科学研究費助成事業

研究成果報告書



平成 26 年 6月 18 日現在

機関番号: 10101
研究種目:挑戦的萌芽研究
研究期間: 2012 ~ 2013
課題番号: 2 4 6 5 4 1 7 8
研究課題名(和文)造礁性サンゴ骨格の窒素同位体比を用いた貧栄養海域における新たな栄養塩指標の開発
研究課題名(英文)Development of new nutrient proxy in oligotrophic oceans using coral nitrogen isotop e
研究代表者
渡邊 剛(WATANABE, Tsuyoshi)
北海道大学・理学(系)研究科(研究院)・講師
研究者番号:80396283
交付決定額(研究期間全体): (直接経費) 2,900,000円、(間接経費) 870,000円

研究成果の概要(和文):本研究では貧栄養域である熱帯域において栄養塩の動態を評価・復元する直接的な指標を確 立するため、年輪を刻みながら成長する造礁性サンゴの骨格に微量に含まれる有機物の窒素同位体比に着目した。 これまで困難であった異なる栄養塩濃度で飼育された幼生骨格の分析を可能にし、サンゴ骨格の窒素同位体比の定量的 な指標の確立を目指した。本研究では、造礁性サンゴから採卵し受精させて得られた幼生サンゴの飼育技術を完成させ た。

研究成果の概要(英文): In this research we attempted to establish new nutrient proxy in oligotrophic ocea ns using stable nitrogen isotopes in organic materials of reef-building coral skeletons, which grow up to several hundreds years with annual bands.

Since the conventional approaches to use the adult skeleton have made the separation of the skeletal part where formed during experimental periods, we applied the primary coral polyp cultured in different nutrien t conditions in this research.

During the observation in experimental period, we observed distinct difference of calcification rate, skel etal structure among cultured samples in different conditions and between symbiotic and asymbiotic coral l arvae.

研究分野: 数物系科学

科研費の分科・細目:地球惑星科学・地球宇宙化学

キーワード: サンゴ骨格 幼サンゴ 窒素同位体比 栄養塩

1.研究開始当初の背景

熱帯・亜熱帯の海は全海洋の 75%以上を占 めるが、生物生産に不可欠な栄養塩か少なく、 栄養塩の観測に困難か伴う。サンゴ礁はこの ような貧栄養海域に広く分布し、豊かな生態 系を育んでいる。造礁性サンゴをはじめとす るサンゴ礁の生物は、貧栄養環境で何処から 栄養を取り入れているのか、サンゴ骨格の化 学分析から明らかにてきる可能性かある。研 究代表者らは日本周辺に生息する造礁性サ ンゴ骨格を熱帯から温帯にかけて収集し、そ の骨格に含まれる有機物の窒素同位体比を 分析したところ、低緯度から高緯度にかけて 窒素同位体比が上昇する傾向を発見した (Yamazakietal.,2011a,GRL)。全ての窒素化 合物はそれぞれ固有の窒素同位体比を持ち、 サンゴ骨格の窒素同位体比はサンゴが代謝 によって取り入れた窒素化合物に由来する と考えられる。

2.研究の目的

これまでの研究成果から、造礁性サンゴ 骨格の窒素同位体比はサンゴ礁の栄養塩 の濃度、 起源を示す指標になりうる。こ の指標を定量化することにより、造礁性 サンコ骨格を貧栄養海域における栄養塩 記録計として用いることか可能となる。 本研究では幼サンゴの飼育中に15N で 標識した窒素起源物質(溶存無機態窒素、 溶存有機態窒素)を、それぞれ濃度を変え て添加し、初期に形成した骨格の窒素同 位体比を測定する。それぞれの起源物質 がサンゴ骨格の窒素同位体比の値にとど のように反映されるか、また窒素起源物 質の濃度とサンゴ骨格の窒素同位体比の 関係式を導出し、古環境指標として確立 することを目的とした。

3.研究の方法

本研究では貧栄養域である熱帯域におい て栄養塩の動態を評価・復元する直接的な指 標を確立するため、年輪を刻みながら成長す る造礁性サンゴの骨格に微量に含まれる有 機物の窒素同位体比が海水の硝酸の濃度と 起源を記録していることに着目した。



図 1 海洋表層の年平均硝酸濃度とサンゴ礁 分布(緑色)。白い部分は硝酸濃度測定の検 出限界に近い(Yamazaki, etal.2011a)。

これまで困難であった異なる栄養塩濃度で 飼育された幼生骨格の分析を可能にし、サン ゴ骨格の窒素同位体比の定量的な指標の確 立を目指した。これまで造礁性サンゴ骨格の 様々な環境指標のキャリブレーションは大 型水槽を用いた成体サンゴの飼育によって 行われてきた。成体サンゴは天然から採取し た後、飼育環境に慣れ、天然と同じように骨 格を形成するまで3年ほどの期間を要すると 言われている。幼サンゴは大型水槽を必要と せず、閉鎖系で飼育するため添加物質の影響 をそのまま反映する。本研究では、琉球大学 瀬底研究施設において、造礁性サンゴから採 卵し、受精させて得られた幼生サンゴの飼育 技術を完成させた。飼育にはミドリイシ属サ ンゴを用いた。石灰化前のプラヌラ幼生に褐 虫藻を感染させたものとさせないものを用 意し、褐虫藻の有無による窒素代謝の違いを 明らかにすることが可能になった。トレーサ ーを幼生に与えるため、人工海水に窒素同位 体比既知の窒素化合物(粒状有機態窒素 (アミノ酸) 15N 硝酸 大気窒素ガス(何 も添加しない)を添加し、幼生を飼育するシ ャーレの中に満たした。飼育条件を変えたプ ラヌラ幼生が各シャーレの中で定着し初期 骨格を形成するまで二週間以上観察した。そ の際、ミドリイシ属には、これまでの研究で 有効性が確認されている変態誘因物質を用 いて定着石灰化を促した。その後、得られた 初期石灰化骨格の褐虫藻の有無による石灰 化量、骨格構造の違いを観察した。

4.研究成果

1年目には褐虫藻を持たない幼生サンゴ を飼育して石灰化の様子を観察し、飼育技術 の検討をおこなった。シャーレのサイズや大 量のサンゴが変態して、定着しやすい環境な どの条件を決定した。また、本研究では栄養 塩を添加するため、幼生にくっついてきたバ クテリアが増殖し、十分に石灰化期間を得ら れないまま幼生サンゴを死滅させてしまう ケースもあった。石灰化をはじめて1週間後 の幼生サンゴの石灰化量は約100ugであり、 サンゴ骨格の窒素同位体比分析には、骨格中 の窒素量が0.01%と微量なため、幼生サンゴ が1000匹以上必要であり、その全てをうま く骨格成長させるには、飼育実験の改良が必 要である。

2年目には、1年目の飼育条件に加えて、 プラヌラ幼生に褐虫藻を感染させたサンゴ を用いて飼育実験をおこなった。褐虫藻は産 卵した親サンゴのポリプから得た。親サンゴ のポリプをウォーターピックで骨格からは がし、ホモジェナイザーでつぶしたのちに、 遠心分離により褐虫藻とポリプ組織に分け、 フィルターで褐虫藻を回収した。褐虫藻をプ ラヌラ幼生に感染させるには 2.5×10⁶ 匹/ml の密度で褐虫藻を飼育水槽に入れる必要が あることがわかった。また感染するまでには 3~4日の時間を要し、感染を確認するため に1日2回の蛍光顕微鏡観察をおこなった。 また飼育水槽中の全ての幼生は褐虫藻に感 染するわけではなく、感染率は 20%ほどであ った。飼育実験の結果、200個体の褐虫藻に

感染した幼生サンゴを得た。50個体ずつを それぞれの窒素化合物を加えた飼育条件で 飼育し、石灰化骨格を得た。

よって、窒素同位体比分析は従来法では、分 析に必要な骨格量を得られなかったため、本 研究では微小な骨格の窒素同位体比分析に、 二次元高分解能二次イオン質量分析計 (NanoSIMS)を用いることを決定した。本分析 により窒素トレーサーが骨格に取り込まれ ているか、また骨格構造のどこに保存されて いるかが明らかとなり、サンゴ骨格の窒素同 位体比指標およびサンゴのバイオミネラリ ゼーションと栄養塩の関係に対して、新たな 知見を得られる事が期待される。本研究の分 析結果は 2014 年度の 6 月以降に明らかにな り、得られた成果は論文として国際誌に投稿 する。また微小量のサンゴ骨格で窒素同位体 比分析を行えるように、分析技術の改良も検 討中である。



図2 石灰化を開始した直後のサンゴ幼生

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3件) Inoue, M., Ishikawa, D., Miyaji, T., <u>Yamazaki, A.</u>, Suzuki, A., Yamano, H., Kawahata, H.,<u>Watanabe, T.</u>, Evaluation of Mn and Fe in coral skeletons (Porites spp.) as proxies for sediment loading and reconstruction of fifty

years of land use on Ishigaki Island, Japan, Coral Reefs, Vol.33, Issue 2 (2014). pp.363-373. 查読有 doi:10.1007/s00338-014-1128-3 Sowa K, Watanabe T, Kan H, Yamano H (2014) Influence of Land Development on Holocene Porites Coral Calcification at Nagura Bay, Ishigaki Island, Japan. PLoS ONE 9(2): e88790. 杳読有 doi:10.1371/journal.pone.0088790 Seo, I., Lee, Y.I., Watanabe, T., Yamano, H., Shimamura, M. Yoo, C.M. Hyeong, K. (2013) A skeletal Sr/Ca record preserved in Favia speciosa and implications for coral Sr/Ca thermometry in mid-latitude regions. Geochemistry Geophysics Geosystems, 查読有doi: 10.1002/ggge.20195 [学会発表](計4件) Kohki Sowa, Tsuyoshi Watanabe, Kentaro Tanaka, Jens Zinke, Malcolm McCulloch (2014) Perplexing effects of Porites coral calcification on annual interval trace elements and boron isotope in northern habitable limits of Japan, International Joint workshop on coral reef environmental sciences, earth Mar 25th-27th. Sapporo, Japan Watanabe T., Miyaji T., Yamazaki A., Inoue M., Sowa K. (2014) coral multiple proxy approach to evaluate the impact of coastal land use on reef environments and coral growth, Ocean Sciences Meeting 2014, Honolulu, USA, Feb. 25, Poster presentation Yamazaki, A., Watanabe, T., Tsunogai, U., Iwase, F., Yamano, H. (2013) A 150-year variation of Kuroshio transport detected by the nitrate 15N records in coral skeletons, Goldschmidt Conference, Florence, Italy, 28th August, Oral presentation <u>Watanabe, T.</u>, <u>Yamazaki,A.</u>, Kawamura, T., Jumpei, I., Nakamura, T., Sowa, K., Iwase, F., Nomura, K., Sugihara, K., Abe, O., Sakamoto, T., Murayama, M., and Yamano, H. (2013) High latitude coral records in Japan: Implication for climate changes and coral adaptation, 3rd International Sclerochronology Conference, 19th May 2013 Caernarfon, North Wales, UK, Poster presentation [図書](計 0 件)

〔産業財産権〕 出願状況(計 0 件)

名称: 発明者: 権利者: 種類: 番号: 出願年月日: 国内外の別: 取得状況(計 0 件) 名称: 発明者: 権利者: 種類: 番号: 取得年月日: 国内外の別: [その他] ホームページ等 6.研究組織 (1)研究代表者 渡邊 剛(WATANABE, Tsuyoshi) 北海道大学・大学院理学研究院・講師 研究者番号:80396283 (2)研究分担者 波利井 佐紀(HARII, Saki) 琉球大学・熱帯生物圏研究センター・准教 授 研究者番号: 30334535 (3)連携研究者 山崎 敦子 (YAMAZAKI, Atsuko)

東京大学・大気海洋研究所・研究院

研究者番号: 40723820