

珪藻類 *Nitzschia palea* の生理的特性の解明～応用生態工学的なアオコ防除技術の開発に向けて～

九州大学工学部 学生会員 ○大隈 一輝 九州大学大学院工学研究院 正会員 久場 隆広  
九州大学大学院工学研究院 正会員 藤林 恵 九州大学大学院工学府 学生会員 渡邊 俊介  
温州大学 正会員 井芹 寧 温州大学 非会員 郝 愛民

## 1. 序論

アオコは、悪臭の発生、酸欠による魚の斃死、浄水過程のろ過障害など、様々な問題を引き起こす。アオコの発生を抑制する対策として、浚渫や覆砂、凝集剤の散布などが挙げられる一方で、コスト面や環境への影響が大きい。そこで環境負荷の小さい省エネルギーな生物利用による対策に着目した。沈水植物であるセキショウモとアオコ (*Microcystis* spp.) との生物間相互作用を検討した際、セキショウモの有無によらずアオコが急減した。その原因を検討した結果、珪藻類の *Nitzschia* sp. が直接 *Microcystis* colony に侵入し、アオコの沈降、分解を促す現象が観察された。*Nitzschia* sp. は河川や湖沼、鉱泉など広く分布している在来種である。外来生物導入、遺伝子汚染の問題もクリアしているため、将来的に有望な応用生態工学的アオコ対策法として期待できる。

本研究では、アオコの分解を促す *Nitzschia palea* の生理的特性を解明することを目的とした。*N. palea* は、佐賀県の藤ノ平ダムから採取した *Nitzschia* sp. を同定したものであり、それを使用する。*N. palea* の生理的特性が判明すると工業的に *N. palea* を生産して水域に散布し、アオコの増殖を抑制できる可能性がある。また、湖沼の栄養塩濃度から *N. palea* の増殖速度を推定して *N. palea* によるアオコの増殖抑制シミュレーションモデルが構築できる可能性もある。

## 2. 実験方法

2-1 *N. palea* の窒素に関する増殖パラメータの算出

本実験では、*N. palea* の窒素濃度に関する最大比増殖速度と半飽和定数を求めるために WC 培地の硝酸態窒素濃度を 0.01, 0.1, 1.0, 5.0, 10, 20 (mgN/L) の 6 段階に変化させた。その他の栄養塩濃度は、WC 培地を基に調整した。細胞内の窒素を消費させるために、窒素塩を除いた WC 培地を用いて定常期に達するまで前培養を行った。本培養の条件は、水温 25°C、pH7.0、明暗周期 12L : 12D、照度 32  $\mu$  mol/m<sup>2</sup>s、1 日 1 回攪拌とした。*N. palea* の初期細胞密度は約 4000cells/ml とし、n=2 で培養した。*N. palea* は付着性珪藻であるため互いの細胞に付着して群体を形成することがあ

る。従って、培養しているフラスコをオートクレーブしたピペットで攪拌した後に、1mL 採取し、適当な倍率で希釈した試料に対して超音波分散処理を行った。その後、顕微鏡およびプランクトン計数盤 (MPC-200, 松浪硝子工業, 検鏡部容量 0.1mL=10×10×0.1mm) を用いて各細胞数密度を 2,3 日おきに定常期に達するまで計測して、(1)式から比増殖速度  $\mu$  を算出した。ここで、 $c_1$ ,  $c_2$  はそれぞれ  $t_1$ ,  $t_2$  のときの細胞数密度である。S は栄養塩濃度である。得られた比増殖速度から最大比増殖速度  $\mu_{max}$ 、半飽和定数 K を Hanes-Woolf plot の式(2)により算出した。

$$\mu = \frac{\ln C_2 / C_1}{t_2 - t_1} \quad (1)$$

$$\frac{S}{\mu} = \frac{1}{\mu_{max}} S + \frac{K}{\mu_{max}} \quad (2)$$

2-2 *N. palea* のリンに関する増殖パラメータの算出

本実験では、*N. palea* のリン濃度に関する最大比増殖速度及び半飽和定数の算出を目的とした。WC 培地のリン濃度を 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5 (mgP/L) の 6 段階に変化させ、その他の栄養塩濃度は WC 培地を基に調整し、培養を行った。その他の条件は 2-1 と同様にして培養を行った。

2-3 *N. palea* の珪素に関する増殖パラメータの算出

本実験では、*N. palea* の珪素濃度に関する最大比増殖速度及び半飽和定数の算出を目的とした。WC 培地の珪素濃度を 0.01, 0.1, 1, 5, 10, 20 (mgSi/L) の 6 段階に変化させ、その他の栄養塩濃度は WC 培地を基に調整し、培養を行った。その他の条件は 2-1 と同様にして培養を行った。

## 3. 実験結果及び考察

3-1 *N. palea* の窒素濃度に関する生理的特性

*N. palea* の最大比増殖速度  $\mu_{max}$  は 0.52day<sup>-1</sup> で窒素の半飽和定数  $K_N$  は 0.12mgN/L であった。また、図 1 の実線は Monod 式に  $\mu_{max}$  と  $K_N$  を代入した近似曲線である。最大細胞密度は 5mgN/L 以上において同程度だった。*M. aeruginosa* の最大比増殖速度  $\mu_{max}$  は 0.37day<sup>-1</sup> で

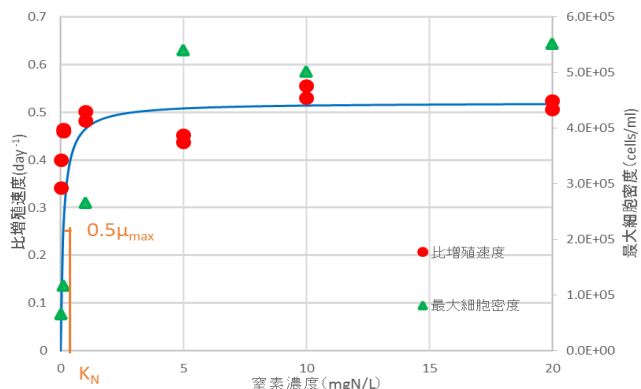


図1 窒素濃度と比増殖速度と最大細胞密度の関係

半飽和定数  $K_N$  は  $0.05\text{mgN/L}$  である<sup>1)</sup> ことから、窒素が豊富にあると  $\mu_{max}$  の大きい *N. palea* が優占化しやすい一方で、枯渇状態にあると、 $K_N$  の小さい *M. aeruginosa* が優占化すると思われる。

3-2 *N. palea* のリン濃度に関する生理的特性

*N. palea* の最大比増殖速度  $\mu_{max}$  は  $0.62\text{day}^{-1}$  でリンの半飽和定数  $K_P$  は  $0.035\text{mgP/L}$  である。5日目まではすべての濃度で増殖速度が同程度である一方、 $1\text{mgP/L}$  での最大細胞密度は  $0.01\text{mgP/L}$  よりも約3倍多かった(図2)。 $5\text{mgP/L}$  では高濃度となり阻害的になっていた。*M. aeruginosa* の最大比増殖速度  $\mu_{max}$  と半飽和定数  $K_P$  はそれぞれ  $0.24\sim 0.25\text{day}^{-1}$  と  $0.002\sim 0.006\text{mgN/L}$  である<sup>2)</sup> ことから、リンが豊富にあると  $\mu_{max}$  の大きい *N. palea* が優占化しやすい一方で、枯渇状態にあると、 $K_P$  の小さい *M. aeruginosa* が優占化すると思われる。

3-3 *N. palea* の珪素濃度に関する生理的特性

*N. palea* の最大比増殖速度  $\mu_{max}$  は  $0.68\text{day}^{-1}$  で半飽和定数  $K_{Si}$  は  $0.48\text{mgSi/L}$  である。 $20\text{mg/L}$  の最大細胞密度(図3)は3-1,3-2の値と比較すると約1.5倍大きかった。比増殖速度  $\mu$  のモデル化において、 $\mu_{max}$  を一定として、温度、光強度や栄養塩濃度の関数として表すことが多い。しかし、珪素濃度に関する最大比増殖速度は窒素濃度、リン濃

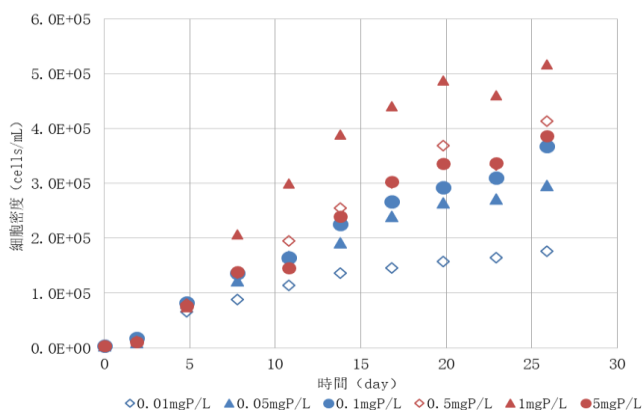


図2 各リン濃度での *N. palea* の増殖の経日変化

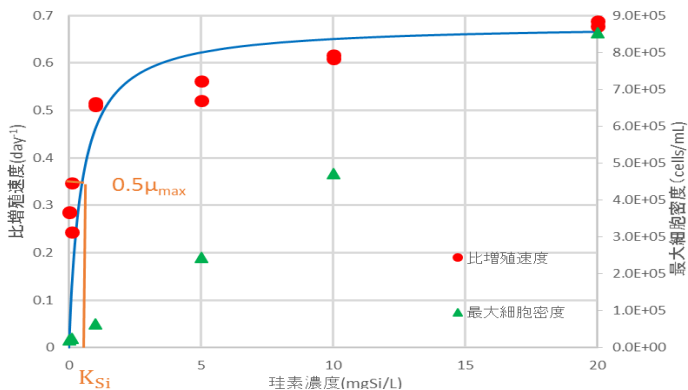


図3 珪素濃度と比増殖速度と最大細胞密度の関係

度の値と比較すると大きな値となっている。2-1, 2-2 の実験で使用した培地の珪素濃度  $11.2\text{mgSi/L}$  では最大比増殖速度まで増殖できていないため、窒素やリンで最大比増殖速度が小さかったのではないかと考えられる。

また、アオコの発生する諏訪湖に流入する日本で有名な河川の一つである信濃川での珪素濃度は  $8.3\text{mgSi/L}$  で安定しており<sup>3)</sup> 十分な珪素が溶存している。仮に、自然界に溶けている珪素の濃度が信濃川と同程度ならば、*N. palea* は、最大比増殖速度にはほぼ達しているので十分増殖できると思われる。従って、他の栄養塩類が制限因子になりやすいと推察する。

4. 結論

- 4-1 *N. palea* の窒素、リン、珪素に関する最大比増殖速度は各々、 $0.52, 0.62, 0.68\text{day}^{-1}$  で半飽和定数は各々  $0.12, 0.035, 0.48\text{mg/L}$  である。
- 4-2 窒素やリンが豊富にあるとき、*N. palea* は *M. aeruginosa* に対して優占する可能性がある。
- 4-3 自然界の溶存珪素が信濃川の珪素濃度と同程度ならば、珪素以外の栄養塩類が制限因子になっている可能性がある。

参考文献

- 1) 高橋康成、天野佳正、町田基、窒素制限下における藍藻類 *Microcystis aeruginosa* および珪藻類 *Cyclotella* sp. の増殖および競合特性、日本藻類学会 vol. 60 (1) pp.1-8、2012
- 2) YOSHIMASA AMANO, YOSUKE SAKAI, TAKUMI SEKIYA, XIN QIAN, YOKO FUJIMURA, KAZUO TAKI, and MOTOI MACHIDA Influence of Phosphorus and Silicon on Competitive Interaction between *Micocystis aeruginosa* and *Cyclotella* sp. by Monoculture and Competitive Bioculture Experiments, Japanese Journal of Water Treatment Biology vol.45 No.4 pp.193-200 2009
- 3) 中本信忠、山本満寿夫、信濃川水系における水質および流下藻類の流下に伴う変化の研究、河川美化・緑化調査研究論文集 vol.8 pp.1-25 1999