

アマモ場に生息する植物プランクトン及び殺藻細菌の生態に関する研究  
(修士論文中間発表)

【研究背景】

アマモ場は稚仔魚の生育場などの機能を保有しており、沿岸域の生態系において重要な役割を担っていることが知られている。近年では、植物プランクトンを殺滅する殺藻細菌がアマモ場で高密度に分布することが確認された。そのため、アマモ場は殺藻細菌の供給源として大きな赤潮防除能を保有する可能性が予想され、赤潮の防除法として有望視されている。しかし、殺藻細菌が多く生息するアマモ場において、植物プランクトンに関する知見は乏しいのが現状である。そこで本研究では、アマモ場における植物プランクトンと殺藻細菌の調査を行い、両者の関係を明らかにすることを目的とした。

【材料と方法】

<植物プランクトン及び殺藻細菌の分布と潮汐の関係>

アマモ場における植物プランクトン及び殺藻細菌の分布を調査した。試料採集は、岡山県日生町鹿久居島現寺湾のアマモ場 (Stn. 1) とその周辺海域に設けた4地点 (Stns. 2-5) において、2014年7月25日 (大潮) の満潮時と干潮時の2回行った。各地点で表層水を採集し、Stn. 1ではアマモ (*Zostera marina*) も採集した。採集したアマモ葉体はバイオフィーム (BF) を剥離させ、BF試料を作成した。各試料は PHEM buffer を緩衝液とした固定液で固定し、植物プランクトンの同定・計数を行った。また、BF試料は  $ST10^{-1}$  寒天培地に塗抹し、2週間の培養によりコロニーを形成させた。Stn. 1 及び Stn. 5 の海水試料は段階希釈を行った後、孔径  $3.0 \mu\text{m}$  フィルターで濾過を行い、フィルター上に含まれる細菌を粒子付着性細菌 (Particle-Associated Bacteria: PAB)、濾液中に含まれる細菌を浮遊性細菌 (Free-Living Bacteria: FLB) とし、それぞれの細菌を  $ST10^{-1}$  寒天培地で培養し、コロニーを形成させた。形成されたコロニーは単離を行い、対象藻類との二者培養試験を行った。対象藻類は、*Chattonella antiqua*, *Heterosigma akashiwo*, *Heterocapsa circularisquama*, *Ditylum brightwellii*, *Chaetoceros didymus* 及び *Nitzschia longissima* の6種類を用いた。二者培養試験は改変 SWM-3 培地における2週間の培養後に殺藻の有無を観察し、殺藻及び増殖阻害細菌を検出した。*Ct. antiqua* に対する殺藻及び増殖阻害細菌はPCR法による16S rRNAの部分塩基配列 (約500 bp) の解析を行った。得られた塩基配列はNCBIのBLAST systemを用いた細菌の相同性検索を行い、近縁の細菌株を調べた。

<潮汐に伴う植物プランクトン及び細菌の日中変動>

アマモ場が有無する地点において、植物プランクトン及び細菌の潮汐に伴う日中変動を調査した。試料採集は岡山県農林水産総合センター水産研究所付近のアマモ場が有無する隣接した2地点で行った。この2地点は突き出した石垣で区切られており、アマモ場を有する地点を Stn. A、アマモ場が無い地点を Stn. B とした。2014年7月28日 (大潮) の9時から18時の1時間毎に表層水を両地点から採集した。Stn. A では満潮時 (11時) と干潮時 (18時) にアマモ葉体も採集した。採取した海水試料とアマモ葉体は鹿久居島周辺海域の試料と同様の操作を行い、固定試料からは植物プランクトン、総細菌数、HNF 及び ANF を計数した。また、満潮時と干潮時の海水試料は PAB と FLB に分離し、BF試料と共に培養及び単離を行い、*Ct. antiqua* を対象にした二者培養試験を行った。

<アマモ場における植物プランクトンと細菌>

アマモ場における植物プランクトンと細菌の関係をより包括的に調べるため繊毛虫や海底泥の調査を行った。試料採集は2015年6月15日、鹿久居島周辺海域の Stn. 1 と Stn. 4

に加えて、黒島付近のアマモ場と沖合域である OY-3 及び OY-5 で行った。各地点において表層水, Stn. 1 と黒島付近のアマモ場ではアマモ葉体も採集した。黒島, Stn.1, OY-3 では採泥を行い、表層から 1 cm 深の堆積物試料を得た。海水試料は植物プランクトン, 総細菌数, HNF, ANF 及び ND (Nano diatom) を計数し, BF 試料と共に *Ct. antiqua* を対象にした二者培養試験によって殺藻及び増殖阻害細菌を検出した。固定した海水試料の一部は沈殿濃縮を行い、繊毛虫の計数とカルコフルオール溶液を用いた有殻渦鞭毛藻類の計数を行った。海泥試料は、終点希釈法 (MPN 法) を用いて発芽・復活の可能な休眠期細胞を計数した。

#### 【結果と考察】

##### <植物プランクトン及び殺藻細菌の分布と潮汐の関係>

沿岸海域である Stns. 2-5 の植物プランクトンの密度は満潮時, 干潮時共に  $1.6 \times 10^3$ - $2.5 \times 10^3$  cells mL<sup>-1</sup> の範囲であったのに対し, アマモ場の Stn. 1 の満潮時では  $7.1 \times 10^2$  cells mL<sup>-1</sup>, 干潮時では  $1.1 \times 10^2$  cells mL<sup>-1</sup> と非常に低い値を示し, ほとんどが *Nitzschia* spp. などの付着珪藻であった。また, BF 試料中には,  $10^6$  cells g<sup>-1</sup> wet leaf オーダーの高密度の付着珪藻が観察された。二者培養試験の結果では, BF 試料からはすべての藻類において  $10^5$ - $10^6$  CFU g<sup>-1</sup> wet leaf オーダーの高密度の殺藻及び増殖阻害細菌が検出された。海水試料からは *Ct. antiqua*, *Hs. akashiwo*, *D. brightwellii* 及び *Cc. didymus* から多くの細菌が検出され, 満潮時より干潮時で比較的高い値が示された。*Ct. antiqua* を対象にした殺藻及び増殖阻害細菌は主に *Vibrio* 属や *Sphingobium* 属などであり, BF 試料と海水試料で類似した組成を示していた。

##### <潮汐に伴う植物プランクトン及び細菌の日中変動>

水理環境の測定から, アマモ場を有する地点では干潮時に塩分が低下し, 栄養塩の値が高くなることから湧水の存在が示唆された。植物プランクトンはアマモ場が有無する両地点で  $2.4 \times 10^2$ - $1.9 \times 10^3$  cells mL<sup>-1</sup> で変動し, 満潮時で高い値, 干潮時で低い値を示す傾向がみられた。Stn. A のみ干潮時において羽状目珪藻である *Navucula* spp. が優占した。また, Stn. A では潮位において栄養塩は負の相関, 塩分は正の相関関係があり, 植物プランクトンは栄養塩と負の相関関係が認められた ( $p < 0.05$ )。 *Ct. antiqua* を対象にした殺藻及び増殖阻害細菌の密度は, BF 試料中で  $1.0 \times 10^7$ - $3.7 \times 10^7$  CFU g<sup>-1</sup> wet leaf で検出され, 海水試料中からは  $1.5 \times 10^2$ - $2.8 \times 10^5$  CFU mL<sup>-1</sup> の範囲で検出された。

##### <アマモ場における植物プランクトンと細菌>

黒島及び Stn. 1 のアマモ場ではその他の海域と比較し, 植物プランクトン及び ND が少なく, 細菌, HNF, ANF 及び繊毛虫が多いという結果が得られた。また MPN 法の結果より, アマモ場である黒島周辺と Stn. 1 ではそれぞれ  $1.7 \times 10^5$ ,  $2.1 \times 10^5$  MPN g<sup>-1</sup> wet sediment であったのに対し, OY-3 では  $5.4 \times 10^5$  MPN g<sup>-1</sup> wet sediment であり, アマモ場で低い値を示した。また OY-3 の多くは中心目珪藻が占めていたのに対し, アマモ場ではほとんど羽状目珪藻が占めていた。

#### 【今後の予定】

2015 年 6 月 15 日の日生町周辺海域で分離した細菌と, *Alexandrium tamarense*, *Eutrophia* sp. の 2 種を対象に二者培養試験を行う。また, BF 試料の検鏡を行い, アマモ BF に生息する生物を明らかにしていく予定である。

小島 千里

\*\*\*\*\*

次回のゼミ (11/26(木), 13 時 30 分~, W103) は卒業論文中間発表の予定です。