

## 第4章 微小動物の組み合わせによる *Microcystis* 属の捕食分解特性

### 4-1 序

水圏生態系は一次生産者（藻類）を起点として、それを捕食する鞭毛虫、原生動物、後生動物、小型の動物プランクトン、大型の動物プランクトン、魚類およびそれらの代謝産物を利用する細菌、菌類などが相互に作用し合った食物連鎖が構成されている。食物連鎖のなかで各栄養段階を担う生物の構成種や相互作用は湖沼や季節によって様々である。しかしながら、霞ヶ浦<sup>93)・95)</sup>、諏訪湖<sup>94)</sup>などの富栄養湖沼の多くは夏季を中心に藍藻類の *Microcystis* 属の異常発生が起こっている。とくに、*Microcystis* 属がアオコを形成する最盛期には直接 *Microcystis* 属を捕食する動物プランクトンは少なく、いずれの湖沼においても *Microcystis* 属は生態系の食物連鎖から外れている<sup>96)・97)</sup>。このような *Microcystis* 属の低減化を図る上では、*Microcystis* 属が食物連鎖からはずれる要因を把握し、*Microcystis* 属を消費する食物連鎖を人為的に構成することが有効な手段になると考えられる。そのためには、まず、*Microcystis* 属を捕食する微小動物の探索とその捕食特性を明らかにする必要がある。第3章で *Microcystis* 属捕食性の微小動物として *M. guttula* の有効性が確認されたが、*Microcystis* 属の群体形成が *M. guttula* の捕食圧を低下させる要因であることが示唆された。したがって、実際の湖沼で繁茂する群体状の *Microcystis* 属を *M. guttula* に迅速に捕食させ分解促進を図る上では、*M. guttula* が捕食できるように群体を単細胞に分散させ、しかも *M. guttula* と共存できる微小動物を起用することが必要と考えられる。

現在まで、*Microcystis* 属を捕食し、しかも凝集体の分散作用を有する微小動物である貧毛類 *Aeolosoma hemprichi* の培養に成功している。さらに、*A. hemprichi* の増殖を促進させる上では、輪虫類 *Philodina erythrophthalma* との共存が有効であるという知見も得られている<sup>58)・60)</sup>。しかし、これらの微小動物が *M. guttula* と共存し、群体状の *Microcystis* 属の分解促進に有効に作用するかについては明らかにされていない。

そこで本章では、群体状および分散状 *Microcystis* 属の培養株を用い、*M. guttula*、

*P.erythrophthalma* および *A.hemprichi* のそれぞれを単独および組み合わせで捕食実験を行い、各微小動物の動態と *Microcystis* 属に対する分解作用を検討し、さらに、群体状 *Microcystis* 属の自然株を用い、各微小動物の捕食による *Microcystis* 属の分解促進効果を検討した。

## 4-2 実験材料および方法

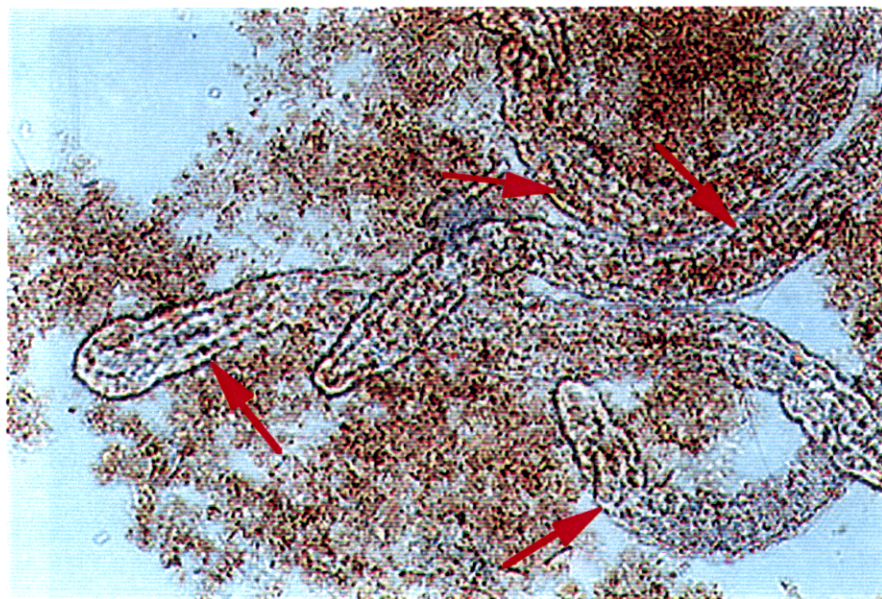
### 4-2-1 *Microcystis* 属の培養株（群体および分散）に対する微小動物の捕食分解特性

#### 1) 供試微小動物とその培養方法

供試微小動物は *Microcystis* 属を捕食する貧毛類 *Aeolosoma hemprichi*（体長約 1,000 $\mu\text{m}$ : Photo4-1）、輪虫類 *Philodina erythrophthalma*（体長約 300 $\mu\text{m}$ : Photo4-2）、鞭毛虫類 *Monas guttula*（体長約 20 $\mu\text{m}$ ）を用いた。各微小動物の供試前の培養液には、微小動物の食物となる *Microcystis viridis*（NIES 102 株）を滅菌済み蒸留水に乾燥重量で約 50mg $\cdot\text{l}^{-1}$  の濃度になるように懸濁させたものを用いた。各微小動物の培養方法としては、上記の培養液を複数個の滅菌済み 300ml 容の三角フラスコに 150ml ずつ分注し、そこに各微小動物をそれぞれの種類ごとに接種して、暗所、静止条件にて最大個体数になるまで温度 25 $^{\circ}\text{C}$  でインキュベートした。

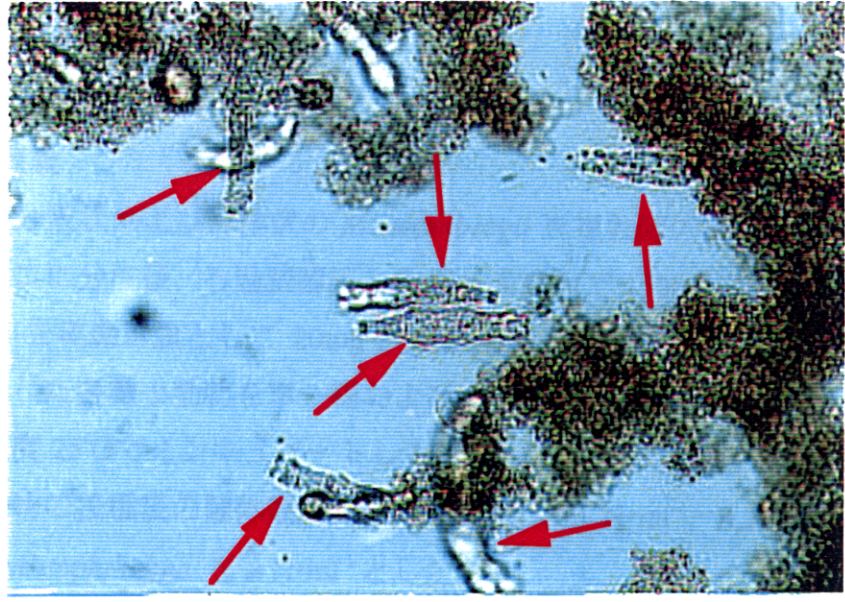
#### 2) 供試藻類の培養と実験の前処理

供試藻類は霞ヶ浦から分離し、現在まで系統保存された分散状および群体状の *Microcystis wesenbergii* を用いた。*M.wesenbergii* を供試した理由は、同種で群体状および分散状のそれぞれの形態ごとの培養に成功し、かつ群体状のものは顕微鏡下でシースがはっきりと確認され、群体が強固であると考えられたからである。両者の培養は M11 培地を用いて行った。まず、10L 容の耐熱ガラス容器に M11 培地を 9L 入れ、オートクレーブで滅菌（121 $^{\circ}\text{C}$ 、20min）した後、室温（約 25 $^{\circ}\text{C}$ ）まで冷却し、無菌的に *M.wesenbergii* を接種した。ついで、25 $^{\circ}\text{C}$



500 $\mu$ m

Photo 4-1 Photomicrograph of oriocheta,  
*Aeolosoma hemplichi*



300 $\mu$ m

Photo 4-2 Photomicrograph of rotifera,  
*Philodina erythrophthalma*

の恒温室にてフィルター（0.2 $\mu$ m）を通した除菌空気を 1L $\cdot$ min<sup>-1</sup> の速度で送り容器の底部から曝気し、蛍光灯を用いて容器の外部から 12 時間周期で照度 2,000Lux の光を照射し、培養を行った。この培養条件において対数増殖期である約 20 日目の *M.wesenbergii* を無菌的に実験に必要な量を採取し、あらかじめ 0.2 $\mu$ m のメンブランフィルターでろ過滅菌しておいた霞ヶ浦の湖水で 2 回洗浄し、培地の成分を取り除いた。

### 3) 捕食分解実験

前処理した分散状および群体状の *M.wesenbergii* を複数個の滅菌済みの 300ml 容三角フラスコに分注後、ろ過滅菌済みの霞ヶ浦湖水で 150ml にメスアップし、*M.wesenbergii* を乾燥重量として 20mg $\cdot$ l<sup>-1</sup> の濃度に調整した。つぎに、各三角フラスコに培養した各微小動物を単一種および各種混合で接種して、暗所、60rpm の振とう、温度 25 $^{\circ}$ C でインキュベートし *Microcystis* の捕食実験を開始した。なお、各微小動物の接種後の個体数は、*M.guttula* を 100 N $\cdot$ ml<sup>-1</sup>、*A.hemprichi* を 2 N $\cdot$ ml<sup>-1</sup>、*P.erythrophthalma* を 4 N $\cdot$ ml<sup>-1</sup> とした。

各実験系について微小動物の個体数、*Microcystis* 属の細胞数、クロロフィル *a* 濃度を測定した。

#### 4-2-2 *Microcystis* 属の自然株（群体状）に対する微小動物の捕食分解特性

##### 1) 供試微小動物

供試微小動物は、*A. hemprichi*、*P.erythrophthalma*、*M.guttula* を用いた。各微小動物の供試前の培養は 4-2-1 の 1) に従った。

##### 2) 供試藻類とその前処理

供試藻類は、霞ヶ浦の土浦港湾部から採取したアオコを用いた。アオコ形成種は *Microcystis* 属で、そのうち *Microcystis aeruginosa* が大半を占め、*M.wesenbergii* と *M.viridis* はわずかであり、いずれも群体状であることが顕微鏡観察から確認された。なお、他の藻類および微小動物はこの時点では観察され

なかった。

実験前処理として、この *Microcystis* 属を 0.2 $\mu$ m のメンブランフィルターでろ過滅菌した霞ヶ浦湖水で 2 回洗浄し、同様の湖水に洗浄済みの *Microcystis* 属を乾燥重量として 200mg $\cdot$ l<sup>-1</sup> の濃度に懸濁させた。

### 3) 捕食分解実験

前処理した *Microcystis* 属の懸濁湖水を複数個の滅菌済みの 300ml 容三角フラスコに 150ml ずつ分注した。つぎに、各三角フラスコに培養した各微小動物を単一種および各種混合で接種して、暗所、60rpm の振とう、温度 25 $^{\circ}$ C でインキュベートし *Microcystis* の捕食実験を開始した。なお、各微小動物の接種後の個体数は、*M.guttula* を 100 N $\cdot$ ml<sup>-1</sup>、*A.hemprichi* を 2 N $\cdot$ ml<sup>-1</sup>、*P.erythrophthalma* を 4 N $\cdot$ ml<sup>-1</sup> とした。

各実験系について微小動物の個体数、*Microcystis* 属の細胞数、クロロフィル *a* 濃度を測定した。

## 4-3 結果および考察

### 4-3-1 *Microcystis* 属の培養株（群体および分散）に対する微小動物の捕食分解特性

#### 1) 分散状 *Microcystis* 属に対する微小動物の捕食分解特性

分散状 *M.wesenbergii* の分解に及ぼす各微小動物の単一種および各種混合接種による捕食作用を検討した。*M.guttula* 単一接種系および対照系における *M.wesenbergii* の細胞数変化を Fig.4-1a に示す。両系の *M.wesenbergii* の細胞数は  $6.2 \times 10^5$  N $\cdot$ ml<sup>-1</sup> であったが、*M.guttula* 単一接種系は実験 1 日目から 4 日目にかけて急速に減少し、以降 6 日目まで緩やかに減少した。結局、*M.wesenbergii* の細胞は 4 日目の時点で初期の 83%、6 日目では 93% が消失した。一方、対照系では 6 日目も  $6.0 \times 10^5$  N $\cdot$ ml<sup>-1</sup> でほとんど変化がなかった。*M.guttula* の個体数変化をみると、初期の 50 N $\cdot$ ml<sup>-1</sup> から 3 日目には 12,500 N $\cdot$ ml<sup>-1</sup> に指数的な増加が

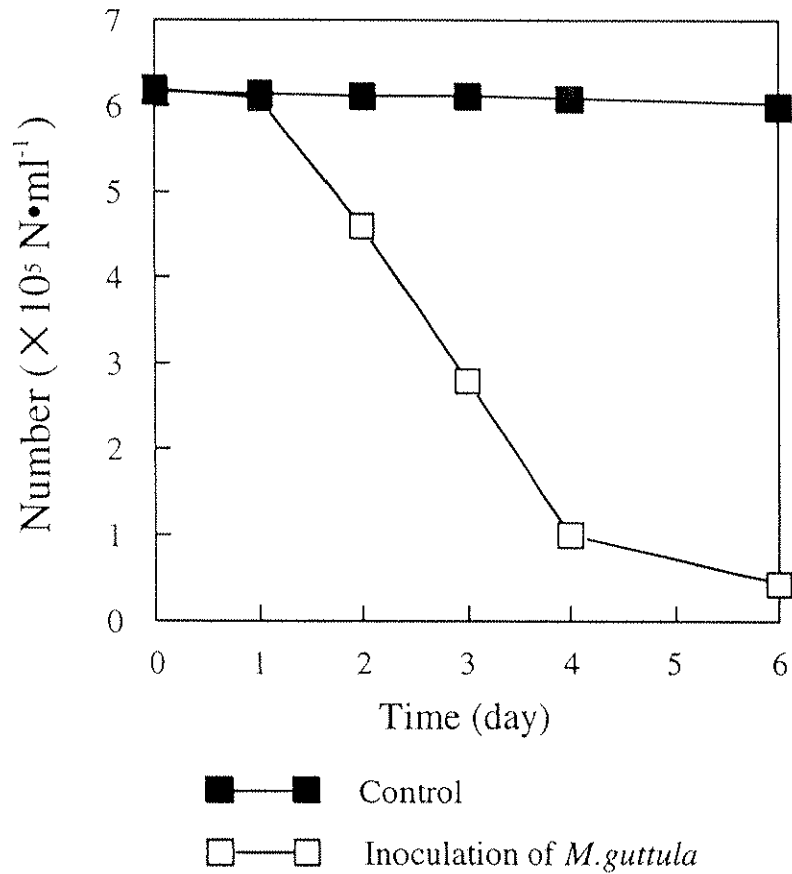


Fig.4-1a Changes in cell number of *M.wesenbergii* in the predation and degradation testing system with *M.guttula*.  
Singly dispersed cell of *M.wesenbergii* was used.

認められた (Fig.4-1b)。

三種混合接種系 (*A.hemprichi*、*P.erythrophthalma*、*M.guttula* を混合接種) および対照系における *M.wesenbergii* の細胞数変化を Fig.4-2a に示す。三種混合接種系の *M.wesenbergii* の細胞も *M.guttula* 単一接種系 (Fig.4-1b) と同様に減少し、その減少パターンもほぼ一致した。三種混合接種系における各微小動物の個体数変化を Fig.4-2b に示す。各微小動物のうち顕著に増殖が認められたのは *M.guttula* のみであった。一般に、同一の食物源を利用する複数種の微生物が一つの培養系に同時に存在した場合、種間競争などの相互作用が働き、増殖速度の遅い種が消滅していく<sup>98)</sup>。しかし、本実験では、それ以外の相互作用として、三種の微小動物は同一の食物源 (*M.wesenbergii*) を利用し増殖するが、そのうちサイズの小さい *M.guttula* が *A.hemprichi* や *P.erythrophthalma* に捕食され、増殖できないことが考えられる<sup>99)</sup>。*M.guttula* 単一接種系および三種混合接種系における *M.guttula* の比増殖速度 ( $\mu$ ) を実験初期から 2 日目までのデータより以下の式で計算し、両者を比較した。その結果、*M.guttula* 単一接種系は  $\mu=2.25\text{d}^{-1}$ 、三種混合接種系では  $\mu=2.30\text{d}^{-1}$  となり、その差はほとんど認められなかった。ここで、各微小動物の単一接種系および各種混合接種系における実験終了時 (6 日目) のクロロフィル *a* の除去率を Fig.4-3 に示す。*M.guttula* を接種した全ての系はクロロフィル *a* の除去率が 90% 以上となったが、*A.hemprichi* と *P.erythrophthalma* を単一あるいは二種混合で接種した系では除去率は低く、22% 以下となった。以上より、*M.guttula* は *A.hemprichi* や *P.erythrophthalma* の存在下でも増殖し、分散状の *M.wesenbergii* を速やかに捕食できることがわかった。

## 2) 群体状 *Microcystis* 属に対する微小動物の捕食分解特性

群体状 *M.wesenbergii* の分解に及ぼす各微小動物の単一種および各種混合接種による捕食作用を検討した。*M.guttula* 接種系における群体状 *Microcystis* 属の細胞数変化を Fig.4-4a に示す。対照系の *M.wesenbergii* は実験終了時 (17 日目) には実験初期の細胞数のわずか 10% 程度の減少にとどまった。一方、*M.guttula* 単一接種系の *M.wesenbergii* の細胞は 4 日目から 7 日目にかけて急速に減少したものの、減少は徐々に緩やかとなり 17 日目までほぼ横這いを推移した。17 日



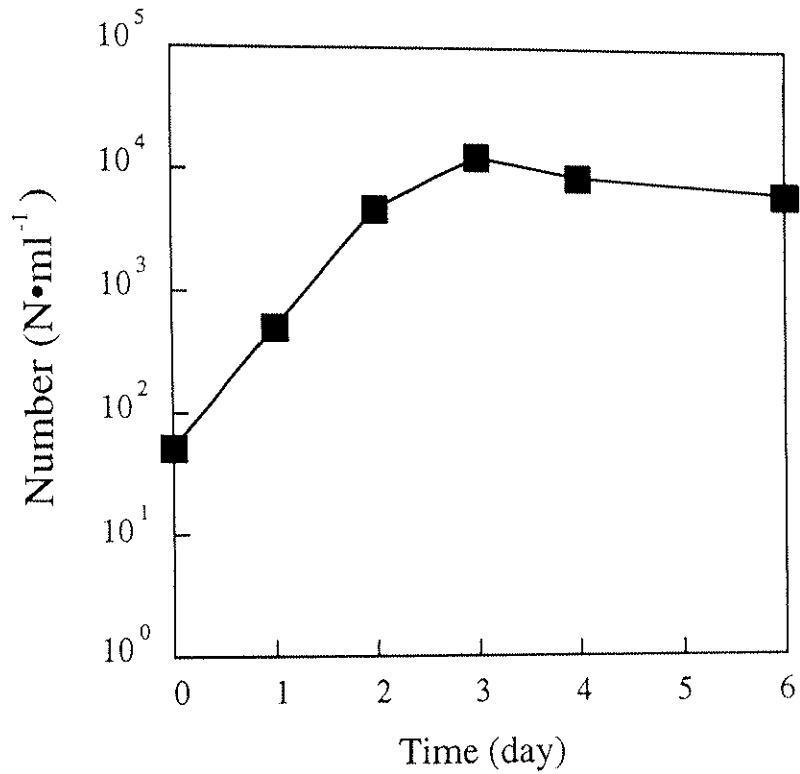


Fig.4-1b Changes in number of *M.guttula* in the predation and degradation testing system with *M.guttula*  
Singly dispersed cell of *M.wesenbergii* was used.

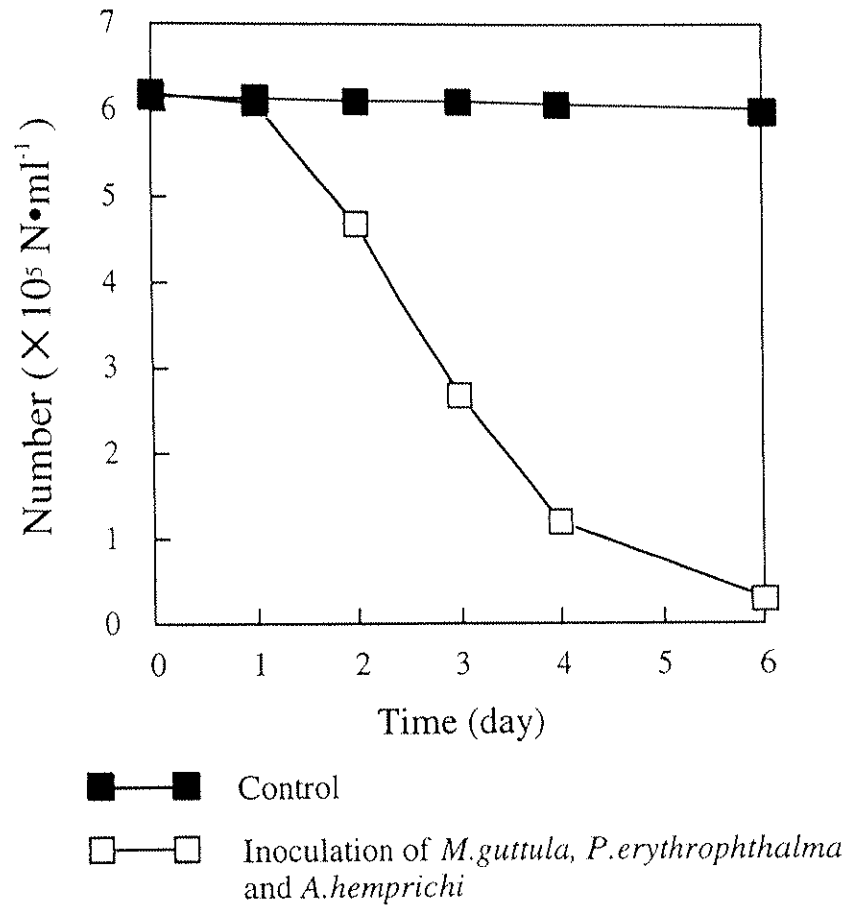


Fig.4-2a Changes in cell number of *M.wesenbergii* in the predation and degradation testing system with *M.guttula*, *Philodina erythrophthalma* and *Aeolosoma hemprichi*. Singly dispersed cell of *M.wesenbergii* was used.

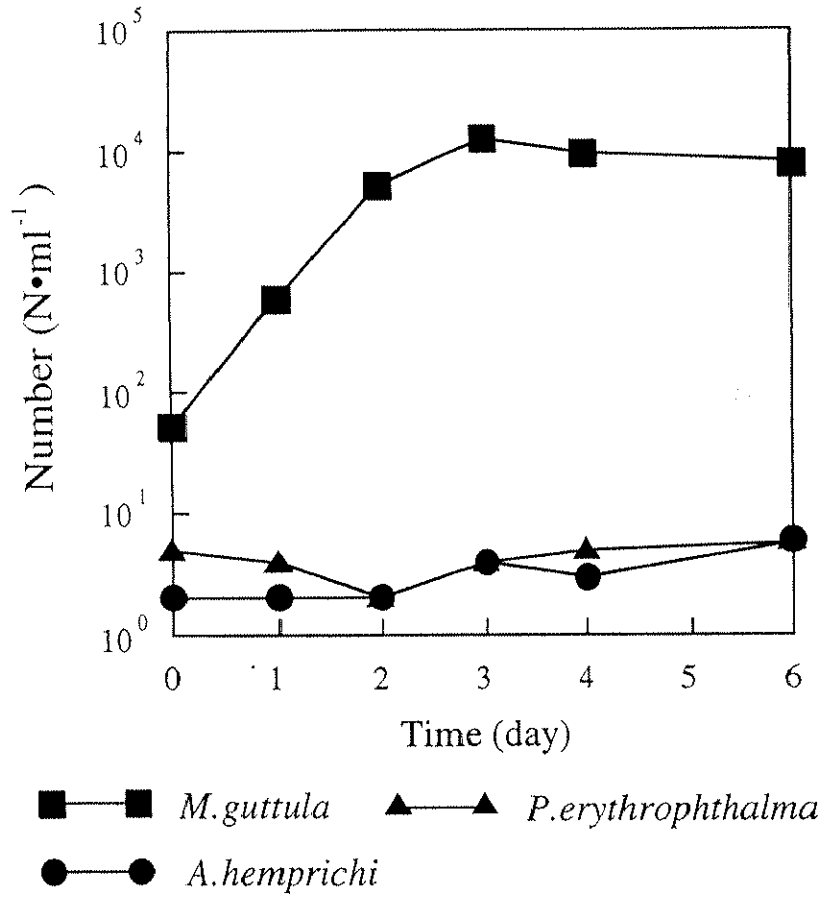
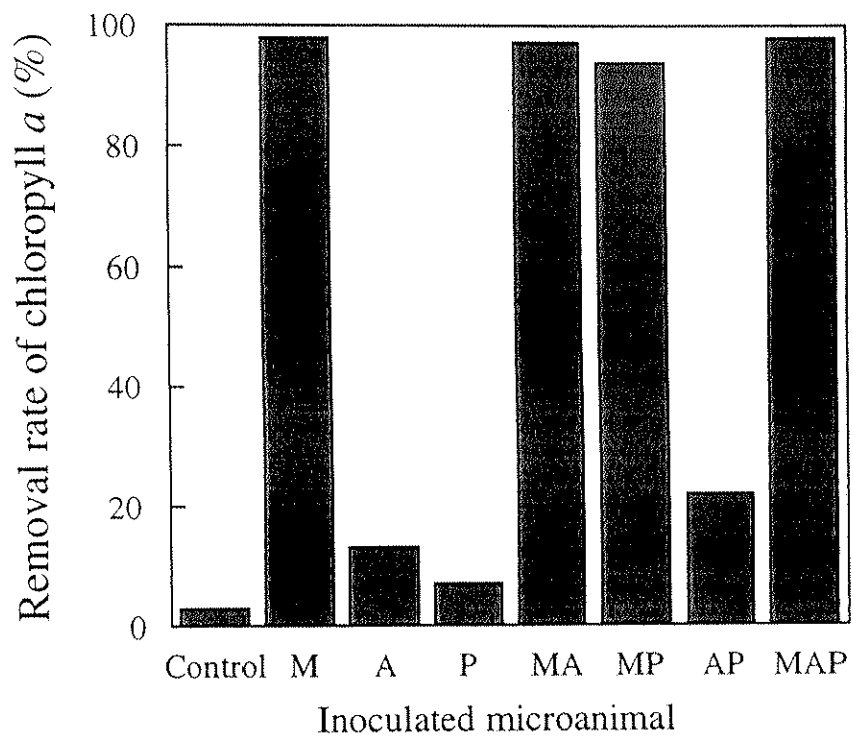


Fig.4-2b Changes in number of each micro-animal in the predation and degradation testing system with *M.guttula*, *Philodina erythroptalma* and *Aeolosoma hemprichi*.



M : *M.guttula* P : *P.erythroptalma* A : *A.hemprichi*

Fig.4-3 Removal of *M.wesenbergii* (chlorophyll *a*) using combinant micro-animals at 6 d. Singly dispersed cell of *M.wesenbergii* was used.

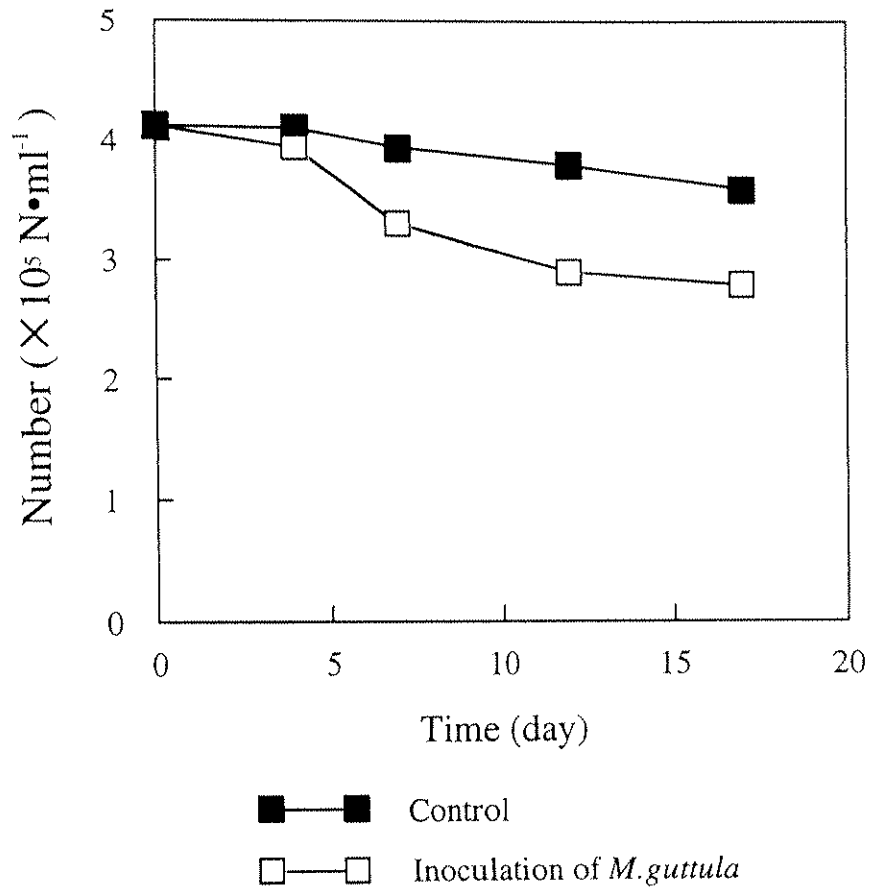


Fig.4-4a Changes in cell number of *M.wesenbergii* in the predation and degradation testing system with *M.guttula*.

Colonial type of *M.wesenbergii* was used.

目時点での *M.wesenbergii* の細胞の除去率は初期の 30% 程度となった。*M.guttula* の個体数変化を Fig.4-4b に示す。*M.guttula* は 3 日目まで、分散状の *M.wesenbergii* を食物源とした場合 (Fig.4-1b) よりも緩やかな増殖を示した。この *M.guttula* の 3 日目までの増殖は実験開始時に群体状 *M.wesenbergii* をフラスコ中の湖水に懸濁させる操作で、一部の群体に多少のダメージを与えてしまったためと考えられた。すなわち、*M.guttula* は 3 日目まで崩れかけた群体から分散し単独となった *M.wesenbergii* の細胞を捕食し増殖したものと考えられた。この分散状 *M.wesenbergii* が捕食されつくした 3 日目以後は群体状の *M.wesenbergii* のみとなり、*M.guttula* の増殖はほぼ停止した。

三種混合接種系における *M.wesenbergii* の細胞数の変化を Fig.4-5a に示す。*M.wesenbergii* の細胞は *M.guttula* 単一接種系 (Fig.4-4a) と比べると、速やかな減少が認められた。実験終了時の 17 日目には、初期の細胞の 89% が減少した。三種混合接種系における各微小動物の個体数の変化を Fig.4-5b に示す。*M.guttula* 単一接種系 (Fig.4-4b) と比べると、*M.guttula* の増殖が顕著であることがわかった。さらに、*A.hemprichi* や *P.erythrophthalma* の増殖も確認された。*M.wesenbergii* の捕食の状況を顕微鏡を用いて観察したところ、*A.hemprichi* が *M.wesenbergii* の群体を取り囲むように巻き付き捕食している様子が確認された。また、*A.hemprichi* の捕食動作で *M.wesenbergii* の群体から単独の細胞が周囲に分散し、ついでその細胞を *M.guttula* や *P.erythrophthalma* が捕食する様子も観察された。群体状の *M.wesenbergii* の減少は、*A.hemprichi* の捕食とその動作による群体の分散化と分散化した単独細胞の *M.guttula* および *P.erythrophthalma* による捕食であると考えられる。

ここで、各微小動物の単一接種系および各種混合接種系における実験終了時 (17 日目) のクロロフィル *a* の除去率を Fig.4-6 に示す。*M.guttula* と *A.hemprichi* の二種を接種した全ての系はクロロフィル *a* の除去率が 90% 以上となったが、他の系では除去率は低く、40% 以下となった。このことから、群体状の *Microcystis* 属を効率よく分解する上で、群体の捕食および分散化を促進する *A.hemprichi* と分散化した単独の細胞を迅速に捕食する *M.guttula* の組み合わせが有効であることが示唆された。

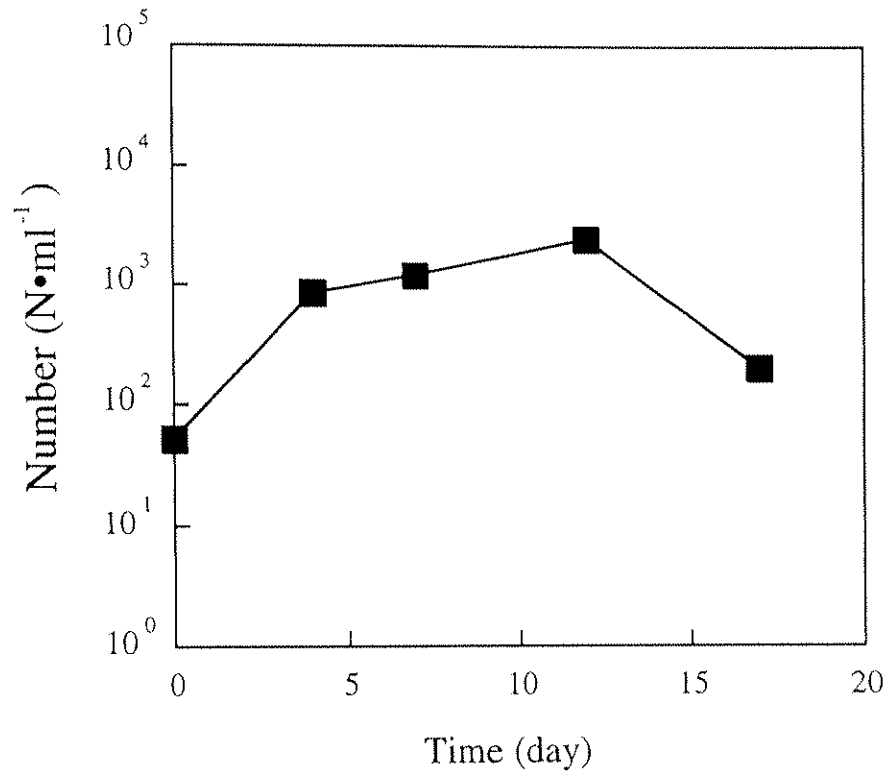


Fig.4-4b Changes in number of *M.guttula* in the predation and degradation testing system with *M.guttula*  
Colonial type of *M.wesenbergii* was used.

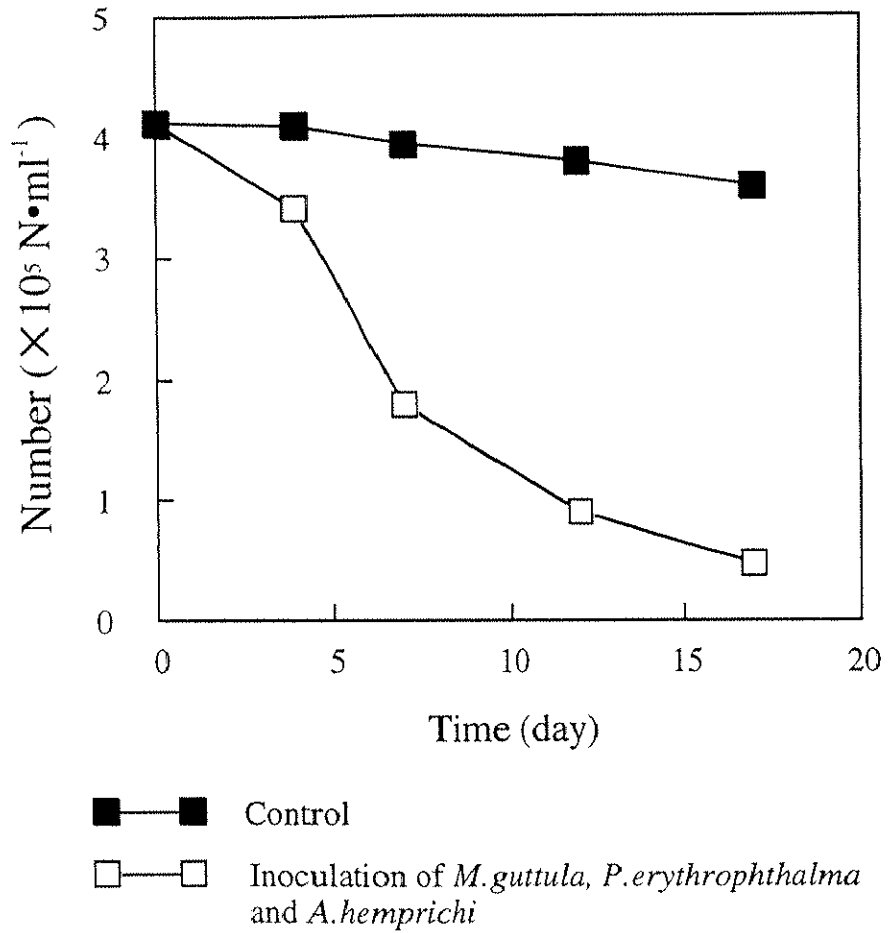


Fig.4-5a Changes in cell number of *M.wesenbergii* in the predation and degradation testing system with *M.guttula*, *Philodina erythrothalma* and *Aeolosoma hemprichi*. Colonial type of *M.wesenbergii* was used.



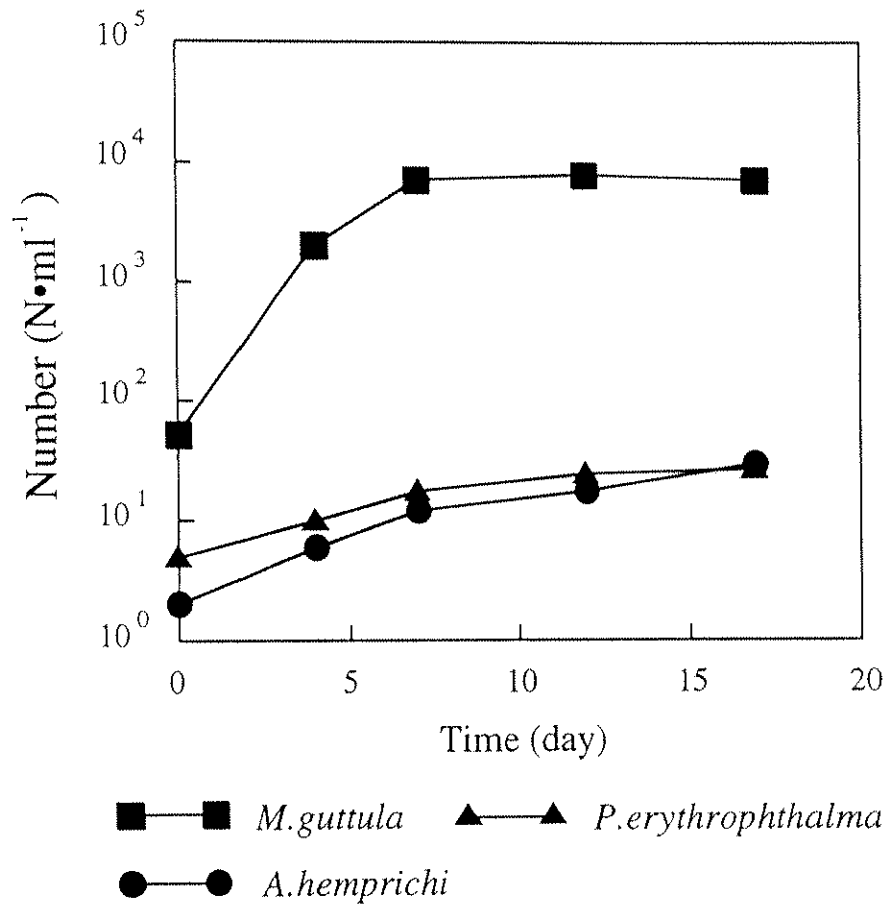
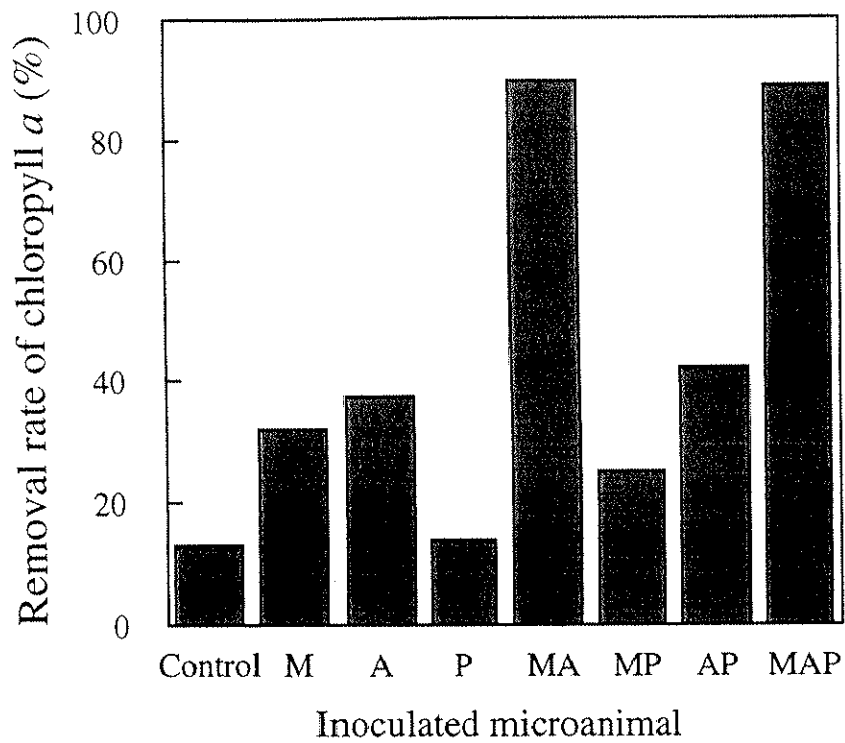


Fig.4-5b Changes in number of each micro-animal in the predation and degradation testing system with *M.guttula*, *Philodina erythroptalma* and *Aeolosoma hemprichi*. Colonial type of *M.wesenbergii* was used.



M : *M.guttula* P : *P.erythrophthalma* A : *A.hemprichi*

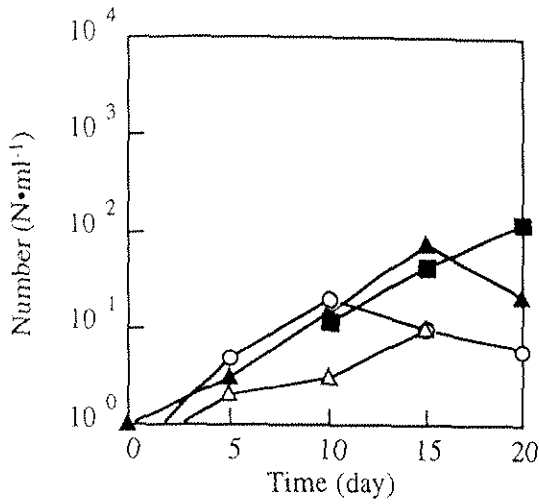
Fig.4-6 Removal of *M.wesenbergii* (chlorophyll *a*) using combinant micro-animals at 17 d. Colonial type of *M.wesenbergii* was used.

#### 4-3-2 *Microcystis* 属の自然株（群体状）に対する微小動物の捕食分解特性

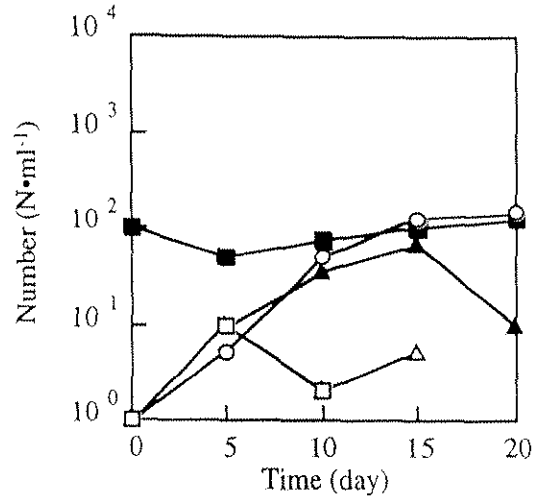
湖沼から採取した群体 *Microcystis* 属の分解に及ぼす各微小動物の捕食作用を検討した。各系における微小動物の個体数の変化を Fig.4-7 に示す。湖水を用いて、このような実験を行った場合、供試微生物以外に湖水に混入している微生物の増殖が考えられる。本実験においても対照系、微小動物接種系ともに繊毛虫類の *Oxytricha* sp., *Aspidisca* sp., *Litonotus* sp. や縁毛類 *Vorticella* sp. などの数種の微小動物が確認された。*Oxytricha* sp. や *Vorticella* sp. は 5 日目以降から増殖も認められた。ここで、興味深いのは *M.guttula* を接種しない系列でも *M.guttula* が出現し、なおかつ *A.hemprichi* を接種した系で *M.guttula* が速やかに増殖したことである。ここで、15 日目の各系におけるクロロフィル *a* の除去率を Fig.4-8 に示す。*A.hemprichi* を接種しなかった系列のクロロフィル *a* の除去率は 60% 程度であったのに対し、*A.hemprichi* を接種した系列では 98% と極めて高い除去率を示した。この結果は、本章の 4-3-1 の 2) で得られた結果と同様の作用、すなわち、*A.hemprichi* の群体を単独の細胞に分散化させる作用が *M.guttula* の捕食圧を高め、*Microcystis* 属の分解を促進したと考えられる。

このように群体を単独の細胞に分散化させる作用がある *A.hemprichi* と分散化した単独の細胞を迅速に捕食する *M.guttula* を共存させることで、分解の困難な群体状の *Microcystis* 属の分解を促進させることが可能となった。Suttle ら (1986)<sup>100)</sup> は合衆国の五大湖における食物連鎖のなかで藍藻や珪藻の消費者として鞭毛虫の捕食が大きく寄与していることを報告している。また、Cambell ら (1986)<sup>101)</sup> は球状の藍藻の増殖制御に鞭毛虫が関与していることを報告している。しかし、鞭毛虫の捕食圧を高めて、積極的に藍藻の増殖抑制を行う試みは未だ報告がない。

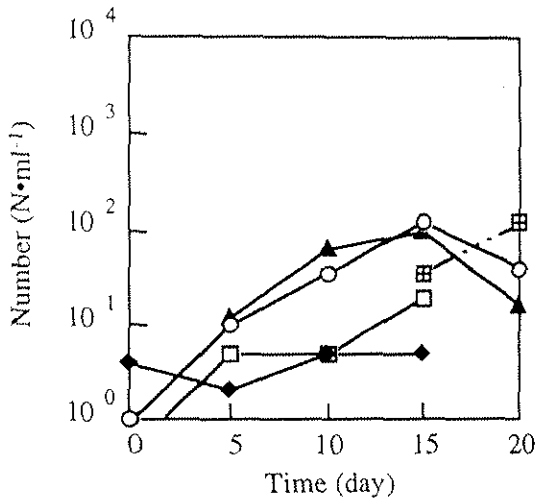
これまで、*Microcystis* 属を食物源として増殖する数種の微小動物の *Microcystis* 属に対する捕食特性について検討を行ってきたが、このような微小動物を利用し、湖沼で発生する多量の *Microcystis* 属の分解を効率的に促進させるためには、微小動物の現場水域での活用を念頭に置き、これらの微小動物のバイオマスを高めるための検討を行っていく必要がある。



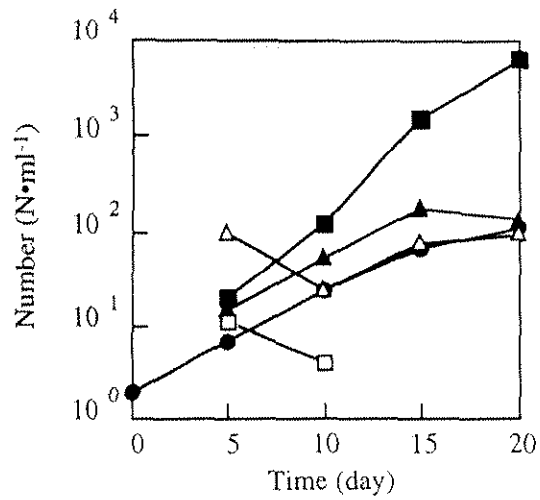
1) Control system



2) Inoculation system of *M.guttula*



3) Inoculation system of *P.erythroptalma*



4) Inoculation system of *A.hemprichi*

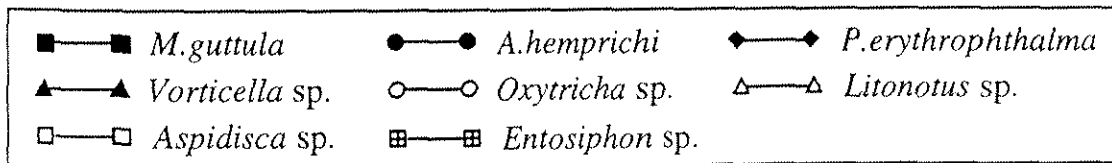
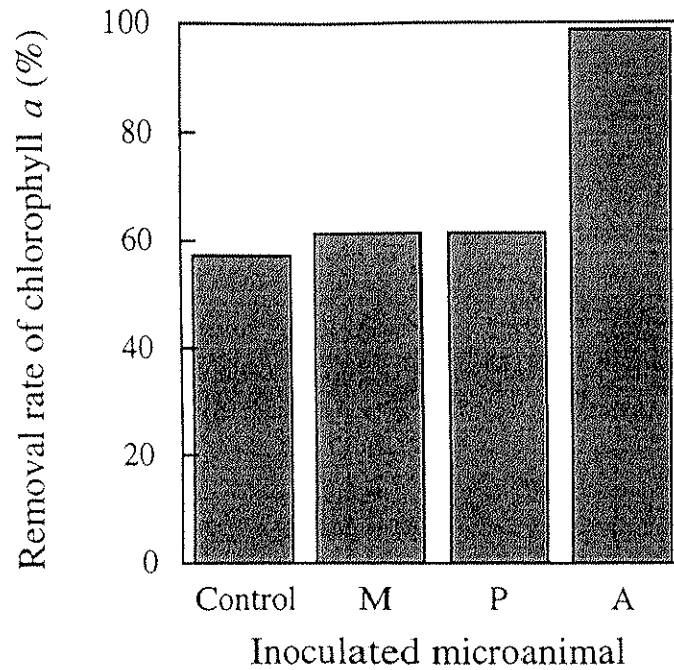


Fig.4-7 Changes in micro-animals in the each predation and degradation testing system with each of *M.guttula*, *Philodina erythroptalma* or *Aeolosoma hemprichi*. Colonial type of *Microcystis* species taken directly from Lake Kasumigaura was used, containing protozoa from the lake water.



M : *M.guttula* P : *P.erythrophthalma*

A : *A.hemprichi*

Fig.4-8 Degradation ratio of *Microcystis* species(chlorophyll *a*) with each of *M.guttula*, *Philodina erythrophthalma* or *Aeolosoma hemprichi* at 15 d. Colonial type of *Microcystis* species taken directly from Lake Kasumigaura was used. Each system were contained naturally occurring micro-animals

#### 4-4 結論

本章では、*Microcystis* 属の効率的な分解に有効な微小動物の組み合わせとその分解作用について、室内で培養した分散状、群体状の *Microcystis* 属および湖沼で増殖した群体状の *Microcystis* 属を用いて検討し、以下の結論を得た。

- 1) *M.guttula* は *A.hemprichi* 共存可能であることがや *P.erythrophthalma* の存在下でも増殖し、分散状および群体状の *Microcystis* 属の培養株を用いた実験により明らかとなった。
- 2) 群体状の *Microcystis* 属を効率よく分解する上で、群体の捕食および分散化を促進する *A.hemprichi* と分散化した単独の細胞を迅速に捕食する *M.guttula* の組み合わせが有効であることが群体状 *Microcystis* 属の培養株を用いた実験により明らかとなった。
- 3) 湖沼で増殖した群体状 *Microcystis* 属を用いた実験において *A.hemprichi* を接種した系では、*A.hemprichi* の増殖とともに、湖水に混入していた *M.guttula* も増殖し、*Microcystis* 属の分解が促進された。
- 4) *Microcystis* 属の分解に有効な微小動物を利用し、湖沼で発生する多量の *Microcystis* 属の分解を効率的に促進させるためには、現場水域を想定した上で、これらの微小動物のバイオマスを高めるための検討を行っていく必要があると考えられた。