

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 13 日現在

機関番号：82626

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25340080

研究課題名(和文) 共存微生物由来物質の摂取による海藻代謝変動の解明とその水圏環境浄化への利用の研究

研究課題名(英文) The identification of epiphytic bacteria on seaweed and effects of microbial products on algal growth

研究代表者

垣田 浩孝 (KAKITA, HIROTAKA)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・健康工学研究部門・主任研究員

研究者番号：40356754

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：単藻培養株まで純化したオゴノリ科海藻の付着微生物優勢種を遺伝子学的分類によりFlavobacteriaceae科であることを明らかにした。Flavobacteriaceaeはオーキシン的一种であるIndole-3-acetic acid (IAA)を生産することが知られている。そこでIAA添加実験を行った。微生物産生物質IAAが海藻湿重量増加及び海藻成分組成に影響することを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：The predominant bacterium obtained from the unialgal culture strain of the red alga *Gracilariopsis chorda* was suggested to be an undescribed taxon assigned to the family Flavobacteriaceae based on the 16S ribosomal RNA gene sequences. On the other hand, the results of morphological and phenotypic classification suggest that the predominant bacteria may belong to the family Flavobacteriaceae. Both results of morphological and phenotypic classification and genetic assay were similar. Algal culture experiment with medium containing indole-3-acetic acid (IAA) was carried out, because some Flavobacteriaceae bacteria are known to produce an auxin, IAA. A simple rapid technique in normal phase partition chromatography for monosaccharide and disaccharide analysis in edible seaweeds was developed. Algal components were measured by HPLC, GC-MS, and LC-MS. A bacterial product, IAA accelerated algal growth rate, and changed algal amino acid and saccharide compositions.

研究分野：応用藻類学

キーワード：海藻 水圏環境浄化 海洋資源 植物

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 魚類養殖排水は重大な環境負荷の一つである。魚類養殖場の窒素・リンの浄化技術としては好気性微生物、嫌気性微生物や微細藻類が検討されてきたが、これらの生物に共通していることは窒素・リンの吸収速度は速いが環境への再転換速度も速いことである。一方大型海藻による窒素・リン除去量は海洋学的見地からは少ない。オゴノリ科海藻 1 kg の硝酸態窒素に対する日最大負荷許容量は 0.12 g 程度である。しかし富栄養化海水中の窒素・リンを大型海藻で吸収し、増殖した海藻を海から陸上に上げることで水圏の栄養塩を陸上に長時間隔離できる。

(2) そこで海藻を用いた水圏環境浄化の研究を開始した。提案者らは環境浄化生物としての栄養塩吸収能力が高く、藻体が丈夫で大量培養でき、栄養成長して成熟せず、免疫増強成分等の有用成分を生産する有用な非成熟性オゴノリ科海藻を見出した。実際の養殖場での魚類の餌の摂取・排泄及び海藻増殖に関する窒素・リン物質収支実験により非成熟性オゴノリ科海藻は有望な環境浄化生物であること、水圏環境浄化技術の効率向上に生育時期のそろった海藻が大量に必要であることが明らかになった。

(3) 一方、海藻は増殖にビタミンや植物ホルモンを必要とし、水圏でこれらの増殖因子の有力な生産者は微生物であり、藻体表面あるいは近傍に分布する微生物が海藻成長へ影響を及ぼしている。そこで微生物あるいは微生物由来物質により海藻を大量供給する技術の研究に着手し、天然のオゴノリ科海藻に優勢に付着している微生物を明らかにした。

### 2. 研究の目的

(1) すでに環境浄化生物として有用な非成熟性オゴノリ科海藻（紅藻類大型海藻）を見出し、天然のオゴノリ科海藻に優勢に付着している微生物の存在を明らかにした。

(2) 本研究では天然のオゴノリ科海藻を滅菌した人工海水中で長期間培養をした藻体に関して、付着微生物相の変動を明らかにすること、単藻培養株まで純化させた藻体での付着微生物の優勢種を明らかにすること、海藻付着共存微生物由来の物質の摂取あるいは海藻付着共存微生物との共存による海藻代謝変動（一次代謝物質；成長や繁殖に直接関わる物質）の有無を調べ、海藻の成長速度上昇や栄養塩吸収増大等への応用に繋げることを目的とした。

### 3. 研究の方法

(1) 天然海藻の短期培養株及び長期保存培養株の調製：プロバゾリの濃縮補助栄養液はグリセロリン酸ナトリウムの代わりにリン酸水素ナトリウムを用い、ビタミン類は添加しなかった。人工海水のレシピは Lyman & Fleming(1940)を基準とした。人工海水は塩化ナトリウム、塩化マグネシウム、硫酸ナト

リウム、塩化カルシウム、塩化カリウム、炭酸水素ナトリウム、臭化カリウム、塩化ストロンチウムを添加して調製した。pH は pH7.8 に調整した。滅菌海水での海藻連続培養のための培地は、人工海水 100mL に対してプロバゾリの濃縮補助栄養液 20mL を添加して調製した。天然海域で採取した海藻は 8 日間、滅菌海水中で培養した。20g の湿重量の天然海藻を人工海水 25L が入ったタンクに植付け、18、14 時間明期 / 10 時間暗期の光周期で、 $60\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  の光強度で培養した。8 日間の連続培養の後、一部の藻体を回収し、短期培養海藻試料とし付着微生物の検索を行った。残りの培養藻体は先端断片の調製に用いた。培養藻体を滅菌したナイフで長さ 5mm の先端断片を切り出した。保存培養は予め 800mL の培地が入った 1000mL 丸型平底フラスコ 6 個にそれぞれ 60 個の先端断片を植え付けた。培養は 18、14 時間明期 / 10 時間暗期の光周期で、 $40\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  の光強度でエアレーションしながら実施した。培地交換は 2 週間ごとに行なった。1000mL フラスコあたりの培養海藻の量が 0.7g に達したら、0.05g まで間引きして培養を継続した。長期培養の終了後、培養海藻は回収し、保存培養海藻試料として付着微生物の検索を行った。

(2) 付着微生物の検索：天然海藻は滅菌海水で洗浄し、環境海水由来の微生物を除去した。湿重量 5g の藻体とあらかじめ滅菌した 2.5% 塩化ナトリウム水溶液 45mL を滅菌したストマッカー袋に入れ、1 分間ストマッキングした。ストマッキングした溶液を滅菌した 2.5% 塩化ナトリウム水溶液で適宜連続 10 倍希釈した。希釈試料 0.1mL を寒天培地に塗抹し、20 でインキュベートした。Marine agar (MB2216 agar) を寒天培地として使用した。14 日間のインキュベート後、10 個から 100 個のコロニーがでているプレートを選択し、微生物数を計測した。コロニーは形、色、大きさ、ハローの有無等で同種のコロニーかどうかを判断した。同種のコロニーからそれぞれ 1 個のコロニーを単離し、別の Marine agar 培地に植え付けた。グラム染色、運動性、細胞形状、鞭毛染色、色素生成、オキシダーゼ活性、ゼラチン分解活性、DNA 分解活性、グルコースの酸化 - 発酵試験、塩要求性等の微生物の性状を調べ、絵面ら (1988) のスキームに従って微生物の同定を行った。

(3) 単藻培養株の作成：天然海域で採取した成熟オゴノリ科海藻を 3cm の長さに切断し、滅菌海水の入ったシャーレに写し、胞子を放出させた。胞子を分離し滅菌海水の入ったスクリー管に植え付けた。18、14 時間明期 / 10 時間暗期の光周期で、 $40\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  の光強度で静置培養した。静置培養後、オゴノリ科海藻の直立体の赤色色素が鮮やかで、溶液中に不溶物が生じていないスクリー管を選抜した。選抜したスクリー管の底から直立体を滅菌したピンセットではがし、滅菌海水 800mL の入った 1000mL 丸型平底フラスコ

中で 18、14 時間明期 / 10 時間暗期の光周期で、 $60\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  の光強度でエアレーションしながら培養を行った。培養により紅藻類オゴノリ科海藻の単藻培養株を得た。

(4) 単藻培養株の付着微生物の単離：単藻培養株 5g とあらかじめ滅菌した 2.5% 塩化ナトリウム水溶液 45mL を滅菌したストマッカー袋に入れ、1 分間ストマッキングした。ストマッキングした溶液を滅菌した 2.5% 塩化ナトリウム水溶液で適宜連続 10 倍希釈した。希釈試料 0.1mL を寒天培地に塗抹し、20 でインキュベートした。Marine agar (MB2216 agar) を寒天培地として使用した。14 日間のインキュベート後、10 個から 100 個のコロニーがでていたプレートを選択し、微生物数を計測した。コロニーは形、色、大きさ、ハローの有無等で同種のコロニーかどうかを判断した。同種のコロニーからそれぞれ 1 個のコロニーを単離し、別の Marine agar 培地に植え付けた。グラム染色、運動性、細胞形状、鞭毛染色、色素生成、オキシダーゼ活性、ゼラチン分解活性、DNA 分解活性、グルコースの酸化 - 発酵試験、塩要求性等の微生物の性状を調べ、分離菌株を得た。(2) の項に記載したような生理性状試験を行い、絵面ら (1988) のスキームに従って微生物の同定を行った。

(5) 単藻培養株由来分離微生物の 16S rRNA 部分配列分析による遺伝子学的同定：8 種類の分離菌それぞれからゲノム DNA を抽出した。遠心後、上清 1mL を PCR 増幅用のテンプレートとして使用した。分離菌 UGC1-1、UGC1-2、UGC1-3、UGC1-4、UGC1-5、UGC1-6、UGC1-7、UGC1-8 の部分 16S rRNA 遺伝子は MicroSEQ 500 16S rDNA PCR kit で増幅した。PCR 増幅産物は自動 DNA シーケンサーで配列分析した。単離微生物の 16S rRNA 配列は BLASTN アルゴリズムを用いて公的データベースから入手できる配列と比較した。8 種類の単離微生物の 16S rRNA 部分配列は DDBJ に登録した。

(6) 海藻由来単糖及び二糖の迅速分析法の検討：海藻の単糖及び二糖を迅速に分析するための高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 法を検討した。単糖及び二糖分析における糖分離能、糖溶出ピーク形状、分析の迅速性、糖の回収率、検出感度について、2 種類の順相クロマトグラフィー用充填剤、すなわちアミノシリカカラム (TSKgel NH<sub>2</sub>-100) 及びアミドシリカカラム (TSKgel Amide-80) を比較した。移動相はアセトニトリル/水の系を使用し、検出は示差屈折計で行った。標準糖としてリボース、アラビノース、キシロース、リキソース、ラムノース、フコース、グルコース、マンノース、ガラクトース、フルクトース、シュークロース、マルトースを用いた。

(7) 微生物由来物質の添加の有無による海藻成長量及び海藻成分の比較；Flavobacteriaceae 科の微生物の多くは色素細菌でオーキシン [ indole-3-acetic acid (IAA) 等 ] を生産することが知られている。

そこで海藻成長及び海藻成分への IAA の影響を評価した。Indole-3-acetic acid の検出には HPLC を用いた。海藻代謝変動等の海藻成分に影響を与える諸要因の一つとして生物学的要因 ( 個体差 ) が挙げられる。個体差の最小化のために、非成熟性オゴノリ科海藻の単藻培養株の成長端を試料として用いた。同株は成熟せずに栄養成長する一種のクローン海藻であるので、個体差の最小化に適している。培養後の海藻細胞から海藻成分を抽出し測定に供した。測定には HPLC、GC-MS、LC-MS を用いた。また培養後の海藻湿重量を測定し、海藻成長率を IAA の有無で比較し、IAA の海藻成長促進効果を評価した。

#### 4. 研究成果

(1) 天然海藻、短期培養海藻及び長期培養海藻における海藻付着微生物の生理学的及び性状による同定：環境海水及び天然海藻の介在微生物を図 1 に示す。

Epiphytic bacterial flora in seawater and on <i>G. chorda</i> .		
	Bacteria	Viable counts
Seawater (March)	<i>Moraxella</i> sp. <b>Predominant</b>	$1.1 \times 10^5$ (92%)
	<i>Vibrio</i> sp.	$6.0 \times 10^3$ ( 5.0%)
	<i>Vibrio</i> sp.	$4.0 \times 10^3$ ( 3.3%)
Natural algae (March)	<i>Vibrio</i> sp. <b>Predominant</b>	$3.0 \times 10^6$ (46%)
	Other 6 type bacteria	$3.5 \times 10^6$ (54%)
Natural algae (June)	<i>Moraxella</i> sp. <b>Predominant</b>	$5.0 \times 10^5$ (39%)
	<i>Vibrio</i> sp.	$4.6 \times 10^5$ (35%)
	Other 6 type bacteria	$3.4 \times 10^5$ (26%)

We infer that *G. chorda* was difficult to remove the bacteria originating from the environmental seawater (e.g. *Vibrio* sp.).

図 1 環境海水及び天然海藻の介在微生物

環境海水では、グラム陰性、非発酵型、塩要求性微生物が優勢であった。*Moraxella* sp. (92%) や *Vibrio* sp. (8.3%) が優勢であった。3 月採取の天然海藻に付着している微生物では、*Vibrio* sp. (46%) が優勢であった。6 月採取の天然海藻に付着している微生物では *Moraxella* sp. (39%) と *Vibrio* sp. (35%) が優勢であった。

培養海藻の介在微生物を図 2 に示す。

Epiphytic bacterial flora on the cultured <i>G. chorda</i> .		
	Bacteria	Viable counts
Cultured algae (March)	<i>Flavobacterium - Cytophaga</i> sp.	$2.0 \times 10^7$ (37%)
	Other 7 types bacteria	$3.1 \times 10^7$ (57%)
	<i>Vibrio</i> sp.	$3.0 \times 10^6$ ( 5.6%)
Cultured algae (June)	<i>Flavobacterium - Cytophaga</i> sp.	$1.0 \times 10^7$ (29%)
	Other 8 types bacteria	$2.2 \times 10^7$ (65%)
	<i>Vibrio</i> sp.	$2.0 \times 10^6$ ( 5.9%)
Stock algae	<i>Flavobacterium - Cytophaga</i> sp.	$1.1 \times 10^7$ (40.7%)
	Other 4 types bacteria	$1.6 \times 10^7$ (59.3%)
	<i>Vibrio</i> sp.	$<1.0 \times 10^2$ (<0.1%)

*Flavobacterium - Cytophaga* sp. seems to be an inhabitant.

図 2 培養海藻の付着微生物

3月採取の海藻を8日間無菌海水中で培養を行って得た短期培養海藻では *Flavobacterium* sp.-*Cytophaga* sp. (37%) が優勢になり、*Vibrio* sp.の割合は5.6%まで低下した。6月採取の海藻を8日間無菌海水中で培養を行って得た短期培養海藻でも *Flavobacterium* sp.-*Cytophaga* sp. (29%) が優勢になり、*Vibrio* sp.の割合は5.9%まで低下した。一方、長期保存培養海藻の付着微生物は *Flavobacterium* sp.-*Cytophaga* sp.が微生物全体の中で40%以上を占め、優勢であった。*Vibrio* sp.の割合は検出限界以下 ( $<1 \times 10^7$  cfu g<sup>-1</sup>)まで低下した。以上のことから紅藻類オゴノリ科海藻に優先的に付着している微生物は *Flavobacterium* sp.-*Cytophaga* sp.であり、*Vibrio* sp.は環境海水等からの混入であると考えられた。

(2) 紅藻類オゴノリ科海藻の単藻培養株から得られた単離微生物の遺伝子学的同定：単離微生物8株の遺伝子学的同定結果を図3、図4、図5に示す。

単離微生物の相同性検索結果1 (16S rRNA gene sequence)			
Isolate	Bacterial strain	相同性	形態・生理学的同定
GC1 /472bp	<i>Flavobacteriaceae, Ascidianbacter aurantiacus</i> 051JR46-1 [AB377123]	93.2%	<i>Flavobacterium</i> sp. - <i>Cytophaga</i> sp.
	<i>Flavobacteriaceae, Croceitalea eckloniae</i> JCM13827 <sup>T</sup> [DQ191183]	93.1%	
GC2 /438bp	<i>Alphaproteobacteria, Rhodobacterales, Rhodobacteriaceae, Ruegeria halocynthiae</i> KCTC23463 <sup>T</sup> [HQ852038]	99.5%	<i>Moraxella</i> sp. ( <i>Gamma</i> proteobacteria, Pseudomonadales, Moraxellaceae)
	<i>Ruegeria conchae</i> JCM17315 <sup>T</sup> [HQ171439]	98.8%	
GC3 /428bp	<i>Alphaproteobacteria, Rhodobacterales, Rhodobacteriaceae, Roseovarius sediminitioris</i> KCTC23959 <sup>T</sup> [JQ739459]	97.2%	<i>Moraxella</i> sp. ( <i>Gamma</i> proteobacteria, Pseudomonadales, Moraxellaceae)
	<i>Rhodobacteriaceae, Oceanobacter insulare</i> NBRC102018 [AB681665]	97.2%	

図3 単離した海藻付着微生物の同定1

単離微生物の相同性検索結果2 (16S rRNA gene sequence)			
Isolate	Bacterial strain	相同性	形態・生理学的同定
GC4 /427bp	<i>Alphaproteobacteria, Rhodobacterales, Rhodobacteriaceae, Litoreibacter janthinus</i> JCM16494 <sup>T</sup> [AB518880]	99.3%	<i>Moraxella</i> sp. ( <i>Gamma</i> proteobacteria, Pseudomonadales, Moraxellaceae)
	<i>Litoreibacter albidus</i> JCM16493 <sup>T</sup> [AB518881]	97.9%	
GC5 /451bp	<i>Flavobacteriaceae, Zobellia russellii</i> KMM3677 <sup>T</sup> [AB121976]	99.8%	<i>Flavobacterium</i> sp. - <i>Cytophaga</i> sp.
	<i>Zobellia amurskyensis</i> KMM3526 <sup>T</sup> [AB121974]	98.2%	
GC6 /463bp	<i>Gamma</i> proteobacteria, <i>Alteromonadales, Alteromonadaceae, Marinobacter salarius</i> JCM19399 <sup>T</sup> [CP0071152]	99.1%	<i>Pseudomonas</i> sp. ( <i>Pseudomonadales, Pseudomonadaceae</i> )
	<i>Marinobacter algicola</i> DSM16394 <sup>T</sup> [AY258110]	98.7%	

図4 単離した海藻付着微生物の同定2

紅藻類オゴノリ科海藻の単藻培養株に対する付着微生物として Marine agar 上で最も生育が多かったのは UGC1-1 であり、Marine agar で生育し、コロニーをつくり得た微生物全体の63%を占めた。UGC1-1株は Marine agar プレートでの14日間のインキュベーション後に、黄色色素生成し、コロニーは丸い形、直径約2mmであった。生理性状の特徴をもと

単離微生物の相同性検索結果3 (16S rRNA gene sequence)			
Isolate	Bacterial strain	相同性	形態・生理学的同定
GC7 /428bp	<i>Gamma</i> proteobacteria, <i>Chromatiales, Granulosicoccaceae, Granulosicoccus antarcticus</i> KCCM42676 <sup>T</sup> [EF495228]	97.9	<i>Alcaligenes</i> sp. ( <i>Beta</i> proteobacteria, Burkholderiales, Alcaligenaceae)
	<i>Granulosicoccus coccoides</i> KMM6014 <sup>T</sup> [FJ535355]	97.9	
GC8 /463bp	<i>Alphaproteobacteria, Rhodobacterales, Rhodobacteriaceae, Labrenzia aggregata</i> ATCC25650 <sup>T</sup> [D88520]	99.8	<i>Alcaligenes</i> sp. ( <i>Beta</i> proteobacteria, Burkholderiales, Alcaligenaceae)
	<i>Labrenzia alba</i> CIP108402 <sup>T</sup> [AJ878875]	98.8	

図5 単離した海藻付着微生物の同定3

にした絵面らの同定スキームによると UGC1-1 株は *Flavobacterium* sp.-*Cytophaga* sp.に分類された。一方、16S rRNA 遺伝子の部分配列による相同性検索の結果、単離微生物 UGC1-1 株は、*Ascidianbacter aurantiacus* (*Flavobacteriaceae, Ascidianbacter*)と最も近縁であった。相同性は93.2%であった。Stackebrandt と Goebel は97.0%の相同性が原核生物の種の輪郭を描くための境界となるべきであると述べている(1994)。その後 Stackebrandt と Ebers により原核生物の種の輪郭を描くためのしきい値が97.0%から98.7%-99.0%に更新された(2006)。UGC1-1 株に対するヌクレオチド相同性値の上位3番目までは、*Ascidianbacter aurantiacus* (相同性93.2%)、*Croceitalea eckloniae* (*Flavobacteriaceae Croceitalea*) (相同性93.1%)、*Muricauda aquimarina* (*Flavobacteriaceae Muricauda*) (相同性92.9%)であった。単離微生物 UGC1-1 株と3種の *Flavobacteriaceae* に属する種との核酸配列の相同性は98.7%未満である。一方、形態学的及び性状による分類と遺伝子学的分類の結果は UGC1-1 株が *Flavobacteriaceae* 科に属している微生物であり、種のレベルで分岐した分類群であることが示唆された。つまり、遺伝子学的分類法により UGC1-1 株は *Flavobacteriaceae* 科に割り当てられる未登録な分類群であることが示唆された。

(3) 海藻由来単糖及び二糖の迅速分析法の検討：移動相中のアセトニトリルの割合が上昇するほど、糖の保持時間は長くなった。単糖のアノマーは TSKgel NH<sub>2</sub>-100 では検出されなかった。水酸基が4つあるペントースの保持時間は水酸基が5つあるヘキソースの保持時間よりも長かった。この理由としては糖分子中の水酸基の数の増加が糖の親水性を上昇させるためであると考えられた。およそその糖保持時間は、デオキシヘキソース < ペントース < ケトヘキソース < アルドヘキソースの順で長くなる傾向があった。TSKgel NH<sub>2</sub>-100 カラムにおいて、検討した移動相の中では80%アセトニトリルを移動相とした場合が糖の分離が最も良好であった。TSKgel

NH<sub>2</sub>-100 カラムで標準糖混合物[ 4 種類の単糖 (ラムノース、アラビノース、フルクトース、グルコース) と 1 種類の二糖 (シュクロース) の混合液 ] の分離が短時間かつ高分解能で達成可能であった。結果の一部を図 6 に示す。

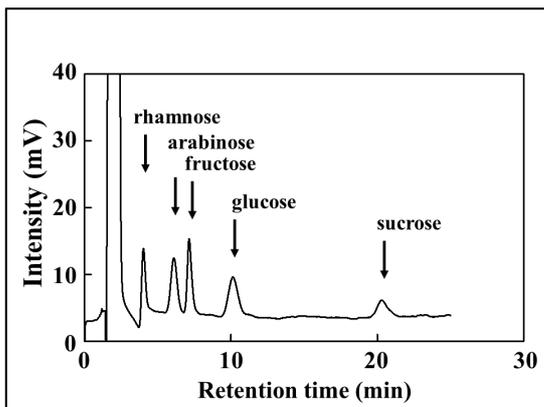


図 6 海藻単糖・二糖の迅速分析法開発

TSKgel Amide-80 では 25 あるいは 40 で分析した場合、還元糖のアノマーピークが観察され、定量分析ができなかった。アノマーピークの高さは 80 では観察されなかった。そこで TSKgel Amide-80 の場合は 80 で使用した。TSKgel NH<sub>2</sub>-100 の場合と同様に、TSKgel Amide-80 でも移動相中のアセトニトリル濃度の上昇に伴い、糖の保持時間が長くなった。TSKgel Amide-80 において、移動相のアセトニトリル濃度が 85% の時が最も糖の分離が良好であったため、85% アセトニトリルを移動相として用いた。糖の分離度とピーク高さが TSKgel NH<sub>2</sub>-100 カラムの方が TSKgel Amide-80 カラムより優れていたため、微生物由来物質 indole-3-acetic acid (IAA) の添加による海藻成分の分析には TSKgel NH<sub>2</sub>-100 を用いることとした。

(4) 微生物由来物質 IAA の海藻成長及び海藻成分への影響；海藻の培地への IAA の添加がある場合の方が IAA 未添加の場合に比較して海藻成長速度が高い結果を得た。結果の一部を図 7 に示す。また IAA を添加して増殖した海藻では栄養塩吸収機能が増加する傾向があった。さらに海藻の培地への IAA の添加は、海藻成分 (糖成分やアミノ酸成分等) 変動を引き起こすことが明らかになった。結果の一部を図 8 に示す。糖成分の中ではシュクロースの増減が目立っていた。

以上の結果から IAA 添加により海藻代謝変動が起こること、培地中の IAA 濃度の制御により海藻成長機能及び栄養塩類吸収機能の向上が達成できる可能性が示唆された。今後 IAA による海藻代謝変動を詳細に調べることにより、IAA 等微生物由来物質の添加により成長が早く、栄養塩吸収機能も高い海藻の調製が可能になり、海藻の栄養塩吸収機能を活用した水圏環境浄化技術の実現可能性が高

くなると考えられる。

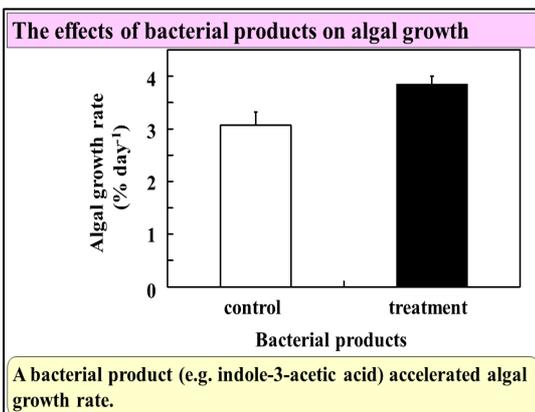


図 7 微生物由来物質による海藻成長促進

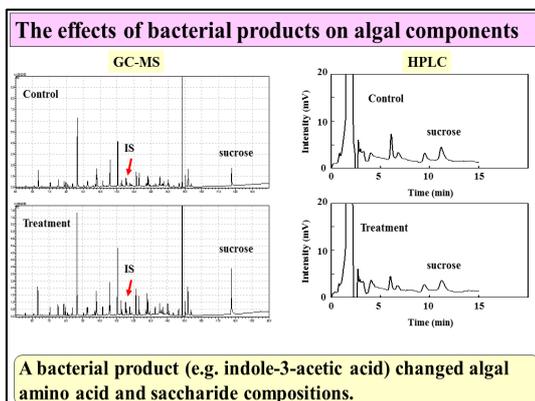


図 8 微生物由来物質添加による海藻成分変化

## 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)

Hiroataka Kakita, Hideki Obika, Normal phase partition chromatography for monosaccharide and disaccharide analysis in three kinds of green laver powder. Algal Resources 査読有り、8 巻、2015 年、113 ~ 120 頁

Hiroataka Kakita, Hideki Obika, Hiroshi Kamishima, Cultivable epiphytic bacteria obtained from the unialgal culture strain of the red alga Gracilariopsis chorda (Holmes) Ohmi collected from the estuary of Katsura River in Tokushima Prefecture in southwest Japan. Algal Resources 査読有り、7 巻、2014 年、95 ~ 106 頁

Hiroataka Kakita, Hideki Obika, Hiroshi Kamishima, Bacteria attached to the red alga Gracilariopsis chorda

(Holmes) Ohmi. Algal Resources 査読有り、6巻、2013年、73~80頁

〔学会発表〕(計14件)

垣田浩孝、小比賀秀樹、海藻付着微生物の同定及び微生物産生オーキシンの海藻成長への影響、第38回日本分子生物学会、第88回日本生化学会合同大会、2015年12月2日、神戸国際会議場(兵庫県・神戸市)

垣田浩孝、小比賀秀樹、海藻遊離糖の迅速分析、日本農芸化学会2015年度中四国・西日本支部合同大会(中四国支部第43回講演会)、2015年9月18日、愛媛大学(愛媛県・松山市)

Hiroataka Kakita, Hideki Obika, Yoshio Okuyama, Yoshiaki Takahashi, Algal biofilters for purifying fish farm wastewater, Water and Environmental Technology Conference 2015 (WET 2015), 2015年8月5日、日本大学(東京都・千代田区)

垣田浩孝、小比賀秀樹、江口結希、食用藻類由来有用物質の抽出効率の比較、日本農芸化学会中四国支部第42回講演会、2015年6月13日、鳥取大学(鳥取県・鳥取市)

垣田浩孝、海藻レクチンの特徴 - 陸上植物レクチンとの比較 -、第14回日本応用藻類学会大会シンポジウム、2015年5月16日、東京海洋大学(東京都・港区)

垣田浩孝、小比賀秀樹、食用海藻に含まれる単糖及び二糖のHPLCによる分析、2015年度日本農芸化学会大会、2015年3月27日、岡山大学(岡山県・岡山市)

垣田浩孝、小比賀秀樹、上嶋洋、紅藻類オゴノリ科海藻の培養藻体に付着する微生物の特徴、日本農芸化学会中四国支部第41回講演会、2015年1月24日、水産大学校(山口県・下関市)

垣田浩孝、小比賀秀樹、順相クロマトグラフィーによる海藻中の単糖類の分析、日本分析化学会第63回年会、2014年9月19日、広島大学(広島県・東広島市)

Hiroataka Kakita, Hiroshi Kamishima, A mitogenetic polysaccharide hemagglutinin from the red alga *Gracilariopsis chorda* (Holmes) Ohmi. 5<sup>th</sup> Congress of the International Society for Applied Phycology 2014 (ISAP 2014), 2014年6月25日、シドニー(オーストラリア)

Hiroataka Kakita, Hideki Obika, Hiroshi Kamishima, Interaction between the red alga *Gracilariopsis chorda* (Holmes) Ohmi and its environmental microorganisms. 5<sup>th</sup> Congress of the International Society for Applied Phycology 2014 (ISAP 2014), 2014年6月24日、シドニー(オーストラリア)

Hiroataka Kakita, Hideki Obika, Youji Makita, Akinari Sonoda, Properties of calcium alginate gels prepared from various types of algal sodium alginate. 5<sup>th</sup> Congress of the International Society for Applied Phycology 2014 (ISAP 2014), 2014年6月23日、シドニー(オーストラリア)

垣田浩孝、小比賀秀樹、上嶋洋、採取地の異なる紅藻類オゴノリ科海藻の付着微生物の比較、第13回日本応用藻類学会大会、2014年5月31日、東京海洋大学(東京都・港区)

垣田浩孝、小比賀秀樹、上嶋洋、海藻付着微生物数及び菌相の変化、日本農芸化学会中四国支部第38回講演会、2014年1月25日、香川大学(香川県・木田郡)

垣田浩孝、小比賀秀樹、上嶋洋、紅藻類オゴノリ科海藻表層に付着する微生物相の特徴、日本農芸化学会関西・中四国・西日本支部及び日本ビタミン学会近畿・中国四国・九州沖縄地区合同大会(年度合同広島大会)、2013年9月6日、広島県立大学(広島県・広島市)

〔図書〕(計1件)

垣田浩孝 他、シーエムシー出版、機能性糖質素材の開発と食品への応用(井上國世編)、2013年、224~231頁

〔その他〕

ホームページ等

<https://unit.aist.go.jp/hri/group/2015-en-4/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

垣田 浩孝(KAKITA HIROTAKA)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・健康工学研究部門・主任研究員

研究者番号：40356754