

植物プランクトン (藍藻類) 増殖抑制手法の検討 (屋外培養試験)

松尾 進, 豊村 誠¹, 粕谷 智之

1 長崎県 県民生活環境部資源循環推進課

Examination of Phytoplankton (Cyanobacteria) Growth Suppression Method (Outdoor Culture Test)

Susumu MATSUO, Makoto TOYOMURA¹, Tomoyuki KASUYA

1 Resource recycling promotion section, Prefectural living environment division, Nagasaki prefectural office

キーワード: *Microcystis*属、遮光、緑藻類、競合
Key words: *Microcystis*, shading, green algae, competition

はじめに

遮光による藍藻類 (*Microcystis aeruginosa*) の成長抑制効果について確認・検証するため、長崎県環境保健研究センターでは、2021年度に室内における試験管を用いた培養試験¹⁾を行った(以降、これを「室内培養試験」と表記する。)。この室内培養試験では、遮光することにより*M. aeruginosa*の成長が抑制されることが確認された。

また、同年度には、野外における遮光による藍藻類の抑制効果を検証するため、ダムの水面に3つの遮光資材を設置してアオコの発生状況を比較する試験²⁾も行った(以降、これを「現場試験」と表記する。)。この現場試験では、遮光資材を設置した地点において、設置していない地点よりアオコレベル(国立環境研究所の「見た目アオコ指標³⁾」に基づく。以降同じ。)や藍藻類の細胞密度が低くなるといった傾向は見られなかった。この結果の要因の一つとして、設置した遮光資材の面積がダム全体の水面に対して小さかったことが挙げられている。

現場試験では、水面を大規模に遮光して試験を実施することは困難であるため、本研究では、アオコの発生が多いとされる夏季に、屋外に水面の遮光面積が異なる水槽を設置し、水槽内で藍藻類を含む植物プランクトンを培養して、遮光による植物プランクトンの成長への影響を検証する。

材料と方法

1 試料水の準備

水槽へ投入する試料水として、藍藻類を含む植物プランクトンが入った水を準備した。これは2022年8月26日に長崎県諫早市の小ヶ倉ダム洞仙橋でアオコレベル4の水をポリ容器に採取し、試験開始まで20°Cで暗所保管したものである。

2 培地の調製

(1) 培地の選定

培地は、試験中に栄養塩類が不足しないよう、淡水用合成培地であるWC培地⁴⁾を用いた。WC培地については、藍藻類とほかの植物プランクトンを同時に培養した事例(藍藻類と緑藻類⁵⁾、藍藻類と珪藻類⁶⁾)が知られており、本研究では藍藻類以外の植物プランクトンも含む水(ダム水)を試料水として用いることから、全ての試験においてこの培地を作製して用いることとしたものである。

(2) WC培地の作製

屋外培養試験に用いたWC培地については、二羽による培地の滅菌方法⁷⁾を参考に、水槽に張った水を事前に滅菌した後、国立環境研究所微生物系統保存施設のマニュアル⁸⁾に準拠して作製した。(以降、これを「マニュアル」という。)マニュアルの培地リストに示されている各試薬については、全て同

リストと同じ割合で添加した。手順は手順1及び2に示すとおりである。

手順1: 水槽に張った水に5%次亜塩素酸ナトリウム(水100 Lに対し5%次亜塩素酸ナトリウム24 mLの割合)を入れてよく攪拌し、3時間程度放置した後、チオ硫酸ナトリウム(水100 Lに対し5%次亜塩素酸ナトリウム12 mLの割合)を入れてよく攪拌した。

手順2: 培養開始日に、WC培地が最終的に80 Lとなるよう培地リストの各試薬を必要量入れてよく攪拌し、pH 7.5付近となるようHCl(0.1 mol/L)で調整した。

3 試験方法及び条件

(1) 試験方法

培養試験は2022年8月31日～2022年9月12日に実施した。日当たりの良い屋外に容量100 Lの水槽を6つ設置し(各水槽をそれぞれA～Fと表記する。)(図1)、2 (2)の方法で各水槽約80 LまでWC培地を満たした後、各水槽に前述の1で準備した試料水を投入した。

水槽は、黒色のポリエチレン製で、内径が56 cm、高さが41.5 cmの円柱形のものを用い、雨水等の侵入を防ぐため、各水槽の上部を透明なアクリル板で覆った。このアクリル板は、風で飛ばされないよう、端(水槽の上面より外側の端)に穴をあけて紐を付け、水槽と固定した。水槽とアクリル板の間には、空気を取り込めるよう、木材等を挟み、2 cm程度の隙間を設けた。なお、この木材等については、水面の遮光率に影響がないように水槽の縁に挟んだ。また、水槽内の水温が高くなり過ぎないように、地面と水槽の間にすのこを1枚敷き、その上にポリエチレン製のマットを1枚敷き、水槽側面には白色の寒冷紗を2重に巻いた。

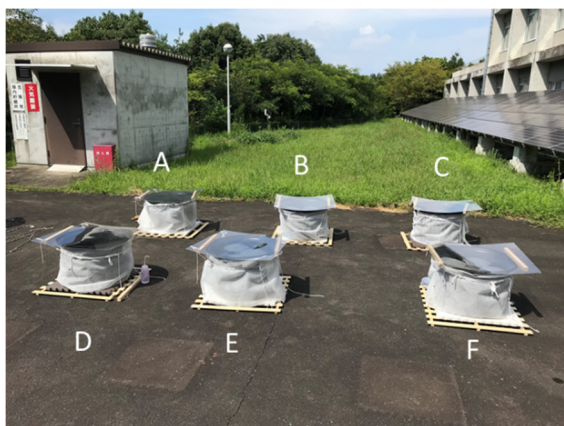


図1 水槽の設置状況

(2) 培養条件

(a) 遮光条件

遮光資材は、アオコ抑制のための部分遮光に用いられている資材で、現場試験において維持管理がし易く遮光能力が高いとされたシャロークリーン(株式会社クレハ環境製)(1辺12 cmの正六角形のプラスチック製フロート)を用い、これを水槽の水面に浮かべることによって遮光し(図2)、浮かべる遮光資材の個数を変えて3つの条件を設定した。各水槽に浮かべた遮光資材の個数及び遮光資材の面積と水面の面積から算出した理論上の遮光率は表1に示すとおりである。なお、夕方には水槽の縁によって影が生じたが、各水槽において影の生じ方は基本的に同じであったため、縁による影は無視することとした。



図2 水槽Bに浮かべた遮光資材

(b) 試料水の条件

1及び2 (2)の方法で準備した試料水について、その投入量を変えて2つの条件を設定した。各水槽への試料水の投入量は表1に示すとおりである。

表1 各水槽の条件

水槽名	投入した試料水の量 [mL]	遮光資材 [個]	理論上の遮光率 [%]
A	200	0	0
B	200	3	42
C	200	4	56
D	100	0	0
E	100	3	42
F	100	4	56

(3) 水質分析

各水槽から、培養開始日(以降、「0日目」と表記する。)及び12日目にそれぞれ約2 Lを、5日目及び8日目にそれぞれ約1 Lを採水した。採水は柄杓を用い、水槽内の培地をよく攪拌してから行った。

各日に採水した試料は、海洋観測指針の方法によりクロロフィルa (Chl.a) について測定したほか、0日目及び12日目については、採水した原水をガラス繊維濾紙 (Whatman製GF/B) を用いて濾過し、JIS K 0102-2の方法により溶存態全窒素 (D-T-N) 及び溶存態全りん (D-T-P) についても測定した。

(4) 藻類分析

藻類分析のための採水についても水質分析用の採水と同時に行った。採水した試料10 mLをプラスチックピンに汲み取り、固定液 (25%グルタルアルデヒド溶液) を0.1 mL加えて検鏡試料とした。試料は植物プランクトンの量に応じて、適宜最大100倍まで希釈した。光学顕微鏡を用いて試料1 mL中の藍藻類を分類するとともに、群体の直径又は長さ等を計測し換算式から細胞数を求めた。⁹⁾

(5) 水温測定

全ての水槽に、小型水温データロガー (Onset社製テイドビット) を水槽の縁からテグスを付けて垂らし、水槽内の培地の中間程度の高さに設置し、30分ごとの水温を測定・記録した。なお、Aについては、反対の内側面にも小型水温データロガーを設置し、合計2個の小型水温データロガーを取り付け、それぞれ測定・記録した。

結果と考察

1 培地水の変化

水槽の培地水の変化について表2、図3に示す。

A、B、Cについては、8日目までは、およそ遮光率が低いものほど培地水は緑色が濃くなっていき、緑色のもやが生じた。12日目になるとAの培地水はくすんだ緑色となった。また、A及びBでは8日目に表層にゼリー状の物質が生じた。Cについては、8日目に培地水がほぼ無色となり白いもやが生じていたが、12日目には再び培地水は薄い緑色 (僅かにくすみあり) となりゼリー状の物質も生じた。これらの水槽内では植物プランクトンの組成が変わったことが考えられる。

D、E、Fについても、8日目までは、遮光率が低いものほど培地水は緑色が濃くなっていき、緑色のもやが生じたが、12日目になると、Dの培地水は、ややくすんだ緑色となった。D及びEでは8日目に、表層にゼリー状の物質が生じた。Fについては、8日目に培地水がほぼ無色となり、僅かに白いもやが生じていたが、12日目には再び培地水は薄い緑色 (僅かにくすみあり) となり、ゼリー状の物質も生じた。前述のA、B、Cと同様に、これらの水槽内では植物プランクトンの組成が変わったことが考えられる。

2 水質と植物プランクトン

Chl.aの変化について図4に示す。

A、B、CのChl.aについては、各水槽で0日目はほぼ同じ値であったが、8日目まで全ての水槽で増加し、遮光率の低いものから順に高い値を示し (A>B>C)、特にAについては顕著に増加した。12日目にはA及びBは著しく減少して下限値未満となり、Cについては増加して、C>A=Bとなった。

D、E、FのChl.aについては、各水槽0日目はほぼ同じ値であったが、5日目まで全ての水槽で増加し、遮光率の低いものから順に高い値を示した (D>E>F)。8日目にはD及びFは増加したが、Eは減少して下限値未満となり (D>F>E)、12日目には全ての水槽で下限値未満となった。

Chl.aが下限値未満となった水槽では、培地水は緑色を呈していたがいずれも鮮やかではなく幾分くすみがある様子も確認できた。室内で行った *Microcystis* 属の培養において、枯死した細胞が分解し始めた際に白濁することが報告されていることから¹⁰⁾、これらの水槽では、増殖した *Microcystis* 属の藍藻類が枯死し、分解が生じている可能性が考えられる。また、12日目に下限値未満となったA、B、D、E及びFについては、表層が緑藻類と思われる緑色の層で覆われており、優占する植物プランクトンが変化したと考えられたため、全ての水槽内の植物プランクトンを検鏡し種類ごとに細胞数を計数した。

検鏡の結果、*M. aeruginosa* 及び *M. wesenbergii* が出現した他、緑藻類の *Chlamydomonas* sp.、*Sphaerocystis* sp. 及び *Planktospaeria* sp. も出現した。これらの植物プランクトンの細胞密度の変化を図5に示す。なお、図5においては、*M. aeruginosa* 及び *M. wesenbergii* を纏めて *Microcystis* spp.、*Sphaerocystis* sp. 及び *Planktospaeria* sp. を纏めて *Sphaerocystis* sp. + *Planktospaeria* sp. と表記した。また、以降、本文中では spp. 及び sp. は省略して表記する。

Microcystis はA以外の水槽では8日目以降優占することはなかった。一方、*Chlamydomonas* はE及びFを除く全ての水槽で8日目以降優占した。*Sphaerocystis* + *Planktospaeria* は遮光した水槽であるE及びFで優占する結果となった。

水温は水槽間で差は見られず、45°Cを超える日もなかった (図6)。また、植物プランクトンの増殖に必要な溶存態の窒素やりんは培養終了日の12日目において枯渇していなかったことから (図7、図8)、

表2 各水槽における培地水の変化

水槽名	0日目 (8月31日)	5日目 (9月5日)	8日目 (9月8日)	12日目 (9月12日)
A	無色透明 (綠色微小粒)	綠色 (表層に綠色もや) (表層に綠色大粒)	綠色 (表層全体が気泡を有するゼリー状の綠色層で被覆)	くすんだ綠色 (表層は周辺部を除き気泡を有するゼリー状の綠色層で被覆) (周辺部は濃い綠色もや)
B	無色透明 (綠色微小粒)	僅かに綠色 (表層に綠色もや) (表層に綠色大粒(Aより少ない))	綠色 (綠色もや) (表層に綠色大粒) (表層全体が透明なゼリー状の層で薄く被覆)	僅かにくすみのある綠色 (表層全体が気泡を有するゼリー状の綠色層で被覆)
C	無色透明 (綠色微小粒)	ほぼ無色 (表層に僅かに綠色もや) (表層に綠色大粒(Bより少ない))	ほぼ無色 (白いもや) (表層にまばらに綠色大粒)	僅かにくすみのある薄い綠色 (表層全体が綠色の膜状の層で被覆) (膜状層の上にまばらに気泡を有するゼリー状の綠色物質)
D	無色透明	僅かに綠色 (表層に綠色もや) (表層に極まばらに綠色粒)	綠色 (表層全体が気泡を有するゼリー状の綠色層で被覆)	ややくすんだ綠色 (表層全体が気泡を有するゼリー状の綠色層で極めて厚く被覆)
E	無色透明	僅かに綠色 (表層に僅かに綠色もや) (表層に綠色大粒(Cと同程度の量))	綠色 (表層に綠色大粒) (表層全体が透明なゼリー状の層で薄く被覆)	僅かにくすみのある綠色 (表層全体が気泡を有するゼリー状の綠色層で厚く被覆)
F	無色透明	ほぼ無色 (表層に僅かに綠色もや) (表層に極まばらに綠色粒)	ほぼ無色 (僅かに白いもや) (表層に綠色微小粒)	僅かにくすみのある薄い綠 (表層全体が気泡を有するゼリー状の綠色層で厚く被覆)

培地水の色の後、括弧書きで、もや、粒、表層の被覆物について表記し、それらが無かった場合は省略している。

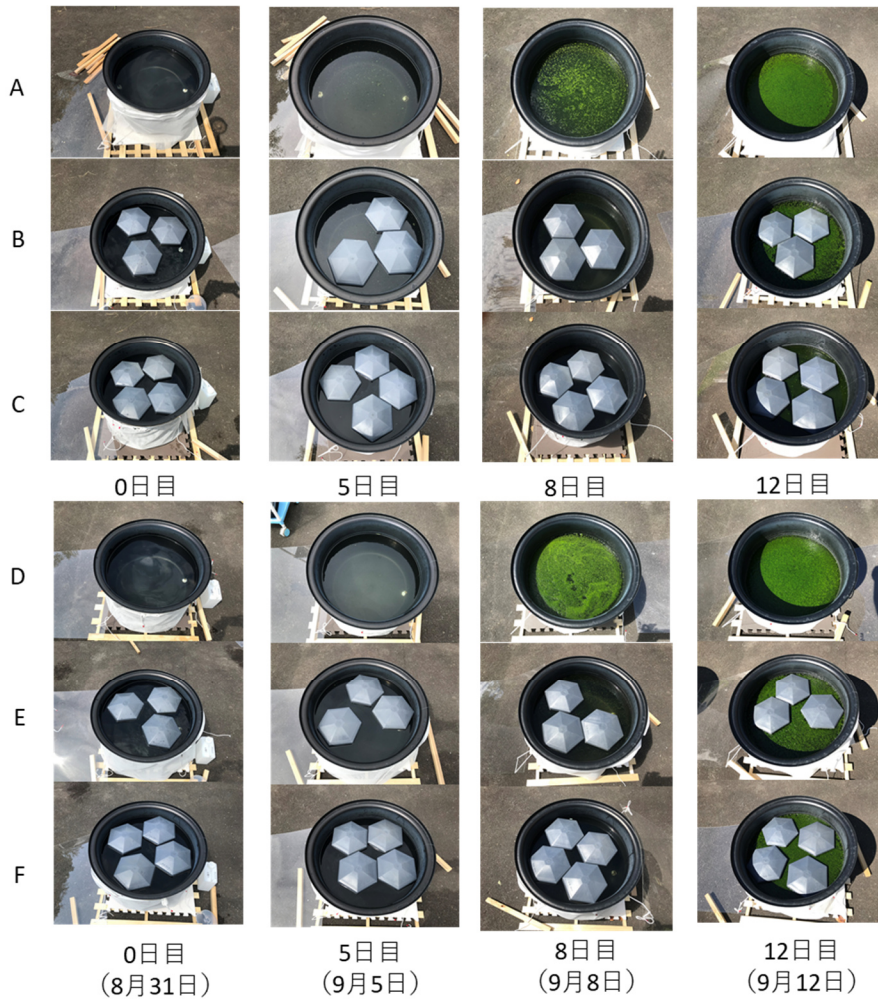
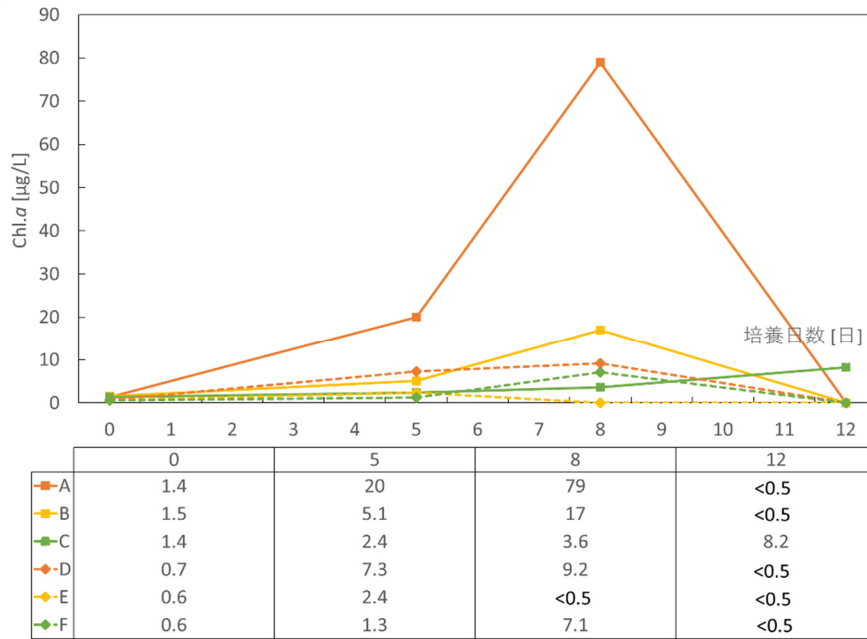


図3 培地水の変化



(Chl.aの下限値0.5 µg/L)

図4 Chl.aの変化

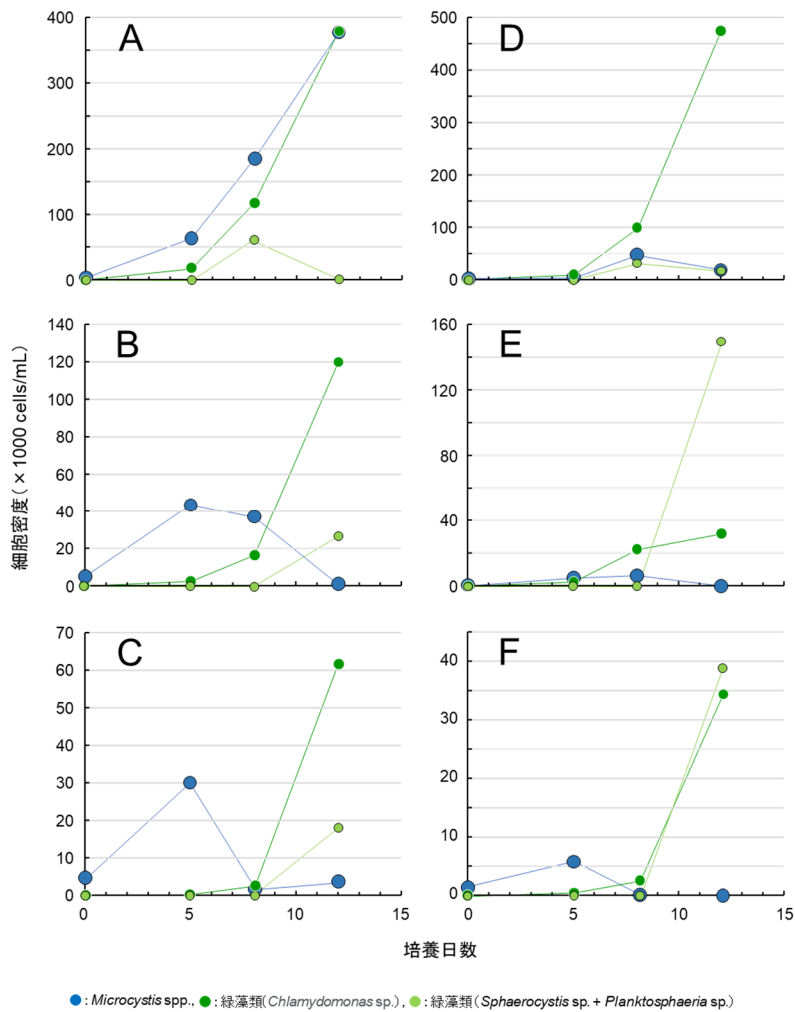


図5 植物プランクトンの細胞密度の変化

植物プランクトンの種組成の違いには遮光率と試料水の投入量すなわち植物プランクトンの初期濃度が大きく関わっていると考えられる。Aについては、試料水の投入量が多いことから、*Microcystis*の初期濃度が高く、遮光をしていないため急激に増殖していったものと考えられる。*Chlamydomonas*は遊泳することによって光合成に最適な光条件下で生きることができる¹¹⁾、*Microcystis*存在下でも増殖し、優占したと推察される。一方、Dでは試料水の投入量が少なく、*Microcystis*の初期濃度も低かったため、*Chlamydomonas*の方が増殖して優占し、競合によって*Microcystis*の増殖は抑制されたと考えられる。

Sphaerocystis + *Planktosphaeria*は日照時間が短い条件下で優占すると報告されている¹²⁾。本研究でも、同属群は遮光した水槽EおよびFで優占しており、既存の知見と符合する結果となった。同属群は、*Microcystis*の濃度が低い遮光環境下では*Microcystis*に代わって増殖することが示唆された。

これらの結果から、遮光は*Microcystis*を含む植物プランクトンの増殖抑制に効果があると考えられる。また、アオコの原因となる*Microcystis*について着目すると、緑藻類との競合によってもその増殖は妨げられることから、少なくとも遮光率が42%以上であれば、増殖を抑制できる可能性が示唆された。

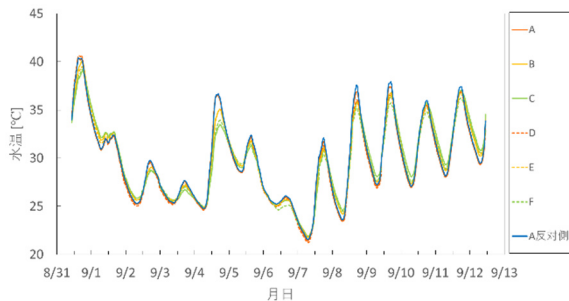


図6 水温の変化

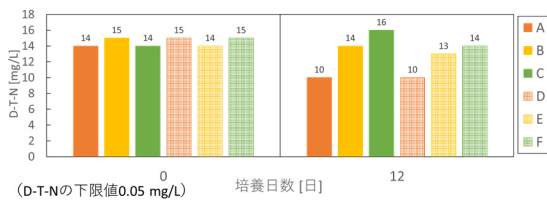


図7 D-T-Nの変化

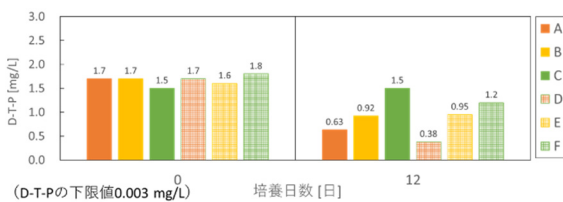


図8 D-T-Pの変化

まとめ

ダムで採水した様々な植物プランクトンが含まれる水を用いて屋外培養試験を行った結果、遮光率及び植物プランクトンの初期濃度によって、優占する種に変化がみられた。*Microcystis*は遮光した水槽内では、緑藻類の*Chlamydomonas*や*Sphaerocystis*などと競合して増殖を妨げられることから、少なくとも遮光率が42%以上であれば、アオコ対策として有効であることが示唆された。また、*Microcystis*の初期濃度が低い条件下では、緑藻類が増殖しやすい傾向がみられたことから、自然水域では、*Microcystis*の濃度が低い春先から対策を講じることが重要と考えられる。

参考文献

- 1) 豊村誠, 他: 植物プランクトン(藍藻類)増殖抑制手法の検討(室内培養試験), *長崎県環境保健研究センター所報*, (67), 113-116(2022).
- 2) 豊村誠, 他: 植物プランクトン(藍藻類)増殖抑制手法の検討(現場試験), *長崎県環境保健研究センター所報*, (67), 108-111(2022).
- 3) 環境庁国立環境研究所: SR-24-'98 湖沼環境指標の開発と新たな湖沼環境問題の解明に関する研究 平成4~8年度, vi + 52 pp., 環境庁国立環境研究所, つくば(1998).
- 4) Guillard, R. R. L. & C. J. Lorenzen: Yellow-green algae with chlorophyllide C, *Journal of Phycology*, **8**(1), 10-14(1972).
- 5) 竹内亮平, 他: 富栄養条件下での窒素制限に伴う*Scenedesmus quadricauda* および *Microcystis aeruginosa* の優占種変遷機構, *水文・水資源学会誌*, **28**(5), 233-244(2015).
- 6) 関谷卓見, 他: 藍藻類*Microcystis aeruginosa*と珪藻類*Cyclotella* sp.の増殖に及ぼすN/P比および温度の影響, *水環境学会誌*, **33**(11), 175-179(2010).
- 7) 二羽恭介: 大型水槽によるフリー配偶体を使ったワカメの種苗生産, *水産増殖*, **64**(2), 173-182(2016).
- 8) 国立環境研究所微生物系統保存施設: 継代培養、培地作成、凍結保存の方法(2022), https://mcc.nies.go.jp/method_j.html(2022. 4. 20アクセス)
- 9) 滋賀県琵琶湖環境科学センター: 琵琶湖マニュアル プランクトンモニタリング調査(2009年), 環境省プランクトン研修マニュアル,

(2009).

- 10) 矢木修身, 他: アオコの増殖及び分解に関する研究, *国立公害研究所報告*, **92**, 88 pp. + xxii(1986).
- 11) 若林憲一, 他: クラミドモナス走光性における眼点カロテノイドの役割, *植物科学最前線*, **9**, 90-101(2018).
- 12) 吉田陽一: 琵琶湖南湖におけるミクロキスチスの優占的発生と水質, 気象諸要因との関係, *日本水産学会誌*, **64**(4), 531-536(1997).