

Notice on Plankton Seminar

#14004

9:30-12:00, 2 Jun. (Mon.) 2014 at Room #W103

北海道渡島大沼におけるヒシ *Trapa japonica* によるアオコ防除の可能性 (研究紹介)

北海道渡島大沼では、湖水の富栄養化による *Microcystis aeruginosa* をはじめとす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、ヘラブナ等の有用生物の斃死、人間への健康被害、および生態系の破壊などを引き起こし、早急な対策が必要である。近年、生物学的防除方法である殺藻細菌を用いる防除方法が環境に配慮された方法として注目を集め、ヨシ茎表面のバイオフィームから殺藻細菌が検出された。さらに、2013年にはヨシだけでなく、ヒシの水中根および葉からも殺藻細菌が検出されており、殺藻細菌によるアオコ防除は着実に実用化に向け研究が進んでいる。しかしながら、水草由来の殺藻細菌の付着プロセス等は明らかになっていない。そのため本研究では、ヒシのバイオフィーム由来の殺藻細菌の付着プロセスを解明し、ヒシのアオコ防除の可能性を検討することを目的とした。

調査は2013年9月9日から1週間北海道大沼国定公園内流山温泉調整池にて行った。あらかじめ滅菌処理した炭素繊維および不織布をそれぞれ調整池に設置し、設置開始より1, 2, 3, 5, 7日目にそれぞれ採集した。採取した試料は速やかに実験室に持ち帰り、実験に供した。滅菌した蒸留水をアイボーイ瓶中の試料に加え、600回強振することにより試料表面に付着しているバイオフィームを剥離した。その後、滅菌蒸留水を用いて適宜希釈を行い、 $ST10^{-1}$ 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い、従属栄養細菌数を算出した。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。また、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直接計数を行った。*M. aeruginosa* に対する殺藻細菌数は以下のようにして行った。まず、48ウェルマイクロウェルプレートにCT培地で培養した無菌の *M. aeruginosa* を、約 1.0×10^5 cells mL⁻¹ となるように各ウェルに0.8 mLずつ分注した。数日間培養し、良好に *M. aeruginosa* が培養されているのを確認した後、 $ST10^{-1}$ 寒天培地上に増殖している細菌のコロニー90個を、滅菌した爪楊枝を用いて少量掻き取り、これらを各ウェルに接種した。接種したプレートを温度25°C、光強度約 $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{sec}^{-1}$ 、明暗周期14hL:10hDの条件下で2週間培養した後、各ウェルを倒立顕微鏡で観察し、殺藻の有無を確認した。その結果を基に、*M. aeruginosa* に対して殺藻能を持つ従属栄養細菌数を算出した。

バイオフィーム質量は炭素繊維においては実験開始3日後に 6.5 mg cm^{-2} と飽和状態となり、その後緩やかな減少が見られた。一方、不織布については、3日目に 2.1 mg cm^{-2} と一時飽和状態になったものの、7日目に 3.9 mg cm^{-2} を示し急激な増加が観察された。これは、7日目の台風の影響と考えられる。従属栄養性細菌数は炭素繊維において、2日目の 1.5×10^6 CFU cm⁻² と急激な増加を示した後、緩やかに増加を続け、5日目に最大細菌数 3.1×10^6 CFU cm⁻² となった。不織布においても5日目に最大値 1.9×10^6 CFU cm⁻² を示したことから、従属栄養性細菌は約5日で飽和状態となることが示唆された。総細菌数は炭素繊維において3日目に 1.8×10^8 Cells cm⁻² と飽和状態となり、また不織布においては実験開始後2日で最大値 4.2×10^6 Cells cm⁻² となりその後変化はあまり見られなかった。殺藻細菌数は炭素繊維においては実験開始から一貫して検出されなかったが、不織布については2日目、および5日目にそれぞれ 1.0×10^4 CFU cm⁻² のオーダーで検出された。殺藻細菌が不織布から検出されたが、炭素繊維から検出されなかったことから、ヒシ由来のバイオフィームから分離した細菌であっても、基質が異なることにより殺藻細菌の付着頻度が異なることが示唆され、同時に殺藻細菌がヒシに特異的に付着・生息している可能性が示唆された。

今後はヒシのバイオフィームに着目すると同時に、ヒシの *M. aeruginosa* に対するアレロパシー効果も視野に入れ、ヒシ由来のバイオフィームの *M. aeruginosa* 抑制効果を検証する必要があると考えられる。

宮下 洋平