

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 6 日現在

機関番号：16401
研究種目：基盤研究(C) (一般)
研究期間：2014～2016
課題番号：26400505
研究課題名(和文) 有光層下部に生息する円石藻のルーツの解明

研究課題名(英文) Origin of deep-dwelling coccolithophores

研究代表者
萩野 恭子 (Hagino, Kyoko)

高知大学・その他部局等・客員講師

研究者番号：90374206
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：円石藻 *Florisphaera profunda* と *Gladiolithus flabellatus* の季節変化、形態観察、分子情報の取得、化石記録の調査を行った。*F. profunda* は北西太平洋では8月に、日本海では11月に増加する。形態観察の結果、*F. profunda* の石灰質鱗片はヘテロコッコリスであることが分かった。分子系統解析の結果、*F. profunda* と *G. flabellatus* は、ヘテロコッコリスを形成する円石藻クレードに入ることが分かった。化石記録から、*F. profunda* は前期中新世、*G. flabellatus* は始新世 までに出現していたことを確認した。

研究成果の概要(英文)：We have studied distribution, seasonal change, morphology of coccoliths, molecular-phylogenetic position, and fossil record of *Florisphaera profunda* and *Gladiolithus flabellatus* that dominate coccolithophore assemblage of lower photic-zone in the tropical-transitional oceans. Floristic studies showed that *F. profunda* increase in abundance in late summer in the NW Pacific, and in late autumn in the Sea of Japan. Morphological studies revealed that coccoliths of *F. profunda* are hetero-coccolith. Molecular phylogenetic studies confirmed that *F. profunda* and *G. flabellatus* are included in the hetero-coccoliths bearing coccolithophore clade. Biostratigraphic studies showed that *F. profunda* occur from the Early Miocene.

研究分野：微古生物学

キーワード：円石藻 石灰質ナノ化石 進化

1. 研究開始当初の背景

円石藻 (通称: 石灰質ナノプランクトン) は海生の単細胞微細藻類で、細胞の表面にコッコリスと呼ばれる石灰質鱗片を持つ。このコッコリスは細胞の死後に海底に沈降・堆積し、化石として深海底堆積物中に保存される。コッコリス化石は示準化石として、海成堆積物の年代決定に用いられているほか、指標化石として、古海洋環境の復元にも用いられている。

光合成生物である円石藻は、海洋表層の有光層内に生息しているが、その分布水深は種によって異なっている。その結果として熱帯～温帯では、温度躍層を境界として、有光層の上部と下部には異なった種類の円石藻が生息している。下部有光層の円石藻は、熱帯～温帯の海洋における重要な第一次生産者の一つである。現在の海洋の下部有光層円石藻植物相で最も多いのは *Florisphaera* 属であり、次いで *Gladiolithus* 属が多い。

上部有光層に生息する種群の量は、表層水塊の栄養塩環境によって規制されるが、この栄養塩濃度は水塊の成層状況を反映する。その一方で、栄養塩が豊富な下部有光層に生息する種の量は、下部有光層まで到達する光量によって規制されるのであるが、これは上部有光層の濁度 = 上部有光層の生息種の量を反映している。その結果として、有光層内の円石藻群集全体における下部生息種が占める割合は、水塊の成層状況を反映し、成層化が進行すると、下部有光層生息種の量が増加する (引用)。以上の背景から、石灰質ナノ化石群集全体における *Florisphaera* 属化石と *Gladiolithus* 属化石の相対頻度は、過去の海洋の水塊の成層状況を復元するための指標として有効である (引用)。

Florisphaera 属と *Gladiolithus* 属が形成する板状のコッコリスは、有光層上部に生息する一般的な円石藻のコッコリスと形態上の共通点が少なく、形態からその系統学的な位置を推測することがこれまで出来なかった。そのため、これらが形成するコッコリスは「ナノリス」として、一般的な円石藻が形成する「コッコリス・ヘテロコッコリス」からは区別されてきた。また、これらの2属は難培養性で培養株が確立されていなかった為、分子情報に基づいた推定も出来なかった。そのため、*Florisphaera* 属と *Gladiolithus* 属の分類学上の所属 (目、科) や祖先、多様化の過程は不明であった。その上、*Florisphaera* 属と *Gladiolithus* 属化石の発出現年代や、形態進化の詳細はこれまでに調べられた例が無く、現在の下部有光層の円石藻植物相が、いつ、どのように成立したのかについての情報も無かった。

2. 研究の目的

本研究の目的は、海洋の下部有光層に生息する円石藻 (*Florisphaera profunda* と *Gladiolithus flabellatus*) のルーツを明らかに

ることにより、現在の下部有光層円石藻植物相が、どのように成立したのかを解明することである。

3. 研究の方法

3-1. 古生物学的手法に基づいた研究:

ODP Leg 115 によって北インド洋の site 707 と site 709 から採取された新生代 (暁新世～完新世) の深海底堆積物試料を、高知コアセンターから取得した。堆積物試料の偏光顕微鏡観察を行い、*Florisphaera* 属と *Gladiolithus* 属の化石の産出期間を調べた。両属の化石密度が高く、保存が良い試料については、高知大学理学部と海洋コア総合研究センターの FE-SEM を用いて、化石の微細構造の形態や大きさの変化を調べた。以上の結果に基づいて、*Florisphaera* 属と *Gladiolithus* 属の形態進化・多様化の歴史を調べた。

3-2. 生物学的手法に基づいた研究:

平成 26-27 年度は、高知大学の海洋生物研究教育施設の研究船「ねぶちゅーん」を使用して、土佐湾の有光層 (水深 0-200m) の海水の各層採水を1ヶ月に1-2回の頻度で行った。採取した海水中の円石藻群集を調べて、土佐湾における円石藻群集の組成と分布、

Florisphaera 属と *Gladiolithus* 属の分布と生息水深、それらの季節変化を明らかにした。

これまでの研究によって、さまざまな海域から採取・保管されている海水ろ過フィルター試料の再観察を行い、現生の *Florisphaera* 属と *Gladiolithus* 属の分布の詳細や、形態学的な多様性を調べた。

平成 27-28 年度には、土佐湾の海水から *F. profunda* var. *elongate* と *G. flabellatus* の生きた細胞を倒立検鏡下で単離し、培養株の確立を試みた。また、単離した両種の細胞の 18S rDNA 塩基配列を、単細胞 PCR 法 (引用) に基づいて取得した。

4. 研究成果

4-1: J. R. Young 博士 (UCL) によって大西洋から発見された、*Gladiolithus* 属の新種の形態観察と記載に協力した。それとは別に、*Gladiolithus flabellatus* から 18S rDNA 塩基配列を取得し、*Gladiolithus* 属の分子系統学的位置を決定した。以上の結果を共著者として論文発表した (発表論文)。

4-2: 赤道太平洋と日本海から採取された海水ろかフィルター試料上に保存された、現生の *Florisphaera* 属の FE-SEM 観察を行い、コッコリスの形態やサイズの多様性を調べた。その結果、非常に保存状態の良い個体のコッコリスの末端部に proto-coccolith ring とみられる構造が観察された。この観察結果は、*Florisphaera* 属はナノリスではなく、ヘテロコッコリス形成種の一つであることを示している。日本海から得られた個体の観察結果を論文発表した (発表論文)。赤道太平洋

試料から得られた固体の観察結果については、別の論文を準備中である。

4-3: 鳥取県の泊港沖の日本海から定期採水した海水から作成した海水ろ過試料を用いて、円石藻群集の季節変化を調べた。その結果、*Florisphaera* 属が11月に増加することや、従来の報告では下部有光層にのみ生息するとされてきた *Florisphaera* 属が、11月には海洋表層まで分布域を広げることが分かった。泊港沖の試料からは *Gladiolithus* 属はわずかにしか産出せず、その季節性は分からなかった(発表論文)。

4-4: 土佐湾(太平洋)の海水の定期的な調査を行った結果、土佐湾では *Florisphaera* 属と *Gladiolithus* 属の増加は主に8月末から9月に起こり、その生息水深は40-60mであることが多かった。鳥取県沖の日本海(結果4-3)の場合と異なり、*F. profunda* が海洋表層まで到達することは無かった。*Florisphaera* 属の生息水深が、日本海と土佐湾(太平洋)で異なっていた理由は現在でも分かっていない。土佐湾における *Florisphaera* 属と *Gladiolithus* 属を含めた円石藻群集の動態については、論文公表に向けて準備中である。

4-5: 土佐湾から採取した海水中から、*Florisphaera profunda* var. *elongate* と *Gladiolithus* 属の細胞単離し、単細胞 PCR 方に基づいて、それぞれの18S rDNA 塩基配列を決定した。これに加えて、研究計画には含まれていなかったが、*F. profunda* 等と同様に下部有光層に生息する *Michaelsarsia* 属の細胞も単離することが出来たため、それらの18S rDNA 塩基配列を取得した。得られた *Gladiolithus* 属の配列は、Young et al. (2014) (発表論文)の研究で得られた配列と一致していた。*F. profunda* var. *elongate* と *Michaelsarsia* sp.の分子系統学的な位置とコッコリスの形態学的な分析結果に関する論文を、現在準備中である。

4-6: *Florisphaera profunda* と *Gladiolithus flabellatus* の培養株の確立を試みたが、残念ながら成功しなかった。その一方で、下部有光層生息種としてはマイナーな存在ではあるが、珪藻との共生関係があることが有名な *Reticulofenestra sessilis* のクローン培養株 (strain Usa-1) の確立に成功し、18S rDNA, plastid 16S rDNA, *cox1*, *tufA* のそれぞれの部分塩基配列の取得した。分子系統解析の結果に基づいて、*R. sessilis* の系統学的な位置を報告する論文を現在準備中である。

4-7: ODP Leg 115 によってインド洋から採取された暁新世～完新世の深海底堆積物コア試料の偏光顕微鏡観察を行い、石灰質ナノ化石層序の再確認を行った。その結果のうち、中新世から完新世のナノ化石層序の特徴を

論文発表した(発表論文)。暁新世～漸新世のナノ化石層序に関する同様の論文を、現在準備中である。

4-8: 現在の下部有光層で最も繁栄している円石藻: *Florisphaera* 属化石の出現年代は、これまで確かめられていなかったが、おそらく Middle Miocene であろうと考えられていた(引用)。本研究で、*Florisphaera* 属化石の形態やサイズの変異を連続的に追跡した結果、化石記録は少なくとも、Early Miocene まで遡ることが確かめられた。ただし、Early Miocene から産出する *Florisphaera* 化石は小型の *F. profunda* sensu stricto に相当するものばかりで、大型の *F. profunda* var. *elongata* の出現はもう少し遅い(おそらく early Pliocene) ようである。

Gladiolithus 化石については連続的な化石記録が十分に得られなかったが、従来の研究で言われていたとおり、Eocene までは化石が存在した。

結果のまとめ:

以上の全ての結果に基づいて、*Florisphaera* 属と *Gladiolithus* 属の進化と、下部有光層円石藻植物相の成立過程をまとめた論文の執筆を目指して、現在準備中である。また、研究過程で得られた知見を、発表論文、図書にまとめた。

<引用文献>

- Hagino, K., Okada, H., Matsuoka, H., Spatial dynamics of coccolithophore assemblages in the Equatorial Western-Central Pacific Ocean. 2000. *Mar. Micropaleontol.* 39, 53-72.
- Molfini, B., McIntyre, A., Precessional forcing of nutricline dynamics in the equatorial Atlantic. 1990. *Science* 249, 766-769.
- Takano, Y., Horiguchi, T., Note. Acquiring scanning electron microscopical, light microscopical and multiple gene sequence data from a single dinoflagellate cell 2005. *J. Phycol.* 42, 251-256.
- Young, J.R., 1998. Neogene, in: Bown, P.R. (Ed.), *Calcareous Nannofossil Biostratigraphy*. Chapman & Hall, London, pp. 225-265.

5. 主な発表論文等
〔雑誌論文〕(計6件)

- Hagino, K., Tomioka, N., Tomioka, N., Seasonal succession of living coccolithophores in coastal waters in the Tomari Port, Tottori, Japan. 査読あり、印刷中(号・頁は未定)、*Journal of Nannoplankton Research*

Hagino, K., Utsunomiya, M., Tanaka, Y., Iwai, M., Reference samples to learn calcareous nannofossil biostratigraphy from Miocene to Pleistocene. *Bulletin of the National Museum of Nature and Sciences*, 査読有り、2016、Series C 42, 5-17. <http://www.kahaku.go.jp/research/publication/geology/v42.html>

Hagino, K., Tomioka, N., Young, J.R., Takano, Y., Onuma, R., Horiguchi, T., Extracellular calcification of *Braarudosphaera bigelowii* deduced from electron microscopic observations of cell surface structure and elemental composition of pentoliths. 査読有り、2016. *Marine Micropaleontology* 125, 85-94. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S037783981630024X>

Jordan, R.W., Abe, K., Cruz, J., Eriksen, R., Guerreiro, C., Hagino, K., Heldal, M., Hernández-Becerril, D.U., Malinverno, E., Nishida, S., Patil, S.M., Šupraha, L., Thomsen, H.A., Triantaphyllou, M.V., Young, J.R., Observations on the morphological diversity and distribution of two siliceous nannoplankton genera, *Hyalolithus* and *Petasaria*. 査読有り、2015. *Micropaleontology* 61, 439-455. http://orbit.dtu.dk/files/122903353/Publishers_version.pdf

Hagino, K., Young, J.R., Bown, P.R., Godrijan, J., Kulhanek, D.K., Kogame, K., Horiguchi, T., Re-discovery of a "living fossil" coccolithophore from the coastal waters of Japan and Croatia. 査読有り、2015. *Marine Micropaleontology*. 116, 28-37. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377839815000109>

Young, J.R., Hagino, K., Poulton, A.J., *Gladiolithus adeyi* sp. nov.: a new deep photic coccolithophore species and new molecular genetic and crystallographic observations on *Gladiolithus flabellatus*. 査読有り、2014. *Journal of Nannoplankton Research*, 34, 61-68. <http://ina.tmsoc.org/JNR/JNRcontents.htm>

〔学会発表〕(計4件)

萩野恭子、形態と分子系統で探る円石藻の多様化と環境適応、2017年1月29日、日本古生物学会代166回例会、夜間小集会、早稲田大学、東京都、日本

萩野恭子、富岡尚敬、Jeremy, R. Young, 高野義人、大沼亮、堀口健雄、2016年3

月18日、形態と化学組成から探る円石藻 *Braarudosphaera bigelowii* の鱗片石灰化様式、日本藻類学会第40回大会、日本歯科大学、東京都、日本

Hagino, K., Onuma, R., Takano, Y., Young, J.R., Tomioka, N., and Horiguchi, T. Possibility of extracellular calcification of *Braarudosphaera bigelowii* deduced from cell structure and elemental composition of petaloliths by analytical electron microscopy. 2015年3月18日、15th International nannoplankton Association meeting, South Palms resort, Bohol, Philippines.

Hagino, K., Young, J.R., Bown, P.R., Godrijan, J., Kogame, K., Kulhanek, D.K., and Horiguchi, T., Seasonal change in living coccolithophores in the coastal water of Japan. 2014年10月7日. INA workshop on Extant Coccolithophores, Hellenic Centre for Marine Research, Heraklion, Greece.

〔図書〕(計1件)

Hagino, K., Young, J.R., Biology and paleontology of coccolithophores (Haptophytes), 2015、査読有り、in: Ohtsuka, S., Suzaki, T., Horiguchi, T., Suzuki, N., Not, F. (Eds.), *Marine Protists: Diversity and Dynamics*. Springer Japan KK, pp. 311-330.

6. 研究組織

(1)研究代表者

萩野恭子 (HAGINO, Kyoko)
高知大学・海洋コア総合研究センター・客員講師
研究者番号：9037426

(2)研究分担者

松岡裕美 (MATSUOKA, Hiromi)
高知大学・教育研究部自然科学系理学部門・准教授
研究者番号：60222296

(3)連携研究者

堀口健雄 (HORIGUCHI, Takeo)
北海道大学・理学研究院・教授
研究者番号：20212201