

Notice on Plankton Seminar.

#18011

9:30-11:00, 10 Sep. (Mon.) 2018 at room # N204

Yu, X., G. Cai, H. Wang, Z. Hu, W. Zheng, X. Lei, X. Zhu, Y. Chen, Q. Chen, H. Din, H. Xu, Y. Tian,
L. Fu and T. Zheng (2018)

Fast-growing algicidal *Streptomyces* sp. U3 and its potential in harmful algal bloom controls
J. Hazard. Mater. **341**: 138–149.

高増殖速度の殺藻細菌 *Streptomyces* sp. U3 株が有する有害有毒藻類ブルーム制御能

近年、経済活動等の発展に伴って沿岸域の富栄養化が進行し、有害有毒藻類ブルーム (HAB) の発生頻度が増加傾向にある。そこで HAB 対策として微細藻類を直接的に又は物質産生によって間接的に攻撃する殺藻細菌が注目されている。しかし、殺藻機構における藻類細胞への影響及び殺藻による環境中の溶存有機物 (DOMs) への影響については不明な点が多い。本研究では、環境中より単離した間接攻撃型の殺藻細菌 *Streptomyces* sp. U3 株の増殖特性と殺藻特性を調査し、U3 株と微細藻類との共培養実験における電子顕微鏡観察によって藻類細胞に与える影響を、励起-蛍光マトリックス (EEMs) 測定によって環境中の DOMs に与える影響を検証した。

調査は中国福建省 Zhangjiangkou マングローブ自然保護区で行い、堆積物試料から細菌を単離し、*Heterosigma akashiwo* を含む 16 属 18 種 21 株の微細藻類との共培養実験によって単離細菌の殺藻能を検証し、種同定を行った。その結果、強力な殺藻能を有する放線菌 *Streptomyces* sp. U3 株を単離した。単離した U3 株について、まず培養実験による増殖特性を検証した。Zobell 液体培地で培養した U3 株を Zobell 液体培地、*H. akashiwo* 細胞含有物溶液及び滅菌海水に添加して培養し、遠心分離及び乾燥によってバイオマスを求め、U3 株の増殖曲線を作成した。次に U3 株の殺藻特性について検証した。U3 株培養液を各藻類培養液に添加して (最終濃度 5%)、f2 培地、温度 20±1 °C、明暗周期 12 h: 12 h L: D、光強度 50 μmol photons m⁻² s⁻¹ で 3 日間培養し、蛍光値を測定して殺藻率を求めた。また、U3 株培養液を遠心分離により菌糸と上澄みに分離し、それぞれを透析袋 (1.2 kDa) に入れ *H. akashiwo* 培養液と培養し、同様に殺藻率を求めた。その結果、上澄みの実験区で顕著な殺藻が見られ、U3 株は殺藻物質を産生する間接攻撃型であることが判明した。続いて U3 株が藻類細胞に与える影響を調べた。上記の上澄み中の殺藻物質を酢酸エチルで抽出した後、ジメチルスルホキシドに溶解して殺藻物質の粗抽出液を作成し、*H. akashiwo* との共培養実験に供した。実験は 3 日間行い、12 h ごとに副試料を採取して固定した。各副試料を走査型電子顕微鏡と透過型電子顕微鏡で観察し、殺藻物質が藻類細胞に与える影響を調べた。次に U3 株の *H. akashiwo* 殺藻における環境中の DOMs への影響を発光団含有溶存有機物 (FDOM) の増減を EEMs 測定することで調査した。まず、4 つの実験区、1) 藻類のみ、2) 藻類+U3 株、3) 藻類培養液濾液+U3 株、4) f2 培地+U3 株の実験区を 7 日間培養し、0, 1, 3, 5, 7 日目に副試料を採取して FDOM の EEMs 測定に供し、検出された FDOM の変化を求めた。

U3 株の増殖特性実験の結果、U3 株の増殖曲線は Zobell 培地において培養 8–32 時間に対数増殖期、それ以降は定常期を示し、培養液中に菌糸が確認された。藻類細胞含有物溶液においても同様の傾向が見られた。滅菌海水中では菌糸形成は見られなかったが、増殖は見られた。殺藻特性実験の結果、U3 株は緑藻類、渦鞭毛藻類及びブルーム形成藻類種は殺藻し、藍藻類及び無害な珪藻類には影響しなかった。電子顕微鏡による観察の結果、時間経過に伴って細胞小器官内及び細胞基質内に自家食融解小体様の液胞が形成されて細胞が膨張し、最終的に細胞膜が溶解して細胞小器官が崩壊する様子が確認された。EEMs 測定の結果、3 種類の FDOM (成分 1–3) が確認され、蛍光ピークから成分 1, 3 は腐食物質であるフミン様物質、成分 2 はトリプトファン様物質であると考えられた。成分 1 は実験区 4) のみで増加が見られた。成分 2 は藻類が存在しない実験区 4) で 0 日目に他実験区と比べ有意に小さく、藻類由来物質であると考えられた。また実験区 2), 3) において成分 2 は 1 日目を以降減少傾向にあった。これは U3 株の代謝によるものと考えられた。成分 3 は全実験区で増加傾向にあり、U3 株及び藻類共生菌の代謝由来であると考えられた。

以上の結果から、間接攻撃型の殺藻細菌 *Streptomyces* sp. U3 株は貧栄養下及び藻類細胞含有物存在下で増殖が可能であり、HAB 海水中で増殖し、殺藻によって微細藻類由来の栄養を効率よく吸収することでさらに増殖する可能性が示唆された。また、U3 株はブルーム形成種に対しては殺藻、無害な種には影響しないことから環境に負荷をかけないことが示された。さらに殺藻において藻類由来の成分 2 が減少して腐食物質である成分 3 が増加したことから、U3 株は HAB によって増加した生物利用可能 DOM を難分解性 DOM に分解する可能性が示され、HAB による海洋生態系への影響をコントロールすることに貢献しているかもしれない。

児玉 敢