

有孔虫の生物学的プロセス研究の進展——微化石生物の古生態を理解するための現生有孔虫生態学——

土屋正史・豊福高志・野牧秀隆
国立研究開発法人海洋研究開発機構

Advances in biological and ecological studies of foraminifera—Ecology of modern foraminifera as indicators for understanding their paleoecology—

Masashi Tsuchiya, Takashi Toyofuku and Hidetaka Nomaki

Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology, 2-15 Natsushima-cho, Yokosuka, Kanagawa 237-0061, Japan.

Abstract. Biological and ecological studies of modern foraminifera are important to solve their paleoecology. Complex internal and external factors of biological processes, such as metabolism, biogeochemical processes, interactions among hosts, endobionts and ambient microbes, strongly affected to the foraminiferal adaptation and evolution. Because foraminifera experience these processes before their fossilization, it is necessary to understand these fundamental biological processes in order to reconstruct their paleoecology and paleoceanography. Here we review recent interdisciplinary culture-based studies on living foraminifera concerning their ecology, calcification, biogeochemical cycles and evolution.

Key words: biogeochemical cycles, biomineralization, ecology, evolution, experimental paleobiology, molecular phylogeny

はじめに

有孔虫 (Foraminifera) は、リザリア (Rhizaria) に属する単細胞真核生物 (原生生物) であり (Pawlowski, 2013), 海洋に広く分布している。その出現は古く、化石記録では約7億2000万~6億4000万年前の地層からチューブ状の膠着質性の軟質殻有孔虫類 (Soft-walled foraminifera) に類似した化石が見つかった (Bosak *et al.*, 2012)。分子系統学的解析に基づく分岐年代の推定では、多室型の分岐を3億5000万年前と仮定した場合、11億5000万年~6億9000万年前に始原的なタイプが分散し、その後、5億9000万年~5億1000万年前に多くの有孔虫類の系統が分岐したと推定されている (Pawlowski *et al.*, 2003) (図1A, B)。有孔虫には、現生、化石種を含めて数多くの種が知られており (Loeblich and Tappan, 1987; Hayward *et al.*, 2016), その多くが石灰質や膠着質の殻を持つ。その殻が化石記録に残りやすいことから、微化石研究の分野では生層序による年代決定や古環境解析に古くから広く用いられてきた。

有孔虫類の中でも、浮遊性有孔虫の形態種群は、地理的な分布範囲が広く (Hemleben *et al.*, 1989; Arnold and Parker, 1999; Schiebel and Hemleben, 2005), 形態の変化も比較的速く起こるため (Cifelli, 1969; Lipps, 1970 など), 示準化石として重要視されてきた。特に、石油探査の際に非常に有用なツールとして重宝されたことから研

究がさらに進展した (Fleisher and Lane, 1999)。また、海洋掘削コアを用いた古環境解析においても、珪藻や石灰質ナノプランクトンなどの微化石とあわせて船上での年代決定に威力を発揮している。

有孔虫は示準化石としてのみならず、示相化石としても有用性が高い。底生有孔虫は、海洋のさまざまな環境、すなわち、広い温度範囲、塩分、溶存酸素量、水深などに異なる種が生息している。そのため、底生有孔虫の群集組成を解析することで、堆積時の環境を推定することができ (Phleger, 1960; 1964), 生息水深や水平分布から水塊の指標として、古海洋環境の復元にも利用されている (Saidova, 1965; Pflum and Frerichs, 1976; Douglas, 1979; Lutze, 1986 など)。浮遊性有孔虫の場合、同一種内でも、殻形態が環境によって変わることが知られているため (Bé *et al.*, 1973; Hecht, 1974; Kenett, 1976), その形態変異からも環境を復元できる。近年では、石灰質殻のマグネシウム・カルシウム比 (Mg/Ca) のような化学成分が、水温をはじめとする環境要因とよく相関することを利用して、より定量的な環境復元が可能になっている (Nürnberg, 1995)。

さらに、1980年代以降の炭酸塩の酸素・炭素同位体比の測定技術の発展と普及は、有孔虫の石灰質殻を用いた生層序や古環境解析に革命的な進展をもたらした。石灰質殻の炭素同位体比の変動曲線を比較することにより、第四紀の年代決定が千年スケールかそれよりも高解像度

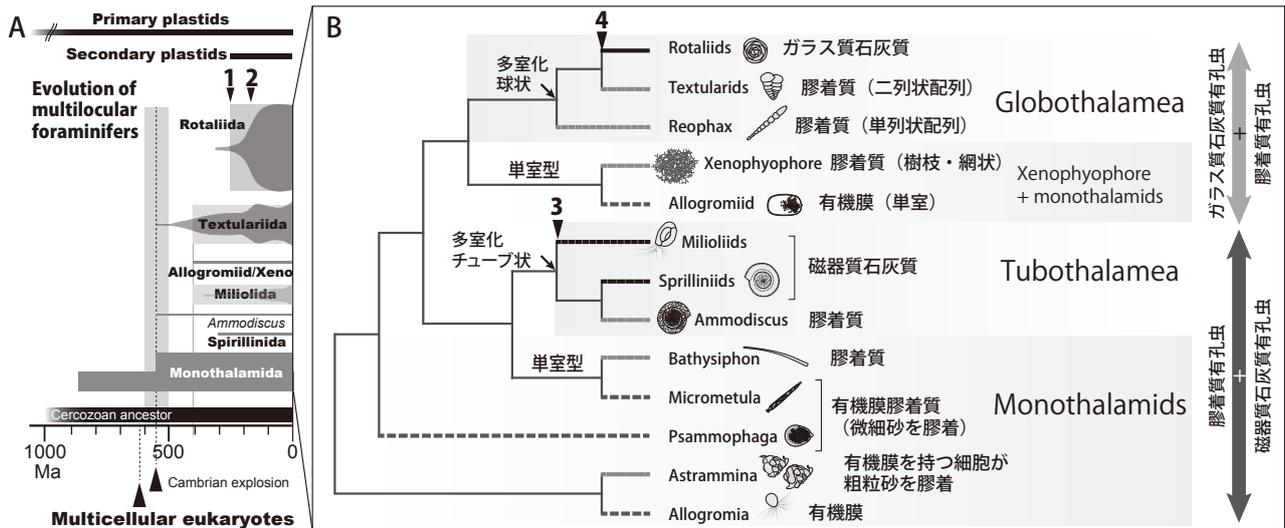


図1. 地球史における有孔虫の進化および有孔虫と共生関係をむすぶ藻類の進化 (A) と、分子系統樹・殻の材質・形態形成の数理モデルを統合した新たな分類体系 (B). 浅野 (1970), 高柳・大森 (1975), Pawlowski *et al.* (2003, 2013), Falkowsky *et al.* (2004), 井上 (2012) を参考に作図した. 図A内の有孔虫の関係は, Pawlowski *et al.* (2013) の進化史に形態分類から明らかになっている多様性変動を重ね合わせた. 分岐年代は, 多室型の化石記録 (350 Ma) を基にした推定値を示しており, 単室型の系統では二つの年代推定値が得られている. ガラス質石灰質有孔虫では, 放散の時期と二次植物進化の同時性 (1) や, 爆発的放散の時期と珪藻類の放散との同時性 (2) がありそう. 図B内の数字は, それぞれ, (3) High-Mgカルサイトの針状結晶を集積させる磁器質石灰質有孔虫と (4) 主に low-Mgカルサイト結晶を殻の形成部位で成長させるガラス質石灰質有孔虫のクレードを示す.

で可能になったほか, 酸素同位体比の変動から極域の氷床量の変動や生息場の水温を正確に復元できるようになった. 現在, 有孔虫の石灰質殻の同位体比測定は更新世の古海洋環境解析において不可欠なツールとして普及している.

有孔虫の生物学の重要性

有孔虫の微化石記録としての有用性は, 有孔虫の多様な殻形態, 速い進化速度, 環境に応じた形態変異や化学組成・同位体比の変化といった生物学的側面に支えられている. 裏を返せば, 有孔虫から古環境を復元する際, また, 有孔虫化石を用いて生層序を決定する際, これらの生物学的側面を理解することは不可欠である. また, 生物学的な理解を進めることで, 有孔虫の化石記録からこれまで以上に多様な古環境情報や進化史を理解することが可能になるであろう. その情報は, 有孔虫の古生態を理解するにとどまらず, 有孔虫が介在する物質循環, 海洋環境変動, 海洋生態系の進化に対する理解をさらに深化させ, 群集の支配要因・形態の支配要因・進化の駆動力といった古生物学に共通するような疑問に答えてくれるに違いない.

有孔虫類を用いる利点は, 石灰質の殻が化石として地層に残るだけではなく, 水温や塩分, pHなど殻に様々な環境のシグナルを同位体比や微量元素組成の違いとして保持することである. また, 浮遊性有孔虫は, 外洋の炭酸カルシウム生産の20~50%を担い (Langer *et al.*, 1997; Schiebel, 2002), 古環境解析を行う上で十分な個

体数を得ることができるほか, 底生有孔虫では, 10 cm²あたりの生息密度は数千個体以上になる場合もあり (Snider *et al.*, 1984; 北里, 1986; Kitazato, 1988; Murray 2006; Nozawa *et al.*, 2006), さまざまな統計解析に必要な個体数を少量の堆積物試料から得ることができる. 化石記録としてもこの豊富な生物量が記録され, しかも連続的に出現するため, その進化史を追跡することができる. このように, 有孔虫類は, 多様な生理・生態でさまざまな環境に適応し, 生物学的なプロセスに応じて古環境記録を保存する.

本稿では, 飼育実験に基づく現生の有孔虫を用いた生態学, 生物学, 地球化学的な観点の研究が, いかにして有孔虫の進化, 古生態, 海洋環境への応答と影響, 物質循環に果たす役割について重要な知見を提供してきたのかを, 筆者らの研究を交えながら紹介する.

現生有孔虫類を用いた飼育・培養実験：実験古生物学的アプローチ

微古生物学の分野において, 現生生物の飼育実験は, 化石として保存される生物がどのような生態で, どのような成長速度を持つ生活環を有しているのか, 殻形態が何に支配されているのかを解明する手段のひとつであり, 「実験古生物学」として研究が展開されてきた (北里, 1981, 1991; 北里ほか, 1993など). 成長速度や生活環・殻形態といった飼育実験で明らかにできる基礎的な情報が, 環境変異型なのか, あるいは遺伝的に安定した形質

なのかを理解することで、化石の殻を持つ意味を理解できる。さらに、有孔虫を含め生物は遺伝的な背景を内包した生体内外の物質循環システムを持ち、生物の代謝システムや石灰化メカニズムの情報を得ることで、どのように殻に同位体比や微量元素濃度といった形で環境情報を記録するのかを明らかにすることができる(図2)。

有孔虫類を用いた飼育実験は、1930年代から行われてきた。平均的な細胞のサイズが数百μmという有孔虫の大きさも、飼育実験を行う上で重要な役割を果たしてきた。飼育実験では1個体ずつシャーレで培養したり、遺伝的に同一と考えられるクローン個体を様々な条件に分けて実験を行うことができる。また、実体顕微鏡や位相差顕微鏡で数十倍から数百倍の倍率で観察することで、

細胞の観察が容易にできるという利点がある。成長や生殖といった生態(Myers, 1938など)や生活環の解明(Grell, 1958など)から、環境を制御した飼育実験(Bradshaw, 1961など)や混合培養系の確立(Seears and Wade, 2013)へと展開し、様々な実験装置を用いた研究が行われてきた(研究例や研究手法については、池谷ほか, 1976; 北里, 1998を参照のこと)。

本邦の研究者を中心とした最近の研究成果の例を挙げると、環境を制御した飼育実験から、房室ごとの同位体比分析を可能にした高感度測定(Ishimura *et al.*, 2008)から浮遊性有孔虫と共生藻との関係を議論したり(Takagi *et al.*, 2015), pHやアルカリ度の変化が底生有孔虫の成長や殻の重さに与える影響が解明されたりしている

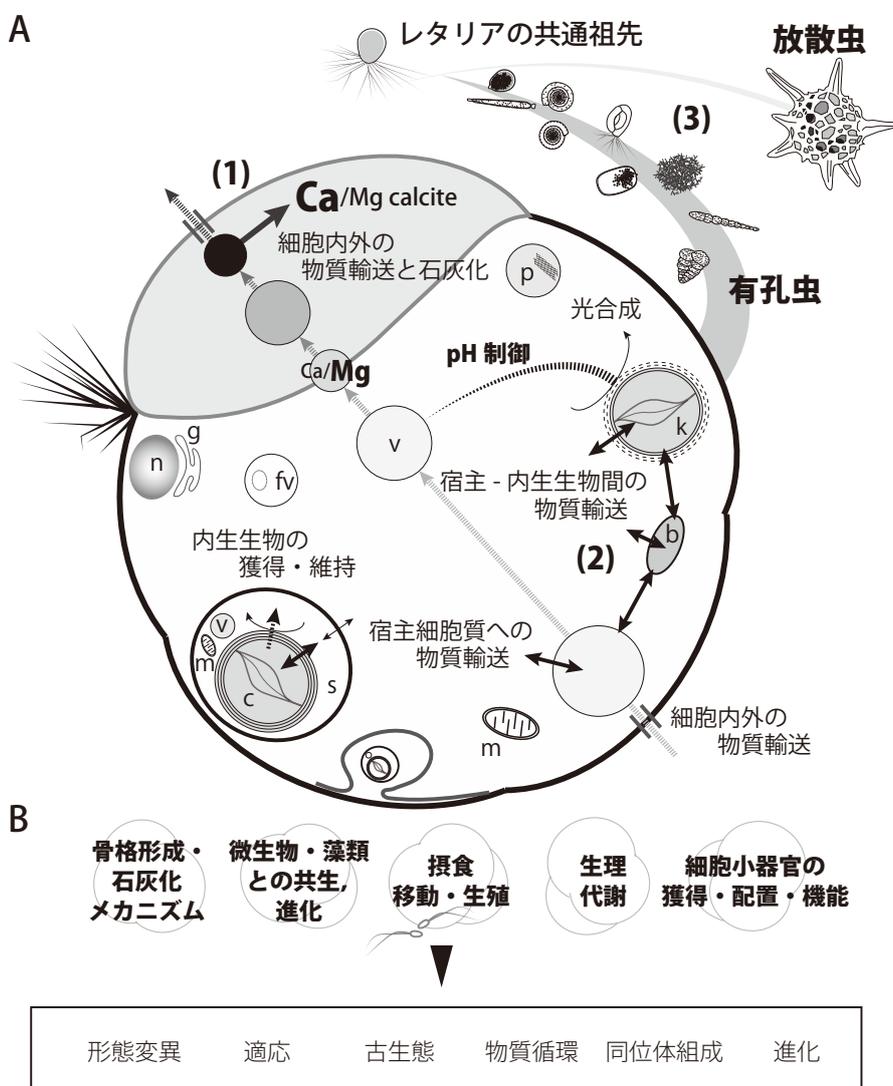


図2. 本論文で主に述べる有孔虫の生体内外の物質輸送と石灰化、進化を模式的に示した図(A)と研究事例(B)。括弧内の数字は、本文中での記述順を示す。図中の実線矢印は細胞内や内生生物との物質のやり取り、点線は現時点で考えられる細胞内外の物質輸送を仮想的に示した。細胞内の各アルファベットは、主要な細胞内器官を示す。核(n)、ゴルジ体(g)、ペルオキシソーム(p)、ミトコンドリア(m)、液胞(v)、食胞(fv)、細菌(b)、共生藻(s)、葉緑体(c)、盗葉緑体(k)。3つの房室を持つ幼体に示した事例は、本論文で対象としている有孔虫の生物学的な研究例(B)。本論文で対象としている有孔虫の生物学的な研究対象と、それに関連する微生物学での研究対象を示した。

(Kuroyanagi *et al.*, 2009; Fujita *et al.*, 2011; Hikami *et al.*, 2011). 生態的な解析では、環境制御実験による殻の微量元素の取り込み (Toyofuku and Kitazato, 2005), 細胞内pH環境の可視化 (de Nooijer *et al.*, 2008, 2009), 同位体標識を施した餌有機物の取り込み (Nomaki *et al.*, 2006 など) や同位体トレーサー実験に基づく貧酸素環境での適応戦略 (Nomaki *et al.*, 2016 など), 交配実験に基づく交配集団の認定 (Kitazato *et al.*, 2000) とそれらの遺伝的な関係 (Tsuchiya *et al.*, 2000, 2003, 2014) など明らかにされている。

飼育実験を介した岩礁地性底生有孔虫 *Planoglabratella opercularis* の交配実験 - 生態 - 形態 - 遺伝子の統合的な解析は特筆すべき成果である (Aizawa, 1987MS; Kanasaki, 1987MS; Kitazato, 1988; Takahara 1989MS; Kitazato *et al.*, 2000; Toyofuku *et al.*, 2000; Takishita *et al.*, 2005; Toyofuku and Kitazato, 2005; Kamikawa *et al.*, 2008; Sakaguchi *et al.*, 2009; Ishitani *et al.*, 2011, 2012; Tsuchiya *et al.*, 2000, 2003, 2014; 土屋ほか, 2015a, b). これまでの研究では、様々な種でそれぞれ様々な視点からの解析が行われていたが、同一種で広範な知見が得られている例は多くはない。

次章以降では、これら有孔虫の飼育実験から得られた成果をもとに、石灰化プロセス、有孔虫の生態と物質循環、有孔虫の分子系統と進化の3つのトピックについて最近の研究成果を概説する。

石灰化プロセスから分かる 有孔虫の殻形態・微量元素・同位体比

石灰質有孔虫を用いた古環境指標

石灰質有孔虫は炭酸カルシウム (CaCO_3) を主成分とする殻を形成する。その殻には、様々な環境情報が保存され、現在の海洋環境だけではなく、古海洋環境の復元にも利用可能な指標となる。では、どのようにして殻の中にその指標となる微量元素や同位体のシグナルが保存されるのだろうか？

近年の分析の高分解能化・高精度化に伴い、有孔虫の石灰化過程に関する知見は急速に蓄積されつつある。微量元素分析では、原子吸光度計 (AAS), 誘導結合プラズマ発光分析 (ICP-AES), 誘導結合プラズマ質量分析計 (ICP-MS) が用いられてきた。最近ではマルチチャンネル化が進み、迅速な多元素同時分析が可能になってきている。また、マルチコレクタ型ICP-MSの登場によって、マグネシウムやカルシウムなど、様々な元素の同位体と比較的短時間で分析できるようになった。さらに、電子線マイクロアナライザ (EPMA) に続き、二次イオン質量分析法 (SIMS) やレーザーアブレーションICP-MSなどが普及しはじめたおかげで、殻内部の微量元素マッピングを高感度で行うことが可能になった (Reichert *et al.*,

2003; Kunioka *et al.*, 2006). これまで数個~数十個体を酸に溶解して元素分析を行い、一つのデータが得られていたのに比べれば飛躍的に分解能の高い情報が得られるようになった。酸素・炭素安定同位体比分析においては、微小領域の切削技術の開発と安定同位体の高感度測定を実現したり (Sakai and Kodan, 2011), 中赤外レーザー分光を用いた同位体測定が開始されたりするなど (Sakai *et al.*, 2014), 分析技術の高精度化・高感度化が急速に進進しつつある。また、従来のデュアルインレット式に代わり、ガスクロマトグラフィー-コンフロ式の試料導入装置を備えた超微量炭酸塩安定同位体比分析システム (MICAL3c) で0.2 μg での精密な分析を実現した (Ishimura *et al.*, 2008). これによって有孔虫の成長に伴う炭素同位体の変動を房室 (チャンバー) 単位で分析できるようになった (Takagi *et al.*, 2015 など). 一方で、卓上型の走査電子顕微鏡にもエネルギー分散型の元素分析計を追加できるようになった (SEM-EDS). これは分析感度は劣るが、気軽に無蒸着試料で元素分析が行えるため、有孔虫の前処理などで汚染を簡易に検査する際に重宝される。顕微ラマン装置や顕微FTIR装置も普及してきた。これらは分子の結合状態の光学的特性を捉えることができる。そのため、有孔虫の壁孔に充填された極小の硫化鉄粒などを対象に鉱物同定が行える (Tachikawa *et al.*, 2013). 物性分析の側面では、殻構造の三次元構築を行うためのマイクロX線CT (MXCT) が普及しつつある。国内では東北大学博物館に微化石用MXCTがいち早く導入され、浮遊性有孔虫の溶解過程の検討で有用性を発揮した (Iwasaki *et al.*, 2015). 飼育実験で得られる有孔虫試料は数が限られるという欠点があるが、分析手法の高度化・高精度化のおかげで、各種分析に最大限用いられる環境が整いつつある。

微量元素・同位体が殻に取り込まれる化学的背景

石灰質有孔虫の殻には海水に溶解している様々な元素が取り込まれる (図3A, B) (Lea, 1999; de Nooijer *et al.*, 2014). 殻に取り込まれる元素とその同位体比は、石灰化時の海水中の濃度と水温・圧力などの物理環境に比例しており、環境プロキシーとして利用できる。

有孔虫殻の微量元素組成・同位体比を用いた古環境プロキシーを用いるためには、環境による殻の組成・同位体比の変化を評価し、校正 (キャリブレーション) する必要がある。キャリブレーションは、天然の試料を用いて、現場での環境観測やWorld Ocean Atlas, 日本海洋データセンターなどから引用した環境情報と比較する手法と、室内で環境を制御した飼育実験を行い、殻の組成がどのように変化するかを更に細かく検討する実験的手法がある。現場では、環境は常に変化しているため、キャリブレーションにも環境変化の影響が内包される。飼育実験では、特定の環境条件を一定にしたり、変化させた

りと制御することができるため、環境指標として着目している微量元素・同位体比と、対象としている環境因子の相関を直接評価することができる。

古環境復元で利用されている代表的な微量元素や同位体比を使ったプロキシは、海水の化学組成の復元を目指すものと、物理環境の復元を目指すものに大別できる。水塊中での濃度が栄養塩濃度と密接に関連し、生物生産を推定することができるものに、カドミウム・カルシウム比 (Cd/Ca)、バリウム・カルシウム比 (Ba/Ca)、炭素同位体比 ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) がある。Cd/Ca と $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ はリン酸塩濃度と、Ba/Ca はアルカリ度やケイ酸塩濃度とそれぞれ相関がある (Boyle, 1981; Zahn *et al.*, 1986; Lea and Boyle, 1989)。例えば、化石有孔虫の Cd/Ca が高いことは、当時の海水のリン酸塩濃度が高かったことを示している。

また、海水中の元素の存在状態が化学的な環境の変化に伴って変化するプロキシとして、ウラン・カルシウム比 (U/Ca)、バナジウム・カルシウム比 (V/Ca)、ホウ素・カルシウム比 (B/Ca) およびホウ素同位体比 ($^{11}\text{B}/^{10}\text{B}$) がある。ウランとバナジウムは海水の酸化還元状態によって存在状態が変化する。例えばウランでは、酸化的環境下では UO_2^{2+} の形で海水に溶存しているが、還元環境下では $\text{U}(\text{OH})_4$ の形をとり、海水に不溶となり堆積物粒子へ吸着するなどして、海水中の濃度は減少する。元素の有孔虫殻への取り込み量は、海水中の元素の濃度に比例するので、堆積物コアで有孔虫殻の測定を行えば、これら元素の海水中の濃度の増減が復元でき、その結果、貧酸素環境の消長を解析することができる (Russell *et al.*, 1994, 1996; Hastings *et al.*, 1996; Boiteau *et al.*, 2012)。

ホウ素同位体比は、過去の海水中の pH を推定するプロキシとして近年大きく発展した (Spivack *et al.*, 1993; Sanyal *et al.*, 1996)。海水中にはホウ酸 $\text{B}(\text{OH})_3$ とホウ酸塩イオン $\text{B}(\text{OH})_4^-$ が存在する。この二者の相対的な存在量は pH に依存するとともに、同位体分別がおきる。有孔虫殻を構成しているカルサイトには、イオンである $\text{B}(\text{OH})_4^-$ だけが取り込まれるので、これらの関係を用いて有孔虫殻のホウ素同

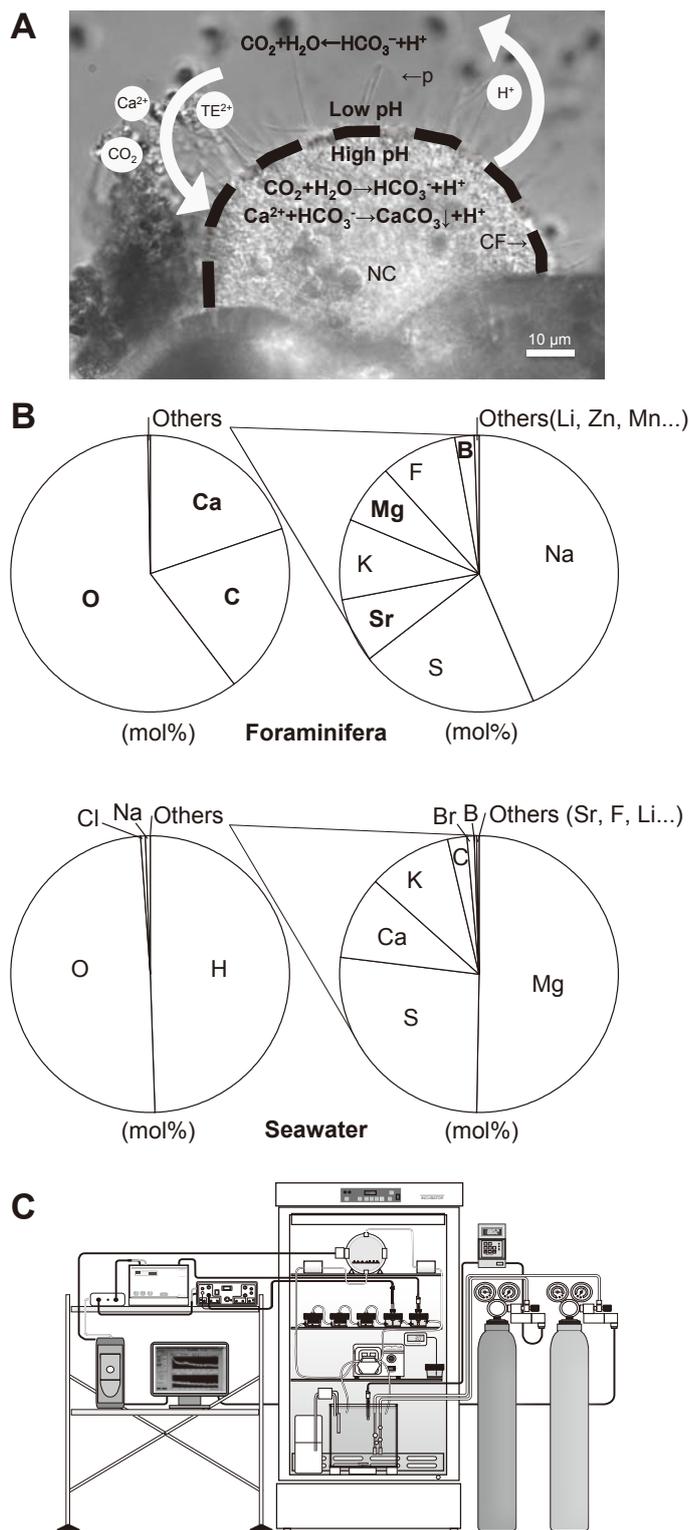


図3. 石灰化プロセスから分かる有孔虫の殻形態・微量元素・同位体比 (A, B) と精密環境制御実験装置の概念図 (C)。 (A) 底生有孔虫 *Ammonia* sp. の房室形成中における微分干渉顕微鏡像。仮足 (p)、形成中の殻壁 (CF)、新たな房室 (NC)。点線部の有機膜上に石灰分が沈着する。海水に含まれるイオンが有孔虫の殻に取り込まれ、固定される過程であり重要である。石灰化中は殻の内外の数マイクロメートルの間で pH の隔りがある (Toyofuku *et al.*, 投稿準備中)。 (B) 有孔虫殻 (上) と海水 (下) に含まれる元素の重量比 (Lea, 1999; de Nooijer *et al.*, 2014; Broecker *et al.*, 1982)。太字は同位体比がプロキシとして活用されている元素を示す。海水に含まれる様々な元素が微量元素として取り込まれている。元素の割合は大きく異なり、生物過程の影響が示唆される。Mg は種毎に変異し 3% 程度含まれていることがある。 (C) ケモスタット水槽模式図。有孔虫殻の石灰化や取り込まれる元素・同位体比に生育環境が与える影響を評価できる。系をインキュベータに取めることで水温環境が制御できる。溶存酸素計や pH 計で水槽の環境をモニタリングし、様々なガスや溶液を自動的に添加できる。たとえば二酸化炭素を添加し、近未来に予想される酸性化した海洋環境を創出し、有孔虫に与える影響を評価する。また通常的水槽のほか、高圧ポンプを用いることで加圧チャンバーを接続することも可能である。

位体比をpHのプロキシとして利用できるようになる(Hönisch and Hemming, 2004).

滞留時間が短く、地圏などから海洋への流入量によって海水中の濃度が変化するような元素では、その濃度や同位体比が流入量のプロキシとなる。リチウム・カルシウム比(Li/Ca)とその同位体比($^6\text{Li}/^7\text{Li}$)、ストロンチウム同位体比($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$)、ネオジウム同位体比($^{143}\text{Nd}/^{144}\text{Nd}$)、カルシウム同位体比($^{44}\text{Ca}/^{43}\text{Ca}$)が代表的な指標である(Palmer and Elderfield, 1986; Richter and DePaolo, 1987; Zhu and Macdougall, 1998; Košler *et al.*, 2001). 例えば、リチウムは海底熱水活動や海洋底拡大が活発になると、地殻から海洋へ供給される。そのため、堆積物コアの有孔虫殻のLi/Caや同位体比の変化から、過去の地殻活動の盛衰を推定できる。また最近になって、Na/Caを塩分の指標とする試みが報告されている(Wit *et al.*, 2013).

物理環境については、元素や同位体の取り込みが水温などの物理的な因子によって変化することに注目したプロキシが提案されている。海水中の滞留時間が長く、海洋中の分布に偏りが少なく、海水の主成分となっている元素が利用されている(Broecker *et al.*, 1982).

これまでに報告されている水温プロキシとしては、マグネシウム・カルシウム比(Mg/Ca)、酸素同位体($^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$)、ストロンチウム・カルシウム比(Sr/Ca)、フッ素・カルシウム比(F/Ca)があげられる(Emiliani and Edwards, 1953; Savin and Douglas, 1973; Cronblad and Malmgren, 1981; Rosenthal and Boyle, 1993).

酸素同位体比は殻への取り込みの際に水温とpH以外の影響をあまり受けず、有孔虫種ごとの変異が少ないために信頼性の高い水温指標として応用されている。地質学的な時間スケールでは海水の酸素同位体比は、全球的な氷床の消長に対応する淡水の流入によっても変化する(Emiliani, 1955)。氷期には両極域に氷床が発達し、 ^{16}O に富む淡水が氷として陸上に滞留するため、海洋の酸素同位体比は正に、間氷期には氷が溶解し、淡水の流入が増加するため海洋の酸素同位体比は負に、相対的な変動を示す。これを全球的な海水準変動の指標とすることで、第四紀の氷期-間氷期サイクルを反映した酸素同位体比曲線を得て、コア間の年代比較にも用いられている(Zachos, 2001).

有孔虫のMg/Caは、石灰化時の水温によって変化し、高水温でより高い値を示す性質を持つため、Mg/Caは水温の指標として用いられる(Nürnberg, 1995など)。有孔虫のMg/Caは他の元素に比べ、その含有量に有孔虫種ごとの変位が大きい特徴がある。多くのガラス質石灰質(Hyaline)有孔虫(Rotaliidなど)では、Mg/Caは2~10 mmol/molである(Lea, 1999)。これに対して、磁器質石灰質(Porcelaneous)有孔虫(Milliolid)やごく一部のガラス質石灰質有孔虫では、Mg/Caが100 mmol/mol以

上である(Toyofuku *et al.*, 2011)。前者を低Mg(low-Mg)カルサイト、後者を高Mg(high-Mg)カルサイトと呼ぶ。海水のMg/Caは5.1程度であり(Broecker *et al.*, 1982)、ここから無機的にカルサイトを沈着した場合、殻のMg/Caは100~200 mmol/molと予想され、概ね高Mgカルサイト種と同様の値になる(Katz, 1973)。海水のMg/Caは100万年より以前では時代とともに徐々に変化しており、水温復元に応用する上では意識しておく必要がある(Stanley, 2008)。

精密環境制御培養実験

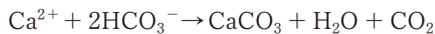
上述のように、有孔虫殻の元素組成・同位体比は様々な環境因子によって変化する。そのため、より信頼性の高いプロキシを確立するためには、天然の試料に加えて、精密に環境因子を制御した飼育実験を行った上で、殻の微量元素組成・同位体比と比較してキャリブレーションする意義は大きい。飼育実験による有孔虫殻の微量元素組成・同位体比と成長環境との関係についての研究は、1980年代に開始された。Erez and Luz (1983)は、浮遊性有孔虫*Globigerinoides sacculifer*を14°Cから30°Cの範囲で9つの水温条件で飼育し、成長に伴って実験期間中に付加した殻の酸素・炭素同位体比と環境因子(水温)とを比較した。殻の酸素同位体比は高水温条件下で成長した殻ほど低い値を示し、同位体比と水温の関係は二次式に近似された。また、炭素同位体比は高水温条件下で成長した殻が低い値を示す傾向にあった。このような飼育実験を通じたプロキシの評価は年々増加している。水素イオン濃度(Rollion-Bard and Erez, 2010)、全炭酸量(Dissard *et al.*, 2010)、炭酸イオン濃度(Spero *et al.*, 1997; Elderfield *et al.*, 2006)、海水のMg/Ca(Mewes *et al.*, 2014, 2015)、溶存酸素量(Nardelli *et al.*, 2014)、圧力(Wollenburg *et al.*, 2015)などの条件を変化させた飼育実験や、殻成長の影響評価(Spero *et al.*, 2015)などを精密に制御する実験(Hintz *et al.*, 2004など)が行われている。これらの研究により、有孔虫プロキシを洗練化するとともに、人為環境改変による微化石生物への影響を評価することができるようになりつつある。特に海洋酸性化の影響評価に関わる研究がこの10年で勃興してきている。石灰化時のpHおよびpHに支配される炭酸系(二酸化炭素 \rightleftharpoons 重炭酸イオン \rightleftharpoons 炭酸イオン)の平衡状態が、有孔虫殻の元素、同位体比を用いた古環境指標の評価に不可欠となっている。また、後述する海洋酸性化の影響評価を念頭に置いた実験系も構築されている。本邦では二酸化炭素分圧を調整した飼育実験を実施することを目的として、精密CO₂分圧調整飼育装置(AICAL装置)が開発されており、有孔虫飼育実験でも成果を上げている(Fujita *et al.*, 2011; Hikami *et al.*, 2011)。われわれの研究グループでも同様の制御装置(ケモスタット水槽: Chemostat Continuous Cultivation System: C3S)を

構築してpHを制御し、底生有孔虫殻への影響を検討している(図3C)。さらに、加圧チャンバー(Wollenburg *et al.*, 2015)や高圧顕微鏡システムを組み合わせるなど、工夫次第で様々な環境を室内に再現し、有孔虫の生体に対する影響を直接評価できる魅力がある。

石灰化プロセスにおける有孔虫細胞の役割

ここまで有孔虫殻の微量元素組成・同位体比に着目したプロキシーが大きく発展していることを紹介した。このような、環境要因と殻組成との関連は、有孔虫の種類により大きく異なることが知られている。これは生物学的効果(vital effect)と呼ばれている。海水中や細胞内から殻へと元素が固定される分配過程が、それぞれの種の代謝によって少しずつ異なることを示している。有孔虫の殻形成は、海水中のカルシウムイオンや溶存無機炭素を炭酸カルシウムとして固定する過程であり、有孔虫の生産性の高さを鑑みると海洋・全球における炭素・カルシウムの生物地球化学循環の重要な経路の一つである。

従来から、同位体トレーサーを用いた培養実験や、詳細な顕微鏡観察を通じて、有孔虫殻の石灰化過程を解明しようとする試みが行われてきた。有孔虫はカルシウムイオン(Ca²⁺)と重炭酸イオン(HCO₃⁻)を海水から細胞内に取り込み、石灰化に供していると考えられている。海水から殻が沈着するという視点で化学式にまとめると、



となる。ここで、同位体標識したカルシウムイオンや重炭酸イオンをトレーサーとして溶解した海水を用いて、有孔虫に殻形成させることで、それぞれのイオンの有孔虫細胞内の滞留時間の推定、細胞内に炭素やカルシウムなどの材料を集積する場(プール)の有無や、その大きさについて、種ごとに違いがあることがわかってきた(Angell, 1979; Anderson and Faber, 1984; ter Kuile and Erez, 1987; Lea *et al.*, 1995; Erez, 2003)。また、殻の成長過程については、透過型電子顕微鏡(TEM)観察を含む、詳細な時系列観察が多数報告されている(Angell, 1967; Bé *et al.*, 1979など)。これらの研究成果によって、有孔虫は殻形成に先駆けて、仮足によって鋳型となる有機膜(Primary Organic Sheet = POS)を新たな房室の形に構築し、有機膜上に炭酸カルシウムを沈着することが推察された。近年は、蛍光プローブを用いて石灰化中のカルシウムイオン濃度やpHの変化を可視化し、殻形成に関わる微小環境の時空間変動を計測する試みがなされつつある。Toyofuku *et al.* (2008)は、有孔虫細胞内のカルシウムイオンの挙動を可視化する手法を開発した。一方で、炭酸イオン(CO₃²⁻)や重炭酸イオン(HCO₃⁻)などの陰イオンの可視化は難しい。その代わりに、炭酸系の平衡を支配するpHを可視化する方法を確立した(de

Nooijer *et al.*, 2008)。海水の全アルカリ度を別に分析すれば、pHから炭酸系の平衡状態を推定し、炭酸イオンや重炭酸イオンの濃度を求めることができる。これら2つの方法を組み合わせ、底生有孔虫 *Ammonia* sp. について、殻形成時のpHとカルシウムイオン濃度を可視化した結果、細胞内のpH環境が劇的に変化していることを見いだした(de Nooijer *et al.*, 2008)。殻を形成していない時は、細胞内のpHは概ね海水よりやや低く(～7)、カルシウムイオン濃度も低かった。しかし、殻形成時には石灰化部位に限って細胞のpHが上昇した(>9)。この時、有孔虫周囲のpHは有孔虫を中心に同心円状に低下し、石灰化部位に近接する場所で最も低い値を示した(<7)。このpHの低下によって海水中では重炭酸イオン濃度が減少し、二酸化炭素濃度が増加する。重炭酸イオンは細胞膜を透過できないが、二酸化炭素は細胞膜を浸透できるため、石灰化部位へ炭素を運びこむのに有利に働いていることが推測できる。カルシウムイオンは、殻形成に依りて、新たに形成される最終房室周辺において、カルシウム濃度の増加が観察された。以上の観察から、殻形成に伴って、有孔虫はpHやカルシウムを細かく制御する機序を持つことが改めて確定的となった。石灰化の開始時には細胞内のカルシウム濃度はそれほど高くなっておらず、石灰化中に海水から取り込んでいることが疑われる。新規に沈着した房室には、殻形成の開始後に添加した同位体標識カルシウムが海水から取り込まれており(Nehrke *et al.*, 2013)、上記の現象は、これと調理的である。さらに、有孔虫殻のカルシウム同位体比やマグネシウム同位体比はいずれも海水に比較して低い値を示す(Zhu and Macdougall, 1998; Yoshimura *et al.*, 2011)。これは、一般にvital effectによってこれらの元素が選択的に取り込まれたと解釈される。また、殻のマグネシウム含有量が多い高Mgカルサイトの種よりも、低Mgカルサイトの種ほどマグネシウム同位体比が低いことから、より強い同位体分別が起きていることを示唆する。最近では石灰化中の有機膜にカルシウムイオンがどのように沈着するのかについて、原子レベルの *in situ* 観察が始まっている(Branson *et al.*, 2015)。今後、分析を積み重ねることで、殻形成中のカルシウムや炭素の取り込み機序と、POSと殻に見られる微量元素濃度や同位体比組成の違いといった、殻構造に沿った微量元素の特徴的な分布の謎を解明できるであろう(Toyofuku and Kitazato, 2005; Kunioka *et al.*, 2006; Steinhardt *et al.*, 2015)。

石灰化過程からみた有孔虫の殻形態

殻形成に加え、殻形態を理解する試みも進んでいる。有孔虫の殻の配列を数理モデルで解析する試みは長く続いているが、近年、殻形成時の生態情報をモデルに取り込むことで様々な形態の再現に成功した。従来の有孔虫殻形態モデルでは、geometric model(幾何モデル)

(Berger, 1969), allometric theoretical models (相対成長理論モデル) (De Renzi, 1988; 1995 など) が提案されていた。しかし、これらの数理モデルでは、すべての形態型を再現することはできなかった。Brasier (1982) は *Lenticulina* を除く多くの Polythalamia 有孔虫において、初室 (proloculus) の口孔から最終房室の口孔までの経路を global communication path (GCP) と定義し、外界との情報交換コストを最低限にするために、GCP が最短距離に配列が決まることを指摘した。Tyszká and Topa (2005) はこの考えを取り込み、moving reference approach として新たな房室を付加させるときの基準点が次々に移動するという、実際の有孔虫の殻形成に類似したモデルを構築し、広範な有孔虫種の形態を記述することに成功した。Yoshino *et al.* (2009) はその配列に着目することで、ほぼすべての現生浮遊性有孔虫の形態を再現することに成功している。最近では、マイクロX線CT (MXCT) を利用し、実際の浮遊性有孔虫の形態を、外から見えない部分まで画像取得した上で、形態モデルのパラメータ化にも成功した (岸本・木元, 2016)。一方で、有孔虫は様々な殻構造や結晶構造を示すが、これを決定する因子は明らかではない (Haynes, 1981; Debeney *et al.*, 2000; Nomura and Takayanagi, 2000; Nomura, 2001)。有孔虫のゲノム解析などの進展によって、殻構造を支配する殻形成や石灰化に寄与する遺伝的な背景が解明されることを期待したい。

海洋酸性化が有孔虫に及ぼす影響

人間活動に由来する二酸化炭素排出量は、1750年から2011年までの間に 2040 ± 310 Gt であると見積もられているが、その30%は海洋に溶解し、海洋酸性化の原因になっていると考えられている (IPCC, 2014)。モデルによって差はあるが2100年には海水のpHが7.6~7.9程度まで低下するという予測が報告されている (Rhein *et al.*, 2013)。pHが0.3低下することは、海水中の水素イオン濃度が現在の約2倍にもなることを示している。その結果、海洋の炭酸系をはじめとする化学平衡が変化し、徐々にではあるが確実に海洋を酸性側へ変化させている。そのため、海洋生物と生態系に深刻な影響を与える可能性が指摘され、世界的な環境問題として注目を集めている (Rhein *et al.*, 2013)。

海洋酸性化が進んだ場合、有孔虫も成長が阻害されるおそれがある。有孔虫は海洋の主要な炭酸塩生産者であるので、その生産量の変化は海洋全体の物質循環に影響を与える可能性があり、その影響の評価が必要である。先に紹介したとおり本邦でも、pHを変えた有孔虫の飼育実験が行われている (Kuroyanagi *et al.*, 2009; Fujita *et al.*, 2011; Hikami *et al.*, 2011)。これらの実験の結果、磁器質の *Amphisorus kudakajimensis* では、pHが低下すると殻の重さを指標とした成長量が単純に減少した一方で、

ガラス質の *Calcarina gaudichaudii* では増加した。一方、重炭酸の濃度変化、つまりアルカリ度の変化は、成長量には影響を与えない (Hikami *et al.*, 2011)。Keul *et al.* (2013) は、これら3つの実験を含め多様な種を対象とした25の先行研究の結果をまとめた。これまでの研究では実験系のpHを制御する方法も様々である。有孔虫への影響は多様で、石灰化量はpHの低下とともに減少する種や増加する種、中くらいのpHで最も成長する種が見られ、種間で利用可能な炭酸系の形態の違いを反映しているのではないかと考察している。また、細胞内共生藻類の種類や宿主の代謝、共生藻類の代謝、宿主細胞質への寄与によって、殻の形成にも大きく影響を及ぼす可能性が考えられる。海洋酸性化問題では、石灰化とともに溶解過程も重要である。たとえばIwasaki *et al.* (2015) は、セジメントトラップを用いた研究から浮遊性有孔虫の隔壁の厚さや密度、結晶構造といった殻構造の違いによって保存される度合いが変化することを見出した。海洋のpHが低下した場合も、殻構造によって、異なる溶解様式を示すことが想像されるが、その検討は今後の課題である。

有孔虫が関与する物質循環研究の進展

海底物質循環における有孔虫の役割

海洋底には、原核生物や単細胞真核生物、多細胞無脊椎動物から1mを超える底生の魚類まで、様々な生物が生息している。これらサイズごとの生物の分布パターンには、水深との関連性が報告されている。一般に、水深が深くなるほど、群集全体のバイオマスのうち大型生物が占める割合は減少し、メイオファウナ (定義にもよるが、500 μm の篩を通り抜け、44 μm の篩に残るサイズの生物) やバクテリアのような小型の生物が占める割合が増加する (Rex *et al.*, 2006)。有孔虫は、深海のメイオファウナの主要な分類群であり、メイオファウナの中では線虫と並ぶか、それ以上のバイオマスを持つ (Snider *et al.*, 1984 など)。そのバイオマスの大きさから、有孔虫が深海底の物質循環、特に海洋表層から沈降してくるファイトデトリタス (主に植物プランクトンを由来とする有機物の凝集体で、それらの遺骸やその分解物などから成る) の消費過程に果たす役割は大きいと考えられてきた (図4)。前述のように、有孔虫の出現は少なくとも6億9000万年前に遡ることから (Pawlowski *et al.*, 2003)、有孔虫による海底面での有機物消費の程度は、地球史を通じた大気CO₂濃度の変動や、堆積物中に埋没されていく有機物量、そして埋没有機物がもたらした堆積物深部での石油生成などに大きな影響を及ぼしたはずである。しかし、深海に生息する生物の代謝活性を直接的に調査するのは困難であり、検証は進んでいなかった。

1990年代から、無人潜水機、有人潜水艇による深海調

査の一般化と、海洋生態学における安定同位体比測定の普及により、安定同位体トレーサーを用いて深海生物の代謝活性（主に摂餌、同化量）が海底の現場で測定されるようになった（Blair *et al.*, 1996; Levin *et al.*, 1997）。具体的には、 ^{13}C や ^{15}N といった、自然界では存在量の少ない同位体の割合を人工的に増加させた有機物（たとえば微細藻類細胞など）を潜水船を用いて海底に散布し、数日から数週間後に海底堆積物を回収して、そこに生息する生物細胞や腸管内容物、バイオマーカーに取り込まれた ^{13}C や ^{15}N の量を測定するという手法である。この手法では、実験室よりも天然に近い条件での代謝活性を測定でき、海底面での物質循環についてより現実に近い値が得られる。実際に、ほぼ同条件の同位体トレーサー実験を深海底（水深1,450 m）と実験室内で行ったところ、有孔虫の実験室での藻類の摂取速度は現場の1/10程度で

あったことから、現場での活性測定の重要性が分かる（野牧, 未公表データ）。1990年代後半から2000年代には、同位体トレーサー実験を用いた海底での物質循環と各生物分類群の重要性について、浅海から深海平原、極域から熱帯域、貧栄養海域から富栄養海域まで数多くの海域で報告されている（Middelburg *et al.*, 2000; Moodley *et al.*, 2000, 2002; Aberle and Witte, 2003; Witte *et al.*, 2003; Nomaki *et al.*, 2005b, 2006, 2011; Woulds *et al.*, 2007）。これらの研究から、海底の有機物消費過程における有孔虫の重要性は海域により異なるものの、有孔虫が単位バイオマスあたりに摂取する有機物量はどの海域でも他の生物よりも大きく、有孔虫のバイオマスの大小が、海底面での有機物消費量を支配している可能性が示唆された（Gooday *et al.*, 2008）。また、有孔虫が細胞内で特定の脂肪酸を選択的に分解したり、ステロールの合成などを

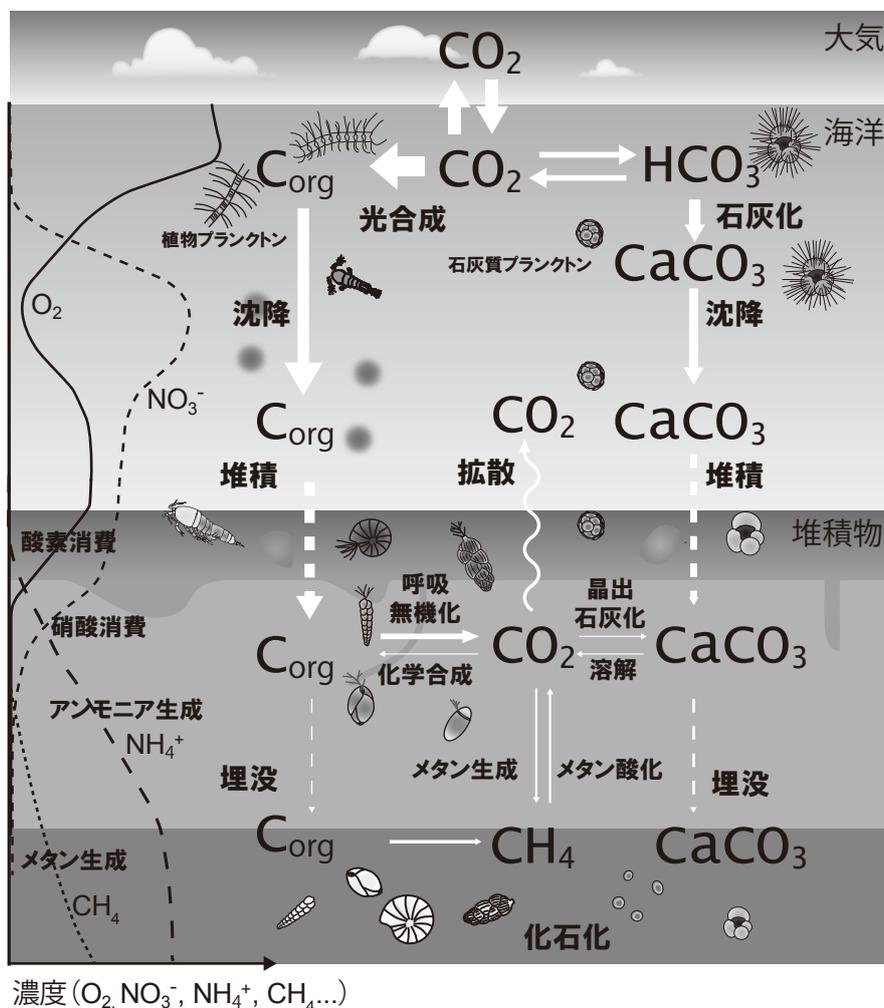


図4. 海洋の物質循環（主に炭素循環）と、有孔虫の果たす役割。浮遊性有孔虫は、海洋表層で共生藻類とともに有機物の形で二酸化炭素を固定し、石灰化によって炭酸カルシウムの形で無機炭素を固定する。それらの有機物、炭酸カルシウムは、珪藻などの植物プランクトンによって生産された有機物とともに、従属栄養生物による分解を受けながら沈降し、海底に堆積する。底生有孔虫は、沈降してきた有機物を酸素や硝酸塩を用いて酸化し、エネルギーや栄養を得る。それに伴い、堆積物の深度とともに有機物濃度、酸素濃度、硝酸塩濃度などは減少し、一方で有機物の分解に伴い生成されるアンモニウムイオン濃度などは上昇する。これらの化学環境が、生物の代謝のみならず、有孔虫の石灰質殻の保存、溶解を左右する。

行ったりすることで、海底面での有機物変質・合成に質的にも貢献している (Nomaki *et al.*, 2009).

有孔虫は、このように、ファイトデトリタスの消費とその後の分解過程に、海域によってはバクテリアと並んで重要な役割を果たしている。さらに、有孔虫は甲殻類、軟体動物、環形動物など、さまざまな海洋生物のエサ、すなわち栄養源、エネルギー源でもあり (Hickman and Lipps, 1983; Herbert, 1991; Gudmundsson *et al.*, 2000; Nomaki *et al.*, 2008)、深海生態系の食物網構造においても重要な役割を果たしている。過去の深海底においても、有孔虫の出現が食物網構造を変化させ、結果的に海底面での有機物の無機化、埋没過程に変化を及ぼしたであろう。

近年の研究では、光合成に由来する海洋表層からの沈降有機物だけでなく、化学合成独立栄養微生物が光の届かない水柱の中深層もしくは海底で生産した有機物が、深海生態系において利用されていることが示唆されている。これらの化学合成独立栄養微生物は、たとえば水素やアンモニウムイオン、硫化水素などを酸化することによりエネルギーを得て、有機物を合成している。海洋の中深層では、化学合成による有機物生産が沈降有機物に依存した従属栄養生物の生産量とほぼ同程度であるという報告もある (Reinthal *et al.*, 2010)。深海底堆積物からも、独立栄養、もしくは混合栄養と考えられるアンモニア酸化菌の遺伝子が多数検出されており (Francis *et al.*, 2005)、通常の深海底、すなわち熱水噴出孔や冷湧水帯ではない海底でも、化学合成独立栄養微生物による有機物生産が有孔虫を含む深海生態系の栄養源として重要である可能性も考えられる。地球生命の共通祖先は熱水域などに生息する化学合成独立栄養微生物である可能性が高いと考えられることから (Takai *et al.*, 2006; Ueno *et al.*, 2006)、化学合成細菌は地球史を通じた海洋生態系において重要なプレイヤーであり続けたのであろう。これらの化学合成独立栄養微生物による有機物生産が、海洋の化学環境変化によりどのように変動し、食物網のより高次に位置する生物の消長にどう影響してきたのかは、地球史の解釈と海洋生態系の進化に新たな視点をもたらすと期待される。

化石には残らない軟質殻有孔虫 (soft-walled foraminifera)

底生、浮遊性を問わず、有孔虫の研究は石灰質や膠着質など化石として保存される殻を持った種を中心に行われてきた。そのため、現生の底生有孔虫研究においても、化石に残る分類群を対象とし、堆積物を適当な大きさの目合いを持つ篩で洗ったのちに乾燥させ、その残査を鏡検するという手法が一般的に用いられてきた (尾田・佐藤, 2013)。一方、堆積物を弱い水流を用いて篩で洗浄したのちに20%エチレングリコール水溶液に保存し、それ

を鏡検すると、これまでの手法ではほとんど確認されなかった、有機質や膠着質の壊れやすい殻を持つ「Soft-walled有孔虫」が数多く分布していることが明らかになった (Gooday, 1986b; Todo *et al.*, 2005; Nozawa *et al.*, 2006; Ohkawara *et al.*, 2009; Ohkawara, 2011MS)。有孔虫群集に占める soft-walled 有孔虫の割合は、深海では特に高く (Gooday *et al.*, 2004)、時に97%を占めることもある (Snider *et al.*, 1984)。このことは、従来の有孔虫群集の研究においては、深海底で群集の大部分を占める soft-walled 有孔虫が見逃されておられ、有孔虫が物質循環に果たす重要性を過小評価していたことを示す。Soft-walled 有孔虫の生態についてはそれほど理解が進んでいないが、同所に分布する石灰質有孔虫に比べると、ファイトデトリタスの摂取量は小さい (Enge *et al.*, 2011)。貧栄養環境に生息している soft-walled 有孔虫にみられるステルコマータ (Stercomata) と呼ばれる細胞内微細構造は、内在するバクテリアによって難分解性有機物の利用を可能にし (Gooday *et al.*, 1997)、soft-walled 有孔虫の貧栄養環境への適応の一因になっていると考えられる。一方で、有明海の柳川干潟では、soft-walled 有孔虫の一分類群である Saccaminiid が *Ammonia* sp. に次いで優占する群集であったことから、有機物に富む泥底環境においても、条件を整えば優占するらしい (野牧, 未公表データ)。東赤道太平洋の深海平原 (水深5,300m) においても、マンガ団塊採掘を模した環境攪乱実験後の群集構成は、攪乱直後では Allogromiid の個体数が減少するものの、攪乱1年後には個体数が攪乱前よりも増え、攪乱2年後には Komokiacea などの堆積物中に根を生やすような生態を持つ種類が増加し、擾乱に対する耐性と回復力を示した (Kitazato and Okamoto, 1997)。このように、soft-walled 有孔虫は深海平原や海溝に特徴的な、“静的”な分類群というこれまでの見方は変わりつつある。これらの種が何を食べ、どれほど活発に有機物や酸素を消費しているのかは、深海堆積物中の物質循環や環境変化を考える上で非常に重要である。しかし、個体の小ささ (一般に100 μ m以下の種が多い) などから各種の研究が遅れているのが現状である。

有孔虫の生態学的研究は、主に石灰質殻有孔虫を中心に進められてきた。前述したように、化石種、環境指標種の多くが石灰質有孔虫であること、ある程度の大きさ (一般に300 μ m~1mm) を持つ硬い殻を持ち、ハンドリングが比較的容易であること、また、バイオマスが大きいために各種分析に必要なサンプル量が確保しやすいこと、などが主な理由である。しかし、たとえば先述の同位体トレーサー実験での分析を行うための元素分析計や質量分析計などの感度は近年向上しており (Ogawa *et al.*, 2010)、細胞サイズの小さい soft-walled 有孔虫の各種分析も可能になりつつある。また、soft-walled 有孔虫の一種である *Allogromia laticollaris* と微細藻類2種 (*Dunaliella*

tertiolecta, *Isochrysis galbana*) との混合培養系が確立されており, 各種飼育実験, 代謝量測定, 代謝産物分析, 遺伝子解析, なども可能になり, 大量培養後のステロール分析などが行われている (Grabenstatter *et al.* 2013). 今後 soft-walled 有孔虫の生態について新たな知見が産まれてくるであろう.

堆積物中の鉛直分布とその支配要因

有孔虫の石灰質殻の炭素同位体比は, おおむね周囲の海水の無機炭酸の炭素同位体比を反映している. ところが, 同一地点に生息する底生有孔虫種でも, 炭素同位体比に違いがみられることがあり, この原因については長く議論となっていた. Corliss (1985) は, 水深3,000 m から採取した堆積物を表層から深度別に 15 cm まで採取し, ローゼベンガルによって細胞質を染色し, 生体有孔虫群集の鉛直分布を調べた. その結果, *Hoeglundina elegans* は最表層に分布のピークがあるのに対し (shallow infauna), *Melonis barleeanum* は 3–5 cm の深度にピークが見られた (intermediate infauna). さらに, *Globobulimina affinis*, *Chilostomella oolina* は 8–10 cm とさらに堆積物の深部を中心に分布していた (deep infauna). 堆積物中の間隙水の無機炭素同位体比は, 最表層では直上水とほぼ同じ同位体比を示す. しかし, 有機物の分解に伴う軽い (^{12}C に富んだ) 炭素が二酸化炭素として放出されるため, 堆積物深部の間隙水中の無機炭素は直上水よりも軽い炭素同位体比を持つ. Deep infauna の有孔虫は, 石灰質殻を沈着させる際にこの「軽い無機炭酸」を用いるために, epifauna や shallow infauna の種よりも軽い炭素同位体比を持つことが示唆された. Corliss (1985) で見られたような有孔虫種による生息深度パターンは, 相模湾など他の深海底でも報告されており, 種ごとの鉛直分布特性には, ある程度の一般性が見られる (Ohga and Kitazato, 1997). 生息深度パターンが生まれる原因については, 資源, 空間をめぐる種間競争, 大型動物による捕食圧の深度による違い, 堆積物中の物理・化学勾配への応答, などが推測されていた (Goody 1986a). Shirayama (1984) は, 線虫などの多細胞メيوفォウナの堆積物中の分布下限深度が酸化層の厚さと良い相関関係にあることを報告し, 堆積物中の酸素浸透深度が内在性の底生生物の分布に影響していることを示した. 一方で, 深海平原など有機物の乏しい環境では, 限られた量の有機物を摂取するために生物が最表層に集中して分布することも報告した. Corliss and Emerson (1990) は, 有孔虫においても, 堆積物中の酸素濃度とそれを支配する海底への有機物フラックスが鉛直分布の重要な支配要因であることを報告した. Jorissen は, これらに加え彼らの研究グループによる知見をまとめあげ, 有孔虫の鉛直分布を酸素濃度と有機物量で統一的に説明する, TROX (Trophic conditions and OXygen concentrations) モデル

を提唱した (Jorissen *et al.* 1995). これは, 有機物供給量の多い海底では, 堆積物の深部まで有機物は存在するものの, 有機物の分解に酸素が消費されるために堆積物の深部は嫌氣的となり, 多くの有孔虫は生息が困難であるため, 有孔虫は堆積物の最表層に集中して分布する. つまり, 酸素浸透深度が分布の下限深度を規定する. 有機物供給量が少なくなるにつれて, 酸素浸透深度は深くなるため, 堆積物のより深部まで有孔虫が生息することができる. しかし, 有機物供給量がさらに少なくなると, 酸素はあるもののエサとなる有機物量が堆積物中で不足するため, 有孔虫の分布は有機物が沈降してくる堆積物最表層に集中する. つまり, このケースでは, 分布の下限は有機物量により規定される. 中程度の有機物量では, 酸素浸透深度, 有機物供給量の下限深度以深でも deep infauna の有孔虫が分布しているが, これは嫌気環境に生息する化学合成独立栄養細菌を食べているのではないかと推測していた (Jorissen *et al.* 1995).

この TROX モデルは, シンプルでありながらこれまで報告されてきた底生有孔虫の鉛直分布を普遍的に説明できるモデルとして広く受け入れられた. また, 実験室内で有機物量や溶存酸素濃度を変化させた飼育実験でも, 基本的には TROX モデルを支持する結果が報告されている (Heinz *et al.*, 2001, 2002; Nomaki *et al.*, 2005a).

その後の研究では, 酸素浸透深度以深に生息する有孔虫種が多く存在すること, 実験室内の嫌気環境でも有孔虫が長期間にわたって生息できること (Moodley *et al.*, 1997), などが報告され, van der Zwaan *et al.* (1999) による TROX-2 モデルでは, 酸素濃度に加え, 堆積物中の硝酸塩や硫酸塩などの浸透深度も有孔虫の鉛直分布に影響を与える要因として加えられている. 実際に, 硝酸塩の濃度が有孔虫の鉛直分布に「硝酸塩呼吸」という代謝プロセスを通して影響していることが推察されている (Risgaard-Petersen *et al.*, 2006).

上述したような, 間隙水の化学成分と有孔虫の鉛直分布との関連についての研究は, 1990 年代以降の環境計測技術の発展による部分が大きい. Revsbeck (1989) が微小ガラス電極を用いた酸素プロファイルの測定を報告し, 海底堆積物における溶存酸素量の高空間解像度 (数十から数百 μm スケール) での計測が可能になった. これにより, 堆積物中の酸素浸透深度が正確に測定できるようになり, 有孔虫の分布との直接対比がされるようになった (Heinz *et al.*, 2002; Nomaki *et al.*, 2005a). 近年では, H_2S (Kühl *et al.*, 1998), NO_2^- (de Beer *et al.*, 1997), NO_3^- (Larsen *et al.*, 1997), Ca^{2+} (Ammann *et al.*, 1987; de Beer *et al.*, 2000) などの鉛直プロファイルを測定できるさまざまな仕組みの微小電極が開発されており, 有孔虫が生息している微小環境を非常に正確に理解することが可能になりつつある. さらに, 微小電極による 1 次元での計測のみならず, オプトードなどの 2 次元センサー

が、酸素、pH、溶存鉄などの計測のために開発され (Glud *et al.*, 2005; Oguri *et al.*, 2006; Thibault de Chanvalon *et al.*, 2015), 堆積物中に酸素消費が活発な1 cm程度のスポットがいくつも存在していること (Glud *et al.*, 2009a) など、1次元計測では取得困難な情報が得られるようになった。2次元の環境情報を取得した堆積物中の有孔虫を2次元(水平、垂直)でサンプリングして有孔虫分布と環境を比較することも可能になり (Thibault de Chanvalon *et al.*, 2015), 海底の微地形、生物の巣穴など複雑な3次元構造を持つ海底堆積物の環境情報と有孔虫の分布の対応について、より詳細な情報が得られるだろう。

有孔虫による脱窒と窒素循環への貢献

前章で述べた通り、有孔虫は好気環境から貧酸素環境まで幅広く分布していることが知られており、過去の酸素濃度の指標 (Oxygen Index) としても用いられている (Kaiho, 1994)。有孔虫が貧酸素・嫌気環境に適応しているメカニズムについては、1980年代頃から生理、生態学的研究が進められてきた。細胞小器官の配置を変えらることで酸素を効率よく利用したり (Leutenegger and Hansen, 1979; Bernhard and Alve, 1996), 微生物との共生を行ったりすることでエネルギーの獲得や硫化水素などの無毒化を行っている可能性が報告されてきた (Bernhard *et al.*, 2010; Tsuchiya *et al.*, 2015)。近年、これらの適応に加えて、硝酸塩呼吸を有孔虫自身がを行い、酸素の無い環境にも適応している可能性が明らかになってきた。

ほとんどの真核生物は、ミトコンドリアにおける細胞呼吸の際に酸素を最終電子受容体として電子伝達系を駆動する仕組み、すなわち酸素呼吸を行っている。原核生物の一部は、酸素の代わりに硝酸塩 (NO_3^-) を最終電子受容体とする硝酸塩呼吸を行うことが知られている。硝酸塩呼吸は、海洋中に存在する、生物が利用しやすい硝酸塩としての窒素を、生物が利用しにくい N_2 に変換して除去するプロセスでもあるため「脱窒」とも呼ばれ、海洋の窒素循環を理解するうえでも非常に重要なプロセスである。

脱窒は、主に原核生物によって行われるプロセスであり、真核生物においては真菌類のみにその例が報告されていた (Shoun *et al.*, 1992)。しかし、2006年に、Risgaard-Petersenらの研究グループが、フィヨルドに生息する底生有孔虫 *Globobulimina pseudospinescens* が脱窒を行っていることを報告した (Risgaard-Petersen *et al.*, 2006)。細胞内に、周囲の間隙水中の硝酸塩濃度の100–1,000倍もの高濃度の硝酸塩をため込み、それを用いて脱窒を行い、酸素の欠乏する環境でもエネルギーを得ているというのである。これらの脱窒速度は、細胞内にわずかに存在する共生細菌の脱窒速度では到底説明できないことから、有孔虫自体が脱窒を行っている可能性が高い

と結論付けられた。その後も、チリ沖酸素極小層の底生有孔虫2種による硝酸塩の取り込みおよび脱窒速度の測定 (Høgslund *et al.*, 2008) がなされ、さらに有孔虫の複数の高次分類群 (miliolids, rotaliids, textulariids) に属するさまざまな有孔虫種が、細胞内に硝酸塩をため込み、脱窒に用いていることが報告され、貧酸素、嫌気環境下において脱窒によりエネルギーを得るという生存戦略が有孔虫において一般的であることが示唆された (Pina-Ochoa *et al.*, 2010)。硝酸塩の浸透深度に深に生息する底生有孔虫種も、堆積物内で鉛直方向に移動して硝酸塩の存在する深度に移動し、その際に硝酸塩を細胞内にため込むことによって数日から数週間にわたって、酸素なしで活動していると考えられている (Koho *et al.*, 2011)。

一方で、特定の有孔虫種においては、共生細菌が脱窒を行っていることが報告されている (Bernhard *et al.*, 2012b)。また、有孔虫細胞内の機能遺伝子の解析を行って脱窒能を検討した研究もあるが (Bernhard *et al.*, 2012a)、今のところ明確な結論は得られていない。共生細菌を含む有孔虫細胞内で脱窒が行われているとしても、どちらが脱窒を担っているのかは、真核生物、原核生物を識別した上での機能遺伝子の解析や、抗生物質を用いた阻害実験 (Bernhard *et al.*, 2012a) などの慎重な検討が必要である。

有孔虫による脱窒が海底面での脱窒に占める割合については、海域ごとに大きく異なる見積りがなされている。相模湾では4%と見積もられている (Glud *et al.*, 2009b) 一方で、チリ沖の酸素極小層内堆積物やスウェーデンのフィヨルド内では70–80%に達するとされており (Høgslund *et al.*, 2008, Pina-Ochoa *et al.*, 2010), その場の化学環境や微生物組成、有孔虫のバイオマスなどに大きく左右されている可能性がある。また、海底面での全脱窒速度の算出方法と有孔虫による脱窒速度の算出方法の不一致や、有孔虫による脱窒速度の見積りの際に、実験室内で測定した脱窒速度に個体数を掛け合わせるなどの大きな変動要素を持つ手法を用いていることから、これらの見積もり値を考慮する際には注意が必要である (Kamp *et al.*, 2015)。しかし、上記のような不確実性はあるものの、有孔虫による脱窒が無視できない量であるところか、海洋の窒素循環に重要な役割を果たしていることは明らかであり、過去の海洋窒素循環の復元においても再考が必要になるだろう。

有孔虫細胞内の硝酸塩プールは、異化的な代謝である脱窒のみに使われるのではなく、アミノ酸合成など、細胞への同化にも使われていることも明らかになっている。干潟などの浅海に生息する底生有孔虫 *Ammonia* sp. を含んだ底泥を好氣的、嫌氣的環境で飼育し、 ^{15}N で標識した硝酸塩を添加して培養すると、嫌氣的環境下では周囲の硝酸塩を取り込み、一部を脱窒に用いるものの、硝酸塩に由来する窒素の一部はアミノ酸合成に用いているこ

とがわかった (Nomaki *et al.*, 2014). アミノ酸合成、蓄積の場合は、二次元高分解能二次イオン質量分析計 (NanoSIMS) による微小領域同位体分析の結果から、共生細菌もしくは Electron dense body と呼ばれる有孔虫の細胞小器官である可能性が高い (Nomaki *et al.*, 2016). 同様の現象は相模湾の深海底に生息する底生有孔虫 *Globobulimina affinis* と *Uvigerina akitaensis* でも確認された (Nomaki *et al.*, 2015). しかし、*Ammonia* sp. の共生細菌は季節や環境により異なる可能性が高いこと、*G. affinis* と *U. Akitaensis* には共生細菌が見られないこと、そもそも electron dense body の正体も不明であり、有孔虫細胞内の共生細菌や細胞内小器官で実際にどのような代謝が起きているのかは依然として謎が多い。

上述のように、有孔虫による脱窒および関連する窒素代謝は、有孔虫の貧酸素環境への適応を探るための生理学的な鍵であるのみならず、過去の地球環境、特に窒素循環を知るために非常に重要な知見をもたらす。一方で、その代謝、たとえば実際に硝酸塩を溜め込んでいる場所や取り込み速度、脱窒の際に働く遺伝子、微生物との関わり、などについては今まさに研究が進展している状況である。また、完全な脱窒 (硝酸塩を N_2 まで還元する) ではないものの、真菌 (N_2O まで)、繊毛虫 (NO_2^- まで) などの単細胞真核生物も部分脱窒を行うほか、珪藻も硝酸塩を溜め込み、その硝酸塩をアンモニアに異化的に還元する (Dissimilatory Nitrate Reduction to Ammonium) こともわかってきた (Kamp *et al.*, 2011). 有孔虫のみならず、微化石生物を含む単細胞真核生物がこれまで考慮されてこなかったような代謝プロセスで環境適応を果たし、地球環境に影響を及ぼしてきたことが徐々に明らかになっており、今後こうした生理・生態学的な分野で新たな知見が蓄積されていくことは間違いない。

有孔虫類の分子進化学・ 分子生態学的研究の進展

遺伝子解析の技術的な革新と新知見

有孔虫類を用いた分子系統解析は、1990年代後半から開始され多くの知見が得られた。その結果、微化石研究での問題点を解明するとともに、化石試料では見いだせなかった新たな知見が得られてきている。これまでもいくつかの解説があるため詳細はそちらに譲るが (山崎, 2004; Darling and Wade, 2008; 土屋, 2009; 石谷・瀧下, 2015), 本項では、各論文で使われた遺伝子解析手法を概観するとともに、最近10年間に得られた知見を中心に解説する。

有孔虫は1個体あたりのDNA量が少ないため、その遺伝子解析は、いくつかの技術的な革新によって進展してきた。研究当初は、遊走子を集めることで、大量の遺伝子を回収するという工夫がなされていた (Darling *et al.*,

1997). その後、遠藤 (1991) が指摘したように、PCR (polymerase chain reaction) による遺伝子の増幅を介することで、有孔虫1個体から抽出したDNAでも、塩基配列を解読するのに十分なDNA量を得ることができるようになった。RNAの抽出には数十個体から100個体程度は必要であるが、いくつかのタンパクの遺伝子配列が解読されてきた (Keeling, 2001; Takishita *et al.*, 2005; Ishitani *et al.*, 2011, 2012 など). 今後、遺伝子の発現解析などが数多く行われるようになるはずである。

大型生物などで用いられているエタノールによる固定は、有孔虫の場合、遺伝子の増幅効率を低下させるが (Holzmann and Pawlowski, 1996), 短期間の保存では、エタノールによる固定であっても、それほど増幅効率は下がらない (土屋, 未公表データ). 拾い出し後に速やかに凍結保存することが、今のところ最も効率の良い保存方法であり、しかも、十年程度は保存が可能である。また、凍結が困難な場合には、拾い出し後に乾燥させ、数日後に凍結することでも、長期にわたってDNAが保存される。

有孔虫細胞には、多糖が多く含まれているためか、植物などで用いられてきたDNA抽出法 (グアニジン抽出法) が有効である (Pawlowski, 2000). また、植物用に市販されているDNA抽出キットも比較的良好な結果を得ることができる。基本的には、細胞を殻ごと破碎し、膜を溶解するという手順を踏んでDNAを抽出するだけで、タンパク質の除去などは行わない。混入しているわずかなタンパク質を除去するよりも、少ないDNAを余すことなく利用するためである。これらの抽出法では、PCR反応の阻害物質の1つである陽イオンを除去するためのキレート剤や、膜を溶解する界面活性剤が含まれているため、殻は破碎しなくても溶解される。一方、遺伝子を抽出するとともに、同じ個体で殻形態の観察や酸素・炭素安定同位体比分析を行う場合は、DNA抽出液からキレート剤を除いた試薬を調整し、それを利用する場合もある。

有孔虫類の分子系統解析に用いることが可能な遺伝子領域は、現在のところ限定的である。高次分類群の系統関係には、真核生物内で保存されている細胞質流動や細胞分裂の際の収縮等に関与する骨格系タンパク質 (アクチンやチューブリン)、タンパク質の分解・DNA修復・翻訳調整・シグナル伝達などのタンパク質の修飾に用いられるタンパク質 (ユビキチン)、RNAからタンパク質を合成する際にポリペプチド鎖の伸長を促すタンパク質 (ポリペプチド鎖伸長因子)、転写に関与するRNAポリメラーゼ、熱ショックタンパク等が用いられている。

これに対して、有孔虫類の属間や種間関係には、核内小サブユニット (SSU) リボソームRNA (rRNA) 遺伝子や核内大サブユニット (LSU) rRNA 遺伝子が用いられる。また、SSUとLSUに挟まれたスペーサー領域 (Internal Transcribed Spacers: ITS) は、コード領域で

あるrRNAに比べて遺伝子の進化速度が速いため、種間や地域集団間の関係を明らかにできる。

有孔虫類のrRNA遺伝子は、他の生物に比べて特異な性質を持つ。多くの真核生物のSSUは2,000塩基対程度であるが、有孔虫の場合、2,200~3,500塩基対であり、5,500塩基対を越す長さを持つ種も存在する(Pawłowski, 2000)。この長さの違いは、多くの遺伝子の欠失や挿入によって生じているが、変異が多く存在するがために、他の真核生物では比較的変異が少なく、属間あるいはより高次の関係を見いだすSSUであっても、有孔虫類では低次分類群でも有効である。特に浮遊性有孔虫類(Globigerinidae)の場合は、底生有孔虫よりも進化速度が速く、種間や種内の関係をも見いだすことができる。一方、LSUの解析では、*Ammonia* sp.の個体内変異が4.9%にもなり(Holzmann *et al.*, 1996)、個体内に複数の配列が存在することがある。分子系統解析では、解析する配列の長さや遺伝子の数、系統ごとの遺伝子の進化速度によって分子系統樹の樹形の信頼性が変化する。特に、高次分類群間の系統関係を構築する際には、複数の遺伝子領域を連結させた(concatenate)データセットが用いられる(Takishita *et al.*, 2005; Ishitani *et al.*, 2011など)。

高次分類群レベルでの有孔虫類の系統学的な位置

有孔虫類を含む原生生物の系統関係は、遺伝子データの蓄積によって、大幅に書き換えられた(Adl *et al.*, 2012)。特に、有孔虫が属する肉質虫亜門(Sarcodina)根足虫上綱(Rhizopodea)は、リザリア(Rhizaria)、ヘテロロボーサ(Heterolobosea)、アメーボゾア(Amoebozoa)などに見直された。複数の遺伝子の解析により、有孔虫がケルコゾア(Cercozoa)に近縁であることが明らかとなり(Keeling, 2001; Berney and Pawłowski, 2003など)、有孔虫類は、近縁な系統群(ケルコゾアと放散虫類)をあわせてリザリア(Rhizaria)生物群に含まれる。さらに、複数の遺伝子領域を連結させたデータセットを用いることで、信頼性の高い系統関係を得ることに成功した。その結果、珪藻類などが含まれるストラメノパイル(Stramenopile)とアルベオラータ(Alveolata)、リザリアをあわせて、有孔虫類は真核生物の中のSAR(ストラメノパイル-アルベオラータ-リザリア)スーパーグループを構成することが示され(Archibald *et al.*, 2003; Bass *et al.*, 2005; Takishita *et al.*, 2005; Adl *et al.*, 2012; Burki *et al.*, 2010など)、新たな分類体系が広く受け入れられつつある。

有孔虫類と放散虫類に見られる細胞の類似性などから推測されていた両者の近縁性「レタリア仮説」(Cavalier-Smith, 1999)について、タンパク質をコードする遺伝子やリボソームRNA遺伝子の解析から、両者が姉妹群を形成することが示された(Ishitani *et al.*, 2011, 2012; 石谷・

瀧下, 2015)。Ishitani *et al.* (2012)では、ペプチド鎖伸長因子(Elongation Factor)のアミノ酸配列の解析を行い、SARを構成するストラメノパイルに見られる5アミノ酸残基の欠失が、放散虫と有孔虫でも共通に見られ、系統樹上でもこれらが姉妹関係にあることを明らかにした。

骨格系タンパク質であるチューブリンでは、その機能的な意味も議論されている(Habura *et al.*, 2005; 石谷・瀧下, 2015)。有孔虫や放散虫は、他の近縁な生物との共通性の高い α チューブリンを持つが、これとは異なる変異の大きい β チューブリンも持つ。この特殊なタンパク質をコードする遺伝子が、両者に共通して見られる可塑性のある微小管構造の形成に関与しているらしい。有孔虫と放散虫に共通してみられる特徴的な遺伝子が、両者の生態的な特徴とそれらの近縁性も示しているのである(石谷・瀧下, 2015)。

浮遊性有孔虫の多系統性

浮遊性有孔虫類の起源は、古くから議論されてきた問題の一つである。Pessagno (1967)やMasters (1977)は浮遊性有孔虫の多系統性を支持し、BuliminaeあるいはDiscorbacea等から派生したと推測したのに対して、El-Naggar (1971), Tappan and Loeblich (1988)らは単系統であると推測した。SSU rRNA遺伝子の解析により、浮遊性有孔虫類は多系統性を示し、少なくとも3回に渡り派生したことが示され、Globigerinidae + Hastigerinidae, Globorotaliidae, Candeinidaeの3つの系統が底生有孔虫から独立に分岐したことが示された(de Vargas *et al.*, 1997; Darling *et al.*, 1997, 1999)。しかし、これら3つの系統が、どの底生有孔虫に最も近縁であるかは、未だ確定的な結論は得られていない。これに対して、3列状配列の形態を持つ浮遊性有孔虫 *Gallitellia vivans*は、上記3つの系統とも異なる分岐を示し、*Stainforthia*との近縁性が示されている(Ujiié *et al.*, 2008)。

浮遊性有孔虫は、大量絶滅後に新たに進化したグループが前の時代と同じような形態を出現させるという「反復進化」の例とされてきた。その起源となるものは、単純な形態を持つ浮遊性有孔虫で、わずかに生き延びることができた単純な形態種を起源とした単系統性を想定した考えであった(Cifelli, 1969)。多系統性を示す分子系統解析の結果はこれとは異なるが、同じような形態型が出現することは、大量絶滅後に空白となったニッチに進出・適応することで、環境や資源の利用形態を反映して類似した形態となる収斂進化の結果を見ていると解釈できる。

形態進化と種分化の方向性

1. 殻の材質と形態の多系統性

外部形態や殻の材質を考慮した系統関係の研究では、

単純な形態から複雑化する方向（単室形～二列状，三列状～旋回），あるいは，材質の変化が複数の機構により形成される方向（有機膜～膠着質～磁器質石灰質～ガラス質石灰質）へと進化したと考えられていた（Tappan and Loeblich, 1988）．ところが，分子系統解析の結果は必ずしもこれを支持せず，材質や巻き方は，分子系統樹上で「入れ子」になる（Bowser *et al.*, 2006）．また，単純な形態を持ち始原的な系統であると言われていた単室殻底生有孔虫は，大きく2つの系統に分かれ，必ずしも系統樹の分岐が深いわけでもない（図1B）．

分子系統樹と形態分類との関係は，殻の材質や巻き方など複数の形質を加えて解釈していたため，一致していなかった．これに対して，殻の外形，特に房室の形成に着目することで，分子系統樹の再解釈が行われ，分子系統樹上の形態的特徴は，次の3つに大別された（Pawlowski *et al.*, 2013）（図1B）．まず，チューブ状の房室が線（*Chitinosiphon*, *Bathysiphon*など）・樹枝（*Komokiacean*など）・旋回（膠着質，石灰質の平面旋回チューブ状など）状に形成するTubothalameaの系統である．次に，球状の房室が付加する（*Textularid*, *Bolivinid*, *Rotaliid*など）*Globothalamea*の系統であり，最後に，単室の房室を形成する（*Astrammia*, *Allogromia*などの所謂，soft-walled有孔虫）*Monothalamid*の系統である．この分け方は，先述の数理モデルから導き出された外部形態の成長過程を適用し，環境変異型などの不確定な要素を排除したものである．口孔からの仮足の伸展や仮足の到達点での石灰化といった生態的な要因が支配する因子を利用した数理モデルと，分子系統樹の分岐パターンとの一致性が存在することは，形態を形成する何らかの共通する遺伝的な背景を持つことを意味するのかもしれない．

それぞれの系統には，殻の材質の異なる旧来の分類群が含まれ，Tubothalameaには有機質・膠着質・磁器質，*Globothalamea*には膠着質・磁器質・ガラス質，*Monothalamid*には膠着質・有機質というように，これまでとは異なる分類体系となる．例えば，*Globothamea*には，球状の房室が単列・二列・旋回するガラス質石灰質（*Rotaliid*）と膠着質（*Textulariid*）が含まれるなど，材質に基づく分類では多系統性を示すが，外形（房室の形状が球状か，チューブ状か）はそれぞれの系統でまとまることになる．この基準に照らし合わせれば，膠着性の*Milliammina fusca*が*Quinqueloculina*などの磁器質石灰質有孔虫と近縁（Fahrni *et al.*, 1997）であることが説明できる．これまでの分類体系を大きく見直すほどの大変革であり，外部形態が持つ機能的意味や殻の材質を直接的に制御する遺伝的な機構の解明が望まれる．これらの知見は，有孔虫の起源，膠着質・石灰質の殻の形成メカニズム，そしてsoft-walled有孔虫の海洋生態系への進出と役割といった，微古生物学，進化史の謎を解くうえで欠

かせない情報になるはずである．

2. 外部形態の環境変異

有孔虫の形態は，環境によって変化する形質と環境によらず安定した形質が存在し，特に後者は分類形質として利用される．一方，環境の変化によって変化する形質を分類基準として用いている場合も存在するため，しばしば分類学上の混乱を招く．分子系統樹と形態との比較研究は，有孔虫が保持する形態・形質が環境変異型であるか，あるいは遺伝的に安定した形質（共有派生形質）であるかを識別することができる．その上で，これらに加えて環境制御培養実験を行うことで，成長に伴う形態の変化を追跡できるとともに，環境の変化がどのような形質に影響を与えるのかを明らかにできる（Grell, 1958; Tsuchiya *et al.*, 2014）．このことは，化石として保存される「殻」の直接的な理解に繋がるだけでなく，形態進化の方向性も議論できる．

溶存酸素量の変化は，壁孔やその密度に影響を及ぼす．底生有孔虫の*Ammonia beccarii*を用いた溶存酸素量を制御した飼育実験では，低溶存酸素量では壁孔サイズが大きく，単位面積あたりに壁孔が占める面積の割合は高くなり，高溶存酸素量ではその逆となる（Moodley and Hess, 1992; Koshio 1992MS）．壁孔はガス交換に用いられるとされており，低溶存酸素環境では，壁孔を大きくすることで，殻の単位面積あたりの酸素吸収効率を高めると解釈された．この関係は，*Virgulinea fragilis*の天然個体群でも見られ，遺伝的に同じ集団内でも，壁孔は環境水の溶存酸素量や硫化水素濃度によって変化する（Tsuchiya *et al.*, 2009）．*Virgulinea fragilis*の壁孔の大きさの変化と溶存酸素濃度の関係は，化石にも適用することができる．これまで，溶存酸素量の指標として古海洋環境解析に利用されているが（Kaiho, 1994），種内の生息環境を壁孔から明らかにすることができるという意味でも，遺伝的に同一な集団でこの違いが明確化されたのは意義深い．環境の違いと壁孔との関係性は，*Bolivina pacifica*や*Fursenkoina mexicana*などの深海性底生有孔虫でも見られたが，深部内在性の*Chilostomella oolina*ではその関係性はなく，殻形態と環境との相関には種ごとの適応過程の違いを反映しているようだ（Kuhnt *et al.*, 2013）．

3. 遺伝的に安定した形質とその意味

環境によって変化する環境変異型に対して，1つの遺伝的なクレード内で生息環境によらず安定した形質が存在する．例えば，*Glabratellid*では，臍側面や口孔の形態は遺伝的に安定し，スリット状の口孔を持ち，臍側面がこぶ状の形態になる種（*Planoglabratella nakamurai*, *P. opercularis*）と，凹状の口孔を持ち，臍側面の形態が直線になる種（*Glabratella patelliformis*, *G. milletti*, *Angulodiscorbis quadrangularis*）は，それぞれ遺伝的に

近縁である (Tsuchiya *et al.*, 2000, 2003). 臍側面の形態は、仮足によって引き込まれた餌の選別や仮足の方向性を支持する機能的な意味がある (Kitazato, 1992). このことから、臍側面の形態は、餌や生活様式などの仮足の役割に関連した進化パターンであると言える. 同様に、口孔の形状は仮足で捉えた餌を選り分け、破壊するといった機能的な意味があり、また、盗葉緑体という特殊な共生関係の構築にも関連する (Bernhard and Bowser, 1999). 実際、口孔で珪藻の殻を物理的に破壊するため (Austin *et al.*, 2005), 盗葉緑体を持つ有孔虫 (Grzymalski *et al.* 2002; Tsuchiya *et al.*, 2015) は、口孔の形態が珪藻由来の葉緑体の獲得に深く関わる. 口孔の形態は遺伝的に安定するものの、CO₂を添加することでpHを制御した培養実験では、高CO₂濃度では殻が溶解するだけでなく、口孔の周りの突起がなくなることから、餌の獲得にも影響を及ぼすことが示唆される (Khanna *et al.*, 2013). 盗葉緑体のような特殊な共生関係の構築にも酸性化の影響が及ぶのは間違いない. すなわち、餌を獲得する際の機能的な役割を持つ形質は、遺伝的に安定しているが、環境により影響を及ぼされる場合に、個体自体の生存にも影響が及ぶ.

刺 (spine) の有無は成長段階で変化しうるが、刺の有無や角度が遺伝的に安定している例も見られる. *Bulimina marginata*–*B. aculeata* 種群では、刺の方向や有無に種間で違いが見られ、しかも、遺伝的にも異なるクレードを形成する (Tsuchiya *et al.*, 2008). 刺の有無は堆積物内での移動に関連することからも (Smith, 1964; Verhallen, 1986), その生態的な意味を考慮して形質の役割を議論する必要がある.

浮遊性有孔虫の殻の巻方向が水温に依存して変化することは、形態変化の問題点として以前から議論されてきた. Ericson (1959) は、*Globigerina* (*Neogloboquadrina*) *pachyderma* の巻方向が、北大西洋の4月の表層水温 (7.2°C) を境に、それより北側では左巻が卓越し、それより南側では右巻が卓越することから、水温によって殻の巻方向が変化すると推測した. この結果は、古水温を推測する際の重要な指標として広く用いられてきた. Darling *et al.* (2004) は、SSU rRNA 遺伝子に基づく分子系統解析により、右巻の形態型を持つクレードと左巻の形態型を持つクレードは、別種ほどの変異が存在することを示した. さらに、*N. pachyderma* の2つのクレードの分布や近縁種である *N. incompta* の原記載などを比較し、右巻のクレードは、*N. incompta* であると結論づけた (Darling *et al.*, 2006). 一方、右巻 (あるいは左巻) の個体が卓越する海域であっても、約3%は逆の巻方向 (ほとんどは右巻クレードの遺伝子タイプを持ち右巻の形態型を示すが、一部に右巻クレードの遺伝子タイプを持ち左巻の形態型を持つ個体が存在する) であるなど、必ずしも一方向の巻き方が、1つの遺伝子タイプに含まれる

わけではない (Bauch *et al.*, 2003). この問題を解く鍵が培養実験によって示されている (Kimoto and Tsuchiya, 2006, 投稿準備中). 浮遊性有孔虫は一般的に有性生殖だけで生殖が行われていると考えられていたが、培養実験の結果、無性生殖を確認した. さらに、無性生殖で生じた幼体の巻方向が、親のそれとは逆になることを見いだした. 有性生殖世代と無性生殖世代の集団サイズやそれぞれに含まれる逆巻の形態型の割合は不明であるが、上記の問題を検証する糸口になる現象である. *Neogloboquadrina pachyderma* に見られた巻方向の違いは、異なる2つの遺伝子タイプであり、種レベル (*N. pachyderma* と *N. incompta*) の違いがあるという結論が示されたが、生息水温の異なる2つの集団が海洋に存在するため、今後も古水温を示す一次情報としての有用性は変わらない. 世代ごとの巻方向の変化は、底生有孔虫 *Glubratella* 属で一般的に見られる現象であり (Grell, 1958, 1979; Eriskian and Lipps, 1987; Tsuchiya *et al.*, 2014), 両者の関係や巻方向が世代ごとに変化する遺伝的背景も非常に興味深い研究対象である.

Globigerinoides ruber もまた、形態的な差異が種レベルでの遺伝的な違いを示す. 本種には広範囲に分布する “White” と現在の海洋において大西洋のみに見られる “Pink” のそれぞれの形態型が存在する. さらに、“White” にも2つの形態的な差異が見られ、最終房室が1つ前の房室と同じかそれよりも大きくなる狭義の形態型 (*G. ruber sensu stricto* (s.s.)) と、最終房室が1つ前の房室よりも小さくなる広義の形態型 (*G. ruber sensu lato* (s.l.)) が存在する. これらの形態型は分布する水深も異なり、前者は表層の30 m、後者はそれ以深であることが安定同位体比分析 (Wang, 2000) や、プランクトンネット、セジメントトラップによる解析 (Kawahata, 2005; Kuroyanagi and Kawahata, 2004) から明らかにされている. Kuroyanagi *et al.* (2008) は、これらの二形態型が遺伝的に異なる集団であることを明らかにした. *Globigerinoides ruber* s.s. は遺伝的には大西洋の “pink” と近縁であるのに対して、*G. ruber* s.l. は *G. conglobatus* と近縁である. Aurahs *et al.* (2011) は、形態の詳細な解析と原記載との比較とともに、新たな遺伝子配列データを追加し、分岐年代の推定を行った. その結果、*G. ruber* “pink” が所謂 *G. ruber* であり、*G. ruber* “white” s.l. は *G. elongatus* に形態的に分類され、*G. ruber* “white” s.s. は新たな種名を与えるべきだとし、分類学的な再考を求めている.

このように、環境を制御した培養実験や遺伝的な関係に基づく殻形態の評価、交配実験を通じた交配集団内の殻形態の比較から、環境による変異形質と遺伝的に安定した形質を区別することができ、これらの情報を利用することで、化石有孔虫試料の古生態や形態の役割を推測できる.

隠蔽種の存在と水塊に対応した分布

岩礁地性底生有孔虫 *P. opercularis* の遺伝型 A のように、形態学的には全く区別できずに、遺伝的に異なる地域集団が存在する場合もあるが (Tsuchiya *et al.*, 2003)、多くの場合、隠蔽種とは表現されるものの、形態を詳細に検討することで、微細な形質に違いが見つかる場合も多い。形態的な差異が存在するため、正確には隠蔽種と表現すべきではないが、外部形態だけを基準とした微古生物学のこれまでの分類体系を踏まえて議論される場合が多いため、“隠蔽種”として扱われている。

浮遊性有孔虫では、様々な形態種内に複数の遺伝型 (隠蔽種) が存在し、それぞれの遺伝型は、物理化学環境の異なる水塊に分布する (de Vargas *et al.*, 1999; Darling and Wade, 2008; Ujiié *et al.*, 2012; Weiner *et al.*, 2012 など)。de Vargas *et al.* (1999) は、*O. universa* が大西洋の水塊構造に対応して異なる 3 遺伝型が分布することを示し、特に、表層のクロロフィル *a* 濃度と強く相関することを示した。Darling *et al.* (2003) は、サンタバーバラ海峡において、季節ごとに異なる遺伝型が同一地点で見いだされることから、水塊や異なる海流系に特徴的な遺伝型が分布していることを示している。このような遺伝型の分布の違いは、水平的な水塊構造の違いだけではなく、鉛直的な水塊の違いに対応して適応しており、*Hastigerina pelagica* や *Pulleniatina obliquiloculata* の各遺伝型にも見られている (Ujiié *et al.*, 2012; Weiner *et al.*, 2012)。

異なる地理的分布を示す隠蔽種の間での遺伝的な交流の可能性は、*Glabratella* 属のように直接的に交配実験を行うほか、集団遺伝学的な解析によって検証されるべきである。一方、遺伝型と形態型 (外部形態は類似しており、微古生物学の伝統的な分類基準によると同じ形態種) の関係や遺伝型とそれらが分布する水塊構造との関係を利用することで、微化石生物の古生態や古海洋環境の復元にも新たな知見を加えることができる。浮遊性有孔虫類の遺伝的分化パターンと水塊構造の変遷、水塊に伴う遺伝型の分布とその形成機構については、Darling and Wade (2008) や土屋 (2009) などの総説を参照されたい。

遺伝的分化のメカニズム

1. 地理的な要因

海陸分布の変化は、生物の種分化に大きく影響を及ぼす。パナマ地峡の形成は、海流系や水塊構造といった海洋環境に大きく影響を及ぼし、海洋生物の種分化にも寄与する (Cronin, 1985 など)。例えば、潮間帯に生息するウミナナは、約 300 万年前にパナマ地峡が閉じた結果、2 つの大きな遺伝的なグループに分岐し、さらにパナマ地峡を挟み相互に遷移したことが示されている (Miura *et al.*, 2012)。一方、陸上植物の分子系統解析では、これま

での地質学的なパナマ地峡の成立年代とは異なる分岐年代も得られている (Bacon *et al.*, 2013)。Montes *et al.* (2015) は、堆積物中のジルコンのウラン-鉛年代を測定した結果、middle Miocene には Central American Seaway は消滅していた可能性を指摘しているが、海洋生物においては、海峡がどの程度まで浅くなるかによって、分散や遺伝的な交流が制限される。有孔虫類の環境への応答様式や遺伝的分化・遷移パターンは分類群や生態によって異なるため、パナマ地峡の成立が種分化を促しても、遺伝子に基づく分岐年代の推定値は、種ごとに異なる可能性がある。

浮遊性有孔虫類では、熱帯～亜熱帯域に生息する *Globorotalia truncatulinoides* の遺伝型 II は大西洋、遺伝型 V は太平洋にしか見いだせないため、パナマ地峡の形成が遺伝的分化にも影響を及ぼしたと推測される。一方、他の遺伝型は各大洋で見いだせることから、遺伝型ごとに遺伝的分化の要因が異なる可能性がある (de Vargas *et al.*, 2001, 2004; Darling and Wade, 2008; Ujiié and Lipps, 2009)。この現象は、後述する遺伝型の鉛直分布と関係があるのかもしれない。一方、*Orbulina universa* や *Globigerinella siphonifera*, *Globigerinoides sacculifer* の一部の遺伝型の場合、同じ遺伝型が太平洋とカリブ海、あるいは地中海に分布することから (Darling *et al.*, 1999; Darling and Wade, 2008)、パナマ地峡が熱帯～亜熱帯域に分布する浮遊性有孔虫の遺伝型の分化には寄与しない例もある。

浮遊性有孔虫の遺伝型の分布に見られる特徴の一つは、様々な種で反赤道分布 (両極分布) を示すことである。Darling *et al.* (2000, 2007) は、浮遊性有孔虫の遺伝型が冷水塊に取り込まれたり、寒冷系水の潜行に伴って低緯度域を隔てて分散したりすることで、亜熱帯～熱帯海域を越える可能性を指摘した。また、氷期における水塊構造の変化により、赤道を挟んだ南北の水塊が近づくことで、集団の融合と遺伝的な交流が生じると推測した。

浮遊性有孔虫の遺伝的な分化は、表層の水塊分布だけではなく、鉛直的な水塊構造の違いも要因になる。*Hastigerina pelagica* では、ほとんどすべての遺伝型が赤道域の広範囲 (カリブ海、北東大西洋、地中海、日本列島南沖の太平洋) に分布するが、遺伝的に異なる集団は、鉛直的に分布が異なる (Weiner *et al.*, 2012)。このことは、ニッチの分割がどの海洋でも鉛直的に生じており、水深に関係した側所的種分化の可能性を指摘した (Weiner *et al.*, 2012)。同様の研究は、*Pulleniatina obliquiloculata* でも行われている (Ujiié *et al.*, 2012)。インドネシア多島海を挟んだ赤道海域の中央太平洋～南西太平洋、インド洋の遺伝型では、*H. pelagica* のような鉛直的な遺伝型の棲み分けは、明瞭には見られないものの、水平的な温度・塩分環境の違いが、遺伝型の分布を規制している可能性が高い。インドネシア多島海を挟んで両

海域に分布する遺伝型や太平洋側にしか分布しない遺伝型のように、遺伝子流動の方向性が遺伝型ごとに異なる可能性も推測される (Ujiié *et al.*, 2012).

2. 生態的要因

海洋間の遺伝的交流のパターンは、種ごとの生態的な要因にも影響される。底生有孔虫では *Epistominella exigua*, *Cibicides (Cibicidoides) wuellerstorfi* が、大西洋の南北で同じ遺伝子配列を持つため、遺伝的交流が示唆されるが、*Oridorsalis umbonatus* には遺伝的な違いが存在する (Pawlowski *et al.*, 2007)。前者の有孔虫類は表在性生活を行うため、遊走子の分散は深層水の流れに伴って起こり得る。これに対して、後者の有孔虫は内在性の生活様式を持つため、有性生殖の際に遊走子を分散させても、その分散範囲は堆積物内とその周辺に制限される。このため、前者に比べて遺伝的な交流が起こりにくい。しかし、遊走子の生存期間は、実験室内では約半日程度しかなく (Alve and Goldstein, 2003)、かわりに幼体が「休眠」状態で分散している可能性が指摘されている (Pawlowski *et al.*, 2007)。遊走子などがゆっくりとした深層水の流れに伴って分散し、実際に遺伝的交流が生じるのかどうかは、検証が必要である。

浮遊性有孔虫 *Neogloboquadrina pachyderma* と *Globigerina bulloides* では、それぞれ起源となる遺伝的集団の分岐パターンが異なり、前者は北極海と北大西洋、後者は北東太平洋の集団から派生した (Darling *et al.*, 2007)。2つの遺伝的な集団の分布は、ベーリング海峡を挟んで明瞭に分かれ、しかも遺伝的な交流が存在しないという共通する特徴を持つ。これに対して、ウニ (Addison and Hart, 2005) やカラフトシヤモ (Dodson *et al.*, 2007)、バルチックシラトリガイ (Väinölä, 2003) などは、最終氷期を生き延び、北極海を挟んで北大西洋と北太平洋の間で頻繁に遺伝的な交流があったことが知られている。多くの浮遊性有孔虫類は、有性生殖の際に有光層やそれ以深にまで潜行し、遊走子を分散させる。しかし、現在のベーリング海峡は水深が30~50m程度しかなく、浮遊性有孔虫が有性生殖を行うには浅すぎることが遺伝的交流を妨げる要因の1つであると解釈された (Darling *et al.*, 2007)。地球温暖化は、北極海の海氷の融解として顕著な影響を示しつつあり、北極海や北大西洋、北太平洋の浮遊性有孔虫の遺伝的集団の隔離や融合などが今後起こる可能性がある。現在は南から北への流れが卓越するベーリング海峡において、どのような遺伝的な集団がどのように遷移し、集団の融合や隔離が生じるのかを継続的に検証する必要がある。

浮遊性有孔虫の有性生殖が遺伝的交流に関係するという現象は、最終氷期以降の日本海における浮遊性有孔虫群集の形成にも影響を与えたはずである。対馬海峡からの日本海への海流の流入当初は海峡が浅く、現在のベー

リング海峡と同様に、浮遊性有孔虫の多くでは遺伝的な交流が起こらず、遺骸や無効分散による進入だけであったのかもしれない。日本海の浮遊性有孔虫集団は、海峡の水深が有性生殖を行うことができるような水深になった時点で成立した可能性が推察される。

3. 岩礁地性底生有孔虫 *Planoglabratella opercularis* の例

岩礁地に生息する *P. opercularis* は、石灰藻の葉上を這う生活様式を持ち (Kitazato, 1992)、有性生殖時に2個体が臍側面を融合させ殻の中で遊走子を交換するため (Grell, 1958, 1979; Takahara, 1989MS, Tsuchiya *et al.*, 2014)、個体や遊走子の分散能力は極めて低いことが予測できる。これを踏まえると、海陸分布や海流といった物理環境と、生態的な要因による地理的隔離や生殖的隔離が *P. opercularis* の遺伝的分化を促すことが想定された。種間の分子系統解析、地域集団間の遺伝的変異と地域集団の形成機構、飼育実験や交配実験に基づく交配集団の推定と遺伝的集団の関係を検討した結果、分岐年代が日本列島の形成史と一致し、海陸分布の変化が遺伝的分化に影響する可能性が示された (Tsuchiya *et al.*, 2014)。また、各地域集団は、地理的に近い集団間では交配ができるが、遠い集団間では交配できないことが交配実験で示され、本種の集団構造は輪状種様の交配集団から構成されていることが示唆された (Kitazato *et al.*, 2000)。さらに、ITSに基づく分子系統解析では、地域集団ごとに遺伝的変異が蓄積しており、太平洋側 (A-1とA-2) と日本海側 (A-3) の少なくとも3つの遺伝的な集団が存在し、輪状種様の地域集団の分布と調和的である。本種は先述のように個体や遊走子の分散能力が低いため、海陸分布や生態的な要因により遺伝的に分化し、生殖的な隔離によって地域ごとに遺伝的変異を蓄積したと考えられる (Tsuchiya *et al.*, 2003)。また、日本海沿岸の地域集団は、*P. opercularis* の中でも最も古く分岐していた。日本海は最終氷期に周囲の海洋から隔離されるとともに、大陸からの淡水の流入により、表層が低塩分化 (26~29) したことが知られている (大場・谷村, 2012)。その結果、海洋の鉛直混合が制限され、深層が貧酸素化したことが明らかになっている。一方、中層では放散虫の集団が維持されるなど (Itaki *et al.* 2004 など)、貧酸素化や低塩分化の影響は水深にも依存する。岩礁地など極表層の生物への低塩分化の影響については不明な点が多いが、Tsuchiya *et al.* (2014) の結果は、表層付近でも個体群が維持していた可能性を示唆する。実際、塩分を制御した飼育実験では、成長量は低下するものの低塩分 (25) でも成長する (Tsuchiya *et al.*, 2014)。岩礁地 (潮間帯中部) では潮汐による海水面の変化にともなって塩分が変化するため、実験条件のように低塩分環境が長期間にわたって維持されるわけではない。これらの事実から最終氷期の低塩分環境でも集団が維持していたと考えら

れる。

交配集団の関係とLSU, SSUおよびITS領域の解析から、遺伝的な変異と交配集団との関係は、次のような関係が推測された (Tsuchiya *et al.*, 2000, 2003, 2014). LSU rRNAの5'末端側やSSU rRNA遺伝子の3'末端側の塩基配列の比較では、遺伝的な変異が1.1%以下で同一の集団を示す。さらに、ITSの中でも特に塩基置換速度の速い領域であるITS1の解析では、遺伝的な変異が2%以下であれば同じ交配集団を示し、3~4%では隔離が不完全であり、5%以上であれば生殖的に隔離された地域集団である。底生有孔虫の *Ammonia* spp. や *Elphidium* spp., 浮遊性有孔虫の *Globigerinidae* や *Hastigerinidae* は、塩基置換速度が底生有孔虫よりも極端に速いため、上記の変異と交配集団との関係を他の種に直接的に適用することはできないが、*P. opercularis* の解析では、交配集団と遺伝的な関係を初めて明らかにした好例であるといえる。

おわりに

有孔虫の生物学的研究は、様々な視点から取り組まれてきた。90年代には、今後明らかにすべき問題点として、有孔虫の種の問題や生態、殻形態の生物学的な意味とその形成メカニズム、微量元素濃度や同位体比の殻への保存機構、分子進化学的検討などが挙げられていた (北里, 1991)。本稿でまとめたように、これらの問題点について、多くの成果が得られてきた。2000年代からは、短期間の培養実験を行うことで、深海生態系の物質循環における底生有孔虫の役割についても、同位体標識ラベルに脂質分析を組み合わせ有孔虫細胞への同化をみたり、あるいは、細胞小器官レベルでの空間スケールでの解析も行えるようになるなど、特定の有孔虫種についての生態的理解は深まった。これまでは、微古生物学的な解析を行うという重要性から化石として残る有孔虫を実験対象としてきたものの、難培養性であることや、他の原生生物に比べて成長速度が遅いといった理由から、生物学的な解析も十分であるとは言えなかった。古生物学的な研究成果は地質学分野からの評価のみでなく、生物学分野 (細胞学・生化学・遺伝学など) からの評価が必要であることも指摘されてきた (氏家, 1991)。近年、われわれの研究グループに限らず、海外の研究グループでも、海洋生態学、生物学、分子生態学などの雑誌への掲載が増加しており、生物学的研究の一部として有孔虫研究が進みつつある。一方、分子や形態の進化の比較、形態の機能的側面とその遺伝的な背景、硬組織中の有機基質の解析 (棚部, 1991) など、多細胞生物と単細胞生物に共通する課題も残されている。

近年、次世代シーケンサー (Next Generation Sequencing: NGS) を用いた遺伝子の網羅的解析が急速に発達してきており、数十の遺伝子や数千塩基対を用いた分子系統解

析が主流になりつつある。また、NGSを用いた環境DNA解析により、形態による分類を経ずに遺伝子データから群集組成を見だし、その変化を見ることで環境改変の影響を評価する研究も行われるようになってきている (Pawlowski *et al.*, 2014; Pochon *et al.*, 2015)。このような大量データを用いた研究では、環境DNA解析や分子系統解析だけではなく、機能遺伝子の発現から生体内外の代謝機能や代謝産物の輸送といった推定が可能となる。実際、NGSによる網羅的解析では、有孔虫のゲノムや代謝・発現解析も行われつつある (Keeling *et al.*, 2014)。現時点でもNGSを用いた遺伝子の大量データによる網羅的解析が行われているものの (Habura *et al.*, 2011)、完全な有孔虫ゲノムの解読には至っていない。これは、先述のように、有孔虫の遺伝子が、他の生物とは異なる特徴を持つためであり、外部からの汚染を完全に排除することができないことも原因に挙げられる。また、遺伝子のデータベースにその足がかりとなるべきデータが不完全であることから、有孔虫の遺伝子を見つけ出すことが難しいことも一因である。単一の種類を大量に無菌的に培養する技術が整備できれば、有孔虫ゲノムをより簡単に解析できるようになる。これらの研究手法は、有孔虫の生態学的研究の今後の方向性のひとつだと言える。NGSの解析やその技術を利用した代謝・発現解析を推進することで、群集の支配要因としての代謝メカニズムとその遺伝的な背景、共生生物を維持するメカニズム、細胞内外の物質の輸送経路やその過程を解明することができるようになる。これらを統合的に使うことで、化石記録として残る生物の背景に潜む生物プロセスの理解と検証が進むことが予想される。

有孔虫の生態学と、その生態が生物地球化学サイクルに果たす役割についても、メタゲノム解析、メタトランスクリプトーム解析の手法は不可欠になっている。たとえば、近年明らかになってきた有孔虫による脱窒とその窒素循環に対する貢献の研究においても、有孔虫細胞および共生微生物のゲノムに、脱窒に関与する酵素反応を担うタンパク等の鍵となる遺伝子が存在するか、その遺伝子がどのような環境下で発現しているのかといった遺伝的基盤を踏まえた研究は必須となってきており、分子生物学、ゲノム情報学などの研究基盤を持つ研究者との共同研究が今後もますます進展していくであろう。一方で、脱窒やその他新規代謝プロセスの発見においては、その有孔虫が生息する特異な環境や有孔虫自身の特異な生態、細胞内微細構造、など遺伝子情報以外の「環境、生態」情報が研究の端緒となり、そこから同位体トレーサー実験などの各種飼育実験を経ながら、遺伝子情報による検証というプロセスに至ることが多い。特に、有孔虫においてはゲノム情報に関する知識が限られており、原核生物や多細胞真核生物で報告されている鍵遺伝子の塩基配列が、有孔虫においても同じである保証はない。

そのため、まずゲノムありき、ではなく、生態情報、飼育実験、ゲノム情報解析などを同時に推し進め、その確度を高めていくことが必須である。これらの研究を進めるにおいては、当然ながら、有孔虫細胞内と有孔虫が生息する微小空間の物理、化学環境を精密に測定できる手法、有孔虫の代謝を正確にとらえることのできる精密環境制御飼育実験、有孔虫1個体レベルの代謝産物の定量や同位体分析を可能にする分析技術の発展など、周辺分野も含めた技術革新、技術発展が求められていくであろう。

新しい分析技術の導入や精密に環境を制御した飼育技術を組み合わせることで、殻形成機序の解明にも弾みがつく。生物学的過程を介した殻形成機構を解明する場合でも、ゲノム情報の取得は有力な鍵となる。その先には、飼育実験に立ち返り、様々な環境下における遺伝子発現の局在や時間変化などを観察することで、殻形成の開始や終了、殻の配列や装飾の制御因子やその方法など、それぞれがどのように制御されているのか遺伝子発現を含めて多角的に検討することになるだろう。特に、有孔虫の特徴的な形態がどのように形成されているのかを理解するためには、飼育実験を通じて殻形成中の様々な段階において、殻と軟体部の光学・電子顕微鏡観察が必要である。殻と軟体部の超微細構造観察については1990年代までにはかなり精密に行われているが、微量元素や同位体の微小空間分布、pHやカルシウムの蛍光観察やゲノム情報など、前提とする情報が飛躍的に増加している現在、全く新しい地平を開くことができる。殻形成機序の解明の意義は、石灰質の殻が化石として保存される点を強みとする有孔虫研究を下支えするにとどまらない。有孔虫を材料としている既存の古環境プロキシの信頼性の向上や、海洋物質循環の素過程の理解、そして現在進行しつつある海洋酸性化の影響評価など、他分野にも広く影響が波及するテーマである。

最後に、有孔虫の生物学的研究は、社会貢献や地球環境問題への提言などに繋がる方向性を見据えながら進めることも重要である。たとえば、海洋酸性化による環境影響評価に関する研究は、社会への影響が大きいことから、科学者が責任をもって広く一般にメッセージを発信していくべきテーマの一つである。微化石生物研究に基づく地球環境問題への積極的な発言・提言は北里(1991)などでもその必要性が唱えられてきたが、近年になり、その重要性がますます高まってきたと同時に、われわれ微化石生物研究分野の研究者が社会貢献できる機会が到来したと言える。地道な研究に基づく、有孔虫をはじめとする微化石生物の研究成果は、その生物そのものの生態的・進化的おもしろさの解明のみにとどまらず、古環境解析に基づく地球環境変動への提言、海洋酸性化・貧酸素化のような急激に進みつつある海洋環境・生態系変動への提言にも活かされていくべきである。有孔虫の生

物学的研究は、微古生物学の一分野としての実験的アプローチであり、伝統のある微化石研究との有機的な繋がりを持って発信していくことが肝要である。本論が微化石研究者間でのさらなる連携構築の一助となることを願う。

謝辞

本稿をまとめるに際して、執筆の機会をいただいた佐藤たまき博士(東京学芸大学)、西弘嗣教授(東北大学)には、心よりお礼を申し上げる。また、本稿作成にあたり、柏山祐一郎博士(福井工業大学)、査読者である木元克典博士(海洋研究開発機構)ならびに1名の匿名査読者には、重要なコメントとご意見を頂戴した。厚く感謝申し上げます。飼育実験を通じた化石生物の理解というアプローチは、筆者らが有孔虫の生態学的研究を開始した静岡大学理学部地球科学科において池谷仙之名誉教授(静岡大学)、北里洋特任教授(東京海洋大学、海洋研究開発機構)らが当時の古生物学としては先駆的なビジョンを持って端緒を切り開いた成果の賜物であり、当時の教室の方々に厚く感謝する。国立研究開発法人海洋研究開発機構の関連研究グループの方々には、筆者らが静岡大学時代に培ってきた実験古生物学的な研究を、古環境学、生物学、地球化学、環境化学の手法を取り入れた研究へと融合、展開していくために有益な議論と助言を賜った。あわせて感謝申し上げます。

文献

- Aberle, N. and Witte, U., 2003. Deep-sea macrofauna exposed to a simulated sedimentation event in the abyssal NE Atlantic: in situ pulse-chase experiments using ^{13}C -labelled phytodetritus. *Marine Ecology Progress Series*, **251**, 37–47.
- Addison, J. A. and Hart, M. W., 2005. Colonization, dispersal, and hybridization influence phylogeography of north Atlantic sea urchins (*Strongylocentrotus droebachiensis*). *Evolution*, **59**, 532–543.
- Adl, S. M., Simpson, A. G. B., Lane, C. E., Lukeš, J., Bass, D., Bowser, S. S., Brown, M. W., Burki, F., Dunthorn, M., Hampl, V., Heiss, A., Hoppenrath, M., Lara, E., Le Gall, L., Lynn, D. H., McManus, H., Mitchell, E. A. D., Mozley-Stanridge, S. E., Parfrey, L. W., Pawlowski, J., Rueckert, S., Shadwick, L., Schoch, C. L., Smirnov, A. and Spiegel, F. W., 2012. The Revised Classification of Eukaryotes. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, **59**, 429–493.
- Aizawa, M., 1987. The seasonal changes in benthic foraminifera at the rocky shore. Undergraduate thesis, Institute of Geosciences, Shizuoka University, (in Japanese with English abstract).
- Alve, E. and Goldstein, S. T., 2003. Propagule transport as a key method of dispersal in benthic foraminifera (Protista). *Limnology and Oceanography*, **48**, 2163–2170.
- Ammann, D., Bühner, T., Schefer, U., Müller, M. and Simon, W., 1987. Intracellular neutral carrier-based Ca^{2+} microelectrode with subnanomolar detection limit. *Pflügers Arch*, **409**, 223–228.
- Anderson, O. R. and Faber, W. W., 1984. An estimation of calcium carbonate deposition rate in a planktonic foraminifer *Globigerinoides sacculifer* using ^{45}Ca as a tracer: a recommended procedure for

- improved accuracy. *Journal of Foraminiferal Research*, **14**, 303–308.
- Angell, R. W., 1967. The test structure and composition of the foraminifer *Rosalina floridana*. *Journal of Protozoology*, **14**, 299–307.
- Angell, R. W., 1979. Calcification during chamber development in *Rosalina floridana*. *Journal of Foraminiferal Research*, **9**, 341–353.
- Archibald, J. M., Longet, D., Pawlowski, J. and Keeling, P. J., 2003. A novel Polyubiquitin structure in Cercozoa and Foraminifera: Evidence for a new eukaryotic supergroup. *Molecular Biology and Evolution*, **20**, 62–66.
- Arnold, A. J. and Parker, W. C., 1999. Biogeography of planktonic foraminifera. In Sen Gupta, B. K. ed. *Modern Foraminifera*, 103–122. Kluwer Academic Publishers, UK.
- 浅野 清, 1970. 微古生物学 (上巻), 朝倉書店, 278p.
- Aurahs, R., Treis, Y., Darling, K. and Kucera, M., 2011. A revised taxonomic and phylogenetic concept for the planktonic foraminifer species *Globigerinoides ruber* based on molecular and morphometric evidence. *Marine Micropaleontology*, **79**, 1–14.
- Austin, H. A., Austin, W. E. N. and Paterson, D. M., 2005. Extracellular cracking and content removal of the benthic diatom *Pleurosigma angulatum* (Quekett) by the benthic foraminifera *Haynesina germanica* (Ehrenberg). *Marine Micropaleontology*, **57**, 68–73.
- Bacon, C. D., Mora, A., Wagner, W. L. and Jaramillo, C. A., 2013. Testing geological models of evolution of the Isthmus of Panama in a phylogenetic framework. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **171**, 287–300.
- Bass, D., Moreira, D., López-García, P., Polet, S., Chao, E. E., von der Heyden, S., Pawlowski, J. and Cavalier-Smith, T., 2005. Polyubiquitin Insertions and the Phylogeny of Cercozoa and Rhizaria. *Protist*, **156**, 149–161.
- Bauch, D., Darling, K., Simstich, J., Bauch, H. A., Erlenkeuser, H. and Kroon, D., 2003. Palaeoceanographic implications of genetic variation in living North Atlantic *Neogloboquadrina pachyderma*. *Nature*, **424**, 299–302.
- Bé, A. W. H., Harrison, S. M. and Lott, L., 1973. *Orbulina universa* d'Orbigny in the Indian Ocean. *Micropaleontology*, **19**, 150–192.
- Bé, A. W. H., Hemleben, C., Anderson, O. R. and Spindler, M., 1979. Chamber formation in planktonic foraminifera. *Micropaleontology*, **25**, 294–307.
- Berger, W. H., 1969. Planktonic Foraminifera: Basic Morphology and Ecologic Implications. *Journal of Paleontology*, **43**, 1369–1383.
- Berney, C. and Pawlowski, J., 2003. Revised Small Subunit rRNA Analysis Provides Further Evidence that Foraminifera Are Related to Cercozoa. *Journal of Molecular Evolution*, **57**, S120–S127. doi: 10.1007/s00239-003-0015-2
- Bernhard, J. M. and Alve, E., 1996. Survival, ATP pool, and ultrastructural characterization of benthic foraminifera from Drammensfjord (Norway): response to anoxia. *Marine Micropaleontology*, **28**, 5–17.
- Bernhard, J. M. and Bowser, S. S., 1999. Benthic foraminifera of dysoxic sediments: chloroplast sequestration and functional morphology. *Earth-Science Reviews*, **46**, 149–165.
- Bernhard, J. M., Casciotti, K. L., McIlvin, M. R., Beaudoin, D. J., Visscher, P. T. and Edgcomb, V. P., 2012a. Potential importance of physiologically diverse benthic foraminifera in sedimentary nitrate storage and respiration. *Journal of Geophysical Research*, **117**, G03002, doi:10.1029/2012JG001949
- Bernhard, J. M., Edgcomb, V. P., Casciotti, K. L., McIlvin, M. R. and Beaudoin, D. J., 2012b. Denitrification likely catalyzed by endobionts in an allogromiid foraminifer. *ISME Journal*, **6**, 951–960. doi:10.1038/ismej.2011.171
- Bernhard, J. M., Goldstein, S. T. and Bowser, S. S., 2010. An ectobiont-bearing foraminiferan, *Bolivina pacifica*, that inhabits microoxic pore waters: cell-biological and paleoceanographic insights. *Environmental Microbiology*, **12**, 2107–2119.
- Blair N. E., Levin, L. A., DeMaster, D. J. and Plaia, G., 1996. The short-term fate of fresh algal carbon in continental slope sediments. *Limnology and Oceanography*, **41**, 1208–1219.
- Boiteau, R., Greaves, M. and Elderfield, H., 2012. Authigenic uranium in foraminiferal coatings: A proxy for ocean redox chemistry. *Paleoceanography*, **27**, PA3227, doi:10.1029/2012PA002335.
- Bosak, T., Lahr, D. J. G., Pruss, S. B., Macdonald, F. A., Gooday, A. J., Dalton, L. and Matys, E. D., 2012. Possible early foraminiferans in post-Sturtian (716–635 Ma) cap carbonates. *Geology*, **40**, 67–70. doi:10.1130/G32535.1
- Bowser, S. S., Habura, A. and Pawlowski, J., 2006. Molecular evolution of Foraminifera. In Katz, L., Bhattacharya, D., eds., *Genomics and Evolution of Microbial Eukaryotes*. University Press, Oxford.
- Boyle, E. A., 1981. Cadmium, zinc, copper, and barium in foraminifera tests. *Earth and Planetary Science Letters*, **53**, 11–35.
- Bradshaw, J. S., 1961. Laboratory experiments on the ecology of foraminifera. *Contributions from the Cushman Foundation for Foraminiferal Research*, **12**, 87–106.
- Branson, O., Perea, D. E., Spero, H. J., Winters, M. A. and Gagnon, A. C., 2015. Atom-scale insights into carbonate organic-mineral interfaces, AGU Fall Meeting, San Francisco. <https://agu.confex.com/agu/fm15/meetingapp.cgi/Paper/73745> (Accessed 13 Apr, 2016)
- Brasier, M. D., 1982. Architecture and evolution of the foraminiferid test—a theoretical approach, In Banner, F. T. and Lord, A. R., eds., *Aspects of Micropalaeontology*, 1–41. Dordrecht, Springer Netherlands.
- Broecker, W. S., Peng, T. -H. and Beng, Z., 1982. *Tracers in the Sea*, 690p., Lamont-Doherty Geological Observatory, Columbia University.
- Burki, F., Kudryavtsev, A., Matz, M. V., Aglyamova, G. V., Bulman, S., Fiers, M., Keeling, P. J. and Pawlowski, J., 2010. Evolution of Rhizaria: new insights from phylogenomic analysis of uncultivated protists. *BMC Evolutionary Biology*, 10:377, doi:10.1186/1471-2148-10-377
- Cavalier-Smith, T., 1999. Principles of protein and lipid targeting in secondary symbiogenesis: euglenoid, donoflagellate, and sporozoan plastid origins and the eukaryote family tree. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, **46**, 347–366.
- Cifelli, R., 1969. Radiation of Cenozoic planktonic Foraminifera. *Systematic Zoology*, **18**, 154–168.
- Corliss, B. H., 1985. Microhabitats of benthic foraminifera within deep-sea sediments. *Nature*, **314**, 435–438.
- Corliss, B. H. and Emerson, S., 1990. Distribution of Rose Bengal stained deep-sea benthic foraminifera from the Nova Scotian continental margin and Gulf of Maine. *Deep-Sea Research*, **37**, 381–400.
- Cronblad, H. G. and Malmgren, B. A., 1981. Climatically controlled variation of Sr and Mg in Quaternary planktonic foraminifera. *Nature*, **291**, 61–64.
- Cronin, T. M., 1985. Speciation and stasis in marine Ostracoda: climatic modulation of evolution. *Science*, **227**, 60–62.
- Darling, K. F., Kucera, M., Wade, C. M., von Langen, P. and Pak, D., 2003. Seasonal distribution of genetic types of planktonic foraminifer morphospecies in the Santa Barbara Channel and its paleoceanographic implications. *Paleoceanography*, **18**, doi: 10.1029/2001PA000723
- Darling, K. F., Kucera, M., Pudsey, C. J. and Wade, C. M., 2004. Molecular evidence links cryptic diversification in polar planktonic protists to Quaternary climate dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **101**, 7657–7662.
- Darling, K. F., Kucera, M., Kroon, D. and Wade, C. M., 2006. A resolution for the coiling direction paradox in *Neogloboquadrina pachyderma*. *Paleoceanography*, **21**, PA2011, doi:10.1029/2005

- PA001189
- Darling, K. F., Kucera, M. and Wade, C. M., 2007. Global molecular phylogeography reveals persistent Arctic circumpolar isolation in a marine planktonic protist. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **104**, 5002–5007.
- Darling, K. F., Wade, C. M., Kroon, D. and Leigh Brown, A. J., 1997. Planktic foraminiferal molecular evolution and their polyphyletic origins from benthic taxa. *Marine Micropaleontology*, **30**, 251–266.
- Darling, K. F., Wade, C. M., Kroon, D., Leigh Brown, A. J. and Bijma, J., 1999. The diversity and distribution of modern planktic foraminiferal small subunit ribosomal RNA genotypes and their potential as tracers of present and past ocean circulations. *Paleoceanography*, **14**, 3–12.
- Darling, K. F., Wade, C. M., Stewart, I. A., Kroon, D., Dingle, R. and Leigh Brown, A. J., 2000. Molecular evidence for genetic mixing of Arctic and Antarctic subpolar populations of planktonic foraminifers. *Nature*, **405**, 43–47.
- Darling, K. F. and Wade, C. M., 2008. The genetic diversity of planktic foraminifera and the global distribution of ribosomal RNA genotypes. *Marine Micropaleontology*, **B**, 216–238.
- de Beer, D., Kuhl, M., Stambler, N. and Vaki, L., 2000. A microsensor study of light enhanced Ca^{2+} uptake and photosynthesis in the reef-building hermatypic coral *Favia* sp. *Marine Ecology Progress Series*, **194**, 75–85.
- de Beer, D., Schramm, A., Santegoeds, C. M. and Kuhl, M., 1997. A nitrite microsensor for profiling environmental biofilms. *Applied and Environmental Microbiology*, **63**, 973–977.
- de Nooijer, L. J., Toyofuku, T. and Kitazato, H., 2009. Foraminifera promote calcification by elevating their intracellular pH. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **106**, 15374–15378.
- Debeney, J. P., Guillou, J. J., Geslin, E. and Lesourd, M., 2000. Crystallization of calcite in foraminiferal tests. *Micropaleontology*, **46**, supplement 1, 87–94.
- de Nooijer, L. J., Spero, H. J., Erez, J., Bijma, J. and Reichart, G. J., 2014. Biomineralization in perforate foraminifera. *Earth-Science Reviews*, **135**, 48–58.
- de Nooijer, L. J., Toyofuku, T., Oguri, K., Nomaki, H. and Kitazato, H., 2008. Intracellular pH distribution in foraminifera determined by the fluorescent probe HPTS. *Limnology and Oceanography: Methods*, **6**, 610–618.
- de Nooijer, L. J., Toyofuku, T. and Kitazato, H., 2009. Foraminifera promote calcification by elevating their intracellular pH. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **106**, 15374–15378.
- De Renzi, M., 1988. Shell coiling in some larger foraminifera: general comments and problems. *Paleobiology*, **14**, 387–400.
- De Renzi, M., 1995. Theoretical morphology of logistic coiling exemplified by tests of genus *Alveolina* (larger foraminifera). *Neues Jahrbuch für Geologie und Paläontologie. Abhandlungen*, **195**, 241–251.
- de Vargas, C., Norris, R., Zaninetti, L., Gibb, S. W. and Pawlowski, J., 1999. Molecular evidence of cryptic speciation in planktonic foraminifers and their relation to oceanic provinces. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **96**, 2864–2868.
- de Vargas, C., Renaud, S., Hilbrecht, H. and Pawlowski, J., 2001. Pleistocene adaptive radiation in *Globorotalia truncatulinoides*: genetic, morphologic, and environmental evidence. *Paleobiology*, **27**, 104–125.
- de Vargas, C., Sáez, A. G., Medlin, L. K. and Thierstein, H. R., 2004. Superspecies in the calcareous plankton. In Thierstein, H. R. and Young, J. R., eds., *Coccolithophores—from molecular processes to global impact*, 271–298. Springer.
- de Vargas, C., Zaninetti, L., Hilbrecht, H. and Pawlowski, J., 1997. Phylogeny and Rates of Molecular evolution of planktonic Foraminifera: SSU rDNA sequences compared to the fossil record. *Journal of Molecular Evolution*, **45**, 285–294.
- Dissard, D., Nehrke, G., Reichart, G. J. and Bijma, J., 2010. Impact of seawater pCO_2 on calcification and Mg/Ca and Sr/Ca ratios in benthic foraminifera calcite: results from culturing experiments with *Ammonia tepida*. *Biogeosciences*, **7**, 81–93.
- Dodson, J. J., Tremblay, S., Colombani, F., Carscadden, J. E. and Lecomte, F., 2007. Trans-Arctic dispersals and the evolution of a circumpolar marine fish species complex, the capelin (*Mallotus villosus*). *Molecular Ecology*, **16**, 5030–5043.
- Douglas, R. G., 1979. Benthic foraminiferal ecology and Paleocology: a review of concepts and methods. In Lipps, J. H., Berger, W. H., Buzas, M. A., Douglas, R. G. and Ross, C. A., eds., *Foraminiferal Ecology and Paleocology*, SEPM Society for Sedimentary Geology, SEPM Short Course Notes Volume 6, doi:10.2110/scn.79.06
- Elderfield, H., Yu, J., Anand, P., Kiefer, T. and Nyland, B., 2006. Calibrations for benthic foraminiferal Mg/Ca paleothermometry and the carbonate ion hypothesis. *Earth and Planetary Science Letters*, **250**, 633–649.
- El-Naggar, Z. R., 1971. On the classification, evolution and stratigraphical distribution of the Globigerinacea. In Farinacci, A., ed., *Proceedings of II planktonic Conference, Rome 1970*, Edizioni Tecnoscienza, Rome, pp. 421–476.
- Emiliani, C., 1955. Pleistocene Temperatures. *Journal of Geology*, **63**, 538–578.
- Emiliani, C. and Edwards, G., 1953. Tertiary Ocean Bottom Temperatures. *Nature*, **171**, 887–888.
- 遠藤一佳, 1991. 分子古生物学の現状と展望. 化石, (51), 24–45.
- Enge, A. J., Nomaki, H., Ogawa, N., Witte, U., Moeseneder, M., Lavik, G., Ohkouchi, N., Kitazato, H., Kucera, M. and Heinz, P., 2011. Response of the benthic foraminiferal community to a simulated short-term phytodetritus pulse in the abyssal North Pacific. *Marine Ecology Progress Series*, **438**, 129–142.
- Ericson, D. B., 1959. Coiling Direction of *Globigerina pachyderma* as a Climatic Index. *Science*, **130**, 219–220.
- Erez, J., 2003. The Source of ions for biomineralization in Foraminifera and their implications for paleoceanographic proxies. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, **54**, 115–149.
- Erez, J. and Luz, B., 1983. Experimental paleotemperature equation for planktonic foraminifera. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **47**, 1025–1031.
- Erskian, M. G. and Lipps, J. H., 1987. Population dynamics of the foraminiferan *Glabratalia ornatissima* (Cushman) in northern California. *Journal of Foraminiferal Research*, **17**, 240–250.
- Fahrni, J. F., Pawlowski, J., Richardson, S., Debenay, J. -P. and Zaninetti, L., 1997. Actin suggests *Milliammina fusca* (Brady) is related to porcellaneous rather than to agglutinated foraminifera. *Micropaleontology*, **43**, 211–214.
- Falkowski, P. G., Katz, M. E., Knoll, A. H., Quigg, A., Raven, J. A., Schofield, O., Taylor, F. J. R., 2004. The evolution of modern eukaryotic phytoplankton. *Science*, **305**, 354–360
- Fleisher, R. L. and Lane, H. R., 1999. Applied Paleontology. In Beaumont, E. A. and Foster, N. H., eds., *Treatise of petroleum geology/Handbook of Petroleum Geology: Exploring for Oil and Gas Traps*, 1–65. American Association of Petroleum Geologists.
- Francis, C. A., Roberts, K. J., Beman, J. M., Santoro, A. E. and Oakley, B. B., 2005. Ubiquity and diversity of ammonia-oxidizing archaea in water columns and sediments of the ocean. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **102**, 14683–14688. doi:10.1073/pnas.0506625102
- Fujita, K., Hikami, M., Suzuki, A., Kuroyanagi, A., Sakai, K., Kawahata, H. and Nojiri, Y., 2011. Effects of ocean acidification on calcification of symbiont-bearing reef foraminifers. *Biogeosciences*, **8**, 2089–2098, doi:10.5194/bg-8-2089-2011
- Glud, R. N., Stahl, H., Berg, P., Wenzhöfer, F., Oguri, K. and Kitazato,

- H., 2009a. In situ microscale variation in distribution and consumption of O₂: A case study from a deep ocean margin sediment (Sagami Bay, Japan). *Limnology and Oceanography*, **54**, 1–12.
- Glud, R. N., Thamdrup, B., Stahl, H., Wenzhoefer, F., Glud, A. N., Nomaki, H., Oguri, K., Revsbech, N. P. and Kitazato, H., 2009b. Nitrogen cycling in a deep ocean margin sediment (Sagami Bay, Japan). *Limnology and Oceanography*, **54**, 723–734.
- Glud, R. N., Wenzhöfer, F., Tengberg, A., Middelboe, M., Oguri, K. and Kitazato, H., 2005. Distribution of oxygen in surface sediments from central Sagami Bay, Japan: In situ measurements by microelectrodes and planar optodes. *Deep-Sea Research Part I*, **52**, 1974–1987.
- Gooday, A. J., 1986a. Meiofaunal foraminiferans from the bathyal Porcupine Seabight (northeast Atlantic): size structure, standing stock, taxonomic composition, species diversity and vertical distribution in the sediment. *Deep-Sea Research*, **33**, 1345–1373.
- Gooday, A. J., 1986b. Soft-shelled foraminifera in meiofaunal samples from the bathyal northeast Atlantic. *Sarsia*, **71**, 275–287.
- Gooday, A. J., Hori, S., Todo, Y., Okamoto, T., Kitazato, H. and Sabbatini, A., 2004. Soft-walled, monothalamous benthic foraminiferans in the Pacific, Indian and Atlantic Oceans: aspects of biodiversity and biogeography. *Deep-Sea Research Part I*, **51**, 33–53.
- Gooday, A. J., Nomaki, H. and Kitazato, H., 2008. Modern deep-sea benthic foraminifera: a brief review of their morphology-based biodiversity and trophic diversity. *Geological Society, London, Special Publications*, **303**, 97–119.
- Gooday, A. J., Shires, R. and Jones, A. R., 1997. Large, deep-sea agglutinated Foraminifera; two differing kinds of organization and their possible ecological significance. *Journal of Foraminiferal Research*, **27**, 278–291.
- Grabenstatter, J., Mehay, S., McIntyre-Wressnig, A., Giner, J., Edgcomb, V. P., Beaudoin, D. J., Bernhard, J. M., and Summons, R. E., 2013. Identification of 24-*n*-propylidenecholesterol in a member of the Foraminifera. *Organic Geochemistry*, **63**, 145–151.
- Grell, K. G., 1958. Untersuchungen über die Fortpflanzung und sexualität der Foraminiferen III. *Glabratella sulcata*. *Archiv der Protistenkunde*, **102**, 449–472.
- Grell, K. G., 1979. Cytogenetic systems and evolution in foraminifera. *Journal of Foraminiferal Research*, **9**, 1–13.
- Grzymalski, J., Schofield, O. M., Falkowski, P. G. and Bernhard, J. M., 2002. The function of plastid in the deep-sea benthic foraminifer, *Nonionella stella*. *Limnology and Oceanography*, **47**, 1569–1580.
- Gudmundsson, G., von Schmalensee, M. and Svavarsson, J., 2000. Are foraminifers (Protozoa) important food for small isopods (Crustacea) in the deep sea? *Deep-Sea Res Part I*, **47**, 2093–2109.
- Habura, A., Hou, Y., Reilly, A. A. and Bowser, S. S., 2011. High-throughput sequencing of *Astrammmina rara*: Sampling the giant genome of a giant foraminiferan protist. *BMC Genomics*, **12**: 169, doi:10.1186/1471-2164-12-169
- Habura, A., Wegener, L., Travis, J. L. and Bowser, S. S., 2005. Structural and Functional Implications of an Unusual Foraminiferal β -Tubulin. *Molecular Biology and Evolution*, **22**, 2000–2009.
- Hastings, D. W., Emerson, S. R., Erez, J. and Nelson, B. K., 1996. Vanadium in foraminiferal calcite: Evaluation of a method to determine paleo-seawater vanadium concentrations. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **60**, 3701–3715.
- Haynes, J. R., 1981. *Foraminifera*. Macmillan Publishers, Ltd., London.
- Hayward, B. W., Cedhagen, T., Kaminski, M. and Gross, O., 2016. World Foraminifera Database. Accessed at <http://www.marinespecies.org/foraminifera> on 2016-04-01.
- Hecht, A. D., 1974. Intraspecific variation in Recent populations of *Globigerinoides ruber* and *Globigerinoides trilobus* and their application to paleoenvironmental analysis. *Journal of Paleontology*, **48**, 1217–1234.
- Heinz, P., Hemleben, Ch. and Kitazato, H., 2002. Time-response of cultured deep-sea benthic foraminifera to different algal diets. *Deep-Sea Research Part I*, **49**, 517–537.
- Heinz, P., Kitazato, H., Schmiedl, G. and Hemleben, Ch., 2001. Response of deep-sea benthic foraminifera from the Mediterranean Sea to simulated phytoplankton pulses under laboratory conditions. *Journal of Foraminiferal Research*, **31**, 210–227.
- Hemleben, C., Spindler, M. and Anderson, O. R., 1989. Modern Planktonic Foraminifera. 363p. Springer Verlag, Berlin.
- Herbert, D. G., 1991. Foraminiferivory in a Puncturella (Gastropoda: Fissurellidae). *Journal of Molluscan Studies*, **57**, 127–129.
- Hickman, C. S. and Lipps, J. H., 1983. Foraminiferivory: selective ingestion of foraminifera and test alterations produced by the neogastropod *Olivella*. *Journal of Foraminiferal Research*, **13**, 108–114.
- Hikami, M., Ushie, H., Irie, T., Fujita, K., Kuroyanagi, A., Sakai, K., Nojiri, Y., Suzuki, A. and Kawahata, H., 2011. Contrasting calcification responses to ocean acidification between two reef foraminifers harboring different algal symbionts. *Geophysical Research Letters*, **38**, L19601, doi:10.1029/2011GL048501
- Hintz, C. J., Chandler, G. T., Bernhard, J. M., McCorkle, D. C., Havach, S. M., Blanks, J. K. and Shaw, T. J., 2004. A physicochemically constrained seawater culturing system for production of benthic foraminifera. *Limnology and Oceanography: Methods*, **2**, 160–170.
- Högslund, S., Revsbech, N. P., Cedhagen, T., Nielsen, L. P., and Gallardo, V. A., 2008. Denitrification, nitrate turnover, and aerobic respiration by benthic foraminiferans in the oxygen minimum zone off Chile. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **359**, 85–91. doi:10.1016/j.jembe.2008.02.015
- Hönisch, B. and Hemming, N. G., 2004. Ground-truthing the boron isotope-paleo-pH proxy in planktonic foraminifera shells: Partial dissolution and shell size effects, *Paleoceanography*, **19**, PA4010, doi:10.1029/2004PA001026
- Holzmann, M. and Pawlowski, J., 1996. Preservation of foraminifera for DNA extraction and PCR amplification. *Journal of Foraminiferal Research*, **26**, 264–267.
- Holzmann, M., Piller, W. and Pawlowski, J., 1996. Sequence variations in the large-subunit ribosomal RNA gene of *Ammonia* (Foraminifera, Protozoa) and their evolutionary implications. *Journal of Molecular Evolution*, **43**, 145–151.
- 池谷仙之・花井哲朗・岡田 豊, 1976. 底棲有孔虫の飼育. 海洋科学, **8**, 56–62.
- 井上 勲, 2012. 原生生物. 生物の系統と新しい分類体系. 生物の科学 遺伝. **66**. 439–444.
- IPCC, 2014. Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Core Writing Team, Pachauri R. K. and Meyer, L. A., eds., IPCC, Geneva, Switzerland.
- Ishimura, T., Tsunogai, U. and Nakagawa, F., 2008. Grain-scale heterogeneity of the stable carbon and oxygen isotopic compositions in international standard calcite materials (NBS19, NBS18, IAEA-CO-1, and IAEA-CO-8). *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, **22**, 1925–1932. DOI:10.1002/rcm.3571
- Ishitani, Y., Ishikawa, S. A., Inagaki, Y., Tsuchiya, M., Takahashi, K. and Takishita, K., 2011. Multigene phylogenetic analyses including diverse radiolarian species support the “Retaria” hypothesis — The sister relationship of Radiolaria and Foraminifera. *Marine Micropaleontology*, **81**, 32–42.
- Ishitani, Y., Kamikawa, R., Yabuki, A., Tsuchiya, M., Inagaki, Y. and Takishita, K., 2012. Evolution of Elongation Factor-like (EFL) protein in Rhizaria is revised by radiolarian EFL gene sequences.

- Journal of Eukaryotic Microbiology*, **59**, 367–373.
- 石谷佳之・瀧下清貴, 2015. 有孔虫と放散虫を姉妹群とする「レタリア仮説」. 化石, (96), 13–21.
- Itaki, T., Ikehara, K., Motoyama, I. and Hasegawa, S., 2004. Abrupt ventilation changes in the Japan Sea over the last 30 ky: evidence from deep-dwelling radiolarians. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, **208**, 263–278.
- Iwasaki, S., Kimoto, K., Sasaki, O., Kano, H., Honda, M. C., Okazaki, Y., 2015. Observation of the dissolution process of *Globigerina bulloides* tests (planktic foraminifera) by X-ray micro-computed tomography. *Paleoceanography*, **30**, 317–331, doi:10.1002/2014PA002639
- Jorissen, F. J., de Stigter, H. C. and Widmark, J. G. V., 1995. A conceptual model explaining benthic foraminiferal microhabitats. *Marine Micropaleontology*, **26**, 3–15.
- Kanesaki, H., 1987. Geographic distributions of rocky shore foraminifera adjacent to the Japanese Islands. Undergraduate thesis, Institute of Geosciences, Shizuoka University, pp. 86 (in Japanese with English abstract).
- Kaiho, K., 1994. Benthic foraminiferal dissolved-oxygen index and dissolved-oxygen levels in modern ocean. *Geology*, **22**, 719–722.
- Kamikawa, R., Inagaki, Y. and Sako, Y., 2008. Direct phylogenetic evidence for lateral transfer of elongation factor-like gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **105**, 6965–6969.
- Kamp, A., de Beer, D., Nitsch, J. L., Lavik, G. and Stief, P., 2011. Diatoms respire nitrate to survive dark and anoxic conditions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **108**, 5649–5654.
- Kamp, A., Høglund, S., Risgaard-Petersen, N. and Stief, P., 2015. Nitrate storage and dissimilatory nitrate reduction by eukaryotic microbes. *Frontiers in Microbiology*, **6**, 1492. doi:10.3389/fmicb.2015.01492
- Katz, A., 1973. The interaction of magnesium with calcite during crystal growth at 25–90°C and one atmosphere. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **37**, 1563–1578.
- Kawahata, H., 2005. Stable isotopic composition of two morphotypes of *Globigerinoides ruber* (white) in the subtropical gyre in the North Pacific. *Paleontological Research*, **9**, 27–35.
- Keeling, P. J., 2001. Foraminifera and Cercozoa are related in Actin phylogeny: Two orphans find a home? *Molecular Biology and Evolution*, **18**, 1551–1557.
- Keeling, P. J., Burki, F., Wilcox, H. M., Allam, B., Allen, E. E. et al., 2014. The Marine Microbial Eukaryote Transcriptome Sequencing Project (MMETSP): Illuminating the functional diversity of eukaryotic life in the oceans through transcriptome sequencing. *PLoS Biology*, **12**, e1001889. doi:10.1371/journal.pbio.1001889
- Kennett, J. P., 1976. Phenotypic variation in some recent and late Cenozoic planktonic foraminifera. In Hedley, R. H. and Adams, C. G., eds., *Foraminifera*, 111–170. Academic Press, New York, NY, USA.
- Keul, N., Langer, G., de Nooijer, L. J. and Bijma, J., 2013. Effect of ocean acidification on the benthic foraminifera *Ammonia* sp. is caused by a decrease in carbonate ion concentration. *Biogeosciences*, **10**, 6185–6198.
- Khanna, N., Godbold, J. A., Austin, W. E. N. and Paterson, D. M., 2013. The impact of ocean acidification on the functional morphology of foraminifera. *PLoS ONE*, **8**, e83118, doi:10.1371/journal.pone.0083118
- Kimoto, K. and Tsuchiya, M., 2006. The “unusual” reproduction of planktic foraminifera: An asexual reproductive phase of *Neogloboquadrina pachyderma* (Ehrenberg). International Symposium on Foraminifera 2006 (FORAMS 2006), Natal, Brasil.
- 岸本直子・木元克典, 2016. マイクロCTで取得した3次元形状情報に基づく有孔虫骨格モデルのパラメータ同定. 化石, (99), 53–61.
- 北里 洋, 1981. 底生有孔虫の行動と生活様式の観察. 静岡大学地球科学研究報告, **6**, 61–71.
- 北里 洋, 1986. 岩礁地性底生有孔虫類の生態. 新生代底生有孔虫の研究(的場保望・加藤道雄編). pp. 1–12, 秋田大学鉱山学部.
- Kitazato, H., 1988. Ecology of benthic foraminifera in the tidal zone of a rocky shore. Benthos '86, *Revue du Paléobiologie*, Vol. Spéc. No. 2, 815–825.
- 北里 洋, 1991. 古生物学に何を望むか—コメント: 飼育実験の重要性—. シンポジウム「古生物学の課題と展望—21世紀に向けて—」. 化石, (50), 32–33.
- Kitazato, H., 1992. Pseudopodia of benthic foraminifera and their relationships to the test morphology. In Takayanagi, Y. and Saito, T., eds., *Studies in benthic foraminifera*. 103–108. Tokai University Press, Tokyo, 103–108.
- 北里 洋, 1998. 実験古生物学的手法による古海洋環境指標の確立—総括と展望—. 地学雑誌, **107**, 258–273.
- Kitazato, H. and Okamoto, T., 1997. Responses of foraminiferal distribution in JET-Preliminary results-. *Proceedings of International Symposium on Environmental Studies for Deep-Sea Mining*, 317–320.
- 北里 洋・大野照文・松岡数充, 1993. 現在によみがえる化石—実験古生物学—. 月刊地球, **15**, 523–529.
- Kitazato, H., Tsuchiya, M. and Takahara, K., 2000. Recognition of breeding populations in foraminifera: an example using the genus *Glabratella*. *Paleontological Research*, **4**, 1–15.
- Koho, K. A., Piña-Ochoa, E., Geslin, E. and Risgaard-Petersen, N., 2011. Vertical migration, nitrate uptake and denitrification: Survival mechanisms of foraminifers (*Globobulimina turgida*) under low oxygen conditions. *FEMS Microbiology Ecology*, **75**, 273–283. doi:10.1111/j.1574-6941.2010.01010.x
- Koshio, M., 1992MS. Life history and test morphology of *Ammonia beccarii* (Linné) (foraminifer) in Hamana Lake, central Japan. Unpublished master's thesis, Shizuoka University, 64p.
- Košler, J., Kučera, M. and Sylvester, P., 2001. Precise measurement of Li isotopes in planktonic foraminiferal tests by quadrupole ICPMS. *Chemical Geology*, **181**, 169–179.
- Kühl, M., Steukart, C., Eickert, G., and Jeroszewski, P., 1998. A H₂S microsensor for profiling biofilms and sediments: Application in an acidic lake sediment. *Aquatic Microbial Ecology*, **15**, 201–209.
- Kuhnt, T., Friedrich, O., Schmiedl, G., Milker, Y., Mackensen, A. and Lückge, A., 2013. Relationship between pore density in benthic foraminifera and bottom-water oxygen content. *Deep-Sea Research Part I*, **76**, 85–95.
- Kunioka, D., Shirai, K., Takahata, N., Sano, Y., Toyofuku, T. and Ujiie, Y., 2006. Microdistribution of Mg/Ca, Sr/Ca, and Ba/Ca ratios in *Pulleniatina obliquiloculata* test by using a NanoSIMS: Implication for the vital effect mechanism. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*, **7**, Q12P20, doi:10.1029/2006GC001280
- Kuroyanagi, A. and Kawahata, H., 2004. Vertical distribution of living planktonic foraminifera in the seas around Japan. *Marine Micropaleontology*, **53**, 173–196.
- Kuroyanagi, A., Kawahata, H., Suzuki, A., Fujita, K. and Irie, T., 2009. Impacts of ocean acidification on large benthic foraminifers: Results from laboratory experiments, *Marine Micropaleontology*, **73**, 190–195.
- Kuroyanagi, A., Tsuchiya, M., Kawahata, H. and Kitazato, H., 2008. The occurrence of two genotypes of the planktonic foraminifer *Globigerinoides ruber* (white) and paleo-environmental implications, *Marine Micropaleontology*, **68**, 236–243.
- Langer, M. R., Silk, M. T. and Lipps, J. H., 1997. Global ocean carbonate and carbon dioxide production; the role of reef Foraminifera. *Journal of Foraminiferal Research*, **27**, 271–277.
- Larsen, L. H., Kjær, T., and Revsbech, N. P., 1997. A microscale

- NO₃⁻ biosensor for environmental applications. *Analytical Chemistry*, **69**, 3527–3531.
- Lea, D. W., 1999. Trace elements in foraminiferal calcite. In Sen Gupta, B. K. ed., *Modern Foraminifera*, 259–277. Dordrecht, Springer Netherlands.
- Lea, D. W. and Boyle, E., 1989. Barium content of benthic foraminifera controlled by bottom-water composition. *Nature*, **338**, 751–753.
- Lea, D. W., Martin, P. A., Chan, D. A. and Spero, H. J., 1995. Calcium uptake and calcification rate in the planktonic foraminifer *Orbulina universa*. *Journal of Foraminiferal Research*, **25**, 14–23.
- Leutenegger, S. and Hansen, H. J., 1979. Ultrastructural and radiotracer studies of pore function in foraminifera. *Marine Biology*, **54**, 11–16.
- Levin, L. A., Blair, N. E., DeMaster, D. J., Plaia, G., Fornes, W., Martin, C. and Thomas, C., 1997. Rapid subduction of organic matter by maldivian polychaetes on the North Carolina slope. *Journal of Marine Research*, **55**, 595–611.
- Lipps, J. H., 1970. Plankton evolution. *Evolution*, **24**, 1–22.
- Loeblich, A. R. and Tappan, H., 1987. Foraminifera genera and their classification. v. 1–2, Van Nostrand Reinhold, New York.
- Lutze, G. F., 1986. *Uvigerina* species of the eastern North Atlantic. *Utrecht Micropaleontological Bulletins*, **35**, 21–46.
- Masters, B. A., 1977. Mesozoic planktonic foraminifera—A world-wide review and analysis. In Ramsay, A. T. S., ed., *Oceanic Micropalaeontology*, **1**, 301–733. Academic Press, London.
- Mewes, A., Langer, G., de Nooijer, L. J., Bijma, J. and Reichert, G. J., 2014. Effect of different seawater Mg concentrations on calcification in two benthic foraminifers. *Marine Micropaleontology*, **113**, 56–64.
- Mewes, A., Langer, G., Thoms, S., Nehrke, G., Reichert, G. J., de Nooijer, L. J. and Bijma, J., 2015. Impact of seawater [Ca²⁺] on the calcification and calcite Mg/Ca of *Amphistegina lessonii*. *Biogeosciences*, **12**, 2153–2162.
- Middelburg, J. J., Barranguet, C., Boschker, H. T. S., Herman, P. M. J., Moens, T. and Heip, C. H. R., 2000. The fate of intertidal microphytobenthos carbon: An in situ ¹³C-labeling study. *Limnology and Oceanography*, **45**, 1224–1234.
- Miura, O., Torchin, M. E., Bermingham, E., Jacobs, D. K. and Hechinger, R. F., 2012. Flying shells: historical dispersal of marine snails across Central America. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **279**, 1061–1067.
- Montes, C., Cardona, A., Jaramillo, C., Pardo, A., Silva, J. C., Valencia, V., Ayala, C., Pérez-Angel, L. C., Rodríguez-Parra, L. A., Ramirez, V. and Niño, H., 2015. Middle Miocene closure of the Central American Seaway. *Science*, **348**, 226–229.
- Moodley, L., Boschker, H. T. S., Middelburg, J. J., Pel, R., Herman, P. M. J., de Deckere, E. and Heip, C. H. R., 2000. Ecological significance of benthic Foraminifera: ¹³C labelling experiments. *Marine Ecology Progress Series*, **202**, 289–295.
- Moodley, L. and Hess, C., 1992. Tolerance of infaunal benthic foraminifera for low and high oxygen concentrations. *Biological Bulletin*, **183**, 94–98.
- Moodley, L., Middelburg, J. J., Boschker, H. T. S., Duineveld, G. C. A., Pel, R., Herman, P. M. J. and Heip, C. H. R., 2002. Bacteria and foraminifera: key players in a short-term deep-sea benthic response to phytodetritus. *Marine Ecology Progress Series*, **236**, 23–29.
- Moodley, L., van der Zwaan, G. J., Herman, P. M. J., Kempers, L. and van Breugel, P., 1997. Differential response of benthic meiofauna to anoxia with special reference to foraminifera (Protista: Sarcodina). *Marine Ecology Progress Series*, **158**, 151–163.
- Murray, J., 2006. *Ecology and applications of benthic foraminifera*. 426p., Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Myers, E. H., 1938. The present state of our knowledge concerning the life cycle of the foraminifera. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **24**, 10–17.
- Nardelli, M. P., Barras, C., Metzger, E., Mouret, A., Filipsson, H. L., Jorissen, F. and Geslin, E., 2014. Experimental evidence for foraminiferal calcification under anoxia. *Biogeosciences*, **11**, 4669–4694, doi:10.5194/bg-11-4029-2014.
- Nehrke, G., Keul, N., Langer, G., de Nooijer, L. J., Bijma, J. and Meibom, A., 2013. A new model for biomineralization and trace-element signatures of Foraminifera tests. *Biogeosciences*, **10**, 6759–6767.
- Nomaki, H., Bernhard, J. M., Ishida, A., Tsuchiya, M., Uematsu, K., Tame, A., Kitahashi, T., Takahata, N., Sano, Y. and Toyofuku, T., 2016. Intracellular isotope localization in *Ammonia* sp. (Foraminifera) of oxygen-depleted environments: results of nitrate and sulfate labeling experiments. *Frontiers in Microbiology*, **7**, 163, doi:10.3389/fmicb.2016.00163
- Nomaki, H., Chikaraishi, Y., Tsuchiya, M., Toyofuku, T., Ohkouchi, N., Uematsu, K., Tame, A. and Kitazato, H., 2014. Nitrate uptake by foraminifera and use in conjunction with endobionts under anoxic conditions. *Limnology and Oceanography*, **59**, 1879–1888. doi:10.4319/lo.2014.59.6.1879
- Nomaki, H., Chikaraishi, Y., Tsuchiya, M., Toyofuku, T., Suga, H., Sasaki, Y., Uematsu, K., Tame, A. and Ohkouchi, N., 2015. Variation in the nitrogen isotopic composition of amino acids in benthic foraminifera: implications for their adaptation to oxygen-depleted environments. *Limnology and Oceanography*, **60**, 1906–1916. doi:10.1002/lno.10140
- Nomaki, H., Heinz, P., Hemleben, C. and Kitazato, H., 2005a. Behavior and response of deep-sea benthic foraminifera to freshly supplied organic matter: a laboratory feeding experiment in microcosm environments. *Journal of Foraminiferal Research*, **35**, 103–113.
- Nomaki, H., Heinz, P., Nakatsuka, T., Shimanaga, M. and Kitazato, H., 2005b. Species-specific ingestion of organic carbon by deep-sea benthic foraminifera and meiobenthos: In situ tracer experiments. *Limnology and Oceanography*, **50**, 134–146.
- Nomaki, H., Heinz, P., Nakatsuka, T., Shimanaga, M., Ohkouchi, N., Ogawa, N. O., Kogure, K., Ikemoto, E. and Kitazato, H., 2006. Different ingestion patterns of ¹³C-labeled bacteria and algae by deep-sea benthic foraminifera. *Marine Ecology Progress Series*, **310**, 95–108.
- Nomaki, H., Ogawa, N. O., Ohkouchi, N., Suga, H., Toyofuku, T., Shimanaga, M., Nakatsuka, T. and Kitazato, H., 2008. Benthic foraminifera as trophic links between phytodetritus and benthic metazoans: carbon and nitrogen isotopic evidence. *Marine Ecology Progress Series*, **357**, 153–164.
- Nomaki, H., Ogawa, N. O., Takano, Y., Suga, H., Ohkouchi, N. and Kitazato, H., 2011. Differing utilization of glucose and algal particulate organic matter by deep-sea benthic organisms of Sagami Bay, Japan. *Marine Ecology Progress Series*, **431**, 11–24. doi:10.3354/meps09144
- Nomaki, H., Ohkouchi, N., Heinz, P., Suga, H., Chikaraishi, Y., Ogawa, N. O., Matsumoto, K. and Kitazato, H., 2009. Degradation of algal lipids by deep-sea benthic foraminifera: an in situ tracer experiment. *Deep-Sea Research Part I*, **56**, 1488–1503. doi:10.1016/j.dsr.2009.04.013
- Nomura, R., 2001. Quantification of optically granular texture of benthic foraminiferal walls. *Paleontological Research*, **5**, 193–200.
- Nomura, R. and Takayanagi, Y., 2000. Foraminiferal structures of some Japanese species of the genera *Ammonia* and *Pararotalia*, family Rotaliidae (Foraminifera). *Paleontological Research*, **4**, 17–31.
- Nozawa, F., Kitazato, H., Tsuchiya, M. and Gooday, A. J., 2006. 'Live' benthic foraminifera at an abyssal site in the equatorial Pacific nodule province: Abundance, diversity and taxonomic composition. *Deep-Sea Research Part I*, **53**, 1406–1422.

- Nürnberg, D., 1995. Magnesium in tests of *Neogloboquadrina pachyderma* sinistral from high northern and southern latitudes. *Journal of Foraminiferal Research*, **25**, 350–368.
- 大場忠道・谷村好洋, 2012. 最終氷期最盛期前後の日本海の表層環境. *地質学雑誌*, **118**, 376–386.
- 尾田太良・佐藤時幸(編), 2013. 新版微化石研究マニュアル. 朝倉書店. 1–110.
- Ogawa, N. O., Nagata, T., Kitazato, H. and Ohkouchi, N., 2010. Ultra-sensitive elemental analyzer/isotope ratio mass spectrometer for stable nitrogen and carbon isotope analyses. In Ohkouchi, N., Tayasu, I. and Koba, K., eds., *Earth, Life, and Isotopes*, 339–353, Kyoto University Press.
- Oguri, K., Kitazato, H. and Glud, R. N., 2006. Platinum octaethylporphyrin based planar optodes combined with an UV-LED excitation light source: An ideal tool for high-resolution O₂ imaging in O₂ depleted environments. *Marine Chemistry*, **100**, 95–107.
- Ohga, T. and Kitazato, H., 1997. Seasonal changes in bathyal foraminiferal populations in response to the flux of organic matter (Sagami Bay, Japan). *Terra Nova*, **9**, 33–37.
- Ohkawara, N., 2011. Deep-sea foraminiferal fauna in the equatorial Pacific: abundance, distribution and species diversity. Doctor thesis, Yokohama National University.
- Ohkawara, N., Kitazato, H., Uematsu, K. and Gooday, A. J., 2009. A minute new species of *Saccammina* (monothalamous Foraminifera; Protista) from the abyssal Pacific. *Journal of Micropaleontology*, **28**, 143–151.
- Palmer, M. R. and Elderfield, H., 1986. Rare earth elements and neodymium isotopes in ferromanganese oxide coatings of Cenozoic foraminifera from the Atlantic Ocean. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **50**, 409–417.
- Pawlowski, J., 2000. Introduction to the molecular systematics of foraminifera. *Micropaleontology*, **46**, supplement 1, 1–12.
- Pawlowski, J., 2013. The new micro-kingdoms of eukaryotes. *BMC Biology*, **11**, 40. doi:10.1186/1741-7007-11-40
- Pawlowski, J., Esling, P., Lejzerowicz, F., Cedhagen, T. and Wilding, T. A., 2014. Environmental monitoring through protist next-generation sequencing: assessing the impact of fish farming on benthic foraminifera communities. *Molecular Ecology Resources*, **14**, 1129–1140.
- Pawlowski, J., Fahrni, J., Lecroq, B., Longet, D., Cornelius, N., Excoffier, L., Cedhagen, T., and Gooday, A. J., 2007. Bipolar gene flow in deep-sea benthic foraminifera. *Molecular Ecology*, **16**, 4089–4096.
- Pawlowski, J., Holzmann, M., Berney, C., Fahrni, J., Gooday, A. J., Cedhagen, T., Habura, A. and Bowser, S. S., 2003. The evolution of early Foraminifera. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **100**, 11494–11498. doi:10.1073/pnas.2035132100
- Pawlowski, J., Holzmann, M. and Tyszka, J., 2013. New supraordinal classification of Foraminifera: Molecules meet morphology. *Marine Micropaleontology*, **100**, 1–10.
- Pessagno, E. A., Jr., 1967. Upper Cretaceous planktonic foraminifera from the western Gulf Coastal Pli. *Palaeontographica, Americana*, **5**, 259–441.
- Pflum, C. E., Frerichs, W. E., 1976. Gulf of Mexico deep water foraminifera. *Cushman Foundation for Foraminiferal Research*, Special Publication no. 14., 1–125.
- Phleger, F. B., 1960. *Ecology and Distribution of Recent Foraminifera*. The Johns Hopkins Press, Baltimore.
- Phleger, F. B., 1964. Patterns of living benthonic Foraminifera, Gulf of California. In Van Andel, T. H. and Shor, G. G. eds., *Marine Geology of the Gulf of California*, 377–394. American Association of Petroleum Geologists, Memoir No. 3.
- Piña-Ochoa, E., Høgsund, S., Geslin, E., Cedhagen, T., Revsbech, N. P., Nielsen, L. P., Schweizer, M., Jorissen, F., Rysgaard, S. and Risgaard-Petersen, N. 2010. Widespread occurrence of nitrate storage and denitrification among foraminifera and *Gromiida*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **107**, 1148–1153. doi:10.1073/pnas.0908440107
- Pochon, X., Wood, S. A., Keeley, N. B., Lejzerowicz, F., Esling, P., Drew, J. and Pawlowski, J., 2015. Accurate assessment of the impact of salmon farming on benthic sediment enrichment using foraminiferal metabarcoding. *Marine Pollution Bulletin*, **100**, 370–382.
- Revsbech, N. P., 1989. An oxygen microelectrode with a guard cathode. *Limnology and Oceanography*, **34**, 474–478.
- Reichert, G. -J., Jorissen, F., Anschutz, P. and Mason, P. R. D., 2003. Single foraminiferal test chemistry records the marine environment. *Geology*, **31**, 355–358.
- Reinthal, T., van Aken, H. M. and Herndl, G. J., 2010. Major contribution of autotrophy to microbial carbon cycling in the deep North Atlantic's interior. *Deep-Sea Research Part II*, **57**, 1572–1580. doi:10.1016/j.dsr2.2010.02.023
- Rex, M. A., Etter, R. J., Morris, J. S., Crouse, J., McClain, C. R., Johnson, N. A., Stuart, C. T., Deming, J. W., Thies, R. and Avery, R., 2006. Global bathymetric patterns of standing stock and body size in the deep-sea benthos. *Marine Ecology Progress Series*, **317**, 1–8.
- Rhein, M., Rintoul, S. R., Aoki, S., Campos, E., Chambers, D., Feely, R. A., Gulev, S., Johnson, G. C., Josey, S. A., Kostianoy, A., Mauritzen, C., Roemmich, D., Talley, L. D. and Wang, F., 2013. Observations: Ocean. In Stocker, T. F., Qin, D., Plattner, G. -K., Tignor, M., Allen, S. K., Boschung, J., Nauels, A., Xia, Y., Bex, V. and Midgley, P. M., eds., *Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.
- Richter, F. M. and DePaolo, D. J., 1987. Numerical models for diagenesis and the Neogene Sr isotopic evolution of seawater from DSDP Site 590B. *Earth and Planetary Science Letters*, **83**, 27–38.
- Risgaard-Petersen, N., Langezaal, A. M., Ingvarsen, S., Schmid, M. C., Jetten, M. S. M., den Camp, H. J. M. O., Derksen, J. W. M., Piña-Ochoa, E., Eriksson, S. P., Nielsen, L. P., Revsbech, N. P., Cedhagen, T. and van der Zwaan, G. J., 2006. Evidence for complete denitrification in a benthic foraminifer. *Nature*, **443**, 93–96. doi:10.1038/nature05070
- Rollion-Bard, C. and Erez, J., 2010. Intra-shell boron isotope ratios in the symbiont-bearing benthic foraminifer *Amphistegina lobifera*: Implications for $\delta^{11}\text{B}$ vital effects and paleo-pH reconstructions. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **74**, 1530–1536.
- Rosenthal, Y. and Boyle, E. A., 1993. Factors controlling the fluoride content of planktonic foraminifera: An evaluation of its paleoceanographic applicability. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **57**, 335–346.
- Russell, A. D., Emerson, S., Nelson, B. K., Erez, J. and Lea, D. W., 1994. Uranium in foraminiferal calcite as a recorder of seawater uranium concentrations. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **58**, 671–681.
- Russell, A. D., Emerson, S., Mix, A. C., and Peterson, L. C., 1996. The use of foraminiferal uranium/calcium ratios as an indicator of changes in seawater uranium content. *Paleoceanography*, **11**, 649–663, doi:10.1029/96PA02058
- Saidova, H. M., 1965. Sediment stratigraphy and palaeogeography of the Pacific Ocean by benthic Foraminifera during the Quaternary. *Progress in Oceanography*, **4**, 143–151.
- Sakaguchi, M., Takishita, K., Matsumoto, T., Hashimoto, T. and Inagaki, Y., 2009. Tracing back EFL gene evolution in the cryptomonads-haptophytes assemblage: separate origins of EFL genes in haptophytes, photosynthetic cryptomonads, and goniomonads. *Gene*, **441**, 126–131.

- Sakai, S. and Kodan, T., 2011. Micropowder collecting technique for stable isotope analysis of carbonates. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, **25**, 1205–1208.
- Sakai, S., Shimono, A., Hikita, T., McManus, J. B., Zahniser, M., Nelson, D., Matsuda, S. and Dettman, D. L., 2014. CO₂ isotopologue measurements of carbonates by tunable mid-infrared laser spectroscopy. The 7th International Symposium on Isotopomers, abstract.
- Sanyal, A., Hemming, N. G., Broecker, W. S., Lea, D. W., Spero, H. J., and Hanson, G. N., 1996. Oceanic pH control on the boron isotopic composition of foraminifera. Evidence from culture experiments. *Paleoceanography*, **11**, 513–517.
- Savin, S. M. and Douglas, R. G., 1973. Stable isotope and magnesium geochemistry of recent planktonic foraminifera from the South Pacific. *Geological Society of America Bulletin*, **84**, 2327–2342.
- Schiebel, R., 2002. Planktic foraminiferal sedimentation and the marine calcite budget. *Global Biogeochemical Cycles*, **16**, 3–1–3–21.
- Schiebel, R. and Hemleben, Ch., 2005. Modern planktic foraminifera. *Paläontologische Zeitschrift*, **79**, 135–148.
- Seears, H. A. and Wade, C. M., 2013. A note on the laboratory culture of the benthic foraminifer *Cornuloculina balkwilli* (MacFadyen). *BMC Research Notes*, **6**, 369, doi:10.1186/1756-0500-6-369
- Shirayama, Y., 1984. Vertical distribution of meiobenthos in the sediment profile in bathyal, abyssal and hadal deep sea systems of the Western Pacific. *Oceanologica Acta*, **7**, 123–129.
- Shoun, H., Kim, D. H., Uchiyama, H. and Sugiyama, J., 1992. Denitrification by fungi. *FEMS Microbiology Letters*, **94**, 277–281.
- Smith, P. B., 1964. *Ecology of benthic species*. 55p., U. S. Geological Survey, Professional Paper 429-B.
- Snider, L. J., Burnett, B. R. and Hessler, R. R., 1984. The composition and distribution of meiofauna and nanobiota in a central North Pacific deep-sea area. *Deep-Sea Research Part A*, **31**, 1225–1249.
- Spero, H. J., Bijma, J., Lea, D. W. and Bemis, B. E., 1997. Effect of seawater carbonate concentration on foraminiferal carbon and oxygen isotopes. *Nature*, **390**, 497–500.
- Spero, H. J., Eggins, S. M., Russell, A. D., Vetter, L., Kilburn, M. R. and Honisch, B., 2015. Timing and mechanism for intratest Mg/Ca variability in a living planktic foraminifer. *Earth and Planetary Science Letters*, **409**, 32–42.
- Spivack, A. J., You, C.-F. and Smith, H. J., 1993. Foraminiferal boron isotope ratios as a proxy for surface ocean pH over the past 21 Myr. *Nature*, **363**, 149–151.
- Stanley, S. M., 2008. Effects of global seawater chemistry on biomineralization: past, present, and future. *Chemical Reviews*, **108**, 4483–4498.
- Steinhardt, J., de Nooijer, L. J., Brummer, G. -J. and Reichart, G. -J., 2015. Profiling planktonic foraminiferal crust formation. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*, **16**, 2409–2430, doi:10.1002/2015GC005752
- Tachikawa, K., Toyofuku, T., Basile-Doelscha, I., Delhayec, T., 2013. Micro-scale neodymium distribution in sedimentary planktonic foraminiferal tests and associated mineral phases. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **100**, 11–23, doi:10.1016/j.gca.2012.10.010
- Takagi, H., Moriya, K., Ishimura, T., Suzuki, A., Kawahata, H. and Hirano, H., 2015. Exploring photosymbiotic ecology of planktic foraminifera from chamber-by-chamber isotopic history of individual foraminifera. *Paleobiology*, **41**, 108–121.
- Takai, K., Nakamura, K., Suzuki, K., Inagaki, F., Nealson, K. H. and Kumagai, H., 2006. Ultramafics-Hydrothermalism-Hydrogenesis-HyperSLiME (UltraH³) linkage: a key insight into early microbial ecosystem in the Archaean deep-sea hydrothermal systems. *Paleontological Research*, **10**, 269–282.
- Takahara, K., 1989. Morphological analysis by plastogamy experiment on the benthic foraminifera, *Glabratella*. Undergraduate thesis, Institute of Geosciences, Shizuoka University, pp. 61 (in Japanese with English abstract).
- 高柳洋吉・大森昌衛, 1975. 古生物学各論 - 第2巻, 築地書館, 302p.
- Takishita, K., Inagaki, Y., Tsuchiya, M., Sakaguchi, M., Maruyama, T., 2005. A close relationship between Cercozoa and Foraminifera supported by phylogenetic analyses based on combined amino acid sequences of three cytoskeletal proteins (actin, α -tubulin, and β -tubulin). *Gene*, **362**, 153–160.
- 棚部一成, 1991. 形態レベルの進化と分子レベルの進化—コメント—。シンポジウム「古生物学の課題と展望—21世紀に向けて—」。化石, (50), 23–25.
- Tappan, H. and Loeblich, A. R., Jr., 1988. Foraminiferal evolution, diversification, and extinction. *Journal of Paleontology*, **62**, 695–714.
- ten Kuile, B. and Erez, J., 1987. Uptake of inorganic carbon and internal carbon cycling in symbiont-bearing benthonic foraminifera. *Marine Biology*, **94**, 499–509.
- Thibault de Chanvalon, A., Metzger, E., Mouret, A., Cesbron, F., Knoery, J., Rozuel, E., Launeau, P., Nardelli, M. P., Jorissen, F. J. and Geslin, E., 2015. Two-dimensional distribution of living benthic foraminifera in anoxic sediment layers of an estuarine mudflat (Loire estuary, France). *Biogeosciences*, **12**, 6219–6234.
- Todo, Y., Kitazato, H., Hashimoto, J. and Gooday, A. J., 2005. Simple foraminifera flourish at the ocean's deepest point. *Science*, **307**, 689.
- Toyofuku, T., de Nooijer, L. J., Yamamoto, H. and Kitazato, H., 2008. Real-time visualization of calcium ion activity in shallow benthic foraminiferal cells using the fluorescent indicator Fluo-3 AM. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*, **9**, Q05005.
- Toyofuku, T., Kitazato, H., Kawahata, H., Tsuchiya, M. and Nohara, M., 2000. Evaluation of Mg/Ca thermometry in foraminifera: comparison of experimental results and measurements in nature. *Paleoceanography*, **15**, 456–464.
- Toyofuku, T. and Kitazato, H., 2005. Micromapping of Mg/Ca values in cultured specimens of the highmagnesium benthic foraminifera. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*, **6**, Q11P05. doi:10.1029/2005GC000961
- Toyofuku, T., Suzuki, M., Suga, H., Sakai, S., Suzuki, A., Ishikawa, T., de Nooijer, L. J., Schiebel, R., Kawahata, H. and Kitazato, H., 2011. Mg/Ca and δ 18O in the brackish shallow-water benthic foraminifer *Ammonia 'beccarii'*. *Marine Micropaleontology*, **78**, 113–120.
- 土屋正史, 2009. 浮遊性有孔虫類の分子系統解析からみた両極性分布の成立過程. 化石, (85), 14–24.
- 土屋正史・力石嘉人・野牧秀隆・多米晃裕・植松勝之・大河内直彦, 2015a. 有孔虫の個体数は石灰藻の微小生息域でどのように維持されるのか? 微化石標本・資料センター研究集会 (MRC2015), 高知大学・海洋コア総合研究センター, 予稿集, p. 39.
- Tsuchiya, M., Grimm, G. W., Heinz, P., Stögerer, K., Ertan, K. T., Collen, J., Brüchert, V., Hemleben, C., Hemleben, V. and Kitazato, H., 2009. Ribosomal DNA shows extremely low genetic divergence in a world-wide distributed, but disjunct and highly adapted marine protozoan (*Virgulina fragilis*, Foraminiferida). *Marine Micropaleontology*, **70**, 8–19.
- Tsuchiya, M., Kitazato, H. and Pawlowski, J., 2000. Phylogenetic relationships among species of Glabratellidae (Foraminifera) inferred from ribosomal DNA sequences: comparison with morphological and reproductive data. *Micropaleontology*, **46**, supplement 1, 13–20.
- Tsuchiya, M., Kitazato, H. and Pawlowski, J., 2003. Analysis of internal transcribed spacer of ribosomal DNA reveals cryptic speciation in *Planoglabratella opercularis*. *Journal of Foraminiferal Research*, **33**, 285–293.
- 土屋正史・宮脇省次・力石嘉人・小栗一将・豊福高志・多米晃裕・植松勝之・竹田晃治・坂井有哉・三宅裕志・大河内直彦・丸山

- 正, 2015b. 底生有孔虫類 *Planoglabratella opercularis* にみられる盗葉緑体の獲得機構と殻形成に与える影響. 日本古生物学会2015年年会, つくば市・産業技術総合研究所, 予稿集. p. 19.
- Tsuchiya, M., Takahara, K., Aizawa, M., Suzuki-Kanesaki, H., Toyofuku, T. and Kitazato, H., 2014. How has foraminiferal genetic diversity developed? A case study of *Planoglabratella opercularis* and the species concept inferred from its ecology, distribution, genetics, and breeding behavior. In Kitazato, H. and Bernhard, J., eds., *Experimental Approaches in Foraminifera: Collection, Maintenance and Experiments*, 133–162. Springer book, Environmental Science Series. doi:10.1007/978-4-431-54388-6
- Tsuchiya, M., Tazume, M. and Kitazato, H., 2008. Molecular characterization of the non-costate morphotypes of buliminid foraminifers based on internal transcribed region of ribosomal DNA (ITS rDNA) sequence data. *Marine Micropaleontology*, **69**, 212–224.
- Tsuchiya, M., Toyofuku, T., Uematsu, K., Brüchert, V., Collen, J., Yamamoto, H. and Kitazato, H., 2015. Cytologic and genetic characteristics of endobiotic bacteria and kleptoplasts of *Virgulina fragilis* (Foraminifera). *Journal of Eukaryotic Microbiology*, **62**, 454–469.
- Tyszka, J. and Topa, P., 2005. A new approach to modeling of foraminiferal shells. *Paleobiology*, **31**, 522–537.
- Ueno, Y., Yamada, K., Yoshida, N., Maruyama, S. and Isozaki, Y., 2006. Evidence from fluid inclusions for microbial methanogenesis in the early Archaean era. *Nature*, **440**, 516–519.
- 氏家 宏, 1991. 21世紀までの10年間, 古生物学者は何をすべきか. シンポジウム「古生物学の課題と展望—21世紀に向けて—」. 化石, (50), 33–35.
- Ujiié, Y., Asami, T., de Garidel-Thoron, T., Liu, H., Ishitani, Y. and de Vargas, C., 2012. Longitudinal differentiation among pelagic populations in a planktic foraminifer. *Ecology and Evolution*, doi:10.1002/ece3.286
- Ujiié, Y., Kimoto, K. and Pawlowski, J., 2008. Molecular evidence for an independent origin of modern triserial planktic foraminifera from benthic ancestors. *Marine Micropaleontology*, **69**, 334–340.
- Ujiié, Y. and Lipps, J. H., 2009. Cryptic diversity in planktic foraminifera in the Northwest Pacific Ocean. *Journal of Foraminiferal Research*, **39**, 145–154.
- van der Zwaan, G. J., Duijnste, I. A. P., den Dulk, M., Ernst, S. R., Jannink, N. T., Kouwenhoven, T. J., 1999. Benthic foraminifers: proxies of problems? A review of paleontological concepts. *Earth-Science Reviews*, **46**, 213–236.
- Väinölä, R., 2003. Repeated trans-Arctic invasions in littoral bivalves: molecular zoogeography of the *Macoma balthica* complex. *Marine Biology*, **143**, 935–946.
- Verhallen, P. J. J. M., 1986. Morphology and function of the internal structures of non-costate *Bulimina*. *Proceedings of the Royal Society B Biological Sciences*, **89**, 367–385.
- Wang, L., 2000. Isotopic signals in two morphotypes of *Globigerinoides ruber* (white) from the South China Sea: implications for monsoon climate change during the last glacial cycle. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, **161**, 381–394.
- Weiner, A., Aurahs, R., Kurasawa, A., Kitazato, H. and Kucera, M., 2012. Vertical niche partitioning between cryptic sibling species of a cosmopolitan marine planktonic protist. *Molecular Ecology*, **21**, 4063–4073.
- Wit, J. C., de Nooijer, L. J., Wolthers, M. and Reichart, G. J., 2013. A novel salinity proxy based on Na incorporation into foraminiferal calcite. *Biogeosciences*, **10**, 6375–6387.
- Witte, U., Wenzhofer, F., Sommer, S., Boetius, A., Heinz, P., Aberle, N., Sand, M., Cremer, A., Abraham, W. -R., Jørgensen, B. B. and Pfannkuche, O., 2003. *In situ* experimental evidence of the fate of a phytodetritus pulse at the abyssal sea floor. *Nature*, **424**, 763–766.
- Wollenburg, J. E., Raitzsch, M. and Tiedemann, R., 2015. Novel high-pressure culture experiments on deep-sea benthic foraminifera—Evidence for methane seepage-related $\delta^{13}\text{C}$ of *Cibicides wuellerstorfi*. *Marine Micropaleontology*, **117**, 47–64.
- Wouless, C., Cowie, G. L., Levin, L. A., Andersson, J. H., Middelburg, J. J., Vandewiele, S., Lamont, P. A., Larkin, K. E., Gooday, A. J., Schumacher, S., Whitcraft, C., Jeffreys, R. M. and Schwartz, M., 2007. Oxygen as a control on seafloor biological communities and their roles in sedimentary carbon cycling. *Limnology and Oceanography*, **52**, 1698–1709. doi:10.4319/lo.2007.52.4.1698
- 山崎 誠, 2004. 生物としての浮遊性有孔虫. 化石, (76), 138–142.
- Yoshimura, T., Tanimizu, M., Inoue, M., Suzuki, A., Iwasaki, N. and Kawahata, H., 2011. Mg isotope fractionation in biogenic carbonates of deep-sea coral, benthic foraminifera, and hermatypic coral. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **401**, 2755–2769. doi:10.1007/s00216-011-5264-0
- Yoshino, T., Kimoto, K., Kishimoto, N., Matsuoka, A., Kurihara, T., Ishida, N. and Matsuura, S., 2009. A simple mathematical model for chamber arrangement of planktic foraminifera. *Forma*, **24**, 87–92.
- Zachos, J., Pagani, M., Sloan, L., Thomas, E. and Billups, K., 2001. Trends, Rhythms, and Aberrations in Global Climate 65 Ma to Present. *Science*, **292**, 686–693.
- Zahn, R., Winn, K. and Sarthein, M., 1986. Benthic foraminiferal $\delta^{13}\text{C}$ and accumulation rates of organic carbon: *Uvigerina Peregrina* group and *Cibicidoides Wuellerstorfi*. *Paleoceanography*, **1**, 27–42.
- Zhu, P. and Macdougall, J. D., 1998. Calcium isotopes in the marine environment and the oceanic calcium cycle. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **62**, 1691–1698.

(2016年5月17日受付, 2016年7月19日受理)

