

Kim, M. C., I. Yoshinaga, I. Imai, K. Nagasaki, S. Itakura and Y. Ishida (1998)  
A close relationship between algicidal bacteria and termination of *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae) blooms in Hiroshima Bay, Japan.  
*Mar. Ecol. Prog. Ser.* 170: 25-32.

広島湾におけるラフィド藻 *Heterosigma akashiwo* ブルームの消滅と殺藻細菌との密接な関係性

光強度や温度、有機物、無機物などの多くの環境要因により植物プランクトン群集の種構成は制御されるが、捕食、競合及び植物プランクトンの増殖促進物質や制御物質の生産などを考慮すると、動物プランクトンや細菌、ウイルスも植物プランクトン群集の動態に影響を及ぼしている。現在、殺藻活性のある細菌やウイルスが、微細藻類ブルームの頻繁で劇的な消滅過程で重要な作用因子ではないかと考えられている。ハプト藻に特異的に感染し増殖阻害を起こすウイルスが沿岸海域から単離され、またラフィド藻 *Heterosigma akashiwo* 赤潮消滅直前の本種細胞内でウイルス様粒子の増加も観察されており、これらの結果は微細藻類ブルームの急激な消滅にはウイルスによる影響が大きいという事を示唆している。それに加え、微細藻類の細胞を溶解あるいは滅殺する多くの細菌が、沿岸海水から単離されている。本研究では、無菌培養の *H. akashiwo* を宿主生物とし、MPN 法によって *H. akashiwo* ブルーム中における殺藻微生物数変化を 0.8  $\mu\text{m}$  以下画分（主に細菌とウイルス）と 0.2  $\mu\text{m}$  以下画分（ウイルス）に分け調査、研究を行った。

使用した *H. akashiwo* (893) は広島湾から単離されたものであり、ラフィド藻 *Chattonella antique* (NIES-1) の無菌培養は国立環境研究所から提供されたものである。それぞれ SWM-3 培地を用いて培養した。広島湾の 2 定点からそれぞれ表層と海底 1m の海水を採取し、海水試料とした。前述の MPN 法により *H. akashiwo* と *C. antique* に対し殺藻能を持つ微生物数を算出した。99%以上の微細藻細胞を破壊したウェルを殺藻ポジティブ、滅菌海水とヌクレオアフィルター 0.1  $\mu\text{m}$  で濾過した海水を添加したウェルをブランクコントロールとした。細胞の殺滅が観察されたウェルから幾らかの *H. akashiwo*-killing bacteria (HAKB) を単離し、強力な殺藻活性を保有する 2 株の単離細菌を MC10 と GY14 と名付けて培養後、それぞれ初期細菌密度  $10^3$  or  $10^6$  cells  $\text{ml}^{-1}$  になるように、対数増殖期の *H. akashiwo* (約  $5 \times 10^4$  cells  $\text{ml}^{-1}$ ) が分注されている試験管に導入し、植物プランクトン細胞の増殖を蛍光光度計でモニターした。

*H. akashiwo* 数と HAKM 数の変動を検証した結果、1994 年には、表層で、6 月 1 日~6 月 5 日の間に *H. akashiwo* が細胞密度  $10^4$   $\text{ml}^{-1}$  以上で赤潮を形成したが、突然減衰し、6 月 6 日には全く *H. akashiwo* 細胞を観察する事が出来なかった。反対に、 $<0.8\mu\text{m}$  画分の HAKM は 6 月 3 日に細胞密度 3  $\text{ml}^{-1}$  であったのが、ブルームが崩壊した 6 月 6 日には密度  $2.6 \times 10^2$   $\text{ml}^{-1}$  へと急激に増加した。一方で、 $<0.2\mu\text{m}$  画分の HAKM 密度は一切増えず 1  $\text{ml}^{-1}$  以下のままであった。表層でブルームが発生して数日後には、底層において *H. akashiwo* の細胞数が  $10^4$  cells  $\text{ml}^{-1}$  を超えたが、徐々に減少した。 $<0.8\mu\text{m}$  画分の HAKM 数は、7 月 1 日まで  $0.5 \times 10^2$   $\text{ml}^{-1}$  以上を維持していた。1995 年度の調査では、表層において *H. akashiwo* 細胞数は 6 月 20 日から増え始め 6 月 23 日~6 月 30 日に掛けて細胞密度  $2 \times 10^4$  cells  $\text{ml}^{-1}$  以上となって赤潮を形成し、その後、急速に減衰した。1994 年と同様に、*H. akashiwo* ブルームの崩壊直前には  $<0.8\mu\text{m}$  画分の HAKM が増加し、6 月 30 日には  $1.5 \times 10^2$   $\text{ml}^{-1}$  に達した。これは、ブルームが発生する前の密度と比較すると 100 倍以上である。表層、底層海水中における  $<0.8\mu\text{m}$  画分の *Chattonella antiqua*-killing microorganisms (CAKM) 数の変動を HAKM の場合と同じ方法で調査した結果、*C. antiqua* は実験期間中、広島湾の両定点において出現が確認されず、また CAKM に関しても両定点において最高値で表層 5.6  $\text{ml}^{-1}$ 、底層 3.8  $\text{ml}^{-1}$  と HAKM に比べ格段に低密度で推移した。特に *H. akashiwo* と HAKM の間で見られた相関関係も *C. antiqua* では見られなかった。選抜された 2 つの HAKB 単離株 (MC10 及び GY14) は、対数増殖期の *H. akashiwo* 細胞数を直ちに減少させ、30 時間後には初期蛍光光度の 10% 以下となり、*H. akashiwo* 細胞密度が減少するに従って、両細菌ともに初期細胞密度  $10^3$  cells  $\text{ml}^{-1}$  ~  $10^6$  cells  $\text{ml}^{-1}$  以上に達した。

1994 年と 1995 年の *H. akashiwo* ブルームは数日の間に表層から消滅し、両定点においてブルームの消える直前と衰退中に  $<0.8\mu\text{m}$  画分の HAKM が劇的に増加している事が確認された。今回の実験結果から、1994 年と 1995 年に関してはウイルスよりも細菌が *H. akashiwo* の衰退に大きな影響を示したといえる。しかし、 $<0.2\mu\text{m}$  画分の海水サンプルを接種したウェル内でも藻類細胞の滅殺が認められ、しかも殺藻細菌を単離出来なかったことから、ウイルス感染も潜在的な *H. akashiwo* ブルーム制御要因として考えられる。これらのウェル内では細菌以外のウイルスのような藻類溶解性病原体あるいは殺藻効果を持つなんらかの化学物質が存在していた可能性が考えられるが、更なる情報は得られなかった。本研究を通して単離された HAKB 株は、共培養で数日以内に *H. akashiwo* 細胞を破壊し、強力な殺藻活性を示した。多くの殺藻細菌株が海水から単離され、それらのほとんどが滅菌海水中で増殖する能力を持つ事や *H. akashiwo* ブルーム消滅後も長期的に海水中に生存した事から、これらの殺藻細菌は微細藻類ブルームとは独立して海洋環境の至る所に存在し、日和見的にブルームに影響を及ぼしていると推測できる。今回の研究を通じて有害ラフィド藻 *C. antiqua* に対して殺藻活性を示す微生物は検出されず、ほとんどの HAKB 株は、*C. antiqua* の増殖に影響しなかった。その他にも種特異的に植物プランクトンを殺藻する細菌が単離されており、このような細菌が植物プランクトン群集の種構成を制御している主要因の一つであることが示唆された。

稲葉信晴

\*\*\*\*\*  
次回のゼミ (7 月 19 日 [火] 13:30 から、N407 にて) は大西さん、黒田さんと萩原さんをお願いしています。