

海洋細菌は揮発性有機化合物の生産者となりうるか

窪田 耀 (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】

大気中には多種の揮発性有機化合物 (Volatile Organic Compounds; VOC) が、微量ながらも普遍的に分布している。アセトンやエタノールなどの含酸素 VOC は対流圏オゾンの生成に寄与し、ジメチルスルフィドといった含硫黄 VOC は雲凝結核の前駆体として雲の生成を促進することが知られている (Charlson et al., 1987)。このように、VOC は大気化学および地球の気候システムに重要な役割を果たす成分である。

海洋は、大気への VOC の放出源および吸収源としての役割を担っている。海洋表層における VOC の主な生成プロセスに、微生物の代謝産物として VOC が生成される生物学的プロセスと、溶存態有機物 (Dissolved Organic Matter; DOM) が紫外線を含む太陽光によって光化学的な分解を受けることで VOC が生成される光化学のプロセスの2つが知られている。海洋表層における VOC の生成および分解プロセスは、化合物ごとに異なるメカニズムで制御されていることが明らかになっている (Carpenter and Nightingale, 2015)。多様な VOC の生成および分解プロセスにおいて、海洋表層に分布する海洋細菌が VOC の分解者として働くことはよく知られている (Moore et al., 2020) が、一方で海洋細菌による VOC 生成に着目した研究は非常に限られている。しかし、細菌は VOC 生成を行う代謝経路をもつため VOC 生産者としての側面が存在することが予想され、さらに有する代謝経路の多様性から、その生成能は細菌種によって異なると考えられる。そこで、本研究では海洋の細菌種が放出する VOC が海洋大気に与える影響を議論するための基礎データを提供することを目的とし、海洋細菌 *Paracoccus aquimaris* に着目して生成する VOC の定性および定量評価を行った。細菌種単離株の培養実験では、単純な基質であるグルコースを与える画分と、実際の環境で細菌が利用できるものに近い基質として植物プランクトンを与える画分を設け、それぞれの条件下で生成された VOC の種類および生成量を把握した。

【方法】

1. グルコースを基質とした培養実験

静岡県下田市鍋田湾の自然海水 (2022 年 5 月 10 日採水) から単離されたロドバクター科の海洋細菌 *Paracoccus aquimaris* を、寒天培地 (BD Difco Marine Agar) に植菌して培養を行い、十分に増殖した時点で Aquil 培地に植菌して前液体培養を行った。この培養液を 1 L の Aquil 培地を入れた 6 本の培養瓶に 9 mL ずつ添加し、うち 3 本には最終濃度 834 $\mu\text{mol C/L}$ となるようにグルコース溶液を加え、人工気象器を用いて 20 $^{\circ}\text{C}$ の暗所で培養を行った。培養開始から 0、12、24、42、60、84、132 時間後に、VOC 濃度の測定および試料分取を行った。また、Aquil 培地のみの VOC 測定も同時に行い、コントロール画分とした。

2. 珪藻由来有機物を基質とした培養実験

国立環境研究所から入手した珪藻 *Skeletonema marinoi*-*dohrmii* complex を f/2 培地 (Guillard and Ryther, 1962) を用いて 20 $^{\circ}\text{C}$ 、光強度 15-20 $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$ 、明暗周期 10L:14D で培養した。培養液を 1500 rpm で 5 分間遠心し、ペレットを回収したのち Aquil 培地で洗浄したものを有機物液として用意した。1. と同様に 1 L の Aquil 培地を入れた 6 本の培養瓶に有機物液を 28 mL ずつ加え、うち 3 本に *P. aquimaris* の前液体培養液を添加し、人工気象器を用いて 20 $^{\circ}\text{C}$ の暗所で培養を行った。培養開始から 0、1、2、3、6、10、16 日後に、VOC 濃度の測定および試料分取を行った。

3. 分析

培養試料水中の VOC 濃度は、プロトン移動反応質量分析計 (PTR-ToF-MS, Ionicon) を用いて測定した。純空気を培養試料に通気して、パージした VOC を含むガス試料を PTR-ToF-MS に直接導入し、分子量 21 から 160 までの VOC を検出した。分取した試料を用いて、細胞数、グルコース濃度およびクロロフィル a 濃度の測定を行った。

【結果と考察】

グルコースを基質とした実験では、アセトン、アセトアルデヒド濃度はグルコースの添加・非添加にかかわらず数十 nm まで増加し、細菌による生成が確認できた。ただし生成量は両画分で同程度であり、グルコース添加画分では炭素およびグルコース濃度の減少と細胞数の増加が確認できたため、生成量は細胞数や消費した炭素量によらなかった。この要因として、VOC 代謝経路の始点の一部が、今回の培地に含まれないアミノ酸やビタミンの代謝による生成物であったため、それらによって VOC 生産が制限を受け、初めに添加した培養液 9 mL ぶんの細胞内物質を利用して VOC を生成したことが考えられる。また、珪藻由来有機物を基質とした培養実験および VOC の測定、その他の測定項目についての結果に関しては、卒業研究発表会にてその詳細を報告する。

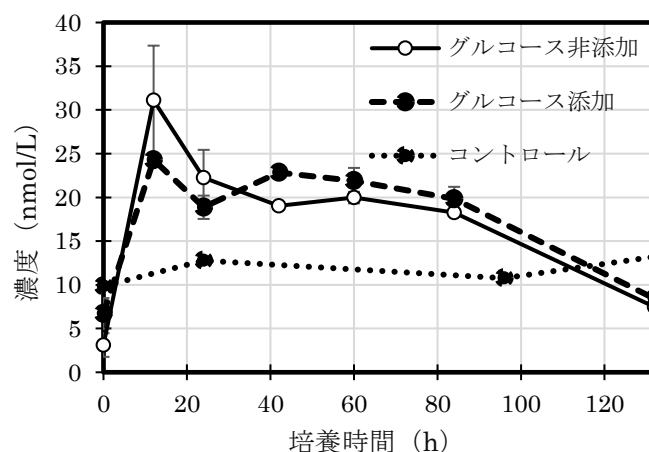


図1. アセトンの濃度変化

エラーバーは標準誤差を示す (n=3)