

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 15 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23657017

研究課題名（和文） 微生物ループを用いた地球温暖化防止のための基礎研究

研究課題名（英文） Basic research for solutions on global climate change using microbial loop

研究代表者 中野 伸一（NAKANO SHIN-ICHI）

京都大学・生態学研究センター・教授

研究者番号：50270723

研究成果の概要（和文）：静岡県・佐鳴湖において夏季に大増殖する植物プランクトン・シネココッカスについて、シネココッカスの増殖要因の解明、および原生生物によるシネココッカスの摂食を調べ、食物連鎖を用いた大気中の二酸化炭素濃度低減による地球温暖化対策の可能性を探った。シネココッカスは、窒素の供給によって増殖が促進された。原生生物では、鞭毛虫がシネココッカスを摂食し、シネココッカスの増殖と鞭毛虫による摂食はほぼ釣り合っていた。窒素供給を受けたシネココッカスと鞭毛虫の食物連鎖によって、大気中の二酸化炭素の吸収は可能であろう。

研究成果の概要（英文）：In Lake Sanaru, Shizuoka Prefecture, Japan, annual cyclic blooms of *Synechococcus* spp. (small planktonic algae) occur during summer. We studied on environmental condition favorable to growth of *Synechococcus* and grazing loss of *Synechococcus* by protists. We finally discussed the reduction of atmospheric CO₂ concentration through food chain between *Synechococcus* which fixes CO₂ through photosynthesis and heterotrophic flagellates which prey on *Synechococcus*. Growth of *Synechococcus* was stimulated by nitrogen supply. Grazing loss of *Synechococcus* by the flagellates agreed well with production of *Synechococcus*. Atmospheric CO₂ thus would be effectively consumed through the food chain between *Synechococcus* with nitrogen supply and heterotrophic flagellates.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学

キーワード：地球温暖化、二酸化炭素吸収、微生物ループ、食物連鎖、ピコ植物プランクトン、シネココッカス、原生生物、鞭毛虫

1. 研究開始当初の背景

地球温暖化は、現在、人類の生存を脅かす最も深刻な環境問題の一つである。かつて、

海洋中の植物プランクトン（主に、珪藻類）の増殖を人為的に促進し、珪藻類の光合成により大気中の CO₂ を吸収させれば、珪藻類は

自然に海底に沈降するので、大気中のCO₂を海底に貯蔵でき、温暖化の原因の一つである大気中の二酸化炭素濃度を低減できるとの提案が、米国を中心に真剣に議論されたことがある。

一方、我々は、人間活動により生じた有機物含量の高い排水を、活性汚泥法により処理している。活性汚泥法では、排水中の有機物を細菌が分解し、細菌を原生生物が摂食して間引くことにより細菌の生理活性状態を高く保っている。細菌と原生生物の食物連鎖は微生物ループと呼ばれ、湖沼や海洋にも存在する。活性汚泥法は微生物ループを人為的に強化した系であり、大量の有機物と酸素の供給で微生物ループを高速回転させているのである。このような食物連鎖は、微細な植物プランクトンであるピコ植物プランクトン（光合成を行う細菌）と原生生物である鞭毛虫との間にも存在する。我々は、活性汚泥法をピコ植物プランクトンと原生生物の微生物ループに応用して、ピコ植物プランクトンに大量のCO₂を吸収させ、一方で原生生物にピコ植物プランクトンを摂食させてピコ植物プランクトンの生理状態を高く保ち、連続的にさらに大量のCO₂を吸収させるシステムを考えた。

しかし、ピコ植物プランクトンと原生生物の微生物ループでは、実際に湖沼や海洋、あるいは室内実験で摂食速度や生産効率を測定してみると、これらの値は細菌と原生生物の微生物ループに比べてはるかに低いとの報告が有る。このため、世界中の微生物生態学者は、ピコ植物プランクトンと原生生物の微生物ループがどのくらい重要なのか、未だ統一見解を得ていない。ピコ植物プランクトンと原生生物との微生物ループがどれくらい機能しうるか、検討しなければならない局面に我々は来ている。

2. 研究の目的

本研究では、毎年ピコ植物プランクトンの大増殖が起こる静岡県・佐鳴湖において、ピコ植物プランクトンと鞭毛虫の微生物ループについて、主に物質循環のアプローチによる基礎研究を行った。この結果から、ピコ植物プランクトンと原生生物の鞭毛虫との微生物ループを活性汚泥に応用した大気中の二酸化炭素を低減させるシステムを構築するための考察を行った。

3. 研究の方法

毎年夏季にピコ植物プランクトンの大増殖が見られる静岡県・佐鳴湖において、ピコ植物プランクトンの増殖メカニズム解明のための栄養塩類添加実験を、2011年は7月16日、7月30日、8月16日に、2012年は8月1日と8月10日、8月31日に、それぞれ行った。ピコ植物プランクトンの増殖は、細胞密度変化と光合成による酸素発生を両方を評価した。また、ピコ植物プランクトンの死滅要因解明のための摂食実験は、2011年は7月30日に、2012年は8月1日、8月31日に、それぞれ行った。佐鳴湖のピコ植物プランクトン大増殖は、毎年7月中旬から9月上旬まで（主に、8月中）しか起こらないため、この期間にある程度集中して研究を進めた。摂食実験は、希釈培養法を用いた。実験の際、環境項目についての測定も行い、水温、栄養塩類濃度などの物理化学項目に加え、従属栄養細菌細胞密度、ピコ植物プランクトン細胞密度、鞭毛虫細胞密度についても測定を行った。ピコ植物プランクトンは、落射蛍光顕微鏡で緑色光下、フィコエリスリンが豊富なタイプとフィコシアニンが豊富なタイプとに分けて細胞を計数した。また、ピコ植物プランクトンの現存量の指標として、光合成色素の一種であるゼアキサンチンに着目し、ゼア

キサントンの濃度を HPLC により測定した。この測定は、ほぼ毎月一回行った。さらに、調査と並行して、増殖能力の高いピコ植物プランクトン株の単離培養を行った。

4. 研究成果

以前の研究から、佐鳴湖のピコ植物プランクトンは、そのほとんど全てがシアノバクテリアである *Synechococcus* 属であることが分かっている。佐鳴湖の *Synechococcus* は、2011年の7月30日は 5.0×10^6 cells ml⁻¹、2012年は8月1日に 8.5×10^6 cells ml⁻¹、8月31日は 6.0×10^6 cells ml⁻¹であった。これらの細胞密度は、通常の湖沼での夏季の *Synechococcus* 密度の10倍以上高く、夏季の佐鳴湖が他の世界の湖沼と比べて特異な環境であると示唆された。光合成色素の一種であるゼアキサントニン濃度の夏季における経時変化には、明確な変動パターンは見いだせなかった。佐鳴湖の *Synechococcus* の大部分は、フィコシアニンを豊富に含むタイプであり、濁度の高い水域に生息するピコ植物プランクトンの特性として従来の報告と一致した。

湖水サンプルに窒素（硝酸態、アンモニア態もしくは尿素）を添加すると、6時間の培養で *Synechococcus* 細胞密度の増加が見られた（図1）、窒素の添加によって *Synechococcus* の増殖が促進されたことが示された。また、同様の結果は、光合成速度についても見られた（図2）。

すなわち、本湖は *Synechococcus* にとって窒素制限にあり、降雨や河川、底泥からの溶出などによる窒素の供給が確保されれば、*Synechococcus* は増殖可能であることが示唆された。

Synechococcus の増殖・摂食速度は、2011年については残念ながら希釈率と増殖速度との間に統計学的に有意な関係が見いだせなかったために測定できなかった（図3）。

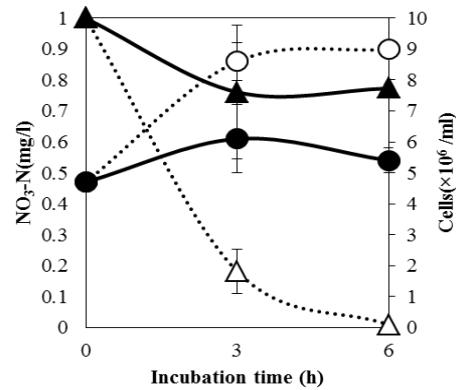


図1：2012年8月31日の佐鳴湖の試水に硝酸態窒素を添加し、明所（白抜き印）と暗所（黒塗り印）でそれぞれ培養した場合の硝酸態窒素濃度（三角印、実線）と *Synechococcus* 細胞密度（丸印、破線）の経時変化。

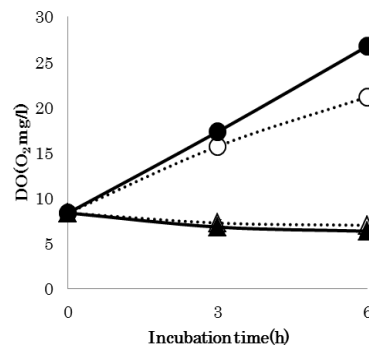


図2：2012年8月31日の佐鳴湖の試水について、硝酸態窒素を添加した系（黒塗り印）と添加しなかった系（白抜き印）を作成し、これらを明所（丸印）と暗所（三角印）でそれぞれ培養した場合の酸素発生量の経時変化。

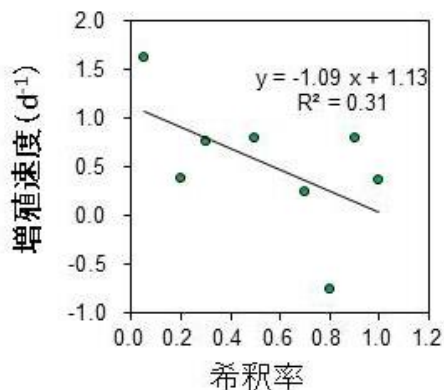


図3：2011年7月30日の希釈培養法による *Synechococcus* の増殖・摂食速度測定結果。図の直線のY切片が増殖速度を、傾きが摂食速度を示す。

これに対して、2012年度は、統計学的に有意な関係が得られ、増殖・摂食速度はそれぞれ 1.04 d^{-1} 、 1.23 d^{-1} と、やや摂食が上回るものの増殖と死滅がほぼ釣り合う結果が得られた（ただし、8月1日と8月31日の結果の平均値）（図4）。

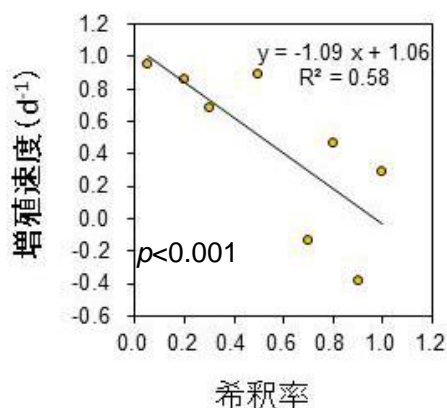


図4：2012年8月31日の希釈培養法による *Synechococcus* の増殖・摂食速度測定結果。8月31日の増殖・摂食速度は、それぞれ 1.06 d^{-1} と 1.09 d^{-1} であった。

摂食速度は、佐鳴湖のピコ植物プランクトンを集めて、これを蛍光色素で染色したものを（FLP）を用いた蛍光ラベルレーザー法も試みたが、佐鳴湖の湖水にはデトリタスが大変に多く、原生生物細胞内に取り込まれたFLPを検鏡作業で検出することができなかった。佐鳴湖の *Synechococcus* の単離は、京都大学の宮下英明教授のアドバイスを受け、平成24年度の後半にようやく単離株が確立する見通しとなった。しかし、*Synechococcus* を摂食する鞭毛虫の単離は、未だ成功していない。また、これらの微生物単離が平成24年度以内に成功していないことから、これら微生物を特異的に検出する遺伝子プローブの作成も行いうることができなかった。

5. 主な発表論文等
（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計0件）
特に無し

〔学会発表〕（計2件）

- ① 山本貴幸、谷幸則、内藤博敬、中野伸一、高巢裕之、夏季の佐鳴湖におけるピコシアノバクテリア *Synechococcus* sp. の増殖への栄養塩添加の影響、日本水環境学会第47回年回、2013年3月11日～3月13日、大阪工業大学
- ② 谷幸則、山本貴幸、内藤博敬、高巢裕之、中野伸一、静岡県佐鳴湖におけるピコシアノバクテリアの増殖特性、日本陸水学会第77回名古屋大会、2012年9月15日～9月17日、名古屋大学

〔図書〕（計0件）
特に無し

〔産業財産権〕
○出願状況（計0件）
特に無し

○取得状況（計0件）
特に無し

〔その他〕
ホームページ等
<http://www.ecology.kyoto-u.ac.jp/~nakan/o/index.html>

6. 研究組織

- (1) 研究代表者
中野 伸一 (NAKANO SHIN-ICHI)
京都大学・生態学研究センター・教授
研究者番号：50270723
- (2) 研究分担者
谷 幸則 (TANI YUKINORI)
静岡県立大学・環境科学研究所・准教授
研究者番号：10285190
- (3) 研究分担者
内藤 博敬 (NAITOH HIROTAKE)
静岡県立大学・環境科学研究所・助教
研究者番号：30254262