

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 5 月 21 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24560657

研究課題名(和文)アオコ抑制のための底泥中のアナベナ休眠細胞の発芽特性解析

研究課題名(英文) Analysis of germination characteristics of Anabaena akinete in the bottom sediment for the blue-green algae inhibition

研究代表者

野村 宗弘 (NOMURA, MUNEHIRO)

東北大学・工学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：70359537

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：アナベナ属は休眠細胞という形態をとることが知られているが、休眠細胞がアオコ形成に与える影響はほとんど評価されていない。本研究では最初に休眠細胞の発芽速度実験を行い、発芽の最適条件では13日間で発芽が完了すること、底泥からのリンの回帰量として休眠細胞由来のものがあることがわかった。

次に実験より求めた発芽速度をもとに休眠細胞の発芽予測モデルを構築し、ダム貯水池における発芽量を推定するとともに、現地環境因子を解析することで、休眠細胞がアナベナによるアオコの形成に与える影響を評価した。その結果、休眠細胞の発芽は貯水位を高く保つことで抑えられる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The algal bloom causes deterioration of water qualities such as taste and odor. Cyanobacteria Anabaena is one of the main species which cause algal bloom and musty odor problem.

Although Anabaena has a mechanism to make akinete (resting cell) to stand bad environment, the influence of akinete on algal bloom formation is still unclear. In this study, the condition of water bloom in Urushizawa Dam was investigated using the yearly data collections, field study and simulation analysis about akinete germination of Anabaena. As the results, it was suggested that germination of Anabaena is triggered by lowering the water level in June, and also suggested that the length of daylight in this time has correlation with biomass of Anabaena in the summer. And it was also suggested that keeping the water level high can inhibit germination of Anabaena.

研究分野：環境生態工学

キーワード：富栄養化 水質汚濁 発芽

## 1. 研究開始当初の背景

湖沼の生活環境の保全に係る環境基準の達成率は、依然として低く推移しており水質改善が進んでいない。近年、上流域の貯水池においても藍藻類 *Anabaena* sp. を主としたアオコの発生が報告されている。アオコの発生は水道水へのかび臭の付加などを引き起こすことから上流域の貯水池におけるアオコの発生防止対策が極めて重要である。こうした貯水池におけるアオコ発生の対策を講じるためには、アオコを形成する藍藻類が異常発生する機構の中で人為的に制限可能な要因を検討する必要がある。

*Anabaena* sp. は、環境条件が不利になると休眠細胞と呼ばれる胞子を形成し、環境条件が整うと発芽し増殖を始める生態的特徴を持つ。このため休眠細胞はアオコ形成のシードポピュレーションであるといえる。藍藻類アナベナによるアオコ形成には休眠細胞からの発芽とその後の水柱での増殖という2段階のプロセスが考えられ、増殖に関しては多くの研究がなされている。一方、休眠細胞に関する研究は、発芽条件の温度や光量などに関しては、いくつかみられる。現地における休眠細胞の存在と環境因子との関係からアオコ発生に及ぼす影響を検討した事例はほとんどみられないが、休眠細胞の発芽はアオコ発生の起点となっていることから、藍藻類の優占化等アオコ発生時期や藻類種の変遷を評価するうえで重要な情報と考えられる。

## 2. 研究の目的

筆者らは、これまでに調査対象とした漆沢ダム貯水池において、湖底には *Anabaena* 属の休眠細胞が大量に存在すること、貯水位が低下した年ほど *Anabaena* 属の発生量が多い傾向がみられたことを示すとともに、*Anabaena* 属の休眠細胞数の違いが *Anabaena* 属の優占化に影響を与えることを室内実験やモデル解析を通じて明らかにしている。このことからアオコ発生対策を検討するうえ

でも底泥の休眠細胞の発芽状況を検討することは必要な課題と考えられるが、現地における休眠細胞の発芽の時期や量の評価は、環境条件から発芽の可能性を推定するに留まっており、発芽速度や発芽量の評価など十分に出来ていない。

そこで本研究では、*Anabaena* 休眠細胞の発芽速度定量実験から休眠細胞の発芽予測モデルを構築し、漆沢ダム湖における発芽量を予測するとともに、現地の環境因子を解析することで、休眠細胞が *Anabaena* のアオコの形成に与える影響を評価した。

## 3. 研究の方法

### (1) 調査地点

本研究で調査対象としたダムは、宮城県北西に位置する漆沢ダム(北緯 38°34'14" , 東経 140°38'29" , 標高 240 m)である。漆沢ダム貯水池は、流域面積 58.9 km<sup>2</sup> , 有効貯水量 16,000 千 m<sup>3</sup> , 水表面積 0.83 km<sup>2</sup> , 幅約 500 m , 全長約 4,000 m , 平均水深約 22 m のロックフィルダムで、鳴瀬川水域の総合開発を目的とした多目的ダムである。周囲を山林に囲まれているため人為的流入負荷は存在せず、負荷の流入は鳴瀬川、唐府沢の2河川からのみであるが、夏季には藍藻類 *Anabaena* 属を主としたアオコの発生がみられる。

### (2) 現地調査および分析方法

湖内環境が *Anabaena* の出現、アオコの形成に与える影響を詳細に評価するために、藍藻類出現期間である6月から10月にかけて現地調査を行った。

定期観測として毎観測日 11 時頃、各観測定点において多項目水質計(AAQ1183; Alec 電子)を垂下させ各層の水質を測定するとともに、バンドーン採水器を用いて所定の水深の採水を行った。湖内の光量子量の変化の把握を目的として、光量子計(MDS-MkV/L; Alec 電子)を用いて、各深度の水中光量子量を測定した。

採泥地点は水質の定期観測と同じく5地点とし、9月に底泥の採取を行った。各地点において船上からエクマン・バージ採泥器を下ろして採泥し、葉さじでビニールパックに移して実験室に持ち帰り、冷蔵庫(4℃)で保存した。なお、本研究のデータ解析は2008年から2012年にかけて実施した現地調査の結果を用い、室内実験は2008年に採取した底質サンプルを用いて行った。

休眠細胞数の定量化は、最確法(MPN法)を用いて行った。以下に手順を記す。試泥2g-wetをCT培地100mlで希釈したものを原液とし、それを3段階に希釈(1/10, 1/100, 1/1,000)したものを藻類培養用の試験管に入れた。これを温度20℃, 5,000lx, 明暗周期12L-12Dの条件下で培養した。培養開始後は、ほぼ1日毎に目視での観察、1週間毎に光学顕微鏡を用いて観察し、培養開始日から20日後までに栄養細胞のみられた試験管を陽性とした。最確数は最確数表から求め、これを各地点における発芽可能な休眠細胞数とした。

ダム湖における貯水量、流入量および放流量の時系列データは宮城県大崎地方ダム総合事務所漆沢ダム管理事務所から入手した。また、藻類種の個体数データは、宮城県大崎広域水道事務所が測定したものを使用した。

#### 4. 研究成果

##### (1) 休眠細胞発芽予測モデルの構築

貯水池における *Anabaena* 休眠細胞の発芽量を予測するため、以下のように休眠細胞発芽量予測モデルを構築した。

貯水池の湖底から採取した底泥サンプルを用い、発芽に最適な条件下での休眠細胞の発芽速度の定量を行った。

*Anabaena* 休眠細胞の発芽率に関する既往の研究結果をもとに、発芽速度に係る条件付けを行い、休眠細胞の発芽速度が、湖底における水温、光量子量に依存するモデルを構築した。

休眠細胞の発芽速度実験は、採取した泥 (*Anabaena* 休眠細胞 16,500 MPN cells g<sup>-1</sup>-wet を含む)を用いて行った。湖底泥試料20gを、蒸留水を用いて1,000mlに希釈し、藻類培養用試験管48本に20mlずつ分注し、それらを明条件系30本、暗条件系18本の2系に分けて21日間培養を行った。培養は温度20℃, 5,000lx, 明暗周期12L-12Dの条件下で行い、明条件系から5本、暗条件系から3本ずつ、表層10mlを採取し、全リンの分析を行った。また、21日目の表層水採取後の試験管に残存する休眠細胞数をMPN法により求め、培養前の値から培養後の値を引いたものを培養前の値で除し、21日間での発芽率を算出した。各測定日の明条件系の平均全リン濃度から暗条件系の平均全リン濃度を引くことで、休眠細胞から発芽し表層に集積した *Anabaena* が輸送したリン量を求め、その時間変化を発芽速度とした。

本実験に用いた底泥試料中の休眠細胞は、16,500 MPN cells g<sup>-1</sup>-wetであり、21日間の培養後の泥中には2.0 MPN cells g<sup>-1</sup>-wetであったため、試料中の発芽可能な休眠細胞の発芽は21日間の培養でほぼ全量起きたといえる。図1に *Anabaena* の発芽により輸送されたリン量を示すが、21日間培養したものでほぼ100%の発芽が起こっていることから、最適条件として与えた本実験の培養条件下では、13日の時点でほぼ全量の発芽が終了していたことが示唆される。また、この結果は底泥から水中への栄養塩の回帰を考える際、光が届くような湖底環境では、休眠細胞の発芽に由

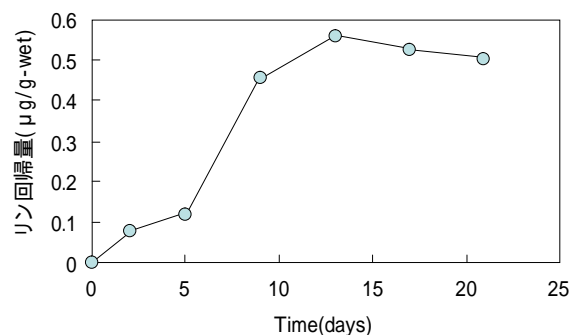


図1 *Anabaena*の発芽により輸送されるリン量の変化

来する回帰量も評価する必要があることがわかった。

本研究における休眠細胞の発芽速度は、最適条件下においては 13 日間で発芽が完了するとし、指数近似より線形近似の方がより相関性が高かったことから、発芽は時間に依存して線形的に生じていくと仮定した。また、発芽速度に係る条件設定に関しては、既往の知見から水温および光量子量による条件付けを行った。

## (2) 漆沢ダム貯水池における *Anabaena* 休眠細胞の発芽量予測

構築したモデルを漆沢ダム貯水池に適用した。計算においては、標高 1m 区切りでダム湖の面積を求め、標高 250~251m を 250.5m というようにその中間を代表値として与えた。この代表値における水温は、現地観測における水温分布結果から、光量子量は水表面の光量子量と水中のクロロフィル濃度から減衰係数を求める式から算出した。湖底の休眠細胞数は、水深が大きくなるにつれて湖底の休眠細胞数が大きくなるという既往の研究結果から、水深が大きくなるにつれ指数的に増加するとして、代表値における面積あたりの休眠細胞数を算出して与え、これに面積を掛け合わせることで、代表値の標高における休眠細胞の総数とした。これらを先のモデルに代入し、計算を行った。これらを足し合わせて、貯水池全域における発芽量とした。

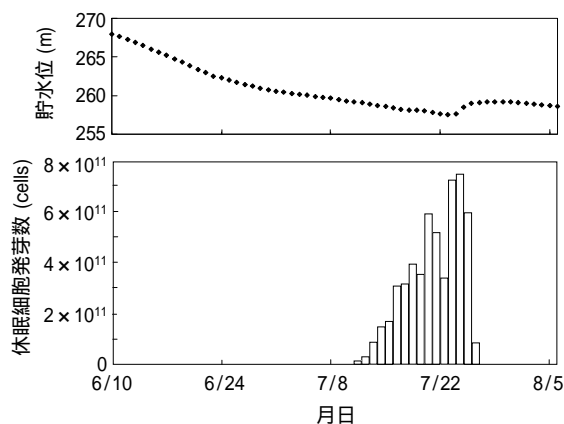


図2 ダム貯水池全域における休眠細胞発芽数の経時変化

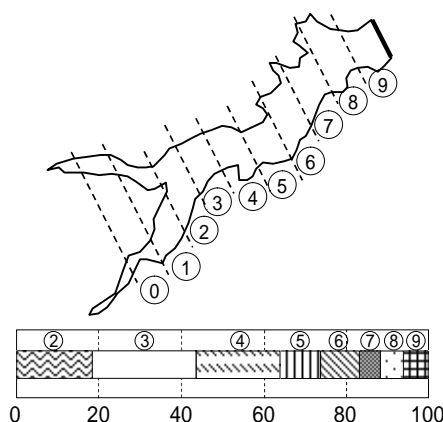


図3 6月のダム貯水池全域に占める各エリアの発芽割合(%)

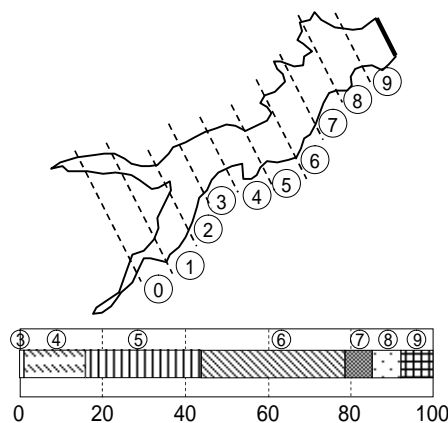


図4 7月のダム貯水池全域に占める各エリアの発芽割合(%)

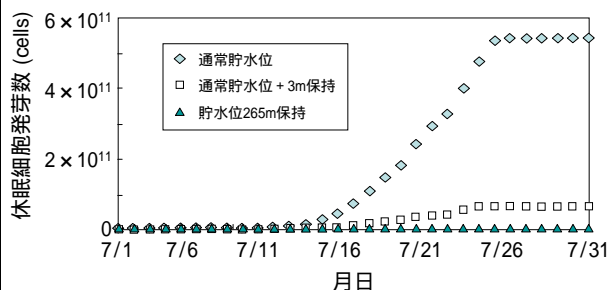


図5 貯水位操作による発芽数の変化

*Anabaena* の発芽量の経時変化を、1日あたりの貯水池全域の発芽総数を縦軸として図2に示す。その結果、本モデルにおいては、漆沢ダム貯水池の休眠細胞の発芽は6月上旬から始まり、最大となる時期は年により異なるものの、いずれの年も貯水位が最低となる時期と一致することがわかった。また、ダム貯水池を0~9の10エリアに分割し、図3に6月、図4に7月について、貯水池全域の発芽量のうち各エリアが占める割合を示した。これより、発芽初期はダム上流部における発芽が大半を占め、貯水位が低下するほどダム中

流部における発芽が占める割合が大きくなることがわかった。

さらに、本貯水池の発芽量が貯水位に依存することから、貯水位を変化させた次の3つの条件下における発芽量を計算し、図5に示した。

#### 発芽量の積算値の経時変化

気象条件等が同じで貯水位を通常より3m高く保持した場合

貯水位を265m以下に下がらないように保持した場合

その結果、貯水位を常に通常の水位変化より3m高く保った場合は8分の1程度、265m以下まで下げないように保った場合は350分の1程度まで積算の発芽量を抑えることができることが示唆された。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計2件)

1. 矢島悠一, 野村宗弘, 一瀬 諭, 鈴木有咲美, 西村 修, *Anabaena* 休眠細胞の大量形成・回収および発芽評価方法, 日本水処理生物学会誌, 49(3), pp.103-108, 2013. 【査読有り】

2. 野村宗弘, ダム貯水池におけるアオコ発生抑制効果の評価, 水環境学会誌, 35(A), 3, pp.75-78, 2012. 【査読無し】

〔学会発表〕(計3件)

1. 穴戸 彩, 野村宗弘, 千葉信男, 西村 修, 浅い湖沼における底質有機物の巻き上げと沈降に関する現地観測, 第49回日本水環境学会年会講演集, p.196, 2015年3月17日, 金沢大学(石川県・金沢市).

2. A.Suzuki, M.Nomura, Y.Yajima, S.Ichise and O.Nishimura, Research on the geosmin content in akinetes of the cyanobacteria, *Anabaena macrospora*, Program of 32nd Congress of the International Society of Limnology (SIL2013), Poster-91, 2013年8月8日, Budapest (Hungary).

3. 鈴木有咲海, 野村宗弘, 矢島悠一, 田中伸幸, 西村 修, *Anabaena macrospora* の休眠細胞内ジオスミン含有について, 平成24年度土木学会東北支部技術研究発表会講演概要集CD(pdf), -22, 2013年3月9日, 東北大学(宮城県・仙台市).

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

野村 宗弘 (NOMURA, MUNEHIRO)

東北大学・大学院工学研究科・助教

研究者番号：70359537