

(7) 藻類の動態解析における増殖能の取扱いについて

CONSIDERATIONS ON THE GROWTH POTENTIAL FOR THE PRACTICAL ANALYSIS OF ALGAL POPULATION DYNAMICS

原沢 英夫* ・ 住友 恒* ・ 河村 正純*
Hideo HARASAWA*, Hisasi SUMITOMO*, Masazumi KAWAMURA*

ABSTRACT; Authors propose a simple and practical method for estimating the growth rate of algae in nature using field survey data. This method is applied to the southern part of the Lake Biwa.

The estimated growth rates by this method are compared with other items of water quality data (N, P). The estimated growth rates are also compared with AGR values. (AGR value is computed from the resultant reproduction curve of a laboratory algal assay procedure-AGP and AGPM test.)

As a result of comparison, there exists positive correlation between them, that is, Monod type functional relation is partially true. This relation, which is also derived from the theoretical consideration, shows that AGP values are equivalent to nutrients' concentration in evaluating the lake eutrophication state.

KEYWORDS; Algal growth rate, Algal assay procedure, AGR value

1. はじめに

びわ湖南湖では、湖の富栄養化に原因する藻類の異常増殖による水の臭気が例年問題となっている。臭気発生に直接影響すると考えられるらん藻類の *Anabaena macrospora*, *Phormidium tennue* の異常増殖について、その増殖機構を正確に説明することは現時点で未だ困難である。

藻類の異常増殖は数日もしくは数週間程度の短期間において突発的に生ずることが多く、その発生を予測するためには個々の臭気発生に原因する藻類の動態、特に安定性の解析が今後重要である。安定性問題を含む動態解析をすすめる上で重要な問題は藻類の増殖能をいかに取扱うかである。

本報告はびわ湖南湖における藻類実測データを活用して藻類増殖能の簡便かつ実用上有用な決定法を提案し、その方法により得た増殖能と無機塩濃度との比較および室内での藻類培養試験から得られる増殖能との比較検討を行うものである。

2. 藻類増殖能の一般的取扱いについて

藻類の増殖・死滅動態を表現する数式モデルとして次式の Monod 型の増殖速度式が多用される。本研究においても基本式として(1)式を増殖速度式として採用する。

$$\frac{dM}{dt} = \mu \cdot M - k \cdot M = \hat{\mu} \cdot M = \mu_{\max} \cdot \frac{X}{K + X} \cdot M - k \cdot M \quad \dots\dots\dots (1)$$

すなわち、

$$\frac{M}{M_0} = \exp \left\{ \left(\mu_{\max} \cdot \frac{X}{K + X} - k \right) t \right\}$$

* 京都大学工学部 Kyoto University, Faculty of Engineering

ここにMは自然水系での藻類量である。藻類量としては単位体積中の藻類個体数をとる。Moは初期の藻類個体数である。 $\mu_{\max}$ は最大比増殖速度、 μ は比増殖速度、Kは定数、kは死滅速度、Xは律速栄養塩濃度、 $\hat{\mu}$ は増殖・死滅双方を考慮したみかけの増殖速度である。

(1)式中の律速栄養塩濃度Xとしては、①藻類増殖を支配する窒素(N)、リン(P)等の無機栄養塩濃度を直接採用する方法、及び②バイオアッセイ法〔Bioassay法(藻類増殖試験法)〕による増殖能を用いる方法とが一般的である。

N、P等の栄養塩濃度をXとする方法がより一般的であるが、いずれの栄養塩濃度が増殖を支配しているかの律速条件の検討が(1)式の適用上重要である。一方の②Bioassay法による増殖能としてはAGP(Algal Growth Potential: 藻類増殖の潜在力)をとることが提唱されている。このAGPは総合的な指標であるため増殖を支配する律速条件を定量的に明らかにすることは困難である反面、個々の栄養塩のみでは表現しえないような増殖促進効果や抑制効果をも総合的に表現しうる特徴がある。

本研究では異常増殖など藻類動態の安定問題をも検討対象としている関係で、AGP指標のもつ総合性に、より注目する立場で検討を進める。

さて、一般に(1)式で示した $\mu_{\max}$ 、K等の定数を決定する方法としては、①直接藻類個体数の現地実測値を用いる方法、②室内での藻類増殖試験より間接的に推定する方法がある。前者の直接法として、たとえば以下の方法が考えられる。すなわち、湖水中の藻類が移流と増殖により均衡する定常的な状態を(2)式の収支式で表現する。

$$\bar{u} \cdot \frac{\partial M}{\partial x} + \bar{v} \frac{\partial M}{\partial y} = \hat{\mu} \cdot M \quad \dots\dots\dots (2)$$

ここに $\bar{u}$ 、 $\bar{v}$ はx、y方向の平均流速である。現地測定地点をいくつかのブロックに分割する。(2)式を差分近似し $\hat{\mu}$ について解けばブロック別の $\hat{\mu}$ をM、 $\bar{u}$ 、 $\bar{v}$ の実測値より推定しうる。ここで $\hat{\mu}$ は(1)式の($\mu - k$)に相当する。求めた $\hat{\mu}$ とxの値から $\mu_{\max}$ 、Kを求めることができる。

XとしてBioassay法による値を採用する方法としては、試水に純粋培養した単一藻類を供試するAGP試験が一般的である。

AGP試験のひとつの変法として試水中に存在する藻類を供試藻類としてそのまま用いる混合培養法(AGP mixture: 以下AGP^Mと呼ぶ)¹⁾がある。前者に比べAGP^Mは試水に適した藻類の増殖能を測定しうるという点で、より自然に近い状態での増殖能を示すと考えられる。また、AGP^M試験より得られる増殖曲線より $\mu_{\max}$ 、K等の定数を決定し、これを自然状態における藻類の $\mu_{\max}$ 、Kとみなす方法もあることは上述のとうりである。すなわちAGP^M試験を実施すればそこでの増殖結果から $\mu_{\max}$ 、Kの近似値を直接推定することもできるし、増殖能としてXの推定を試みることもできるので好都合である。

3. びわ湖南湖における藻類調査²⁾

図1に調査対象であるびわ湖南湖の概略図を示した。図中・印で示した18地点で採水を行ない、藻類種・個体数を継続的に測定するとともに、水温、pH及びN、Pの無機塩濃度などの水質条件についても測定を行っている。

3.1 現地での増殖速度 $\hat{\mu}$ の定量化

調査より得た実測値をもとに(2)式を差分近似する方法により湖における藻類のみかけの増殖速度 $\hat{\mu}$ を推定した。湖流速 $\bar{u}$ 、 $\bar{v}$ としては各ブロック内の平均流速を無風状態を仮定し図1中に示すように設定した。(2)式中のMとしては図2に示す昭和57年度における藻類総個体数実測値の平均値をとった。総個体数の比較

的少ない西岸部では μ は負値をとるが、このことは(1)式での藻類の死滅速度 k が増殖速度 $\hat{\mu}$ に対して相対的に高いことを示している。

3.2 現地での増殖速度 $\hat{\mu}$ と水質条件

図3は調査採水時の水質を地点ごとに平均した値と先に求めた $\hat{\mu}$ 値との関係を示したものである。 NH_4-N 、 NO_2-N についてはバラツキが大きく、濃度と $\hat{\mu}$ の間には有意な関連性はみられない。 NO_3-N については概括的には右上りの直線的な関係がみられる。(1)式に示したMonod型の増殖速度式が $\hat{\mu}$ の負の方向にシフトした形で成立しているともいえる。

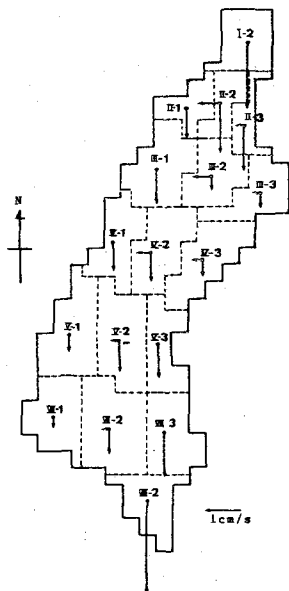


Fig. 1 Block division of the southern part of the Lake Biwa and assumed average current velocity

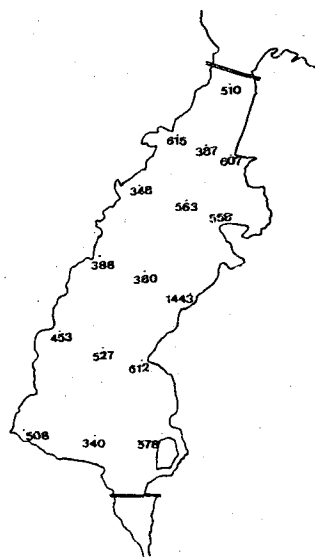


Fig. 2 Observed algal population density (all algal species) (1982, mean of 13 cases)

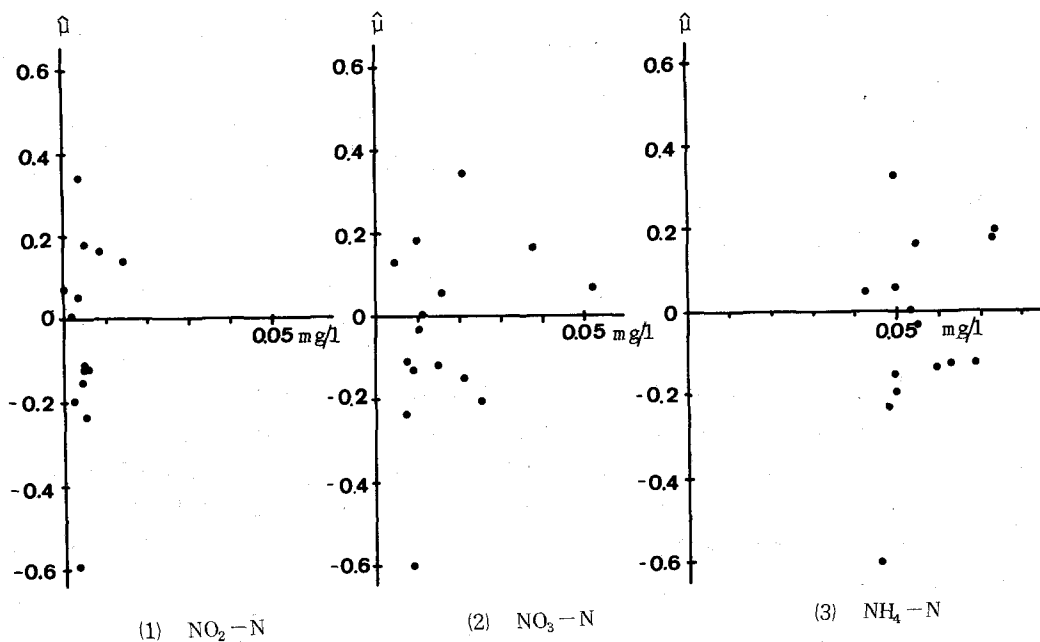


Fig. 3 Relation between nutrients and $\hat{\mu}$

4. Bioassay 法による藻類増殖能の定量化に関する考察

4.1 基本的関係

Bioassay 法における供試藻類の個体数を m とし、自然水中での値 M と区別する。 m についても 'monod' 型の(1)式が成立するとし、定数を $\mu'_{\max}$, K' , k' , $\hat{\mu}'$ と表わせば、(3)式を得る。

$$\frac{m_t}{m_0} = \exp \left\{ \left(\mu'_{\max} \cdot \frac{X}{K' + X} - k' \right) t \right\} = \exp (\hat{\mu}' \cdot t) \quad \dots\dots\dots (3)$$

ここで m_t は t 日目の藻類個体数、 m_0 は初期藻類個体数である。

(3)式より、次の関係が得られる。

$$\hat{\mu}' = \frac{1}{t} \cdot \ln \left(\frac{m_t}{m_0} \right) \quad \dots\dots\dots (4)$$

また、(3)式を X について変形すると、(5)式となる。

$$X = \frac{K' \left(\frac{1}{t} \cdot \ln \left(\frac{m_t}{m_0} \right) + k' \right)}{\left(\mu'_{\max} - k' \right) - \frac{1}{t} \ln \left(\frac{m_t}{m_0} \right)} \quad \dots\dots\dots (5)$$

ここで $k' \approx 0$, $\mu'_{\max} \gg \frac{1}{t} \ln \left(\frac{m_t}{m_0} \right)$ のときは、

$$X \cong \frac{K'}{\mu'_{\max} \cdot t} \cdot \ln \left(\frac{m_t}{m_0} \right) = \alpha \cdot \ln \left(\frac{m_t}{m_0} \right) \quad \dots\dots\dots (6)$$

と近似しえる。ここに $\alpha = K' / (\mu'_{\max} \cdot t)$ である。(すでに提唱されている AGP は $X \cong \beta \cdot m_t$ (β : 定数) と表わす方法であり、(6)式と対比すれば明かなように AGP 法とは $\ln \left(\frac{m_t}{m_0} \right)$ と $\left(\frac{m_t}{m_0} \right)$ の間に、いいかえれば $\ln \left(\frac{m_t}{m_0} \right)$ と m_t の間に比例関係を想定した方法ともいえる。)

(6)式は(1)式の X として Bioassay 法より求めた、 t 日後の増殖比 $\left(\frac{m_t}{m_0} \right)$ を、栄養塩濃度と同等に取扱うことができることを示している。実際(6)式の X を(1)式へ代入して整理すると次式をえ、Monod 型の増殖関係を再現できる。

$$\frac{dM}{dt} = \left\{ \frac{\mu_{\max} \cdot \ln \left(\frac{m_t}{m_0} \right)}{K'' + \ln \left(\frac{m_t}{m_0} \right)} - k \right\} M \quad \dots\dots\dots (7)$$

ここで、 $K'' = K \cdot \mu'_{\max} \cdot t / K'$ である。

X として $\ln \left(\frac{m_t}{m_0} \right)$ をとるとき K'' は無次元となることが無機塩濃度をとる場合と異なる。

また $\frac{m_t}{m_0}$ は t 日後の藻類個体数を初期値で除して正規化しているため、初期値の影響を受けにくいという特徴をもつ。これは一般に AGP 値が培養日数によらず最大増殖量をとること、及び試験の際供試藻類の初期濃度を常に一定に保つことが必要であることと対照的であり、実用上、本方法の適用性がより高いものと考えて。そこで、一定日数後の増殖比 $\frac{m_t}{m_0}$ を用いて AGR (Algal Growth Rate) を次のように定義する。
すなわち、

$$AGR_t = \ln \left(\frac{m_t}{m_0} \right) \quad \dots\dots\dots (8)$$

一定日数 t としては本研究においては、ひとまず 3 日、6 日を検討しているが、今後は測定日数の標準化が必要であろう。

4.2 AGRの測定法について

○ AGP^M試験とAGR

試水をそのまま滅菌済のLチューブ(20 ml)に10 mlとリスポンジ栓をし、モノ型振とう器(30回/分)により振とう培養を行なう。培養条件は温度 20℃, 照明は白色けい光灯を用い照度は 4000 ルクス(12時間明, 12時間暗)である。培養期間は15日程度とし、藻類増殖量は3日間隔で種別個体数(N/ml)を計測する。以上が混合培養によるAGP(AGP^M)測定法の概略である。混合培養であること、藻類量として個体数を計測することが測定法の特徴であり、このためmとして藻類総個体数をとることも、藻類種別の個体数をとることもできる。そこでAGP^M試験よりt日後の藻類総個体数の比率より得られるAGR値をAGR_t^Mと記し、個々の藻類種の場合は藻類名を付して、例えばアナベナAGR_t^Mと称することにする。

○ AGP試験とAGR

AGPは供試藻類として純粋培養を行った単一藻類種を用いることがAGP^Mと異なる。本文ではAGP試験より求めたt日後のAGRを藻類名を付して、アナベナAGR_tと称して区別する。

5. びわ湖におけるAGRの定量例

4.ではAGRが(4)式の $\hat{\mu}'$ の決定法そのものであるとともに(1)式中のX, すなわち理論上律速栄養塩濃度に代用しうることを示したが、AGRの有効性を実測データによって検証してみる。

5.1. 現地増殖速度 $\hat{\mu}$ とAGR^M値との関係

図4.1は先に求めた現地 $\hat{\mu}$ と藻類総個体数を対象としたAGP^M試験より得られたAGR₆^M値との対比を昭和57年度調査分について行ったものである。バラツキも大きいがAGR₆^Mが0.0~2.0程度の範囲では先の $\hat{\mu}$ とNO₃-Nとの関係同様概してAGR₆^M値と $\hat{\mu}$ との間に比例関係がみられる。すなわち、式(6)の関係よりAGP^M試験で得られた $\hat{\mu}'$ と現地 $\hat{\mu}$ との一つの対応関係を認めうること、および(7)式よりXとしてAGR₆^Mを用いれば現地 $\hat{\mu}$ にMonod型の式が成立することを併せ認めうる。

図4-2は昭和58年度について同様にして求めた $\hat{\mu}$ 値とAGR₆^M値との対応をみたものである。57年度

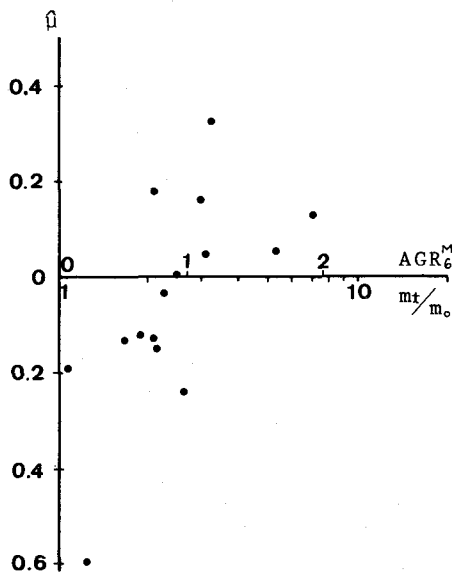


Fig. 4.1 Relation between AGR₆^M and $\hat{\mu}$ (1982)

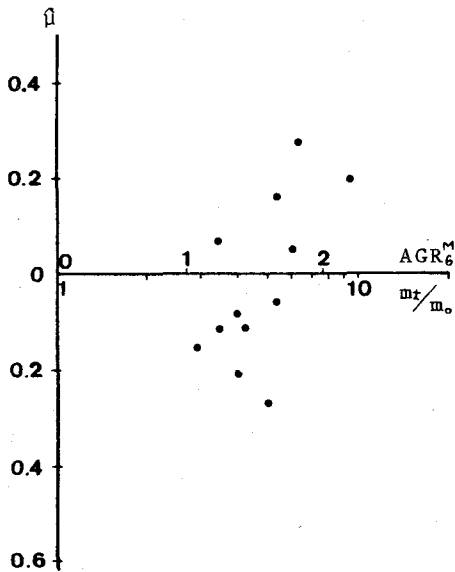


Fig. 4.2 Relation between AGR₆^M and $\hat{\mu}$ (1983)

の場合と同様正の相関がみられる。またプロットした点の相対的位置関係より58年度の値が57年に比べ左にシフトしており、湖の藻類増殖能が全体的に上昇していることを示している。

5.2 現地 $\hat{\mu}$ と種別藻類による AGR_6^M 値との関係

AGP^M試験では種別個体数を測定しているため、個々の藻類の混合培養状態下での増殖能を定量化しうる。ここではmとしてらん藻類をとり上げた場合、*Melosira* sp.といった個々の藻類種をとり上げた場合について $\hat{\mu}$ と AGR_6^M 値のと比較結果を例示しておく。

図5-1はらん藻 AGR_6^M 値と現地 $\hat{\mu}$ との相関を示したものである。全体的には正の相関関係がみられるが、藻類総個体数の場合ほど明確ではない。

図5-2は AGR_6^M が5以下のメロシラ AGR_6^M 値と現地 $\hat{\mu}$ との関係をとった場合である。

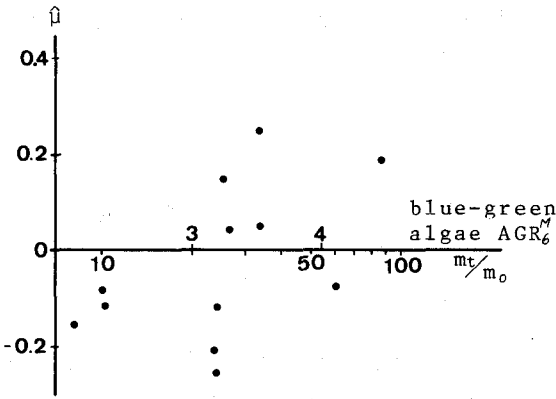


Fig. 5.1 Relation between blue-green algae AGR_6^M and $\hat{\mu}$

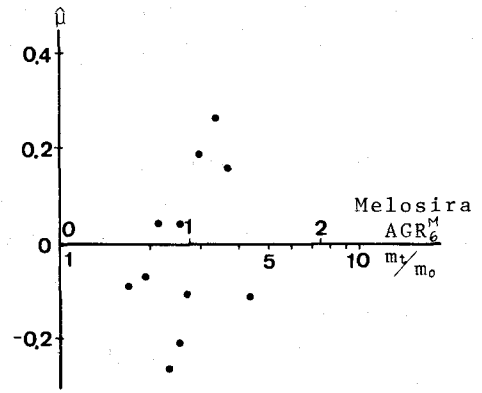


Fig. 5.2 Relation between *Melosira* AGR_6^M and $\hat{\mu}$

5.3 現地 $\hat{\mu}$ とアナベナ AGR 値との関係

Anabaena macrospora など臭気発生藻類の増殖能を求めるには、5.2に示したようにAGP^M試験による方法と純粋培養した *Anabaena* を供試藻類とするAGP試験による方法があることは先述した通りである。両試験法の差を現地 $\hat{\mu}$ と対比しつつ検討した。

図6-1は5-2と同様AGP^M値より求めたアナベナ AGR_6^M と $\hat{\mu}$ とを対比した例である。この場合 $\hat{\mu} > 0.2$ [1/日]以上に相当する現地増殖速度の異常に高いケースおよびアナベナ AGR_6 が極端に大きい値(3以上)、小さい値(0.2以下)については除外している。これらの場合、値が大きく変動し定量的には今後さらに再検討が必要である。

図6-2はアナベナAGP試験から求めた AGR_6 である。

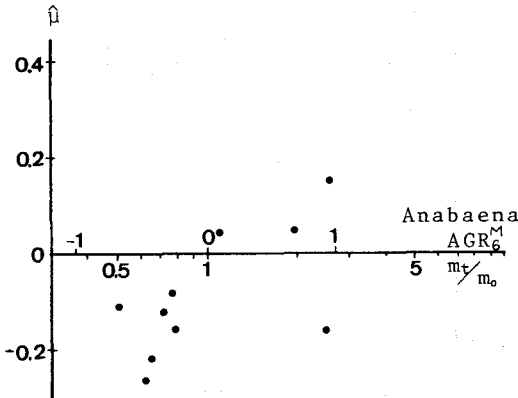


Fig. 6.1 Relation between *Anabaena* AGR_6^M and $\hat{\mu}$

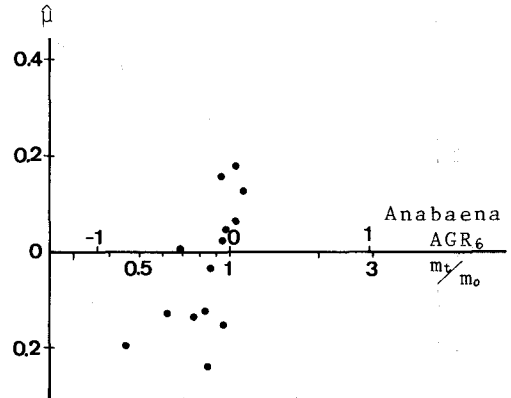


Fig. 6.2 Relation between *Anabaena* AGR_6 and $\hat{\mu}$

Anabaena macrospora は水道原水の異臭味発生の原因藻類のひとつとして、その増殖能の定量化及び予測が急がれる藻類である。Anabaenaが夏期の限られた一時期に大量発生する現状から考えると、増殖能の定量化はアナベナAGP試験より行ない、現地実測値及びAGP^M試験結果により妥当性について検討を加えるという動態解析プロセスが重要と考えている。そういった意味で図6-1, 6-2 は水道技術としては極めて重要で、今後さらに精度を高揚し、冒頭にも示したようにこれらの指標が水源の異臭味原因藻類の異常増殖にかわる増殖能としてより有効に利用されることを期待している。

以上から室内実験により得られるAGR値と現地における $\hat{\mu}$ が全体的には正の相関関係がみられることがわかった。すなわち図7に示すようにmonod型の増殖速度式でXの小さな部分として $\hat{\mu}$ とXの関係を示しているものと考えられる。また先述のように $\hat{\mu}'$ が $\hat{\mu}$ と対応関係にあることも示しえた。

7. おわりに

実際の湖の藻類動態を解析する上で藻類増殖能をいかに決定するかが重要である。本研究では藻類増殖の動力学式として従来より用いられるmonod式を採用した上で、現地での藻類増殖能と室内実験より得られる増殖能が基本的には異なるであろうとの観点から解析をすすめた。その結果現地での増殖能と、藻類培養試験よりえられる一定日数後の増殖比の自然対数値を新たに指標化しAGRと名づけ、その有用性を比較検討した。AGRがmonod型の増殖速度式のXとして応用しうることを数式によって示し、実測データによる検証を試みた。その結果精度に問題は残るものの現地の $\hat{\mu}$ とAGR値は直線的な対応関係がみられることがわかり（いいかえれば $\hat{\mu}'$ と $\hat{\mu}$ との直線的対応関係を認めた）、局所的にはあるがmonod式が成立していることを確認した。

ただ、ここでの結果はあくまで平均値に関するものである上に $\hat{\mu}$ やAGRの大小極端な範囲では上記の結果は必ずしも成立しない。今後さらに定量精度を高揚して行く予定である。

最後に本研究調査の実施にあたり多大の協力を得た赤沢尚友君、川村佳則君をはじめ水道工学研究室各位に謝意を表わす。また、研究実施にあたり京都市水道局の全面的支援を得ている。ここに慎んで謝意を表わす。

参 考 文 献

- 1) 合田編：水環境指標，思考社，1977年7月
- 2) 木沢敏浩：びわ湖南湖における藻類の動態に関する基礎的研究，京都大学卒業論文，1983年3月。

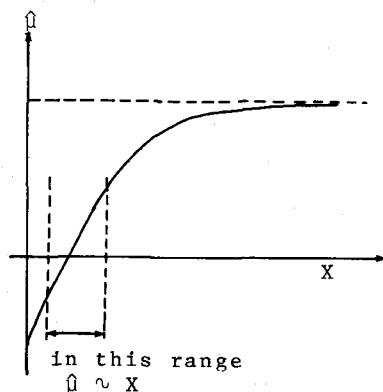


Fig. 7 Algal growth rate as a function of x, according to the Monod expression shifted to the negative direction