

<報文>

近年の宍道湖におけるアオコの原因種 *Microcystis ichthyoblabe* の 塩分・水温耐性*

神門利之**・大城 等***・神谷 宏***・野尻由香里****・崎 幸子***

キーワード ①アオコ ②ミクロキスティス ③塩分耐性 ④水温耐性 ⑤増殖

要 旨

宍道湖湖心表層水から得られた*M. ichthyoblabe*の単藻・クローン株を用いて水温・塩分耐性培養試験を行った。水温10℃以下、塩化物イオン濃度10000mg/L以上、水温15℃以下かつ塩化物イオン濃度5500 mg/L以上の条件では増殖が見られなかったが、これ以外の温度、塩化物イオン濃度では増殖が見られた。宍道湖の水温・塩分環境と比較すると、おおむね4月中旬から11月初旬の期間は増殖が可能であることがわかった。また、*M. ichthyoblabe*を4℃の冷蔵庫で3ヶ月間保存したものをを用いて冷暗所保存後の再増殖試験を行った。冷暗所保存を行わなかった試料とほぼ同様の増殖結果が得られ、宍道湖の*M. ichthyoblabe*は越冬後翌年に再増殖する可能性が示された。

1. はじめに

宍道湖では1985年以降2014年までの20年間の夏季に11回アオコの発生が確認されており、景観及び水質上の問題となっている。特に2010年から2012年には連続して3年間 ミクロキスティスイクチオブラーベ (*Microcystis ichthyoblabe*) 及び*Microcystis*属の1種 (未同定) によるアオコの大量発生が見られた¹⁾。*Microcystis*属は植物プランクトンのうち藍藻 (シアノバクテリア) に分類され、細胞内にガス胞を作るため水面付近に集積しやすく、しばしばアオコとなる。国内ではこれまでに5種類報告されており、このうちミクロキスティス エルギノーサ (*M. aeruginosa*) については詳細な研究が行われているが、宍道湖で見られる*M. ichthyoblabe*については情報が少ない。

伊達²⁾は*M. aeruginosa*について13℃から30℃までの間で増殖量がほぼ直線的に増加し、宍道湖や地中海の夏場の水温は*M. aeruginosa*にとって増殖に適した条件となること、一方宍道湖の平均的な塩化物イオン (以下塩分) 濃度である2000mg/Lを下回る1000~1500mg/Lであっても*M. aeruginosa*の成長が著しく抑

制されると報告している。2010年の宍道湖における*M. ichthyoblabe*等によるアオコ大発生時には、塩分が上昇し水温が低下した秋から冬にかけてもアオコは消滅しなかったため、本種が高塩分・低水温にも適応できる可能性が考えられた。そこで、宍道湖より単離した*M. ichthyoblabe*について塩分及び水温の耐性試験、及び越冬した*M. ichthyoblabe*が春以降に増殖する可能性を確認するため、培養株の冷暗所保存後の再増殖試験を行った。

2. 方法

2.1 *M. ichthyoblabe* の単藻分離

塩分・水温耐性試験に先立ち、2010年9月6日に採水した宍道湖湖心表層水から得られた*M. ichthyoblabe*を以下の方法で単離培養し培養株として実験に供した。

単離方法：ピペット洗浄法。

培地：IMK改変培地 (孔径0.45µmのメンブランフィルターでろ過した宍道湖湖水と蒸留水を等量混合し、pH8.0に調整したもの)。

培養条件：20℃、約2000lux、1日1回程度かくはん

*Salinity and water temperature tolerance of the causative species *Microcystis ichthyoblabe* of blue-green algae bloom (Aoko) in recent years of Lake Shinji

**Toshiyuki GODO (島根県環境政策課) Division of Environment Management, Shimane Prefecture

***Hitoshi OHSHIRO, Hiroshi KAMIYA, Yukiko SAKI (島根県保健環境科学研究所) Shimane Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science

****Yukari NOJIRI (島根県廃棄物対策課) Division of Waste Control, Shimane prefecture

明暗周期：12時間・明／12時間・暗

培養期間：2ヶ月

増殖状況の確認：生物顕微鏡の明視野及びG励起による観察。

2.2 塩分・水温耐性試験

2.2.1 培養条件

2.1により得られた培養株をMA培地に植え継ぎ、さらに1週間増殖させた対数増殖期の培養株を用いて、塩分については人工海水により塩分濃度をほぼ淡水から海水相当までの8段階に、水温については冬季から夏季の宍道湖の水温を考慮し5℃から33℃の間で7段階に設定し、塩分・水温耐性試験を行った。塩分、水温等の条件について以下に示す。

塩分濃度系列(mg/L)：200, 600, 1100, 2000, 4000, 5500, 10000, 16000

水温(℃)：5, 10, 15, 20, 25, 30, 33

培地及び接種細胞数：MA培地25mlに対して培養株を約5000細胞/mlとなるよう接種

照度及び明暗周期：1900lux, 14時間・明／10時間・暗の周期

培養期間：最長110日

実験は各条件につき3標本ずつ行った。試料ごとの違いは水温と塩分のみとなるよう配慮した。

2.2.2 増殖状況の評価

蛍光光度法により数日ごとに蛍光量を測定し、実験終了日に作成した蛍光量－クロロフィルa量の検量線からクロロフィルa量を算出し細胞密度の指標とした。クロロフィルa量の測定はStrickland and Parsonsの方法によった。

また、条件ごとの増殖特性を比較するため、培養日数を独立変数、クロロフィルa量を従属変数とし、成長曲線近似 ($\ln(Y) = Y\text{切片} + B * X$ ：ここで Yはクロロフィルa量, Xは培養日数) を行い、非標準化係数Bを求めた。成長曲線近似には SPSS Statisticsバージョン23 (IBM社) を用いた。

2.3 冷暗所保存後の再増殖試験

試料には2010年10月14日に宍道湖ふれあいパーク(松江市玉湯町)付近の宍道湖で採取後、冷蔵庫内で3ヶ月間保存したものをを用いた。人工海水により宍道湖の平均的な塩分濃度(2000mg/L)に調整したMA培地及び塩分をほとんど含まない(200mg/L) MA培地25mlに試料をそれぞれ接種し、宍道湖湖底付近の冬季及び宍道湖の夏季の水温に近くなるように冷蔵庫保存は4℃, その後の培養は25℃で行い、他の条件は塩分・水温耐性試験と同様にし、3週間培養を行った。

3. 結果及び考察

3.1 塩分・水温耐性試験

図1に各塩分濃度及び温度別の増殖曲線を、表1に増殖がみられた試料の塩分・水温毎の成長曲線の係数を示す。係数が負であれば増殖しないことを意味する。増殖が見られなかったのは、水温10℃以下または塩分濃度10000mg/L以上の全試料及び水温15℃で塩分濃度5500mg/L以上及び200mg/Lの試料であり、これ以外の試料では増殖がみられた。

宍道湖の平均的な塩分濃度である2000mg/Lの場合、水温25℃から33℃で増殖が大きく、おおむね2日で3倍に増えた。20℃では係数は0.28で、温度が低くなるにつれ係数は小さくなる傾向が見られた。また塩分濃度が2000mg/L未満の条件下でも同様な傾向が見られた。塩分濃度5500mg/L, 水温15℃ではほとんど増殖は見られず、塩分濃度が10000mg/L以上では水温にかかわらず増殖は認められなかった。一方、塩分濃度が200から5500mg/Lの範囲では水温が10℃を下回ると塩分濃度にかかわらず増殖は見られなかった。

宍道湖の水温が15℃を超えるのはおおむね4月中旬から11月初旬の期間であり、*M. ichthyoblabe*が増殖する条件を満たすことになる。南條ら³⁾は宍道湖同様汽水湖である湖山池において水温23℃以上かつ塩分濃度1200mg/L以下でアオコを形成すると報告している。本実験に用いた *M. ichthyoblabe* は他に確認されている *Microcystis* 属と比べるとはるかに塩分耐性があると考えられる。しかし、塩分濃度と水温が条件に適合するにもかかわらず大発生に至らない例も多く、栄養塩類の濃度等、他の要因も考慮に入れる必要がある。本間ら⁴⁾は諏訪湖において、リン酸態リン濃度が10µg/L以上になると *M. aeruginosa* と *M. viridis* が、10µg/L以下では *M. ichthyoblabe* が優占すると報告している。宍道湖において、アオコの発生と栄養塩類の関係についてはいまだ明らかにはなっていない。佐藤ら⁵⁾は、宍道湖のアオコの発生とそれに先立つ月の水温、栄養塩類濃度、日照時間等との関係を検討し、発生があった年については発生月の1ヶ月前の水温と塩分濃度、及び2ヶ月前の塩分濃度を用いて、発生がなかった年では7月の水温と塩分濃度、及び6月の塩分濃度を用いて高精度に発生の有無を判別できたと報告している。その結果から宍道湖におけるアオコの発生には水質、水温が一定期間発生に適した条件であること、及びアオコ発生の予測においては栄養塩類濃度が判定に有意な変数でないことを示唆した。しかし、これはアオコの発生に栄養塩類が必要ないことを意味するものではなく、観察期間中の湖水の栄養塩類がアオ

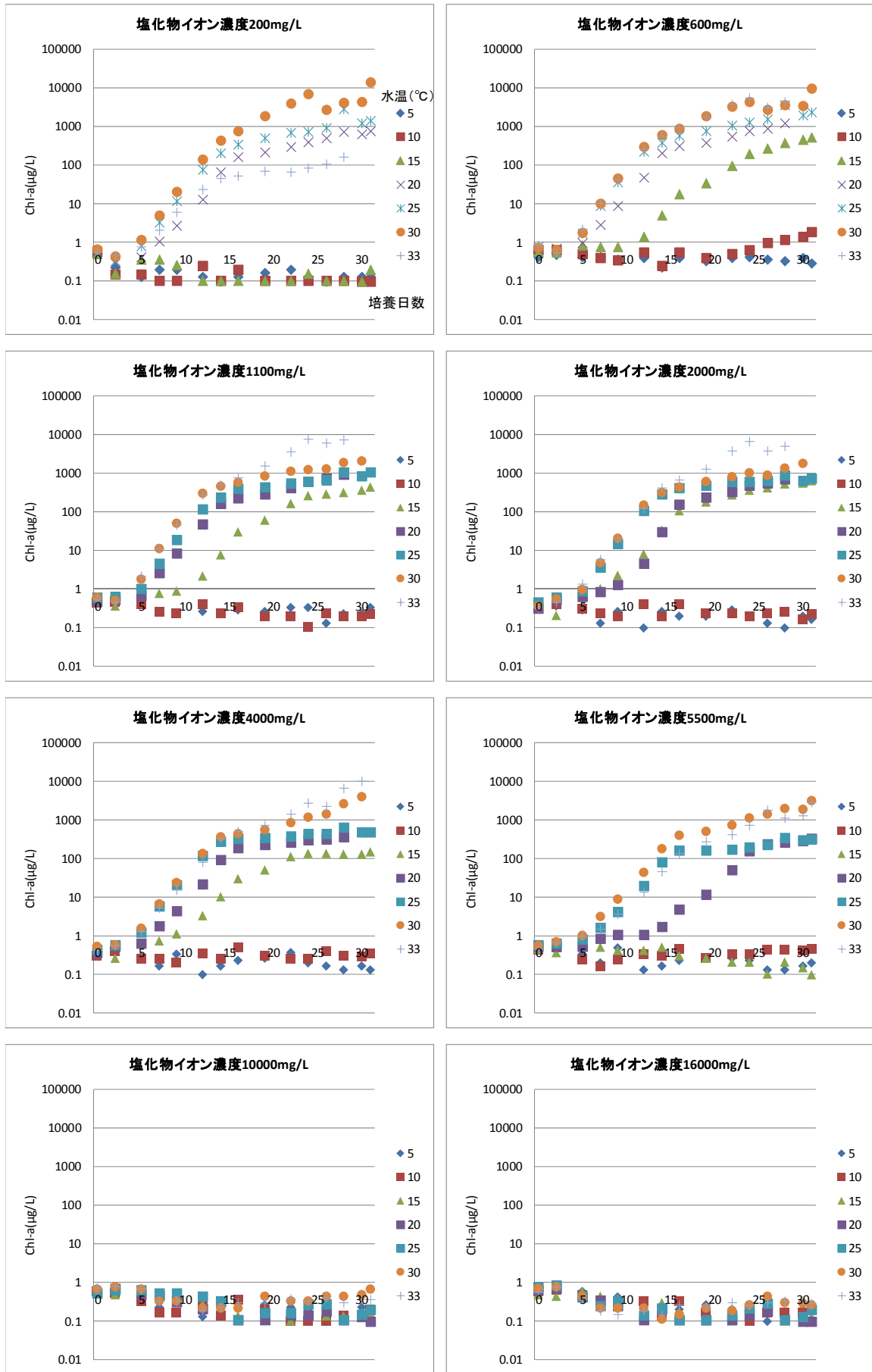


図1 塩化物イオン濃度別・水温別増殖曲線

表1 塩分・水温別 成長曲線近似式のB(非標準化係数)

	塩化物イオン濃度 (mg/L)								
	200	600	1100	2000	4000	5500	10000	16000	
水温(°C)	33	0.352	0.527	0.549	0.534	0.491	0.321	-0.011	-0.117
	30	0.514	0.54	0.544	0.521	0.502	0.418	-0.098	-0.132
	25	0.475	0.504	0.471	0.488	0.494	0.352	-0.038	-0.116
	20	0.357	0.42	0.437	0.283	0.391	0.083	-0.067	-0.117
	15	-0.09	0.126	0.179	0.33	0.24	0.005	-0.059	-0.05
	10	-0.065	-0.053	-0.04	-0.04	-0.015	-0.029	-0.089	-0.094
	5	-0.093	-0.037	-0.062	-0.061	-0.092	-0.08	-0.1	-0.102

表中の網掛け部分は分散分析によりB(非標準化係数)が有意でなかったもの

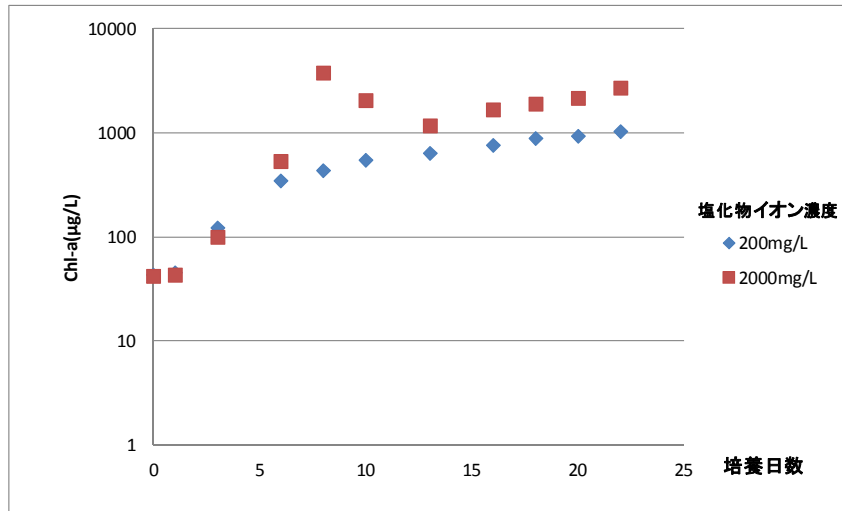


図2 冷暗所保存後の資料の増殖曲線(水温25°C)

コノの発生に必要な程度の量が常時存在し、その濃度の変動が発生の有無には影響を与えていなかった可能性が考えられ、今後の研究が待たれるところである。

3.2 冷暗所保存後の再増殖試験

図2に冷暗所保存後の試料の増殖曲線を示す。3ヶ月間冷暗所で保存した試料については、ある程度経過した後一週間程度の期間急激に増殖し、以降は増殖速度が鈍化した。直線的に増加している期間が短いため評価は難しいが、成長曲線を近似すると非標準化係数Bは塩分濃度200mg/L及び2000mg/Lの試料でそれぞれ0.139, 0.179, 同温度・同塩化物濃度の塩分・水温耐性試験のその約1/3程度であった。この結果から類推すると、*M. ichthyoblabe*が冬季の低温条件下を経て翌春以降まで残存していた場合、条件を整えば、速度は遅いものの再び増殖する可能性があると考えられる。

4. 引用文献

- 1) 島根県環境生活部環境生活課：宍道湖・中海におけるアオコ及び赤潮の発生状況, 平成25年版島根県環境白書, 2014
- 2) 伊達善夫：中海における水質汚濁機構の解析と水質の将来予測(Ⅲ)．中海・宍道湖の水質保全に関する調査報告書(第4報), 1-23, 島根県環境保健部, 1988
- 3) 南條吉之, 福田明彦, 矢木修身, 細井由彦：汽水湖沼におけるアオコ及び赤潮発生制御に関する基礎的研究. 水環境学会誌, **21**, 530-535, 1998
- 4) 本間隆満, 朴虎東：諏訪湖における *Microcystis* 種組成及び藍藻毒素microcystin濃度に及ぼす硝酸態窒素・リン酸態リン濃度の影響. 水環境学会, **28**, 373-378, 2005
- 5) 佐藤紗知子, 大城等, 馬庭章, 菅原庄吾, 神谷宏, 大谷修司：宍道湖におけるアオコ発生の環境要因とその事前判別. 陸水学雑誌, **76**, 217-223, 2015