

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 18 日現在

機関番号：23401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23780201

研究課題名(和文) 日本海における陸源有機物分解者「ラビリンチュラ類」の分布・多様性の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the distribution and diversity of eukaryotic decomposer thraustochytrids, in Japan Sea

研究代表者

高尾 祥丈 (Takao, Yoshitake)

福井県立大学・海洋生物資源学部・講師

研究者番号：00511304

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、日本海における対馬暖流の流下による水塊構造の変化と、有機物およびその分解者であるラビリンチュラ類の分布および多様性との関係を、日本海広域調査と定点観測によって調査した。その結果、ラビリンチュラ類は日本海全域に分布し、対馬暖流の流下状況に伴って、海域ごとに大きく異なる分布傾向を示すことが明らかとなった。また、春季の対馬暖流由来水塊の移動は有機物の輸送よりも、河川水から豊富な有機物が供給される沿岸域への生物種の供給源として重要な役割を果たしていると考えられた。

研究成果の概要(英文)：I investigated the relationships between changes of water mass structure derived from flowing down of the Tsushima warm current and the distribution and diversity of eukaryotic decomposer thraustochytrids, in Japan Sea. It was revealed that thraustochytrids inhabited throughout the Japan Sea and their abundance and distribution patterns were different every sea area. Moreover, it was suggested that the spring flow down of the Tsushima warm current would be important as a supplier of microorganisms to coastal ecosystems rather than transportation of organic matters.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：水産学・水産学一般

キーワード：ラビリンチュラ類 日本海 対馬暖流 分解者

1. 研究開始当初の背景

日本海は植物プランクトンによる基礎生物生産が低い海域であるが、水産資源の豊かな海域として知られている。このことから、光合成による生物生産を補う生物生産機構が存在すると考えられる。具体的には陸源有機物分解を起点とする微生物ループである。一般に微生物ループ理論において起点となる有機物は、植物プランクトンから放出される溶存態有機物であり、植物プランクトンの活動の低い日本海では理論通りのシステムが機能しているとは考え難い。そこで注目されるのが「陸源有機物」である。

日本海は、ユーラシア大陸と日本列島に囲まれた閉鎖的な海域であり、流入する多くの河川からの物質供給の影響が強い。一方、外海から唯一流入する対馬暖流には大量の長江由来の河川水が含まれている事が近年明らかとなっている。これらの水塊に含まれる陸源有機物は貴重な有機物源となっていると予想されるが、その性質や有機物の質の違いが、低次生産に与える影響については全く明らかになっていない。

一方、近年陸源有機物の分解者として注目されているのが「ラビリンチュラ類」である。本生物群は、沿岸域において腐食性または寄生性生物として普遍的に分離される無色真核微生物である。陸源有機物分解活性、生息域の広さ、バイオマスの高さなどから、海洋において陸上生態系の「カビ」のような役割を果たす生物群であるといえる。

申請者はこれまで、本生物群が日本海沿岸において生態系の重要な構成要素であること、環境や供給される栄養物質の違いによって、それに適した系統群が分解者としての役割を果たしている事を明らかにしてきた。

2. 研究の目的

上述のような背景のもと、陸源有機物分解型微生物ループが発達していると予想される日本海において、水塊構造の変化と有機物分解者の分布・多様性との関係を解明することは、その低次生産システムを理解する上で必須であり、学術的な観点のみならず、水産資源の管理保全の観点からも重要な研究課題であると考えた。そこで、本研究では日本海における有機物分解者「ラビリンチュラ類」の分布・多様性を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、時間軸を固定した調査と、観測地点を固定した調査によってラビリンチュラ類の分布と水塊構造との関係を明らかにすることを試みた。

(1) 物理データおよびサンプル収集

時間軸を固定した調査では、北海道大学練習船おしよる丸第229次航海に乗船し、対馬暖流流下方向にあたる、対馬海峡、若狭沖、秋田沖の各海域の複数地点各水深において物理化学項目データおよび、ラビリンチュラ類お

よび細菌類の現存量・多様性解析用サンプルを収集し、調査時期における水塊分布と有機物分解者の現存量・優占群の分布の解明を試みた。一方、観測地点を固定した調査では、若狭湾に観測地点を設け、毎月1回、同様のデータを収集し（ラビリンチュラ類の現存量は松花粉MPN法で計測）、対馬暖流水塊到達前・後における水質の変化とラビリンチュラ類の現存量・多様性の変化について解明を試みた。

(2) 現存量および多様性解析

収集したサンプルを用いて、細菌数をDAPI染色法で、ラビリンチュラ類はアクリフラビン染色法によって計数した。また、サンプルから、松花粉ベイト法によりラビリンチュラ類の分離を行い、分子同定を行った。また、フィルター濾過したサンプルからの18SrDNAを用いた多様性解析を行うため、各系統群特異的なプライマーセットの開発、DNA抽出法の最適化を行った。

4. 研究成果

(1) 時間軸を固定した調査

2011年6月に実施された北海道大学練習船おしよる丸第229次航海において日本海における物理環境および、ラビリンチュラ類・細菌類の現存量調査を実施した。

① 水塊分布

2011年6月時点では、対馬暖流由来の高温・高塩分水塊は若狭沖までしか到達しておらず、秋田沖から能登半島にかけては未だ冷水塊が存在しており、対馬海峡には大型の低気圧発生により低塩分水塊が存在していた。また、長江由来の低塩分水を含む水塊は未だ到達していなかった(図1)。

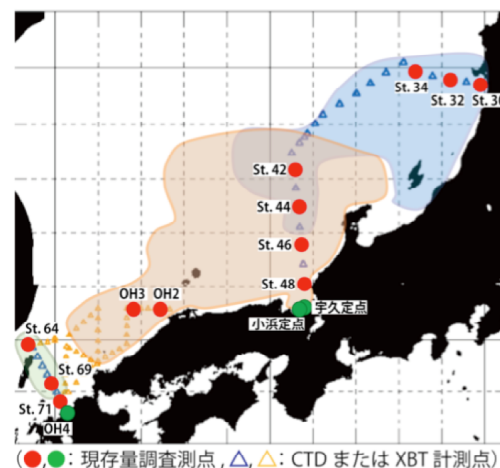


図1. 水塊分布状況

秋田沖では鉛直混合が起こっており、典型的な春季ブルームが形成されていた。また、岸よりの測点表層に陸水由来の懸濁態有機物が豊富な低塩分水が存在した(図2a)。

若狭沖では、岸寄りに対馬暖流由来と考えられる高温・高塩分水が存在し、表層は沖合まで高温水が覆っていた。また、沖合には冷水渦が存在し、その直上でブルームが発生し

ていた (図 2b)。

懸濁態有機物量は秋田沿岸測点を除いて日本海全域で低く、溶存態有機物はクロロフィルピーク層よりも表層で高い値を示した。

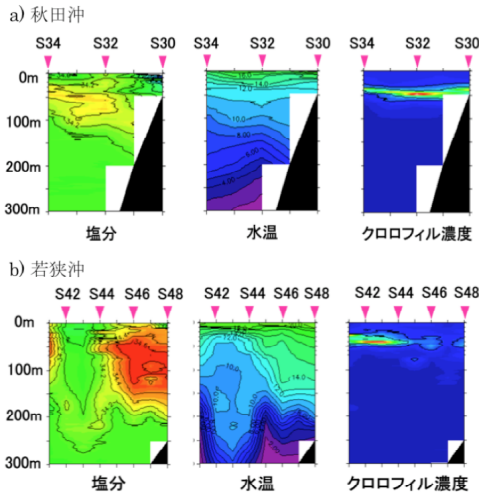


図2. 各海域の断面図

②ラビリンチュラ類および細菌類の現存量分布

ラビリンチュラ類は日本海全域で平均 1.12×10^2 cells / ml で存在し、特に若狭湾から島根沖の高温・高塩分水塊および博多湾において多く、表層により多く分布する傾向が見られた。また、秋田沖および対馬海峡の1測点ではクロロフィルピーク層にも同程度存在した (図 3a)。一方、細菌類は秋田沖および博多港内で多く、表層とクロロフィルピーク層での現存量に違いは見られなかった (図 3b)。ラビリンチュラ類と細菌類の分布傾向は大きく異なっており、分解者としての役割の違いが反映されていると考えられた。

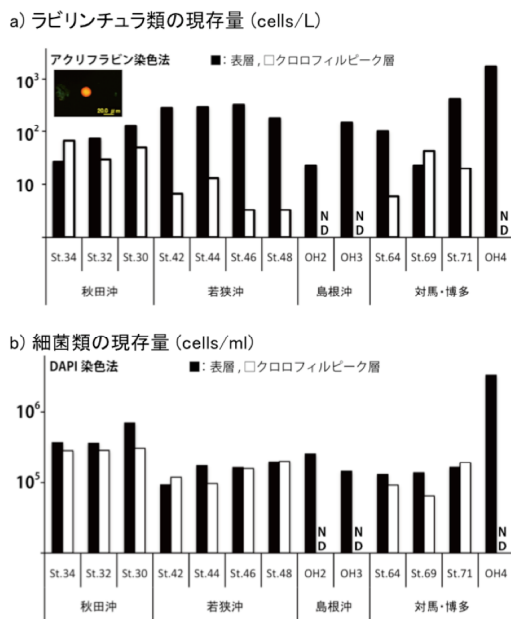


図3. ラビリンチュラ類および細菌類の現存量分布

(2) 観測地点を固定した調査

若狭湾内に設けた調査定点において調査を実施した。日本海区水産研究所の海況情報と定点における観測から、若狭湾には、例年4月から5月にかけて対馬暖流由来の暖水塊が到達していることが明らかとなった。一方、8月頃に到達する長江由来の低塩分水塊の到達は、本研究では捉えることが出来なかった。これは、定点が予想以上に陸域から流入する河川水の影響を受けた為と考えられる。

一方、ラビリンチュラ類の現存量は毎年、4月または5月から検出されはじめ、9月にピークを迎えた後、11月以降は検出限界以下となることが明らかとなった (図 4)。



図4. 若狭湾定点におけるラビリンチュラ類の動態

(3) 多様性解析

①分離株

時間軸を固定した調査において日本海各地から31株の分離に成功した。これらについて18SrDNAを用いた分子同定を行ったところ、島根沖から若狭湾にかけて存在した暖水塊からは *Thraustochytrium* 属 HK8 系統群のみが、対馬海況および博多湾からは *Ulkenia* 属、*Schizochytrium* 属のみが分離された (図 5)。

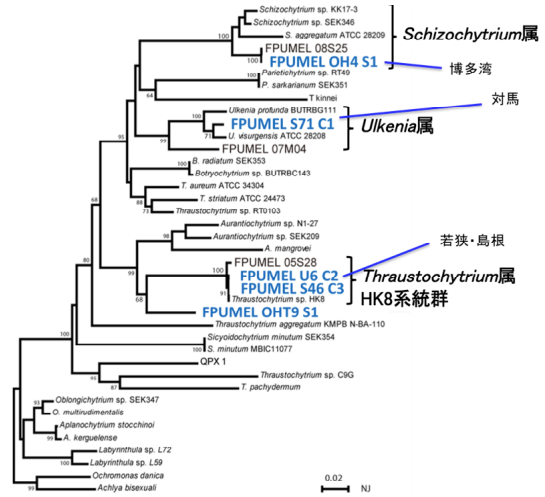


図5. 分離株の系統解析結果

分離株の性状試験 (増殖生理) 試験の結果から、*Thraustochytrium* 属 HK8 系統群は高温・高塩分を至適としており、特に塩分濃度の低下によって著しく増殖が阻害されることが明らかとなった。さらに、本系統群は若狭湾において春季に優先する系統群であることが既に明らかになっており、上述の暖水塊の到達と合わせて考えると、対馬暖流により輸送・移入している可能性が示唆された。一方、*Ulkenia* 属および *Schizochytrium* 属の分離株は、低塩分条件でも良く増殖すること

が明らかとなり、これらは塩分濃度の変化の大きいより沿岸に適応した系統群であると考えられる。対馬海峡および博多湾調査時は大型低気圧の発生により当該海域には低塩分水界が存在したことが、これらの系統群の優占の背景にあると考えられた。

②培養法によらない多様性解析

本研究では、サンプルをフィルター濾過し、核酸抽を行って、培養法によらない多様性解析も同時に試みることにした。ラビリンチュラ類は高レベルの巨大な生物群のため、系統群毎に特異的プライマーの設計を行い、培養株由来のDNAを用いて、増幅条件の最適化を行い、成功した。しかし、濾過サンプルからの抽出DNAを用いた増幅では、うまくPCR増幅させることが出来なかった。現在、抽出法の再検討を行い、試行錯誤をしながら方法の最適化を継続中である。

(4)総括

本研究では、長江由来の低塩分水・陸源有機物を含む水塊は、とらえることが出来なかったが、対馬暖流の流下に伴って、その水塊構造が大きく変わることが明らかとなった。また、春季の日本海では全域で有機物量が少なく、その供給源はおもに陸域からの河川水の流入と季節的な鉛直混合や冷水渦による植物プランクトンのブルームであることが明らかとなった。さらに、陸域からの懸濁態有機物の供給は沿岸域に強い影響をもたらすものの、その影響は沖合までは達していないことも明らかとなった。これらのことから、春季の対馬暖流の流下は光合成以外の生物生産にあまり大きく寄与していないと予想される。

一方、本研究で実施した調査によりラビリンチュラ類は日本海全域に広く分布し、水塊毎に異なる分布を持つことが明らかとなった。また、同じ水塊中でも、ラビリンチュラ類がクロロフィルピーク層よりも、表層に多く分布するのに対して、細菌類はどちらの環境にも同程度分布しており、両者の分解者としての役割がことなっていることが示唆された。

また、若狭湾定点において、例年、対馬暖流由来と見られる暖水塊の到達時期にラビリンチュラ類が検出し始めることが確認された。さらに、春季にのみ優先するラビリンチュラ系統群が対馬暖流由来の高温・高塩分水塊から頻りに分離される系統群と一致すること、また、その増殖生理が高温・高塩分を至適としていることから、本系統群が対馬暖流由来の水塊から供給されていることが強く示唆された。

以上のことから、少なくとも春季の対馬暖流由来水塊の移動は有機物の輸送よりも、河川などから有機物が豊富に供給される沿岸域への生物種の供給源として重要な役割を果たしていることと結論づけた。

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 0 件)

[学会発表] (計 2 件)

①高尾 祥丈・北川 雅士・山本 弦喜・稲垣 雅衣・高橋 竜太・兼田 淳史

対馬暖流域におけるラビリンチュラ類の現存量分布 札幌市, 研究集会「宗谷暖流をはじめとした対馬暖流系の駆動メカニズム」

②高尾 祥丈・北川 雅士・山本 弦喜・稲垣 雅衣・高橋 竜太・兼田 淳史

日本海対馬暖流域におけるラビリンチュラ類の現存量分布, 船橋市, 日本藻類学会 2014.3

[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

高尾 祥丈 (TAKAO, Yoshitake)
福井県立大学 海洋生物資源学部・講師
研究者番号: 00511304

(2)研究分担者

()

研究者番号:

(3)連携研究者

()

研究者番号: