

霞ヶ浦の藍藻類種組成変化に与える有機酸の影響

岩崎 順・外岡 健夫・浜田 篤信*

The effect of organic acids on transition of blue-green algae species in Lake Kasumigaura

Jun IWASAKI, Takeo TONOOKA and Atsunobu HAMADA*

Abstract

In this study we investigated the effect of organic acids on transition of species composition and biomass of blue-green algae using the outdoor experiment facilities.

Since a negative correlation was recognized between the density of acetate and the colonies number of *Oscillatoria tenuis*, acetate seemed to be an important factor for the growth of *O. tenuis*.

In Lake Kasumigaura, the anaerobic condition have been established nearby the lake bottom in the last ten years. Various nutritious substances for algae were exuded from the bottom mud, so low molecular carbonic and nitric compounds such as organic acids were supplied in large quantities to the lake water. A chain of these phenomena seems to be a factor on transition of algal species.

Key words : Lake Kasumigaura (霞ヶ浦), blue-green algae (藍藻類), species transition (種組成変化), organic acid (有機酸)

1. はじめに

霞ヶ浦では1978年以来、夏期にアオコを形成する *Microcystis* 属が減少の傾向にあり、それに代わって *Oscillatoria* 属, *Phormidium* 属などの糸状藍藻類が優占するようになり、特に冬期の水質悪化や水利用障害を引き起こしている。このような優占藻類種変化の要因としては、湖水のN/P比上昇、生物間の他感作用(アレロパシー)、底質環境の変化などが考えられている。

本報では、底質環境の変化のうち有機酸が藻類増殖に及ぼす影響を検討するために、屋外実験施設を用いて人為的に有機酸を発生させ藻類の種組成や現存量の変化を調べたメソコスム試験の結果、霞ヶ浦湖水中の有機酸濃度と藻類密度の測定結果及び有機酸を添加して藻類の増殖速度を調べた室内培養試験の結果について述べる。

2. 試験方法

(1) メソコスム試験

試験には茨城県内水面水産試験場の屋外実験施設を用い、1995年8月10日から11月15日にかけて行った。すなわち、0.25m³水槽に地下水を満たし、鶏糞0.50kg、澱粉0.25kg、霞ヶ浦の湖水1ℓを添加し、エアレーションを伴う静置培養を行った。採水は基本的に2週間に1回行い、有機酸の分析には横河アナリティカルシステムズ製キャピラリー電気泳動システムHP^{3D}(ダイオートアレイ付き)を用いた。分析条件はTable 1の通りである。藻類の同定・計数は、生物顕微鏡下で種ないし属のレベルで行った。環境条件の測定は、常法に従った。

* 霞ヶ浦生態系研究所 (Kasumigaura Ecosystem Institute)

表1. 有機酸の分析条件.
Table 1. Analytical condition for organic acids.

1) Apparatus	: HP ^{3D} Capillary electrophoresis system (with diode-array)
2) Method	
Capillary	: Fused silica 75 μm \times 72 cm (total 80.5 cm)
Buffer solution	: 5mM PDC, 0.5mM CTAB, pH=5.6
Capillary temperature	: 20°C
Voltage	: Negative 25 kV
Pre-treatment	: Undiluted solution
Injection method	: Pressure 50 mbar, 4 sec for sample Pressure 50 mbar, 4 sec for run buffer
Pre-conditioning	: 4 min at run buffer
Wave length	: Sig=350, 20 nm, Ref=200, 10 nm
Response time	: 1.3 sec

(2) 湖水の有機酸濃度、藻類密度測定

1997年3月24日から4月28日にかけて週1回、霞ヶ浦の高浜入表層にて採取した湖水をグラスファイバーフィルター(Whatman, GF/C)で濾過し、得られた試水中の酢酸濃度を測定した。すなわち、試水1ℓにNaOHを適量加え固定した後、100mlになるまで加熱濃縮し、24時間エーテル抽出後n-ブチルエステル化し、Silicone-DC550を充填したガスクロマトグラフ(島津GC-14B, 検出器としてFID装着)により分析した。また、同時期採取した湖水中の*Oscillatoria* spp.と*Phormidium tenue*の群体数を生物顕微鏡下で計数した。

(3) 室内培養試験

1997年7月21日に水戸市・千波湖表層(*Microcystis* spp.優占)にて採取した湖水を上記グラスファイバーフィルターで濾過した試水に市販の醸造酢を酢酸濃度換算で約20mg/ℓになるように添加した酢酸区と醸造酢を添加しない対照区に、超音波装置で群体を破壊した*Oscillatoria tenuis*と*Microcystis aeruginosa*を同一密度になるように個別に接種して、4区を設けた。これらを2週間室温で窓際培養した後、トーマの血球板にて細胞数を計数し、対数増殖期の比増殖速度($\mu_2 = (\ln N_2 - \ln N_1) / (t_2 - t_1)$)を求めた。試験開始時の酢酸区のpHは6.2, 対照区のpHは8.9であった。

3. 結果

(1) メソコスム試験

有機酸を分析した結果、酢酸と一部の試水で乳酸は検出されたが、他の有機酸は検出されなかった。感度向上のため、注入量を増やす方法(サンプルスタッキング法)を試みたが、試料中には塩素イオンや硫酸イオンが有機酸に比べて多量に含まれていたため、他の有機酸は検出されなかった(Fig.1)。

酢酸は試験当初15.2mg/ℓの濃度であったが、中盤で1.7mg/ℓまで減少し、終盤で12.5mg/ℓに回復した。他方、乳酸は中盤付近で0.20mg/ℓを記録した(Table 2)。

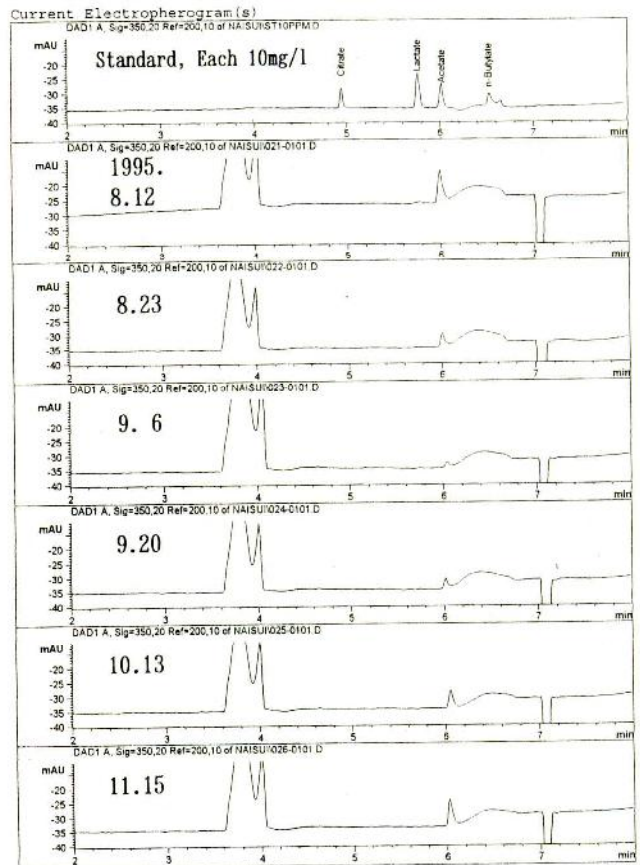


Fig.1. Assay report of organic acids.

図1. 有機酸の測定結果.

表2. 藻類増殖試験期間中の有機酸濃度.

Table 2. Concentrations of organic acids during the experiment.

Date	Citrate	Lactate	Acetate	n-Butyrate
1995. 8.12	-	-	15.2	-
8.23	-	0.20	5.4	-
9.6	-	0.26	1.7	-
9.20	-	0.22	3.8	-
10.13	-	-	8.0	-
11.15	-	-	12.5	-

試料中には当初鞭毛藻類・繊毛虫類が顕著に(3,340 cells / ml)出現していたが、時間経過とともに*Oscillatoria tenuis*, *Phormidium tenue*などの糸状藍藻類が優占するようになった。すなわち、*O. tenuis*は試験中盤に最高値(49,360 colonies / ml)を示したが、*P. tenue*は*O. tenuis*が急速に減少した試験終盤に最高値(6,670 colonies / ml)を示した(Fig. 2)。

試験期間中の環境条件を見ると、水温は32.3℃から12.1℃へと低下し、溶存酸素(DO)は4.8mg / lから10.0mg / lへと増加しており、水槽内で貧酸素水塊は形成されなかった(Table 3)。また、溶存無機態窒素(DIN)は0.1~3.2mg / lの範囲、溶存無機態リン(DIP)は0.4~3.9mg / lの範囲、DIN / DIPは0.06~0.83の範囲にあり、*Microcystis*の増殖最適N / P比=4.1という過去の知見(Rhee et al., 1980)を考慮すると、栄養条件は*Microcystis*属の増殖には不適であることが確認された。

有機酸濃度と糸状藍藻類密度との関係を見ると、*O.*

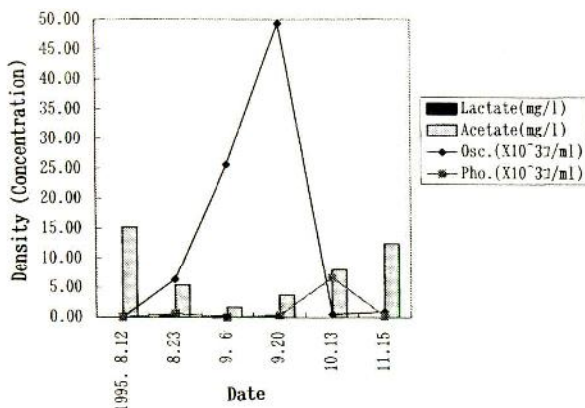


Fig.2. Seasonal changes of organic acids concentrations and dominant algal densities in the watertank.
図2. 水槽内の有機酸濃度と優占藻類密度の季節変化。

表3. 藻類増殖試験期間中の環境条件値。

Table 3. Amounts of environmental parameters during the experiment.

Date	WT(°C)	DO(mg/l)	pH	DIN(mg/l)	DIP(mg/l)
1995. 8.12	32.3	4.8	7.5	0.1	2.2
8.23	31.0	7.2	8.7	0.4	2.1
9. 6	26.0	7.3	9.7	0.1	0.4
9.20	20.2	8.0	9.2	0.1	2.1
10.13	20.5	9.2	8.7	3.2	3.8
11.15	12.1	10.0	8.6	2.5	3.9

tenuis 群体数がピークに達した試験中盤に、酢酸濃度が1.7~3.8mg / lと試験序盤や終盤の酢酸濃度よりも1オーダー低くなっていることから、*O. tenuis*の増殖には酢酸が深く関係していることが示唆された。

(2) 湖水の有機酸濃度、藻類密度測定

高浜入における酢酸濃度を見ると、3月24日から4月7日までは34~125µg / lと低レベルであったが、4月14日に最高値の4,441µg / lを示し、その後は4月28日まで50~108µg / lの低レベルを再び維持した(Fig. 3)。同時期の高浜入における*Oscillatoria* spp., *Phormidium tenue*群体数の変動パターンは酢酸濃度のそれと逆相関の関係にあり、酢酸濃度が最高値に達した4月14日に群体数は各々6,890, 1,820 colonies / mlと最低値を示した。以上、*Oscillatoria*等糸状藍藻類の群体数と酢酸濃度とは逆相関の関係にあることから、糸状藍藻類が増殖すると酢酸濃度が減少する傾向が認められ、これら藻類による酢酸の消費の可能性が示唆された。

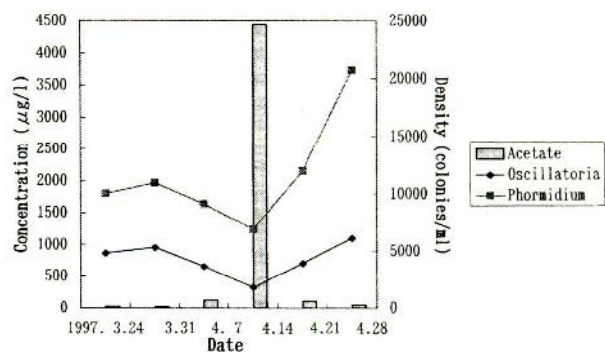


Fig.3. Seasonal changes of organic acid concentration and dominant algal densities in Takahama Bay.
図3. 高浜入における有機酸濃度と優占藻類密度の季節変化。

(3) 室内培養試験

設定した4区の比増殖速度を見ると、*Oscillatoria* 酢酸区では0.71、*Oscillatoria* 対照区では0.08、*Microcystis* 酢酸区では0.45、そして*Microcystis* 対照

区では0.02を示し、*Oscillatoria*・*Microcystis*ともに酢酸区の方が対照区よりも9～23倍大きかった (Fig. 4)。また、*Oscillatoria*酢酸区の比増殖速度は、*Microcystis*酢酸区のそれよりも約1.6倍大きかった。以上の試験結果から、酢酸添加条件下では*Oscillatoria*・*Microcystis*ともに増殖するものの、*Oscillatoria*の方が*Microcystis*よりも増殖に関し有利に働くことが示唆された。

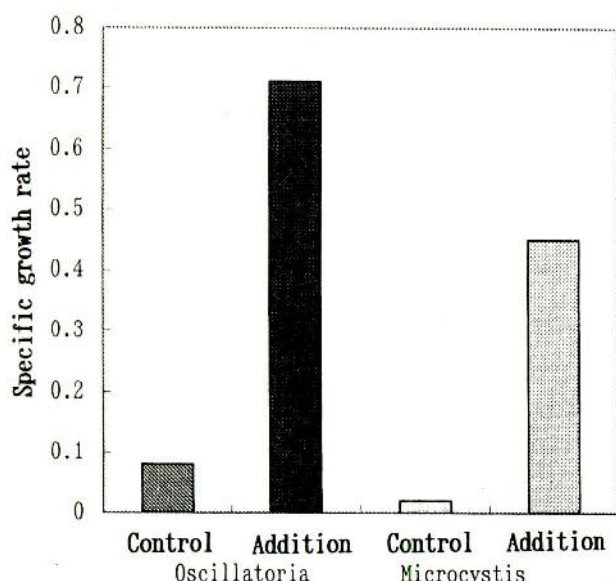


Fig. 4. Specific growth rates of blue-green algae when acetate was added into the lake water.

図4. 湖수에酢酸を添加したときの藍藻類の比増殖速度。

$$\text{Specific growth rate } \mu_2 = (\ln N_2 - \ln N_1) / (t_2 - t_1)$$

(N : Cell number, t : Culturing time (day))

4. 考 察

現在、*Microcystis*属から*Oscillatoria*属・*Phormidium tenue*等糸状藍藻類への種交代の要因としては、①湖水中のN/P比の上昇 (稲田他, 1996), ②藻類間のアレロパシー (Murphy *et al.*, 1976), ③底泥からの有機物質の溶出 (Hamada, 1995) などが考えられている。

稲田他 (1996) は、気象条件、実験水、藻類等を実湖沼に近い条件で行うことのできる屋外実験池を用いて、N/P比を変えた栄養塩を連続的に供給し、藻類の現存量や種組成の変化を調べた。その結果、供給N/P

比が大きくなることによって、特に優占種が糸状藍藻類に変わる傾向は見られず、供給N/P比の違いによる藻類の種組成への影響には一定の傾向は認められなかった。茨城県 (1997) によると、霞ヶ浦湖水中の全窒素 (T-N) 濃度は1993年以降減少しているのに対して、全リン (T-P) 濃度は逆に増加しており、T-N/T-P比は低下傾向にあることがわかる。しかし、このときの優占藻類は依然として*Oscillatoria*属や*Phormidium tenue*であり、*Microcystis*属の顕著な発生は認められない。これらの知見を考慮すると、湖水中のN/P比の上昇が藍藻類交代の要因であるとは考えにくい。

Murphyら (1976) は、藍藻類の*Anabaena flos-aquae*, *Microcystis aeruginosa*, *Phormidium autumnale*が分泌するヒドロキサム酸塩キレート化剤が培養液中の鉄と結合し、他の藻類が利用できない状態にすることによって、他の藻類の増殖を阻害することを報告している。環境へ有機物を放出することによって鉄不足を生じさせているので、これは一種のアレロパシーと言える。しかし、霞ヶ浦で優占している*Oscillatoria*属や*Phormidium tenue*が*Microcystis*属の増殖を阻害するアレロパシー物質を出しているという報告はなく、この説で霞ヶ浦における藍藻類の種交代を説明するには未解明の部分が多い。

Hamada (1995) は25年間にわたる霞ヶ浦の環境条件の変化を総合し、汐止め水門の完全閉鎖による湖水の停滞→底層水の貧酸素化・無酸素化→嫌気分解の中間産物としての有機酸やポリペプチドの生産→*Microcystis*属の増殖抑制、*Oscillatoria*属・*Phormidium tenue*の増殖促進という一連の仮説を提唱した。今回筆者らが行ったメソコスム試験と現場観測から*Oscillatoria*等糸状藍藻類の密度と酢酸濃度とは逆相関の関係にあること、室内培養試験から酢酸条件下では*Oscillatoria*の方が*Microcystis*よりも増殖に関し有利に働くことが明らかになったが、これらの知見はHamada (1995) の仮説の後半部分を裏付けるものと考えられる。しかし、今回の試験や観測からは、糸状藍藻類が直接的に酢酸を取り込んでいるとの確証は得られなかった。

ある種の藻類はグルコース、酢酸、乳酸、その他さまざまな有機化合物を与えて培養すると従属栄養的に増殖することが知られている。そのため、従属栄養は補償深度付近での低い独立栄養的な炭酸同化作用を補助するものとして説明されることが多い。しかし、この仮説についての直接的な実験的証明は得られていない。VincentとGoldman (1980) は、自然界での藻類の従属栄養を確実に証明するためには、次のような基準が満たされなければならないとしている。すなわち、①利用されうる有機物の水中濃度とその供給速度の分析、②その濃度条件で有機物を取り込める高効率な取り込みシステムの存在を現場で証明すること、③その有機物を生長・増殖の基質として利用できるという生理学的裏付け、④現場での増殖において炭素およびエネルギー源としてCO₂と光を利用するか溶存有機物を利用するか割合の評価の4つの基準である。これらの点に考慮すると、今後は霞ヶ浦における糸状藍藻類が酢酸等の有機酸を直接的に利用しているか否かを、量的変化に注目しながら、実験的に検証していくことが必要になってくるものと考えられる。

5. 要 約

底質環境の変化のうち有機酸が藻類増殖に及ぼす影響を検討するために、屋外実験施設を用いて人為的に有機酸を発生させ藻類の種組成や現存量の変化を調べるメソコスム試験、霞ヶ浦湖水中の有機酸濃度と藻類密度の測定及び有機酸を添加して藻類の増殖速度を調べる室内培養試験を行い、以下の知見を得た。

- (1) メソコスム試験の有機酸濃度と糸状藍藻類密度との関係を見ると、*Oscillatoria tenuis* 群体数がピークに達した試験中盤の酢酸濃度が、試験序盤や終盤の酢酸濃度よりも1オーダー低くなっていることから、*O. tenuis* の増殖には酢酸が深く関係していることが示唆された。
- (2) 湖水の有機酸濃度・藻類密度の測定から、*Oscillatoria*

等の糸状藍藻類が増殖すると酢酸濃度が減少する傾向が認められ、これら藻類による酢酸消費の可能性が示唆された。

- (3) 室内培養試験から、酢酸添加条件下では*Oscillatoria*の方が*Microcystis*よりも増殖に関し有利に働くことが示唆された。
- (4) 今回の試験や観測からは、糸状藍藻類が直接的に酢酸を取り込んでいるとの確証は得られなかった。
- (5) 今後は、糸状藍藻類による酢酸等の有機酸の直接的な利用を、量的変化に注目しながら、実験的に検証する必要がある。

引用文献

- Hamada, A. (1995) : What has caused the decrease of fishery catch in Lake Kasumigaura?, *Proceedings of 6th International Conference on the Conservation and Management of Lakes - Kasumigaura '95*. Vol.2, 785 - 788.
- 茨城県 (1997) : 霞ヶ浦関係資料集. 茨城県生活環境部 霞ヶ浦対策課, 93pp.
- 稲田敏之・相崎守弘・福島武彦・松重一夫・朴 濟哲 (1996) : 屋外実験池におけるN/P比を変化させた条件下でのN, Pの挙動及び藻類種組成変化に関する研究II. 霞ヶ浦臨湖実験施設研究発表会講演報告集-10- (国立環境研究所資料F-88-'96/NIES), 44-50.
- Murphy, T. P., D. R. S. Lean and C. Nalewajko (1976) : Blue-green algae : Their excretion of Fe - selective chelators enables them to dominate other algae. *Science* 192, 900.
- Rhee, G. Y. and I. J. Gotham (1980) : Optimum N : P ratios and coexistence of planktonic algae. *J. Phycol.*, 16, 486 - 489.
- Vincent W. F. and C. R. Goldman (1980) : Evidence for algal heterotrophy in Lake Tahoe, California - Nevada. *Limnol. Oceanogr.*, 25, 89 - 99.