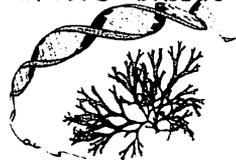


藻類学最前線



内藤佳奈子：海洋微細藻類に果たす微量鉄の役割 — 赤潮発生から地球環境問題まで —

微細藻類と微量鉄

鉄 (Fe) は全ての生物にとって増殖や生存における必須元素であり、特に、電子伝達、酸素代謝、窒素 (硝酸塩・亜硝酸塩) 同化、DNA 合成、RNA 合成、およびクロロフィル合成に対して不可欠な役割を果たしている。地殻を構成する元素の中で、Fe は O, Si, Al について 4 番目に多く存在するが、pH 8 付近の環境水中では難溶性の水酸化物を形成するため、コロイド態、粒子態の割合が高くなる。そのため、古くから、土壌、淡水、海洋などの環境では、生物が利用可能な溶存態の Fe 濃度は極めて低く、生物にとっての Fe 不足が指摘されてきた。しかし、Fe は実験環境 (周囲の空気や埃)、試薬、器具などから容易に混入 (コンタミネーション) するため、採水された環境水中の Fe 濃度の測定値は非常に高く、Fe 不足論を支持するものではなかった。水域環境下において、Fe が一次生産の制限因子の一つである可能性が見直され、微細藻類の増殖に対する微量 Fe の重要性が注目されるようになったのは、コンタミネーションを最小限にとどめるクリーン技術や高感度な分析法が開発され、海水中の真の Fe 濃度に近い値を測定できるようになった 1980 年代以降のことである。一般に外洋域における微細藻類は、大気中の黄砂などのエアロゾル (浮遊微粒子) の降下により、微量栄養源として Fe を得ている。しかし、栄養塩が高濃度であるにも関わらずクロロフィル量が少ない (High Nutrient Low Chlorophyll, HNLC) 海域であるアラスカ湾への大気からの Fe 供給量が低いことから、Martin らは Fe 制限の可能性について、鉄 (Fe in HNO_3) 添加培養実験により検討した⁽¹⁾。その結果、Fe 添加によるクロロフィル量の増加と栄養塩濃度の減少が確認され、高栄養塩海域で Fe 不足が微細藻類の増殖を制限していると説いた。また、海洋生物の光合成能を刺激する Fe の有用性が、大気中の CO_2 濃度変化と関連しており、地球の気候変動に影響を与えると論じた。これらの説が Martin の鉄仮説である。その後、生態系への影響を考慮した HNLC 海域 (東部赤道太平洋、南極海、西部北太平洋、東部北太平洋) への鉄 (FeSO_4 酸性海水) 散布実験が行われ、Fe 供給による微細藻類の増殖と表面海水の CO_2 分圧の減少が観測された。これらの実験により、Fe 不足が微細藻類の増殖に対して制限因子であることは実証されたといえ、最近のアラスカ湾海域における鉄散布実験では、珪藻に加え円石藻の増殖が確認され、種組成の変化も追跡されている⁽²⁾。しかし、人為的 Fe 添加による自然サイクルへの影響、 CO_2 吸収後の固定炭素の行方などは明らかでなく、今後の大きな課題とされている。一方、海水中の Fe スペシエーション (化学形態別定量) や、Fe 有用性を左右する有機配位子の回収

および検出に関する分析技術は、ここ 10 年で大きく進展しており^(3,4)、海洋における Fe の分布や挙動の解明が期待される。ところが、天然海水中の微細藻類が利用する Fe のみを分けて測定することは出来ず、微細藻類による Fe 取り込みメカニズムに関しては不明である。そこで、種々の微細藻類の Fe 利用能を解明するためには、水溶液中の Fe の化学形態を把握できる化学組成が明らかな人工海水をベースとした合成培地での無菌培養実験による検討が有力な手段となる。無菌条件下において微量の Fe 濃度を制御しながら藻類を扱う難しさ、人工合成培地による培養の困難さから、現在、真核微細藻類による Fe 取り込み機構に関しては、一端が明らかにされているにすぎない。

真核微細藻類による鉄取り込み機構

海洋微細藻類にとっての Fe の有用性は、水域による供給形態、濃度の違い、熱および光化学的变化、自然水中における様々な化学種との化学反応による変化、そして、生物の種類による多様な取り込み機構によって極めて複雑なものになっている。

鉄不足環境下に生息する多くの生物は、様々な Fe 取り込みの機構を発達させてきた。多くの原核生物 (細菌類やシアノバクテリア)、真菌類および高等植物は、Fe を細胞内に取り込むために大量のシデロホアを生産する^(5,6)。シデロホアとは、3 価の Fe との高い錯生成能を持つ有機配位子である (図 1)。上記の生物群は、この Fe 輸送配位子であるシデロホアを用いて、直接利用できない Fe 種との結合および配位子交換反応を行うことで、Fe シデロホア錯体を生成し、細胞内へと Fe を取り込むメカニズムを有する。微細藻類に関して、Hutchins らは珪藻 *Thalassiosira weissflogii*, *Skeletonema costatum* と藍藻 *Synechococcus* 属の 2 種による実験から、真核生物は四座配位子であるポルフィリンと結合した Fe を優先的に利用する Fe 還元酵素システム (高等植物の Fe 取り込み戦略 I と類似) に依拠しており、原核生物は六座配位子であるシデロホアを介して、細胞表面に存在するシデロホアレセプターにより Fe シデロホア錯体を取り込む (高等植物の Fe 取り込み戦略 II と類似) のではないかと指摘している⁽⁷⁾。

一方、Trick らは渦鞭毛藻の *Prorocentrum* 属 5 種、珪藻 *Thalassiosira pseudonana*, 緑藻 *Dunaliella tertiolecta* から生産された Fe(III) リガンド (Iron-complexing ligands) を検出した⁽⁸⁾。最近の報告では、クリーン技術と合わせて、Chrome azurol S (CAS) assay 法の改良、吸着カソーディックストリップングボルタンメトリー (ACSV) の導

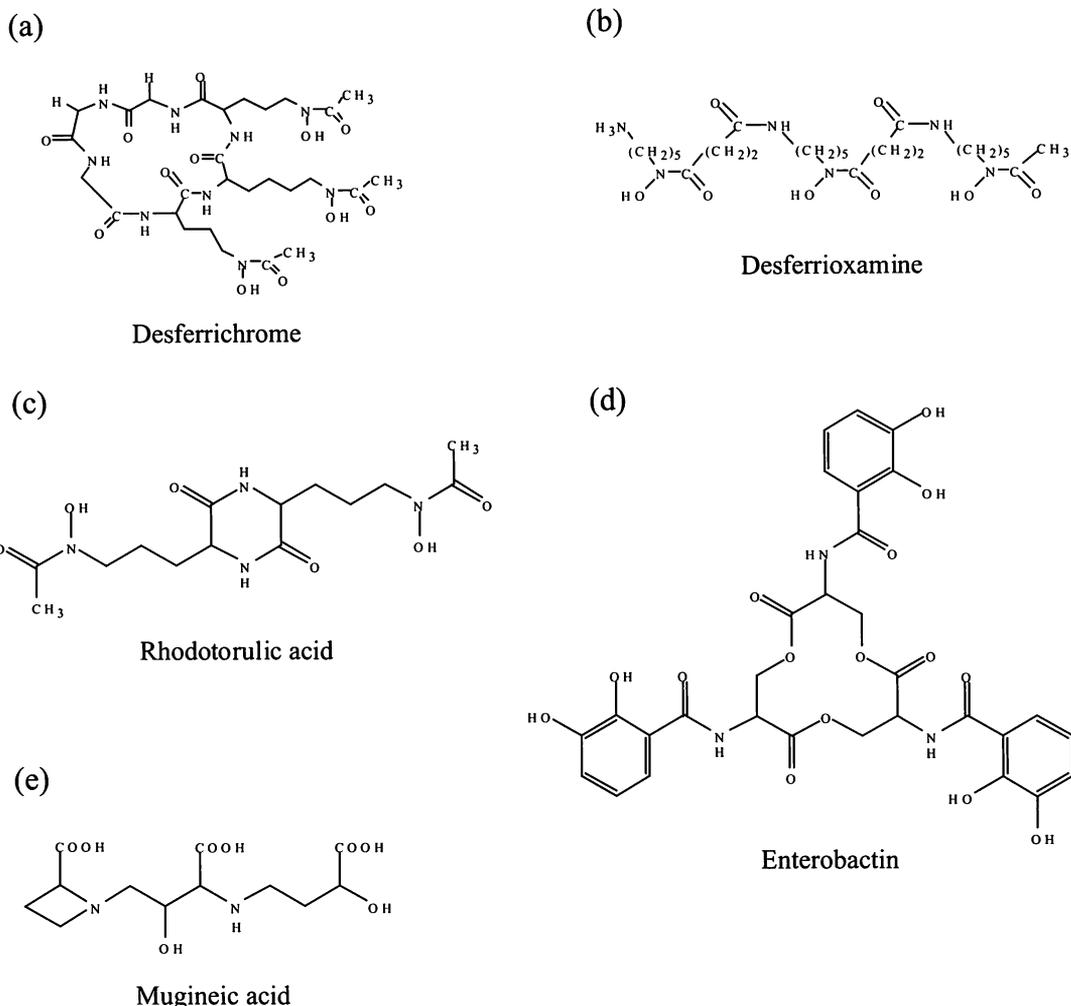


図1 代表的なシデロホアの構造式。(a) Desferrichrome (菌類シデロホア, ヒドロキサマート型), (b) Desferrioxamine (細菌シデロホア, ヒドロキサマート型), (c) Rhodotorulic acid (菌類シデロホア, ヒドロキサマート型), (d) Enterobactin (大腸菌シデロホア, カテコール型), (e) Mugineic acid (イネ科植物シデロホア)。

入により, 緑藻 *Closterium aciculare*, *Oltmannsiellopsis viridis*, *Scenedesmus incrassatulus*, ラフィド藻 *Chattonella antiqua*, *Heterosigma akashiwo*, クリプト藻 *Rhodomonas ovalis*, ハプト藻 *Emiliania huxleyi*, *Gephyrocapsa oceanica* についても, Fe(III) リガンドを生産することが示唆された⁽⁹⁻¹²⁾。これらの Fe(III) リガンドについては, 構造および Fe 取り込みに対する機能は明らかにされておらず, シデロホアであるか否かは定かでない。だが, 鉄不足条件下における各藻種の増殖とリガンド濃度との関係は示されており^(8, 10-12), シデロホアである可能性も考えられる。真核微細藻類による Fe 取り込み機構に関しては, 藻類の種レベルあるいは属レベルで異なる可能性がある。環境水中の Fe スペシエーションに影響を及ぼす, これら Fe(III) リガンドの構造解析および特性の解明が望まれる。

近年, 我々の研究グループは, 海産赤潮藻 17 種に対して良好な増殖を得られる人工合成培地 (IHN 培地) を開発した⁽¹³⁾。この培地を Fe 利用能に関して検討できるよう, 緩

衝剤および金属キレーターについて改変し (改変 IHN 培地), CAS assay 法を実施したところ, 16 種の真核微細藻類 (ラフィド藻 6 種, 渦鞭毛藻 3 種, 緑藻 1 種, クリプト藻 1 種, 珪藻 2 種, ユーグレナ藻 1 種, ハプト藻 2 種) による Fe(III) リガンドの生産が確認できた。海洋微細藻類による Fe 要求量は, 藻種 (特に沿岸種と外洋種), 細胞サイズにより異なるので⁽¹⁴⁾, Fe 取り込み機構を解明するためには, 数多くの藻種におけるデータの蓄積が必要である。それゆえに, 長年に渡って広範な海洋微細藻種の培養に適する人工合成培地の開発が試みられてきた。しかし, これまでに創案された人工合成培地では, 海洋微細藻類の多くは増殖不可能であり, Fe 取り込みに関する報告例は数種 (主に珪藻) に限られていた⁽¹⁴⁾。培地中の化学形態が把握でき, 多種の海洋微細藻類の無菌培養が可能な人工合成培地の登場は画期的であり, Fe をはじめとする栄養要求性の検討に極めて有効であることから, 真核微細藻類による Fe の取り込み機構および Fe 不足環境下における適応戦略に対する研究において, 今後の飛

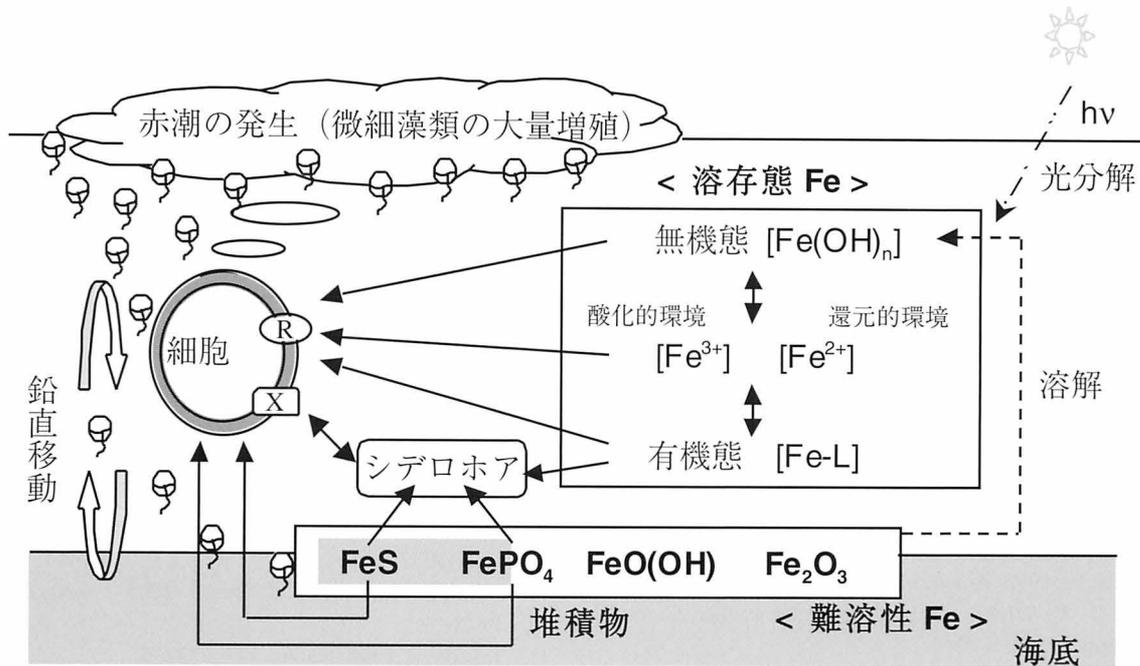


図2 海水中のFe取り込みと赤潮発生メカニズム. L, 有機配位子; R, 鉄還元酵素; X, シデロホアレセプター.

躍的な進展が期待できる。

赤潮発生と鉄との関係

赤潮は、微細藻類の増殖に好適な環境、一般に富栄養化した沿岸水域において発生し、著しく高い密度まで増殖した結果生じる海の着色現象である。1970年代からの赤潮藻類に対する生理、生態、生活史および水域の環境条件についての研究成果により、その発生機構の解明が進んでいる。河川からの流入や、雨水、堆積物の溶解などによって一時的なFeの大量供給が起これ、赤潮藻類の大量発生に影響を及ぼす可能性がある。最近の報告では、ブルーム（微細藻類の大量発生）中のFeスペシエーションをサイズ別に測定することにより、各Fe濃度とブルームとの関係が示されている⁽¹⁵⁾。しかし、これらの供給されたFeの赤潮藻類による取り込みメカニズムについては不明である。赤潮が頻繁に発生している沿岸域では、全Fe濃度および懸濁態（コロイド態＋粒子態）Fe濃度が高く、また、海水中の溶存態Feの99%以上が有機配位子と結合した有機Fe錯体であることが明らかにされている^(3,16)。

改変IHN培地を用いた14種の赤潮原因藻類によるFe添加培養実験では、難溶性のFeSが、クリプト藻*Rhodomonas ovalis*、渦鞭毛藻*Heterocapsa circularisquama*、*Karenia mikimotoi*の増殖に利用された。さらに、難溶性のFePO₄が、これら3藻種に加えて、ラフィド藻*H. akashiwo*、渦鞭毛藻*Heterocapsa triquetra*、珪藻*Ditylum brightwellii*の増殖に利用されることが確認できた⁽¹⁷⁾。難溶性Feを利用したこれらの赤潮藻は鉛直移動できる生態戦略を有する種が多

いことから、底層水中もしくは海底堆積物表面に存在する難溶性Feが大量増殖に重大な役割を果たしているとは推定できる。また、有機配位子（サリチル酸（SA）、クエン酸（CA）およびEDTA）を用いて、有機Fe錯体の増殖に対する影響を検討した。その結果、Fe添加のみ（培地中でFe(OH)₂⁺、Fe(OH)₃、Fe(OH)₄⁻として溶存）と比較した場合、サリチル酸存在下（Fe(SA)₂⁻として溶存）において、緑藻*O. viridis*およびハプト藻*Cricosphaera roscoffensis*の増殖促進が確認でき、クエン酸存在下（Fe₂(OH)₂(CA)₂²⁻として溶存）においては、ラフィド藻*H. akashiwo*、渦鞭毛藻*H. triquetra*、ユーグレナ藻*Eutreptiella gymnastica*、ハプト藻*C. roscoffensis*の増殖促進が見られた⁽¹⁸⁾。EDTA添加（主にFeOHEDTA²⁻として溶存）では、ラフィド藻の*Chattonella antiqua*、*C. marina*、*C. ovata*、*C. verruculosa*、*Fibrocapsa japonica*、*H. akashiwo*、渦鞭毛藻*H. triquetra*、*K. mikimotoi*、ユーグレナ藻*E. gymnastica*、ハプト藻*C. roscoffensis*の増殖促進が示された⁽¹⁸⁾。さらに、各キレート培地中でFe濃度に対して有機配位子濃度の割合を変化させた場合（Fe錯体および他の金属錯体の占有率が変化）、赤潮藻の最大増殖量だけでなく増殖速度の変化が認められた⁽¹⁸⁾。これらの結果から、多くの赤潮藻類は有機態Feを増殖に利用し、その増殖は有機配位子の種類だけではなく、配位子濃度による金属スペシエーションの変化からも影響を受けることが示された。これらはいずれも、沿岸海水中でFeと錯生成する有機物の存在が、赤潮発生と大きく関与していることを示唆している。現在までの研究結果と海水中のFeの化学形態からFeを通し

た赤潮藻の増殖メカニズムは図2のように考えられる。

赤潮形成には、その大量増殖を支えるだけの栄養塩の供給が必要である。武田はFe-EDTA添加により、珪藻 (*Chaetoceros* spp. が優占種) による栄養塩 (珪酸塩 / 硝酸塩, 珪酸塩 / リン酸塩) 消費比率が変化することを示している⁽¹⁹⁾。赤潮藻類の増殖におけるFeと栄養塩との関係についても興味深いところであり、取り組まなければならない大きな課題である。

参考文献

- (1) Martin, J. H. & Fitzwater, S. E. 1988. *Nature* 331: 341-343.
- (2) Boyd, P. W., Strzepek, R., Takeda, S. *et al.* 2005. *Limnol. Oceanogr.* 50: 1872-1886.
- (3) Rue, E. L. & Bruland, K. W. 1995. *Mar. Chem.* 50: 117-138.
- (4) Macrellis, H. M., Trick, C. G., Rue, E. L., Smith, G. & Bruland, K. W. 2001. *Mar. Chem.* 76: 175-187.
- (5) Guerinot, M. L. 1994. *Annu. Rev. Microbiol.* 48: 743-772.
- (6) Wilhelm, S. W. 1995. *Aquat. Microb. Ecol.* 9: 295-303.
- (7) Hutchins, D. A., Witter, A. E., Butler, A. & Luther, G. W. III 1999. *Nature* 400: 858-861.
- (8) Trick, C. G., Andersen, R. J., Price, N. M., Gillam, A. & Harrison, P. J. 1983. *Mar. Biol.* 75: 9-17.
- (9) Benderliev, K. M. & Ivanova, N. I. 1994. *Planta* 193: 163-166.
- (10) Boye, M. & van den Berg, C. M. G. 2000. *Mar. Chem.* 70: 277-287.
- (11) Hasegawa, H., Matsui, M., Suzuki, M., Naito, K., Ueda, K. & Sohrin, Y. 2001. *Anal. Sci.* 17: 209-211.
- (12) Naito, K., Suzuki, M., Matsui, M. & Imai, I. 2004. *Phycologia* 43: 632-634.
- (13) Imai, I., Hatano, M. & Naito, K. 2004. *Plankt. Biol. Ecol.* 51: 95-102.
- (14) Sunda, W. G., Price, N. M. & Morel, F. M. M. 2005. p. 35-63. In: Andersen, R.A. (ed.) *Algal Culturing Techniques*. Academic Press, New York.
- (15) Gobler, C. J., Donat, J. R., Consolvo, J. A. III & Sañudo-Wilhelmy, S. A. 2002. *Mar. Chem.* 77: 71-89.
- (16) Gledhill, M. & van den Berg, C. M. G. 1994. *Mar. Chem.* 47: 41-54.
- (17) Naito, K., Matsui, M. & Imai, I. 2005. *Harmful Algae* 4: 1021-1032.
- (18) Naito, K., Matsui, M. & Imai, I. 2005. *Plankt. Biol. Ecol.* 52: 14-26.
- (19) Takeda, S. 1998. *Nature* 393: 774-777.

(京都大学)