

# 函館市五稜郭外堀における水草ヒシ由来の

## 殺藻細菌によるアオコ抑制の可能性

\*大洞裕貴, 宮下洋平, 小林淳希 (北大水産)  
田中邦明 (北海道教育大), 今井一郎 (北大水産)

### 1. はじめに

淡水域における有害有毒藍藻類のブルーム (アオコ) は, 富栄養化した滞留性の湖沼などでしばしば発生し, 景観の悪化, 悪臭, 藍藻毒による水生生物の斃死等を引き起こす。そのため, アオコの発生は飲料水の確保をはじめとした水資源供給の障害になるほか, 観光業, 漁業をはじめとする産業の経済的損失を招いている。したがって, 淡水域におけるアオコの防除は深刻かつ緊急の課題といえる。

これまで, アオコの防除法として, ポンプによる吸引とフィルターを用いたろ過を行う物理的防除法, 硫酸銅や粘土を散布する化学的防除法などが提案されているが, コストの高さや他の有用水生生物への悪影響が懸念されており, ほとんど実用には至っていないのが現状である。近年, 低コストかつ湖沼生態系に配慮したアオコ防除法として, 藍藻類に対して殺藻能をもつ細菌 (殺藻細菌) を用いた生物学的防除法が提案されている。なかでも浮葉植物ヒシ (*Trapa japonica*) の表面に形成されるバイオフィルム (BF) から, 有毒アオコ原因種である *Microcystis aeruginosa* に対する殺藻細菌が高密度に検出され, アオコ防除への実用化が期待されている。そこで本研究では, ヒシ表面BF由来の殺藻細菌を用いたアオコ防除法の検討を目的とし, 北海道函館市内に位置する五稜郭公園外堀において, ヒシ表面BFに由来する殺藻細菌の生息密度を調査した。

### 2. 材料と方法

試料の採取は2015年5-10月の期間, 五稜郭公園外堀において毎月1回行った。自生しているヒシを残させた水生植物保護区 (Stn.P) にてヒシおよび水の試料, ヒシの自生していないコントロール区 (Stn.C) にて水の試料を採取した。

水試料については適宜段階希釈後, 孔径3.0  $\mu\text{m}$  の滅菌済メンブレン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<sup>-1</sup>寒天培地上にフィルターを静置することで, FLBは濾液を塗抹することによってそれぞれコロニーを形成させた。暗所での2週間の培養後に形成されたコロニーを釣菌し, 細菌株を単離した。

ヒシ試料については, 試料の入ったボトルに滅菌蒸留水を加え, 600回の強振によって表面BFを剥離した。得られたBF懸濁液は適宜段階希釈し, ST10<sup>-1</sup>寒天培地に塗抹した後, 水試料と同様に培養可能な細菌にコロニーを形成させた。その後, 各試料から単離した細菌のうち30株を, CT培地で無菌培養した

*M. aeruginosa* (Ma17株) との二者培養実験に供した。培養には48ウェルの滅菌済マイクロプレートを用いた。本実験は温度25°C, 光強度約100  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{sec}^{-1}$ , 明暗周期14 hL : 10 hDの条件下で2週間行った。その後, 倒立顕微鏡下で観察を行い, 殺藻細菌および増殖阻害細菌の有無を確認した。

### 3. 結果と考察

Stn.Pにおいて採取したヒシ試料からは, 調査期間中は毎月, 殺藻細菌および増殖阻害細菌が検出され, その密度は殺藻細菌で  $4.5 \times 10^5 - 6.2 \times 10^5 \text{ CFU g}^{-1}$  wet weight, 増殖阻害細菌で  $1.9 \times 10^6 - 2.7 \times 10^7 \text{ CFU g}^{-1}$  wet weightと算出された。水試料についてみると, Stn.Pでは殺藻細菌が  $1.2 \times 10^3 \text{ CFU mL}^{-1}$ , 増殖阻害細菌が  $5.8 \times 10^2 - 1.3 \times 10^4 \text{ CFU mL}^{-1}$  の密度で検出された。Stn.Cにおいては, 殺藻細菌が  $3.0 \times 10^2 - 4.6 \times 10^3 \text{ CFU mL}^{-1}$ , 増殖阻害細菌が  $1.1 \times 10^2 - 4.1 \times 10^3 \text{ CFU mL}^{-1}$  の密度で検出された。西日本の浅海域における研究例では, 赤潮原因種であるラフィド藻 *Chattonella antiqua* に対する殺藻細菌の出現とクロロフィルaの濃度に密接な関係が観察されている。したがって, 本研究における殺藻細菌の出現も植物プランクトンの動態と関連している可能性がある。また, 水草の影響がおおよぶ範囲がある程度あれば, 外堀全体に殺藻細菌が分布すると考えられる。

本研究により, 五稜郭公園外堀のヒシから, 周囲の湖水と比較して高密度に殺藻細菌が検出され, ヒシを用いたアオコ抑制の可能性が示された。今後は, ヒシBF中と水中の殺藻細菌を同定して比較するほか, 従属栄養細菌が利用する溶存態有機物が殺藻活性に与える影響の評価などを行い, 殺藻細菌に殺藻活性を与える要因を把握する必要がある。

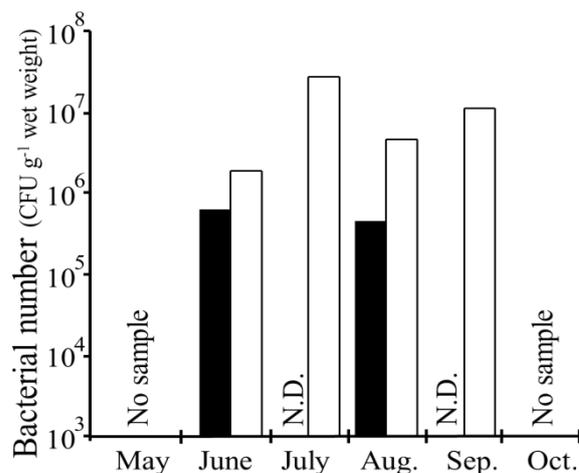


図. ヒシ由来の殺藻細菌および増殖阻害細菌数 (■ : 殺藻細菌, □ : 増殖阻害細菌)