

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 15 日現在

機関番号：82706

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25740014

研究課題名(和文) 原生動物に共生した藻類の光合成能力評価に関する研究

研究課題名(英文) Photosymbiotic relationship between planktonic protozoan and algae

研究代表者

藤木 徹一 (Fujiki, Tetsuichi)

国立研究開発法人海洋研究開発機構・地球環境観測研究開発センター・主任技術研究員

研究者番号：30598248

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)：本研究は、細胞内共生という現象の解明を目指し、貧栄養海域でよく見られる共生藻と宿主原生動物の関係を光合成に着目して明らかにするものである。このため、原生動物の体内にいる共生藻の生物量と光合成活性を生きた状態のまま且つ簡便に測定する方法を開発した。この方法を用いることで、宿主である浮遊性有孔虫(原生動物の一種)の体サイズと共生藻の生物量の間に有意な正の相関関係があること、宿主の成長期は共生藻の光合成能力が高く維持されていることを明らかにした。また、宿主の配偶子形成期には、共生藻の生物量の急激な減少と光合成能力の低下が確認され、共生藻が宿主の生活史に関係していることを実証した。

研究成果の概要(英文)：Symbiont-bearing planktonic protozoa are widely distributed in the euphotic zone of the oligotrophic ocean. To examine the potential contribution of the symbiotic algae to the host protozoa, we developed a new method for measuring the chlorophyll a content and photosynthetic activity of live symbiotic algae within individual cells of host protozoa. By using the new method, we found that the chlorophyll a content and photosynthetic activity of the symbiotic algae varied greatly over the life cycle (e.g., growth and gametogenesis phases) of their host.

研究分野：生物海洋学

キーワード：細胞内共生 クロロフィル蛍光 共生藻 原生動物 光合成

1. 研究開始当初の背景

海に生息する藻類は、太陽光をエネルギー源に海水中から各種の栄養物質と二酸化炭素を摂取して有機物生産を行ない増殖する。従って、藻類の多くは、太陽光の届く表層部(有光層)に、単体または群体を形成し、浮遊した状態で生息している。しかし、貧栄養海域では、光が十分にあって、栄養物質の不足によって藻類の増殖が制限される。このため、藻類の中には、有光層内で他の生物(宿主)と結び付き、その体内で生息する生活様式をとる藻類(共生藻)がいる。共生藻の宿主としては、浮遊性原生動物の有孔虫や放散虫などが知られている(図1)。共生藻は、宿主の代謝産物(栄養物質・二酸化炭素)を摂取して光合成を行ない増殖する一方で、光合成で生産した有機物の一部を宿主に供給することで、宿主の生育・生存状況にも関わっていると考えられてきた。しかし、宿主内に共生した状態での光合成の測定が困難なため、共生藻と宿主原生動物の関係について十分な理解が得られていなかった。

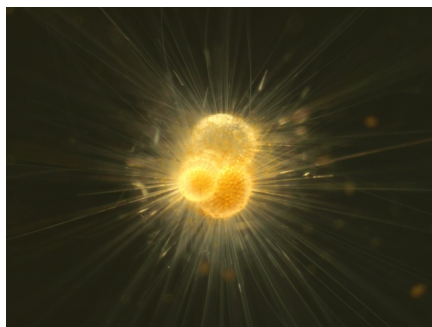


図1. 藻類が共生した浮遊性有孔虫

2. 研究の目的

本研究は、貧栄養海域でよく見られる共生藻と宿主原生動物の関係を光合成に着目して明らかにするものである。このため、原生動物の体内にいる共生藻の生物量と光合成活性を生きた状態のまま且つ簡便に測定する方法の開発を行なった。さらに、この方法を用いて、共生藻の生物量と光合成活性を定量的に評価し、それらの変動要因を明らかにすることで、共生藻と宿主原生動物の関係解明に向けた研究を行なった。

3. 研究の方法

(1) 共生藻の光合成測定方法の確立

植物プランクトンの光合成研究で用いられている高速フラッシュ励起蛍光法を原生動物の体内にいる共生藻の光合成測定に応用するため、測定に必要な特殊石英セルの製作や測定プロトコルの決定を行なった。

(2) 共生藻の光合成の定量的評価

貧栄養の沿岸域及び外洋域から共生藻をもつ有孔虫と放散虫を採集し、開発した方法を用いて、共生藻の生物量と光合成活性を測定した。また、原生動物と共生藻は、検鏡とDNA解析により、種の分類・同定を行なった。

(3) 共生藻の光合成の変動要因の探索と宿主原生動物の生存・生育に及ぼす影響評価
貧栄養海域で採集した共生藻をもつ原生動物の飼育実験を行ない、共生藻の生物量や光合成活性の変動を時系列的に測定するとともに、原生動物の生活史に関わる体サイズや形態などの変化を調べた。これらの結果を解析し、共生藻の生物量と光合成活性の変動要因を探索し、原生動物の生活史との関係をと明らかにした。

4. 研究成果

(1) 共生藻の光合成測定方法の確立

高速フラッシュ励起蛍光法を応用し、原生動物の体内にいる共生藻の生物量と光合成活性を測定する方法を開発した。開発した方法では、特殊石英セルに入れた共生藻をもつ原生動物1個体に、青色発光ダイオードによるマイクロ秒オーダーのフラッシュを連続照射し、それに伴って共生藻が発する可変蛍光を測定することで、宿主内の共生藻の生物量と光合成活性を求めることができる(図2)。また、この方法には、次の利点がある。

- ① 従来法のように、放射性炭素同位体で標識した $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ や光合成阻害剤等の薬品を添加する必要がない。このため、化学成分の変化による影響を共生藻と宿主に一切与えることなく、光合成活性を評価できる。
- ② 対象生物の光合成を生きたまま非破壊的に、短時間(秒単位)で繰り返し測定することが出来る。従って、共生藻の生物量と光合成活性の変動や、それによる宿主への影響を飼育実験等で時系列的に評価することが可能である。

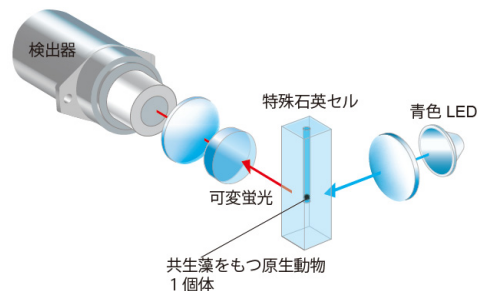


図2. 開発した原生動物内共生藻の光合成測定法の概念図

(2) 共生藻の光合成の定量的評価

原生動物の体内にいる共生藻の生物量と光合成活性を開発した方法で測定した結果を表1に示した。宿主である有孔虫と放散虫1個体内には、 0.9 ng cell^{-1} から 312 ng cell^{-1} の共生藻の生物量(クロロフィル *a* 換算)が含まれていたが、同じ種類の宿主と共生藻であっても共生体ごとにその生物量は大きく異なっていた。この方法で測定される共生藻の光合成活性の最大値は、種にかかわらず、およそ 0.65 で、この値が高いと共生藻が吸収した光エネルギーが効率良く光合成に利用

されていることを示す。本研究で測定された共生藻の光合成活性は0.31から0.61で、原生動物と藻類の共生体ごとに大きく変動した。これら結果から、同じ時期に同じ海域から採集した生物試料であっても、共生体ごとに生物量や光合成活性が大きく異なっていることが明らかになった。

表1. 本研究で開発した方法による原生動物と藻類の共生体の測定結果

種名	原生動物 (宿主)	共生藻	試料数 (個)	採集海域	宿主1個体に含まれる共生藻の量 (ng cell ⁻¹)	共生藻の光合成活性
有孔虫	<i>Globigerinella siphonifera</i>	<i>Pelagomonas cf. calceolata</i>	n = 2	西部北太平洋亜熱帯域	13.0 ~ 46.8	0.36 ~ 0.37
	<i>Globigerinoides ruber</i>	<i>Pelagodinium béi</i>	n = 29	瀬底島沿岸域	1.7 ~ 312.7	0.31 ~ 0.50
	<i>Globigerinoides sacculifer</i>	<i>Pelagodinium béi</i>	n = 7	西部北太平洋亜熱帯域	8.0 ~ 32.8	0.34 ~ 0.44
放射虫			n = 6	西部北太平洋亜熱帯域	4.5 ~ 29.1	0.32 ~ 0.53
			n = 72	瀬底島沿岸域	2.0 ~ 148.2	0.37 ~ 0.52
	<i>Didymocystis tetrathalamus</i>	<i>Zoosantella nutricula</i>	n = 4	瀬底島沿岸域	1.0 ~ 1.5	0.46 ~ 0.57
	<i>Euchitonella elegans</i>	<i>Gymnosantella radiolariae</i>	n = 2	瀬底島沿岸域	0.9 ~ 1.0	0.56 ~ 0.61
	<i>Prerocanium praetextum</i>	<i>Gymnosantella radiolariae</i>	n = 3	瀬底島沿岸域	1.3 ~ 2.0	0.54 ~ 0.56

(3) 共生藻の光合成の変動要因の探索と宿主原生動物の生存・生育に及ぼす影響評価
相模湾沿岸域で採集した有孔虫 *G. siphonifera*(宿主)と *P. cf. calceolata*(共生藻)の共生体の飼育実験を行なった。飼育実験の期間中、宿主の殻室数の増加が3日目、6日目、8日目に確認された(図3)。その後、9日目にスパイン(棘)の自切が見られ、10日目には配偶子が放出され殻のみになっていた。共生藻の生物量は、宿主の殻室数(体サイズ)の増加に伴い、飼育実験開始時の7.8 ng cell⁻¹から7日目に45.2 ng cell⁻¹まで増加した(図4a)。しかし、8日目に生物量の急激な減少が見られ、9日目にはほぼ0になった。共生藻の光合成活性は、飼育実験開始時の0.45から徐々に減少し、7日目に0.35まで低下した(図4b)。高速フラッシュ励起蛍光法を用いた植物プランクトンの光合成研究で、栄養塩制限が起きると光合成活性の低下することが知られている。従って、本研究で見

られた共生藻の光合成活性の低下は、宿主内での栄養環境の悪化を示しているかもしれない。また、興味深いことに、スペインの自切や配偶子形成・放出といった宿主が性生殖期に入る直前に、共生藻の生物量と光合成活性の急激な低下が確認された。同様の現象は、有孔虫 *G. sacculifer*(宿主)と *P. béi*(共生藻)の共生体の飼育実験においても観察された。これらの飼育実験により、共生藻の生物量や光合成活性が宿主内で大きく変動することを実証し、それらが宿主の生活史に関連することを示唆した。

今後、本研究で開発した方法を利用し、原生動物と藻類の共生関係の解明に向け、宿主の生育段階における共生藻の役割、相互依存性などについて、より詳細な研究を行なうことで、海洋での共生生態という生存戦略に新たな知見を与えることが出来ると期待される。



図3. 飼育実験下での有孔虫 *G. siphonifera*の成長の様子

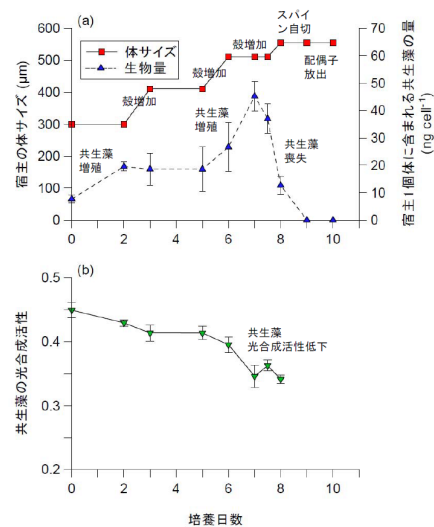


図4. 有孔虫 *G. siphonifera*(宿主)と *P. cf. calceolata*(共生藻)の共生体の飼育実験結果。(a) 宿主の体サイズと体内の共生藻の生物量、及び(b) 光合成活性の変化

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計3件)

- (1) Haruka TAKAGI, Katsunori KIMOTO, Tetsuichi FUJIKI, 他3名. 2016. Ontogenetic dynamics of photosymbiosis in cultured planktic foraminifers revealed by fast repetition rate fluorometry. *Marine Micropaleontology*. 122: 44-52. doi:10.1016/j.marmicro.2015.10.003. (査読有).
- (2) 藤木徹一、木元克典、他2名. 2016. 浮遊性原生動物と藻類の光共生. *月刊海洋*. 544: 50-56. (査読無)
- (3) Tetsuichi FUJIKI, Haruka TAKAGI, 他4名. 2014. Assessment of algal photosynthesis in planktic foraminifers by fast repetition rate fluorometry. *Journal of Plankton Research*. 36(6): 1403-1407. doi:10.1093/plankt/fbu083. (査読有). (特記事項: 本学術誌の表紙に論文関連写真掲載)

[学会発表] (計14件)

- (1) 高木悠花、木元克典、藤木徹一、他3名. 浮遊性有孔虫の光共生パートナーシップ - FRRF と 18SrDNA から -. *Micropaleontological Reference Center 研究集会*. 2015年8月9日. 東北大学(宮城県、仙台市)
- (2) 高木悠花、木元克典、藤木徹一、他2名. 浮遊性有孔虫光共生の栄養機能の実験的検証. *日本古生物学会 2015年年会・総会*. 2015年6月27日. 産業技術総合研究所(茨城県、つくば市) (特記事項: 優秀ポスター賞受賞)
- (3) Haruka TAKAGI, Katsunori KIMOTO, Tetsuichi FUJIKI, 他1名. An experimental approach to understand trophic interaction of photosymbiosis in planktic foraminifers. *Japan Geoscience Union Meeting 2015*. 2015年5月26日. 幕張メッセ(千葉県、千葉市)
- (4) 高木悠花、木元克典、藤木徹一、他1名. 栄養塩環境に対する浮遊性有孔虫-藻類共生系の光合成生理応答. 2015年度日本海洋学会春季大会. 2015年3月22日. 東京海洋大学品川キャンパス(東京都、港区) (特記事項: 若手ベストポスター賞受賞)
- (5) 藤木徹一、木元克典、他2名. 浮遊性原生動物と藻類の光共生. 2015年度日本海洋学会春季大会. シンポジウム「光とプランクトン研究 -現状と展望-」. 2015年3月21日. 東京海洋大学品川キャンパス(東京都、港区)
- (6) 高木悠花、木元克典、藤木徹一、他2名.

- クロロフィル蛍光法を用いた浮遊性有孔虫-藻類共生系の探究. *ブルーアース 2015*. 2015年3月19日. 東京海洋大学品川キャンパス(東京都、港区) (特記事項: 若手奨励賞受賞)
- (7) Haruka TAKAGI, Katsunori KIMOTO, Tetsuichi FUJIKI, 他3名. Photosymbiosis in planktic foraminifers: New aspects from culture and fast repetition rate fluorometry. 2015 Aquatic Sciences Meeting. 26 February 2015. Granada Congress and Exhibition Centre (Granada, Spain) (特記事項: ASLO 2015 outstanding student presentation award 受賞)
 - (8) Tetsuichi FUJIKI, Haruka TAKAGI, 他4名. Assessment of algal photosynthesis in planktic foraminifers by fast repetition rate fluorometry. 2015 Aquatic Sciences Meeting. 25 February 2015. Granada Congress and Exhibition Centre (Granada, Spain)
 - (9) 高木悠花、木元克典、藤木徹一、他3名. 浮遊性有孔虫-藻類共生系における光合成とその特性変化. 2014年度日本海洋学会秋季大会. 2014年9月16日. 長崎大学文教キャンパス(長崎県、長崎市)
 - (10) 藤木徹一、木元克典、他2名. FRRF を用いた原生動物に共生した藻類の光合成能力評価. 2014年度日本プランクトン学会・日本ベントス学会合同大会. 2014年9月6日. 広島大学(広島県、東広島市)
 - (11) Haruka TAKAGI, Katsunori KIMOTO, Tetsuichi FUJIKI, 他2名. Fluorometric analysis of photosymbiosis: Toward quantitative validation of ecological proxy of planktic foraminifers. *Japan Geoscience Union Meeting 2014*. 2014年5月1日. パシフィコ横浜(神奈川県、横浜市) (特記事項: 学生奨励賞受賞)
 - (12) 高木悠花、木元克典、藤木徹一、他2名. FRRF で暴く浮遊性有孔虫光共生生態の新知見. 微古生物リファレンスセンター研究集会 2014「MRC2014」. 2014年3月1日. 海洋研究開発機構 横浜研究所(神奈川県、横浜市)
 - (13) Haruka TAKAGI, Katsunori KIMOTO, Tetsuichi FUJIKI, 他2名. Measuring photosynthesis of symbiont-bearing planktic foraminifers and implications for ecological difference. *International Symposium on Foraminifera FORAMS 2014*. 20 January 2014. University of Concepción (Concepción, Chile).
 - (14) 高木悠花、木元克典、藤木徹一、他2名. 飼育浮遊性有孔虫に見る石灰化と光共生生態. 東京大学大気海洋研究所 共同利用研究集会「バイオミネラリゼーションと石灰化-遺伝子から地球環境まで-」.

2013年10月31日. 東京大学大気海洋研究所(千葉県、柏市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

藤木 徹一 (FUJIKI, Tetsuichi)
国立研究開発法人海洋研究開発機構・地球
環境観測研究開発センター・主任技術研究
員
研究者番号: 30598248

(2) 研究協力者

木元 克典 (KIMOTO, Katsunori)
三野 義尚 (MINO, Yoshihisa)
湯浅 智子 (YUASA, Tomoko)