

超音波照射による *Planktothrix agardhii* 抑制の検討

塚崎 嘉彦*¹・銚崎 有紀・加藤 賢二

The *Planktothrix agardhii* Control Examination by Ultrasonic Irradiation

Yoshihiko TSUKASAKI, Yuki HOKOZAKI, Kenji KATO

1 はじめに

富栄養化の進んだ三方五湖において平成10年以前は *Microcystis* 属によるアオコの発生が夏季を中心に見られていた。しかしながら、平成11年度以降 *Microcystis* 属の大発生はほとんど見られなくなり、代わって糸状性藍藻が増加傾向にある。特に *Planktothrix agardhii* は冬季にも関わらず水月湖においてアオコを形成するなど、三方五湖における生態系への悪影響が懸念されている^{1)~2)}。

一方、代表的なアオコ形成藻類である *Microcystis* 属に関しては超音波照射によりガス胞を破壊し、沈降させることによって細胞の増殖を抑制可能であることが分かっており^{3)~5)}、効率的に超音波処理を行うために流動促進装置を備え、かつオゾン照射も組み合わせた超音波・オゾン発生装置による水質浄化試験も行われている⁶⁾。そこで、福井県衛生環境研究センターでもアオコ対策技術の研究の一環として超音波・オゾン発生装置によるアオコの除去・増殖抑制試験を平成11年度より行っているが、試験開始以降主に優占している *Planktothrix* 属に対してはアオコ細胞の破壊・沈降効果がみられないことが確認できている^{7)~9)}。そこで、近年増加傾向にある *P. agardhii* に対しても、有効に破壊・沈降効果が得られるよう適正な出力および周波数の検索を目的として研究を行ったので報告する。

2 調査方法

2.1 供試藻類

供試藻類としては平成13年2月に水月湖でのアオコ発生時に採取し、単藻分離した *P. agardhii* を用いた。

培養条件については20℃、20μE/m²・sの12時間明暗周期下でM11培地¹⁰⁾にて1mlあたり10⁹から10¹⁰細胞になるまで培養を行った。これを、アオコ発生時の総細胞数である1.6×10⁶細胞/mlを参考として、15mg/lのNaHCO₃溶液にて約1000倍希釈を行い、初期濃度を1.0~5.0×10⁶細胞/mlに設定した。

2.2 実験装置

超音波発振装置は、(株)マリン技研製の200kHz仕様超音

波発生装置(出力; 3.0kW)および3周波切替式仕様超音波発生装置(周波数; 28、55、100kHz、出力; 0.8、3.0、5.0kW)を用いた。

表1 実験を行った各試験区の出力および周波数

		周波数			
		28kHz	55kHz	100kHz	200kHz
出力	0.8kW	⑤	⑤	⑤	-
	3.0kW	⑤ ②①	⑤ ②①	⑤ ②①	⑤ ②①
	5.0kW	⑤ ②①	⑤ ②①	⑤ ②①	-
3周波切替式					200kHz

⑤および②①はそれぞれ5秒間照射、20秒間照射を示す

上記超音波発振装置の振動子を初期濃度に設定した40Lの試水の入った内径43cmのステンレス製のバケツに挿入し、表1に示したような周波数および出力の組み合わせで5秒間もしくは20秒間の超音波照射を行った。

2.3 生死判定

効果判定として、超音波を照射した後、PI (Propidium Iodide) 染色¹¹⁾により死細胞のみを染色させ、蛍光顕微鏡により細胞の生死判定を行った。

2.4 トリコームのガス胞消失率

超音波照射後の計50本のトリコームについてガス胞消失部分の長さを光学顕微鏡に取り付けたマイクロメーターにより測定し、その割合をガス胞消失率として求めた。いずれの試験区に関しても3反復行い、その平均値にて評価を行った。

2.5 トリコームの切断率

2.4のガス胞消失率と同様に計50本のトリコームの長さを光学顕微鏡に取り付けたマイクロメーターにより測定し、対照区を100%とした比として求めた。いずれの試験区に関しても3反復行い、その平均値にて評価を行った。

3 結果と考察

3.1 生死判別

PI染色により、死細胞の確認を行った。その結果、死細

*1 環境政策課

胞はほとんど見られず、*P. agardhii*に対し超音波照射のみで殺藻効果はみられないことが分かった。

3. 2 沈降性について

図1に超音波照射後の*P. agardhii*のガス胞消失の状態を示した。淡い色を呈している部分がガス胞の消失した部分であり、やや黒っぽく見える部分がガス胞の残存した部分である。図1より、一部にガス胞の消失した個体が見られるものの、超音波照射後も懸濁状態であり、*Microcystis*属に見られるような沈降性^{3), 4)}は見られなかった。

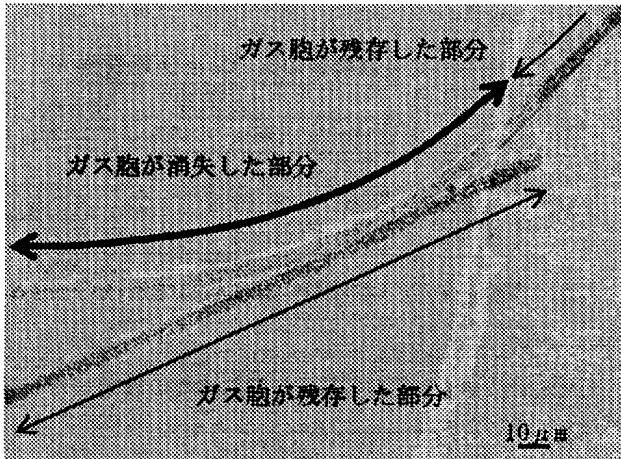


図1 超音波照射によるガス胞の消失状態 (光学顕微鏡、300倍)

3. 3 トリコームのガス胞消失率

今回の実験系では沈降率が非常に低かったため、沈降率の測定は困難であったが、より沈降しやすい状態になり得るかどうかを判定する方法として、トリコーム中のガス胞の消失率を求めた。

図2に各試験区のガス胞消失率を示した。図2より、5秒間照射時には出力に関しては出力が大きくなるにつれてガス胞消失率が大きくなる傾向にあった。一方、周波数に関しては最大値をとる周波数が出力により異なる結果となった。これはガス胞の消失率が最大でも全体の約30%と低い状態であり、かつ、各個体の個体差(誤差)が大きかったため、その傾向が明確に認められなかったものと考えられた。

照射時間を4倍の20秒間に延長した試験ではガス胞消失率が5kWの系では若干、また3kWの系ではプラス10%程度の消失率の増加が見られた。この結果、照射時間を延ばすことにより、ガス胞がより消失しやすくなることが分かった。

しかしながら、今回の実験系において最大でも35%(3kW・100kHz・20秒間)のガス胞消失率しか認められず、超音波照射による顕著なガス胞消失効果は見られなかった。通常、*Planktothrix*属は表層に集積するというより、むしろ

湖水中に浮遊しているという特性を持っており、今回の試験直後も試水中に懸濁していた状態であり、沈降性はほとんど見られなかった。したがって、約1/3程度のガス胞消失率では、*Planktothrix*属を湖底に沈降させ、光合成阻害や微生物の分解等の二次的な作用による殺藻効果や増殖抑制効果は期待できないと考えられた。

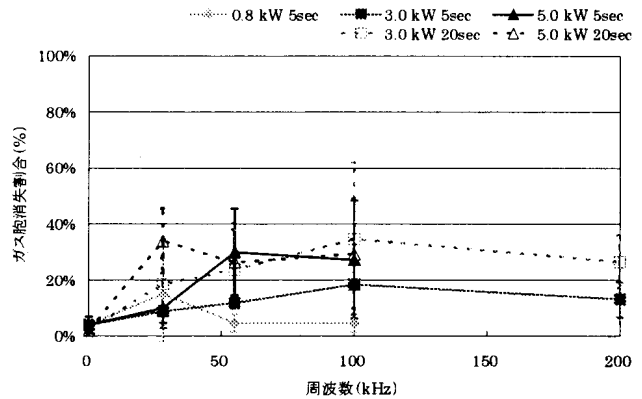


図2 各試験区のガス胞消失率 (バーは標準偏差を示す)

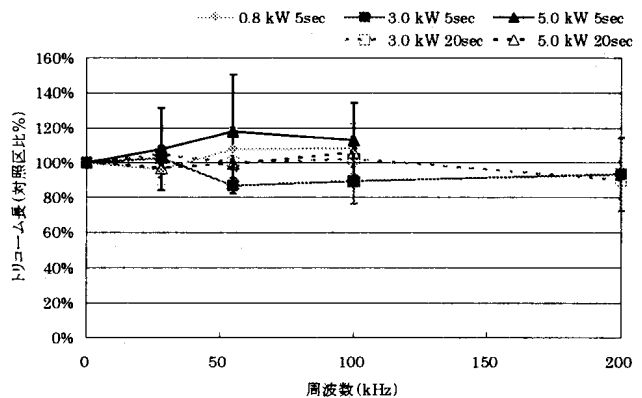


図3 各試験区のトリコーム長切断率 (バーは標準偏差を示す)

3. 4 トリコームの切断率

糸状性藍藻はその形状のため摂食可能なプランクトンは少ない。特に近年三方五湖における動物プランクトンは小型のワムシ類が多いため¹²⁾、ほとんど摂食されることなく増加傾向をとると考えられる。しかしながら、超音波照射によりトリコームが切断されれば、小型の動物プランクトンによる摂食の可能性がより高くなると考えられる。

図3に各試験区のトリコーム長の対照区(超音波照射なし)を100%とした対比を示した。図3より、もっとも切断効果が高かった試験区でも87%(3kW・55kHz・5秒間)と超音波照射による切断効果はほとんど認められなかった。また、超音波照射時間を20秒間とした試験区においても5秒間の試験区とほぼ同等な結果であり、照射時

間を延ばすことによる効果も認められなかった。

これらの結果から、超音波を照射することにより *Planktothrix*属を切断させ、動物プランクトンの捕食を促進させることによる殺藻効果は期待し難いと考えられた。

4 ま と め

近年、三方五湖において増加傾向にある *P. agardhii* に対する超音波照射試験の結果は次のとおりである。

- (1) 超音波照射による *P. agardhii* の殺藻効果は認められなかった。
- (2) ガス胞の消失が一部見られたが、沈降性を増大させるには至らなかった。
- (3) ガス胞の消失率は最大で35% (3kW・100kHz・20秒間) であった。
- (4) 超音波照射によるトリコームの切断効果はほとんど見られなかった。

参 考 文 献

- 1) 塚崎嘉彦他：三方五湖における糸状性藍藻の異常増殖について、福井県環境科学センター年報, 30, 85-87 (2000)
- 2) 塚崎嘉彦他：北潟湖および三方五湖における植物プランクトンの変遷について (第1報), 福井県環境科学センター年報, 31, 68-76 (2001)
- 3) 佐藤重和他：超音波処理を用いたアオコ回収技術, 用水と廃水, 39, 414-423 (1997)
- 4) Lee, T.J et. al. : Ultrasonic irradiation for blue-green algae bloom control, Environ. Technol., 22, 383-390 (2001)
- 5) Lee, T.J et. al. : A novel strategy for cyanobacterial bloom control by ultrasonic irradiation, Water Sci. Technol., 46 (6-7), 207-215 (2002)
- 6) Nakano, Kazunori et. al. : In situ algal bloom control by the integration of ultrasonic radiation and jet circulation to flushing, Environ. Sci. Technol., 35, 4941-4946 (2001)
- 7) 加藤賢二他：超音波・オゾン発生装置によるアオコの除去・増殖抑制試験 (第1報), 福井県環境科学センター年報, 29, 52-59 (1999)
- 8) 加藤賢二他：超音波・オゾン発生装置によるアオコの除去・増殖抑制試験 (第2報), 福井県環境科学センター年報, 30, 45-52 (2000)
- 9) 加藤賢二他：超音波・オゾン発生装置によるアオコの除去・増殖抑制試験 (第3報), 福井県環境科学センター年報, 31, 86-95 (2001)
- 10) Watanabe, M.M. et. al. : List of Strains sixth edition, p.32, Natural Institute for Environmental Studies, Ibaraki (2000)
- 11) Jones, K.H and J.A. Senft : An improved method to determine cell viability by simultaneous staining with fluorescein diacetate-propidium iodide, J. histochem. cytochem, 33, 77-79 (1985)
- 12) 鉦碯有紀他：北潟湖および三方五湖における動物プランクトンの変遷について (第1報), 福井県環境科学センター年報, 31, 56-67 (2001)