

## 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24年 6月 18日現在

機関番号：82708

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2010～2011

課題番号：22657027

研究課題名（和文）パルマ藻は珪藻の起源の鍵を握るか?世界初培養株を用いた生物特性の解明

研究課題名（英文）Characterization of Parmales using first ever culture: an insight into the origin of diatoms.

研究代表者

桑田 晃 (KUWATA AKIRA)

独立行政法人水産総合研究センター東北区水産研究所 資源海洋部 主任研究員

研究者番号：40371794

研究成果の概要（和文）：海洋で最も重要な基礎生産者である珪藻の起源は依然不明であり、解明の鍵を握ると予想されるパルマ藻は、培養が不可能なため実体が全く不明であった。そのような状況下、我々は、パルマ藻の単離培養に世界で初めて成功した。そこで本研究は、単離株を用いた培養実験およびフィールド実験により、パルマ藻の生育環境、系統的位置、シリカの殻の形成過程及び生活史の解析を行い、パルマ藻と珪藻の進化過程の解明を進めた。

研究成果の概要（英文）：Parmales has been proposed as a close relative of diatoms, which are the most successful phytoplankton group in modern oceans. Because the origin of diatoms has not yet been clearly established, Parmales may play a key role in answering this question. However, we still have very little biological information on this alga, due to lack of laboratory investigations. Recently, we isolated the first ever culture of Parmales. To explore the evolutionary link between Parmales and diatoms, we investigated the growth characteristics, phylogeny, formation of silica cell wall and life cycle of Parmales by culture experiments and field experiments.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,400,000	0	2,400,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	210,000	3,310,000

研究分野：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：分類・進化・プランクトン・海洋生態・藻類

### 1. 研究開始当初の背景

パルマ藻は、サイズが2-5 $\mu\text{m}$ と小さいながら、シリカの殻で細胞が覆われたピコ植物プランクトンである。極域から熱帯まで広域で見られ、特に極域や亜寒帯域では高密度で発見されながら、パルマ藻の培養が成功しないために研究が著しく遅れており、その生物学的実体は依然不明であった。発見当初パルマ藻は、シリカの殻を持つ襟鞭毛虫のシストと推測されていたが、その後現場試料の細胞内構造観察により植物プランクトンであることが確認され、現在は暫定的に不等毛藻類の黄金色藻に位置されていた (Booth & Marchant 1987)。

一方、パルマ藻同様シリカの殻を持つ珪藻は、現在海洋で最も成功している大型植物プランクトンであり、海洋基礎生産の約40%を担い、種数も推定約200,000種と多様である (Armbrust 2009)。しかし、珪藻の起源、最大の特徴であるシリカの殻の獲得過程等については未だ不明であり、現時点の分子系統では、サイズが小さい暖海性のピコ植物プランクトンでシリカの殻を持たない無殻鞭毛藻のボリド藻が意外にも珪藻と最も近縁な姉妹群となっていた (Guillou et al. 1999)。

我々はパルマ藻発見から約30年後の2009年、細胞内に取り込んだケイ素を特異的に染色する蛍光色素 PDMP0 の使用により世界で初めて親潮域よりパルマ藻の1種 (*Triparma laevis*) の単離培養に成功した。取得した培養株を対象に電子顕微鏡による形態観察、分子系統解析および光合成色素分析を行った結果、パルマ藻が黄金色藻には属さず、ボリド藻に極近縁である事が示唆された。この事

実は、パルマ藻がボリド藻同様珪藻と非常に近縁であり、珪藻の起源と進化過程の解明にとってパルマ藻が大きな鍵を握っていることを強く意味する。しかしながら、パルマ藻の実体の解明は始まったばかりであり、依然不明な点が多く、さらなる解析を必要としていた。

### 2. 研究の目的

以上の研究背景から、本研究は、世界で初めて成功した単離培養法を用いて複数株のパルマ藻を取得し、生育環境、系統的位置、シリカの殻の形成過程及び生活史の解明に向けて解析を進めることにより、「パルマ藻とは何か？」を明らかにし、さらに「パルマ藻から珪藻の起源」を探ることを目的とした。

### 3. 研究の方法

本研究ではパルマ藻の生物特性の解明のため、(1)複数種の培養株の単離 (2) 系統的位置の分子系統学的解析、(3)シリカの殻形成過程の解析、(4)培養実験による生活史の探索、(5)現場観測と室内培養実験による生育環境の解析を行った。

#### (1) 複数種の培養株の単離

親潮域の調査航海により単離用の試水を採取し、蛍光色素 PDMP0 の使用により、新たに培養株を単離した。

#### (2) 系統的位置の分子系統学的解析

得られたパルマ藻の複数種の単離株とフランスロスコフ海洋研究所より入手したボリド藻の複数株を対象に複数の遺伝子の配列情報を取得し、分子系統解析を行った。

#### (3) シリカの殻形成過程の解析

既に単離されたパルマ藻 (*Triparma*

*laevis*)の培養株を明暗周期下で培養し、細胞分裂過程を走査電子顕微鏡と透過電子顕微鏡により時系列的に解析する。

#### (4) 培養実験による生活史の探索

既に単離されたパルマ藻 (*T. laevis*) の単離株を様々な培養条件下で培養し、形態の異なる生活史のステージの移行が誘導されるかどうかを観察した。

#### (5) 現場観測と室内培養実験による生育環境の解析

親潮域および親潮—黒潮混合域における調査航海により季節毎の試料を採取し、パルマ藻の複数種の個体群密度の鉛直分布の季節変動を明らかにする。

既に単離されたパルマ藻 (*Triparma laevis*) 培養株を用いた室内培養実験により、パルマ藻 (*T. laevis*) の生育限界・増殖最適環境を明らかにする。現場観測と室内培養実験で得られた結果を照合することにより、パルマ藻の生育環境を解析した。

### 4. 研究成果

#### (1) 複数種の培養株の単離

既に単離された *Triparma laevis* (図1) に加え、新に *T. laevis f. longispina* (図2)、*T. strigata* (図3)、*T. verrucosa* (図4) の3種のパルマ藻の単離株を親潮域より取得した。

#### (2) 系統的位置の分子系統学的解析

得られた4株のパルマ藻と極近縁のグループであることが判明したボリド藻の複数株より、18SrDNA、*rbcL*等の複数の遺伝子の配列情報を取得し、分子系統学的解析を行った結果、パルマ藻とボリド藻の複数株では同一のクレードに属することが明らかとなった。

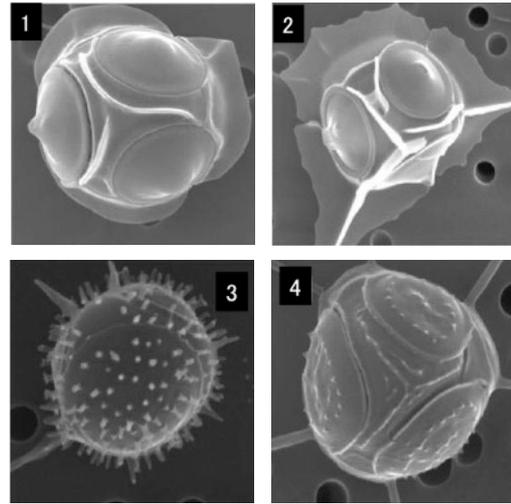


図1-4 パルマ藻の単離株

#### (3) シリカの殻形成過程の解析

走査電子顕微鏡により分裂過程を、また、透過電子顕微鏡により細胞内でのシリカの殻形成過程を観察し、それぞれ珪藻とは異なる過程が認められた。現在、詳細を解析中である。

#### (4) 培養実験による生活史の探索

培養中にパルマ藻の個体群の一部から、通常のシリカの殻を持つステージとは異なる鞭毛を持つ遊泳ステージが観察された。さらに後には別の株からも同様のステージが観察された。現在、両ステージの遺伝子情報の比較による検証、誘導条件の検討等、詳細を解析中である。

#### (5) 現場観測と室内培養実験による生育環境の解析

培養実験による増殖速度の光・温度依存性の解析と、現場観測による親潮—黒潮混合域における空間分布の解析により、*T. laevis* 個体群の夏季の生育環境を明らかにした。さらに、親潮域および親潮—黒潮混合域におけるパルマ藻群集の種組成および現存量の季節変化を調査することにより、本海域におけるパルマ藻優占種を特定し、パルマ藻群集の季節的動態を明らかにした。

## 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)

[雑誌論文] (計1件)

① Ichinomiya M, Yoshikawa S, Takaichi S, Kamiya M, Ohki K, Kuwata A, Isolation and characterization of Parmales (Heterokonta /Heterokontophyta/ Stramenopiles) from the Oyashio region, western North Pacific. *Journal of Phycology*, 査読有, Vol. 47, 2011, 144-151

[学会発表] (計7件)

① Kuwata A. Exploring the evolutionary link between Parmales and the success of diatoms in marine ecosystems. Japanese-French Mini-Symposium on Marine Plankton, 2011.12.1, つくば

② 一宮睦雄 桑田晃、海産ピコ植物プランクトン・パルマ藻の単離の試みとその性状 - パルマ藻は珪藻の起源解明の鍵となるか? 第27回日本微生物生態学会シンポジウム、2011.10.10、京都

③ 一宮睦雄 桑田晃、親潮および親潮-黒潮混合域におけるパルマ藻群集の季節変動、2011年度日本海洋学会秋季大会、2011.9.27、博多

④ 一宮睦雄 桑田晃、親潮域および親潮-黒潮混合域におけるパルマ藻 *Triparma laevis* の季節変化、2011年度日本プランクトン学会秋季大会、2011.9.7、高知

⑤ 一宮睦雄・吉川伸哉・神谷充伸・大城香・高市真一・桑田晃、親潮域における微小植物プランクトン・パルマ藻の単離培養とその性状解析、日本藻類学会、2011.3.27、富山

⑥ Ichinomiya M, Yoshikawa S, Takaichi S, Kamiya M, Ohki K, Kuwata A. Characterization of Parmales, a siliceous phytoplankton, isolated from the Oyashio water

er from near Japan. 13th International Nannoplankton Association Meeting, 2010.9.06, 山形

⑦ Kuwata A. Isolation and characterization of Parmales from the Oyashio region, western North Pacific, an insight into diatom ancestry? 18th Meeting of the International Society for Evolutionary Protistology, 2010.7.14, 金沢

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

桑田 晃 (KUWATA AKIRA)

独立行政法人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

### (2) 研究分担者

大城 香 (OHKI KAORI)

福井県立大学・海洋生物資源部・教授

研究者番号：90101104

(H22→H23:連携研究者)

### (3) 連携研究者

吉川 伸哉 (YOSHIKAWA SHINYA)

福井県立大学・海洋生物資源部・講師

研究者番号：20405070

神谷 充伸 (KAMIYA MITSUNOBU)

福井県立大学・海洋生物資源部・教授

研究者番号：00281139

一宮睦雄 (ICHINOMIYA MUTSUO)

熊本県立大学・環境共生学部・講師

研究者番号：30601918