

Notice on Plankton Seminar

#11011

9:30-11:30, 5 Sep. (Mon.) 2011 at Room #N407

アマモ場から分離された細菌の赤潮プランクトンに対する殺藻特性 (学会発表練習)

黒田 麻美 (北大院水), 荒木 希世 (熊本県), 川崎 信司 (熊本水研セ), 今井 一郎 (北大院水)

【背景】 赤潮プランクトンは大量増殖により天然や養殖の魚類の大量斃死を引き起こす。八代海では一昨年、昨年と、*Chattonella* 赤潮が養殖ブリの大量斃死を引き起こし被害が深刻なことから、被害軽減への対策が急務となっている。近年、赤潮の終息期に多くの殺藻細菌が検出され、赤潮の生物学的防除法として注目されている。また、殺藻細菌はアマモの葉体に多く付着していることが発見されており、アマモ場が殺藻細菌の供給源として赤潮防除能を潜在的にもっていると考えられる。本研究では、熊本県宮津湾のアマモ場において、アマモ場の海水中、アマモ葉体上に付着する殺藻細菌の探索を行ったのでその結果を報告する。

【材料及び方法】 サンプルングは、熊本県上天草市にある熊本県水産研究センター地先の宮津湾におけるアマモ場で行った。2010年5月から8月にかけて、原則として毎月1回アマモ葉体とアマモ場の海水を採取した。試料は熊本県水産研究センターの協力によって確保した。アマモ葉体を滅菌海水中で500回強振してバイオフィルムを剥離し、アマモ試料とした。アマモ試料を適宜希釈し、ST10⁻¹寒天培地 (Trypticase peptone 0.5 g, Yeast extract 0.05 g, Agar 15 g を海水 1 L 中に含む) へ塗抹、2週間培養し細菌を分離した。海水試料については適宜希釈したのち、孔径 3.0 μm のフィルターにてろ過を行い、フィルター上の細菌を粒子付着性細菌 (PAB)、ろ液中の細菌を浮遊性細菌 (FLB) として、それぞれ同様に培養、分離した。

分離した細菌は二者培養試験により殺藻能を評価した。培養した赤潮プランクトンをマイクロプレートのウェルに収容し、細菌はコロニーを無菌的に少量搔きとって接種し14日間培養した。実験には *C. antiqua*, *Cochlodinium polykrikoides*, *Heterosigma akashiwo* を用いた。培養は、明暗周期 14h L: 10h D, *C. antiqua* 及び *H. akashiwo* は温度 20°C, *Co. polykrikoides* は温度 25°C, 光強度は 50 μmol photons m⁻² s⁻¹ で行い、0, 1, 2, 4, 7, 10, 14 日目に倒立顕微鏡を用いプレートを観察した。殺藻作用が認められた細菌株数と実験に供した細菌株数をもとに、各サンプル中の殺藻細菌数を算出した。

また、5月のアマモ試料をMPN法に供し、殺藻作用の観察されたウェルから細菌を分離したのち、二者培養試験により殺藻能の評価を行った。短期間で殺藻作用が起こった株については、*C. antiqua* に対する細菌の接種密度の影響を評価した。*C. antiqua* を培養した試験管に細菌を接種したのち、殺藻が確認された培養を 10⁰~10⁻⁴ 倍に段階希釈し、*C. antiqua* を収容したマイクロプレートに接種し、殺藻作用を確認した。

【結果及び考察】 アマモ場海水には総細菌数で 10⁵~10⁶ のオーダー、培養可能細菌数で 1 mL あたり 10³~10⁵ のオーダー、アマモの葉体には葉体の湿重量 1 g あたり、総細菌数で 10⁷~10⁸ のオーダー、培養可能細菌数では 10⁶~10⁷ のオーダーの細菌が存在した。海水試料中の殺藻細菌数は月毎にばらつきがあり、*H. akashiwo* に対する殺藻細菌は検出されなかったが、*C. antiqua* と *Co. polykrikoides* に関しては殺藻細菌が検出された。アマモの葉体表面については湿重量 1 g あたり 10⁴~10⁶ のオーダーの殺藻細菌が存在すると見積もられた。以上より、宮津湾のアマモ場は殺藻細菌の供給源として、海水中へ殺藻細菌を供給している可能性がある。また、MPN法により分離した細菌は培養1日目で殺藻作用を発揮し、細菌の接種密度が少ない場合も殺藻性は変わらなかった。このような細菌が宮津湾のアマモ場に生息していることから、このアマモ場の赤潮防除能が期待できる。今後は分離した殺藻細菌の殺藻過程、殺藻様式などを明らかにするための実験を行う予定である。

黒田 麻美