

Kim, Y. S., D. S. Lee, S. Y. Jeong, W. J. Lee and M. S. Lee (2009)

Isolation and characterization of a marine algicidal bacterium against the harmful raphidophyceae *Chattonella marina*.

J. Microbiol. **47**:9-18.

有害ラフィド藻 *Chattonella marina* に対する海洋殺藻細菌の分離と同定

近年、沿岸海洋の有害有毒植物プランクトンブルームの対策として、細菌を用いた生物学的手法が注目されている。海水から分離された殺藻細菌はおおよそ 50%が CFB グループ、45%が γ -*Proteobacteria* に属しており、その他はグラム陽性の *Micrococcus*、*Bacillus*、*Planomicrobium* 属に分類される。グラム陽性細菌は水柱より堆積物からの報告が多く、あまりメジャーではない。しかし、*B. subtilis* がアオコを形成する *Microcystis aeruginosa* の増殖を抑制するなど、いくつかグラム陽性細菌の殺藻が報告されている。そこで本研究では、グラム陽性細菌はトップダウンコントロールの重要な役割をもつと予測し、グラム陽性の殺藻細菌 *Bacillus* sp. AB-4 株について、詳細な殺藻能の解析と同定を行った。

韓国ウルジンにて 2005 年 5~8 月にかけて得た沿岸表層水試料から PPES-II 培地を用いて細菌を分離した。指数増殖期の *Chattonella marina* (1.0×10^4 cells mL⁻¹) に対して殺藻活性がみられる株を単離した (AB-1-6 株)。中でも強い殺藻能を示した AB-4 株についてグラム染色法と PCR を用いて分析を行ったところ、グラム陽性細菌の *Bacillus* sp. であると同定された。この AB-4 株の殺藻能について以下の実験で解析した。殺藻様式の検証のため、*C. marina* と細菌間に TC インサートを設置して培養した。*C. marina* と細菌の二者培養実験も行い、細菌の増殖段階に伴う殺藻能を調べた。細菌の培養を 10 分間 5000 x g 遠心分離機で分離した後、上澄み液を 0.2 μ m ミリポアメンブランフィルターでろ過した。このろ液を様々な濃度で (1, 5, 10, 50, 100%) *C. marina* に添加し、殺藻能を評価した。この実験で得られた最適な濃度のろ液 (5%) を *H. akashiwo* など他の HAB 種、および *C. ellipsoidea* など餌料生物と培養し、他種の殺藻能を検証した。また、殺藻物質の安定性を検討するため、ろ液を温度や pH を変えて処理した後、*C. marina* に接種し殺藻能の変化を観察した。

殺藻様式は、*C. marina* との間に TC インサートを設置しても殺藻されたことから、AB-4 株は殺藻物質を生産する間接攻撃型といえる。また、AB-4 株の殺藻能が早期定常期に強いため密度依存性である。*C. marina* と上澄み液の共培養では濃度 5%未満のウェルで弱い殺藻であったが、10%以上では 95%以上が殺藻された。他種藻類に対しては *A. sanguinea*、*F. japonica*、*H. akashiwo*、*S. trochoidea* に強い殺藻能を示したが、珪藻類や食用藻類にはあまり効果が認められなかった。殺藻物質の安定性を調べた結果、熱処理した全培養液が殺藻能を示したが、pH 処理した培養液は pH3, 4, 5 で殺藻は低くなった。以上より、殺藻物質は作用における種特異性をもたず、また酵素ではないと判明した。中でも HAB 種には有害だが餌料生物に無害である点から、AB-4 株の持つ殺藻物質は有用性がある。更なる研究により、AB-4 株が産出する殺藻物質の同定が将来必要である。

秋里 綾乃