

Lovejoy, C., J. P. Bowman and G. M. Hallegraef (1998)

Algicidal effects of a novel marine *Pseudoalteromonas* isolate (class *Proteobacteria*, gamma subdivision) on harmful algal bloom species of the genera *Chattonella*, *Gymnodinium*, and *Heterosigma*.

*Appl. Environ. Microbiol.* **64**: 2806-2813.

有害有毒藻類プランクトン *Chattonella* 属、*Gymnodinium* 属、*Heterosigma* 属に対する  $\gamma$ -プロテオバクテリア綱 *Pseudoalteromonas* 属の新奇細菌株の殺藻効果

海洋細菌群と藻類群の動態の研究は、これまで別個に行われてきた。近年は時間的、空間的に密接な相互関係が次第に明らかにされてきたが、様々な藻類種の個体群を制御する抑制もしくは捕食する細菌に関する研究は少ない。それらの細菌には、種特異的に藻類ブルームの形成を促進する細菌もいる一方、殺藻作用を持ち、藻類ブルームの末期及び消失に関与する細菌もいる。後者は有害有毒藻類ブルーム (Harmful Algal Bloom: HAB) を制御する可能性がある。日本では、HABs がしばしば発生し、渦鞭毛藻及びラフィド藻の HABs 中にそのような細菌が分離されたが、日本以外ではデータは少ない。本研究では、オーストラリアのタスマニア島ハオン川河口から、 $\gamma$ -プロテオバクテリア綱 *Pseudoalteromonas* 属の細菌 2 株を分離した。これらの 2 株は、有毒渦鞭毛藻の *Gymnodinium catenatum* に対して殺藻効果を持つ株 (Y 株) と殺藻効果が低い株である。この分離細菌 2 株を用いて、殺藻細菌の分類学的特性、殺藻過程の観察、殺藻効果最小細菌密度、対象藻類の殺藻範囲を研究した。

細菌を分離するための海水試料は、タスマニア島南部ハオン川河口の水深 0–3 m にて採集した。細菌は孔径 0.2  $\mu\text{m}$  フィルター上に濾過捕集後、寒天培地上に静置し、フィルター上からコロニーを分離し液体培地にて培養した。培養可能細菌数はフィルター上に形成されたコロニー数から算出した。固定試料中の細菌を DAPI 染色後、落射蛍光顕微鏡で直接計数した。海水試料中の蛍光性有色溶存有機物 (FCDOM) を測定した。細菌 2 株について、16S rRNA 遺伝子を PCR 増幅し、BLAST 解析による同定を行った。有毒渦鞭毛藻の *G. catenatum* を対象に、細菌 2 株の対数増殖期と定常期のものの殺藻効果を比較した。12 ウェル・プレート各ウェルに F/2 培地を 2 mL、*G. catenatum* 培養を 0.5 mL、細菌培養 (対数増殖期、定常期) もしくは細菌培養濾過液 (孔径 0.22  $\mu\text{m}$ ) をそれぞれ 1 mL 分注し培養した。次に細菌 2 株の細菌密度及び細菌培養濾過液の濃度の違いによる殺藻試験を行った。24 ウェル・プレートの 1 つ目のウェルへ GSe 培地を 0.5 mL 分注し、それ以降のウェルに 0.9 mL 分注した。次に細菌培養もしくは細菌培養濾過液を 1 つ目のウェルへ 0.5 mL 分注後、それ以降のウェルには段階希釈して加え培養した。さらに細菌 2 株について、殺藻範囲を検討した。24 ウェル・プレートの各ウェルへ各藻類培養を 1 mL と細菌培養を 0.4–0.5 mL 分注し培養した。対象藻類は、渦鞭毛藻、ラフィド藻、プラシノ藻、珪藻、クリプト藻、藍藻、キネトプラスト類、アメーバ類 15 種 17 株であった。細菌による藻類の反応は倒立顕微鏡を用いて観察した。

殺藻効果の低い細菌株は *Pseudoalteromonas carrageenovora* (99.7%) と同定され、殺藻効果のある細菌 Y 株は *Pseudoalteromonas peptidysin* と相同性が高かった。細菌 Y 株は、*Gymnodinium* 属、ラフィド藻の細胞を迅速に溶解死滅させた。また、有殻渦鞭毛藻に対して脱殻を引き起こしたが、24 時間以降に藻類細胞は回復した。クリプト藻、珪藻、藍藻、無色原生生物 2 種に対して、細菌 Y 株の影響は認められなかった。細菌 Y 株の殺藻成分は、海水に分泌され、加熱後効果は失われた。*P. carrageenovora* には殺藻効果がなかった。*G. catenatum* を殺藻する細菌 Y 株の最小密度は、HABs が起こっていない自然条件下での平均密度より高かった。細菌 Y 株は、対象微細藻類の細胞周辺に走化性で集群する行動を示すことから局所的に高密度になると考えられた。これらの観察は HABs の開始期及び増殖期を制御する重要な役割を持つことを示唆し、細菌の種組成が HABs の動態に大きな影響を及ぼすと考えられる。

川口まりえ

\*\*\*\*\*

次回のゼミ (11/30 (水) 13:30-, N407) は成果報告会です。