

北海道渡島大沼国定公園域の湖沼群における
ヨシ由来の細菌を活用したアオコの発生制御に関する研究

近年、世界的な人口増加に伴って生活排水や農業排水の量が増加し、河川を通じて流れ込むため、湖沼の富栄養化を招いている。富栄養化した湖沼では有害有毒藍藻類のブルーム(アオコ)が頻繁に発生することが多い。アオコは湖水の毒化、カビ臭、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、濾過により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。近年、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注目されている。また、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ことを目的とし、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月の間に毎月1回、北海道南西部渡島にある大沼国定公園域の山水温泉 (SS)、蓴菜沼 (JL)、人工的にヨシを植栽した苅間川ヨシ浄化池 (KR)、の3定点のヨシ帯において、湖水とヨシを採取した。ヨシは水面下の茎を採取し、湖水はバケツ採水を行って得た。採取した試料は滅菌したポリプロピレン容器に収容し、研究室に持ち帰り速やかに実験に用いた。

ヨシ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、滅菌蒸留水で懸濁してヨシ BF 試料を作成した。ヨシ BF 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、温度約 25°C の暗所で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、これらの細菌株を分離した。湖水は適宜希釈後、孔径 3.0 μm 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 については 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し、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を計数し、分離を行った。また、ヨシ BF 試料と湖水試料の一部はグルタルアルデヒドで固定後、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。

分離した細菌は有害有毒アオコ原因藻類である *Microcystis aeruginosa* 及び *Dolichosperumum crassum* の2種を対象に二者培養試験を行い、細菌の殺藻能を評価した。48 ウェルマイクロプレートに CT 培地で無菌培養した *M. aeruginosa* 及び *D. crassum* 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。その中に分離した細菌のコロニーを滅菌した爪楊枝を用いて少量掻き取り、接種した。温度 25°C、光強度約 100 μmol m⁻² sec⁻¹、明暗周期 14hL:10hD の条件下で2週間培養し、各ウェルを倒立顕微鏡下で観察を行い、殺藻の有無を確認した。活性を示した細菌株数と実験に供した細菌株数を基に殺藻細菌及

び増殖阻害細菌の密度を算出した。

M. aeruginosa に対し、殺藻あるいは増殖阻害能を示した細菌は、ヨシ BF 試料において SS は 8.0×10^5 – 2.5×10^6 CFU g⁻¹ wet weight, JL は 8.1×10^5 – 4.8×10^6 CFU g⁻¹ wet weight, KR は 5.2×10^5 – 2.1×10^6 CFU g⁻¹ wet weight の密度で検出された。湖水試料においては、SS の PAB で 1.8×10^2 – 1.6×10^3 CFU mL⁻¹, FLB は 6.0×10^2 – 2.4×10^3 CFU mL⁻¹, JL の PAB で 4.3×10^1 – 1.8×10^2 , FLB は 6.8×10^1 – 4.0×10^2 CFU mL⁻¹, また KR では、PAB で 5.9×10^2 – 1.7×10^3 CFU mL⁻¹, FLB は 3.3×10^3 CFU mL⁻¹ の密度で検出された。ヨシ BF 試料及び湖水試料からは地点間の差や季節的な変動は見られず、ヨシ BF 試料から高密度で殺藻・増殖阻害細菌が検出された。

D. crassum に対し、殺藻あるいは増殖阻害能を示した細菌は、ヨシ BF 試料において SS は 6.5×10^5 – 1.3×10^6 CFU g⁻¹ wet weight, JL は 2.1×10^5 – 2.4×10^6 CFU g⁻¹ wet weight, KR は 1.4×10^5 – 5.6×10^6 CFU g⁻¹ wet weight の密度で検出された。湖水試料においては、SS の PAB で 1.1×10^2 – 2.6×10^3 CFU mL⁻¹, FLB は 6.0×10^2 – 1.3×10^3 CFU mL⁻¹, JL の PAB で 4.3×10^1 – 1.1×10^2 , FLB は 1.3×10^2 CFU mL⁻¹, また KR では、PAB で 4.0×10^2 – 2.5×10^3 CFU mL⁻¹, FLB は 3.3×10^3 CFU mL⁻¹ の密度で検出された。*M. aeruginosa* を対象にした結果と同様で、ヨシ BF 試料及び湖水試料からは地点間の差や季節的な変動は見られず、ヨシ BF 試料から高密度で殺藻・増殖阻害細菌が検出された。また *M. aeruginosa* 及び *D. crassum* の両方に殺藻能を持つ細菌は少なく、多くは一方の藻類のみに殺藻能を発揮する細菌であった。

二者培養試験の結果より、大沼国定公園域の湖沼群においてヨシ BF 中に高密度で殺藻細菌や増殖阻害細菌が生息することが確認された。特筆すべきは、人工的に植栽したヨシ (KR) BF からも自生するヨシの BF と同様に高密度で殺藻細菌と増殖阻害細菌が生息することが示された。ヨシ BF 中の殺藻細菌と増殖阻害細菌の検出には季節的な変動は観られなかったことから、周年を通じてこれらの細菌はヨシ BF 中に高密度で生息していると考えられる。*M. aeruginosa* 及び *D. crassum* の 2 種に対する殺藻細菌と増殖阻害細菌はヨシ BF 中に同程度の高密度で検出されたので、ヨシ BF 中には他の有害有毒藍藻類に対しても殺藻能を持つ細菌が高密度で生息する可能性が示された。また *M. aeruginosa* と *D. crassum* の両方に殺藻能を示す細菌は少なかったことから、ヨシ BF 中には種特異的な殺藻能を持つ多様な細菌が多く生息する可能性が示唆された。以上から、大沼湖沼群のヨシ BF 中には自生、植栽したヨシを問わず種特異性のある殺藻細菌が周年を通じて高密度で生息することが示された。また、大沼国定公園域の湖沼群以外の他の湖沼でもヨシ BF 中には高密度の殺藻細菌が存在すること、及びヨシ BF 中には他の有害有毒藍藻類に対しても殺藻能を持つ細菌が高密度で生息する可能性があり、ヨシ BF に生息する細菌は、様々な藍藻類が形成するアオコの防除に有効である可能性が大きい。

本研究により、殺藻細菌という観点からヨシ帯の活用がアオコ防除に有効であることが示された。元来、ヨシ帯は水質浄化や生物の生息場として重要視され、保全や植栽を通じた環境修復が行われてきた。今後はヨシ BF の殺藻細菌によるアオコの防除という観点も新たに加えて、ヨシ帯を用いた水域の浄化と再生が期待される。

小島 千里