

# Growth characteristics of white tide forming coccolithophorids and elementary analysis of the coccolith under different temperatures

Mar. 2009, Department of Natural Environmental Studies, 076750 Yoko Watanabe

Supervisor; Professor, Hodaka Kawahata

Keywords: coccolithophorids, *Emiliana*, *Gephyrocapsa*, growth, elementary analysis

## Introduction

Coccolithophorids are marine unicellular haptophytes producing minutes calcareous scales (coccoliths). Because of the conversion of CO<sub>2</sub> to CaCO<sub>3</sub> and the sedimentation of coccoliths, coccolithophorids are one of the most important organisms participating to the global biogeochemical cycles. Among the coccolithophorids, *Gephyrocapsa oceanica* and *Emiliana huxleyi* distribute widely in both oceanic and coastal environments. They often form massive water bloom called white tide and are known to be the major producer of CaCO<sub>3</sub> in the present ocean. In this study, I focused on the effect of the temperature on the growth and elementary component of the coccolith for a variety of strains of *G. oceanica* and *E. huxleyi* collected from different environments. This approach would clarify the temperature response to various populations and the importance of the use of coccolith as an environmental indicator.

## Materials & Methods

We examined for 4 strains of *Emiliana huxleyi* (Hachijyo-jima island:1, Great Barrier Reef :1, Aomori Mutsu-bay:1, Bering sea:1) and 25 strains of *Gephyrocapsa oceanica* (Hakata-bay:10, Shimane:3, Nagasaki: 1, Aomori Mutsu-bay: 1, Miyake-jima island:1, Hachijyo-jima island:1, East china sea:4, Okayama1, Hokkaido:1) for this study, and cultured with mIMR medium for all strains. Their growth rate from the chlorophyll fluorescence under different temperatures (5, 10, 15, 20, 25, 30°C) was measured. Elementary analysis of coccoliths I also analysed the oxygen isotope ratio, carbon isotope ratio, Sr/Ca, U/Ca, Ba/Ca for 5 selected strains with ICP-MS and ICP-AES.

## Results & Discussion

### Growth characteristics of 29 strains of coccolithophorids by temperatures

In most strains, the optimal growth temperatures were obtained at 20 and 25°C, while the growth rates dropped with temperature decrease. No significant differences between the two species were observed. It should be noted that one *Emiliana* strain from Bering Sea kept a high growth rate at the lowest temperature (10°C) and one *Gephyrocapsa* strain from tropical sea showed the highest growth at 30°C. Locality differences provide more obvious physiological differences than the species differences, suggesting the existence of diverse ecotypes in those cosmopolitan species.

### Growth characteristics under nutrient-limit conditions

We compared growth characteristics of 3 selected strains of coccolithophorids with that of diatom, cultivated in 1/100 times of nitrate or phosphate concentration medium. As a result, their growth rate with standard medium was 3~4 times as high as nutrient less medium, and all of 4 strains including diatom showed higher growth in phosphate less medium than nitrate less medium. This may explain the differences of nutrient preferences and time-lags of their blooming of coccolithophorids and diatom.

### **Elementary analysis of coccoliths**

We also analysed the oxygen isotope ratio, carbon isotope ratio, Sr/Ca, Mg/Ca for 5 selected strains with ICP-MS and ICP-AES. This elementary analysis exhibited a high correlation of the cultivation temperatures with the oxygen isotope ratio ( $R^2=0.97$ ) suggesting a high reliability but less correlation of the temperatures with carbon isotope ratio, Sr/Ca and Mg/Ca. Although improvement of cleaning up of coccoliths was needed, coccoliths would be helpful for reconstructing paleoceanography at least oxygen isotope ratio.

### **Reference**

- Eker-Develi, E., Kideys, A.E. and Tugrul, S. (2006): Effect of nutrients on culture dynamics of marine phytoplankton. *Aquatic sciences*, 68: 28-39
- Townsend, D.W., Keller M.D. and Holligan P.M. (1994): Blooms of the coccolithophore *Emiliana huxleyi* (Prymnesiophyceae) and the potential use of its pigment ratios as quantitative physiological marker. *Journals of phycology*, 36: 529-539
- Fujiwara S., Kawachi, M., Minaka, N., Tsuzuki, M. and Inouye, I.: (2001) A molecular phylogeny of the Haptophyta based on the *rbcl* gene and the spacer region of RuBisCO operon. *J. Phycol.* 37: 121-129

# 異なる培養温度条件下での白潮形成円石藻の増殖特性と

## 円石の元素分析

2009年3月 自然環境学専攻 076750 渡辺陽子

指導教官 教授 川幡穂高

キーワード：円石藻、*Emiliana huxleyi*、*Gephylocapsa oceanica*、生育速度、元素分析

### はじめに

円石藻はハプト植物門に所属する単細胞性の植物プランクトンで、海洋環境に広く生息し、円石と呼ばれる炭酸カルシウムで出来た細胞外被構造により細胞が覆われる特徴をもつ。約300種ほどの円石藻が知られており、そのうち、*Emiliana huxleyi* と *Gephylocapsa oceanica* の2種は、海洋において大規模なブルームを形成する。円石自体の高い反射特性により、ブルーム時には衛星写真で白い水塊として確認できることから、円石藻によるブルームを白潮(white tide)と呼ぶこともある。円石藻は、円石の生成過程でCO<sub>2</sub>が発生する一方で、円石自体は海底堆積物として蓄積することから海洋環境の炭素循環に深く関わる生物と言える。また円石藻は硫黄化合物であるジメチルスルフォニオプロピオネート(DMSP)を生成することが知られている。DMSPは海水中に放出されると揮発性のジメチルスルフィド(DMS)に変化し、大気中でSO<sub>x</sub>などの硫黄化合物に変化する。雲の凝集核となって、酸性雨を引き起こすとともに、太陽光反射の原因物質になる可能性が指摘されている。地球の大気環境を含むイオウ循環に無視できない規模で寄与すると考えられている。このように円石藻は地球環境に大きな影響を与え得る植物プランクトンと言えるが、増殖特性に関する過去の研究は、*Emiliana huxleyi* について、ごく僅かの培養株で調査されたにすぎない。近年の地球温暖化や海洋環境の変動に伴い、円石藻はどのような影響を受け、ブルームの頻度や規模、分布パターンはどのように変化するのだろうか？こうした課題を明らかにする上でも、円石藻の培養特性に関する基礎的知見を集積することが必要とされている。そこで本研究では、海洋環境に広く生息し、ブルームを形成する *Emiliana huxleyi* と *Gephylocapsa oceanica* の2種について、日本及び世界各地から採取された29株の培養株を用いて、海水温度の変化に伴う増殖特性と円石の元素特性を明らかにすること、そして異なる栄養塩濃度条件下で、円石藻及び自然界で円石藻と競合する珪藻の増殖特性を調査・比較することを目的として研究を実施した。

### 実験方法および材料

本実験において *Emiliana huxleyi* を4株(八丈島1株、グレートバリアリーフ1株、青森・陸奥湾1株、ベーリング海1株)、*Gephylocapsa oceanica* を25株(博多湾10株、島根3株、長崎1株、青森・陸奥湾1株、三宅島1株、八丈島1株、東シナ海4株、岡山1株、北海道1株)の計29株を用いた。培養にはmIMR培地を用い、22°Cで継代培養している培養株から、培地を入れたマイクロプレートに接種し、温度勾配培養庫で培養実験を行った。温度は、10、15、20、25、30の6段階に設定した。培養試料は、1-4日おきに蛍光プレートリーダーを用いて、クロロフィル蛍光を測定した(励起波長450nm、検出波長485nm)。採取した円石中の酸素同位体比、炭素同位体比、Mg/Ca、Sr/Caは、ICP-MSおよびICP-AESを用いて測定した。

## Results & Discussion

### 円石藻 31 株の温度特性

10、15、20、25、30℃の異なる温度条件下で 2 種 29 株の円石藻を培養した結果、種による生育速度の差よりも株による生育速度の差の方が大きいことが分かった。多くの株は 20-30℃で最大の増殖速度を示し、それ以下の温度で増殖速度は低下した。しかしベーリング海由来の株では 15℃以下で増殖は最大となった。*Emiliana* と *Gephylocapsa* は、比較的温暖な水温を好んでいるためと考えられ、その中で年間を通して水温の低い環境下で生育を続けた株のみ低温耐性を身につけたと考えられる。

### 窒素、リン制限下での円石藻 3 株と珪藻 1 株の増殖特性

また円石藻 3 株と珪藻 1 株を用いて培地中の窒素とリンの濃度を元の濃度の 1/100 に減少させ、それぞれ通常培地とその生育速度の差を比較した。成分無調整培地と N 1/100 倍希釈、P 1/100 倍希釈の両培地の生育速度を調べた結果、圧倒的に成分無調整培地の生育速度が他培地よりも 3~4 倍高く、また N 1/100 倍希釈培地と P 1/100 倍希釈培地とで比べた場合、珪藻を含めた 3 株で P 1/100 倍希釈培地の方が生育速度が高かった。これら結果より大洋中で円石藻と関係の深い珪藻との相互作用および円石藻の低栄養塩適性を明らかにする手がかりとなるだろう。

### 円石の元素分析

円石藻のうち 5 株を用い Mg/Ca、Sr/Ca、Ba/Ca、U/Ca、酸素同位体比、炭素同位体比を測定した。その結果、酸素同位体比のみ 97% の高い信頼度を出し比較的きれいな直線となったが、それ以外の指標はすべてばらつきが大きくなってしまった。今後分析を行う上で円石に付着した有機物をどのように除去するかが課題であるが、本実験から少なくとも酸素同位体比については株の影響なく環境復元の指標として役立つだろう。

### 引用文献

- Eker-Develi, E., Kideys, A.E. and Tugrul, S. (2006): Effect of nutrients on culture dynamics of marine phytoplankton. *Aquatic sciences*, 68: 28-39
- Townsend, D.W., Keller M.D. and Holligan P.M. (1994): Blooms of the coccolithophore *Emiliana huxleyi* (Prymnesiophyceae) and the potential use of its pigment ratios as quantitative physiological marker. *Journals of phycology*, 36: 529-539
- Fujiwara S., Kawachi, M., Minaka, N., Tsuzuki, M. and Inouye, I.: (2001) A molecular phylogeny of the Haptophyta based on the rbcL gene and the spacer region of RuBisCO operon. *J. Phycol.* 37: 121-129