

Liu, J., A. J. Lewitus, P. Brown and S. B. Wilde (2008)
Growth-promoting effects of a bacterium on raphidophytes and other phytoplankton
Harmful Algae 7: 1-10.

ラフィド藻類とその他の植物プランクトンに対する細菌の増殖促進効果

ラフィド藻類のブルームはここ 10 年間に頻繁に発生するようになり、しばしば魚介類の斃死を引き起こしている。したがって、ブルームの制御要因の解明は水産管理において重要であり、赤潮発生予知とミチゲーションの策定に貢献するであろう。細菌と植物プランクトンの相互作用は有害藻類ブルームの生理と動態において重要と認識されつつあるが、細菌の作用としての藻類に対する増殖促進効果についての知見は、殺藻もしくは静藻に比べて少ない。本研究では、2003 年 4 月 29 日に発生したヘテロシグマ赤潮におけるブルームの発生の要因解明を目的とし、藻類と細菌の相互作用を理解するために細菌を分離し、藻類への影響を評価した。

海水試料は 2003 年 4 月 29 日、アメリカ合衆国サウスカロライナ州マクレランビルのブルズ湾沖合で発生したラフィド藻類 *Heterosigma akashiwo* ブルームから得た。細菌は、試料 3 ml を濾過捕集した 0.2 μm セルロース・ナイトレート・フィルターを寒天培地に裏返して乗せての培養と試料 50 μl を寒天培地上で塗抹しての培養により、細菌 35 株を分離した。実験対象藻類はラフィド藻 3 種 *Heterosigma akashiwo*、*Chattonella subsalsa*、*Fibrocapsa japonica*、珪藻 2 種 *Chaetoceros neogracile*、*Nitzschia* sp.、クリプト藻 *Cryptomonas* sp.、緑藻類 *Ankistrodesmus* sp. の 7 種類を用い、培養条件は明暗周期 12: 12 h、光強度 70-80 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、温度 25°C とした。試料中の総細菌密度は 2% グルタルアルデヒドで固定し、DAPI で染色後、正立落射蛍光顕微鏡を用いて計数した。予備スクリーニングとして各細菌と *H. akashiwo* の二者培養を 7 日間行い、藻類の増殖促進効果を示す細菌 BBB25 株を分離した。次に藻類と細菌 BBB25 株 ($4 \times 10^5 \text{ cells ml}^{-1}$) の二者培養実験として、*H. akashiwo* と *C. subsalsa* は無菌培養株を用いて BBB25 株と 14 日間行い、藻類細胞は 3% ルゴール液で染色し、倒立顕微鏡で計数した。その他の藻類は混菌培養であり、BBB25 株との共培養試験を 14 日間行い、クロロフィル a を 90% アセトンで抽出し、蛍光光度計で測定して計測を行った。さらに、その他の藻類の実験では BBB28 株を用いて高密度の細菌の効果の評価した。細菌密度は、2% グルタルアルデヒドで固定後、SYBR Green I で染色し、落射蛍光顕微鏡で計数した。また、細菌 BBB25 株の効果において細菌細胞の存在が必要か否か調べるために、0.2 μm 孔径のシリンジフィルターで濾過した試料をすべての藻類に無菌的に接種し、同様の実験を行った。細菌 BBB25 株は DNA 抽出し、PCR 増幅し、16S rDNA 塩基対配列を調べ、BLAST で近縁な細菌を検索した。

分離した細菌 35 株のうち 1 株 (BBB25) が、7 種類の藻類すべてに対して有意な増殖促進効果を与えた。細菌 BBB25 株はグラム陽性、孢子形成細菌で、16S rDNA 塩基対配列と形態学的特徴から、*Bacillus* 属と近縁であることが分かった。BBB25 株の示す増殖促進効果は *H. akashiwo* に特有ではなく、様々な藻類に対して幅広い効果が認められた。しかし、*H. akashiwo* ブルームの初期にその他の藻類について密度を調べてなかったため、ブルズ湾の *H. akashiwo* ブルーム形成において選択的な増殖促進効果があったかどうかは不明である。しかしながら、現場では *H. akashiwo* を特異的に促進した可能性は捨てられない。実際の現場海域では 1 種の細菌が $10^6 \text{ cells ml}^{-1}$ にまで達することはない。混菌の藻類株で BBB25 株の添加が有意な増殖促進効果を示したことは重要である。関係する物質について解析中である。

川口まりえ