
Review

放射虫（ポリキスティナ）の生細胞観察と培養 実験から得られた知見と問題点

大金 薫

国立科学博物館 地学研究部
〒305-0005 茨城県つくば市天久保 4-1-1

Recent knowledge on radiolarians (Polycystina) based on live cell observation and culture experiments

Kaoru OGANE

*Department of Geology and Paleontology, National Museum of Nature and Science,
Tsukuba, Ibaraki 305-0005, Japan*

SUMMARY

Radiolarians are a major group of Rhizaria. Three orders of Radiolaria are characterized by a siliceous skeleton, and are called polycystines (Polycystina). The skeletons of polycystines are well preserved in sediments as fossils. These fossils are important for paleontological analysis; thus, many stratigraphic, paleoceanographic and taxonomic analyses of polycystine fossils have been conducted from the 19th century to the present day. However, there is a lack of data on living polycystine cells, and little is known about their biology and ecology because of the difficulties in collecting and culturing cells. Despite these difficulties, several reports have succeeded in examining living cells. These studies have clarified cell structure, pseudopodial activity, nutritional uptake, skeletal growth, and survival strategies. In this review, recent progress in experimentation on living polycystine is summarized, and unsolved problems are discussed. Polycystines inhabit an unusually long geological range from the Cambrian to the Present, and their evolutionary processes can be revealed by fossil analysis, which is an advantage in researching relationships among the paleoenvironment, paleoecology, and evolution. Further res-

earch into living polycystine cells would encourage new developments in both biological and paleontological researches.

Key words: Living polycystines, Radiolaria, Rhizaria

はじめに

放散虫 (Radiolaria) は、二酸化ケイ素や硫酸ストロンチウムからなる鉱物質の内骨格 (以下、骨格と呼ぶ) を持つアメーバ状生物で、海洋性のプランクトンである。近年の分子系統解析によると、放散虫はリザリア (Rhizaria) のうち、レタリア (Retaria) に属し (Krabberød et al., 2011)、コロダリア目 (Collodaria) (Fig. 1F)、スプメラリア目 (Spumellaria) (Fig. 1A–E)、ナセラリア目 (Nassellaria) (Fig. 1G and H)、アカンタリア目 (Acantharia)、タクソポディア目 (Taxopodia) の 5 目に区分される (Kunitomo et al., 2006; Suzuki and Aita, 2011)。かつてはフェオダリア目 (Phaeodaria) も放散虫に含まれていたが、分子系統解析の結果、リザリアの中のケルコゾア (Cercozoa) に属するとされるようになった (Howe et al., 2011)。

放散虫のうち、コロダリア目、スプメラリア目、ナセラリア目は殻長 50–200 μm ほどの二酸化ケイ素の骨格を持ち (Fig. 1A–H, sk)、まとめてポリキスティン (polycystine)、またはポリキスティナ (Polycystina) と呼ばれる。コロダリア目は、一枚のいびつな球状の骨格をもち、多くは共生藻類を伴った群体を作る (Fig. 1F)。スプメラリア目は対称的な内部構造を特徴とし (Fig. 1A–E)、単独生活する。ナセラリア目も同様に単独生活し、一方向に並ぶ節からなる骨格を持つ。

現在のところ、ポリキスティナは、分子系統解析では単系統 (Krabberød et al., 2011) なのか、多系統 (Kunitomo et al., 2006) なのか確定していないため、慣用名 (polycystine) を用いるか、分類群名 (Polycystina) を用いるか、研究者によって見解が異なっている。本論では、分類群名の立場をとり、ポリキスティナと呼ぶことにする。

アカンタリア目やタクソポディア目の骨格が死後すぐに溶解するのと対照的に、ポリキスティナの二酸化ケイ素の骨格は化石化する。このため、ポリキスティナは古生物学分野で重要視され、19 世紀以来、分類、進化系統、生層序解析、古海洋環境解析等に関する研究が盛んに行われている (De Wever et al., 2001)。なお、古生物学分野では、現生ポリキスティナ 3 目以外に、絶滅したアルバイレラリア目

(Albaillellaria)、アーケオスピキュラリア目 (Archaeospicularia)、ラテンティフィストラリア目 (Latentifistularia) の 3 目、及び、現在も遺存種が生息している可能性があるものの分子系統解析による確認がなされていないエンタクチナリア目 (Entactinaria) もポリキスティナに含めて扱う (De Wever et al., 2001)。本論では、便宜上ポリキスティナをコロダリア目、スプメラリア目、ナセラリア目とし、さらに、以後「放散虫」とは、特にこの 3 目を指すことにする。

古生物学分野で研究が活発に行われていることと対照的に、現生の放散虫についての生物学的な研究は少ない。しかも、この大半は固定サンプルを用いた分布調査や沈降量の解析であり (Takahashi, 1997; Itaki et al., 2003; Boltovskoy et al., 2010; 鈴木・相田, 2011)、生細胞を扱った研究は殊に少数である。このため放散虫の生活環、生殖様式、栄養摂取様式等には依然不明な点が多い。特に生殖様式に関しては、*Cypassis irregularis* Nigrini (スプメラリア目) の放出した微小な細胞が、同種の遊走配偶子であることが分子同定された報告 (Kimoto et al., 2011) に限られる。生物学的情報の不足は、化石データから古生態を解釈する際の大きな制約であり、古生物学の研究においても大きな障害となっている。

放散虫の生細胞の研究が少ない大きな理由として、放散虫の採集・培養が困難である事が挙げられる。放散虫は海洋性プランクトンであるが、沿岸域での採集では随時十分な量の試料を得ることが難しい。このため、一般に培養条件の検討も難しく、長期間飼育することはさらに難しいのが現状である。培養株を作製できないために、放散虫の遺伝子解析は、野外で採集した細胞を試料とする必要がある。分子系統学的解析を含め、培養困難な原生生物を遺伝子情報に基づいて研究するためには、シングルセル PCR が有効であるが (Kunitomo et al., 2006; Yuasa et al., 2009; Ishitani et al., 2012)、これを放散虫に適用する際にも、核が直径 4–10 μm と小さく (Suzuki et al., 2009b)、含まれる DNA 量が少ないことや、特異的プライマーも標準化されていないことなどの困難が伴う。

本論では、これらの困難に対処しつつ放散虫の培養を行った研究から得られた、形態・生態・採餌と

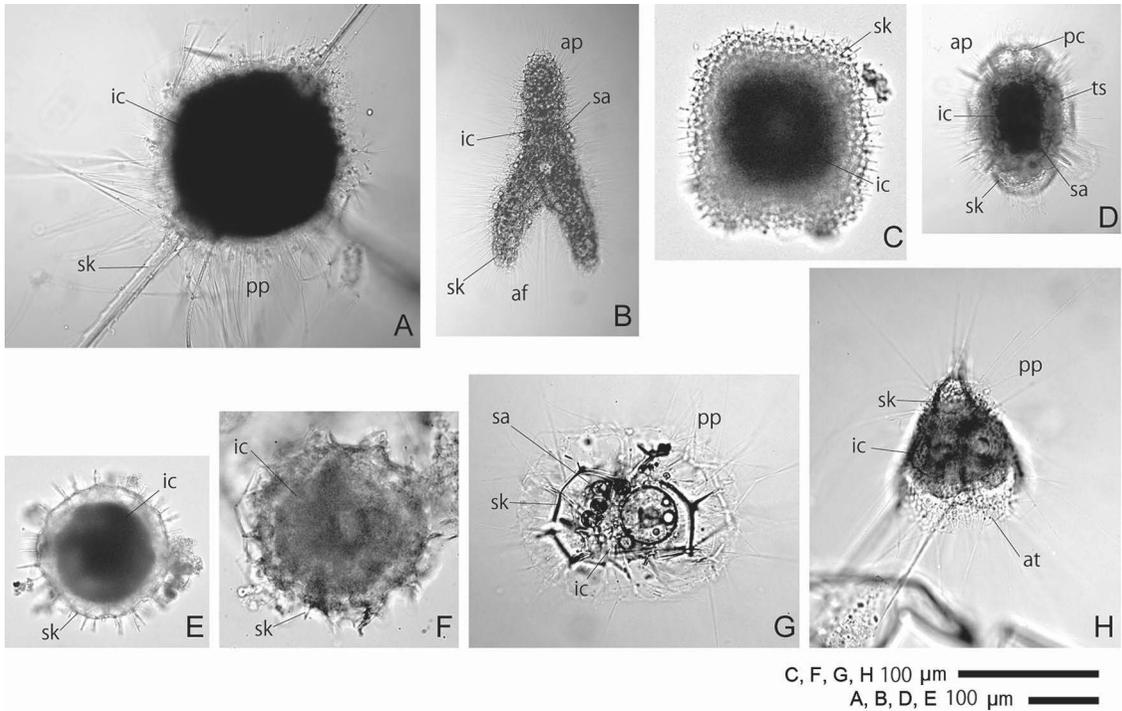


Fig. 1. The cell of polycystine. (A) *Spongosphaera streptacantha* Haeckel (spherical Spumellaria). Living cell. (B) *Euchitonina elegans* (Ehrenberg) (flat-shaped Spumellaria). Living cell. (C) *Spongaster tetras tetras* Ehrenberg (flat-shaped Spumellaria). Fixed with formalin. (D) *Didymocystis tetrathalamus* (Haeckel) (twin-shelled Spumellaria which are originated from a flat-shaped Spumellaria). Living cell. (E) *Rhizosphaera trigonacantha* Haeckel (spherical Spumellaria). Fixed with formalin. (F) *Acrosphaera spinosa* (Haeckel) (an isolated cell of Collodaria). Fixed with formalin. (G) *Acanthodesmia* sp. (Nassellaria, Spyrinda). Living cell. (H) *Pterocorys zanclus* (Müller) (Nassellaria, Cyrtida). Living cell. af: axoflagellum, ap: axopodia, at: aperture, ic: intracapsulum, pc: polar cap, pp: pseudopodia, sa: symbiotic algae, sb: symbiotic bacteria, sk: skeleton, ts: twin shell.

栄養条件・成長等に関する近年の成果をまとめ、今後の課題を考察する。さらに採集・単離・培養の手法についても概説する。

生細胞の観察

放散虫の生細胞は、光学顕微鏡を用いて 200–400 倍に拡大して観察されることが多い。19 世紀以来、この手法で放散虫生細胞の構造や活動が観察され、カラースケッチや (Haeckel, 1862; Brandt, 1885), モノクロ写真が公表されてきた (Anderson, 1976, 1977, 1983)。Anderson (1983) は、放散虫研究を総括した書籍の中で、1983年までの観察報告をまとめた。この総括では、当時は群体性のコロダリア目の観察が多くを占めていたため、スプメラリア目やナセラリア目に関する記述はわずかであった。しかし、これ以後は、スプメラリア目やナセラリア目の研究が進展し、Table 1 に挙げた種の生細胞の観察が行われ、

カラー写真の公表 (松岡, 1993a, b), 連続写真を用いた仮足運動の観察 (Suzuki and Sugiyama, 2001), 捕食活動の観察 (Matsuoka, 2007) などが報告された。

以下、特にコロダリア目に関する総括 (Anderson, 1983) 以降の、スプメラリア目とナセラリア目に関する研究成果についてまとめてみたい。

スプメラリア目・ナセラリア目共通の細胞構造と活動

放散虫の細胞構造には、スプメラリア目とナセラリア目に共通して観察される構造と、目以下の分類群によって異なる構造があることが知られる (Suzuki and Aita, 2011; 鈴木・相田, 2011)。2 目に共通した構造には、内囊膜 (capsular wall) で仕切られた二重構造をとる細胞質がある。このうち、内側を内囊 (intracapsulum), 外側を外囊 (extracapsulum) と呼ぶ (Suzuki and Aita, 2011; 鈴木・相田, 2011)。細胞切片の観察によると、内囊には核、ゴ

ルジ体, ミトコンドリアなどの細胞小器官があるが (Suzuki and Aita, 2011), 生細胞では濃く着色した内囊の色に紛れてしまうために観察は困難である. また, 内囊からは, 外囊を貫通し, 外に向かって細い糸状の仮足が伸びている (松岡, 1993b; Suzuki and Aita, 2011; 鈴木・相田, 2011). 仮足は, 放散虫が動かすことのできる唯一の細胞小器官である (Anderson, 1983; 松岡, 1993a). 外囊には, 食胞などの細胞小器官や, 共生藻類, 共生細菌が存在する (Suzuki and Aita, 2011).

スプメラリア目固有の細胞構造と活動

スプメラリア目は, 円盤状, 矢羽型, 球状などの多彩な形状の骨格を持つ. いずれの形状の骨格も, 中心の小球状骨格に, 放射状に骨格のフレームワークや, それに類似した骨格が付加される構造をとる. このうち, 盤状, 鼓型, 球状の骨格を持つ種において生細胞の観察例がある. 盤状と鼓型の種では概ね共通した細胞構造をとり, 球状骨格を持つ放散虫ではその構造がやや異なる.

盤状放散虫と鼓型の種 (スプメラリア目)

スプメラリア目のうち, 扁平な骨格を持つ種をまとめて盤状放散虫とよぶ. ただし, 分子系統解析や

化石記録の解析から, 骨格の外形は大系統を反映しないとされており (Sanfilippo et al., 1985; De Wever et al., 2001; Kunitomo et al., 2006), この呼称は特定の分類群を指すわけではない. 盤状放散虫の中で生細胞の観察例があるのは, *Dictyocoryne truncatum* Ehrenberg, *Dictyocoryne profunda* Ehrenberg, *Hymeniastrum euclidis* Haeckel, *Euchitonina elegans* (Ehrenberg), *Spongaster tetras tetras* Ehrenberg, *Spongodiscus biconcavus* Haeckel の 6 種だけである (Figs. 1B, C and 2A).

スプメラリア目には鼓型の骨格をもつ種 (以後「鼓型の種」とよぶ) が含まれるが, 現生種では *Didymocyrtis tetrathalamus tetrathalamus* (Haeckel) の 1 種のみが知られている. 本種は鼓型の双形殻 (twin shell) をもち, その両端にポーラーキャップ (polar cap) を備えることを特徴とする (Figs. 1D and 2B, ts, pc). 本種の祖先種は盤状骨格を持っていたと考えられており (Sanfilippo et al., 1985), 分子系統解析でも, 本種は盤状放散虫と近縁であることが示唆された (Kunitomo et al., 2006).

内囊: 上記の種の多くは, 細胞の中心付近に有色部位が観察される. *Did. tetrathalamus tetrathalamus* では赤色 (松岡, 1993a), *Dic. truncatum* では黄色 (松岡, 1993a, b), *Dic. profunda* では赤色 (松岡, 1993a, b), *H. euclidis* では褐色 (松岡, 1993a), *Euch. elegans* では無色に近い褐色 (松岡, 1993a, b) を呈する. 細胞構造との対応から, この有色部位は内囊 (Fig. 2A and B, ic) である可能性が高い. ただし, 発色している物質や存在場所, 役割等は不明である. *Spo. tetras tetras* では, 同じ部位が緑色であるという報告と (Sugiyama and Anderson, 1998), 中心部に緑色の部位と赤色の部位が混在する細胞のカラー写真が知られており (Matsuoka, 2007), これらは内囊の色または共生藻類の色と考えられる.

仮足: 上記の種は, いずれもアクソポディア (axopodia) とアクソフラジェルム (axoflagellum) の 2 種類の仮足を持つ (Figs. 1B, D, 2A and B, ax, af). アクソポディアは細胞質から放射状に伸びている多数の細い繊維状の仮足である (Matsuoka, 1992; 松岡, 1993a, b, 1994; Sugiyama and Anderson, 1997a). 通常アクソポディアは伸長しているが, 他の物体が触れると素早く収縮する. 収縮した後は, 非常にゆっくりと伸長し元の状態に戻る (松岡, 1993a, 1994). この動きを使って微小生物を捕える様子が観察されており, 餌生物の捕獲がアクソポディアの機能の一つと言われている (Sugiyama and Anderson, 1997a; Matsuoka, 2007). アクソフラジェルムはアクソポディアよりも太く, 骨格の特定の部位から 1 本だけ伸びた仮足である (Fig. 2A and B, af, py) (Matsuoka, 1992; 松岡, 1993a, b, 1994; Sugiyama

Table 1. The spumellarian and nassellarian species with record of live image under light microscopy

Order	Species name
Spumellaria	<i>Dictyocoryne profunda</i> Ehrenberg
	<i>Dictyocoryne truncatum</i> (Ehrenberg)
	<i>Didymocyrtis tetrathalamus</i> (Haeckel)
	<i>Diplosphaera hexagonalis</i> Haeckel
	<i>Euchitonina elegans</i> (Ehrenberg)
	<i>Haliomilla capillaceum</i> (Haeckel)
	<i>Hymeniastrum euclidis</i> Haeckel
	<i>Rhizosphaera trigonacantha</i> Haeckel
	<i>Spongaster tetras</i> Ehrenberg
	<i>Spongodiscus biconcavus</i> Haeckel
Nassellaria	<i>Acanthodesmia vinculata</i> (Müller)
	<i>Carpocanistrum coronatum</i> (Ehrenberg)
	<i>Dictyocodon prometheus</i> Haeckel
	<i>Eucyrtidium hexagonatum</i> Haeckel
	<i>Eucyrtidium hexastichum</i> (Haeckel)
	<i>Lophophaena hispida</i> (Ehrenberg)
	<i>Pterocanium praetextum</i> (Ehrenberg)
	<i>Pterocanium zancleus</i> (Müller)
	<i>Spirocyrtis scalaris</i> Haeckel
	<i>Zygocircus productus</i> (Hertwig)

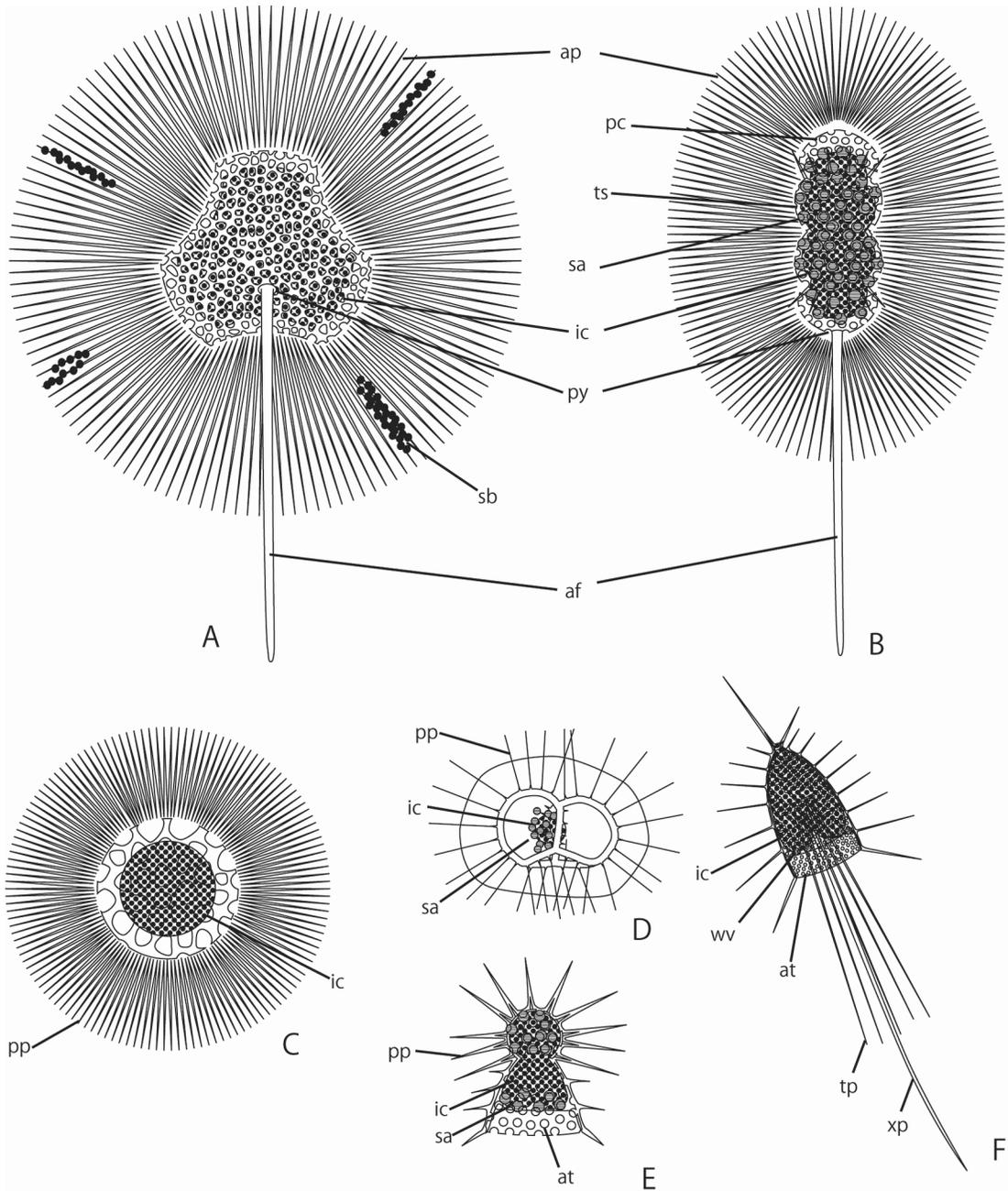


Fig. 2. The schematic drawing of polycystine cells. (A) Spongodiscid species (Spumellaria). (B) *Didymocyrtis tetrathalamus* (Spumellaria, Coccodiscidae). (C) Spherical spumellarian species. (D) Acanthodesmid species (Nassellaria, Spyrida), (E) Cyrtid species with a single segment (Nassellaria), (F) Cyrtid species with several segments. af: axoflagellum, ap: axopodia, at: aperture, ic: intracapsulum, pc: polar cap, pp: pseudopodia, py: pylome, sa: symbiotic algae, sb: symbiotic bacteria, tp: terminal projection, ts: twin shell, wv: waste vacuole, xp: axial projection.

and Anderson, 1997a, 1998). 運動性に乏しく (松岡, 1993a, 1994), その機能は不明である. 現在までにスプメラリア目では, 盤状放散虫と, これと近縁な

Did. tetrathalamus tetrathalamus にアクソフラジェルムが認められている.

共生生物: 上記の種のうち, *Spd. biconcavus* 以外

は共生バクテリアや共生藻類 (Fig. 2A and B, sa, sb) を持つ (Matsuoka, 1992; 松岡, 1993a, b; Sugiyama and Anderson, 1998) . 共生バクテリアは, 4 μm 程度の赤色または赤褐色の球状で, *Dic. truncatum*, *Dic. profunda*, *H. euclidis*, *Euch. elegans* の骨格の表面や仮足に濃集することが多い (Fig. 2A, sb) (Matsuoka, 1992; 松岡, 1993a, b) . 共生藻類は, *Euch. elegans*, *Spa. tetras*, *Did. tetrathalamus tetrathalamus* の外囊に見られ, 直径 20–30 μm の球状で, 黄みがかかった色を呈する (松岡, 1993a, b; Sugiyama and Anderson, 1998) .

球状放散虫 (スプメラリア目)

スプメラリア目のうち, 球状の骨格を持つ種を球状放散虫とよぶ.

内囊: *Rhizosphaera trigonacantha* Haeckel と *Diplosphaera hexagonalis* Haeckel は, 暗い灰赤色の球状の内囊を持つ (Figs. 1E and 2C, ic) (Suzuki and Sugiyama, 2001; Suzuki, 2005) . *Haliomma capillaceum* Haeckel の内囊は, やや透明な明~暗灰色を呈する (Suzuki et al., 2009a) . いずれも濃色である点が共通しているが, 観察例が少ないため, これが球状放散虫全てに共通する特徴であるかどうかは不明である.

仮足: いずれの種においても, 細胞全体から放射状に仮足が伸びる (Figs. 1E and 2C, pp) (Suzuki and Sugiyama, 2001; Suzuki, 2005; Suzuki et al., 2009a) . *Dip. hexagonalis* では全ての仮足が (Suzuki and Sugiyama, 2001) , *R. trigonacantha* では一部の仮足が (Suzuki, 2005) 周期的に伸長・収縮する. 細部は異なるが, いずれの仮足もゆっくり伸長してしばらく静止したのち, 急激に収縮する点が共通する. 仮足の周期的な運動は, 現状ではこの 2 種に確認されたのみで, 球状放散虫に普遍的であるのか, この 2 種に特有であるのかは不明である. 仮足の機能も同様に不明であるが, Suzuki and Sugiyama (2001) は, *Dip. hexagonalis* が仮足の伸長収縮によって浮力を調整し原形質流動を促している可能性がある」と指摘している.

共生生物: Suzuki et al. (2009a) は, *Hal. capillaceum* の細胞から, 遊泳細胞が泳ぎ去っていく現象を報告している. この遊泳細胞は, 泳ぎ出す前は 8 つの細胞が数珠つなぎになっており, 鞘状の構造に包まれていた. これらは鞘の中で等分裂を繰り返して 1024 細胞となり, 最終的には放散虫本体に付着した 2 つの葡萄の房のようになった. 分裂を終えると鞘が破れ, 外に泳ぎ去った. この遊泳細胞は未同定であるが, 細胞分裂様式や遊泳過程がアルベオラータに属する寄生生物の *Duboscquella* 属に似ていることと, 本種の細胞内部に *Duboscquella* 属の細胞が確認された例があることから, 放散虫に片利共生していた寄

生生物と考えられている (Suzuki et al., 2009a) . この研究は, 現在のところ放散虫生細胞で片利共生している生物が観察された唯一の例である.

ナセラリア目固有の細胞構造と活動

ナセラリア目の放散虫の骨格は, 円錐形, 紡錘形, 球形などの様々な形状を示す. 回転体に見える種が多いが, 一つの面に対称に骨格が形成されており, 細胞構造も概ね左右対称である.

キルティッダ亜目 (Cyrtida)

キルティッダ亜目の骨格は, 殻節 (segment) と呼ばれる構造が一行に並ぶ構造を基本とする (Figs. 1H, 2E and F) . 骨格の一端の殻節は小さく, 全体として円錐形に似た形態をとることが多い (Figs. 1H, 2E and F) . 逆側の端は大きく開口することが多く, アパーチャー (aperture) と呼ばれる (Figs. 1H, 2E and F, at) . キルティッダ亜目では, *Spirocyrtis scalaris* Haeckel, *Eucyrtidium hexagonatum* Haeckel, *Eucyrtidium hexastichum* (Haeckel), *Pterocorys zancleus* Müller, *Pterocanium praetextum* (Ehrenberg), *Lophophaena hispida* (Ehrenberg), *Carpocanistrum coronatum* (Ehrenberg), *Dictyocodon prometheus* Haeckel の生細胞観察の報告がある (松岡, 1993a, b; Sugiyama and Anderson, 1997b; Matsuoka, 2007; Sugiyama et al., 2008) .

内囊: いずれの種も, 円錐形の骨格の内側に内囊を持つ (Figs. 1H, 2E and F, ic) . 内囊は 3–4 の袋が最も小さな殻節からぶら下がった形状で, 無色から淡黄色, または赤色を呈する (松岡, 1993a; Sugiyama and Anderson, 1997b) . 色彩の発色部位や色素は, スプメラリア目と同様に不明である. 色彩は, 総じてスプメラリア目よりも薄い, これはキルティッダ亜目の内囊の総量が少ないことに起因する可能性がある.

仮足: キルティッダ亜目に属する種の多くは, 複数の種類の仮足を持つ. 種により多少異なるが, 基本的には骨格全体から伸びる繊維状の仮足 (Fig. 2E and F, pp) , アパーチャーから下向きに伸びるアクシアルプロジェクション (axial projection) , アクシアルプロジェクションを円錐状に囲むターミナルプロジェクション (terminal projections) の 3 種の仮足を持つことが多い (Fig. 2F, xp, tp) (松岡, 1993a, b; Sugiyama and Anderson, 1997b; Sugiyama et al., 2008) . このうち, アクシアルプロジェクションとターミナルプロジェクションを用いた, 摂餌行動と考えられる活動が観察されている (Sugiyama and Anderson, 1997b; Matsuoka, 2007; Sugiyama et al., 2008) . 摂餌時には, まずアクシアルプロジェクションとターミナルプロジェクションが伸びる. ターミナルプロジェクションはアクシアルプロジェクションの周囲

に円錐形に並び、糸状組織で繋がれて網状となる。餌が仮足に触れると、アクシアルプロジェクションが急激に縮むと同時にターミナルプロジェクションが熊手や網のような形に曲がり、餌を囲い込む。最後に、ターミナルプロジェクションがアパーチャーの中に餌を引き入れる (Sugiyama et al., 2008)。

共生生物：キルティッダ亜目の放散虫のうち、*Pcor. zancleus*, *Pcan. praetextum*, *L. hispida*, *C. coronatum* には、褐色球状の共生藻類が存在する (Fig. 2E, sa) (松岡, 1993a, b; Sugiyama and Anderson, 1997b)。*Spr. scalaris* や、*Eucy. hexagonatum* の内囊の下側にも、共生藻類に似た赤褐色、赤色、黄赤色で球状の構造体が観察されるが、透過型電子顕微鏡を用いた観察から、老廃物を貯める液胞 (waste vacuole) や、エネルギーを貯蔵するための小胞 (reserve droplet) であることが確認されている (Fig. 2F, wv) (Sugiyama and Anderson, 1997b)。このグループを観察するときには、共生生物と細胞小器官との識別が重要である。

スピリッダ亜目 (*Spyrida*)

スピリッダ亜目は、環状、あるいは環状の構造が組み合わさった形状の骨格を持つ。キルティッダ亜目のような殻節を持たない。生細胞の観察例はごくわずかで、沖縄近海で採集された *Acanthodesmia vinculata* (Müller) と *Zygocircus productus* (Hertwig) の観察例があるのみである (松岡, 1993b)。

内囊：いずれの種も、骨格の内側に約 30 μm の球状の内囊がある。色彩は、他のナセラリア目と比較して、ごく淡い (Fig. 2D, ic) (松岡, 1993b)。

仮足：いずれの種も、繊維状の仮足を持つ (Fig. 2D, pp) (松岡, 1993b)。仮足は、外に向かって放射状に伸びている。キルティッダ亜目と異なり、仮足は一種類のみである。

共生藻類：いずれの種も、外囊内部に共生藻類を有する (Fig. 2D, sa) (松岡, 1993b)。共生藻類は黄色球状で、その色彩や形状が他のグループの放散虫の共生藻類に類似している。共生藻類は、内囊を取り囲むように配置している。

生細胞観察の課題

スプメラリア目とナセラリア目の生細胞の観察例は増えつつあるものの、現在でも観察された種数は少数にとどまっており、色彩や仮足運動の一般性、片利共生する生物の有無など、重要な研究課題が残されている。また、これまでに生細胞が詳細に観察されたスプメラリア目とナセラリア目の放散虫は、いずれも熱帯～亜熱帯の表層に出現する種に限られ、高緯度や海洋深層に分布する種の生細胞の観察

例はない。こうした海域に生息する放散虫の生細胞の観察が課題である。

また、特に高緯度や深層の盤状放散虫 (スプメラリア目) の細胞形態は興味深い。近年, Ishitani et al. (2012) の分子系統解析により、熱帯域の表層に分布する盤状放散虫および *Did. tetrathalamus tetrathalamus* と深層および高緯度から得られる盤状放散虫が、独立したクレードを形成することが報告された。細胞構造にも、同様の共通性が見いだされるかどうか期待される。

栄養摂取

放散虫の生細胞において、制御された環境条件下での実験例は多いとは言い難い。しかし、栄養摂取様式に関しては、比較的多くの実験例がある (Anderson, 1983)。

放散虫が捕食している生物

過去の培養実験から、放散虫はシアノバクテリア (Anderson et al., 1989b)、渦鞭毛藻、ハプト藻、珪藻 (Anderson et al., 1984; Swanberg and Anderson, 1985) 等の生物を捕食していることが分かっている。Anderson et al. (1984) は、 ^{14}C で標識された 4 種類の藻類を *Spongodymus* sp. (スプメラリア目) に与える実験を行い、*Amphidinium carterae* Hulburt (渦鞭毛藻類、原典では *Amphidinium carteri* と書かれている) や *Emiliania huxleyi* (Lohmann) Hay et Mohler (ハプト藻) のような、運動性の高い藻類をより好むことを明らかにした。さらに本種が吸収したタンパク質の分析から、動物プランクトンがより選択的に摂食されることが示唆された。また、Anderson and Botfield (1983) は、コロダリア目の *Thalassicola nucleata* Huxley にアルテミアのノープリウス幼生を与えることで、2週間～1ヶ月程度、生細胞が維持できることを示した。

共生藻類

放散虫には、共生藻類を持つ種が多く知られている。Ogane et al. (2010) が亜熱帯の表層の放散虫を蛍光観察した研究によれば、群集中の約半数の種が共生藻類に由来すると思われる赤色自家蛍光を発していた。放散虫と共生藻類に関しては、幾例かの培養実験が行われている。

これまでに、コロダリア目の *T. nucleata* (Anderson et al., 1983, 1985)、*Collosphaera huxleyi* Müller (Anderson et al., 1983)、*Collosphaera globularis* Haeckel (Anderson, 1978)、*Collosphaera* sp. (Anderson et al., 1985; Drits et al., 1987) を対象にした ^{14}C を用

いた培養実験から、共生藻類から宿主の細胞の一部である内囊へ ^{14}C が移動していることが確認されている。また、*Spongodymus* sp. (スプメラリア目) (Swanberg and Anderson, 1985), *Thalassicolla nucleata* Huxley (コロダリア目) (Swanberg and Anderson, 1985), *Thalassicolla* sp. (コロダリア目) (Swanberg and Anderson, 1985), *Spa. tetras tetras* (スプメラリア目) (Anderson et al., 1989c) の培養実験では、いずれの種も遮光して培養した細胞の方が、光を当てて培養した細胞よりも生存期間が短いという結果が得られている。これらことは、間接的にはあるが、共生藻類の光合成とその固定産物が放散虫の生存に影響することを示している。

一方、藻類と共生するにもかかわらず、捕食を必要とする種も存在する。群体性放散虫の共生藻類は、*Acrosphaera spinosa* Haeckel (コロダリア目) と *Collozoum radiosum* Enriques (コロダリア目) で 1 時間に群体中の総炭素量の 0.2–0.4%, *Collozoum longiforme* Swanberg et Harbison (コロダリア目) で 0.4–0.7% (Swanberg and Harbison, 1980) を固定している。Swanberg (1983) は、この光合成量が群体の大きさと比較して非常に少ないことから、宿主の生存や成長には捕食が必要と結論付けた。また、Drits et al (1987) は *Collosphaera* sp. の群体において 1 時間に群体中の総炭素量の 0.08% が宿主によって消費されていることから、放散虫は生存に必要なエネルギーを共生藻類の光合成から十分に得ているが、成長に必要な炭素は捕食で得る必要があると結論付けた。さらに、Swanberg et al. (1986) の実験では *Physematum muelleri* Schneider (コロダリア目) の細胞が吸収した炭素のうち、約 70% が共生藻類の光合成産物から、残りを捕食から得ていることを示し、本種が共生と捕食の双方から炭素を摂取していることをより直接的に証明した。

こうした放散虫と藻類の関係は、相利共生であるようだ。コロダリア目の群体の共生藻類は、Swanberg and Harbison (1980) の実験では自由生活性の藻類の最高光合成速度の約 2 倍、Rivkin and Lessard (1986) では自由生活性藻類の最高光合成速度に匹敵する値を示した。こうした大きな光合成速度は、放散虫の細胞内に高濃度の栄養塩類が存在することによると考えられており (Swanberg and Harbison, 1980; Rivkin and Lessard, 1986), 相利共生の一つの証拠と言えよう。一方、共生藻類の側も宿主の放散虫の浮遊性生活によく適応しているらしい。*Collosphaera* sp. (コロダリア目) の共生藻類は $35 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ (Anderson et al., 1985), *Spa. tetras tetras* (スプメラリア目) の共生藻類は $20 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ (Anderson et al., 1989c) とごく弱い光量でも光合成を行っている。また、Rivkin and Lessard (1986) の実

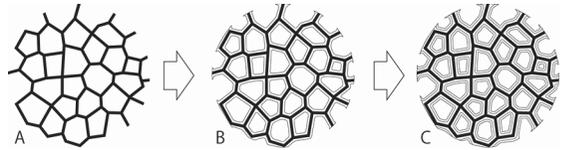


Fig. 3. Typical growth patterns of polycystine skeleton. (A) Polycystine cell formed the fundamental framework of skeleton at first. (B) Thin layer of silica is added on the surface of framework. (C) Additional thin layers of silica deposited around the preformed skeleton.

験からは、放散虫の共生藻類はリブローズ-1,5-二リン酸カルボキシラーゼ (RuBPC) 活性の調整により、すばやく光合成速度を変えることが分かっている。これらは、いずれも宿主の鉛直移動によって起こる光量の変動への適応と考えられている (Rivkin and Lessard, 1986; Anderson et al., 1985, 1989c)。しかし、共生藻類の側にはリスクもあるようで、*Sphaerozoum punctatum* (Huxley) (コロダリア目) の群体を用いた実験では、共生藻類が宿主によって消化されるという現象が観察されている (Drits et al., 1987)。

放散虫の栄養摂取に関する課題

放散虫と藻類の共生に関する研究は、大半がコロダリア目に属する種を対象に行われており、スプメラリア目ではごく限られ、ナセラリア目では皆無である。これはコロダリア目の多くが群体性であるためと思われる。群体性放散虫は採集や宿主からの共生藻類の単離が容易であり、これが実験を行う上で大きな利点となる。これに対して、スプメラリア目の単体性放散虫から共生藻類を単離することはほぼ不可能である (Anderson et al., 1989c)。しかし、一般に古生物学的研究ではスプメラリア目やナセラリア目の生態がとくに重要視される。今後、これらの目の栄養摂取に関する研究が進むことを期待したい。

また、放散虫が捕食している生物については、研究例はあるもののデータが不足している。このため、食性に関する実験を繰り返し、データを蓄積していくことが課題である。

骨格の成長過程

これまでに、*Spa. tetras tetras* (Anderson et al., 1989a) と *Dic. truncatum* (Matsuoka, 1992) では、約 1 ヶ月間の培養により、骨格全体の径の増加が記録されている。これらの種では、間欠的に成長する細胞と、連続的に成長した後成長を止める細胞の双方が、それぞれ認められた。また、Ogane et al. (2009, 2010) は骨格の成長に伴う二酸化ケイ素の沈着を、2-

(4-pyridyl)-5-[(4-(2-dimethylaminoethylaminocarbonyl)methoxy)-phenyl] oxazole (PDMPO) と呼ばれる蛍光色素を用いて直接的に検出した。PDMPO は、もともと珪藻やケイ質海綿の骨格成長を検出するために使われる試薬であるが、Ogane et al. (2009) は同様の手法が放散虫にも適用できること、放散虫の骨格への二酸化ケイ素の沈着が珪藻やケイ質海綿と同様の生理的作用で起こっていることを示した。また、培地に PDMPO を添加した実験では、放散虫はおおむね二酸化ケイ素の薄層を付加しながら骨格を成長させることが確かめられた (Ogane et al., 2010) (Fig. 3)。これは、Anderson and Swanberg (1981) や西村 (1986) が、化石や死細胞の骨格を用いた研究から導き出した、層状構造をつくる成長パターンとはほぼ一致する結果であった。さらに、Ogane et al. (2010) は、球状放散虫では外嚢に位置する骨格に二酸化ケイ素の沈着が起き、ナセラリア目では頭部殻室 (cephalis)、胸部殻室 (thorax)、腹部殻室 (abdomen) の全体に二酸化ケイ素が沈着するもの、これ以外の殻室では一部のみに二酸化ケイ素が沈着することを見出した。

放散虫の骨格成長過程の実証はこれまでに少数行われたのみで、現在も不明な点が多い。特にこれまでの研究では、ある程度形成された骨格に、さらに骨格が付加する様子を観察することとどまっており、骨格形成の最初期については不明のままである。また、骨格形成の生理的作用も今後の研究課題である。

放散虫の環境耐性

古生物学分野では、放散虫化石の群集組成から過去の海洋環境を推定する研究例 (Itaki et al., 2008) が増えつつある。推定に用いる基礎情報を提供するためには、特にスプメラリア目とナセラリア目において、それぞれの現生種の生息環境の正確なデータが必要である。このため、塩分、水温、光量、溶存二酸化ケイ素濃度に対する耐性試験が行われている。

塩分に関しては、*Spa. tetras tetras* で 30.0–40.0 の間の 4 段階 (Anderson et al., 1989b)、*Did. tetrathalamus tetrathalamus* で 30.0 と 35.0 の 2 段階 (Anderson et al., 1990)、*Dic. truncatum* で 27.0–32.0 の間の 5 段階 (Matsuoka and Anderson, 1992) の条件で、それぞれ成長量や培養期間、生存活性が比較された。この結果、塩分 30.0 で培養した *Spa. tetras tetras* 以外は全て良好な状態を保った。*Spa. tetras tetras* が若干低塩分への耐性に劣ることを除き、これらの種は広い塩分耐性を持つことから、塩分が激しく変化する海洋表層環境への適応の結果であると考えられている (Matsuoka and Anderson, 1992)。

水温については、*Spa. tetras tetras* で 21.0–36.0°C の間の 5 段階 (Anderson et al., 1989c)、*Did. tetrathalamus tetrathalamus* で 10.0–36.0°C の間の 8 段階 (Anderson et al., 1990)、*Dic. truncatum* で 15.0–36.0°C の間の 4 段階 (Matsuoka and Anderson, 1992) で耐性試験が行われた。いずれの種も高温への耐性が低く、*Spa. tetras tetras* と *Did. tetrathalamus tetrathalamus* では 31.0°C 以上 (Anderson et al., 1989b; 1990)、*Dic. truncatum* では 32.0°C 以上 (Matsuoka and Anderson, 1992) で細胞の状態が悪くなった。現在の海洋では、水温が 31.0°C 以上となる海域は珍しい。放散虫の低い高温耐性は、こうした環境への適応なのであろう。一方、低温耐性は種による違いが大きい。*Spa. tetras* と *Dic. truncatum* は 21.0°C 以下で生存活性に影響が出たのに対し、*Did. tetrathalamus tetrathalamus* は 10.0°C でも適水温の場合と同等の生存活性を示した。*Did. tetrathalamus tetrathalamus* は *Spa. tetras* と *Dic. truncatum* より高緯度まで分布する (Boltovskoy et al., 2010)。低温耐性の違いは、分布域の違いに関連する可能性が高い。

光量については、*Spa. tetras tetras* (Anderson et al., 1989b) と *Did. tetrathalamus tetrathalamus* (Anderson et al., 1990) で耐性試験が行われている。いずれの種も、光量と培養期間や成長量に顕著な関係性は観察されなかったが、遮光して培養した細胞の培養期間が、光を当てて培養した細胞よりも短いという結果が得られている。いずれの種も共生藻類を伴うことから、この結果は放散虫そのものの耐性というよりも、共生藻類への影響を反映している可能性が考えられる。

溶存二酸化ケイ素濃度については、*Spa. tetras* と *Dic. truncatum* の双方で、50–150 μM の間の 4 段階で耐性実験が行われた (Sugiyama and Anderson, 1997a)。この研究によると、二酸化ケイ素濃度 50–100 μM では成長量や培養期間に有意差はなかったが、150 μM という高濃度では成長が阻害された。

これらの耐性試験が行われた種は、スプメラリア目の *Spa. tetras tetras*、*Did. tetrathalamus tetrathalamus*、*Dic. truncatum* の 3 種のみである。これらは、細胞が多数出現し、比較的大型になることから、採集・単離・培養が比較的容易な種である。耐性試験の結果をまとめると、種によって若干の違いはあるが、30–35 とかなり広い範囲の塩分で生存が可能である。溶存二酸化ケイ素濃度は、低くても生存・成長が可能であるが、高い二酸化ケイ素濃度では成長が阻害される、長期間の生存には光を当てるのが必須であるが、光量には融通がきく、高温耐性は低い、生存できる水温の下限は種にもよるが、ほぼ 20°C 程度まで、と共通性がある。こうした共通性は、耐性試験が行われた 3 種がいずれも近縁である

上 (Kunitomo et al., 2006) , 生息海域も熱帯～亜熱帯と共通する点が多いこと (Boltovskoy et al., 2010) が理由であるかもしれない。このために、他の海域に分布する種や、異なる分類群に属する種の環境耐

性など、検討すべき課題は多い。今後、耐性実験の行われた 3 種をモデル種として培養技術を改善し、長期飼育技術を向上させることが必要である。

Table 2. The specifications of the plankton nets to collect polycystine cells in previous studies

Article	Shape of opening	Size of opening	Mesh size	Examined species	Experiment description
Anderson and Botfield (1983)	-	-	333 μ m	<i>Thalassicolla nucleata</i>	feeding experiment
Anderson et al. (1983)	circular	ϕ 100 cm	333 μ m	<i>Thalassicolla nucleata</i>	movement of radiocarbon
Anderson et al. (1985)	circular	ϕ 100 cm	333 μ m	<i>Thalassicolla nucleata</i>	movement of radiocarbon
Anderson et al. (1989a)	square	50 cm \times 50 cm	76 μ m	<i>Spongaster tetras tetras</i>	feeding experiment
Anderson et al. (1989b)	square	50 cm \times 50 cm	76 μ m	<i>Spongaster tetras tetras</i>	limitation of survival
Anderson et al. (1989c)	square	50 cm \times 50 cm	76 μ m	<i>Spongaster tetras tetras</i>	growing experiment
Anderson et al. (1990)	square	50 cm \times 50 cm	36 μ m, 76 μ m	<i>Didymocyrtilis tetratharamus</i>	limitation of survival
Matsuoka (1992)	square	50 cm \times 50 cm	36 μ m	<i>Dictyocoryne truncatum</i>	growing experiment
Matsuoka (1993a)	-	-	36 μ m	<i>Dictyocoryne truncatum</i> <i>Dictyocoryne profunda</i> <i>Hymeniastrum euclidis</i> <i>Euchitonia elegans</i> <i>Didymocyrtilis tetratharamus</i> <i>Pterocanium praetextum</i> <i>Spirocyrtilis scalaris</i>	observation of living cells observation of living cells
Matsuoka (1993b)	circular	ϕ 20 cm	40 μ m	<i>Dictyocoryne profunda</i> <i>Dictyocoryne truncatum</i> <i>Euchitonia elegans</i> <i>Lophophaena hispida</i> <i>Eucyrtidium hexagonatum</i> <i>Pterocanium praetextum</i> <i>Carpocanium coronatum</i> <i>Acanthodesmia vinculata</i> <i>Zygocircus productus</i>	observation of living cells observation of living cells
Matsuoka and Anderson (1992)	square	50 cm \times 50 cm	36 μ m	<i>Dictyocoryne truncatum</i>	limitation of survival
Ogane et al. (2009)	square	50 cm \times 50 cm	44 μ m	<i>Rhizosphaera trigonacantha</i> <i>Acanthodesmia</i> sp. <i>Spirocyrtilis scalaris</i>	PDMPO experiment PDMPO experiment PDMPO experiment
Ogane et al. (2010)	square	50 cm \times 50 cm	44 μ m	<i>Anthocyrtilidium angulare</i> <i>Clathrocyclas</i> (?) <i>cassiopeiae</i> <i>Eucyrtidium hexagonatum</i> <i>Lophophaena hispida</i> <i>Rhizosphaera trigonacantha</i> <i>Hexacantium philosophica</i> <i>Spongaster tetras tetras</i> <i>Rhopalastrum elegans</i> <i>Dictyocoryne profunda</i>	PDMPO experiment PDMPO experiment PDMPO experiment PDMPO experiment PDMPO experiment PDMPO experiment PDMPO experiment PDMPO experiment PDMPO experiment
Sugiyama and Anderson (1997a)	-	-	36 μ m	<i>Didymocyrtilis tetratharamus</i> <i>Spongaster tetras tetras</i>	limitation of survival limitation of survival
Sugiyama and Anderson (1997b)	-	-	36 μ m	<i>Eucyrtidium hexagonatum</i> <i>Pterocorys zancleus</i> <i>Spirocyrtilis scalaris</i>	observation of living cells observation of living cells observation of living cells
Sugiyama and Anderson (1998)	-	-	36 μ m	<i>Didymocyrtilis tetratharamus</i>	observation of living cells
Sugiyama et al. (2008)	-	-	36 μ m	<i>Eucyrtidium hexagonatum</i> <i>Pterocanium zancleus</i> <i>Dictyocodon prometheus</i>	observation of living cells observation of living cells observation of living cells
Suzuki (2005)	square	50 cm \times 50 cm	44 μ m	<i>Rhizoplegma trigonacantha</i>	observation of living cells
Suzuki (2009)	square	50 cm \times 50 cm	44 μ m	<i>Haliomilla capillaceum</i>	observation of living cells
Suzuki and Sugiyama (2001)	-	-	36 μ m	<i>Diplosphaera hexagonalis</i>	observation of living cells
Swanberg and Anderson (1985)	circular	ϕ 50 cm	75 μ m	<i>Physematium muelleri</i> <i>Spongodymus</i> sp. <i>Thalassicolla nucleata</i> <i>Thalassicolla</i> sp.	feeding experiment feeding experiment feeding experiment feeding experiment

採集・培養の実際

放散虫の採集・培養方法は、松岡（2002）にマニュアル的にまとめられており、標準的方法とされている。しかし、個々の研究においては、目的に応じて細かな違いがある。また経験的に、採集・培養方法の細かな違いによって、同時に採集・培養を行っても、観察される放散虫の生存活性が大きく異なることがある。

試料採集

これまで行われた培養実験の例では、離島の臨海実験所（Anderson et al., 1983, 1985; Matsuoka, 2007; Ogane et al., 2009, 2010）や調査航海（Swanberg and Harbison, 1980; Swanberg et al., 1986）で材料の放散虫生細胞の採集が行われた。突堤や岩場からの採集も試みられているが、十分な個体数が確保できておらず（松岡, 2002）、一般に外洋水の影響を強く受ける地点で採集を行うことが必要といえる。なお、培養を意図してはいないものの、佐渡島近海（Kurihara and Matsuoka, 2010）や三浦半島沖（Sashida and Kurihara, 1999）でも生細胞が採集されており、今後

の研究で有望な海域といえる。

試料の採集は、プランクトンネットで行われることが多い。これまでの研究で使われたプランクトンネットの開口部の形状とサイズ、目合い、研究対象種と目的をまとめた（Table 2）。放散虫の生細胞採集には規格化された器材はなく、ネットの形状や目合いは研究によって異なる。口径は、50 cm 程度のもので使用されている例が多く、これは、ウィンチなどを持たない小型船から海水中に下ろし、手で引いて採集するために扱いやすいサイズであると思われる。目合いは、76 μm , 75 μm , 44 μm , 40 μm , 36 μm とばらつきがある。75–76 μm の目合いのプランクトンネットは、比較的大型の種を採集し（Anderson et al., 1983, 1985, 1989a–c, 1990; Swanberg and Anderson, 1985）、数日以上の培養を行っている研究での使用例が多い（Anderson et al., 1989a, b, 1990）。一方、目合いが 44 μm 以下のネットは、いくつかの例外を除いて、幅広いサイズの種を採集し、数時間程度の観察を行った研究での使用例が多い（Matsuoka, 1992, 2007; Matsuoka and Anderson, 1992; 松岡, 1993a, b; Sugiyama and Anderson, 1997a, b, 1998; Sugiyama et al., 2008; Suzuki and Sugiyama, 2001; Ogane et al., 2009, 2010）。

Table 3. The experimental conditions of the seawaters and the vessels in previous studies

Article	type of vessel	Size of vessel	volume of sea water (ml)	percolation
Anderson (1978)	pyrex vessel		240	percolated
Anderson et al. (1983)	pyrex culture dish		100	percolated
Anderson et al. (1984)	pyrex culture dish		100	percolated
Anderson et al. (1985)	polycarbonate vessel		100	percolated
Anderson et al. (1989a)	glass vial	20 ml	5	percolated
Anderson et al. (1989b)	clear vial	$\phi 30 \text{ mm} \times 90 \text{ mm}$	35	nopercolated
Anderson et al. (1989c)	clear culture vial	$\phi 30 \text{ mm} \times 90 \text{ mm}$	35	nopercolated
Anderson et al. (1990)	culture dish	$\phi 30 \text{ mm} \times 90 \text{ mm}$		nopercolated
Drits et al (1987)	flask	70 ml		
Matsuoka (1992)	clear vial	$\phi 30 \text{ mm} \times 90 \text{ mm}$	35	nopercolated
Matsuoka and Anderson(1992)	clear vial	$\phi 30 \text{ mm} \times 90 \text{ mm}$	35	nopercolated
Ogane et al. (2009)	glass tube		20	nopercolated
Ogane et al. (2010)	glass tube		20	nopercolated
Sugiyama and Anderson (1997a)	sixwell plastic culture dish		15	nopercolated
Sugiyama et al. (2008)	glass vial	$\phi 25 \text{ mm} \times 60 \text{ mm}$		
	glass vial	$\phi 25 \text{ mm} \times 100 \text{ mm}$		
	glass culture dish	$\phi 50 \text{ mm}$ and $\phi 90 \text{ mm}$		
	multiwell tissue culture plate	$\phi 23 \text{ mm} \times 20 \text{ mm}$		
Suzuki (2005)	multiwell tissue culture plate			
Suzuki and Sugiyama (2001)	glass vial	$\phi 25 \text{ mm} \times 50 \text{ mm}$		
	glass culture dish	$\phi 50 \text{ mm}$		
	glass culture dish	$\phi 90 \text{ mm}$		
	multiwell tissue culture plate	$\phi 23 \text{ mm} \times 20 \text{ mm}$		
Swanberg and Anderson (1985)			100	percolated
Swanberg and Harbison (1980)	closable Erlenmeyer flasks	125 ml	50	percolated
Swanberg et al. (1986)	polycarbonate tube		40	percolated

放散虫の単離

採取後の放散虫細胞は、極力時間をおかずに（できれば 1 時間以内）、観察用の容器に単離する（松岡, 2002）。採集試料の濃度が高すぎると単離までに弱ってしまうので、海水で試料を希釈するとよい（Anderson et al., 1983, 1989a–c; Matsuoka, 1992; Matsuoka and Anderson, 1992; Sugiyama and Anderson, 1997a, b）。松岡（2002）によると、単離の際にはまず試料を入れた瓶を静置し、試料中のプランクトンを沈殿させる。次に、上澄みの海水を捨て、残った試料を少しずつシャーレに移す。これを 100–200 倍程度の倍率の双眼実体顕微鏡下で観察して目的の細胞を探し、パスツールピペットを用いて単離する。単離した放散虫細胞は、海水とともに 6 穴のマルチウェルプレートに入れて観察されている例が多い（Anderson et al., 1989a–c, 1990; Matsuoka, 1992, 2007; Matsuoka and Anderson, 1992; 松岡, 1993a; Sugiyama and Anderson, 1997a, b; Suzuki and Sugiyama, 2001; Suzuki, 2005; Suzuki et al., 2009a; Ogane et al., 2009, 2010）。微小（40 μm 径程度）な骨格や脆弱な骨格を持つ種は、双眼実体顕微鏡では見落とすことが多い。そこで、これらの観察には倒立顕微鏡を用いて 200–400 倍程度の倍率で観察・単離する必要がある。

培養方法

数時間以上の培養を目的とする場合、放散虫細胞を観察用容器から、パスツールピペットを用いて培養用の容器に移す（松岡, 2002）。ただし、Sugiyama and Anderson (1997a) は、放散虫への悪影響を抑えるため観察用容器への単離作業を行わず、培養用容器に直接入れている。培養容器や海水の量は、研究の目的や放散虫の種類、培養時間などによって異なる。これまでの研究で培養に使われた容器の種類、サイズ、海水量、海水の濾過の有無をまとめた (Table 3)。海水の量は、長くとも 1 日程度の短時間の培養を意図している研究では 1 細胞あたり 5 ml から 20 ml 程度 (Anderson et al., 1989c; Ogane et al., 2009, 2010) であるのに対し、1 週間以上の培養を行った研究例では、35 ml 程度と比較的多くの天然海水を使っている例が多い (Anderson et al., 1989a, b, 1990; Matsuoka, 1992; Matsuoka and Anderson, 1992; Sugiyama and Anderson, 1997a)。従って、長期間培養には、少なくとも 1 細胞あたり 35 ml 程度の多めの海水を使うとよいように考えられる。

また長期培養の際は、水温を一定に保った水に培養容器をつけることで水温を維持し、蛍光灯で昼夜 12 時間ずつのサイクルをつくっていることが多い (Anderson et al., 1989a, b, 1990; Matsuoka, 1992; Matsuoka and Anderson, 1992; Sugiyama and Anderson, 1997a, b)。長期培養の際の機器の仕様は、Anderson

et al. (1989b) と松岡 (2002) が詳細に記述している。両者の装置の基本的な構造はほぼ同じであるが、Anderson et al. (1989b) では下から光を当てたのに対し、松岡 (2002) では上から光を当てているという違いがある。いずれの方が放散虫の培養に適しているかは、現時点では明確ではない。

適切な条件を整えれば、約 1 ヶ月と比較的長期間にわたり放散虫が生存可能であるが (Anderson et al., 1989b; Anderson et al., 1990; Matsuoka and Anderson, 1992) 培養液中に珪藻のような他の微細な生物が増えるという問題点も記録されている (Matsuoka, 1992; Matsuoka and Anderson, 1992; Sugiyama and Anderson, 1997a)。おそらく、天然海水をろ過・加熱等による滅菌なしに使っていることが原因と思われる。より厳密な実験・観察のためには、少なくとも他の生物が混入しない条件を整える必要がある。

おわりに

放散虫は 5 億年にのぼる歴史を持ち (De Wever et al., 2001)、しかもそれが化石記録として保存されているという稀有なプランクトンである。これは、進化や地球環境の変遷に伴う生態の変化を探る上で、またとない利点と言えよう。しかし、これまで述べてきたような放散虫の生物学的研究は、化石の研究例と比較して非常に少ない。生物学的な放散虫の研究はわずかながら増えつつあるが、培養実験を通じて放散虫の生態を直接確かめた例は限られている。今後、放散虫生細胞の研究がさらに進むことで、生物学・古生物学の双方に新たな展開があることを期待したい。

謝辞

本稿の執筆に当たり、東北大学の鈴木紀毅助教からは多数の文献をご提供いただいた。また、本稿に写真を掲載した放散虫は、琉球大学熱帯生物圏研究センター瀬底研究施設で行われた放散虫研究ツアーと、北海道大学水産学部付属練習船おしよる丸第 216 次航海で採集・撮影された。採集にあたり、瀬底研究施設職員、放散虫研究ツアーの企画・運営を行なった新潟大学の松岡篤教授と栗原敏之准教授、放散虫研究ツアー参加者の皆様、おしよる丸乗組員、第 216 次航海参加者の皆様に大変ご助力いただいた。また、国立科学博物館の辻彰洋研究主幹、東北大学の鈴木紀毅助教、北海道大学の山口篤准教授以下プランクトン教室の皆様には共同でサンプリングに当たって頂いた。以上の方々に、厚く御礼申し上げます。なお、おしよる丸第 216 次航海乗船に当たっては、国立科学博物館の総合研究「海洋におけ

る単細胞生物（原生動物、藻類）の共生網解析」（代表者 辻彰洋，2010年度）の援助を受けた。

最後に、本稿を査読いただきご意見をいただいた2名の審査員、本稿の修正にご協力頂いた国立科学博物館の斎藤めぐみ博士、執筆に当たりお世話になった本誌の編集委員の方々、本稿を執筆する機会を頂いた日本原生動物学会に御礼申し上げます。

引用文献

- Anderson, O. R. (1976) A cytoplasmic fine-structure study of two Spumellarian Radiolaria and their symbionts. *Mar. Micropaleontol.*, 1, 81–99.
- Anderson, O. R. (1977) Cytoplasmic fine structure of Nassellarian Radiolaria. *Mar. Micropaleontol.*, 2, 251–264.
- Anderson, O. R. (1978) Fine structure of a symbiont-bearing colonial radiolarian *Collosphaera globularis* and ^{14}C -isotopic evidence for assimilation of organic substances from its zooxanthellae. *J. Ultrastruct. Res.*, 62, 181–189.
- Anderson, O. R. (1983) Radiolaria. Springer-Verlag, New York.
- Anderson, O. R., Bennett, P. and Bryan, M. (1989a) Experimental and observational studies of radiolarian physiological ecology: 1. Growth, abundance and opal productivity of the spongioid radiolarian *Spongaster tetras tetras*. *Mar. Micropaleontol.*, 14, 257–265.
- Anderson, O. R., Bennett, P. and Bryan, M. (1989b) Experimental and observational studies of radiolarian physiological ecology: 3. Effects of temperature, salinity and light intensity on the growth and survival of *Spongaster tetras tetras* maintained in laboratory culture. *Mar. Micropaleontol.*, 14, 275–282.
- Anderson, O. R., Bennett, P., Angel, D. and Bryan, M. (1989c) Experimental and observational studies of radiolarian physiological ecology: 2. Trophic activity and symbiont primary productivity of *Spongaster tetras tetras* with comparative data on predatory activity of some Nassellarida. *Mar. Micropaleontol.*, 14, 267–273.
- Anderson, O. R., Bryan, M. and Bennett, P. (1990) Experimental and observational studies of radiolarian physiological ecology: 4. Factors determining the distribution and survival of *Didymocyrtis tetrathalamus tetrathalamus* with implications for paleoecological interpretations. *Mar. Micropaleontol.*, 16, 155–167.
- Anderson, O. R. and Botfield, M. (1983) Biochemical and fine structure evidence for cellular specialization in a large spumellarian radiolarian *Thalassicolla nucleata*. *Mar. Biol.*, 72, 235–241.
- Anderson, O. R. and Swanberg, N. R. (1981) Skeletal morphogenesis in some living collosphaerid Radiolaria. *Mar. Micropaleontol.*, 6, 385–396.
- Anderson, O. R., Swanberg, N. R. and Bennett, P. (1983) Assimilation of symbiont-derived photosynthates in some solitary and colonial radiolaria. *Mar. Biol.*, 77, 265–269.
- Anderson, O. R., Swanberg, N. R. and Bennett, P. (1984) An estimate of predation rate and relative preference for algal versus crustacean prey by a spongioid skeletal radiolarian. *Mar. Biol.*, 78, 205–207.
- Anderson, O. R., Swanberg, N. R. and Bennett, P. (1985) Laboratory studies of the ecological significance of host-algal nutritional associations in solitary and colonial Radiolaria. *J. Mar. Biol. Assoc. UK*, 65, 263–272.
- Boltovskoy, D., Kling, S. A., Takahashi, K. and Bjørklund, K. (2010) World atlas of distribution of recent Polycystina (Radiolaria). *Palaeontol. Electronica*, 13, 18A.
- Brandt, K. (1885) Die koloniebildenden Radiolarien (Sphaerozoen) des Golfes von Neapel. *Fauna und Flora des Golfes von Neapel*, 13, 1–276.
- De Wever, P., Dumitrica, P., Caulet, J. P., Nigrini, C. and Caridroit, M. (2001) Radiolarians in the sedimentary record. Gordon and Breach Science Publishers, Amsterdam.
- Drits, A. V., Semenova, T. N. and Kononov, B. V. (1987) Production of zooxanthellae in planktic foraminifera and colonial radiolaria of tropical Atlantic Ocean. *Oceanology*, 27, 92–97.
- Haeckel, E. (1862) Die Radiolarien (Rhizopoda Radiolaria). Eine Monographie. Reimer, Berlin.
- Howe, A. T., Bass, D., Scoble, J. M., Lewis, R., Vickerman, K., Arndt, H. and Cavalier-Smith, T. (2011) Novel cultured Protists identify deep-branching environmental DNA clades of Cercozoa: New genera *Tremula*, *Micrometopion*, *Minimassisteria*, *Nudifilia*, *Peregrinia*. *Protist*, 162, 332–372.
- Ishitani, Y., Ujiie, Y., de Vargas, C., Not, F. and Takahashi, K. (2012) Two distinct lineages in the radiolarian Order Spumellaria having different ecological preferences. *Deep-Sea Res. II*, 61–64, 172–178.
- Itaki, T., Ito, M., Narita, H., Ahagon, N. and Sakai, H. (2003) Depth distribution of radiolarians from the Chukchi and Beaufort Seas, western Arctic. *Deep-*

- Sea Res. I, 50, 1507–1522.
- Itaki, T., Khim, B. and Ikehara, K. (2008) Last glacial-Holocene water structure in the southwestern Okhotsk Sea inferred from radiolarian assemblages. *Mar. Micropaleontol.*, 67, 191–215.
- Kimoto, K., Yuasa, T. and Takahashi, O. (2011) Molecular identification of reproductive cells released from *Cypassis irregularis* Nigrini (Radiolaria). *Environ. Microbiol. Rep.*, 3, 86–90.
- Krabberød, A. K., Bråte, J., Dolven, J. K., Ose, R. F., Klaveness, D., Kristensen, T., Bjørklund, K. R. and Shalchian-Tabrizi, K. (2011) Radiolaria divided into Polycystina and Spasmaria in combined 18S and 28S rDNA phylogeny. *PLoS ONE*, 6, e23526.
- Kunitomo, K., Sarashina, I., Iijima, M., Endo, K. and Sashida, K. (2006) Molecular phylogeny of acantharian and polycystine radiolarians based on ribosomal DNA sequences, and some comparisons with data from the fossil record. *Eur. J. Protistol.*, 42, 143–153.
- Kurihara, T. and Matsuoka, A. (2010) Living radiolarian fauna of late autumn (November 13, 2008) in surface-subsurface waters of the Japan Sea off Tassha, Sado Island, central Japan. *Sci. Rep. Niigata Univ. (Geol.)*, 25, 83–92.
- Matsuoka, A. (1992) Skeletal growth of a spongiöse radiolarian *Dictyocoryne truncatum* in laboratory culture. *Mar. Micropaleontol.*, 19, 287–297.
- 松岡篤 (1993a) カリブ海の表層海水から採取した放散虫の生体観察. 大阪微化石研究会誌 (特別号), 9, 349–363.
- 松岡篤 (1993b) 沖縄県瀬底島周辺海域の現生放散虫. 化石, 54, 1–9.
- 松岡篤 (1994) 平板状スプレマリア (放散虫) のアクソフラジェルムと殻に見られるその通過孔. 化石, 56, 1–8.
- 松岡篤 (2002) 現生放散虫研究の手法と研究機器. 化石, 71, 19–27.
- Matsuoka, A. (2007) Living radiolarian feeding mechanisms: new light on past marine ecosystems. *Swiss J. Geosci.*, 100, 273–279.
- Matsuoka, A. and Anderson, O. R. (1992) Experimental and observational studies of radiolarian physiological ecology: 5. Temperature and salinity tolerance of *Dictyocoryne truncatum*. *Mar. Micropaleontol.*, 19, 299–313.
- 西村はるみ (1986) 放散虫の殻の成長について (予察). 大阪微化石研究会誌 (特別号), 7, 157–165.
- Ogane, K., Tuji, A., Suzuki, N., Kurihara, T. and Matsuoka, A. (2009) First application of PDMPO to examine silicification in polycystine Radiolaria. *Plankton and Benthos Res.*, 4, 89–94.
- Ogane, K., Tuji, A., Suzuki, N., Matsuoka, A., Kurihara, T. and Hori, R. S. (2010) Direct observation of the skeletal growth patterns of polycystine radiolarians using a fluorescent marker. *Mar. Micropaleontol.*, 77, 137–144.
- Rivkin, R. B. and Lessard, E. J. (1986) Photoadaptation of photosynthetic carbon uptake by solitary Radiolaria: comparisons with free-living phytoplankton. *Deep-Sea Res.*, 33, 1025–1038.
- Sanfilippo, A., Westberg-Smith, M. J. and Riedel, W. R. (1985) Cenozoic radiolaria. In *Plankton Stratigraphy*. Bolli H. M., Saunders, J. B. and Perch-Nielsen, K. (eds). Cambridge University Press, Cambridge, pp. 631–712.
- Sashida, K. and Kurihara, T. (1999) Recent radiolarian faunas in the surface water off the coast of Shimida, Izu Peninsula, Japan. *Sci. Rep., Inst. Geosci. Univ. Tsukuba, Sec. B*, 20, 115–144.
- Sugiyama, K. and Anderson, O. R. (1997a) Experimental and observational studies of radiolarian physiological ecology, 6. Effects of silicate-supplemented seawater on the longevity and weight gain of spongiöse radiolarians *Spongaster tetras* and *Dictyocoryne truncatum*. *Mar. Micropaleontol.*, 29, 159–172.
- Sugiyama, K. and Anderson, O. R. (1997b) Correlated fine structural and light microscopic analyses of living nassellarians *Eucyrtidium hexagonatum* Haeckel, *Pterocorys zancleus* (Müller) and *Spirocyrts scalaris* Haeckel. 大阪微化石研究会誌 (特別号), 10, 311–337.
- Sugiyama, K. and Anderson, O. R. (1998) Cytoplasmic organization and symbiotic associations of *Didymocyrtis tetrathalamus* (Haeckel) (Spumellaria, Radiolaria). *Micropaleontology*, 44, 277–289.
- Sugiyama, K., Hori, R. S., Kusunoki, Y. and Matsuoka, A. (2008) Pseudopodial features and feeding behavior of living nassellarians *Eucyrtidium hexagonatum* Haeckel, *Pterocorys zancleus* (Müller) and *Dictyocodon prometheus* Haeckel. *Paleontol. Res.*, 12, 209–222.
- Suzuki, N. (2005) Physiological axopodial activity of *Rhizosphaera trigonacantha* Haeckel (a spheroidal radiolarian, Polycystina, Protista). *Mar. Micropaleontol.*, 54, 141–153.

- Suzuki, N. and Aita, Y. (2011) Radiolaria: achievement and unsolved issues: taxonomy and cytology. *Plankton and Benthos Res.*, 6, 69–91.
- 鈴木紀毅, 相田吉昭 (2011) 放射虫の生物学—分布, 現存量, 共生生物—. *日本プランクトン学会報*, 58, 40–48.
- Suzuki, N., Kurihara, T. and Matsuoka, A. (2009a) Sporogenesis of an extracellular cell chain from the spheroidal radiolarian host *Haliomilla capillaceum* (Haeckel), Polycystina, Protista. *Mar. Micropaleontol.*, 72, 157–164.
- Suzuki, N., Ogane, K., Aita, Y., Kato, M., Sakai, S., Kurihara, T., Matsuoka, A., Go, A., Nakaguchi, K., Yamaguchi, S., Takahashi, T. and Tuji, A. (2009b) Distribution patterns of radiolarian nuclei and symbionts using DAPI-fluorescence. *Bull. Natl. Mus. Nat. Sci., Ser. B*, 35, 169–182.
- Suzuki, N. and Sugiyama, K. (2001) Regular axopodial activity of *Diplosphaera hexagonalis* Haeckel (Spheroidal spumellarian, Radiolaria). *Paleontol. Res.*, 5, 131–140.
- Swanberg, N. R. (1983) The trophic role of colonial Radiolaria in oligotrophic oceanic environments. *Limnol. Oceanogr.*, 28, 655–666.
- Swanberg, N. R. and Anderson O. R. (1985) The nutrition of radiolarians: Trophic activity of some solitary Spumellaria. *Limnol. Oceanogr.*, 30, 646–652.
- Swanberg, N. R., Anderson O. R., Lindsey, J. L. and Benet, P. (1986) The biology of *Physematium muelleri*: trophic activity. *Deep-Sea Res.*, 33, 913–922.
- Swanberg, N. R. and Harbison, G. R. (1980) The ecology of *Collozoum longiforme* sp. nov., a new colonial radiolarian from the equatorial Atlantic Ocean. *Deep-Sea Res.*, 27A, 715–732.
- Takahashi, K. (1997) Siliceous microplankton fluxes in the eastern Subarctic Pacific, 1982–1986. *J. Oceanogr.*, 53, 455–466.
- Yuasa, T., Dolven, J. K., Bjørklund, K. R., Mayama, S. and Takahashi, O. (2009) Molecular phylogenetic position of *Hexacontium pachydermum* Jørgensen (Radiolaria). *Mar. Micropaleontol.*, 73, 129–134.