

大型水生植物のアレロパシーによる *Microcystis aeruginosa* の増殖抑制効果九州大学工学部 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 フェロー 楠田哲也

## 1. 研究目的

アレロパシーとは「微生物をも含む全ての生物・植物間の生化学的な係わり合い」のことであり、植物から放出され環境に加えられる化学物質によって他者に対してなされる忌避的または促進的な相互作用を意味する。本研究では、生態系のバランスを崩すことなく植物性プランクトンの増殖を抑制する手法として大型水生植物のアレロパシーの忌避効果を利用することを目的とし、数種の植物から植物性プランクトンの増殖を抑制する効果を持つ大型水生植物の検索を行った。

## 2. 実験方法

## 2-1. 大型水生植物及び被験植物プランクトン

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 (*Eloдея 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) を対数増殖期まで前培養したものを使用した。

## 2-2. 実験手順

## 2-2-1. 共存系実験

500ml 三角フラスコに Gorham5 倍希釈培地を 200ml ずつ分注しオートクレーブにて滅菌したものに、純水で洗浄した大型水生植物をそれぞれ湿潤質量 5g ずつ加える。そこへ増殖期まで前培養した *M. aeruginosa* を接種しシリコンキャップをした後、温度 25℃、照度 5000lux、70rpm の条件下で振盪培養を行った。経時的にバクテリア計数盤 (ERMA) で細胞数を計数し、増殖の様子を各々比較検討した。

## 2-2-2. 抽出系実験

湿潤質量 10g の大型水生植物をスピードカッターで粉砕したものに純水を加えて 100ml とし、一昼夜冷暗所 (7℃) で抽出したものを 3000rpm (約 1000 G) にて 30 分間遠心分離機にかけ、上澄みを濾過したものを試料とする。300ml 三角フラスコに Gorham5 倍希釈培地を 100ml ずつ分注しオートクレーブにて滅菌した後、上記手順で作成した抽出液を 15ml ずつ加えた。対照となる系には抽出液と等量の純水を加えた。それぞれに前培養しておいた *M. aeruginosa* を接種し、温度 25℃、照度 5000lux、70rpm の条件下で振盪培養を行い、共存系と同様の方法で増殖の様子を比較検討した。

## 2-2-3. 抽出物濃度効果実験

前述の実験により忌避効果が確認された数種の植物について、植物の添加量を 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。

## 3. 結果及び考察

## 3-1. 共存系実験

シュロガヤツリの結果は図示されていないが、4 種の植物全てにおいて、植物が共存することにより *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った。ホテイアオイの場合、2.5g-wet/100ml 程度の添加で完全な増殖抑制効果が認められた。また、シュロガヤツリの根とホテイアオイを共存させた場合、*M. aeruginosa* が完全に死滅していたのに対し、コカナダモとオランダガラシを共存させた場合には最大増殖量が抑制されるだけに留まった。

大型水生植物と *M. aeruginosa* を共存培養させるため、栄養

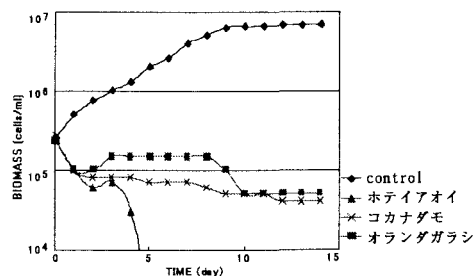


図-1 共存系実験結果

塩の競合及び光の遮蔽によって *M. aeruginosa* の増殖が抑制される可能性も考えられる。そこで栄養塩競合は、実験開始時と実験終了時でリン酸態リンと三態窒素の濃度を測定し、実験が終了した時点で *M. aeruginosa* の増殖に影響を及ぼさない十分量の栄養塩が存在した事を確認した。遮光による影響は、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も確認した。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、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、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-2,3)。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物質が *M. aeruginosa* の増殖を抑制したと思われる。

また各抽出物の色と *M. aeruginosa* への増殖抑制効果を見比べたところ、茶褐色に呈色した抽出物により大きく増殖抑制の効果が見られたため、*M. aeruginosa* の増殖を抑制しているアレロパシー物質は何らかの酸化物質であると推定される。

### 3-3. 濃度による効果

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、ホテイアオイ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-4)。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 以上の生体量から試料を抽出し、100ml の培地に 15ml を添加する必要があることが分かった。シュロガヤツリの根を用いた同様の実験においても、ホテイアオイと同様に試料の濃度に依存して *M. aeruginosa* の増殖が抑制されることを確認した。

### 4. 結論

共存系、抽出系実験の結果からホテイアオイ、シュロガヤツリの根、コカナダモ、オランダガラシは *M. aeruginosa* の増殖を抑制するアレロパシー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。なお今後、アレロパシー物質の分析と同定および *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。

### [参考文献]

1) Elroy L. Rice; Allelopathy, Academic Press, Inc. (1984)

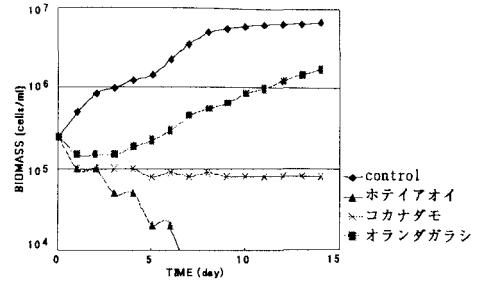


図-2 抽出系実験結果

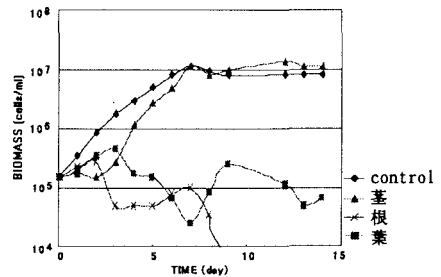


図-3 抽出系実験結果  
(シュロガヤツリ)

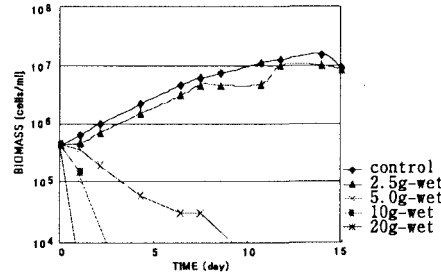


図-4 抽出物濃度の違いによる *M. aeruginosa* への増殖抑制効果の変動 (ホテイアオイ)