

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 29 日現在

機関番号：82626

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22340156

研究課題名（和文）第四紀における円石藻・珪藻間のブルーム形成戦略の相互的進化過程の解明

研究課題名（英文）Evolutionary process of the bloom formation strategy between the coccolithophore and the diatom of the Quaternary

研究代表者

田中 裕一郎 (YUICHIRO TANAKA)

独立行政法人産業技術総合研究所・地質情報研究部門・副研究部門長

研究者番号：50357456

研究成果の概要（和文）：円石藻と珪藻のブルーム形成種に着目して、ブルーム形成戦略について解析を行った。親潮域では、冬季から春季にかけて珪藻類の大規模なブルームが形成され、ブルームを形成した珪藻の大部分は、ブルーム形成後、夏季には水柱より消失することが明らかになった。珪藻と円石藻の混合培養による競争実験を行い、春先の海水温が低い間は珪藻が円石藻に対して優越するが、徐々に当該海域の水温が上昇すると、より高い温度域と高い光強度により増殖が促進される円石藻が珪藻を凌駕し始める変化の要因となるものと推測された。また、約 40 万年前から現在における海洋環境変化で円石藻 *Emiliana huxleyi* の優勢な morphotype が Type B/0 から Type A に変化したことが明らかになった。

研究成果の概要（英文）：Phytoplankton niche space strategy was investigated, observing the species of the coccolithophores and the diatoms which carries out bloom formation. In the Oyashio region, the large-scale bloom of diatoms was formed from the winter to spring, and almost the diatoms in which the bloom was formed disappeared in summer. In the early spring period when water temperature is low, the diatoms were produced more than the coccolithophores in the mixed culture experiment of the coccolithophore and the diatom. In the higher temperature period, the productions of the coccolithophore, which was promoted by a higher temperature region and higher light intensity, were exceed those of diatom. The morphotype of *Emiliana huxleyi* changed from Type B/0 to Type A during the past 400,000 years.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	5,900,000	1,770,000	7,670,000
2011 年度	4,300,000	1,290,000	5,590,000
2012 年度	2,700,000	810,000	3,510,000
年度			
年度			
総計	12,900,000	3,870,000	16,770,000

研究分野：数物系科学

科研費の分科・細目：地球惑星科学・層位・古生物学

キーワード：古生態・生物進化・培養実験・円石藻・珪藻

1. 研究開始当初の背景

気候変動に伴う海洋環境変化は、海洋植物プランクトンの生息環境にも大きな影響を与えている。例えば、ベーリング海では、1970年代までは珪藻が優占していたが、海水温の上昇や海洋表層の成層化が顕著になり最近では円石藻ブルーム(大増殖)が頻繁に起こるようになった(Stockwell et al., 2001; 原田ほか, 2008)。また現在及び過去の海洋環境変動は、海洋植物プランクトンの生態的地位(ニッチ)に大きな影響を与えていることから、このニッチを獲得するための生態学的メカニズムを明らかにすることが生物の進化過程や海洋環境への適応機能を考える上で重要である。一方、珪藻と円石藻特有の種・種群の大増殖がそれぞれ起きた場合、その生息環境にいち早く適応できる種・種群が繁殖すると考えられる。しかしながら、これまでの研究では、現在および過去の海洋生態系における円石藻と珪藻間の競争関係の研究は少なく、ほとんどの研究はそれぞれの群集の中での産出頻度変化によるアプローチにとどまっており、円石藻と珪藻間の垣根を越えるような異種間を含めたニッチの獲得やブルーム形成・遷移に関する研究は行われていない。

そこで、本研究では円石藻と珪藻のブルーム形成種に着目して、室内培養実験やセジメントトラップ試料分析と海底コア試料分析を組み合わせ、1) 円石藻と珪藻の生理生態学的特性の解明、2) 珪藻と円石藻の混合培養による競争実験を行い、それぞれの優占条件の解明、3) 約40万年前から現在における氷期・間氷期変動に伴う海洋環境変化と円石藻ブルーム種の生産量変化の相互関係の解析を行う。

2. 研究の目的

(1) 珪藻および円石藻の増殖特性について、親潮・混合域における珪藻類の分布特性および増殖特性を明らかにする。また、現生 *Emiliana huxleyi* の種内多様性と生息環境の関連を明らかにする。

(2) 円石藻-珪藻ブルームにみられる遷移現象の要因を競争培養系によって解明することを目的とする。

(3) 第四紀における *E. huxleyi* 化石群集における形態の多様化の変遷を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 珪藻および円石藻の増殖特性分析

珪藻については、東北区水産研究所により長期間運行している親潮域・混合域の観測定線(Aライン)の定期観測により取得した珪藻群集組成データを用いて親潮・混合域の珪藻群集の季節変動を解析した。親潮域より単

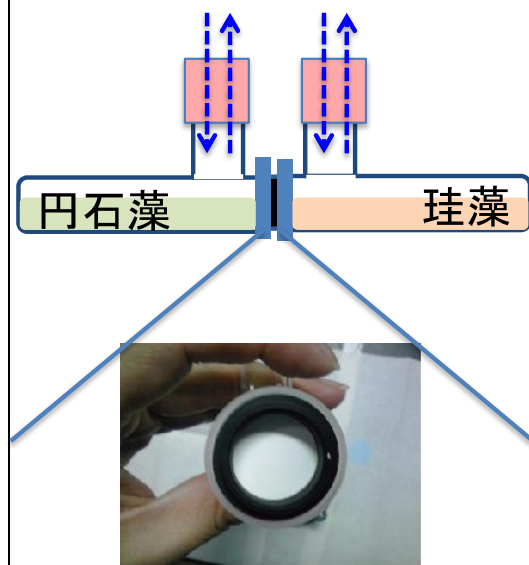
離した珪藻類の培養株を用いて、室内培養実験により増殖特性を解析した。

また、円石藻については、環境因子が *E. huxleyi* の円石藻の増殖速度に与える影響を調べるため、さまざまな温度や塩分環境下で培養実験を行い、増殖速度の違いを調べた。

(2) 円石藻-珪藻ブルームの培養実験

円石藻-珪藻ブルームにみられる遷移現象の要因を競争培養系によって解明するために、親潮域(2009年7月, wk0907 Cruise, 38N 147' 15E, Station 21, Depth 20-30 m)から単離された円石藻 *E. huxleyi* (type A) 並びに珪藻 *Thalassiosira nordenskiöldii* (Th-n-3-L)を用い、本研究の為に新規の培養

シリコ栓を介してガス交換



MEMBRANE FILTER Φ0.3mm

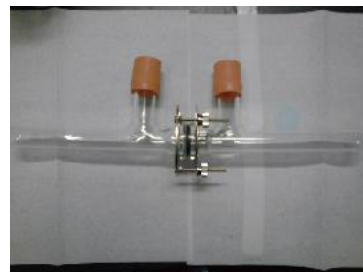


図1. 競争培養用特殊試験管

試験管接合部に培地のみが通過出来る半透膜を設置(上)

実物の写真(下)

システム（二生物種増殖比較培養管）を製作し、海洋における植物プランクトンブルームの遷移について競争培養実験を行った（図1）。

この培養試験管は従来のL字型培養試験管を2本つなげた形状で、中央部に孔径0.3・mのメンブレンフィルターを配置し、左右に区分されている。この構造により、培地を共有する形で2種類の植物プランクトンが混合することなく増殖し、相互の細胞分泌物や培地の消費を共有する形で競争培養を可能としている。この特殊培養試験管とボシュ・ロム型分光光度計（島津製作所）を組み合わせることによって、細胞培養懸濁液を採取することなく、各々の細胞濃度の測定を容易に精度よく、定期的に行うことが可能となる。さらに、競争培養途中で片方の培養管から培養試料を採取したり、培養液成分を添加することも容易である。

培養は人工海水（マリンアートSF-1、富田製薬）にErd-Schreiber's medium (EMS)の栄養塩類およびその土壤抽出物に代えて Na_2SeO_3 を添加し、さらにf/2 metalsと $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ を添加した培地で行った。

まず、培養フラスコを使用して円石藻および珪藻のそれぞれを上記の培地により $20 \cdot \text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ および 15°C で72時間の前培養を行った。その後、各々の培養細胞を二生物種増殖比較培養管に移して実験を開始した。培養液量は各々10 mlずつで、実験開始時の細胞濃度が OD_{680} で0.01となるよう培養細胞を接種した。まず、開始後48時間は前培養と同じ光強度（ $20 \cdot \text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ）で静置培養し、その後、温度および光条件を変化させ、さらに96時間培養を継続し、培養条件の変化が各植物プランクトン種の増殖速度にどのような変化をもたらすかを測定、比較した。

(3) 第四紀の円石藻化石形態の多様化

国際統合深海掘削計画IODP Exp. 303によって、北大西洋から採取された深海底堆積物中の*E. huxleyi*化石のmorphotype組成の変遷を走査型電子顕微鏡観察に基づいて調べた。

4. 研究成果

(1) これまでに得られた親潮・混合域の珪藻群集の組成データの解析の結果、親潮域では、冬季から春季にかけて*Thalassiosira*属*Chaetoceros*属を中心とした珪藻類の大規模なブルームが形成され、ブルームを形成した珪藻の大部分は、ブルーム形成後、夏季には水柱より消失することが明らかになった。また、これらの種は、混合域ではブルームの形成が見られなかった。

次に、親潮域における珪藻の春季ブルーム形成を想定し、冬季・春季・夏季へと急激に

変化する光・温度環境に対する春季ブルーム珪藻種*Thalassiosira*属*Chaetoceros*属の増殖応答を解析した。その結果、春季ブルームを形成する珪藻類は低温・弱光下でも高い増殖速度を示し、高温では増殖不能であった。このことより冬季から春季にかけて成層化が開始すると素早く増殖を開始し、春季から夏季へと水温が上昇すると増殖を停止し、珪藻ブルームが終息することが示唆された。

一方、円石藻については、*Emiliana huxleyi*培養株NG-1（長崎県対馬沖）、OS-5（北海道小樽沖）、MS-1（ノルウェー沖）、TQ22（ニュージーランド南島沖）、NS10-Y（南アフリカ沖）のそれぞれを、10度、14度、18度、22度、26度の培養庫で培養し、水温の違いが培養株の増殖速度に与える影響を調べた。NG-1、MS-1、OS-5の3株は10度～26度のいずれの水温においても順調に増殖した。TQ-22は10度～22度のあいだでは順調に生育したものの、26度ではまったく増殖せず、10度の温度環境下では増殖速度が著しく落ちた。NS10-Yは18度と22度では比較的良好に増殖したものの、14度では増殖が著しく遅くなり、10度と26度では全く増殖出来なかった。培養株の産地の年平均水温と増殖スピードのあいだに、直接的な関係は見られなかったが、培養株によって温度の嗜好性が異なっていることが示された。

北部北太平洋産の培養株MS1（培養株の産地の年平均塩分濃度は35‰）と西ベーリング海産の培養株NIES1311（培養株の産地の年平均塩分濃度は32‰）を、塩分濃度28、31、34‰、水温 18°C で培養して、塩分濃度が増殖速度に与える影響を調べた。その結果、MS1は34‰、NIES1311は31‰で最も効率よく増殖した。この結果から培養株は産地の塩分濃度に近い環境で、もっとも速く増殖出来ることが明らかになった。

(2) 競争培養実験は温度ならびに光条件を変化させて行った。春季から夏季に至る海洋の環境要因の変化を模すため、光強度を増大させるとともに、温度を上昇させる実験を行った（図2）。すなわち、48時間後に光強度を $20 \cdot \text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ から $100 \cdot \text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ に増大させ、さらに温度を 12°C から 17°C に引き上げ培養を継続した。そして、96時間後の円石藻と珪藻の細胞濁度の変化を観察した。また、同時に単独培養を同じ条件で行い、競争培養の結果と比較した。その結果、二生物種競争培養系を用いることで実際の海洋により近い増殖特性試験を行うことが出来るようになった。

増殖速度に対する至適条件が円石藻と珪藻で大きく異なり、珪藻*Thalassiosira nordenskiöldii*では 12°C で $100 \cdot \text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 条件時に比増殖速度が最大値 $\cdot = 0.25/\text{d}$ を記録し、対照群比3.8倍となり、

温度が上昇した 17°C で 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 条件では $\mu = 0.18/\text{d}$ に低下した (図 3b, c)。

一方、円石藻 *E. huxleyi* では、17°C で 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ において $\mu = 0.59/\text{d}$ となり、対照群比 2.5 倍の最大値を記録した (図 3c)。この様に *E. huxleyi* の増殖至適温度は *T. nordenskiöldii* よりも高温側にあり、増殖の促進が認められた。

次に培養期間中の光化学系 II の最大量子収率 (Fv/Fm) の挙動を調べた (表 1)。クロロフィル蛍光の測定によって得られるこの指

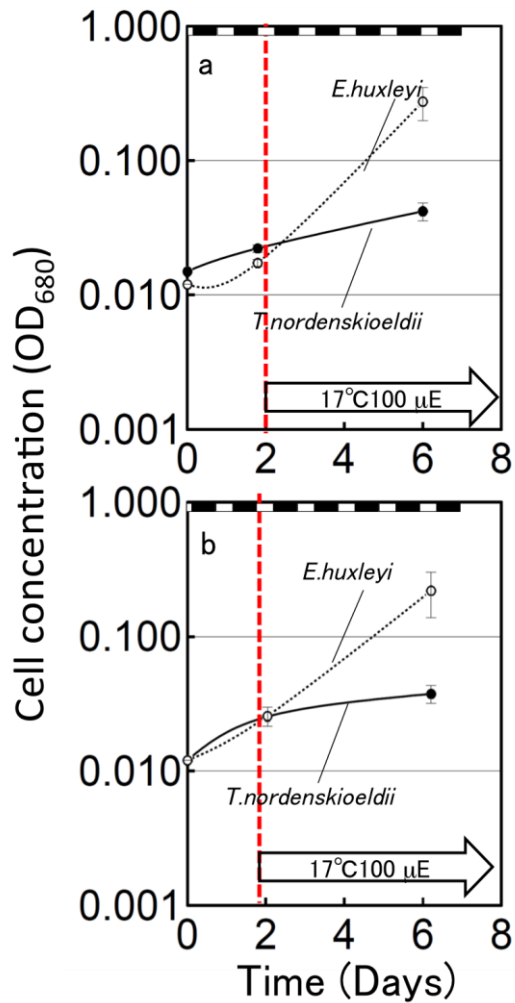


図 2. 光量+温度増強実験における単独培養 (a) および競争培養 (b) における細胞濃度の変化 48h (点線) を境に光強度と培養温度を上げた。グラフ上部のカラムは明暗周期を示している。n=3 エラーバーは標準偏差

標は簡便に細胞の健全度を定量できる為、広く利用されている。

実験開始時 (0day)、48h 後 (2day)、最終日の 144h (6day) にそれぞれサンプリングを行

い測定した。まず、光量のみ増強した場合、*E. huxleyi* は競争、単独のどちらの培養系でもほとんど変化することがなかったが *T. nordenskiöldii* は 48h 経過時点で一時的に Fv/Fm の低下が見られる。実験開始から 48h までの区間は温度 12°C で 20 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の光条件でこの条件が珪藻にネガティブな影響を与えていることを示唆する結果だが、次の、温度+光の実験では同じ区間でも (温度+光の実験においても実験開始から

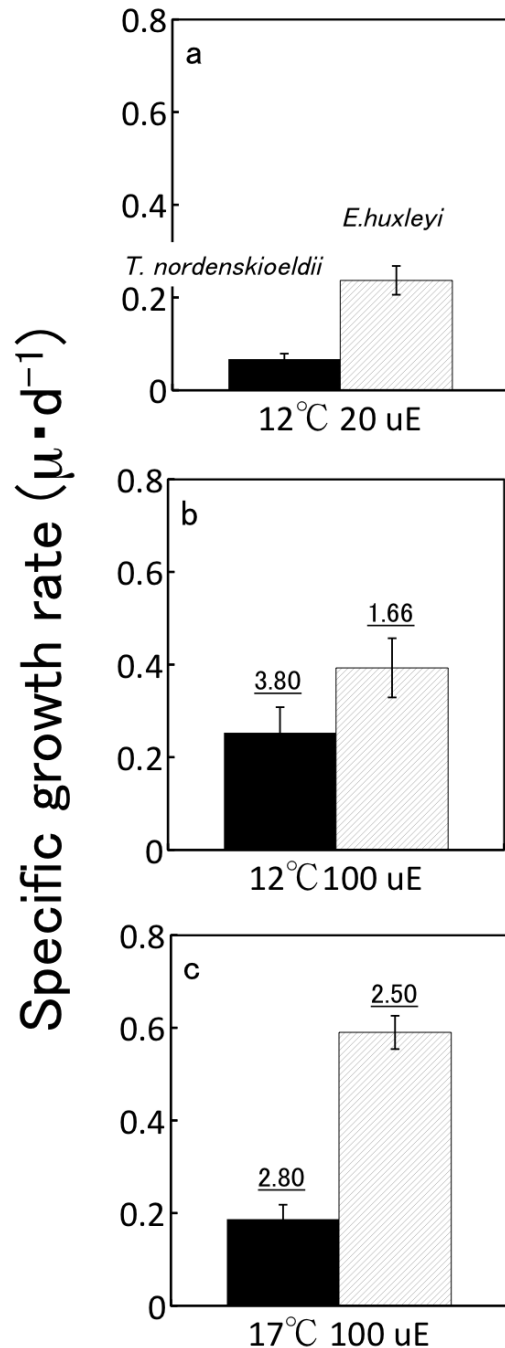


図 3. 競争培養系における比増殖速度の変化

48h 後までは 12°C 20 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$

である) Fv/Fm の低下は認められない。これは恐らく細胞の状態の違いによるものと思われるが、はっきりとした理由については不明である。次に温度と光量を同時に増加させた実験では、最終日において *E. huxleyi* の Fv/Fm 値が低下した。それは単独ならびに競争のどちらの培養系でも観察されたが、その減少比率は競争培養系の方がより小さかった。それとは対照的に *T. nordenskiöldii* の Fv/Fm は単独、競争系共に同条件において増加していた。比増殖速度の結果と正反対になったことは非常に興味深い。この理由として

表 1. 光量(a)並びに光+温度増強実験(b)期間における Fv/F の挙動

単独および競争培養系における Fv/Fm を示す。n=3 ± 標準偏差

a

Day	単独培養		競争培養	
	<i>E. huxleyi</i>	<i>T. nordenskiöldii</i>	<i>E. huxleyi</i>	<i>T. nordenskiöldii</i>
0	0.73±0.02	0.72±0.01	0.73±0.02	0.72±0.01
2	0.73±0.02	0.64±0.01	0.72±0.01	0.64±0.01
6	0.68±0.06	0.70±0.01	0.69±0.01	0.71±0.02

b

Day	単独培養		競争培養	
	<i>E. huxleyi</i>	<i>T. nordenskiöldii</i>	<i>E. huxleyi</i>	<i>T. nordenskiöldii</i>
0	0.73±0.01	0.62±0.06	0.73±0.01	0.62±0.06
2	0.70±0.04	0.62±0.03	0.69±0.04	0.60±0.08
6	0.53±0.05	0.68±0.03	0.63±0.08	0.70±0.01

は、実験最終日の時点において *E. huxleyi* では培地中の栄養塩欠乏などが細胞ストレスを与え始めていると考えられる。一方、*T. nordenskiöldii* は同じ条件であってもそういったストレスを細胞が感じていない。仮に、このまま培養を継続して行えば、*E. huxleyi* は細胞数が減少し、*T. nordenskiöldii* はもうしばらく増殖を続けることが出来るであろうことが予想出来る。両者の細胞濃度が逆転することもあるかもしれない。

以上の変化は、春季から夏季への移行期の温度と光強度の変化と類似するものである。したがって、本研究の結果は、春季の珪藻ブルームから円石藻ブルームへの遷移が、温度変化と光強度の2つの要因によって引き起こされる可能性を示すものである。

すなわち、春先の海水温が低い間は珪藻が円石藻に対して優越するが、徐々に当該海域の水温が上昇すると、より高い温度域と高い光強度により増殖が促進される円石藻が珪藻を凌駕し始める変化の要因となるものと推測できる。

さらに、低温・低光強度条件における珪藻の増殖が直線的に増大したのに対し、円石藻の増殖は lag 期を示した。この現象の原因は不明であるが、新鮮培地(養分十分条件)における珪藻の増殖が円石藻を上回る状況を示している。この状況は、春季の初期において珪藻の増殖が円石藻の増殖を優先する現

象と類似している。

今回の研究により半透膜を用いた円石藻-珪藻の競争培養系の確立に成功した。これにより培養液を介した生物間の相互作用を内包した培養実験が可能となり、天然の海洋に近い状態を培養系で再現出来るようになった。この培養システムを応用すれば、ブルーム遷移要因ばかりでなく、海洋酸性化や地球温暖化による極域の淡水化など諸問題の解析にも大きく貢献出来ると考える。

(3) IODP Exp 306 次航海によって北部北大西洋の site U1313 (中緯度) と site U1314 (高緯度) から採取された深海底堆積物中の *E. huxleyi* 化石の morphotype の組成の変遷を、走査型電子顕微鏡下で調べた。

化石試料の顕微鏡観察の結果、*E. huxleyi* の morphotype 組成が、現在と地質時代では異なっていることが明らかになった。中緯度の U 1313 では、表層堆積物から採取された *E. huxleyi* 化石群集の約 75% を Type A が占めており、Type B/O は 20% 程度であった。しかしながら、*E. huxleyi* acme 開始 (0.08Ma) 以前の堆積物中では、Type A はわずかに 10% 程度であり、Type B/O が 70% 以上を占めた。高緯度の U. 1314 では、表層堆積物中の *E. huxleyi* 遺骸群集の morphotype 組成は Type A が 70%、Type B/O が 10% 程度であったが、*E. huxleyi* acme の開始以前のサンプルでは、Type A は 5% 未満、Type B/O は 90% 程度に達した。表層堆積物中の *E. huxleyi* 化石(遺骸)群集の morphotype 組成は、海洋表層における現生 *E. huxleyi* 群集の組成を反映して、高緯度では Type B/O が優勢で、中緯度では Type A が圧倒的に優勢であった。以上の結果から、地質時代のあいだに *E. huxleyi* 群集のなかでは優勢な morphotype が Type B/O から Type A に変化したことが明らかになった。

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)

[学会発表] (計 17 件)

① 嶋田智恵子・田中裕一郎、外洋性浮遊珪藻 *Neodenticula* の形態多様性と Northern Hemisphere Glaciation、日本古生物学会、2013 年 6 月 28-30 日、熊本大学(熊本県)

② 福田真也・鈴木石根・白岩善博、植物プランクトンと海洋酸性化の相互作用解析システム、ブルーアース 2013、2013 年 3 月 14 日、東京海洋大学(東京都)

③ 桑田 晃、他 9 名、Parmales: an insight into the origin and evolutionary success of diatoms、第 22 回国際珪藻シンポジウム、2012 年 8 月 31 日、ゲント大学(ゲント、ベルギー)

④福田真也、鈴木裕理奈、白岩善博、円石藻 *Emiliana huxleyi*に対する海洋酸性化影響の解析。2012年度日本海洋学会春季大会、2012年 3月26-30日、筑波大学（茨城県）

⑤桑田 晃、奥 修、珪藻の休眠過程の生理生態学、2012年度日本プランクトン学会春季シンポジウム、2012年3月30日、東京大学大気海洋研究所（千葉県）

⑥ 桑田 晃、奥 修、ROLES AND Ecophysiological aspects of resting stages of a marine planktonic coastal diatom、第5回ヨーロッパ藻類学会、2011年9月5日、Rhodos Palace Hotel（ロドス島、ギリシャ）

⑦Shin-ya Fukuda, Yurina Suzuki, Yoshihiro Shiraiwa、Concern about Ocean Acidification to the Bloom-Forming Unicellular Calcifying-Phytoplankton, Coccolithophorid, *Emiliana huxleyi*、The 1st Asia-Oceania Algae Innovation Summit, 2010年12月13-14日、筑波大学（茨城県）

⑧福田真也、鈴木裕理奈、鈴木石根、白岩善博、海洋酸性化で円石藻 *Emiliana huxleyi* に何が起るか、ユーグレナ研究会 第26回研究集会、2010年11月13日、東京大学（東京都）

⑨Shinya Fukuda, Yurina Suzuki, Takeo Hama, Yoshihiro Shiraiwa、Effect of acidification on the growth, photosynthesis and calcification in the coccolithophorid, *Emiliana huxleyi*. 13th INTERNATIONAL NANNOPLANKTON ASSOCIATION MEETING, 2010年9月5-10日、山形テルサ（山形県）

⑩福田真也、鈴木石根、濱健夫、白岩善博、海洋植物プランクトン円石藻に対する海洋酸性化の影響をいかに解析するか？、第48回 アイソトープ・放射線 研究発表会、2010年7月6-8日、日本科学未来館（東京都）

⑪Shin-ya Fukuda, Iwane Suzuki, Yoshihiro Shiraiwa、Influence of the ocean acidification on *Emiliana huxleyi*、国際シンポジウム「微細藻類のバイオテクノロジー ～食糧・環境・エネルギー～」、2010年5月18日、東京大学（東京都）

〔図書〕（計1件）

萩野恭子、Jeremy R. Young、ハプト藻、In: 谷村好洋 and 辻彰洋 (Editors)、微化石、東海大学出版会、pp. 100-105、2012年

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田中 裕一郎 (YUICHIRO TANAKA)
産業技術総合研究所・地質情報研究部門・
副研究部門長
研究者番号：50357456

(2) 研究分担者

桑田 晃 (AKIRA KUWATA)
水産総合研究センター・東北区水産研究
所・主任研究員
研究者番号：40371794

白岩 善博 (YOSHIHIRO SIRAIWA)
筑波大学・生命環境科学研究科・教授
研究者番号：40126420

柳沢 幸夫 (YUKIO YANAGISAWA)
産業技術総合研究所・地質情報研究部門・
上級主任研究員
研究者番号：10358210

萩野 恭子 (KYOKO HAGINO)
岡山大学・地球物質科学研究センター・非
常勤研究員
研究者番号：90374206

山崎 智恵子 (CHIEKO YAMASAKI)
秋田大学・工学資源学部・客員研究員
研究者番号：60597186