



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	浮葉植物ヒシ <i>Trapa japonica</i> を活用したアオコ防除に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	宮下, 洋平
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(水産科学)
Dissertation Number	甲第13094号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/70032
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Yohei_Miyashita_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（水産科学）

氏名：宮 下 洋 平

審査委員	主 査	教 授	今村 央
	副 査	特任教授	今井 一郎
	副 査	教 授	酒井 隆一
	副 査	准教授	山口 篤

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

湖沼において、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、濁った湖沼では *Microcystis aeruginosa* をはじめとする有害有毒藍藻類のブルーム（アオコ）が頻繁に発生し、悪臭、景観の悪化、湖水の毒化、そして湖沼生態系の破壊など様々な問題を引き起こしている。

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という現象が経験的に知られている。近年、アオコに対して抑制効果を示す殺藻細菌（Algicidal bacteria: AB）や増殖阻害細菌（Growth-inhibiting bacteria: GIB）が水草の表面のバイオフィームから高密度で検出された。そこで本研究では、水生植物ヒシを主対象とし、ヒシに随伴する AB や GIB が示す有害有毒藍藻類に対する拮抗関係を明らかにする事を目的として、以下の4つのサブテーマを設定して研究を行った。

1. ヒシに付着する殺藻細菌の特異性に関する現場実験

ヒシやヨシが繁茂する湖沼に炭素繊維と不織布を静置し、水草由来のバイオフィーム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事を目的とした。

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 3.2×10^4 , および 7.0×10^4 colony-forming unit (CFU) cm^{-2} の密度で検出された。しかし、人工基質から分離された AB や GIB の密度はヒシのおよそ 1/1000 程度と格段に低く、AB や GIB は、水生植物の表面に特異的に付着生息する事が示された。

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を加えた。試料は、1) 乾燥ヒシ粉末 + Milli-Q 水, 2) 乾燥ヒシ粉末 + Milli-Q 水 (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、*M. aeruginosa* との共培養実験に供してアレロパシー効果を評価した。

乾燥ヒシ粉末を 80% Methanol で抽出した実験区の 10^{-1} 濃度画分で僅かな *M. aeruginosa* の増殖抑制が見られ、Eugeniin が LC/MS により 12.4 mg g^{-1} と比較的高い濃度で検出された。その他の実験区では顕著な細胞数の減少は確認されず、アオコに対するヒシのアレロパシー効果は殆ど無いと結論された。

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

五稜郭の外堀において、ヒシを人為的に残した水生植物区と、常に水生植物が認め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、および AB と GIB の密度について比較検討を行った。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た細胞数が水生植物帯よりも格段に高かった。ヒシに付着する AB の密度は、2015 年は 7 月に $6.2 \times 10^5 \text{ CFU g}^{-1}$ (湿重), 8 月には $4.5 \times 10^5 \text{ CFU g}^{-1}$ (湿重) の密度で検出された。2016 年は 5 月に $1.0 \times 10^5 \text{ CFU g}^{-1}$ (湿重), 7 月に $1.7 \times 10^6 \text{ CFU g}^{-1}$ (湿重) で検出された。GIB はほぼ毎月 AB よりやや高い密度で検出された。AB は *M. aeruginosa* の出現状況に対応しており、ヒシ由来の AB 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の共培養実験を行い、現場のヒシによるアオコ防除能を検討した。アオコに、バイオフィルムを剥離したヒシ区、剥離したバイオフィルムのみを添加した区、バイオフィルムをそのまま付着させたヒシ区、および何も添加しないアオコだけの Control 区の 4 実験区を設け、藍藻類の細胞数および *M. aeruginosa* に対する AB と GIB を検出計数した。バイオフィルム剥離のヒシ区は、AB が検出された。バイオフィルム区からは、14, 16 日目に、バイオフィルム + ヒシ区では、2, 10, 12, 14, 16 日目に AB が検出された。Control 区では調査期間中 AB は検出されず、藍藻類の細胞数も最も高く推移した。GIB は何れの実験区においても、AB に比べて高い頻度で検出された。以上から、AB と GIB はヒシに特異的に付随しており、バイオフィルム由来の細菌がアオコと接触してアオコを殺滅あるいは抑制すると考えられた。

本研究は、水生植物ヒシの表面のバイオフィルム中に、有害アオコ *M. aeruginosa* を殺滅あるいは増殖抑制する細菌の生理生態を調査研究し、それらが高密度で生息する事実を初めて見出しており、湖沼を価値の高い清澄な状態に戻す為に重要な知見である。湖沼を有害有毒なアオコの発生から守り健全な生態系を保全する為に、新たな局面を切り拓いた研究として高く評価できる。よって審査員一同は申請者が博士 (水産科学) の学位を授与される資格のあるものと判定した。