

Notice on Plankton seminar

#12011

13:30~16:00, 23 October (Tue.) 2012 at Room #W203

Hiraki, A., Y. Tsuchiya, Y. Fukuda, T. Yamamoto, A. Kurniawan and H. Morisaki (2009)

Analysis of how a biofilm forms on the surface of the aquatic macrophyte *Phragmites australis*

Microbes Environ. **24**: 265-272

水生大型植物ヨシ *Phragmites australis* 表面のバイオフィーム形成過程の解析

水圏において微生物により形成されるバイオフィームは、栄養塩の循環、汚染物質の浄化、微生物遺伝子プールの維持など、様々な機能を持っている。抽水植物であるヨシの茎の水中部分に形成されるバイオフィーム（以後 BF と略する）は、世界的分布を持つ自然環境中の BF の代表例の一つであるが、ヨシ BF に関する研究は圧倒的に不足している。本研究は、琵琶湖のヨシ群落に着目し、ヨシの水中の茎表面のバイオフィーム形成過程を解析することを目的とした。

琵琶湖南湖（滋賀県守山市木浜）のヨシ群落において、ヨシ表面に形成された BF を 2008 年 5 月 19 日から 2008 年 7 月 23 日の約 2 ヶ月間にわたって調べた。まず、120 本のヨシの水中の茎表面に付着している BF をスポンジでふき取り、その日を形成 0 日目として、以後 7 日目、21 日目、28 日目、42 日目、及び 65 日目にサンプリングした。また、季節の影響を考慮し、3 週間ずらして同様の操作を行った。すなわち 80 本のヨシの水中の茎表面に付着している BF をスポンジでふき取った日を形成 0 日目として、以後 7 日目、21 日目、44 日目にサンプリングした。毎回通常のヨシ及びヨシ周辺の湖水も採集し、水深 10 cm の水温、溶存酸素、光強度を測定した。実験室では、ヨシ茎表面に形成した BF を滅菌歯ブラシで擦り落とし、50 mL の滅菌蒸留水に懸濁して BF 懸濁液を作製した。BF 湿重量、BF 懸濁液及び湖水中の全菌数及び栄養塩濃度を測定し、PCR-DGGE 法により BF 懸濁液と湖水中の細菌群集構造を解析した。また、BF 懸濁液と湖水中の細菌については、NB 培地を用いて 30 日間 20°C で混釈培養し、出現したコロニー数を毎日カウントした。BF 形成過程を観察するため、ヨシ表面の BF を微分干渉顕微鏡ならびに走査型電子顕微鏡を用いて観察し、またヨシ表面を 0.1% アルシアンブルー 8GX 溶液で染色した後、微分干渉顕微鏡で観察した。BF 形成過程の後期に BF を覆った茶色の不定形物質が有機物か無機物かを調べるため、燃焼実験を行った。また、BF ポリマーとイオン間の静電相互作用は BF 中へ栄養塩濃縮の駆動力であるという仮説を検証するため、様々な pH 値における BF ポリマーの電気泳動度を測定した。

本研究では、BF 中の細菌密度 (10^9 cells wet g⁻¹ のオーダー) は湖水 (10^6 cells mL⁻¹ のオーダー) より遥かに高いことがわかった。BF 形成初期における細菌は BF 形成後期に比べ、コロニー形成率が高く、コロニー形成が非常に早く見られた。アルシアンブルー染色による観察の結果、微生物及び微生物が生産したポリマーによりできた BF は斑状からヨシ茎表面の全体を覆うまでの成長及び厚みの増加が観察された。BF 形成初期の増殖活性の高い細菌とそれらの生産する BF ポリマーの増加に従って、ヨシ表面 BF は急速に形成され、約 1 週間で成熟した BF と同じ湿重量に達した。BF 形成後期において BF 湿重量の増加は、主に有機物と無機物の複合体である茶色不定形物質の付着が原因と考えられた。湖水中のイオンと荷電を持っている BF ポリマー間の静電相互作用は栄養塩を BF に濃縮する駆動力として働き、BF 中の高栄養塩環境は BF 形成のごく初期から形成され、BF 中の微生物の増殖を促進することが分かった。この高栄養塩の環境はヨシ周辺の湖水と異なる微生物群集を形成する要因と考えられる。また、例年 6 月後半の実験で BF を覆った茶色の不定形物質は、BF 形成前期と後期の細菌群集の変化をもたらすと考えられるが、今後の研究が必要である。

王 賢娉