

Notice on Plankton Seminar

#12017

9:30-12:00, 17 January (Thu.) 2013 at room # W203

Mayali, X., P. J. S. Franks and R. S. Burton (2011)

Temporal attachment dynamics by distinct bacterial taxa during a dinoflagellate bloom

Aquat. Microb. Ecol. **63**: 111–122.

渦鞭毛藻類ブルームにおける異なる細菌種の時間的な藻類細胞への定着動態

細菌が藻類細胞やデトライタスなどの粒子に付着することは生きる戦略のひとつである。過去の研究から微細藻類と細菌との間には動的な物理的相互作用が存在すると考えられているものの、海洋の自然環境において実際に藻類細胞に定着する細菌を直接定量した研究はほとんどない。本研究では、渦鞭毛藻 *Lingulodinium polyedrum* のブルーム期間中の細菌が藻類細胞にどの程度定着しているのか、そして藻類への定着パターンが細菌種の違いによりどのように異なるかを調べ、微細藻類とそれを取り巻く環境の境界層である”phycosphere”における細菌種ごとの藻類に対する相互作用及び細菌種間における相互作用について考察した。

サンプリングは2005年6月14日から8月中旬にかけてアメリカ、カリフォルニア州サンディエゴにあるスクリプス研究所の棧橋にて行った。表層海水を採取し、ホルマリン原液を添加し固定をした(ホルマリン終濃度: 1.8%)。試料は *L. polyedrum*, 浮遊性細菌 (Free living bacteria: FLB) の計数, そして, CARD-FISH (catalyzed reporter deposition fluorescence in situ hybridization) 法による *L. polyedrum* に定着する細菌の計数, PCR-based hybridization assay による *L. polyedrum* やデトライタス粒子に付着する24種の特定の細菌の検出に用いた。 *L. polyedrum* は倒立顕微鏡により計数し, FLB は固定試料を SYBR Green II で染色した後, フローサイトメーターを用いて計数した。次に, 固定試料を沈殿または遠心により濃縮し, 細菌に特異的なプローブを用いて CARD-FISH 法により細菌の蛍光標識をした。落射蛍光顕微鏡を用いて各試料中の *L. polyedrum* 10-70 細胞を観察し, 細胞に定着する細菌を計数後, 定着頻度 (細菌の定着が確認された藻類細胞の割合) と定着強度 (藻類1細胞あたりに定着する細菌数) を求めた。得られたデータは相互相関分析 (Cross-correlation analyses) により藻類密度に対する細菌の定着頻度や定着強度に相関がみられるか, そしてその相関関係がどの程度のタイムラグをもって現れているのかを検討した。さらに, 沈殿させた固定試料を 1 µL ずつとり, PCR プレートにて DNA の溶出, ビオチン標識された細菌に特異的なプライマーを用いた PCR 増幅を行った。得られた PCR 産物を 95°C で解離し, 24 種の細菌のプローブをつけたビーズと反応させ, Luminex instrument にてそれぞれの細菌の蛍光強度を測定した。

L. polyedrum の細胞密度は3度の主要なピークがあった。ブルーム期間中の FLB は $1 \times 10^6 - 2 \times 10^7$ cells mL⁻¹ であり, この地点における平均的な細菌密度 (10⁶ cell mL⁻¹) に比べ高密度であった。細菌の定着頻度については, 少なくとも *L. polyedrum* の 6-10% に細菌が定着していた。相互相関分析により細菌の定着頻度のピークが藻類減少の2日前に起きることが示されたことから, ”phycosphere” において細菌の定着が藻類に影響を与えていたと考えられる。しかし, 細菌の定着強度については, *L. polyedrum* 1細胞につき, 定着していた細菌が概ね 0-12細胞の範囲と少なかった。PCR-based hybridization assay では24種のうち11種の細菌が試料から検出された。それぞれの細菌は検出された蛍光強度の変動パターンの違いにより, 5つのグループに分けられ, 異なる細菌がブルーム期間中の異なる時期において粒子に定着していたことが分かった。さらに, 相互相関分析によりそれぞれの定着パターンに相関がみられたことから, 細菌同士が”phycosphere”において競合などの相互作用を及ぼしていた可能性が考えられる。今後は細菌が定着するときの藻類細胞内の生理的变化を調べることで, 特定の細菌種の藻類に対する影響の更なる解明が期待される。

黒田 麻美