藍藻類の混合培養系に及ぼす温度の影響

Effect of temperature on growth of blue - green algae in mixed culture experiment

藤本尚志^{*}、杉浦則夫^{**}、西村 修^{***}、稲森悠平^{***}、須藤隆一^{*}

^{*}東北大学工学部／〒980 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉

^{**}茨城県企業局／〒300 茨城県土浦市大岩田2972

^{***}国立環境研究所／〒305 茨城県つくば市小野川16-2

Naoshi FUJIMOTO^{*}, Norio SUGIURA^{**}, Osamu NISHIMURA^{***}, Yuhei INAMORI^{***}, and Ryuichi SUDO^{*}

^{*}Fac. Eng., Tohoku University, /Aramaki, Aza Aoba, Sendai, Miyagi 980 Japan

^{**}Ibaraki Prefectural Waterworks / 2972, Ooiwata, Tsuchiura, Ibaraki 300, Japan

^{***}National Institute for Environmental Studies, / 16-2, Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

Abstract

Growth characteristics of two blue-green algae *Microcystis aeruginosa* and *Anabaena spiroides* were tested using semi-continuous cultivation at various temperature. *M. aeruginosa* maintained its cell number under temperature rise, while *A. spiroides* decreased tremendously. It was assumed that the decrease of *A. spiroides* was due to its low acclimation ability to temperature rise and decrease in phosphorus uptake. Consequently, increase in water temperature was considered to be one of the factors of species shift from *Anabaena* to *Microcystis* in early summer.

Key words : blue - green algae, growth, temperature, semi - continuous culture, acclimation

1. はじめに

藻類の温度に対する増殖特性ならびに馴化特性は藻類の季節的消長において重要な役割を果たすと考えられる。従って湖沼に出現する代表的な藻類の温度に対するこれらの特性を調べることは藻類の優占機構を解明する上で極めて重要である。Rheeら¹⁾は自然界において温度ストレスが栄養塩類の制限と相互に作用し合う重要な因子であり、温度が低くなるにつれて藻類の栄養塩類の要求量が増加することを報告している。Tilmanら²⁾は *Asterionella formosa* と *Synedra ulna* の半連続培養をおこない、温度が低い条件下で *A. formosa* が、高い条件下で *S. ulna* が優占し、これは半飽和定数が *S. ulna* は温度に関係なく一定であるのに対し *A. formosa* の場合、温度が高い条件下で高まるためであると報告している。著者ら³⁾は緑藻類 *Selenastrum capricornutum* と藍藻類 *Microcystis viridis* について温度に対する馴化特性を調べ、*M.*

viridis の方が *S. capricornutum* に比べ温度の上昇に対して馴化能が高いことを明らかにした。富栄養化の進んだ湖沼における夏の *Microcystis* 属の優占化について、温度変化に対する馴化特性ならびにその優占化の過程において共存する珪藻類、緑藻類、他の藍藻類との温度の影響下における栄養塩類の摂取競争が注目される。富栄養化した湖沼として代表的な霞ヶ浦では初夏、水温の上昇とともに *Anabaena* 属から *Microcystis* 属へと優占種の交代が起こる傾向がみられることから、温度因子の重要性が指摘されている。しかし、藍藻類間の種の遷移に及ぼす温度の影響に関する報告はほとんどみられないのが現状である。本研究では上記の点を鑑み、この2種の藍藻類を純粋培養し増殖に及ぼす温度の影響を調べ、次にこの2種の藍藻類を用い半連続混合培養法によりこの2種の藻類間の変遷機構を解明することを目的に検討をおこなった。

2. 方法

2.1 供試藻類

供試藻類は藍藻類 *Microcystis aeruginosa* および *Anabaena spiroides* とした。この2種の藻類はいずれも霞ヶ浦から分離され、国立環境研究所微生物系統保存施設から分譲を受けたものである。

2.2 実験条件

純粋培養ならびに半連続混合培養は以下の環境条件でおこなった。培地は基礎培地としてM-11培地⁴⁾を用いたが、半連続混合培養では実際の富栄養化した湖沼の窒素、リン濃度に近づけるためN:1mg・l⁻¹, P:0.1mg・l⁻¹とした改変M-11培地を供給培地として用いた。培養は200mlの三角フラスコに培地を100ml 分取し静置でおこなったがフラスコ壁面への藻体の付着を防ぐため1日1回の攪拌をおこなった。なお、照度64 $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (2000lx) で12時間明、12時間暗の断続照射とした。

2.3 純粋培養実験

22℃および30℃で2ヶ月以上継代培養し各温度に馴化した *M. aeruginosa* および *A. spiroides* をその温度で前培養し、対数期後期に *M. aeruginosa* を $5\times 10^4\text{N}\cdot\text{ml}^{-1}$, *A. spiroides* を $5\times 10^2\text{N}\cdot\text{ml}^{-1}$ になるように接種し22℃, 25℃, 30℃で純粋培養した。増殖初期の段階で比増殖速度を測定し、各温度に馴化した藻類の比増殖速度と温度の関係を求めた。なお、本実験はいずれも5連で実施し、馴化した温度の違いにより比増殖速度に有意な差があるかどうかを調べるために分散分析をおこなった。

2.4 半連続混合培養実験

改変M-11培地で純粋培養した対数増殖期の *M. aeruginosa* および *A. spiroides* を各藻類の濃度が乾燥重量で10mg・l⁻¹になるように混合し、希釈率を0.1d⁻¹, 0.2d⁻¹に設定し2日に1回培養液を抜き取り、等量の新しい培地を供給した。半連続混合培養は22℃, 25℃, 30℃でおこない各藻類の個体数が一定に達した後、培養温度22℃と25℃のものに関しては22℃から25℃, 30℃に、また25℃から30℃へと温度変化を与えた。なお、抜き取った培養液について各藻類の個体数を光学顕微鏡により計数し、NO₃-N, PO₄-P, T-N (全窒素), DT-N (溶存性全窒素), T-P (全リン), DT-P (溶存性全リン) についてはテクニコンオートアナライザーによって測定をおこな

表1 各温度に馴化した *M. aeruginosa* *A. spiroides* の比増殖速度 (day⁻¹) と温度の関係

(a) *M. aeruginosa*

馴化温度	培養温度		
	22℃	25℃	30℃
22℃	0.18(0.02)	0.19(0.03)	0.36(0.02)
30℃	0.28(0.04)	0.31(0.02)	0.44(0.05)

(b) *A. spiroides*

馴化温度	培養温度		
	22℃	25℃	30℃
22℃	0.18(0.06)	0.20(0.03)	0.25(0.03)
30℃	0.25(0.02)	0.25(0.02)	0.29(0.02)

()内は標準偏差を示す。

た。また混合培養との比較のため、同様の条件で各藻類の半連続純粋培養もあわせておこなった。なお、本実験は各条件につき3連で実施した。

3. 結果および考察

3.1 各藻類の温度と比増殖速度との関係

馴化温度の違いによる比増殖速度の相違を調べるために、まず各温度に馴化した藻類の比増殖速度に及ぼす温度の影響を検討した(表1)。各温度に馴化したいずれの藻類も培養温度の増加にともない比増殖速度の増加が認められた。また、すべての培養温度で馴化した温度の違いにより比増殖速度に有意な差が認められ ($P < 0.05$)、30℃に馴化した方が高い比増殖速度を示した。22℃に馴化した *M. aeruginosa* は培養温度25℃から30℃にかけて著しく比増殖速度が増加した。これに対し22℃に馴化した *A. spiroides* は培養温度22℃から30℃にかけて比増殖速度の増加が小さかった。このように *M. aeruginosa* の方が温度の上昇に対する馴化能力が高く、*A. spiroides* に比べ高温適性種であることがわかった。

3.2 半連続混合培養における各藻類の増殖

30℃での半連続混合培養の結果は図1に示したとおりである。*M. aeruginosa* の定常状態の個体数は希釈率の如何に関わらずほぼ同様であり、希釈率による差が小さいことがわかった。*A. spiroides* の場合は希釈率0.2d⁻¹における個体数が0.1d⁻¹のときの約1/3に減少した。このように *M. aeruginosa* に比べて *A. spiroides* の個体数が希釈率の違いにより異なったのは、*M. aeruginosa* に比べて *A. spiroides* の比増殖速度が小さいためと考えられた。

図1 半連続混合培養における各藻類の増殖曲線

—○— *M. aeruginosa* 希釈率 0.1 day^{-1}
 —●— *M. aeruginosa* 希釈率 0.2 day^{-1}
 —△— *A. spiroides* 希釈率 0.1 day^{-1}
 —▲— *A. spiroides* 希釈率 0.2 day^{-1}
 培養温度：30℃

図2 各藻類の純粋培養と混合培養との個体数の比較

個体数：定常状態、培養温度：30℃、
 希釈率： 0.1 day^{-1}

これは表1における30℃の比増殖速度の結果からも裏付けられる。半連続純粋培養と半連続混合培養の各藻類の定常状態の増殖量を30℃、希釈率 0.1 d^{-1} の条件下において、比較した結果を図2に示す。*M. aeruginosa*は純粋培養と混合培養ではほぼ同等の個体数が得られているが、*A. spiroides*は、混合培養系の量が純粋培養系に比べほぼ1/3以下に減少している。純粋培養、混合培養いずれも定常状態において培養液中の $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ はともに検出されず、また、*A. spiroides*が窒素固定能を持ち、空中から窒素を取り込むことができるのに対し、リンにつ

図3 *M. aeruginosa* と *A. spiroides* の半連続混合培養における各藻類の増殖曲線

温度変化：25℃→30℃、希釈率： 0.1 day^{-1}

いては培養液中からの取り込みに依存することから、混合培養系において *A. spiroides* の個体数が純粋培養系の個体数の1/3以下に減少したのは *M. aeruginosa* が優先的にリンを取り込み、*A. spiroides* の増殖がリン制限になったためと考えられる。

3.3 半連続混合培養における各藻類の消長に及ぼす温度変化の影響

希釈率 0.1 d^{-1} の条件下において、12日目に25℃から30℃に温度変化を与え、各藻類の共存下における増殖特性を調べた結果を図3に示す。*M. aeruginosa*は温度変化にかかわらず増殖量はほぼ一定であった。一方 *A. spiroides*は14日目に著しい減少が認められた。また、同時におこなった *A. spiroides* のみの半連続純粋培養では温度変化を与えても個体数の低下はみられなかった。これらのことから *M. aeruginosa*は温度変化に対する馴化能が高く、その個体数を維持することができるが、*A. spiroides*は温度ストレスを受け、一時的に栄養塩類の取り込み能が低下し、*M. aeruginosa*と共存することによりその取り込み量が低下し増殖速度が低下するため、個体数を維持できずに減少するものと推定された。各希釈率における温度変化に対する各藻類の温度変化後の個体数の比率を表2に示す。*M. aeruginosa*は各温度変化に対する比率がほぼ1となり温度変化の影響を受けていないことがわかるが、*A. spiroides*は0.5から0.8と低下がみられ温度変化の影響を受けていることがわかる。希釈率

表2 半連続混合培養における各藻類の温度変化後の個体数の比率

温度変化	希釈率 0.1day^{-1}		希釈率 0.2day^{-1}	
	M	A	M	A
22℃→25℃	1.0	0.7	0.9	0.6
22℃→30℃	1.0	0.8	0.8	0.5
25℃→30℃	1.0	0.7	0.9	0.5

M:*M.aeruginosa* A:*A.spiroides*

個体数の比率：14日目の個体数／12日目の個体数

0.2d^{-1} で個体数の減少が著しいのは、希釈率の増加にともなう藻体の系外流出量の増加によるものと推察された。

以上のことから、初夏、水温の上昇にともない、*Anabaena* 属から *Microcystis* 属へと種の変遷が起こる要因として、*Microcystis* 属の方が *Anabaena* 属に比べ高温適正種であること、水温の上昇に対する馴化能力が高いこと、リンの取り込みの競争関係において優位であること等が関連しているものと推定された。従って実際の霞ヶ浦ではしばしば藻類の変遷パターンとして初夏 *Anabaena* 属の増加後 *Microcystis* 属が優占化する傾向がみられ、その原因として水環境中の諸要因の影響があると考えられるが、とくに水温も重要な因子として注目すべきと思われる。

4. まとめ

- ① *M. aeruginosa* は *A. spiroides* に比べ高温適正種であることがわかった。
- ② 半連続混合培養で *M. aeruginosa* ならびに *A. spiroides* が定常状態に達した後、温度を上昇させたところ *M. aeruginosa* は個体数が維持されたのに対し、*A. spiroides* は著しく減少した。
- ③ 霞ヶ浦における *Anabaena* 属から *Microcystis* 属への種の変遷の要因として水温の上昇が重要であると推察された。

【参考文献】

- 1) GY. Rhee and I. J. Gotham, The effect of environmental factors on phytoplankton growth : Temperature and the interactions of temperature with nutrient limitation, *Limnol. Oceanogr.*, 26 (4), 1981, 635-648.
- 2) D. Tilman, M. Mattson, and S. Langer, Competition and nutrient kinetics along a temperature gradient : An experimental test of a mechanistic approach to a niche theory, *Limnol. Oceanogr.*, 26 (6), 1981, 1020-1033.
- 3) N. Fujimoto, Y. Inamori, N. Sugiura, and R. Sudo, Effects of temperature change on algal growth, *Envir. Tech.*, 15, 1994, 497-500.
- 4) 国立公害研究所研究報告 第25号

(受付 1994. 3. 24)

(受理 1994. 4. 25)