

— 2022年度日本海洋学会岡田賞受賞記念論文 —

光共生を行う浮遊性有孔虫類の海洋生態学的研究*

高木 悠花[†]

要 旨

単細胞動物プランクトンである浮遊性有孔虫には、藻類との細胞内共生関係を築く種があり、その関係性を「光共生」と呼んでいる。浮遊性有孔虫は、炭酸カルシウムの殻が微化石として地層中に保存され、かつ殻に生きていた当時の海洋環境および生態のシグナルが残されるという特徴があり、長時間スケールでの地球環境と生命の相互作用を探る上で、格好の研究材料である。また光共生は、生物進化的に重要な生態であるだけでなく、貧栄養海域における栄養戦略として、また炭素を中心とした物質循環の観点からも、地球表層システムにおいて重要な役割を果たしている。本稿では、浮遊性有孔虫と光共生に関する過去の知見を振り返りながら、著者らがこれまで行ってきた研究を、光共生シグナルの抽出、および光共生に関わる生物学的現象の解明を中心に概説する。また最後に、今後の光共生プランクトン研究の展望についても述べたい。

キーワード：浮遊性有孔虫，光共生，炭素安定同位体比，光合成，FRR 法

1. はじめに

地球環境とそこに棲まう生命との相互作用を明らかにすることは、地球表層システムを理解する上で欠かせない。また、将来の地球環境変動に対する生物応答を理解するためには、生態系や生物多様性を時空間的にマクロスケールで捉える必要があり、個々の生物のみの観測・観察、あるいは短い時間スケールでの事象の記述だけでは必ずしも十分ではない。石灰質の殻をもつ従属栄養性の単細胞プランクトンである浮遊性有孔虫 (Fig. 1) は、

生物量としては他のプランクトンに比べ少ないが、外洋域における炭酸塩フラックスへの寄与は 32-80% と見積もられており (Schiebel, 2002)、炭酸塩生産者として最重要な生物のひとつである。従って、海洋表層から海底への膨大な炭素輸送の担い手という観点から、地球表層システムの炭素循環の重要な歯車であると言える。さらに、1 億 5 千万年以上もの連続的な化石記録を有し、形態学的種がよく整理されていること (例えば Petrizzo *et al.*, 2020) や、殻の化学組成が形成当時の海洋環境を記録する媒体となること (古環境指標, 例えば Katz *et al.*, 2010)、表層堆積物の豊富な記録により全球的な多様性がよく理解されていること (Rutherford *et al.*, 1999; Tittensor *et al.*, 2010) などから、その利用価値は、マクロ進化学、古海洋学、環境と生物多様性の理解にまで多岐に渡る。

その一方で、生物としての浮遊性有孔虫の理解は未だ

* 2022 年 12 月 5 日受領 2023 年 1 月 18 日受理
著作権：日本海洋学会, 2023 年

[†] 千葉大学大学院理学研究院地球科学研究部門
〒263-8522 千葉県千葉市稲毛区弥生町 1-33
e-mail: htakagi@chiba-u.jp

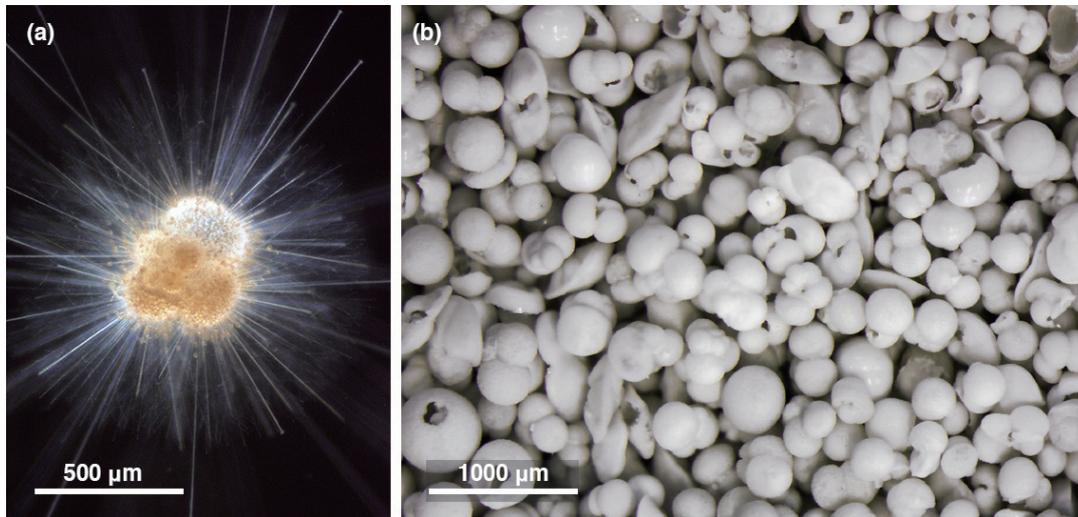


Fig. 1. Examples of planktonic foraminifera. (a) Living planktonic foraminifera *Globigerinoides conglobatus* with dinoflagellate-symbionts. The specimen was collected at Sagami Bay using a plankton net. (b) Shells of planktonic foraminifera comprising of oceanic sediments, known as the foraminiferal ooze or *Globigerina* ooze. The sample was collected at Ontong-Java Plateau via piston coring during the cruise of R/V Mirai (MR14-02).

極めて乏しい。現生浮遊性有孔虫の分布は全球的に明らかになっているが (Fig. 2), これは生物試料に基づくものではなく、膨大に蓄積された表層堆積物試料のデータを統合した結果である (Siccha and Kucera, 2017)。また種の鉛直方向の棲み分けや鉛直移動など、一般的な各種の生息水深についても概念化されており (Hemleben *et al.*, 1989), 鉛直分布についても一見よく理解されているように思われている。しかし、浮遊性有孔虫の生息水深の情報は、殻の酸素安定同位体比を水温計として考えたときの、各種の序列を水深に置き換えたもの (各種の $\delta^{18}\text{O}$ から推測される石灰化水深) が端緒であり (Emiliani, 1954), 未だに過度に単純化されて議論されていることも多い。このように浮遊性有孔虫の生き様に関する知見は、現生種においてさえも、死殻を用いた研究が主導してきた経緯がある。生物としての浮遊性有孔虫研究 (細胞構造, 捕食, 共生, 成長, 生殖, 概日リズムなど, Bé *et al.*, 1977) も行われてきたが, A.W. H. Béらによる 1980 年代までが研究のピークであり, 成果が書籍 (Hemleben *et al.*, 1989) としてまとめられて以降あまり進展しなかった。また分子生物学的な手法の発展により, プランクトンネットで得られる生体試料を用いた研究と

して, 1990 年代以降は遺伝子研究が台頭してきた背景もある。

浮遊性有孔虫が外洋性であり生物採取に船舶が必要であること, 継代培養法が確立されていないことが, 生物学的研究の進展の主たる制約となっている。一方で, 生体採取後, 迅速かつ適切な処理をすれば, 一定期間は実験室で維持可能でもあり, 新鮮なサンプルを得られれば十分研究対象になりうる。著者らはこれまで, 主に研究航海を活用して試料採取を行い, 船上での実験や飼育観察に基づき, 浮遊性有孔虫の生態解明, 特に藻類との細胞内共生 (以後「光共生 (photosymbiosis)」と呼ぶ) に着眼して研究を行ってきた。また著者は, 浮遊性有孔虫を用いて地質学的時間スケールでの生命と環境の相互作用を理解したい, という大目標のもと, (1) 化石試料からも生態復元を可能にする, 殻に記録される光共生シグナルの理解, (2) 光共生に関わる諸生命現象の基礎理解, (3) 光共生が海洋生態系や地球の物質循環に果たす機能の理解, という大きく 3 本の柱を立てており, 研究対象には生体と殻の両者を含んでいる。本項では, 上記に掲げた (1), (2) に関わる内容を中心に紹介する。(3) の柱はまだ研究の道半ばではあるが, 展望の章で触れた

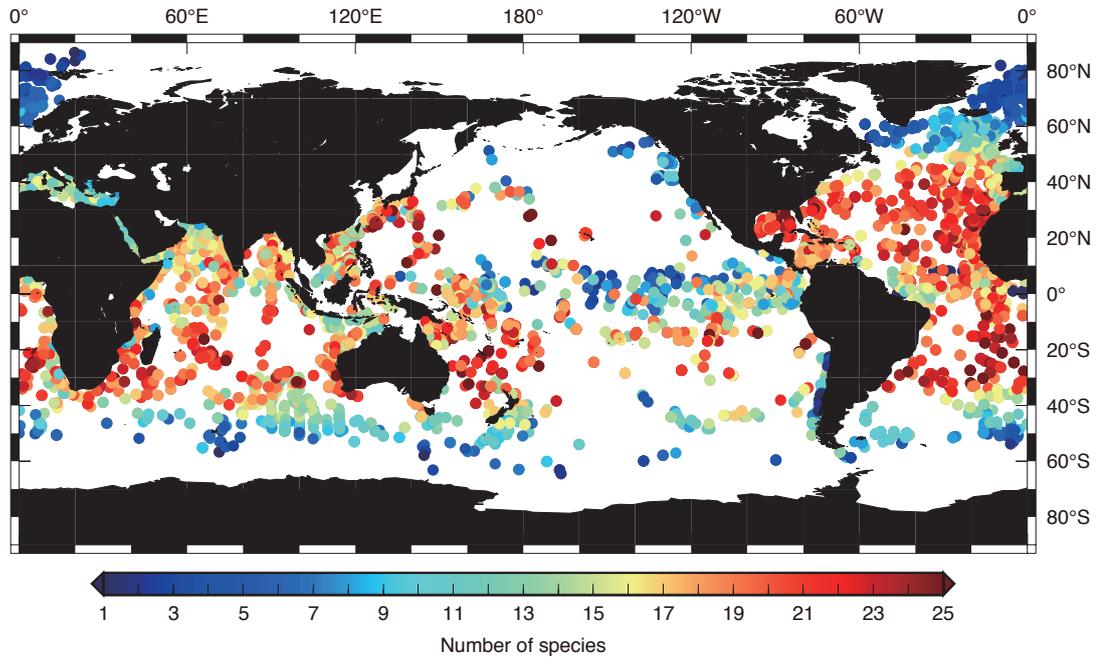


Fig. 2. Global species diversity of planktonic foraminifera (the number of species in a sample). Overall, a higher species diversity can be found at a lower latitude, except for the equatorial Pacific. Relevant data were obtained from ForCens (Siccha and Kucera, 2017), a compiled database of foraminiferal assemblage from core-top sediment samples.

い。

以降ではまず、第2章で地質時代を含めた時間スケールでの浮遊性有孔虫、光共生の重要性を述べ、次に第3章で光共生を指標するシグナルについて、著者らの研究内容を交えながら紹介する。第4章、5章では、浮遊性有孔虫の飼育実験によって得られた知見について概説し、第6章では、光共生シグナルが殻に残されるメカニズムに迫る研究の一貫として取り組んだ、炭素取り込み実験について紹介する。最後に第7章では、まとめと、海洋学における浮遊性有孔虫をはじめとする単細胞動物プランクトン研究の今後のあり方、展望について議論したい。

2. 地球科学における浮遊性有孔虫と光共生

有孔虫 (Foraminifera) とは、リザリア (Rhizaria) スーパーグループに属する単細胞真核生物であり、一般的に生息様式によって底生と浮遊性とに大別される。浮遊性種はすべて炭酸カルシウム (方解石) の硬骨格をも

ち、基本的には外洋域の表層数百メートル以浅に生息する。死後は殻が海底に降り積もり、海域によっては、海洋表層が「有孔虫軟泥 (Foraminiferal ooze / *Globigerina* ooze)」と呼ばれる、浮遊性有孔虫の殻を主体とする堆積物で覆われていることも珍しくない (図1b)。また海洋底を掘削しコアを採取すれば、堆積物中に微化石として保存された有孔虫を、連続的に時代を遡って得ることができ、進化のアーカイブ、古環境のアーカイブを提供してくれる。このように浮遊性有孔虫が作り出す殻は、地質学的時間スケールの中で、生命と海洋環境の両者の関係を探る格好の材料となっている (Yasuhara *et al.*, 2017)。

光共生とは、photosymbiosis に対して当てた訳語であり、photosynthesis が photo (光) + synthesis (合成) で光合成と訳されるのに倣い、photo (光) + symbiosis (共生) で光共生と呼んでいる。藻類を細胞内に保持し、栄養的に相互依存する共生関係は、algal symbiosis とも呼ばれるが、光合成すなわち光の利用が共生関係を結びつ

ける要であるため、光共生という言葉もあながち間違いではない。光共生する海洋生物を列挙すれば、造礁性サンゴが著名な例であるが、その他にも底生生物ではイソギンチャク、カイメン、シャコガイ、底生有孔虫など (Goff, 1983; Stanley and Lipps, 2011; Lee, 2006)、プランクトンでは浮遊性有孔虫の他に、放散虫や繊毛虫にも光共生する種がいることが知られている (Caron, 2000; Anderson, 2012; Decelle *et al.*, 2015)。プランクトンの光共生は、浮遊性有孔虫がそうであるように、基本的には宿主が継代培養できず、生物としての研究が容易ではない。一方で、近年では分子生物学的手法がより広く用いられてくるようになった背景もあり、メタバーコーディング法に基づく網羅的な研究では、光共生するプランクトンが従来の想定以上に多様であり、海域によっては豊富であることが指摘されている (de Vargas *et al.*, 2015)。また、海中ビデオカメラを用いた研究でも、光共生するリザリア類 (有孔虫や放散虫) が従来のプランクトンネット採集に基づく研究では過小評価されていることが指摘されるなど (Biard *et al.*, 2016)、様々な方面から、「光共生プランクトン」の重要性に注目が注がれている。特に最近では、遺伝子発現解析を用いた光共生に関わる遺伝子を探る研究や (Liu *et al.*, 2019)、イメージング技術を活用した共生体の物質輸送の解明など (LeKieffre *et al.*, 2018; 2020)、機能面を明らかにするような研究にも進展が見られる。このようにマクロな視点 (全球的な分布や多様性) とミクロな視点 (現象の素過程や機能の理解) の両者の研究が充実し始めている状況にある。

浮遊性有孔虫の光共生は、古くは白亜紀の種においても議論されており (Houston and Huber, 1998; Houston *et al.*, 1999; Bornemann and Norris, 2007)、新生代以降でも、光共生という生態の獲得が新たなニッチの開拓となり、新規系統の出現を促したことが示唆されている (Norris, 1996)。また近年の研究では、浮遊性有孔虫の種多様性変動には、外的な環境要因よりも種固有の生態が深く影響していると示唆されており、そのような生態として光共生の重要性も挙げられている (Ezard *et al.*, 2011; Aze *et al.*, 2011)。新生代を通じて浮遊性有孔虫の種の多様性変動を概観すると、過去の地球の最温暖期 (始新世初期) には光共生する種の割合が60%を超え、一方で寒冷化で特徴付けられる始新世-漸新世界で

は、その割合が20%以下に低下するなど (Ezard *et al.*, 2011; Kawahata *et al.*, 2019)、地球の気候と浮遊性有孔虫の種の生態には密接な関係性があるように思われる。光共生種は一般的に温暖な海域に生息するため、気候の温暖期には高緯度方向へ分布を拡大させ、より繁栄する (Kelly *et al.*, 1996; Kelly, 2002)。このような傾向は現世においても確認され、今まさに進行しつつある地球温暖化の証拠として議論されている (Ruddiman *et al.*, 1970; Jonkers *et al.*, 2019)。一方で、過去の温暖化イベントである暁新世-始新世温暖化極大 (PETM) や中期始新世気候極大 (MECO) では、光共生する種について何らかの共生関係の変化 (例えばサンゴにおける白化のような、共生関係の崩壊) が起きた可能性も指摘されている (Wade *et al.*, 2008; Edgar *et al.*, 2013; Shaw *et al.*, 2021)。このように、環境変動に対する種の応答を理解するためには、環境変動の程度を正確に明らかにするだけでなく、その時代の種がどのように生きていたか、すなわち光共生のような生態も考慮した上で議論することが重要である。

3. 光共生のシグナル

3.1. 殻に記録されるシグナル

まず、光共生を殻の安定同位体比分析から明らかにできることについて概説する。化石種から光共生を判別するには、殻の炭素安定同位体比をシグナルとして用いる手法が一般的である。浮遊性有孔虫は、基本的に生息場の海水の化学組成を強く反映した殻を形成することから、古環境復元ツールとして高い利用価値が認められている。しかし厳密には、有孔虫自身の代謝や、共生している藻類の光合成の影響が、多少なりとも殻の化学組成に反映されている (Kroon and Ganssen, 1989; Spero and Lea, 1993; Ravelo and Hillarie-Marcel, 2007)。これは、生物活動が、殻を形成する場の微小領域の海水組成を変化させるためである (Wolf-Gladrow *et al.*, 1999; Zeebe *et al.*, 1999)。この影響は、古環境復元の観点からは補正されるべき対象となるが、これを逆手にとって、生物活動の証拠を得るという利用法もある。光合成という生物活動においては、より軽い無機炭素 (^{12}C) が選択的に利用さ

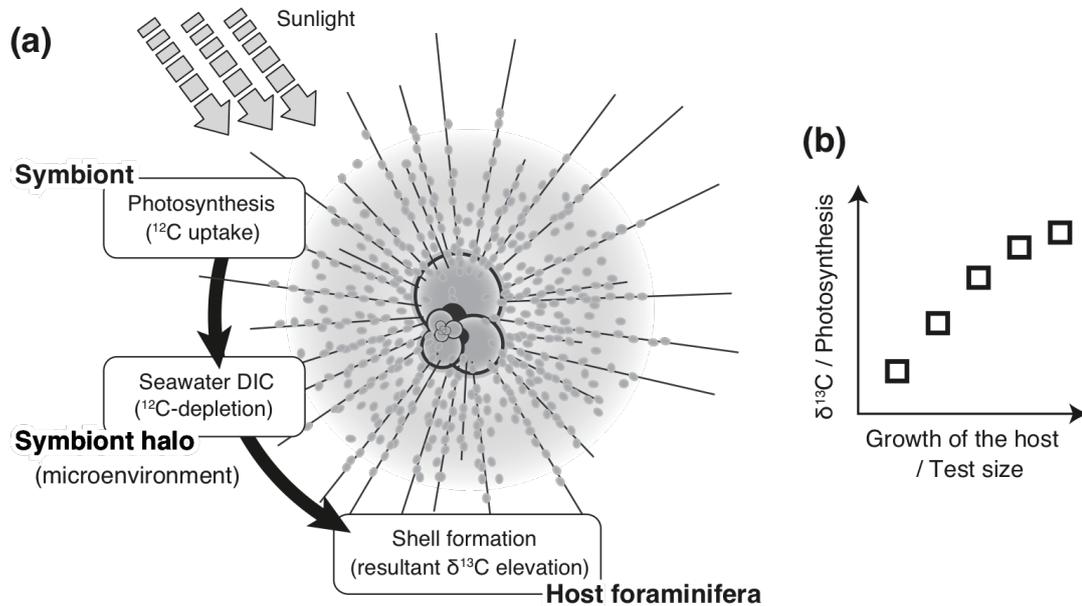


Fig. 3. Conceptual illustration of the photosymbiotic signal and background mechanism. (a) ^{13}C -enrichment in $\delta^{13}\text{C}$ of a foraminiferal shell via symbiont photosynthesis. The symbiont photosynthesis results in ^{12}C -depleted $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ in the microenvironment (symbiont halo), which is eventually recorded as elevated $\delta^{13}\text{C}_{\text{shell}}$. (b) Ontogenetic positive shift of $\delta^{13}\text{C}$ via the enhancement of the effect described in (a). Such enhancement can occur through the host's ontogeny as the symbiont number increases, due to an increase in the total photosynthetic activity per individual. The positive $\delta^{13}\text{C}$ /size trend can be considered an indicator of photosymbiosis.

れるため、残りの海水中には重い炭素 (^{13}C) が相対的に増加する。光共生する浮遊性有孔虫はこの影響下で殻を形成するため、非共生種に比べ殻の炭素安定同位体比 ($\delta^{13}\text{C}$) が高くなるという特徴がある (光合成による有孔虫殻の $\delta^{13}\text{C}$ の増加効果, Fig. 3a)。さらに成長に伴って共生藻の数が指数関数的に増加する (従って光合成も増加すること) を反映し、上記の「光合成による有孔虫殻の $\delta^{13}\text{C}$ の増加効果」が、成長に伴ってますます増強されていく (Fig. 3b)。その結果として、有孔虫のサイズ増加に伴って $\delta^{13}\text{C}$ が増加するというプロファイルを示すことになる (Oppo and Fairbanks, 1989; Spero and Lea, 1993; Norris, 1996)。

従来の解析法では、化石から上記プロファイルを確認するためには、種のサイズ分画ごと (例えば $80\ \mu\text{m}$ から $300\ \mu\text{m}$ の間で7分画) に安定同位体比分析を行い、サイズに対する $\delta^{13}\text{C}$ の傾向を解析していた (Berger *et al.*, 1978; Norris, 1996; Birch *et al.*, 2012)。個体サイズにもよるが、通常は分析に必要な炭酸塩量を確保するため、

対象とする種をサイズ分画ごとに複数個体集める必要がある。例えば最小のサイズ分画では、1測定に80個体必要とした例もある (Birch *et al.*, 2012)。このため、産出が稀な種については解析対象にできないという制約があった。

浮遊性有孔虫の殻の特徴のひとつとして、1個体に全ての成長段階の記録が残されていることが挙げられる。これは、貝殻の成長輪や木の年輪と同様に、組織が成長に伴い付加されていくことによる。浮遊性有孔虫の場合は、1成長段階が1房室 (チャンパー) に相当する。従って、房室ごとに分析することができれば、光共生特有のプロファイルとされる「有孔虫の成長に伴い $\delta^{13}\text{C}$ が増加すること」を、1個体からでも確認できることになる。そこで著者は、個体から房室を物理的に切り離し、世界最高精度の微量炭酸塩安定同位体比質量分析システム (MICAL, Ishimura *et al.*, 2004; 2008) を活用して微量分析を実施することで、1個体から光共生のシグナルを抽出する手法の確立に取り組んだ (Takagi *et al.*, 2015; 2016b)。

まず表層堆積物中から、光共生生態が既知の現生種を拾い出し、顕微鏡下で房室を切り離した (Fig. 4)。この房室ごとに安定同位体比を測定した結果、光共生する種では $\delta^{13}\text{C}$ の増加が確認され、一方で非共生種では極めて初期にはやや増加が見られるものの、その傾向は続かないことが明らかとなった。また相対的に光共生種が非共生種より高い $\delta^{13}\text{C}$ を示すことが確認され、従来の理論と概ね整合的な結果が得られた (Fig. 5)。一方で、 $\delta^{13}\text{C}$ の値は低いものの、非共生種でも初期に $\delta^{13}\text{C}$ の増加プロ

ファイルが得られたことは特筆すべき特徴であり、これは、呼吸の効果 (殻の $\delta^{13}\text{C}$ を減少させる効果) が成長初期でより強いことを反映していると考えられた (Takagi *et al.*, 2016b)。最終的には、 $\delta^{13}\text{C}$ の増加傾向だけではなく、 $\delta^{13}\text{C}$ の相対的な値、また生息場 (石灰化水深) の水温を反映する $\delta^{18}\text{O}$ と合わせて総合的に判断することで (Fig. 5b)、光共生生態の 1 個体判別が可能になると考えられる。

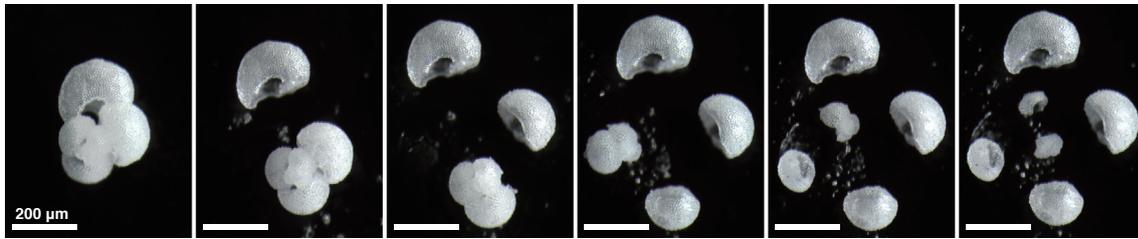


Fig. 4. Chamber dissection process (from left to right) of the planktonic foraminifera *Trilobatus sacculifer*. Discrete isotopic measurements of each chamber can be conducted using the MICAL system.

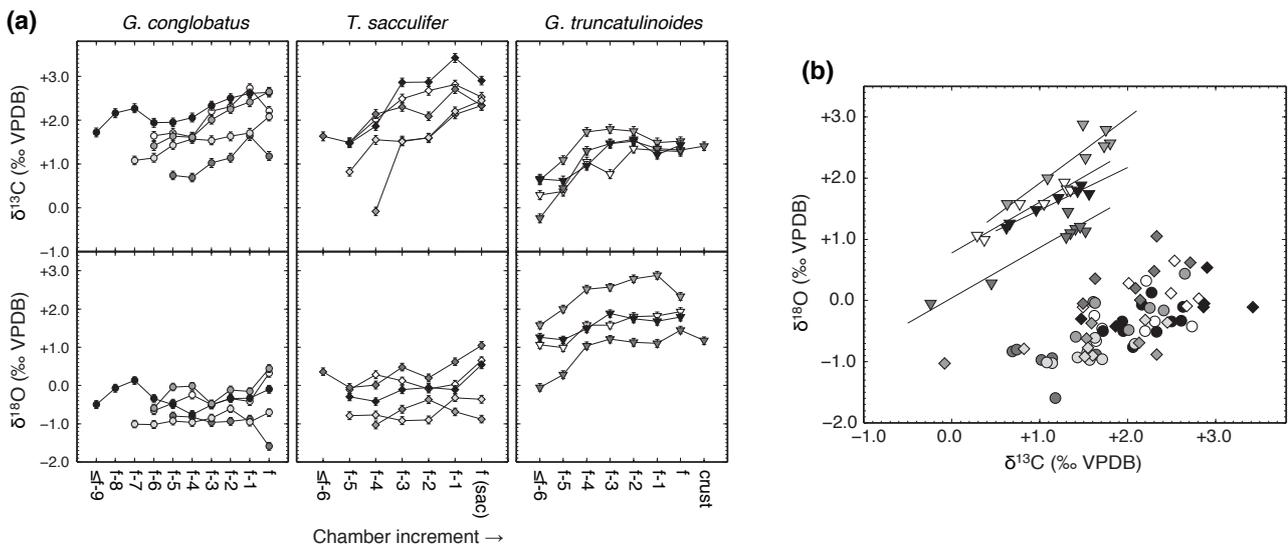


Fig. 5. (a) Ontogenetic $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ of the three species of planktonic foraminifera. *G. conglobatus* and *T. sacculifer* are symbiotic species, whereas *G. truncatulinoides* is a non-symbiotic species. f, the final chamber; f-n, the nth chamber counting backward from the final chamber; $\leq f-n$, the juvenile test from the initial chamber through f-n. (b) Scatter diagram of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$. The symbols are the same as those in (a). The solid lines represent the regression lines obtained by a reduced major axis analysis. Modified from Takagi *et al.* (2015) with permission from Cambridge University Press.

3.2. 生体における光共生シグナル

生体について、光共生するか否かを識別することは、簡単に思われるかもしれない。しかし、浮遊性有孔虫の細胞内には、取り込んだ餌の食胞が多数存在しており、仮に植物プランクトンを餌として捕食していると、共生藻なのか餌なのかを識別することが困難になる。細胞切片の透過型電子顕微鏡観察では、(1) 単一の藻類が多数見られること、(2) その藻類細胞の分裂過程 (mitosis) が確認できること、(3) 分解される様子が見られないこと、などが、共生藻の有無の識別基準となってきた (Gastrich, 1987; Hemleben *et al.*, 1989)。しかし宿主内で藻類が本当に生きていたかを断定するには、証拠不十分であると言わざるを得ない。そこで著者らは、従属栄養性である浮遊性有孔虫から、光合成のシグナルが得られれば、細胞内で藻類が活発に生きている証拠になると考え、光合成やその活動度を評価する取り組みを始めた。

著者らの研究以前にも共生藻を持つ浮遊性有孔虫の光合成に着眼した光共生の研究はなされており、酸素発生速度の見積もりや (Jørgensen *et al.*, 1985; Rink *et al.*, 1998)、放射性炭素をトレーサーとした取り込み実験による炭素固定速度の見積もり (Spero and Parker, 1985; Gastrich and Bartha, 1988; Caron *et al.*, 1995) などが行われ、共生状態にある藻類が極めて活発に光合成を行っていることが明らかとなっている。これらの研究により、宿主-共生系全体として光合成生物として振る舞うこと (共生藻の光合成が共生系全体の呼吸を上回る) など、基本的な概念が示されてきた。しかし、従来研究では、比較的大型で、実験室で維持が容易な数種のみを対象にしており、約 50 種が知られる現生浮遊性有孔虫において、そもそも共生藻の有無すら調べられていない種がほとんどであった。そこで著者らは、浮遊性有孔虫における光共生の全体像を明らかにしたいと考え、高感度で、生体試料にダメージを与えず、簡便に扱える光合成の評価手法を検討した。

著者らが一貫して利用してきたのは、クロロフィルのアクティブ蛍光法のひとつである、高速フラッシュ励起蛍光法 (FRR 法, Kolber *et al.*, 1998) である。FRR 法は、光合成生物に強い閃光 (励起光) を連続照射することで

発せられるクロロフィル蛍光の変動を測定する手法であり、光化学系 II の状態や性質を表すパラメータ (例えば光合成活性 F_v/F_m 、有効光吸収断面積 σ_{PSII} など) を評価することができる。本手法は非常に高感度であるため、浮遊性有孔虫-藻類共生系においては、1 個体でも測定可能であることが示された (Fujiki *et al.*, 2014)。この特徴から、本手法を、海から採取した直後の個体に対し用いれば、大型種、小型種、実験室での維持の難易度を問わず、光合成の有無 (宿主細胞内で生きている藻類の有無)、すなわち共生藻の存在を、個体ベースで迅速に判断できると考えた。

研究航海の機会を活用し、太平洋から大西洋、亜熱帯から亜寒帯にまで赴き、プランクトンネット観測および航行中も研究用海水から試料を採取し、可能な限り多くの種に対し FRR 法を適用した。4 科 16 属 30 種、計 1,266 個体について検討したところ、19 種から光合成のシグナルを確認し、そのうち 16 種については、宿主のサイズとクロロフィル量に有意な正相関が確認された (Fig. 6)。クロロフィル量は共生藻の量の指標とみなすことができるため、上記サイズとの関係性は、個体の成長に伴って共生藻も増加すること、すなわち細胞内での共生藻の増殖を示すものと考えられる (Takagi *et al.*, 2019)。共生藻が宿主内で細胞分裂し増殖できることは、光共生が一時的な藻類の取り込みではなく、両者が継続的に利益を得られる密接な関係であることを意味し、共生関係の恒常性が示唆された。

また、光合成の生理パラメータを、共生藻の種類が判明しているものについて比較すると、光合成活性 F_v/F_m では共生藻ごとの差はなく、総じて高い活性を示す一方で、有効光吸収断面積 σ_{PSII} では、渦鞭毛藻を共生させる種よりもペラゴ藻を共生させる種のほうが有意に高い値を示した (Fig. 7)。前者は、共生藻の光合成が宿主の中で良好な状態にあること、また後者は、ペラゴ藻のほうがより弱光環境に適応していることを意味する。 σ_{PSII} の示す意味については、他の共生藻種も含めてさらなる検証が必要ではあるが、宿主の生息環境 (水深あるいは光環境) と、持ちうる共生藻の種類について、何らかの関係性があることが示唆された。

さらにこの研究では、得られた光共生に関する種々のパラメータ (共生藻の保持率、体サイズとクロロフィル

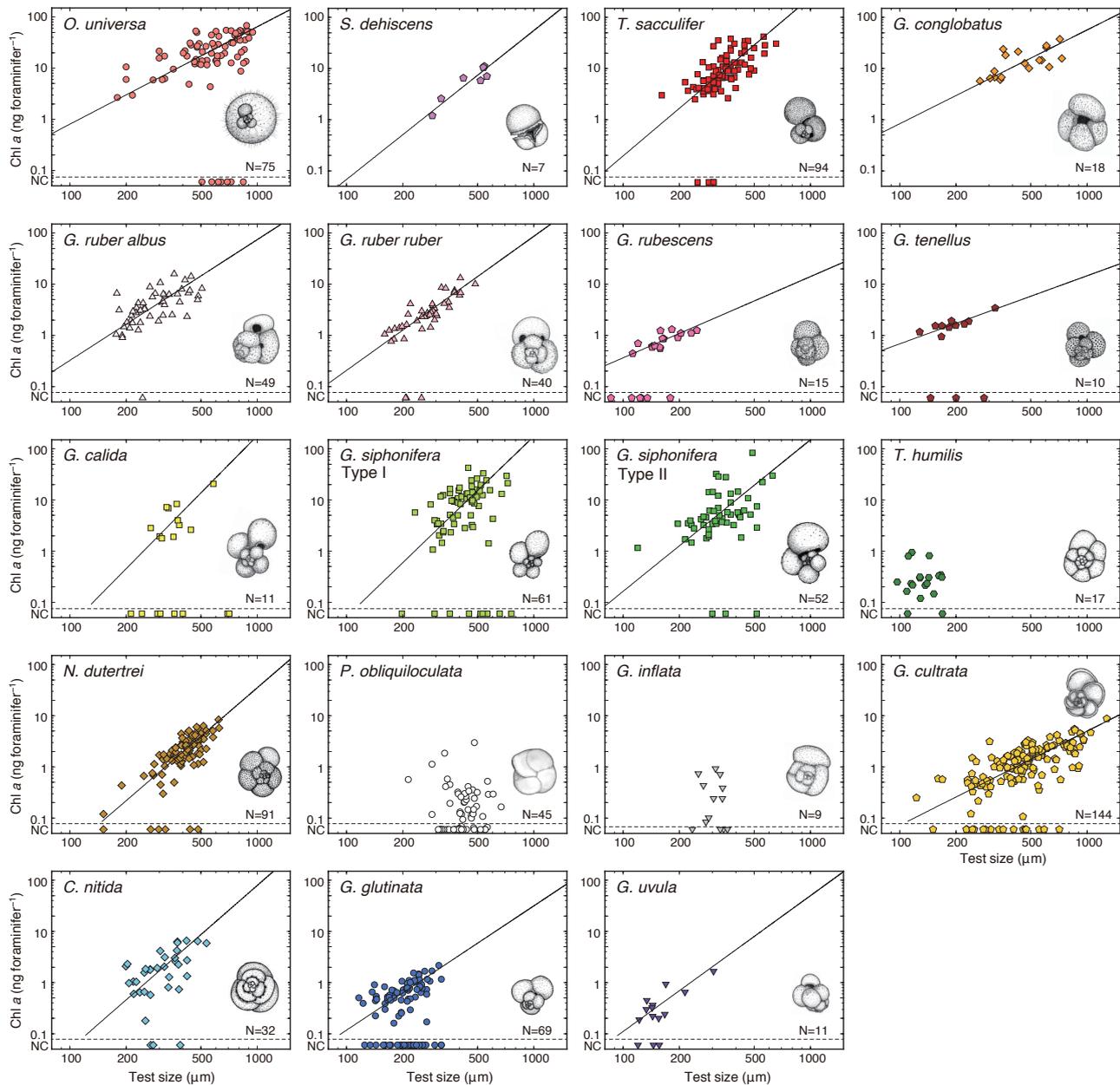


Fig. 6. Relationships between the test size and Chl *a* content for each species. The lines represent the reduced major axis regression results. The specimens with no chlorophyll and non-functional chlorophyll are plotted at the bottom of each panel to demonstrate their test size information (these data are not used for the regression analysis). N, the number of specimens with functional chlorophyll (i.e., with symbionts). Modified from Takagi *et al.* (2019).

量の関係、光合成活性、バイオマスあたりのクロロフィル量)を主成分分析した結果、光共生の関係性を指標する統合パラメータ(第一主成分、寄与率84.2%)を得られ

た。このパラメータに従い、浮遊性有孔虫の光共生の全容を見渡せる新たな概念図を提示できた(Fig. 8)。光共生を栄養生態の中に位置付けると、混合栄養(mixotrop-

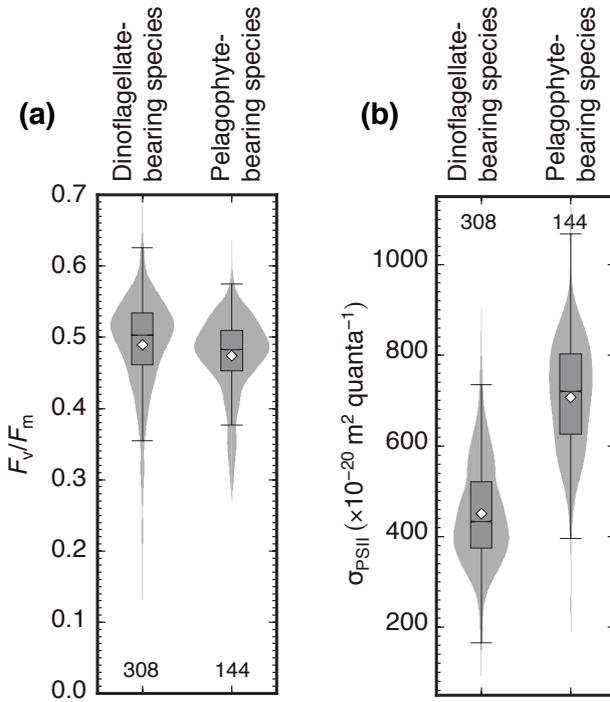


Fig. 7. Photophysiological parameters of the dinoflagellate-bearing species and pelagophyte-bearing species. (a) F_v/F_m . (b) σ_{PSII} . The box plots use hinges to represent first and third quartiles, and midlines to represent medians, with notches representing the 95% confidence intervals. Means are represented by open diamonds. Values that lie more than 1.5 times the length of the box from either end of the box are considered outliers. The violin plots show the distributions as the estimation of kernel density. Modified from Takagi *et al.* (2019).

hy) の一種であり、生まれ持ったものではなく一生の途中から獲得されることから、獲得光栄養 (acquired phototrophy) の中に含まれると考えられる (Stoecker *et al.*, 2009)。しかしその関係性も一様ではなく、種によって程度はさまざまである。つまり、浮遊性有孔虫の光共生は、非共生すなわち完全な従属栄養 (heterotrophy) から、光栄養 / 独立栄養 (phototrophy / autotrophy) に至るまでの幅をもったスペクトラムとして捉えることができる (Fig. 8)。本研究で、FRR 法という浮遊性有孔虫研究においての新規手法を活用することにより、単なる共

生藻の有無だけではない、光共生の関係性の本質に少しでも近づくことができたと考えている。

4. 光共生の継時変化

FRR 法は非破壊測定であるため、飼育実験との相性がよく、実験環境下における共生藻の継時的な光合成の変化を追うこともできる (Takagi *et al.*, 2016a)。著者らは、沖縄県瀬底島沖でサンプリングを行い、渦鞭毛藻を共生させる *Trilobatus sacculifer* と、ペラゴ藻を共生させる *Globigerinella siphonifera* Type II について、飼育実験下での光共生系の成長と、それに伴う光合成生理パラメータの変化をモニターした。飼育は、水温および光をコントロールし、1日おきに給餌 (アルテミア幼生) しながら、試料採取後2週間行った。飼育環境下で、浮遊性有孔虫は新たな房室を間欠的に1つずつ形成し、段階的にサイズを増加させた (Fig. 9)。最終的には遊走子を放出し、殻の中身がほぼ空になって一生を終えることが確認された。また、1宿主あたりの共生藻量の指標となる F_m 値は、飼育期間を通して最初は増加するが、のちに減少に転じるという傾向を示し、宿主の遊走子形成のタイミングでは値が検出限界以下まで低下した (Fig. 10)。飼育は濾過海水中で行われており、外部から新たに共生藻を取り込むことができないため、 F_m 値の上昇は共生藻の増殖過程を見ていると考えられる。これは、第3章で紹介した、宿主サイズが大きいほど共生藻量が多いという関係性が、共生藻の増殖を意味するという解釈を支持している。また遊走子放出の際には、飼育容器内の海水中には共生藻細胞が確認されないことから、最終的には宿主内で共生藻が消化されたと考えられる。

一方で、光合成の生理パラメータ (光合成活性 F_v/F_m 、有効光吸収断面積 σ_{PSII}) は、ばらつきは大きいものの、比較的安定した値を示していた (Fig. 10)。これは、ダイナミックな宿主や共生藻の成長とは対照的に、細胞内の環境は少なくとも光合成にとっては良好な環境が継続的に保たれていると理解できる。また、両種ともに確認できた、遊走子放出直前の共生藻消化現象は、本研究以前にも報告がなされていたが (Bé *et al.*, 1983; Faber *et al.*, 1988)、電子顕微鏡観察に基づく定性的な議論であった。本研究では、クロロフィル蛍光が最終的にゼロ

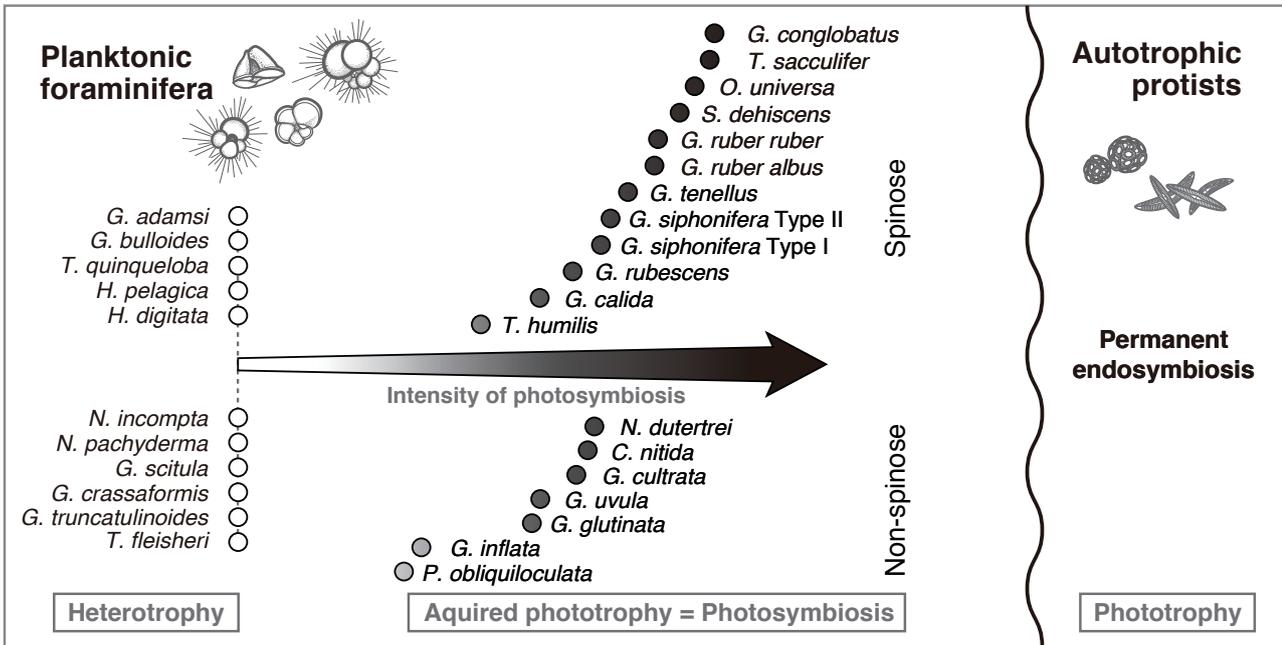
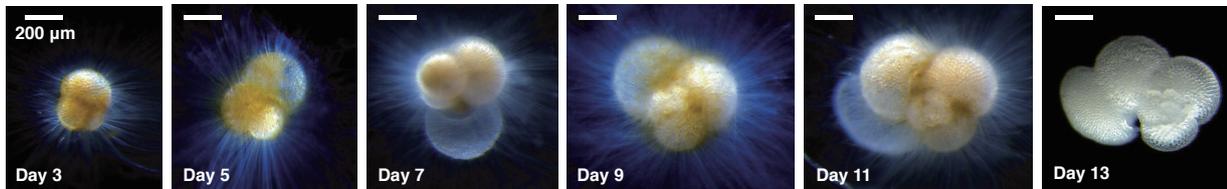


Fig. 8. Conceptual diagram of the spectrum of planktonic foraminiferal photosymbiosis along the trophic gradient between the permanent endosymbiosis (right) that results in permanently integrated plastids (not found in planktonic foraminifera) and heterotrophy (left). Foraminiferal species were ordinated according to their PC1 scores from the principal component analysis in Takagi *et al.* (2019). Foraminiferal photosymbiosis has been acquired regardless of the morphological features (i.e., spinose/non-spinose and macroperforate/microporferate). Modified from Takagi *et al.* (2019).

(a) *Trilobatus sacculifer*



(b) *Globigerinella siphonifera* Type II

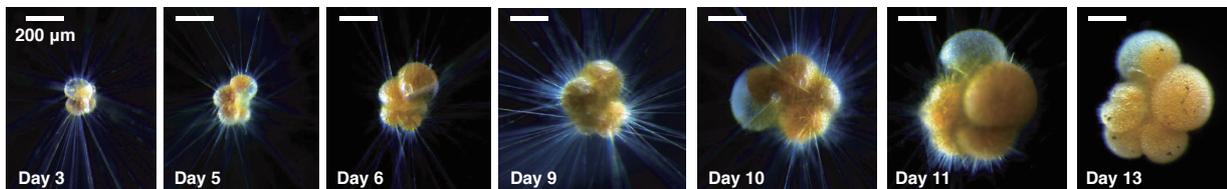


Fig. 9. Examples of the growth of the cultured planktonic foraminifera. (a) *Trilobatus sacculifer*. (b) *Globigerinella siphonifera*. The foraminiferal tests grew by progressively adding one new chamber at a time. After the formation of an ultimate (final) chamber, spines were shed, and the color of the cytoplasm turned white or pale orange, indicating that gametogenesis had started. Modified from Takagi *et al.* (2016a) with permission from Elsevier.

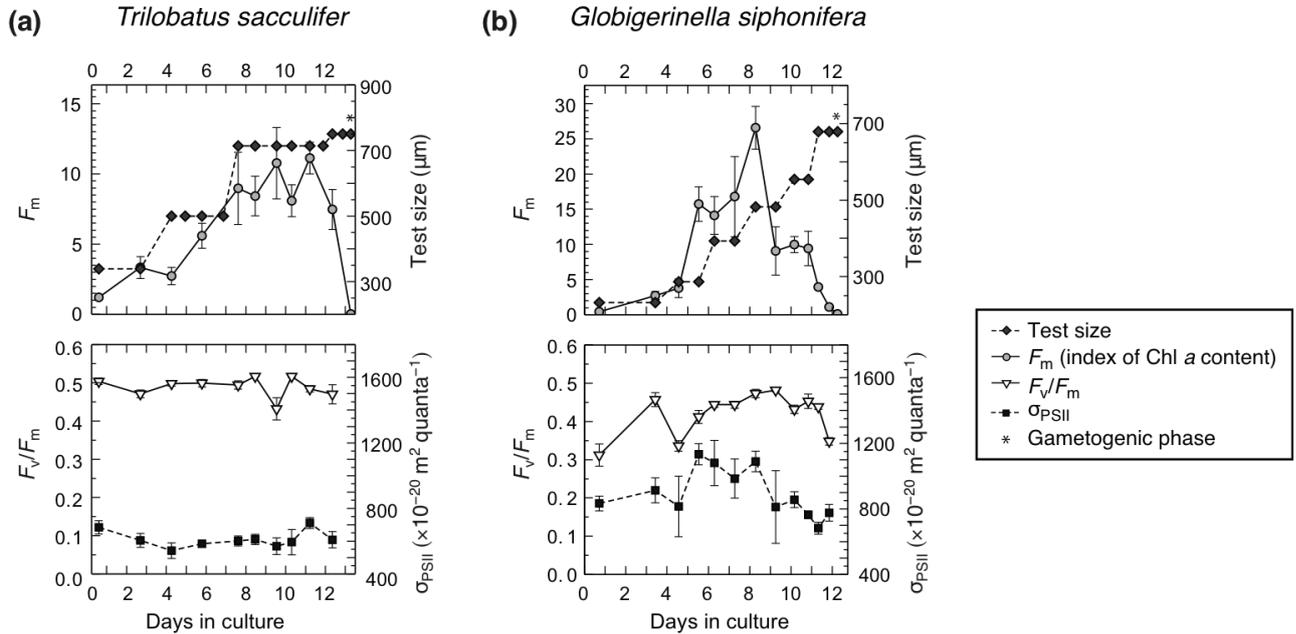


Fig. 10. Examples of the ontogenetic changes of test size, photosynthetic capacity (F_m), and photophysiology (F_v/F_m and σ_{PSII}) of foraminiferal-algal consortia. (a) *Trilobatus sacculifer*. (b) *Globigerinella siphonifera*. * indicates the initiation of gametogenesis (shortening and/or shedding of spines and color loss for the cytoplasm). The mean values of the results from each face of the analytical cuvette ($n = 4$) and the analytical error (1 standard deviation) are plotted against the time of day for each parameter. Modified from Takagi *et al.* (2016a) with permission from Elsevier.

になるという測定結果から、この消化現象を裏付けることができた。本現象は、共生藻側にとっての共生関係の利点を考える上で非常に興味深い。共生藻が宿主から出て行く機会なしに消化されてしまうのでは、世代をつなぐことができず、共生藻にとってのメリットがないように思われるからである。全ての種において同様の消化現象が見られるかは不明であるが(少なくとも無性生殖する際は、親の共生藻を引き継ぐことも確認されている, Takagi *et al.*, 2020), このような一見非対称な共生関係がどのように維持され、進化的にどのような意味をもつか、興味深い視点を投げかけてくれている。

5. 光共生の栄養生態

光共生という言葉自体は、藻類との共生関係を表すにすぎないが、一般的には共生藻が光合成産物を宿主へ渡し、宿主は代謝産物を共生藻へ渡すという、物質のやり

とりを基盤とする相利共生であると考えられている (Trench, 1979; Yellowlees *et al.*, 2008)。浮遊性有孔虫においても、共生藻が海水中の溶存無機炭素を取り込み光合成し、その産物を油滴などの形で宿主側へ受け渡していることが示されている (LeKieffre *et al.*, 2018)。また窒素については、宿主由来のアンモニアを共生藻が利用し、宿主-共生藻間でリサイクルされていることも示唆されている (Uhle *et al.*, 1997; 1999; LeKieffre *et al.*, 2020)。このように、光共生は宿主にとっては新規の栄養機能の獲得であり、第3章で触れたように、従属栄養生物である宿主が、光共生により混合栄養生物になることを意味する。混合栄養性は特に、餌に乏しい貧栄養海域での生存を有利にするため、種の適応度を高める (例えば Stoecker, 1998; Mitra *et al.*, 2014)。このことが、光共生が進化的にも重要な生態であると考えられている所以である。しかし、浮遊性有孔虫の光共生が、実際にどれほど宿主の栄養面に寄与しているかは、明らか

になっていなかった。そこで著者らは、栄養塩 ($\text{NO}_3 + \text{NO}_2, \text{PO}_4$) の添加の有無、餌の有無の2条件を組み合わせた、4つの実験区 (貧栄養給餌区: SWf, 貧栄養飢餓区: SW, 富栄養給餌区: NPf, 富栄養飢餓区: NP) を設定し、*T. sacculifer* を用いて飼育実験を行った。この研究を計画した当初は、海水中に添加した栄養塩が共生藻の光合成を高め、宿主へより豊富な栄養を供給することで、宿主の成長に違いが現れることを想定していた。しかし結果的には、給餌なしには宿主は成長できないこと (Fig. 11), 栄養塩の添加は、FRR法で測定する光合成パラメータに有意な変化をもたらさないことが明らかとなった (Takagi *et al.*, 2018)。栄養塩添加が光合成に影響を与えなかったことは、すでに宿主細胞内は共生藻にとって栄養豊富な環境が築かれていること、すなわち常に宿主から共生藻に対し無機栄養 (おそらく代謝産物と

してのアンモニア) が渡され、栄養塩制限になっていないためと考えられる。ただし、非給餌区においても栄養塩添加の影響が見られなかったことは、添加した窒素源が硝酸態であったことも関係しているかもしれない。また興味深いことに、2週間の実験終了時点で、給餌区の個体はほぼ遊走子放出を終え一生を全うしていたのに対し、非給餌区では、既存の房室を有孔虫自ら外し、殻のサイズを小さく (房室数を減少) させながらも多くの個体が生存していた (Fig. 11)。このことから、共生藻の光合成産物は、宿主の成長に対してはほとんどあるいは全く寄与していないが、宿主の代謝を維持することには大いに貢献していると考えられる。

光共生種が多く生息する亜熱帯の貧栄養海域では、餌が少なく環境であるため、餌を得られない一定期間の代謝を共生藻の光合成で賄うことができれば、生存に有利

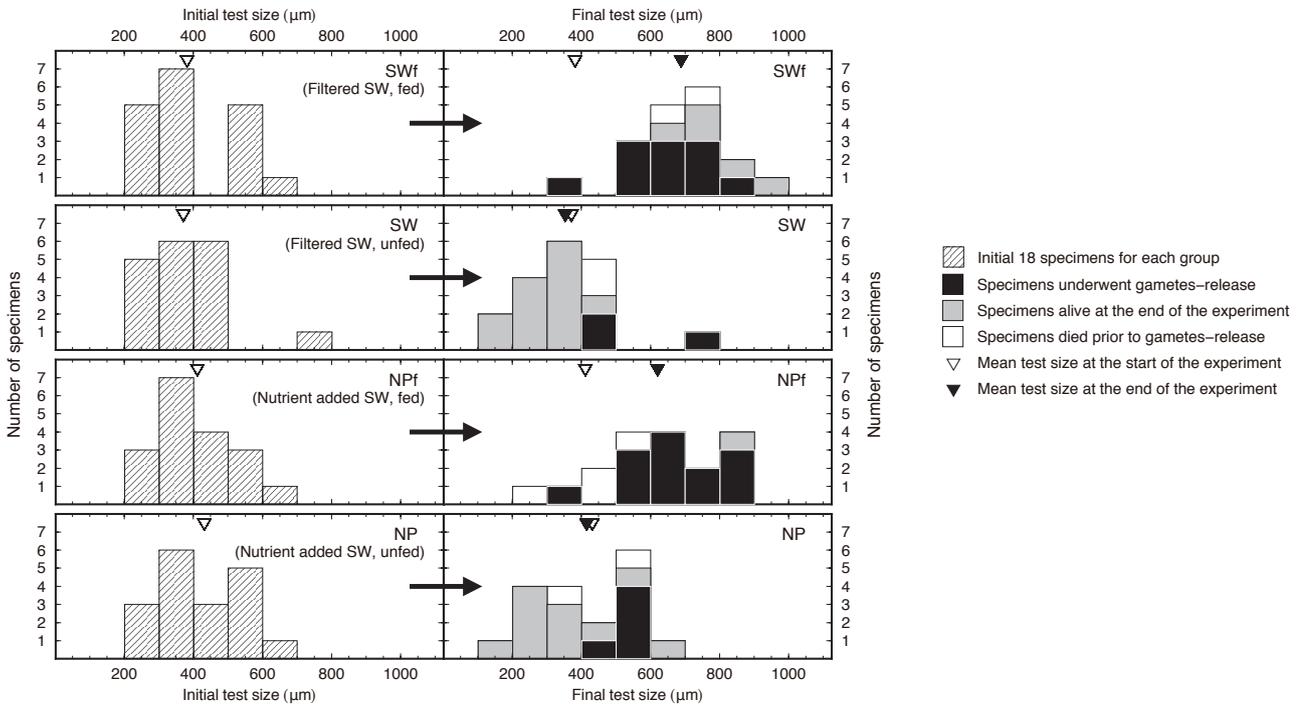


Fig. 11. Histograms of the initial (left) and final (right) test sizes in the four experiment groups. SWf, fed every other day and cultured in low-nutrient seawater; SW, unfed and cultured in low-nutrient seawater; NPf, fed every other day and cultured in high-nutrient seawater; NP, unfed and cultured in high-nutrient seawater. The shadings in the final condition indicate the reproductive state of the specimens at the end of the experiment. The open and filled triangles represent the mean initial and final test sizes, respectively. Modified from Takagi *et al.* (2018).

に働くであろう。光共生の栄養機能については未だ未解明な点が多く残されているものの、従来の定説である貧栄養環境での適応度を高めるということは、本研究からも示唆された。また、光共生する浮遊性有孔虫が全体として光合成生物として振る舞うこと (Jørgensen *et al.*, 1985) を鑑みると、いわゆる「海の砂漠」において光共生する有孔虫の存在が、オアシスのような、光合成のホットスポット (Rink *et al.*, 1998) を形成していると言われることも、あながち誇張ではない。生存戦略としての光共生は、浮遊性有孔虫の貧栄養海域への分布拡大と、そこでの物質循環を支えている立役者といえるであろう。

6. 光共生系における炭素動態

6.1. 光化学系の電子伝達速度と炭素固定速度の関連付け

第4章、5章で紹介してきた生体を用いた実験的研究は、生物としての光共生生態の基礎情報を得るという意図もあったが、浮遊性有孔虫の光共生をより長い時間スケールで理解したいという著者の大目標の中では、化石と生体情報をつなぐもの、殻、に記録されるシグナルを、現生種の実験によって検証したいという背景的な目的があった。すなわち、第3章1節で紹介した、殻の化学組成として得られる光共生のシグナルが、実際にどのように記録されるのかを確かめることである。具体的には、共生藻の光合成量と、有孔虫の殻の炭素安定同位体比の関係性を定量的に明らかにすることであり、有孔虫が殻形成 (房室形成) している現場の光合成量を FRR 法で定量し、最終的にその房室の $\delta^{13}\text{C}$ を測定することによって達成しようと考えた。しかし、FRR 法で測定できる光合成は光化学系 II における電子伝達速度の形で表されるため、これに基づいて光合成の最終段階である炭素固定の速度を議論して良いものか、検証を得られていなかった。そこで著者らは、FRR 法による電子伝達速度と、 ^{14}C トレーサー法による炭素固定速度を同一試料に対して算出することで、まず FRR 法から炭素動態を議論できるかを検証することにした。

試料は相模湾真鶴沖で採取し、*T. sacculifer*、*G. siphonifera* Type II を単離して実験に用いた。FRR 法が

非破壊的であることから、先に FRR 法で電子伝達速度を測定し、同じ日にその個体を H^{14}CO_3 を添加した海水中で1時間インキュベーションすることによって、炭素固定速度を求めた。その結果、電子伝達速度と炭素固定速度の間には有意な正相関が認められ (Fig. 12a)、FRR 法で測定する電子伝達速度は光合成による炭素動態の指標として利用できることが確認できた (Takagi *et al.*, 2022)。これにより、第4章、5章の飼育実験で得られた、飼育環境下で形成された房室の炭素安定同位体比を測定すれば、FRR 法による光合成速度と紐づけて理解することができ、「殻に記録される光合成の情報の定量化」が実現することになる。実際には他の多くの事象を考慮に入れる必要があり、さらなる検証が必要になるが、潜在的に殻に保存されうる生態情報を定量化できる可能性を示せたことは、現生生態と古生態をつなぐ意味で重要な意味をもつと考えている。

6.2. 光合成に利用される炭素源

上記研究で得られた結果の、予想外かつ興味深い点は、電子伝達速度と炭素固定速度の比である。Fig. 12a における回帰直線の勾配、すなわち炭素固定に必要な電子数 (e^-/C) は、*T. sacculifer* で 26.2、*G. siphonifera* で 96.5 と見積もられ、2種で大きく異なっていた。またこの値は、電子伝達の最大効率を考えた時の理論値 ($e^-/\text{C}=4$) に比べ非常に高い。実際、 e^-/C は、様々な要因で変化する値である。理論値こそあるものの、電子伝達の過程での電子の流れは非常に複雑で、過剰な電子を処理するための多様な代替経路の存在があり (光呼吸、クロロレスピレーション、サイクリック電子伝達など、Ben-noun, 1982; Prášil *et al.*, 1996; Badger *et al.*, 2000)、加えて測定に関わる技術的な要因もあるため、評価するのが難しい (Suggett *et al.*, 2009; 2011)。しかし、そうした影響を包含している過去の報告値が、微細藻類で最大でも 12 程度であること (Suggett *et al.*, 2009) を考慮すると、上記結果はやはり高すぎる値と言える。高い e^-/C には、電子伝達速度の過大評価、あるいは炭素固定速度の過小評価が考えられる。両者とも可能性があるが、著者らは主たる理由として、炭素固定速度の過小評価を考えた。これは、宿主の呼吸由来の炭素、すなわち ^{14}C で標識されていない炭素が光合成に利用されることがあれば、

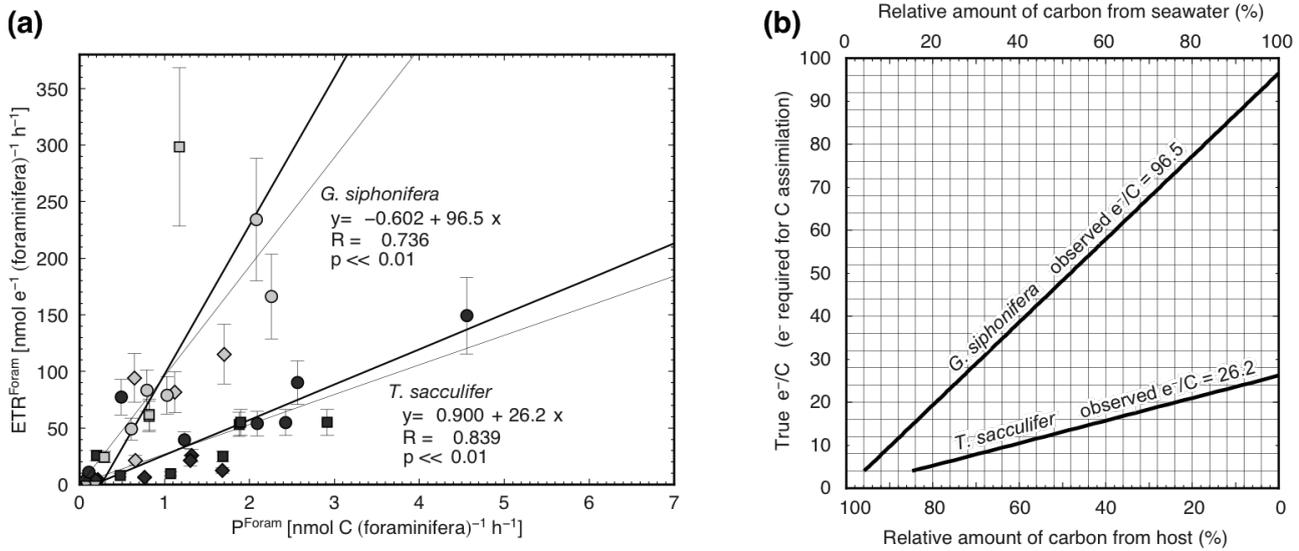


Fig. 12. (a) Comparison of the individual-based electron transport rates (ETR^{Foram}) and the carbon assimilation rates (P^{Foram}). The bold and thin lines were obtained from reduced major axis regression and least square regression, respectively. The error in ETR^{Foram} was obtained based on the Chl *a* error estimation with a 95% confidence interval. (b) Diagram for estimating the proportion of the inorganic carbon and host-derived carbon for photosynthesis based on the observed e^-/C in Takagi *et al.* (2022), and the actual e^-/C (vertical axis). Modified from Takagi *et al.* (2022).

本手法で測定される炭素固定は、全体の一部に過ぎないからである。共生藻が海水中の溶存無機炭素を利用できることは過去の研究でも示されているが (Spero and Parker, 1985; LeKieffre *et al.*, 2018), あくまで宿主の細胞内に存在しているので、宿主由来の無機炭素 (CO_2) をより効率よく利用していることも想定される (Caron *et al.*, 1995)。そこで次に著者らは、真の e^-/C (実際に流れた e^- と固定された C の比) を仮定し、簡単なマスバランス計算により、光合成に用いられる炭素源 (海水の溶存無機炭素・宿主の呼吸) の寄与率を推定した (Fig. 12b)。真の e^-/C を理論値の 4 と仮定すると、測定で得られた「見かけの e^-/C 」を説明するためには、*T. sacculifer* で 84%, *G. siphonifera* では 96% の炭素が宿主由来である必要がある (測定した炭素固定速度は各々、真値の 16%, 4% にすぎない)。経験的に得られた微細藻類の e^-/C の最大値 12 (Suggett *et al.*, 2009) を仮定しても、やはり宿主由来炭素の寄与は大きく、*T. sacculifer* で 54%, *G. siphonifera* では 88% と読み取ることができる (Fig. 12b)。いずれにせよ、光合成の炭素源には、宿主の呼吸の寄与

が相当程度あることを示す結果となった。また種間差を鑑みると、その利用効率は種によって異なることが想定される。この理由としては、宿主に対して共生藻がどのように配置されているか (殻の内か外か、殻の外であっても棘の先なのか根元なのか) によって、呼吸の寄与が異なること可能性が考えられる (Takagi *et al.*, 2022)。実際に、*T. sacculifer* は共生藻を均一に棘の間に配置し、比較的殻から離れた場所で光合成させているのに対し、*G. siphonifera* では、殻の周囲に共生藻が密集する様子が観察される。このような分布の違いは、共生藻がどの炭素源にアクセスできるかをある程度規定すると思われる。種間差の要因の特定にまでは至っていないが、本研究で異なる光合成測定法を組み合わせることにより、宿主-共生藻間の炭素動態に関して、間接的ではあるが興味深い証拠を得ることができた。今後、単離された共生藻培養株でも同様の実験を行えば、共生藻単体と光共生体との比較が可能となり、光共生システムにおける現象のより詳細な理解につながると考えられる。

また上記の発見は、古環境プロキシとして有孔虫を利

用する観点からは、光合成や呼吸による殻への影響が種によって異なる可能性に注意を要することを意味する。生体と殻の両者を研究対象とすることで、生命現象の理解と、殻に記録されるもの（化石から復元可能なもの）の理解を同時に進めていくことが、精度の良い古環境復元のためにも重要である。

7. まとめと今後の展望

本稿では、著者がこれまで取り組んできた浮遊性有孔虫の光共生に関する研究を、研究の経緯や背景にある意図も含めながら紹介してきた。有孔虫化石の安定同位体比の研究にはじまり、生き物としての光共生を踏まえて「光共生シグナル」を理解したいというモチベーションのもと行ってきた研究過程で、様々な興味深い知見を見出すことができた。浮遊性有孔虫という海洋学ではあまり着目されない分類群の、さらに細かな生態に関する研究ではあるが、第1章で述べたように、長時間スケールで地球の物質循環、気候変動に密接に関わる生物でもある。そのことを少しでも知って頂き、また生物としても興味深い研究対象だと感じて頂けたら幸いである。

現在の海洋において、混合栄養生物は、食物網構造や物質循環の観点からも重要な役割を果たしていることが、近年のモデル計算に基づく研究でも指摘されている (Mitra *et al.*, 2014; Ward and Follows, 2016)。著者が対象としている光共生するプランクトンは、純粋な混合栄養生物とは異なるが、それらと比較して細胞サイズがはるかに大きい (光共生する浮遊性有孔虫は殻の長径で1 mm 近くにも達することがある)。かつその1個体 (1共生系) には数千もの共生藻細胞が密集している状態にあり、単位体積あたりで比較すれば、周囲の海水の炭素固定量の 10^4 倍にも及ぶとされる (Caron *et al.*, 1995)。光共生プランクトンの密度がさほど高くはないことを考慮しても、この寄与は無視できない。こうした物質循環への光共生プランクトンの果たす役割も、最新の知見や新たな実験データを踏まえて、再評価される必要があると考えている。また、進行している地球温暖化に対して光共生系がどのように応答するかも重要な課題である。サンゴで知られているような白化現象は浮遊性有孔虫でも起こりうるのか、温暖化に伴い光共生への依存度はどのように変

化するかなど、実験的に検証可能な現象も多数ある。また実験、観測、モデルを組み合わせ、光共生プランクトンの位置付けを詳細に把握することが、海洋の低次生態系の安定性や脆弱性を評価することにもつながる。このような、海洋生態系の一員として、浮遊性有孔虫や放散虫などの光共生プランクトンを捉え、理解していくことが、今後ますます重要になってくると考えている。

謝辞

この度名誉ある日本海洋学会岡田賞に選出頂きましたことは、身に余る光栄であり、賞の推薦・選考に携わった皆様に深く御礼申し上げます。本賞に恥じぬよう、今後益々精進し、海洋学の発展に貢献できるよう研究に励んでまいります。

受賞対象となった浮遊性有孔虫の生態学的研究は、修士課程で取り組んだ殻の安定同位体比分析が端緒であり、早稲田大学の平野弘道先生、守屋和佳先生には、研究の方向性の決め方、研究に対する姿勢、人的ネットワークの重要性など、研究内容のみならず、研究者として歩む上で必要な様々なことを学ばせて頂きました。安定同位体比分析では、産業技術総合研究所の鈴木淳博士、石村豊穂博士 (現京都大学) に分析に関するご指導を頂き、データを正直に見つめること、原因を突き詰めることの大切さを学びました。浮遊性有孔虫の生体を扱う研究を始めたのは、博士課程で海洋研究開発機構で研究生となった2013年からであり、受け入れ先であった海洋生態系動態グループ木元克典博士には、浮遊性有孔虫のサンプリングや飼育のノウハウの全てを教えて頂き、藤木徹一博士には、FRR法の測定の理論から実際まで丁寧にご指導頂きました。また原田尚美博士をはじめ、同グループのメンバーの皆様には、航海やセミナー、日常的なディスカッションを通じて大変お世話になりました。学生の立場でありながら、第一線で活躍される研究者の皆様と共に時間を過ごせたことは、大きな財産となっています。学位取得後の5年間をすごした東京大学大気海洋研究所では、齊藤宏明先生に海洋学の面白みを存分に教えて頂きました。先生とのディスカッションはいつも楽しく、自分がおぼろげに理解していることを的確に表現し、理解のヒントを与えてくれるものでした。また浮

遊生物分野の津田敦先生をはじめ、同分野の皆様には日常にお世話になり、また本稿では紹介できなかった分子生物学的手法を用いた研究につながる様々なことを学ばせて頂きました。また私の研究は多くの研究航海に参加して実施してまいりました。海洋研究開発機構みらい、かいよう、白鳳丸、新青丸、淡青丸、ドイツ連邦教育科学研究技術省 Meteor 号の航海関係者の皆様には多大なご協力を頂きました。このほか紙面には書ききれませんが、研究の過程でお世話になった全ての方々にこの場を借りてお礼申し上げます。最後に、いつも私を支えてくれている家族に、心から感謝いたします。

References

- Anderson, O. R. (2012): Living together in the plankton: A survey of marine protist symbioses. *Acta Protozool.*, **52**, 1-10.
- Aze, T., T. H. G. Ezard, A. Purvis, H. K. Coxall, D. R. M. Stewart, B. S. Wade, and P. N. Pearson (2011): A phylogeny of Cenozoic macroforaminate planktic foraminifera from fossil data. *Biol. Rev.*, **86**, 900-927.
- Badger, M. R., S. von Caemmerer, S. Ruuska, and H. Nakano (2000): Electron flow to oxygen in higher plants and algae: rates and control of direct photoreduction (Mehler reaction) and rubisco oxygenase. *Philos. Trans. R. Soc. Lond., Ser. B*, **355**, 1433-1446.
- Bé, A. W. H., C. Hemleben, O. R. Anderson, M. Spindler, J. Hacunda, and S. Tuntivate-Choy (1977): Laboratory and field observations of living planktonic foraminifera. *Micropaleontology*, **23**, 155-179.
- Bé, A. W. H., O. R. Anderson, W. W. Faber Jr., and D. A. Caron (1983): Sequence of morphological and cytoplasmic changes during gametogenesis in the planktonic foraminifer *Globigerinoides sacculifer* (Brady). *Micropaleontology*, **29**, 310-325.
- Bennoun, P. (1982): Evidence for a respiratory chain in the chloroplast. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **79**, 4352-4356.
- Berger, W. H., J. S. Killingley, and E. Vincent (1978): Stable isotopes in deep-sea carbonates: box core ERDC-92, west Equatorial Pacific. *Oceanol. Acta*, **1**, 203-216.
- Biard, T., L. Stemann, M. Picheral, N. Mayot, P. Vandromme, H. Hauss, G. Gorsky, L. Guidi, R. Kiko, and F. Not (2016): In situ imaging reveals the biomass of giant protists in the global ocean. *Nature*, **532**, 504-507.
- Birch, H. S., H. K. Coxall, and P. N. Pearson (2012): Evolutionary ecology of Early Paleocene planktonic foraminifera: size, depth habitat and symbiosis. *Paleobiology*, **38**, 374-390.
- Bornemann, A., and R. D. Norris (2007): Size-related stable isotope changes in Late Cretaceous planktic foraminifera: Implications for paleoecology and photosymbiosis. *Mar. Micropaleontol.*, **65**, 32-42.
- Caron, D. A. (2000): Symbiosis and mixotrophy among pelagic microorganisms, p. 495-523 In *Microbial Ecology of the Oceans*, edited by D. L. Kirchman, Wiley-Liss, New York.
- Caron, D. A., A. F. Michaels, N. R. Swanberg, and F. A. Howse (1995): Primary productivity by symbiont-bearing planktonic sarcodines (Acantharia, Radiolaria, Foraminifera) in surface waters near Bermuda. *J. Plankt. Res.*, **17**, 103-129.
- Decelle, J., S. Colin, and R. A. Foster (2015): Photosymbiosis in marine planktonic protists, p. 465-500. In *Marine Protists*, edited by S. Ohtsuka, T. Suzuki, T. Horiguchi, N. Suzuki, F. Not, Springer, Tokyo.
- de Vargas, C., S. Audic, N. Henry, J. Decelle, F. Mahé, R. Logares, E. Lara, C. Berny, N. Le Bescot, I. Probert, M. Carmichael, J. Poulain, S. Romac, S. Colin, J. Aury, L. Bittner, S. Chaffron, M. Dunthorn, S. Engelen, O. Flegontova, L. Guidi, A. Horák, O. Jaillon, G. Lima-Mendez, J. Lukeš, S. Malviya, R. Morard, M. Mulo, E. Scalco, R. Siano, F. Vincent, A. Zingone, C. Dimier, M. Picheral, S. Searson, S. Kandels-Lewis, Tara Oceans Coordinators, S. G. Acinas, P. Bork, C. Bowler, G. Gorsky, N. Grimsley, P. Hingamp, D. Iudicone, F. Not, H. Ogata, S. Pesant, J. Raes, M. E. Sieracki, S. Speich, L. Stemann, S. Sunagawa, J. Weissenbach, P. Wincker, and E. Karsenti (2015): Eukaryotic plankton diversity in the sunlit ocean. *Science*, **348**, 1261605.
- Edgar, K. M., S. M. Bohaty, S. J. Gibbs, P. F. Sexton, R. D. Norris, and P. A. Wilson (2013): Symbiont "bleaching" in planktic foraminifera during the Middle Eocene Climatic Optimum. *Geology*, **41**, 15-18.
- Emiliani, C. (1954): Depth habitat of some species of pelagic foraminifera as indicated by oxygen isotope ratio. *Am. J. Sci.*, **252**, 149-158.
- Ezard, T. H. G., T. Aze, P. N. Pearson, and A. Purvis (2011): Interplay between changing climate and species' ecology drives macroevolutionary dynamics. *Science*, **332**, 349-351.
- Faber, W.W. Jr., O. R. Anderson, J. L. Lindsey, and D. A. Caron (1988) Algal-foraminiferal symbiosis in the planktonic foraminifer *Globigerinella aequilateralis*. I. Occurrence and stability of two mutually exclusive chrysophyte endosymbionts and their ultrastructure. *J. Foram. Res.*, **18**, 334-343.
- Fujiki, T., H. Takagi, K. Kimoto, A. Kurasawa, T. Yuasa, and Y. Mino (2014): Assessment of algal photosynthesis in planktic foraminifers by fast repetition rate fluorometry. *J. Plankt. Res.*, **36**, 1403-1407.
- Gastrich, M. D. (1987): Ultrastructure of a new intracellular symbiotic alga found within planktonic foraminifera. *J. Phycol.*, **23**, 623-632.
- Gastrich, M. D., and R. Bartha (1988): Primary productivity in the planktonic foraminifer *Globigerinoides ruber* (d'Orbigny). *J. Foram. Res.*, **18**, 137-142.
- Goff, L. J. (1983): *Algal Symbiosis: A Continuum of Interaction Strategies*, Cambridge University Press, UK, 226 pp.
- Hemleben, C., M. Spindler, and O. R. Anderson (1989): *Modern planktonic foraminifera*. Springer-Verlag, New York, 363 pp.
- Houston, R. M., and B. T. Huber (1998): Evidence of photosymbiosis in fossil taxa? Ontogenetic stable isotope trends in some Late Cretaceous planktic foraminifera. *Mar. Micropaleontol.*, **34**, 29-46.
- Houston, R. M., B. T. Huber, and H. J. Spero (1999): Size-related isotopic trends in some Maastrichtian planktic foraminifera: Methodological comparisons, intraspecific variability and evidence for photosymbiosis. *Mar. Micropaleontol.*, **36**, 169-188.
- Ishimura, T., U. Tsunogai, and T. Gamo (2004): Stable carbon and oxygen isotopic determination of sub-microgram quantities of CaCO₃ to analyze individual foraminiferal shells. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **18**, 2883-2888.
- Ishimura, T., U. Tsunogai, and F. Nakagawa (2008): Grain-scale heterogeneities in the stable carbon and oxygen isotopic compositions of the international standard calcite materials (NBS 19, NBS 18, IAEA-CO-1, and IAEA-CO-8). *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **22**, 1925-1932.

- Jonkers, L., H. Hillebrand, and M. Kucera (2019): Global change drives modern plankton communities away from the pre-industrial state. *Nature*, **570**, 372–375.
- Jørgensen, B. B., J. Erez, N. P. Revsbech, and Y. Cohen (1985): Symbiotic photosynthesis in a planktonic foraminiferan *Globigerinoides sacculifer* (Brady), studied with microelectrodes. *Limnol. Oceanogr.*, **30**, 1253–1267.
- Katz, M. E., B. S. Crame, A. Franzes, B. Hönisch, K. G. Miller, Y. Rosenthal, and J. D. Wright (2010): Traditional and emerging geochemical proxies in foraminifera. *J. Foram. Res.*, **40**, 165–192.
- Kawahata, H., K. Fujita, A. Iguchi, M. Inoue, S. Iwasaki, A. Kuroyanagi, A. Maeda, T. Manaka, K. Moriya, H. Takagi, T. Toyofuku, T. Yoshimura, and A. Suzuki (2019): Perspective on the response of marine calcifiers to global warming and ocean acidification: Behavior of corals and foraminifera in a high CO₂ world “hot house”. *Prog. Earth Planet. Sci.*, **6**, 1.
- Kelly, D. C. (2002): Response of Antarctic (ODP Site 690) planktonic foraminifera to the Paleocene–Eocene thermal maximum: Faunal evidence for ocean/climate change. *Paleoceanography*, **17**, 1071.
- Kelly, D. C., T. J. Bralower, J. C. Zachos, I. Premoli Silva, and E. Thomas (1996): Rapid diversification of planktonic foraminifera in the tropical Pacific (ODP Site 865) during the late Paleocene thermal maximum. *Geology*, **24**, 423–426.
- Kolber, Z. S., O. Prášil, and P. G. Falkowski (1998): Measurements of variable chlorophyll fluorescence using fast repetition rate techniques: defining methodology and experimental protocols. *Biochim. Biophys. Acta*, **1367**, 88–106.
- Kroon, D., and G. Ganssen (1989): Northern Indian Ocean upwelling cells and the stable isotope composition of living planktonic foraminifera. *Deep Sea Res.*, **36**, 1219–1236.
- Lee, J. J. (2006): Algal symbiosis in larger foraminifera. *Symbiosis*, **42**, 63–75.
- LeKieffre, C., H. J. Spero, J. S. Fehrenbacher, A. D. Russell, H. Ren, E. Geslin, and A. Meibom (2020): Ammonium is the preferred source of nitrogen for planktonic foraminifer and their dinoflagellate symbionts. *Proc. R. Soc. B*, **287**, 20200620.
- LeKieffre, C., H. J. Spero, A. D. Russell, J. S. Fehrenbacher, E. Geslin, and A. Meibom (2018): Assimilation, translocation, and utilization of carbon between photosynthetic symbiotic dinoflagellates and their planktic foraminifera host. *Mar. Biol.*, **165**, 104.
- Liu, Z., L. Y. Mesrop, S. K. Hu, and D. A. Caron (2019): Transcriptome of *Thalassicolla nucleata* holobiont reveals details of a radiolarian symbiotic relationship. *Front. Mar. Sci.*, **6**, 284.
- Mitra, A., K. J. Flynn, J. M. Burkholder, T. Berge, A. Calbet, J. A. Raven, E. Graneli, P. M. Glibert, P. J. Hansen, D. K. Stoecker, F. Thingstad, U. Tillmann, S. Vage, S. Wilken, and M. V. Zubkov (2014): The role of mixotrophic protists in the biological carbon pump. *Biogeosciences*, **11**, 9951005.
- Norris, R. D. (1996): Symbiosis as an evolutionary innovation in the radiation of Paleocene planktic foraminifera. *Paleobiology*, **22**, 461–480.
- Oppo, D. W., and R. G. Fairbanks (1989): Carbon isotope composition of tropical surface water during the past 22,000 years. *Paleoceanography*, **4**, 333–351.
- Petruzzo, M. R., B. S. Wade, and F. M. Gradstein (2020) Planktonic Foraminifera, p. 74–87, In *Geologic Time Scale 2020*, edited by F. M. Gradstein, J. G. Ogg, M. D. Schmitz, and G. M. Ogg, Elsevier.
- Prášil, O., Z. Kolber, J. A. Berry, and P. G. Falkowski (1996): Cyclic electron flow around photosystem II in vivo. *Photosyn. Res.*, **48**, 395–410.
- Ravelo, A., and C. Hillarie-Marcel (2007): The use of oxygen and carbon isotopes of foraminifera in paleoceanography. p. 735–764, In *Proxies in Late Cenozoic Paleoceanography, Developments in Marine Geology, Vol. 1*, edited by C. Hillarie-Marcel, and A. de Vernal, Elsevier, Amsterdam.
- Rink, S., K. Kühl, J. Bijma, and H. J. Spero (1998): Microsensor studies of photosynthesis and respiration in the symbiotic foraminifer *Orbulina universa*. *Mar. Biol.*, **131**, 583–595.
- Ruddiman, W. F., D. S. Tolderlund, and A. W. H. Bé (1970): Foraminiferal evidence of a modern warming of the North Atlantic Ocean. *Deep Sea Res. Oceanogr. Abstr.*, **17**, 141–155.
- Rutherford, S., S. D’hondt, and W. Prell (1999): Environmental controls on the geographic distribution of zooplankton diversity. *Nature*, **400**, 749–753. doi: 10.1038/23449
- Siccha, M., and M. Kucera (2017): ForCenS, a curated database of planktonic foraminifera census counts in marine surface sediment samples. *Sci. Data*, **4**, 170109.
- Schiebel R. (2002): Planktic foraminiferal sedimentation and the marine calcite budget. *Global Biogeochem. Cycles*, **16**, 1065.
- Shaw J. O., S. D’Haenens, E. Thomas, R. D. Norris, J. A. Lyman, A. Bornemann, and P. M. Hull (2021): Photosymbiosis in planktonic foraminifera across the Paleocene–Eocene thermal maximum. *Paleobiology*, **47**, 632–647.
- Spero, H. J., and D. W. Lea (1993): Intraspecific stable isotope variability in the planktic foraminifera *Globigerinoides sacculifer*: Results from laboratory experiments. *Mar. Micropaleontol.*, **22**, 221–234.
- Spero, H.J., and S. L. Parker (1985): Photosynthesis in the symbiotic planktonic foraminifer *Orbulina universa*, and its potential contribution to oceanic primary productivity. *J. Foram. Res.*, **15**, 273–281.
- Stanley, G. D. Jr., and J. H. Lipps (2011): Photosymbiosis: a driving force for reef success and failure. p. 33–60, In *Corals and reef crises, collapse and change, Paleontol. Soc. Spec. Pap. 17*, edited by G. D. Stanley, Jr., The Paleontological Society.
- Stoecker, D. K. (1998): Conceptual models of mixotrophy in planktonic protists and some ecological and evolutionary implications. *Eur. J. Protistol.*, **34**, 281–290.
- Stoecker, D. K., M. D. Johnson, C. de Vargas, and F. Not (2009): Acquired phototrophy in aquatic protists. *Aquat. Microb. Ecol.*, **57**, 279–310.
- Suggett, D. J., H. L. MacIntyre, T. M. Kana, and R. J. Geider (2009): Comparing electron transport with gas exchange: parameterising exchange rates between alternative photosynthetic currencies for eukaryotic phytoplankton. *Aquat. Microb. Ecol.*, **56**, 147–162.
- Suggett, D. J., C. M. Moore, and R. J. Geider (2011): Estimating aquatic productivity from active fluorescence measurements, p. 103–127, In *Chlorophyll a Fluorescence in Aquatic Sciences: Methods and Applications*, edited by D. J. Suggett, O. Prášil, and M. A. Borowitzka, Springer.
- Takagi, H., K. Kimoto, and T. Fujiki (2022): Photosynthetic carbon assimilation and electron transport rates in two symbiont-bearing planktonic foraminifera. *Front. Mar. Sci.*, **9**, 803354.
- Takagi, H., K. Kimoto, T. Fujiki, A. Kurasawa, K. Moriya, and H. Hirano (2016a): Ontogenetic dynamics of photosymbiosis in cultured planktic foraminifera revealed by fast repetition rate fluorometry. *Mar. Micropaleontol.*, **122**, 44–52.
- Takagi, H., K. Kimoto, T. Fujiki, and K. Moriya (2018): Effect of nutritional condition on photosymbiotic consortium of cultured *Globigerinoides*

- sacculifer* (Rhizaria, Foraminifera). *Symbiosis*, **76**, 25–39.
- Takagi, H., K. Kimoto, T. Fujiki, H. Saito, C. Schmidt, M. Kucera, and K. Moriya (2019): Characterizing photosymbiosis in modern planktonic foraminifera. *Biogeosciences*, **16**, 3377–3396.
- Takagi, H., A. Kurasawa, and K. Kimoto (2020): Observation of asexual reproduction with symbiont transmission in planktonic foraminifera. *J. Plankt. Res.*, **42**, 403–410.
- Takagi, H., K. Moriya, T. Ishimura, A. Suzuki, H. Kawahata, and H. Hirano (2015): Exploring photosymbiotic ecology of planktic foraminifera from chamber-by-chamber isotopic history of individual foraminifera. *Paleobiology*, **41**, 108–121.
- Takagi, H., K. Moriya, T. Ishimura, A. Suzuki, H. Kawahata, and H. Hirano (2016b): Individual migration pathways of modern planktic foraminifera: Chamber-by-chamber assessment of stable isotopes. *Paleontol. Res.*, **20**, 268–284.
- Tittensor, D. P., C. Mora, W. Jetz, H. K. Lotze, D. Ricard, E. V. Berghe, and B. Worm (2010): Global patterns and predictors of marine biodiversity across taxa. *Nature*, **466**, 1098–1101.
- Trench, R. K. (1979): The cell biology of plant–animal symbiosis. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, **30**, 485–531.
- Uhle, M. E., S. A. Macko, H. J. Spero, M. H. Engel, and D. W. Lea (1997): Sources of carbon and nitrogen in modern planktonic foraminifera: The role of algal symbionts as determined by bulk and compound specific stable isotope analyses. *Org. Geochem.*, **27**, 103–113.
- Uhle, M. E., S. A. Macko, H. J. Spero, D. W. Lea, W. F. Ruddiman, and M. H. Engel (1999): The fate of nitrogen in the *Orbulina universa* foraminifera–symbiont system determined by nitrogen isotope analyses of shell-bound organic matter. *Limnol. Oceanogr.*, **44**, 1968–1977.
- Wade, B. S., N. Al-Sabouni, C. Hemleben, and D. Kroon (2008): Symbiont bleaching in fossil planktic foraminifera. *Evol. Ecol.*, **22**, 253–265.
- Ward, B. A., and M. J. Follows (2016): Marine mixotrophy increases trophic transfer efficiency, mean organism size, and vertical carbon flux. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **113**, 2958–2963.
- Wolf-Gladrow, D. A., J. Bijma, and R. E. Zeebe (1999): Model simulation of the carbonate system in the microenvironment of symbiont bearing foraminifera. *Mar. Chem.*, **64**, 181–198.
- Yasuhara, M., D. P. Tittensor, H. Hillebrand, and B. Worm (2017): Combining marine macroecology and palaeoecology in understanding biodiversity: Microfossils as a model. *Biol. Rev.*, **92**, 199–215.
- Yellowlees, D., T. A. Rees, and W. Leggat (2008): Metabolic interactions between algal symbionts and invertebrate hosts. *Plant Cell Env.*, **31**, 679–694.
- Zeebe, R. E., J. Bijma, and D. A. Wolf-Gladrow (1999): A diffusion-reaction model of carbon isotope fractionation in foraminifera. *Mar. Chem.*, **64**, 199–228.

Ecological study of photosymbiotic planktonic foraminifera

Haruka Takagi[†]

Abstract

Planktonic foraminifera are unicellular marine zooplankton with calcite shells. Important characteristics of planktonic foraminifera include the preservability of calcite shells as microfossils in sediments and the recordability of environmental and ecological information as their shells were calcified. Some planktonic foraminifera species have been found to possess an endosymbiotic relationship with algae, known as “photosymbiosis.” Overall, photosymbiosis is an evolutionary and nutritionally important ecology, and it also plays an important role in understanding the Earth’s surface system in terms of material cycling and carbon cycling in particular. In this paper, I briefly review the current knowledge on planktonic foraminifera and photosymbiosis and outline the studies we have conducted so far with focus on the extraction of photosymbiotic signals and the biological phenomena concerning photosymbiosis. Finally, I discuss the prospects of further research on photosymbiotic marine protistan plankton.

Key words: planktonic foraminifera, photosymbiosis, stable carbon isotope, photosynthesis, FRR fluorometry

(Corresponding author’s e-mail address: htakagi@chiba-u.jp)

(Received 5 December 2022; accepted 18 January 2023)

(doi: 10.5928/kaiyou.32.2_17)

(Copyright by the Oceanographic Society of Japan, 2023)

[†] Department of Earth Sciences, Faculty of Science, Chiba University, 1-33 Yayoicho, Inage-Ward, Chiba City, Chiba 263-8522, JAPAN
e-mail: htakagi@chiba-u.jp