

令和 4 年 6 月 20 日現在

機関番号：82626

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K20448

研究課題名（和文）アミノ酸の窒素同位体比分析で解明する陸源有機物供給の沿岸生態系への重要性

研究課題名（英文）Determination of the role of terrestrial-supplied organic matter in coastal ecosystem based on amino acid nitrogen isotopic analysis

研究代表者

風呂田 郷史（Furota, Satoshi）

国立研究開発法人産業技術総合研究所・地質調査総合センター・研究員

研究者番号：30804778

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：干潟環境に生息する生物のバルクの有機炭素および窒素安定同位体比と、アミノ酸分子レベルの窒素安定同位体比を測定した。その結果は、干潟環境の生物が陸成有機物由来の有機炭素および有機窒素を直接的に一部の栄養源として利用していることを示した。このことは、陸域から供給される有機物が干潟環境の生態系とそのバイオマス維持に重要な役割をしていることを示唆している。本研究成果は、今後の沿岸生態系や水産資源の維持に重要な知見を提供するものである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果は、干潟環境の生態系とそのバイオマスの維持に陸源有機物が重要な役割をしていることを示した数少ない研究成果の1つである。沿岸域のバイオマスは大きく水産資源としても重要である。そのため、本研究成果は生態系の保全のみならず、水産資源の維持管理を行う上でも重要な知見となる。また、本研究はアミノ酸の窒素同位体分析を干潟の食物網解析に応用した初めての試みであり、今後の干潟生態系研究に新たな研究手法を示す成果でもある。

研究成果の概要（英文）：Bulk stable isotope ratios of organic carbon and nitrogen and compound specific nitrogen stable isotope ratios of amino acids were analyzed for organisms collected from a tidal flat environment. The results indicate that organisms in the tidal flat environment directly utilize organic carbon and nitrogen derived from terrestrial organic matter as a partial nutrient source. It suggests that terrestrial-supplied organic matter is important for the ecosystem and biomass of the tidal flat environment. The results of this study provide important insights for the future conservation of coastal ecosystems and fishery resources.

研究分野：有機地球化学

キーワード：有機地球化学 食物網解析 アミノ酸 炭素同位体比 窒素同位体比 干潟生態系

### 1. 研究開始当初の背景

海洋のバイオマスは一次生産量が大きい高緯度地域、赤道域、そして沿岸域などの限られた海域の生態系に集中しており、その生態系は藻類が合成する豊富な海成有機物によって支えられていると考えられている。これらの地域の中で、沿岸域は陸上で合成された有機物(陸成有機物)供給の恩恵にも与えられる得意的な海洋環境であるが、その重要性に対する評価は十分に行われていない。特に、海洋生物が陸成有機物を食物源としてどの程度利用しているかを高確度で評価する方法がないことが、この問題解決を難航させてきた。近年における分析技術の向上は、アミノ酸の安定同位体比を分子レベルで測定することを可能にした。一部のアミノ酸の窒素安定同位体比( $\delta^{15}\text{N}$ )は食物連鎖を通じた値の変化が極めて小さく、そのため、食物網解析において一次生産者の違いを高確度で評価する指標として利用できる。本研究では、アミノ酸の窒素安定同位体比分析を干潟生物に実施することで、沿岸生態系における陸成有機物供給の重要性をより詳細に評価することに挑戦した。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、巨大なバイオマスを誇る沿岸生態系が陸成有機物の供給によってどの程度支えられているかを高確度で評価することである。バルクの炭素安定同位体比( $\delta^{13}\text{C}$ )および $\delta^{15}\text{N}$ 分析を用いたこれまでの研究成果により、沿岸域に生息する貝類や多毛類などのデトリタス食者が陸成有機物を食物源として利用している可能性が示唆されている。そのため、デトリタス食者を通じた食物網が陸成有機物と海洋生物の橋渡しをしている可能性が高い。とりわけ、干潟環境にはデトリタス食者とその捕食者が数多く生息しており、陸成有機物の供給が生態系に与える影響が大きいと考えられる。本研究では、本来の干潟環境を維持している東京湾の盤洲干潟をモデル環境として設定し、そこに生息する二枚貝、多毛類、甲殻類、魚類のアミノ酸 $\delta^{15}\text{N}$ を実施する。それらの成果をとりまとめ、干潟生態系とバイオマス量に対する陸成有機物供給の重要性の解明に挑戦する。

### 3. 研究の方法

干潟生物が陸成有機物を食物源としてどの程度利用しているかを解明するために、東京湾の盤洲干潟から貝類、多毛類、甲殻類を採取した。採取した生物試料の(1)バルクの $\delta^{13}\text{C}$ 、(2)バルクの $\delta^{15}\text{N}$ 、(3)アミノ酸の $\delta^{15}\text{N}$ 分析を実施した。また、干潟環境における食物網を通じて陸成有機物が外洋の生態系へと伝搬する様子について検証を行うために、同一環境から小型魚類を採取し、上記の安定同位体比分析を実施した。

アミノ酸の安定窒素同位体比分析は、(1)生物試料の凍結乾燥、(2)タンパクの酸加水分解、(3)脱脂処理、(4)誘導体化処理、(5)ガスクロマトグラフィー/安定同位体比質量分析計(GC/IRMS)による分析、の順で実施した。なお、バルクの各種安定同位体比分析は元素分析/安定同位体比質量分析計(EA/IRMS)を用いて実施した。

### 4. 研究成果

#### (1)バルクの炭素および窒素安定同位体比分析に基づく食物網解析

バルクの $\delta^{13}\text{C}$ および $\delta^{15}\text{N}$ 分析の結果、干潟生物は主ごとに異なる食物源を利用していることを明瞭に示す結果が得られた(図1)。

生物試料の $\delta^{13}\text{C}$ 値は食物連鎖の栄養段階に伴う値の上昇が小さいことが知られている。そのため、生物試料間における $\delta^{13}\text{C}$ の差異は栄養源として利用した有機炭素の $\delta^{13}\text{C}$ 値の差を直接的に反映する。一般的に、高等植物は低い $\delta^{13}\text{C}$ 値を、藻類は高い $\delta^{13}\text{C}$ 値を示す。そのため、図1で見られる $\delta^{13}\text{C}$ の差異は盤洲干潟における食物網が藻類を起点とした食物網と、高等植物などの陸成有機物を起点とした食物網が交差して構成されていることを示唆する。一部の甲殻類は(例えば、甲殻類A)は明瞭に低い値を示し、高等植物に起因する陸成有機炭素を積極的に摂取していることが示唆される。一方で、高い $\delta^{13}\text{C}$ を示す甲殻類は藻類を起点とした食物網上に位置していると考えられる。多毛類の $\delta^{13}\text{C}$ は測定された値のおおよそ中間値に位置しており、陸成有機物と藻類起源の有機炭素と同等程度に利用している

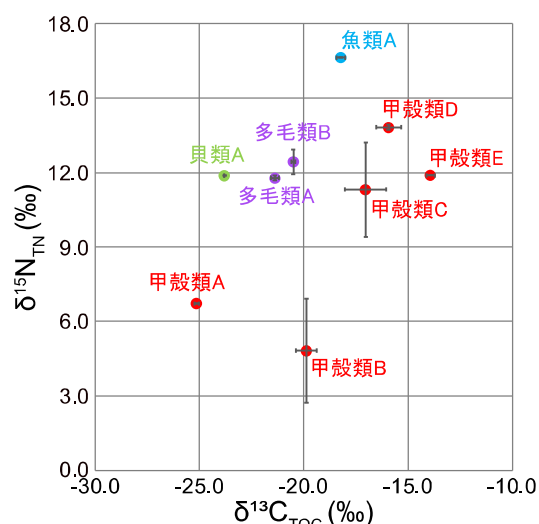


図1. EA/IRMSによるバルクの炭素および窒素安定同位体比の分析結果。 $\delta^{13}\text{C}_{\text{TOC}}$ の値は食物網における一次生産者の値を反映するのに対し、 $\delta^{15}\text{N}_{\text{TN}}$ は栄養段階に伴い値が上昇する。

おおよそ中間値に位置しており、陸成有機物と藻類起源の有機炭素と同等程度に利用している

可能性を示唆する。また、小型魚類についてもやや高い  $\delta^{13}\text{C}$  を示すことから、干潟生態系で利用されている陸成有機物の一部が魚類の食物網へと伝搬していることが推察される。

$\delta^{13}\text{C}$  の結果と同様に、 $\delta^{15}\text{N}$  においても干潟生物間で明瞭な値の差が測定された。しかしながら、 $\delta^{13}\text{C}$  値が栄養段階の増加に伴い変化しないことに対し、 $\delta^{15}\text{N}$  の値は生物の栄養段階に応じて段々と値が増加する (Minagawa and Wada, 1984)。そのため、測定されたバルクの  $\delta^{15}\text{N}$  から栄養源として利用された有機窒素の違いを考察するには、それぞれの栄養段階を正確に見積もる必要がある。

## (2) アミノ酸の窒素安定同位体比分析に基づく食物網解析

アミノ酸には食物網における栄養段階の増加に伴い  $^{15}\text{N}$  値が上昇する分子 (Trophic Amino Acid) と、ほとんど変化しない分子 (Source Amino Acid) が存在する (Chikaraishi et al., 2009, Ohkouchi et al., 2017)。Source Amino Acid に該当するフェニルアラニン (Phe) は生体内で合成することができない必須アミノ酸であり、生体内の Phe の起源は究極的には食物網における一次生産者に帰属する。すなわち、Phe の窒素安定同位体比 ( $^{15}\text{N}_{\text{Phe}}$ ) は分析対象とした生物が位置する食物網のアミノ酸一次生産者の違いを直接的に反映し、バルクの  $\delta^{15}\text{N}$  分析よりも高い確度で有機窒素源の違いを調査することを可能にする。

本研究で測定されたアミノ酸の  $\delta^{15}\text{N}$  値を図 2 に示す。横軸である  $\delta^{15}\text{N}_{\text{Phe}}$  は究極的な Phe の生産者の違いを反映すると考えられる。干潟生物の  $\delta^{15}\text{N}_{\text{Phe}}$  は 3.8–10.2% の幅広い値を示しており、干潟生物が所属する食物網のアミノ酸一次生産者の種類が多様であることを示す。特に、比較的低い  $\delta^{15}\text{N}_{\text{Phe}}$  を示した甲殻類 A はバルクの  $\delta^{13}\text{C}$  分析の結果から陸成有機炭素を積極的に利用していることが示唆されている。そのことを考慮すると、低い  $\delta^{15}\text{N}_{\text{Phe}}$  は高等植物起源のアミノ酸を利用したことに起因すると推察される。そのため、甲殻類 A、B は高等植物起源のアミノ酸を積極的に摂取しており、中間的な値を示す多毛類は高等植物を起源としたアミノ酸を一部摂取・利用している可能性があると考えられる。

現在、本研究成果は国際誌上での掲載に向けて準備中である (Furota et al., in prep.)。干潟生物が利用するアミノ酸の起源を  $\delta^{15}\text{N}$  分析から解明した研究は世界でも例がない。そのため、本研究結果は干潟生物が利用する窒素源の特定をこれまで以上に高確度で捉える先行例となり、干潟を含む沿岸域生態系の保全や水産資源の維持を考える上でも重要な知見を提供することになる。同時に、アミノ酸  $\delta^{15}\text{N}$  分析による食物網解析の有意性を示しており、今後の研究においてその利用が益々重要になると考えられる。

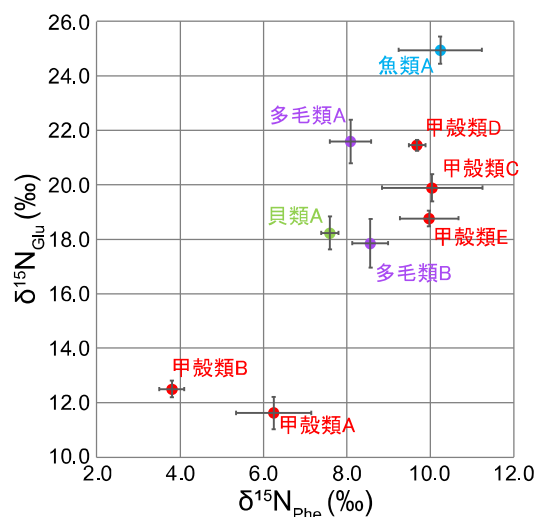


図2. GC/IRMSIによるアミノ酸の窒素安定同位体比分析結果。 $\delta^{15}\text{N}_{\text{Phe}}$  の値は、食物網における一次生産者の値を反映する。

## < 引用文献 >

- [1] Minagawa, M. and Wada, E. (1984) Stepwise enrichment of  $^{15}\text{N}$  along food chains: further evidences and the relation between  $^{15}\text{N}$  and animal age. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 48, 1135–1140.
- [2] Chikaraishi, Y., Ogawa, N.O., Kashiyama, Y., Takano, Y., Suga, H., Tomitani, A., Miyashita, H., Kitazato, H., and Ohkouchi, N. (2009) Determination of aquatic food-web structure based on compound-specific nitrogen isotopic composition of amino acids. *Limnology and Oceanography: Methods.*, 7, 740–750.
- [3] Ohkouchi, N., Chikaraishi, Y., Close, H.G., Fry, B., Larsen, T., Madigan, D.J., McCarthy, M.D., McMahon, K.W., Nagata, T., Naito, Y.I., Ogawa, N.O., Popp, B.N., Steffan, S., Takano, Y., Tayasu, I., Wyatt, A.S.J., Yamaguchi, Y.T., and Yokoyama Y. (2017) Advances in the application of amino acid nitrogen isotopic analysis in ecological and biogeochemical studies. *Organic Geochemistry*, 113, 150–174.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Furota Satoshi, Sawada Ken, Kawakami Gentaro	4. 巻 233
2. 論文標題 Depositional processes of plant fragment-concentrated sandstones in turbiditic sequences recorded by plant biomarkers (Miocene Kawabata Formation, Japan)	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Coal Geology	6. 最初と最後の頁 103643 ~ 103643
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.coal.2020.103643	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Satoshi Furota, Hideto Nakamura, Ken Sawada
2. 発表標題 Alkenediones and their unsaturation ratios in the Miocene to Pleistocene sediments from the northern Atlantic
3. 学会等名 29th International Meeting on Organic Geochemistry（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 風呂田郷史
2. 発表標題 堆積学と微生物学の融合で挑む地下生命圏炭素循環の理解の深化
3. 学会等名 第38回有機地球化学会(2021年札幌シンポジウム)（招待講演）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------