

Manage, P.M., Z. Kawabata and S. Nakano (2000)

Algicidal effect of the bacterium *Alcaligenes denitrificans* on *Microcystis* spp.

*Aquat. Microb. Ecol.* **22**: 111-117

### *Microcystis* 属に対する細菌 *Alcaligenes denitrificans* の殺藻効果

微細藻類の生理的な状態が細菌によって決定づけられることがあり、藻類ブルームの促進や消滅に影響していると考えられている。これまでに殺藻能をもつ様々な細菌が報告されているものの、殺藻範囲や殺藻能についての報告が多く、詳細な殺藻効果についての研究は限られている。本研究は *Microcystis* 属に対する *Alcaligenes denitrificans* の殺藻効果を詳細に研究したものである。

愛媛県松山市片山に位置する古池の表層から、1997年5月から1998年1月にかけてバケツを用いて採水した。採水試料は、MA 寒天培地と、*M. aeruginosa* NIES-298 株を藻類ローンとした重層寒天平板に接種した。*M. aeruginosa* が死亡しプラークが形成された部分から細菌を釣菌し、20-25 ml のカシトン改変培地に接種して細菌株を単離した。単離した細菌は対数増殖期に到達した状態で *M. aeruginosa* に接種した。最も強い殺藻効果が見られた1株について Biolog を用いて同定を行い *A. denitrificans* と同定できた。本株を用いて、以下の詳細な殺藻効果について実験を行った。*A. denitrificans* の殺藻効果を *Microcystis* 属 (*M. aeruginosa*, *M. viridis*, *M. wesenbergii*) の誘導期、対数増殖期、定常期について試験した。細胞密度は、各藻類が  $2-6 \times 10^6$  cells ml<sup>-1</sup>、細菌が  $1-2 \times 10^4$  cells ml<sup>-1</sup> となるように接種した。*Microcystis* 属は顕微鏡下で血球計算盤を用いて細胞数を計数した。*A. denitrificans* は寒天平板法によってコロニー数を計数した。計数は2日おきに行った。培養条件は温度 25 °C、光強度 48.8-58.6  $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、明暗周期 12h:12d とした。また、*A. denitrificans* の細胞密度を変化させることで殺藻効果がどのように変化するのかを検証した。対数増殖期となった各 *Microcystis* 属が  $2.0 \times 10^6$  cells ml<sup>-1</sup> となった MA 培地に、*A. denitrificans* の細胞密度が  $1.5 \times 10^3-10^6$  cells ml<sup>-1</sup> となるように接種した。さらに、液体培地と重層寒天平板を用いて、藍藻類9種および緑藻類9種について殺藻範囲の検証も行った。液体培地を用いた実験では、各藻類を  $2-5 \times 10^5$  cells ml<sup>-1</sup>、よく増殖した *A. denitrificans* を洗浄して  $1-2 \times 10^4$  cells ml<sup>-1</sup> となるように MA 培地に接種し、細菌株を接種していない実験区に比べて著しく細胞数が減少した藻類について殺藻能をもつと判定した。重層寒天平板を用いた実験では、細胞密度の条件は前述の液体培地を用いた実験と同様に行い、プラークが見られた藻類に関して殺藻能をもつと判定した。加えて、*M. aeruginosa* と *A. denitrificans* を培養し殺藻させた培養液を 0.1  $\mu\text{m}$  のヌクレオフィルフィルターでろ過した濾液を、滅菌した濾液に対して最終濃度 10、50、90% となるように調整した培養液に *M. aeruginosa* を  $2.0 \times 10^5$  cells ml<sup>-1</sup> で接種し、*M. aeruginosa* の細胞密度を計数して濾液の殺藻能を判定した。

いずれの *Microcystis* 属も細菌への感染性は高く、特に *M. aeruginosa* の指数増殖期において強い増殖阻害が見られた。*A. denitrificans* は低密度 ( $10^3$  cells ml<sup>-1</sup>) で接種した際にも溶藻がみられ、最終的に  $10^8$  cells ml<sup>-1</sup> まで増殖した。*A. denitrificans* はいくつかの種の藍藻類に対しては溶藻あるいは殺藻効果がみられたが、緑藻類に対しては殺藻効果を発揮しなかった。細菌を培養した培養液の濾液を接種した際には殺藻効果が見られず、細菌を接種した時のみ殺藻効果が見られた。このことから、細胞外生産物によってではなく直接攻撃することによって殺藻が起こると考えられる。本研究によって、*A. denitrificans* は *Microcystis* 属の増殖へ多大な影響を及ぼしており、淡水環境中での *Microcystis* 属の消長に関与していると考えられる。

扇 航平

\*\*\*\*\*

次回のゼミ (1月19日 [火]、9:30-、N407にて) は大西さんと本間さんをお願いしています。