

B-17 水圏モデル生態系マイクロコズムを用いた 外来生物の生態系機能に及ぼす影響評価

○林 秀明^{1*}・村上 和仁²

¹千葉工業大学大学院工学研究科(〒275 - 8588千葉県習志野市津田沼2 - 17 - 1)

²千葉工業大学工学部生命環境科学科(〒275 - 8588千葉県習志野市津田沼2 - 17 - 1)

* E-mail: s0723206XU@it-chiba.ac.jp

1. 目的

生態工学を活用した環境修復手法の一つとしてバイオマニピュレーションが挙げられる。バイオマニピュレーションは、食物連鎖を利用し、過剰増殖した植物プランクトンの抑制や富栄養状態となった水質を改善しようとする環境修復手法である。電力などのエネルギーを必要としない利点が挙げられるが、生物を利用するため、外来種による生態系の侵略という生態学的問題を伴う。そのため、個体数変動やP/R比（光合成による生産／呼吸量の比）のような生態系機能に基づいた規格による評価が必要となる。P/R比の有効性は、測定が容易、システム全体の変化で生態系評価が可能な点、単一生物や人間を含む様々な系に適応可能な点等が挙げられる。本研究では、バイオマニピュレーションにおける導入生物に対する基礎的知見の集積を目的として、高い再現性と系の安定性が特徴であるGnotobiotic型マイクロコズムを用いて構成微生物群の個体数変動とP/R比に着目して検討を行った。

2. 方法

(1) 供試マイクロコズム

本研究ではGnotobiotic型マイクロコズムを使用した。マイクロコズムは自然水域の一部をフラスコ内で培養したものであり、温度や照度、有毒物質の添加等人工的に様々な条件を組み合わせることで、生態系システムに及ぼすさまざまな影響をリスク評価できる。マイクロコズムを構成する生物相の変遷は変動期と安定期に分類される。変動期において各構成生物は培地を基に増加、減少を繰り返し、やがて構成生物種は安定した個体数を維持し安定期となる。マイクロコズムには、Gnotobiotic型の他にも、Stress-selected型マイクロコズム、Naturally-derived型マイクロコズム等がある。Gnotobiotic型マイクロコズム



図1. マイクロコズム

ムは生産者として2種の緑藻類である*Chlorella* sp., *Scenedesmus* sp., 1種の糸状藻類*Tolypothrix* sp., 捕食者として1種の原生動物繊毛虫類*Cyclidium glaucoma*, 2種の後生動物輪虫類*Lecane* sp., *Philodina* sp., 1種の後生動物貧毛類*Aeolosoma hemprichi*, 分解者として4種の細菌類*Bacillus cereus*, *Pseudomonas putida*, *Acinetobacter* sp., *Corynebacterium*の組み合わせで構成されている。

(2) 導入生物負荷

高次捕食者としての原生動物*C. glaucoma*を導入生物の負荷として、マイクロコズム培養開始16日目に添加した。添加量（負荷量）は、培養開始後16日目現存量の1, 2, 5, 10倍とした。

(3) 培養方法および測定項目

マイクロコズムの培養は、ポリペプトン濃度が50 mg/lとなるように調整したTP 培地（Taub+polypeptone）200 mlを300 ml 容三角フラスコに入れ、2ヶ月間継代培養しているマイクロコズムを種として5 ml 接種した後、温度25℃、照度2400lux（明12hr、暗12hr）、静置条件下で行った。培養開始後、0, 2, 4, 7, 14, 16, 18, 20, 23, 30日目にマイクロコズム構成生物の個体数をグリッド付き界線ライドグラスを用いて光学顕微鏡下にて計数した。

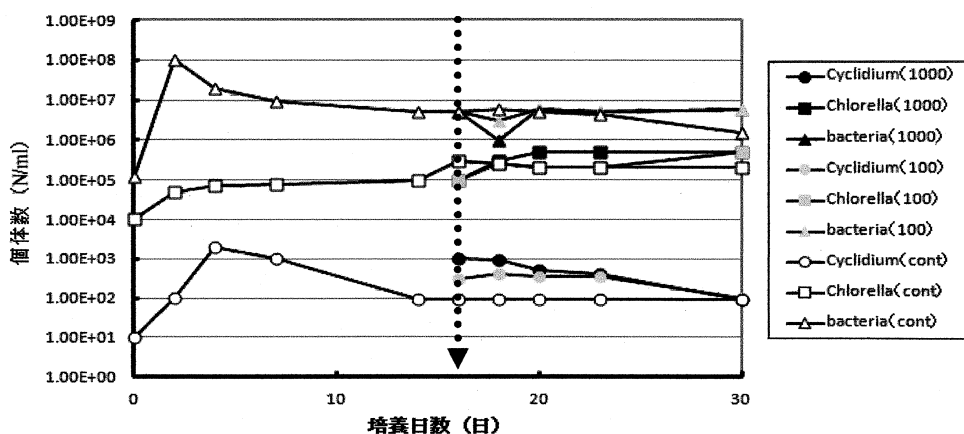


図2 *Cycloidium glaucoma* 添加系におけるマイクロコズム構成生物の挙動パターンの比較

(4) 評価方法

P/R比の推移と構成生物相を対照系（非添加系）と比較し、原生動物*C. glaucoma*が生態系に及ぼす影響を評価した。評価方法は、①構成微生物の挙動パターンからの評価として、添加後14日間のP/R比の挙動パターンを対照系と比較、②安定期の個体数（ N_{90} ）からの評価として*C. glaucoma*添加後14日目（培養開始30日目）における各構成微生物の個体数を対照系と比較、③添加後の現存量（ B_{16-30} ）からの評価として*C. glaucoma*添加後14日間の各構成微生物の現存量を対照系と比較の3種類とした。

3. 結果および考察

(1) 対照系におけるマイクロコズム構成生物相の遷移

対照系（非添加系）は培養開始後、培地中のペプトンを基質として増殖速度の速い細菌類が増殖した。その後細菌捕食性の原生動物*C. glaucoma*が増殖した細菌類を基に増殖する。*C. glaucoma*の捕食圧により細菌類は減少するが、緑藻類*Chlorella* sp., *Scenedesmus* sp.が光合成によって増殖し、その際生じた代謝産物が基質として供給されるため、細菌類は一定の個体数を維持し安定する。また、*C. glaucoma*も細菌類の減少に伴い個体数が減少し、一定の個体数を維持するようになり、両者の捕食被食関係のバランスは保たれる。緑藻類が増殖すると、微小後生動物である*Lecane* sp., *Philodina* sp., *A. hemprichi*が緑藻類を捕食することで増殖する。これらの捕食圧により緑藻類はほぼ一定の個体数を維持して安定する。やがてフラスコ内のバイオマスが増えると、少量の光でも増殖することができる糸状藻類*Tobrythrix* sp.が緩やかに増殖するが、*A. hemprichi*の捕食作用によりやがてほぼ一定の個体数を

維持する。このようにマイクロコズムは培養開始後14日で安定期に達し各構成生物が一定の個体数を維持しながら共存する系が構築される。そのため、培養開始から14日目の時点で全ての構成種が共存した状態が構築されなければ、その後の安定した系は構築することができない。これらのことより、エンドポイントを導入生物の添加後14日間（培養開始30日）に設定して、影響評価を行った。

(2) *Cycloidium glaucoma*添加系における生物相の遷移

一次消費者である原生動物*C. glaucoma*は、1倍量添加系において添加後直ちに細菌類が減少し、緑藻類*Chlorella* sp., *Scenedesmus* sp.の個体数が緩やかに増加した。10倍量添加系では、添加後直ちに細菌類が減少し、緑藻類*Chlorella* sp., *Scenedesmus* sp., 後生動物である*Lecane* sp., *Philodina* sp., *A. hemprichi*が増殖した。

構成微生物の個体数変動を図2に示す。添加量に比例して細菌類が減少し、緑藻類*Chlorella* sp.が増殖した。各構成生物はマイクロコズム内の系から消失しないことから、捕食被食（直接的相互作用）と代謝産物（間接的相互作用）が系内において機能していると考えられた。

培養30日目の個体数（ N_{30} ）の比較を図3に示す。低負荷では緑藻類*Chlorella* sp., 高負荷ではワムシ類*Philodina* sp.が反応していることが示された。

添加後の現存量（ B_{16-30} ）の比較を図4に示す。原生動物*C. glaucoma*と捕食被食関係のない緑藻類*Chlorella* sp.が反応していることから消費者と生産者の間に生物間相互作用が存在しているものと考えられた。

(3) 生物導入の影響評価

*C. glaucoma*導入は添加量により系に及ぼす影響が異なること、動的平衡作用により各構成微生物は概ね導入前

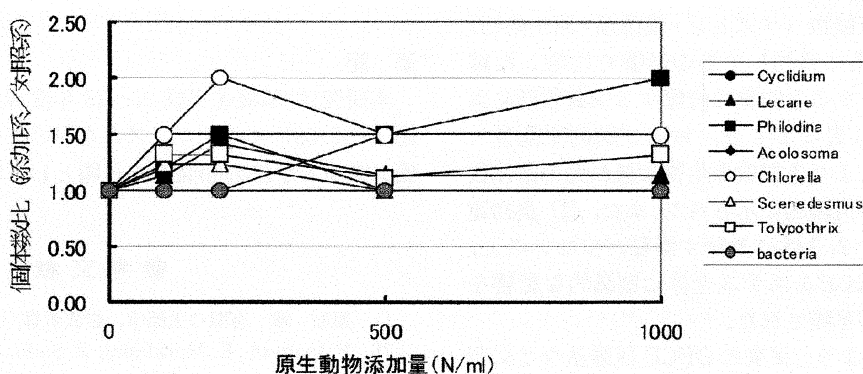


図3 *Cyclidium glaucoma* 添加系におけるマイクロコズム構成生物の安定期の個体数 (N_{30}) の比較

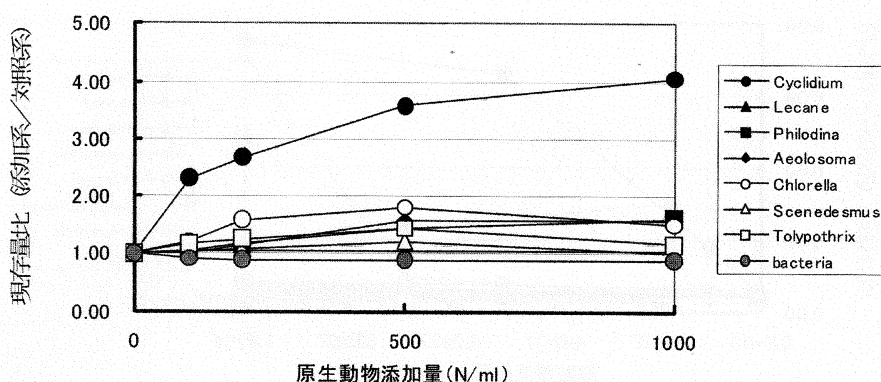


図4 *Cyclidium glaucoma* 添加系におけるマイクロコズム構成生物の現存量 (B_{16-30}) の比較

の個体数密度に収束することが示された。またこれらのことより、従来のOECD試験法に記載されている単一種による影響評価試験の他に、本研究で用いたマイクロコズムシステムのような系の安定性、再現性が高く繰り返し実験が可能なシステム全体を考慮したモデル微生物生態系が有用なツールの一つになり得ると考えられた。

4. まとめ

高次捕食者である原生動物を添加した場合、*C. glaucoma*は系内で優占化することなく減少し、また食物源である細菌類は一時的に減少するものの、*C. glaucoma*の個体数が添加前と同レベルに収束するに従い添加前のレベルに回復した。

添加量により系に及ぼす影響は異なり、マイクロコズムの構成微生物群集は異なる挙動を示した。一方、特定の栄養段階に位置する生物を人為的に導入しても、マイクロコズム内の動的平衡作用により各種構成微生物は概

ね添加前の個体数に回復することが示された。

追記

本研究は、環境省平成21~23年度環境研究総合推進費課題「(S2-09) マイクロコズムを用いた生態系リスク影響評価システム手法の開発」の一環として実施された。

参考文献

- Inamori, Y., Murakami, K., Sudo, R., Kurihara, Y. and Tanaka, N. (1992) Environmental Assessment Method for Field Release of Genetically Engineered Microorganisms using Microcosm Systems, Water Science and Technology, Vol.26, No.9-11, pp.2161-2164.
- Beyers, R.J. and Odum, H.T. (1993) Ecological Microcosms, Springer-Verlag New York Inc., 557pp.
- 村上和仁、林 秀明 (2011) 栄養段階の異なる有機負荷におけるマイクロコズム構成微生物群の応答、千葉工業大学研究報告 理工編、NO.58、pp.11-17.