

平成 26 年 5 月 20 日現在

機関番号：10101

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2012～2013

課題番号：24870001

研究課題名(和文) 寒冷圏部分循環湖の微生物学的硫黄循環

研究課題名(英文) Microbial sulfur cycling in a meromictic lake in cryosphere

研究代表者

久保 響子 (Kubo, Kyoko)

北海道大学・低温科学研究所・特任助教

研究者番号：40631180

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円、(間接経費) 690,000円

研究成果の概要(和文)：寒冷圏部分循環湖において硫黄循環に関わる微生物のうち、硫酸還元菌に着目しその垂直分布様式を解明した。春採湖(北海道釧路市)の物理化学的特徴付けと分子生物学的手法を用いた硫酸還元に関わる微生物の特定と定量から、春採湖の硫化水素濃度の高い嫌気層ではDesulfosarcina-Desulfococcusグループが主要な硫酸還元菌の一つであり、湖水中の硫黄循環において重要な役割を担っていると考えられた。

研究成果の概要(英文)：The vertical distribution of sulfate-reducing bacteria was investigated in a shallow meromictic lake in cryosphere, Lake Harutori, Kushiro, Japan. Lake water was physicochemically characterized and a steep chemocline was observed. Identification and quantification of sulfate-reducing bacteria showed that Desulfosarcina-Desulfococcus group is one of the major groups of sulfate-reducing bacteria in the anoxic and sulfidic layer of Lake Harutori, and they might play an important role in sulfur cycling in the lake.

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生態・環境

キーワード：微生物 生態学 部分循環湖 硫黄循環

1. 研究開始当初の背景

湖底などの酸素のほとんどない嫌気環境では、主に硫酸還元菌の働きにより硫化水素が生成される。硫化水素はその濃度が高くなると多くの生物に毒性を示し、環境へ悪影響を及ぼす。地球温暖化の影響で今後嫌気環境はさらに広まると予測されており、これに伴う硫化水素生成の活発化が水界の生物に与える影響が懸念される。

部分循環湖とは年間を通して表層と深層が混ざり合わず、表層のみで循環がおこる湖を指す。このような成層構造を保った湖では、硫化水素が深層湖水に溜まりやすい。春採湖(釧路市)は水深約 5.75 m の浅い部分循環湖である。一部が海洋と繋がっているために湖の深層には海水が流入しており、表層の淡水よりも塩分濃度が高くなっている。従ってここでは主に塩分濃度の違いにより湖が成層している。深層では高濃度の硫化水素が検出されている。また冬期には湖面が完全に結氷するという特徴を持つ。

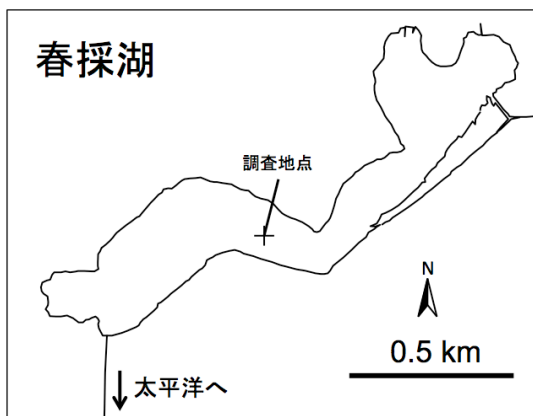


図1 春採湖

2. 研究の目的

本研究では微生物による硫黄循環のうち硫酸還元に着目した。気候変動の影響を受け

やすいと考えられる寒冷圏の湖で、どのグループの微生物が硫化水素生成および消費に関わっているのか、それらの微生物が湖水中でどのように分布しているのか、を複数の手法を用いて明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 湖の物理化学的特徴付け

湖の中心(最深部)を調査地と定め(図1)、深度、水温、pH等を測定した。また湖水中に溶解している硫酸イオン濃度や硫化水素濃度などを測定した。

(2) 微生物群集構造の把握

分子生物学的手法を用いて湖水中の微生物群集構造の把握を行った。バクテリアの16S rRNA 遺伝子配列を標的としたクローンライブラリの作成を行った。

(3) 硫酸還元に関わる微生物の特定と定量

硫酸還元に関わる酵素(AprA)の遺伝子を対象としたクローニングにより主要な硫酸還元菌の系統的な位置を明らかにした。続いて特異的に設計したオリゴヌクレオチドプローブを用いて特定の微生物のみを高感度で可視化できる *in situ* ハイブリダイゼーション法(CARD-FISH)により特定の硫酸還元菌の計数を行った。

4. 研究成果

調査地の物理化学的特徴付けから、酸素のない湖底近くでは10.7 mMという高濃度の硫化水素が検出された(図2)。硫酸還元菌の活発な代謝により硫化水素が生成していると考えられた。

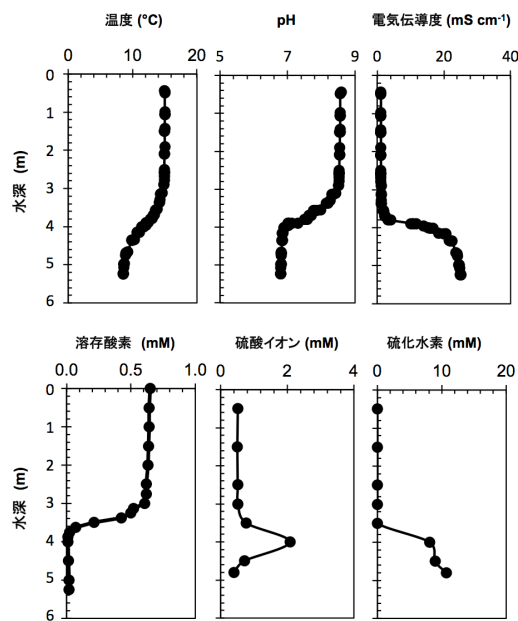


図2 春採湖の環境パラメータ

そこで硫酸還元菌に着目し、主要なもの系の系統的位置を特定し、その水中での分布様式を調べた。バクテリア全体を標的とした 16S rRNA 遺伝子のクローンライブラリからは硫酸還元菌の配列はほとんど得られなかった。硫酸還元に関わる酵素の遺伝子 (*aprA*) の解析から、*Desulfosarcina-Desulfococcus* (DSS) グループと呼ばれるこれまで海洋堆積物で多く見つけていた硫酸還元菌の一群が春採湖の深層湖水で主要な硫酸還元菌の一つであることが明らかになった。CARD-FISH 法を用いた定量では、DSS グループが嫌氣的な湖水深層でバクテリア全体の 3.2-4.8% を占めていることが明らかになった (図3、DSS658 プローブ使用)。加えて DSS グループ内での多様性を明らかにするため DSS グループ特異的なプライマーセットを用いた 16S rRNA 遺伝子のクローニング解析を行ったところ、SEEP SRB-1 という微生物の塩基配列が多く得られた。SEEP SRB-1 は嫌氣的メタン酸化反応の見られる環境や、メタンあるいは油が滲み出すような海底堆積物中から多く見つけている未培養の微生物群である。得られた SEEP SRB-1 (サブグループ d) の塩基配列をもとに新規 FISH 用オリゴヌク

レオチドプローブ (SEEP1d-468) を作成し定量を行ったところ、化学躍層より深い水深では前述の DSS グループのうち 43.5-79.0% を SEEP SRB-1d が占めていることが明らかになった (図3)。

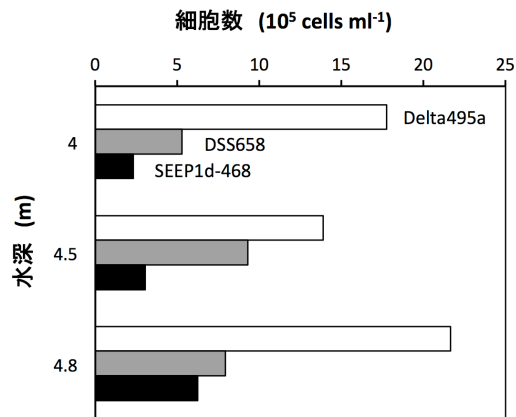


図3 湖水深層の特定の硫酸還元菌数

DSS グループの微生物は、様々な有機化合物を代謝に用いることができることが知られている。春採湖で検出されたこれらの硫酸還元菌もおそらく難分解性のものを含めて様々な有機物の代謝が可能だと考えられる。また常に嫌気環境が維持されるような環境を好むと予想される。

本研究では主に硫化水素の生成側に関与する微生物に関する知見が得られた。今後は湖沼内での硫黄循環を包括的に捉えるために、硫化水素や硫黄の酸化に関わる微生物に関してもより多くの知見が必要である。加えてそれぞれの微生物が環境中で実際にどの程度硫化水素の生成と消費に関与しているのかを培養実験等で明らかにしていく必要がある。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計1件)

K. Kubo, H. Kojima, M. Fukui. Vertical distribution of major sulfate-reducing bacteria in a eutrophic shallow meromictic lake. *Syst. Appl. Microbiol.* 印刷中。(査

読有)

[学会発表] (計1件)

K. Kubo, H. Kojima, M. Fukui. Microbial
community structure of a shallow
meromictic lake, Lake Harutori, Japan.
FEMS 5th Congress of European
Microbiologists. 2013年7月21-2013年7月25
日, Congress Center Leipzig, Leipzig,
Germany.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

久保 響子 (KUBO, Kyoko)

北海道大学・低温科学研究所・特任助教

研究者番号：40631180