

氏名	みつ たに あつし 満 谷 淳
学位(専攻分野)	博士(農学)
学位記番号	論農博第2065号
学位授与の日付	平成8年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	湖沼及び沿岸海域に分布する微細藻類溶解性細菌に関する生理生態学的研究

論文調査委員 (主査) 教授 石田祐三郎 教授 坂口守彦 教授 中原紘之

論文内容の要旨

微細藻類のブルームの発生・消滅の過程には光、水温、栄養塩濃度などの物理的・化学的要因と共に微生物間の相互作用などの生物学的要因も大きな影響を及ぼしていると考えられる。このような要因のひとつとして、微細藻類を溶解する活性を持つ細菌の存在が挙げられる。富栄養化した陸水域に藍藻溶解性細菌が広く分布していることは1960年代後半にはすでに知られていた。しかしながら、それらが果たして藍藻のブルームの消滅過程に関与しているのかどうかは不明であった。また、沿岸海域に分布する赤潮藻類溶解性細菌については研究例が少なく、情報が極めて少ないのが現状であった。本論文は湖沼および沿岸海域における微細藻類溶解性細菌と微細藻類のブルームとの関係を明らかにすることを目的として行った研究成果をまとめたものであり、得られた成果は以下のとおりである。

(1) 藍藻 *Anabaena solitaria* のブルームが毎年夏季に出現していた琵琶湖においてブルーム形成種と同属の *Anabaena cylindrica* を、また藍藻 *Microcystis aeruginosa* のブルームが同じく夏季に出現していた諏訪湖においてブルーム形成種と同種の *M. aeruginosa* を、それぞれ宿主に用いた重層寒天平板法によって表層水中における藍藻溶解性微生物の現存量調査を行った。その結果、いずれの湖でもその現存量はクロロフィル a 量や藍藻密度と連動し、ブルーム時には 10^4 pfu/ml に達した。しかし、諏訪湖では宿主に藍藻 *A. cylindrica* を用いるとその溶解性微生物の現存量は $10^1 \sim 10^2$ pfu/ml と低く、*M. aeruginosa* の発生と相関は見られなかった。

これら溶解性微生物は両湖とも滑走細菌であり、分離した細菌の宿主特異性を調べたところ、*A. cylindrica* を宿主に用いて分離した細菌は宿主と同じ Nostocales 目の藍藻に対して、*M. aeruginosa* を宿主に用いて分離した細菌は宿主と同じ Chrolococeales 目の藍藻に対して、それぞれ特異的な溶解性を示した。このことより、両湖にはそれぞれの藍藻ブルームの発生に伴ってその種固有の藍藻溶解性滑走細菌群が急激に増加してくることが示唆された。

琵琶湖から分離した藍藻溶解性滑走細菌 *Lysobacter* sp. LB-1 株の *A. cylindrica* に対する溶藻の過程を光学顕微鏡で詳細に観察した。さらにその培養濾液から溶藻に関与するプロテアーゼを精製し、電気泳動

的に単一のバンドとして得た。これはセリンプロテアーゼで、分子量は32kDa、至適 pH10~11 であることを示した。

(2)有明海福岡県沿岸海域において、冬季に頻発している珪藻赤潮 *Skeletonema costatum* の溶解性微生物の現存量を調査した。*S. costatum* 溶解性微生物は、珪藻赤潮の非発生時には5~10⁴ pfu/mlの低密度で推移し、*S. costatum* 赤潮の発生時には10⁴ pfu/mlの高密度まで増加した。他属の珪藻赤潮時には10² pfu/mlまでしか増加しなかった。*S. costatum* 赤潮の発生時には、*Alteromonas*属細菌のみが優勢となっていたが、それ以外の時期には *Cytophaga* 属細菌など多様な溶解性細菌相を示した。しかし、分離した *Alteromonas* 属および *Cytophaga* 属細菌の宿主特異性は低く、珪藻のみならず、ラフィド藻 *Chattonella antiqua* を溶解できるものが多かった。このことより、有明海沿岸海域には多様な珪藻溶解性細菌が存在し、*S. costatum* 赤潮の発生時に特定の細菌群が選択的に増加してきて優勢種となることが示唆された。なお、これら細菌はいずれも溶藻物質を生産し、*Alteromonas* 属細菌では主に低分子物質であるのに対し、*Cytophaga* 属細菌は多様なタイプのものであった。

論文審査の結果の要旨

富栄養化した湖沼においては藍藻が大増殖して水道水のカビ臭などを引き起こし、また沿岸海域においてはラフィド藻、渦鞭毛藻、珪藻などの赤潮が発生して養殖業や漁獲漁業に被害を与えるなど、微細藻の異常増殖は社会問題となっている。このような異常増殖を抑制するためにこれまでに様々な対策が講じられてきたが、近年、微細藻類の溶解活性を持つ細菌を、遅効性であるが環境を著しく壊さない微生物農薬として赤潮の防除に応用する試みが注目されてきた。しかしながら、このような細菌の湖沼や沿岸海域における生理生態は全く不明であり、その生態の解明は微生物農薬を施行するうえでなおざりには出来ない。本論文は、琵琶湖と諏訪湖および有明海における微細藻類のブルームの消滅に果たす微細藻類溶解性細菌の生態的役割の解明を意図したものであり、評価しうる主な点は次のとおりである。

(1)琵琶湖および諏訪湖における藍藻のブルームに際してその藍藻を特異的に溶解する藍藻溶解性滑走細菌群が増加し、10⁴ pfu/mlにも達すること、およびそれらは藍藻の増減と正の相関を有することを明らかにした。

(2)琵琶湖から単離した藍藻溶解性滑走細菌 *Lysobacter* LB-1 株の藍藻 *Anabaena cylindrica* を溶解する活性は定常期においてあらわれることを光学顕微鏡による溶藻過程の詳細な観察と培養実験によって確認し、藻体の崩壊の一因がLB-1株の細胞外に生産した溶藻酵素セリンプロテアーゼによることを明らかにした。これらの結果から、藍藻のブルームの発生時に大量に水中に放出される溶存態の有機物を藍藻溶解性滑走細菌が利用して増殖し、ブルームの消滅期の生理状態の悪化した藍藻細胞を溶解することによって、ブルームの消滅を加速させる役割を果たしていると推論した。

(3)有明海における珪藻 *Skeletonema costatum* 溶解性細菌の現存量調査により、海水中には常に多様な *S. costatum* 溶解性細菌が低密度で存在しているが、赤潮発生時には *Alteromonas* 属細菌が圧倒的に優勢となり平常時の100倍を越えること、それらは1種ではないが分類学的性状および宿主域が極めて類似し、同一の作用機作を持っていることを見出した。赤潮の非発生時に最も多く単離された *Cytophaga* 属細菌

は、分類学的性状が多様なうえに、宿主域や *S. costatum* に対する溶解の作用機作もまた多様であることなどを明らかにした。これらのことから、有明海沿岸海域には多様な珪藻溶解性細菌群が存在しており、*S. costatum* 赤潮の発生時には、その中から *Alteromonas* 属細菌が選択的に増加してきて優勢種となり、珪藻赤潮の消滅に積極的に寄与していると推論した。

以上のように、本論文は湖沼および沿岸海域における微細藻類溶解性細菌の生態および生理的特性を明らかにし、このような細菌を赤潮防除に応用する際に有用な基礎的知見を与えるものであり、微生物生態学、海洋微生物学および浮遊生物学の発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成8年2月15日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。