

北海道渡島大沼におけるヨシ由来の細菌によるアオコの発生制御に関する研究 (仮題)
(卒業論文中間発表)

近年、世界各地の富栄養化した湖沼において、有害有毒藍藻類のブルーム (アオコ) が頻繁に発生している。アオコは湖水の毒化、コイやフナといった有用生物への悪影響など、様々な問題を引き起こしているため早急な対策が必要となっている。アオコの対策として、直接アオコを取り除く方法や薬品投与等でアオコを殺滅する方法が挙げられるが、環境に配慮された有効な手段が確立されていないのが現状である。そこで、環境に優しい技法として、アオコ原因藻類を殺滅する能力を持った殺藻細菌を用いた生物学的な方法が挙げられる。特に殺藻細菌はヨシの茎表面に形成されるバイオフィーム (BF) 中に高密度で生息するという新事実が発見されたため、ヨシ BF に付着する細菌がアオコ防除において有効であることが期待されている。そこで本研究では、ヨシ BF に付着する細菌のアオコ防除に対する有用性を検討するため、渡島大沼におけるヨシ BF の殺藻細菌の探索及びアオコ防除能の評価を行った。

2013年5-10月の間に月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 (SS)、蓴菜沼 (JL)、苅間川ヨシ浄化池 (KR) の3定点のヨシ帯において、湖水とヨシ試料を採取した。ヨシは水面下の茎を採取し、湖水は各定点でバケツ採水を行った。ヨシについては、滅菌した歯ブラシを用いて表面に付着している BF を剥離し、滅菌蒸留水中に懸濁したものを BF 懸濁試料とした。BF 懸濁試料は滅菌蒸留水を用いて適宜段階希釈を行い、 $ST10^{-1}$ 寒天培地に塗抹後、暗所で2週間培養した。その後、形成されたコロニーの計数を行い、培養可能細菌数を算出した。また、滅菌した爪楊枝を用いてコロニーを形成した細菌株を分離した。湖水試料は適宜希釈後、孔径 $3.0 \mu\text{m}$ のフィルターで濾過を行い、フィルター上に捕集された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) とした。PAB は $ST10^{-1}$ 寒天培地上にフィルターを静置して培養し、形成されたコロニーを計数と分離を行った。FLB については寒天培地に塗抹して得られたコロニーから計数と分離を行った。また、BF 懸濁試料と湖水試料の一部はグルタルアルデヒドで固定し (終濃度 1%)、DAPI 染色を行い、落射蛍光顕微鏡を用いて総細菌数を計数した。

SS、JL、KR のヨシ BF の総細菌数は 10^8 - 10^9 cells g^{-1} (wet weight) の密度で検出され、5月から徐々に細菌数が増加し7月にピークを迎え、それぞれの定点 SS、JL、KR で 2.9×10^9 、 1.1×10^9 、 1.5×10^9 cells g^{-1} (wet weight) となり、その後徐々に減少する傾向を示した。培養可能細菌数は 10^6 - 10^8 CFU g^{-1} (wet weight) で検出され、JL、KR は7月にピークを迎えそれぞれ 4.6×10^7 、 1.0×10^8 CFU g^{-1} (wet weight) となり総細菌数と似た傾向が認められたが、SS では各月で増減を繰り返し、明瞭な傾向は見られなかった。湖水試料中の FLB と PAB は、 10^5 - 10^6 cells mL^{-1} の細菌密度が検出され、FLB のピークは SS と JL で9月、KR で8月にそれぞれ 4.2×10^6 、 3.9×10^6 、 3.0×10^6 cells mL^{-1} の値であった。PAB のピークは SS と JL で7月、KR で8月にそれぞれ 4.5×10^6 、 4.4×10^6 、 4.6×10^6 cells mL^{-1} であった。培養可能細菌は FLB で 10^3 - 10^5 CFU mL^{-1} 、PAB で 10^3 - 10^4 CFU mL^{-1} が検出された。なお、湖水試料については特定の変動傾向は認められなかった。

今後は、細菌の殺藻能や増殖阻害能を評価する二者培養実験を、有毒アオコ原因藻 *Microcystis aeruginosa*、及び有毒種の *Dolichospermum crassum* の2種を対象にし、1サンプルにつき32株、7月と8月は48株で行い、栄養塩濃度などのデータを併せて解析を行う予定である。

小島 千里