

藻類増殖特性に関する一実験

浦屋 陽一* 竹本 成行**

1. はじめに

北海道内の直轄ダムは、総窒素、総リンを用いた富栄養化レベルでは、ほとんどが貧栄養湖に分類される。また、北海道のように寒冷湿潤な気候のもとでは、貯水池内の水温上昇が緩慢であるため生物の生産力は低く、プランクトンによる水の華などの現象は生じにくいと考えられていた。しかし近年、いくつかのダムにおいて、夏期に貯水池の一部にプランクトンの増殖による変色水域が見られるようになり、水質はもとよりプランクトンそのものの増殖に関して注目されるようになった。

ここでは、A ダムに変色水域を生じさせた藻類のひとつである *Pandorina morum* (パンドリナ) の増殖特性について、水温と照度に関する室内実験を行い、増殖の抑制など、対策を考える上での資料とするものである。

2. 植物プランクトンの生活

淡水に生息する植物プランクトンの種類は相当な数であるが、そのうち普通に見られる種は数 100 種類である。これらは、大きく次の 3 つに大別される。

藍藻類……核の分化も不十分な下等な藻類で、葉緑素のほかに藍藻素を含み藍青色を呈することが多いので、藍藻といわれる。

珪藻類……単細胞で、細胞膜に珪酸化合物を含み、被殻を形成する。

緑藻類……細胞膜が少なくとも 2 層からなり、カロチンや葉緑素を多く含むので鮮緑色を呈する。

植物プランクトンは、ひとつの水域に多くの種が存在するのが普通である。また一般にこれらは、その水域において季節的な変動を示すことが多い。種によって、1 年の間には水中からまったく採集されなくなる時期があり、この消失期間が長期の種と短期間のものがあり、ほとんどの植物プランクトンに見られる現象である。しかも、これらの個々の種の出現と消失は、毎年ほぼ同じような時期に見られる。

このようなプランクトンの季節変化をもたらす原因として、次のような要因が考えられる(坂本, 1976)。

物理的要因………温度, 光, 水の混合

化学的要因………無機・有機栄養塩, 抗生物質

生物学的要因………寄生, 捕食, 競争

これらの要因のひとつ、あるいはいくつか複合して、出現と消失が繰返えされるが、一般に消失は水中でのプランクトン生活を休止しただけで、底泥上など他の場所で生存していることが多い。つまり水域では、その種にとって 1 年中環境条件が好適であることは少なく、生育に不適当な時期を、主としてシストやアキネートなどの耐久細胞として休眠状態で過ごすためである。

このように植物プランクトンは、1 年をひとつの周期として生活サイクルを構成していると考えることができる。したがって、環境条件によるこれらの季節変化を明らかにすることは、植物プランクトンを知る上で重要である。

また、水域の富栄養化レベルによって出現種と細胞数が増えることが知られている(吉村, 1937)。一般に貧栄養湖では珪藻類が主体となり、水域での単位容量当たりの細胞数は少なく、個体そのものの大きさも小さいものが多い。栄養レベルが高くなるにつれて、緑藻類、ペノ毛藻類の種類が増加するとともに総細胞数も多くなる。さらに富栄養化が進行すると、藍藻など特有の種が大量に増殖することにより種類は極端に減少するが、総細胞数は激増し、変色水域を形成する。これが「水の華」と呼ばれる現象で、景観はもとより魚類のへい死、異臭味など社会問題となっている。

3. 環境要因と増殖過程

現地の生物調査で見られた個々のプランクトン種について、いろいろな環境条件を設定し、その増殖過程を明らかにする方法として、室内での培養試験がある。前述のように、プランクトンの消長には多くの外的条件が係わっていて、これらの条件を人為的に操作することにより、対象となるプランクトンの生育に関して、最適条件

* 環境研究室員 ** 同室長

や抑制作用などを知ることができる。

ここでは、植物プランクトンの生産について、その基礎となる光合成と主要な環境要因との関係を、これまでに明らかにされているものの中から紹介する。

湖沼、ダム貯水池の富栄養化問題がクローズアップされるようになり、水の華などの現象を引起す原因種についての培養試験が行われている。これらは増殖に及ぼす水温、照度、pHなどの外的要因による影響を明らかにするとともに、栄養要求について窒素、リンの形態別の要求量を求めている。さらに最近では、微量の栄養要素として、有機酸、カルシウム、ビタミン類、微量金属(Fe, Mn, Zn, Co, Mo)などによる影響も観察されて

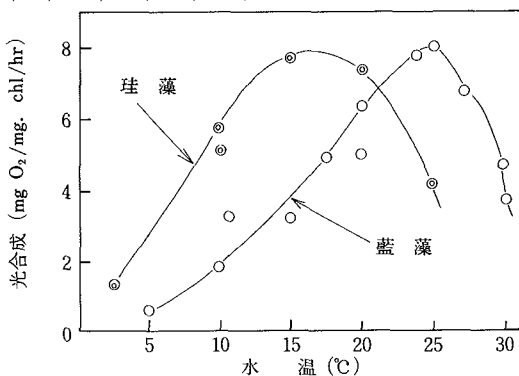


図-1 湖沼の珧藻および藍藻の光合成—温度曲線 (市村・有賀, 1958)

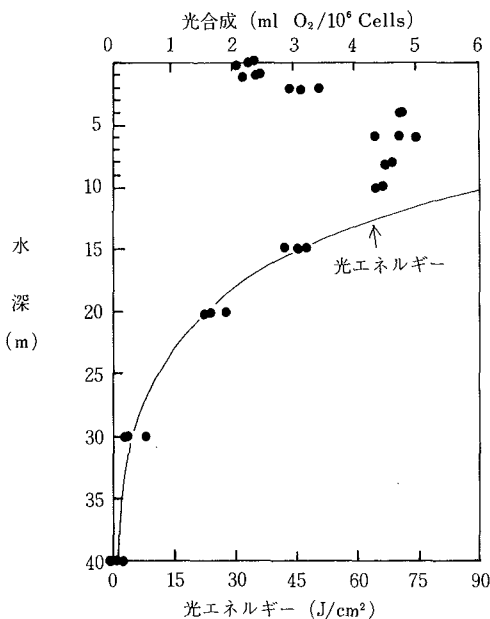


図-2 種々の水温における光合成と光エネルギーの分布 (Jenkin, 1937) (珧藻: *Coscinodiscus excentricus*)

いる。

(1) 水温

増殖と水温は、照度とともに重要な要素と考えられている。湖沼の植物プランクトンについて、珧藻および藍藻の適温は、珧藻では 15~17°C、藍藻では 25°C で明らかに藍藻の適温が高くなっている (図-1)。

(2) 照度

植物プランクトンの光合成は、光が弱いときは光の強さに比例して増加し、やがて最大値を示した後、さらに光が強くなるとかえって光合成は低下する。この強い光による低下を強光阻害と呼び、珧藻と光エネルギーの関係で見られる例を図-2 に示す。

(3) pH

渦鞭毛藻 *Prorocentrum* の最終増殖量と pH の関係を図-3 に示す。この種では、pH 6.5~8.0 の範囲でよく増殖した。pH 9.0 以上では最高値の約半分は抑制され、pH 6.0 以下ではほとんど増殖しない (西島, 1989)。したがって、本種では中性から弱アルカリ性が増殖に適している。

このように、pH もそれぞれの種で適、不適が見られる。

(4) 栄養要求

窒素とリンの栄養要求量は、窒素ではそれぞれの種によって異なるが、おおまかに見ると、NO₃-N で 1 mg/l から 10 mg/l の範囲が増殖に適している (畑, 1989)。それ以上では、阻害を受ける種も存在する (西島, 1989)。

リンは PO₄-P が増殖に有効であるが、渦鞭毛藻では 0.5 mg/l において最大増殖量を示した (畑, 1989)。

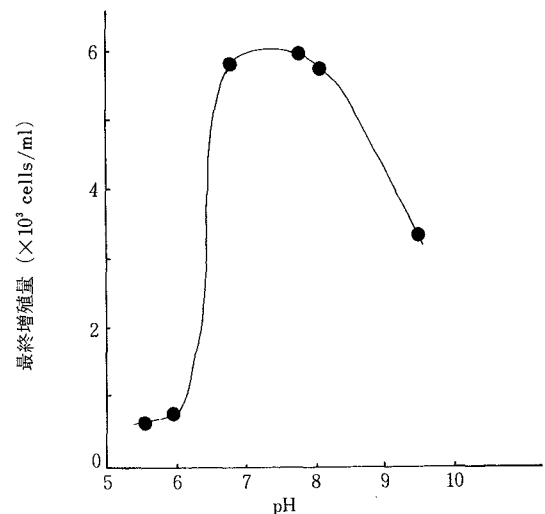


図-3 最終増殖量と pH の関係 (20°C, 6,000 lux)

(5) カルシウム

カルシウムの要求量を $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ で見ると、植物プランクトンでは $\text{Ca } 0.2 \text{ mg/l}$ 前後である (坂本, 1976)。

(6) ビタミン類

B 群ビタミン類は、微量金属とともにプランクトンの増殖促進物質として重要な因子のひとつとみなされている。特にビタミン B_{12} の要求量を調べる事が多く、そのオーダーは $\eta \text{ g/l}$ である。

(7) 微量金属

培養試験に用いられる金属量はいくつかあるが、その中でよく使われる P IV metal で見ると、 $\text{Fe } 20.0 \mu\text{g/l}$, $\text{Mn } 10.0 \mu\text{g/l}$, $\text{Zn } 2.4 \mu\text{g/l}$, $\text{Co } 0.5 \mu\text{g/l}$, $\text{Mo } 1.6 \mu\text{g/l}$ であり、この 1/10 程度以上で最大増殖量が得られる (畑, 1989)。

このように一般的な数値、あるいは問題となっているような特別な属、種についてのデータはあるが A ダムで見られるパンドリナの記述がないため、次に述べるような培養試験を行うことにした。

4. パンドリナ培養試験

Pandorina morum (パンドリナ) の増殖特性、最適環境因子を明らかにするための第一段階として、水温と照度のパンドリナ増殖に与える影響を明らかにするために室内実験を行い検討した。

4-1 パンドリナの特徴

パンドリナは葉緑体を持ち、自遊泳力があることから分類上、しばしば原生動物の藻鞭毛亜目として扱われることがあるが、最近では、緑藻類のオオヒゲマワリ目の一種として扱うのが一般的である。

特徴としては、球または楕円体状の寒天質被膜の中に 8 または 16 個の細胞が密集する。各細胞は等長の長い鞭毛を 2 本、ピレノイド 1 個、明瞭な眼点 1 個、それに鮮緑色で杯状の葉緑体をもつ。細胞直径は $8 \sim 16 \mu$ で、群体直径 $20 \sim 200 \mu$ である。分布域は湖沼、池、水溜りなど広く分布するきわめて普通の種である。

3-2 実験内容

表-1 供 試 藻 類

<i>Pandorina morum</i> (Müller) Bory	
242	Lake Ozenuma / Fukushima (1983-08) Axenic, Clonal, S.Suda (1983-09) Culture conditions: CA, 20°C, 1500 lx, 1M Characteristics: Freshwater, Heterothallic, Mating type +

(1) 供試藻類

実験に用いたパンドリナは、国立公害研究所保有の微生物系統保存株、株 No. 242 を用いて行った (表-1)。

(2) 実験方法

実験は、原則として AAP (Algal Assay Procedure) の手順に準拠して行い (図-4)、増殖量は直接計算法により計測した。

前培養および試験培養に用いた培地は、国立公害研究所において維持培養として使われている CA 培地である。CA 培地の組成は表-2 に示す。また、実験用に接種した初期藻類量は $2,000 \text{ cells/ml}$ である。

(3) 実験ケース

本実験では、水温、照度の違いによるパンドリナの増殖特性を明らかにするため、水温一定 (20°C) で照度可変 5 ケース、照度一定 ($1,500 \text{ lux}$) で水温可変 5 ケースの計 10 ケースで行った (表-3)。

(4) 培養条件および装置

培養条件のうち、水温と照度は表-3 のとおりである。日照時間は明 16 時間、暗 8 時間とし、4 時間ごとに 45 分の自動連続攪拌 (120 回転/分) を行った。

培養装置は、振とう装置の上に 500ml 三角フラスコを固定し、蛍光灯を光源として用いた (図-5)。

3-3 実験結果

(1) 水温ならびに照度と最大増殖量の関係

実験結果は表-4 に示す。また、水温と最大増殖量の関係を図-6 に、照度との関係を図-7 に示した。

水温可変のケース $10 \sim 30^\circ\text{C}$ の中で、水温が 20°C に顕著なピークが見られ、最大増殖量は 10^6 cells/ml であった。次いで 25°C の増殖が活発で、 10^5 cells/ml であった。しかし、水温が 15°C 以下では増殖量の低下が著しく、最適培地を用いた実験としては、増殖が抑制されたと考えられる。また、1 日当たりの増殖量である平均増殖速度は、 20°C では $7 \text{ 万 cells/ml} \cdot \text{日}$ 、 15°C は $3,000 \text{ cells/ml} \cdot \text{日}$ 、 10°C では $1,000$ 以下であった

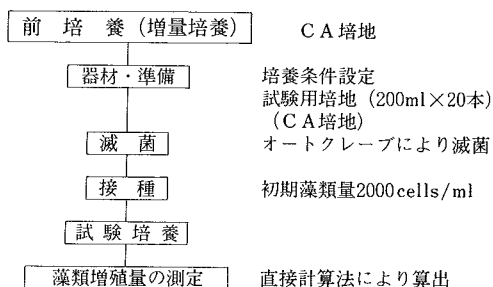


図-4 実験手順

表-2 CA 培地の組成

$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	2	mg
KNO_3	10	mg
NH_4NO_3	5	mg
$\beta\text{-Na}_2$ glycerophosphate	3	mg
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	2	mg
Vitamin B_{12}	0.01	μg
Biotin	0.01	μg
Thiamine HCl	1	μg
P IV metals ¹⁾	0.1	ml
$\text{Fe}(\text{as EDTA}; 1:1 \text{ molar})^{2)}$	0.1	mg
HEPES	40	mg
Distilled water	99.9	ml
pH	7.2	

1) P IV metals		
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	19.6	mg
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	3.6	mg
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}^*$	2.2	mg
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.4	mg
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25	mg
$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	100	mg
Distilled water	100	ml
* In NIES-Collection, ZnCl_2 is replaced by $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.		
2) $\text{Fe}(\text{as EDTA}; 1:1 \text{ molar})$		
$\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	351	mg
$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	330	mg
Distilled water	500	ml
[1 ml of this solution contains 0.1 mg Fe.]		

表-3 実験 ケース

ケース	条件	
	水温 (°C)	照度 (lux)
1	10	1,500
2	15	
3	20	
4	25	
5	30	
6	20	100
7		500
8		1,000
9		3,000
10		5,000

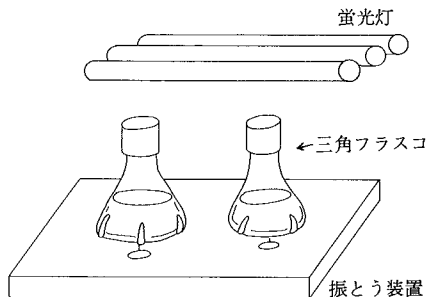


図-5 実験装置

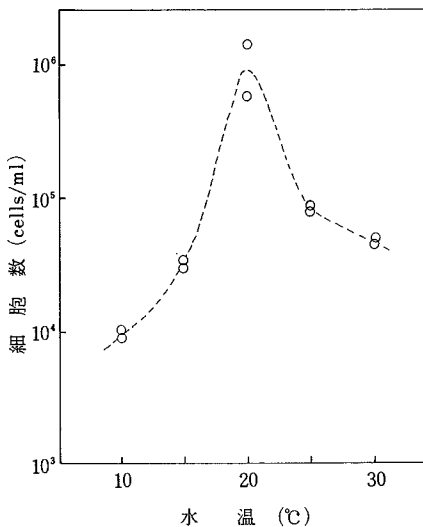


図-6 最大増殖量と水温の関係

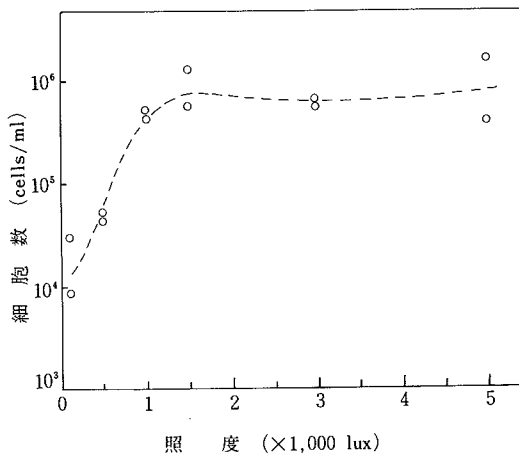


図-7 最大増殖速度と照度の関係

表-4 Pandorina の増殖量 (細胞/ml)

(初期藻類量 2000 cells/ml)

水温(℃)	照度(lux)	ケース	I	II	III	IV	V	VI	VII
10	1500	1－1	1500	2800	5200	8300	10000	11000	
		1－2	1700	3900	3800	8100	9000	9100	
2－1		1900	4300	5100	10000	30000	30000		
2－2		1900	3700	5800	11000	34000	32000		
3－1		30000	51000	150000	190000	370000	1400000	1000000	
3－2		24000	91000	110000	330000	600000	580000	550000	
4－1		14000	51000	43000	35000	52000	84000		
4－2		4100	8100	30000	47000	45000	77000		
5－1		4500	5100	8300	14000	48000	47000		
5－2		3200	4600	6400	18000	43000	41000		
20	100	6－1	4500	7700	7000	9000	8300	8000	
		6－2	12000	17000	26000	31000	27000	9600	
	500	7－1	14000	16000	12000	13000	45000	46000	
		7－2	2000	45000	48000	55000	8300	15000	
	1000	8－1	4100	57000	38000	130000	220000	560000	520000
		8－2	6100	30000	42000	81000	250000	460000	430000
	3000	9－1	6100	85000	120000	460000	350000	580000	
		9－2	26000	75000	210000	500000	670000	520000	
	5000	10－1	140000	510000	1100000	800000	2100000	1700000	
		10－2	140000	370000	740000	2900000	2500000	4000000	

照度 100 lux から 5,000 lux の範囲で行った照度の実験結果から、1,500 lux 以上では最大増殖量が約 10^8 cells/ml で活発な増殖が見られるが、1,000 lux 以下では急激に増加量が低下する。平均増殖速度は、照度が大きくなるとともに増加量が多くなる。

これらのことから、パンドリナは水温が 20℃ 付近で照度が 1,500 lux 以上のときに活発な増殖が行われ、照度が高くなるほど増殖が進み、反対に低水温、低照度のもとでは増殖が抑制される。しかし、現在の室内実験レベルでは、光源の関係で最大 5,000~10,000 lux を再現するのが限界で、一般に藻類は必要以上の強い光のもとでは強光阻害が起こるといわれているが、これを室内実験で把握することはむずかしい。

(2) 増殖速度の経日変化

パンドリナ増殖速度の経日変化を、水温可変について図-8、照度について図-9 に示した。

水温の経日変化の特徴として、20~30℃ では実験開始から 15 日前後に増殖速度のピークがあり、その後急速に低下する。特に 20℃ は実験開始直後から活発な増殖が見られ、 $10^4 \sim 10^5$ cells/ml・日と順調に増加する。25℃ では初期に高い増殖が見られるが、その後低下し、再び 15 日前後に 10^4 cells/ml・日の増殖速度となる。15℃ と 30℃ はほぼ同じような増殖速度を示し、最高増殖速度はそれぞれ 12 日目と 15 日目で、ともに 10^4 cells/ml・日である。10℃ では 8 日目にピークがあるが、 10^3 cells/ml・

日でほとんど増殖しない。

照度の経日変化では、3,000 lux 以上で増殖速度のピークは 7 日前後と早めに現われる。しかし、照度が低くなるとピークは遅くなり、500 lux 以下ではほとんど増加しない。さらに、100~5,000 lux の範囲では、照度が大きくなるに従って増殖速度が大きくなる。

(3) 分裂速度

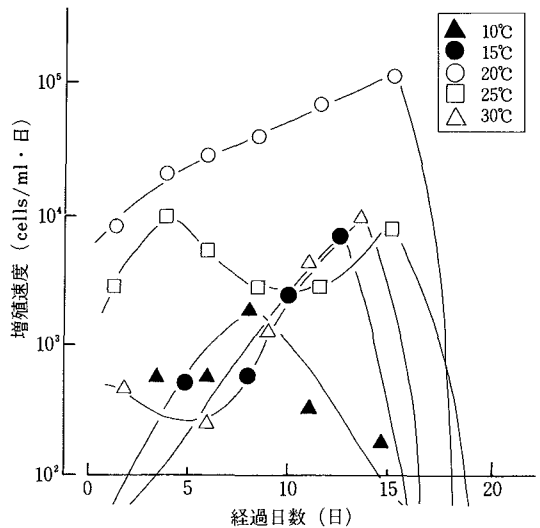


図-8 増殖速度の経日変化 (水温可変)

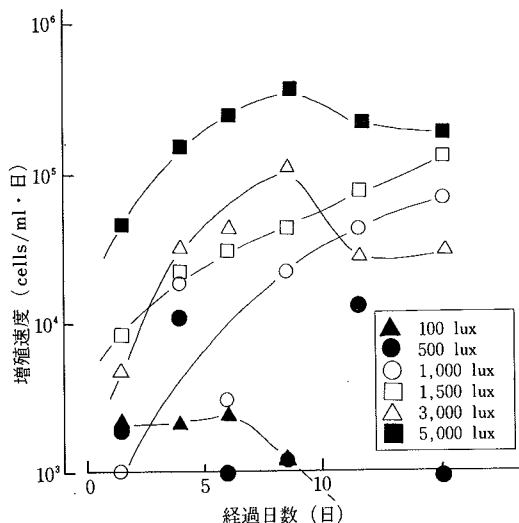


図-9 増殖速度の経日変化 (照度可変)

パンドリナの倍加時間を、次式に基づき算出した。

$$t = \frac{a \cdot \log 2}{\log (x/P)}$$

P: 初期藻類量

a: 最大増殖量に達する
までの日数

x: 最大増殖量

t: 倍加日数

水温ならびに照度と倍加時間の関係を、図-10 に示す。

水温変化に伴う照度 1,500 lux における倍加時間は 20℃ で最も早く、その速度は約 40 時間である。照度では照度の高い方が倍加時間は早くなる傾向がみられ、5,000 lux (20℃) では 31 時間である。1,500 lux 以上では 50 時間/回より早く、それ以下では急激な分裂速度の低下が見られる。

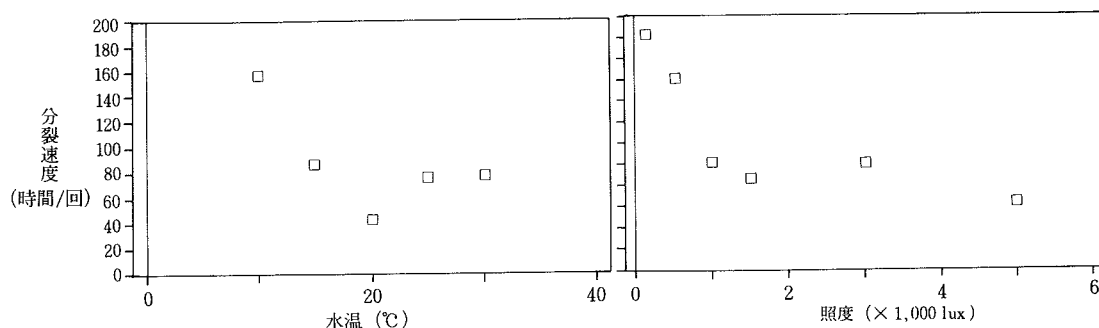


図-10 水温、照度と倍加時間の関係

これらのことから、パンドリナは増殖が活発な水温ほど分裂が盛んで、照度が強いほど短期間に大量増殖することが明らかになった。

(4) まとめ

培養試験の結果から、パンドリナの最適条件として水温では 20℃ 付近が最も適し、それ以外では生産力が抑制される。一般に藍藻類は 25℃ 付近が最適とされ、それよりも低い水温に緑藻類が位置づけされている (安達, 1989) ことから今回はそれを裏づけるように、比較的低い水温での増殖が認められた。また、照度は 1,500 lux 以上で安定した生産力が得られ、さらに短期間の増殖にはそれ以上の強い照度が必要であることもわかった。

増殖倍加時間は、今回行った試験の最適条件下においては 30 時間程度であった。

5. あとがき

今回の実験は、藻類培養の基本的な項目である水温と照度について行ったが、植物プランクトンにとっては最も影響が大きい環境要因と考えられており、室内試験におけるパンドリナ生態の概要を掌握することができた。今後は、生態系を考慮した生物の相互作用についての調査が必要であり、また AGP 試験などによる栄養物質濃度と増殖制限因子の関係を明らかにする必要がある。さらにフィールドに対応するため、培地の設定や強光阻害などの影響を把握するための野外実験も必要であり、これからの課題として進展させていきたい。

参考文献

- 1) S. Ichimura & Y. Aruga: Bot. Mag. Tokyo, 78 360-365 pp. (1958).
- 2) P. M. Jenkin: J. mar. biol. Assoc. U. K., 22 301-343 pp. (1937).

坂本 充: 生態遷移 II. 生態学講座 11b. 共立出版,

238 pp. (1976).

- 4) 吉村信吉：湖沼学，三省堂（1939）.
- 5) 西島敏隆ほか：赤潮渦鞭毛藻 *Prorocentrum triestinum* の増殖生理, (1989).
- 6) 畑 幸彦ほか：永瀬ダム湖における淡水赤潮の発生機

構に関する研究，2 26pp, (1984).

- 7) 有賀祐勝：水界植物群落の物質生産Ⅱ，共立出版，（1973）.
- 8) 水野寿彦：池沼の生態学，築地書館（1971）.
- 9) 門田 元：淡水赤潮，恒星社厚生閣（1987）.

*

*

*