

海洋細菌 *Paracoccus* sp.由来の溶存態有機物の定性評価

助川 太一 (筑波大学 生物学類)

指導教員：大森 裕子 (筑波大学 生命環境系)

【背景と目的】

海水中に溶けている有機物は溶存態有機物 (Dissolved Organic Matter: DOM) と呼ばれる。DOM は有機物のうち孔径 0.2 ~ 0.7 μm のフィルターを通過する画分として定義され、フィルターに保持される画分を粒子状有機物 (Particulate Organic Matter: POM) と呼ぶ。海洋 DOM の炭素量は 662 Pg C と推定されており (Hansell et al., 2009)、その炭素量は大気中の二酸化炭素量 770 Pg C、陸上植生 450 Pg C (IPCC, 2021) と匹敵するため、炭素循環における DOM の動態を理解することは重要である。

DOM を分解者は主に海洋細菌であり、細菌に対する分解性により DOM の挙動は大きく異なる。易分解な DOM は早いものでは数時間から数日で分解されてしまうが、分解に耐性をもつ難分解性 DOM (Recalcitrant DOM: RDOM) は数百年から数千年の間海洋中で安定して滞留する。DOM 全体の 90% 以上を占める RDOM は、多量の炭素の海洋に長期隔離する重要な役割を担う (Carlson and Hansell, 2015)。しかし、RDOM の生成および分解過程は未だ明確になっていない。

海洋細菌は DOM 分解者であると同時に、RDOM の生産者としても注目されている (Jiao et al., 2010)。海洋細菌が易分解 DOM を利用し、その代謝産物として RDOM が放出されると示唆されている。そのため、海洋細菌が放出する DOM の組成や分解性の解明は、RDOM の生成過程の解明につながると期待される。

近年、蛍光 DOM (Fluorescent DOM: FDOM) を指標とした培養実験において、細菌の種ごとに生成する DOM の組成や生成プロセスが異なることが示唆された (Goto et al., 2020)。また、グルコースと藻類浸出液といった基質の違いにより細菌群集が生成する DOM の構成成分が大きく異なることが示された (Koch et al., 2014)。

細菌種ごとの DOM 循環における役割の理解が必要である。しかし、単離株を用いた実験による DOM 生成を評価した研究はわずかである。また、先行研究で用いられる基質はグルコースといった単一の基質であり、実際の環境に存在する多様な有機物とは異なる。そこで本研究では細菌の単離株培養を行い、その DOM を定性的に評価することで細菌種の DOM 動態における役割を明らかにする。さらに、グルコースと植物プランクトン由来有機物を基質とした培養実験を行い、基質の違いにより細菌から放出される DOM を比較する。

【方法】

細菌種は下田沿岸海水から単離されたロドバクター科の *Paracoccus aquimaris* を使用した。1 L の Aquil 培地 (Morel et al., 1979) に植菌し、以下の 2 つの基質をそれぞれ添加し、暗所にて 20°C で培養した。

基質はグルコース (最終濃度 834 μM C) と珪藻 *Skeletonema marinoi-dohrnii complex* を用いた。*S. marinoi-dohrnii complex* は f2 培地 (Gulillard and Ryther, 1962) で培養後、1,500 rpm、5 分で遠心分離し Aquil 培地で洗浄した。

試料はガラスシリンジで分取を行い、DAPI により染色し、落射蛍光顕微鏡で細胞数を計測した。試料の一部を粒子保持径 0.3 μm のガラスフィルター (GF75, advantec) によりろ過し、ろ液を用いて溶存態有機炭素 (DOC) 濃度を全有機炭素計 (TOC-L, Shimadzu) で測定した。蛍光分光光度計 (F7500, Hitachi) で FDOM の励起蛍光マトリクスを測定し、FDOM の成分を分離するための PARAFAC 解析を行った。有色 DOM (CDOM) は紫外可視分光光度計 (1900i, Shimadzu) で吸光度を測定し、特定の波長間の傾きから分子量の変化を推測した。グルコースを基質とした実験ではグルコース濃度、*S. marinoi-dohrnii complex* を基質とした実験ではクロロフィル a 濃度と POC について測定を行った。

【結果と考察】

グルコースを添加した培養において、*P. aquimaris* の細胞数の増加が見られた。細胞数の変化から培養 12 h から 60 h を増殖期、60 h 以降を定常期と定義した。DOC 濃度が 24 h から 84 h で 679 から 473 μM C まで減少したことから増殖期に DOC が積極的に利用されたと示唆される。DOC 濃度は 300 h でグルコース濃度より 217 μM C 高かったことから、*P. aquimaris* 由来の DOM が水中に放出されたと考えられる。

FDOM は 3 つの要素に分けられた (図 1)。その中でトリプトファン様 FDOM は 24 h から 124 h に大きく増加したことから、易分解なタンパク質様 FDOM は活発な増殖に伴って生産されたと考えられる。難分解 DOM の指標となる腐植様 FDOM は 84 h から 460 h に比較的多く増加したことから、自身が出した DOM を分解することで生成されることが示唆された。CDOM の吸光スペクトルは特定の区間の傾きの比である SR 値が増加したことから、CDOM の分子量の低分子量化が起こったと考えられる。

珪藻を基質とした培養の結果については発表で報告する。

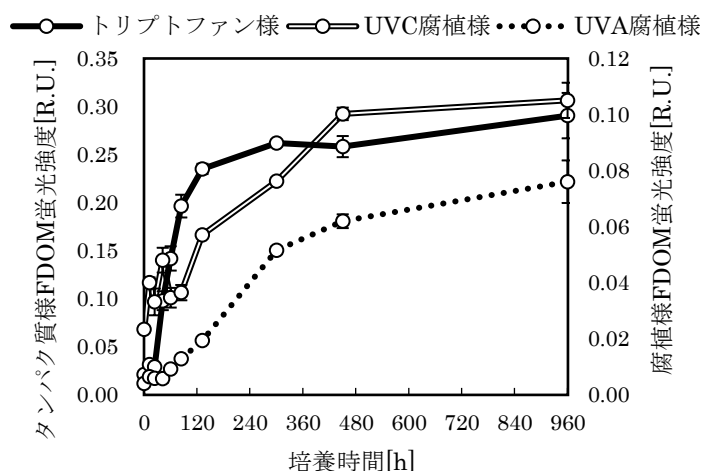


図 1 FDOM の変化 (エラーバーは標準誤差、n=3)