

大型水生植物のアレロパシーを利用した藍藻類の増殖抑制

九州大学大学院 学生会員 楠本勝子 九州大学大学院 正会員 久場隆広
九州大学大学院 正会員 大石京子 九州大学大学院 フェロー 楠田哲也

1. はじめに

富栄養化した湖沼や内湾などの閉鎖性水域においては植物プランクトンの異常増殖が発生する。本研究では植物プランクトンの増殖抑制技術として大型水生植物のアレロパシーを利用することを試みた。アレロパシーとは『全ての植物-生物相互間における生化学的な係わり合い』のことであり、植物が環境中に放出する化学物質によって他の生物に対して忌避的もしくは促進的な影響を与えることを意味する。本研究においては大型水生植物が植物プランクトンに対して示す忌避的アレロパシー作用を富栄養化防止の一手法として応用することを試みた。

2. 実験方法

2-1. 供試大型水生植物及び被験藍藻類 本実験で使用した大型水生植物は、ホテイアオイ (*Eichoria crassipes*, 市販)、シュロガヤツリ (*Cyperus alternifolius*, 福岡県保健環境研究所より譲渡)、オランダガラシ (*Nasturtium officinale* R.Br., 室見川上流にて採取)、コカナダモ (*Elodea Nuttalli*, 名子川上流にて採取) である。被験植物性プランクトンとしては、*Microcystis aeruginosa* (NIES-98, 地球・人間環境フォーラムより分株) を使用した。培地は Gorham5 倍希釈培地を利用し、培養条件は照度5000lux、温度25℃、振盪速度70rpmで振盪培養し、実験には対数増殖期まで前培養したものを使用した。

2-2. アレロパシー効果を示す大型水生植物の検索

2-2-1. 共存系培養実験 あらかじめオートクレーブで滅菌した培地200mlに純水で洗浄した大型水生植物を湿潤質量5.0gとなるように投入し、そこに *M. aeruginosa* を植種する。シリコンキャップをした後、一定条件の下で培養し増殖の様子を確認する。バクテリア計数盤 (ERMA) を用いて経時的に細胞数を計数する事により、増殖の様子を確認した。

2-2-2. 抽出系培養実験 各種大型水生植物を破碎し、純水を用いて10g-wet/100mlの濃度となるように抽出液を調整する。100mlの培地に抽出液を15mlずつ添加した後 *M. aeruginosa* を植種し、一定条件下での増殖の様子を比較検討した。対照となる系には抽出液の代わりに等量の純水を添加した後、*M. aeruginosa* を植種した。

2-2-3. 抑制効果の濃度依存性確認実験 *M. aeruginosa* に対する増殖抑制効果が確認されたシュロガヤツリの根とホテイアオイについて、それぞれ添加量を2.5g, 5.0g, 10g, 20g-wetと変化させて濃度の違う抽出サンプルを作り、抽出系と同様の実験方法でそれぞれの増殖の様子を比較検討した。

2-2-4. 抽出液の有する抑制効果の保持日数確認実験 シュロガヤツリの根から濃度が20g-wet/100mlとなるように抽出した抽出液を室温20度の一定条件で静置保存する。抽出初日から24時間ごとにこの抽出液を新たな培地に添加し、*M. aeruginosa* を植種した。その増殖の様子を比較して、*M. aeruginosa* に対する増殖抑制効果が保持される期間を確認する。

3. 実験結果

3-1. 共存系培養実験 オランダガラシのグラフは掲載していないが4種の植物全てにおいて *M. aeruginosa* の増殖が抑制されることが確認された(図-1)。増殖抑制の度合いが一番大きかった水生植物はシュロガヤツリの根の部分とホテイアオイであり、両植物とも *M. aeruginosa* を完全に死滅させる効果が認められた。またこれに対し、コカナダモ、オランダガラシ、シュロガヤツリの葉及び茎を投入した場合には最大増殖量が抑制されるだけに留まった。大型水生植物を培地内に投入することで、光の遮蔽によって *M. aeruginosa* の増殖が抑制される可能性も考えられる。また栄養

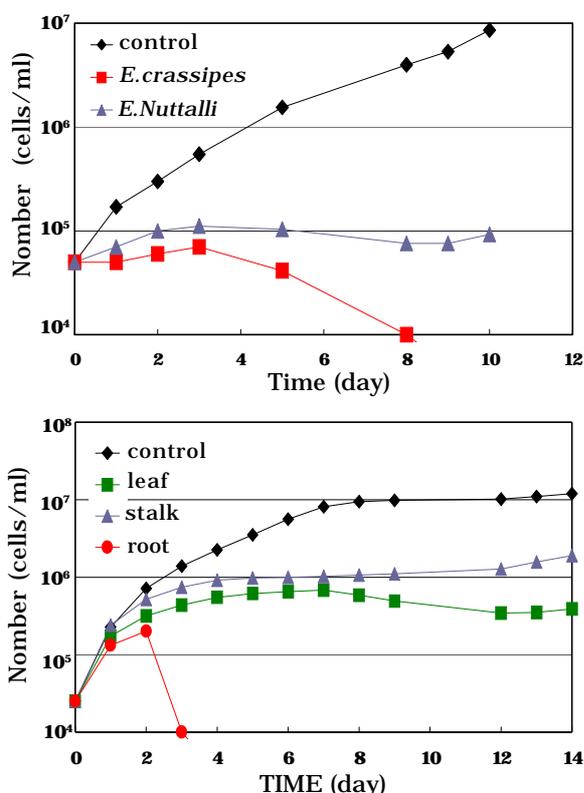


図-1 共存系培養実験結果
上：ホテイアオイ、コカナダモ
下：シュロガヤツリ

キーワード：アレロパシー、大型水生植物、藍藻類の増殖抑制

連絡先：〒812-8581 福岡県福岡市東区箱崎6-10-1 九州大学大学院工学府都市環境システム工学専攻

TEL 092-642-3241

塩の競合も懸念された。そこで遮光による影響については、水生植物を投入した状態で三角フラスコの底部の照度を測定し、同等の照度条件下で*M. aeruginosa*を培養したところ、増殖速度および最大増殖量が極端に抑制されなかった事を確認した。また栄養塩競合は、実験終了時にリン酸態リンと三態窒素の濃度を測定し*M. aeruginosa*の増殖に影響を及ぼさない十分量の栄養塩が残っていた事を確認した。以上より、後述する遮光の影響がほとんど無い抽出系実験の結果ともあわせて、本実験の条件下では、栄養塩の競合や遮光は*M. aeruginosa*の増殖抑制に影響を及ぼさないと考えられる。したがって、大型水生植物のアレロパシーが*M. aeruginosa*の増殖抑制の要因であると考えられる。

3-2. 抽出系培養実験 各種水生植物から抽出した物質を添加して*M. aeruginosa*を培養したところ、抽出物を加えずに培養したときと比較して増殖が抑制されることを確認した。抽出系実験においても共存系とほぼ同様の結果が得られ、最も大きく*M. aeruginosa*の増殖を抑制した植物はシュロガヤツリの根とホテイアオイであった(図-2)。また同じ植物でありながらシュロガヤツリの茎の部分の抽出物には*M. aeruginosa*への増殖抑制効果はほとんど見られなかった。共存系実験と異なり栄養塩の競合が起こる可能性はなく、また抽出液を添加したことで培養液が褐色を呈したが、これにより遮光されることはなかった。したがって共存系実験と同様に、植物の抽出物中のアレロパシー的效果を持つ物質が*M. aeruginosa*の増殖を抑制したと思われる。

3-3. 抑制効果の濃度依存性 共存系実験、抽出系実験において顕著な効果を示したシュロガヤツリの根とホテイアオイについて抽出試料の濃度を変化させて抽出系実験を行ったところ、両方の実験系で明らかに増殖抑制の度合いが試料の濃度に依存していることが確認された(図-3)。ホテイアオイの場合*M. aeruginosa*に増殖抑制の効果を顕著に示させる為には、本研究での抽出手法の下で、少なくとも湿潤質量で2.5 g以上、シュロガヤツリの根では5.0g以上の生体量から試料を抽出する必要があることが分かった。

3-4. 抑制効果の保持期間 抽出液を20℃の定温で保存し、抽出から24時間ごとにその抑制効果を確認したところ、シュロガヤツリの根から抽出した抽出液が示す抑制効果は本実験の手法の下では5日間程度保持されることが確認された(図-4)。抽出初日の抽出液が3日で*M. aeruginosa*を完全に死滅させたのに対し、抽出後4日目の抽出液は死滅させるのに7日間を要した。なお抽出後6、7日目の抽出液には抑制効果があまり見られないことから、抽出液が示す抑制効果は日数が経過すると小さくなり最終的には消失すると考えられる。

4. 結論

共存系、抽出系実験の結果からホテイアオイ、シュロガヤツリ、コカナダモ、オランダガラシは*M. aeruginosa*の増殖を抑制する効果をもつことが分かった。そのうち最も顕著な効果を示す水生植物はホテイアオイ、シュロガヤツリの根であった。それぞれについて増殖抑制効果の濃度依存を確かめたところ、両植物に顕著な濃度依存が見られた。さらに抽出液が*M. aeruginosa*に示す効果は日数の経過とともに小さくなることが確認された。なお今後は抑制物質の定量分析と同定および*M. aeruginosa*以外のシアノバクテリア・藻類への効果確認を進めてゆく予定である。

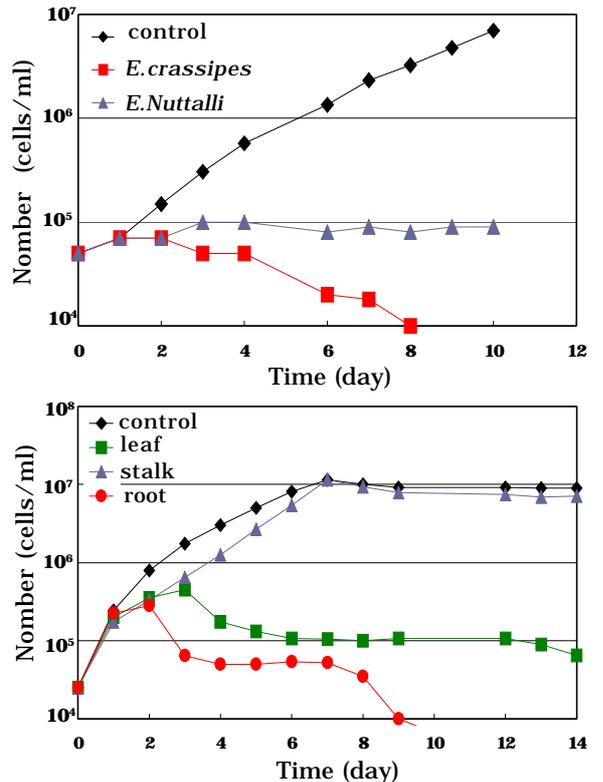


図-2 抽出系培養実験結果
上：ホテイアオイ、コカナダモ
下：シュロガヤツリ

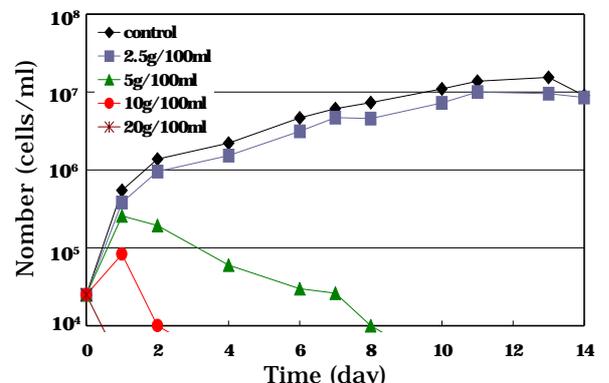


図-3 濃度変化による抑制効果の変動
(ホテイアオイ)

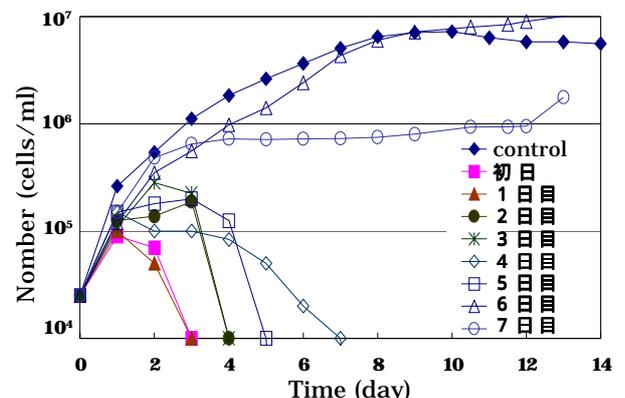


図-4 抽出液が示す抑制効果の保持期間
(シュロガヤツリの根)