着することで石灰化を阻害している事が明らかとなった。(2)に係る調査時に採取した海底の底砂を敷いたシャーレ内で稚ポリプを飼育した結果、底砂から溶出したリン酸塩がサンゴの石灰化を阻害する事が明らかになった。
- (2)陸域の土壌・地下水中における各種リン酸塩の動態解析を実施した結果,琉球石灰岩が分布する沖縄本島南部地域における地下水中のリンの輸送形態として,オルトリン酸以外の重合態リン等の溶存無機リン(DIP)やリン酸エステル等の溶存有機態リン(DOP)の存在の可能性が示唆された。くわえて,琉球石灰岩地域の地下水中のリン酸塩の輸送には浮遊懸濁物質(SS)が大きく関わっていることが示された。これらの結果より,流域スケールでリン酸塩の海域への流出を把握する際には,オルトリン酸以外の重合態や有機態などの溶存態リンやSSに吸着しているリン酸塩も重要である事が分かった。次に,サンゴ礁池内外の海水中における各種リン酸塩の動態解析を実施した結果,サンゴの被度が低い地点で,アンモニア態窒素や全リンの濃度が高い傾向にあった。また,海水中に含まれる数十倍以上の濃度の窒素やリンが間隙水や砂に吸着していた。この結果より,陸域から供給された栄養塩は海水中を拡散するだけでなく,海底の砂に多く留まることで,サンゴ礁の回復を妨げていることが示唆される。

## 5. 主な発表論文等

#### [雑誌論文](計3件)

- 1. Iijima M, <u>Yasumoto K</u>, <u>Yasumoto J</u>, Yasumoto-Hirose M, Kuniya N, Takeuchi R, Nozaki M, Nanba N, Nakamura T, Jimbo M, Watabe S. Phosphate Enrichment Hampers Development of Juvenile Acropora digitifera Coral by Inhibiting Skeleton Formation. Marine biotechnology (New York, N.Y.) 21(2) 291-300 2019 年 4 月.
- 2. <u>Yasumoto, K.</u>, Sakata, T., <u>Yasumoto, J.</u>, Yasumoto-Hirose, M., Sato, S. I., Mori-Yasumoto, K., ... & Watabe, S. (2018). Atmospheric CO2 captured by biogenic polyamines is transferred as a possible substrate to Rubisco for the carboxylation reaction. Scientific reports, 8(1), 17724.
- 3. Nakaya, S., <u>Yasumoto, J.</u>, Ha, P. M., Aoki, H., Kohara, F., Masuda, H., & Masuoka, K. (2018). Hydrochemical behaviour of an underground dammed limestone aquifer in the subtropics. Hydrological Processes, 32(23), 3529-3546.

# [学会発表](計29件)

- Jun Yasumoto( University of the Ryukyus, Faculty of Agriculture, Okinawa, Japan), Kei Nakagawa, Masashi Nozaki, Bam H.N. Razafindrabe, Shinji Nakaya, <u>Ko</u> <u>Yasumoto</u>, Ryuichi Shinjo, Classification of Groundwater Quality using Self-Organizing Map (SOM) in Miyako Island, Okinawa, Japan, AGU Fall Meeting, H23J: Groundwater Sustainability Studies: Integrating Monitoring, Modeling, and Policy IV Posters, Poster, Washington, D. C., 2018.
- 2. <u>安元純</u>(琉球大・農)・野崎真司・Bam HN Razafindrabe・中屋眞司・土岐知弘・新城竜 ー・<u>安元剛</u>, 海と陸とを一体的に捉えた島嶼型統合的水循環管理を目指して, 陸水物理研 究会, 第 40 回研究発表会(2018 石垣大会)公開シンポジュウム:島嶼における水環境 と自然災害 - 北海道から八重山諸島まで一,大濱信泉記念館,:2018 年 11 月 16 日(金) ~ 11 月 18 日(日).(**招待講演**)
- 3. <u>安元純</u>(琉球大・農)・野崎真司・Bam HN Razafindrabe・中屋眞司・土岐知弘・新城竜 ー・<u>安元剛</u>, 熱帯・亜熱帯島嶼地域における統合的水循環管理の在り方について,日本陸 水学会第 83 回大会,課題講演 T-2 「陸水を介した森・川・海のつながり(2) - 流域 における陸水と生態系サービス - 」、岡山大学 創立五十周年記念館・環境理工学部,2018 年 10 月 5 日(金)~8 日(月).
- 4. <u>安元純</u>(琉球大・農),野崎真司,中屋眞司,益田晴恵,細野高啓,土岐知弘・新城竜一, 琉球石灰岩地域の地下水,2018年度日本地球化学会年会,2D01:地殻内流体の地球化学, 琉球大学千原キャンパス,2018年9月11日~13日.(**招待講演**)
- 5. 野崎真司(琉球大学農学研究科)・安元純・安元剛・飯島真理子・新城竜一,土壌・地下水中におけるリン酸塩の輸送形態,平成29年度農業農村工学会大会講演会,日本大学生物資源科学部 湘南キャンパス,2017年8月29日-9月1日.
- 6. 野崎真司(琉球大学農学研究科)・安元純・安元剛・飯島真理子・中屋眞司・新城竜一・ 廣瀬美奈・浅井和見・益田晴恵・茂木勝郎,琉球石灰岩地域における土壌および地下水中 のリン酸塩の形態別分析,日本地下水学会春季講演会,埼玉大学,2018年5月19日.
- 7. 野崎真司(琉球大学農学研究科)・<u>安元純</u>・浅井和見・中屋眞司・<u>安元剛</u>・廣瀬美奈・新城竜一,与論島東海岸域における海底地下水湧出の湧出速度とリン酸塩濃度,平成30年度 農業農村工学会大会講演会,京都大学 吉田キャンパス,2018年9月4-9月6日.
- 8. <u>Jun Yasumoto</u>, <u>Ko Yasumoto</u>, Mariko Iijima, Masashi Nozaki, Kazumi Asai, Mina-Yasumoto-Hirose, Effect of submarine groundwater discharge containing phosphate on coral calcification, The American Geophysical Union (AGU) Fall Meeting, USA, New Oreans, Ernest N.

- Morial Convention Center, 2017.
- OMariko Iijima, <u>Ko Yasumoto</u>, <u>Jun Yasumoto</u>, Mina Yasumoto-Hirose, Mitsuru Jimbo, Shugo Watabe, The mechanisms underlying phosphate inhibition against calcification of Acroporid coral, The 14th International Symposium on Biomineralization (BIOMIN XIV), 9-13, October, 2017. Tukuba-Japan, Poster.
- o<u>Ko Yasumoto</u>, Mariko Iijima, Fujii Kana, Azusa Kubota, <u>Jun Yasumoto</u>, Mina Yasumoto-Hirose, Mitsuru Jimbo, Shugo Watabe, Novel calcification method using biogenic polyamines and its application, The 14th International Symposium on Biomineralization (BIOMIN XIV), 9-13, October, 2017. Tukuba-Japan, Oral.
- 11. o<u>Ko Yasumoto</u>, Mariko Iijima, Kana Fujii, Azusa Kubota, <u>Jun Yasumoto</u>, Mina Yasumoto-Hirose, Mitsuru Jimbo and Shugo Watabe, Novel mechanisms for calcification of marine organisms and its application, , International symposium "Fisheries science for Future Generations" Tokyo-Japan, 22 -24, September, 2017. Oral.
- 12. Shota Shinozuka, <u>Ko Yasumoto</u>, Tsuyoshi Sakata, Mina Yasumoto-Hirose, <u>Jun Yasumoto</u>, Mitsuru Jimbo, Shugo Watabe, The effects of polyamines on photosynthesis of cyanobacteria, International symposium "Fisheries science for Future Generations" Tokyo-Japan, 22 -24, September, 2017. Poster.
- 13. ○Azusa Kubota, <u>Ko Yasumoto</u>, Mariko Iijima, <u>Jun Yasumoto</u>, Mina Yasumoto-Hirose, Yoshikazu Ohno, Mitsuru Jimbo, Shugo Watabe, Localized pH increase in calcifying fluids of primary coral polyps possibly associated with calcification processes, International symposium "Fisheries science for Future Generations" Tokyo-Japan, 22 -24, September, 2017. Poster.
- 14. OMariko Iijima, <u>Ko Yasumoto</u>, <u>Jun Yasumoto</u>, Mina Yasumoto-Hirose, Mitsuru Jimbo, Shugo Watabe, The mechanisms involved in phosphate inhibition against calcification of acroporid coral, International symposium "Fisheries science for Future Generations" Tokyo-Japan, 22 -24, September, 2017. Poster.
- 15. ○飯島真理子, <u>安元</u> **剛**,神保 充,難波信由,天野春菜,水澤奈々美,渡部終五,廣瀬 美奈,<u>安元 純</u>,海底湧水による沿岸域への栄養塩供給の実態,平成 30 年度日本水産学 会春季大会,東京海洋大学品川キャンパス(東京都品川区),2018 年 3 月 27~29 日,口頭.
- 16. 〇篠塚翔太, <u>安元</u> **剛**, 天野春菜,神保 充,水澤奈々美,渡部終五,坂田 剛,廣瀬美奈, <u>安元 純</u>,シアノバクテリアの光合成にポリアミンが及ぼす影響,平成 30 年度日本水産学会春季大会,東京海洋大学品川キャンパス(東京都品川区),2018年3月27~29日, 口頭.
- 17. 〇窪田 梓, <u>安元 剛</u>, 飯島真理子, 天野春菜, 水澤奈々美, 神保 充, 渡部終五, 大野良和, 廣瀬美奈, <u>安元 純</u>, *Acropora digitifera* 稚ポリプの石灰化母液内の局所的 pH 上昇と物質輸送経路の解明, 平成 30 年度日本水産学会春季大会, 東京海洋大学品川キャンパス(東京都品川区), 2018 年 3 月 27~29 日, 口頭.
- 18. **安元 純** (琉球大学農学部、助教)海と陸とを一体的に捉えた島嶼型統合的水循環管理を目指して,宮古島の自然と文化を考える会第66回講演会,那覇市ほしぞら公民館,2018年3月25日
- 19. 〇<u>安元 剛</u>, 坂田 剛, 廣瀬美奈, <u>安元 純</u>, 安元(森)加奈未,神保 充,渡部終五, NMR を用いたポリアミンの大気 CO<sub>2</sub> の捕捉能力の検証とポリアミンに捕捉された CO<sub>2</sub> の Rubisco 基質としての機能,日本ポリアミン学会第9回年会,関西学院大学西宮上ヶ原キ

ャンパス (兵庫県西宮市), 2018年1月19日, 口頭.

- 20. ○窪田 梓, **安元 剛**, 飯島真理子, **安元 純**, 廣瀬美奈, 大野 良和, 天野春菜, 水澤奈々美, 神保 充, 渡部終五, *Acropora digitifera* 稚ポリプの石灰化母液内の局所的 pH 上昇と物質輸送経路の解明, 第 10 回北里化学シンポジウム, 北里大学相模原キャンパス(神奈川県相模原市), 2017 年 12 月 16 日, ポスター.
- 21. ○飯島真理子, **安元 剛**, **安元 純**, 廣瀬美奈, 天野春菜, 水澤奈々美, 神保 充, 渡部 終五, サンゴ骨格へのリン酸塩吸着機構と与論島の栄養塩調査, 第 10 回北里化学シンポジウム, 北里大学相模原キャンパス(神奈川県相模原市), 2017 年 12 月 16 日, ポスター.
- 22. 野崎真司, 安元 純,前田達紀,中村崇,中屋眞司,浅井和見,茂木勝郎,益田晴恵,安元 剛,飯島真理子,与論島沿岸域における海底地下水湧出のモニタリングとサンゴの石灰化に及ぼす影響,日本地下水学会秋季講演会,弘前大学,2017年10月12日~14日,ポスター.
- 23. 〇<u>安元 剛</u>,ポリアミンは二酸化炭素を捕捉し石灰化を促進する,第16回学外共同研究会議 ポリアミンと核酸の共進化,東京慈恵会医科大学(東京都港区),2017年9月9日, 口頭(招待講演).
- 24. 野崎真司, <u>安元 純</u>, <u>安元 剛</u>, 飯島真理子, 新城竜一, 土壌・地下水中におけるリン酸 塩の輸送形態, 平成 29 年度 農業農村工学会大会講演会, 日本大学(湘南キャンパス) 平成 29 年 8 月 29 日 ~ 9 月 1 日
- 25. ○廣瀬(安元)美奈, **安元 純**, 水澤奈々美, **安元 剛**, 宮城雄次,神保 充,渡部終五,琉球石灰岩分布地域における地下水中の菌叢把握の試み,第 19 回マリンバイオテクノロジー学会仙台大会,東北大学青葉山新キャンパス(宮城県仙台市),2017年6月3~4日,ポスター.
- 26. ○飯島真理子, <u>安元 剛</u>, 神保 充, 難波信由, <u>安元 純</u>, 廣瀬美奈, 中村 崇, 渡部終五, サンゴ骨格へのリン酸塩吸着機構と与論島の栄養塩調査, 第 19 回マリンバイオテクノロジー学会仙台大会, 東北大学青葉山新キャンパス(宮城県仙台市), 2017 年 6 月 3~4日, ポスター.
- 27. 〇<u>安元 剛</u>, 廣瀬美奈, <u>安元 純</u>, 神保 充, 渡部終五, 海洋生物の石灰化における分子 メカニズムとその応用研究, 第 19 回マリンバイオテクノロジー学会仙台大会, 2017 年 6 月 3~4 日, 東北大学(宮城県仙台市), シンポジウム「バイオミネラリゼーションにおける有機 無機相互作用の分子メカニズムを利用した応用研究の最前線」, 口頭.
- 28. 〇篠塚翔太, **安元 剛**, 坂田 剛, 神保 充, **安元 純**, 廣瀬美奈, 渡部終五, ポリアミンがシアノバクテリアの光合成に及ぼす影響,第 19 回マリンバイオテクノロジー学会仙台大会, 2017年6月3~4日, 東北大学(宮城県仙台市), ポスター.
- 29. **安元純**, 野崎真司, 安元剛, 廣瀬美奈, 飯島真理子, 地下水を経由したリン酸塩の海域への輸送がサンゴの生息環境に及ぼす影響 JpGU-AGU Jpoint Meeting 2017 幕張メッセ, 2017年5月20日~25日, ポスター.

[図書](計0件)

〔産業財産権〕 出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

水の環でつなげる南の島の暮らし

http://mizunowa.sci.u-ryukyu.ac.jp/

国立研究開発法人科学技術振興機構 (JST) 平成 29 年度科学技術コミュニケーション推進事業「未来共創イノベーション活動支援」「水の環でつなげる南の島のくらし」のためのウェブサイトです。

# 6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名:安元 剛

ローマ字氏名: Yasumoto Ko 所属研究機関名: 北里大学 部局名: 海洋生命科学部

職名:講師

研究者番号(8桁):00448200

(2)研究協力者

研究協力者氏名:廣瀬(安元)美奈 ローマ字氏名: Hirose-Yasumoto Mina

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。