

令和 3 年 6 月 4 日現在

機関番号：12501

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K14507

研究課題名(和文) 海洋プランクトンの進化・多様化を「光共生」から考える - 浮遊性有孔虫による検証 -

研究課題名(英文) Considering the evolution and diversification of marine plankton from "photosymbiosis" -Verification by planktonic foraminifera-

研究代表者

高木 悠花 (TAKAGI, Haruka)

千葉大学・大学院理学研究院・助教

研究者番号：10785281

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)：海洋の動物プランクトンである浮遊性有孔虫の光共生性(藻類との細胞内共生)について、現生種30種について調査し、従来知られていなかった共生関係の発見に加え、浮遊性有孔虫全体における光共生の概念図を提示した。また、パートナーである共生藻の種類について遺伝子解析を用いて同定を行い、7種の共生藻を確認したほか、共生関係には強固な特異性があることを見出した。得られた結果を浮遊性有孔虫の系統関係に照らし合わせた結果、共生関係は有孔虫の進化の過程で独立に何度も獲得されていることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

海洋の動物プランクトンにとって、光共生(藻類との細胞内共生)は、貧栄養海域で生存していくために適応的な戦略である。本研究では、浮遊性有孔虫という単細胞動物プランクトンの光共生生態に着眼し、どれほどの種が、どんな共生藻を、どれくらい持ち、どれほど活発に光合成を行っているかを、徹底的に調べ上げた。本研究により、新規の光共生関係を多数見出したほか、進化の過程で光共生が独立に何度も獲得されてきたことが示唆され、光共生がプランクトンの多様化に貢献してきたことが示された。こうしたプランクトンの生態に関する知見は、地球環境変動に海洋生物がどのように応答するかを予測する際の基礎的な情報を提供してくれている。

研究成果の概要(英文)：Photosymbiosis of planktonic foraminifera were investigated using active chlorophyll fluorometry and 18S rDNA analysis. Based on the various features related on photosymbiosis (symbiont possession rate, chlorophyll content, Fv/Fm and correlation coefficient of size-Chl relationship), a new conceptual diagram of photosymbiosis has been proposed. Seven taxa were identified as symbionts. The phylogenetic analysis of modern planktonic foraminifera showed that photosymbiosis has been established multiple times in different clades in the course of their evolutionary history.

研究分野：プランクトン生態学

キーワード：浮遊性有孔虫 光共生 多様化 進化 18S rDNA

1. 研究開始当初の背景

海洋のプランクトンは、絶えず変動する環境の中で、捕食、被食、共生など、様々な生物間の相互作用の中で生きている。その中でも細胞内部の共生は、異なる種間における最も緊密な関係であり、海洋生物の進化を理解する上で重要な現象である。動物プランクトンにおいて、光合成藻類を細胞内に共生させるという「光共生」は、貧栄養な外洋域での重要な適応戦略のひとつである。これまで応募者は、海洋表層に広く分布する単細胞性の動物プランクトンである浮遊性有孔虫をモデルとし、飼育実験を通じてこの生態の理解に取り組んでおり、一部の種では光共生の栄養機能や特徴的な生活史などを明らかにしてきた。しかし、浮遊性有孔虫は継代培養ができないうえ、ほとんどの種で個体の飼育すら困難であるという制約があり、現生種全体（約 50 種）の中で、どの種が光共生しているかという基本的な情報を欠いている状況にある。また世界では、メタゲノムを用いた全球の海洋プランクトンの多様性の研究により、貧栄養海域での光共生プランクトンの重要性に注目が集まっているが (de Vargas et al., 2015)、各分類群に付与されている「光共生か否か」という生態情報は、依然として既報の限られた知見を当てはめるに留まっており、光共生そのものの検討は行われていない。すなわち、どの種が光共生するかという把握自体が進んでいない現況を考慮すると、光共生プランクトンの量を、最新の研究においても未だに過小評価している可能性が高い。したがって、外洋域における重要な生態である光共生の実態や進化を理解するためには、まず個体レベルでの光共生の証拠を捉え、生態情報を系統関係の中に正しく位置付けることが重要である。

2. 研究の目的

本研究では、海洋の単細胞性動物プランクトン、浮遊性有孔虫における光共生の進化的意義を理解すべく、(1) どれほどの種が (普及度)、(2) 何を (パートナーシップ)、(3) どのように共生させているか (生理特性) を明らかにすることを旨とする。具体的には、

- (1) 浮遊性有孔虫種の光共生の有無を種ごとに検証し、光共生の普及度を明らかにする
- (2) 共生藻の 18S rRNA 遺伝子解析から、光共生パートナーシップを明らかにする
- (3) アクティブ蛍光法による解析で、光共生体の光合成の生理特性を明らかにする

ことを目的とする。これらの達成により、浮遊性有孔虫の光共生という戦略が、系統関係の中でどのように進化してきたかを議論する。

3. 研究の方法

(1) 浮遊性有孔虫種の光共生の有無を種ごとに検証し、光共生の普及度を明らかにする

浮遊性有孔虫の現生種は約 50 種知られるが、共生/非共生が検証されたものは半数にも満たない (Hemleben et al., 1989)。また、顕微鏡観察から有孔虫の細胞内に藻類を確認した過去の研究例では、有孔虫体内で実際に光合成機能があるのか判別できていなかった (Gast & Caron, 2001)。本課題では、共生活動の証拠 (光合成) を検出できるアクティブ蛍光法を用いることで従来の光共生識別の困難さを克服し、あらゆる有孔虫種で光共生の有無を明確にする。これにより、光共生の普及度 (有孔虫全体において光共生がどれほどの種で見られるか) を明らかにする。

(2) 共生藻の 18S rRNA 遺伝子解析から、光共生パートナーシップを明らかにする

浮遊性有孔虫の光共生では、何が共生しているかという基礎情報すら不十分である。本課題では、(1)で光共生が特定された浮遊性有孔虫から、18S rRNA 遺伝子を抽出し、細胞内の藻類を特定することで、個体レベルでの共生の物的証拠を得る。得られた情報を宿主有孔虫の系統樹上で

照らし合わせることで、有孔虫の進化の中で、どのような種類の共生藻がどの系統で獲得されてきたかを議論する。

(3) アクティブ蛍光法による解析で、光共生体の光合成の生理特性を明らかにする

共生藻の細胞内での生理状態、すなわち光合成の生理状態は、共生関係の健康状態を指標すると想定される。したがってその特性把握は、宿主-共生藻の関係性の理解を深化させる。本課題では、高速フラッシュ励起蛍光法というアクティブ蛍光法の一つを用い、共生藻の光合成活性と光の吸収効率を解析し、光共生の光合成生理特性を明らかにする。

4. 研究成果

(1) 浮遊性有孔虫種の光共生の有無を種ごとに検証し、光共生の普及度を明らかにする

本課題では、研究航海を利用して採取した浮遊性有孔虫 30 種 (図 1) について、クロロフィルのアクティブ蛍光の検出可否から、共生藻の有無を識別した。その結果、19 種について良好な光合成活性が確認され、細胞内で藻類が活発に光合成している (すなわち生きた状態で存在し、共生関係にある) ということが確認された (図 2)。

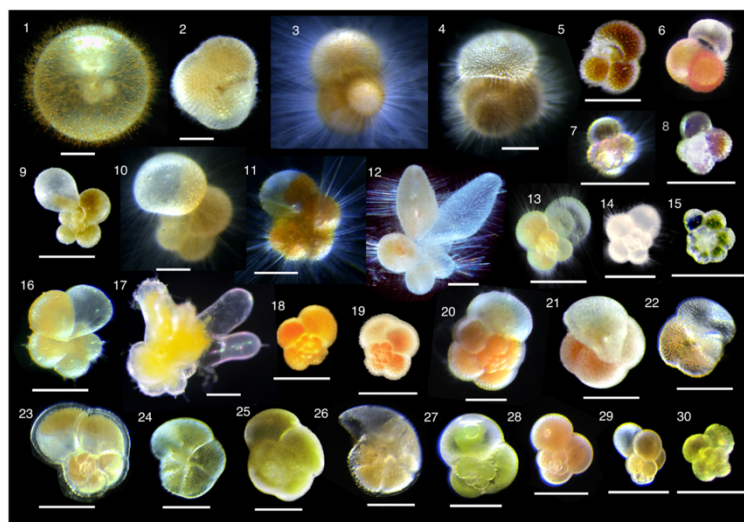


図 1. 本研究で用いた浮遊性有孔虫 30 種 (Takagi et al., 2019). 浮遊性有孔虫の主要なグループを網羅する 4 科 30 種について検討した。このうち 19 種で共生藻の存在が確認され、かつ 16 種では、クロロフィル濃度が個体のサイズと正の相関関係にあり、宿主有孔虫の一生を通じて恒常的な共生関係を築いていることが示唆された。

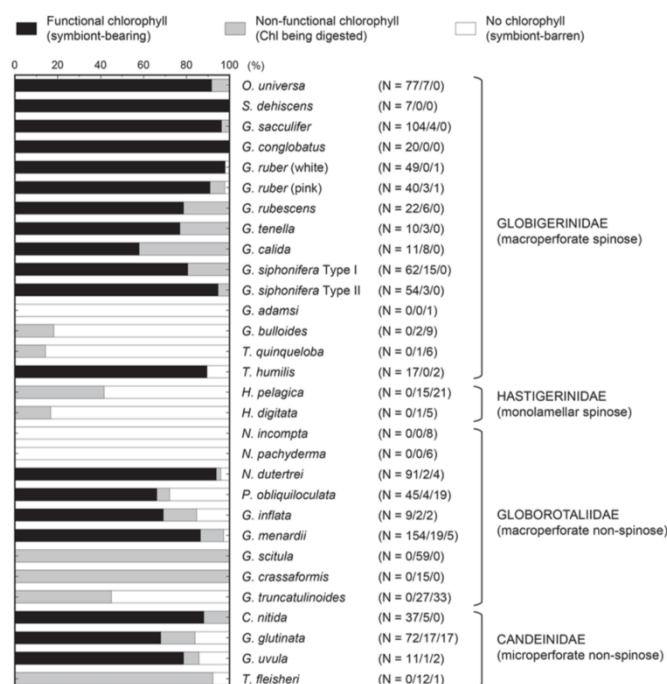


図 2. 細胞内のクロロフィルの状態から、共生、非共生、消化状態 (餌の検出) の 3 区分を識別 (Takagi et al., 2019). 浮遊性有孔虫の個体ごとにクロロフィルの状態を識別し、種ごとにまとめた結果。クロロフィルが検出されるが、光合成活性を示さないものは、餌として取り込んだ藻類を消化している過程を捉えていると判断した。比較的深い生息深度の種で、餌としての藻類が検出されている。共生状態の個体が検出されている 19 種では、共生個体の割合はすべて 60%以上であった。

(2) 共生藻の 18SrRNA 遺伝子解析から、光共生パートナーシップを明らかにする

本課題では、浮遊性有孔虫 1 個体ごとに、真核生物ユニバーサルなプライマーを用い、18S rDNA の V9 領域を網羅的に解析し、細胞内に存在する全ての生物を明らかにするという手法で、共生藻の検出を試みた。その結果、7 種の藻類について、共生藻と認定できることが明らかとなった。また、判明した共生藻の種類を、浮遊性有孔虫の系統樹に照らし合わせ、いつどのような共生藻を、どのクレードで獲得しているかを明らかにした。本成果については、現在論文を執筆中であり、まもなく投稿できる予定である。

(3) アクティブ蛍光法による解析で、光共生体の光合成の生理特性を明らかにする

本課題では、アクティブ蛍光法により取得した光合成生理パラメータを評価した。光合成活性を示す F_v/F_m では、恒常的な共生関係を示す 16 種については良好な活性が確認されているものの、残りの 3 種についてはやや低い値を示す結果となった (図 3a)。一方で、光の吸収効率を示す σ_{PSII} では、共生藻の種類ごとに明瞭な違いが見られ、ペラゴ藻を共生させる種が、渦鞭毛藻を共生させる種よりも有意に高い値 (高い光の吸収効率) を示すことが明らかとなった (図 3b)。

これは、宿主有孔虫種の一般的な生息深度とも調和的であり、共生藻の種類が、宿主の生息範囲に制約を与えている可能性が示唆された。また、本課題と課題(1)の結果を総合し、多変量解析を用いて、光共生の強度を示す新規パラメータを提示することに成功した (図 4)。

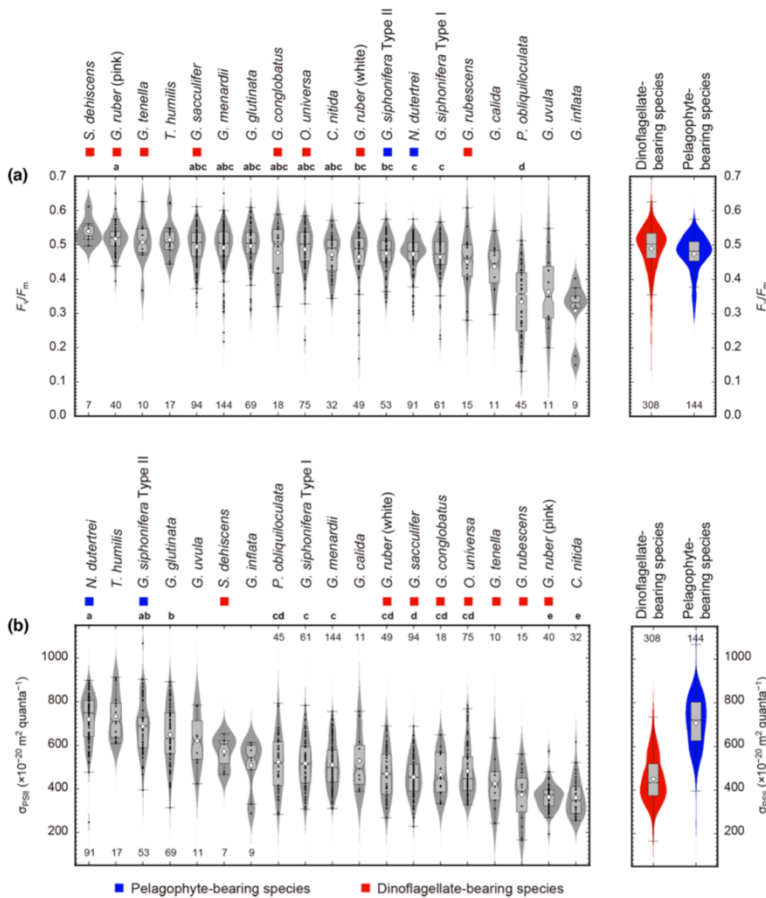


図 3. 光合成生理パラメータの種ごとの比較。a. 光合成活性 F_v/F_m , b. 光の吸収効率 σ_{PSII} (Takagi et al., 2019). 共生が確認された 19 種について示している。共生藻の種類が渦鞭毛藻であるものには赤、ペラゴ藻であるものには青で印をつけ、各パネルの右には、共生藻の種類ごとにデータを集計した結果を示している。

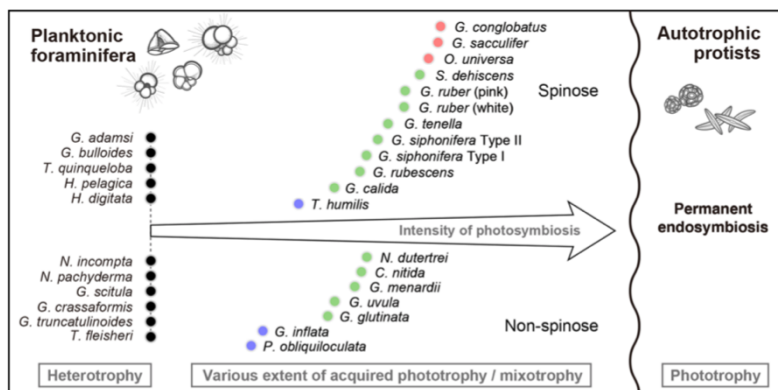


図 4. 光共生の強度を示す統合パラメータによって光共生を定量的に可視化し、各種の序列を示した図 (Takagi et al., 2019). 矢印の上側に棘をもつクレード、下側に棘を持たないクレードを配置している。本研究により、従来ではほとんど認識されてこなかった棘を持たないクレードでも多くの種が共生藻を有していることが確認され、浮遊性有孔虫は進化の過程で何度も独立に共生生態を獲得していることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Takagi Haruka, Kimoto Katsunori, Fujiki Tetsuichi, Saito Hiroaki, Schmidt Christiane, Kucera Michal, Moriya Kazuyoshi	4. 巻 16
2. 論文標題 Characterizing photosymbiosis in modern planktonic foraminifera	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biogeosciences	6. 最初と最後の頁 3377, 3396
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5194/bg-16-3377-2019	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Meilland J., Siccha M., Weinkauff M. F. G., Jonkers L., Morard R., Baranowski U., Baumeister A., Bertlich J., Brummer G.-J., Debray P., Fritz-Endres T., Groeneveld J., Magerl L., Munz P., Rillo M. C., Schmidt C., Takagi H., Theara G., Kucera M.	4. 巻 41
2. 論文標題 Highly replicated sampling reveals no diurnal vertical migration but stable species-specific vertical habitats in planktonic foraminifera	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Plankton Research	6. 最初と最後の頁 127 ~ 141
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/plankt/fbz002	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 該当する
1. 著者名 Kawahata Hodaka, Fujita Kazuhiko, Iguchi Akira, Inoue Mayuri, Iwasaki Shinya, Kuroyanagi Azumi, Maeda Ayumi, Manaka Takuya, Moriya Kazuyoshi, Takagi Haruka, Toyofuku Takashi, Yoshimura Toshihiro, Suzuki Atsushi	4. 巻 6
2. 論文標題 Perspective on the response of marine calcifiers to global warming and ocean acidification? Behavior of corals and foraminifera in a high CO2 world "hot house"	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Progress in Earth and Planetary Science	6. 最初と最後の頁 1 ~ 37
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s40645-018-0239-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Takagi Haruka, Kurasawa Atsushi, Kimoto Katsunori	4. 巻 42
2. 論文標題 Observation of asexual reproduction with symbiont transmission in planktonic foraminifera	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Plankton Research	6. 最初と最後の頁 403 ~ 410
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/plankt/fbaa033	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Takagi Haruka, Kimoto Katsunori, Fujiki Tetsuichi, Moriya Kazuyoshi, Saito Hiroaki
2. 発表標題 Toward a better understanding of planktic foraminiferal proxies: Are they photosymbiotic or not?
3. 学会等名 JpGU2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takagi Haruka, Kimoto Katsunori, Fujiki Tetsuichi, Moriya Kazuyoshi, Saito Hiroaki
2. 発表標題 Uncovering the ecology of marine protistan zooplankton: Foraminiferal-algal symbiosis
3. 学会等名 UTokyo-NTU Joint Conference 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Haruka Takagi, Tetsuichi Fujiki, Katsunori Kimoto, Kazuyoshi Moriya, Hiroaki Saito
2. 発表標題 Disclosing photosymbiosis in modern planktic foraminifers
3. 学会等名 FORAMS2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高木悠花, 齊藤宏明
2. 発表標題 浮遊性有孔虫の光共生性に影響する環境要因の特定
3. 学会等名 日本海洋学会 2020年度秋季大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高木悠花, 木元克典, 藤木徹一, 齊藤宏明, 守屋和佳
2. 発表標題 浮遊性有孔虫の光共生の究明
3. 学会等名 2020年日本プランクトン学会・日本ベントス学会合同大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高木悠花, 齊藤宏明
2. 発表標題 浮遊性有孔虫の光共生性と環境要因の関係解明
3. 学会等名 地球環境史学会2020年年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高木悠花, 倉沢篤史, 木元克典
2. 発表標題 浮遊性有孔虫の無性生殖と共生藻の垂直伝播
3. 学会等名 日本古生物学会第170回例会
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			
ドイツ	MARUM, University of Bremen			