

学位請求論文要約

嫌気性・従属栄養性微小鞭毛虫の生理・生態学的研究

岡村嵩彦

緒言

湖沼における微生物食物網とは、植物プランクトンなどが環境中に放出する溶存態有機物を利用して、従属栄養細菌が増殖し、これを原生生物が摂食し、さらに原生生物が動物プランクトンに捕食されることによって、従来の生食連鎖へとつながる経路である。微生物食物網において、微小鞭毛虫は主要な細菌摂食者として、その駆動に大きく寄与している。湖沼の底層にはしばしば嫌気的な環境が存在し、そこでの食物網を解明することは湖沼全体の物質循環過程を理解するために重要である。嫌気環境にも微小鞭毛虫が存在し、一部の嫌気性微小鞭毛虫は細菌摂食能を持つことが明らかとなっており、微小鞭毛虫は嫌気環境でも細菌摂食者として機能していると考えられるが、その詳細はわかっていない。本研究では、嫌気環境に生息する微小鞭毛虫の細菌摂食者としての役割を、環境中の分布と活性を調べる生態学的アプローチと、分離株を用いた生理学的アプローチから明らかにすることを目的とした。

方法

微小鞭毛虫の分布と細菌摂食活性を明らかにするため、水月湖をフィールドとして、2008年5月から2010年11月まで隔月でサンプリングを行った。安定した嫌気環境の水深10 m（嫌気層）、溶存酸素濃度が0となる水深より1 m深い水深（境界層）、比較対象として好気的な水深1 m（好気層）から試料を得た。微小鞭毛虫の現存量はプリムリン染色法で、細菌摂食速度は蛍光トレーサー法で測定した。微小鞭毛虫の生理を明らかにするために、微小鞭毛虫株を分離し、その同定を行った。まず、水月湖の嫌気的な水深7 mから採水を行い、微小鞭毛虫の集積培養を嫌気的に行った。ここからガラスキャピラリーを用いて微小鞭毛虫を単離し、LScTR-1株の分離培養に成功した。18S rRNA遺伝子に基づく分子系統解析と電子顕微鏡を用いた微細構造観察によって本株の同定を行った。LScTR-1株の生理学的性質を明らかにするために、細菌株との二者培養系を確立した。この二者培養系を用いて、LScTR-1株の増殖可能な水温と塩分の範囲を明らかとした。さらに、LScTR-1株の増殖速度と細菌摂食速度の速度論的解析を行った。

結果と考察

水月湖の嫌気層の微小鞭毛虫の現存量は年間を通じて他の水層より低かったが、境界層には好気層と同程度の微小鞭毛虫が存在した。境界層以深の1細胞あたりの細菌摂食速度は、好気層と同等であり、水月湖の嫌気環境に生息する微小鞭毛虫は潜在的に高い細菌摂食活性を持つことが明らかとなった。微小鞭毛虫の細菌摂食による細菌の回転率を算出したところ、嫌気層では一年を通じて最大でも $1\% \text{ day}^{-1}$ 程度であったが、境界層では好気層と同程度の最大で $10\% \text{ day}^{-1}$ と算出され、嫌気環境においても微小鞭毛虫が細菌の主要な消費者として機能していることが明らかとなった。

水月湖の境界層より通性嫌気性の LScTR-1 株を分離した。18S rRNA 遺伝子に基づく分子系統解析によって、LScTR-1 株は stramenopiles 生物群の Placididea 綱に属することが明らかとなった。既知の Placididea 綱の微小鞭毛虫の細胞構造と LScTR-1 株を比較すると、鞭毛装置を構成する微小管の本数、鞭毛根の形状、ミトコンドリアの個数、paranuclear body の有無、鞭毛移行帯の構造が異なった。これらの結果から本株は Placididea 綱の新属新種であると考えられる。

LScTR-1 株が増殖可能な水温と塩分は水月湖のそれらの変動の範囲内にあり、通性嫌気性であったことから、年間を通して本株は水月湖の全ての層で増殖できる能力を持つことが示唆された。増殖の速度論的解析から、LScTR-1 株は好気条件では、最大比増殖速度を高くして他者よりも優位に増殖する *r*-戦略をとり、嫌気条件では半飽和定数を低くすることによって競合に打ち勝つ *K*-戦略的な増殖戦略をとっていると推察された。また、細菌摂食の速度論的解析から、LScTR-1 株は水月湖に存在する他の微小鞭毛虫よりも高い細菌摂食活性を持つと考えられた。また、増殖と摂食の速度論的特性から本株の増殖効率を推定したところ、ミトコンドリアの電子伝達系を利用する嫌気呼吸を行っていることが示唆され、電子顕微鏡での観察結果と一致した。

総括

本研究によって、嫌気環境には潜在的に高い細菌摂食能を持った微小鞭毛虫が存在し、好気環境と同じように嫌気環境でも微小鞭毛虫は細菌摂食者として機能していることが明らかとなった。また、LScTR-1 株のような通性嫌気性で幅広い水温や塩分で増殖可能な微小鞭毛虫が水月湖水柱を鉛直移動することで、境界層以深の嫌気環境での細菌生産が好気層へと運ばれ、そこで動物プランクトンに摂食されることで好気層の食物網に組み込まれるという、これまでにない嫌気性微小鞭毛虫の生態学的役割が推察された。