Mini Review

殺藻性ウイルスによる赤潮防除の可能性

Possible Use of Algicidal Viruses as Microbiological Agents against Harmful Algal Blooms

長 崎 慶 三

KEIZO NAGASAKI

水産庁 南西海区水産研究所 赤潮環境部赤潮生物研究室

〒739-0452 広島県佐伯郡大野町丸石 2-17-5

Red Tide Biology Section, Red Tide Research Division, Nansei National Fisheries Research Institute
2-17-5 Maruishi, Ohno, Saeki, Hiroshima 739-0452, Japan

(受付 1998年1月28日—受理 1998年3月13日)

To develop a practical countermeasure for eliminating harmful algal blooms (HABs), microbiological algicidity has recently been highlighted. In 1996, a virus (HaV) specifically infectious to a representative harmful bloom causing microalga, *Heterosigma akashiwo*, was isolated from the natural seawater. The virus has at least 4 characteristics required for biological agents to prevent *H. akashiwo* blooms in the natural environment: (1) HaV was isolated from “natural seawater” and experienced no artificial operation for its DNA, (2) HaV attacks *H. akashiwo* quite specifically, (3) HaV reproduces itself only by infecting to the host, *H. akashiwo*, (4) production of a small amount of HaV at a moderate price has been succeeded.

1. はじめに

本稿では、赤潮プランクトンを特異的に死滅させるウイルスを利用した赤潮防除の可能性について論ずる。

人間にとって海は、食を育む場としてのみならず、アメニティの場としてもかけがえのない財産である。しかしながら、わが国の沿岸域においては、1960年代半ば以降、赤潮あるいは貝毒といった現象がごく頻繁に発生するようになり、しばしば海の持つ重要な機能が損なわれている。健全な水産増養殖の振興はきわめて具体的な食糧対策の一つであり、そうした意味からも、赤潮・貝毒に対する有効な対策の推進は21世紀に向けての最重要課題の一つであると言えよう。過去に、化学的手法あるいは物理的手法による赤潮防除のための手法がいくつか提案さ

れたが、規模・コスト・安全性といった問題点が十分に解決されず、いずれも実用化には至っていない。そうした経緯を受け、近年、微生物の持つ有害プランクトンへの攻撃性を利用して赤潮を防除しようという試みがスタートし、有害プランクトンに対して殺藻性を持つ細菌・ウイルスなどが多数分離されるようになった³⁾。なかでもウイルスは宿主特異性が高く、赤潮防除のための微生物農薬的な応用を考える上で、その安全性に高い期待が寄せられている。

2. 赤潮防除に求められる概念

海の生態系には、陸上よりもはるかに多様な生物が、互いに時空間的な平衡関係を保ちながら棲息している。しかしながら、ある空間で、特定の生物（例えば農作物や養殖魚）の集約的な栽培・飼育が行われたり、陸域からの負荷により水塊中の栄養塩環境

が著しく変動した場合などには、生物多様性の低下に伴い生態バランスの維持能が低下する⁴⁾。こうした均衡が崩れた海域で、ある種の微生物（植物プランクトン等）が爆発的に増殖し、その場を占有してしまった状態が、いわゆる「赤潮」と考えられる。

増養殖の場において、赤潮の原因となるプランクトンは、養殖魚介類に被害を与えるという点で、陸上の農業でいうところの病害虫に相当することから、養殖の場から赤潮プランクトンを除去するための技術、すなわち「殺虫法」ならぬ「殺藻法」の開発が求められた。実際にこうした要望を受け、アクリノール⁷⁾、過酸化水素⁸⁾、硫酸アルミニウム⁹⁾や粘土¹³⁾などの散布による赤潮プランクトンの駆除法が提案され、検討されてきた。

しかしながら「殺藻法」に求められるコンセプトは、農地における「殺虫法」に求められるそれとは大きく違っていた。海は農地とは異なり完全開放系であるため、人為的に投入した薬剤や粘土は、三次元的に速やかに拡散し希釈される。赤潮発生域は広大であり、海域への物質の大量投入を伴う技術であれば、散布にかかる労力やコストが大きな問題になる。さらに、赤潮に対して投入された異物が、目的とする赤潮プランクトン以外の生物種に対して与える影響はどうか、といった安全性も重要なポイントである。われわれはすでに、化学農業の「恩恵」と「リスク」という二面性を経験し、異物の投入による人為的な生物制御がいかに慎重に行われるべきであるかということを思い知った。そして現状では、残念ながら「規模・コスト・安全性」といった問題が十分に解決されないまま、いずれの赤潮防除法も実用化には至っていない。

そこで発想を変え、もともと自然の生態系の中で機能している「赤潮を抑える方向に働く生物作用」に注目したのが、「微生物学的赤潮防除」という概念である。自然そのものが持つ赤潮制御のメカニズムを見つけたし、それを人間の手で拡大利用することができれば、自然への影響が小さい、はやりの言葉で言えば「海にやさしい」赤潮防除の実現に結びつけることができるかもしれない。そのヒントの一つが、赤潮が自然消滅していくプロセスの中に隠されていた。

Fig. 1 Vegetative cells (A) and a cyst (B) of *Heterosigma akashiwo*.

3. 自然の中にある赤潮抑制のメカニズム

Heterosigma akashiwo (Fig. 1A) は、南北両半球の温帯域・亜寒帯域に分布する単細胞性の赤潮原因プランクトンであり、日本のみならずカナダ・北米・イギリス・ニュージーランドなどの魚類養殖に深刻な被害をもたらしている²⁾。本種は、シスト (Fig. 1B) と呼ばれる一種のタネ細胞を形成し、栄養細胞の生育に適さない時期にも底泥中で生残するため、*H. akashiwo* 赤潮が一度発生した海域では再発の可能性がきわめて高い⁵⁾。

わが国各地の沿岸域では、晩春から初夏にかけて *H. akashiwo* 細胞密度が緩やかに増加し、主に梅雨時季の前後に本種による赤潮が発生する。赤潮のピーク時には 1 ml の海水中に数十万細胞という密度まで *H. akashiwo* が増殖し、海水は茶褐色～黄褐色を呈する。ところが、この赤潮の終息は驚くほど唐突である。例えば、前日まで表層水 1 ml 中に数万のオーダーで存在していた *H. akashiwo* 細胞が、翌日には 1 ml 中数個にまで減少し⁹⁾、海水の色も全く様変わりしてしまう (Fig. 2)。 *H. akashiwo* 赤潮のこうした唐突な崩壊現象は古くから知られていたが、その機構は謎とされてきた¹⁾。

Fig. 2 Daily changes in *Heterosigma akashiwo* cell density (●) and the proportion of VLP (virus-like particle)-harboring cells (■) in northern Hiroshima Bay, Japan, in 1993. Note that the VLP-harboring cells appeared specifically in the final stage of the red tide.

Fig. 3 An intact cell (A) and a VLP-harboring cell (B) of *Heterosigma akashiwo* in the natural red tide population. Scale bars indicate 2 μ m.

1992年に著者らは、*H. akashiwo* 赤潮の現場試料を透過型電子顕微鏡で観察するうちに、正常な細胞形態を保持した大多数の *H. akashiwo* 細胞 (Fig. 3A) にまじって、ウイルス様粒子 (VLP) を多数保持した細胞 (Fig. 3B) が存在することを発見した¹⁰⁾。翌1993年、現場の *H. akashiwo* 赤潮を経日的に調査し、*H. akashiwo* 細胞数が激減する時期 (赤潮崩壊期) に特異的に、ウイルス様粒子を保持した *H. akashiwo* 細胞が出現することを明らかにした (Fig. 2)。これらの事実は、*H. akashiwo* 赤潮の唐突な終息と、ウイルス様粒子を保持した細胞の出現との間に、何らかの関係がある可能性を示唆している⁹⁾。著者らは、*H. akashiwo* 細胞内に観察されたウイルス様粒子が自然の生態系の中で赤潮を抑える方向に働く生物作用を司っているものと考え、この可能性を検証すべく、*H. akashiwo* 細胞に感染するウイルスの探索を進めた。

4. ヘテロシグマアカシオウイルス (HaV)

1996年、著者らは、*H. akashiwo* に対する殺菌因子を現場赤潮海水の0.2 μ m 以下のサイズ画分から分離することに成功した。この殺菌因子を用いた接種実験の結果、(1) 死滅したヘテロシグマ細胞中にウイルス様粒子が検出される、(2) 健全な *H. akashiwo* 細胞にはウイルス様粒子が検出されない、(3) 人為的にそのウイルス様粒子を接種することで健全な細胞の溶菌を起こすことができる、というコッホの条件をすべて満たすことが確認され、本殺菌因子は *H. akashiwo* に対する殺菌能を有するウイルスであることが証明された¹¹⁾。このウイルスは *Heterosigma akashiwo virus* (HaV) と命名され、現在13クローンが水産庁南西海区水産研究所に保存されている。

HaV は、直径約0.2 μ m の正二十面体であり、バクテリオファージや動物ウイルスにみられるような尾部や外膜を持たない (Fig. 4)。また、その宿主特異性はかなり高く、これまでに属の異なるプランクトン約20種を使って接種実験を行ったが、*H. akashiwo* 以外に HaV による感染を受けるプランクトンはみつかっていない。すなわち、この HaV は多々あるプランクトン種のなかでも *H. akashiwo* に対してきわめて特異的に感染し、その細胞を破壊するものと考えられる¹¹⁾。また、*H. akashiwo* 株によって、HaV に対する感受性に多様性がみられるこ

Fig. 4 A negatively stained HaV (A) and possible 3-dimensional structure of HaV (B). The particle is ca. $0.2 \mu\text{m}$ in diameter.

とも明らかとなった¹²⁾。

5. 微生物学的赤潮防除の可能性

本研究の目的は、自然のウイルスが備え持つ殺藻作用（抗赤潮活性）を利用して、海に対する異物の投入を伴わない赤潮防除技術を探ることにある。その可能性を検討するためには、上述の3点、すなわち「規模」「コスト」「安全性」といった問題を十分に吟味する必要がある。

まず「規模」については、ウイルス自体に備わっている自己複製能がこの問題をクリアする鍵になると考える。上述のように、HaVは宿主であるヘテロシグマ細胞を破壊してゆくことによって自己増殖するという性質を持つ。したがって、薬剤などを散布する方法と異なり、*H. akashiwo* 赤潮の発生現場では比較的少量のウイルスの投入で広範囲に効果を及ぼし得るものと期待される。HaVの増殖特性をさらに詳細に検討することで、その期待値についてももう少し具体的な数字が得られるだろう。

第二に「コスト」について。室内実験系でのHaVの小規模培養は、比較的安価に行うことが可能である。今後の課題としては、HaVを安定な状態で保存する技術の確立と、今あるウイルス培養技術を大量生産のためのシステムに発展させてゆく努力が求められるよう。

そして第三に「安全性」の問題。研究者サイドは安全性の検討に必要な客観的データを提示することはできるが、世論の理解なしにこの問題の解決はあり得ない。ただし、このウイルスは自然の生態系の中から分離されたものである。人為的な遺伝子操作などの手は一切加わっていない。また、天然の*H. akashiwo* 赤潮の末期には、このウイルスに侵され

た死にかけのヘテロシグマ細胞を多数観察することができる (Fig. 2)。すなわち、生態系はHaVを乗せた状態で今も駆動し続けているし、自然の*H. akashiwo* 赤潮の中ではその終息時期にウイルスによる溶藻が実際に起こっている。海にとってHaVは異物ではない。ただし、ウイルスの自然環境中における遺伝子の運び屋としての役割が近年注目されるようになってきていることから、安全性の保証をさらに確たるものとするには、HaVのもつ遺伝情報ならびにベクターとしての感染機能を十分に解明しておく必要があるだろう。

また、生物農薬としての使用を考えた場合、言うまでもなく、HaVがターゲットとなる生物種 (*H. akashiwo*) のみに特異的に作用し、それ以外の生態系構成要素への影響はできるだけ小さいことが望ましい。HaVの宿主特異性を魚類・甲殻類・動物プランクトン等も含めて詳細に解析することも、現場応用の可能性を吟味する上で欠かせない要件であろう。

今後さらに、HaVを研究材料としてウイルスによる赤潮防除の可能性を探る一方で、*H. akashiwo* 以外の有害・有毒プランクトンに対して感染・殺藻する新たなウイルスの分離に向けた努力が望まれる。

文 献

- 1) 本城凡夫, 下鶴瀬忠, 上田直子, 花岡資. 1978. 赤潮発生期における植物プランクトン組成の推移とその特徴. 日本プランクトン学会報. **25**: 13-19.
- 2) Honjo, T. in "Toxic phytoplankton blooms in the sea", ed. by T. J. Smayda and Y. Simizu. Elsevier, New York, 1993, pp. 33-41.
- 3) 石田祐三郎, "赤潮と微生物—環境にやさしい微生物農薬を求めて—", 石田祐三郎・菅原庸編. 恒星社厚生閣, 1994, pp. 9-21.
- 4) 岩花秀典, "バイオ農薬・水産薬の開発と利用", 江草周三・駒田旦・岩花秀典監修. CMC, 1991, pp. 1-3.
- 5) Imai, I. and S. Itakura. 1991. Densities of dormant cells of the red tide flagellate *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae) in bottom sediments of northern Hiroshima Bay, Japan. Bull. Japan. Soc. Microb. Ecol. **6**: 1-7.
- 6) 丸山俊朗, 半沢昌彦, 森隆, 吉田多摩夫. 1984. 硫酸アルミニウムによる *Olisthodiscus* sp. の除去とその機構. 日本水産学会誌, **50**: 457-463.
- 7) ムハマド ジャヒドール ハク, 野澤治治, 尾上

- 義夫, 松元正剛, 荒牧孝行. 1991. 赤潮生物, 特にシャトネラ属に対するアクリノールの防除効果. 水産増殖. **39**: 141-145.
- 8) 村田寿, 境正, 延東真, 黒木暘. 1989. *Chattonella marina* 赤潮除去剤の検討—特に過酸化水素と高度不飽和脂肪酸から発生するフリーラジカルの除去能. 日本水産学会誌. **55**: 1075-1082.
- 9) Nagasaki, K., M. Ando, S. Itakura, I. Imai and Y. Ishida. 1994. Viral mortality in the final stage of *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae) red tide. J. Plankton Res. **16**: 1595-1599.
- 10) Nagasaki, K., M. Ando, I. Imai, S. Itakura and Y. Ishida. 1994. Virus-like particles in *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae): a possible red tide disintegration mechanism. Mar. Biol. **119**: 307-312.
- 11) Nagasaki, K. and M. Yamaguchi. 1997. Isolation of a virus infectious to the harmful bloom causing microalga *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae). Aquat. Microb. Ecol. **13**: 135-140.
- 12) Nagasaki, K. and M. Yamaguchi. 1998. Intraspecific host specificity of HaV (*Heterosigma akashiwo* virus) clones. Aquat. Microb. Ecol. **14**: 109-112.
- 13) 茂野邦彦, 九万田一巳, 武田健二, 荒牧孝行, 昭和54年度赤潮対策技術開発試験報告書, 鹿児島県水産試験場 (水産庁). 1980, pp. 14-41.