

八代海における海水中の殺藻細菌の分布と動態

有害有毒藻類によるブルームの発生は、世界中の沿岸域で規模、頻度ともに増加しており、養殖や天然の魚介類の斃死だけでなく、魚介類の毒化を引き起こし、漁業や観光業等に様々な悪影響を及ぼしている。特に八代海では *Chattonella* 赤潮が 2002 年から 2010 年にかけて毎年発生しており、2009 年に 33 億円、2010 年には 54 億円もの養殖魚に対する多大な斃死被害が発生しているため、赤潮を抑制または予防できる技術の開発は早急な課題となっている。近年、赤潮を形成する有害有毒藻類を殺滅する殺藻細菌の利用が環境にやさしい赤潮防除法として注目されており、実用化に向けての研究が期待されている。しかし、赤潮が発生する現場海域での殺藻細菌の動態を経時・経年的に探った知見は少なく、殺藻細菌を利用する上での現場海域での調査は必須である。そこで本研究では、海水中の殺藻・増殖阻害細菌についての動態を把握するために、八代海における代表的な有害赤潮藻類である *Chattonella antiqua* および *Karenia mikimotoi* に対する殺藻・増殖阻害細菌について分布および経時的変動を調査した。

2013 年の 6 月から 9 月末にかけて熊本県八代海に位置する姫戸沖 (0 m) にて 1 週間に 1 回採水を行い、鹿児島県東町脇崎の 0 m、および海底上 1 m (B-1m) では 2 週間に 1 回採水を行い海水試料とした。海水試料は適宜希釈後、孔径 3.0 μm のメンブレンフィルターを用いて濾過し、フィルター上の細菌を粒子付着性細菌 (PAB: Particle-associated bacteria)、濾液中の細菌を浮遊性細菌 (FLB: Free-living bacteria) として分離後、それぞれ ST10⁻¹ 寒天培地上で培養を行った。どの試料も温度 25°C の暗条件下にて 2 週間培養し、形成したコロニーを計数し、培養可能細菌数 (CFU mL⁻¹: Colony forming units) を算出した。計数後、コロニーをランダムに滅菌爪楊枝で釣菌し、ST10⁻¹ 寒天培地を分注した 48 ウェルマイクロプレートの各ウェルに単離した。また各試料の一部はグルタルアルデヒド (終濃度 1%) で固定し、DAPI 染色法により総細菌数の直接計数を落射蛍光顕微鏡を用いて行った。単離した細菌は無菌株の *C. antiqua*、*K. mikimotoi* 培養との二者培養試験を行って殺藻能を評価し、殺藻能または増殖阻害能を示した細菌株数と実験に供した細菌株数 (各サンプル 32 株ずつ) を基に、各サンプル中の殺藻細菌数及び増殖阻害細菌数を算出した。培養条件は明暗周期 14 hL: 10 hD、光強度 50-100 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、温度 25°C で、2 週間培養し、倒立顕微鏡の下、殺藻及び増殖阻害の有無を確認した。

総細菌数は姫戸沖試料で 0.8-2.8 x 10⁶ cells mL⁻¹ であり、脇崎試料では 0 m で 0.6-2.9 x 10⁶ cells mL⁻¹、B-1 で 0.4-2.0 x 10⁶ cells mL⁻¹ と変動した。全ての試料において概ね FLB が PAB より多く、本研究海域では FLB が生存しやすい環境下であることが示唆された。姫戸沖試料において殺藻細菌密度は 10¹-10² CFU mL⁻¹ のオーダーで検出され、*K. mikimotoi* に対する殺藻細菌より *C. antiqua* に対するものの方が高頻度で検出された。また PAB と FLB を比較すると、殺藻細菌は PAB の方が高頻度で検出された。殺藻細菌密度は植物プランクトン密度の変動に対応する変動が見られ、調査期間内で植物プランクトン

密度が最も高い値 ($6600 \text{ cells mL}^{-1}$) を示した際にも殺藻細菌密度は最も高い値 ($4.4 \times 10^2 \text{ CFU mL}^{-1}$) を示した。脇崎試料において殺藻細菌密度は 0 m で 10^1 - 10^4 CFU mL^{-1} のオーダーで検出され、*C. antiqua* に対する殺藻細菌は高頻度で検出された。また脇崎 0 m の殺藻細菌は FLB でも比較的高頻度・高密度で検出された。B-1 では殺藻細菌密度は 10^1 - 10^2 CFU mL^{-1} のオーダーで検出され、検出される頻度及び密度は 0 m と比べ低い値を示した。脇崎試料においても *K. mikimotoi* に対する殺藻細菌より *C. antiqua* に対するものの方が高頻度に検出された。脇崎では過去 2 年間 *C. antiqua* に対する殺藻細菌の調査が行われており、今年の殺藻細菌密度は過去 2 年間と比べ、頻度は少し高く、密度は同程度であった。

本研究において、調査期間中の赤潮は観測されなかった。殺藻細菌密度は赤潮が観測されていない 2011、2012 年度の調査と比較しても大きな差は見られず、殺藻細菌は低密度で海水中に生息していることが分かった。また殺藻細菌は植物プランクトン密度と共に変動していることから、植物プランクトンを殺藻して有機物栄養源として利用していることが示唆された。また *C. antiqua*、*K. mikimotoi* の殺藻細菌密度を比較したところ *C. antiqua* に対するものが多く検出されており、過去に大規模な *C. antiqua* による赤潮が発生している八代海ならではの特徴である可能性が示唆された。今後、本研究で検出された殺藻・増殖阻害細菌の 16S rDNA 解析を行い、例年との比較を行うことで八代海における殺藻・増殖阻害細菌の分布・動態について更なる展望が期待される。また日本各地における赤潮が観測される海域で継続的な赤潮および殺藻細菌についてのモニタリングを行うことで赤潮発生するメカニズムの解明が期待されるだろう。

谷内 大翔