

令和 4 年 6 月 17 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2018～2021

課題番号：18H03351

研究課題名（和文）多雪寒冷地域の湿原生態系におけるメタン動態の解明

研究課題名（英文）Methane dynamics in mire ecosystems of heavy snowfall area

研究代表者

福井 学（Fukui, Manabu）

北海道大学・低温科学研究所・教授

研究者番号：60305414

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,400,000円

研究成果の概要（和文）：メタンは同量の二酸化炭素よりも20倍以上高い強力な温室効果ガスとされている。特に、湿原（湿地）及び湖沼生態系は陸上土壌に比べて嫌気的環境が発達しやすいため、微生物学的メタン生成が卓越することになり、大気へメタン放出されると考えられて来た。本研究では国立公園尾瀬ヶ原湿原をモデルとして、主要な担い手である微生物群集に着目してメタンの時空間的動態を解明することを目的とした。融雪期に発生するアカシボ中にはメタン酸化細菌の他に、鉄代謝関連微生物、さらに、メタン酸化の代謝産物を利用するメタノール酸化細菌から構成される微生物コンソーシアが存在し、メタン消費に寄与していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

メタンは強力な温室効果ガスの一つであり、自然環境における動態を解明することは気候変動を予測する上で重要である。発生源対策が困難な湿原生態系において、融雪期に微生物によるメタンの消費を明らかにしたことで、大気中へのメタンフラックスを見積もる上でも学術的意義がある。さらに、メタンを消費する微生物コンソーシアの発見は、自然環境のみならず様々な環境からのメタン発生対策に資することが可能であり、社会的意義がある。

研究成果の概要（英文）：Methane emissions from mires and wetlands are a major natural source in the global budget of atmospheric methane. A large fraction of these emissions result from diffusive methane emission from the surface of sediments and/or snow. Methane is typically produced by methanogens in anoxic peat sediments and oxidized in the oxic surface, but still unknown in the snow on the peat sediments. Reddish-brown colored snow so called “Akashibo”, containing spherical brown particles has been observed in Ozegahara mire at the time of melting snow. This study clarified that the microbial consortia consisted of methanotrophs, methylotrophs and iron-metabolizing bacteria. Such microbial consortia in snow may contribute to the consumption of methane to reduce the emission into the atmosphere at the time of melting snow.

研究分野：微生物生態学

キーワード：湿原 メタン 温室効果ガス メタン酸化細菌 メタノール酸化細菌 雪 高層湿原

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) メタンは同量の二酸化炭素よりも 20 倍以上高い強力な温室効果ガスとされている。自然生態系においてメタンは、嫌気的環境でメタン生成菌により生成され、好気的環境でメタン酸化細菌により消費される。特に、湿原(湿地)及び湖沼生態系は陸上土壤に比べて嫌気的環境が発達しやすいため、微生物学的メタン生成が卓越することになり、大気へメタン放出されると考えられて来た。

(2) 近年、嫌気的環境でのメタン酸化、すなわち、硫酸還元メタン酸化や脱窒メタン酸化、好気的環境でのメタン生成、微好気環境でのメタン酸化菌による有機酸生成が報告され、新たな概念に基づくメタン動態を再構築する必要がある。特に、尾瀬ヶ原湿原(標高 1400m)のように最大積雪 6m と言う多雪寒冷地域高層湿原でのメタン動態はブラックボックスである。

2. 研究の目的

(1) 本研究では国立公園尾瀬ヶ原湿原をモデルとして、主要な担い手である微生物群集に着目してメタンの時空間的動態を解明することを目的とした。

(2) 冬期、尾瀬ヶ原湿原では気温が -30 以下に達することもあるが、多雪地域であるため積雪下の泥炭層は凍結せず、有機物の好気分解及び発酵が進行し、微生物学的メタン生成が卓越すると予想される。その結果、融雪期まで積雪-泥炭境界層でメタンが高濃度に蓄積される。融雪期での本湿原の特徴は、「アカシボ」と呼ばれる酸化鉄による彩雪現象が広く観察されることである。これまで酸素、硫酸塩あるいは硝酸塩とリンクしたメタンの動態は既知であるが、積雪内で鉄とリンクしたメタンの動態は未知である。本研究の仮説は、「融雪期において嫌気的な泥炭層で蓄積したメタンが積雪内で鉄を介在した微生物学的メタン酸化により消費され、大気へのメタン放出が抑制されている」である『アカシボ-メタンフィルター仮説』。こうした積雪アカシボ層内でのメタンをめぐる微生物代謝ネットワークを解明する。

3. 研究の方法

(1) 多雪寒冷地域高層湿原においてメタンの時空間的動態を解明するため、泥炭層の上に積雪する尾瀬ヶ原湿原見本園、上田代、中田代、及び下田代において、積雪及び泥炭試料を採取した。同時に、現場での物理化学的因子(温度、pH、電気伝導度、酸化還元電位、栄養塩濃度、溶存酸素濃度、硫酸塩濃度、酸化鉄及び還元鉄濃度等)を測定した。

(2) 試料中の微生物群集については、採取後速やかに RNA/DNA シールド液処理し、16S リボゾーム DNA のアンプリコンシーケンス解析並びにメタゲノム解析に供した。

(3) 赤褐色のアカシボを構成する微生物解析については、シュウ酸で酸化鉄を融解した後、16S リボゾーム RNA を標的とした CARD-FISH 法により顕微鏡下で視覚化を試みた。

(4) アカシボからのメタン酸化細菌の集積培養並びに単離培養は、DSMZ medium 921 を用いて 22 で行った。集積培養後、限界希釈法によりメタノール酸化細菌の単離菌 Zm11 株を得ることに成功した。Zm11 株の生理生化学試験、16SrDNA、全ゲノム、キノン、菌体脂肪酸組成等を調べ、分類学的検討を行った。

4. 研究成果

(1) 2021 年 9 月及び 10 月に尾瀬ヶ原湿原上田代、中田代および下田代において赤褐色に呈する泥炭を採取した。泥炭試料から DNA を抽出し、全原核生物の 16S rRNA 遺伝子を対象としたアンプリコンシーケンスを行った。その結果、メタン酸化に関与する *Crenothrix*、鉄還元に関与する *Anaeromyxobacter* や *Rhodoferax* 等が高頻度に検出され、メタン酸化と鉄代謝が関連していることが示唆された。*Crenothrix* 様微生物は、スイスの水深の深い成層湖でメタン酸化の主要な担い手として指摘されており(Oswald et al, 2017)、湿原環境においてもメタン酸化における *Crenothrix* の役割を解明する必要がある。

(2) 融雪期に採取したアカシボ試料中に含まれる赤褐色粒子をシュウ酸処理すると $10\mu\text{m}$ 程度のカプセル状包体が観察された。また、カプセル状包体内部に 2 対ないし 4 対の細胞が観察された(藤原ほか, 2022)。さらに、メタン酸化細菌の属特異的オリゴデオキシヌクレチドプローブで CARD-FISH を行ったところ、ハイブリシグナルが観察された。以上のことから、アカシボ粒子内

に含まれる微生物はメタン酸化細菌であることを示しており、今後メタゲノム解析を詳細に行うことにより代謝機能を解明する必要がある。

(3) 2019年度夏季(無雪期)の中田代において採取した湿原泥炭中の微生物群集及びメタン酸化細菌群集の解析を進めた。シカによる攪乱を受けた4箇所と、それに近接する非攪乱地から湿原土壌を採取した。2つの深度に分けた土壌からDNAを抽出し、全原核生物の16S rRNA遺伝子を対象としたアンプリコンシーケンスを行った。検出されたメチロトロフの中では、*Alphabacteria*綱に属するメタン酸化細菌が優占していた。メタンの供給源となる微生物としては、水素と二酸化炭素を利用する*Methanomicrobiales*目の割合が高かった。微生物群集の構造は、攪乱の有無よりも土壌深度による違いが大きかった。シカによる攪乱を受けている地点では、糞便から多く見つかっている*Clostridia*綱に属する目の増加が認められた。一方で、メチロトロフと攪乱の関係性は見出すことができなかった。さらに、メタンを単一の炭素源とした条件で集積培養を行った。確立した集積培養系には既知のメタン酸化細菌の他、*Methylophilaceae*科に属する新規性の高い細菌が含まれていた。この科はメタン酸化能を持たないメタノール酸化細菌で構成されているため、新規細菌はメタン酸化細菌の生成したメタノールに依存して生育したものと考えられた。

(4) アカシボ(図1)を接種した集積培養より得られたZm11株(図2)について、基質利用試験の結果、メタノールを唯一の炭素源として生育する偏性メチロトロフであることが分かった。生育温度、pH、NaCl濃度などの生理学的特徴は*Methylophilaceae*科の既知最近と類似していた。16SrRNA遺伝子配列を解析したところ、最近縁種との配列相同性は92.5%であった。全ゲノム配列を決定し、120個のシングルコピー遺伝子の配列を解析した結果、本株は*Methylophilaceae*科の新属新種であることが示唆されたため、*Methyloradius palustris*と命名した(Miyadera et al., 2021)。



図1. Zm11株を得たアカシボ発生積雪試料。

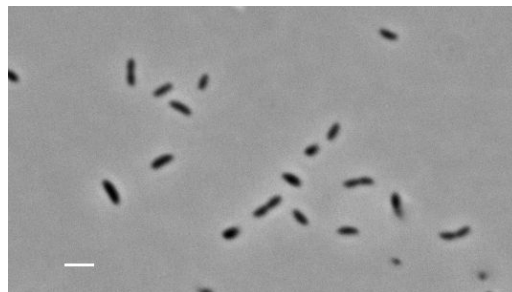


図2. Zm11株の顕微鏡写真(バー、2µm)

(5) 以上の結果から、多雪寒冷地域高層湿原である尾瀬ヶ原では融雪期に発生するアカシボにおいて、メタン酸化細菌の他に、鉄代謝関連微生物、さらに、メタン酸化の代謝産物を利用するメタノール酸化細菌が主要な微生物構成種であり、『アカシボ-メタンフィルター』として積雪内でのメタンの消費に寄与していることが示唆された。今後、こうした微生物コンソーシアにおけるメタン代謝ネットワークを考慮して、湿原からのメタンフラックスを解明することが重要であろう。

<引用文献>

Oswald, Graf, Littmann, Tienken, Brand, Wehrli, Albertsen, Daims, Wagner, Kuypers, Schubert, Milicka. Crenothrix are major methane consumers in stratified lakes. The ISME Journal 11, 2017, 2124-2140

藤原英史、福原晴夫、大高明史、小島久弥、福井 学、野原精一、尾瀬の赤褐色雪をつくるアカシボ粒子の顕微鏡観察、低温科学、80巻、2022、145-154

Takeshi Miyadera, Hisaya Kojima, Manabu Fukui. *Methyloradius palustris* gen. nov., so. Nov., a methanol-oxidizing bacterium isolated from snow. Archives of Microbiology, 203, 2021, 5715-5721

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Watanabe Tomohiro, Kubo Kyoko, Kamei Yoshiharu, Kojima Hisaya, Fukui Manabu	4. 巻 45
2. 論文標題 Dissimilatory microbial sulfur and methane metabolism in the water column of a shallow meromictic lake	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Systematic and Applied Microbiology	6. 最初と最後の頁 126320 ~ 126320
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.syapm.2022.126320	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 藤原英史, 福原晴夫, 大高明史, 小島久弥, 福井 学, 野原精一	4. 巻 80
2. 論文標題 尾瀬の赤褐色雪を作るアカシボ粒子の顕微鏡観察	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 低温科学	6. 最初と最後の頁 145-154
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14943/lowtemsci.80.145	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Miyadera Takeshi, Kojima Hisaya, Fukui Manabu	4. 巻 203
2. 論文標題 Methyloradius palustris gen. nov., sp. nov., a methanol-oxidizing bacterium isolated from snow	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Archives of Microbiology	6. 最初と最後の頁 5715 ~ 5721
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00203-021-02559-1	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 Hirao Toshihide, Fujii Masanori, Shigyo Nobuhiko, Kojima Hisaya, Fukui Manabu	4. 巻 87-88
2. 論文標題 Influence of understory vegetation on soil bacterial communities and nitrogen cycling gene abundance in cool-temperate and sub-alpine forests along an elevational gradient	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pedobiologia	6. 最初と最後の頁 150746 ~ 150746
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.pedobi.2021.150746	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 Khatun Santona, Iwata Tomoya, Kojima Hisaya, Fukui Manabu, Aoki Takuya, Mochizuki Seito, Naito Azusa, Kobayashi Ai, Uzawa Ryo	4. 巻 696
2. 論文標題 Aerobic methane production by planktonic microbes in lakes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Science of The Total Environment	6. 最初と最後の頁 133916 ~ 133916
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.scitotenv.2019.133916	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1件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 Jackson M. Tsuji, Nicolette A. Shaw, Sakiko Nagashima, Jason J. Venkiteswaran, Sherry L. Schiff, Manabu Fukui, Satoshi Hanada, Marcus Tank, Josh D. Neufeld
2. 発表標題 Revisiting the evolution and ecology of photosynthesis with the discovery of "Candidatus Chlorohelix allophototropha", a phototrophic Chloroflexota member that uses a Type I reaction center
3. 学会等名 日本微生物生態学会年会
4. 発表年 2021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	小島 久弥 (Kojima Hisaya) (70400009)	北海道大学・低温科学研究所・助教 (10101)	

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
---------	---------