

BAO001-P07

会場:コンベンションホール

時間:5月23日 14:00-16:30

南極マリモの構造とその周辺土壌の化学的特徴 Chemical signature of Antarctic Marimo and Antractic soils

町田 恭祐^{1*}, 中本早紀¹, 佐藤修司¹, 原昌史¹, 金子竹男¹, 大林由美子¹, 三田肇², 小川麻里³, 吉村義隆⁴, 小林憲正¹
kyousuke machida^{1*}, Saki Nakamoto¹, Syuuji Sato¹, Masahi Hara¹, Takeo Kaneko¹, Yumiko Oobayashi¹, Hajime Mita², Mari Ogawa³, Yoshitaka Yoshimura⁴, Kensei Kobayashi¹

¹ 横浜国大, ² 福岡工業大学, ³ 安田女子大学, ⁴ 玉川大学

¹Yokohama National University, ²Fukuoka Institute of Technology Junior C, ³Yasuda Women's University, ⁴Tamagawa University

【緒言・目的】

第49次日本南極地域観測隊により採取された南極昭和基地周辺の氷、水、土壌、微生物試料を化学的、生物学的な様々な分析手法を用いて調査している。南極昭和基地周辺の露岩地帯には、大小様々の湖沼があり、それらの池の底には、藍藻、緑藻、珪藻、そしてコケといった小さな植物が生息しており、これまでに昭和基地周辺の湖沼や土壌、コケ群落などから約300種の藻類が報告されている。また、スカーレン大池では、毎年のように藍藻や緑藻、珪藻などから成る藻類のような扁平の集合体（南極マリモ）が水面近くに多数浮遊する様子が観察され、それらはやがて湖岸に打ち上げられる。これまでの研究で、南極マリモの表面の褐色の部分と中心の緑色の部分ではクロロフィル関連の色素の量が異なることや、異なる種類の微生物がすみ分けていることがわかっている（Ogawa et al., 2009）。また大きいものは（10cm程度）中心に空洞にガスが生じて水面近くを浮遊するようになること、内部と表面では酸化還元電位やpHが異なることが明らかになっている。（Hashida et al., 2008; Ogawa et al., 2009）。今回の実験では、南極マリモの表面の褐色の部分と中心の緑色の部分をアミノ酸分析、アルカリホスファターゼ活性測定、蛍光顕微鏡観察を通して特徴を調べ、マリモの生物活性を調べた。さらには、マリモ生息のスカーレン大池の土壌中や他の昭和基地周辺土壌のアミノ酸、酵素活性を比較することで、マリモと土壌の化学的な関連について考察した。

【実験】

試料：南極土壌は、2005~6の南極第47次観測隊において昭和基地周辺で採取された表面土壌（Sta.1?8）と2007~8年の49次隊によって採取された表面および表面から10cm深さの土壌（Sta.4?6）、スカーレン大池周辺の表面土壌および表面から10cm深さの土壌を使用した。南極マリモは表面の褐色の部分と中心の緑色の部分を取り、分析に供した。

アミノ酸分析：土壌試料0.1gをテフロン容器に入れ、5M HF-0.1M HClを5mL加えて密閉し、110℃で24h加熱分解した。これを加熱乾固した後Milli-Q水6mLで溶解し別の試験管に移し遠心乾燥した。土壌分解試料およびマリモ試料（約1mg）に6M HCl 1mLを加え、110℃で24h酸加水分解した。AG-50W-X8で脱塩・分画し、陽イオン交換HPLCでアミノ酸を測定した。

酵素活性測定法：ナス型フラスコに土壌試料2.00gを入れ、Tris-HCl緩衝液（pH 9.0）17.5mLを加え、Universal Shaker（Iwaki SHK-3）により、室温、180rpmで1時間攪拌した後、メンブランフィルター（Advantec PTFE製、孔径0.20μm）で濾過して抽出液とた。この土壌抽出液400mLに基質（0.5mM 4-メチルウンベリフェリルリン酸（MUP; pH 8.0））4mLを加え37℃で反応させ、5分ごとに蛍光強度を測定して活性（4-MU生成速度）を求めた。

蛍光顕微鏡観察：マリモの切片（1cm×1cm×1cm）にSYBR-Green（原液）をマイクロチューブに入れ、PBS緩衝溶液（pH7.0）で2500倍希釈したもの（1/2500 SYBR-Green）を滴下し、染色を行った。1時間後、別のマイクロチューブに移しPBS緩衝溶液で2~3回程度洗いこみをした後、チャンバードグラスに入れて明視野、蛍光視野で顕微鏡観察を行った（励起波長498nm、蛍光波長long pass）。また、蛍光色素を用いずに、自己蛍光の測定も行った。

【結果、考察】

南極マリモの表面の褐色の部分と中心の緑色の部分アミノ酸組成に大きな違いは見られなかった。今後はアミノ酸のD/L比を測定することで生物活動の活発さを数値化し、マリモの表面部分と中心部分における違いを検討していく予定である。

南極マリモの表面の褐色の部分と中心の緑色の部分に緑色の励起光を照射したところ、褐色の部分側に赤いクロロフィル蛍光が多く観察された。以前の結果と今回の結果より、南極マリモでは中心で、より多くの光合成が行われているということが確実となった。

今回SYBR-Greenによる細菌染色を顕微鏡画像イメージ化することができなかった原因として、画像処理の問題があげられる。染色法の検討とともに、感度の高い画像処理技術の開発を行う必要がある。また、生物試料を染色する際、SYBR-Greenが細胞の表面などに付着し蛍光してしまったため、細菌以外のバックグラウンド蛍光を消光する手法の開

発が必要である。さらに、1種類の蛍光色素だけで細菌と特定するのは困難であったため、今後は、波長の違う蛍光色素を用いた多重染色使用の検討も行っていく。

土壌中のアミノ酸濃度とホスファターゼ活性は正の相関が見られ、周辺の生物活動を反映していると考えられる。今後、スカーレン大池土壌の有機組成に対する南極マリモの影響を調べていく予定である。

キーワード: 南極, 南極マリモ, 土壌, 顕微蛍光法, アミノ酸

Keywords: Antarctic, Antarctic Marimo, soil, microscopic fluorometry, amino acid