

(6) ダム湖における Peridinium 赤潮の発生状況とその増殖特性

国立公害研究所 ○渡辺 信・渡辺正孝

1. はじめに

湖沼水の変色現象は、これまで藍藻類や緑藻類の異常増殖によることが多く、水の華 (water bloom) と呼称され、霞ヶ浦や諏訪湖といった富栄養化の進んだ湖沼にみられてきた現象であった。しかし、最近、栄養の富んでいない山地のダム湖にも渦鞭毛藻の異常発生による湖水の変色現象がみられるようになり、それは湖水が褐色となる為、海の赤潮との対比で淡水赤潮と呼ばれている。ダム湖に淡水赤潮が頻発することは、上水の供給に関連した公衆衛生上の問題、ダムの景観、環境保全上の問題が懸念され、早急にダム湖淡水赤潮の発生機構を解明し、その対策の為の指針をうちだす必要がある。現在までのダム湖における淡水赤潮調査で得られた知見で共通に言えることは、まずバックウォーターのもぐり込み付近に発生し、やがて湖水全面をおおうようになること、赤潮生物は殆んどの場合、渦鞭毛藻のペリジニウム (Peridinium) で、初夏から秋に発生するものと冬に発生するものと2つのタイプがみられ、前者の場合は P. cunningtonii、後者の場合は P. penardii という事例が多いということである。このようにダム湖赤潮は、海域や天然湖沼と比較して、発生状況、原因種、発生時期等生物学的現象において単純な様相を示している為、一地域での詳細な調査、解析に基づく対策指針が他地域にも直接適用することが可能であるといえる。

赤潮現象は生物種の増殖、拡大に係わる問題である為、赤潮状態になるには必ず赤潮生物種の増殖に好適な環境条件が整うことが必要とされる。従って赤潮の対策を考える場合、重要なアプローチの一つとして、赤潮生物種の好適増殖条件を明らかにし、その条件の人為的コントロールの可能性を検討することが考えられる。しかしながら、海域の赤潮研究が、純粋培養法により赤潮生物種の増殖特性に関して多くの知見を得、発生機構の解明、対策に多大な貢献がなされつつあるのに対し、ダム湖に頻発する Peridinium に関しての増殖特性の解析は全くなされていない。本文では、群馬県下久保ダム神流湖に冬季又は初春に発生する Peridinium 赤潮の発生状況を示し、Peridinium の増殖特性を解析する基本としての純粋培養法の確立を中心に、Peridinium の好適増殖条件について現在まで明らかになった点に関して報告する。

2. 神流湖における Peridinium 赤潮の発生状況

神流湖は利根川水系神流川をせきとめてつくられた貯水池であり、首都圏の主要な水源の一つとなっている。当ダム湖の湛水は昭和42年11月にはじまっているが、約4年後の47年3月以来毎年早春から5月にかけて淡水赤潮が発生するようになった。表1は、昭和48年以降の淡水赤潮の発生記録であるが、この中で53年8月に発生した赤潮を除くと、原因種はすべて Peridinium に属すると記録されている。

表1 神流湖の赤潮発生記録 (水文水質試験室資料第8009号より引用)

発生年月日 ¹⁾	貯水位 ²⁾ m	発生地点及び状況	消波 年月
48. 2.	279.94	流入点より下流太田部橋附近に発生	48. 5
49. 4.	263.00	流入点より発生、貯水面全域となる	49. 5
50. 2.	285.58	"	50. 4
50. 12.	278.51	"	51. 5
51. 10. 21	230.33	"	—
52. 3. 16	232.41	"	52. 5
53. 2. 1	285.17	"	53. 4
53. 8. 15	269.31	流入点より、曲湖附近まで発生	53. 9
54. 3. 末	263.08	" 琴比羅橋まで発生	54. 5
55. 1. 28	294.29	流入点 (赤土橋下流) より発生	55. 5

1) 発生年月日は確認した日である。

2) 貯水位は、発生確認日が不明の場合はその月の15日の値である。

我々の 54~56 年にかけての調査により、神流湖の Peridinium の赤潮種は、P. penardii であることが明らかとなった。我々の調査以前の Peridinium が、P. penardii であるか否かは、当時の標本や形態観察資料がない為、明確な結論を下すことができないが、発生記録の歴史的同一性より判断して恐らくは同じ種であると考えられる。表 1 より、神流湖での Peridinium 赤潮の発生状況は、毎年、循環期に入った冬季又は早春に流入点より発生し、成層期となる 5 月に消滅することがわかるが、その詳細に関して昭和 48 年の記録を例にすれば（図 1）、まず流入点に発生したものが、次第に湖水の下流へと岸沿いにパッチ状に広がっていき、最終的には湖水の全面をおおうという発生パターンが報告されている（中本¹⁾、1975、水文水質試験室資料 8009 号）。この発生パターンは神流湖特有のものではなく、他のダム湖赤潮でも観察されており（伊藤³⁾、1979）、特にダム湖での赤潮発生が上流端付近に始まり、発生期間中この場所が一番濃密である理由の一つとして、上流端付近には低温の河川水が湖水の表層下に潜入して下流し、それに伴う表層水の上流への逆流とそれを助長する谷風による吹送流、そして、Peridinium の示す走光性による表層への移動と共同して、赤潮がこの部分に集積されと考えられている（図 2 参照）

3. 純粋培養実験に Peridinium penardii の増殖特性の把握の為の基礎研究

(1) P. penardii の無菌化法と合成培地の開発

実験材料としての P. penardii は、昭和 55 年 3 月に神流湖で赤潮を形成していたものである。P. penardii の培養に際して、材料の無菌化には実体顕微鏡下で本種の個体を一個体ずつキャピラリーピペットで吸い上げ、滅菌水で数回洗浄したものを後述する培地に注入し、その後増殖のみられた培養株（culture strain）をバクテリア検定培地（Ichimura & Watanabe, 1977）に接種し、3 ヶ月間、10℃、20℃、25℃ に保存し、バクテリアの増殖がみられない培養株を無菌培養株（純粋培養株）とした。

本種の培養に関して、既存の合成培地では全く生育がみられず、従って無菌化にあたっての培地として、1 g の休耕水田土壌（農薬等の影響を避ける為）と 10 ml の神流湖水を共に試験管に入れ、オートクレーブ滅菌（20 分）した二相培地（土壌相と水相）を作成した。この二相培地を使い、前述した無菌化作業を行って、数多くの純粋培養株を得ることができた。しかし、この二相培地は成分が不明確の為、栄養塩類との関連で P. penardii の増殖特性を解析することが不可能であり、従って新しい合成培地の開発を行う必要があ

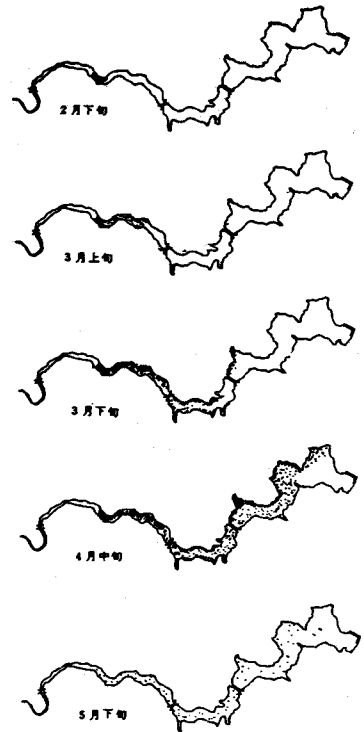


図 1 赤潮の発生経過（昭和 48 年）。中本（1975）より引用

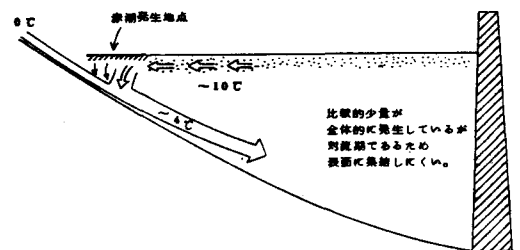


図 2 Peridinium 赤潮発生の模式図。水文水質試験室資料、第 8009 号より引用

った。合成培地の開発にあたり、基本培地として使用したのがVT培地⁵⁾(Starr, 1973)で、これを含めて、VTS(VT100ml + 土壌抽出液 1ml), VTU(VT100ml + 尿素 10mg), VTO(VT100ml + グルコース50mg, DL, アラニン70mg, グルタミン酸ソーダ100mg, グリシン70mg)のそれぞれ1~1/10まで4~6段階に希釈した培地を作成し、ど

の培地で一番良い増殖が得られるかを検討した。その結果を図3に示す。実験にあたり、温度15℃, 照度4,000ルクス, pHはすべて7.5に調節している。この実験より、VTU/6で 8×10^3 cells/mlを最もよい増殖が得られ、その後VTU/6培地を基本として一連の栄養塩濃度変換実験を行い、最終的に 4×10^4 cells/mlの収量が得られるW培地⁶⁾(Watanabe, 1981)の開発に成功した。このW培地の開発で、*P. penardii*の増殖に及ぼす環境因子の効果を精度よく解析でき、その結果より好適増殖条件を明らかにすることが可能となった。

(2) *P. penardii*の増殖条件

結果を示すに際して、特別に指定しない限り、培養は10mlのW培地を入れたねじ蓋付試験管又は200mlのW培地を入れた500ml容量の三角フラスコで行い、温度10℃, 照度4,000ルクス(1日 12時間明期), pHは7.5に設定し、光源として昼光色蛍光灯を用いた。

温度: 図4(A)は5℃, 10℃, 15℃, 20℃, 25℃での増殖曲線を示し、図4

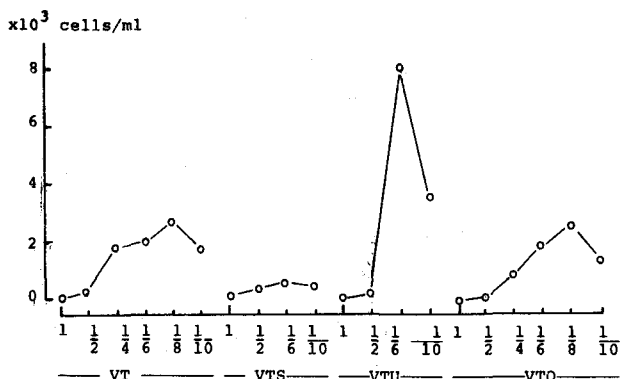


図3 VT, VTS, VTU, VTO培地のそれぞれの希釈段階での*P. penardii*の増殖量

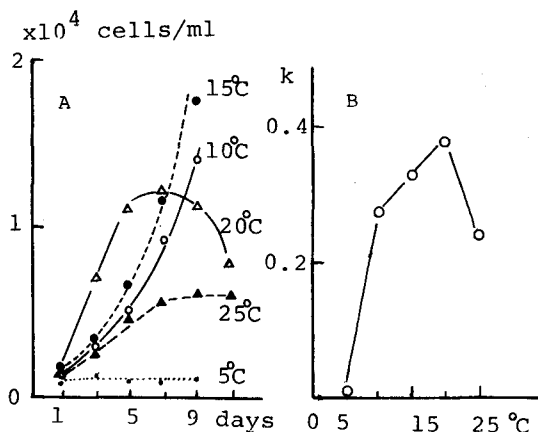


図4 各温度での増殖曲線(A)と増殖速度(B)

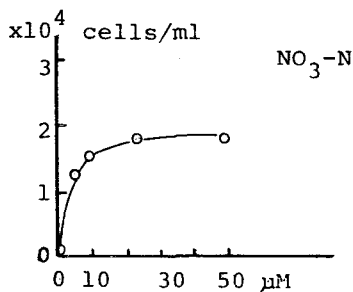


図5 NO₃-N濃度の増殖量に及ぼす効果

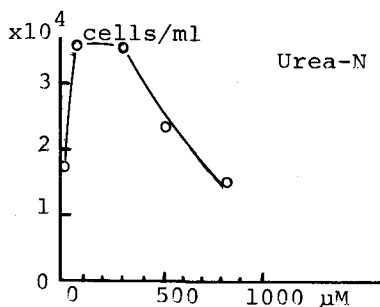


図6 尿素濃度の増殖量に及ぼす効果

(B)は増殖の対数期より算出した増殖速度(K)を比較したものである。増殖量に関しては、10℃、15℃で最も高く、最終到達量は 4×10^4 に達した。又増殖速度に関する限り、20℃が最もよい温度条件であるが、細胞数が 1.2×10^4 cells/mlまでしか到達せず、その後急激に細胞数が減っていく。20℃以上の高温はP.penardiiの赤潮状態を維持することができないことが示唆される。

栄養塩類：栄養塩類の実験を行うにあたって、前培養からの栄養塩からの栄養塩のもち込みがないように、対象となった栄養塩が欠如した培地で2～10日間予備培養を行い、増殖がとまったことを確認した上で数段階の濃度に設定された培地に予備培養株を接種した。本種は窒素化合物として、硝酸態窒素を基本的に利用するが、そのみでは増殖量が 1.7×10^4 cells/mlである(図5)のに対し、尿素の添加により 3.5×10^4 cell/mlの収量が得られ、尿素は本種の増殖を促進することが判明した(図6)。又同様に磷化合物に関しても無機態リン($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)よりも有機態リン($\text{Na}_2\text{glyceroPO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)の方で良い増殖を得ることができた(図7)。以上の結果より、本種の増殖は有機態窒素、有機態リンにより促進されることが判明したが、特に尿素の効果が著しいことで、ダム湖に流入する尿排水の対策を考慮する必要があると思われる。本種の増殖には、窒素、磷のみならず、Ca、Kの濃度が著しい影響を示しており(図8)、Ca濃度の高い所(8.5ppm以上)とK濃度の低い所(7.6ppm以下)で良い増殖を示している。富栄養化水域に発生するMicrocystisやAnabaena、神流湖でP.penardii赤潮の消滅後、時として水の華を形成する緑藻Carteria等の培養株が38ppmのK濃度でも十分増殖するのに対して、本種はほとんど生育できず、その至適K濃度が非常に低いことは注目すべきことである。その他の微量元素、Fe、Mn、Zn、Co、Mo、Cu、Bに関して、これらの金属類を全く欠如した培地の作成は、使用する試薬の精製上不可能である為、これらの金属を添加しなくてもすでに極く微量分の混入がある。従って、Mn、Zn、Co、Mo、Cu、Bの場合は混入分だけで最大の増殖量が得られ、それらの添加による増殖の促進はみられない。Feに関してのみ、 $0.1 \mu\text{M}$ 以上の添加で良い増殖が得られた(図9)。しかし、この至適濃

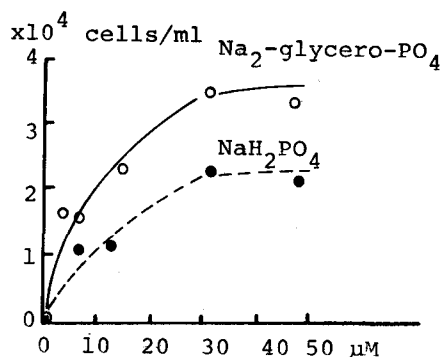


図7 $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度の増殖量に及ぼす効果

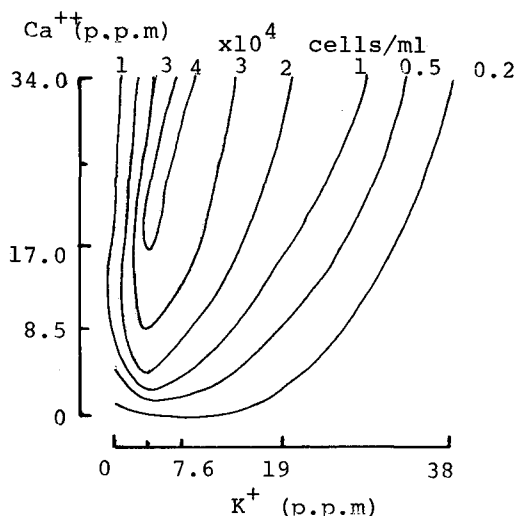


図8 Ca^{++} と K^{+} の濃度の増殖量に及ぼす効果

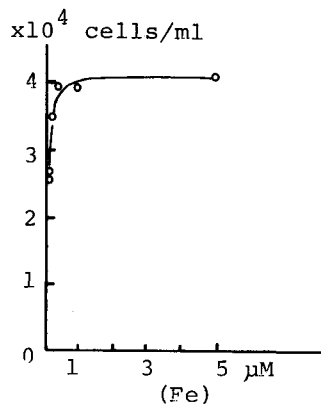


図9 Fe濃度の増殖量に及ぼす効果

度に関しては、Microcystis や他の海産赤潮鞭毛藻、Olisthodiscus、Chattonella の最大増殖量を得るのに必要な量 (ca $7\mu\text{M}$; 森等⁷⁾ 1981; 中村等⁸⁾ 1981) に比べて著しく低い値である。ビタミンの効果に関しては、現在 B_{12} の効果しか検討していないが、 B_{12} が欠如すると生育せず、微量の B_{12} の添加で最大の増殖量が得られた (図10)。

4. 神流湖での P. penardii 赤潮の発生状況と培養結果との関連

神流湖での P. penardii は、今までの記録より、循環期に入った冬季、湖水表面温度が $8\sim 10^{\circ}\text{C}$ になって1~2ヶ月後に発生することが報告されており (水文水質試験室資料, 第8009), このことは、湖水の循環による栄養塩の補給と水温によ

り P. penardii 赤潮の発生が規定されていることを示唆している。今回の培養実験から、P. penardii の至適温度条件は $10\sim 15^{\circ}\text{C}$ であり、尿素やグリセロリン酸といった有機態窒素、有機態磷が本種の増殖を促進すると考えられる結果を得ることができた。従って循環期におけるこれらの栄養塩の挙動がいかなるものか、又その負荷源を明らかにする必要がある。Ca濃度について、神流湖では上流域に石灰岩地帯を有する関係で、Ca濃度は湖内で常時 $20\sim 30\text{ppm}$ と高い状態であることから (水文水質試験資料 第8009号) P. penardii の増殖にとっては好適濃度にあるといえるが、Kやその他の微量金属、 B_{12} についての情報は無い。少なくともK, Fe, B_{12} の神流湖での分布状態、変動の調査が必要であるといえる。

5. おわりに

本文では、神流湖に発生する P. penardii 赤潮の増殖特性を解析する場合の重要な基礎となる無菌培養法、合成培地の開発を中心に、P. penardii の増殖特性を解析し、赤潮対策の為の今後の野外調査の方向について若干の提言を行った。我々が開発したW培地では、P. penardii の倍加時間は約1.8日であり、近縁種で合成培地が確立している (Carefoot 培地) P. cinctum の倍加時間7日と比べ著しく速い。従って今後、増殖速度、栄養塩摂取速度を含めた動力学的解析は十分可能となり、物理化学的・生物因子の空間的・時間的変動との関連で、P. penardii 赤潮発生予測の基礎モデル構築へと進展していく基礎が確立したといえよう。しかし、本文での P. penardii の増殖実験についてはまだ不十分である点が多く、例えば照度、pHの影響に関しては結果がでていず、また栄養塩類に関しても、それぞれの濃度で増殖量の比較を行っただけである為、より詳細な解析は今後の課題である。ただ、本種の培養実験を行う過程で気がついたことは、本種は藍藻や緑藻と比べて最大増殖量をもたらす栄養塩の濃度が非常に低いということである。このことは、栄養塩の富んでいない湖水で赤潮を形成しうる潜在力を保有しているということでもあり、又小量の栄養塩負荷が思いがけない赤潮発生をもたらす可能性が考えられる。この問題についての詳細は、現在進行中である本種の増殖の動力学的解析の結果より議論したいし、その上で本種赤潮の対策指針を提言していきたいと考えている。

参考文献

- 1) N. Nakamoto: A freshwater Red Tide on a water reservoir. Jap. J. Limnol 36, 2:55-64, 1975.

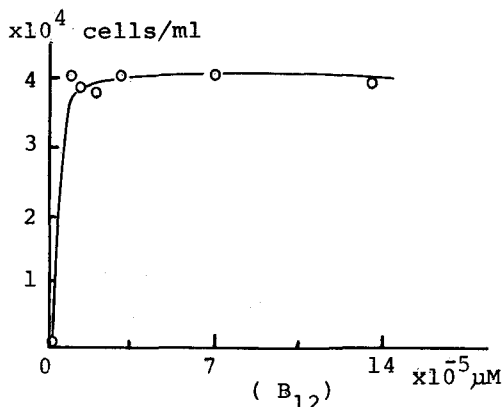


図10 B_{12} 濃度の増殖量に及ぼす効果

- 2) 水資源開発公団試験所：表面取水による神流湖淡水赤潮の抑制，水文水質試験室資料第8009号，1980.
- 3) 伊藤猛夫：西日本における淡水赤潮の発生状況，シンポジウム「湖沼の水の華（いわゆる淡水赤潮）の発生に関する諸問題」：p 4～5，1979.
- 4) T.Ichimura & M.M.Watanabe: Axenic clone of Microcystis aeruginosa Kütz emend Elenkin from Lake Kasumigaura, Bull Jap.Soc.Phycol 25, 1977.
- 5) R.C.Starr: Special methods—dry soil samples. In Handbook of Phycological Methods. Edited by J.R.Stein, p159～167, 1973.
- 6) M.M.Watanabe: Axenic culture of Peridinium penardii, J.Phycol in press, 1981.
- 7) 森 栄，中村泰男，渡辺 信，渡辺正孝：赤潮藻類の増殖量に及ぼす影響－2, Olisthodiscus luteus. 国立公害研究所報告 No 30，1981.
- 8) 中村泰男，渡辺 信，渡辺正孝：赤潮藻類の増殖量に及ぼす環境因子の影響－1, Chattonella antiqua. 国立公害研究所報告 No 30，1981.