

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 6月 7日現在

機関番号：16301
 研究種目：研究活動スタート支援
 研究期間：2011～2012
 課題番号：23810022

研究課題名（和文）海洋表層における有機物分解機構の解明，環境変動に対する
 その機構の応答解析

研究課題名（英文）Prokaryotic community composition and its response to environmental changes in
 coastal marine environments.

研究代表者

横川 太一（YOKOKAWA TAICHI）

愛媛大学・沿岸環境科学研究センター・講師

研究者番号：00402751

研究成果の概要（和文）：

沿岸生態系において、有機物分解機構を担う細菌群集の動態を、環境微生物学的手法をもちいて解析した。沿岸モニタリングのデータから、細菌群集は沿岸生態系の物質循環において量的観点から重要な生物群であることを明らかにした。また、人為的負荷（抗生物質汚染）を仮定した疑似現場培養法の解析から、細菌群集が抗生物質負荷の量および質に対して敏感に応答していることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

In order to access the role of prokaryotes on organic matter fluxes, this study examined prokaryotic biomass, community composition, and its response to environmental changes (e.g., anthropogenic antibiotics contamination) in coastal marine environments. Results of this study showed that prokaryotes contribute a substantial portion of organic matter fluxes. In addition, the result showed that prokaryotic biomass, growth rate and community composition are drastically changed under environmental changes due to the anthropogenic antibiotics contamination.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2012年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,500,000	750,000	3,250,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：環境学・環境動態解析

キーワード：海洋表層，沿岸環境，細菌群集，有機物分解機構，環境変動，人為的負荷，抗生物質

1. 研究開始当初の背景

海洋表層では、「植物プランクトンによる基礎生産」と「細菌による有機物分解」が相補的に働いている（図1）。この両者の働きが、生態系における物質循環の恒常的な駆動を維持している。基礎生産に関しては、それ

を担う植物プランクトン個体の生理活性から、全球規模での動態まで広く知見が集められ、精度の高いモニタリングシステムと動態予測モデルが構築されている。その一方で、有機物分解に関しては、その理解が非常に乏しい。とくに、有機物分解速度やその時空間

分布を把握するためのモニタリングシステムが確立されていない。このモニタリングシステムの欠如が、細菌動態を組み込んだ海洋環境予測モデルの構築の制限となっている。

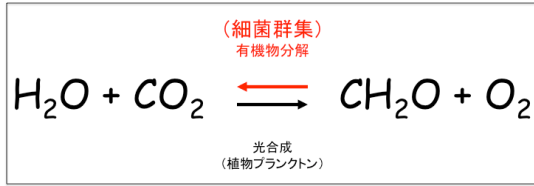


図1 海洋表層における光合成（基礎生産）と有機物分解を化学反応式からみた概略。両者が生態系の機能の上で同等の重要性を持つにもかかわらず、有機物分解を担う細菌群集の動態は、植物プランクトンに比べて、ほとんど明らかにされていない。

2. 研究の目的

本研究では、生態系において有機物分解過程を担う細菌群集に注目し、細菌群集構造とその変動メカニズムを解明することを目的とした。細菌群集に与える環境要因（水温、水塊構造）の季節変動が大きく、また環境に対する人為的負荷が大きいと考えられる沿岸環境を調査対象とした。

実際には以下の3点について、野外調査および解析を行う事を課題とした。

(1) 細菌生物量および群集構造解析：細菌群集の生物量および群集構造の観測を行い、沿岸環境物質循環における細菌群集の寄与を見積もる。

(2) 細菌群集の変動と環境要因の変動との関係解析：近年その生態系への影響評価が課題とされている抗生物質を化学物質負荷の指標として用いて擬似的環境を作成し、そこでの細菌群集の応答を測定する。

(3) 以上の成果を統合し、沿岸域における細菌群集の動態とその環境応答に関する理解を深化させる。

3. 研究の方法

(1) 従属栄養細菌群集の生物量および構造解析用のサンプルを採取し、その時空間パターンの解析を行った。サンプルは、平成23年7月から平成24年10月までに愛媛県近海の伊予灘および宇和海の沿岸環境において行われた計18回の観測で採取したものを使用した。細菌細胞数は直接計数法を用いて計数した。群集構造解析には Catalyzed Reporter Deposition-Fluorescence In Situ Hybridization (CARD-FISH) 法を用いて、4つの主要系統分類群（ α -、 β -、 γ - proteobacteria, Bacteroidetes）の全細菌群集に対する寄与率を求めた。

(2) 疑似現場培養法を用いた、細菌群集の

生物量および増殖速度の変動と環境要因の変動との関係解析を行った（近年、生態系への影響評価が課題とされている抗生物質を化学物質負荷の指標として用いた）。愛媛県、伊予灘における観測地点（33° 48.33N, 132° 40.07E, 1級河川重信川河口から約1km沖）において計4回試料を採取し実験に供した。疑似現場培養法では、採取した海水を0.8 μ m-filterで濾過し、細菌捕食者を除いて、現場温度、暗所条件で培養をおこなった。この方法において、何も添加しないコントロール区とともに、抗生物質である Sulfamethoxazole (SMX), Oxytetracycline (OTC), Erythromycin (ERY)をそれぞれ2つの濃度区〔高濃度区（10 μ g mL⁻¹）、低濃度区（0.1 μ g mL⁻¹）〕で用意した（計7区）。それぞれの区での培養開始時における細菌数、および培養終了時（48時間）における細菌細胞数を直接計数法を用いて測定した。さらに培養開始時と終了時の細菌数の差から細菌の増殖速度を見積もった。細菌主要系統分類群ごとの計数には CARD-FISH 法を用い、上記の4主要系統分類群の細胞数を測定した。

4. 研究成果

(1) 伊予灘および宇和海周辺の沿岸域において、細菌生物量は、基礎生産者である植物プランクトン生物量の44%（44 \pm 56, average \pm SD, n=69）とほぼ同等であることがわかった。細菌の代謝効率を0.3（30%の炭素が細胞成分となり、70%が呼吸で利用され二酸化炭素となって排出される）と仮定すると、細菌群集は、植物プランクトン生物量を上回る（約1.2倍）量の有機物の循環を沿岸生態系で担っていると推測できる。（図2）。

本研究の結果は、細菌群集が伊予灘・宇和海沿岸生態系の物質循環過程において量的観点から重要な生物群であることを明らかにした重要な知見である。

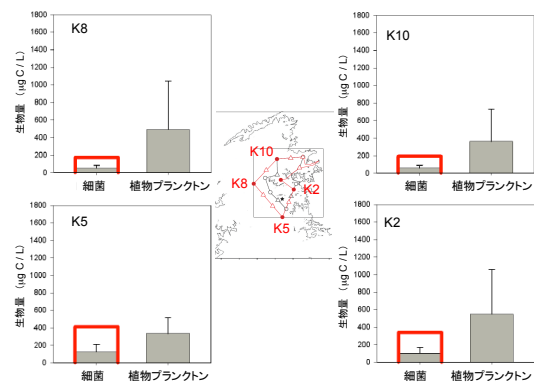


図2 宇和海主要観測点における細菌生物量および植物プランクトン生物量（灰色棒グラフ）の例。細菌の炭素同化効率を0.3と仮定

した場合の細菌炭素利用量を赤枠の棒グラフで示す。細菌炭素利用量が植物プランクトン生物量に匹敵することが分かる（投稿準備中）

(2) 疑似現場培養法の 4 回のいずれの実験においても、48 時間の培養で、コントロール区において全菌数は増加した。また、ERY 高濃度添加区を除いたいずれの抗生物質添加区においても、全菌数の増加が確認された。しかし、その増加傾向は実験区によって異なり、いずれの抗生物質添加区の増加量もコントロール区の増加量は超えなかった。

4 回のいずれの実験においても、増殖速度はコントロール区でもっとも速く、次に抗生物質低濃度添加区、続いて高濃度添加区という傾向が観察された。

2012 年 5 月の実験を例にとると、各実験区の増殖速度をコントロール区と比べた際、低濃度区では 0.27 倍から 0.75 倍の間で変動し、高濃度添加区では -0.16 倍から 0.50 倍の間で変動した（図 3）。つまり、抗生物質が高濃度に添加された場合のほうが、より増殖速度が抑制される効果が観察された。これらの結果から、抗生物質による細菌群集の増殖の抑制は濃度依存的に作用し、さらに抗生物質の種類によってもその抑制の強度が異なる事が示唆された。

また、同実験系において、細菌主要系統分類群の群集組成を解析した結果、抗生物質暴露によって細菌群集構造に変化がみられた。しかし、抗生物質の種類および濃度の違いにおいては、顕著な差がみられなかった。48 時間後のコントロール区における系統分類群組成は α -proteobacteria が 33%、 β -proteobacteria が 5%、 γ -proteobacteria が 19%、Bacteroidetes が 27%、未同定が 16% であった。コントロール区に比べて、いずれの抗生物質暴露区でも γ -proteobacteria の寄与が顕著に低く（平均 8%）、低濃度添加 ($0.1 \mu\text{g mL}^{-1}$) の SMX 添加区：8%；OTC 添加区：10%；ERY 添加区：13%、高濃度添加 ($10 \mu\text{g mL}^{-1}$) の SMX 添加区：8%；OTC 添加区：5%；ERY 添加区：9% であった。この結果は、細菌群集が抗生物質による感受性の異なるグループによって構成されていることを示している。

疑似現場培養法を用いた細菌群集の応答解析から、次の 3 点が明らかになった。1) 抗生物質による環境細菌群集の増殖の抑制は濃度依存的に作用すること、2) 抗生物質の種類によっても細菌群集の増殖の抑制の強度が異なること、3) 環境細菌群集が抗生物質による感受性の異なるグループによって構成されていること。

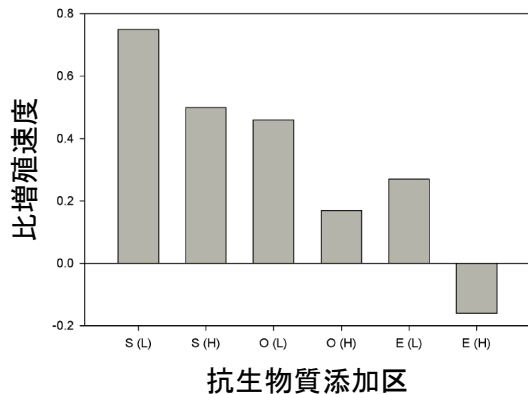


図 3 抗生物質添加区での細菌増殖速度とコントロール区細菌増殖速度との比（例として 2012 年 5 月試料の結果を示す）C はコントロール区、S は SMX 添加区、O は OTC 添加区、E は ERY 添加区を示す。カッコ内の L は低濃度添加区 ($0.1 \mu\text{g mL}^{-1}$)、H は高濃度添加区 ($10 \mu\text{g mL}^{-1}$) を示す（投稿準備中）。

沿岸域における「細菌生物量および群集構造解析」および「細菌群集の変動と環境要因の変動との関係解析」の 2 項目の結果から、従属栄養細菌は沿岸生態系の物質循環において量的観点から重要な生物群であること、また、化学物質負荷等の環境変動に対して敏感に応答していることが示された。さらにその応答様式も明らかとなった。この結果は中長期的な環境変動に対して、細菌群集動態の応答を理解するうえで重要な知見である。今後はこの知見をもとに、細菌群集動態をパラメータとして組み込んだ、より高精度な海洋環境予測モデルの構築を目指した研究を推進する必要がある。

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）

〔学会発表〕（計 3 件）

① 横川太一 「細菌群集の多様性の評価-マクロ生物の多様性の評価との比較」第 60 回日本生態学会大会、コンベンションアーツセンター（静岡県）、2013 年 3 月 6 日

② Yokokawa T “The role of prokaryotes in the surface ocean ecosystem” 2nd conference for Regional cooperation in Ocean and Earth Science research in the South China Sea, University of Malaya (Kuala Lumpur, Malaysia), 2012 年 10 月 23 日 招待講演

③ 後藤周史, 横川太一, 高部由季, 鈴木聡 「スルファメトキサゾールを加えたマイクロコズム内の海洋細菌における全菌数とスルホ

ンアミド耐性遺伝子の変化」第 28 回日本微生物生態学会大会，豊橋技術科学大学（愛知県），2012 年 9 月 20 日

〔その他〕

ホームページ等

<http://web.agr.ehime-u.ac.jp/~mme/yokokawa.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

横川 太一 (YOKOKAWA TAICHI)

愛媛大学・沿岸環境科学研究センター・講師

研究者番号：00402751