

## Notice on Plankton Seminar

#12006

9:30-11:30, 18 June (Mon.) 2012

at seminar room in Hakodate Industry-Academic Government Cooperation Center

\*\*\*\*\*

(ASLO) 北海道大沼湖における *Microcystis aeruginosa* 殺藻細菌の季節間変動

近年、世界的な人口の増大と同時に、世界各地で急速な都市開発が進んでいる。その結果、生活排水や工業排水、農業排水が増加し、それらが河川を通じて湖沼に流れ込むため、湖沼の富栄養化を招いている。富栄養化した湖沼では、そのような環境に適応した藍藻類等の植物プランクトンのブルームがしばしば発生する。水面が濃い青緑色を呈するほどの藍藻類のブルーム (アオコ) の中でも、有毒藍藻の *Microcystis aeruginosa* によるブルームの発生は、世界各地の湖沼や貯水池で確認されており、渡島地方大沼でも増加の一途を辿っている。アオコはその毒性や臭気、景観の悪化等により、観光業、漁業、水資源利用等に多大な被害を与えることから、早急な対策が必要とされている。現在行われている物理化学的防除では生態系の影響が大きいと、影響の小さい生物学的防除が模索されており、近年そのような方法として殺藻細菌の研究が進んでいる。アオコに対する殺藻細菌に関する知見は増えてきたが、未だ実用化には至っていない。そこで本研究では、函館郊外の大沼湖沼群を対象として、殺藻細菌の可能性を評価するために、各湖沼においてアオコを含む植物プランクトンの動態を把握し、同時に細菌の分布を把握する。そして培養のアオコを用いて、対象水域の各地点から単離した細菌のアオコ殺藻能力の検証を行った。

2011年6-11月に大沼公園域の大沼国立公園 (OP)、東大沼キャンプ場 (OC)、水草とヨシの繁茂する蓴菜沼 (JL) において、表層水を採取し、水温、pH を現場で測定後、ただちに冷暗所保存し、研究室に持ち帰った。試水は GF/F ガラス繊維濾紙で濾過し、栄養塩濃度、クロロフィル *a* 濃度の測定に供した。採集した試料を 20  $\mu\text{m}$  メッシュのネットを用いて、50 倍に濃縮したものをネットサンプル、未濃縮のものを水サンプルとして、終濃度 1% のホルマリンで固定し、倒立顕微鏡を用いて植物プランクトンの計数を行った。同時に滅菌したポリプロピレン製アイボーイを用いて表層水を採集し、これを細菌試料とした。細菌試料の一部は終濃度 1% グルタルアルデヒドで固定後、DAPI 染色を行い、落射蛍光顕微鏡下で総細菌数の計数を行った。また細菌試料は 3 本立てで滅菌蒸留水を用いて段階希釈 ( $10^{-1}$ - $10^{-3}$ ) を行い、希釈したそれぞれの段階の試料 1 mL を孔径 3  $\mu\text{m}$  のヌクレポアフィルターを用いて濾過を行い、3  $\mu\text{m}$  以上の粒子を捕集した。粒子が捕集されたフィルターを ST  $10^{-1}$  寒天培地上に載せ、フィルター上の粒子に付着した細菌にコロニーを形成させた。これを粒子付着性細菌 (Particle-Associated Bacteria: PAB) として、室温 (20-25  $^{\circ}\text{C}$ ) の、暗条件下で培養を行った。また各段階の希釈試料の濾液 0.1 mL を ST  $10^{-1}$  寒天培地上に塗布することで、これを浮遊性細菌 (Free Living Bacteria: FLB) とし、PAB と同様の条件下で培養、計数後に滅菌爪楊枝を用いて単離を行った。その後単離した細菌を、無菌の *M. aeruginosa* に添加し、細菌の殺藻能を確かめる二者培養実験を行った。

調査した湖沼の水理環境を比較した。水理環境について OP と OC では大きな差異が見られなかった。栄養塩濃度は、OP、OC が全体的に似た値の傾向を示した。JL では、常に低い値を示した。OP と OC では藍藻が主に優占し、JL では緑藻と珪藻が主に優占した。JL ではアオコは起こらず、全細胞数も少なかった。アオコの発生した地点は 8-9 月の OP と、7-9 月と、11 月の OC であり、それぞれ主に、*Anabaena* spp., *M. aeruginosa* により構成されるアオコであった。8 月の OC で、*M. aeruginosa* は最大細胞数  $1.0 \times 10^4$  cells  $\text{mL}^{-1}$ 、*Anabaena* spp. は  $0.2 \times 10^4$  cells  $\text{mL}^{-1}$  を記録した。一方で 8 月の OP では *M. aeruginosa* の細胞数は、 $0.09 \times 10^4$  cells  $\text{mL}^{-1}$  が最大値であり、*Anabaena* spp. の  $1.5 \times 10^4$  cells  $\text{mL}^{-1}$  が顕著であった。OC と比較して、OP では *M. aeruginosa* は優占しなかった。各地点の総細菌数、従属栄養細菌数には大きな差異は見られなかった。どの地点でも総細菌数は夏季に高くなる傾向があった。8-9 月の従属栄養細菌数を用いて二者培養実験を行った結果、8 月の OP、JL で単離された従属栄養細菌から、多くの殺藻細菌が検出された。特に、8 月の OP の FLB から最も多くの殺藻細菌が検出された。OC のアオコを主に形成していた植物プランクトンの種組成が OP と違った要因として、OP に存在した *M. aeruginosa* を殺滅する殺藻細菌の影響があったものと考えられる。これらの殺藻細菌は、8 月に多く、アオコの消長し始めている 9 月に少なかったことから、アオコの発生により増殖できたものと考えられるが、さらに詳しい調査が必要である。一方で、アオコの発生しなかった JL でも殺藻細菌が見つかった要因として、JL に多数生えるヨシ茎のバイオフィームの影響が示唆された。

本研究の結果、単離細菌による二者培養により、ヨシの生えた JL に殺藻細菌が存在することが実証された。これにより、ヨシ帯の起源の細菌が、非常に高い殺藻効果をもたらし、アオコを抑制することを可能とすると考えられる。しかし、単純な殺藻細菌の添加というに手段に関して、対象の有毒藻類を殺滅することは可能かもしれないが、殺滅されない別の有毒種によるアオコの発生につながる可能性が示唆された。

萩原 匠