

3. 研究内容

1) 研究概要・目的

昨今の新型ウイルスに象徴される新興感染症の発生・拡大は、近年のグローバル化や環境変化との関連性が指摘されている(e.g., Daszak et al. 2001, *Acta tropica*78:103)。さらなる温暖化の進行に伴い環境悪化が懸念されている今日、環境変化が宿主-感染者の動態に及ぼす影響を明らかにしていくことは、感染症の動向を予測する上で不可欠な知見である。しかし、実際に野外で病原体・宿主が環境変化と共にどのように変化してきたのか、長期にわたる観測例は殆どない。

一方、近年の技術革新により、過去情報が残る堆積物コアから過去の微生物相変化を再現する技術は大きく進展しつつあり、これまで復元できなかった宿主プランクトンと真菌類ツボカビを再現することが可能となってきた。そこで本研究は、近畿地方 2000 万人の水がめである琵琶湖を対象に新たな微生物相の復元を達成させ、環境変化が宿主プランクトンと感染者の動態に及ぼす影響を明らかにすることを目的とする。

2) 研究内容と成果

2017 年に採取した堆積物コア試料を用いて、これまでに宿主プランクトンの長期変化と感染者(ウイルス・真菌類ツボカビ)についての解析・観察を実施した。本報告書では、1) 宿主プランクトン長期変化の概要と 2) 新規ミジンコ感染ウイルスの探索・寄生性ツボカビ類による感染率の推移について紹介する。なお、本研究で用いる堆積試料の推定年代の誤差は、時期により異なるが 1980 年代以降の年代誤差は 2 年未満である(図 1)。

① 宿主プランクトンの長期変化

琵琶湖では近年、鮎不漁の原因の一つとして外来種として知られる大型植物プランクトン *Micrasterias hardyi* の大增殖が指摘されており問題となっているが、本種の侵入時期は 2000 年頃(Hodoki et al. 2019: *Limnology* <https://doi.org/10.1007/s10201-019-00595-x>)と推定されていた。しかし、本研究では、*M. hardyi* は僅かな量ながら 1960 年以前から現在までの堆積試料中から、ほぼ連続的に見いだされ(図 2a,b)、かなり以前より侵入していたことが示された。また興味深いことに、*Staurastrum dorsidentiferum* 等の大型緑藻類は 2000 年代頃より急速に増加し、琵琶湖固有種の珪藻 *Aulacoseira nipponica* は 1980 年代以降、減少の一途をたどっていた(図 2, 3)。さらに主要な動物プランクトンであるミジンコ群集も 2000 年頃より大きく変化していた。大型プリカリア種 *Daphnia pulicaria* は 2000 年頃出現し、その後、増加するのに対し、元々生息していた在来種 *Daphnia galeata* は、やや減少傾向にある(図 4)。つまり、琵琶湖では動・植物プランクトン共に現在の生物相に至る変化が 2000 年代頃より進行しつつあることが明らかとなってきた。

なぜ琵琶湖で、2000 年頃からプランクトン群集が変化したのかについて、本研究ではさらにプランクトン群集の変動要因について、生物間相互作用・環境条件との関係について統計解析を進めた。その結果、藻類群集の変動に気温上昇や風速・日照条件と言った気象条件の変化と大型ミジンコ、プリカリア種の増加が強い影響を与えてきたことが明らかとなった(図 5)。前者の気象条件については、筆者らの 2000 年までの変動を解析した先行研究結果(Tsugeki et al. 2010)と調和的で、固有種 *Aulacoseira nipponica* の減少と汎存種 *Staurastrum dorsidentiferum* の増加は、温暖化に伴う鉛直混合強度の低下や日照条件の変化が両者の増減を誘引していると推察された。

② 新規ミジンコ感染ウイルスの探索と寄生性ツボカビの感染率変化

ウイルスのメタゲノム解析により、これまでに過去 100 年分に相当する堆積層分から SM 法によりウイルスの回収を行い、世界でも報告例が限られている過去 100 年にわたるウイルス叢の復元を試みた。現在、琵琶湖の水質変化が著しかった 1960-80 年台を境にウイルス相がどのように変化したかについて解析を進めている。さらに新規ミジンコ感染ウイルス探索のため、琵琶湖から採取したミジンコ 500 個体について消化管内容物を除去し、ウイルスの濃縮・精製後、次世代シーケンサーにより DNA 配列の取得を行った。その結果、有力な新規ミジンコウイルスの配列候補の 1 つとして、複製タンパク質と外皮タンパク質をコードする環状 DNA 構造の 1.7kb のコンティグが得られた。この配列の一部は、既知のミジンコ感染ウイルス *Daphnia mendotae-associated circovirus* と相同性を示している。現在、ゲノム支援のサポートを受け、追加のシーケンス解析を進めている。

一方、本研究でこれまでほぼ見られなかった大型植物プランクトン *Micrasterias hardyi* が現在にかけて大增殖する変動過程を初めて明らかにした。さらに、本種が大增殖できるようになった要因の一つに、寄生性ツボカビの影響の可能性が推察された。実は、植物プランクトンはツボカビに寄生されるとほぼ確実に死亡し、その死滅量が時には膨大となることが知られている。琵琶湖では、優占する植物プランクトンはツボカビに寄生され、時期によっては基礎生産量の 20% が消費されうるといふ (Kagami et al. 2006. Limnol. Oceanogr.)。琵琶湖で大增殖している *Micrasterias hardyi* に関しても、実際にツボカビ感染が確認されている (Hodoki et al. 2019, Kagami et al. in preparation)。一方、ヨーロッパの湖沼では、堆積試料中の DNA 情報に基づく解析から (Marcia et al. 2015. PlosOne doi: 10.1371/journal.pone.0118738), 寄生性ツボカビの量は、宿主と共に時代により大きく変化することが判ってきた。そこで本研究では *Micrasterias hardyi* の大增殖が可能になってきた要因の一つに、ツボカビ類による感染率が減少し、その結果、大增殖が可能になったという仮説を立て、堆積試料中の *Micrasterias hardyi* にツボカビ類の付着があるか否かを計数観察した。

観察の結果、*Micrasterias hardyi* の個体数が急増する時代にもツボカビ感染率は、現場で観察された感染率 (Hodoki et al. 2019) とほぼ同じ、3-7%程度で推移していることを見出した (図 6)。この結果は、*Micrasterias hardyi* の増加と共にツボカビの量も増加するが、感染率はほぼ変わらないことを意味する。従って、想定した感染率の低下が本種の 2000 年頃以降の増加に寄与したという説は考えにくいことが判明した。しかしながら、寄生性ツボカビの復元は、特殊な試薬と蛍光顕微鏡を用いた観察が必要で、現時点で蛍光顕微鏡の利用に制限があり、1990 年代以降のサンプルしか確認できていない。また、これまで世界的にもツボカビの復元に関する報告例がほとんどないため、ツボカビが湖底に沈降後、堆積試料中に分解されずに長期保存されるのかといった点を今後、丁寧に評価検証していく必要がある。

3) 成果発表

1. 榎木玲美、古代湖・琵琶湖における宿主プランクトンと寄生者の長期変動解析. 北海道大学低温科学研究所・共同利用 研究集会「環境微生物学における革新的手法および生態系保全における活用法」2019 年 11 月 28 日
2. 本庄三恵、榎木玲美、加三千宣、岡崎友輔、木村成子、吉田天士、左子芳彦、工藤洋 (2019) 琵琶湖堆積物からの過去 100 年のウイルス叢復元の試み. 日本生態学会大会第 66 回全国大会
3. 榎木玲美、本庄三恵、加三千宣 (2019) ミジンコ遺骸・DNA 情報から紐解く琵琶湖生態系の変化：栄養カスケードに着目して. 日本生態学会大会第 66 回全国大会

4) 今後の課題と展望

2017年琵琶湖では、貴重な水産資源である鮎がかつてない程の不漁に陥り、漁業関係者は深刻な状態となっている。このような中、鮎不漁の原因として *Micrasterias hardyi* の驚異的な拡大を指摘する声がある。今後、*Micrasterias hardyi* に大きな影響を与えるとする寄生性ツボカビの動態について、ツボカビ由来の DNA 濃度と蛍光顕微鏡の観察結果に基づくツボカビ数が同じ変動パターンを示すのかどうかを比較検証していくことで、信頼性の高い寄生性ツボカビの復元が実現可能となる。こういった方法で寄生者の長期的な動態を明らかにしていくことは、琵琶湖の鮎不漁の原因とされるプランクトン急増がなぜ生じているのかを突き止めるためにも重要な知見となるであろう。さらに宿主プランクトンと寄生者の動態がこの100年でどのように推移しているのかを明確にすることで、身の周りの環境で、宿主と寄生者間の関係が環境変化により、どのような変化を遂げてきているのかについての実態が明らかとなっていくであろう。

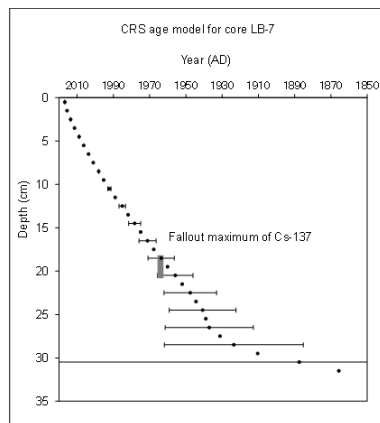


図1.本研究で用いた堆積物コアのCRSモデルによる推定年代

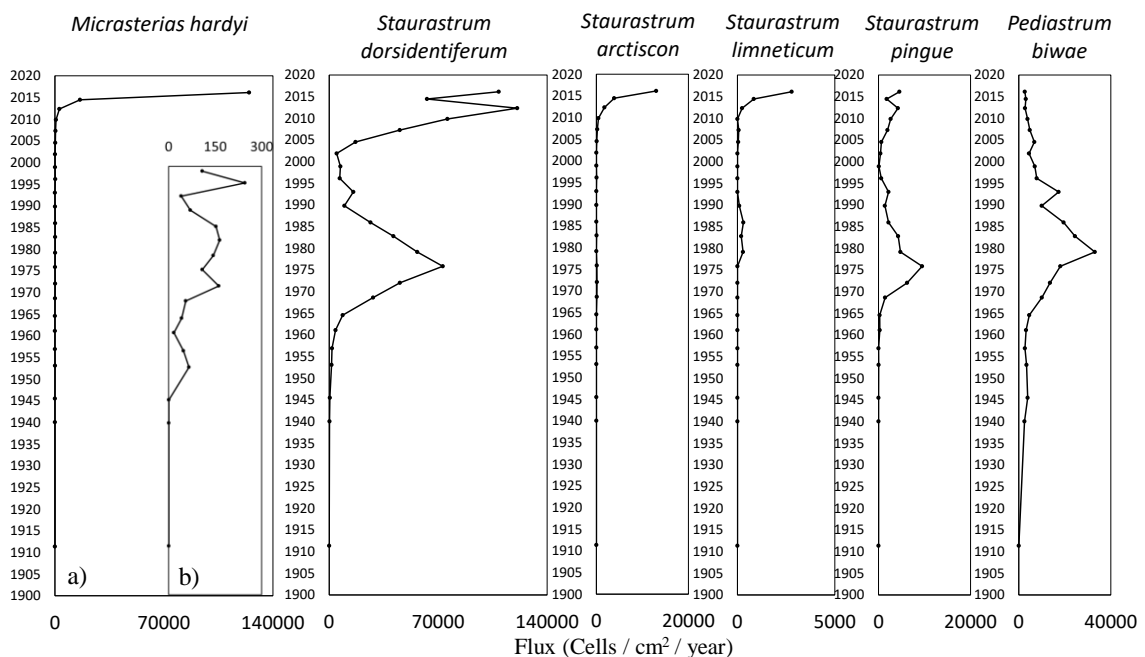


図2. 琵琶湖の過去100年にわたる大型緑藻類の変動
なお *Micrasterias hardyi* のみ、a) 1900~2017年、b) 2000年以前の変動をスケールを変えて明記

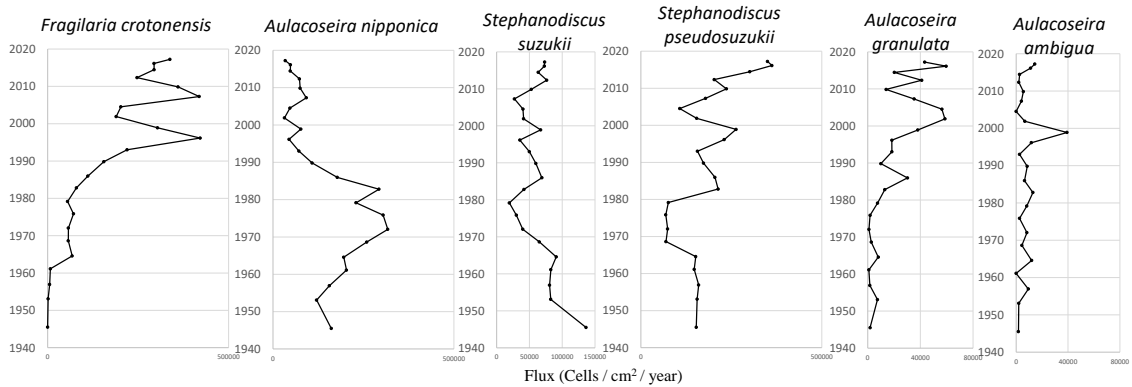


図3. 琵琶湖の過去100年にわたる珪藻類の変動

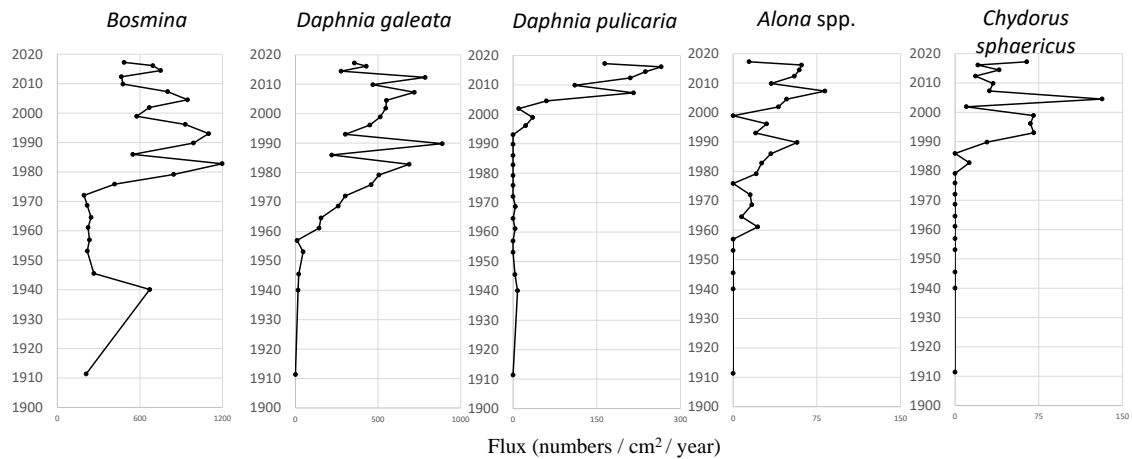


図4. 琵琶湖の過去100年にわたる動物プランクトンの変動



図5. 一般化加法モデル(GAM)による大型緑藻類の変動要因に関する解析結果