

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 10 月 24 日現在

機関番号：15301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26660153

研究課題名(和文)赤潮原因藻ヘテロシグマの環境における増殖ダイナミクスの分子細胞生物学的研究

研究課題名(英文)Regulation mechanism of propagation of Heterosigma akashiwo in environment

研究代表者

植木 尚子(Ueki, Shoko)

岡山大学・資源植物科学研究所・助教

研究者番号：50622023

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：赤潮は赤潮原因藻の異常増殖が原因である。通常赤潮は、一種の原因藻の異常増殖によるが、この限定された増殖促進のメカニズムはこれまでに明らかになっていない。私たちは、赤潮原因藻の一種であるヘテロシグマに着目して、ヘテロシグマ増殖を促進するバクテリアを数種単離した。その一種YF1株は、ヘテロシグマ増殖は促進するが、別の赤潮原因藻シャトネラの増殖には影響しない。また、ヘテロシグマとシャトネラが共存する場合、シャトネラ増殖がヘテロシグマにより抑制されることが知られてきたが、YF1は、この抑制効果をさらに増大させた。このような種特異的なバクテリアによる藻増殖促進は、赤潮の一種優占に貢献すると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Algal bloom is typically caused by aberrant propagation of a single species, resulting in its predominance in the local population. While environmental factors including temperature and eutrophication are linked to bloom, the precise mechanism of its formation process is still unknown. We isolated several bacteria that promote growth of the bloom-forming alga, *Heterosigma akashiwo*. One of the strains, YF1, did not affect the growth of another alga, *Chattonella*, indicating YF1 promote growth of *H. akashiwo* in selective manner. *H. akashiwo* is known to outcompete *C. ovate*, resulting in dominance of the former. Adding YF1 to the co-culture of *H. akashiwo* and *C. ovate* promoted growth of *H. akashiwo* while further suppressing the growth of *C. ovate*, resulting in enhanced predominance of the former. Such selective growth promotion of algae by a mutualistic bacterium, in combination with its innate competitiveness to other algae, may underlie the single species dominance in algal blooms.

研究分野：赤潮動態

キーワード：赤潮 海洋微生物 優占

## 1. 研究開始当初の背景

赤潮の正体は、異常増殖した～数十  $\mu\text{m}$  の赤潮原因藻の高密度群集である。通常は海水中に多種類の藻類がそれぞれ低細胞密度で共存するが、何らかのきっかけで一種類の赤潮原因藻が急速に増殖し、『赤潮』を形成する。つまり、赤潮形成とは、水域の生態系バランスが一時的に大きく崩れ、一種類の赤潮原因藻に局限した異常増殖が起こった状態と言える。赤潮原因藻の環境動態は、増殖・死滅の速度バランスで決定される。死滅の原因は、殺藻バクテリア・ウイルス、捕食者による一方で、赤潮発生時に見られる急激な増殖の機序は未だ不明である。富栄養化や水温上昇と赤潮発生件数に正の相関がみられるが、実験室でこれらの状況を再現して赤潮原因藻を培養しても、赤潮発生時に見られる急激な増殖は起こらない。つまり、富栄養化・高水温は、赤潮発生時の赤潮原因藻の異常増殖の説明としては不十分といえる。また、赤潮発生時に見られる「一種類に局限した異常増殖」のメカニズムも、単なる富栄養化や高水温では説明が難しかった。

## 2. 研究の目的

本研究では、西日本近海で頻繁に発生する『赤潮』の形成過程の生物学的ダイナミクスを環境生態学的側面から解明することを目的とした。赤潮の正体は、植物プランクトンの爆発的異常増殖である。ヘテロシグマ(学名 *Heterosigma akashiwo*) は、このような赤潮原因藻の一種であるが、その異常増殖を引き起こす要因はいまだに特定されていない。申請者は、この研究の開始

前に、ヘテロシグマに随伴する細菌の分離に成功し、そのうちの幾つかはヘテロシグマの増殖を大幅に加速することを見出した。この知見に基づき、これまでに勘案されてこなかった、随伴細菌という新しい因子を取り入れて、ヘテロシグマの爆発的増殖の原因を明らかにすることを計画した。

## 3. 研究の方法

既に確立されたヘテロシグマの実験室株から、随伴細菌を単離し、16S RNA 遺伝子配列に基づいて、菌種を同定した。一方で、由来地がことなる6種類のヘテロシグマ株を単離・無菌化したのちに、これらの株に対する単離細菌の影響を評価した。また、ヘテロシグマに対する影響の特異性を評価するために、ヘテロシグマと同じラフィドモナス目に属する赤潮原因藻であるシャトネラ (*Chattonella antiqua* および *Chattonella ovate*) 株を確立し、さらにその無菌株を確立し、単離細菌の影響を評価した。

また、自然界におけるヘテロシグマ増殖と随伴細菌の関係を知るために、広島県福山市田尻港においてヘテロシグマ赤潮発生時に経時的にヘテロシグマサンプリングを行い、そのサンプルから細菌を単離・同定したのち、ヘテロシグマに対する増殖促進能を評価した。

## 4. 研究成果

まず、確立されたヘテロシグマ株より6種類の海洋細菌を単離した。そのうちの一種である海洋細菌 *Altererythrobacter ishigakiensis* がヘテロシグマ増殖を加速し、最高培養密度を最大50%増加させるこ

と、また、この細菌は、やはりラフィドモナス目に属する赤潮原因藻シャトネラの増殖には影響せず、ヘテロシグマ特異的に増殖を促進することを見いだした。以前の研究により、ヘテロシグマとシャトネラが共存する系では、シャトネラの増殖がヘテロシグマの存在によって抑制されることが知られている。このような混合培養系に *A. ishigakiensis* を添加したところ、ヘテロシグマのシャトネラ増殖抑制能が強化され、結果として、ヘテロシグマ+シャトネラ混合培養の最大細胞密度が増加する一方で、その混合系に占めるシャトネラの割合が細菌非添加時の半分程度に低下することがわかった。つまり、*A. ishigakiensis* によりヘテロシグマの優占性が強化されたことを示す。この結果は、ヘテロシグマ特異的に増殖を促す海洋細菌は、ヘテロシグマ自身が有する多種への競合性を強化することで、優占性を高めることで赤潮発生過程に寄与している可能性を示している。

また、確立されたヘテロシグマ株から単離された細菌のうち、さらに2種の細菌が、ヘテロシグマに対する増殖能を有することが明らかとなった。これらの細菌はヘテロシグマ株特異的に増殖能を増進させた。この結果は、ある種の細菌の増殖促進能は株特異的であることを示唆するもので興味深い結果と言える。

さらに、自然界におけるヘテロシグマ増殖と随伴細菌の関係をj知るために、ヘテロシグマ赤潮発生時に経時的にフィールドサンプリングを行い、そのサンプルから細菌を単離・同定した。合計で、34株16種の細菌を

単離した。そのうちの多くは *Vibrio* 属、*Pseudomonas* 属が占めた。これらの細菌がヘテロシグマ増殖に与える影響を調べたところ、多くの細菌は、ヘテロシグマに対する増殖能はもたず、むしろヘテロシグマの増殖を抑制するか、あるいは殺藻することが明らかとなった。一見意外な結果ではあるが、これは、ヘテロシグマ赤潮が顕在化した時点では、ヘテロシグマ赤潮を終結させることが知られている殺藻細菌がすでに増え始めているため考えると理解できる。また、ヘテロシグマの増殖を促進する細菌は1株特定された。この株は、ヘテロシグマの増殖速度=1日当たりの細胞分裂回数を上昇させる一方で、ヘテロシグマの最高培養密度の変化は起こさなかった。

以上の結果は、

- (1) ヘテロシグマの増殖を特異的に促進する細菌が存在する。
- (2) ヘテロシグマの最高細胞密度を特異的に増加させる細菌が存在する。
- (3) これらの細菌は、ヘテロシグマの多種に対する競合性を強化し、その優占性を上昇させることができる。

ことを示す。

赤潮という現象は、まず、その急激な増殖が特徴として挙げられる。さらに、数種の藻類が共存している定常状態から、一種の圧倒的な優占状態が出現するという点で、劇的な生物学的現象であると言える。当研究により示された、随伴細菌による藻種特異的な増殖促進は、赤潮が惹起される過程で重要な役割を果たしている可能性がある。今後は、実際の環境における細菌叢遷移のモニタリング

とともに、細菌叢の変化と赤潮発生の際の因果関係を明らかにすることを計画している。

#### 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 2 件)

Shoko Ueki 'Growth promotion of *Heterosigma akashiwo* by marine microorganisms; implication of marine bacterium in bloom formation.' *16<sup>th</sup> International ICHA Proceedings, vol 16, 151-155* (査読有)

[学会発表](計 2 件)

1. Shoko Ueki 'Behavior of a bloom-forming algae, *Heterosigma akashiwo*, in environment; possible implication of symbiont during bloom formation' *in* mini-Symposia 'Experimental and theoretical approaches to micro-biospheres: the development of artificial ecosystems toward the understanding of real ecosystem', The 5<sup>th</sup> China-Japan-Korea Colloquium on Mathematical Biology and □The Japanese Society for Mathematical Biology, 2015.8.26, Doshisha University, Kyoto, Japan
2. Shoko Ueki 'Growth promotion of *Heterosigma akashiwo* by marine microorganisms; implication of marine bacterium in bloom formation.' The 16<sup>th</sup> International Conference of Harmful Algae, 2014.10.31, Wellington Conference Center, Wellington, New Zealand

[図書](計 0 件)

[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

#### 6. 研究組織

##### (1)研究代表者

植木尚子 (Ueki, Shoko) (助教)

岡山大学 資源植物科学研究所

研究者番号：50622023

##### (2)研究分担者

中山 奈津子(Nakayama, Natsuko)(研究員)

国立研究開発法人水産総合研究センター

研究者番号：20612675