

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 20 日現在

機関番号：34506

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2014

課題番号：23580270

研究課題名(和文) 海洋の真核微生物ラビリンチュラ類が生態環境中の物質循環に与える役割の解明

研究課題名(英文) Revealing of ecological role of the marine eukaryotic micro-organisms, labyrinthulomycetes

研究代表者

本多 大輔 (Honda, Daisuke)

甲南大学・理工学部・教授

研究者番号：30322572

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：海洋の真核微生物ラビリンチュラ類について、その現存量と種組成について把握するため、継続的なモニタリングを行った。細胞数の計測から、春から夏にかけて、1から2の急激な増減が観察され、ヤブレッツボカビ・スパイクと名付けた。ラビリンチュラ類のバイオマスは、バクテリアの1.59%だが、栄養段階を経るごとにエネルギーは10%となるため、バクテリアに比べて、段階が少ないラビリンチュラは、高次捕食者への影響は15.9%になることが考えられ、無視できるものではないと考えられた。また、種組成の季節的消長(遷移)が繰り返し観察され、環境要因によって、棲み分けをしていることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Regular monitoring of estuarine and coastal areas at fixed points was carried out to investigate changes in biomass and species composition of thraustochytrids, which are colorless heterotrophs in the class Labyrinthulomycetes, Stramenopiles. Cell number counts showed that 1 or 2 conspicuous peaks in abundance (termed 'thraustochytrid spikes') occurred between spring and late summer in most sampling years. Although thraustochytrid biomass was only 1.59% that of bacterial biomass, the fixed energy (as biomass) transferred directly from thraustochytrids to zooplankton was estimated to be 15.9% of that transferred from bacterioplankton via phagotrophic protists. A similar seasonal succession of phylogenetic groups was observed in each year of sampling. The differences in thraustochytrids isolated at each monitoring site and date suggest that habitat segregation may occur as a result of differences in environmental factors such as water temperature, salinity, and nutrient sources.

研究分野：海洋生態学

キーワード：ラビリンチュラ ヤブレッツボカビ 微生物ループ バイオマス 季節的遷移 棲み分け

1. 研究開始当初の背景

従来から海洋の分解者という従属栄養性細菌類ばかりが対象として挙げられてきたが、陸上の生態系でも分解者には細菌類と真核生物であるカビ・キノコなどの真菌類があるように、海洋にも地球規模で普遍的に存在する真核生物の分解者が存在しうることが指摘されて久しい。その中でも海洋において普遍的に存在し、さらに現存量が比較的豊富であることから、ラビリンチュラ類こそが重要な真核生物の分解者である可能性が言われてきている。しかしながら、これまでに得られている現存量の調査は継続的なものではないため、どれほどのエネルギーがラビリンチュラ類を介して循環しているのかについては推測の域を出ない状況であった。

2. 研究の目的

ラビリンチュラ類の現存量を継続的に測定し、浮遊細菌類、植物プランクトンの現存量との比較、および構成種の培養による性状解析(系統分類、増殖速度、資化性、脂質蓄積能力など)を通して、ラビリンチュラ類の果たす生態的な役割を明らかにし、沿岸域生態環境における物質循環システムの再考を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

(1) サンプルング

兵庫県西宮市の夙川河口、大阪湾奥の Station 8 (34° 29.95' N, 135° 10.73' E) および大阪湾中央の Station 15 (34° 36.00' N, 135° 17.75' E) を定点として、2008年3月から2013年9月にかけて、少なくとも1ヶ月に1回のサンプルングを行った。また、CTDによって、水温、塩分、クロロフィル量を計測した。

(2) 細胞数計測

ラビリンチュラ類の細胞数は、遊走細胞の松花粉への特異的な走化性を利用した「松花粉 MPN 法」によって推定した。すなわち、採取された海水を6段階に1/10希釈した系列を3つ作製し、それぞれに松花粉を加えて1週間培養し、その松花粉を dGPY 寒天培地 (0.2% ブドウ糖, 0.1% ポリペプトン, 0.05% 酵母エキス, 1.5% 寒天末, 50% 海水) に塗布し、ラビリンチュラ類の出現の有無を確認した。その有無から、元のサンプル中の細胞数を推定した。

(3) 分離と同定

松花粉 MPN 法で出現した寒天培地上のコロニーを分離して、培養株として確立し、それぞれの株について、18S rRNA 遺伝子の配列を決定し、系統解析することで、分子的な同定を行った。

(4) バクテリアの計数

バクテリアの細胞数は、DAPI によって DNA

染色を行って、蛍光顕微鏡によって、血球板によって、計数を行った。

(5) 炭素量計測

採取した 100 mL の海水を GF/F フィルターでろ過し、CHN analyzer (Model MT-5, Yanaco) で炭素量を測定し、particulate organic carbon (POC) 量とした。dissolved organic carbon (DOC) 量は、total organic carbon analyzer (TOC-VCSH, Shimadzu) で測定した。

4. 研究成果

(1) 季節的種遷移

夙川河口から6年間で932株が分離され、435株の系統的位置を把握した。その結果、少なくとも24の系統群に分かれて位置した(図1)。これまでに全世界から分離された系統群のほとんどが、本研究によって大阪湾から得られ、温帯の沿岸域は、ラビリンチュラ類の多様性が非常に高いことが示された。

また、夙川河口には、unidentified *thraustochytrid* 1, 2a, 2b, *Schizochytrium* sp., *Oblongichytrium* sp. 1, 2, and 3 の7つの系統群が頻繁に観測され、主要系統群として認識された。

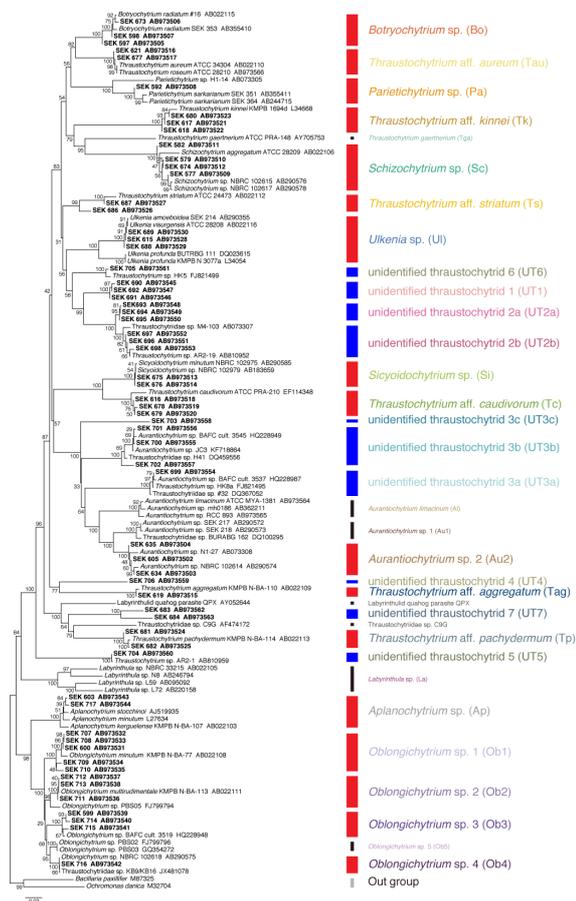


図1 ラビリンチュラ類の18S rRNA 遺伝子による分子系統樹。太字で示した株名は、本研究で出現した株。

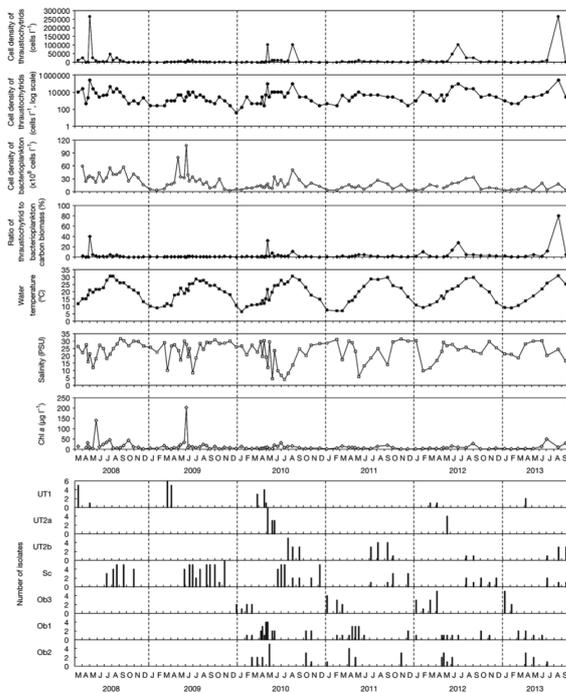


図2 夙川河口におけるラビリンチュラ類、バクテリアの細胞数、水温、塩分、クロロフィル量の推移、および7つの主要系統群の出現した株数。

さらに、夙川河口の7つの主要系統群は、それぞれ、出現する時期が毎年同じであり、季節的な遷移が起こっている可能性が示唆された(図2)。

大阪湾では、3つの主要系統群が認識され、やはり季節的な遷移が起こっている可能性が示唆された。

夙川河口と大阪湾の主要系統群は、*Oblongichytrium* sp. 2のみが共通しており、それぞれの環境に応じて、棲み分けが起こっている可能性が示唆された。各系統群の分離された環境の水温と塩分の分布から(図3)、低温時のみ出現する株や、低塩分時のみ出現する株が観察され、同じ場所でも、環境条件によって、さらに棲み分けが起こっている可能性も示唆された。

(2) ヤブレッツボカビ・スパイク

夙川では約6年間の現存量調査を行った。ラビリンチュラ類の中でもヤブレッツボカビ類について、春から夏にかけて、1~2回ほどの急激な増減が繰り返し観察された。予備的な調査から、三重県英虞湾でも同様の増減が観察されていたこともあって、この現象が一般的なものであると判断されたため、「ヤブレッツボカビ・スパイク」と名付けた。このスパイクは、クロロフィル量によって測定された植物プランクトンの増減の時期とは重なりなどの関連性は見受けられなかった。むしろ、水温の上昇や塩分の低下などが関連しているように見受けられた。すなわち、降雨などによって河川水に運ばれた陸源の有機物

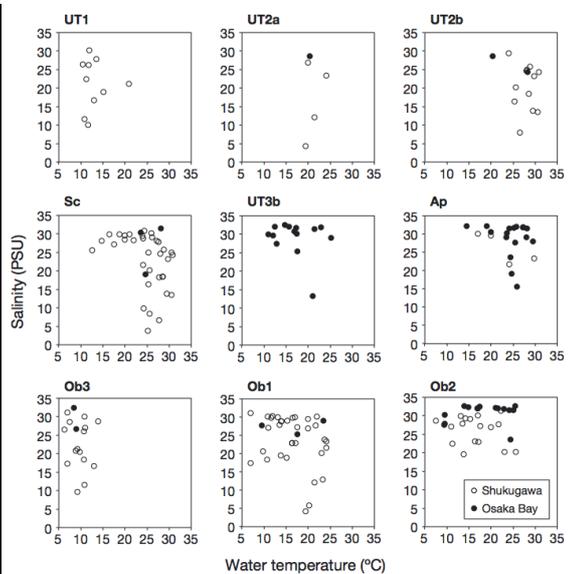


図3 各主要系統群の分離された環境の塩分と水温

が供給され、水温の情報によって、ヤブレッツボカビ類の増殖が促されたと予想された。

(3) バイオマス

夙川河口におけるスパイク時を除いたラビリンチュラ類の炭素量バイオマスの平均値は、バクテリアの炭素量バイオマスの1.59%であった。しかしながら、バクテリアに比べて、真核生物のラビリンチュラ類の細胞サイズは顕著に大きく、食物連鎖においては、少なくとも1段階上位の捕食者に消費されることが予想される。よって、育むことができる動物プランクトンの量として比較すると、15.9%ということになるため、ラビリンチュラ類の生態系への影響力は、無視できるものではないことが考えられた。さらに、スパイク時のラビリンチュラ類のバイオマスは、バクテリアの4.64~79.57%に及んでおり、育むことのできる動物プランクトンの量としては、46.4~795.7%にもなり、これまでの微生物ループの概念にも影響するレベルであった。

(4) ラビリンチュラ類の栄養源

ヤブレッツボカビ類の現存量に対して、水温、塩分、クロロフィル量、POC、DOCなどの相関を調査した。バクテリアの現存量は、従来の知見通り、クロロフィル量との相関が観測され、バクテリアが植物プランクトンからの有機物を栄養源にしていることが示された。一方、ラビリンチュラ類については、夙川河口ではクロロフィル量とは相関がなく、高等植物を由来とすると思われる陸源のデトリスを栄養源としていることが示唆された。しかしながら、大阪湾では、クロロフィル量との弱い相関がみられるため、植物プランク

トン由来とすると思われる有機物を栄養源としている可能性が考えられた。

以上のことから、ラビリンチュラ類は、これまででは、分解者として、ひとくりにされてきたが、本研究を通して、多くの系統群が環境条件によって、遷移し、棲み分けをしながら、様々な栄養源を対象として栄養摂取をしている非常に複雑で広範囲な生態的地位をもっていることが示唆された。

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 5 件)

Ueda M, Nomura Y, Doi K, Nakajima M, Honda D. Seasonal dynamics of culturable thraustochytrids in estuarine and coastal waters (Labyrinthulomycetes, stramenopiles). Aquatic Microbial Ecology 74 (2015) 187-204.

Nakazawa A, Kokubun Y, Matsuura H, Yonezawa N, Kose R, Yoshida M, Tanabe Y, Kusuda E, Thang DV, Ueda M, Honda D. Mahakhant A, Kaya K, Watanabe MM. TLC screening of thraustochytrid strains for squalene production. Journal of Applied Phycology 26 (2014): 29-41

〔学会発表〕(計 20 件)

上田真由美, 土井耕作, 中嶋昌紀, 本多大輔, 沿岸域の継続的な定点調査による菌様原生生物ラビリンチュラ類の生態学的調査, 2014.10.24, 日本微生物生態学会, 浜松市, 静岡県

Ueda M, Doi K, Nakajima M, Honda D. Ecological study of fungoid protists, thraustochytrids (Labyrinthulomycetes, Stramenopiles). 2014.5.21, Joint Aquatic Science Meeting (Oregon, USA).

上田真由美, 野村友佳, 土井耕作, 柿本結生, 中嶋昌紀, 本多大輔, ラビリンチュラ類の定点調査から明らかになった系統群ごとの季節的消長と海洋生態系への影響, 2014.3.22, 日本藻類学会, 福岡市, 福岡県

〔図書〕(計 2 件)

本多大輔 (分担執筆), 共立出版株式会社, 菌類の生物学, 2014, 504 (122-130)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

Laby Base

<http://syst.bio.konan-u.ac.jp/labybase/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

本多 大輔 (HONDA, Daiske)

甲南大学 理工学部 教授

研究者番号: 30322572

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし