

真核従属栄養生物ヤブレッツボカビ類の大阪湾における生態的影響力の解明

○上田 真由美¹⁾・秋山 諭²⁾・田中 咲絵¹⁾

¹⁾ (地独) 大阪府立環境農林水産総合研究所・技師

²⁾ (地独) 大阪府立環境農林水産総合研究所・研究員

1. 研究目的

瀬戸内海では、1973年に制定された瀬戸内海環境保全臨時措置法などによる総量規制で陸域からのCOD発生負荷量は削減されているにもかかわらず、大阪湾を除いてCODの漸増が見られ、大阪湾でもCODは横ばいのまま改善が進んでいない。その原因として難分解性有機物の蓄積が示唆されている。真核従属栄養生物であるヤブレッツボカビ類は、直径が5~20 μm の無色・球形の単細胞生物で、その生息域の広さ、現存量の大きさ、難分解性有機物であるセルロースの分解能力から、海洋生態系における分解者としての影響力の高さが注目されている。本研究では、大阪湾におけるヤブレッツボカビ類の分解者としての影響力を評価するため、ヤブレッツボカビ類の出現状況を明らかにするとともに、細胞密度の変化とPOC(懸濁態有機物)やDOC(溶存態有機物)といった様々な形態の有機物との関連性を検討することによってヤブレッツボカビ類の細胞密度の増減に影響を及ぼす環境要因を考察した。

2. 研究方法

2.1. 現地調査

2017年7月~2018年2月まで、地方独立行政法人大阪府立環境農林水産総合研究所で毎月初旬に実施している浅海点線調査に合わせて、大阪湾口から湾奥まで縦断する5地点(図1)で、月1回の頻度で継続的に表層水の採水を同研究所所有の調査船「おおさか」により行った。

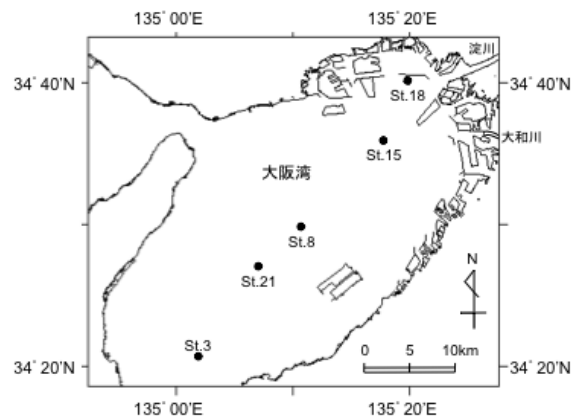


図1. 調査定点

2.2. ヤブレッツボカビ類の細胞密度の推定と構成系統群の把握

本研究では陸起源有機物および内部生産由来有機物とヤブレッツボカビ類との細胞密度の関係性に特に着目するため、淀川等の河川からの有機物や栄養塩の供給が大きく、生物生産の高い海域である大阪湾湾奥部(St. 18)と、河川水の影響を受けにくく、湾奥に比べ生物生産の低い海域である大阪湾湾口部(St. 3)の2地点の表層水を対象としてヤブレッツボカビ類の細胞密度を推定した。ヤブレッツボカビ類の細胞密度は、ヤブレッツボカビ類の松花粉への走性を利用しMPN法と松花粉釣り上げ法を組み合わせた松花粉MPN法を用いて推定した。さらに、ヤブレッツボカビ類のコロニーを分離し、18S rRNA遺伝子の塩基配列から分子系統解析により分離株の系統群の同定を行った。

2.3. 海域環境の測定

海域環境は St. 3, St. 21, St. 8, St. 15, St. 18 の 5 定点で毎月測定した。生海水と GF/F グラスファイバーフィルターでろ過したろ液については、水中溶存有機物 (CDOM) 蛍光測定装置 Aqualog にて三次元蛍光を、Sievers Innov 0xTOC にて TOC・DOC を測定した。三次元蛍光を測定して得られた多波長励起-蛍光マトリックスを用いた PARAFAC 解析によって、構成されている成分数を推定した。測定した TOC・DOC はその差分を POC とした。ろ紙は京大生態学研究センターの共同利用・共同研究事業の支援により、同センターが所有する元素分析計 (EA ConFlo IV) と質量分析計 (DELTA V Plus) を連結させたシステムにより $\delta^{13}\text{C}$ を分析した。その結果から、サンプルの POC 中に占める陸起源有機物の割合を推定した。さらに、生海水と GF/C グラスファイバーフィルターでろ過したろ液は、オートアナライザーにて TN・TP と栄養塩を測定した。ろ紙は蛍光法によってクロロフィル *a* とフェオ色素を測定した。

2.4. ヤブレッツボカビ類の細胞密度と海域環境データ等との統計解析

取得したヤブレッツボカビ類の細胞密度と海域環境データの統計解析を行うことで、ヤブレッツボカビ類の細胞密度と関係している環境要因を考察した。

3. 結果と考察

3.1. 大阪湾におけるヤブレッツボカビ類の細胞密度

St. 3 ではヤブレッツボカビ類は 8 月に最大細胞密度 474.7 cells/L、10 月に最小細胞密度 0 cells/L を示し、平均細胞密度は 141.2 cells/L であった。一方、St. 18 ではヤブレッツボカビ類は 7 月と 9 月に最大細胞密度 4,747 cells/L、12 月に最小細胞密度 40.11 cells/L を示し、平均細胞密度は 1,578 cells/L であった。この結果は、大阪湾の別地点での過去の調査と同等であり、細胞密度が夏頃に高くなる現象もほぼ同じであった。

3.2. 大阪湾におけるヤブレッツボカビ類の主要系統群とその栄養源

St. 3 では構成系統群は 7, 9, 12, 1 月に unidentified thraustochytrid 3b が出現し、9 月には *Oblongichytrium* sp. 1a が出現した (系統群名は Ueda et al. 2015 に沿った)。一方、St. 18 では 7, 9, 10 月に *Aplanochytrium* sp. が出現し、9 月に *Thraustochytrium* aff. *caudivorum*、12 月に *Oblongichytrium* sp. 3、1 月に unidentified thraustochytrid 3b が出現した。unidentified thraustochytrid 3b と *Aplanochytrium* sp. については Ueda et al. 2015 の調査で大阪湾での主要系統群であることが明らかとなっているが、今回の調査でもそれを再確認する結果となった。

今回新たに炭素安定同位体比 $\delta^{13}\text{C}$ から陸起源有機物の割合を求めたが、それと unidentified thraustochytrid 3b や *Aplanochytrium* sp. が出現していたときのヤブレッツボカビ類全体の細胞密度との相関は見られなかった。さらに、これら 2 系統群が本研究と過去の調査から、河口域からはほとんど出現せず、大阪湾の広い海域で主要系統群であることを合わせると、陸起源有機物ではなく内部生産由来の有機物を栄養源としている可能性が考えられた。これら 2 系統群が出現した時のヤブレッツボカビ類の細胞密度とフェオ色素は高い相関 (赤潮が観測された 2017 年 10 月の St. 18 のデータを除いた場

合) を示し、クロロフィル *a* とも比較的高い相関を示した (赤潮が観測された 2017 年 10 月の St. 18 のデータを除いた場合) (図 4, 5)。このことから、これら 2 系統群は陸起源有機物ではなく、死亡した植物プランクトンを分解して栄養源としている可能性が示唆された。

3.3 ヤブレッツボカビ類の細胞密度と海域環境データとの関連

ヤブレッツボカビ類の細胞密度と様々な海域環境データ (TOC・DOC・POC・陸起源有機物の割合・水温・塩分・クロロフィル *a*・PON・DIN・DON・PP・DPO・DIP・SiO₂-Si) との相関を取ったところ、ヤブレッツボカビ類の細胞密度と POC とは比較的高い相関が得られた (赤潮が観測された 2017 年 10 月の St. 18 のデータを除いた場合) (図 6)。さらに、三次元蛍光測定値の PARAFAC 解析によりサンプル中の蛍光性をもつ有機物質は少なくとも 3 成分から構成されていることが推測された。そのうち 1 成分は腐植物質であるフルボ酸・フミン酸様物質であることが推測されたが、ヤブレッツボカビ類の細胞密度との関連性は見られなかった。

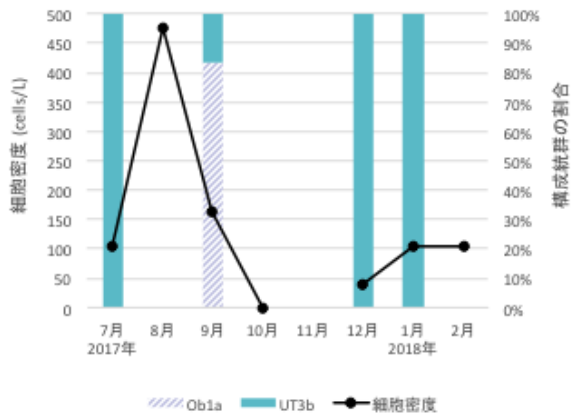


図 2. 大阪湾 St. 3 のヤブレッツボカビ類の細胞密度と構成系統群の変動

Ob1a : *Oblongichytrium* sp. 1a

UT3b : unidentified thraustochytrid 3b

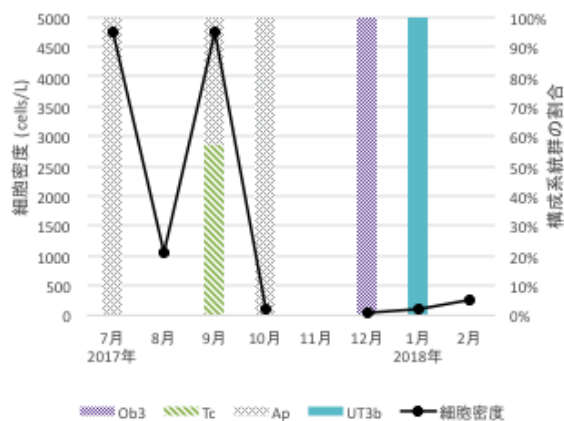


図 3. 大阪湾 St. 18 のヤブレッツボカビ類の細胞密度と構成系統群の変動

Ob3 : *Oblongichytrium* sp. 3

Tc : *Thraustochytrium* aff. *caudivorum*

Ap : *Aplanochytrium* sp.

UT3b : unidentified thraustochytrid 3b

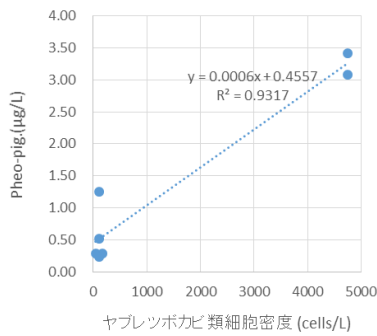


図 4. unidentified thraustochytrid 3b と *Aplanochytrium* sp. が出現した時のヤブレッツボカビ類の細胞密度と赤潮観測時の値を除いたフェオ色素との相関

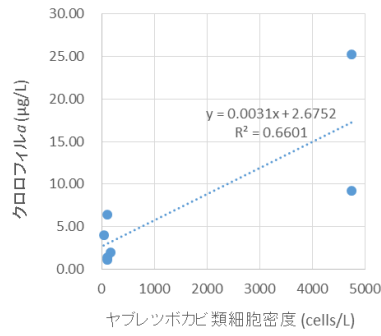


図 5. unidentified thraustochytrid 3b と *Aplanochytrium* sp. が出現した時のヤブレッツボカビ類の細胞密度と赤潮観測時の値を除いたクロロフィル a との相関

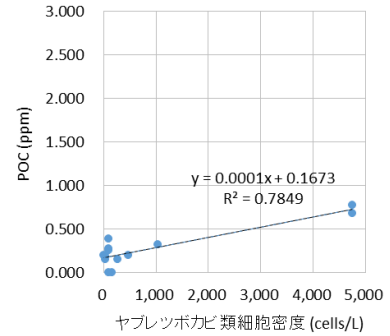


図 6. ヤブレッツボカビ類の細胞密度と赤潮観測時の値を除いた POC との相関

4. 結論

2017年7月～2018年2月まで、月1回の頻度で大阪湾の湾奥と湾口でヤブレッツボカビ類の細胞密度と構成系統群の調査および海域環境の測定を行った。その結果、

- 1) 湾奥では平均細胞密度約 1,500 cells/L、湾口では約 150 cells/L でヤブレッツボカビ類が生息しており、湾口よりも陸域からの負荷の影響を受けやすく生物生産の高い湾奥の方が 10 倍程度豊富に生息している事が明らかとなり、過去の調査結果と同等であることを確認した。
- 2) ヤブレッツボカビ類の系統群の一つである、unidentified thraustochytrid 3b と *Aplanochytrium* sp. は大阪湾における主要系統群であることが明らかとなり、過去の調査と同様の結果であった。本研究では新たに炭素安定同位体比 $\delta^{13}\text{C}$ から陸起源有機物の割合を求めたがそれと細胞密度との相関は見られなかった。一方で、細胞密度はクロロフィル a かつ、特にフェオ色素との相関が見られたことから、これら 2 系統群は陸起源有機物ではなく、内部生産由来の有機物、具体的には海域で増殖した後に死亡した植物プランクトンを栄養源としている可能性が示唆された。
- 3) 松花粉 MPN 法で推定したヤブレッツボカビ類全体の細胞密度と POC との相関が明らかとなった。

真核従属栄養生物であるヤブレッツボカビ類は生息域の広さ・現存量の多さ・難分解性有機物であるセルロースの分解能力から海洋生態系における分解者としての影響力の高さが期待されているが、本研究により大阪湾に生息するヤブレッツボカビ類の主要系統群は内部生産由来の懸濁態有機物を栄養源としている可能性が示唆された。今後、その物質を明らかにしていく必要がある。これを足がかりに海洋生態系の物質循環においてヤブレッツボカビ類が関わる有機物分解を解明することで、大阪湾圏域の環境改善に資するものと期待される。