

様式 3

愛媛大学沿岸環境科学研究センター
共同利用・共同研究拠点「化学汚染・沿岸環境研究拠点」
共同研究報告書

平成 30 年 2 月 28 日

化学汚染・沿岸環境研究拠点 拠点長 殿

申請者（研究代表者）

所属機関 東海大学

職 教授

氏名 西川 淳

e-mail jun_nishikawa@tokai-u.jp

下記の共同研究について、別紙の通り報告します。

1 研究課題

ゼラチン質動物プランクトン遺骸の微生物分解に関する研究

2 研究組織

氏名	所属	職	分担研究課題
代表者 西川 淳	東海大学海洋学部	教授	
拠点対応教員 大林由美子	愛媛大学 CMES	助教	

3 研究内容（別紙）

愛媛大学沿岸環境科学研究センター

共同利用・共同研究拠点「化学汚染・沿岸環境研究拠点」

共同研究報告書

研究課題：ゼラチン質動物プランクトン遺骸の微生物分解に関する研究

西川 淳（東海大学海洋学部）

大林 由美子（愛媛大学沿岸環境科学研究センター）

【研究目的】

世界各地でゼラチン質動物プランクトンの大量発生が報告されている。大量発生後に生じるこれらゼラチン質プランクトンの遺骸は、海底に急速に沈降し、底生生物に sporadic なエネルギー源として利用されたり（例えば、Billett et al. 2006）、現場微生物によって分解・無機化されることにより再生栄養塩類の供給に重要な役割を果たしていると考えられるが（例えば、West et al. 2009）、微生物による分解過程や周辺水中の微生物群集に与える影響を詳細に調べた例は限られている。

我々は、平成 28 年度より LaMer 共同利用・共同研究として、ゼラチン質動物プランクトンの遺骸が海水中の微生物群集により分解される過程と水中の微生物群集に与える影響を知るための実験的な研究を開始した。平成 28 年度には、ミズクラゲ *Aurelia coerulea* およびウリクラゲ *Beroe cucumis* s.l. の遺骸の分解実験を行い、これらの遺骸は水中の微生物群集が即座に利用可能な有機物を供給して微生物群集を活性化すること、遺骸は微生物群集により活発に代謝され迅速に分解されることなどを示した。また、変性剤濃度勾配ゲル電気泳動法を用いた微生物叢解析から、ミズクラゲとウリクラゲでは分解に関与する微生物群集とその時間的変化が異なる可能性があることが示唆された。これらの結果をふまえ、本年度は、昨年度実施した分解実験のより詳細な解析を行うことと、さらに新たな試みとして、クラゲ類・クシクラゲ類とは系統発生的にも体組織組成も大きく異なるゼラチン質動物プランクトンであるサルパ類の遺骸の分

解実験も実施し、比較・解析することを目指した。

【研究内容】

I. 昨年度実施した分解実験の詳細な解析

昨年度実施したミズクラゲ(クラゲ類)とウリクラゲ(クシクラゲ類)の遺骸の分解実験における水中の微生物群集構造の変化を、次世代シーケンスによる群集構造解析により詳細に解析した。解析には、原海水、および、実験4日目、9日目、20日目の各系の試料水中からフィルター上に捕集した微生物群集のDNA試料を用い、16S rRNA 遺伝子のV3-V4領域を対象とした解析を実施した。

II. サルパ類とクシクラゲ類の遺骸の分解実験

天然微生物群集を含む海水にクシクラゲ類の遺骸、サルパ類の遺骸をそれぞれ加えた系を作製し、遺骸の分解実験を行った。実験に用いる海水は、2017年11月1日に調査船「いさな」により、愛媛県松山市沖の瀬戸内海で採取した。採取した海水の一部はそのまま実験に供し(天然海水)、一部はオートクレーブして海水由来の微生物を死滅させた滅菌海水として実験に用いた。分解実験に供するゼラチン質動物プランクトン遺骸として、海水と同地点で複数個体を採集したチョウクラゲ *Ocyropsis* sp. (クシクラゲ類) と事前に駿河湾で採集し凍結しておいたモモイロサルパ *Pegea confoederata* (サルパ類) 用いた(図1)。モモイロサルパは、一個体全体の遺骸(whole body)と、消化管を外して被囊だけにしたものの両方を用意した。この実験では以下に示す8種類(計11)の系を作製した。

- LbN1、LbN2：天然海水＋チョウクラゲ
- LbC1、LbC2：滅菌海水＋チョウクラゲ
- PeN：天然海水＋モモイロサルパ (whole body)
- PetN：天然海水＋モモイロサルパ被囊
- PeC：滅菌海水＋モモイロサルパ (whole body)
- PetC：滅菌海水＋モモイロサルパ被囊
- N1、N2：天然海水のみ

- ・ C : 滅菌海水のみ

各系とも、はじめの海水量を 1L とし、添加した遺骸の変化を目視で観察すると同時に、系内の水の一部を経時的に抜き取って、有機炭素量 (TOC)、原核微生物数、微生物群集構造の解析のための試料を採取した。

【研究成果】

I. ミズクラゲ遺骸・ウリクラゲ遺骸の分解における水中微生物群集の変化

いずれの遺骸も添加していない天然海水 (N1、N2) 中では、微生物群集は実験期間を通して多様性が高く原海水と似た群集構造であった。天然海水にミズクラゲ遺骸を添加した系 (AuN1、AuN2) およびウリクラゲ遺骸を添加した系 (BeN1、BeN2) の微生物群集の多様性は、N1・N2 に比べると低い、滅菌海水にそれぞれの遺骸を添加した系 (AuC1、AuC2、BeC1、BeC2) に比べるとはるかに高かった。また、AuN や BeN の系で優占した微生物群の中には AuC や BeC では見られない微生物群も多数含まれていた。すなわち、遺骸有機物により、遺骸に付随して持ち込まれた微生物だけでなく、海水由来の多様な細菌群が活性化されることが明らかになった。

実験 4 日目のミズクラゲ添加区 (AuN1、AuN2) では Gammaproteobacteria の *Vibrionaceae* 属と *Pseudoalteromonadaceae* が優占していた。ウリクラゲ添加区の 4 日目には、BeN1 では Bacteroidetes Flavobacteriia の *Tenacibaculum* 属、Gammaproteobacteria の *Pseudoalteromonadaceae* 属が、BeN2 では Alphaproteobacteria の *Rhodobacteraceae* 属、Bacteroidetes の *Saprospiraceae* 属が優占していた。ミズクラゲ添加区、ウリクラゲ添加区ともに、9 日目、20 日目の群集はそれぞれ 4 日目とは異なっており、いずれの添加区においても、優占微生物種の遷移がみられた。すなわち、これらの遺骸の添加は、遺骸有機物を直接利用する微生物群だけでなく、後発の微生物群集にも影響を与えることがわかった。

II. チョウクラゲ遺骸とモモイロサルパ遺骸の分解実験

チョウクラゲの遺骸は、天然海水に添加した場合（LbN1、LbN2）も滅菌海水に添加した場合（LbC1、LbC2）も、添加後 1 日目には原形が確認できなくなった。その後、数日のうちに LbN では破片も含めてほぼ完全に目視では確認できなくなったが、LbC1 では水中に有機物と思われる「もや状」の部分が見られた。

一方、モモイロサルパの遺骸は、PeN、PetN、PeC、PetC のいずれにおいても、1 日目にはまだ原形を留めていた。天然海水に添加した系（PeN、PetN）では、2 日目になると被囊部分の形が崩れ、その後、被囊部分は次第に小さくなり、19 日目に被囊はほとんど確認できなくなった。この時、PeN では消化管のみ残っていた。滅菌海水に添加した系（PeC、PetC）では 19 日目でもいずれも原形が残っていた。PeC では 26 日目にはかなり形が崩れてきたが、被囊のみを滅菌海水に添加した PetC では 26 日目でも被囊の形が残っていた。

上記の実験での観察と昨年度の実験結果を併せて考えると、ゼラチン質動物プランクトンのなかで、体組織にセルロースを含む被囊動物であるサルパ類の遺骸は、クラゲ類（ミズクラゲ）やクシクラゲ類（ウリクラゲ、チョウクラゲ）に比べて明らかに分解に時間がかかることがわかった。今後、今回の実験期間中に採取した各系内の試料について、水中有機炭素濃度および原核微生物数の定量的解析と、微生物群集構造の解析を行う。

【成果発表】

1. Yumiko Obayashi, Kana Imanaka, Jun Nishikawa : Microbial degradation of carcass of gelatinous zooplankton, moon jellyfish (*Aurelia coerulea*) and comb jelly (*Beroe cucumis* s.l.), 7th Joint Forum of Environmental Sciences 2017, Matsuyama, 2017 年 9 月 7 日, 要旨集 p.16
2. 大林由美子・今中加奈・西川 淳 : 海水中の微生物群集によるミズクラゲ遺骸とウリクラゲ遺骸の分解, 日本海洋学会 2017 年度秋季大会, 仙台, 2017 年 10 月 16 日, 要旨集 p.242

【今後の課題】

これまでに行ったミズクラゲ(クラゲ類)、ウリクラゲ(クシクラゲ類)、チョウクラゲ(クシクラゲ類)、モモイロサルパ(サルパ類)の各遺骸の分解実験の結果をまとめ、遺骸が水中の微生物群集に与える影響、分解に寄与する微生物群、遺骸有機物の分解・分子変換機序、有機物分子変換速度や栄養塩再生効率などについて、比較考察する。ゼラチン質動物プランクトン全体に共通する事項とそれぞれのプランクトンに特徴的な事項を整理し、水圏生態系におけるゼラチン質動物プランクトン遺骸の位置づけや物質循環における役割についても考察していきたい。

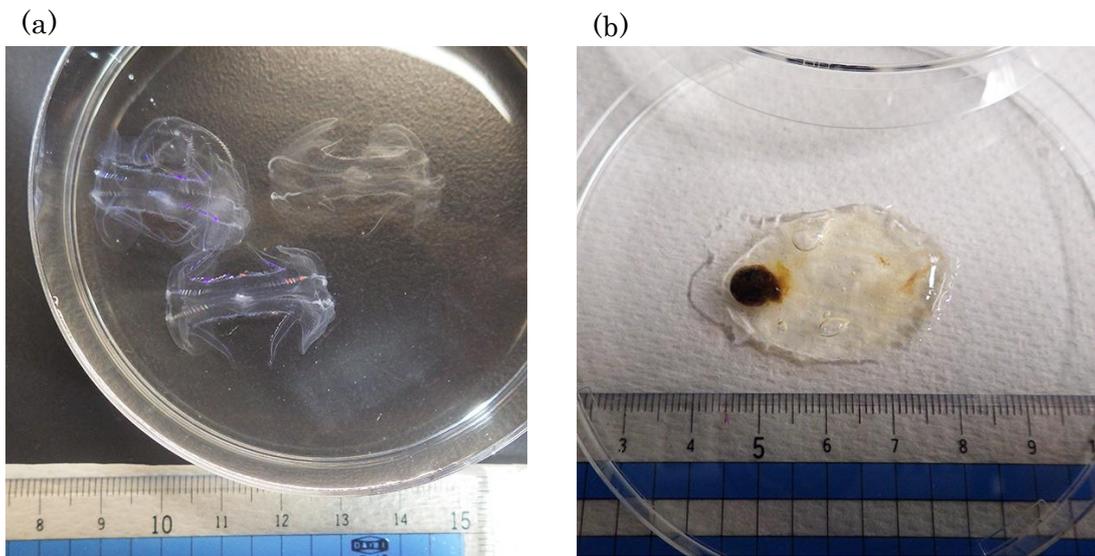


図 1. 分解実験に用いた (a) チョウクラゲ *Ocyropsis* sp.と (b) モモイロサルパ *Pegea confoederata*