

## 令和3年度伊藤光昌氏記念学術助成金(研究助成)成果報告書

研究課題番号	R3-R4
研究課題名	海洋植物プランクトンの共生的相互作用がもたらす生態化学量論の改変とその機構
研究代表者	遠藤 寿
所属・職 (または学年)	京都大学化学研究所・助教

### 1. 背景と目的

植物プランクトンは海水中の無機炭素（主に二酸化炭素）、栄養塩、および微量元素を利用して光合成を行い、海洋生態系を支えている。消費された分の二酸化炭素は大気から海水中に溶け込むため、海洋の基礎生産は気候変動の緩和にも深く関与している。一方で、海水中の栄養塩（硝酸や亜硝酸、リン酸等）は比較的短期間で枯渇し、多くの海域において植物プランクトン増殖の主な律速要因となっている。したがって、取り込まれた栄養塩量に対する炭素固定量は、海洋における基礎生産の潜在能力や効率を推定する上で重要な指標となる。

海洋プランクトン群集を構成する生元素の組成（生態化学量論）概ね一貫した比率に維持されており、これはレッドフィールド比（C:N:Pのモル比が106:16:1）として知られる。一方で、個体群レベルにおける元素組成あるいは取り込み比率は、種や栄養状態の違いによって変化することが示されている（Montagnes et al., 1994; Arrigo et al., 2002）。すなわち、生態化学量論はプランクトンの群集組成や環境条件などの複雑な相互作用で決定されると言える。近年、海洋微生物群集を対象としたメタゲノム解析の成果から、植物プランクトン同士あるいは細菌を介したの共生的相互作用（互いの生存を補助し合う相互作用）の存在が予測されており（Lima-Mendez et al., 2015）、彼らが異なる種間で代謝産物を交換し、増殖効率を向上させているという機構的な仮説も提示されている（Ellis et al., 2017）。しかしながら、多様な植

物プランクトン種が共存する海洋環境において、それらの種間相互作用が生態化学量論に及ぼす影響に関しては明らかとなっていない。本研究は、実験室で植物プランクトンを共培養し、各群集の栄養塩利用効率および要求資源量の変化を定量化することを目的とした。

### 2. 試料と分析方法

本研究の分析には、過去の植物プランクトン培養実験で採取した栄養塩、粒子状元素、溶存態無機炭素（DOC）、およびRNAの各試料を用いた。本培養実験では、高知県浦ノ内湾から採取した3種の植物プランクトン（*Prorocentrum minimum*, *Chaetoceros tenuissimus*, *Skeletonema costatum*）をそれぞれf/2培地で単培養および共培養し、3日ごとに試料採集を行った（未発表データを含むため詳細は割愛する）。

粒子状元素の試料は、450℃で4時間処理したGF/Fフィルターに捕集し、濃塩酸に晒して無機炭素を除去した後、デシケーターで24時間乾燥させた。その後、京都大学薬学研究科元素分析センターの協力の下、元素分析装置（CHNコーダーMT-6, ヤナコ）により粒状有機炭素（POC）および粒状窒素（PN）の分析を行った。DOC試料は、海水をGF/Fフィルターで濾過した後バイアル瓶に採取し、全有機体炭素計（TOC-L CSH, 島津製作所）による分析を株式会社海洋生物研究所に依頼した。主要栄養塩は海水試料をスピッツ管に保存し、片岡剛文博士（福井県立大学）の協力の下、のオートアナライザー（QuAAtro 39,

Seal Analytical 社) により分析を行った。

RNA 試料の採取は孔径 2.0  $\mu\text{m}$  のメンブレンフィルターに細胞を捕集し, AllPrep DNA/RNA MiniKit (Qiagen) により全量 RNA の抽出を行った後, 株式会社 Rhelixa に RNA-seq トランスクリプトーム分析を依頼した。同社の作業では, NEBNext Poly (A) mRNA Magnetic Isolation Module および NEBNext Ultra II Directional RNA Library Prep Kit (共に NEW ENGLAND BioLabs) を用いてストランド特異的な mRNA のライブラリを作成し, 次世代シーケンサ Novaseq 6000 (Illumina) を用いて配列を取得している。

### 3. 結果と考察

本研究では, 植物プランクトンの炭素固定効率の指標として, 培養開始時から終了時 (15 日目) までに消費された硝酸塩あたりの炭素固定量のモル比 ( $\Delta\text{POC}/\Delta\text{NO}_3$ ) を用いた。炭素固定効率は実験に用いた種間で 4.2–12.9 の間で変動を示した。特に増殖が活発であった *C. tenuissimus* 株は単培養において炭素固定効率が  $4.2 \pm 0.1$  (平均値  $\pm$  標準偏差) と低い値を示したが, *P. minimum* および *S. costatum* 各種の存在下で値がそれぞれ  $6.0 \pm 0.7$  および  $5.1 \pm 0.1$  に増加した (図 1)。これらの実験区では, 培養終了時において *C. tenuissimus* の細胞数が全植物プランクトンの 99% 以上を占めており, 実測された炭素固定効率の変化が, 異なる固定比率を持つ藻類の単純な混合に起因するものではないことを示している。すなわち本結果は, 植物プランクトンの共生が栄養

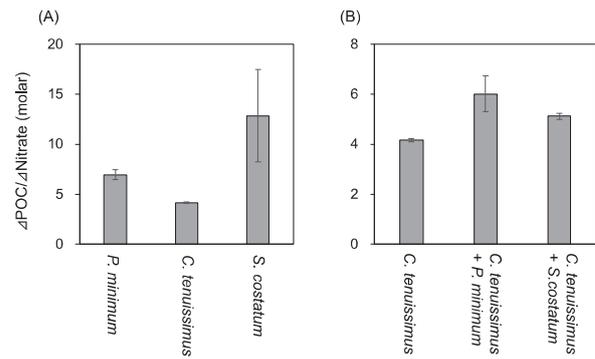


図 1. 各実験区における単位硝酸塩あたりの炭素固定量のモル比. (A) 藻類単培養実験区, (B) *C. tenuissimus* を用いた実験区の比較。

塩利用効率を向上させているという仮説を支持している。さらに, 植物プランクトン共培養区では, 単培養に比べ培地中の DOC 濃度が有意に高い値を示し, 多種共生が DOC 生産にも関与していることが示唆された。今後は, 藻類のトランスクリプトーム解析を進め, 炭素固定効率の変化に関与した生理機構を遺伝子転写活性の観点から明らかにする。

### 参考文献

- Montagnes DJ, Berges JA, Harrison PJ, Taylor FJRL. (1994) *Limnol. Oceanogr.*, 39, 1044–1060.
- Arrigo KR, Dunbar RB, Lizotte MP, Robinson DH. (2002) *Geophys. Res. Lett.*, 29, 44–1.
- Lima-Mendez G, Faust K, Henry N, Decelle J, Colin S, et al. (2015) *Science*, 348, 1262073.
- Ellis KA, Cohen NR, Moreno C, Marchetti A. (2017) *Protist*, 168, 32–47.