

Heterocapsa circularisquama を殺滅する細菌の殺藻物質

ひらぐしのりひろ きたぐちひろたか みつたにあつし いしだゆうざぶろう やまぐちみねお

○平櫛統浩¹⁾・北口博隆¹⁾・満谷 淳¹⁾・石田祐三郎¹⁾・山口峰生²⁾

¹⁾福山大学工学部海洋生物工学科、²⁾瀬戸内海水研

【目的】有害赤潮藻 *Heterocapsa circularisquama*(Hc) は二枚貝を特異的に殺滅し、カキ養殖に甚大な被害を及ぼすことから、防除法の開発が急務となっている。そこで、Hc を殺藻する細菌を用いた防除法を確立することを目的とし、赤潮発生海域である広島県江田島湾から Hc を完全に溶藻する殺藻細菌 EHK-1 株を分離した。EHK-1 株は Hc と二者培養すると、フラスコの底にマット状に増殖し、Hc はマットに取り込まれた形で溶藻される。今回は、EHK-1 株による Hc の殺藻機構を明らかにするため、EHK-1 株から分泌される殺藻物質の有無を調べた。さらに、EHK-1 株から分泌が確認された殺藻物質について若干の検討を行ったので報告する。

【方法】最初に、溶藻に EHK-1 株と Hc の接触が必要であるかを検討した。EHK-1 株と Hc を、0.2 μ m のフィルターを隔てた二槽培養槽で培養し、Hc の溶藻を直接検鏡法によって評価した。次に EHK-1 株と Hc の二者培養実験を行った。Hc 培養液に EHK-1 株を接種し、経時的に二者培養ろ液を採取した。培養ろ液を限外ろ過によって分子量分画し、バイオアッセイによって各画分の殺藻活性を評価した。さらに、最も活性の強かった画分を試料として殺藻物質の熱安定性を検討した。試料を 25℃～100℃で 10 分間処理、あるいは 121℃で 15 分間オートクレーブ処理後、残存活性をバイオアッセイにより評価した。また、二者培養ろ液中の殺藻物質の有機溶媒親和性を検討した。Hc 培養液に EHK-1 株を接種し、48 時間後の培養ろ液に酢酸エチルを加えて水溶性画分と酢酸エチル可溶性画分に二層分配し、それぞれの画分の殺藻活性をバイオアッセイにより評価した。殺藻活性のあった画分をさらに、ヘキサン/90%メタノールで二層分配し、それぞれの画分について殺藻活性の有無を検討した。

【結果及び考察】二槽培養において、同槽に両者を添加した場合と、上槽に EHK-1 株、下槽に Hc を添加した場合に殺藻活性が見られた。二者培養実験において、接種後 30 時間以降の分子量 3 千以下の画分に殺藻活性が存在し、活性は経時的に強くなる傾向が見られ、接種後 48 時間の分子量 3 千以下の画分に最も強い活性が認められた。接種後 48 時間の分子量 3 千以下の画分を用いて殺藻物質の熱安定性を検討した結果、全ての処理区で殺藻活性は失われなかった。また、有機溶媒親和性を調べた結果、酢酸エチル画分に殺藻活性が存在した。その画分をさらに、ヘキサン/90%メタノールで分画し、活性を調べた結果、90%メタノール画分に殺藻活性が確認された。これらの結果から、EHK-1 株は Hc への直接接触に関わらず殺藻する、殺藻物質分泌型の殺藻細菌であると考えられる。また、EHK-1 株の分泌する殺藻物質は分子量 3 千以下の熱に安定な物質で、90%メタノールに可溶であった。