

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月 20日現在

機関番号：32661

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2012

課題番号：22710017

研究課題名（和文） 湖沼における菌類の生態および難分解性有機物の分解に果たす役割の解明

研究課題名（英文） Ecology of fungi and their roles in decomposing refractory organic matters in lakes and ponds

研究代表者

鏡味 麻衣子 (KAGAMI MAIKO)

東邦大学・理学部・准教授

研究者番号：20449250

研究成果の概要（和文）：

湖沼に生息する菌類に焦点をあて、その生態を明らかにするとともに、菌類による有機物分解速度の定量化を試みた。印旛沼では、多様な真菌類が存在し、ツボカビが主要な菌類である事が明らかとなった。培養実験により、ツボカビは花粉などの有機物を分解消費していること、それら分解性ツボカビは動物プランクトンの餌として重要である事が明らかとなった。ツボカビの有無により湖沼の元素循環や栄養転換効率が大きく変わりうる事がモデルにより評価できた。

研究成果の概要（英文）：

We investigated the ecology of fungi in lakes and their roles in decomposing organic matters. In Lake Inba, we found diverse fungi, among which saprotrophic chytrids were dominant. Saprotrophic chytrids could consume refractory organic matters such as pollen. Chytrids decomposing pollen are found to be important foods for zooplankton. Mathematical models revealed that chytrids affected elemental cycling and trophic transfer efficiency.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：環境学・環境動態解析

キーワード：物質循環

1. 研究開始当初の背景

従来、カビやキノコなど菌類は陸上に生息し、湖沼には殆ど存在しないと考えられてきた。しかし、申請者らの研究により、琵琶湖や印旛沼などにおいて、菌類（ツボカビ、子囊菌、接合菌、担子菌）が比較的多く存在し

うる事が浮かびあがってきた。これら菌類は、バクテリアとは異なり、粒状態有機物 (POM: Particulate organic matter) を効率よく分解するという役割を担っている可能性がある。菌類がこれまで湖沼の物質循環を考える上で殆ど考慮されてこなかった理由のひとつに、

観察や種同定、活性評価が困難であったことがあげられよう。本研究では、DNA 解析、蛍光染色、脂肪酸分析、安定同位体といった最新技術を取り入れると同時に、野外調査、培養実験、野外実験を併用することで、菌類の生態と機能の把握を可能とする。

2. 研究の目的

本研究では、寄生性のツボカビだけでなく、分解性のツボカビ、子囊菌、担子菌、接合菌など菌類群集全般を対象を広げ、湖沼の物質循環における有機物の分解消費者としての機能を評価する。(1)「自然湖沼」において菌類の出現パターンと現存量の把握、および(2)菌類による有機物、特にプランクトン遺骸と花粉、の分解速度の定量化を作業目的とする。最終到達目標として、菌類現存量や有機物分解速度の測定法を確立し、それらによって得られる情報をもとに菌類を考慮した物質循環モデルを作成する。

3. 研究の方法

(1) 菌類の出現パターンと現存量の把握

湖沼に生息する菌類として、ツボカビ(分解性、寄生性)、子囊菌、接合子菌、担子菌を対象とし、それぞれの現存量および種組成の季節変化を調べ、菌類の出現パターンを把握した。野外調査は印旛沼(西印旛沼と北印旛沼)にて行った。

(2) 菌類による有機物の分解速度の定量化

菌類を介した物質経路として、①植物プランクトン→寄生性ツボカビ→動物プランクトン(Mycoloop)、②花粉→分解性ツボカビ→動物プランクトン、③プランクトン遺骸→子囊菌、担子菌、接合菌→溶存態有機物(DOM)、が考えられるが、本研究では主に①と②に焦点をあて、有機物から動物プランクトンへの転換効率を評価した。

(3) 菌類を考慮した物質循環モデルの作成
野外調査と培養実験より得られたパラメータを用いて、菌類の有無が有機物分解速度や栄養転換効率(植物—動物)に与える影響に関するモデルを作成し、菌類の分解者としての物質循環への貢献度を評価した。

4. 研究成果

(1) 菌類の出現パターンと現存量の把握

西印旛沼(千葉県)にて 2008、2009 年度に採取した湖水を用い、湖水中に含まれる菌類の 18S rRNA をターゲットに、DGGE 法(変性剤濃度勾配ゲル電気泳動法)により菌類群集の種組成を調べた。DGGE 法により多くのバンドが確認され、多様な真菌類が存在する事が示唆された。出現したバンドの中から 24 本のバンドを切り取り、シークエンスした結果、16 本のバンドにツボカビ様の配列が認められた。植物プランクトンに寄生する種類だ

けでなく、有機物を分解する種類も認められ、印旛沼においてツボカビが主要な菌類である事が明らかとなった。また、子囊菌や担子菌の出現も確認されたが、その出現頻度は低かった。

植物プランクトンに寄生するツボカビの出現パターンを明らかにするため、2009 年度および 2010 年度に 2 週間に 1 回採取した西印旛沼と北印旛沼の湖水を染色液(Calcofluor white)にて染色し、蛍光顕微鏡下にてツボカビの種組成と密度(孢子体数)を調べた。両沼において、春と秋に優占している珪藻 *Aulacoseira granulata* と *A.amnigua* 上にそれぞれ 2 種類のツボカビが寄生していることが確認された。しかし、その出現パターンは北と西では異なり、栄養塩濃度の高い西印旛沼のほうが、珪藻およびツボカビの密度は高い蛍光にあった。ツボカビ数の変動パターンは珪藻の増減と同調する傾向を示し、重回帰分析の結果、ツボカビ密度は栄養塩のリンとの間に強い相関が見られた。水中のリン濃度の変化に伴う珪藻の種組成や密度の変化が、ツボカビの種組成及び密度を決定する要因である可能性が推察された。冬に優占する珪藻 *Synedra* sp.にもツボカビが高頻度で寄生していることが確認された。このツボカビ密度は水温との間に相関関係がみられ、リンではなく水温によって密度が決定していると考えられた。印旛沼は富栄養湖で、珪藻は盛んに成長する。そのような環境下では、珪藻はツボカビの影響により成長が抑えられる事はあまりなく、むしろツボカビは珪藻の成長とともに増加すると推察された。

(2) 菌類による有機物の分解速度の定量化

菌類を介した物質経路のうち、①植物プランクトン→寄生性ツボカビ→動物プランクトン(Mycoloop)について、培養実験により評価した。培養系(珪藻 *Asterionella* と寄生性ツボカビ *Rhizophyidium*)を材料に、ツボカビの量を定量 PCR 法により測定できるのかを調べた。これまでの成果からプライマーおよびプローブをデザインし、定量 PCR 法を行った結果、計数によるツボカビ数と定量 PCR 法により推定した生物量の間には有意な相関関係が見られ、定量 PCR 法によるツボカビ生物量の定量が培養条件下では可能となった。次に、ツボカビをミジンコに捕食させ、ミジンコ消化管内にあるツボカビを定量 PCR 法で検出できるかを実験的に調べた。その結果、ツボカビを捕食させたミジンコと捕食させなかったミジンコの間で定量 PCR 法から推定したツボカビ量に有意な差が見られ、定量 PCR 法が消化管内のツボカビを定量するにあたって有効であることが示された。ただし、ミジンコの消化管のみと、ミジンコの生物体全てを測定する場合とで値に差が見ら

れ、ツボカビの一部はミジンコの殻に付着している事が判明した。捕食されているツボカビ量を正確に量るためには、殻をはがし、消化管のみで測る必要があると示唆された。

これらの方法を印旛沼に適用した結果、ツボカビの量についてはプライマーの特異性が低かったため、正確には測定できなかった。しかし、ミジンコ中のツボカビ量を測定した結果、北印旛沼のミジンコ中には検出されなかったが、西印旛沼では検出され、ツボカビが野外でもミジンコに捕食されていることが明らかとなった。ツボカビを介した物質流は場所や時期によってその重要性が変わる可能性が示唆された。

物質経路②花粉→分解性ツボカビ→動物プランクトンについては、室内実験により測定することを試みた。まずは培養系を確立するために、単離したツボカビ 2 種 (*Chytrium cf. hyalinus*, *Rhizophyidium cf. brooksianum*) について培養方法を検討した。その結果、寒天培地上での培養だけでなく、花粉と滅菌水の中での培養が可能となった。培養系を用いて、ツボカビが花粉を分解することで、花粉中の炭素、窒素、リンをどの程度消費するのかを調べた。その結果、全ての元素について 50% 近く消費することが明らかになった。また、花粉の中には脂肪酸などの栄養素が多く含まれることも明らかとなり、ツボカビがそれらを利用して成長していると考えられた。

(3) 菌類を考慮した物質循環モデルの作成
研究協力者と共にモデルを作成した。三木健博士 (国立台湾大学) との共同研究では、ツボカビの有無がリン循環に大きな影響を与える事を定量的に示した。Dr. Nathalie Niquil (University de La Rochelle, France) との共同研究では、ツボカビの有無により動物への物質転換効率が大きく変わることが判明した。

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 8 件)

1. Maiko Kagami, Yutaka Hirose, Hisako Ogura (2013) Phosphorus and Nitrogen limitation of phytoplankton growth in Lake Inba, Japan. *Limnology* 14:51-58. DOI: 10.1007/s10201-012-0385-5 査読有
2. Maiko Kagami, Yousuke Amano, Nobuyoshi Ishii (2012) Community structure of planktonic fungi and the impact of parasitic chytrids on phytoplankton in eutrophic Lake Inba, Japan. *Microbial*

Ecology 63:358-368. DOI: 10.1007/s00248-011-9913-9 査読有

3. Agostina V. Marano, Frank H. Gleason, Felix Bärlocher, Carmen L.A. Pires-Zottarelli, Osu Lilje, Steve K. Schmidt, Serena Rasconi, Maiko Kagami, Marcelo D. Barrera, Télesphore Sime-Ngando, Sammy Boussiba, José I. de Souza, Joan E. Edwards (2012) Quantitative methods for the analysis of zoospore fungi. *Journal of Microbiological Methods* 89 (2012) 22-32. DOI: 10.1016/j.mimet.2012.02.003 査読有
4. Hélène Masclaux, Alexandre Bec, Maiko Kagami, Marie-Elodie Perga, Telesphore Sime-Ngando, Christian Desvilettes, Gilles Bourdier (2011) Food quality of anemophilous plant pollen for zooplankton. *Limnology and Oceanography* 56(3): 939-946. DOI: 10.4319/lo.2011.56.3.0939 査読有
5. 鏡味麻衣子、石鍋順子 (2011) 印旛沼におけるバクテリアの季節変動パターンおよび変動要因の解明. *日本陸水学雑誌* 72:65-70. https://www.jstage.jst.go.jp/article/rikusui/72/1/72_1_65/_pdf 査読有
6. Takeshi Miki, Gaku Takimoto, Maiko Kagami (2011) Roles of parasitic fungi in aquatic food webs: a theoretical approach. *Freshwater Biology* 56: 1173-1183. DOI:10.1111/j.1365-2427.2010.02562.x 査読有
7. Maiko Kagami, Nico Helmsing, Ellen van Donk (2011) Parasitic chytrids could promote copepod survival by mediating material transfer from inedible diatoms. *Hydrobiologia* 659:49-54. DOI 10.1007/s10750-010-0274-z 査読有
8. Nathalie Niquil, Maiko Kagami, Jotaro Urabe, Urania Christaki, Eric Viscogliosi, Télesphore Sime-Ngando (2011) Potential role of fungi in plankton food web functioning and stability: a simulation analysis based on Lake Biwa inverse model. *Hydrobiologia* 659:65-79. DOI 10.1007/s10750-010-0308-6 査読有

[学会発表] (計 22 件)

1. 高木俊、鏡味麻衣子. 印旛沼沿岸におけるクモ個体数と陸生・水生昆

- 虫量の関係：オニビシの繁茂は陸上捕食者へのsubsidyに影響するか？第60回日本生態学会、グランシップ静岡（静岡県東静岡市）、2013年3月7日
2. 鏡味麻衣子、湖沼・海洋に潜む多様な菌類の検出と機能の定量化：データベースの再構築と定量方法の開発.第60回日本生態学会 シンポジウム「先端技術で野外生態学を革新する」.グランシップ静岡（静岡県東静岡市）、2013年3月6日
 3. 赤堀由佳、鏡味麻衣子、吉田丈人、西廣淳.印旛沼の富栄養化とオニビシの繁茂—培養実験によるヒシとオニビシの成長特性の検討—（植物生活史・繁殖部門 優秀ポスター賞受賞）.第60回日本生態学会.グランシップ静岡（静岡県東静岡市）、2013年3月6日
 4. 中西奈津美、高木俊、鏡味麻衣子.印旛沼における昆虫類・クモ類に見られるオニビシ葉の利用.第60回日本生態学会.グランシップ静岡（静岡県東静岡市）、2013年3月6日
 5. 鏡味麻衣子.富栄養湖における珪藻3種とツボカビとの寄主—寄生者関係.第28回個体群生態学会 東邦大学（千葉県船橋市）、2012年10月21日
 6. 鏡味麻衣子.リンおよび窒素による植物プランクトンの成長制限：富栄養な印旛沼の事例.2012年度日本プランクトン学会・日本ベントス学会合同大会.東邦大学（千葉県船橋市）2012年10月6日
 7. 鏡味麻衣子、西廣淳.印旛沼におけるオニビシ群落の機能評価：適正な植生管理に向けて.第77回日本陸水学会.名古屋大学（愛知県名古屋市）、2012年9月17日
 8. 赤堀由佳、鏡味麻衣子、西廣淳.印旛沼においてオニビシ帯およびその刈り取りが水質に与える影響.第77回日本陸水学会.名古屋大学（愛知県名古屋市）、2012年9月17日
 9. 西廣淳、吉田丈人、鏡味麻衣子.湖沼生態系の中の浮葉植物：生物多様性・生態系機能・利用の観点から.第77回日本陸水学会.名古屋大学（愛知県名古屋市）、2012年9月17日
 10. Maiko Kagami, Nobuyoshi Ishii, Community structure of planktonic fungi and the impact of parasitic chytrids on phytoplankton in Lake Inba, Japan,2012 ASLO aquatic sciences meeting, 琵琶湖ホール（滋賀県）2012, July 10
 11. 松倉君子、広瀬大、鏡味麻衣子.ヤブツバキ葉上に生息する *Lophodermium* sp.の地理的分布に気候要因が及ぼす影響.第56回日本菌学会.岐阜大学（岐阜県岐阜市）、2012年5月26日
 12. 松倉君子、広瀬大、鏡味麻衣子.ヤブツバキ落葉上でリテイズマ科菌類と競合する菌類の地域間比較,平成24年度日本菌学会関東支部年次大会,日本大学薬学部（千葉県船橋市）、2012年4月21日
 13. 鏡味麻衣子（招待講演）珪藻に寄生するツボカビが駆動する物質流日本プランクトン学会春期シンポジウム「珪藻の生物学」、東京大学海洋研究所（千葉県柏市）、2012年3月30日
 14. 松倉君子、広瀬大、鏡味麻衣子.ヤブツバキ落葉分解に関わるリテイズマ科菌類の生活史特性とその地理的変異、第59回日本生態学会、龍谷大学（滋賀県大津市）、2012年3月21日
 15. Maiko Kagami（招待講演）Ecological roles of chytrids in aquatic food webs.International Union of Microbiological Societies (IUMS) 2011 Congress：札幌コンベンションセンター（北海道札幌市）、2011年9月9日
 16. 大野智弘、鏡味麻衣子、小倉久子.印旛沼における珪藻および寄生性ツボカビの季節変動.第58回日本生態学会.札幌コンベンションセンター（北海道札幌市）、2011年3月11日.
 17. 松倉君子、広瀬大、鏡味麻衣子.ヤブツバキ葉上に定着するリテイズマ科菌類のコロニー成長過程.第58回日本生態学会.札幌コンベンションセンター（北海道札幌市）、2011年3月11日
 18. 鏡味麻衣子、石井伸昌.印旛沼におけるツボカビの多様性と出現パターン.第58回日本生態学会.札幌コンベンションセンター（北海道札幌市）、2011年3月10日
 19. 齊藤温、鏡味麻衣子、西廣淳.印旛沼におけるオニビシとジュンサイハムシの関係.第58回日本生態学会札幌コンベンションセンター（北海道札幌市）、2011年3月10日

20. 川津正之、鏡味麻衣子、印旛沼におけるオニビシ繁茂に伴う鳥類相の季節変化.第58回日本生態学会.札幌コンベンションセンター（北海道札幌市）、2011年3月9日
21. 鏡味麻衣子、小林達也、西廣淳.印旛沼におけるオニビシのジュンサイハムシによる被食過程.第75回日本陸水学会.弘前大学（青森県弘前市）、2010年9月18日.
22. 石井伸昌、鏡味麻衣子、府馬正一.PCR-DGGE法による水生菌類検出のためのプライマーの検討.第75回日本陸水学会.弘前大学（青森県弘前市）、2010年9月17日

[図書] (計2件)

1. 淡水生態学のフロンティア（シリーズ現代の生態学 第9巻）吉田丈人・鏡味麻衣子・加藤元編集 2012年3月（共立出版）
第14章 植物プランクトンの消失過程と生態系機能（鏡味麻衣子）
2. 微生物の生態学（シリーズ現代の生態学 第11巻）大園享司・鏡味麻衣子編集 2011年3月（共立出版）
第1章 生態学からみた微生物の世界（大園享司・鏡味麻衣子）
第5章 鞭毛菌類の多様性と生態系機能（稲葉重樹・松井宏樹・鏡味麻衣子）

[その他]

ホームページ等

<http://www.lab.toho-u.ac.jp/sci/env/kagami/index.html>

メディア掲載 (計3件)

1. 北総よみうり、佐倉よみうり、八千代よみうり 2011年8月19日「微生物含め生態系理解へ」
2. 月刊かがくのとも 2010年8月号「コレ、みたことある？しずくの中」
3. 船橋よみうり 2010年6月19日「子どもたちミジンコに愛着」

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鏡味 麻衣子 (KAGAMI MAIKO)
東邦大学・理学部・准教授
研究者番号：20449250

(2) 研究分担者 該当なし

(3) 連携研究者 該当なし