

Microcystis の現場増殖速度と増殖ポテンシャルの評価

筑波大院・生命環境 ○永井孝志、国立環境研 富岡典子、長岡技科大院 川崎達也、
国立環境研 今井章雄、松重一夫、小松一弘、筑波大院・生命環境 福島武彦

Estimations of *In-situ* Growth Rate and Growth Potential of *Microcystis*

Takashi NAGAI (Univ. Tsukuba), Noriko TOMIOKA (Natl. Inst. Environ. Stud.), Tatsuya KAWASAKI (Nagaoka Univ. Technol.),

Akio IMAI, Kazuo MATSUSHIGE, Kazuhiro KOMATSU (Natl. Inst. Environ. Stud.), and Takehiko FUKUSHIMA (Univ. Tsukuba)

1. はじめに

現場における特定の藻類種の増殖速度を測定することは難しい。サンプルを実験室に持ち帰り、連続培養を行って増殖速度を測る方法(ケモスタット法)が一般的であるが、実験室で培養を行うため光源として蛍光灯を使用することになり、現場での光の影響を評価することができない。このため現場増殖速度の測定において、培養期間を必要とせず、特定の種の、生理状態を確実に反映した増殖速度の測定方法の開発が求められてきた。細胞内の RNA 含量を成長速度の指標とする方法はこの条件を満たす。この方法を用いて、一点のサンプリングでサンプル中から *Microcystis* のみの遺伝子を抽出し、その存在量から増殖ポテンシャルを評価することが可能である。本研究では、従来法とこの新しい方法にて増殖速度、増殖ポテンシャルを評価して比較を行い、増殖制限要因の解析を行った。

2. 方法

現在でもアオコが毎年発生する霞ヶ浦近郊の用水路にて、2003年7月から9月にかけての3ヶ月間、週二回程度の調査を行った。ケモスタット法については、未ろ過サンプルに対してろ過滅菌したサンプルを希釈率 0.5 day^{-1} にて流し、二日間培養を行い増殖速度を測定した。コントロールボリュームは1Lとし、温度はサンプリング時の水温を保ち、光は約 3000 lx の強度で明暗をつけて照射した。また、サンプル中から *Microcystis* の rRNA を特異的に増幅させるプライマー (5'-CCTAATTGGCCTGAAGAA-3') を用いて、リアルタイム PCR 法により RNA の定量を行った。RNA 濃度を *Microcystis* の細胞密度で割り、細胞あたりの RNA 含量 (RNA/cell) を増殖速度の指標とした。制限要因としては硝酸、リン酸、水温、日射量をターゲットとした。日射量などの気象データは霞ヶ浦臨湖実験施設に設置してある気象モニターから取得した。

3. 結果と考察

2003年は冷夏となり、高温を好む *Microcystis* の増殖には厳しい条件となった。水温は20度前半が多く、*Microcystis* の細胞密度はいわゆる「アオコ」状態の目安となる $10^5 \text{ cells ml}^{-1}$ を超えることは一度も無かった(図1)。また、ケモスタット増殖速度は RNA/cell とは異なる変動をしていた(図1)。これはそれぞれの増殖速度、増殖ポテンシャルの持つ意味の違いから来していると考えられる。ケモスタット増殖速度の場合はその時点での栄養塩と温度に影響を受ける。RNA/cell の場合は

近い過去～現在の栄養塩、温度、光に影響を受ける。また、RNA/cellの方がケモスタット増殖速度よりも実際の *Microcystis* 細胞密度の変動とよく対応していた。これは実際現場では光の影響が大きかったことを示唆しており、冷夏で日照不足であったことと一致する。実際に RNA/cell は水温、日射量と良く似た変動をしていた。水温と日射量は相関が高かったが、ケモスタット増殖速度と水温との間には相関が見られなかった。よってこの期間、実際の現場で *Microcystis* の増殖の制限要因として最も影響の大きかったのは日射量であると考えられる。

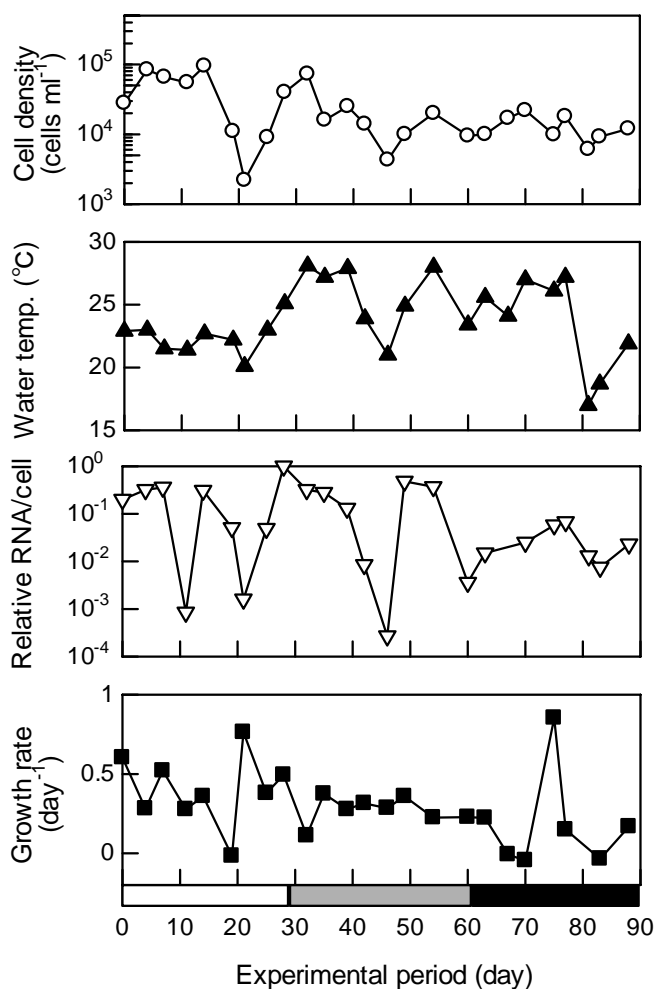


図1. 調査期間における *Microcystis* spp. の細胞密度、水温、細胞あたりの RNA 含量 (最大を1とする相対値)、ケモスタット法による増殖速度。□ は7月、■ は8月、■ は9月を示す。