

北海道渡島大沼における水草由来の細菌によるアオコの抑制に関する研究 (仮題)  
(卒業論文中間発表)

世界中の湖沼において、湖水の富栄養化による藍藻類のブルーム (アオコ) が頻繁に発生している。アオコは水質悪化、異臭、景観の悪化、動物の斃死、人間への健康被害、および生態系の破壊などを引き起こすため、早急な対策が必要である。現行の対策としては、硫酸銅などの化学物質の投与などが挙げられるが、藍藻類以外の生物も殺すなど生態系に悪影響を及ぼしてしまう恐れがあり、環境に配慮したアオコの防除方法を確立する必要がある。近年、生物学的防除方法である殺藻細菌を用いる方法が環境に配慮した方法として注目されている。また先行研究により、湖沼に自生するヨシ茎のバイオフィームに殺藻能を持つ細菌が生息していることが示された。そこで本研究では、ヨシ以外の水草に付着するバイオフィーム由来の細菌に殺藻能を持つものが存在するかどうか、また水草によって殺藻能を持つ細菌数は異なるか等を検証することを目的とした。

試料採集は2012年6月から毎月1回、北海道南西部渡島にある大沼国定公園内の山水温泉前定点 (SS)、蓴菜沼定点 (JL) の2地点で行った。SSにおいてヒシ、タヌキモ、JLにおいてヒシ、ホザキノフサモをそれぞれピンセットで採集し、あらかじめ滅菌したアイボーイ瓶に入れた。また各地点においてバケツ採水を行い、滅菌アイボーイに入れて研究室に持ち帰り速やかに以下の実験を行った。なおヒシは葉と根を分けて実験を行った。

あらかじめ滅菌した蒸留水をアイボーイ瓶中の水草試料に加え、600回強振することにより水草表面のバイオフィームを剥離させた。その後水草のみを取り出し、湿重量を測定した。寒天平板法による培養可能細菌数の計数、及び細菌株の分離をするため、バイオフィーム剥離した試料は適宜希釈を行って、 $ST10^{-1}$ 寒天培地に塗抹し、暗所で2週間培養した。形成されたコロニーの計数を行った後、滅菌した爪楊枝を用いて細菌株を分離した。水試料は同様に適宜希釈し、孔径  $3.0\ \mu\text{m}$  のフィルターで濾過し、フィルター上の細菌を粒子付着性細菌 (Particle associated bacteria: PAB)、濾液中の細菌を浮遊性細菌 (Free living bacteria: FLB) として、それぞれ  $ST10^{-1}$ 寒天培地で培養、分離した。また、水草試料および水試料中の総細菌数を計数するために DAPI 染色を行った後に落射蛍光顕微鏡を用いて計数を行った。

SS で採集したタヌキモの培養可能細菌数は、6月の  $3.4 \times 10^4\ \text{CFU g wet leaf}^{-1}$  から10月の  $1.1 \times 10^9\ \text{CFU g wet leaf}^{-1}$  まで増加していた。SS で採集したヒシの葉の培養可能細菌数は8月に  $1.05 \times 10^8\ \text{CFU g wet leaf}^{-1}$  と最も高くなり、その後減少傾向が見られた。ヒシの根の培養可能細菌数もヒシの葉と同様に、8月に  $5.8 \times 10^8\ \text{CFU g wet leaf}^{-1}$  と最も高い値を示したが、ヒシの葉と同様に顕著な減少傾向は見られなかった。JL で採集したホザキノフサモの培養可能細菌数は、6月から10月まで  $8.0 \times 10^7\ \text{CFU g wet leaf}^{-1}$  から  $1.7 \times 10^8\ \text{CFU g wet leaf}^{-1}$  と他の水草と比べ常に高い値を示した。JL で採集したヒシの葉の培養可能細菌数は6月の  $9.6 \times 10^6\ \text{CFU g wet leaf}^{-1}$  から9月の  $9.5 \times 10^7\ \text{CFU g wet leaf}^{-1}$  まで増加した。なお JL において10月にヒシの葉がすべて枯れてしまったため、その後採集することは出来なかった。JL で採集したヒシの根の培養可能細菌数は8月の  $1.2 \times 10^8\ \text{CFU g wet leaf}^{-1}$  が最も高く、その後緩やかな減少傾向が認められた。SS の水試料の PAB は6月が  $4.4 \times 10^5\ \text{CFU/mL}$  と最も高く、その後減少していた。FLB は7月に  $3.1 \times 10^5\ \text{CFU/mL}$  が最も高くその後減少していた。JL の水試料の PAB は6月、7月  $1.4 \times 10^4\ \text{CFU/mL}$  前後を示したが、8月には  $3.1 \times 10^3\ \text{CFU/mL}$  のやや低い値を示した。その後9月には  $6.8 \times 10^3\ \text{CFU/mL}$ 、10月には  $7.4 \times 10^3\ \text{CFU/mL}$  となった。FLB はどの月も  $1.0 \times 10^3\ \text{CFU/mL}$  から  $1.0 \times 10^4\ \text{CFU/mL}$  の間に値を示した。

今後の予定としては、11月29日に最終試料採集があるため上記の実験を行う予定である。また、細菌の殺藻能を評価するための二者培養実験は1サンプルにつき30株、対象藻類は *Microcystis aeruginosa* および *Anabaena crassa* の2種で行う予定である。

宮下洋平

\*\*\*\*\*

次回のゼミ (11月21日 (水), 9:30-, W203にて) は、萩原さん、藤井さんをお願いしてあります。