

ヒシを中心とした水草帯における細菌、プランクトンの調査

○筒井裕文¹

¹長野県諏訪湖環境研究センター

はじめに

細菌は湖沼において有機物の分解、栄養塩の代謝、及びそれらにともなう酸素消費など、湖沼の水環境と非常に密接な関係を有している。また近年、植物と密接な関係を持つ細菌の存在が知られており、ウキクサの生育を促進するもの(Ishizawa et al., 2023)、芳香族化合物類の分解能力が高いもの(池ら,2009)、ヒシ表面にて殺藻機能を有するもの(大洞ら, 2018)などが知られており、植物-細菌共生系による水環境への貢献の解明及び活用が期待されている。

諏訪湖では水質・生態系保全のために水生植物の適切な管理を目指しており(長野県諏訪地域振興局, 2023)、適切な管理の必要性を示すためには水草単体だけではなく共生微生物も含めた水環境の生態機能を評価することが重要である。そこで、本年度は予備調査として複数の水草を対象とし、水草表面に形成される細菌やプランクトンなどの微生物と、水草群落の水中の微生物、そして水草群落外の水中の微生物を比較することで、水草群落が微生物群集に及ぼす影響の有無を検討した。

方法

本研究では水草による微生物群集構造への影響を調査するため、水草表面に強固に付着している微生物群、水草群落内の水試料、水草群落外の湖水に分けて調査を行った。2024年9月17日に諏訪湖沿岸域(36°03'34.6"N, 138°04'08.9"E)にてヒシ(水中根)、クロモ(茎と葉)、エビモ(茎と葉)、セキシウモ(葉)の植物

体、および各々の水草種の単一群落(直径 50 cm 程度以上)内の水試料、そしてすべての水草群落から 5 m 以上離れた開放水域の水試料をそれぞれ採取した。回収した植物体は滅菌生理食塩水で緩やかに 10 回転倒洗浄した後、超音波処理(30min., 氷冷下)し、液部を孔径 0.20 μm のメンブレンフィルターでろ過することで、表面に付着した微生物を回収した。水試料は孔径 0.20 μm のメンブレンフィルターでろ過することで微生物を回収した。微生物 DNA を NucleoSpin Soil (TaKaRa)で抽出したのち、DNA 量の定量、Real-time PCR による細菌、珪藻類、藍藻類の定量と Dissociation curve による主要な増幅産物配列の違いの調査を行った。

結果及び考察

各水草群落内外の水試料と水草表面付着試料から抽出された全 DNA 量と、細菌、珪藻類、藍藻類の定量結果を表 1 と表 2 にそれぞれ示す。抽出された全 DNA 量は水試料で 8.00–13.6 ng/ml, 水草表面付着試料で 0.752–6.80 ng/mg-dry と水草表面付着試料で値の差が大きく、他の定量結果でも同様の傾向であった。また、微生物のうち細菌の定量値が最も大きく、珪藻類が少ない傾向が見られた。これは採水時期が夏季であり細菌の活性が高く、また珪藻類よりも藍藻類が優占的に存在する環境であったためであると考えられる。

水草の種類による傾向を明らかにするため、細菌、珪藻類、藍藻類の定量値を全 DNA 濃度あたりで整理し、さらにヒシの値を基準とした

表 1 水草群落内外水試料から抽出された DNA 濃度及び各種微生物の定量結果

	ヒシ群落内	セキシウモ群落内	エビモ群落内	クロモ群落内	水草群落外
全DNA濃度 (ng/ml)	9.28	13.6	8.08	11.0	8.00
細菌群16S (copies/ml)	9.90×10 ⁷	1.64×10 ⁸	1.04×10 ⁸	1.18×10 ⁸	9.56×10 ⁷
珪藻類18S (copies/ml)	1.97×10 ⁵	3.16×10 ⁵	1.17×10 ⁵	3.14×10 ⁵	1.29×10 ⁵
藍藻類16S (copies/ml)	1.22×10 ⁷	1.34×10 ⁷	1.15×10 ⁷	1.41×10 ⁷	1.15×10 ⁷

表 2 水草表面付着試料から抽出された DNA 濃度及び各種微生物の定量結果

	ヒシ付着	セキショウモ付着	エビモ付着	クロモ付着
全DNA濃度 (ng/mg-dry)	6.80	0.752	2.38	3.43
細菌群 16S (copies/mg-dry)	4.06×10^7	9.98×10^6	1.66×10^7	2.61×10^7
珪藻類 18S (copies/mg-dry)	6.66×10^5	2.94×10^4	6.83×10^4	9.97×10^5
藍藻類 16S (copies/mg-dry)	2.40×10^6	2.02×10^5	2.98×10^5	4.43×10^6

相対値とした結果を図 1 に示す。図 1 (A)に示す水草群落内外の水試料では、すべての試料で同様の値を示した。一方、図 1 (B)に示す表面付着試料では、ヒシと比較して細菌はセキショウモで多く、珪藻類及び藍藻類はセキショウモ及びエビモで少なくクロモで多くなる傾向が認められ、水草ごとに付着しやすい微生物に差が認められた。細菌を対象に Real-time PCR を実施した際の Dissociation curve 解析の結果を図 2 に示す。表面付着試料において、ヒシでは 82°C、セキショウモで 84°C と Tm 値の違いが認められ、優占種の遺伝子配列が異なることが示唆された。同様の結果は珪藻類および藍藻類でも認められた(data not shown)。

以上の検討より、水草に付着して形成される微生物群集は水草の種類によって異なることが明らかとなった。次年度はこれらの差をより明確に示しつつ、これらの差の原因について明らかにするための検討を実施する。

引用文献

- Ishizawa H, Kaji Y, Shimizu Y, Kuroda M, Inoue D, Makino A, Nakai R, Tamaki H, Morikawa M and Ike M. (2023): Spontaneous cell lysis by *Pelomonas saccharophila* MRB3 provides plant-available macronutrients in hydroponic growth media and accelerates biomass production of duckweed. *J. Water Environ. Technol.*, 21(1): 49-58.
- 池道彦・井上大介・遠山忠・松永祐紀、桃谷尚憲・Hoang Hai・清和成・惣田訓 (2009): ウキクサ根圏におけるノニルフェノールの微生物分解—分解菌の分離とその特徴—。環境技術, 38(9): 33-41.
- 大洞裕貴・宮下洋平・小林淳希・織田さやか・田中邦明・山口篤・今井一郎 (2018): アオコ原因種 *Microcystis aeruginosa* と水中および水草ヒシの殺藻・増殖阻害細菌の季節変動。藻類, 66(2): 111-117.
- 長野県諏訪地域振興局 (2023): 3.2.1 水生植物。諏訪湖創生ビジョン (2023 年 3 月改定), 長野県諏訪地域振興局 (編著): 22-23. 長野県諏訪地域振興局, 長野。

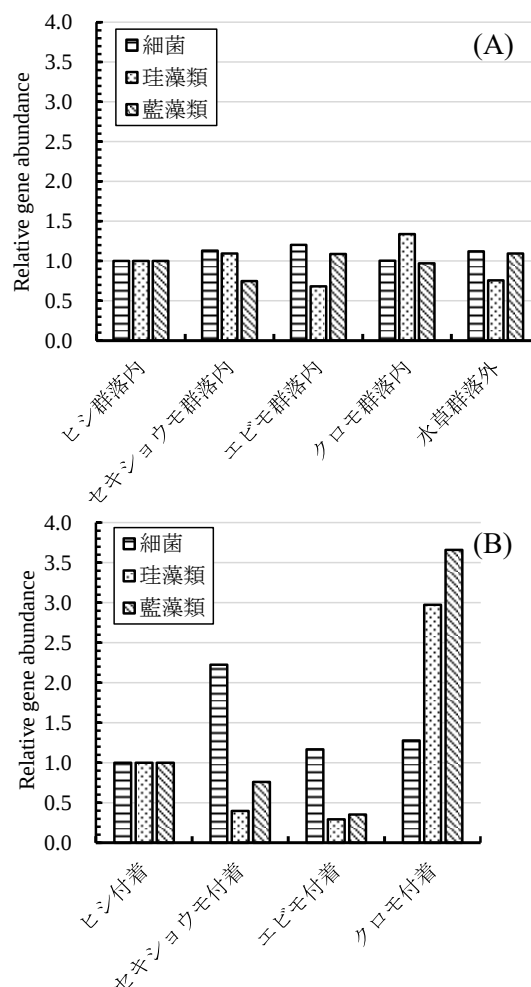


図 1 ヒシを基準とした細菌、珪藻類、藍藻類の total DNA あたりの定量結果. (A): 周辺水試料, (B): 付着試料

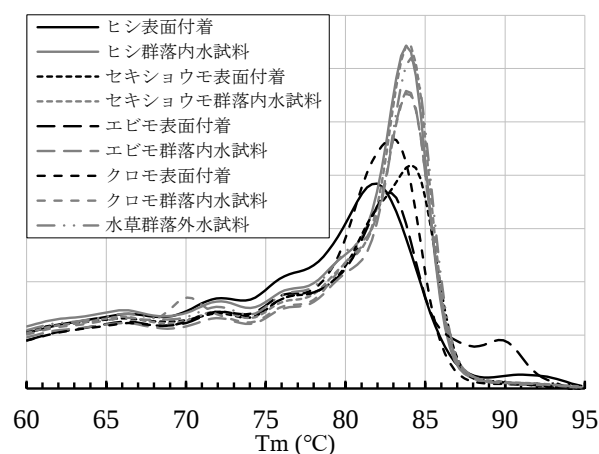


図 2 Real-time PCR で増幅された細菌由来増幅産物の Dissociation curve 解析結果