

学位論文題名

Cell viability of phytoplankton
in the Northwest Pacific Ocean

(北西太平洋域における植物プランクトンの細胞死)

学位論文内容の要旨

海洋植物プランクトンは、海洋の主要な基礎生産者であり、海洋の生態系や物質循環過程において、極めて重要な役割を果たしている。今まで、海洋植物プランクトンは、主に沈降や動物プランクトンによる捕食により、海洋表層から取り除かれていると考えられてきた。しかし、最近、これら以外の除去過程として、海洋表層での植物プランクトンの細胞死の重要性が指摘されるようになってきた。植物プランクトンの細胞死が海洋の生態系や物質循環過程に及ぼす影響として、主に次のことが予想される。(1)基礎生産者が減少することにより、海洋表層の基礎生産が低下する。これにより、海洋表層から中層への有機物輸送が減少し、海洋の二酸化炭素固定能力が下がる。(2)特定の植物プランクトンの細胞死により、植物プランクトンの群集組成が変化する。これに伴い、海洋物質循環過程に変化が生じる。(3)植物プランクトンの細胞内物質の一部が溶存有機物として細胞外に放出され、微生物食物網の駆動に寄与する。このように、植物プランクトンの細胞死は海洋の生態系や物質循環過程に重大な影響を及ぼす可能性がある。しかしながら、太平洋における植物プランクトンの細胞死についての知見は皆無である。特に最近、北西太平洋亜寒帯域の植物プランクトン現存量や純群集生産が年々低下していることが示唆されており、植物プランクトンの細胞死がその一因となっている可能性がある。

このためまず、親潮域で優占する中心目珪藻 *Thalassiosira nordenskiöldii* の単離培養株を用いて、細胞消化法と古くから用いられているエバンスブルー法により細胞生存率の測定を行った。さらに、過去に報告の無い高速液体クロマトグラフィーによる植物色素分析法と細胞消化法を組み合わせ、細胞生存率を見積もる方法を開発した。

次に、北西太平洋における植物プランクトン群集の細胞死に関するパラメーター（細胞生存率および比細胞溶解速度）を測定し、調査海域における植物プランクトンの細胞死の重要性を定量的に評価することを試みた。実験は、独立行政法人水産総合研究センター若鷹丸に乗船し、2003年9月2日から21日(晩夏)のWK0309航海と2005年5月10日から29日(春季)のWK0505航海において、北海道および東北地方沖の6観測点（以下、Stn）の10m深(WK0309航海)または5m深

(WK0505航海)の海水を用いて行った。両航海における全観測点において、フローサイトメーターを用いた測定により、ウルトラ植物プランクトンは、ラン藻*Synechococcus* spp.と真核ウルトラ植物プランクトン(体長 <10 μm)から構成されていた。2003年晩夏では全観測点において、真核ウルトラ植物プランクトンが優占していた。*Synechococcus* spp.の細胞密度($2\sim 14 \times 10^4$ cells ml^{-1})は真核ウルトラ植物プランクトンの2~5倍高かった。細胞消化法により見積った生存率は、*Synechococcus* spp.が60~79%、真核ウルトラ植物プランクトンが26~41%であり、真核ウルトラ植物プランクトンは*Synechococcus* spp.よりも致死率が有意に高かった($p < 0.05$)。また、エステラーゼ活性法によって見積った植物プランクトン群集の比細胞溶解速度は、0.12~0.67 d^{-1} であった。この比細胞溶解速度は、Shinada *et al.*(2000)が過去に報告した夏季の同観測点における微小動物プランクトンによる植物プランクトンの比捕食速度(0.09~0.25 d^{-1})と同等か、それを上回った。すなわち、晩夏では調査海域における植物プランクトンの細胞死は、微小動物プランクトンによる捕食と同等もしくはそれ以上に重要なものであり、植物プランクトンの除去過程を考える上で決して無視できないものであることが示唆された。また、晩夏において、植物プランクトンの細胞死の要因の1つとして予想される、生物に有害なB領域紫外線放射の影響を評価するため、紫外線透過条件を変えた海水培養容器を用意して、太陽光下、24時間の船上培養実験を行い、培養前後のウルトラ植物プランクトンの見かけの増殖率、生存率を評価した。その結果、*Synechococcus* spp.細胞は真核ウルトラ植物プランクトンよりもUVB耐性が低いことがわかった。また、短時間の太陽紫外線放射ではウルトラ植物プランクトンの生存率に負の影響を及ぼさないことがわかった。2005年春季において、*Synechococcus* spp.の細胞密度は黒潮親潮移行域においてのみ測定でき、その細胞密度は $5\sim 8 \times 10^3$ cells ml^{-1} であった。一方、親潮域および黒潮親潮移行域の真核ウルトラ植物プランクトンの細胞密度は $7\sim 35 \times 10^3$ cells ml^{-1} であった。また、細胞消化法により見積もった*Synechococcus* spp.の生存率は黒潮親潮移行域では約80%、真核ウルトラ植物プランクトンは70%以上であった。細胞消化法とHPLC色素分析法を組み合わせて見積もった生存率はフコキサンチン(珪藻類やプリムネシオ藻類由来)が親潮域で生存率約100%であった。両航海を通して、*Synechococcus* spp.と真核ウルトラ植物プランクトンの細胞生存率と水温もしくは主要栄養塩との間に有意な相関関係は見られなかった。しかし、本調査海域において、溶存鉄濃度は春季が0.5 nM、夏季には< 0.1 nMに減少するという報告や、鉄枯渇が細胞死を引き起こす要因の一つであるという報告も過去にあることから、海水中の鉄枯渇が研究海域で植物プランクトンの細胞死を引き起こしている可能性があり、今後、植物プランクトンの細胞死と海水中の鉄濃度の間の関係を調べる必要がある。以上の結果より、北西太平洋域において、植物プランクトンの細胞死は季節的に植物プランクトンの群集構造を変化させ、さらにそれが海洋の物質循環過程を変化させることが本研究によって初めて示唆された。

学位論文審査の要旨

主 査 准教授 鈴木 光 次

副 査 教 授 東 正 剛

副 査 教 授 吉 川 久 幸

副 査 助 教 藏 崎 正 明

学 位 論 文 題 名

Cell viability of phytoplankton in the Northwest Pacific Ocean

(北西太平洋域における植物プランクトンの細胞死)

海洋において、植物プランクトンは、主要な基礎生産者であり、海水中の二酸化炭素および光を利用して光合成を行うことにより、有機物を生産する。この有機物は生食食物連鎖や微生物食物網の過程で消費、分解されるが、その一部は海洋の中深層へ輸送され、長期間、炭素が貯蔵される。この海洋生物による炭素貯蔵機構は生物ポンプと呼ばれ、海洋の二酸化炭素固定能力を決定する。申請者が研究対象とした北西太平洋亜寒帯域は、世界有数の漁場であるとともに、生物による表面海水中の二酸化炭素分圧を下げる効果が世界の海の中で最も高い海域の1つであり、生物ポンプの効率が非常に高いことで知られている。しかしながら、近年、同海域において、純群集生産が年々減少していることが示唆されている。また、親潮域の春季ブルーム（大增殖）期において、植物プランクトンの現存量指標であるクロロフィル*a*濃度が年々減少傾向にあり、ブルームを形成する珪藻種も年々変化していることが報告された。申請者は、近年注目されている植物プランクトンの細胞死（プログラム細胞死）がこれら変化の一因になっている可能性を推測したが、同海域における植物プランクトンの細胞死に関する知見は皆無であったことから、下記の研究を実施するに至った。

申請者はまず、親潮域で春季ブルームを主に形成する中心目珪藻*Thalassiosira nordenskiöldii*の単離培養株を用いたバッチ培養実験を行い、細胞消化法と古くから用いられているエバンスブルー法により細胞生存率の測定をした。さらに、過去に報告の無い高速液体クロマトグラフィー（HPLC）による植物色素分析法と細胞消化法を組み合わせ、細胞生存率を評価する手法を開発した。この室内培養実験を通して、分析手法を確立するとともに、*T. nordenskiöldii*が培地中の栄養状態が悪化した際に休眠胞子を作ることなどにより細胞生存率を維持する戦略を持つことが明らかとなった。

次に、北西太平洋域における植物プランクトン群集の細胞死に関するパラメータ（細胞生存率と比細胞溶解速度）を取得するために、申請者は独立行政法人水産総合研究センター若鷹丸WK0309航海（2003年9月2～21日）およびWK0505航海（2005年5月10～29日）に参加した。2003年9月の晩夏では、植物プランクトン群集中で細胞数が最も高かったラン藻*Synechococcus*の細胞生存率が60～79%、真核

ウルトラ植物プランクトン（体長<10 μ m）の細胞生存率が26～41%であり、真核ウルトラ植物プランクトンの致死率は、*Synechococcus*に比べ、有意に高いことを発見した。また、エステラーゼ活性法で評価した植物プランクトン群集の比細胞溶解速度は0.12～0.67 d⁻¹であり、過去に同海域で調査した微小動物プランクトンの植物プランクトンの比補食速度（0.09～0.25 d⁻¹）に匹敵するものであった。この結果は、同海域の晩夏では、植物プランクトンの細胞死が植物プランクトンの除去過程として極めて重要であることを示唆する貴重な発見であった。一方、2005年5月の春季では、検出された*Synechococcus*および真核ウルトラ植物プランクトンの細胞生存率は、2003年9月晩夏と比較して、有意に高かった。また、細胞消化法とHPLC色素分析法で見積もったフコキサンチンを補助色素として持つ親潮域の植物プランクトン（主に珪藻類とプリムネシオ藻類）の細胞率が約100%であったことを明らかにした。以上の結果から、北西太平洋域の植物プランクトンの細胞生存率は季節的に変化することが本研究で初めて明らかとなった。

申請者は、さらに植物プランクトンの細胞死と海水中の鉄利用度との関係性を評価するため、2004年夏季に西部北太平洋亜寒帯循環域で実施された現場鉄散布実験（SEEDS-II）に参加した。近年、夏季の西部北太平洋亜寒帯循環域は、海水中の鉄不足により、植物プランクトンの増殖が制限されている海域として知られている。鉄散布後、*Synechococcus*の細胞生存率は有意に増加したことから、海水中の鉄不足により*Synechococcus*の細胞死が起きていたことが本研究により初めて明らかとなった。また、実験後半、鉄散布効果が薄れた海水中では*Synechococcus*および真核ウルトラ植物プランクトンの細胞生存率が有意に減少したことから、これら細胞死により細胞外に放出された有機物が微生物食物網を刺激した可能性が考えられた。

審査員一同は、これらの研究成果を高く評価し、また研究者として誠実かつ熱心であり、大学院博士課程における研鑽や修得単位などもあわせ、申請者が博士（環境科学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。