

湖山池でアオコを形成する *Anabaena fros-aquae* の増殖における制限物質について

【水環境室】

南條吉之・永美敏正・若林健二 道上隆文・森明寛・奥田益算

Limiting substances on the growth of *Anabaena fros-aquae* in Lake Koyamaike

Yoshiyuki NANJO, Toshimasa NAGAMI, Kenji WAKABAYASHI,
Akihiro MORI, Masukazu OKUDA

Abstract

In Lake Koyamaike located in the Eastern part of Tottori prefecture, a water-bloom of cyanobacteria occurred every year. Recently, the water-bloom frequency decreased and the bloom species changed from *Microcystis* to *Anabaena*. The water-bloom formation process of *Microcystis* is relatively understood. In order to illuminate the water-bloom formation process of *Anabaena*, we studied its potential limiting substances. Algal growth tests were conducted to analyze *Anabaena* isolated from Lake Koyamaike in the period of April 2002 to March 2003.

Our results indicate that the limiting substances of *Anabaena fros-aquae* in Lake Koyamaike are Phosphorus, EDTA, Iron, and Cobalt.

1 はじめに

閉鎖性水域における藻類の異常増殖は、景観上好ましくないばかりでなく、異臭やトキシンの問題^{1),2),3)}や上水の利水における濾過障害等様々な問題を包含しており、全国的に問題となっている。その原因は流域から流入する窒素、リン等の栄養塩類であると言われて久しい。しかし、そのメカニズムは必ずしも単純なものではなく、種々の微量物質や気象等の外部条件にも影響を受けており、発生の状況も個々の湖沼により特徴が異なっている。

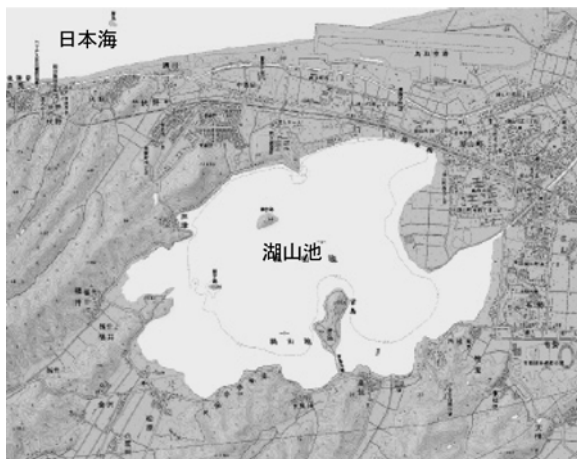


Fig.1 Lake Koyamaike

鳥取県東部に湖山池があり、その概要を Fig.1 と Table 1 に示す。その湖山池では、毎年アオコを形成している⁴⁾。しかし、近年そのアオコ形成に変化が見られ、形成日数の減少と共に優占種が *Microcystis* から *Anabaena* に変わってきた。

Table 1 Characteristics of Lake Koyamaike

湖面積(km ²)	6.81
貯水量(m ³)	1.92 × 10 ⁷
平均水深(m)	2.8
最大水深(m)	6.5
全窒素(mg/l)*	0.63
全リン(mg/l)*	0.057
滞留日数(日)	99
流域面積(km ²)	38.91

* は湖心の平成5年度～14年度の平均値

平成13年(2001年)6月には *Anabaena* による強いアオコが形成され県議会に取り上げられるほどであった。

そこで、我々は *Anabaena* の発生メカニズム解明のために、湖山池水より単藻分離⁵⁾した *Anabaena fros-aquae* を用いて藻類増殖試験を行い制限物質の検討を行うと共に、フィールド調査結果と併せて発生メカニズムに関する基

礎的考察を行った。

2 方法

1) 湖水の採取及び調整

毎月上旬に湖心上層水を採取し、持ち帰り後 Whatman GF/C で濾過して藻類増殖試験に使用した。

Table 2 Detail of CT culture medium

Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	15mg	PIV metals	
KNO ₃	10mg	FeCl ₃ · 6H ₂ O	100mg
β-glycero		MnCl ₂ · 4H ₂ O	3.6mg
phosphate · 5H ₂ O	5mg	ZnSO ₄ · 6H ₂ O	2.2mg
MgSO ₄ · 7H ₂ O	4mg	CoCl ₂ · 6H ₂ O	0.4mg
Vitamin B ₁₂	0.01 μg	Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	0.25mg
Biotin	0.01 μg	Na ₂ EDTA · 2H ₂ O	100mg
ThiamineHCl	1 μg	Distilled water	100ml
PIV metals	0.3ml		
TAPS	40mg		
Distilled water	99.7ml		
pH	8.2		

2) 供試藻類

湖山池湖心底泥よりキャピラリーピペット法により分離し単藻化した *A. fros-aquae* を使用した。植継ぎには Table 2に示した CT 培地⁶⁾を使用した。

3) 添加栄養塩

藻類増殖試験において、リン(P)は K₂HPO₄ 0.1mg·P·l⁻¹、EDTA(E)は Na₂EDTA · 2H₂O 1mg·l⁻¹、PIV 混液 3 ml·l⁻¹を用いて8種類の培養液を作成し、増殖実験を行った。その結果、P、Eと PIV 混液の中の金属が制限物質として作用することが明らかとなったので、その金属を特定するために、PIV 混液に含まれている金属の添加実験も併せて実施した。それぞれの金属の添加量は、PIV 混液を添加したときの濃度となるよう試水に添加した。

4) 培養方法

2.1~2.3で調整した試水150mlを300mlの三角フラスコにとり、これに *A. fros-aquae* を接種し、藻類培養試験器により水温30℃、照度2,000Lx、50rpmで振とう培養した。増殖開始後5日目、7日目、10日目及び14日目に TOC (Total Organic Carbon)を測定し、増殖開始時の TOC との差を藻類増殖量とした。それらの最大値を藻類最大増殖量とした(以下増殖量と

呼ぶこととする。)。また、無添加と比較し、添加により増殖促進の認められた物質を藻類増殖の第一制限物質とし、さらに他の物質の添加により増殖が促進したものを第二制限物質、第三制限物質とした。有意差は1mg·l⁻¹以上とした。

5) 測定方法及び水質分析法

藻類量の測定には TOC (島津製作所製 TOC5000)を用いた。

Table 3 Limiting substance of *Anabaena* Growth

	1st L.S.	2nd L.S.	3rd L.S.
2002 April	P	M	
May	M	P	
June	E	P, M	
July	P, M		
August	E	P, M	
September	E	P, M	
October	E		
November	E	M	P
December	E	M	P
2003 January	E	P	M
February	E	M	P
March	M		

L.S:Limiting Substance P:Phosphorus E:EDTA M:Metal

3 結果及び考察

湖山池湖水を用いて、CT 培地を基に予備実験を行った結果、リンと PIV 金属混液を添加することにより *A. fros-aquae* が増殖することが明らかとなった。Nは添加しなくても増殖した。このことは *Anabaen* の N 固定能によるものと考えられる。そこで、P、EDTA 及び PIV 金属混液を用いた藻類増殖試験を行い制限物質の解明を試みた。

平成14年度に行った藻類増殖試験の結果を Table 3に示した。その結果、第一制限物質として EDTA が8ヶ月、金属が2ヶ月、Pが1ヶ月、Pと金属の同時制限が1ヶ月であった。アオコ発生の可能性のある夏期では、7月の P・金属制限を除けば、他の月はすべて EDTA 制限であった。第二制限物質と第三制限物質を併せて考えると、*A. fros-aquae* の増殖にとって湖山池湖水は P、EDTA 及び金属が制限物質として作用していることが明らかになった。

この金属中で、どの金属が制限的に作用しているのか明らかにするために、金属特定実験を行った。添加金属は PIV 金属混液の中に含まれ

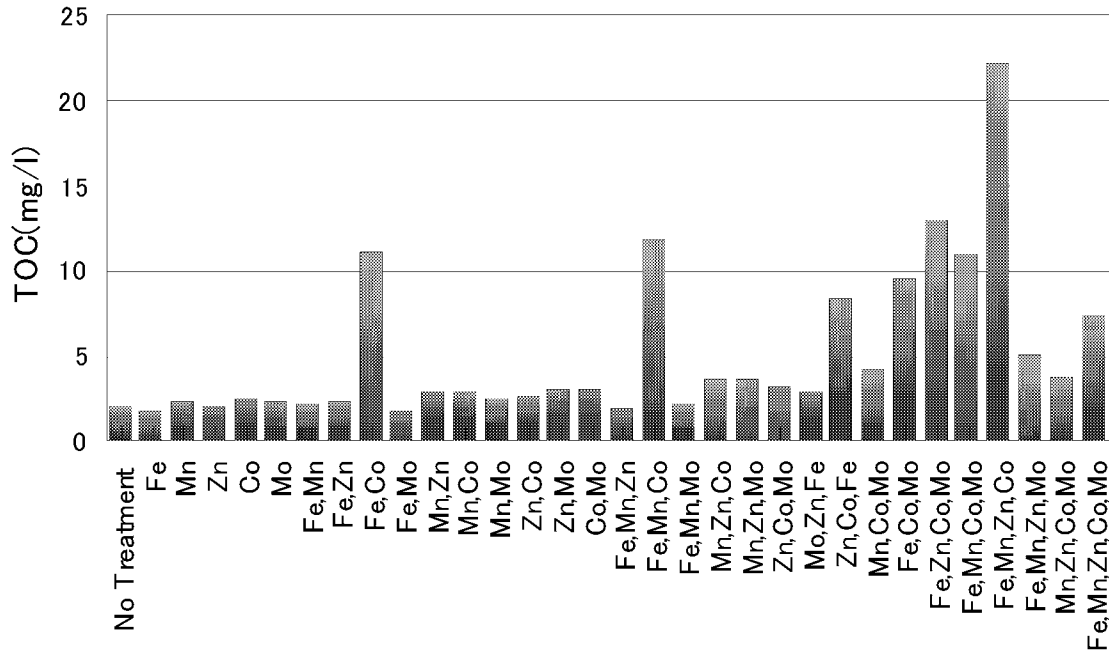


Fig2 Anabaena Growth test using Metals (December)

ている金属であるので、その含有成分である Fe、Mn、Zn、Co、Mo の 5 種類の金属を用い、 32 種

類の培養液を作成し増殖試験を行った。その結果を Fig.2に示した。

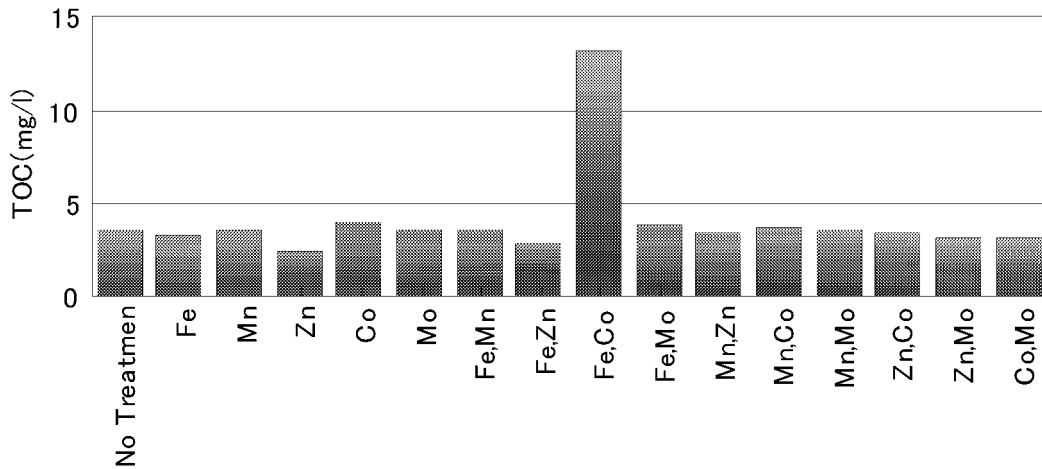


Fig.3 Anabaena Growth test using Metals(January)

この実験はあらかじめ P と EDTA を添加して実施した。Fe と Co を添加した培養液すべてで増殖していることから、平成14年12月の湖水は P、EDTA、Fe 及び Co が制限物質であった。その時の TOC は 11.1mg/l でありアオコを形成するに十分である。平成15年1月の結果を Fig.3

に示した。1 栄養塩添加と 2 栄養塩添加の結果を図示した。その結果、12月の結果と同様で Fe と Co が制限物質であった。したがって、P、EDTA、Fe、Co を添加することにより TOC 13.2mg/l となりアオコ形成に十分である。

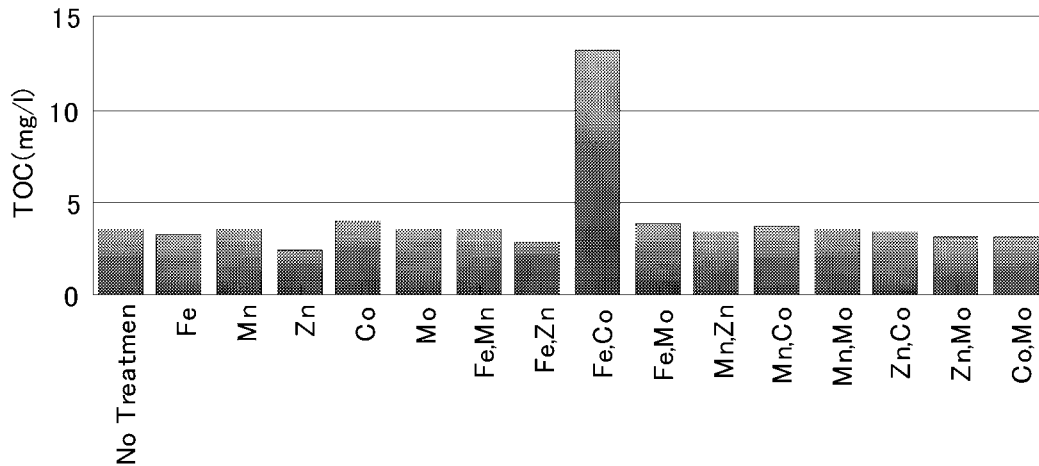


fig.4 *Anabaena* Growth test using Metals(February)

Fig.4に2月の結果を示した。2月は以前の結果と異なり Co の単独制限であった。P、EDTA、Co を添加したときの TOC は7.1mg/l であったが、更に Fe を添加すると8.9mg/l となりアオコ形成が可能となる。

4 まとめ

- 1) *A. fros-aquae* の増殖にとって湖山池湖水は、*Microcystis* と同様に EDTA が第一制限物質として作用していることが明らかとなった⁷⁸⁾。
- 2) 第二制限物質及び第三制限物質と併せて考えると、湖山池で *A. fros-aquae* によるアオコを形成するには EDTA の他に P、Fe 及び Co が必要であると考えられる。
- 3) *Anabaena* は N 固定能⁹⁾があることから制限的に作用しなかったのもと考えられる。

参考文献

- 1) 八木正一：植物プランクトンによる異臭の実態。用水と廃水、31、859-867 (1989)
- 2) 生島功：水の華の発生機構とその制御。東海大学出版会、東京、32-46 (1987)
- 3) 渡辺真利代、原田健一、藤木博太：アオコその出現と毒素一。東京大学出版会、東京、17-24、55-73(1994)
- 4) 洞崎和徳、南條吉之、福田明彦、九鬼貴弘：湖

山池の水質と植物プランクトンについて。鳥取県衛生研究所報第36号、57-62 (1996)。

- 5) 矢木修身：アオコの増殖及び分解に関する研究。国立公害研究所報第92号、9-10 (1986)
- 6) Makoto Watanabe : NIES-Collection List of Strains、Sixth Edition、30-31(2000)
- 7) 南條吉之、福田明彦、洞崎和徳、九鬼貴弘：湖山池における藻類増殖の制限物質について。鳥取県衛生研究所報第37号、55-57(1997)
- 8) 南條吉之、細井由彦、城戸由能、矢木修身、稲葉一穂：湖山池における藻類増殖の制限物質について。鳥取県衛生研究所報第41号、51-59 (2001)
- 9) 南條吉之、福田明彦、九鬼貴弘、若林健二：*Microcystis aeruginosa*、*Anabaena affinis* の増殖と硝酸態窒素及びリン酸態リンとの関係について。鳥取県衛生研究所報第36号、63-66 (1996)