

佐賀市内の淡水三地点における微細藻類相と 水質環境の年間調査 —大量培養可能な微細藻類の探索—

出村 幹英^{1*}・本庄 あすか²・大井 裕介²・野間 誠司^{1,3}・林 信行^{1,3}

¹ 佐賀大学教育研究院自然科学域農学系（〒 840-8502 佐賀県佐賀市本庄町 1）

² 佐賀大学農学部（〒 840-8502 佐賀県佐賀市本庄町 1）

³ 鹿児島大学大学院連合農学研究科（〒 890-0065 鹿児島県鹿児島市郡元 1-21-24）

Mikihide Demura^{1*}, Asuka Honjo², Yusuke Ohi², Seiji Noma^{1,3} and Nobuyuki Hayashi^{1,3}: Annual survey of microalgal diversity and water quality factors in 3 freshwater areas of Saga City, Saga Prefecture, Japan – The search for microalgae candidates of mass culture –. Jpn. J. Phycol. (Sôru) 71: 1–12, March 10, 2023

As a part of basic research promoted by Saga City and Saga University on the utilization of microalgal biomass, we investigated the microalgal fauna in freshwater areas on the Saga Plain and analyzed the correlations between the numbers of microalgal cells and the environmental conditions. Three sites were selected as targets: Kannonji-tsutsumi, a pond subject to little human impact; Hirao-yon-chome-ike, a pond subject to high levels of human and waterfowl impact; and Kose Park Creek, a large-scale irrigation channel or creek. Surveys were conducted periodically over 1 year. Water parameters at the three sites differed, with the dominant taxa being green algae at Kannonji-tsutsumi, cyanobacteria at Hirao-yon-chome-ike, and diatoms at Kose Park Creek. We focused on the green alga *Desmodesmus*, which was commonly found at the three sites because of its high biomass productivity. We also analyzed its controlling environmental factors. Primary aquatic environmental conditions that were found to be correlated with *Desmodesmus* growth included Mg²⁺ levels (positively correlated) and water temperature (negatively correlated). These parameters are likely to be useful as references for setting the medium composition and incubation temperature for mass culture of *Desmodesmus*.

Key Index Words: Aquatic environmental conditions, correlation analysis, *Desmodesmus*, microalgae flora, Saga City

¹ Faculty of Agriculture, College of Natural Sciences, Institute of Education and Research, Saga University, 1 Honjo-machi, Saga, Saga 840-8502, Japan

² Faculty of Agriculture, Saga University, 1 Honjo-machi, Saga, Saga 840-8502, Japan

³ The United Graduate School of Agricultural Sciences Kagoshima University, 1-21-24, Korimoto, Kagoshima, Kagoshima 890-0065, Japan

* Author for correspondence: st8148@cc.saga-u.ac.jp

緒言

微細藻類を生物資源として利用するための基礎研究は、燃料、食品、医薬品、工業材料など多岐にわたって進んでいる (Al-Jabri *et al.* 2021, Chandrasekhar *et al.* 2022, Ubando *et al.* 2022)。微細藻類を利用した産業は、二酸化炭素固定や地球温暖化などの地球規模の課題の解決と親和性があるため (Ubando *et al.* 2022)、数多くの国々、企業から注目を集めている。大量培養、濃縮技術、有効成分の抽出技術など、微細藻類を産業利用するための研究は世界的に急速に増加している。しかし、大量培養に成功している種類は、淡水性、海水性合わせても 10 種程度であり (Brennan & Owende 2010)、微細藻類の“資源開拓”は非常に遅れているといってもよい。

微細藻類における資源開拓の手段とは、自然環境に存在する微細藻類の多様性を把握し、培養株を確立し、増殖特性を

把握し、産生する物質を分析するという地道な研究である。日本の自然環境における微細藻類の多様性調査は、これまでほぼ生態学的視点で行われてきた。例えば淡水域では琵琶湖や霞ヶ浦など主要な湖沼における微細藻類の多様性調査は、何十年にもわたる研究歴があり、データが蓄積している (一瀬ら 1996, 2001, 長濱ら 2019, 2020 など)。しかし、その他ほとんどの湖沼においては、調査自体が非常に限られているのが現状で、微細藻類の大量培養を念頭に行われた研究ではない。

佐賀市は、2014 年 (平成 26 年) に「バイオマス産業都市構想」を策定し、清掃工場に設置された日本初の二酸化炭素分離回収装置で回収された二酸化炭素を野菜栽培企業、微細藻類培養企業へ提供するなど、排ガス中の二酸化炭素をバイオマスへ循環させる社会を目指している (佐賀市 2020)。佐

賀大学は、佐賀市と協力し、微細藻類バイオマス生産技術の開発や、生産された藻類バイオマスの利活用研究を推進している。その中で、佐賀市内に生息する淡水微細藻類を新しい生物資源とすべく、微細藻類相の調査と、新規有用微細藻類の探索も行ってきた。

本研究は佐賀市内の3つの淡水域において、1年以上の調査を行い、微細藻類相を明らかにすること、また環境条件と出現種との間の相関解析を行うことで、微細藻類の存在量の増減に関連する環境条件を明らかにすることを目的とする。得られた結果は、将来的に佐賀市産の微細藻類を大量培養する際、培養条件決定に貢献するデータとなると期待される。また、この研究は、佐賀地域のみならず、世界的にも数少ない大量培養に適した微細藻類種の探索(=資源開拓)につながる研究であり、地域に潜在的に存在する微細藻類を生物資源として利用するモデルケースとなることも期待できる。

材料と方法

調査地点の選定

本研究では、2017年から2019年にかけて行った予備的調査で、調査時の安全性、管理者の調査許可などを考慮し、山地の裾野に位置する湖沼から観音寺堤(佐賀市金立町金立)、平野内の人為的排水が混入する湖沼として平尾四丁目池(佐賀市高木瀬町長瀬)、クリーク(大規模用水路)の中から巨勢公園(佐賀市巨勢町高尾)内にあるクリークを選定した。3地点はほぼ南北に約5 kmにわたって並んでいる(Figs 1, 2)。なお、3水域は水路などで繋がっていない。

観音寺堤(Fig. 2上)は、周囲約1 km、水深は数 mの池で、周辺の耕作地よりも標高差5 m程度高い位置にある。岸は護岸整備が一部になされているが、ほとんどが自然の状態である。湖表の一部ではヒシが生息している。山地から河川の流入経路については確認できなかった。

平尾四丁目池(Fig. 2中)は、周囲約500 m、水深は1 m程度、中央部に浮島がある池で、北側に広がる耕作地の間を流れてきた小川の流入がある。岸は野鳥観察などのために整備され、コガモやアオサギなどの水鳥も多く飛来している。毎回の調査時にも多くの水鳥を浮島や水面に見ることができた。

巨勢公園クリーク(Fig. 2下)は、幅10 m程度で公園の周囲を囲むようにあり、調査時の水深は1 m程度である。目視では流れを確認できない。このクリークは巨瀬川から網の目のように別れた一部である。筑後川支流の早津江川からは約2 km、有明海河口からは約3 km離れている。予備的調査において塩分計で測定した限りでは、満潮時の海水の影響はほとんどないと考えられる。

調査解析方法

1) 現地での作業

平尾四丁目池の調査は、2020年5月から2021年12月までの間の13回、観音寺堤と巨勢公園クリークについては、2020年12月から2021年12月までの7回行った。調査時間は午後1時から3時ぐらいの間であった。現場では、各水域の岸から約1 Lの表層水をバケツに採取し、フィールド型マルチデジタル水質計(LAQUA WQ-30, 堀場製作所)にて表層水温(°C, 以下「水温」と表記)、pH、電気伝導度(EC, Electrical Conductivity, $\mu\text{S}/\text{cm}$)、溶存酸素量(DO, Dissolved Oxygen, mg/L)を、クロロフィルセンサー(KRK CHL-30N, 笠原理化工業)にてクロロフィル存在量(Chl, $\mu\text{g}/\text{L}$)を測定した。なお、本研究で使用したクロロフィルセンサーでは、検出されるクロロフィルの種類は特定できないため、本研究におけるChl値は、微細藻類量存在量の指標として扱った。また、10 Lバケツに採取した水をプランクトンネット(Cat. NO. 5513, ナイロン品番P25目合い25 μm , 離合社)に通し、100 mLに濃縮した(平尾四丁目池の2020年10月, 2021年

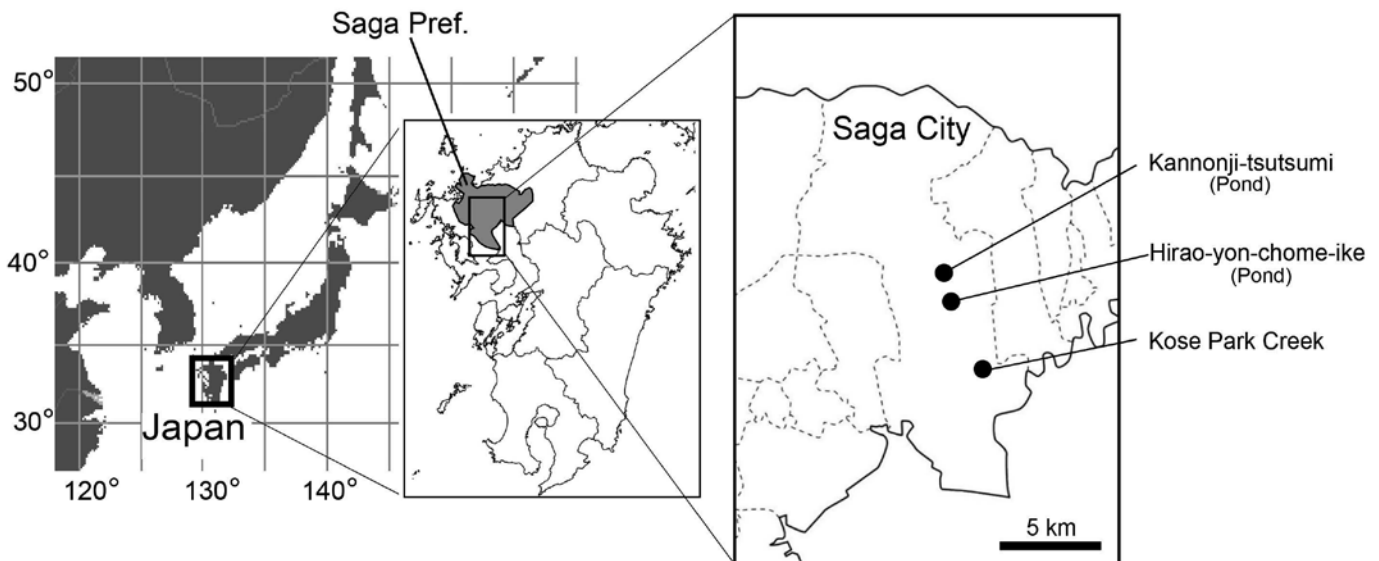


Fig. 1. The investigation sites in Saga City, Saga Prefecture, Japan



Kannonji-tsutsumi (Pond)



Hirano-yon-chome-ike (Pond)



Kose Park Creek

Fig. 2. Photographs of the survey sites.

4月から12月については5 L)。プランクトンネットの濃縮サンプルと1 L ボトルに採取した表層水はクーラーボックスに入れて研究室に持ち帰り、微細藻類の観察と細胞数計測、水質分析（測定項目は3にて詳述）に使用した。

2) 微細藻類の多様性解析

プランクトンネットの濃縮サンプルは、当日のうちにグルタルアルデヒドを最終濃度5%になるように添加し冷蔵庫で保存した。微細藻類の観察時には、よく攪拌した濃縮固定サンプル300 μ Lをプランクトン計数板（MPC-200, 松浪硝子工業）に挿入し、倒立顕微鏡（CKX53, オリンパス）の下で、微細藻類の同定と同定できた種類について細胞数の計測を行った。プランクトン計数板内のマス目（0.5 mm 正方形 400 マス）に入った同定可能な細胞はすべてカウントした。種類の同定は、主に滋賀の理科教材研究委員会（2005）と月井（2010）に従い、形態形質に基づき行った。種まで同定できない分類群については、spp. としてまとめて計測した。細胞数の計測は3回行った。

群体（colony）を形成する種についても細胞数をカウントしたが、細胞の境界がはっきりしなかった *Arthrospira* については、明確に属が同定できる 20 μ m 以上の群体を1群体とした。1 cell/mL (colony/mL) 以下の分類群を「+」、1 ~ 100 cells/mL (colonies/mL) の分類群を「++」、100 cells/mL (colonies/mL) 以上の分類群を「+++」とした。*Microcystis* spp. については、群体あたりの平均細胞数（20 群体以上の細胞を計数）に基づき、直径が 50 μ m 以下の群体は 15 細胞、50 ~ 100 μ m の群体は 50 細胞、100 μ m 以上の群体は 150 細胞として細胞数を算出した。

植物プランクトンと水質や生態系との関係を示すためには体積で捉える方が良いとされている（長濱ら 2019, Sun & Liu 2003）。長濱ら（2019）が算出した各微細藻類種の1細胞あたりの体積データを本研究で計測した細胞数と掛けて体積を算出した。長濱ら（2019）に記載のなかった分類群（*Arthrospira*, *Centrtractus*, *Eudorina*, *Gonium*, *Kirchneriella*, *Selenastrum*, *Staurastrum*, *Tetraspora*）については、Sun & Liu（2003）が提案したように球、円錐、円柱からなる構造物として1細胞（1群体）の体積を計算した。

各湖沼の各月における生物多様性指数については Shannon-Wiener の H' を元に次の式に従って算出した。

$$Diversity\ index = -\sum_{i=1}^S \frac{n_i}{N} \log_e \frac{n_i}{N}$$

このとき、 S は種数、 n_i は i 番目の種の体積、 N はその際のすべての種類の体積合計である。

3) 水質分析と相関解析

持ち帰った表層水をガラス繊維フィルター（GF/C, Whatman, GE Healthcare Life Sciences）で濾過し、濾液を水質分析に供した。化学的酸素要求量（COD, Chemical Oxygen Demand,

mg/L）、全窒素濃度（TN, Total Nitrogen, mg/L）、全リン濃度（TP, Total Phosphorus, mg/L）、アンモニア態窒素濃度（ NH_4^+ -N, mg/L）、硝酸態窒素濃度（ NO_3^- -N, mg/L）、亜硝酸態窒素濃度（ NO_2^- -N, mg/L）、オルトリン酸態リン濃度（ PO_4^{3-} -P, mg/L）については、WTW photoLab 7100 VIS（WTW）の試薬キットとプロトコルに従い測定した。水中の Mg^{2+} 濃度、 Ca^{2+} 濃度、 Fe^{2+} 濃度と Fe^{3+} 濃度の合計については、HANNA 社水質測定用ポータブル吸光度計 HI 96752 と HI 96746（HANNA）の試薬キットとプロトコルに従い測定した。すべての測定は3回行った。

それぞれの地点ごとに、各分類群の体積データと各水質条件データの間で、調査期間の推移の相関関係について、

Table 1. Taxa identified in Kannonji-tsutsumi pond. +, < 1 cell/mL or colony/mL; ++, 1 to 100 cells/mL or colonies/mL. Underlined taxa and species are those for which correlation analyses were performed.

	2020		2021				
	Dec	Feb	Apr	Jun	Aug	Oct	Dec
Chlorophyta							
<i>Ankistrodesmus</i> sp.						++	
<u><i>Botryococcus braunii</i></u>	+	+		+		+	+
<i>Closterium</i> sp.			+				+
<u><i>Coenochloris</i> sp.</u>	+			++	++	+	+
<i>Crucigenia</i> sp.	+		++				
<i>Desmidium</i> sp.				++	+	+	
<u><i>Desmodesmus</i> spp.</u>	++	+	+	+	+	+	+
<i>Kirchneriella</i> sp.	++				+		
<i>Pediastrum</i> spp.				+	+		
<i>Spondylosium</i> sp.					++		
<i>Staurastrum</i> spp.				++	++	+	+
Heterokonta							
<i>Dinobryon</i> sp.			++		+	++	+
<i>Mallomonas</i> sp.	+					+	
<i>Nitzschia</i> spp.	++						
<u>Centrales diatoms</u>	++	++	+	++	+	+	+
<i>Synura</i> sp.				+		+	
Euglenophyta							
<i>Euglena</i> spp.					+		
<i>Phacus longicauda</i>						+	
<i>Phacus gigas</i>					+		
<i>Trachelomonas</i> sp.				+		+	+
Dinophyta							
<i>Ceratium</i> sp.			+	+	+		
<i>Peridinium</i> sp.				+			
Cyanobacteria							
<i>Oscillatoria</i> sp.					+		
Zooplankton							
<i>Codonella</i> sp.	++	+		+			
<i>Daphnia</i> sp.	+						+
<u>Rotifers</u>	+	+		+		+	+

IBM SPSS Statistics 26 (日本 IBM) を用いて、総当たりでスピアマンの順位相関係数 (Spearman's rank coefficient of correlation, ρ) を算出した。水質との相関解析に用いた分類群は、観察された頻度が多い分類群でないとは相関を見ることができないため、観音寺堤と巨勢公園では、7回の調査のうち、5回以上で観察された分類群、平尾四丁目池では、13回の調査のうち、10回以上で観察された分類群を選抜した (Table 1-3 の下線の分類群)。

結果と考察

OECD (1982) の富栄養化の指標に従えば、観音寺堤と巨勢公園は、中栄養的 (Mesotrophic) であり、平尾四丁目池は富栄養的 (Eutrophic) であった。日本全国の湖沼データを網羅して解析した藤本ら (1995) のデータと比較しても、本研究の3地点とも、とくに TP の値がかなり高いグループに入っていた。佐賀平野内では比較的人為的影響の少ないと思われる観音寺堤においても、日本の湖沼の平均からすると、人為

Table 2. Taxa identified in Hirao-yon-chome-ike pond. +, < 1 cell/mL or colony/mL; ++, 1 to 100 cells/mL or colonies/mL; +++, > 100 cells/mL or colonies/mL. Underlined taxa and species are those for which correlation analyses were performed.

	2020						2021						
	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Dec	Feb	Apr	Jun	Aug	Oct	Dec
Chlorophyta													
<i>Ankistrodesmus</i> sp.	+	+			+	+	++	+	++	++	++	++	+
<i>Desmodesmus</i> spp.	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
<i>Dictyosphaerium</i> sp.			+								+		++
<i>Eudorina</i> sp.			+								+		
<i>Gonium</i> sp.						+							
<i>Kirchneriella</i> sp.	+				+								
<i>Micractinium</i> sp.			+				++		++			+	++
<u><i>Monoraphidium</i> sp.</u>	++	+	++	+	++	+	++	+	++		++	++	++
<u><i>Pediastrum</i> spp.</u>	++	++	++	+	+	+	+	+	++	+	+	++	++
<u><i>Scenedesmus</i> spp.</u>	+	++	+	++	+	+	++	+	+	++	++	++	++
<i>Selenastrum</i> sp.							++	+				+	+
<i>Staurastrum</i> spp.	++	+	+	+	+	+	+	++	++	++	+	+	++
<i>Tetraedron</i> sp.	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+
<i>Tetraspora</i> sp.											+	+	+
Heterokonta													
<i>Asterionella</i> sp.								++					
<i>Centritractus</i> sp.													+
<u><i>Aulacoseira</i> spp.</u>	++	++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
<u><i>Nitzschia</i> spp.</u>	++	+++	++	++	++	++	+++	++	++	++	++	++	++
<i>Surirella</i> sp.								+					
Euglenophyta													
<i>Euglena acus</i>			+		+								
<i>Euglena oxyuris</i>						+							+
<i>Euglena</i> spp.			+			+						+	+
<i>Phacus gigas</i>													+
<i>Trachelomonas</i> sp.													++
Cryptophyta													
<u><i>Cryptomonas</i> sp.</u>	+	+	++	+	+	+	++	++	++	+	+	++	++
Cyanobacteria													
<i>Anabaena</i> spp.			+			+		++			++	+	
<u><i>Arthrospira</i> sp.</u>	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
<i>Merismopedia</i> sp.						+	+			+	+	+	+
<u><i>Microcystis</i> spp.</u>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Oscillatoria</i> spp.								+		+	+	+	
Zooplankton													
<u>Rotifers</u>	+	+	+		++	+	++	++	++	+	++	++	+

Table 3. Taxa identified in Kose Park Creek. +, < 1 cell/mL or colony/mL; ++, 1 to 100 cells/mL or colonies/mL; +++, > 100 cells/mL or colonies/mL. Underlined taxa and species are those for which correlation analyses were performed.

	2020		2021				
	Dec	Feb	Apr	Jun	Aug	Oct	Dec
Chlorophyta							
<i>Coelastrum</i> sp.					+		
<u><i>Desmodesmus</i> spp.</u>	++	+	+	+	+	+	+
<i>Eudorina</i> sp.					+	+	
<i>Micractinium</i> sp.	+	+					
<i>Monoraphidium</i> sp.				+			
<u><i>Pediastrum</i> spp.</u>			+	+	+	+	+
<i>Scenedesmus</i> spp.		+	+	+			
<i>Selenastrum</i> sp.					+		
<i>Pandrina</i> sp.					+	+	
Heterokonta							
<i>Asterionella</i> sp.	++	+	+				
<u><i>Aulacoseira</i> spp.</u>	+++	++	++	++	++	++	++
<u><i>Nitzschia</i> spp.</u>	+	++	++	++	++	++	++
<i>Surirella</i> sp.		++					
<i>Synedra</i> sp.	+						
Euglenophyta							
<u><i>Euglena</i> spp.</u>	+	+	+	+		+	+
<i>Trachelomonas</i> sp.	+						
Cryptophyta							
<i>Cryptomonas</i> sp.	+	+		+			
Dinophyta							
<i>Peridinium</i> sp.	+						
Zooplankton							
<u>Rotifers</u>	+	+	+	+	+	+	+

的要因やその他何らかの要因によって栄養塩が多く存在する湖沼であることが判明した。

観音寺堤では、23分類群の微細藻類が観察され、*Desmodesmus* spp. や中心目珪藻が年間を通じて確認できた (Table 1)。優占する分類群は、月ごとに変化していたが、緑藻類は年間を通じて総体積の 80% 近くを維持していた。観音寺堤では、COD, EC, DO, Chl が他の 2 地点よりも低い値となった (Fig. 3)。調査日の目視でも透明度も高かった。Chl が低いことは水中の微細藻類の量も少ないことを示し、そのため光合成によって発生する酸素が少なく、DO も低い数値を示したと思われる。微細藻類の総体積量と比較しても、観音寺堤の微細藻類のすべての調査期間の総合計体積は、同期間の平尾四丁目池では約 1/300、巨勢公園クリークでは約 1/2 であった。

観音寺堤で体積の割合の高かった緑藻類は、 $\text{NH}_4\text{-N}$ と有意な正の相関を示したことから (Table 4)、観音寺堤の緑藻類は、栄養塩類のなかでも $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度が制限要因となっている可能性が示された。珪藻類は、TP との有意な負の相関を示し、逆にユーグレナ藻類は TP と有意な正の相関を示した (Table

4)。つまり、両群は水中のリン濃度に正反対の反応を示すことが明らかになった。このような状況は他の 2 地点でも、先行研究においても認められなかった。両群は、観音寺堤において特殊な棲み分けのような適応をしている可能性もある。

平尾四丁目池では、観察された微細藻類の種類が 3 地点中で最も多く、30 分類群が認められた (Table 2)。ただし 2021 年 6 月までの 10 ヶ月間は藍藻類の *Microcystis* spp. が総体積の 95% 以上を占め、多様性指数も 0 に近い値が続いた (0.0065–0.062, Fig. 3)。*Microcystis* spp. は観察された藍藻類の中で 99% 以上であった。*Microcystis* spp. が「アオコ」状態で優占する現象は、中国の太湖や日本の霞ヶ浦などでも頻繁に観察されている (長濱ら 2019, Liu *et al.* 2011 など)。平尾四丁目池における藍藻類 (\equiv *Microcystis* spp.) は、pH との有意な正の相関を示した (Table 4)。高 pH と *Microcystis* spp. のブルーム発生に関係があることは、中国太湖の *Microcystis* ブルームを調査した郝ら (2013) も報告しており、同じ傾向を示した。

Liu *et al.* (2011) は、中国太湖の *Microcystis* ブルームについて 10 年以上にわたる継続調査を行い、環境条件と *Microcystis* ブルームの発生について解析している。その結果、TN/TP 比が低い場合にブルームが発生していることを突き止めた。本研究でも、平尾四丁目池の TN/TP (3.70) は、観音寺、巨勢公園よりも低く、Liu *et al.* (2011) の結果を支持するものであった。ただし、日本では TN/TP 比の増加とともに藍藻類の優占率が高まるという研究もあるため (藤本ら 1995, 村上ら 1999)、TN/TP 比と *Microcystis* spp. の関係を議論するためには、より多くのデータの蓄積が必要である。

Liu *et al.* (2011) は水中の溶存有機物の指標とされる COD 値と *Microcystis* ブルームの正の相関も報告しているが、本研究において正の相関は認められなかった (Table 4)。平尾四丁目池は、COD の値が 3 地点と比べて常時 10 倍近く高かった (Fig. 3)。Liu *et al.* (2011) には具体的な COD の数値は示されていないが、浅野ら (2011) が中国太湖の 2007 年の COD 値を 4.9 mg/L と報告していることを参考にすると、期間平均 32 mg/L である平尾四丁目池には、*Microcystis* の増殖に良い影響を与える十分量以上の有機物が常時存在していたため、*Microcystis* の細胞数の増減と COD 値の増減の関係性が明確に出なかった可能性もある。

Liu *et al.* (2011)、郝ら (2013)、藤本ら (1995) が共通で指摘しているのが、水温と *Microcystis* ブルームの正の相関である。しかし、本研究では有意な相関は見出せなかった (Table 4)。平尾四丁目池においては、先に述べた pH をはじめ、水温以外の要因が大きく影響を与えている可能性もある。

巨勢公園クリークでは、18 分類群の微細藻類が観察された (Table 3)。珪藻の *Aulacoseira* spp. や *Nitzschia* spp. が年間を通じて優占していた。総体積に占める割合でも珪藻類が年間を通じて 70% 以上を占めていた。佐賀市内のクリークについては、白谷ら (1995) が平野内の 9 地点の微細藻類相を調査しており、いずれの地点でも緑藻類とユーグレナ藻類が優占

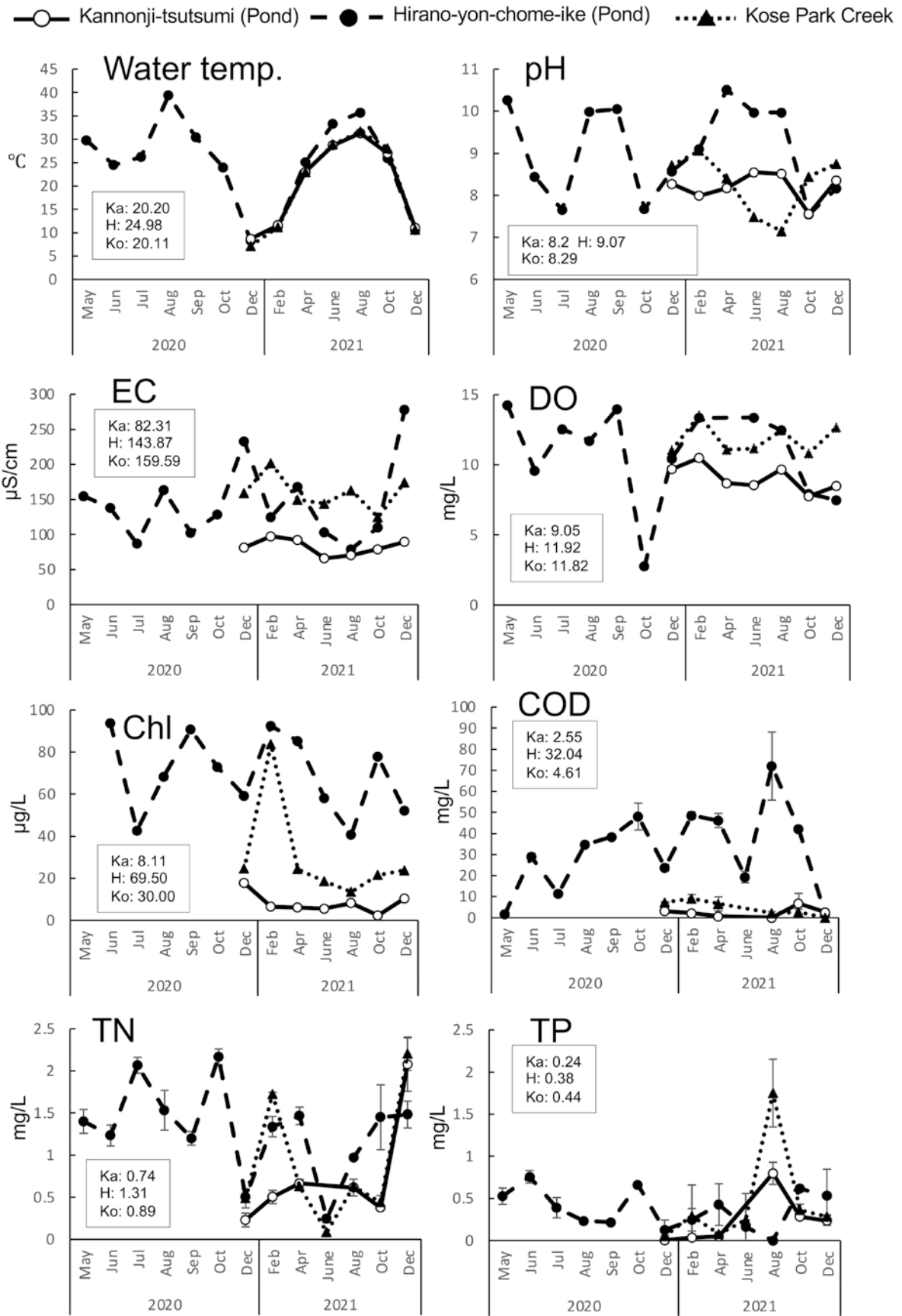


Fig. 3. Environmental conditions and diversity indexes at the three sites. Numbers in the boxes indicate average values for the survey period at each location. Ka, Kannonji-tsutsumi; H, Hirano-yon-chome-ike; Ko, Kose Park Creek

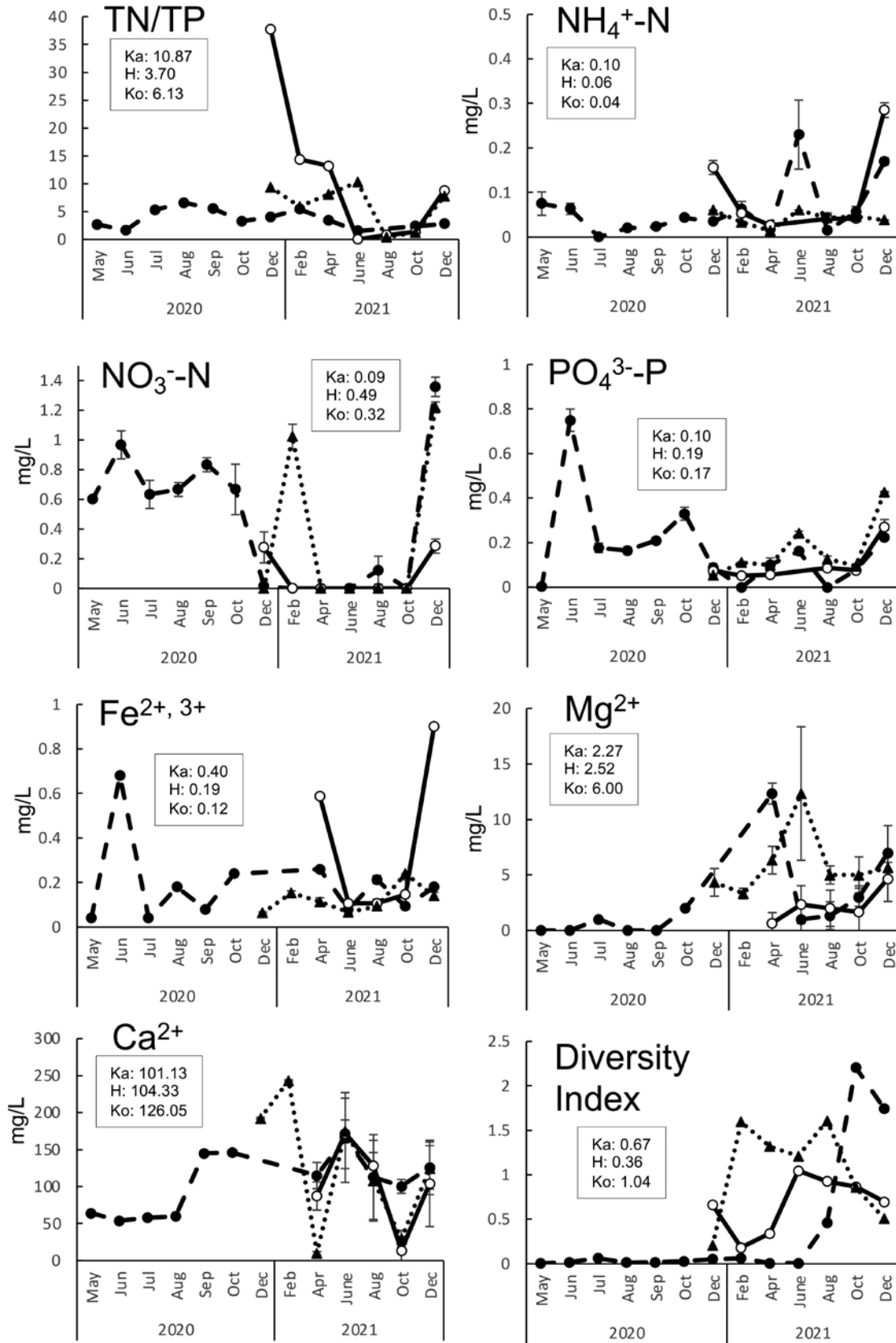


Fig. 3. Continued.

Table 4. Significant Spearman's rank coefficient of correlation (ρ) between environmental parameters and the abundance of microalgal groups for each waterbody. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$.

		Positive	Negative
Kannonji-tsutsumi (Pond)			
Chlorophyta		NH_4^+ (0.841*)	
		Zooplankton (0.811*)	
Diatom			TP (-1.000**) <ul style="list-style-type: none"> Euglena (-0.852*)
Euglena		NO_2^- (0.880*)	Diatom (-0.852*)
		TP (0.880*)	
		PO_4^{3-} (0.880*)	
Hirano yon-chome ike (Pond)			
Chlorophyta		Mg^{2+} (0.895*)	Temp. (-0.626*)
		Cryptophyta (0.666*)	
Diatom		Cryptophyta (0.605*)	Temp. (-0.731*) <ul style="list-style-type: none"> pH (-0.649*)
Euglena		NO_2^- (0.809*)	pH (-0.659*)
		TN (0.589*)	DO (-0.570*)
Cryptophyta		Chlorophyta (0.666*)	Temp. (-0.619*)
		Mg^{2+} (0.661*)	
		Diatom (0.605*)	
Cyanobacteria		pH (0.580*)	
Kose park creek			
Chlorophyta			NO_3^- (-0.802*)
Diatom		pH (0.821*)	Temp (-1.000**) <ul style="list-style-type: none"> Chl (0.821*)
		Chl (0.821*)	
Euglena			

Table 5. Spearman's rank coefficient of correlation (ρ) between *Desmodesmus* spp. cell volume and environmental parameters for each waterbody. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$. Correlation coefficients with absolute values less than 0.25 have been omitted.

	Kannonji-tsutsumi	Hirao yon-chome ike	Kose park creek
	NH_4^+-N 0.928**	Mg^{2+} 0.853**	Chl 0.782*
	Mg^{2+} 0.900*	<i>Cryptomonas</i> sp. 0.707**	<i>Euglena</i> spp. 0.623
	Rotifers 0.756*	<i>Scenedesmus</i> spp. 0.691**	TN/TP 0.618
	$\text{NO}_3^- - \text{N}$ 0.778	<i>Nitzschia</i> spp. 0.677*	COD 0.5
<i>Botryococcus braunii</i>	0.716	$\text{NO}_2^- - \text{N}$ 0.45	pH 0.473
	COD 0.6	EC 0.429	<i>Aulacoseira</i> spp. 0.382
Centric diatoms	0.571	<i>Pediastrum</i> spp. 0.411	Ca^{2+} 0.291
	Chl 0.536	<i>Staurastrum</i> spp. 0.393	EC 0.273
	$\text{NO}_2^- - \text{N}$ 0.314	<i>Ankistrodesmus</i> sp. 0.383	TN 0.266
	Ca^{2+} 0.3	Ca^{2+} 0.273	$\text{NH}_4^+ - \text{N}$ -0.255
	TN/TP 0.286	$\text{Fe}^{2+}, 3^+$ 0.261	$\text{PO}_4^{3-} - \text{N}$ -0.327
	pH 0.25	TN/TP -0.343	$\text{Fe}^{2+}, 3^+$ -0.382
	TN -0.371	DO -0.434	Rotifers -0.606
	TP -0.543	pH -0.503	<i>Pediastrum</i> spp. -0.759*
	Temp. -0.643	Temp. -0.643*	Temp. -0.818*
			TP -0.873*

するというデータを報告している。白谷ら (1995) の調査地点は河口に近く、本研究は河口からは約 3 km 離れた内陸部に位置する。河口付近のクリークでは満潮時に海水の影響も大きいと推定されるため、種類の相違の原因になった可能性もある。

巨勢公園クリークの珪藻類は水温と有意な負の相関を示した (Table 4)。珪藻類と水温との相関関係については、平野四丁目池でも有意な負の相関を示した。珪藻類のブルームが気温の低い冬期に発生することは以前より指摘されているが (Sommer *et al.* 1986, Kong *et al.* 2021, Liu *et al.* 2022 など)、本研究でも珪藻類の低温条件における細胞数の増加もそれを支持する結果となった。

Desmodesmus spp. と環境条件

Desmodesmus spp. は、3 地点において調査回すべてで確認された唯一の分類群であった。*Desmodesmus* spp. は、その増殖率、脂質含有率の高さから、近年藻類バイオマス生産の主たる種類として注目されている微細藻類である (Ferreira *et al.* 2021, Mehariya *et al.* 2022)。*Desmodesmus* spp. が含有する脂質には、 ω -3 脂肪酸である α -リノレン酸 (Sijil *et al.* 2019)、ドコサヘキサエン酸 (Demura *et al.* 2021) などが含まれていることも判明している。また、培地として重金属を含んだ各種産業廃水なども利用可能であり、産業レベルでの研究例も増えている (Abinandan *et al.* 2019, Luo *et al.* 2019, Chen *et al.* 2020, Yuan *et al.* 2021 など)。

本研究で調査した環境条件が大きく違う 3 地点いずれの場所においても、ある程度の細胞数が維持できていたことは、本属の生理学的可塑性を示すものといえる。*Desmodesmus* spp. を新しい大量培養微細藻類として、今後利用することを踏まえ、注目して解析を行った。

Desmodesmus spp. のみについて、3 地点の体積データと環境条件データとの間の相関係数を解析すると、 Mg^{2+} 濃度は、観音寺堤と平尾四丁目池で有意な正の相関を示した (Table 5)。また、3 地点において、各調査日における Mg^{2+} 濃度と *Desmodesmus* spp. 群体数をプロットすると、有意な正の相関を示した観音寺堤と平尾四丁目池では、右肩上がりの散布図となった (Fig. 4)。*Desmodesmus* の培養において Mg^{2+} 濃度の影響について調べた研究では、*Desmodesmus* とその近縁種である *Scenedesmus* を用いた培養実験で、 Mg^{2+} 濃度 0.073 mg/L という非常に低濃度の添加であってもバイオマス生産性を大きく向上することが指摘されている (Ren *et al.* 2014, Esakkimuthu *et al.* 2016, Liu *et al.* 2021)。しかし、 Mg^{2+} 濃度 150 mg/L を超える添加では増殖速度が落ちるとも報告されている (Esakkimuthu *et al.* 2016)。観音寺堤や平尾四丁目池における Mg^{2+} 濃度は平均で約 2 mg/L であり、*Desmodesmus* spp. の増殖に好条件になった可能性がある。有意な正の相関が見られなかった巨勢公園では、 Mg^{2+} 濃度は平均で約 6 mg/L であり、他 2 地点より 3 倍程度高く、十分な Mg^{2+} 濃度があったために、*Desmodesmus* spp. の細胞数に影響を与える制限要

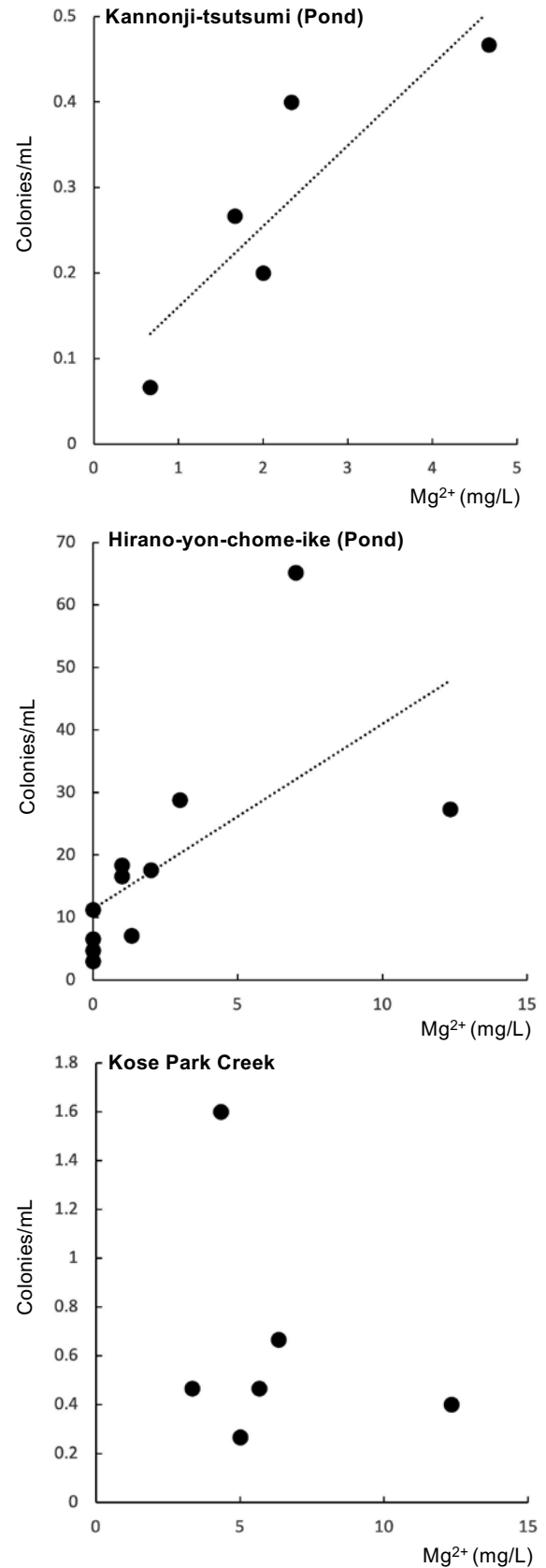


Fig. 4. Relationship between Mg^{2+} concentration and colony number of *Desmodesmus* spp. at survey sites. Approximate straight lines in Kannonji-tsutsumi and Hirano-yon-chome-ike was calculated by Microsoft Excel.

因は Mg^{2+} 濃度以外の環境条件になった可能性が考えられた。

平尾四丁目池と巨勢公園で有意な負の相関が見られた水温であるが (Table 5), *Desmodesmus* や *Scenedesmus* の先行研究では、低温域よりも高温域での増殖向上が確認されているものが多い (Sánchez *et al.* 2008, Li *et al.* 2011, Demirel *et al.* 2018, Sijil *et al.* 2019)。どの研究例も培養温度が上昇するとバイオマス生産も向上している。ただし、インドの富栄養化が進んだ湖沼における微細藻類相と環境条件を調査した Halder *et al.* (2019) では、全体の多様性が低くなる夏季に水温と *Scenedesmus* の細胞数に負の相関があることを報告している。自然界では、他の微細藻類種からの影響も考えられるため、培養株の培養とは違った増殖のパターンを示す可能性がある。

今後、3地点から培養株を確立し、培養にプラス効果をもたらす可能性のある上記条件について、培養試験を行い検証し、大量培養の際の必要な条件設定を明らかにする必要がある。

まとめ

佐賀市内の淡水域3地点の微細藻類相と環境条件について長期間の調査と、両者の相関解析を行った。その結果、3地点は環境条件の違いを反映し、観音寺堤は緑藻類、平尾四丁目池は藍藻類、巨勢公園クリークは珪藻類が優占するという特徴があった。

また、3地点に共通して確認された *Desmodesmus* spp. について詳細に環境条件との相関解析を行ったところ、*Desmodesmus* spp. の増殖に影響を与える環境条件の候補として、 Mg^{2+} 濃度、水温などが判明した。今回測定できなかった他の環境条件や、他の生物との共生・競争関係など、自然界では複雑な相互関係が存在するため、今後より詳細な検討も必要であるが、これらの項目は、属のもつ特性として大量培養時に培地や培養温度の設定の参考にできる可能性が高い。

謝辞

佐賀市役所の皆様には、さが藻類産業研究開発センターの利用、調査許可など研究遂行に関し、大きな便宜を図っていただいた。深く感謝申し上げます。

引用文献

Abinandan, S., Subashchandra, S. R., Panneerselvan, L., Venkateswarlu, K. & Megharaj, M. 2019. Potential of acid-tolerant microalgae, *Desmodesmus* sp. MAS1 and *Heterochlorella* sp. MAS3, in heavy metal removal and biodiesel production at acidic pH. *Bioresour. Technol.* 278: 9–16.

Al-Jabri, H., Das, P., Khan, S., Thaher, M. & AbdulQuadir, M. 2021. Treatment of wastewaters by microalgae and the potential applications of the produced biomass—A review. *Water* 13: 27.

浅野敏久・李光美・平井幸弘・金料哲・伊藤達也 2011. 中国・太湖の富栄養化問題と2007年のアオコ大発生事件(利水障害)後の対応. *E-journal GEO* 5: 138–153.

Brennan, L. & Owende, P. 2010. Biofuels from microalgae — A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renew. Sust. Energ.* 14: 557–577.

Chandrasekhar, K., Raj, T., Ramanaiah, S. V., Kumar, G., Banu, J. B., Varjani, S., Sharma, P., Pandey, A., Kumar, S. & Kim, S.-H. 2022. Algae biorefinery: A promising approach to promote microalgae industry and waste utilization. *J. Biotech.* 345: 1–16.

Chen, Z., Shao, S., He, Y., Luo, Q., Zheng, M., Zheng, M., Chen, B. & Wang, M. 2020. Nutrients removal from piggery wastewater coupled to lipid production by a newly isolated self-flocculating microalga *Desmodesmus* sp. PW1. *Bioresour. Technol.* 302: 122806.

Demirel, Z., Yilmaz, F. F., Ozdemir, G. & Dalay, M. C. 2018. Influence of media and temperature on the growth and the biological activities of *Desmodesmus protuberans* (F.E. Fritsch & M.F. Rich) E. Hegewald. *Turkish J. Fish. Aquat. Sci.* 18: 1195–1203.

Demura, M., Noma, S. & Hayashi, N. 2021. Species and fatty acid diversity of *Desmodesmus* (Chlorophyta) in a local Japanese area and identification of new docosahexaenoic acid-producing species. *Biomass* 1: 105–118.

Esakkimuthu, S., Krishnamurthy, V., Govindarajan, R. & Swaminathan, K. 2016. Augmentation and starvation of calcium, magnesium, phosphate on lipid production of *Scenedesmus obliquus*. *Biomass Bioenergy* 88: 126–134.

Ferreira, G. F., Pinto, L. F. R., Carvalho, P. O., Coelho, M. B., Eberlin, M. N., Filho, R. M. & Fregolente, L. V. 2021. Biomass and lipid characterization of microalgae genera *Botryococcus*, *Chlorella*, and *Desmodesmus* aiming high-value fatty acid production. *Biomass Convers. Biorefinery* 11: 1675–1689.

藤本尚志・福島武彦・稲森悠平・須藤隆一 1995. 全国湖沼データの解析による藍藻類の優占化と環境因子との関係. *水環境学会誌* 18: 901–908.

Halder, P., Debnath, M. & Ray, S. 2019. Occurrence and diversity of microalgae in phytoplankton collected from freshwater community ponds of Hooghly District, West Bengal, India. *Plant Sci. Today* 6: 8–16.

郝愛民・久場隆広・井芹寧・張振家・康彩霞・劉玉賢・原口智和 2013. 中国太湖における富栄養化水域の水質特性と生物分布. *土木学会論文集 G (環境)* 69: 97–104.

一瀬諭・若林徹哉・松岡泰倫・山中直・藤原直樹・野村潔 1996. 琵琶湖北湖における植物プランクトン相の変遷 (1978–1995). *滋賀衛環セ所報* 31: 84–100.

一瀬諭・若林徹哉・藤原直樹・水嶋清嗣・伊藤真 2001. 琵琶湖における植物プランクトン現存量の変遷について—1978～2000—. *滋賀衛環セ所報* 36: 29–35.

Kong, X., Seewald, M., Dadi, T., Friese, K., Mi, C., Boehrer, B., Schultze, M., Rinke, K. & Shatwell, T. 2021. Unravelling winter diatom blooms in temperate lakes using high frequency data and ecological modeling. *Water Res.* 190: 116681.

Li, X., Hu, H.-y. & Zhang, Y.-p. 2011. Growth and lipid accumulation properties of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp. under different cultivation temperature. *Bioresour. Technol.* 102: 3098–3102.

Liu, T., Wang, Y., Li, J., Yu, Q., Wang, X., Gao, D., Wang, F., Cai, S. & Zeng, Y. 2021. Effects from Fe, P, Ca, Mg, Zn and Cu in steel slag on growth and metabolite accumulation of microalgae: A review. *Appl. Sci.* 11: 6589.

Liu, X., Li, Y., Shen, R., Jeppesen, E., Liu, Z. & Chen, F. 2022. A trophic cascade triggers blooms of *Asterionella formosa* in subtropical eutrophic Lake Taihu, China. *Freshw. Biol.* 67: 1938–1948.

Liu, X., Lu, X. & Chen, Y. 2011. The effects of temperature and nutrient ratios on *Microcystis* blooms in Lake Taihu, China: An 11-year investigation. *Harmful Algae* 10: 337–343.

- Luo, L.-Z., Shao, Y., Luo, S., Zeng, F.-J. & Tian, G.-M. 2019. Nutrient removal from piggery wastewater by *Desmodesmus* sp. CHX1 and its cultivation conditions optimization. *Environ. Technol.* 40: 2739–2746.
- Mehariya, S., Plöhn, M., Leon-Vaz, A., Patel, A. & Funk, C. 2022. Improving the content of high value compounds in Nordic *Desmodesmus* microalgal strains. *Bioresour. Technol.* 359: 127445.
- 村上和仁・鷹野洋・吉岡敏行・萩野泰夫・森忠繁 1999. 児島湖における植物プランクトンの種構成と季節的消長. *水環境学会誌* 22: 770–775.
- 長濱祐美・大内孝雄・湯澤美由紀・福島武彦 2019. 霞ヶ浦における植物プランクトン体積算出のための各細胞体積の検討. *土木学会論文集 G (環境)* 75: 273–280.
- 長濱祐美・福島武彦・大内孝雄・湯澤美由紀 2020. 2005 年から 2019 年の霞ヶ浦全域における植物プランクトン群集. *陸水学雑誌* 81: 167–178.
- OECD 1982. Eutrophication of waters. Monitoring, assessment and control. OECD cooperative programme on monitoring inland waters (Eutrophication control), Environment Directorate, OECD, Paris, 1.
- Ren, H.-Y., Liu, B.-F., Kong, F., Zhao, L., Xie, G.-J. & Ren, N.-Q. 2014. Enhanced lipid accumulation of green microalga *Scenedesmus* sp. by metal ions and EDTA addition. *Bioresour. Technol.* 169: 763–767.
- 佐賀市 2020. 佐賀市バイオマス産業都市構想. 2020 年 3 月 10 日更新 (2022 年 11 月 1 日閲覧). <https://www.city.saga.lg.jp/main/7639.html>
- Sánchez, J. F., Fernández-Sevilla, J. M., Ación, F. G., Cerón, M. C., Pérez-Parra, J. & Molina-Grima, E. 2008. Biomass and lutein productivity of *Scenedesmus almeriensis*: influence of irradiance, dilution rate and temperature. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 79: 719–729.
- 滋賀の理科教材研究委員会 (編) 2005. やさしい日本の淡水プランクトン 図解ハンドブック, 合同出版, 東京.
- Sijil, P. V., Sarada, R. & Chauhan, V. S. 2019. Enhanced accumulation of alpha-linolenic acid rich lipids in indigenous freshwater microalga *Desmodesmus* sp.: The effect of low-temperature on nutrient replete, UV treated and nutrient stressed cultures. *Bioresour. Technol.* 273: 404–415.
- 白谷栄作・井上久義・塩福輝雄・久保田富次郎 1995. 有明海沿岸農業地帯の植物プランクトンの増殖と水質要因との関係. *農土論集* 178: 61–69.
- Sommer, U., Gliwicz, Z. M., Lampert, W. & Duncan, A. 1986. The PEG-model of seasonal succession of planktonic events in fresh waters. *Arch. Hydrobiol.* 106: 433–471.
- Sun, J. & Liu, D. 2003. Geometric models for calculating cell biovolume and surface area for phytoplankton. *J. Plankton Res.* 25: 1331–1346.
- 月井雄二 2010. 原生生物ビジュアルガイドブック 淡水微生物図鑑, 誠文堂新光社, 東京.
- Ubando, A. T., Ng, E. A. S., Chen, W.-H., Culaba, A. B. & Kwon, E. E. 2022. Life cycle assessment of microalgal biorefinery: A state-of-the-art review. *Bioresour. Technol.* 360: 127615.
- Yuan, S., Ye, S., Yang, S. & Luo, G. 2021. Purification of potato wastewater and production of byproducts using microalgae *Scenedesmus* and *Desmodesmus*. *J. Water Process Eng.* 43: 102237.

(2022 年 11 月 2 日受付, 2022 年 12 月 19 日受理)

通信担当編集委員: 木村 圭