

新制

農

857

# 琵琶湖におけるアオコを形成するラン藻類の動態

石川 可奈子

2002

琵琶湖におけるアオコを形成するラン藻類の動態

石川 可奈子

2002

## 目次

|  |    |
|--|----|
| 第1章 序論   | 2  |
| 第2章 沿岸域におけるアオコの動態：アオコの生長と集積                    |    |
| 第1節 アオコの水平分布に対する風の影響                           | 5  |
| 第2節 アオコの空間的分布と集積特性                             | 11 |
| 第3節 野外における <i>Microcystis aeruginosa</i> の増殖活性 | 28 |
| 第4節 画像解析を用いた <i>Microcystis</i> 形態的特性          | 41 |
| 第5節 摘要   | 49 |
| 第3章 沖合におけるアオコの動態：沖合アオコの発生機構                    |    |
| 第1節 底泥からの回帰の可能性                                | 51 |
| 第2節 沖合における増殖の可能性                               | 65 |
| 第3節 北湖での高密度分布：<br>環流— <i>Microcystis</i> 仮説    | 72 |
| 第4節 摘要   | 89 |
| 第4章 総括   | 91 |
| Summary and conclusions                        | 94 |
| 謝辞   | 98 |
| 文献   | 99 |

## 第1章 序論

琵琶湖では、その集水域における産業の発達や人口増加、生活様式の変化にともなって、水質が悪化し、植物プランクトン増殖による透明度の低下、さらに、湖水表面に青い粉をふいたような状態を示す「アオコ」(渡辺 1994)が夏になると毎年のように発生するようになった。琵琶湖で最初にアオコが観測されたのは、1983年であり、場所は、比較的富栄養化の進行した南湖であった(滋賀県 2001)。その後、アオコの出現範囲は次第に拡大して、1994年には北湖沿岸の港内において、また1997年には北湖沖合においても膜状のアオコが湖水面に広がっているのが観察されるようになった(吉田ほか 1997; 熊谷ほか 1999)。アオコを形成する藻類の中には、かび臭の原因物質であるジオスミンや2-メチルイソボルネオール、また、肝臓毒のミクロシスチンや神経毒のアナトキシンを生産する種がある。そして、琵琶湖湖水からもアオコ形成時にこれらの有害物質が検出されている(日本水道協会 1993; 水上 1998; 渡辺 1999)。アオコ形成種の毒素は、突発性ミオグロビン症、肝炎、アレルギーの原因となって中毒症状を引き起こすことが知られている(彼谷 2001)。今後、琵琶湖においても、これらの毒性藻類の増殖や予期しない集積によって高密度のアオコ水塊が形成され、人体に被害を及ぼすことが懸念される。琵琶湖の湖水は、近畿1400万人に飲料水として利用されているため、アオコ形成水域の拡大ならびに発生時期の長期化は社会的に重要な問題である。

アオコの原因生物はシアノバクテリア(ラン藻)であり、日本国内では *Anabaena*, *Anabaenopsis*, *Aphanizomenon*, *Aphanothece*, *Coelosphaerium*, *Microcystis*, *Oscillatoria*(一部 *Planktothrix* に改名), *Phormidium* 属などの種がアオコを形成することが報告されている(渡辺 1994)。アオコの発生は日本に限らず世界各地で古くから問題となっているので、とりわけ発生機構に関しては、過去30年以上にわたっておびただしい数の研究がなされてきた(e.g. Reynolds and Walsby 1975; Vincent 1988; Oliver and Ganf 2000)。なかでも、湖水中に含まれる栄養塩類である窒素やリン濃度の構成比に関して、低いN:P比のときアオコ形成種が優占しやすいことが明らかになって以来、栄養塩類に着目した研究がさかんに行われるようになった(e.g. Smith 1983)。最近、ニューロネットワークを用いたコンピュータによるアオコ発生予測の研究も発達してきた(Recknagel 1997)。琵琶湖よりも富栄養化が深刻な状況にある霞ヶ浦では、様々なシミュレーションを用いた研究が進められている(e.g. Howard 1993)。しかしながら、野外の自然環境下においては、水域ごとの特徴的な地形、気象、湖象、その他の生物環境が複雑に影響するため、必ずしも同一条件下で発生す

るとは限らず、多くの湖沼においてアオコの発生予測は未だ難しい。琵琶湖においても、アオコ発生に関連して、窒素、リン濃度と気象要因との関係(Tezuka 1985, 1988; Nakanishi et al. 1992; 吉田ほか 2000)や、水温の影響(Tsujimura et al. 2001)が調べられており、また、大規模な隔離水塊実験による発生条件に関する詳細な考察がおこなわれてきたが(滋賀県琵琶湖研究所 2000)、年ごとに変化する環境に応じてアオコの発生状態が異なるので、今後どのような対策を行うべきか依然として定まっていない。

アオコは一般的に富栄養化した浅い湖沼で発生し、琵琶湖北湖のような大きな深い湖での発生例はほとんど知られていなかった。アオコ形成ラン藻類は、細胞内にガス胞を有して上下運動を行う。夏季の成層が強固なとき、下層に移動することによって表層での栄養塩欠乏からまぬがれるために、下層で栄養補給した後、再び光を獲得するために浮上するといった生態戦略によって他の藻類との優占競争に勝ちぬき、ブルームを形成すると考えられてきた(Reynolds 1989a; Ganf and Oliver 1982; 中原 1993)。すなわち、貧栄養で深い湖沼では、ラン藻類が長い距離を移動しなければならないので、増殖にあまり適した環境とはいえない。しかし近年比較的深い湖のニュージーランドのロトイチ湖(最大水深 126m, 平均水深 32 m; Vincent et al. 1984)やロシアのバイカル湖(最大水深 1741m, 平均水深 740m; Semovski et al. 2001)でも、沿岸の富栄養化に伴って、ラン藻類のブルーム形成範囲が沖合へと拡大していると報告されている。これらの深い湖沼の沖合でみられるアオコは、沿岸からの移流なのか、あるいは沖合でも年間を通じて増殖し、個体数を維持しているのか不明である。今後、地球温暖化、湖沼の富栄養化が進行すると、大きな深い湖の沖合でもアオコのスカムが年中形成されるようになるかもしれない。豊富な生物資源をかかえた湖の生態系のゆっくりとした遷移が、アオコの発生によって急激に破壊されることが心配される(熊谷ほか 2001)。本研究の目的の1つは、琵琶湖のように大きくて深い湖において形成されるアオコの発生機構の解明である。大きな湖には大小様々なスケールの水域が存在するので、それらの水域の特性について理解を深めることにより、沿岸でのアオコ発生と同時に沖合でのアオコ形成機構解明のための作業仮説の提案と、その実証へと発展させたいと考えている。

特に、本論文で強調したい部分は、野外におけるアオコの形成は増殖要素と集積要素に依存するということである。過去には、琵琶湖でウログレナ赤潮が発生したとき、その発生機構に特定プランクトンの異常増殖過程と表層水の流れの収束に伴って濃縮される過程があると報告された(Okamoto et al. 1981)。しかしながら、当時は、野外でプランクトンの集積を測定する方法が十分発達していなかったため、これら2つの要素をそれぞれに測定して検討することは

できなかった。一般的な植物プランクトンの増殖要因については、閉鎖系水域でかつ湖水が十分に混合して密度が均一であるならば、現存量の変化から大まかに評価することができるかもしれない。しかしながら、アオコ形成ラン藻類のように、表層でパッチ状に分布する植物プランクトンの現場における増殖速度を測定する方法は、未だ完成されてない。一方、集積要因の解明については、トレーサーを用いる方法やトラップを用いる方法があるが、琵琶湖においては、放射性同位体をはじめとして、化学物質によるトレーサーの使用が社会的に同意を得られにくいことや、ラン藻類の濃度がトラップで回収するには十分でないなど、一般的に用いられている動態解析手法をそのまま適用できないという問題をかかえている。したがって、アオコ発生のメカニズム解明に加え、増殖や集積要素の測定のための新しい手法開発という課題も残されている。本研究では、増殖要素の測定を行うために、短期的変動には近年バクテリアを用いた試みがなされている細胞分裂頻度の昼夜変動計測法(FDC法; Waterbury et al. 1986)、また季節的消長には画像処理による客観的な群体形態計測等の技術的な適用可能性を検討した。集積要因に関しては、湖流とプランクトン分布との関係を詳細に比較検討することにした。集積メカニズムには、物理的な流れによる受動的輸送と、細胞内に含まれるガス胞と体内の光合成産物とのバランスによって細胞の比重を変化させて鉛直移動をおこなう能動的移動の2つの場合がある。能動的移動は、沿岸や沖合という水域のスケールに依存しない現象であるが、受動的輸送は、その原動力となる吹送流や環流のスケールに依存する。アオコのパッチは風速4メートルを越えると維持できなくなること(George and Edwards 1976a)、さらに、細胞が昼夜で上下運動を行うことを考慮すると吹送流の影響を受ける範囲は限られる(Verhagen 1994)。また環流のような地衡流バランスとコリオリ力によって形成される渦は、沖合の大きなスケールの水域には形成されるが、沿岸の小さなスケールの水域には起こらない現象である(遠藤 1990)。したがって、アオコの形成機構を検討するにあたり、特にスケールに着目して、集積メカニズムを明確にすることを目指した。

本論文は、序論を含めて4章からなる。第2章では、港や湾スケールの数百メートルから数キロメートル規模の比較的小さな水域での事例研究に基づいて、沿岸域におけるアオコの発生機構について論じる。第3章では、環流のような数十キロメートル規模の大きな水域での事例研究から、沖合におけるアオコの発生機構について論じる。そして、第4章では、水域のスケールが変化することによって異なる環境要因とアオコの発生機構の関係を比較することにより、琵琶湖北湖沖合におけるアオコの発生機構についてまとめた。

## 第2章 沿岸域におけるアオコの動態：アオコの生長と集積

本章では、富栄養化した浅い閉鎖性沿岸水域におけるアオコの動態について、現存量に対する集積要素と増殖要素の影響を調査した。野外において集積要素と増殖要素を切り分けることはきわめて難しい。そこで、次の3つを試みた。①出来るだけ多くの分布パターンを収集する。②数日の単位で起こる増殖要素と数時間の単位で起こる集積要素を、時間スケールの違いを利用して分類する。③増殖活性の指標となる要素の検討を行う。具体的には、群体の形態、細胞分裂の割合、光合成能、細胞内 C:N 比等について野外調査を行った。本章の内容は4節からなる。第1節では、赤野井湾を調査水域として、アオコの水平分布と風による集積について調査した。第2節～第4節では、北山田漁港で行った野外調査で得られたデータをもとに、種ごとの分布特性、*Microcystis* の増殖と群体の形態変化、および細胞の分裂割合の変化を調査した。

### 第1節 アオコの水平分布に対する風の影響

#### 緒言

南湖北東部に位置した赤野井湾は、1985年に南湖との境界に消波堤が建設されて以来、周辺河川からの流入汚染物質が滞留しやすい地形となり、琵琶湖で最も富栄養化の進行した水域である。1991年以来、ラン藻類 *Anabaena* や *Microcystis* のブルームが毎年のように発生しており、これらの発生機構に関する調査が行われてきた(Nakanishi et al. 1992; 滋賀県琵琶湖研究所 2000)。

ブルームを形成するラン藻は、細胞内のガス胞と、光や栄養塩のような環境要因に反応して変化する炭水化物の蓄積量によって浮遊能力を調整する。一般的に、夏季穏やかな天候下において、ラン藻は浮上して表層に集積する。それゆえに、ブルームを形成するラン藻の分布に対する風の影響が重要であると考えられてきた(e.g. Reynolds and Walsby 1975)。しかしながら、植物プランクトンが風によって輸送されることに関する過去の研究は少なく、水平分布の変化についてはわずかな情報しかなかった(Small 1963; George and Edward 1976b; Verhagen 1994)。本研究では、スケールが小さな湖沼ならびに水域でのラン藻類の集積が、栄養塩類の分布に依存するだけでなく、数時間の穏やかな風によっても影響を受けることを示すことを目的とした。そこで、水深が浅く富栄養化した赤野井湾において、表層にブルームを形成するラン藻類の水平分布パターンと風との関係を調べた。

## 方 法

赤野井湾は、表面積 1.5 km<sup>2</sup>、平均水深約 1.2 m で、琵琶湖南湖北東側に位置している(Fig. 2-1-1)。この湾への流入には、法竜川、三反田川、天神川、新守山川、境川の小さな河川が 5 本ある。そして、この内、法竜川、三反田川、天神川の 3 河川と赤野井湾の間には水門が 2 つある。赤野井湾の入り口には、4 つの消波堤が 1985 年に建設された。この消波堤構造のために、南湖と赤野井湾の間の水交換は少なくなり、湾内の湖水が完全に入れ替わるのに約 4 日間かかる(熊谷ほか 1997)。湾中心部には、現在使用されていない真珠養殖のための柵が、数ヶ所設置されている。

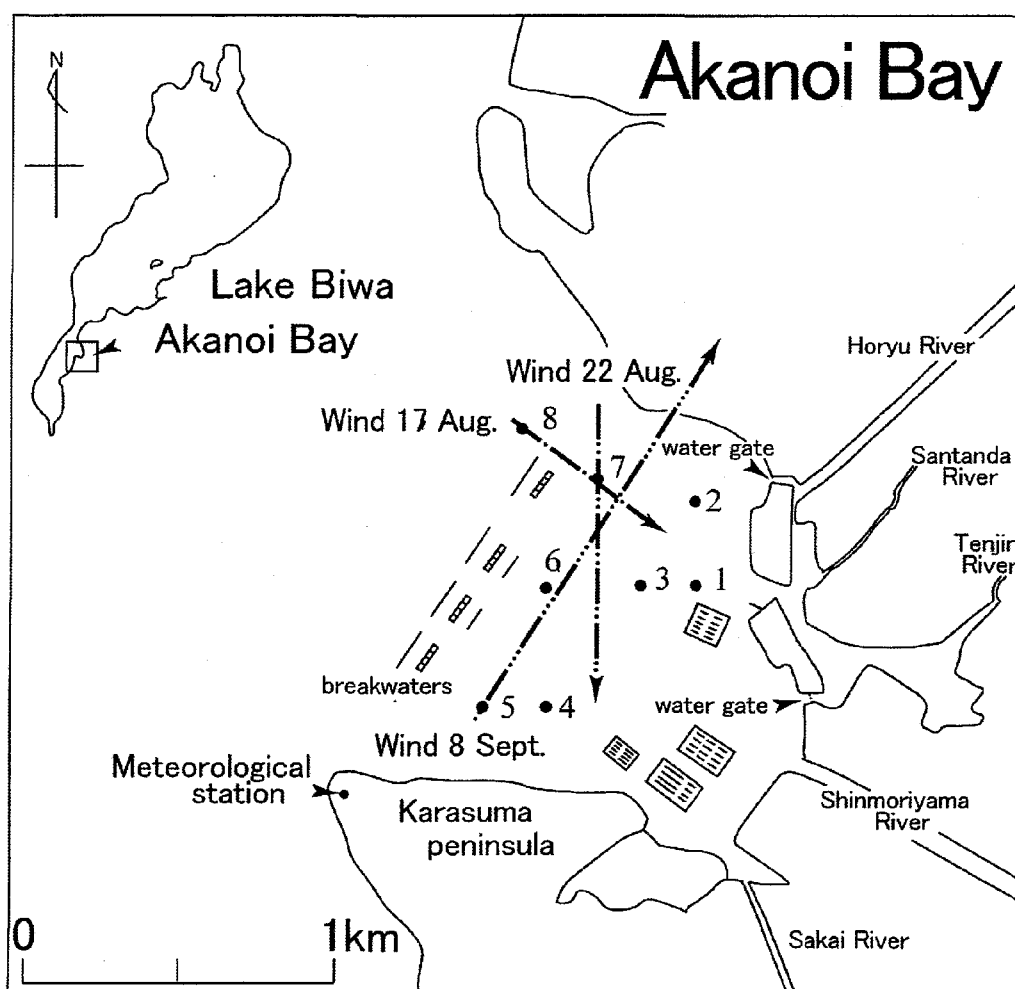


Fig. 2-1-1 Maps showing the positions of the South Basin and Akanoi Bay. The dots indicate the sampling stations. Arrows show the average wind directions for six hours before the observations on August 17, August 22, and September 8, respectively. Arrow lengths show the distance of transported surface water by wind.



赤野井湾内の植物プランクトン分布調査を、1995年夏季ラン藻のブルーム期間中に3回行った。調査は比較的安定した風が数時間吹いた後の14:00に開始して、調査時間内に分布が急激に変化しないように1時間以内に調査を終えた。調査日の平均的な風向が予測できないので、採水地点はFig. 2-1-1に示したとおり、湾内の定点からいくつかを選んで行った。したがって、8月17日にはStas. 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8で、8月22日にはStas. 2, 3, 4, 5, 6, 7で、9月8日にはStas. 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8で採水した。3回の調査日ともSta.7で表層から湖底までの水温を、多項目水質計(F-probe 西オーストラリア大学)を用いて測定した。さらに、クロロフィル a 濃度を測定するために、同地点における水深0.5 m からバンドーン採水器を用いて湖水試料を採水した。クロロフィル a とフェオ色素濃度は、Lorenzen (1967)にしたがって測定した。また、湾内の各地点における表層から植物プランクトン計数のための湖水試料をバケツによって採水した。試料水中のアオコ形成ラン藻類を、酢酸ルゴール液で終濃度1%になるよう固定して、0.5~1.0 ml になるまで自然沈殿により濃縮後、血球計算版上で検鏡ならびに計数した。それぞれの種は、群体或いは糸状体の単位で計数した後、単位 cells ml<sup>-1</sup> に換算した。

風速、風向データは、烏丸半島の先端に設置した気象観測ステーションによって記録した。Ayer et al. (1969)は、調査日から遡る風の履歴が重要であると指摘しているが、山敷ほか (1997)の観測結果により8月中旬から9月上旬の間は赤野井湾に昼夜混合が起きていることが明らかにされているので、表層に集積したラン藻類に対する風の影響は、明け方の湖陸風が安定してから開始すると考えられた。したがって、本調査では、アオコの分布に影響を及ぼすとされる風の履歴は各調査時刻前6時間(8:00-14:00)を用いた。また、Wu (1969)によると、風による水面の吹送流が風速の3~4%なので、本研究では3.5%を採択して、6時間の表面湖水の移動距離を見積もった。本手法では、水平輸送の方向については、風速と同じである。

## 結 果

風向風速により見積もった表層水の水平移動距離、クロロフィル a + フェオ色素濃度、目視観察による湖面での藻類の状況についてTable 2-1-1にまとめた。風向は3日とも異なっており、8:00~14:00までの風速はいずれも穏やかであった。湖水面の水平移動距離は、湾の幅の73~113%に相当するので、風の効果を検討するには、ふさわしい環境状況であった。8月17日と9月8日には藻類による着色が湖水表面で観察されたが、8月22日は目視では湖水面にアオコは観察されなかった。しかしいずれの調査日も、クロロフィル a とフェオ色素濃度

は  $40 \mu\text{g L}^{-1}$  以上で、きわめて高かった。Fig. 2-1-2 に Sta.7 における鉛直水温分布、ラン藻類 3 種 (*Anabaena affinis*, *Microcystis aeruginosa*, *Planktothrix agardhii*) の表層水平分布、表面湖水の移動距離を、Fig. 2-1-1 と同様に湾の大きさと方向に合わせた矢印で表示した。

8 月 17 日 (Fig. 2-1-2A) は、風は西北西から平均  $0.83 \text{ m sec}^{-1}$  であった。深さ方向には水温躍層が形成されており、風による鉛直循環流によって表層水のみが移流したことが推察された。第一優占植物プランクトンは、*Microcystis aeruginosa* であり、細胞密度は全植物プランクトンの 33% を占めていた。*Anabaena affinis* と *M. aeruginosa* の細胞数は、風下側で高くなったが、*Planktothrix agardhii* は、風上側で高くなった。

8 月 22 日 (Fig. 2-1-2B) は、風は北から  $1.38 \text{ m sec}^{-1}$  であった。水塊の成層は弱かった。第一優占種は、*A. affinis* で全種の中で 59% を占めていた。優占したアオコ形成ラン藻類の細胞密度の水平分布は、8 月 17 日と同様のパターンを示した。

9 月 8 日 (Fig. 2-1-2C) は、風は南南西から  $1.94 \text{ m sec}^{-1}$  であった。水塊の水温は表層から湖底までほとんど一定で変化がなく、湖水が鉛直方向によく混合していることが推察できた。優占植物プランクトンは、*P. agardhii* であり、平均細胞密度は全体の 96% を占めた。*P. agardhii* の細胞分布パターンは、湾の中心部で高くなった。一方、*A. affinis* と *M. aeruginosa* は風下側で集積する傾向を示した。

Table 2-1-1 Wind direction and speed, estimated horizontal transport distance of the surface water, Chlorophyll-a plus pheo-pigment concentration, and water discoloration by algae on sampling days in Akanoi bay.

| Date        | Wind direction<br>(from 8:00 to 14:00) | Wind speed<br>( $\text{m sec}^{-1}$ ) | Horizontal<br>transport<br>distance<br>(km) | Chl.-a plus<br>pheo-pigments<br>concentration<br>( $\mu\text{g l}^{-1}$ ) | Water<br>discoloration<br>by algae |
|-------------|--|---------------------------------------|---|---|------------------------------------|
| 17 August   | WNW (307°)                             | 0.83                                  | 0.63  | 42  | Observed                           |
| 22 August   | N (6°)                                 | 1.39                                  | 0.96  | 58  | Not observed                       |
| 8 September | SSW (212°)                             | 1.94                                  | 1.45  | 51  | Observed                           |

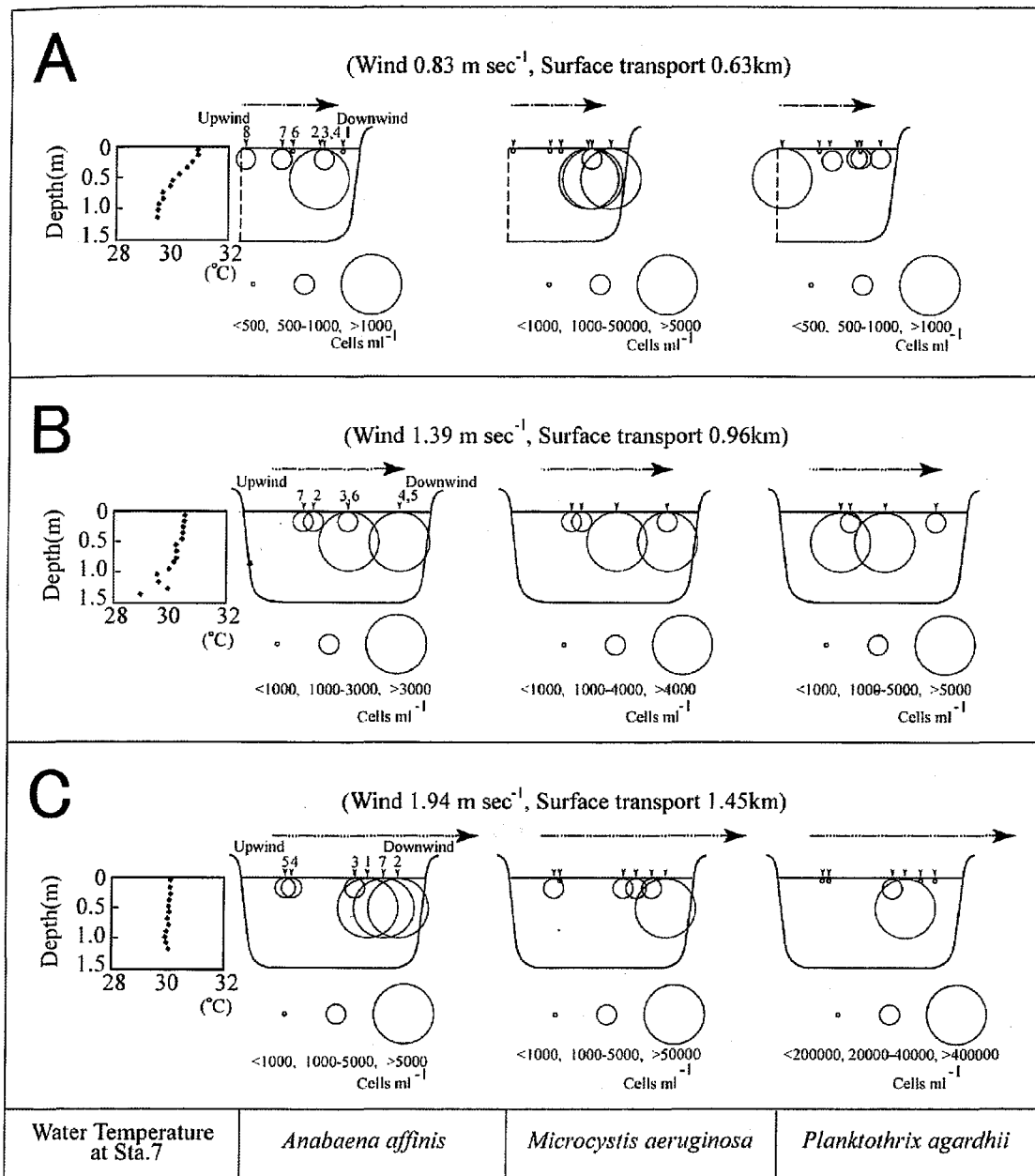


Fig. 2-1-2 Horizontal distribution of *Anabaena affinis*, *Microcystis aeruginosa* and *Planktothrix agardhii* in the surface water on August 17, 1995 (A), August 22 (B), September 8 (C). Averaged wind speed from 8:00 to 14:00 and the vertical profile of water temperature at Sta. 7 are also plotted. Arrows show the estimated distance of surface water transported by wind for six hours before the observation. Open circles indicate the cell densities of the bloom-forming cyanobacteria

## 考 察

赤野井湾におけるブルーム形成ラン藻類の水平分布パターンには、Fig. 2-1-2で示したように2つのタイプが存在することが明らかになった。1つは、*A. affinis*や*M. aeruginosa*のように風下側に細胞密度が高くなる場合であり、もう一方は、*P. agardhii*のように風向に無関係に高密度分布域を形成する場合である。何がこのような違いを引き起こすのだろうか。*A. affinis*は束状フロックを形成し、*M. aeruginosa*は粘質状のスライムに囲まれた群体を形成する。一方*P. agardhii*は単独の糸状体を形成する(Fig. 2-1-3)。*A. affinis*と*M. aeruginosa*の群体は、共に湾の風下側の表層に集積するが、単独の糸状体である*P. agardhii*は、いずれの調査日も風による吹送流とは無関係の分布を示した事実から推論して、*P. agardhii*は表面に集中的に分布することは少ないので、*A. affinis*や*M. aeruginosa*と異なった表層水平分布パターンを示したのかもしれない。Reynolds(1994)や Reynolds et al. (1987)は、*M. aeruginosa*と*P. agardhii*がそれぞれの浮上沈降特性によって異なった生長戦略を示すと述べており、本調査結果は彼らの説によっても支持されるに違いない。植物プランクトンの分布には、粒子を輸送する要因(例えば、浮遊沈降、湖流)に加えて、生長要因(例えば、栄養塩、光、水温)が考えられる。*A. affinis*や*M. aeruginosa*では風の動きは分布を決定づける要因かもしれない。それ以外の要因については十分なデータを取得できなかったが、本調査の結果はアオコを形成するラン藻類のなかには風による吹送流によって運ばれやすい種があることを示しており、ラン藻類間の異なった浮遊沈降特性が、それらの水平分布に影響を及ぼすことを示唆している(Webster 1990)。さらに、これらの結果は緒言でも述べたように、小さな湖沼ならびに水域でのラン藻類の集積が数時間の穏やかな風によって影響を受けるという仮説を支持している。

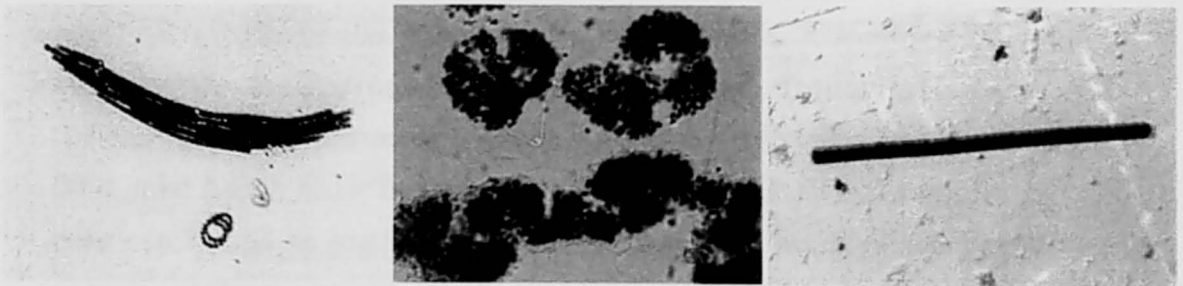


Fig. 2-1-3 Images of *Anabaena affinis* (Left), *Microcystis aeruginosa* (Middle), *Planktothrix agardhii* (Right)

## 第2節 アオコの空間的分布と集積特性 —琵琶湖南湖北山田漁港での調査事例—

### 緒言

アオコを形成するラン藻類は細胞内にガス胞を有するので、それを利用した浮上沈降と集積がアオコ形成に大きく関与していると考えられ、そのメカニズムに関する多くの知見がまとめられてきた(e.g. Reynolds and Walsby 1975; 高村 1988; Oliver 1994)。さらに最近の研究では、水深が深くなるにつれて変化する光、水温、栄養塩の物理化学的微小環境とアオコ形成ラン藻類の光合成活性や増殖速度の関係が注目されている(e.g. Reynolds 1973; Reynolds et al. 1987; Ibelings et al. 1991a b; Mur and Schreurs 1995; Wallace and Hamilton 1999)。これらの研究においても、ラン藻自身の浮上沈降能による上下運動は考察に欠かせない現象であり、野外における湖水表面での集積は現存量の鉛直分布の時間変動によって推察されてきた。しかし、実際には水平方向からの移流の影響も混在するので、アオコ形成ラン藻の集積を分布によって見積もる場合、有効な空間および時間的スケールについて十分注意しなければならないといわれている(Pettersson et al. 1995)。

アオコの水平的なパッチ形成機構は、鉛直分布に比べてさらに複雑で解明が不十分であった。その原因として、前節で示したように浮上したアオコは風に流されやすいため、アオコの表層水平分布の変化は水塊全体の移動よりも短時間に起こりやすいことや(Hutchinson and Webster 1994; Ishikawa et al. 1999)、アオコ形成種に限らず植物プランクトンの分布は、移流の過程で水域の形状や規模に影響されやすいことがあげられる (Reynolds 1984; Verhagen 1994; Lovejoy et al. 2001)。アオコの集積機構は、湖流と懸濁物粒子の動態研究の応用や発展によって明らかになることが期待されているが、現在の観測技術レベルを用いても微小な生体物質を分類して測定することは極めて難しく、研究報告事例は数えるほどしかない(George and Edward 1976b; Olsen et al. 2000)。植物プランクトンを他の溶存懸濁物質と分けて検出するクロロフィル *a* 濃度の自家蛍光を利用した連続測定は、野外調査においても近年一般的に使用されるようになり、植物プランクトンの群集構造の解明に多大なる貢献を果たした(e.g. Small 1963; Lorenzen 1966)。それでもなお、アオコの分布のような特定種の群集構造を知ることは容易ではない。その理由は、クロロフィル *a* 濃度として検出される植物プランクトン群集は個々の種が混在した集合体であり、その種構成までは明らかにできないからである。Trimbee and Harris (1983)による *Aphanizomenon flos-aquae* (ラン藻)と *Ceratium hirundinella* (渦鞭毛

藻)の水平分布を比較した調査事例では、約1 km の距離において両種が別々の方向に異なった速度で移動することが観察されている。数種が混合して出現する場合、それぞれの種が異なった方向へ移動すれば、その植物プランクトン群集の分布変化のパターンは、構成種毎の移動特性に大きく依存する。したがって、従来から行われてきたようにクロロフィル a 濃度分布を用いて植物プランクトンの水平移動を予測すると、誤った解釈をおかすおそれがある。

近年、琵琶湖においても、富栄養化に伴って有毒ラン藻類が著しく増加している。それらの藻類によって生産される毒素濃度の上昇だけでなく、藻類が集積することにより、日常安全なレベルの毒素濃度にあった湖沼でも突発的に高濃度の毒素を含む水塊を形成することが懸念されている(熊谷ほか 1999)。これらの被害を回避するためにも、有毒ラン藻類の集積特性解明は早急な重要課題であり、水質管理のモニタリングプログラムを計画する上でも検討すべき項目に含まれている(Codd et al. 1999)。

本節では、アオコ発生水域の群集内における各アオコ形成植物プランクトン種の集積特性をより明らかにすることを目的として、3ヶ月にわたる集中モニタリング調査を行った。調査水域は、1998年夏季に最もアオコ発生回数が多く、数種のラン藻類によって構成されるアオコが観察された北山田漁港(滋賀県 1999)を選定した。アオコ形成ラン藻類の発生状況、特に、種別の空間的分布特性の違いについて明らかにするために、水平的には長期的な毎日観測、鉛直的

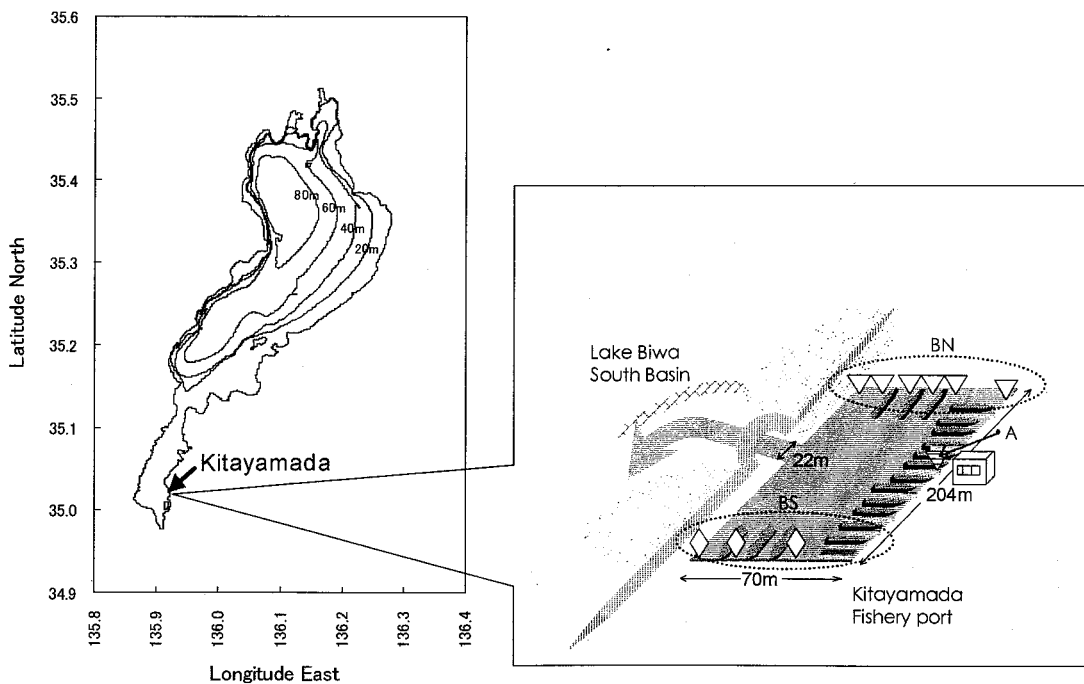


Fig. 2-2-1 Map of Lake Biwa and Kitayamada Fishery Port

には4回の昼夜観測を行って分布の変化を解析した。そして、栄養塩濃度、細胞体内のC:N比を測定して、それらとの関係を考察した。

## 方 法

### 調査地点概況

北山田漁港は、琵琶湖南湖東岸、北緯 35°14'24"、東経 35°55'05" (Fig. 2-2-1) に位置したアオコが頻繁に発生する水域の1つである(滋賀県 1999; 吉田・堀家 2001)。大きさは、東西幅 70 m、南北幅 204 m、水深約 2.8 m であり、流入河川はない。南湖との湖水の出入口は西方向に 1ヶ所ある。漁業共同組合によって管理された漁船やレジャーボートが、コンクリート護岸の3辺に設置された栈橋に常時係留されている。

採水は、漁港中央栈橋付近の定点 A(Sta. A)と、目視によってアオコが集積していると見なされた B 地点(Sta. B)の2地点で行った。Sta. B の位置は、日によって異なった。明瞭な集積がなく、判断に迷う場合は北側で採水した。Sta. A は Fig. 2-2-1 に横縞逆三角形で示し、Sta. B については、漁港の北側エリアで採水した場合を BN、南側エリアで採水した場合を BS で表示した。

### 調査期間、頻度

1999年7月1日～9月30日の3ヶ月間に毎日観測(合計92日)と、4回の昼夜観測を行った。毎日観測は、1日1回の頻度で午前10時に観測を行い、Sta. A、Sta. B の両地点での採水と、Sta. A における水質測定を行った。一方、昼夜観測は、7月30～31日、8月10～11日、22～23日、9月17～18日に10時から翌日10時のサンプリング時刻まで6時間間隔で、Sta. A における採水と以下の測定を行った。

### 採水方法、測定項目ならびに測定方法

毎日観測では水深 0 m からポリ容器を用いて、昼夜観測では 0 m からはポリ容器、水深 2.5 m からはバンドーン採水器(6 L)を用いて採水を行った。これらの湖水試料を冷暗所に保ち、直ちに研究室に持ち帰った。水温は、Sta. A において水温計(Model 60 YSI 社)を用いて深さ方向に 0.5 m 間隔で測定した。風速、日射量は大津観測地点における AMeDAS による測定データを用いた(気象業務支援センター 2000)。

クロロフィル a 濃度は、採水した湖水 50～100 ml をガラス繊維フィルター(Whatman GFF)上に濾過して、アセトン:ジメチルスルホキシド(DMSO)=1:1(vol.)溶液 5 ml により色素抽出後、ターナー蛍光光度計(Model

10-AU-CE ターナー社)を用いて測定した。1N 塩酸を 100  $\mu$ L 添加した後再び蛍光値を測定し、フェオフィチン量も算出した。

湖水の全窒素濃度(TN)は水酸化ナトリウム—ペルオキシ二硫酸カリウムで分解後、紫外吸光度法によって測定した。溶存態無機窒素、溶存態反応性リン濃度は湖水をガラス繊維フィルター(Whatman GFF)を通したろ液を以下の方法に従って測定した。硝酸態窒素( $\text{NO}_3\text{-N}$ )、亜硝酸態窒素( $\text{NO}_2\text{-N}$ )濃度はオートアナライザー(AACS-II ブラントルーベ社)を用いて測定した。アンモニア態窒素( $\text{NH}_4\text{-N}$ )濃度は、Sagi(1966)の方法に従って測定した。溶存態反応性リン(SRP)濃度は、Murphy and Riley (1962)の方法に従って測定した。湖水の全リン(TP)濃度は、過流酸カリウムで分解後、SRP と同様に分析した。懸濁態炭素(PC)、窒素(PN)量は、湖水をガラス繊維フィルター(Whatman GFF)で濾過したフィルターを CHN コーダー(PE-2400 II Perkin Elmer 社)により測定した。懸濁態リン(PP)量は、同フィルターをペルオキシ二硫酸カリウムで分解後 SRP 濃度と同様に測定した。

アオコ形成ラン藻類の細胞密度は、検鏡法により計数した。Sta. A の 0 m と 2.5 m, Sta. B の 0 m から採取された 100 ml の湖水サンプルをルゴール液で終濃度 1%になるよう固定した後、静沈法にて 2.5 ml まで濃縮した。このサンプル 1 ml を計数チャンバー上で 40 視野以上を光学顕微鏡(BX50 オリンパス社)を用いて計数した。

アオコ形成植物プランクトンの細胞密度と、アオコの増殖に影響を及ぼす栄養塩類について、それぞれ Sta. A と Sta. B の間の違いがあるかどうかを、Wilcoxon のノンパラメトリック検定を用いて判定した。統計解析には、パッケージソフト(SPSS 9.0J エスピーエスエス社)を用いた。

昼夜観測時のアオコ群体の C:N 比変化を算出するための PC, PN 量の測定には、Sta. A においてプランクトンネット(40  $\mu$ m メッシュ)を水深 2.5 m から 0 m まで鉛直的に数回曳いて集めた藻類を用いた。湖水カラム中の群体形成植物プランクトン群集を採取後、直ちに研究室に持ち帰り、採取から 2 時間以内に植物プランクトン群集試料が約 95%以上の単一藻類種になるまでパスツールピペットを用いてアオコ形成種以外の藻類と大型懸濁物の除去を行った。単一化したラン藻試料は、ガラス繊維フィルター(Whatman GFF)上にてのせて、PC, PN 量と同様に測定した(Hayakawa et al. 2002)。



## 結果

アオコ形成ラン藻類の消長ならびに水平分布特性

調査期間中アオコ形成ラン藻としては、*Microcystis aeruginosa*, *Microcystis wesenbergii*, *Anabaena smithii*, *Anabaena ucrainica*, *Anabaena affinis*, *Oscillatoria* spp が出現した。それらの消長を Sta. A と Sta. B に分けて Fig. 2-2-2 に示した。

*M. aeruginosa* は7月5日に最初に出現し、その後しばらくの間停滞した。そして、7月20日を過ぎた頃から増殖し、8月中旬頃まで続いた。その後9月

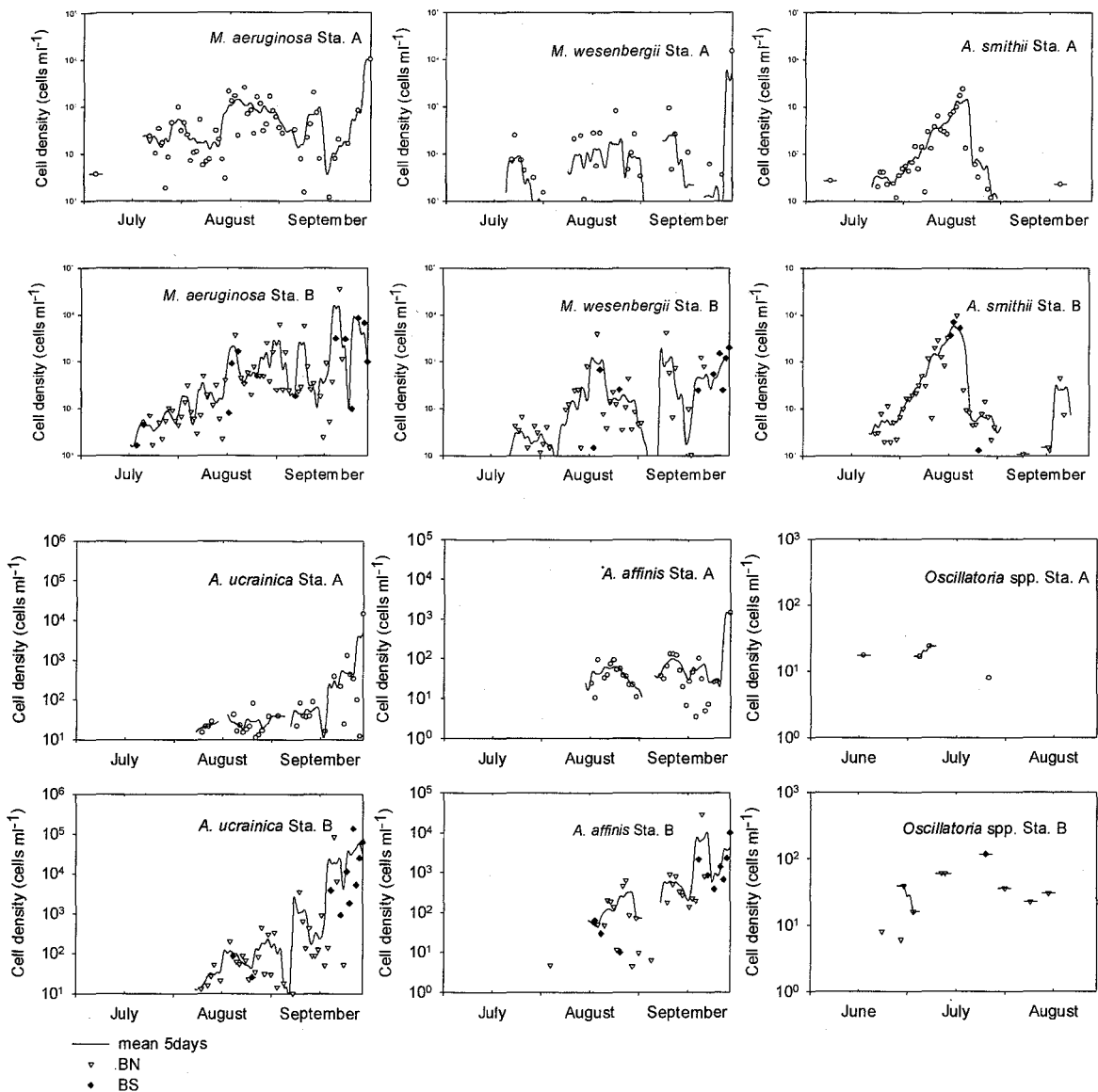


Fig. 2-2-2 Cell density of bloom-forming cyanobacteria at Stas. A and B. Open triangle: Sta. BN, Closed diamond: Sta. BS, Line: mean for 5 days

末まで、細胞密度を維持したが、9月下旬からは大きな変動を示した。最高値は9月21日 Sta. B の 36,250 cells ml<sup>-1</sup>であった。Sta. A ならびに Sta. B における5日間の移動平均を線で示した(Fig. 2-2-2)。Sta. A と Sta. B を比較すると、Sta. B は7月後半から9月末まで徐々に増加している傾向がみられたが、Sta. A では同様な増加傾向は見られなかった。Sta. B において9月に高い細胞密度を示す日が多くなったが、同時に日変動も大きくなった。*M. wesenbergii* は、7月22日に初めて出現し、継続的に増加した。9月の始めに一旦消滅したが、直ちに再出現した後、9月末まで存在していた。Sta. A, B とともに群集の増殖初期は各日の観測値が移動平均に近い値を示したが、8月から9月の活発な個体群の増大期は移動平均から大きく外れることが多かった。*A. smithii* は調査開始の7

**Table 2-2-1a Difference of surface cell densities between Stas. A and BN for 3 monthes.**

| Species   | Number of detected days (n) |        | Average density ( $\pm$ SE) |              | Statistic of the Wilcoxon text<br>BN-A |
|---|-----------------------------|--------|-----------------------------|--------------|--|
|   | Sta. BN                     | Sta. A | Sta. BN                     | Sta. A       |  |
| <i>M. aeruginosa</i> (cells ml <sup>-1</sup> )        | 56                          | 48     | 1,246 $\pm$ 657             | 445 $\pm$ 85 | Z=-0.415(BN<A)                         |
| <i>M. wesenbergii</i> (cells ml <sup>-1</sup> )       | 45                          | 21     | 336 $\pm$ 129               | 185 $\pm$ 55 | Z=-3.206(BN<A)*                        |
| <i>A. smithii</i> (cells ml <sup>-1</sup> )           | 48                          | 38     | 526 $\pm$ 222               | 154 $\pm$ 51 | Z=-4.635(BN<A)***                      |
| <i>A. ucrainica</i> (cells ml <sup>-1</sup> )         | 41                          | 32     | 2,444 $\pm$ 2,082           | 33 $\pm$ 12  | Z=-4.633(BN<A)***                      |
| <i>A. affinis</i> (cells ml <sup>-1</sup> )           | 25                          | 25     | 1,408 $\pm$ 1147            | 48 $\pm$ 8   | Z=-3.632(BN<A)***                      |
| <i>Oscillatoria</i> spp. ( $\mu$ m ml <sup>-1</sup> ) | 10                          | 4      | 28 $\pm$ 3                  | 16 $\pm$ 3   | Z=-1.696(BN<A)                         |

\*\*\*:P<0.001, \*\*: P<0.01, \*:P<0.05

**Table 2-2-1b Difference of surface cell densities between Stas. A and BS for 3 monthes.**

| Species   | Number of detected days (n) |        | Average density ( $\pm$ SE) |                   | Statistic of the Wilcoxon text<br>BN-A |
|---|-----------------------------|--------|-----------------------------|-------------------|--|
|   | Sta. BS                     | Sta. A | Sta. BS                     | Sta. A            |  |
| <i>M. aeruginosa</i> (cells ml <sup>-1</sup> )        | 14                          | 9      | 1,856 $\pm$ 720             | 1,780 $\pm$ 1,087 | Z=-0.621(BS<A)                         |
| <i>M. wesenbergii</i> (cells ml <sup>-1</sup> )       | 9                           | 5      | 746 $\pm$ 225               | 3,117 $\pm$ 3,008 | Z=-1.156(BS<A)                         |
| <i>A. smithii</i> (cells ml <sup>-1</sup> )           | 4                           | 5      | 4,000 $\pm$ 1,495           | 874 $\pm$ 431     | Z=-1.214(BS<A)                         |
| <i>A. ucrainica</i> (cells ml <sup>-1</sup> )         | 10                          | 11     | 24,900 $\pm$ 13,866         | 1,570 $\pm$ 1,318 | Z=-2.667(BS<A)**                       |
| <i>A. affinis</i> (cells ml <sup>-1</sup> )           | 10                          | 8      | 1,762 $\pm$ 931             | 206 $\pm$ 171     | Z=-2.310(BS<A)*                        |
| <i>Oscillatoria</i> spp. ( $\mu$ m ml <sup>-1</sup> ) | 1                           | 0      | 117                         | —                 | —                                      |

\*\*\*:P<0.001, \*\*: P<0.01, \*:P<0.05

月1日には、すでに1 cell ml<sup>-1</sup>以上存在してはいたが、しばらくの間増えも減りもしなかった。ところが、7月22日より急激に増加し、8月20日を境にして、突然急激な減少を示した。*A. smithii* は Sta. A, Sta. B でともに観測され、それぞれの細胞密度は、移動平均値と大きくずれることはなかった。*A. ucrainica* は、7月下旬より9月末まで増加し続けた。増殖末期になると観測値が移動平均値か

ら大きく外れた。*A. affinis* は、8月17日から増えはじめ、Sta. Aでは安定した細胞密度を示したが、Sta. Bは変動しながら9月の終わりまで次第に増加した。*Oscillatoria* spp.は、大きなブルームには至らなかったため、観測日のSta. AとSta. Bの細胞密度を一方の地点のみ出現した日、100 cells ml<sup>-1</sup>未満の日を除くと、10日しか出現しなかった。全ての種において群集が発達するにつれて、Sta. Bの細胞数がSta. Aの細胞数より多くなる傾向がみられた。Sta. AとBの2地点におけるアオコ形成ラン藻類各種の出現状況を比較して Table 2-2-1, Table 2-2-2 にまとめた。Sta. Bは日によって採水位置が北と南に異なるので、それぞれBNで採取した場合とBSで採取した場合に分けて示した。出現日数は*M. aeruginosa*が最も多く、BNで採水したのべ74日間、BSで採水したのべ18日間の全92日間観測され、約3ヶ月の毎日調査の期間中、A、B両地点ともに100 cells ml<sup>-1</sup>以上見られたのはのべ75日間であった。そのなかでBNでは56日Aでは48日、BSでは14日Aでは9日が100 cells ml<sup>-1</sup>を示した。次いで*M. wesenbergii*, *A. smithii*が多く、それぞれのべ62日間、*A. smithii*がのべ57日間観測された。観測日数はBSの方がBNよりも少なかったが、いずれの種でも細胞密度の平均値はBSの方がBNよりも高かった。Sta. AとSta. Bの差を日々の対応があることを考慮してノンパラメトリックのWilcoxonの検定を用いて判定した。全ての種においてSta. Bに出現するパターンが卓越したが、特に*M. wesenbergii*のBN, *A. smithii*のBN, *A. ucrainica*の両方, *A. affinis*の両方において有意にSta. BがSta. Aより多かった。同様にして栄養塩類濃度についてもSta. AとSta. B間の比較を行った。Sta. BNとSta. Aとの間では、PNとSRPを除く全ての分析項目で有意な差がみられ、溶存態のNO<sub>2</sub>-NとNO<sub>3</sub>-NはSta. Aの方が高く、Chl.-a, TN, TP, PC, PP, NH<sub>4</sub>-Nでは逆にSta. BNの方が高かった。Sta. BSとSta. AではTP, PC, PN, PPとNH<sub>4</sub>-Nで有意差がみられ溶存態のNH<sub>4</sub>-NのみSta. Aの方が高く、その他はSta. BNの方が高かった。

毎朝 10 時に測定した水温は、調査開始の 7 月上旬から中旬は 26°C 前後であった。7 月後半から急激に上昇し、8 月には 29°C を越える日もあった。9 月になると 25°C 前後まで穏やかに低下した(Fig. 2-2-3a)。調査期間中、水深 0 m と 2.5 m の水温差は、0~1.8°C の範囲にあり、日ごとに変化した。この水温差は 9 月になると 7 月から 8 月の期間に比べて小さくなる傾向がみられた。日照時間は、3 ヶ月にわたる調査期間の平均値にして 5.5 時間であった(Fig. 2-2-3b)。7 月前半は平均 6.2 時間でわずかに高かったが、7 月後半は平均 5.3 時間、8 月は前半平均 5.6 時間、後半平均 6.0 時間、9 月は前半平均 5.0 時間、後半平均 4.4 時間であった。各期間の平均値は大きな変動ではないが、日ごとの変化は最低値 0 時間から、最高値 12.6 時間の範囲で激しく変動した。調査期間の風速は、夜間は穏やかで、9 時から 20 時までの間、平均約 2.5 m sec<sup>-1</sup> まで強くなった(Fig. 2-2-3d)。毎日観測では、Fig. 2-2-3c に示したように、大きな変動がみられた。台風の影響を受けた日は、7 月 26, 27 日、8 月 3, 6, 7 日、9 月 15, 24 日であった(Fig. 2-2-3c)。

各アオコ形成種の細胞密度が Sta. A よりも Sta. B で高かった日数を 100 とした場合、Sta. B が風下地点であった割合を Table 2-2-3 に示し、その時の風速の割合を Fig. 2-2-4 に示した。風速データは 9 時の測定値を採用した。各アオコ形成種ともに風下に集積したのは、風速が主に 1~2 m sec<sup>-1</sup> の時であった。しかし、*A. smithii* は 3 m sec<sup>-1</sup> の場合が 27% も含まれていた。

**Table 2-2-3 Number of case in which cyanobacterial cell density of Sta. B is higher than that of Sta. A. (Case 1), Sta. B is down wind (Case 2) and the proportions of Case 1 and Case 2**

| Bloom-forming<br>cyanobacteria | Case 1(days):<br>B>A on cell density |    | Percentage of<br>(Case 2) in (Case 1) |
|--------------------------------|--------------------------------------|----|---------------------------------------|
|                                | Case 2 (days):<br>Wind direction A→B |    |                                       |
| <i>M. aeruginosa</i>           | 29                                   | 13 | 45%                                   |
| <i>M. wesenbergii</i>          | 22                                   | 17 | 77%                                   |
| <i>A. smithii</i>              | 21                                   | 9  | 43%                                   |
| <i>A. ucrainica</i>            | 24                                   | 9  | 38%                                   |
| <i>A. affinis</i>              | 23                                   | 13 | 57%                                   |
| <i>Osillatoria</i> spp.        | 1                                    | 0  | 0%                                    |

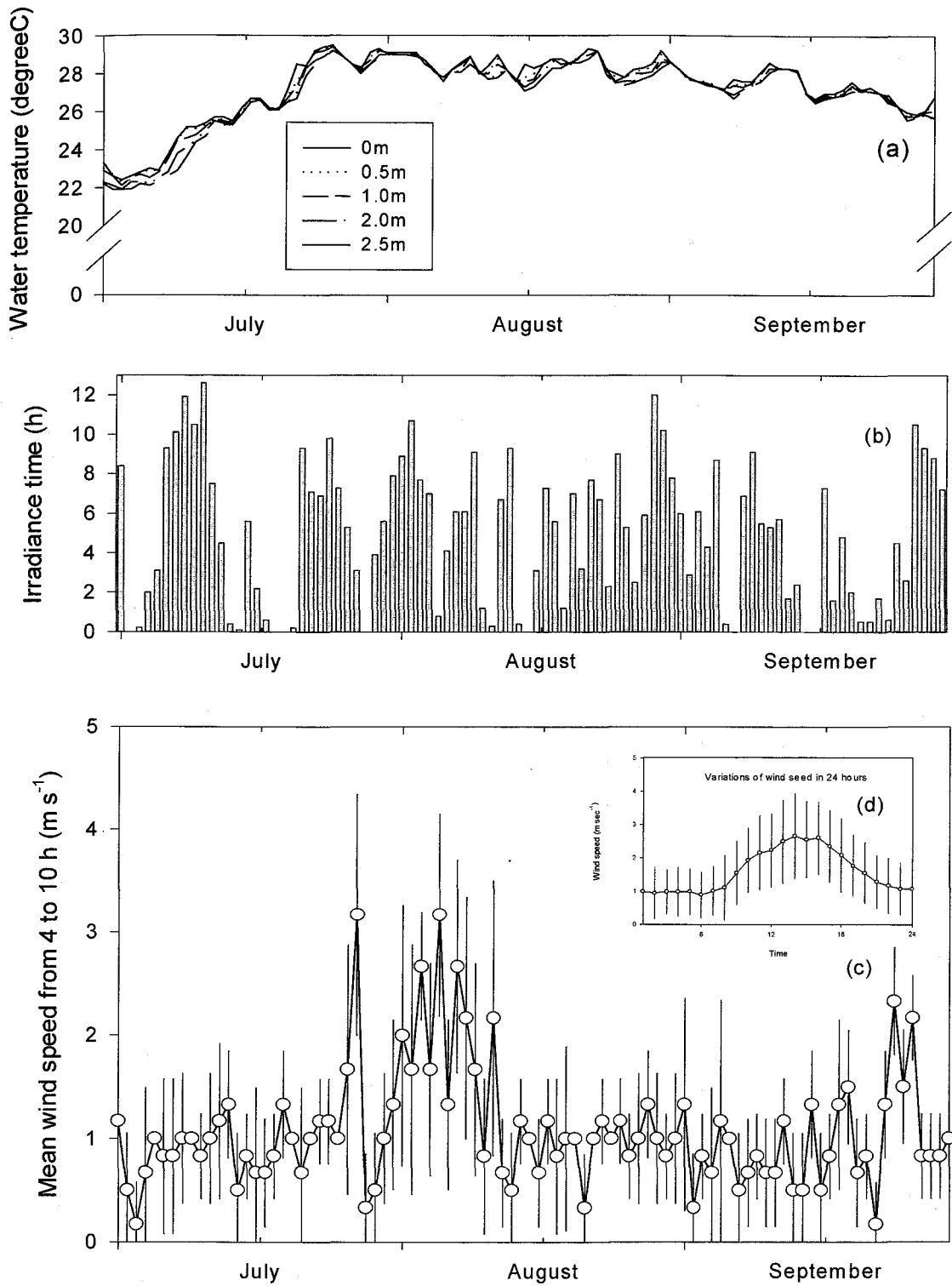


Fig. 2-2-3 Seasonal change of water temperature (a), irradiance time (b), wind speed from 4 to 10 h (c), variations of mean wind speed (d); Error bar: Standard deviation (SD)

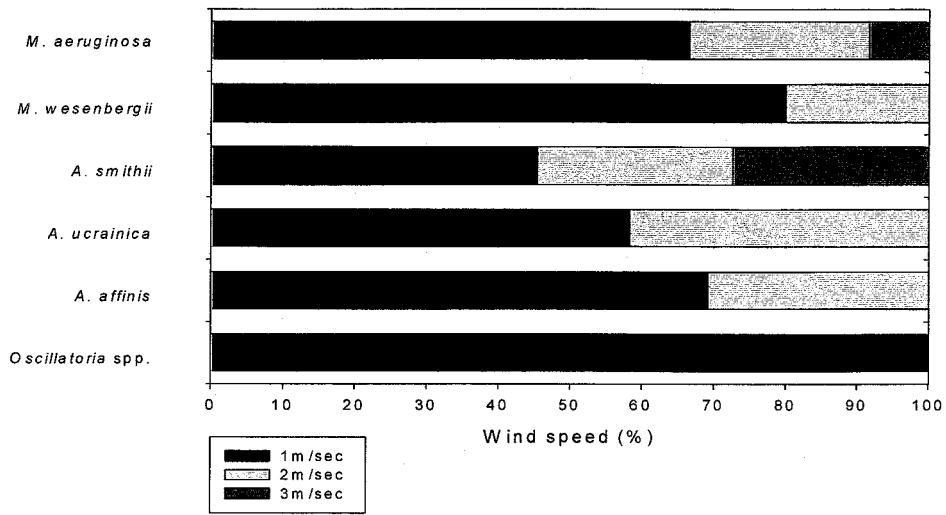


Fig. 2-2-4 Proportions of wind speed in the case that cyanobacteria accumulated to downwind and Sta. B

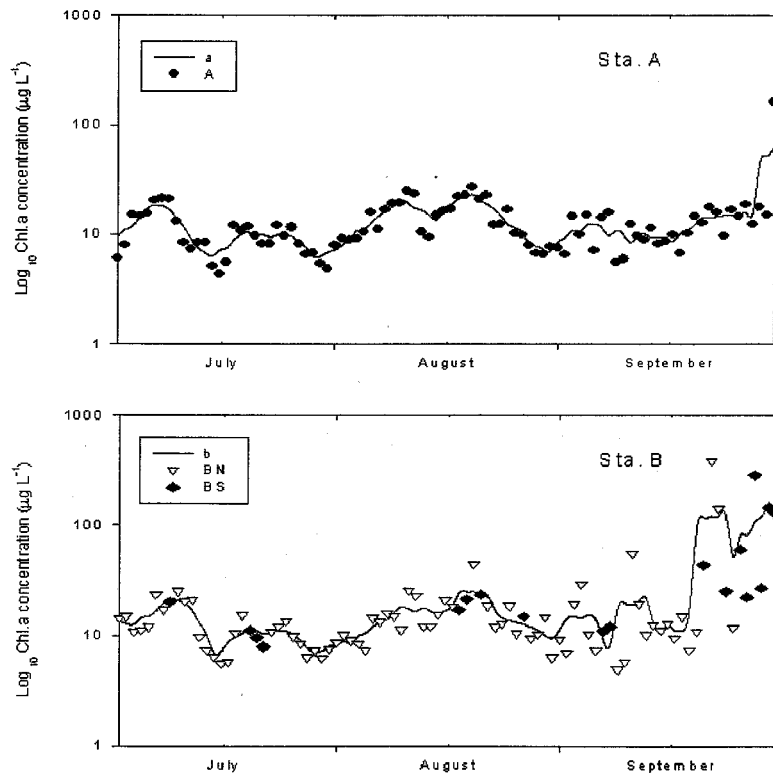


Fig. 2-2-5 Seasonal change of surface Chlophyll a concentration

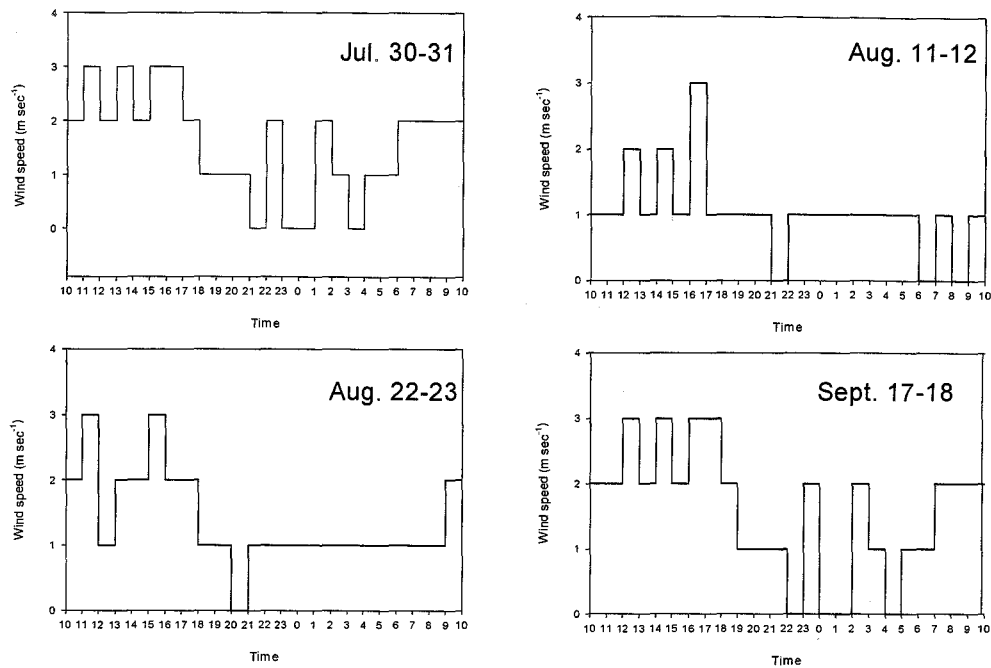


Fig. 2-2-6 Variations of wind velocity in 24hours on July 30-31, August 11-12, August 22-23 and September 17-18

### 昼夜鉛直分布の変化とアオコ細胞内 C : N 比

3ヶ月の調査期間中、7月30～31日、8月11～12日、8月22～23日、9月17～18日の4回の昼夜観測を行い、*M. aeruginosa*と*A. smithii*の鉛直移動特性を比較し、さらに藻体の活性との関係を知るために細胞のC:N比を測定した。7月30～31日は*A. smithii*の増殖開始期にあたり、8月11～12日は増殖後期であった。8月22～23日は*M. aeruginosa*の増殖過程の中期にあたり、9月17～18日は十分に増殖しきった増殖過程の後期であった(Fig.2-2-2)。

漁港のような閉鎖水域では、湖水の垂直安定度は風速に従いやすいので、各調査日の24時間の風速変化を調べた(Fig. 2-2-6)。Fig. 2-2-3で示された3ヶ月の間の各時間平均パターンのように、昼間は2～3 m sec<sup>-1</sup>の風が吹き、いずれの調査日も夜間は、1 m sec<sup>-1</sup>程度の穏やかな風が吹いた。特に9月17～18日では、夜間から明け方にほとんど無風状態になり、水塊の安定が伺われた。

各調査日における6時間毎の水溫鉛直分布の変化を示した(Fig. 2-2-7)。8月11~12日の調査は雨天であり、表層から湖底までほとんど変化がみられず、時間変化も小さかった。それ以外の3回の昼夜観測では、昼間は晴天で16時に成層が発達して夜間に崩れるような昼夜変動が見られた。9月17~18日になると、湖水温はそれ以前の調査日と比較して全体的に1~2℃ほど低くなった。昼夜変化から判断すると、水塊は比較的安定していた。

表層(0 m)と底層(2.5 m)の個体群の分布割合と、湖水カラム中の細胞のC:N比について24時間変化をFigs. 2-2-8に示した。*M. aeruginosa*の分布は8月22~23日は33~65%の範囲にあり、9月17~18日は1~93%の範囲であり、表層細胞の割合は両日ともに深夜から明け方に高くなった。特に9月17日の10時は表層にしか観察されなかったが、徐々に底層の割合が増加した。調査時の細胞C:N比の変化は、8月22~23日は7.0~8.4と大きな日変化はなかったが、9月17~18日では5.7~7.7の範囲で変化して、特に明け方Nの割合が高くなり、最も低下した。一方、*A. smithii*は、分布については2日とも両層では

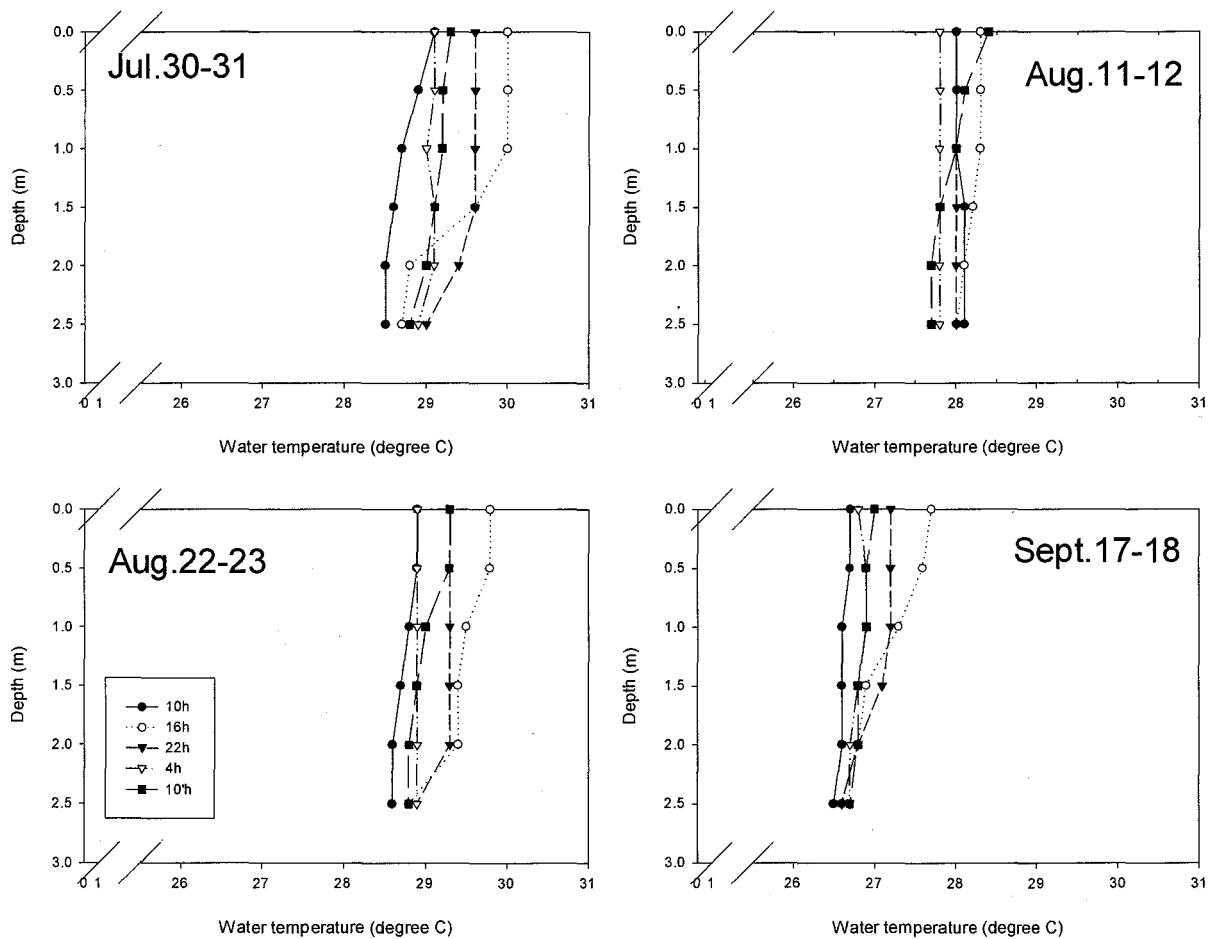


Fig. 2-2-7 Variations of vertical water temperature distributions in 24 hours on July 30-31, August 11-12, August 22-23 and September 17-18.



ば等しく変動し、顕著な昼夜変化を示さなかった。ところが C:N 比は、増殖開始期の 7 月 30~31 日は 6.4~10.0 の範囲で変動し、日中は高く、4 時に最も低くなり、10 時には再び上昇する昼夜パターンを示した。増殖後期かつ雨天であった 8 月 11~12 日は、5.8~6.5 で変動は小さかった。

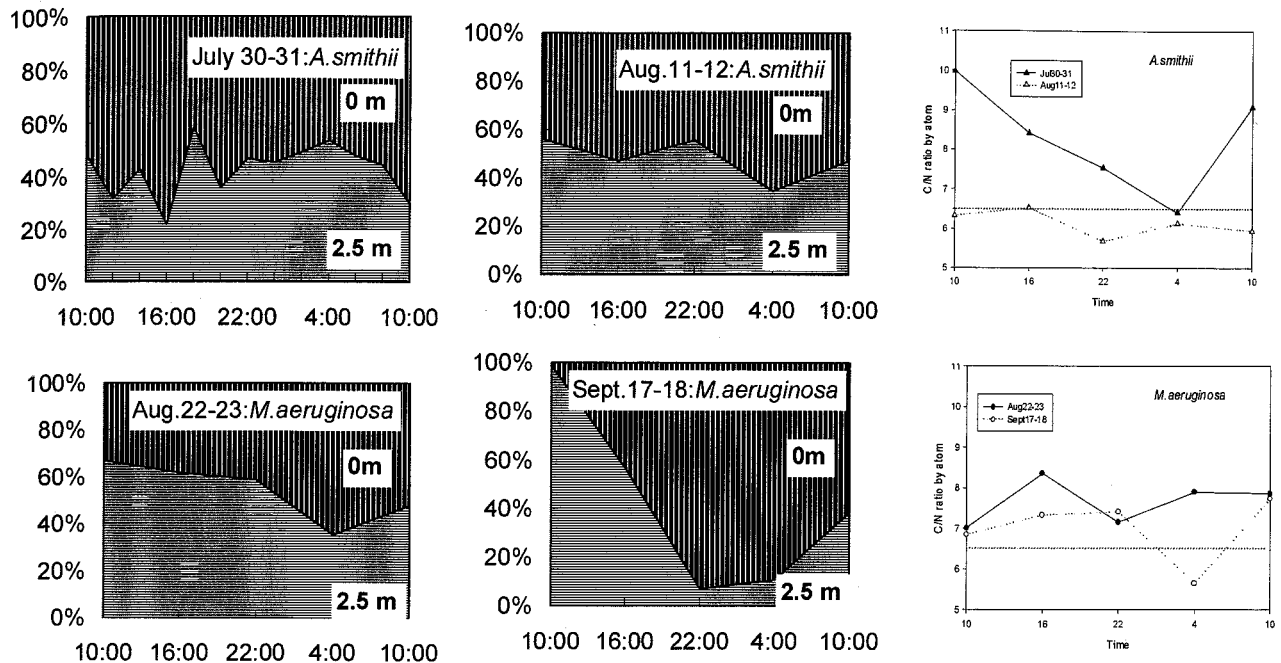


Fig. 2-2-8 Diel change of vertical proportion between 2 depths and algal C:N ratio on *Microcystis aeruginosa* and *Anabaena smithii* .....Redfield ratio

### 考 察

本研究では、小さな漁港内で発生するアオコの集積特性を種別に明らかにすることを目的として、まず、アオコ形成ラン藻類の水平分布モニタリング調査を行った。Sta. A と Sta. B の 2 地点において、アオコの発生しやすい 7 月から 9 月の期間に毎日、すなわち合計 92 回のサンプリングを行った。Sta. B は目視によってアオコが多いと判断しているため、当然、Sta. B におけるアオコ形成ラン藻類の細胞密度は、定点である Sta. A よりも高くなると予想された。しかし、実際の測定結果では、Sta. B の細胞密度が Sta. A よりも有意に高くなった種は、*A. ucrainica*, *A. affinis* のみであった。また、BN (漁港北側の B 点) で採取した場合のみ Sta. B の濃度が高くなったのは *M. wesenbergii* と *A. smithii* であった。調査期間中最も長く頻繁に出現した *M. aeruginosa* に関しては、BN および BS (漁港南側の B 点) のいずれで採取した場合も、Sta. B と Sta. A の

細胞密度に有意な差は見られなかった。すなわち *M. aeruginosa* は漁港内で全体的に増殖しているか、或いは他種と異なった移動特性を有している可能性が考えられた。そして、本研究におけるアオコ細胞密度の 2 地点比較から、すべてのアオコ形成種が同様な分布傾向を示すのではなく、アオコの種によって分布の特性が異なることが明らかになった。アオコには肝臓毒や神経毒を生産する種が含まれているが、毒性のタイプ、強さは種によっても異なることが知られている(朴・林 1994)。したがって、数種の混在した植物プランクトン群集の中でも、特定種のみ動向に注目した分布調査が必要である。

種による水平分布の違いに関しては、Heaney (1976) が長さ 2.5 km の小さな湖内で風下側に集積する *Microcystis* と風上側に集積する *Ceratium* が対照的な分布を示す例を報告している。これは、*Ceratium* は光に対する適応性がラン藻類と異なること(Mur and Schreurs 1995)や鞭毛を持つためその移動に関しては能動的な種であることがラン藻類と異なる分布となることに起因していると思われる。プランクトンのモニタリングでは、連続した水塊から限られた一部のサンプルを採水し、現存量とみなしている。しかし、実際にはサンプル内の現存量の変動が、純粋な増殖或いは死滅量を示しているのか、それとも何らかの物理的或いは生態的要因によって一時的な集積の結果を示しているのか不明である。種ごとの移流特性を調べるだけでなく、現存量が増殖要素に依存するのか或いは集積要素に依存するのかを分離することが重要である。しかし、アオコを含め植物プランクトンの集積要素の影響をこのような観点から考察した例は今までになかった。

これまでも、プランクトンの空間分布と移流についての研究はいくつか行われている(e.g. Steele 1977; Reynolds 1984)。ここでは、植物プランクトンの分布は、現存量をクロロフィル *a* 濃度の分布で代用することによって表現されてきた(Small 1963; George and Edwards 1976a, 1976b)。しかし、クロロフィル *a* 濃度は、その水域に生息する全ての植物プランクトン群集に含まれる総量であり、それぞれのアオコ形成種の分布を示す指標ではない。我々の調査結果においても、クロロフィル *a* 濃度は、Sta. B で 9 月の後半に急激に上昇した(Fig. 2-2-5)。それに対して、種別の細胞密度の増加パターンは様々であった。*M. aeruginosa*, *M. wesenbergii*, *A. ucrainica* に関しては、調査期間中 7 月の後半から 9 月の終わりまで観察された。一方、*A. smithii* は、8 月中頃にピークに達した直後から急激に減少し、9 月にはほとんど観察されなかった。また、*A. affinis* は、8 月後半から急激に増殖した。

観察された細胞密度の変化を増殖、死滅による要素と、集積、拡散による要素とに分ける方法として、種別に 5 日間の移動平均から算出した現存量を増殖

による変動と見なし、各調査日の観測値との差を集積による影響分とみなした。この方法は、今回の調査水域のような閉鎖性の強い水域ではアオコの形成を集積要素と増殖要素に分離するのに有効であった。*M. aeruginosa* や *M. wesenbergii* は、観測値が移動平均からしばしば大きく外れている。このことは、水域での全体的な増殖と同時に、風による集積効果に大きく影響を受けていることを示している。一方、*A. smithii* のように移動平均と観測値が合致して変動する種は、集積の影響をほとんど受けず、採水によって得られた細胞密度が集積要素よりも増殖要素に大きく依存していることが推察できる(Fig. 2-2-2)。

一般的に、アオコは湖面に集積するので、風に従って移流しやすいといわれてきた (George and Edwards 1976a)。しかし、実際に風と移流の関係を測定することは、風向風速が一定しない自然環境下においてきわめて難しかった。本論文では、肉眼的に高集積域とみなされた Sta. B が、風下であり、かつ、調査水域中央の Sta. A より細胞密度が高い場合を抽出し、種別に風速との関係を比較した。ほとんどのアオコ形成種は  $1\sim 2 \text{ m sec}^{-1}$  のときに風下に集積している場合が最も多かった。しかし、*A. smithii* は  $3 \text{ m sec}^{-1}$  のときに集積した例が 27% もあった(Fig. 2-2-4)。この結果は、*A. smithii* が風下に集積するには、他のアオコ形成種と比較して強い風が必要であることを示唆している。言い換えれば、 $1\sim 2 \text{ m sec}^{-1}$  の微風が卓越する期間、*A. smithii* は風の方向に無関係に分布することになる。Ishikawa et al. (1999) は、アオコ形成種の風に対する移流の違いは、群体の形態が関係しているのではないかと考察している。群体の形態が風による移流とどのような関係にあるかは今後の課題である。 $1\sim 2 \text{ m sec}^{-1}$  の風で風下に集積した *M. aeruginosa* は、増殖過程後期 9 月 17~18 日に顕著な上下移動とともに夜間から明け方に表層集積がみられ、増殖中期の 8 月 22~23 日にも、朝方 4 時の表層に多かった(Fig. 2-2-8)。さらに、8 月 23 日 10 時の水平調査において *M. aeruginosa* は、風下側の地点で多い結果が得られた。一方、*A. smithii* は増殖開始期(7 月 30~31 日)或いは増殖後期(8 月 11~12 日)のいずれの観測においても、昼夜の上下移動は明瞭でなく、明け方に表層に集積する様子もみられず、さらに翌朝の風下での集積もなかった(Fig. 2-2-8)。Takamura and Yasuno (1984) は、ラン藻類の上下運動に関して *Microcystis* は *Anabaena* や *Aphanizomenon* に比べて優れていることを明らかにしている。これらの結果から、*A. smithii* が風の影響を受けにくい理由の 1 つに、上下運動を明確に行わないことが考えられ、アオコ形成ラン藻類の上下運動と風による移流との関連が推察された。

細胞内 C:N 比は光合成による炭素の増加、ならびに窒素源の取り込みによっ

て変化する。昼夜観測期間の *M. aeruginosa* と *A. smithii* の藻体 C:N 比を、植物プランクトン細胞が豊富な栄養塩環境下で増殖している場合の C:N:P 比 =106:16:1(原子量); Redfield 比 (Goldman et al. 1979)即ち C:N 比=6.625 と比較した。*M. aeruginosa* の C:N 比は、個体群の増殖が盛んな 9 月 18 日早朝 4 時は 5.7 であり、表層の細胞密度が増え始めた時に低くなる傾向を示した。これは増殖後期の早朝に窒素が十分取り込まれたことを示唆している。個体群密度が徐々にしか増加していない時期にこのような変化が見られなかったことは、上下運動が不十分であり、底層で窒素の激しい取り込みが行われなかったことを推察させた。*A. smithii* は、増殖開始期(7 月 30~31 日)は最高 10 まで高くなり早朝 4 時まで減少して再び増加する昼夜変動を示した。これは、*A. smithii* が増殖開始期の日中に光合成を活発に行い、夜間には窒素の取り込み或いは窒素固定を行ったためと考えられた。一方、増殖後期(8 月 11~12 日)は、わずかに Redfield 比より低く一定していた。これは調査日が雨天で光合成が活発でなかったためか、或いは増殖後期であったためかは不明であった。以上のようにアオコの鉛直上下運動、細胞内の栄養塩構成比の変化と活性との関係から、各種における活性と集積の関係について以下のように考えられた。*A. smithii* は上下運動を顕著に行わないので、増殖段階或いはその日の天候によって活性や C:N 比が変化する。一方、*M. aeruginosa* は徐々に増殖している時期と急激に増える時期で上下運動が明確に異なり、それに伴った栄養塩類の取り込みによって C:N 比も変化する。これらの C:N 比と活性ならびに上下運動の関係については、より詳細な研究が進めば、細胞の C:N 比の日変化が細胞活性の指標として役に立つかもしれない。

*M. aeruginosa* の空間分布変動は細胞自身の比重の変化による能動的な上下移動がよく知られているが、物理的な水塊の乱れによる受動的な移流によっても起こる。水平的には、小さな実験水槽では風によって表層を移流して 2 次元的にみると、風下にパッチを形成する様子が観察できるが(Hutchinson and Webster 1994)、スケールが大きくなるにつれて、複雑な水流の影響を受けやすくなるため、理論的な鉛直循環流に従いにくくなると考えられる。George and Edwards (1976a)によると、風が  $4 \text{ m sec}^{-1}$  以上吹くと、それに伴った混合によってアオコのパッチを維持しなくなると報告されている。9 月 17~18 日は 8 月 22~23 日に比べて、風速  $0 \text{ m sec}^{-1}$  の時間が長く、水塊がより安定していたと推察されるので、明瞭な上下運動が生じ、藻体 C:N 比の変化が見られた(Figs. 2-2-6, 2-2-8)。しかし、現場水域のスケール、風の強さ、アオコの種、細胞密度によっては明瞭な移流と集積を観察することは難しいかもしれない。極めて高濃度のアオコが長期安定して優占するような湖沼と違って、多くの種類が混在し、ア

オコも突発的に発生するような水塊では、水域の形状、湖水の流れを含めた 3 次元構造の解析が必要になるだろう (Olsen et al. 2000)。北山田漁港での調査は、様々なアオコの発生パターンの 1 例にすぎない。今後、水域の規模、プランクトン構成種、その他の環境要因が変わった場合の結果と比較することによって、普遍的な事実として明らかになることが期待される。

結論として、アオコを形成するラン藻類の集積には顕著な種特異性があることが明らかになった。*Microcystis aeruginosa* は能動的にも受動的にも移動ならびに移流性の高い種であり、*Anabaena smithii* は集積よりも増殖依存性が高く風の影響を受けにくい種であることがわかった。高密度のアオコを形成する要因として、*Microcystis* は増殖と同時に集積機構が重要な役割を果たす。そして、*M. aeruginosa* のように上下運動が顕著で表層に集積しやすい種ほど、湖面で風の影響を受けやすくなり、集積しやすくなる傾向が強くなると推察された。以上のように、集積に関する種特異性を考慮したアオコの空間的モニタリングによって、湖全体の監視がなされることが期待されるが、特に流動性の高い種は、分布を予測することが難しいため、調査方法の工夫が必要になるだろう。

### 第3節 野外における *Microcystis aeruginosa* の増殖活性

#### 緒言

琵琶湖南湖では、主に *Microcystis* 属, *Anabaena* 属, *Oscillatoria* 属で構成されるアオコが毎年のように夏になると発生する(e.g. Nakanishi et al. 1992; 滋賀県 2001)。特に、アオコの水塊から検出される肝臓毒の原因であるミクロシスティンに対する危険性が心配されている(水上 1998; 渡辺 1999; 山下ほか 2001)。滋賀県では現場観察によるモニタリングを行っているが(滋賀県 2001)、アオコは突発的に発生するので前もって発生時期や水域を予測することは難しい。湖水中の藻類を制御するためのアオコ発生機構の解明が求められている。一般的にアオコの形成にいたる過程は、細胞の増殖、集積、遊泳、捕食、沈降、死滅などの各パラメータに分解してその効果が検討されるが、現場における細胞の増殖は、集積、遊泳とともにアオコの生長に関わる重要項目の1つである。アオコの発生と環境要因の関係について、過去にも多くの研究がなされてきた。そして従来の研究では、細胞密度とそれぞれの項目を直接比較してきた(吉田ほか 2000)。湖沼同士の比較では、TN:TP 比が低いとアオコが発生しやすい傾向も明確に得られている(Smith 1983)。しかしながら、多くのアオコ発生パターンを調べても、現場の細胞密度の変動は、光や栄養塩濃度に依存した現存量だけでなく風による集積や群体自身の上下運動によっても支配されるため、増殖をもたらす環境要因を断定することは困難であった。本研究では *Microcystis* 群集の真の増殖活性と環境要因との関係に着目した。

植物プランクトンの総増殖速度(真の増殖速度)を測定する方法として、バクテリア細胞分裂における各段階の細胞数と増殖速度の関係から発展した Frequency of Dividing Cells (FDC; Hagström et al. 1979)法が注目されている。Chisholm (1981)による海洋性ピコプランクトンの *Syneccococcus* や、山口・本城(1990)による赤潮原因渦鞭毛藻類の *Gymonodinium nagasakiense*, Kuwata et al. (1996)による大型珪藻 Rzosoleniaceae の個体群による報告では、いずれも現場ならびに培養系において FDC 法が用いられている。*Microcystis* の場合も、培養系では明け方に同調的に分裂することが観察されており、増殖速度の算出に適用できる可能性が高いといわれている(中原 1999; 辻村私信)。FDC 法では同調的細胞分裂を行う個体群について、細胞分裂に要する時間(Td)と細胞分裂頻度(FDC)に従って真の増殖速度(gross)が求められる(Mcduff and Chisholm 1982)。細胞分裂の過程において、DNA 合成後、細胞質の分裂が行われるが、光や栄養塩不足によって生理状態が悪くなると、DNA 合成や細胞分裂にかかる

時間が長くなることが海洋性ピコプランクトンで観察されている(Chisholm et al. 1986)。比較的安定した栄養塩濃度、光環境が得られる海洋環境では同調的な分裂が見込まれるので、単細胞性の植物プランクトンには FDC 法による増殖速度の見積もりは有効であったが、環境条件が劇的にしかも不規則に変化する淡水湖沼沿岸域の群体性植物プランクトンに FDC 法が適用できるかどうかについては未だ明らかではない(Reynolds and Irish 1997)。そうではあるが、細胞分裂頻度は視覚的に細胞の増殖を表現する要素の 1 つであり、細胞の増殖活性を示す指標となることが期待される。

このような経緯から、本研究では、淡水性アオコ形成ラン藻 *Microcystis* の野外における細胞分裂頻度の変動を調査した。また、*Microcystis* の増殖に関係があるといわれてきた環境要因との関係から、増殖活性への指標性を検討する。ここでは、アオコの発生機構を解明するにあたって、集積などの要素を取り除き、*Microcystis* の真の増殖活性を示す手法の開発を目的とする。

## 方法

### サンプリング

調査地点は、琵琶湖南湖北山田漁港 Sta. A である(第 2 章 第 2 節 Fig. 2-2-1 参照)。7 月 30~31 日(Jul.30-31)、8 月 22~23 日(Aug.22-23)、9 月 17~18 日(Sept.17-18)は 10 時から 2 時間間隔で、8 月 11~12 日(Aug.11-12)は 10 時から 6 時間間隔で、水温、溶存酸素、pH を測定した。水温、溶存酸素は水温センサー付き溶存酸素計(Model 95 YSI 社)、pH の測定は pH メータ(Model 60 YSI 社)を用いて、カラム水中の水深 0~2.5 m において 0.5 m 間隔で測定した。採水は表層(水深 0 m)と底層(水深 2.5 m)の 2 層で行い、水深 0 m からはポリビンで、水深 2.5 m からはバンドーン採水器を用いて行った。採水された湖水サンプルは、*Microcystis* 細胞密度の計数とクロロフィル *a* 量ならびに栄養塩類濃度の測定に用いた。*Microcystis* 群体の採取は、簡易型プランクトンネット(40  $\mu$ m メッシュ; 離合社)を用いて、水深 2.5 m から湖水面までのカラム水中を鉛直的に数回曳いてポリビンに集めた。

### *Microcystis* 計数, 増殖速度

湖水 100 ml にルゴール液を終濃度 1%になるよう添加して固定後、静沈法により *Microcystis* 群体を濃縮した。超音波洗浄器に 1~2 分沈めて粘質鞘に包まれた群体の形態を崩して、顕微鏡下で検鏡ならびに細胞密度を算出した。

### 細胞分裂頻度(FDC)の測定

湖水カラムから鉛直的にプランクトンネットを用いて採取したサンプルは、ホルマリンを終濃度 1%になるよう添加して固定した。サンプルは超音波洗浄

器を用いて、*Microcystis* の群体を細胞単位にまで分解させた。光学顕微鏡下で 400 細胞以上の細胞を検鏡し、分裂期（細胞にくびれがはいった状態）にある細胞の割合を求めた。

### 気象観測

日射量，風速は，南湖湖心局（唐崎沖中央：北山田漁港より北西に約 2.5 km）による観測データから引用した。

### 湖水中の栄養塩濃度の測定

溶存態無機態窒素(DIN)と溶存態反応性無機リン(SRP)は，ガラス繊維フィルター(Whatman GFF)でろ過した湖水を以下の方法で分析した。硝酸態窒素( $\text{NO}_3\text{-N}$ )，亜硝酸態窒素( $\text{NO}_2\text{-N}$ )はオートアナライザー(AACS-II Bran Luebbe 社)を用いて測定した。アンモニア態窒素( $\text{NH}_4\text{-N}$ )は，Sagi(1966)の方法に従って測定した。そして， $\text{NH}_4\text{-N}+\text{NO}_3\text{-N}+\text{NO}_2\text{-N}$  の和を DIN とした。SRP は，Murphy and Riley (1962)の方法に従って測定した。全窒素(TN)は水酸化ナトリウム—ペルオキシ二硫酸カリウムで分解して，紫外吸光光度法で測定した。湖水の全リンは(TP)は，過流酸カリウム分解後，SRP と同様に分析した。

### 光合成活性の測定

採水した湖水は，冷暗所に保存した状態で直ちに研究室に持ち帰り，クロロフィル自家蛍光の蛍光強度を蛍光光度計(Model 10-AU-CE Turner 社)を用いて測定した。さらに，光合成の電子伝達阻害剤 [3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethyl-urea](DCMU)を終濃度  $10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  になるよう添加して 5 分間暗所に保ち，再び蛍光強度を測定した。初期値を  $F_0$ ，DCMU 添加後の蛍光強度を  $F_d$  として光合成の潜在能力を，Fukazawa et al. (1980)に従って(1)式で求めた。

$$\text{DCMU photosynthetic capacity } F = (F_d - F_0) / F_0 \quad \dots(1)$$

ここで， $F_d$  ならびに  $F_0$  は DCMU を添加後と添加前の蛍光強度を示す。結果には，2 回繰り返し測定した値の平均値  $F$  を光合成活性の指標とした。



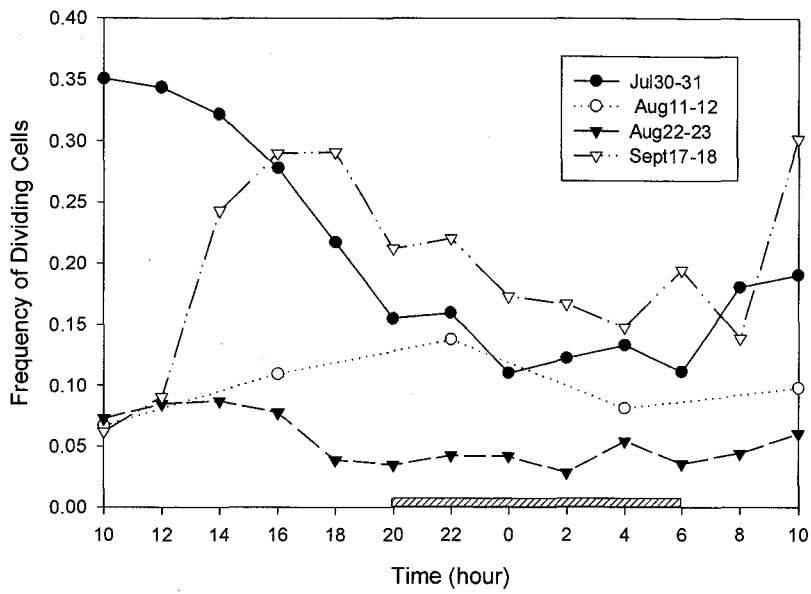


Fig. 2-3-1 Diel patterns of FDC in *Microcystis aeruginosa*

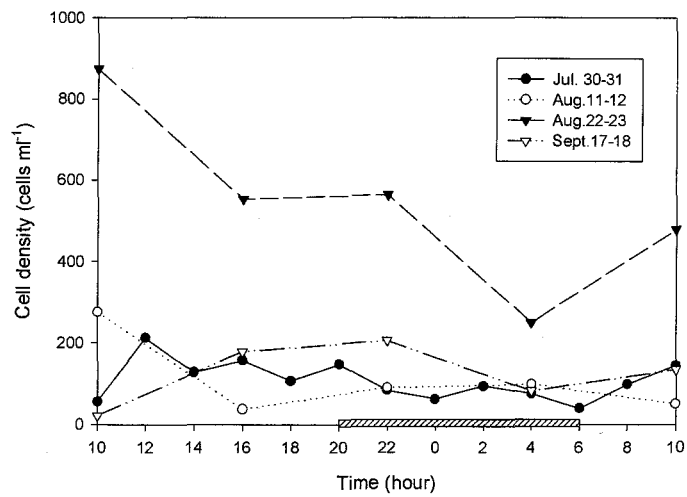


Fig. 2-3-2 Diel patterns of cell density in *Microcystis aeruginosa*

## 結果

### 細胞分裂頻度 (FDC)

細胞分裂頻度(FDC)は Jul.30-31 と Sept.17-18 にそれぞれ 11~35%, 6~30%の範囲で大きな昼夜変動を示した(Fig. 2-3-1)。一方, Aug.11-12 と Aug.22-23 はそれぞれ 6~11%, 3~6%の範囲での小さな変動で, 昼夜の違いも明らかでない。この2回の分裂頻度は, 夜間(20~6時)においても全体的に Jul.30-31 と Sept.17-18 に比べて低かった。最大値はいずれの調査日も日中に得られた。

### *M. aeruginosa* 細胞密度

*M. aeruginosa*の細胞密度は Jul.30-31, Aug.11-12, Sept. 17-18にそれぞれ 56~212 cells ml<sup>-1</sup>, 37~275 cells ml<sup>-1</sup>, 21~205 cells ml<sup>-1</sup>の範囲で変動を示したが, 昼夜変動は顕著ではなかった。一方, Aug.22-23 は 249~874 cells ml<sup>-1</sup>の範囲で変動した。この日は, 値も変動幅もそれ以外の調査日に比べて大きく, 10時に最高値, 4時に最低値を示す昼夜変動がみられた(Fig. 2-3-2)。

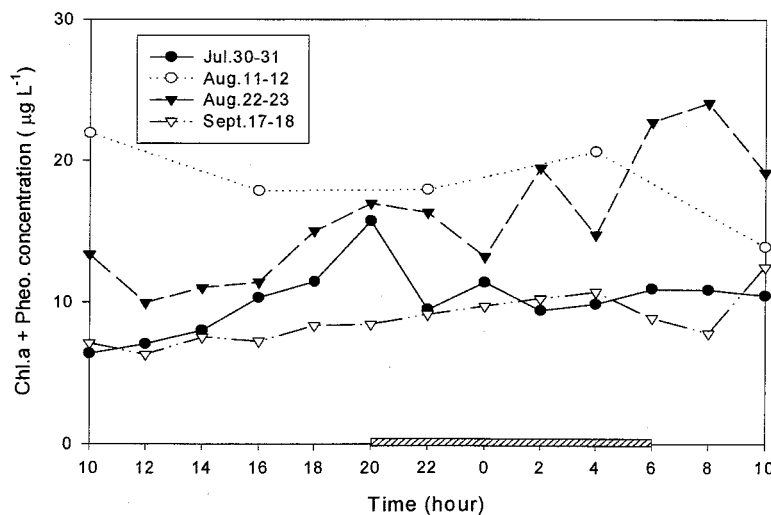


Fig. 2-3-3 Diel patterns of Chlorophyll a concentration

### クロロフィル濃度

クロロフィル濃度において、水深0 mと2.5 mの平均値が最も高かったのは、Aug.11-12の $18.4 \mu\text{g L}^{-1}$ であり、次いでAug.22-23の $15.9 \mu\text{g L}^{-1}$ 、Jul.30-31の $10.1 \mu\text{g L}^{-1}$ 、Sept.17-18の $8.7 \mu\text{g L}^{-1}$ であった。昼夜変動は明瞭でなかったが、Aug.11-12を除いて緩やかな上昇傾向がみられた(Fig. 2-3-3)。

### 水温・溶存酸素・pH

4回の調査日における最高水温は $30.4^{\circ}\text{C}$ であり、水深0 mのAug.22、12時に記録された。一方、最低水温は $26.5^{\circ}\text{C}$ で水深2.5 mのSept.17、10時であった。平均水温は、 $29.2^{\circ}\text{C}$ のJul. 30-31が最も高く、次いで $29.5^{\circ}\text{C}$ のAug.22-23、 $28.0^{\circ}\text{C}$ のAug.11-12、 $26.9^{\circ}\text{C}$ のSept.17-18であった。カラム水中の平均水温の昼夜変動に関して、Aug.11-12は雨天で最高と最低平均水温の差は $0.4^{\circ}\text{C}$ 以内で小さかったが、それ以外の調査日Jul.30-31、Aug.22-23、Sept.17-18はそれぞれ1.0、0.7、 $0.6^{\circ}\text{C}$ であり、昼夜変動がみられた(Figs. 2-3-4a)。深度0.5 mあたり $0.5^{\circ}\text{C}$ 以上の鉛直水温差が見られた時間は、Jul.30-31は12時~20時、Aug. 22-23は12時、16時、18時、Sept.17-18は20時であった。表層0 mにおける1日の最高と最低水温の差は、Aug.22-23に $1.8^{\circ}\text{C}$ で最も大きく、それ以外は $1.1\sim 1.2^{\circ}\text{C}$ であった。底層2.5 mにおける最高と最低水温の差は、Jul. 30-31、Aug.11-12、Aug.22-23で $0.4\sim 0.5^{\circ}\text{C}$ の変動があったが、Sept.17-18は $0.2^{\circ}\text{C}$ であった。

4回の調査日における最高溶存酸素濃度は $7.3 \text{mg L}^{-1}$ であり、水深1.5 mのJul.30、20時で、最低は $2.1 \text{mg L}^{-1}$ であり、水深2.5 mのJul. 30の12時で示した(Fig. 2-3-4b)。カラム水中の平均溶存酸素濃度は、 $6.2 \text{mg L}^{-1}$ のJul. 30-31が最も高く、次いで $5.7 \text{mg L}^{-1}$ のAug.22-23、 $5.3 \text{mg L}^{-1}$ のSept.17-18、 $5.0 \text{mg L}^{-1}$ のAug.11-12順であった。カラム水中の平均溶存酸素濃度の日変化における最高最低差は、1.3のJul. 30-31で最も大きく、Aug.11-12、Aug.22-23、Sept. 17-18でそれぞれ $1.1 \text{mg L}^{-1}$ 、 $1.1 \text{mg L}^{-1}$ 、 $1.2 \text{mg L}^{-1}$ の昼夜変動がみられた。表層0 mにおける1日の最高値は18時~22時の間にみられ、最高と最低溶存酸素濃度の差は、 $1.1\sim 2.4 \text{mg L}^{-1}$ であり、Aug.11-12が最も顕著に変動した。底層2.5 mにおける溶存酸素濃度は表層に比べて低く、最高と最低溶存酸素濃度の差は、 $1.2\sim 4.2 \text{mg L}^{-1}$ であり、Jul.30-31が最も変動が大きかった。

4回の調査日における最高pHは8.1であり、水深0.5 mのAug.22 14時で、最低は6.7のAug.23の8時であった(Fig. 2-3-4c)。平均pHは、7.5でJul.30-31で最も高く、次いで7.4のAug. 22-23、7.2のAug.11-12、7.0のSept.17-18の順であった。全体的には高くも低くもなく、変動も小さかった。表層0 mでの最低値は8時~12時にみられ、最高と最低値のpHの差はAug.22-23が1.2で

最も変動が大きく、ついで Aug.11-12 が 0.9, Jul.30-31 と Sept.17-18 が 0.5 であった。底層 2.5 m の最高と最低値の pH の差は、Jul.30-31 で最も大きい 0.7 を示したが、日変動はいずれの調査日も小さかった。

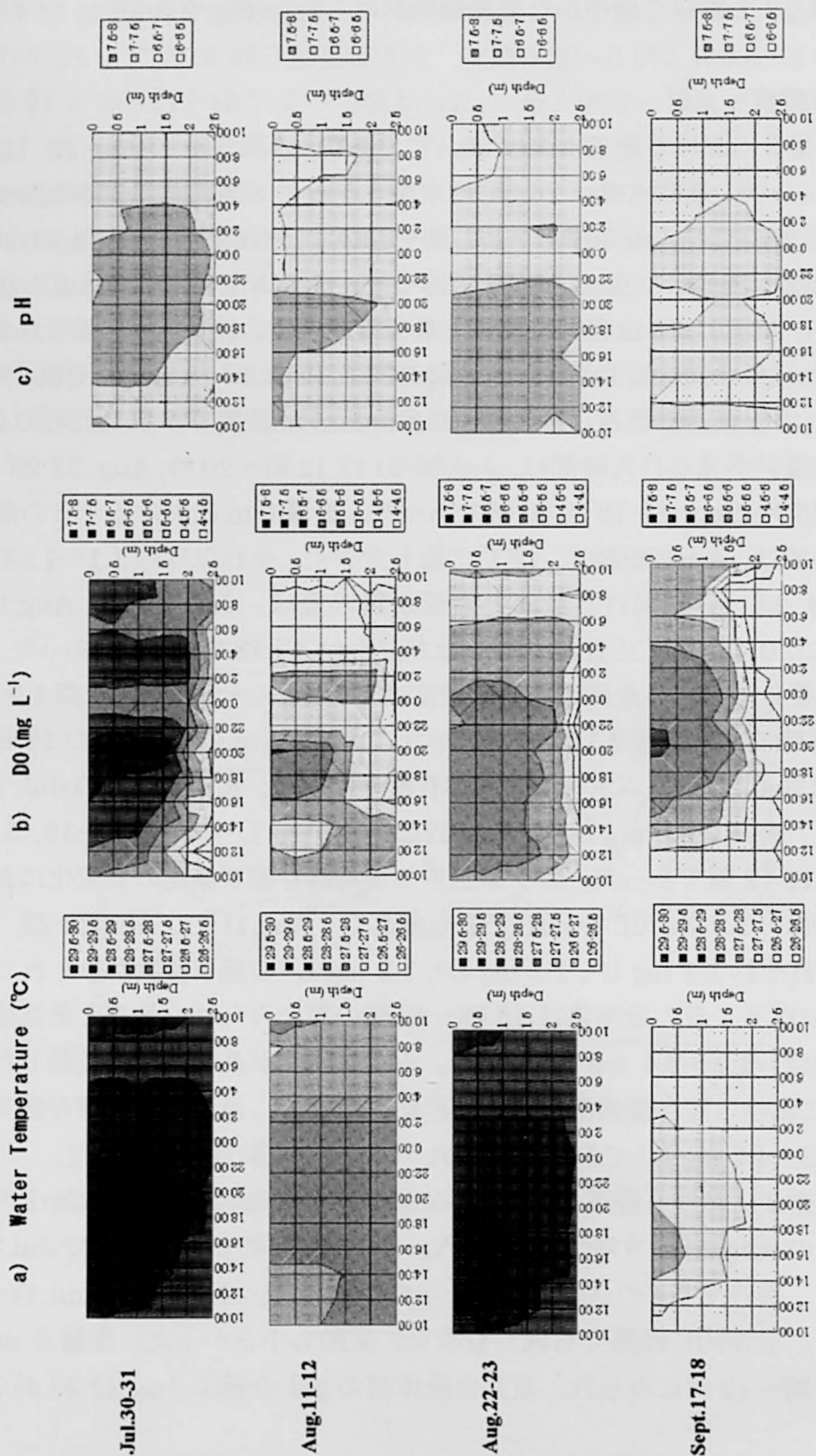


Fig. 2-3-4 Diel patterns of a) water temperature, b) dissolved oxygen concentration and c) pH

## 日射量

日射量は、Fig.2-3-5 に示した。Jul.30-31 の調査時間 10 時から翌日の 10 時の総日射量は  $4800 \text{ W m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  で4回の調査で最も高く、次いで Sept.17-18 に  $4200 \text{ W m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ , Aug.22-23 に  $3700 \text{ W m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ , Aug.11-12 に  $2200 \text{ W m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  であった。時間あたりの日射量の最高値は Sept.17-18 の 13 時であったが、この日の午前中および前日 (Sept.16) の日射量はあまり高くなかった。

## 風速

風速は、Fig. 2-3-6 に示した。4 回の調査日の平均風速は  $2.4 \sim 3.4 \text{ m sec}^{-1}$  の範囲にあり、いずれも午後に強くなり夜間穏やかになるパターンを示した。各調査日の最大風速は  $5.5 \sim 6.5 \text{ m sec}^{-1}$ , 最小風速は  $0.2 \sim 1.0 \text{ m sec}^{-1}$  の範囲にあり、いずれの調査日も大きな違いはなかった。

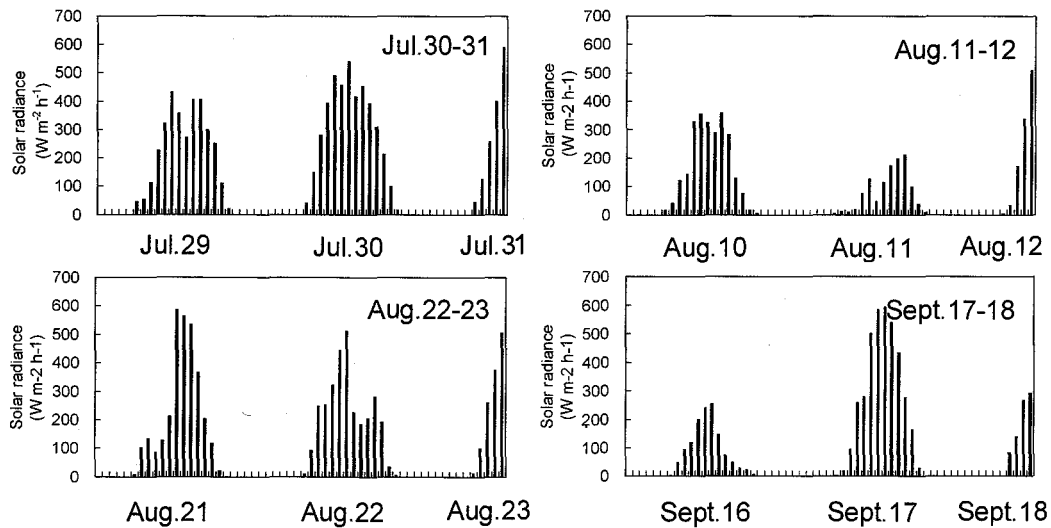


Fig. 2-3-5 Diel patterns of total solar radiance

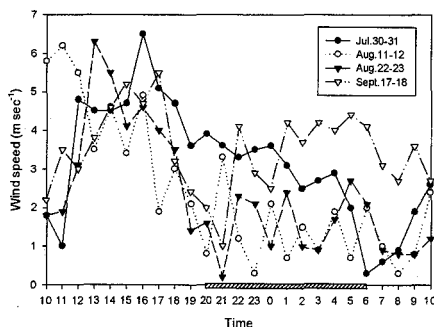


Fig. 2-3-6 Diel patterns of wind speed

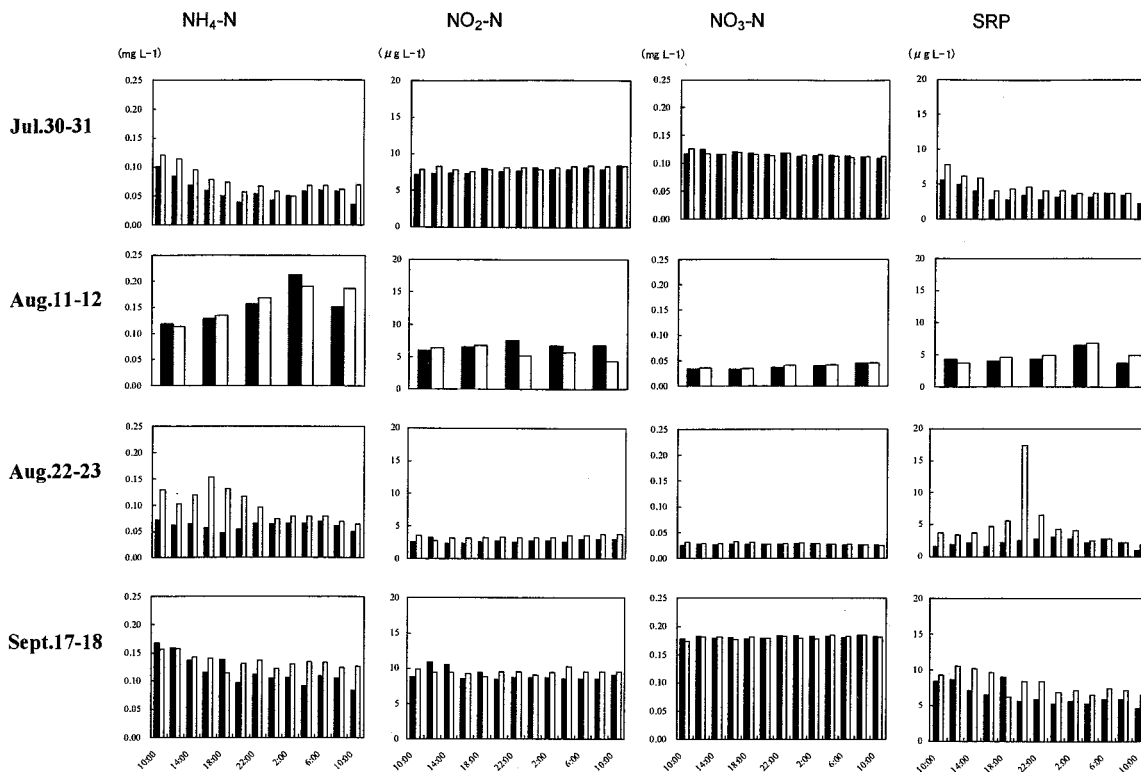


Fig. 2-3-7 Diel pattern of nutrient concentrations. Black bar shows 0 m and White bar shows 2.5 m

### 栄養塩濃度

4回の調査日の0 mと2.5 mを平均したDINならびにSRP濃度は、低い順に Aug. 22-23(DIN  $111 \mu\text{g L}^{-1}$ , SRP  $3.51 \mu\text{g L}^{-1}$ ), Jul.30-31(DIN  $190 \mu\text{g L}^{-1}$ , SRP  $4.03 \mu\text{g L}^{-1}$ ), Aug.11-12(DIN  $201 \mu\text{g L}^{-1}$ , SRP  $4.80 \mu\text{g L}^{-1}$ ), Sept.17-18(DIN  $316 \mu\text{g L}^{-1}$ , SRP  $7.23 \mu\text{g L}^{-1}$ )であった。また、0 mと2.5 mにおける濃度を比較すると、DIN, SRP いずれも4回の調査日において2.5 mの方が高い濃度を示した。特に、Fig. 2-3-7によると、NH<sub>4</sub>-N, SRPのAug. 22の午後は水深2.5 mに0 mと比べて顕著に高いピークがみられた。また、各調査日のTN:TP比は、低い順に Aug.22-23(17.6), Aug.11-12(20.0), Jul.30-31(20.2), Sept.17-18(22.3)で調査日による変動は大きくなかった。

### 光合成活性

水深0 mと2.5 mにおける光合成の潜在能力を示すF値の24時間変化をFig. 2-3-8に示した。水深0 mと2.5 mでの午前中(6時~10時)の平均値はそれぞれ Jul.30-31は0.9, 1.1, Aug. 11-12は1.2, 1.4, Aug.22-23は1.2, 1.5, Sept. 17-18は1.1, 1.0であり、2.5 mの方が0 mに比べて高いか、ほぼ同程度であった。午後(12時~18時)の水深0 mと2.5 mでの平均値はそれぞれ Jul.30-31は1.0, 1.0, Aug. 11-12は1.3, 1.4, Aug.22-23は1.0, 0.9, Sept. 17-18は1.2, 1.0

であり、Jul.30-31 と Aug.11-12 は 2.5 m が高く、Aug.22-23 と Sept.17-18 は 0 m.の方が高かった。夜間(22時~4時)の平均値はそれぞれ Jul.30-31 は 1.0, 1.0, Aug. 11-12 は 1.0, 1.1, Aug.22-23 は 1.1, 1.0, Sept. 17-18 は 0.9, 0.8 であり、0 m.の方が高いか、ほぼ同程度であった。

### 考 察

細胞分裂頻度の 24 時間変化を調べると、日中高くなり夜間低くなるといった昼夜変動をする日と、ほとんど変動しない日がみられた (Fig.2-3-1)。さらに、変動を示す日の分裂頻度の最低値は、変動しない日の分裂頻度よりも高い割合を示した。このことから、変動しない日 (Aug.11-12, Aug. 22-23) は、細胞分裂がほとんど進行していないか、極めて少ないと示唆された。近年、細胞分裂頻度(FDC)を応用した植物プランクトンの増殖速度測定技術の開発が進められている (e.g.Champbell and Carpenter 1986; 山口・本城 1990; Kuwata et al. 1996)。McDuff and Chisholm(1982)は、FDC を用いた増殖速度が次の式(2)によって求められると述べている。

$$\mu_{FDC} = (1/n Td) \sum \ln(1+fi) \cdots (2)$$

$\mu_{FDC}$  は、FDC によって見積もられた増殖速度(d<sup>-1</sup>)、n はサンプル採取回数、Td は細胞分裂に要する時間、fi は i

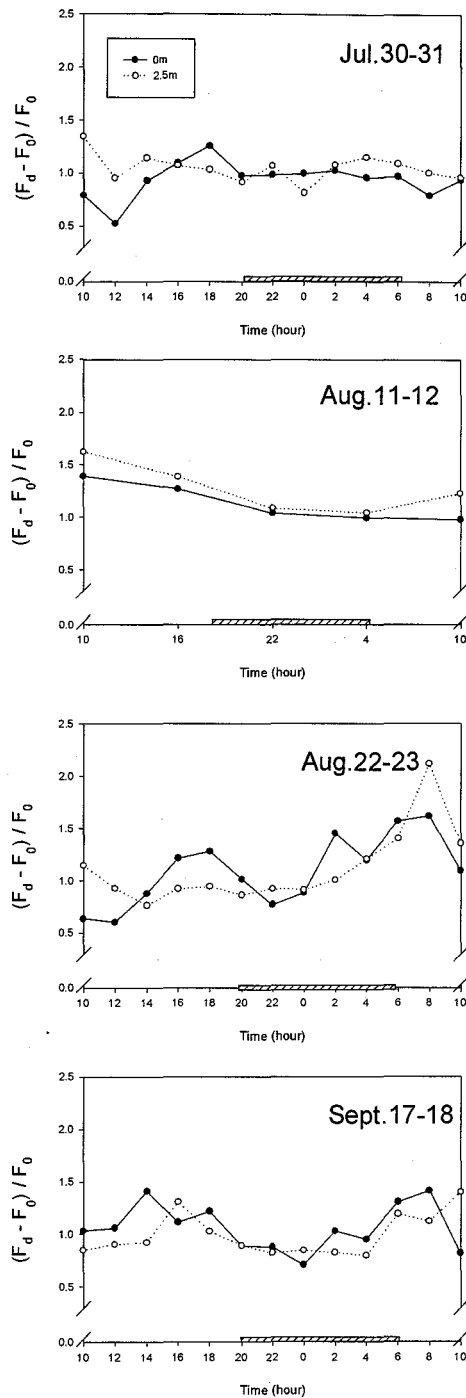


Fig. 2-3-8 Diel patterns of DCMU photosynthetic capacity

時間における細胞分裂頻度(FDC)を示す。本式を現場の植物プランクトンに適用する場合、1回の分裂にかかる時間や分裂の同調性が得られないと、単純なモデル化は難しいといわれている。本研究で得られたTdはJul.30-31は約14時間、Sept.17-18で約12時間であった。その日の細胞分裂頻度の平均値はそれぞれ21%、19%であった。しかし、これらの値は、細胞分裂の途中で進行が止まった細胞も含まれていると考えられるため、増殖速度の見積もりは再検討される必要があるだろう(Tsujimura 投稿中)。細胞が分裂に生化学的エネルギーを必要とすることを考慮すると、本調査において観察された細胞分裂頻度の昼夜変動は、細胞分裂が進行したことを示している。Okino(1973)によると、諏訪湖での*Microcystis*の増殖は水温、光強度、pH、栄養塩との関係が示されている。そこで、本研究では、琵琶湖南湖北山田漁港において最も長い期間アオコを形成するラン藻類*Microcystis aeruginosa*の増殖を制御している要因を明らかにするため、以上の環境項目と、さらに、光合成活性に関わる溶存酸素量とDCMUによって導かれる蛍光強度を利用した光合成の潜在能力との関係を検討した。

本調査結果において、Aug.22-23とAug.11-12の細胞分裂頻度は低く、昼夜変動も見られなかった。その理由について過去に行われた*Microcystis*の生態に関する研究の見解から検討する。*Microcystis*細胞密度の変動は、クロロフィルa濃度の変動と比較すると極めて大きかった(Figs. 2-3-2, 2-3-3)。特にAug.22-23はそれ以外の3回の調査日に比べて大きく、これは、湖水中で*Microcystis*が移動したためと考えられるが、これらの移動が細胞分裂頻度に大きな影響を及ぼした様子はみられなかった。

琵琶湖の*Microcystis*は水温が28~32°Cで最大増殖速度が得られるといわれている(Nalewajko and Murphy 2001)。しかし、本調査での細胞分裂頻度の昼夜変動の有無は水温に依存しなかった。細胞分裂にかかる時間(Td)は、*Synechococcus*の場合水温変化が大きく影響するが(Cambell and Carpenter 1986)、本調査期間中の水温は26°C以上ありTdに大きな変化を与えるほど低くはならなかったため、他の環境要因によって制御されたと推察される。

分裂頻度の変動がない日(Aug.11-12, Aug. 22-23)は、溶存酸素濃度が6.5 mg L<sup>-1</sup>を越えることはなかった(Fig. 2-3-4b)。溶存酸素濃度は、植物プランクトンが活発に光合成を行った結果を示すが、細胞分裂頻度の変動のない日に昼間の溶存酸素濃度の上昇も顕著でなかったことは、この日の細胞活性が低く、光合成活性も活発に行われなかったことが推察された。

一般的にはpHが高い水域にアオコ形成ラン藻類は多いといわれているが(Gerloff and Fishbeck 1969; Shapiro 1973)、今回得られた結果からpHが高い時に*Microcystis*分裂頻度が高くなるといった関係は見られなかった(Fig.



2-3-4c)。pHの上昇は湖水中の遊離の二酸化炭素分子が植物プランクトンの活発な光合成によって消費され、不足することによって生じる。今回、pHは高くなり、変動も少なかったため、分裂頻度への影響は大きくないと推察された。

また、細胞分裂は光強度、周期によって影響を受ける(Champbell and Carpenter 1986)。細胞分裂頻度の変動がない日(Aug.11-12, Aug. 22-23)は、変動のある日に比べて日射量が少ない傾向もみられた(Fig. 2-3-5)。*Microcystis*の増殖に光が重要であることはよく知られているが(Okino 1973; Iwakuma and Yasuno 1983)、この結果からも分裂に光が直接的に影響していることが伺われた。

平均風速は、4回の調査間で大きな差はなかった(Fig. 2-3-6)。したがって、細胞分裂頻度に風と、それに伴う湖水の混合が大きく影響するとは考えられなかった。

栄養塩濃度に関して、DIN, SRPともに低く、TN:TP比も調査日によって顕著な違いはみられなかった(Fig. 2-3-7)。細胞分裂には、体内に蓄えた栄養塩濃度が関係すると言われている。第2章第2節における*Microcystis aeruginosa*のC:N比(Fig.2-2-8)から判断すると、Sept.17-18の方がAug.22-23に比べて夜間に窒素を取り込んだと推察された。Sept.17-18の窒素の取り込みが細胞分裂頻度の違いに影響したかどうかについては不明だが、栄養塩欠乏によって分裂できなかったことから免れたと思われる。

光合成活性に関して、Sept.17-18以外の調査日の午前中は0 mで低くなる傾向がみられた。これは、湖水表面での光阻害の影響と示唆されるが、午後には風が吹き湖水が混合するか、或いはラン藻類の鉛直移動によって藻類が物理的に表層と底層で混合したと考えられるため2.5 mとの差が縮まるか、逆転する結果となった。Aug.11-12は降雨のため湖水混合が十分に行われたと考えられるので、変動は最も少なかったが、それ以外の調査日においても顕著な違いもなく、北山田漁港の湖水は比較的よく混合していることが推察された。DCMUによって導かれる蛍光特性による光合成活性は、栄養塩不足と強い光によって低下することが知られている(Kiefer 1973)。そして、最終的には生長に影響を及ぼすことが知られている(Vincent 1980)。しかし、分裂の制御までは時間的経過があると思われる、光合成活性はむしろ強い光と栄養塩不足に対応して表層で低下したと推察された。

以上のことから、Aug.11-12, Aug.22-23は日射量不足のため分裂頻度の顕著な変動が得られなかったと示唆された。また、細胞分裂頻度の変動が観察された調査日において、Sept.17-18の分裂頻度が上昇する時刻はJul.30-31に比べて遅かった(Fig.2-3-1)。これは、日射量が増えるのが遅かったことと、前日の

日射量が低かったことが関係しているのかもしれないと推察された(Fig.2-3-5)。今回の研究では、細胞分裂頻度とその時刻の環境要因の測定値との比較を行ったが、蓄積したエネルギーを利用できるならば、細胞分裂頻度を上昇させるまでの時間的経緯についても検討する必要があるだろう。栄養塩に関しては過剰摂取して細胞内に蓄えることはよく知られているが、太陽放射エネルギーについても Gibson (1985)が提案するように細胞内で蓄積する機構を上手く作用したとすると、Sept.18 の 10 時に高い分裂頻度が得られるメカニズムについても明らかになるかもしれない。細胞内で DNA 合成期から分裂に進行するには一定量の光量を受ける必要があると推察されており (Chisholm et al. 1984)、今後これらの環境要因の影響に関する時間的履歴を含めたモデル的解析が期待される。FDC 法を用いた野外 *Microcystis* 群集の増殖速度の見積もりに関しては、Chambell and Carpenter(1986)でも述べられているように、①細胞分裂にかかる時間(Td)が一定、②すべての細胞の Td が一定、③すべての細胞に活性がなければならぬため、かなり安定した生息環境を要するだろう。また、*Microcystis* は水域内での移動性に富んでいるため、細胞が享受する環境条件が変化しやすいなどの問題点が残されている。安定した日に限定すれば、FDC 法による野外 *Microcystis* 群集の増殖速度見積もりも改良可能になるかもしれない。

*Microcystis* の細胞分裂頻度が、増殖を促進させるといわれてきた光や栄養塩などの環境要因によって変動する場合としない場合が起こることがわかった。そして、それを制限する環境要因は、同じ水域においても、調査日によって、またアオコの発達段階によって異なっていた。アオコの発生予測には、まず、増殖速度を知るために、多くの環境要因について総合的に監視していく必要がある。さらに、野外でのアオコ発生対策には現場の増殖要素だけでなく集積要素も含めた予測ならびに監視体制が必要になるだろう。

## 第4節 画像解析を用いた *Microcystis* 群体の形態的特性

### 序 論

植物プランクトンの増殖過程において、細胞ならびに群体の大きさは生長速度を決める重要な要素の1つであると考えられている(Bense 1976; Malone 1980)。概して、植物プランクトン細胞は小さいほど、増殖速度や光合成速度が高いといわれてきた(Reynolds 1984)。体積あたりの表面積の割合(SA/V)が大きいことは光や栄養塩の獲得に有利であり、小さな細胞ほど SA/V 値は大きく、増殖速度は高くなる。しかしながら、自然環境下における植物プランクトンの優占種は、細胞自身の分裂速度(総増殖速度或いは、真の増殖速度)でなく、様々な環境制限を受けた結果に得られる増殖速度(純増殖速度或いは、みかけの増殖速度)によって決定づけられる。したがって、生息水域における光や栄養塩の不足から増殖制限を受けた種であっても、長時間有光層内にとどまる能力、頻繁に有光層に移動する能力、或いは栄養塩の欠乏に備えて細胞内に栄養素を保持する能力を獲得すれば、大きなブルームを形成することも可能である(Reynolds 1984; Reynolds 1988)。Reynolds (1988)による植物プランクトンの環境適応能力に基づいた分類体系では、アオコを形成するラン藻類の *Microcystis* はストレス・耐性種(S: Stress-tolerant species)に含まれる。競争種(C: Competitors 例えば単細胞性ピコプランクトン *Synechococcus*)に含まれる種と比較すると、*Microcystis* の分裂速度は遅いが、細胞周囲に粘質鞘を形成して大型不定形群体を維持する。

*Microcystis* の大型群体を維持する特性がアオコ形成に重要な役割を果たすことは古くから指摘されてきた(e.g. Reynolds and Walsby 1975; 高村 1988; Oliver and Ganf 2000; Kagami and Urabe 2001)。*Microcystis* の群体を取り囲む粘質鞘については、形態の維持だけでなく、必須栄養素や微量金属類の吸着濃縮、捕食からの回避、細菌の攻撃に対する保護の役割、浮遊沈降への影響から、それを持つことによって増殖促進効果が得られる可能性が高いといわれている(雨宮・中山 1984; Amemiya and Nakayama 1989)。また、静止状態におけるアオコ形成ラン藻類の浮上沈降は、粒子の大きさや水中での摩擦力に依存するストークスの式に従うので(e.g. Walsby and Reynolds 1980)、群体は大きくなるほど鉛直移動速度が高くなること、直径 200  $\mu\text{m}$  のとき移動水深が最も深くなること、さらに、小さな群体の方が湖水表面の近くでしか移動できないため光障害を受けやすいことが浮上沈降と光合成のモデルを用いて示されてきた(岡田ほか 1981; Howard 1997; Visser et al. 1997)。

しかし一方では、自然湖沼におけるアオコの群集内では、多様な大きさの群

体が混在するので、小型の群体は大型群体の陰になって光阻害から守られているという説もあった (Ibelings and Mur 1992)。このように、群体を形成維持する生存戦略的意義は、いろいろ検討されているが、様々な大きさ、形を持つ群体を形成している意義に関してはよくわかっていない。

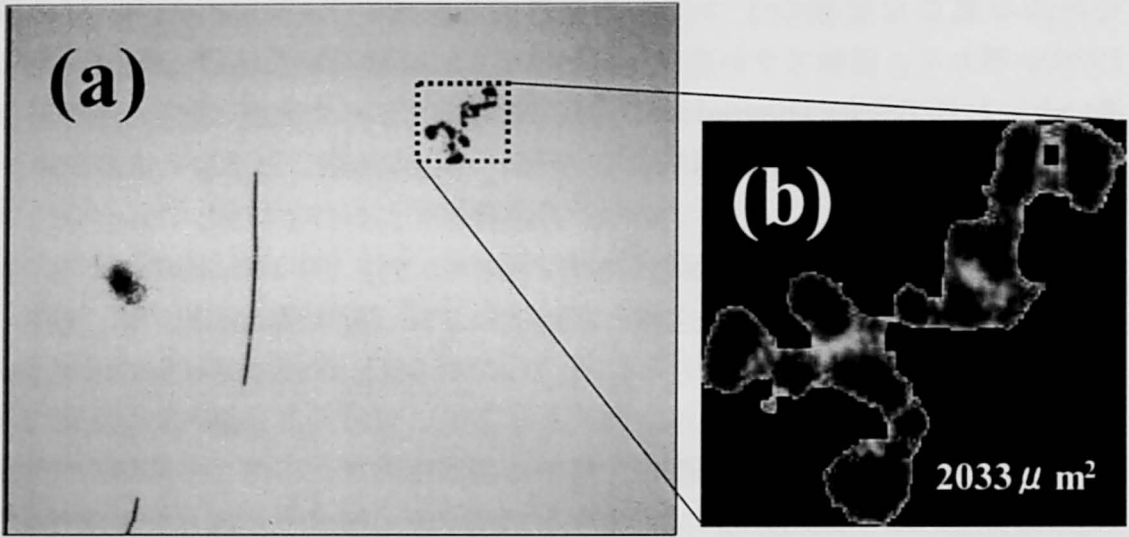


Fig. 2-4-2 *Microcystis* colonies and *Anabaena* filaments image (a) and segmented object by the image processing (Walker et al. 2000) using pattern recognition technique (b)

Reynolds et al. (1981)は、*Microcystis*の生活史を野外の隔離水塊を用いて詳細に観察調査している。そこでは、発生初期は小型の群体を形成しているが、次第に大きな不定形群体へと生長する様子が写真とともに示されている。群体の形態変化と、アオコ形成との間には、何らかの関係が推察されるが、当時は測定方法が顕微鏡下での目視観察に頼らざるをえなかったため、群体形態の変化に関する量的評価は明確ではなかった。

本節では、南湖北山田漁港において、迅速かつ客観性に優れたコンピュータによる画像処理技術を用いて *Microcystis* 群体の形態変化を群集の発達とともに調査した。また、本計測は *Microcystis* 群集の増殖期を明確にするために、3ヶ月間の連日モニタリングと並行して行った(第2章, 第2節参照)。発生初期(8月)と増殖期(9月)の直径、円形率を比較するとともに、形態がアオコ形成に果たす役割(生態戦略)について検討した。

## 方法

第2節で述べた北山田漁港(Fig. 2-4-1; Fig. 2-2-1 参照)での *Microcystis* をモニタリングする際、湖水中のアオコ形成ラン藻類が  $1 \text{ colony ml}^{-1}$  以上増殖した

時期に、プランクトンネット（メッシュサイズ 64  $\mu$  m）を用いて表層から植物プランクトンを採取した。植物プランクトン試料は固定を行わず、直ちに研究室に持ち帰った。プレパラート上で、画像解析装置を用いて 1,304  $\times$  1,024 画素数 256 階調 (8bit) の *Microcystis* 群体のグレースケール画像を取得した。画像の取得日ならびに枚数を Table 2-4-1 に示した。画像解析装置は、顕微鏡部分は正立生物顕微鏡(BX50 オリンパス社)を用いて、高感度デジタル CCD カメラ(KPF-100 日立製作所社)を接続したシステムである。取得した画像から、*Microcystis* のオブジェクト部分を画像処理ソフト (Walker et al. 2000) を用いたパターン認識によって、切り出しを行った (Fig. 2-4-2)。 *Microcystis* 群体の投影部分のピクセル面積、円形率を求めた。求められた画像面積は、等価粒形に換算して、群体の直径(R)とした。

Table 2-4-1 Number of objects in images of *Microcystis*

| <i>M. aeruginosa</i> |        |         |        |          |        | <i>M. wesenbergii</i> |        |         |        |         |        |          |    |          |    |
|----------------------|--------|---------|--------|----------|--------|-----------------------|--------|---------|--------|---------|--------|----------|----|----------|----|
| date                 | number | date    | number | date     | number | date                  | number | date    | number | date    | number |          |    |          |    |
| Aug. 1               |        | Aug. 16 |        | Sept. 1  | 86     | Sept. 16              | 38     | Aug. 1  |        | Aug. 16 |        | Sept. 1  | 9  | Sept. 16 | 6  |
| Aug. 2               |        | Aug. 17 | 32     | Sept. 2  | 72     | Sept. 17              | 5      | Aug. 2  |        | Aug. 17 | 9      | Sept. 2  | 14 | Sept. 17 |    |
| Aug. 3               |        | Aug. 18 |        | Sept. 3  | 55     | Sept. 18              |        | Aug. 3  |        | Aug. 18 |        | Sept. 3  | 1  | Sept. 18 |    |
| Aug. 4               |        | Aug. 19 | 8      | Sept. 4  |        | Sept. 19              |        | Aug. 4  |        | Aug. 19 | 3      | Sept. 4  |    | Sept. 19 |    |
| Aug. 5               |        | Aug. 20 | 99     | Sept. 5  |        | Sept. 20              | 33     | Aug. 5  |        | Aug. 20 | 219    | Sept. 5  |    | Sept. 20 | 2  |
| Aug. 6               |        | Aug. 21 |        | Sept. 6  | 30     | Sept. 21              | 98     | Aug. 6  |        | Aug. 21 |        | Sept. 6  | 1  | Sept. 21 | 18 |
| Aug. 7               |        | Aug. 22 |        | Sept. 7  | 20     | Sept. 22              | 47     | Aug. 7  |        | Aug. 22 |        | Sept. 7  | 4  | Sept. 22 | 10 |
| Aug. 8               |        | Aug. 23 | 5      | Sept. 8  | 26     | Sept. 23              |        | Aug. 8  |        | Aug. 23 | 3      | Sept. 8  | 2  | Sept. 23 |    |
| Aug. 9               |        | Aug. 24 | 101    | Sept. 9  | 37     | Sept. 24              | 6      | Aug. 9  |        | Aug. 24 | 21     | Sept. 9  | 9  | Sept. 24 | 2  |
| Aug. 10              | 2      | Aug. 25 | 90     | Sept. 10 | 76     | Sept. 25              |        | Aug. 10 | 1      | Aug. 25 | 21     | Sept. 10 | 29 | Sept. 25 |    |
| Aug. 11              | 6      | Aug. 26 | 118    | Sept. 11 |        | Sept. 26              |        | Aug. 11 | 1      | Aug. 26 | 19     | Sept. 11 |    | Sept. 26 |    |
| Aug. 12              |        | Aug. 27 | 171    | Sept. 12 |        | Sept. 27              | 20     | Aug. 12 |        | Aug. 27 | 43     | Sept. 12 |    | Sept. 27 | 3  |
| Aug. 13              |        | Aug. 28 |        | Sept. 13 | 46     | Sept. 28              | 6      | Aug. 13 |        | Aug. 28 |        | Sept. 13 | 9  | Sept. 28 | 1  |
| Aug. 14              |        | Aug. 29 |        | Sept. 14 | 21     | Sept. 29              |        | Aug. 14 |        | Aug. 29 |        | Sept. 14 | 2  | Sept. 29 |    |
| Aug. 15              |        | Aug. 30 |        | Sept. 15 |        | Sept. 30              | 15     | Aug. 15 |        | Aug. 30 |        | Sept. 15 |    | Sept. 30 | 3  |
|                      |        | Aug. 31 |        |          |        |                       |        |         |        | Aug. 31 |        |          |    |          |    |
| Total                | 8      |         | 624    |          | 469    |                       | 268    |         | 2      |         | 338    |          | 80 |          | 45 |

## 結 果

### *Microcystis* の増殖

北山田漁港では 1999 年 7 月～9 月の期間、10 種類以上のアオコ形成ラン藻類が確認され、8 月～9 月に *Microcystis*, *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Oscillatoria* によって構成されるアオコが発生したが、連日のモニタリングでは *Microcystis* が最も長期にわたって観察された (第 2 章 第 2 節参照, Tsujimura et al. 2001)。 *M. aeruginosa* と *M. wesenbergii* の細胞数の変化を半月毎に平均して、Fig.2-4-3 に示した。 *M. aeruginosa* は 7 月 5 日に最初に観察されたが、その後細胞数は 1 cell ml<sup>-1</sup> 未満にまで低下した。7 月後期に、再び増殖を開始して、8 月後期には平均で 1,014  $\pm$  186 cells ml<sup>-1</sup> まで増加した。9 月の前期に一旦減少したが、同月後期には再び増加して、平均 776  $\pm$  764 cells ml<sup>-1</sup> を示した。 *Microcystis wesenbergii* は、7 月 22 日に最初に観察され、7 月後期の 30  $\pm$  18

cells ml<sup>-1</sup>から9月後期に細胞数は1,024±1,128 cells ml<sup>-1</sup>にまで増加した。*M. aeruginosa*, *M. wesenbergii*ともに9月後期の細胞数は、日ごとの変動が大きかった。

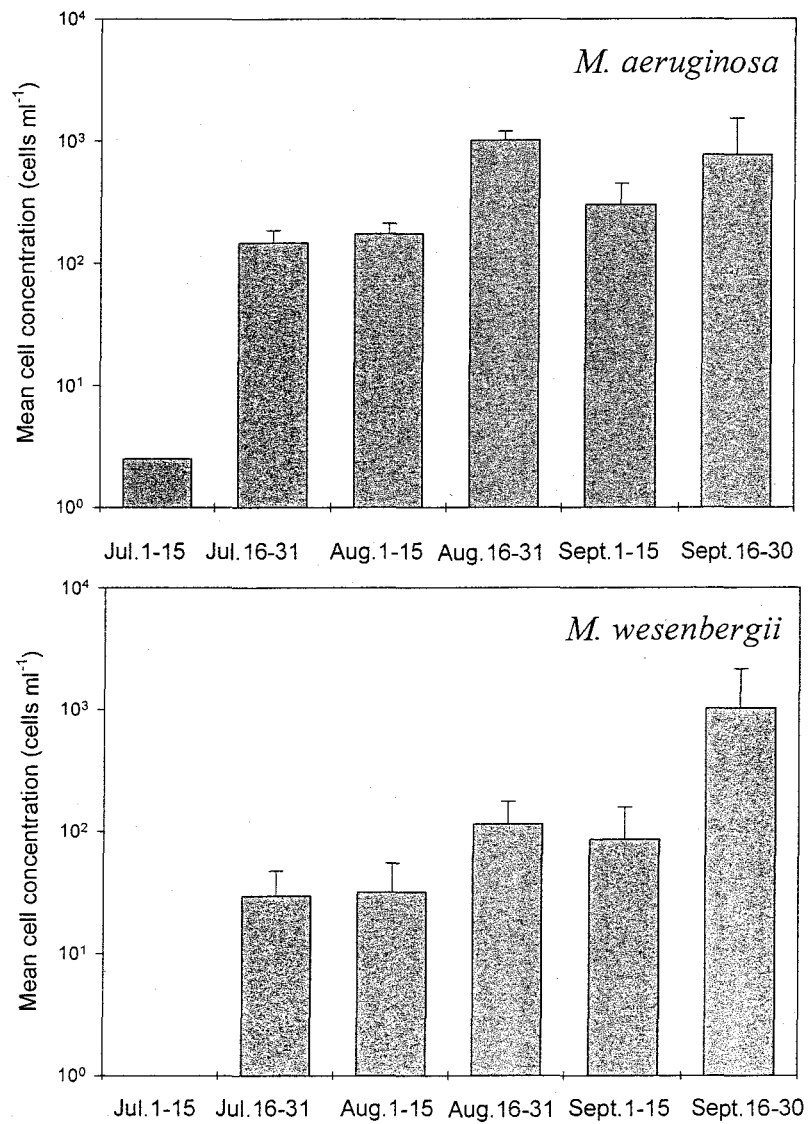


Fig. 2-4-3 Change of *Microcystis* cell concentrations in the water of Kitayamada Fishery Port from July to September in 1999. Error bar shows Standard Error

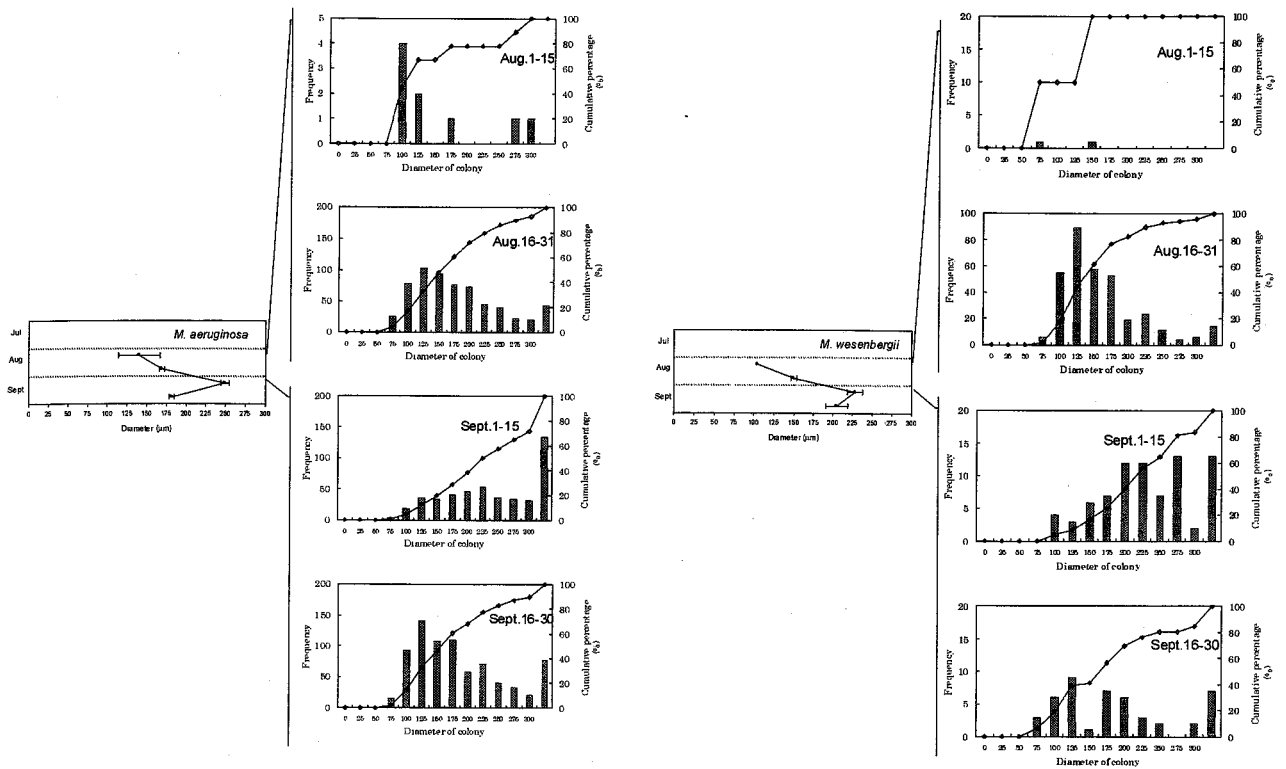


Fig. 2-3-4 Seasonal change of colony diameter in *Microcystis aeruginosa* (left), *Microcystis wesenbergii* (right), Error bar shows standard error

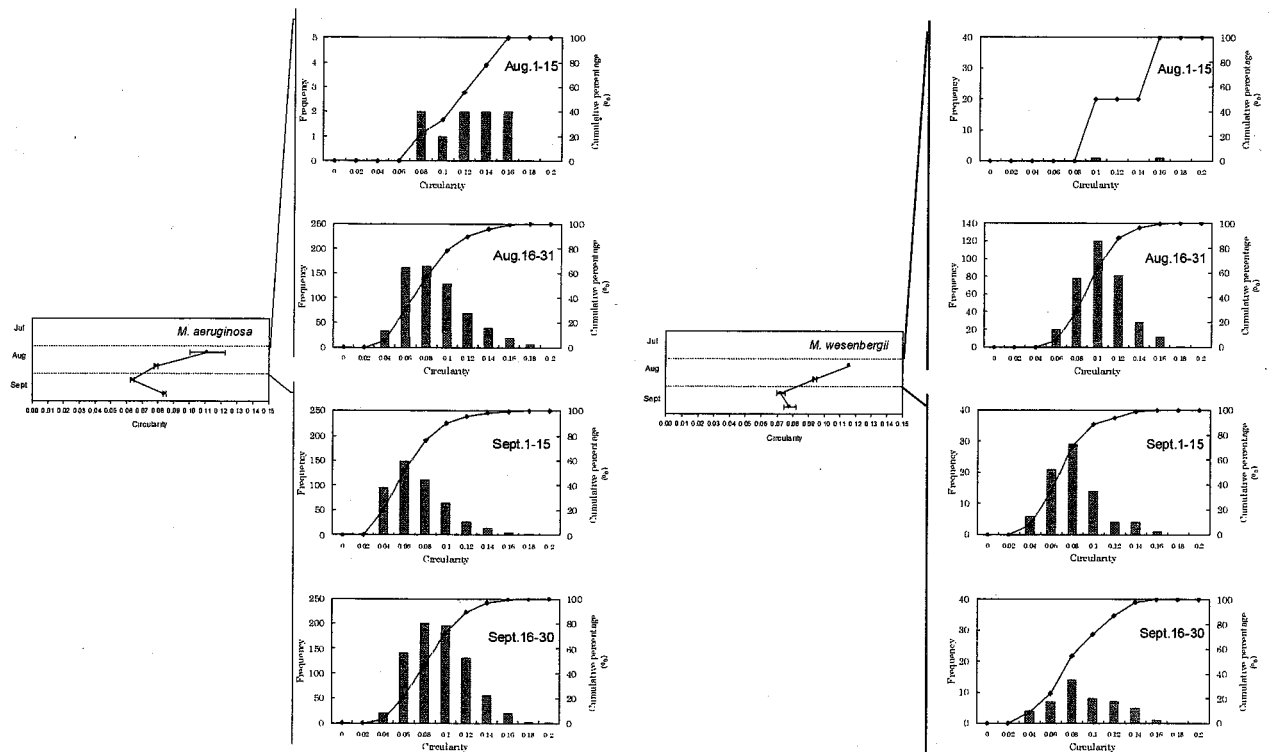


Fig. 2-4-5 Seasonal change of circularity in *Microcystis aeruginosa* (left), *Microcystis wesenbergii* (right), Error bar shows standard error

### *Microcystis* 群体の形態変化

*Microcystis* 群体の大きさ (群体径) の変化を半月毎に平均して Fig. 2-3-4 に示した。7月は *Microcystis* が少なかったため、*M. aeruginosa*, *M. wesenbergii* ともに統計処理が可能な数の画像が取得できなかった。*M. aeruginosa* の平均群体径は、8月前期の  $141 \pm 27 \mu\text{m}$  から次第に大きくなり、9月前期に  $249 \pm 5 \mu\text{m}$  になった。しかし、9月の後期は小さくなり  $182 \pm 3 \mu\text{m}$  を示した。同様に *M. wesenbergii* の群体径は、8月前期の  $105 \mu\text{m}$  から次第に大きくなり、9月前期の  $228 \pm 9 \mu\text{m}$  になった。その後、9月後期の  $205 \pm 14 \mu\text{m}$  まで小さくなった。また、*M. aeruginosa*, *M. wesenbergii* の8月9月における群体径のヒストグラムから、常に小さな群体は存在するが9月前半には大きな群体の占める割合が高く、 $>300 \mu\text{m}$  の群体が顕著に増加することがわかった。

この間の *M. aeruginosa* の円形率は、小さな群体が多い8月前期には  $0.11 \pm 0.01$  であったが、次第に減少して9月前期に  $0.06 \pm 0.00$  と小さくなり不定形の割合が高くなった (Fig. 2-3-5)。その後9月後期に  $0.08 \pm 0.00$  まで回復した。*M. wesenbergii* の円形率は、8月前期  $0.12$  から減少して、9月前期に  $0.07 \pm 0.00$  を示し、9月後期にわずかに回復した。*M. aeruginosa*, *M. wesenbergii* ともに8月と9月の円形率を比較すると、9月前半に最も低かった。円形率の変動傾向は、*M. aeruginosa* と *M. wesenbergii* ともに、群体径の変動傾向と逆の傾向を示した。

### 考 察

*Microcystis* 群体が発生初期は小型であるが、分裂回数を重ねるにつれて大型になり、将来、娘群体となる突起部を形成することは過去の観察記録によってもよく知られている (Reynolds et al. 1981)。本研究も同様な過程が観察され、この過程について、画像解析を用いた量的評価を行った。

琵琶湖南湖北山田漁港における *M. aeruginosa* と *M. wesenbergii* は、7月から9月にかけてゆっくりと増殖してアオコを形成した。特に、7月前期～後期の間、8月前期～後期の間、9月前期～後期の間に活発な細胞密度の増加が見られた。一方、7月後期から8月前期、8月後期から9月の前期は、細胞密度の増加は停滞した (Fig. 2-4-3)。そして、群体の直径の平均値は、細胞密度増加の停滞期である8月後期から9月前期に顕著に大きくなる傾向がみられ、円形率の平均値は同期に顕著に小さくなる傾向がみられた (Figs. 2-4-4, 2-4-5)。大型群体が増えると、群体径は大きくなる。また、不定形が多くなると円形率が小さくなる。この間、*Microcystis* 群体は、Fig. 2-4-6 に示した模式図のような生長サイクルがみられている。発生初期の(a)の小型タイプが多い群集から、(b)(c)の中型から大



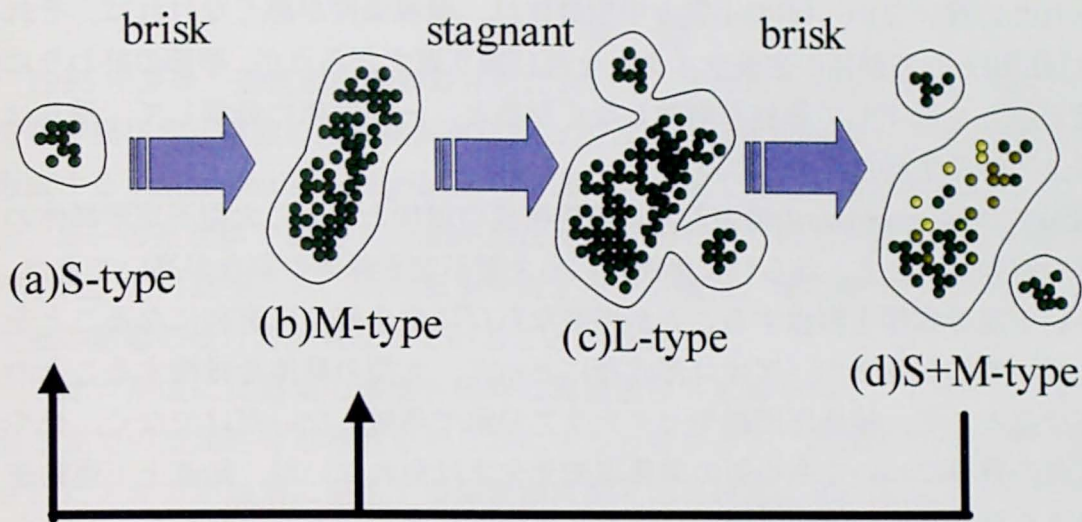


Fig. 2-4-6 Schematic diagram of *Microcystis* colony size and their development cycle

型の多い群集を経て、(d)の大型群体が分裂した小型と中型の混在した群集へと変化した。群体の平均径ならびに円形率の変化はこのことを数値的に裏付けている。しかし、それぞれの群体1つずつに着目すると、一般的に *Microcystis* の野外での増殖速度定数が  $\mu = 0.5$  ならば、直径  $150 \mu\text{m}$  から  $300 \mu\text{m}$  すなわち体積にして8倍大に約4日で生長すると推定される。すなわち、群体1つずつは群集平均値の季節的变化と比較してかなり短い周期で大型化して娘群体を分離させて小型と中型の群体を形成するといった過程を繰り返すと考えられる。なぜ細胞密度の増加がみられないときに中型～大型群体の割合が多くなるのかについては、増殖が停滞しているときは、大型群体が小型群体を分離させづらいこと、ならびに小型の群体は捕食やバクテリアに分解されて消滅した可能性が考えられる。そして、結果的に停滞期には大型群体が残りやすくなるのだろう。本研究では、捕食圧の調査を行っていないので明らかではないが、2000年夏季に行われた占部(2001)による同漁港からのサンプルを用いた摂食実験や、Haney (1987)や Matveev and Matveeva (1997)の野外調査では、捕食者となる大型カイアシ類やミジンコ類の *Daphnia* などの動物プランクトンが大型よりも小型の群体( $50 \mu\text{m}$ )を形成する植物プランクトンを摂取すると報告されている。したがって、大型の *Microcystis* は、動物プランクトンによる捕食を免れた可能性が高い。

また再度活発な増殖がみられた9月前期から後期には、小型群体の割合も増えている。大型群体が活発に娘群体を分離させていることと、それらが捕食や分解を超える速度で増加していると推察された。したがって、増殖期は Fig.2-4-6 の(a)～(d)の過程が速やかに進行し、停滞期は(c)の過程で止まった群体が多く

見られたに違いない。(d)の小型と中型群体は、環境条件が悪くなければ、それぞれ(a),(b)として群体の生長サイクルを再び繰り返すだろうが、季節の終わりに水温が著しく低下して細胞が増殖しなくなると、一部は死亡分解して、残りは底泥上で越冬すると考えられる。

湖水中で *Microcystis* の増殖初期に細胞密度の増加とともに大型不定形群体の割合が増加したこと、ならびに停滞期にも大型不定形群体の割合が高いことは、大きい不定形群体を形成することが増殖ならびに生き残りに有利なることを示しているのだろうか。アオコ形成種にとって、大型の群体を維持することの有利な点として、捕食圧回避やバクテリア分解で消滅しないだけでなく、光や栄養塩の獲得について中心部の栄養塩や光欠乏は免れないが、鉛直上下運動速度が速くなるため、強光阻害から逃れる可能性も高くなることがシミュレーションによって示されている(e.g.岡田ほか 1981; Visser et al. 1997)。そして、物理的攪乱によって流された場合、迅速に最適深度へと回復できるといった利点もある(Reynolds 1989b)。*Microcystis* のアオコ形成時は水塊がしばしば成層状態となり、表層で栄養塩類が一時的に制限されやすい(吉田ほか 2000; Nakano et al. 2001)。栄養塩制限時には、大型群体は鉛直移動によって栄養塩の豊富な層まで移動して、不足した栄養塩を補うことができる(Ganf and Oliver 1982, Klemer et al. 1982)。その他、*Microcystis* のなかには球形の群体を形成し、細胞がその周囲に配列する株が観察されているが、このような群体は中心部の栄養塩、光欠乏を避けるために有効であると言われている(Walsby and McAllister 1987)。しかし多くの湖沼で観察され、また観察時の *Microcystis* は必ずしも細胞が周囲に配列した群体を形成しない。この場合、球形を崩し、円形率を低下させることは、中心部での光、栄養塩欠乏を避けるための有効的な手段なのかもしれない。

以上のように、*Microcystis* は大型で不定形化したことによって、夏期に起こりやすい増殖を妨げる様々な環境ストレスからうまく回避したのではないかと考えられた。それは、結果論かもしれないが、*Microcystis* が増殖し、ストレスの大きい環境下で生存し続けるための重要な生態戦略である可能性も否定できないだろう。本研究では、今まで数値化の困難であった形態情報をデータベース化したことにより、群体の直径ならびに円形率の変化と増殖に関する新しい知見が得られた。アオコに含まれる毒素濃度は、アオコの発生段階や細胞の活性によって異なる(van der Westhuizen and Eloff 1983; Ferrao-Filho et al. 2000)。また、湖水中でも同様であり(Park et al. 1998)、発生段階を知ることの重要性は高い。画像解析技術の躍進によって、有害な微細藻類の形態要素と増殖活性との関係が明確になることが期待される。

## 第5節 摘要

1995年夏季、琵琶湖南湖赤野井湾において、水の華を形成するラン藻の水平分布を調べた。複数の糸状体が束になった *Anabaena affinis* と、大型の群体を形成する *Microcystis aeruginosa* は、風下の水域で細胞密度が高くなった。一方、単一の糸状体である *Planktothrix agardhii* は、これらと異なる分布傾向を示した。この結果から、水の華を形成するラン藻は、種の持つ形態特性によって風の影響の受け方が異なっていることがわかった。

アオコ形成には藻類の増殖と同時に集積過程が重要であり、アオコの形成に至るまでの空間的分布特性を明らかにする必要がある。数種のラン藻類で構成されたアオコが頻繁に発生する琵琶湖南湖北山田漁港において、ラン藻類の現存量に関するモニタリング調査を行った。1999年7月1日から9月30日まで毎朝10時に定点と目視でアオコが集積している地点の2地点で表層から採水を行い、細胞密度の比較を行った。*M. aeruginosa* の細胞密度は2地点間で差はみられなかった。一方 *A. ucrainica*, *A. affinis*, *A. smithii*, *M. wesenbergii* は、目視でアオコの多い地点に多く生息した。細胞密度の5日間の移動平均と観測値から流動性を検討したところ、*A. smithii* は2地点とも観測値が移動平均から大きく外れることはなく、流動性に乏しかった。また、風下側の細胞密度が高くなる場合、多くの種では風速が  $1\sim 2\text{ m sec}^{-1}$  を示すことが多かったが、*A. smithii* は  $3\text{ m sec}^{-1}$  時に集積している割合が他種の場合に比べて多かった。このことから、これらのアオコ形成種の分布ならびに風による集積には、種特異性があることがわかった。

期間中に4回の昼夜観測を行い上下運動が増殖ならびにアオコ形成にどのように関与するのかを検討した。*M. aeruginosa* は、上下運動に伴う藻体のC:N比の変化がみられた。*A. smithii* は、増殖の開始期も後期も顕著な上下運動は見られなかったが、増殖開始期に藻体のC:N比の昼夜変化がみられた。ラン藻群体が上下運動によって表層に浮上したとき風に流されやすくなり風下に集積するのではないかと考えられ、北山田漁港におけるアオコの細胞密度に関して、上下運動を顕著に行う *M. aeruginosa* は集積要素に依存しやすい種であり *A. smithii* は水塊に均一に分布する増殖要素に依存しやすい種とみなすことができた。

野外における *Microcystis* の増殖活性を知るため、群集内の細胞分裂頻度の24時間調査を1999年夏期に4回行った。Jul.30-31とSept.17-18は分裂細胞の割合が昼に高く夜に低下したが、Aug.11-12とAug.22-23はほとんど変動を示さなかった。*Microcystis* の増殖と関係深いといわれている環境要因の影響を調べたところ、日射量が高い日に昼間の分裂細胞の割合が高くなる傾向がみら

れた。水温はいずれの調査日も 26°C以上あり、水温が細胞分裂頻度を制限することはなかった。DCMU 法によって測定した光合成活性は、いずれの調査日も顕著な傾向はみられなかった。それは、アオコがスカム状になるまでは風の影響による湖水の物理的混合に従って水域内で移動するためと推察された。細胞分裂頻度に大きく影響を及ぼす環境要因は、同じ水域で1シーズンに発生する *Microcystis aeruginosa* でも調査日によって様々なので、アオコの発達を予測するには増殖に影響を及ぼす環境要因を総合的に監視していく必要がある。

琵琶湖南湖の北山田漁港において、アオコを形成するラン藻類 *Microcystis aeruginosa*, *Microcystis wesenbergii* の発達と群体形態の季節的变化を画像解析によって数値化した。1999年夏期は、7月5日に初めて *M. aeruginosa* が湖水中に 1 cell ml<sup>-1</sup> 以上生息するのが観察された。その後9月までの期間、*M. aeruginosa*, *M. wesenbergii* ともに細胞数は増殖と停滞をゆっくりと繰り返しながら群集を発達させてアオコを形成した。8月前期から9月後期の細胞密度が 1 colony ml<sup>-1</sup> 以上にまで増加した期間に、野外から採取した *Microcystis* 群体の2次元 256階調グレースケールデジタル画像を取得した。これらのデジタル画像から群体の等価粒径と円形率をパターン認識を用いた画像処理を行って計測した。*M. aeruginosa*, *M. wesenbergii* は8月前期から9月前期は大型不定形群体の割合が高くなる。その間、等価粒径の平均値は8月前期から9月前期の間にそれぞれ、 $141 \pm 27(\text{SE}) \sim 249 \pm 5(\text{SE}) \mu\text{m}$ ,  $105 \pm 36(\text{SE}) \sim 228 \pm 10(\text{SE}) \mu\text{m}$  に増加した後、9月後期にはそれぞれ  $180 \pm 2(\text{SE}) \mu\text{m}$ ,  $180 \pm 13(\text{SE}) \mu\text{m}$  に減少した。また、各種の円形率の平均値は、*M. aeruginosa*, *M. wesenbergii* それぞれ  $0.11 \pm 0.01 \sim 0.06 \pm 0.00(\text{SE})$ ,  $0.11 \pm 0.02 \sim 0.07 \pm 0.00(\text{SE})$  に減少した後、 $0.08 \pm 0.00(\text{SE})$ ,  $0.08 \pm 0.00(\text{SE})$  に増加した。この結果は、アオコ群体の形態変化をこの2つのパラメータにより数値化できることを示している。9月後期に再び小型で球形に近い群体の割合が高くなる。群体の形態変化は、細胞密度の増加と停滞に合致しており、増殖活性の指標となりうることが示された。特に *Microcystis* 群体が細胞密度の増殖停滞期ほど大きな不定形群体の割合が高くなるが、これは大きな不定形群体は小さな球形群体に比べて、捕食、分解による攻撃を回避できるだけでなく、上下運動の速度を高め、群体内側の栄養塩や光欠乏の克服に有利なので、生き残りやすいと考えられた。

### 第3章 沖合におけるアオコの動態：沖合アオコの発生機構

中緯度に位置する湖のなかでも日本最大の琵琶湖は、比較的深く、湖水の栄養塩はリン制限である(Tezuka 1992)。しかし、南湖では1983年以来(一瀬ほか1987)、そして北湖諸港では1994年以来アオコが発生するようになった(吉田ほか1997)。琵琶湖北湖の沖合表層でも、1997年以来アオコ形成ラン藻類の膜がしばしば観察されるようになりこれらのアオコが生産する毒によるリスクが心配されている(熊谷ほか1999)。琵琶湖水中でのラン藻類による毒素濃度は、今のところ人の健康に被害を及ぼすほどではないが(渡辺ほか1999)、健全な湖の生態系を保てるような藻類の増殖制御が求められている。しかしながら、琵琶湖北湖のような深い湖におけるアオコの報告はほとんどなく、沖合アオコの発生機構に関する研究はなされていない。琵琶湖は近畿の住民に生活用水を供給しているので、毒性ラン藻類によるブルームのリスク評価は重要である。そして、その基礎となる *Microcystis* の発生ならびにアオコ形成に至る過程への更なる理解が必要である。

本章では、深い沖合水域において観察されるアオコの形成過程について、①底泥からの回帰の過程、②沖合湖水中での増殖過程、③沖合での物理的集積過程の以上3点に基づいて検討した。したがって、本章の内容は3節からなる。第1節では、深い底泥から越冬群体が回帰してくる可能性について、その限界深度を求めた。第2節では、沿岸域で栄養塩類を蓄積したラン藻細胞が沖合に移流する間の増殖を調べた。第3節では、琵琶湖北湖沖合表層において夏季に形成される第一環流によって移流される *Microcystis* 群体が、湖流に従って特異的に集積を起こす現象を発見し、そのメカニズムに関する仮説を提言した。

#### 第1節 底泥からの回帰の可能性

##### 序 論

過去30年間、アオコを形成するラン藻の生態ならびに生活史に関する研究は着実に進展してきた。そして、翌夏のブルームを形成するためシードバンクとして堆積物中に冬眠している群体やアキネートの役割が、重要視されるようになった(e.g. Sirenko et al. 1969; Reynolds and Rogers 1974; Preston et al. 1980; Fallon and Brock 1981; Reynolds et al. 1981; Trimbee and Harris 1984; Takamura et al. 1984)。Hansson et al. (1994)は、底泥表面に堆積した藻類は深さとともに変化する環境要因に従って、湖水カラム中へ回帰すると述べており、

種、場所、捕食圧やその他の環境要因の影響によって回帰パターンも多様であることがわかってきた(Hansson et al.1994; Hansson1996; Head et al.1999)。Barbiero and Welch(1992)は、Green Lake(USA)において *Gloetrichia echinulata* 群集は、底泥からの回帰がブルームに大きく寄与したが、同時に発生した *Microcystis aeruginosa* 群集の寄与率は低いと報告している。そして、琵琶湖のアオコ対策にも、これらのシードポピュレーションに対する水域の環境評価が重要であると思われる。

越冬ラン藻類の底泥において発芽し、表層に回帰するには、いくつかの環境要因が影響を及ぼしていると考えられる。光エネルギーによって、底泥表面で休眠中の藻類の発芽が促進されるかもしれない(Reynolds et al.1981)。水温、嫌気状態およびそれに伴うリンの負荷によって、藻類の生長速度を高めるかもしれない(Trimbee and Prepas 1988; Reynolds1973; Murphy et al.1998)。一般的にラン藻のガス胞は生物学的な競争の戦略として有効的に働くといわれているが(Fogg 1969)、深い水深の湖底に堆積して水圧によってガス胞が破壊されると *Microcystis* 群体が回帰する機会はほとんどなくなると考えられる(Tsujimura et al. 2000)。このように、湖の *Microcystis* 群体の回帰には、いくつかの環境要因とそれに伴う生理学的要因が関係しているので、発生源を特定するには総合的な考察が必要である。

本研究では、琵琶湖湖底におけるガス胞形成ラン藻類の存在と、それが湖水中に回帰可能な限界深度を明らかにすることを目的とした。そこで、上で述べた湖底でラン藻の増殖を促すいくつかの環境要因に関する仮説について検討ならびに試験を行い、沖合における個体群の維持ならびにシードポピュレーションの可能性を調査した。

#### 調査水域

北湖は表面積 615 km<sup>2</sup>、最大水深 104 m、平均水深 43 m である。この湖における様々な水深の条件を網羅するように、北から南に 10 地点(NS1-10)、および東から西に 8 地点(EW1-8)の合計 18 調査地点を選定した(Fig. 3-1-1)。これらの地点は、Table 3-1-1 に示したとおり 10 m ごとの水深に分配した。

Table 3-1-1 Observation stations and depths in Lake Biwa

| depth (m) | Stations    |            |            |           |            |
|-----------|-------------|------------|------------|-----------|------------|
| 0-10      | EW 1 (3m)   | EW 2 (4m)  | NS8 (6m)   | NS 9 (3m) | NS 10 (3m) |
| 10-20     | EW 3 (15m)  |            |            |           |            |
| 20-30     | EW 4 (21m)  |            |            |           |            |
| 30-40     | NS 1 (30m)  |            |            |           |            |
| 40-50     | EW 5 (40m)  |            |            |           |            |
| 50-60     | NS 7 (50m)  |            |            |           |            |
| 60-70     | EW 6 (60m)  |            |            |           |            |
| 70-80     | NS 2 (70m)  | NS 5 (70m) | NS 6 (75m) |           |            |
| 80-90     | EW 7 (80m)  | NS 3 (85m) |            |           |            |
| 90-100    | NS 4 (90m)  |            |            |           |            |
| 100-110   | EW 8 (100m) |            |            |           |            |

## 方法

### 湖水および底泥サンプリングとラン藻類計数

調査点 NS1～NS10 と EW1～EW8 の表層から、1999年9月8～9日にサンプリングバケツを用いて採水した (Fig. 3-1-1)。また、ラン藻類のブルームの季節的変動を監視するため、EW1～8 の表層において同年7月～10月に月1回の頻度で同様の採水を行った。湖水サンプルは、終濃度1%になるようにルゴール液を添加した。ラン藻類の群体は超音波洗浄器で群体を細胞単位になるまでバラバラに分解した後、湖水 40 ml 分にあたる濃縮試料を生物顕微鏡 (BX-50 オリンパス社) を用いて計数した。

底泥サンプルは、湖水の採水と同じ地点から、ラン藻類のブルームの起こる前後、すなわち1999年6月と11月に不攪乱採泥器 (HR 離合社) を用いて行った。採泥器の内部直径は 10.5 cm であったが、底泥表面の非常にやわらかい層を採取するために直径 5.5 cm のアクリルチューブ 3 本を内部に差し込み、これらのチューブの底泥表面 0.2 cm 層を採取した。底泥サンプル中の群体を顕微鏡によって直接観察することは困難であったので、1 ml の底泥を水で 50 倍に希釈した。底泥サンプルの溶液 0.02 ml は、倒立蛍光顕微鏡 G 励起 (BX-70 オリンパス社) を用いて検鏡と計数を行った。底泥サンプルは 60°C で乾燥させて、底泥 1 g 乾燥重量あたりの群体数として表記した。そして、平均細胞と群体数は、10 m ごとに区分した水深ごとに算出した。

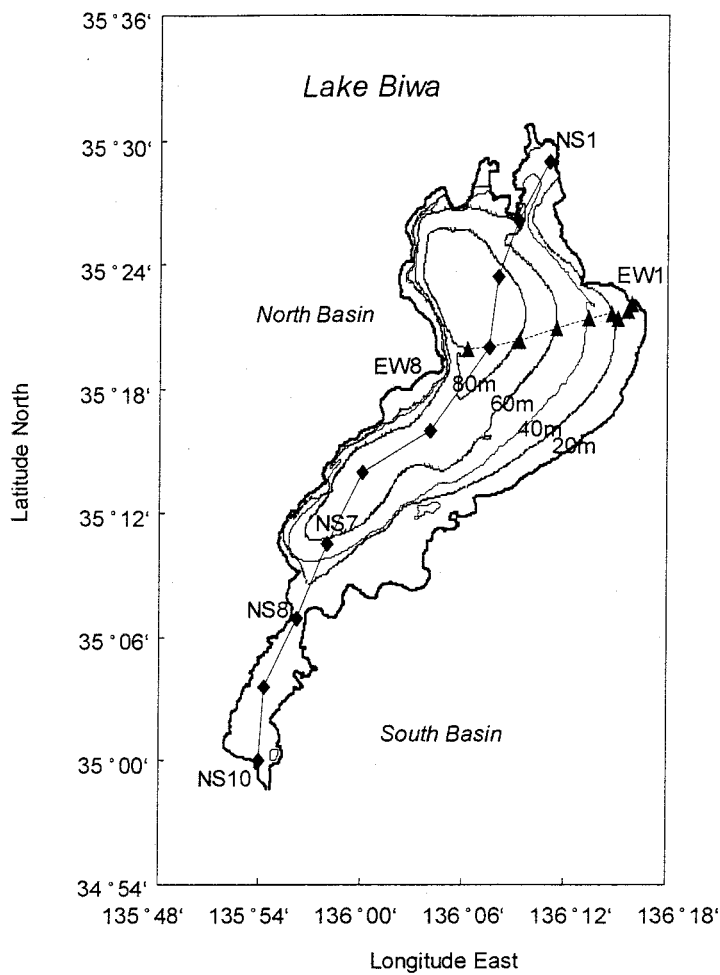


Fig. 3-1-1 Location of Lake Biwa and sampling points (solid diamond: NS1-10, solid triangle: EW1-8)

### 環境要因

*Microcystis* の回帰に関する環境要因としての湖底の光環境，湖底直上の水温，間隙水中の嫌氣的状況，全リン濃度を各調査定点にて測定した。

指数  $\log(Z_{eu}/BD)$  を，湖底まで光が到達しているかを示す指標とした。ここで， $Z_{eu}$  は有光層の深さ(m)であり  $BD$  は水深(m)である。有光層の深さは，Tsuda (1980)に従って最大セッキ深度の 2.7 倍として計算した。1999 年は NS1~10 では毎月，EW1~8 では 7 回(1 月，5 月，6 月，7 月，8 月，9 月，10 月)セッキ深度を測定した。



Table 3-1-2 Seasonal change of bloom-forming cyanobacterial cell density in the surface water at the North Basin of Lake Biwa

| Sta. date | <i>M.aeruginosa</i><br>(cells/ml) | <i>M.wesenbergii</i><br>(cells/ml) | <i>A. ucrainica</i><br>(cells/ml) | <i>Anabaena</i> sp.<br>(cells/ml) | <i>M.icyoblabe</i><br>(cells/ml) | <i>A.smithii</i><br>(cells/ml) |
|-----------|-----------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|--------------------------------|
| EW1       |                                   |                                    |                                   |                                   |                                  |                                |
| 8-Jul-99  | 0                                 | 0                                  | 0                                 | 0                                 | 0                                | 0                              |
| 22-Jul-99 | 0                                 | 0                                  | 0                                 | 0                                 | 0                                | 0                              |
| 9-Aug-99  | 0                                 | 7                                  | 0                                 | 0                                 | 0                                | 0                              |
| 9-Sep-99  | 737                               | 2,966                              | 0                                 | 0                                 | 0                                | 0                              |
| 6-Oct-99  | 110                               | 64                                 | 4                                 | 0                                 | 6                                | 0                              |
| EW2       |                                   |                                    |                                   |                                   |                                  |                                |
| 8-Jul-99  | 6                                 | 13                                 | 1                                 | 1                                 | 0                                | 2                              |
| 22-Jul-99 | 26                                | 0                                  | 5                                 | 0                                 | 0                                | 0                              |
| 9-Aug-99  | 41                                | 32                                 | 0                                 | 0                                 | 0                                | 0                              |
| 9-Sep-99  | 260                               | 157                                | 0                                 | 0                                 | 0                                | 0                              |
| 6-Oct-99  | 29                                | 103                                | 0                                 | 0                                 | 0                                | 0                              |
| EW3       |                                   |                                    |                                   |                                   |                                  |                                |
| 8-Jul-99  | 0                                 | 4                                  | 0                                 | 0                                 | 0                                | 0                              |
| 22-Jul-99 | 20                                | 7                                  | 3                                 | 0                                 | 0                                | 0                              |
| 9-Aug-99  | 2                                 | 9                                  | 0                                 | 0                                 | 0                                | 0                              |
| 9-Sep-99  | 113                               | 338                                | 0                                 | 0                                 | 0                                | 0                              |
| 6-Oct-99  | 20                                | 175                                | 0                                 | 0                                 | 0                                | 0                              |
| EW4       |                                   |                                    |                                   |                                   |                                  |                                |
| 8-Jul-99  | 0                                 | 0                                  | 0                                 | 5                                 | 0                                | 0                              |
| 22-Jul-99 | 23                                | 8                                  | 3                                 | 2                                 | 0                                | 0                              |
| 9-Aug-99  | 14                                | 4                                  | 2                                 | 0                                 | 0                                | 2                              |
| 9-Sep-99  | 152                               | 156                                | 0                                 | 0                                 | 0                                | 0                              |
| 6-Oct-99  | 156                               | 774                                | 1                                 | 0                                 | 0                                | 0                              |
| EW5       |                                   |                                    |                                   |                                   |                                  |                                |
| 8-Jul-99  | 0                                 | 0                                  | 12                                | 1                                 | 0                                | 0                              |
| 22-Jul-99 | 7                                 | 1                                  | 5                                 | 57                                | 0                                | 0                              |
| 9-Aug-99  | 12                                | 50                                 | 1                                 | 2                                 | 0                                | 0                              |
| 9-Sep-99  | 53                                | 103                                | 0                                 | 0                                 | 0                                | 0                              |
| 6-Oct-99  | 0                                 | 156                                | 0                                 | 0                                 | 0                                | 0                              |
| EW6       |                                   |                                    |                                   |                                   |                                  |                                |
| 8-Jul-99  | 0                                 | 0                                  | 0                                 | 0                                 | 0                                | 0                              |
| 22-Jul-99 | 42                                | 9                                  | 0                                 | 0                                 | 0                                | 0                              |
| 9-Aug-99  | 7                                 | 9                                  | 1                                 | 0                                 | 0                                | 0                              |
| 9-Sep-99  | 89                                | 144                                | 0                                 | 0                                 | 0                                | 0                              |
| 6-Oct-99  | 27                                | 60                                 | 0                                 | 0                                 | 0                                | 0                              |
| EW7       |                                   |                                    |                                   |                                   |                                  |                                |
| 8-Jul-99  | 0                                 | 0                                  | 0                                 | 0                                 | 0                                | 0                              |
| 22-Jul-99 | 0                                 | 2                                  | 10                                | 2                                 | 0                                | 0                              |
| 9-Aug-99  | 40                                | 20                                 | 0                                 | 0                                 | 0                                | 0                              |
| 9-Sep-99  | 156                               | 20                                 | 0                                 | 0                                 | 0                                | 0                              |
| 6-Oct-99  | 35                                | 497                                | 0                                 | 0                                 | 0                                | 0                              |
| EW8       |                                   |                                    |                                   |                                   |                                  |                                |
| 8-Jul-99  | 2                                 | 4                                  | 1                                 | 0                                 | 0                                | 0                              |
| 22-Jul-99 | 0                                 | 2                                  | 5                                 | 0                                 | 0                                | 0                              |
| 9-Aug-99  | 2                                 | 2                                  | 3                                 | 0                                 | 0                                | 0                              |
| 9-Sep-99  | 45                                | 64                                 | 0                                 | 0                                 | 0                                | 0                              |
| 6-Oct-99  | 20                                | 199                                | 0                                 | 0                                 | 0                                | 0                              |

湖底直上の水温は、多項目水質計(F-probe 西オーストラリア大学)によって測定した。各観測では、EW1 を 10 時に出発して EW8 まで、或いは NS1 を 10 時に出発して NS10 まで調査した。EW および NS ラインの観測所要時間は、それぞれ 4~5 時間であった。

底泥サンプルは、改良ミニ・ボックス採泥器を用いて採取した。同サンプルを用いて間隙水中の酸化還元電位と全リン濃度を、Murphy らのグループが測定した(Murphy et al. 2001)。

### ラン藻類のガス胞

水圧に対するガス胞の耐圧性を試験するために、以下の 2 つの実験を行った。1 つは、野外での沈潜実験で、もう一方は、検鏡法による細胞色の観察である。野外での沈潜実験では、EW1 の表層から 2000 年 8 月にプランクトンネット(メッシュサイズ 63  $\mu\text{m}$ )を用いて採取したラン藻群体を、100 ml のポリエチレン瓶に注ぎ、ネット(メッシュサイズ 20  $\mu\text{m}$ )で蓋をかけた。瓶をロープに 10 m 間隔に最大 50 m まで結びつけ、20 分間沈めた。浮上群体の割合は血球計算版法(Walsby and Booker 1980)を改良した方法により、スライドチャンバー中の浮上群体と沈降群体を分けて計数した結果から算出した。

一方、底泥サンプルから得られた細胞内のガス胞の有無は、ラン藻類の細胞の色観察により判定可能であった。100 細胞を観察して、3 段階の色分けを行った。Dark は 90% 以上のガス胞が維持、Light は 90% 以上のガス胞が破壊、Mixed は Dark と Light の中間のように等級をつけて分類した。

## 結 果

### 湖水および底泥でのアオコ形成ラン藻

琵琶湖北湖における 1999 年夏の優占種は *Microcystis wesenbergii* であり、第 2 優占種は *Microcystis aeruginosa* であった(Table 3-1-2)。この 2 種の細胞密度は、9 月と 10 月初旬に高くなった。南湖では 1999 年の夏、*Anabaena* spp が *M. aeruginosa* や *M. wesenbergii* に混在してブルームを形成したが(滋賀県 2000)、*Anabaena* のようなネンジュモ目のアオコ形成ラン藻類は、北湖にほとんど見られなかった。優占種の *M. wesenbergii* および第 2 優占種の *M. aeruginosa* の細胞密度を、調査点の深さ 10 m ごとに 11 個の階級に分けて、Fig. 3-1-2 に示した。*M. aeruginosa* の最大細胞密度は EW 1 における 737 cells ml<sup>-1</sup> であり、*M. wesenbergii* は同地点における 2,966 cells ml<sup>-1</sup> であった。各地点の水深と細胞密度の間には顕著な相関はみられなかったが、両種の最高濃度は水深 0~10 m の範囲に見られた。底泥表面サンプル(0~2 cm 層)の *M. aeruginosa*

と *M. wesenbergii* 群体数を，湖水中の細胞密度と同様に水深 10 m ごとに分配して Fig. 3-1-3 に示した。*Microcystis* 個体群密度は 1999 年 6 月，両種とも底泥 1 g 当たり 1 群体以下であったが，11 月は 6 月に比べて *M. aeruginosa* は 18 倍，そして，*M. wesenbergii* は 11 倍に増加した。沿岸域(水深 0~10m)の群体密度の増加は，その他の水域と比べて小さかった。沖合の極めて深い水域(水深が 90m 以上)では，*M. wesenbergii* はブルームの前後で大きな変化を示さなかったが，*M. aeruginosa* は，ブルームの後に群体密度が増加した。ネンジュモ目であるラン藻のアキネートが南湖の底泥サンプル中からは数個見られたが，北湖の底泥サンプルには全く見られなかった。

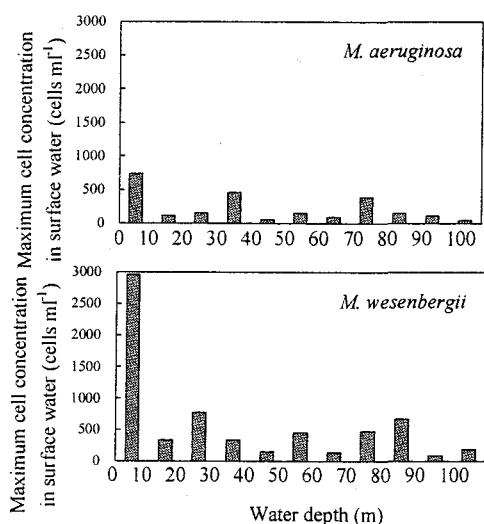


Fig. 3-1-2 The cell concentration of bloom-forming cyanobacteria in surface water (a) *Microcystis aeruginosa*, (b) *Microcystis wesenbergii*

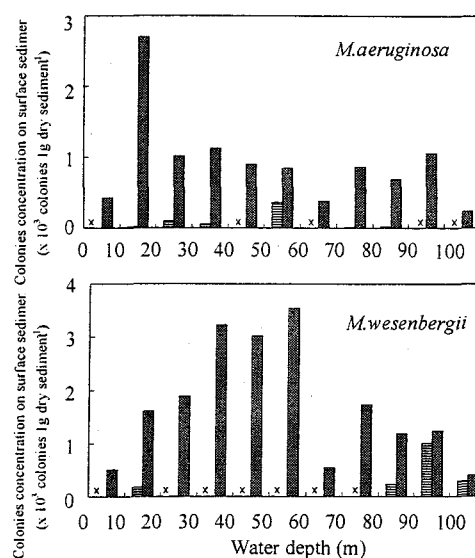


Fig. 3-1-3 The colony concentration of bloom-forming cyanobacteria in sediments (a) *Microcystis aeruginosa*, (b) *Microcystis wesenbergii*

### 光の到達

1999 年におけるセッキ深度の最小値は，0.4 m(南湖 NS9，水深 3 m)で 1 月に観測された。一方，最大値は，11.0 m(EW7，水深 80 m)で 6 月に観測された(Table 3-1-3)。有光層の深度(Zeu)と水深(BD)の対数比は，群体が底泥表面で受ける光の量を示す指数である(Fig. 3-1-4)。すなわち，この指数が 0 よりも大きいとき，有光層は底泥に達していることを示している。琵琶湖の場合，この指数は，湖

水カラム中を指数関数曲線に従って減少し、0を示す水深16mよりも浅い水域で光が底泥まで到達していることが示された。

Table 3-1-3 Environmental conditions on bloom-forming cyanobacterial recruitment from sediments

| Sta. (depth; m) | Secchi depth (m) |         | Max Euphotic Depth (m)* | Bottom water temperature (°C) |         | Color of <i>Microcystis</i> cells** | Sediment Core Redox*** (mV) | Total phosphorus concentrations in Centrifuged Pore water ***(mg P/L) |
|-----------------|------------------|---------|-------------------------|-------------------------------|---------|-------------------------------------|-----------------------------|---|
|                 | Minimum          | Maximum |                         | Minimum                       | Maximum |                                     |                             |   |
| NS 1(30)        | 3.8              | 6.5     | 17.6                    | 7.3                           | 14.4    | M                                   | -14                         | 0.132   |
| NS 2(70)        | 4.4              | 7.8     | 21.1                    | 7.4                           | 8.7     | L                                   | -94                         | 0.000   |
| NS 3(85)        | 5.1              | 8.6     | 23.2                    | 7.4                           | 8.1     | L                                   | -158                        | 0.145   |
| NS 4(90)        | 4.6              | 8.3     | 22.4                    | 7.4                           | 8.1     | L                                   | no data                     | 0.048   |
| NS 5(70)        | 5.0              | 8.6     | 23.2                    | 7.6                           | 8.4     | M                                   | -64                         | 0.051   |
| NS 6(75)        | 4.5              | 8.7     | 23.5                    | 7.7                           | 8.1     | L                                   | -142                        | 0.052   |
| NS 7(50)        | 3.3              | 7.7     | 20.8                    | 7.6                           | 8.7     | M                                   | -75                         | 0.044   |
| NS 8(6)         | 2.4              | 5.5     | 14.9                    | 7.5                           | 26.8    | D                                   | no data                     | no data   |
| NS 9(3)         | 0.4              | 3.0     | 8.1                     | 4.9                           | 28.0    | D                                   | no data                     | no data   |
| NS 10(3)        | 0.6              | 3.0     | 8.1                     | 4.7                           | 29.1    | M                                   | no data                     | no data   |
| EW 1(3)         | 1.4              | 2.2     | 5.9                     | 6.7                           | 26.1    | D                                   | -171                        | 0.182   |
| EW 2(4)         | 3.5              | 4.4     | 11.9                    | 8.5                           | 26.7    | D                                   | no data                     | no data   |
| EW 3(15)        | 3.2              | 5.9     | 15.9                    | 8.6                           | 23.8    | D                                   | -225                        | 0.325   |
| EW 4(21)        | 3.7              | 5.9     | 15.9                    | 8.6                           | 16.3    | M                                   | no data                     | no data   |
| EW 5(40)        | 3.6              | 6.5     | 17.6                    | 8.5                           | 8.8     | M                                   | -243                        | 0.287   |
| EW 6(60)        | 5.0              | 9.1     | 24.6                    | 8.0                           | 8.4     | L                                   | no data                     | no data   |
| EW 7(80)        | 5.1              | 11.0    | 29.7                    | 7.7                           | 8.3     | L                                   | -240                        | 0.483   |
| EW 8(100)       | 4.8              | 8.5     | 23.0                    | 7.6                           | 8.2     | L                                   | -113                        | 0.277   |

\*: Euphotic depth calculated by Tsuda's coefficient (Tsuda et al. 1980)

\*\* : Dark color (D), Light color (L), Mixed color (M)

\*\*\*: The data was referenced from Murphy et al. 2001

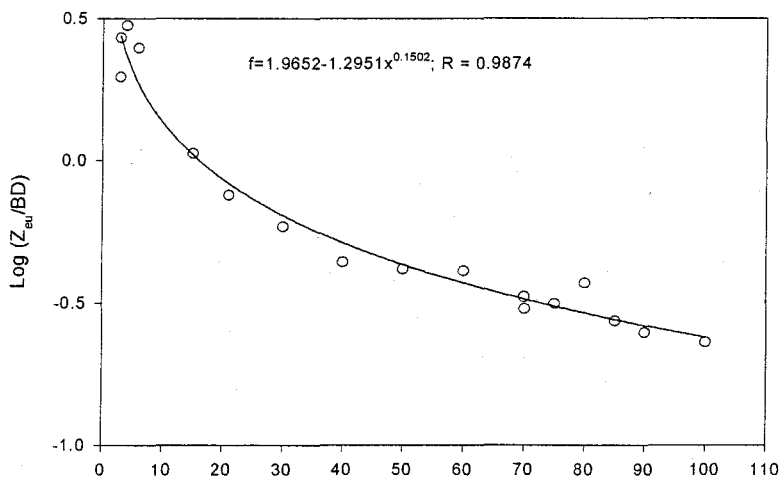


Fig. 3-1-4 Relation between water depth (BD) and the index of logarithmic maximum Zeu/BD ratio Zeu:euphotic depth, BD:water depth (m)

## 水温

湖底直上における最高ならびに最低水温は、水深とともに変化した(Table 3-1-3, Fig. 3-1-5)。各水深での年間水温変化が1°C未満であったのは水深40 m以深であり、そこでの平均水温は、約8.0°Cであった。4 m以浅の水域では、水温は冬期には低下しており、南湖NS10 水深3 mにおいては1月に最小値4.7°Cを示した。一方、夏期には上昇して、同地点において8月に最大値29.1°Cを示した。

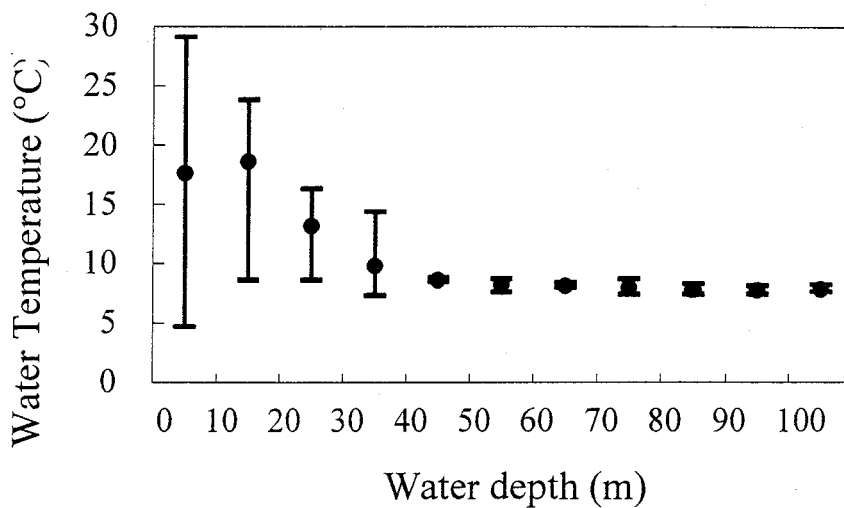


Fig. 3-1-5 Variations of bottom water temperature (°C) Bar shows the maximum and the minnum over the observation period

## 底泥間隙水中の酸化還元電位と全リン濃度

底泥中の嫌気性状態を調べるために、底泥コアサンプル0-2 cm層の間隙水中の酸化還元電位を測定した(Murphy et al.,2001)。酸化還元電位は水深と無関係であった(Fig. 3-1-6)。すべての値は負を示し、還元性であることがわかった。最も活発に還元に向かっている水域は-243 mVを示すEW5であり、最も電位差が小さかったのは-14 mVを示すNS1であった。

間隙水中の全リン濃度は、Murphy et al. (2001)から引用して Table 3-1-3 に示した。間隙水中の全リン濃度も水深とは相関しなかったが、酸化還元電位とは弱い逆相関関係を示した( $r^2=0.54$ ,  $n=11$ ) (Fig. 3-1-6)。最高濃度は、EW7における $0.483 \text{ mg P L}^{-1}$ であり、最小濃度はNS2で検出限界未満であった。

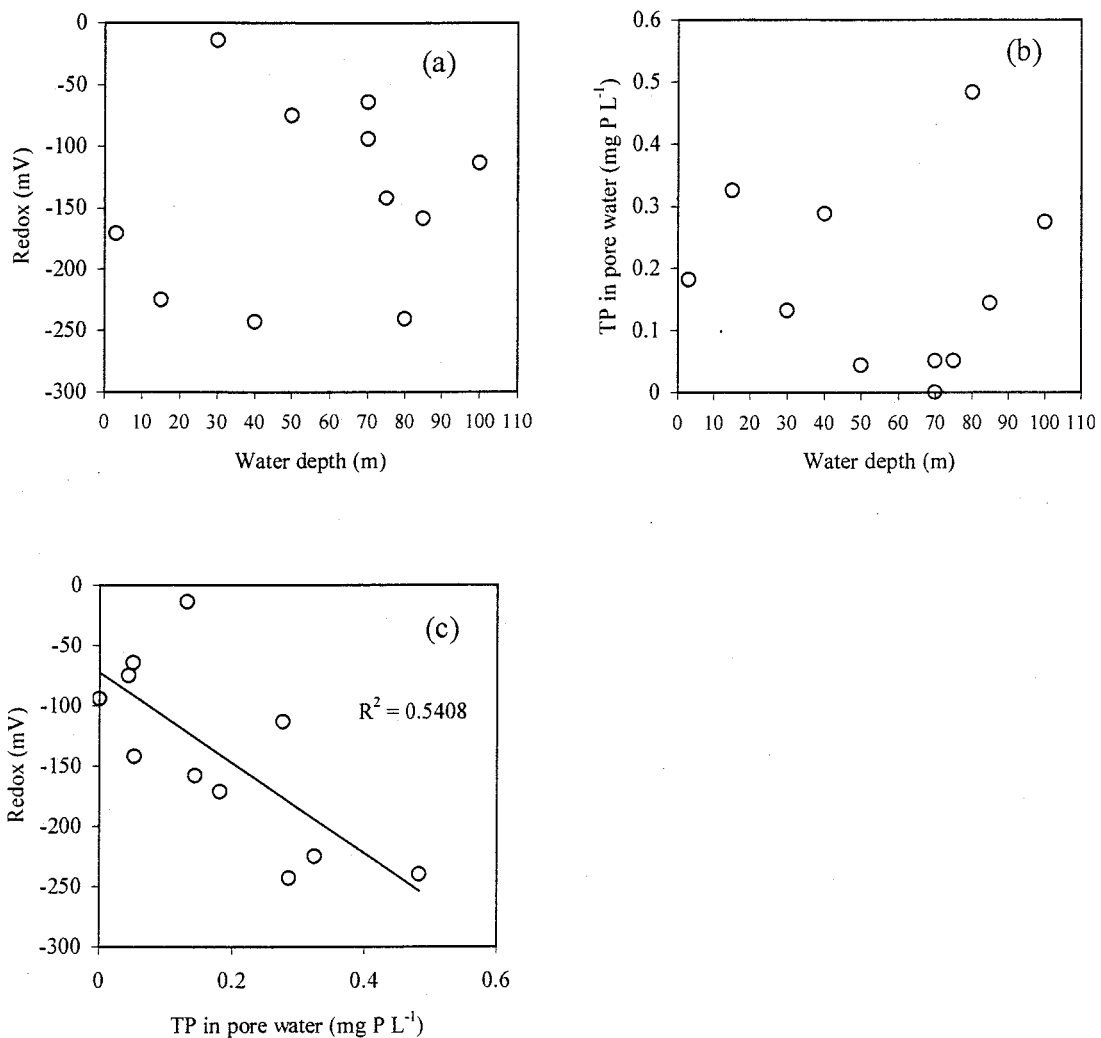


Fig. 3-1-6 Relationship among water depth, core redox potential and total phosphorus concentrations in centrifuged pore water; (a) depth vs redox potential, (b) depth vs total phosphorus concentration, (c) total phosphorus concentration vs redox potential

### ガス胞強度

野外で採取したラン藻中のガス胞の水圧耐性を調べるために、EW1 から採取した *M. aeruginosa* と *M. wesenbergii* を用いてアオコの沈潜試験を行った。試験の結果、深くまで沈めたサンプルほど浮上群体の比率は低くなった (Fig. 3-1-7)。 *M. aeruginosa* 群体は、水深 20 m までの深度では浮上性を喪失することはない。水深 30 m まで沈めた場合、19%の *M. aeruginosa* 群体が浮力を失い沈降したが、水深 40~50 m 間では、61%の群体が沈降するようになった。水深 50 m では、 *M. aeruginosa* のほとんどのガス胞は破壊され、95%以上の群体は沈降した。 *M. wesenbergii* 群体は、水深 20 m までは *M. aeruginosa* と類

似した傾向を示したが、それ以上深くまで沈めると急速に浮力を失った。水深 40 m では約 95%，水深 50 m では約 99%の群体がガス胞を失って、白っぽくなって沈降した。

1999年11月に採取した底泥サンプルの色を Table 3-1-3 に示した。水深 60 m より深い水域から採取した細胞は、ガス胞が破壊され顕微鏡で観察すると白く見えた。20 m より浅い水域でのサンプルはガス胞を維持しており、サンプルの採取深度によって白色細胞の混合割合は変化した。

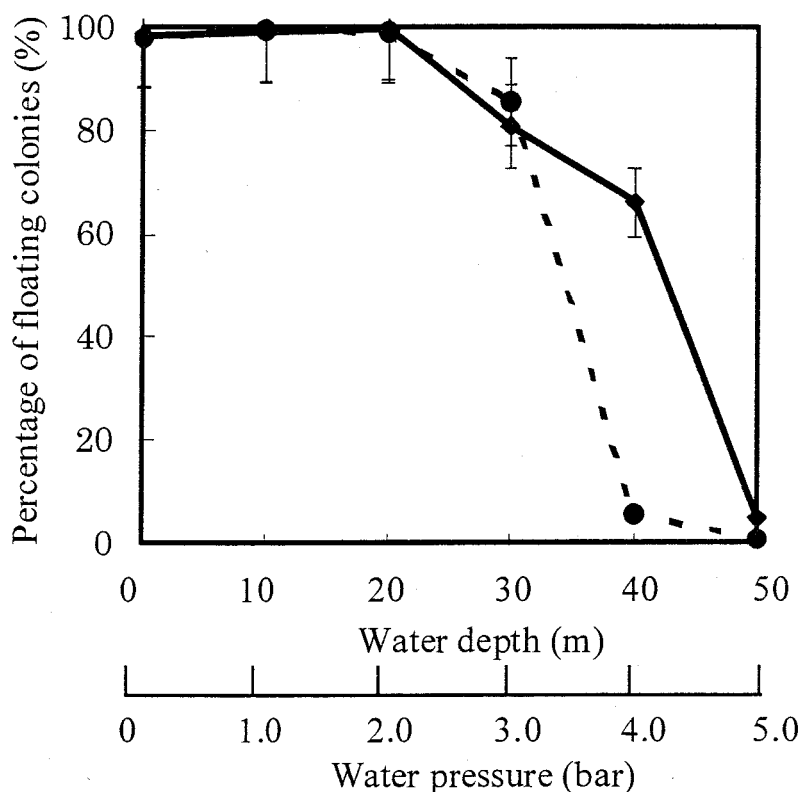


Fig. 3-1-7 Proportion of floating *Microcystis* colonies (solid line: *Microcystis aeruginosa*, broken line: *Microcystis wesenbergii*)

### 考 察

琵琶湖底泥における *Microcystis* の群体数は 1999 年 6 月から 11 月の間に著しく増加した。琵琶湖の表層では同年 9 月には *M. aeruginosa*, *M. wesenbergii* の群体が一面に観察された。これは、夏期に湖水で増殖した *Microcystis* の群体が沈降して底泥上に堆積したことを示唆している (Figs. 3-1-2, 3-1-3)。これらの

底泥に堆積した *Microcystis* 群体は、一年中光合成を行う能力を維持して生き残っているだけでなく、次の増殖時期にブルーム形成のためのシードポピュレーションとして湖水中に回帰する可能性がある (Fallon and Brock 1981; Tsujimura et al. 2000)。本研究では、*Microcystis* の底泥からの回帰を促す環境要因についてのいくつかの仮説について検討し、回帰の可能性がある水域の限定を試みた。

Reynolds et al.(1981)は、*M. aeruginosa* の底泥における初期生長に弱い光が必須であると述べている。Hansson (1996)によると、光は藻類が底泥から回帰するための刺激になっているのかもしれない。したがって、光の到達を示す指標(Zeu / BD)の指数が0以上でなければ、*Microcystis* 群体の回帰の可能性はないと考えられる(Fig. 3-1-4)。光が底泥まで到達している地点は、EW1, EW2, EW3, NS8, NS9, NS10 (Table 3-1-3)であり、すべて16 mより浅い水域にあった(Fig. 3-1-4)。我々の調査では実際の回帰群体数を測定していないが、*M. wesenbergii* の細胞密度は明らかに0~10 mで高く、*M. aeruginosa* の細胞密度も同様の傾向を示した。(Fig. 3-1-2)、この結果は回帰限界深度を見積もった指標と何らかの関係があるかもしれないと考えられた。

休眠細胞が発芽するための光スペクトルについて、Huber(1985)は、*Nodularia* (ラン藻)のアキネートが赤色光(620 nm~665 nm)を必要とすることを報告した。過去の研究において、琵琶湖北湖湖水中での放射スペクトルは540 nm~570 nm の間の波長帯で最大になることがわかっている(Tsuda and Nakanishi 1994)。本研究におけるセッキ深度から見積もった最大有光層の深さは29.7 mであり、Tsuda and Nakanishi (1994)の光量子計を用いた測定結果の15~20 mに比べて深かった。しかし、18地点の最大有光層の平均は17.6 mでTsuda and Nakanishi (1994)による結果の範囲内であった。琵琶湖の場合、湖水中の光量が入射光の1%となる有光深度での赤色光はセッキ深度の増加に従って減少する(谷口 1995)。したがって、セッキ深度が深くなっても、越冬群体の発芽を刺激するのに十分な赤色光のみを享受することはないだろう。

また、琵琶湖の *Microcystis* の生長速度は水温の上昇によって高まる性質がみられ(Nalevajko and Murphy 2001)、群体の回帰に影響を与えるかもしれない。湖水温度の季節的上昇がラン藻類の発芽を促進させると述べたいくつかの報告もある(Reynolds 1972; Kappers 1984)。しかしながら、*Microcystis* は7°Cでもゆっくりではあるが増殖することができる (Cáceres and Reynolds 1984)。このことは、平均水温が約8°Cである琵琶湖の湖底において、年中増殖可能であることを示唆している(Table 3-1-3)。しかし、水深30~40 mより浅い水域における水温の高い季節的上昇は、あまり温度変化のない深い水域に比べて *Microcystis*



の増殖初期に有利に働くと考えられる(Fig. 3-1-5)。

一方、高い水温は増殖速度の促進とともに分解をも促進させると考えられる。Takamura and Yasuno (1988)によると、浅い湖(霞ヶ浦)で増殖したほとんどの *Microcystis* は、バクテリアによって分解された後、底泥に沈降するといわれている。本研究での水深別の比較によると、0~10 m の浅い水域における湖水中の群体密度はかなり高かったが、底泥中のはそれほど高くなかった(Fig. 3-1-3)。この結果は、霞ヶ浦での結果(Takamura et al. 1984)と同様に浅い水域での底泥中での群体が活発な底生生物によって分解されたことを示唆しているのかもしれない。

琵琶湖における間隙水中の酸化還元電位の測定から、底泥表面が還元状態であることがわかった(Murphy et al. 2001)。Murphy は、琵琶湖のような還元性の高い底泥において、硫黄の介在するリンの溶出過程を提示している。そのシナリオとは、藍鉄鉱が硫化物の豊富な湖底泥の主要な成分であり、湖底と湖水との境界面におけるリン酸化鉄(II)からのリンの溶出を促すことになるという説である。また、琵琶湖湖水は鉄が豊富な環境であり (Tezuka 1992)、表面の硫酸塩の還元が pH の上昇をもたらし、高い pH 環境下(pH 9)において鉄(III)からリン酸の溶出が促進される(Jacoby et al. 1982)。さらに、台風などの強風による湖水の激しい混合は、間隙水中のリンの底泥から湖水中への溶出を引き起こすことになる(Frenette et al. 1996; Robarts et al. 1998)。したがって、湖底において、底泥の低い酸化還元電位や酸欠状態が示唆される場所では(Trimbee and Prepas 1988)、間隙水中のリン濃度の増加がみられる(Fig. 3-1-6)。このことは高濃度のリンが湖水中に供給されて(Prepas and Vickery 1984)、*Microcystis* の群体の初期発生ならびに底泥から湖水中への回帰を支える可能性がある(新州 2000)。

Sakamoto et al.(1989)は、琵琶湖において、底泥からの栄養塩溶出が一次生産に影響を及ぼしていることを指摘した。最近、琵琶湖の底層の酸素濃度に劇的な減少傾向がみられ 1999 年の最低値は  $1.3 \text{ mg L}^{-1}$ であった(滋賀県 2000)。さらに、底泥内の生物群集が、嫌気状態でも生息できる動物相へと変化してきていることが観察されている(Nishino et al. 1998)。嫌気状態にある底泥からのラン藻類の回帰は、湖におけるリン濃度の内部負荷の一要素ともなりうることが指摘されている(Barbiero and Welch 1992; Pettersson 1998; Wetzel 2001)。琵琶湖においても、藻類の移動によるリンの代謝が湖を更なる富栄養化状態に導くことになるかもしれないと懸念されるので、今後更なる量的評価が必要になるだろう。

本研究における湖での耐圧実験によって、*M. aeruginosa* , *M. wesenbergii*

ともにガス胞が水深 20~50 m(2.0~5.0 bar)で破壊されることが明らかになった(Fig. 3-1-7)。また、*Microcystis* 細胞色の観察では、ガス胞は水深 20~70 m(2.0~7.0 bar)で破壊されている様子であった。野外実験と細胞色観察による方法では、多少ガス胞の破壊される圧力は異なっているように見られたが、実験室での機械的に加圧測定した場合の中間値 4.8 bar は、我々の 2 つの方法による実験結果の範囲のどちらにも含まれていたため(Thomas and Walsby 1985)、異なる方法による耐圧深度範囲のずれは、群体と細胞の形態的な違いや群体の生理的状态の違いによるものと思われた。高い水圧による湖底泥中 *Microcystis* のガス胞の破壊は、ラン藻類が回帰する際、回帰を妨げるように作用するかもしれない(Tsujimura et al. 2000)。しかし、光合成によってエネルギー補充がなされると、暗環境下で破壊されたガス胞を再合成する可能性がある(Kromkamp et al. 1989; Deacon and Walsby 1990)。

これらの要因を総合的に考察すると、琵琶湖底泥からの *Microcystis* の回帰は水深 16 m よりも浅い水域で起こると結論して良さそうである。一方、回帰量は浅い水域での水温の上昇による分解と関係があることが推察されたが、回帰深度の上限については十分な定義はできなかった。しかし、適度な光が、*Microcystis* の季節的増殖を開始させるための制限要因となるので、沖合でアオコが回帰により発生する可能性は少なく、沿岸で発生ならびに発達したアオコが琵琶湖の沖合にまで広がったものと推測された。

本研究の将来的な方向としては、藻類の回帰に伴って湖水カラム中を移動する栄養塩も含めた量的な見積もりを、混合の度合い、頻度、強さの観点から調査することによって、アオコを形成するラン藻類の回帰が発生する水域をさらに詳細に限定することである。

## 第2節 沖合におけるアオコ形成ラン藻類の増殖の可能性

### 緒言

*Microcystis*の群体が湖水カラム中を鉛直運動する能力については、以前からよく知られている(e.g. Reynolds and Walsby 1975; Reynolds et al. 1987)。群体は、日中、表層にて光合成を行い、夜間に栄養塩の豊富な深いところへ移動する。この鉛直移動能力は、温暖な湖において成層時に *Microcystis* が他の植物プランクトンとの競争に有利になるように働く(Ganf and Oliver 1982)。このようなブルーム形成機構は、浅くて成層した富栄養化湖で起こると考えられてきた(e.g. Reynolds 1973)。したがって、*Microcystis* が琵琶湖北湖のような深い水域でアオコになることはめずらしい現象である。浅い湖沼では *Microcystis* 群体が底泥中で越冬し、水温が高くなる春から夏の間に湖水中に回帰することは明らかである(Preston et al. 1980)。しかし、このアオコ形成種は、水深 50 m 以深になると水圧が高くなってガス胞は破壊されるので、深い琵琶湖北湖の底泥から回帰しそうにないと考えられてきた(Tsujimura et al. 2000)。*Microcystis* はいったんブルームになると、そのことによって水塊はさらに安定を保とうとする傾向がある(Kumagai et al. 2000)。したがって、沖合のアオコは沿岸由来である可能性が高いが、沿岸から沖合に風や湖流によって移流する間、また沖合に滞在する間にどれくらい増殖するのかを知ることは重要である。

植物プランクトンの生長と周囲の栄養塩濃度との関係は、一般的に Monod のモデル式によって示されてきた(Monod 1949)。しかしながら、植物プランクトンは現在の生長に必要な量以上に栄養塩を取り込むことが明らかにされている。例えば、窒素を cyanophysin として、リンを polyphosphate として細胞体内に蓄積することができる(Simon 1987; Kromkamp 1987)。そして、栄養塩条件が乏しい環境下において、植物プランクトンは現存量を維持するため、或いは生長し続けるために、この細胞内蓄積物を利用する(Rhee 1973)。Droop のモデル式では、生長速度は細胞内の蓄えた栄養塩量に依存するといわれている(Droop 1973; Okada et al. 1982; Istànovics et al. 1993)。しかし、実際のところ野外における植物プランクトンの生息環境は安定せず、このモデルを野外で直接適用できるかどうかは不明である。また、栄養塩の取り込み、蓄積、代謝と、細胞分裂の過程において時間的ずれが長くなると、生長速度は、Monod または Droop のモデルによって見積もられた値よりもさらに遅くなると考えられる。近年、ニューラル・ネットワークモデルによって、霞ヶ浦でのラン藻類のブルームが予測可能となった(Recknagel 1997; Yabunaka et al. 1997)。バックプロパゲーション法は経験値に基づいて富栄養湖における将来の植物プランクトンの

生長予測を行うが、琵琶湖北湖は現在、富栄養化が進行中で環境状況が毎年変化しやすいので、この方法が適用できる段階には至っていないと思われる。

本節の目標は、栄養塩濃度の高い沿岸域で発生した *Microcystis* が、栄養塩濃度の低い沖合に向かって輸送される過程において、増殖の可能性を評価することである。そこで、琵琶湖北湖沿岸域で採取した *Microcystis* 群体を沖合湖水で培養を行い、細胞内に蓄積した栄養塩を用いてどれくらい生長するかを試験した。

## 方 法

### 野外培養実験

2000年8月21日、琵琶湖北湖ではいくつかの沿岸水域で、アオコが発生していた。長浜沖合5kmの点(lat. 35°21'N, lon. 136°12'E; 水深50 m)の表層水深0.5 mにおいて、バンドーン採水器を用いて採水を行った。採水した湖水は、Whatman GFF ガラス繊維フィルターで濾過することによってバクテリアより大きな懸濁物質を取り除き、ろ液は透明な10Lのポリカーボネート瓶(ナルゲン社)へ注入した。栄養塩濃度は、以下のように測定した。溶存態のアンモニア態窒素(NH<sub>4</sub>-N)はSagi(1966)の分析方法に従い、硝酸塩(NO<sub>3</sub>-N)はオートアナライザー(AACS-II ブランルーベ社)を使用した。溶存態反応性リン(SRP)は、モリブデン青法により測定した(Murphy and Riley 1962)。懸濁態炭素(PC)および窒素(PN)は、湖水を濾過したWhatman GFF ガラス繊維フィルターをCHNコーダー(PE2400II Perkin Elmer 社)によって測定した。懸濁態リン(PP)は、過硫酸カリウムによって分解後、モリブデン青法によって分析した。

*M. aeruginosa* 群体は、沿岸域(長浜港: lat. 35°22'N, lon. 136°16'E)の表層からプランクトンネット(メッシュサイズ20 μm)を用いて集められた。そして、群体は沖合で採取した濾過湖水で洗浄し、写真撮影ならびに細胞数の計数を行った。直径約150 μmの小さな群体を、4つの培養瓶にそれぞれ3群体ずつ接種した。*Microcystis* 群体だけをガラス繊維フィルターWhatman GFF上にピペットを用いて集め、藻類の細胞内のPC, PN, PPについて、栄養塩分析と同様の方法で測定した。培養瓶は野外培養用のブイ(Fig. 3-2-1)に取り付け、長浜沖水深50 m地点で吊り下げた。培養瓶は水深約0.5 mに保持された。水深0.5 mの水温は、多項目水質計(F-probe 西オーストラリア大学)を用いて8月23日10時から8月24日10時まで6時間間隔で測定した。日射量の測定は、彦根气象台(lat. 35°16'N, 136°14' E)で測定されたデータを引用した。野外での培養は、8月23日19時に開始して、2日後および4日後に培養瓶をブイから2本ずつ回収した。回収された培養瓶中の *M. aeruginosa* を採取するため、湖水をプラン

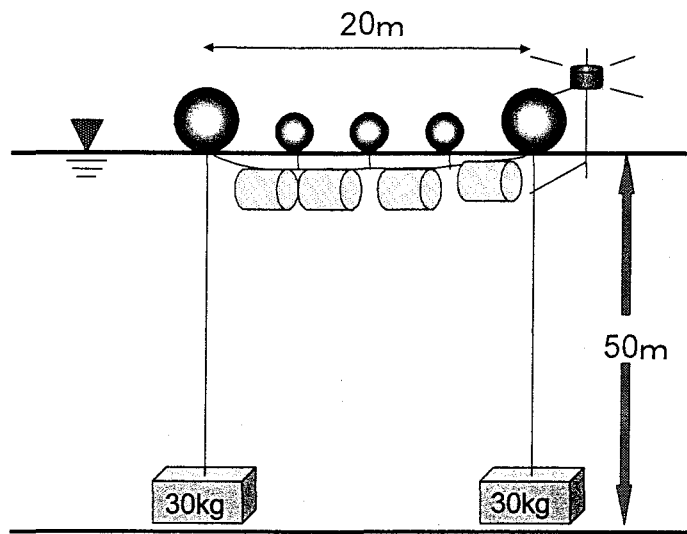


Fig. 3-2-1 The incubation set-up for the field experiment in Lake Biwa

クトンネット(メッシュサイズ  $10\mu\text{m}$ )により終濃度 2~3 ml になるまで濃縮した。群体の生長は、検鏡によって評価した。

#### 実験室培養実験

湖水サンプルを、野外実験と同様に長浜沖地点(lat.  $35^{\circ}21'N$ , lon.  $136^{\circ}12'E$ )で2000年9月8日に採水した。直ちに湖水を Whatman GFF ガラス繊維フィルターで濾過した後、冷蔵庫内に保存した。*M. aeruginosa* 群体は、9月22日と27日に沿岸域(長浜港)から採取した。採取した群体は研究室に持ち帰り、1 ml ずつ前記の湖水を入れた24穴のマイクロプレート(直径 16 mm, IWAKI 社)の22穴に1群体ずつ接種した。9月22日は、 $80\sim 13,320\text{ cells colony}^{-1}$ であり、9月27日のそれは $200\sim 1,712\text{ cells colony}^{-1}$ であった。培養は、温度は $28^{\circ}\text{C}$ で、光条件は $100\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{ sec}^{-1}$ ,12時間毎の明暗周期で行った。*M. aeruginosa* の増殖および群体発達は、毎日4日間、細胞数を計数して評価し、さらに $1304\times 1024$ ピクセルの高解像度 CCD カメラ(日立 KP-F100)を接続した顕微鏡によりデジタル画像を取得した。

## 結果

#### 野外培養実験

沿岸と沖合地点は、物理的、化学的環境条件に関して、いくつかの違いが見られた(Table 3-2-1)。水温の日変化は、沿岸域の方が沖合に比べて変化が大きかったが、平均値に違いは見られなかった。水温が最も低下したのは、両地点ともに午前4時であり、最高は午前10時であった。沖合地点での $\text{NH}_4\text{-N}$ ,  $\text{NO}_3\text{-N}$ , SRP の濃度は、いずれも沿岸域より1桁以上低かった。そして、沖合地点の PC, PN, PP 濃度も沿岸地点に比べてかなり低かった。PC : PN : PP の比率は、沖

合は 125:12:1 で沿岸域は 37:6:1 であった。沖合は、PP 濃度が極めて低かったため PC, PN の割合が高くなった。沿岸域から採取した *Microcystis* 藻体の PC, PN, PP 濃度はそれぞれ、 $3.7 \times 10^{-6} \mu\text{g cell}^{-1}$ ,  $5.1 \times 10^{-6} \mu\text{g cell}^{-1}$ ,  $6.1 \times 10^{-6} \mu\text{g cell}^{-1}$  であり C:N:P=155:18:1(原子量比)であった。野外実験中の日射量は  $21.8 \sim 3.7 \text{ MJ m}^{-2} \text{ day}^{-1}$  であり、4 日間とも降雨はなかった。

培養 2 日後、いくつかの群体は、小さな群体に分裂した。全細胞数は、1 つめの培養瓶では、培養開始の 1,249 cells(0 日後)から 3,020 cells (2 日後)にまで増加して、2 つめの培養瓶では 1,336 cells(0 日後)から 4,069 cells(2 日後)にまで増加した。培養 4 日後に取り出した *M. aeruginosa* の群体は劣化し始めており、細胞数は 1 つめの培養瓶では 1,689 cells(0 日後)から 1,856 cells(4 日後)になり、2 つめの培養瓶では 4,514 cells (0 日後)から 2,048 cells(4 日後)に変化した。培養期間中の細胞増加について初期値を基準として標準化したところ、2 日目は 4 日目に比べて高かった(Fig. 3-2-2)。それらは相対比では、0 日後に比べて 2.40 倍と 3.05 倍になり、最初の 2 日間間に 1.27 回と 1.61 回分裂したことを示していた。培養瓶内に含まれる湖水の栄養塩濃度は、培養 2 日後ならびに 4 日後に回収したボトルについて測定された。2 日後の SRP 濃度は、 $0.01 \mu\text{M}$  にまで減少したが、4 日後は 0 日後と変わらなかった。NO<sub>3</sub>-N 濃度は、2 日後は  $0.07 \mu\text{M}$  にまで減少したが、4 日後は  $0.04 \mu\text{M}$  であり、0 日後に比べると高くなった。NH<sub>4</sub>-N 濃度は、2 日後および 4 日後ともに  $0.51 \mu\text{M}$  にまで増加していた。

Table 3-2-1 Physiological and chemical conditions at Inshore and Offshore Stations during the field incubation period (August 21-24, 2000)

|                  | Water Depth (m) | Water temperature (°C) | Nutrient concentration  |                         |          |                          |                          |                          |          | PC:PN:PP ratio | Irradiance at Hikone meteorological station (MJ m <sup>-2</sup> day <sup>-1</sup> ) |
|------------------|-----------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|----------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|----------|----------------|---|
|                  |                 |                        | NH <sub>4</sub> -N (μM) | NO <sub>3</sub> -N (μM) | SRP (μM) | PC (μg l <sup>-1</sup> ) | PN (μg l <sup>-1</sup> ) | PP (μg l <sup>-1</sup> ) |          |                |   |
| Inshore Station  | 2.2             | 28.4 - 29.2            | 2.55                    | 3.58                    | 0.45     | 764                      | 114                      | 27                       | 37:6:1   | 21.8 - 23.7    |   |
| Offshore Station | 50              | 28.0 - 29.1            | 0.24                    | 0.13                    | 0.01     | 424                      | 42                       | 3                        | 125:12:1 |                |   |

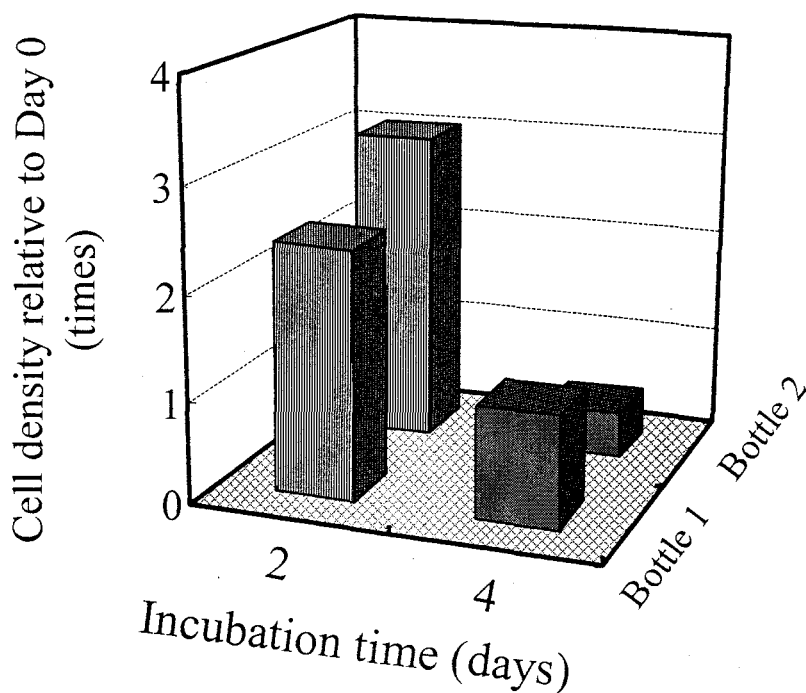


Fig. 3-2-2 The relative density of *Microcystis* cells to Day 0 in the bottles during the field experiments in Lake Biwa

#### 室内培養実験

濾過された湖水の栄養塩濃度の初期値は、 $\text{NH}_4\text{-N}$ は $1.57 \mu\text{M}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ は $0.11 \mu\text{M}$ 、SRPは $0.01 \mu\text{M}$ であった。1群体あたりの細胞数は、9月22日および9月27日ともに実験開始日は増加した。9月22日に採取した *M. aeruginosa* の4つの群体において、最初の2日間は増加したがその後の2日間は減少した(Fig. 3-2-3a)。9月27日に採取した群体は、培養開始はゆっくり増殖し、3日後以降減少した (Fig. 3-2-3b)。群体間の違いは、9月22日の方が9月27日に比べて大きかった。2日後の相対密度の最大値は、0日後に比べて4.75倍であった。一方9月27日のシリーズでは3日後3.71倍であった。それぞれ、増殖比率が最大値を示す時の比率は $1.94 \pm 0.27(\text{SE})$ 倍と $1.43 \pm 0.21(\text{SE})$ 倍であり、すなわち初期値から2.25回と1.81回分裂を行ったことに相当する。

群体の顕微鏡観察による分析では、*M. aeruginosa* 細胞の輪郭が2日後になると曖昧になっていることが観察された。ほとんどの群体は、バクテリアによる分解が始まっており、4日後にはバクテリアに完全に巻き込まれた。細胞数は増加するが、時間が経つにつれて、群体の形状は明らかに悪化していた。

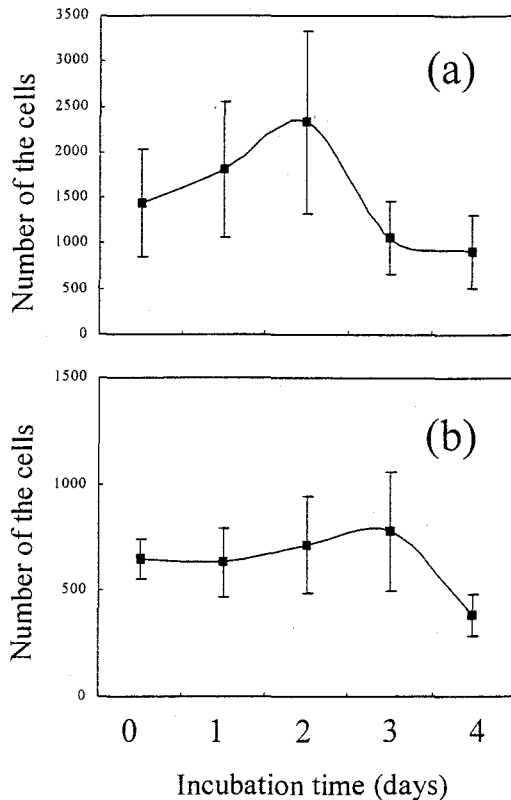


Fig. 3-2-3 Cell concentrations of *Microcystis* (mean $\pm$ SE) during the well plate incubations. Colonies collected on September 22 (a), and on September 27(b)

### 考 察

琵琶湖北湖沿岸域から採取した *M. aeruginosa* の群体は、野外培養瓶と培養プレート内の貧栄養塩環境下において、細胞数を少し増加させた。これには、おそらく細胞内に蓄積した栄養塩が利用されたものと考えられる。このことは、過去に行われたきた多くのラン藻類の培養実験によっても示されている。例えば、Sbiyyaa et al.(1998)は、*Microcystis* がリン欠状態に8日間以上晒された後でも、細胞内に蓄積した栄養塩を用いて対数増殖をしつづけたことを確認している。同様に、中原(1993)は、栄養濃度の豊富な培地から、低い培地に移したときに細胞内に蓄積した栄養塩を用いて数回分裂できると述べている(Table 3-2-2)。そして、我々の実験においても、沿岸から採取した *Microcystis* 群体を北湖の低栄養塩湖水中に移動した時、1~数回の分裂を観察した。過去の細胞内の栄養塩濃度に関する研究では、リン制限の連続培養で比増殖速度  $0.1\sim 0.8 \text{ day}^{-1}$  に依存して、定常状態の N:P 比(原子量)は 24~15 の範囲で変化したことが示されている(Oh et al. 2000)。8月21日の沿岸域における *Microcystis* 群体の N:P 比は 17.4 であり、比増殖速度は2日後に回収した培養瓶の細胞数から計算して  $0.5 \text{ day}^{-1}$  であった。これは、琵琶湖から採取した群体は、群体が蓄えうる最大限の栄養塩を蓄えていなかったことを示唆していると思われる。



Table 3-2-2 Dividing times using stored nutrients in *Microcystis* colony

\* : CT medium (WATANABE & ICHIMURA 1977)

| Species              | Sampling field | Medium     | Temp.(°C)  | Light<br>( $\mu$ mol photon $m^{-2}s^{-1}$ ) | Cell Division<br>(times) | References      |
|----------------------|----------------|------------|------------|--|--------------------------|-----------------|
| <i>M. aeruginosa</i> | Cultured       | CT*-N      | 25 $\pm$ 1 | 40   | 2.2                      | Nakahara (1993) |
| <i>M. aeruginosa</i> | Cultured       | CT -P      | 25 $\pm$ 1 | 40   | 3.4                      | Nakahara (1993) |
| <i>M. aeruginosa</i> | Lake Biwa      | Lake Water | 28 $\pm$ 1 | 100  | 1.0, 0.5                 | This study      |
| <i>M. aeruginosa</i> | Lake Biwa      | Lake Water | 28-29      | Field experiment                             | 1.7                      | This study      |

*Microcystis* の比増殖速度は、野外実験の方が室内培養プレート実験よりも高かった。この違いは、細胞あたりの蓄積栄養塩量、群体のサイズ、湖水に対する細胞密度が関係していると考えられた。野外実験では、湖水 1 ml 当たり 0.13 ~ 0.45 細胞が最初に添加されたが、培養プレートでは 9 月 22 日の 1440 細胞、9 月 27 日の 631 細胞であり、野外培養実験よりもはるかに高濃度であった。したがって、培養プレート内は、野外培養瓶に比べて栄養塩が枯渇しやすい環境にあった。4 日後、培養プレート内の群体は分解し始めていたが、野外培養瓶内の場合、多くの群体は健全でしっかりとした形態を保っていた。プレート内の温度は高かったので、バクテリアやウイルスの増殖が早く、群体の生長よりも分解に向かったのかもしれない。

琵琶湖の表層水は安定した環流の流れによって輸送され、その速度は約 0.1 m  $sec^{-1}$  である (Kumagai et al.1998)。したがって、*M. aeruginosa* の群体は湖の沖合まで運ばれるのに 2~3 日を要すると思われる。そして、*Microcystis* 細胞は沖合に移流するまでの間に 1~2 回分裂することが可能である。細胞分裂速度とラン藻類の生産する毒素であるミクロシスチンの生産速度には直線的相関関係があるといわれているので (Orr and Jones 1998), *Microcystis* 群体が沖合に輸送される過程において、栄養塩濃度は低くても毒素を生産することが懸念される。

結論として、これらの実験によって、琵琶湖におけるラン藻類が沿岸帯から沖合に輸送される間に分裂が 1~2 回可能であることが示された。しかしながら、分裂回数は細胞あたりの蓄積栄養塩量に依存するので、初期段階にあたる沿岸域での生息状況、栄養塩状況、培養間の添加状況によって変化するに違いない。いくつかの沿岸域から採取したラン藻類を用いた更なる実験によって、沿岸で十分栄養塩を保持したラン藻類が沖合に移流する間にどれくらい生長するのか、北湖沖合の毒性ラン藻類によるアオコ形成の危険性、沿岸からの群集の寄与率などを評価することが可能となると考えられる。

### 第3節 北湖での高密度分布 環流—*Microcystis* 仮説

#### 緒言

植物プランクトンの集積パッチやブルームは、さまざまなスケールで起こりうる物理的過程と深く関係する。それは、小規模な乱流(Jimenez1997; Jou1997)から、Langmuir 循環(George and Edwards1973; Harris and Lott1973), 吹送流(Verhagen1994; George and Edwards1976a; Ishikawa et al.1999), メキシコ湾流 (Wiebe et al.1976; Hitchcock et al.1994,1998), 延いては海洋での上昇流(Chavez and Barber1987; Chavez et al.1991)のような大規模な地球レベルでの流体力学的過程にまで至る。このように、移流および混合過程が植物プランクトンの分布に大きく影響することは、よく知られた現象であるが(Okubo1978), 実際に大きな湖において植物プランクトンのパッチ形成を調節している機構を調査した研究は極めて少ない(Powell et al.1975)。その理由は、大きな湖における植物プランクトン群集のさまざまな動態応答を測定することや、流体力学的過程での、空間的拡散ならびに収束状況をとらえることが困難だったからである(Reynolds1989a)。

湖水面での水の輸送は、大きな湖での植物プランクトン群集構造の時空間的構造に強く影響を及ぼすことがある。中緯度の大きな湖において、成層期になると水平密度勾配とコリオリ力との間の地衡流バランスによって生ずる安定的な環流が1～数个形成される(Endoh et al.1995)。これらの環流は、湖のサイズによっては数から数十 km 規模の水平移流をもたらすことが知られているが(Endoh1995; Kumagai et al.1998), 詳細な構造については、近年、超音波ドップラー流向流速計(ADCP)の使用によって流速地図が描けるようになってはじめて明らかになってきた。

琵琶湖は、5月から10月まで成層する一循環湖であり、冬には垂直的に十分混合する。琵琶湖が北湖に3つの環流を形成することを最初に記録したのは、1925年夏の成層期に行われた神戸海洋気象台の観測であった(海洋気象台1926)。環流は、北から南方向に向かって、第一環流(反時計回り)、第二環流(時計回り)、第三環流(反時計回り)と名づけられた。岡本・森川(1961)は、反時計回りの環流が地衡流バランスによって形成されていることを発見した。その後、環流を測定する方法がいくつか適用されて、物理的な特徴がより明瞭になってきた(e.g.Endoh1986; Endoh et al.1995)。近年、ADCPの技術によって、1～2日といった比較的短い時間間隔で、これらの環流に関する時空間的構造を観

測することが可能になった(Kumagai et al.1998)。現在、琵琶湖では、生態学的な過程を解明するためのモデルと連結した湖流に関するシミュレーションモデルの3次元開発に着目した研究が進展している(Okubo et al. 印刷中)。

琵琶湖の水質は、過去数十年にわたる集水域からの高い栄養塩類負荷のため、次第に悪化してきている。主湖盆である北湖は今のところ中栄養湖に分類されているが(Tezuka1992), 沿岸の港内では1994年より毒性ラン藻類のアオコが発生し(吉田ほか1997), 沖合でも1997年からアオコの膜が湖水面に見られるようになった。アオコを形成するラン藻類は、今や琵琶湖の表層中全体で観察されるようになった(熊谷ほか1999)。

浮上性 *Microcystis* 群集は沿岸で発生し、沖合に運ばれ、琵琶湖の流体力学的過程によって第一環流の中心近くに集積し、これが北湖での *Microcystis* の高密度分布を形成すると考え、ここで“環流・*Microcystis* 仮説”を提言する(Fig. 3-3-2 参照)。本節では ADCP によって測定した流速と、クロロフィル a 濃度とアオコを形成するラン藻類の垂直水平分布を、明らかにすることによってこの仮説の検証を試みた。

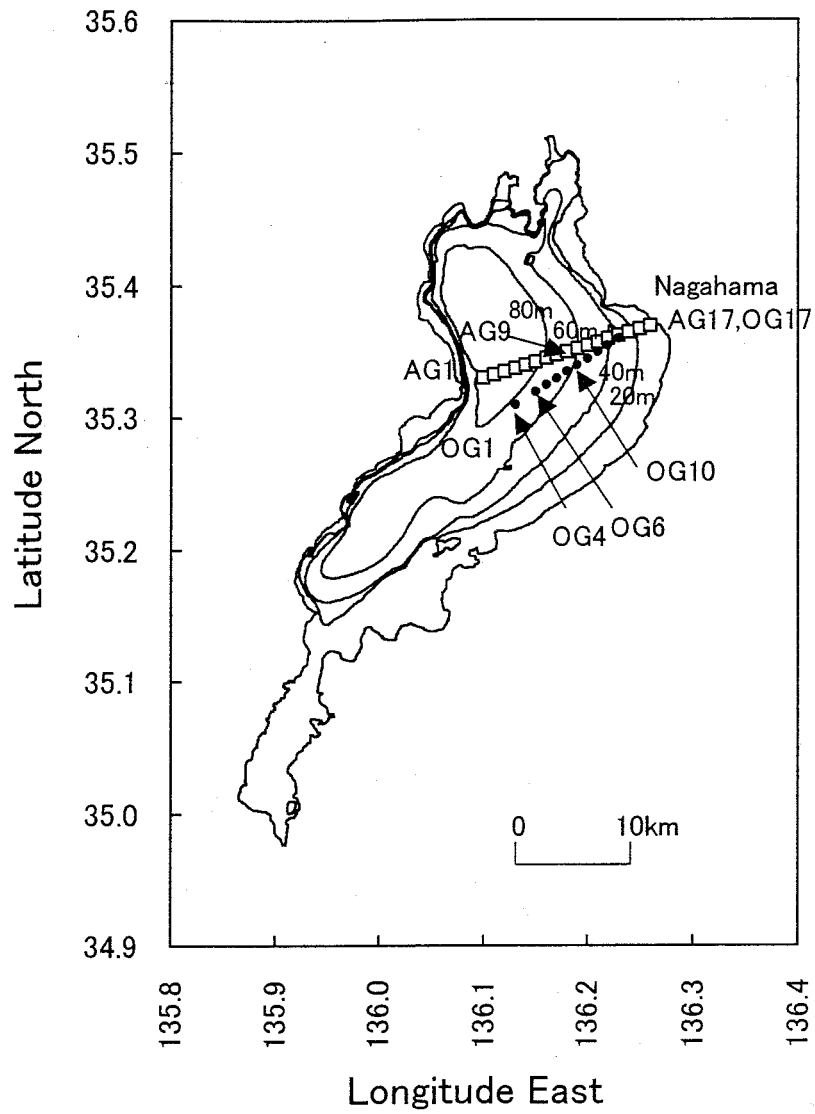


Fig. 3-3-1 Map of Lake Biwa, showing the sampling sites

## 方法

### ADCPによる環流の計測

流れの測定は、琵琶湖研究所所有の調査船はっけん号の船底に取り付けた 300 KHz 広域波長帯 ADCP(RD instruments 社)を用いて行った。この計測機器は、湖面から 6.88 m と、湖底から 6.88 m の間の層で、水深 2 m きざみに流れを計測することができ、その測定誤差は毎秒 0.05 m である。出力データは、15 秒毎に平均化した。このことは、もし調査船はっけん号が速度 8 ノットで航行すれば、約 60 m の水平距離間隔でデータが得られることを意味している。ADCP の測定は、琵琶湖北湖の測定領域を 2 日かけてカバーしているが、調査不能な悪天候でない限りこの 2 日間のデータを結合しても、環流の構造はほとんど変化していなかった(Kumagai et al. 1998)。水の流速は、ADCP の流れの鉛直分布に対して双曲線関数法を適用して、500 m×500 m のメッシュ上に補間し、その結果を、数値計算モデルによって計算された結果と比較した。ADCP による調査は 2000 年 8 月 21 日～22 日と 10 月 4～5 日に行った。

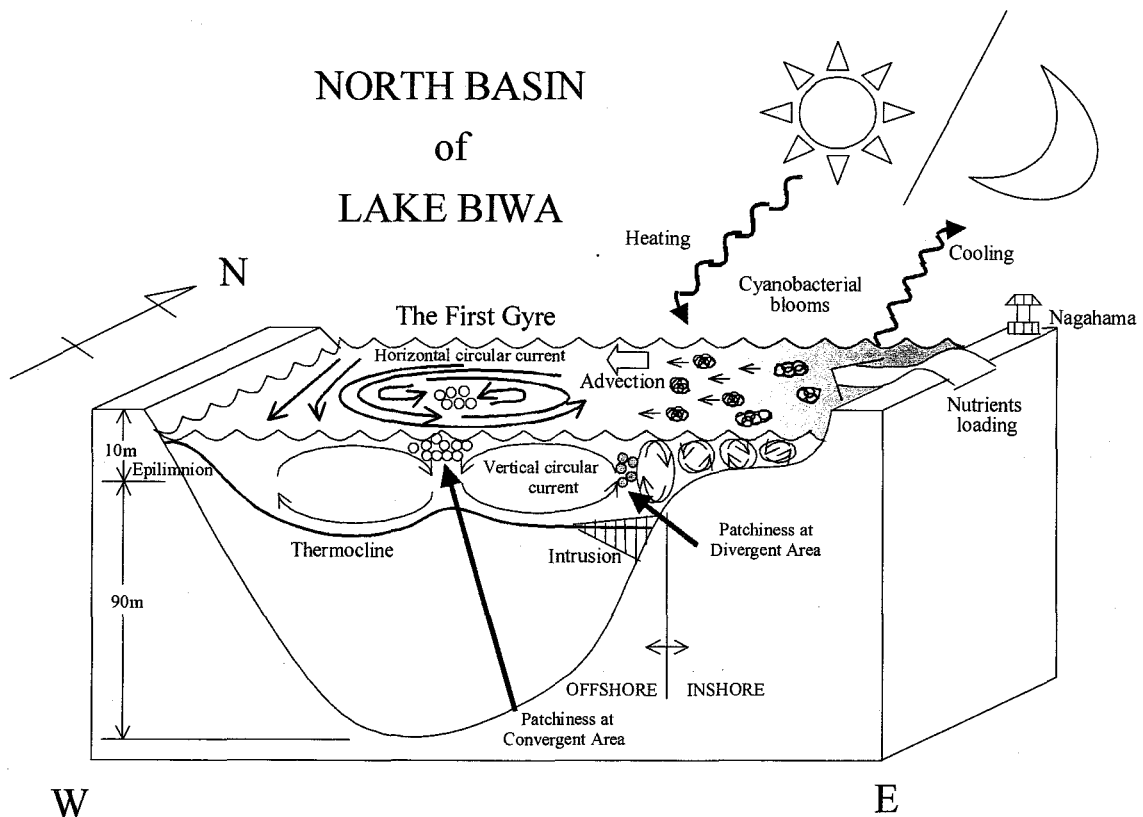


Fig. 3-3-2 Schematic view of the "gyre hypothesis", which postulates that high concentrations of buoyant cyanobacteria are generated inshore, advected offshore by the first gyre, and then accumulated in the central downwelling region of the gyre

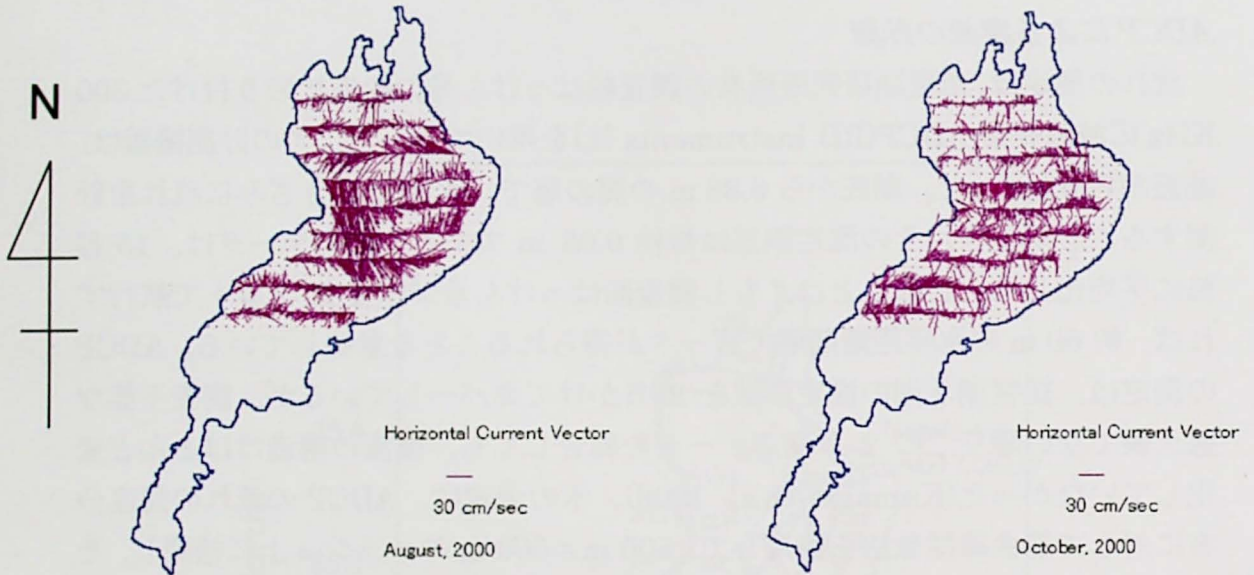


Fig. 3-3-3 Water currents at 6.6 m depth in Lake Biwa measured with Acoustic Doppler Current Profiler, on August 21-22, 2000 (Left) and October 4-5, 2000 (Right)

#### 水温およびクロロフィル a 濃度の垂直測定

水温ならびにクロロフィル a 濃度は、校正済みの現場型蛍光光度計 (CHLOROTECH ACL200- PDK アレック電子社) を用いて表層から水深 20 m まで、2000 年 8 月 23 日 10 時～24 日 10 時まで長浜から環流の中心を通る直線上の AG1～AG17 の 17 地点において 6 時間間隔で測定した。これらの調査地点の位置は、この観測日の 2 日前に行われた ADCP を用いて行われた湖流計測の結果を基にして設置した。垂直プロファイルは、8 月 23 日 16 時は 2 地点 (AG1, AG17)、23 日 22 時と 24 日 4 時は 3 地点 (AG9, AG12, AG17)、8 月 24 日 10 時は 5 地点 (AG1, AG5, AG9, AG12, AG17) で測定した。

#### サンプリングと植物プランクトン計数

植物プランクトン計数用の試料水を、8 月 23 日 10 時より 24 日 10 時まで、6 時間間隔で 3 地点 (AG9, AG12, AG17) の湖水面から、バケツを用いて各 15L ずつ採取した。さらに、また、8 月 23～24 日は、水温ならびにクロロフィル a 蛍光の測定と同時に、水深 5 m と水温躍層 (AG9 8 m; AG12 10 m) からバンドーン採水器を用いて 12L ずつ採水した。10 月 6 日 10 時に、10 月 4 日～5 日の ADCP による流向流速計測によって長浜と環流の中心を通る直線上に 17 地点 (OG1～OG17) を設置した (Fig.3-3-1, Fig. 3-3-3)。OG10 は環流の中心で、OG17 は長浜

港で、OG17はAG17と同位置であった。植物プランクトン計数用の試料水は、環流を通過するOG6～OG14と長浜港OG17の10地点から、8月23日の調査と同様の方法で湖水面から採水を行った。ラン藻類の群体とその他の植物プランクトンは、20  $\mu$ m のプランクトンネットを用いて濃縮し、終濃度1%になるようにルゴール液を添加して固定した。

8月の優占植物プランクトンは、緑藻類の *Coelastrum polycordum* であり、アオコ形成ラン藻類での優占種は、*Microcystis aeruginosa* と *Microcystis wesenbergii* であった。これらの優占種を顕微鏡下で、ラフターチャンバー内の40視野、或いは少なくとも400群体を計数した。

8月23～24日、10月6日の気象状況は第一環流の中心から南東に約10 kmに位置する彦根アメダス観測点のデータ(日本気象業務支援センター提供)を引用した。

#### 栄養塩分析

第一環流を横断する直線上の栄養塩分布を調査するため、5地点(AG1, AG5, AG9, AG12, AG17)で8月23日10時に採水を行った。1999年夏に行った24時間調査によると、各地点での時間変化は、表層における空間変化に比べて小さかったので(Ishikawa et al. 未発表データ)、採水は10時の航行で1回のみ行った。

水深0mからは、バケツを用いて採水し、水深5mおよび水温躍層(AG1 12 m, AG5 9 m, AG9 8 m, AG12 10 m; 植物プランクトン計数用のサンプルと同深度)からはバンドーン採水器を用いて採水した。最も浅い地点のAG17では、水深0mと2.2 mから、他の地点と同様に採水した。10月6日10時は、OG4, OG10, OG13, OG17の水深0 mから採水した。採水した湖水は、ガラス繊維フィルター(Whatman GFF)で濾過した後、アンモニア態窒素( $\text{NH}_4\text{-N}$ )については Sagi (1966)に記載された方法に従い、硝酸塩( $\text{NO}_3\text{-N}$ )はオートアナライザー(AACS-II ブランルーベ社)によって、反応性リン(SRP)はモリブデン青法によって分析した(Murphy and Riley 1962)。

## 結 果

### 気象状況

観測時の気温、降水量、風速、風向は、Table 3-3-1 にまとめた。8月23～24日の24時間観測期間の気温は、16時の32.3℃が最高で、4時の23.2℃が最低であり、各観測時刻の表面水温と比べて高くなったり、低くなったり不規則に変動した。初秋にあたる10月6日10時の気温は、真夏にあたる8月の調査の気温に比べて低かった。8月23日、24日、10月6日の全天放射量は、それぞれ6.1, 6.1, 3.3 kW m<sup>-2</sup>であり、いずれの調査日も降雨は観測されなかった(2000年気象月報 彦根地方気象台)。風向は著しく変化した。8月23～24日の日中は、NNW から WNW の風が吹いた。しかしながら、4時にはほとんどその正反対であるSEの風に変わった。風速は、8月23～24日の観測時間に2～5 m s<sup>-1</sup>の間で変動した。また、10月6日10時は1 m s<sup>-1</sup>であった。

Table 3-3-1 Meteorological conditions at the observation times

| date            | time   | Air temp.<br>(°C) | Precipitaion<br>(mm h <sup>-1</sup> ) | Wind direction | Wind speed<br>(m sec <sup>-1</sup> ) |
|-----------------|--------|-------------------|---------------------------------------|----------------|--------------------------------------|
| August 23,2000  | 10h 00 | 31.1              | 0                                     | NNW            | 2                                    |
|                 | 16h 00 | 32.3              | 0                                     | NNW            | 5                                    |
|                 | 22h 00 | 27.0              | 0                                     | WNW            | 4                                    |
| August 24,2000  | 04h 00 | 23.2              | 0                                     | SE             | 2                                    |
|                 | 10h 00 | 29.1              | 0                                     | WNW            | 2                                    |
| October 6, 2000 | 10h 00 | 21.3              | 0                                     | W              | 1                                    |

### 第一環流の ADCP マッピング

8月21～22日と10月4～5日の間に ADCP によって測定された水平流速ベクトル図から環流を確認することができる(Figs. 3-3-3a, 3-3-3b)。8月21～22日、第一環流の中心は、北緯 35°21.12′、東経 136°10.86′で、環流の直径は約 15 km であった。10月4～5日、環流の中心は北緯 35°11.39′、東経 136°10.86′で、直径は約 12 km であった。8月と10月の第一環流を比較してみると、10月は南西方向に移動し、直径は小さくなり、流れの構造が不明瞭になった。

鉛直流速は水平流速に比べてかなり小さいので、船底に取り付けた ADCP では正確には計れないので、鉛直流速は以下の計算により求めた。

1. 8月の現地実験の場合、第一環流の中心を通る北緯 35°21.12′の直線上で、



東経 136°5.3' から東経 136°14.3'の間に測定された ADCP のデータを用いて、環流の周辺で鉛直流速が正(上方向)になる領域の幅(L)を求めた。

2. 同じ直線上の ADCP データを用いて、水平流速が卓越して、かつ鉛直流速が小さくなる領域において、水面から水深 20 m の間の層における水平流速フラックス(F)を求めた。

3. 環流の周辺で、幅 L の領域における平均的な鉛直流速は、 $F/L$  から求まり、その数値は  $0.000588 \text{ m sec}^{-1}$  であった。北緯  $35^{\circ}21.12'$  の線上で、ADCP によって測定された鉛直流速の個々の数値を、上で求められた平均鉛直流速によって補正した。その結果を、第一環流の水平平均流速と鉛直流速を含んだ形で Table 3-3-2 に示した。

4. 鉛直的に平均化された水平流速は、第一環流の周辺に近い表水層では、 $0.08 \sim 0.16 \text{ m sec}^{-1}$  であり、環流の中心近くではほとんどゼロであった。対応した鉛直流速は、第一環流の周辺では  $0.0003 \sim 0.0007 \text{ m sec}^{-1}$  であり、中心では  $-0.0001 \sim -0.0005 \text{ m sec}^{-1}$  であった。ここで正の鉛直流速は鉛直上方、負の鉛直流速は鉛直下方を指している。流れの軌跡計算から、環流の周辺にある水は、40~50 時間で中心に到達することがわかった。

これらの数値は、水中の粒子が沈降する速度( $10 \sim 5 \text{ cm sec}^{-1}$ )による測定誤差を含んでいるかもしれないが、Oonishi (1975)や Endoh (1978)による数値計算で求められた数値とよく合っていた。

Table 3-3-2 Mean velocities of horizontal and vertical currents ( $\text{m s}^{-1}$ ) in the first gyre measured by on-board ADCP

| Location  | Horizontal current |       | Vertical current |          | n  |
|-----------|--------------------|-------|------------------|----------|----|
|           | Velocity           | SD    | Velocity         | SD       |    |
| 136°06.0' | 0.157              | 0.015 | 0.000441         | 0.000240 | 38 |
| 136°06.6' | 0.166              | 0.008 | 0.000653         | 0.000079 | 38 |
| 136°07.2' | 0.145              | 0.021 | 0.000371         | 0.000335 | 38 |
| 136°07.8' | 0.111              | 0.017 | -0.000232        | 0.000346 | 38 |
| 136°08.4' | 0.088              | 0.009 | -0.000543        | 0.000136 | 38 |
| 136°09.0' | 0.075              | 0.006 | -0.000382        | 0.000185 | 38 |
| 136°09.6' | 0.066              | 0.006 | -0.000081        | 0.000174 | 38 |
| 136°10.2' | 0.047              | 0.018 | -0.000021        | 0.000123 | 38 |
| 136°10.8' | 0.007              | 0.028 | -0.000339        | 0.000265 | 38 |
| 136°11.4' | -0.037             | 0.020 | -0.000524        | 0.000158 | 38 |
| 136°12.0' | -0.063             | 0.010 | -0.000396        | 0.000149 | 38 |
| 136°12.6' | -0.078             | 0.010 | -0.000242        | 0.000137 | 38 |
| 136°13.2' | -0.087             | 0.004 | -0.000180        | 0.000041 | 38 |
| 136°13.8' | -0.059             | 0.033 | 0.000103         | 0.000329 | 38 |

## 水温

8月23日10時の第一環流の断面にあたる水深0 m～20 mの水温分布図をFig. 3-3-4に示した。湖面水温は、16～29℃の範囲にあった。水深0～3 mの沿岸域の水温は、沖合表層の水温に比べて約2℃高く、環流の中心部の水温は周囲より約2℃低かった。これらの観測結果は、沿岸には浅瀬で暖められた水塊があり、沖合の環流中心近くには寒冷な水塊による下降流があることを示して

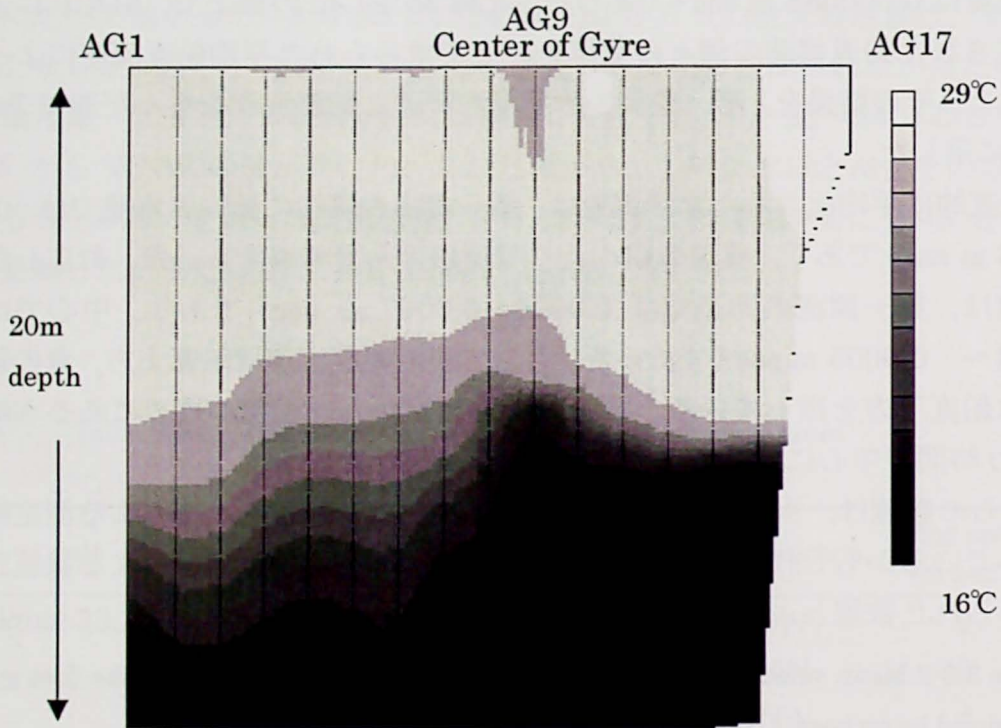


Fig. 3-3-4 Vertical water temperature contours at 10 h 00 on August 23, 2000

いる。Fig. 3-3-4にも見られる様に、表面から水深3 mまでの低水温の水塊は、不安定であると推測されるが、この水温分布は早朝に湖水面が冷却され、環流の収束作用に従って、冷水が環流の中心に集まったために形成されたと解釈できる。実際、8月の夜間から午前10時までの気温は、湖水面の水温よりも低く、湖面の冷却が推察された(水資源開発公団 未発表データ)。

## クロロフィル a 濃度

表水層(水深0～20 m)の8月23日10時におけるクロロフィル a 濃度は、1～13 mg L<sup>-1</sup>の範囲にあった(Fig. 3-3-5)。クロロフィル a の高濃度水塊が AG17 付近と、斑点状ではあるが沖合湖水面直下の水深0～1m層、そして水温躍層に観察された。しかしながら、水温分布でみられたような環流の中心近くの湖水面からの沈降水塊をクロロフィルの分布図で見ることができなかった(Figs. 3-3-4, 3-3-5)。これは、能動的な水塊の移動による水温分布と受け身的な植物プランク

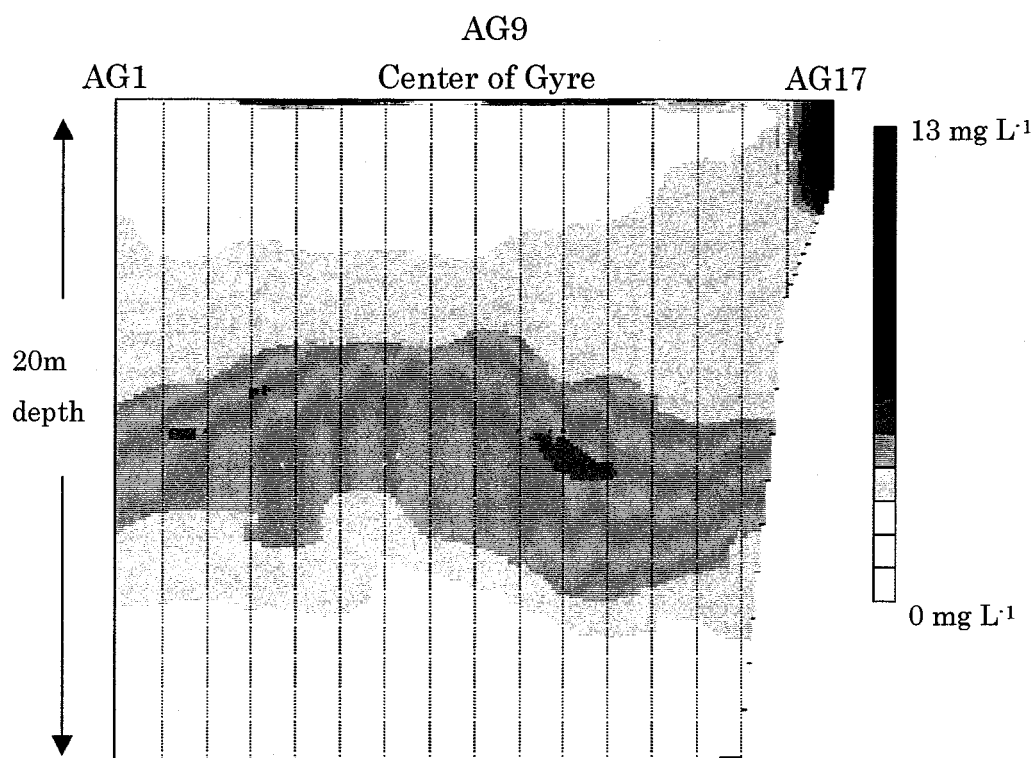


Fig. 3-3-5 Vertical chlorophyll a concentration contours at 10 h 00 on August 23, 2000

トン分布との違いによって生じる現象なのかもしれない。

#### 優占植物プランクトンの現存量と分布

8月23～24日の調査期間における優占植物プランクトンは緑藻類の *Coelastrum polycordum* であった。琵琶湖北湖における最も一般的に見られる *Microcystis* の2種は *M. wesenbergii* と *M. aeruginosa* であり、これらは調査期間に比較的低い濃度で観察された。我々が採取した7個のサンプル[AG9(0 m 5 m 水温躍層), AG12(0 m 5 m 水温躍層), AG17(0 m)]の *M. aeruginosa* の平均群体密度は、8月23日10時の120 colonies L<sup>-1</sup>から8月24日10時の70 colonies L<sup>-1</sup>に減少した。*M. wesenbergii* の同平均濃度は、8月23日10時は610 colonies L<sup>-1</sup>であったが、24日4時は320 colonies L<sup>-1</sup>にまで減少して、10時には540 colonies L<sup>-1</sup>に回復した。*C. polycordum* の同平均濃度は、8月23日10時は1830 colonies L<sup>-1</sup>, 24日4時に減少して1290 colonies L<sup>-1</sup>, 10時に再び回復して2480 colonies L<sup>-1</sup>に増加した。

環流における2つの異なった水域、すなわち中心(AG9)と環流の外縁(AG12)での *M. aeruginosa*, *M. wesenbergii*, *C. polycordum* の垂直分布の時間的変化を Fig. 3-3-6 に示した。*M. aeruginosa* は AG9 において、8月23日10時に水温躍層で最も高い濃度を示したが、同日22時、8月24日の4時と10時にはその傾向は見られなかった(Fig. 3-3-6a)。AG12では、夜間の方が昼間よりも高い濃度を示し、湖水面での集積もみられなかった(Fig. 3-3-6b)。一方、*M.*

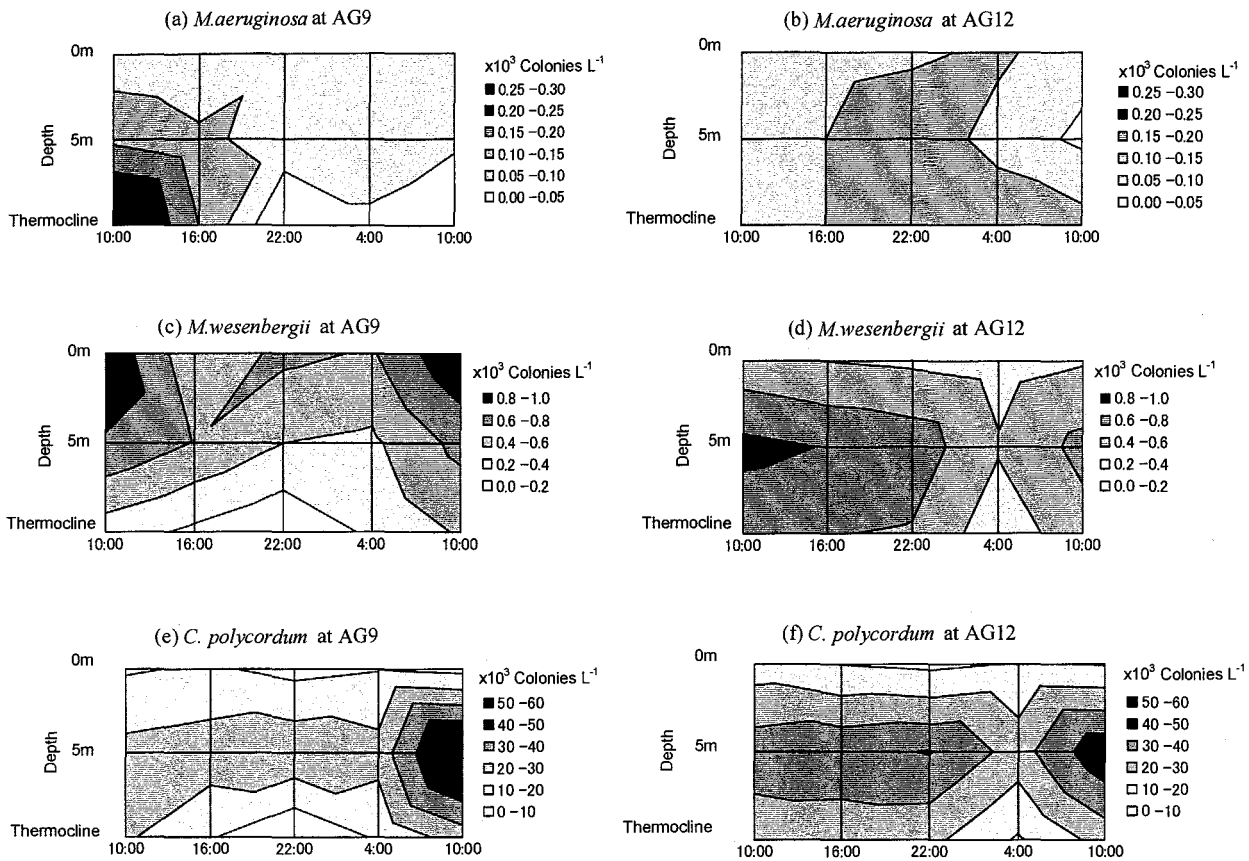


Fig. 3-3-6 Diel variations of *Microcystis* and *Coelastrum* biomass at the three depths at the center and the edge of the first gyre. a, b *Microcystis aeruginosa*; c, d *Microcystis wesenbergii*; e, f *Coelastrum polycordum*; sampling depths, 0 m, 5 m and thermocline at 16 h 00 were interpolated from the neighboring values

*wesenbergii* の 3 つの深度における合計の濃度に昼夜変化が見られ、昼間は夜間より高くなる傾向がみられた(Fig. 3-3-6c, 3-3-6d)。AG 9 では、*M. wesenbergii* の個体群密度は、湖水面が水深 5m および水温躍層に比べて高かった(Fig. 3-3-6c)。一方 AG12 では、水深 5m での個体群密度は、他よりも高かった(Fig. 3-3-6d)。*C. polycordum* の分布パターンは、AG9, AG12 とともに水深 5m で高かった。

10月6日10時、*M. aeruginosa* の3サンプルの平均群体密度  $120 \text{ colonies L}^{-1}$  は(OG9, OG12, OG17の0m)、8月23日、24日のそれぞれ  $78 \text{ colonies L}^{-1}$  に比べてわずかに高かった。*M. wesenbergii* の平均群体密度は、 $1450 \text{ colonies L}^{-1}$  であり、8月23日、24日のそれぞれ  $410 \text{ colonies L}^{-1}$  と  $380 \text{ colonies L}^{-1}$  より高かった。10月6日10時における環流を横切る湖水面の *Microcystis* の水平分布を Fig. 3-3-7 に示した。この日の沿岸地点(OG17)における *M. aeruginosa* 密度は、水平分布を調査した 10 地点の中では 2 番目に高かった。対照的に、OG17 における *M. wesenbergii* 濃度は、10 地点の中で最も低かった。両種ともに最も高い密度を示したのは、OG9 と OG10 の環流中心近くであった。

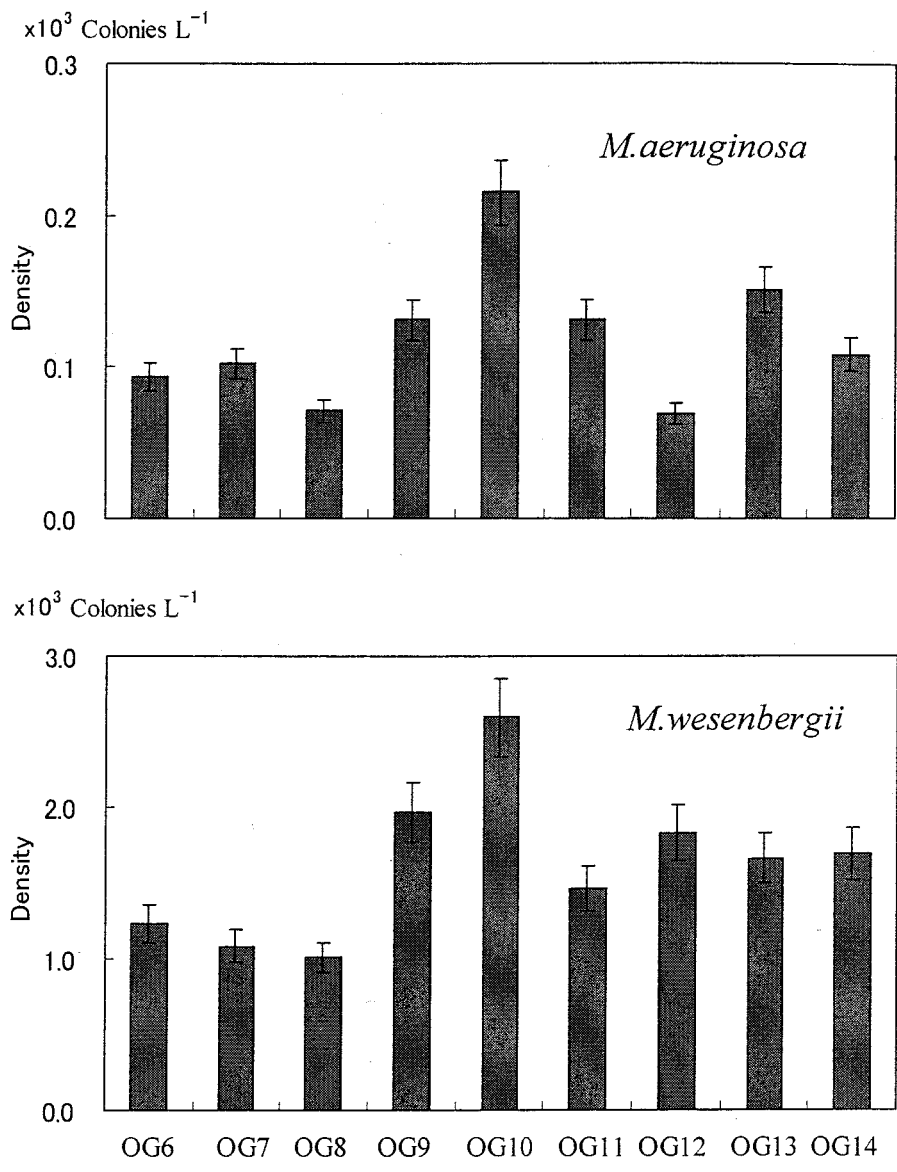


Fig. 3-3-7 Buoyant *Microcystis* colonies densities at stations across the first gyre on October 6, 2000

### 栄養塩状況

AG1, AG5, AG9, AG12 の水深 0 m, 5 m, 水温躍層における, また AG17 の水深 0 m, 2.5 m における, アンモニア態窒素( $\text{NH}_4\text{-N}$ ), 亜硝酸態窒素( $\text{NO}_3\text{-N}$ ), 反応性リン(SRP)濃度を, Fig. 3-3-8 に示した。また, OG4, OG10, OG13, OG17 の 0 m での濃度を, Fig. 3-3-9 に示した。沖合にある AG1, AG5, AG9, AG12 の表層における  $\text{NH}_4\text{-N}$ ,  $\text{NO}_3\text{-N}$ , SRP 濃度は, 沿岸に近い AG17 と比較してはるかに低かった。AG1, AG5, AG9, AG12 の水深 0 m, 5 m の  $\text{NH}_4\text{-N}$  の濃度は,  $1.0 \mu\text{M}$  未満で低かったが, 水温躍層の  $\text{NH}_4\text{-N}$  濃度は, 湖水面よりも高い傾向がみられた。さらに環流西側の地点 AG1, AG5 は, 環流の中心及び東側の地点 AG9, AG12 の水温躍層での濃度よりも高かった。したがって, AG12 における 3 つの水深による違いは, AG1, AG5 よりも小さかった。 $\text{NO}_3\text{-N}$  の濃度は AG1, AG5, AG9, AG12 の水深 0 m と 5 m で低く,  $0.25 \mu\text{M}$  以下だった。そして, 0 m と 5 m ではほとんど違いはみ

られなかった。水温躍層の  $\text{NO}_3\text{-N}$  の濃度は, 0 m や 5 m に比べてはるかに高かった。また, AG1 と AG5 は, AG9 と AG12 よりもわずかに高かった。一方 SRP に関しては, AG5 の水温躍層と, AG9 の 3 つ深度では他のサンプルに比べてわずかに高かったが, AG1, AG5, AG9, AG12 の 3 つの深度ともに大きな違いはない。沖合の 3 地点(OG4, OG10, OG13)における 10 月 6 日は, 8 月 23 日の傾向と同様に, 0 m における  $\text{NH}_4\text{-N}$ ,  $\text{NO}_3\text{-N}$ , SRP の濃度は, 沿岸に近い OG17 よりもはるかに低い傾向があった(Fig. 3-3-9)。環流西側の OG 4 における  $\text{NH}_4\text{-N}$ ,  $\text{NO}_3\text{-N}$  濃度は, 環流の中心(OG10)や東側(OG13)よりも高かった。SRP は, 8

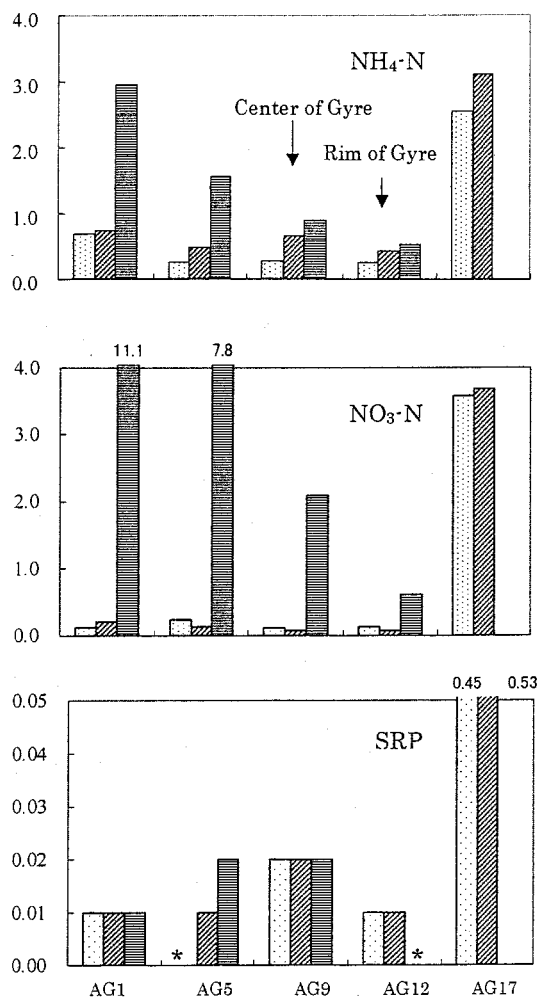


Fig. 3-3-8 Nutrient concentrations at 10 h 00 on August 23, 2000. Left bar, 0 m depth; middle bar, 5 m depth; right bar, on the thermocline; \* below detection

月 23 日と同様に環流の中心(OG10)でわずかに高かった。

### 考 察

今回の環流と浮遊性ラン藻類に関する野外分布調査によって、夏期と初秋期の 10 時に、琵琶湖の第一環流の中心近くで *Microcystis* の群体が集積していることが確認された(Figs. 3-3-6b, 3-3-7)。8 月と 10 月の両時期において、溶存態栄養塩濃度は極めて低く、この集積は、*Microcystis* が沖合で増殖したのではないと思われた(Figs.3-3-8,3-3-9; 滋賀県 2001)。さらに、細胞分裂頻度測定法(FDC 法)(中原 1999)および第 3 章第 2 節でまとめた現場培養実験から評価された数日間の *Microcystis* の増殖速度では、環流の中心付近にパッチを形成するには十分でないと考えられた。

*Microcystis wesenbergii* は、群体密度分布に昼夜変化を示し、環流の中心の表水面と、環流外縁の水深 5 m で最も高い密度を示した(Figs.3-3-6c, 3-3-6d)。そして、ADCP によって計測された第一環流中心近くの下流の流速は、 $-0.0001 \sim -0.0005 \text{ m s}^{-1}$  であり、*Microcystis* の鉛直移動( $0.003 \text{ m s}^{-1}$ : Oliver and Ganf (2000))を妨げる可能性は低い。一方、浮遊性のない植物プランクトンの *Coelastrum polychordum* は、第一環流の中心でも外縁でも、濃度を変えることなく、*Microcystis* と異なった密度分布を示した(Figs. 3-3-6e, 3-3-6f)。 *C. polychordum* の Stokes の式による沈降速度は、 $-0.0005 \text{ m s}^{-1}$  であり、これは、ADCP による測定によって見積もられた上昇流の流速  $0.0004 \sim 0.0008 \text{ m s}^{-1}$  と干渉し合う可能性があった。Stommel (1949)や Smayda (1970)は、Langmuir 循環による集積機構を議論して、浮遊性懸濁物は上昇流域に、沈降性懸濁物は下降域に、中立性の懸濁物は普遍的に分布するだろうと示している。浮遊性 *Microcystis* は、光合成生産物の蓄積を変えることにより、群体自身の浮力を変えることができる(e.g. Kromkamp and Mur 1984;

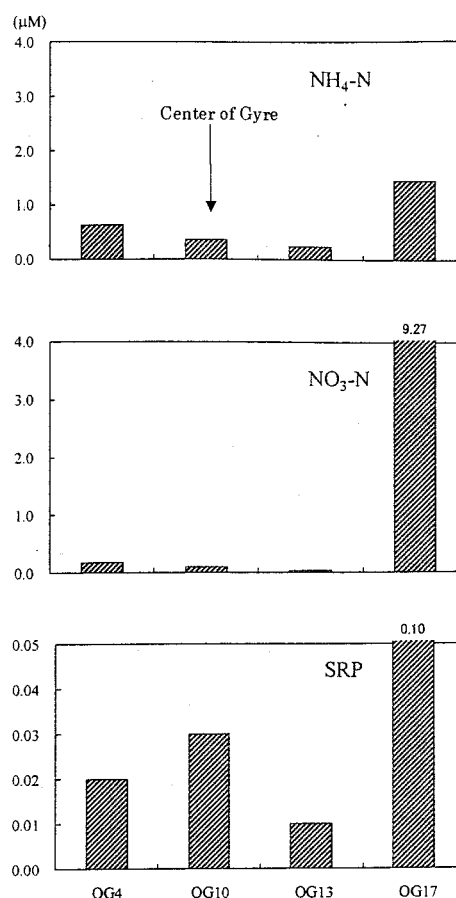


Fig. 3-3-9 Surface nutrient concentrations of NH<sub>4</sub>-N, NO<sub>3</sub>-N, and SRP at 10 h 00 on October 6, 2000

Takamura and Yasuno 1984; Thomas and Walsby 1985; Ibelings et al. 1991b; Oliver 1994)。したがって、*Microcystis* の群体は、昼夜で変化する生体内の状態に依存して、Langmuir 循環を用いて示された3つの分布パターンの、いずれにも従うことができると考えられた。

Langmuir 循環流は、 $3\sim 5\text{ m}^{-1}$ の風速で起こる風波によって数メートル規模で起こる鉛直循環流である(e.g. Langmuir 1938; Faller 1971)。一方、第一環流にみられる垂直流は、Endoh (1978)の数値計算モデルに示されるように、数キロメートルという大きな規模で表水層に形成される鉛直循環流である。これらの循環流は、スケールおよび原動力は異なるにせよ、浮遊性のある懸濁物質の集積が垂直流の特性によって生じるという点からすれば、集積機構は同様に働くともいえるだろう。このようにして、環流は、湖水面の収束域に浮遊性の *M. wesenbergii* の群体を集積させる可能性が示された。そして我々の行った10時の観測結果もこの仮説と矛盾しない(Fig. 3-3-6c)。それとは逆に、群体が浮力をもたない場合は、発散域の中層に集積するメカニズムも示唆された。これは、Fig. 3-3-6dで観察された *M. wesenbergii* の水深5 mでの高密度分布がみられた観測結果とも一致していた。10月6日に得られた *M. aeruginosa* の表層水平分布も、環流-*Microcystis* 仮説に合致した。しかしながら、8月の観測において、*M. aeruginosa* は環流中心付近に集積しなかった(Fig. 3-3-6a)。それについて2つの理由が考えられた。まず第1に、本種は、風によって流されやすい特性がある(Ishikawa et al. 1999)。8月23~24日は10月6日に比べて風が強かったので(Table 3-3-1)、この強い風が群体の沖への輸送を阻止し、北湖沖合の群体の集積を妨げる原因になったのかもしれない。第2に、この種は、沖へ向かってその群集を維持するだけの十分な栄養塩を蓄えていなかったことが考えられた。北湖における溶存態無機栄養塩濃度は低く、細胞内に蓄えられた栄養塩は、浮上沈降を繰り返す間に消費してしまったのかもしれない。前節で明らかにしたように、沿岸域に棲息する *M. aeruginosa* 群体を北湖沖合の湖水で現場培養を行うと、それらの群体は、細胞内に蓄えた栄養塩を利用して2~3日間生き残り、その間に1~2回だけ分裂すると述べている。概して、栄養塩を制限された群体は、新しいガス胞の形成を減らすので、結果として、*Microcystis* は浮力も失ってしまうのである(Oliver and Ganf 2000)。

*M. aeruginosa*, *M. wesenbergii* の水温躍層上の群体数は、8月23~24日の観測において4時ではなく、10時に最高を示した。また、10月6日の水平分布調査においても、10時に環流の中心近くで細胞密度が高くなる分布が観察されている。*Microcystis* の鉛直移動の習性は、群体が光合成産物を夜間の呼吸によって消費するので、早朝に浮上すると言われているが(Reynolds 1987; Ibelings



et al.1991a; Takamura and Yasuno1984; Walsby and McAllister 1987; Kim and Chu 2000; 第2章 第2節), なぜ4時ではなく, 10時にピークが見られたのだろうか。はっきりとしたことはわからないが, 10時に湖水面で観察された *Microcystis* 群体パッチは, 早朝にみられる浮遊群体が環流の流れに従って輸送され, 集積した結果なのかもしれない。

中原(2000, 2001)は, 琵琶湖北湖において *Microcystis* の水平分布のパターンを観測した。これらの1999, 2000年の夏の観測においても, 第一環流の中心近くで, 高い現存量を示すことが見られている。しかしながら, 1998年9月(渡辺1999)や, 2000年9月に行われた東西ラインの *Microcystis* 水平分布パターンでは(中原 未発表データ), 沖合での集積はみられなかった。これには2つ理由が考えられた。まず第1に, これらの観測は流速を同時に測定していないので, 環流の中心を横断していたかどうかかわからないということである。第2に, これらの観測が, 24時間を通して行ったサンプリングではないので昼夜変動の移行により集積を見逃したのかもしれない。 *Microcystis* 時空間分布を知るために, 24時間にわたる昼夜観測およびADCPによる流速測定を分布調査と同時に行ったことは大きな意味を持つ。

環流・ *Microcystis* の仮説は, 物理生物学的過程の調和を描写している。すなわち, アオコ形成ラン藻類のような浮遊性物質が, 沿岸から沖合へ輸送されると同時に, 北湖表層の環流の総体的な流れに従って中心部の下降流付近に集積する (Fig. 3-3-2)。集積したパッチの空間の大きさは, 輸送, 成長や分散, 捕食, 分解といった消失過程とのバランスによって決まるだろう。琵琶湖において, 安定した環流と, アオコを形成する *Microcystis* は, 1年サイクルで, ほとんど同じ季節に現れるために, 環流・ *Microcystis* の一体化されたモデルは, 沿岸から沖合への物理的流れと生物学的過程に従う自然の指標として使うことができるのである。

結論として, 今回の琵琶湖北湖で得られた野外観測によって, 北湖での *Microcystis* 分布の不均一ならびに高密度分布の存在は, 環流・ *Microcystis* 仮説を証明できるほど明白ではないが, この仮説に矛盾していないことが明らかになった。そして, この観測結果は, 沿岸由来の *Microcystis* が沖合に輸送され, 環流中心の下降流付近に集積した分と様々な物理的・生物的消失過程での差額分とのバランスの結果であることを示唆している。植物プランクトンの分布ならびに密度変化を, 生長と物理的な集積を別々に評価することは, アオコ形成メカニズムがより詳細に明らかになるための第一歩となる。今回観測された北湖沖合における *Microcystis* のパッチ存在とその大きさは, この湖沼生態系の健康状態を示す生産と消費のバランス指数としても有用かもしれない。これらのラ

ン藻類は毒性があり(渡辺 1999), *Microcystis* spp.によるアオコ形成の正確な機構の解明が求められている。そして, さらにこれらの有害藻類を管理するための手法を開発することが重要である。

#### 第4節 摘要

日本最大の湖である琵琶湖は、表面積 670 km<sup>2</sup>、最大水深 104 m の一循環湖である。この湖においてアオコを形成するラン藻が底泥から回帰する可能性について調査した。主湖盆における優占アオコ形成ラン藻は、*Microcystis wesenbergii* と *Microcystis aeruginosa* であり、それらの群体は沿岸・沖合の底泥および湖水中に観察された。*Microcystis* が底泥から回帰できる限界深度を明らかにするために、休眠中のラン藻類が再び増殖を誘引する環境要因である光の透過度、湖底の水温、嫌气的環境のもたらすリンの供給、ラン藻細胞内に含まれるガス胞の水圧による破壊状況に基づいて検討した。水深 40 m 以下の湖底において、水温は年間を通して約 8°C で安定していた。この水温下で、*Microcystis* はゆっくりとした生長が可能である。底泥の表面は、還元性が強く、底泥から溶出したリンや窒素などの栄養塩が *Microcystis* の生長を促進させるだろう。水深 20 m 以深において水圧が高くなると、*Microcystis* のガス胞の一部は破壊され、水深 50 m 以深において 95% 以上のガス胞が破壊された。ただし、ラン藻群体はエネルギーが利用できれば、ガス胞を再合成することが可能である。これらのいずれも、*Microcystis* が深い湖底から回帰する可能性を支持していた。一方、エネルギー源となる光の到達深度は、水深 16 m の浅い水域に限定された。以上を総合的に考察すると、琵琶湖北湖沖合における *Microcystis* 群体は、光が制限要因となって底泥から湖水中へと回帰できないことが示唆された。

琵琶湖北湖沖合の湖水はリン欠乏であるにも関わらず、夏になるとアオコが観察されるようになった。そこで、これらのアオコが沖合で増殖する可能性を評価するための培養実験を行った。2000 年夏に琵琶湖北湖で優占した *Microcystis* を沿岸域で採取して、沖合の濾過湖水を入れた 4 個の 10L の大型ポリカーボネート培養瓶を野外に設置して 4 日間湖水中で培養した。一方、同沿岸地点から採取した *Microcystis* を、沖合の濾過湖水を 1 ml 入れたウエルプレートに 1 コロニーずつ入れて培養した。現場培養開始後、2 日後と 4 日後に培養瓶を回収して細胞数を計数したところ、*Microcystis* 細胞密度は 2 日後 1.27, 1.61 倍になり、4 日後それぞれ 2.40, 3.05 倍になった。ウエルプレート培養実験 (28°C, 100 μmol photons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> L:D=12:12) は、9 月 22 日と 27 日の 2 シリーズ行い、培養開始から最高濃度に至るまでに培養開始の 0 日と比べて 1.94 ± 0.27 (SE), 1.43 ± 0.21 倍になった。したがって、琵琶湖北湖沿岸の *Microcystis* 群体は、沖合に移流するまでに 1~2 回くらい分裂するが、それ以上は分裂しないことが示唆された。琵琶湖北湖の湖水中では、*Microcystis* は細胞内に沿岸で栄養塩を蓄積していても、沖合では活発な増殖は起こりそうになかった。

毒性ラン藻類によるブルームが、琵琶湖北湖の岸近くで1994年から発生するようになり、富栄養化した沿岸域の水質を益々悪化させている。また、1997年からは、水深のある北湖の沖合でも、アオコ形成ラン藻類が頻繁に観察されるようになってきた。そこで、琵琶湖主湖盆において、これらのブルームが形成されるメカニズムを検討した。栄養塩を充分保持した浮遊性ラン藻類が沿岸域で発生し、大きなスケールの水平輸送構造によって沖合に運ばれると同時に、北湖表層の環流の総体的な流れに従って、中心部の下降流付近に集積するといった仮説を提起した。2000年8月23～24日、環流の中心と外縁において6時間間隔で昼夜にわたる *Microcystis* の現存量の観測を行った。また、10月6日、浮遊性 *Microcystis* の水平分布を調べた。”第一環流”の流体力学的構造については、プランクトン調査直前の2日間に、超音波ドップラー流向流速計(ADCP)を用いて測定した。反時計回りで回転する環流は、中心近くでの下降流と、外側での上昇流によって、沿岸域の湖水中に含まれる物質を遠く離れた沖合へと運搬する特性がある。環流中心付近の湖水面近くでの *Microcystis* 現存量は、環流の外縁にくらべて高かった。また、環流の外縁でも、水深5 m付近の現存量は、湖水面や水温躍層付近に比べて高かった。この結果は、我々の環流—*Microcystis* 仮説を支持しており、これらのラン藻類は深い沖合においてブルームになりにくいと考えられてきたにもかかわらず、大きなブルームを形成する危険性があることを示唆している。

## 第4章 総括

琵琶湖では、夏季に南湖沿岸の富栄養化水域のみならず、中栄養またはリン欠状況にある水域でもアオコが形成する、或いはアオコには至らないが形成するほどまでに増加するようになった。これらのアオコの形成には増殖過程に加えて、集積過程が重要な役割を果たしていると考えられる。

アオコ形成ラン藻類の集積過程には2つのタイプがあり、1つは物理的な湖流によって輸送される”受動的輸送”であり、もう1つは、ラン藻類の細胞自身に含まれるガス胞そして体内の光合成産物とのバランスによって鉛直上下運動を行う特性による”能動的移動”である。能動的移動は、細胞の生理状態に従ってどこでも起こる現象であるが、受動的輸送には水域のスケールによる限界がある。アオコは表層に集積して風によって移流しやすいことはよく知られている。しかし、アオコのパッチは、風速4メートルを越えると維持できなくなることで、昼夜の上下運動を考慮すると、風による吹送流がアオコの集積に影響を及ぼす水域のスケールが限定される。例えば、琵琶湖北湖のような大きな湖沼では、環流という大きな湖流がある。環流には、沿岸域と沖合の水温差による密度流とコリオリ力が釣り合う地衡流バランスが必要であり、環流を形成できる水域は大きなスケールに限定される。したがって、アオコの形成メカニズムは水域のスケールによって異なることが考えられるが、過去に琵琶湖北湖のような大きなスケールの水域でアオコが発生する事例がほとんどなく、沖合アオコの発生機構はよくわかっていなかった。

そこで、本研究では、琵琶湖南湖から北湖の沖合における様々なスケールでのアオコ発生機構を解明することを目的とし、アオコ形成に至るまでの過程を沿岸の数百キロメートルの漁港から、数キロメートルの湾、そして数十キロメートルの琵琶湖北湖沖合で調査を行い、スケールによる輸送過程の違いとアオコの発生機構の関係を明らかにするとともに、琵琶湖におけるアオコの動態について総体的な検討を行った。

その結果、沿岸域では小さなスケールでのアオコの動態として風の影響が大きく、風向に従って風下に集積する種と、集積しにくい種があることがわかった。不定形の大型群体を形成する *Microcystis aeruginosa* と束状になった糸状体群体を形成する *Anabaena affinis* が前者の風下に集積するタイプで、単独糸状体を形成する *Planktothrix agardhii* が後者の風向に無関係な分布を示すタイプであった。これらの結果から、藻類の形態が風の影響の受け方に関係しているかもしれないと推察された。また、92日にわたる連続観測を行い5日間の移

動平均によって示される細胞数の増殖傾向と、各調査日の観測値を比較したところ、アオコ形成ラン藻類の中でも、増殖要素が卓越する種と、集積要素が卓越する種があることがわかった。*Anabaena smithii*は単独糸状体を形成する種で、水域内で一様に分布する増殖要素が卓越するタイプの種であり、一方*Microcystis*は集積要素が卓越する種である。集積要素が卓越しやすい種は、突発的に高濃度水塊を形成しやすいため、それらによるアオコの発生予測は難しい。

北湖でのアオコの生活史を検討した結果、沖合では、光の届かない深い底泥からアオコは回帰しそうにないと思われた。回帰を支持する要因として、ガス胞の保持、水温の季節的変動、底泥が嫌氣的になる可能性、光の到達について検討したところ、琵琶湖の場合は光が制限因子になっており、水深 16m より浅い水域ではアオコを形成するラン藻類の回帰は可能であるが、深い沖合の水域では底泥からの回帰の可能性はほとんどないと推定された。また、沿岸から沖合に移流する過程、ならびに沖合においてのラン藻類の増殖を知るため、沿岸域(長浜港)で採取した *Microcystis aeruginosa* の群体を沖合の湖水中で培養した。野外での 10L ボトルを用いた現場培養と実験室内でのウエルプレートを用いた培養の 2 方法で行ったところ、細胞数は培養 2 日目までは増加したがその後減少した。細胞内に蓄積した栄養塩を用いても、北湖沖合の湖水中では 1~2 回しか分裂できないことがわかった。したがって、琵琶湖北湖沖合のアオコは、底泥から回帰したのではなく、沿岸からの移流によるものと思われるが、移流過程で活発に増殖しそうにないため、集積によって形成されたものと考えられた。

琵琶湖北湖には、夏の水温躍層が形成される期間、大きな安定した反時計回りの環流(第一環流)が形成される。沿岸で発生したアオコがこの環流によって沖合へと移流することが推測された。環流は外縁から中心部に向かう水平流とともに、中心部で緩やかな下降流がある。水温躍層付近には、湖水面での中心への流れを補うための戻り流があり、環流外縁の沿岸湖水とぶつかり合う付近に上昇流を生じる。*Microcystis* は、光合成産物を蓄積しているときは、群体密度が高いので沈降するが、夜間に光合成産物を消費して再び浮上性を増すという特性があり、このことによって静止水域では上下運動を行っている。環流のような鉛直循環流の構造内においては、浮上群体は環流中心の下降流のある収束域付近に集積して、沈降群体は上昇流のある発散域付近に集積すると予想された。2000 年 8 月に昼夜観測を行ってみると、午前 10 時に環流中心の湖面で *Microcystis* の群体密度は周囲に比べて高くなり、夜間にはそのピークが見られなくなる変化が確認された。一方、優占緑藻類の *Coelastrum polycordum* は、

昼夜で分布の変化は見られず水深 5 m 付近で常にわずかに高くなる分布を示した。2000 年 10 月に環流を横切るライン上の表層から採水を行って *Microcystis* の細胞数を計数したところ、同様に環流中心部に高いピークが見られた。このことから、沖合に集積したアオコは環流の流れにのって沿岸から移流したものであり、特に朝方環流の中心付近に集積する傾向があることが示唆された。

以上の知見から、アオコを形成するラン藻類、特に *Microcystis* は明瞭な生物学的特性による能動的移動と、物理的な流れによる受動的輸送のバランスによって、スケールの大小に関わらず、現存量よりはるかに濃厚なアオコの水塊を形成する可能性があることがわかった。また、現段階において沖合のアオコは沿岸からの移流の可能性が高いので、沿岸域の徹底したアオコの削減によって沖合のアオコも減少させることができると思われる。

今後のアオコ形成ラン藻類の動態研究において、モニタリングに関しては、突発的に形成される毒性藻類の高密度水域検出手法の開発が重要な課題となるだろう。小さな沿岸水域では、多くの植物プランクトンが混在する中から問題となる種を分別する方法、細胞の正確な増殖速度を測定する方法、空間移動シミュレーションの完成が必要であり、一方、大きな沖合水域では、広範囲な分布を常時監視できるシステムの開発が期待される。アオコ形成ラン藻類の削減には、アオコを発生、増殖させないために沿岸域の徹底した栄養塩の制御、物理的な水の流れの管理、環境にやさしい接種可能な微生物農薬の開発などが期待される。生態系の管理は、極めて複雑で難しい。だからこそ、様々な学問からのアプローチが必要であり、総合的な考察によって、対象水域にふさわしい解決策が生まれるのではないかと考えられた。

## Summary and Conclusions

Toxic cyanobacterial blooms consisting of *Anabaena*, *Microcystis* and *Oscillatoria* have occurred in the South Basin of Lake Biwa since 1983 and in the near-shore waters of the North Basin since 1994 and have been attributed to water quality deterioration in the enriched littoral zone of the lake. From 1997 onwards the bloom-forming cyanobacteria have been observed with increasing frequency in the deep offshore waters of the North Basin. Bloom-forming cyanobacteria can now be observed in late summer throughout the epilimnion of Lake Biwa. These blooms have created great public concern, and intensive monitoring of cyanobacteria has been necessary for social reasons because Lake Biwa supplies drinking water to nearly 14 million of people in the Shiga, Kyoto, Osaka, Nara and Hyogo districts.

The mechanism of developing offshore cyanobacterial blooms was not clear because cyanobacteria usually grow in a shallow eutrophicated lake. The purposes of this study were to know the source of them and to address their accumulation and growth mechanisms. In this study, inshore-offshore cyanobacterial blooms were investigated in several scale of areas; from small-scales of bay and port ( $10^{-1} \sim 10^0$  km) to large-scales of offshore North Basin of Lake Biwa ( $10^1$  km). The following results were obtained.

### 1) *Inshore cyanobacterial blooms*

In the summer of 1995, bloom-forming cyanobacteria were observed on the surface of Akanoi Bay in the South Basin of Lake Biwa. Two different horizontal distributions of the dominant bloom-forming cyanobacteria were observed under moderate wind conditions. The colonial cyanobacteria with aggregated filaments of *Anabaena affinis*, and mucilaginous clumps of *Microcystis aeruginosa* tended to be transported horizontally by wind, while *Planktothrix agardhii* with solitary filaments did not. This suggests that different cyanobacteria species may be affected by



wind in different ways due to their varying physiology or morphology.

From July to September in 1999, daily cyanobacterial monitoring was held at Kitayamada fishery port in South Basin. The mean cell density for 5 days showed the trend of algal growth, and daily cell density counts were compared with the mean value. Cyanobacterial cell densities *in situ* consist of the accumulation factor and the growth factor. The growth factor for developing the blooms in single filamentous *Anabaena smithii* was superior to the accumulation factor since their distribution was not patchy, and it is unlikely to be transported by clam winds. On the other hand, *M. aeruginosa* was well moved actively with an adjustment of colony buoyancy itself and passively with water current movements. These results show that expecting the timing of occurring blooms for cyanobacteria with highly movement characteristics like *M. aeruginosa* was more difficult than that with even distributed species.

Also, diel patterns of FDC (Frequency of dividing cells) and morphological measurements of colonies in *M. aeruginosa* were investigated in the summer. The FDC patterns of *Microcystis* were concerned with environmental factors, solar radiation, dissolved oxygen and nutrient concentrations. The mean colony size increased and circularity decreased when *Microcystis* cell densities are not increased rapidly. These results suggested that morphological characterization of cells as well as colony might be an useful index for understanding the field *Microcystis* growth.

## 2) *Offshore cyanobacterial blooms*

The mechanisms that account for these bloom populations in the main body of the lake were examined. First, it was determined that the limits of viability of bloom-forming cyanobacterial colonies on the bottom sediments of the lake and thus their recruitment potential as a seed population to surface water. Hypotheses regarding factors, light penetration on the sediments, water temperature, anoxic condition and phosphorus loading in the bottom water and maintenance of gas

vesicles for cyanobacterial germination, were considered and tested. The recruitment zone was determined shallow areas that are less than about 16 m depth depending on light limits. However the upper depth limit was not exactly defined, although temperature factors in the shallow areas concerned combined with decomposition, should decrease the possibility of recruitment. That is, favorable light conditions would trigger seasonal growth of *Microcystis* blooms inshore and then the blooms could spread to the offshore regions in Lake Biwa.

Next, the capacity of *M. aeruginosa* for growth during transport inshore to offshore was estimated with experiments of the field 10 L bottle incubation and of the laboratory micro-plate incubation. Low-nutrient offshore water was used to test the growth of inshore *Microcystis* colonies from Nagahama on their stored intercellular nutrients. Both results showed that cell number increased in first 2 days of the incubation, and then decreased. It was suggested that once or twice division would be possible for *Microcystis* derived from inshore during advection toward the offshore. Therefore, offshore *Microcystis* colonies could not recruited from deep sediment but advected from enriched inshore. However, the growth rates of *Microcystis* in the low nutrient offshore water were not so rapidly to develop large blooms.

Finally, the "Gyre-*Microcystis* Hypothesis" was addressed which shows buoyant *Microcystis* colonies are generated inshore, are advected offshore and then accumulate near the center of the First Gyre by hydrodynamic processes in Lake Biwa. This hypothesis was evaluated by way of detailed current measurements by ADCP and by mapping the vertical and horizontal distribution of chlorophyll *a* and of the bloom-forming cyanobacteria. Diel variations of *Microcystis* biomass at the center and

the rim of the Lake Biwa gyre were monitored at 6 h intervals in August 23-24, 2000, and the horizontal distribution of buoyant *Microcystis* was determined on October 6. The hydrodynamic structure of the 'First Gyre' was determined over the preceding two days using an onboard Acoustic Doppler Current Profiler (ADCP). The gyre was characterized by a counter-clockwise horizontal current that could potentially advect material large distances offshore, a downwelling current near the center of the gyre, and an upwelling current at the rim of the gyre, caused by the radial pressure gradients. The biomass of *Microcystis* near the water surface was greater at the center relative to edge of the gyre, and the biomass at 5 m depth at the rim of the gyre was greater than at the water surface or at the thermocline near the edge of the gyre. The results are consistent with the gyre-*Microcystis* hypothesis, and show the potential for accumulation of large concentrations of cyanobacteria in deep offshore lake environments that are normally considered unsuitable for cyanobacterial blooms.

In conclusions, it was appeared that in the lake water ecosystem, the combinations of biological active movement and physical passive transport might lead serious unexpected cyanobacterial blooms especially in *Microcystis*, even if the cell density in the water were not so high. Since offshore cyanobacterial blooms seems derived from inshore in the present, treatments and deletion for inshore colonies could help to decrease of the cyanobacterial bloom in Lake Biwa.

## 謝 辞

本研究をまとめるにあたり、終始懇篤なるご指導ご鞭撻を賜りました京都大学農学研究科教授 中原紘之先生に心からお礼申し上げます。本研究の機会と便宜を与えてくださった滋賀県琵琶湖研究所総括研究員 熊谷道夫博士に深甚なる謝意を表し、常に協力を惜しまれなかった同研究所研究員 辻村茂男博士を始め琵琶湖研究所の諸氏に拝謝します。また、本研究の遂行ならびに論文校閲に多大なるご支援と賜りましたカナダラバル大学生物学教室教授 Warwick F. Vincent 先生をはじめ研究室の諸氏に深く感謝の意を表します。

本論文執筆にあたり有益なるご助言を賜りました京都大学農学部教授 坂本亘先生、内田有恆先生、海洋環境微生物学助教授 今井一郎先生、同研究室助手 鯨坂哲朗先生、愛媛大学農学部助教授 中野伸一先生に謹んで謝意を表します。

現場調査にあたりご協力いただきました滋賀県琵琶湖研究所調査船 はっけん号河内昭太郎船長はじめ乗組員の皆様、レイクリサーチ株式会社調査船 レークワン 大村仁船長、山田漁港協同組合 漁協組合員の皆様、キステム株式会社 森永圭一氏、福永義昭氏、滋賀県立大学 ハドバータ・ダリジャブ氏、京都大学農学研究科応用生物科学専攻海洋環境微生物学 平田晃久氏、塚田創氏、八谷光介氏に厚くお礼申し上げます。

栄養塩分析には京都大学理学部生態学研究センター 助教授 占部城太郎先生、由水千景博士にご協力いただきました。南湖湖心局気象観測データは、滋賀県衛生環境センターから提供していただきました。英文校閲には、立命館大学 Ross F. Walker 博士、ラバル大学 Connie Lovejoy 博士にご協力いただきました。ここに記して感謝の意を表します。

本研究には平成 11 年度科学技術振興事業団活用型特定研究開発推進事業(短期結集型)ACT-JST “プランクトン蛍光の画像解析自動処理システム”ならびに平成 6 年～14 年度 滋賀県琵琶湖研究所プロジェクト研究費の援助を受けた。

## 文 献

- 雨宮由美子・中山大樹 (1984): 藍藻 *Microcystis* より短離した粘質鞘物質の化学的性質と金属類に対する吸着特性. 陸水学雑誌 45: 187-193.
- Amemiya, Y., O. Nakayama (1989): Separation and sugar composition of gelatinous sheath carbohydrate produced by *Microcystis*. Jpn. J. Phycol. 37: 253-262.
- Ayer, J. C., D. C. Chandler, G. H. Lauff, C. F. Powers, E. B. Henson (1969): Currents and water masses of Lake Michigan. Great Lakes Res. Inst. Publ., 3: 161.
- Barbiero, R. P., E. B. Welch (1992): Contribution of benthic blue-green algal recruitment to lake populations and phosphorus translocation. Freshwat. Biol. 27, 249-260.
- Bense, K. (1976): Rates of growth, respiration and photosynthesis of unicellular algae as related to cell size- a review. J. Phycol. 12: 135-140.
- Càceres, O., C. S. Reynolds (1984): Some effects of artificially-enhanced anoxia on the growth of *Microcystis aeruginosa* Kütz. Emend. Elenkin, with special reference to the initiations of its annual growth cycle in lakes. Arch. Hydrobiol. 99: 379-397.
- Campbell, L., E. J. Carpenter (1986): Diel patterns of cell division in marine *Synechococcus* spp. (Cyanobacteria): use of the frequency of dividing cells technique to measure growth rate. Mar. Ecol. Prog. Ser. 32: 139-148.
- Chavez, F. P., R. T. Barber (1987): An estimate of new production in the equatorial Pacific, Deep Sea Res 34: 1229-1243.
- Chavez, F. P., R. T. Barber, A. Huyer, P. M. Kosro, R. Ramp, T. Stanton, B. Royas de Mendiola (1991): Horizontal transport and the distribution of nutrients in the coastal transition zone off northern California: Effects on primary production, phytoplankton biomass and species composition. J Geophys Res 96: 14, 833-848.

- Chisholm, S. W.(1981): Temporal patterns of cell division of unicellular algae. Can. Bull. Fish. Aquat. Sci. 210, pp150-181.
- Chisholm, S. W., D. Vulot, R. J. Olson (1984): Cell cycle controls in phytoplankton: Comparative physiology and ecology. In: Edmonds, L. N. (ed.): Cell cycle clocks. M. Pecker. pp365-394.
- Chisholm, S. W., E. V. Armbrust, R. J. Olson (1986): The individual cell in phytoplankton ecology: cell cycles and applications of flow cytometry. Bull. Fish. Aquat. Sci. 214, pp 343-369.
- Codd, G. A., I. Cherous, M. Burch (1999): Design of monitoring programmes. In: Chorus, I. and J. Bartram (eds.) Toxic Cyanobacteria in water. EandFN SPON, London. pp313-328.
- Deacon, C., A. E. Walsby (1990): Gas vesicle formation in the dark, and in light of different irradiances, by the cyanobacterium *Microcystis* sp. Br. Phycol. J. 25: 133-139.
- Droop, M. R. (1973): Some thoughts on nutrient limitation in algae. J. Phycol. 9: 264-272.
- Endoh, S. (1978): Diagnostic analysis of water circulations in Lake Biwa. J Oceanogr Soc Japan 34: 250-260.
- Endoh, S. (1986): Diagnostic study on the vertical circulation and the maintenance mechanisms of the cyclonic gyre in Lake Biwa. J. Geophys. Res. 91C1: 869-876.
- 遠藤修一 (1990): 最近の測流結果からみたびわ湖の流況. 地質学論集 36: 209-218.
- Endoh, S. (1995): Review of geostrophic gyres. In: Okuda, S., J. Inberger, M. Kumagai (eds.) Coastal and estuarine studies: Physical processes in a large lake: Lake Biwa, Japan. AGU. pp7-13.

- Endoh, S., Y. Okumura, I. Okamoto (1995): Field observation in the North Basin. In: Okuda, S., J. Inberger, M. Kumagai(eds.) Coastal and estuarine studies: Physical processes in a large lake: Lake Biwa, Japan. AGU. pp15-29.
- Faller, A. J. (1971): Oceanic turbulence and the Langmuir circulations. *Ann. Rev. Ecol. Systematics* 2: 201-236.
- Fallon, R. D., T. D. Brock (1981): Overwintering of *Microcystis* in Lake Mendota. *Freshwat. Biol.* 11: 217-226.
- Ferrão-Filho, A. S., S. M. F. O. Azevedo, W. R. DeMott (2000): Effects of toxic and non-toxic cyanobacteria on the life history of tropical and temperate cladocerans. *Freshwat. Biol.* 45: 1-19.
- Fogg, G. E. (1969): The physiology of an algal nuisance. *Proc. R. Soc. Lond. B* 173: 175-189.
- Frenette, J.-J., W. F. Warwick, L. Legendre, T. Nagata, K. Kawabata, M. Kumagai, (1996): Biological responses to typhoon-induced mixing in two morphologically distinct basins in Lake Biwa. *Jpn. J. Limnol.* 57: 501-510.
- Fukazawa, N., T. Ishimaru, M. Takahashi, Y. Fujita (1980): A Mechanism of 'Red Tide' formation. I . Growth rate estimate by DCMU-induced fluorescence increase. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 3: 217-222.
- Ganf, G. G., R. L. Oliver (1982): Vertical separation of light and available nutrients as a factor causing replacement of green algae by blue-green algae in the plankton of a stratified lake. *J. Ecol.* 70: 829-844.
- Gibson, C. E. (1985): Growth rate, maintenance energy and pigmentation of planktonic cyanophyta during one-hour light dark cycles. *Br. Phycol. J.* 20:155-161.
- George, D. G., R. W. Edwards (1973): *Daphnia* distribution with Langmuir circulations.

Limnol. Oceanogr. 18: 798-800.

George, D. G., R. W. Edwards (1976a): The effect of wind on the distribution of chlorophyll *a* and crustacean plankton in a shallow eutrophic reservoir. J. Appl. Ecol. 13: 667-690.

George, D. G., R. W. Edwards (1976b): A pumping system for collecting horizontal samples and recording continuously sampling depth, water temperature, turbidity and *in vivo* chlorophyll. Freshwat. Biol. 6: 413-419.

Gerloff, G. C., K. A. Fishbeck (1969): Quantitative cation requirement of several green and blue-green algae. J. Phycol. 5: 109-114.

Goldman, J. C., J. J. McCarthy, D. G. Peavey (1979): Growth rate influence on the chemical composition of phytoplankton in oceanic waters. Nature 279: 210-215.

Hagström, Å, U. Lasson, P. Hörstest, S. Normark (1979): Frequency of dividing cells, a new approach to the determination of bacterial growth rates in aquatic environments. App. Enviromen. Microbiol. 37: 805-812.

Haney, J. F. (1987): Field studies on zooplankton-cyanobacteria interactions. N. Z. Mar. Freshwat. Res. 21: 467-475.

Hansson, L.-A. (1996): Algal recruitment from lake sediments in relation to grazing, sinking, and dominance patterns in phytoplankton community. Limnol. Oceanogr. 41: 1312-1323.

Hansson, L.-A., L. G. Rudstam, T. B. Johnson, P. A. Soranno, Y. Allen (1994): Pattern in algal recruitment from sediments to water in a dimictic, eutrophic lake. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 51: 2825-2833.

Harris, G. P., J. N. A. Lott (1973): Observations of Langmuir circulations in Lake Ontario. Limnol. Oceanogr. 18: 584-589.



- Hayakawa, K., S. Tsujimura, G. E. Napolitano, S. Nakano, M. Kumagai, T. Nakajima, C. Jiao (2002): Fatty acid composition as an indicator of physiological condition of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Limnology* 3: 29-35.
- Head, R. M., R. I. Jones, A. E. Bailey-Watts (1999): An assessment of the influence of recruitment from the sediment on the development of planktonic populations of cyanobacteria in a temperate mesotrophic lake. *Freshwat. Biol.* 41: 759-769.
- Heaney, S. I (1976): Temporal and spatial distribution of the dinoflagellate *Caratium hirundinella* O. F. Müller within a small productive lake. *Freshwat. Biol.* 6: 531-42.
- Hitchcock, G. L., T. Rossby, J. L. Lillibridge III, E. J. Lessard, E. R. Levine, D. N. Connors, K. Y. Borsheim, M. Mork (1994): Signatures of stirring and mixing near the Gulf Stream front *J. Mar. Res.* 52: 797-836.
- Hitchcock, G. L., C. Langdon, T. J. Smayda (1998): Short-term changes in the biology of a Gulf Stream (Atlantic Ocean) warm-core ring: Phytoplankton biomass. *Limnol. Oceanogr.* 32: 919-928.
- Howard, A. (1993): SCUM-simulation of cyanobacterial underwater movement. *CABIOS* 9: 413-419.
- Howard, A. (1997): Computer simulation modeling of buoyancy change in *Microcystis*. *Hydrobiologia* 349: 111-117.
- Huber, A. (1985): Factors affecting the germination of akinetes of *Nodularia spumigena* (Cyanobacteriaceae). *Appl. Environ. Microbiol.* 49: 73-78.
- Hutchinson, P. A., I. T. Webster (1994): On the distribution of blue-green algae in lakes: Wind-tunnel tank experiments. *Limnol. Oceanogr.*, 39: 374-382.
- Iberings, B. W., L. R. Mur, A. E. Walsby (1991a): Diurnal changes in buoyancy and

- vertical distribution in populations of *Microcystis* in two shallow lakes. J. Plankton. Res. 13: 419-436.
- Ibelings, B. W., L. R. Mur, R. K. Kisman, A. E. Walsby (1991b): *Microcystis* changes its buoyancy in response to the average irradiance in the surface mixed layer. Arch. Hydrobiol., 120: 385-401.
- Iberings, B. W., L. R. Mur (1992): Microprofiles of photosynthesis and oxygen concentration in *Microcystis* sp. scums. FEMS microbiology Ecology 86: 195-203.
- 一瀬諭, 森田尚, 市木繁和, 若林徹哉, 三田村徳子, 園正, 内藤幹滋, 前川昭, 安福義雄, 中村敏博, 水嶋清嗣, 田中靖志, 野村潔 (1987): 琵琶湖における「水の華」モニタリング調査 I. 滋賀県衛環セ所報 22: 103-118.
- Ishikawa, K., M. Kumagai, S. Nakano, H. Nakahara (1999): The influence of wind on the horizontal distribution of bloom-forming cyanobacteria in Akanoi Bay, Lake Biwa. Jpn. J. Limnol. 60: 531-538.
- Istánovics, V., K. Pettersson, A. Rodrigo, D. Pierson, J. Padisák, W. Colom (1993): *Gloeotrichia echinulata*, a colonial cyanobacterium with a unique phosphorus uptake and life strategy. J. Plankton. Res. 15: 531-552.
- Iwakuma, T., M. Yasuno (1983): A comparison of several mathematical equations describing photosynthesis-light curve for natural phytoplankton populations. Arch. Hydrobiol. 97: 208-226.
- Jacoby, M. L., D. D. Lynch, E. B. Welch, M. A. Perkins (1982): Internal phosphorus loading a shallow eutrophic lake. Water Res. 16: 911-919.
- Jimenez, J. (1997): Oceanic turbulence at millimeter scales. Scientia Marina 61: 47-56.
- Jou, D. (1997): Intermittent turbulence: a short introduction. Scientia Marina 61: 57-62.

- Kagami, M., J. Urabe (2001): Phytoplankton growth rate as a function of cell size: an experimental test in Lake Biwa. *Limnology* 2: 111-117.
- 海洋気象台 (1926): びわ湖調査報告 I. 海洋気象台彙報 8: 104.
- Kappers, F. I. (1984): On population dynamics of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. Amsterdam.
- 彼谷邦光 (2001): 飲料水に忍びよる有毒シアノバクテリア. 裳華房. 東京.
- Kiefer, D. A. (1973): Chlorophyll-*a* fluorescence in marine centric diatoms: responses of chloroplasts to light and nutrient stress. *Mar. Biol.* 23: 39-46.
- Kim, H. S., W. M. Chu (2000): Diurnal changes of vertical distribution of *Microcystis aeruginosa* during the water bloom in Kongsan Reservoir. *Korean J. Limnol.* 33: 119-127.
- Klemer, A. R., J. Feuillede, M. Feuillede (1982): Cyanobacterial blooms: Carbon and nitrogen limitation have opposite effects on the buoyancy of *Oscillatoria*. *Science* 215: 1629-1631.
- Kromkamp, J. C., L. R. Mur (1984): Buoyant density changes in the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* due to changes in the cellular carbohydrate content. *FEMS Micro. Biol. Lett.* 25: 105-109.
- Kromkamp, J. (1987): Formation and functional significance of storage products in cyanobacteria. *N. Z. J. Mar. Freshwat. Res.* 21: 457-465.
- Kromkamp, H., A. V. D. Heuvel, L. R. Mur (1989): Formation of gas vesicles in phosphorus-limited cultures of *Microcystis aeruginosa*. *J. Gen. Microbiol.* 135: 1933-1939.
- 熊谷道夫, 高橋幹夫, 石川可奈子, 中原紘之, 中野伸一, 焦春萌, 東善広, 中島拓男 (1997): 気象変動に対する南湖水質形成特性に関する研究—赤野井湾におけるアオコ—滋賀県琵琶湖研究所所報 14: 20-23.

- Kumagai, M., Y. Asada, S. Nakano (1998): Gyres measured by ADCP in Lake Biwa. In: Imberger J (ed.) Coastal and estuarine studies: Physical processes in lakes and Oceans. AGU, Washinton DC. pp 199-208.
- 熊谷道夫, 辻村茂男, 焦春萌, ランディ・D・ショー, 朴虎東, 渡辺真利代, 石川可奈子 (1999): 琵琶湖におけるシアノバクテリア・リスク評価の試み. 滋賀県琵琶湖研究所所報 17: 6-11.
- Kumagai, M., S. Nakano, C. Jiao, K. Hayakawa, S. Tsujimura, T. Nakajima, J-J. Frenette and A. Quesada (2000): Effect of cyanobacterial blooms on thermal stratification. *Limnology* 1: 191-195.
- 熊谷道夫, 石川可奈子, 焦春萌 (2001): 琵琶湖における環流と生態系 琵琶湖百科編集委員会編 知っていますかこの湖を 琵琶湖を語る 50章. サンライズ出版, 東京. pp43-48.
- Kuwata, A., H. Kanazawa, M. Takahashi (1996): Method for estimating the in situ growth rate for a large pelagic diatom of Rhizosoleniaceae. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 131:219-224.
- Langmuir, I. (1938): Surface motion of water induced by wind. *Science* 87: 119-123
- Lorenzen, C. J. (1966): A method for the continuous measurement of *in vivo* chlorophyll concentration. *Deep Sea Res.* 13: 223-227.
- Lorenzen, C. J. (1967): A note on the estimation of chlorophyll *a* in freshwater algal communities. *Limnol. Oceanogr.* 12: 340-346.
- Lovejoy, S., W. J. S. Currie, Y. Tessier, M. R. Claereboudt, E. Bourget, J. C. Roff, D. Schrtzer (2001): Universal multifractals and ocean patchiness: phytoplankton, physical fields and coastal heterogeneity. *J. Plankton Res.*, 23: 117-141.
- Malone T. C. (1980): Algal size. In: Morris I (ed.) *The physiological ecology of phytoplankton*. Blackwell, Scientific, Oxford. pp433-463.

- Matveev, V., L. Matveeva (1997): Grazer control and nutrient limitation of phytoplankton biomass in two Australian reservoirs. *Freshwat. Biol.* 38: 49-65.
- McDuff, R., S. W. Chisholm (1982): The calculation of in situ growth rate of phytoplankton populations from fractions of cells undergoing mitosis: A clarification. *Limnol. Oceanogr.* 27: 783-788.
- 水上善博 (1998): アオコ中の毒性物質ミクロシスチンの検出. 滋賀大学教育学部紀要 自然科学 48: 63-65.
- Monod, J. (1949): The growth of bacterial cultures. *Ann. Rev. Microbiol.* 3: 371-394.
- Mur, L. R., H. Schreurs (1995): Light as a selective factor in the distribution of phytoplankton species. *Water Sci. Technol.* 32: 25-34.
- Murphy, J., J. P. Riley (1962): A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chem. Acta* 27: 31-36.
- Murphy, T. P., A. Lawson, M. Kumagai, M. Sakai (1998): Pilot-scale treatment of Akanoi Bay enclosures, Lake Biwa, Japan. 平成 9 年度 滋賀県琵琶湖研究所委託研究報告書.
- Murphy, T., A. Lawson, M. Kumagai, C. Nalewajko (2001): Phosphorus release from sediments in Lake Biwa. *Limnology* 2: 119-128.
- Nalewajko, C., T. P. Murphy (2001): Effects of temperature, and availability of nitrogen and phosphorus on the abundance of *Anabaena* and *Microcystis* in Lake Biwa, Japan: an experimental approach. *Limnology* 2: 45-48.
- 中原紘之 (1993): 藍藻類 吉田陽一(編) 水産学シリーズ 95 水域の窒素: リン比と水産生物 恒星社厚生閣, 東京. pp39-50.
- 中原紘之 (1999): 現場水を用いた藻類増殖速度評価法の検討. 平成 10 年度 琵琶湖研究所

委託研究報告書.

中原紘之 (2000): 北湖におけるミクロキスティスの形態分析. 平成 11 年度 滋賀県琵琶湖  
研究所委託研究報告書.

中原紘之 (2001): 北湖におけるミクロキスティスの形態分析 平成 12 年度 滋賀県琵琶  
湖研究所委託研究報告書.

Nakanishi, M., T. Miyajima, S. Nakano, Y. Tezuka (1992): Studies on the occurrence of  
*Anabaena* and *Microcystis* blooms in Akanoi Bay of the south basin of Lake  
Biwa, with special attention to nutrient levels. Ann. Tept. Interdiscipl. Res.  
Inst. Environ. Sci., 11: 67-75.

Nakano, S., K. Hayakawa, J-J. Frenette, T. Nakajima, C. Jiao, S. Tsujimura, M.  
Kumagai (2001): Cyanobacterial blooms in a shallow lake: large scale  
enclosure assay to test the importance of diurnal stratification. Arch.  
Hydrobiol. 150: 491-509.

日本水道協会 (1993): 日本の水道生物—写真と解説—. 東京.

Nishino, M., M. Fukui, T. Nakajima (1998): Dense mats of *Thioploca*, gliding  
filamentous sulfur-oxidizing bacteria in Lake Biwa, central Japan. Water  
Res. 32: 953-957.

Oh, H-M., S. J. Lee, M-H. Jang, B-D. Yoon (2000): Microcystin production by  
*Microcystis aeruginosa* in a phosphorus-limited chemostat. Appl. Environ.  
Microbiol. 66: 176-179.

岡田光正, 須藤隆一, 合葉修一 (1981): 水の華の生成と消滅シミュレーション. 国立公害研  
究所研究報告 第 25 号 (R-25-'81); 83-123.

Okada, M., R. Sudo, S. Aiba (1982): Phosphorus uptake and growth of blue-green alga,  
*Microcystis aeruginosa*. Biotechnol. Bioeng. 24: 143-152.

岡本巖, 森川光郎 (1961): 密度分布より見たびわ湖の湖流について. 陸水学雑誌

22:193-200.

- Okamoto, I., S. Endoh (1981): Accumulation mechanism of "red tide" plankton in Lake Biwa, Japan. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 21: 569-575.
- Okino, T. (1973): Studies on the blooming of *Microcystis aeruginosa*. *Japanese J. Botany*, 20: 381-402.
- Oliver, R. L. (1994): Floating and sinking in gas-vacuolate cyanobacteria. *J. Phycol.*, 30: 161-173.
- Oliver, R. L., G. G. Ganf (2000): Freshwater blooms. In: Whitton B. A., M. Potts (eds) *Ecology of cyanobacteria - their diversity in time and space*. Kluwer academic publishers, Dordrecht. pp 149-194.
- Olsen, N. R., R. D. Hedger, D. G. George (2000): 3D Numerical modeling of *Microcystis* distribution in a water reservoir. *J. Environ. Eng.* 126: 949-953.
- Orr, P. T., G. J. Jones (1998): Relationship between microcystin production and cell division rates in nitrogen-limited *Microcystis aeruginosa* cultures. *Limnol. Oceanogr.* 43: 1604-1614.
- 朴虎東, 林秀剛 (1994): *Microcystis* 属とミクロシスチン. 渡辺真利代, 原田健一, 藤木博太 (編) *アオコ—その出現と毒素—*. 東京大学出版会, 東京. pp1-24.
- Park H.-D., C. Iwami, M. F. Watanabe, K. Harada, T. Okino, H. Hayashi (1998): Temporal variabilities of the concentrations of intra- and extracellular Microcystin and toxic *Microcystis* species in a hypertrophic lake, Lake Suwa, Japan (1991-1994). *Environ. Toxicol. Water Qual.* 13: 61-72.
- Paerl, H. W (1988): Growth and reproductive strategies of freshwater blue-green algae (Cyanobacteria). In: Sandgren, C. D. (ed.) *Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton*. Cambridge University Press, New York. pp261-315.

- Pettersson, K. (1998): Mechanisms for internal loading of phosphorus in lakes. *Hydrobiologia* 373/374: 21-25.
- Pettersson, K., L. Forsell, A. T. Hasselrot (1995): Horizontal distribution patterns during a cyanobacterial bloom. *Water Sci. Technol.* 32: 139-142.
- Powell, T. M., P. J. Richerson, T. M. Dillon, B. A. Agee, B. J. Dozier, D. A. Godden, L. O. Myrup (1975): Spatial scales of current speed and phytoplankton biomass fluctuations in Lake Tahoe. *Science* 189: 1088-1090.
- Prepas, E. E., J. Vickery (1984): Seasonal changes in total phosphorus and the role of internal loading in Western Canadian lakes. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 22: 303-308.
- Preston, T., W. D. P. Stewart, C. S. Reynolds (1980): Bloom-forming cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* overwinters on sediment surface. *Nature* 288: 365-36.
- Recknagel, F. (1997): ANNA- Artificial Neural Network model for predicting species abundance and succession of blue-green algae. *Hydrobiologia* 349: 47-57.
- Reynolds, C. S. (1972): Growth, gas vacuolation and buoyancy in a natural population of a planktonic blue-green alga. *Freshwat. Biol.* 2: 87-106.
- Reynolds, C. S. (1973): Growth and buoyancy of *Microcystis aeruginosa* Kütz. Emand. Elenkin in a shallow eutrophic lake. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 184: 29-50.
- Reynolds, C. S. (1984): *The Ecology of Freshwater phytoplankton*. Cambridge, London.
- Reynolds, C. S. (1987): Cyanobacterial water blooms. In: Callow, J. A. (ed.) *Advances in Botanical Research*. Academic Press, London. pp 68-143.
- Reynolds, C. S. (1988): Functional morphology and the adaptive strategies of freshwater phytoplankton In: Sadgren C. D. (ed). *Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton*. Cambridge University Press,



Cambridge pp 388-433.

- Reynolds, C. S. (1989a): Physical determinants of phytoplankton succession. In: Sommer U. (ed.) Plankton ecology: Succession in plankton communities. Springer-Verlag, Berlin. pp 9-56.
- Reynolds, C. S. (1989b): Relationships among the biological properties, distribution and regulation of production by planktonic cyanobacteria. Toxicity Assess. 4: 229-255.
- Reynolds, C. S. (1994): The long, the short and the stalled: on the attributes of phytoplankton selected by physical mixing in lakes and rivers. Hydrobiologia, 289: 9-21.
- Reynolds, C. S., D. A. Rogers (1974): Seasonal variations in the vertical distribution and buoyance of *Microcystis aeruginosa* Kütz. Emend. Elenkin in Rosterne Mere, England. Hydrobiologia 48: 17-23.
- Reynolds, C. S., A. E. Walsby (1975): Water-blooms. Biol. Rev. 50: 437-481.
- Reynolds, C. S., G. H. M. Jaworski, H. A. Cmiech, G. F. Leedale (1981): On the annual cycle of the blue-green alga *Microcystis aeruginosa* Kütz. Emend. Elenkin. Phil. Trans. R. Soc. Lond. B 293: 419-477.
- Reynolds, C. S., R. L. Oliver, A. E. Walsby (1987): Cyanobacterial dominance: role of buoyancy regulation in dynamic lake environments. N. Z. J. Mar. Freshwat. Res. 21: 379-390.
- Reynolds, C. S., A. E. Irish (1997): Modelling phytoplankton dynamics in lakes and reservoirs: the problem of in-situ growth rates. Hydrobiologia 349: 5-17.
- Rhee, G-Y. (1973): A continuous culture study of phosphate uptake, growth rate and polyphosphate in *Scenedesmus* sp. and its ecological implications. J. Phycol. 10: 470-475.

Robarts, R. D., M. J. Waiser, O. Hadas, T. Zohary, S. MacIntyre (1998): Relaxation of phosphorus limitation due to typhoon-induced mixing in two morphologically distinct basins of Lake Biwa, Japan. *Limnol. Oceanogr.* 43: 1023-1036.

Sagi, T (1966): Determination of ammonia in sea water by the indophenol method and its application to the coastal and off-shore waters. *Oceanogr. Mag.* 18: 43-51.

Sakamoto, M., H. Hayashi, A. Otsuki, K. Aoyama, Y. Watanabe, T. Hanazato, T. Iwakuma, M. Yasuno (1989): Role of bottom sediments in sustaining plankton production in a lake ecosystem —experimental demonstration using enclosed water bodies in a shallow eutrophic lake. *Ecol. Res.* 4: 1-16.

Sbiyyaa, B., M. Loudiki, B. Oudra (1998): Nitrogen and phosphorus intracellular capacity in storage by *Microcystis aeruginosa* Kütz and *Synechocystis* sp.: Toxic cyanobacteria occasionally forming blooms in Marrakesch area (Morocco). *Annales de Limnologie* 34: 247-257.

Semovski, S. V., G. I. Popovskaya, J. Backhaus, H. Wehde, C. Schrum (2001): Intensive late summer coastal bloom in North Baikal hydrodynamic control of Cynobacteria growth in low-nutrinets conditions. 9th International Conference on the conservation and Management of Lakes 4: 25-27.

Shapiro, J. (1973): Blue-green algae: why they become dominant. *Science*, 179: 382-384.

滋賀県(1999): 滋賀県環境白書 平成 10 年度版. 大津.

滋賀県 (2000): 滋賀県環境白書 平成 11 年度版 大津.

滋賀県 (2001): 滋賀県環境白書 平成 12 年度版. 大津.

滋賀県琵琶湖研究所 (2000): 研究成果報告書 アオコ発生機構に関連した隔離水塊実験  
滋賀県琵琶湖研究所. 大津.

新州 (2000): 底質改善実験結果監視. 平成 11 年度 滋賀県琵琶湖研究所委託研究報告書.

Simon, R. D. (1987): Inclusionbodies in the cyanobacteria: cyanophycin, polyphosphate, polyhedral bodies. In: Fay, P., C. van Baalen (Eds.) The cyanobacteria. Elsevier, Amsterdam. pp 199-225.

Sirenko, L. A., V. M. Chernousova, V. V. Arendarchuk, V. N. Kozitskaya (1969): Factor of mass development of blue-green algae. Hydrobiol. J. 5: 1-8.

Small, L. F. (1963): Effect of wind on the distribution of chlorophyll *a* in Clear Lake, Iowa. Limnol. Oceanogr., 8: 426-432.

Smayda, T. J. (1970): The suspension and sinking of phytoplankton in the sea. Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev. 8: 353-414

Smith, V. H. (1983): Low nitrogen to phosphorus ratios favor dominance by blue-green algae in lake phytoplankton. Science 221:669-670.

Steele, J. H. (ed.)(1977): Spatial pattern in plankton communities. Nato conference series. Series IV: Marine Sciences. Plenum Press, New York.

Stommel, H. (1949): Trajectories of small bodies sinking slowly through convection cells. J. Mar. Res. 8: 24-29.

高村典子 (1988): ラン藻による水の華, 特に *Microcystis* 属の生態学的研究の現状. 藻類 36: 65-79.

Takamura, N., M. Yasuno (1984): Diurnal changes in the vertical distribution of phytoplankton in hypertrophic Lake Kasumigaura, Japan. Hydrobiologia 112: 53-60.

Takamura, N., M. Yasuno, K. Sugahara (1984): Overwintering of *Microcystis aeruginosa* Kütz in a shallow lake. J. Plankton Res. 6: 1019-1029.

Takamura, N., M. Yasuno (1988): Sedimentation of phytoplankton populations

dominated by *Microcystis* in a shallow lake. J. Plankton Res. 10: 283-299.

谷口悟 (1995): 琵琶湖の光学的特性と可視域リモートセンシングのための水中アルゴリズムに関する研究. 近畿大学修士論文.

Tezuka, Y. (1985): Rainfall as a factor regulating the appearance of *Anabaena* bloom in the south basin of Lake Biwa. Jpn. J. Limnol., 46: 8-14.

Tezuka, Y. (1988): Phosphorus as a possible factor stimulating the appearance of *Anabaena* bloom in the south basin of Lake Biwa. Jpn. J. Limnol., 49: 201-204.

Tezuka, Y. (1992): Recent trend in the eutrophication of the North Basin of Lake Biwa. Jpn. J. Limnol. 53, 139-144.

Thomas, R. H., A. E. Walsby (1985): Buoyancy regulation in a strain of *Microcystis*. J. Gen. Microbiol. 131: 799-809.

Trimbee, A. M., G. P. Harris (1983): Use of time-series analysis to demonstrating advection rates of different variables in a small lake. J. Plankton. Res. 5: 819-833.

Trimbee, R. H., G. P. Harris (1984): Phytoplankton population dynamics of a small reservoir: use of sedimentation traps to quantify the loss of diatoms and recruitment of summer bloom-forming blue-green algae. J. Plankton Res. 6, 897-918.

Trimbee, R. H., E. E. Prepas (1988): The effect of oxygen depletion on the timing and magnitude to blue-green algal blooms. Verh. Internat. Verein. Limnol. 23: 220-226.

Tsuda, R. (1980): Measurements of underwater spectral irradiance in Lake Biwa. Jap. J. Limnol., 41: 57-67.

Tsuda, R., M. Nakanishi (1994): Spectral irradiance and optical properties. Physical

- processes in a large Lake: Lake Biwa, Japan. In: Okuda, S., J. Imbergier, M. Kumagai (eds.) Coastal and Estuarine Studies 48, AGU. pp65-76.
- Tsujimura, S., H. Tsukada, H. Nakahara, T. Nakajima, M. Nishino (2000): Seasonal variations of *Microcystis* populations in sediment of Lake Biwa, Japan. *Hydrobiologia* 434: 183-192.
- Tsujimura, S., K. Ishikawa, H. Tsukada (2001): Effect of temperature on growth of the cyanobacterium *Aphanizomenon flos-aquae* in Lake Biwa and Lake Yogo. *Phycol. Res.* 49: 275-280.
- 占部城太郎 (2001): アオコに及ぼす動物プランクトンの影響. 平成 12 年度 琵琶湖研究所 委託研究報告書.
- van der Westhuizen, A. J., J.N. Eloff (1983): Effect of culture age and pH of culture medium on the Growth and toxicity of the blue-green alga *Microcystis aeruginosa*. *Z. Pflanzenphysiol. Bd.* 110: 157-163.
- Verhagen, J. H. G. (1994): Modeling phytoplankton patchiness under the influence of wind-driven currents in lakes. *Limnol. Oceanogr.* 39: 1551-1565
- Vincent, W. F. (1980): Mechanisms of rapid photosynthetic adaptation in natural phytoplankton communities. II. Changes in photochemical capacity as measured by DCMU-induced chlorophyll fluorescence. *J. Phycol.* 16: 568-577.
- Vincent, W. F. (ed.)(1988): Dominance of bloom-forming cyanobacteria (blue-green algae). *N. Z. J. Mar. Freshwat. Res.* 21.
- Vincent, W. F., M. M. Gibbs, S. J. Dryden (1984): Accelerate eutrophication in a New Zealand lake: Lake Rotoiti, central North Island. *N. Z. J. Mar. Freshwat. Res.*, 18: 431-440.
- Visser P. M., J. Passarge, L. R. Mur (1997): Modelling vertical migration of the cyanobacterium *Microcystis*. *Hydrobiologia* 349: 99-109.

- Walker, R. F., M. Kumagai (2000): Image analysis as a tool for quantitative phycology: a computational approach to cyanobacterial taxa identification. *Limnology* 1: 107-115.
- Wallace, B. B., D. P. Hamilton (1999): The effect of variations in irradiance on buoyancy regulation in *Microcystis aeruginosa*. *Limnol. Oceanogr.* 44: 273-281.
- Walsby, A. E., M. J. Booker (1980): Changes in buoyancy of a planktonic blue-green alga in response to light intensity. *Br. Phycol. J.* 15: 311-319.
- Walsby, A. E., C. S. Reynolds (1980): Sinking and floating. In Morris, I. (ed.) *The physiological ecology of phytoplankton*. Blackwell Scientific, Oxford, pp. 371-412.
- Walsby, A. E., G. K. McAllister (1987): Buoyancy regulation by *Microcystis* in Lake Okaro. *N. Z. J. Mar. Freshwat. Res.* 21: 521-524
- 渡辺真利代(1999): 琵琶湖北湖における有毒藍藻の動態. 平成 10 年度 滋賀県琵琶湖研究所委託研究報告書 滋賀県琵琶湖研究所.
- Watanabe, M. M., T. Ichimura (1977): Fresh- and salt- water forms of *Spirulina platensis* in axenic cultures. *Bull. Jap. Soc. Phycol.* 25 Suppl. (Mem. Iss. Yamada): 371-377.
- 渡辺泰徳(1994):アオコの生物学と生態学. アオコ—その出現と毒素—, 渡辺真利代, 原田健一, 藤木博太 (編):1-24. 東京大学出版会, 東京.
- Waterbury, J. B., S. W. Watson, F. W. Valois, D. G. Franks (1986): Biological and ecological characterization of the marine unicellular cyanobacterium *Synechococcus*. In: Platt, T., W. K. W. Li (eds.) *Photosynthetic picoplankton* *Can. Bull. Fish. Aquat. Sci.* 214: 71-120.
- Webster, I. T. (1990): Effect of wind on the distribution of phytoplankton cells in lakes. *Limnol. Oceanogr.* 35: 989-1001.

- Wetzel, R. G. (2001): The phosphorus cycle. In: R. G. Wetzel (Ed.), *Limnology Lake and River Ecosystems* Third edition. Academic press, San Diego. pp. 239-287.
- Wiebe, P. H., E. M. Hulburt, E. J. Carpenter, A. E. Jahn, G. P. Knapp III, S. H. Boyd, P. B. Ortner, J. L. Cox (1976): Gulf stream cold core rings: large scale interaction sites for open ocean planktonic communities. *Deep Sea Res* 23: 695-710
- Wu, J. (1969): Wind stress and surface roughness at air-sea interface. *J. Geophys. Res.* 74: 444-455.
- Yabunaka, K., M. Hosomi, A. Murakami (1997): Novel application of a back-propagation artificial neural network model formulated to predict algal bloom. *Wat. Sci. Tech.* 36: 89-97.
- 山口峰生, 本城凡夫 (1990): 有害赤潮鞭毛藻 *Gymnodinium nagasakiense* (Dinophyceae) の同調的細胞分裂と分裂頻度による増殖速度の測定. *日本プランクトン学会報* 37: 3-18
- 山敷庸亮, 熊谷道夫, 松井三郎, 渡辺良則 (1997): 気象変動に対する南湖水質形成特性に関する研究 II. *滋賀県琵琶湖研究所所報* 15: 20-23.
- 山下尚之, 松井三郎, 清水芳久, 松田知成 (2001): 琵琶湖疎水におけるラン藻類とその含有毒素イクロシチンの挙動. *土木学会論文集* 685: 69-77.
- 吉田陽一, 中原紘之, 桑江朝比呂 (1997): 琵琶湖北湖諸港におけるアオコの異常発生機構 *日本水産学会誌* 62: 230-235.
- 吉田陽一, 中原紘之, 藤田裕子 (2000): 高 DIN:DIP 比または低 DIN:DIP 比水域における *Microcystis* 属の高密度出現. *日本水産学会誌* 66: 977-983.
- 吉田陽一・堀家健司 (2001): 日本における湖沼の富栄養度と水産生物 *日本水産学会誌* 67: 422-428.