

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 6 月 22 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25550057

研究課題名(和文) ミクロキスティスコロニー破壊珪藻を用いたアオコ防除対策法の研究開発

研究課題名(英文) Research and development of water bloom reduction by diatoms of destruction  
Microcystis colonies

研究代表者

八才 愛民 (HAO, AIMIN)

九州大学・学内共同利用施設等・研究員

研究者番号：40586971

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、現場実験における珪酸栄養塩の供給及び付着担体の設置による藻類組成及び水質の変化からアオコの抑制効果を検討した。実験結果より *Nitzschia palea* 等の珪藻類及び *Ankistrodesmus* spp. 等の緑藻類の増殖が促進され、藍藻の *Microcystis* spp. の増殖を抑制することが明らかとなった。また、新たな知見として *Nitzschia palea* による *Microcystis* colony への侵入・破壊作用で、*Microcystis* spp. の死滅が速やかな生じていることを確認した。本法はアオコ防除法の一つとして活用できることが期待される。

研究成果の概要(英文)：Under this research, we have investigated effectiveness of water bloom reduction by a supply of silicate nutrients and installing attachment carriers on the site and at laboratory experiment, and through changes of algae and water quality. The research results show that proliferations of diatoms such as *Nitzschia palea* and green algae such as *Ankistrodesmus* spp. are enhanced and a proliferation of Cyanobacteria such as *Microcystis* spp. is suppressed. Additionally, as a new finding, we have observed rapid extinction of *Microcystis* spp. through invasion and destruction by *Nitzschia palea* of *Microcystis* colonies. It is expected that this method can be applied as one of water bloom prevention methods.

研究分野：水環境工学

キーワード：Microcystis colonies Nitzschia palea Biomass water quality competition environment

1. 研究開始当初の背景

湖沼などの閉鎖性水域での富栄養化により生じているアオコの発生に関しては、長年の増殖機構の基礎研究及びその防除法の開発が行われているが、未だ日本を含め世界各地の湖沼及び貯水池などで顕著なアオコの発生が頻発し、水利用の障害を引き起こしているのが現状である。

近年では、アオコ毒性(ミクロシスチン等)が、飲用水等の水利用、持続可能な社会形成のための水循環システムに影響を及ぼし、人間社会の基盤形成に大きな打撃を与えている。さらに、アオコは特定種の異常増殖により、生産者またその上位の消費者群の生物生態系の多様性の著しい低下を引き起こし、近年の生物多様性戦略の障害にもなっている。これに対応し、負荷源対策に加え湖水循環法や物理的衝撃によるオンサイト型のアオコ防除法が実施されているが、負荷源対策は面源や、流域社会構造の問題から対応が進捗せず、オンサイト型対策は、設置や運用に多くのエネルギーを要するなど問題を抱えている。今日の社会情勢より省エネで持続性があり、自然生態系の改善にも効果のある対策法が求められている。

本申請は、自然生態系における藻類競合作用を利用したアオコの防除新手法として、*Microcystis Colony* 内で増殖し、滑走運動により Colony 構造を破壊する作用を有する珪藻による初めての視点からの生態工学的なアオコ防除法の開発研究を提案するものである。

今回使用する珪藻は、我々が平成 23 年 10 月、室内実験で沈水植物(セキショウモ)のアオコ抑制効果を検討した際に、セキショウモを入れた系及び入れなかった系ともに、珪藻類の *Nitzschia sp.* が沈水植物を介在して *Microcystis colonies* 内に侵入・増殖し、滑走運動の作用により比較的短時間でアオコの群体形態構造を破壊する現象を発見し、増殖をも抑制する可能性を示唆した。これは、珪藻(*Nitzschia sp.*)による現象であり、偶然に発見されたものであった(図 1)。その後、*Nitzschia sp.* は、*Nitzschia palea* という種であることが明らかとなった。

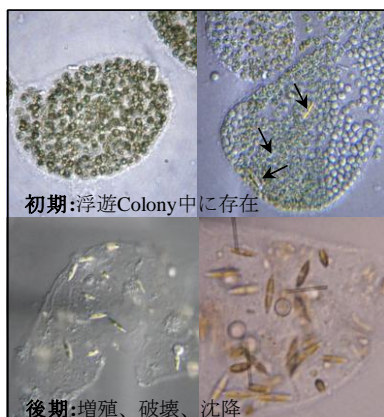


図 1 アオコ抑制の検鏡結果

2. 研究の目的

本研究では、生物形態機能活用の観点から *Microcystis colonies* を抑制する *Nitzschia palea* に着目し、*Nitzschia palea* の増殖促進に珪酸栄養塩の供給及び *Nitzschia palea* の付着に付着担体の設置での室内と現場の一連の実験を試みた。植物プランクトン組成変化よりアオコ増殖抑制の有効性の検討を行った。

3. 研究の方法

(1) 珪酸栄養塩供給の室内実験 (B)

室内実験として *Microcystis* 属と珪藻類を含めた植物プランクトン組成の変化を確認する実験 B を実施した。材料と方法については表 1 に示した。植物プランクトン組成の分析用に培養期間 0、15、39 日目に約 10 mL の試料を採取し、ホルマリンを 2% になるように加えて固定した後、位相差顕微鏡 (40-800 倍) とプランクトン計数板 (MPC-200、松浪硝子工業) を用いて種の同定と細胞数の定量を行った。

表 1. 室内実験の材料及び方法

| 種類    | 室内実験 B                                     |
|-------|--|
| 実験材料  | アオコ発生池水、珪酸ゲル (ケイ酸 20%; 水分 80%)             |
| 実験容器  | 三角フラスコ                                     |
| 栄養塩濃度 | 無添加  |
| 実験水体  | アオコ発生池水 : 0.2 L (各 3 連)                    |
| ケイ酸条件 | BO : ケイ酸栄養塩無添加                             |
|       | B1 : ケイ酸栄養塩 0.02 g 添加                      |
| 培養条件  | 恒温 25°C ;<br>光照 3400 lux の 12 h 明 : 12 h 暗 |
| 実験期間  | 39 日間                                      |
| 試料採取日 | 0、15、39                                    |
| 測定項目  | 植物プランクトン組成                                 |

(2) 珪酸酸栄養塩連続供給効果に関する現場実験 (C)

① メソコズムの設置・供試材料

実験は、2013 年 9 月 29 日~10 月 23 日の期間、アオコ発生のダム湖水域 (佐賀県唐津市) で、2 個の同容量 (1m<sup>3</sup>) のメソコズムをケイ酸栄養塩無供給の対照区 C0 とケイ酸栄養塩供給の処理区 C1 として設置して行った。同水域で採取したアオコを用いてメソコズムのアオコ濃度が同程度になるよう調整した後、ケイ酸栄養塩 500 g を入れたネットを C1 の水面に設置した (図 2)。

② 植物プランクトンの同定

植物プランクトン組成の同定用には試験間隔の 0、3、18 日目に 2 実験区の表層水 (0.1 m) を採取した。植物プランクトンの種の同定と細胞数の定量は前述と同様であった。

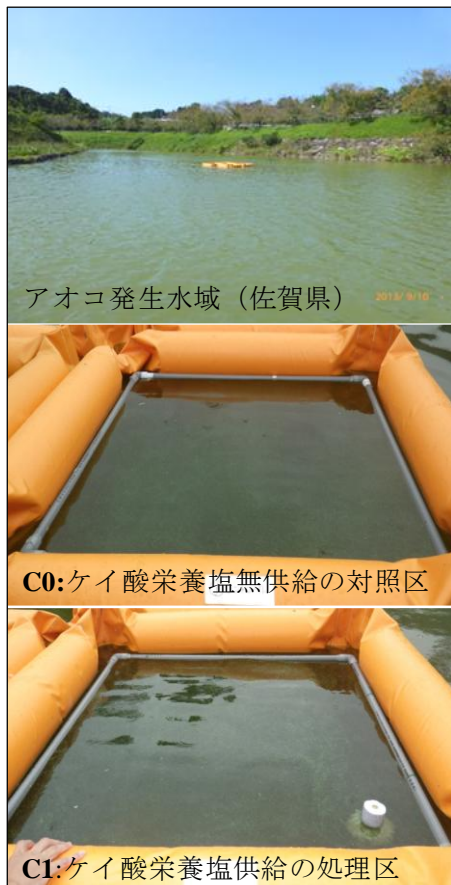


図 2.メソコズムの現場実験 (C)

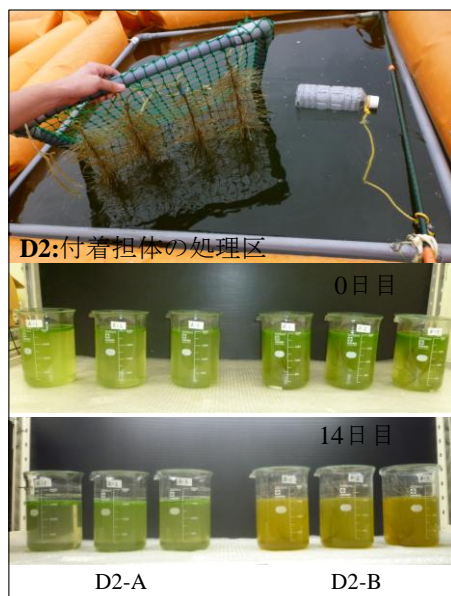


図 3.メソコズムの現場と室内の連続実験 (D)

(3)珪酸栄養塩連続供給及び付着担体の効果に関する現場実験 (D)

①メソコズムの設置・供試材料

実験は、2014年8月31日～9月26の期間、上述現場実験 (C) と同じダム湖水域において、3個の同じメソコズムを用い、ケイ酸栄養塩無供給の対照区 D0 とケイ酸栄養塩供給の処理区 D1 及び付着担体設置の処理区

D2 の計 3 実験区を設けた。処理区 D2 の付着担体は長さ 1.0 m のプラスチック紐 (10 本) を用いた (図 3、D2)。3 実験区のアオコ濃度が同程度になるように同水域で採取したアオコを入れた後、ケイ酸栄養塩 500 g を入れたネットを処理区 D1 の水面に設置した (図 3、D0、D1 の図は C0、C1 と同方法であった)。

また、実験 24 日目に処理区 D2 の付着担体を研究室に持ち帰り、対照区の D2-A と添加区の D2-B として各三連のビーカー (2 L) に同水域のアオコ原水を準備し、15 cm に切り分けた付着担体を D2-B に添加した。また、上述の室内実験 (B) と同様な温度と光条件の下で 14 日間藻類培養実験を行った (図 3)。

②植物プランクトンの同定

植物プランクトン組成の同定用には試験間隔の 0、2、5、8 日目に 3 実験区の表層水を採取し、同様な方法で行った。室内培養実験の植物プランクトン組成の同定用には培養期間の 0、14 日目の試料を採取し種の同定と細胞数の定量を行った。

4. 研究成果

(1) 植物プランクトン組成の変化 (B)

植物プランクトン組成の変化を表 2 に示した。*Microcystis* 属は B0 では 15 日目まで約  $200 \times 10^3$  cells/0.1mL の初期密度で維持され、39 日目には約  $50 \times 10^3$  cells/0.1mL に減少した。それに対し、B1 では 15、39 日目にはそれぞれ B0 の 1/5 程度以下に抑制された。*Microcystis* 属以外の藍藻では *Anabaena* 等が増殖したと示されたが、B0 と比較して増殖量は抑制された。珪藻類は、B0 と比較して B1 では *Nitzschia* 等が増加傾向を示した。緑藻類は B0 と比較して B1 では *A. falcatus* などの増殖傾向が示された。B1 では珪藻の増殖により、*Microcystis* 属の増殖が抑制されたことが推察される。実験初期には *Microcystis* 属が優占したが、ケイ酸添加により珪藻が徐々にケイ酸を吸収して増殖すると *Microcystis* 属の増殖が抑制された。それによって、実験開始時には藻類間の競合において劣位にあった緑藻が二次的に増殖できる環境になり、このことから *Microcystis* 属の増殖がさらに抑制された可能性が考えられる。

(2) 植物プランクトン組成の変化 (C)

現場実験 C の植物プランクトン組成の変化を表 3 に示した。*Microcystis* 属は C0 では 18 日目まで増殖傾向が確認されたのに対し、C1 では全体を通して減少傾向が確認され、C0 と比較して、18 日目にはそれぞれ 1/10 程度以下にまで減少した。珪藻類については、C0 では確認されなかった。一方、C1 では短期的な増殖傾向は見られなかったが、18 日目には増殖した。緑藻は C1 では増殖したと確認された。このケイ酸栄養塩の供給により珪藻の増殖が促され、*Microcystis* 属の増殖を抑制し、さらに緑藻が二次的に増殖することで *Microcystis* 属が抑制され

たとされる室内実験 B の結果と近い傾向が見られた。

表2 主要な植物プランクトンの組成

| 種類                            | 属名                                | 実験系   | Biomass (cells/mL) |           |         |
|-------------------------------|-----------------------------------|-------|--------------------|-----------|---------|
|                               |                                   |       | 0day               | 15day     | 39day   |
| 藍藻                            | <i>Anabaena</i> spp.              | B0    |                    | 340       | 49,330  |
|                               |                                   | B1    |                    | 530       | 3930    |
|                               | <i>Microcystis</i> spp.           | B0    | 2,496,000          | 2,249,330 | 520,330 |
|                               |                                   | B1    |                    | 414,000   | 109,760 |
| 珪藻                            | <i>Phormidium</i> sp.(f)          | B0    | 400                | 4,530     | 22,310  |
|                               |                                   | B1    |                    | 6,520     | 3,200   |
|                               | <i>Cyclotella</i> sp.             | B0    |                    | 20        | 70      |
|                               |                                   | B1    |                    | 40        | 1,370   |
| <i>Fragilaria crotonensis</i> | B0                                |       | 20                 | 200       |         |
|                               | B1                                |       |                    | 1,990     |         |
|                               | B0                                | 3,450 | 2,980              | 1,170     |         |
|                               | B1                                |       | 6,530              | 2,500     |         |
| <i>Synedra acus</i>           | B0                                | 200   | 20                 | 290       |         |
|                               | B1                                |       | 70                 | 1,230     |         |
|                               | <i>Ankistrodesmus falcatus</i>    | B0    | 400                | 120       | 850     |
|                               |                                   | B1    |                    | 610       | 5,930   |
| 緑藻                            | <i>Dictyosphaerium pulchellum</i> | B0    |                    | 130       | 530     |
|                               |                                   | B1    |                    | 1,070     | 5,910   |
|                               | <i>Scenedesmus</i> spp.           | B0    |                    | 4,430     | 30,470  |
|                               |                                   | B1    |                    | 13,000    | 49,000  |

注: 表中空白欄は1cell/mL未満である。

表3 主要な植物プランクトン組成の変化

| 種類                         | 属名  | 実験系 | Biomass (cells/mL) |           |           |
|----------------------------|---|-----|--------------------|-----------|-----------|
|                            |   |     | 0 day              | 3 day     | 18 day    |
| 藍藻                         | <i>Microcystis</i> spp.                               | C0  | 484,000            | 126,600   |           |
|                            |   | C1  | 72,000             | 12,760    |           |
|                            | <i>Microcystis</i> spp.+<br><i>Chroococcus</i> spp.   | C0  | 1,176,000          | 1,180,000 | 1,408,000 |
|                            |   | C1  | 924,000            | 864,000   | 136,000   |
| 珪藻                         | <i>Phormidium</i> sp.(f)                              | C0  | 1,500              | 1,100     | 62,000    |
|                            |   | C1  | 400                | 40        | 800       |
|                            | <i>Actinophrys</i> sp.                                | C0  |                    |           | 2,600     |
|                            |   | C1  |                    |           |           |
| <i>Nitzschia</i> sp.       | C0  |     | 20                 |           |           |
|                            | C1  |     |                    | 20        |           |
|                            | <i>Synedra</i> sp.                                    | C0  |                    |           | 30        |
|                            |   | C1  |                    |           |           |
| 緑藻                         | <i>Ankistrodesmus</i> spp.+<br><i>Selenastrum</i> sp. | C0  | 66,600             | 9,330     | 24,000    |
|                            |   | C1  | 110,000            | 49,600    | 2,800     |
|                            | <i>Kirchneriella</i> sp.                              | C0  |                    |           | 32,000    |
|                            |   | C1  | 13,800             | 8,800     | 149,330   |
| <i>Scenedesmus</i> spp.(g) | C0  |     |                    |           |           |
|                            | C1  | 60  |                    | 110       |           |
|                            | <i>Selenastrum gracile</i>                            | C0  | 5,400              | 1,000     | 1,300     |
|                            |   | C1  |                    |           |           |

注: 表中空白欄は1cell/mL未満である。

### (3)植物プランクトン組成の変化 (D)

現場実験 D の植物プランクトン組成の変化を表4に示した。アオコとして *Microcystis wesenbergii* が主体であった。対照区の D0 では、実験開始後2日目まで実験開始初期より5倍ほど増加し、その後、減少した。5日目には初期と同じレベルまで減少した。一方、ケイ酸栄養塩供給 D1 区と付着担体設置 D2 区では、何れもアオコが抑制され、D0 と比較して2日目では1/3、5日目は1/8程度が減少となった。また、D1、D2ともに珪藻と緑藻が増加し、その傾向はD2の方が強く、*Ankistrodesmus* sp. と *Selenastrum* sp. の合計として、*Microcystis*.sppと同じ現存量まで増殖した。

表4 現場実験における主な植物プランクトン組成の変化

| 種類                            | 学名  | 実験区   | Biomass (cells·mL <sup>-1</sup> ) |           |         |         |
|-------------------------------|---|-------|-----------------------------------|-----------|---------|---------|
|                               |   |       | 0 day                             | 2 day     | 5 day   | 8 day   |
| 珪藻類                           | <i>Nitzschia palea</i>                                | D0    | 10                                |           | 10      |         |
|                               |   | D1    | 20                                | 90        | 140     |         |
|                               |   | D2    | 40                                | 20        | 40      | 10      |
|                               | <i>Synedra acus</i>                                   | D0    | 40                                | 10        | 10      |         |
|                               |   | D1    | 30                                | 40        | 60      |         |
|                               |   | D2    | 20                                | 10        | 10      |         |
| <i>Fragilaria crotonensis</i> | D0  | 20    |                                   |           |         |         |
|                               | D1  | 40    | 40                                | 50        | 60      |         |
|                               | D2  | 20    |                                   |           |         |         |
| 藍藻類                           | <i>Microcystis</i> spp.                               | D0    | 416,000                           | 2,088,000 | 464,000 | 9,600   |
|                               |   | D1    | 417,330                           | 656,000   | 53,600  | 200     |
|                               |   | D2    | 404,000                           | 736,000   | 54,800  |         |
|                               | <i>Chroococcus</i> sp.                                | D0    | 264,000                           | 360,000   | 344,000 | 188,000 |
|                               |   | D1    | 60,000                            | 188,000   | 304,000 | 284,000 |
|                               |   | D2    | 196,000                           | 244,000   | 540,000 | 312,000 |
| 緑藻類                           | <i>Ankistrodesmus</i> spp.+<br><i>Selenastrum</i> sp. | D0    | 800                               | 10        | 100     |         |
|                               |   | D1    | 2,300                             | 2,100     | 2,400   | 220     |
|                               |   | D2    | 1,400                             | 2,300     | 49,500  | 5,280   |
|                               | <i>Kirchneriella</i> sp.                              | D0    |                                   |           | 80      |         |
|                               |   | D1    | 100                               | 180       | 220     | 80      |
|                               |   | D2    | 170                               | 700       | 1,800   |         |
| <i>Scenedesmus</i> spp.       | D0  |       | 40                                |           |         |         |
|                               | D1  |       | 230                               | 900       | 560     |         |
|                               | D2  | 1,800 | 1,450                             | 1,000     | 1,920   |         |

注: 表中空白欄は1.0 cell·mL<sup>-1</sup>未満である。

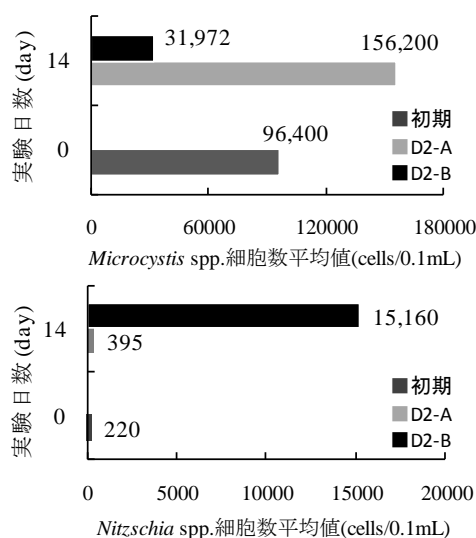


図4.付着担体による実験結果

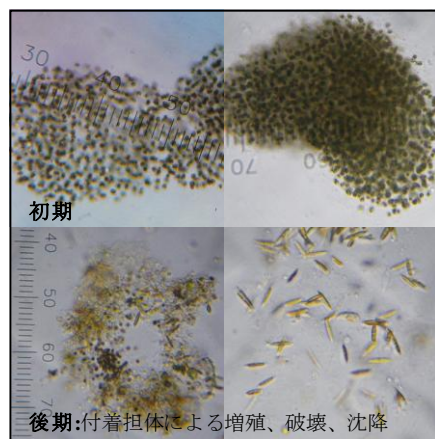


図5 アオコ抑制の検鏡結果

また、室内の培養実験結果において *Microcystis*.spp と *Nitzschia* spp. の細胞数平均値を図 4 に示した。*Microcystis*.spp 細胞数は D2-A では初期より 14 日目までに増加したに対して D2-B は 2/3 程度が減少したことが分かった。*Nitzschia* spp.細胞数は D2-A では僅か増加したが、D2-B では驚くほど顕著に増加したことが示された。この現象から付着担体設置によりアオコ抑制効果が新たにみつかった。その結果、大量にアオココロニーを直接攻撃する珪藻 (*Nitzschia*) が大量増殖し、明確にアオコ抑制効果が発現した (図 5)。

研究成果として、下記のことが明らかとなった。

①種の同定によって珪藻の *Nitzschia* sp.は、*Nitzschia palea* という種であることが明らかとなった。また、*Nitzschia palea* は、湖沼や河川などで付着性、底生性及び浮遊性の形態で存在し、好汚濁性が持ち、滑走運動を行う特徴がある。さらに、アオコ水域の調査によって *Nitzschia palea* の分布状況、特性、及び種の生育形態を把握した。

②室内と現場実験における珪酸栄養塩の供給及び付着担体の設置の一連の実験結果によって *Nitzschia palea* 等の珪藻類及び *Ankistrodesmus* spp.等の緑藻類の増殖が促進され、藍藻の *Microcystis* spp. の増殖を抑制することが明らかとなった。

②付着担体の設置により、アオコ Colony に直接作用する *Nitzschia palea* が増殖され、アオコが抑制された。

③ 新たな知見として *Nitzschia palea* による *Microcystis* colony への侵入・破壊作用で、*Microcystis* spp.の死滅が速やかな生じていることを確認した。

今後、ケイ酸栄養塩供給及び珪藻育生担体設置による両手法とも、省エネルギーで、持続性のある生態工学的アオコ抑制対策として実用化を目指す。

#### 参考文献

原島省(2011)シリカ欠損「ケイ素循環への人為影響と海洋生態系の変質」. 地球環境 **16(1)**:61 - 70.

Kang C. X., Kuba T., Hao A. M., Iseri Y., Zhang Z. J., Li C. J.(2013)Effect of Macrophyte *Vallisneria asiatica* on the Algae Community. **WASET 84**: 2082 - 2087.

沖野外輝夫・花里孝幸(2005)アオコが消えた諏訪湖. 山岳科学叢書 3, 信濃毎日新聞社 28 - 43, 192 - 219.

渡辺仁治(2005)淡水珪藻生態図鑑. 内田老鶴園出版, 東京.

広瀬弘幸・山岸高旺(1977)日本淡水藻図鑑. 内田老鶴園出版, 東京.

#### 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 件)

[学会発表] (計 5 件)

1. 林田恵夢・久場隆広・郝愛民・西村幸明・井芹寧・原口智和・張振家: 生物付着担体による生態工学的な水質浄化能の検討、第 49 回日本水環境学会論文集, 金沢, 2015.3.17

2. 郝愛民・久場隆広・西村幸明・林田恵夢・原口智和・井芹寧: アオコ群体破壊珪藻を用いたアオコ防除法の研究開発, H26 年度日本水環境学会九州支部研究会要旨集, 鹿児島, 2015.2.28

3. 西村幸明・郝愛民・井芹寧・久場隆広・林田恵夢・原口智和: 植物プランクトン間の栄養塩競合によるアオコ防除技術の研究開発ー珪藻類活性化のためのシリカ添加ー, 土木学会西部支部平成 26 年度技術研究会論文集, 福岡, pp.13-18, 2015.1.18 (技術開発成果奨励賞)

4. 郝愛民・久場隆広・井芹寧・原口智和・西村幸明・林田恵夢: *Microcystis* Colony 破壊 *Diatom* を用いたアオコ防除対策法の研究開発, 第 14 回環境技術学会年次大会要旨集, 京都, 2014.9.15

5. 西村幸明・郝愛民・井芹寧・久場隆広: ケイ酸供給による *Microcystis* 属の増殖抑制に関する基礎的研究, 平成 25 年度土木学会西部支部研究発表会要旨集, 福岡, 2014.3.

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

○取得状況 (計 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
取得年月日:  
国内外の別:

[その他]  
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者 郝 愛民

(HAO AIMIN)

研究者番号：40586971

九州大学東アジア環境研究機構

特任助教

(2) 研究分担者 久場 隆広、西村 幸明、  
林田 恵夢

(KUBA TAKAHIRO, KOHE NISIMURA,  
HAYASHITA MEGUMU)

久場隆広：研究者番号：60284527

九州大学大学院工学研究院 教授

(西村幸明，林田恵夢：大学院生)

(3) 連携研究者 原口 智和

(HARAGUCHI TOMOKAZU)

研究者番号：90346833

佐賀大学農学部附属アグリ創生教育研究  
センター 准教授

(4) 協力研究者 井 芹 寧

(ISERI YASUSHI)

西日本技術開発株式会社 環境部

部長代理