

平成 30 年 6 月 14 日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究(C) (特設分野研究)

研究期間：2014～2017

課題番号：26520308

研究課題名(和文) カニ類と微生物の連携的なセルロース分解に着目したマングローブ炭素循環モデル

研究課題名(英文) The model for carbon cycle in the mangrove based on the cooperative degradation of cellulose by the crabs and bacteria

研究代表者

足立 亨介 (ADACHI, KOHSUKE)

高知大学・教育研究部自然科学系農学部門・准教授

研究者番号：00399114

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではマングローブ物質循環の鍵を握る落葉とこれを摂食するカニの関係について考察した。フィールドおよび飼育実験などからカニは落葉の34%を摂食していると算出された。カニ腸内細菌、および生息土壌細菌のメタゲノム解析においては両者ともにcellulose degradationに属する菌が見出された。また両者において還元糖量の換算で数10-約100mg/kg soil/24hのセルロース分解酵素活性が見られた。我々のこれまでの成果を考慮すると、調査フィールド内では落葉中のセルロースの1/3程度はカニの消化液 腸内細菌 土壌細菌の3要素によって分解を受け手入ることが示された。

研究成果の概要(英文)：In this study we investigated the relation between the litter and mangrove crabs which plays crucial roles in mangrove material flow. From the results of litter trap analysis, the behavior observation of the crabs by video camera, and their breeding experiment, it was calculated that 34% of the litter feed the crabs in the experimental field. In the metagenome analysis, proteobacteria was predominant in both intestinal soil bacteria. Some of the OUT was assigned in "cellulose degradation" in the phenotype analysis of metagenassist (<http://www.metagenassist.ca/METAGENassist/faces/Home.jsp>). Cellulose degrading activity was found in the both intestinal soil bacteria of which value was about 10- 100mg/kg soil/24h in Deng 1994 method. Taken together with our previous results, it was indicated that the cellulose in about 1/3 of the litter was sequentially digested by three factors: digestive enzyme, intestinal bacteria and soil bacteria.

研究分野：水圏生物学

キーワード：mangrove mangrove crabs material cycle cellulose degradation intestinal bacteria soil bacteria

1. 研究開始当初の背景

沿岸域の生産性は外洋に比べ21倍に達し、世界の漁獲高の30%を支えるとも推定されている。熱帯・亜熱帯域においてマングローブ生態系は沿岸域を構成する生態系としてとりわけ重要であり、沿岸域へ有機物と栄養塩を供給し、また水産動物の餌場や幼稚仔の成育場として資源の再生産に大きな役割を果たすと考えられている。

陸上の森林生態系に比して、マングローブ炭素循環の過程の特徴を際立たせているのがカニである。オーストラリアを中心に世界各地から報告では、マングローブ落葉の30-70%がカニ(主にベンケイガニ科)によって食べられるとされ、カニ胃内容物の70-90%は落葉で占められている(Hogarth 1999)。しかしながら、これまでの報告ではカニは物理的に落葉を破砕するのみで、その主成分セルロースはカニの腸内細菌、および底質環境の土壤微生物の2要素に化学的に分解を受け、炭素循環に寄与するものと想定されてきた(これはセルロースが動物の内在性消化酵素によって分解されないという常識に縛られていたためである)。これに対し我々は、タイのマングローブ域のカニの肝臓中から内在性のセルラーゼ活性を見出し、カニのつくる内在性消化液によりセルロースをある程度まで分解することを示唆している。この事実よりマングローブの落葉のセルロースは、カニ類の持つ内在性消化液、カニ類の持つ腸内細菌、および土壤微生物の3要素が連携して段階的に低分子化されて分解され、マングローブの炭素循環に寄与しているものと想定することが出来る。また申請者らは上記のカニの採集地で優占種を特定し、全種が強力なエンドグルカナーゼ活性(セルロース分子をランダムに切断する)を有する一方で、グルコシダーゼ活性(2糖を単糖へ切断する)および総セルラーゼ活性(セルロースを単糖まで切断する)には種

間で有意な差異があることを見出している。また、これら優占種の微細生息環境とその底質環境が異なることなども見出している。これらの事実からカニ、その腸内細菌、土壤微生物環境の3要素はセルロース分解過程を担う単一要素としてとらえるのではなく、3要素中での多様性も考慮することがマングローブの炭素循環を理解する上で非常に重要であると考えられる。

2. 研究の目的

本研究ではマングローブの落葉中のセルロースが、カニ、その腸内細菌、土壤微生物の3要素によっていかなる連携を受けて分解されていくのか、各々の要素内の多様性を考慮したうえで、フィールド、飼育実験、および試験管レベルから多角的に評価する。また3要素の対象を優占する数種・いくつかのタイプに絞り込み、各々がセルロース分解にどのように関わり、また相互に連携しているのか検証することが目的とした。

3. 研究の方法

1)カニ腸内細菌・生息土壌のメタゲノム解析
すでに特定しているカニ優占種の腸内細菌および生息環境の土壤微生物につき次世代シーケンサーを用いたメタゲノム解析により菌叢を解明した。

2)カニ腸内細菌・生息土壌のセルロース分解酵素活性

Deng1994の方法に従い、両酵素活性を測定した。

3)カニによる落葉摂食量の測定

リタートラップによる落葉生産量の推定、ビデオカメラによる行動観察、さらにカニの落葉消費実験を行うことによって、それぞれの要素によるセルロースの消費量(分解量)を明らかにした。

4. 研究成果

1) カニ優占種の腸内細菌・生息土壌の菌叢を16SrDNAを基にしたメタゲノム解析にて決

定した。結果、カニ優占種および腸内細菌では各々約 1400、19000 の OTU が推測され両者とも最優占種は proteobacteria 門に属していることが示された。また metagenassist を用いた表現形の解析において cellulose degradation に属する菌が見出された。

2) カニ腸内細菌・生息土壌両者においてセルロース分解酵素活性が見出された。その活性の高さは両者ともに生成した還元糖量の換算で数 10-約 100mg/kg soil/24h であった。

3) ビデオカメラによる観察ではこれまでの目視観察よりも多くの累積出現回数が見られ、より高精度のカニ行動の測定法が確立できた。カニの一日の平均摂餌速度は 0.61mg/m²、フィールドでの平均落葉量は 1.79mg/m² と算出され落葉中の 34%がカニによって摂食されていることが示された。

上記の結果と我々のこれまでの成果からマングローブの炭素循環の鍵を握るといわれる落葉中のセルロースはカニの消化液、腸内細菌、生息土壌の 3 要素によって分解されていることがはじめて示された。この分解過程の有機物（や無機化により生じた栄養塩）は潮汐作用などを受け沿岸部に供給されていると考えられる。今後は 3 要素に含まれるセルロース分解酵素に関わるよりミクロな観点からの詳細な考察と、生じた有機物の運命に関するマクロな考察が求められる。

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 1 件)

Cellulolytic activity in the hepatopancreas of *Chionoecetes opilio* and *Chionoecetes japonicus*: enzymatic adaptations to deep sea environment, 2016 Adachi, K., Tanimura, K., Mitsui, T., Morita, T., Yoshio, I., Ikejima, K., Morioka, K. Fisheries Science, 巻 : 82 ページ : 835-841 DOI10.1007/s12562-016-1014-8 (査読有)

〔学会発表〕(計 7 件)

1. マングローブの物質循環におけるカニと生息土壌の役割

足立亨介

高知大学研究拠点プロジェクト 革新的な水・バイオマス循環システムの構築 (シンポ

ジウムの主催も行った))

ちより街テラス、高知市、日本

2017-12-02 - 2017-12-02

2. マングローブクラブ腸内細菌とその生息土壌の持つセルロース分解活性 2016

足立亨介, 杉岡茉美, Prasert Tongnunui, 荒木通啓, 森岡克司, 池島耕.

平成 28 年度 第 22 回日本マングローブ学会大会

東京農業大学、日本

2016-12-10 - 2016-12-11

3. ビデオ観察によるマングローブ林のベンケイガニ類生息密度の推定. 2016

鈴木実央, 池島 耕, 足立亨介, Prasert Tongnunui.

平成 28 年度 第 22 回日本マングローブ学会大会

東京農業大学、日本

2016-12-10 - 2016-12-11

4. RNA seq analysis of hepatopancreas of mangrove crab *Episesarma versicolor* 2016

Kohsuke Adachi, Kohei Kawai, Michihiro Araki, Prasert Tongnunui, Katsuji Morioka,

Kou Ikejima.

International Conference in Challenges in Environmental Science & Engineering

Kaohsiung, Taiwan

2016-11-06 - 2016-11-10

5. マングローブ生態系の食物連鎖・炭素循環におけるカニの役割

池島 耕.

平成 27 年度 第 21 回日本マングローブ学会大会. 公開特別講演「マングローブ研究の最前線」

東京農業大学、日本

2015-12-12 - 2015-12-13

6. マングローブ炭素循環におけるカニの役割

足立亨介

平成 26 年度高知大学自然科学系プロジェクト「水・バイオマス」公開シンポジウム

高知大学農学部

2015-03-10 - 2015-03-10

7. 目視とビデオ観察によるマングローブ林のベンケイガニ類の生息密度推定の試み

鈴木実央・池島 耕・足立亨介・P.Tongnunui

平成 26 年度日本水産学会秋季大会

九州大学

2014-09-19 - 2014-09-22

〔図書〕(計 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

足立 亨介 (ADACHI kohsuke)

高知大学・教育研究部自然科学系農学部門・
准教授

研究者番号：00399114

(2) 研究分担者

池島 耕 (IKEJIMA Kou)

高知大学・教育研究部自然科学系農学部門・
教授

研究者番号：30582473

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()