

助成年度：平成2年度

[所属] 岡山大学 資源生物科学研究所
[役職] 助手
[氏名] 中島 進 (他計2名)

[課題]

ラン藻類の増殖とかび臭物質産生に及ぼす環境要因の影響に関する研究

[内容]

近年、琵琶湖をはじめ、霞ヶ浦、相模湖など多くの湖沼や水道水源池において、人間活動に伴う富栄養化が問題となり、ラン藻、特にかび臭物質を生産するラン藻の発生が憂慮されている。琵琶湖を水源とする大津、京都、大阪など関西の各都市の水道では、同湖で毎年のように発生するラン藻 *Anabaena macrospora* (ジオスミンを産生) や *Phormidium tenue*、*Oscillatoria tenuis* {2-メチルイソボルネオール (MIB) を産生} が作り出すこれらのかび臭物質による水道水の異臭味が大きな問題となっている。しかしこうしたラン藻が異常発生する要因はまだ明らかではない。そのためかび臭物質を生産するラン藻の発生を予測、抑制あるいは制御する情報に関する研究は強い要請があるにもかかわらずあまり進展をみていない。

実際の湖沼生態系においてはこれらのラン藻の増殖は水温、光、窒素やリンの栄養塩、微量金属、有機物、酸素、藻類やバクテリアとの競合などの環境条件により変動すると考えられる。本研究では、こうした諸条件について検討したが、ここでは特に上記のラン藻の増殖並びにかび臭物質産生に及ぼす鉄の影響について述べる。

鉄は水圏微生物の生育に必須な微量元素であるが、中性付近の通常の水圏環境下では、鉄(Ⅲ)イオンは難溶性の水和酸化鉄(Ⅲ)のコロイド状態となる。そのためラン藻は鉄を摂取しにくくなって、鉄はリンや窒素と共に、ラン藻の増殖制限因子の一つになる可能性がある。

そこで本研究では琵琶湖から単離された *O. tenuis*、*A. macrospora*、*P. tenue* 及びノルウエー産の *Oscillatoria brevis* (ジオスミンを産生) を用いて、それらの増殖とかび臭物質産生に及ぼす鉄の形態の影響について検討した。すなわち、CT培地中のキレート剤(EDTA)を除き、あるいは2価鉄と安定なキレートを生成するバソフェナントロリン(BPDS)を添加して、またEDTAの代わりに微生物シデロフォアのデスフェリオキサミンB(DESf)を添加した培地と、CT培地での比較培養実験を行った。

CT培地中にEDTAが存在しない場合(鉄はコロイド状態で存在)には、*O. tenuis*、*A. macrospora*、*P. tenue* の琵琶湖産のラン藻は増殖阻害を起こした。しかし *O. brevis* はEDTAを加えなくても増殖することができる、すなわちコロイド鉄やさらに科学的に安定な酸化鉄(Fe_2O_3 、 Fe_3O_4)さえ鉄源として利用できる優れた機能を持つことが判明した。この鉄吸収機構として *O. brevis* は水中に利用可能な溶存態鉄が欠乏している場合には、細胞から鉄溶解性物質(シデロフォア)を分泌して、コロイド鉄や酸化鉄を溶解してキレートを形成し吸収することが考えられ、現在その詳細な機構について研究中である。培地中のFe-EDTAの代わりに微生物シデロフォアとして知られるDESf(放線菌 *Streptomyces pilosus* の代謝産物)のFe(Ⅲ)キレートを添加して培養実験を行ったところ、*O. brevis* は良好な増殖を示すのに対して、*A. macrospora*、*P. tenue*、*O. tenuis* の琵琶湖産のラン藻は増殖阻害を起こした。

次にBPDSを添加したCT培地では、Fe(Ⅲ)-EDTA中の鉄は光照射下で2価に還元されて、BPDSと反応するため、*A. macrospora* と *O. tenuis* は鉄を吸収出来ず、増殖阻害を起こした。しかし、*P. tenue* と *O. brevis* はこの鉄を利用して、増殖することができた。

培地中にEDTAが存在しない場合(鉄はコロイド状態で存在)、 $1\mu M$ レベルの鉄(CT改変培地中の鉄濃度レベル)の存在下では、前途のように、*A. macrospora*、*P. tenue*、*O. tenuis* は鉄を利用できず阻害を起こした。

が、コロイド鉄（冷蔵庫内に保存）の添加量を増す（Fe 20 μ M）と、*A. macros-pora* と *P. tenue* はかなり増殖した。しかし *O. tenuis* は増殖阻害を起こした。またコロイド鉄を鉄源（Fe 20 μ M）として含む培地をオートクレープ処理するとコロイド鉄は安定な状態に変化し、琵琶湖産のラン藻はいずれも増殖阻害を起こした。これらのコロイド鉄の溶液に BPDS を添加して行った実験結果と併せて考察すると、光照射により 2 価に還元される鉄量がラン藻の鉄利用性を決め、増殖を左右することが明らかになった。

こうしてラン藻の培養実験に汎用されている CT 培地に添加されている EDTA は沈殿しやすい鉄をキレートとして溶存状態に保つと同時に、ラン藻による鉄の吸収状態である 2 価鉄を連続的に供給して、増殖を促進していることが判明した。さらに光照射下で、2 価に還元される鉄量が十分あれば EDTA が存在しなくても、*A. macrospora*、*P. tenue*、*O. tenuis* は鉄を利用できることが明らかになった。しかし *O. tenuis* は上記 3 種のラン藻に比べ、コロイド状態の鉄を利用しにくく、キレート化した鉄で、しかも光照射により 2 価に還元される有機態鉄が必要であることがわかった。

以上の結果から、*O. tenuis* は、CT 培地に含まれる Fe-EDTA のもとではもちろんのこと、EDTA 欠乏下でも増殖できる（コロイド状態の鉄並びに酸化鉄までも利用できる）、BPDS 共存下で増殖可能である、微生物シデロフォアの DESF を利用できる特性を有することが判明した。従って本種は生物の生育に必須な鉄の吸収に関して、幅広い環境変化に適応しており、本研究で用いた 4 種のラン藻の中でも最も優れた鉄利用機能を示し、一方、*O. tenuis* は最も劣っていることが示唆された。

本研究により明らかになった、かび臭物質産生ラン藻による水中の鉄の利用とその多様性（藻類種により鉄吸収の機構が幾分異なること、また同一のラン藻でも鉄の形態によりその吸収機構が異なること）に関するこれらの知見は、ラン藻の増殖並びにかび臭物質の産生に関してさらに詳しく検討する場合、有用であると考えられる。また琵琶湖の湖水を用いて行ったラン藻の培養実験により、琵琶湖のような天然生態系では、水中の鉄が、リンや窒素と共にかび臭物質産生ラン藻の増殖制限要因の一つに成りうることが判明した。今後、これらのラン藻による鉄吸収機構を解明し、また水-生物-懸濁物-堆積物系における鉄の循環、水中における鉄の形態とその存在量、フミン質など天然水中のキレート物質と考えられる有機物などについてさらに研究を推進し、理解を深める必要があり、そうしたことが自然界におけるラン藻の増殖機構を明らかにし、ラン藻の発生の予測やその制御に役立つものと考えられる。