

平成 30 年 6 月 15 日現在

機関番号：17301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K18737

研究課題名(和文) 海洋生態系の栄養基盤を制御する微生物による有機物変質作用の解明

研究課題名(英文) Evaluation of the microbial alteration of nutritional value of organic matter in marine ecosystem

研究代表者

高巢 裕之 (TAKASU, Hiroyuki)

長崎大学・水産・環境科学総合研究科(環境)・助教

研究者番号：00774803

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：長崎県沿岸域より細菌を単離培養し、細菌細胞のアミノ酸分析を行い、酵素分解性アミノ酸(栄養価の指標)の割合を算出したところ、16-72%と細菌間で大きく異なり、種レベルでその割合は異なっていた。植物プランクトンの酵素分解性アミノ酸の割合は30-35%であるとの報告値から、植物プランクトンの生産した有機物が細菌群集の付着によりその栄養価が変化することが示唆された。また、細菌種によって酵素分解性アミノ酸の割合が植物プランクトンのそれよりも大きい種と小さい種が存在することから、付着する細菌種によって、植物プランクトンの生産した有機物の栄養価が上がる方向にも下がる方向にも変化することが考えられた。

研究成果の概要(英文)：Enzymatically hydrolyzable amino acids from marine bacteria were measured to evaluate the importance of bacteria as a bioavailable amino acids source for deposit feeders. The results indicated that progressive addition of bacteria-derived organic matter during degradation may positively or negatively affect the nutritional value of phytoplankton-derived organic matter, depending on the species of colonizing bacteria.

研究分野：生物地球化学、海洋環境生物学

キーワード：アミノ酸 酵素分解性アミノ酸 有機物 海洋細菌

1. 研究開始当初の背景

海洋において懸濁態有機物は、浮遊および底生の濾過摂食者の主要な餌資源であり、海洋生態系の栄養的基盤として重要である。懸濁態有機物は、主に植物プランクトンの一次生産物に由来するものの、その多くは付着した微生物（主に細菌）による分解・変質を経ており、生物体有機物と細菌による分解・変質を経た、生き物の死骸等に由来する「デトリタス有機物」との複雑な混合物として存在している。そのため、デトリタス有機物の食物連鎖系への寄与を明らかにすることは、海洋食物網の生産性の制御要因を理解するうえで重要である。しかし、デトリタス有機物は様々な段階の、細菌による分解・変質状態の物を含んでおり、特に沿岸域では季節的・空間的な不均一性が高い。そのため、デトリタス有機物の餌資源としての有用性（栄養価など）自体ほとんど分かっておらず、海洋食物網における生産メカニズムの把握のボトルネックとなっている。本研究の当初の目的は「細菌による分解・変質過程の進行が、有機物の高次栄養生物への栄養転換効率をどのように変化させるのか？」という沿岸生態系の魚介類生産の鍵を握る重要課題の解明に挑戦するというものであった。

2. 研究の目的

当初の計画では、天然細菌群集を捕集して全アミノ酸に対する酵素分解性アミノ酸の割合（栄養価の指標）を明らかにする予定であった。しかし、沿岸域には細菌と同サイズの非生物体粒子が無数に存在しており、細菌細胞の回収率が著しく悪く、天然細菌のみを選択的に捕集することが困難であった。そのため、本研究では計画を変更し、沿岸域から海洋細菌を単離培養し、それらの株について栄養価の評価を行った。また、最も良く使用されるアミノ酸測定法（OPA法）では検出できない第1級アミノ酸も検出できる分析方法（AQC法）の検討を行った。

3. 研究の方法

2017年7月に、長崎県沿岸域（有明海、大村湾）の底層水より Marine Broth 寒天培地を用いて海洋細菌を単離し、種同定を行った。これらの細菌種を培養し、対数増殖期に細菌細胞を捕集・洗浄し、アミノ酸組成を測定した。栄養価については、海洋有機物の栄養評価に用いられる酵素分解性アミノ酸の全アミノ酸に占める割合を用いて評価した。懸濁物食者の消化管酵素を模倣した酵素処理により、腸管から吸収可能なサイズにまで低分子化するアミノ酸を酵素分解性アミノ酸とし、全アミノ酸に対する酵素分解性アミノ酸の割合が高いほど、栄養価の高い有機物として評価される。

4. 研究成果

単離された株はいずれも粒子付着画分に多

い *Pseudoalteromonas* 属あるいは *Vibrio* 属であった。これらの細菌株についてアミノ酸分析を行い、酵素分解性アミノ酸の割合を算出したところ、16-72%と細菌間で大きく異なり、種レベルでその割合は異なっていた (Table 1)。しかし、全アミノ酸および酵素分解性アミノ酸の組成に関しては細菌による顕著な違いは見られなかった (Fig. 1 (a), (b))。全アミノ酸に対する酵素分解性アミノ酸の寄与率は、アミノ酸間で有意差は認められず (one-way anova, $p > 0.05$)、酵素分解性画分に特異的に含まれるアミノ酸は見られなかった。また、必須アミノ酸の全アミノ酸に占める割合も、加水分解性アミノ酸と酵素分解性アミノ酸との間に有意な差は見られなかった (t -test, $p > 0.05$, Fig. 2)。植物プランクトンの酵素分解性アミノ酸の割合は 30-35%であると先行研究において報告されている。よって、植物プランクトンの生産した有機物は細菌群集の付着によりその栄養価が変化することが示唆された。また、細菌種によって酵素分解性アミノ酸の割合が植物プランクトンのそれよりも大きい種と小さい種が存在した。このことから、付着する細菌種によって、植物プランクトンの生産した有機物の栄養価が上がる方向にも下がる方向にも変化することが考えられた。

Table 1. 単離株の全アミノ酸に対する酵素分解性アミノ酸の割合

Isolate	Closest species	EHAA(%)
OMP-4	<i>Pseudoalteromonas peptidolytica</i>	16
OMF-1	<i>Pseudoalteromonas peptidolytica</i>	24
OMF-2	<i>Pseudoalteromonas piscicida</i>	38
OMP-3	<i>Pseudoalteromonas rubra</i>	35
MNF-1	<i>Pseudoalteromonas rubra</i>	33
IHF-1	<i>Vibrio caribbeanicus</i>	43
IHF-2	<i>Vibrio tubiashii</i>	72

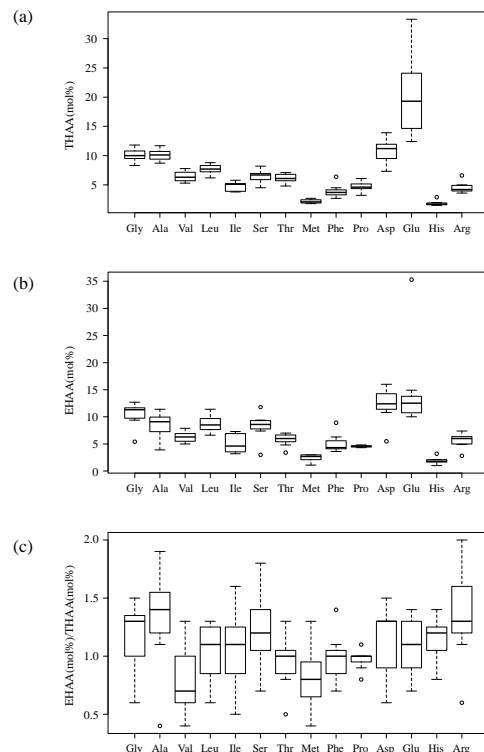


Fig. 1. 細菌株における各アミノ酸の (a) 全アミノ酸, (b) 酵素分解性アミノ酸, (c) 全アミノ酸に対する酵素分解性アミノ酸の寄与率の中央値。

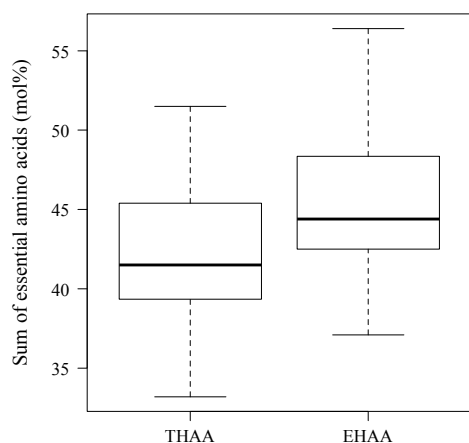


Fig. 2. 必須アミノ酸の占める割合。全アミノ酸 (THAA), 酵素分解性アミノ酸 (EHAA)。

<引用文献>

Mayer, LM., Schick, LL., Sawyer, T., Plante, CJ., Jumars, PA., Self, RFL. Bioavailable amino acids in sediments: A biomimetic, kinetics-based approach. *Limnol Oceanogr*, 1995, 40, 511-520.

Dauwe, B., Middelburg, JJ., Rijswijk, PV., Sinke, J., Herman, PMJ., Heip, CHR. Enzymatically hydrolyzable amino acids in North Sea sediments and their possible implication for sediment nutritional values. *J Mar Res*, 1999, 57, 109-134.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 3 件)

Takasu, H., Nakano, S. Growth and mortality rates of prokaryotes in the hypolimnion of a deep freshwater lake (Lake Biwa, Japan). *Inland Waters*, 査読有, 2017, 7, 164-170.

福田秀樹, 楊 燕輝, 高巢裕之, 西部裕一郎, 立花愛子, 津田 敦, 永田 俊: 2011年東北地方太平洋沖地震以降5年間の三陸沿岸大槌湾における栄養塩環境の変化. 沿岸海洋研究, 査読有, 2017, 54, 105-116.

Fukuda, H., Katayama, R., Yang, Y., Takasu, H., Nishibe, Y., Tsuda, A., Nagata, T. Nutrient status of Otsuchi Bay (northeastern Japan) following the 2011 off the Pacific coast of Tohoku Earthquake. *Journal of Oceanography*, 査読有, 2016, 72, 39-52.

[学会発表](計 6 件)

中野伸一, 早川和秀, 程木義邦, 岡崎友輔, Indranil Mukherjee, Shoji Thottatil, 高巢裕之. 琵琶湖の底にある、ちょっと変わった微生物ループ. 日本生態学会第65回全国大会, 2018年03月, 札幌コンベンションセンター (北海道札幌市)

Wada, M., Kondo, R., Umezawa, Y., Shimanaga, M., Kim, D., Suzuki, T., Kawabata, Y., Matsushita, Y., Ishimatsu, A., Aoshima, T., Takasu, H., Nakamura, T., Amano, M. Feel good in hypoxia? - From microbes to whales, diverse life forms subsist on the "dead zone" in an enclosed bay (Omura Bay, Nagasaki). The JSFS 85th Anniversary-Commemorative International Symposium "Fisheries Science for Future Generations", 2017年09月, 東京海洋大学 (東京都品川区)

福田秀樹, 楊燕輝, 高巢裕之, 永田俊. 東日本大震災以降6年間の三陸沿岸大槌湾および主要流入河川における栄養塩環境の変化. 日本地球惑星科学連合, 2017年05月, 幕張メッセ (千葉県幕張市)

高巢裕之, 中野伸一. 琵琶湖深水層における生物地球化学プロセス(ポスター) 日本生態学会 第64回全国大会 2017年03月, 早稲田大学 (東京都新宿区)

Takasu, H. Microbial and biogeochemical processes in the hypolimnion of Lake Biwa. 日本陸水学会 第81回大会, 2016年11月, 琉球大学 (沖縄県那覇市)

福田秀樹, 高巢裕之, 楊燕輝, 佐藤菜央美, 永田俊. 三陸沖の水塊の起源と溶存態・懸濁態成分の分布特性. 日本海洋学会, 2016年09月 鹿児島大学 (鹿児島県鹿児島市)

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高巢 裕之 (TAKASU, Hiroyuki)

長崎大学・水産・環境科学総合研究科 (環境)・助教

研究者番号：00774803

(2) 研究分担者

なし ()

研究者番号：

(3) 連携研究者

なし ()

研究者番号：

(4) 研究協力者

なし ()