

湖山池におけるアオコ増殖試験結果について

【水環境室】

南條吉之

Algal Growth Potential Test in Lake Koyamaike

Yosiyuki NANJO

Abstract

In Lake Koyamaike, which is located in the eastern part of Tottori prefecture, the water-bloom has been observed every year. The primary production of Lake Koyamaike becomes about 41.9% COD when it is estimated for 10 years from 1993 to 2002.

In this study, using an Algal Growth Potential Test, we were able to infer the limiting substances of two kinds of water-bloom formation in Lake Koyamaike. Our results indicate that EDTA (chelating substance) is the primary limiting substance on two kinds of phytoplankton (*Microcystis* and *Anabaena*).

1 はじめに

富栄養化した湖沼では、アオコの発生により景観の悪化、悪臭、毒素および水道の濾過障害などが問題¹⁾²⁾³⁾となっている。近年、形成日数が減少したものの湖山池も例外ではなく毎年アオコが形成されている。湖沼類型Aに指定されているが、CODの年平均値は5 mg/ℓ前後を推移している。湖山池の内部生産は1993年～2002年度の10年間で試算すると、CODで約41.9%となる。この内部生産の主な原因は植物プランクトンの異常増殖によりもたらされるものと考えられる。したがって、この異常増殖を抑制することによりCODの年平均値は改善され、湖沼類型Aに決められている「COD 3 mg/ℓ以下」をクリアしないまでも、水質は相当改善されるものと考えられる。

1995年以前の湖山池では、*Microcystis*を中心としたアオコが形成されていた⁴⁾。その後、強いアオコの形成は見られず推移していたが、2001年に*Anabaena*による強いアオコが形成され問題となった。当所では、2001年以前は*Microcystis*を用いた藻類増殖試験を実施し、キレート物質が第一制限物質として作用していることを明らかにしてきた。2002年は*Anabaena*を用いて増殖試験を行い、制限物質としてキレート物質、リン、コバルト、鉄が制限物

質として作用していることが明らかになった。

そこで、2002年度～2003年度に*Microcystis*と*Anabaena*の2種を用いた増殖試験を行い、アオコ形成におけるそれぞれの制限物質を明らかにし、アオコ抑制策を検討した。

2 実験方法

1) 湖水の採取および調整

毎月月上旬に湖山池湖心上層水を採取し、持ち帰り後Whatman GF/Cで濾過して藻類増殖試験に使用した。*Microcystis*の継代培養には、Table 1に示すM-11培地⁵⁾を、*Anabaena*にはTable 2に示すCT培地⁵⁾を使用した。

Table 1 Detail of M-11 medium

NaNO ₃	10 mg
K ₂ HPO ₄	1 mg
MgSO ₄ · 7H ₂ O	7.5 mg
CaCl ₂ · 2H ₂ O	4 mg
Na ₂ CO ₃	3 mg
FeSO ₄ · 7H ₂ O	0.1 mg
Na ₂ EDTA · 2H ₂ O	0.1 mg
Distilled water	100 ml
pH	8.0

Table 2 Detail of CT culture medium

Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	15mg	PIV metals	
KNO ₃	10mg		
β-glycero		FeCl ₃ ·6H ₂ O	100mg
phosphate·5H ₂ O	5mg	MnCl ₂ ·4H ₂ O	3.6mg
MgSO ₄ ·7H ₂ O	4mg	ZnSO ₄ ·6H ₂ O	2.2mg
Vitamin B ₁₂	0.01μg	CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.4mg
Biotin	0.01μg	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.25mg
ThiamineHCl	1μg	Na ₂ EDTA·2H ₂ O	100mg
PIV metals	0.3ml	Distilled water	100ml
TAPS	40mg		
Distilled water	99.7ml		
pH	8.2		

2) 供試藻類

湖山池湖水よりキャピラリーピペット法により分離単藻化⁶⁾した*Microcystis aeruginosa*と*Anabaena fros-aquae*を使用した。

3) 添加物質

藻類増殖試験において、*M. aeruginosa*の場合、窒素(N)はNaNO₃ 1.0mg-N/l、リン(P)はK₂HPO₄ 0.1 mg-P/l、代表的なキレート物質のEDTA(E)はNa₂EDTA·2H₂O 1 mg/lとなるようそれぞれの培養液に添加した。その他の栄養塩は制限とならなかったため添加しなかった。*A. fros-aquae*は、リン(P)はK₂HPO₄ 0.1mg-P/l、PIV混液を3 ml/l、EDTA(E)はNa₂EDTA·H₂O 1 mg/lとなるようそれぞれの培養液に添加した。その他の栄養塩は制限とならなかったため添加しなかった。

金属特定実験では、PIV混液に含まれている金属を単独で添加したが、添加濃度はPIV混液の濃度に従った。

4) 培養方法

1) ~ 3) で調整した試水150mlを300mlの三角フラスコにとり、これに*M. aeruginosa* *A. fros-aquae*を植種し、藻類培養試験器により水温30℃、照度2,000Lx、50rpmで振とう培養した。

5) 測定方法

藻類量の測定にはTOC (Total Organic Carbon) (島津製作所製 TOC5000) を用いた。測定は、増殖開始時、5日目、7日目、10日目に行い、*A. fros-aquae*の場合は、さらに14日目に測定を行いその最大増殖量と増殖開始時とのTOCの差を増殖量(以下増殖量と呼ぶこととする)とした。

3 実験結果と考察

1) *Microcystis*の増殖実験

Fig. 1 に2003年6月の*Microcystis*の増殖試験結果を示した。その結果、E (キレート物質) が第一制限物質であり、N、Pが同時第2制限物質であった。Table 3 に2002年4月~2004年3月までの増殖試験結果を示した。その結果、ほとんどの月でEを添加することにより増殖し、さらにNやPを添加することにより、増殖量が増加していることが分かるが、第一制限物質は以前にも述べたが⁷⁾⁸⁾ EDTAである。

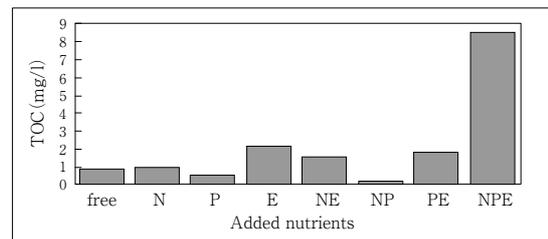


Fig.1 AGP test using *Microcystis aeruginosa* (June, 03)

2) *Anabaena*の増殖実験

*Anabaena*も*Microcystis*と同様増殖試験を行った。その結果、湖山池湖水は、リンとPIV混液を添加することにより、いずれの月の試料も増殖することが明らかとなった。窒素は、*Anabaena*に窒素固定能があるため制限物質として作用しなかった。Table 4 に2002年4月~2004年3月の増殖試験結果をまとめた。その結果、リンが単独で制限的に作用することは希であった。EDTA添加で増殖する月が多く、さらにリンとPIV混液を添加することにより、飛躍的に増殖した。詳細を各月毎に見ていくと、平成14年4月は、リンを添加することにより増殖が見られ、EDTAを添加しても増殖は見られていない。さらに、金属を添加することにより、飛躍的に増殖した。実験期間を通してリンが第一制限となったのは平成14年4月だけである。5月、6月はEDTAを添加することにより増殖が見られ、さらにリンを添加することにより増殖量が増加した。

7月は、EDTAとリンの同時添加で増殖が見られた。8月から平成15年2月の7ヶ月はEDTA制限であった。3月と6月はPIV金属混液添加で増殖し、EDTA、リン添加で増殖していないことから金属制

Table 3 The Results of AGP tests using *Microcystis aeruginosa*

<i>Microcystis</i>	TOC(mg/l)							
	Free	N	P	E	NE	NP	PE	NPE
April 02	1.79	1.68	1.19	2.37	3.49	1.39	2.00	3.48
May	1.31	0.88	0.85	2.44	3.93	0.66	2.41	4.43
June	0.15	0.00	2.58	3.11	1.26	25.60	3.72	27.23
July	2.03	2.19	1.80	3.00	1.10	10.05	2.30	11.50
August	0.57	1.39	0.60	1.23	0.42	5.91	1.12	10.03
September	0.00	0.00	0.00	0.00	0.91	0.00	0.40	9.39
October	0.56	0.33	0.00	1.67	2.01	0.03	1.40	10.70
November	0.18	0.00	0.76	2.26	2.14	0.96	2.03	8.16
December	0.43	0.36	0.29	2.41	3.37	0.14	3.38	8.22
January 03	1.01	1.09	0.61	3.01	3.30	1.07	3.76	10.55
February	0.92	0.90	0.00	2.90	2.93	0.02	3.85	10.97
March	0.86	0.70	0.09	3.33	3.16	0.23	3.11	8.86
April	1.00	0.88	0.26	2.39	2.37	0.00	2.25	9.41
May	0.34	0.41	0.00	1.05	0.81	0.00	0.62	8.19
June	0.85	0.97	0.58	2.15	1.56	0.31	1.82	8.55
July	0.07	0.08	0.36	0.38	0.49	0.64	0.18	8.33
August	1.12	0.76	0.46	0.71	0.89	0.57	0.49	5.17
October	1.25	1.58	1.87	1.57	1.91	1.19	1.03	5.96
November	1.26	1.73	1.25	3.17	5.82	1.79	2.36	10.30
December	0.36	0.30	0.10	2.28	1.60	0.41	1.89	8.33
January 04	1.11	1.43	1.13	2.48	2.54	1.23	2.35	4.31
February	0.57	0.57	0.71	2.19	2.05	1.11	2.11	3.84
March	0.28	0.45	0.32	2.24	2.46	0.13	2.33	4.03

Table 4 Results of AGP tests using *Anabaena fros-aquae*

<i>Anabaena</i>	TOC(mg/l)							
	Free	P	E	PV	E, PV	E, P	P, PV	P, E, PV
April 03	1.88	7.82	2.04	1.80	2.15	7.65	13.41	14.68
May	1.87	2.27	2.79	4.23	4.39	3.17	24.19	26.68
June	0.15	0.00	2.58	3.11	1.26	25.60	3.72	27.23
July	2.70	1.82	2.08	2.04	1.09	16.06	1.97	15.73
August	1.48	1.12	2.99	2.29	2.94	17.44	3.33	22.84
September	0.72	0.53	1.72	1.46	1.55	1.31	2.78	1.62
October	0.69	1.03	6.45	14.24	6.31	5.08	0.55	3.5
November	1.02	0.61	1.53	1.94	2.55	0.92	16.30	19.10
December	1.19	1.12	3.71	3.34	5.10	3.01	4.74	6.58
January 03	1.89	2.08	3.46	5.13	4.85	6.61	20.41	21.85
February	1.38	1.48	2.40	2.77	3.29	2.48	5.53	1.92
March	0.96	0.68	1.13	2.60	3.01	1.18	1.54	2.45
April	1.38	1.16	2.98	2.87	3.03	1.86	9.28	10.26
May	0.38	0.37	1.90	1.46	1.10	1.86	2.21	1.86
June	0.67	0.73	0.36	2.29	2.12	0.78	5.85	5.79
July	1.61	1.47	3.74	3.51	4.51	5.11	6.05	6.38
August	0.98	1.14	1.18	1.75	0.61	0.37	28.66	27.64
October	1.10	1.27	2.32	1.79	2.94	2.07	6.06	5.86
November	0.80	0.52	0.81	0.68	0.91	0.91	4.57	5.36
December	0.57	0.63	1.75	1.62	2.05	2.05	4.54	5.63
January	3.04	2.25	3.98	3.83	4.28	4.19	7.74	6.06
February	0.74	0.95	1.88	1.79	1.98	2.13	5.98	5.14
March	0.28	0.22	1.16	1.79	1.75	1.04	5.47	4.39

限とした。4月と5月はEDTA制限であった。7月はEDTA制限であった。8月と11月は、EDTA、リン、金属の同時制限であった。9月は欠測。10月はEDTA制限であった。12月、1月、2月はいずれもEDTA制限であった。

3) *Anabaena*増殖制限金属の特定実験

*Anabaena*の増殖実験中にPⅣ金属混液の中の金属が制限的に作用していることが示唆されたので、PⅣ金属混液に含まれている金属を用いて添加増殖実験を行った。その結果をFig.2とFig.3およびTable 5に示した。Fig.2とFig.3は、平成15年5月の実験結果を示した。その結果、コバルト (Co) が第一制限物質、鉄 (Fe) が第二制限物質として作用していた。平成15年度は4月、5月、7月、10月に実施し、結果をTable 5に示した。

4月は全ての試水にあらかじめ鉄 (Fe) を添加

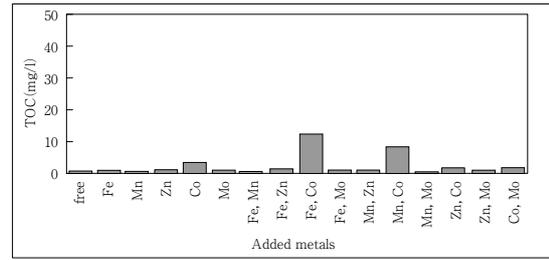


Fig.2 Experiment for search the limiting metals(1)

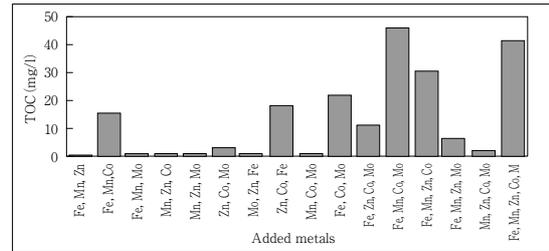


Fig.3 Experiment for search the limiting metals(2)

Table 5 The results of the experiments for search the limiting metals

	Free	Fe	Mn	Zn	Co	Mo	Fe, Mn	Fe, Zn	Fe, Co	Fe, Mo	Mn, Zn	Mn, Co	Mn, Mo	Zn, Co	Zn, Mo	Co, Mo
April	2.09		1.67	1.52	11.56	1.72					1.74	8.7	1.72	8.13	1.67	10.46
May	0.70	1.19	0.53	0.98	3.65	1.02	0.65	1.44	12.23	1.15	1.14	8.20	0.58	1.90	1.14	2.02
July	3.54	2.04	3.63	4.74	9.95	4.88	3.89	1.37	12.14	2.05	4.32	7.20	4.63	8.83	4.28	10.28
October	7.47		7.70	3.39	28.29	5.33					11.02	60.2	10.52	32.97	2.57	41.88

して添加増殖実験を行ったので、コバルト単独制限かあるいはコバルトと鉄の同時制限かは明らかにできなかったが、コバルトが関与していることは確かである。7月は、コバルト制限であった。10月も4月と同様に鉄をあらかじめ添加したので鉄が関与しているかどうか確認できなかったが、コバ

ルトが制限物質として関与していた。平成14年度の金属特定実験においてもコバルトと鉄が制限物質として作用していたことが明らかになっており⁹⁾、湖山池湖水におけるPⅣ金属混液中の制限金属はコバルトと鉄であった。以上の結果をTable 6にまとめた。*Microcystis*と*Anabaena*両種共にEDTAが第一制

Table 6 Results of the limiting substance for water-bloom in Lake Koyamaike

Years.	<i>Microcystis</i>	<i>Anabaena</i>	Limiting metal of <i>Anabaena</i>
April 03	E	P	Co
May	E	E	Co
June	E	E	Not clarified
July	E	E, P	Co
August	N, P	E	—
September	N, E	E	Co
October	E	E	Not clarified
November	E	E	—
December	E	E	—
January	E	E	—
February	E	E	—
March	E	E	—
EDTA limit	95.2%	81.0%	
P limit	19.0%	14.3%	
N limit	23.8%	0.0%	
Metal limit	—	14.3%	

限物質であり、*Microcystis*は、2年間を通じて22回増殖実験を実施している中で、EDTAが第一制限物質として作用しなかったのは、平成14年の8月1回のみである。*Anabaena*は平成14年4月、平成15年3月、6月、8月の4回がEDTA制限とならなかった。その割合（EDTAが制限となった割合）は、それぞれ95.5%、81.8%であった。次にリンを見ると、*Microcystis*は18.2%、*Anabaena*は13.6%であった。窒素は*Microcystis*で22.7%、*Anabaena*は0%であった。これは、*Anabaena*が窒素固定能¹⁰⁾を持っている結果と考えられた。金属は*Anabaena*のみに制限的に働き、*Microcystis*には制限物質として作用しなかった。その金属はコバルトと鉄であった。

4 まとめ

- 1) *Microcystis*の増殖に制限的に作用している物質は、EDTA、窒素およびリンであった。その中で、第一制限物質はEDTAであった。
- 2) *Anabaena*の増殖に制限的に作用している物質は、EDTA、リンおよび金属であった。その金属は、コバルトと鉄であった。
- 3) 2年間の増殖実験を通して、*Microcystis*および*Anabaena*共にEDTAが重要な制限物質であり、*Microcystis*は95.5%、*Anabaena*は81.8%の高率で第一制限物質として関与していた。窒素、リンの第一制限物質としての関与は少ないものの、EDTA添加後、窒素、リンを添加すれば、飛躍的に増殖することから、重要な制限物質であることに変わりはない。
- 4) 湖山池では、富栄養化防止のために、窒素、リンの削減も重要ではあるが、EDTAの削減は効果的な方法と考えられる。

参考文献

- 1) 八木正一:植物プランクトンによる異臭の実態, 用水と廃水, 31, 859-867(1989).
- 2) 生島功:水の華の発生機構とその制, 東海大学出版会, 東京, 1987, 32-46.
- 3) 渡辺真利代, 原田健一, 藤木博太:アオコーその出現と毒素一, 東京大学出版会, 東京, 1994, 17-24, 55-73.
- 4) 洞崎和徳, 南條吉之, 福田明彦, 九鬼貴弘:湖

山池の水質と植物プランクトンについて, 鳥取県衛生研究所報, 第36号, 57-62(1996).

- 5) Makoto Watanabe: NIES-Collection, List of Strains, Sixth Edition, 30-31(2000).
- 6) 矢木修身:アオコの増殖及び分解に関する研究, 国立公害研究所報, 第92号, 9-10 (1986).
- 7) 南條吉之, 福田明彦, 洞崎和徳, 九鬼貴弘:湖山池における藻類増殖の制限物質について, 鳥取県衛生研究所報, 第37号, 55-57(1997).
- 8) 南條吉之, 細井由彦, 城戸由能, 矢木修身, 稲葉一穂:湖山池における藻類増殖の制限物質について, 鳥取県衛生研究所報, 第41号, 51-59 (2001).
- 9) 南條吉之, 永美敏正, 若林健二, 道上隆文, 森明寛, 奥田益算:湖山池でアオコを形成する*Anabaena fros-aquae*の増殖における制限物質について, 鳥取県衛生研究所報, 第43号, 45-48 (2003).
- 10) 南條吉之, 福田明彦, 九鬼貴弘, 若林健二:*Microcystis aeruginosa*・*Anabaena affinis*の増殖と硝酸態窒素及びリン酸態リンとの関係について, 鳥取県衛生研究所報, 第36号, 63-66(1996).