

Yang, F., X. Li, Y. Li, H. Wei, G. Yu, L. Yin, G. Liang and Y. Pu (2012)
Lysing activity of an indigenous algicidal bacterium *Aeromonas* sp. against
Microcystis spp. isolated from Lake Taihu
Enviro. Tech. **1695**: 1479-1487.

太湖から分離された *Microcystis* spp. に対する殺藻細菌 *Aeromonas* sp. の溶藻活性

藍藻類の有毒藻類ブルーム (アオコ) は富栄養化や気候変動により世界中の湖沼や水源のダム等で増加し、ヒトや動物への被毒を招いている。特に中国の太湖では急速な開発や農業などで水質の悪化が深刻になり、アオコが頻繁に発生するようになったため、環境衛生の面で大きな問題を抱えている。そのためアオコの抑制に様々な対策が試みられており、細菌を用いたアオコの生物学的制御が期待されている。殺藻性の細菌は藻類溶解物質を産出、あるいは接触によって藻類を溶解し、アオコの抑制に重要な役割を果たすことが知られる。そこで本研究では *Microcystis aeruginosa* 3 株 (有毒な TH1 株, 無毒な TH2 株, および中程度の FACHB 905 株) に対する殺藻細菌を太湖の湖水から単離し、強い溶藻活性持つ細菌を選抜し、細菌及びその溶藻活性を明らかにすることを目的とした。

M. aeruginosa の3株のうち、TH1株およびTH2株は太湖から単離し、FACHB 905株は中国科学院から提供を受け、BG11培地を用いて温度28 °C、pH 7.2、光強度150 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 、明暗周期12h L: 12h Dの条件下で培養した。サンプルの希釈液 0.1 ml を栄養寒天培地 (NA: 2% agar) で培養し、細菌の単離を行った。単離した細菌は30 °Cの液体栄養培地 (NB) を用い、130 rpm で48時間振盪培養し、FACHB 905株に添加して殺藻性を示した細菌を選別した。その結果、強い藻類溶解性を持つLHT-1株が選抜され、形態学的特徴と16SrDNAの塩基配列に基づき、LHT-1株は *Aeromonas* sp. と同定された。溶藻活性の検討のためLHT-1株はBG11培地で初期濃度 3×10^7 CFU ml^{-1} に希釈調製し、*M. aeruginosa* 3株にそれぞれ添加した。またLHT-1株を遠心分離し、上澄液を0.22 μm PES膜で濾過して得た濾液とLHT-1株をそれぞれFACHB 905株に添加して*M. aeruginosa* の細胞数を24時間ごとに計数を行った。その結果、濾液でも溶藻活性が確認されたことからLHT-1株は生産した物質を介して溶藻することが示された。溶藻物質の性質を調べるため濾液を異なる水温及びpHの条件下で*M. aeruginosa* に添加して影響を調べた。溶藻物質の分子量は限外濾過セルを用いて測定した。以上の検討の結果、溶藻物質は120 °Cに耐える熱耐性を持ち、pH 11で高い活性を持つ好アルカリ性であり、2 kDa より小さい分子量であることがわかった。また溶藻物質は細菌を遠心分離により除去、上澄液を濃縮してシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより分離した後、LC/MS-IT-TOFを用いて特定を試みたところ、溶藻作用を示した二種の化合物が単離精製され、そのうち一種の化合物はアミノ酸のフェニルアラニン ($\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_2$, m/z 166.0862) と同定された。溶藻作用を評価するため、LHT-1株由来のフェニルアラニンと同定された化合物と市販のフェニルアラニンをFACHB 905株に加えた結果、FACHB 905株は濃度依存的に溶解されたことから、LHT-1株が生成するフェニルアラニンの半数致死濃度 (EC_{50}) は48 hで $68.2 \pm 8.2 \mu\text{g/ml}$ と算出された。

本研究から*Aeromonas* sp. LHT-1株が産生する溶藻物質の一部はフェニルアラニンであり、また精製されたフェニルアラニンが*M. aeruginosa* に対して藻類溶解作用を持つことが示された。これによりLHT-1株が生成する化合物はアオコの除去に利用できる可能性が示唆された。

小島 千里

次回のゼミ (6月24日 [月] 9:30~、N602にて) は、成果報告です。