

# 微生物による防除

○今井一郎（京大院農）・長崎慶三（瀬戸内水研）

キーワード：殺藻細菌・ウイルス・アマモ・赤潮防除

【はじめに】有害渦鞭毛藻 *Cochlodinium polykrioides* は、西日本沿岸域や隣国の韓国南部沿岸で赤潮を形成し、養殖魚介類の大量斃死を引き起こして大きな問題となっている。近年では瀬戸内海や日本海でも赤潮が発生するなど、多発化・広域化の傾向が認められる。本種の赤潮被害は甚大であり、防除対策の構築が緊急課題となっている。現在、本種赤潮の防除対策として粘土散布が行われているが、これは生態系への影響や費用の問題等、検証すべき課題の多い手法である。そこで環境にやさしい手法として、微生物の活用が注目されている。細菌やウイルス等の殺藻微生物は元来海水中に生息しており、高い増殖速度を有し、殺藻対象の赤潮種に対して種特異性が高い場合が多く、他の動物プランクトンや魚介類等に無害な赤潮防除のツールとして高い期待が寄せられている。ここでは、殺藻細菌を中心として、*C. polykrioides* の持つ殺藻細菌への抵抗性や、本種がよく発生する八代海からの殺藻微生物の探索結果、ならびにアマモ場において実施した殺藻細菌探索の結果を紹介し、赤潮対策としての殺藻微生物の可能性を論じる。

【殺藻細菌への抵抗性】ラフィド藻 *Chattonella antiqua* を対象に分離された殺藻細菌のうち、直接接触攻撃型の2株 (*Cytophaga* 属) と殺藻物質生産型の4株 (*Alteromonas* 属3株, *Pseudoalteromonas* 属1株) を用い、*C. polykrioides* 3株とそれぞれ組み合わせる2者培養実験を行った (温度25度, 光強度100~150  $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{sec}$ , 明暗周期14hL:10hD)。

その結果、直接接触攻撃型の殺藻細菌に対して *C. polykrioides* は驚異的な抵抗性を示し、殺藻は全く認められなかった。殺藻物質生産型の細菌では、*C. polykrioides* に対して殺藻能を示す場合があったが、10日以上もかかることが多く、*C. antiqua* に対してのように強力なものではなかった。また、5本立てのうちの一部のみ殺藻が認められるなど、一貫しない結果となった。*C. polykrioides* は混合栄養の能力を有するので、殺藻細菌に対して捕食等の何らかの作用を及ぼしている可能性がある。また本種は大量の粘質物に覆われており、それが細胞の防御に有効に働いていると想定される。さらに、本藻の細胞内に共生する細菌が細胞外に出た際に、殺藻細菌の作用を抑制した可能性も考えられる。いずれにしても *C. polykrioides* は、従来の殺藻細菌に対して強い抵抗性を持つことが示された。

【八代海からの殺藻微生物の分離】八代海においては *C. polykrioides* 赤潮が頻発する。したがってここでは赤潮の消滅過程の存在、ひいては何らかの殺藻微生物の存在が期待できる。そこで八代海で、殺藻微生物の探索を試みた。

2006年8月に熊本県の定点8から3回、鹿児島県の定点1から1回試水を得て、孔径3 $\mu\text{m}$ のNuclepore filter上に濾過捕集した後に寒天平板培地 (ST10<sup>-1</sup>培地) に載せて培養を行い、コロニーを形成した細菌を分離した。得られ

た細菌株については、*C. polykrioides* 2株、*C. antiqua* 1株を対象として2者培養実験を行い、殺藻能を調べた。また、孔径0.2 $\mu\text{m}$ のNuclepore filterで濾過した試水を用いて *C. polykrioides* の殺藻ウイルスを探索した。さらに鹿児島県定点1の10m層から8月16日に得た試水については、孔径0.8 $\mu\text{m}$ のNuclepore filterで濾過し(細菌とウイルスの画分) *C. polykrioides* との2者培養試験を行った。殺藻が確認された後に寒天培地に画線し、形成されたコロニーから細菌を分離して *C. polykrioides* と2者培養試験をした。

鹿児島県定点1の0.8 $\mu\text{m}$ 濾過画分から最終的に134株の *C. polykrioides* 殺藻細菌が得られた。これらはコロニーの色調や形態が異なるものも多かったが、同じクローンが多いと思われる。熊本県定点8では、各々の採水日と水深の試水から各32個のコロニーを無作為に分離し、2者培養試験によって最終的に89株の殺藻細菌を得た。これらの殺藻細菌を数万細胞/mL程度の濃度で加えると、速い場合には1~2日で *C. polykrioides* が全滅することも多かった。殺藻ウイルスに関しては多大な努力にも拘わらず、検出と分離はできなかった。赤潮非発生年であった2006年では、多くの殺藻細菌の存在が八代海で示された。

【アマモ場における大量の殺藻細菌の発見】大型藻類から構成される藻場では、藻体に多種多様な殺藻細菌が高密度で付着していること(多い時は100万/g湿重)を発見した。そこでアマモ場でも同様の現象が存在しないか検討を行ったところ、海藻よりも更に1桁多い殺藻細菌が付着生息しているという驚くべき事実を世界で初めて発見した。

大阪府泉南郡せんなん里海公園の沿岸に自生する小規模なアマモ場において、2006年6~10月にアマモと海水のサンプリングを行った。両試料について細菌の分離と2者培養試験を行い、殺藻細菌の分離と、検出・計数を実施した。その結果、アマモ葉体表面には、葉体の湿重量1g当たり1000万個のオーダーの殺藻細菌が付着している事実が判明した。またアマモ場の海水中には、数千細胞/mL程度の密度で殺藻細菌が検出された。*C. polykrioides* の殺藻細菌については、500万~2800万/g湿重がアマモ葉体から検出された。アマモ場の海水中には、ほとんど植物プランクトンが生息しておらず、一方沖合の海水中には常に10<sup>2</sup>~10<sup>4</sup>細胞/mLの植物プランクトンが検出されたが、これは殺藻細菌の作用の影響によると考えられる。

瀬戸内海では、高度経済成長期以前に比べてアマモ場は現在約1/4に激減している。一方、同時代には富栄養化の進行に伴い赤潮の発生件数が劇的に増加した。今回の新発見に鑑みるならば、富栄養化が赤潮発生の促進要因として働き、一方で赤潮発生の抑制要因であるアマモ場や藻場の埋め立て等による喪失が、相乗的に赤潮発生を促進した可能性がある。赤潮の発生水域と潮流の関係を考慮し、アマモ場の造成を行うのは赤潮抑制に有効と考えられる。