

特集 : Crossover of Protistology ~原生生物をとりまく多様な世界~

---

Review

---

## 湖沼・海洋沖帯の微生物ループにおける原生生物の生態学的役割

中野 伸一

京都大学生態学研究センター 〒520-2113 大津市平野 2-509-3

### **Ecological roles of protists in the microbial loop of planktonic food webs in marine and freshwater systems**

**Shin-ichi NAKANO**

*Center for Ecological Research, Kyoto University, Otsu, Shiga 520-2113, Japan*

#### **SUMMARY**

The aquatic food linkage between heterotrophic bacteria and protists is so-called “microbial loop”, functioning as important matter cycling in pelagic food webs of marine and freshwater systems. Organic matter transfer from heterotrophic bacteria to protists has been intensively studied by numerous researchers all over the world. The ecological roles of planktonic protists, such as heterotrophic nanoflagellates and ciliates, in microbial loop are to consume bacteria that are too small to serve directly as major prey items for most zooplankters, and to be consumed by the zooplankton. There is the consensus that food linkages between bacteria and protists are substantial in many lakes and oceans. The present review provides the overview on the trend and future stage of microbial loop research. A review on unique microbial loop developed in the hypolimnion of Lake Biwa is also provided.

Key words: Bacteria, Protists, Microbial loop, Microbial food web, Nanoflagellates, Ciliates

---

Tel: +81-77-549-8239

E-mail: nakano@ecology.kyoto-u.ac.jp

Received: 16 March 2015; Accepted: 30 June 2015.

## はじめに

1970年代の終わり頃、DNAに結合し蛍光を発する色素を用いて細菌を染め、蛍光を発している細菌を数える方法が開発された (Hobbie et al., 1977; Porter and Feig, 1980). このことにより、我々はようやく自然界の細菌の正確な数を知ることができるようになった. この方法によってさまざまな生態系の細菌数を調べた結果、それまで寒天培地を使って調べていた細菌数は、真の細菌数の1%にも満たないことが明らかとなった. この結果は、当時の微生物学者だけでなく、地球の物質循環を研究している他分野の科学者にも大きな衝撃を与えることとなった. つまり、それまで皆が考えていた細菌の数(量)は実際の1%にも満たない値であり、細菌はより豊富に生息しているのである. このことは、それまで考えられていた地球上の食物連鎖を介する物質循環について、全て考え直さなければならないことを意味していた. 現在では、世界のさまざまな湖沼のデータを総合すると、細菌は1ミリリットルの湖水中当たり10万細胞から10億細胞も生息していることが知られており (Berninger et al., 1991), 例えば琵琶湖では1ミリリットル当たり100万細胞から1,000万細胞の細菌が生息している. すなわち、細菌は、それを摂食する生物にとっては豊富な餌資源なのかもしれない.

1980年代に入り、微生物が主役の食物連鎖が新たに提案された. これは、「微生物ループ」と呼ばれ、湖沼・海洋の沖帯に発達する主にプランクトンから構成される食物連鎖では微生物ループが物質循環に重要な機能を担っていることが、今日明らかとなっている (Pomeroy, 1974; Azam et al., 1983; 中野, 2000; Nakano, 2014).

本稿では、日本原生動物学会が2013年11月11日に日本原生生物学会と名称変更し、その記念大会のシンポジストとして筆者が招待されたことに機会を得て、筆者の微生物ループ研究およびこれに関連する研究を紹介する. なお、このようないきさつから、本稿で引用する文献は筆者によるものを中心としているが、実際にはその他多くの先行・関連研究が存在することを、念のため申し添えておく.

## 微生物ループはダイナミックである

微生物ループとは、植物プランクトンが光合成の中間代謝物や自己の分解物として排出する溶存態有機物を細菌が栄養基質(餌)として利用し、細菌を鞭毛虫や繊毛虫などの原生生物が摂食する食物連鎖のことである (Fig. 1) (Pomeroy, 1974; Azam et al., 1983; 中野, 2000; Nakano, 2014). この食物連鎖は微

生物食物網とも呼ばれ (Caron and Finlay, 1994), さらに原生生物が甲殻類等の大型動物プランクトンに捕食されることによって生食連鎖へとつながる. つまり、これまで単に分解者として位置づけられていた細菌や原生生物は、実は微生物ループを介して動物プランクトンの餌資源としても貢献する.

微生物ループの研究が進むと、細菌以外の重要な微生物の生態学的役割にも注目が集まった. 例えば、細菌とほぼ同じ大きさの植物プランクトンであるピコ植物プランクトンがそれに当たる. ピコ植物プランクトンとは、大きさが0.5~2  $\mu\text{m}$ の光合成色素を持つ単細胞のプランクトンの総称であり、シアノバクテリアや緑藻類など真核生物の植物プランクトンが含まれる. なお、細菌の中にはシアノバクテリアも含まれるが、本稿ではここ以降、細菌とは従属栄養細菌のことを指す. 優占的なピコ植物プランクトンは、湖沼では *Synechococcus* 属、海洋の外洋域では *Prochlorococcus* 属とされてきた (Stockner and Antia, 1986; Partensky et al., 1999). 近年の海洋の研究では、ピコ植物プランクトンサイズのハプト藻類も重要な一次生産者であると報告されている (Liu et al., 2009). ちなみに、湖沼や海洋の細菌の大きさは、通常平均で0.5~1  $\mu\text{m}$ である. ピコ植物プランクトンは、海洋や湖沼の水1ミリリットル当たり1万から1,000万細胞が生息している. ただし、100万細胞を越えることは、それほど多くは無い (Hirose et al., 2003). ピコ植物プランクトンは、ほとんどの外洋や貧栄養湖沼では最も重要な一次生産者であり、全植物プランクトンの生物量あるいは光合成量の90%以上をピコ植物プランクトンが占めている (Stockner and Antia, 1986; Partensky et al., 1999). なお、沿岸海域、および北極・南極の海域では、珪藻類が重要な一次生産者である (Liu et al., 2009).

海洋や湖沼のプランクトンの食物連鎖では、植物プランクトンが動物プランクトンに食べられる「生食連鎖 (Grazing food chain)」も機能している (Fig. 1: 図中の「Phytoplankton」から「Zooplankton」の食物連鎖). つまり、水域の食物連鎖では、従来良く知られている生食連鎖と、微生物ループが相互に関係し合いながら全体の生態系を駆動する. 筆者は、このことについての興味深い例を、バイカル湖のバルグジン湾と愛媛県西側にある宇和海の南部とで見出した. バイカル湖の中央湖盆東岸に位置するバルグジン湾には、バルグジン川が流入する. バルグジン川の河口域では、植物プランクトンでは珪藻類等の大型のものが優占し、繊毛虫では濾過摂食者の *Strombidium* 属と *Strobilidium* 属に加え、*Prorodon* 属や *Spathidiosus* 属などの大型捕食性の繊毛虫が優占する (Katano et al., 2005b, 2008a, b; Kihira et al., 2008; Ueno et al., 2005). これに対してバルグジン湾沖帯



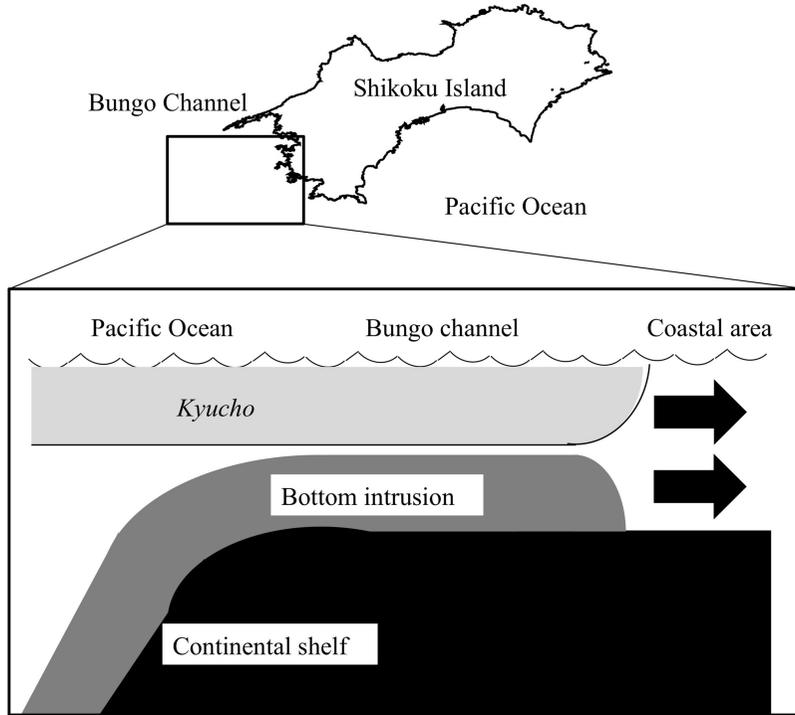


Fig. 2. Two major physical events in the Uwa Sea: *kyucho* and bottom intrusion. The former is an intrusion of surface, warm and oligotrophic water from the south of the Bungo Channel to the west coast of Shikoku Island, which occurs mainly in summer (Takeoka and Yoshimura, 1988; Takeoka et al., 1993). Bottom intrusion consists of deep, cold and nutrient-rich water that flows just over the continental shelf (Takeoka et al., 2000; Kaneda et al., 2002a, b), serving as the major nutrient source to the coastal areas (Koizumi, 1991; Koizumi and Kohno, 1994; Koizumi et al., 1997; Takeoka et al., 2000; Kaneda et al., 2002a, b). While the effect of *kyucho* on phytoplankton growth is negligible, diatom blooms promoted by nutrient inputs from bottom intrusion have been observed in a bay of the Uwa Sea (Koizumi and Kohno, 1994; Koizumi et al., 1997). Thus, the trophic status of the area is temporarily changed during such bottom intrusions.

しているとされ (Berninger et al., 1991), 海洋の鞭毛虫もおそらくこれと同等の現存量レベルで生息していると思われる (Sanders et al., 1992). 一方, 繊毛虫の細胞密度はそれほど高くはなく, 一般的に水 1 ミリリットル当たり 10 から 100 細胞程度である (Beaber and Crisman, 1982, 1989). しかし, まれなケースでは, 繊毛虫の細胞密度が水 1 ミリリットル当たり 1,000 をこえる例も報告されており, 筆者がかつて研究していた富栄養化した湖沼 (松山市の古池) では 1 ミリリットル当たり 3,500 細胞もの繊毛虫が検出されたことがある (Nakano et al., 1998a). 一方, 原生生物一細胞当たりの細菌摂食速度は鞭毛虫よりも繊毛虫の方が高く, 大雑把に言えば, 鞭毛虫は一細胞当たり一時間に数十細胞の細菌を摂食し, 繊毛虫は数百から一千の細菌細胞を摂食する (Nakano et al., 1998a). しかし, 摂食速度の違いを上回るほど鞭毛虫は繊毛虫よりも現存量が高い (つ

まり, 数が多い) ので, 全体としては鞭毛虫の方が繊毛虫より多くの細菌を摂食により消費する. たとえば, 筆者が研究していた愛媛県宇和海では, 鞭毛虫に摂食される細菌の量は, 繊毛虫の 50 倍以上にもなる (Ichinotsuka et al., 2006). 温帯域に位置する湖沼あるいは沿岸海洋において, 細菌の摂食による死滅の大部分は鞭毛虫によるものである. 水域の富栄養化が進むと繊毛虫の現存量が高くなり, 繊毛虫による細菌摂食が鞭毛虫のそれに匹敵するかあるいは上回ることもあるのに対し, 貧・中栄養水域では鞭毛虫の現存量は鞭毛虫に比較して低いことが多く, 鞭毛虫に比べると細菌摂食者としての重要性は低くなる (Sanders et al., 1989; Nakano et al., 1998a). 筆者の研究では, 松山市の富栄養化湖沼である古池では夏季から秋季にかけて繊毛虫による細菌摂食は鞭毛虫によるそれと同等か上回る (Nakano et al., 1998a). これに対し, 中栄養の琵琶湖では細菌摂食

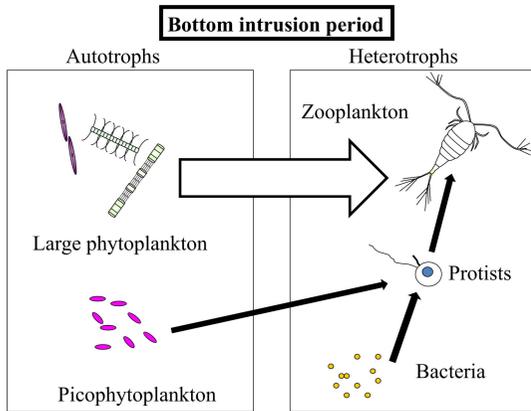


Fig. 3. The enhancement of large phytoplankton growth by nutrients supplied through bottom intrusion (Koizumi and Kohno, 1994; Koizumi et al., 1997; Nakano et al., 2004). So, when we have the occurrence of bottom intrusion, the grazing food chain where large phytoplankton such as diatoms and dinoflagellates are grazed by mesozooplankton dominates after massive growth of diatoms.

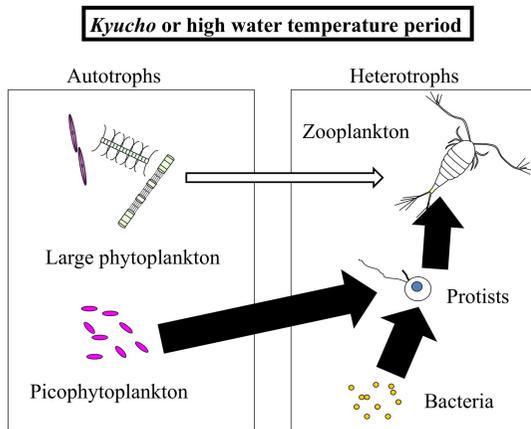


Fig. 4. The enhancement of picoplankton (heterotrophic bacteria and picocyanobacteria) growth by high water temperature due to the occurrence of *kyucho* or summer solar radiation (Nakano et al., 2004; Katano et al., 2005a, 2007; Katano and Nakano, 2006; Ichinotsuka et al., 2006, 2010; Hirose et al., 2008a, b). When water temperature increases due to the occurrence of *kyucho* or summer solar radiation, microbial loop dominates after massive growth of those microorganisms.

は一年を通じて鞭毛虫による摂食が重要とされていた (Nakano, 1994b; Nakano et al., 1998b) が、近年、ウイルスによる感染も細菌の死亡要因として重要であることが明らかになった (Takasu et al., 2014) .

鞭毛虫と繊毛虫は、ピコ植物プランクトンも摂食する (Nakano et al., 1996; Hirose et al., 2003, 2008a) . ピコ植物プランクトンの細胞密度が細菌よりも低いことは先述の通りであるが、ピコ植物プランクトンは時として大増殖を起こし、その細胞密度が 1 ミリリットル当たり 100 万細胞を越えると、生物量 (体積や重さ) としては細菌よりも大きくなる. 例えば、静岡県の富栄養湖沼である佐鳴湖では、毎年夏季に 1 ミリリットル当たり 100 万細胞を越える *Synechococcus* 属のブルームが起こる (谷, 私信) . このような場合は、細菌よりもピコ植物プランクトンの方が原生動物の餌としては豊富である可能性が高い. また、溶存有機物質が非生物的に凝集し、細菌と同じサイズ範囲にある非生物粒子が形成されるが、この粒子も原生動物の餌として機能し得る (Fig. 1) (Kerner et al., 2003) . これらの粒子は、窒素やリンの栄養元素も比較的豊富に含んでいることから、原生動物の餌としての栄養価は高いかもしれない (Kerner et al., 2003) . なお、一般的には、原生動物による非生物粒子の利用は、微生物ループには含まれない.

以上のように、原生動物は細菌、ピコ植物プランクトンのみならず、非生物粒子も餌資源として利用する. 原生動物による摂食サイズは、広い範囲に渡っており、種類によっては自らの細胞よりも大きな生物を摂食する. こうなると、原生動物の生態学的役割の解明には、種ごとの生態の解明が重要となるが、これがそう容易いことでは無い. 原生動物は、その微小なサイズに加えて遊泳速度が一秒間当たり自身の体長の数倍から数十倍におよぶことがしばしばあり (Fenchel, 1987) , 適当な薬剤処理により水の粘性を高めて遊泳速度を落とさないと、顕微鏡での観察は困難である. また、鞭毛虫については、光学顕微鏡下では細胞の形態的特徴が乏しいだけでなく、固定剤で処理すると細胞が破裂するなど形態的特性が残らないことが多い. 近年は、分子生物学の技術が導入され、原生動物についても個体群動態を研究できる可能性が見えてきた. 例えば、ある種の原生動物に特異的な遺伝子配列をもった DNA 断片に蛍光色素を付与したものを作成して、これをサンプル中に加えて同じ配列を持った原生動物細胞中の DNA に結合させ、特定原生動物種の個体群の検出を行う手法 (Fluorescence *in situ* Hybridization, 略して FISH) が開発されている (Lim et al., 1999; Massana et al., 2002; Mukherjee et al., in press) . さらに、分子生物学の技術を用いることにより、原生動物群集に対する分子系統解析も行なわれている. 海洋では、大きさが 2  $\mu\text{m}$  以下である極めて小型の鞭毛虫が豊富に生息していることが明らかとなり、これら鞭毛虫の 18S-rDNA を用いた分子系統解析も進んでいる

(Diez et al., 2001, Lopez-Garcia et al., 2001, Moon-van der Staay et al., 2001) . 原生生物の個体群生態学が大きく発展する日も近いであろう。

### 被食者としての原生生物

原生生物の被食者としての役割は、室内実験での研究例は多く有るが、自然水域での研究例は限られている。鞭毛虫や繊毛虫の捕食者は、より大型の原生生物、ワムシ、甲殻類動物プランクトンなどである (Dolan and Gallegos, 1991; Pace et al., 1998; Adrian et al., 2001; Burns and Schallenberg, 2001; Nakano et al., 2001; Yoshida et al., 2001; Schnetzer and Caron, 2005; Chang et al., 2010, 2014) . 筆者の研究では、富栄養化湖沼である松山市・古池において鞭毛虫は主に繊毛虫に捕食され、この捕食—被食関係を炭素の流れとして評価したところ、繊毛虫による捕食速度は鞭毛虫の生産 (増殖) 速度とほぼ釣り合う (Nakano et al., 2001) . これに対して、繊毛虫の現存量が比較的低い琵琶湖では、鞭毛虫の主な捕食者は枝角類の *Daphnia* (いわゆる、ミジンコ) である (Nakano et al., 1998b) . ちなみに、ケンミジンコは、古池でも琵琶湖でも、あまり鞭毛虫を捕食していない (Nakano et al., 2001) . しかし、Burns and Schallenberg (2001) では、ニュージーランドの湖沼では富栄養化湖沼になるほどケンミジンコによる鞭毛虫・繊毛虫の捕食が高まり、ミジンコは捕食者としてはそれほど重要ではないとしている。このように、鞭毛虫と繊毛虫にとってどの捕食者が相対的に重要であるかについては、残念ながら自然水域での研究例が未だ限られており、統一的な理解は未だ得られていない (Dolan and Gallegos, 1991; Pace et al., 1998; Adrian et al., 2001; Burns and Schallenberg, 2001; Nakano et al., 2001; Yoshida et al., 2001; Schnetzer and Caron, 2005; Chang et al., 2010, 2014) .

原生生物を餌として見ることは、食物連鎖を通じた有機物伝達経路を理解する上で重要であり、植物プランクトンから動物プランクトンへの有機物の流れよりも、微生物ループを経由して動物プランクトンに流れる有機物の流れの方が大きい場合も想定される。例えば、富栄養化湖沼においてシアノバクテリア *Microcystis* 属によるアオコが発生する場合、アオコが当該生態系において主要な一次生産者となるが、アオコは大型の群体を形成するだけでなくときとして強い毒素を生産するために、動物プランクトンの餌資源として機能しないと考えられる。このような場合、動物プランクトンの餌資源として原生生物が相対的に重要となり、当該生態系では微生物ループが動物プランクトンへの有機物伝達系として主に機能するであろう。

微生物ループは多くの栄養段階のステップを経る (Fig. 1) ために、栄養伝達効率が低くなり、動物プランクトンに多くの有機物を供給できないという見方もある。しかし、これは炭素の伝達について考えた場合であり、他の栄養元素 (窒素、リン等) の伝達については当てはまらない。多くの湖沼では、植物プランクトンの生長はリンに制限されていることが多く、植物プランクトンの細胞自身もリン欠乏状態であると言われている。動物プランクトンの体の炭素 : 窒素 : リン比は植物プランクトンのそれよりも低く (中野, 2000) , 動物プランクトンは植物プランクトンのみ摂食しているとリン制限に陥る可能性がある。これに対して、鞭毛虫や繊毛虫は、窒素およびリンに豊富な生物である (Nakano, 1994a) ため、これらを捕食する動物プランクトンにとっては質的に良い餌に違いない。

### 地球温暖化と微生物ループ研究

近年、筆者の研究グループは、琵琶湖の深水層に発達する興味深い微生物ループの解明を進めている。一般に、植物プランクトンが生産し細胞外に放出した溶解有機物 (dissolved organic matter, DOM と略) は、細菌による分解を受ける。琵琶湖では、夏季の表水層において、植物プランクトンが自身のバイオマスとタンパク質様 DOM を生産し、その後、これら有機物は細菌により分解される。しかし、表水層では窒素・リンが枯渇しているために細菌による分解は促進されず、窒素・リンが比較的多く供給される水温躍層に限定される (Thottathil et al., 2013) . この際、これらの有機物は細菌による分解を経て難分解な腐植様 DOM へと変換され、その後は細菌への窒素・リンの栄養塩類供給の制限を受けながら、長い時間をかけてさらに分解される (Thottathil et al., 2013) . この腐植様 DOM は、冬季の湖水鉛直循環にともない、琵琶湖の深水層へと供給される。筆者の研究グループは、夏季の水温成層している琵琶湖北湖全域の深水層でクロロフレクサス門に属する CL500-11 細菌一種のみが優占することを解明した (Okazaki et al., 2013) . 深水層は、元々 DOM 濃度が低いから、この細菌は腐植様 DOM を利用せざるを得ない。我々は、さらに最近、細菌食者であるキネトプラスチド鞭毛虫に特異的な遺伝子プローブを用いた *Fluorescently in situ Hybridization* (FISH) を行い、夏季の琵琶湖深水層では、キネトプラスチド鞭毛虫が、全鞭毛虫の 44% も占めていることを解明した (Mukherjee et al., in press) . キネトプラスチド鞭毛虫は、鞭毛の基部にキネトプラスチドと呼ばれるミトコンドリア DNA から成る単一の核酸顆粒を持つことで特徴付けられ、湖沼では沿岸帯の枯

死植物など有機物分解が活発な場で普通に見られる。すなわち、夏季の琵琶湖では、表水層で植物プランクトンにより生産された有機物が細菌により難分解な腐植様 DOM へと変換され、腐植様 DOM は湖水循環によって深水層へと輸送され、この DOM が次の年の春から夏にかけて CL500-11 などの細菌に利用され、増殖した CL500-11 などの細菌はキネトプラスチド鞭毛虫に摂食されるという、表水層での一次生産に端を発する深水層特有の微生物ループが駆動しているのかもしれない。しかし、CL500-11 細菌は、その特有の細胞形態と大きな細胞サイズから鞭毛虫による摂食を受けにくいとも考えられる (Pernthaler, 2005)。CL500-11 細菌による腐植様 DOM の取込みや、鞭毛虫による CL500-11 細菌の摂食に関して、さらなる研究が必要である。

また、これら一連の研究は、琵琶湖の環境問題の一つにも関連しているのかもしれない。琵琶湖では、ここ 30 年ほどで水中の化学的酸素要求量 (水中の有機物量の指標であり、環境基準に指定されている。COD と略) が年々上昇しており、深刻な水質問題となっている (Hayakawa and Okamoto, 2012)。我々の研究結果では、細菌によって生産された腐植様 DOM は難分解であるため、その分解には長い時間がかかり、この DOM が年々少しずつ蓄積する可能性がある (Thottathil et al., 2013)。このことが、COD の上昇につながっているのかもしれない。

近年、さまざまな生態系サービスに微生物の動態が大きく関わっていることが明らかになってきている。Peralta et al. (2014) は、いくつかの例を上げながら、微生物の情報を人間社会と生態系の枠組みに統合的に利用することにより、微生物がもたらす生態系サービスを最大限に活用できるとしている。彼らによると、例えば污水处理プラントにおける細菌による脱リンや脱窒の技術には、近年の次世代シーケンサーによるメタゲノミクスやメタトランスクリプトームによって微生物の多様性と機能に関するより正確な情報を大量に得ることにより、さらなる技術革新が期待できる。次世代シーケンサーを用いることで明らかになった微生物ループ研究にとって重要なことは、細菌や原生動物群集中のほとんどの種は現存量が低いことである。このように、現存量としてはあまり大きな部分を占めない大多数の種を総称して「rare biosphere」と呼んでいる (Sogin et al., 2006; Caron and Countway, 2009)。Rare biosphere に含まれる微生物は、現存量が低いために捕食者やウイルスに遭遇する機会が少なく、現存量で優占的な微生物よりも生残する可能性が高い (Sogin et al., 2006; Caron and Countway, 2009)。また、rare biosphere に含まれる微生物は環境変化に鋭敏に反応すると考えられており、環境条件のわずかな変化にも

群集全体として現存量が保てるように、遺伝子の貯蔵庫として機能しているのかもしれない (Sogin et al., 2006; Caron and Countway, 2009)。活性汚泥を用いる污水处理プラントは、微生物ループを人為的に強化した系である。このため、微生物ループの研究は単なる基礎生物学研究の一つには留まらない。自然生態系や活性汚泥のような人工生態系において、rare biosphere に含まれる微生物の動態や生態学的役割が解明され、微生物がもたらす生態系サービスを楽しむつつ、人間と微生物との自然共生社会の実現に微生物ループの研究が貢献できればと愚考する。

## 謝辞

私の研究は、大変多くの方々をサポートのおかげで進めることができました。愛媛大学と京都大学の学生・ポストドク・大学教職員・非常勤職員のみなさん、滋賀県と愛媛県の自治体職員のみなさん、愛媛県愛南町の漁協のみなさん、海外の友人のみなさんのご支援について、厚く御礼申し上げます。また、私に研究者の道を拓いてくださった手塚泰彦先生、中西正巳先生、瀬戸昌之先生に、深く感謝申し上げます。

また、日本原生動物学会の名称変更に伴う記念大会という重要な区切りとなる貴重な機会に、私をシンポジストとしてご招聘くださった当該学会のみなさまに、厚く御礼申し上げます。

## 引用文献

- Adrian, R., Wickham, S. A. and Butler, N. M. (2001) Trophic interactions between zooplankton and the microbial community in contrasting food webs: the epilimnion and deep chlorophyll maximum of a mesotrophic lake. *Aquat. Microb. Ecol.*, 24, 83–97.
- Azam, F., Fenchel, T., Field, J. G., Gray, J. S., Meyer-Reil, L. A. and Thingstad, F. (1983) The role of water-column microbes in the sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 10, 257–263.
- Beaber, J. R. and Crisman, T. L. (1982) The trophic response of ciliated protozoans in freshwater lakes. *Limnol. Oceanogr.*, 27, 246–253.
- Beaber, J. R. and Crisman, T. L. (1989) The role of ciliated protozoa in pelagic freshwater ecosystems. *Microb. Ecol.*, 17, 111–136.
- Berninger, U.-G., Finlay, B. J. and Kuoppa-Leinikki, P. (1991) Protozoan control of bacterial abundances in freshwater. *Limnol. Oceanogr.*, 36, 139–147.
- Burns, C. W. and Shallenberg, M. (2001) Calanoid copepods versus cladocerans: Consumer effects on pro-

- tozoa in lakes of different trophic status. *Limnol. Oceanogr.*, 46, 1558–1565.
- Caron, D. A. and Countway, P. D. (2009) Hypotheses on the role of the protistan rare biosphere in a changing world. *Aquat. Microb. Ecol.*, 57, 227–238.
- Caron, D. A. and Finlay, B. J. (1994) Protozoan links in food webs. *In: Progress in Protozoology*. Hausmann, K. and Hulsmann, N. (eds.). Gustav Fisher Verlag, Stuttgart, pp. 125–130.
- Chang, K.-H., Doi, H., Nishibe, Y. and Nakano, S. (2010) Feeding habits of omnivorous *Asplanchna*: comparison of diet composition among *Asplanchna herricki*, *A. priodonta* and *A. girodi* in pond ecosystems. *J. Limnol.*, 69, 209–216.
- Chang, K.-H., Doi, H., Nishibe, Y., Nam, G.-S. and Nakano, S. (2014) Feeding behavior of the copepod *Temora turbinata*: clearance rate and prey preference on the diatom and microbial food web components in coastal area. *J. Ecol. Environ.*, 37, 225–229.
- Diez, B., Pedros-Alio, C. and Massana, R. (2001) Study of genetic diversity of eukaryotic picoplankton in different oceanic regions by small-subunit rRNA gene cloning and sequencing. *Appl. Environ. Microbiol.*, 67, 2932–2941.
- Dolan, J. R. and Gallegos, C. L. (1991) Trophic coupling of rotifers, microflagellates, and bacteria during fall months in the Rhode River Estuary. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 77, 147–156.
- Fenchel, T. (1987) Ecological physiology: Motility. *In: Ecology of Protozoa*. Fenchel, T. (ed.). Springer, Berlin, pp. 15–31.
- Hashimoto, T. and Nakano, S. (2003) Nutrient limitation on abundance and growth of phytoplankton in a Japanese pearl cultivation farm. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 258, 43–50.
- Hayakawa, K. and Okamoto, T. (2012) COD increase in the water of Lake Biwa. *In: Lake Biwa: Interactions between Nature and People*. Kawanabe, H., Nishino, M. and Maehata, M. (eds.). Springer, Tokyo, pp. 441–445.
- Hirose, M., Katano, T., Hayami, Y., Kaneda, A., Kohama, T., Takeoka, H. and Nakano, S. (2008a) Changes in the abundance and composition of picophytoplankton in relation to the occurrence of a Kyucho and a bottom intrusion in the Bungo Channel, Japan. *Est. Coast. Shelf Sci.*, 76, 293–303.
- Hirose, M., Katano, T. and Nakano, S. (2008b) Growth and grazing mortality rates of *Prochlorococcus*, *Synechococcus* and eukaryotic picophytoplankton in a bay of the Uwa Sea, Japan. *J. Plankton Res.*, 30, 241–250.
- Hirose, M., Nishibe, Y., Ueki, M. and Nakano, S. (2003) Seasonal changes in the abundance of autotrophic picoplankton and some environmental factors in the hypereutrophic Furuike Pond. *Aquat. Ecol.*, 37, 37–43.
- Hobbie, J. E., Daley, R. J. and Jasper, S. (1977) Use of Nuclepore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy. *Appl. Environ. Microbiol.*, 33, 1225–1228.
- Ichinotsuka, D., Katano, T., Takeoka, H. and Nakano, S. (2010) Effects of nutrient supplies on the growth rates of planktonic bacteria in Uchiumi Bay, Japan. *Aquat. Biol.*, 9, 123–130.
- Ichinotsuka, D., Ueno, H. and Nakano, S. (2006) The relative importance of nanoflagellates and ciliates as consumers of bacteria in a coastal sea area (Japan), where the oligotrichous *Strombidium* spp. and *Strobilidium* spp. dominate. *Aquat. Microb. Ecol.*, 42, 139–147.
- Kaneda, A., Takeoka, H. and Koizumi, Y. (2002a) Periodic occurrence of diurnal signal of ADCP backscatter strength in Uchiumi Bay, Japan. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, 55, 323–330.
- Kaneda, A., Takeoka, H., Nagaura, E. and Koizumi, Y. (2002b) Periodic intrusion of cold water from the Pacific Ocean into the bottom layer of the Bungo Channel, Japan. *J. Oceanogr.*, 58, 547–556.
- Katano, T., Kaneda, A., Kanzaki, N., Obayashi, Y., Morimoto, A., Onitsuka, G., Yasuda, H., Mizutani, S., Kon, Y., Hata, K. et al. (2007) Distribution of prokaryotic picophytoplankton from Seto Inland Sea to Kuroshio region with special reference to *Kyuchō* enumerated with a dual laser flow cytometer and a spectrofluorometer. *Aquat. Microb. Ecol.*, 46, 191–201.
- Katano, T., Kaneda, A., Takeoka, H., and Nakano, S. (2005a) Seasonal changes in abundance and composition of picophytoplankton in relation to occurrence of Kyucho and bottom intrusion in Uchiumi Bay, Japan. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 298, 59–67.
- Katano, T., and Nakano, S. (2006) Growth rates of *Synechococcus* types with different phycoerythrin composition estimated by dual-laser flow cytometry in relationship to the light environment in the Uwa Sea. *J. Sea Res.*, 55, 182–190.
- Katano, T., Nakano, S., Mitamura, O., Yoshida, H., Azumi, H., Matsuura, Y., Tanaka, Y., Maezono, H., Satoh, Y., Satoh, T. et al. (2008a) Abundance and

- pigment type composition of picocyanobacteria in Barguzin Bay, Lake Baikal. *Limnology* 9, 105–114.
- Katano, T., Nakano, S., Ueno, H., Mitamura, O., Anbutsu, K., Kihira, M., Satoh, Y., Drucker, V., and Sugiyama, M. (2005b) Abundance, growth and grazing loss rates of picophytoplankton in Barguzin Bay, Lake Baikal. *Aquat. Ecol.*, 39, 431–438.
- Katano, T., Nakano, S., Ueno, H., Mitamura, O., Anbutsu, K., Kihira, M., Satoh, Y., Satoh, T., Drucker, V., Tanaka, Y. et al. (2008b) Abundance and composition of the summer phytoplankton community along a transect from the Barguzin River to the central basin of Lake Baikal. *Limnology*, 9, 243–250.
- Kerner, M., Hohenberg, H., Ertl, S., Reckermann, M. and Spitzzy, A. (2003) Self-organization of dissolved organic matter to micelle-like microparticles in river water. *Nature*, 422, 150–154.
- Kihira, M., Anbutsu, K., Azumi, H., Yoshida, H., Mitamura, O., Nakano, S., Katano, T., Satoh, Y., Drucker, V. and Sugiyama, M. (2008) Horizontal distribution and nutritional status of picophytoplankton in Lake Baikal in summer. *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, 30, 598–602.
- Koizumi, Y. (1991) A process of water exchange in Shitaba bay during the phenomenon of *kyucho*. *Engan Kaiyo Kenkyu Noto*, 29, 82–89 (in Japanese).
- 小泉喜嗣, 河野芳巳 (1994) 夏季の下波湾の珪藻プランクトン増殖機構に対する急潮の影響. 沿岸海洋研究ノート, 32, 81–89.
- 小泉喜嗣, 西川智, 薬師寺房憲, 内田卓志 (1997) 急潮による珪藻類休眠期細胞の発芽と増殖. 水産海洋研究, 61, 275–287.
- Lim, E. L., Dennet, M. R. and Caron, D. A. (1999) The ecology of *Paraphysomonas imperforata* based on studies employing oligonucleotide probe identification in coastal water samples and enrichment cultures. *Limnol. Oceanogr.*, 44, 37–51.
- Liu, H., Probert, I., Uitz, J., Claustre, H., Aris-Brousou, S., Frada, M., Not, F. and de Vargas, C. (2009) Extreme diversity in noncalcifying haptophytes explains a major pigment paradox in open oceans. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 106, 12803–12808.
- Lopez-Garcia, P., Rodriguez-Valera, F., Pedros-Alio, C. and Moreira, D. (2001) Unexpected diversity of small eukaryotes in deep-sea Antarctic plankton. *Nature*, 409, 603–607.
- Massana, R., Gillou, L., Diez, B. and Pedrós-Alió, C. (2002) Unveiling the organisms behind novel eukaryotic ribosomal DNA sequences from the ocean. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68, 4554–4558.
- Moon-van der Staay, S. Y., De Wachter, R. and Vault, D. (2001) Oceanic 18S rDNA sequences from picoplankton reveal unsuspected eukaryotic diversity. *Nature*, 409, 607–610.
- Mukherjee, I., Hodoki, Y. and Nakano, S. (2015) Kinetoplastid flagellates overlooked by universal primers dominate in the oxygenated hypolimnion of Lake Biwa, Japan. *FEMS Microbiol. Ecol.*, in press. doi: 10.1093/femsec/fiv083.
- Nakano, S. (1994a) Carbon:nitrogen:phosphorus ratios and nutrient regeneration of a heterotrophic flagellate fed on bacteria with different elemental ratios. *Arch. Hydrobiol.*, 129, 257–271.
- Nakano, S. (1994b) Estimation of phosphorus release rate by bacterivorous flagellates in Lake Biwa. *Jpn. J. Limnol.*, 55, 201–211.
- 中野伸一 (2000) 湖沼有機物動態における微生物ループでの原生動物の役割. 日本生態学会誌, 50, 41–54.
- Nakano, S. (2014) Biodiversity researches on microbial loop in aquatic systems. *In: Biodiversity in aquatic systems and environments: Lake Biwa*. Okuda, N., Watanabe, K., Fukumori, K., Nakano, S. and Nakazawa, T. (eds.). Springer, Tokyo, pp. 51–67. doi: 10.1007/978-4-431-54150-9\_3.
- 中野伸一 (2014) 微生物の多様性と沿岸生態系の生物生産に果たす役割. 詳論 沿岸海洋学 (沿岸海洋研究会 50 周年記念). 日本海洋学会・沿岸海洋研究会 (編), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 218–228.
- Nakano, S., Ishii, N., Manage, P. M. and Kawabata, Z. (1998a) Trophic roles of heterotrophic nanoflagellates and ciliates among planktonic organisms in a hypereutrophic pond. *Aquat. Microb. Ecol.* 16, 153–161.
- Nakano, S., Koitabashi, T. and Ueda, T. (1998b) Seasonal changes in abundance of heterotrophic nanoflagellates and their consumption of bacteria in Lake Biwa with special reference to trophic interactions with *Daphnia galeata*. *Arch. Hydrobiol.* 142, 21–34.
- Nakano, S., Manage, P. M., Nishibe, Y. and Kawabata, Z. (2001) Trophic linkage among heterotrophic nanoflagellates, ciliates and metazoan zooplankton in a hypereutrophic pond. *Aquat. Microb. Ecol.*, 25, 259–270.
- Nakano, S., Mitamura, O., Sugiyama, M., Maslennikov, A., Nishibe, Y., Watanabe, Y. and Drucker, V. (2003) The vertical planktonic structure in the cen-

- tral basin of Lake Baikal in summer 1999 with special reference to microbial food web. *Limnology*, 4, 155–160.
- Nakano, S., Tanaka, K., Sono, T., Wakabayashi, T., Ichise, S., Yamanaka, S., Kaneda, E., Yada, M., Naitoh, M., Kawabe, K. et al. (1996) Seasonal changes in horizontal distribution of algal picoplankton in Lake Biwa with special reference to water temperature, nutrient levels and heterotrophic flagellates. *Jpn. J. Limnol.*, 57, 49–55.
- Nakano, S., Tomaru, Y., Katano, T., Kaneda, A., Makino, W., Nishibe, Y., Hirose, M., Onji, M., Kitamura, S.-I. and Takeoka, H. (2004) The dynamics of microbial and herbivorous food webs in a coastal sea with special reference to intermittent nutrient supply from bottom intrusion. *Aquat. Ecol.*, 38, 485–493.
- 中野伸一, 外丸裕司, 川端善一郎, 鈴木聡 (2001) 宇和海のアカヤガイ漁場における微生物生態: 餌微生物と病原微生物. *地球環境*, 6, 39–45.
- Okazaki, M., Hodoki, Y. and Nakano, S. (2013) Seasonal dominance of CL500-11 bacterioplankton (Phylum *Chloroflexi*) in the oxygenated hypolimnion of Lake Biwa, Japan. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 83, 82–92.
- Pace, M. L., Cole, J. J. and Carpenter, S. R. (1998) Trophic cascades and compensation: Differential responses of microzooplankton in whole-lake experiments. *Ecology*, 79, 138–152.
- Partensky, F., Hess, E. R. and Vaulot, D. (1999) Prochlorococcus, a marine photosynthetic prokaryote of global significance. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 63, 106–127.
- Peralta, A. L., Stuart, D., Kent, A. D., and Lennon, J. T. (2014) A social-ecological framework for “micromanaging” microbial services. *Front. Ecol. Environ.*, 12, 524–531.
- Pernthaler, J. (2005) Predation on prokaryotes in the water column and its ecological implications. *Nat. Rev. Microbiol.*, 3, 537–546.
- Pomeroy, L. R. (1974) The ocean's food web, a changing paradigm. *BioScience*, 24, 499–504.
- Porter, K. G. and Feig, Y. S. (1980) The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnol. Oceanogr.*, 25, 943–948.
- Sanders, R. W., Caron, D. A. and Berninger, U.-G. (1992) Relationships between bacteria and heterotrophic nanoplankton in marine and fresh waters: an interecosystem comparison. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 86, 1–14.
- Sanders, R. W., Porter, K. G., Bennet, S. J. and DeBiase, A. E. (1989) Seasonal pattern of bacterivory by flagellates, ciliates, rotifers, and cladocerans in a freshwater planktonic community. *Limnol. Oceanogr.*, 34, 673–687.
- Schnetzer, A. and Caron, D. A. (2005) Copepod grazing impact on the trophic structure of the microbial assemblage of the San Pedro Channel, California. *J. Plankton Res.*, 27, 959–971.
- Sogin, M. L., Morrison, H. G., Huber, J. A., Welch, D. M., Huse, S. M., Neal, P. R., Arrieta, J. M. and Herndl, G. J. (2006) Microbial diversity in the deep sea and the underexplored “rare biosphere”. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 103, 12115–12120.
- Stockner, J. G. and Antia, N. J. (1986) Algal picoplankton from marine and freshwater ecosystems: a multidisciplinary perspective. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 43, 2472–2503.
- Takasu, H., Kunihiro, T. and Nakano, S. (2014) Protistan grazing and viral lysis losses of bacterial carbon production in a large mesotrophic lake (Lake Biwa). *Limnology*, 15, 257–270.
- Takeoka, H., Akiyama, H. and Kikuchi, T. (1993) The Kyucho in the Bungo Channel, Japan. –Periodic intrusion of oceanic warm water. *J. Oceanogr.*, 49, 369–382.
- Takeoka, H., Koizumi, Y. and Kaneda, A. (2000) Year-to-year variation of a kyucho and a bottom intrusion in the Bungo Channel, Japan. *In: Interactions between Estuaries, Coastal Seas and Shelf Seas*. Yanagi, T. (ed.). Terrapub, Tokyo, pp. 197–215.
- Takeoka, H. and Yoshimura, T. (1988) The *Kyucho* in Uwajima Bay. *J. Oceanogr.*, 44, 6–16.
- Thottathil, S., Hayakawa, K., Hodoki, Y., Yoshimizu, C., Kobayashi, Y. and Nakano, S. (2013) Biogeochemical control on fluorescent dissolved organic matter dynamics in a large freshwater lake (Lake Biwa, Japan). *Limnol. Oceanogr.*, 58, 2262–2278.
- Ueno, H., Katano, T., Nakano, S., Mitamura, O., Anbutsu, K., Satoh, Y., Drucker, V. and Sugiyama, M. (2005) Abundance and community structure of picoplankton and protists in the microbial food web of Barguzin Bay, Lake Baikal. *Aquat. Ecol.*, 39, 263–270.
- Yoshida, T., Gurung, T. B., Kagami, M. and Urabe, J. (2001) Contrasting effects of a cladoceran (*Daphnia galeata*) and a calanoid copepod (*Eodiaptomus japonicus*) on algal and microbial plankton in a Japanese lake, Lake Biwa. *Oecologia*, 129, 602–610.