演題番号　2

ヒシを中心とした水草帯における細菌，植物プランクトンの特徴

長野県諏訪湖環境研究センター　○筒井 裕文

1 はじめに

湖沼において水草は一次生産者として生態系を支える役割を担っているほか，様々な水生生物の生息環境を提供することが知られている。また近年，水草表面には細菌を含む微生物が独自の生態系を構築し，資源循環機能に寄与すること [1]，水草のストレスを緩和する機能を有すること [2]などが報告されている。諏訪湖では水質改善を図りつつ，生態系の観点から適切な水草の管理が求められており [3]，水草が湖沼で果たしている働きを評価することが不可欠である。そこで，諏訪湖に自生している複数種の水草表面と，その水草群落内の水試料について細菌，植物プランクトンに着目した群集構造に関する検討を行った。

2 実験材料および方法

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 日に諏訪湖沿岸域にてヒシ(水中根)，クロモ(茎と葉)，エビモ(茎と葉)，セキショウモ(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 0.85%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，回収した液相を孔径 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 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 による増幅産物の Tm 値の調査を行った。

3 結果および考察

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 に示す。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。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。

表 1. 水草群落内外の水試料と水草表面付着試料に関する定量結果

水試料	ヒシ群落内	セキショウモ群落内	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 rDNA (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 rDNA (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 rDNA (copies/ml)	1.22×10^{7}	1.34×10^{7}	1.15×10^{7}	1.41×10^{7}	1.15×10^{7}
水草表面付着試料	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 rDNA (copies/mg-dry)	4.06×10^{7}	9.98×10^{6}	1.66×10^{7}	2.61×10^{7}	-
珪藻類18S rDNA (copies/mg-dry)	6.66×10^{5}	2.94×10^{4}	6.83×10^{4}	9.97×10^{5}	-
藍藻類16S rDNA (copies/mg-dry)	2.40×10^{6}	2.02×10^{5}	2.98×10^{5}	4.43×10^{6}	-

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 量あたりで整理し，さらにヒシの値を基準とした相対値で示した結果を図 1 に示す。図 1 (A)に示す水草群落内外の水試料ではいずれも同様の値を示した。一方，図 1 (B)に示す表面付着試料では，ヒシと比較してセキショウモとエビモでは細菌が多く珪藻が少なかった。またクロモでは珪藻類及び藍藻類が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のみ，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)。既往研究においてもヒシによって周辺水中の微生物群集構造が変化することが報告されており [4]，より水草と密に接している表面の微生物群集構造は水草の影響を強く受けている可能性が考えられた。より詳細な知見を得るために 16S rRNA 遺伝子を標的とした網羅的解析を実施し，水草種ごとの差を明らかにする予定である。

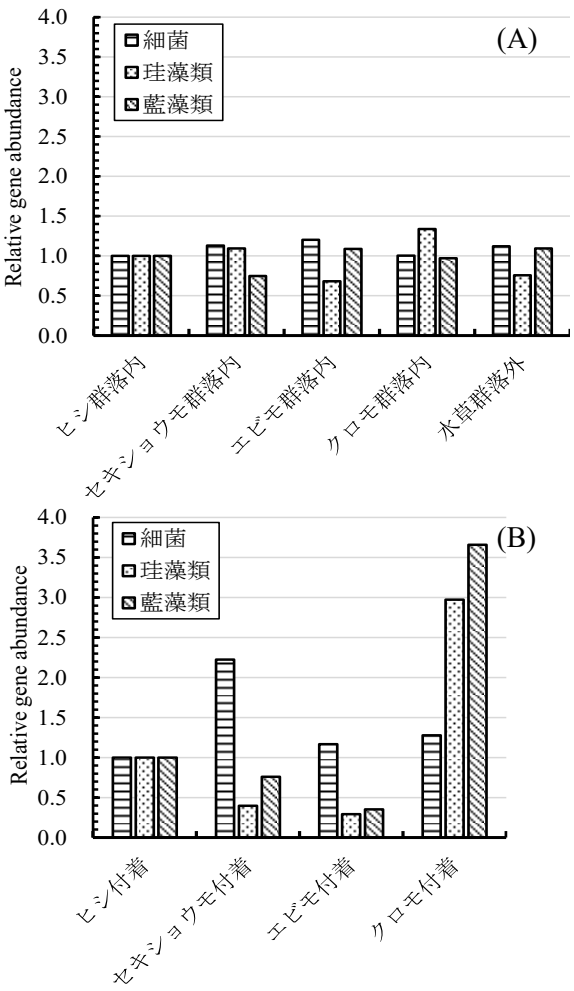


図 1 ヒシを基準とした細菌，珪藻類，藍藻類の全 DNA 量あたりの定量結果．(A): 群落内外水試料，(B): 水草表面付着試料

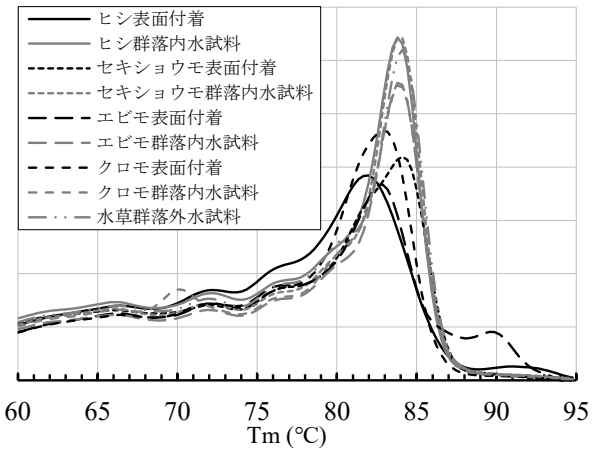


図 2 Real-time PCR で増幅された細菌由来増幅産物の Dissociation curve 解析結果

4 結論

水草に付着して形成される微生物群集構造は，周辺の水試料中の群集構造と異なる傾向を示し，また水草の種類によっても傾向が異なることが示された。

参考文献

1) Wang *et al*., (2024). *Microb. Ecol.*, **87**:37.
2) Hu et al., (2023). *Appl. Environ. Microbiol.*, **89**:e00717-23.
3) 長野県諏訪地域振興局 (2023) 諏訪湖創生ビジョン. 22–23.
4) Liu et al., (2022). *Chemosphere*, **288**(3):132605.