

諏訪湖から単離した藍藻溶解性滑走細菌の 宿主特異性について^{*1}

満谷 淳^{*2}・内田有恵^{*3}・石田祐三郎^{*3}

Host specificity of cyanobacteria-lytic gliding bacteria
isolated from Lake Suwa

Atsushi Mitsutani^{*2}, Aritsune Uchida^{*3},
and Yuzaburo Ishida^{*3}

Seasonal changes of the abundance of cyanobacteria-lytic microbes have been studied in relation to that of bloom-forming cyanobacteria *Microcystis aeruginosa* at Mesocosm sited in Lake Suwa in 1985 and 1986. *Anabaena cylindrica* (in 1985) and *M. aeruginosa* (in 1986) were used as hosts for the detection of lytic microbes. The number of the lytic microbes correlated well with chlorophyll-a concentration in surface water in 1986, when *M. aeruginosa* was used as the host. No correlation between them was observed in 1985, when *A. cylindrica*, which had never been a dominant species in Lake Suwa, was used as the host. Twenty-one strains of gliding bacteria, which occupied the majority in the lytic microbes, were isolated. Eleven strains isolated in 1985 indicated specific lytic activity against cyanobacteria belonging to order Holomogonales including *A. cylindrica*, and 7 of these strains could not lyse *M. aeruginosa*. Ten strains isolated in 1986 indicated specific lytic activity against cyanobacteria belonging to order Chroococcales including *M. aeruginosa*. These results suggest that gliding bacteria which have lytic activity against *M. aeruginosa* increase in number as a rise of the bloom of *Microcystis* in Lake Suwa. These bacteria possibly contribute to the degradation of the bloom.

1 緒言

富栄養化した湖沼においては、夏季に藍藻の大増殖が起
こり、水の華あるいはアオコと呼ばれるような状態となる。
このような藍藻のブルームの消長には、光や水温、栄養塩

濃度などの物理的化学的要因のみならず、他の藻類や細菌、
動物プランクトンなどの相互関係も重要な役割を果たし
ているものと考えられる。
細菌¹⁻⁸⁾、シアノファージ^{9,10)}、放線菌¹¹⁾、アーベバ¹²⁾な
ど、多種の微生物が藍藻を溶解する能力を持つことは、古

水産大学校研究業績 第1476号、1994年1月21日受付。

Contribution from Shimonoseki University of Fisheries, No. 1476. Received Jan. 21, 1994.

*1 平成5年10月18日 平成5年度日本水産学会秋季大会(長崎)にて発表。

*2 水産大学校増殖学科水産環境学講座 (Laboratory of Fishery Environmental Science, Department of Biology and Aquaculture, Shimonoseki University of Fisheries).

*3 京都大学農学部水産学科水産微生物学研究室 (Department of Fisheries, Faculty of Agriculture, Kyoto University).

くから知られている。中でも滑走細菌に関する報告は多く、これまで *Myxococcus* 属¹⁻³⁾, *Lysobacter* 属⁴⁻⁶⁾, *Flexibacter* 属⁷⁾ および *Cytophaga* 属⁸⁾ 細菌が藍藻溶解能を持つと報告されている。しかしながら、藍藻溶解性滑走細菌の湖沼における分布や現存量については、それほど多くの知見は得られていない。また、これらが藍藻ブルームの消滅過程にどのように関与するのかは、未だ明らかではない。本研究では、藍藻溶解性細菌が藍藻のブルームの消滅に関与する可能性について検討することを目的とし、富栄養化が進み夏季に慢性的な藍藻のブルームが発生する諏訪湖において、藍藻溶解性細菌の現存量を調査した。また、溶解性細菌を単離し、その性状、特に宿主特異性について検討した。

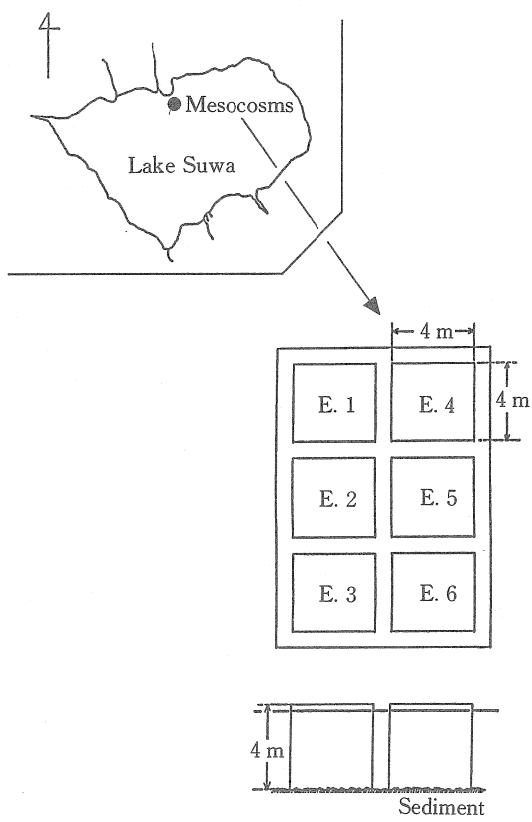


Fig. 1. Sampling sites in Lake Suwa.

2 材料および方法

2.1 調査定点

諏訪湖に設定した調査定点を、Fig. 1に示す。生物相互作用系の生態学的解析を目的として諏訪湖に設置された人工隔離水界(メソコスム)の内外において、採水および採泥を行った。メソコスムは諏訪湖内水深約4mの地点に固定され、4m×4mの6つの正方形の区画(エンクロージャー)に分けられた。エンクロージャーとしては、チューブ状のポリエチレンシートによって湖水と隔離され、水深4mでチューブが閉じられている Bag-type と、チューブが底泥にまで達する Tube-type の2種類を設定した。表層水および底泥は、既報⁶⁾と同様の方法により採取した。

2.2 環境諸要因の測定

1985年の調査における水温およびpHは、棒状水銀温度計およびpHメーター(日立-堀場 H-7LD)を用いて、現場において測定した。クロロフィルa量および藍藻細胞数は、メソコスム実験ルーチン観測結果^{13,14)}を利用した。1986年の調査におけるクロロフィルa量は、SCOR/UNESCO¹⁵⁾の方法により測定した。

2.3 藍藻溶解性微生物の現存量の測定

既報⁶⁾と同様に重層寒天平板法を用い、宿主藻を増殖させた重層寒天平板上に生ずる溶解斑(ブラーク)を計数することによって、藍藻溶解性微生物の現存量を求めた。宿主藍藻としては、1985年には *Anabaena cylindrica* M-1 (IAM)株を、1986年には *Microcystis aeruginosa* NIES-99 株をそれぞれ用いた。藍藻溶解性微生物の種類については、ブラーク部分の寒天を白金耳でとり、ノマルスキー型微分干渉顕微鏡(Nikon OPTIPHOT XF-NT)を用いて検鏡することによって、その特定を行った。

2.4 藍藻溶解性細菌の単離および性状検査

既報⁶⁾と同様に、藍藻溶解性細菌をブラーク部分から白金耳でとり、casitone(Difco) 0.5%および寒天を1.5%添加したCT培地もしくは Vy/2寒天培地の平板上に画線することによって単離した。また、1985年に分離した11株について、分類学的性状を調べた。

2.5 藍藻溶解性細菌の宿主特異性の検討

既報⁶⁾と同様に9種10株の藍藻、2種2株の緑藻および4種

4株の細菌を宿主に用い、単離菌の宿主特異性を検討した。藍藻 *Anabaena solitaria* については、単離菌と液体培地で二者培養し、光学顕微鏡下で藍藻の溶解の有無を判定した。その他の藻類および細菌については、各々を増殖させた重層寒天平板上に、単離菌の培養液をしみ込ませたろ紙ディスクを置き、プラークが生じるか否かによって溶解性の有無を判定した。藍藻については CT 培地、緑藻 *Chlorella pyrenoidosa* については C 培地、および緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* については TAP 培地を用い、培養条件はいずれも 25°C, 1,500 lux とした。細菌については nutrient broth (Difco) を用い、30°C で培養した。

3 結果

3.1 藍藻溶解性微生物の季節変動

1985年の調査は、9月11日、28日および10月5日の計3回行った。調査定点は、エンクロージャー外の諏訪湖、エンクロージャー No.1 (Bag-type) およびエンクロージャー No.5 (Tube-type) とした。エンクロージャー No.1には、カワチブナが投入されていた。宿主藻には藍藻 *A. cylindrica* M-1株を用いた。Table 1に、3定点における藍藻溶

解性微生物の現存量と環境要因の変動を示す。調査開始時の9月11日には、夏季に大発生していた藍藻 *M. aeruginosa* のブルームは衰退し始めていたが、表層水中のクロロフィル a 量¹³⁾は 70 μg/l 弱と、比較的高いレベルであった。クロロフィル a 量は、エンクロージャー No.1 では水温の低下と共にさらに減少したが、エンクロージャー No.5 では、あまり変動しなかった。植物プランクトンの組成¹⁴⁾については、*M. aeruginosa* が圧倒的に優占していた。3定点いずれにおいても、表層水中の藍藻溶解性微生物数は 10¹~10² PFU/ml (PFU: プラーク形成単位) 程度であり変動せず、いずれのエンクロージャーにおいても、クロロフィル a 量や *M. aeruginosa* の現存量との間に関連性は見られなかった。底泥表層中の溶解性微生物数は 10¹~10³ PFU/g wet wt. で、10月にはやや減少する傾向を示した。重層寒天平板上に生じたプラークを無作為に選び顕微鏡観察したところ、藍藻溶解性微生物の種類については、アメーバと糸状菌が1種づつ確認されたものの、滑走細菌が圧倒的に優占していた。

1986年には、5月から10月にかけて計6回の調査を行った。調査定点は、エンクロージャー外の諏訪湖、エンクロージャー No.3 および No.6 (いずれも Tube-type) とした。エンクロージャー No.6 には、ワカサギが投入されていた。

Table 1. Changes of the abundance of cyanobacteria-lytic microbes, the abundance of cyanobacteria and some environmental factors in Lake Suwa in 1985

Sampling sites (Enclosure number)	Date	Number of plaque forming unit (PFU)		Cell number of <i>Microcystis aeruginosa</i> (cells/ml)	Concentration of chlorophyll-a (μg/l)	Water temperature (°C)	pH
		Water (PFU/ml)	Sediment (PFU/g wet wt.)				
1	11 Sep. 1985	3.0×10 ¹		1.3×10 ⁵	69.7	24.2	9.7
	28 Sep. 1985	1.6×10 ²		7.1×10 ⁴	45.5	17.8	9.8
	5 Oct. 1985	1.7×10 ²		1.5×10 ⁴	11.7	17.1	ND ^{*3}
5	11 Sep. 1985	1.1×10 ²	1.7×10 ³	3.4×10 ⁴	66.4	24.2	9.3
	28 Sep. 1985	8.7×10 ¹	6.7×10 ²	1.0×10 ⁵	71.4	17.8	9.1
	5 Oct. 1985	1.1×10 ²	5.7×10 ¹	7.8×10 ⁴	59.7	17.1	ND ^{*3}
Lake Suwa	11 Sep. 1985	1.0×10 ¹	6.7×10 ²	ND ^{*3}	ND ^{*3}	ND ^{*3}	9.5
	28 Sep. 1985	6.7×10 ¹	8.7×10 ²	ND ^{*3}	ND ^{*3}	17.9	8.8
	5 Oct. 1985	6.7×10 ¹	1.0×10 ¹	ND ^{*3}	ND ^{*3}	17.1	ND ^{*3}

*1: *Anabaena cylindrica* M-1 was used as a host

*2: from routine data^{13, 14)}

*3: not determined

宿主には、前年とは異なり、諏訪湖由来の *M. aeruginosa* NIES-99株を用いた。Fig.2に、3定点における藍藻溶解性微生物の現存量と環境要因の変動を示す。諏訪湖表層水中のクロロフィルa量は夏季に大きく増加して8月19日にピーク値(2900 $\mu\text{g/l}$)を示し、秋季には減少した。エンクロージャーNo.3およびNo.6においてもほぼ同様のクロロフィルa量の変動が見られた。植物プランクトンの組成については、いずれの定点においても、前年と同様に *M. aeruginosa* が優占種となっていた。表層水中の藍藻溶解性微生物数は、クロロフィルa量と同様に3定点いずれにおいても8月19日に、 10^4PFU/ml 付近の値でピークとなり、その季節変動はクロロフィル量のそれとよく一致していた。底泥表層中の藍藻溶解性微生物数は、やはり8月19日にピーク値を示したが、その変動は表層水中と比べると小さく、10月25日には再び増加する傾向を示した。生じたブラークを顕微鏡観察することによって藍藻溶解性微生物の種類を検定したところ、前年と同様に滑走細菌が優占して

おり、ファージやアメーバは量的に殆ど検出されなかった。

3.2 単離した藍藻溶解性細菌の分類学的性状

藍藻溶解性微生物の計数の際に重層寒天平板上に生じたブラークから、1985年には11株、1986年には10株の藍藻溶解性細菌を単離した。これらの細菌の由来を Table 2およびTable 3に示す。1985年には9月11日および10月5日のサンプルから溶解性細菌の単離を行ったが、このような細菌は、3定点のいずれからも単離され、また底泥のないBag-typeのエンクロージャーNo.1を除いては表層水および底泥表層のいずれからも単離された。1986年には、*M. aeruginosa* のブルームが最盛期であった8月19日のサンプルのみから単離を行ったが、前年と同様に藍藻溶解性細菌は3定点のいずれからも単離され、またエンクロージャーNo.3およびNo.6においては、表層水および底泥表層のいずれからも単離された。1985年に分離した11株について若干の分類学的性状を調べた結果を、Table 4に示す。これ

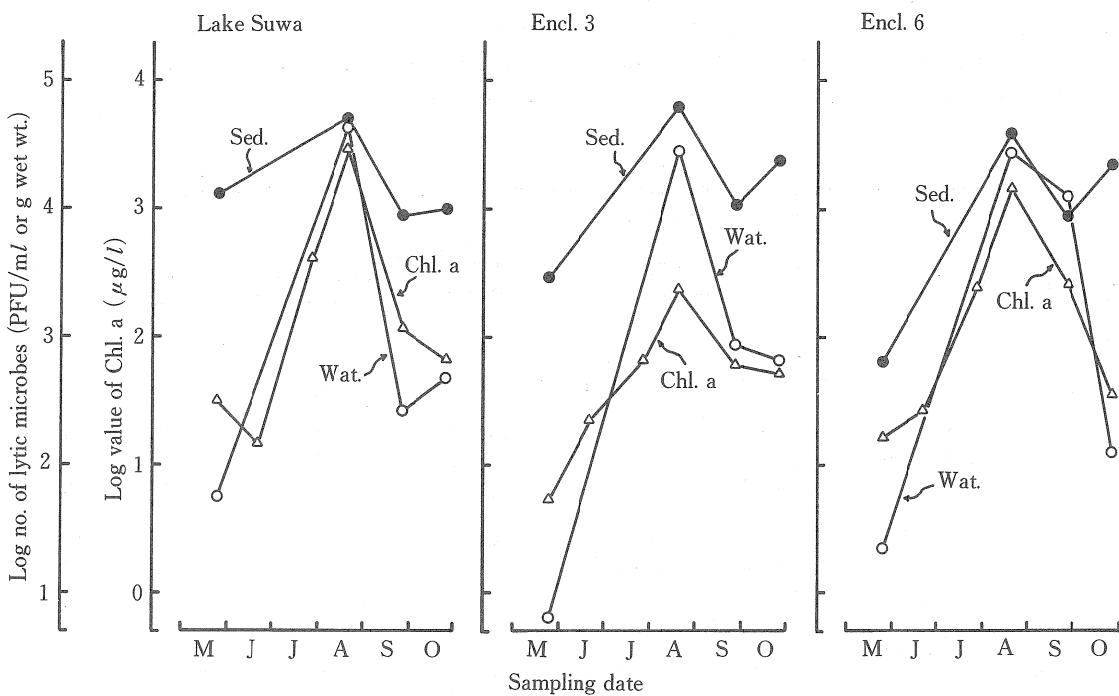


Fig. 2. Seasonal changes of the abundance of cyanobacteria-lytic microbes in the surface water (○) and on the surface of sediment (●), and the abundance of chlorophyll-a (\triangle) in the surface water in Mesocosms at Lake Suwa in 1986. *Microcystis aeruginosa* NIES-99 was used as a host.

Table 2. Origin of cyanobacteria-lytic bacteria isolated from Lake Suwa in 1985

Strain number	Sampling site	Sampling date	Source
LS-1	Lake Suwa	September 11	Sediment
LS-2	Enclosure No. 5	September 11	Sediment
LS-3	Enclosure No. 1	September 11	Water
LS-4	Enclosure No. 1	September 11	Water
LS-5	Lake Suwa	September 11	Water
LS-6	Enclosure No. 5	October 5	Sediment
LS-7	Enclosure No. 5	October 5	Sediment
LS-8	Enclosure No. 5	October 5	Sediment
LS-9	Enclosure No. 5	October 5	Sediment
LS-10	Enclosure No. 5	October 5	Water
LS-11	Enclosure No. 5	October 5	Water

Table 3. Origin of cyanobacteria-lytic bacteria isolated from Lake Suwa in 1986

Strain number	Sampling site	Sampling date	Source
LS-12	Enclosure No. 6	August 19	Water
LS-13	Enclosure No. 6	August 19	Water
LS-14	Lake Suwa	August 19	Water
LS-15	Lake Suwa	August 19	Water
LS-16	Enclosure No. 3	August 19	Water
LS-17	Enclosure No. 3	August 19	Water
LS-18	Enclosure No. 3	August 19	Sediment
LS-19	Enclosure No. 3	August 19	Sediment
LS-20	Enclosure No. 6	August 19	Sediment
LS-21	Enclosure No. 6	August 19	Sediment

Table 4. Some taxonomical characteristics of cyanobacteria-lytic bacteria isolated from Lake Suwa in 1985

	LS-1	LS-2	LS-3	LS-4	LS-5	LS-6	LS-7	LS-8	LS-9	LS-10	LS-11
Gram-stain	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Motility	Gliding	Gliding	Gliding	Gliding	Gliding	Gliding	Gliding	Gliding	Gliding	Gliding	Gliding
Shape	Long rod	Long rod	Long rod	Long rod	Long rod	Long rod	Long rod				
Size (μm)	0.8 $\times 4.0\text{-}5.6$	0.8 $\times 4.0\text{-}5.6$	0.8 $\times 3.2\text{-}4.8$	0.8 $\times 4.0\text{-}7.2$	0.2-0.4 $\times 3.2\text{-}4.8$	0.4-0.6 $\times 4.0\text{-}5.6$	0.6-0.8 $\times 3.2\text{-}4.0$	0.4-0.6 $\times 2.4\text{-}3.2$	0.6-0.8 $\times 2.4\text{-}3.2$	0.6-0.8 $\times 3.2\text{-}4.0$	0.4-0.6 $\times 3.2\text{-}4.0$
Colony color	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow
OF-test											
Fermentative	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxidative	-	-	\pm	-	+	-	-	-	-	-	-
Oxidase	+	\pm	-	+	\pm	+	-	+	+	-	-
Catalase	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-

+, positive; \pm , weakly positive; -, negative

らの細菌は、いずれも黄色の菌体色素を持つグラム陰性の長桿菌で、滑走運動を行うことから滑走細菌に属すると考えられた。1986年に分離した10株については、いずれも滑走運動を行うことから滑走細菌と判定されたが、詳細な性状検査は行っていない。

3.3 単離した藍藻溶解性細菌の宿主特異性

1985年に *A. cylindrica* を宿主として諏訪湖から単離した11株の細菌の宿主特異性を、Table 5に示す。これらの細菌は、宿主を含む Hormogonales 目の藍藻に対する強い溶解性を示した。ただし11株中5株が *Anabaena variabilis* を、8株が *Plectonema boryanum* を溶解できなかった。一方、現場の諏訪湖において圧倒的に優占していた *M.*

aeruginosa を溶解できたものは LS-9, 10および11の3株にすぎず、その他2種の Chroococcales 目の藍藻に対しても、溶解性を示さないものが多かった。また、いずれの細菌も、緑藻や細菌に対しては強い溶解性を示さなかった。

1986年に *M. aeruginosa* を宿主として諏訪湖から単離した10株の細菌の宿主特異性を、Table 6に示す。これらの細菌は、諏訪湖においてブルームを形成していた *M. aeruginosa* を含む Chroococcales 目の藍藻に対して強い溶解性を示した。Hormogonales 目の藍藻については、全ての細菌が、*A. cylindrica*, *A. affinis*, *Cylindrospermum licheniforme* および *Phormidium tenue* を溶解できないか、もしくは弱い溶解性を示すに留まったが、半数の細菌が *A. variabilis* を溶解し、6株の細菌が *P. boryanum* を溶

Table 5. Host specificities of cyanobacteria-lytic gliding bacteria isolated from Lake Suwa by using *Anabaena cylindrica* M-1 as a host in 1985

Host organism	Lytic bacteria										
	LS-1	LS-2	LS-3	LS-4	LS-5	LS-6	LS-7	LS-8	LS-9	LS-10	LS-11
Cyanobacteria											
Hormogonales											
<i>Anabaena cylindrica</i> M-1 (IAM)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>A. solitaria</i> (Lake Biwa)*	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>A. solitaria</i> NIES-80 (Lake Kasumigaura)*	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>A. affinis</i> NIES-72 (Lake Kasumigaura)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>A. variabilis</i> ATCC 29413	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+
<i>Cylindrospermum licheniforme</i> ATCC 29412	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
<i>Plectonema boryanum</i> M-101 (IAM)	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-
<i>Phormidium tenue</i> (Lake Biwa)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Chroococcales											
<i>Synechococcus</i> sp. ATCC 27344	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-
<i>Microcystis aeruginosa</i> NIES-99 (Lake Suwa)	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>M. wesenbergii</i> NIES-105 (Lake Kasumigaura)	+	+	-	+	-	-	-	-	+	±	+
Green Algae											
<i>Chlorella pyrenoidosa</i> C-28 (IAM)	-	±	-	-	-	±	-	±	-	±	±
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	-	-	-	±	-	-	±	-	-	-	-
Bacteria											
<i>Escherichia coli</i> IFO 3366	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6051	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B. megaterium</i> ATCC 19213	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Micrococcus lysodeikticus</i> ATCC 4698	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Results were read after 14 days of incubation. Lytic activity in each test noted as: +, good lysis; ±, weak lysis or growth inhibition; -, no lysis.

*: These hosts were tested in liquid culture, others were on double layered agar culture.

Table 6. Host specificities of cyanobacteria-lytic gliding bacteria isolated from Lake Suwa by using *Microcystis aeruginosa* NIES-99 as a host in 1986

Host organism	Lytic bacteria									
	LS-12	LS-13	LS-14	LS-15	LS-16	LS-17	LS-18	LS-19	LS-20	LS-21
Cyanobacteria										
Hormogonales										
<i>Anabaena cylindrica</i> M-1 (IAM)	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
<i>A. affinis</i> NIES-72 (Lake Kasumigaura)	—	—	—	—	—	—	—	—	±	±
<i>A. variabilis</i> ATCC 29413	—	—	+	+	+	+	—	—	—	+
<i>Cylindrospermum licheniforme</i> ATCC 29412	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Plectonema boryanum</i> M-101 (IAM)	+	±	+	±	+	+	±	±	+	+
<i>Phormidium tenue</i> (Lake Biwa)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Chroococcales										
<i>Synechococcus</i> sp. ATCC 27344	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Microcystis aeruginosa</i> NIES-99 (Lake Suwa)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>M. aeruginosa</i> NIES-44 (Lake Kasumigaura)	—	+	+	±	+	+	+	+	+	+
<i>M. viridis</i> NIES-102 (Lake Kasumigaura)	—	+	+	±	+	+	±	+	+	+
<i>M. viridis</i> NIES-103 (Lake Kasumigaura)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>M. wesenbergii</i> NIES-108 (Lake Kasumigaura)	—	—	+	±	+	—	+	+	—	+
Green Algae										
<i>Chlorella pyrenoidosa</i> C-28 (IAM)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Bacteria										
<i>Escherichia coli</i> IFO 3366	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6051	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>B. megaterium</i> ATCC 19213	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Micrococcus lysodeikticus</i> ATCC 4698	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Results were read after 14 days of incubation. Lytic activity in each test noted as: +, good lysis; ±, weak lysis or growth inhibition; —, no lysis.

解した。緑藻および細菌については、いずれの細菌も溶解性を示さなかった。

4 考察

湖沼における藍藻溶解性滑走細菌の分布や現存量については、Daffら¹⁶⁾のグループが1970年代にイギリスの湖沼において広範囲にわたる調査を行い、藍藻溶解性滑走細菌は、湖沼、貯水池等に広く分布していること、またその現存量の季節変動は藍藻の現存量のそれと良く一致することを報告している。また、我国においては、山本^{3,17,18)}が霞ヶ浦、諏訪湖、木崎湖などで調査を行い、アーベバや滑走細菌を始めとする藍藻溶解性微生物が、湖水中及び底泥中

に広く分布していること、また湖水中におけるその現存量は、藍藻のブルームが形成される夏季に増加する傾向にあることを示した。著者ら⁶⁾は、夏季に藍藻 *A. solitaria* がブルームを形成していた琵琶湖南湖において調査を行い、*Anabaena* のブルーム時には、藍藻溶解性細菌の現存量が著しく増加すること、またその季節変動はクロロフィル a 量の変動、すなわち *A. solitaria* のブルームの消長と高い相関を示すことを明らかにした。

本研究では、毎年夏季に *Microcystis* 属藍藻が大増殖しアオコ状態を呈する、我国を代表する富栄養湖である諏訪湖をフィールドとして、藍藻溶解性微生物の現存量の調査を行った。その際に、現場においてブルームを形成している *Microcystis* 属藍藻を宿主に用いて計数を行うと、得ら

れた藍藻溶解性微生物数の季節変動と藍藻のブルームの消長が互いに良く一致した(Fig.2)。また藍藻溶解性微生物の種類としては、滑走細菌が常に量的に優占していた。この結果は、Daftら¹⁶⁾のスコットランドの湖沼における知見や、著者ら⁶⁾が琵琶湖において得た結果と符合する。滑走細菌は藍藻のブルームと密接な相互関係を有していると考えられる。

一方、琵琶湖ではブルームを形成していたが諏訪湖では優占種とはならない *Anabaena* 属藍藻を宿主に用いた場合には、溶解性微生物数とブルームとの間に相関関係がみられなかった(Table 1)。このことから、溶解性微生物の現存量を評価する際には、現場でブルームを形成している種と可能な限り近縁な種を宿主に用いる必要があると考えられる。

本研究では、藍藻溶解性微生物の計数の際に重層寒天平板上に生じたプラークから、計21株の滑走細菌(Table 2, 3)を単離し、その宿主特異性について検討した。従来、藍藻溶解性滑走細菌は宿主特異性が低いという報告が多くなされている。Shilo⁴⁾がイスラエルの養魚池から単離した *Myxobacter* (*Lysobacter* sp.) FP-1株は、多種にわたる藍藻を良く溶解し、またグラム陰性細菌をも溶解した。Daftら⁵⁾がスコットランドの湖沼から単離した *Myxobacter* (*Lysobacter* sp.) CP-1～CP-4株は、藍藻以外にも種々のグラム陽性・陰性細菌を溶解した。山本ら¹⁹⁾が諏訪湖底泥から単離した *Myxococcus fulvus* S-1-8株は、試験に用いたいすれの藍藻をも溶解した。一方、著者ら⁶⁾が琵琶湖から単離した *Lysobacter* sp. LB-1株他8株の藍藻溶解性滑走細菌は、これらの報告とはやや異なり、宿主に用いた *A. cylindrica* や琵琶湖においてブルームを形成していた *A. solitaria* を含む糸状体を形成する Hormogonales 目の藍藻を良く溶解したが、単細胞もしくは群体を形成する Chroococcales 目の藍藻、緑藻および細菌を殆ど溶解できなかった。

本研究において諏訪湖から単離された滑走細菌は、単離の際に宿主に用いた藍藻及びその近縁の種に対して、比較的高い特異性を示した(Table 5, 6)。すなわち *M. aeruginosa* を宿主に用いて単離した溶解性細菌は Chroococcus 目の藍藻に対する、また *A. cylindrica* を宿主に用いて単離した溶解性細菌は Hormogonales 目の藍藻に対する、各々限定された特異性を示す傾向が見られた。同様の特異性は、*A. cylindrica* を宿主に用いて琵琶湖から単離した9株の細菌にもみられた⁶⁾。Hormogonales 目の藍藻の中でも、*A. variabilis* と *P. boryanum* については例外的な結

果が得られた。すなわち、*M. aeruginosa* を宿主に用いて単離した細菌に溶解されるが、*A. cylindrica* を宿主に用いて単離した細菌に溶解されない場合が多かった。著者等が琵琶湖から単離した9株の滑走細菌についても、同様の結果が得られている⁶⁾。この2種の藍藻は、溶解性細菌によって産生される溶解酵素のターゲットとなる細胞表層の構造が、調査に用いた他の Hormogonales 目藍藻とはやや異なり、むしろ Chroococcus 目の藍藻のそれに近いという可能性も考えられる。

以上の諏訪湖における藍藻溶解性細菌の現存量調査および単離した溶解性細菌の宿主特異性試験の結果、および既報⁶⁾の琵琶湖における調査結果から、藍藻のブルーム時には、ブルーム形成種に対して特異的な溶解能を持つ滑走細菌が選択的に増殖していくことが明らかとなった。これらの細菌が、藍藻ブルーム時に藍藻溶解能を発揮することによって、その消滅に関与している可能性は高いと考えられる。

近年、赤潮藻類を殺滅・溶解する能力を持つ細菌を微生物農薬として利用することができないか、という考えが出てきている²⁰⁾。細菌を赤潮に対する微生物農薬として水圈中に投与する場合、他生物への影響を考えると、赤潮形成種への限定された殺藻効果が要求される。藻類溶解能を持つ微生物の中で、シアノファージは宿主特異性が細菌よりも高い¹⁰⁾が、微生物農薬として用いる場合には、ターゲットとなる藻類がファージに対する抵抗性を比較的容易に獲得してしまう^{21, 22)}ことが問題となる。抵抗性は、藍藻細胞の膜構造に変化が起き、ファージの吸着を妨げることによって獲得されるものと想像されている²³⁾。細菌については、著者ら²⁴⁾が先に報告したように、その作用が溶菌酵素による細胞壁の溶解によるとすれば、宿主特異性は宿主の細胞壁の分子構造の違いに由来すると考えられることから、ファージの場合とは異なり、耐性菌の出現という問題は比較的起こりにくいと思われる。本研究において得られた宿主特異性が比較的高い細菌は、今後微生物農薬としての応用が期待される。

謝辞

メソコスム実験ルーチン観測を担当して頂きました、信州大学理学部の林 秀剛博士、国立環境研究所の大槻 晃博士および東邦大学理学部の青山莞爾博士に厚く御礼申し上げます。なお、本研究は文部省科学研究費 特定研究(課題番号 62124040)の一部であることを付記する。

参考文献

- 1) J. C. Burnham, S. A. Collart, and B. W. Highison: *Arch. Microbiol.*, **129**, 285-294 (1981).
- 2) J. C. Burnham, S. A. Collart, and M. J. Daft: *Arch. Microbiol.*, **137**, 220-225 (1984).
- 3) Y. Yamamoto and K. Suzuki: *J. Phycol.*, **26**, 457-462 (1990).
- 4) M. Shilo: *J. Bacteriol.*, **104**, 453-461 (1970).
- 5) M. J. Daft and W. D. P. Stewart: *New Phytol.*, **70**, 819-829 (1971).
- 6) A. Mitsutani, A. Uchida, and Y. Ishida: *Bull. Jap. Soc. Microbial Ecol.*, **2**, 21-28 (1987).
- 7) B. V. Gromov, O. G. Ivanov, K. A. Mamkaeva, and I. A. Avilova: *Microbiol.*, **41**, 952-956 (1972).
- 8) J. R. Stewart and R. M. Brown: *Science*, **164**, 1523-1524 (1969).
- 9) R. S. Safferman and M. E. Morris: *Science*, **140**, 679-680 (1963).
- 10) M. J. Daft, J. Begg, and W. D. P. Stewart: *New Phytol.*, **69**, 1029-1035 (1970).
- 11) H. M. Canter: in "Taxonomy and Biology of Blue-green Algae" (ed. by T. V. Desikachary), University of Madras, 1972, pp.145-158.
- 12) Y. Yamamoto and K. Suzuki: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **30**, 411-417 (1984).
- 13) 林 秀剛・寺沢恭子・大槻 晃: 昭和60年度文部省科学研究費特定研究 研究成果報告書(課題番号60129034), 文部省, 1985, p.164.
- 14) 青山莞爾: 昭和60年度文部省科学研究費特定研究 研究成果報告書(課題番号60129034), 文部省, 1985, pp.29-38.
- 15) SCOR/UNESCO: in "Monographs on Oceanographic Methodology", Vol.1, UNESCO Publication Center, Paris, 1966.
- 16) M. J. Daft, S. B. McCord, and W. D. P. Stewart: *Freshwat. Biol.*, **5**, 577-596 (1975).
- 17) Y. Yamamoto, H. Hayashi, and N. Kanno: *Bull. Jap. Soc. Microbial Ecol.*, **2**, 45-51 (1988).
- 18) Y. Yamamoto, N. Kanno, and H. Hayashi: *Jpn. J. Phycol.*, **30**, 271-279 (1991).
- 19) 山本鎧子: 昭和62年度文部省科学研究費特定研究 研究成果報告書(課題番号62124040), 文部省, 1987, pp.236-240.
- 20) 石田祐三郎・畠 幸彦: 平成4年度赤潮対策技術開発 試験報告書, 農林水産省, 1993, p.1.
- 21) R. E. Cannon, M. S. Shane, and J. M. Whitaker: *J. Phycol.*, **12**, 418-421 (1976).
- 22) Y. M. Barnet, M. J. Daft, and W. D. P. Stewart: *J. Appl. Bacteriol.*, **51**, 541-552 (1981).
- 23) E. Paden, M. Shilo, and N. Kislev: *Virology*, **32**, 234-246 (1967).
- 24) 満谷 淳・武居 薫: 水産大研報, **41**, 65-75 (1993).