

厚岸湖および別寒辺牛湿原における珪藻浮遊現象の解明

東京理科大学 理学研究科
井出 祐貴

1. 研究目的

水中を生きる珪藻は海水・汽水・淡水域に生息し、地球上の酸素の20%を生産する主要な光合成微生物である。鞭毛などの運動器官をもたない浮遊性珪藻は対流などによって光の届く水面近くを浮遊し、細胞分裂を行うことから、珪藻の浮遊現象と温度の関係を調べることは光合成メカニズムを知る上で重要である。珪藻浮遊の研究例として粒子画像流速測定法 (PIV)を用いて細胞群の浮遊の速度報告などがある。これまでに当研究室では、倒立顕微鏡 (CKX-53, OLYMPUS)を90度、横に倒して地表面に対して垂直な試料ステージを持つ顕微鏡 (以下、横倒し顕微鏡)を使用して、シャーレに封入した珪藻細胞の浮遊現象を観察してきた。本研究では珪藻の浮遊現象と温度の關係に着目し、細胞懸濁液を自作の観察用チャンバーに入れ、自作の温度制御ステージを使用して、細胞の浮遊現象と温度の關係について調べた。

2. 研究内容・方法

単離した海産珪藻をダイゴ人工海水 SP (395-01343; Nihon Pharmaceutical) 中の Guillard's (f/2) marine water enrichment solution (G9903-500ML; Sigma-Aldrich)培地と Bold Modified Basal Freshwater Nutrient Solution (B5282-500ML, Sigma-Aldrich)液体培地で継代培養し、植え継ぎから2週間経過したものを観察に使用した (培養温度18°C)。内寸22W×2D×35H mmの顕微鏡観察用のチャンバーに細胞懸濁液1 ml入れ、横倒し顕微鏡の試料ステージに取り付け、顕微鏡用のカメラアダプターにビデオカメラ (HDR-CX590; SONY) を接続し、細胞の浮遊を撮影した。観察は10°Cで行った。チャンバー内の細胞懸濁液の冷却や加熱は自作の温度制御機能付き試料ステージで行った。温度センサーは容器内の底面に設置した。細胞の浮遊の観察はチャンバーを顕微鏡の試料ステージに設置してから35分間行い、振動がじゅうぶんに収まる最後の5分間に観察視野を通過する細胞を解析対象とした。動画の解析は2次元動画解析ソフトウェア Move-tr/2Dを使用し、個々の細胞の幾何学的重心の座標から、移動距離や速さを求めた。

3. 研究結果・考察

図は、観察開始から17分後の細胞の顕微鏡画像に17分間に細胞が浮遊した軌跡を上書きしたものである。細胞を解析した結果、チャンバー内の温度がチャンバー内の温度が10°Cでは様々な方向に浮遊することが確認された。細胞の浮遊の速さは細胞1で $41.3 \pm 0.61 \mu\text{m/s}$ 、細胞2で $33.0 \pm 0.65 \mu\text{m/s}$ 、細胞3で $11.4 \pm 0.39 \mu\text{m/s}$ であった。細胞が沈降せずに浮遊した理由の一つとして、観察用チャンバー内の温度差によって流体が移動し、循環が生じ、懸濁液中に溶存している細胞に影響が生じたことが考えられる。

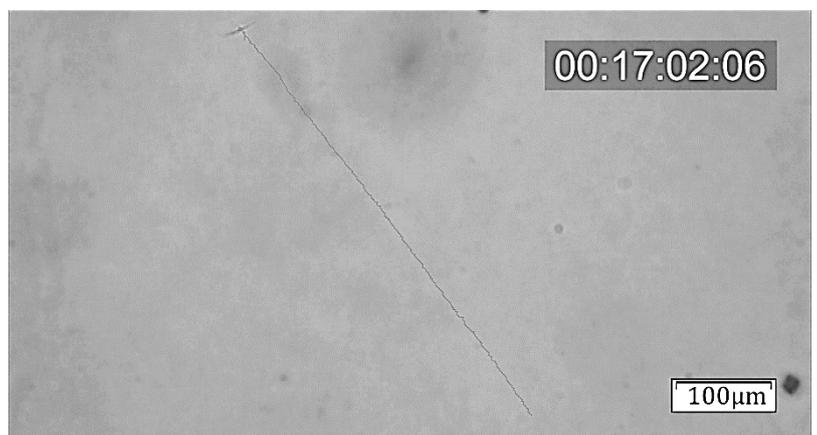


図. 観察試料の顕微鏡画 (17分後) と珪藻細胞の軌跡 (17分間)

本研究により、珪藻細胞の浮遊現象に対する温度の影響を顕微鏡直接観察により可視化した。