

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20570089

研究課題名(和文) 脆弱単細胞性海洋プランクトンの生物相と個体群動態の把握

研究課題名(英文) Studies on fragile unicellular marine plankton: fauna and population dynamics

研究代表者

鈴木 利一 (SUZUKI TOSHIKAZU)

長崎大学・水産学部・教授

研究者番号：20284713

研究成果の概要(和文)：単細胞プランクトンのなかで、極めて脆弱であるが海洋に普遍的に出現する無殻繊毛虫の旋毛綱に注目し、染色方法や観察方法を改良しながらそれらの生物相を明らかにした。本研究で得られた主な結果は、(1)長崎周辺海域で出現する各種の水温・塩分に関する出現特性から、多くの種の消長が塩分の違いに依存していること、(2)珪藻に対する摂餌選択性から、小型で滑らかな輪郭を持つ珪藻を好む種が多いこと、(3)種の正確な記載から、種内変異の程度を種毎に明らかにした事である。

研究成果の概要(英文)：Among the unicellular marine plankton, I have been focusing on naked spirotrich ciliates (class Spirotrichea), which are extremely fragile but universally occurred in the surface ocean, and have cleared their fauna through some improvements of staining and observation methods. The main results obtained in this study are as follows: (1) occurrence-and-disappearance characters in many species are strongly depending on salinity environment (rather than temperature) around the coastal area of Nagasaki, (2) spirotrich ciliates are favorably grazing on small-sized diatoms with their smoothed outline among various types of diatoms, (3) intra-species variations were more or less observed in many species and the extend of variation was estimated through the accurate morphometric description.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2009年度	600,000	180,000	780,000
2010年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：浮游生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・生物多様性・分類

キーワード：プランクトン、生物相、個体群動態

1. 研究開始当初の背景

無殻の単細胞プランクトンには極めて脆弱なものが存在する。プランクトンネットの曳網や、通常の固定法では細胞が大きく変形したり消失する。採集や観察が困難であるこ

とから、図鑑に記載されているものは少ない。近年、特殊な固定法が提唱され、このようなプランクトンに対しても、かなりの確率で採集・固定ができるようになってきた。そして、定量的な研究成果が蓄積されていくにつれて、外洋域においては多量に出現することが

明らかとなってきた。

しかしながら、このようなプランクトンは鞘や被殻を持たない構造の為に、形態学的特長の把握が困難であり、分類が未整理なものが多い。本研究では、東シナ海や長崎周辺海域等に出現する脆弱単細胞プランクトンに注目し、その生物相を明らかにするとともに、優占する種に関しては、その個体群動態を把握しようとするものである。

海洋の食物連鎖、特に、微細なプランクトンにより構成される微生物ループにおいて、脆弱な単細胞プランクトンは重要な役割を果たすことが認識されている。それらのプランクトンを群集として把握することが可能となり、その生態を明らかにすることが現在積極的に行われている。

しかし、生物相の把握（種の分類が）困難であるために個体群動態の把握が出来ず、現段階では各個体群の生き様を反映した、より正確な海洋食物連鎖像を描くことが出来ない状況にある。

2. 研究の目的

現場へのアクセスが容易な長崎周辺海域をはじめ様々な海域を調査し、そこに出現する脆弱なプランクトン（主に、無殻浮游繊毛虫）の生物相を明らかにする。その際、過去に記載のない種は新種記載をし、過去の記載に不備があるものについては再記載を直ちに行う。各記載をまとめて、モノグラフの作成を行い、広く出版・公表を行う。

次に、調査海域において優占する個体群に注目し、その季節的消長、被食等の個体群動態を明らかとする。さらに、本研究において得られた環境要因も活用して、水質や海洋環境と出現種との関係について明らかにし、環境指標を行う上で活用できる種特有の情報を獲得する。

海洋微生物生態の研究においても重要な基盤となるモノグラフ（図鑑）を正確に作成することが、本研究の主要な目的の一つである。今までは、脆弱な単細胞プランクトンに関しては、群集の定量的な状態の把握が中心となり、その群集を構成している各個体群の組成や、種特有の生物特性を無視して生態学的な議論がなされてきた。今後、本研究で提供される定性的な情報を付加することにより、海洋プランクトンに関する研究は、より広い視野での議論が可能となる。

3. 研究の方法

様々な海域で測点を定め、海水試料採集を行った（アクセスが容易な沿岸域の定点については、各月2回程度と頻りに採集を行い、プランクトンの季節的消長が追跡できるよ

うにした）。得られた海水試料から脆弱な単細胞プランクトンを倒立顕微鏡下で拾い出した後固定し、細胞核・微小管・繊毛を染色するために、鍍銀染色法と呼ばれる染色を施し、永久プレパラートを作成した（図1）。

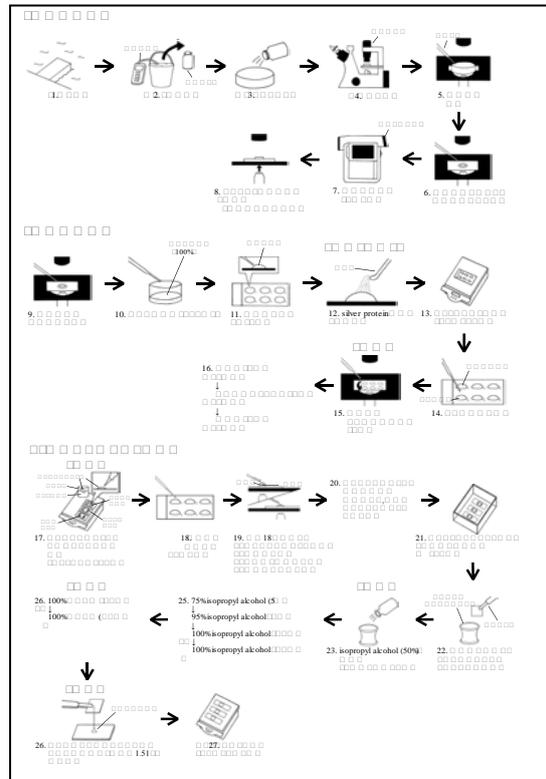


図1. プランクトンを拾い出し、行動等を観察した後の染色・プレパラート作成方法

同時に、採集した海水試料をすぐさま固定し、定量鍍銀染色法というプレパラート作成方法を試みた。作成したプレパラートを、油浸レンズが装着された高倍率の生物顕微鏡で精査・観察することより、繊毛虫プランクトンの出現種を明らかにした。

なお、この作業において、未記載の種が多く出現することが予想されたが、その場合は、新種記載を丁寧に行い、随時公表した。また、過去の文献における記載が不十分であると思われた場合は、再記載の情報も随時公表した。

4. 研究成果

(1) 出現特性

長崎港および時津港において2週間に1度の頻度で1年を通して海水試料の採集を行った。極めて脆弱な構造を持ち、未記載種が多く存在する無殻少毛類繊毛虫プランクトンの出現特性に注目した。種レベルでの分類、できる限りの同定、現存量の把握、環境特性との対応について調査した。

この群集の総個体数密度は、 $10^3 \sim 10^4$ cells/L 程度で推移し、群集の出現数には季節性が見られなかった。しかし、各種の出現パターンは多様であり、限られた時期にのみ出現する種、季節性を示さない種、一年を通して頻繁に出現する種が見られた。また、多くの種（例えば、*Strombidium dalum*, *S. veniliae*, *S. epidemum*, *Strombinopsis cheshiri* 等）が広水温・狭塩分性を示した。多くの種は、水温よりも塩分の変動に出現が左右されていることが明らかとなり、塩分の変動は個体群変動の重要なファクターであると考えられた。

この調査と同時に行った各個体の生体観察より、遊泳行動の特徴や栄養動態により、固定や染色を施すことなく、生きたまま種や属のレベルで分類することができる（従来は極めて困難であると考えられていた）可能性も示唆された。*Cyrtostrombidium*, *Tontonia*, *Strobilidium*, *Strombidinopsis* の4つの属は識別が比較的容易で、*Strobilidium* や *Tontonia* 属では、さらにいくつかの種（例えば、*Strobilidium* sp., *Strobilidium* sp., *S. veniliae*, *T. cornuta*, *T. poopsia*, *T. simplicidens*）が同定でき、分類形質において行動パターンは重要であると考えられた。

(2) 摂餌選択性

脆弱単細胞性海洋プランクトンのうち、長崎県周辺海域で優占度が極めて高い無殻繊毛虫プランクトンに注目し、この生物群の生物相、珪藻に対する摂餌選択性、また、餌環境と個体群動態との関係について重点的に調査を行った。長崎県大村湾の南端に位置する時津港で、月に一回の頻度で採水・固定した海水サンプルを使用し、プランクトンを濾過濃縮、濾紙への接着、鍍銀染色、脱水、透徹、封入の処理を施し永久プレパラートを作成した（図2）。

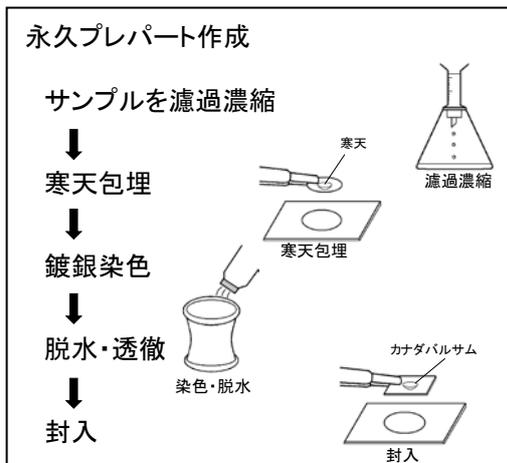


図2. 定量鍍銀染色法

その後、生物顕微鏡下で、無殻繊毛虫を可能な限り種のタクソンまで分類し、個体サイズ、食胞内の珪藻、その珪藻の分類やサイズを調査した。また、同時に水柱中の珪藻プランクトンについても分類やサイズを調査した。

無殻繊毛虫プランクトンは、1種（7月）～15種（9月）、25 cells/L（7月）～11,400 cells/L（8月）の範囲で出現し、食胞内に珪藻が見られたものが0種（7月）～12種（9月）、0 cells/L（3月および7月）～9,750 cells/L（8月）であった。食胞内には、球換算直径で5 μm以下の珪藻被殻が多く観察され、好まれて摂餌されていることが明らかとなった。また、その組成比は水柱中の珪藻プランクトンにおける組成比よりも高くなる傾向が見られた。水柱中に出現する珪藻の中で、*Nitzschia* sp., *Cheatocecos* sp., *Skeletonema costatum*などの種は無殻繊毛虫に好まれず、*Coscinodiscus* sp.や羽状目珪藻等のような、突起状の構造を持たず滑らかな輪郭を持つ珪藻が好まれて被食されていた。無殻繊毛虫群集の中では、*Strombidium ventropinnum*や*S. rhynchum*の種はいずれの珪藻プランクトンも摂餌せず、一方、*Strombidium bilobum*, *S. epidemum*, *Strombidium* sp., *Tontonia poopsia*は珪藻を好んで摂餌する種であることが明らかとなった。

(3) 種の正確な記載と種内変異

脆弱単細胞性海洋プランクトンのうち、外洋域（極低温下）で出現する無殻繊毛虫プランクトンにも注目し、この生物群の生物相、形態学的な記載、そして、細胞内外の形態の種内変異について調査した。採水器で採集された海水を酸ブアン液で直ちに固定し、定量鍍銀染色法（フィルターで濾過濃縮、標本をフィルターに接着、好銀性たんぱく質を染色、脱水、透徹、封入）を用いて、採集した無殻繊毛虫をもれなく永久プレパラートに封入した（図2）。その後、生物顕微鏡下で細胞内外の構造やサイズを詳細に観察・計測し、その記載を正確に行くと同時に、過去の記載と比較し、その結果を学術雑誌 *Plankton and Benthos Research* に英文で公表した。

カナダの北極海側にあるフランクリン湾の、厚さ約2 mの海水の直下で出現する繊毛虫プランクトンは、個体数密度が2,400 cells/L、総生物体体積が $4.24 \times 10^6 \mu\text{m}^3/\text{L}$ であった。殻をもたない脆弱な無殻個体が圧倒的に優占し、個体数密度で98.3%、総生物体体積で98.1%を占めていた。特に、独立栄養者として注目される *Myrioneta rubra* という種が個体数密度で過半数を占め、*Lohmaniella oviformis* という種が総生物体

体積で 19.2% を占めた (図 3)。

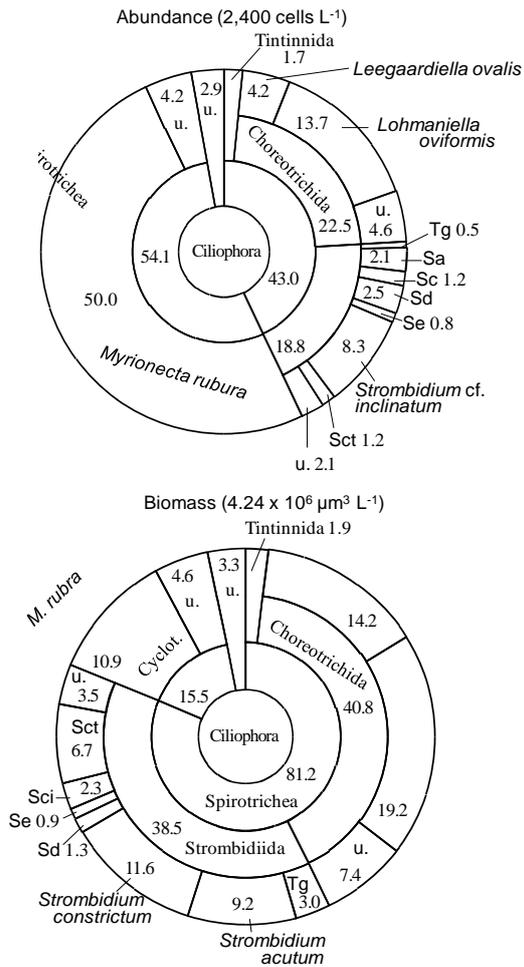


図 3. フランクリン湾 (カナダ北極海) 海水下における繊毛虫プランクトンの分類群組成。円グラフ中に記載されている数字は%を示す。

Spirotrichia 綱や Litostomatea 綱に属する無殻繊毛虫 10 種を正確に記載し、そのうちの 8 種 (Spirotrichea 綱では *Leegaardiella ovalis*, *Lohmaniella oviformis*, *Tontonia gracillima*, *Strombidium acutum*, *S. constrictum*, *S. dalum*, *S. epidemum*, Litostomatea 綱では *Myrionecta rubra*) が同定された (図 4)。同定されたもののうち、*S. constrictum* と *M. rubra* を除いた 6 種は、過去に報告されて広く認識されている記載とは一致しない形態 (例として、繊毛膜板の配置、キネティッドのタイプ、キネティッドの数、個体サイズ等) が見られ、これらの種、また/もしくは、これらの形態に関しては、種内変異が大きいことが考えられた。

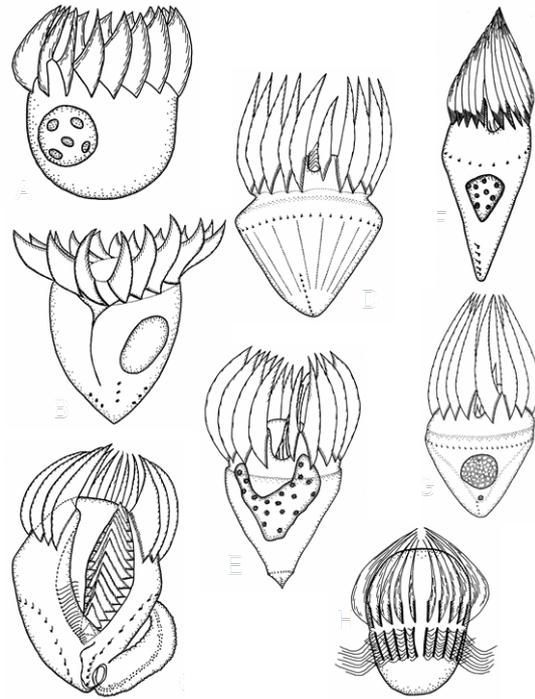


図 4. A: *Leegaardiella ovalis* (細胞長: 15-28μm)、B: *Lohmaniella ovalis* (細胞長: 13-22μm)、C: *Tontonia gracillima* (細胞長: 26-35μm)、D: *Strombidium acutum* (細胞長: 23-38μm)、E: *S. constrictum* (細胞長: 39-45μm)、F: *S. dalum* (細胞長: 19-23μm)、G: *S. epidemum* (細胞長: 15-21μm)、H: *Myrionecta rubra* (細胞長: 10-14μm)

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

① Tamaki, A., S. Mandal, Y. Agata, I. Aoki, T. Suzuki, H. Kanehara, T. Aoshima, Y. Fukuda, H. Tsukamoto, T. Yanagi, 2010. Complex vertical migration of larvae of the ghost shrimp, *Nihonotrypaea harmandi*, in inner shelf waters of western Kyushu, Japan. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 82: 125-136. 査読有

② Suzuki, T., T. Ota, 2011. Planktonic ciliates below sea ice in Franklin Bay, Canada. *Plankton and Benthos Research*, 6: (印刷中). 査読有

[学会発表] (計 8 件)

① 西谷 豪・鈴木 利一、海産繊毛虫 *Spirotonionia grandis* から検出された葉緑体配列の遺伝的多様性、日本藻類学会第 35 回大会、2011 年 3 月 27 日、富山大学五福キャンパス (富山市)。

②徳田雅治・玉城泉也・奥宏海・横山雄彦・鈴木利一、海産繊毛虫選抜株の培養において産出されたEPAおよびDHAのアルテミアへの取り込み、平成22年度日本水産学会秋季大会、2010年9月23日、京都大学農学部（京都市）。

③中村政弘・鈴木利一、無殻繊毛虫プランクトンの珪藻に対する食性について、2010年度日本海洋学会秋季大会、2010年9月8日、東京農業大学生物生産学部（網走市）。

④ Yamamoto, K., T. Suzuki, Spatial distribution of feeding habitat of *Noctiluca scintillans* in the sea area around Nagasaki, Japan, The 7th East China Sea Workshop on Oceanography and Fisheries Sciences, December 4th, 2009, Shanghai Ocean University (Shanghai, China).

⑤Narasaki, T., T. Suzuki, Planktonic size composition in the inner part of Ariake Sea, Kyushu, Japan, The 7th East China Sea Workshop on Oceanography and Fisheries Sciences, December 4th, 2009, Shanghai Ocean University (Shanghai, China).

⑥ Suzuki, T., M. Mori, D. Nakatsugawa, Spatial distribution of filamentous cyanobacteria, *Trichodesmium* spp. in spring in the East China Sea, PICES 2009 Annual Meeting, October 29th, 2009, Cheju, Korea.

⑦寺田雅彦・鈴木利一、有明海竹崎港における第一次消費者の採食量と摂餌選択性、日本ベントス学会・日本プランクトン学会合同大会、2009年10月18日、北海道大学水産学部（函館市）。

⑧鈴木利一、有明海竹崎港における植食性動物プランクトンの摂餌選択性、第5回みらい有明・不知火シンポジウム、2008年11月22日、熊本大学（熊本市）。

〔図書〕（計1件）

鈴木利一・伊藤博・中町美和・加藤聡、成山堂書店、繊毛虫プランクトンの分布と現存量 in 海洋プランクトン生態学（谷口旭監修、佐々木洋・石川輝・太田尚志・服部寛・齊藤宏明・遠藤宜成 共編）、2008年、109～129頁。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴木 利一 (SUZUKI TOSHIKAZU)

長崎大学・水産学部・教授

研究者番号：20284713