

令和 4 年 5 月 30 日現在

機関番号：16201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06185

研究課題名(和文) 海産底生珪藻の珪酸摂取能ならびに珪酸被殻の溶解特性の解明

研究課題名(英文) Benthic marine diatoms: ability to use dissolved silicate, and silica cell wall dissolution

研究代表者

山口 一岩 (Yamaguchi, Hitomi)

香川大学・農学部・准教授

研究者番号：50464368

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：浮遊珪藻との比較という観点から、海産底生珪藻の溶存珪酸(DSi)利用能と珪酸被殻の溶解特性を調べた。

5種の底生珪藻の増殖に対するDSiの影響を調べ、DSiの半飽和定数($K_{\mu-Si}$)を求めた。 $K_{\mu-Si}$ は、いずれの種も $1\ \mu\text{M}$ 前後と浮遊珪藻の典型値に類していた。従って、 $K_{\mu-Si}$ を見る限り両者のDSi利用能に大差はないと考えられた。

海水に懸濁させた珪藻殻の残存率の経時変化を、計14種を対象に調べた。種間差が大きく未だ検討の余地を残すものの、概ね数日以内に溶ける殻の易溶解性区分の溶解速度は、浮遊性より底生性種で遅い可能性が示された。溶解性の種間差には、殻の比表面積の違い等が関与していることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本課題を通じて、底生珪藻を介する珪素循環の一端が、浮遊珪藻との比較という観点から明かされた。沿岸域の珪素循環に着目したとき、「海底生活を営む浮遊珪藻が底生珪藻である」という見方は、場合により正させるべき必要があることを本課題の結果は示している。まだ検討の余地を残すものの、本研究では特に珪藻細胞死後の珪藻殻の溶解速度には、浮遊性と底生性種間に系統差がある可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：This study examined (i) the ability of benthic diatoms to use dissolved silica (DSi) and (ii) dissolution of the benthic diatom silica wall. The aim was to compare these characteristics with those of planktonic diatoms.

The effect of DSi on the growth of five species of benthic diatoms indicated that the half-saturation constant for DSi ($K_{\mu-Si}$) was about $1\ \mu\text{M}$, irrespective of species. These values are similar to those typical for planktonic diatoms. That is, at least in considering $K_{\mu-Si}$, diatom use of DSi does not depend on whether diatoms are benthic or planktonic.

Diatom frustules were suspended in seawater and dissolution over time as biogenic silica was monitored for 14 species. The dissolution rate of the labile fraction of frustules dissolving within the initial stage tended to be slower in the benthic than in the planktonic species, though variations were large among species. These variations were attributed partly to species-related differences in specific surface area.

研究分野：沿岸物質循環論

キーワード：海産底生珪藻 珪酸 珪藻殻

1. 研究開始当初の背景

沿岸浅海域には海底まで光が届く場所があり、そこには必ず底生珪藻を主とする底生微細藻類が生息している。底生珪藻(底生微細藻類)の生息域は、例えば瀬戸内海では少なくとも全体の3割に達しており、その生産量は大型藻類を超えて浮遊珪藻(植物プランクトン)に次ぐ規模を示すと目される。底生珪藻は、浅海に棲む底生動物や底魚等を支える主要な食物となっている。

底生珪藻は、海底に生息している。それゆえ、堆積物間隙水あるいは付着基質から溶出する、水柱に比して高濃度の栄養塩(溶存無機態窒素、リン、珪酸)に曝されている。つまり底生珪藻は、栄養物質が常に枯渇状態にある、水中に住む浮遊珪藻とは対照的な環境に身を置いていると捉えられる。また、彼らは底生生活を送るがゆえ、「浮く」必要がない。そのため、浮遊への適応策を採っている浮遊珪藻とは、異なる形態特性を備えているとの指摘がある。その一つが、底生珪藻が有する珪酸質の被殻(珪藻殻)は、浮遊珪藻に比して厚い(=単位細胞容積当りの珪酸含量が高い)、との指摘である(Conley et al. 1994)。珪藻殻の比重は、海水よりも大きい。そのため厚い被殻は、浮遊には不利な反面、細胞の保護という点においては有利である。

こういった栄養塩環境の違い、珪藻殻の厚みの違いは、底生珪藻を介する物質収支に、浮遊珪藻を介する場合とは違う特徴を与えることになっていないだろうか?具体的には、

(1) 栄養塩の利用性に着目すると、底生珪藻は、浮遊珪藻とは異なる栄養塩摂取能や増殖特性を備えている可能性が考えられる。栄養塩環境の違いが珪藻の栄養塩摂取に与える影響については、浮遊珪藻を対象にして、これまでにいくつかの検討がなされている。Carpenter & Guillard (1971)は、同一種の浮遊珪藻であっても、低栄養の外洋産株と比較的富栄養な河口産株では、後者の方が生育可能な栄養塩(具体的に検討したのは硝酸塩)の最低濃度水準が高いと見做せる傾向を報告している。この知見に基づくと、底生珪藻は浮遊珪藻に比して一般に、高い栄養塩環境に順応していることが期待される。

(2) 珪藻殻の違いに着目すると、底生珪藻の珪藻殻を構成する粒状珪酸(珪藻殻態珪酸)の溶出速度は、浮遊珪藻よりも一般に遅いかもかもしれない。何故なら、殻が厚いことは比表面積が小さいことを意味しており、物理化学的側面に影響を受ける珪藻殻の溶解において、このことは溶解の抑制要因として働き得るためである。既往の知見を見る限り、殻の厚みが実際に溶解性の難易に効いている可能性は高そうである:これまでに、ある種の浮遊珪藻は被殻が脆弱なため、現生においてはプランクトンとして多産する一方、海底堆積物には化石として残りにくい傾向が確認されている(e.g. Dickman & Glenwright 1997)。

2. 研究の目的

以上ここまで、底生珪藻の栄養塩利用能と死後の溶存珪酸再生能には、浮遊珪藻との比較において違いがある可能性を指摘した。ここで、前文の「栄養塩」を「溶存珪酸(DSi)」と読み替えると、底生珪藻を介する珪素循環の様子は、浮遊珪藻を介するそれとは異なっている可能性を指摘できる。本申請ではこの点に着目し、以下の2点の課題に取り組むこととした。

(1) 底生珪藻のDSi利用能の浮遊珪藻との比較解明

(2) 底生珪藻殻の溶解特性の浮遊珪藻との比較解明

浅海域における底生珪藻の光合成生産者としての重要性は、浮遊珪藻よりかなり遅れて、1990年代頃より具体的に認識され始めた。その都合、“海底生活を営む「浮遊珪藻」が底生珪藻である”という、浮遊系に軸足を置いて底生珪藻を捉えようとする見方が体勢を占めている。しかし、浅海域の物質循環関連研究を進展させるうえでは、浮遊珪藻と底生珪藻を一括りに同質の珪藻類とする見方からの脱却を図る必要がある。本研究では、上記の2つの課題に取り組むことにより、“底生珪藻とは、海底生活を送る浮遊珪藻である”との海洋物質循環研究における既成の見方を再検討することを大きな目的とした。

3. 研究の方法

(1) 底生珪藻のDSi利用能の浮遊珪藻との比較

底生珪藻5種(*Entomoneis* sp.1, *Achnanthes kuwaitensis*, *Stauronella* sp. 1, *Entomoneis* sp.2, *Tryblionella* sp)と、浮遊珪藻3種(*Thalassiosira weissflogii*, *Eucampia* sp., *Chaetoceros socialis*)の増殖に及ぼすDSi濃度の影響を調べた(なお、一部の種については、種名は暫定的なものである)。各珪藻株を20°C、100 μmol/m²/sの光条件下で、珪素無添加のESAW培地(Berges et al. 2001)で増殖がほぼ停滞するまで飢餓培養した。次いで、各飢餓培養株を、DSiを8段階の異なる濃度に調整したESAW培地(最終濃度約0-200 μM)に各々接種した。培地に接種した各珪藻種について、細胞密度の経時変化を調べた。そして、対数増殖期に当たる接種後数日内の細胞密度の変化状況に基づき、各珪藻種の各DSi濃度条件下における比増殖速度(μ)を求めた。本研究では、各珪藻種のDSi濃度と μ の関係を、特に底生珪藻と浮遊珪藻の違いに着目して解析した。

底生珪藻*Entomoneis* sp.1と*Tryblionella* sp.については、DSi取込み能力についても調べた。DSiを8段階の異なる濃度に調整したESAW培地(最終濃度約0-200 μM)に各々接種後、正確に2時間培養した。培地内の培養開始前後のDSi濃度差を珪藻細胞密度で除すことにより、各

珪藻種の各 DSi 濃度下における 1 時間 1 細胞当りの DSi 取込み速度 (ρ) を算出した。

(2) 底生珪藻殻の溶解特性の浮遊珪藻との比較

底生珪藻 6 種 (*Entomoneis* sp.1, *A. kuwaitensis*, *Stauronella* sp. 2, *Nitzschia* sp., *Navicula* sp., *Gyrosigma* sp., 一部の種については種名は暫定), 浮遊珪藻 6 種 (*T. weissflogii*, *Eucampia* sp., *Chaetoceros tenuissimus*, *Chaetoceros calcitrans*, *Chaetoceros socialis*, *Skeletonema japonicum*), 両者の中間種 2 種 (*Cylindrotheca* sp., *Odontella aurita*, *Cylindrotheca* sp.については種名は暫定) の計 14 種について, 珪藻殻の溶解実験を実施した(なお, 一部の種については, 種名は暫定的なものである)。各珪藻は, 酸処理を施すことにより珪藻殻のみの状態にしてから, ほぼ一定の乾重量を目安として秤量し, 濾過海水に懸濁させた。珪藻殻を懸濁させた試料海水は, 暗所 20°C の条件にて, 約 1 ヶ月間緩やかに攪拌させた。この間, 珪藻殻を成す粒状珪酸 (BSi) の溶解に伴って変化する試料海水中の DSi 濃度を経時的に測定した。また, 卓上走査型電子顕微鏡を用いて, 試料水中の珪藻殻の形態を適宜観察した。

濾過海水への珪藻殻の BSi としての添加濃度を C_0 , 任意の時間 t における BSi の溶解に伴って増加した DSi 濃度を C_t とおく。すると, $(C_0 - C_t)/C_0$, すなわち BSi としての珪藻殻添加量を 1.0 とした場合の試料海水中の珪藻殻未溶解(残存)割合は, 時間と共に次第に低下する傾向があった。本研究では, 各珪藻種の $(C_0 - C_t)/C_0$ の時間経過に伴う変化の様子を, 底生珪藻と浮遊珪藻の違いに着目しつつ解析した。

4. 研究成果

(1) 底生珪藻の DSi 利用能の浮遊珪藻との比較説明

各珪藻種の μ は, 培地中の DSi 濃度の増加に伴い, DSi 低濃度域では直線的な増加傾向を示したが, DSi 高濃度域では比較的緩やかな増加に留まるかもしくはほとんど増加しなかった。そこで各種について, DSi 濃度 (x) と μ (y) の関係を Monod 式 ($y = ax/(b+x)$, a と b は定数) に近似させ, 最大増殖速度 ($\mu_{\max} = a$) と, μ_{\max} の 1/2 の増殖速度を与える DSi 濃度 ($K_{\mu-Si} = b$) を求めた。5 種の底生珪藻が示す $K_{\mu-Si}$ は, いずれも $1 \mu\text{M}$ 前後ないしはそれ以下の値を示しており, 平均値 (\pm 標準偏差) は $0.8 \pm 0.3 \mu\text{M}$ と算出された。一方, 同時に実験に供した 3 種の浮遊珪藻が示す $K_{\mu-Si}$ は, $0.3\text{--}1.3 \mu\text{M}$ の範囲内にあり, 5 種の底生珪藻が示す $K_{\mu-Si}$ にほぼ匹敵していた。今回求めた 3 種の浮遊珪藻が示す $K_{\mu-Si}$ は, 20 前後の環境下で得られた既往の浮遊珪藻の $K_{\mu-Si}$ 値に(一部の大型浮遊珪藻の値を除いて)類するものであった。そのため, 浮遊珪藻が示す典型値を反映したものと捉えることができそうである。以上のことを踏まえると, 今回の実験結果に基づく限り, 増殖速度の DSi 濃度依存性には, 底生珪藻と浮遊珪藻の間に明確な違いはないと考えるのが妥当である。

本研究では, *Entomoneis* sp.1 と *Tryblionella* sp. を用いて底生珪藻の DSi 取込み能力についても検討した。これら 2 種について, DSi 濃度と ρ の関係を Michaelis-Menten 型の式へ近似させ, DSi の取込みの半飽和定数 (K_{S-Si}) を試算した。その結果, K_{S-Si} は, *Entomoneis* sp.1 で $1.9 \mu\text{M}$, *Tryblionella* sp. で $15 \mu\text{M}$ と試算された。Sarhou et al. (2005) は, 既往の 25 知見に基づく珪藻類の平均 K_{S-Si} 値を $3.9 \pm 5.0 \mu\text{M}$ と報告している(なお, ここで解析対象となったほとんどの珪藻は, 浮遊珪藻だとみることができる)。 ρ や $K_{\mu-Si}$ を求めるうえで, その試算のための実験法の設定の違いが敏感に値に反映され得ることが知られている。従って, 本実験結果と既往の文献情報との単純比較には注意を要する。但し, 既往の浮遊珪藻を中心とする知見に照合する限り, 今回の解析対象種のうち *Tryblionella* sp. は高水準の K_{S-Si} を示したとみることができる。これは, 底生珪藻の中には数時間程度以内に発揮される栄養塩取込み能力が高い種が少なからずいる可能性を示しているかもしれない。 K_{S-Si} に関しては, 本研究からは結論めいたものを導く事はできなかったが, 今後も知見を集積し, 底生珪藻の DSi 取込み能力を解明することが重要である。

(2) 底生珪藻殻の溶解特性の浮遊珪藻との比較説明

浮遊珪藻 *T. weissflogii* における, $(C_0 - C_t)/C_0$ の時間経過に伴う変化の様子を Fig. 1 に示す。珪藻殻の溶解は, いずれの種においても実験の初期において速やか, その後緩やかに溶解する傾向を示した。そこで, ここでは既往の知見の考え方 (Kamatani & Riley 1979) に則り, 珪藻殻の溶解過程は, 傾きの異なる 2 つの一次反応式として近似的に表現できるものと仮定した。そのうえで, 2 つの一次反応近似式の傾きの絶対値から, 各種珪藻殻の a) 易溶解性および b) 難溶解性画分の溶解に関する速度定数(各々 K_1, K_2 とする)を算出した。さらに, 2 つの近似式の y 交点を珪藻殻に占める難溶解性区分の割合と定義してその値を求めた。

計 14 種の珪藻殻が示す K_1 は, $0.1\text{--}3.5 \text{ d}^{-1}$ と 1 桁以上におよぶ大きな違いを示した。これに対して, K_2 の値は $0.02\text{--}0.09 \text{ d}^{-1}$ の範囲内にあり, 比較的種間差が小さかった。また, K_1 に従って溶解する日数には, 種により 1 日未満から 12 日以上までの違いがあり, K_1 の違いと相まって, 珪藻殻における難溶解性区分の占める割合は種により 2-31% と違いを示した。

底生珪藻と浮遊珪藻における K_1 の違いに着目すると、同じ生活型を示すものの中においても種間差が大きかった。但し、底生珪藻 ($n=6$) と浮遊珪藻 ($n=6$) の K_1 の中央値の差を検定すると、危険率 5% を判断値とする限りにおいて両者に系統差が認められた。すなわち、底生珪藻の示す K_1 は浮遊珪藻に比して概して低く、殻の易溶解性画分の溶解が遅い傾向が検出された。なお、2 種の間種 (底生性種としても浮遊性種としても出現記録がある種) が示す K_1 は、底生珪藻というよりもむしろ浮遊珪藻に近い値を示していた。一方、 K_2 と珪藻殻における難溶解性区分の占める割合については、危険率 5% 以下を判定基準とする中央値の検定に基づく限りにおいては、底生珪藻と浮遊珪藻の間に統計的な差は認められなかった。従って、未だ検討の余地を残すものの、今回の結果に基づく、底生珪藻殻は殻の易溶解性区分の溶解性が比較的 low、そのため、浮遊珪藻殻に比して溶けにくい可能性を指摘できる。今後、今回の解析に用いた底生珪藻と浮遊珪藻各々 6 種の沿岸性種としての代表性を吟味する必要があると共に、さらに種数を増やしての溶解実験が必要である。

本研究では、珪藻殻の溶解性の難易を決める要因についても検討を加えた。溶解実験期間中の K_1 フェーズ (溶解実験初期) と K_2 フェーズ (溶解実験後期) において得られた、底生珪藻 *A. kuwaitensis* の電子顕微鏡写真を Photo 1 に示す。*A. kuwaitensis* について言及すると、珪藻殻の溶解は胞紋の周囲から徐々に進行し始めたのに対して、間条線等を成す BSi は溶解実験の後期においても比較的明瞭に観察することができた。特定部位の溶解が他に先じて進む一方で、特定部位の溶解が遅い傾向は、他のいくつかの種でも確認することができた。従って、同一種における珪藻殻の易溶解性区分と難溶解性区分を分ける要因や、各種における難溶解性区分の構成割合を決める因子として、殻の部位による溶解性の違いが関係していること可能性が浮上した。また、溶解実験に供した 14 種の珪藻のうち、比較的多くの殻を確保できた 8 種について、BET 法に基づいて溶解実験に用いた珪藻殻の比表面積を測定した。BET 法により得られた比表面積と各珪藻殻が示す K_1 値の関係を調べたところ、両者の間に有意な正の相関性が認められた。本研究を通じて、溶解性の難易を決める潜在要因として、いくつかの興味深い知見を得ることができた。

上記(1),(2)による本研究を通じて、底生珪藻を介する珪素循環の一端が、浮遊珪藻との比較という観点から明かされた。沿岸域の珪素循環に着目したとき、“底生珪藻とは、海底生活を送る浮遊珪藻である”という見方は、場合により正されるべき必要があることを本研究の結果は示している。

< 引用文献 >

- Berges, J.A., D.J. Franklin and P.J. Harrison (2001) Evolution of an artificial seawater medium: improvements in enriched seawater, artificial water over the last two decades. *Journal of Phycology* 37, 1138-1145.
- Carpenter, E.J. and R.R.L. Guillard (1971) Intraspecific differences in nitrate half-saturation constants for three species of marine phytoplankton. *Ecology* 52, 183-185.
- Conley, D.J., P.V. Zimba and E. Theriot (1994) Silica content of freshwater and marine benthic diatoms. In J.H. Kocielek (Ed.), *Proceedings of the 11th International Diatom Symposium*. California Academy of Sciences, San Francisco, CA, pp. 95-101.
- Dickman, M. and T. Glenwright (1997) A comparison of marine planktonic and sediment core diatoms in Hong Kong with emphasize on *Pseudo-nitzschia*. *Hydrobiologia* 352, 149-158.
- Kamatani, A. and J.P. Riley (1979) Rate of dissolution of diatom silica walls in seawater. *Marine Biology* 55, 29-35.
- Sarthou, G., K.R. Timmermans, S. Blain and P. Tréguer (2005) Growth physiology and fate of the diatoms in the ocean: a review. *Journal of Sea Research* 53, 25-42.

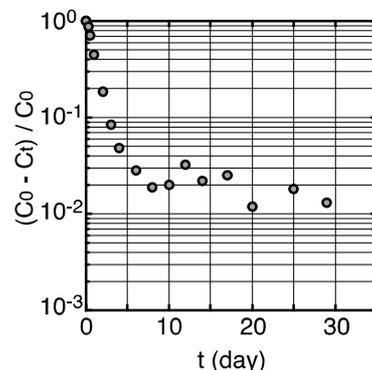


Fig. 1 浮遊珪藻 *Thalassiosira weissflogii* における $(C_0 - C_t) / C_0$ の時間経過に伴う変化の様子。*T. weissflogii* については2回実験を実施したが、ここでは例示のため、そのうちの1回の結果のみを示している。

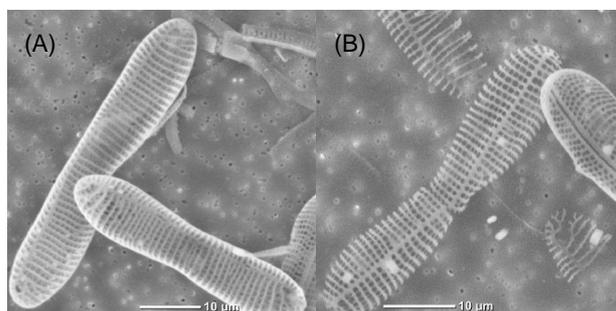


Photo 1 A) 溶解実験1日目 (K_1 フェーズ) と B) 30日程度経過時 (K_2 フェーズ) における底生珪藻 *Achnanthes kuwaitensis* の電子顕微鏡写真。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 H. Yamaguchi, K. Tada, K. Ichimi
2. 発表標題 Differences in dissolution characteristics of biogenic silica among diatom species
3. 学会等名 2020 Ocean Sciences Meeting (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 工藤大喜・中國正寿・多田邦尚・一見和彦・山口一岩
2. 発表標題 種による珪藻殻の溶解性の違いについて
3. 学会等名 令和3年度日本水産学会秋季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松崎菜央・小谷圭佑・真鍋沙也加・一見和彦・山口一岩
2. 発表標題 底生珪藻の増殖に及ぼす溶存珪酸の影響について
3. 学会等名 令和3年度日本水産学会中国・四国支部例会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 工藤大喜・中國正寿・多田邦尚・一見和彦・山口一岩
2. 発表標題 沿岸性珪藻が生産する珪藻殻の溶解速度の種間差とその影響因子
3. 学会等名 日本地球惑星科学連合2022年大会
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
---------	---------