

藻類生長阻害試験と増殖ポテンシャル試験による 三方湖流入河川水の評価

保月勇志・蔦原仁平・吉舎直輝・田中宏和

Algal Growth Inhibition and Growth Potential Tests in Inflow Rivers of Lake Mikata.

Takeshi HOZUKI, Jinpei TSUTAHARA, Naoki KISA, Hirokazu TANAKA

1. はじめに

三方五湖は福井県美浜町と若狭町にまたがって位置する5つの湖の総称であり、それぞれの湖は海水と淡水の比率や水深が異なることから、近隣の梅丈岳山頂から見る水の色には差がみられ、景勝地として有名である。その中の三方湖は三方五湖の最上流部に位置し、代表的な流域河川である鱒川の水が流入している。この地理的条件により、三方湖には鱒川流域の田畑、住居、事業場等の排水に含まれる栄養塩類（窒素、燐）や化学物質が最初に流入し、集積しやすい。このことから、他の湖に比べて三方湖は有機汚濁が進行しやすく、また、湖に棲息する生物にとっては流域からの化学物質等の影響を直接受けやすい環境にある。特に湖水中の藻類は流入水の影響を受けやすい生物であるが、有機汚濁の主要因であるとともに、一次生産者として水圏生態系の基底をなす生物でもある。そのため、そのバイオマスや種構成は、湖沼の水質や水圏生態系に大きな影響を及ぼす重要な指標である。

著者らは前報²⁾において、北潟湖の代表的な流入河川である観音川の水が湖内の藻類へ与える影響を評価するために、藻類生長阻害試験と増殖ポテンシャル試験を併せて実施した。その結果、春季から夏季にかけて、毒性と増殖ポテンシャルがともに高い傾向を確認し、これらの相反する特性から、限られた種の藻類が異常に増殖する事象（ブルーム）が発生しやすい環境が形成される可能性を指摘した。

このような研究結果を受けて、同じく福井県内にある三方湖に流入する河川水の特長評価を目的とし、同様な調査を実施した。本報ではその結果を紹介する。

2. 方法

2.1 試料

試料は、鱒川の末端付近（図1）において、2023年4月10日、5月12日、6月6日、7月19日、8月1日、9月13日、10月3日、11月7日、12月5日、2024年1月17日、2月14日、3月15日に河川水を採取した。試料は冷暗条件で実験室に持ち帰り、前処理として1mm ガラスフィルターおよび0.22mm メンブレンフィルター（PVDF）でろ過したものをステンレス缶に入れ、試験に供するまで-30℃で冷凍保存した。

2.2 藻類生長阻害試験

藻類生長阻害試験は、既報³⁾の試験方法を用い、*Microcystis aeruginosa* (NIES-843) を使用した。なお、本株は国立環境研究所微生物系統保存施設から分譲を受けた。



図1 採水地点

2.3 増殖ポテンシャル試験

増殖ポテンシャル試験は、前報²⁾を参考に実施した。なお、従来のAGP試験と比較するために、光合成活性指標（Fv/Fm、ETR）と29日間培養後のクロロフィル量との関連性を検討し、培養10日目の電子伝達速度の最大値（rETR max）がクロロフィル量と相関が確認されたことから、rETR maxを増殖ポテンシャル指標とした。

2.4 水質分析

前報²⁾と同様に実施した。

2.5 解析

毒性影響の評価指標には、無影響濃度（NOEC：No Observed Effect Concentration）、5%影響濃度（EC₅）および毒性単位（TU：Toxic Unit）の3種を用いた。NOECは、ダネット検定によりコントロールとの有意差（p<0.05）がなかった濃度区の最大値とした。また、EC₅は統計解析ソフトRのdrcパッケージを用い、ロジスティック回帰により毒性閾値として生長速度を5%減少させる影響濃度を求めた。TUはEC₅の逆数として算出した（式1）。なお、TUは試料が無影響となるまでに必要な希釈倍率と考えることができる。

$$TU = \frac{1}{EC_5} \quad (\text{式1})$$

また、試料水に含まれる金属および農薬の測定濃度を、文献等^{4,5)}から得た藻類に対するNOECで除して予測毒性値（HQ：Hazard Quotient）を求めた（式2）。

$$HQ = \frac{\text{測定濃度}}{\text{NOEC}} \quad (\text{式 2})$$

3. 結果

3.1 生長阻害試験

生長阻害試験の結果を表 1 に示した。12 検体中 5 検体の NOEC が 80% 以上であり、TU の最高値は 2.6 であった。春季から秋季にかけての TU は低い傾向を示し、冬季はやや高めの 2.0~2.6 であったが、北潟湖流入河川水の TU (10 以上) と比較すると²⁾明らかに低い値であった。

3.2 水質分析

pH 等の基本的な項目および栄養塩に関する水質分析結果を表 2 に示した。生物応答試験に使用した *Microcystis aeruginosa* は塩分の影響を受けやすい種であるが、試料中の塩分は 0.05~0.06 PSU であり、*Microcystis aeruginosa* の塩分耐性閾値 (2~35PSU)⁶⁾よりも著しく低く、生長阻害への影響は考えにくい濃度であった。また、栄養塩の濃度範囲は、亜硝酸態窒素が 0.00~0.01 mg/L、硝酸態窒素が 0.24~0.65 mg/L、アンモニア態窒素が 0.03~0.08 mg/L、磷酸態磷が 0.000~0.022 mg/L であり、OECD 培地の窒素および磷の含有濃度 (N:3.927mg/L、P:0.285mg/L)⁷⁾と比べて低値であった。

次に、金属類濃度から HQ を算出し、時系列の積み上げ棒グラフとしたものを図 2 に示した。種別にみると、ニッケル、銅および亜鉛の HQ が占める割合が大きく、年間を通して高値を示した。ただし、全ての金属類を積算した Σ HQ metal の平均値は 0.4 であり、北潟湖流入河川水 (Σ HQ metal 平均値 0.6)²⁾と比較すると低値であり、全体的にも低い傾向がみられた。

さらに、農薬の測定結果を図 3 に示した。農薬は年間を通じて検出されたが、特に高濃度となったのは 5 月から 8 月であり、その間に検出された農薬は測定対象の 128 種のうち 22 種であった。図 3 では、それぞれの農薬を除草剤、殺虫剤、殺菌剤および植物成長調整剤に区分して表記した。また、それぞれの農薬から積算した HQ の推移も併せて示した。HQ は、5 月および 6 月に高値を示したが、いずれも除草剤の影響が強く、5 月ではプレチラクロールが 0.67、フェントラザミドが 0.21 となり、6 月ではフェントラザミドが 0.21、ピラクロニルが 0.27 となり高値を示した (表 3)。

表 1 生長阻害試験結果一覧

採取日	NOEC	EC ₅	TU
2023/4/10	≥80%	100%	1.0
5/12	≥80%	100%	1.0
6/6	40%	62%	1.6
7/19	≥80%	77%	1.3
8/1	40%	68%	1.5
9/13	40%	64%	1.6
10/3	40%	68%	1.5
11/7	≥80%	100%	1.0
12/5	≥80%	100%	1.0
2024/1/17	40%	50%	2.0
2/14	40%	38%	2.6
3/15	40%	43%	2.3

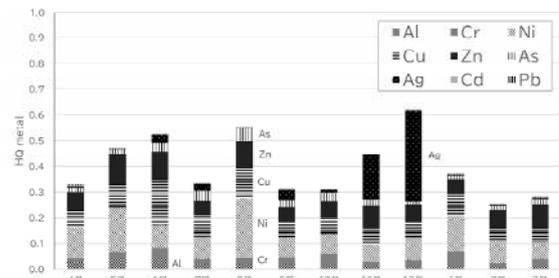


図 2 HQ metal の年間推移

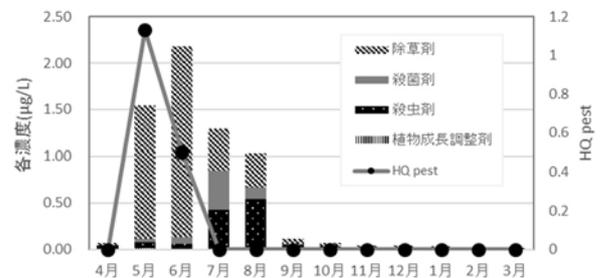


図 3 農薬の剤別濃度推移と HQ pest の年間推移

表 2 試料の水質情報

採取日	水温 (°C)	EC (µS/cm)	塩分 (PSU)	pH	DO (mg/L)	DOC (mg/L)	DN (mg/L)	NO ₂ -N (mg/L)	NO ₃ -N (mg/L)	NH ₄ -N (mg/L)	DP (mg/L)	PO ₄ -P (mg/L)
2023/4/10	16	94	0.05	7.4	10.2	1.2	0.62	0.01	0.47	0.05	0.018	0.000
2023/5/12	17	87	0.05	7.5	9.6	1.3	0.66	0.00	0.50	0.08	0.024	0.000
2023/6/6	18	85	0.05	7.5	8.9	1.4	0.65	0.00	0.45	0.08	0.023	0.000
2023/7/19	23	104	0.05	7.5	8.2	1.2	0.62	0.00	0.45	0.07	0.034	0.003
2023/8/1	30	139	0.06	7.5	8.7	2.0	0.44	0.00	0.24	0.08	0.042	0.003
2023/9/13	26	119	0.05	7.5	8.7	1.2	0.61	0.00	0.53	0.04	0.027	0.022
2023/10/3	21	109	0.05	7.5	9.3	1.2	0.57	0.00	0.45	0.04	0.024	0.002
2023/11/7	17	91	0.05	7.5	9.3	1.3	0.62	0.00	0.51	0.03	0.021	0.000
2023/12/5	11	85	0.05	7.7	11.1	0.8	0.75	0.00	0.65	0.04	0.011	0.000
2024/1/17	10	77	0.05	7.8	11.9	0.8	0.69	0.00	0.60	0.05	0.010	0.000
2024/2/14	11	72	0.05	7.9	11.0	0.7	0.59	0.00	0.52	0.04	0.011	0.000
2024/3/15	10	69	0.05	7.7	11.4	0.8	0.53	0.00	0.45	0.04	0.010	0.000

表 3 HQ が高値を示した主な農薬

採水日	農薬名	農薬種別	logPow	藻類NOEC(μg/L)	濃度(μg/L)	HQ
5/12	ピラズルスフロンエチル	除草剤	0.01	0.35	0.07	0.19
	フェントラザミド	除草剤	3.6	0.49	0.10	0.21
	プレチラクロール	除草剤	3.9	0.53	0.35	0.67
	ピラクロニル	除草剤	2.2	3.00	0.07	0.02
	ブタクロール	除草剤	4.4	0.49	0.02	0.04
6/6	フェントラザミド	除草剤	3.6	0.49	0.10	0.21
	プレチラクロール	除草剤	3.9	2.92	0.10	0.03
	ピラクロニル	除草剤	2.2	3.00	0.82	0.27

3.3 増殖ポテンシャル試験

増殖ポテンシャルを調査した結果を図4に示した。増殖ポテンシャルは、春季から秋季(4月~11月)にかけて高い傾向にあり、冬季(12月~3月)は低い傾向を示した。最大値は8月の67μmol electrons/(m²・s)であり、最小値は1月の29μmol electrons/(m²・s)であった。

4. 考察

4.1 生長阻害試験

金属類濃度および農薬濃度から算出した予測毒性値(HQ)とTUを図5に示した。今回の調査ではTUの最高値は2.6であり、前報の北潟湖の流入河川水の結果²⁾と比較すると全体的に毒性が低い傾向を示した。また、金属類由来の予測毒性値(HQ metal)についても同様に、北潟湖の流入河川水に比べて低い傾向がみられた。一方、農薬由来の予測毒性値(HQ pest)は北潟湖流入河川水と同程度であり、最も高い5月には1を超えた。しかし、同月のTUは他の月に比べて特に高い値でないことから、農薬の影響はそれほど大きくないものと考えられた。以上から、三方湖の流入河川の鱒川においては、年間を通して藍藻に対する毒性は低く、また毒性要因も少ないことが示唆された。

4.2 増殖ポテンシャル

増殖ポテンシャル試験の培養条件において指標に用いたrETRmaxと有機物生成能との関係を求めるため、予備試験を行った。その結果、有機物の増加は約29日間で定常状態となることが分かった。そのため、29日目の培養液中のTOCと10日目のrETRmaxとの関係を直線回帰により近似し、式3を得た。4月~11月の増殖ポテンシャルについて式3からTOC濃度を求めた結果、TOC換算で40mg/L程度を増加させるポテンシャルであると計算された。

$$\text{TOC (mg/L)} = 0.24 \times \text{rETRmax} + 25 \quad (\text{式3})$$

これは、過去に小規模なアオコが発生した際の三方湖の湖水中の濃度TOC 7.5mg/L⁸⁾と比較しても高値であり、藻類の異常増殖を起こしうるポテンシャルであると考えられる。また、北潟湖流入河川水の調査において増殖ポテンシャルが高値を示した6~7月のrETRmaxはTOCを30~36mg/L増加させるポテンシャルであったこと²⁾と比較すると、鱒川はさらに高い増殖ポテンシャルが長期間にわたり続くと推定された。

次に、増殖ポテンシャルと各水質調査項目との相関を求め図6に示した。正の相関が強かった項目は溶存有機炭素(DOC)と溶存態燐(DP)であり、DPは主たる栄養塩で

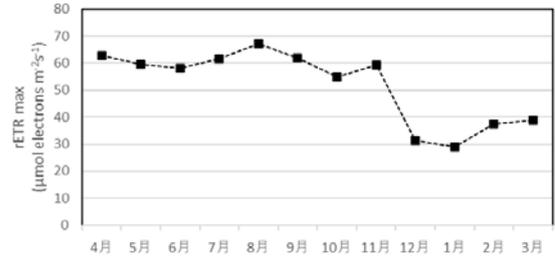


図4 増殖ポテンシャルの年間推移

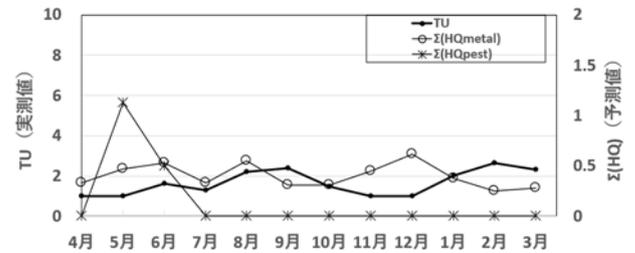


図5 毒性実測値(TU)と毒性予測値(ΣHQmetal, ΣHQpest)の推移

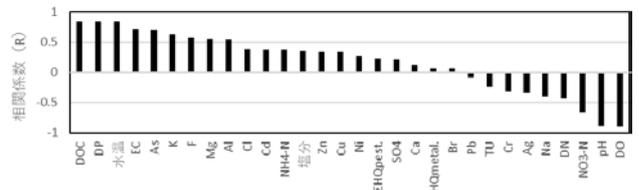


図6 増殖ポテンシャルと各水質項目との相関係数(R)

あることから、生長を促す因子として増殖ポテンシャルと強い相関があることは理解しやすい。またDOCと増殖ポテンシャルとの相関が高かったことは北潟湖流入河川の調査でも共通しており、生物利用可能な一部の有機物(糖やビタミン等)を従属的に利用^{9,10)}して藻類が増殖した可能性が考えられた。

4.3 湖内の藻類への影響と対応

今回の調査で鱒川の水は藍藻に対する毒性が低く、増殖ポテンシャルが高いことがわかった。そのため、流入河川水の毒性が湖内の藻類の種構成に影響するリスクは低いと考えられるが、春季から秋季にかけてはバイオマスが増加することが想定され、このことは藻類が異常増殖するリスクが高いことを意味している。その対応策としては生長を促す因子として確認された燐やDOCの流入河川水中の量を低減させることが有効と考えられる。鱒川流域においては、燐やDOCは濁水に由来する負荷量が多いことが分かっていることから¹¹⁾、増殖ポテンシャルの低減を図るためには田畑からの農業濁水流出を適切に管理することが重要と考えられた。

5. まとめ

三方湖に流入する鱒川河川水を対象とし、藍藻生長阻害試験と増殖ポテンシャル試験を行った。毒性は冬季に高くなる傾向がみられたが、TUは2.0～2.6であり、北潟湖流入河川と比較すると明らかに低値であった。また増殖ポテンシャルは、4月～11月において高値を示した。

これらのことから、三方湖流入河川水の低毒性は湖内の藻類の種構成には影響を及ぼしにくいものの、増殖ポテンシャルはブルームを発生しうる程度に高いことが懸念された。増殖ポテンシャルにはDOCやDPが寄与していることが確認されたため、これらの流入を抑制することが有機汚濁進行に対して有効と考えられた。

謝辞

本研究は、文部科学省「特別電源所在県科学技術振興事業費補助金」により実施したものである。また、国立研究開発法人国立環境研究所と地方環境研究所等のⅡ型共同研究課題「多様な水環境の管理に対応した生物応答の活用に関する研究」の参加機関の皆様には多大なご助言をいただいた。関係者の皆様に感謝申し上げます。

参考文献

- 1) 環境省：日本の汽水湖 ～汽水湖の水環境の現状と保全～ (2014)
- 2) 保月勇志, 薦原仁平, 吉舎直輝, 田中宏和：藻類生長阻害試験と増殖ポテンシャル試験による北潟湖流入河川水の評価, 22 (2024)
- 3) 保月勇志, 吉舎直輝：藍藻 *Microcystis aeruginosa* を用いた生長阻害試験方法の構築. 福井県衛生環境研究センター所報, 21 (2023)
- 4) European Chemicals Agency. <https://echa.europa.eu/brief-profile/-/briefprofile/100.028.326>
- 5) 環境省： <https://www.env.go.jp/water/sui-kaitei/kijun.html>
- 6) Yu Qiu et al：The Detrimental Effect of High Salinity on the Growth and Microcystins Contamination of *Microcystis aeruginosa*. *Water*, 14(18), 2871 (2022)
- 7) OECD：Fresh Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test, Guidelines for the Testing of Chemicals NO.201 (2006)
- 8) 保月勇志：福井県の湖沼における有機物の新たな指標による評価による評価と浄化に関する研究(第1報). 福井県衛生環境研究センター所報, 17 (2019)
- 9) Andreeva, A., et al.: Influence of Carbohydrate Additives on the Growth Rate of Microalgae Biomass with an Increased Carbohydrate Content. *Marine Drugs*, 19(7), 381 (2021).
- 10) Sanudo-Wilhelmy, Sergio A., et al.: The Role of B Vitamins in Marine Biogeochemistry. *Annual Review of Marine Science*, 8, 25-51 (2016).
- 11) 保月勇志：福井県の湖沼における有機物の新たな指標による評価による評価と浄化に関する研究(第2報). 福井県衛生環境研究センター所報, 18 (2020)