

# 海藻アオサの殺藻能を利用した赤潮防除剤の確立

奥西将之

鹿児島大学 水産学部

〒890-0056 鹿児島市下荒田4丁目50番20号

Tel: 099-286-4133, E-mail: okunishi@fish.kagoshima-u.ac.jp

## 要旨

赤潮とは植物プランクトンの大増殖により海水の色が着色される現象のことである。日本の高度経済成長期以降、沿岸海域の著しい富栄養化にともない1970年代から日本の各地で赤潮の発生が問題になってきた。近年でも2009年、2010年には鹿児島県の八代海で大規模な赤潮被害が発生し、合計56億円以上の経済損失をもたらした。また、2016年9月にも養殖ブリが10万匹以上斃死した。このように赤潮対策は早急に対策が急務な必須事項であるが、有効な対応策が確立できていないのが現状である。そこで申請者らは日本沿岸域でよくみられるアオサが赤潮原因プランクトンを死滅させる作用があることに着目した。代表的な4種類の赤潮藻類の培養株を用いてアオサの殺藻能を調べたところ、程度に違いはあるもののいずれの藻類にも殺藻能を示した。また、アオサを乾燥させても同等以上の殺藻能を示した。そのため、乾燥アオサを用いて赤潮防除剤を試作したところ、十分な効果を発揮した。

## 1. 緒言

鹿児島県は黒潮の影響もあり、気候は温暖でブリ、カンパチ、マダイ、マグロなどの水産養殖業が盛んである。しかし、水産養殖業では赤潮による被害が問題になっている。赤潮とは、プランクトンが大量増殖し、集積の結果生じる海水の着色現象であり、養殖業では水産動物の斃死をもたらすことから全国的に問題になっている。鹿児島県でも2009年、2010年に *Chattonella antiqua* による赤潮被害を受け、経済的損失はそれぞれ20億3千万、36億8千万にもなった<sup>1)</sup>。

現在、赤潮が発生した場合、餌止めにより被害を最小限に抑えることや、養殖いけすを移動させる対症療法的な処置がとられるに留まっており、労力や費用面でも負担が大きい。そのため発生した赤潮に対してUV照射、薬剤散布や粘土散布などの物理化学的手法や、殺藻細菌やウイルスによる生物学的処理により赤潮防除対策が試みられてきたが、実施規模やコスト、環境への影響などの問題から殆ど実用化には至っておらず、安全かつ低コストで効果的な赤潮防除対策の確立が望まれている。

本研究では、海藻アオサを用いた赤潮の防除対策に取り組んだ。アオサとは、緑藻に属し、アオサ科にはヒメアオノリ属、ヒメボタンアオサ属、アオノリ属、ペルクルサリア属、アオサ属、クロヒトエグサ属の6属がある。膜状のアオサは岩などの基物に付着するために付着根が備わっている以外は、均質で単純な体のつくりになっているため短時間に大きく生長できる。本研究で用いたアオサは生長期が夏・秋であり、養魚の盛期と合致しているため天然物を利用しやすい。また、成長速度が大きく変異種は不稔性の特性を有しているため、葉体を切断するだけで増殖できるといった特徴がある。

海藻類は一般的にアレロパシー作用と呼ばれる他者を排除するための科学物質を含有していることが多いが、アオサ類も微細藻類に対して殺藻性を示す。本研究ではこの性質を赤潮防除に利用するため赤潮藻類に対する殺藻性能を評価するとともに、赤潮防除剤の実用化を目指して検討を行った。

## 2. 実験方法

### 2.1. 赤潮藻類の培養

赤潮原因藻類として、*Heterosigma akashiwo* (MIES-6)、*Karenia mikimotoi* (MIES-241)、*Chattonella marina* (MIES-559)、*Cochlodinium polykrikoides* (八代海産)の4種類の培養株を用いた。いずれもダイゴ IMK 培地を用いて 12L:12D の明暗条件下で *H. akashiwo*、*K. mikimotoi*、*C. polykrikoides* の培養温度は 20 °C、*C. marina* の培養温度は 23 °C で培養した。

## 2.2. 海藻アオサの処理

アオサは鹿児島県長島町に自生している天然のアナアオサを採取して使用した。実験に使用する際はアオサを濾過海水（GF-F ガラスファイバー濾紙）で洗浄し、濾過海水 300 mL に対してアオサを 10 wet-g をミキサーに入れ、5 秒間細断して使用した。また加熱乾燥機（約 50 °C）を用いて乾燥させたアオサによる殺藻性も調べた。

## 2.3. アオサと赤潮原因藻類の混合培養

アオサの殺藻効果を確認するために、6 穴プレートを用いて培養した赤潮原因プランクトンとアナアオサ (*Ulva pertusa*) を混合培養した。運動性を示すプランクトンを直接顕鏡によりカウントすることで、アナアオサの殺藻性能を評価した。6 穴プレートに赤潮藻類の培養液 10 mL に天然のアオサをミキサーで細断したもの 0.1 g、または乾燥させたアオサ 0.01 g を添加して、運動性を持つ細胞を直接顕鏡でカウントした。アオサは含水率がおおよそ 90% であったため、乾燥させたアオサ 0.01g はフレッシュなアオサ 0.1 g に相当する。

## 2.4. アオサの水溶性抽出画分およびメタノール抽出画分

採取したアナアオサ 10 g を凍結乾燥させ、90 mL の蒸留水に浸してスターラーで一晩混合し、その上清を再度凍結乾燥して蒸留水(10 mL)に溶解させたものを水溶性抽出画分とした。また凍結乾燥させたアナアオサをメタノール (MeOH) に浸した後、上精をエバポレーターにかけて濃縮し、再び MeOH に溶解させたものをメタノール抽出画分とした。

上記 2.3 と同様に 4 種の赤潮藻類に対して、6 穴プレートに赤潮藻類 10 mL と水溶性抽出画分またはメタノール抽出画分 0.1 mL を添加し、運動性を持つ細胞を直接顕鏡でカウントした。なお、この水溶性抽出画分またはメタノール抽出画分 0.1 mL にはアオサ 0.1 g と同量の水溶性抽出画分またはメタノール抽出画分が含まれている。

## 2.5. アオサを用いた赤潮防除剤

球状に乾燥固化させたアナアオサを赤潮防除剤試作品とし、赤潮藻類に添加して運動性を持つ細胞数を調べた (Fig. 1)。計数方法はビーカーに 500 mL の赤潮藻類の培養液と防除剤 5g (1% w/w) を加え、運動性を持つ細胞を直接顕鏡でカウントした。



Fig. 1 球状に固めた防除剤試作品

### 3. 結果

#### 3.1. 赤潮藻類に対するアオサの殺藻性

Fig.2 に *Heterosigma akasiwo* に対するアオサの殺藻性能を示した。アオサを加えないコントロール区では混合培養開始から 24 時間で運動性を示す細胞の数はほとんど変化しないのに比べて、アオサ添加区では培養開始 3 時間後から減少傾向を示し、12 時間後には運動性を示す細胞はほぼ認められないという結果になった。また、乾燥させたアオサを使用した場合にはその傾向はいっそう顕著であり、培養開始 3 時間後には運動性を示す細胞は開始時の 15%程度であった。

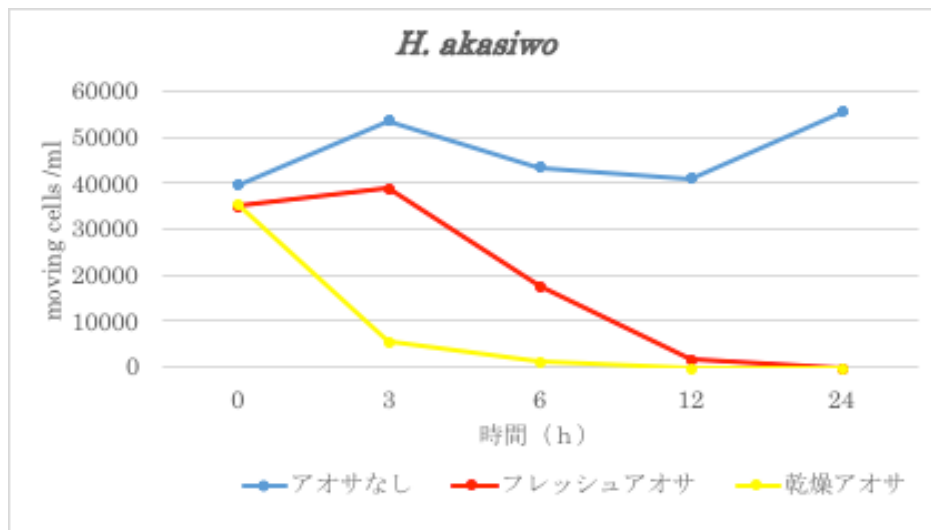


Fig.2 *Heterosigma akasiwo* に対するアオサの殺藻性能

Fig. 3 には *Karenia mikimotoi* の結果を示した。コントロール区は *H. akasiwo* と同様にほとんど変化がみられなかったが、アオサを添加すると運動性を示す細胞の数はやや減少する結果となった。一方、乾燥させたアオサを添加すると培養開始 3 時間後には 90 %以上の細胞が運動性を失い、6

時間後には 100 %の細胞が運動性を失った。24 時間後には細胞自体がバーストしていた。

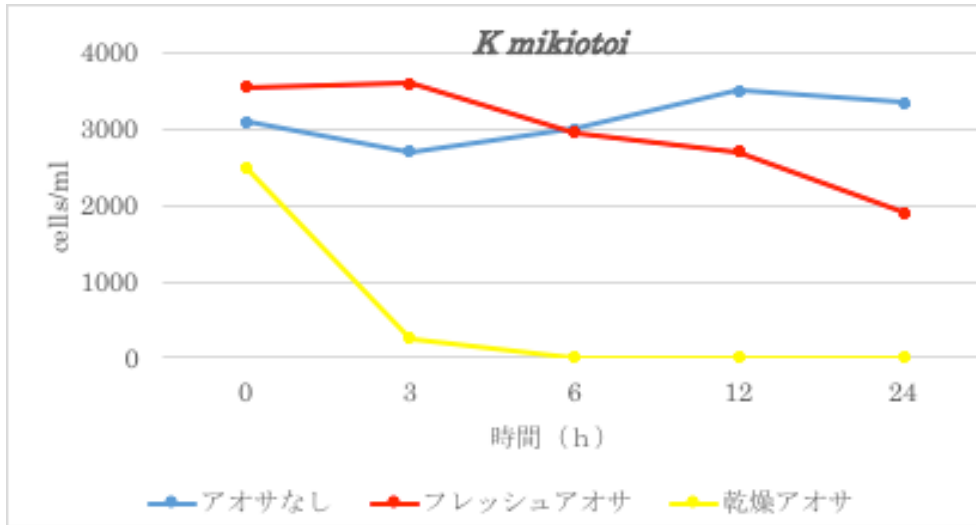


Fig.3 *Karenia mikimotoi* に対するアオサの殺藻性能

Fig. 4 には *Chatonella marina* に対するアオサの殺藻性能を示した。ほとんど変化がみられないコントロール区に比べてアオサを添加すると運動性を示す細胞は減少するものの、培養開始 48 時間後でも約 40 %の細胞は運動性を保っていた。乾燥させたアオサを添加すると、フレッシュなアオサに比べてやや減少傾向は大きかった。

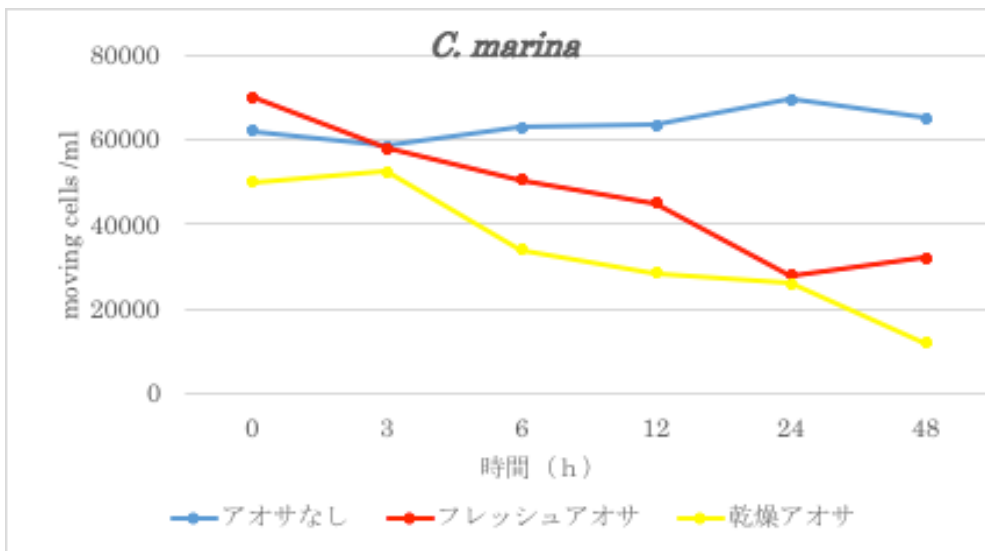


Fig.4 *Chatonella marina* に対するアオサの殺藻性能

Fig. 5 には *Cochlodinium polykrikoides* に対するアオサの殺藻性能を示した。アオサを添加すると3時間後には運動性を示す細胞は培養開始時の約65%になり、6時間後には約40%、24時間後には10%程度に減少した。一方、乾燥したアオサと混合培養した際には培養開始1時間後には約85%が運動性を失い、12時間後にはすべての細胞が動かなくなった。

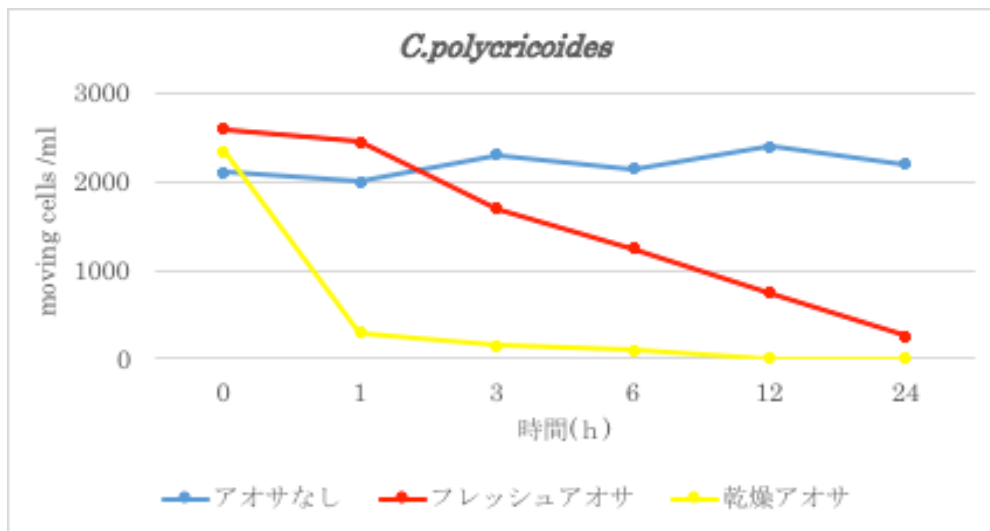


Fig.5 *Cochlodinium polykrikoides* に対するアオサの殺藻性能

### 3.2. 赤潮藻類に対するアオサ抽出画分の殺藻性

アオサから抽出した水溶性画分を赤潮藻類に添加して培養した際の影響を Fig. 6 に示した。アオサを添加して混合培養するのと同様の方法で運動性を示す細胞をカウントし、6 時間後の運動性を

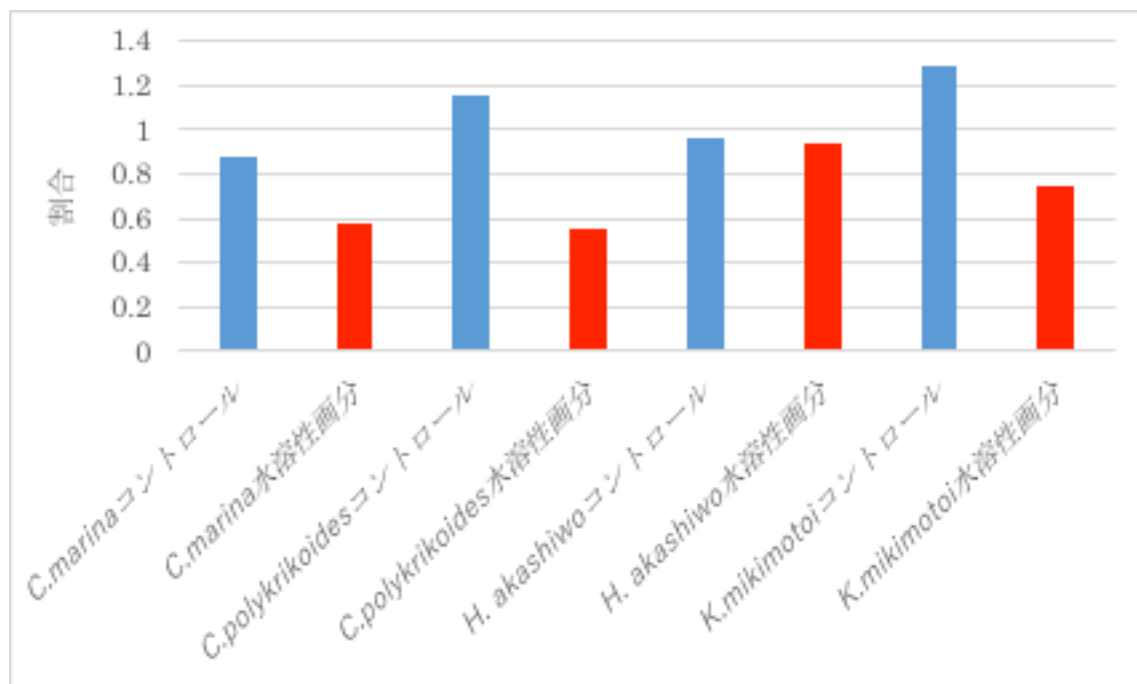


Fig.6 水溶性画分を加えた際の培養開始時に対する6時間後の動く細胞の割合

示す細胞の割合を示すことで影響を評価した。その結果、*C. polykrikoides* > *K. mikimotoi* > *C. marina* の順で効果が見られたが、*H. akashiwo* に対してはほとんど効果が見られなかった。

Fig. 7 にアオサから抽出したメタノール抽出画分を赤潮藻類に添加して培養した際の影響を示した。赤潮藻類にアオサのメタノール抽出画分を加えたところ、*C. Polykrikoides* = *H. akashiwo* > *C. marina* > *K. mikimotoi* の順で影響を強く受け、運動性を示す細胞が減少した。また、その程度は水溶性画分よりも大きかった。

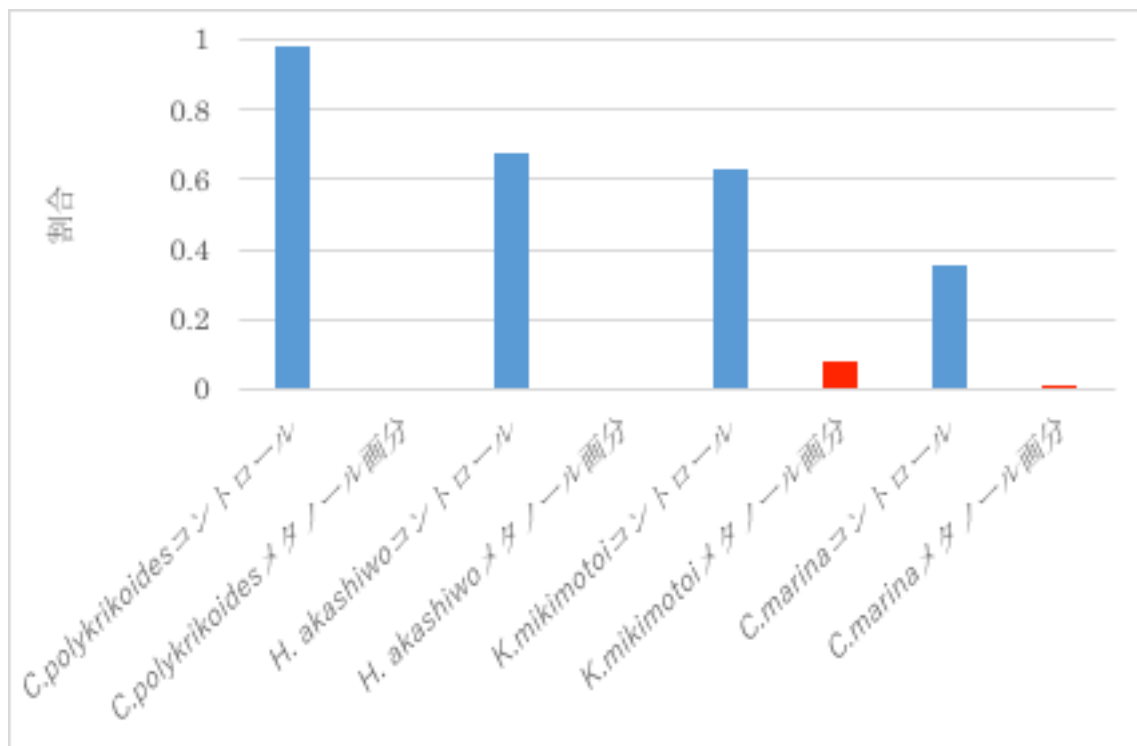


Fig.7 メタノール抽出画分を加えた際の培養開始時に対する 6 時間後の動く細胞の割合

### 3.3. 赤潮藻類に対する試作した赤潮防除剤の影響

球状に成形した防除剤(Fig. 1)を赤潮藻類に添加した結果、実験開始 1 時間後には程度は異なるものの、いずれの藻類も運動性を示す細胞は減少し、3時間後には 90 %以上の細胞が動かなくなった。このあと、細胞はほとんどバーストし、死滅した。

#### 4. 考察

4種類の代表的な赤潮藻類と天然のアオサを混合して培養すると、いずれの藻類も影響を受けて運動性を失うことが分かった。ただし、その程度は藻類の種類によって異なることも明らかになった。さらに、アオサを乾燥させた場合にはその殺藻性は低下することなく、むしろ大きくなる傾向にあった。これはアオサに含まれる殺藻成分が熱に安定性があり、乾燥による影響も受けなため、水分が減少した分だけアオサの重量あたりの活性は大きくなるからだと考えられる。アオサを赤潮防除剤に利用することを考えると乾燥させても殺藻性能が低下しないことは、その保存性や流通性の向上につながると考えられる。

アオサから抽出した水溶性画分とメタノール画分の結果を比べると、メタノール抽出画分の方がより大きな効果が現れたため、殺藻能の強い物質は脂溶性の物質であると考えられる。Alamsjahらの研究によると海藻に含まれる殺藻成分は飽和脂肪酸が重要な働きを示しているという報告がある<sup>1)</sup>。本研究の結果もこの報告を指示する結果となった。

乾燥させたアオサを用いて赤潮防除剤を試作し、性能を評価した。その結果赤潮藻類に添加後3時間以内にほとんどの細胞が運動性を失った。今回は1% (w/w)になるように添加したが、養殖いけす付近で赤潮が発生したような状況で早急な対策が必要な場合には一定の効果がえら得ると考えられる。

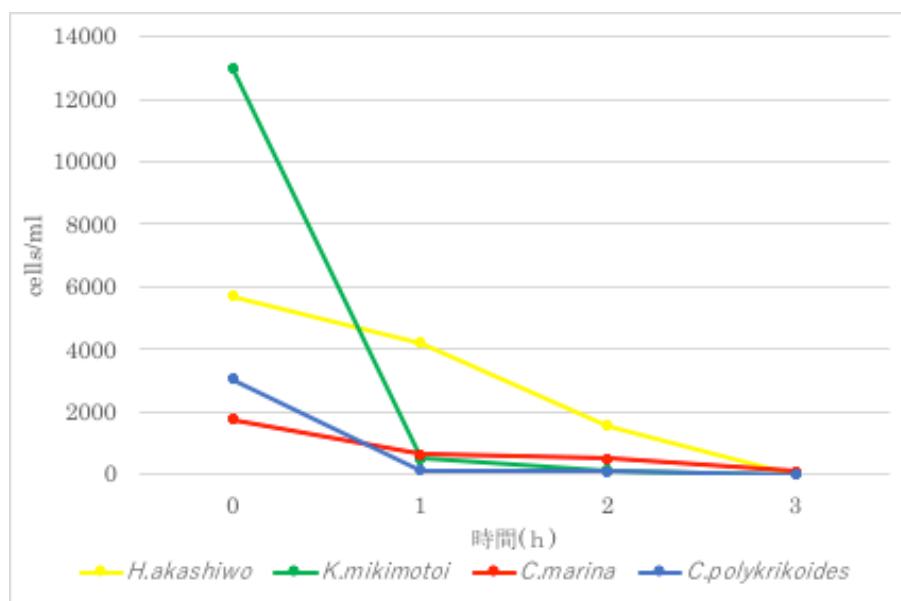


Fig. 8 赤潮藻類に対する試作した赤潮防除剤の影響

#### 5. 結論

海藻アオサを用いて赤潮防除を行うには十分な殺藻能を持つことが明らかになった。今後は効果を発揮する最低濃度を明らかにするなど、さらなる詳細な性能評価が必要になる。また、乾燥させたアオサを用いて赤潮防除剤の創生が可能であることも明らかになった。ただ



し、アオサによる殺藻性は対象となる微細藻類に選択性がほとんどないことから環境にどの程度影響があるのか明らかにしていく必要がある。

## 6. 謝辞

本研究を進めるにあたり、研究助成を頂いたサンケイ科学振興財団に深く感謝の意を表します。

## 7. 引用文献

- 1) 西広海, 田原義雄, 徳永成光, 久保満, 吉満敏, 中村章彦, 2012, 2009 年及び2010 年に八代海で発生した *Chattonella antiqua* 赤潮, 鹿水技研報, 3, 37-44.
- 2) M. A. Alamsjah, S. Hirao, F. Ihibashi and Y. Fujita, 2005, Isolation and Structure Determination of Algicidal Compounds from *Ulva fasciata*, Biosci. Biotechnol. Biochem., 69 (11), 2186-2192.

# The establishment of the red tide prevention agent using the seaweed, *Ulva* sp.

Suguru Okunishi

Faculty of Fisheries, Kagoshima University, 4-50-20 Shimoarata, Kagoshima, 890-0056, Japan

Tel; +81-99-286-4133, E-mail: okunishi@fish.kagoshima-u.ac.jp

Red tide is 'AKASHIO' in Japanese. The red tide is caused by a microalgal explosive growth. The red tide gives the damage to the aquatic organisms. Especially in the case of aquaculture for fish and selfish, it becomes the urgent problem all over the world as well as Japan. In Kagoshima prefecture, aquaculture is one of the most important industry. Therefore, red tide is a pain in the neck. It will greatly contribute to development of Kagoshima to solve the problem of this red tide.

Anyway, I paid attention to a kind of seaweed because it is a known fact that seaweed attack a microalga. The algicidal activity of *Ulva* sp. is one of highest activity among seaweed. Accordingly, we used *Ulva* as the red tide prevention agent.

The microalgae was incubated with shredded

*Ulva* by using 6-well plate, then moving cells were counted by microscope. The four kind of microalgae, which are representative microalgae causing red tide in Kagoshima, *Heterosigma akashiwo*, *Karenia mikimotoi*, *Chattonella marina* and *Cochlodinium polykrikoides* were used. As the results, the algicidal activity of *Ulva* were shown to all microalgae which was used in this study. The effective concentration was 10 wet-g/L. In addition, the effect was also observed in dry *ulva*. The algicidal activity of dried *Ulva* was higher than that of fresh *Ulva*.

In conclusion, the *ulva* is usable for the control of the red tide. Because *ulva* is natural material, environment has little influence. Therefore, speedy and effective control will be made.