

A Study on Roles of Naturally Formed Biofilms and Cultured Bacterial Biofilms on Larval Settlement and Metamorphosis of the Mussel *Mytilus galloprovincialis* (ムラサキイガイ、*Mytilus galloprovincialis* 幼生の付着・変態に対する海域微生物フィルムおよび培養バクテリアフィルムの役割に関する研究)

長崎大学大学院生産科学研究科 包 衛洋

ムラサキイガイは世界的に重要な水産食品であり、多くの国で養殖されている。一方、本種は発電所取水設備、養殖筏、船などに大量に付着し、被害を与えているため、汚損生物としても知られている。日本では主に汚損生物として注目されている。養殖する場合についても、汚損生物として対処する場合においても、本種幼生の着生を制御することは重要な課題と言える。

本種は、多くの海洋無脊椎動物と同様に浮遊幼生期をもち、植物プランクトンを摂餌しつつ成長し、数週間後に成熟した幼生となる。成熟幼生は糸状海藻や微生物フィルムと接触して着生（付着・変態）が起こるとされているが、後者の微生物フィルムについては研究例が少なく、不明な点が多い。そこで、本種幼生の付着・変態に対する海域における微生物フィルム、および分離培養バクテリアフィルムの役割を検討した。

まず、長崎市橘湾にスライドガラスを垂下し、その表面にバクテリア、付着珪藻などからなる微生物フィルムを形成させた。フィルムの垂下日数、垂下時期、付着重量、および構成生物（バクテリア、付着珪藻）と幼生の付着・変態との関係を調べるとともに、フィルム由来のケミカルシグナルの性質を調べた。海域微生物フィルムの誘起活性は、垂下日数と共に上昇し、その傾向は水温の高い時期に速く、水温の低い時期には遅いことが判明した。フィルムの重量、付着バクテリアおよび付着珪藻の密度が上昇するに伴い、フィルムの活性は上昇した。これらの結果より、フィルムの量的な要因が幼生の付着・変態に影響するものと考えられた。

微生物フィルムの誘起活性は、ホルマリン、グルタルアルデヒド、熱、エタノールなどの各処理によって消失した。これらより、フィルムのシグナルは化学的に不安定な物質、または揮発性物質と思われた。一方、海域の微生物フィルムを抗生物質により処理したところ、活性が低下しことから、活性にはバクテリアが関与していることが判明した。また、バクテリアの生残率と活性とは関連しており、バクテリアが生存しているときにケミカルシグナルを生産していると考えられた。

次に、海域微生物フィルムよりバクテリア数株を分離し、単一種培養バクテリアフィルムを形成させ、各々の活性を調べたところ、*Alteromonas* sp.1 フィルムに活性が認められた。本種の密度が上昇するに従い、活性が上昇した。本フィルムの活性はホルマリン、エタノール、熱処理によって消失した。また、フィルムの活性と生残率とは正の相関関係が認められ、バクテリアの生存が活性に関わることが確認できた。

本株フィルムより得られた浸漬液に幼生を暴露したところ、稚貝は出現しなかったが、付着行動を示す幼生が6割ほど観察された。これより、浸漬液には幼生の付着行動を誘起するケミカルシグナルが存在することが推測された。一方、幼生はフィルムの表面で稚貝となっており、フィルム表面には接触によって変態を誘起するケミカルシグナルがあるものと思われた。これら二つのシグナルの組み合わせによって、幼生の付着・変態がおこるものと考えられた。そこで、活性が消失したホルマリン固定フィルムに、浸漬液を添加したところ、新鮮フィルムと同様の高い活性が認められた。これより、二つのケミカルシグナルの併用効果によって幼生の付着・変態が誘起されているものと結論できた。

浸漬液について、熱処理、限外ろ過した結果、ケミカルシグナルは熱に安定であり、分子量が3000Da以下の物質であることが分かった。一方、フィルム表面関連のケミカルシグナルについては、固定フィルムを白金コーティング（SEM）したところ、活性は低下し、また数種レクチンで処理した結果、LCA、WGAによって活性が低下した。これより、これらのレクチンと特異的に結合する糖関連物質が表面のシグナルであると推察された。

以上のように、海域の微生物フィルムの構成生物ではバクテリアが本種幼生の付着・変態に関わっていることが明らかとなった。さらに、バクテリア由来の二つのケミカルシグナルが関わっており、一つはフィルムが放出する低分子物質であり、濃度勾配的に付着を制御し、他の一つは、フィルムの表面に存在するLCA、WGA結合型糖関連物質であり、変態を誘起するものと推察された。これらの知見は、種苗生産技術の改良、および汚損生物としての着生制御に貢献すると判断される。