

Notice on Plankton Seminar
#10019

9:30-11:30 & 13:30-16:30, 9 Nov. (Tue.) 2010 at Room #W303

外洋域と沿岸域に生息する殺藻細菌の比較に関する研究(仮題)
(卒業論文中間発表)

有害有毒藻類ブルームは、魚介類の大量斃死や二枚貝類の毒化を引き起こすなど、深刻な漁業被害を及ぼすことで知られている。近年、赤潮藻類の生物学的防除法の1つとして殺藻細菌が注目され、沿岸域では、海水試料から実際に多種の殺藻細菌が分離、報告されているが、外洋域における殺藻細菌に関しての知見はないのが現状である。そこで本研究では、外洋域と沿岸域の海水から細菌を分離し、有害有毒種を含む植物プランクトンとの二者培養実験を通じて、外洋域と沿岸域それぞれに生息する殺藻細菌の存否と存在量を調査研究し、比較することを目的とした。

海水試料の採集は、外洋域では2010年6月に西部北太平洋のSt. 1(北緯40度, 東経143度)、St. 2(北緯30度, 東経142度)、St. 3(北緯20度, 東経142度)の3地点にて行った。沿岸域の試料採集としては、同年6月にグアムのアウトハウスビーチ(St. 4)、8月には北海道北斗市の七重浜海水浴場(St. 5)にて表層から採水を行った。得られた海水試料は滅菌済み500 mLアイボーイ瓶に入れ、実験室へ持ち帰った。海水試料は滅菌海水を用いて 10^0 、 10^{-1} 、 10^{-2} に段階希釈し、それぞれ孔径3.0 μm ヌクレポアフィルターで1 mLずつ濾過後、フィルターは濾過面を上にして $ST10^{-1}$ 寒天培地上に静置し(PAB)、濾液は0.1 mLを塗沫(FLB)した。温度20-25°Cの暗所で2週間培養後、コロニーを計数し、各試料から計281の細菌株を分離した。また、未処理の海水試料および孔径3.0 μm ヌクレポアフィルターで濾過した濾液を、それぞれグルタルアルデヒドで固定し(終濃度1%)、DAPI染色を行い、落射型蛍光顕微鏡を用いて細菌の直接計数を行った。また分離細菌を用いて、麻痺性貝毒の原因となる渦鞭毛藻*Alexandrium tamarense*と二者培養による殺藻試験を行い、殺藻細菌の探索を実施した。*A. tamarense*は改変SWM-3培地を用いて希釈し(細胞濃度 5.5×10^3 cells mL $^{-1}$)、48ウェルマイクロプレートの各ウェルへ0.5 mLずつ分注後、これらのウェルに滅菌した爪楊枝を用いて分離細菌をごく少量掻き取り接種した。藻類(*A. tamarense*)との共培養実験の条件は、温度15°C、光強度50-100 $\mu\text{M photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 、明暗周期14 hL: 12 hDであった。

DAPI染色による細菌の直接計数の結果より、海水中の総細菌数はSt. 5(1.7×10^6 cells mL $^{-1}$)が最も高く、その他の地点では $5.0 - 8.3 \times 10^5$ cells mL $^{-1}$ と低い値の範囲であった。また、直接計数によるFLBとPABの細菌数の値は、すべての試料でFLBの方がPABより高かった。形成されたコロニー(CFU)の算出結果より、培養可能細菌数は沿岸域($4.0-6.0 \times 10^4$ CFU mL $^{-1}$)の方が外洋域(10^2-10^3 CFU mL $^{-1}$)より高く、すべての試料でPABの方がFLBより高い値を示した。総細菌中の培養可能細菌の割合を比較すると、沿岸域(>3%)の方が外洋域(<0.1%)より高い傾向が明らかである。*A. tamarense*と分離細菌の二者培養の実験結果、29株が増殖阻害作用を示し、その割合は外洋域ではSt. 2とSt. 3でPAB(2-25%)の方がFLB(0%)より高かった。さらに沿岸域ではSt.5でもPAB(12.8%)の方がFLB(8.7%)より高く、また、グアム島のSt. 4でも、FLB(14.3%)の方がPAB(7.3%)より高い値であった。今後は、*A. tamarense*に対する増殖阻害細菌29株の中から選出した15株を用いて、それらの細菌による増殖阻害能が細菌細胞密度に依存するのか否か、および他の藻類種への細菌の影響の有無等について実験を行う予定である。

川口まりえ