

Notice on Plankton Seminar

#10008

9:30-11:30, 12 July (Mon) 2010 at Room # N407

Shi, L., Y. Cai, H. Yang, P. Xing, P. Li, L. Kong and F. Kong (2009).

Phylogenetic diversity and specificity of bacteria associated

with *Microcystis aeruginosa* and other cyanobacteria.

J. Environ. Sci. **21**: 1581-1590.

Microcystis aeruginosa および他の藍藻類に付着する細菌における
系統発生的多様性と特異性

細菌と藍藻類における相互作用は有害藻類のブルームの変動に影響を及ぼしている可能性が示唆されている。しかしながら、これらの相互作用に関する知見は少ない。有毒藍藻類 *Microcystis* 属は水質の悪化を引き起こしており、公衆衛生上の重要な課題となっている。*Microcystis* 属と細菌の相互作用としては、殺藻細菌や毒成分ミクロキスチンを分解する細菌の存在、細菌群集構造が本属のブルームを通じて変化するという報告がなされている。本研究では、培養条件下で本種と数種の藍藻類に付着する細菌群集の比較を行い *Microcystis* 属と細菌の相互の関係を考察することを目的とした。

本研究では中国科学院から供与された有菌の藍藻類の培養株を用いた。用いた株は *M. aeruginosa* が 5 株、その他の *Microcystis* 属が 3 株、その他の藍藻類 4 株である。供与された株は BG11 培地で温度 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 、光強度 $32 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、明暗周期 12:12 h の条件下で培養を行った。後期指数増殖期に達した藍藻の培養 1 ml を、10 分間、10000 x g で遠心分離を行って集藻し、DNA 抽出まで沈殿物を -20°C で保存した。DNA の抽出は Tillett and Neilan (2000) の方法に従った。抽出された DNA は GC クランプを付加したプライマーを用いて PCR 法により増幅を行った。増幅された DNA 断片は変性剤濃度勾配ゲル電気泳動法 (DGGE 法) によって処理を行い、細菌群集構造を解析した。DGGE 法によって得られたプロファイルは、Gel-Pro software を用いてデータをデジタル化し、クラスター解析によって細菌群集の類似度を解析した。さらに、出現した各バンドのゲルを切り出し、得られた DNA 断片は再び PCR 法により増幅を行い、DNA 断片を精製した。精製した DNA 断片はシーケンス反応によって塩基配列を読みとり、近縁な細菌株を NCBI のデータベースから BLAST によって検索した。得られた全ての塩基配列データについて、Mega 4.0 を用いて近隣結合法により系統樹を作成した。

DGGE 法で得られたプロファイルによると、全ての藍藻類で細菌群集構造が異なっていた。しかしながら、そのプロファイルはクラスター解析によって 3 つのクラスターに分けられた。すなわち、*M. aeruginosa*、それ以外の *Microcystis* 属、そしてその他の藍藻類である。DGGE 法で得られた 16S rDNA 断片の塩基配列を解析したところ、 α -, β -, γ -proteobacteria, CFB group、そして放線菌門が確認された。また、全配列の 76% は既報の細菌と 99% 以上の相同性が見られたものの、一部 (14%) は相同性が 97% 以下であり、未知の細菌が存在する可能性が示された。*Microcystis* 属に付着している細菌では特に *Sphingomonas* 目が優占していた。

本研究の結果から、従属栄養細菌とシアノバクテリアの間には種特異的な付着関係が存在することが示された。さらに、*M. aeruginosa* に優占して付着していた *Sphingomonas* 目はミクロキスチンに対して分解能を持つことが知られており、毒素を利用できる細菌が選択されていることも考えられる。本研究により、現場における付着細菌と *Microcystis* 属との相互作用を理解する上で重要な知見が得られた。