

常緑植物を利用した藍藻の増殖抑制に関する一考察

日本大学理工学部土木工学科 正会員 ○島田浩司 吉田征史 松島眸 両角崇

1. 研究背景および目的

湖沼や貯水池等でアオコが発生すると淡水資源としての利用価値が消失する。したがって、淡水資源水の水質を確保しアオコの発生を防止することが重要である。富栄養化やアオコ抑制の対策には必ずしも即効的な手法はないが、これまでに検討されてきた手法の中には、例えばホザキノフサモ¹⁾や茶葉²⁾など植物に含有されているポリフェノール成分を利用したアオコ対策が期待されている。筆者らは、*Microcystis aeruginosa*(以後、*M. aeruginosa* と表記)を、落葉広葉樹枯葉を水に浸漬し縮合型タンニンを抽出した枯葉水溶性抽出液に曝露させ、*M. aeruginosa*の増殖が抑制され得る傾向について検討した。その結果から、*M. aeruginosa*単位細胞当りの初期縮合型タンニン負荷強度値が10~15 pg/cellである場合には増殖抑制効果³⁾が10~14日間持続したことを示した。一方、アオコが熱帯や亜熱帯そして温帯地域の富栄養化湖沼で発生していることを考慮すれば、落葉広葉樹枯葉の利用は地域的あるいは季節的観点からその採取や利用が困難な場合が考えられる。そこで、枯葉の代替として常緑植物を利用したアオコ対策の可能性について、溶出試験と増殖抑制試験の結果から検討した。以下に報告する。

2. 試験方法

2.1 溶出試験

本研究では、アオコ増殖抑制対策として常緑植物あるいは落葉広葉樹枯葉を富栄養化湖沼で利用する際に、これらに含有される成分による水質汚濁の影響を検討するための試験を行った。本報では、常緑植物シラカシの生葉を天日乾燥せしめ、その乾燥葉から水に可溶化する抽出液について藻類の増殖抑制成分となる縮合型タンニン(CT)、また水質汚濁成分となる全窒素(T-N)と全リン(T-P)等の溶出量を把握する乾燥葉溶出試験を実施した。常緑植物生葉は入手容易なシラカシを、また比較のため落葉広葉樹サクラ枯葉を使用した。溶出試験のため、まず採取したシラカシ生葉は採取後数日間天日乾燥し、乾燥葉を食品用ミキサーにて粉碎した。粉碎シラカシ乾燥葉4.0gあるいは粉碎サクラ枯葉4.0gを茶パックに封入し、水温30±1℃に設定した蒸留水4.0Lに投入した。この溶出試験溶液は、その後、適当な時間経過毎に50 mLを採取し、0.22 μmメンブレンフィルターでろ過したものについてCT、T-N、T-P濃度を定量した。なお、CTはバニリン-硫酸法によりカテキン換算にて定量し、T-Nはペルオキシ二硫酸分解-亜鉛還元ナフチルエチレンジアミン吸光光度法、T-Pはペルオキシ二硫酸分解-モリブデン青吸光光度法に基づいた簡易全窒素全リン計にて定量した。

2.2 *M. aeruginosa* の増殖抑制試験

試験に供した *M. aeruginosa* は国立環境研究所より分譲された NIES 102 株である。この株は M-11 培地を使用し、30±1℃に設定したインキュベーター内で照度 3,000 lx(明 16 時間、暗 8 時間)の条件下で 7 日間培養した。このものが *M. aeruginosa* 培養液である。常緑植物水溶性抽出液は、シラカシ乾燥葉 1.0g を DI 水 10 mL に投入し 1 晩室温にて静置後、上澄み液をろ過して作成した。また、比較試験として粉碎したサクラ枯葉 1.0g を DI 水 100 mL に投入して 1 晩室温にて静置、常食植物水溶性抽出液と同様の手順でろ過して枯葉水溶性抽出液を作成した。その後、高圧滅菌処理(121℃, 15min)した M-11 培地に上述した *M. aeruginosa* 培養液と常緑植物水溶性抽出液あるいは枯葉水溶性抽出液を添加する増殖抑制試験を実施した。これらの試験系を常緑植物水溶性抽出液添加系試験と枯葉水溶性抽出液添加系試験と称し、*M. aeruginosa* の初期細胞密度は 3.0×10^5 cells/mL、初期縮合型タンニン負荷強度値を 15pg/cell に設定した。対照試験(Control)系については M-11 培地に *M. aeruginosa* 培養液のみを注入した。なお、各試験系の細胞密度の経日的変化は Thoma 式血球計算盤に試料を滴下し、顕微鏡にて細胞個体数をカウントして定量した。

キーワード: 常緑植物, *Microcystis aeruginosa*, 増殖抑制, 水質汚濁

連絡先: 〒101-8308 東京都千代田区神田駿河台 1-8-14 TEL:03-3259-0673

3. 試験結果および考察

3.1 溶出試験

図.1(A)および図.1(B)はシラカシ乾燥葉あるいはサクラ枯葉を蒸留水に浸漬した場合の増殖抑制成分(CT)あるいは水質汚濁成分(T-N, T-P)溶出量の経日変化の一例である. シラカシ乾燥葉の各成分は試験開始約 50 時間経過後まで急激に溶出し, その後は横ばい傾向を示した. 一方, サクラ枯葉の各成分は試験開始約 24 時間経過後まで急激に溶出し, その後は横ばい傾向を示した. これらによれば, シラカシ乾燥葉の方がサクラ枯葉よりも含有成分が溶出し難い傾向であった. 図.2(A)および図.2(B)は葉単位重量当たりの増殖抑制成分と水質汚濁成分の溶出傾向を示した結果である. この結果より, シラカシ乾燥葉単位重量当たりから溶出する CT 溶出量はサクラ枯葉より明らかに少ないにもかかわらず, T-N, T-P の溶出量はサクラ枯葉と同等あるいは多い傾向であった. 換言すれば, シラカシ乾燥葉による藍藻の増殖抑制対策を検討した場合, サクラ枯葉を用いた場合よりも水質汚濁の懸念が残る.

3.2 *M.aeruginosa* の増殖抑制試験

図.3 は Control 系あるいは *M.aeruginosa* を常緑植物水溶性抽出液および枯葉水溶性抽出液に曝露させた場合における細胞密度の経日変化である. Control 系は試験開始 7 日間継続して増殖傾向を示したが, 常緑植物水溶性抽出液あるいは枯葉水溶性抽出液添加系は共に増殖抑制効果が 7 日間継続し, かつ細胞密度の挙動が概ね同様の傾向を示した. この傾向は増殖抑制成分である CT の初期負荷強度値が同等(約 15pg/cell)に設定したための結果であると考えられる. すなわち, シラカシ乾燥葉から作成した常緑植物水溶性抽出液であっても, サクラ枯葉から作成した枯葉水溶性抽出液同様 *M.aeruginosa* に対して効果的な増殖抑制効果を有することが確認された. 従って, 枯葉の利用が困難な地域において常緑植物を用いる可能性のあることが示唆された.

まとめ

シラカシ乾燥葉あるいはサクラ枯葉を用いた溶出試験および *M.aeruginosa* の増殖抑制試験を実施した. シラカシ乾燥葉から作成した常緑植物水溶性抽出液は *M.aeruginosa* の増殖を効果的に抑制したことから, 枯葉の利用が困難な地域においては常緑植物の利用が有効である可能性が示唆されたが, 一方ではシラカシ乾燥葉はサクラ枯葉と比較して葉単位重量当たりの水質汚濁成分溶出量が多く, シラカシの使用は水質汚濁の懸念が残る. 今後は使用前の生葉の乾燥方法について検討すべき余地があり, また, 常緑植物の他種生葉の利用可能性についても検討が必要である.

参考文献

1) 中井ら:ホザキノフサモが放出したアレロパシー物質による藍藻類 (*Microcystis aeruginosa*) の増殖抑制, 日本水処理生物学会誌, Vol.34, 159-170, 1998. 2) 笹尾ら:茶抽出液によるアオコ増殖抑制への効果, 陸水学雑誌, Vol.62, 115-122, 2001. 3) 島田ら:有毒藍藻 *Microcystis aeruginosa* とサクラ枯葉から調整した水溶性抽出液との曝露時間が増殖阻害に及ぼす影響, 環境工学研究論文集, Vol.67, 317-325, 2011.

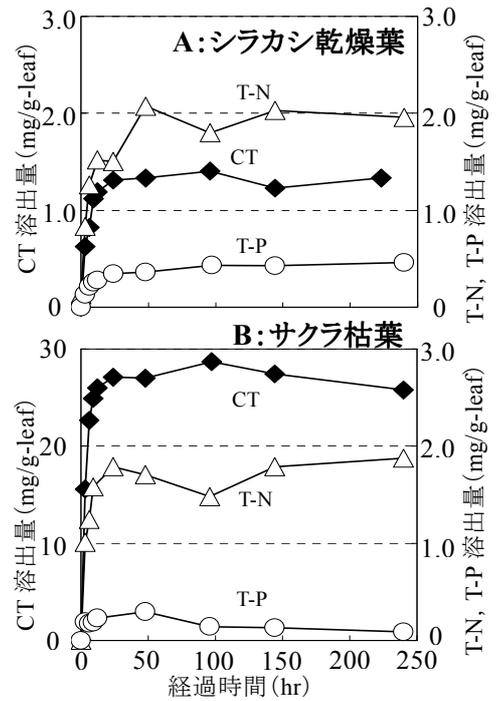


図.1 葉単位重量当たりの CT, T-N, T-P 溶出量の経日変化の一例

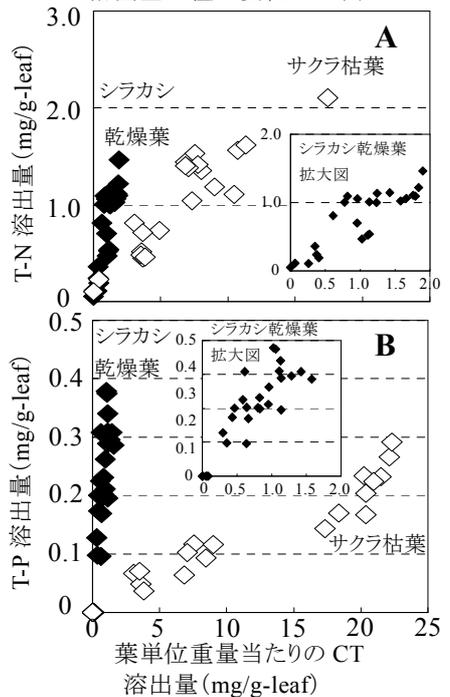


図.2 葉単位重量当たりの増殖抑制成分と水質汚濁成分の溶出傾向

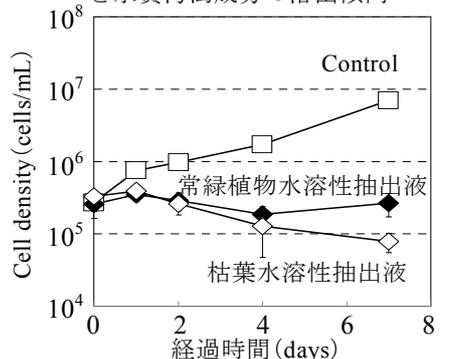


図.3 増殖抑制試験の細胞密度の経日変化