

発表番号 37

## 紫外線による赤潮防除に関する研究

前田広人(鹿児島大学水産学部)

【目的】鹿児島湾では、平成13年4月に *Heterosigma akashiwo* による赤潮が発生して、ハマチ養殖場に約一億円の被害を与えた。5年前に起きた同種の赤潮でも10億円の被害が出ており、鹿児島湾の水産養殖にとって赤潮対策は最も重要な課題である。本研究の目的は赤潮発生時の緊急的対処療法として、赤潮生物自身を紫外線で殺滅する方法を開発することである。これまで紫外線による赤潮生物の殺滅については詳細な研究はなされていない。そこで、本研究では *Heterosigma akashiwo* の生存に対する紫外線の影響を室内レベルで調べた。

【方法】*H. akashiwo* を M-ASP7 培地を用いて一ヶ月前培養した。紫外線処理は滅菌済みシャーレに M-ASP7 培地 30ml と *H. akashiwo* の前培養液 2ml を加えたものに、直接紫外線ランプを照射して行った。紫外線強度は 80  $\mu$  W、400  $\mu$  W、700  $\mu$  W、1500  $\mu$  W の4パターンについて、照射時間は 30s、60s、120s、300s、900s の5パターンについて行った。*H. akashiwo* のカウントは細胞の形をとどめているものについて運動性の有るものと失ったものを区別して行った。また、紫外線処理を行った *H. akashiwo* をインキュベーターに入れて培養を行い照射直後、1日後、3日後、6日後、9日後、12日後、15日後についてカウントを行った。

【結果】紫外線照射強度で比較すると、80  $\mu$  W/cm<sup>2</sup> の条件では、900秒間処理を行った場合に増殖が抑制されているが、紫外線照射時間が900秒以下の場合では増殖抑制効果が認められなかった。紫外線照射時間で比較すると、照射時間が30秒間の場合では、1500  $\mu$  W/cm<sup>2</sup> の条件で増殖が抑制されているが、700  $\mu$  W/cm<sup>2</sup> 以下の条件では、赤潮細胞の増殖抑制効果は認められなかった。照射時間が900秒間の場合では、400  $\mu$  W/cm<sup>2</sup> 以上の条件で、赤潮細胞は処理後増殖することができず、80  $\mu$  W/cm<sup>2</sup> の条件でも、6日以内にほとんどの細胞が死滅した。以上をまとめると、紫外線のダメージを運動性の有無で判断した結果、*H. akashiwo* に対し紫外線の影響が出るまでの照度×時間の関係を関数  $y = -202.0 \ln(x) + 1380.6$  の式として表現できた。照度と時間では照度の変化の方が *H. akashiwo* 生残により大きく影響し、*H. akashiwo* 生残率には400  $\mu$  W 以上で影響が出始めた。



28

助成番号 0228

## 紫外線による赤潮防除に関する研究

前田広人 (鹿児島大学水産学部)

### 【目的】

鹿児島湾では、平成13年4月に *Heterosigma akashiwo* による赤潮が発生して、ハマチ養殖場に約一億円の被害を与えた。5年前に起きた同種の赤潮でも10億円の被害が出ており、鹿児島湾の水産養殖にとって赤潮対策は最も重要な課題である。本研究の目的は赤潮発生時の緊急的対処療法として、赤潮生物自身を紫外線で殺滅する方法を開発することである。これまで紫外線による赤潮生物の殺滅については詳細な研究はなされていない。そこで、本研究では *Heterosigma akashiwo* の生存に対する紫外線の影響を室内レベルで調べた。

### 【方法】

#### (1) 赤潮プランクトンの選定

近年、鹿児島湾においてラフィド藻赤潮が発生し一億円以上の、漁業被害を与えることが多くなった。そこで本研究では、平成13年に鹿児島湾より分離したラフィド藻の *Heterosigma akashiwo* を実験対象に選定した。

#### (2) 前培養

*H. akashiwo* を M-ASP7 培地を用いて一ヶ月前培養した。紫外線処理は滅菌済みシャーレに M-ASP7 培地 30ml と *H. akashiwo* の前培養液 2ml を加えたものに、直接紫外線ランプを照射して行った。

#### (3) 照射実験方法

紫外線強度は 80  $\mu$  W、400  $\mu$  W、700  $\mu$  W、1500  $\mu$  W の4パターンについて、照射時間は 30s、60s、120s、300s、900s の5パターンについて行った。*H. akashiwo* のカウントは、紫外線処理直後に細胞の形をとどめているものについて、運動性があるものと、無いものとを区別して行った。また、紫外線処理を行った *H. akashiwo* をインキュベーターに入れて培養を行い照射直後、1日後、3日後、6日後、9日後、12日後、15日後についてカウントを行った。また、これに加えて、比較のための対象区(コントロール)として、紫外線処理を行わない系(無処理)についても培養を行った。紫外線ランプは波長 254nm の紫外線を用い、紫外線強度はサンプルと紫外線ランプの間の距離の調節により設定した。なお、紫外線処理・計数のための試料の分取等の操作は他の微生物の混入を防止するため、クリーンベンチ内で行った。

写真-1 から 3 に実験の状況を示す。

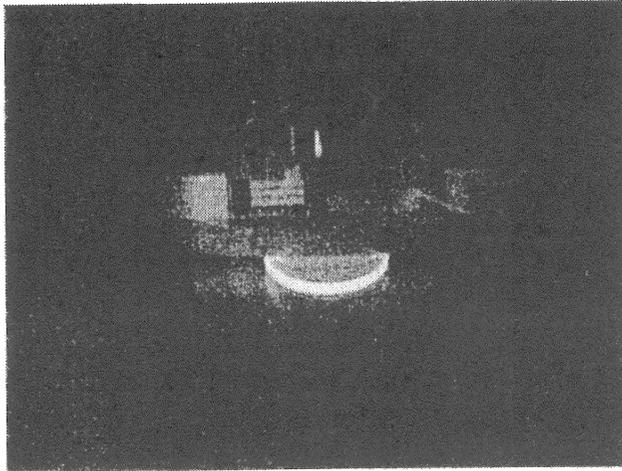


写真-1  
紫外線照射

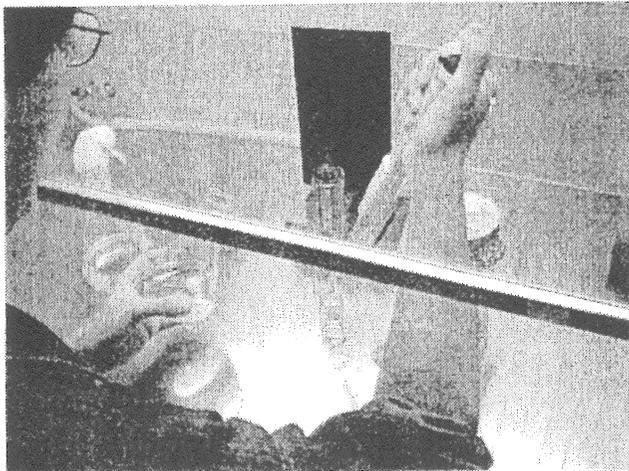


写真-2  
赤潮細胞の分取  
(クリーンベンチ内で行う)



写真-3  
赤潮細胞の計数

(4) 実験フロー

実験フローを図-1 に示す。

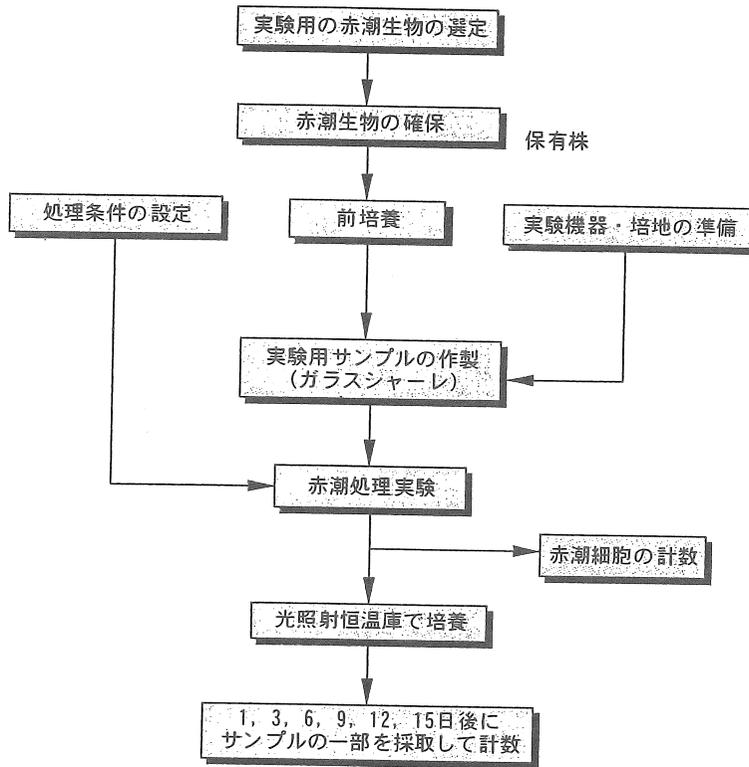


図-1 実験フロー

(5) 工程表

実験の工程表を表-1 に示す。

表-1 実験工程表

|                         | H14.12月 |    |    | H15.1月 |    |    | 2月 |    |    | 3月 |    |    |
|-------------------------|---------|----|----|--------|----|----|----|----|----|----|----|----|
|                         | 1       | 10 | 20 | 1      | 10 | 20 | 1  | 10 | 20 | 1  | 10 | 20 |
| 赤潮種の確保                  |         | ■  |    |        |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 前培養                     |         | ■  | ■  | ■      | ■  |    |    |    |    |    |    |    |
| 赤潮紫外線処理                 |         |    |    |        |    | ■  |    |    |    |    |    |    |
| 処理赤潮の培養・計数(生死確認)<br>1回目 |         |    |    |        |    | ■  | ■  |    |    |    |    |    |
| 処理赤潮の培養・計数(生死確認)<br>2回目 |         |    |    |        |    |    |    | ■  | ■  |    |    |    |
| 実験結果の取りまとめ・解析           |         |    |    |        |    |    |    |    |    | ■  | ■  |    |

## (6) 実験結果

第1回目の実験結果を図-2, 図-3に示す。

図-2(1)～(4)は, 一定の紫外線強度における照射時間と *Heterosigma akashiwo* 細胞数の経時変化の関係, 図-3(1)～(5)は, 一定の照射時間における紫外線強度と *Heterosigma akashiwo* 細胞数の経時変化の関係を示している。

### a. 紫外線強度

強度  $80 \mu\text{W}/\text{cm}^2$  の条件では, 900秒間処理を行った場合に増殖が抑制されているが, 紫外線照射時間が900秒以下の場合では増殖抑制効果が認められなかった。

強度  $400 \mu\text{W}/\text{cm}^2$  の条件では, 900秒間処理を行った場合は赤潮細胞は処理中にはほぼ死滅したと考えられ, その後全く増殖しなかった。また, 60秒以上の処理を行った場合, 赤潮の増殖能力はほぼ失われていると考えられる。

強度  $700 \mu\text{W}/\text{cm}^2$  の条件では, 60秒間以上の処理を行った場合, 赤潮細胞は増殖増力を失い, 6日以内に死滅した。

強度  $1500 \mu\text{W}/\text{cm}^2$  の条件では, 30秒間しか処理を行わない場合でも増殖抑制効果が認められ, 60秒間以上の処理を行った場合, 赤潮細胞は増殖増力を失い, 6日以内に死滅した。

### b. 紫外線照射時間

照射時間が30秒間の場合では,  $1500 \mu\text{W}/\text{cm}^2$  の条件で増殖が抑制されているが,  $700 \mu\text{W}/\text{cm}^2$  以下の条件では, 赤潮細胞の増殖抑制効果は認められなかった。照射時間が60秒間の場合では,  $400 \mu\text{W}/\text{cm}^2$  以上の条件で増殖が抑制されており,  $700 \mu\text{W}/\text{cm}^2$  以上の条件では, 赤潮細胞は増殖増力を失い, 6日以内に死滅したと考えられる。

照射時間が120秒間の場合では,  $400 \mu\text{W}/\text{cm}^2$  以上の条件で増殖が抑制されており,  $700 \mu\text{W}/\text{cm}^2$  以上の条件では, 赤潮細胞は増殖増力を失い, 6日以内に死滅したと考えられる。

照射時間が300秒間の場合では,  $400 \mu\text{W}/\text{cm}^2$  以上の条件で, ほとんどの赤潮細胞は増殖増力を失っている。照射時間が900秒間の場合では,  $400 \mu\text{W}/\text{cm}^2$  以上の条件で, 赤潮細胞は処理後増殖することができず,  $80 \mu\text{W}/\text{cm}^2$  の条件でも, 6日以内にほとんどの細胞が死滅した。

## (7) まとめ

紫外線のダメージを運動性の有無で判断した結果, *H. akashiwo* に対し紫外線の影響が出るまでの照度×時間の関係を関数  $y = -202.0\ln(x) + 1380.6$  として表現できた。照度と時間では照度の変化の方が *H. akashiwo* 生残により大きく影響し, *H. akashiwo* 生残率には  $400 \mu\text{W}$  以上で影響が開始した。

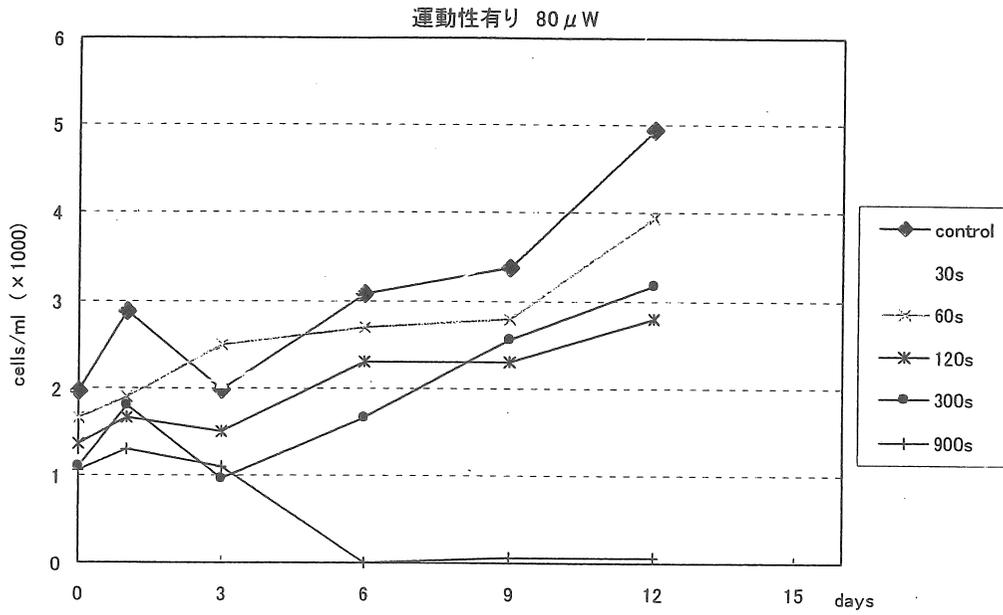


図-2 (1) 紫外線80  $\mu$ W/cm<sup>2</sup>処理による細胞数の経時変化 (運動性有り)

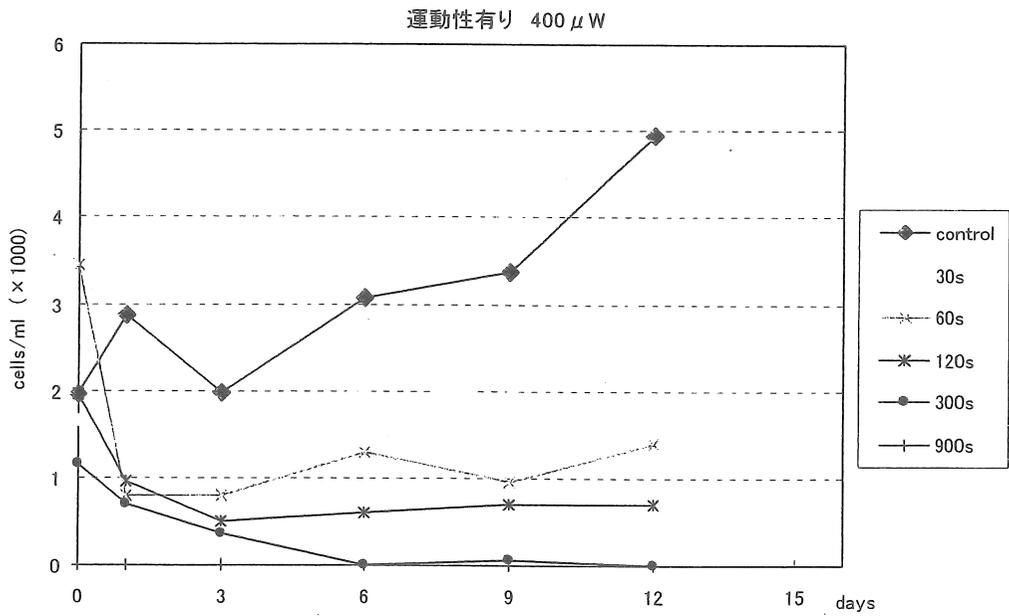


図-2 (2) 紫外線400  $\mu$ W/cm<sup>2</sup>処理による細胞数の経時変化 (運動性有り)

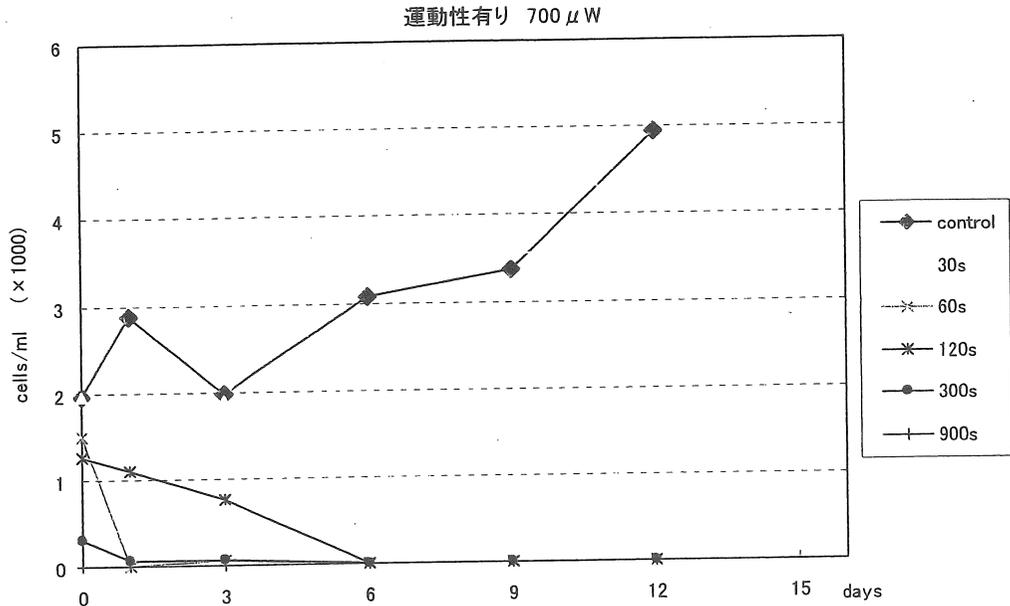


図-2 (3) 紫外線700  $\mu$ W/cm<sup>2</sup>処理による細胞数の経時変化 (運動性有り)

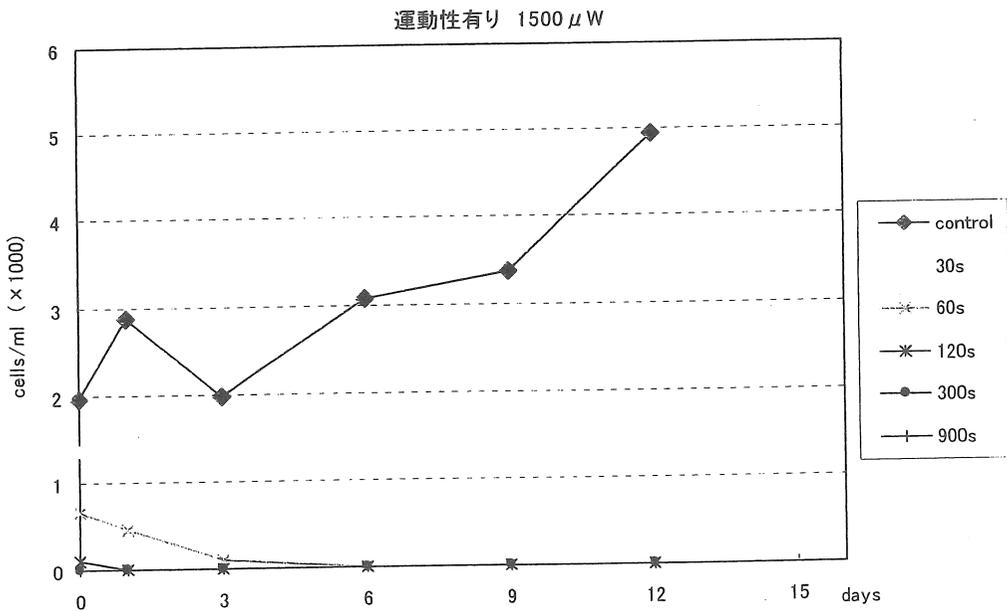


図-2 (4) 紫外線1500  $\mu$ W/cm<sup>2</sup>処理による細胞数の経時変化 (運動性有り)

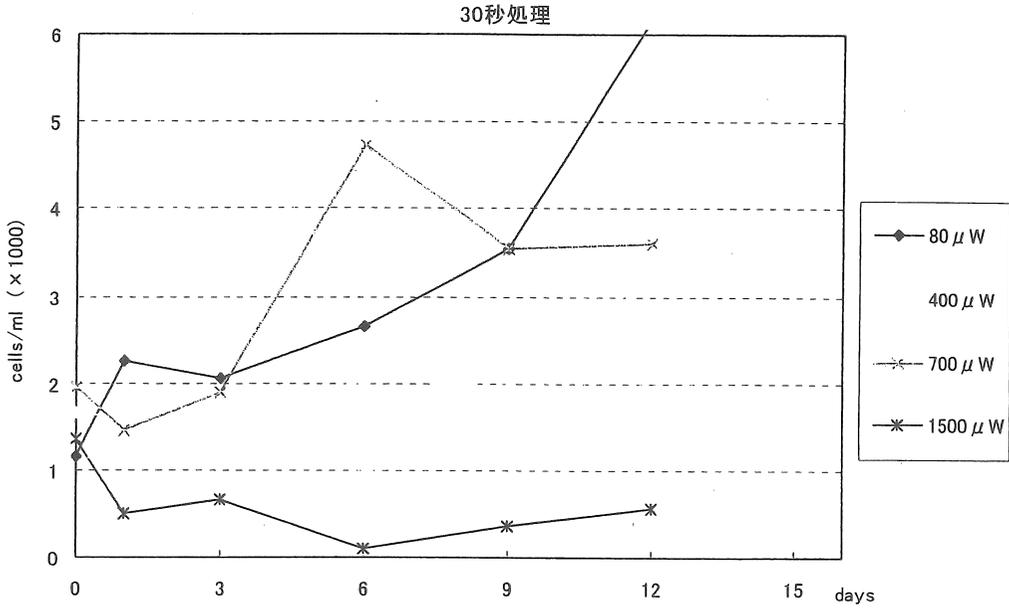


図-3 (1) 照射時間30秒の処理による細胞数の経時変化 (運動性有り)

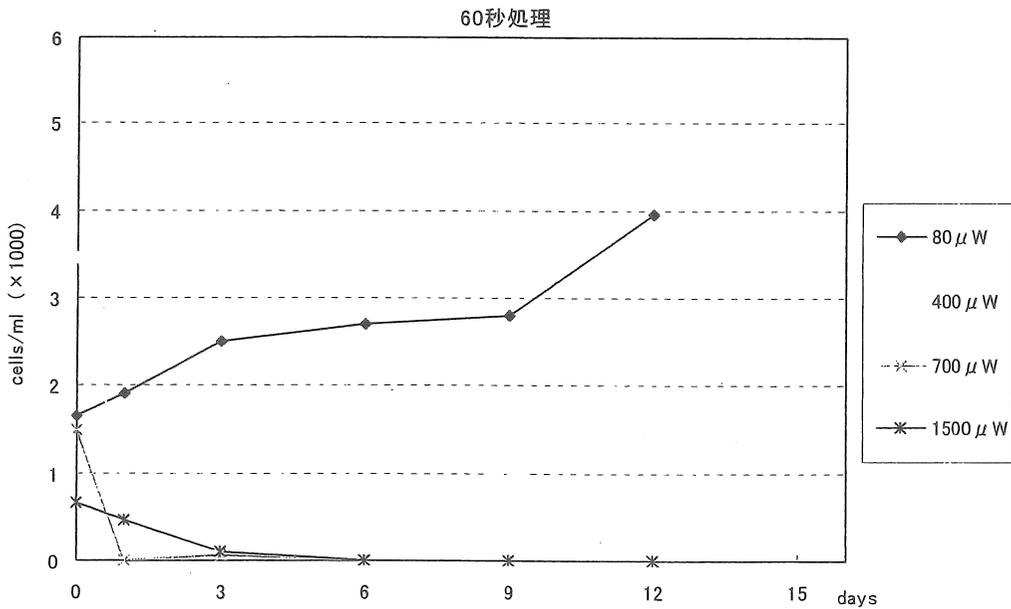


図-3 (2) 照射時間60秒の処理による細胞数の経時変化 (運動性有り)

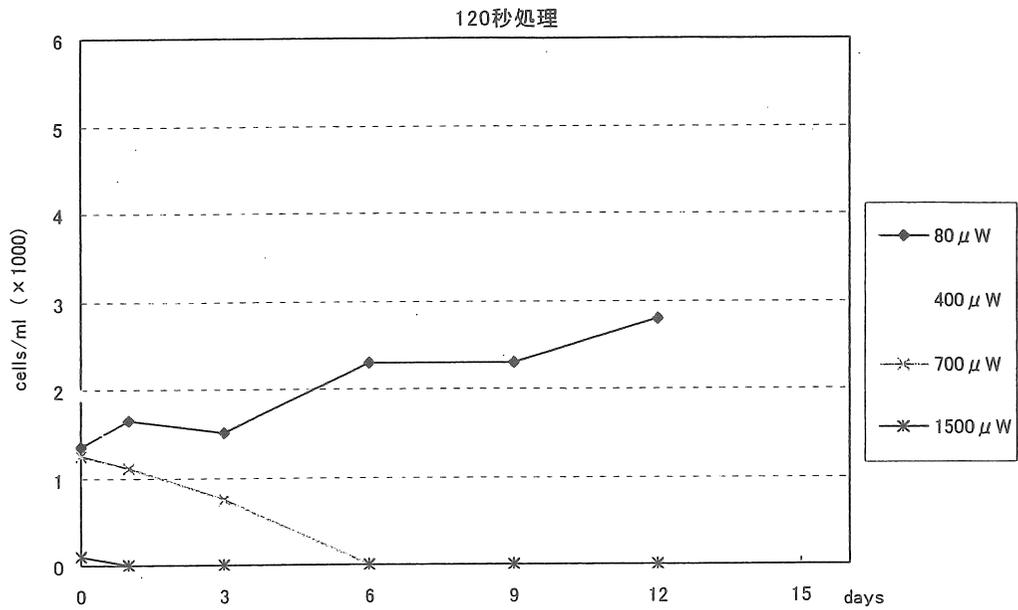


図-3 (3) 照射時間120秒の処理による細胞数の経時変化 (運動性有り)

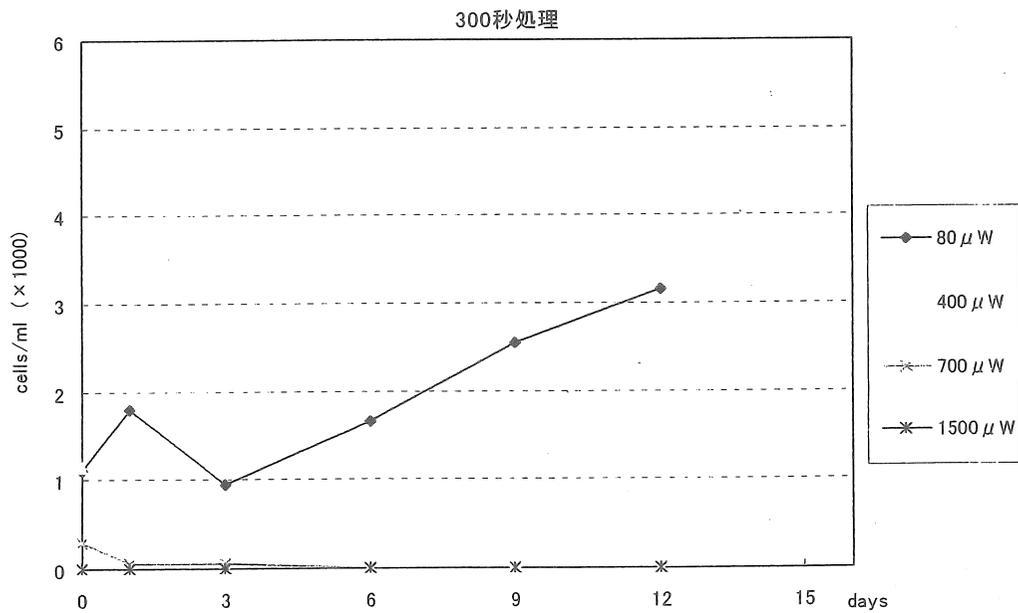


図-3 (4) 照射時間300秒の処理による細胞数の経時変化 (運動性有り)

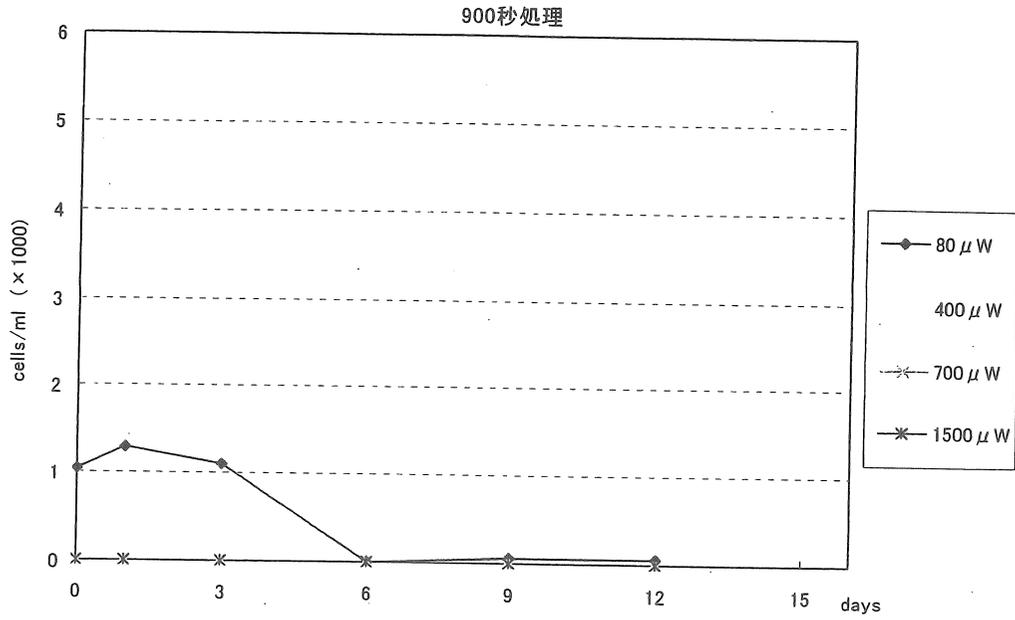


図-3 (5) 照射時間900秒の処理による細胞数の経時変化 (運動性有り)

## A study on defense of red tide by ultraviolet rays

Hiroto Maeda

Faculty of Fisheries, Kagoshima University

### Summary

[ Purpose ] Kagoshima bay's biota exhibited corresponding drastic changes. "Akasio", red tide caused by the bloom of a flagellate alga, *Hornelia marina* (Raphidophyceae) first appeared in 1977. This phenomenon has recurred several years since their appearance. In 1995, the red tide of *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae) brought about 1 billion-yen damage for aquaculture in this bay. The purpose of this study is to develop a method to defense the red tide by ultraviolet rays as emergent tackling treatment in red tide outbreak.

[ Method ] *H. akashiwo* was cultured using M-ASP7 nutrient medium during one month. Ultraviolet rays was irradiated directly to the sterilized petri dish, in which 2 ml *H. akashiwo* culture was added to 30 ml of M-ASP7 nutrients medium. Ultraviolet rays were irradiated during the time about 30s, 60s, 120s, 300s and 900s. Ultraviolet rays strength were changed by 80  $\mu$  W, 400  $\mu$  W, 700  $\mu$  W and 1500  $\mu$  W. In the count of *H. akashiwo*, the cell was distinguished by motility.

[ Results ] In compared with irradiation strength of ultraviolet rays, the cell was restrained in a condition of 80  $\mu$  W /  $\text{cm}^2$  for 900 seconds, but effect of ultraviolet rays on cell growth was not recognized below the irradiation in case of 900 seconds or less. In compared with irradiation time of ultraviolet rays, the cell was restrained in case of 30 seconds with a condition of 1500  $\mu$  W /  $\text{cm}^2$ , but red tide cell was not recognized in a condition less than 700  $\mu$  W /  $\text{cm}^2$ . In irradiation time of 900 seconds when in case more than 400  $\mu$  W /  $\text{cm}^2$ , red tide cell cannot multiply after handling, and, with a condition of 80  $\mu$  W /  $\text{cm}^2$ , most cells became extinct for less than 6 days. A result mentioned above, the relation between irradiation strengt and time was able to express as an expression of  $y = -202.0\text{Ln}(x) + 1380.6$ . Irradiation strength of ultraviolet rays might influence for survival rate rather than irradiation time, and its effect began to appear more than 400  $\mu$  W.