

Diversity and Function of Aerobic Culturable Bacteria in the Intestine of Sea Cucumbers

長崎大学大学院生産科学研究科
張 筱堰

海洋環境で植物遺体、動物遺体、また動物の排泄物などは海底デトリタスの主成分であり、これらの有機物を分解する微生物は地球における物質循環を支える重要な役割を持っている。ナマコ類は海底表面のデトリタスなどを餌として、底質改善や栄養塩循環における重要な役割を担う。ナマコ類の消化管には多くの細菌が存在しており、宿主であるナマコにとって有用な働きをしていると考えられるが、消化管内の微生物の多様性や機能に関する研究は、これまでにほとんど進んでいない。本研究ではナマコの消化管から細菌の分離・培養を行い、それらの多様性と生理的性質の解析をした。

本研究ではニセクロナマコ(第2章)、マナマコ(第3章)、深海ナマコ(第4章)を対象とした。腸内細菌は、炭素源(デンプン、セルロース、アルギン酸、キシラン)や塩濃度、pHを変えた各種寒天培地を用いて好気培養を行い分離した。各分離株について塩濃度、pH、温度、酸素等の影響および各種糖質の分解能を調べた。更に、16S rRNA 遺伝子の部分塩基配列を用いた系統解析を行った。

第2章では、ニセクロナマコ腸内から141株の分離株を得た。それらは16S rRNA 遺伝子解析の結果55種の細菌に分類され、Firmicutes 門、Protobacteria 門、Actinobacteria 門に属するものであった。特に、*Bacillus* 属(19種)や *Vibrio* 属(15種)に高い多様性が認められた。これらの分離株は、デンプン、セルロース、アルギン酸、キシラン、寒天などの糖質分解能を有していた。また、通性嫌気性細菌や耐嫌気性細菌が好気性細菌より多く検出された。以上の結果より、これらの糖質分解能を持つ細菌が無酸素或は微酸素の腸内環境でデトリタスの分解や利用に重要な役割を果たし得ることが示され、宿主と腸内細菌の間には緩やかな共生関係が存在していることが示唆された。

第3章では、大きさと体色の異なるマナマコ及び環境試料(堆積物、海水)から1133株の分離株を得た。16S rRNA 遺伝子の解析により、分離株231株は Firmicutes 門、Protobacteria 門、Actinobacteria 門に属するものであった。*Bacillus* 属細菌(20種)において

高い多様性が確認された。しかし、*Vibrio* 属細菌が検出されなかった。デンプン、セルロース、キシランなどの糖質分解能を有する細菌が検出され、それらは主に *Bacillus* 属であった。耐塩性細菌、耐嫌気性細菌、好アルカリ性細菌には Firmicutes 門 Bacillaceae 科に属する細菌が多かった。環境堆積物由来の分離株の細菌相とナマコ腸内から分離された細菌相に大きな違いはなかった。これらの腸内細菌は環境由来の可能性があり、ナマコ腸内のデトリタスの分解促進作用も担うと考えられた。一方、*Vibrio* 属細菌は海産生物病原菌として知られており、一般的に海水の高温期にその存在が多く認められている。本研究で *Vibrio* 属細菌が検出されなかった原因として、大村湾は内湾であり陸の気温の影響を受けやすく、また、サンプリング時期が冬(1月下旬)で特に水温は低かったことが考えられる。

第4章では深海ナマコ腸内の異なる部位から、92株45種の細菌を単離した。16S rRNA 遺伝子の解析により、これらの細菌は Firmicutes 門、Protobacteria 門に属し、主に *Bacillus* 属、*Vibrio* 属の細菌であった。腸前部由来19種、腸中部由来20種、腸後部由来23種が単離された。14種の細菌が複数の部位に存在し、腸後部にやや差異が認められた。耐塩性細菌、耐嫌気性細菌、好アルカリ性細菌は主に Firmicutes 門 Bacillaceae 科細菌であった。デンプン、セルロース、キシランなどの糖質分解能を有する細菌が認められ、主に *Bacillus* 属細菌であった。複数の部位から検出された各種の糖質分解細菌の中でデンプン分解能有する細菌(12種)が多かった。

以上、ナマコの消化管から多くの Firmicutes 門(主に *Bacillus* 属)、Protobacteria 門(主に *Vibrio* 属)などの細菌を単離、解析し、腸内細菌相が高い多様性を持つことや各種糖質分解能を持つことが明らかになった。これらの結果から、ナマコは宿主として、腸内微生物に餌と棲息場所を与えており、上記の細菌群が腸内において糖質等の有機物を分解し、その代謝産物や微量成分を宿主へ供給するという重要な役割を果たしていると考えられた。即ち、宿主ナマコと腸内細菌の間には緩やかな共生関係が存在していることが示唆された。また、生育環境の菌相に及ぼす影響についても考察した。本研究の成果は、今後、ナマコとその腸内微生物の相互作用による海底物質循環及び難分解物質を分解する微生物の遺伝子資源の利用に関する重要な手掛りを与えると考えられる。