

平成 21 年 5 月 1 日現在

研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18310058
 研究課題名（和文） 生物の自然治癒力を応用した沖縄のサンゴ礁修復技術の開発
 研究課題名（英文） Bioremediational approach for coral reefs ecosystems

研究代表者
 山崎 秀雄（YAMASAKI HIDEO）
 国立大学法人 琉球大学・理学部・教授
 研究者番号：40222369

研究成果の概要：都市化に伴う水質汚染や、地球温暖化による海水温度上昇によって沖縄のサンゴ礁は衰退の危機にある。本研究では、持続的なサンゴ礁の修復・保全技術開発を目指して、サンゴの自己修復能力を高める物理的要因（環境因子）と生物的要因（環境応答）を学際的アプローチによって明らかにすることを目的とした。本研究の実施の結果、高温による最初の代謝異常の特定、サンゴの骨格内微生物相の違いが環境ストレス耐性に寄与していること、サンゴ種によって、温度と光の複合ストレスの感受性が異なっていること、水面の波や水流などの物理的要因がサンゴの白化抑制と回復に寄与していること等が明らかとなった。これらの成果は、サンゴの健康状態の診断や、水工土木的なサンゴ礁回復技術の基礎となる知見である。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	10,800,000	0	10,800,000
2007 年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2008 年度	2,500,000	750,000	3,250,000
年度			
年度			
総計	15,800,000	1,500,000	17,300,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：環境学・環境技術・環境材料

キーワード：環境修復技術

1. 研究開始当初の背景

サンゴ礁生態系を永続的に修復・保全するためには、人の手を入れないで自立的に回転するシステムが必要である。本来、生物にはダメージを修復する能力が備わっており、サンゴにも様々な修復システムが機能している。本研究計画では、サンゴの自己修復システム（自然治癒力）を強化することによって

サンゴ礁生態系の基盤であるサンゴを再生・維持し、生物間の正の連鎖作用を用いて環境を修復する新しい技術の開発を目指している。そのためには、サンゴのダメージと修復の生理学的研究に加えて、物理的環境要因のサンゴに与える効果の科学的知見を確立する必要がある。

2. 研究の目的

(1) サンゴ白化における代謝異常の解明

サンゴが白くなる「白化現象」は、サンゴ礁衰退の初期兆候である。サンゴの白化抑制戦略の立案のために、細胞生物学的なメカニズムの解明を試みた。具体的には、高温による活性窒素の生成を調べ、代謝異常との関連性を明らかにした。

(2) サンゴの白化抑制・回復を促す物理的因子

自然環境下では、同じ種のサンゴでも生育場所によって白化状態が異なっていることが見られる。この現象は、サンゴの遺伝的な個体差以外に、環境因子によって白化の抑制や回復が制御されていることを示唆している。そこで、白化抑制および白化からの回復を促す物理的要因を検討し、効果を実験的に明らかにする。

(3) 無節サンゴ藻の効果

サンゴ礁生態系において、無節サンゴ藻はサンゴ幼生の基盤定着を助け、変態を促進する重要な働きを持つことが知られている。水槽に無節サンゴ藻が繁茂すると、水質が安定し、サンゴの生育は良くなることが経験的に知られている。そこで、本研究では、無節サンゴ藻の窒素化合物の除去能を明らかにすることを目的とした。

(4) サンゴ礁共生微生物の調査

環境変化による微生物相の変化が、感染症や様々な代謝異常および疾病を引き起こしていることが多い。サンゴ礁は、貧栄養環境にあり、環境中の微生物相および共生微生物は特殊である。近年の富栄養化に伴い、サンゴ礁の微生物相が変化している可能性がある。しかし、サンゴ礁海域の微生物相の研究は初期段階である。そこで、本研究では、共生に参与するサンゴ微生物相の調査を行った。

3. 研究の方法

(1) 単離純粋培養された褐虫藻を用いて、一酸化窒素 (NO) 生成の温度に対する依存性を調べた。また、その際の光合成活性や増殖に与える影響を細胞生物学的に調べた。対照として、高等植物の NO 生成系を調べ、サンゴ共生光合成系との比較を行った。

(2) 屋外水槽、半屋外水槽、実験水槽を用いた長期、中期、短期の飼育実験により、サンゴ白化抑制に関わる物理的要因の効果を調べた。物理的要因の効果判定には、パルス変調型クロロフィル蛍光測定法を用いた。

(3) 死サンゴに 100%被覆した無節サンゴ藻

を材料として、アンモニアおよび硝酸の消費・分解活性を調べた。また、ナマコとサンゴを閉鎖系非循環水槽で飼育した時の、無節サンゴ藻の添加効果を調べた。

4. 研究成果

(1) サンゴの白化は共生藻の消失が原因である。高温によって誘導されることが知られているが、細胞生物学的な機序は不明である。プログラム細胞死に参与する酵素活性変化を調べたところ、高温によって共生藻の一酸化窒素合成が高まり、カスパーゼが活性化されることが明らかになった。このことは、高温によって共生藻のプログラム細胞死がおきていることを明らかにした。この新知見は、薬剤処理によってサンゴの白化が抑制できることを示唆している。

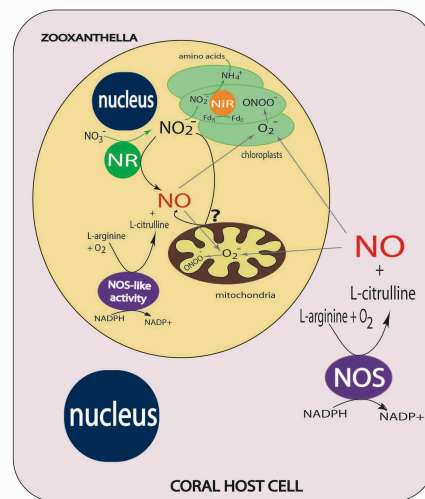


図1 高温によるサンゴ細胞の代謝異常 (Bouchard & Yamasaki, 2008)

(2) 屋外水槽によるサンゴの長期飼育を行い、太陽光の遮光による白化抑制効果を調べた。その結果、夏の高海水温度条件で飼育したミドリイシ類には、遮光によって顕著な白化抑制効果があることが認められた。この遮光による白化抑制効果は、サンゴ種間で大きく異なり、種によっては成長抑制がおきることが明らかとなった。

無風状態の礁池では、しばしばサンゴの白化が見られる。そこで、波面変化による光の揺らぎの効果を検討した。人工的に水面上に波を発生させ、光強度を変えてサンゴの光合成活性変化を調べた。その結果、波によって生じる水面レンズ効果により、光拡散が発生し、

サンゴ光合成阻害が抑制されることが明らかとなった。

水流による白化抑制・回復の促進効果を様々なサンゴ種で比較検討を行ったところ、明確な種間差が認められ、ミドリイシで高い抑制回復効果が観察された。これらの結果は、水工土木的にサンゴの白化抑制が可能であることを示唆するものである。

(3) サンゴ礁衰退原因の一つとして都市化にともなう海水の富栄養化が考えられている。無節サンゴモを用いて、海水の浄化実験をおこなった。その結果、無節サンゴモは、暗黒中でも海水中の窒素濃度を下げる活性があることが明らかになった。富栄養化条件でも、サンゴ藻が共存した場合には、サンゴの白化が抑制されることが観察された。暗黒化での窒素分解活性に、炭酸カルシウム基盤に生息している硝化細菌が関与していることが示唆された。

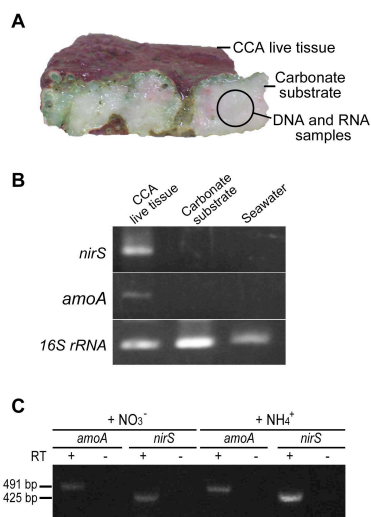


図2 無節サンゴ藻基盤内の硝化細菌 (Yuen *et al.*, 2009)

(4) 貧栄養地域の塊状サンゴの骨格内部には多種多様な細菌が見られ、富栄養地域のものでは細菌相が単純化していることが見られた。健全な海域のサンゴ骨格中心部には硫化水素の発生が認められ、嫌気性硫化細菌も検出された。また、枝状サンゴの骨格内部に微細藻が生育していることが見いだされた。微細藻をもつサンゴと持たないサンゴの光合成活性を比較したところ、微細藻を保持しているサンゴは高いストレス耐性を示すことが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 24 件)

①Yuen, Y. S., Yamazaki, S.S., Nakamura, T., Tokuda, G. and Yamasaki, H. Effects of live rock on the reef-building coral *Acropora digitifera* cultured with high levels of nitrogenous compounds. *Aquacultural Engineering*, in press. (2009)、査読有

②Hossain, K.K., Itoh, R.D., Yoshimura, G., Tokuda, G., Oku, H., Cohen, M.F. and Yamasaki, H. Effects of Nitric Oxide Scavengers on thermoinhibition of Seed Germination in *Arabidopsis thaliana*. *Russian Journal of Plant Physiology*, in press (2009)、査読有

③Arawaka, G., Watanabe, H., Yamasaki, H., Maekawa, H. and Tokuda, G. Purification and Molecular Cloning of Xylanases from the Wood-Feeding Termite, *Coptotermes formosanus* Shiraki, *Bio-science, Biotechnology, and Biochemistry*, 73, 710-718 (2009)、査読有

④Yuen, Y.S., Nakamura, T., Yamazaki, S.S. and Yamasaki, H. Long-term effect of inorganic nitrogen enrichment on the reef-building corals *Stylophora pistillata* and *Acropora* spp. *In Proceedings of the 11th International Coral Reef Symposium*, (2009)、査読無

⑤ Cohen, M.F., Lamattina, L. and Yamasaki, H. Nitric oxide signaling by plant-associated bacteria. *In Nitric oxide: Our emerging understanding of a plant hormone.* (S Hayat, M Mori, J Pichtel, A Ahmad, Eds.) Wiley-Vch, Germany. *In press* (2009)、査読無

⑥Yamasaki, H., Itoh, R.D., Bouchard, J.N., Dghim, A.A., Hossain, K.K., Grung, S., Cohen M.F. Nitric oxide synthase-like activities in plants. *In Nitrogen Metabolism plants in the Post-Genomic Era II* (Foyer, C.H. ed), Springer. *In press* (2009)、査読無

⑦ Nakamura, T. and Yamasaki, H. Flicker Light effects on photo-synthesis of symbiotic algae in the reef-building coral *Acropora digitifera* (Cnidaria:

Anthozoa: Scleractinia). *Pacific Science*, 62, 341-350 (2008)、査読有

⑧Bouchard J.N. and Yamasaki, H. Heat stress stimulates nitric oxide production in *Symbiodinium micro-adriaticum*: a possible linkage between nitric oxide and the coral bleaching phenomenon. *Plant and Cell Physiology* 49, 641-652 (2008)、査読有

⑨Tokuda, G., Yamada, A., Nakano, K., Arita N. O., and Yamasaki, H. Colonization of *Sulfurovum* sp. on gill surface of *Alvinocaris longirostris*, a deep-sea hydrothermal vent shrimp. *Marine Ecology*, 29, 110-114 (2008)、査読有

⑩Suzuki, A., Nakamura, T., Yamasaki, H., Minoshima, K., and Kawahata, H. Influence of water flow on skeletal isotopic compositions in the coral *Pocillopora damicornis*. *Coral Reefs* 27, 209-218 (2008)、査読有

⑪中村崇、野島哲、山崎秀雄造礁サンゴの環境応答と骨格成長、月刊地球 号外 No.59 バイオミネラリゼーションと石灰化-遺伝子から地球環境まで-、pp.18-24 (2008)、査読無

⑫ Yamazaki, S.S., Nakamura, T. and Yamasaki, H. Photoprotective Role of Endolithic Algae Colonized in Coral Skeleton for the Host Photosynthesis. *In Photosynthesis. Energy from the Sun:14th International Congress on Photosynthesis*, (J.F. Allen, E. Gantt, J.H. Golbeck, and B. Osmond eds.), pp. 1391-1395, Springer. (2008)、査読無

⑬Arita, N.O., Cohen, M.F., Tokuda, G. and Yamasaki, H. Fluorometric detection of nitric oxide with Diaminofluoresceins (DAFs): Application and limitations for plant NO research. *In Nitric oxide in plant growth, development and stress physiology.* (Lamattina and Polacco Eds.), Springer Book Series: Plant Cell Monographs, Springer, Heidelberg, pp. 267-280 (2007)、査読無

⑭Savini, I., Smithson, P.C., Karanja, N.C. and Yamasaki, H. Influence of *Tithonia diversifolia* and triple superphosphate on dissolution and effectiveness of phosphate rock in acidic soil. *Journal of*

Plant Nutrition and Soil Science, 169, 593-604 (2006)、査読有

⑮Yamasaki, H. and Cohen, M.F. NO signal at the crossroads: polyamine-induced nitric oxide synthesis in plants? *Trends in Plant Science*, 11, 522-524 (2006)、査読有

⑯Tambuan, T., Baba, S., Kuniyoshi, A., Iwasaki, H., Nakamura, T., Yamasaki, H. and Oku, H. Light-dependent isoprene emission from 45 tropical tree species on Okinawa Island, Japan. *Chemosphere*, 65, 2138-2144 (2006)、査読有

⑰徳田岳、有田奈央、山崎秀雄一酸化窒素(N₂O)発生の蛍光試薬による生体観察法. 沖縄生物学会誌, 44, 45-52 (2006)、査読有

⑱Cohen, M.F., Mazzola, M. and Yamasaki, H. Nitrogen oxidation in bacterium-plant interactions. *Microbe*, 1, 347-347 (2006)、査読有

⑲Nakamura, T., Yamazaki, S., Sakai, K., Yamasaki, H., Furushima, Y., Yamamoto, H. Acroporid corals inhabiting over a unique methane-bubbling hydrothermal vent field in a coral reef of Southern Ryukyu Archipelago. *Coral Reefs*, 25, 382-382 (2006)、査読有

⑳Tokuda, G., Yamada, A., Nakano, K., Arita, N. and Yamasaki, H. Occurrence and recent long-distance dispersal of deep-sea hydrothermal vent shrimps. *Biology Letters*, 2, 257-260 (2006)、査読有

㉑Cohen, M.F., Mazzola, M. and Yamasaki, H. Nitric oxide research in agriculture: Bridging the plant and bacterial realms. *In Abiotic stress tolerance in plants -Toward the improvement of global environment and food-* (Rai, A.K., Takabe, T. Eds.), pp.71-90, Springer, The Netherlands (2006)、査読無

㉒Baird, A.H., Gilmour, J.P., Kamiki, T., Pratchett, M. and Yamasaki, H. Temperature tolerance of symbiotic and non-symbiotic coral larvae. *In Proceedings of 10th International Coral Reef Symposium* (Suzuki, Y. et al. eds.), pp.38-42, ICRS, Tokyo (2006)、査読無

②Kamiki, T., Sagara, Y., Tokuda, G. and Yamasaki, H. Morphological changes of the zooxanthellae *Symbiodinium microadriaticum* CCMP829. In Proceedings of 10th International Coral Reef Symposium (Suzuki, Y. et al. eds.), pp. 819-821, ICRS, Tokyo (2006)、査読無

④ Nakamura, T. and Yamasaki, H. Morphological changes of *Pocilloporidae* corals exposed to water flow. In Proceedings of 10th International Coral Reef Symposium (Suzuki, Y. et al. eds.), pp. 872-875, ICRS, Tokyo (2006)、査読無

[学会発表] (計 39 件)

①Yeong Shyan Yuen, Seitaro S. Yamazaki, Takashi Nakamura, Hideo Yamasaki 「Ammonium and nitrate uptake activity of crustose coralline algae」日本藻類学会第32回大会(東京)2008年3月

②Khurshida K. Hossain, Hideo Yamasaki 「Nitric oxide is involved in inhibition of non-photochemical quenching mechanism in *Arabidopsis thaliana* under heat stress conditions」日本植物生理学会 2008 年大会(札幌)2008年3月

③山崎征太郎・中村崇・山崎秀雄 「造礁サンゴ骨格内の光合成生物相」日本植物生理学会 2008 年大会(札幌)2008年3月

④中村崇・神木隆行・山崎征太郎・Yeong Shyan Yuen・山崎秀雄 「共生藻の光阻害によって誘導される無腸類ヒラムシの退避行動」日本植物生理学会 2008 年大会(札幌)2008年3月

⑤Josée Nina Bouchard and Hideo Yamasaki 「Heat Stress induces Nitric Oxide Production in Coral Symbiotic Microalgae: A Possible Linkage between Global Warming and the Coral Bleaching Phenomenon?」日本植物生理学会 2008 年大会(札幌)2008年3月

⑥ Yuen, Y. S., Yamazaki, S. S., Nakamura, T., Yamasaki, H. (2008) Functional Role of Crustose Coralline Algae in Nutrient Dynamics of Coral Reef Ecosystem. 11th International Coral Reef Symposium, Florida, U.S.A.

⑦Yamazaki, S. S., Nakamura, T., Yuen,

Y. S., Yamasaki, H. (2008) Photosynthetic microorganisms colonized within *Goniastrea aspera*. 11th International Coral Reef Symposium, Florida, U.S.A.

⑧Nakamura, T., Yamazaki, S. S., Yuen, Y. S., Yamasaki, H. (2008) Water flow effects on photosynthesis and growth of the coral *Acropora digitifera* under seasonal weather fluctuations. 11th International Coral Reef Symposium, Florida, U.S.A.

⑨Bouchard, J. N., Yamasaki, H. (2008) Is the Nitric Oxide Produced by Heat-Stressed *Symbiodinium microadriaticum* Involved in the Coral Bleaching Phenomenon? 11th International Coral Reef Symposium, Florida, U.S.A.

⑩Gurung, S., Arita N. O., Yamasaki, H. (2007) Nitrite-induced root abscission in the aquatic fern *Azolla pinnata*. Second International Role of Nitrite in Physiology, Pathophysiology, and Therapeutics Meeting, September, 6 and 7, 2007, the National Institutes of Health, Maryland, U.S.A.

⑪Yamamoto, H., Furushima, Y., Hirayama, H., Nunour, H., Takai, K., Nakamura, T., Sakai, K., Yamasaki, H., Noguchi, T., Oomori, T., Sunamura, M., Ishibashi, J., Yamanaka, T. (2007) Ecosystem of Taketomi Hydrothermal Vent Field in Sekisei Coral Reef: Destruction and Propagation. 21st Pacific Science Congress, Okinawa, Japan.

⑫Gurung, S., Arita N. O., Yamasaki, H. (2007) Plant Physiology for the Management of Aquatic Fern *Azolla pinnata*. 21st Pacific Science Congress, Okinawa, Japan.

⑬ Yamazaki, S. S., Nakamura, T., Yamasaki, H. (2007) Endolithic algae found in the skeleton of *Acropora digitifera*. 21st Pacific Science Congress, Okinawa, Japan.

⑭Yuen, Y. S., Nakamura, T., Yamasaki, H. (2007) Crustose Coralline Algae as a Biological Remediator for Eutrophic Water Environment. 21st Pacific Science Congress, Okinawa, Japan.

⑮ Heshiki, R., Yamasaki, H. (2007) Decline of Goat Meat Culture in Okinawa:

past, present and future. 21st Pacific Science Congress, Okinawa, Japan.

⑩ Nakamura, T., Yamazaki, S. S. Yamasaki, H. (2007) Significance of Water-flow Environment for Reef Building Corals. 21st Pacific Science Congress, Okinawa, Japan.

⑪ 中村崇・山崎征太郎・赤尾基文・山崎秀雄 「高栄養塩環境下での造礁サンゴにおける好適光環境の評価」日本サンゴ礁学会第10回大会（沖縄）2007年11月

⑫ Josee Bouchard and Hideo Yamasaki 「Coral Symbiotic Microalgae produce Nitric Oxide」日本サンゴ礁学会第10回大会（沖縄）2007年11月

⑬ Yeong Shyan Yuen, Seitaro S. Yamazaki, Takashi Nakamura and Hideo Yamasaki 「Bioremediatory potential of crustose coralline algae in eutrophic waters」日本サンゴ礁学会第10回大会（沖縄）2007年11月

⑭ 山崎征太郎、中村崇、山崎秀雄 「骨格内微細藻類によるサンゴ光合成の光阻害抑制作用」日本植物生理学会2007年大会（愛媛）2007年3月

⑮ 有田奈央、Gurung, S, 山崎秀雄 「アカウキクサ *Azolla pinnata* における根の離脱現象へのポリアミンの関与」日本植物生理学会2007年大会（愛媛）2007年3月

⑯ 神木隆行、山崎秀雄 「共生渦鞭毛藻 *Symbiodinium microadriaticum* CCMP829 における硝酸依存性の遊泳細胞誘導現象」日本植物生理学会2007年大会（愛媛）2007年3月

⑰ 山田明徳、徳田岳、山崎秀雄 「シンカイヒバリガイと化学合成細菌の二重共生の進化的不安定性」ブルーアース'07（横浜）2007年2月

⑱ Hossain, K. K., Ito, R. D., Tokuda, G., Yamasaki, H. (2006) Scavenging of nitric oxide improves plant tolerance against high temperature stress, 4th International Conference of the Nitric Oxide Society on the Biology, Chemistry and Therapeutic Applications of Nitric Oxide, Monterey, California, U. S. A.

⑲ Yamasaki, H. (2006) "Nitrite-dependent NO production pathway in plants" The

Biological Diversity of Nitric Oxide Metabolism and Signaling. Join 62th Harden Conference/EMBO Symposium, Royal Agricultural College, Cirencester, UK

⑳ 中村崇、山崎征太郎、赤尾基文、興儀明文、山崎秀雄 「高栄養塩条件下における造礁サンゴ4種の生育応答」日本サンゴ礁学会（仙台）2006年11月

㉑ 神木隆行、山崎秀雄 「硝酸態窒素によって誘導される褐虫藻の運動性」日本サンゴ礁学会（仙台）2006年11月

㉒ Yeong Shyan, Y., Nakamura, T., Yamasaki, H. 「Ammonium uptake kinetics of crustose coralline algae」日本サンゴ礁学会（仙台）2006年11月

〔図書〕（計 3 件）

① 山崎秀雄、生化学事典（大島泰郎 他編）、東京化学同人（2007）

② 中村崇、山崎征太郎、神木隆行、山崎秀雄、サンゴ礁のストレス事情 -浅瀬のサンゴの我慢比べ-、（琉球大学21世紀COEプログラム編集員会編）「美ら島の自然史 -サンゴ礁島嶼系の生物多様性」東海大学出版会132-146（2006）。

③ 山田明徳、徳田岳、山崎秀雄、沖縄の深海ワールド -海底温泉に密集する生物の謎を解け！！、（琉球大学21世紀COEプログラム編集員会編）「美ら島の自然史 -サンゴ礁島嶼系の生物多様性」東海大学出版会373-387（2006）。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山崎 秀雄 (YAMASAKI HIDEO)
琉球大学・理学部・教授
研究者番号：40222369

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

中村 崇 (NAKAMURA TAKASHI)
琉球大学・博士研究員
研究者番号：40404553