

令和 5 年 6 月 13 日現在

機関番号：11501

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K14601

研究課題名（和文）造礁サンゴの生体と骨格同時観察

研究課題名（英文）Observation the reef-building coral body and the skeleton at the same time

研究代表者

髙 聡子（Motai, Satoko）

山形大学・理学部・助教

研究者番号：70795228

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）：これまで技術的に難しかった造礁性サンゴが形成する骨格の形成場の観察を試みた。サンゴを海水ごと急速に凍結し、骨格形成場があるサンゴ生体部と骨格間が観察できるように削り出した。その断面を凍らせたまま走査型電子顕微鏡で観察した。その結果、骨格と生体内部構造を観察できた。実際の観察結果は生体内部構造の複雑さを示し、一般的に示される模式図と相違がみられた。もつ一つの方法として、常温で生体部を徐々に樹脂で置換し硬化させ、薄片を製作した。光学顕微鏡で生体と骨格の断面を同時に観察することができた。今後、樹脂硬化法をさらに発展させることで、凍結法で得られた観察結果の解釈が可能になると期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで骨格のみの化学的・鉱物学的観察、生体の観察や遺伝子の分析などの生物学的な研究と各々で行われてきたサンゴ骨格形成過程の議論が行われてきた。それは造礁性サンゴの生体と骨格を同時に観察する手法がなかったことが一つの要因であり、同時観察手法の模索は、両分野で総合的に骨格形成過程を検討する場の提供につながる。海洋環境の変動に造礁サンゴの骨格形成がどのように変化するかを検討する際に、多視点からの検討が可能になる。

研究成果の概要（英文）：We tried to observe the calcification space where reef-building corals form their skeletons. The observation of calcification space has been technically difficult. The living coral was rapidly frozen in seawater and cut for cross section to observe the site between the coral cells and skeleton. The cross section was observed with a scanning electron microscope (SEM) while still frozen. As a result, we were able to observe the skeleton and internal structure of the coral body. The SEM images showed the complexity of the internal structure of the coral body and they were different from the generally shown schematic diagrams. As another method, thin sections were made by gradually replacing the body part with resin at room temperature and hardening it. Observations of the cross section showed the coral body and the skeleton simultaneously under an optical microscope.

研究分野：鉱物学

キーワード：造礁性サンゴ カルシウム炭酸塩 硬組織 軟組織

1. 研究開始当初の背景

造礁性サンゴは熱帯・亜熱帯の浅海に生息する動物である。造礁性サンゴは外骨格を形成することで海水表層に向かって成長する。造礁性サンゴの外骨格は長い年数を経て積み重なることで、サンゴ礁と呼ばれる地形を形成する。近年、大気中の二酸化炭素の増加により海洋の酸性化が進んでおり、炭酸塩カルシウム (CaCO₃) である造礁性サンゴの骨格形成に影響があることが懸念されている。また外骨格に含まれる微量元素量や安定同位体比は骨格形成時の環境によって変化することが経験的に知られ (例えば、Sr/Ca 比は水温を反映する)、古環境復元のためのプロキシとして用いられている。古環境復元には、提唱されている理論式をサンゴ個体ごとにカスタマイズする必要があり、その理論式との差異はバイタルエフェクトと呼ばれている。バイタルエフェクトは、骨格が海水そのものから沈積せず、生体内の骨格形成場を充填する石灰化母液から沈積することが原因で生じる。よって石灰化母液の化学組成がプロキシの評価にとって重要となる。石灰化母液の直接観察・測定は、造礁性サンゴの骨格形成過程を明らかにするために、大きな手掛かりとなると考えられる。しかし、石灰化母液が液体であることや推測されている 1µm 以下といわれる大きさなどのために直接観察・測定は困難である。先行研究では、骨格のみの化学的・鉱物学的観察、生体の観察、遺伝子の分析とそれぞれの研究分野で独立して行われてきた。しかし、サンゴの石灰化は海水 生体 骨格すべてに関係があり、分野を横断した研究が望ましいと考えられる。総合的な造礁性サンゴ骨格形成過程の解明を行うために、両分野で意見を出し合える生体 骨格をつなぐ石灰化場・母液の実体を明らかにすることが必要である。

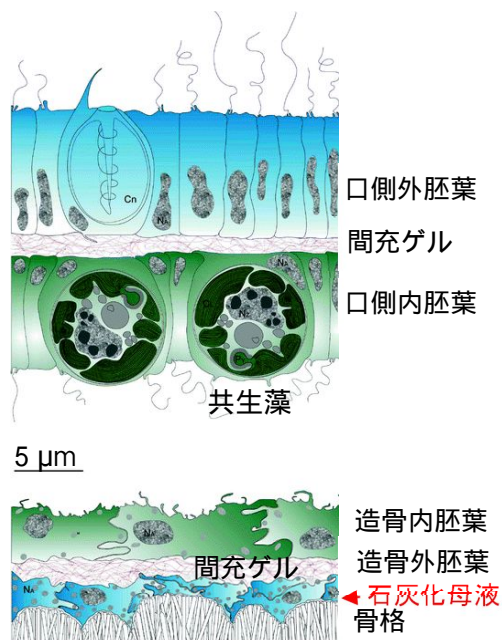


図1 サンゴ生体 骨格断面模式図

Allemand et al., 2011 より改変
石灰化母液は造骨外胚葉と骨格間にあるされる。

2. 研究の目的

これまでの先行研究では、造礁性サンゴの観察は骨格を脱灰した生体部のみの観察や、生体部である有機物を排除しての骨格のみの観察が行われてきた。本研究では、造礁性サンゴ生体部と骨格の境界にあるとされる骨格形成場の観察を目指し、骨格と生体両者を同時に観察するための方法の確立を目的とした。

3. 研究の方法

造礁性サンゴ生体部と骨格の同時観察を目指し、「高圧凍結」法と生体部の樹脂置換法を用いた「薄片」製作法を手法として確立する。試料は飼育実験によって得られた造礁性サンゴ稚ポリブを用いる。稚ポリブは親を同じくするサンゴの卵から育てることで得られるので、生体の個体差を最小限に抑えられる。新規手法であるため、特に軟らかい生体部が十分に保持されているかの検討をして手法を確立できたか検証する。検証は、先行研究で報告されている透過電子顕微鏡 (TEM) による観察像と薄片とクライオ走査電子顕微鏡 (SEM) から得られた像を比較することで、生体構造の保持ができていないか判断する。

4. 研究成果

高圧凍結法を用い、クライオ SEM でサンゴ稚ポリブの断面図を観察した結果を図 2 に示す。骨格はもちろんのこと生体部もよく保存されており、生体と骨格の同時観察ができ、生体内部にも組織の違いが確認できた。しかし、生体内部に見られる組織は先行研究から提唱される生体内部の模式図 (図 1) とは異なる様相を示した。具体的には模式的には造骨細胞、口側細胞は 2 層あるはずであるが、クライオ SEM では 2 層あることが部分的に確認されることもあるが、明瞭ではない。また間充ゲルと思われる組織が、模式的に間充ゲルがあるとされる部分に見られないことがある。図 2 (d) では骨格と生体部間に細胞質ではないテクスチャが確認でき、この部分が石灰化場の可能性があるものの、間充ゲルの可能性も否定できないという結果になった。

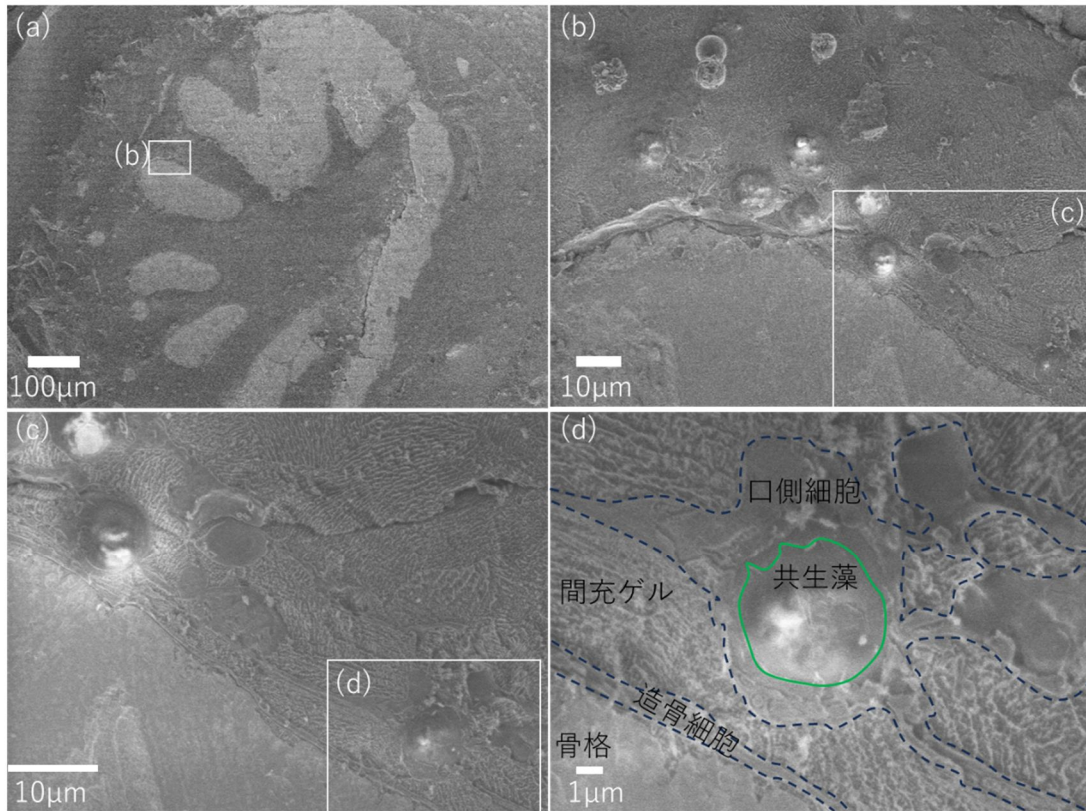


図2 稚ポリプ断面のクライオ SEM 像

常温で造礁性サンゴ生体部の樹脂置換法を用い、光学顕微鏡で観察した結果を図 3 に示す。骨格及び生体部分を保存しての観察が行えた。生体内部では造礁サンゴと共生している褐虫藻(共生藻)の位置は判別できるものの、生体内部構造を区別することはできない。また、稚ポリプ飼育時にカルシウムイオンつく蛍光マーカーを海水に添加した稚ポリプを、樹脂置換法で製作した薄片にて観察したが、カルシウムイオンの挙動を追うことは現時点ではできていない。今後、蛍光マーカーを添加の条件を検討する必要がある。



図3 光学顕微鏡像

サンゴ稚ポリプ断面図。茶色い丸は共生藻。

クライオ SEM で観察された生体内部構造は造礁性サンゴ生存時の状況を最も保存していると考えられる。そのため、明確に内部構造を把握することが重要である。今回確立した樹脂置換法で生体部を保存したまま TEM 用に切片を作製し、生体内部構造が観察可能な TEM を用いて生体内部情報を観察し、クライオ SEM の観察結果と比較検討していくことが今後の骨格形成場をとらえるうえでの課題である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 梶聡子, 波利井佐紀, 富岡尚敬, 伊藤元雄
2. 発表標題 人工飼育サンゴ骨格のカルサイト-アラゴナイト境界の組織観察
3. 学会等名 日本鉱物科学会
4. 発表年 2022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
---------	---------