

令和 3 年 6 月 11 日現在

機関番号：13501

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2019～2020

課題番号：19K22449

研究課題名(和文) 極限酸性河川における化学合成生物群集の生態と進化

研究課題名(英文) Ecology and evolution of chemoautotrophic communities in extreme acidic stream ecosystems

研究代表者

岩田 智也 (Iwata, Tomoya)

山梨大学・大学院総合研究部・教授

研究者番号：50362075

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：秋田焼山周辺の火山地帯を流れる酸性河川では、光合成由来の餌資源が少ないにも関わらず、カワゲラ目や双翅目などの水生昆虫がきわめて高密度に生息していることが本研究により明らかとなった。この特異な底生生物群集を支える一次生産者は硫黄酸化によってエネルギーを得る化学合成細菌であり、水生昆虫はこれら微生物を環境中から採餌しているだけでなく、共生する硫黄酸化細菌が生産した有機物を同化することで栄養を摂取している可能性も示された。本研究により、地圏エネルギーに支えられた化学合成生態系が光のあたる地表環境に存在していることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、太陽光の注ぐ地表において光エネルギーに依存しない生態系の存在を世界で初めて示すことができた。これまで深海や地底湖でのみ確認されていた化学合成生態系が地表にも存在することが明らかとなり、生物地球化学、生態学、進化的にきわめて学術的価値の高い発見と言える。火山性温泉が流入する河川では、硫黄酸化細菌によって支えられた動物群集がきわめて狭い範囲に成立・分布しており、その特異性と希少性から保全上の価値はきわめて高い。火山や温泉が支えるユニークな生態系として、本研究で明らかにした化学合成生物群集の発見は学術的・社会的意義が大きく、火山国である我が国の生態系管理策に資する知見となるだろう。

研究成果の概要(英文)：The present study showed that aquatic insects such as a stonefly and midge were extremely abundant in acidic streams around the volcanic area of Mt. Akita-Yakeyama, where the availability of photosynthesis-derived organic matter was limited. The chemolithoautotrophic primary production by sulfur-oxidizing bacteria supported such unique stream communities; aquatic insects obtained chemosynthetic organic matter not only from direct grazing but from trophic transfer from endosymbiotic sulfur-oxidizing bacteria. This study revealed the hitherto-unknown chemosynthetic ecosystem in the surface sunlit environments.

研究分野：水域生態学

キーワード：酸性河川 化学合成 食物網 硫黄酸化細菌 水生昆虫

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

暗黒、低温、高圧の極限環境である深海において、化学合成独立栄養微生物の有機物生産によって支えられた生物群集が1970年代に発見された。ガラパゴス沖の熱水噴出孔周辺に、化学合成細菌から栄養を獲得するハオリムシなどの大型深海生物が高密度で生息していたのである。深海における化学合成食物網の発見は、光合成による有機物生産に依存しない暗黒下の生態系として驚きをもって受け入れられた。

ガラパゴスリフトでの発見以降、熱水噴出孔やメタン湧水帯が数多く見つかリ、海洋における知見は飛躍的に蓄積している。しかし、太陽光に依存しない完全化学合成生態系は海洋以外からは殆ど報告されていない。2000年以降には硫酸化細菌が生産した有機物に依存した甲殻類群集が洞窟の地底湖で発見されたものの、硫化物に富む暗黒の地下水環境で見られる局所的な事例と考えられている。

日本列島は4つのプレートが会合する火山活動の活発な地域であり、いわゆる熱水噴出孔(火山性温泉)が地表に数多く分布している。なかでも、高温・酸性となる火山ガス加熱型温泉では、温泉の噴気地帯がしばしば植生の未発達な地獄谷となり、温泉水が流入する河川は高温・酸性の極限環境となる。そのため、河川食物網の栄養基盤である光独立栄養生物(藻類や陸上植物)の一次生産は著しく低い。しかし、玉川温泉の地獄谷を流れる善助沢(pH3.2-3.4)や各務沢(pH4.7)はこのような極限環境にも関わらず、オナシカワゲラやユスリカなどの水生昆虫が一般的な河川の1-2桁以上のバイオマスで存在し、さらに河川周辺には羽化水生昆虫を捕食する節足動物(ハンミョウやクモ)や虫食性鳥類(アマツバメなど)が高密度に分布していることを発見した。さらに、オナシカワゲラ(*Nemoura saetifera*)の腸内には微生物様粒子が多く存在しており、硫酸化細菌が生息している可能性も明らかとなった。発見された硫酸化細菌は深海化学合成生態系においてハオリムシの栄養体組織に分布して宿主と共生関係を築く化学合成細菌であることから、地表の極限酸性河川には化学合成に完全に依存した共生システムが成立していると考え、本研究の着想に至った。

### 2. 研究の目的

本研究は、火山性酸性河川における化学合成食物網の存在と成立機構の解明に挑戦することを目的に実施した。とくに、河川-河畔食物網の栄養基盤を生態学、生物地球化学および分子生物学的アプローチにより解析し、食物網内の栄養フローにおける化学合成有機物の寄与を定量的に評価した。さらに、極限酸性河川に生息する水生昆虫の系統進化と、体内・体表に生息する化学合成細菌との共生関係の解明も目指した。これにより、太陽光に依存しない完全化学合成生態系の存在を河川で初めて示すとともに、水生生物群集の極限環境への進化と食物網の維持機構を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### 【調査地】

火山活動が活発な秋田焼山周辺の玉川水系の複数の河川(善助沢、各務沢、湯田又沢、石黒沢)において野外調査を実施した。重点的に調査を行なった玉川温泉はpH1.2の強酸性水が毎分8000L湧出する沸騰泉(大噴)をはじめ大小多くの源泉が分布し、周囲の噴気地帯からは水蒸気や硫化水素が噴出している。火山性ガスの影響で集水域は植生が未発達の「地獄谷」となり、谷にはpH2-4の酸性河川が複数流れている。

#### 【河川-河畔生物群集の生物地球化学調査と食物網解析】

調査河川では物理環境の計測とともに、河川水中の溶存成分(硫化物、チオ硫酸イオン、硫酸イオン、栄養塩、金属)と溶存ガス( $\text{CH}_4$ と $\text{CO}_2$ )の濃度および各種安定同位体を測定した。 $\text{CH}_4$ と $\text{CO}_2$ はGC/IRMSで、 $\text{SO}_4$ イオンはBa沈澱で回収した後にCF-IRMSで、溶存硫化物は $\text{Ag}_2\text{S}$ の沈殿を生成させて回収し、炭素または硫黄の安定同位体比( $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{34}\text{S}$ )を測定した。

各河川では、食物網の栄養基盤として河床のバイオフィームと陸上有機物(落葉など)を採集し、消費者群集としてマクロベントスを定量採集した。試料は現存量の計測を行なった後、炭素・窒素・硫黄安定同位体比( $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 、 $\delta^{34}\text{S}$ )をCF-IRMSにより測定した。また、河畔の捕食者群集(甲虫、クモ類、虫食性鳥類の羽毛など)の採集も行い、同様に $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 、 $\delta^{34}\text{S}$ を測定した。

#### 【分子生物学的手法による微生物群集解析】

ベントス群集で優占する分類群(スカユオナシカワゲラ *Nemoura saetifera*、サンユスリカ

*Chironomus acerbiphilus* など)については消化管分析を行い、餌生物の同定を行うとともに、腸内微生物の 16S rRNA 遺伝子のクローニングとアンプリコンシーケンスにより、微生物叢および機能群組成を評価した。河床のバイオフィームから抽出した DNA に対しても同様の解析を行い、河床と腸内の微生物群集組成の比較を行なった。

#### 【化学合成細菌と水生昆虫の共生関係の解明】

化学合成細菌によって生産された有機物が、水生昆虫の体組織に移行していることを明らかにするため、安定同位体標識化合物 ( $\text{NaH}^{13}\text{CO}_3$ ) を添加したチャンパーで飼育実験を行った。2020 年 6 月 10~12 日と 9 月 14~16 日に善助沢で採取したスカユオナシカワゲラとバイオフィームを実験室に持ち帰り、4 つの処理区 (A: バイオフィーム添加区、B: バイオフィーム+硫黄基質添加区、C: 硫黄基質添加区、D: 対照区) を設けて実験を行った。さらに 9 月の培養実験では各処理区に対し明暗環境で培養を行なった。培養期間中、同位体標識化合物 ( $\text{NaH}^{13}\text{CO}_3$ ) を毎日添加し、実験前後の炭素安定同位体比の変化から化学合成由来の有機物がスカユの体組織に移行する過程を追跡した。

#### 【酸性河川における水生昆虫の系統進化】

ベントス群集で優占するスカユオナシカワゲラやレゼイナガレトビケラ、サンユスリカについては、mtDNA の COI 遺伝子の塩基配列を決定し、近縁種や他地域の個体とともに分子系統解析を行うことで酸性河川に適応したグループの系統学的位置を明らかにした。

## 4. 研究成果

火山性温泉水が流入する 3 つの河川と森林を流れる中性河川では河川の物理化学環境が大きく異なっており、酸性河川では pH が低く、硫酸イオンや溶存硫化物などの硫黄成分が中性河川と比べて多く含まれており、付着藻類や陸上有機物が著しく少ない環境であることが明らかとなった。それにも関わらず、これらの河川ではスカユオナシカワゲラやサンユスリカなどの一部の水生昆虫がきわめて高密度で生息しており、中性河川の石黒沢と比較して 1~2 桁高い密度を示した。河床のバイオフィームを対象とした色素分析では光独立栄養生物 (クロロフィル a やバクテリオクロロフィル) の現存量は中性河川と比較してきわめて小さく、藻類やシアノバクテリア、光合成細菌などの独立栄養生物がこれら水生昆虫の成長を支えているとは考えにくかった。

そこで現場培養実験を行ったところ、調査河川である善助沢では硫酸酸化を行う化学合成微生物が主な一次生産を担っており、それによって底生無脊椎動物群集が維持されている可能性が示唆された。また、化学合成による有機物生産速度は、中性河川の光合成による一次生産速度に匹敵することも明らかとなった。しかしながら、安定同位体分析による食物網解析では、硫酸酸化細菌と光独立栄養生物の炭素、窒素、硫黄安定同位体比がオーバーラップしていると考えられ、これら 3 つの変数を用いてマスバランスモデルを構築することが困難であった。そこで、脂肪酸分析を行うことで、硫酸酸化細菌由来の有機物フローを追跡しているところである。

次いで、酸性河川環境中と腸内微生物のフロラおよびゲノム解析を行った結果、腸内では化学合成細菌のなかでも *Sulfuriferula* が優占しており、環境中からも多く検出された。このことから、水生昆虫はこれら硫酸酸化細菌を環境中から採餌しているか、あるいは腸内に共生している硫酸酸化細菌から栄養を摂取している可能性が考えられた。硫酸酸化による一次生産が善助沢の主要な有機物生産プロセスであり、地圏エネルギーに支えられた化学合成生態系が光のあたる地表環境にも存在しているものと考えられた。

そこで、より直接的に河川食物網における化学合成由来の有機物の寄与を評価するために、 $^{13}\text{C}$  添加実験を行ったところ、明暗環境で有意差が認められたものの、暗環境において大幅にバイオフィームの  $^{13}\text{C}$  が上昇していた。このことから、光に依存しない化学合成プロセスによる有機物生産が行われていることが裏付けられた。また、培養に供したスカユオナシカワゲラの  $^{13}\text{C}$  を測定した結果、バイオフィームと同様にどの処理区でも  $^{13}\text{C}$  (‰) の濃縮が認められ、化学合成由来の有機物がスカユオナシカワゲラの体組織へ移行していることも明らかとなった。なかでも、バイオフィーム添加区で  $^{13}\text{C}$  が大きく上昇していることから、スカユオナシカワゲラの二次生産には化学合成細菌を直接採餌することによる栄養転送が重要であることが示唆された。一方、バイオフィームを添加していない対照区や S 基質添加区においてもスカユオナシカワゲラの  $^{13}\text{C}$  は上昇していた。また、顕微鏡観察では体表面に微生物の付着が確認されていないことから、深海共生系と同様、消化管内に硫酸酸化細菌が内部共生しており、共生微生物が生産した有機物をスカユが同化していることも考えられた。

走査型電子顕微鏡によりスカユオナシカワゲラの形態観察を行ったところ、体表からは微生物はほとんど確認できなかったものの、上唇にはブラシ状の剛毛が密集している特異な形態が確認できた。これは落葉などを主に食べる同属他種 (*Nemoura*) では知られておらず、礫上の藻類をはぎ取る節足動物 (剥ぎ取り食者、グレイザー) で認められている構造である。このことから、スカユオナシカワゲラは酸性河川の礫上に生息するバイオフィーム (硫酸酸化細菌など)

をはぎ取って摂食し、さらに内部共生微生物からも化学合成由来の有機物を得ているものと考えられた。

本研究により、秋田焼山周辺の火山性酸性河川では光合成由来の餌資源が少ないにも関わらず、カワゲラ目や双翅目などが高密度に生息しており、この特異な底生生物群集を支える一次生産として、硫黄酸化によってエネルギーを得る化学合成細菌の寄与が大きいことが示唆された。また、スカユオナシカワゲラは環境中だけでなく、腸内の化学合成細菌からも有機物を得ている可能性が高いことが明らかとなった。このような化学合成生物群集の維持機構を詳細に解明するだけでなく、地表の化学合成生態系がどのような環境に成立するのか、広域調査により明らかにしていく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 青谷晃吉	4. 巻 34
2. 論文標題 酸性河川(秋田県玉川水系渋黒川)における優占種レゼイナガレトピケラRhyacophila lezeyi の幼虫の微生物場所及び蛹化場所	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 陸水生物学報	6. 最初と最後の頁 29-42
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 丸茂一貴・岩田智也・青谷晃吉・谷田一三・野田悟子・河西希・雪真弘
2. 発表標題 火山性酸性河川の生物地球化学的特徴と底生生物群集構造
3. 学会等名 JpGU-AGU Joint Meeting 2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 丸茂一貴・岩田智也・青谷晃吉・谷田一三・野田悟子・河西希・雪真弘
2. 発表標題 火山性酸性河川の生物地球化学的特徴と食物網の栄養基盤の解明
3. 学会等名 第6回山岳科学学術集会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	野田 悟子 (Noda Satoko)  (80342830)	山梨大学・大学院総合研究部・准教授   (13501)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	谷田 一三  (Tanida Kazumi)  (20167505)	地方独立行政法人大阪市博物館機構（大阪市立美術館、大阪市立自然史博物館、大阪市立東洋陶磁美術館、大阪・大阪市立自然史博物館・外来研究員    (84433)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	青谷 晃吉  (Aoya Kokichi)		
研究協力者	雪 真弘  (Yuki Masahiro)  (50572773)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関