



大型藻類と細菌の間で起きていること

水谷 雪乃^{1*}・木村 圭²¹佐賀大学総合分析実験センター (〒 840-8502 佐賀県佐賀市本庄町 1)²佐賀大学農学部 (〒 840-8502 佐賀県佐賀市本庄町 1)Yukino Mizutani^{1*} and Kei Kimura²: Interactions between macroalgae and bacteria. Jpn. J. Phycol. (Sôru) 71: 13–20, March 10, 2023

Highly diverse bacteria form communities in/on macroalgae and interact with each other. Here we report the descriptions of interactions between bacteria and macroalgae: positive and negative influences. The positive actions of macroalgae on bacteria are known to be the supply of oxygen and carbon sources, while the negative actions are antifouling and antibiotics. Conversely, the negative effects of bacteria on algae are polysaccharide degradation and nutrient deprivation, while the positive effects are reported antimicrobial activity, supply of nutrients such as nitrogen, phosphorus, and vitamins, morphogenesis and induction of settlement, and supply of phytohormone. Although various functions have been elucidated so far, these are expected to be only a small fraction of the phenomena occurring in the natural environment. We expect that new interactions will be discovered in the future using technologies that can analyze the entire community such as next-generation sequencers.

Key Index Words: bacterial function, macroalgal holobiont

¹Analytical Research Center for Experimental Sciences, Saga University, 1 Honjo-machi, Saga 840-8502, Japan

²Faculty of Agriculture, Saga University, 1 Honjo-machi, Saga 840-8502, Japan

*Author for correspondence: sw0788@cc.saga-u.ac.jp

一昔前までは細菌といえば病原性細菌という認識が強かったが、近年では腸内のプロバイオティクスや皮膚の常在菌のように、宿主に良い働きをする細菌が普遍的に存在していることは広く知られるところである。大型藻類の表面や内部にも多様な細菌が生息しており、これらの細菌が存在しないと藻類は発芽不全、発育阻害、繁殖困難などの生育障害を起こすこともある (Egan *et al.* 2013b, Singh & Reddy 2014, Kouzuma & Watanabe 2015)。このように細菌は藻類にとってなくてはならない重要な存在である。そこで本稿では大型藻類を対象に、どのような細菌叢が形成されているのか、また藻類と細菌間ではどのようなやり取りが行われているのかを解説していく。なるべく最新の情報を盛り込みながらまとめていくように心がけたが、幅広いテーマを対象としたため、藻類由来の細菌について調べたことのある研究者にとっては、目新しいトピックは少ないかもしれない。著者自身、藻類 (海苔) 細菌を対象とした研究を始めて 2 年半が経過したが、本稿を執筆するにあたって色々調べてみたところ、「こういった研究もあるんだな」と勉強になったことがあった。本稿を読み少しでも同じように思っていたら幸いです。

1. 内生細菌の細菌叢形成

細菌叢といえば大きく分けて、組織内に生息している内生細菌 (endophytes) と、組織表面にてバイオフィルムを形成

する着生細菌 (epiphytes) の 2 パターンに分けられる。細菌叢解析の研究では着生細菌を指す事が多く内生細菌の研究は少ないが、1970 年には緑藻オバナハネモ *Bryopsis hypnoides* J.V. Lamouroux に内生細菌が存在していることがすでに報告されており (Burr & West 1970)、古くから研究が行われてきた。内生細菌の研究は主に緑藻を対象としたものが多く、イワツタ属 *Caulerpa* spp., ミル属の *Codium decorticatum* (Woodward) M. Howe やミル *Codium fragile* subsp. *fragile* (Suringar) Hariot の匍匐茎 (stolon) 内には内生菌が存在しており (Rosenberg & Paerl 1981, Gerard *et al.* 1990, Chisholm *et al.* 1996)、貧栄養下でも宿主が成長できるよう窒素やリンを供給していることが知られている。内生細菌群集は着生細菌群集と比べて変動が少なく、イチイツタ *Caulerpa taxifolia* (M. Vahl) C. Agardh の匍匐茎内生細菌は世界中の異なる海域から採取された個体間でも共通した細菌群を維持するとともに、環境ごとにも固有の細菌種を保持していることが報告されている (Meusnier *et al.* 2001)。また、緑藻ハネモ属 *Bryopsis* spp. の着生細菌叢と内生細菌叢の比較を行った研究では、細胞外と細胞内では全く異なる細菌叢をもつことが明らかとなった (Hollants *et al.* 2011)。緑藻以外では紅藻 *Prionitis lanceolata* (Harvey) Harvey の葉状体には小さなコブや腫瘍が形成されるが、その内部には陸上植物の根粒菌としても報告されている Alphaproteobacteria の *Roseobacter* 属などが内在しており、

これらは宿主と共進化している事が報告されている (Ashen & Goff 1998, 2000)。内生細菌は組織内へと侵入する際に細胞壁などを溶かして侵入するため、病原性細菌や日和見細菌の侵入口を作るといった点で宿主へと害を与える。一方で、陸上植物で研究されている根粒菌などの様に、栄養源の供給や抗菌作用といったプラスの影響も与えている。また、近年では内生細菌がもつ抗菌作用が注目されており、大型藻類から単離された *Bacillus* などの内生細菌は、魚病など養殖時に発生する病原菌に対して抗菌作用を示すことが報告されている (Deutsch *et al.* 2021)。これら内生細菌の機能については、細菌による藻類への影響の項目で解説する。

2. 着生細菌の細菌叢形成

内生細菌と同様に、細胞壁表面で形成される着生細菌叢も藻類の種ごとに特異的に形成される事が示唆されている。Lachnit *et al.* (2009) の報告では同じ地点で採取された褐藻ヒバマタ属の *Fucus serratus* Linnaeus, *Fucus vesiculosus* Linnaeus, カラフトコンブ *Saccharina latissima* (Linnaeus) C.E. Lane, C. Mayes, Druehl & G.W. Saunders, 緑藻ヒラアオノリ *Ulva compressa* Linnaeus, 紅藻 *Delesseria sanguinea* (Hudson) J.V. Lamouroux およびカシワバコノハノリ *Phycodryas rubens* (Linnaeus) Batters で形成される細菌叢よりも、別地点で採取された同種の藻類上の細菌叢の方が類似していた。また、紅藻 3 種カギノリ属 *Bonnemaisonia asparagoides* (Woodward) C. Agardh, フシツナギ属 *Lomentaria clavellosa* (Lightfoot ex Turner) Gaillon およびイトグサ属 *Polysiphonia stricta* (Mertens ex Dillwyn) Greville の細菌叢比較 (Nylund *et al.* 2009) や、特定の細菌グループ (Planctomycetes) に絞った各藻類上の細菌叢解析 (Bondoso *et al.* 2014, 2017) でも同様に、宿主の種類によって固有の着生細菌叢が形成されていることが報告されている。一方でアンブリコンシーケンスを用いた近年の研究では、上記の報告とはわずかに異なる現象が報告されている。Kuba *et al.* (2021) は同地点、同時期に採取された緑藻 2 種ウチワサボテングサ *Halimeda discoidea* Decaisne およびハウチワ属の *Avrainvillea lacerata* J. Agardh, 褐藻 2 種ウミウチワ属の *Padina sanctae-crucis* Borgesen およびアミジグサ属の *Dictyota sandvicensis* Sonder, 紅藻 1 種カギケノリ *Asparagopsis taxiformis* (Delile) Trevisan の細菌叢を比較した結果、藻類と海水では異なる細菌叢が形成されていたが、緑藻と紅藻では似た細菌叢が形成され、褐藻 2 種ではそれとは異なる細菌叢が形成されていたことを報告している。また南アフリカの岩場に生息している藻類を対象とした各細菌叢の主成分分析では、緑藻や紅藻の細菌叢は混合してプロットされている一方で、褐藻の細菌叢は固まって他の藻類とは離れた位置にプロットされていた (Selvarajan *et al.* 2019)。外環境に直接面している着生細菌も内生細菌と同様に、宿主である藻類から影響を受けて海水中や岩礁表面などの外環境とは異なる細菌叢を形成していることが考えられ、さらに褐藻は緑藻や紅藻と比べてより細菌への選択圧が高いことが示唆された。この理由と

して Kuba *et al.* (2021) は褐藻が合成するフロロタンニンやテルペンといった抗菌作用を示す二次代謝産物による影響を挙げている。

一方で、藻類の種よりも外環境の影響をより大きく受けるといった、全く逆の報告も挙げられている。様々な地点から採取された褐藻のゴヘイコンブ属 *Laminaria hyperborea* (Gunnerus) Foslie およびカラフトコンブでは種間の違いによる細菌叢の違いは見られず、採取地点の違いによって変化が見られた (King *et al.* 2022)。また、養殖タンクで培養されたアオサリカ *Ulva rigida* C. Agardh はタンクの排水口の外に生息しているアオサリカとは異なる細菌叢をもつことも報告されている (Califano *et al.* 2020)。生息環境が及ぼす着生細菌叢への影響を解析した研究の中でも、興味深い研究として Campbell らの研究が挙げられる。Campbell *et al.* (2015) は、約 50 km 離れた 2 地点から褐藻 *Phyllospora comosa* (Labillardiere) C. Agardh をそれぞれ採取し、他方の採取地点および褐藻のカジメ属 *Ecklonia radiata* (C. Agardh) J. Agardh の群生地帯へ移植することによって、藻類表面で形成される細菌叢が種特異的か、発生地固有か、生息環境固有かを解析するという大掛かりな試験を実施した。この結果、環境に左右されず全てのサンプルで共通する種特異的な細菌もいるが、移植先の海水中に存在している細菌の影響を受け、起源が同じ個体とは異なる細菌叢に変化することが明らかとなった。また移植先に元々生息していた個体とも細菌叢は異なっており、移植 5 ヶ月後も細菌叢が一致することはなかったことから、着生細菌叢は宿主による影響だけではなく外環境からの影響も強く受けていることが示された。

細菌叢を変動させる要因は外環境の違いだけではなく、同所で採取された同種の藻類上の着生細菌叢でも個体が異なれば異なる細菌叢が形成されることも報告されている。緑藻アオサ *Ulva australis* Areschoug の着生細菌群集を解析した研究では、藻類の着生細菌群集由来の合計 528 operational taxonomic units (OTUs) の 16S rRNA 遺伝子クローンライブラリのうち、アオサ 6 サンプル間で共通している OTU はわずか 6 タイプのみであった (Burke *et al.* 2011b)。さらに、同一個体内であっても部位によっても細菌叢は異なるようである。褐藻のカラフトコンブやゴヘイコンブ属の *Laminaria setchellii* P.C. Silva の着生細菌叢を調べた研究では、同一個体内の仮根 (rhizoid)、茎状体 (cauloid)、分裂組織 (meristem) や葉体 (phyloid) の先端といった部位ごとの細菌叢を解析した結果、部位間の細菌叢は多変量分散分析で有意差がみられた (Staufenberger *et al.* 2008, Lemay *et al.* 2021)。

このように様々な要因によって細菌叢は変動する事が推定されるが、Wood *et al.* (2022) は藻類の生息地、形態、遺伝的な違いの 3 つの要因に絞り、それぞれの要因がどれくらい細菌叢形成に影響を与えているのかを解析している。オーストラリア南東部約 1,300 km に渡る海岸線上の 8 地点で採取された褐藻 *Phyllospora comosa* 160 サンプル全てから検出された共通の細菌 (core microbe) は平均して 45.2% の占有率を

示し、残りの変動している細菌叢へは生息地点間の距離が一番影響を与えていることを示唆していた。また、同論文では一部の細菌種は藻類の表現型（光合成量、付着生物量、茎の長さ）および遺伝子型（一塩基多型の対立遺伝子頻度）の違いによって変動している可能性も示しており、影響力の強弱はあるにせよ、着生細菌は様々な要因によって複合的に決定していることは間違いなさそうである。このように藻類表面で形成されている細菌叢は海水中に直接面しているため、海水中に生息している細菌の影響を強く受けていることが推測される。一方で、海水中の細菌叢とは異なっていることから、細菌の付着能力の有無の他に藻類表面で独自の細菌叢が形成される要因があることは想像に難くない。また着生細菌のメタゲノム解析を行った研究では、サンプル間の着生している“細菌種”の類似性は低いが（Bray-Curtisの類似度は約15%）、それらがもつ“機能（Cluster of Orthologous Groups of proteins；COGs）”に焦点を当てると類似性は高くなる（約70%）ことが報告されているように（Burke *et al.* 2011a），“誰がいるか”よりも“何をしているか”の方がより重要となるのではないだろうか。そこで次項からは藻類と細菌の相互作用について藻類が与える細菌への影響と、細菌が与える藻類への影響に分けて紹介していく。

3. 藻類による細菌への影響

藻類が細菌に与える影響は正と負の2つの面をもつ。正の作用では細菌が着生できる場所の提供のほか酸素や有機物

といった物質の提供が挙げられ、負の作用としては抗菌作用をもつ化合物の分泌や活性酸素種を放出する酸化バーストといった防御作用が挙げられる。本項では藻類と細菌の相互作用の内、藻類がもつ機能をこの2つの観点から解説する（図1）。

3.1. 正の作用

海洋環境では様々な生物や物の表面にバイオフィームが形成されるが、光合成生物である藻類では表面に酸素や糖が供給されているため、これらの物質を利用できる細菌が多く付着している。潮間帯に生息している藻類を対象とした研究では、酸素は十分に供給されているため酸素の影響が強くなることは考えづらいが、供給量が限定されている深海では藻類表面は重要な酸素供給場所となっている（Trias *et al.* 2012）。また大型藻類の細胞壁はフコイダン、アルギン酸、ラミナリン、寒天、セルロースといった様々な多糖で構成され、表面にも粘性多糖が分泌されている。そのため、藻類から検出される細菌群は多糖分解などの糖質関連酵素（Carbohydrate-Active enZymes；CAZymes）に関する遺伝子を豊富に有しており（Gobet *et al.* 2018）、このような特徴をもつ細菌が優先的に着生している（Goetze *et al.* 2010, Egan *et al.* 2013a）。一方で、細胞壁は藻類にとっての防御壁であるため、過剰に分解する細菌は病原性細菌としての潜在力を秘めている。多糖分解に関しては細菌が藻類へと与える負の作用であるため、後の項で別途解説する。

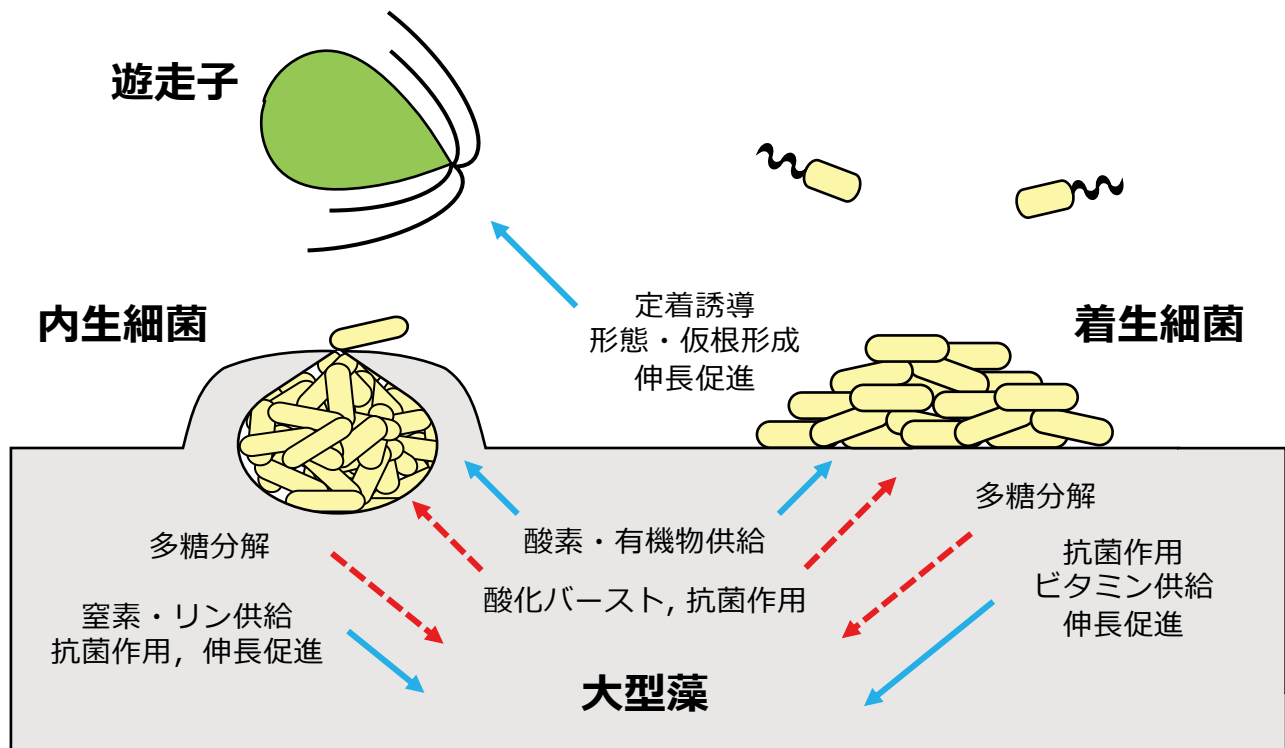


図1. 大型藻と細菌の間でみられる各機能の概要. 青の実線矢印は正の作用を、赤の破線矢印は負の作用を示している。

Fig. 1. Overview of the functions between macroalgae and bacteria. Blue solid arrows, positive actions; red dashed arrows, negative actions.

3.2. 負の作用

物質や生物の表面に不要な生物が付着する汚染のことをバイオフィウリング (Biofouling) と呼ぶが、藻類はこのバイオフィウリングを防ぐ機能性物質の合成能力が高く、廃水処理などで発生する問題の解決方法として注目されているため、応用研究の分野で発展している (Saha *et al.* 2018, Schmidt & Saha 2021)。これまでに紅藻からはハロゲン化フラノン (de Nys *et al.* 1995, Dworjanyn *et al.* 2006)、プロモホルムやジプロモ酢酸 (Paul *et al.* 2006)、ポリプロモ 2-ヘプタノン (Nylund *et al.* 2008) といった揮発性有機化合物 (Volatile Organic Compounds; VOCs) が発見されており、藻類表面での細菌によるコロニー形成を防いでいることが示唆されている。褐藻からはセスキテルペンと呼ばれる VOC が見つかり、褐藻の着生生物以外の細菌に対して抗付着性を示した (Othmani *et al.* 2016)。また褐藻表面から検出されるフコキサンチンといった高分子物質 (Saha *et al.* 2011) からジメチルスルホニオプロピオン酸 (DMSP) やプロリンといった低分子物質 (Saha *et al.* 2012) まで、様々な化合物の抗菌作用が報告されている。

藻類がもつ抗菌作用は上述した代謝産物以外にも、スーパーオキシドや過酸化水素といった活性酸素を放出する「酸化バースト」といった機能が報告されている (Weinberger 2007)。この活性酸素を使った防御システムは microbe-associated molecular patterns (MAMPs; Nürnberg *et al.* 2004) や pathogen-induced molecular patterns (PIMPs; Mackey & McFall 2006) と呼ばれる、主に病原性細菌が分泌する物質を藻類が感知する事によって誘起される (Weinberger 2007, Potin 2008)。一方で細菌側はこの活性酸素から自身を守るために、ペルオキシダーゼやカタラーゼといった活性酸素を分解するような酸化ストレス反応に関連する遺伝子を保有している (Fernandes *et al.* 2011, de Oliveira *et al.* 2012)。

4. 細菌による藻類への影響

藻類の表面または細胞内には多様な細菌が生息しているが、これらの細菌は藻類と同様に宿主である藻類に害を与える負の作用もある一方で、藻類の成長に必須である物質を生産するという正の作用ももつ。負の作用は上記でも述べているような多糖分解といった病原性細菌のことである。正の作用はこれら病原性細菌の増殖を抑える抗菌作用に加えて、窒素やリン、ビタミンといった栄養素の供給や植物ホルモンの供給といった働きが報告されている (Egan *et al.* 2013b, Singh & Reddy 2014, Wichard & Beemelmans 2018)。本項では細菌がもたらす作用ごとに解説する。

4.1. 正の作用

4.1.1. 抗菌作用

資源を利用する際の競合者となるため、細菌自身も他の細菌の増幅を抑える抗菌作用をもつことが報告されている (Egan *et al.* 2013a)。褐藻カラフトコンブから単離された 210 株の細菌の内

103 株が抗菌作用を示し、更にそれらは Alphaproteobacteria 綱, Betaproteobacteria 綱, Gammaproteobacteria 綱, Flavobacteriia 綱, Bacilli 綱, または Actinomycetes 綱に分類され、多様な細菌がそれぞれを牽制し合っていることが示唆された (Wiese *et al.* 2009)。また、緑藻アナオサ表面でよく検出される *Pseudoalteromonas tunicata* および *Phaeobacter* sp. がもつ他生物の付着を阻害する防汚能力を検証した研究では、細胞密度が 10^{2-4} cells/cm² と低いときに、海洋細菌 (*Pseudoalteromonas gracilis*, *Alteromonas* sp., *Cellulophaga fucicola*), 真菌 (アナオサから単離された未分類種), 藻類の胞子 (*Polysiphonia* sp.), 更に無脊椎動物の幼生 (*Bugula neritina*) の付着を阻害していた (Rao *et al.* 2007)。また, Saha & Weinberger (2019) は健康状態の紅藻オゴノリ *Gracilaria vermiculophylla* (Ohmi) Papenfuss から単離された 58 株同士をそれぞれオゴノリと共培養することによって、着生細菌のなかでも病原性を示す細菌と抗菌作用を示す細菌を探索した。オゴノリから得られた 58 株の内 3 株はオゴノリの白化を引き起こす病原性細菌であったが、その他の 19 株はそれぞれ病原性細菌による白化現象を防ぎ、それら全てを同時に培養した時には白化現象は観察されなかった。着生細菌だけでなく内生細菌も抗菌作用を示す事が報告されており、緑藻イチイヅタから単離された 20 株の放線菌の内 5 株が抗菌活性を示し (Rajivgandhi *et al.* 2018)、地中海から採取された緑藻、紅藻、褐藻の各種大型藻類から単離された内生細菌 (主に *Bacillus* 属細菌) は水産養殖で見られる病原菌 4 種 (*Photobacterium damsela* subsp. *damsela*, *Streptococcus iniae*, *Aeromonas salmonicida*, *Saprolegnia parasitica*) に対して抗菌作用を示した (Deutsch *et al.* 2021)。

4.1.2. 窒素固定とリン供給

窒素やリンといった栄養素の供給は、着生細菌だけでなく内生細菌での報告が多い。緑藻ミルでは着生細菌の *Azotobacter* が窒素供給を行っており (Head & Carpenter 1975)、緑藻イチイヅタでは根粒菌の *Agrobacterium* および *Rhodospseudomonas*-like 細菌がそれぞれ窒素固定による窒素源供給に加え、無機リン供給にも関与していることが示唆されていた (Chisholm *et al.* 1996)。また、紅藻オゴノリ属の *Gracilaria dura* (C. Agardh) J. Agardh から単離された内生細菌 *Bacillus pumilus* および *Bacillus licheniformis* は窒素固定によりアンモニウムを合成し宿主へと供給する (Singh *et al.* 2011a)。紅藻ソゾ属の *Laurencia dendroidea* J. Agardh の着生細菌のメタトランスクリプトーム解析では、窒素固定を行うシアノバクテリアが活性を示す主要な細菌種の一つであった (de Oliveira *et al.* 2012)。

4.1.3. ビタミン供給

藻類は多様なビタミン要求性を示し、Croft *et al.* (2006) は調査した藻類の内 50% 以上がビタミン B₁₂ (コバラミン) を、約 21% がビタミン B₁ (チアミン) を、5% がビタミン B₇ (ビ

オチン)をそれぞれ必要することを報告している。特にコバラミンを合成できる真核生物は知られておらず、代謝にコバラミンを必要としている生物はバクテリアまたはアーキアからの供給に完全に依存している (Warren *et al.* 2002)。コバラミンを要求する単細胞紅藻チノリモ属の *Porphyridium purpureum* (Bory) K.M. Drew & R. Ross または単細胞緑藻ミドリムシ *Euglena gracilis* G.A. Klebs はコバラミンが添加されていない培地では生育出来ないが, *Halomonas* sp. と共培養することによって生育する (Croft *et al.* 2005)。本稿は大型藻を対象生物として解説してきたが, コバラミン要求性はモデル生物である単細胞緑藻クラミドモナス (*Chlamydomonas*) でよく研究されているため, 以下に微細藻のコバラミン要求について少し解説する。*Chlamydomonas nivalis* (F.A. Bauer) Wille はメチオニン合成のためにコバラミンを補酵素として要求するため, 根粒菌として知られる *Mesorhizobium loti* をフィコスフェア (Phycosphere) に飼っており, コバラミンを受け取る代わりに光合成により固定された有機物を供給する, といった相利共生関係にあることが報告されている (Kazamia *et al.* 2012)。また室内培養実験では, コバラミン要求性のある *Chlamydomonas reinhardtii* P.A. Dangeard は外部から供給されるコバラミンの量によって成長に制限がかかるため, よりコバラミンの供給量が多い細菌へとパートナーを乗り換えていく事が示唆されている (Bunbury *et al.* 2022)。さらに, コバラミン要求性の無い *C. reinhardtii* もコバラミン濃度が高い培地で培養を続けると 500 世代目にコバラミン非依存型のメチオニン合成酵素遺伝子が失われ, メチオニン合成のために外部からのコバラミン供給に依存した変異体が現れる (Helliwell *et al.* 2015)。このように, コバラミンはクラミドモナスの生態に大きな影響を与えることが報告されている。一方で, 大型藻についてはコバラミン要求性をもつ種がいることは間違い無いが, それらを供給する細菌との相互作用に関する研究は進んでいないようである。

4.1.4. 形態形成と定着誘導

アオサ属は無菌環境下ではカルス状にゆっくりと成長していくため, 正常な形態形成や成長促進には細菌が必要であることが知られている (Fries 1975)。アオサ属 3 種およびオゴノリ属 3 種の葉状体から単離された 53 株の細菌内 5 株は, 無菌環境で培養された緑藻リボンアオサ *Ulva lactuca* Linnaeus を正常に生育させることができ, それらは全て *Marinomonas* sp. に分類された (Singh *et al.* 2011b)。また Spoerner *et al.* (2012) は *Cytophaga* 属細菌に加えて *Roseobacter* 属細菌, *Sulfitobacter* 属細菌または *Halomonas* 属細菌のいずれかと共培養することによって, 緑藻ヒラアオノリが正常に生育することを報告した。一部の細菌種だけでなく様々な細菌が形態形成に関与することが考えられるが, 緑藻マキヒトエ *Gayralia oxysperma* (Kützinger) K.L. Vinogradova ex Scagel & al. (= *Monostroma oxyspermum*) から単離された *Cytophaga* 属細菌が合成する形態形成誘導物質であるタルシン (thallusin) の

み, 単離および構造決定が済んでいる (Matsuo *et al.* 2005)。また, このタルシンはマキヒトエだけでなくアナアオサ (= *Ulva pertusa*) およびボウアオノリ *Ulva intestinalis* Linnaeus (= *Enteromorpha intestinalis*) にも作用することが報告されている (Matsuo *et al.* 2005)。緑藻の形態形成を誘導する細菌は, 遊走子の定着誘導にも関与しているようである (Spoerner *et al.* 2012, Wichard & Beemelmans 2018)。藻類が放出する DMSP に引き寄せられ, 藻類表面でバイオフィルムを形成した *Roseovarius* sp. MS2 などの細菌がクオラムセンシング物質である N-acyl homoserine lactone (AHL) を放出することによって, 遊走子を引き寄せる (Joint *et al.* 2002, 2007)。その後, *Maribacter* 属細菌が仮根形成を, *Roseovarius* 属細菌が細胞分裂を促進させる物質を供給することで藻類が成長する (Grueneberg *et al.* 2016, Ghaderiardakani *et al.* 2017)。

4.1.5. 植物ホルモン (IAA) の供給

植物の成長を促進させるオーキシンの一つがインドール-3-酢酸 (IAA) であり, この物質の合成は植物だけでなく細菌が関与することもある。IAA の研究は古くから, 陸上植物の根に形成されたコブ内に生息する根粒菌を中心に発展してきたが, 大型藻でも同様にコブを形成する細菌が IAA 合成に関与していることが示唆されている。大型紅藻の *Prionitis lanceolata* の形成コブ内には Alphaproteobacteria の *Rhodobacter* グループが内在しており, この内生細菌自身が合成しているか, またはシグナル伝達物質により藻類の IAA 合成を促進させていることが示唆されている (Ashen *et al.* 1999, Ashen & Goff 2000)。また紅藻オゴノリ属の *G. dura* では, 窒素固定に加えて IAA 合成能のある着生細菌 *Exiguobacterium homiense* および内生細菌 *B. pumilus* または *B. licheniformis* をオゴノリ属の *G. dura* と共培養する事によって, 葉状体切片から新しい分枝が形成される様子が観察された (Singh *et al.* 2011a)。大型藻類ではないが, 微細藻やハプト藻といった単細胞藻類を対象に興味深い研究が報告されている (Amin *et al.* 2015, Segev *et al.* 2016)。本稿では大型藻類を対象にまとめているため詳細は割愛するが, Alphaproteobacteria に属する *Phaeobacter gallaeciensis* (BS107) は微細藻の *Emiliania huxleyi* (Lohmann) W.W. Hay & H. Mohler から DMSP などを受け取り, 代わりに成長を促進させる IAA やフェニル酢酸を供給するといった共生形態を取る一方で, *E. huxleyi* が老化すると *Phaeobacter gallaeciensis* は IAA から殺藻剤である roseobactin を合成し放出するといった寄生細菌へと豹変する (Seyedsayamdost *et al.* 2011)。上記とはメカニズムは異なるが, 陸上植物の根粒菌でも IAA の合成細菌は共生型だけでなく寄生関係をもつ細菌も報告されているように (Spaepen & Vanderleyden 2011), IAA 合成に関与する細菌は共生細菌にも寄生細菌にもなり得るのかもしれない。

4.2. 負の作用

藻類からは様々な多糖分解菌は単離されているものの, 実

はそれらが直接病気を誘発しているといった報告は意外と少ない (Egan *et al.* 2013a)。海苔の原料である紅藻ナラウスサビノリ *Neopyropia yezoensis* f. *narawaensis* (N. Kikuchi, Niwa & Nakada) N. Kikuchi & Niwa では古くから病原性細菌の研究が行われており、*Flavobacterium* 属細菌が穴あき病を (Sunairi *et al.* 1995)、*Pseudomonas* 属細菌や *Vibrio* 属細菌が緑斑病を引き起こすことが報告されている (中尾ら 1972)。また Jaffray & Coyne (1996) は紅藻オゴノリ属 *Gracilaria gracilis* (Stackhouse) Steentoft, L.M. Irvine & Farnham の病原性細菌を *in situ* で特定したところ、それらは寒天分解能をもつことを発見し、Schroeder *et al.* (2003) はアガラーゼをもつ *Pseudoalteromonas gracilis* と共培養したところ、*G. gracilis* の細胞壁が弱くなっていた事を報告している。褐藻マコンブ *Saccharina japonica* (Areschoug) C.E. Lane, C. Mayes, Druehl & G.W. Saunders の腐った葉状体から単離された *Alteromonas* 属細菌はアルギン酸リアーゼをもっており (Sawabe *et al.* 1992)、同じく病症が観察された褐藻ホソメコンブ *Saccharina religiosa* (Miyabe) C.E. Lane, C. Mayes, Druehl & G.W. Saunders から単離された *Alteromonas* 属細菌は健康な個体と共培養すると、藻体に病変が観察された (Vairappan *et al.* 2001)。多くの着生細菌が多様な糖代謝に関する遺伝子をもつものの、病原性を示す報告が少ないことを考えると、これらの細菌は日和見的に生育しており、宿主の免疫力の低下など何らかの要因によって病原性を発現している可能性が考えられる。

5. おわりに

最後に、本稿では大型藻類とその関連細菌に焦点をあてて色々解説したが、関連細菌機能に関する研究は大型藻類よりも微細藻を対象としたものが多い。微細藻は無菌で培養出来る技術が確立されてきているが大型藻では一部の種に限られているため、今後細菌との相互作用を培養によって検証していくためには、無菌環境下で培養する技術を構築していく必要がある。また実際の環境では細菌に加えて、真菌、ウイルス、微細藻、無脊椎動物といった様々な生物とともに共同体を形成している。近年ではメタゲノムやメタトランスクリプトームといった解析ツールが比較的安価に利用出来るようになってきているため、細菌含め大型藻類に関連する生物が“何をしているか”に注目した相互作用解明研究の進展が期待される。

引用文献

- Amin, S. A., Hmelo, L. R., van Tol, H. M. *et al.* 2015. Interaction and signalling between a cosmopolitan phytoplankton and associated bacteria. *Nature* 522: 98–101.
- Ashen, J. B., Cohen, J. D., Goff, L. J. 1999. GC-SIM-MS detection and quantification of free indole-3-acetic acid in bacterial galls on the marine alga *Prionitis lanceolata* (Rhodophyta). *J. Phycol.* 35: 493–500.
- Ashen, J. B. & Goff, L. J. 1998. Galls on the marine red alga *Prionitis lanceolata* (Halymeniaceae): specific induction and subsequent development of an algal-bacterial symbiosis. *Am. J. Bot.* 85: 1710–1721.
- Ashen, J. B. & Goff, L. J. 2000. Molecular and ecological evidence for species specificity and coevolution in a group of marine algal-bacterial symbioses. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 3024–3030.
- Bondoso, J., Balagué, V., Gasol, J. M. & Lage, O. M. 2014. Community composition of the Planctomycetes associated with different macroalgae. *FEMS Microbiol. Ecol.* 88: 445–456.
- Bondoso, J., Godoy-Vitorino, F., Balagué, V., Gasol, J. M., Harder, J. & Lage, O. M. 2017. Epiphytic Planctomycetes communities associated with three main groups of macroalgae. *FEMS Microbiol. Ecol.* 93: ffw255.
- Bunbury, F., Deery, E., Sayer, A. P. *et al.* 2022. Exploring the onset of B₁₂-based mutualisms using a recently evolved *Chlamydomonas* auxotroph and B₁₂-producing bacteria. *Environ. Microbiol.* 24: 3134–3147.
- Burke, C., Steinberg, P., Rusch, D., Kjelleberg, S. & Thomas, T. 2011a. Bacterial community assembly based on functional genes rather than species. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 108: 14288–14293.
- Burke, C., Thomas, T., Lewis, M., Steinberg, P. & Kjelleberg, S. 2011b. Composition, uniqueness and variability of the epiphytic bacterial community of the green alga *Ulva australis*. *ISME J.* 5: 590–600.
- Burr, F. A. & West, J. A. 1970. Light and electron microscope observations on the vegetative and reproductive structures of *Bryopsis hypnoides*. *Phycologia* 9: 17–37.
- Califano, G., Kwantes, M., Abreu, M. H., Costa, R. & Wichard, T. 2020. Cultivating the macroalgal holobiont: effects of integrated multi-trophic aquaculture on the microbiome of *Ulva rigida* (Chlorophyta). *Front. Mar. Sci.* 7: 52.
- Campbell, A. H., Marzinelli, E. M., Gelber, J. & Steinberg, P. D. 2015. Spatial variability of microbial assemblages associated with a dominant habitat-forming seaweed. *Front. Microbiol.* 6: 230.
- Chisholm, J., Dauga, C., Ageron, E., Grimont, P. A. D. & Jaubert, J. M. 1996. ‘Roots’ in mixotrophic algae. *Nature* 381: 382.
- Croft, M. T., Lawrence, A. D., Raux-Deery, E., Warren, M. J. & Smith, A. G. 2005. Algae acquire vitamin B₁₂ through a symbiotic relationship with bacteria. *Nature* 438: 90–93.
- Croft, M. T., Warren, M. J. & Smith, A. G. 2006. Algae need their vitamins. *Eukaryot. Cell* 5: 1175–1183.
- de Nys, R., Steinberg, P. D., Willemsen, P., Dworjanyn, S. A., Gabelish, C. L. & King, R. J. 1995. Broad spectrum effects of secondary metabolites from the red alga *Delisea pulchra* in antifouling assays. *Biofouling* 8: 259–271.
- de Oliveira, L. S., Gregoracci, G. B., Silva, G. G. Z. *et al.* 2012. Transcriptomic analysis of the red seaweed *Laurencia dendroidea* (Florideophyceae, Rhodophyta) and its microbiome. *BMC Genomics* 13: 487.
- Deutsch, Y., Gur, L., Berman Frank, I. & Ezra, D. 2021. Endophytes from algae, a potential source for new biologically active metabolites for disease management in aquaculture. *Front. Mar. Sci.* 8: 636636.
- Dworjanyn, S. A., de Nys, R. & Steinberg, P. D. 2006. Chemically mediated antifouling in the red alga *Delisea pulchra*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 318: 153–163.
- Egan, S., Fernandes, N. D., Kumar, V., Gardiner, M. & Thomas, T. 2013a. Bacterial pathogens, virulence mechanism and host defence in marine macroalgae. *Microbiol. Ecol.* 16: 925–938.
- Egan, S., Harder, T., Burke, C., Steinberg, P., Kjelleberg, S. & Thomas, T. 2013b. The seaweed holobiont: understanding seaweed-bacteria interactions. *FEMS Microbiol. Rev.* 37: 462–476.
- Fernandes, N., Case, R. J., Longford, S. R. *et al.* 2011. Genomes and virulence factors of novel bacterial pathogens causing bleaching disease in the marine red alga *Delisea pulchra*. *PLoS One.* 6: e27387.

- Fries, L. 1975. Some observations on morphology of *Enteromorpha linza* (L.) J. ag. and *Enteromorpha compressa* (L.) Grev. in axenic culture. Bot. Mar. 18: 251–253.
- Gerard, V. A., Dunham, S. E. & Rosenberg, G. 1990. Nitrogen-fixation by cyanobacteria associated with *Codium fragile* (Chlorophyta): Environmental effects and transfer of fixed nitrogen. Mar. Biol. 105: 1–8.
- Ghaderiadjani, F., Coates, J. C. & Wichard, T. 2017. Bacteria-induced morphogenesis of *Ulva intestinalis* and *Ulva mutabilis* (Chlorophyta): a contribution to the lottery theory. FEMS Microbiol. Ecol. 93: fix094.
- Gobet, A., Barbeyron, T., Matard-Mann, M. *et al.* 2018. Evolutionary evidence of algal polysaccharide degradation acquisition by *Pseudoalteromonas carrageenovora* 9^T to adapt to macroalgal niches. Front. Microbiol. 9: 2740.
- Goecke, F., Labes, A., Wiese, J. & Imhoff, J. F. 2010. Chemical interactions between marine macroalgae and bacteria. Mar. Ecol. Prog. Ser. 409: 267–299.
- Grueneberg, J., Engelen, A. H., Costa, R. & Wichard, T. 2016. Macroalgal morphogenesis induced by waterborne compounds and bacteria in coastal seawater. PLoS One. 11: e0146307.
- Head, W. D. & Carpenter, E. J. 1975. Nitrogen fixation associated with the marine macroalga *Codium fragile*. Limnol. Oceanogr. 20: 815–823.
- Helliwell, K. E., Collins, S., Kazamia, E., Purton, S., Wheeler, G. L. & Smith, A. G. 2015. Fundamental shift in vitamin B₁₂ eco-physiology of a model alga demonstrated by experimental evolution. ISME J. 9: 1446–1455.
- Hollants, J., Decluyre, H., Leliaert, F., de Clerck, O. & Willems, A. 2011. Life without a cell membrane: Challenging the specificity of bacterial endophytes within *Bryopsis* (Bryopsidales, Chlorophyta). BMC Microbiol. 11: 255.
- Jaffray, A. E. & Coyne, V. E. 1996. Development of an *in situ* assay to detect bacterial pathogens of the red alga *Gracilaria gracilis* (Stackhouse) Steentoft, Irvine et Farnham. J. Appl. Phycol. 8: 409–414.
- Joint, I., Tait, K., Callow, M. E. *et al.* 2002. Cell-to-cell communication across the prokaryote eukaryote boundary. Science 298: 1207.
- Joint, I., Tait, K. & Wheeler, G. 2007. Cross-kingdom signalling: exploitation of bacterial quorum sensing molecules by the green seaweed *Ulva*. Philos. Trans. R. Soc. Lond., B, Biol. Sci. 362: 1223–1233.
- Kazamia, E., Czesnick, H., Nguyen, T. T. V. *et al.* 2012. Mutualistic interactions between vitamin B₁₂-dependent algae and heterotrophic bacteria exhibit regulation. Environ. Microbiol. 14: 1466–1476.
- King, N. G., Moore, P. J., Thorpe, J. M. & Smale, D. A. 2022. Consistency and variation in the kelp microbiota: patterns of bacterial community structure across spatial scales. Microb. Ecol. doi.org/10.1007/s00248-022-02038-0
- Kouzuma, A. & Watanabe, K. 2015. Exploring the potential of algae/bacteria interactions. Curr. Opin. Biotechnol. 33: 125–129.
- Kuba, G. M., Spalding, H. L., Hill-Spanik, K. M. & Fullerton, H. 2021. Microbiota-macroalgal relationships at a Hawaiian intertidal bench are influenced by macroalgal phyla and associated thallus complexity. mSphere 6: e00665-21.
- Lachnit, T., Blümel, M., Imhoff, J. F. & Martin, W. 2009. Specific epibacterial communities on macroalgae: phylogeny matters more than habitat. Aquat. Biol. 5: 181–186.
- Lemay, M. A., Davis, K. M., Martone, P. T. & Parfrey, L. W. 2021. Kelp-associated microbiota are structured by host anatomy. J. Phycol. 57: 1119–1130.
- Mackey, D. & McFall, A. J. 2006. MAMPs and MIMPs: proposed classifications for inducers of innate immunity. Mol. Microbiol. 61: 1365–1371.
- Matsuo, Y., Imagawa, H., Nishizawa, M. & Shimizu, Y. 2005. Isolation of an algal morphogenesis inducer from a marine bacterium. Science 307: 1598.
- Meusnier, I., Olsen, J. L., Stam, W. T., Destombe, C. & Valero, M. 2001. Phylogenetic analyses of *Caulerpa taxifolia* (Chlorophyta) and of its associated bacterial microflora provide clues to the origin of the Mediterranean introduction. Mol. Ecol. 10: 931–946.
- 中尾義房・小野原隆幸・松原孝之・藤田雄二・銭谷武平 1972. ノリ病害の細菌学的研究-I 細菌による緑斑病様障害の実験的発症. 日本水産学会誌 38: 561–564.
- Nürnberg, T., Brunner, F., Kemmerling, B. & Piater, L. 2004. Innate immunity in plants and animals: striking similarities and obvious differences. Immunol. Rev. 198: 249–266.
- Nylund, G. M., Cervin, G., Persson, F., Hermansson, M., Steinberg, P. D. & Pavia, H. 2008. Seaweed defence against bacteria: a polybrominated 2-heptanone from the red alga *Bonnemaisonia hamifera* inhibits bacterial colonisation. Mar. Ecol. Prog. Ser. 369: 39–50.
- Nylund, G. M., Persson, F., Lindgarth, M., Cervin, G., Hermansson, M. & Pavia, H. 2010. The red alga *Bonnemaisonia asparagoides* regulates epiphytic bacterial abundance and community composition by chemical defence. FEMS Microbiol. Ecol. 71: 84–93.
- Othmani, A., Bunet, R., Bonnefont, J.-L., Briand, J.-F. & Culioli, G. 2016. Settlement inhibition of marine biofilm bacteria and barnacle larvae by compounds isolated from the Mediterranean brown alga *Taonia atomaria*. J. Appl. Phycol. 28: 1975–1986.
- Paul, N. A., de Nys, R. & Steinberg, P. D. 2006. Chemical defence against bacteria in the red alga *Asparagopsis armata*: linking structure with function. Mar. Ecol. Prog. Ser. 306: 87–101.
- Potin, P. 2008. Oxidative burst and related responses in biotic interactions of algae. In: Amsler, C. D. (ed.) Algal Chemical Ecology. pp. 245–271. Springer, Berlin.
- Rajivgandhi, G., Ramachandran, G., Maruthupandy, M., Saravanakumar, S., Manoharan, N. & Viji, R. 2018. Antibacterial effect of endophytic actinomycetes from marine algae against multi drug resistant gram negative bacteria. Exam. Mar. Biol. Oceanogr. 1: 132–139.
- Rao, D., Webb, J. S., Holmström, C. *et al.* 2007. Low densities of epiphytic bacteria from the marine alga *Ulva australis* inhibit settlement of fouling organisms. Appl. Environ. Microbiol. 73: 7844–7852.
- Rosenberg, G. & Paerl, H. W. 1981. Nitrogen fixation by blue-green algae associated with the siphonous green seaweed *Codium decorticatum*: effects on ammonium uptake. Mar. Biol. 61: 151–158.
- Saha, M., Goecke, F. & Bhadury, P. 2018. Minireview: algal natural compounds and extracts as antifoulants. J. Appl. Phycol. 30: 1859–1874.
- Saha, M., Rempt, M., Gebser, B., Grueneberg, J., Pohnert, G. & Weinberger, F. 2012. Dimethylsulphopropionate (DMSP) and proline from the surface of the brown alga *Fucus vesiculosus* inhibit bacterial attachment. Biofouling 28: 593–604.
- Saha, M., Rempt, M., Grosser, K., Pohnert, G. & Weinberger, F. 2011. Surface-associated fucoxanthin mediates settlement of bacterial epiphytes on the rockweed *Fucus vesiculosus*. Biofouling 27: 423–433.
- Saha, M. & Weinberger, F. 2019. Microbial “gardening” by a seaweed holobiont: surface metabolites attract protective and deter pathogenic epibacterial settlement. J. Ecol. 107: 2255–2265.

- Sawabe, T., Ezura, Y. & Kimura, T. 1992. Characterization of an alginolytic marine bacterium from decaying rishiri-kombu *Laminaria japonica* var. *ochotensis*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 58: 141–145.
- Schmidt, R. & Saha, M. 2021. Infochemicals in terrestrial plants and seaweed holobionts: current and future trends. *New Phytol.* 229: 1852–1860.
- Schroeder, D. C., Jaffer, M. A. & Coyne, V. E. 2003. Investigation of the role of a $\beta(1-4)$ agarase produced by *Pseudoalteromonas gracilis* B9 in eliciting disease symptoms in the red alga *Gracilaria gracilis*. *Microbiology* 149: 2919–2929.
- Segev, E., Wyche, T. P., Kim, K. H. *et al.* 2016. Dynamic metabolic exchange governs a marine algal-bacterial interaction. *elife* 5: e17473
- Selvarajan, R., Sibanda, T., Venkatachalam, S., Ogola, H. J. O., Obieze, C. C. & Msagati, T. A. 2019. Distribution, interaction and functional profiles of epiphytic bacterial communities from the rocky intertidal seaweeds, South Africa. *Sci. Rep.* 9: 19835.
- Seyedsayamdost, M. R., Case, R. J., Kolter, R. & Clardy, J. 2011. The Jekyll-and-Hyde chemistry of *Phaeobacter gallaeciensis*. *Nat. Chem.* 3: 331–335.
- Singh, R. P., Bijo, A. J., Baghel, R. S., Reddy, C. R. K. & Jha, B. 2011a. Role of bacterial isolates in enhancing the bud induction in the industrially important red alga *Gracilaria dura*. *FEMS Microbiol. Ecol.* 76: 381–392.
- Singh, R. P., Mantri, V. A., Reddy, C. R. K. & Jha, B. 2011b. Isolation of seaweed-associated bacteria and their morphogenesis-inducing capability in axenic cultures of the green alga *Ulva fasciata*. *Aquat. Biol.* 12: 13–21.
- Singh, R. P. & Reddy, C. R. K. 2014. Seaweed-microbial interactions: key functions of seaweed-associated bacteria. *FEMS Microbiol. Ecol.* 88: 213–230.
- Spaepen, S. & Vanderleyden, J. 2011. Auxin and plant-microbe interactions. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 3: a001438.
- Spoerner, M., Wichard, T., Bachhuber, T., Stratmann, J. & Oertel, W. 2012. Growth and thallus morphogenesis of *Ulva mutabilis* (Chlorophyta) depends on a combination of two bacterial species excreting regulatory factors. *J. Phycol.* 48: 1433–1447.
- Staufenberger, T., Thiel, V., Wiese, J. & Imhoff, J. F. 2008. Phylogenetic analysis of bacteria associated with *Laminaria saccharina*. *FEMS Microbiol. Ecol.* 64: 65–77.
- Sunairi, M., Tsuchiya, H., Tsuchiya, T. *et al.* 1995. Isolation of a bacterium that causes anaaki disease of the red algae *Porphyra yezoensis*. *J. Appl. Bacteriol.* 79: 225–229.
- Trias, R., García-Lledó, A., Sánchez, N., López-Jurado, J. L., Hallin, S. & Bañeras, L. 2012. Abundance and composition of epiphytic bacterial and archaeal ammonia oxidizers of marine red and brown macroalgae. *Appl. Environ. Microbiol.* 78: 318–325.
- Vairappan, C. S., Suzuki, M., Motomura, T. & Ichimura, T. 2001. Pathogenic bacteria associated with lesions and thallus bleaching symptoms in the Japanese kelp *Laminaria religiosa* Miyabe (Laminariales, Phaeophyceae). *Hydrobiologia* 445: 183–191.
- Warren, M., Raux, E., Schubert, H. L. & Escalante-Semerena, J. C. 2002. The biosynthesis of adenosylcobalamin (vitamin B₁₂). *Nat. Prod. Rep.* 19: 390–412.
- Weinberger, F. 2007. Pathogen-induced defense and innate immunity in macroalgae. *Biol. Bull.* 213: 290–302.
- Wichard, T. & Beemelmans, C. 2018. Role of chemical mediators in aquatic interactions across the prokaryote–eukaryote boundary. *J. Chem. Ecol.* 44: 1008–1021.
- Wiese, J., Thiel, V., Nagel, K., Staufenberger, T. & Imhoff, J. F. 2009. Diversity of antibiotic-active bacteria associated with the brown alga *Laminaria saccharina* from the Baltic Sea. *Mar. Biotechnol.* 11: 287–300.
- Wood, G., Steinberg, P. D., Campbell, A. H., Vergés, A., Coleman, M. A. & Marzinelli, E. M. 2022. Host genetics, phenotype and geography structure the microbiome of a foundational seaweed. *Mol. Ecol.* 31: 2189–2206.

(2022年12月26日受付, 2023年2月8日受理)

通信担当編集委員: 市原 健介