

令和 2 年 6 月 17 日現在

機関番号：87401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07896

研究課題名（和文）海洋における難分解性溶存有機物の動態を左右する微生物系統群の解明

研究課題名（英文）Study on microbial community involved in the refractory dissolved organic matter dynamics in the ocean

研究代表者

多田 雄哉（Tada, Yuya）

国立水俣病総合研究センター・その他部局等・研究員・ポスドク

研究者番号：40582276

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,700,000円

研究成果の概要（和文）：海洋における溶存有機物の大部分は難分解性溶存有機物であり、その動態を理解することは、海洋物質循環や気候変動を理解する上で重要である。これまでの研究から、難分解性溶存有機物の生成には海洋微生物が関連していることが示唆されているが、どのような微生物が関連しているのかについては未解明な部分が多い。本研究では、海洋微細藻類抽出物質を用いた培養実験を実施し、三次元励起蛍光スペクトルによる蛍光溶存有機物解析、次世代シーケンサーによる微生物群集および機能遺伝子解析を実施することにより、難分解性溶存有機物の一部として考えられている腐植様物質の分解・生成と海洋微生物系統群との関係を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、海洋微細藻類抽出物質を用いた培養実験を実施し、難分解性溶存有機物の一部として考えられている腐植様物質を含む蛍光溶存有機物解析、微生物群集および機能遺伝子解析により、腐植様物質の分解や生成と、それに関与すると考えられる微生物系統群との関係を明らかにすることができた。これらの成果は微生物と溶存有機物を介した海洋炭素循環理解の深化に貢献する。

研究成果の概要（英文）：Refractory dissolved organic matter (RDOM) accounted for a large part of DOM in the ocean. Thus, dynamics of RDOM is important for better understanding biogeochemical cycles in the ocean and climate change. Previous studies have shown that marine microbes are involved in the RDOM production in the seawater. However, the phylogenetic information of microbes related to production and degradation of RDOM is still scarce. This study examined the production and degradation of humic-like fluorescent DOM, known as a part of marine RDOM, and the shift of microbial community structure using the incubation experiments with phytoplankton-derived DOM. Our data revealed the strong linkage between humic-like FDOM dynamics and microbial community in the ocean.

研究分野：海洋微生物生態学

キーワード：海洋微生物 海洋微細藻類 溶存態有機物 タンパク質様物質 腐植様物質

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

海洋表層では、主に植物プランクトン(微細藻類)による光合成によって CO₂ が吸収・固定され、粒子態有機物および溶存態有機物 (Dissolved organic matter: DOM)が生成される。近年、DOM を利用する海洋細菌の代謝過程で、生物学的な分解を受けにくい難分解性 DOM が生成され、長期間蓄積される「微生物炭素ポンプ」の存在が明らかとなってきた。難分解性 DOM は海洋における溶存有機物プールの約 9 割(620 Gt C)を占め、その中には数千年間分解を受けないものも含まれる。したがって、海洋微生物による難分解性 DOM 蓄積速度の正確な見積もりは、海洋の CO₂ 吸収能や炭素貯蔵能を評価する上で重要な情報である。難分解性 DOM の分子構造や化学的特性に関する情報は未だ稀少である。しかしながら、近年、海洋中深層において分光学的手法によって評価可能な腐植様蛍光物質の存在量と見かけの酸素消費量との間には正の相関関係が見られることが明らかとなり、腐植様蛍光物質は海洋微生物の呼吸・代謝過程で生成され、蓄積される可能性が示唆されている。しかしながら、海洋環境中において、どのような微生物種が腐植様蛍光物質の生成や分解、その結果である「蓄積」に寄与しているのかといった微生物学的な制御機構の理解は進んでいないのが現状である。

2. 研究の目的

以上のような背景から、本研究では、植物プランクトンと海洋細菌の相互作用に着目し、植物プランクトン抽出物質を用いた培養実験を実施し、三次元励起蛍光スペクトルによる蛍光溶存有機物解析、次世代シーケンサーによる微生物群集および機能遺伝子解析により、難分解性溶存有機物の一部として考えられている腐植様物質の分解・生成と海洋微生物系統群との関係进行分析することで、海洋における難分解性 DOM 蓄積過程の微生物学的制御機構を明らかにし、海洋炭素貯蔵機構の解明に資することを目的とした。

3. 研究の方法

外洋性微細藻類の無菌培養株として、*Thalassiosira oceanica*(珪藻), *Pelagomonas calceolata*(ペラゴ藻), *Synechococcus* sp.(ラン藻), *Emiliania huxleyi*(ハプト藻)を培養し、凍結融解および破碎後、細胞破片を除去することで微細藻類由来 DOM を作成した。これらの DOM を三次元励起蛍光スペクトルにより解析し、蛍光特性によって腐植様並びにタンパク質様物質を含む蛍光性 DOM (FDOM) を半定量的に解析した。また、これらの抽出物質のアミノ酸解析も実施した。加えて、細胞培養液を孔径 0.2 μm のフィルターで濾過することによって藻類細胞を除去したものを細胞外 DOM として蛍光特性を解析した。

これらの微細藻類抽出 DOM を天然海水に添加する培養実験を実施し、DOM の蛍光特性の変化を解析すると同時に、次世代シーケンサーを用いたメタゲノム解析を行うことで、海洋細菌の群集構造および機能遺伝子の変動を解析した。

4. 研究成果

[培養実験 1]

珪藻およびハプト藻由来の DOM 中のアミノ酸解析の結果、ペプチド態のアミノ酸組成に大きな違いはなかった一方で、遊離態アミノ酸組成においては、珪藻とハプト藻で違いが見られ、ハプト藻由来 DOM 中では、アルギニン、GABA、セリンなどのアミノ酸の割合が高く、珪藻由来 DOM 中では、グルタミン酸やオルニチンの割合が高いことが明らかとなった。また、FDOM 解析の結果から、ハプト藻由来 DOM は珪藻由来 DOM に比べて、タンパク質様 B の蛍光値が高かった。一方で、珪藻由来 DOM 中では、ハプト藻由来 DOM と

比較して、腐植様物質 A の蛍光値が若干高い傾向が見られた。2018 年 12 月に鹿児島県長島港において取得した海水を用いて、これらの微細藻類抽出 DOM を添加する培養実験を実施し、培養前、培養 24 時間後 (T24)、培養 72 時間後に FDOM および微生物 DNA 試料を取得した。FDOM 解析の結果、培養 24 時間後、72 時間後において、ハプト藻由来のタンパク質様物質 B および腐植様物質 A の蛍光値が減少した(図 1)。一方で、腐植様物質 C の蛍光値は増加する傾向にあった。また、微生物群集構造解析の結果から、ハプト藻由来 DOM 添加区では、バクテロイデス系統群およびフィルミクティス系統群の割合が増加していた。

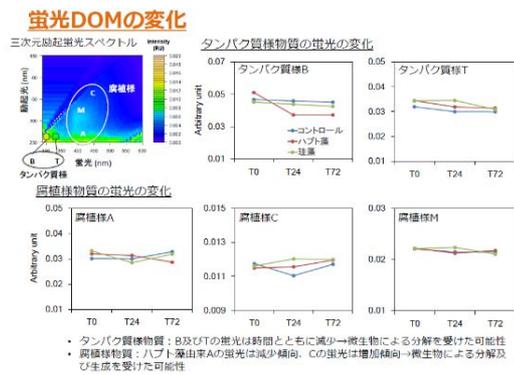


図 1. 培養実験における蛍光 DOM の変化

また、機能遺伝子解析の結果から、ハプト藻および珪藻由来 DOM の添加で、異なる代謝関連モジュールの変化が見られた。これらの結果から、異なる微細藻類由来の DOM は異なるアミノ酸組成、蛍光特性(タンパク質様物質や腐植様物質)を持ち、これらは海洋細菌群によって分解・生成されている可能性が示唆された。

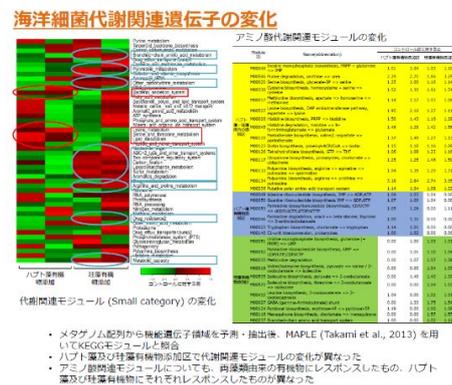


図 2. 培養実験における代謝関連遺伝子の変化

[培養実験 2]

ペラゴ藻およびラン藻を培養した後、藻類細胞を除去し、藻類由来の細胞外 DOM を作成した。これらの FDOM 解析の結果、ラン藻由来の DOM 中では、腐植様物質 M、C、A の蛍光値がペラゴ藻由来の DOM と比較して高いことが明らかとなった。また、これらの藻類由来 DOM を用いた添加培養実験を、2019 年 12 月に鹿児島県長島港において取得した海水を用いて実施し FDOM の変化および微生物群集構造 (16S rRNA 遺伝子) の変化を解析した。試料採取は、培養前、培養 1 日目 (Day1)および培養 5 日目 (Day5) で実施した。

FDOM 解析の結果、ペラゴ藻由来 DOM 中のタンパク質様 B および T の蛍光値が時間と共に減少する傾向が見られた。しかしながら、ラン藻中のタンパク質様 B および T の蛍光値については、培養期間中、それほど変化が見られなかった。また、ペラゴ藻およびラン藻由来 DOM 中の腐植様物質 M の蛍光値が、培養 5 日後に減少する傾向が見られた。一方で、腐植

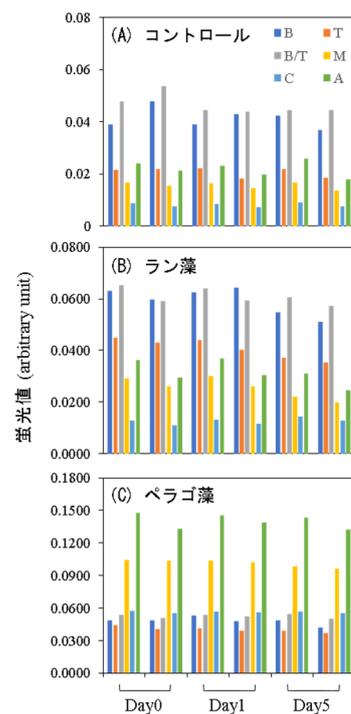


図 3. 培養期間中の FDOM の変化

様物質 C、A に関しては培養ボトル間のばらつきが大きく、評価が困難であった。

微生物群集構造解析の結果から、ガンマプロテオバクテリアに属するオケアノスピラレス系統群の割合が、両藻類由来 DOM 添加区で顕著に増加していた (図 4、5)。また、培養 5 日目の試料では、両藻類由来 DOM 添加区でロドバクター系統群の割合が増加することが明らかとなった。ペラゴ藻由来 DOM 添加区では、ガンマプロテオバクテリアに属するオケアノスピラレスおよびアルテロモナス系統群が培養 1 日目に増加したが、培養 5 日目には相対量が減少する傾向が見られた。また、興味深いことに、ペラゴ藻由来 DOM 添加区の培養 5 日後の試料では、一般的に表層海水では希少なデルタプロテオバクテリアに属するミクソコッカス系統群の割合の顕著な増加が見られた。これらのことから、異なる外洋性微細藻類が生成する DOM は異なる微生物系統群に影響し、群集構造を変化させることが示唆された。

本研究の結果から、異なる外洋性微細藻類によって生成された DOM は、異なるアミノ酸組成や蛍光特性を持ち、これらの供給によって微生物群集構造が変化し、それに伴って難分解性とされる腐植様 DOM の動態が変化することが明らかとなった。

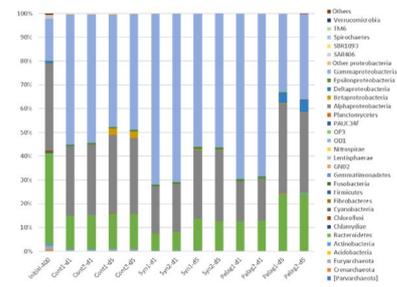


図 4. 培養期間中の細菌系統群の変化

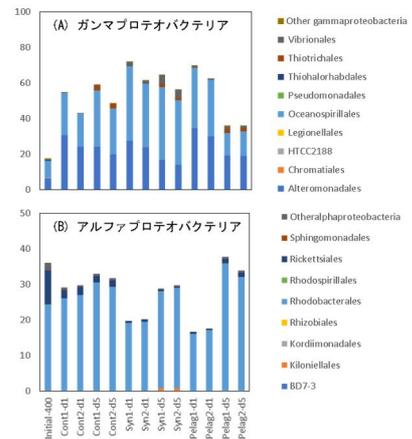


図 5. 培養期間中のガンマプロテオバクテリアおよびアルファプロテオバクテリア系統群の変化

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2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 Yuya Tada, Rie Nakaya, Shuji Goto, Youhei Yamashita, Koji Suzuki	4. 巻 495
2. 論文標題 Distinct bacterial community and diversity shifts after phytoplankton-derived dissolved organic matter addition in a coastal environment	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Experimental Marine Biology and Ecology	6. 最初と最後の頁 119 ~ 128
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1016/j.jembe.2017.06.006	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 -

1. 著者名 Yuya Tada, Kohji Marumoto	4. 巻 76
2. 論文標題 Uptake of methylmercury by marine microalgae and its bioaccumulation in them	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Oceanography	6. 最初と最後の頁 63-70
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10872-019-00525-6	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8件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Yuya Tada, Koji Suzuki, Youhei Yamashita
2. 発表標題 Interaction between marine bacterial community and dissolved organic matter released by pelagic phytoplankton
3. 学会等名 日本地球惑星科学連合2020年大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yuya Tada, Koji Suzuki, Youhei Yamashita
2. 発表標題 Community and metabolic responses of marine bacteria to the dissolved organic matter derived from phytoplankton
3. 学会等名 日本地球惑星科学連合2019年大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yuya Tada, Kohji Marumoto
2. 発表標題 Uptake and accumulation of methylmercury by marine phytoplankton
3. 学会等名 日本地球惑星科学連合2019年大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 後藤周史、多田雄哉、鈴木光次、山下洋平
2. 発表標題 3種のモデル海洋細菌株により生成された難分解性溶存有機物の比較
3. 学会等名 日本地球惑星科学連合
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 水野優、西岡純、多田雄哉、鈴木光次、山下洋平
2. 発表標題 蛍光性溶存有機物を用いた沿岸親潮水の起源推定
3. 学会等名 日本地球惑星科学連合
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 内田裕、小野越郎、横川太一、川口慎介、布浦拓郎、脇田昌英、梅田振一郎、熊本雄一郎、前野克尚、前田洋作、平井美穂、眞壁明子、松井洋平、宮崎征行、多田雄哉、田角栄二、佐々木瑤子、望月芳和、砂村倫成、浦山俊一、須田好
2. 発表標題 「かいめい」慣熟航海における伊豆・小笠原海溝のCTD採水観測
3. 学会等名 Blue Earth 2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 古島靖夫、三輪哲也、多田雄哉、北橋倫、福原達雄、新田末広、山本啓之、Lenaick Menot、篠野雅彦、瀬田剛広、岡本章裕、稲葉祥梧、水島康一郎、高江洲盛史、林 央之、豊田進介
2. 発表標題 KR16-12 航海概要：海洋生態系観測と変動予測手法の開発 - 伊豆小笠原海域でのベースライン調査 -
3. 学会等名 Blue Earth 2017
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 山本 啓之、古島 靖夫、多田 雄哉、北橋 倫、土屋 正史、三輪 哲也、福場 辰洋、福原 達雄、宇野澤 暢子、鹿島 裕之、前田 京香、嶋永 元裕、中杉 富大、橋本 泰志、久野 光輝、松永 浩志
2. 発表標題 KR16-15 航海概要：海洋生態系観測と変動予測手法の開発
3. 学会等名 Blue Earth 2017
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

国立水俣病総合研究センターHP http://nimd.env.go.jp/index.html
--

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
連携研究者	鈴木 光次 (Suzuki Koji) (40283452)	北海道大学・地球環境科学研究科(研究院)・教授 (10101)	

