

Shen, H., Y. Niu, P. Xie, M. Tao, and X. Yang (2011)  
Morphological and physiological changes in *Microcystis aeruginosa*  
as a result of interactions with heterotrophic bacteria  
*Freshwater Biol.* **56**: 1065–1080

従属栄養細菌との相互作用の結果としての *Microcystis aeruginosa* の  
形態学的及び生理学的変化

富栄養化した湖沼の植物プランクトンは、通常はコロニーを形成する藍藻類が優占する  
場合が多い。有害藍藻 *Microcystis* 属は頻繁に、表層で高密度のブルームを形成し、深刻な水  
質悪化の問題を引き起こしている。*Microcystis* 属は、多くの形態学的、生理学的な適応メカ  
ニズムを持ち、一般に、従属栄養細菌が多数含まれている多糖類で構成されるコロニーを  
形成する。これまでの研究から、*Microcystis* 属は単細胞状態とコロニー状態では、環境のスト  
レスに対する応答をはじめとする生理的特徴が異なると報じられている。*Microcystis* 属  
と付着性細菌の相互関係の研究は多くなされてきたが、謎は多く、得られた結果で自然条  
件下での現象を合理的に説明することは困難である。本研究の目的は *Microcystis aeruginosa*  
と細菌群集との相互作用を研究し、表層で発生する藍藻類ブルームの自然環境条件を再現  
することである。自然の細菌群集との共培養実験により、*M. aeruginosa* の形態学的と生理学  
的な変化、ならびに従属栄養細菌群集の組成変化を検討した。

単細胞の *M. aeruginosa* 有毒株は1997年に中国の太湖から単離し、平板画線法で無菌株を  
得た。培養はBG11培地で温度約25°C、光強度50  $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、明暗周期12h L:12h Dの条件  
で行った。無菌状態はDAPI染色と落射蛍光顕微鏡で確認した。実験の期間中、細菌が *M.*  
*aeruginosa* のバイオマスの1%を越えなかったのを確認した。

細菌群集は、2008年6月に太湖でブルームを形成していた *Microcystis aeruginosa* のコロ  
ニーを、20  $\mu\text{m}$  メッシュネットで集めて滅菌水でよく洗い、コロニーの粘質物を溶解させた。  
粘液を10分間遠心分離し(10000 x g)、その上澄み液を孔径1.2  $\mu\text{m}$  GF/C フィルターで濾過  
して、藍藻細胞を除去し細菌を得た。

実験区は7つ設けた。遠心分離で得た無菌の *M. aeruginosa* を、500 mL のBG11培地にそ  
れぞれ1, 10, 100 x 10<sup>6</sup> cells mL<sup>-1</sup> で添加した培養を実験区1, 3, 5とした。実験区1, 3, 5とそ  
れぞれ同密度の無菌の *M. aeruginosa* に、10 x 10<sup>6</sup> cells mL<sup>-1</sup> の従属栄養細菌群集を25 mL添  
加した培養を実験区2, 4, 6とし、実験区7は10 x 10<sup>6</sup> cells mL<sup>-1</sup> の従属栄養細菌群集のみを  
培地に25 mL添加したものとした。各実験区を3本立てで設け、34日間の実験期間で3日毎  
に *M. aeruginosa* の増殖、Chl. a量、クロロフィル蛍光をそれぞれ測定した。光合成活性の測  
定はPAMを用いて測定した。細菌群集組成の分析には変性勾配ゲル電気泳動法(DGGE)を  
用いた。総細菌数はDAPI染色後に、落射蛍光顕微鏡を用いて直接計数した。また、細胞外  
多糖類(EPS)の濃度はアルシアンブルーを用いた染色法により測定した。各実験区の相違  
は、one-way ANOVAとTukey-Kramerのポストフックテストにより評価し、*M. aeruginosa* の  
初期細胞密度と比増殖速度の相関については、Student's t-testにより有意性を評価した。

*M. aeruginosa* 細胞の凝集は、有菌の実験区2, 4, 6のみで観察され、初期密度が大きい実  
験区ほど、凝集が早く見られた。しかし、最大凝集面積(コロニーの大きさ)は *M.*  
*aeruginosa* の初期密度による顕著な差はなかった。*M. aeruginosa* は、6–18日目では実験区4  
が実験区3(無菌)よりも早く増殖したが、対数増殖期は実験区4の方が短かった。定常期の  
細胞密度は実験区3の方が大きかった。従属栄養細菌数は、実験区4の方が実験区7よりも  
多い結果となった。*M. aeruginosa* の比増殖速度は、初期の細胞密度と負の相関を示し、有菌  
の実験区で有意に大きかった。一方、従属栄養細菌の増殖率は *M. aeruginosa* の初期密度と  
正の相関を示した。DGGEにより得られた16S rDNAバンドパターンは、実験区7では一貫  
していた。しかし、実験区4では0日目に15本観察されたバンドが、9日目以降5本に減少  
した。塩基配列同定の結果、9日目以降に1種の $\alpha$ -プロテオバクテリアと2種の未同定細菌  
が優占したことが明らかになった。*M. aeruginosa* の細胞あたりのChl. a含量は、実験区3, 4  
において12日目までは類似していたが、それ以降は実験区3で減少し、実験区4で増加し  
ていた。光合成有効放射(PAR)に対するETR(光合成活性)は、実験区4の24日目で大き  
く、ETR<sub>max</sub>についても同様の傾向が見られた。溶存EPSは全ての実験区で測定され、一貫し  
て増加していた。実験区4での濃度は実験区3より高く、実験区3, 4の値はどちらも実験区  
7よりも高かった。

*M. aeruginosa* は、従属栄養細菌との共培養の結果、形態学的及び生理学的な変化を引き  
起こし、結果的に互いの増殖を促進した。*M. aeruginosa* の初期密度が小さいほど、増殖は促  
進された。これは *M. aeruginosa* の初期密度が大きいほど、従属栄養細菌の増殖が促進され、  
一方で *M. aeruginosa* の増殖が一時的に制限されたことを示唆していた。従属栄養細菌は、  
*M. aeruginosa* 由来のEPSや光合成産物(溶存有機炭素)を利用して増殖するため、  
*M. aeruginosa* の密度が最大になった定常期には、従属栄養細菌の増殖が促進されると考え  
られた。実験期間の後期に一部の細菌が優占してきたが、これらは *M. aeruginosa* の細胞凝  
集とコロニーの維持に関係し、コロニーの成長と共に淘汰されてきた細菌と思われる。本研  
究の結果により、実際の *M. aeruginosa* のブルーム発生過程が一部再現された。両者の相互  
作用や細菌群集組成の変化機構の解明には、更なる研究が必要である。

小林淳希

\*\*\*\*\*  
次回のゼミ [12月15日(月), 9:30~, W103] は、阿部君、瀬戸さん、横溝君による発表です。