

Notice on Plankton Seminar

#11022

13:30-15:30, 16 Jan. (Mon.) 2012 at Room #N407

Su, J. q., X. Yang, Y. Zhou and T. Zheng (2011)

Marine bacteria antagonistic to the harmful algal bloom species

Alexandrium tamarense (Dinophyceae).

Biol. Control. **56**: 132-138.

有毒藻類ブルームを形成種である渦鞭毛藻 *Alexandrium tamarense* と競合する海洋細菌

有害有毒藻類ブルーム (HAB) は、養殖二枚貝の毒化や魚介類の斃死などを引き起こし巨額の経済損失に繋がり、健康への脅威にもなる。その発生防除及び被害の軽減策として、化学薬品 (硫酸銅など) や粘土を散布する防除法などが思案されたが、環境への二次汚染や他生物への無差別な斃死が懸念され、それらの使用は危険と考えられている。近年、細菌と微細藻類の相互作用に関する研究が進められ、HABの防除策として有望視されているが、麻痺性貝毒原因種 *Alexandrium tamarense* に対する殺藻細菌の知見はほとんど得られていない。本研究は、本種に対する殺藻細菌を複数株単離し、その殺藻能、殺藻様式、殺藻物質の熱耐性を検証することを目的とした。

試料は2003年5月19日-21日に、*Prorocentrum donghaiense* (10^8 cells L⁻¹) 及び *A. tamarense* (10^4 cells L⁻¹) ブルームが発生していた東シナ海の地点で、表面海水を採水して得た。単離細菌183株は、2216液体培地中で、振とう培養 (25°C、12-24時間、180 rpm) を行った。細菌培養1 mLを *A. tamarense* 無菌株 (f/2培地、 $\sim 1 \times 10^4$ cells mL⁻¹、50 mL) に添加し、蛍光値を測定することで藻類の増減を追った。その結果、23株の細菌に増殖阻害作用が認められた。さらに2度のスクリーニングを行ったところ、特に10株の細菌に確かな殺藻作用が確認された。これらについて16S rRNA部分遺伝子系統解析を行った結果、全て γ -Proteobacteria 綱に属することが分かった。細菌10株のうち1株は、既に本種の殺藻細菌として報告されているSP48株であった。

SP48株を除いた9株の殺藻能及び殺藻様式を評価するために、以下の実験を行った。まず、2216液体培地中で定常期まで振とう培養した細菌株 (25 mL) を *A. tamarense* 培養 ($\sim 1 \times 10^4$ cells mL⁻¹、50 mL) に添加し、これを培養細菌添加区とした。次に、細菌培養を遠心分離 (5000 x g, 15分) して、上澄みを回収した。その後、再びf/2培地に懸濁させ、遠心分離し、2度の洗浄で得た上澄みをメンブレンフィルター (0.22 μ m) で濾過した。その濾液 (0.5 mL) を *A. tamarense* 培養に添加し、これを濾液添加区とした。さらに、f/2培地を用いて遠心分離をした洗浄済みの細菌添加区及び無菌の細菌培地を添加したコントロール区の4実験区を設け、培養を行った。フルオレセイン・ジアセテート (FDA) による染色を行い、蛍光顕微鏡を用いて青色励起光下で観察し、藻類の生細胞数を計数した。その結果、用いた細菌9株全てで、培養細菌添加区と濾液添加区で殺藻が確認された。このことから、9株の殺藻細菌は間接攻撃型であることが判明した。洗浄済みの細菌添加区で殺藻は確認されなかったが、2216液体培地の添加で殺藻物質が生産されたことから、培地中の物質が細菌の殺藻物質産生を誘導する要因になっていると考察された。

次に、殺藻活性の熱耐性を評価する為に、以下の実験を行った。まず、2216液体培地中に培養した細菌株を遠心分離 (10000 g, 10分) し、得た上澄みをメンブレンフィルター (0.22 μ m) で濾過した。その濾液を熱湯に1時間浸け、1 mLを *A. tamarense* 培養 (2×10^4 cells mL⁻¹、40 mL) に添加した。1日培養した後に、FDA染色で生細胞を計数し、藻類の死亡率を算出したところ、9株の内3株で殺藻活性の失活が確認された。これは今後、殺藻物質を特定するために重要な結果となった。また、計数の際の顕微鏡観察では、殺藻を示した実験区においてシスト状の藻類細胞が確認された。本研究により、本種に対する殺藻細菌の種多様性と高い能力が示された。後の課題として、殺藻物質の特定及び殺藻に至る生物化学的な過程の解明が挙げられる。