

Pathmalal M. Manage (2009)
Seasonal changes in the abundance of biological agents killing *Microcystis aeruginosa*
in a hypereutrophic pond
Vidyodaya J.Sci. (2009) **14**: 85-101.

過栄養池の *Microcystis aeruginosa* に作用する生物的殺藻因子の季節変動

富栄養な水域の多くで藍藻類のブルームが発生し、ミジンコなど水圏動物への毒素の蓄積、魚や家畜の大量斃死、悪臭等の問題を引き起こし、人間の健康問題も懸念されている。*Microcystis aeruginosa* は有害有毒藍藻類の代表種として挙げられ、ブルーム発生機構の研究が広範囲になされてきたが、ブルーム終息時の機構に関する研究はいまだに少ないのが現状である。これまでに原生動物（鞭毛虫、繊毛虫、肉質虫、有殻アメーバ等）や多細胞生物（ワムシ、甲殻類等）による捕食、殺藻細菌やシアノファージ及びツボカビ類による感染を含めた微生物的なプロセスが、ブルームの終息に寄与していることが報告され始めた。従来の研究の多くは、単離した生物と *M. aeruginosa* を共培養し、各生物の *M. aeruginosa* 増殖に対する抑制能力を室内実験で検証してきたが、複数の生物間による効果は考慮されていない。本研究は、藍藻類ブルームの制御における各生物因子を環境パラメータと共に調査し、それら微生物のブルーム終息への寄与について検討した。

調査は2000年9-11月にかけて愛媛県松山市三町の古池（面積約7400 m²、平均水深約1 m）に設けた1点にて実施し、週に2回、15 Lの採水を行い、同時に水温とpHを測定した。試料の一部は孔径0.2 μmのフィルターで粒子を濾過捕集し、DMFで抽出後、クロロフィルa濃度を測定した。植物プランクトンと原生生物については湖水試料100 mLを酸性ルゴール溶液で固定し（終濃度1%）、可能な限り同定し、固定に弱い原生動物の一部は10%メチルセルロースで湖水試料の粘性を上げて遊泳速度を下げ、優占種を同定計数した。大小の動物プランクトンは各々孔径71 μmと20 μmのフィルターで1-5 Lの試水を濾過捕集し、酸性ルゴール液で固定後（終濃度1%）静置沈殿させ同定計数した。有殻アメーバの食胞内容物は、試料を孔径20 μmのフィルターで濾過濃縮し4%緩衝グルタルアルデヒドで固定（終濃度2%）したものを観察した。鞭毛虫 *Polytomella* sp. については採集後4時間以内に、未固定の試料に10%メチルセルロースを加え遊泳速度を下げ観察した。有殻アメーバ *Penardichlamys* sp. とワムシ *Brachionus calyciflorus* については、*Microcystis* 属を捕食している細胞数も落射蛍光顕微鏡で観察し計数した。殺藻細菌とシアノファージについては、軽く超音波処理した試料を孔径0.2 μmと0.8 μmのフィルターでそれぞれ濾過し、前者の濾液にはクロロホルムを加え細菌を殺すことでウィルスのみを濾液を作成した。前者の濾液と後者の細菌とウィルスを含む濾液をそれぞれ10倍の段階希釈したもの1 mLを *M. aeruginosa* のローンに塗抹後、光強度約50 μmol m⁻² s⁻¹、明暗周期12 hL:16 hD、25°Cで約10日間静置し、形成されたプラークの値より殺藻細菌数とシアノファージ数をPFU mL⁻¹として算出した。

調査期間中の表層水温は9-10月末には23.5-27.2°Cで推移し、10月末-11月末は18-7°Cに低下、pHは調査期間中8.5-10.4に推移していた。*M. aeruginosa* は調査期間中卓越しており、10月16日に最大の約1.9 × 10⁷ cells mL⁻¹となり、その後減少した。*M. aeruginosa* の捕食者として鞭毛虫 *Polytomella* sp. が頻繁に観察され、有核アメーバ *Penardichlamys* sp. のうち96.3%が *M. aeruginosa* のみを捕食していた。ブルーム期間中は *M. aeruginosa* のコロニーを捕食していたワムシ *B. calyciflorus* が著しく多かった (t-test, p < 0.01)。ワムシ *B. calyciflorus* と *Cephalodella* sp., 有殻アメーバ *Penardichlamys* sp. は9-10月末まで比較的多く存在し、対照的に鞭毛虫 *Polytomella* sp. は10月末以後増加した。殺藻細菌数については *M. aeruginosa* の増減に同調して推移していた。しかし孔径0.8 μmの濾紙を使用しFLBのみを計数したため、今後はPABについての検討が必要である。シアノファージは2回の増殖ピーク以外はほぼ検出できないレベルであった。*M. aeruginosa* の急激な増加が起こった際、同時またはわずかに遅れて殺藻細菌とシアノファージも増加し、*M. aeruginosa* 減少に伴い減少していた。微小動物の食胞の観察による捕食の確認と、殺藻細菌・殺藻ウィルス計数の結果より、今回調査した古池の微生物の中に *M. aeruginosa* の増殖抑制能を持つものが存在していること、それらの生物間にも相関があることが示された。今後、季節に伴う環境要因が各生物に与える影響や生物間の干渉の有無、生物因子のブルーム終息時における役割を詳細に検討する必要がある。

小林 淳希