P/R 比および生物相に着目した各種マイクロコズムの生態系機能特性

千葉工業大学生命環境科学科　学員　○林 秀明
千葉工業大学生命環境科学科　正員　　村上和仁

１．はじめに

従来より、モデル微生物生態系であるマイクロコズムを用いてマイクロコズムを構成する微生物の個体数動態から生態系影響評価が行われてきた。しかし、マイクロコズム構成生物の個体数からの評価・解析だけではシステム全体の生態系機能に着目した影響を評価するためには不十分である。そのため P/R 比（光合成による生産/呼吸量の比）のような生態系機能に基づいた規格による評価が必要となる。

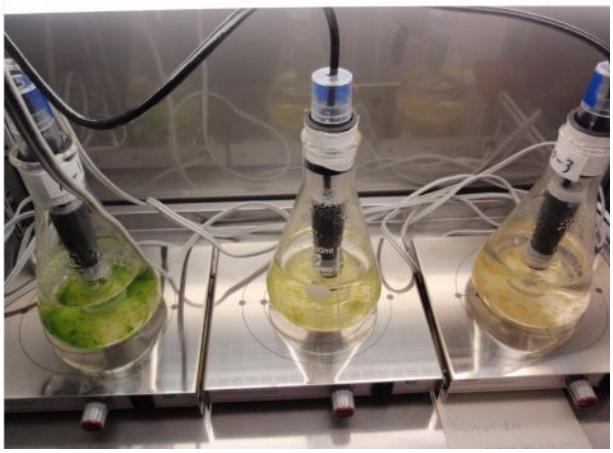

図１．マイクロコズム

P/R 比は安定した自然生態系においては 1 であることが知られており、その有効性は 1970 年代から Odum により提唱されているように、測定が容易、システム全体の変化で生態系評価が可能、単一生物や人間を含む生態系の基本となっているためあらゆる系に適応可能な点等が挙げられる。フラスコマイクロコズムでの P/R 比に及ぼす影響を把握することで、外来種や有毒物質等の外部負荷が自然生態系にどのような影響を及ぼすかが生態系機能の側面からも予測可能となる。

本研究ではフラスコサイズの Gnotobiotic 型マイクロコズムの生物相と P/R 比を測定し、既往の研究結果である Naturally derived 型マイクロコズム、Stress selected 型マイクロコズムにおける生物相と P/R 比の測定結果から、マイクロコズムの生態系機能の比較評価および生態学影響評価の有効性の解析を行った。

２．方法

２．１　培養方法

本研究では、Gnotobiotic 型マイクロコズムとして N type（栗原タイプ）マイクロコズムを用いた。Gnotobiotic 型は完全種構成既知かつ個体数計測可能であり、同様の条件下で培養を繰り返す限り再現性に優れた安定系を維持できる特性を持ち、繰り返し実験に適している。

マイクロコズムの培養は、ポリペプトン濃度を 100mg/l となるように調製した TP 培地（Taub＋polypepton）200ml を 300ml 容三角フラスコに入れ、種として安定期にある N type マイクロコズムを 5ml 接種した後、25℃、2,500lux（明 12hr.、暗 12hr.）、静置条件で 30 日間行った。

２．２　生物相観察

培養開始後、0、5、10、15、20、25、30 日目にマイクロコズム構成微生物の個体数および生物相を、プランクトン計数板を用いて光学顕微鏡にて計測した。

２．３　P/R 比測定

マイクロコズム内の DO 変化を DO センサーにより経時的に連続測定し、P（生産量）、R（呼吸量）および P/R 比の推移を算出した。算出方法は各電圧を DO に換算し、夜間の酸素減少量(A/2)から、1 日の呼吸量 R を求め、日中の酸素増加量 B と酸素減少量(A/2)から 1 日の生産量 P を求めた。

その後得られた P、R より P/R 比を算出した。

キーワード：マイクロコズム　生態機能　P/R 比　生態的影響評価　外部負荷　再現性・安定性
〒275-8588　千葉県習志野市津田沼 2-17-1(千葉工業大学生命環境科学科) TEL：047-478-0455　FAX：047-478-0474

３．結果および考察

3.1 構造パラメーター(生物相)による比較

表１．各種マイクロコズムの比較評価結果

	種の多様性	再現性	安定性
Naturally derived型	◎	×	×
Stress selected型	○	△	△
Gnotobiotic型	○	◎	◎

Naturally derived 型マイクロコズムは TP 培地を使用しないため、実際の手賀沼環境水に最も影響を受ける結果となった。

培養開始時環境水中には複数種の珪藻類が多くみられたが、最終的には緑藻類の *Chlorella* sp.が最も多く観察された。このマイクロコズムでは培養開始時から生産者、捕食者、分解者が出現し、生態系が安定しつつある状態であったが、ある一定の種を除く多くの種は個体を継続的に確認できない場合があり、種の入れ替わりによる系の不安定さが示された。

Stress selected 型マイクロコズムでは実験開始後、分解者であるバクテリアが増殖し、生産者の藻類、その後捕食者としてアメーバの増殖が順に確認されたが、ワムシは確認されなかった。培養開始時に 15 属 18 種のプランクトンが観察されたが 14 日目にはプランクトンは選定され、代表的な種として *Desmodesmus quadricauda*、*Chlorella* sp.が 100%のフラスコで、*Nitzschia* sp.が 80%のフラスコで、*Monoraphidium contortum*、*Cyclotella stelligera*、が 60%のフラスコ内で観察された。30 日目には、*Monoraphidium contortum*、 *Desmodesmus quadricauda*、*Scenedesmus* sp.、*Chlorella* sp.、が 100%のフラスコで生存、*Nitzschia* sp. が 80%のフラスコで確認された。これらの 5 種は Stress selected 型マイクロコズムの生態系において競争に強い種であることが示された。

Gnotobiotic 型である N type マイクロコズムは 3 種の微細藻類(*Chlorella* sp.、*Scenedesmus* sp. 、*Tolypothrix* sp.)、4 種の微小動物(*Cyclidium glaucoma*、*Lepadella* sp.、*Philodina* sp.、*Aeolosoma hemprichi*)、4 種の細菌類(*Bacillus cereus*、*Pseudomonas putida* 、*Acinetobacter* sp.、 *Coryneform bacteria*)から構成され、14 日目以降個体数は安定し、一定の個体数を維持して共存し、高い安定性と再現性が示された。

3.2 機能パラメーター(P/R 比)による比較

生態機能面である P/R 比の経日変化に着目すると、Naturally derived 型マイクロコズムは早い段階で P/R 比＝1 となり安定系に近い結果となったことから生産と呼吸のリズムができていることが確認された。

Stress selected 型マイクロコズムにおいては Naturally derived 型マイクロコズムよりもフラスコ内の P/R 比が安定となるのに時間が必要であることが示された。また、フラスコごとに呼吸量に大きな差があることが確認された。

Gnotobiotic 型マイクロコズムの P/R 比は、自然生態系と同様に 1 に収束後、安定して推移した。また Stress selected 型と異なりフラスコごとの呼吸量に大きな差がみられず、再現性の高さを裏付ける結果となった。

４．まとめ

生物相と P/R 比の評価結果からそれぞれのマイクロコズムは P/R 比は安定系の 1 に収束するが、Gnotobiotic 型の N type マイクロコズムは、Stress selected 型マイクロコズム、Naturally derived 型マイクロコズムよりも生産者、捕食者、分解者が安定的に確認でき、各フラスコ間で生物相と呼吸量がともに一致する高い安定性と再現性が示された。

追　記：本研究は、環境省平成 21～23 年度環境研究総合推進費課題「(S2-09) マイクロコズムを用いた生態系リスク影響評価システム手法の開発」の一環として実施された。

参考文献：1)村上和仁（1994）　微生物農薬の水圏生態系における挙動解析に関する研究、平成 6 年度　東邦大学　博士学位論文　2)栗原康　共生の生態学(1998)　3)栗原康　有限の生態学(1985)