窒素, リンの絶対量およびN/P比によって変化する 藍藻類 *Microcystis aeruginosa* と 珪藻類 *Cyclotella* sp. の優占化特性

Characteristics of Dominant Species Transition between the Cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* and the Diatom *Cyclotella* sp. According to the Changes in Nitrogen and Phosphorus Concentration and Its Mass Ratio

榮田 愛¹, 天野佳正^{2,3}, 相川正美⁴, 町田 基^{2,3}

¹千葉大学工学部／〒263-8522 千葉市稲毛区弥生町1-33

²千葉大学大学院工学研究科／〒263-8522 千葉市稲毛区弥生町1-33

³千葉大学総合安全衛生管理機構／〒263-8522 千葉市稲毛区弥生町1-33

⁴木更津工業高等専門学校／〒292-0041 木更津市清見台東2-11-1

AI SAKAEDA¹, YOSHIMASA AMANO^{2,3}, MASAMI AIKAWA⁴, and MOTOI MACHIDA^{2,3}

¹Faculty of Engineering, Chiba University/1-33 Yayoi-cho, Inage-ku, Chiba 263-8522, Japan

²Graduate School of Engineering, Chiba University/1-33 Yayoi-cho, Inage-ku, Chiba 263-8522, Japan

³Safety and Health Organization, Chiba University/1-33 Yayoi-cho, Inage-ku, Chiba 263-8522, Japan

⁴Faculty of Science, Kisarazu National College of Technology

/2-11-1 Kiyomidai-higashi, Kisarazu 292-0041, Japan

Abstract

The dependence of *Microcystis aeruginosa* growth on nitrogen and phosphorus concentration and nitrogen/phosphorus mass ratio (N/P ratio) in the medium, which could be regarded as the initial total nitrogen/phosphorus mass ratio (TN/TP ratio) under the existence of *Cyclotella* sp. was examined through monoculture and monoxenic culture experiment. Furthermore, the relationship between *M. aeruginosa* dominance and low TN/TP ratio in eutrophic lake was discussed based on the results obtained in this study and reference data. The monoculture as well as monoxenic culture experiment under high nitrogen and phosphorus concentration showed that the growth of *M. aeruginosa* was affected by nitrogen-deficient condition, and depended on N/P ratio rather than nitrogen and phosphorus concentration. On the other hand, in the monoxenic condition under low nitrogen and phosphorus concentration, the growth depended on both N/P ratio and phosphorus concentration. As the possibility of generally accepted fact that the low N/P ratio (TN/TP < 29) favors the appearance of water bloom, we suggested that low N/P ratio might be a result of water bloom, which would reflect the cellular N/P ratio of water bloom followed by assimilation of nitrogen and phosphorus in lake water.

Key words: *Cyclotella* sp., eutrophication, *Microcystis aeruginosa*, monoxenic condition, N/P mass ratio

1. はじめに

富栄養化は、本来、湖沼などの閉鎖性水域に窒素やリンなどの栄養塩が流入し、それらの濃度が長期間かけて高くなる自然現象である¹⁾。しかし、近年、特に1970年以降、家庭排水、工業排水、農業排水などに含まれる過剰の栄養塩の流入で多くの湖沼は20-30年で急速に富栄養化へと変化している²⁾。富栄養化が進行すると、湖沼では主に藍藻類が異常増殖し、水面を青緑色に変える水の華（アオコ）が見られるようになる³⁾。アオコの原因種としては、*Microcystis* 属や *Anabaena* 属などが頻繁に観測されている⁴⁾⁻⁷⁾。アオコが発生すると、景観の悪化や水道水の異臭味を引き起こすだけでなく、アオコ死滅後、バクテリアの分解作用による多量の溶存酸素消費に伴う小型の水生生物や魚類などの大量死、*Microcystis* 属の代表的な種で知られる *Microcystis aeruginosa* は毒性物質として知られるミクロシスチンを生産することで家畜やヒトに悪影響を及ぼす⁸⁾⁻¹¹⁾。このことより、アオコの発生を抑えるためには、栄養塩とアオコ発生との因果関係を調べる研究が必須である。

一般に、植物プランクトンの組成比は $C_{41}H_8O_{37}N_7P_1$ (重量比) で表わされる^{12), 13)}。この組成比からもわかるように、植物プランクトンはこれらの元素が一つでも不足すると増殖することができない。環境水中には窒素とリン以外の元素は豊富に存在し、植物プランクトンの増殖制限因子になることは少ない。このため多くの湖沼では窒素とリンが増殖制限因子になる傾向が見られる。このことから、窒素とリンの絶対量がアオコ発生に関する重要なパラメータであると考えられる。また窒素とリンの重量比 (N/P比) も重要な因子であるとされ、数多くの研究報告例がある。中でも Smith は、17の実湖沼を対象にアオコの発生と湖水の全窒素/全リン比 (TN/TP比) の関係について研究しており、アオコは TN/TP 比が29より小さい湖沼において発生する¹⁴⁾ といった低 TN/TP 比の重要性を報告した。一方、Xie らは中国の東湖で行った囲い込み実験からアオコ発生における TN/TP 比の影響を研究しており、低 TN/TP 比はアオコ発生の原因ではなく結果である¹⁵⁾ と報告している。

我が国の代表的な富栄養湖沼である千葉県の手賀沼は、周囲の急速な都市化により水質の悪化が進み、夏期にアオコの異常発生がみられていた。このため国土交通省は、水質改善のために北千葉導水路を建設し、2000年から手賀沼への利根川河川の水の導水を開始した。導水を施行して以降、水質が徐々に改善されるとともに¹⁶⁾、手賀沼に

おける夏の優占種が *M. aeruginosa* から珪藻類の *Cyclotella* sp. に変化し、アオコは見られなくなった¹⁷⁾。減少した栄養塩のうち、特にリンについて大幅な減少が見られ、それに伴って TN/TP 比は増加傾向を示した¹⁶⁾。この手賀沼での一例からもわかるように、アオコの発生に対して栄養塩の絶対量と TN/TP 比が重要な影響を及ぼしていると考えられるが、栄養塩の絶対量に応じた TN/TP 比の影響に関する研究報告例は少ない。上述した通り、多くの研究の中でアオコの発生と TN/TP 比に関した意見の相違は、光や温度などの影響はもちろんのこと、主には栄養塩の絶対量に大きく依存していると予想される。

本研究では、単藻および混合培養実験を通じ、藍藻類の代表種 *M. aeruginosa* の窒素およびリンの絶対量とその比に対する依存性について検討した。また、実湖沼では、*M. aeruginosa* は他種との競合の結果優占化する。このため、競合種として一般の湖沼に広く存在し、また上述の手賀沼においても優占種として観測されている *Cyclotella* sp. が共存する際のそれぞれの影響についても検討した。さらに、本研究結果と既往の報告で明らかにされている結果から *M. aeruginosa* の優占化と TN/TP 比の関係について考察した。

2. 実験方法

2.1 試料

本研究では、米国のテキサス大学・藻類コレクションおよび英国の藻類・原生動物カルチャーコレクションからそれぞれ *M. aeruginosa* (strain: UTEX LB 2061) および *Cyclotella* sp. (strain: CCAP 1070/4) を購入した。一般的に、*Microcystis* 属は実際の湖沼において群体を形成しているが、本研究で用いた種は群体形成しておらず、単細胞の状態であった。121℃、30分でオートクレーブ処理を施した WC 培地¹⁸⁾ に *M. aeruginosa* と *Cyclotella* sp. をそれぞれ別々の培養槽に接種して、照度2,000 lux、明暗周期14L/10D、培養温度20℃、静置条件（1日数回手で攪拌）で両種を培養し、継代保存した。なお WC 培地の窒素、リンおよびケイ素濃度は、それぞれ14 mg/l、1.55 mg/l および11 mg/l であり、0.5 mol/l の HCl を用いて初期 pH 値8.0に調整した。

2.2 前培養

M. aeruginosa と *Cyclotella* sp. の細胞内の栄養塩を消費させるために前培養を行った。前培養の窒素およびリン濃度は、後述する培養実験において最も低い窒素およ

びリン濃度に合わせた。WC培地の窒素濃度およびリン濃度は、それぞれ NaNO_3 および K_2HPO_4 の添加量を変化させることで調整した。 NaNO_3 および K_2HPO_4 の添加量の調整によって、本来のWC培地と比較して不足したナトリウムとカリウムは等量になるよう NaOH と KCl を添加することで補った。300 ml三角フラスコに培養液100 mlを充填し、シリコン栓で封をした後、オートクレーブで 121°C 、30分間滅菌処理を行った。滅菌処理後、*M. aeruginosa*と*Cyclotella* sp.を別々の培養液に接種し、7日間前培養した。培養条件は、前述した通りである。

2.3 単藻培養実験

培養液中の窒素濃度とリン濃度の絶対量および溶存態窒素/溶存態リンの重量比 (N/P比) を変化させたときの*M. aeruginosa*および*Cyclotella* sp.の増殖特性を調べるために単藻培養実験を行った。中栄養湖および富栄養湖を反映させるよう培養液中のリン濃度をそれぞれ0.05および0.5 mg-P/lに固定し¹⁹⁾、それに合わせてN/P比が重量比で1, 10, 50および100となるように窒素濃度を0.05, 0.5, 2.5, 5 mg-N/lおよび0.5, 5, 25, 50 mg-N/lに調整した。なお、本研究で示すN/P比は培養初期のTN/TP比と見なした。調製した全ての培地について、前培養と同様に初期pH値8.0に調整した。培養液200 mlを500 ml三角フラスコに充填した後、滅菌処理を行い、それぞれの培養液に前培養で得られた*M. aeruginosa*と*Cyclotella* sp.を初期細胞密度が5,000 cells/mlになるように別々に接種した。培養温度は夏季の湖沼を反映させた 25°C 、その他の条件は前培養と同様である。1-3日間おきに両種の細胞数を計数し、培養液1 mlあたりの細胞密度を算出した。実験は3系 (n=3) で行い、結果を平均値±標準偏差で示した。

2.4 混合培養実験

培養液中の窒素濃度とリン濃度の絶対量および重量比 (N/P比) を変化させたときの*M. aeruginosa*および*Cyclotella* sp.の種間競争能力を調べるために混合培養実験を行った。単藻培養実験と同様の培養液に、前培養で得られた*M. aeruginosa*と*Cyclotella* sp.を、初期細胞密度がそれぞれ5,000 cells/mlになるように両種を同一の三角フラスコに接種した。培養条件は単藻培養実験と同様である。

2.5 測定

顕微鏡 (倍率300倍) 下でプランクトン計数板 (MPC-

200, MATSUNAMI) を用いて細胞数を計数し、細胞密度を算出した。測定は1サンプルに対して2度 (n=2) 行い、その平均値を測定結果とした。

3. 実験結果

3.1 単藻培養における*M. aeruginosa*および*Cyclotella* sp.の増殖特性

中栄養湖レベルのリン濃度 (P=0.05 mg/l) を反映させた培養液にて*M. aeruginosa*および*Cyclotella* sp.を培養し、得られた増殖曲線をそれぞれFig. 1およびFig. 2に示した。同様に、富栄養湖レベルのリン濃度 (P=0.5 mg/l) で*M. aeruginosa*および*Cyclotella* sp.を培養した結果をそれぞれFig. 3およびFig. 4に示した。

Fig. 1 The growth curve of *Microcystis aeruginosa* in monoculture under different N/P ratios at P = 0.05 mg/l.

Symbol: ◆ N/P = 100, ■ N/P = 50,
▲ N/P = 10, ○ N/P = 1

Fig. 2 The growth curve of *Cyclotella* sp. in monoculture under different N/P ratios at P = 0.05 mg/l.

Symbol: ◆ N/P = 100, ■ N/P = 50,
▲ N/P = 10, ○ N/P = 1

Fig. 3 The growth curve of *Microcystis aeruginosa* in monoculture under different N/P ratios at $P = 0.5 \text{ mg/l}$.

Symbol: ◆ N/P = 100, ■ N/P = 50,
△ N/P = 10, ○ N/P = 1

Fig. 4 The growth curve of *Cyclotella* sp. in monoculture under different N/P ratios at $P = 0.5 \text{ mg/l}$.

Symbol: ◆ N/P = 100, ■ N/P = 50,
△ N/P = 10, ○ N/P = 1

中栄養湖レベル ($P = 0.05 \text{ mg/l}$) の条件において、 $N/P = 50$ および 100 では、*M. aeruginosa* の最大細胞密度は *Cyclotella* sp. と比較して $4 \sim 9$ 倍高くなった。 $N/P = 10$ では両種の最大細胞密度はそれぞれ 4.5×10^5 および $3.0 \times 10^5 \text{ cells/ml}$ とほぼ同程度であったが、 $N/P = 1$ ではいずれの種もほとんど増殖せず、細胞密度はおよそ $2.0 \times 10^4 \text{ cells/ml}$ であった。

富栄養湖レベル ($P = 0.5 \text{ mg/l}$) の条件下では、*M. aeruginosa* は $N/P = 10$, 50 および 100 のときに同様な増殖傾向を示したが、 $N/P = 1$ のときに、他の条件と比べて増殖が $1/10$ 以下に抑制された。*M. aeruginosa* ほど顕著ではないものの *Cyclotella* sp. に関しても $N/P = 1$ のときに、増殖が抑制される傾向を示した。中栄養および富栄養湖のリン濃度を反映させた条件での培養結果を比較すると、リン濃度を 10 倍に下げると *M. aeruginosa* の細

胞密度も 10 倍低くなったが、*Cyclotella* sp. に関してはそのような傾向がみられなかった。

3.2 混合培養における *M. aeruginosa* および *Cyclotella* sp. の増殖特性

リン濃度を中栄養湖 ($P = 0.05 \text{ mg/l}$) および富栄養湖 ($P = 0.5 \text{ mg/l}$) のレベルに合わせた培地にて *M. aeruginosa* と *Cyclotella* sp. を混合培養させたときの実験結果を単藻培養実験と合わせて Fig. 5 および Fig. 6 に示した。また、培養液の着色が認められた、すなわち *M. aeruginosa* が水の華の発生を引き起こしたときの細胞密度 $5.0 \times 10^5 \text{ cells/ml}$ を同図において破線にて示した。

リン濃度に関わらず、 $N/P = 1 \sim 100$ で *M. aeruginosa* の最大細胞密度は *Cyclotella* sp. の最大細胞密度よりも $2 \sim 229$ 倍高くなった。中栄養湖のリン濃度を反映させた条件において、 $N/P = 10$ 以上では、*M. aeruginosa* および *Cyclotella* sp. の増殖は単藻培養実験の結果と比べて著しく抑制された。 $N/P = 1$ の条件において、*M. aeruginosa* の最大細胞密度は約 $1.0 \times 10^4 \text{ cells/ml}$ と初期細胞密度とほとんど変わらない値を示し、培養液の着色も認められなかった。一方、*Cyclotella* sp. の増殖は全く見られなかった。

富栄養湖レベルのリン濃度では、*M. aeruginosa* は、すべての N/P 比条件において単藻培養での増殖とほぼ同様の傾向を示した。 $N/P = 10$ 以上では、*M. aeruginosa* が水の華を発生させ、培養液の色は無色透明から緑色に変化した。逆に、 $N/P = 1$ のときは水の華を形成せず培養液の色の変化が見られなかった。一方、*Cyclotella* sp. については、すべての N/P 比において単藻培養の増殖より低い値を示した。

4. 考察

単藻培養実験の結果から、富栄養湖・貧栄養湖レベルのリン濃度条件下では、*M. aeruginosa* および *Cyclotella* sp. とともに $N/P = 10$, 50 および 100 の条件において同様の増殖傾向を示したが、 $N/P = 1$ のときには、その他の N/P 比と比べ増殖が抑制された。このような傾向を示した理由として、 $N/P = 10$ 以上と $N/P = 1$ のときでは、両種の増殖を制限する栄養塩が異なる可能性が考えられる。前述したように、植物プランクトンの組成式 $C_{41}H_{80}O_{57}N_7P_1$ ^{(12), (13)} (重量比) から、植物プランクトンの重量 N/P 比は 7 であり、湖水の N/P 比がこの値より高いときリンが、また低いときに窒素が藻類の増殖を制限すると見なすことがで

Fig. 5 The growth curve of *Microcystis aeruginosa* and *Cyclotella* sp. in monoculture and monoxenic culture under different N/P ratios at P = 0.05 mg/l. Dashed line shows the boundary (5.0×10^5 cells/ml) of blooming for *Microcystis aeruginosa*.

Symbol: ○ *Microcystis aeruginosa*_monoculture, ● *Microcystis aeruginosa*_monoxenic culture, △ *Cyclotella* sp._monoculture, ▲ *Cyclotella* sp._monoxenic culture

Fig. 6 The growth curve of *Microcystis aeruginosa* and *Cyclotella* sp. in monoculture and monoxenic culture under different N/P ratios at P = 0.5 mg/l. Dashed line shows the boundary (5.0×10^5 cells/ml) of blooming for *Microcystis aeruginosa*.

Symbol: ○ *Microcystis aeruginosa*_monoculture, ● *Microcystis aeruginosa*_monoxenic culture, △ *Cyclotella* sp._monoculture, ▲ *Cyclotella* sp._monoxenic culture

きる (Fig. 7)。 *M. aeruginosa* と *Cyclotella* sp. の増殖を制限する N/P 比が 7 であると仮定した場合、両種の増殖は $N/P = 10$ 以上のリン制限条件において同様の傾向を示したのに対し、 $N/P = 1$ において *M. aeruginosa* と *Cyclotella* sp. の増殖はその他の N/P 比条件と比べて著しく抑制されたため、両種はリンよりもむしろ窒素に強く影響を受けたと推察できる。Sabour らは、*M. ichthyoblabe* の増殖において、窒素、リンおよび N/P 比の影響を明らかにするために回分培養を行った結果、リン濃度 (6.96 mg-P/l) 一定で窒素欠乏条件下 (0–10 mg-N/l) のときに増殖が制限されることを報告した²⁰⁾。このことから、*M. aeruginosa* および *Cyclotella* sp. に関しても、*M. ichthyoblabe* と同様に窒素濃度に強く影響を受ける種であることが示された。また WC 培地を用いた単藻培養では、窒素およびリン以外の栄養成分による増殖制限への影響は小さいと予想される。このため中栄養湖と富栄養湖の栄養状態を反映させた条件での両種の増殖は、窒素およびリンの絶対量によらず、N/P 比に依存していると考えられる。

混合培養実験の結果から、中栄養湖を反映させた $P = 0.05$ mg/l では、*M. aeruginosa* および *Cyclotella* sp. の増殖はともにいずれの N/P 比においても著しく抑制されることが、単藻培養実験結果との比較により明らかとなった。 $N/P = 1$ における両種の増殖抑制は、単藻培養実験と同様に窒素の影響を強く受けたと考えられる。また両種の増殖傾向は窒素濃度を 0.5–5 mg/l まで変化させてもほぼ同じであったことから、これらの条件における両種の増殖はリン濃度 0.05 mg/l に依存しているものと推察される。実湖沼において浚渫によって *Microcystis* 属主体のアオコの抑制を試みた Gelin および Ripi²¹⁾ は、リン濃度 0.2

mg/l で優占していたアオコが、浚渫後にリン濃度が 0.01 mg/l まで減少したことによって消滅したことを示している。一方、リン制限条件下、*M. aeruginosa* と *Cyclotella* sp. の競合特性を混合培養実験を通じて調べた Amano ら¹⁷⁾ によると、競合時に *M. aeruginosa* が水の華 ($>5.0 \times 10^5$ cells/ml) を形成するリン濃度は 0.01 mg/l 付近である。これらの研究報告を踏まえて本研究で得られた結果をまとめると、競合条件において培地の N/P 比を 1 に、あるいはリンの絶対量をおよそ 0.05–0.1 mg/l に下げることによって *M. aeruginosa* の増殖が抑制できると考えられる。

一方、富栄養湖を反映させた $P = 0.5$ mg/l において、すべての N/P 比条件で *M. aeruginosa* が優占した。しかしながら、単藻培養実験結果と同様に $N/P = 1$ の条件下のみ、*M. aeruginosa* は水の華を形成させる細胞密度 (5.0×10^5 cells/ml) には至らなかった。前述したように、実湖沼を対象にアオコの発生と湖水の TN/TP 比の関係について研究した Smith は、藍藻類の優占化は TN/TP 比が 29 より小さい湖沼において起こると結論付けている¹⁴⁾。本研究では、 $N/P = 50$ および 100 でも *M. aeruginosa* の優占化が示されたことから Smith の報告を支持しない結果となった。一方、藤本らは OECD が定めている $TP \geq 0.035$ mg/l の富栄養湖沼を対象にして解析を行った結果、富栄養化した条件において藍藻類の優占率が TN/TP 比の増加とともに高まる²²⁾ ことを報告している。本研究結果では $N/P = 10 \sim 100$ の条件で *M. aeruginosa* の細胞密度に大きな差は見られなかったが、*M. aeruginosa* の優占化の傾向は藤本らの結果と一致しているといえる。 $N/P = 10 \sim 100$ の条件で示された同程度の *M. aeruginosa* の細胞密度は、リン制限に起因するものと考えられる。しかしながら、中栄養湖を反映させたリン濃度条件の結果とは異なり、培地中には *M. aeruginosa* の増殖・優占化に対して十分量のリンが存在していると予想される。このような高濃度のリン条件下、*M. aeruginosa* の増殖能力はリン吸収速度および半飽和定数からみても *Cyclotella* sp. に勝っている¹⁷⁾ ことが明らかとなっている。このため、競合条件下においても、*M. aeruginosa* が優占化したものと考えられる。

M. aeruginosa を主とする藍藻類の水の華が低 TN/TP 比 (TN/TP 比 < 29) に依存していることは Smith らの報告をはじめ、多数の研究によって支持されている^{23), 24)}。この傾向は水の華を形成している *M. aeruginosa* あるいは藍藻類の細胞 N/P 比に深く関与しているものと考えられる。湖水の窒素濃度およびリン濃度は藍藻類の増殖によって著しく減少する一方、窒素およびリンはアオコの

Fig. 7 Phosphorus and nitrogen-limited areas for phytoplankton with the boundary at N/P ratio of 7.

細胞形成に費やされ、細胞内含有窒素およびリンとして湖水面に集積することになる。湖水面に発生した*M. aeruginosa*を主体とするアオコの細胞内窒素およびリン含有率をまとめた結果、アオコの細胞内に含有する窒素は5.9~9.5%、またリンについては0.2~0.9%、結果として細胞内含有N/P比は9~27で変動していることがわかる (Table 1)。アオコの発生を引き起こすとされるTN/TP比 (TN/TP比<29) は、この細胞内窒素およびリンの値を反映していると考えられる。このため、アオコ発生に関わる湖水のN/P比は、Xieらの主張するようにアオコ発生の原因ではなく、アオコ発生の結果としての可能性が高いと推察できる。

5. 結論

本研究は、単藻培養および混合培養実験を通じ、*M. aeruginosa*の窒素およびリンの絶対量とN/P比に対する依存性について検討した。また、競合種として*Cyclotella* sp.が共存する際のそれぞれの影響についても検討した。さらに、本研究結果と既往の報告で明らかにされている結果から*M. aeruginosa*の優占化とN/P比の関係について考察した。得られた結果は以下の通りである。

1. *M. aeruginosa* および*Cyclotella* sp.は、リンと比較して窒素枯渇条件に強く影響を受ける種であることがわかった。また単藻培養での両種の増殖は、窒素およびリンの絶対量によらず、N/P比に依存していることがわかった。
2. 中栄養湖沼を反映させたP=0.05 mg/lの条件にて*M. aeruginosa* および*Cyclotella* sp.を競合させた場合、培地のN/P比を1に、あるいはリンの絶対量をおよそ0.05~0.1 mg/lに下げることによって*M. aeruginosa*の

増殖が抑制できることが明らかとなった。

3. 富栄養湖沼を反映させたP=0.5 mg/lの条件において、N/P=1を除くすべての条件で*M. aeruginosa*が優占化し、これは高濃度のリン条件下での*M. aeruginosa*の高い増殖能力に起因するものと考えられる。
4. アオコの発生を引き起こすとされる低TN/TP比 (TN/TP比<29) は、湖水の窒素およびリンを吸収し、細胞構成に費やされた細胞内窒素およびリンの値を反映している可能性が示唆された。

謝辞

本研究は、公益財団法人 河川財団の河川整備基金助成事業によって実施しました。本研究を進めるにあたり、多岐にわたるご支援をいただきました千葉大学総合安全衛生管理機構の今関文夫機構長 (教授、医学博士) に厚く御礼申し上げます。査読者の先生方から、貴重なご意見を多々いただきました。ここに記して謝意をあらわします。

参考文献

- 1) 吉原利一: 地球環境テキストブック環境科学, オーム社, 東京 (2010)
- 2) Wang X., Hao C., Zhang F., Yang Y.: Inhibition of the growth of two blue-green algae species (*Microcystis aeruginosa* and *Anabaena spiroides*) by acidification treatment using carbon dioxide, *Bioresource Technology*, 102, 5742-5748 (2011)
- 3) Li Y., Li Z., Geng Y., Hu H., Yin C., Ouyang Y., Gui J.: Effect of N, P concentration on growth rate, *Acta Ecologica Sinica*, 26, 317-325 (2006)
- 4) Lv J., Wu H., Chen M.: Effects of nitrogen and phosphorus on phytoplankton composition and biomass in 15 subtropical, urban shallow lakes in Wuhan, China, *Limnological*, 41, 48-56 (2011)
- 5) 大塚有香, 高松公子, 村上裕, 中村洋祐: 鹿野川湖のアオコ発生に関する研究, 平成17年度愛媛県環境年報, 愛媛県立衛生環境研究所, 8, 43-48 (2005)
- 6) Delbanco A. S., Hansson L. A., Gyllstrom M.: Recruitment of resting staged may induce blooms of *Microcystis* at low N:P ratios, *Journal of Plankton Research*, 25, 1099-1106 (2003)
- 7) Willén T., Mattsson R.: Water-blooming and toxin producing cyanobacteria in Swedish fresh and brackish waters, 1981-1995, *Hydrobiologia*, 353, 181-192 (1997)
- 8) Adams W. H.: Phthophysiology of cyanoginosin-LR: *in vivo* and *in vitro* studies, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 96, 248-257 (1988)
- 9) Moisander P. H., Ochiai M., Lincoff A.: Nutrient

Table 1 Cellular nitrogen and phosphorus content of *Microcystis* bloom

Site	N [%]	P [%]	N/P ratio	References
Lake Kasumigaura	9.5	0.7	14	(25)
Spaulding's pond	6.8	0.7	10	(26)
Lake Waubesa	5.9	0.6	10	(26)
Grass Lake	8.7	0.9	10	(26)
Spaulding's pond	7.6	0.6	12	(27)
Delavan Lake	7.0	0.3	21	(27)
North Lake	6.3	0.7	9	(27)
Nagawicha Lake	6.0	0.2	27	(27)
Lake Monona	6.5	0.4	15	(27)

- limitation of *Microcystis aeruginosa* in northern California Klamath River reservoirs, *Harmful Algae*, 8, 889-897 (2009)
- 10) Paerl H. W., Xu H., McCarthy M. J., Zhu G., Qin B., Li Y., Gardner W. C.: Controlling harmful cyanobacterial blooms in a hyper-eutrophic lake (Lake Taihu, China): The need for a dual nutrient (N & P) management strategy, *Water Research*, 45, 1973-1983 (2011)
 - 11) Tsukada H., Tsujimura S., Nakahara H.: Effect of nutrient availability on the C, N, and P elemental ratios in the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*, *Limnology*, 7, 185-192 (2006)
 - 12) Redfield A. C.: The biological control of chemical factors in the environment, *American Scientist*, 46, 205-221 (1958)
 - 13) Klausmeyer C. A., Litchman E., Daufresne T., Levin S. A.: Optimal nitrogen-to-phosphorus stoichiometry of phytoplankton, *Nature*, 429, 171-174 (2004)
 - 14) Smith V. H.: Low nitrogen to phosphorus ratios favor dominance by blue green algae in lake phytoplankton, *Science*, 221, 669-671 (1983)
 - 15) Xie L., Xie P., Li S., Tang H., Liu H.: The low TN : TP ratio, a cause or a result of *Microcystis* bloom?, *Water Research*, 37, 2073-2080 (2003)
 - 16) 千葉県環境生活部水質保全課ホームページ：公共水域水質測定結果, <http://www.pref.chiba.lg.jp/suiho/kasentou/koukyouyousui/data/index.html> (2012年11月時点)
 - 17) Amano Y., Sakai Y., Sekiya T., Takeya K., Taki K., Machida M.: Effects of phosphorus fluctuation caused by river water dilution in eutrophic lake on competition between blue-green alga *Microcystis aeruginosa* and diatom *Cyclotella* sp., *Journal of Environmental Sciences*, 22, 1666-1673 (2010)
 - 18) Guilard R. R. L., Lorenzen C. J.: Yellow-green algae with chlorophyllide c, *Journal of Phycology*, 8, 10-14 (1974)
 - 19) Xu F., Tao S., Dawson R. W., Li B.: A GIS-based method of lake eutrophication assessment, *Ecological Modelling*, 144, 231-244 (2001)
 - 20) Sabour B., Loudiki M., Vasconcelos V.: Growth responses of *Microcystis ichthyoblabe* Kützinger and *Anabaena aphanizomenoides* Forti (cyanobacteria) under different nitrogen and phosphorus conditions, *Chemistry and Ecology*, 25, 337-344 (2009)
 - 21) Gelin C., Ripl W.: Nutrient decrease and response of various phytoplankton size fractions following the restoration of Lake Trummen, Sweden, *Archiv für Hydrobiologie*, 81, 339-367 (1978)
 - 22) 藤本尚志, 福島武彦, 稲森悠平, 須藤隆一：全国湖沼データの解析による藍藻類の優占化と環境因子との関係, *水環境学会誌*, 18, 901-908 (1995)
 - 23) Takamura N., Otsuki A., Aizaki M., Nojiri Y.: Phytoplankton species shifts accompanied by transition from nitrogen dependence to phosphorus dependence of primary production in lake Kasumigaura, Japan, *Archiv für Hydrobiologie*, 124, 129-148 (1992)
 - 24) Fujimoto N., Sudo R., Sugiura N., Inamori Y.: Nutrient-limited growth of *Microcystis aeruginosa* and *Phormidium tenue* and competition under various N : P supply ratios and temperatures, *Limnology and Oceanography*, 42, 250-256 (1997)
 - 25) 高村義親, 野村和輝, 萩原富司, 平松昭, 矢木修身, 須藤隆一：霞ヶ浦に発生するアオコと *Microcystis aeruginosa* の化学的組成について, 国立公害研究所研究報告, 25, 31-46 (1981)
 - 26) Gerloff C. G., Skoog F.: Cell contents of nitrogen and phosphorus as a measure of their availability for growth of *Microcystis aeruginosa*, *Ecology*, 35, 348-353 (1954)
 - 27) Gerloff C. G., Skoog F.: Nitrogen as a limiting factor for the growth of *Microcystis aeruginosa* in southern Wisconsin lakes, *Ecology*, 38, 556-561 (1957)

(受付 2012.12.25)

(受理 2013. 5.12)