

# アミノ酸窒素安定同位体比を用いた造礁サンゴの窒素源の解明

2011 年 3 月 自然環境学専攻 096627 藤井堯典  
指導教員 准教授 小川浩史

キーワード：造礁サンゴ、窒素源、共生関係、アミノ酸窒素安定同位体比、富栄養化  
1. はじめに

熱帯・亜熱帯海域に存在するサンゴ礁は、貧栄養環境にも関わらず最も多様性と生産性が高い生態系をもつ海域の一つである。その豊かな生態系を支えている主役が造礁サンゴである。サンゴが利用できる窒素源としては、動物プランクトンや DIN(溶存態無機窒素)、シアノバクテリアによる窒素固定由来の窒素などが知られているが、どの窒素源が最も重要で、またその生息環境による違いについては未だ良くわかっていない。また造礁サンゴが細胞内に共生させている褐虫藻もサンゴ礁生態系の重要な生産者であるが、宿主サンゴと共生藻の間の物質循環は複雑なため詳細は不明である。

アミノ酸窒素安定同位体比( $\delta^{15}\text{N}_{\text{AA}}$ )は、従来生態学の分野で広く用いられてきた全窒素安定同位体比分析( $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$ )の欠点を補う新しい解析手法である。この方法は対象生物に対する分析のみで栄養段階を正確に推定できるなど多くの利点を持ち、近年急速に研究が進められている。

本研究は、この新しい解析手法を造礁サンゴに適用し、サンゴの主要な窒素源や共生藻との間の物質の動態を明らかにすることを目的とした。また近年サンゴ礁生態系の破壊が大きな問題となっており、その観点から特に富栄養化とサンゴの窒素源の変化の関連性を調べることにより、富栄養化がサンゴの生態に与える影響も検証した。

## 2. 試料および方法

### 【2-1. 調査地および採取サンゴ】

現地調査は、沖縄県石垣島周辺で 2009 年~2010 年の間に計 5 回行われた。採取したサンゴは *Acropora pulchra* (オトメミドリイシ) や *Porites lutea* (コブハマサンゴ) など 8 種である。採取地点は白保礁池内の 5 地点をはじめ河川水の影響がある轟川河口周辺、下水の流入によって富栄養化が進んでいる大浜海岸など 12 地点を設けた。

### 【2-2. アミノ酸窒素安定同位体比分析】

生物体の主要構成成分であるアミノ酸は約 20 種類が知られているが、捕食の際に  $^{15}\text{N}$  濃縮を示すもの(グルタミン酸;Glu など)と示さないもの(フェニルアラニン;Phe など)があり、この異なる性質を利用し対象生物の栄養段階(TL)を推定する方法である。式(1)は対象生物の Glu と Phe の  $\delta^{15}\text{N}$  を用いた TL の推定式である(Chikaraishi et al., 2009)。

$$\text{TL}_{\text{Glu/Phe}} = (\delta^{15}\text{N}_{\text{Glu}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{Phe}} - 3.4) / 7.6 + 1 \quad \dots \text{式(1)}$$

## 3. 結果および考察

### 【3-1. サンゴ組織と褐虫藻の共生関係】

採取した造礁サンゴ(n=147)のサンゴ組織の  $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$  は下水や河川水流入の影響などの

生息環境の違いから大きな変動を示したが（1.6~8.2‰）、同じサンゴ片から分離した共生藻との間には有意な近似関係が見られた( $r^2=0.82$ ,  $p<0.0001$  : Fig.1)。また両者の  $\delta^{15}\text{N}_{\text{AA}}$  を測定した結果、非常に類似した  $\delta^{15}\text{N}_{\text{AA}}$  パターンを示した。これらのことから、両者の窒素源に大きな違いはなく、緊密な窒素のやりとりが行われていることが示唆された。またサンゴの TL は動物プランクトンを捕食に際しのみ上昇するが、式(1)を用いて各地点のサンゴの両者の TL を推定した結果、共生藻の TL はサンゴ組織の TL と共に変化した (Fig.2)。したがって、サンゴが捕食した動物プランクトン由来の窒素は完全に代謝される前にも共生藻に移行していると考えられ、サンゴ体内には従来考えられてきた DIN プールのほかに、アミノ酸プールも存在している可能性が示唆された。

### 【3-2. 生息環境の違いによる造礁サンゴの窒素源の変化】

環境の異なる 3 地点（白保 P1・轟川河口周辺・大浜海岸）で採取した *P. lutea* の  $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$  と  $\delta^{15}\text{N}_{\text{AA}}$  を測定した結果、陸起源の栄養塩の流入により DIN 濃度が高い環境に生息するサンゴほど高い同位体比を持つことが示された (Fig.3)。また捕食によってもほとんど  $^{15}\text{N}$  濃縮を示さず餌の同位体比を反映する  $\delta^{15}\text{N}_{\text{Phe}}$  も他のアミノ酸と同様に高くなっていた。これは富栄養化した海域に生息するサンゴは陸起源の高い  $\delta^{15}\text{N}$  を持つ DIN を利用してアミノ酸を合成していることを示している。一方各地点の TL は DIN の増加とともに高くなっており（1.4→1.5→1.7）、富栄養化が進むにつれてサンゴの窒素源に対する動物プランクトンの捕食の依存度が増加することが確認された（依存度：20%→25%→35%）。これは、DIN の増加が植物プランクトンの増殖を招き、さらにそれを餌とする動物プランクトンも増殖することで、サンゴの捕食量が増加したためと考えられる。

以上の結果から、サンゴの窒素源に対する動物プランクトンの捕食や DIN、窒素固定による依存度は生息環境によって異なり、それは主に環境中の栄養塩濃度によって規定されることが示唆された。

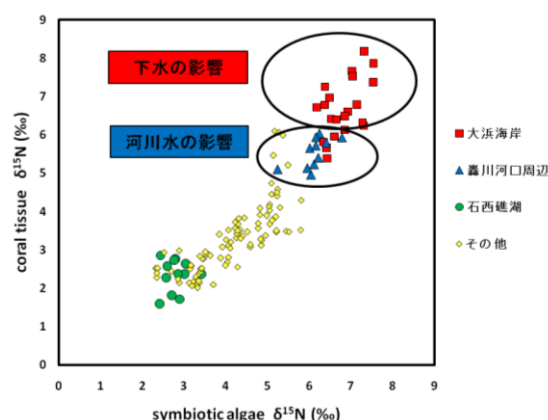


Fig.1 サンゴ組織と共生藻の  $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$  の近似関係および地点間変動

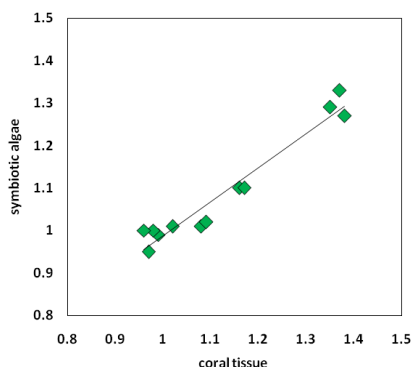


Fig.2 サンゴ組織と共生藻の栄養段階の相関関係

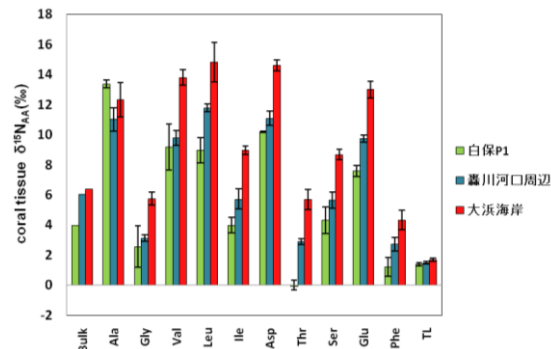


Fig.3 *P. lutea* のサンゴ組織の  $\delta^{15}\text{N}_{\text{AA}}$  の地点間変動

## 4. 参考文献

Chikaraishi et al. (2009). *Limnol. Oceanogr.: Methods* 7, 740-750

# Determination of nitrogen sources for scleractinian corals by compound-specific nitrogen isotope ratios of amino acids

Mar. 2011, Department of Nature Environmental Studies, 096627, Takanori Fujii  
Supervisor; Associate Professor, Hiroshi Ogawa

Key words; scleractinian corals, nitrogen sources, symbiotic relationship, compound-specific nitrogen isotope ratios of amino acids, eutrophication

## 1. Introduction

Coral reef is one of the most diverse and productive systems in the ocean. Scleractinian corals play a principal role to support this rich ecosystem. Although the nitrogen (N) sources of corals are zooplankton, DIN (Dissolved Inorganic Matter), and N fixed by cyanobacteria, it has not been understood clearly which nitrogen source is the most important for corals. Symbiotic algae in coral tissues are important primary producers in reef ecosystem, but it also remains unknown what mechanism of the material cycle exists between host corals and their symbiotic algae.

To investigate the trophic levels in the ecosystem, the compound-specific nitrogen isotopic ratio ( $\delta^{15}\text{N}_{\text{AA}}$ ) of amino acids is useful, which improves the conventional method by using the isotope analysis of bulk organic materials ( $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$ ). This new method is spreading rapidly owing to a lot of advantages, for example, the trophic levels can be estimated based on amino acids from a single organism.

The aim of this study is to clarify main nitrogen source for corals and the materials transport between host corals and their symbiotic algae. Moreover, this study dealt with the influence of eutrophication on the reef ecosystem from the background of the damage of coral reef in recent years.

## 2. Materials and Methods

### *2-1. Study sites and collected corals*

This study was performed using 8 coral species (ex, *Acropora pulchra*, *Porites lutea*) which were collected at around Ishigaki Island in Okinawa (May 2009~Sep. 2010). Shiraho-Reef, around the mouth of Todoroki river (river stress), and Ohama reef (sewage stress) are selected as study sites.

### *2-2. Analysis of compound-specific nitrogen isotope ratios of amino acids*

Amino acids (ca.20 kinds of compounds) are main nitrogen components of organism. Some amino acids (ex. Glu) are enriched in  $^{15}\text{N}$  as a result of isotopic fractionation during metabolism, whereas other amino acids (Phe, Met) show little change in their values. This method can identify the trophic levels (TL) of organism by using these different properties. The trophic level is estimated based on the  $\delta^{15}\text{N}$  of Glu ( $\delta^{15}\text{N}_{\text{Glu}}$ ) and Phe ( $\delta^{15}\text{N}_{\text{Phe}}$ ) in Eq.1.

$$\text{TL}_{\text{Glu/Phe}} = (\delta^{15}\text{N}_{\text{Glu}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{Phe}} - 3.4) / 7.6 + 1 \quad (1)$$

### 3. Result and Discussion

#### 3-1. Symbiotic system between host coral and symbiotic algae (zooxanthella)

The  $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$  of collected coral tissue (n=147) showed 1.6~8.2‰. Coral tissues and their symbiotic algae showed similar  $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$  to each other ( $r^2=0.82$ ,  $p<0.0001$ ; Fig.1). They also showed similar  $\delta^{15}\text{N}_{\text{AA}}$  variation pattern. It suggests that coral tissues and symbiotic algae have the same nitrogen sources and share their nitrogen to each other. In general, the TL of corals increase only by preying zooplankton. However, the TL of symbiotic algae showed similar values of coral tissues (Fig.2), suggesting that the nitrogen of the zooplankton which corals preyed has shifted to symbiotic algae before it is completely metabolized, and also that coral had “amino acids pool” as DIN pool.

#### 3-2. Change of nitrogen sources of scleractinian corals by the difference of site environments.

*P. lutea* collected at sites where high DIN concentrations were observed by the anthropogenic loading had higher  $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$  and  $\delta^{15}\text{N}_{\text{AA}}$  than coral collected at Shiraho Reef of low DIN (Fig.3). The  $\delta^{15}\text{N}_{\text{Phe}}$  which is hardly shown  $^{15}\text{N}$  enrichment with each trophic level and inherently reflects the  $\delta^{15}\text{N}$  of the primary producers also increased as well as other amino acids. This demonstrates that corals in eutrophication sites synthesize amino acids by utilizing DIN with high  $\delta^{15}\text{N}$ . On the other hand, the TL of coral tissues in each sites rose with increasing DIN concentration (1.4→1.5→1.7). Consequently, it was estimated that the dependency on preying zooplankton increased as eutrophication advanced (20%→25%→35%).

This may be because that DIN loading caused the increase of zooplankton following the increase of phytoplankton which is a food of zooplankton.

In conclusion, the nitrogen sources of corals could change by differences of environments, and it is controlled mainly by nutrient concentration.

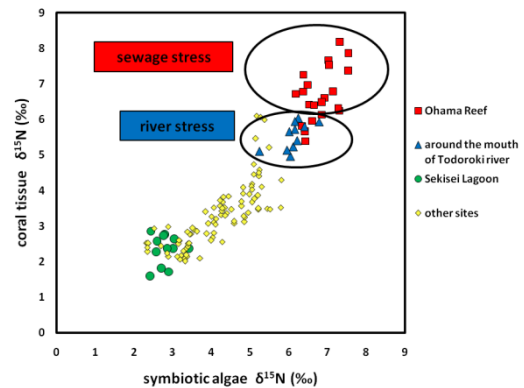


Fig.1  $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$  of coral tissues and symbiotic algae in Ishigaki Island

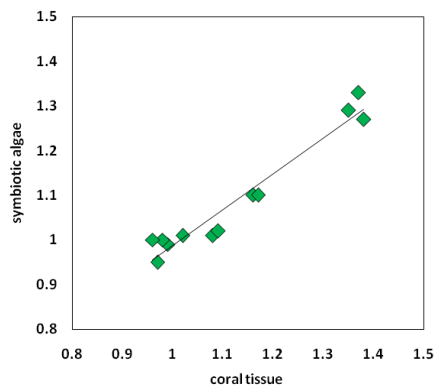


Fig.2 Trophic levels of coral tissues and symbiotic algae

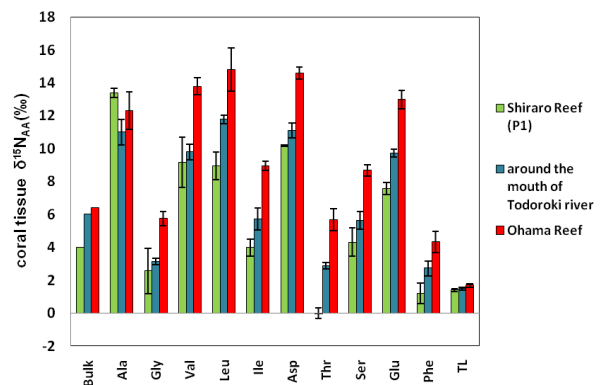


Fig.3 Comparison of  $\delta^{15}\text{N}_{\text{AA}}$  of *P. lutea* among 3 sites

### 4. Reference

Chikaraishi et al. (2009). *Limnol. Oceanogr.: Methods* 7, 740-750