

海産付着珪藻 *Nitzschia* sp. の増殖に対する 酸化マグネシウム混合ポリエチレン被覆鋼線の影響

山本民次・浅岡 聡・原口浩一

広島大学大学院生物圏科学研究科, 〒739-8528 広島県東広島市鏡山1-4-4

要 旨 カキ養殖筏には多くの生物が付着し、中でもろ過摂食者は餌の摂取という点でカキと競合関係にあるため、カキの成長を阻害する要因の1つである。そこで、この研究では、カキ養殖に使われる針金について、生物付着の少ない素材を開発することを目的とし、従来の亜鉛メッキ鋼線に加え、アイオノマー・レジン（ポリエチレン）被覆鋼線、酸化マグネシウム（HUS[®]）混合ポリエチレン被膜鋼線（HUS混合率3%および5%）を用い、沿岸域に一般的な付着珪藻種 *Nitzschia* sp. の増殖に対する影響を実験的に測定した。その結果、(1) ポリエチレン自体は *Nitzschia* sp. の増殖を阻害しないが、亜鉛メッキ鋼線およびHUS混合ポリエチレン被覆鋼線は *Nitzschia* sp. の増殖を阻害する、また (2) HUS[®]混合ポリエチレン被膜鋼線では、HUS混合率が高いほど *Nitzschia* sp. の増殖阻害程度は強い、ということが明らかとなった。

キーワード：カキ、鋼線、珪藻、ポリエチレン、HUS

緒 言

カキ養殖には、養殖カキをつるすために鋼線が用いられており、ここにはさまざまな生物が付着する。付着生物の代表的なものとして、大型藻類のアオサやミル、動物ではホヤ、ヨコエビ、ワレカラ、ムラサキイガイなどが挙げられる。これらは「食う－食われる」の複雑な関係にあり、筏内で小生態系を成しているので、いまだその詳細を物質循環の観点から解明するには至っていない。ただ、カキという単一種を効率的に養殖生産するためには、これらの付着生物は不必要なものという見方が一般的なようである。とくに、ムラサキイガイやホヤ類は、カキと同様にろ過摂食者であるので、これらが付着することでカキが餌とする植物プランクトンを横取りし、カキの成長を低下させる原因と考えられる。したがって、カキ以外の生物付着量を抑制できれば、カキの成長の促進につながる可能性がある。

生物付着抑制のためにこれまで用いられてきた代表的な物質はTBT（トリブチルスズ化合物）であり、船底あるいは魚類養殖いけすの金網などにも防汚塗料として広く使われてきた。しかし、その毒性の強さから、生物および生態系への影響が懸念され、1992年からは国内造船所でのTBT塗料の完全使用自粛、1997年からは国内塗料工場での製造中止となった（<http://www.jsanet.or.jp/environment/index.html>）。したがって、これに代わる防汚材の開発が求められており、本研究ではHUS[®]をその候補として取り上げ、生物付着に関する実験を行った。

HUS[®]とは、株式会社ハスのホームページ（<http://homepage2.nifty.com/hus/introduction.html>）によれば、“Heat Up Sheet”の略で、酸化マグネシウムを主成分とする微粒子で、遠赤外線を放射する性質があるため（エドソン株式会社、2004）、シート状にしたり、繊維に混入させたりして加工することで、血行改善などのための健康器具として販売されているものである。トワロン株式会社（<http://www.towaron.co.jp>）による実験結果報告書では、イタビカズラを塩化ビニル被覆金網とHUS混合（3%と5%）塩化ビニル被覆金網に這わ

せて生育させたところ、HUS5%混合が最も成長が良かったとしている（トワロン株式会社，2004）。

自然海中での生物付着は、通常、バクテリアが最初に物質表面に付着することでいわゆる「バクテリア被膜」を形成することから始まる（菊地，2007）。バクテリアが被膜を形成すると、物質表面に防汚塗料などを塗布していてもその効果は急減するので、防汚塗料に弱い生物も次々と付着することになる。一方、遠赤外線放射は薄いバクテリア被膜を通り越して防汚効果が維持されることが期待される。付着生物の中でも微小で単細胞の付着珪藻は、大型の付着藻類や付着動物と違い、素材に近い付着位置で分裂増殖するので、HUSによる赤外線放射の効果が表れ易い。そこで本研究では、海産付着珪藻 *Nitzschia* sp. を用い、本種の増殖が HUS の作用で促進されるのか、あるいは抑制されるのかを室内実験的に確かめることを目的とした。

材料と方法

海田湾（広島湾奥部の枝湾）から単離した付着珪藻 *Nitzschia* sp. を培養し、これに通常の針金である亜鉛メッキ鋼線（図中 Galvanized）、一般的によく使われるポリエチレン被覆鋼線（アイオノマー・レジン，三井・デュボンポリケミカル株式会社；製品名ハイミラン®の被覆，http://www.mdp.jp/him/him_top.html，図中 Polyethylene）、HUS3% 混合ポリエチレン被覆鋼線（図中 HUS3% polyethylene）、HUS5% 混合ポリエチレン被覆鋼線（図中 HUS5% polyethylene）、の4種類の針金をそれぞれ加え、*Nitzschia* sp. の増殖を以下のように観察した。さらに、ガラスビーズ（平均粒径 0.1 mm，井内盛栄堂 BZ-01）に *Nitzschia* sp. のみを加えたものを対照区（図中 Control）とした。これは付着珪藻の増殖においては、必ず付着基質が必要であるからであり、通常の継代培養でも同様にガラスビーズを用いている。なお、*Nitzschia* sp. は広島湾を含め、沿岸海域で一般的に見られ、しばしば優占する付着微細珪藻種である。

培養にはオートクレーブ滅菌した 10 ml ガラス試験管を用い、これに *Nitzschia* sp. を海水強化培地である f2 培地（Guillard and Ryther, 1962）とともに 5 ml 入れ、これに試験用材料である各種針金を入れて通気性フィルター（サンバイオフィルター，Φ18，三富産業株式会社）を試験管の口に付けた。実験はすべて 3 本立てで行い、平均値と標準偏差を求めて統計処理を行うことで増殖の促進・抑制を評価した。培養は蛍光灯付き恒温培養装置（東京理化工学株式会社，EYELA FLI-160）を用い、本種の増殖のほぼ最適条件である、水温 15℃、塩分 25、光強度 66 μphotons m² sec⁻¹（12 時間明期，12 時間暗期，明期は 06:00–18:00）とした（山本ほか，2004）。

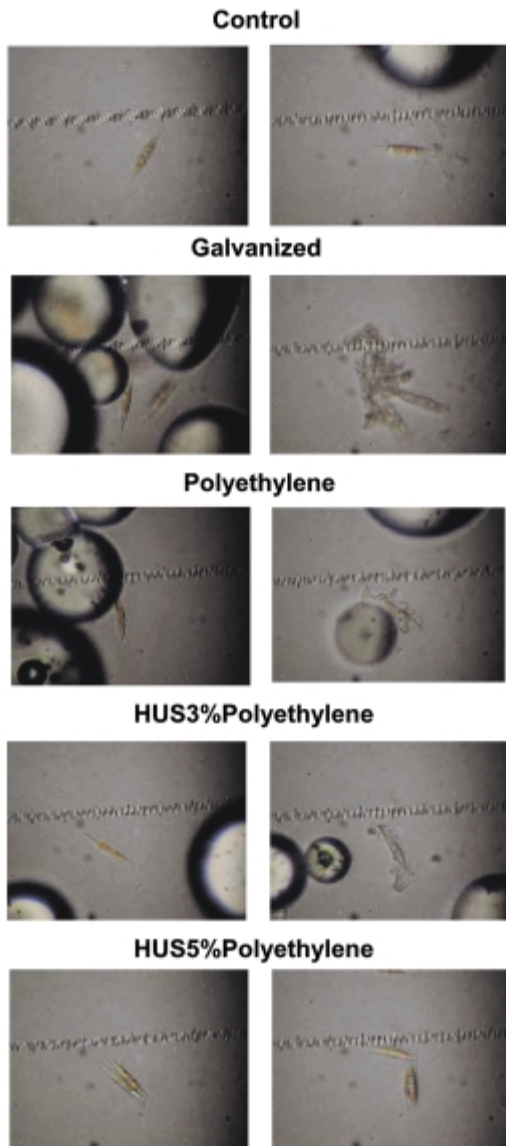
培養期間中は毎日 1 回午前 10 時に攪拌し、週 2 回程度の間隔で細胞の増殖状況を確認するため顕微鏡写真を撮るとともに、バイオマスの測定を行った。バイオマスの測定は蛍光光度計（Turner design 社製，Model 10）を用いることで、相対蛍光強度を *Nitzschia* sp. のバイオマスの指標とした。

試験は、1 回目（実験 I）2005 年 2 月 25 日～3 月 20 日（24 日間）、2 回目（実験 II）同年 3 月 26 日～4 月 11 日（17 日間）、3 回目（実験 III）同年 5 月 23 日～6 月 20 日（29 日間）、の合計 3 回行った。実験 I では、各種 1 cm 長の針金 3 本を 1 つの試験管に入れ、これを 3 本立てとして実験を行った。後述するが、対照区以外のすべての試験区で *Nitzschia* sp. の増殖が阻害されたため、鋼線から溶出する重金属の影響あるいは実験開始時の細胞密度が低いことが原因であると判断した。そこで、実験 II では、1 cm 長の針金を 1 本とするとともに、初期細胞密度を 3 倍程度に増やした。しかしながら、やはり対照区以外のすべての試験区で *Nitzschia* sp. の増殖が阻害された。そこで、実験 III では、鋼線部分を使わず被覆部分のみをそれぞれ約 1 g 用いて実験を行った。*Nitzschia* sp. の初期細胞密度は実験 I と同程度である。

結果と考察

実験 I (Fig. 1, Photo 1)

培養において、最初の一週間程度は対照区、実験区とも誘導期（増殖の遅延期）が見られた（Fig. 1）。その後、対照区では *Nitzschia* sp. は順調に増殖し、バイオマスを表す蛍光値は約 25 程度まで上昇した。一方、針金類を入れたすべての実験区では増殖が阻害された。実験開始時と終了時の細胞の様子を表す顕微鏡写真を Photo 1 に示す。培養開始時にはすべての実験区で細胞内に色素が見られるが、実験終了時には対照区以外の実験区では細胞内の色素が抜けるなど、ほとんどが死細胞であることが明らかである。



針金類を入れたすべての実験区で*Nitzschia* sp.の増殖が阻害されたことから、鋼線から何らかの有害な物質が溶出していると考えられた。鋼線を裁断して実験に供したため、鋼線あるいは被覆部分の切断面からの物質の溶出の可能性が高い。あるいは、付着珪藻*Nitzschia* sp.が増殖するには付着基質との親和性が重要であり、必ずしも増殖阻害物質が原因ではなく、鋼線表面が付着基質として適切でなかったかもしれない。これらの点について確認するため、続けて以下の実験を行った。

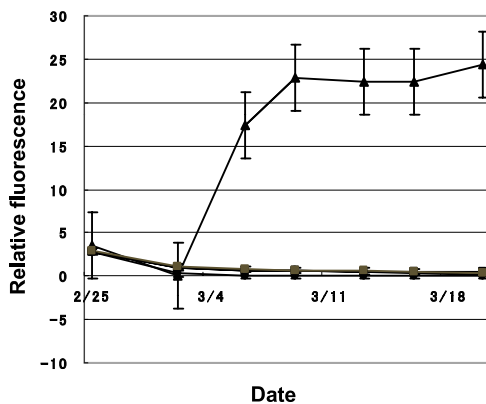
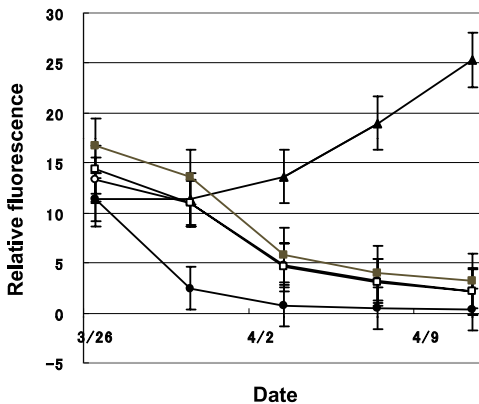
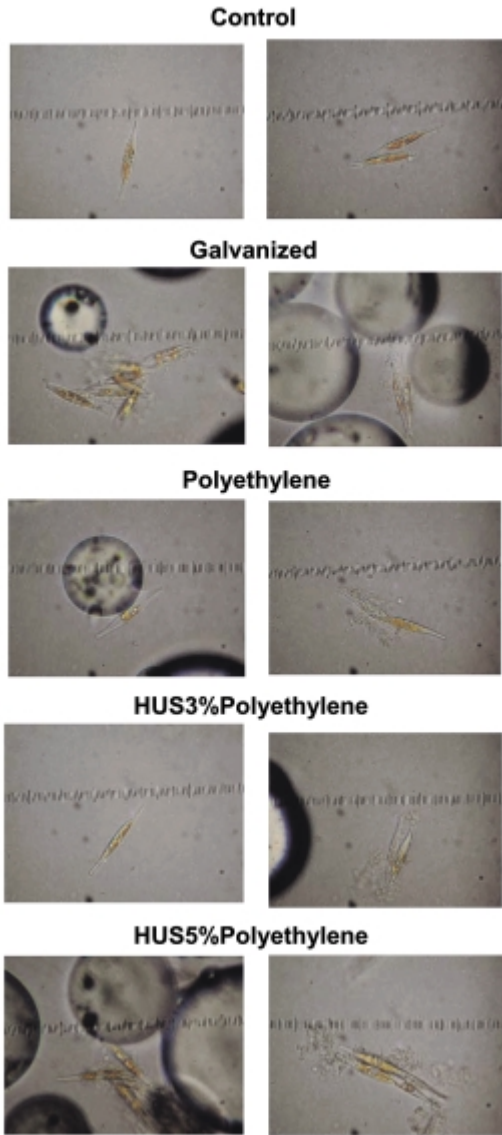


Photo 1. Exp. I. Photographs of *Nitzschia* sp. grown on various steel wires coated with different materials, showing the cell conditions at initial (25 Feb; left) and final (20 Mar; right) of the experiment in 2005. Round transparent materials are glass beads used for substrates on which *Nitzschia* sp. attached and grow.

▲ Control
● Galvanized
○ Polyethylene
□ HUS3%polyethylene
■ HUS5%polyethylene

Fig. 1. Exp. I. Growth of *Nitzschia* sp. on various steel wires coated with different materials. Dates are in 2005.



実験 II (Fig. 2, Photo 2)

実験 Iにおいて、針金類を入れたすべての実験区で*Nitzschia* sp.の増殖が阻害されたことから、鋼線から何らかの有害な物質が溶出している可能性が考えられたので、針金の添加量を減らすとともに、*Nitzschia* sp.の相対的なバイオマス量を約3倍に増やすことで、影響を最小限に抑える設定で実験を行った。

しかしながら、ここでも同様に、*Nitzschia* sp.は対照区で順調に増殖したのに対して、鋼線類を入れたすべての実験区で増殖が阻害された (Fig. 2)。とくに、亜鉛メッキ鋼線による増殖阻害が最も顕著であった。ただし、ここでも対照区における蛍光値は約25程度まで上昇した。実験 Iと同様、顕微鏡写真においても、対照区を除いて細胞内の色素が抜けるなどの現象が明らかであった (Photo 2)。*Nitzschia* sp.が対照区で順調に増殖し、実験 Iと同程度にまでバイオマスが増加したことから、実験の環境設定 (温度、塩分、光、栄養塩など) に問題はないと判断された。

実験初期の細胞密度を約3倍に増やしたことから、*Nitzschia* sp.の増殖の阻害の程度は緩慢になったが、やはり鋼線や被覆部分から溶出する物質の影響あるいは鋼線表面の親和性が原因であることの確認はできなかった。

Photo 2. Exp. II. Photographs of *Nitzschia* sp. grown on various steel wires coated with different materials, showing the cell conditions at initial (26 Mar; left) and final (11 Apr; right) of the experiment in 2005. Round transparent materials are glass beads used for substrates on which *Nitzschia* sp. attached and grow.

- ▲ Control
- Galvanized
- Polyethylene
- HUS3%polyethylene
- HUS5%polyethylene

Fig. 2. Exp. II. Growth of *Nitzschia* sp. on various steel wires coated with different materials. Dates are in 2005.

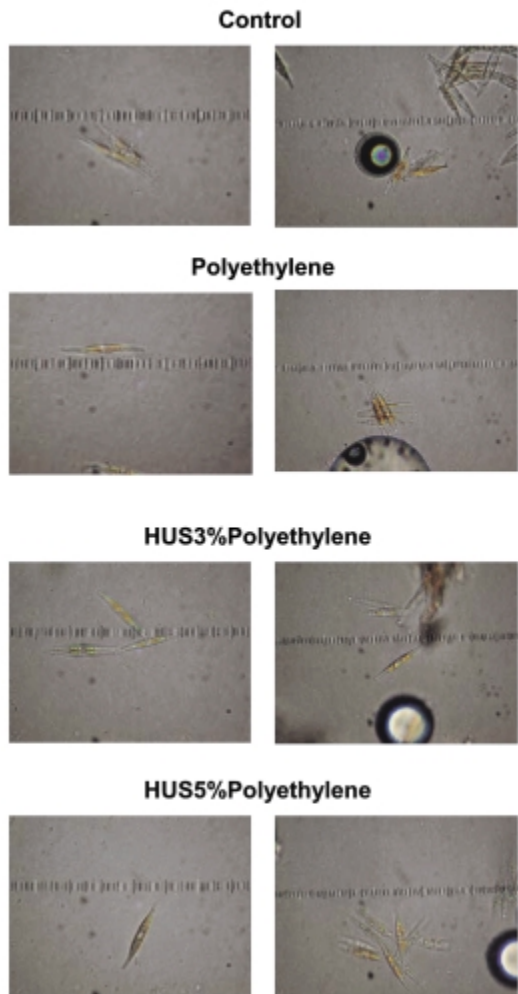


Photo 3. Exp. III. Photographs of *Nitzschia* sp. grown on various coating materials for steel wires, showing the cell conditions at initial (23 May: left) and final (20 June; right) of the experiment in 2005. Round transparent materials are glass beads used for substrates on which *Nitzschia* sp. attached and grow.

実験 III (Fig. 3, Photo 3)

実験 Iおよび IIの結果から、鋼線そのものを除外し、被覆部のみを用いた実験を行った。通常のポリエチレン被覆鋼線では*Nitzschia* sp.は対照区と同程度の増殖を示し、両者には統計的な有意差は見られなかった (Fig. 3)。このことから、アイオノマー・レジン自体は*Nitzschia* sp.に対する増殖阻害作用は無いことがわかった。つまり、アイオノマー・レジんで被覆したポリエチレン被覆鋼線では、亜鉛メッキ鋼線よりも附着物が増える可能性があることを示唆している。

一方、HUS混合ポリエチレンでは*Nitzschia* sp.の増殖は阻害され、HUS5%混合ポリエチレン被覆鋼線でHUS3%混合ポリエチレン被覆鋼線よりも阻害効果は有意に大きかった。それらの蛍光強度を通常のポリエチレン被覆鋼線のもの比べると、HUS3%ポリエチレン被覆鋼線では約1/2程度の阻害、HUS5%ではほぼ完全な阻害効果があることが読みとれる。顕微鏡写真でもやはり、HUS3%およびHUS5%ポリエチレン被覆鋼線の実験区において、細胞の状態が良くなかった (Photo 3)。

酸化マグネシウムを含むHUS®が遠赤外線を放射することは確認されているが (エドソン株式会社, 2004)、今回の実験からは*Nitzschia* sp.の増殖を阻害した原因が遠赤外線であるかどうかは確定できていない。

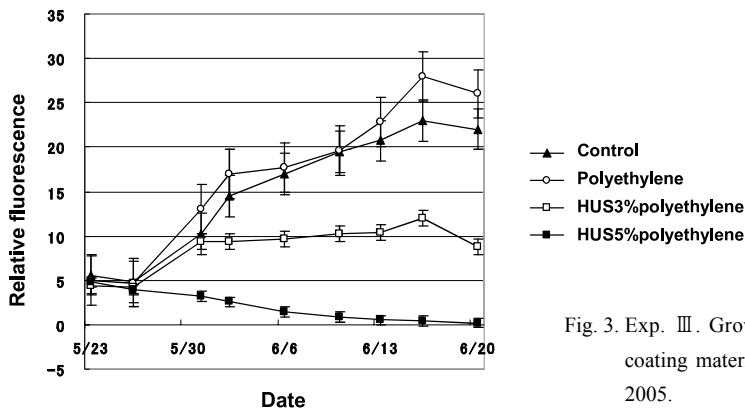


Fig. 3. Exp. III. Growth of *Nitzschia* sp. on various coating materials for steel wires. Dates are in 2005.

まとめと総合考察

今回の3回の実験から、以下のことが言える。

1. 素材として、アイオノマー・レジン（ポリエチレン）は*Nitzschia* sp.の増殖を阻害しないが、亜鉛メッキ鋼線およびHUS混合ポリエチレン被覆鋼線は*Nitzschia* sp.の増殖を阻害する。
2. HUS*を混合したポリエチレン被膜鋼線では、HUS混合率が高い5%の方が3%よりも*Nitzschia* sp.の増殖阻害程度は強い。

カキ養殖では、用いる針金やコレクター（通常、ホタテ貝殻）などにさまざまな生物が付着する。中でもカキと同じ餌を摂食するろ過食者などの競合生物が付着しない方が、カキの成長にとっては良いと考えられる。今回の実験から、通常の針金である亜鉛メッキ鋼線自体、付着珪藻の一種である*Nitzschia* sp.の増殖を強く阻害した。また、通常のアイオノマー・レジン（ポリエチレン）だけでは増殖を阻害しないが、これにHUSを混合したポリエチレンの方が*Nitzschia* sp.の増殖を阻害した。

アイオノマー・レジン（ポリエチレン）は耐摩耗性に優れるので（http://www.mdp.jp/him/him_top.html），これで被覆することにより、亜鉛メッキ鋼線の場合に比べて、例えば気象擾乱にともなうカキ筏の揺動による摩耗に対して強くなるのが現場試験から分かっている。しかしながら、今回の実験結果から分かるように、アイオノマー・レジンで亜鉛メッキ鋼線を被覆した場合には、付着生物が付きやすくなってしまい、亜鉛メッキ鋼線での生物付着のし難さと強度の増強とがトレードオフ関係になる。一方、HUSを混合したポリエチレン被覆鋼線では、摩耗耐性が高まる上、生物付着を阻害するので、カキ養殖にとっては好適であると考えられる。ただし、ポリエチレン素材は海域に放置されても鋼線のように腐食して自然消滅するという事は無いので、使用者は使用後の回収についても責任を持たねばならない。また、今回の研究により、HUS*が環境にやさしい防汚材としての利用可能性があることが明らかとなったが、この類の研究は緒に就いたばかりであるので、今後ともさらなる研究の積み重ねが必要であろう。

謝 辞

この研究は、トワロン株式会社（<http://www.towaron.co.jp>）による寄付金「HUSによる藻の発生変化の研究」により行われたものである。ここに謝意を表する。

引用文献

- エドソン株式会社. 2004. 遠赤外線放射率テスト. 7 pp.
- Guillard, R. R. L., Ryther, J. H. 1962. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Can. J. Microbiol.*, **8**: 229-239.
- 株式会社ハスホームページ：<http://www.hus-jp.com>
- 菊地靖志. 2007. 金属材料におけるバイオフィルム研究の重要性. ふえらむ, **12**: 275-281.
- 三井・デュボンポリケミカル株式会社ホームページ：http://www.mdp.jp/him/him_top.html
- 日本船主協会ホームページ：<http://www.jsanet.or.jp/environment/index.html>
- トワロン株式会社. 2004. 暖地性つる植物の登坂促進試験. 4 pp.
- 山本民次・呉 碩津・後藤郁恵. 2004. 底生微細藻*Nitzschia* sp.の増殖に及ぼす水温、塩分及び光強度の影響. 藻類, **52**: 5-11.

Effects of magnesium oxide - added polyethylene - coated steel wire on the growth of attached marine diatom *Nitzschia* sp.

Tamiji YAMAMOTO, Satoshi ASAOKA, and Koichi HARAGUCHI

*Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University
1-4-4 Kagamiyama, Higashi-Hiroshima, Hiroshima 739-8528, Japan*

Abstract Many organisms attached on suspended oyster culture rafts, particularly filter-feeding animals can prevent growth of culturing oyster, because they are competing feeds with oyster in the same niche. In the present study, effects of steel wires coated with various materials on growth of the ubiquitous attached diatom *Nitzschia* sp. were experimentally examined to develop a better steel wire in terms of less attached organisms. The wire used were a normal zinc-galvanized steel wire, a polyethylene (ionomer resin)-coated steel wire, and magnesium oxide (HUS[®])-added (3% and 5%) polyethylene coated steel wires. Following results were obtained, (1) all wires coated with different materials except the ionomer resin itself (as coating material) suppressed the growth of *Nitzschia* sp., and (2) 5% HUS[®]-added polyethylene-coated steel wire suppressed the growth of *Nitzschia* sp. greater than 3% added one did.

Key words: diatom, HUS, oyster, polyethylene, steel wire