

令和 3 年 6 月 7 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K05787

研究課題名(和文) 浮遊性海産珪藻に浮上性を与える細胞因子の究明と環境ストレスによるその影響評価

研究課題名(英文) Investigation of cell factors that give planktonic marine diatoms buoyancy and evaluation of their effects by environmental stress

研究代表者

島崎 洋平 (Shimasaki, Yohei)

九州大学・農学研究院・准教授

研究者番号：40363329

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：海産浮遊性珪藻 *Thalassiosira pseudonana* および *Skeletonema marinoi-dohrnii* complex に作用機序の異なる船底防汚剤ジウロン(DCMU)およびトリブチルスズ(TBT)の曝露により沈降速度の低下が確認された。タンパク質含量等細胞内成分量の変化が沈降速度に影響を及ぼすことが示唆された。また水温上昇が温度範囲によっては沈降速度を低下させることが示唆されたため、これら環境ストレスの海洋基礎生産に対する影響をさらに調べる必要が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

珪藻類は光合成を通して地球環境や水圏生態系に多大な影響を及ぼしている。太陽光は海中に進入した後、海表面から深くなるにつれて指数関数的に光強度が減少する。故に浮遊性珪藻類の「沈降速度」は海洋基礎生産性の制御要因であり生態学的にも極めて重要である。本課題では特に海洋の環境汚染物質が小型海産浮遊性珪藻類の沈降速度に影響を及ぼすことを初めて明らかにし、その影響評価の重要性を示した部分に学術的且つ社会的意義があると考えられる。一方で大型珪藻類などサイズの異なる細胞では比重にしろる被殻の割合が異なる等、汚染物質に対する異なる沈降速度への影響を受ける可能性があり、今後さらなる影響評価の必要がある。

研究成果の概要(英文)：Exposure to the marine planktonic diatoms *Thalassiosira pseudonana* and *Skeletonema marinoi-dohrnii* complex with different mechanisms of action, diuron (DCMU) and tributyltin (TBT), was confirmed to reduce sinking rates. It was suggested that changes in the amount of intracellular components such as protein content affect the sinking rate. In addition, it was suggested that the rise in water temperature reduces the sinking rate depending on the temperature range, so it was considered necessary to further investigate the effects of these environmental stresses on marine primary production.

研究分野：生態毒性学 赤潮藻類の増殖生理学

キーワード：海産浮遊性珪藻 沈降速度 光合成活性 船底防汚剤 環境汚染 環境ストレス

1. 研究開始当初の背景

植物プランクトンの一分類群である珪藻類による基礎生産量は地球全体の約 20%を占めると試算されており、珪藻類は光合成を通して地球環境や水圏生態系に多大な影響を及ぼしている。光合成に必須の太陽光は海中に進入した後、海表面から深くなるにつれて指数関数的に光強度が減少する。故に浮遊性珪藻類の「沈降速度」は海洋基礎生産の制御要因であり生態学的にも極めて重要である。浮遊性珪藻類は自発的な遊泳力を持たないため、その細胞の比重は、水柱環境で発生する乱流と並び、沈降速度を決定する主要な要因である。古くから、乱流の影響を排除した室内環境下で、浮遊性珪藻の沈降速度に影響を及ぼす環境要因(窒素・リン・光強度等)に関する研究がなされているが(Smayda, *Oceanogr Mar Biol Ann Rev* 8: 353-414, 1970)、沈降速度と細胞内成分量(比重に影響を及ぼす)との関係を調べた知見は意外に乏しい。また、環境汚

染物質が珪藻の沈降速度に及ぼす影響を調べた報告(図1, Khanam et al, *Chemosphere* 175: 200-209, 2017)は我々のグループ以外になく、知見は極めて乏しい。環境汚染物質が珪藻類の増殖とともに沈降速度に対する影響を調べることは海洋の健全な基礎生産性を評価・維持するうえで極めて重要と考えられる。

2. 研究の目的

本課題では異なる作用機序を持つ環境汚染物質が海産浮遊性珪藻類の正常な沈降速度にどのような影響を及ぼすかを明らかにするとともに珪藻類の沈降速度と細胞内成分の関係性を解析する。また近年の地球温暖化の影響により懸念される海水温や光強度が珪藻類の沈降速度に及ぼす影響についても調べることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 船底防汚剤が珪藻の沈降速度および細胞内主要成分含量に及ぼす影響

船底防汚剤として ATP 代謝を阻害するトリブチルスズ (TBT) を海産珪藻 (*Thalassiosira pseudonana* (CCMP1335 株) に暴露し、増殖速度に対する 10%阻害濃度および 50%阻害濃度で 72 時間暴露(塩分 30, 水温 25°C, 80-90 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 12hL:12hD) し、沈降速度 (SETCOL 法, Bienfang, *Can J Fish Aquatic Sci* 38: 1289-1294, 1981) および細胞内成分に及ぼす影響を調べた。

(2) 水温、光強度が珪藻の沈降速度に及ぼす影響

水温 20°C・光強度 100 $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$ (12hL:12hD) 下で培養した連鎖状の群体を形成する浮遊性珪藻 *Skeletonema marinoi-dohrnii* complex (NIES324 株) に対し、異なる水温 (20, 27°C)・光強度(100, 1000 $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$) 下で 5 時間培養した後の沈降速度を調べた。

(3) 多環芳香族炭化水素、水温、光強度が珪藻の増殖に及ぼす影響

異なる水温 (20, 27°C)・光強度(100, 1000 $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$) 条件下における浮遊性珪藻 *T. pseudonana* (CCMP1335 株) の増殖に及ぼす汚染物質の影響を調べた。汚染物質として polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) の一種で、PAH の中でも環境中から比較的高濃度で検出されるピレン (0, 10, 50, 250 ng/mL) を用いた。

4. 研究成果

(1) 船底防汚剤が珪藻の沈降速度および

細胞内主要成分含量に及ぼす影響

船底防汚剤トリブチルスズ (TBT) が海産浮遊性珪藻 *T. pseudonana* の沈降速度と生理的パラメータに及ぼす影響を調べた。*T. pseudonana* 細胞浮遊液に増殖速度に及ぼす 10%阻害濃度 (EC10: 1.0 $\mu\text{g/L}$) および 50%阻害濃度 (EC50: 1.7 $\mu\text{g/L}$) の TBT を 72 時間暴露 (N=3) して 24 時間毎に沈降速度を調べた結果、EC50 区における沈降速度 (0.04-0.006 m/day) が対照区 (0.13-0.08 m/day) に比べて全ての測定時間で有意に低下した。

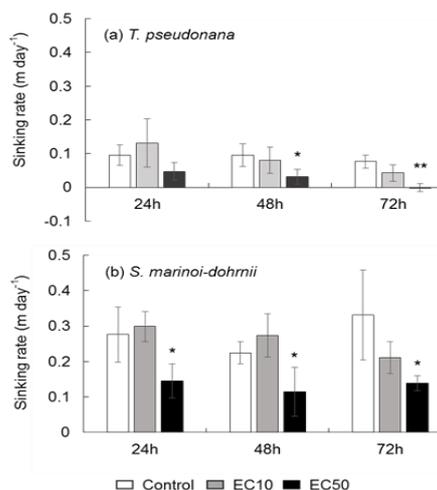


図1. 船底防汚剤ジウロン (DCMU) に曝露された海産珪藻類タラシオシラ (上図) およびスケレトネマ (下図) の沈降速度。高濃度区でいずれの珪藻の沈降速度も減少した (* P<0.05)。

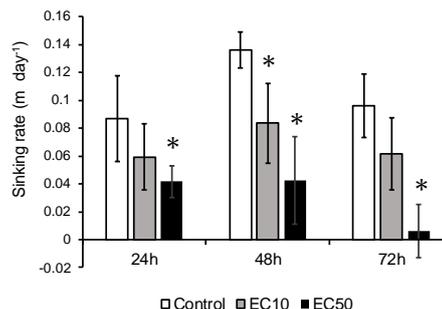


図2. 船底防汚剤トリブチルスズ (TBT) に曝露された海産珪藻類タラシオシラの沈降速度 (* P<0.05)。

EC10 (0.08-0.05 m/day) においても 48 時間目で対照区に比べて有意に低下していた (図 2)。一方、EC50 区で細胞あたりのタンパク質含量 (BCA 法) が有意に低下しており (図 3)、海水 (比重約 1.02 g/cm³) よりも比重が大きいタンパク質 (比重約 1.33 g/cm³) 含量の低下が細胞比重、沈降速度の低下に關与している可能性が考えられた。我々の既報 (Khanam et al, *Chemosphere* 175, 200-209, 2017) において、TBT とは作用機構の異なる光化学系 II の阻害剤ジウロンも珪藻の沈降速度を低下させた。沈降速度の低下により珪藻類の光阻害リスクを増加させる可能性があり、また TBT およびジウロン自体が光合成活性 (Fv/Fm 比、PI_{ABS}) を低下させるため、沈降速度の低下および汚染物質自体の活性による光阻害が懸念された。

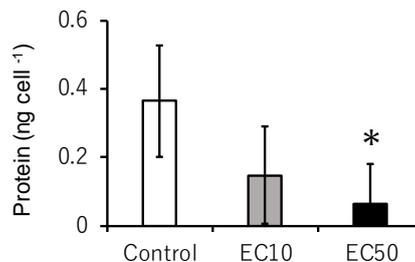


図 3. 船底防汚剤トリブチルスズ (TBT) に曝露された海産珪藻類タラシオシラの細胞あたりのタンパク質含量 (* P<0.05).

(2) 水温、光強度が沈降速度に及ぼす影響

本実験では培養開始前に攪拌により細胞密度を均一化して 5 時間培養後、培養試験管を上下層等量に分け、それぞれの層における細胞密度比を調べて沈降速度を評価した。その結果、20°C・100 μmol photons/m²/s 区と比べて、27°C 区の両光強度区では、沈降速度の有意な低下 (浮力の増加) が確認された (図 4)。本条件下では沈降速度減少の要因については現在検討中であるが、20°C と比べて 27°C 区の細胞密度の上昇が確認されたため、水温上昇による光合成活性の増加が沈降速度の減少をもたらしたと推測された。

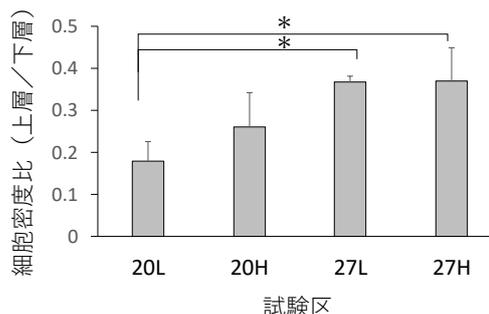


図 4. 異なる水温・光強度下で培養したスケレトネマの沈降速度 (* P<0.05). 試験区の数字 (20 と 27) は水温、L は低光強度、H は高光強度.

前述の環境汚染物質曝露の場合は、光合成活性の低下が沈降速度の低下をもたらしたが、本実験では逆の現象が推測された。今後はより広範囲の水温帯での評価を行うとともに、細胞内成分量の測定を実施し、沈降速度との関係を解析する必要がある。

(3) 多環芳香族炭化水素、水温、光強度が珪藻の増殖に及ぼす影響

水温 20°C・100 μmol photons/m²/s 区では 50 ng/mL 以上の区で、対照区に比べて増殖の有意な阻害が観察されたが、20°C・1000 μmol photons/m²/s 区および 27°C・100 μmol photons/m²/s 区では 250 ng/mL のみ阻害され、27°C・1000 μmol photons/m²/s 区では全 pyrene 曝露区で影響が消失したため、高水温・高光強度下では pyrene の影響が弱まることが示唆された。この原因については現在検討中であるが、20°C に比べて 27°C は本種の増殖により適した環境であり、汚染物質に対してより耐性があった可能性があるため、水温ストレスと環境汚染物質の影響を調べるにはさらに広範囲の水温条件下での試験が必要と考えられた。また同時に沈降速度への影響も調べる必要がある。

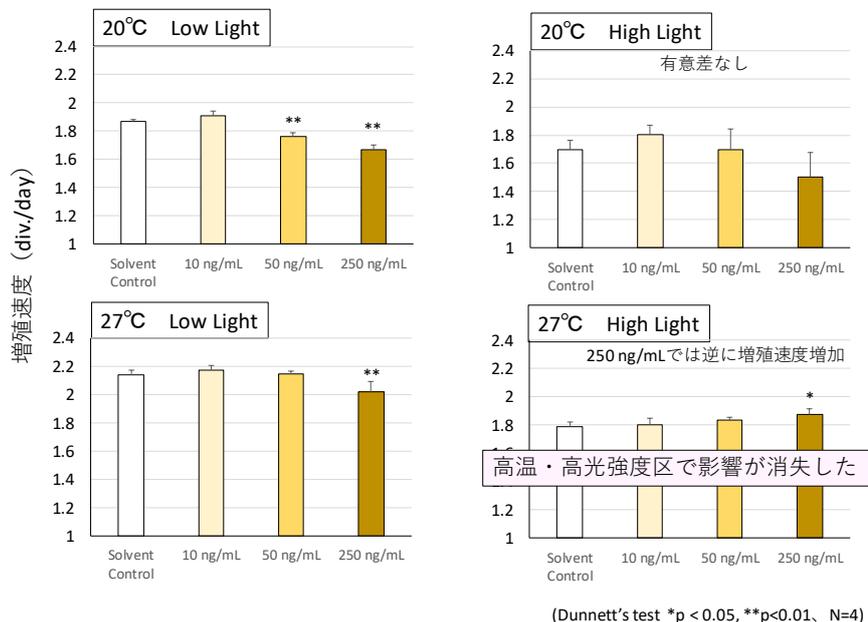


図 5. 異なる水温・光強度下における PAH (ピレン) のタラシオシラの増殖に及ぼす影響.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 K Mukai, Y Shimasaki, X Qiu, Y Kato-Unoki, K Chen, MRM Khanam, Y Oshima	4. 巻 54
2. 論文標題 Effects of light and hydrogen peroxide on gene expression of newly identified antioxidant enzymes in the harmful algal bloom species <i>Chattonella marina</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 European Journal of Phycology	6. 最初と最後の頁 393-403
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/09670262.2019.1576062	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Shimasaki Y, Mukai K, Takai Y, Qiu XC, Oshima Y	4. 巻 10
2. 論文標題 Recent progress in the study of peroxiredoxin in the harmful algal bloom species <i>Chattonella marina</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 ANTIOXIDANTS	6. 最初と最後の頁 162
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/antiox10020162	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Mukai K, Shimasaki Y, Qiu XC, Kato-Unoki Y, Chen K, Takai Y, Khanam MRM, Chairil AE, Oshima Y	4. 巻 59
2. 論文標題 Gene expression stability of candidate reference genes under different culture conditions for quantitative PCR in the raphidophyte <i>Chattonella marina</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PHYCOLOGIA	6. 最初と最後の頁 556-565
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/00318884.2020.1816041	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 MRM Khanam, Y Shimasaki, M Tsuyama, H Goto, X Qiu, K Mukai, Y Oshima	4. 巻 22
2. 論文標題 Presumption of toxic mechanism of tributyltin on photosystem in marine diatoms by comparison to diuron as a reference agent through chlorophyll a fluorescence transient analysis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Environmental Toxicology	6. 最初と最後の頁 13-29
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.11403/jset.22.13	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 MRM Khanam, Y Shimasaki, K Mukai, Y Oshima
2. 発表標題 Effects of TBT on sinking rate and physiological parameters of marine planktonic diatom, <i>Thalassiosira pseudonana</i>
3. 学会等名 PICES 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------