

Jones, K. L., C. M. Mikulski, A. Barnhorst and G. J. Doucette (2010)

Comparative analysis of bacterioplankton assemblages from *Karenia brevis* bloom and non bloom water on the west Florida shelf (Gulf of Mexico, USA) using 16S rRNA gene clone libraries  
*FEMS Microbiol Ecol.* **73** (3): 468-485.

16S rRNA 遺伝子のクローンライブラリーを用いたフロリダ西海岸における  
*Karenia brevis* ブルーム中と非ブルーム中の細菌群集の比較分析

無殻の渦鞭毛藻 *Karenia brevis* はフロリダ西海岸にてほぼ毎年ブルームを起こしており、地域の生態系や経済に深刻な影響を与えている。本種と細菌の相互関係については、様々な研究がなされているが、自然環境中の細菌群集全体を網羅した研究はまだない。本研究では *K. brevis* のブルームと非ブルームそれぞれの海域において得られた海水サンプルから 16S rRNA 遺伝子のクローンライブラリーを作成し、それぞれの海域における細菌の群集構造を比較した。そしてその海域間における違いの要因と、本種と関連性のある特定の細菌群を探索することを目標とした。

サンプリングは 2001 年 9 月に ECOHAB プロジェクトの一貫で行った。フロリダ西海岸における *Karenia brevis* のブルームが形成されている海域（ブルームのパッチ）と形成されていない海域の計 9 点より、ニスキンボトルを用いて表層と底層の海水を 1 L 採水した。各点での *K. brevis* の計数は光学顕微鏡にて直接計数し、細菌の計数は DAPI 染色をした後に落射蛍光顕微鏡により計数した。海水サンプルは 80  $\mu\text{m}$  の Nitex メッシュでプレ濾過した後、60 mL の海水を 0.22  $\mu\text{m}$  の Sterivex フィルターに細菌を捕集した。Sterivex フィルターから DNA の抽出、増幅を行い、その PCR 産物について TOPO<sup>®</sup> TA クローニングキットを用いてクローンライブラリーの作成を行った。クローンライブラリーのシーケンスデータから、遺伝子データベースを基に近縁種の検索と種の特定制を行い、系統樹を作成した。各クローンライブラリーの系統樹をもとにクラスター解析と主座標分析、ヒートマップの作成を行った。

各ステーションの水温と塩分は、表層で 28.14~29.91°C、31.69~35.55 psu、底層で 22.42~28.51°C、33.65~36.53 psu の範囲で変動した。*K. brevis* の細胞密度は 0~4910 cells mL<sup>-1</sup>、細菌密度は 8.10 x 10<sup>5</sup>~ 1.09 x 10<sup>7</sup> cells mL<sup>-1</sup> の範囲で変動し、*K. brevis* の細胞密度と細菌密度には正の相関があった。クラスター解析、主座標分析からは、16 のクローンライブラリーを *K. brevis* の細胞密度の高い "medium"、"high" のグループと細胞密度の低い "low"、"zero" のグループに分けることができた。どちらのグループについても、 $\alpha$ -proteobacteria 綱、CFB group、Cyanobacteria 綱が優占しており、主要な優占群に大きな違いはなかった。しかし、"medium"、"high" のグループでは  $\alpha$ -proteobacteria 綱の中でも *Rhodobacter* 目が優占していた。また、CFB group においては *Cytophaga* 目、*Sphingobacterium* 目が優占していた。一方、"low"、"zero" では  $\alpha$ -proteobacteria 綱において *Rhodobacter* 目は少なく、未報告の細菌が多かった。CFB group においては *Flavobacterium* 目が多かった。加えて、いくつかの点の表層では Cyanobacteria 綱が優占していた。このように系統群を詳細に比較すると、細菌の群集構造が *K. brevis* の細胞密度に影響を受けていることがわかった。さらに、その他未報告のマイナーな細菌群が存在しており、これらの細菌 ( $\beta$ 、 $\delta$ -proteobacteria 綱、*Chloroflexus* 綱、Firmicutes 門など) がブルームにおいて何らかの貢献をしている可能性が示唆された。

黒田 麻美