

# 湖山池のカビ臭原因プランクトンに関する研究

【水環境室】

永瀬知美・奥田益算・若林健二

The investigation of the growth characteristics of phytoplankton, a cause of mildew odor in Lake Koyama

Tomomi NAGASE, Masukazu OKUDA, Kenji WAKABAYASHI

## Abstract

Since 2006, the water and aquatic life of Lake Koyama has been plagued by mildew odor problems.

2-Methylisoborneol, known as one of mildew odor materials, was detected from the lake at the time of the problem occurred, and high levels of *Planktothrix raciborskii*, the phytoplankton that belongs to the Oscillatoriales category of Cyanobacteria, were observed.

We attributed this phytoplankton as the cause of mildew odor. Aiming to resolve the mildew odor problem, we conducted an investigation along two viewpoints and goals: to clarify the phytoplankton outbreak mechanism, and to consider ways to control the phytoplankton outbreak. We will report our findings here.

## 1 はじめに

湖山池において、2006年初秋に漁業者からの情報により、湖水及びシラウオ等へのカビ臭の着臭が発生していることが確認された。その際、湖水及び魚体からカビ臭物質である「2-メチルイソボルネオール（以下、MIBとする）」が高濃度（高値の時期では、約5 $\mu\text{g/L}$ ）で検出された。（参考：水道法に定められたMIBの水質基準は0.01 $\mu\text{g/L}$ 以下である。）同じく、カビ臭物質として知られている「ジオスミン」は検出されなかった。また、湖水中には図1に示す藍藻類ユレモ目に属する植物プランクトンが多く観察された。なお、この植物プランクトンは、水面を覆うまでのアオコ状態を成す種であった。（図2）

以後、湖山池では毎年夏から秋にかけてカビ臭問題が発生している。

ここで、湖沼におけるカビ臭発生の原因については生物によるものが多く知られているが、カビ臭原因生物特定判断について中村の報告<sup>1)</sup>により、「カビ臭物質の特定」、「臭気と生物の相関」、「培養によるカビ臭産生の確認」の3つの事項が重要であると述べられている。このことを湖山池での事例について検証すると、

当所のGC/MS機器分析により、湖水及びシラウオ等の魚体からMIBが検出されたこと。

湖水にて確認されたユレモの計数結果とMIBの湖水全量分析結果の相関関係が高かったこと。（図3）

湖水中でMIBと同時に観察されたユレモの単藻分離培養株のMIB産出能がGC/MS機器分析により確認されたこと。

という3点全て確認できたことから、湖水中に多く観察された藍藻類ユレモ目に属する植物プランクトンがカビ臭の原因生物であると特定した。当初、この植物プランクトンを*Oscillatoria tenuis*として同定していたが、形態分類の専門家との協議の結果によりこの植物プランクトンは、アオコ形成種の藍藻類ユレモ目に属する*Planktothrix raciborskii*（以下、*P.raciborskii*とする。）であることが判明した<sup>2,3)</sup>。

そこで本報では、このカビ臭問題を背景とし、その解消を目指したカビ臭原因プランクトンの発生機構の解明及び発生抑制策の検討という2つの視点に沿って調査研究、情報収集した結果を報告する。

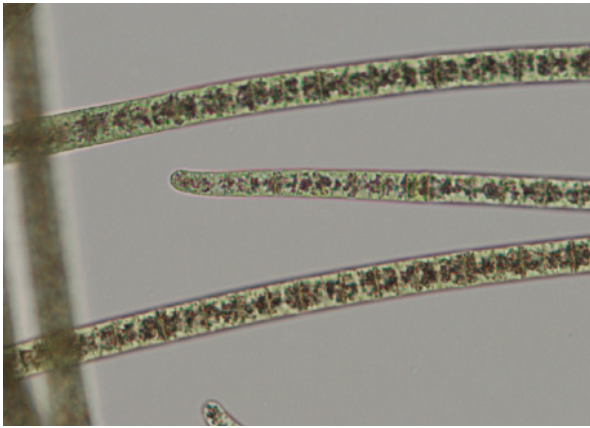


図1 湖山池から単藻分離した *P. raciborskii* の生物顕微鏡写真 (400 倍撮影)



図2 カビ臭原因プランクトンによるアオコ状態

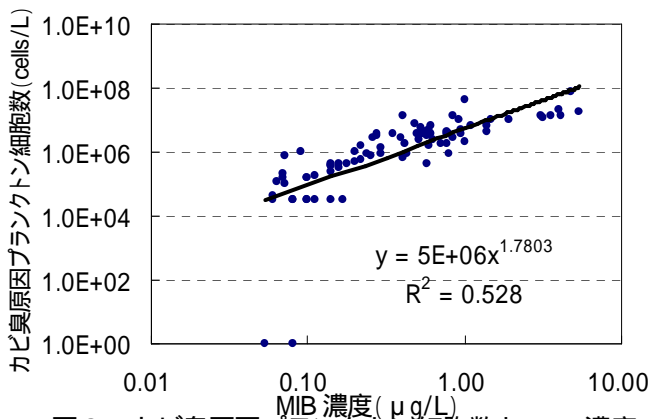


図3 カビ臭原因プランクトン細胞数とMIB濃度 (湖水MIB濃度が0.05μg/Lを超える値を抽出)

## 2 カビ臭原因プランクトンの特徴と増殖特性

カビ臭原因プランクトンの発生要因及び発生抑制策を検討する上で重要となる、プランクトンの特徴やその増殖特性等について室内試験及び文献調査を行った。

### 1) 室内培養試験

湖山池は、水門のある湖山川を經由して日本海に通じており、海水と湖水が交換されている。

2005年度から水門操作を変更する塩分導入実証試験が行われている。

これにより、湖山池の塩化物イオン濃度は、4~8月の間は300mg/L、9~11月までの間に500mg/L (2008年度は700~800mg/L)まで上昇させ、11~4月の間に300mg/Lまで降下させる目標となった。

これに注目し、塩分コントロールによるカビ臭原因プランクトンの増殖制御の可能性を検討するため、塩化物イオン濃度変化による増殖特性把握のための以下の室内培養試験を実施した。

#### (1) 培養試験に使用した基準培地<sup>4)</sup>

室内培養試験の基準培地は、表1に示す改変M11培地とした。

表1 改変M11培地の組成

NaNO <sub>3</sub>	100mg/L
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	10mg/L
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	75mg/L
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	40mg/L
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	30mg/L
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	1mg/L
Na <sub>2</sub> EDTA·2H <sub>2</sub> O	1mg/L
P metals*	3mL/L

#### \*P metalsの組成

FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O	196mg/L
MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	36mg/L
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	22mg/L
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	4mg/L
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	2.5mg/L
Na <sub>2</sub> EDTA·2H <sub>2</sub> O	1000mg/L

#### (2) 供試藻類

湖山池湖水からキャピラリーピペット法により単藻分離した、*P. raciborskii*を使用した。

#### (3) 培養方法

人工海水を用いて塩化物イオン濃度を0~17000mg/Lに調整した改変M11培地200mLを三角フラスコにとり、これに*P. raciborskii*を接種し、藻類培養試験器により水温30℃、照度2000Lx、50rpmで振とう培養した。培養開始時及び増殖開始後14日目のクロロフィルa濃度から増殖能力を比較するため、比増殖速度定数を求めた。

#### (4) 結果及び考察

塩化物イオン濃度 0~17000mg/L におけるカビ臭原因プランクトンの比増殖度定数を図4に示す。

塩化物イオン濃度 0~6000mg/L においては増殖可能であったが、7200mg/L 以上で増殖不能であった。

また、Sudaらにより、*P. raciborskii* は塩化物イオン濃度 4300mg/L まで増殖可能であり、7000mg/L 以上で増殖不能という報告もなされている。<sup>5)</sup>

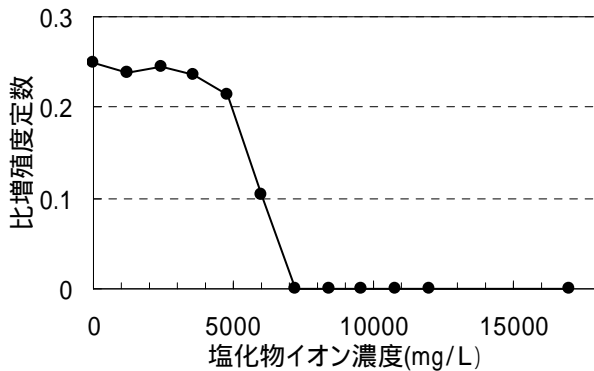


図4 塩化物イオン濃度と比増殖度定数

## 2) 文献調査結果

### (1) 増殖特性<sup>5)-7)</sup>

*P. raciborskii* は水温 20~30 で増殖し、また、40 という高温でも増殖が可能であるということが報告されている。

また、一般にユレモは、栄養塩類についてはTN/TP比が20~25と高い水域を好むことが知られている。

室内試験ではアナベナ共存下でオシラトリアの増殖が抑制されるという報告があるが、現場においての種間競争の詳細は未解明である。

### (2) カビ臭発生機構<sup>1),8)-10)</sup>

一般的に、カビ臭産生生物は細胞が増殖するときにカビ臭物質を産生すると言われているが、近縁種や同一種内でも株の違いによる産生・非産生の別や、継代培養により産生様相の変化が報告されている。また、共存微生物のカビ臭物質産生遺伝子の発現に対する影響や、共存微生物の代謝産物の影響が推測されているが、それらの生理活性や代謝経路の詳細はあまり解明されていないのが現状のようである。

今後、これらの発生機構、代謝経路、生物活性等の解明によりカビ臭問題解決の糸口が見つかる可能性があるため、この分野の研究が進展することが望まれる。

## 3 環境要因とカビ臭原因プランクトンの発生について

植物プランクトンの増殖の重要な要素である「水温」、「塩分」、「栄養塩類」に着目し、湖山池での環境変動とカビ臭原因プランクトン発生との因果関係を見出すべくそれぞれについて解析を実施した。なお、カビ臭問題発生時期の近年の短期的傾向及び長期的傾向の両面から解析を行った。

### 1) 水温について

湖山池常時監視結果(中央部)の水温を用い、一次回帰分析により長期的な水温傾向について解析したところ、年間平均値は上昇傾向にあり、その上昇率は+0.031 /年であった。(図5)一方、カビ臭が発生する6~9月について月別に抽出したところ、統計的に有意な上昇傾向は認められなかった。(図6)

また、県がカビ臭原因プランクトンの調査を実施した2006~2008年度の現場調査のデータから、カビ臭原因プランクトンと水温の経時変化、相関関係をみたところ20以上でプランクトンが頻出する傾向があった。(図7)また、プランクトン細胞数が $1.0 \times 10^5$  cell/Lのラインで見ると、初夏または初秋の水温が20を超えたあたりで細胞数は顕著に多くなり初秋の水温が15程度になるまで残存していることが分かった。

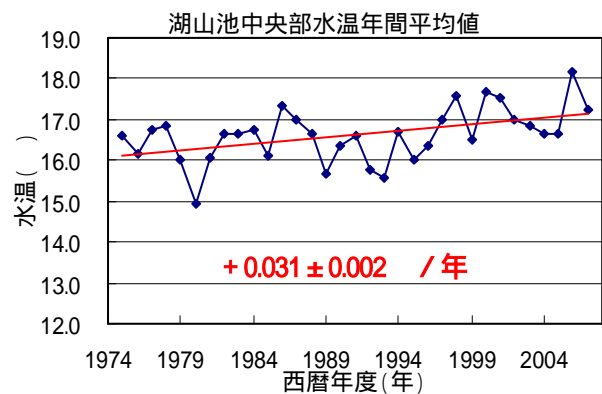


図5 湖山池中央部の水温年間平均値の長期変動

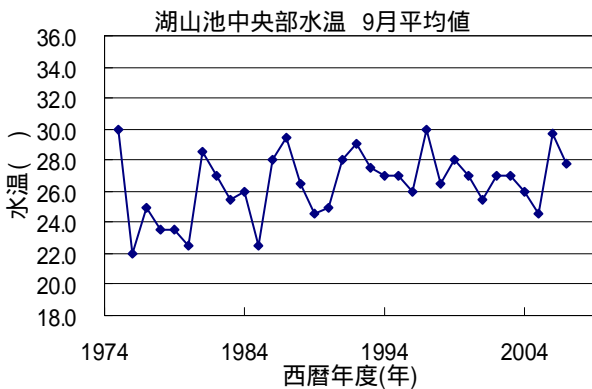


図6 湖山池中央部の水温9月平均値の長期変動  
(6~8月のグラフは省略する。)

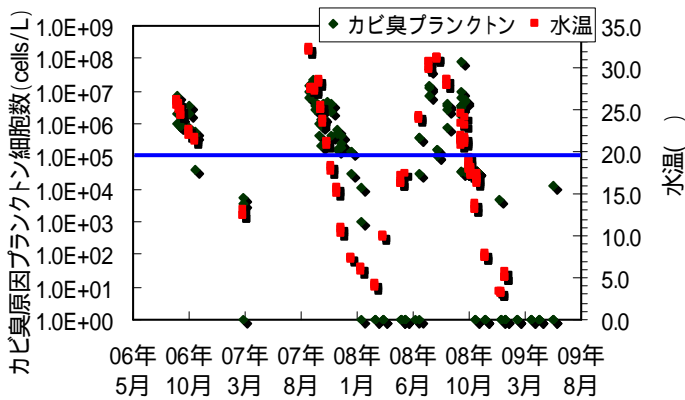


図7 湖山池のカビ臭プランクトン細胞数と水温の経時変化

## 2) 塩分について

湖沼の植物プランクトンの優占種は、一般に淡水、汽水で大きく変化することが知られている。そこで、これまでの湖山池の塩化物イオン濃度の変化について整理し、この変化と近年の植物プランクトンの様態変化の関係についての解析を行った。

なお、先に述べたように、湖山池では2005年度から塩分導入実証試験を実施している。

近年の湖山池の塩化物イオン濃度の推移を図8に示す。表層水、下層水(湖底から0.5m上位の水層)とも同程度であり、1999~2004年までは4~10月100~120mg/L程度、11~12月に300mg/L程度まで上昇、12~4月で100mg/L程度まで下降という年間サイクルで推移している。一方、2005~2008年は、塩分導入試験により4~9月に300mg/L弱、10~11月に500~800mg/Lを目標に上昇させ12~4月にかけて300mg/Lまで下降とそれまでとは異なる年間サイクルで推移している。

ここで、塩化物イオン濃度の変化と藍藻3属(オシロトリア属、アナベナ属、ミクロキスティス属)の関係を見てみると、塩化物イオン濃度100~500mg/Lの範囲において、藍藻3属は幅広い範囲で過去にも出現しており、現時点では塩化物イオン濃度との明確な因果関係は認められない。(図9)

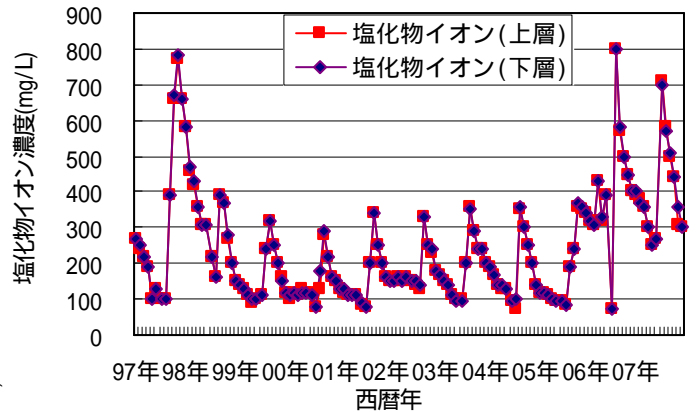


図8 湖山池中央部塩化物イオン濃度時系列変化

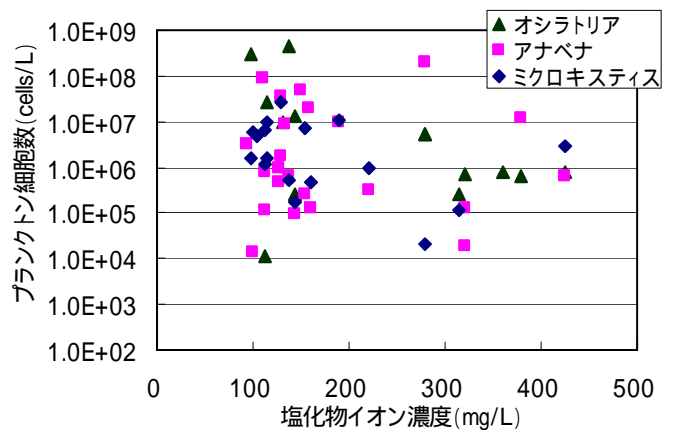


図9 湖山池での藍藻3属と塩化物イオンとの相関図  
(97年~07年6~9月結果の表示)

## 3) 栄養塩類

植物プランクトンの増殖を左右する因子として基礎的かつ重要な栄養塩類である窒素及びリンについて、湖山池の過去からの傾向とカビ臭原因プランクトン発生との関連性について解析を行った。

1997~2007年の全窒素及び全リンの濃度推移を図10に示す。

1997~2007年の期間の全窒素は、約0.5mg/L前後で推移しており、その平均値は0.47mg/Lであった。また、1997~2005年までの間は図のとおり若干の減少傾向が読み取れるが、一転して2005年以降は若干漸増しているよう



に読み取れる。

一方、全リンは、1997～2007年の期間では約0.05mg/L前後で推移しており、平均値は0.049mg/Lであった。また、2004年までは若干の減少傾向で推移してきたが、それ以降については特徴的な増減傾向は認められない。

また、カビ臭発生が問題となった2006～2007年の期間では、2007年の夏期を除いて全窒素(T-N)、全リン(T-P)とも過去5年以内の変動幅の範囲内で推移している。

一般に植物は、栄養塩として無機態の窒素、リンを直接利用し生長することが知られており、この濃度推移が植物プランクトンの発生の重要な要因となることが多い。そこで、無機態窒素(ここではアンモニア態窒素、亜硝酸態窒素及び硝酸態窒素の総量とする)無機態リン(ここではリン酸態リンとする)についてみると、カビ臭問題発生と同時期の2006年度から無機態窒素及び無機態リン濃度の上昇傾向が確認されたが、無機態窒素及び無機態リンの上昇原因及びプランクトンとの関連性については、現在のところ明らかではない。

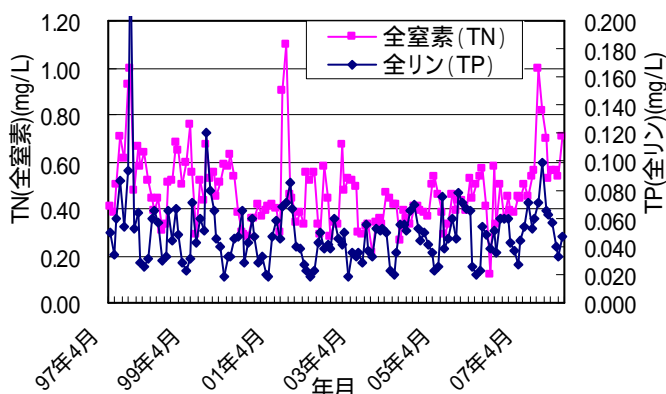


図10 湖山池中央部上層の全窒素及び全リン経時変化

#### 4 カビ臭抑制策の検討

カビ臭問題について、考え得る抑制方法のうち湖山池での適否を考慮して情報収集を行った。

##### 1) 光制御<sup>10) - 13)</sup>

光を制御することにより植物プランクトンの光合成を阻害し、増殖を抑制するために行う方法であり、部分遮光法、湖水人口循環法等がある。

このうち、部分遮光法は、湖面を遮光シート等で覆い植物プランクトンの光合成を抑制する方法であり、一般には湖面の3割程度の遮蔽が必要となる。そのため、カビ臭原因プランクトンの増殖水域が特定の場所に限定される場合には有効であると考えられる。

##### 2) 塩分制御

室内実験の結果では、*P. raciborskii* は塩化物イオン濃度6000mg/Lでも増殖可能となっている。

現段階では、現場での塩分濃度の上昇による*P. raciborskii*の増殖抑制効果については不明であるものの、仮に室内実験結果をそのまま現場に当てはめ、塩化物イオン濃度を6000mg/L以上に湖水を制御し、*P. raciborskii*の増殖を抑制することを考えた場合、農業用水としても利用されているという現状や水門操作法等の課題があり、塩化物イオン濃度を6000mg/L以上にすることは現実的に困難と考えられる。

##### 3) 栄養塩制御

淡水湖の植物プランクトン群集の増殖活性について無機態窒素、無機態リン濃度がそれぞれ0.014mg/L、0.003mg/Lで制限(抑制)される傾向があるという報告<sup>14)</sup>がある。

この値より、湖山池を検証した結果、湖山池はリン制限となる頻度が比較的高い。そのため、一つの方法として、リンの流入削減によるカビ臭原因プランクトンの増殖抑制等の内部生産抑制が有効であると考えられる。

リンの流入削減には、従来下水道整備等の他、下水道排水の系外放流や流入直前に捕捉する湖内湖等も有効であると考えられる。

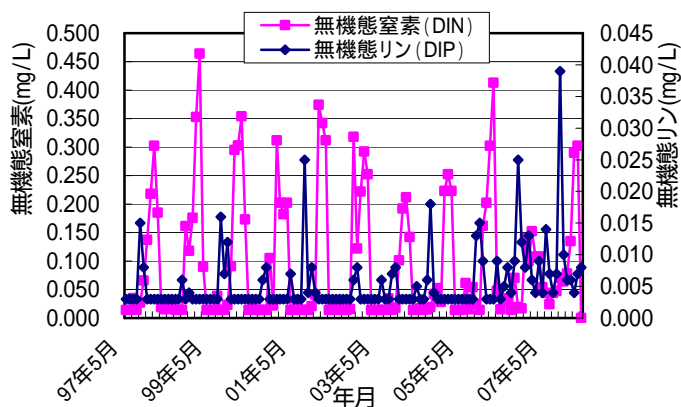


図11 湖山池中央部上層の無機態窒素及び無機態リン時系列変化

## 5 まとめ

本研究により、カビ臭原因プランクトンの発生と主な環境要因との解析を行ったところ、水温と塩化物イオンについては、明確な関連は認められなかったが、カビ臭問題発生と同時期に無機態窒素及び無機態リンの濃度上昇が認められ、無機態窒素及び無機態リン濃度上昇の原因やカビ臭原因プランクトンの増殖との関連性についても今後更なる検証が必要である。

カビ臭原因プランクトンに限らず、アオコ等プランクトンの発生については、湖の富栄養化が大きな要因であることは知られており、水質管理計画に基づき、汚濁負荷削減をより一層推進していくことが重要であると考えられる。

一方で、汚濁負荷対策のみでは多くの時間を要することから、全国で試みられている様々なカビ臭問題への対策を調査した。その中でも光の制御によりプランクトンの増殖抑制を行う湖水人口循環法、部分遮光法は水道水源等で実績のある手法であるが、湖山池への適用については、水深が浅く、湖面積が大きく、漁業をはじめとして湖全体で様々な活用が図られていることを考えれば、困難を要するものである。

また、湖沼の生態系は複雑であり、現段階では未解明な部分が多いため、特に生態系に視点を置き湖山池の汚濁機構の検証を行う等、カビ臭問題等への新たな対策へつながるよう研究を継続することが重要である。

## 6 参考文献

- 1) 中村寿子：糸状藍藻類の種類および形態変化と臭気，  
用水と排水，Vol.31 No.10，52-59(1989)
- 2) Komarek, J. and Anagnostidis：Cyanoprokaryota 2.teil  
Oscillatoriales(2005)
- 3) 渡邊眞之：日本アオコ大図鑑(2007)
- 4) 国立環境研究所：NIES-Collection LIST OF STRAINS  
Seventh Edition (2004)
- 5) Shoichiro Suda ら：Taxonomic revision of water-bloom-  
forming species of oscillatoriid cyanobacteria, International  
Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, Vol  
52(2002)
- 6) 高村典子：国立環境研究所ニュース Vol.11 No.3(1992)
- 7) 保尊とし子ら：カビ臭原因生物 *Oscillatoria tenuis* Agardh  
の増殖特性について，用水と排水，Vol.31 No.9，32-37  
(1989)
- 8) 根来健ら：カビ臭発生機構 - 藍藻類 - ，用水と排水，  
Vol.26 No.8，21-26(1984)
- 9) 根来健ら：Oscillatoria tenuis による琵琶湖南湖のカビ  
臭，用水と排水，Vol.29.No.7，3-8(1987)
- 10) Susan B Watson：Cyanobacterial and eukaryotic algal  
odour compounds: signals or by-products? A review of their  
biological activity，Phycologia，Vol.42(4)，332-350(2003)
- 11) 北澤弘美ら：貯水池におけるアオコ制御 - 小河内貯  
水池での事例 - ，用水と排水，Vol.50 No.10，54-60(2008)
- 12) 小島貞男ら：局部遮光による藻類（アオコ）制御の  
実証的研究，用水と排水，Vol.42 No.5，5-12(2000)
- 13) 小島貞男：富栄養化対策としての湖水人口循環法 -  
その原理と実績 - ，日本水処理生物学会誌，Vol.24 No.1，  
9-23(1988)
- 14) C.S. Reynolds：Phytoplankton designer- or how to predict  
compositional responses to trophic-state change，Hydrobiologia，  
424，123-32 (2000)