

II—26 栄養塩の流出と藻類増殖(2) —AGP試験による増殖特性の解析—

北海道大学工学部 正会員 橘 治国

森口朗彦

井上隆信

オルカノ

今岡孝之

1. 緒言

多くの閉鎖性水域において、栄養塩濃度の増加に伴い単一藻類が優先的に異常増殖する、いわゆる“水の草”現象が頻生し、自然生態系が破壊されるケースが目立ってきた。このことは、水道水源あるいは水産・レクリエーション用水としても様々な弊害を生ずることになり、“水”の価値を低下させる。前報¹⁾では、フィールド調査を中心に、藻類増殖を支配する栄養塩の形態とその流出特性について報告した。本論文では、集水域から流出した栄養塩が閉鎖水域に流入した場合を考え、栄養塩の形態およびその濃度と藻類増殖パターン、最大増殖量、増殖速度について、藻類増殖能力推定試験(AGP試験)に基づいて解析した結果を報告する。特に、外部負荷の藻類増殖に対する直接的影響を明らかにすることから、その結果は我国に多い浅い湖沼での“水の草”発生機構、あるいは河床生物への影響を考えるとここに意義があると考えられる。

2. 研究方法

2.1 藻類増殖能力推定試験(AGP試験)

(A) 試験方法 AGP試験は、自然水・排水などの試水に特定の藻類を接種し、一定環境条件のもとで藻類が最大増殖量に達するまで培養する方法であり、その増殖量から試水の藻類増殖能力が推定される。今回の試験では、供試藻類を“水の草”の代表種である *Microcystis aeruginosa* (東京大学, IAM-176) とし、温度 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 、照度 $1000 \pm 100 \text{ lux}$ で培養した。培養器としては試験管を用い、試水 10 ml を入れたのち、供試藻類を 10000 細胞/ml になるよう調整、接種した。各試水について、藻類利用可能リン・窒素量を推定するため、試料に過剰のリン・窒素を添加したものも試験に供した。添加物は、リン K_2HPO_4 、窒素 NaNO_3 を用い、濃度がそれぞれ 0.1 mg/l 、 1.0 N mg/l 増加するようにした。これらの操作は無処理(B)で述べる)を除き、無菌的に行った。藻類の最大増殖期は、2~3日ごとに濁度(使用波長 660 nm)の測定を行い、その増加量が5%以下となった時点とした。藻類増殖量は有機炭素(TOC)の増加量とし、2組の試験結果の平均値とした。

(B) 試料の前処理 従来より見落とされてきた懸濁態栄養塩の藻類増殖におよぼす影響についても検討を行うため、試料に以下の処理を施し、AGP試験に供した。(1) 無処理[N+tr.] (2) 高圧蒸気滅菌処理(AC+tr.: 121°C 、 1.055 kg/cm^2 で20分間処理) (3) 無菌ろ過処理[Fr+tr.: $0.45 \mu\text{m}$ メンブレンフィルターで無菌ろ過] (4) 高圧蒸気滅菌無菌ろ過処理[ACFr+tr.: (3)の処理の後、 $0.45 \mu\text{m}$ メンブレンフィルターで無菌ろ過]

表1 AGPの表示方法

	No treatment (Ntr.)	Autoclave treatment (ACtr.)	Filtration treatment (Ftr.)	Autoclave & filtration treatment (ACFtr.)
No addition	(S) AGP(T)	AGP(AT)	AGP(F)	AGP(AF)
Phosphorus addition*(+P)	AGP(T)+P	AGP(AT)+P	AGP(F)+P	AGP(AF)+P
Nitrogen addition** (+N)	AGP(T)+N	AGP(AT)+N	AGP(F)+N	AGP(AF)+N

* P concentration after addition (K_2HPO_4) : 0.1 mg/l
 ** N concentration after addition (NaNO_3) : 1.0 mg/l

ンフランフィルターで無菌ろ過]

これらを含め、AGP試験による試料の藻類増殖能力の推定値（AGP値）の表示方法を表1に示した。

2.2 対象試水

石狩川水系の本川、支川と各種排水を対象水域とした。河川については本川のSt. 1、St. 3、St. 6および支川室知川のSt. 51で低流量時（昭和58年8月/7日）、降雨増水時（昭和58年9月/3日）および融雪増水時（昭和58年4月23日）に採水したものをを用いた。各種排水の例としては、山陽国策パルプ旭川工場放流水、旭川市西部下水処理場放流水、旭川市忠和し尿処理場放流水（以上、昭和58年11月5日採水）および江別市大麻下水ポンプ場流入水（平水時：昭和58年11月29日/8時、高濃度時：昭和58年11月30日9時採水）を対象としてAGP試験を行い参考とした。

調査水域の概況および水質については前報（図1、図2、表1）を参考にされたい。

3. 結果および考察

3.1 藻類最大増殖可能量と増殖制限因子について

AGP試験の結果を、石狩川St. 3を例として図1に示した。St. 3は旭川市から流出する排水の影響で汚濁している地点である。これらのデータを始め、今回実施した試験結果より藻類増殖能力について考察した。まず、全体的なAGP試験結果の特徴について述べる。図2にAGP(T)とAGP(AT)、図3にAGP(AT)とAGP(AF)の関係を示した。これらの図から、AGP(AT)はAGP(T)やAGP(AF)よりも大きくなる傾向が認められる。AGP(T)は無処理のため細菌の活動（リンの吸収、藻体の分解など）によって、AGP(AF)は高圧蒸気滅菌処理だけでは懸濁態栄養塩が十分に溶出しないことなどによってマイナスの効果を受けるためと考えられ、水域の藻類増殖能力を評価する際には前処理として高圧蒸気滅菌処理をしたAGP(AT)の値を用いるのがもっとも妥当であるといえる。

ここで、AGPの内容と栄養塩添加試験の結果もあわせて地点別・季節別の差異から検討する。図4に8月低流量時のAGP(AT)の値を示した。無添加(S)リン添加(+P)の値に明らかな差は見られないが、窒素添加のものがSt. 3、St. 6で大きい。全リン・全窒素濃度は他の地点より高いが、TN/TP値の差は小さい。このことは、窒素については藻類による同化率が地点によって異なることや、また制限栄養塩となる可能性があること、リンについては藻類に利用可能なリンが過剰に含まれていることを示している。全試料について栄養塩添加試験の結果を比較しても、その多くが窒素制限型の傾向を示した。季節的には、図

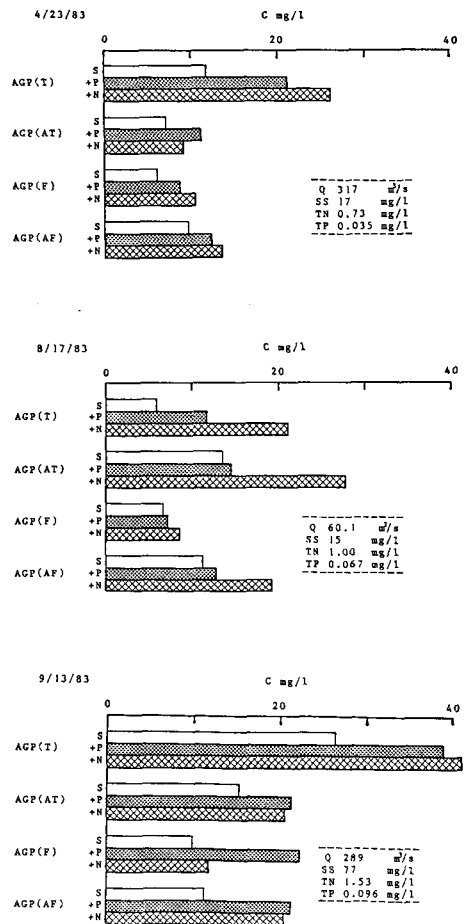


図1 AGP試験結果の一例 (St. 3)

1に示したSt. 3の例からわかるように 降雨増水時(9月)において低流量時(8月)より大きなAGP値を示し、AGP(T)、AGP(AT)とAGP(F)、AGP(AF)との差も大きくなる。増水時には、洗い出された地表堆積物が河川に流入しSS濃度を増加させており、これが

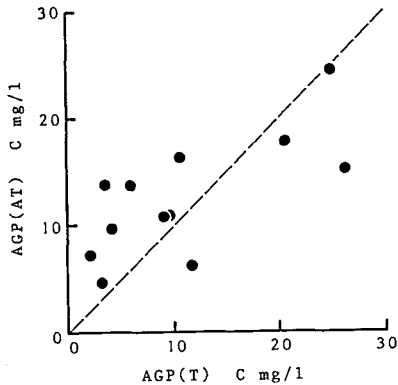


図2 AGP(AT)とAGP(T)の関係

水域の藻類増殖能力に大きな影響をおよぼすと考えられる。この時期、栄養塩添加によるAGP値の差が小さくなり、

降雨増水時の河川水は、リンとともに藻類に利用可能な窒素を多量に含んでいることがわかる。なお、樋は茨戸湖および流入河川がリン制限型であると報告しており、今回の結果と異なるが、これは一般の河川は工場排水などの流入の影響や流出過程での質的な変化を受け、生活排水の直接の影響を受ける都市近郊河川とは状況が異なるためである。

表2に、リン・窒素濃度とAGP値の関係を明らかにするため、両者の相関係数を示した。高圧蒸気滅菌処理をした試料については、前報のように河川水の濃度ではなく、処理後に測定した値を用いた。AGP(ASS)はAGP(AT)の値からAGP(AF)の値を差し引いたもので、懸濁態栄養塩による藻類増殖能力を示すものである。リンについてはAGP(T)、AGP(T)+N、AGP(AT)、AGP(AT)+Nの4つの値すべてが全リン(TP)と比較的良好な相関を示し、水中に優先的に存在する懸濁態リンが藻類に利用されていることが

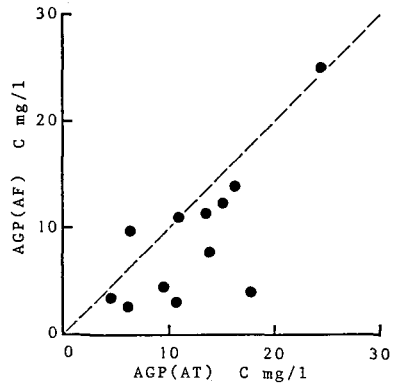


図3 AGP(AT)とAGP(AF)の関係

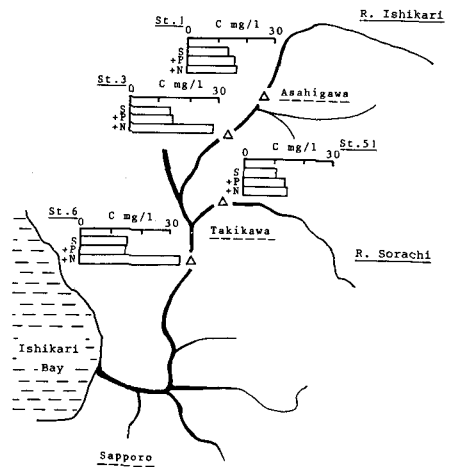


図4 石狩川水系のAGP(AT) (8/17/83)

表2 各態栄養塩とAGPの相関係数

		TP	DP	PP	TN	DN	TIN	PN
AGP(T)	S	0.73	0.28	-	0.87	0.74	0.58	-
	+P	-	-	-	0.82	0.67	0.45	-
	+N	0.68	0.67	-	-	-	-	-
AGP(AT)	S	0.86	0.77	-	0.74	0.90	0.71	-
	+P	-	-	-	0.84	0.80	0.55	-
	+N	0.76	0.89	-	-	-	-	-
AGP(F)	S	-	0.48	-	-	0.80	0.63	-
	+P	-	-	-	-	0.62	0.59	-
	+N	-	-0.02	-	-	-	-	-
AGP(AF)	S	-	0.78	-	-	0.60	0.40	-
	+P	-	-	-	-	0.00	-0.32	-
	+N	-	0.24	-	-	-	-	-
AGP(ASS)	S	-	-	0.01	-	-	-	-0.23
	+P	-	-	-	-	-	-	-0.32
	+N	-	-	0.93	-	-	-	-

(n=12)

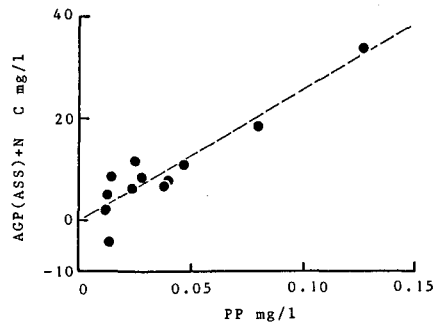


図5 AGP(ASS)+NとPPの関係

わかる。AGP (ASS) と懸濁態リンの相関係数は、窒素を添加した試料で 0.93 と非常に高く、これはリン制限状態では懸濁態リンの大部分が藻類に利用された可能性を示している。図4はAGP (ASS) + N と懸濁態リン (PP) との関係を表したもので、回帰直線 ($C = 257P - 0.22$) より、懸濁態リンによる *Microcystis aeruginosa* の増殖量は約 260 (C_{mg}/P_{mg}) となった。矢木ら³⁾、高村ら⁴⁾の報告を参考にすると、 $PO_4^{3-}-P$ を用いたときの *Microcystis aeruginosa* の藻体収率 (増殖した藻体量 C_{mg} / 消費されたりん量 P_{mg}) は約 340 となり、このことから懸濁態リンは高い割合で藻類に利用されることが証明された。

窒素については、懸濁物を含む試料のAGP値すべてに対する相関が、全無機態窒素 (TIN) より溶解態窒素 (DN) で高く、全窒素 (TN) と溶解態窒素で大差ない。これは藻類の増殖には無機態窒素はかりでなく有機態窒素も利用されるが、懸濁態窒素は、前報表2からわかるようにその存在割合が小さく、藻類増殖能力におよぼす影響が小さいためと考えられる。

3. 2 藻類増殖パターンおよび藻類増殖速度に基づく増殖特性の解析

最大増殖量に致るまでの増殖パターンに基づき、試水の性質と増殖特性の関連について解析を試みた。藻類増殖量は濁度として測定した。増殖量の経時変化も、石狩川本川の St.3 を例にとり、図5に示した。図には、無処理 (N tr.)、高圧蒸気滅菌処理 (AC tr.)、無菌ろ過処理 (F tr.)、高圧蒸気滅菌後ろ過処理 (AC F tr.) の前処理をしたものと、さらにこれらに栄養塩としてリン・窒素を添加したものを示してある。一般的傾向として、無処理と高圧蒸気滅菌処理の試料で、1~3日目に懸濁物の凝集によるものと思われる若干の濁度の低下が見られるものがあるが、大部分の試料で試験開始時から増殖が始まる。無処理、高圧蒸気滅菌処理のものにおいては、初期の急激な増殖が比較的長時間維持され、懸濁態リンが溶解態と同様、すみやかに藻類に採取されることが推察される。これは藻類の増殖を考える上で重要な事実である。また、リン・窒素添加によって初期増殖パターンに大きな変化が認められないことから、通常の河川水においては、これらの栄養塩濃度が増殖速度の律速因子となる可能性が低いことが予想される。

増殖速度を一次反応と仮定し、表3に各試料における *Microcystis aeruginosa* の比増殖速度を示した。この値は増殖初期のものであり、変動の大きいもの、あるいは値が $0.05 (\text{day}^{-1})$ 以下のものについては一で示した。 *Microcystis aeruginosa* の比増殖速度は $0.64 (\text{day}^{-1})$ とされているが⁷⁾、若干低いものの多くの試料で同じオーダーの値である。このことから、栄養塩、とりわけ利用可能性が低いとみられてきた懸濁態リンが藻類にすみやかに利用されることが明らかである。

表3 AGP試験における比増殖速度 (day^{-1})

		Ntr.			ACtr.			Ftr.			ACFtr.		
		S	+P	+N	S	+P	+N	S	+P	+N	S	+P	+N
St. 1	4/23/83	0.06	0.10	0.08	-	-	0.10	-	-	-	-	-	-
	8/17/83	0.15	0.20	0.13	0.11	0.09	0.15	-	-	-	-	0.06	-
	9/13/83	0.17	0.26	0.10	0.07	-	0.07	0.09	-	-	-	0.12	-
St. 3	4/23/83	0.13	0.13	0.12	0.13	0.31	0.15	-	-	0.07	0.09	0.06	-
	8/17/83	0.31	0.32	0.47	0.20	0.14	0.34	0.08	0.13	0.17	0.17	0.19	0.25
	9/13/83	0.29	0.27	0.18	0.16	0.10	0.12	0.09	0.09	0.11	0.06	0.10	0.08
St. 6	4/23/83	0.11	0.21	0.14	0.28	0.17	0.13	-	-	-	-	0.10	-
	8/17/83	0.23	0.22	0.24	0.11	0.08	0.19	-	0.08	0.09	0.07	0.06	0.14
	9/13/83	0.44	0.31	0.27	0.17	0.13	0.14	0.08	0.09	0.06	0.11	0.10	0.12
St. 51	4/23/83	0.17	0.48	0.20	0.16	0.21	0.53	-	-	-	0.06	-	-
	8/17/83	0.07	0.20	0.13	0.08	0.13	0.14	-	0.07	0.08	-	0.07	0.11
	9/13/83	0.21	0.11	0.14	0.34	0.21	0.25	0.08	0.19	0.31	-	0.10	-

Temperature 25±1 °C
Illumination intensity 1,000±100lux

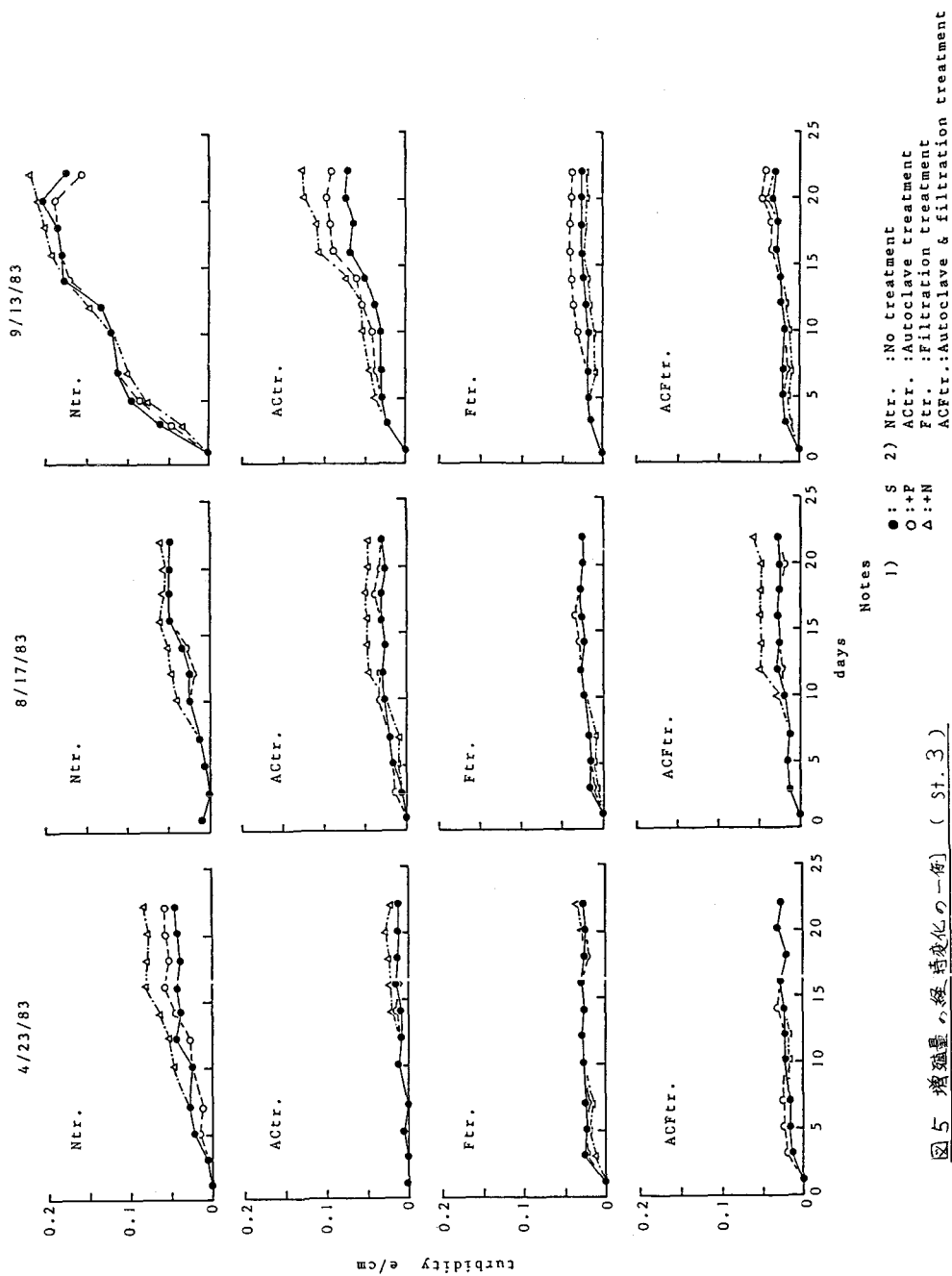


図5 増殖量の経時変化の一例 (St. 3)

4. 結論

本論文は、石狩川水系の河川水、各種排水を対象にA GP試験を行い、藻類増殖能力の特徴や推定方法、増殖特性について考察したものである。結果は以下のように要約できる。前報と重複する部分については一部割愛した。

- 藻類増殖能力の推定に対しては、懸濁栄養塩の存在の影響が大きい。したがって、水域の藻類増殖能力を評価する際には、懸濁物質を含み、また細菌の活動によるマイナスの効果のない、高圧蒸気滅菌処理を行った試料のA GP値を用いるのが妥当である。
- 藻類による栄養塩の利用に関して、リンは溶解態リンばかりでなく懸濁態リンも藻類増殖への寄与が大きくその大部分が藻類に利用される。懸濁態リンにおける利用効果を求めると約260 (C mg / P mg) となり、 $PO_4^{3-}-P$ だけを用いた場合に近い値を示した。また増殖は比較的速い速度で進行し、懸濁物質を含む試水においては懸濁態リンが溶解態同様すみやかに藻類に利用され、この状態が長時間維持される。窒素については、無機態窒素・有機態窒素の両者共、藻類に利用されるが、懸濁態窒素は一般の河川において存在割合が小さく藻類増殖能力におよぼす影響は小さい。
- 一般の河川では、生活排水の直接的影響を受ける水域とは異なり、工場排水等の流入の影響も流出過程での質的变化のため窒素制限型となることが多い。

本研究を行うにあたり、水質調査・分析の面で北海道大学学生(当時) 魚住昌之、木村直人、葛西秀章、杉浦匠氏に御援助願った。また資料解析にあたっては、北海道開発局旭川開発建設部中田満洋氏に多大な協力を得た。ここに記して謝意を表します。

(参考文献)

- 1) 橘 治国他3名:土木学会北海道支部論文集, 41, 1985
- 2) 橘 治国:衛生工学研究論文集, 20, 1984
- 3) 須藤隆一他5名:国立公害研究所報告, 26, P. 17, 1981
- 4) 日本分析化学会北海道支部編:水の分析(第3版), 化学同人, 1981
- 5) 矢木修身他4名:国立公害研究所報告, 25, P. 47, 1981
- 6) 高村義親他5名:国立公害研究所報告, 25, P. 31, 1981
- 7) 須藤隆一編:環境浄化のための微生物学, 講談社, 1983