

青色 LED 及び珪藻類 *Nitzschia palea* によるアオコ抑制

九州大学工学部 学生会員 江崎 直彦 九州大学工学院工学府 学生会員 松濤 直樹
九州大学工学院工学府 学生会員 大隈 一輝 九州大学大学院工学府 学生会員 渡邊 俊介
温州大学 正会員 井芹 寧 温州大学 非会員 郝 愛民
九州大学大学院工学研究院 正会員 藤林 恵 九州大学大学院工学研究院 正会員 久場 隆広

1. 序論

アオコの異常増殖は、近年世界中で問題となっており、水質や景観の悪化、悪臭被害、生態系の破壊などを引き起こす。現行の対策として湖水の濾過や底泥の除去、覆砂、深層曝気などが挙げられるが、いずれの対策にもコストや労力、環境への影響などの面で課題がある。そこで環境への影響が小さく省エネルギーな応用生態工学的手法の確立を目指し、アオコ対策研究に取り組んだ。渡邊ら¹⁾によると、藻類の光合成に用いる波長の違いから、青色 LED がアオコを構成する代表種であるシアノバクテリア *Microcystis aeruginosa* の増殖を抑制し、付着珪藻類である *Nitzschia palea* の増殖を促進させる効果がある事を報告した。加えて *N. palea* は *M. aeruginosa* との競合関係によって、競争培養下で *M. aeruginosa* の増殖を抑制する効果が確認された。また、鈴木ら²⁾は、ガラスビーズを設置することで付着珪藻類である *N. palea* の増殖が促進される事を報告した。

本研究では青色 LED とアオコの競合種である *N. palea* を用いて、実際に現地で増殖しているアオコに対するその二者のアオコ抑制効果を検証すると共に、*N. palea* の種間競争力をより高めアオコ抑制効果を大きくする手法について検討した。

2. 実験方法

2-1 青色 LED によるアオコ単藻培養

本実験では青色 LED がアオコの増殖にどのような影響を与えるかを調べるために、アオコに対して蛍光灯及び青色 LED を照射する実験を行った (以下、「単藻培養実験」と呼ぶ)。アオコは佐賀県打ち上げダムで採取したものを使用した。アオコの主な構成種は *M. aeruginosa* であった。本実験の条件は、水温 25 °C、明暗周期 12 L : 12 D、光条件は蛍光灯及び青色 LED を光量子密度 32 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ で照射し、1 日 1 回攪拌とした。アオコの初期細胞密度は 2.5×10^6 cells/mL とし、 $n=3$ で培養した。アオコは寒天質に覆われた群体を形成する。その為、培養しているフラスコを滅菌処理したピペットで攪拌した後に、1 mL 採取し、適当な倍率で希釈した試料に対して超音波分散処理を約 30 秒行った。その後、顕微鏡及びプランクトン計数盤 (MPC-200, 松浪硝子工業, 検鏡部容量 $0.1 \text{ mL}=10 \times 10 \times 0.1 \text{ mm}^3$) を用いて各細胞数密度の経日変化を計測した。

2-2 青色 LED によるアオコ競争培養

本実験では青色 LED がアオコ及び *N. palea* の増殖にどのような影響を与えるかを調べるために、アオコ、*N. palea* の競争培養と、*N. palea* の単藻培養を行った。*N. palea* は佐賀県藤ノ平ダムから採取して単離・同定したものを継代培養し、対数増殖期のものを使用した。*N. palea* の単藻培養については、競争培養で使用したアオコを含む湖水を孔径 0.45 μm のメンブレンフィルターで濾過したものを培地とした。*N. palea* の初期細胞密度は 4000 cells/mL とし、その他の条件は 2-1 と同様にして実験を行った。

2-3 付着基質実験

本実験では付着基質がアオコ及び *N. palea* の増殖にどのような影響を与えるかを調べるために、付着基質設置下でのアオコ単藻培養、アオコと *N. palea* の競争培養を行った。付着基質はガラスビーズ小 (アズワン, BZ-2, $\phi=0.01 \text{ mm}$)、ガラスビーズ大 (アズワン, BZ-2, $\phi=2.00 \sim 2.36 \text{ mm}$)、活性炭 (ヤシガラ活性炭)、牡蠣殻 (未焼却) を用いた。付着基質の粒径を揃えるため、活性炭と牡蠣殻は破碎して粒径 2.00~2.36 mm のふるいにかけて後、培地との体積比が 1:5 になるよう添加した。アオコの初期細胞密度は 1.3×10^7 cells/mL のものを使用した。蛍光灯を照射し、その他の条件は 2-1 と同様にして実験を行った。

3. 実験結果及び考察

3-1 青色 LED によるアオコ抑制効果

青色 LED を照射した系では、蛍光灯を照射した系と比べてアオコが大きく減少しており (図 1)、青色 LED は現地のアオコに対しても高い抑制効果を持つ事が確認できた。また、青色 LED を照射した系では、アオコの減少に伴って透明になっていった溶液が、16 日目以降再び緑に色付いていく現象が確認された。顕微鏡で試料を観察したところ、様々な緑藻が増殖しており、特に *Desmodesmus* spp. が多く確認された。この現象について、実験初期は劣位にあった緑藻がシアノバクテリアの減少によって栄養塩を吸収できるようになったと考えられる。

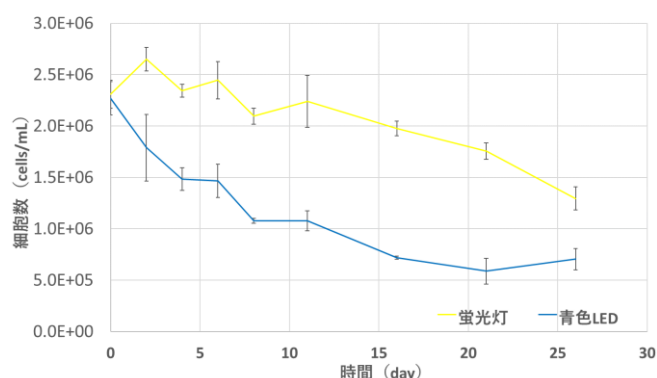
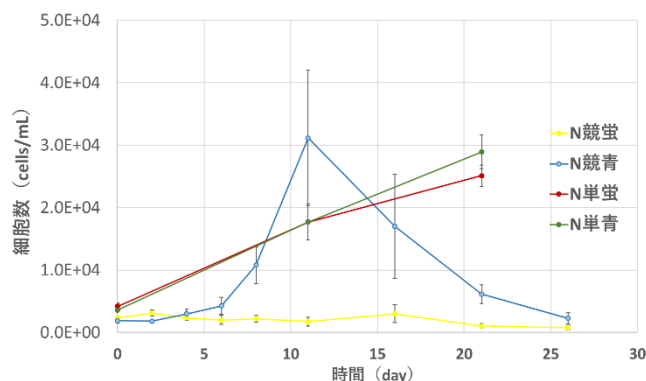


図1 アオコ単藻培養実験

3-2 *N. palea* によるアオコ抑制効果

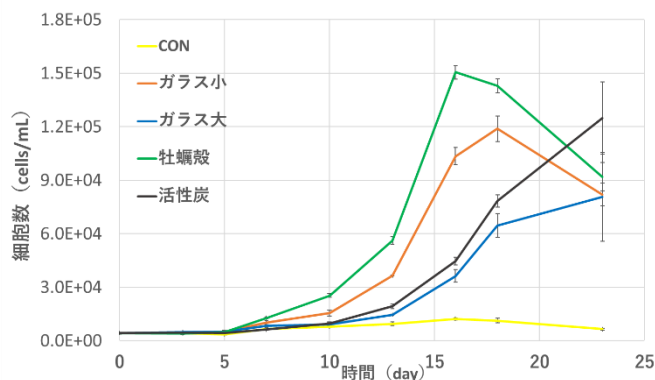
競争培養した際のアオコの細胞数の変化は単藻培養時と殆ど差異が出ておらず、青色 LED 照射下でのみ僅かに単藻培養に比べてアオコが抑制された。*N. palea* 単藻培養では蛍光灯・青色 LED に関係なく増殖したが、競争培養下では蛍光灯を照射しても増殖しなかった (図 2)。よって、予想に反して *N. palea* はアオコに増殖を抑制される可能性がある。蛍光灯下では *N. palea* が十分に増殖しなかったために、本実験では *N. palea* によるアオコ抑制効果は確認できなかった。一方、競争培養下でも青色 LED を照射すると *N. palea* は増殖した。青色 LED によってアオコが抑制されたことで *N. palea* が優位に立ったのではないかと考えられる。しかし *N. palea* は 11 日目以降急激に減少した。この時、*Desmodesmus* spp.などの緑藻が増殖してきており、栄養塩も枯渇していなかったことから、*N. palea* が緑藻によって抑制された可能性がある。

図2 競争培養下での *N. palea* の経日変化

3-3 付着基質の及ぼす影響

競争培養条件で、*N. palea* は牡蠣殻とガラスビーズ小を設置した系で大きく増殖した (図 3)。活性炭とガラスビーズ大を設置した系では実験初期は *N. palea* はあまり増殖しなかったものの、16 日目以降大きく増殖した。これはアオコの細胞数が減少してきた事で、付着基質によって増殖促進された *N. palea* が種間競争で優位に立てたと考えられる。また 13 日目以降では全ての系で *Desmodesmus* spp.などの緑藻

の増殖が確認されたが、*N. palea* の細胞数が急激に減少する事は無かった。これらより牡蠣殻及びガラスビーズ小による *N. palea* の増殖促進効果は非常に高いと言える。アオコに関して、6 日目時点では単藻培養に比べ競争培養でアオコの細胞数が大きく減少し、*N. palea* が増殖した条件ほどその傾向が見られた。しかし 12 日目の計測では単藻培養と競争培養共にアオコの細胞数が急激に減少し大きな差異は確認されなかった。これについては本実験のアオコの初期細胞数は非常に大きかったため、アオコの増殖に必要な栄養塩が直ぐに枯渇し単藻培養条件でもアオコが大きく減少した可能性がある。また単藻培養条件に比べ測定に多くの試料を必要とした競争培養条件では、溶液の全体量が少なくなった。溶液はアオコで非常に濁っていたが、総量が大きく減った事で照射光が透過されやすくなり、光強度が高まった事でアオコの増殖が促進され単藻培養と競争培養の差異が小さくなった可能性がある。

図3 各付着基質設置下での *N. palea* の経日変化

4. 結論

- (1) 青色 LED 照射によるアオコ抑制は、非常に効果的である。
- (2) 本実験では、蛍光灯下において何らかの要因によってアオコが *N. palea* の増殖を抑制していた。一方、青色 LED 照射下ではアオコとの種間競争で優位に立てるものの、緑藻によって増殖を阻害された可能性がある。
- (3) 牡蠣殻、ガラスビーズ小による *N. palea* 増殖促進効果は非常に高く、蛍光灯下でも競争培養条件で *N. palea* が大きく増殖した。

参考文献

- 1) 渡邊俊介ら, 珪藻 *Nitzschia palea* とアオコの競合特性及び LED 照射を用いたシアノバクテリア *Microcystis aeruginosa* の増殖抑制効果について, 土木学会論文集 G (環境), Vol.75, No.7, III_97-III_105, 2019
- 2) 鈴木雅巳ら, 底生付着珪藻 *Nitzschia* sp.の増殖に対する付着基質サイズの影響, J. Grad. Sch. Biosp. Sci., Hiroshima Univ., Vol44, 31-38, 2005