

'88助成研究ワークショップ

湖沼の水質汚濁－水の華を中心に－

開催日時：1988/11/19(土)10:00～17:30

会 場：日本生命中之島研修所 2階第2教室

主 催：財団法人 日本生命財団

プログラム

10:00	開会挨拶	日本生命財団 理事長 高橋 壽常
10:05	特別講演 「水の華の発生機構およびその制御に関する基礎的研究」	千葉大学理学部 教授 生嶋 功
	コーディネーター	国立公害研究所技術部長 須藤 隆一
10:35	報告 「霞ヶ浦におけるアオコの異常発生とミクロキスティス属藍藻の生理・生態に関する研究」	茨城大学農学部 教授 高村 義親
11:25	「水の華を形成する藍藻を溶解する細菌の生理・生態に関する研究」	京都大学農学部 教授 石田祐三郎
12:15	昼食休憩	
13:10	「霞ヶ浦に発生したミクロキスティス属藍藻の生産する毒素の作用機序と毒性株発生のメカニズムに関する研究」	自治医科大学医学部 教授 中野 昌康
14:00	「らん藻類の異常発生とその防止に関する生物化学工学的研究」	東京電機大学理工学部 教授 合葉 修一
14:50	休憩 (20分)	
15:10	「菅平ダム同乗水城における土地利用が河川およびダム同の水質に及ぼす影響に関する研究」	信州大学繊維学部 助教授 中本 信忠
16:00	総合討論 全員による討論	コーディネーター 国立公害研究所 技術部長 生嶋 功 コメンテーター 千葉大学理学部 教授 須藤 隆一
17:30	閉会	

<コーディネーター>

須藤 隆一 (すどう りゅういち) 国立公害研究所技術部長

(略歴) 1936年生まれ。群馬大学学芸学部自然科学科卒業、国立公衆衛生院修了。

東京都下水道局技師、東京大学助手、国立公害研究所室長を経て、1987年より現職。

(専攻) 環境微生物学

(著書) 「微生物生態学」(共立出版)、「環境浄化のための微生物学」(講談社)、

「廃水処理の生物学」(産業用水調査会)、「環境微生物実験法」(講談社)

水の華の発生機構およびその制御に関する基礎的研究

生嶋 功 (いくしま いさお) 千葉大学理学部教授

(略歴) 1930年生まれ。大阪市立大学工学部生物学科卒業、大阪市立大学大学院修了。
千葉大学助手、助教授を経て1980年より現職。

(専攻) 植物生態学。

(著書) 「水界植物群落の物質生産 I 水生植物 生態学講座7」(共立出版)

「Tasek Bera : The Ecology of a Fresh Water Swamp」(共著) (Dr. W. Junk Pub.)

「Man' s impact on vegetation」(Dr. W. Junk. Pub.) (編著)

「水の華の発生機構とその制御」(東海大学出版会)(編著) 水の華に関心をもった陸水生態学の研究者がそれぞれ自分の専門の情報を提供し、討論をかさね、共通課題の研究や調査をするグループができた。まず、この課題に関連した研究成果をするために「水の華とその生物学的防除に関する文献集(1980)」がまとめられた。その後、1981年から1983年まで日本生命財団による研究助成の援助を受けて「水の華の発生機構および制御に関する基礎的研究」という課題のもとに研究はすすんだ。この研究成果の一部を「水の華の発生機構とその制御(東海大学出版会、(1987))」という小冊子にまとめて発表した。課題の内容のあらましを次に記した。

1. 水の華の定義、水の華をつくる生物、水の華の功罪(高橋正征、渡辺泰徳、渡辺真利代)
2. 水の華の発生機構、霞ヶ浦と諏訪湖での発生状況と環境、生理生態学的特性(安野正之、沖野外輝夫、高橋正征)
3. 水の華発生時の生態系内の生物相互作用、生態系の特徴(高橋正征、安野正之、名取史織、山本鎔子)
4. 水の華の生物学的防除の可能性、水草、ヨシ帯、ホテイアオイ、その他(生嶋 功、名取史織、佐藤治雄、山本鎔子)

<水質浄化に水草を用いたときの諸問題>

水草は一般にきわめて薄い濃度の無機および有機の栄養塩類や溶解性化学物質を吸収できることや、植物はそのときの成長にとって必要以上の栄養塩類を大量に吸収する“ぜいたく消費:luxury consumption”の特性を持つことが、下水や汚水の二次処理、ときには三次処理に役立つとされている。水の華の大量発生がまだ見られない湖沼では、沈水植物も湖水の浄化に効果的であるがさらに汚濁の進んだ水を浄化する場合に役立つ水草は浮漂植物や抽水植物に限られる。ホテイアオイ、ウキクサ類、ヨシやパピルスなどはとりわけ有用植物とされており、これらを用いた実験プラントや小規模施設の浄化効率は高いと評価されている。処理施設をつくる水域の立地条件と汚濁の程度によって、表1にみるように水草利用は他のものよりも利点のあることを示された場合もある。

表1. 堺市の菰池の水質浄化方法の検討評価表。

○、極めて良い；0、良い；△、劣る；×、適さない（三橋春雄，1985）

		BOD 除去効果	TIN 除去効果	TIP 除去効果	施設管理の 容易さ	建設費	運転管理費	二次公害	基本条件の 満足度	総合評価
流入負荷の 低減	回転円板法	○	×	×	※1 △	△	○	△	△	
	接触ばっ気法	○	×	×	○	△	△	△	△	
	散水ろ床法	○	×	×	○	△	△	△	△	
	流下式接触酸化法	○	×	×	○	○	○	○	○	○
	長時間ばっき法	○	×	×	※2 △	△	△	△	△	
	複合ラグーン	○	○	×	※1 △	△	○	○	△	
	超深層ばっき法	○	×	×	○	△	○	○	○	
	水生植物による栄養塩の除去	×	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎
	良質水導入による希釈	×	×	×	○	×	×	○	×	
	汚濁負荷の多い河川のバイパス	○	○	○	—	○	—	×	×	
	各方式の組合せによる方法 (接触酸化+水生植物)									○
内部負荷 の低減	ヘドロの浚渫処理処分	—	◎	◎	—	○	—	△	◎	
	ヘドロの原位置固化	—	△	△	—	×	—	○	△	
	ヘドロへの覆土	—	△	△	—	×	—	○	△	

※1管理システム ※2汚泥

増殖した植物の収穫方法を工夫することによって高い浄化機能を持続させる可能性をしめした理論的モデルは用意され、その一部が実行された例もある。植物はたえず新生部分をつくと同時に枯死部分もできる。物質再生産過程には有機物質の添加負荷はかならず付属する。また、光合成効率にかかわる生産構造や、転流と放出も無視することはできないなど、水質浄化に水草を用いるシステムづくりは容易でない。例えばホテイアオイを用いて具体的に窒素除去をさせる場合を想定したとき、微生物利用の場合と比べてさまざまな問題がでてくる（表2）。

表2. 水体からの窒素除去に対する微生物・水草利用の得失（佐藤治雄、1987）

	利点	欠点
微生物 (脱窒素活性汚泥法)	<ul style="list-style-type: none"> 工学的維持管理が可能(嫌気条件で) (空間の立体的利用) 	<ul style="list-style-type: none"> エネルギー源および水素供与体として有機物を与える必要あり 低濃度N環境からの回収が困難 汚泥の処理 還流によるエネルギーが必要
水生植物 (ホテイアオイ)	<ul style="list-style-type: none"> 栄養塩吸収のためのエネルギーは光合成により植物が自給 システムからの回収除去が容易 植物体への蓄積量大 低濃度N環境からの回収が可能 	<ul style="list-style-type: none"> 季節変化が大きく、工学的管理になじみにくい(不可能ではない) 広い面積が必要(平面利用) 回収植物の後処理が必要 枯死植物による有機物汚濁(二次汚染)

霞ヶ浦におけるアオコの異常発生とMicrocystis（ミクロキスティス）属 藍藻の生理・生態に関する研究

高村 義親（たかむら よしちか） 茨城大学農学部 教授

（略歴）1937年生まれ。東北大学農学部農芸化学科卒業。

三楽オーシャン株式会社中央研究所研究員、東京大学応用微生物研究所研究生、
茨城大学農学部助手を経て1988年より現職。

（専攻）生物資源利用化学、環境保全学

（著書）「霞ヶ浦」（三共出版）（分担執筆） 「集水域からの窒素・リンの流出」（東大出版会）（共著）

「微生物の生態第12巻—有機物負荷と環境浄化」（学会出版センター）

「富栄養化対策総合資料集」（サイエンスフォーラム社）（分担執筆）

1. 霞ヶ浦におけるアオコの異常発生

富栄養化した湖沼における水質汚濁の主要な過程は、プランクトン性藍藻（シアノバクテリア）が湖内で生産する有機成分の増加による水質の悪化による。したがって、その様な湖沼の水質は高温期の藍藻の発生・増殖と低温期の死滅・分解の過程に支配され大きく変化する。霞ヶ浦においても湖水の外観が著しく悪化し、COD、SSの濃度が増えてくるのは7月頃からであり、これらと湖水中のクロロフィル濃度の増加は比例している。アオコは風によって湖岸に吹き寄せられて集積・腐敗し悪臭を放つ。時には、河川を遡上しそのまま停滞し河川環境すら悪くする。アオコによる被害はこの他に水道水の異味臭、養殖鯉の大量発死、農・工業用水の利水障害などさまざまな分野に及んでいる。霞ヶ浦では毎年夏になると土浦港を中心にアオコ・フェンスが張られ、建設省の二隻のアオコ回収船と一隻の焼却処理船が稼働しているがアオコを除去するにはほど遠いのが現状である。

2. 集水域からの窒素・リンの流出とアオコ

富栄養化は外部からの栄養塩の流入する負荷が大きいほど速やかに進行する。平野や盆地では農業、工業、都市が発達し様々な人間活動が営まれている。そのような地域に位置する湖沼では必然的に窒素・リン含有物質の流入負荷が多い。したがって、アオコの発生は窒素・リンの発生源の存在する集水域の構造—地形、地目、都市、産業活動など—と密接な関係がある。わが国主要湖沼の全窒素と全リンの濃度をプロットし、アオコの発生している湖沼、淡水赤潮の発生している湖沼および水の華の発生していない湖沼を区別してみると湖水中の全窒素・全リンとそれらは見事な相関がある。すなわち、アオコは全窒素0.7mg/l以上、全リン0.03mg/l以上の富栄養湖で発生している。これらの湖沼のほとんどが平野や盆地に位置する平均水深1—ドール以下の浅い湖である。『窒素・リンに基づく環境基準』の類型Vあるいはそれよりもっと富栄養化した湖沼である。霞ヶ浦、諏訪湖、印旛沼、手賀沼、児島湖など『湖沼水質特別措置法』の適用対象になっている指定湖沼の多くはアオコが発生している。一方、淡水赤潮の発生している湖沼は全窒素0.4mg/l、全リン0.02mg/l以下の貧栄養湖あるいは中栄養湖で、水深も深い琵琶湖、中禅寺湖、池田湖などである。環境庁の調査（1983年）によればわが国の43湖沼でアオコが、45湖沼で淡水赤潮が発生している。水の華の発生を制御し、湖沼水質の回復するためには集水域のあらゆる排出源に遡って『水の流れ』に伴う『栄養元素の流れ』を定量的に実測しそれに基づいた窒素、リンの流入負荷削減対策をたてることが不可欠であると思われる。

3. ミクロキスティスの生理・生態

一方、湖沼の側では、アオコの原因生物であるミクロキスティス属の生態機能、増殖特性さらに生

理・生化学的性質など様々なレベルで情報を収集・解析し、優位性、集団性の存在する変化性に富んだ自然系の微生物ーアオコへの認識を深めることが重要であろう。淡水に生育する主なプランクトン性藍藻は22属90種、水の華を形成するのは10属数十種にのぼり、温帯地帯に頻発する水の華は *Microcystis* 属、*Anabaena* 族、*Oscillatoria* 属と言われている (Gibson & Smith, 1982)。霞ヶ浦でも *Microcystis* と *Anabaena* の『アオコ』がみられるが、*Anabaena* は夏の初めに見られ、比較的短い期間で少なくなり *Microcystis* の優先したアオコに遷移していく。ミクロキスティス属のなかでも *Microcystis*、*M. viridis* および *M. wesendergii* の3種が混在して出現し優先種は年によって大きく変わる (高村典子, 1988年)。アオコの発生の時期や発生量もその年の気象要素によるところが多い。

ミクロキスティスの特徴は群体を作って浮上することである。群体の周囲は多量の水を抱摂した細菌や酵素により分解されにくい寒天様被膜 (Slime) で覆われ、細胞の中には浮上・沈下を調節するガス胞がある。また細胞内にはリン、窒素および炭素の貯蔵形態であるポリリン酸、シアノフィシンおよびグルコースポリマーや通常は細菌にしかみられないポリ-β-ヒドロキシ酪酸などが顆粒状に存在している。このような特徴が他の藍藻類をしのいで優先的に増殖し、かつ生存に都合の悪い環境条件でも生き残ることを有利にしていると思われる。しかし、これらのことを以てアオコの異常発生を説明することは未だ到底出来ない。無菌純粋培養株を用いた研究で鉄、コバルト、ビタミンあるいはキレート物質などの微量成分に対する本藍藻の増殖応答は一定せず未だ十分に解明されていない。さらに、本株はアミノ酸、グルコースなど各種の有機物によってその成育が阻害されるにもかかわらず、その様な条件下で好気性従属細菌と混合培養すると本藍藻の増殖が顕著に促進される。他種生物群との相互関係、発生したアオコの分解と藻体成分の水界への放出、アオコの越冬など多くの重要な問題が未解決のまま残されている。

〔共同研究者〕

茨城大学 農学部 田淵俊雄、白井誠、南沢究

水の華を形成する藍藻を溶解する細菌の生理生態に関する研究

石田 祐三郎 (いしだ ゆうざぶろう) 京都大学農学部教授

(略歴) 1933年生まれ。京都大学農学部水産学科卒業、京都大学大学院終了。

京都大学食糧科学研究所助手、京都大学講師、助教授を経て、1959年より現職。

(専攻) 水産微生物学

(著書) 「海洋微生物研究法」(学会出版センター)(分担執筆)

「淡水赤潮」(恒星社厚生閣)(分担執筆)

「海洋大事典」(東京堂出版)(分担執筆)

「Microbial degradation of pollutants in marine environments」(U.S.EPA)(分担執筆)

人為的富栄養化が極度に進行している諏訪湖や霞ヶ浦などでアオコと呼ばれる球状の*Microcystis* spp.の水の華が頻発し、琵琶湖においてもカビ臭原因藍藻である糸状体の*Phormidium* sp. *Anabaena solitaria*や*Oscillatoria* spp.などがしばしば発生し、ときには*Microcystis* spp.も発生し、社会的に大きな影響をおよぼしている。このような藍藻のブルームは、突然に、あるいは徐々に消滅することが観察されているが、その消滅の原因の1つとして微生物による藍藻の溶解が知られている。藍藻溶解にかかわる微生物として、ウイルス、細菌、カビおよびアメーバが見出されている。ここでは、演者グループが琵琶湖および諏訪湖で行った細菌による藍藻溶解の研究を中心に述べる。

1. 湖における溶藻微生物と藍藻の消長

琵琶湖南湖では、カビ臭原因藻*Anabaena solitaria*などが発生する毎年8月末から10月にかけて、本藻を溶解する溶藻微生物が増加した。最大細胞数は、溶藻微生物が 10^6 /ml以上、*A.solitaria*が 4×10^4 cells/mlであり、両者は高い相関を示した。諏訪湖においても、アオコの発生と*M.aeruginosa*を溶解する溶藻微生物との間に高い相関が見出された。しかし、*A.cylindrica*を溶解する溶藻微生物の消長とアオコとの間にはなんら相関が見出されなかった。

2. 溶藻細菌の諸性質

2つの湖において優勢となった溶藻微生物の大部分は細菌によって占められていた。優勢種としての分離菌は琵琶湖南湖から*A.cylindrica*を宿主として分離した9株、諏訪湖から*A.cylindrica*を宿主として分離した11株と*M.aeruginosa*を宿主として分離した10株の計30株である。

*A.cylindrica*を宿主として分離した溶藻細菌はいずれも宿主特異性が類似し、*Anabaena*属などの糸状藍藻を溶解したが、*Microcystis*属などの球状のものを溶解しなかった(表1)。一方、*M.aeruginosa*を宿主として分離した溶藻細菌は糸状藍藻を溶解できず、球状藍藻を溶解した。どの溶藻細菌も共通して、緑藻や細菌を溶解できなかった。

溶藻細菌の分類学的性質について検討したところ、*A.cylindrica*を宿主とした20株はすべてグラム陰性桿菌で滑走性を示す滑走細菌と判定した。そのうちLB-1株は、GC含量が67%で子実体を形成しないことから*Lysobacter* sp.と同定された(表2)。

表1. Host range of lytic bacteria isolated from Lake Biwa

Host microorganism	Lytic bacteria								
	LB-1	LE-2	LB-3	LB-4	LB-5	LB-6	LB-7	LB-8	LB-9
<i>Anabaena cylindrica</i> M-1 (IAM)	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Anabaena solitaria</i> Lake Biwa	±	-	+	+	+	-	+	+	+
<i>Anabaena solitaria</i> NIES 80 (Lake Kasumigaura)	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Anabaena affinis</i> NIES 72 (Lake Kasumigaura)	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Anabaenavariabilis</i> ATCC 29413	-	+	-	-	+	-	-	-	+
<i>Cylindrospermum licheniforme</i> ATCC 29412	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Plectonema boryanum</i> M-101 (IAM)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Phormidium tenue</i> Lake Biwa	+	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>Synechococcus</i> sp. ATCC 27344	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Microcystis aeruginosa</i> NIES 99 (Lake Suwa)	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Microcystis wesenbergii</i> NIES 105 (Lake Kasumigaura)	-	-	±	+	+	±	-	-	+
<i>Chlorella pyrenoidosa</i> C-28 (IAM)	-	-	-	-	-	±	-	±	-
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> 137-C(-)	-	-	-	-	-	-	±	-	-
<i>Escherichia coli</i> IFO 3366	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6051	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus megaterium</i> ATCC 19213	-	±	-	-	-	-	-	±	-
<i>Micrococcus lysodeiktics</i> ATCC 4698	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Lytic activity in each test noted as : +, strong lysis ; ±, weak lysis ; -, no lysis.

表2. Characteristics of LB-1

Gram stain	Negative
Shape	Long rod, cylindrical
Size (μm)	0.8-1x5-8
Pigment	Yellow
Brown, water soluble pigment production	Negative
Motility	Gliding
Fruiting bodies	Negative
Myxospores	Negative
Degradation of filter paper	Negative
Degradation of agar	Negative
G+C ratio(%)	67.0-67.1

*M.aeruginosa*を宿主とした溶藻細菌は培養がむつかしく同定できていないが、宿主特異性が上記と異なること、宿主を含まない培地には増殖しないことなどから新しい型の溶藻細菌であろうと推定した。

3. 溶藻の機作

溶藻活性の高い*Lysobacter* LB-1株を*A.cylindrica*液体培地で培養すると、溶藻は定常期初期に起こり、藻体に細菌が接触して溶藻することがわかった。

LB-1株の生産する溶藻酵素の精製を行った。基質として*A.cylindrica*から調製したSDS煮沸凍結乾燥藻体を用いた。

本菌の培養ろ液を55~80%飽和で硫酸塩析し、透析後Q sepharose FFにかけ、未吸着画分をMono Sにかけ、NaCl濃度勾配で溶出し、溶解活性画分をTSKG-2000SWでゲルろ過し、粗酵素とした。本溶藻酵素は、分子量約22,000で、SDS煮沸凍結乾燥藻体の溶解活性のほかプロテアーゼ活性を示した。至適pHは8.0で、至適温度は50℃であったが、その温度で30分で80%が失活し、70℃・30分で完全に失活した。

藍藻溶藻細菌ではない溶菌細菌として既報の*Myxobacter*属 (*Lysobacter*属) 細菌の生産する酵素が2、3精製されている。*Myxobacter* A-1株の生産する溶菌酵素AL-1はエンドペプチダーゼ-アミダーゼ型酵素であり、*Myxococcus xanthus*の生産する酵素はリソチーム様のグルドコシダーゼ型酵素であるが、これらは*Myxococcus lysodeikticus*の細胞壁を溶解できる。しかし、ここに分離した*lysobacter* LB-1およびその生産する酵素は*M.lysodeikticus*の細胞壁を溶解できないことから新しい酵素と考えられる。

今後、本細菌の溶藻機作を解明するとともに、*Microcystis*属溶藻細菌の培養方法を確立し、その溶藻機作を解明することによって、藍藻の生物的防除の方策を探究することができるものと期待している。

[共同研究者]

京都大学 農学部 内田有恒

水産大学校 満谷 淳

霞ヶ浦に発生したMicrocystis（ミクロキスティス）属藍藻の生産する毒素の作用機序と毒性株発生のメカニズムに関する研究

中野昌康（なかの まさやす） 自治医科大学医学部教授

（略歴）1931年生まれ。慶謝義塾大学医学部卒業、慶應義塾大学大学院医学研究科修了。

ニュージャージー州立ラットガース大学助教授、慶應義塾大学講師を経て1973年より現職。

（専攻）微生物学、免疫学

（著書）「標準微生物学」（医学書院）（分担執筆）、「医学細菌学1～3巻」（菜根出版）（編集）

「Beneficial Effects of Endotoxins」（Plenum Press、N.Y.）（分担執筆）

「Bacterial Endotoxin-1988」（Plenum Press、N.Y.）（編集分担執筆）

アオコの主な原因生物であるMicrocystis属藍藻には毒性を持つ株の存在が知られており、我々も霞ヶ浦に発生したアオコに毒性のあることおよび遅延型過敏症反応を惹起する活性があることを報告した。Microcystis属藍藻の生産する毒素のほとんどはペプチドの肝臓毒であり、一部その構造が明らかにされている。これら毒性株が生態系でどのように分布しているのか、またアオコの毒性がなぜ採取時期あるいは採取場所により著しく変化するのかなど不明な点が多い。またそれら毒性株の生産する毒素についても、毒素の作用機序あるいは生体に及ぼす影響などについても不明な点が多い。これらの研究が遅れている大きな原因の一つに、Microcystis属藍藻の単藻無菌化が困難なことがあげられる。本報告では、霞ヶ浦における毒性株の分布、単藻無菌の分離、そして毒性株の生産する毒素の作用について検討した結果を述べる。

毒性株の分布：1985～1987年の各9月に霞ヶ浦よりアオコを採取し、平板培養により単藻化し、マウスを用い毒性を調べた（250mg/kg投与）。1985年については20株中2株が毒性を示し、毒性株はM.aeruginosaと同定された。毒性のLD50はK-139株は7.3mg/kg、K-70は>250mg/kgであった。1986年は、6株中1株が毒性を示し、毒性を示したM-20株はM.aeruginosaと同定された。1987年では、14株中12株が毒性を示し、毒性を示した株はすべてM.aeruginosaと同定された。その内の11株のLD50は>25mg/kgで、1株（B-47）は21.5mg/kgであった。また毒性を示したK-139とM-20および非毒性のM.aeruginosa 4株を無菌化した。

毒素の精製：K-139株より毒素の精製を行った。対数増殖期初期の菌体を集め破碎後、その遠心上清をボンド・エルトに供し、メタノールで溶出した後セファデックスG25カラムに供した。次に毒素画分をHPLC（ODSカラム）に供し、26%アセトニトリル-10mM酢酸アンモニウムで溶出した。溶出ピーク6および7がマウスに対し毒性を示し、その他のピークは毒性を示さなかった。アミノ酸分析の結果からピーク6および7はペプチドであることが示された。次にこれまで分離された毒素株の菌体破碎抽出液のHPLC溶出パターンを比較したところ、大きく3つに分類された。溶出パターンからK-139とB-47株は同じ毒素を生産する株であることが示唆された。1987年に採取した株のうち低毒素の11株のピークは一致し、K-139およびM-20株の溶出パターンとは異なった。一方、非毒性を示すM.aeruginosaの菌体破碎抽出液をHPLCに供したところ、毒素株で観察される溶出ピークは認められなかった。病理学的検討：K-139株より精製したピーク6（LD50；0.33mg/kg）を用い、投与量および投与してからの屠殺時間を変えて、肝臓における形態を観察した。尚、致死量投与のマウスでは肝臓以外の臓器に変化は認められなかった。0.36mg/kg投与群では、1.5時間以内にいずれも死亡し、中心静脈性に強いうっ血があり、一部出血をともなっており、肝細胞索は著しく細小化し、充満した血液で圧搾されていた。0.24mg/kg投与

群では8匹中1匹が死亡し、これ以下の毒素を投与した群では死亡したマウスはなかった。0.24mg/kg投与したマウスを12時間後に屠殺したところ、肝臓に限局性の、境界鮮明な壊死巣が観察され、69時間後では壊死巣の周辺からマクロファージが取り囲んで、壊死組織を処理する像が認められた。毒素の生理・薬理活性：マウスの致死は肝臓変性によると推定されたので、K-139株投与後の肝機能検査を行った。すなわち、K-139株菌体の凍結融解したものを超音波処理（5分間）後遠心し、その上清をマウスの腹腔へ投与（0.1～10 μ g/mouse）し、経時的に血清を採取し、そのGOTとGPT値を市販のキットを用いて測定した。その結果、投与24時間後にGOT、GPT値の高まりが観察された。なお、生体内発熱物質であるインターロイキン1の産生についても目下検討中である。

〔共同研究者〕

自治医科大学 医学部	滝 龍雄
茨城大学 農学部	児玉 治, 白井誠
筑波大学 基礎医学系	森 尚義

らん藻類の異常発生とその防止に関する生物化学工学的研究

合葉 修一 (あいば しゅういち) 東京電機大学理工学部教授

(略歴) 1923年東京生れ。東京帝国大学第二工学部応用化学科卒業。

東京大学助教授・教授、大阪大学教授を経て1987年より現職。

(専攻) 生物化学工学

(著書) 「生物化学工学 (反応速度論)」(科学技術社)、「生物化学工学」(第2版)(東京大学出版会)

1. まえがき

富栄養湖沼では夏から秋にかけて、プランクトン性らん藻類の一種 *Microcystis* が優占的に増殖する結果、しばしば水の華を発生して種々な公害をもたらす。従って、水の華の発生を遅延ないし、防止する事が富栄養化の進行した湖沼で果たして可能かどうかを検討することは社会的にも有意義である。

Microcystis がこのようは自然環境下でなぜ優占種になるのか? 水の華の発生は結果的には *Microcystis* の増殖速度が大きく他種の藻類が共存できず駆逐された現象といえるだろうが、結果論ではなくその原因を探るには、(1) 環境の明暗に即応して静水中を浮上また逆に沈降する *Microcystis* の特異的な挙動、(2) 藻体の比増殖速度 μ の評価法、(3) この特異的な挙動に影響する因子など、をシミュレーションの手法で考察する必要がある。これは複雑に絡み合う自然環境の諸因子と水の華の発生との関連を野外観察のみから把握することは困難だからである。

2. 方法

(A) 藻体 (コロニー) (寸法: 一定) が静水中を上昇・下降の垂直移動を繰り返しつつ増殖する系につき、まずそのシステム方程式を導く。すなわち、コロニーの増殖ではその数のみの増加が藻体濃度の増大に対応し、また、コロニー間の挙動には相互干渉がないとしたとき、*Microcystis* の微生物学的 (膨圧、クロロフィル含量、…) や生理学的 (光合成活性、ガス胞の容積率、…) 特性の変化速度 (動力学的視点) を既往の文献、屋内外での観察、適宜設ける仮定などのもとで定式化する。

この定式化後、その数値解を屋外観察の結果と対比し矛盾があれば定式化に至る過程に修正を加えることは言うまでもない。

(B) コロニー寸法に分布があり、また、水中の藻体が、それより深層にある藻体におよぼす光遮蔽の効果を考慮したシステム方程式とその数値解、さらに

(C) 静水域に加わる上、下流 (攪拌流) がコロニーの比増殖速度 (平均値) におよぼす影響などを逐次、検討した。

3. システム方程式

藻体コロニー (半径 R) の状態変数を X : 濃度、 gm^{-3} ; (x : 静水中の藻体累積濃度、 gm^{-3}); z : 水面下の藻体位置、 m ; ($z < 0$ 、水表面 $z = 0$); V_f : 藻体内ガス胞の容積率、%; P : 膨圧、 kNm^{-2} ; C : 藻体のクロロフィル a 含量、% の 5 個とする。システム方程式は

$$\frac{dX}{dt} = \frac{I}{p+qI+rI^2} X \quad (1).$$

$$\frac{dZ}{dt} = -\frac{2g(\rho_c - \rho_w - a'V_f) R^2}{9\mu\omega} \cdot 3600 \quad (2).$$

$$\left. \begin{aligned} \frac{dV_f}{dt} &= -\frac{(V_f - V_{feq})}{dt} \quad \text{for } V_f > V_{feq} \\ \text{or} \\ &= \lambda \quad \text{for } V_f \leq V_{feq} \end{aligned} \right\} \quad (3).$$

$$\frac{dP}{dt} = \alpha (P_{max} - P) Q_{O_2} - \beta (P - P_{min}) \quad (4).$$

$$\frac{dC}{dt} = \alpha' (C_{max} - C) - \gamma IC \quad (5).$$

補助方程式のうち主たるものは

$$Q_{O_2} = mCI \quad \text{or} \quad aC \quad (6).$$

$$V_{feq} = V_{fmax} \left(1 - \int_0^P f_n(\xi, \sigma) dP \right) \quad (7).$$

(使用記号の逐一説明を便宜上省く)

(A) R : 一定のとき、水中照度 I は水表面で日変化する照度を I_0 として

$$I = I_0 \exp(m'\delta + n)z \quad (8).$$

(B) R に分布がある場合、(1) ~ (7) 式中、状態変数にそれぞれ添字 i をつけて寸法の区別をすれば、例えば (8) 式の代りに

$$\left. \begin{aligned} I_i &= I_0 \exp\left(-\sum_j \varepsilon_{ij} x_j C_j + n'z_i\right) \\ \varepsilon_{ij} &= 0 \quad \text{for } z_j \leq z_i \\ \text{or} \\ &= m' \quad \text{for } z_j > z_i \end{aligned} \right\} \quad (10).$$

(C) 上、下流があれば $z=0 \sim z=-4m$ にわたって濃度が均一となると仮定。

4. 結果

(A) 1.懸濁物質の濃度 δ が増加すると藻体の移動範囲は深部から表層水域に移る、2. R が小さいと殆んど垂直移動しないが、 R が大きいと水深の広い範囲にわたって垂直移動する、3.ガス胞の再生速度 λ が小さいと水表面への藻の集積が起こりにくいが、 λ が大きいと水表面に集積する、4.膨圧の上昇速度定数 α が減少すると、相対的に膨圧の減少速度が早くなりガス胞量が増え、藻体は水表面に集積する傾向を示す、5.クロロフィル a の変化速度係数 γ' が減少すると藻体は水表面に集まる頻度が高くなる傾向である。

(B) 藻体濃度が小さい場合 ($0.01 \sim 1.0 \text{ g m}^{-3}$) には、コロニー群の垂直移動はほぼ1日の周期で繰り返えされるが、初期濃度が 1.0 g m^{-3} 以上になると垂直移動は消え水表面に停滞する。

(C) 上、下流によって μ の平均値は減少する。藻体の初期濃度が大きいとき、および水中の光照度減

衰係数が大きい場合に、それぞれ μ の減少は顕著である。

5. むすび

ここに述べたシミュレーションは藻の増殖につきリンや窒素など栄養塩が制限因子とはならない場合の結果であり、そのうち(A)および(B)は水の華の発生機構に関連し、また(C)は発生防止対策を考察するのにそれぞれ、ある根拠を示すと考えられる。しかし、ここで取り扱わなかった水温の影響や Microcystis と他の藻類との混合系における種の遷移におよぼす諸因子の影響などにつき生物化学工学的な検討課題は数多く残されている。

〔共同研究者〕

国立公害研究所 須藤隆一

大阪大学 工学部 松村正純

東京農工大学 工学部 岡田光正

菅平ダム湖集水域における土地利用が河川およびダム湖の水質に及ぼす影響に関する研究

中本 信忠 (なかもと のぶただ) 信州大学繊維学部助教授

(略歴) 1942年生まれ。東京都立大学理学部生物学科卒業 東京都立大学大学院修了。

信州大学繊維学部助手を経て、1981年より現職。

(専攻) 陸水生態学

(著書) 「生態系の構造と機能」(築地書館)(共訳)、

「Limnological Studies in Central Brazil」(名古屋大学出版会)(共著)

1. はじめに

湖沼の植物プランクトンの季節変化は深層に蓄積した栄養物質の循環に起因すると解釈してきた。比較的降水量の多い日本では湖沼の水の交換率が非常に大きく、また表水層に流入水は流入するため表水層の生物は常にその集水域からの影響を受けている。湖沼の富栄養化現象の解析には、集水域からの流出栄養物質、流出の様子を問題にしないといけない。

これらの現象を解析するには、大きな集水域では集水域内の植生・土地利用が複雑になり、河川水質は平均的なものとなり、土地利用との関連が解析しにくく、適当な大きさの小集水域の河川水質の変化を解析すればよい。また降雨により河川水質は大きく影響される。それ故、土地利用と河川水質の関係を解析するためには、河川水質と河川水量の詳細な資料が入手できることが必須である。そのためには、適当な大きさの集水域をもつダム湖集水域での調査研究が有効である。ダム管理所では集水域内の気象、ダム湖流入・流出水量の観測が常時なされ、これらの資料と河川水質と関連させて解釈すればよい。

そこで山地からどの程度の栄養物質が流出してくるか、山地の畑地利用によりどの程度、どのように水質が変化するかを、長野県小県郡真田町の菅平高原を集水域とする菅平ダム湖集水域で調査をした(図1)。

2. ダム湖と集水域について

菅平ダム湖は海拔1200メートルに位置し、高原野菜や、スキー・ラグビーなどのスポーツ施設で有名な菅平高原から流出する水を貯水し、その水は水田の灌漑、上田市の水道水源、洪水調節、および発電に利用されている。湖水は水田の灌漑に利用するため、自然の湖沼と同じく表面取水方式をとっている。湖は長径最大約1キロ、最大水深30メートルであるが、洪水調節のため融雪期と台風期には貯水量を極端に小さくし、水位を年2回大きく変動させている。この湖では5月から8月にかけて富栄養湖に近いほど植物プランクトンが繁殖している。この季節変化および増殖維持にはその時に流入する栄養塩類に関係していた。全集水域は35平方キロでその約1割が耕地である。

3. 採水方法と採水地点

栄養物質の流亡に影響する降雨は非常に不規則で、その影響は山地のため短期間のみ現れる。そこで、農耕地の影響が強く現れるK地点と地表面流出としては農耕地の影響がないD地点で2年間連日採水を行い季節変化と天候の影響を比べた。さらに農耕地の影響が完全でない河川水質(N地点)とを比べることにより、農耕地の影響がどの程度かを推算した。山地河川では、岩が多くまた多量の伏流水があり、降雨などで流量が急激に変動し河川流量を実測するのは不可能である。そのためダム管理所で測定されている全流入水量にその地点での集水域面積割合(図2)を乗じ流量とした。

4. 河川流量と河川水質の季節変化

河川水量は晩秋から冬期にかけて徐々に減少し、融雪時に急増する（図3）。その他の期間は降雨当日のみ流量増大があり、台風などの大量の降雨時は急激に増大し、その後徐々に減少する。これは小雨は大地を湿らすだけで、ある程度の降雨は地表面流出があることを意味している。また大量の降雨は地中に多量に浸透し、地表面流出に加え基底流出を増大させる。そのために河川流量の増加後の減少がゆるやかになる。農耕地の影響のあるK地点でのリン酸態リン濃度は年間変動はあまりなく約26mg/m³であるが、D地点では河川水量の増大時には濃度が減少し、秋から融雪直前にかけて徐々に増大していた。森林や草原の生産活動の盛んな4月から10月はリン酸濃度はK地点より低いが河川水量の少なくなる融雪直前はK地点より高くなった。硝酸態窒素濃度はK地点での濃度変化は激しく低いときで約2mgN/lでピーク時では約8mgN/lにもなり（3.2mgN/l、年平均）、この濃度変化の様子は河川水量の変化と同様であり、電気伝導度の変化とも一致していた。3月から10月にかけては平均濃度は高く農作業のない冬は低かった。D地点はリン酸態リン濃度の変化と同様に水量の多いときは逆に濃度が低くなった。河川水量が少なく流量が安定している秋から融雪直前までは濃度が一定していて約1.3mgN/lであった。K地点では農耕地などから降雨に伴い非常に高濃度の地表面流出があり、さらに地下浸透し高濃度の栄養物質を基底流出として河川に現れる。しかしD地点では平水時の河川水は地下水の寄与率が高く、隣の集水域からの高濃度の地下浸透水の影響が現れ、降雨時は森林や草原からの低濃度の地表面流出水により希釈されるものと推定された。農耕地の影響がない中之沢ではリン酸態リンは約10mgP/m³、硝酸態窒素は約0.2mgN/lであり（図4）、流出水量との関係で自然植生地域からは約11.5kgP/km²・y、231kgN/km²・yの溶存栄養物質の流亡があると推算された。これらの濃度から、土地利用割合と水量の関係から推算して栄養物質の増大は農耕地のみと仮定すると農耕地からは約130kgP/km²・y、約24,600kgN/km²・yの流亡があり、リン酸に関しては自然流出に比べ約10倍、硝酸態窒素は約100倍もの流亡があることがわかった。投入肥料との関係はリンに関して約0.6%が窒素に関しては約80%が流亡していることになる。しかし、粒状物質の流亡、収穫物としての移出を考慮すると、全物質収支を計算するのは非常に困難であることがわかった。

〔共同研究者〕

筑波大学 生物科学系 林 一六

信州大学 繊維学部 木村 建、山本満寿夫