

II-440

藻類の増殖に及ぼす藻類代謝産物の影響に関する研究（その1）

京都大学 学生員○李 義信 京都大学 正 員 宗宮 功
京都大学 正 員 藤井滋穂 日本下水道事業団 杉森伸子

1. はじめに

湖沼・貯水池などの閉鎖的水域にN、Pなどの栄養塩類の過剰な流入による富栄養化が進行し、水の華や淡水赤潮を形成し、利用面で様々な障害を引き起こして深刻な社会問題となっている。しかしながら、N、Pなどの栄養塩のみでは、特定藻類の異常増殖は十分説明できない。最近、藻類の代謝産物やバクテリアの分解能により藻類の異常増殖を究明しようとする研究^{1,2)}が活発であるが、いまだ注目に値するほどの報告は少ない。本実験では、琵琶湖湖水から単離した藍藻類の代謝産物が自己および他藻類の増殖に及ぼす影響を検討した。

2. 実験方法及び条件

実験には、琵琶湖湖水から単離した藍藻類*Anabaena macrospora*（以下*A. macrospora*）、*Phormidium tenue*（以下*P. tenue*）、珪藻類*Nitzschia sp.*および緑藻類*Chlamydomonas sp.*を供試藻類として用いた。これらの藻類は1～3種類のバクテリアが共存している単藻培養であるが、*Chlamydomonas sp.*はバクテリアフリーの純粋培養である。藻類の代謝産物を含む培地は、以下のようにして得た。2～3 lの3角フラスコにおいて*A. macrospora*および*P. tenue*をC培地を改変した表1の1/5C改変培地を用い、25℃、

表 1 1/5C改変培地の組成

Ca(NO ₃) ₂ ・4H ₂ O	3mg
KNO ₃	2mg
MgSO ₄ ・7H ₂ O	0.8mg
β-グロブリン酸ナトリウム	1mg
ビタミンB1	0.2 μg
ビタミンB12	0.002 μg
ビタミンC	0.002 μg
NaHCO ₃	9.6mg
PIV金属混合液	0.06ml
蒸留水	99.94ml
pH	7.5±0.1

8000luxで静置培養し、15～30日を経て安定期に達し、十分代謝産物が生じたと思われる藻類培養液を0.2N H₂SO₄でpHを調節し、0.22 μmのメンブランろ紙で無菌的にろ過したものである。本培養では、代謝産物を含む培地に1/5C改変培地で約7日間前培養した供試藻類の懸濁液10ml/lを接種し、150ml容のL字培養管に120ml分注し、25℃、7300lux、振とう培養で行った。

3. 実験結果および考察

実験では、藍藻類の培養ろ過液を培養液として用いて、それが自己および他藻類の増殖にどのような影響を及ぼすかを検討した。実験の初期条件を表2に示す。

3-1 藍藻類の代謝産物の藍藻類に対する影響(Run1)

*A. macrospora*および*P. tenue*の培養液（各々15日培養）のろ液に*A. macrospora*を植種した時の藻体数の経時変化を図1に示す。*A. macrospora*は*P. tenue*のろ液では遅滞期が0.9日、最大増殖速度（以下μ）は0.43day⁻¹、最大増殖量は5.32×10⁴個/mlであった。一方、自身のろ液では培養5日までわずかに増殖したが、その後減少し、藻体数40～80個/mlぐらいで一定となった。*P. tenue*を*A. macrospora*および*P. tenue*のろ液に植種した時の藻体数の経時変化を図2に示す。*P. tenue*は自分のろ液では、遅滞期は2.3日、μは0.41day⁻¹、最大増殖量

表 2 各実験の初期条件

Run	培地	初 期 条 件					
		S-N	NO ₃ ⁻ -N	NH ₄ ⁺ -N	S-P	PO ₄ ³⁻ -P	DOC
		mgN/l			mgP/l		mgC/l
1	A	6.52	5.45	0.11	0.95	0.46	8.9
	P	5.19	5.15	0.28	0.75	0.05	6.1
	対照	7.36	6.68	0.08	1.08	0.24	6.8
	4A	22.6	18.48	0.11	3.61	2.94	21.6
	2A	16.1	13.08	0.09	3.27	1.59	14.3
2	1A	10.5	9.88	0.09	1.69	0.91	10.6
	1/2A	9.2	8.28	0.09	1.39	0.58	8.7
	4P	22.6	18.62	0.09	4.43	0.94	38.2
	2P	14.7	12.69	0.09	2.58	0.59	22.6
	1P	10.0	9.67	0.08	1.47	0.41	14.7
	1/2P	9.8	8.17	0.08	1.15	0.33	11.2
	対照	7.36	6.68	0.08	1.02	0.24	6.9
3	2/3A	6.36	5.32	0.22	1.04	0.08	5.3
	1/3A	6.58	5.79	0.22	1.08	0.12	4.9
	1/6A	6.66	5.99	0.22	1.11	0.15	4.6
	対照	6.76	6.18	0.22	1.13	0.17	4.4

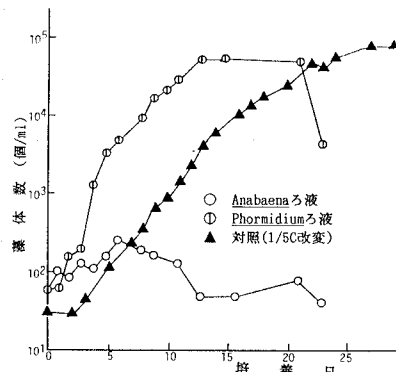


図 1. *A. macrospora*の経時変化

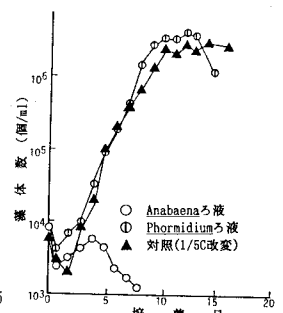


図 2. *P. tenue*の経時変化

4.1×10⁶個/mlであった。一方、*A. macrospora*のろ液では初期にわずかに増加したが、その後減少し続け、培養9日目には計数できなかった。*A. macrospora*ろ液の栄養塩濃度は1/5C改変よりは低かったが、*P. tenue*ろ液よりは高かったので、*A. macrospora*および*P. tenue*の増殖抑制は栄養塩のみでは説明できない。*P. tenue*ろ液で*A. macrospora*は対照よりμが2倍も高かったが、最大増殖量は0.7倍に留まった。*P. tenue*は自分のろ液で対照よりμで0.8倍で、最大増殖量は1.5倍であった。

3-2 藍藻類の代謝産物の珪藻類に対する影響(Run2)

本実験では、代謝産物の影響を明確に把握するために、*A. macrospora*および*P. tenue*の培養液(各々30日培養)のろ液を10リットルで8倍濃縮したもの、1/5C改変培地で希釈し、4、2、1、1/2倍の濃縮率(希釈率)で実験を行った。*Nitzschia sp.*をそれらに植種した時の経時変化を図3、4に示す。1/2~4倍の*A. macrospora*ろ液では、遅滞期は4倍が一番短く、ついで1/2、2、1倍の順に長い、いずれも対照より増殖が活発でμは各々2.2~3.3倍、最大増殖量は1.5~4.9倍であり、濃縮率が高いほど大きくなった。1/2~4倍の*P. tenue*ろ液での*Nitzschia sp.*の増殖は濃縮率が高いほど遅滞期が短く、μは各々1.2~3.4倍、最大増殖量は各々1.4~7.6倍として濃縮率が高いほど大となっている。本実験では、藍藻類の代謝産物が*Nitzschia sp.*に対して増殖促進効果が強いことを示したが、濃縮操作により栄養塩も濃縮されたのでさらなる検討が必要である。

3-3 藍藻類の代謝産物の緑藻類に対する影響(Run3)

本実験では、*A. macrospora*の培養液(33日培養)のろ液を1/5C培地で希釈し、2/3、1/3、1/6倍の濃度で実験を行った。*Chlamydomonas sp.*をそれらに植種した時の藻体数の経時変化を図5に示す。1/6、1/3、2/3倍の*A. macrospora*のろ液で、ろ液の濃度が高いほど対照よりμでは1.1~1.3倍と高く、最大増殖量は0.8~0.9倍と低くなっている。いずれも遅滞期は見えなかった。*A. macrospora*の代謝産物は*Chlamydomonas sp.*にわずかな増殖促進効果を持っていると考えられる。

4. 結論:

本研究では琵琶湖湖水から単離した藍藻類*A. macrospora*および*P. tenue*の代謝産物が自己及び他藻類の増殖の増殖に及ぼす影響を調べた。以下にその成果を要約する。

①*A. macrospora*ろ液においては、*P. tenue*は増殖せず、*A. macrospora*自身も抑制され、最大増殖量も対照より1/100以下に留まった②*P. tenue*ろ液においては、*A. macrospora*は増殖促進効果を示したが、それ自身には影響を与えなかった③珪藻類*Nitzschia sp.*は*A. macrospora*および*P. tenue*のろ液において、代謝産物の濃度は高いほどμ及び最大増殖量が大きくなり、増殖促進効果を示した④緑藻類*Chlamydomonas sp.*は*A. macrospora*のろ液においてわずかな増殖促進効果を示した。今後の課題として、本実験で考慮しなかった共存バクテリアの代謝産物の分解に対する活性を把握する必要があり、藻類の代謝産物をゲルろ過などで画分して、それらの藻類増殖への影響を検討することを試みつつある。なお、*A. macrospora*および*P. tenue*は京都市水道局水質試験所から御厚意により譲り受けたとを記し、感謝の意を現わします。

参考文献

- 1) K. I. Keating: Science, 196, pp885~886, 1977
- 2) H. W. Kroes: Limnology and Oceanography, 17, (3), pp423~432, 1972

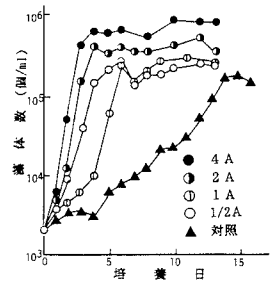


図3. *Nitzschia sp.*の経時変化 (I)

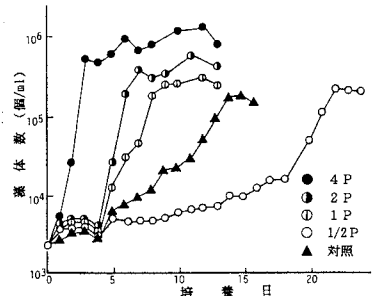


図4. *Nitzschia sp.*の経時変化 (II)

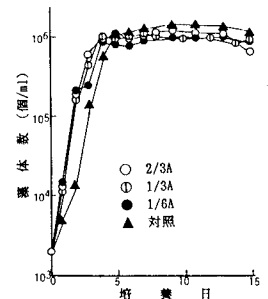


図5. *Chlamydomonas sp.*の経時変化