

## 平成 26 年度 研究経過報告書

### 研究者名

谷口 亮人

### 研究課題名

細菌群集の種組成の変化は生態系機能にどのような変化をもたらすか？

### 研究目的・内容

本研究では、種組成を考慮した細菌多様性と生態系機能の関係について放射性トレーサー技術を用いて、定量的に明らかにすることを目的とした。具体的には、同じ種数であっても種組成が異なった場合に、生態系機能がどの程度変化するのかを明らかにした。本研究では有機物の分解活性である「無機化活性」を生態系機能として扱った。細菌の無機化活性は、植物の光合成に必要な栄養塩の再生や、我々人類の視点から見ると、環境浄化に直接的に関与する生態系機能である。

### 研究の経過

本学水産研究所白浜実験場の田辺湾養殖場に隣接する干潟で採取した海水、間隙水ならびに堆積物試料から、本実験に使用した細菌株を単離した。細菌分離用の培地には、海洋細菌分離に汎用される 1/2 ZoBell 寒天培地を用いた。海水試料から 72 株、間隙水試料から 33 株ならびに堆積物試料から 63 株の合計 168 株を単離することができた。このうち 55 株のシーケンス解析を行ったところ、Alphaproteobacteria 綱 3 株、Gammaproteobacteria 綱 32 株、Bacteroidetes 綱 15 株および Firmicutes 綱 5 株に近縁であった。

細菌単離株の系統分類学的な違いから 17 株（Alphaproteobacteria 2 株、Gammaproteobacteria 5 株、Bacteroidetes 8 株、Firmicutes 2 株）を選抜し、種組成を考慮した多様性と無機化活性との関係を調べた。細菌単離株 17 株をそれぞれ独立の試験管において培養し、無機化活性の測定直前に、細菌株 1 種類、5 種類、10 種類ならびに 17 種類となるように混合した。無機化活性の基質としては 14C グルコースを用いた。混合直後 (Day 0) から Day 42 まで 1 週間おきにグルコースの無機化活性を 24 時間測定し、多様性がグルコースの無機化活性とその活性の維持にどのように関係するのかを調べた。

細菌株 5 種類を混合培養したときの無機化活性は 0.27-5.39 nM であり、単一種のみのときよりも 0.7-2.1 倍となっていた。細菌株 10 種類を混合培養したときには 0.79-4.00 nM であり、単一種のみのときよりも 0.6-3.2 倍となっていた。同じ種数であっても、種組成が異なるとグルコースの無機化活性も変化していた。興味深いことに、混合したときの方が無機化活性が低くなっている組み合わせもあった。実験期間を通して、単離株 1 種、ならびに 5 種、10 種および 17 種混合におけるグルコースの平均無機化活性は、それぞれ  $20.7 \pm 46.1$  nM、 $114.1 \pm 71.7$  nM、 $149.6 \pm 75.2$  nM および  $209.6 \pm 112.4$  nM であった。これらの細菌種数とグルコースの無機化活性には、正の相関がみられた ( $r=0.71$ )。培養を始めてからの日数が経過しても、種数が多いほど高い無機化活性が確認できた。本研究の結果は、多様性が高いほど無機化活性が高くなり、かつその持続性も高くなることを示している。一

方で、種数が同じでも種組成が異なると、その持続性も変化していた。

本研究の結果は、基本的には「種数が多いほど生態系機能も高くなる」というこれまでの多様性研究における知見と一致した結果であった。しかしながら、同じ種数であっても種組成が異なるとその生態系機能が異なってくるという新規な知見も得た。多様性と生態系機能の研究においては、従来の研究でなされていたような単純に種数のみを考慮した多様性だけでは不十分であり、種組成という概念を考慮する必要性を示唆する。

#### **本研究と関連した今後の研究計画**

本研究における最大の多様性は細菌単離株 17 株であった。本研究で得られた知見の普遍性を確認するために、組み合わせ種数をより増やして実験を行っていく。種数が多くなるほど生態系機能が高くなるということは、細菌株間の協働作用が考えられる。この協働作用の程度が、同科あるいは同属レベルでの多様性において、どの程度変化するののかも明らかにする。本研究では、培養 42 日間における無機化活性を調べた。しかしながら、培養開始時に接種した細菌株が、培養 42 日間後にも生残し、あるいは増殖しているのかどうかについては調べられていない。そこで、本実験系と同様の系において、多様性解析手法の一種であるリボソーム遺伝子間スペーサー自動解析 (ARISA) および DNA トレーサー法であるブロモデオキシウリジン (BrdU) 法を用いて、接種した細菌種の培養期間中における増殖活性についても調べる。

(平成 27 年 3 月 31 日現在)