

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 8 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23540550

研究課題名(和文) サイズ変化をともなった円石藻の種分化の原因の解明

研究課題名(英文) Evolutional size change in living and fossil Gephyrocapsa

研究代表者

萩野 恭子 (Hagino, Kyoko)

岡山大学・地球物質科学研究センター・研究員

研究者番号：90374206

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：円石藻化石にみられるサイズ変化を伴った種分化の原因を探るために、第四紀のGephyrocapsa 属化石の形態・サイズの変遷と、現生G. oceanica の形態学的・遺伝学的多様性を調べた。化石の形態観察の結果、小型のGephyrocapsa 属の化石にはcentral area, bridge angle, distal shield elements の形態にさまざまなバリエーションがあることが分かった。現生種の分子系統解析の結果、G. oceanica は種内で遺伝学的な多様性が大きく、Gephyrocapsa 属の多様性を議論する上ではcox1遺伝子が有効であることが分かった。

研究成果の概要(英文)：We examined morphological and morphometric variations in fossils Gephyrocapsa in the Quaternary in North West Atlantic Ocean, morphometric changes in coccoliths of culture strains of G. oceanica in relation to growth phase, and genetic variation of living G. oceanica in nuclear, plastid and mitochondrial sequences. Morphological studies of fossil Gephyrocapsa showed that fossils of small Gephyrocapsa are varied in morphology of central area, distal shield elements and of bridge angle. Culture experiments revealed that coccoliths produced in stationary phase is larger than log phase, and size range of coccoliths differs between the strains. Molecular study revealed that cox-1b is suitable for the study of variation in G. oceanica.

研究分野：層位古生物学

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：コッコリス 微化石 円石藻 進化

1. 研究開始当初の背景

円石藻の多くの系統(属)は、それぞれの系統の歴史の中で、地質年代の経過に伴ったコッコリスのサイズの変化を複数回経験してきた。この年代経過にもなったサイズ変化には、独特のパターンがある。まず、小型のコッコリスをつくる種は、属の存続期間を通じて継続的に存在している。そして、大型化する個体群の形態的特徴は毎回違っている。そして、大型化は年代経過にもなって徐々に進行するが、サイズの減少は非常に急激である。

このようなサイズの変化は局所的な現象ではなく、全海洋でほぼ同時に進行する。そのため、コッコリスのサイズ変化は、環境変動を反映したものではなく、サイズ増加をともなった種分化(一部の小型種の大型化)と、大型化した種のみ絶滅の繰り返しの結果であると考えられている。そして、ODP/IODPをはじめとする多くの海成堆積物の研究において、特定の属のコッコリスの「大きさ」の情報自体が、堆積物の年代決定に役立てられている。

サイズが違う形態種間に遺伝学的な違いがあることは、現生種の分子(遺伝子)情報から確かめられている(Sáez et al., 2003, Hagino et al., 2009)。そのため、化石種のコッコリスの大型化も、現生種と同様に、種分化にもなって生じたとみなされている。しかしながら、「なぜ一部の小型種の大型化と、大型種の絶滅のサイクルが繰り返されるのか?」という疑問は解決していない。

円石藻を同属内で比べた場合、現生群集・化石群集のどちらの場合でも、小型種は富栄養な環境から、中～大型種は貧栄養な環境から多産する傾向がある(例:Hagino & Okada, 2004)。また、外洋種と沿岸種で比較した場合、大規模な環境変動のときには、外洋種の方が沿岸種より絶滅率が高い(外洋種の方が環境変化に弱い)ことも報告されている(Bown, 2005)。このような背景から私は、本研究に先立ち、「貧栄養な外洋への適応に応じて起こる大型化と、沿岸種(小型)と外洋種(大型)の環境耐性(絶滅率)の違いが、化石のサイズ変化の繰り返しを引き起こしているのではないか」という仮説を立てた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、コッコリスのサイズ変化をともなった種分化(進化)の原因を、古生物学的な手法と生物学的な手法の両方に基づいてしらべ、上記の仮説を検証することである。

3. 研究の方法

(1), 古生物学的な手法:

中～大型の *Gephyrocapsa* 化石の形態進

化は、先行研究によって電子顕微鏡(SEM/TEM)観察に基づいて詳しく調べられている(例, Matsuoka & Okada, 1990)。しかしながら、小型の *Gephyrocapsa* 化石の形態や形態進化については、これまでにほとんど調べられていない。

本研究では、IODP Exp. 306 によって北西大西洋から採取された、第四紀の深海底堆積物中に含まれる *Gephyrocapsa* 属化石のサイズと形態進化を調べた。とくに、現生の *Gephyrocapsa oceanica* との直接的な祖先を追跡するため、過去 100 万年の堆積物中における小型～中型の *Gephyrocapsa* 属化石の形態進化とサイズの多様化の歴史を、高解像度で検証した。

(2), 生物学的な手法:

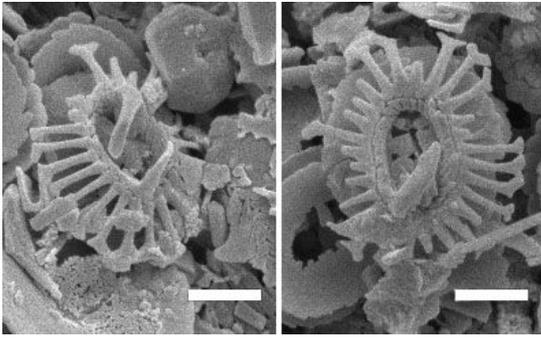
現生 *Gephyrocapsa* 属は、高栄養塩環境を好む小型種(*G. ericsonii*, *G. crassipons*, *G. ornata*, *G. protohuxleyi*)と、高栄養塩環境～貧栄養塩環境まで広い分布範囲をもつ中～大型種(*G. oceanica*)と、寒冷水塊を好む中型種(*G. mullerae*)から構成されている。さらに、*G. oceanica* については、栄養塩レベルに対応して morphotype 組成が変化することが報告されている(Hagino et al. 2000)。そのため同属の種間ならびに種内において、栄養塩環境に関連づけられる遺伝学的な違いが見つかるのではないかという見込みを立てた。

本研究では、日本の各地で海水試料のサンプリングを行い、多数の *Gephyrocapsa* 属の培養株を確立した。また、大西洋や地中海から単離・確立された *Gephyrocapsa* 属の培養株を、海外研究協力者の協力のもとで入手した。世界中の様々な海域から得られた培養株の形態観察と、分子情報の取得を行い、分子系統解析を行った。

4. 研究成果

(1), 古生物学的な手法:

IODP exp. 306 によって、中緯度ならびに高緯度の北大西洋から採取された深海底コア試料(sites 1312-1314)を走査型電子顕微鏡下で観察し、小型～中型の *Gephyrocapsa* 属の形態の多様性の変遷を調べた。その結果、小型の *Gephyrocapsa* 属のコッコリスの形態は、central area が distal shield に占める割合や bridge の角度や高さ、central area elements と distal shield elements の太さや形状に、さまざまな変異があることが明らかになった。また、*Gephyrocapsa* 属から *Emiliania* 属が分岐したと考えられる層準(約 290 ka)では、両属の中間的な形態の化石を数多く発見した。



(図の説明) *Emiliana* 属と *Gephyrocapsa* 属の中間的な形態をもつ化石の例

本研究で明らかにした、第四紀における小型～中型の *Gephyrocapsa* 属化石の形態学的多様性の変遷をまとめた論文を、現在執筆中である。

(2) 生物学的手法：

鳥取県東伯郡湯梨浜町沖と東京都小笠原村父島沿岸で海水試料のサンプリングを行い、それぞれ3株の *G. oceanica* の培養株を取得した。また、連携研究者らの協力のもと日本各地の海水を入手し、長崎県対馬沖の海水から10株、高知県土佐湾から2株、宮崎県仙台湾から15株、青森県陸奥湾から1株、北海道函館沖から1株の *G. oceanica* のクローン培養株を確立した。さらに、海外連携協力者(Ian Probert 博士、Station Biologique Roscoff) から、大西洋と地中海産の *G. oceanica* の培養株を計50株入手した。

得られた培養株の内、鳥取県湯梨浜町と小笠原村父島から得られた培養株は、本研究で使用すると同時に、国立環境研究所(茨城県つくば市)の微生物コレクションに保管した。また、長崎県対馬沖、高知県土佐湾、宮崎県仙台湾から確立した培養株は、Station Biologique Roscoff(フランス)の培養株コレクションに保管した。

培養株によって形成されるコッコリスの大きさは、*E. huxleyi* の場合は、分裂の頻度が落ちた静止期のほうが、活発に分裂している対数増加期より若干大きくなること。それを考慮した上でも、'コッコリスの大きさの変異の範囲'は培養株間で異なっており、この変異の範囲の違いは、遺伝学的要因に規制されていると考えられている(e.g. Young and Westbrook, 1991)。各培養株のコッコリスのサイズの変化の範囲を把握するために、対数増加期と静止期の両方で、それぞれの培養株について形成されたコッコリス100個の形態観察とサイズ測定を走査型電子顕微鏡を用いて測定し、各培養株の記載を行った。その結果、*E. huxleyi* と同様に *G. oceanica* においても、形成されるコッコリスのサイズは対数増加期と静止期で違いがあるものの、サイズの変異巾は株によって違っていることが、確かめられた。

海外研究協力者の Ian Probert 博士と El Mahdi Bendif 博士と協力して、様々な海域から採取された *G. oceanica* の培養株から核DNA(18S and 28S rDNA)、ミトコンドリアDNA(*cox1*, *cox2*, *cox3*, *rpl16*, and *dam*)、そして葉緑体(16S rDNA, *rbcL*, *tufA*, and *petA*)の部分塩基配列を取得した。その結果、*G. oceanica* の遺伝子に非常に大きな多様性があること、そして *G. oceanica* の多様性の追跡には *cox-1b* 領域の配列を用いることが適していることが明らかになった。この結果を、Bendif et al. (2014) に共著者として論文発表した。

さらに、*G. oceanica* の各培養株の産地の環境、形態学的特徴、そして、遺伝学的多様性との関連を議論する論文を、現在準備中である。

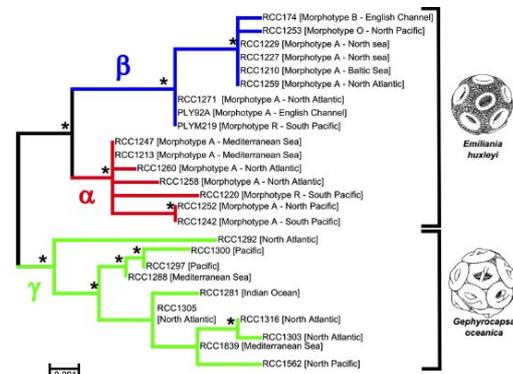


Fig. 2. Unrooted phylogenetic trees inferred from the concatenation of 28S rDNA, *cox1* and *rpl16* gene sequences. The pattern of morpho-species delineation is given for the sake according to our SEM observations. (*) denotes nodes with bootstrap values higher than 70%.

(図の説明) *G. oceanica* の *cox1* 塩基配列に基づいた系統樹 (Bendif et al. 2014)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計6件)

主要な論文

Bendif E, Probert I, Romac S, Hagino K, de Vargas C, Genetic delineation between and within the widespread coccolithophore morpho-species *Emiliana huxleyi* and *Gephyrocapsa oceanica* (Haptophyta). J Phycology, 査読有り, Vol. 50, 140-148. DOI:10.1111/jpy.12147

Hagino K, Onuma R, Kawachi M, Horiguchi T, Discovery of an endosymbiotic nitrogen-fixing cyanobacterium UCYN-A in *Braarudosphaera bigelowii* (Prymnesiophyceae). PLoS One, 査読有り, 2013, Vol. 8 (12), DOI:10.1371/journal.pone.0081749

Matsumoto, T., Maruoka, T., Shimoda, G., Obata, H., Kagi, H., Suzuki, K., Yamamoto, K., Mitsuguchi, T., Hagino, K., Tomioka, N., Sambandam, C., Brummer, D., MartinKlaus, P.

& Aggarwal, P. Tritium in Japanese precipitation following the March 2011 Fukushima Daiichi Nuclear Plant accident. *Science of the Total Environment*: 査読有り、2013、365-70.

萩野恭子 and Young, J.R., 2012. 円石藻. In: 谷村好洋 and 辻彰洋 (Editors), 微化石. 査読無し、東海大学出版会, pp. 100-105.

Harada N, Sato M, Oguri K, Hagino K, Okazaki Y, Katsuki K, Tsuji Y, Shin K-H, Tadaï O, Saitoh S-I, Narita H, Konno S, Jordan RW, Shiraiwa Y, Grebmeier J., Enhancement of coccolithophorid blooms in the Bering Sea by recent environmental changes. *Global Biogeochemical Cycle*. 査読有り、2012、26・GB2036、DOI: 10.1111/j.1529-8817.2011.01053.x

Hagino, K., Bendif, E.M., Young, J.R., Kogame, K., Probert, I., Takano, Y., Horiguchi, T., De Vargas, C., Okada, H., New evidence for morphological and genetic variation in the cosmopolitan coccolithophore *Emiliana huxleyi* (Prymnesiophyceae) from the *cox1b-ATP4* genes. *Journal of Phycology*. 査読有り、Vol. 47、2011、1164-1176、DOI: 10.1111/j.1529-8817.2011.01053.x

〔学会発表〕(計6件)

Hagino, K., Onuma, R., Kawachi M. and Horiguchi, T., Relationships among *Braarudosphaera bigelowii*, *Chrysochromulina parkeae*, and the prymnesiophyte host of the cyanobacterium UCYN-A. 14th meeting of the International Nannoplankton Association, 2013年9月25日、Reston Sheraton Hotel, Virginia, USA

萩野恭子, 河地正伸、円石藻 *Braarudosphaera bigelowii* の進化史とシアノバクテリアとの共生、日本地球惑星科学連合 連合大会、2013年5月19日、幕張メッセ

Kyoko Hagino, Young, J.R., Bown, P.R., Godrijan, J., Kogame, K., Kulhanek, D.K & Horiguchi, T., Living-fossil coccolithophore survivors of the Cretaceous-Paleogene mass extinction. 古海洋シンポジウム、2013年01月07日~01月08日、東京大学大気海洋研究所

萩野恭子, Jeremy R. Young, Paul R. Bown, Jelena Godrijan, 小亀一弘, Denise K. Kulhanek, 堀口健雄、円石藻の生きている化石, *Tergestiella adriatica*, 第36回日本藻類学会, 2012年7月13日~15日、北海道大学

萩野 恭子, Bendif, E.M., Young, J.R., 小亀 一弘, Probert, I., 高野 義人, 堀口 健雄, Colombar de Vargas, & 岡田 尚武、円石藻 *Emiliana huxleyi* のコッコリスの形態とミトコンドリア *COX1b-ATP4* 遺伝子配列に見られる多型、日本植物学会、2011年9月18日、東京大学

猿渡和子・萩野恭子・小暮敏博・白岩善博 (2011) 円石藻 *Coccolithus braarudii* のヘテロココリスの形成と結晶方位, 第14回マリンバイオテクノロジー学会大会, 2011年5月28日~29日、静岡県コンベンションアーツセンター

猿渡和子・萩野恭子・長澤寛道・小暮敏博 (2011) 新生代化石ココリスの結晶方位解析, 2011年鉱物科学会年会、2011年9月19日~21日、茨城大学

6. 研究組織

(1) 研究代表者

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

(2) 研究分担者

小亀 一弘 (KOGAME KAZUHIRO)
北海道大学・大学院理学研究院・准教授
研究者番号: 80215219

(3) 連携研究者

桑田 晃 (KUWATA AKIRA)
独立行政法人水産総合研究センター・研究員
研究者番号: 40371794

(4) 連携研究者

堀口 健雄 (HORIGUCHI TAKEO)
北海道大学・理学系研究院・教授
研究者番号: 20212201

(5) 海外研究協力者

Dr. El Mahdi Bendif
The Marine Biological Association of the UK・博士研究員

(6) 海外研究協力者

Dr. Ian Probert
Station Biologique Roscoff, France・研究員

(7) 海外研究協力者

Dr. Colombar de Vargas
Station Biologique Roscoff, France・研究員

(8) 海外研究協力者

Dr. Jeremy Young
University College London, UK・研究員