

Sugie, K. and K. Kuma (2008)

Resting spore formation in the marine diatom *Thalassiosira nordenskiöldii* under iron- and nitrogen-limited conditions

J. Plankton Res. 30: 1245-1255.

鉄及び窒素制限下における珪藻類 *Thalassiosira nordenskiöldii* の休眠孢子形成

中心目珪藻類の *Thalassiosira nordenskiöldii* は、温帯域や亜寒帯域の春季ブルームの主要構成生物であり、ブルーム後は素早く沈降する休眠孢子を形成する。また、鉄はプランクトンの増殖に不可欠な微量栄養素であり、光合成や呼吸の電子伝達系や、硝酸塩の同化のような生物化学的過程にとって重要な要素である。よって、全てのプランクトンは、鉄の制限によって増殖を抑制されている。そこで本研究では、鉄制限による硝酸塩同化量の減少が増殖を制限し、その結果として鉄制限を受けた珪藻類は休眠孢子を形成するという仮説を設定した。水温を 5°C と 10°C とし、鉄や窒素源が枯渇した環境下において、沿岸及び外洋起源の *T. nordenskiöldii* の休眠孢子形成について調査研究し、さらに、休眠孢子の沈降速度に影響を与える形態学的な要因を調べるため、内生、半内生、外生の休眠孢子と休眠細胞の密度やサイズを比較し、生物学的重要性を考察した。

実験には 2 つの *T. nordenskiöldii* 株を用いた。日本の本州北部に位置する宮城県女川港 (38°46'N, 141°46'E; 水深 20 m) の海底泥から単離した株を沿岸性の *T. nA* とし、北海道の南方、太平洋北西部 (42°00'N, 145°15'E; 深度 3800 m) において採水し、単離した株を外洋性の *T. nB* とした。単離後は、充分量のケイ酸塩の入った f/2 培地中で光強度 150 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (明暗周期 12hL: 12hD)、温度 10°C の条件で培養した。培地は、改変 f/2 培地 (f/2 メタル、EDTA、ビタミンを加えていない、微量元素を除いたもの) を基本とし、鉄含有培地 (Fe: 100 nmol/L, Mn: 25 nmol/L になるよう Fe (III) と Mn (II) を添加)、鉄制限培地 (Mn (II) のみを添加)、窒素制限培地 (硝酸塩を添加せずに f/2 メタルを添加)、シデロフォアの DFB (desferrioxamine B) 入り鉄制限培地を用意した。培養条件は温度 5°C と 10°C、光強度 150 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (明暗周期 12hL: 12hD) とし、15 日間培養を行った。各培地における珪藻類の休眠孢子と栄養細胞数、及び休眠孢子が内生、半内生、外生のいずれから構成されるかを識別した。さらに、15 日間の培養後、暗条件に移して 30-115 日間培養を継続し、各培地における休眠孢子の割合と構成について同様に調べた。また、沈降速度の測定のため、まず遠沈管を培地で満たし、室温にした。各細胞懸濁液 (栄養細胞、鉄制限で形成した休眠細胞、窒素制限で形成した休眠孢子) 200 μL を少量の超純水で薄めた後、さらに 100 μL をマイクロピペットで遠沈管の上層に載せ、蛍光光度計を用いて測定した (Eppley *et al.*, 1967)。

沿岸性の *T. nA*、外洋性の *T. nB* とともに、5°C (4-8 日) と 10°C (3-6 日) いずれにおいても窒素制限培地で直ちにほぼ 100% 休眠孢子を形成した。一方、鉄制限培地では、*T. nA* の 5°C で 60%、*T. nB* の 10°C においては 1% の範囲で徐々に休眠孢子を形成した。窒素制限、及び鉄制限培地における休眠孢子的構成は、*T. nA* では外生が一定割合のまま半内生から内生へと変化した。一方で *T. nB* では、外生が占有しており、内生はほとんど観察されなかった。しかし、5°C の窒素制限培地においては外生と半内生がほぼ同等の割合であった。沈降速度は栄養細胞が $1.24 \pm 0.14 \text{ m d}^{-1}$ 、鉄制限培養で形成された休眠孢子で $3.41 \pm 0.43 \text{ m d}^{-1}$ 、窒素制限培養条件下で形成されたもので $9.22 \pm 1.04 \text{ m d}^{-1}$ であり、それぞれ 5°C において 10°C よりも早く沈降した。また、形態学的変化として、鉄制限の休眠細胞と窒素制限の休眠孢子的体積は、比較すると鉄含有培地の栄養細胞体積の半分であった。また休眠細胞と休眠孢子的比表面積は栄養細胞の比表面積より 1/3 大きかった。

今回の結果から、窒素制限よりも鉄制限の方がゆっくりと休眠孢子が形成されるのは、鉄不足による窒素同化の漸進的な減少から起こるためと考えられた。また、多量栄養素と微量栄養素の不足環境においては、形態学的変化により珪藻類が富栄養の深海へと沈降し結果として多量栄養素の摂取を増加させると考えられた。それぞれの環境下に適応するため、同じ種内でもクローンにより形態が異なることが分かった。*T. nordenskiöldii* のメタ個体群の全世界への分布は、地域個体群が沿岸で拡大することによって達成される。鉄不足状況化で、形成される休眠孢子や休眠細胞が、栄養細胞よりも速い沈降速度であったことから、沿岸性のシードポピュレーションが HNLC 海域を横切って対岸に拡大することを妨げている可能性があることも示唆された。

瀬戸 友理