

浮遊性有孔虫の飼育実験法の確立とその応用

～*Globigerinoides sacculifer* の殻形成と生態の観察～

河田 大樹¹・池原 実^{2,3}・三崎 潤⁴

(¹高知大学大学院総合人間自然科学研究科・²高知大学自然科学系理学部門・

³高知大学海洋コア総合研究センター・⁴高知大学理学部自然環境科学科)

The Protocol of Culturing Experiment for Planktic Foraminifera and its Applications: Observations for Chamber Formation and Ecology of *Globigerinoides sacculifer*

Daiki KAWATA¹, Minoru IKEHARA^{2,3}, and Jun MISAKI⁴

¹ Graduate School of Integrated Arts and Science, Kochi University; ² Sciences Unit, Natural Sciences Cluster, Kochi University; ³ Center for Advanced Marine Core Research, Kochi University; ⁴ Department of Natural Environmental Science, Faculty of Science, Kochi University

Abstract: We constructed the culturing experiment system of planktic foraminifera in the laboratory of the Center for Advanced Marine Core Research, Kochi University. In this study, we collected living planktic foraminifera *Globigerinoides sacculifer* from the Tosa Bay, south of Kochi to investigate their ecology. Cultured individuals of 81 % (48/59) formed the calcareous chambers under the laboratory conditions within the temperature range from 21.5°C to 28.9°C. Initial size of major axis of *G. sacculifer* was from 162µm to 429µm. However, it grew up to 343-679µm after it had cultured. In addition, we observed pseudopodia activity, predation and gametogenesis of *G. sacculifer*. These culture systems should be useful for improving paleoceanographic proxies using planktic foraminifera.

キーワード：浮遊性有孔虫，飼育実験，生態

Keywords: planktic foraminifera, culturing experiment, ecology

1. はじめに

浮遊性有孔虫は海洋表層で浮遊生活する有殻原生動物プランクトンである。赤道域から高緯度域までの海洋表層に生息し、炭酸カルシウムの室殻（チェンバー）を、螺旋状、平巻き状等に付加形成しながら成長する。その殻には、形成時の海水の水温、塩分、pHなどの環境因子が化学組成や同位体比として記録されている。浮遊性有孔虫の殻は遺骸として海底に沈積し、微化石として保存されやすい。そのため、浮遊性有孔虫殻は過去の環境を推定するための情報源として、特に古海洋学の分野ではよく用いられる。

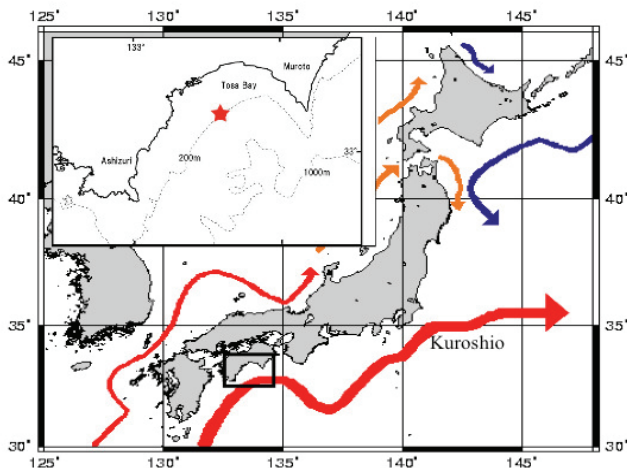
しかし、自然界の海洋では、複数の環境因子が同時に変化しながら殻に影響を与えるため、古環境を精密に推定するためには、特定の環境因子と殻の化学組成、同位体比との関係をより正確に理解する必要がある。そのため、環境因子をコントロールした上で、有孔虫に殻を付加させることができる室内での飼育実験は、環境因子と殻の化学組成の関係を特定するための有力な手法である。更に、室内飼育実験では生きている浮遊性有孔虫を直接観察できるので、生態学的情報も得ることができる。

このような背景のもと、高知大学海洋コア総合研究センターにおいて、浮遊性有孔虫の飼育実験システムを新たに構築した。本論では、その飼育実験システムを紹介するとともに、飼育実験によって明らかになってきた浮遊性有孔虫の生態について報告する。

2. 土佐湾での浮遊性有孔虫の採集方法

海洋に生息している浮遊性有孔虫を採集する主な方法は、スキューバダイビングで直接採取する方法とプランクトンネットを使って捕集する方法の2通りである（例えば、Hemleben et al., 1989）。スキューバダイビングで採集する方法は、個体に与えるダメージを最も小さくできる方法であるが、プランクトンネットを用いる方法も、ダメージを少なくした状態で浮遊性有孔虫を採集するのに都合が良い方法である。さらに、プランクトンネットを用いる方法は、スキューバダイビングでは採集できないような深い水深に生息する浮遊性有孔虫も採集できる利点がある。本研究では、プランクトンネットを用いる方法で浮遊性有孔虫を採集した（表 1）。本論に用いた浮遊性有孔虫は、2009年3月から2010年6月まで、月に一度の頻度で採集した個体を用いた。試料は、高知大学が所有する観測船「ねぶちゅーん」によって、土佐湾の定点 St. 26（北緯 33°15'00"，東経 133°38'15"，水深約 200m）（第 1 図）において、ノルパックネットを使用して採集した。

土佐湾は、北赤道海流起源の黒潮が流れ込んでいる（Kuroda et al., 2008）ため、熱帯から亜熱帯に生息する浮遊性有孔虫種が卓越する（廣田ほか, 2010）。浮遊性有孔虫はクロロフィル-a の濃度が最大となる水深に多産することが報告されている（Kuroyanagi and Kawahata, 2004）。そこで、本研究では、CTD 観測の結果からクロロフィル-a が最大となる水深を特定した上で、その水深を含む深度までノルパックネットを下ろして浮遊性有孔虫を採集した。採集したサンプルは 40 のサンプルボトルに保存した。また、同地点の表層海水をバケツで採水した。採水した表層海水は、海洋コア総合研究センターに持ち帰り、ガラスフィルター（GF/F：目合い 0.7 μ m）でろ過したのちに、飼育海水として利用した。



第 1 図. 日本近海の主な海流と浮遊性有孔虫の採集地点 (★)。

表 1. 浮遊性有孔虫の採集に用いたサンプリング道具

物品	特徴	用途
ノルパックネット	口径 45cm, 側長 2m, 目合い 100 μ m	浮遊性有孔虫の採集
サンプルボトル	4L プラスチックボトル	捕集した浮遊性有孔虫の一時保管
クーラーボックス	市販のクーラーボックス	船上および移動時の試料の保冷
保冷剤	市販品	船上および移動時の試料の保冷
コンパクト CTD	可搬型の小型 CTD 観測装置	水温, 塩分, クロロフィル a のリアルタイム観測

3. 浮遊性有孔虫の飼育実験法の確立

3.1. 飼育道具

浮遊性有孔虫の飼育方法は、主に Kimoto et al. (2003) を参考にした。本飼育実験に用いた設備は以下の通りである（第 2 図）。

1) 飼育水槽

水槽は縦 55cm, 横 35cm, 高さ 25cm のプラスチックコンテナを使用し、その中に純水 (Elix 水) を約 40ℓ入れた。

2) 恒温装置

水槽中の水温を一定に保つ為に恒温装置 Thermal Robo (アズワン社製) を用いた。

3) クーラー

クーラーはコイルを水槽に投入するタイプのコンパクトハンディクーラー (アズワン社製) を使用した。恒温装置とクーラーの両者によって水槽中の水温を調節した。

4) 蛍光灯

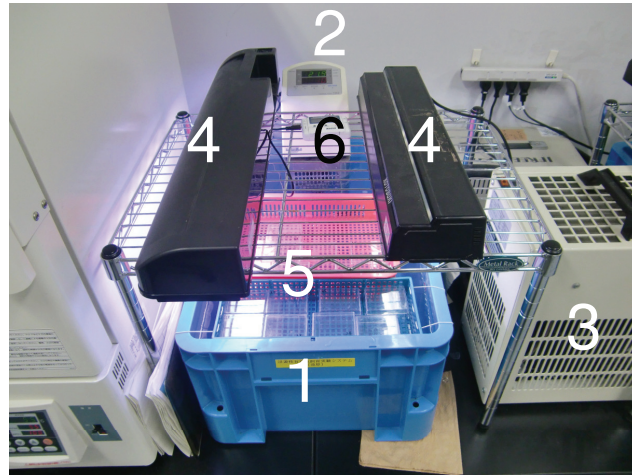
浮遊性有孔虫には藻類を共生させている種がいる。そのため、水槽の上に蛍光灯を設置し、午前 9 時に電源が入り、午後 9 時に電源が切れる 12 時間サイクルの明暗サイクルになるようにした。蛍光灯ランプには、NEC ビオルックス植物育成熱帯魚観賞用ランプ (20W) を使用した。このとき飼育容器には約 1700Lux の光が当たっていた。

5) 飼育容器

生きている浮遊性有孔虫を顕微鏡観察するために、底が平らな容器中で個体を飼育することが望ましい。そのため、浮遊性有孔虫を入れたまま観察し、かつ、餌を与えられるようなものが理想的である。本研究では、直方体のプラスチックケース (容量約 30ml) を飼育容器として使用した。

6) サーモレコーダー

水槽中の水温を記録するためサーモレコーダー (おんどとり) を設置し、30 分ごとに水槽内の水温を記録した。センサー部分が濡れないようにするため、ユニパックにいれて水槽に沈めた。恒温装置とクーラーの両者による水槽内の水温調節は $\pm 0.2^{\circ}\text{C}$ であった。また、水槽の四隅と中心をそれぞれ計測し、水槽内の場所ごとにおける水温の不均一性を計測した結果、水槽内の各点における水温の不均一性は $\pm 0.1^{\circ}\text{C}$ 以内であった。

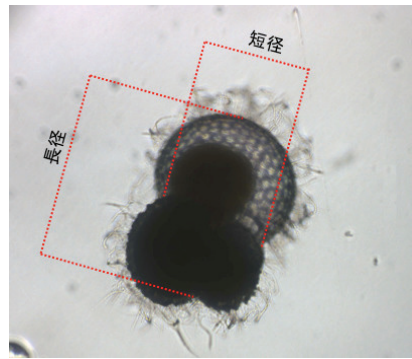


第2図. 浮遊性有孔虫の飼育実験システム. (1) 飼育水槽, (2) 恒温装置, (3) クーラー, (4) 蛍光灯, (5) 飼育容器, (6) サーモレコーダー.

3.2. 飼育方法

土佐湾で採集したサンプルはボトル中に保管した状態で保冷剤をいれたクーラーボックスで保管し、帰港後直ちに高知大学海洋コア総合研究センターに持ち帰った。採集した浮遊性有孔虫はサンプルボトル内では浮遊しておらず、ボトルの底に沈積している。実験室にて、スポイトでサンプルボトルの底からプランクトン試料を吸い出し、シャーレに移した。シャーレに移したサンプルを実体顕微鏡下で観察し、パスツールピペットを使って浮遊性有孔虫を1個体ずつ捕集し、ろ過海水を入れた別のシャーレに移した。単離した直後の個体は仮足を伸ばしておらず、シャーレの底に沈んでいることがほとんどである。これらの個体を傷つけないように注意しながら、ろ過海水を入れた飼育容器にパスツールピペットで移し、その飼育容器を水槽に設置し、飼育実験を開始した。飼育水温は21.5°C, 25.7°C, 26.4°C, 26.5°C, 28.9°Cの5段階である。飼育中の個体は、定期的に顕微鏡下で観察し、容器内での個体の活動、殻内の原形質の体積や色、チャンパー付加の有無、共生藻の有無、個体の長径を記録した。第3図に、本研究で計測した有孔虫の長径と短径の例を示した。顕微鏡観察にはCCDカメラを取り付けた透過型倒立顕微鏡ZEISS AXIOVERT 200Mを使用した。餌は *Altemia salina* (ブラインシュリンプ) であり、卵からふ化して1日目のものを1-2日おきに与えた。飼育実験に使わなかったプランクトンネットサンプルの残渣は、ろ紙上に移した後、40°Cの乾燥機中で乾燥させてから保管した。

本研究で主に飼育した浮遊性有孔虫は、*Globigerinoides sacculifer* である。この種は熱帯から温帯域の表層付近に生息する浮遊性有孔虫の代表種であり (Bé, 1977)、土佐湾でも優先して産出する種である。*G. sacculifer* の飼育実験を行うことによって、北西太平洋黒潮流域の古海洋復元の精度を高めるための成果を得ることができると期待される。

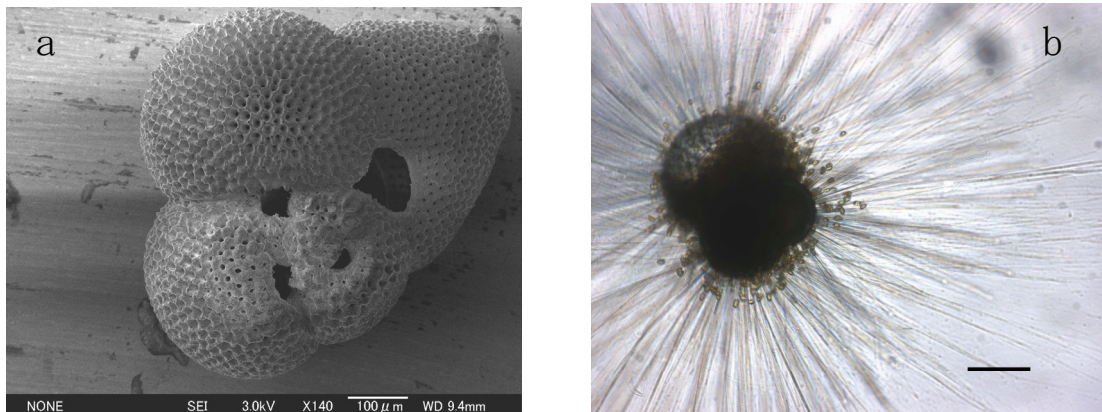


第3図. 浮遊性有孔虫の長径および短径の計測位置.

4. 結果と考察

4.1 飼育実験に用いた浮遊性有孔虫とその特徴

海底堆積物に残る浮遊性有孔虫の化石は、石灰質の殻 (第4図 a) しか残らないが、生きている *G. sacculifer* の殻の中には赤褐色〜赤茶色の原形質で満たされている。その原形質からは仮足が放射状に長く伸び、壁孔から出て殻外にまで伸びている。また、この種はスパインと呼ばれる棘を持っていて、さらに藻類と共生している。浮遊性有孔虫と共生藻はなんらかの共生関係をもっていると考えられるが、その関係は明らかになっていない。顕微鏡観察の結果、共生藻は、仮足上をつたって殻外まででてきたり、殻内に入ったりしていた (第4図 b)。



第4図. 浮遊性有孔虫 *Globigerinoides sacculifer* の顕微鏡写真. a) 海底堆積物から産出した *G. sacculifer* の化石の電子顕微鏡画像. この個体の最終チェンバーにはサックがついている. b) 本研究で飼育した個体の透過顕微鏡写真. 生息時の個体の殻内には原形質があり、仮足が殻外にでている. また、その仮足上には共生藻がみえる. スケールはそれぞれ 100 μm である.

4.2 チェンバーの付加

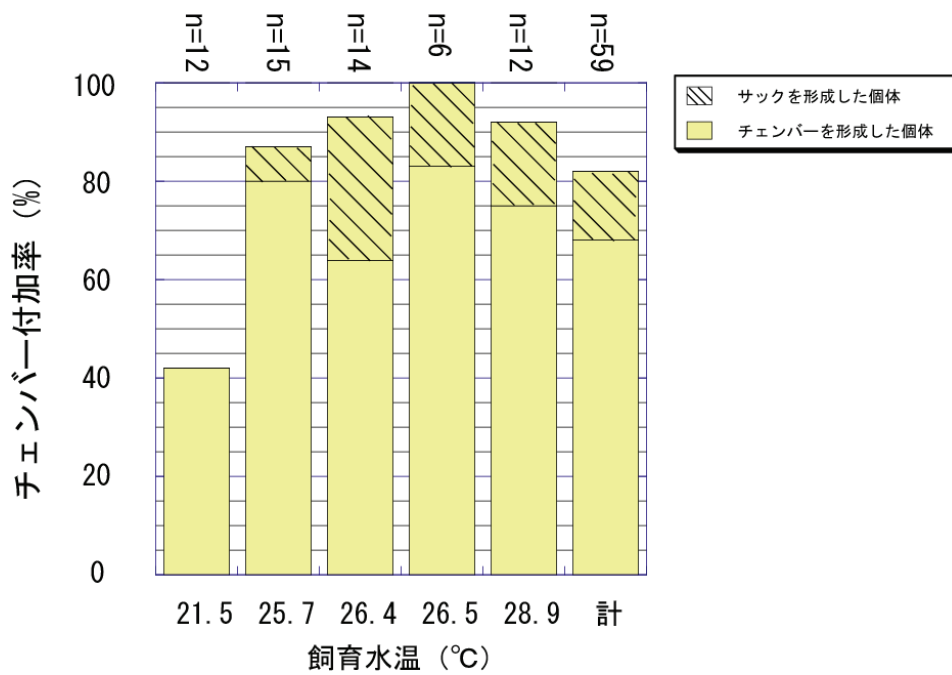
浮遊性有孔虫は、海水中のカルシウムイオンと重炭酸イオンを取り込み、炭酸カルシウム殻を作る。本飼育実験では、*G. sacculifer* が螺旋状にチェンバーを付加形成していくことを観察しており、59 個体のうち 48 個体 (81%) がチェンバーを形成した (表2, 第5図)。また、飼育実験を行った水温のうち、21.5°C ではチェンバーを付加した個体数が少なく、そのチェンバー付加率は 42% であった (表2, 第5図)。Bijma et al. (1990a) では、数種類の浮遊性有孔虫の生息可能水温と塩分が報告されているが、*G. sacculifer* の生息水温は 14–32°C と報告されている。Hemleben et al. (1987) は、*G. sacculifer* を 19.5°C, 23.5°C, 26.5°C, 29.5°C の四つの水温で飼育した結果、26.5°C の成長率が最も高く、*G. sacculifer* の生育にとっての最適水温は 26.5°C であると報告した。一方、19.5°C では成長率が急激に下がる傾向を示している (Hemleben et al., 1987)。本研究の結果からも 21.5°C という飼育水温は *G. sacculifer*

にとって成長しにくい水温である可能性が示唆された。

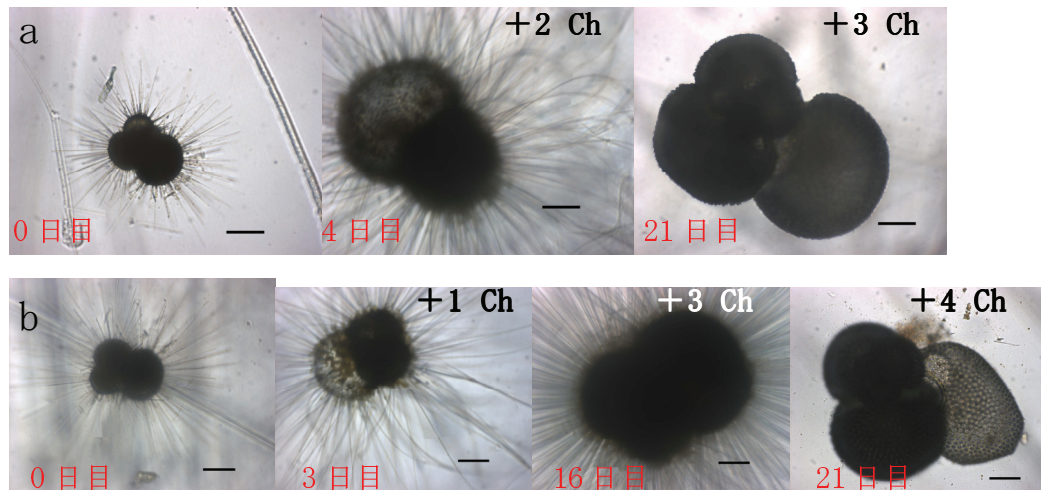
チェンバーを付加した個体のうち2/3は、1つだけではなく複数のチェンバーを付加した(第6図)。最も多くのチェンバーを付加した個体は、最終的には4つのチェンバーを付加していた(第6図b)。また、*G. sacculifer*は最後のチェンバーとしてサックと言われる先の尖った形のチェンバーを付加する場合もあり、本研究でも8個体がサックを形成した(表2, 第6図b)。一方、サックを形成することなく遊走子を放出してから死んだ個体も多かった(第6図a)。つまり、*G. sacculifer*の最終チェンバーの形態としてはサックタイプとサックではないタイプの2通りがあり、それぞれが生殖行動をしてから死んでいることになる。このような観察に基づくと、*G. sacculifer*の最終チェンバーとして「サック」がどのような意味を持つものであるのか謎である。今後、このような飼育実験を行っていくことで、その謎を解き明かす手がかりがつかめるかもしれない。

表 2. 飼育水温別の *G. sacculifer* の飼育個体数とチェンバー付加個体数

飼育水温 (°C)	飼育個体数	チェンバー付加個体数 (サック付加個体数)	チェンバー付加率 (%)
21.5	12	5 (0)	42
25.7	15	13 (1)	87
26.4	14	13 (4)	93
26.5	6	6 (1)	100
28.9	12	11 (2)	92
計	59	48 (8)	81



第 5 図. 飼育水温別の *G. sacculifer* の飼育個体数とチェンバー付加率, n は飼育個体数を示す.

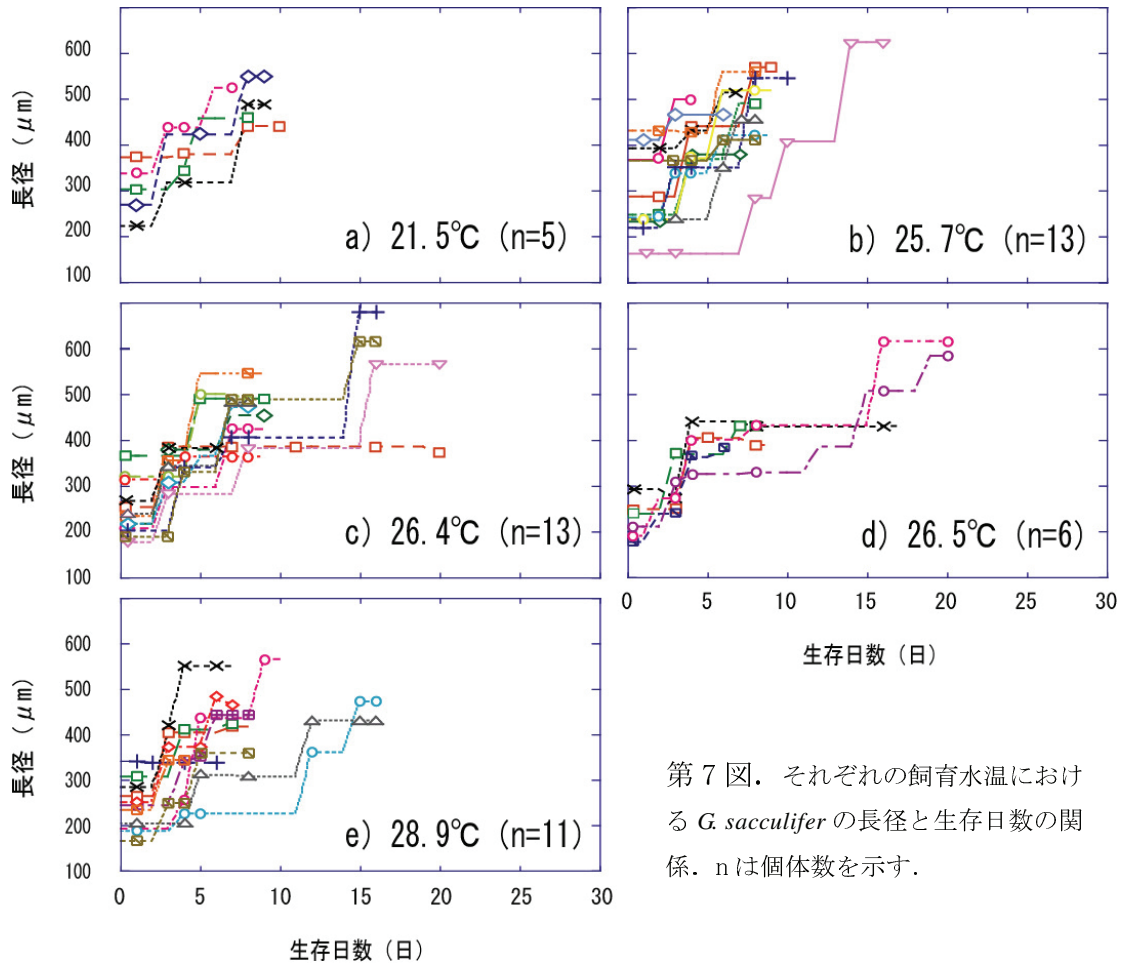


第6図. *G. sacculifer* のチェンバー付加過程. a) 最終チェンバーにサックを形成していない個体, b) 最終チェンバーにサックを形成した個体. それぞれ一番左の写真が飼育開始時の個体であり, 一番右の写真が生殖行動後の写真である. 図中の写真左下の数字は飼育期間であり, 右上は飼育開始時から付加したチェンバー数を示す. スケールは $100\ \mu\text{m}$ である.

4.3 飼育日数とサイズの推移

G. sacculifer のライフサイクルは月齢に関係があるとも言われており, その寿命は約1ヶ月程度である (Bijma et al., 1990b). 本飼育実験では, *G. sacculifer* が最も長く生存した日数は20日間に及んだ (第7図). その中で, *G. sacculifer* は新たに1~4つのチェンバーを付加した. これらチェンバーを付加した個体の成長の推移を, 飼育水温別に図に表した (第7図). 飼育開始時の各個体の長径は約 $162\text{--}429\ \mu\text{m}$ であったが, 飼育終了時には約 $343\text{--}679\ \mu\text{m}$ まで成長していた. *G. sacculifer* は水温が高いほど成長しやすく, 26.5°C が最も成長するのに適した水温とされる (Hemleben et al., 1987). 本飼育実験では, 21.5°C , 25.7°C , 26.4°C , 26.5°C , 28.9°C の水温で, 飼育終了時の長径がそれぞれ $440\text{--}548\ \mu\text{m}$, $378\text{--}623\ \mu\text{m}$, $363\text{--}679\ \mu\text{m}$, $371\text{--}615\ \mu\text{m}$, $359\text{--}566\ \mu\text{m}$ となった. これらの結果から, *G. sacculifer* の生育最適水温とされる 26.5°C 付近の個体が最も大きい長径になるまでに成長しており, Hemlebenらの研究と矛盾がない結果となった.

また, 第7図で示されるように, 各個体の長径は段階的に大きくなる傾向を示す. このように段階的に個体が大きくなるのはチェンバーが付加された時である. つまり, 第7図に基づく, 飼育実験中に *G. sacculifer* がチェンバーを付加したタイミングは, どの水温においても飼育開始から3~4日後, 6~8日後, 15~16日後に集中していたことがわかる.



第7図. それぞれの飼育水温における *G. sacculifer* の長径と生存日数の関係. nは個体数を示す.

4.4 浮遊性有孔虫 *Globigerinoides sacculifer* の生態

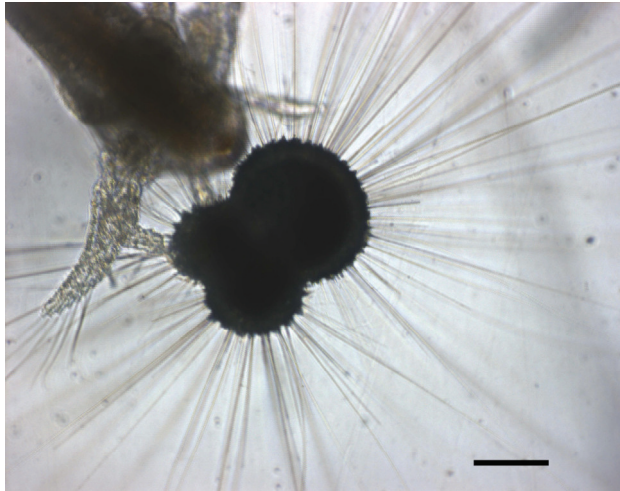
過去の海洋環境の推定に有孔虫の化石が長く扱われてきたが、その生息時の生態については分かっていないことが多い。ここでは、飼育実験中に観察された浮遊性有孔虫 *G. sacculifer* の基本的な活動についてまとめた。

4.4.1 仮足の動き

仮足は、有孔虫が殻外に原形質の一部を伸ばしたもので、粘性を持ち、採餌、浮力を得るなどに使われている (Hemleben et al., 1989)。試料採集後に個体を単離した直後には仮足は伸ばしていないが、飼育実験2日目には、仮足を伸ばし浮遊している個体が見られた (第4図b)。仮足が長く伸びて浮遊している状態は、個体が衰弱していないことを示す一つの目安としてみるができる。実際に、仮足が長く伸びている個体は餌を容易に捕獲するとともに、チェンバーを新たに付加させていた。一方、仮足が伸びていない個体は餌を捕獲できず、かつチェンバーの付加を観察できないことが多かった。

4.4.2 捕食

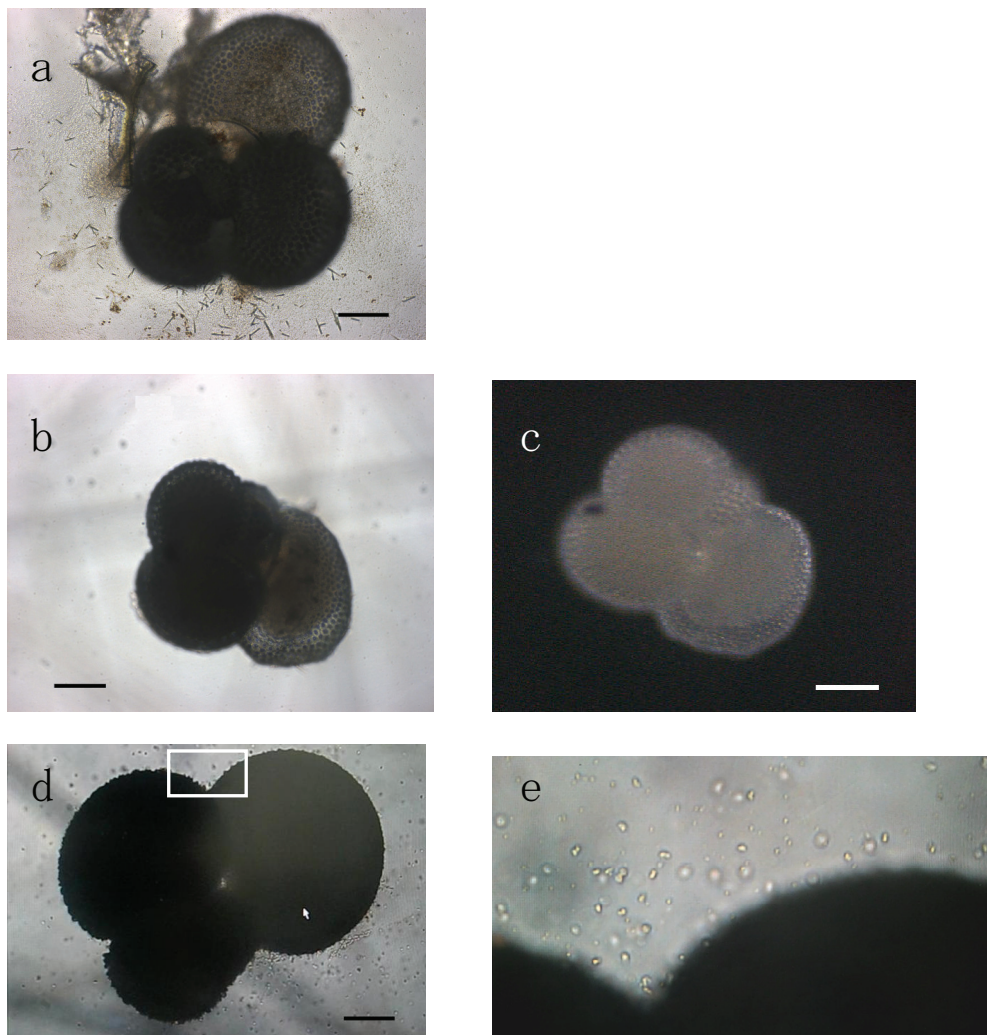
有孔虫は基本的に雑食 (動物プランクトン、植物プランクトンどちらも餌とする) であるが、スパインを持つ浮遊性有孔虫種は動物プランクトンを主に捕食し、スパインを持たない種は植物プランクトンを餌として好むと言われている (Hemleben et al., 1989)。*G. sacculifer* はスパインをもつため、本研究では餌として主に *Artemia salina* (ブラインシュリンプ) を与えた。アルテミアをピペットで与えると、個体は仮足の粘性を利用し、自身の長径よりも大きなアルテミアでも容易に捕獲していた (第8図)。餌を捕獲した個体は、仮足を原形質流動させて餌を近くまで引き寄せて捕食していた。餌を引き寄せる速さは、仮足を長く伸ばして浮遊している個体ほど速い傾向であった。



第8図. 仮足を使ってアルテミアを捕獲する *G. sacculifer*.
スケールは100 μm を示す.

4.4.3 リプロダクション（遊走子放出）

有孔虫は有性生殖と無性生殖のどちらも行うが、浮遊性有孔虫のほとんどは有性生殖で個体を増やしていると考えられており (Hemleben et al., 1989), 無性生殖が確認されたのは, *Neogloboquadrina pachyderma* のみである (Kimoto et al., 2006). 本実験でも, *G. sacculifer* がリプロダクションしていることを観察した. リプロダクションした個体の全てが有性生殖を行っていた. リプロダクション近くになると, 飼育個体はスパインを取り外し, 共生藻を放出していた (第9図 a). その後, 赤褐色〜赤茶色を呈していた原形質の色が白くなっていた (第9図 b, c). 原形質が白くなると, 仮足に粘性が無くなり餌を与えてもアルテミアを捕獲しなくなった. 原形質が白くなった後, 24~48時間後には原形質を遊走子に変化させて, 殻外へ排出していた (第9図 d, e). 排出された遊走子は数時間で素早く飼育容器中に拡散し, 円を描くように自由に泳ぎまわっていた. 遊走子を排出した親個体は, 排出終了後に全て死んでいた. また, 原形質の一部を遊走子に変えたのみで, 全ての原形質を遊走子に変えることなく死んでしまった個体も見られた. 今回の観察では, 排出された遊走子が他の遊走子と融合し, 新たな個体が生まれることは観察できなかった.



第 9 図. *G. sacculifer* のリプロダクションの過程. a) 遊走子放出前にスパインを自折している. b) 共生藻放出後の透過顕微鏡写真と c) 実体顕微鏡写真. d) 遊走子を放出する *G. sacculifer* と e) その拡大写真. スケールはそれぞれ $100\ \mu\text{m}$ を示す.

5. まとめ

- 1) 本研究において、浮遊性有孔虫の室内飼育実験システムを高知大学海洋コア総合研究センターに新たに構築した結果、浮遊性有孔虫のチェンバーの付加過程や遊走子放出などの生態観察を行えるようになった。
- 2) 土佐湾から採集した浮遊性有孔虫 *Globigerinoides sacculifer* を用いて、水温を 5 段階 (21.5°C , 25.7°C , 26.4°C , 26.5°C , 28.9°C) に制御した飼育実験を行った。その結果、飼育した全 59 個体のうち 48 個体 (81%) が新たに石灰質のチェンバーを付加した。しかし、チェンバーを付加した個体の多くは、*G. sacculifer* が比較的成長しやすい水温帯 (25.7°C , 26.4°C , 26.5°C , 28.9°C) のものであり、 21.5°C の飼育実験でのチェンバー付加率は 42% であった。
- 3) 最も長く生存した個体の飼育期間は 20 日間であった。また、飼育開始時の各個体の長径は約 $162\sim 429\ \mu\text{m}$ であったが、チェンバーが付加されることによって約 $343\sim 679\ \mu\text{m}$ まで成長した。
- 4) 飼育実験中に *G. sacculifer* の生態を顕微鏡観察し、仮足の活動、餌獲得の方法、生殖行動について観察した。リプロダクションの過程で遊走子を放出した現象を観察したものの、遊走子同士が融合することは観察できなかった。

5) 今後は、環境因子(水温など)を制御した条件で付加したチェンバーの化学分析を行い、飼育環境と殻の化学組成との比較を行うことによって、古環境を推定するためのプロキシ(代理指標)の高精度化に向けて検討していく必要がある。

謝辞

高知大学総合研究センター海洋生物研究教育施設の上田拓史教授、および、技官の矢野誠氏、井本善次氏、橋村徳司氏、動物プランクトン研究室の学生諸氏、池原研究室の荒巻朋恵さんには、土佐湾における海洋調査および試料採集にご協力いただいた。海洋研究開発機構の豊福高志博士には、浮遊性有孔虫の飼育実験を始めるにあたり大変有益なご助言をいただいた。また、海洋研究開発機構の木元克典博士には、飼育実験に関して有益なご助言をいただくとともに、粗稿の改訂に協力していただいた。以上の方々に厚く感謝いたします。本研究で構築した浮遊性有孔虫の飼育実験システムは、平成18年度高知大学学長裁量経費によって整備された。

引用文献

- Bé, A. W. H. and Hutson, W. H. (1977) Ecology of planktonic foraminifera and biogeographic patterns of life and fossil assemblages in the India Oceans, *Micropaleontology*, **23**, 369-414.
- Bijma, J., Faber, Jr, W.W. and Hemleben, C. (1990a) Temperature and salinity limits for growth and survival some planktonic foraminifers in laboratory cultures, *Journal of Foraminiferal Research*, **20**, 95-116.
- Bijma, J., Erez, J. and Hemleben, C. (1990b) Lunar and semi-lunar reproductive cycle in some spinose planktonic foraminifers, *Journal of Foraminiferal Research*, **20**, 117-127.
- Hemleben, C., Spindler, M., Breiting, I. and Ott, R., (1987) Morphological responses of *Globigerinoides sacculifer* (Brady) under varying laboratory conditions, *Marine Micropaleontology*, **12**, 305-324.
- Hemleben, C., Spindler, M and Anderson, O. R. (1989) Modern Planktonic foraminifera, Springer, New York.
- Kuroda, H., Shimizu, M., Hirota, Y., Ambe, D., and Akiyama, H. (2008) Surface current and vertical thermal structure on the continental slope in Tosa Bay, *Journal of Oceanography*, **64**, 81-91.
- 廣田深・伊谷行・池原実・上田拓史・木下泉 (2010) 土佐湾沿岸域における浮遊性有孔虫群集, *高知大学海洋生物教育研究センター研究報告*, **26**, 1-7.
- Kimoto, K., Xu, X., Ahagon, N., Nishizawa, H., and Nakamura, Y. (2003) Culturing protocol for living calcareous plankton : Preliminary results of the culturing experiment. *海洋科学技術センター試験研究報告*, **48**, 155-164.
- Kimoto, K. and Tsuchiya M. (2006) The "unusual" reproduction of planktonic foraminifera: An asexual reproductive phase of *Neoglobobulimina pachyderma* (EHRENBERG), *FORAMS2006-International Symposium on Foraminifera*, Natal, Brazil, September 10-15, 2006.
- Kuroyanagi, A. and Kawahata, H. (2004) Vertical distribution of living planktonic foraminifera in the seas around Japan, *Marine Micropaleontology*, **53**, 173-196.

平成22年 (2010) 12月14日受理
平成22年 (2010) 12月31日発行