

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20340143

研究課題名(和文) 現生・化石貝類の微細成長縞を用いた生物-環境相互作用の高時間精度復元

研究課題名(英文) High-time resolution reconstruction of the organism-environment interaction by using modern and fossil mollusk shell microincrements

研究代表者

棚部 一成 (TANABE KAZUSHIGE)

東京大学・大学院理学系研究科・教授

研究者番号：20108640

研究成果の概要(和文)：

東京湾の干潟環境に生息する軟体動物二枚貝類カガミガイ(*Phacosoma japonicum*)とムラサキイガイ(*Mytilus galloprovincialis*)を対象として、貝殻内部に残された微細成長縞を用いた成長の時系列解析と貝殻の微量元素・酸素・炭素安定同位体比の分析を行い、マイクロからマクロレベルにわたる貝殻の成長を支配する生態的、環境学的要因を日レベルの高時間精度で抽出した。さらに、この研究成果を東京湾周辺の考古遺跡から出土した化石カガミガイに適用し、第四紀完新世(過去1万年間)における日本列島の浅海環境のダイナミクスとそれに対する生物の生活史形質の応答様式を日から季節レベルの時間精度で明らかにした。

研究成果の概要(英文)：

Based on the sclerochronological, stable oxygen and carbon isotope, and rare and trace element analyses of lunar-day increment sequences of two bivalve species, *Phacosoma japonicum* and *Mytilus galloprovincialis* living in the intertidal environment of Tokyo Bay, central Japan, ecological and environmental controls on shell microgrowth have been investigated at daily time resolution. Furthermore, this approach was applied to Holocene fossil shells of *P. japonicum*, and response of life history traits to Holocene coastal climate change has been demonstrated at daily to seasonal time resolution.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	8,200,000	2,460,000	10,660,000
2009年度	3,700,000	1,110,000	4,810,000
2010年度	2,400,000	720,000	3,120,000
年度			
年度			
総計	14,300,000	4,290,000	18,590,000

研究分野：進化古生物学・古生態学

科研費の分科・細目：地球惑星科学・層位・古生物学

キーワード：貝類、微細成長縞、生物-環境相互作用、生物地球化学、完新世、気候変動、生活史

## 1. 研究開始当初の背景

現在、地球の人口は60億人を突破し、化石燃料の大量消費・森林の伐採・過剰な放牧などによる大気二酸化炭素濃度の増加と地球温暖化、氷床の融解や海水の熱膨張による海面上昇、自然界にない化学物質の使用、外来種の移出入などの急激な環境変動によって、自然の景観や環境・生態系・種多様性などが大きく変化しつつある。このような急激な環境変動に対して生物がどのような応答様式を示しているかを高時間精度・高分解能で明らかにすることは、過去の環境変動と生物の相互関係を復元する上での基礎となるばかりでなく、将来の地球環境の変動予測と自然生態系の保全を考える上できわめて重要な課題と考えられる。

この重要な課題を明らかにする手がかりの一つに、サンゴ、木の年輪、軟体動物などの硬組織が挙げられる。これらの硬組織は、付加成長によって形成され内部には日スケールから年スケールにわたるさまざまなオーダーの成長縞が識別できる。この成長縞は、硬組織を作った生物の成長パターンとそれを支配する環境要因を時系列的に記録したアーカイブとみなすことができる。本研究で扱う軟体動物は、1) 付加成長する生物骨格を持つ生物の中でも、種によって寿命が1年から約350年までの差異があることから、その違いを利用して日レベルから数100年レベルの幅広い時間分解能で成長縞を解析できること、2) 熱帯域から極域、潮間帯から深海、淡水・汽水域から海水域までの幅広い環境下に生息していること、そして3) 化石にも多く保存されていること、などの理由により、付加型硬組織を利用した長期にわたる海洋環境変動とそれに対する生物の応答様式を高時間分解能で復元するうえで、最適な研究素材である。

研究代表者の棚部は、北西太平洋における成長縞解析のモデル生物としてマルスダレガイ科二枚貝の1種カガミガイ(*Phacosoma japonicum*)を選定して研究を行い、長期にわたる成長追跡により成長縞プロフィールに冬輪を識別し、それを利用して地域集団の年齢査定や絶対成長様式を解析する手法を開発した。その後、マーキング個体の解析から微細成長縞と微細成長線の2セットが1朔望日ごとに形成されることを明らかにした。さらに、東京湾の干潟で採集された同年齢個体の微細成長縞の年成長パターンと生息場の環境データとの比較を行い、朔望日輪(LDGI)の成長と水温(SST)の関係が生物代謝を考慮したアーニウスモデル式により近似できることを示した。また、水温以外に塩濃度、クロロフィル a 量などの環境要因も貝殻の微視的成長に関与していることを示唆した。

一方、分担者の遠藤および小暮は、軟体動物の最小オーダーの構造である真珠層や稜柱層のバイミネラリゼーションの素過程やその分子的機構に関する研究を精力的に行い、多くの成果

を挙げた。しかしながら微細成長縞・成長線のような二次オーダーの構造の形成機構については未研究であった。また、分担者の佐野と白井は、高横断解像二次イオン質量分析計(NanoSIMS)、レーザーアブソープション ICP 質量分析計(LA-ICPMS)、および高精度デバイス付きの質量分析計を用いた生物硬組織の元素分析法、安定炭素・酸素同位体比測定法を開発し、それらをサンゴ骨格や二枚貝の殻に応用する研究に着手しつつあった。

このような背景の下で、研究代表者の棚部は、さまざまな環境に生息する軟体動物の生活史・生息環境解析における貝殻成長縞の形成過程とそれに関与する生理学・生態学・環境学的要因を高分解能・高時間精度で解析する研究の重要性に気づき、上述の生化学・生体鉱物学・生物地球化学分野の研究者と議論を重ねて、本研究計画を立案した。

## 2. 研究の目的

本研究では、浅海に生息する軟体動物二枚貝類を対象として、貝殻内部に残された微細成長縞を用いた成長の時系列解析と貝殻の微量元素・酸素・炭素安定同位体比の分析を行い、マイクロからマクロレベルにわたる貝殻の成長を支配する生化学的、生理的、生態的、環境学的要因を日レベルの高時間精度で抽出することを主な目的とした。さらに、現生種で用いた手法を第四紀完新世(過去1万年間)の化石貝類に適用し、中緯度地域の陸域および浅海環境のダイナミクスとそれに対する生物の生態学的応答様式を、過去から現在、未来にわたる時間スケールで明らかにすることを目指した。

## 3. 研究の方法

### (1) 野外実験・標本採集

生息場所での軟体動物の貝殻の成長期間を通じての環境要素が同時観測できる利点を生かして、東京湾の干潟に生息するカガミガイ(*Phacosoma japonicum*)とムラサキガイ(*Mytilus galloprovincialis*)をモデル生物として、定期生貝採集を行うとともに、マーキング法を用いた生息場での標識個体の長期にわたる殻成長追跡実験を行った。併せて、神奈川県立生命の星・地球博物館などの研究機関から東京湾周辺から採取された完新世化石カガミガイ試料の提供を受け、本研究で使用した。また、生体鉱物学・分子生物学的研究では、二枚貝のアコヤガイをモデル生物として選定し、水産試験場から生貝を入手し、各種の分析・観察に用いた。

### (2) 室内研究

#### A. 成長縞編年学的解析

東京湾の環境モニタリングポストおよびその近傍の養老川河口干潟付近で生体染色やマーキ

ング法により成長追跡が行われたムラサキガイとカガミガイ個体を用いて、成長部位の微細成長縞解析を行なった。具体的には、最大成長軸に沿って切断・研磨後、Mutvei 溶液 (Schöne 2005)により有機物を選択的に染めた後、非蒸着で新規購入のデジタル顕微鏡により撮影された微細成長縞の間隔を自動測定した。この解析によって、微細成長縞・成長線プロフィールに日レベルの時間目盛りを入れ、高時間精度の編年解析を行った。

#### B. 成長縞編年学と高精度生物地球化学的分析に基づく殻成長を支配する環境要因の特定

東京湾の環境モニタリングポストにおいて多項目水質モニタリングセンサーを用いて測定された水温・塩濃度・溶存酸素量・PH・有機リン量・プランクトン量などの海洋環境パラメータを、同じ場所もしくは近傍から採取された二枚貝試料での同期間に形成された微細成長縞プロフィールと比較することによって、貝類の成長を支配する環境要因の特定を試みた。さらに、同じ貝殻試料を用いて、微細成長縞・成長線ごとに酸素・炭素安定同位体比を測定するとともに、微量元素をNanoSIMS, LA-ICPMS、分散型X線マイクロアナライザー(EMPA)を用いて連続的に分析し、それらの変動パターンと環境データとの比較から、個々の環境要因を反映するプロキシを特定した。環境プロキシとして用いる元素組成比は、カガミガイにおいては、海水温と正の相関が示唆されるMg/Ca比、Sr/Ca比、および降水量(塩濃度)の関与が予想されるMn/Ca比やBa/Ca比である。これらは、海水の塩濃度や酸素同位体比が変動しやすく酸素同位体比だけでは水温の影響が特定できない浅海の貝類の生息環境の復元に有効なプロキシとなりえるので、微細成長縞・成長線に沿って10 $\mu$ m間隔(朔望日輪幅約150 $\mu$ mの10倍以上の時間分解能)で分析を行なった。さらに、定期的にカガミガイの生息地から海水試料を採取し、その中に含まれる微量元素をLA-ICPMSで分析するとともに、海水の安定酸素同位体比を測定した。

#### C. 完新世貝類の微細成長縞と生物地球化学的分析

化石カガミガイ貝殻試料については、タンデロン加速器(東京大学工学系研究科)による<sup>14</sup>C年代の測定と海洋リザーバー効果補正を行った後、微細成長縞の解析を行ない、過去1万年間での年齢に伴う年間成長日数、朔望日輪成長量の年変動パターンなどの生活史形質の時代的な変遷を解析した。併せて、同位体地球化学・元素分析を行い、貝類の殻成長に関与した環境因子、とくに水温や夏期モンスーンの強度の時代的变化を解析した。

#### D. 分子生物学・生体鉱物学的研究

軟体動物の貝殻外層は、外套膜縁辺で石灰

化が進行する外層に良く保存されていて、光学顕微鏡下で明色を呈し幅広い成長縞と、暗色で幅の狭い成長線の繰り返しからなる。これらの構造要素の形成過程やメカニズムを明らかにするため、石灰化が進行中の貝殻縁辺部での抗体を使ったアコヤガイ貝殻中の有機物(特にタンパク質と多糖類)の分布、および結晶の超微細構造、組成および結晶学的方位などを調べて、それらと微細成長縞、成長線との関連性を明らかにすることを旨として、種々の分析、観察を行った。

#### 4. 研究成果

##### (1) 現生・化石二枚貝類の微細成長縞編年に関する研究

東京湾の潮間帯に生息する二枚貝類の中からムラサキガイとカガミガイを対象として、マーキング法を用いた個体の成長履歴と微細成長縞との比較から、微細成長縞と微細成長線2セットが朔望日ごとに形成されることを明らかにし、微細成長縞プロフィールに日付を挿入する手法を開発した。これにより、齢ごとの年間微細成長縞の付加パターンの解析から、成長開始時期、年間成長日数を特定することが可能となった。さらに、朔望日輪の成長に及ぼす環境要因や生殖サイクルとの関連を明らかにすることができた。

さらに、以上の現生種での解析結果を東京湾周辺から産する放射性炭素年代値がわかる完新世化石カガミガイに適用して微細成長縞の編年学的解析と貝殻酸素同位体比の解析を行ない、過去 8000 年間での日本列島の沿岸気候変動にตอบสนองしたカガミガイの生活史特性を明らかにした。

##### (2) 貝殻微細構造に関する研究成果

二枚貝アコヤガイ真珠層の構造を透過型電子顕微鏡等で詳細に観察し、その結晶核の発生や結晶成長の様子より、その形成機構に関する新しい知見を得た。またイワガキ幼生が形成する幼殻の構造についても同様に解析を行い、二枚貝幼殻に見られる初期アラゴナイト薄膜とその後の二重層の構造の詳細を透過電子顕微鏡で初めて観察することに成功した。

##### (3) 分子生物学的研究成果

カガミガイの貝殻から抽出した水溶性有機基質と不溶性有機基質のそれぞれに対する抗体を用いて、貝殻中におけるこれらの有機物の分布と成長線との関係を調べた。その結果、成長線の形成において有機基質が重要であることが確認された。

また、軟体動物のアコヤガイに近縁な翼形類 3種から酸性貝殻タンパク質アスペインの相同配列を得た。これらの配列の比較からアスペインの機能上重要な部位を推定した。また、アコヤガイを含む 4 種において、このタンパク質が遺伝子

重複で進化し、高い頻度でアミノ酸置換を繰り返してきたことを明らかにした。

#### (4) 貝殻の微量元素高分解能分析による生息環境プロキンの探索に関する成果

千葉県市原市の養老川河口干潟から採集されたアラゴナイト殻体を持つカガミガイの貝殻外層中の微量元素組成を朔望日輪に沿ってLA-ICP 質量分析計を用いて連続分析し、微量元素組成の日変動パターンを市原市沖の海洋モニタリングポストで自動測定された海洋環境の経時的データ、および定期的に採取された海水の元素組成変動データと比較した。その結果、Ba/Ca 比は海水の塩濃度が低下する日に増加する傾向が認められ、海水の塩濃度指標として利用できることが示唆された。

#### 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 20 件)

- ① Shimizu, K., I. Sarashina, H. Kagi, and K. Endo, Possible functions of Dpp in gastropod shell formation and shell coiling. *Development, Genes and Evolution* (in press). 査読有
- ② Tanabe, K., 2011: The feeding habits of ammonites. *Science*, 331, 37-38, 2011. 査読有
- ③ Nishizawa, A., I. Sarashina, Y. Tsujimoto, Y., M. Iijima, and K. Endo, Artificial fertilization, early development and chromosome number in the brachiopod *Lingula anatina*. *Special Papers in Palaeontology*, 84, 309-316, 2010. 査読有
- ④ Okaniwa, Y., T. Miyaji, T. Sasaki, and K. Tanabe, Shell growth and reproductive cycle of the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* in Tokyo Bay. *Plankton and Benthos Research*, 5(Supplement) 44-50, 2010. 査読有
- ⑤ Miyaji, T., K. Tanabe, Y. Matsushima, S. Sato, Y. Yokoyama, H. Matsuzaki, Response of daily and annual shell growth patterns of the intertidal bivalve *Phacosoma japonicum* to Holocene coastal climate change in Japan. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 286, 107-120, 2010. 査読有
- ⑥ Tada, Y., K. Fujikura, K. Oguri, H. Kitazato, and K. Tanabe, In situ fluorochrome calcein marking of deep-sea mollusks using a new growth chamber. *Aquatic Ecology*, 44, 217-222, 2010. 査読有
- ⑦ Kudo, M., J. Kameda, K. Saruwatari, N. Ozaki, K. Okano, H. Nagasawa and T. Kogure, Microtexture of larval shell of oyster, *Crassostrea nippona*: a FIB-TEM study. *Journal of Structural Biology*, 169, 1-5, 2010. 査読有

⑧ 遠藤一佳・更科 功, バイオミネラライゼーションの起源と進化. *遺伝*, 64, 23-28. 査読無

⑨ Suzuki, M., K. Saruwatari, T. Kogure, Y. Yamamoto, T. Nishimura, T. Kato, and H. Nagasawa, An Acidic Matrix Protein, Pif, is a key macromolecule for nacre formation. *Science*, 325, 1388-1390, 2009. 査読有

⑩ Ubukata, T., A. Kitamura, M. Hiramoto, and T. Kase, A 5000-year fossil record of larval shell morphology of submarine cave microshells. *Evolution*, 63, 295-300, 2009. 査読有

⑪ Saruwatari, K., T. Matsui, H. Mukai, H. Nagasawa, and T. Kogure, Nucleation and growth of aragonite crystals at the growth front of nacre in pearl oyster, *Pinctada fucata*. *Biomaterials*, 30, 3023-3024, 2009. 査読有

⑫ Takeuchi, T., I. Sarashina, M. Iijima, K. Endo, In vitro regulation of CaCO<sub>3</sub> crystal polymorphism by the highly acidic molluscan shell protein Aspein. *FEBS Letters*, 582, 591-596, 2008. 査読有

⑬ Shirai, K., N. Takahata, H. Yamamoto, T. Omata, T. Sasaki, and Y. Sano, Novel analytical approach to bivalve shell biogeochemistry: a case study of hydrothermal mussel shell. *Geochemical Journal*, 43, 413-420, 2008. 査読有

⑭ Sarashina S, Y. Kunitomo, M. Iijima M, S. Chiba and K. Endo, Preservation of the shell matrix protein Dermatopontin in 1500 year old land snail fossils from the Bonin islands. *Organic Geochemistry*, 39, 1742-1746, 2008. 査読有

⑮ Takeuchi T, I. Sarashina, M. Iijima and K. Endo, In vitro regulation of CaCO<sub>3</sub> crystal polymorphism by the highly acidic molluscan shell protein Aspein. *FEBS Letters*, 582, 591-596, 2008. 査読有

⑯ Gupta, N.S., D.E.G. Briggs, N.H. Landman, K. Tanabe and R.E. Summons, Molecular structure of organic components in cephalopods: evidence from oxidative cross linking in fossil marine invertebrates. *Organic Geochemistry*, 39, 1405-1414, 2008. 査読有

⑰ Katsuno, S. and T. Sasaki, Comparative histology of radula-supporting structures in Gastropoda. *Malacologia*, 50, 13-56, 2008. 査読有

⑱ Tanabe, K., C. Kulicki, and N.H. Landman, 2008: Development of the embryonic shell structure of Mesozoic ammonoids. *American Museum Novitates*, 3621, 1-19. 査読有

⑲宮地 鼓、棚部一成, 成長縞を用いた二枚貝の成長と環境情報の高時間精度復元, 月刊地球 号外, 59, 58-68, 2008. 査読無

⑳宮地 鼓・棚部一成, 二枚貝の貝殻成長縞に

残された高時間精度の生態情報. 遺伝, 62, 101-105, 2008. 査読無

[学会発表](計 10 件)

- ① 津田龍一、力石嘉人、高野淑識、小川奈々子、柏山祐一郎、大河内直彦、棚部一成、アミノ酸窒素同位体比に基づく深海生鞆形類トグロウイカの栄養段階. 日本古生物学会第 160 回例会、高知大学理学部、2011 年 1 月 29 日.
- ② 杉原奈央子、宮地 鼓、藤巻 亮、岡本 研、棚部一成、風呂田利夫、谷津干瀉における 2010 年夏季のアサリおよびホンビノスガイの殻を用いた成長速度算出と死亡時期推定について、日本プランクトン学会・日本ベントス学会合同大会、東京大学大気海洋研究所、2010 年 10 月 10 日.
- ③ Miyaji, T., K. Shirai, and K. Tanabe, Extraction of sea surface salinity proxy by means of high resolution minor trace element analysis in venerid bivalve shells. 2nd International Sclerochronology Conference, University of Mainz, Mainz, Germany, 2010 年 7 月 26 日.
- ④ Miyaji, T., K. Tanabe, Y. Matsushima, S. Sato, Y. Yokoyama, and H. Matsuzaki, Response of daily and annual shell growth patterns of a shallow marine bivalve to Holocene coastal climate change in Japan: a case study on *Phacosoma japonicum* (Veneridae). 2nd International Sclerochronology Conference, University of Mainz, Mainz, Germany, 2010 年 7 月 26 日.
- ⑤ 宮地 鼓、白井厚太郎、棚部一成、二枚貝殻中の微量元素組成高分解能分析による海水塩濃度指標の抽出. 日本地球化学会年会、広島大学理学部、2009 年 9 月 16 日
- ⑥ 更科 功、飯島 実、遠藤一佳、炭酸脱水酵素の進化から見た巻貝と二枚貝の貝殻形成メカニズムの起源. 日本古生物学会 2009 年年会、千葉大学理学部、2009 年 6 月 27 日
- ⑦ 更科 功、千葉 聡、遠藤一佳、軟体動物からの化石タンパク質の同定. 日本古生物学会 2009 年年会、千葉大学理学部、2009 年 6 月 27 日
- ⑧ Miyaji, T., K. Tanabe, and B.R. Schöne, Environmental controls on daily shell growth of *Phacosoma japonicum* (Bivalvia: Veneridae) from Japan. Korea-Japan Joint Symposium on Biology of Total Flat, Sunchoen City, Korea, 2009 年 6 月 22 日
- ⑨ Okaniwa, Y., T. Miyaji, T. Sasaki, and K. Tanabe, Shell growth and reproductive cycle of the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* in Tokyo Bay. Korea-Japan Joint Symposium on Biology of Total Flat, Sunchoen City, Korea, 2009 年 6 月 22 日
- ⑩ 宮地 鼓、棚部一成、佐藤慎一、松島義章、横山祐典、松崎浩之、微細成長縞クロ

ノロジーと酸素同位体比分析に基づく東京湾周辺における完新世沿岸気候変動に対するカガミガイの殻成長特性の応答. 日本古生物学会 158 回例会、琉球大学(沖縄市)、2009 年 1 月 31 日.

[図書](計 2 件)

- ① 佐々木 猛智、貝類学、東京大学出版会、2010、381pp.
- ② Tanabe, K., Y. Shigeta, T. Sasaki and H. Hirano (eds.), Cephalopods—Present and Past. Proceedings of the 7th International Symposium. Tokai University Press, Tokyo, 2010, 314pp.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

棚部 一成(TANABE KAZUSHIGE)  
東京大学・大学院理学系研究科・教授  
研究者番号: 20108640

### (2) 研究分担者

佐野 有司(SANO YUJI) (平成 20 年度)  
東京大学・大気海洋研究所・教授  
研究者番号: 50162524  
遠藤 一佳(ENDO KAZUYOSHI)  
東京大学・大学院理学系研究科・教授  
研究者番号: 80251411  
小暮 敏博(KOGURE TOSHIHIRO)  
東京大学・大学院理学系研究科・准教授  
研究者番号: 50282728  
佐々木 猛智(SASAKI TAKENORI)  
東京大学・総合研究博物館・准教授  
研究者番号: 70313195  
生形 貴男(UBUKATA TAKAO) (平成 20 年度)  
静岡大学・理学部・准教授  
研究者番号: 00293598  
白井 厚太郎(SHIRAI KOTARO) (平成 20 年度)  
東京大学・大気海洋研究所・機関研究員  
研究者番号: 70463908

### (3) 連携研究者

佐野 有司(SANO YUJI) (平成 21-22 年度)  
東京大学・大気海洋研究所・教授  
研究者番号: 50162524  
生形 貴男(UBUKATA TAKAO) (平成 21-22 年度)  
静岡大学・理学部・准教授  
研究者番号: 00293598