

# 学位論文内容の要旨

## 学位論文題目

浮葉植物ヒシ *Trapa japonica* を活用したアオコ防除に関する研究

宮下 洋平

湖沼においては、植物プランクトンと水生植物は一次生産者として競合関係にあり、生態系および水質に異なる影響を与えると考えられている。水生植物の存在しない水域では、植物プランクトンの卓越した「濁った」状態となることが知られており、このような濁った湖沼は *Microcystis aeruginosa* をはじめとする有害有毒藍藻類のブルーム (アオコ) を引き起こし、湖沼生態系の破壊、景観の悪化、悪臭、湖水の毒化など様々な問題を招く。水生植物と植物プランクトンの拮抗関係は、水生植物の放出するアレロパシー効果が報告されているが、未だ不明な点が多く良く分かっていない。

水生植物ヒシ (*Trapa japonica*) は、全国の湖沼に生息する浮葉植物であり、ヒシが繁茂するとアオコが減少する減少が経験的に知られている。その要因としてアレロパシー効果が報告されているが、その効果は定かではない。近年、アオコに対して抑制効果を示す殺藻細菌 (Algicidal bacteria: AB) がヒシの表面のバイオフィームから検出された。このことからヒシに付着するバイオフィーム (BF) が、アオコ防除を担っている可能性が示唆された。そこで本研究では、水生植物ヒシおよびヒシ随伴微生物の有する有害藍藻類に対する拮抗関係を明らかにするため、以下の4つのサブテーマを設定した。すなわち 1: ヒシに付着する殺藻細菌の特異性に関する現場実験, 2: ヒシのアオコ原因藻類に対するアレロパシー効果の検討, 3: 函館市五稜郭におけるヒシを利用したアオコ防除の試み, 4: ヒシを利用した北海道渡島大沼のアオコ防除の試みである。そして最後にこれらの結果を統合し、総合考察を加え今後の展望を述べた。

### 1: ヒシに付着する殺藻細菌の特異性に関する現場実験

本実験では、ヒシおよびヨシが繁茂する湖沼に炭素繊維および不織布を静置し、ヒシ由来のBFを付着させることにより、殺藻細菌の付着機構を解明する目的で実験を行った。

炭素繊維には、実験期間を通じてABは検出されなかった。不織布からは、2日目及び5日目に  $3.2 \times 10^4$  および  $7.0 \times 10^4$  CFU cm<sup>-2</sup> の密度で検出された。しかし、人工基質から分離された殺藻細菌の密度はヒシと比較するとおよそ 1/1000 程度と格段に低いことから、殺藻細菌は、ヒシをはじめとする水生植物の表面に特異的に付着する事が示された。

### 2: ヒシのアオコ原因藻類に対するアレロパシー効果の検討

ヒシが放出するアレロケミカルを様々な条件下で抽出し、アオコに対するアレロパシー効果について検討した。試料は 1: 乾燥ヒシ粉末+Milli-Q 水 (MQ), 2: 乾燥ヒシ粉末+MQ (100°C), 3: 乾燥ヒシ粉末+80% Methanol, 4: ヒシ試料+現場湖水, 5: ヒシ試料+現場湖水 (超音波処理) および 6: 乾燥ヒシ粉末+現場湖水の6通り作製し、得られた抽出液と *M. aeruginosa* を共培養実験を行いアレロパシー効果を評価した。また、LC/MSにより、ヒシのアレロケミカルと報告されている Eugeniiin, Ellagic acid, および Quercetin の3物質について濃度を推定した。

乾燥ヒシ粉末を 80% Methanol で抽出した区の 10<sup>-1</sup> 濃度画分について僅かな *M. aeruginosa* の蛍光値の減少が見られ、Eugeniiin が 12.4 mg g<sup>-1</sup> と比較的高く検出された。しかし、その他の区では顕著な細胞数の減少は確認されず、アレロケミカルも低濃度であった。このことから、本実験では、アオコに対するヒシ

のアレロパシー効果は確認できなかった。

### 3: 函館市五稜郭におけるヒシを利用したアオコ防除の試み

函館市五稜郭は星形の五角形を模した重要な観光地であり、住民の憩いの場として親しまれている。一方で、2014年9月に有害有毒藍藻類が主体と思われる濃密なブルームが発生した。本研究では、ヒシを人為的に残した水生植物区と、研究期間を通じて水生植物が見られないコントロール区の2地点で、藍藻類を中心とする植物プランクトンの群集構造の相違および、殺藻細菌の密度について検討を加えた。

植物プランクトンは、コントロール区で、藍藻類を主体として細胞数が水生植物帯よりも格段に高いことが確認された。水草ヒシBFに付着する殺藻細菌密度は、2015年は7月に  $6.2 \times 10^5$  CFU  $g^{-1}$  (湿重)、8月には  $4.5 \times 10^5$  CFU  $g^{-1}$  (湿重) の密度で検出された。2016年は5月に  $1.0 \times 10^5$  CFU  $g^{-1}$  (湿重)、7月に  $1.7 \times 10^6$  CFU  $g^{-1}$  (湿重) で検出された。殺藻細菌の検出月は年により異なっていたが、対象藻 *M. aeruginosa* の出現状況に対応しており、ヒシ由来の殺藻細菌のアオコ防除能が有効である可能性が示された。

### 4: ヒシを利用した北海道渡島大沼のアオコ防除の試み

現場で発生したアオコとヒシを共培養することにより、現場におけるヒシのアオコ防除能を検討した。現場で採取したアオコに、表面BFを剥離したヒシ区、剥離したBFのみを添加した区、表面BFをそのまま付着させたヒシ区、および何も添加しないControl区の4つの実験区を設け、藍藻類の細胞数および殺藻細菌数を検出計数した。表面BFを剥離したヒシ区は、殺藻細菌が2, 4, および16日目に検出された。BF区からは、14, 16日目に殺藻細菌が検出され、BF+ヒシ区では、2, 10, 12, 14 および16日目に検出された。Control区では調査期間中殺藻細菌は検出されず、藍藻類の細胞数も4実験区のうち最も高い結果となった。このことから殺藻細菌は、ヒシに特異的に付随しており、表面BFの細菌がアオコと接触することによりアオコを殺滅すると考えられた。

本研究の成果は以下の4点にまとめられる。① 殺藻細菌は、不特定多数の基質に着くのではなく、ヒシをはじめとする水生植物に特異的に付着する。②現場において、ヒシの顕著なアレロパシー効果は確認できなかった。③五稜郭外堀においてヒシ帯の確保により藍藻類細胞数の減少が確認され、殺藻細菌数と藍藻類の細胞数に関係性が見られた。④現場のアオコとの共培養実験により、ヒシ及びヒシBFから顕著に殺藻細菌が検出され、アオコの減少に殺藻細菌の関与が認められた。以上のことから、ヒシとアオコの拮抗関係には、ヒシ自身のアレロパシー効果ではなく、ヒシに付随する殺藻細菌の関与が示された。ヒシは浮葉植物であり、植物プランクトンが卓越した「濁った」湖沼から水生植物の繁茂した「澄んだ」湖沼への転換を可能にする可能性が示唆された。今後はヒシの過度な繁茂は溶存酸素を低下させ、水質の悪化を招く恐れもある為、適切な密度管理により良好な環境条件を維持する必要があり検討が必要である。

人間が手を加えて健全な管理をする考え方は、海洋では「里海」という考え方で包括される。「里海」は沿岸の環境に人手を加えることで、生物生産性や生物多様性が高くなった沿岸海域のことを言う。里海構想は、本論文の調査地である渡島大沼のような湖沼に適用することができ、アオコの原因となる藍藻類の抑制を考えると、水草を人為的に適正管理することにより、有害有毒なアオコの発生しない湖沼を創成することができる。このような取り組みは里湖と呼称すべきものであり、生態系サービスの観点からも、環境に優しい優れた方法と理解できる。良好な飲料水の水源確保を考えるとその価値は計り知れない。ヨシ原の保全や修復、水生植物の管理はアオコの発生を未然に防止し、ワカサギやヘラブナ、モロコなどの有用生物の生産性と生物多様性を向上させると考えられる。適切に人間が自然と関わり、手を加え管理することにより、自然本来の健全な湖沼を後世に伝えることができるであろう。