

Oh, J. Il., M. J. Kim, J. Y. Lee, I. J. Ko, W. Kim and S. W. Kim (2011)

Isolation and characterization of algicidal bacteria from *Cochlodinium polykrikoides* culture

Biotechnology and bioprocess engineering **16**: 1124-1133.

Cochlodinium polykrikoides の培養から分離した殺藻細菌の性状解析

Cochlodinium polykrikoides は世界中の温帯から亜熱帯域の沿岸で有害ブルームを形成する渦鞭毛藻類であり、韓国では養殖魚の大量斃死を招くことから最も恐れられており、有効な対策技術が望まれている。近年有害有毒ブルームを制御する生物学的防除法として細菌の利用の可能性が示唆されており、藻類に対して殺藻能を有する殺藻細菌が世界中の沿岸海域から実際に分離されている。特に殺藻細菌のもつ有害有毒藻類に対する作用の種特異性に関する研究が注目されており、有益な藻類に影響を与えず有害な藻類のみを制御し得る方法として期待されている。本研究では *C. polykrikoides* とそれに付着する殺藻細菌の関係性とそれら細菌に関する基本的な性状解析、そしてそれらの有害有毒藻類ブルーム制御能及び環境にやさしい生物学的防除法としての可能性を検討した。

まず *C. polykrikoides* の付着性細菌の分離を目的として以下の実験を行った。麗水湾から採取した *C. polykrikoides* を培養し、1 L の培養をメッシュサイズ 15 μm のネットで濾過後、滅菌海水を用いて培養中の浮遊性細菌を取り除いた。その後フィルター上に回収された培養をパーコール密度勾配遠心分離法 (15,00G x 1 h, 4°C) により分離した。そして、*C. polykrikoides* 層からの細胞を 2216 寒天培地上で培養し、*C. polykrikoides* 付着性細菌を単離した。単離した細菌の *C. polykrikoides* に対する殺藻能を分析するため、それらの細菌の増殖定常期加入後から 5 h, 24 h, 48 h, 72 h の細菌培養濾液を *C. polykrikoides* の培養に添加し観察した。単離した 5 株の殺藻細菌については生理学的生化学的特徴、系統分類、殺藻能、殺藻物質の安定性と分子量を測定する実験を行った。また DGGE (変性剤濃度勾配ゲル電気泳動) を用いて *C. polykrikoides* 培養中の細菌群衆構造を解析した。

単離した 5 株の細菌は PCR 法を用いて 16S rRNA の塩基配列を分析したところ、すべてグラム陰性細菌の *Nautella italica*, *Alteromonas marina*, *Pseudoalteromonas* sp., *Sagittula stellata*, *Thalassobius mediterraneus* だと同定された。それら 5 細菌の殺藻範囲を検討した結果、他の藻類に比べ *C. polykrikoides* に対して最も強い殺藻性を示し、定常期加入後 72 h の状態のもので最も殺藻効力が高かった。実験に使用した他の三種の植物プランクトン (*Akashiwo sanguinea*, *Heterosigma akashiwo*, *Skeletonema costatum*) に対しての殺藻作用も多少みられたが、*C. polykrikoides* に比べると低く、特に *Sk. costatum* で最も低い値を示した。*Pseudoalteromonas* sp. の産出する殺藻物質のみが、熱処理後 30 % 程度の殺藻効率が低下し、どの細菌の殺藻物質も分子量は 10 kDa 以下であった。また DGGE を行った結果、*Sagittula stellata* に強い付着性が見られ、付着性細菌の中での優占種であることが示唆された。

今回、麗水湾から採取した *C. polykrikoides* 培養から分離した殺藻細菌はあまり広い殺藻レンジを持たず、*C. polykrikoides* に対してのみ強い殺藻能を示す傾向があったことから、これらの細菌を利用した藻類ブルーム制御への可能性が示唆された。また *Sagittula* 属の細菌と *C. polykrikoides* とは密接な関係があり、同時に *Sagittula* 属の細菌が殺藻性を示した初めての知見である。

谷内 大翔

次回のゼミ(9月17日(月), 9:30~, N602)は, 阿部さん, 有馬さん, 谷内君による発表です。