

## 湖沼における水生植物由来の細菌によるアオコの発生防除に関する研究

### 【背景及び目的】

水は陸域の生物をはじめ、人間の生存や様々な活動に不可欠な資源である。淡水資源は地域によって偏在しているため、合理的な開発と適切な管理が今世紀の重要な課題と言える。今日、世界中の富栄養化した湖沼において、アオコと呼ばれる有害有毒藍藻類によるブルームが頻繁に発生している。アオコは景観の悪化、悪臭、藍藻毒の発生等の問題を引き起こし、淡水資源の確保と利用を著しく妨げるため、水資源管理に対する重大な脅威となっている。対策として、これまでポンプによる除去や紫外線を用いた物理的防除、硫酸銅をはじめとする化学薬品の添加による化学的防除が適用されてきたが、コストの問題だけでなく、生態系に悪影響をもたらす恐れがある。そのため、限定的な実施に留まり、有効なアオコ防除手段が確立していないのが現状である。

近年、環境に配慮した新たなアオコ発生防除方法として、殺藻細菌を用いた生物学的な手法が提案されている。殺藻細菌は特に抽水植物であるヨシ (*Phragmites australis*) 及び浮葉植物のヒシ (*Trapa japonica*) 等の表面に形成されたバイオフィルム (BF) や、それらの繁茂水域において高密度に見出されることから、水生植物帯の殺藻細菌の生息場及び供給源としての機能が重要と考えられる。しかしながら、水生植物由来の殺藻細菌の動態やその有用可能性については研究の端緒にすぎたばかりであり、実用化に至るには基礎的な研究の積み重ねが必要である。

そこで本研究では、①北海道渡島大沼における浮葉植物ヒシ由来の殺藻細菌の生息密度に関する季節的モニタリング、及び②茨城県霞ヶ浦において抽水植物ヨシ及びヨシ帯由来の殺藻細菌及び増殖阻害細菌の探索を行い、アオコの発生防除の可能性を検討した。

### 【材料と方法】

#### 1. 北海道渡島大沼におけるヒシ由来の殺藻細菌の生息密度に関する季節的モニタリング

2014年5-10月の各月末に1回、北海道南西部渡島にある大沼国定公園内の遊船船着き場(OP)、蓴菜沼(JL)、流山温泉調整池(DP)の3地点において、湖水を採取し、ヒシの繁茂しないOPを除いた地点でヒシの採集を行った。ヒシは葉と水中葉に分け、得られた試料に滅菌蒸留水を加え、600回強振することにより表面BFを剥離させ、BF懸濁液を作成した。湖水試料については適宜段階希釈後、孔径3.0 µmのヌクレポア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(PAB: Particle-associated bacteria)とし、ST10<sup>-1</sup>寒天培地上に乗せて培養を行った。濾液に含まれる細菌は浮遊性細菌(FLB: Free-living bacteria)とし、ST10<sup>-1</sup>寒天培地に塗抹、静置した。それぞれコロニーを形成させ分離株を得た。その後、CT培地で培養した*Microcystis aeruginosa* (Ma17株)を細胞密度約1.0 x 10<sup>5</sup> cells mL<sup>-1</sup>となるように48穴ウェルマイクロプレートの各ウェルに0.8 mLずつ分注し、分離した細菌のコロニーを滅菌爪楊枝で釣菌して各ウェルに接種することで二者培養試験を行った。試験のための培養は温度25°C、光強度約100 µmol m<sup>-2</sup> sec<sup>-1</sup>、明暗周期14 hL: 10 hDの条件下で2週間行い、倒立顕微鏡を用いて殺藻の有無を確認し、*M. aeruginosa*に対する殺藻細菌及び増殖阻害細菌の検出を行った。検出され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。

## 2. 茨城県霞ヶ浦におけるヨシ帯由来の殺藻細菌及び増殖阻害細菌の探索

2014年9月9日に、茨城県霞ヶ浦の西浦の護岸帯及びヨシ帯、北浦のヨシ帯の3地点において、各地点で採水を行い、ヨシ帯においてはヨシを採取した。得られた試料は上述の方法に従って実験に供し、同様に殺藻細菌及び増殖阻害細菌の検出を行い、その存在密度を算出した。

### 【結果と考察】

北海道渡島大沼におけるヒシ由来の殺藻細菌の生息密度に関する季節的モニタリングを実施した結果は以下の通りである。6-10月にJL及びDPにおいて採取したヒシBFより、殺藻細菌及び増殖阻害細菌が検出され、その割合は630株中17株であった。採集部位別に見ると、葉部分で平均 $1.5 \times 10^7$  CFU  $g^{-1}$  wet weight、根部分で平均 $2.3 \times 10^7$  CFU  $g^{-1}$  wet weightの値を示し、部位に関わらず高密度で見出された。

湖水に関しては、3地点全てで殺藻細菌及び増殖阻害細菌が検出され、その割合はPABでは360株中20株、FLBでは360株中25株の割合であった。殺藻細菌についてみると、水生植物帯がないOPでは $3.6 \times 10^2$  CFU  $mL^{-1}$ であったが、水生植物帯のあるJL及びDPにおいては、それぞれ平均 $9.0 \times 10^2$ 、 $2.2 \times 10^4$  CFU  $mL^{-1}$ の密度で存在しており、水生植物帯のある地点で高密度に存在することが確認された。また海洋や湖沼において、FLBに比べPABの方が殺藻能を示す細菌が多く検出されると報告されているが、本研究ではPABで13株、FLBで12株と同程度に殺藻細菌が検出された。これについて、FLBより殺藻細菌が検出されたのが水生植物の繁茂するJLとDPであったことから、本来水生植物に付着生息する殺藻細菌が離れて、自由生活状態にあるものが多く存在する可能性が高い。今後、BF由来の殺藻細菌と水草帯のFLBの殺藻細菌の遺伝子による同定を行い、比較する必要がある。

茨城県霞ヶ浦におけるヨシ帯由来の殺藻細菌及び増殖阻害細菌の探索の結果は以下の通りである。増殖阻害細菌は西浦と北浦のヨシBFより検出され、殺藻細菌は北浦のヨシBFで検出された。西浦のヨシBFに関して、増殖阻害細菌は $6.9 \times 10^4$  CFU  $g^{-1}$  wet weightの密度であり、北浦のヨシBFからは殺藻細菌は $1.4 \times 10^5$  CFU  $g^{-1}$  wet weight、増殖阻害細菌が $6.9 \times 10^5$  CFU  $g^{-1}$  wet weightの密度で認められた。北海道渡島大沼のJLで採取したヨシからは、増殖阻害細菌が $3.8 \times 10^5$  CFU  $g^{-1}$  wet weightの密度で検出された。以上から、霞ヶ浦と渡島大沼は共に同程度の密度の殺藻細菌及び増殖阻害細菌がヨシBFに存在していることが判明した。

湖水については、西浦のヨシ帯の湖水のうちPABのみから殺藻細菌が $4.2 \times 10^5$  CFU  $mL^{-1}$ で見出され、増殖阻害細菌が $7.0 \times 10^4$  CFU  $mL^{-1}$ の密度で検出された西浦の護岸帯と比較して高密度に存在していた。

渡島大沼のヒシ帯及び霞ヶ浦のヨシ帯から、植生に乏しい地点と比較して高密度にアオコの殺藻細菌及び増殖阻害細菌が検出された。水生植物が高い栄養塩吸収能を有することや、アオコ形成藍藻類の増殖阻害を行うアレロパシー物質を産生放出するとの報告もあり、霞ヶ浦における築堤や水質の悪化による水生植物帯の減少は、水生植物帯のアオコ発生防除能を低下させている可能性がある。本研究により、水生植物によるアオコ発生防除の可能性が改めて見出された。アオコ対策として水生植物帯の人工的な造成が提案できるが、枯死による栄養塩や有機物の放出などが懸念されるため、総合的な観点から湖沼管理を視野に入れて取り組む必要があると考えられる。