

(65) 落葉広葉樹枯葉部抽出液を用いた有毒藍藻類の増殖抑制に関する基礎的研究

喜多村 延政^{1*}・長川 時生¹・吉田 征史²・松島 眸²・浅田 泰男³

¹ 日本大学大学院理工学研究科 (〒101-8308 東京都千代田区神田駿河台1-8-14)

² 日本大学理工学部土木工学科 (〒101-8308 東京都千代田区神田駿河台1-8-14)

³ 日本大学理工学部一般教育教室 (〒274-8501 千葉県船橋市習志野台7-24-1)

* E-mail: d0106001cu@edu.cst.nihon-u.ac.jp

Microcystis 属に代表される藍藻類が原因となるアオコ発生に関する対策の確立は、清浄な淡水資源と健全な水環境を保全する観点から時代の急務である。物理的または化学的なアオコ対策は経済性や環境負荷を考慮すると必ずしも効果的かつ安全な手段とは言い難い。筆者らは、効果的かつ合理的で低環境負荷型のアオコ対策として自然界に普遍的に存在する落葉広葉樹の枯葉部を用いた有毒藍藻類の増殖抑制効果について試験した。その結果、枯葉部からの水溶性成分が有毒藍藻類 *Microcystis aeruginosa* (NIES 102株) の増殖を抑制する結果を得た。枯葉部に含まれる水溶性成分のうち、縮合型タンニン類が *M. aeruginosa* 増殖抑制影響因子として作用し、その負荷強度が重要な抑制因子であることが推察された。

Key Words: growth control, *Microcystis aeruginosa*, dead-leaves, deciduous trees, condensed tannin

1. 研究背景と目的

アオコの発生機構は、栄養塩類濃度、溶存炭酸濃度、気温・水温・日照時間等気候要因など様々な条件から検討されているが、解明には至っていない。アオコの発生は、藍藻類の中間代謝物質として生産される 2 メチルイソボルネオール (2-MIB) やジェオスミンなどの着臭物質、植物プランクトン細胞群による砂ろ床閉塞や炭酸同化時の pH 上昇によって起こる浄水施設内での凝集沈殿阻害¹⁾、水源地における景観上の問題等を引き起こす。さらには一部の藍藻類が神経毒や肝臓毒となる毒性物質ミクロキシンを産生する。この毒性物質²⁻³⁾による国内外での牛馬や魚介類の斃死例などもあり、清浄な淡水資源と健全な水環境の保全の観点から世界各地においてアオコ発生を抑制する対策の確立が求められている。

アオコ対策は発生したアオコを直接除去する機械的な方法、薬剤散布によりアオコを死滅させる方法などがあるが、後者はたとえば硫酸銅を含んでいて、その水域での生態系に及ぼす影響が懸念される。また、大規模な曝気操作、電気的処理によるアオコの分解等の研究例⁴⁾もあるが、費用効果や技術的な問題点が残る。一方、ホザキノフサモやオオカナダモなどの大型水生植物から放出されるアレロパシー成分⁵⁻⁷⁾、麦藁あるいは茶葉からの抽出液⁴⁾を用いた藍藻類の増殖抑制効果が検討されている。これら

の研究成果から、自然界の植物には藍藻類の増殖を阻害する効果のあることが期待されていて、藍藻類に対する増殖抑制効果を発現する物質としてポリフェノール成分が注目されている⁴⁻⁸⁾。

筆者らは、淡水資源の環境修復と保全の目的から、自然界で普遍的に生育する植物類とくに広葉樹の落葉部の自然浄化機能について着目した。すなわち、落葉広葉樹の枯葉部にはポリフェノール成分が含有されていて、そのうちとくにタンニン類⁹⁻¹³⁾が顕著な殺菌作用や抗菌作用、抗酸化作用を呈することが報告されている。そのためタンニン類には藍藻類の増殖を抑制あるいは阻害する効果があると考えられるのである。

本研究は、落葉広葉樹の枯葉部から水に溶出する成分が有毒藍藻類の増殖抑制に及ぼす影響を試験的に検討したものである。その試験結果から、落葉広葉樹の枯葉部より抽出した成分が *Microcystis aeruginosa* の増殖を抑制することが明確となり、その増殖抑制因子には枯葉部に含まれるタンニン類が推察された。さらにタンニン類を含有する抽出液とタンニン類を含有しない抽出液を作成して増殖抑制試験を行い、その試験結果の比較からタンニン類が増殖抑制因子の一つであることを検討した。次に *M. aeruginosa* の増殖抑制効果に対する縮合型タンニン類の負荷強度の影響を検討することにした。

2. 藍藻の増殖抑制試験

(1) 藍藻 *Microcystis aeruginosa* の培養

増殖抑制試験に使用した藍藻は、国立環境研究所より購入した *Microcystis aeruginosa* (NIES 102 株、以下 *M.aeruginosa*) を利用した。NIES 102 株は茨城県霞ヶ浦より単離された有毒種で *Microcystin* を生産する。表-1 に示す M-11 培地を用いて NIES 102 株が対数増殖相になるまで前培養を行い、その後、この培養液の一部を *M.aeruginosa* に関する増殖抑制試験に用いた。こうした前培養は増殖抑制試験ごとに実施した。培養条件は、白色蛍光灯下 3000 lux (16 時間の明条件、8 時間の暗条件)、水温 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ で 7 日間、マグネチックスターラーにて連続かつ緩やかに攪拌した。*M.aeruginosa* の増殖特性は予備試験によってあらかじめ求めており、増殖曲線は植種後概ね 4~7 日で対数増殖相に入ることを確認している。増殖抑制試験の試験装置は全体が暗箱となるように覆い、明条件時以外では光の進入を防ぐ構造とした。

表-1 M-11 培地の組成

NaNO ₃	100.0mg
K ₂ H ₂ PO ₄	10.0mg
MgSO ₄ · 7H ₂ O	75.0mg
CaCl ₂ · 2H ₂ O	40.0mg
Na ₂ CO ₃	20.0mg
C ₆ H ₅ FeO ₂	6.0mg
EDTA · 2H ₂ O	1.0mg
Deionized Water	1000ml
pH:8.0	

(2) 抽出液の作成

a) 落葉広葉樹からの抽出液作成

落葉広葉樹の枯葉部試料として、カキ (カキノキ科カキノキ属、*Diospyros kaki*)、サクラ (バラ科サクラ属、*Prunus Yedoensis*)、トウカエデ (カエデ科カエデ属、*Acer buergerianum* Miq.)、カエデの一種 (未同定であるが、以後、カエデと表記) の 4 種類を用いた。これら試料は 2003 年秋に東京都大田区内の住宅地近傍で採集したものである。試料植物の室内風乾状態の枯葉部を食品用ミキサー (クッキングチョッパー KC-4604、ツインバード社製) を用いて、30 秒間、7000 rpm の条件下で粉碎した。その直後、電子天秤で 5.0g を秤量し、このものを 500 ml の三角フラスコに脱イオン水 (以下 D.I 水) 500 ml と共に混合、密栓した後、室温にて 7 日間静置した。その後、三角フラスコ内の上澄み液をガラス繊維ろ紙でろ過し、このろ液を枯葉からの抽出液としてその適当量を以下の増殖抑制試験に使用した。

b) タンニン類含有抽出液と非含有抽出液の作成

タンニン類非含有抽出液の調整は、落葉広葉樹に分類されるものではないが市販のタマネギ (ユリ科 *Allium cepa* L.) の鱗茎の外皮部 (以下、タマネギと表記) を用いて枯葉部の処理と同様にして抽出液を作成した。比較のためのタンニン含有抽出液にはサクラの枯葉から作成した抽出液を用いた。

(3) 増殖抑制試験と抑制効果の評価の方法

増殖抑制試験は以下の手順により行った。試験方式は回分式とした。高圧滅菌 (121°C 、15 分オートクレーブ処理) した M-11 培地 150 ml を 500 ml の透明ガラス製三角フラスコの試験容器に分取し、この容器に前述の方法で前培養した *M.aeruginosa* 培養液を試験容器内の液相部がかすかに緑色に色付く程度 (試験容器内の細胞濃度は 4 種の抽出液を用いた試験では 1.0×10^5 cell/ml 程度、その他の試験では 3.0×10^5 cells/ml 程度であった。) 注加混合し、同時に 4 種類の枯葉抽出液をミリポア社製メンブランフィルター ($0.22 \mu\text{m}$) で濾過したものを添加した。藍藻類の増殖抑制効果を比較するため抽出液を添加しない CONTROL 系を準備した。CONTROL 系には抽出液添加量に相当する D.I 水の添加は行っておらず、また、抽出液添加系における細胞濃度は、抽出液添加に伴う見かけの細胞濃度の減少を考慮し、CONTROL 系における試験液等量に換算して求めた。

増殖抑制効果は試験容器内の細胞濃度の変化から評価した。試験容器内の混合液の微量を採取し、カウンティングチャンバー (Thoma 式) を用いた直接検鏡法^{14, 15)}によって経時的に細胞数の計測を行った。検鏡観察は 1 試験容器について 5 回検液を採取して測定した。なお、検液中の細胞群が群体を成している場合には超音波処理によって分散させた。

また、ペプトン培地などを用いたバクテリア検出試験によるコンタミネーションの確認は行わなかったが、顕微鏡観察では原生動物などの混入は確認されなかった。

(4) 抽出液中のタンニン類の分析

上述した方法で準備した抽出液に含有されるタンニン類の存在は一般的な方法として塩化鉄 (III) 溶液との呈色反応¹⁶⁾から視覚的に確認可能である。抽出液中にタンニン類が存在した場合、塩化鉄 (III) 溶液の添加により混合液の色相が濃緑色または濃青色に変色着色する。

また、抽出液中の総ポリフェノール及びタンニン類の分析は食品分析法¹⁷⁾に従った。総ポリフェノール成分は Folin-Denis 法によって、またタンニン類は硫酸-バニリン法によってそれぞれ定量した。抽出液への Folin-Denis 試薬の添加はポリフェノールの存在時には濃青色を示す。また、硫酸-バニリン試薬の添加によりタンニン類の存在時には橙色に

発色する。

ここで述べるタンニン類とはポリフェノール化合物の一種であり、タンパク質、金属、アルカロイドと高い親和性を有する化合物の総称である。¹⁶⁾

3. 増殖抑制試験に関する結果と考察

(1) 落葉広葉樹の抽出液による増殖抑制試験

添加した抽出液に塩化鉄(Ⅲ)水溶液を滴下したところ、抽出液が青色または濃緑色を呈色する発色反応はタンニン類固有のものである。タンニン類は希酸溶液中において加熱した場合、縮合するものを縮合型タンニン類、また分解するものを加水分解型タンニン類と称されている。縮合型タンニン類の標準物質には、縮合型タンニン類の基本骨格として知られる、catechin (和光純薬㈱製)を購入し、呈色試験に供した。catechin 類を基本骨格とする縮合型タンニン類は塩化鉄(Ⅲ)と反応して濃緑色に呈色する。また、加水分解型タンニン類の標準物質には没食子酸や五倍子酸などを含むタンニン酸 (和光純薬㈱製)として用い、呈色試験を行った。この場合、加水分解型タンニン類に対する呈色は濃青色である。抽出液による呈色試験の結果からカキ、サクラ、カエデから作成した抽出液には縮合型タンニン類の存在が確認された。トウカエデから作成した抽出液ではタンニン酸における呈色と catechin における呈色の中間的な呈色を示したため、この呈色試験の結果からはいずれの種のタンニン類が含まれているかは判別できなかった。

増殖抑制試験は3週間継続し、試験容器内の細胞濃度を計測した。13日以降においては、CONTROLにおいて原因不明の白化現象が発生したため、本論文では試験開始後から13日目までの細胞濃度の変化傾向についての考察結果を行う。

図-1に本試験の *Maeruginosa* 細胞濃度の経時変化を示す。抽出液の添加量はそれぞれ30mlとした。Folin-Denis法によって総ポリフェノール量を測定したところ、いずれの抽出液にもポリフェノールの存在が確認されており、この時の抽出液添加系におけるpHはサクラは5.71、カキは6.43、トウカエデは4.42、カエデでは5.55であった。この図に示された結果によれば、サクラ、カキ、カエデから作成した抽出液を添加した系では試験開始直後から藍藻類の細胞濃度が減少し始め、試験開始後から7日目まではその効果が持続していた。しかしながら、その後は、細胞濃度は増殖傾向を示した。この傾向については、増殖抑制効果をもたらすと考えられるポリフェノール成分が抽出液中に含まれるポリフェノールオキシダーゼなどの酵素類による分解あるいは溶存酸素によって酸化され消散してものと考えられるが、理由は明確ではない。一方、トウカエデの枯葉から作成した抽出液を添加した系では試験期間中細胞濃度は増殖し続けたが、増殖量はCONTROLにおける増

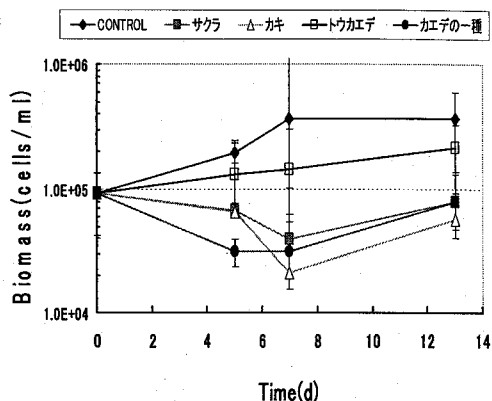


図-1 落葉広葉樹枯葉部より作成した抽出液による *M. aeruginosa* の増殖抑制効果

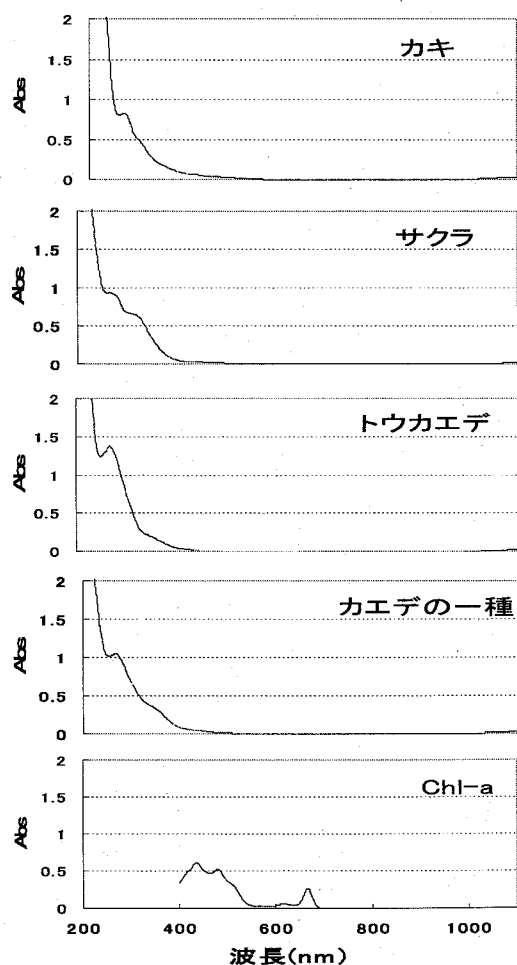


図-2 4種の抽出液およびChl-a抽出液に関する各波長における吸光度の特性

殖細胞量の50%程度にとどまっている。

藍藻の増殖抑制効果については、二つの理由が考えられる。一つは上述したポリフェノール成分そのものの影響であり、他の一つはポリフェノール成分の酸化・重合によると考えられる液相部の着色による光阻害の影響である。増殖抑制に及ぼす光阻害の効果について次に考察する。

4種類の落葉広葉樹から作成した抽出液について200 nm～1100 nm 波長での吸光度およびアセトン処理した *M.aeruginosa* の Chl-a 抽出液について400 nm～700 nm の波長での吸光度を測定した。抽出液の濃度は増殖抑制試験と同様の希釈倍率になるように調整した。結果を図-2 に示した。測定結果によれば、4種類の落葉広葉樹の枯葉部から作成した抽出液の光の吸収帯域は概ね400 nm以下の紫外領域に存在し、また4種類の抽出液に関する吸光度のピーク値はおおよそ280 nm 付近にあった結果となった。一方、Chl-a 抽出液の吸収帯は700 nm～400 nm の可視領域にあることがわかる。このことから、枯葉の抽出液の液相部の着色が藻類の増殖に影響を与えにくいと考えられる。以上の結果から、落葉広葉樹の抽出液中には *M.aeruginosa* に対して増殖を抑制する物質が含まれていることが示唆され、笹尾ら⁴⁾ や中井ら^{5)～8)} の研究結果からも増殖抑制に関与する物質にはタンニン類が考えられた。

(2) 抽出液中のタンニン類の影響の確認

3(1)の結果から落葉広葉樹の枯葉部には藍藻類の増殖抑制効果があることが示唆され、その増殖抑制効果にはタンニン類が影響していると考えた。しかし、抽出液中のタンニン類の単離や精製が困難であり、また、複雑かつ多彩な化学構造を有するタンニン類は標準物質の入手が困難であったため、タンニン類を含む抽出液と含まない抽出液を作成し、2者を比較することでタンニン類の藍藻類に対する増殖抑制効果を確認することとした。落葉広葉樹サクラの抽出液についてポリフェノールとタンニン類を確認をした結果、ポリフェノールの存在が確認された。また、硫酸-バニリン試薬では橙色の発色が見られ、さらに塩化鉄(Ⅲ)水溶液とでも濃緑色の発色を呈した。このことからサクラ抽出液には縮合型タンニン類¹⁶⁾を多く含むと考えられた。

一方、タマネギの鱗茎の外皮から作成した抽出液についてFolin-Denis 試薬、硫酸-バニリン試薬および塩化鉄(Ⅲ)水溶液との発色反応試験を行った結果、Folin-Denis 試薬では濃青色を示しポリフェノールの存在が確認されたが、硫酸-バニリン試薬との発色反応は見られなかった。そのためタンニン類の存在は確認されなかった。さらにタンニン類の存在を確認するため塩化鉄(Ⅲ)水溶液との呈色反応を確認した。しかしながら、タマネギの抽出液には発色の現象は確認されず、タンニン類は含まれないものと考えられた。

表-2 サクラ及びタマネギ抽出液中のタンニン濃度

試料	総ポリフェノール	タンニン
サクラ	0.54	0.13
タマネギ	0.41	検出されず

単位:mg/ml

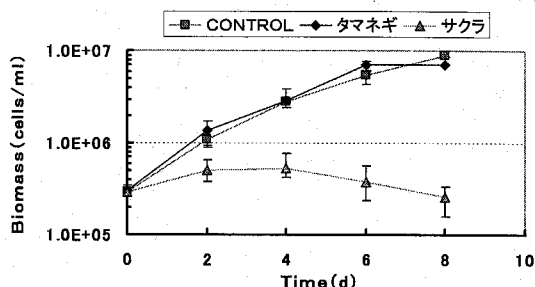


図-3 サクラ抽出液及びタマネギ抽出液を用いた *M.aeruginosa* の増殖抑制試験の結果

このサクラとタマネギの2種類の抽出液についてFolin-Denis 法及び硫酸-バニリン法によって求めた総ポリフェノール量及びタンニン類の量は表-2 のようである。また、サクラに関するタンニン類含有抽出液とタマネギに関するタンニン類非含有抽出液の2種類の抽出液を用いた *M.aeruginosa* の増殖抑制試験の結果を図-3 に示す。抽出液の添加量はそれぞれ10mlとした。試験開始時のpHはタマネギ抽出液で7.5、サクラ抽出液では7.3であった。この試験結果から、タンニン類の含有が確認されなかったタマネギの抽出液を添加した系ではCONTROLと同様の増殖傾向が観察された。一方、縮合型タンニン類を含むと考えられるサクラ抽出液を添加した系では、試験開始後2日目まで若干の増殖傾向が認められるが、8日間の試験期間中には細胞増殖が抑制されている。この試験の結果は、落葉広葉樹の枯葉部の抽出成分が細胞の増殖抑制に関与していることが推察され、また抽出成分に含まれるタンニン類が *M.aeruginosa* の増殖を抑制する因子のひとつであることが示唆されている。

(3) タンニン類負荷量が *M.aeruginosa* の増殖抑制に及ぼす影響

増殖抑制効果に及ぼす縮合型タンニン類の影響指標として、CONTROLの増殖量と抽出液添加系の増殖量の差を、CONTROLの増殖量で除したものを増殖抑制率¹⁸⁾として定義した。

$$\text{増殖抑制率 (\%)} = \frac{\text{CONTROL系の増殖量} - \text{抽出液添加系の増殖量}}{\text{CONTROL系の増殖量}} \times 100$$

CONTROL 及び抽出液添加系の増殖量は、試験開始時の細胞濃度と各測定日における細胞濃度の差をもって定義した。細胞濃度が初発の細胞濃度より減少した場合にも同様の扱いとした。

この増殖抑制率は CONTROL での増殖量を基準とする値で、増殖抑制が認められない場合には増殖抑制率 0 (%) である。

試験容器内の縮合型タンニン類濃度をさまざまに設定し、*M.aeruginosa* の単位細胞量当たり対する縮合タンニン類の負荷強度を 0.0 から 28.2×10^{-9} mg/cell の範囲で設定した。この結果によれば、縮合型タンニン類負荷強度が設定条件の中では比較的低い範囲 (2.2、4.3、 6.3×10^{-9} mg/cell) の場合、増殖が進行した。この結果は、CONTROL とほぼ同様の傾向にあった。この結果を図 - 4 に示す。

しかしながら、縮合型タンニン類の負荷強度が比較的高い設定条件では、設定負荷強度の増大に伴い、増殖が抑制される傾向が明確に認められた。その結果を図 - 5 に示す。これらの結果によれば、縮合型タンニン類の負荷強度によっては増殖抑制効果が継続的に発現する場合と逆に増殖抑制効果が低減する場合が認められる。増殖抑制効果の発現に関する時間依存性の観点から、上述した増殖抑制率の定義に基づいてその経日変化を求めた。増殖抑制率の経日変化傾向を縮合型タンニン類の負荷強度別にまとめて図 - 6 に示す。この結果から、増殖抑制効果が最大となるのは試験開始から 2 日目もしくは 4 日目以降にあると考えられ、また縮合型タンニン類の負荷強度が低い順に増殖抑制率が低下している。縮合型タンニン類の負荷強度が最小である 8.9×10^{-9} (mg/cell) の系では試験開始後 8 日目には増殖抑制率がゼロとなり、増殖抑制効果が消失していた。縮合型タンニン類の負荷強度が 26.1×10^{-9} (mg/cell) 以上の系では増殖抑制率は試験終了の 8 日目まで 100% を保ち続けていた。これらの内容から増殖抑制効果の発現には抽出液添加後、2~4 日ほどの反応時間を要していたと推察される。

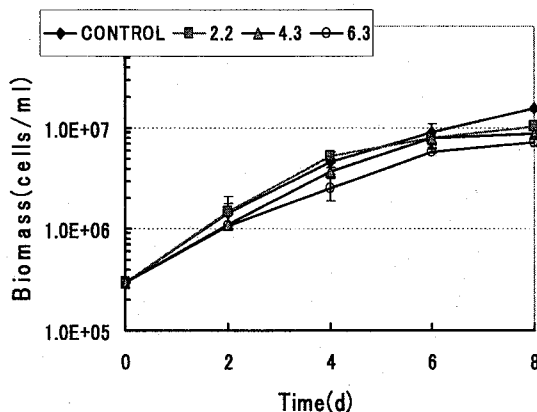


図-4 低負荷域における増殖抑制効果
(凡例の単位は $\times 10^{-9}$ mg/cell)

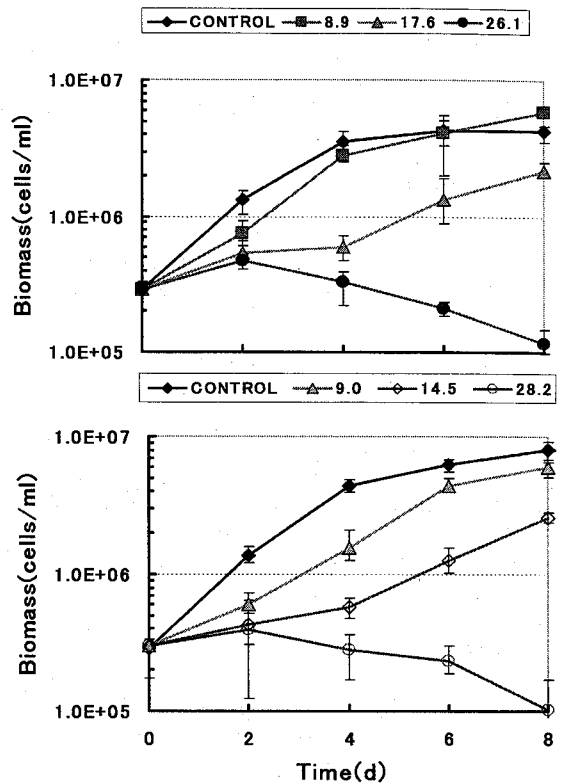


図-5 高負荷域における増殖抑制効果
(凡例の単位は $\times 10^{-9}$ mg/cell)

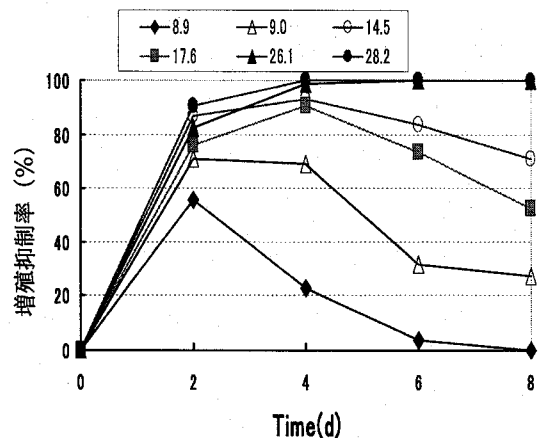


図-6 各負荷強度における増殖抑制率の経日変化
(凡例の単位は $\times 10^{-9}$ mg/cell)

ちなみに、藍藻類を対象とした研究事例ではないが、伊藤らが *Streptococcus pneumoniae* を対象に行った epigallocatechin gallate の殺菌作用の検討結果²⁰⁾ ではグラム陰性菌では殺菌作用に 2~3 日を要したと報告されていて、傾向が近似している。様々な縮合型タンニン類の負荷強度での増殖抑制率の最大値を最大増殖抑制率とし、この値と、対応する縮合型タンニン類の負荷強度との関係を図-7 に示す。

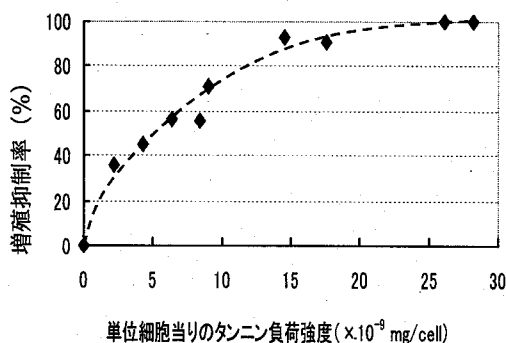


図-7 最大増殖抑制率に及ぼすタンニン類負荷強度の影響

最大増殖抑制率は縮合型タンニン類負荷強度の影響を受けて増加し、*M.aeruginosa* の増殖抑制効果が縮合型タンニン類の濃度依存性によると推察される。

4. 結論

自然界に普遍的に存在し、かつポリフェノール類を含有すると考えられる落葉広葉樹の枯葉部に着目し、その可溶性抽出成分が有毒藍藻類 *M.aeruginosa* の増殖を抑制する可能性について以上に検討した。カキ、サクラ、トウカエデ、カエデの4種類の落葉広葉樹の枯葉部から作成した抽出液を *M.aeruginosa* 培養液に添加し、その細胞濃度の経日的変化を求めた。その結果、*M.aeruginosa* の細胞濃度が経日的に減少するまたは増殖速度が抑制される傾向が確認された。試験の結果を要約すると次のようである。

- (1) 増殖抑制効果が確認されたすべての抽出液にはタンニン類が存在していて、とくに縮合型タンニン類が *M.aeruginosa* の増殖抑制に寄与する物質の一つである可能性を示した。
- (2) 縮合型タンニン類に起因すると考えられる増殖抑制効果は濃度依存性があり、負荷強度が 26.1×10^{-9} (mg/cell) 以上の系では8日間の試験期間中増殖を抑制した。この場合、増殖抑制の発現には時間依存性があり、試験開始後2~4日を要した。

落葉広葉樹の枯葉部に由来する縮合型タンニン類が藍藻 *M.aeruginosa* の増殖抑制因子の一つであることを明らかにした。しかしながら、タンニン類の藍藻類に対する増殖抑制メカニズムについては不明である。今後の研究課題として、たとえば *M.aeruginosa* の増殖抑制に機能するタンニン類の種類あるいは組成の影響を把握することが必要となる。藍藻類の増殖抑制に関与するタンニン類の種類が同定されるならば、その構造を有する物質を有機化学的に合成し得る可能性も残される。

また、本研究成果の重要な意義として、本研究の

手法が自然界のメカニズムを応用した低環境負荷型の藍藻類の発生対策として合理的なものであり、淡水系水源水の保管理対策の確立の観点から自然環境を考慮した植栽管理計画そのものが藍藻類の増殖を抑制する有効な手段として可能性を持つと考える。

本研究での分析作業には平成16年度・17年度の松島研究室卒業研究生諸氏からの積極的なご協力をいただきましたことを付記し、ここに心から感謝の意を表します。

参考文献

- 1) 佐藤敦久、眞柄泰基：上水道における藻類障害、pp. 1-22、技報堂出版、1996
- 2) 彼谷邦光：環境の中の毒—アオコの毒とダイオキシン—、pp. 35-37、1995
- 3) Misono, K., Kitamura, N., Matsushima, H., Moriyama, S., Murakami, K., Taki, K., Hayashi, N.: Detoxification of Microcystin using the filter-feeding function of *Corbicula leana* in fresh water: 48th IAGLR '05 Conference Abstracts Book, pp.131, 2005
- 4) 笹尾敦子、松尾 宏、田中義人：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, pp. 115-122, 2001
- 5) 中井智司、井上 豊、細見正明、村上明彦：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、第34巻、PP. 159-170、1998
- 6) 中井智司、井上 豊、細見正明、村上明彦：ホザキノフサモが放出したアレロパシー物質の藍藻類に対する複合作用およびアレロパシー効果の評価、水環境学会誌、第21巻、pp. 663-669、1998
- 7) SATOSHI NAKAI, YUTAKA INOUE, MASAOKI HOSOMI and AKIHIKO MURAKAMI, : MYRIOPHYLLUM SPICATUM-RELEASED ALLELOPATHIC POLYPHENOLS INHIBITING GROWTH OF BLUE-GREEN ALGAE MICROCYSTIS AERUGINOSA, Water Research, Vol. 34, No. 11, pp.3026-3032, 2000
- 8) 中井智司、井上 豊、李 炳大、細見正明：植物が生産したフェノール化合物の藻類に対する増殖抑制効果、陸水学雑誌、Vol. 63, pp. 201-207, 2002
- 9) 久保義博：天然資源からの抗菌作用物質の検索（第1報）—白癬菌に対するカテキンおよび生薬類の抗菌殺菌作用—、富山薬研年報、No. 19, pp. 82-87、1992
- 10) 島村忠勝：茶の抗微生物作用とその応用、ILSI, No. 58, pp. 50-58、1999
- 11) 荒川英俊、前田昌子、大久保幸枝、島村忠勝：緑茶中に含まれるカテキン類の殺菌作用機構の解明、日本薬学会年会講演要旨集、pp. 150, 2001
- 12) 浅井紀夫、藤原恵子、北野隆一、棟久美佐子、田口

- 寛、降井佐太郎：茶の EHCE O157 に対する殺菌効果と殺菌メカニズムに関する研究、京都府保険環境研究所年報、No.48、pp. 5-10、2004
- 13) 大久保幸枝、森扶美代、島村忠勝、佐々木武二、原征彦：腸管出血性大腸菌 O157 H7 に対する catechin の殺菌作用および抗毒素作用、感染症学雑誌、Vol. 72、No. 3、pp. 211-217、1998
- 14) 新生化学実験講座17、微生物実験法、pp. 58、東京化学同人、1992
- 15) 朝井勇宣、飯塚 廣：現代生物学大系 8 微生物、pp. 182、中山書店、1972
- 16) 川崎敏男、西岡五夫：天然薬物科学、pp. 124、廣川書店、1986
- 17) 真部孝明：フローチャートで見る食品分析の実際－植物性食品を中心に－、pp. 79-83、2003
- 18) 喜多村延政、長川、松島、吉田：落葉広葉樹枯葉部を用いたアオコの増殖抑制に関する試験的考察、第61回土木学会年次学術講演会(予定) 2006
- 19) 喜多村延政、長川、松島：落葉広葉樹枯葉部を用いた有毒藍藻類の増殖抑制に関する研究、日本水処理生物学会誌別巻、Vol. 25、pp. 106、2005
- 20) 伊藤 勇、大久保幸枝、島村忠勝、福地邦彦、原征彦：*Streptococcus pneumoniae* に対する epigallocatechin gallate の殺菌作用、日本化学療法学会雑誌、Vol.50、No.2、pp. 118-125、2002

(2006.5.26受付)

Studies on the growth control of toxic cyanobacteria by use of the water-extracts from the dead leaves of deciduous trees

Nobumasa KITAMURA¹, Tokio NAGAKAWA¹, Yukihiro YOSHIDA²,
Hitomi MATSUSHIMA² and Yasuo ASADA³

¹Graduate School of Science and Technology, Nihon University

²Dept. of Civil Engineering, College of Sci. & Tech., Nihon University

³Dept. of General Education, College of Sci. & Tech., Nihon University

Because of the acute toxicity of microcystin that is produced by toxic cyanobacteria in hypertrophicated lakes and reservoirs, it is necessary in term of water resource and water quality preservation not only to remove the cyanobacteria by any means, but also to rationally and effectively control its excess growth. From the viewpoint of the natural environmental restoration, the authors have focused attention to the function of the water-extracts from the dead-leaves of deciduous trees that may contain polyphenol, and have examined on the effects over the growth control of toxic cyanobacteria like *Microcystis aeruginosa* (NIES 102). The water-extracts from the dead-leaves was simply prepared by immersing each kind of various dead-leaves of the different deciduous trees into DI water and was put into a culture medium of *Microcystis aeruginosa* to observe the cell number changes with time, resulting in obtaining that the addition of the water-extracts showed an effective growth control to *Microcystis aeruginosa*. The condensed tannin of the water-extracts and its loading intensity would be the possible factors affecting the growth control for *Microcystis aeruginosa*.