

感潮域における赤潮原因藻類の増殖制限因子の推定

伊藤 禎彦*・村上 仁士**・池田 良一***

1. 緒 言

徳島市内の感潮域においては、海洋性赤潮の原因種である珪藻 *Skeletonema costatum* を主体とする赤潮が毎年発生し、親水空間を生かした街づくりを進める上での障害となっている。海域で発生する赤潮に関しては膨大な調査研究（電力中央研究所、1992；代田、1992）がなされてきたが、感潮域で発生する海洋性赤潮種についての研究は少ない。感潮域では、海域よりも塩分濃度や流れが変動し、汚濁物の凝集・沈降などの物理的・化学的作用やプランクトンの活動などに多様な機構がある。本研究は、この感潮域で発生する赤潮原因藻類を取りあげ、その増殖がいかなる物質によって支配されているかを調べることを目的としたものである。

現地観測は徳島市内の感潮河川域を対象として、年間を通じて行った。同時に、赤潮発生時において赤潮原因藻類の特定を行った。本研究の現地観測では、全窒素、全リンなどの一般的な水質項目の測定については必ずしも重視しなかった。最大の特徴は、水質測定におけるバイオアッセイ的性格を強め、水中に含まれる窒素、リンのうち生物が実際に利用可能な成分を定量化した点である。

増殖制限物質の推定は、以下の3つの方法により行った。(a) まず、既存の水質データを活用して、藻類が要求する栄養塩の量から増殖を制限している栄養物質について考察した。(b) 次に、BOD 測定技術を応用した MBOD 指標によって、水中に存在する窒素、リンのうち生物が実際に利用できる量を測定した。この水質分析法により、藻類の増殖にとって、何が余っており何が足りないかを見極めることで増殖制限物質を推定した。(c) さらに、赤潮原因藻類の純粋株を入手した上で、室内培養実験を行い、水域での増殖制限物質を推定した。

2. 現地観測

(1) 水域の概要

図-1 に示すような徳島市中心部を流れる新町川水系は2カ所の水門で吉野川に通じており、河口とともに潮汐作用による水位変動や流れの影響を受けている。

(2) 観測の内容

1992年7月から1993年3月にかけて田宮川から新町川を経て河口にいたる水域に注目し、図-1 に示す4点において、1カ月に1、2度、赤潮発生時は数日おきに観測を行った。主に干潮時に表層部のみを採水し、分析に供した。観測および分析項目は、気温、水温、pH、DO、塩分濃度、SS、TOC、Chl-a、TP、NH₄-N、NO₃-N、藻体数とした。また、水質変動と赤潮の消長を把握するために St.2 において一潮汐間の観測も行った。

(3) 観測結果

a) 各地点の水質特性

図-2、3 に赤潮発生時ではない干潮時の各地点の水質特性を示した。10月の観測結果であるが、当水域の水質

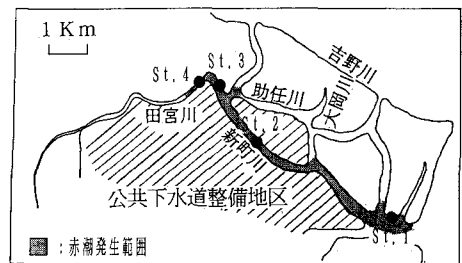


図-1 観測地点および赤潮発生範囲

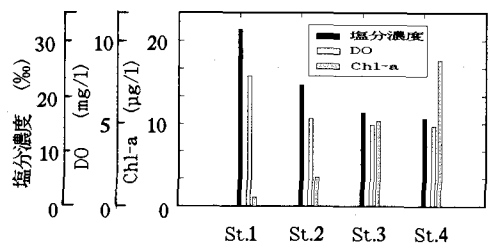


図-2 各地点の水質特性

* 正会員 工博 徳島大学講師 工学部建設工学科
 ** 正会員 工博 徳島大学教授 工学部建設工学科
 *** 学生会員 徳島大学大学院工学研究科建設工学専攻

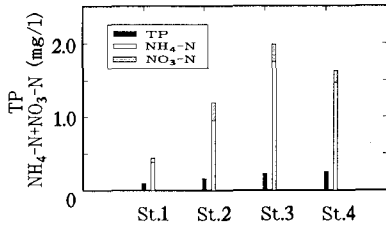


図-3 各地点の水質特性

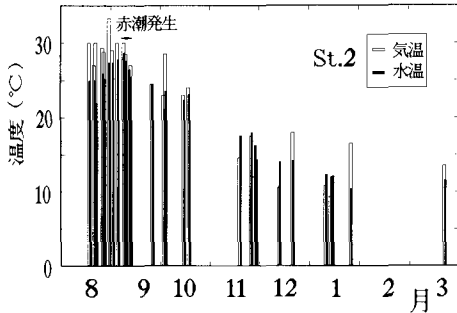


図-4 気温、水温の年間変動

特性をよく表している。当水域はSt.4あたりまで潮汐の影響を顕著に受ける。図-2から上流に行くにつれDOが減少し、逆にChl-aは増加していることがわかる。田宮川への汚濁負荷量が多く、図-3に示すようにSt.3、St.4における栄養塩濃度が高い。

b) 水質環境の経月変化

つぎに、当水域の代表的な地点であるSt.2について、赤潮発生前後に顕著な変化を示した項目について測定結果を示す。まず、目視によって、水面が茶褐色化し赤潮状態であると確認できたのは、1992年9月7日～9日の3日間であった。図-1に赤潮が生じた範囲を示した。検鏡の結果、赤潮発生時における第一優占種は明らかに珪藻類 *Skeletonema costatum* であった。また、その他の珪藻類や渦鞭毛藻類も多く混在していた。気温および水温の測定結果を図-4に示すが、赤潮は年の最高気温時には発生せず、気温が少し下がった時に発生したというのが1992年度における特徴であった。しかし水温を実測した結果では、赤潮が発生した時期と水温の最高時とは一致している。図-5にDOの年間変動を示した。周知のように赤潮の発生時は過飽和状態であった。ただし、採水した試料水は表層水であり、中層、下層のDOは測定していない。図-6はChl-aの年間変動を示している。St.2では通常5 μ g/l前後であるが赤潮発生時には110 μ g/lまで増大した。また、このときpHは8.2～8.4と高い値を示した。その他、赤潮発生にともなってTOC、SSの値にも増大が認められた。

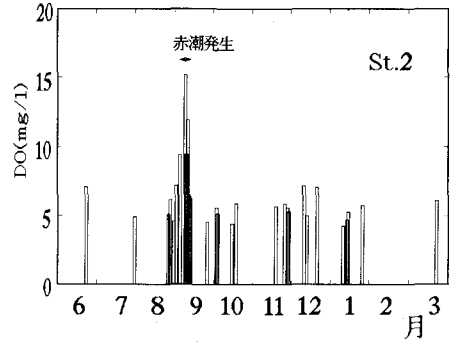


図-5 DOの年間変動

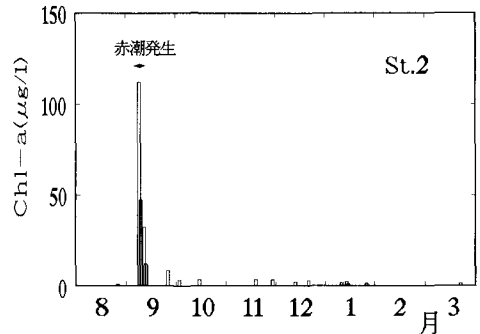


図-6 Chl-aの年間変動

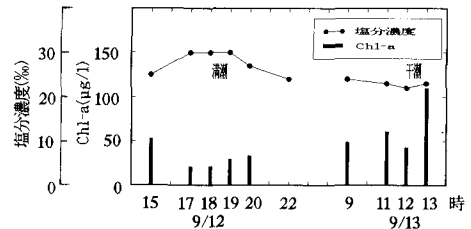


図-7 水質の時間変動

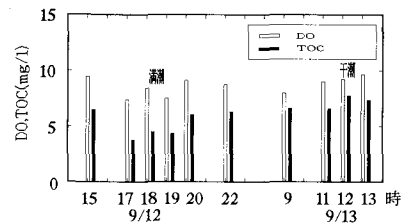


図-8 水質の時間変動

c) 経時変化

図-7, 8は、9月12と13日に一潮汐分の観測を行った結果である。この時はすでに目視では赤潮状態ではなかったが、なお植物プランクトンは多く残存しており、その消長を追跡することができた。図-7に示すChl-a

をみると、夜間にはその値が減少し、翌日再び藻類の光合成が活発となり、その値が増大している。河川における赤潮の消散と発生の特徴のひとつがここにあるといえる。塩分濃度の変化や潮汐による流れなどがこの消長にいかに影響しているかについては今後の課題である。一方、図-8よりこのChl-aの変化に対応して、DO、TOCが変化していることがわかる。

3. 増殖制限物質の推定

(1) 栄養塩濃度による推定

ここでは既存の水質データ(徳島市環境保全課, 1992)を活用して、藻類の増殖を制限している栄養物質について推定した。

一般に、植物プランクトンの増殖に最適な窒素とリンとの比(N/P比:重量比)が7~10前後にあることから、N/P比が10以上の水域ではその増殖はより強くリンにより制限を受け、N/P比が7以下の水域では窒素がより強く制限的に働くと考えられる。この考えに基づき、St.2の栄養塩濃度からN/P比を求めることで、どちらの栄養塩が過剰に存在し、あるいは不足がちなのか、すなわち藻類の増殖制限因子を推定することができる。水質データとして全窒素、全リンを用い、図-9にTN/TP比の経年変化を示した。TN/TP比が10を越えることもありおよそリン制限であることがうかがえるが、その多くは7~10の間であり、明確に判断はできない。また冬季においてはTN/TP比が大きくなり、夏季あるいは秋季にやや小さくなっている。

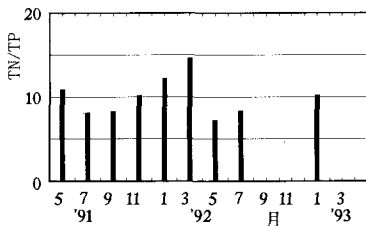


図-9 TN/TPの年間変動

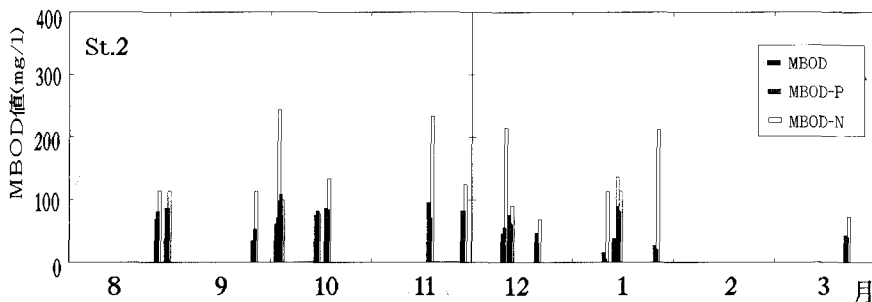


図-10 MBOD値の年間変動 (St. 2)

(2) MBODによる推定

a) MBODの原理と測定方法

MBOD (Modified Biochemical Oxygen Demand) 法(中本, 1983)はリービッヒの最小律の考え方を発展させたもので、BOD法とは逆に、充分の有機物(グルコース)を試水に添加し、それにより微生物の成長・増殖が制限されないようにする。そして試水に含まれる栄養塩類を使い尽くすように微生物を増殖させる。このとき消費する酸素量は、試水中に存在していた生物利用可能栄養物質(塩類)量と比例し、その量はBOD法と同様に定量することができる。したがって、測定技術はBODと全く同じである。本法の考え方を表-1に示す。各指標は、それぞれ測定しようとするもの以外は充分に添加し、原水中の測定しようとするものを完全に使い尽くすように設定し、そのものに比例する(依存する)酸素要求量を測定するものである。

測定方法をつぎに示す。DOびんに試水を満たし、測定項目に対応する添加物を添加する。暗所で20°C、5日間培養した後、DOを測定し、培養前と培養後のDOの差をそれぞれのMBOD値とする。なお、本測定では試水量を3 ml/100 mlとし、蒸留水で希釈を行った。

b) 測定結果

図-1に示す各地点で測定した結果、上流のSt. 4から河口域のSt. 1にかけて、窒素、リンの値が小さくなるのに対応し、MBOD、MBOD-P、MBOD-Nの値は小さくなった。St. 2におけるMBOD、MBOD-N、MBOD-P値の測定結果を図-10に示す。St. 2以外の地点においても多くの場合、MBOD≒MBOD-P<MBOD-Nという結果を得た。これは窒素が充分にあり、リンを補充してや

表-1 BOD法およびMBOD法による種々の物質量の推定

バイオアッセイの種類	添加物	測定しようとするもの
BOD	N, P, 微量元素, —	利用可能有機物
MBOD	—, —, —, 有機物	利用可能無機物
MBOD-P	N, —, 微量元素, 有機物	利用可能窒素
MBOD-N	—, P, 微量元素, 有機物	利用可能リン

れば余分にある窒素が利用されて生物が増殖するという状態を示している。反対に窒素をいくら添加しても、リンがないので生物は増殖できず、MBOD-P 値は MBOD-N 値より小さくなり、MBOD 値と同程度にとどまるのである。つまり、当水域における増殖制限物質はほとんどの場合リンであると判断できる。

(3) 赤潮原因藻類を用いた室内培養実験

(2)において MBOD 法の結果から当水域における制限物質がリンである場合が多いと推定された。さらにここで、当水域における赤潮原因藻類の第一優占種である *S. costatum* を室内培養することにより増殖制限物質をさらに明らかにする。

a) 実験方法 (西島ら, 1990)

1985 年大阪湾岸和田沖における赤潮から分離された *S. costatum* 323 株を国立環境研究所微生物系統保存施設から譲受し、実験に供した。本株は無菌的に保存されている。St.2 の表層水を孔径 $1\mu\text{m}$ のグラスファイバーフィルターでろ過した後、これに栄養塩として窒素($\text{NO}_3\text{-N}$, $\text{NH}_4\text{-N}$)あるいはリン($\text{PO}_4\text{-P}$)を段階的に添加し、20 ml 容量の L 型試験管に 18 ml 入れて滅菌した。ついで、*S. costatum* を接種し、振とう器(タイテック製モノシン II-A)を用いて、温度 20°C 、照度 2000 lx、12 時間明 12 時間暗の明暗サイクルで培養を行った。また、*S. costatum* の継代培養に *f/2* 培地を用いたので、接種時に *f/2* 培地から栄養塩を持ち込まないように洗浄を行った。*S. costatum* の初期値は 5000 cells/ml 前後となるようにした。増殖量は界線入りスライドガラスを用いて藻体数を直接計数して求めた。

b) 実験結果

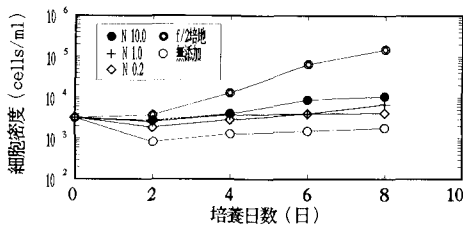


図-11 $\text{NO}_3\text{-N}$ 添加による増殖特性

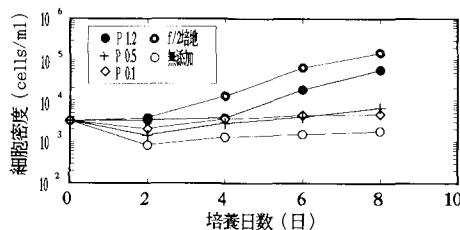


図-12 $\text{PO}_4\text{-P}$ 添加による増殖特性

図-11 は、St.2 の試水に $\text{NO}_3\text{-N}$ を添加して *S. costatum* を培養し増殖促進効果を調べた結果を、*f/2* 培地、St.2 の試水そのもの(無添加)の中での増殖と比較して示したものである。図中の凡例にある N の数字は栄養塩添加濃度 (mg/l) を示す。また図-12 は、同様に、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 添加に対する増殖促進効果を調べた結果を示している。 $\text{NO}_3\text{-N}$, $\text{PO}_4\text{-P}$ を添加することによって、いずれも増殖が促進しているが、 $\text{PO}_4\text{-P}$ の方が、より増殖促進効果が高いことがわかる。図-13, 14 は、添加した栄養塩の濃度を横軸にとり、*S. costatum* の最大増殖量をプロットしたものである。 $\text{NO}_3\text{-N}$ の場合、5 mg/l 以上の添加ではもはや増殖量に影響を及ぼさないこと、 $\text{PO}_4\text{-P}$ の場合、1.2 mg/l を越える添加量では、増殖阻害がおきていることがわかる。

$\text{NO}_3\text{-N}$, $\text{PO}_4\text{-P}$ を添加することによって、最大どれだけの増殖量が得られたかを比較するため、 $\text{NO}_3\text{-N}$ を 10 mg/l, $\text{PO}_4\text{-P}$ を 1.2 mg/l 添加した場合の増殖量を、無添加の場合と比較したものを図-15 に示す。 $\text{PO}_4\text{-P}$ を添加した場合の方が、はるかに増殖が促進されていることがわかる。これは水中に、*S. costatum* の利用しうる窒素が豊富に余っている状態を示し、リンの補給によって、それらの窒素が利用可能となり *S. costatum* が増殖したものと考えられる。すなわち、*S. costatum* にとって、増殖を制限している水中の物質はリンであることがわかる。しかし、窒素を加えることによって増殖は刺激されているため、第二の増殖制限物質として窒素を指摘しなければならない。

また、 $\text{NH}_4\text{-N}$ についても増殖促進効果について同様な実験を行った。 $\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{PO}_4\text{-P}$ を添加することによる

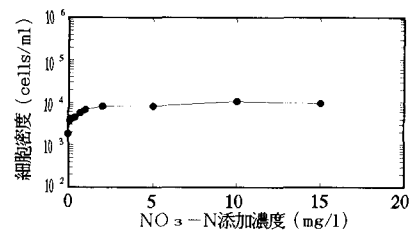


図-13 $\text{NO}_3\text{-N}$ 添加による増殖促進効果

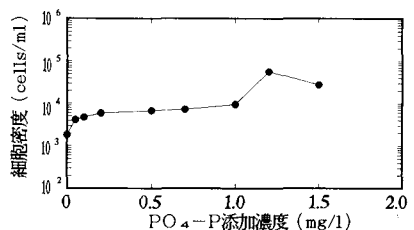
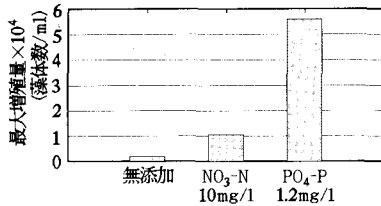
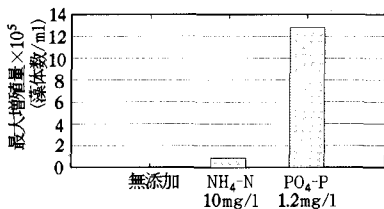


図-14 $\text{PO}_4\text{-P}$ 添加による増殖促進効果

図-15 *S. costatum* の最大増殖量比較 (NO₃-N)図-16 *S. costatum* の最大増殖量比較 (NH₄-N)

最大増殖量を比較した結果を図-16に示す。PO₄-Pを添加した場合の方が、はるかに増殖が促進されており、図-15と同様な点を指摘しうる。

4. 結 論

まず、現地観測によって以下の結果を得た。

1) 1992年度においては、9月7日～9月9日に新町川感潮部における赤潮の発生を確認した。検鏡の結果、赤潮発生時における第一優占種は *Skeletonema costatum* であった。

2) 赤潮発生にともなって、Chl-aの濃度が顕著に増大した。その他、赤潮発生時はDO, pH, TOC, SSの各値にも増大が認められた。

3) 水質変動と植物プランクトンの消長に関する通日調査を行ったところ、夕方から夜にかけてプランクトン量は減少し、翌日再び光合成によってプランクトン量が

増大するという、河川感潮部における赤潮の消散と発生の特徴を把握した。

ついで増殖制限因子の推定を行ったところ、新町川感潮部において発生する赤潮原因藻類の増殖を制限している第一の物質はリンであることがわかった。したがって、水域に対するリンの負荷量を削減することが、赤潮の発生を防止する最も効果的な対策である。このことは、以下の異なる2つの検討によって同様に示された。

1) *S. costatum* を用いた室内培養実験を行った結果、第一の増殖制限因子はリンであると判断できた。一方、窒素が第二の増殖制限因子となりうることを指摘した。

2) MBOD指標を用いて、新町川の水を分析した結果、調査の各地点において多くの場合、MBOD≒MBOD-P<MBOD-Nという結果を得た。この結果、この水域における増殖制限因子はほとんどの場合リンであると判断できた。すなわち、制限栄養物質を推定する方法として、MBOD法が有効であることがわかった。

謝辞：本研究にご協力をいただいた藤田幸治氏（兵庫県庁）に謝意を表す。また本研究は、徳島市環境保全課の補助を受けたものであることを記し、謝意を表す。

参 考 文 献

- 代田昭彦(1992): 赤潮の対策研究と技術開発試験の経緯と展望, 月刊海洋, Vol. 24, No. 1, pp. 3-16.
- 電力中央研究所(1992): 電力中央研究所報告 赤潮文献調査調査報告, U 92107, 186 p.
- 徳島市保健衛生部環境保全課(1992): 徳島市における公害の現況, 313 p.
- 中本信忠(1983): 水中の生物利用可能栄養物質の新しい水質評価法, 水道協会雑誌, 第52巻, pp. 14-28.
- 西島敏隆, 山砥稔文, 畑幸彦(1990): 赤潮珪藻 *Skeletonema costatum* の栄養要求とAGP試験に供試するための調製法, 水質汚濁研究, 第13巻, 第3号, pp. 173-179.