

令和元年6月14日現在

機関番号：84202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K00630

研究課題名(和文) Microcystisの群体集積によるアオコ発生メカニズムの解明

研究課題名(英文) Elucidation of the mechanism of Microcystis bloom by colony accumulation

研究代表者

朱 偉 (Zhu, Wei)

滋賀県立琵琶湖博物館・研究部・特別研究員

研究者番号：70297787

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：太湖や琵琶湖のような広い湖でMicrocystis群体が集積してアオコが発生するメカニズムの解明を目指した。Microcystisの培養実験では、増殖率が小さいときに細胞外多糖類が増加し、群体が形成されやすくなった。太湖のMicrocystisの群体サイズは秋に最大となり、群体の浮上速度が増大して水面に集積しやすくなった。風速が小さい時にはMicrocystis群体の水平集積が起こりにくく、風速が大きい時には鉛直混合により水面への集積が解消されるので、集積に最適な風速が存在する。その風速は、太湖竺山湾のフィールド計測では1.5-2.6 m/sの範囲であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アオコの発生は今も世界的な課題であり、特に太湖や琵琶湖のような、多くの人々の水道水源になっている大湖沼での発生は社会的な悪影響が大きい。その発生機構についてはこれまで生物学的側面からよく調べられてきたが、物理学的側面からの研究は少なかった。本研究では太湖で、秋期の群体の大型化と適度な風がアオコの集積を招くことを明らかにした。このことは、Microcystis 群体が大型化する前の春季に発生の出鼻を挫くことの有効性を示唆しており、今後のアオコ対策を考える上で重要な知見を提供したと考える。

研究成果の概要(英文)：We aimed to elucidate the accumulation mechanism of Microcystis colonies leading to the blooms in large lakes such as Lake Taihu and Lake Biwa. Cultured Microcystis increased the production of extracellular polysaccharides and tended to form colonies when the growth rate was low. Microcystis colonies in Lake Taihu became the largest in autumn, and in consequence, their faster emergent speed enhanced their own accumulation around the water surface. The optimum wind speed for the accumulation of Microcystis colonies exists because weak winds make only slow horizontal transportation of the colonies, whereas big winds brake the accumulation of the colonies to the surface by vertical mixing. It was 1.5-2.6 m/s in Zhushan Bay of Lake Taihu.

研究分野：環境工学

キーワード：アオコ Microcystis 細胞外多糖類 群体サイズ 比重 吹走流 鉛直混合 集積

1. 研究開始当初の背景

アオコ発生メカニズムにはいまだ不明な点が多い。特に *Microcystis* の群体が短期間のうちに表層に集まり、そしてしばしば急に消える現象は十分に説明されていない。また、琵琶湖のように栄養塩レベルが十分に抑えられている湖でもアオコが発生する原因も十分に解明されていない。こうした諸現象を説明する1つの鍵となるのが、*Microcystis* などアオコを形成するラン藻が示す強い集積性である。*Microcystis* は水面に浮上し(鉛直集積)これが吹走流によって風下に吹き寄せられて(水平集積)アオコになる。この過程では、風が弱すぎると吹走流の速度が小さく水平集積が進まないし、逆に風が強すぎると鉛直方向の乱流が生じて鉛直集積が解消されるので、アオコの発生に最適な風速が存在すると考えられる。そしてその風速は、湖の規模だけでなく、*Microcystis* 群体の比重、サイズ、形状などの影響も受けると考えられる。そこで本研究では、太湖や琵琶湖のような広い湖でアオコが集積するメカニズムを解明することを目指した。

2. 研究の目的

本研究の第一の目的は、*Microcystis* 群体のサイズ、比重、浮上速度と乱流による攪乱作用の関係から、アオコ発生のメカニズムを解明することである。*Microcystis* の生物量があまり多くなくてもアオコを形成する場合には、群体が大型化して浮上速度が大きくなることにより、乱流の影響を克服して浮上できるようになるという仮説を、実験およびフィールド調査により検証する。第二の目的は、集積を引き起こす吹走流の強さの特定である。*Microcystis* の細胞密度が著しく高くない場合にも、水面に浮上した群体が、吹走流によって風下に集積してアオコになることがある。そのプロセスでは、強すぎる吹走流は鉛直混合を引き起こして群体の浮上を阻害し、一方で弱すぎる吹走流は表層の流れを十分に起こせないことが予想される。そこで *Microcystis* の群体サイズに依存した、集積を引き起こしやすい吹走流の強さを、実験およびフィールド調査によって特定する。

3. 研究の方法

3.1 群体サイズの影響を調べる

Microcystis の培養実験により、細胞外多糖類(EPS)、群体サイズおよび形態の変化を計測した。いくつかの温度および光強度の条件下で、単細胞の *Microcystis* 株を BG11 培地で培養し、細胞密度を定期的に測定した。対数増殖期の終わりに EPS 量を測定し、同時に *Microcystis* の群体粒径をレーザー粒度分析器により測定した。そして、温度および光強度により異なる増殖速度と、EPS 量および細胞密度との関係を分析した。

3.2 吹走流模型試験

異なるサイズの *Microcystis* 群体の垂直浮上と分布を吹走流による鉛直運動・乱流条件で調べるために、垂直水槽で縦波擾乱装置を作った。これはシャフトと周波数を調整することにより、異なる強度の波を発生できる実験水槽である。異なる波強度で、粒子イメージング速度計(PIV)を用いて運動状態を測定し、それぞれの波強度に対応する垂直乱流強度を決定した。そして、太湖で *Microcystis* を採集して実験水槽に入れ、異なる垂直乱流強度で *Microcystis* の群体の軌跡を追跡して、群体サイズの違いに依存する挙動の違い、すなわち浮上するか均一に混合するかを調べた。そして挙動が変化する垂直乱流エネルギー K_z の境界強度を算出した。

3.3 フィールド調査

季節ごとに *Microcystis* 群体サイズ、形状、重力密度を研究するために、太湖で6つのサンプリングポイントにおいて月2回、水深5cmごとに層分けして採水した。顕微鏡写真と Image Tool ソフトウェアを使用し群体のサイズを測定し形態を調べた。比重(重力密度)を計測するために、まず浮上速度を計測し、次に 0.65 MPa に加圧して気泡を潰した群体を沈降させて沈降速度を計測した。気泡を潰した細胞の比重を勾配密度遠心分離法により測定し、Stokes の式により沈降時群体の形状係数を計算した。気泡が潰されても群体の形状はほとんど変わらなかったため、この形状係数を用いて、浮上速度から群体の重力密度を計算した。

3.4 フィールド計測

Microcystis によるアオコ形成に及ぼす吹走流の影響を研究するために、太湖竺山湾で連続計測を行った。ケプラー流速計を湖沼底に設置し、深さごと、特に表層水の流速を計測した。同時に風速計により風向風速データを記録し、9つのポイントで水深ごとに *Microcystis* の細胞密度を計測した。この結果から、風による吹走流の特徴、*Microcystis* 群体の移動、特に湾部に集まる *Microcystis* 群体のフラックスを算出した。

3.5 数値シミュレーション

乱流干渉条件における *Microcystis* 群体の垂直運動を研究するために、群体の垂直作用力(重力、浮力、乱流粘性抵抗力)に基づいて数値模型を構築した。乱流の瞬時変動を考慮して、差分法を用いて *Microcystis* 群体の垂直移動速度を解いて、結果を吹走流模型により検証した。

4. 研究成果

4.1 群体のサイズ、重力密度、構成物質および季節変化

太湖における *Microcystis* 群体の大きさと、粘質を形成する EPS の量は強い正の相関を示し、培養実験でも同様の結果が得られた。*Microcystis* の培養実験では増殖率が小さい ($0.15 \sim 0.25 \text{ day}^{-1}$) ときに群体が形成されやすく、EPS の含有量も増加する傾向が見られた。

群体の比重とサイズは群体の浮上に影響する 2 つの重要な要素である。太湖の *Microcystis* 群体の密度は一般に水よりも小さく (すなわち比重が 1 以下) $0.975\text{-}0.998 \text{ g cm}^{-3}$ であった。一般に、*M. ichthyoblabe* の比重が最小で、*M. wesenbergii* の比重が最大だった。*M. ichthyoblabe* と *M. aeruginosa* の密度は夏に減少し、冬に増加する季節変化が認められたのに対して、*M. wesenbergii* の密度の季節変化は小さかった。

太湖における *Microcystis* 群体の形態およびサイズの季節変化を観測した。アオコが発生していない冬には、水中に浮遊する *Microcystis* 細胞の約 70% が単細胞や小さい群体 ($< 50 \mu\text{m}$) であった。5 月～6 月には *M. ichthyoblabe* を中心とした $300 \mu\text{m}$ 程度の群体が多くなった。7 月に気温が 25 以上になると、優占種は引き続き *M. ichthyoblabe* だったが、群体が次第に大型化した。8 月には優占種が *M. wesenbergii* へと遷移した。9 月と 10 月には多くの種が混在するアオコとなり、群体サイズは最大値 ($> 1000 \mu\text{m}$) に達した。11 月に水温が下がると、*M. wesenbergii* は消滅した。

4.2 群体の浮上および沈下

Microcystis 群体の浮上沈降は、比重のみではなく吹走流の干渉や群体のサイズにも影響される。吹走流によって鉛直方向に発生する干渉作用は乱流強度に支配され、垂直乱流エネルギー K_z として定量化できる。

フィールド調査では *Microcystis* 群体の鉛直分布に大きく 3 つのパターンが見られた：表面に集積、全層に均一に混合、そしてこの二つの間で変動するような状態である。このうちからへの遷移が起こるときの乱流エネルギーを境界乱流エネルギー TK_z と定義し、水槽模型試験でその値を確定した。 TK_z は群体サイズ D の関数であり、その関係式は以下のとおりである： $TK_z = 0.1555D - 6.7414$ ($R^2=0.998$, $p<0.01$)。

吹走流が発生させる垂直乱流エネルギーが TK_z よりも小さければ群体は浮上して水面に集積し、それよりも大きければ鉛直混合が強くなって水中で一様に混じることになる。太湖の *Microcystis* 群体は 7 月以降に大型化する。たとえばアオコ発生時に一般的な $D = 400 \mu\text{m}$ のときの TK_z は約 $55 \text{ cm}^2 \text{ s}^{-2}$ であり、これは風速が 3.5 m s^{-1} 程度で生じる乱流強度である。

4.3 数値シミュレーション結果およびフィールド観測との比較

静止した水であれば浮上か沈下かは比重に支配されるので、比重が 1 よりもわずかに小さい *Microcystis* 群体はほとんど水面に浮上する。しかし風による乱流が発生すると、*Microcystis* のような比重が 1 に近い物体の浮上沈降は、ほとんど群体のサイズと乱流強度 K_z に支配され、比重のわずかな変化は結果に大きな影響を及ぼさなくなる。そして湖沼の水は、常に風の影響を受けている。風速 1 m s^{-1} 程度の風では、 $300 \mu\text{m}$ 程度の群体は水面に浮上できるが、 $50 \mu\text{m}$ 以下の群体は乱流の影響により浮上できない。また、風速 3.5 m s^{-1} 程度の風では、群体が 1 mm 程度まで大きくならなければ浮上できないため、ほとんどの群体が均一に水中に分布する。

実際の湖沼では、鉛直方向に乱流の強さが異なり、風の影響を強く受ける上層の乱流強度が大きい。*Microcystis* 群体が浮上していくと、表層に近づくほど乱流強度が増して TK_z に達し、結果としてその深さに滞留する現象も起こる。フィールド調査では表層近くに大きな群体、低層近くに小さな群体が分布するパターンが認められ、シミュレーション結果と一致している。

4.4 アオコを形成する最適風速

フィールド計測で、湖水表面のごく薄い水の層が速く流れる吹走流が観測された。その流速は風速の約 $1/10$ だが、水深 50 cm の流速の約 5 倍である。この流れが表層に集まっている *Microcystis* 群体を風下の湾部に速やかに運ぶことが、湾奥部にアオコが集積するキーマカニズムと考えられる。風が弱いときには表層 1 cm に集まる *Microcystis* 群体の細胞数が鉛直方向全体の 50% 以上にも達した。そして、表層に集積した *Microcystis* 群体の吹走流による運搬は、全フラックスの 80% を占めた。

風速が大きくなると表層水の流れも速くなるが、一方で鉛直方向の乱流も強くなり *Microcystis* 群体は浮上できなくなる。すると、一定の風速の範囲で *Microcystis* 群体が表層に浮上でき、かつ表層の水をすみやかに運搬できることになる。このようなアオコの集積に最適な風速は、太湖竺山湾のフィールド計測では $1.5 \sim 2.6 \text{ ms}^{-1}$ の範囲であった。

4.5 その他の研究成果

琵琶湖および太湖のアオコ発生と優占種の変遷のレビューを行った。また水中に単細胞で浮遊する *Microcystis* 細胞を効果的に検出するための蛍光抗体の開発も行った。しかし期間内に論文としてまとめられなかったこともあって、ここでは割愛する。

中国・河海大学で「中日アオコワークショップ」を、琵琶湖博物館で「太湖 - 琵琶湖アオコワークショップ」を、それぞれ開催して、本研究に關係する太湖と琵琶湖のアオコに関する研究成果を発表し、意見交換を行った。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 13 件)

- 1) 朱伟・陈怀民・王若辰・冯甘雨・薛宗璞・胡思远 (2019) 2017 年太湖水华面积偏大的原因分析. 湖泊科学 31: 621-632. (査読有 ; <https://doi.org/10.18307/2019.0302>)
- 2) Zhu W, Feng G, Chen H, Wang R, Tan Y, Zhao H (2018) Modelling the vertical migration of different-sized *Microcystis* colonies: coupling turbulent mixing and buoyancy regulation. Environ Sci Pollut Res Int 25: 30339-30347. (査読有 ; <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3041-8>)
- 3) Zhu W, Zho, Chen H, Li M (2018) Sequence of *Microcystis* colony formation during recruitment under natural conditions. Hydrobiologia 823: 39-48. (査読有 ; <https://doi.org/10.1007/s10750-018-3694-9>)
- 4) Ohtsuka T, Kitano D, Nakai D (2018) *Gomphosphenia biwaensis*, a new diatom from Lake Biwa, Japan: description and morphometric comparison with similar species using an arc-constitutive model. Diatom Res 33: 105-116. (査読有 ; <https://doi.org/10.1080/0269249X.2018.1433237>)
- 5) 朱伟・谈永琴・王若辰・冯甘雨・陈怀民・刘毅璠・李明 (2018) 太湖典型区 2010-2017 年间水质变化趋势及异常分析. 湖泊科学 30: 296-305. (査読有 ; <https://doi.org/10.18307/2018.0202>)
- 6) Zhao H, Zhu W, Chen H (2017) Numerical simulation of the vertical migration of *Microcystis* (cyanobacteria) colonies based on turbulence drag. J Limnol 76: 190-198. (査読有 ; <https://doi.org/10.4081/jlimnol.2016.1501>)
- 7) Li M, Zhu W, Guo L, Hu J, Chen H, Xiao M (2016) To increase size or decrease density? Different *Microcystis* species has different choice to form blooms. Sci Rep 6: 37056. (査読有 ; <https://doi.org/10.1038/srep37056>)
- 8) Zhu W, Zhou X, Chen H, Gao L, Xiao M, Li M (2016) High nutrient concentration and temperature alleviated formation of large colonies of *Microcystis*: Evidence from field investigations and laboratory experiments. Water Res 101: 167-175. (査読有 ; <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.05.080>)
- 9) Xu S, Sun Q, Zhou X, Tan X, Xiao M, Zhu W, Li M (2016) Polysaccharide biosynthesis-related genes explain phenotype-genotype correlation of *Microcystis* colonies in Meiliang Bay of Lake Taihu, China. Sci Rep 6: 35551. (査読有 ; <https://doi.org/10.1038/srep35551>)
- 10) Zhu W, Chen H, Guo L (2016) Effects of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) on the interspecific competition between *Microcystis* and *Scenedesmus*. Environ Sci Pollut Res 23: 16194-16200. (査読有 ; <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6809-8>)
- 11) Xu F, Zhu W, Xiao M, Li M (2016) Interspecific variation in extracellular polysaccharide content and colony formation of *Microcystis* spp. cultured under different light intensities and temperatures. J Appl Phycol 28: 1533-1541. (査読有 ; <https://doi.org/10.1007/s10811-015-0707-1>)
- 12) Sun Q, Zhu W, Li M, Tan X (2016) Morphological changes of *Microcystis aeruginosa* colonies in culture. J Limnol 75: 14-23. (査読有 ; <https://doi.org/10.4081/jlimnol.2015.1225>)
- 13) Zhu W, Sun Q, Chen F, Li M (2015) Cellular N:P ratio of *Microcystis* as an indicator of nutrient limitation -implications and applications. Environ Earth Sci 74: 4023-4030. (査読有 ; <https://doi.org/10.1007/s12665-015-4707-x>)

〔学会発表〕(計 14 件)

- 1) 大塚泰介 (2019) 琵琶湖のアオコ構成種の変遷. 太湖 - 琵琶湖アオコワークショップ (琵琶湖博物館; 主催者講演)
- 2) 朱偉 (2019) 最近の太湖で発生しているアオコに関連するいくつかの問題. 太湖 - 琵琶湖アオコワークショップ (琵琶湖博物館; 招待講演)
- 3) 廣石伸互・大塚泰介・朱偉・中村紳一郎・寺門一郎 (2019) 抗体によるアオコ形成種 *Microcystis* の単独細胞の検出 (続報). 太湖 - 琵琶湖アオコワークショップ (琵琶湖博物館; 招待講演)
- 4) 朱偉 (2018) 太湖の水質、藍藻生物量および水の華異常発生の原因分析. 中日アオコワークショップ (河海大学; 主催者講演)
- 5) 大塚泰介 (2018) 琵琶湖におけるラン藻ブルームの変遷. 中日アオコワークショップ (河海大学; 招待講演)
- 6) 廣石伸互・大塚泰介・朱偉・中村紳一郎・寺門一郎・北嶋郁 (2018) 抗体によるアオコ形成種 *Microcystis* の単独細胞の検出. 中日アオコワークショップ (河海大学; 招待講演)

〔その他〕

- 大塚泰介 (2019) 琵琶湖博物館特別研究セミナー「太湖 - 琵琶湖アオコワークショップ」, 企画運営.
- 今井一郎・大塚泰介・宮下英明 (2019) 日本藻類学会第 43 回大会シンポジウム「琵琶湖における藍藻類ブルームの現状と問題点, 対策と展望」, 企画運営.
- 朱偉 (2018) 「中日アオコワークショップ」(中国河海大学), 企画運営.

6 . 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：大塚 泰介

ローマ字氏名：OHTSUKA, Taisuke

所属研究機関名：滋賀県立琵琶湖博物館

部局名：研究部

職名：総括学芸員

研究者番号(8桁): 60344347

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：廣石 伸互

ローマ字氏名：HIROISHI, Shingo

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。