

Imai, I., T. Sunahara, T. Nishikawa, Y. Hori, R. Kondo and S. Hiroishi (2001)  
Fluctuations of the red tide flagellates *Chattonella* spp. (Raphidophyceae) and  
the algicidal bacterium *Cytophaga* sp. in the Seto Inland Sea, Japan

*Mar. Biol.* **138**: 1043-1049

瀬戸内海における赤潮鞭毛藻類 *Chattonella* spp. (ラフィド藻類) と殺藻細菌 *Cytophaga* sp. の変動

殺藻細菌は微細藻類を殺す能力を持つ細菌であり、海洋生態系において有害ブルーム種を含む植物プランクトンの群集構造へ大きな影響を与える。これまで殺藻細菌の検出は、主に殺藻対象藻類と濾過した現場海水との共培養を基本とする MPN 法が用いられていた。しかし本法は得られる値が過小評価という指摘がなされており、自然水中での動態を高精度かつ定量的な方法で把握する必要がある。このような研究には蛍光抗体法が有効であり、本技法は細菌の血清型を蛍光色素で標識した抗体を用いて識別するため、種特異的な識別と計数が可能である。そこで本研究では、自然環境中における有害藻類群集と殺藻細菌群集の量的な関係解明を目的として、北部播磨灘における有害藻類 *Chattonella* spp. と先の研究で分離された殺藻細菌 *Cytophaga* sp. J18/M01 の時間変動を、蛍光抗体法を用いて調査した。

海水試料は、瀬戸内海東部に位置する播磨灘北部の定点 NH3 において 0.5 m, 10 m, 海底上 1 m (B-1 m) から、1997 年 7 月 8 日-8 月 18 日、1998 年 6 月 29 日-8 月 17 日に採水した。試料は約 100 mL をグルタルアルデヒドで終濃度 0.5% になるよう固定し、温度 5 度で保存した。*Chattonella* spp. を含んだ微細藻類の計数には固定しない試料を使用した。固定したサンプルは全菌数と殺藻細菌の計数に供した。クロロフィル *a*、フェオフィチンは GF/C フィルターにて濾過した後、90% アセトンで抽出し、分光光度計で計測した。全菌数は DAPI で染色し (終濃度 0.5  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) 落射蛍光顕微鏡を用いて計数した。殺藻細菌の計数は、1990 年夏に同地点で分離された *Cytophaga* sp. J18/M01 株を対象株として認識する FITC 抗体と DAPI でサンプルを二重染色する間接蛍光抗体法を用いて計数した。*Cytophaga* sp. J18/M01 と反応するポリクローナル抗体は、*Cytophaga* sp. J18/M01 と系統学的に近縁の細菌や日本沿岸で単離された殺藻細菌と交差反応させ、特異性を確認した。

本研究で用いたポリクローナル抗体の交差反応チェックの結果、系統学的に *Cytophaga* sp. J18/M01 と 98.5% 相同、DNA-DNA 分子交雑法でも 70.1% 以上相同の殺藻細菌 *Cytophaga* sp. AA8-2 のみ陽性を示した。よって、この 2 株は同種であると判断すると同時に、識別に用いた抗体の特異性の高さが確認された。殺藻細菌と微細藻類の計数結果、1997 年は *Chattonella* spp. の小ブルーム (最大 70 cells  $\text{mL}^{-1}$ ) の数日後、*Cytophaga* sp. J18/M01 数が 10m 層で増加し、ブルーム終結時には殺藻細菌数が最大 1350 cells  $\text{mL}^{-1}$  になった。つまり、*Cytophaga* sp. J18/M01 は *Chattonella* 赤潮の終結に関与していると示唆される。本菌株による殺藻には直接を要するが、接触率は過去の知見より  $10^5$  -  $10^6$   $\text{mL h}^{-1}$  と予想され、採水期間中におきたブルーム時の密度であれば 1  $\text{mL h}^{-1}$  で接触する。すなわち、1 日 24 回接触することを意味しており、これは自然環境中でも起こりえる値である。また、1997、1998 年ともに *Cytophaga* sp. J18/M01 は微細藻類量のピークに従って高い値を示した。つまり、藻類ブルーム中では優占種が、本菌株によって高頻度で捕食されることが予想されるため、結果的にこの広範囲殺藻タイプの殺藻細菌はブルーム形成種を特異的に捕食し、海域環境の恒常性保持に役立っていると想定される。今後は殺藻細菌を有害赤潮終結の手法として利用するために、他生物へのリスクアセスメントや、赤潮終結後の殺藻細菌の動向について解明する必要がある。