

Research Report from the National Institute for Environmental Studies, Japan, No.110, 1987.

国立公害研究所研究報告 第110号

海域における赤潮発生モデル化に関する研究

Modeling of Red Tide Blooms in the Coastal Sea

昭和59/60年度 特別研究総合報告

Final Report in 1984-1985

環境庁 国立公害研究所

THE NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES

特別研究「海域における赤潮発生モデル化に関する研究」
(期間 昭和57～60年度)

特別研究責任者：合田 健* 水質土壌環境部長（昭和57～60年度）
特別研究 幹事：渡辺正孝
報告書編集担当：原島 省

(* 昭和61年3月 退任)

序

赤潮の発生とその被害対策は決して新しい問題ではなく、古くから多くの研究が行われてきた。また、赤潮の原因となる微生物の古典的分類学の記述も多い。しかし栽培漁業が増え、また、閉鎖性海域の富栄養化が急激に進んだ近年の赤潮問題は質・量ともに変化し、環境問題として大きな課題となり、それに伴い新しい研究の必要性が生じてきた。国立公害研究所では、これに対応するために、1979～1981年度に特別研究として「海域における富栄養化と赤潮の発生機構に関する基礎的研究」を行い、研究報告 R-30-'82 および R-63-'84 を出版した。さらにこれらを引き継ぐ形で、「海域における赤潮発生のモデル化に関する研究」のプロジェクトが、1982～1985年度に行われた。このプロジェクトの中間報告はすでに R-80-'85 という形で出版されたが、本号はその最終報告である。

赤潮の発生には、物理学、化学、生物学的な諸要素が緊密に、また大層複雑に関連しあっている。そして必然的要素の他、偶発的要素の関与の如何が一つの問題となる。したがって研究手段にも、それらに対応して、ミクロで厳密な室内実験、現場での海洋フィールド実験、さらには数理的解析とそれらを有機的に結び付ける学際的研究体制が必要であった。また、時間的にも何年かにはまたがる経年的研究が不可欠であった。これらのことは、上記二つの特別研究の遂行によって順次整備解決されてきたものであり、また、いろいろの分野の研究者をかかえた本研究所で行う研究の特徴ともなってきたといえる。

室内実験としては、赤潮藻類の生活史を通じての基礎的培養の他に、本研究所に設けられた大型マイクロコズムによる日周性解析の研究が行われた。また、内湾密度流実験装置等により、内湾・外洋間の海水交換の基礎研究が行われた。また、汽水域における AGP手法や、瀬戸内海における現場型マイクロコズムのようなアプローチにより、現場海域における研究体制も整備されつつある。

このような方法により赤潮藻類として重要な *Chattonella antiqua* の生理的特性、特に栄養塩濃度、水温、塩分等に対する増殖速度の依存性に関するデータを基礎にして、当初の目的である赤潮生態系の数理モデル化に至った。また、物理的要素として水温・塩分成分層状態、海水交換量等を既知のデータから再現する熱塩循環流の数値シミュレーションモデルの作製も行われた。

これらの研究成果は赤潮発生機構解明にとって大きな前進となったものであるが、もとよりこれらの成果は当研究所員のみによるものではなく、客員研究員あるいはシンポジウム等に参集していただいて広汎な御指導を賜った多くの方々のご協力によるところが大きい。また、海域の現場の方々のご御理解のお陰によって、実験室とフィールドでのデータを総合して研究することができた。さらにこの特別研究について関係行政諸機関の方々から多くの御支援、御理解を得た。ここにこれらの方々へ深謝する。しかしながら、赤潮現象は複雑であり、今回の知見をもとに更に研究が必要である。この研究報告と今後の研究活動に対して一層の御批判、御指導をお寄せいた

だくことを期待するものである。

昭和62年 4月

国立公害研究所
所長 江上信雄

目 次

| | |
|---|-----|
| I. 研究の概要と意義 | 1 |
| 渡辺正孝 | |
| II. 報文 | |
| 1. 汽水性水域の AGP の測定法 | 29 |
| 矢木修身・松丸美智代・東 禎三・須藤隆一 | |
| 2. 富栄養化した汽水湖・中海底泥中における硫酸還元速度 | 43 |
| 森 忠洋・矢木修身・須藤隆一 | |
| 3. 制御実験生態系（マイクロコスム）を用いた赤潮発生機構の解析（V） | |
| －赤潮鞭毛藻 <i>Heterosigma akashiwo</i> の増殖と細胞体積変化－ | 57 |
| 木幡邦男・渡辺正孝 | |
| 4. 制御実験生態系（マイクロコスム）を用いた赤潮発生機構の解析（VI） | |
| －赤潮鞭毛藻 <i>Chattonella antiqua</i> の増殖細胞に見られる C/N 比と、 光合成色素の構成比の日周変化－ | 67 |
| 木幡邦男・渡辺正孝 | |
| 5. 制御実験生態系（マイクロコスム）を用いた赤潮発生機構の解析（VII） | |
| －赤潮鞭毛藻 <i>Heterosigma akashiwo</i> の光制限同調培養下の増殖と そのモデル化－ | 79 |
| 木幡邦男・渡辺正孝 | |
| 6. ^{31}P -NMR を用いた <i>Heterosigma akashiwo</i> (Hada) Hada の体内リン蓄積 過程の解析 | 89 |
| 渡辺正孝・木幡邦男・功刀正行 | |
| 7. 塩分・リン酸塩による成層条件下での <i>Heterosigma akashiwo</i> の日周鉛 直移動と体内リン蓄積過程 | 103 |
| 渡辺正孝・木幡邦男・功刀正行 | |
| 8. 赤潮鞭毛藻 <i>Chattonella antiqua</i> の硝酸塩、アンモニウム塩、リン酸塩 摂取に及ぼす増殖条件の影響 | 115 |
| 中村泰男 | |
| 9. <i>Chattonella antiqua</i> の増殖抑制に及ぼす銅イオンの効果 | 127 |
| 中村泰男・沢井一浩・渡辺正孝 | |

| | |
|--|-----|
| 10. 大船渡湾における熱塩循環流の数値シミュレーション | 139 |
| 原島 省・渡辺正孝 | |
| 11. 鞭毛藻による生物対流の数値モデルを用いた周期-非周期振動への遷移現象の解析 | 163 |
| 藤田真一・渡辺正孝 | |
| 12. 生物対流パターンの遷移過程 | 175 |
| 原島 省・渡辺正孝・藤代一成 | |
| 13. 赤潮多発海域での制限栄養塩推定の試み-瀬戸内海西島(家島諸島)における現場海水を用いた <i>Chattonella antiqua</i> の半連続培養実験- | 197 |
| 中村泰男・沢井一浩・持田昌彦・渡辺正孝 | |
| 14. cage culture を用いた <i>Heterosigma akashiwo</i> (Hada) Hada の増殖特性と日周鉛直移動実験 | 213 |
| 渡辺正孝・野中昭彦・木幡邦男・中村泰男・原島 省・河原長美 | |
| 15. <i>Chattonella antiqua</i> の生態モデル | 247 |
| 渡辺正孝・中村泰男・木幡邦男 | |

CONTENTS

| | | |
|-----|--|-----|
| I. | Outline and Significance of the Studies ----- | 1 |
| | Masataka WATANABE | |
| II. | Papers | |
| 1 | Determination of AGP in Brackish Water ----- | 29 |
| | Osami YAGI, Michiyo MATSUMARU, Teizo HIGASHI and Ryuichi SUDO | |
| 2 | Sulfate Reduction Rate in Sediment of Eutrophic Brackish, Lake Nakanoumi ----- | 43 |
| | Tadahiro MORI, Osami YAGI and Ryuichi SUDO | |
| 3 | The Use of a Controlled Experimental Ecosystem (Microcosm) in Studies of Mechanism of Red Tide Outbreaks (V) -Growth and Cell Volume Change of <u>Heterosigma akashiwo</u> , a Red Tide Flagellate- ----- | 57 |
| | Kunio KOHATA and Masataka WATANABE | |
| 4 | The Use of a Controlled Experimental Ecosystem (Microcosm) in Studies of Mechanism of Red Tide Outbreaks (VI) - Diurnal Changes of C/N Ratio and Distribution of Chloroplast Pigments in the Culture of <u>Chattonella antiqua</u> , a Red Tide Flagellate- ----- | 67 |
| | Kunio KOHATA and Masataka WATANABE | |
| 5 | The Use of a Controlled Experimental Ecosystem (Microcosm) in Studies of Mechanism of Red Tide Outbreaks (VII) -Growth and its mathematical model of <u>Heterosigma akashiwo</u> , a Red Tide Flagellate, in light-limited synchronous cultures- ----- | 79 |
| | Kunio KOHATA and Masataka WATANABE | |
| 6 | ³¹ P-NMR Studies of Intracellular Phosphate Accumulation in <u>Heterosigma akashiwo</u> (Hada) Hada ----- | 89 |
| | Masataka WATANABE, Kunio KOHATA and Masayuki KUNUGI | |
| 7 | Diel Vertical Migration of <u>Heterosigma akashiwo</u> under Salinity and Phosphate Stratifications and Metabolism of Intracellular Phosphate Pools ----- | 103 |
| | Masataka WATANABE, Kunio KOHATA and Masayuki KUNUGI | |
| 8 | Effects of Growth Conditions on Nitrate, Ammonium and Phosphate Uptake by <u>Chattonella antiqua</u> ----- | 115 |
| | Yasuo NAKAMURA | |

| | | |
|----|---|-----|
| 9 | Growth Inhibition of a Red Tide Flagellate, <u>Chattonella antiqua</u> by Cupric Ion ----- | 127 |
| | Yasuo NAKAMURA, Kazuhiro SAWAI and Masataka WATANABE | |
| 10 | A Numerical Simulation of the Thermohaline Circulation Applied to Ofunato Bay ----- | 139 |
| | Akira HARASHIMA and Masataka WATANABE | |
| 11 | Transition from Periodic to Non-periodic Oscillation Observed in a Mathematical Model of Bioconvection by Motile Micro-organisms ----- | 163 |
| | Shin-ichi FUJITA and Masataka WATANABE | |
| 12 | Transition Processes in the Pattern of the Bioconvection ----- | 175 |
| | Akira HARASHIMA, Masataka WATANABE and Issei FUJISHIRO | |
| 13 | An Approach to Estimate the Limiting Nutrient of <u>Chattonella antiqua</u> in the Seto Inland Sea - Semicontinuous Culture Using Natural Seawater- -- | 197 |
| | Yasuo NAKAMURA, Kazuhiro SAWAI, Masahiro MOCHIDA and Masataka WATANABE | |
| 14 | In Situ Cage Culture Experiment for the Growth of <u>Heterosigma akashiwo</u> (Hada) Hada and for the Diel Vertical Migration ----- | 213 |
| | Masataka WATANABE, Akihiko NONAKA, Kunio KOHATA, Yasuo NAKAMURA, Akira HARASHIMA and Masataka WATANABE | |
| 15 | Ecological Model of <u>Chattonella antiqua</u> ----- | 247 |
| | Masataka WATANABE, Yasuo NAKAMURA, Kunio KOHATA | |

研究の概要と意義

Out line and Significance of the Studies

渡辺正孝¹Masataka WATANABE¹

要 旨

本論文は昭和57年～60年度にわたる4年間に行われた特別研究「海域における赤潮発生のモデル化に関する研究」の最終報告書としてまとめられたものである。ここでは赤潮研究を推進していくために必要不可欠な、基礎的な純粋培養系、大量純粋培養装置である海洋マイクロリズム、海水交換機構解明のための内湾密度流実験装置、現場海域での藻類増殖ポテンシャル評価手法等の確立を行った。そしてそれらをもとに代表的な赤潮藻類種 (*Chattonella antiqua*, *Heterosigma akashiwo*) についての増殖特性の蓄積と整理を行った。特に赤潮鞭毛藻の増殖に及ぼす化学環境影響の定量化及び鞭毛藻の示す日周鉛直移動性に対する環境因子の影響とその栄養塩摂取における生態的優位性等を明らかにした。瀬戸内海夏期には、安定した塩分・水温による成層が存在し、その結果表層では栄養塩が欠乏しているが底層では栄養塩が豊富に存在するという状態が特徴的に出現する。そのような海域での鞭毛藻の示す日周鉛直移動性が夜間底層での栄養塩摂取を可能にし結果として赤潮発生に至る環境形成を行っていることが判明した。さらに底層でのシスト発芽過程、日周鉛直移動による底層での栄養塩摂取及び化学環境と増殖過程、移流・混合等海洋物理過程が相互に複雑に関与し合っていることが実験的に明らかになった。それら集積された知見を赤潮モデルとして定量・総合化し、*Chattonella antiqua* 赤潮発生に至る環境因子（水温、照度、窒素・リン濃度、シスト発芽濃度、海水交換性、成層位置、日周鉛直移動速度、鉛直混合度、動物プランクトンによる捕食等）の寄与を感度解析により明らかにした。本モデルは継続的に観測が行われている赤潮多発海域である兵庫県家島海域に適用され、*C. antiqua* 自身の増殖能力のみならず

-
1. 国立公害研究所 水質土壌環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Water and Soil Environment Division, the National Institute for Environmental
Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

動物プランクトンによる捕食，他藻類種との競合や海洋構造（特に海水交換性，成層位置），気象条件（照度，風による鉛直混合），化学環境などの環境因子の組み合わせにより赤潮発生に至ることを数値的に予測した。

Abstract

This is the final report of the research on "modeling of red tide blooms in the coastal sea", which had been conducted from 1982 to 1985. In order to achieve the goal of the project several methodology had been developed, namely basic axenic culture, marine microcosm of large scale culture experiment, the experimental channel for the study of exchange in bays induced by density current and the evaluation method of algal growth potential in situ. Then the growth characteristics of red tide algae (Chattonella antiqua, Heterosigma akashiwo) had been investigated extensively, particularly quantitative evaluation of the effects of chemical environment on the growth of red tide algae, the evaluation of the effects of environmental factors on the characteristics of diel vertical migration and the ecological advantage of diel vertical migration on nutrient uptake. It had been clearly demonstrated that in the summer period in Seto Inland Sea the following environmental conditions were typically observed such as the stable stratification due to salinity and temperature, and consequently low nutrient concentration in the surface and high nutrient concentration in the bottom. Such environmental conditions combine with diel vertical migration make possible for flagellates to uptake nutrient in the bottom during night and those are attributed for the mechanism of the outbreaks for red tides. Furthermore, it was found experimentally that complex interactions were existing among several environmental factors, such as excystment process in the bottom, nutrient uptake in the bottom due to diel vertical migration, chemical environment and growth process, advection and vertical mixing. These findings were integrated as numerical model of red tide and the sensitivity analysis was conducted in order to evaluate the contribution to the outbreaks of red tide by C. antiqua from various environmental factors (such as water temperature, irradiance, nutrient concentration, cell concentration from excystment, exchange current, depth of stratification, speed of vertical migration, vertical mixing, grazing by zooplankton). This model was applied to the field of Ieshima island, where was one of the most well-known sea for the red tide outbreaks. The model predicted the outbreaks of red tide which were induced not only by the growth of C. antiqua but also the combination of various environmental factors such as grazing by zooplankton, competition among other algae, physical oceanographical structure (exchange current, depth of

stratification), meteorological condition (irradiance, vertical mixing due to wind) and chemical environment.

1 研究の目的

昭和54～56年度に実施された特別研究「海域における富栄養化と赤潮の発生機構に関する基礎的研究」においては、1) 赤潮研究を推進していくための基礎的な室内培養実験手法の確立、2) 大量純粋培養装置である海洋マイクロゾムの開発、3) 海水交換機構解明のための内湾密度流実験装置の開発、等研究手段・研究方法の確立をまず行った。その中で代表的な赤潮藻類種（特に *Chattonella antiqua*, *Heterosigma akashiwo*）についての生物学的知見の蓄積と整理を行うと共に、赤潮形成に至るまでの環境形成に強く関与している海洋物理学及び海洋化学的な諸現象の抽出を行った。それらの成果は国立公害研究所研究報告第30号及び第63号にまとめられている。それら基礎研究を通じて以下のような研究の必要性が明らかになった。すなわち i) 同一赤潮藻類種についての増殖過程、シスト形成・休眠・発芽にわたる一貫した生活史を明らかにする、ii) 鞭毛藻類の示す日周鉛直移動性に対する環境因子の影響とその生態的意味の解析、iii) 室内培養及び現場培養実験による赤潮鞭毛藻類増殖過程の定量的解析、iv) 赤潮鞭毛藻類の増殖と細胞内組成の日周変化、v) 汚濁物質別の赤潮藻類の増殖に及ぼす影響のAGP及び多様性指数による評価、vi) 現場海域における単一赤潮藻類種の解析から、複合藻類種間の競合及び赤潮発生生態系の解析、vii) 赤潮鞭毛藻の増殖にかかわる種々素過程の定量化と赤潮発生過程のモデル化を行う、等である。

以上の点をふまえて本特別研究では赤潮発生現象を海域の生態系変遷の中でとらえ、赤潮発生の物理的・化学的・生物的過程を室内実験及び現場海域での実証実験により総合的に解析する。これら赤潮藻類をとりまく基礎的知見の蓄積を行い、赤潮発生過程のモデル化を行うことを目的とする。

2 研究課題と研究組織

本特別研究の目的を達成するために次の5課題を設定した。

1. 増殖指標による富栄養化と赤潮発生の評価
2. ライフサイクル・シミュレーターによる周期的赤潮発生の予測
3. 赤潮発生生態系の物理的・化学的・生物的過程の解析
4. 現場型マイクロゾムによる赤潮発生生態系の解析
5. 赤潮発生生態系のモデル化

なお本特別研究をスタートした段階では「付着藻類の増殖特性に関する研究」を挙げていたが重点研究課題に集中して研究を行い最終目標を達成させる方針をとったため本課題は十分な展開が行い得なかった。本特別研究には国立公害研究所内の3部（水質土壌環境部、環境情報部、計

測技術部)の研究員15名が参加し、さらに次の客員研究員及び多数の共同研究員が参加した。

表1 研究担当者所属・氏名

| | |
|---------|--|
| 特別研究責任者 | 水質土壌環境部長 合田 健 |
| 水質土壌環境部 | |
| 海洋環境研究室 | 渡辺正孝・渡辺 信・原島 省 木幡邦男・中村泰男 |
| 陸水環境研究室 | 須藤隆一・田井慎吾・矢木修身 岡田光正・細見正明・山根敦子 稲森悠平 |
| 環境情報部 | |
| 情報システム室 | 宮崎忠国・安岡善文 |
| 計測技術部 | |
| 分析室 | 刃刀正行 |

表2 客員及び共同研究員所属・氏名

| | |
|-------|---------------------|
| 客員研究員 | 神山孝吉 (京都大学理学部) |
| | 狩谷貞二 (東北大学農学部) |
| | 福代康夫 (北里大学水産学部) |
| | 小林善親 (鹿児島大学理学部) |
| | 邑岡和昭 (高知県公害防止センター) |
| | 中川博次 (京都大学工学部) |
| | 池辺八洲彦 (筑波大学電子情報学系) |
| | 藤田真一 (大阪府生活環境部) |
| | 渡辺 弘 (兵庫県公害研究所) |
| | 井上 勲 (筑波大学生物科学系) |
| | 岩崎英雄 (三重大学水産学部) |
| | 中西正己 (京都大学理学部) |
| | 根井外喜男 (東日本学園大学) |
| | 水野 真 (道都大学・教養部) |
| | 市村輝宣 (東京大学応用微生物研究所) |

- 庵谷 晃 (東京水産大学)
 古城方和 (兵庫県公害研究所)
 河原長美 (岡山大学理学部)
 青山莞爾 (東邦大学理学部)
 吉野善彌 (東京理科大学工学部)
 岡田光正 (東邦大学理学部)
 森 忠洋 (島根大学)
 佐藤敦久 (東北大学)
 石橋良信 (東北学院大学)
 矢持 進 (大阪府水産試験場)
 滝本道明 (東邦大学)
 東 禎三 (日本大学農獣医学部)
 共同研究員 藤代一成 (筑波大学電子情報工学系)
 野中昭彦 (岡山大学工学部)
 沢井一浩 (東京理科大学工学部)
 持田昌彦 (東京理科大学工学部)
 松丸美智代 (東邦大学理学部)

赤潮シンポジウム ”生態と流体” 参加者

- 水野信二郎 (九州大学応用力学研究所)
 柳 哲雄 (愛媛大学工学部)
 西澤 敏 (東北大学農学部)
 三村昌泰 (広島大学理学部)
 日野幹雄 (東京工業大学工学部)
 早川典生 (長岡技術大学工学部)
 原沢英夫 (京都大学工学部)
 中田英昭 (東京大学海洋研究所)
 藤田真一 (大阪府生活環境部)
 川合英夫 (京都大学農学部)
 河原長美 (岡山大学工学部)
 村岡浩爾 (国立公害研究所水質土壌環境部)
 平田健正 (国立公害研究所水質土壌環境部)
 福島武彦 (国立公害研究所水質土壌環境部)

3 研究成果の発表

昭和57年度及び58年度に得られた研究成果は国立公害研究所研究報告第80号にまとめられている。その他関連する学会、研究雑誌等において研究成果が公表された。

表3 発表リスト

【口頭発表】

- Fujita, S. and M. Watanabe: The analysis of a mathematical model of bioconvection by motile microorganisms, Int. Symp. Math. Biol., Kyoto (60.11)
- 原島 省・渡辺正孝: 実験系における Gravity Current (I), 日本海洋学会1983年度春季大会, 東京 (58.4)
- 原島 省・渡辺正孝: 実験系における Gravity Current (II) - 数値モデル, 日本海洋学会 1983年度秋季大会, 函館 (58.10)
- 原島 省・渡辺正孝・藤代一成: 鞭毛藻による生物対流, 日本海洋学会 1984年度春季大会, 東京 (59.4)
- 原島 省・渡辺正孝・伊藤唯司: 二重拡散系における重力対流, 日本海洋学会 1984年度秋季大会, 京都 (59.10)
- 原島 省・渡辺正孝: キャベリング現象について, 日本海洋学会1985年度春季大会, 東京 (60.10)
- 原島 省・渡辺正孝・井野光秋: 二重拡散シア一境界面における熱輸送の測定, 日本海洋学会 1985年度秋季大会, 仙台 (60.10)
- 東 貞三・矢木修身: AGP試験法による海水の富栄養化, 昭和58年度水産学会, 京都 (58.10)
- 木幡邦男・渡辺正孝: マイクロコズム内での赤潮鞭毛藻 Heterosigma akashiwo の増殖 (2), 日本海洋学会1983年度春季大会, 東京 (58.4)
- 木幡邦男・渡辺正孝・山田 明: マイクロコズム内での赤潮鞭毛藻 Heterosigma akashiwo の増殖 (3) - 垂直移動と体積変化の日周性 -, 日本海洋学会1983年度秋季大会函館 (58.10)
- 木幡邦男・渡辺正孝・山田 明: マイクロコズム内での赤潮鞭毛藻 Heterosigma akashiwo の増殖 (4) - 乾燥重量と炭素・窒素含有量の日周性 -, 日本海洋学会1984年度春季大会, 東京 (59.4)
- 木幡邦男・渡辺正孝: 藻類細胞体積の連続自動測定, 日本海洋学会 1985年度春季大会, 東京 (60.4)
- 木幡邦男・渡辺正孝: マイクロコズム内での赤潮鞭毛藻 Heterosigma akashiwo の増殖 (5) 光制限培養での増殖速度, 日本海洋学会1985年度秋季大会, 仙台 (60.10)
- 宮崎忠国: 赤潮藻類 Olisthodiscus luteus の活性と分光特性, 第21回計測自動制御学会, 東京

(57.7)

- 森 正武・中島裕之・渡辺正孝: 潮汐流の有限要素解析に現れる連立一次方程式に対するICCG法, 数値計算アルゴリズム研究会, 京都 (57.11)
- 中村泰男: Chattonella antiqua および Heterosigma akashiwo のアルカリホスファターゼ活性, 日本海洋学会1983年度春季大会, 東京 (58.4)
- 中村泰男: Chattonella antiqua のアンモニウム塩摂取と硝酸塩摂取におよぼすアンモニウム塩の阻害効果について, 日本海洋学会1983年度秋季大会, 函館 (58.10)
- 中村泰男: Chattonella antiqua の栄養塩摂取と増殖の動力学について, 日本海洋学会1984年度秋季大会, 京都 (59.10)
- 中村泰男・渡辺 信: 赤潮ラフィド藻 Chattonella antiqua (ホルネリア) の増殖生理, 日本海洋学会1982年度春季大会, 東京 (57.4)
- 中村泰男・渡辺 信: Chattonella antiqua (ホルネリア) NO_3 , PO_4 uptake, 日本海洋学会1982年度秋季大会, 鹿児島 (57.10)
- 中村泰男・渡辺 信: 瀬戸内海に発生する赤潮 Chattonella antiqua の増殖生理特性 II. リン酸塩の摂取, アルカリホスファターゼ活性およびリン酸制限下での増殖の動力学, 日本藻類学会第7回大会, 室蘭 (58.7)
- 中村泰男・渡辺 信: Chattonella antiqua の栄養塩摂取と増殖の動力学, 「赤潮発生環境のモデリングに関する生理学的アプローチ」に関するシンポジウム, 東京 (58.10)
- 中村泰男・渡辺 信: 窒素またはリン制限下における Chattonella antiqua の増殖, 日本海洋学会1984年度春季大会, 東京 (59.4)
- 中村泰男・沢井一浩・渡辺正孝: 1984年夏, 瀬戸内海家島における Chattonella antiqua の現場海水培養実験, 日本海洋学会1985年度春季大会, 東京 (60.4)
- 中村泰男・沢井一浩・渡辺正孝: 銅イオンによる Chattonella antiqua の増殖阻害, 日本海洋学会1985年度秋季大会, 仙台 (60.10)
- 渡辺 信・奥沢 篤・木幡邦男・中村泰男: 赤潮鞭毛藻 Heterosigma akashiwo のリン制限下連続培養と増殖の動力学的解析, 日本植物学会第47回大会, 東京 (57.9)
- 渡辺 信・中村泰男: 瀬戸内海に発生する赤潮 Chattonella antiqua の増殖生理特性. 発生状況と増殖に影響を及ぼす環境因子, 日本藻類学会第7回春季大会, 室蘭 (58.7)
- Watanabe, M. M., Y. Nakamura and M. Watanabe: Physiological ecology of a red tide flagellate, Chattonella antiqua (Raphidophyceae) in the Seto Inland Sea, Int. Symp. Marine. Plankton, Shimizu (59.7)
- 渡辺正孝・原島 省: 組織的な鉛直循環流の実験的解析 (II), 日本海洋学会1983年度秋季大会, 函館 (58.10)
- 渡辺正孝・木幡邦男: Heterosigma akashiwo の細胞密度における日周変動, 日本海洋学会 1984

年度春季大会, 東京 (59.4)

Watanabe, M. and A. Harashima: The interaction between motile phytoplankton and Langmuir circulation, 4th Int. Symp. Ecol. Modelling, Tsukuba (59.8)

渡辺正孝・宮崎忠国: Heterosigma akashiwoの日周鉛直移動による表面集積と光吸収効率, 日本海洋学会1985年度春季大会, 東京 (60.4)

渡辺正孝・木幡邦男・功刀正行: Heterosigma akashiwoのポリリン酸形成と体内リン蓄積, 日本海洋学会1985年度秋季大会, 仙台 (60.1)

渡辺正孝・木幡邦男・中村泰男・原島 省・野中昭彦・中島重信: Heterosigma akashiwoの現場透析培養実験, 日本海洋学会1985年度秋季大会, 仙台 (60.10)

渡辺正孝・木幡邦男・功刀正行: ^{31}P -NMRによる赤潮鞭毛藻のポリリン酸代謝過程に関する研究, 第24回NMR 討論会, 筑波 (60.11)

[印刷発表]

Fujita, S. and M. Watanabe (1985): Transition from periodic to non-periodic oscillation observed in a mathematical model of bioconvection by motile micro-organisms. *Physica D*, 20, 435-443.

Harashima, A. and M. Watanabe (1986): Laboratory experiments on the steady gravitational circulation excited by cooling of the water surface. *J. Geophys. Res.*, 91, C11, 13056-13064.

Kohata, K. and M. Watanabe (1986): Synchronous division and the pattern of diel vertical migration of Heterosigma akashiwo (Hada) Hada (Raphidophyceae) in a laboratory culture tank. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 100, 209-224.

Nakamura, Y. (1985): Ammonium uptake kinetics and interactions between nitrate and ammonium uptake in Chattonella antiqua. *J. Oceanogr. Soc. Jpn.*, 41, 33-38.

Nakamura, Y. (1985): Kinetics of nitrogen- or phosphorus- limited growth and effects of growth conditions on nutrient uptake in Chattonella antiqua. *J. Oceanogr. Soc. Jpn.*, 41, 381-387.

Nakamura, Y. and M. M. Watanabe (1983): Growth characteristics of Chattonella antiqua (Raphidophyceae). Part 1. Effects of temperature, salinity, light intensity and pH on growth. *J. Oceanogr. Soc. Jpn.*, 39, 110-114.

Nakamura, Y. and M. M. Watanabe (1983): Growth characteristics of Chattonella antiqua. Part 2. Effects of nutrients on growth. *J. Oceanogr. Soc. Jpn.*, 39, 151-155.

Nakamura, Y. and M. M. Watanabe (1983): Nitrate and phosphate uptake kinetics of Chattonella antiqua grown in light/dark cycles. *J. Oceanogr. Soc. Jpn.*, 39, 167-170.

- Nakamura, Y., K. Sawai and M. Watanabe (1986): Growth inhibition of a red tide flagellate, Chattonella antiqua by copper. J. Oceanogr. Soc. Jpn, 42, 405-410.
- 渡辺 信・中村泰男 (1982): 赤潮—海の中の生命の混乱. 保健の科学, 24, 862-868.
- Watanabe, M.M., Y. Nakamura, S. Mori and S. Yamochi(1982): Effects of physico-chemical factors and nutrients on the growth of Heterosigma akashiwo Hada from Osaka Bay, Japan. Jpn. J. Phycol., 30(4), 279-288.
- Watanabe, M.M., Y. Nakamura and K. Kohata (1983): Diurnal vertical migration and dark uptake of nitrate and phosphate of the red tide flagellates, Heterosigma akashiwo Hada and Chattonella antiqua (Hada) Ono (Raphidophyceae). Jpn. J. Phycol., 31(3), 161-166.
- 渡辺正孝 (1983): 赤潮鞭毛藻が示す日周鉛直移動性の生態的役割, 微生物の生態11 -変動と制御をめぐって. (微生物生態研究会, 学会出版センター, 118p.), 151-167.
- 渡辺正孝 (1986): 沿岸海域における赤潮発生機構—研究の現状と今後の課題—. 用水と廃水, 28, 45-53.
- Watanabe, M. (1983): The modelling of red tide blooms. Application of ecological modelling in environmental management (S.E. Jørgensen, Elsevier Sci. Publ. Co., 735p.), 241-453.
- 渡辺正孝・原島 省 (1983): 生物対流の発生とその機構について. 第27回水理講演会論文集, 27, 199-205.
- Watanabe, M., D.R.F. Harleman and O.F.Vasiliev (1983): Two- and three-dimensional mathematical models for lakes and reservoirs. Mathematical Modeling of Water Quality (G. T. Orlob, John Wiley & Sons, 518p.), 274-336.
- Watanabe, M., H. Nakajima and M. Mori (1985): A finite element solution of a tidal current problem in the Seto Inland Sea by using the ICCG method. Int. J. Numer. Methods Eng., 21, 1427-1445.
- Watanabe, M. and A. Harashima (1986): Interaction between motile phytoplankton and Langmuir circulation. Ecol. Modelling, 31, 175-183.
- Watanabe, M., K. Kohata and M. Kunugi (1987): ³¹P Nuclear magnetic resonance study of intracellular phosphate pools and polyphosphate metabolism in Heterosigma akashiwo (Hada) Hada (Raphidophyceae). J. Phycol., 23, 54-62.
- 矢木修身 (1983): 微生物の代謝・土壌における自浄作用, 赤潮, 合成有機化合物の微生物分解. 須藤隆一編, 環境浄化のための微生物学, 講談社サイエンティフィック, 221p.
- 安岡善文 (1983): リモートセンシングによる環境監視. 月刊地球, 5, 668-672.

表4 中間報告書(国立公害研究所研究報告第80号)収録論文

| | |
|---|-----|
| 1. 研究の概要と意義----- | 1 |
| 渡辺正孝 | |
| II. 報 文 | |
| 1. 制御実験生態系(マイクロコズム)を用いた赤潮発生機構の解析(III) - 赤潮鞭毛藻 <i>Heterosigma akashiwo</i> の日周鉛直移動と日周体積変化の関係 ----- | 13 |
| 木幡邦男・渡辺正孝 | |
| 2. 制御実験生態系(マイクロコズム)を用いた赤潮発生機構の解析(IV) - 赤潮鞭毛藻 <i>Heterosigma akashiwo</i> の増殖中細胞にみられるC/N比とクロロフィル a/c 比の日周変化----- | 23 |
| 木幡邦男・渡辺正孝 | |
| 3. <i>Heterosigma akashiwo</i> の日周鉛直移動による表面集積とマイクロコズム内の光吸収係数----- | 33 |
| 渡辺正孝・宮崎忠国 | |
| 4. <i>Heterosigma akashiwo</i> のリン酸塩摂取と ³¹ P-NMR によるポリリン酸代謝過の計測----- | 47 |
| 渡辺正孝・木幡邦男・功刀正行 | |
| 5. <i>Chattonella antiqua</i> によるアンモニウム塩摂取及び硝酸塩-アンモニウム塩摂取の相互作用----- | 57 |
| 中村泰男 | |
| 6. <i>Chattonella antiqua</i> と <i>Heterosigma akashiwo</i> のアルカリホスファターゼ活性----- | 67 |
| 中村泰男 | |
| 7. 窒素あるいはリン制限下における <i>Chattonella antiqua</i> の増殖の動力学----- | 73 |
| 中村泰男 | |
| 8. 内湾における熱塩循環流の実験的研究----- | 85 |
| 原島 省・渡辺正孝 | |
| 9. 鞭毛藻による生物対流の数値実験的研究----- | 103 |
| 原島 省・渡辺正孝・藤代一成 | |
| 10. 現場マイクロコズムにおける <i>Heterosigma akashiwo</i> の増殖----- | 119 |
| 渡辺正孝・渡辺 信・木幡邦男・中村泰男・原島 省 | |

表5 赤潮シンポジウム報告集収録論文 -生態と流体-

セッション A

- | | |
|-----------------------------|----|
| 1. 卵・稚子魚の輸送にかかわる微細海洋構造----- | 1 |
| (東大・海洋研) 中田英昭 | |
| 2. 海洋生態系の安定度について----- | 12 |
| (東北大・農) 西澤 敏 | |
| 3. 海洋生物の集散係数について----- | 13 |
| (京大・農) 川合英夫 | |
| 4. 湖における物質の沈降現象について----- | 25 |
| (国立公害研・水質) 福島武彦 | |

セッション B

- | | |
|-------------------------------|----|
| 5. 生物対流における振動現象について----- | 41 |
| (大阪府・公害監視センター) 藤田真一 | |
| (国立公害研・水質) 渡辺正孝・原島 省 | |
| 6. パッチネスと拡散----- | 55 |
| (広島大・理) 三村昌泰 | |
| 7. Langmuir 循環流について----- | 57 |
| (九州大・応用力学研) 水野信二郎 | |
| 8. 遊泳性鞭毛藻とラングミュア循環流の相互作用----- | 61 |
| (国立公害研・水質) 渡辺正孝・原島 省 | |

セッション C

- | | |
|--|----|
| 9. 水質環境数値モデルにおける近年の動向 | |
| -Mathematical Modeling of Water Quality の Review から----- | |
| (長岡技術科学大・工) 早川典夫 | |
| 10. 深い湖の内部セイシュについて----- | 75 |
| (国立公害研・水質) 平田健正・村岡浩爾 | |
| 11. 琵琶湖南湖の流動特性と藻類分布について----- | 85 |
| (京大・工) 住友 恒・原沢英夫 | |
| 12. 播磨灘の赤潮発生機構に関する一考察 | |
| -学際的研究は海洋物理学に何をもたらしたか----- | |
| (愛媛大・工) 柳 哲雄 | |

4 研究成果の概要

昭和57～60年度までの4年間にわたる本特別研究によって得られた成果の概要を以下に述べる。なお昭和57年度及び58年度までに得られた研究成果の一部は中間報告書（国立公害研究所研究報告第80号）として公表され、それ以降の成果については本最終報告書（国立公害研究所研究報告第110号）にまとめられた。したがって成果の概要は両報告書をもとに行っている。

4.1 増殖指標による富栄養化と赤潮発生の評価

海域における赤潮現象並びに富栄養化現象の計画指標としては行政的には COD が用いられているが、赤潮現象を COD で評価できる可能性があるかどうかについては確認されるに至っていない。赤潮発生制御のためには栄養塩濃度等の海水中の物質と赤潮生物の増殖との関係を明らかにした上で望ましい指標を開発する必要がある。本研究では赤潮藻類を用いた赤潮藻類生産の潜在力 (AGP) の測定により、富栄養化程度の赤潮藻類増殖に及ぼす影響評価を行う。昭和54～56年度に行った特別研究「海域における富栄養化と赤潮の発生機構に関する基礎的研究」においては、海水の AGP 測定法の確立がなされた（矢木ら, 1984）。試水の前処理、供試藻類の選定、前培養と接種、培養条件と期間、評価方法等の検討を行うと共に、さらに藻類増殖の制限栄養塩の推定や藻類に利用可能な栄養塩類の推定、藻類現存量の予測等海水中的の AGP 法の応用とその指標性についての考察がなされた。

内湾域は淡水から塩水への急激な遷移領域であり、複雑な海洋環境を形成していることから、種々の富栄養化物質の質・量的変動とその赤潮発生への影響評価は不十分な状況にある。特に河川の流入域での塩分濃度が低下する汽水域の富栄養化状況を評価するため AGP 法の確立を試みた。本研究では中海（島根県）をフィールドとして、汽水域での AGP 法確立のための供試藻類選定、培養条件、塩分濃度の影響等の検討を行った（矢木ら, 1987）。供試藻類としては *Chlorella* sp.（中海より分離）、*Skeletonema costatum*（瀬戸内海より分離）、*Microcystis aeruginosa* K-3A（霞ヶ浦より分離）、*Microcystis flos-aquae* K-5（霞ヶ浦より分離）を用いた。増殖に及ぼす Cl^- イオンの影響は、*Chlorella* sp. が Cl^- イオン濃度 $200\sim 15000\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ の幅広い範囲で良好な増殖を示したのに対し、*M. aeruginosa* は $2000\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ で、*M. flos-aquae* は $4000\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ で増殖阻害が認められた。このことから *Chlorella* sp. は Cl^- イオン濃度の影響をほとんど受けず汽水域の AGP 測定に大変適した株であることが判明した。また淡水藻である *M. aeruginosa*、*M. flos-aquae* を用いる場合は希釈法により AGP 測定が可能であることが示唆された。

フィールドとして選定した中海は年間を通じて塩分躍層が存在し、底泥は常に嫌気性となっている。この底泥中の有機物の最終的な分解と無機化において硫酸還元菌は重要な役割を果たしている。ここでは中海底泥中の硫酸還元速度の鉛直分布の経時変化を求めると共に、環境要因の影

響について検討した(森ら, 1987)。その結果硫酸還元速度は秋期に大きく冬期に小さい傾向にあった。硫酸還元速度に最も大きな影響を及ぼしているのは温度と Eh であった。硫酸還元菌にとって最適の温度は35℃, Ehは-200mV程度と考えられる。硫酸還元速度の及ぼす有機物の添加効果から底泥中(St.11)には Desulfovibrio, Desulfobacter, Desulfotomaculum 又は Desulfobulbus の存在が示唆された。

4. 2 ライフサイクル・シミュレーターによる周期的赤潮発生の予測

鞭毛藻による赤潮は直接的には、その生活史の各段階の中で運動性を有す flagellated stage により引き起こされるが、その生活史にはシストを形成して休眠している段階が存在することが知られてきている。しかし、従来の赤潮研究では、このシスト形成段階の解析は明確な形で位置づけられて進められてきてははず、むしろ、シストの研究は系統分類学の分野でシストと遊泳期の theca との類縁関係や modern cyst と fossil cyst との関連より dinoflagellates の系統進化を解析する方向で進展してきていたといえる。

しかし、閉鎖系浅海域という生態系の中での種の環境への適応を考慮すると、赤潮現象において、シストの果たす役割は下記に列挙するように非常に大きいと考えられる。すなわち、1) シストが運動性を持たないがために海底の堆積物上に付着し、環境劣悪化の中で生存し(越冬等、時にはかなり長時間)、同一場所での個体再生産を行い得ること、2) 一般にシストには多かれ少なかれ休眠期が存在するために個体再生産の時間をコントロールする“timing device”として機能していること、3) 休眠期に当たるシストは破損や捕食に対する抵抗性が強いために種の分散・移流に対する寄与は栄養細胞のそれよりも大きいと考えられること、4) 多くのシストは恐らくは有性生殖の結果生じたものと考えられているので、個体間の gene recombinationを起こし、結果として集団を heterozygotic な状態に保ち、適応力を保持・強化する役割を果たしていることがあげられよう。赤潮の発生機構と結びつけてシストの発芽-形成の問題を論じたのは Prakash (1967) が最初であった。その後 Anderson & Wall (1978), Anderson & Morel (1979), Anderson (1980), Anderson et al. (1982) により米国ニューイングランド地方の海底泥より採集・分離した Gonyaulax tamarensis 及び Gonyaulax excavata のシストの詳細な発芽実験が行われ、発芽に及ぼす環境条件が明らかになった。

昭和54~56年度に行われた特別研究「海域における富栄養化と赤潮の発生機構に関する基礎的研究」においては大阪湾で赤潮を形成(1969, 1980)した Scrippsiella trochoidea のシスト形成を誘起する最適条件を実験的に解析した(渡辺ら, 1982)。さらに大船渡湾で毎年発生している渦鞭毛藻 Protogonyaulax tamarensis と P. catenella のシスト発芽における季節性を大船渡湾

で分離培養したシストについて解析し、シストの休眠期間について明らかにした(福代ら, 1982)。

本特別研究においては、赤潮発生の過程は i) Bloom initiation (シストの発芽段階)と、ii) Bloom development and continuation (単一種又は複合種による場の独占)の2段階過程であるとの考えに基づき、瀬戸内海沿岸漁業に被害を与えている *Chattonella antiqua*, *Heterosigma akashiwo* についての増殖からシスト形成・発芽に至る一貫した機構解明を目的として研究を行ってきた。それらの増殖過程については室内培養実験・現場培養実験の結果、増殖を支配する物理的・化学的環境因子が明らかになってきた。しかし *Chattonella* シストの存在は長く不明であり、当研究グループの多くの労力が海底泥中の *Chattonella* シストの発見に向けられた。*Chattonella* 赤潮の発生現場である播磨灘底泥を採泥(3~5月頃)し、20℃にインキュベートすると *Chattonella* の栄養細胞が出現することは我々も確認していた。しかし泥粒子からの *Chattonella antiqua* シスト分画とシスト同定は成功しなかった。このような状況で Imai & Itoh(1986) は初めて *Chattonella* spp.のシストを周防灘底泥より分画・同定することに成功した。さらにその休眠期間、発芽率についても明らかにした (Imai & Itoh, 1987)。これにより *Chattonella* シスト形成・発芽の研究は第2段階に入ったものと考えられるが、本特別研究期間中にその成果を含める時間的余裕がなかったことは残念である。現在継続中の特別研究「富栄養化による内湾生態系への影響評価に関する研究」において *Chattonella* シスト形成過程の詳細な実験を行っており、その特別研究報告書に研究成果が盛り込まれる予定である。

4.3 赤潮発生生態系の物理的・化学的・生物的過程の解析

赤潮現象は藻類の特定種又は混合藻類種による場の独占状態という特徴的なものであり、ただ単に一次生産者の生産力を上げる要因は何かという命題だけでは理解できないものである。赤潮発生機構の解明を行うに当たっては、まず赤潮現象をもたらす代表的な赤潮藻類種の生物学的知見の蓄積と整理を行い、環境因子の変動に対する藻類種の挙動を理解する必要がある。さらに赤潮発生に至るまでの環境形成に強く関与している海洋物理学的及び海洋化学的な諸現象の抽出とその解明が必要である。このように多くの学問領域にまたがった現象を総合的に解析していくために次の五つのサブテーマに分けて研究を推進した。すなわち i) 増殖・集積特性, ii) 生態系群集構造の実験的解析, iii) 熱力学モデルを用いた微量元素の溶存状態の推定, iv) リモートセンシングによる赤潮計測, v) 赤潮発生海域の流動特性の解析。

赤潮現象は特定藻類種による場の独占状態と考えられるが、赤潮発生に至る過程は赤潮藻類種の生理的特性のみならず、赤潮藻類種とそれをとりまく環境との相互作用を理解することが重要である。したがって赤潮現象に至る発生機構解明のためには、海域の生態系の変遷の中での特定赤潮藻類の挙動を理解すべきである。生態系を論じる場合、生産者-摂食栄養者-腐生栄養者等を含む物質循環を把握する必要がある。しかしそれぞれの trophic levelは種多様性を持っており、個々の生態系構成メンバーすべての挙動を把握することは不可能な状態である。そのため本

特別研究においては、まず最も単純な生態系としての要素である、対象とする特定赤潮藻類種あるいは赤潮藻類群集を、制御環境条件下で維持し、赤潮発生現場海域に見られる特徴的な海洋物理的・海洋化学的環境要因と赤潮藻類種個体群発展との相互関係を明らかにすることにより生態系への理解を試みた。このためには以下の二つの技術が確立している必要がある。すなわち 1) 特定赤潮藻類種あるいは赤潮藻類群集個々の環境因子に対する基本的な生理特性を培養実験により明らかにすること、2) 赤潮発生現場海域に見られる特徴的な海洋物理的・海洋化学的環境因子を制御し、かつ純粋培養が行える大量培養装置の確立が不可欠である。以上の技術は昭和54~56年度に行われた「海域における富栄養化と赤潮の発生機構に関する基礎的研究」において確立された。これら室内培養実験系及び制御実験系を用いてサブテーマ i) 増殖・集積特性、ii) 生態系群集構造の実験的解析、を行っている。

赤潮藻類の増殖に微量元素、特に鉄・銅の消長が関与していることが強く示唆されている。サブテーマ iii) 熱力学モデルを用いた微量元素の溶存状態の推定、では特に *Chattonella antiqua* の増殖に及ぼす微量元素の効果を明らかにし、さらに現場における微量元素濃度を定量することで、本種の赤潮形成にかかわる微量元素の役割を解明しようとするものである。

海水中の赤潮藻類にとって最も重要な環境因子の一つは、光環境である。海水中には粒子状物質、有機物質等光エネルギーを吸収する物質が存在し、鉛直方向にも光エネルギーが減衰する。このため赤潮藻類をとりまく海洋中の分光特性を把握しておく必要がある。サブテーマ iv) リモートセンシングによる赤潮発生の計測、ではラジオスペクトロメーターを用いて海水の分光特性及び赤潮藻類が受ける光エネルギーと増殖との関連を解析している。

赤潮が頻発する内湾や閉鎖性海域における海水交換及び赤潮藻類の集積機構に最も大きい影響を与えるのは熱塩循環流であることは既に昭和54~56年度に実施された「海域における富栄養化と赤潮の発生機構に関する基礎的研究」において明らかにされた。そこでは内湾密度流実験装置を完成させ、海表面、河川流入、内湾-外洋境界における熱と塩分の境界条件を任意に設定し、発生する熱塩循環流の計測と解析手法の確立を行った。本特別研究においては、この内湾密度流実験装置を用いると共に、現場観測結果及び数値モデルを用いて、サブテーマ v) 赤潮発生海域の流動特性の解析、を行っている。以下に得られた成果をサブテーマに沿って述べる。

赤潮藻類の細胞濃度は増殖作用と集積作用により影響を受けるため、現場海域での藻類の増殖速度を細胞濃度の変化だけから決定することは困難である。木幡・渡辺 (1987a) は *H. akashiwo* の平均細胞体積を3時間ごとに9日間にわたって測定し、平均細胞体積が明期に増大、暗期に減少するという明確な日周変化を見いだした。さらに平均細胞体積変化を用いて計算した *H. akashiwo* の増殖速度は細胞濃度変化から求めた増殖速度と良い相関を示した。これにより現場海域や成層下培養のように細胞濃度変化から比増殖速度が求められない場合でも平均細胞体積変化から求めることが可能になった。

鞭毛藻が示す日周鉛直移動性を制御する要因については不明な点が多い。木幡・渡辺 (1985a)

は、*H. akashiwo* の日周鉛直移動と細胞分裂周期との関係を、温度成層条件下でのマイクロコズムを用いて解析した。この結果細胞体積の日周変化から推定した比増殖速度は約 0.48 d^{-1} となり、鉛直移動実験中でも対数増殖を続けていることが判明した。さらに *H. akashiwo* は底層で分裂し、分裂直後の細胞がより速く上方に移動した。このことは鉛直移動と細胞分裂周期とは明暗周期に同調しかつ互いに同期していることを示唆する。さらに光合成活性の高い細胞は細胞分裂を行い鉛直移動したが、光合成活性の低い細胞は行わなかった。このように細胞分裂周期は明暗周期に同調し、また鉛直移動を制御する要因の一つと考えられる。

赤潮藻類にとって光照度は増殖を支配する大きな要因であり、与えられた光環境に対して様々に適応している。木幡・渡辺 (1987c) はマイクロコズム内で照度の異なる培養を行い、照度の差による *H. akashiwo* 細胞内の炭素・窒素含有量の変化と増殖との関係を調べた。*H. akashiwo* の平均細胞体積や一細胞当たりの炭素含有量は明確な日周性を示し、明期には増大し、暗期には減少した。変化の振幅は高照度で培養したものの方が低照度に比べて大きく、増殖速度の差によく対応した。しかし照度の違いによる C/N 比の差は顕著ではなかった。

赤潮藻類の平均体積、蛍光強度、乾燥重量、炭素・窒素含有量、色素量の日周変動を知ることは、赤潮藻類の増殖過程を理解する上で重要である (木幡・渡辺, 1985b)。マイクロコズム内に培養した *H. akashiwo* (比増殖速度 0.36 d^{-1}) 1 個体当たりの平均細胞体積は点燈直前 (5:00) のサンプルが最小で、明期は光合成により増大し、消灯直前 (17:00) のサンプルが最大であった。光合成活性は細胞分裂が行われている時間帯 (2:00~8:00) に高くなり、11:00 に最高となった。23:00 には最低となっている。このように光合成活性は細胞分裂と同期して変動している。*H. akashiwo* 個体の単位体積当たりの乾燥重量の変化は、明期に小さく ($400 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$) 暗期に大きい値 ($480 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$) となっている。これは密度勾配法により直接求められた比重 (明期約 $1100 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$, 暗期 $1146 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$ 以上) と比較して、明期と暗期の値の差が同程度であることから、細胞比重の変化の主な部分は乾燥重量の変化によると推察される。個体当たりの炭素量は明期に光合成により増大 (最大 $130 \text{ pg} \cdot \text{cell}^{-1}$) し、暗期は呼吸及び細胞分裂により減少 (最小 $110 \text{ pg} \cdot \text{cell}^{-1}$) した。明期の光合成速度は約 $2.25 \text{ pg} \cdot \text{C} \cdot \text{cell}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ と推定される。細胞当たりの窒素含有量も同様に明期に多く摂取され、摂取速度は $0.31 \text{ pg} \cdot \text{N} \cdot \text{cell}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ と推定された。C/N 比は 8:00 に最低値約 4.7 から増加し、20:00 で最高値の約 5.0 に達する。以後暗期は減少するというパターンを繰り返す。細胞当たりのクロロフィル a, c 量はともに明期に増大し、暗期に減少した。さらにクロロフィル a とクロロフィル c の比は 8:00~11:00 に極大値を持っており、分裂直後ではクロロフィル a とクロロフィル c の合成より速いことを示している。

同様の実験を *C. antiqua* についても行った (木幡・渡辺, 1987b)。*C. antiqua* の細胞は、毎日、暗期の後半から分裂を始め、明期には平均細胞体積を増大させるという様式を実験期間中繰り返した。炭素・窒素含有量、光合成色素量の一細胞当たりの値は明期に増大、暗期に減少した。C/N 比にも日周変化が見られ、明期に高く暗期に低かった。*C. antiqua* の光合成色素は、クロ

クロフィル a, c とフコキサンチン, ビオラキサンチン, β -カロチン等のカロチノイドで構成されていた。クロフィル a/c 比, 及びカロチノイド構成比には明りょうな日周性が見られた。クロフィル a, c 共に主に明期に合成されるが, 明期の最初ではクロフィル a の合成がクロフィル c の合成より速いと推定された。構成カロチノイドのなかでビオラキサンチンに大きな特徴が見られ, この色素の合成は明期の始めの数時間に限られていた。

藻類の増殖にとって最も重要な栄養塩であるリンが欠乏状態のときに藻類がどのように生命を維持し, 次にリンが豊富に与えられるまでその個体群を維持することができるかという問題は, 栄養塩濃度が変動する現場海域での赤潮発生過程を解析する上で重要な問題である。渡辺ら (1985, 1987a) はマイクロコズム内に *H. akashiwo* をリン酸塩欠乏状態で培養し, 次にリン酸塩を添加し, 細胞内リン含有量の変化を計測すると共に, $^{31}\text{P-NMR}$ を用いて細胞内リンの存在形態を計測した。この結果 *H. akashiwo* はリン酸塩添加後急速にリン酸塩を取り込み, その多くをポリリン酸の形で蓄積することが判明した。リン酸塩添加後, 細胞内リン含有量は最小値から増加し, 抽出されたリン中に占めるポリリン酸が約60%になった時点で細胞内リン含有量は定常状態となった。このようなポリリン酸としてのリン蓄積能力は, リン欠乏環境下での *H. akashiwo* 個体群維持と拡大にとって重要な生態的意味を持っている。

鞭毛藻の示す日周鉛直移動性は栄養塩に富んだ下層に移行して増殖に必要な物質を摂取できると同時に, 光合成に必要な有光層への上昇を行うことができる潜在力を有しているために, 鞭毛藻の個体群の発達に重要な役割を持つと考えられてきた。渡辺ら (1987b) はマイクロコズム内に夏期瀬戸内海に見られるような, 表層に低塩分・低リン酸塩濃度, 底層に高塩分・高リン酸塩濃度の鉛直成層構造を形成した。この中でリン欠乏状態の *H. akashiwo* 培養株を用いて日周鉛直移動を行わせつつ, $^{31}\text{P-NMR}$ を用いて *H. akashiwo* 細胞内のリン化合物の詳細な計測を行った。その結果, 本種は夜間は日周鉛直移動により底層に移動し, 豊富に存在するリン酸塩を摂取するとともに, 細胞内にポリリン酸の形でリンを蓄積することが明らかとなった。さらに昼間リン酸塩の欠乏状態である表層に移動し, 細胞内に蓄積したポリリン酸を分解して無機リンとATPを形成し光合成を行っていることが判明した。日周鉛直移動性とポリリン酸としてのリン蓄積機構を持つ鞭毛藻は, このような能力を持たない珪藻類に対して生態的優位性を持っており, このことを実験データにより実証した最初のデータである。

多くの赤潮鞭毛藻が有機態リンを増殖に利用できると考えられているが, 瀬戸内海で問題となっている *C. antiqua* や *H. akashiwo* がそのような能力を持つかどうかは, 発生過程を理解する上で重要である。中村 (1985b) は有機態リンを増殖に利用できるかどうかの指標としてのアルカリフォスファターゼ活性を測定した。リン欠乏状態で培養した *C. antiqua* 及び *H. akashiwo* のアルカリフォスファターゼ活性を調べた結果, 両種とも検出することができなかった。このことは両種が有機態リンを増殖には利用することができないということであり, 赤潮発生にかかわるリンの役割を理解する上で極めて重要な知見である。

限りある栄養塩を特定藻類種がどれだけ速やかに摂取し、体内に取り込んだ栄養塩を個体群の拡大にどのように反映させるかという増殖の動力学は赤潮発生過程を解明する上で重要である。中村(1985a)は *C. antiqua* によるアンモニウム塩摂取の定式化を試みた。更にアンモニウム塩は藻類の硝酸塩摂取を阻害することが知られている。ここでは *C. antiqua* における硝酸塩摂取に及ぼすアンモニウム塩の効果を解析した。この結果アンモニウム塩摂取速度はアンモニウム塩濃度が 0-8 μM の範囲で Michaelis-Menten 式に従い、最大摂取速度は $2.0 \text{ pmol} \cdot \text{cell}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 、半飽和定数は 2.2 μM であった。さらにアンモニウム塩摂取速度は硝酸塩によっては影響を受けないことが判明した。一方硝酸塩摂取はアンモニウム塩により阻害された。アンモニウム塩による阻害は短時間(《15分)のうちに生じ、硝酸塩摂取速度は 2 μM のアンモニウム塩の存在によって約50%の阻害を受けることが判明した。この研究により、*C. antiqua* の窒素摂取速度をアンモニウム塩濃度と硝酸塩濃度との関数として表示し、アンモニウム塩による硝酸塩摂取阻害をも含めて定式化を行うことができた。

栄養塩の供給形態、供給量、供給速度と赤潮藻類種の増殖速度との定量的な関係を明らかにする増殖の動力学的解析のために、栄養塩の連続的な回転や捕食・移流による消失を模擬して系の定常状態を確立できる系として連続培養系の確立を行った。中村(1985c)は窒素あるいはリン制限下で *C. antiqua* の増殖の動力学を半連続培養系を用いて解析した。この結果窒素制限下においては増殖速度 μ は細胞分裂開始直前の細胞内窒素含有量 Q^N の関数として Droop の式で記述できることが判明した。すなわち $\mu = \mu \dot{N} (1 - q_0^N / Q^N)$ 、ここで $\mu \dot{N} = Q^N$ を無限大に補外した時の増殖速度で 0.78 d^{-1} 、 q_0^N = 窒素の細胞内最小含有量で $7.8 \text{ pmol} \cdot \text{cell}^{-1}$ 。一方リン制限下においても μ は細胞分裂開始直前の細胞内リン含有量 Q^P の関数として Droop の式で記述できることが判明した。すなわち $\mu = \mu \dot{P} (1 - q_0^P / Q^P)$ 、ここで $\mu \dot{P} = Q^P$ を無限大に補外した時の増殖速度で 0.93 d^{-1} 、 q_0^P = リンの細胞内最小含有量で $0.62 \text{ pmol} \cdot \text{cell}^{-1}$ 。現在までにわかっている *C. antiqua* の窒素・リン摂取のモデルと増殖モデルとを組み合わせることにより、初期細胞濃度と栄養塩濃度のデータより *C. antiqua* の増殖過程を追跡することが可能となった。

栄養塩制限下における連続ないし半連続培養において、栄養塩摂取速度が栄養塩濃度の他に細胞の増殖状態(又は増殖速度)によっても著しく影響を受けると考えられてきた。中村(1987)は窒素あるいはリン制限下、様々な希釈率(D)で *Chattonella antiqua* の半連続培養を行った。増殖が定常に達した時点で、窒素制限系には硝酸塩或はアンモニウム塩を添加し、リン制限系にはリン酸塩を添加した。添加後各栄養塩の消失速度から各々の栄養塩摂取速度を求め、これを増殖速度 ($\bar{\mu} = -\ln(1-D)$) の関数として評価した。硝酸塩、アンモニウム塩、リン酸塩のいずれの場合でも摂取速度に及ぼす増殖条件の効果は小さく、栄養塩の枯渇したバッチ系に栄養塩を添加して測定した各々の摂取速度とほぼ同程度の値が得られた。この結果と既に得られている栄養塩摂取速度の濃度依存性及び増殖速度の制限栄養塩含量 (cell quota) 依存性から、*C. antiqua* の増殖速度に対する半飽和定数(Kg)を硝酸塩、アンモニウム塩、リン酸塩について見積もること

ができた。kg を *C. antiqua* 赤潮多発海域である瀬戸内海の栄養塩濃度と比較することにより、瀬戸内海ではリン酸塩の消長が本種の増殖速度を大きく左右している可能性が示唆された。

現在の瀬戸内海において *C. antiqua* が赤潮を形成するための必要条件はリン制限からの開放であるが、これのみで他藻類に卓越して赤潮を形成することは不可能と思われる。微量金属類は藻類増殖にとって必須のものであるが、その中において銅は藻類に対して増殖阻害を持つことがある。その増殖阻害は藻類の種ごとに大きく異なっており、天然レベルの銅イオンですらいくつかの藻類の増殖を阻害することが知られている。中村ら(1987)は *C. antiqua* の増殖に及ぼす銅イオンの効果を人工培地を用いて検討した。本種の増殖速度は培地中の銅イオン活量 (acu) の一価関数として $\mu = \mu_{\max} / [1 + K \cdot (\text{acu})^2]$, ここに $\mu_{\max} = 0.63 \text{ d}^{-1}$, $K = 2.4 \times 10^{20} \text{ mol}^{-2} \cdot \text{l}^2$ 。この結果は報告されている他藻類種と比較すると、*C. antiqua* は銅イオンに対して感受性の高い種であることが判明した。現在の瀬戸内海の銅イオン活量は銅が無機イオンのみと平衡にあると仮定した場合、*C. antiqua* の増殖速度に著しい影響を与える範囲にあることが判明した。

海水中では藻類は光合成を行うに必要な光エネルギーを獲得するため他の藻類種とのみならず他の光吸収物質とも競っている。日周鉛直移動を行う鞭毛藻類は昼間に表層に集積することにより光エネルギー吸収を効率よく行っていることが考えられるが、従来このことはあまり論じられてこなかった。渡辺・宮崎(1985)はマイクロコズム内に培養した *H. akashiwo* の光吸収特性を、新しく作製した4π集光器とラジオスペクトルメーターを用いて解析した。*H. akashiwo* の吸収スペクトルを分光光度計により求め、マイクロコズム内での照度及び個体数(又はクロロフィル a 量)より吸収された光エネルギーの総量及び *H. akashiwo* に吸収された光エネルギーを推定した。これより表層に *H. akashiwo* が集積し約 $3.3 \times 10^4 \text{ cell} \cdot \text{m}^{-1}$ の場合、表層で吸収された光エネルギーは約 $1.44 \times 10^{16} \text{ quanta} \cdot \text{cm}^{-3} \cdot \text{s}^{-1}$ であり、その約90%が *H. akashiwo* により吸収されていること、さらに *H. akashiwo* 1個体が吸収した光エネルギーは約 $3.8 \times 10^{11} \text{ quanta} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{cell}^{-1}$ であることが判明した。

昭和54~56年度の特別研究「海域における富栄養化と赤潮の発生機構に関する基礎的研究」において、内湾規模の流動として、内湾・外洋間での熱・塩分に基づく密度差により駆動される熱塩循環流の海水交換に果たす役割と、その内湾における水質及び生態系に与える影響について明らかにした。すなわちこの内湾規模の流動は、内湾-外洋の海水交換を通じて内湾に負荷された栄養塩類の湾外排出量を規定し、その結果内湾の“閉鎖度”というべき量を規定する。そして内湾規模の流動を解析する方向として、潮汐流・吹送流の影響をパラメタライズした形で熱塩循環流に取られることの有効性を明らかにした。原島・渡辺(1985)は夏期の流動パターンから冬期の流動パターンへの遷移メカニズムを実験的に明らかにしようとした。温度条件を制御した内湾密度流実験装置に塩水を満たし、内湾模擬部の上流端より淡水を連続的に注入した。この場合淡水は表層を外洋部に向かって流れて行く。外洋部からは下層を通過して湾内に流入してくる。この状態から外洋模擬部の水温を上昇させ、塩分偏差による密度差が水温偏差による密度差に相殺さ

れていくように設定し、夏期から秋期にかけての流動を再現した。この結果として、塩分偏差・水温偏差の相殺による安定成層度の減少が起こると、湾奥部から上層厚さ h_1 が増大する。そしてこの変化は密度ブルード数 F_d を保存するように起こる。そして h_1 増大時は河川流入水は湾奥部に停滞し、外洋部に流出する割合は小さくなる。さらに水温差による密度差が塩分偏差による密度差より大きくなると河川流入水は下層を流れるようになる。そして外洋水が表層を湾奥に向けて流入してくる。このように河川水と外洋水とが水温と塩分条件によって全く逆転した方向の流れが形成される過程を可視化手法とレーザー流速計、水温・塩分計により計測した。これらの実験により夏期から冬期までの連続的な海水交換過程が定性的に明らかになったと言える。

内湾密度流実験装置を用いた素過程の詳細な計測と解析に並行して、内湾における水温・塩分分布や海水交換量を規定するメカニズムを理解するための熱塩循環流数値モデルを作成した。このモデルを大船渡湾に適用し、モデルの検証と鉛直循環流が海水交換に果たす役割を解析した(原島・渡辺, 1987)。湾内定点での水温・塩分観測値と計算結果は良好な一致を示し、このことから、熱塩循環流が内湾での水温・塩分分布の時間変動を規定する基礎となっていることを示唆している。また、熱塩循環流のタイプは、浮力の境界条件により、次のように分類された。すなわち、(A) 河川流入による塩分成層が、海面冷却による不安定成層を支え、上層が低温、低塩分となる、(B) 河川流入が弱まり、塩分の安定成層化が弱まるために、海面冷却による対流混合が下方まで達する、(C) 河川流入と海面加熱が両方とも安定成層化の方向に働き、上層が低塩分、高温となる、(D) 外洋暖水が現れるために、急激に湾内の海水が入れ替わる、の4種類のパターンが現れた。大船渡湾に形成される鉛直循環流(上層で外洋に流出し、中層で外洋から流入)は外洋との海水交換において $100(t \cdot s^{-1})$ 程度の寄与を持ち、その量は河川流入量(数 $t \cdot s^{-1}$)の規模よりはるかに大きいことが判明した。

日周鉛直移動性により表層に遊泳する鞭毛藻 *H. akashiwo* の分布パターンは巨視的には海洋構造により決定されているが、微細構造での分布パターンの決定要因については不明な点が多かった。原島ら(1985)は鞭毛藻を含む流体の挙動を支配する渦度方程式、鞭毛藻の個体数密度の輸送方程式、及び個体数密度に依存する状態方程式を用いて数値実験を行った。その結果培養実験結果より得られた分布パターンを定性的に良く説明し、不安定対流は Rayleigh-Taylor instability と Benard 対流との二つの現象に類似した時期が存在することが判明した。藤田・渡辺(1987)は生物対流数値モデルにおいてレイリー数の増加に伴い、単一周期の振動状態から周期倍分岐を繰り返す、最後にはカオスとなる一連の遷移を行うことを見いだした。この結果は Benard 対流と類似していると考えられる。原島ら(1987)はさらに生物対流系の総運動エネルギー(K.E.)、総ポテンシャルエネルギー(P.E.)の位相空間上での状態変化の軌跡を解析した。その結果対流が励起されつつある状態では現象はレイリー・テイラー不安定現象に類似し、卓越波数は表面集積層の特性のみで決定される。時間の経過と共に系はP.E.を減じ、K.E.を増大する方向へ遷移する。この過程で対流セルの個数は減り、最終的にはベナード・レイリー対流と類似した

アスペクト比を持つ状態が現れることが判明した。

4.4 現場型マイクロコズムによる赤潮発生生態系の解析

昭和54～56年度に行われた「海域における富栄養化と赤潮の発生機構に関する基礎的研究」においては、赤潮発生にかかわる化学的環境因子の役割を明らかにするために、純粋培養下で環境因子を一定に制御し、室内培養実験を行ってきた。この一連の培養実験についての基本的な考え方は培養実験により得られた赤潮藻類種の増殖速度と環境因子との定量的関係は現場海域に対して適用可能であるという前提に基づくものである。しかし実際の海域ではどの環境因子が赤潮藻類の増殖速度を律しているのかを明らかにすること、さらに室内培養実験結果を環境因子が時間的にも大きく変動する現場海域に適用するための実証試験を行うことが必須である。

現場海域で対象赤潮藻類の増殖能力を評価する場合、二つの評価が考えられる。第1には現場海水における化学環境の藻類増殖潜在能力を評価することであり、第2には現場海域に存在する物理・化学環境を総合した“環境構造”の藻類増殖潜在能力を評価することである。このため従来 AGP 法(例えば須藤ら, 1973)や透析培養法(例えば Sakshaug, 1977)が用いられてきた。AGP 法はその簡便さ故に広く用いられているが、バッチ系であるために系内の化学環境が時間と共に変化してしまう欠点がある。すなわち AGP 法は藻類の最終収量に対してどの栄養塩が制限因子となり得るかを評価する手法としては有効であるが、藻類の増殖速度を評価する目安とはならない。一方、透析培養法では系外との海水交換が継続的に起こっている為に、AGP 法の欠点を補うことができるものの、培養の経過に伴い、透析膜表面にバクテリアが付着したり、系内の細胞濃度が大きくなって系への栄養塩の供給が藻類による栄養塩摂取に追いつかなくなり、系内の化学環境が系外のそれと異なってくる可能性がある。さらに現場海域に直接設置するには構造上問題があり、室内透析培養に限定されている。これらの欠点を補う新しい方法により、現場海域での藻類増殖潜在能力に対する上記二つの評価を行った。

中村ら(1987)は瀬戸内海家島諸島(西島)において *C. antiqua* の増殖速度を律している化学環境因子を明らかにするために、半連続培養法を提示した。この方法では系の海水交換率(希釈率)を一定に保つことができ、しかも希釈率を大きく細胞濃度をできるだけ小さく保つことで系内の化学環境を系外のそれに近付けることができる。昭和59, 60年7月～8月家島現場海域での *C. antiqua* 半連続培養実験を行った(中村ら, 1987)。昭和59年夏の実験では、表層ろ過海水を用い、i) 栄養塩無添加(無添加系)、ii) $\text{NO}_3\text{-N}$, $\text{PO}_4\text{-P}$ 同時添加(N+P系)、iii) 微量元素キレート剤添加(f/2メタル系)、iv) $\text{NO}_3\text{-N}$, $\text{PO}_4\text{-P}$, f/2メタル溶液、ビタミン B_{12} 同時添加(完全添加系)の四つのモードで実験を行った。無添加系及び f/2メタル系では増殖速度は極めて小さく($\mu < 0.1 \text{ d}^{-1}$)細胞形状の矮小化が見られた。N+P系での増殖は速やか($\mu \approx 0.5 \text{ d}^{-1}$)であり細胞は通常の大さを維持した。完全系でも同様であり、完全系と N+P系では増殖速度、細胞の大きさに有意の差は見られなかった。昭和60年夏の実験でも同様の結果が得られ、両年とも家

島諸島の表層海水では少なくともリン酸塩が *C. antiqua* の増殖速度を制限していたことが判明した。

渡辺ら (1985, 1987) は堅固な構造で現場海域に直接つるすことができ、内部栄養塩・細胞濃度変化がモニターできる cage culture 法を提示した。これは現場海域の水温・塩分・照度・栄養塩状態をよく再現し、かつ動物プランクトンによる捕食、他の藻類種との競合の影響、流動に伴う集積・分散の影響等を除外することができる。膜を通しての物質変換係数は室内実験、現場海域実験により検証されている。昭和58, 59年夏期、大阪湾泉佐野食品コンビナート食品港において *H. akashiwo* 培養株の現場培養実験を行った。現場海域は富栄養化した海域であり、cage culture 内部の栄養塩は系外のそれをよく再現し、室内培養実験結果と類似した増殖結果を得ることができた。*H. akashiwo* の増殖を律しているものは照度であることが判明した。昭和60年夏期に水温・塩分・栄養塩の鉛直分布が顕著な成層構造を示す瀬戸内海家島諸島(西島)において cage culture 内に *H. akashiwo* 培養株を接種し、現場における日周鉛直移動実験を行った。一方のcage culture (3個) は表層 0.5m に設置し、他方のcage culture(3個) は昼間は表層 0.5m に設置、夜間は水深 15m に設置し強制的に日周鉛直移動を行わせた。日周鉛直移動させた cage culture は夜間栄養塩豊富な底層に移動するため、系内の栄養塩は系外のそれによく追従した。それぞれ3回実験を行ったが、いずれの場合についても表層設置の場合 *H. akashiwo* 細胞濃度の増加は見られなかった。一方強制的に日周鉛直移動を行わせた場合 *H. akashiwo* 細胞濃度は高い増殖率 ($\mu \approx 0.7 \sim 1.1 \text{ d}^{-1}$) を示した。これにより水温・塩分・栄養塩の成層が発達している現場海域において、日周鉛直移動を行うことにより栄養塩摂取を夜間底層において行うことができ、日周鉛直移動能力を持たない珪藻類に対し生態的優位性を持っていることを現場海域において実証した。さらに家島海域の表層海水は *H. akashiwo* 増殖をささえるだけの栄養塩濃度はなかったことを示している。

4. 5 赤潮発生生態系のモデル化

赤潮発生に至る過程は多くの物理・化学環境が複雑に関与している。このため赤潮藻類種の生理学的特性のみならず、赤潮藻類種と化学環境並びに物理環境との相互関係を定量的に把握することが重要である。本特別研究においては *Chattonella antiqua* 及び *Heterosigma akashiwo* を制御環境条件下で維持し、それら赤潮藻類種を化学環境要因との相互関係を明らかにしてきた。また物理環境については水温、照度といった項目について赤潮藻類種との相互関係を明らかにしてきた。特に *C. antiqua* についての (1) 増殖速度に及ぼす水温・塩分・照度、微量金属類、窒素・リン濃度、ビタミン類等の影響、(2) 硝酸塩、アンモニウム塩及びリン酸塩摂取速度、(3) 窒素あるいはリン制限下における増殖速度、の定式化がなされてきた(中村, 1985a, 1985c, 1987; 中村ら, 1987)。一方 *C. antiqua*, *H. akashiwo* は日周鉛直移動性を持ち、その生態的優位性が室内・現場海域実験において検証されている(木幡・渡辺, 1985a, b; 渡辺ら, 1987b; 渡辺ら,

1987)。それら素過程は今後も独自に研究展開が行われ、より詳細なものとなっていくであろう。しかしそれら個々の知見をそれぞれ独立なものとして別個に見ただけでは赤潮発生過程を明らかにすることは不可能であると思われる。特に日周鉛直移動を行う鞭毛藻は環境因子と時間的・空間的に動的な相互作用を受け、このためそれらの蓄積された知見を同時にかつ立体的に解析することが困難となっている。このため赤潮藻類と環境因子との相互作用を数値モデルの構築により再現し、赤潮発生にかかわる素過程並びに環境因子の相対的重要度とその役割を明らかにする必要がある。もとより赤潮発生過程のすべてをモデル化し得るだけのすべての知見・情報が既知ではなく、今後も基礎的知見の充実・蓄積を図らねばならない。その意味ではモデル化を行うには知見の蓄積が十分でなくまだ早過ぎるという議論がある一方、現在得られている知見をモデル化により整理・評価しなければ新しい研究展開が困難な程知見が蓄積されてきているとも言えることもまた事実である。

渡辺ら(1987)は従来得られている *C. antiqua* に関する培養実験結果を十分組み込み、増殖過程や日周鉛直移動性をモデル化すると共に、対象海域の地形特性を考慮し、コントロールポリウム内での保存則を基礎とする鉛直次元モデルの開発を行った。モデルは室内マイクロコズムを用いた増殖実験並びに日周鉛直移動実験により検証され、良好な結果を得た。これをもとに、本特別研究で継続的に調査・観測が行われている播磨灘家島海域に本モデルを適用し、*Chattonella* 細胞濃度変化に対する環境因子間の相対的重要度の比較検討を感度解析により行った。*C. antiqua* の増殖過程はすべて室内培養実験結果を用いており、環境条件・初期条件は過去3か年の家島海域での夏期に得られた観測値の平均値を用いた。この海域は4.4で述べたごとく、表層海水は *C. antiqua* の増殖速度をリン酸塩が制限しており、このため近年 *C. antiqua* 赤潮発生が見られないと考えられる(中村ら, 1987)。しかし底層には *C. antiqua* の増殖を制限しないだけの十分な栄養塩が存在している(中村ら, 1987, 渡辺ら, 1987)。この海域に対してシストの発芽により初期細胞濃度 $20 \text{ cell} \cdot \text{m}^{-1}$ を海底に与えて感度解析を行った。なお評価は鉛直平均細胞濃度並びに表層集積細胞濃度により比較・検討を行った。なお Base となるケースとして現在の家島での栄養塩状態、平均滞留時間10日、成層位置が水深 15m、鉛直移動速度 $0.6 \text{ m} \cdot \text{h}^{-1}$ を用いて計算を行い、その他のパラメータ値を用いた場合との比較を行った。

(1) 現在の家島諸島海域の栄養塩状態においては、平均滞留時間が5日程度では *C. antiqua* は消滅してしまう。平均滞留時間が20日程度になると平均細胞濃度は $10 \text{ cells} \cdot \text{m}^{-1}$ 程度となり、表層集積細胞濃度は $81 \text{ cells} \cdot \text{m}^{-1}$ となる。このように栄養塩濃度は同じでも閉鎖性が強くなる程赤潮発生の可能性が高いことを示している。

(2) 成層位置は年により水深 5~15m と大きく変化する。*C. antiqua* の鉛直移動速度とも相まって成層位置は細胞濃度に大きく影響を与える。成層 10m、平均滞留時間20日では平均細胞濃度は $27 \text{ cells} \cdot \text{m}^{-1}$ 、表層集積で $181 \text{ cells} \cdot \text{m}^{-1}$ となる。

(3) 鉛直移動速度は細胞濃度に大きく影響を与える。特に成層 10m、平均滞留時間20日で鉛直

移動速度が $1.0 \text{ m}\cdot\text{h}^{-1}$ の場合、平均細胞濃度は $90 \text{ cells}\cdot\text{m}^{-1}$ 、表層集積で $628 \text{ cells}\cdot\text{m}^{-1}$ となる。

(4) 風による鉛直混合は水深 10m 混合でも平均細胞濃度にはあまり影響を与えない。ただし表層集積細胞濃度は著しく低下する。

(5) 表層での栄養塩レベルを現在の家島の状態の 4 倍とすると平均細胞濃度は約 $100 \text{ cells}\cdot\text{m}^{-1}$ 、表層集積で $626 \text{ cells}\cdot\text{m}^{-1}$ 。さらに平均滞留時間が 20 日となると、平均細胞濃度は $400 \text{ cells}\cdot\text{m}^{-1}$ 、表層集積 $2314 \text{ cells}\cdot\text{m}^{-1}$ となり、栄養塩レベルは細胞濃度に大きく影響を与える。

(6) 動物プランクトンによる摂食の閾値が存在しない場合は、*C. antiqua* は摂食しつくされ、赤潮とはなり得ない。しかし閾値として $10 \text{ cells}\cdot\text{m}^{-1}$ 程度でもあれば十分赤潮状態となり得る。この *C. antiqua* の低濃度領域での摂食圧の正確な評価は細胞濃度に大きく影響する。

C. antiqua 細胞濃度の消長を規定しているものは、*C. antiqua* 自身の増殖能力のみならず、動物プランクトンをはじめとする他生物群や海洋構造（特に海水交換性、成層位置等）、気象条件（照度、鉛直混合等）、化学環境などとの複雑な相互作用によることを示し得た。そしてそれら環境因子の組み合わせにより、赤潮に至る場合と、赤潮発生とはならない場合があることが明らかになった。本モデルは実際の *C. antiqua* 赤潮発生時の現場データにより検証されてはいないが、少なくとも過去 3 年間の家島諸島海域に見られる環境条件下では、モデルは *C. antiqua* 細胞の観測値をオーダーとしてよく再現していると考えられる。

5 全体の総括と今後の研究課題

本特別研究の目的は、海域において発生する赤潮の発生原因及び発生過程の因果関係を明らかにすると共に、赤潮発生過程のモデル化を行うことを目的とする。4 年間にわたる研究によって数多くの新しい知見が得られると共に、赤潮研究を推進していくための研究手段や研究方法は従来のものとは格段に進展したと言える。ここではそれらの成果を踏まえた研究の総合的な考察と今後の研究課題について以下に示す。

赤潮現象をもたらす代表的な鞭毛藻類、特に *Chattonella antiqua* の増殖速度に及ぼす環境因子（水温、照度、塩分、微量金属類、窒素・リン濃度、ビタミン類等）の影響、栄養塩摂取速度、窒素又はリン制限下での増殖速度の定式化、日周鉛直移動特性が室内培養系並びに海水用マイクロブームを用いて明らかにされてきた。このことは少なくとも *C. antiqua* の増殖に対する必要条件及びその生態的位置づけを明らかにしたと考えられる。一方大量培養装置である海水用マイクロブームの技術の確立により、大量のサンプリングを同時に、しかも長期間行うことが可能となった。これにより現場海域に見られる環境因子を再現させながら、その細胞濃度変化のみならず細胞内の生理学的諸過程をもモニターすることが可能となった。海洋における赤潮藻類だけではなく一次生産者の生理・生態的過程の研究が全く新しい展開を開始したと言える。

赤潮鞭毛藻の生活史にはシストを形成し、休眠している段階が存在する。増殖特性が明らかになりつつある *C. antiqua* については近年シストの存在が明らかになり、発芽条件が明らかになりつつある。しかし *C. antiqua* についての増殖からシスト形成への過程、そして発芽へと一貫した生活史の解明は、その研究がやっと本格的に開始されたばかりであり、今後の大きな課題である。

内湾と外洋との海水交換は内湾に負荷された栄養塩物質の滞留及び生物生産量を規定する重要なパラメータである。内湾密度流装置及び数値モデルを用いて海水交換を支配する流れの素過程、海水交換率の算定、海水交換機構等が明らかになりつつある。今後も室内実験及び数値モデルによる知見の蓄積を図らねばならない。しかし湾規模での鉛直循環流の実測データの蓄積は本研究にとって最も欠如しているものである。このような観測には通常多くの流速計を長期間保留しなければならず、種々の困難を伴う。内湾での熱塩循環流の観測の重要性は多くの研究者により指摘されているが、世界的にも多くの例を見ない。今後は海洋人工衛星データも併用しつつその観測体制の強化に努める必要がある。

海水及び海域の赤潮藻類増殖潜在能力の評価手法の確立と制御指標としての実用性の検討がなされた。この手法は富栄養化物質の海洋一次生産者、ひいては海洋生態系に与える影響評価のみならず、海洋に持ち込まれる種々の有害物質の影響評価に適用可能であると考えられる。このためより一般性を持った総合評価手法の確立に向けて研究を展開していく必要がある。

本特別研究で得られている *C. antiqua* に関する培養実験を十分組み込んだ *C. antiqua* 赤潮発生モデルの開発とその検証を行った。これは *C. antiqua* 細胞が単独で環境中に存在し増殖する過程をモデル化したものであり、他藻類種との栄養塩競合関係、増殖阻害関係を組み込んだものとはなっていない。このため単一赤潮藻類種の解析から、複合藻類種間の競合及び生産者-摂食栄養者-腐生栄養者の群集構造の解析への展開を行う必要がある。そして赤潮発生現象を海域の生態系変遷の中でとらえ、海域生態系の機構解明をめざしたモデル開発を行う必要がある。このためには現場海域での生態系変遷の詳細な計測を行う現場実験系の確立と室内培養実験系における複合藻類混合培養系並びに生産者-摂食栄養者の混合培養系の確立を行い、群集構造の定量的解析を行う必要がある。

以上述べたように本特別研究においては赤潮発生過程の理解にとって必要不可欠な基礎研究とそれら個別知見の総合的定量化による赤潮発生モデルの開発に重点を置いた。それら基礎研究を通じて展開された新しい研究課題や研究方向については、昭和61年度より開始された特別研究「富栄養化による内湾生態系への影響評価に関する研究」によって明らかにされる予定である。

引用文献

Anderson, D. (1980): Effects of temperature conditioning on development and germination

- of Gonyaulax tamarensis (Dinophyceae) hypnozygotes. J. Phycol., 16, 166-172.
- Anderson, D. and D. Wall (1978): Potential importance of benthic cysts of Gonyaulax tamarensis and G. Excavata in initiating toxic dinoflagellate blooms. J. Phycol., 14(2), 224-234.
- Anderson, D. and F. M. M. Morel (1979): The seeding of two red tide blooms by the germination of benthic Gonyaulax tamarensis hypnocysts. Estuarine Coastal Mar. Sci., 8, 279-293.
- Anderson, D., D.M. Kulis, J.A. Orphanos and A.R. Ceurvets (1982): Distribution of the toxic dinoflagellate Gonyaulax tamarensis in the Southern New England Region. Estuarine, Coastal Shelf Sci., 14, 447-458.
- 藤田真一・渡辺正孝(1987): 鞭毛藻による生物対流の数理モデルを用いた周期-非周期振動への遷移現象の解析. 国立公害研究所研究報告, 第110号,
- 福代康夫・渡辺 信・渡辺正孝 (1982): 赤潮鞭毛藻類のシスト形成と発芽 II. Protogonyaulax tamarensis と P. catenella におけるシストの発芽の季節性. 国立公害研究所研究報告, 第30号, 43-52.
- 原島省・渡辺正孝 (1985): 内湾における熱塩循環流の実験的研究. 国立公害研究所研究報告, 第80号, 85-102.
- 原島省・渡辺正孝 (1987): 大船渡湾における熱塩循環流の数値シミュレーション. 国立公害研究所研究報告, 第110号,
- 原島省・渡辺正孝・藤代一成 (1985): 鞭毛藻による生物対流の数値実験的研究. 国立公害研究所研究報告, 第80号, 103-118.
- 原島省・渡辺正孝・藤代一成 (1987): 生物対流パターンの遷移過程. 国立公害研究所研究報告, 第110号,
- Imai, I. and K. Itoh (1986): A preliminary note on the cysts of Chattonella (Raphidophyceae) red tide flagellates, found in bottom sediment in Suo-Nada, Western Seto Inland Sea. Jpn. Bull. Plankton Soc. Japan, 33, 61-63.
- Imai, I. and K. Itoh (1987): Annual life cycle of Chattonella spp., causative flagellates of noxious red tides in the Inland Sea of Japan. Mar. Biol., 94, 287-292.
- 木幡邦男・渡辺正孝 (1985a): 制御実験生態系 (マイクロコズム) を用いた赤潮発生機構の解析 (III) - 赤潮鞭毛藻 Heterosigma akashiwo の日周鉛直移動と日周体積変化の関係. 国立公害研究所研究報告, 第80号, 13-22.
- 木幡邦男・渡辺正孝 (1985b): 制御実験生態系 (マイクロコズム) を用いた赤潮発生機構の解析 (IV) - 赤潮鞭毛藻 Heterosigma akashiwo の増殖中細胞にみられる C/N 比とクロロフィル a/c 比の日周変化. 国立公害研究所研究報告, 第80号, 23-32.
- 木幡邦男・渡辺正孝 (1987a): 制御実験生態系 (マイクロコズム) を用いた赤潮発生機構の解析 (V) - 赤潮鞭毛藻 Heterosigma akashiwo の増殖と細胞体積変化 - . 国立公害研究所研究報告, 第110号,
- 木幡邦男・渡辺正孝 (1987b): 制御実験生態系 (マイクロコズム) を用いた赤潮発生機構の解析 (VI) - 赤潮鞭毛藻 Chattonella antiqua の増殖細胞に見られる C/N 比と光合成色素の構成比の日周変化. 国立公害研究所研究報告, 第110号,
- 木幡邦男・渡辺正孝 (1987c): 制御実験生態系 (マイクロコズム) を用いた赤潮発生機構の解析 (VII) - 赤潮鞭毛藻 Heterosigma akashiwo の光制限同調培養下の増殖とそのモデル化.

- 国立公害研究所研究報告, 第110号,
 森 忠洋・矢木修身・須藤隆一 (1987): 富栄養化した汽水湖・中海底泥中における硫酸還元速度. 国立公害研究所研究報告, 第110号,
 中村泰男 (1985a): *Chattonella antiqua* によるアンモニウム塩摂取及び硝酸塩-アンモニウム塩摂取の相互作用. 国立公害研究所研究報告, 第80号, 57-66.
 中村泰男 (1985b): *Chattonella antiqua* と *Heterosigma akashiwo* のアルカリホスファターゼ活性. 国立公害研究所研究報告, 第80号, 67-72.
 中村泰男 (1985c): 窒素あるいはリン制限下における *Chattonella antiqua* の増殖の動力学. 国立公害研究所研究報告, 第80号, 73-84.
 中村泰男 (1987): 赤潮鞭毛藻 *Chattonella antiqua* の硝酸塩, アンモニウム塩, リン酸塩摂取に及ぼす増殖条件の影響. 国立公害研究所研究報告, 第110号,
 中村泰男・沢井一浩・渡辺正孝 (1987): *Chattonella antiqua* の増殖抑制に及ぼす銅イオンの効果. 国立公害研究所研究報告, 第110号,
 中村泰男・沢井一浩・持田昌彦・渡辺正孝 (1987): 赤潮多発海域での制限栄養塩推定の試み-瀬戸内海西島(家島諸島)における現場海水を用いた *Chattonella antiqua* の半連続培養実験-. 国立公害研究所研究報告, 第110号,
 Prakash, A. (1967): Growth and toxicity of a marine dinoflagellate *Gonyaulax tamarensis*. J. Fish. Res., Board Canada, 24, 1589-1606.
 Sakshaug, E. (1977): Limiting nutrients and maximum growth rate for diatoms in Narragansett Bay. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 28, 109-123.
 須藤隆一・森忠洋・岡田光正 (1973): 藻類培養試験による富栄養化の評価. 用水と排水, 15, 107-116.
 渡辺 信・渡辺正孝・福代康夫 (1982): 赤潮鞭毛藻類のシスト形成と発芽 I. *Scrippsiella trochoidea* におけるシスト形成の誘起条件について. 国立公害研究所研究報告, 第30号, 27-42.
 渡辺正孝・宮崎忠国 (1985): *Heterosigma akashiwo* の日周鉛直移動による表面集積とマイクロゾム内での光吸収係数. 国立公害研究所研究報告, 第80号, 33-46.
 渡辺正孝・木幡邦男・功刀正行 (1985): *Heterosigma akashiwo* のリン酸塩摂取と³¹P-NMRによるポリリン酸代謝過程の計測. 国立公害研究所研究報告, 第80号, 47-56.
 渡辺正孝・木幡邦男・功刀正行 (1987a): ³¹P-NMRを用いた *Heterosigma akashiwo* (Hada) Hada の体内リン蓄積過程の解析. 国立公害研究所研究報告, 第110号,
 渡辺正孝・木幡邦男・功刀正行 (1987b): 塩分・リン濃度による成層条件下での *Heterosigma akashiwo* の日周鉛直移動と体内リン蓄積過程. 国立公害研究所研究報告, 第110号,
 渡辺正孝・中村泰男・木幡邦男 (1987): *Chattonella antiqua* の生態モデル. 国立公害研究所研究報告, 第110号,
 渡辺正孝・渡辺 信・木幡邦男・中村泰男・原島 省 (1985): 現場マイクロゾムにおける *Heterosigma akashiwo* の増殖. 国立公害研究所研究報告, 第80号, 119-138.
 渡辺正孝・野中昭彦・木幡邦男・中村泰男・原島 省・河原長美 (1987): cage culture を用いた *Heterosigma akashiwo* (Hada) Hada の増殖特性と日周鉛直移動実験. 国立公害研究所研究報告, 第110号,
 矢木修身・松丸美智代・須藤隆一 (1987): 汽水性水域のAGPの測定法. 国立公害研究所研究報告, 第110号,

渡辺正孝

矢木修身・須藤隆一・今岡 務・寺西靖治（1984）：赤潮生物による都市下水のAGP. 国立公害研究所研究報告，第63号，231-242.

汽水性水域のAGPの測定法
Determination of AGP in Brackish Water

矢木修身¹・松丸美智代²・東 禎三³・須藤隆一¹

Osami YAGI¹, Michiyo MATSUMARU², Teizo HIGASHI³ and Ryuichi SUDO¹

要 旨

中海より分離した *Chlorella* sp., 瀬戸内海より分離した *Skeletonema costatum* 及び霞ヶ浦より分離した *Microcystis aeruginosa* K-3A, *Microcystis flos-aquae* K-5 を用いて汽水域の AGP の測定法を検討すると共に中海の AGP の測定を試みた。汽水域より分離した *Chlorella* sp. は Cl^- イオン濃度が $200\sim 15,000 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ と幅広い範囲で良好な増殖を示した。淡水性の *M. aeruginosa* K-3A は $2000 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ で *M. flos-aquae* は $4,000 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ で増殖にかなりの阻害が認められたが、 Cl^- イオン濃度が $1,500 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ 以下の試水には適用できるものと思われた。中海の湖心及び米子湾の AGP は、*Chlorella* sp. で 5.8, $14.0 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$, *S. costatum* で 5.5, $11.0 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ であった。

Abstract

AGPs of brackish water were determined using *Chlorella* sp. isolated

-
1. 国立公害研究所 水質土壌環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Water and Soil Environment Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
 2. 昭和59年度 国立公害研究所共同研究員 (東邦大学理学部 〒274 千葉県船橋市三山)
Research Collaborator of the National Institute for Environmental Studies. Present Address: Faculty of Science, Toho Univ., Funabashi, Chiba 274, Japan.
 3. 昭和61年度 国立公害研究所客員研究員 (日本大学農獣医学部 〒154 東京都世田谷区下馬 3-34-1)
Visiting Fellow of the National Institute for Environmental Studies. Present Address: College of Agriculture and Veterinary Medicine, Nihon Univ., Shimouma, Setagaya-ku, Tokyo 154, Japan.

from Lake Nakanoumi, Skeletonema costatum from Seto Inland Sea, Microcystis aeruginosa K-3A and Microcystis flos-aquae K-5 from Lake Kasumigaura. Chlorella sp. from brackish water grows well at wide Cl^- concentrations between 200 to 15,000 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$. The growth of M. aeruginosa and M. flos-aquae from fresh water was inhibited at more than Cl^- concentration of 2,000 and 4,000 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$, respectively. AGP values of the central Nakanoumi and the Yonago embayment were 5.8 and 14.0 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ by Chlorella sp. and 5.5 and 11.0 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ by S. costatum.

1 はじめに

全国各地の内湾、内海で富栄養化が進行している。陸地に近い海域では塩分濃度が低く汽水性になっている場所が多く、特に河川の流入等による塩分濃度の低下する汽水域で赤潮の発生が認められることから、赤潮の発生を予測する上で汽水域の富栄養化状況を評価することは大変重要と考えられる。

AGP は赤潮発生の潜在能力を知る上で有用なものと考えられる (U.S.EPA, 1974; 竺, 1977; 須藤, 1981; 今岡, 1982; 矢木, 1982)。しかしながら汽水域での AGP の測定法が確立していないことから、本研究では代表的な汽水湖の一つである中海の試水を用いて、海水性、淡水性、汽水性の藻を用いて汽水域の AGP の測定法について検討を加えた。

2 実験方法

2.1 試水の採取場所

中海は、島根県及び鳥取県にまたがって存在する汽水湖で面積 98.5 km^2 、周囲の長さ 83.5 km、平均水深 5.4 m で、我が国第 6 位の大きさをもつ富栄養湖である。日本海とは、7.5 km、幅 200~400 m の境水道によりつながっている。また中海では干拓事業が進行している点、さらに宍道湖水が大橋川を経て流入している特徴を有している。中海における採水地点を図 1 に示したが、St.4 は湖心(1984年10月7日採取)、St.11 は米子沖、St.22 は大橋川(1984年9月27日採取)でありいずれも表層水を採取した。この 3 地点の試水について水質と AGP の測定を行った。

2.2 供試藻類

供試藻として Chlorella sp., Skeletonema costatum, Microcystis aeruginosa K-3A, Microcystis flos-aquae K-5 を用いた (矢木, 1984)。Chlorella sp. は中海より分離したものであり、S. costatum は瀬戸内海より、M. aeruginosa, M. flos-aquae は霞ヶ浦より分離したものである。Chlorella sp. 及び S. costatum の保存及び前培養は表 1 に示す AM 培地を、また M. aeruginosa K-3A, M. flos-aquae K-5 の場合は表 2 に示す M-11 培地を用いた。

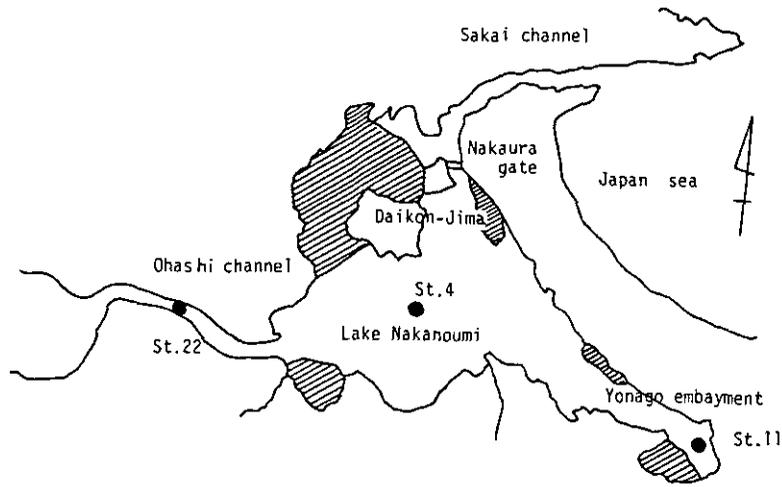


図 1 中海の採水地点

Fig. 1 Sampling sites of Lake Nakanoumi

表 1 AM 培地組成

Table 1 Composition of AM medium

| | |
|---|----------|
| NaNO ₃ | 1.0 mg-N |
| K ₂ HPO ₄ | 0.1 mg-P |
| FeCl ₃ | 1.0 mg |
| Na ₂ SiO ₃ ·9H ₂ O | 1.0 mg |
| Na ₂ EDTA·2H ₂ O | 1.0 mg |
| Thiamine-HCl | 0.2 mg |
| Biotin | 0.1 μg |
| Vitamin B ₁₂ | 0.1 μg |
| Mineral salt sol. ¹⁾ | 1 ml |
| Artificial sea water ²⁾ | 750 ml |
| Deionized water | 250 ml |

1) MnCl₂·4H₂O 208mg, H₃BO₃ 92.8mg, ZnCl₂ 16mg,
CoCl₂·6H₂O 714 μg, CuCl₂·2H₂O 10.7 μg, Na₂MoO₄·
2H₂O 3.63mg in 500ml H₂O

2) NaCl 23.48g, MgCl₂·6H₂O 10.61g, Na₂SO₄ 3.92g,
KCl 0.86g, CaCl₂·2H₂O 1.47g, NaHCO₃ 0.19g, KBr
0.10g, SrCl₂·6H₂O 0.04g, H₃BO₃ 0.04g in 1000ml
H₂O

表 2 M-11培地組成
Table 2 Composition of M-11 medium

| | |
|--|-------|
| NaNO ₃ | 100mg |
| K ₂ HPO ₄ | 10 |
| MgSO ₄ ·7H ₂ O | 75 |
| CaCl ₂ ·2H ₂ O | 40 |
| Na ₂ CO ₃ | 20 |
| Fe-citrate | 6 |
| Na ₂ EDTA·2H ₂ O | 1 |
| Deionized water | 1l |
| pH | 8.0 |

2. 3 試水の処理

ろ過法と熱分解法により AGP の測定を行った。ろ過法とは試水をワットマン GF/C のガラスフィルターで無菌的にろ過したものをを用いて AGP を測定したものであり、熱分解法とは試水を 120℃、15分間 オートクレーブ処理を行った後、ワットマンの GF/C のガラスフィルターでろ過操作を行い AGP を測定したものである。

2. 4 添加栄養物質

添加栄養物質は窒素、リン、珪素を用いた。これらの栄養物質の添加量は、窒素として NaNO₃ 1.0 mg-N·l⁻¹、リンとして K₂HPO₄ 0.1 mg-P·l⁻¹、珪素として Na₂SiO₂·9H₂O 1.0 mg-Si·l⁻¹ となるように試水に添加した。これらの添加溶液はあらかじめオートクレーブにより滅菌した。

2. 5 藻類の接種及び培養方法

前処理を行った試水 100 ml を 300 ml の三角フラスコに無菌的に分注し、これに栄養物質を添加した後、前培養した藻類を接種した。Chlorella sp., S. costatum 及び M. flos-aquae K-5 の場合は前培養液の 0.1 ml を添加した。M. aeruginosa K-3A は強固な群体を形成するため、プランクトンネット上で群体を洗浄後、無菌水に懸濁させ、これを 50W、30秒超音波処理を行い、群体を破壊した細胞懸濁液 0.2 ml を接種した。接種量はいずれも乾燥重量として 0.01~0.02 mg·l⁻¹ とし、接種の際持ち込まれる栄養塩をなるべく少なくした。培養条件は Chlorella sp. は 25℃、振とう培養、S. costatum は 20℃、静置培養、M. aeruginosa K-3A、M. flos-aquae K-5 は 30℃、静置培養を行い、いずれの藻類も 2,000 lx、連続照射の条件で培養した。培養はすべて 2 連で行った。試水を採取してから培養を開始するまでの期間は通常 2 日以内とし、なるべく試水の保存期間を短くすることに努めた。

藻体量の測定は粒子計数器（コールターカウンター）を用いて細胞数と平均細胞容積より全細

胞容積を測定し、あらかじめ作成しておいた検量線より乾燥重量として表示した。増殖が最大に達した値を AGP とした。なお、*M. aeruginosa* K-3A の場合は群体を形成するため、50W 30秒間超音波処理し群体をばらばらにさせた後にコールターカウンターで計数した。

2.6 水質分析

AGP と水質を比較検討するため、中海から採取した試水について pH, COD, T-N, $\text{NH}_4^+\text{-N}$, $\text{NO}_{2+3}\text{-N}$, T-P, $\text{PO}_4\text{-P}$, Cl^- の分析を行った。 Cl^- の分析にはセントラル科学社製 UC-4 型 Clメータを用いた。他の分析項目は下水試験法によった。

3 実験結果

3.1 中海の水質

中海の水質分析結果を表3に示した。St.4 は湖心であるが、 Cl^- イオンは $15,300 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ と海水の 1/2 の濃度であった。また米子沖の St.11 は湖心の塩分濃度に近く St.22 の大橋川でも $2,300 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ の Cl^- イオンが存在していた。COD は St.11 が $3.7 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ で最も高く、次いで St.4, St.22 の $1.8 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ であった。T-N は St.4 と St.11 でほぼ $1.5 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ とかなり高い値を示した。一方、T-P は St.11 で $0.120 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ と最も高く、St.11 が水質分析結果では最も汚濁が進んでいるものと考えられた。

表 3 中海の水質

Table 3 Water qualities of Lake Nakanoumi

| | pH | COD | Cl^- | T - N | | | $\text{NH}_4\text{-N}$ | | $\text{NO}_{2+3}\text{-N}$ | | T-P | $\text{PO}_4\text{-P}$ |
|-------|-----|-----|---------------|-------|------|------|------------------------|------|----------------------------|------|-------|------------------------|
| | | | | T | F | A | F | A | F | A | | |
| | | | | | | | | | | | | |
| St.4 | 7.6 | 1.8 | 15300 | 1.73 | 0.83 | 0.74 | 0.13 | 0.12 | 0.02 | 0.02 | 0.071 | 0.040 |
| St.11 | 7.8 | 3.7 | 14600 | 1.50 | 1.12 | 1.25 | 0.32 | 0.29 | 0.11 | 0.09 | 0.120 | 0.077 |
| St.22 | 7.4 | 1.8 | 2300 | 0.75 | 0.74 | 0.68 | 0.06 | 0.05 | 0.02 | 0.01 | 0.089 | 0.001 |

T; Total, F; Filtrate, A; Autoclaved-filtrate

3.2 増殖に及ぼす Cl^- イオンの影響

中海では Cl^- イオン濃度が $2,300\sim 15,300 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ とかなり幅広い範囲で存在することから、AGP の測定に当たり使用藻の増殖と塩分濃度との関係を明らかにしておく必要がある。図2～4は *Chlorella* sp., *M. aeruginosa*, *M. flos-aquae* の各塩分濃度における増殖曲線を示したものである。実験方法は、M-11 培地に珪酸ソーダ ($\text{Na}_2\text{SiO}_2\cdot 9\text{H}_2\text{O}$) を $1 \text{ mg}\cdot\text{Si}\cdot\text{l}^{-1}$ になるように

添加した培地を 300 ml の三角フラスコに 100 ml 無菌的に添加し、これに NaCl を所定濃度加えた。これに前培養した藻類を接種し AGP 測定と同一条件で培養した。

Chlorella sp. の場合を図 2 に示したが、Cl⁻ イオンが 200 mg・l⁻¹ から 15,000 mg・l⁻¹ の濃度範囲では、培養 4 日目までの比増殖速度 (μ) は 1.0 d⁻¹ 程度でありほとんど差は認められないが、Cl⁻ イオン濃度が 0 mg・l⁻¹ では $\mu = 0.33$ d⁻¹ と最大の 33% に低下した。また最大増殖量は Cl⁻ イオンが 1,000 mg・l⁻¹ 以上では 70~80 mg・l⁻¹ であったが、200~1,000 mg・l⁻¹ の低濃度では 50~60 mg・l⁻¹ とやや低い傾向を示した。また Cl⁻ イオンが 0 mg・l⁻¹ では藻体重は 30 mg・l⁻¹ と低下した。

M. aeruginosa K-3A の場合を図 3 に示したが、Cl⁻ イオン濃度 0 mg・l⁻¹ で、 $\mu = 0.46$ d⁻¹、最大増殖量 120 mg・l⁻¹ といずれも最大の値が得られた。Cl⁻ イオン濃度の増大に伴い、 μ 及び最大増殖量の低下が認められ Cl⁻ イオン濃度 2,000 mg・l⁻¹ では $\mu = 0.30$ d⁻¹ とかなり低下し、3,000 mg・l⁻¹ では $\mu = 0.03$ d⁻¹ と増殖に対し著しい阻害が認められた。

M. flos-aquae の Cl⁻ イオン濃度の影響を図 4 に示した。 μ に関しては Cl⁻ イオン濃度が 2,000 mg・l⁻¹ 以下では μ は 0.50 d⁻¹ と Cl⁻ イオンの影響を受けないが、3,000 mg・l⁻¹ で 0.42 d⁻¹ とわずかに阻害され 5,000 mg・l⁻¹ では $\mu = 0.14$ d⁻¹ と著しく阻害を受けた。一方最大増殖量は Cl⁻ イオン濃度が 1,500 mg・l⁻¹ 以下で 50 mg・l⁻¹ 以上の増殖が認められたが、

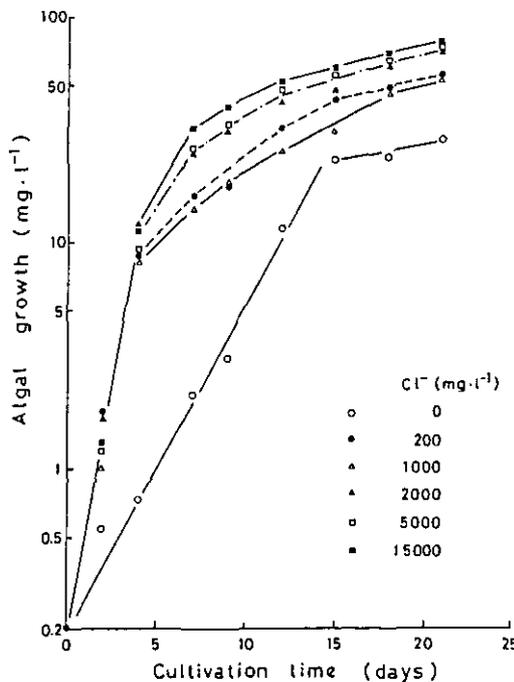


図 2 *Chlorella* sp. の増殖に及ぼす Cl⁻ の影響

Fig. 2 Effect of Cl⁻ on the growth of *Chlorella* sp.

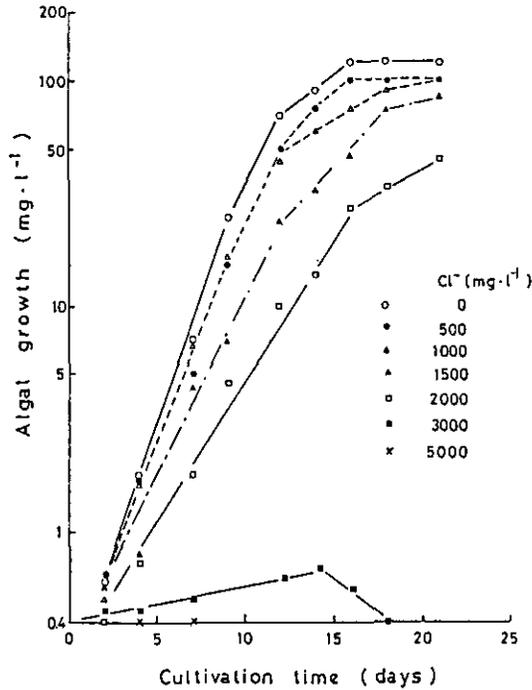


図 3 *Microcystis aeruginosa* K-3A の増殖に及ぼすCl⁻の影響

Fig. 3 Effect of Cl⁻ on the growth of *Microcystis aeruginosa* K-3A

3,000 mg·l⁻¹ 以上ではかなりの阻害が認められ 5,000 mg·l⁻¹ では藻類の最大増殖量は 1.5 mg·l⁻¹ とごくわずかであった。μ 及び最大増殖量は Cl⁻ イオン濃度の増大に伴い両者共に減少する傾向が認められたが、*M. flos-aquae* K-5 は *M. aeruginosa* K-3A に比べ Cl⁻ イオン耐性がやや高い種であるといえよう。

M. aeruginosa K-3A, *M. flos-aquae* K-5 の Cl⁻ イオン無添加の場合での μ を 100 % とし、塩分の各濃度における阻害率 (EC₅₀) を算出したのが図 5 である。*M. aeruginosa* K-3A 及び *M. flos-aquae* K-5 の株の EC₅₀ はそれぞれ 2,200 mg·l⁻¹, 4,200 mg·l⁻¹ であり、*M. flos-aquae* の方が *M. aeruginosa* の約 2 倍と Cl⁻ イオンに対し高い耐性を示した。AGP 用の藻類として使用する場合、*M. aeruginosa* K-3A, *M. flos-aquae* K-5 は Cl⁻ イオン濃度がそれぞれ 1,500 mg·l⁻¹ 及び 2,000 mg·l⁻¹ 以下の試水であれば適応可能と考えられた。一方、*Chlorella* sp. は Cl⁻ イオン濃度の影響をほとんど受けず、汽水域用の AGP 測定には大変適している株であることが判明した。

3.3 中海の AGP

S. costatum 及び *Chlorella* sp. を用いて中海の AGP を測定した結果を表 4 に示した。ろ過法

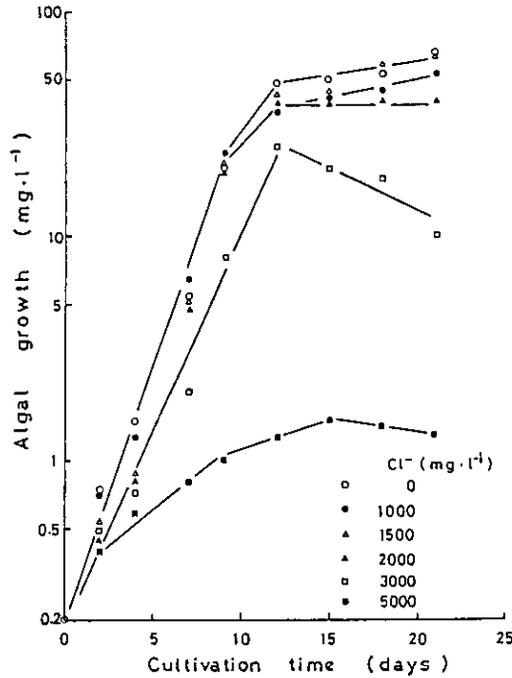


図 4 *Microcystis flos-aquae* K-5 の増殖に及ぼす Cl^- の影響
 Fig. 4 Effect of Cl^- on the growth of *Microcystis flos-aquae* K-5

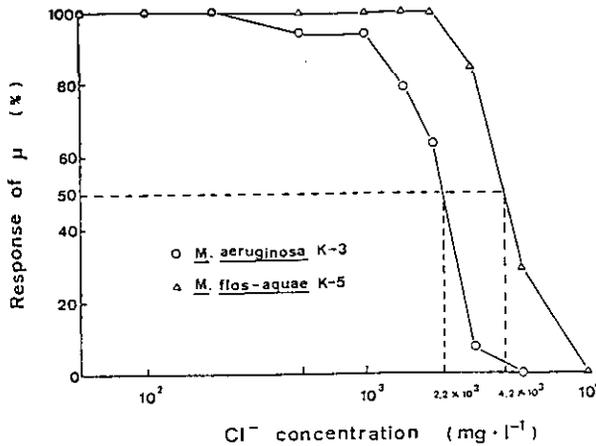


図 5 *Microcystis* の比増殖速度に及ぼす Cl^- の影響
 Fig. 5 Response of specific growth rate of *Microcystis* at various Cl^- concentration

の AGP は *S. costatum* で, St.11 が最も高く $11.0 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ であり St.22 が最も低く $1.0 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ であった。一方, *Chlorella* sp. の場合 St.11 が *S. costatum* と同様に最も高く $14.0 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, St.22 が $1.5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ と最も低かった。St.11 は T-N, T-P の水質分析結果から中海で

表 4 海水性藻による中海の AGP
Table 4 AGP of Lake Nakanoumi by sea algae

| Algae | Pre-treatment | St.4 | St.11 | St.22 |
|----------------------|---------------|------|-------|-------|
| <i>S. costatum</i> | F | 5.5 | 11.0 | 1.0 |
| | A | 6.0 | 7.0 | 0.9 |
| <i>Chlorella</i> sp. | F | 5.8 | 14.0 | 1.5 |
| | A | 16.5 | 21.0 | 1.0 |

(mg·l⁻¹)

F; Filtrate, A; Autoclaved-filtrate

は汚濁が最も進んでいるところと考えられるが AGP の値からもかなり汚濁が進行していると考えられた。一方, St.22 は AGP が $1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 程度でありあまり汚濁が進行していないものと考えられた。熱分解法の場合は, *S. costatum* ではろ過法と比較してほとんど差が認められなかったが, *Chlorella* sp.の場合は, St.4 及び St.11の熱分解法で高い値が得られた。水質分析では T-N, T-P においてろ過法と熱分解法とでほとんど差が認められなかったが, AGPで差が出たことは興味深い。また*S. costatum* と *Chlorella* sp.とを比較すると *Chlorella* sp.の方がやや高い AGP 値を示した。

3.4 制限栄養物質

St.4 の試水の制限栄養物質を調べた結果を図6, 図7に示した。St.4 では図6に示すように *S. costatum* の場合ろ過法で N 添加により増殖量が増大することから N が制限になっているといえる。熱分解法では P が制限となっていた。*Chlorella* sp.の場合は, N, P の同時添加で増殖が認められたことから N, P が同時に制限となっていた。また熱分解法では N が制限となっていた。

St.11 の結果を図8, 図9に示した。ろ過法の場合, 図8に示すように *S. costatum* で N, P が同時に制限となっていた一方, 図9に示すように *Chlorella* sp.では N, P 単独添加でいずれも増殖量の増加が認められた。この現象は, これに N 又は P を単独添加することにより P又は N の利用性が高まり増殖が増大したのではないかと考えられ, したがって N, P が同時に制限になっていることが推測された。

St.22 の結果を図10, 図11に示した。ろ過法の *S. costatum* では図10に示すように N 制限, *Chlorella* sp.では図11に示すように N, P の同時制限という結果が得られた。

以上のことから, 使用する藻種によりいくぶん制限栄養物質が異なる傾向が認められたが, 中海では N あるいは N, P が同時に制限となっているといえよう。また *Skeletonema* を用いたた

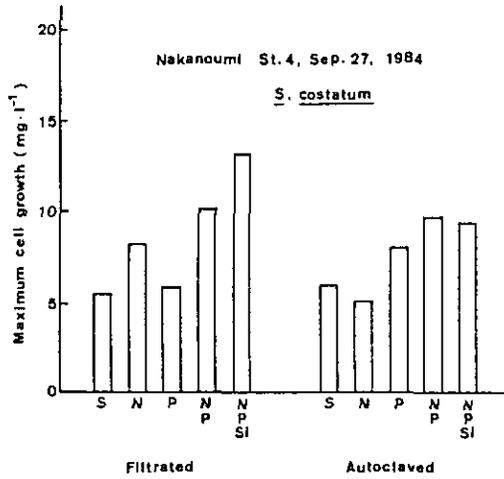


図 6 中海（湖心）の AGP と制限栄養物質

Fig. 6 AGP and limiting nutrient of the central Nakanoumi by S. costatum

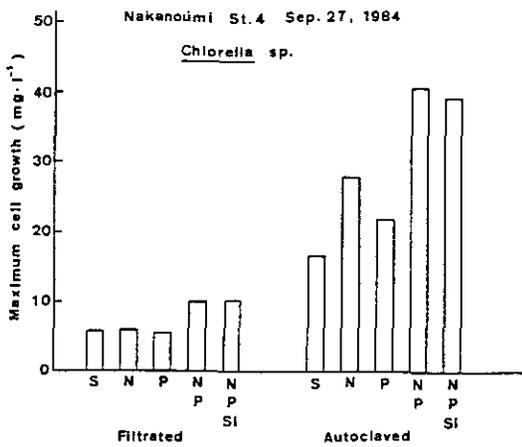


図 7 中海（湖心）の AGP と制限栄養物質

Fig. 7 AGP and limiting nutrient of the central Nakanoumi by Chlorella sp.

珪酸が制限となることが考えられたため珪酸添加実験を行ったが、珪酸が制限になることはなかった。

3.5 淡水藻による AGP

中海の St. 4 の試水について淡水性の藻類である M. aeruginosa K-3A を用いてろ過法の AGP

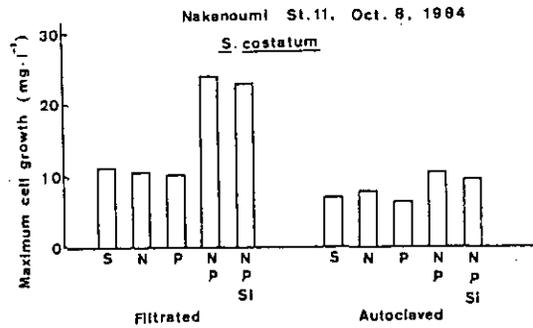


図 8 中海（米子湾）のAGPと制限栄養物質

Fig. 8 AGP and limiting nutrient of the Yonago embayment in Lake Nakano-umi by S. costatum

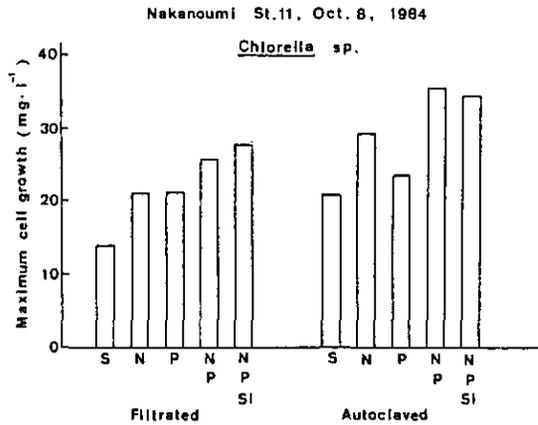


図 9 中海（米子湾）のAGPと制限栄養物質

Fig. 9 AGP and limiting nutrient of the Yonago embayment in Lake Nakano-umi by Chlorella sp.

の測定を試みた。M. aeruginosa K-3A は塩分により増殖の阻害を受けることから、試水を脱イオン水で 2~10 倍希釈し培養を行った。その結果を表5に示した。無希釈及び2倍希釈では、M. aeruginosa の増殖はほとんど認められなかったが、5倍の希釈で $1.1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 、10倍希釈で $2.1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ の増殖が認められた。希釈倍数をかけた最大値の $21 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ が AGP となるが、表4の S. costatum の $11.0 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 、Chlorella sp.の $14.0 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ に比べ高い値を示した。淡水藻を用いる汽水域の AGP の測定法はさらに検討を加える必要がある。

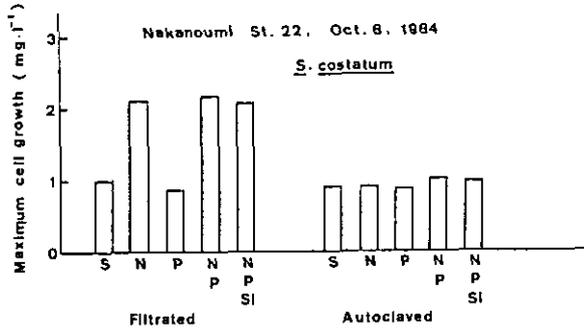


図 10 中海（大橋水道）の AGP と制限栄養物質

Fig. 10 AGP and limiting nutrient of the Ohashi channel in Lake Nakanoumi

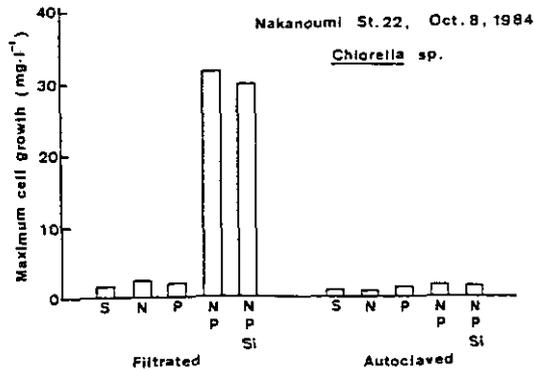


図 11 中海（大橋水道）の AGP と制限栄養物質

Fig. 11 AGP and limiting nutrient of the Ohashi channel in Lake Nakanoumi

表 5 中海の湖水中における *M. aeruginosa* の増殖

Table 5 Growth of *M. aeruginosa* K-3A in the water of Lake Nakanoumi

| Dilution fold | Maximum algal growth (mg·l ⁻¹) |
|---------------|--|
| 1 | 0.2 |
| 2 | 0.1 |
| 3 | 0.9 |
| 5 | 1.1 |
| 10 | 2.1 |

4 おわりに

汽水域の AGP 測定法の検討と汽水域の代表の一つである中海の AGP の測定を行った結果、汽水域の AGP 測定には、塩分濃度を測定した上で、その濃度に適した藻類を使用することが重要であることが判明した。汽水性の *Chlorella* は塩分に対し幅広い耐性を有していることから、汽水性の AGP 測定に適していた。今後は汽水性の他の種の藻類についても検討を加える必要があると思われた。

引用文献

- 今岡 務・寺西靖治・矢木修身・須藤隆一(1982): 赤潮生物を用いた都市下水の AGP の測定. 下水道協会誌, 18, 1-8.
- 竺 文彦(1977): 藻類増殖試験に関する基礎的研究. 用水と排水, 19, 53-62.
- 須藤隆一・田井慎吾・矢木修身・岡田光正・細見正明・山根敦子(1981): 藻類の培養試験法による AGP の測定. 国立公害研究所研究報告, 第26号, 51p.
- U.S.EPA(1974): Marine Algal Assay Procedure Bottle test. EPA-600/3-75-008.
- 矢木修身・須藤隆一・今岡 務・寺西靖治(1982): 海水の赤潮生物生産能力の評価. 国立公害研究所研究報告, 第30号, 289-302.
- 矢木修身・萩原富司・高村義親・須藤隆一(1984): 霞ヶ浦から分離した *Microcystis* の無菌株と単藻株の増殖特性. 水質汚濁研究, 7, 496-503.

富栄養化した汽水湖・中海底泥中における硫酸還元速度

Sulfate Reduction Rate in Sediment of Eutrophic Brackish, Lake Nakanoumi

森 忠洋¹・矢木修身²・須藤隆一²

Tadahiro MORI¹, Osami YAGI² and Ryuichi SUDO²

要 旨

富栄養化した汽水湖、中海の中心部(St.4)及び最も汚濁が進行した米子湾(St.11)の底泥の硫酸還元速度を検討した結果(1984年9月~1986年1月)、次のことがわかった。

(1) 硫酸還元速度は秋期に大きく冬期に小さい傾向にあった。また、各季節ともに St.4 より St.11 の硫酸還元速度が大きい傾向にあった。St.4 における硫酸還元速度の最大値は、9月に表層 0~1cm において $202 \text{ nmol} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{m}^{-1}$ であり St.11 では5月に表層 0~1cm において $502 \text{ nmol} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{m}^{-1}$ の最大値を示した。

(2) 硫酸還元速度に最も大きな影響を及ぼしたのは温度と Eh であった。硫酸還元菌にとって最適の温度及び Eh はそれぞれ 35°C 、 -200mV 程度であると考えられた。

(3) St.11 の硫酸還元速度に及ぼす有機物の添加効果から St.11 の底泥中には Desulfovibrio, Desulfobacter, Desulfotomaculum 又は Desulfobulbus などが存在することが推定できた。

Abstract

The sulfate reduction rate was determined in the sediment of St.4

-
1. 昭和59~61年度 国立公害研究所客員研究員(島根大学農学部 〒690 松江市西川津町1060)
Visiting Fellow of the National Institute for Environmental Studies. Present Address :Faculty of Agriculture, Shimane University, Nishikawazu, Matsue, Shimane 690, Japan.
 2. 国立公害研究所 水質土壌環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Water and Soil Environment Division, the National Institute for Environmental Studies. Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

(central area of Nakanoumi) and St.11 (Yonago bay, most polluted area) in the eutrophic brackish Lake Nakanoumi from September 1984 to January 1986.

The following results were obtained;

(1) The sulfate reduction rates were relatively high in autumn and low in winter. The maximum sulfate reduction rates in St.4 and St.11 were $202 \text{ nmol} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{m} \text{ l}^{-1}$ (September, 0-1cm) and $502 \text{ nmol} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{m} \text{ l}^{-1}$ (May, 0-1cm), respectively.

(2) Temperature and Eh gave the great effect on the sulfate reduction rate. The optimum temperature and Eh seemed to be approximately 35°C and -200mV , respectively.

(3) It is assumed that some genera, Desulfovibrio, Desulfobacter, Desulfotomaculum or Desulfobulbus at St.11 were present in the experiments of the effect of organic matter on the sulfate reduction rate.

1 はじめに

中海は平均水深 6m 程度の富栄養化した汽水湖である。年間を通して水深 3~4m 付近に塩分層が存在するので底泥は常に嫌気性になっている。したがって、底泥中では海水由来の硫酸塩と有機物を同時に利用できる硫酸還元菌が活発に活動している。利用する有機物の種類は乳酸、プロピオン酸又は酢酸などの低分子有機酸である。汽水域又は海洋では硫酸還元活性が高い場合、メタン菌の活性は極めて低い (Hines & Buck, 1982, Banat et al., 1983) その理由として Isa (1986) は硫酸還元菌はメタン菌より酢酸に対する親和性が強く、また酢酸の利用速度が速いことを指摘している。したがって富栄養化して、かつ嫌気的な汽水域及び海洋における有機物の最終的な分解において硫酸還元菌は重要な役割を果たしている。

Jørgensen (1977) はフィヨルドの底泥中の有機物の無機化の 53% は硫酸還元菌によると報告している。また、リンの溶出にも硫酸還元菌が関与していると言われていた (小山, 1984, Ohgaki & Furumai, 1980)。

本研究の目的は、以上のような重要な働きをしている硫酸還元菌の役割を明確にするための第一歩として中海底泥中における硫酸還元速度の垂直分布の経時変化を求めると共に、それに影響を与える環境要因を検討することにある。

2 調査方法

2.1 調査地点

調査地点は図 1 に示すように中海のほぼ中心で中海の平均的な性質を示す St.4 と、中海で最も汚濁が進行している米子湾 (St.11) の 2 箇所とした。

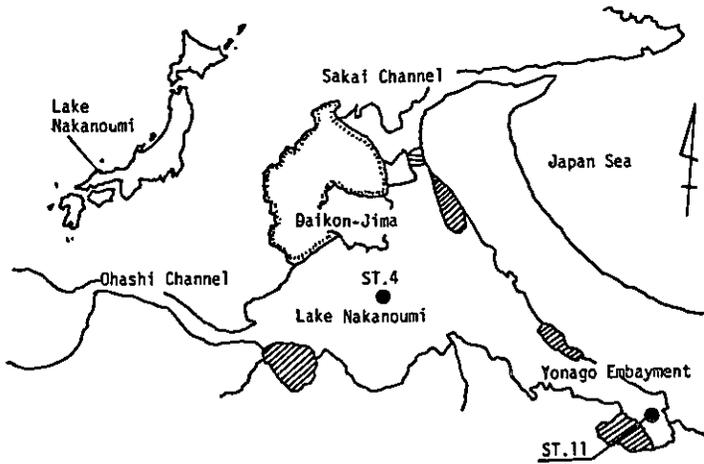


図 1 採泥地点

Fig. 1 Sampling stations

2.2 採泥

採泥は投げ込み式のペンシル型コアサンプラー (Satake, 1983) とピストン式のコアサンプラーを用いた。ペンシル型コアサンプラーでは直径 0.8cm, 長さ 5~10cmのコアサンプラーを用いて、特に表層 5cm の硫酸還元速度の垂直分布を求めた。またピストン型コアサンプラー (直径 2.7cm, 長さ 10~20cm のコアサンプル) で得た試料を用いて、酸化還元電位 (Eh), 間けき水中の硫酸イオン (SO_4^{2-})濃度及び強熱減量 (I.L.) を測定した。

採取した底泥は、現場で直ちにゴム栓によりコアサンプラーの上下を密閉したうえ、アイスボックスに入れて実験室に持ち帰り、その日のうちに硫酸還元活性の測定を開始した。

また、採泥と同時に各地点の底層水を採水器で約 2.0 l 採取し、ポリタンクに入れてアイスボックスに入れて持ち帰った。

2.3 硫酸還元速度

(1) 容器の窒素置換

硫酸還元速度の測定には、図 2 の装置を使用した。まず、バイアルビン (7.5ml 容) に 3.5×7cm のアコーディオン型に折ったろ紙を入れ 1N の酢酸亜鉛水溶液を 1.0ml 浸み込ませた。これとバイアルビン (20ml 容) を 120ml 容の広口試薬ビンに入れ、試薬ビンの口の側面に注射針を 2 本はさんで、シリコンゴム栓をした。これをデシケーター中に入れ真空ポンプで 15 分間吸引し、その後窒素を入れた。この操作を 2 回繰り返した後、デシケーターから広口試薬ビンを取り出し、すばやく注射針を抜いた。

(2) 底泥のサンプルの注入

窒素を満たした無菌バックの中で、窒素置換を終えた図 2 の広口試薬ビンの栓を開け、バイア

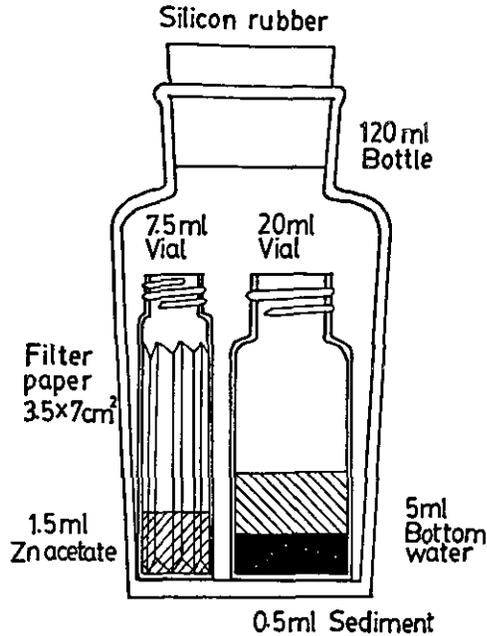


図 2 硫酸還元速度の測定装置

Fig. 2 Instrument for determination of sulfate reduction rate

ルビン中に、0.5 ml の底泥サンプル（ペンシル型コアサンプルで 1cm 容量）を入れた。これに各地点ごとの底層水 4.5 ml をメスピペットで加え、総量を 5 ml とし、底泥と混合した後、広口試薬ビンに戻し、窒素を吹き込みながら栓をした。次に広口試薬ビンを無菌バックから取り出し、再び前操作と同様に窒素置換を 2 回行った。

(3) $\text{Na}_2^{35}\text{SO}_4$ の添加及び培養

$5 \mu\text{Ci} \cdot \text{ml}^{-1}$ の $\text{Na}_2^{35}\text{SO}_4$ を $200 \mu\text{l}$ ($\text{Na}_2^{35}\text{SO}_4 = 1 \mu\text{Ci}$ に相当) をブチルゴム栓と試薬ビンの間げきからサンプルの入ったバイアルビン中にシリンジで添加し、かくはんして底泥と混合した。これを St. 4 の底層水の温度で 24 時間培養した。培養終了後にブチルゴム栓と試薬ビンの間げきから窒素置換した濃塩酸 2.0 ml をシリンジで底泥サンプルに添加しかくはんした。これを室温で 24 時間放置し、発生する H_2^{35}S をろ紙に浸み込ませた酢酸亜鉛水溶液に吸収させた。

(4) [^{35}S] 放射活性

H_2^{35}S 吸収後、広口試薬ビンから 7.5 ml 容バイアルを取り出し、シンチゾル（和光純薬製シンチゾール 500）を 6.5 ml 加え、栓をしてボルテックスマキサー（IWAKI GLASS TM-101）で 30 秒間振とうし、液体シンチレーションによって（Aloka 液体シンチレーションシステム LSC-700）放射活性を測定した。

(5) 硫酸還元速度の計算

dpm の値を次式に代入して底泥 1 ml 当たりの硫酸還元速度を求めた。

$$\text{硫酸還元速度 (nmol}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{m l}^{-1}\text{)} = D \times \frac{c_1 \times 0.5 \times 0.8 + c_2 \times 4.5}{2.22 \times 10^6 \times \left(\frac{1}{2}\right)^t / 88 \times 0.5} \times 1.6$$

D: 測定値(dpm)

t: アイソトープの測定開始日からの日数 (d)

c₁: 間げき水の硫酸塩濃度(nmol・m l⁻¹)

c₂: 底層水の硫酸塩濃度(nmol・m l⁻¹)

0.5:底泥(ml)

4.5:底層水(ml)

1.6:補正係数

2.4 硫酸塩濃度

間げき水は各地点からピストン型コアサンプラーによって採取し、その日に冷凍庫中にて凍結させておいたものを、熱湯に30秒間入れ棒状に凍ったコアを取り出し、必要な長さを切り取った。解凍後、室温で 2,000 rpm, 15分間遠心分離して間げき水を得た。底層水は、各地点において採泥と同時に採水したものをを用いた。これらの試水は、それぞれろ過(Milipore corporation, RAWP 04700 0.45 μm) した後、適当な濃度に希釈した。硝酸塩濃度の測定には、438 nm で比濁分析法を用いて測定した。

2.5 塩分濃度及び温度

現場において KENT製 SALINITY, TEMPERATURE BRIDGE TYPE M.C.5 を用いて底泥表層、底泥上部 0.5 m から水面までの塩分及び水温を測定した。

2.6 溶存酸素濃度(DO)

現場で KENT製 DISSOLVED OXYGEN METER Model 1510 を用いて水温と同様に測定した。

2.7 酸化還元電位(Eh)

各地点からピストン型コアサンプラーにより採取した底泥を持ち帰り、直ちに酸化還元電位計(HORIBA M.B)を用いて、底泥の表層から垂直方向に 1cm ごとに測定した。

2.8 強熱減量(I.L.)の測定

ペンシル型コアサンプルを用いて採泥した後 JIS K0102 に順じて測定した。

2. 9 有機物の添加効果

(1) 培地組成

表 1 に使用した培地の組成を示す。Med. B 及び Med. C はそれぞれ Postgate(1984)及びButlin (1948) の培地で、Med. Bs 及び Med. Cs はそれらを新たに合成培地として改変させたものである。Med. B は液体培地であり、集積培養又は保存培養に用いた。Med. C は寒天培地で分離に用いた。菌の有機物利用能を明確にするために有機物を一種類に制限している。酵母エキスやペプトン中には種々の有機物が含まれるので除外した。有機物はすべてナトリウム塩でその添加量は $20 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$ である。

硫酸還元によって硫化水素が発生すれば、培地中の鉄 (Fe^{2+}) と反応して硫化鉄 (FeS) を生成し、黒色沈澱物を作る。一般にこれをブラグニングと呼んでいる。

NaCl は採泥地点の塩分濃度になるように添加した。また、さらに表 1 に示すビタミン及び微量元素をそれぞれ 1.0 ml 添加した。還元剤としてアスコルビン酸ナトリウムとジチオニン酸ナトリウムを添加した。溶存酸素の指示薬としてはレザズリンを添加した。

表 1 培地組成
Table 1 Media composition

| composition | Med. B | Med. Bs | Med. C | Med. Cs |
|---|--------|---------|--------|---------|
| KH_2PO_4 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| NH_4Cl | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 |
| Na_2SO_4 | — | — | 4.5 | 4.5 |
| CaSO_4 | 1.0 | 1.0 | — | — |
| $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ | — | — | 0.06 | 0.06 |
| $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 2.0 | 2.0 | 0.06 | 0.06 |
| $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 0.5 | 0.5 | 0.004 | 0.004 |
| yeast extract | 1.0 | — | 1.0 | — |
| agar | — | — | 1.5 | 1.5 |
| ¹ NaCl | 19or24 | 19or24 | 19or24 | 19or24 |
| ² substrate | 20mmol | 20mmol | 20mmol | 20mmol |
| ³ reductant solution | 10ml | 10ml | 10ml | 10ml |
| ⁴ vitamine solution | — | 1.0ml | — | 1.0ml |
| ⁵ trace element | — | 1.0ml | — | 1.0ml |

1. The amount of NaCl for St.3 or St.11 is 19 or $24 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$, respectively.
2. Sodium lactate, sodium acetate, sodium propionate, sodium benzoate, sodium DL-malate, sodium formate, butyric acid, glucose or etc. was used for substrate.
3. Reductant solution contained $10.0 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ sodium ascorbate and $3.0 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ sodium ditionite.
4. Vitamine solution (Videll & Pfennig); Biotin 1(mg), P-aminobenzoic acid 5(mg), Vitamine B₁₂ 5(mg), Thiamine(HCl) 10(mg). are dissolved in 1l of H₂O.
5. Trace element solution (Videll & Pfennig); HCl(25%) 6.5(ml), $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 1.5(g), H_3BO_3 80(mg), $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 100(mg), $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 120(mg), ZnCl_2 70(mg), $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 25(mg), $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 25(mg), $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 15(mg). are dissolved in 1l of H₂O.

3 結果

3.1 硫酸還元速度の季節変化及び垂直分布

中海中心部 St.4 における硫酸還元速度の季節変化及び垂直分布を図3(a)に示す。硫酸還元速度が $200 \text{ nmol} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{m l}^{-1}$ 程度になったのは、1984年10月と1985年9月で表層 1cm あった。 $100 \text{ nmol} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{m l}^{-1}$ 以上になったのも 9~10月表層 1~2cm の範囲であった。この期間は表層の硫酸還元速度が高く、下層にいく程、低下した。12月及び 5月頃は表層 1~2cm の硫酸還元速度より表層 2~3cm の硫酸還元速度が高くなり ($50 \sim 100 \text{ nmol} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{m l}^{-1}$) それより深くなると再び低下した。1985年3月の硫酸還元速度は各層ともに低く $10 \text{ nmol} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{m l}^{-1}$ 程度であった。

中海で最も汚濁が進行した St.11 の硫酸還元速度を図4(a)に示す。St.11 の硫酸還元速度は St.4 より高く、年間を通じて表層 0~1cm の速度が極めて高く、下層になるに従って減少した。その値は1985年の2~3月を除いて $100 \text{ nmol} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{m l}^{-1}$ 以上であった。なかでも1984年9月,1985年 5月, 9月及び 11月の硫酸還元速度は高く、それぞれ $257, 502$ 及び $335 \text{ nmol} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{m l}^{-1}$ であった。

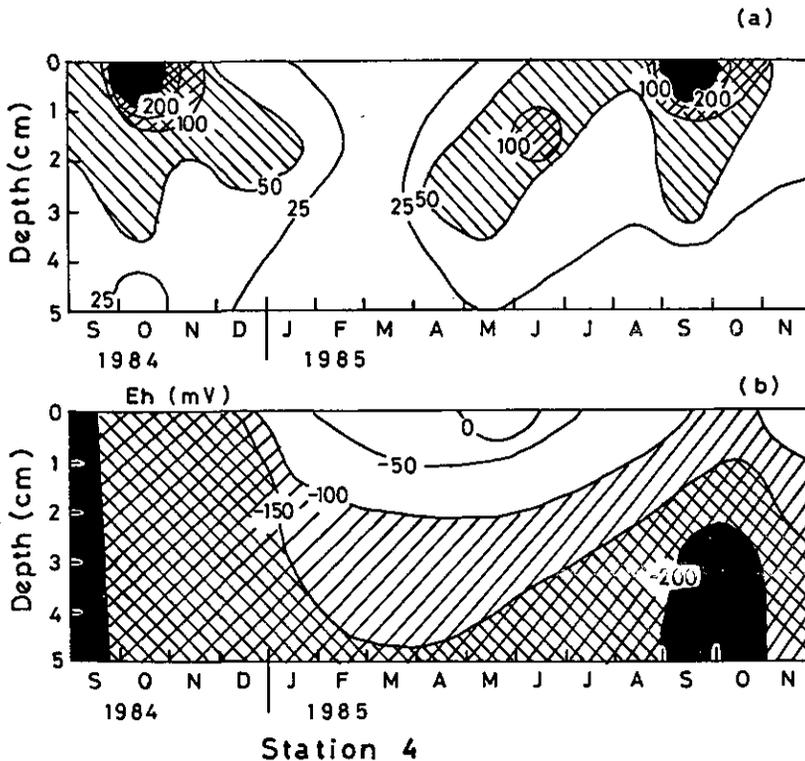


図 3 中海中心部(St.4)における硫酸還元速度(a)と Eh(b)

Fig. 3 Seasonal and vertical profile of sulfate reduction rate(a) and Eh (b) at the center of Nakanoumi (St.4)

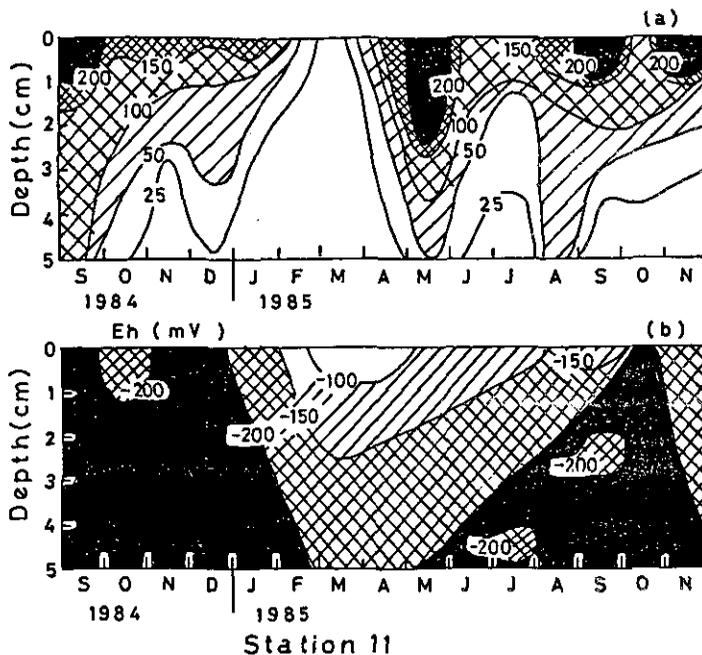


図 4 米子湾(St.11)における硫酸還元速度(a)と Eh(b)

Fig. 4 Seasonal and vertical profile of sulfate reduction rate(a) and Eh (b) at Yonago Bay. (St.11)

3. 2 硫酸還元速度に影響を与える因子

(1) 温度

St.4 の底層(水深約 6m, 底泥上部約 50cm)における温度の季節変化を図5に示す。水温が最も高かったのは8~10月で約25℃, 11月~12月及び5月は 15℃程度, 1~2月は7℃程度に低下した。

硫化還元速度は前述のように 9~11月及び5月の表層において高い値を示し, 次いで 6~8月の表層が高く, 2~3月は全層を通じて低くなった。

これから硫酸還元菌は水温の影響を強く受けていることがわかる。硫酸還元速度に及ぼす水温の影響を検討するため同一の底泥を用いて 5, 15及び25℃における硫酸還元速度を求めたところ, それぞれ 2.2, 21及び 57 $\text{nmol} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{m}^{-1}$ となった。

(2) Eh

St.4 の底泥表層 0~2cm では1~8月の期間は Eh は-100mV 以上, 3~4月には表層 0~1cmにおいて数mVになったこともあった(図3(b))。この期間では 2cm 以上の深さでは-100mV より低くなった。9~12月は全層を通じてほぼ -150mV 以下になった。

St.11 においては 3~4月の表層 0~1cm だけが -100mV 以上であった。そして2~7月の表層 0~2cm が-100~-150mV あった以外は全層を通じて-150mV 以下となり St.4 に比較すれば極めて低い値となった(図4(b))。

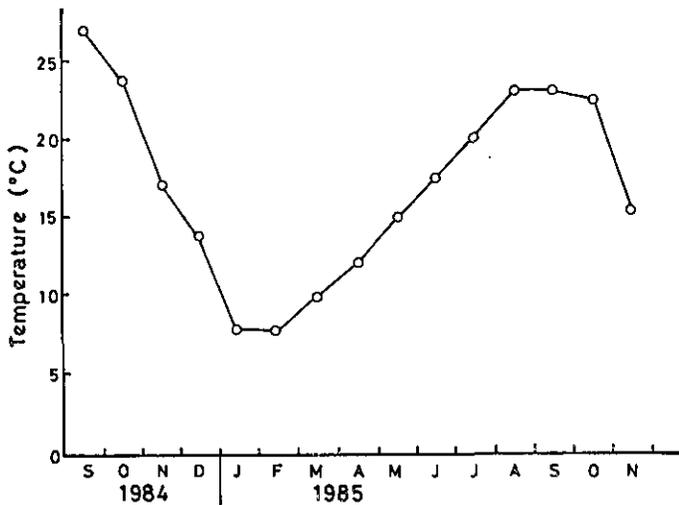


図 5 St.4 における温度の変化

Fig. 5 Changes in temperature at St.4

これから、温度の上昇と共に1~2か月の遅れで表層の Eh は低下し、温度の低下と共にやはり1~2か月遅れで Eh は増加し、さらにある時間遅れで底層の Eh は増加し、さらにある時間遅れで底層の Eh が変化すると考えられる。

Eh と硫酸還元速度の関係を明確にするために St.11 の表層 0~3cm の底泥に 25°C で10時間エアレーションの強度を変えて Eh を変化させてその後の硫酸還元速度を求め図6に示した。この図から明らかなように -200mV 付近で硫酸還元活性は高い値を示すことがわかった。

(3) 塩分及び硫酸塩濃度

St.4 及び St.11 の底層塩分濃度はそれぞれ 27.7 ± 1.9 ($n=10$) 及び 23.7 ± 3.2 ($n=10$)% で St.4 の方が St.11 よりやや高かった。底層の SO_4 濃度は塩分濃度と同じ傾向で St.4 の方が St.11 よりやや高くそれぞれ 20.1 ± 3.2 及び 15.5 ± 3.7 $mmol \cdot l^{-1}$ であった。また、間引き水中の SO_4 濃度は底層よりやや高く St.4 で 23.7 ± 8.2 , St.11 で 18.6 ± 8.9 $mmol \cdot l^{-1}$ であった。

(4) 有機物の影響

St.4 と St.11 の強熱減量は表層 0~1cm は、それぞれ 16.7 ± 2.3 及び 15.2 ± 7.9 % で両者間でほとんど差がなかった。底泥 4~5cm になれば強熱減量はやや減少し St.4 13.2 ± 2.4 及び St.11 14.9 ± 1.6 % であったが、両地点間においては相違がみられなかった。0~5cm の層では温度は等しく酸化還元電位は深い層ほど低下し、硫酸還元菌にとって適した値になっているが硫酸還元速度は一般に底泥の表層に近い程高かった。これから前述のように強熱減量は表層の方が4~5cm 層よりやや高いので温度、Eh が一定ならば有機物濃度が高いほど高い硫酸還元速度になると考えられるが明確ではない。

St.11 の底泥に種々の有機物を添加してブラックニングテストを行った結果を表2に示す。この結果から乳酸、リンゴ酸、酪酸、パルミチン酸を資化する菌が多いことがわかった。また酢酸やプロピオン酸を資化する菌も存在することがわかった。ブラックニングはリンゴ酸と乳酸の場合最も早く現れ、培養開始後3日であった。次いでパルミチン酸と酪酸の培地において4日後に現れ、その他の培地では8日後であった。ただし、グルコース培地からは検出されなかった。

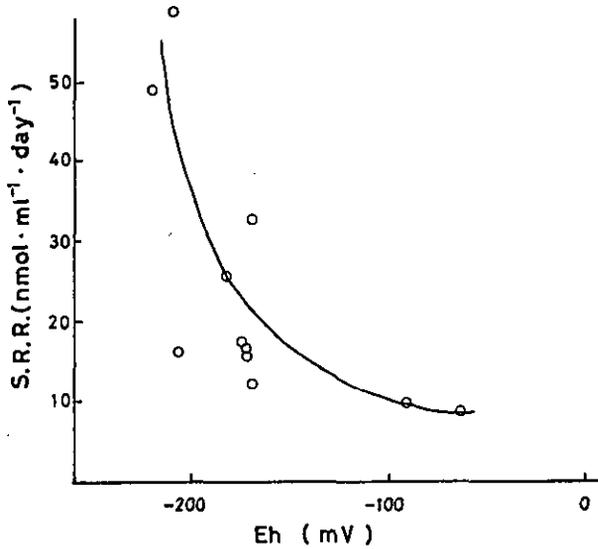


図 6 硫酸還元速度と Eh の関係

Fig. 6 Relationship between sulfate reduction rate and Eh

表 2 St.11底泥への有機物添加効果

Table 2 Effects of organic matters addition to the Sediment sampled from St.11

| Substrates | |
|------------|---|
| Lactate | + |
| Acetate | + |
| Propionate | + |
| Benzoate | - |
| Malate | + |
| Butyrate | + |
| Palmitate | + |
| Glucose | - |

Incubation at 30°C for 10 days.

St.11 の底泥に対して乳酸，酢酸，プロピオン酸を添加して硫酸還元活性に及ぼす影響を検討した（図7）。添加効果が最も著しかったのは乳酸であったが，酢酸及びプロピオン酸の添加効果もみられた。これから St.11 においては，乳酸利用菌の活性が最も高いが，酢酸，プロピオン酸に対する活性もかなり高いことがわかった。

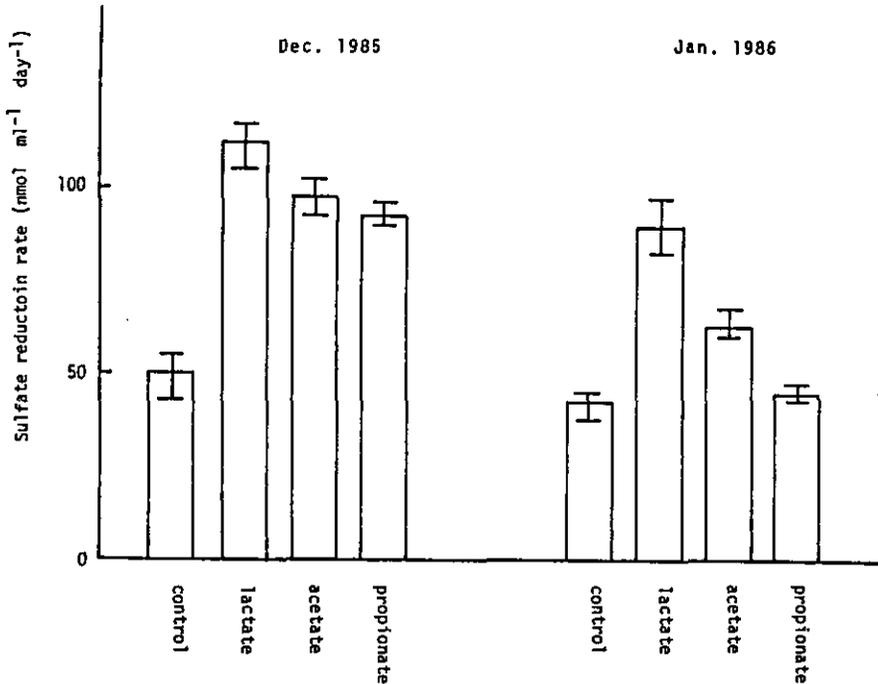


図 7 底泥(St.11)の硫酸還元速度に及ぼす有機物添加効果

Fig. 7 Effect of organic matter addition on sulfate reduction rate of Sediment (St.11)

4 考察

³⁵S を用いた硫酸還元速度の測定は，Jørgensen (1978)によって開発された。しかしながら，この方法はサンプルを酸性にした後，窒素ガスなどの不活性ガスを送って H₂S を揮発させ，吸収剤に吸収させる方法であり，次のような欠点を持つ (Rosser & Hamilton, 1983)。

- ① 一度に多くのサンプルを分析できない。
- ② 分析のために多くのサンプル量が必要である。
- ③ 装置が高価である。
- ④ 装置内に酸素が混入する危険性が高い。
- ⑤ キャリアガス流量を最適にするために，長時間にわたって注意が必要。
- ⑥ H₂S の回収率が低い。

⑦ 5~10ml の吸収溶液が 2本以上に必要である。

このような欠点を無くし正確に簡易にしかも多量のサンプルを一度に分析できる方法として Munson (1977)及び Rosser Hamilton (1983)は本報に示す簡易法を開発した。筆者らは前述のように分析条件を詳細に検討し、彼らの方法をさらに改良した。

Limフィヨルド底泥 (デンマーク) の硫酸還元速度は $25\sim 200 \text{ nmol}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{m}^{-1}$ であり夏期の表層 0~2cm において $400 \text{ nmol}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{m}^{-1}$ になったこともある (Jørgensen, 1977)。また, Don 河底泥 (英国) の表層 0~5cmでは $100\sim 300 \text{ nmol}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{m}^{-1}$ であった (Rosser & Hamilton)。地中海の底泥 (0~3cm) の硫酸還元速度は St.4 において $9\sim 112$, St.11 において $5\sim 333 \text{ nmol}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{m}^{-1}$ であった。また表層 0~1cm における最大値は St.4, St.11 でそれぞれ 202 及び $502 \text{ nmol}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{m}^{-1}$ であった。これから, Limフィヨルド及び Don 河底泥の硫酸還元速度は St.11 と同程度であることがわかる。Lim フィヨルドにおける 1m^2 当たり還元される SO_4 は $9.5\text{mmol}\cdot\text{d}^{-1}$ であった。したがって, $2\times 9.5 = 19.0 \text{ mmol}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ の炭素が硫酸還元菌によって分解されている。これを 1年間当たり分解される炭素の重量に換算すれば, $19\times 10^{-3}\times 12\times 365 \approx 83 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$ となる。

地中海の底泥 0~3cm の硫酸還元速度を $50 \text{ nmol}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{m}^{-1}$ とすれば, m^2 当たりの硫酸還元速度は $1.5\text{mmol}\cdot\text{d}^{-1}$ となる。したがって1年間の分解炭素量は $6.6 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$ になる。地中海の面積は 66km^2 なので地中海全体では年間約 400トンの有機物が分解されていることになる。この計算の結果から、地中海底泥においてはかなりの量の有機物が硫酸還元菌によって分解されていることがわかる。

地中海底泥の硫酸還元速度に及ぼす有機物添加の実験では、乳酸、酢酸、プロピオン酸の添加効果がみられた。硫酸還元菌は利用する有機物に特徴があり、乳酸を利用する Desulfovibrio、酢酸に対しては Desulfobacter 及び Desulfotomaculum、プロピオン酸は Desulfobulbus が資化することが知られている。地中海底泥へ乳酸、酢酸、プロピオン酸を添加した場合、硫酸還元速度が増加したことから地中海底泥中にはこれらの菌が存在することが推定できる。

引用文献

- Badziong, W., R. K. Thauer and J. G. Zeikus (1978): Isolation and characterization of Desulfovibrio growing on hydrogen plus sulfate as the sole energy source. Arch. Microbiol., 116, 41-49.
- Banat, I.M., D.B. Nedwell and M.Talaatbalba (1983): Stimulation of Methanogenesis by slurries of salt marsh sediment after the addition of molybdate to inhibit sulphate-reducing bacteria. J. Gen. Microbiol., 129, 123-129.
- Campbell, L. L. (1965): Desulfotomaculum. In: Bergey's manual 8th. (ed.).
- Donnelly, L.S. and F.F. Busta (1980): Heat resistance of Desulfotomaculum nigrificans spores in soy protein infant formula preparations. Appl. Environ. Microbiol., 40, 721-725.

- Hines, M.E. and J.D. Buck (1982): Distribution of methanogenic and sulfate-reducing bacteria in near-shore marine sediments. *Appl. Environ. Microbiol.*, **43**, 447-453.
- Isa, Z.(1986): Sulfate reduction relative to methane production in high-rate anaerobic digestion ; Microbiological aspects. *Appl. Environ. Microbiol.*, **51**, 580-587.
- Japan Sewage Works Association (1974): Testing methods for sewage. Japan Sewage Works Association.
- Jørgensen, B.B. (1977): The sulfur cycle of a coastal marine sediment (Limfjorden, Denmark). *Limnol. Oceanogr.*, **22**, 814-832.
- Jørgensen, B.B.(1978): A comparison of methods for the quantitation of bacterial sulfate reduction in coastal marine sediments. 1. Measurement with radiotracer techniques. *Geomicrobiol.*, **1**, 11-27.
- 小山忠四郎 (1984): 堆積物の微生物学還元過程と硫化物の挙動. *Urban Kubota*, **23**, 12-19.
- Laanbroek, H.J. and N. Pfennig (1981): Oxidation of shortchain fatty acids by sulfate-reducing bacteria in fresh water and in marine sediments. *Arch. Microbiol.*, **128**, 330-335.
- Munson, D. A. (1977): Simplified method for the determination of acid-soluble sulfides in marine sediments. *Marine Biol.*, **40**, 145-150.
- Ohgaki, S and H. Furumai (1980): Release of phosphorus from coastal sediments. *J. Fac. Eng., Univ. Tokyo (B)*, **35**, 723-733.
- Pfennig, N., F. Widdel and H. G. Truper (1981): The dissimilatory sulfate-reducing bacteria. In: *The prokaryotes* (ed.) M.P. Starr, H.Stolp, H.G. Truper, A. Balows and H. G. Schlegel.
- Postgate, J.R. (1984): *The sulfate reducing bacteria*. Cambridge University Press.
- Rosser, H. R. and W.A. Hamilton (1983): Simple assay for accurate determination of [³⁵S] sulfate reduction activity. *Appl. Environ. Microbiol.*, **45**, 1956-1959.
- Satake, K. (1983): A small handy core for sampling of lake surface sediment. *Jpn. J. Limnol.*, **44**, 142-144.
- Widdel, F and N. Pfennig (1981): Sporulation and further nutrition characteristics of *Desulfotomaculum acetoxidans*. *Arch. Microbiol.*, **129**, 401-402.
- Widdel, F and N. Pfennig (1984): Dissimilatory sulfate- or sulfur-reducing bacteria. In: *Bergey's manual 9th* (ed.).

制御実験生態系（マイクロコズム）を用いた赤潮発生機構の解析（V）

—赤潮鞭毛藻 Heterosigma akashiwo の増殖と細胞体積変化—

The Use of a Controlled Experimental Ecosystem (Microcosm) in Studies of
Mechanism of Red Tide Outbreaks(V)

—Growth and Cell Volume Change of Heterosigma akashiwo, a Red Tide Flagellate—

木幡邦男¹・渡辺正孝¹

Kunio KOHATA¹ and Masataka WATANABE¹

要 旨

大阪湾に赤潮として出現した Heterosigma akashiwo を海水マイクロコズム内、12時間・12時間の明暗周期下で培養した。マイクロコズム下部から除菌空気を入れ、かくはんしながら培養した。H. akashiwo は、自身の陰影効果のため培養の後期では光制限系になり徐々に比増殖速度を遅くした。本研究で作成した連続自動測定装置で、H. akashiwo の平均細胞体積を3時間ごとに9日間にわたって測定した。平均細胞体積には明りょうな日周変化が認められ、明期に増大し暗期に減少した。細胞分裂の前後で総細胞体積が保存されるという仮定の下に、平均細胞体積変化を用いて計算した H. akashiwo の増殖速度は、通常の式で細胞濃度変化から求めたものと良い相関があった。成層下培養のように、細胞濃度変化から比増殖速度が求められない場合でも、H. akashiwo では平均細胞体積変化から比増殖速度を推定できることが示された。

Abstract

Clonal culture of Heterosigma akashiwo causing red tides in Osaka Bay was grown in Microcosm on a 12:12 h light: dark cycle. Sterilized air was introduced from the bottom of the tank and mixed conditions were maintained in the tank throughout this experiment.

The effect of self-shading by H. akashiwo reduced the irradiance in

1. 国立公害研究所 水質土壌環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2

Water and Soil Environment Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

the tank and lowered growth rate at the last stage of growth. An automated system for cell counting was newly equipped in this work. Changes in mean cell volumes of the species were monitored by the counting system for 9 days at 3 h interval. Mean cell volumes showed a clear diel periodicity; they were enlarged during the light period and were reduced during the dark period. A growth constant was calculated from amplitude of the trace of the changes in mean cell volume when total cell volume was not different before and after cell division. The constant correlated with the specific growth rate obtained by usual equations from changes in cell concentrations. This correlation enabled to determine the growth constant under stratified conditions in which direct calculations of the constant were difficult from cell concentrations.

1 はじめに

閉鎖性海域で発生する赤潮の形成過程として(1)赤潮の原因となる植物プランクトンの増殖と(2)植物プランクトンの風や海流の影響と日周鉛直移動による集積が考えられる(渡辺ら, 1982及びその引用文献)。赤潮発生現場では二つの過程が同時に起こり, 個々を分離して測定するのは困難であった。例えば, 赤潮プランクトンの細胞濃度は集積によっても大きく変動するため, 細胞濃度の変化だけからでは海域でのプランクトンの比増殖速度を決定するのに困難があった。

野外調査でプランクトンの増殖速度を求める方法として分裂途中の個体数を計数する方法が多く報告されている(e.g., Weiler & Eppley, 1979; Chisholm, 1981; McDuff & Chisholm, 1982)。一方, *Hymenomonas carterae* (Olson & Chisholm, 1983) や珪藻の *Thalassiosira fluviatilis* (Chisholm & Costello, 1980) について連続培養系を用いた実験で, 藻類の増殖速度と細胞体積変化との間に強い相関があるのが見いだされている。この関係を利用すれば, 細胞体積変化の測定から増殖速度を推定することが考えられる。瀬戸内海で赤潮の原因種となっている *Heterosigma akashiwo* や *Chattonella antiqua* のような種は, 増殖にとって好条件下では, ほぼ1日1分裂を行い増殖を続ける(渡辺ら, 1984; 中村・渡辺, 1984)。明暗周期下でこれらを培養すると細胞一つ当たりの体積(平均細胞体積)は, 日周期を持つ正弦関数的に変化する(木幡・渡辺, 1985b)。H. *akashiwo* での予備的な実験で平均細胞体積変化の振幅と比増殖速度との間に関係が見いだされている(木幡・渡辺, 1985a)。

細胞体積変化の日周性を研究するためには1~4時間毎程度の測定を行い, さらに確かなデータを得るためにはそれを数日間続ける必要がある。

連続体積測定は, 珪藻や渦鞭毛藻のように堅い殻を持つ藻類では自動的にサンプリングしたものを固定後に保存しておき, 後でまとめて測る方法で比較的容易に実行でき(Chisholm & Costello, 1980; Olson & Chisholm, 1983)。しかし, H. *akashiwo* や C. *antiqua* のように

殻を持たない藻類では、細胞体積に影響なく固定し保存するのが難しく、体積測定はサンプリングと同時に進行する必要がある。

数時間ごとの測定を数日間続けるのは人間にとって困難な仕事なので、本研究ではマイクロコンピュータを用いた連続自動測定装置を製作し、マイクロコズム内で培養した *Heterosigma akashiwo* の細胞体積変化を測定した。

2 測定装置

藻類の細胞濃度 ($\text{cells} \cdot \text{m}^{-3}$) と平均細胞体積 ($\mu\text{m}^3 \cdot \text{cell}^{-1}$) の測定にはコールターカウンター・TA-II型を用いた。測定はマンオメーターモードで行った。TA-IIの状態を光センサーで感知し、測定動作はマイクロコンピュータ(PC8001, NEC)で制御した。制御系の概略を図1に示す。1回の測定のための動作の流れを図2に示す。

TA-IIのマンオメーターモードでは、アパーチャー上部の電磁弁Vを開けると試料水の吸引が始まり、必要量の吸引が終わるとリセット状態になりリセットランプが点灯する。制御系はリセットランプ点灯を光センサーで感知後、電磁弁を閉じる。この後、TA-IIはアキュムレート状態になり計数を始める。計数終了後、TA-IIはストップ状態になり、ストップランプが点灯する。制御系はストップランプ点灯を光センサーで感知後、ソレノイドに電流を通じてプリントプロットボタンを押す、TA-IIからマイコンへのデータ転送を行う。転送されたデータは、マイコンで補正計算された後、フロッピーディスクとプリンターに記録される。この一連の測定の流れの間、制御系の状態はモニターテレビに表示される。

以上のように、測定系はマイコンを用いて自動化されたが、サンプリングの自動化には困難な点があった。

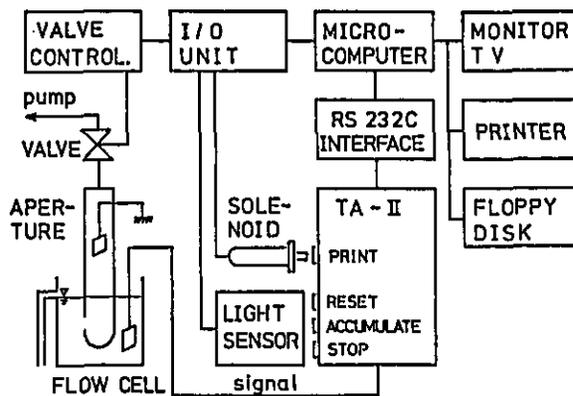


図 1 細胞濃度・細胞体積測定用の自動装置の概念図

Fig.1 Schematic diagram of the automated system for measuring cell concentration and cell volume

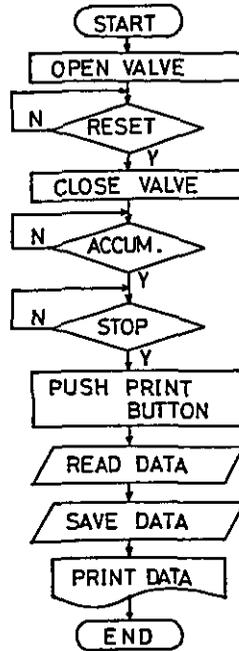


図 2 自動測定装置でのデータ処理の流れ図

Fig.2 Flow diagram of data process by the automated-counting system

TA-11 では、小孔を粒子が通過する時の電気伝導度の変化として粒子径を測定しているために入力抵抗が高く、信号入力に周回電位変化に敏感である。このため、チューブ等を直接フローセルに接続して試料水を導入すると、チューブを通してのノイズが無視できない程大きく、測定に支障をきたす。したがって、今回作成したサンプリング系では、フローセルとアパーチャーを含む部分を、サンプルラインと電気的に絶縁した。

フローセルの概念図を図3に示す。試料水はフローセルの上方Iより電磁弁V2で制御されて流下する。余分の試料水は流出口OFより流れ出る。一つの試料と次の試料との間には、試料水が混じるのを防ぐために、一度フローセルを空にし洗う必要がある。これらはサイホン口Sを利用することで可能になっている。流入口Iから、流出口OFでの最大流量より多くの試料水を入れると、フローセル内の液面がOFより上がり、サイホンが働いてフローセル内の水はすべてSを通して排出される。この操作を繰り返した後に、V2を絞り、流入量をOFでの最大流量以下にして試料水をOFの位置まで満たし測定する。流入口からの流量の時間変化を図4に示す。この図では2回洗浄を行っている。通常は2～3回の洗浄で、前の試料の影響は認められない。

3 材料と方法

細胞体積測定実験には、*Heterosigma akashiwo* の無菌クローン株 (OHE-1) を用いた。本株は、大阪湾谷川港に発生した本種赤潮より分離され、国立公害研究所微生物系統保存施設に保存され

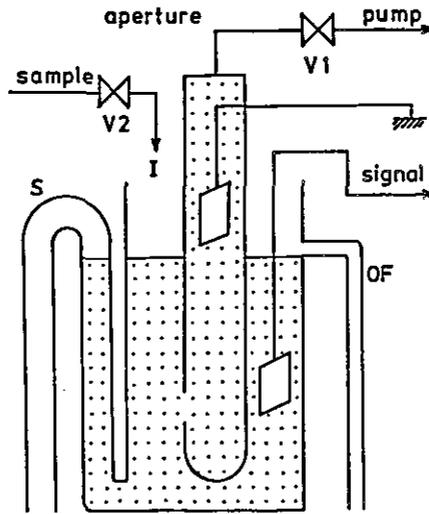


図 3 細胞濃度・細胞体積測定用フローセルの概略図

Fig.3 Schematic figure of the flow cell for measuring cell concentration and cell volume

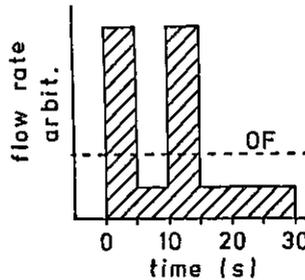


図 4 フローセル入口での流速

Fig.4 Flow rate at the inlet of the flow cell

ているもので、その生理特性は、渡辺・中村(1984a,b)により報告されている。

培養にはマイクロコズム培養槽を用いた(木幡・渡辺, 1985b)。培養槽は高さ 1.5m 容量 1m³で、温度・照明条件等が制御できる(図5)。培養には、0.22μm のフィルターでろ過滅菌した f/2 培地(Guillard & Ryther, 1962)を用いた。照明条件は12:12時間の明暗周期(6:00点灯, 18:00 消灯)で、明期の水表面での平均照度を約 15klxにした。実験期間中、培養槽内は底から除菌空気を入れてかくはんを行い、水温は 20±1℃に保った。予備培養等、その他の培養条件は既に報告したもの(木幡・渡辺, 1985b)と同一条件にした。

マイクロコズムに、3 l の三角フラスコで予備培養した対数増殖期の *H. akashiwo* を接種し、初期細胞濃度を約 100cells·m⁻¹にした。接種の 5日後、細胞濃度が約 3000 cells·m⁻¹に達

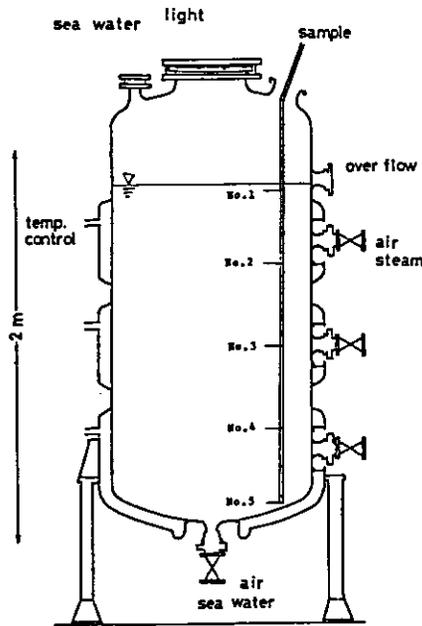


図 5 マイクロコズム培養槽の概念図

Fig.5 Schematic view of the cultivating tank of Microcosm.

した時から細胞体積の連続測定を始めた。培養の 5日目の11:00から 9日目の11:00までは(期間 I), 3時間ごとにマイクロコズム内の鉛直方向5層(図5中, No.1~5)から採水した試水について細胞濃度と細胞体積の測定を行った。その後, 培養の13日目まで(期間 II), 中層(No.3)の試水につき3時間ごとの測定を続けた。マイクロコズムからの採水には, アスピレーターを使用した吸引採水を行い, *H. akashiwo* 細胞の破壊を避けた。

4 結果

期間 (I) におけるマイクロコズム内での *H. akashiwo* の細胞濃度変化を図6 (a) に示す。図に示した値は, 槽内について平均した値である(木幡・渡辺, 1985b)。期間 (I), (II) で得られた *H. akashiwo* の体積変化の結果を図7に示す。図7では期間 (I) については採水口 No. 1~5 の平均値を, 期間 (II) については採水口 No.3 での値を示す。

H. akashiwo は日周鉛直移動を行い, 明期に表層に, 暗期に底層に集積する性質がある(木幡・渡辺, 1985a)。このため, マイクロコズム内は空気によるかくはんを行っているものの, 高さ 1.5m のマイクロコズム内の細胞濃度を完全には一様にできない。ただし, *H. akashiwo* が上又は下に移動している時間である 11:00 と 17:00 では比較的良く混合した。培養の i 日目についてこれらの時間の中層 (No.3) の細胞濃度の平均値 (N_i : cells \cdot m $^{-1}$) を明期におけるマイクロ

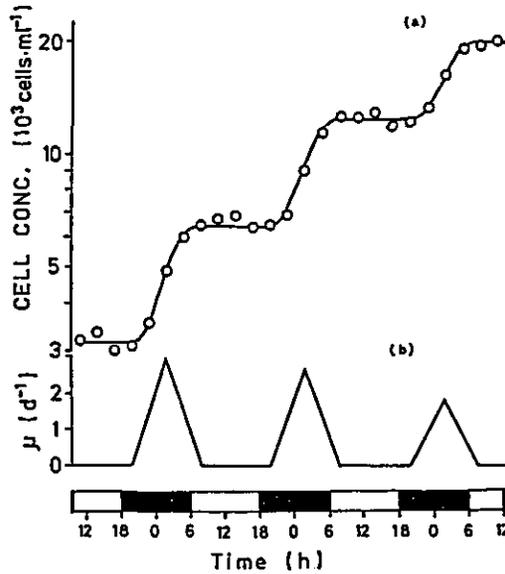


図 6 マイクロコズム内での *H. akashiwo* の増殖曲線
 Fig.6 Growth curve of *H. akashiwo* in Microcosm

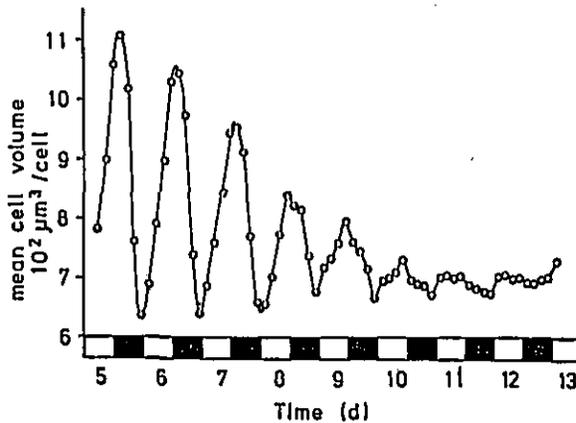


図 7 平均細胞体積の日周変化
 Fig.7 Diel change of mean cell volume

コズム内の細胞濃度の代表値とした。

マイクロコズム内では、水表面における照度は実験期間中変化しなかったが、*H. akashiwo* の細胞濃度が高くなるにつれ、細胞自身による吸収・散乱が無視できなくなり(渡辺・宮崎, 1985), 光制限状態になる。このために、*H. akashiwo* の比増殖速度は毎日減少した(図7)。

先に述べた明期における平均細胞濃度、 N_i から毎日の比増殖速度を計算した。今、培養の i 日目の比増殖速度を μ_{Ni} (d^{-1}) とすると、

$$\mu_{Ni} = \ln(N_{i+1}/N_i) / 1d \quad (1)$$

で表される。

図7に見られるように、H. akashiwo の平均細胞体積は日周期を持って規則的に変化し、振幅は比増殖速度の減少と共に小さくなる。H. akashiwo の各細胞体積が分裂の前後で保存されると仮定すると、

$$N_i \cdot V_{bi} = N_{i+1} \cdot V_{ai} \quad (2)$$

が成立する。ただし、 V_b 、 V_a は分裂直前・直後の平均細胞体積である。この関係を用いて体積変化から比増殖速度 μ_{Vi} (d^{-1}) を求めると

$$\mu_{Vi} = \ln(V_{bi}/V_{ai}) / 1d \quad (3)$$

が得られる。図7で示した日周体積変化の i 日目の極大値を V_{bi} とし、分裂後と考えられる $i+1$ 日目の極小値を V_{ai} として (3) 式により μ_{Vi} を計算した。計算された μ_{Vi} を細胞濃度変化から求めた μ_{Ni} と比較して図8に示す。両者の相関は良く μ_{Vi} の測定から μ_{Ni} の推定ができる。

5 考察

図7に示した平均細胞体積変化で以下のような特徴が見られる。(1) 比増殖速度の減少とともに振幅が小さくなる。(2) 振幅は変化するが極小値の変化は小さい。(3) 増殖条件の良い時には 20:00 に極大値、5:00 に極小値をとり、変化がなめらかであるのに反し、光制限下(例えば 8, 9日目, 図7)では極大値をとるのは 17:00 に移動し、また曲線の形も複雑になる。

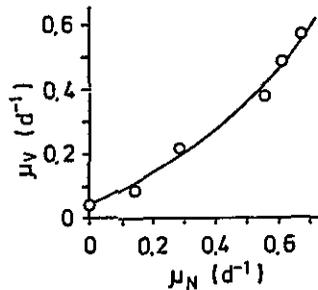


図 8 細胞濃度から求めた増殖速度 (μ_N) と体積変化から求めたもの (μ_V) との関係

Fig.8 Interrelation between growth rates calculated from cell concentration (μ_N) and that from mean cell volume (μ_V)

(1) については、その相関を図8に示した。

(2) で述べた、極小値の変動が小さいことから、細胞体積についても、栄養塩に関する minimum cell quota (Droop, 1966) に対応する minimum cell volume が考えられる。H. akashiwo では、細胞体積と細胞内炭素含有量が並行して変化する(木幡・渡辺, 1985b; 木幡・渡辺, 1987) ことから、minimum cell volume は、おそらく光制限下での炭素の minimum cell quota に対応するものであろう。

(3) は光制限下での H. akashiwo の体積変化に特徴的なことであり、本研究と同じ装置を用い照度だけが本研究の 67% で他の培養条件が同一の場合での結果(木幡・渡辺, 1985b; 木幡・渡辺, 1987) と良く対応する。

図8には、細胞濃度と体積変化からそれぞれ計算した比増殖速度の相関を示した。本研究では系内の細胞濃度がほぼ均一で、細胞濃度の代表値が計算されるために、体積変化から比増殖速度を求める必要はなかった。しかし、系内の細胞濃度が不均一で、全体の細胞数が容易には算出されない場合(例えば成層下で培養を行い、日周鉛直移動を調べる実験; 木幡・渡辺, 1985a) では、細胞濃度の変化からは比増殖速度が算出できない。図8の結果は、このような場合でも、日周体積変化から比増殖速度が推定できることを示している。野外における藻類の比増殖速度決定のためには、分裂中細胞の数を計算して比増殖速度を求める方法が既に報告されている (Weiler & Chisholm, 1976; Weiler, Eppley, 1979; McDuff & Chisholm, 1982)。この方法では、分裂に要する時間 t_d とサンプリング間隔 t_s の選び方に注意が必要であり (McDuff & Chisholm, 1982), 必ずしも容易とは言えない。少なくとも H. akashiwo については、図8の結果が野外にも適用でき、体積変化から比増殖速度が推定できるであろう。

謝 辞

本研究を遂行するに当たり、実験補助をして下さった山田 明氏 (茨城環境技術センター) に感謝します。

引 用 文 献

- Chisholm, S.W. (1981): Temporal patterns of cell division in unicellular algae. In: Physiological bases of phytoplankton ecology. T. Platt (ed.), Can. Bull. Fish. Aquat. Sci., Vol. 210, 150-181.
- Chisholm, S. W. and J. C. Costello (1980): Influence of environmental factors and population composition on the timing of cell division in *Thalassiosira fluviatilis* (Bacillariophyceae) Grown on light/dark cycles. J. Phycol., 16, 375-383.
- Droop, M.R. (1966): Vitamin B₁₂ and marine ecology; the response of *Monochrysis lutheri*. J. Mar. Biol. Assoc. U.K., 46, 659-671.

- Guillard, R. R. L. and J.H. Ryther (1962): Studies of marine planktonic diatoms. 1. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervaceae* (Cleve) Gran. Can. J. Microbiol., 8, 229-239.
- 木幡邦男・渡辺正孝 (1985a): 制御実験生態系 (マイクロコズム) を用いた赤潮発生機構の解析 (Ⅲ) - 赤潮鞭毛藻 *Heterosigma akashiwo* の日周鉛直移動と日周体積変化の関係. 国立公害研究所研究報告, 第80号, 13-22.
- 木幡邦男・渡辺正孝 (1985b): 制御実験生態系 (マイクロコズム) を用いた赤潮発生機構の解析 (Ⅳ) - 赤潮鞭毛藻 *Heterosigma akashiwo* の増殖中細胞にみられる C/N 比とクロロフィル a/c 比の日周変化. 国立公害研究所研究報告, 第80号, 23-32.
- 木幡邦男・渡辺正孝 (1987): 制御実験生態系 (マイクロコズム) を用いた赤潮発生機構の解析 (Ⅶ) - 赤潮鞭毛藻 *Heterosigma akashiwo* の光制限下の増殖とそのモデル化. 国立公害研究所研究報告, 第110号, 79-88.
- McDuff, R.E. and S.W. Chisholm (1982): The calculation of in situ growth rates of phytoplankton populations from fractions of cells undergoing mitosis: A clarification. Limnol. Oceanogr., 27, 783-788.
- 中村泰男・渡辺 信 (1984): *Chattonella antiqua* の日周垂直移動 - 特にその生態的意味について. 国立公害研究所研究報告, 第63号, 97-102.
- Olson, R.J. and S.W. Chisholm (1983): Effects of photocycles and periodic ammonium supply on three marine phytoplankton species. I. Cell division patterns. J. Phycol., 19, 522-528.
- 渡辺 信・中村泰男 (1984a): 赤潮鞭毛藻 *Heterosigma akashiwo* Hada の増殖特性 1. 増殖に及ぼす水温, 塩分, 照度, pH の影響. 国立公害研究所研究報告, 第63号, 51-58.
- 渡辺 信・中村泰男 (1984b): 赤潮鞭毛藻 *Heterosigma akashiwo* Hada の増殖特性 2. 栄養塩の利用. 国立公害研究所研究報告, 第63号, 59-68.
- 渡辺 信・中村泰男・木幡邦男 (1984): 赤潮鞭毛藻 *Heterosigma akashiwo* の日周垂直移動 - 特にその生態的意味について. 国立公害研究所研究報告, 第63号, 69-78.
- 渡辺正孝・宮崎忠国 (1985): *Heterosigma akashiwo* の日周鉛直移動による表面集積とマイクロコズム内での光吸収係数. 国立公害研究所研究報告, 第80号, 33-46.
- 渡辺正孝・渡辺 信・木幡邦男・原島 省 (1982): 制御実験生態系 (マイクロコズム) を用いた赤潮発生機構の解析. 国立公害研究所研究報告, 第30号, 11-26.
- Weiler, C.S. and S.W. Chisholm (1976): Phased cell division in natural populations of marine dinoflagellates from shipboard cultures. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 25, 239-247.
- Weiler, C.S. and R.W. Eppley (1979): Temporal pattern of division in the dinoflagellate genus *Ceratium* and its applications to the determination of growth rate. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 39, 1-24.

制御実験生態系（マイクロコズム）を用いた赤潮発生機構の解析（VI）

—赤潮鞭毛藻 *Chattonella antiqua* の増殖細胞に見られる C/N 比と、

光合成色素の構成比の日周変化—

The Use of a Controlled Experimental Ecosystem (Microcosm) in Studies of
Mechanism of Red Tide Outbreaks (VI)

—Diurnal Changes of C/N Ratio and Distribution of Chloroplast Pigments
in the Culture of *Chattonella antiqua*, a Red Tide Flagellate—

木幡邦男¹・渡辺正孝¹

Kunio KOHATA¹ and Masataka WATANABE¹

要 旨

瀬戸内海に赤潮として出現した *Chattonella antiqua* を海水マイクロコズム内、12時間・12時間の明暗周期、かくはん条件下で培養した。3時間間隔の採水を72時間続けた。試料の細胞濃度、平均細胞体積、炭素・窒素含有量、光合成色素量の各項目を測定した。*C. antiqua* の細胞は、毎日、暗期の後半から分裂を始め、明期には平均細胞体積を増大させるという様式を実験期間中繰り返した。炭素・窒素含有量、光合成色素量の一細胞当たりの値は明期に増大・暗期に減少した。C/N 比にも日周変化が見られ、明期に高く、暗期に低かった。*C. antiqua* の光合成色素は、クロロフィル a,c と、フコキサンチン、ピオラキサンチン、β-カロチン等のカロチノイドで構成されていた。クロロフィル a/c 比、及びカロチノイド構成比には明りょうな日周性が見られた。クロロフィル a,c もに主に明期に合成されるが、明期の最初ではクロロフィル a の合成がクロロフィル c の合成より速いと推察された。構成カロチノイドのなかでピオラキサンチンに大きな特徴が見られ、この色素の合成は明期の初めの数時間に限られていた。

1. 国立公害研究所 水質土壌環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2

Water and Soil Environment Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

Abstract

Clonal culture of *Chattonella antiqua* causing red tides in Seto Inland Sea was grown in Microcosm on a 12:12h light:dark cycle. A mixed condition was maintained in the tank throughout this experiment. An intensive sampling was conducted for 72h at 3h interval. Cell concentration, mean cell volume, carbon and nitrogen contents, and content of chloroplast pigments of samples were measured. *C. antiqua* exactly repeated the diel pattern that it began to divide at the latter half of the dark period and enlarged its size at the light period throughout the course of the intensive sampling. Contents of carbon, nitrogen and chloroplast pigments per a unit cell increased during the light period and decreased during the dark. A diel change of C/N ratio was also observed as the ratio was high at the light period and low at the dark. Chloroplast pigments of *C. antiqua* consisted of Chlorophylls a and c, and some carotenoids including fucoxanthin, violaxanthin and β -caroten as dominant substances. Diel changes of chlorophylls a/c ratio and component of carotenoids were clearly found. Both chlorophylls a and c were synthesized mainly during the light period. However, the synthesis of chlorophyll a was faster than that of chlorophyll c at the beginning of the light period.

1 はじめに

赤潮を形成する鞭毛藻の多くは日周鉛直移動を行い、昼は表層に、夜は底層に集積することが野外調査 (e.g., Yamochi et al, 1984) や実験室系 (e.g., Kohata & Watanabe, 1986) で知られている。また、鞭毛藻の多くは、一日のうちのある定まった時間帯に細胞分裂して増殖し (e.g., Chisholm, 1981)、これが日周鉛直移動と関連することが指摘されている (Kohata & Watanabe, 1986)。赤潮発生機構を解明、あるいはモデル化していくためには、このような一日を周期の単位とした藻類細胞の挙動を、増殖や集積の過程と関連させて把握することが必要である。

著者らは、海域の富栄養化や赤潮発生機構の解明のための研究手段として製作された室内設置型制御実験生態系 (マイクロコズム; 渡辺ら, 1982) を用い、明暗周期をつけた同調培養で、赤潮の原因となる鞭毛藻の *Heterosigma akashiwo* の細胞内構成要素比に明りょうな日周変化がみられることを報告した (木幡・渡辺, 1985b)。 *H. akashiwo* の細胞は、毎日、暗期の後半から分裂を始め、明期には平均体積を増大させるという様式を繰り返した。 *H. akashiwo* の炭素・窒素含有量、クロロフィル色素量は、一細胞当たりの値は明期に増大・暗期に減少したが、細胞体積当たりの変化は少なかった。これから、細胞の体積増大は、炭素・窒素の同化やクロロフィル色素の合成と並行することが推察された。

本研究では、瀬戸内海等で赤潮を引き起こす *Chattonella antiqua* について同様の実験を行い、 *H. akashiwo* との関連を調べた。また、光合成色素の測定には高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用い、クロロフィル a, c の他に数種のカロチノイドについてもその日周変化を明らかに

した。

2 材料と方法

培養実験には *Chattonella antiqua* の無菌クローン株(NIES-1) で国立公害研究所微生物系統保存施設所有の株を使用した。マイクロコズム培養槽への予備培養は、2 l 三角フラスコ内で 1 l の f/2培地 (Guillard & Ryther, 1962) を用い、温度は $22 \pm 1^\circ\text{C}$ 、12:12 時間の明暗周期下、明期に約 $80 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ の照明条件にて行った。

マイクロコズム(図1)での培養は、2kWキセノンランプを5kWのものに交換した他は既に報告したもの(木幡・渡辺, 1985b)と同一条件で行った。予備培養で細胞濃度が約 $1.0 \times 10^7 \text{ cells} \cdot \text{l}^{-1}$ に達したものを、滅菌された注入口より無菌的に培養槽に入れ、槽内に初期濃度を約 $4 \times 10^3 \text{ cells} \cdot \text{l}^{-1}$ にした。6~18時に明期、18~翌6時に暗期の12:12 時間の明暗周期で照明した。明期における培養槽内の水表面での平均照度は約 $316 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ であった。

培養槽内、フィルター及びフィルターから培養槽までの海水導管、空気導管、更にサンプリング用のテフロン管等は培養前に 110°C の水蒸気で30分間滅菌した。培養槽内では、 $0.22 \mu\text{m}$ のミリポアフィルターでろ過滅菌した f/4培地を 1m^3 用いた。実験期間を通して、培養槽下部よりフィルターで除菌した空気を入れ、槽内を一樣にかくはんしながら培養した。培養槽内の水温は $25 \pm 1^\circ\text{C}$ に保った。

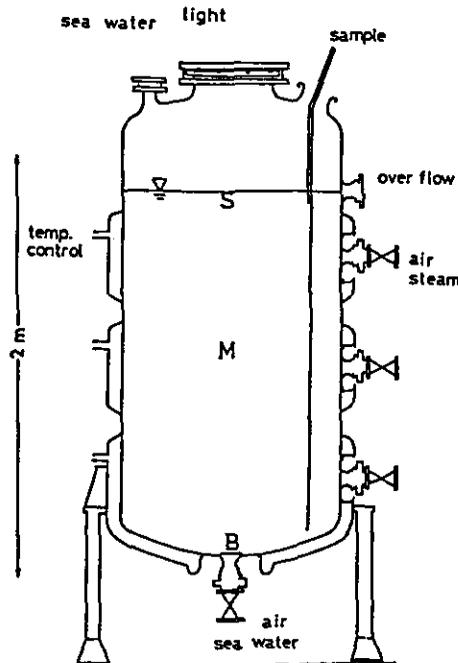


図 1 マイクロコズム培養槽の概念図

Fig. 1 Schematic view of the cultivating tank of the Microcosm

培養槽内の細胞濃度が $4.7 \times 10^5 \text{ cells} \cdot \text{l}^{-1}$ に達した培養の 8日目から 11日目まで、3時間ごとの連続測定を72時間行った。サンプルは培養層の表層・中層・底層の3層からテフロンチューブを通して、3 l 又は 5 l の三角フラスコにアスピレーターを用いて吸引採水した。この方法によれば、*C. antiqua* の細胞が壊れることはなかった。

採水したサンプルの細胞濃度・平均細胞体積、炭素・窒素含有量、光合成色素量の各項目について測定した。細胞濃度・平均細胞体積の測定にはコールターカウンターTA-11型を使用した。炭素・窒素含有量の測定には、直径47mmのあらかじめ400℃で4時間焼いたガラスファイバーフィルター(Watman, GF/C)上に試水を1 l ろ過捕集したものをを用いた。GF/Cフィルターは、ろ過後に0.5Mギ酸アンモニウム水溶液で洗浄した。ろ試を80℃で48時間乾燥後、炭素・窒素含有量は柳本CHNコーダー・MT-3を用いて測定した。クロロフィルやカロチノイドの光合成色素の測定には、試水の200~500mlを47mmのGF/Cフィルターにろ過捕集したものの90%アセトン抽出液を使用した。抽出液は, Mantoura & Llewellyn (1983)の方法に準拠したイオン対を用いるHPLCにて分析した。装置はLC-6A(島津)を、カラムはワットマン・パーティシル ODS-3 (5 μm)を使用した。移動相Aに5:5:90(v:v:v)の比に蒸留水、P-溶液(Mantoura & Llewellyn, 1983), メタノールを混合したものを、移動相Bに100%酢酸エチルを使用し、分析は0分でA液10%, 20分でB液100%のリニアグラジエント溶出法で行った。上記の抽出液1mlにP-溶液(0.3 ml)を混合し、その20~40 μl をHPLCに注入した。色素は440nmでの吸光度で検出した。

3 結果と考察

赤潮鞭毛藻 *Chattonella antiqua* について得られた典型的なHPLCのクロマトグラムを図2に示す。イオン対を用いた逆相(OOS)カラムで、クロロフィルcとクロロフィルdの分離が改善されることが知られている(Mantoura & Llewellyn, 1983)。本実験でも、図2に見られるようにクロロフィルcが独立したピークとして測定された。*C. antiqua* に存在する主なカロチノイドは吸収スペクトルの測定から、溶出順にフコキサンチン、ピオラキサンチン、 β -カロチンと同定された。ピオラキサンチンについては、1N塩酸の添加で吸収スペクトルの青色へのシフトが観測された(Goodwin, 1980)。*C. antiqua* の色素組成については山岡・滝村(1985)のHPLCによる報告があるが、彼らはイオン対を用いていないため、クロロフィルcの存在が不明りようであった。また、3種のカロチノイドは今回初めて同定された。

マイクロコズム培養槽での*C. antiqua*の増殖を図3に示す。時刻 t_1 (d)から t_2 までの比増殖速度 μ (d^{-1})を次式で求めた。

$$\mu = \ln(N_2/N_1) / (t_2 - t_1) \quad (1)$$

ここで、時刻 t_i ($i=1, 2$)における細胞濃度を N_i ($\text{cells} \cdot \text{l}^{-1}$)とした。

比増殖速度は培養の4~8日目では 0.67 d^{-1} であったが、連続測定期間中は 0.45 d^{-1} であった

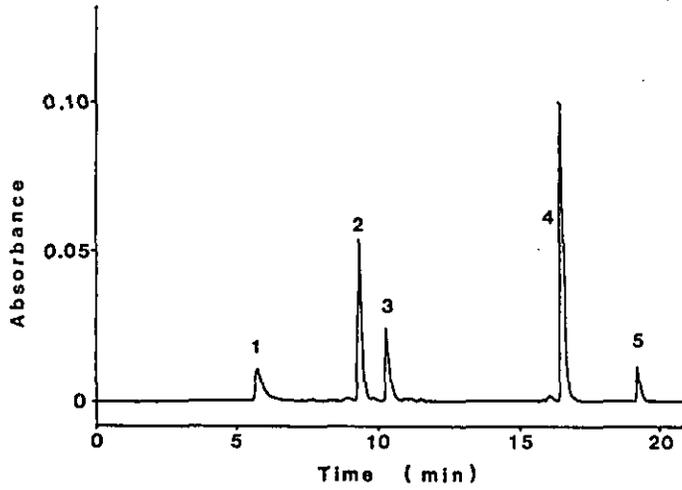


図 2 HPLCによる *C. antiqua* のクロマトグラム の典型例
 Fig. 2 Typical HPLC chromatogram of *C. antiqua*

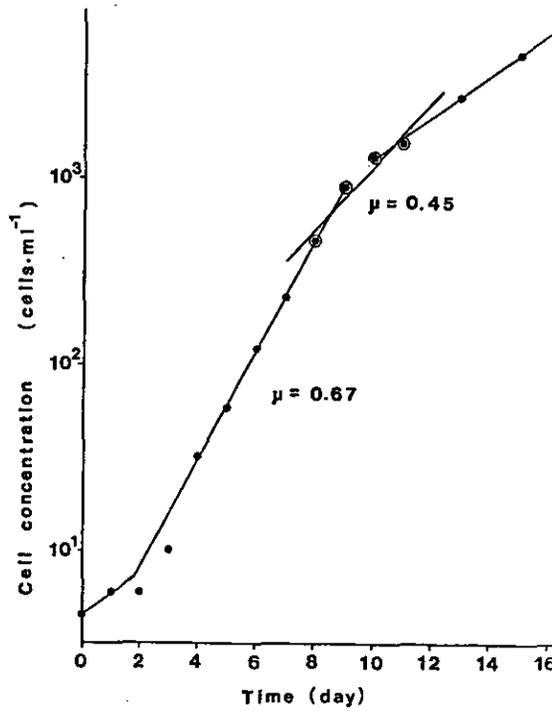


図 3 マイクロコズム内の *C. antiqua* の増殖曲線
 2重丸は連続測定期間を表す。
 Fig. 3 Growth curve of *C. antiqua* in the Microcosm
 * Double circles denote data obtained during the extensive period.

(図3)。マイクロゾウム培養槽内の水表面平均照度を約 $90 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ に落とした実験では *C. antiqua* はほとんど増殖できなかった(木幡・渡辺, 未発表)。同程度の照度でも *Heterosigma akashiwo* は $\mu = 0.36\text{d}^{-1}$ の増殖速度が得られた(木幡・渡辺, 1985b)のと比較すれば, *C. antiqua* の方が *H. akashiwo* よりも高い照度を増殖に必要とすると言える。

連続測定期間中に得られた *C. antiqua* の平均細胞体積 ($\mu\text{m}^3\cdot\text{cell}^{-1}$) の日周変化を図4に示す。平均細胞体積はコールターカウンターで計測された細胞の全体積 ($\mu\text{m}^3\cdot\text{l}^{-1}$) を, 細胞濃度で除して求めた。*H. akashiwo* の場合(木幡・渡辺, 1985b)と同様に, 平均細胞体積は, 明期に増大し暗期に減少した。実験期間中, この日周変化が正確に繰り返され, *C. antiqua* の分裂周期が明暗周期に同調されていることが示された。

培養中のクロロフィルa量 ($\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$) を細胞濃度で除して求めた *C. antiqua* -細胞当たりのクロロフィルa量の日周変化を図5に示す。細胞当たりのクロロフィルa量も, *H. akashiwo* の場合(木幡・渡辺, 1985b)と同様に明期に増大し暗期に減少した。また, 図には示さないが, 細胞当たりの炭素含有量もクロロフィルa量と同様の日周変化をした。培養中のクロロフィルa量

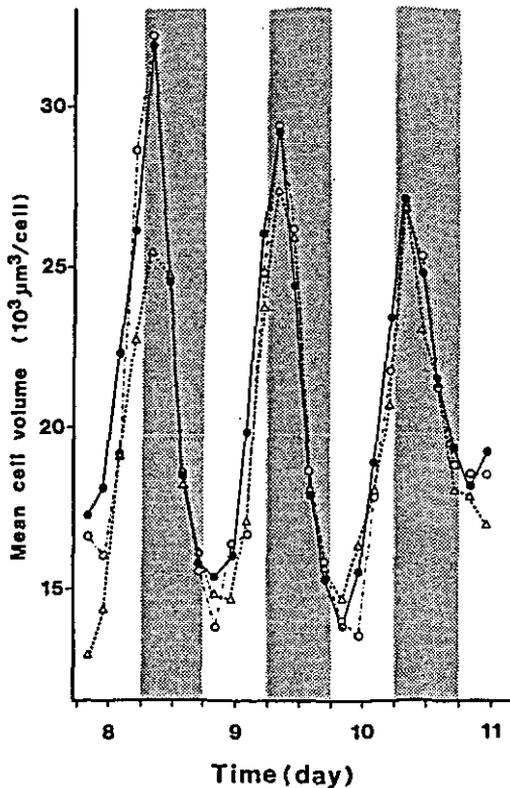


図 4 平均細胞体積の日周変化
Fig. 4 Diel change of mean cell volume

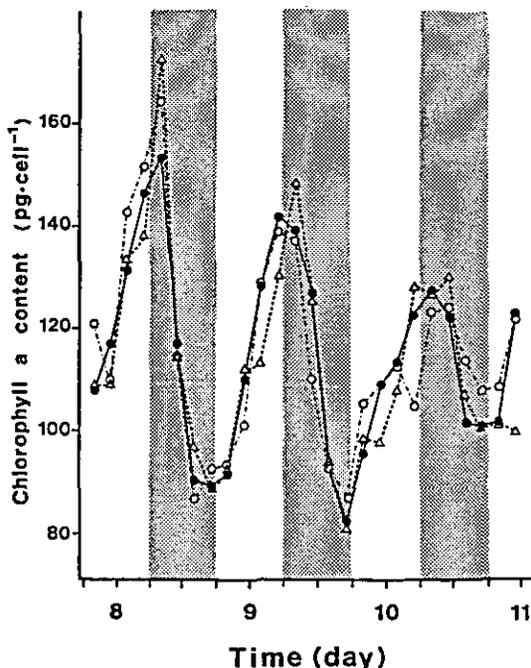


図 5 *C. antiqua* 細胞一個体当たりのクロロフィルa 量の日周変化

Fig. 5 Diel changes of chlorophyll a content per a cell of *C. antiqua*

と炭素量 ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$)の間には $r=0.988$ の非常に良い相関があり (図6) *C. antiqua* でも, 明期において炭素の同化と細胞体積の増大, さらにクロロフィルa の増加が並行して行われていることが推察された。

図7に C/N 比 (w/w) の日周変化を示す。この比は明期に高く, 暗期に低かった。これは, *C. antiqua* が, 暗期の方がいく分摂取速度は落ちるものの明暗期を通して窒素を摂取する (中村・渡辺, 1984)のに反し, 炭素の同化が明期に限られているためと思われる。同様の日周変化は, *H. akashiwo* についても報告されている (木幡・渡辺, 1985b)。

クロロフィルa/c 比 (w/w)の日周変化を図8に示す。クロロフィルa, c ともに明期に光合成により増大し, 暗期には細胞分裂により減少する。また, 両者とも炭素量との相関が高く, ほぼ同様の日周変化をする。しかし, 明期の最初にクロロフィルa の合成がクロロフィルc の合成に先行し, わずかではあるがクロロフィルa/c 比は高くなる。同様のことは, *H. akashiwo* について吸収スペクトルの測定から推察されていた (木幡・渡辺, 1985b) が今回, HPLC を用いた測定で確認できた。

C. antiqua の主なカロチノイドは前記のようにフコキサチン, ビオラキサンチン, β -カロチンであった。この組成は *C. antiqua*と同じラフィド藻の *H. akashiwo*でも同じであった (木幡・

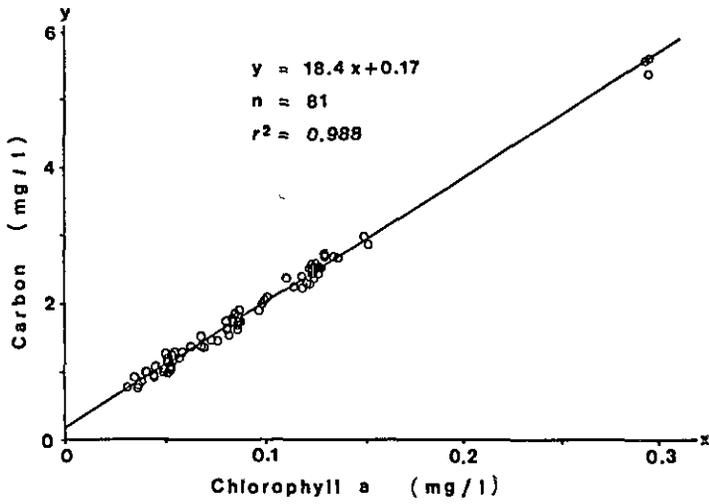


図 6 *C. antiqua* のクロロフィルa 量と炭素量との相関
Fig. 6 Correlation between chlorophyll a content and cellular carbon of *C. antiqua*

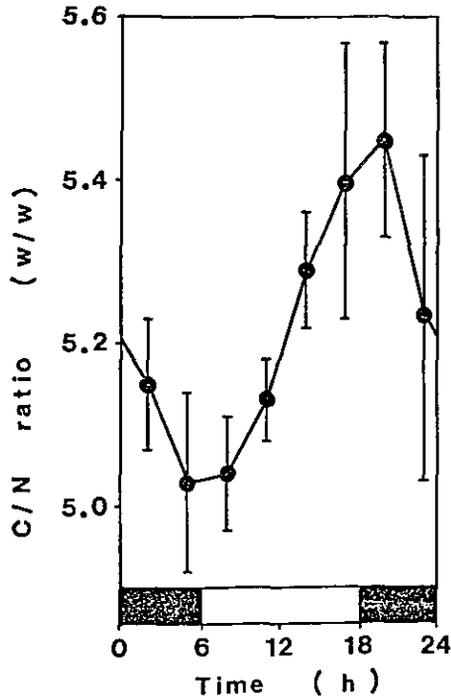


図 7 C/N比 (w/w) の日周変化
Fig. 7 Diel change of C/N ratio(w/w)

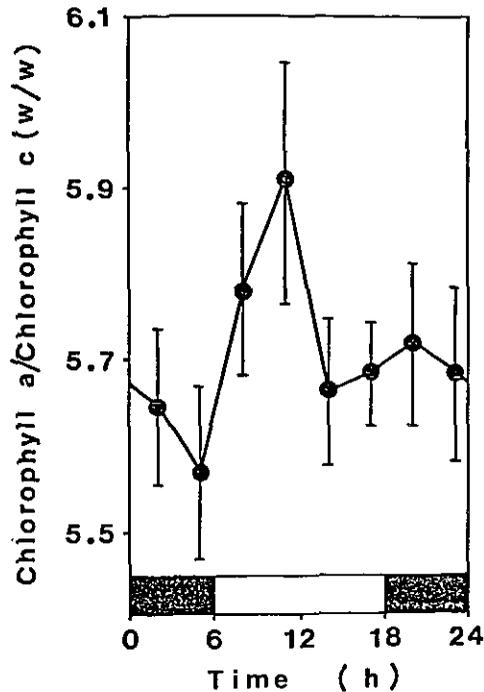


図 8 クロロフィルa/c比 (w/w) の日周変化

Fig. 8 Diel change of chlorophylls a/c ratio (w/w)

渡辺, 未発表)。Fiksdahl et al.(1984) は, *H. akashiwo* で主なカロチノイドがベリニジンであると、この種を渦鞭毛藻と考えた方が良いとしているが、我々の結果との差は株が異なるということの他は考えられない。高等植物では、ピオラキサンチン、アンスラキサンチン、ゼアキサンチン(図9)を介しての酸素発生機構が報告されている(Yamamoto et al., 1982)が、*C. antiqua* ではピオラキサンチン以外の存在は確認できなかった。これらカロチノイドの組成は培養条件によっても異なる (e.g., Goodwin, 1980)ので、この種での酸素発生機構の有無等の詳細については今後の研究を待つことになる。

主なカロチノイド3種の構成比を百分率で表したものの時間変化を図10に示す。カロチノイド構成比にも明りょうな日周性が見られた。この図で特徴的なのは、ピオラキサンチンの合成が明期の初め 6:00~11:00 に集中していることであるが、その理由については全く明らかでない。

以上のように、明暗周期による同調培養下で *C. antiqua* は、細胞内構成元素をはじめクロロフィルa,c やカロチノイド等が極めて正確に繰り返されて摂取あるいは合成されることが明らかになった。赤潮発生機構のモデル化を考える際には、日周垂直移動(木幡・渡辺, 1985b)も含め、藻類の分裂周期と関連した増殖過程の基礎的知見の集積が必要であろう。

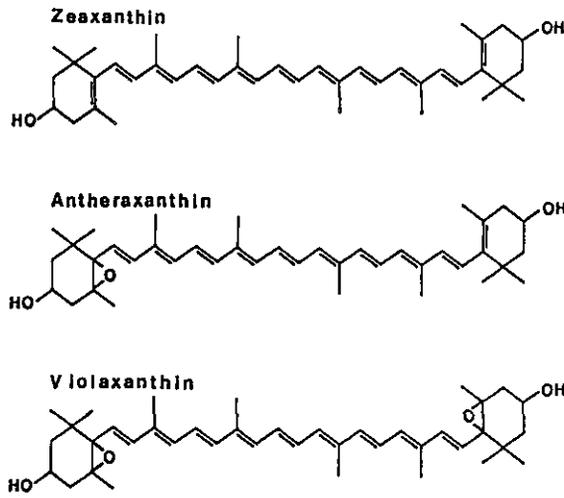


図 9 酸素発生に関与するカロチノイド
 Fig. 9 Carotenoids contributing O₂-evolution

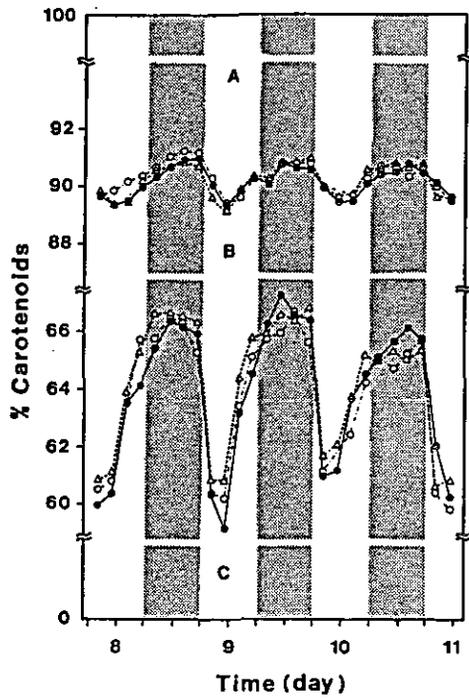


図 10 *C. antiqua* のカロチノイド組成比にみられる日周変化
 Fig.10 Diel changes of carotenoid distribution in *C. antiqua*

謝 辞

本研究を遂行するに当たり、貴重な御助言を頂いた菅原淳生物環境部長に感謝致します。生理環境部の彼谷邦光博士には HPLC 測定に際し数々の御助力を頂いたことを感謝致します。マイクロコズムでの培養実験で、実験補助をして下さった吉田和美氏（茨城環境技術センター）に感謝致します。

引用文献

- Chisholm, S.W. (1981): Temporal patterns of cell division in unicellular algae. In: Physiological bases of phytoplankton ecology. T. Platt(ed.), Can. Bull. Fish. Aquat. Sci., Vol.210, 150-181.
- Fiksdahl, A., N. Withers and S. Liaaen-Jensen(1984): Algal Carotenoids 31. Carotenoids of *Heterosigma akashiwo*: A chemosystematic contribution. Biochem. Syst. Ecol., 12, 355-356.
- Goodwin, T.W. (1980): The biochemistry of the carotenoids. Chapman and Hall, 377p.
- Guillard, R.R.L. and J.H. Ryther (1962): Studies of marine planktonic diatoms. 1. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervaceae* (Cleve) Gran. Can. J. Microbiol., 8, 229-239.
- Kohata, K. and M. Watanabe (1986): Synchronous division and the pattern of diel vertical migration of *Heterosigma akashiwo* (Hada) Hada (Raphidophyceae) in a laboratory culture tank. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 100, 209-224.
- 木幡邦男・渡辺正孝 (1985a): 制御実生生態系(マイクロコズム)を用いた赤潮発生機構の解析(Ⅲ) - 赤潮鞭毛藻 *Heterosigma akashiwo* の日周鉛直移動と日周体積変化の関係. 国立公害研究所研究報告, 第80号, 13-22.
- 木幡邦男・渡辺正孝 (1985b): 制御実験生態系(マイクロコズム)を用いた赤潮発生機構の解析(Ⅳ) - 赤潮鞭毛藻 *Heterosigma akashiwo* の増殖中細胞にみられる C/N 比とクロロフィル a/c 比の日周変化. 国立公害研究所研究報告, 第80号, 23-32.
- Mantoura, R.F.C. and C. A. Llewellyn (1983): The rapid determination of algal chlorophyll and carotenoid pigments and their breakdown products in natural waters by reverse-phase high-performance liquid chromatography. Analytica Chimica Acta, 151, 297-314.
- 中村泰男・渡辺 信 (1984): *Chattonella antiqua* の硝酸塩, リン酸塩摂取について. 国立公害研究所研究報告, 第63号, 103-110.
- 渡辺正孝・渡辺 信・木幡邦男・原島 省 (1982): 制御実験生態系(マイクロコズム)を用いた赤潮発生機構の解析. 国立公害研究所研究報告, 第30号, 11-26.
- Yamamoto, H. Y., T.O.M. Nakayama and C.O. Chichester (1962): Studies on the light and dark interconversions of leaf xanthophylls. Arch. Biochem. Biophys., 97, 168-173.
- 山岡到保・滝村 修(1985): 赤潮プランクトン中の有機物組成. 日本化学会誌(7), 1488-1494.
- Yamochi, S. and T. Abe (1984): Mechanisms to initiate a *Heterosigma akashiwo* red tide in Osaka Bay II. Diel vertical migration. Mar. Biol., 83, 255-261.

制御実験生態系（マイクロコズム）を用いた赤潮発生機構の解析（VII）
—赤潮鞭毛藻 *Heterosigma akashiwo* の光制限同調培養下の増殖とそのモデル化—
The Use of a Controlled Experimental Ecosystem (Microcosm) in Studies of
Mechanism of Red Tide Outbreaks (VII)
—Growth and its Mathematical Model of *Heterosigma akashiwo*,
a Red Tide Flagellate, in Light-limited Synchronous Cultures—

木幡邦男¹・渡辺正孝¹

Kunio KOHATA¹ and Masataka WATANABE¹

要 旨

大阪湾に赤潮として出現する *Heterosigma akashiwo* を海水マイクロコズム内、12時間・12時間の明暗周期下、明期の照度が88と124 $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ の2回培養した。2回の培養実験は、照度以外は同条件で行い、照度の差による増殖への影響を検討した。*H. akashiwo* の平均細胞体積や一細胞当たりの炭素含有量は明りょうな日周期性を示し、明期に増大し暗期に減少した。変化の振幅は高照度で培養したものの方が低照度に比べて大きく増殖速度の差に良く対応した。*H. akashiwo* の総細胞体積と炭素量の間には $r^2=0.985$ の良い相関が認められた。照度の違いによる C/N 比の差は顕著でなかった。同一のモデル式を用いた計算で照度の異なる二つの実験の増殖速度を良く再現できた。これは、(i) 照度の異なる場所を移動する細胞では、平均照度が増殖に関与する、(ii) 入射光が弱い場合も、陰影効果によって照度が減じた場合も同じ照度であれば同様の増殖が得られることを示唆するものであろう。

Abstract

Clonal culture of *Heterosigma akashiwo* causing red tides in Osaka Bay was grown in Microcosm on a 12:12h light:dark cycle. Two experiments were carried out under the same conditions except for the irradiance

-
1. 国立公害研究所 水質土壌環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Water and Soil Environment Division, the National Institute for Environmental
Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

which was chosen as 88 or 124 $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Effect of the irradiance on growth of *H. akashiwo* was examined. Changes in mean-cell volume and carbon content per a unit cell of *H. akashiwo* showed clear diel periodicity; they increased during the light period and decreased during the night. Amplitude of changes was larger under high irradiance conditions than low irradiance conditions. It corresponded to the difference of growth rates in the two experiments. Total cell volume of *H. akashiwo* was well correlated with cell carbon to give $r^2=0.985$. No significant difference was found between C/N ratios obtained in the two experiments. Growth curves for this species in the two experiments were simulated by the use of the same mathematical model. Calculated results were concurred with those observed in the tank. It was suggested from the concurrence that ; (i) Spatially averaged irradiance affected the growth of algal cells which are migrating among different light conditions. (ii) The growth of algae in the light reduced by self-shading effect of algae was similar to that in weak incident light as long as irradiance levels were equivalent each other.

1 はじめに

赤潮鞭毛藻をはじめ光合成をする藻類にとって光照度は増殖を支配する大きな要因であり、各藻類種は与えられた光環境に対して様々に適応している (Kirk, 1983)。赤潮鞭毛藻の *Heterosigma akashiwo* や *Chattonella antiqua* は日周鉛直移動を行い、昼間は表層に濃厚に集積することが知られている (渡辺ら, 1984; 中村・渡辺, 1984) が、これは生態系における赤潮鞭毛藻の優位性の一つと考えられている。水中では光は吸収及び散乱効果を受けるために、深度により光の強度や波長分布が大きく変化する。渦鞭毛藻の *Ceratium hirundinella* では強光を避け水面下 3~4m に極大を持つように分布したことが報告されている (Heaney & Talling, 1980)。また、Cullen & Horrigan (1981) によれば、深度 2m の室内設置型の水槽で渦鞭毛藻の *Gymnodinium splendens* は日周鉛直移動を行ったが、硝酸塩欠乏時には表層でなく、光合成の飽和する照度に対応する深度に集積した。

本研究では、大阪湾で赤潮を形成する *Heterosigma akashiwo* (渡辺・中村, 1984a) を、マイクロコズム (木幡・渡辺, 1985a) 内で照度を変えた 2 系統の培養を行い、*H. akashiwo* 細胞内の炭素・窒素含有量の変化と増殖との関係を調べた。

水中では藻類による光の吸収や散乱のため照度が減衰する陰影効果が知られている (渡辺・宮崎, 1985)。マイクロコズム内では、光路長が 1.5m と長い (木幡・渡辺, 1987) *H. akashiwo* の数千 $\text{cells}\cdot\text{m}^{-1}$ の細胞濃度でも陰影効果が認められた。本研究では、陰影効果も含め、*H. akashiwo* のマイクロコズム内、光制限下での増殖につき検討し、照度の関数として見た増殖速度のモデル化を試みた。

2 材料と方法

培養実験には *Heterosigma akashiwo* の無菌クローン株 (OHE-1, 国立公害研究所微生物系統保存施設) を使用した。予備培養は既に報告したもの (木幡・渡辺, 1985b) と同様に行った。マイクロゾム培養槽 (図1) での培養実験は照度を変えて2回行った (表1)。2回の実験は, 照度, *H. akashiwo* の初期濃度以外は同一条件で行った。照明には 2kW の Xeランプを用い, 12:12 時間の明暗周期 (6:00~18:00 明期) を付けた。

培地は f/2 (Guillard & Ryther, 1962) を用いた。培養槽下部より除菌空気を入れ, 槽内をかしくはしたが, 強い曝気は増殖の阻害となるので, 空気流量を $1 \text{ l} \cdot \text{min}^{-1}$ 程度と弱くした。外側

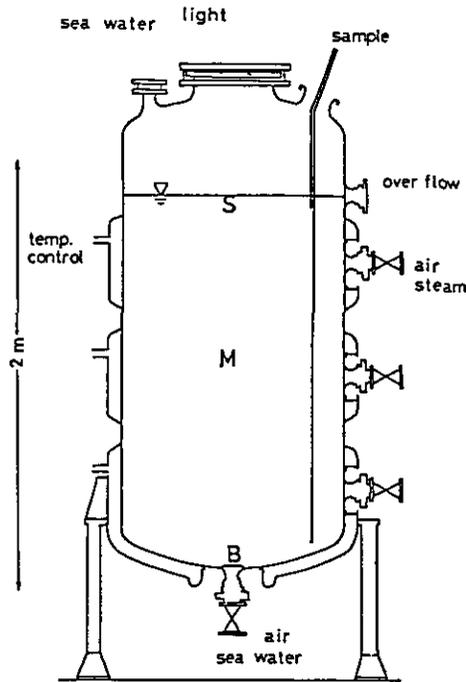


図 1 マイクロゾム培養槽の概念図

Fig. 1 Schematic view of the cultivating tank of Microcosm

表 1 *Heterosigma akashiwo* の培養条件

Table 1 Culture conditions for *Heterosigma akashiwo*

| 平均水表面照度 | 初期細胞濃度 |
|---|--------------------------------|
| 実験(1) $124 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ | 93 cells $\cdot \text{m}^{-3}$ |
| 実験(2) 88 | 84 |

の温調ジャケットは、上部を $19 \pm 1^\circ\text{C}$ 、中央を $20 \pm 1^\circ\text{C}$ 、下部を $21 \pm 1^\circ\text{C}$ に設定し、槽内に強制的に対流を起こさせてかくはんの助けとした。この条件で槽内の温度はほぼ均一で $20 \pm 1^\circ\text{C}$ に保たれた。

細胞の初期濃度は表1に示した。接種した日から1回/d、細胞濃度、体積の測定をした。細胞濃度が約 $3000 \text{ cells} \cdot \text{m}^{-1}$ に達した日より72時間にわたって、3あるいは6時間ごとの連続測定を細胞濃度、体積、炭素・窒素量について行った。

サンプルは、培養槽の表層・中層・底層の3層(図1)からテフロンチューブを通して3lの三角フラスコにアスピレーターを用いて吸引採水した。

細胞濃度・細胞体積の測定には、コールターTA-II型を使用した(木幡・渡辺, 1987)。炭素・窒素含有量の測定には、直径47mmのあらかじめ 400°C で4時間焼いたGF/Cフィルター上に試水を1lろ過捕集したものをを用いた。GF/Cフィルターは0.5Mギ酸アンモニウム水溶液で洗浄後、冷凍保存し、分析前に 80°C で48時間乾燥した。炭素・窒素含有量は柳本CHNコーダーMT-3を用いて測定した。照度測定にはBio-spherical model QSL-100を用いた。

3 結果

実験期間を通して培養槽内を曝気及び対流でかくはんしたが、*H. akashiwo*が日周鉛直移動を行うため、培養槽が大きいために槽内を完全に一様にはできなかった。このため培養槽内3層でのサンプルについての測定値を平均して培養槽内の値とした。

実験期間中に得られた*H. akashiwo*の増殖曲線を図2に示す。比増殖速度は実験(1),(2)の初期でそれぞれ $0.82, 0.36 \text{ d}^{-1}$ であった。図2中の二重丸は連続測定期間を示す。この期間に得られた*H. akashiwo*の一細胞当たりの炭素含有量を図3に示す。細胞当たり炭素量は明りように日周変化をし、明期に光合成により増加した。暗期には細胞分裂で細胞濃度が高くなるため細胞当たりの量は減少した。実験(1)では、細胞当たり炭素含有量の最大値と最小値の比は約2で、これは比増殖速度の 0.69 d^{-1} に対応する。極小値は、実験(2)では、約 $110 \text{ pg} \cdot \text{cell}^{-1}$ であり、実験(1)ではだんだん減少し同じ値に収束するようであった。この値は、*H. akashiwo*の細胞分裂直後の値で、この値より小さくならないことから炭素に関する minimum cell quota と同等の値と考えられる。

連続測定期間に得られたC/N比の時間変化を図4に示す。明期には光合成で炭素を同化し、暗期には炭素を消費するためC/N比も日周変化したが、変動幅は比の2割程度と小さく、暗期には窒素の摂取も遅くなっていることが推察された。また、実験(1)と(2)による照度差のC/N比への影響は顕著でなかった。

図5には総細胞体積($10^9 \mu\text{m}^3 \cdot \text{l}^{-1} = \text{ppm}$)と、培地中の全炭素量($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$)との相関を示した。両者の相関は良い($r^2=0.985$)。このことから、前回(木幡・渡辺, 1987)報告した細胞体積変化と比増殖速度とに見られた良い相関は、光制限培養条件下では、細胞内炭素含有量が比増殖速度を支配することに起因するのであろう。

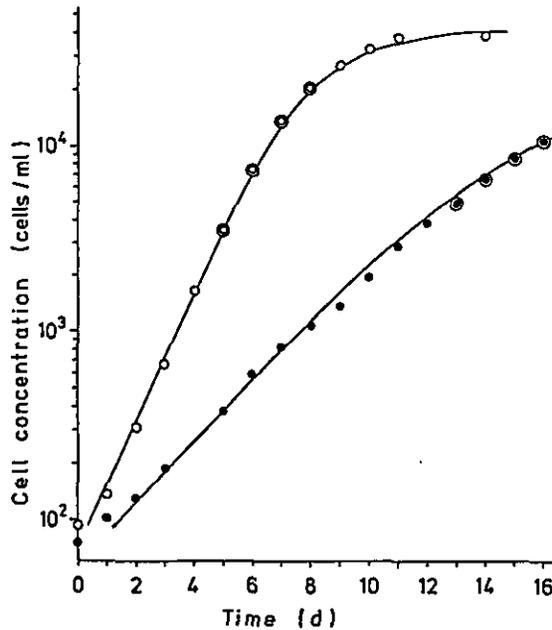


図 2 マイクロズム内の *H. akashiwo* の増殖曲線。二重丸は連続測定期間を表す；○実験 (I)，●実験 (II)

Fig. 2 Growth curves of *H. akashiwo* in Microcosm

Double circles denote data obtained during the intensive period ;

○ experiment (I), ● experiment (II)

4 光制限下増殖のモデル化

マイクロズムでの照明は凹レンズを用いて拡散させている (木幡・渡辺, 1984) ため、底層の照度は表層の値に比べて低い。また、マイクロズム培養槽内では *H. akashiwo* 細胞自身による光の吸収や散乱のために照度が減り光制限系となる (渡辺・宮崎, 1985)。これによって、実験期間中、水表面での照度は一定であったにもかかわらず、比増殖速度は細胞濃度の増加につれて減少した (図2)。本研究では、培養槽の底から除菌空気泡を入れ、内部をかはんしたので *H. akashiwo* の各細胞が経験する光環境は培養槽内部全体について平均した値と考えられる。

ここで、入射光が同心円状の分布をしていることとマイクロズム培養槽が円柱形であるため、水面中央に原点を、鉛直下方に z 軸をとった円柱座標系を用いる。この時、培養槽内の平均照度 $\bar{I} (\mu E \cdot m^{-2} \cdot s^{-1})$ は

$$\bar{I} = \frac{\int \int 2 \pi r \cdot I(r, z) dr dz}{\int \int 2 \pi r dr dz} \quad (1)$$

で表される。ただし、積分は槽内について行う。また、 $I(r, z)$ は点 (r, z) での照度で、入射光の

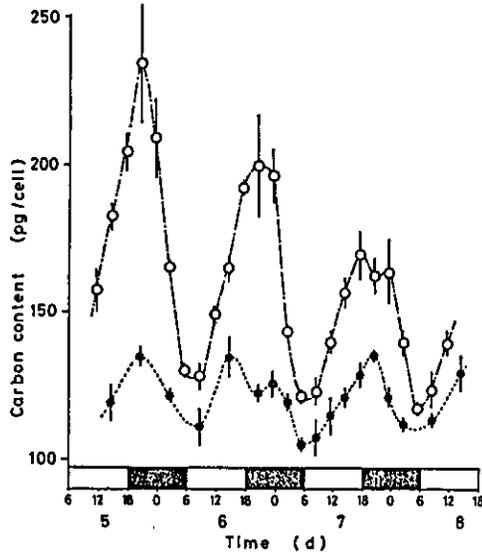


図 3 *H. akashiwo* 細胞一つ当たりの炭素量の日周変化
○実験(I), ●実験(II)

Fig. 3 Diel changes of carbon content per a cell of *H. akashiwo*
○ experiment (I), ● experiment (II)

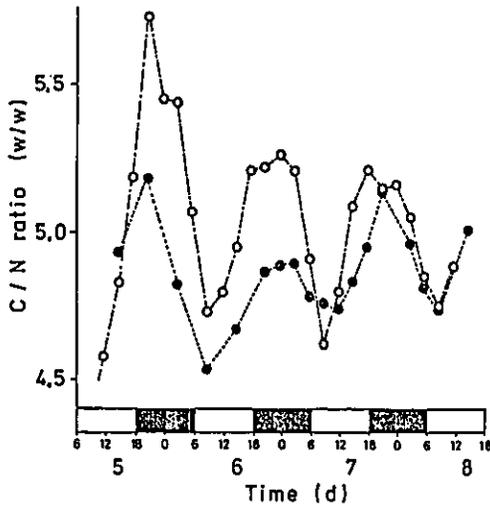


図 4 C/N 比 (w/w) の日周変化

Fig. 4 Diel changes of C/N ratio (w/w)

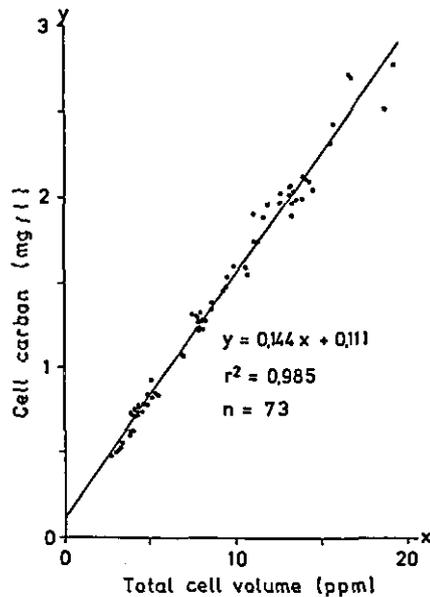


図 5 H. akashiwo の細胞体積と炭素量との相関

Fig. 5 Correlation between mean cell volume and cell carbon of H. akashiwo

拡散・海水による吸収 H. akashiwo の陰影効果等で変化する。これは、培養槽内に H. akashiwo が存在しない時の値を $I_0(r, z)$ とすると、次式で書ける。

$$I(r, z) = I_0(r, z) \cdot \exp(-kNz) \quad (2)$$

ここで、 $k(\text{cm}^2 \cdot \text{cell}^{-1})$ は H. akashiwo 細胞による吸収係数を、 $N(\text{cells} \cdot \text{l}^{-1})$ は細胞濃度を表す。渡辺・宮崎 (1985) は同じ培養槽を用いた H. akashiwo の培養実験で $k = 4.7 \times 10^{-7} (\text{cm}^2 \cdot \text{cell}^{-1})$ を報告している。

マイクロゾウム培養槽は滅菌後は閉鎖系であるため、内部の照度を培養中には測定できない。ここでは、培養前に測定した I_0 、連日測定した細胞濃度、及び上記 k の値を式(1)、(2)に適用して実験期間中の \bar{I} を計算した。

Heterosigma akashiwo の増殖の照度依存性は渡辺・中村 (1984b) により実験的に求められているが、渡辺ら (1985) はこのデータを基に下式を提出している。

$$\mu(I) = \mu_{\max} \frac{i/i_k}{[1 + (i/i_k)^m]^{1/m}} \quad (3)$$

$$i = I - I_* \quad (4)$$

$$i_k = I_k - I_* \quad (5)$$

ここで、 I_* は照度のいき値、 I_k は最適照度、 μ_{max} は定数である。図6に $I_* = 58 \mu E \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ 、 $I_k = 128 \mu E \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ 、 $\mu_{max} = 0.82$ 、 $m = 10$ とした $\mu(I)$ の値を示す。

前節で求めた培養槽内の平均照度を用いて (3) 式で表される増殖速度を照度の異なる二つの実験について計算した結果を図2中の実線で示した。

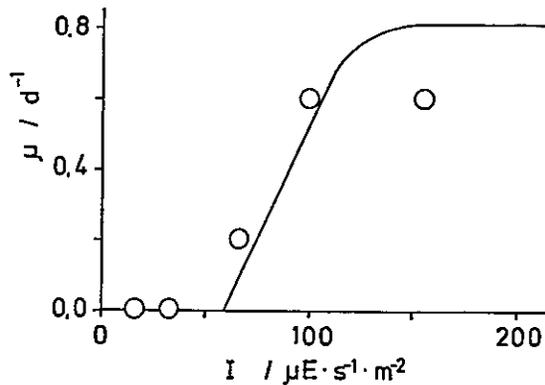


図 6 照度に対する *H. akashiwo* の増殖特性 (渡辺・中村, 1984)

Fig. 6 Growth of *H. akashiwo* as a function of light intensity

5 考 察

図2に示したようにマイクロズムで得られた培養実験結果とモデル式を用いた計算値との一致は非常に良かった。このように同一のモデルで実験(1)、(2)が良く再現できたのは次のことを示唆するものであろう。

(i) 照度の異なる場所を移動する細胞では、平均照度が増殖に関与する。

(ii) 入射光が弱い場合も陰影効果によって照度が減じた場合も、同じ照度であれば同様の増殖が得られる。

マイクロズム培養槽内では *Heterosigma akashiwo* の細胞による陰影効果が顕著に観測された(図2)。赤潮発生海域でも同様の効果により水中照度が減ずるものと予想される。表2に、本研究で用いた吸収係数を基に照度が 1/100 に減ずる深度を計算した例を示す。この計算では、*H. akashiwo* は均一に分布すると仮定した。また、海水の吸収係数には 1986年7月に播磨灘で実測した値を用いた(渡辺ら, 未発表)。この表から *H. akashiwo* が日周鉛直移動(木幡・渡辺, 1985a)より濃厚に集積した場合には、水中照度を著しく減じ、他種植物プランクトンの増殖を阻害するものと推定される。海域生態系における植物プランクトン種間の競合は栄養塩に関して良く知られているが、上記の照度も新たな要因として考えられるだろう。

表 2 *H. akashiwo* 細胞濃度から推定した補償深度Table 2 Compensation depth estimated from cell concentration of *H. akashiwo*

| 細胞濃度 cells · m ⁻³ | 補償深度 m |
|---------------------------------|-----------|
| 1000 | 11.3 |
| 2000 | 10.1 |
| 5000 | 7.7 |
| 10000 | 5.5 |

謝 辞

本研究を遂行するに当たり、実験補助をして下さった山田 明・吉田和美両氏（茨城環境技術センター）に感謝致します。

引 用 文 献

- Cullen, J.J. and S.G. Horrigan (1981): Effects of nitrate on the diurnal vertical migration, carbon to nitrogen ratio, and the photosynthetic capacity of the dinoflagellate *Gymnodinium splendens*. Mar. Biol., 62, 81-89.
- Guillard, R.R.L. and J.H. Ryther (1962): Studies of marine planktonic diatoms. 1. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervaceae* (Cleve) Gran. Can. J. Microbiol., 8, 229-239.
- Heaney, S.I. and J.F. Talling (1980): Dynamic aspects of dinoflagellate distribution patterns in a small productive lake. J. Ecol., 68, 75-94.
- Kirk, J.T.T. (1983): Light and photosynthesis in aquatic ecosystems. Cambridge University Press, 401.
- 木幡邦男・渡辺正孝 (1984): 制御実験生態系 (マイクロコズム) を用いた赤潮発生機構の解析 (II) - マイクロコズム内での赤潮鞭毛藻 *Heterosigma akashiwo* の増殖. 国立公害研究所研究報告, 第63号, 111-122.
- 木幡邦男・渡辺正孝 (1985a): 制御実験生態系 (マイクロコズム) を用いた赤潮発生機構の解析 (III) - 赤潮鞭毛藻 *Heterosigma akashiwo* の日周鉛直移動と日周体積変化の関係. 国立公害研究所研究報告, 第80号, 13-22.
- 木幡邦男・渡辺正孝 (1985b): 制御実験生態系 (マイクロコズム) を用いた赤潮発生機構の解析 (IV) - 赤潮鞭毛藻 *Heterosigma akashiwo* の増殖中細胞にみられる C/N比とクロロフィル a/c 比の日周変化. 国立公害研究所研究報告, 第80号, 23-32.
- 木幡邦男・渡辺正孝 (1987): 制御実験生態系 (マイクロコズム) を用いた赤潮発生機構の解析

(V) - 赤潮鞭毛藻 Heterosigma akashiwo の増殖と細胞体積変化. 国立公害研究所研究報告, 第110号, 57-66.

中村泰男・渡辺 信 (1984): Chattonella antiqua の日周垂直移動 - 特にその生態的意味について. 国立公害研究所研究報告, 第63号, 97-102.

渡辺 信・中村泰男 (1984a): 瀬戸内海大阪湾と播磨灘における Heterosigma akashiwo Hada と Chattonella antiqua (Hada) Ono の赤潮. 国立公害研究所研究報告, 第63号, 41-50.

渡辺 信・中村泰男 (1984b): 赤潮鞭毛藻 Heterosigma akashiwo Hada の増殖特性 1. 増殖に及ぼす水温, 塩分, 照度, pH の影響. 国立公害研究所研究報告, 第63号, 51-58.

渡辺 信・中村泰男・木幡邦男 (1984): 赤潮鞭毛藻 Heterosigma akashiwo の日周垂直移動 - 特にその生態的意味について. 国立公害研究所研究報告, 第63号, 69-78.

渡辺正孝・宮崎忠国 (1985): Heterosigma akashiwo の日周鉛直移動による表面集積とマイクロコズム内での光吸収係数. 国立公害研究所研究報告, 第80号, 33-46.

渡辺正孝・渡辺 信・木幡邦男・中村泰男・原島 省 (1985): 現場マイクロコズムにおける Heterosigma akashiwo の増殖. 国立公害研究所研究報告, 第80号, 119-138.

³¹P-NMR を用いた Heterosigma akashiwo (Hada) Hada の体内リン蓄積過程の解析

³¹P-NMR Studies of Intracellular Phosphate Accumulation in
Heterosigma akashiwo (Hada) Hada*

渡辺正孝¹・木幡邦男¹・功刀正行²

Masataka WATANABE¹, Kunio KOHATA¹ and Masayuki KUNUGI²

要 旨

リン欠乏状態にある Heterosigma akashiwo (Hada) Hada にリン添加を行った場合のリン代謝過程を ³¹P-NMR を用いて本種過塩素酸抽出液と intact cell に対して計測を行った。培地にリン酸塩が完全に欠乏した後、リン酸塩を4.5 μM添加した。リン酸塩欠乏状態の時細胞内リン含有量は 76 fmol・cell⁻¹ であり、phosphodiester, sugar phosphate, リン酸塩 (Pi) が主たるリン中間体であった。Pi添加後急激なPiの摂取がみられ、細胞内リン含有量は2時間後 108 fmol・cell⁻¹, 5時間後 134 fmol・cell⁻¹, 1日後には 222 fmol・cell⁻¹ に増加した。³¹P-NMR 計測によりリンは主にポリリン酸として蓄積されており、リン添加1日後ポリリン酸のchain長さは 10 から 20 に増加した。

Abstract

The effects of starvation and subsequent addition of phosphate

本論文は J. Phycol., 23, (1987) 54-62 に掲載された内容を一部加筆修正したものである。
Part of this paper was appeared in J. Phycol., 23, (1987) 54-62 by Watanabe, M., K. Kohata and M. Kunugi.

1. 国立公害研究所 水質土壌環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Water and Soil Environment Division, the National Institute for Environmental Studies. Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
2. 国立公害研究所 計測技術部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Chemistry and Physics Division, the National Institute for Environmental Studies. Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

containing medium on the phosphate metabolic intermediates were studied by ^{31}P -NMR spectroscopy of perchloric acid extracts and intact cells of Heterosigma akashiwo (Hada) Hada. When orthophosphate in the medium was completely depleted the medium was enriched with orthophosphate ($4.5\mu\text{M}$). In the phosphate starved condition, the P cell quota was $76\text{ fmol}\cdot\text{cell}^{-1}$ and the major components of phosphate intermediates were phosphodiester, sugar phosphate and orthophosphate(P_i). After addition of P_i , rapid uptake of P_i was observed and the P cell quota increased to $108\text{ fmol}\cdot\text{cell}^{-1}$ in 2 h, $134\text{ fmol}\cdot\text{cell}^{-1}$ in 5 h and $222\text{ fmol}\cdot\text{cell}^{-1}$ in 1 day after addition of phosphate. The ^{31}P -NMR spectrum indicated that major portion of P was stored as polyphosphate, in which the average chain length of polyphosphate increased from 10 to 20 phosphate residues in one day after addition of P_i .

1 はじめに

藻類の増殖を制限している因子として細胞内リン酸濃度が重要であることが多く報告されている (Caperon, 1968; Droop, 1968; 1973, 1974; Rhee, 1973)。例えば Scenedesmus sp. (Rhee, 1973), Peridinium cinctum (Elgavish et al., 1980b), Cosmarium sp. (Elgavish et al., 1980a), Rhodella maculate Evans (Callow & Evans, 1979), Plectonema boryanum (Jensen & Sicko, 1974, Jensen et al., 1977; Sicko-Goad et al., 1975, Sicko-Goad & Jensen, 1976), Microcystis aeruginosa (Jacobson & Halmann, 1982), Chlorella (Aitchison & Butt, 1973) といった藻類はポリリン酸としてリンを蓄積することが知られている。多くの研究が体内蓄積されたリンの検出, 分離, 特性解析と定量に向けられた (Kanai et al., 1965, Harold, 1960, 1963; Rhee, 1973; Miyachi & Tamiya, 1961; Sicko-Goad & Jensen, 1976)。しかしこれらの分離操作によって測定し得るリン代謝産物は非常に限定されており, より多くのリン代謝産物を同時に検出する必要がある。

近年 ^{31}P -NMR を用いた細胞内リンの動態を計測することが yeast (Gillies et al., 1981, Salhany et al., 1975) や E.coli (Ugurbil et al., 1978, Navon et al., 1977a) について行われている。また非接触での藻類細胞内リンの測定 (Elgavish & Elgavish, 1980; Mitsumori & Ito, 1984) も行われているが, 計測方法の確立を目指したもので, リン欠乏状態からリン添加状態への遷移過程でのリンの動態の計測ではなかった。また従来用いられている藻類は高濃度な細胞数 (通常 $10^6\sim 10^7\text{ cells}\cdot\text{m}^{-1}$ オーダー) にまで増殖可能な藻類を用いており, 赤潮を発生させる鞭毛藻 (対数増殖期で最大 $10^4\text{ cells}\cdot\text{m}^{-1}$ 程度) については, 高濃度のサンプルを必要とする ^{31}P -NMR の応用は不可能であった。

本研究においては海水マイクロゾムを用いた大量培養により, リン欠乏状態からリン添加状態での H. akashiwo によるリン取り込みとリン蓄積形態の詳細な実験を ^{31}P -NMR を用いて行った。

2 実験方法

海水マイクロコズムにおいて H. akashiwo の純粋培養を行った。八丈島沖の黒潮域より搬入した海水を用いて f/2 培地を作成し、H. akashiwo クローン株 (Watanabe et al., 1982) を 12:12 時間 (6:00, 18:00 のサイクル) の LD 周期、明期での照明条件は平均約 $175 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ で培養した。初期リン酸塩濃度は $\text{PO}_4\text{-P}=1.0 \mu\text{M}$ 、初期細胞濃度は約 $100 \text{ cells}\cdot\text{m}^{-1}$ を与えている。培養槽下部より空気泡を入れてかくはん培養を行い、温度 $20 \pm 1^\circ\text{C}$ で培養を行った。細胞数計測は 1 日 1 回 14:00 に行った。接種後 8 日目に細胞数が $1.1 \times 10^4 \text{ cells}\cdot\text{m}^{-1}$ (比増殖速度 $\mu = 0.63 \text{ d}^{-1}$) に達した時点で曝気を停止し、表層に集積させてサンプリングを行った。この時点で培地中リン濃度は欠乏状態にあり細胞内含量は最小含有量に達している。サンプリング後は直ちに曝気を再度開始した。9 日目の朝 9:00 にサンプリング後 $4.5 \mu\text{M}$ の $\text{PO}_4\text{-P}$ を添加し、1 時間曝気により混合した後、曝気を停止し表層に集積させサンプリングを行った (11:00)。サンプリング後は直ちに曝気を開始する。その後 14:00 に完全混合の状態でのサンプリングを行った。同様の作業を 10, 11, 12 日目についても行った。11:00 のサンプリングは 4.0 l 行い、内 3 l は NMR 用試料としてガラス製遠沈管 6 個により 2400g, 15 分の遠沈を行った後過塩素酸と超音波処理による抽出を行った。抽出後遠沈により上澄み液を残し、EDTA 添加後 K_2CO_3 で $\text{pH}=7.5$ に調整した (Navon ら, 1977)。遠心後上澄み液は凍結乾燥した。さらに 1 l のサンプル液を用いて、TP, DTP, DIP, 細胞個体数を測定した。TP, DTP はベルオキシ 2 硫酸カリによる分解を行い (Menzel & Corwin, 1965), サンプル中の有機リンをオルトリン酸に変化させて分析試料とした。TP, DTP, DIP は Murphy & Riley (1962) 法によりテクニコン社製オートアナライザー AA II 型を用いて分析を行った。細胞個体数はコールターカウンターを用いてそれぞれ計測した。なお 14:00 のサンプルは 1.5 l 行い、NMR 用サンプル以外は同様の化学分析を行った。

³¹P-NMR 測定は日本電子 (株), JNM-GX-400 超電導 NMR を使用し、観測周波数 161.8 MHz, 観測範囲 20 kHz, データメモリー 32K リード, 45° ないし 60° パルスで 9000 回の積算にて行った。繰り返し時間は、緩和時間の差による信号強度の積分誤差をできるだけ少なくするため、約 1.7 秒と長めにとっている。10mm 径の NMR 試料管に、30~40 mm の高さに試料を入れて測定した。外部標準には外径約 2mm のキャピラリーに、 $\text{pH}0.5$ の D_2O 溶液中のリン酸を使用している。キャピラリー中の D_2O は NMR コック用信号に使用している。得られた化学シフト信号は、0.1M triphenylphosphate を外部標準として記録している。

3 実験結果

図 1 は対数増殖中の H. akashiwo 細胞抽出液の ³¹P-NMR スペクトルを示す。スペクトルの帰属は Navon et al. (1979) 及び Barrow et al. (1984) に基づいた。 $+4\text{ppm}$ と $+5\text{ppm}$ の間のピークは sugar phosphate, $+3\text{ppm}$ 付近に無機リン (P_i), $+1.5\text{ppm}$ 付近に GPE のピークが見える。 -0.2ppm 付近に phosphodiester のピークが見られる。この領域は ¹rRNA が含まれている可

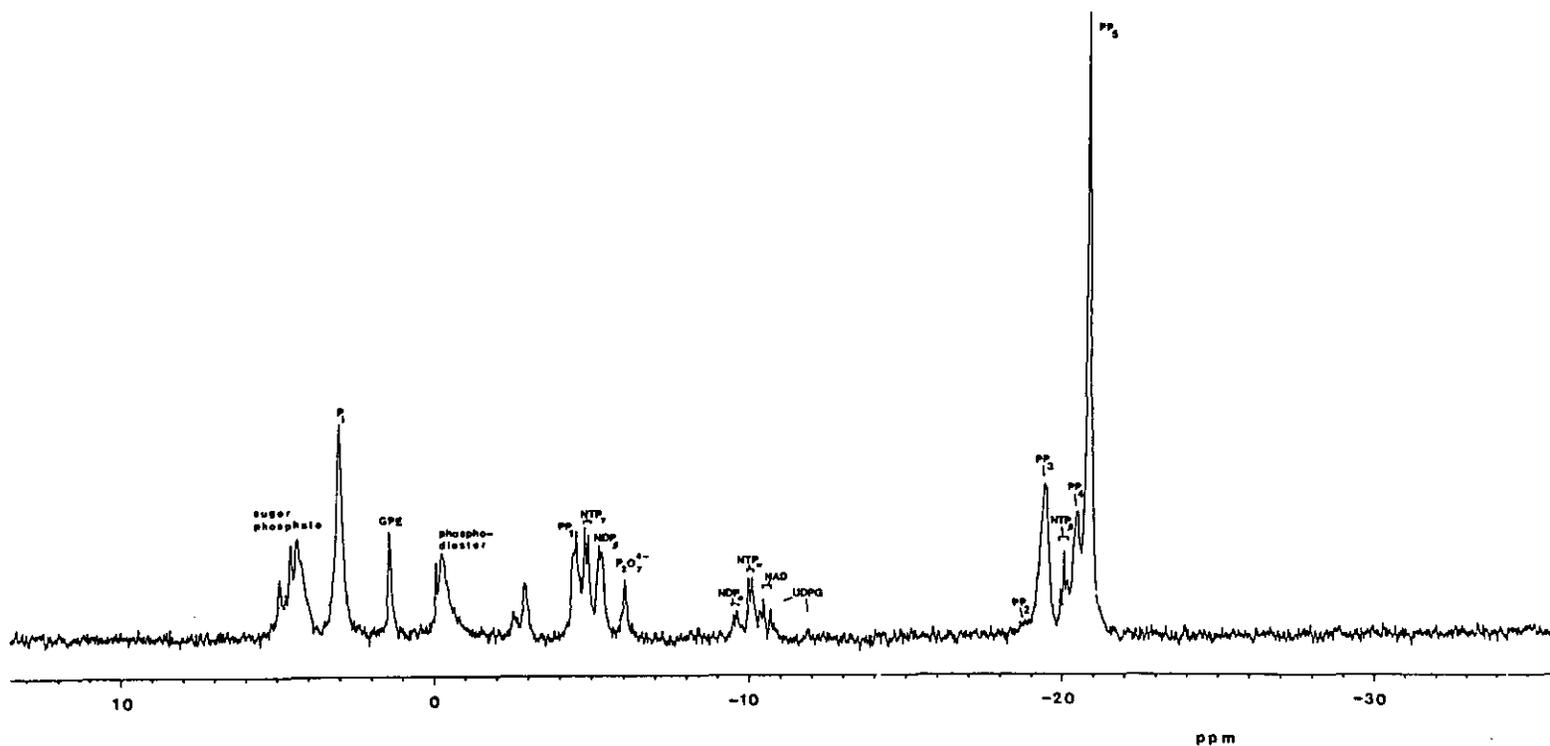


図 1 対数増殖中の *H. akashiwo* の PCA抽出液の代表的な ^{31}P -NMRスペクトル
Fig.1 Typical ^{31}P -NMR spectrum of an cold PCA extract from *H. akashiwo*
in exponentially growing phase in phosphate-rich conditions

能性があるが(Salhany et al., 1975, Guéron & Shulman, 1975, Navon et al., 1979, Salemink et al., 1979), しかしまた, 細胞壁 phosphomannan のような他の phosphodiester も含んでいる可能性がある (Costello et al., 1975, Gage et al., 1984). yeast が phosphomannan を含むことが報告されている (Farkas, 1979)。この -0.2ppm のピークは PCA 抽出後残渣 (図2) 及び intact cell (図3) に見られるが抽出液中ではそのピークは弱くなっている。この -0.2ppm でのピークの肩のところに小さなピークを持っており, 複数個の化合物がこれらのピークに寄与していることがわかる。その正確な帰属にはさらに研究が必要であり, ここでは phosphodiester とのみ記しておく。 -0.4ppm と -6.0ppm の間の領域では, ポリリン酸の terminal phosphate (PP_1), $\text{NTP}\gamma$, $\text{NDP}\beta$, $\text{P}_2\text{O}_4^{4-}$ が見られる。 -9ppm と -12ppm の間では $\text{NDP}\alpha$, $\text{NTP}\alpha$, NAD , UDPG のピークが見られる。 -20ppm 付近に $\text{NTP}\beta$ が見える。ポリリン酸の PP_2 , PP_3 , PP_4 , 及び PP_5 が明確に分離されている。

PCA 抽出後残渣の ^{31}P -NMR スペクトルが 図2 に示されている。 phosphodiester と sugar phosphate のピークが見られる。 PCA 抽出後 (図1) と PCA 抽出残渣 (図2) のスペクトルのピーク領域面積を積分し, 図1と図2について外部基準の相対値の比較を行った。これより約 60% の細胞内リンが抽出され, 約 40% の細胞内リン中の多くは phosphodiester (33.2%), sugar phosphate (5.3%) として残っている。 PCA 抽出液 (図1) と intact cell (図3) とを比較すると主要なピークは両方の図に明確にみられる。このことから, この論文で用いられた細胞内リンの抽出方法は phosphodiester を除いて H. akashiwo については良い方法であると言える。

図4に, H. akashiwo の個体数変化を示す。培養8日目で培地中の無機リン酸は全くなっている。しかし個体数は依然として対数増殖を続けている。図5には細胞内リン含有量の時間変化を示しているが, 培養8日目の無機リン酸添加以前のサンプルでは, 細胞内リン含有量は $76\text{fmol}\cdot\text{cell}^{-1}$ となっており, 報告されている P の細胞内最小含有量 q_0 ($95\text{fmol}\cdot\text{cell}^{-1}$; Watanabe et al., 1982) 以下の値になっている。この相異は測定上の誤差と考えられる。培養9日目の朝9時に無機リン酸 ($4.5\mu\text{M}$) の添加を行った。図5に示すように細胞内リン含有量はリン酸塩添加後2時間で $q=76\text{fmol}\cdot\text{cell}^{-1}$ から $q=108\text{fmol}\cdot\text{cell}^{-1}$, 5時間で $q=134\text{fmol}\cdot\text{cell}^{-1}$ と増加している。この間分裂は起こらないので細胞内リン含有量の変化から推定したリン添加直後の摂取速度は $V_{\text{po}_4} = 11.6\text{fmol}\cdot\text{cell}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ と高い値となっている。リン添加3日後では細胞内リン含有量は $q=185\text{fmol}\cdot\text{cell}^{-1}$, リン摂取速度は $2.6\text{fmol}\cdot\text{cell}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ 程度となっている。

図6にリン欠乏からリン添加状態での ^{31}P -NMR スペクトルを示す。リン欠乏状態では主要なピークは sugar P, P_i , phosphodiester である (図6A)。この場合リン欠乏状態に1日しか置いてないので, PP_i のピークがわずかに見えるがその強度は非常に小さい。リン添加後, PP_i の急激な増加が最も顕著な変化である (図6B)。 ^{31}P -NMR シグナルの積分面積から求めた各成分の比率とポリリン酸の chain 長さを表1に示す。リン欠乏状態での抽出液中の PP_i の割合は 5.8% で

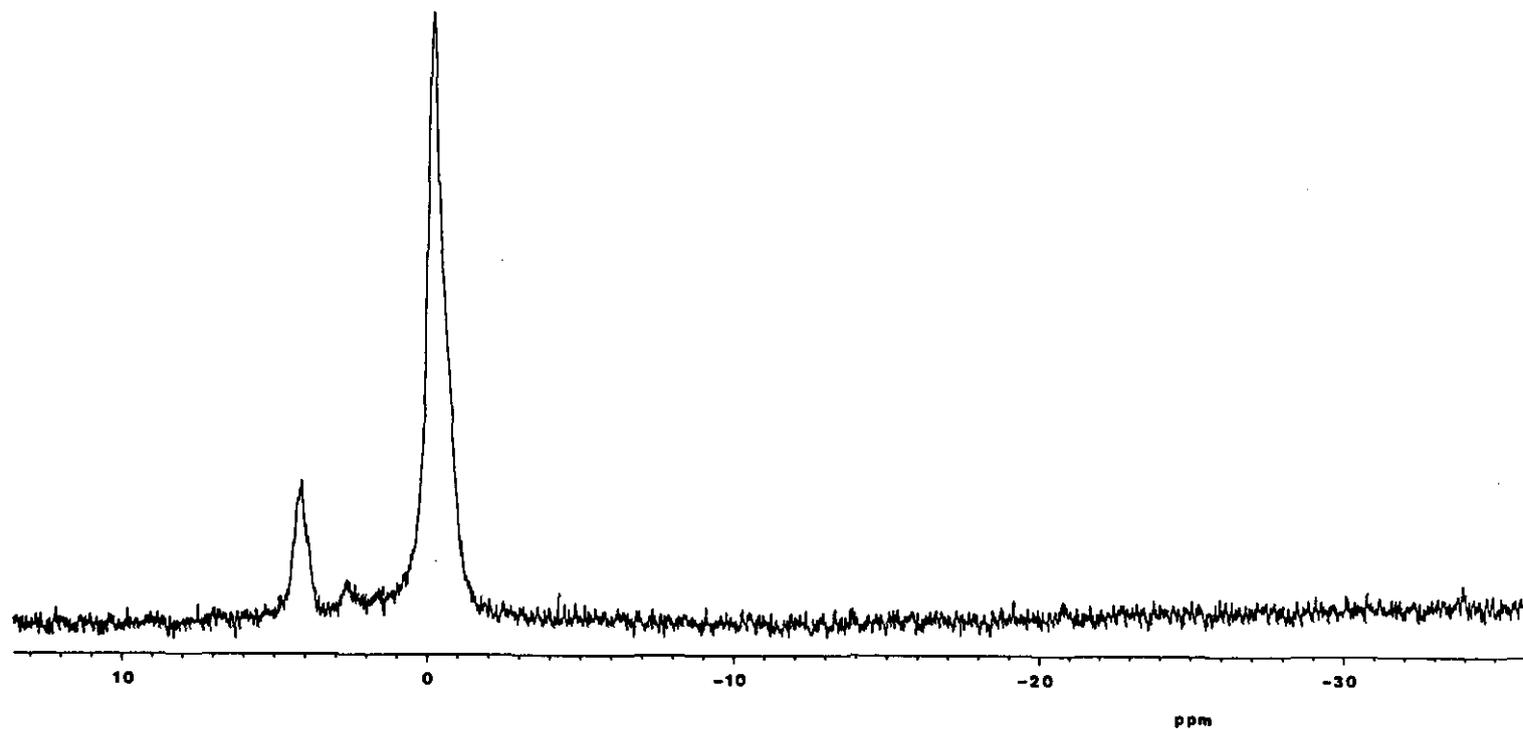


図 2 対数増殖中の H. akashiwo の PCA 抽出後残渣の ^{31}P -NMR スペクトル
Fig.2 ^{31}P -NMR spectrum of cold PCA treated cells of H. akashiwo in exponentially growing phase

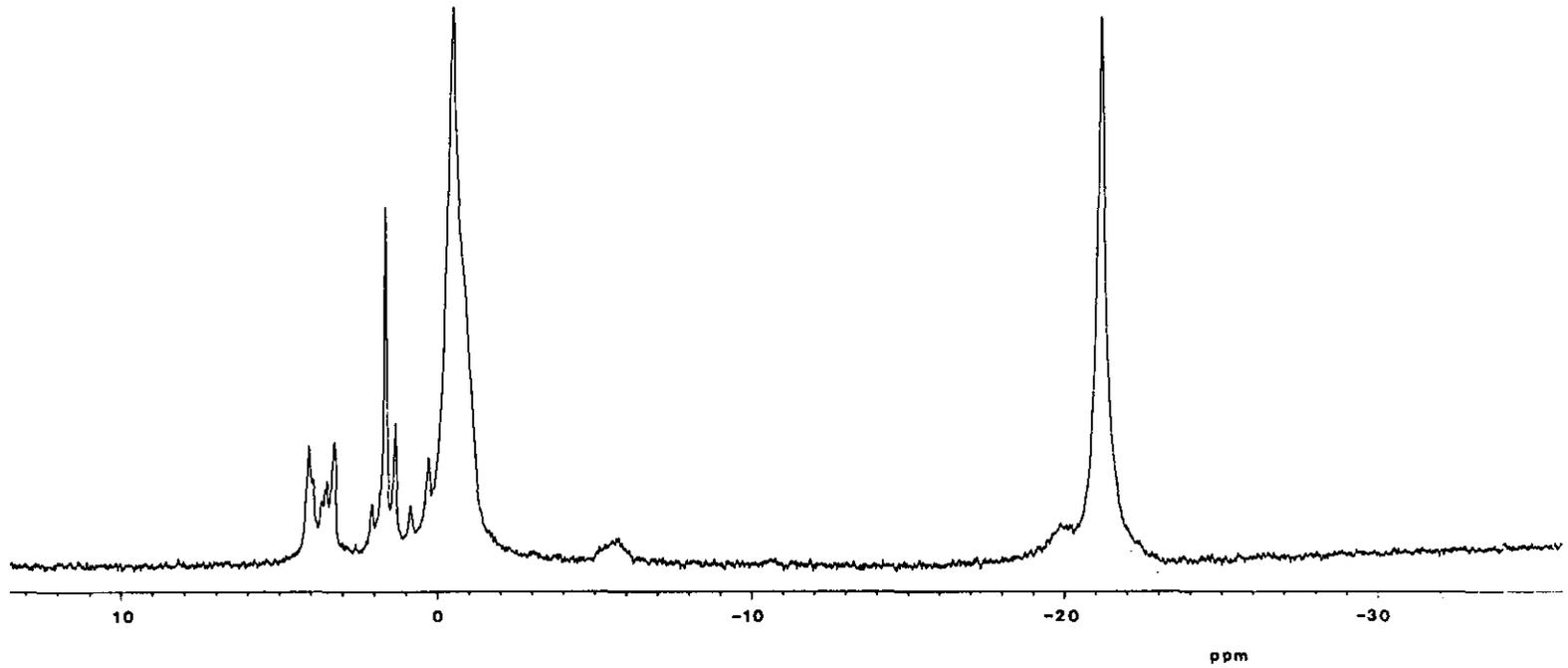


図 3 対数増殖中の *H. akashiwo* の intact cell の ^{31}P -NMR スペクトル
Fig.3 ^{31}P -NMR spectrum of the intact cells of *H. akashiwo* in exponentially growing phase

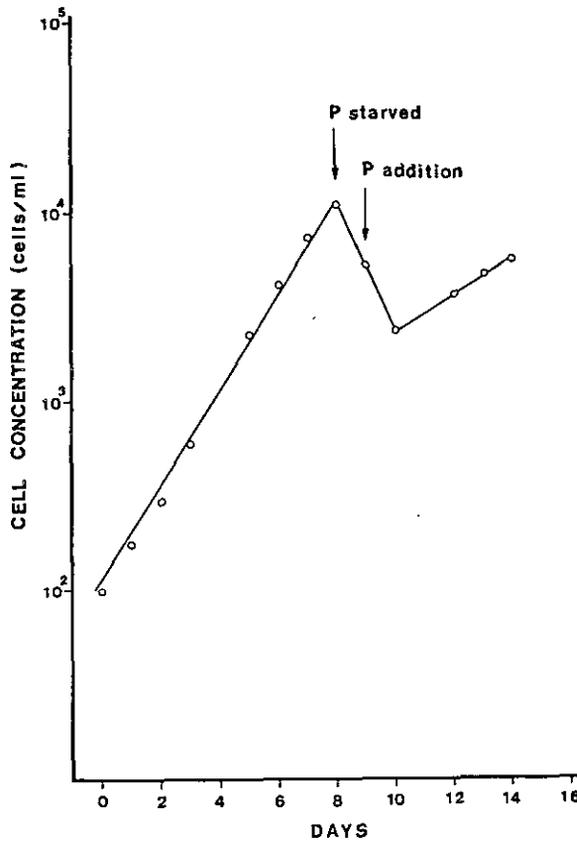


図 4 H. akashiwo 細胞数の変化

Fig.4 Changes in cell concentration of H. akashiwo

chain 長さは約10である。リン添加2時間後抽出液中の PP_i は44%となった。P 添加3日後には約63%とほぼ飽和状態となり細胞内リン含有量は $185 \text{ fmol} \cdot \text{cell}^{-1}$ となった。これに伴い P 添加後2時間で PP_i の chain 長さは約14, 1日後には約 20 と増加した。このようにポリリン酸はその chain長さを増加させることによりリンの貯蔵庫としての役割を果たしていることがわかる。リン摂取並びにポリリン酸としてのリン蓄積過程はエネルギーを必要とすることから P添加に伴う ATP 量の増加が知られている(Batterton & van Baalen, 1968; Stewart & Alexander, 1971; Healey, 1979)。表1に示すごとく ATP/ADP 比は P 添加2時間後で 1.4 から 2.3 に増加している。

以上のようにリン欠乏状態にリン添加を行った場合、急激なリン摂取が見られ、これは摂取したリンを増殖のためのみならずポリリン酸としてできるだけ早く蓄積してしまい、ポリリン酸のプールが飽和状態になった段階以降では増殖に必要なリンだけを摂取することが示唆された。

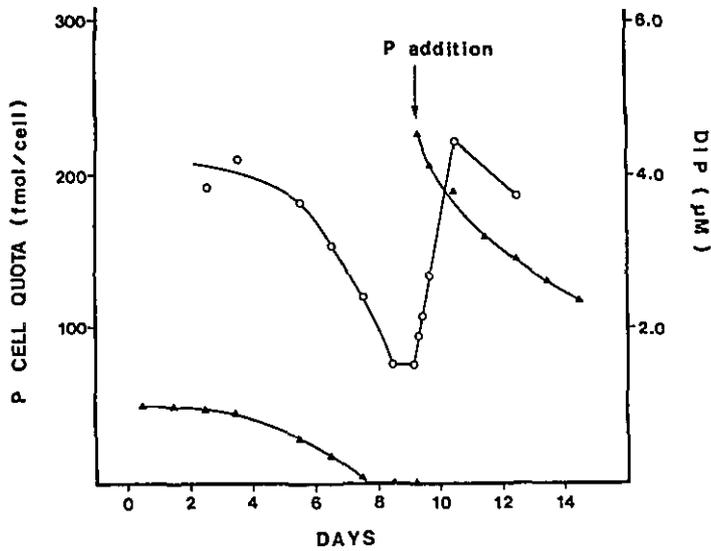


図 5 細胞内リン含有量(○)と DIP(▲)の変化

Fig.5 Changes in P cell quota (○) and in the concentration of dissolved inorganic phosphate (▲)

4 考 察

藻類によるリン利用の過程を解析することは海域の富栄養化問題にとって重要である。藻類やバクテリアはリンが十分に供給されているときにポリリン酸の形態で多量のリンを蓄積すると言われている。この現象は藻類がリン欠乏状態においても個体群を維持し、発展させていくためには不可欠の条件として重要である。このような蓄積は“luxury storage”現象と名付けられている。閉鎖性海域におけるリンの供給形態は、(1)洪水時の河川流出、(2)工場廃水・下水等の放流、(3)底質からの溶出等が考えられる。特に夏場、強い成層の発達と底層での高い栄養塩濃度は *H. akashiwo* が日周鉛直移動能力を持ちかつリン蓄積能力を持つことを考え合わせると本種の増殖及び赤潮という場の独占現象を説明する上で、重要な生態的意味を持っている。赤潮鞭毛藻に関するリンの luxury uptake, ポリリン酸の定量, ³¹P-NMR の適用といった研究は今後にも詳細に実験を重ね、赤潮鞭毛藻のリン代謝機構を明らかにする必要がある。本研究はその第一歩であり、今後は本方法をさらに発展させると共に、多くの藻類種についても適用していく必要がある。

謝 辞

本研究を遂行するに当たり実験補助をして下さった山田 明・吉田和美(茨城環境技術センター)両氏に感謝致します。

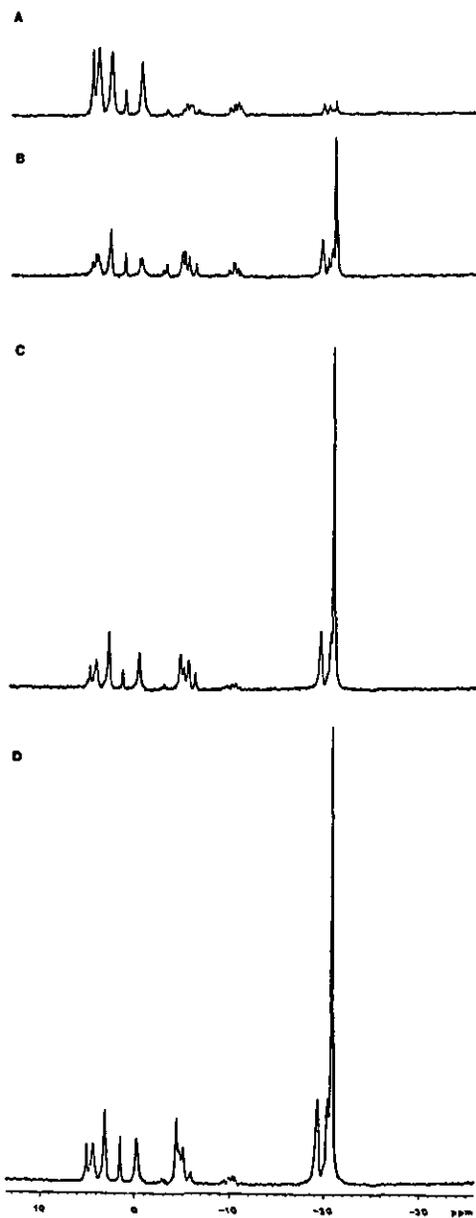


図 6 リン添加実験中の *H. akashiwo* の PCA 抽出液の ^{31}P -NMR
(A) P 欠乏状態, (B) P 添加後 2 時間, (C) P 添加後 1 日,
(D) P 添加後 3 日

Fig.6 ^{31}P -NMR spectrum of extracts from *H. akashiwo* at different
phases of phosphate enrichment
(A) P-starved condition (B) two hours after addition of P
(C) one day after addition of P (D) three days after addition of P

表 1 H. akashiwo 細胞の抽出液中に占めるリン化合物各成分比率, chain長さ, 細胞内リン含有量の変化

Table 1 Changes in percentage of phosphate components in extracts from H. akashiwo, average chain length of polyphosphate and P cell quota

| Days | Sugar P (%) | P _i (%) | ATP (%) | ATP/ADP | PP/P _i | PP (%) | Average | |
|----------------------------|-------------|--------------------|---------|---------|-------------------|--------|---|--------------|
| | | | | | | | Chain length (fmol cell ⁻¹) | P cell quota |
| Starved condition | 33.5 | 21.5 | 5.6 | 1.4 | 0.27 | 5.8 | 9 | 76 |
| 2 h after addition of P | 12.1 | 10.9 | 7.4 | 2.3 | 4.0 | 43.7 | 14 | 108 |
| 1 day after addition of P | 9.0 | 9.5 | - | - | 6.2 | 59.1 | 20 | 222 |
| 3 days after addition of P | 9.2 | 8.4 | - | - | 7.5 | 63.3 | 17 | 185 |

引用文献

- Aitchison, P.A. and V.S. Butt (1973): The relation between the synthesis of inorganic polyphosphate and phosphate uptake by *Chlorella vulgaris*. *J. Exp. Bot.*, **24**, 497-510.
- Barrow, K.D., J.G. Collins, R.S. Norton, P.L. Rogers and G. M. Smith (1984): ^{31}P nuclear magnetic resonance studies of the fermentation of glucose to ethanol by *Zymomonas mobilis*. *J. Biol. Chem.*, **259**, 5711-5716.
- Batterton, J. C. and C. van Baalen (1968): Phosphorus deficiency and phosphate uptake in the blue-green algae *Anacystis nidulans*. *Can. J. Microbiol.*, **14**, 341-347.
- Bielecki, R.L. and I.B. Ferguson, (1983): Physiology and metabolism of phosphate and its compounds. In: Lauchli and Bielecki, R. L. (eds.) *Encyclopedia of Plant Physiology*, N. S., Vol. 15A, Inorganic Plant Nutrition. Springer, Berlin.
- Callow, M.E. and L.V. Evans, (1979): Polyphosphate accumulation in sulphur-starved cells of *Rhodella maculata*. *Br. Phycol. J.*, **14**, 327-337.
- Caperon, J. (1968): Population growth response of *Isochrysis galbana* to variable nitrate environment. *Ecology*, **49**, 866-872.
- Costello, A.J.R., T. Glonek, M. E. Slodki and F. R. Seymour (1975): Phosphorus-31 nuclear magnetic resonance spectroscopy of extra-cellular, yeast O-phosphohexoglycans. *Carbohydr. Res.*, **42**, 23-37.
- Droop, M.R. (1968): Vitamine B₁₂ and marine ecology. IV. The kinetics of uptake, growth and inhibition in *Monochrysis lutheri*. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.*, **48**, 689-733.
- Droop, M.R. (1973): Some thoughts on nutrient limitation in algae. *J. Phycol.*, **9**, 264-72.
- Droop, M.R. (1974): The nutrient status of algal cells in continuous culture. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.*, **54**, 825-855.
- Elgavish, A. and G.A. Elgavish (1980): ^{31}P -NMR differentiation between intracellular phosphate pools in *Cosmarium* (Chlorophyta). *J. Phycol.*, **16**, 368-374.
- Elgavish, A., G.A. Elgavish, M. Halmann, T. Berman and I. Shomer (1980a): Intracellular phosphorus pools in intact algal cells. *FEBS Lett.*, **117**, 137-142.
- Elgavish, A., G.A. Elgavish, M. Halmann and T. Berman (1980b): Phosphorus utilization and storage in batch cultures of the dinoflagellate *Peridinium cinctum* F. *westii*. *J. Phycol.*, **16**, 626-633.
- Farkas, V. (1979): Biosynthesis of cell walls of fungi. *Microbiol. Rev.*, **43**, 117-144.
- Fitzgerald, G.P. and T.C. Nelson (1966): Extractive and enzymatic analyses for limiting or surplus phosphorus in algae. *J. Phycol.*, **2**, 32-37.
- Gage, R.A., W. van Wijngaarden, A.P.R. Theuvsenet, G.W.F.H. Borst-Pauwels and C.A.G. Haasnoot (1984): Localization and identification of the compound causing peak 'x' in the ^{31}P -NMR spectrum of *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochim. Biophys. Acta*, **804**, 341-347.
- Gillies, R.J., K. Ugurbil, J.A. den Hollander and R. G. Shulman (1981): ^{31}P -NMR

- studies of intracellular pH and phosphate metabolism during cell division cycle of Saccharomyces cerevisiae. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 78, 2125-2529.
- Guéron, M. & Shulman, R.G. (1975): ³¹P magnetic resonance of ¹rRNA. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 72, 3482-3485.
- Guillard, R.R.L. and J. H. Ryther (1962): Studies on marine planktonic diatoms. I. Cyclotella nana Hustedt and Detonula confervacea (Cleve) Gran. Can. J. Microbiol., 8, 229-239.
- Harold, F.M. (1960): Accumulation of inorganic polyphosphate in mutants of Neurospora crassa. Biochem. Biophys. Acta, 45, 172-188.
- Harold, F.M. (1963): Accumulation of inorganic polyphosphate in Aerobacter aerogenes. I. Relationship to growth and nucleic acid synthesis. J. Bacteriol., 86, 216-221.
- Harold, F. M. (1966): Inorganic polyphosphates in biology ; structure, metabolism and function. Bacteriol. Rev., 30, 772-793.
- Healey, F.P. (1979): Short-term responses of nutrient-deficient algae to nutrient addition. J. Phycol., 15, 289-299.
- Iwasaki, H. (1971): Studies on the red tide dinoflagellate-V. on Polykrikos schwartzi, BUTSCHLI. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 37, 606-609.
- Jacobson, L. and M. Halmann (1982): Polyphosphate metabolism in the blue-green alga Microcystis aeruginosa. J. Plankton Res., 4, 481-488.
- Jensen, T.E. and L.M. Sicko (1974): Phosphate metabolism in blue-green algae. I. Fine structure of the "polyphosphate overplus" phenomenon in Plectonema boryanum. Can. J. Microbiol., 20, 1235-1239.
- Jensen, T.E., L. Sicko-Goad and R.P. Agala (1977): Phosphate metabolism in blue-green algae. III. The effect of fixation and post-staining on the morphology of polyphosphate bodies in Plectonema boryanum. Cytologia, 42, 357-369.
- Joh, H., R. Adachi and R. Miyoshi (1971): Ecological study on the red tide in Osaka Bay, 1968-1969. Bull. Osaka Pref. Fish. Exp. Sta., 3, 1-115 (in Japanese).
- Kanai, R., S. Aoki and S. Miyachi (1965): Quantitative separation of inorganic polyphosphates in Chlorella cells. Plant Cell Physiol., 6, 467-473.
- Kohata, K. and M. Watanabe (1986): Synchronous division and the pattern of diel vertical migration of Heterosigma akashiwo (Hada) Hada (Raphidophyceae) in a laboratory culture tank. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 100, 209-224.
- Kuhl, A. (1976): Phosphorus. In: Stewart, W.D.P. (ed.) Algal Physiology and Biochemistry. University of California Press, Berkeley, 636-654.
- Langen, P. (1965): Vorkommen und Bedeutung von Polyphosphaten in Organismen. Biol. Rundsch., 2, 145-152.
- Menzel, D.W. and N. Corwin (1965): The measurement of total phosphorus in sea water based on liberation of organically bound fraction by persulfate oxidation. Limnol. Oceanogr., 10, 280-282.
- Mitsumori, F. and O. Ito (1984): Phosphorus-31 nuclear magnetic resonance studies of photosynthesizing Chlorella. FEBS Lett., 174, 248-252.

- Miyachi, S. and H. Tamiya (1961): Distribution and turnover of phosphate compounds in growing Chlorella cells. *Plant Cell Physiol.*, 2, 405-414.
- Murphy, J. and J. P. Riley (1962): A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chem. Acta*, 27, 31-36.
- Navon, G., S. Ogawa, R.G. Shulman, and T. Yamane (1977): High-resolution ^{31}P nuclear magnetic resonance studies of metabolism in aerobic Escherichia coli cells. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 74, 888-891.
- Navon, G., R. G. Shulman, T. Yamane, T.R. Eccleshall, K.B. Lam, J.J. Baronofsky and J. Marmur (1979): Phosphorus-31 nuclear magnetic resonance studies of wild-type and glycolytic pathway mutants of Saccharomyces cerevisiae. *Biochemistry*, 18, 4487-4499.
- Rhee, G.Y. (1973): A continuous culture study of phosphate uptake, growth rate and polyphosphate in Scenedesmus sp. *J. Phycol.*, 9, 495-506.
- Rubtsov, P.M. and I.S. Kulaev (1977): Some pathways of polyphosphate biosynthesis and degradation in Acetabularia mediterranea. *Biochemistry (Engl. Transl. Biokhimiya)*, 42, 1083-1089.
- Ruyters, G., T. Oh-hama and W. Kowalik (1985): Phosphate compounds of Scenedesmus C-2A' in darkness or blue light as measured by ^{31}P NMR. *Plant Cell Physiol.*, 26, 571-578.
- Salemink, P.J.M., T. Swarthof and C.W. Hilbers (1979): Studies of yeast phenylalanine-accepting transfer ribonucleic acid backbone structure in solution by phosphorus-31 nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Biochemistry*, 18, 3477-3485.
- Salhany, J. M., T. Yamane, R. G. Shulman and S. Ogawa (1975): High resolution ^{31}P nuclear magnetic resonance studies of intact yeast cells. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 72, 4966-4970.
- Shapiro, J. (1968): Studies on the natural factors affecting phosphate absorption and its utilization by algae. *Water Res.*, 2, 21-23.
- Sicko-Goad, L., R.E. Crang and T.E. Jensen (1975): Phosphate metabolism in blue-green algae. IV. In situ analysis of polyphosphate bodies by X-ray energy dispersive analysis. *Cytobiology*, 11, 430-437.
- Sicko-Goad, L. and T.E. Jensen (1976): Phosphate metabolism in blue-green algae II. Changes in phosphate distribution during starvation and the "polyphosphate over plus" phenomenon in Plectonema boryanum. *Am. J. Bot.*, 63, 183-188.
- Stewart, W.D.P. and G. Alexander (1971): Phosphorus availability and nitrogenase activity in aquatic blue-green algae. *Freshwater Biol.*, 1, 389-404.
- Ugurbil, K., H. Rottenberg, P. Glynn and R. G. Shulman (1978): ^{31}P nuclear magnetic resonance studies of bioenergetics and glycolysis in anaerobic Escherichia coli cells. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 75, 2244-2248.
- Watanabe, M.M., Y. Nakamura, S. Mori and S. Yamochi (1982): Effects of physicochemical factors and nutrients on the growth of Heterosigma akashiwo Hada from Osaka Bay. *Jpn. J. Phycol.*, 30, 279-288.

塩分・リン酸塩による成層条件下での Heterosigma akashiwo の
日周鉛直移動と体内リン蓄積過程

Diel Vertical Migration of Heterosigma akashiwo under Salinity and Phosphate
Stratifications and Metabolism of Intracellular Phosphate Pools

渡辺正孝¹・木幡邦男¹・功刀正行²

Masataka WATANABE¹, Kunio KOHATA¹ and Masayuki KUNUGI²

要 旨

高さ1.5mの純粋培養槽内で Heterosigma akashiwo (Hada) Hada の日周鉛直移動実験を行った。夏期瀬戸内海に観測される表層に低塩分・低リン酸塩濃度、底層に高塩分・高リン酸塩濃度の鉛直成層と類似の鉛直分布を培養槽内に形成した。鉛直移動に伴う H. akashiwo のリン代謝過程は本種を過塩素酸抽出後 ³¹P-NMR を用いて計測した。本種は夜間リン酸塩が豊富な底層へ移動し、リン酸塩を摂取すると共にポリリン酸としてリンを蓄積することが実証された。また昼間本種はリン酸塩の欠乏した、しかし光は十分にある表層に移動し、蓄積されたポリリン酸を用いて光合成を行っていることが実証された。本種のリン代謝におけるポリリン酸の役割は細胞内のリン酸塩と ATP 量を制御し、したがってポリリン酸はリンのプールとしてのみならずエネルギー貯蔵庫として働いていることが推定される。日周鉛直移動によって安定した成層を横切って栄養塩豊富な底層と光が豊富な表層との間を往復することを可能にしている。日周鉛直移動能力を持たない他の珪藻に対して強い生態的優位性を持つゆえんである。

-
1. 国立公害研究所 水質土壌環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Water and Soil Environment Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
 2. 国立公害研究所 計測技術部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Chemistry and Physics Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

Abstract

Diel vertical migration of *Heterosigma akashiwo* (Hada) Hada (Raphidophyceae) was observed in a 1.5m tall, axenic culture tank. Vertical stratifications of low salinity and orthophosphate concentration in the upper layer and high salinity and orthophosphate concentration in the lower layer, analogous to ones observed during a summer period in the Seto Inland Sea, were simulated in the tank. The phosphate metabolic processes of *H. akashiwo* associated with vertical migration were studied by ^{31}P -NMR spectroscopy of perchloric acid extracts of this species. Evidence is presented in this paper that during night this species moved to the lower layer where orthophosphate was rich and took up orthophosphate rapidly which will be accumulated as polyphosphates. Also, during daytime, this species moved to the phosphate-depleted surface water where light was sufficient and utilized the accumulated polyphosphates for photosynthesis. It is suggested that the role of polyphosphates in the metabolism of this species consists in the regulation of the level of orthophosphate and ATP in the cell, and thus polyphosphates act not only as phosphate pools but also as an energy reservoir. Diel vertical migration allows this species to cross the stable stratification in order to shuttle between the nutrient-rich lower layer and the light-sufficient upper layer. The combination of diel vertical migration and the ability to accumulate phosphate as polyphosphates gives this alga a strong ecological advantage over coastal diatoms which have no migratory ability.

1 はじめに

鞭毛藻の多くは日周鉛直移動を行うことが知られている (Eppley et al., 1968; Kamykowski & Zentara, 1977; Blasco, 1978; Heaney & Furnass, 1980; Heaney & Eppley, 1981; Kamykowski, 1981; Cullen & Horrigan, 1981; Kohata & Watanabe, 1986)。鞭毛藻の鉛直移動は栄養塩の摂取や増殖と関連する行動であり、生態的に重要な意味を持つと考えられる。通常赤潮発生海域である瀬戸内海の夏期には強い温度・塩分層が発達し、その結果上下の混合が阻害される。上層では栄養塩欠乏状態、下層では底質からの溶出に伴い栄養塩豊富な状態が形成される。日周鉛直移動により昼間表層で十分な光のもとで光合成し、夜間には底層で豊富な栄養塩を摂取できる能力は鞭毛藻の生態系での優位性を示し、場での優占種に至る過程を説明する一つの鍵と考えられる。

我々は海水マイクロコズムを用いた大量培養により、*H. akashiwo* による日周鉛直移動と分裂周期の関係 (Kohata & Watanabe, 1986)、さらに ^{31}P -NMRを用いてリン欠乏状態からリン添加した状態での *H. akashiwo* のリン取り込みとリン蓄積形態 (Watanabe et al., 1986) を明らかにした。

これらの実験結果をふまえて、赤潮発生現場で特徴的に見られる成層条件を海水マイクロゾム内に形成し、特にリン濃度を上層でゼロ、下層に多くという栄養塩の成層構造を作製した。この状態でリン制限状態で培養した *H. akashiwo* を導入し、日周鉛直移動を行わせつつ夜間での下層におけるリン摂取とその代謝過程を解析した。

2 実験方法

実験には *H. akashiwo* の無菌クローン株 (NIES-6) を用いた。予備培養として2 l の三角フラスコ内に1 l の f/2 培地 (Guillard & Ryther, 1962) を用い、12:12 時間の LD 周期で、明期に約 $80 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ になるように調整された昼光色蛍光灯で与えた。温度は $21\pm 1^\circ\text{C}$ に保たれた。

マイクロゾムでの培養は、培養槽を蒸気滅菌 (110°C , 30分) し、蒸気滅菌した孔径 $0.22 \mu\text{m}$ のミリポアフィルターでろ過滅菌した f/2 培地を 1m^3 用いた。予備培養された *H. akashiwo* を滅菌された注入口より無菌的に培養槽に入れ、初期細胞数を約 $170 \text{ cells}\cdot\text{m}^{-1}$ にした。初期リン酸塩濃度は $1.0 \mu\text{M}$ を与えた。照明は 5kW のキセノンランプで与え、実験期間中6時点灯、18時消灯の12:12時間の LD周期、明期での照度が表層の中央で約 $530 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ となるよう調整した。培養槽下部から滅菌された空気を入れてかくはん培養を行い、温度は $20\pm 1^\circ\text{C}$ に設定した。

培養の7日目 (比増殖速度 $\mu=0.68\text{d}^{-1}$) に達した時点で培地中のリン酸塩濃度は完全に無くなり、リン欠乏状態に達した。培養8日目の朝11時に曝気を停止し、*H. akashiwo* を上層に集積させた。

培養槽の底部中心のバルブを開き、下層から約100 l を抜き取り、その後同量のリン添加培地であつ塩分濃度が少し高い (塩分差=約3.4%) 培地を下層より注入し、リン及び塩分の安定成層を形成した。この状態で日周鉛直移動実験を開始し、13:00 と 23:00 に鉛直5点においてサンプリング (各点 200ml) を行い、水温、塩分、栄養塩、細胞濃度を測定した。また、13:00 に表層にて、23:00 に下層にてサンプリング (3 l) を行い、NMR 計測を行った。サンプリングはテフロンチューブを通しては5 l の三角フラスコにアスピレーターを用いて吸引採水した。

細胞濃度の測定にはコルターカウンターモデルTA-IIを使用した。水温は鉛直5点でテフロンチューブで保護された白金測温抵抗体 (Pt 100 Ω) を用いて測定した。塩分は電気伝導度センサー (四極誘導型) を用いて測定した。TP, DTP はベルオキシン2硫酸カリによる分解を行い (Menzel & Corwin, 1965), サンプル中の有機リンをオルトリン酸に変化させて分析試料とした。TP, DTP, DIP は Murphy & Riley (1962) 法によりテクニコン社製オートアナライザーAA II型を用いて分析を行った。

3 l のサンプルは温度 5°C , 3600g (ave.), 15分にて遠心を行った (Tomy Seiko RL-7000)。リン無添加海水にて2回洗浄後 30% 過塩素酸 (18ml), 10mM EDTA (5ml) を添加し ice-cold にて超音波破砕を行った。温度 5°C , 2400g (ave.) で15分間遠心を行い (Beckman model J2-21 centrifuge), 上澄液を K_2CO_3 にて $\text{pH}=7.5$ に調整後再度温度 5°C , 2400g (ave.) で15分間遠心を行った。上澄液は直ちに凍結乾燥を行った。凍結乾燥試料は TES 添加後 $\text{pH}=7.5$ に

調整し、NMR 計測を行った(Watanabe, et al., 1986)。 ^{31}P -NMR 測定は JNM-GX-400超電導 NMR を使用し、観測周波数 161.8 MHz、観測範囲 20 kHz、データメモリー 32k リード、 45° ないし 60° パルスで 9000回の積算を行った。化学シフト信号は85%リン酸を基準として記録している。

3 実験結果

図 1 に上層 (St.1, 2, 3, 4) 及び下層 (St.5) での培地中のリン酸塩濃度変化と P-cell quota の変化を示す。培養 7日目で培地中のリン酸塩濃度は欠乏状態になっている。培養 8日目の午前 8時には P-cell quota は約 $53 \text{ fmol}\cdot\text{P}\cdot\text{cell}^{-1}$ 、細胞数は約 $1.4\times 10^4 \text{ cells}\cdot\text{m}^{-1}$ となっている。この状態でかくはんを停止し上層に集積させた。午前11時に底部バルブより 100 l 培

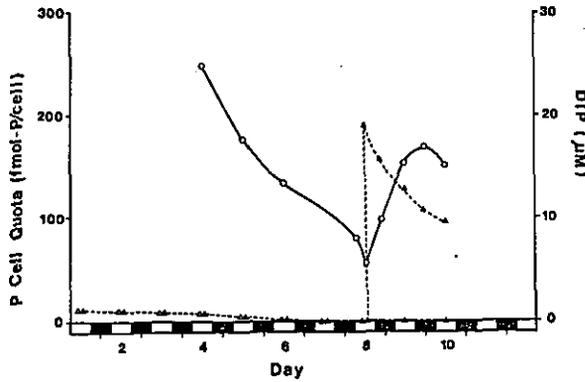


図 1 細胞内リン含有量と DIP 濃度の時間変化

Fig. 1 Variation in P cell quota and DIP concentration

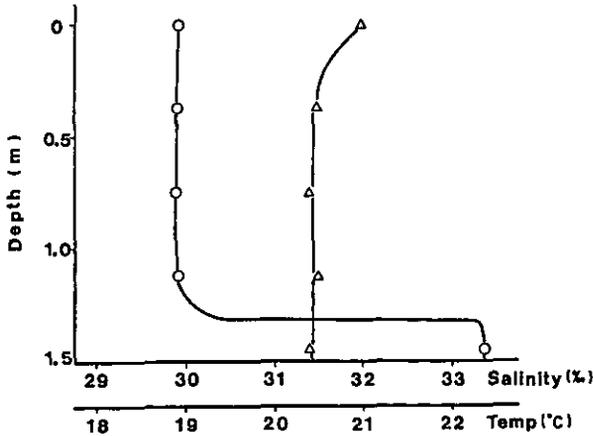


図 2 マイクロコスム内での水温・塩分の鉛直分布

Fig. 2 Vertical distributions of temperature and salinity in microcosm

地を抜き、同量のリン添加培地であつ塩分濃度が少し高い培地を静かに注入し、リン及び塩分の安定成層を形成した(図2, 3)。塩分は表層(St.1, 2, 3, 4)で約30%, 底層(St.5)で33.4%と設定した。水温については全層に対して20.5℃に設定したが、水表面(St.1)については光照射の影響により約0.5℃程日中は高くなった。初期に設定された栄養塩の鉛直分布は底層(St.5)においてリン濃度が19 μ M, 上層(St.1, 2, 3, 4)においてリン酸塩濃度が0 μ Mとなっている(図3)。*H. akashiwo* 細胞のリン欠乏状態は1日であり、日周鉛直移動により培養8日目の昼間13:00での表層集積分布及び夜間23:00での底層移動状態を図4に示す。日周鉛直開始

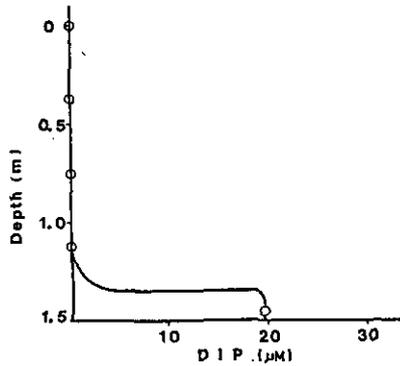


図 3 マイクロズム内での DIP の鉛直分布
Fig. 3 Vertical distribution of DIP in microcosm

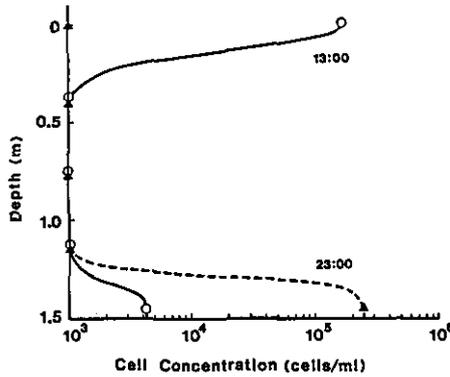


図 4 日周鉛直移動実験における *H. akashiwo* 細胞濃度の鉛直分布
(○): 実験1日目の13:00測定, (▲): 実験1日目の23:00測定
Fig. 4 Vertical distribution of the cell concentration of *H. akashiwo*
(○): measured at 13:00 of the first day of the migration experiment, (▲): measured at 23:00 of the first day of the migration experiment.

前の一様混合状態での細胞数は約 1.4×10^4 cells \cdot m l^{-1} であるのに対し、日周鉛直移動により昼間表層に集積した細胞数は約 6.4×10^5 cells \cdot m l^{-1} となる。このような集積の割合は一様混合時と比較して約30~40倍程度になる。夜間に栄養塩の高い底層に日周鉛直移動により移動した *H. akashiwo* (図4) は夜間においてもリンを摂取し、日周鉛直移動実験1日目の23:00にはP-cell quotaは95 fmol \cdot cell $^{-1}$ に増加している。日周鉛直移動実験2日目の13:00には表層に再び集積しP-cell quotaは153 fmol \cdot cell $^{-1}$ に達した。実験2日目の23:00には再び栄養塩濃度の高い底層に移動しリン摂取を行いP-cell quotaは169 fmol \cdot cell $^{-1}$ に増加した。実験3日目の13:00には再びリン濃度ゼロの表層に移動しておりリン摂取が行われないまま代謝過程でリンを使っていくためP-cell quotaは増加せず151 fmol \cdot cell $^{-1}$ にとどまっている。このように鉛直方向に栄養塩成層を設定し、日周鉛直移動を行わせつつ夜間底層で *H. akashiwo* がリン摂取を行うことを直接実験により示した最初のデータと言える。

表層集積したリン欠乏状態での *H. akashiwo* 細胞が、夜間底層に移動しリンを摂取し、再度昼間にリン濃度が0の表層に移動する過程での *H. akashiwo* 細胞内のリン代謝過程を 31 P-NMRにより計測した。図5(a)にPCA抽出液のNMRスペクトルとその帰属を示す(Watanabe et al., 1986)。PCAによる *H. akashiwo* の抽出効率は約60%であり、sugar P, phosphodiesterの一部が未抽出として残っている(図5(b))。なおintactのNMRスペクトル(図5(c))はPCA抽出及び残渣のスペクトルの両者を合わせたものとなっている。図6(I)は日周鉛直移動実験第1日目(13:00)のリン欠乏状態(上層集積)でのスペクトルであるが、sugar phosphate, P_i , phosphodiesterがわずかに見える程度で、他のピークは見られない。*H. akashiwo* は16:00頃表層から速度0.6~1.0 m \cdot h $^{-1}$ 程度で下降し始め、消灯する18:00以降は底層に濃厚に集積する(Kohata & Watanabe, 1986)。図6(II)は鉛直移動実験第1日目の夜間下層(23:00)でのスペクトルを示す。底層に存在するリンを摂取しP-cell quotaも95 fmol \cdot cell $^{-1}$ と増加したが、そのすべては無機リンとして体内に保有していることがわかる。P-欠乏の *H. akashiwo* 細胞に昼間オルトリン酸を添加し表層に集積させた場合はリン添加後2時間で多量のポリリン酸を形成している(Watanabe et al., 1986)。ポリリン酸形成の一つの経路がATPを介して行われており、光リン酸化反応により生成されたATPを使ってポリリン酸が形成されていることが報告されており(Rubtsov & Kulaev, 1977)、*H. akashiwo* についても同様のことが行われていることを示唆している。P-欠乏状態におかれていた *H. akashiwo* 細胞は夜間オルトリン酸を摂取しても光リン酸化反応を行うに十分なエネルギーを保有していないものと思われる。このため細胞内に P_i としてのみ保有していると考えられる。*H. akashiwo* は明け方(3:00~6:00頃)分裂を行い、上方に移動を行う(Kohata & Watanabe, 1986)。図6(III)は鉛直移動実験第2日目の表層(13:00)でのスペクトルを示す。夜間底層で摂取し P_i として保有しているリンを使用し、sugar phosphate等リン中間体を形成すると共にポリリン酸を形成していることが示されている。ここでは表層に集積することにより水による光の減衰なしに効果的に光を利用することができ、光リン酸化反応に

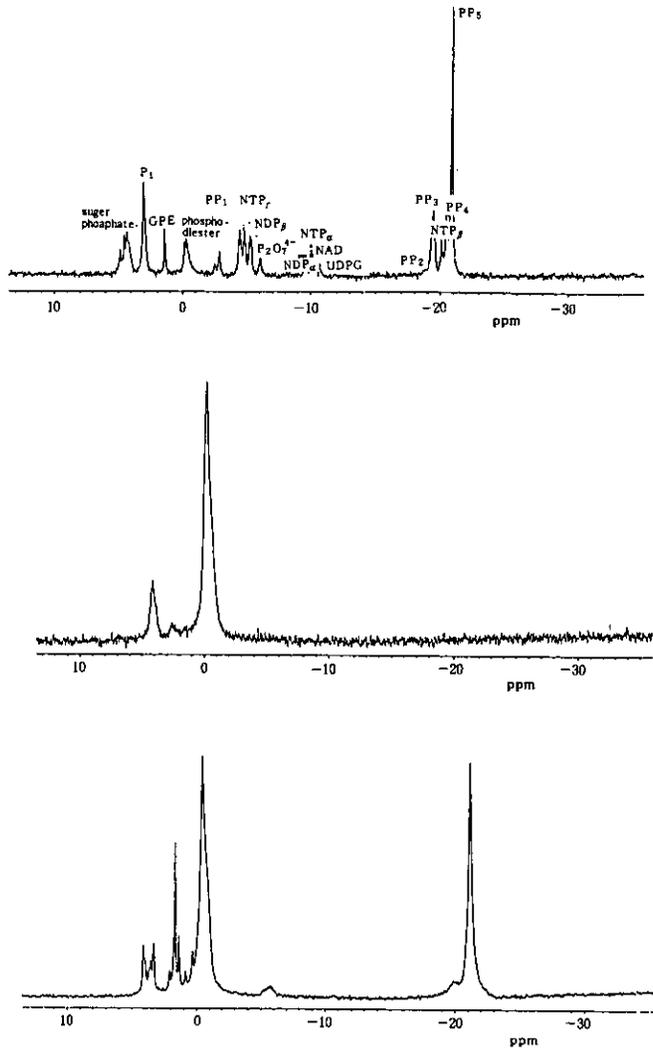


図 5 (a) *H. akashiwo* の PCA 抽出液の ^{31}P -NMR スペクトル (スペクトル帰属は Watanabe et al., (1986)による)
 (b) *H. akashiwo* の PCA 抽出後残渣の ^{31}P -NMR スペクトル
 (c) *H. akashiwo* intact cell の ^{31}P -NMR スペクトル
 Fig. 5 (a) ^{31}P -NMR spectrum of an cold PCA extract from *H. akashiwo* in exponentially growing phase (Details of spectra assignments were based on the publication by Watanabe et al.,1986)
 (b) ^{31}P -NMR spectrum of cold PCA treated cells of *H. akashiwo* in exponentially growing phase
 (c) ^{31}P -NMR spectrum of the intact cells of *H. akashiwo* in exponentially growing phase.

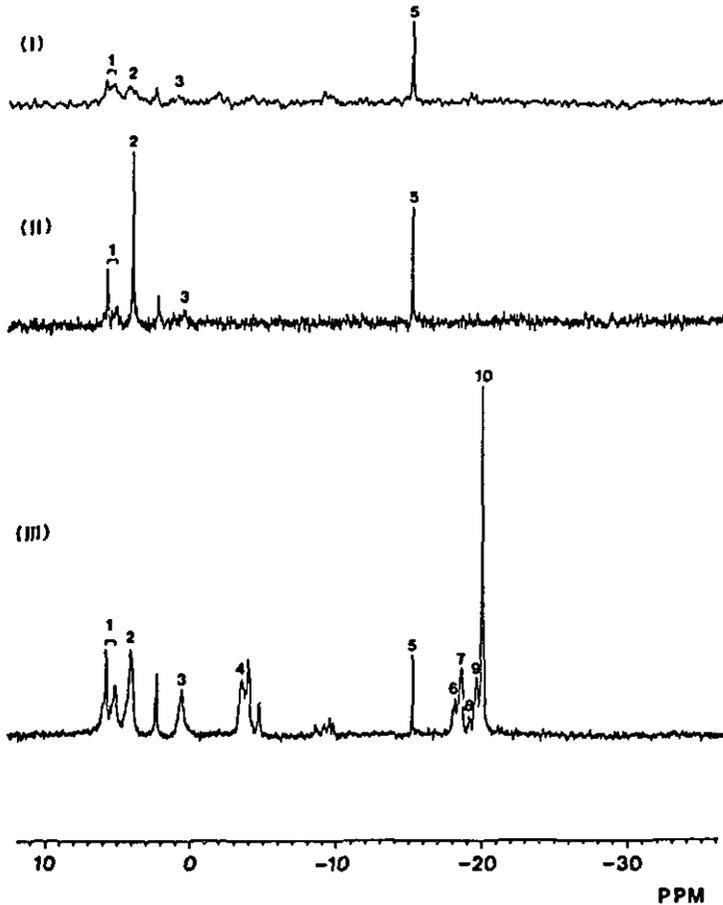


図 6 H. akashiwo の PCA 抽出後の ^{31}P -NMR スペクトル
(I) 日周鉛直移動実験 1 日目の 13:00 表層に集積した細胞。リン欠乏状態となっている。
(II) 日周鉛直移動実験 1 日目の 23:00 底層に集積した細胞。
(III) 日周鉛直移動実験 2 日目の 13:00 表層に集積した細胞。

Fig. 6 ^{31}P -NMR spectrum of extracts from H. akashiwo
(I) Cells accumulated to the surface at 13:00 of the first day of vertical migration experiment. P-starved condition,
(II) Cells accumulated to the bottom at 23:00 of the first day of vertical migration experiment,
(III) Cells accumulated to the surface at 13:00 of the second day of vertical migration experiment,

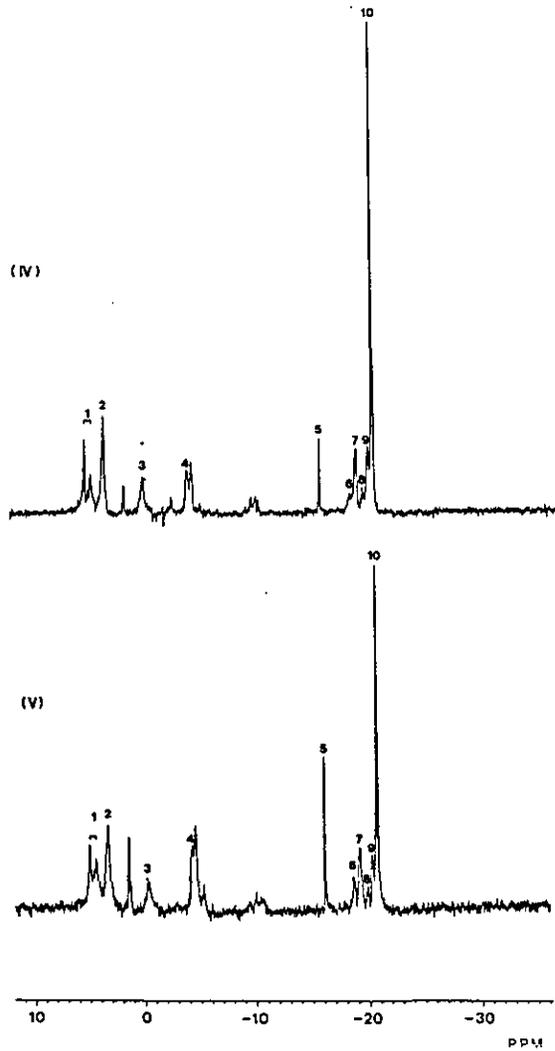


図 6 (IV) 日周鉛直移動実験 2 日目の 23:00 底層に集積した細胞。
 (V) 日周鉛直移動実験 3 日目の 13:00 表層に集積した細胞。
 1=sugar phosphate, 2=Pi, 3=phosphodiester, 4=terminal phosphate of PP, 5=reference リン酸トリフェニル, 6=PP₂, 7=PP₃, 8=NTP_B, 9=PP₄, 10=PP₅, pH=7.5

Fig. 6 (IV) Cells accumulated to the bottom at 23:00 of the second day of vertical migration experiment,
 (V) Cells accumulated to the surface at 13:00 of the third day of vertical migration experiment.
 1=sugar phosphate, 2=Pi, 3=phosphodiester, 4=terminal polyphosphate, 5=reference, triphenyl phosphate, 6=PP₂, 7=PP₃, 8=NTP_B, 9=PP₄, 10=PP₅, pH=7.5.

より ATP を形成しポリリン酸形成に至ったと考えられる。鉛直移動実験第2日目の表層(13:00)ではポリリン酸の chain length は 12 と推定され(表1)これは短い chain length のポリリン酸と考えられる。この時の sugar P, P_i そして phospho-diester はほぼ一定の値に達しており、これ以後大きな変化は示さない(表1)。鉛直移動実験第2日目の底層(23:00)に移動した時は、底層に豊富にあるリンを活発に摂取し P cell quota は 153 fmol·cell⁻¹(実験2日目, 表層, 13:00) から 169 fmol·cell⁻¹(実験2日目, 底層, 23:00)に増加している。しかし細胞内P_i はほとんど変化せず, P cell quota の変化のほとんどは細胞内ポリリン酸の増加として現れている。すなわち実験2日目表層(13:00)では細胞内ポリリン酸は 39.7 fmol·cell⁻¹であったのが, 実験2日目底層(23:00)では細胞内ポリリン酸は 52.0 fmol·cell⁻¹ に増加している(表1)。さらにポリリン酸の chain length は実験2日目表層(13:00)で12であったのが実験2日目底層(23:00)では 20 と増加している(表1)。これより, *H. akashiwo* 細胞は夜間底層においてオルトリン酸を摂取すると共に, ただちにポリリン酸の形成を行い, リンを蓄積することが初めて実証された。

鉛直移動実験3日目に再び表層に集積する(13:00)が, *H. akashiwo* 細胞内のポリリン酸としてのリンは 52 fmol·cell⁻¹から 40.1 fmol·cell⁻¹ に減少し, かつポリリン酸の chain length は 20 から 14に減少している(表1)。表層でのオルトリン酸はゼロであるので *H. akashiwo* は蓄積したポリリン酸を分解し, 細胞内オルトリン酸濃度レベルを調節し, 光リン酸化反応に用いたものと思われる。一方ポリリン酸形成の逆反応により直接 ATP を形成することも提示されており(Rubtsov & Kulaev, 1977), この場合はポリリン酸は細胞内 ATP 量を調節することが示唆される。このためポリリン酸は光合成に必要なリンのプールとしての役割のみならず, エネルギーの貯蔵庫としての役割を持っていると考えられる。日周鉛直移動は本種が栄養塩豊富な底層と光豊富な表層の間を往復することを可能にし, したがって夜間底層でのポリリン酸蓄積と日中表層で蓄積したリンを用いて光リン酸化反応を効率的に行うことが可能である。日周鉛直移動とポリリン酸蓄積機能の両者を持つ *H. akashiwo* は日周鉛直移動能力を持たない珪藻類に対して生態的な優位を与える。

謝 辞

本研究を遂行するに当たり実験補助をして下さった吉田和美氏(茨城環境技術センター)に感謝致します。

表 1 *H. akashiwo* 細胞内に占めるリン化合物各成分の比率変化
各成分の細胞内含有量は抽出効率60%(Watanabe et al., 1986)に基づいて求めた。

Table 1 Variation of cell quota of P intermediates in *H. akashiwo* cells
Each cell quota of P intermediates was calculated based on the extraction efficiency of 60% (Watanabe et al., 1986).

| | | Sampling Location | sugar P (fmol · cell ⁻¹) | Pi (fmol · cell ⁻¹) | Phospho diester (fmol · cell ⁻¹) | PP (fmol · cell ⁻¹) | average chain length | P cell quota (fmol · cell ⁻¹) |
|-------|---|-------------------|---|------------------------------------|---|------------------------------------|----------------------|--|
| (I) | 1300 h First day P starved condition | surface (st.1) | 11.6 (36.4%) | 6.1 (19.2%) | 4.0 (12.6%) | — | — | 53 |
| (II) | 2300 h First day | bottom (st.5) | 16.2 (28.5%) | 22.8 (40.0%) | 5.0 (8.8%) | — | — | 95 |
| (III) | 1300 h Second day | surface (st.1) | 14.4 (15.7%) | 12.4 (13.5%) | 6.4 (7.0%) | 39.7 (43.3%) | 12 | 153 |
| (IV) | 2300 h Second day | bottom (st.5) | 13.6 (13.4%) | 13.3 (13.1%) | 6.6 (6.5%) | 52.0 (51.3%) | 20 | 169 |
| (V) | 1300 h Third day | surface (st.1) | 13.5 (14.9%) | 14.4 (15.9%) | 5.3 (5.8%) | 40.1 (44.3%) | 14 | 151 |

引用文献

- Blasco, D.(1978): Observations on the diel migratin of marine dinoflagellates off the Baja California Coast. Mar. Biol., 46, 41-47.
- Cullen, J.J. and S.B.Horrigan (1981): Effects of nitrate on the diurnal vertical migration, carbon to nitrogen ratio, and the photosynthetic capacity of the dinoflagellate Gymnodinium splendens. Mar. Biol., 62, 81-89.
- Eppley, R.W., O. Holm-Hansen and J.D.H. Strickland (1968): Some observations on the vertical migration of dinoflagellates. J. Phycol., 4, 333-340.
- Guillard, R.R.L. and J.H. Ryther (1962): Studies of marine planktonic diatoms. I. Cyclotella nana Hustedt and Detonula confervacea (Cleve) Gram. Can. J. Microbiol., 8, 229-239.
- Heaney, S.I. and R.W. Eppley (1981): Light, temperature and nitrogen as interacting factors affecting diel vertical migrations of dinoflagellates in culture. J. Plankton Res., 3, 331-344.
- Heaney, S.I. and T.I.Furnass (1980): Laboratory models of diel vertical migration in the dinoflagellates Ceratium hirundinella. Freshwater Biol., 10, 163-170.
- Kamykowski, D.(1981): Laboratory experiments on the diurnal vertical migration of marine dinoflagellates through temperature gradients. Mar.Biol., 62, 57-64.
- Kamykowski, D. and S.J. Zentara (1977): The diurnal vertical migration of motile phytoplankton through temperature gradients. Limnol. Oceanogr., 22, 148-151.
- Kohata, K. and M. Watanabe (1986): Synchronous division and the pattern of diel vertical migration of Heterosigma akashiwo (Hada) Hada (Raphidophyceae) in laboratory culture tank. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 100, 209-224.
- Menzel, D.W. and N. Corwin (1965): The measurement of total phosphorus in sea water based on liberation of organically bound fraction by persulfate oxidation. Limnol.Oceanogr., 10, 280-282.
- Murphy, J. and J.P. Riley (1962): A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. Anal.Chem. Acta, 27, 31-36.
- Rubtsov, P.M. and I.S.Kulaev (1977): Some pathways of polyphosphate biosynthesis and degradation in Acetabularia mediterranea. Biochemistry(Engl.Transl.Biokhimiya), 42, 1083-1089.
- Watanabe, M., K. Kohata and M. Kunugi(1987): ³¹P nuclear magnetic resonance study of intracellular phosphate pools and polyphosphate metabolism in Heterosigma akashiwo (Hada) Hada (Raphidophyceae). J. Phycol., 23, 54-62.

赤潮鞭毛藻 *Chattonella antiqua* の硝酸塩、アンモニウム塩、
リン酸塩摂取に及ぼす増殖条件の影響*

Effects of Growth Conditions on Nitrate, Ammonium and Phosphate
Uptake by *Chattonella antiqua**

中村泰男¹

Yasuo NAKAMURA¹

要 旨

窒素あるいはリン制限条件下、様々な希釈率 (D) で *Chattonella antiqua* の半連続培養を行った。増殖が定常に達した時点で、窒素制限系には硝酸塩あるいはアンモニウム塩を各々10及び8 μ M添加し、リン制限系にはリン酸塩を5 μ M添加した。添加後各栄養塩の消失速度から各々の栄養塩摂取速度を求め、これを増殖速度 ($\mu = -\ln(1-D)$) の関数として評価した。硝酸塩、アンモニウム塩、リン酸塩のいずれの場合でも摂取速度に及ぼす増殖条件の効果は小さく、栄養塩の枯渇したバッチ系に栄養塩を添加して測定した各々の摂取速度とほぼ同程度の値が得られた。

今回得られた結果と既に得られている栄養塩摂取速度の濃度依存性及び増殖速度の制限栄養塩含量 (cell quota) 依存性から、*C. antiqua* の増殖速度に対する半飽和定数 (K_g) を硝酸塩、アンモニウム塩、リン酸塩について見積もることができた。K_g を *C. antiqua* 赤潮多発海域である瀬戸内海の栄養塩濃度と比較することにより、瀬戸内海ではリン酸塩の消長が本種の増殖速度を大きく左右している可能性が示唆された。

本論文は Nakamura, Y. (1985) により J. Oceanogr. Soc. Japan, 41(6), 381-387 に発表された内容を和文に改めたものである。

This paper was appeared in J. Oceanogr. Soc. Japan, (1985) 41(6), 381-387 by Nakamura, Y.

1. 国立公害研究所 水質土壌環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2

Water and Soil Environment Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

Abstract

Chattonella antiqua was grown at several dilution ratios (D) in nitrogen- or phosphorus-limited semicontinuous culture system. Nitrate or ammonium were added at concentrations of 10 or 8 μM to nitrogen-limited cultures in steady state growth and phosphate was added at concentrations of 5 μM to phosphorus-limited cultures in steady state growth. From the decreasing rates of the nutrient added, uptake rates were obtained and expressed as a function of growth rate ($\mu = -\ln(1-D)$). Nitrate, ammonium and phosphate uptakes were not significantly affected by growth rates and were comparable to those obtained from the cells in nutrient-depleted batch culture.

Combining the results obtained in the present study with those from previous studies on nutrient uptakes and growth kinetics, half saturation constants for growth (K_g) were calculated for nitrate, ammonium and phosphate. Comparisons of K_g with nutrient concentrations in summer in the Seto Inland Sea, where red tides of *C. antiqua* often occur, suggest that phosphate is one of the controlling factors for the population of *C. antiqua*.

1 はじめに

Chattonella antiqua は夏季瀬戸内海で大規模な赤潮を形成するラフィド藻である (Ono & Takano, 1980)。本種の赤潮は養殖魚類をへい死させて多額の被害を水産業界にもたらし、大きな社会問題となっている (Iwasaki, 1979)。

本種の赤潮発生過程をモデル化し、発生にかかわる栄養塩類の役割を明らかにするために、前報においては、1) *C. antiqua* による硝酸塩、アンモニウム塩、リン酸塩摂取の栄養塩濃度依存性 (中村・渡辺, 1984b ; 中村, 1985a) 及び 2) 増殖速度の制限栄養塩細胞内含量 (cell quota) 依存性 (中村, 1985c) を検討してきた。しかしながら、栄養塩摂取に及ぼす増殖条件 (増殖速度; あるいは体内の N, P が枯渇しているか、十分にあるか) の効果を明らかにするには至らなかった。栄養塩制限下における連続ないし半連続培養を用いた研究によると、いくつかの植物プランクトンでは、栄養塩摂取速度が栄養塩濃度の他に細胞の増殖条件によっても著しく影響を受ける例が知られている (e.g. Rhee, 1973 ; Gotham & Rhee, 1981a, b ; Caperon & Meyer, 1972)。したがって *C. antiqua* 赤潮発生にかかわる栄養塩の役割を明らかにするためには、本種の栄養塩摂取が増殖条件によってどのように影響を受けるのかを定量的に明らかにする必要がある。すなわち、これを明らかにして、更に栄養塩摂取の栄養塩濃度依存性や、増殖速度の cell quota 依存性を併せることで、与えられた栄養環境のもと、本種がどの程度の速度で個体群を拡大してゆけるのかを定量的に明らかになる (Lehman et al., 1975; Tilman & Kilham, 1976)。

本報においては *C. antiqua* の硝酸塩、アンモニウム塩、リン酸塩摂取に及ぼす増殖条件の効

果を半連続培養系を用いて定量的に明らかにする。更に、これまで得られた結果を併せることで、本種の増殖速度の栄養塩濃度依存性を推定する。そして本種の赤潮が頻発する夏の瀬戸内海の栄養塩濃度を参照することで、現場ではどの栄養塩が本種の増殖速度に対する制限因子となりやすいかを考察する。

2 実験：材料と方法について

2.1 材料及び培養条件

Chattonella antiqua の無菌クローン株 (Ho-1; 中村・渡辺, 1984a) を材料として使用した。基礎培地はH培地 (中村・渡辺, 1984a) であるが、アンモニウム塩摂取実験を行う際には緩衝剤を Tris から 400 μM の bicine に変更した。これは Tris がアンモニウム塩分析の妨害をするためである (Healey & Hendzel, 1979)。培養は 25°C, 0.04 $\text{ly}\cdot\text{min}^{-1}$ (昼光色蛍光灯), 12:12 LDサイクル (08:00点灯, 20:00消灯) にて行った。

2.2 半連続培養

中村・渡辺 (1985c) に記した方法に基づき、半連続培養を行った。窒素制限系の場合、培地中の硝酸塩濃度は 11ないし 22 μM (リン酸塩は 15 μM)、リン制限系の場合、培地中のリン酸塩濃度は 1.5ないし 3 μM (硝酸塩濃度は 300 μM) である。これらの培地それぞれについて 5~6通りの希釈率 ($D: 0.1\sim 0.35\text{d}^{-1}$) で半連続培養を行った。培地の交換は一日に一度 9:00 から 10:00 にかけて行い、抜き取られた培養中の C. antiqua 細胞濃度を光学顕微鏡下計数した。細胞濃度の日変動が $\pm 5\%$ の相対誤差範囲に収まった時、系は定常状態に達したと判断した。この時点で、C. antiqua の (日平均した) 増殖速度 (μ) は希釈率 (D) の関数として次式で与えられる (Tilman & Kilham, 1976) :

$$\bar{\mu} = -\ln(1-D) \quad (1)$$

2.3 栄養塩摂取に及ぼす増殖条件の影響

定常状態にある培養を用いて、硝酸塩、アンモニウム塩及びリン酸塩摂取に及ぼす増殖条件の影響を検討した。

実験当日、従来と同様 9:00 から 10:00 にかけて希釈率に応じた培地の交換を行い、15:00 まで 2.1 に記した培養条件で培養を行った。15:00 に窒素制限系の培養には 10 μM の硝酸塩あるいは 8 μM のアンモニウム塩を添加した。また、リン制限系の培養には 15:00 に 5 μM のリン酸塩を添加した。各栄養塩を添加した後 40~60 分間隔で 120分にわたり約 10ml を採取し、添加栄養塩濃度の経時変化を追跡した。各栄養塩は添加後時間と共にほぼ直線的に減少し、その減少速度から C. antiqua の栄養塩摂取速度を求めた。得られた摂取速度は (日平均された) 増殖速度

(μ)の関数として評価した。

2. 4 分析手法

栄養塩摂取実験時、採取されたサンプルは、ただちに GF/C ろ紙にてろ過を行い、ろ液を栄養塩分析試料とした。硝酸塩は Woodら (1967) の方法、アンモニウム塩は Solórzano (1969) の方法、リン酸塩は、Murphy & Riley (1962) の方法に基づき、テクニコン社製オートアナライザー II 型にて測定を行った。

3 結果と考察

硝酸塩及びアンモニウム塩摂取実験では、9:00に培地の交換によって加えられた硝酸塩は15:00の栄養塩添加時まで、完全には *C. antiqua* に吸収され尽くしていない。15:00に培地中に残っている硝酸塩濃度は $0.2 \mu\text{M}$ ($D=0.1\text{d}^{-1}$ 、交換培地中の硝酸塩濃度 (S^{NO_3}) = $11 \mu\text{M}$) から $2.9 \mu\text{M}$ ($D=0.35\text{d}^{-1}$ 、 $S^{\text{NO}_3}=22 \mu\text{M}$) であった。したがって硝酸塩摂取速度 (V_{NO_3}) は硝酸塩初期濃度が 10.2 から $12.9 \mu\text{M}$ の濃度範囲で測定されたことになる。 V_{NO_3} は硝酸塩濃度 (S_{NO_3}) に依存するが、上記濃度範囲内での依存性は小さいので (硝酸塩摂取の半飽和定数 ($K_{S^{\text{NO}_3}}$) $3 \mu\text{M}$; 中村・渡辺, 1984b) 今回の実験で得られた V_{NO_3} の S_{NO_3} に対する補正は行っていない。またアンモニウム塩摂取速度 (V_{NH_4}) は硝酸塩の存在によって全く影響を受けないので (中村, 1985a), 今回のアンモニウム塩摂取実験でも、残余硝酸塩の影響は考慮に入れなかった。

一方、リン酸塩摂取実験では 15:00 のリン酸塩添加前に、培地中に残存しているリン酸塩は $0.4 \mu\text{M}$ 以下であったのでリン酸塩摂取速度のリン酸塩濃度に対する補正は行わなかった。

3. 1 栄養塩摂取に及ぼす増殖条件の影響

硝酸塩摂取速度 (V_{NO_3}) に及ぼす相対増殖速度 (μ/μ_{max}) の影響を図 1 に示す。ここに μ_{max} ($=0.15\text{d}^{-1}$) は栄養塩が *C. antiqua* の増殖を制限していない時の 25℃における増殖速度である (中村・渡辺, 1984a)。 V_{NO_3} は μ/μ_{max} の増加に伴い (=つまり体内の窒素含量が豊富になるに従い; 中村, 1985c) ゆるやかに増加しているが、その値は硝酸塩の枯渇したバッチ培養系で得られた値 ($=0.71 \text{ pmol} \cdot \text{cell}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$; 中村・渡辺, 1985b) とほぼ同程度であった。

アンモニウム塩摂取速度 (V_{NH_4}) に及ぼす μ/μ_{max} の影響を図 2 に示す。 V_{NH_4} は調べた μ/μ_{max} の範囲でほぼ一定であり、また硝酸塩の枯渇したバッチ培養系で得られた V_{NH_4} ($1.58 \text{ pmol} \cdot \text{cell}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$; 中村, 1985a) とほぼ同程度の値であった。

リン酸塩摂取速度 (V_{PO_4}) に及ぼす μ/μ_{max} の効果を図 3 に示す。 V_{PO_4} は硝酸塩摂取の場合と同様、 μ/μ_{max} の増加と共にゆるやかに増加するが、その値はリン酸塩の枯渇したバッチ培養系で得られた値 ($0.10 \text{ pmol} \cdot \text{cell}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$; 中村・渡辺, 1984c) とほぼ同程度の値であった。

栄養塩摂取に及ぼす増殖条件の影響は、植物プランクトンの種類や対象とする栄養塩によって

大きく異なっている。すなわち、いくつかの植物プランクトンでは摂取速度は増殖速度の増加と共に著しく減少するのに対し (Rhee, 1973; Gotham & Rhee, 1981a, b), 別のプランクトンでは、摂取速度は増殖速度と共に直線的に増加する (Caperon & Meyer, 1972)。更に栄養塩摂取速度が増殖速度によってあまり影響を受けない例も知られている (Laws & Wong, 1978; Burmaster & Chisholm, 1979; Terry, 1982)。したがって赤潮の発生過程を栄養塩とのかかわりあいにおいてモデル化し、各栄養塩が赤潮発生に果たす役割を評価しようとする場合には対象とする赤潮生物自身について栄養塩摂取が増殖条件によってどのような影響を受けるのかを知ることが重要となる。C. *antiqua* の場合、各々の増殖速度で得られた各栄養塩の摂取速度は、かつてバッチ培養系で得られた値とほぼ同程度であり (図1~3), 本種の栄養塩摂取は増殖条件によってあまり影響を受けないと考えてよさそうである。

3.2 *Chattonella antiqua* の増殖速度の栄養塩濃度依存性

本報及び前報までの結果から、C. *antiqua* の硝酸塩、アンモニウム塩、リン酸塩摂取が栄養塩濃度、明暗条件及び増殖条件の関数として求まった (中村・渡辺, 1984b; 中村; 1985a)。また、増殖速度が制限栄養塩の細胞内含量に直接依存していることも明らかとなった (中村, 1985c)。しかしながら、ここで問題となるのは、増殖速度が周囲の栄養塩濃度にどのように依存しているかがいまだ明らかになっていないことである。実際の海域で直接測定される化学環境因子は、ほとんどの場合栄養塩濃度のみであるから、赤潮発生にかかわる栄養塩類の役割を明らかにするためには、対象とする赤潮生物の増殖速度を栄養塩濃度の関数として知ることが重要である。そこで本節ではまず、これまで得られた C. *antiqua* の栄養塩摂取及び増殖の動力学に関する結果を一括整理した後、これを基に本種の増殖速度の栄養塩濃度依存性について検討を加える。

3.2.1 C. *antiqua* の栄養塩摂取及び増殖の動力学—結果の整理

a) 窒素栄養塩摂取と窒素制限下の増殖

i) 硝酸塩摂取：硝酸塩摂取速度 (V_{NO_3}) は硝酸塩濃度 (S_{NO_3}) の関数として、Michaelis-Mentenタイプの式で記述される。また V_{NO_3} は光の明暗によってあまり影響を受けない (中村・渡辺, 1984b)。 V_{NO_3} は増殖条件によってあまり影響を受けない (図1)。更にアンモニウム塩の存在によって、 V_{NO_3} は非競争的に阻害を受ける (中村, 1985a)。以上をまとめて、

$$V_{NO_3} = \frac{V_{\max}^{NO_3} + S_{NO_3}}{K_S^{NO_3} \cdot S_{NO_3}} \cdot \frac{1}{1 + S_{NH_4}/K_I} \quad (2)$$

ただし、 $V_{\max}^{NO_3}$ 、 $K_S^{NO_3}$ は硝酸塩摂取に対する最大摂取速度及び半飽和定数であり、 K_I はアンモニウム塩による硝酸塩摂取の阻害定数である。また S_{NH_4} はアンモニウム塩濃度である。

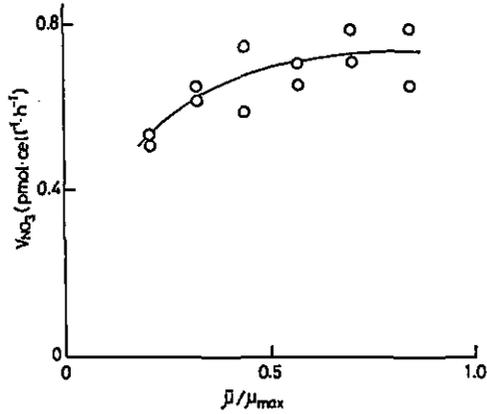


図 1 相対増殖速度 (μ/μ_{max}) の関数としての硝酸塩摂取速度 (V_{NO_3})
 硝酸塩の枯渇したバッチ系での V_{NO_3} は $0.71 \text{ pmol} \cdot \text{cell}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ である
 (中村・渡辺, 1984b)。

Fig. 1 Nitrate uptake rate (V_{NO_3}) as a function of relative growth
 rate (μ/μ_{max})
 V_{NO_3} of the cells grown in nitrate-limited batch culture was
 $0.71 \text{ pmol} \cdot \text{cell}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$.

ii) アンモニウム塩摂取：アンモニウム塩摂取速度 (V_{NH_4}) は S_{NH_4} の関数として Michaelis-Menten タイプの式で表され、光の明暗によって V_{NH_4} はあまり影響を受けない (中村, 1985a)。硝酸塩の存在は V_{NH_4} に何の効果ももたらさず (中村, 1985a) 更に増殖条件によって V_{NH_4} はほとんど変化しない (図2)。以上をまとめて、

$$V_{NH_4} = \frac{V_{NH_4}^{max} \cdot S_{NH_4}}{K_{NH_4} + S_{NH_4}} \quad (3)$$

ただし、 $V_{NH_4}^{max}$ 、 K_{NH_4} はアンモニウム塩摂取に対する最大摂取速度及び半飽和定数である。

iii) 窒素制限下における増殖：窒素制限下、(日平均) 増殖速度 (μ) と細胞分裂開始直前の細胞内窒素含量 (Q^N) の間にいわゆる Droop の式が成り立つ：

$$\bar{\mu} = \bar{\mu}_N^* (1 - q_0^N / Q^N) \quad (4)$$

ここに q_0^N は最小細胞内窒素含量、 $\bar{\mu}_N^*$ は Q^N 無限大での (仮想的な) 増殖速度である。

b) リン酸塩摂取とリン制限下の増殖

i) リン酸塩摂取：リン酸塩摂取速度 (V_{PO_4}) はリン酸塩濃度 (S_{PO_4}) の関数として Michaelis-Menten タイプの式で記述される。また光の明暗によって V_{PO_4} はあまり影響を受けない (中村・渡辺, 1984b)。 V_{PO_4} は増殖条件によってもあまり影響を受けない (図3)。以上をまとめて

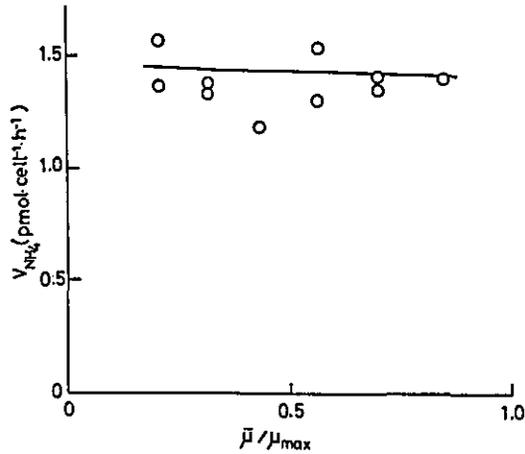


図 2 相対増殖速度(μ/μ_{max})の関数としてのアンモニウム塩摂取速度(V_{NH_4})
硝酸塩の枯渇したバッチ系での V_{NH_4} は $1.58 \text{ pmol}\cdot\text{cell}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ である
(中村, 1985a)。

Fig. 2 Ammonium uptake rate (V_{NH_4}) as a function of relative growth rate(μ/μ_{max})
 V_{NH_4} of the cells grown in nitrate-limited batch culture was $1.58 \text{ pmol}\cdot\text{cell}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$.

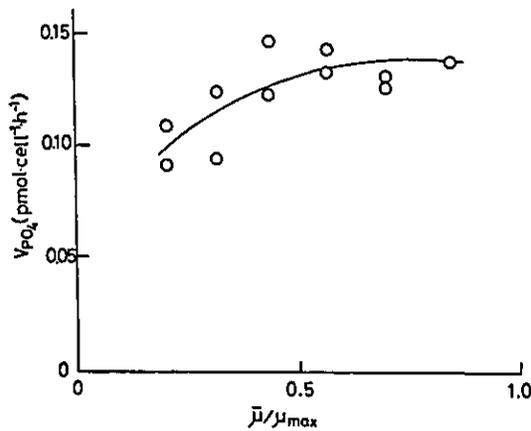


図 3 相対増殖速度(μ/μ_{max})の関数としてのリン酸塩摂取速度
リン酸塩の枯渇したバッチ系での V_{PO_4} は $0.10 \text{ pmol}\cdot\text{cell}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ である
(中村・渡辺, 1984b)。

Fig. 3 Phosphate uptake rate (V_{PO_4}) as a function of relative growth rate (μ/μ_{max})
 V_{PO_4} of the cells grown in phosphate-limited batch culture was $0.10 \text{ pmol}^{-1}\cdot\text{cell}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$.

$$V_{PO_4} = \frac{V_{max}^{PO_4} \cdot S_{PO_4}}{K_S^{PO_4} + S_{PO_4}} \quad (5)$$

ここで $V_{max}^{PO_4}$, $K_S^{PO_4}$ はリン酸塩摂取に対する最大摂取速度及び半飽和定数である。

ii) アルカリホスファターゼ活性：本種のアルカリホスファターゼ活性はリン欠乏の状態においても極めて微弱であり ($A < 1\%$)，有機リン酸エステルのみをリン源としては増殖を維持できない (中村, 1985b)。ここに A は1日のリン要求量の何%を有機リン酸エステルの加水分解でまかなえるかを示すパラメータである。

iii) リン制限下の増殖：リン制限下において (日平均) 増殖速度 (μ) と細胞分裂開始直前の細胞内リン含量 (Q^P) の間には Droop の式が成り立つ (中村, 1985c)：

$$\bar{\mu} = \bar{\mu}_P (1 - q_0^P / Q^P) \quad (6)$$

ここに q_0^P は最小細胞内リン含量， μ_P は Q^P 無限大での (仮想的な) 増殖速度である。

(2) ~ (6) 式に含まれるパラメータの実測値を表1に示す。

3. 2. 2 増殖速度の栄養塩濃度依存性

栄養塩摂取速度が濃度の関数として Michaelis-Menten 式に従い，しかも摂取速度が細胞の増殖条件や光の明暗によってあまり影響を受けず，更に増殖速度の制限栄養塩細胞内含量 (cell quota) 依存性が Droop の式に従う場合，増殖速度 (μ) は制限栄養塩 i の濃度 (S_i) の関数として Michaelis-Menten 式に従うことが知られている。そして，増殖速度に対する半飽和定数 (K_0^i) は栄養塩摂取のパラメータと次式で結び付けられる (Tilman & Kilham, 1976 ; DiToro, 1980)：

$$K_0^i = \frac{K_0^i \cdot q_0^i \cdot \bar{\mu}_i^*}{V_{max}^i + q_0^i \bar{\mu}_i^*} \quad (7)$$

これまでみてきたように，*C. antiqua* の場合，(7) 式が成り立つ条件は，アンモニウム塩，リン酸塩，硝酸塩 (=アンモニウム塩による硝酸塩摂取障害が無視できる場合) のいずれについても満たされている。こうして (7) 式によって *C. antiqua* の各栄養塩に対する K_0^i が算出できるが，その結果を表2に示す。

K_0^i の直観的な意味は「制限栄養塩 i の濃度が K_0^i 程度の海水にプランクトンがさらされている場合，その増殖速度は栄養塩が増殖を制限していない場合の増殖速度 (μ_{max}) の半分程度である」ということである。そして現場海域における S_i と K_0^i の比較を行うことで栄養塩 i が現場において増殖速度の制限因子になり得るかどうかの見当をつけることができる。表2に *C. antiqua* 赤潮多発海域である瀬戸内海の1981年夏の栄養塩濃度を併せ示す (遠藤ら, 1982)。

表 1 *Chattonella antiqua* の増殖及び栄養塩摂取パラメータTable 1 Growth and uptake parameters of *Chattonella antiqua*

| | | | |
|---|---|-------------|------------|
| μ_{max} (d^{-1}) | maximal growth rate | 0.51 (25°C) | |
| q_N^0 ($\mu mol \cdot cell^{-1}$) | minimum cell quota for N | 7.8 | |
| $V_{max}^{NO_3}$ ($\mu mol \cdot cell^{-1} \cdot h^{-1}$) | maximal uptake rate for NO_3^- | 0.91(light) | 0.78(dark) |
| $K_S^{NO_3}$ (μM) | half saturation constant for NO_3^- uptake | 2.81(light) | 3.14(dark) |
| $V_{max}^{NH_4}$ ($\mu mol \cdot cell^{-1} \cdot h^{-1}$) | maximal uptake rate for NH_4^+ | 2.02(light) | |
| $K_S^{NH_4}$ (μM) | half saturation constant for NH_4^+ uptake | 2.19(light) | |
| K_i (μM) | inhibition constant for NO_3^- uptake by NH_4^+ | 2.0 | |
| μ_N^{∞} (d^{-1}) | growth rate at infinite Q^N | 0.78 | |
| q_P^0 ($\mu mol \cdot cell^{-1}$) | minimum cell quota for P | 0.62 | |
| $V_{max}^{PO_4}$ ($\mu mol \cdot cell^{-1} \cdot h^{-1}$) | maximal uptake rate for PO_4^{3-} | 0.14(light) | 0.13(dark) |
| $K_S^{PO_4}$ (M) | half saturation constant for PO_4^{3-} uptake | 1.76(light) | 2.04(dark) |
| A(%) | alkaline phosphatase activity | <1.0 | |
| μ_P^{∞} (d^{-1}) | growth rate at infinite Q^P | 0.93 | |

S_i を K_i^0 と比較すると S_{PO_4} の変動範囲に $K_i^{PO_4}$ が収まっている。このことは瀬戸内海のリン酸塩濃度が *C. antiqua* の増殖速度を大きく左右する範囲にあることを示している。*C. antiqua* が有機態のリンをリン源として増殖に利用できないこと（中村, 1985b）を考え合わせるとリン酸塩は瀬戸内海で *C. antiqua* の増殖速度を律している一つの因子であることが想像される。

一方, $K_i^{NH_4}$ を S_{NH_4} と比べると S_{NH_4} は $K_i^{NH_4}$ に比べてかなり大きい。また S_{NO_3} も $K_i^{NH_4}$ に比べて大きい。つまり瀬戸内海における *C. antiqua* の増殖速度は窒素栄養塩によっては制限されにくいと考えられる。

表 2 *Chattonella antiqua* の増殖速度に対する半飽和定数 (K_i^0)及び夏の瀬戸内海の栄養塩濃度

Table 2 Half saturation constants for growth of *Chattonella antiqua* and nutrient concentration in the Seto Inland Sea in summer

| nutrient i | NO_3^- | NH_4^+ | PO_4^{3-} |
|---|----------|----------|-------------|
| $K_i^0 (\mu M)$ | 0.65 | 0.23 | 0.25 |
| nutrient concentration in the Seto Inland Sea (μM) | 0.5-3.0* | 0.5-3.0* | 0.05-0.5* |

a) after Endo et al. (1982)

最後に一つ注意しておきたいことは本節で得られた結果はあくまでプランクトンの周囲の栄養塩濃度が一定という仮定のもとで得られたものであり、しかも引用した瀬戸内海の栄養塩濃度は限られた年度に測定されたものであるということである。栄養塩濃度は現場においては植物プランクトンの消長や栄養塩負荷の多寡等によって時間的、空間的に変化する。したがって *C. antiqua* 赤潮発生にかかわる栄養塩の役割をより明確にするためには、赤潮発生過程を通じて個体数、栄養塩濃度の変化をより詳細に追跡すると同時に計算機によるシミュレーションによって、(アンモニウム塩による硝酸塩摂取の阻害も含め) 栄養塩が時間的に変化する条件下での *C. antiqua* の増殖を議論する必要がある。また *C. antiqua* の増殖に影響を及ぼす栄養塩以外の因子、すなわち動物プランクトンによる *C. antiqua* の摂食や、日周鉛直移動による *C. antiqua* の集積、流動に伴う拡散についても定量的に明らかにする必要がある。更に実験室で得られた結果を現場に適用する際、常に問題となる“strain difference” (cf. 渡辺・中村, 1984a,b) についても明らかにせねばならない。要は本節で得られた結果はあくまで第一近似であって、現場での *C. antiqua* の消長を理解する上での一つの目安であることを強調しておきたい。

更に付け加えるならば *C. antiqua* のリン制限からの解放は本種の赤潮が発生する場合の必要条件の一つに過ぎないということである。本種が他の植物プランクトンを蹴落して場の独占者となる機構については今後の研究を待たねばならない。

謝 辞

本研究を遂行するに当たり、実験を手伝っていただいた東北大学農学部 須田彰一氏並びに東京理科大学工学部 沢井一浩氏に感謝致します。

引用文献

- Burmester, D.E. and S.W. Chisholm (1979): A comparison of two methods for measuring phosphate uptake by *Monochrysis lutheri* Droop grown in continuous culture. *J. Exp.Mar.Biol.Ecol.*, 39, 187-202.
- Caperon, J. and J. Meyer (1972): Nitrogen-limited growth of marine phytoplankton-II. Uptake kinetics and their role in nutrient limited growth of phytoplankton. *Deep-Sea Res.*, 19, 619-632.
- DiToro, D.M. (1980): Applicability of cellular equilibrium and Monod theory to phytoplankton growth kinetics. *Ecol. Modeling*, 8, 201-218.
- 遠藤拓郎・小山治行・今林博道 (1982): 播磨灘における植物プランクトンと海況, とくに栄養塩の分布及び水質の生理分析. 海洋環境特性と赤潮発生に関する基礎的研究, 文部省環境科学特別研究, B148-R14-8, 81-92.
- Gotham, I.J. and G-Y.Rhee (1981a): Comparative kinetic studies of phosphate-limited growth and phosphate uptake in phytoplankton in continuous culture. *J. Phycol.*, 17, 257-265.
- Gotham, I.J. and G-Y. Rhee (1981b): Comparative kinetic studies of nitrate-limited growth and nitrate uptake in phytoplankton in continuous culture. *J. Phycol.*, 17, 309-314.
- Healey, F.P. and L.L. Hendzel (1979): Indicators of phosphorus and nitrogen deficiency in five algae in culture. *J. Fish. Res. Board Can.*, 36, 1364-1369.
- Iwasaki, H.(1979): Physiological ecology of red tide flagellates. In: *Biochemistry and Physiology of Protozoa*. Vol. 1, M. Levandowsky and S. H. Hutner (ed.), Academic Press, New York, 357-393.
- Laws, E.A. and D.C.L. Wong (1978): Studies of carbon and nitrogen metabolism by three marine phytoplankton species in nitrate-limited continuous culture. *J. Phycol.*, 14, 406-416.
- Lehman, J.T., D.B. Botkin and G.E. Likens (1975): The assumptions and rationales of a computer model of phytoplankton population dynamics. *Limnol. Oceanogr.*, 20, 343-364.
- Murphy, J. and J.P. Riley (1962): A modified single-solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acta*, 27, 31-36.
- 中村泰男 (1985a): *Chattonella antiqua* によるアンモニウム塩摂取及び硝酸塩-アンモニウム塩摂取の相互作用. 国立公害研究所研究報告, 第80号, 57-66.
- 中村泰男 (1985b): *Chattonella antiqua* と *Heterosigma akashiwo* のアルカリホスファターゼ活性. 国立公害研究所研究報告, 第80号, 67-72.
- 中村泰男 (1985c): 窒素あるいはリン制限下における *Chattonella antiqua* の増殖の動力学. 国立公害研究所研究報告, 第80号, 73-83.

- 中村泰男・渡辺 信 (1984a): Chattonella antiqua の増殖に及ぼす温度, 塩分, 照度, pH の効果. 国立公害研究所研究報告, 第63号, 79-85.
- 中村泰男・渡辺 信 (1984b): Chattonella antiqua の硝酸塩, リン酸塩摂取について. 国立公害研究所研究報告, 第63号, 103-109.
- Ono, C. and T. Takano (1980): Chattonella antiqua (Hada) comb. nov., and its occurrence on the Japanese coast. Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab., 102, 93-100.
- Rhee, G-Y. (1973): A continuous culture study of phosphate uptake, growth rate and polyphosphate in Scenedesmus sp. J. Phycol., 9, 495-506.
- Solórzano, L. (1969): Determination of ammonia in natural waters by the phenylhypochlorite method. Limnol. Oceanogr., 14, 799-801.
- Terry, K. L. (1982): Nitrate uptake and assimilation in Thalassiosira weissflogii and Phaeodactylum tricornutum: Interactions with photosynthesis and with the uptake of other ions. Mar. Biol., 69, 21-30.
- Tilman, D. and S.S. Kilham (1976): Phosphate and silicate growth and uptake kinetics of the diatoms Asterionella formosa and Cyclotella meneghiniana in batch and semicontinuous culture. J. Phycol., 12, 375-383.
- 渡辺 信・中村泰男 (1984a): 赤潮鞭毛藻 Heterosigma akashiwo Hadaの増殖特性 1. 増殖に及ぼす水温, 塩分, 照度, pHの影響. 国立公害研究所研究報告, 第63号, 51-58.
- 渡辺 信・中村泰男 (1984b): 赤潮鞭毛藻 Heterosigma akashiwo Hadaの増殖特性 2. 栄養塩の利用. 国立公害研究所研究報告, 第63号, 59-68.
- Wood, E.P., F.A. Armstrong and F.A. Richards (1967): Determination of nitrate in seawater by cadmium-copper reduction to nitrite. J. Mar. Biol. Assoc. U.K., 47, 23-31.

Chattonella antiqua の増殖抑制に及ぼす銅イオンの効果
Growth Inhibition of a Red Tide Flagellate, Chattonella antiqua by Cupric Ion

中村泰男¹・沢井一浩²・渡辺正孝¹

Yasuo NAKAMURA¹, Kazuhiro SAWAI² and Masataka WATANABE¹

要 旨

赤潮鞭毛藻 Chattonella antiqua の増殖に及ぼす銅イオンの効果を人工培地を用いて検討した。本種の増殖速度は培地中の銅イオン活量 (a_{Cu}) の一価関数として次式で記述された：

$$\mu = \frac{\mu_{max}}{1 + K (a_{Cu})^2}$$

ここに $\mu_{max} = 0.63d^{-1}$, $K = 2.4 \times 10^{20} \text{ mol}^{-2} \cdot l^2$ であった。最大増殖速度 (μ_{max}) の半分の増殖速度を与える a_{Cu} は $10^{-10.2} M$ であった。

今回得られた結果をこれまで他の植物プランクトンで得られている結果と比較した結果, C. antiqua は銅イオンに対して感受性の高い種であることが判明した。

・ 本論文は Nakamura ら(1986)により, J.Oceanogr.Soc.Japan 誌 42(6),481-486 に発表された内容を和文に改めたものである。

This paper was appeared in J. Oceanogr. Soc. Japan, 1986, 42(6),481-486 by Nakamura et al(1986).

1. 国立公害研究所 水質土壌環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Water and Soil Environment Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan
2. 昭和59年度 国立公害研究所 共同研究員 (東京理科大学工学部 〒162 東京都新宿区神楽坂)
Research Collaborator of the National Institute for Environmental Studies. Present Address: Faculty of Engineering, Science University of Tokyo, Kagura-zaka, Shinjuku, Tokyo 162, Japan.

更に *C. antiqua* 赤潮多発海域である瀬戸内海の銅イオン活量は銅が無機イオンのみと平衡にあると仮定した場合、*C. antiqua* の増殖速度に著しい影響を与える範囲にあることが判明し、海域での銅イオンの消長が本種の赤潮発生の“on-off switch”として作用している可能性が示唆された。

Abstract

Copper toxicity to *Chattonella antiqua* (Raphidophyceae) was examined using an artificial seawater medium. The growth rate (μ) can be described as a unique function of cupric ion activity (a_{Cu}) as follows:

$$\mu = \mu_{max} / (1 + K (a_{Cu})^2),$$

where μ_{max} and K are $0.63d^{-1}$ and $2.4 \times 10^{20} \text{ mol}^{-2} \cdot l^2$, respectively. The value of a_{Cu} at which μ is reduced to half the maximum is $10^{-10.2} M$.

Comparisons of our results with those for other phytoplankton species indicated that *C. antiqua* was rather sensitive to cupric ion. Furthermore, the growth of *C. antiqua* was strongly influenced at the calculated cupric ion activity of natural seawaters in the Seto Inland Sea, assuming only inorganic copper complexation. Thus organic chelation may be necessary before *C. antiqua* can successfully compete with other phytoplankton species.

1 はじめに

我々は、これまで赤潮鞭毛藻 *Chattonella antiqua* の N-, P-栄養塩摂取及び栄養塩制限下における増殖の動力学を解析してきた(中村・渡辺, 1984b; 中村, 1985a, b, 1986)。その結果 *C. antiqua* 赤潮多発海域である瀬戸内海では、リン酸塩が本種の増殖速度を律しており、本種の赤潮が形成されるためには、リン制限からの開放が重要であることが示唆された(中村, 1986)。しかしながら「リン制限からの開放」はあくまでも本種が赤潮を形成するための必要条件の一つであって、これのみでは *C. antiqua* が他の植物プランクトンに卓越して赤潮を形成することは不可能であると思われる。

海産植物プランクトンに対する銅の毒性は種ごとに大きく異なっており、しかも天然レベルの銅イオンですらいくつかの植物プランクトンの増殖を阻害することが知られている(Sunda & Guillard, 1976; Anderson & Morel, 1978; Gavis et al., 1981)。したがって海域における植物プランクトン群集の種の遷移や特定種の卓越(赤潮)に海水中の銅イオンの消長が大きな役割を果たしている可能性がある(Huntsman & Sunda, 1980; Gavis et al., 1981; Anderson et al., 1984)。本報においては *C. antiqua* の銅イオンによる増殖阻害を室内培養系で検討した結果を報告すると共に、本種の赤潮発生にかかわる銅イオンの役割について検討を加える。

2 実験：材料と方法について

2.1 材料及び培養条件

Chattonella antiqua の無菌クローン株 (Ho-1; 中村・渡辺, 1984a) を材料として使用した。C. *antiqua* は 25°C, 0.04 ly·min⁻¹ (12:12LD) のもと, 200m のホウケイ酸ガラス製三角フラスコ (100m l の培地を含む) にてバッチ培養を行った。

実験に用いた培地は, 人工海水 H 培地 (中村・渡辺, 1984a) を出発培地とする 4 タイプの培地である (タイプ A~D; 表 1)。培地中の全銅濃度は硫酸銅溶液を添加することで調整した。使用した培地のうち, タイプ A~C についてはオートクレーブによる滅菌を行い, タイプ D についてはろ過滅菌を行った。

2.2 培養実験

f/2 培地 (Guillard & Ryther, 1962) で前培養した C. *antiqua* (約 10⁴ cells·m⁻¹) を実験用培地 (100m l) に 0.2m 程度植え継いだ。初期細胞濃度は 20~50 cells·m⁻¹ 程度である。植え継ぎ後 7~9 日にわたって, ほぼ毎日細胞濃度を光学顕微鏡下計数した。増殖速度 (μ) は下式によって推定した:

$$N_t = N_0 \exp(\mu t) \quad (1)$$

ここに N_t は時刻 t (日)での細胞濃度である。 μ は銅イオン活量(a_{Cu})ないしは全銅濃度 (Cu^T)の関数として評価した。なお培養実験はタイプ A~D のすべての系列について 4~6 回繰り返して行った。

2.3 培地中の銅イオン活量の推定

培地中の各化学成分の平衡組成, 特に銅イオン活量係数は組成計算プログラム MINEQL (Westall et al., 1976) による計算から推定した。計算に当たり以下の測定結果及び仮定を使用した。

i) $CuSO_4$ 無添加の培地中の全銅濃度 (Cu^T) は炭素炉原子吸光法により測定した (Segar & Cantillo, 1975)。得られた値は 0.1 μM かそれ以下であり, 銅無添加培地中の a_{Cu} の計算には $Cu^T = 0.1 \mu M$ の値を仮定した。測定された銅はおそらくは培地に含まれる主要塩類 ($NaCl$, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$) からの混入であろう。

ii) オートクレーブ前の培地中の各成分の濃度 (Cu を除く) は, 培地に添加した量に等しいと仮定した。オートクレーブによって約 6% の培地の蒸発が起こるため, タイプ A~C の培地ではこれに伴う濃度補正を行った。

iii) 前培養 (f/2 培地) からの Cu 及び EDTA の持ち込みは f/2 培地中の Cu (< 0.3 μM) 及び EDTA 濃度 ($\cong 7 \mu M$) が実験培地に比べて低く, しかも植え継ぎ量 ($\cong 0.2m l$) が小さいことから無視した。

表 1 実験培地の組成

Table 1 Analytical concentration (M) of components of experimental media*

| Medium | Cu(II)** | EDTA*** | TRIS | NTA | Fe(III)*** | Mn(II)*** | Zn(II)*** | Co(II)*** | pH |
|--------|---|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|-----|
| A | $1 \times 10^{-7} \sim$ 1.0×10^{-4} | 8.5×10^{-5} | 8.7×10^{-3} | 3.9×10^{-4} | 7.4×10^{-6} | 5.1×10^{-6} | 1.3×10^{-6} | 1.1×10^{-7} | 7.9 |
| B | $1 \times 10^{-7} \sim$ 1.3×10^{-4} | 8.5×10^{-5} | 8.7×10^{-3} | - | 7.4×10^{-6} | 5.1×10^{-6} | 1.3×10^{-6} | 1.1×10^{-7} | 7.9 |
| C | $1 \times 10^{-7} \sim$ 5.4×10^{-5} | 4.3×10^{-5} | 8.7×10^{-3} | - | 3.7×10^{-6} | 2.6×10^{-6} | 0.7×10^{-6} | 0.5×10^{-7} | 7.9 |
| D | $1 \times 10^{-7} \sim$ 3.0×10^{-5} | 8.1×10^{-6} | 8.3×10^{-3} | - | 2.1×10^{-6} | 4.9×10^{-7} | 1.3×10^{-7} | 1.0×10^{-8} | 7.9 |

* Concentrations of non-cited components were the same as for H-medium (Nakamura and Watanabe, 1983a).

** Total copper concentration was adjusted by the addition of CuSO_4 .

*** Added from N-metal solution (Nakamura and Watanabe, 1983a). 1000 ml of N-metal solution contains: $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1.00g, H_3BO_3 1.14 g, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 63 mg, $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.94 mg, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 12 mg, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 32 mg, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.17 mg, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.21 mg. 1000 ml of H-medium contains 30-ml of N-metal solution.

iv) 培地の pH は acu の値に大きな影響を及ぼすが、培地の pH は培養期間を通じて 7.9 ± 0.05 の範囲で一定であった。

v) 各イオンの活量係数は Davis 式 (Stumm & Morgan, 1970) によって計算した。

2. 4 急速な a Cu 変化が増殖に及ぼす影響

タイプ D の培地 ($Cu^{II} \cong 0.1 \mu M$, $100 ml$) 中で対数的に増殖を行っている培養 ($\mu \cong 0.6 d^{-1}$) に $1 ml$ の $CuSO_4$ 溶液 ($2 mM$) を添加した。これに伴い培地中の $pCu (= -\log acu)$ は 13.5 から 9.9 に変化する。 $CuSO_4$ 添加前後の細胞濃度をモニターすることで、どの程度の時間スケールで銅イオンによる増殖阻害が生じるかを見積もった。

またタイプ D の培地 ($Cu^{II} = 20 \mu M$, $100 ml$) 中で、ゆるやかに (しかし対数的に) 増殖を行っている培養 ($\mu \cong 0.2 d^{-1}$) に $1.5 ml$ の N-メタル溶液 (EDTA を主成分としている。表 1 脚注参照) を添加した。これに伴い pCu は 9.9 から 11.3 に変化する。N-メタル溶液添加前後の細胞濃度の変化から銅による増殖阻害からの回復に要する時間を見積もった。これらの実験は 6 回繰り返して行った。

2. 5 細胞体積の測定

対数増殖細胞 (細胞濃度 = $200 \sim 1500 cells \cdot ml^{-1}$) の平均細胞体積は $200 \mu m$ アバチャーチューブを装着したコールターカウンター (TA-11) を用いて測定した。測定時刻は 13:00 ~ 15:00 であった。

3 結果と考察

3. 1 増殖速度、細胞体積、細胞形態に及ぼす銅の影響

全銅濃度を变化させた場合の *C. antiqua* の増殖曲線の一例を図 1 に示す。すべての培養はたとえ銅による阻害が生じても、対数的な増殖を行うことが明らかとなった。そこで本種の銅による阻害を増殖速度を指標として解析し得ることが判明した。また、植え継ぎ後、対数増殖期に至るまでの期間 (誘導期) はあったとしても 2 日以内であり全銅濃度 (Cu^{II}) や銅イオン活量 (acu) との直接の関連は認められなかった。

いくつかの植物プランクトンでは銅は増殖速度を低下させる他に細胞の肥大化や形態変化を生じることが知られている (e.g. Sunda & Lewis, 1987; Fisher et al., 1981)。

C. antiqua の場合、銅の存在によって増殖速度が低下する場合でも細胞体積の著しい増大は認められなかった (図 2)。しかしながら細胞の形態は増殖速度の低下 (ないしは銅濃度の増大) によって大きく変化した。すなわち増殖速度が $0.5 d^{-1}$ 以上の場合、細胞は通常の涙滴型をしているが $0.4 d^{-1}$ 以下になると細胞の“しっぽ”が丸くなり、また細胞全体の色調に色むらが生じた。更に $0.2 d^{-1}$ 以下になると丸型の細胞が 30% 以上の割合で出現した。

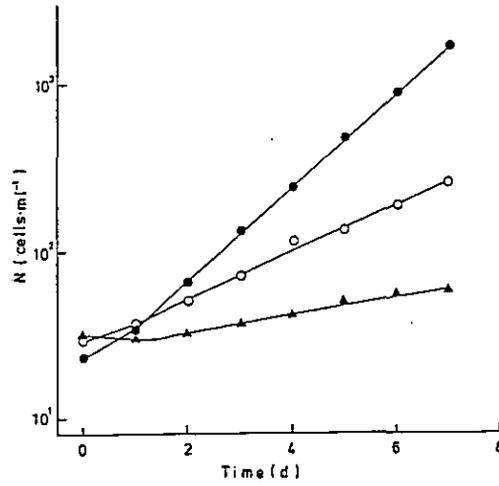


図 1 タイプCの培地での増殖曲線

● : $\text{Cu}^{\text{T}}=0.1 \mu\text{M}$, $\text{pCu}=14.0$, ○ : $\text{Cu}^{\text{T}}=44 \mu\text{M}$, $\text{pCu}=10.3$,
 ▲ : $\text{Cu}^{\text{T}}=54 \mu\text{M}$, $\text{pCu}=9.9$

Fig. 1 Time course of the cell concentration (N) in the medium of type C

● : $\text{Cu}^{\text{T}}=0.1 \mu\text{M}$ and $\text{pCu}=14.0$, ○ : $\text{Cu}^{\text{T}}=44 \mu\text{M}$ and $\text{pCu}=10.3$,
 ▲ : $\text{Cu}^{\text{T}}=54 \mu\text{M}$ and $\text{pCu}=9.9$.

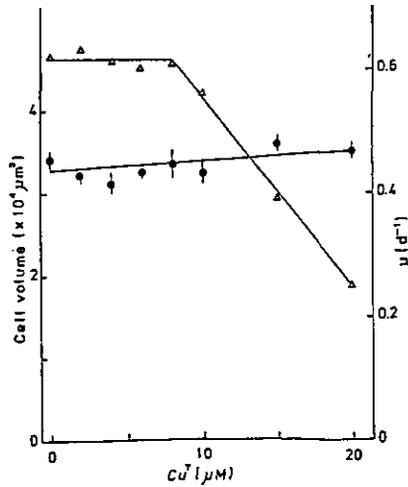


図 2 タイプDの培地での細胞体積(●)及び増殖速度(μ , Δ)の Cu^{T} 依存性
 Fig. 2 Cell volume (●) and growth rate (μ , Δ) as a function of Cu^{T} in the medium of type D

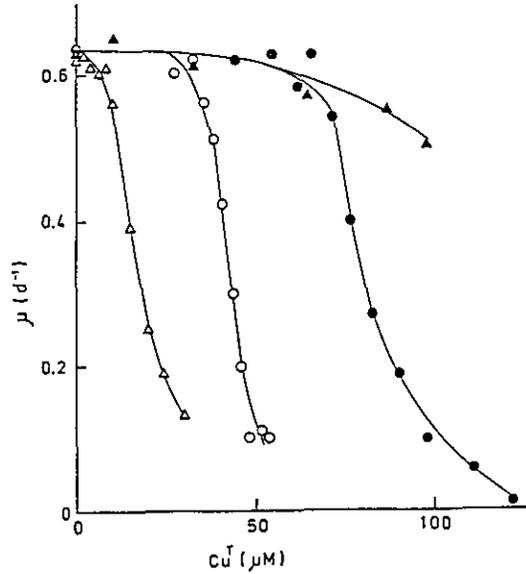


図 3 増殖速度 (μ) の全銅濃度 (Cu^{T}) 依存性

▲: タイプA, ●: タイプB, ○: タイプC, △: タイプD

Fig. 3 Growth rate (μ) as a function of total copper concentration (Cu^{T})

▲: the medium of type A, ●: the medium of type B,
○: the medium of type C, △: the medium of type D.

増殖速度 (μ) と全銅濃度 (Cu^{T}) の関係を図3に示す。 μ と Cu^{T} の関係は用いた培地のタイプ (A~D) によって大きく異なりキレーター (EDTA, NTA) を多く含む培地ほど増殖阻害は大きな Cu^{T} で生じた。つまり *C. antiqua* の増殖速度は Cu^{T} に直接依存しているのではなく、銅毒性の解析は銅の溶存状態まで考慮する必要があることが判明した。

植物プランクトンに対する銅毒性の最近の研究では、増殖速度 (μ) は Cu^{T} でなく、溶液中の銅イオン活量 (a_{Cu}) に直接依存していることが報告されている (Sunda & Guillard, 1976; Anderson & Morel, 1978; Gavis et al., 1981)。そこで *C. antiqua* でも μ を pCu ($= -\log a_{\text{Cu}}$) に対してプロットすると用いた培地のタイプによらず μ は pCu の一価関数で表され、本種でも μ が a_{Cu} に直接依存していることが判明した (図4)。

珪藻 *Chaetoceros socialis* や *Thalassiosira pseudonana* では μ は a_{Cu} の関数として次のような単純な式で表される (Sunda et al., 1981; Gavis, 1983):

$$\mu = \frac{\mu_{\text{max}}}{1 + K(a_{\text{Cu}})^2} \quad (2)$$

ここで μ_{max} と K は定数であり、前者は銅による阻害のない場合の増殖速度である。*C. antiqua*

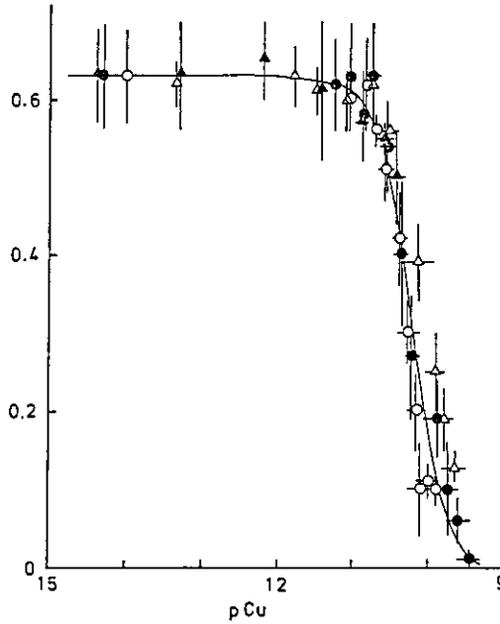


図 4 増殖速度 (μ) の pCu 依存性

▲:タイプA, ●:タイプB, ○:タイプC, △:タイプD

実線は $\mu_{max}=0.63 \text{ d}^{-1}$, $K=2.4 \times 10^{20} \text{ mol}^{-2} \cdot \text{l}^2$ の値を用いて (2)式から計算したもの

Fig. 4 Growth rate (μ) as a function of pCu

▲:the medium of type A, ●:the medium of type B,

○:the medium of type C, △:the medium of type D.

Solid line was calculated from Eq. (2), using $\mu_{max}=0.63 \text{ d}^{-1}$ and $K=2.4 \times 10^{20} \text{ mol}^{-2} \cdot \text{l}^2$.

の場合 $\log(\mu_{max}/\mu - 1)$ ($\mu_{max}=0.63 \text{ d}^{-1}$ を仮定; 図4) を pCu(9.6~10.6)に対してプロットすると傾きが -2.0 ± 0.2 の直線を与える。したがって本種の μ と acu の関係も (2) 式で記述でき (2) 式に非線型最小乗法を適用することで μ_{max} 及び K の値が推定できる。得られた値は $\mu_{max}=0.63 \pm 0.01 \text{ d}^{-1}$ (脚注*参照) 及び $K=(2.8 \pm 0.4) \times 10^{20} \text{ mol}^{-2} \cdot \text{l}^2$ であった。これらの値を用いて μ と acu の関係を示したのが図4中の実線である。なお (2) 式は簡単な “molecular binding model” によって導出することが可能であるが(Sunda & Gillespie, 1979; Gavis, 1983)

*この値はこれまで報告されていた値 (0.51 d^{-1} ; 中村・渡辺, 1984a) に比べかなり大きい(温度・照度とも条件は前と変化していない)。人工海水での培養を経るに従って株が人工培地に“馴れた”とも考えられるが本当の原因は明らかでない。

その生化学的な基礎についてはいまだ明らかにされていない。

急激な pCu の変化が *C. antiqua* の増殖に及ぼす影響を図 5 に示す。いくつかの植物プランクトンでは銅による増殖阻害の発現まで 1 日から 2 日かかるが (Sunda & Guillard, 1976; Sunda & Lewis, 1978; Fisher et al., 1981), *C. antiqua* の場合 pCu の 13.9 ~ 9.9 への低下に伴い速やか (《1d) な増殖速度の低下 (0.63 d^{-1} から 0.24 d^{-1}) が生じた。一方, 銅による増殖阻害の

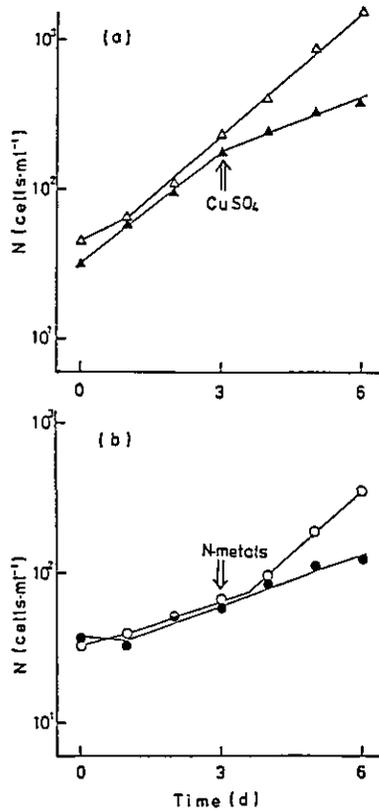


図 5 (a) 硫酸銅添加前後の細胞濃度 (N, ▲) の経日変化
 day3 に pCu は 13.5 から 9.9 に低下。△: コントロール
 (b) N-メタル溶液添加前後の細胞濃度 (N, ○) の経日変化
 day3 に pCu は 9.9 から 11.3 に変化。●: コントロール

Fig. 5 (a) Time course of the cell concentration (N, ▲) before and after the addition of CuSO₄
 pCu changed from 13.5 to 9.9 at day 3. △: control experiment.
 (b) Time course of the cell concentration (N, ○) before and after the addition of N-metal solution
 pCu changed from 9.9 to 11.3 at day 3. ●: control experiment.

生じている培養 ($\mu = 0.22 \text{ d}^{-1}$) にキレーター (EDTA) を添加し, PCu を 9.9 から 11.3 に変化させたところ, 1 日以内で阻害は消失し以後速やかな増殖 (0.63 d^{-1}) を行った。また細胞の形態もキレーター添加前のしっぽの丸い形から添加 1 日後には 80% 以上の細胞が涙滴型に戻った。このように *C. antiqua* の銅による阻害及び阻害からの回復は速やかで可逆的な過程であることが判明した。

3. 2 生態学的考察

海産植物プランクトンの銅イオンに対する感受性は種ごとに大きく異なっている (Sunda & Guillard, 1976; Anderson & Morel, 1978; Gavis et al., 1981)。これまで調べられた種では, μ_{max} の半分の増殖速度を与える $pCu (= pCu^*)$ は 8.5 から 10.5 の範囲に散らばっているが, 約 70% の種では pCu^* は 10.0 以下である。一方, *C. antiqua* の場合, pCu^* は 10.2 であるから本種はどちらかという銅に対して感受性の高い (= 低い acu で阻害が生じる) 種であると言える。

海水中の銅が無機イオンのみと平衡にあると仮定するなら海水の PCu は Cu^+ の関数として次の式で与えられる (Sunda & Gillespie, 1979):

$$pCu = 1.8 - \log Cu^+ \quad (3)$$

C. antiqua 赤潮多発海域である瀬戸内海の (溶存態の) Cu^+ は $4 \times 10^{-9} \text{ M}$ 程度である (坪田, 私信)。したがって (3) 式によって pCu を計算すると 10.2 なる値を得る。これはちょうど *C. antiqua* の pCu^* に相当しており, 本種の増殖速度が著しく変化する領域である (図 4)。したがって, もし瀬戸内海海水中の銅の溶存有機物との錯形成が無視しうならば, Cu^+ ないしは acu の小さな変動によって *C. antiqua* の μ は大きく変動し, 銅の消長が本種の赤潮形成の一つの "ON-OFF SWITCH" として作用する可能性が生じる。

バクテリアを用いたバイオアッセイ (Sunda & Gillespie, 1979) によって Anderson ら (1984) は米国ニューイングランド沿岸海水の pCu を測定している。当地での Cu^+ は $1 \times 10^{-8} \text{ M}$ 程度であり (3) 式から計算される pCu は 9.8 であるにもかかわらず実測された pCu は時期, 採水地点によらず常に 10.8 以上であった。このことは少なくともニューイングランドの海水ではかなりの部分の銅が有機物 (フミン質?) と錯体を形成していることを示している。もし瀬戸内海の海水でもニューイングランドの海水と同程度, 銅の有機物による錯形成が生じているとするなら, 瀬戸内海の pCu は 11 以上となり, *C. antiqua* の増殖は銅イオンによって全く阻害されていないことになる。

結局, 銅が *C. antiqua* 赤潮形成に果たす役割を明らかにするためには瀬戸内海での pCu を知ることが必要不可欠となるが残念なことに瀬戸内海の pCu はいまだ明らかにされていない。我々は今回得られた結果を基礎に *C. antiqua* を用いたバイオアッセイによって海水の pCu を

推定する方法を現在検討中である。

謝 辞

本研究を行うに当たり瀬戸内海の銅の分析データ（未発表）を快く提供していただいた広島大学坪田博行教授に感謝致します。

引用文献

- Anderson, D. M. and F.M.M. Morel (1978): Copper sensitivity of *Gonyaulax tamarensis*. *Limnol. Oceanogr.*, 23, 283-295.
- Anderson, D.M., J.S. Lively and R.F. Vaccaro (1984): Copper complexation during spring blooms in coastal waters. *J. Mar. Res.*, 42, 677-695.
- Fisher, N. S., G. J. Jones and D. M. Nelson (1981): Effects of copper and zinc on growth, morphology, and metabolism of *Asterionella japonica* (Cleve). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 51, 37-56.
- Gavis, J., R. R. L. Guillard and B. L. Woodward (1981): Cupric ion activity and the growth of phytoplankton clones isolated from different marine environments. *J. Mar. Res.*, 39, 315-333.
- Gavis, J. (1983): Toxic binding of cupric ion by marine phytoplankton. *J. Mar. Res.*, 41, 53-63.
- Guillard, R. R. L. and J. H. Ryther (1962): Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleve) Gram. *Can. J. Microbiol.*, 8, 229-239.
- Huntsman, S. A. and W. G. Sunda (1980): The role of trace metals in regulating phytoplankton growth with emphasis on Fe, Mn and Cu. In: *Physiological Ecology of Phytoplankton*, (ed.) I. Morris, Blackwell Scientific Publications, 285-328.
- 中村泰男 (1985a): *Chattonella antiqua* によるアンモニウム塩摂取及び硝酸塩-アンモニウム塩摂取の相互作用. 国立公害研究所研究報告, 第80号, 57-66.
- 中村泰男 (1985b): 窒素あるいはリン制限下における *Chattonella antiqua* の増殖の動力学. 国立公害研究所研究報告, 第80号, 73-83.
- 中村泰男 (1986): 赤潮鞭毛藻 *Chattonella antiqua* の硝酸塩, アンモニウム塩, リン酸塩摂取に及ぼす増殖条件の影響. 国立公害研究所研究報告, 第110号, 115-126.
- 中村泰男・渡辺信 (1984a): *Chattonella antiqua* の増殖に及ぼす温度, 塩分, 照度, pH の効果. 国立公害研究所研究報告, 第63号, 79-85.
- 中村泰男・渡辺信 (1984b): *Chattonella antiqua* の硝酸塩, リン酸塩摂取について. 国立公害研究所研究報告, 第63号, 103-109.
- Segar, D. A. and A. Y. Cantillo (1975): Direct determination of trace metals in sea water by flameless atomic absorption spectrophotometry. In: *Analytical Methods in Oceanography. Advances in Chemistry Series*, 147, (ed.) T. R. P. Gibb, Jr., American Chemical Society, 56-81.

- Stumm, W. and J. J. Morgan(1970): Acids and bases. In : Aquatic Chemistry, John Wiley and Sons. 69-117.
- Sunda, W. G. and R. R. L. Guillard (1976): The relationship between cupric ion activity and the toxicity of copper to phytoplankton. J. Mar. Res., 34, 511-529.
- Sunda, W. G. and J. A. M. Lewis (1978): Effects of complexation by natural organic ligands on the toxicity of copper to a unicellular alga, Monochrysis lutheri. Limnol. Oceanogr., 23, 870-876.
- Sunda, W. G. and P. A. Gillespie (1979): The response of a marine bacterium to cupric ion and its use to estimate cupric ion activity. J. Mar. Res., 37, 761-777.
- Sunda, W. G., R. T. Barber and S. A. Huntsman (1981): Phytoplankton growth in nutrient rich seawater : importance of copper manganese cellular interactions. J. Mar. Res., 39, 567-586.
- Westall, J. C., J. K. Zachary and F. M. M. Morel(1976): MINEQL, a computer program for the calculation of chemical equilibrium composition of aqueous systems. Technical Note. No. 8, Water Quality Lab., Ralph M. Parson Laboratory for Water Resources and Hydrodynamics. Dept. of Civil Engineering, M.I.T., Cambridge, MA..

大船渡湾における熱塩循環流の数値シミュレーション
 A Numerical Simulation of the Thermohaline Circulation
 Applied to Ofunato Bay

原島 省¹・渡辺正孝¹

Akira HARASHIMA¹ and Masataka WATANABE¹

要 旨

内湾において、水温、塩分、外洋との海水交換量などがどのようなメカニズムで決定されるのかを調べるために、熱塩循環流を陽に表現する数値シミュレーションを行った。対象とした海域は、典型的なリアス式沈降谷である岩手県の大船渡湾（長さ：約 8km、平均幅：約 1.5km、平均深度：約 30m）である。方程式系は水温、塩分の移流拡散方程式、水温、塩分に依存する海水の状態方程式、及び密度分布を駆動力とする海水の運動方程式からなる。秋期の水温、塩分分布を初期条件とし、気象要素から得られた海面熱フラックス、河川流入量及び外洋における水温、塩分の時空間内挿値を境界条件として与え、時間積分を行った。その結果、緩混合型エスチャリー型の分布が再現された。この鉛直循環流は外洋との海水交換において $100[t \cdot s^{-1}]$ 程度の寄与を持ち、その量は河川流入量 $[数 t \cdot s^{-1}]$ の規模よりはるかに大きい。また、熱塩循環流のタイプは、浮力の境界条件により、次のように分類された。すなわち、(A) 河川流入による塩分成層が、海面冷却による不安定成層を支え、上層が低温低塩分となる、(B) 河川流入が弱まり、塩分の安定成層化が弱まるために、海面冷却による対流混合が下方まで達する、(C) 河川流入と海面加熱が両方とも安定成層化の方向に働き、上層が低塩分、高温となる、(D) 外洋に暖水が現れるために、急激に湾内の海水が入れ替わる、の4種類のパターンが現れた。また、湾内の清水定点における、既存の水溫、塩分の観測値時空間内挿を施し、このデータセットによりシミュレーション結果の検証を行ったところ、両者はほぼ符号した。したがって、このような内湾においては、熱塩循環流のプロセスが物理的な条件の

1. 国立公害研究所 水質土壌環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2

Water and Soil Environment Division, the National Institute for Environmental Studies. Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

基礎となっていることが示唆される。

Abstract

A numerical model was constructed in order to predict the seasonal cycle of distribution patterns of temperature, salinity and vertical circulation. The internal dynamics involved in the model was the thermohaline processes expressed by the coupled equations for temperature, salinity, and momentum transport in vertically two-dimensional regime. Boundary conditions were the heat flux at the sea surface and the river run-off calculated from the meteorological factors and the temperature and salinity values at the adjacent outer ocean. This scheme was applied to Ofunato Bay ($39^{\circ} 03'N$, $141^{\circ} 44'E$) in the period November 1980 - October 1981. As a result, four types of thermohaline circulations were reproduced. When the surface cooling and the river run-off are substantial, colder, fresher water flows to the outer ocean via the upper layer and the oceanic water enters via the lower layer (A). In case the run-off is weak, the cooling-induced convective mixing penetrates downward further deeply and the interface dissipates (B). In summer, warmer, fresher water flows out and oceanic water flows in via the middle layer. And the coldest water stagnates under the level of the sill depth (C). When the water temperature at the outer ocean rises abruptly, a lock-exchange type water exchange occurred (D). The numerical results coincide well with the annual variation of the observed temperature and salinity stratifications. These facts suggest that fundamental physical condition is determined by the thermohaline circulation process in such a bay and the thermohaline processes should be considered in addition to the usual estuarine dynamics.

1 序

内湾あるいは閉鎖性海域の生態系にかかわる物理環境を把握する必要性が増している。物理量の中で最も重要なものは流動状況、水温、塩分である。流動は内湾と外洋との海水交換を通じて栄養塩、汚染物質の湾外への排出あるいは湾内への滞留を左右し、水温、塩分値のレベルは微細藻類の増殖の至適環境に影響を与える。これらの量を、当該海域における観測により、時間、空間に対して十分な密度でモニターし続けることは簡単ではない。したがって、既にサンプリングのルーチンが確立しているデータを境界条件として、内部的な力学過程を微分方程式系の数値積分により予測するモデルが必要になる。内部的な物理過程としては、潮汐流、密度流、吹送流などの流動現象があげられる。

このなかで、密度流は水温と塩分の偏差が駆動力となるものであり、熱塩循環流とも呼ぶことができる。潮汐流が約半日の時間スケールを持つのに対し、熱塩循環流のそれは数日以上であり、

生物現象の時間スケールに比較的近いと考えられる。また、熱塩循環流は、生物の生理に影響を与える水温、塩分の動態に直接的に関与しているため、生態系にとって最も重要な物理過程であるといえよう。現実の海域における流れは上記の三種の流れの非線形結合であるから、三種の過程をすべて陽に解くモデルが理想的なことは言うまでもない。また、上記の平均流的な流れのみならず、局所的な乱れも物質輸送に寄与している。後者の効果は、数値シミュレーションでは乱流拡散係数として表現される。この乱流拡散係数についても、既知のパラメータと平均流の構造から導き出されたものを用いること（いわゆるクロージャ・モデル）が理想である。しかしながら、モデルが複雑になるほど、出力結果に含まれる情報が過多となり、かえって理解を困難にしてしまう。したがって、本研究においては、熱塩循環流のみを陽に表現し、乱流拡散過程は、定数としての拡散係数を用いた。そして、密度不安定成層が形成されるときには、いわゆる対流調節を行い、安定成層時より大きい鉛直拡散係数を選択することで表現した。

一般に内湾では、鉛直循環だけでなく水平循環のプロセスも重要である。このことは Fischer (1972) によりシアード分散の議論や国司・宇野木 (1977) の総説等によって示されている。したがって、理想的にはモデルは三次元的な構造をもっていることが好ましい。ところが生態系の解析に供するモデルとしては鉛直方向に十分な格子点数を必要とし、三次元の枠組の中でこの要求を満足することは、現在の計算機的能力では困難である。また、鉛直一次元の枠組では、自由度が小さすぎ、水平方向の物質が表現できない。本研究においてフィールドとして選択した大船渡湾は、湾の幅が比較的狭く、鉛直循環が卓越することが予測される。したがって湾を横切る方向の現象の変化が、あまり問題とならず、鉛直二次元モデルが妥当性をもつ。したがって、計算機的能力を、鉛直方向の分解能を上げることに振り向けつつ、比較的 CPU 時間の制約を受けずにシミュレーションを行うことが可能である。大船渡湾は、典型的なりアス式海岸である三陸海岸に位置し、津波の防災のために建設された湾口防波堤を有する。近年、湾内の富栄養化と湾の閉鎖性の問題が議論されている。本研究においては、この湾について、熱塩循環流のシミュレーションを行い、既存の観測値との比較から、水温、塩分及び流速の分布がどの程度再現されるかを調べる。そしてその結果から、この湾の閉鎖性の実態把握を図り、同時に熱塩循環流が海水交換に果たす役割を考察する。

2 数値シミュレーションの方法

2.1 方程式系と差分化

図1に大船渡湾の略図を示す。この図に示すように、大船渡湾は平均幅 1.5km 程度、平均水深 30m 程度であり、中央部に湾口防波堤を有する。湾口防波堤の開口部は幅約 200m で水面下 16m までである。湾の最奥部には、盛川（平均流量：毎秒数 t 程度）が流入している。この湾を図2に示すような方法で差分要素に分割する。湾の中心線にそって x 軸、鉛直上方向きに z 軸、湾を横切る方向に y 軸をとる。各差分要素は、 x 方向に Δx 、 z 方向に Δz 、 y 方向に Wd_{ij}

の大きさを持つ。水温 T_{ij} , 塩分 S_{ij} は差分要素の中心で定義され、水平流速 U_{ij} , 鉛直流速 w_{ij} はそれぞれ差分要素の左辺, 上辺で定義する。さらに次のような関係が成立すると仮定する。

- a) Boussinesq 近似
- b) rigid-lid 近似 (海水面高度の時間変動は無視する)
- c) 現象は y 方向に均一
- d) 鉛直方向の静水圧近似
- e) 運動方程式における非線型項の無視
- f) 運動方程式におけるコリオリ項の無視

a), d) は一般的に浅海域の力学的バランスを記述する際に用いられる近似である。熱塩循環過程で励起される水平流速が、 $5\sim 10$ [$\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$] 程度と比較的小さく、湾が水路状であることを考えると、e) も妥当である。c), f) に関しては、やや議論の余地があり、遠藤 (1977, 1978) による判別条件が提案されている。すなわち、海域の内部変形半径 $\sqrt{(\Delta\rho/\rho)\cdot g\cdot h/f}$ の2倍が湾の幅よりも大きい場合にはコリオリ効果による循環の水平化が弱く、鉛直循環が卓越する。ただし、 $g, h, f, \Delta\rho$ はそれぞれ重力定数、上層厚さ、コリオリパラメータ、上下層の密度差である。この判別条件は既存の密度成層によるものである。駆動力である浮力フラックスによる判別条件も提案され (Harashima et al., 1981), 浮力フラックスが大きく、湾の幅が狭いほど鉛直循環が



図 1 大船渡湾の概略図
Fig. 1 Schematic chart of Ofunato Bay

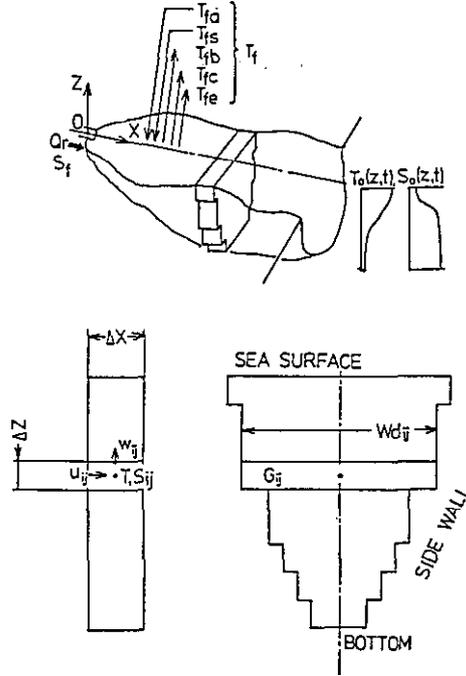


図 2 差分要素の定義及び変数の定義点

Fig. 2 Definition of the finite-difference element and the variables

卓越することが示されている。大船渡湾における諸元 ($\Delta\rho \sim 0.001 \text{ gr}\cdot\text{cm}^{-3}$, $g \sim 980 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-2}$, $f \sim 9.15 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$, $h \sim 500 \text{ cm}$)を代入すると、内部変形半径は約 2.5kmとなり、湾の幅をしのぐ。したがって、コリオリ効果は比較的弱く、c), f) が妥当であると考えられる。

上記の仮定が成立するとすれば、 x, z 方向の運動方程式、水温、塩分の輸送方程式、海水の状態方程式、連続の方程式は次のように表される。

$$\frac{\partial u}{\partial t} = -\frac{\partial p}{\partial x} + \nu_H \frac{\partial^2 u}{\partial x^2} + \nu_V \frac{\partial^2 u}{\partial z^2} - \gamma \cdot u \quad (1)$$

$$0 = -\frac{\partial p}{\partial z} - \rho g \quad (2)$$

$$\frac{\partial T}{\partial t} = -\frac{\partial(uT)}{\partial x} - \frac{\partial(wT)}{\partial z} + \kappa_H \frac{\partial^2 T}{\partial x^2} + \kappa_V \frac{\partial^2 T}{\partial z^2} \quad (3)$$

$$\frac{\partial S}{\partial t} = -\frac{\partial(uS)}{\partial x} - \frac{\partial(wS)}{\partial z} + \kappa_H \frac{\partial^2 S}{\partial x^2} + \kappa_V \frac{\partial^2 S}{\partial z^2} \quad (4)$$

$$\rho = \rho(T, S) \quad (5)$$

$$\frac{\partial u}{\partial x} + \frac{\partial w}{\partial z} = 0 \quad (6)$$

また境界条件は以下に示す。

a) 海底で水温，塩分のフラックスは存在しない。すなわち，

$$\kappa_v \frac{\partial T}{\partial z} = \kappa_v \frac{\partial S}{\partial z} = 0 \quad (7)$$

$$u = w = 0 \quad (8)$$

b) 湾奥壁でも同様に

$$\kappa_H \frac{\partial T}{\partial x} = \kappa_H \frac{\partial S}{\partial x} = 0 \quad (9)$$

$$u = w = 0 \quad (10)$$

c) 外洋側境界においては開口端の条件，すなわち

$$\frac{\partial u}{\partial x} = w = \int u dz = 0 \quad (11)$$

$$\kappa_H \frac{\partial T}{\partial x} = \kappa_H \frac{\partial S}{\partial x} = 0 \quad (u > 0) \quad (12)$$

$$T = T_0(t, z), \quad S = S_0(x, z) \quad (u < 0) \quad (13)$$

境界値の差分表現に関しては，次のように説明される。海水が湾内から流出する場合には，計1メッシュ分内湾側の水温，塩分値を与えて水平こう配が0となる条件を満たし，海水が湾外から流入する場合には外洋における観測値を与える（上流型境界条件）。ただし， $T_0(t, z)$ 及び $S_0(t, z)$ は外洋における水温，塩分の観測値からの時空間内挿値である。

d) 川口（左端最上層）において，

$$\kappa_H \frac{\partial T}{\partial x} = (T_{11} - T_{riv}) \cdot Q_r / (W_{dij} \Delta z) \quad (14)$$

$$\kappa_H \frac{\partial S}{\partial x} = S_{11} \cdot Q_r / (W_{dij} \Delta z) \quad (15)$$

$$u = Q_r / (W_{dij} \Delta z) \quad (16)$$

ただし， T_{riv} ， Q_r は，それぞれ流入する河川の水温，流量である。 T_{riv} は大気温度 T_a に等しいと仮定した。河川流入による浮力効果は，ほとんどが塩分偏差によるものであり，(12)の右辺の寄与は小さい。したがって $T_{riv} = T_a$ としたことによる誤差も問題にならない。 T_{11} ， S_{11} は湾最奥最上層差分要素 G_{11} における水温，塩分の値であり，シミュレーションの進行に従って変化

する。 W_{d11} は G_{ij} の幅である。

e) 海表面 ($z=0$) において,

$$\kappa_V \frac{\partial T}{\partial z} = -T_f \quad (17)$$

$$\kappa_V \frac{\partial S}{\partial z} = 0 \quad (18)$$

$$\frac{\partial u}{\partial z} = w = 0 \quad (19)$$

F_i は海面における熱流量 (上向き) である。また本来, (18) の右辺には海表面における蒸発, 降雨の効果も付加するべきであるが, そのオーダーも河川流入による塩分変動に比べて小さいため無視した。数値計算スキームは, 基本的には原島・渡辺(1984b)に詳述したものと同様である。このスキームは, 熱的に制御した実験水路における水平流速分布 (原島・渡辺, 1984a)を比較的よく再現した。ただし, 湾の幅を x, z について可変とした点が異なる。また, 海水の状態方程式(5)には Bryan & Cox (1972) による多項式 (S に関して1次, T に関して2次) を用いる。

2.2 浮力境界条件及び初期条件のための基礎データ処理

初期条件 $T_i(x, z)$, $S_i(x, z)$ には, 1980年10月における, 岩手県水産試験場による清水定点 (図1中, SHIZU St. で示す) と湾口防波堤直外の側点 (岩手県栽培漁業センターによる, 図1中, WANKOU St. で示す) の観測値からの内挿値を用いる。また外洋側境界の水温値には上記の栽培漁業センターの観測値を用いた。ただし, この観測には塩分の測定が含まれていないので, 外洋側の塩分値には, この観測点よりも約 10km 南方の北緯38度56分, 東経141度44分 に位置する沿岸定線椿島定期観測点 (観測層は 0, 10, 20, 30, 50m, 昭和55年水産試験研究機関海洋観測資料) によった。水温, 塩分値から浮力が決定されることを考えると, 両者のデータソースは一致していることが好ましいが, 外洋における塩分の年変動値は 0.5% 程度であり, 内湾における塩分偏差 (10% に達する) に比べて小さいため, 結果にもたらされる差異も小さいと考えられる。これらの月ごとのデータに時空間について内挿 (C1級補間, 佐藤ら, 1981) を施し, $T_0(t, z)$, $S_0(t, z)$ とした。ただし, 時間軸上の内挿点は1日ごとに, 軸上の内挿点は, Δz (2m) ごとに設ける。図3にそのコンターマップを示す。海表面における熱流量 (上向き) はさらに次のように示される。

$$T_f = -T_{fa} - T_{fs} + T_{fb} + T_{fc} + T_{fd} \quad (20)$$

右辺の各項は, それぞれ, 大気からの長波放射量, 太陽による短波放射量, 海面からの放射冷却, 海面における潜熱輸送量, 及び顕熱輸送量である。各項はさらに次のように表現される。

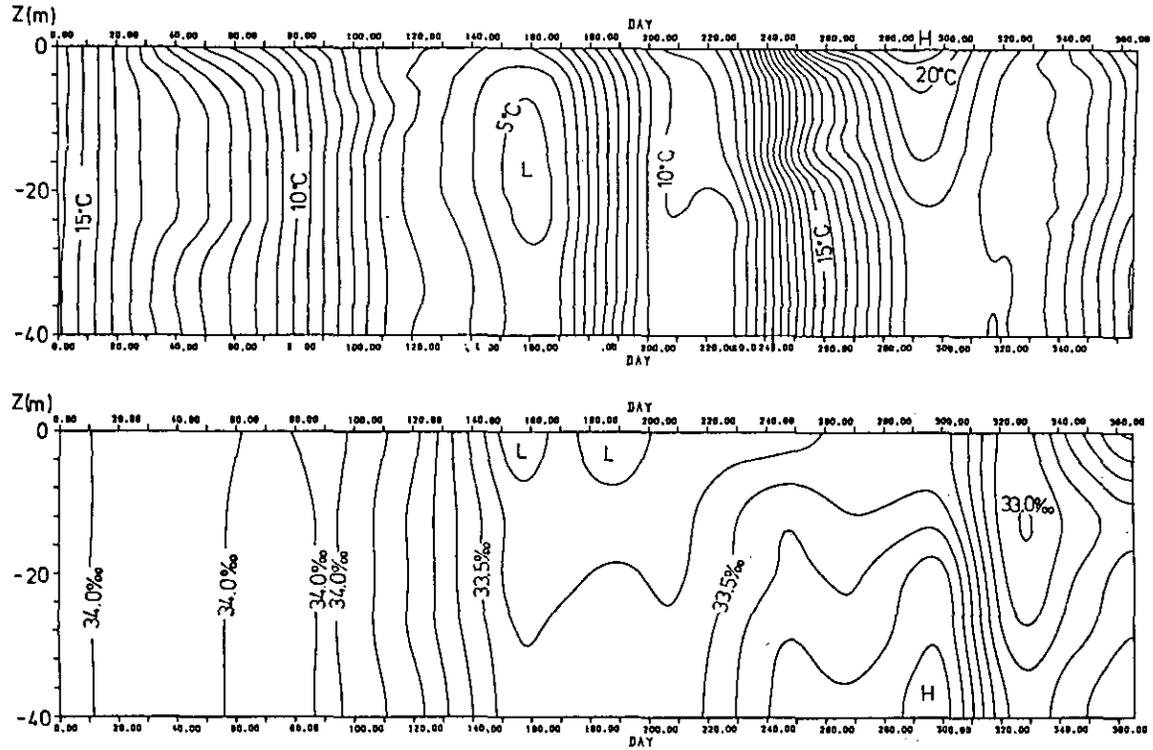


図 3 外洋側境界における水温，塩分データの時空間挿値 $T_0(t, z)$, $S_0(t, z)$ 沿岸定線椿島測点における塩分（上段）及び湾口直外の水温（下段）値。
 Fig. 3 Time-depth data assimilation of the temperature and salinity at the outer ocean side $T_0(t, z)$ and $S_0(t, z)$.
 Salinity values at Tsubakijima St. (upper figure) and temperature value at Wankou-St. (bottom figure).

$$T_{fa} = (1 - r) C_1 \sigma T_a^4 \quad (21)$$

$$T_{fb} = C_2 \sigma T_s^4 \quad (22)$$

$$T_{fe} = (E_s - E_a) F_w (V_{wind}) + c_0 \cdot (T_{sv} - T_{av})^{1/3} \quad (23)$$

$$T_{fc} = B_r \cdot F_{ta} \quad (24)$$

ここで C_1 , C_2 , σ , r , L , B_r はそれぞれ, 大気の平均的な放射比 (emissivity), 海面の放射比 (対黒体面), Stefan-Boltzman 定数, 海面の反射率, 海水の潜熱, Bowen 比を表す定数であり表 1 にその値を示す。また, T_a , T_s , V_{wind} それぞれ大気温度, 海面の水温 (シミュレーション値), 日平均風速 ($m \cdot s^{-1}$) を示す変数であり, 気象月報 (昭和55, 56年, 大船渡測候所) から一日当たりの平均量として求めた。同資料には, 大船渡の日射のデータは掲載されていないが, 宮古における一日当たりの全天日射量が記載されている。 T_{fs} には, この測定値を用いた。また (23) 式の [] 内第2項は, 水蒸気の自由対流による補正項であり, Ryan et al. (1974) によった。 T_{sv} , T_{av} は T_s , T_a より

$$T_v^* = T^* / (1 - 0.378 \cdot E^* / P_{atm}) \quad (25)$$

なる変換式で求めた実効温度 (virtual temperature) であり, E^* , P_{atm} はそれぞれ水蒸気圧, 大気圧である。また,

$$E_s = 33.78 \exp [17.62 - 5278 \cdot / (T_s + 273.3)] \quad (26)$$

$$E_a = 33.78 \exp [17.62 - 5278 \cdot / (T_a + 273.3)] \cdot R_h \quad (27)$$

は海水の飽和蒸気圧, 及び大気の蒸気圧を表す式であり, R_h は相対湿度である。

表 1 パラメータ値
Table 1 Parameter values

| | | |
|--------------|-----------------------|--|
| aa | 1.03×10^{-4} | $[ly \cdot s^{-1} \cdot mb]$ |
| ba | 0.77×10^{-4} | $[ly \cdot s^{-1} \cdot mb]$ |
| ca | 0.65×10^{-4} | $[ly \cdot s^{-1} \cdot mb \cdot ^\circ C^{-1/3}]$ |
| B_r | 0.61 | |
| ϵ_1 | 0.97 | |
| ϵ_2 | 0.97 | |
| L | 593 | $[cal \cdot gr^{-1}]$ |
| γ | 0.03 | |
| κ_H | 10^4 | $[cm^2 \cdot s^{-1}]$ |
| κ_V | 0.25 | $[cm^2 \cdot s^{-1}]$ |
| ν_H | 10^4 | $[cm^2 \cdot s^{-1}]$ |
| ν_V | 10 | $[cm^2 \cdot s^{-1}]$ |

$$F_w(W_{wind}) = a_0 + b_0 V_{wind} \quad (28)$$

は Ryanらによる風力関数の経験式である。これらの式によって算出された F_i の変化をのちに図 5 に示す。

また河川流入に関するデータは次のように定めた。建設省発行の流量年表には大船渡湾に流入する盛川は掲載されていない。そこで、気象月報による降水量に流域面積（約 150km²）を乗ずることによって算出した。ただし、降水に対する河川流量の応答については、同様に東北地方から太平洋に流出し、同程度の流域面積を持つ鳴瀬川水系（流量年表、測流地点 21119, 流域面積 197.2 km²）に相当するようなタイムラグを考慮した。また、河川の水温は当日の平均気温に等しいと仮定した。また問題となるのは降水量から蒸発散をどの程度差し引いたものを流出量とするかである。これについても十分な資料はないが、樞根(1973)は、岩手大演習林において 0.58, 十和田湖周辺において 0.80 程度の流出率を提示している。したがって本研究においては、これらの値を参考にし、1/3 の蒸発散量を見積もり、降水量に 2/3 のファクターをかけたものを河川流量とした。河川水流入が負の塩分補給としてどの程度の寄与をもっているかを、 S_f で表す。ただし、 S_f は、湾の幅が 1km の時に、単位時間、単位湾幅 1cm に流入する河川水が排除する塩分の量であり単位は %・cm²・s⁻¹ である。

2.3 渦動パラメータ値

(20) のような定式化においては、 κ_H , κ_U , ν_H , ν_U に代表されるような、いわゆる渦動拡散あるいは、粘性パラメータが含まれる。これらの値は、現場の乱流状態と、それによって運ばれる物質や運動量の相関を反映したものである(Niiler & Kraus, 1977)。したがって、分子拡散・粘性係数などの物性定数と異なり、一意的に求めることはできないし、基礎的な物理量に依存する関数形としての定式化も確立されていない。

水平拡散係数 κ_H が水平スケールに依存し、4/3 乗則にほぼ合致することが、いくつかの染料拡散実験で示されている。 κ_H が本研究の差分要素スケールまでの乱れを代表しているとすれば、大久保(1970)の図より $10^3 \sim 10^4 \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ 程度であることが予測される。また、 κ_U については、G.I. Taylor の定理に基づいて流れの自己相関関数から算出する方法がある。和田・角湯(1976)は、この方法で瀬戸内海における海峡部と灘部の κ_H のオーダーを見積もり、それぞれ $10^5, 10^4 \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ という値を提出している。我々は、三陸海岸に属し、大船渡湾と同様な空間スケールを持つ気仙沼湾において、夏季に流速測定を行った(原島・渡辺, 1982)。その結果、このような海域では潮汐流の絶対値が比較的小さく、 $10 \sim 20 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ 程度であった。したがって、本シミュレーションにおいては、上記2系統の推論から $10^4 \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ という値の選択が妥当であると考えられる。 ν_H の値もこれに準ずる。また、湾の側壁における摩擦係数 γ は次のように ν_H から派生的に見積もった。単位深度当たりの水平質量輸送 $\rho u W_{dij}$ が、湾の中心線上で $2u$,

側壁に接するところで 0 の流速値を持つような y 方向の分布をしているとすれば、この流速こう配と ν_H から、両側壁の存在による y 方向の摩擦項が $2\nu_H(2u/(W_{dij}/2))/W_{dij}$ のオーダーであることが見積もられる。このことは、方向の粘性項の差分表現で $8 \cdot \nu_H$ を粘性係数とみなした場合に対応する。したがって $\gamma = 8 \times 10^4 / W_{dij}$ が得られる。これらは非常に大まかな見積もりであるが、物質の水平輸送に関するかぎり、移流過程が渦動拡散過程に卓越することが知られており、結果に重大な差異をもたらすことはないと考えられる。

鉛直渦動拡散についても定式化が確立していない点は同様である。安定成層状態における κ_v については、従来、リチャードソン数に依存する形の評価式が提出されてきた (Officer, 1976)。最近、Garrett (1984) は、いくつかの κ_v の評価式と観測例をレビューし、 $\kappa_v = cN^{-q}$ 、 $q \sim 0$ 、(1)、 c は状況設定による係数、 $N = \sqrt{-g(d\rho/dz)/\rho_0}$ は Väisälä 周波数) の形の評価式を提出した。この形の評価式が確立すれば、計算ステップ、各差分要素毎に鉛直成層度を計算し κ_v にフィードバックさせることにより、モデルの精密化をはかることができるだろう。ただし、本研究においては、可能なかぎり簡潔な設定を計るため、次のような定数としての κ_v 、 ν_v を見積もった。安定成層時には、湾口防波堤よりも奥の躍層以深では、4 で示す観測値 (及び、3 で示すシミュレーション結果においても) N^2 は $10^{-4} \sim 10^{-3}$ の程度である。Lewis & Perkin (1982) の塩分収支によるデータ解析では、この帯域において κ_v は 0.1~0.5 と見積もられている。したがって、我々のモデルでは 0.25 という値を用いた。表層付近では κ_v はより大きな値をもつが、ここでは水平移流効果が鉛直拡散よりも卓越して働くと考えられる。したがって、 κ_v のアンダーエスティメートが計算結果に深刻な欠陥をもたらすことはないと考えられる。

鉛直渦動粘性 ν_v については、大久保 (1970) の表に示された海域上層の κ_v 値からの類推により、 $10 \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ というオーダーを選択した。

さらに、冬期の密度不安定成層時の鉛直対流混合を κ_v 、 ν_v にどのように反映させるか問題がある。このファクターについては、Munk & Anderson (1948)、Mellor & Durbin (1975) などのパラメーターライゼーションが知られているが、両者の差異が大きい。たとえば、 Ri が -1 の時に、前者では無限大近くの値を予測しているのに対し、後者では安定成層時の 1.5~2 倍程度である。したがって、この過程については、今後、制御実験系におけるデータからの裏付けか、乱流強度モデルによる予測が必要になる。本研究においては、安定成層時の ν_v よりも 1 オーダー大きい κ_v 、 ν_v の値を用いた。

3 シミュレーションの結果

以上のような計算条件のもとに、1980年11月1日から1年分の数値積分を行った。計算結果のうちで、水温、塩分、水平流速、鉛直流速、海面熱フラックスの各要素、塩分フラックスの値を1日ごとに磁気テープに記録し、以後の解析に用いた。図4に60日ごとの鉛直循環の流線、水温分布、塩分分布を示す。ただし、流線関数は流速に差分要素の y 方向の幅 W_{dij} を乗じた流量に

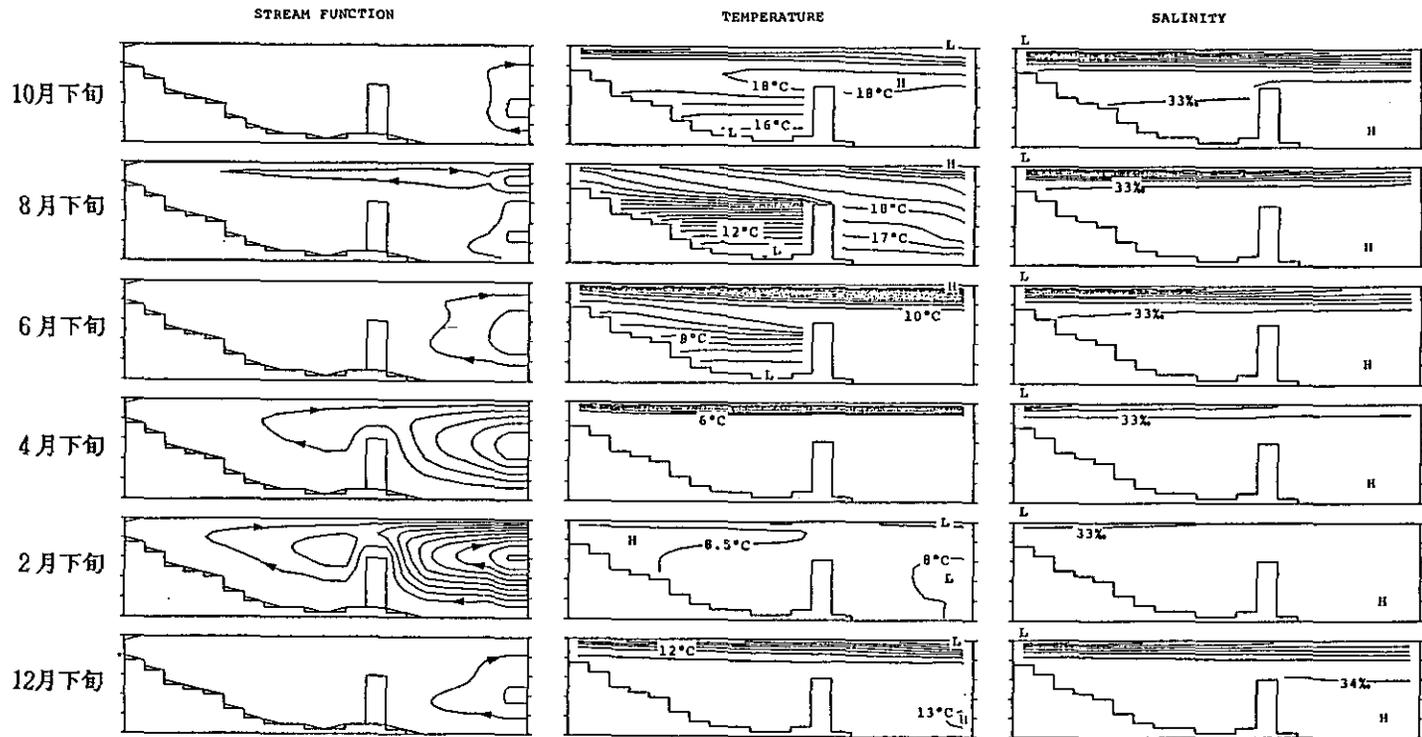


図 4 鉛直循環流量流線, 水温, 塩分の各鉛直断面分布の 60日ごとの時間変化
 コンター間隔はそれぞれ $100\text{t}\cdot\text{s}^{-1}$, 0.5°C , 1‰ 。

Fig. 4 Transition of the distribution of stream function (integrated over the cross-channel width), temperature, salinity at every 60days
 Contour intervals are $100\text{ t}\cdot\text{s}^{-1}$, 0.5°C , 1‰ respectively.

関して求めたものであり、コンターの間隔は $100\text{t}\cdot\text{s}^{-1}$ の質量輸送を表す。これらの図からは、分布パターンが日時の経過と共に著しく変化しているのが読み取れる。

3月中旬（150日目）までは、海面冷却のため、表層が下層よりも低温となる。ただし、河口からの淡水負荷が塩分に関して安定なセンスの成層を形成しており、密度に関して安定成層を維持している。密度偏差に対しては、塩分偏差のほうが水温偏差よりも寄与が大きい。この時期では、鉛直循環流の流線が、外洋から湾内に流入した後に海底を通ることが示されている。

この時期における、淡水流入、海面冷却という条件は、冬期の紀伊水道にみられるような熱塩前線が現れる必要条件である（Endoh, 1977; Harashima et al., 1978）。しかしながら、本シミュレーションにおいては、そのような熱塩前線が現れなかったことが注目される。

4月中旬（180日）以降は、海面が加熱されるため、塩分による安定成層化に加えて、水温による安定成層化が進行するようになる。ここで興味深いのは、冬期には流線が底層まで達していたのに対し、夏季、すなわち 210日以降は湾口防波堤開口部の深度より深くには達しない。そして、夏季には防波堤以奥の下層に σ_t の高い（重い）水がダムにせきとめられたように停留している。この部分の安定成層に寄与しているのは水温の偏差である。

これらの鉛直循環のパターンには、湾口防波堤上での開口部（幅 200m, 深さ 16m）で、ほぼ $100\text{t}\cdot\text{s}^{-1}$ のオーダーの表層流出、中層流入の交換流量が表現されている。この表層流出量あるいは交換流量を Q_e とする。この流量は開口部の流速にして $10\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$ ほどの規模である。 Q_e は河川流量 Q_r の規模よりもはるかに大きい。したがって、このシミュレーション結果に表現された交換流量は、河川流入による“押し出し流れ”でないことは明らかである。

以上のパターンの変化を見るかぎり、図に示した60日間隔よりも短い時間スケールの変動が存在しそうである。この様子を見るために、湾内の清水定点に対応する格子点（ $i=6$ ）における水温、塩分の鉛直分布の時間方向の変化を図5に示した。また、これらの図に並行して、海面総熱流量 T_f 、川口における負塩分負荷量 S_f 、鉛直循環流量 Q_e の時間変化も示す。

図5から判断できることは、低塩分層の形成が降雨の時間間隔に対応して起こることである。そして、形成された低塩分層も数日～10日程度の時間スケールの消長が顕著に起こることである。この低塩分層30%以下の領域と考えれば、その厚さは 2～3m であるといえる。低塩分層は、夏季にはほぼ連続して存在しているが、90～130日（1981年2月頃）に微弱となる。表層の塩分低下が著しいのは、梅雨時（6月中旬～下旬、220～240日）や秋季の台風時（9月下旬、330日付近）及び秋雨時（8月下旬、290～300日）であり、特に台風時には 20% 台になることもある。また、海水交換量の消長は、河川による塩分負荷量の消長と強い相関を示している。

図5から判読できることは以下のようなものである。計算開始から2月下旬（120日頃）までは、水面冷却を反映して、表層が低温化してゆく。この水温逆転期間中でも、1月下旬（90日）を境にして、質的な変化が起こっている。90日以前では、比較的強い水温逆転（2～3℃）が起こっている。これは、表層の塩分による安定成層が、海面冷却による水温逆転を支えている（対流混合の到達

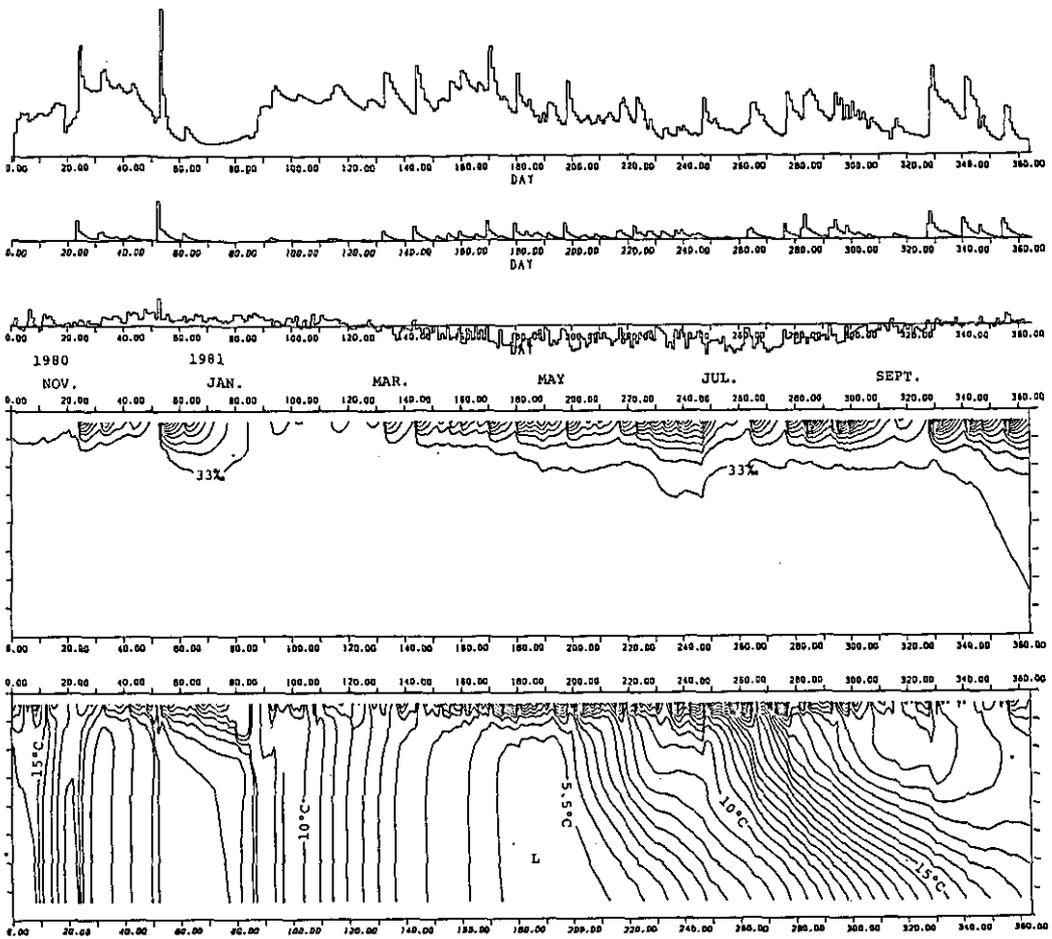


図 5 シミュレーション結果の清水定点における水温・塩分の時空間変化
鉛直下向きに深さm, 右向きに日時(1980年11月1日を第1日とする)の
軸を設ける。また、上段は、鉛直循環による、湾口防波堤開口部付近の
海水交換量 Q の日変化を示す。さらに、河口における、負塩分負荷 S_f ,
海面熱フラックス T_f も示す。

Fig. 5 Time-space distribution of water temperature and salinity at
Shizu St. in the results of numerical simulation
The coordinates show the depth (vertically downward) and the day
counted from November 1st, 1980 (right-ward).
The upper figures show the variation of the water exchange Q ,
negative salinity discharge at the river mouth S_f ,
sea surface heat flux at the sea surface T_f .

深度を上層のみにとどめている)からである。これに対し、90日以降では、降雨による塩分成層が微弱になるため、対流混合がより深い部分まで進行してしまう。したがって、現出する水温逆転は比較的弱い(0.5~1℃)。このような冬期の熱塩循環流のパターンは、1月下旬を境にして、図6の(A),(B)のように模式的に示される。

3月中旬(130日)以降では海面が加熱されるようになる。この結果、表層から高温となってゆくが、下層では低温化が進んでおり、下層が水温の最低値(5.5℃)を示すのは180日前後(4月末~5月初め)である。これは次のような理由による。図3にも示されるように、外洋の水温変動は、その熱容量が大きいため、気象要素に対して常にタイムラグをもっている。このため、内湾において局所的に海面加熱を受けるような春季においても、中層から流入してくる外洋水は依然として低温化してゆく。

海面が加熱される状態は320日(9月下旬)頃まで継続する。この間海水は次第に暖められてゆく。ただし、深度によって高温化の特性が異なる。表層の3m付近までは、比較的速やかに高温化する部分であるが、同時に時間スケールの小さい変動も見られる。したがって、この層の水温は日射をはじめとする海面境界過程に直接影響を受けていることがわかる。これに対し、その

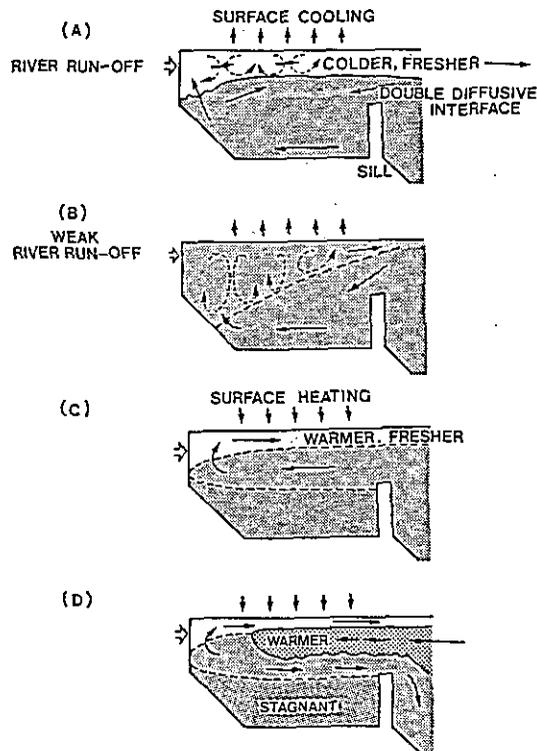


図 6 熱塩循環流の季節によるパターン変化の模式図

Fig. 6 Schematic diagram of the thermohaline circulation patterns

下の水面下 15m 付近までは、コンターが直立している。したがって、この層では、上方からの熱の伝達よりも、側方からの暖水流入により、水温が変化していることが推定される。これは図 3 において外洋が高温化するのに伴って、この層における昇温が起きていることによっても支持される。この層は湾口防波堤の開口部に対応する部分である。さらにその下から海底までの層の水温上昇の特性はまた異なっている。この部分では、水温のコンターが時間の経過とともに比較的ゆっくりと下降してゆく。その速さは、ほぼ 1 月に 10m 程度である。図 4 から判別がつくように、この領域では夏季の安定成層時には鉛直循環流による移流がみられない。したがって、熱の輸送が鉛直拡散のみによって担われていることが推測される。そして、上記のコンターの下降は、熱の鉛直拡散的な移動によって説明される。夏季における熱塩循環流のパターンは、図 6 の(C)のように模式化される。このパターンは横山(1981)によってリモートセンシング画像から推定されたものとも一致する。

(A)及び(C)は、従来の緩混合型エスチャリーという呼称に対応するものである。ただし、熱と塩分の両方が浮力決定に関与している点で、より詳細な分類が必要であると考えられる。また(D)は、前述のように、外洋に高温の水塊が現れるために、ロックエクステンジ型の海水交換が起こることを示す。このパターンについては、既に永田(1982)による指摘も行われている。

なお、330日付近(9月下旬)からは、海面の冷却に伴い、表層の水温逆転が再び現れる。この時、底層にはまだ低温水が存在し、中層が最も高温となる。

4 数値シミュレーション結果と観測値の比較

一般に、モデルの検証をする際に、どのレベルまで原型の観測値と合致しなければならないかということには、問題の性質による任意性が伴う。また、フィールドにおける観測値自身、サンプリング間隔が幅を持つことによる現象の欠陥、及びエイリアシングによる誤差を含み得るし、たまたまとらえた突発的な現象によるデータ値が、ある時間幅全体の代表値となる可能性もある。したがって、モデルの検証は、すべての計算値と観測値が定量的に一致することを意図するのではなく、モデルの合目的性のチェックのレベルにとどめる。本研究においては、序にも述べたように、内湾の生態系に特にかかわるところの、水温、塩分の成層状況の再現が目標となっている。河川水が希釈・湾外排出の過程を経てどれだけ湾内に滞留しているかは、出現する塩分値のレベルに再現されている。したがって、計算結果の塩分値がほぼ観測値と合致していれば、もう一つの目的であるところの海水交換量がほぼ再現されていると推測される。

3 で一部紹介したように、岩手水産試験場により、湾内の清水定点において、年間 40 回程の詳細な水温、塩分及び栄養塩のサンプリングが行われている(測定深度: 0, 2, . . . , 22m)。本節では、図 6 で示したシミュレーションの結果をこの観測値の時空間変化と比較することを試みる。2. 2 で示したと同様な内挿法により、清水定点におけるデータを格子点上に割り振り、図 7 に示す。コンターの間隔は図 5 と等しく、1‰, 0.5℃である。観測の行われた月日に▼で示

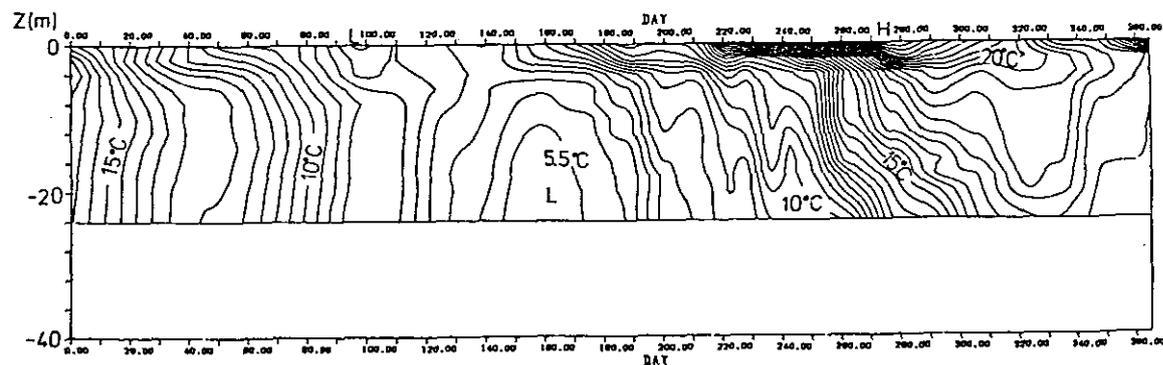
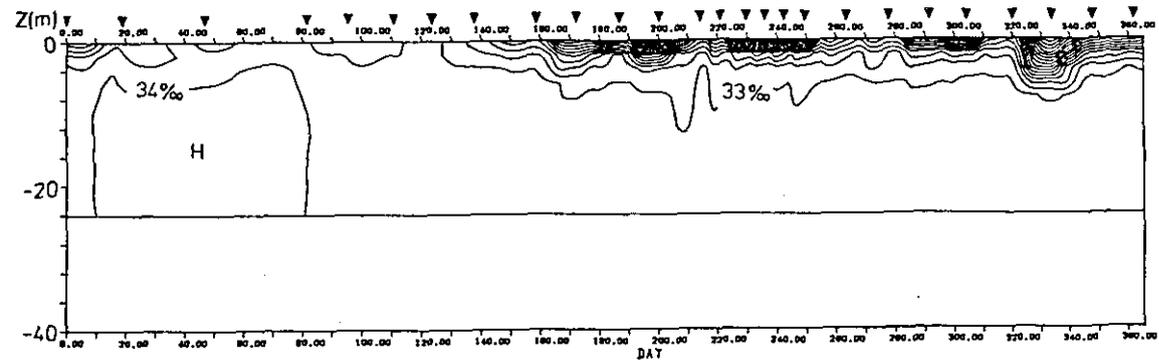


図 7 清水定点における水温，塩分観測値の時空間内挿図

観測実施日時を▼で示す（岩手県1981a, 1982aの資料による）。

Fig. 7 Time-depth interpolation of the observed water temperature and salinity

▼ shows the days on which observations are performed (After the obserbation by Iwate Prefecture 1981a, 1982a).

す。ただし、シミュレーションにおける水温、塩分値が差分要素の中心(1, 3, 5, 39m)で定義してあったのに対し、清水定点データの内挿値は差分要素の上辺(0, 2, m)で定義した測定深度と等しくとってある。

まず図7(a)に現れた特性は次のようである。シミュレーション結果に表現された、2月下旬までの表層水温逆転は、この観測結果にも現れている。しかも、水温逆転の特性が、1月下旬~2月上旬の間に変化していることも観測結果に現れている。すなわち3で述べた“塩分成層に支えられた水温逆転”から“下層まで達する対流混合”への転換などに関しては、原型の特性がシミュレーションの結果に再現されていると考えられる。

また図7(b)では、図5に表現されていた25日、55日付近の低塩分層が現れていない。気象のデータからみれば、観測日時の間にはかなりの降雨があり、間欠的にはあるが多量の河川水が流入したことは確かであると考えられる。したがって、両者の差異は、間欠的に形成された低塩分層が、観測結果に現れていないことによるものと考えられる。

また、下層における水温の最低値は、160日付近(4月中旬)の約5℃であり、シミュレーション結果は時期的にやや遅れるものの、ほぼこの値に近い。

加熱期において、水温上昇の特性により、上層(0~3m付近)、中層(十数m 付近まで)、下層(それより以深、海底まで)に分けられることは、この観測値によっても支持される。やや異なる点は次のようである。中層における水温が、図5においては200~220日(5月下旬~6月上旬)、250~280日(7月上旬~8月上旬)において比較的連続的に上昇しているのに対し、図7(a)においては195日(4月中旬)、230日(6月中旬)、255日(7月中旬)付近で不連続的に上昇している。この不連続的な水温上昇は、図6(D)に模式的に示したように、ロックエクステンジ型の海水交換によると考えられるのは前述のとおりである。したがって、原型に現れていた現象の急激性が、シミュレーション結果ではやや鈍らされてしまったといえるだろう。この原因は、外洋側での水温の境界条件が、1か月ごとのデータの内挿値であることによる。したがって、将来的に、外洋側データのサンプリング間隔が短くなれば、この差異は解消されるであろう。

5 結論と今後の問題

以上のシミュレーションの結果及び観測結果による検証から、大船渡湾の物理的環境の特性に関して、次のようなことが結論づけられる。

- i) 熱塩循環流のメカニズムにより、湾内の水温、塩分成層、鉛直循環のパターンが決定されている。年を通じて、河川流入によって軽くなった水が上層を經由して外洋に流出してゆく、いわゆる緩混合エスチャリー型の分布が維持されている。そして、このパターンは、河川流入、海面熱フラックス及び外洋水温等の浮力境界条件の差異により、さらに四つに分類される。

海面冷却期には、表層に水温逆転を生ずる。この場合、水温による不安定成層が塩分に

よる安定成層に支えられて、比較的表層に留まる場合(A)と、塩分安定成層を凌駕して、流混合が深部に達する場合(B)がある。

夏季には、海面加熱のために、水温に関しても安定成層となる(C)。また、外洋の水温が比較的急に上昇するときには、外洋水が、中層から流入し、下層で流出する、いわゆるロック・エクステンジ型の海水交換が行われる(D)。

- ii) 表層の低塩分層の消長は、降雨-河川流入にセンシティブであり、その結果、数日程度の時間スケールを持つ。
- iii) 熱塩循環流の過程による、湾外との交換流量は、湾口防波堤開口部付近で、 $100\text{t}\cdot\text{s}^{-1}$ 程度の値を示す。この値は河川流入量のオーダー($2\text{t}\cdot\text{s}^{-1}$)よりもはるかに大きい。
- iv) 海面加熱期には、湾口防波堤よりも奥の深層に、低温で密度の大きい海水が滞留する。
- v) 湾口防波堤よりも奥では、深度により、水温上昇に三つの型がある。表層は局所的な海面加熱(日射)で、中層は外洋からの暖水流入で、防波堤開口部以深では上方からの熱の乱流拡散で暖められる。

本研究で述べた数値シミュレーション手法によって、大船渡湾の水温、塩分及び鉛直循環流からなる、基本的な物理的環境が再現された。そして、典型的な四つのパターンが得られたことにより、各パターンについて、Harashima & Watanabe (1986)で行ったような実験的解析、すなわち、海水交換量等の求めるべき量を、外部パラメータの無次元積から予測するという方向性が見いだされた。

今後、シミュレーションの精密化を計るという観点からは、次のようなモデルの高度化及び基礎データの整備が要求されるだろう。

a) 外洋環境条件に供するデータの時間に関する高密度化

外洋条件の急変に対応してロック・エクステンジ型の急激な海水交換が起こる場合(パターン(D))、観測結果に比べて、数値シミュレーション結果では、表現された現象の急激性が鈍化されていることがわかった。(大船渡湾よりもやや北に位置する大槌湾においては、四亀(1980)により、流向と水温が数時間の間に変化することが報告されている)。この差異は、本シミュレーションの外洋境界において、水温、塩分の1か月間隔の観測値を用いたことに起因する。今後、衛星画像等により、時間的に密度の高いデータが得られればこの問題はある程度まで解決されると思われる。

b) 潮汐流との相互作用

本モデルでは潮汐流を陽には表現していない。したがって、将来的には、潮汐流と熱塩循環流の両方を陽に解くモデルの開発が望まれる。ただし、大船渡湾のようにアスペクト比(水平規模/鉛直規模)が非常に大きくはない湾に関しては、次のような推論から、熱塩循環流を陽に表現するだけで、基本的な流動環境は表現されるのではないかと考えられる。

潮汐流の寄与は、ごく単純化すれば以下のように見積もられるだろう。大船渡における M_2 分

潮の振幅 A として約 40cm が得られている。湾口防波堤よりも奥の湾の面積 S は約 7km^2 である。1 潮汐サイクルごとに、 $2AS$ の体積の海水が出入りするとすれば、単位時間当たりの海水交換量 Q_i は、 $2AS/12\text{h} = 1.3 \times 10^8 \text{cm}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ と見積もられる。この量は、図 5 に示された Q_e とほぼ同程度である。ただし熱塩循環流速の鉛直分布に関しては組織性が強く、常に上層で流出、中層で流入の流向を持ち、 Q_e がそのままの形で湾内の水を更新していたのに対し、潮汐で流入した海水は、その一部が湾内に残るものの、一部は再び湾外に排出されるから、実際の海水交換に寄与するのは Q_i にあるファクターがかかったものである。特に、上潮時に湾内に流入した海水は湾口付近に留まっている可能性が強く、下げ潮時に湾外に排出される可能性も強いといえる。潮汐残渣還流等による湾内の海水移動が顕著でないかぎり、この傾向は強い。以上のような推測から、 Q_e にかかるファクターは 1 よりかなり小さいと考えられる。そして、 Q_e と Q_i が同程度であれば、 Q_e のほうが実質上の海水交換に果たす役割は大きいと推測される。

事実、横山(1981, 1985) によるリモートセンシング画像によれば、湾口防波堤付近で、下潮時、上潮時ともに湾奥から湾外に表層水が流出する様子が見られる。したがって、水平流速の鉛直分布は潮時が異なっても維持されているようである。

c) 乱流輸送の取り扱い

本数値シミュレーションにおいては、乱流渦による運動量及び物質の移動は、すべて定数としての乱流粘性、拡散係数によって表現した。現在、いくつかの研究により、これらの乱流輸送過程を、何らかの仮定によって、閉じた形でモデルに組み込む試みが行われている。将来的には本数値シミュレーションも、クロジャー・モデルに発展させたいと考える。

謝 辞

本研究の過程で貴重な助言を頂いた、東京大学海洋研究所大槌臨海センターの四亀信行氏、岩手大学工学部の横山隆三教授、東北大学の花輪公雄氏、貴重なデータを提供して頂いた岩手県とデータ送付に御協力頂いた岩手県栽培漁業センターの煙山彰氏、水産庁東海区水産研究所の上原進氏に深謝致します。また、データ内挿用サブルーチン・パッケージを送って頂いた名古屋大学大型計算機センターと、同プログラムの稼働に御協力頂いた、日本情報サービスの松山政弘氏、国立公害研究所電算機管理室の中條悦造室長と猪爪京子係長に感謝致します。

記 号 表 Nomenclatures

Alphabetical symbols

| | |
|-----------------|--|
| a_0, b_0, c_0 | constants in the wind function for calculating evaporation |
| B_r | Bowen ratio |
| C_1 | average emittance of the atmosphere |

| | | |
|-------------|---|---------------------------------------|
| C_2 | average emittance of the sea surface (relative to the black body) | |
| E_a | water vapor pressure in the air | [mb] |
| E_s | saturation vapor pressure due to sea surface temperature | [mb] |
| F_w | empirical wind function for the bulk evaporation law | |
| f | Coriolis parameter | [s ⁻¹] |
| G_{ij} | finite difference grid element | |
| L | latent heat of the sea water | [cal·gr ⁻¹] |
| N | Vaisala frequency | [s ⁻¹] |
| Q_s | water exchange at the opening of the sill | [cm ³ ·s ⁻¹] |
| Q_r | river runoff | [cm ³ ·s ⁻¹] |
| r | reflectance of the sea surface | |
| R_h | relative humidity | [%] |
| Ri | Richardson number | |
| S | salinity | [‰] |
| $S_i(x, z)$ | initial salinity distribution | [‰] |
| $S_0(t, z)$ | salinity boundary value at the outer ocean side | [‰] |
| S_f | negative salinity discharge at the river mouth | [‰·cm ² ·s ⁻¹] |
| T | water temperature | [°C] |
| T_a | air temperature | [°C] |
| T_s | sea surface temperature | [°C] |
| T_{av} | virtual air temperature | [°C] |
| T_{sv} | virtual sea surface temperature | [°C] |
| $T_i(x, z)$ | initial water temperature distribution | [°C] |
| $T_0(t, z)$ | temperature boundary value at the outer ocean side | [°C] |
| T_{riv} | temperature of the inflowing river | [°C] |
| T_f | total upward heat flux at the sea surface | [lys ⁻¹] |
| T_{fa} | atmospheric (long wave) radiation | [lys ⁻¹] |
| T_{fb} | back (long wave) radiation | [lys ⁻¹] |
| T_{fc} | conductive (sensible heat) flux | [lys ⁻¹] |
| T_{fd} | evaporative (latent heat) flux | [lys ⁻¹] |
| T_{fs} | short wave (sun) radiation | [lys ⁻¹] |
| u | x-ward velocity of the water movement | |
| w | z-ward velocity of the water movement | |
| x | longitudinal coordinate | |
| y | transverse coordinate | |
| z | vertical coordinate (positive upward) | |
| Δx | longitudinal scale of the finite difference element G_{ij} | |
| Δz | vertical scale of the finite difference element G_{ij} | |
| W_{dij} | cross-channel scale of the finite difference element G_{ij} | |

Greek symbols

| | | |
|--|---|---|
| γ | side wall friction coefficient | [s ⁻¹] |
| κ_H | eddy diffusivity (horizontal direction) | [cm ² ·s ⁻¹] |
| κ_V | eddy diffusivity (vertical direction) | [cm ² ·s ⁻¹] |
| ν_H | eddy viscosity (horizontal direction) | [cm ² ·s ⁻¹] |
| ν_V | eddy viscosity (vertical direction) | [cm ² ·s ⁻¹] |
| ρ | density of sea water | [gr·cm ⁻³] |
| σ | Stephan-Boltzman constant | [ly·s ⁻¹ ·K ⁻⁴] |
| σ_T | sigma-T | [10 ⁻³ gr·cm ⁻³] |
| $\omega_x (= \partial w / \partial y - \partial v / \partial z)$ | x-component of vorticity | [s ⁻¹] |
| $\omega_y (= \partial u / \partial z - \partial w / \partial x)$ | y-component of vorticity | [s ⁻¹] |
| $\omega_z (= \partial v / \partial x - \partial u / \partial y)$ | z-component of vorticity | [s ⁻¹] |

引用文献

- Bryan, K. and M.D. Cox (1972): An approximate equation of state for numerical models of ocean circulation. *J. Phys. Oceanogr.*, 2, 510-514.
- Endoh, M.(1977): Formation of the thermohaline front by cooling of the sea surface and inflow of the fresh water. *J. Oceanogr. Soc. Jpn.*, 33, 6-15.
- Fischer, H.B. (1972): Mass transport mechanisms in partially stratified estuaries. *J. Fluid Mech.*, 53, 671-687.
- Gargett, A.E. (1984): Vertical eddy diffusivity in the ocean interior. *J. Mar. Res.*, 42, 359-393.
- Harashima, A., Y. Oonishi and H. Kunishi (1978): Formation of water masses and fronts due to density-induced current system. *J. Oceanogr. Soc. Jpn.*, 34, 57-66.
- Harashima, A. and Y. Oonishi (1981): The Coriolis effect against frontogenesis in steady buoyancy-driven circulation. *J. Oceanogr. Soc. Jpn.*, 37, 49-59.
- 原島 省・渡辺正孝(1982): 夏季気仙沼の流動特性. 1982年度日本海洋学会春季大会講演要旨集, 3-4.
- 原島 省・渡辺正孝 (1984a) : 内湾における重力対流の実験的研究. 国立公害研究所研究報告, 第63号, 135-165.
- 原島 省・渡辺正孝(1984b): 実験系における重力対流の数値モデル. 国立公害研究所研究報告, 第63号, 167-183.
- Harashima, A. and M. Watanabe (1986): Laboratory experiments on the steady gravitational circulation excited by cooling of the water surface. *J. Geophys. Res.*, 91, C11, 13056-13064.
- 岩手県(1981a): 岩手県資料
- 岩手県(1981b): 昭和55年度岩手県水産試験場年報, 257p.
- 岩手県(1982a): 岩手県資料.

- 岩手県(1982b): 昭和56年度栽培漁業センター事業報告書, 174p.
- 榎根 勇(1973): 水の循環. 水文学講座3, 共立出版.
- 気象庁(1980;1981): 気象月報
- 建設省河川局(1981,1982): 流量年表, 河川協会.
- 国司秀明・宇野木早苗(1977): 内湾の海況. 海洋環境の科学, 第2章, 堀部純男(編), 東大出版会, 49-91.
- Lewis, E.L. and R.G. Perkin (1982): Seasonal mixing processes in an Arctic fjord system. *J. Phys. Oceanogr.*, 12, 74-83.
- Mellor, G.L. and P.A. Durbin (1975): The structure and dynamics of the ocean surface mixed layer. *J. Phys. Oceanogr.*, 5, 718-728.
- Munk, W.H. and E.A. Anderson (1948): Notes and theory of thermocline. *J. Mar. Res.*, 7, 276-295.
- 名古屋大学大型計算機センター(1982): 不規則分布2変数関数データに対するCk級補間法TRIPCKライブラリー・プログラム利用の手引, 138-139.
- 永田 豊(1982): 湾内水温の急変現象と外洋条件, 沿岸海洋研究ノート, 19(2), 103-111.
- Niiler, P.P. and E.B. Kraus (1977): One-dimensional models of the upper ocean. In: Modelling and prediction of the upper layers of the ocean, E.B. Kraus (ed.), Proceedings of a NATO Advanced Study Institute, Pergamon Press, 143-172.
- Officer, C.B. (1976): Physical Oceanography of Estuaries. John Wiley & Sons, Inc..
- 大久保明(1970): 海洋乱流・拡散, 海洋科学基礎講座1, 東海大学出版会, 265-381.
- Ryan, P.J., D.R.F. Harleman and K.D. Stolzenbach (1974): Surface heat loss from cooling ponds. *Water Resour. Res.*, 10, 930-938.
- 四亀信行(1980): 大槌湾における流速測定. 沿岸海洋ノート, 18, 1-8.
- 佐藤義雄・二宮市三(1981): 不規則分布2変数関数に対するCk級補間法. 情報処理学会論文, 22(6), 581-588.
- 水産庁(1983): 昭和55年水産試験研究機関海洋観測資料.
- 横山隆三(1981): リモートセンシングによる大船渡湾の海水交換機構の解明. 日本リモートセンシング学会誌, 1, 1-33.
- 横山隆三(1985): リモートセンシングによる水質環境調査. p.69.
- 和田 明・角湯正剛(1974): 瀬戸内海における流況と分散特性. 第21回海岸工学講演論文集, 297-302.

鞭毛藻による生物対流の数値モデルを用いた周期～非周期振動への遷移現象の解析
Transition from Periodic to Non-periodic Oscillation Observed in a Mathematical
Model of Bioconvection by Motile Micro-organisms*

藤田真一¹・渡辺正孝²

Shin-ichi FUJITA¹ and Masataka WATANABE²

要 旨

基礎方程式として、ナビエーストークス式のブジネスク近似式と遊泳能力を持つ微生物の拡散方程式との結合モデルを用いて、遊泳能力を持つ微生物の生物対流を数値シミュレーションにより解析した。生物対流におけるレイリー数の増加に伴い、静止状態から定常な対流パターンへの遷移が観測された。さらに、生物対流系は、レイリー数の増加に伴い、単一周期の振動状態から周期倍分岐を繰り返し最後にはカオスとなる一連の遷移を行うことが見いだされた。これらの結果は、ベナール対流の場合と類似している (Fujita & Watanabe, 1986)。

Abstract

Bioconvection observed in a culture of motile micro-organisms was analyzed numerically. The governing equations are the Navier-Stokes equations

*本論文は Fujita, S. and Watanabe, M. (1986)により *Physica D*, 20, 435-443 に発表された論文の一部をまとめたものである。

Part of this paper was appeared in *Physica D*, 20, (1986) 435-443 by Fujita, S. and Watanabe, M.

1. 昭和57～60年度 国立公害研究所 客員研究員 (大阪府 生活環境部 〒540 大阪府東区大手前之町)

Visiting Fellow of the National Institute for Environmental Studies. Present Address: Life Environment Division of Osaka Prefectural Government, Osaka 540, Japan.

2. 国立公害研究所 水質土壌環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2

Water and Soil Environment Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

with the Boussinesq approximation and a diffusion equation for the motile micro-organism. A transition from a static condition to periodic oscillation was observed according to the increase of the Rayleigh number. It was found that the system of bioconvection could be led into chaotic conditions via a single-frequency oscillatory behavior to a sequence of period-doubling bifurcations by increasing the Rayleigh number, which is analogous to Bénard convection.

1 序 論

Heterosigma akashiwo Hada (Raphidophyceae) は、フィールドや実験室において鉛直移動を行う。この種の12時間-12時間の明暗サイクルにおける培養実験において、細胞体は照射を行う前に上昇を開始し、表層に集積する。そして、照射を止める前に下降を開始し、底層に集積する。正または負の走光性が鉛直移動の主な原因であると言われてきている。しかしながら、明暗サイクルと移動とが連動して起こっていないことは、内因性のものまたは概日周期がこれら微生物の鉛直移動の制御因子として存在することを示唆している。

高さ 40cm, 幅 10cm, 厚さ 3cm のガラス容器を用いて $f/2$ 倍地で *H. akashiwo* の無菌培養 (OHE-1, 大阪湾から採取) を行った (Watanabe & Harashima, 1982)。ここで、昼光蛍光灯で照度 3000 lx 12時間-12時間の明暗サイクルの照射を行い、温度は $(21 \pm 1)^\circ\text{C}$ に保った。照射中、*H. akashiwo* は鉛直移動により、表層に集積する。この種の培養において、指状のすじが垂れ下がる (falling finger) 顕著な空間パターンが観測された。3次元的な対流現象において、水平方向のパターンは、容器の深さとプランクトンの密度に依存して、水玉模様から網状へと変化する (Watanabe & Harashima, 1982)。同様な現象は、*Tetrahymena pyriformis* 及び *Euglena gracilis* などの微生物にも見られ (Loeffler & Mefferd, 1952 ; Winet & Jahn, 1972), 生物対流と呼ばれている (Platt, 1961)。

H. akashiwo の密度こう配遠沈法で測定した比重は、1.10~1.15 であり (Watanabe, 1982), 細胞体は常に培地より重い。それ故、生物の多い層は深い層よりわずかながら密度が大きい。上昇速度は、およそ 1m/h と想定され (Watanabe & Harashima, 1982), 対流はこの微生物の上方への遊泳により常に保たれている。

Plesset らは、Rayleigh-Taylor instability 理論を用いて対流の成起を説明した (Plesset & Winet, 1974 ; Plesset et al., 1976)。彼らは生物の多い層を高密度の流体、生物の少ない層を低密度の流体とみなし、高密度の流体が低密度の流体の上層にある 2層流体として解析している。彼らは、最も早く成長するモードが、対流パターンの観測されている空間スケールに一致することを見いだした。

近年になって、下方から過熱された薄い流体層の挙動 (ベナール対流) の研究が広範囲に行われている。容器の縦横比 (アスペクト比) プラントル数及びレイリー数の違いにより乱流へ至

$$\rho \frac{d\mathbf{u}}{dt} = -\nabla p - \rho g(1 + \alpha c)\mathbf{k} + \mu \nabla^2 \mathbf{u} \quad (1)$$

$$\nabla \cdot \mathbf{u} = 0 \quad (2)$$

ここで、 \mathbf{u} は流体速度、 g は重力定数、 μ は粘性係数、 p は流体の圧力であり、 \mathbf{k} は、垂直方向の単位ベクトルである。また、 c に関する保存式は、次のとおりである。

$$\frac{dc}{dt} + \nabla \cdot \mathbf{J} = 0 \quad (3)$$

$$\mathbf{J} = c\mathbf{U}\mathbf{k} - \kappa \nabla c \quad (4)$$

ここで、 U は微生物の上昇速度であり、 κ は微生物の拡散係数である。

境界条件として、現実の実験条件に近い状況を考慮して、上部の境界は自由境界、側面の境界条件は固定境界であるとした。すなわち、次のとおりである。

$$w = \frac{\partial^2 w}{\partial z^2} = 0, \quad \frac{\partial u}{\partial z} = 0, \quad cU - \kappa \frac{\partial c}{\partial z} = 0 \quad \text{at } z = 0 \text{ and } 0 < x < L \quad (5)$$

$$w = \frac{\partial w}{\partial z} = 0, \quad u = 0, \quad cU - \kappa \frac{\partial c}{\partial z} \quad \text{at } z = -H \text{ and } 0 < x < L \quad (6)$$

$$\frac{\partial w}{\partial x} = 0, \quad u = 0, \quad \frac{\partial c}{\partial x} = 0, \quad \text{at } x = 0, x = L \text{ and } -H < z < 0 \quad (7)$$

U_0 と κ_0 が x, y, t , に依存せず、さらに $\mathbf{u} = 0$ とした場合の (1) ~ (7) 式の平衡解は、Childress ら(1975)により、次のように得られている。

$$K(z) = c_0 \exp(U_0 z / \kappa_0) \quad (8)$$

ここで、 c_0 は、 $z=0$ における平衡濃度である。有効な上層厚は、次の式で与えられる。

$$h = \kappa_0 / U_0 \quad (9)$$

ここで、容器の深さと有効な上層厚との比を表す無次元パラメータ λ を次のように定義する。

$$\lambda = H/h \quad (10)$$

これらのパラメータを用いて、次のような無次元変数を導入する。

$$\begin{aligned} t^* &= U_0 h^{-1} t, \quad \mathbf{u}^* = U_0^{-1} \mathbf{u}, \quad p^* = (h/\mu U_0)(p + \rho g z) \\ c^* &= c_0^{-1} c, \quad \kappa^* = \kappa_0^{-1} \kappa, \quad r^* = h^{-1} r, \quad \bar{U}^* = U_0^{-1} U \end{aligned} \quad (11)$$

これにより、(1)~(7)式は次のように無次元化できる。

$$\sigma^{-1} \left(\frac{\partial u^*}{\partial t^*} + u^* \frac{\partial u^*}{\partial x^*} + w^* \frac{\partial u^*}{\partial z^*} \right) + \frac{\partial p^*}{\partial x^*} = \nabla^2 u^* \quad (12)$$

$$\sigma^{-1} \left(\frac{\partial w^*}{\partial t^*} + u^* \frac{\partial w^*}{\partial x^*} + w^* \frac{\partial w^*}{\partial z^*} \right) + \frac{\partial p^*}{\partial z^*} = -Ra \cdot c^* + \nabla^2 w^* \quad (13)$$

$$\text{div } \mathbf{u}^* = 0, \quad (14)$$

$$\frac{\partial c^*}{\partial t^*} + \mathbf{u}^* \cdot \nabla c^* + \bar{U}^* \frac{\partial c^*}{\partial z^*} - \kappa^* \nabla^2 c^* = 0 \quad (15)$$

$$w^* = \frac{\partial^2 w^*}{\partial z^{*2}} = 0, \quad \frac{\partial u^*}{\partial z^*} = 0, \quad c^* \bar{U}^* - \kappa^* \frac{\partial c^*}{\partial z^*} = 0 \quad \text{at } z^* = 0 \text{ and } 0 < x^* < L/h \quad (16)$$

$$w^* = \frac{\partial w^*}{\partial z^*} = 0, \quad u^* = 0, \quad c^* \bar{U}^* - \kappa^* \frac{\partial c^*}{\partial z^*} = 0 \quad \text{at } z^* = -\lambda \text{ and } 0 < x^* < L/h \quad (17)$$

$$u^* = \frac{\partial w^*}{\partial x^*} = 0, \quad \frac{\partial c^*}{\partial x^*} = 0 \quad \text{at } x^* = 0, \quad x^* = L/h \text{ and } -\lambda < z^* < 0 \quad (18)$$

ここで、

$$\sigma = \nu / \kappa_0 \quad (19)$$

$$Ra = g a c_0 h^3 / \nu \kappa_0 = g a \kappa_0^2 c_0 / \nu U_0^3 \quad (20)$$

ここで、 σ 及び Ra は、それぞれ生物対流系におけるプラントル数及びレイリー数であり、レイリー数 Ra は、流体の安定性を決定する上で重要なパラメータとなる（以後の表現においては*印を省略する）。

次のように流れ関数 ψ と渦度 ω を導入する。

$$u = \frac{\partial \psi}{\partial z}, \quad w = -\frac{\partial \psi}{\partial x} \quad (21)$$

$$\omega = \frac{\partial w}{\partial x} - \frac{\partial u}{\partial z} \quad (22)$$

これにより、(12)~(18)式は、次のように記述される。

$$\frac{\partial \omega}{\partial t} + u \frac{\partial \omega}{\partial x} + w \frac{\partial \omega}{\partial z} = \sigma \left(\frac{\partial^2 \omega}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 \omega}{\partial z^2} \right) - \sigma \cdot Ra \frac{\partial c}{\partial x} \quad (23)$$

$$\frac{\partial^2 \psi}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 \psi}{\partial z^2} = -\omega \quad (24)$$

るルートが多様に存在することが、理論的に提唱され (Lorenz, 1963 ; Maclaughlin & Martin, 1975; Yahata, 1982; Feigenbaum, 1979), また実験的にも裏付けられている (Gollub & Benson, 1980, Gilio et al., 1981)。

Childress らは、ナビエーストークス式のブジネスク近似式と遊泳する微生物の拡散方程式 (Keller & Segel, 1970) とを連立させた基礎方程式を用いて、走光性を持つ微生物のパターン形成モデルを展開させた (Childress et al., 1975 ; Levandowsky et al., 1975)。このモデルは、ベナール対流の数理的なアナロジーであった。ベナール対流と生物対流の基本的な違いは次のとおり、1)ベナール対流は、外部から強制的に与えられた温度こう配により対流が生じるの比べ、生物対流においては、生物の自発的な上昇運動により表層の密度が低層の密度より高くなることによって生じる密度不安定性に起因して対流が起こり、そして、この対流は、下降流より沈降した生物が再び上昇することにより常に保たれている、2)ベナール対流の場合、対流パターンが生じる臨界的なレイリー数に対応するパターンの波長は有限値であるのに比して、生物対流ではレイリー数が小さくなるに従って対応する対流パターンの波長は大きくなり、ある有限のレイリー数において対応する波長は無窮大となる。

筆者らは、Childressら(1975)の導出した基礎方程式に基づく数値シミュレーションにより、生物対流系においてもベナール対流系と同様に、レイリー数の増加に伴い、静止状態から定常パターンへの分岐が生じ、さらに定常パターンから周期的な振動状態に分岐することを示した。また、アスペクト比が3、プラントル数が10のケースについて、周期的な振動状態から周期倍分岐を経て非周期的な振動状態へ至ることを示した。ガラーキン法を用いて熱対流系の偏微分方程式を流速と温度のモードに関する常微分方程式に変換することにより、ベナール対流系に対して、周期的な振動への分岐の存在について、数値的に解析している例がある (Yahata, 1982)。しかし、本論では簡単に、有限差分法により基礎方程式を数値的に解くことにした。ベナール対流系のシミュレーションを行う手法として、多くの種類の有限差分法があるが (Fromm, 1965; Lipps, 1976; Grötzbach, 1982), ここでは Fromm(1965) に準じて、生物対流系の基礎方程式を数値的に解いた。

2 基礎方程式

本論では、表面 $z = -H, 0$, 側面の境界 $x = 0, L$ に囲まれた一様な流体からなり、その中には大量の微生物が懸濁している2次元的な水槽を考える。流体の密度は ρ_0 で表され、微生物で満たされる体積部分 (微生物の濃度) を $c(x, z, t)$, 懸濁物の密度は $\rho(1 + \alpha c)$ で表す。ただし、 $\alpha = \rho_0 / \rho - 1$ である。

懸濁物の運動量と連続の式は、次のようにブジネスク近似式で与えられる (Childress et al., 1975)。

$$\frac{\partial c}{\partial t} + u \frac{\partial c}{\partial x} + (w + \bar{U}) \frac{\partial c}{\partial z} = \kappa \nabla^2 c \quad (25)$$

$$w = \frac{\partial u}{\partial z} = 0, \quad \omega = 0, \quad \psi = \psi_r \text{ (fixed number)}, \quad c\bar{U} - \kappa \frac{\partial c}{\partial z} = 0, \\ \text{for } z = 0 \text{ and } 0 < x < L/h \quad (26)$$

$$u = \frac{\partial \psi}{\partial z} = 0, \quad \omega = -\frac{\partial u}{\partial z}, \quad \psi = \psi_r \text{ (fixed number)}, \quad c\bar{U} - \kappa \frac{\partial c}{\partial z} = 0, \\ \text{for } z = -\lambda \text{ and } 0 < x < L/h \quad (27)$$

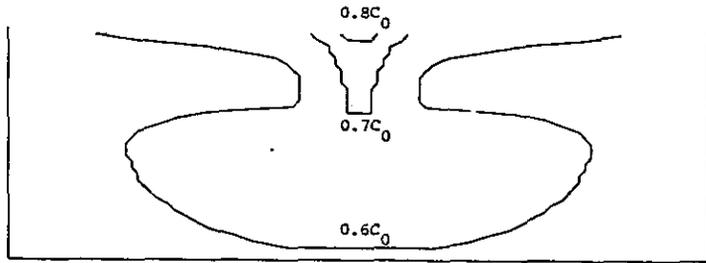
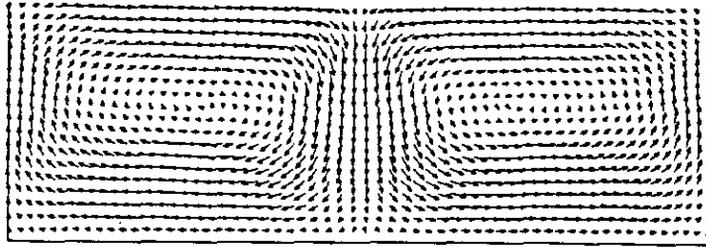
$$\omega = -\frac{\partial u}{\partial z}, \quad u = 0, \quad \psi = \psi_r \text{ (fixed number)}, \quad \frac{\partial c}{\partial x} = 0, \\ \text{for } x = 0, \quad x = L \text{ and } -\lambda < z < 0 \quad (28)$$

3 解析結果

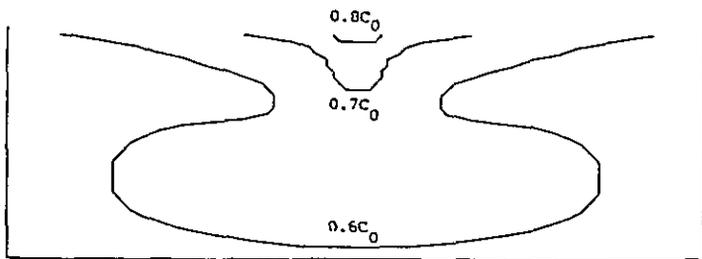
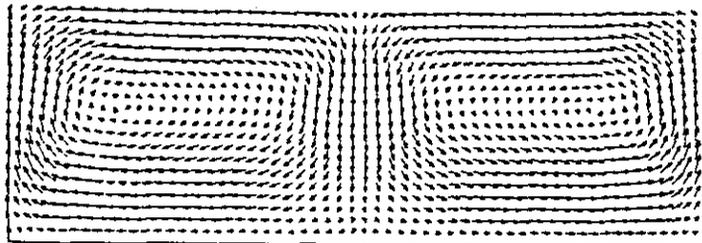
基礎方程式と境界条件(23)~(28)式に対し、有限差分近似を行う、すなわち、変量 ω , ψ , u , w は格子点又は、格子内の点における値として記述される。ここでは、Fromm (1965)に従って、空間的な Staggered grid 法を適用する。空間と時間の差分については、中心差分を用いる。全変量は、任意の時間 t で既知であるとし、(23)式と(25)式を用いて、微少な時間後 ($t + \Delta t$) の ω と c の値を求める。そして、新しい時間 ($t + \Delta t$) における流れ ψ を(24)式を用いて算出する。(24)式を解くため、 ψ の値が境界条件を満たす無矛盾な値となるまで、繰り返し計算を行う。流速は、(21)式から得ることができる。本論では、2次元格子について、 $\kappa = 1$, $U = 1$, $\lambda = 1$, $\sigma = 10$, 空間間隔 $dx = dz = 0.05$, 時間間隔 $dt = 0.00005$ なる値について解いている。

初期条件として、全系が静止している状態から始めた。レイリー数 Ra が臨界値 $\overline{Ra_c}$ を超えると、図1に示すように、最大波長 L/H の対流パターンが形成される。臨界レイリー数 $\overline{Ra_c}$ は、容器(計算領域)のアスペクト比(又は、臨界波長) L/H に依存する。臨界レイリー数と $\lambda = 1$ の場合のアスペクト比との関係を図2に示す。ベナール対流の場合、 $\overline{Ra_c}$ が最小となる波長 L_c/H の値が有限であるのに比べて、生物対流の場合には、臨界 $\overline{Ra_c}$ は波長が大きくなるに従って漸近的に減少し、波長が無限大の極限で一定値 $\overline{Ra_c}$ に漸近する。この一定値 ($\overline{Ra_c} = 195.9$) は、Childressら (1975)の解析結果と一致している。しかし、この値は表面及び底面とも自由境界であるとして得られた値である。

Ra の変化に伴う対流の振幅モードの時間変化を調べるため、 $L/H = 3\lambda$ に固定して (23)~(24) 式の数値積分を行った。図2に示すように、臨界レイリー数 $\overline{Ra_c}(3\lambda)$ は、 $L/H = 3\lambda$ のケースで



(A) TIME = 4.835h/U. $r = 74.3$



(B) TIME = 4.845h/U. $r = 74.3$

図 1 $r = 74.3$ の場合の2次元生物対流

Fig.1 Two-dimensional structure of bioconvection in the case of $r=74.3$

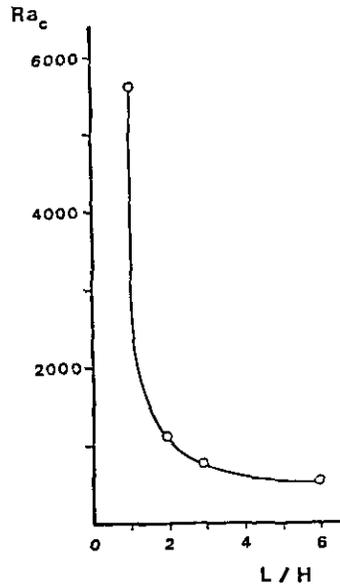


図 2 $\lambda = 1$ の場合の臨界レイリー数と臨界波長の関係
 Fig.2 Relationship between the critical Rayleigh number and the critical wavelength for the case of $\lambda = 1$

700である。今後、 $r = Ra / \sqrt{Ra_c(3\lambda)}$ を生物対流のパラメータとして採用する。 u 、 w 及び c の時系列データは時間ステップごとに得られている。計算領域中の点 $A(1.9h, 0.5h)$ における濃度 c に対する FFT パワー・スペクトル密度 $P(f)$ を図3に示す。ここで、離散フーリエ変換の間隔は、 $\Delta f = 39.1 \cdot U/h(\text{Hz})$ である。同じ点 A における対流の時間変動を c 、 u 、 w の3次元位相空間の軌道の $(u(t), v(t))$ 平面への射影図として示したのが、図4である。 $r = 68.5$ において、流速と濃度は時間的に変動するようになるが、この変動は良く知られた単一周期の振動モードである。 $r = 74.3$ と $r = 91.4$ のケースにおけるスペクトルを図3a及びbに示すが、 f_1 とその高調波のところで鋭いピークを持っている。図4a及びbに $r = 74.3$ 及び $r = 91.4$ における $(u(t), w(t))$ 平面への軌道図を示す。これらの軌道図は、固定点 (\bar{u}, \bar{w}) 回りのリミットサイクルを意味している。ここで、 \bar{u} 及び \bar{w} は定状状態における流速である。時間変化に伴う生物対流パターンの空間的な変化の様相は、図1aとbに示すとおりである。

レイリー数が $r = 97.9$ まで増加すると、倍周期への分岐 (subharmonic bifurcation) が起こり、運動は二重周期状態となり、スペクトルに $f_1/2$ の整数倍のピークが見られるようになる(図3c参照)。それ故、図4cに示す軌道図は、幅が広がりバンド状のサイクルとなる。この二重周期状態もまたレイリー数の増加に伴い不安定となり、 $r = 98.6$ でスペクトルに $f_1/4$ が現れる(図3d参照)。さらに、 $r = 102.9$ まで増加すると、スペクトルのピークラインは広がり、ノイ

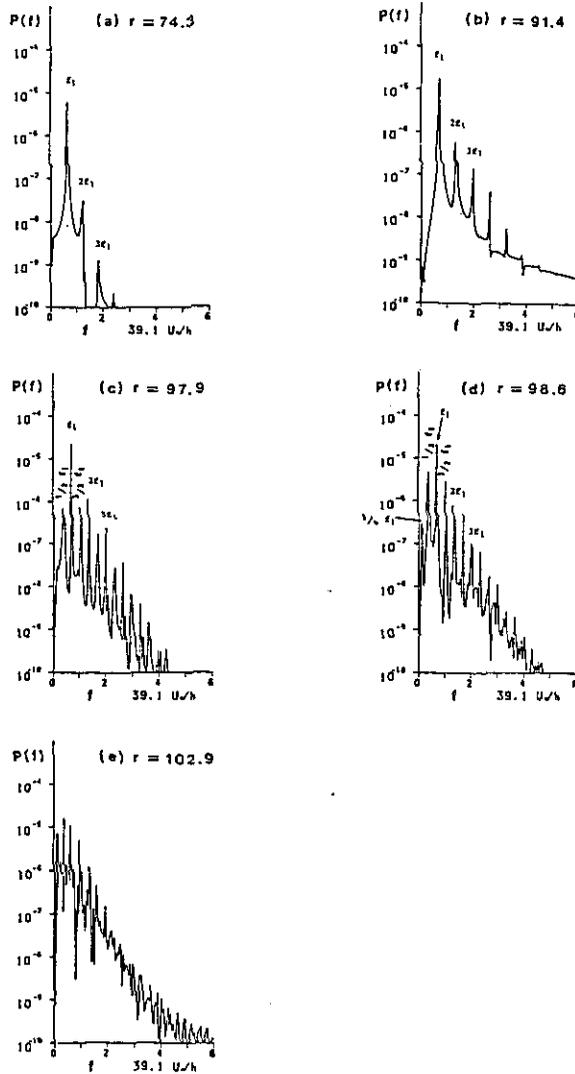


図 3 任意の点での細胞濃度のパワースペクトル

- a) 周期 f_1 をもつ単一周期の振動
- b) 周期 f_1 をもつ単一周期の振動
- c) 倍周期 ($f_1/2$ 整数倍) への分岐の出現
- d) $f_1/4$ 整数倍周期の出現
- e) 非周期的運動

Fig.3 Power spectra of the local cell concentration

- a) The basic periodic oscillation occurs at the frequency labeled f_1 ,
- b) the basic periodic oscillation and its harmonics grow,
- c) the subharmonic ($f_1/2$) occurs,
- d) a new subharmonic component ($f_1/4$) is visible,
- e) the motion becomes non-periodic.

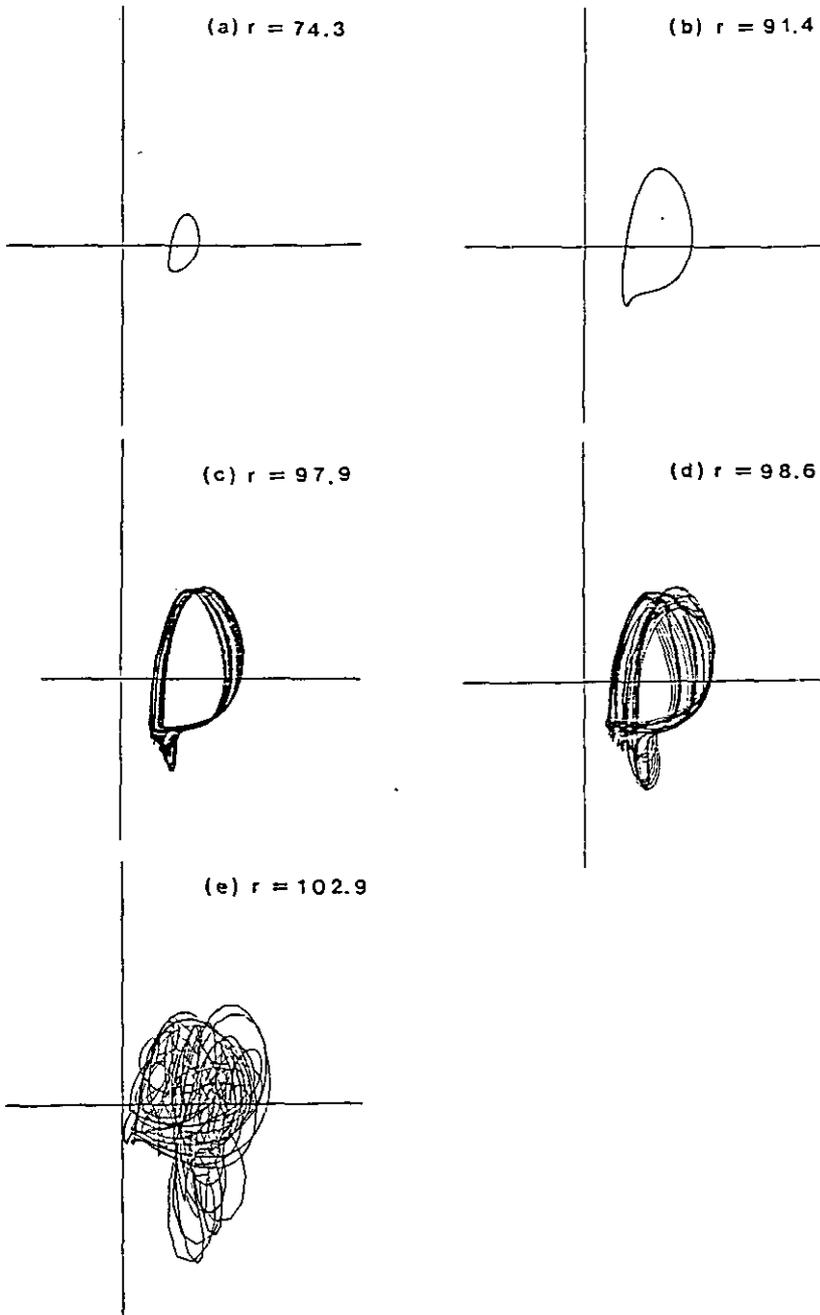


図 4 $(u(t), w(t))$ 表面への軌道図 $u(t), w(t)$ は点 $A(1.9h, 0.5h)$ における流速

Fig.4 Orbital profiles in the subsurface $(u(t), w(t))$ in which $u(t)$ and $w(t)$ are defined at a point $A(1.9h, 0.5h)$

ズレベルも一様に高くなり、ほとんど非周期的な状態となる(図3e 参照)。この非周期的な流れを乱流の発生と考えることができる。図4e にランダムで不規則な軌道を示す。レイリー数の増加により、スペクトルのピークは目立たなくなり、構造のないスペクトルとなる。これらの結果は、生物対流系はレイリー数の増加に伴い、単一周期の振動状態から周期倍分岐を経てカオスとなることを示唆しており、これはベナル対流の場合と類似している (Feigenbaum, 1979; Gollub & Benson, 1980; Gilio et al., 1981)。

4 考察

生物対流は、遊泳能力のある微生物が表層に集積し、密度の低い流体層の上に密度の高い流体層が重なることによる密度不安定性によって生じる。本論では、Childress ら(1975)により提唱された生物対流の基礎方程式に基づいて、その時間展開を調べた。その結果、生物対流系は、レイリー数の増加に伴い、定常状態から単一周期の振動状態、単一周期の振動状態から周期倍分岐を繰り返し最後にはカオスとなる一連の遷移を行うことが示された。これらの結果は、外部から強制的に与えられた温度こう配によって起こされた熱的な不安定性により生じるベナル対流の場合と類似している。しかし、生物対流は、生物の自動的な運動により不安定性が生じるという点で、ベナル対流とは本質的に異なる。生物と流体が相互作用を行う系が、最終的にカオスとなるという現象は、生物と流体(すなわち生物とそれが生息する環境)との相互作用により多様な現象が出現する自然界の諸現象の解析という観点からも興味深いものであり、このような現象を明らかにしたのは、著者が知る限り本論が最初の仕事であるといえる。

謝 辞

本研究を進めるに当たって、種々の有益な議論をしていただいた広島大学理学部の三村昌泰教授及び国立公害研究所水質土壌環境部の原島省博士に深謝致します。

引用文献

- Childress, W. S., M. Levandowsky and E. A. Spiegel (1975): Pattern formation in a suspension of swimming microorganisms: equations and stability theory. *J. Fluid Mech.*, 63(3), 591-613.
- Feigenbaum, M. J. (1979): The onset spectrum of turbulence. *Phys. Lett.*, 74(6), 375-378.
- Fromm, J. E. (1965): Numerical solutions of the nonlinear equations for a heated fluid layer. *Phys. Fluids*, 8(10), 1757-1769.
- Fujita, S. and M. Watanabe(1986): Transition from periodic to non-periodic oscillation observed in a mathematical model of bioconvection by motile micro-organisms. *Physica D.*, 20, 435-443.

- Gilio, M., S. Musazzi and U. Perini (1981): Transition to chaotic behavior via a reproducible sequence of period-doubling bifurcations. *Phys. Rev. Lett.*, **47**(4), 243-246.
- Gollub, J. P. and S. V. Benson (1980): Many routes to turbulent convection. *J. Fluid Mech.*, **100**(3), 449-470.
- Grötzbach, G. (1982): Direct numerical simulation of laminar and turbulent Bénard convection. *J. Fluid Mech.*, **119**, 27-53.
- Keller, E. F. and L. A. Segel (1970): Traveling bands of chemotactic bacteria : a theoretical analysis. *J. Theor. Biol.*, **30**, 235-248.
- Levandowsky, M., W. S. Childress, E. A. Spiegel and S. H. Hutner (1975): A mathematical model of pattern formation by swimming microorganisms. *J. Protozool.*, **22**(2), 296-306.
- Lipps, F.B. (1976): Numerical simulation of three-dimensional Bénard convection in air. *J. Fluid Mech.*, **75**(1), 113-148.
- Loeffer, J. B. and R. V. Mefferd (1952): Converging pattern formation by free-swimming microorganisms. *Am. Natl.*, **86**, 325-329.
- Lorenz, E. N. (1963): Deterministic nonperiodic flow. *J. Atmos. Sci.*, **20**, 130-141.
- MacLaughlin, J. B. and P. C. Martin (1975): Transition to turbulence in a statically stressed fluid system. *Phys. Rev. A.*, **12**(1), 186-203.
- Platt, J. R. (1961): 'Bioconvection patterns' in cultures of free-swimming microorganisms. *Science*, **133**, 1766-1767.
- Plesset, M. S. and H. Winet (1974): Bioconvection patterns in swimming microorganism cultures as an example of Rayleigh-Taylor instability. *Nature*, **248**, 441-443.
- Plesset, M.S., C.G. Whipple and H. Winet (1976): Rayleigh-Taylor instability of surface layers as the mechanism of bioconvection in cell cultures. *J. Theor. Biol.*, **59**, 331-351.
- Watanabe, M. (1982): The diurnal variations in the cell densities of *Olisthodiscus luteus* and *Skeletonema costatum*. *Res. Rep. Natl. Inst. Environ. Stud.*, **30**, 143-154.
- Watanabe, M. and A. Harashima (1982): Bioconvection in culture of *Olisthodiscus luteus* and Rayleigh-Taylor instability. *Res. Rep. Natl. Inst. Environ. Stud.*, **30**, 155-173.
- Winet, H. and T. L. Jahn (1972): On the origin of bioconvective fluid instabilities in *Tetrahymena* culture systems. *Biorheology*, **9**, 87-94.
- Yahata, H. (1982): Transition to turbulence in the Rayleigh-Bénard convection. *Prog. Theor. Phys.*, **68**(4), 1070-1080.

生物対流パターンの遷移過程

Transition Processes in the Pattern of the Bioconvection

原島 省¹・渡辺正孝¹・藤代一成^{2,3}Akira HARASHIMA¹, Masataka WATANABE¹ and Issei FUJISHIRO²

要 旨

鞭毛藻培養液中に形成されるフィンガー状の集積パターンについて、前報（原島ら、1985）では、微生物の上方遊泳を陽に考慮した数値実験を行い、現実の集積パターンをよく再現する結果を得た。本報では、これらのパターン、特に対流セルの水平スケールがどのような力学的機構によって決定されるのかを議論する。そのために、系の総ポテンシャルエネルギー $P.E.$ 、励起された対流の総運動エネルギー $K.E.$ を求め、 $(K.E., P.E.)$ の位相空間上での状態変化の軌跡を解析した。その結果、次のようなことが示される。対流が励起されつつある状態では、形成されるフィンガーは一過性で現象はレイリー・テイラー不安定現象に類似する。この時の卓越波数は、全水深には依存せず表面集積層の特性のみで決まる。さらに時間が経過すると系は $P.E.$ を減じ、しかも $K.E.$ を増大する方向へ遷移する。この過程で対流セルの個数は減り、最終的にはベナード・レイリー対流と類似したアスペクト比を持つ状態が現れる。これらのパターンの変化は、対流系が微生物を下方

-
1. 国立公害研究所 水質土壌環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Water and Soil Environment Division, the National Institute for Environmental Studies. Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
 2. 昭和58年度 国立公害研究所共同研究員(筑波大学電子情報工学系 〒305 茨城県新治郡桜村天王台1-1-1)
Visiting Fellow of the National Institute for Environmental Studies. Present Address: Institute of Information Science and Electronics, Tsukuba University, Sakura-mura, Niihari-gun, Ibaraki 305, Japan.
 3. 現住所: 東京大学理学部 〒113 東京都文京区本郷7丁目3番1号
Present Address: Faculty of Science, the University of Tokyo, Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113, Japan.

に移流し全ポテンシャルエネルギーを最小にするのに最適なモードを選択するという作業仮説により説明される。ただし、系の遷移には履歴現象が伴い、粘性効果が大きい場合には、系が本来最適なアスペクト比を持つ対流系に達しないことがあった。また、全水深が大きく鉛直拡散時間が大きい場合には現象が間欠的になり、微生物が表層に集積してゆく時期とフィンガーを形成しつつ下降してゆく時期が現れた。下降期にはそのつどレイリー・テイラー不安定現象が現れた。

Abstract

Several cases of numerical experiments were carried out on the pattern formation of the bioconvection in the nonlinear range, which is observed in the culture of motile aquatic microorganisms. The numerical results revealed new features concerning how the bioconvective system evolves and how the numbers of falling fingers (or the horizontal wave numbers of the convection cells) are selected in each stage of the evolution. At the onset of convection, the wave number is determined from the characteristics of the upper sublayer. The dynamical regime in this stage is analogous to that of the Rayleigh-Taylor instability. Then the readjustment of the wave number occurs as the adjacent convection cells are combined with each other. The trajectory in (total kinetic energy, total potential energy) space shows that evolution of the system proceeds in the direction of intensifying the downward advection of microorganisms and reducing the total potential energy of the system. Finally the system reaches a stationary state, where the wave number is selected so that the aspect ratio of the convection cells would make the potential energy as small as possible. Two cases showed certain deviation of trajectories from this selection principle. In the case where diffusion time of the system was large, the system showed a remarkable oscillations and the Rayleigh-Taylor instability intermittently occurred. In the case where viscous effect was large, the system stopped evolving before it reached the optimum mode.

1 序

水よりも比重の大きいプランクトンが上方に遊泳して表層に密集するために励起される流れ、すなわち生物対流現象については、Robbins (1952), Loeffler et al. (1952), Wille & Ehret (1968), Winet et al. (1972), Plesset and Winet (1974), Harada (1976) などの培養実験による研究が報告される一方、Platt (1961), Plesset & Whipple (1974), Plesset et al. (1976) による流体力学的な研究が進められ、Childress et al. (1975) による線型安定性を議論した解析的モデルが提出されるに至っている。しかしながら生物対流現象が水域生態系においてどのような役

割を果たしているかについてはまだ明らかにされてはいない。しかもその基礎となる流体力学的記述に関しても現象が非線型領域に達すると（励起された流速が無限小とみなせなくなり、実際に微生物を移流させるようになると）数学的解析の手段が無くなってしまうのが現状であった。

一方、渡辺・原島（1982）は、鞭毛藻 *Heterosigma akashiwo* の培養液中にも、生物対流現象によるフィンガーが見られること、またフィンガーの間隔あるいは水平波数（単位水平長当たりのフィンガーの個数）が、現象をレイリー・テイラー不安定現象とみなした時の予測値と合致することを示した。また、原島ら（1985）は、微生物の上方遊泳を陽に含む数値モデルを作成した。その結果、非線型過程をも考慮しつつ、培養系で観察されるフィンガーの特性を再現することができた。

ここで、実際の培養系における *H. akashiwo* によるフィンガーの分布を観察すると、興味ある事実が存在することがわかる。たとえば前報中（原島ら、1985）の図5、6、7の写真によると培養液の深さが比較的浅い場合（数mm程度）には、フィンガーの間隔は水深が大きいくほど広い。この様子は、対流セルのアスペクト比が最適となるように水平サイズが決まるというベナード・レイリー対流の特性と合致する。ところが深い培養液中では、いくら水深が大きくなっても、フィンガーの間隔はそれほど広がらず、レイリー・テイラー不安定のメカニズムから予測される値と合致する。すなわち、対流の水平波数は全水深に無関係に、上層のみの特性に規定される。この過程は渡辺・原島（1982）の解析と合致する。ただし、レイリー・テイラー不安定とは、相対的に重い上層の流体が下方に転落してゆく過程であるから、本来的に一過性であり、このメカニズムのアナロジーのみで生物対流全般を説明するのには無理がある。

本報告では、微生物が絶えず上方に遊泳して位置エネルギーを補給するのに対して、重力は常にそれらを下方に引きとどめようとする相克的な状態が生物対流現象の巨視的な表現であると考へ、次のような解析を行った。すなわち、数値モデルの計算結果において、現象の変遷を運動エネルギー $K.E.$ 、位置エネルギー $P.E.$ の位相空間上における状態の変化の軌跡として表現する。これにより、対流系が $P.E.$ をより小さくする方向に自律的に遷移してゆき、その過程で異なるモードが順次選択されてゆくことが示される。初期の対流が励起される時点では、その水平波数 a と成長率 γ が Childress et al. (1975) による線型不安定理論の予測に一致し、レイリー・テイラー不安定とみなされる。また最終的な状態は、対流セルのアスペクト比が、 $P.E.$ のレベルを低くするのに最適な状態であり、この状態はベナード・レイリー対流の力学レジームに従うことが示される。また、この状態を記述する無次元数として、微生物の上方遊泳に伴う浮力フラックスから、一種のレイリー数 R_{af} が導かれる。

支配方程式系と数値計算の方法は原島ら（1985）に詳述した。また、各記号は本文中で説明を加えると共に文末の表に示した。

2 生物対流の開始—レイリー・テイラー不安定期

深さ H 、水平長さ L の容器に、初期には微生物が n_p [cells/ml] の均一な濃度で分布しているとする。これらの微生物が周囲の水に対して相対的に U_0 の速度で上方に遊泳をする。微生物のランダムウォークを仮定し、拡散係数 (κ_H, κ_V) で表現する。周囲の水が停止したままであれば、ほぼ H/U_0 の時間が経過した後には、微生物の上方遊泳と下方拡散の釣合により、水の表面下に厚さ h の微生物が濃密に集積する層が形成される。 h は κ_V/U_0 で表される。また、微生物濃度の鉛直分布は

$$n_p(z) = n_{ps} \exp [z/h]$$

となる。この分布を平衡解と呼ぶ。ただし n_{ps} は水の表面における微生物の濃度であり

$$n_{ps}(z) = n_{pi} \cdot \lambda \cdot \exp [\lambda] / (\exp [\lambda] - 1)$$

である。 $\lambda (\equiv H/h)$ は全水深 H と h の比である。また、微生物と水の混合流体の密度を ρ とし、微生物一個体当たりの ρ の増大率を a とする。Childress et al. (1975) によれば、以上のパラメータから一種のレイリー数 $R (\equiv agn_{ps} h^3 \kappa_V^{-1} \nu_V^{-1})$ が定義される。また $\sigma (\equiv \nu_V/\kappa_V)$ をシュミット数とする。また $\delta = \kappa_H/\kappa_V$ である。

各パラメータを変えながら23ケースの実験を行う。個々のパラメータの値と、それらから計算される無次元数 R 、 λ 、 σ 、 δ の値を表1に示す。

Run16 における、微生物分布と流線分布の時間変化を図1に示す。この図において計算開始後40sの時点では、微生物が上方に集積し、上層が下層よりも重たい状態、いわゆる密度不安定状態が形成される。この状態から、上層のうちの何か所かが下に垂れ下がり、フィンガーを形成すると共に、鉛直対流を形成する(80s)。フィンガーが形成される水平的位置は、水の流れが表層で収束し、下降してゆく位置と一致する。40sと80sの間の時期では、全運動エネルギーは時間に関して指数関数的に増大する。この時期に形成される対流の卓越水平波数とその成長率は、線型不安定性理論による予測と一致する。そして、この時の対流の卓越水平波数は全水深には無関係であり、ほぼ微生物の集積する上層の特性のみに依存する(付録参照)。

また、80sの時点のフィンガーについて言えることは、各フィンガーの形状が下降する水流とともに落下してゆくことである。すなわち、この時点で現象は一過性であり、付録にも述べたようにレイリー・テイラー不安定現象に類似した力学的特性を示す。

3 生物対流パターンの遷移・発達

Run16 において、さらに時間積分を続けてゆくと、生物対流のパターンが顕著な遷移を示すのがわかる。80s においては、水平距離 $L (=16\text{cm})$ の間に八つの下降するフィンガーが見られた。この個数は120sでは5個になり、最終的には3個になる。ただし側壁に接したフィンガーは0.5

表 1 数値実験の各ケースにおけるパラメータ値

Table 1 Parameter values adopted in each case of numerical experiments

| No. | U_0 cm/s | H cm | L cm | $\alpha_{n_{pi}}$ | ν cm ² /s | κ_H cm ² /s | κ_V cm ² /s | R | σ | λ | δ | R_{af} |
|-----|---------------|---------|---------|----------------------|-----------------------------|----------------------------------|----------------------------------|-----------------------|----------|-----------|----------|--------------------|
| 1 | 0.01 | 2 | 16 | 5.0×10^{-5} | 0.01 | 0.0025 | 0.0025 | 2.45×10^2 | 4 | 8 | 1 | 1.25×10^5 |
| 2 | 0.01 | 2 | 16 | 5.0×10^{-6} | 0.01 | 0.0025 | 0.0025 | 2.45×10 | 4 | 8 | 1 | 1.25×10^4 |
| 3 | 0.01 | 2 | 16 | 1.0×10^{-6} | 0.01 | 0.0025 | 0.0025 | 4.90 | 4 | 8 | 1 | 2.51×10^3 |
| 4 | 0.01 | 2 | 16 | 5.0×10^{-7} | 0.01 | 0.0025 | 0.0025 | 2.45 | 4 | 8 | 1 | 1.25×10^3 |
| 5 | 0.025 | 2 | 16 | 1.0×10^{-5} | 0.01 | 0.0025 | 0.0025 | 7.84 | 4 | 20 | 1 | 6.27×10^4 |
| 6 | 0.025 | 2 | 16 | 5.0×10^{-6} | 0.01 | 0.0025 | 0.0025 | 3.92 | 4 | 20 | 1 | 3.14×10^4 |
| 7 | 0.025 | 2 | 16 | 1.0×10^{-6} | 0.01 | 0.0025 | 0.0025 | 1.96 | 4 | 20 | 1 | 1.57×10^3 |
| 8 | 0.1 | 2 | 16 | 5.0×10^{-5} | 0.01 | 0.0025 | 0.0025 | 2.45 | 4 | 80 | 1 | 1.25×10^6 |
| 9 | 0.1 | 2 | 16 | 5.0×10^{-6} | 0.01 | 0.0025 | 0.0025 | 2.45×10^{-1} | 4 | 80 | 1 | 1.25×10^5 |
| 10 | 0.01 | 2 | 16 | 5.0×10^{-3} | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 1.13×10^5 | 1 | 2 | 1 | 7.84×10^5 |
| 11 | 0.01 | 2 | 16 | 5.0×10^{-4} | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 1.13×10^4 | 1 | 2 | 1 | 7.84×10^4 |
| 12 | 0.01 | 2 | 16 | 5.0×10^{-5} | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 1.13×10^3 | 1 | 2 | 1 | 7.84×10^3 |
| 13 | 0.01 | 2 | 16 | 5.0×10^{-6} | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 1.13×10^2 | 1 | 2 | 1 | 7.84×10^2 |
| 14 | 0.1 | 2 | 16 | 5.0×10^{-3} | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 9.80×10^2 | 1 | 20 | 1 | 7.34×10^5 |
| 15 | 0.1 | 2 | 16 | 5.0×10^{-4} | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 9.80×10 | 1 | 20 | 1 | 7.84×10^5 |
| 16 | 0.1 | 2 | 16 | 5.0×10^{-5} | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 9.80 | 1 | 20 | 1 | 7.84×10^5 |
| 17 | 0.1 | 2 | 16 | 5.0×10^{-6} | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 9.80×10^{-1} | 1 | 20 | 1 | 7.84×10^4 |
| 18 | 0.1 | 2 | 16 | 1.0×10^{-6} | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 1.96×10^{-1} | 1 | 20 | 1 | 1.57×10^3 |
| 19 | 0.1 | 2 | 16 | 5.0×10^{-7} | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 9.80×10^{-2} | 1 | 20 | 1 | 7.84×10^2 |
| 20 | 0.01 | 2 | 16 | 5.0×10^{-5} | 0.01 | 0.01 | 0.001 | 9.80×10 | 1 | 20 | 10 | 7.84×10^6 |
| 21 | 0.1 | 2 | 16 | 5.0×10^{-5} | 0.05 | 0.01 | 0.01 | 1.96 | 5 | 20 | 1 | 1.57×10^4 |
| 21' | 0.1 | 2 | 16 | 5.0×10^{-5} | 0.05 | 0.01 | 0.01 | 1.96 | 5 | 20 | 1 | 1.57×10^4 |
| 22 | 0.1 | 5 | 16 | 5.0×10^{-5} | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 2.45×10 | 1 | 50 | 1 | 3.06×10^6 |
| 23 | 0.1 | 5 | 16 | 5.0×10^{-5} | 0.05 | 0.01 | 0.01 | 4.90 | 5 | 50 | 1 | 6.13×10^5 |

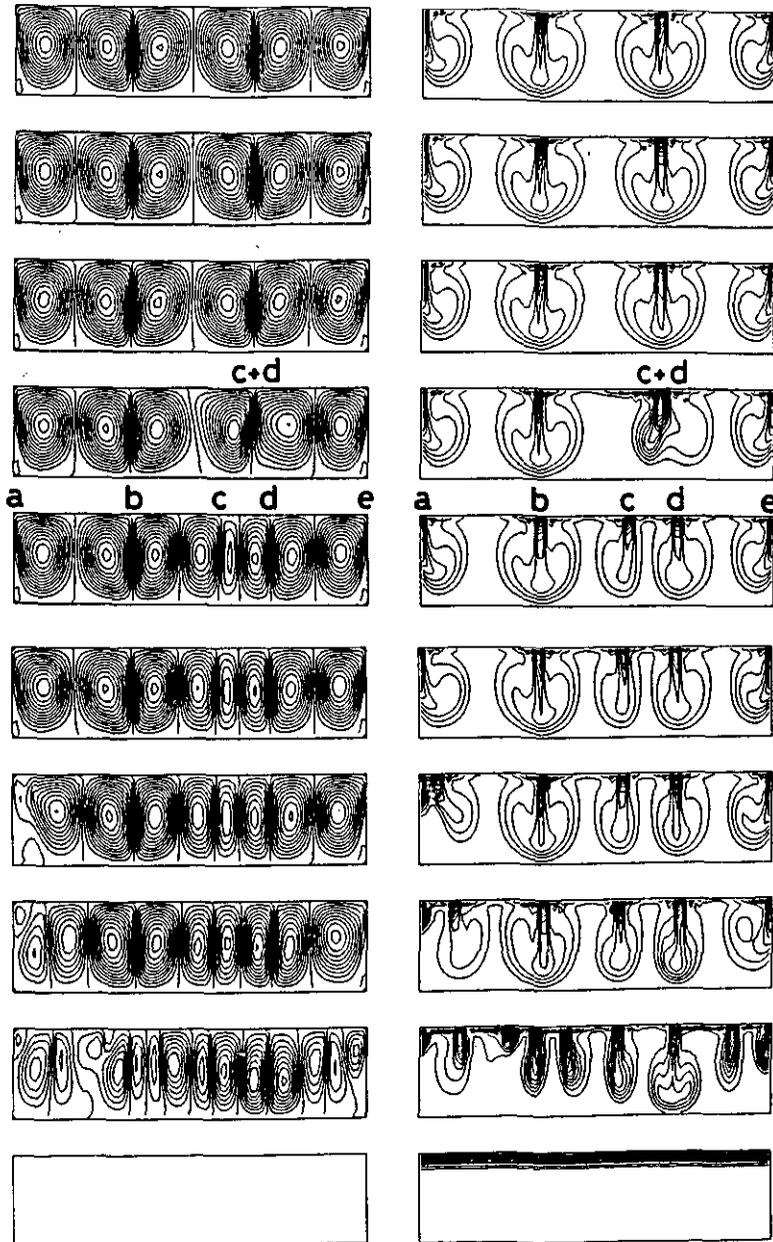


図 1 Run16 における流線関数と微生物の分布の時間変化
 コンターの間隔はそれぞれ $0.02 \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ と $50,000 \text{ cells} \cdot \text{m}^{-1}$ である。
 時間は下から上に 40, 80, ……., 320 秒。

Fig.1 Evolution of the stream function and the distribution of micro-organisms in Run16
 The contour intervals are $0.02 \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ and $50,000 \text{ cells} \cdot \text{m}^{-1}$, respectively.

個と数える。対流セルの平均的な水平サイズを l とすると、1個の対流セルのアスペクト比 l/H は最終的に2.67程度になる。

図1中で記号 a, b, c, d及び e は各フィンガーの位置を示す。フィンガーの個数の減少は隣接する二つの対流セルが統合されることに対応する。例えば、240s と 180sの間では、この統合は次のように説明される。240s では鉛直循環流の大きさは均一ではない。c と d のフィンガーの間には、比較的的水平サイズの小さな、反時計回りの鉛直循環流が存在する。水表面直下の水平流速はフィンガーc の左側の鉛直循環流中において強く、右側の鉛直循環流中において弱い。したがって表層において左側の鉛直循環流中の微生物の方がフィンガーc の中心により近くにまで移流を受ける。したがってフィンガーc の重心は次第に右側に移動してゆき、同時に下降流の中心も右側に移動してゆく。フィンガーd は同じ理由で左側に移動してゆく。その結果、c と dは合体し、単一のフィンガー c+d を形成するようになる。

これらの遷移現象は、以下に示すような巨視的な方向性を持っている。計算領域内における総運動エネルギーを $K.E.$ 、水底を基準に取った時の総ポテンシャル・エネルギーを $P.E.$ とする。ただし、 $K.E. = 0.5 \rho_0 \iint (u^2 + v^2) dx dz$ 、 $P.E. = \rho_0 a g \iint n_p (z+h) dx dz$ であり、 (u, v) は励起された対流の流速である。微生物自身の運動エネルギーは $K.E.$ に含まない。図2では、横軸に $K.E.$ 、縦軸に $P.E.$ をとり、この位相空間において、各時刻の状態の $(K.E., P.E.)$ の軌跡を示す。軌跡の脇の数字はフィンガーの数を示す。計算開始時の微生物が均一に分布している状態は縦軸中の 0 に対応する。水が静止したままで微生物が上方に遊泳し、水表面に密集層を形成する過程が経路 \overline{OA} である。A の状態から対流が励起され、密集層の重い流体がフィンガーを形成して落下すると共に、 $P.E.$ は急激に減少し $K.E.$ は増加する(経路 \overline{AB})。ただし、系はこのままの状態で定常に達するのではなく、フィンガーの個数を減らしつつ、 $P.E.$ が小さく、 $K.E.$ が大きい方向へと進行してゆく。この時、軌跡は、いくつかの点 D, E, F, G の周囲を回るようならせんを描く。これらの各点では、それぞれ存在するフィンガーの個数を異にし、相異なる状態に対応する。そして、軌跡は最終的に一つの点H のまわりを周廻しつつ、H に収束する。この挙動は系が減衰振動を行っていることに対応し、H は渦心点と見なすことができる。

Run20 は、 $\kappa_v = 0.001$ 、 $U_0 = 0.01$ とした場合の計算例である。 κ_v 、 U_0 ともに Run 16 における値の 1/10 となっているが $\lambda (= H/h)$ は同一である。このケースにおける $(K.E., P.E.)$ の時間変化を図3に示す。このケースにおいても、初期には微生物の上方遊泳に伴って $P.E.$ が上昇する(経路 \overline{OA})。その後、レイリー・テイラー不安定現象的な力学レジームを経由して B に達する。Run20 では Run16 に比べて、系のオーバーシュートが大きく、振動が減衰するのにかかる時間が長い。点B の $P.E.$ は初期の均一な微生物の分布による $P.E.$ よりもむしろ低い。また、B を経出した後、水の動きはほとんど静止してしまう。その後、再び微生物が上方に集積するため $P.E.$ が増加し、同様なサイクルが繰り返される。振動が顕著になったことは、鉛直拡

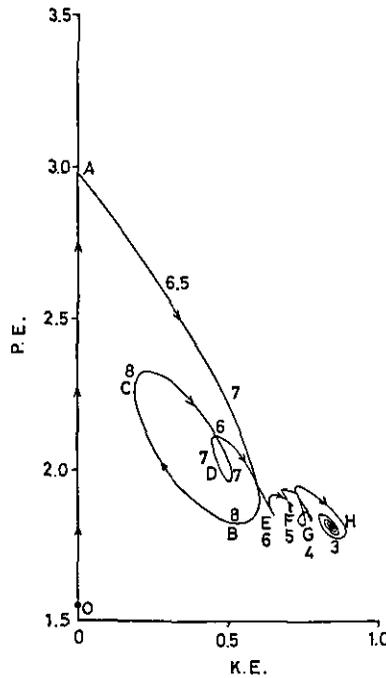


図 2 Run16 における運動エネルギー $K.E.$ 、ポテンシャルエネルギー $P.E.$ の軌跡

数値は水平距離 L の間のフィンガーの個数。

Fig.2 Trajectory of ($K.E.$, $P.E.$) in Run16

The numerical value denotes the number of fingers in the horizontal extent.

散時間 $T_d (\equiv H^2 / \kappa_v)$ が大きくなったため、流れが定常に達しにくいことにより説明される。ただし、このケースにおいても、最終的にはフィンガーの数が3個の状態に達する。

Run21 と Run21' は、以下に示すように、パターンの遷移に関する別の特性を明らかにした。これらのケースでは、粘性係数 ν_v を Run16 の 5 倍の $0.05 \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ にした。Run21 の初期条件は Run16 のそれと同一にする。($K.E.$, $P.E.$) の遷移を図 4 に示す。このケースでは、最初に形成されるフィンガーの数は 6 個であり、Run16 と同様に対流セルの統合のため、フィンガーの数は減少してゆく。ところが最終的に 4 個のフィンガーが残り、Run16 の最終の状態である 3 個のフィンガーと異なる。Run21 において、4 個のフィンガーが最も安定な状態かどうかは検討してみる価値があるだろう。そのため Run21' では各パラメータの値を Run21 と同様にし、初期条件として、3 個の対流セル及びフィンガーを与え、数値積分を行った(具体的には、Run16 の最終の状態を初期条件として用いた)。このケースでは各パラメータが Run21 と同様なのにもかかわらず

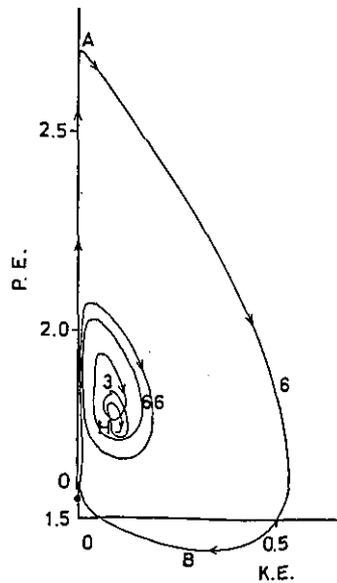


図 3 Run20 における (K. E. , P. E.) の軌跡
 Fig.3 Trajectory of (K. E. , P. E.) in Run20

ず、3個のフィンガーが存在し続ける。Run21'の最終的状态はRun21のそれよりもP.E.のレベルが低く、K.E.が大きい位置に存在する。したがって、パラメータ値が同一であっても初期条件の相違によって異なる最終的状态に収束する、いわゆる履歴現象が存在するといっただろう。そして、Run21で得られた、フィンガー数4の最終的状态は、それが最も安定だからという事実によるものではなく、フィンガー数3の状態へ乗り換えることができなかったという状況によるものと考えられる。すなわち、可能な状態は離散的に存在し、一つの状態から、より安定な状態に遷移できるか否かは、粘性の大きさに依存すると考えられる。粘性が大きいと、水平流速の水平不均一も弱まる。したがって、流れが微生物を水平方向に移流する能力の不均一も弱まり、フィンガーの水平移動及びその結果であるフィンガーの合体も顕著でなくなる。このような理由で、粘性の大きなケースで状態の遷移が起こりにくくなると考えられる。

4 ベナード・レイリー対流期

前節で述べたように、対流系が最終的に移行する状態は、対流が励起された直後の状態—レイリー・テイラー不安定期—と全く異なった特性を有する。この時期では、微生物は対流セルの間を循環しているものの、微生物の集合体であるところのフィンガーの形状及び位置は固定してい

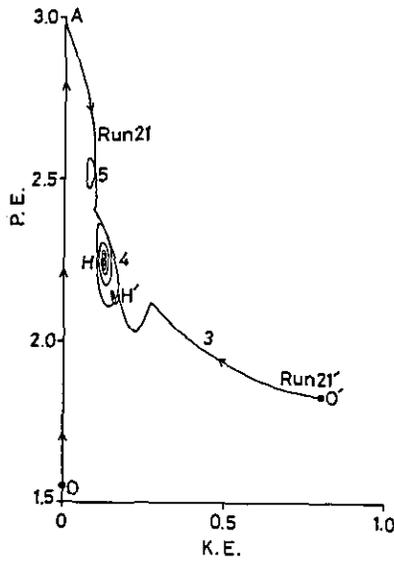


図 4 Run21 と Run21' における (K. E. , P. E.) の軌跡
初期条件はそれぞれ 0 と 0' に対応する。

Fig.4 Trajectory of (K. E. , P. E.) in Run21 and Run21', which start from 0 and 0', respectively.

る。この状態がどのような力学レジームに基づいているのかを明らかにすることがこの節の目的である。

前節までに明らかにされた結果の中で、最終状態の対流セルのアスペクト比 l/H が2~3程度であった。通常のベナード・レイリー対流に関する線型理論では、最も速く励起されるモードの対流セルがほぼこの値に近いアスペクト比を持つことが示される(Chandrasekhar, 1961)。したがって、この時期の生物対流を、この理由からベナード・レイリー対流期と呼んでよい。ただし、線型理論の意味する最適波数(あるいは最適なアスペクト比)とは、レイリー数が徐々に大きくなっていった時に最初に現れる対流のモードが示す波数という意味である。したがって、本数値計算の結果では、浮力の条件がベナード対流のように上下の境界で与えられるのではなく、しかも対流が発達した状態であるから非線型領域にある。したがって、線型理論による最適波数との一致をもって、ベナード・レイリー対流期と呼ぶのは妥当でないかもしれない。そこで、以下のように、本数値計算結果と、ベナード・レイリー対流の室内実験結果との比較を試みる。

図5と図6はいくつかの数値実験結果の最終状態における微生物分布 n_p の水平方向の平均値 $\bar{n}_p(z)$ を示す。図5中には $\lambda = 20$ のケース、図6中には $\lambda = 2$ のケースを含む。太い線は上記の平衡解 $n_{pe}(z)$ を示している。対流が励起される直前の微生物分布はほぼ $n_{pe}(z)$ と一致し、大部分の微生物が表層から $-h$ までの層に含まれ、微生物の上方遊泳と下方拡散が釣り合っ

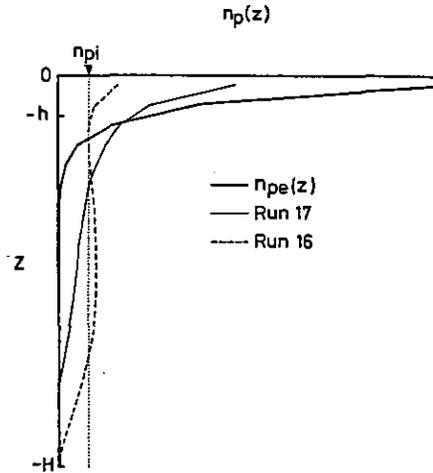


図 5 微生物濃度 $n_p(x, z)$ の水平方向平均値 $\bar{n}_p(z)$ ($\lambda = 20, \sigma = 1, \delta = 1$)
 実線は平衡解に対応した鉛直プロファイル $n_{pe}(z)$ 。対流が励起される
 直前の鉛直プロファイルは $n_{pe}(z)$ とほぼ同一である。

Fig.5 Vertical profile of the horizontally averaged concentration
 of microorganisms $\bar{n}_p(z)$ with $\lambda = 20, \sigma = 1, \delta = 1$
 The solid line expresses the equilibrium solution profile $n_{pe}(z)$.
 $n_{pe}(z)$ just before the onset of convection overlaps with the
 equilibrium solution profile $n_{pe}(z)$.

ている。ところが生物対流が発達した状態では、ほとんどの微生物がフィンガーをなして $-h$ よりも下方に分布していることがわかる。この傾向は $R (\equiv \alpha g n_p h^3 / \kappa \nu)$ が大きいほど著しい。(図5において、比較的小さな R に基づく Run13 の $n_p(z)$ は平衡解に近い)。

通常のベナード対流において、レイリー数が大きくなるほど水平平均温度の鉛直分布が、線型なこう配から離れ、やがては温度の逆こう配が起こることが知られている (Gille, 1967 ほかの二平板面の熱対流の実験的研究, ただし、ここで使われたレイリー数とは、上下平面での温度差を ΔT とした時, $Ra \equiv \alpha g \Delta T H^3 / \kappa \nu$ で定義されるものである)。

ここで、発達した生物対流において現れる鉛直流速が、どのようなパラメータの組み合わせによる特性流速で表現されるかを考える。微生物の遊泳速度 U_0 は速度の次元をもつ量である。しかし、鉛直流速の分散の鉛直分布 $W_{rms} (\equiv \sqrt{w^2(z)})$ を U_0 で規格化したものを図7, 図8にプロットすると、結果は必ずしも 0 (1) にならない。したがって、 U_0 は励起される流速の目安とはなり得ないし、 $R (\equiv \alpha n_{ps} g h^3 / \kappa \nu \equiv \alpha n_{ps} g \kappa^2 / U_0^3 \nu)$ も発達した生物対流を記述するには妥当でないことがわかる。

発達した生物対流では、図5, 図6に示すように、 h はあまり意味を持たないから、系の状態を記述するには別の定義によるレイリー数が妥当である。全水深を通じて $\bar{n}_p(z)$ が n_{pi} に等

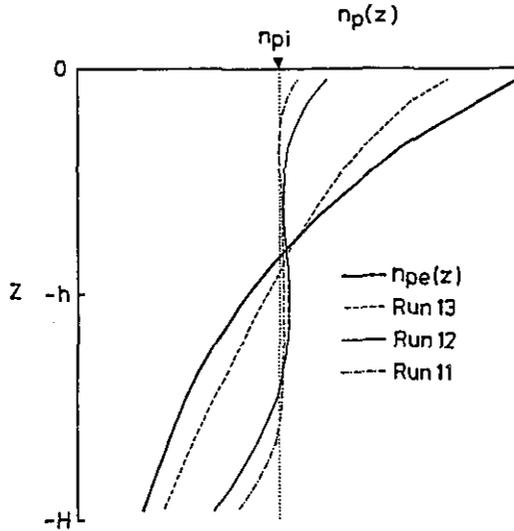


図 6 $\lambda = 2$ のケースについて図5と同様にプロットしたもの
実線は平衡解に対応する。

Fig.6 Vertical profile of the horizontally averaged concentration of microorganisms $\bar{n}_p(z)$ for the cases of $\lambda = 2$. The solid line expresses the equilibrium solution profile $n_{pe}(z)$.

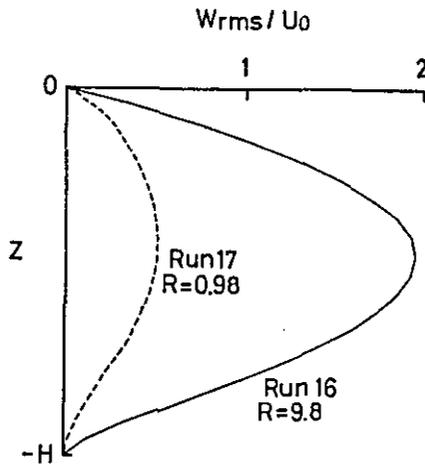


図 7 $\lambda = 20, \sigma = 1, \delta = 1$ の場合の $W_{rms}(z)/U_0$ の鉛直分布

Fig.7 Vertical profiles of $W_{rms}(z)/U_0$ with $\lambda = 20, \sigma = 1, \delta = 1$

しく、しかもこれらの微生物が U_0 の速度で上方に遊泳しているから、単位水平断面当たりの浮力フラックスは $b_f (\equiv a g n_{pi} U_0)$ [$\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-3}$]で表される。したがって、鉛直スケールとして h の代わりに H を用いることによって、フラックス型のレイリー数 $Raf (\equiv a g n_{pi} U_0 H^4 / \kappa^2 \nu)$ が定義される。

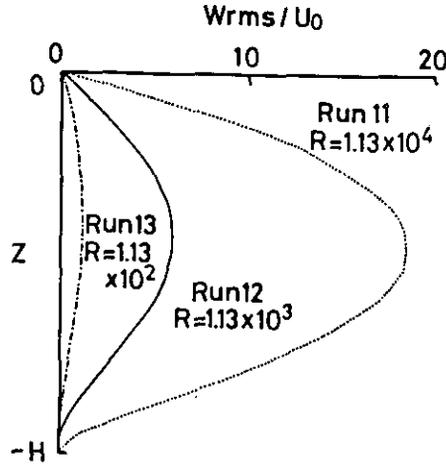


図 8 $\lambda = 2, \sigma = 1, \delta = 1$ の場合の $W_{rms}(z)/U_0$ の鉛直分布
 Fig.8 Vertical profiles of $W_{rms}(z)/U_0$ with $\lambda = 2, \sigma = 1, \delta = 1$

ここで、 b_f の次元を考慮すると、 b_f にある長さの次元を持った物理量を乗じ、その3乗根をとれば、速度の次元を持つ物理量が導かれる。長さの次元を持った量として H をとり、各実験ケースについて $b_f^{1/3} H^{1/3}$ を求める。また各実験ケースについて、 W_{rms} の最大値を求めて W_m とする。図9の横軸に $b_f^{1/3} H^{1/3}$ 、縦軸に W_m をとって各ケースの数値実験結果をプロットすると $b_f^{1/3} H^{1/3}$ と W_m はよい相関を示す。したがって、 $b_f^{1/3} H^{1/3}$ が励起された鉛直流速をよく表現する

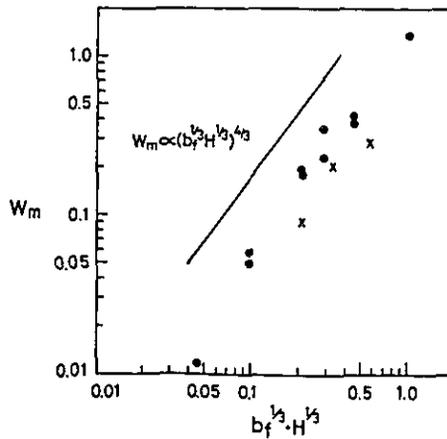


図 9 W_m と $b_f^{1/3} H^{1/3}$ の相関
 記号●と×はそれぞれ $\sigma = 1$ と $\sigma = 5$ に対応する。
 Fig.9 Correlation between W_m (the maximum W_{rms}) and $b_f^{1/3} H^{1/3}$
 The symbol ● and × denote the cases with $\sigma = 1$ and $\sigma = 5$, respectively.

特性量であることがわかる。

このことは、更に次のような考察を行う基礎を与える。

通常の平行板間のベナード・レイリー対流に関しては、ヌッセルト数 Nu とレイリー数 Ra の間に

$$Nu \propto Ra^{1/3} \quad (1)$$

なる経験則が実験的に得られている (Silveston, 1958; Globe & Dropkin, 1959; Turner, 1973 の引用による)。 Nu は次元解析的に鉛直移流フラックスと鉛直拡散フラックスの比で表現されまた $Nu = Ra f / Ra$ であるから、

$$\frac{\overline{w'b'}}{\kappa_v \left(\frac{\delta b}{H} \right)} \propto Ra f^{4/3} \quad (2)$$

なる式が得られる。ここで $b (\equiv -\alpha g n_p)$ は濃度 n_p の微生物を含む流体の浮力であり b' 及び δb はそれぞれ b の水平方向の偏差及び鉛直方向の偏差である。この式をさらに変形すると

$$c \cdot w' \frac{\delta b}{b'} (b_f^{1/3} H^{1/3})^{4/3} \left(\frac{\kappa_v}{\nu} \right)^{1/3} \left(\frac{H}{\nu} \right)^{1/3} \quad (3)$$

が得られる。ただし $c = \overline{w'b'} / (w' \cdot b')$ は鉛直流速と浮力の相関係数であり 0(1)である。図9で w' と $(b_f^{1/3} H^{1/3})^{4/3}$ のよい相関があることは、(3) からさかのぼった(1)が妥当性を持っていることを示している。したがって、発達した段階での生物対流の特性がベナード・レイリー対流のそれと類似していることがわかる。このようなことから、非線型効果も含まれた形での間接的議論ではあるが、発達した段階での生物対流をベナード・レイリー対流期と呼ぶことが妥当であると考えられる。

5 生物対流現象に関する物理的考察

線型安定性理論による解析からは、最も速く成長する対流のモードの水平波数、成長率等が予測することができる。我々の数値実験では、生物対流開始時に得られた対流のモードは、線形安定性理論の予測と一致した(付録参照)。しかしながら、さらに数値積分を続けてゆくと、対流開始時(レイリー・テイラー不安定期)に出現した対流のパターンから、系が次第に遷移してゆき、最終的にはベナード・レイリー対流と類似した系に落ち着くことが示される。このような遷移は現象の非線形性を考慮してはじめて予測されることであり、解析的手段としては数値的手法をとる以外にはない。

また、この非線形領域における対流現象の物理的解釈については、すべてを演繹的な議論で明らかにすることが原理的に不可能である。なぜなら臨界状態を越えれば、複数のモードの対流が

存続することが許されるからである。

したがって、可能な方法論としては、ある選択仮説を設け、その仮説と実験結果との整合性をもって仮説を検証してゆくことである。すなわち、系が何らかの物理量を最大あるいは最小にしようとして、存在可能な複数のモードの中からあるモードを選択するという作業仮説をたて、様々な実験結果との整合性を検討してゆくのである。

ここで我々が提案するのは、“生物対流現象の遷移は、系の総ポテンシャルエネルギーを小さくする方向に遷移する”という作業仮説である。別の表現では、“微生物の上方遊泳で常時添加されつつある $P.E.$ をより有効に解放する方向へ系が移行する”と言えよう。これは、図2、図3、図4における $(K.E., P.E.)$ のトラジェクトリー形状から示唆されたものである。これらの3図に共通する特性を模式的に示したのが図10である。以下、図10を用いて、議論を進める。

初期状態 O から、微生物の上方遊泳により系の状態は A に達する。この状態は上方が重いから不安定対流が、起き系の状態は太い矢印の方向に進む。この時、語義通りの基本的なレイリー・テイラー不安定は、一点鎖線で表現される方向に進むものである。すなわち、 $P.E.$ の消費が $K.E.$ の増加となり、 $P.E. + K.E.$ が保存され、系の進行速度は時間に対して指数関数的とな

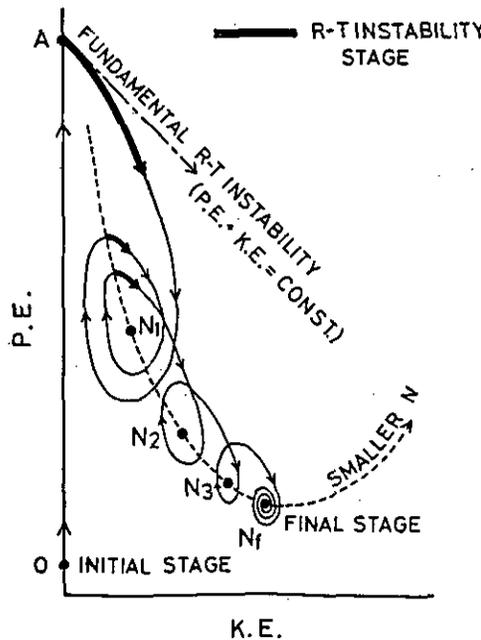


図 10 系の遷移の模式図

図2、図3、図4と同様。

Fig.10 A schematic diagram of the evolution of convective system expressed in the same way as in Fig.2., Fig.3, Fig.4

る。実際には、増加した $K.E.$ に対して粘性逸散が働くから、一点鎖線よりも $K.E.$ の小さな側にずれる。ただし、付録で示すとおりこの時の卓越波数、対流成長率は線形安定性理論の予測と類似する。この時期をレイリー・テイラー不安定期と呼ぶことは前述のとおりである。その後、系はさらに進行するが、すぐには定常状態に達しない。そして、ある $(K.E., P.E.)$ の組み合わせで特性づけられる点の回りを周廻しつつ、その点に吸収されてゆく。この軌跡は、物理的には減衰振動に対応する。すなわち、微生物のかなりの部分が、下降フィンガーとなって転落し $P.E.$ が小さくなるが、同時に、粘性のために $K.E.$ も小さくなってしまう。したがって、流れは弱まり、微生物の上方遊泳が下方移流に勝るようになり、 $P.E.$ は再び上昇してゆく。そして最初のレイリー・テイラー不安定状態と同様な流れが再び励起され、 $P.E.$ の減少と $K.E.$ の増加が起こる。このサイクルが繰り返される。このサイクルの繰り返しは系の鉛直拡散時間 H^2/κ_v が長いほど顕著である。この時、フィンガーの数は N_1 である。ところが、前述のように、対流セルの統合が起こり、 $N_2 (< N_1)$ 個のフィンガーを持つ状態に移行してゆく。

この新しい状態では別の $(K.E., P.E.)$ の点を中心とする周廻軌道を描く。この点では前時点よりも $P.E.$ が小さく、 $K.E.$ は大きい。すなわち水平波数が小さくなったために、水平粘性、水平拡散の効果が小さくなり、励起された対流の流速が増加する。このため、微生物の下方移流が強まり、微生物分布の重心は下方に位置するようになる。したがって、 $P.E.$ はより小さくなり、系はより安定である。

このような遷移はさらに断続的に起こり、フィンガーの数は次第に減少してゆく。

最終的に、系はフィンガー数が N_f の状態に収束する。 N_f は対流セルのアスペクト比（全水深に対する水平サイズの比）を最適な値にするように決定される。これよりも小さな波数では、対流セルの水平サイズが大きくなると鉛直粘性の効果が支配的になってしまう。したがって微生物の下方移流はそれほど増加せず、 $P.E.$ は N_f で特性づけられる状態よりも小さくはならない。以上が基本的な系の遷移のパターンである。点線で示される $K.E. - P.E.$ 関係上でなら本来どのモードも存在できるが、実際にはこのような選択仮説に符合する遷移が起こるのである。

これに対し、Run21 で示されたように、粘性パラメータが大きくなると、系の状態の遷移が必ずしも N_f で特性づけられる状態まで達しないことがある。すなわち系の状態の変化にはヒステリシスが伴い、一つのモードから他のモードに遷移することが可能かどうかは別のパラメータに依存する。

現実の培養液中に形成されるフィンガーの特性に、上述の物理的解釈を適用することを試みる。

比較的深い培養液中に生ずるフィンガーの水平波数が、レイリー・テイラー不安定のメカニズムの線形的な取り扱いによる予測と一致することは序に述べた。これは図10の太線の部分の状態に対応すると考えられる。そして、レイリー・テイラー不安定によるフィンガーが定常的に存在するという Plessetら(1976)の解釈は妥当でなく、図10が示すようにレイリー・テイラー不安定が断続的に起こっていると解釈すべきであろう。深い培養系ということは、中の流体にとって

は、鉛直拡散時間 H^2/κ_v が大きく、系がなかなか定常に達しないということと同義である。

さらに、浅い培養系で、全水深によってフィンガーの間隔が変わることは、このような生物対流の系の状態が図10中の N_f に達していることに他ならない。また、注意すべきことは粘性パラメータの大きなケースで系の状態の遷移にヒステリシスが伴うことである。

実際の粘性効果は、全水深との組み合わせ ν/H^2 により見積もられるから、粘性係数が同一であっても浅い培養系では実効的な粘性効果が大きいと考えられる。このような場合には、状態の遷移が N_f で特性づけられる状態まで達する以前に定常状態になってしまうことがある。最も極端には、初期のレイリー・テイラー不安定で決まる水平波数がそのまま存続して定常状態に達してしまうこともありうるかも知れない。

このような状況を考慮すると、現実の培養系に存在している生物対流のパターンも、様々な非線型効果の集積したものであるから、このパターンと線型理論の一致を持って正しい物理的な解釈が得られるとは限らない。したがって、現象を理解するためには非線型性をも含む数値実験的手法を併用することが必要である。今後とも、生物と流体の相互作用における数値実験的手法の発展が必要であると考えられる。

そして、“生物対流パターンの遷移は、系の総ポテンシャルエネルギーを小さくする方向に進行する”という仮説は、数値実験及び培養実験中の生物対流のモード選択をよく説明するものであり、基本的な原則と考えられる。また、生物対流の生態学的な意味づけについては、下記のようなロジックが可能であろう。微生物が単独で遊泳をしている場合には、Stokesの落下速度を凌駕しさえすれば上昇してゆくことができる。しかし表層に濃密に集積してからは、流体塊として重力を課せられ、 W_{rms} ($\sim b_f^{1/3} H^{1/3}$) の大きさを持つ生物対流の特性流速が励起される。 W_{rms} は上方遊泳速度 U_0 よりも大きいから、微生物は下降フィンガー部から抜け出すまでは下方に引き下げられてしまう。このことは重力が、各個体の遊泳力の違いにより選別をしつつ、各微生物の平均的鉛直位置を決めている可能性を示す。また、風、波などのかく乱要因が無い時に、生物対流が表層近くの鉛直循環を維持し、ガス交換等の効率に寄与する可能性も示唆されるが、これらの検証は今後の問題として残される。

付 録

対流発達期における数値解と解析解の比較

数値解のチェックのために、Childress et al.(1975)による解析解との比較を行う。解析解は線型性の制約のため、対流の発達が微小かく乱の範囲にある時期のみを対象としている。すなわち流速等の物理量の増大が時間に対して指数関数で表現される時期である。Run1からRun9の各数値解において、水の動きによる総運動エネルギー $K.E.$ を計算し、その空間平均値の平方根によりある特性流速 W を定義する。対流の発達期における W の時間変化を、指数関数

$$W = W_0 \cdot \exp[\gamma(U_0/h)t]$$

で回帰し、無次元発達率 γ を求める。 γ をさらに σ で除し、 R/σ に対してプロットしたのが図 11 である。この図によれば、数値解に現れた対流の発達率は R/σ で決まり、 R/σ に対して単調増大であることである。そして線型安定性理論による予測（図 9 中の実線）と、数値解におけるかく乱の発達率はよい一致を示す。

数値解において水平距離 L の領域に形成されるフィンガーあるいは対流セルの個数を N とし $a (= 2\pi N h L^{-1})$ を無次元水平波数とする。数値解の各ケースの対流発達期に得られる a を図 12 にプロットする。実線は線型安定性理論で平衡解に基づいた場合、破線は同じく二層の不安定成層に線型安定性理論を適用した場合を表す (Childress et al., 1975 の Fig.4 より)。この図によれば対流発達期に形成される水平無次元波数も R/σ に対してほぼ一意的に定まり単調増加である。そして、数値解は線型安定性理論とよい一致を示すことが示される

また、さらに言えることは R/σ が大きくなると a の R/σ に対する依存性が弱まることである。このことは、次元つきの波数 ah^{-1} がほぼ h の大きさのみによって決まってしまうことを示す。また、平衡解による卓越波数と、二層近似による卓越波数を比較すると、当然のことながら数値解は平衡解による連続成層の場合に近い。ただし、二層近似による卓越波数の R/σ に対す

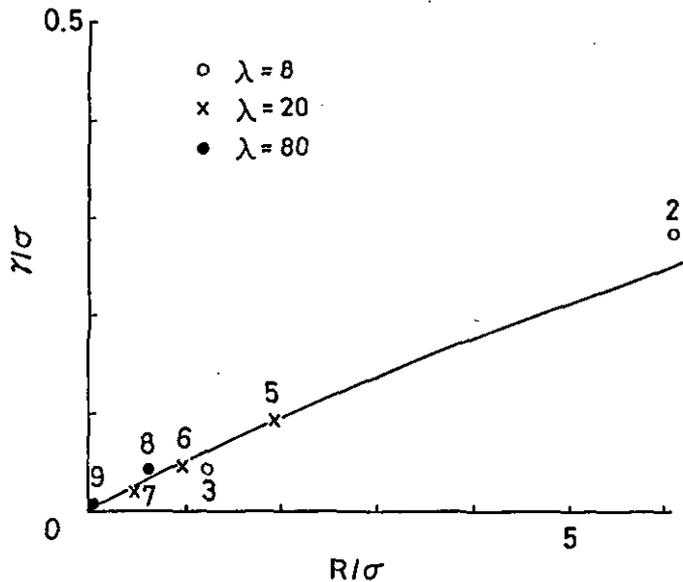


図 11 対流開始時における全エネルギーの平方根の増幅率

実線は Childress et al.(1975) による線型安定性理論によるじょう乱増幅率の予測 (ただし $\lambda = \infty$, $\sigma = 4$, $\delta/\sigma = 0.25$ の場合) である。

Fig.11 Growth rates of the square roots of the total kinetic energy at the onset of convection plotted with respect to R/σ . The solid line expresses the linear stability analysis by Childress et al.(1975) with $\lambda = \infty$, $\delta/\sigma = 0.25$, $\sigma = 4$.

る依存性も平衡解によるものと定性的には同様である。したがって、対流発達期においては、現れる対流セルの発達率と卓越波数は、水面の微生物密集層の特性のみによって決まり、全水深には依存しない。そして、この時期の現象は、連続成層を加味したとしても、レイリー・テイラー不安定現象と見なしてよいことがわかる。

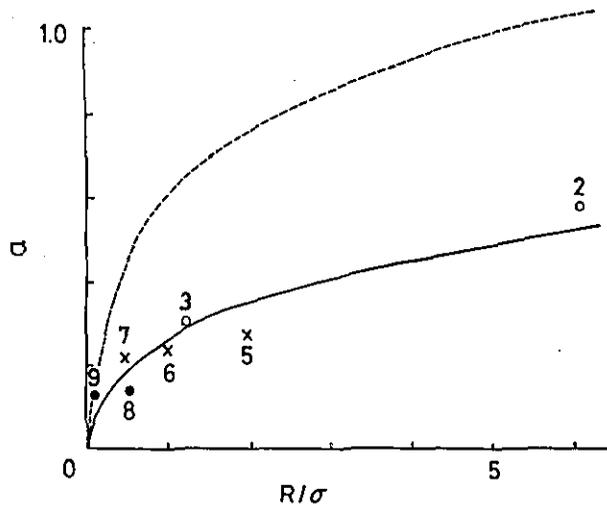


図 12 対流開始時において顕著となる波数

曲線は Childress et al.(1975) の線型安定性の予測である。このうちで実線は $\lambda = \infty$, $\delta/\sigma = 0.25$ の時の平衡解による鉛直プロファイルに基づく。破線は上下二層を仮定した場合に基づく。

Fig.12 Conspicuous wave number at the onset of convection vs. R/σ .

The two curves express the ones predicted by the linear stability analysis by Childress et al.(1975). The solid line shows the case in the equilibrium solution profile with $\lambda = \infty$, $\delta/\sigma = 0.25$. The broken line show that in the discretely two-layered profile.

記号表

Nomenclature

Alphabetic symbols

| | |
|--------------------------|--------------------|
| $a \equiv LN / (2\pi h)$ | 対流セルの無次元波数 |
| $b \equiv -a g n_p$ | 濃度 n_p の微生物に伴う浮力 |
| δb | 浮力の鉛直偏差 |
| g | 重力定数 |
| H | 全水深 |
| h | 微生物密集層の厚さ |

| | |
|--|-------------------------|
| K, E | 全運動エネルギー |
| L | 計算領域の水平スケール |
| l | 対流セルの平均的水平スケール |
| N | 水平距離 L の間にできる対流セルの個数 |
| n_p | 微生物濃度 (1ml 当たりの個体数) |
| Nu | ヌッセルト数 |
| n_{p_i} | 初期の均一分布における微生物濃度 |
| n_{p_e} | 微生物濃度の平衡解プロファイル |
| n_{p_s} | 水表面における微生物濃度 |
| P, E | 全位罫エネルギー |
| $R \equiv \alpha g n_{p_s} h^3 / \kappa \nu$ | Childress の定義によるレイリー数 |
| $Ra \equiv \Delta b H^3 / \kappa \nu$ | 一般的な定義によるレイリー数 |
| $Raf \equiv b_f H^4 / \kappa^2 \nu$ | フラックス型のレイリー数 |
| $T_s \equiv H / U_0$ | 鉛直遊泳時間 |
| $T_d \equiv H^2 / \kappa \nu$ | 鉛直拡散時間 |
| (u, w) | 水の流速の (x, z) 成分 |
| $w = \sqrt{K, E} / (LH)$ | 運動エネルギーの平方根として定義される特性流速 |
| $W_{rms}(z)$ | z における鉛直流速の標準偏差 |
| U_0 | 微生物の上方遊泳速度 |
| t | 時間 |
| x | 水平右向き座標 |
| z | 鉛直上向き座標 |
| Greek symbols | |
| α | 微生物 1 個当たりの ρ の増加率 |
| γ | 対流の成長率 |
| $\hat{\delta} = \kappa_H / \kappa_V$ | 水平・鉛直拡散係数比 |
| κ_H | 微生物の水平拡散率 |
| κ_V | 微生物の鉛直拡散率 |
| ρ | 微生物と水との混合流体の密度 |
| ρ_0 | 水の密度 |
| ρ_p | 微生物の密度 |
| $\sigma = \nu / \kappa$ | シュミット数 |
| ν | 水の動粘性係数 |
| ξ | 渦度 |
| ψ | 流線関数 |

引用文献

Chandrasekhar, S. (1961): Hydrodynamic and Hydromagnetic Stability. Chap. 2 Oxford Univ. Press. p.652.

- Childress, S., M. Levandowsky and E. A. Spiegel (1975): Pattern formation in a suspension of swimming microorganisms: equations and stability theory. *J. Fluid Mech.*, 63, 591-613.
- Globe, S. and D. Dropkin (1959): Natural convection heat transfer in liquids confined by two horizontal plates and heated from below. *J. Heat Trans.*, 81, 156-165.
- Gille, J. (1967): Interferometric measurement of temperature gradient reversal in a layer of convecting air. *J. Fluid Mech.*, 30, 371-384.
- Harada, E. (1976): Notes on aggregation behaviour of free-swimming sea-urchin larvae, *Physiol. Ecol. Jpn.*, 17, 576-582.
- 原島 省・渡辺正孝・藤代一成(1985): 鞭毛藻による生物対流の数値実験的研究. 国立公害研究所研究報告, 第80号, 103-117.
- Loeffer, J.B. and R.R. Mefferd (1952): Concerning pattern formation by free-swimming microorganisms. *Am. Naturalist*, 86, 325-329.
- Platt, J. R. (1961): "Bioconvection patterns" in cultures of free-swimming microorganisms. *Science*, 133, 1766-1767.
- Plesset, M.S. and C.G. Whipple (1974): Viscous effects in Rayleigh-Taylor instability. *Phys. Fluids*, 17, 1-7.
- Plesset, M.S. and H. Winet (1974): Bioconvection patterns in swimming microorganism cultures as an example of Rayleigh-Taylor instability. *Nature*, 248, 441-443.
- Plesset, M.S., C.G. Whipple and H. Winet (1976): Rayleigh-Taylor instability of surface layers as the mechanism for bioconvection in cell cultures, *J. Theor. Biol.*, 59, 331-351.
- Robbins, W.J. (1952): Patterns formed by motile *Euglena gracilis* var. *bacillaris*. *Bull. Torrey Bot. Club*, 79, 107-109.
- Silveston, P. L. (1958): Warmedurchgang in waagerechten Flüssigkeitsschichten. *Forsch. a.d. Geb. des. Ingen.* 24, 59-69.
- Turner, J.S. (1973): Buoyancy effects in Fluids, Cambridge Univ. Press. p.367.
- 渡辺正孝(1982): *Olisthodiscus luteus* と *Skeletonema costatum* の細胞密度の日周運動. 国立公害研究所研究報告, 第30号, 143-154.
- 渡辺正孝・原島 省(1982): 鞭毛藻 *Olisthodiscus luteus* による生物対流と Rayleigh-Taylor instability. 国立公害研究所研究報告, 第30号, 155-173.
- Wille, J.J. and C.F. Ehret (1968): Circulation rhythm of pattern formation in populations of a free-swimming organism, *Tetrahymena*. *J. Protozool.*, 15, 789-792.
- Winet, H. and T.L. Jahn (1972): On the origin of bioconvective fluid instabilities in *Tetrahymena* culture systems. *Biorheol.*, 9, 87-94.

赤潮多発海域での制限栄養塩推定の試み
—瀬戸内海西島（家島諸島）における現場海水を用いた
Chattonella antiqua の半連続培養実験—

An Approach to Estimate the Limiting Nutrient of Chattonella antiqua in the
Seto Inland Sea —Semicontinuous Culture Using Natural Seawater—

中村泰男¹・沢井一浩²・持田昌彦²・渡辺正孝¹
Yasuo NAKAMURA¹, Kazuhiro SAWAI², Masahiko MOCHIDA²
and Masataka WATANABE¹

要 旨

1984, 85年7月～8月, Chattonella antiqua 赤潮頻発海域である瀬戸内海西島（家島諸島）において, 現場海水を用いた C. antiqua (clone Ho-1) の半連続培養実験(25℃, 0.04 ly·min⁻¹, 12:12LD, 希釈率=0.5d⁻¹)を行った。同時に周辺海域の水質調査も実施した。

兩年とも, 調査期間中, 水温, 塩分, 照度は C. antiqua 増殖の至適範囲にあったが本種の赤潮発生は認められなかった。

1984年夏の半連続実験では, 表層ろ過海水を input として用い, 栄養塩無添加(無添加系), NO₃⁻, PO₄³⁻ 同時添加(N+P系), 微量元素キレーター添加(f/2メタル系)及び NO₃⁻, PO₄³⁻, f/2メタル溶液・ビタミンB₁₂ 同時添加(完全添加系)の四つのモードで実験を行った。無添加系での C. antiqua の増殖速度(μ)は極めて小さ

-
1. 国立公害研究所 水質土壌環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Water and Soil Environment Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
 2. 昭和59～60年度 国立公害研究所 共同研究員(東京理科大学 工学部 〒162 東京都新宿区神楽坂1番3)
Research Collaborator of the National Institute for Environmental Studies. Present Address: Faculty of Engineering, Science University of Tokyo, Kagura-zaka, Shinjuku, Tokyo 162, Japan.

く ($\mu < 0.1d^{-1}$) 細胞の矮小化が起こった。f/2メタル系でも $\bar{\mu}$ は $0.1d^{-1}$ 以下で細胞は矮小化した。これら矮小化した細胞に NO_3^- , PO_4^{3-} を同時に添加すると、添加の翌日には細胞は通常の大きさに回復した。N+P系 (NO_3^- , $400 \mu M$; PO_4^{3-} , $40 \mu M$) での増殖は速やか ($\mu \approx 0.5d^{-1}$) であり細胞は通常の大きさを維持した。完全系でも増殖は速やかに起こったが、 NO_3^- , PO_4^{3-} 同時添加系との間に、増殖速度、細胞の大きさに有意の差は認められなかった。

1985年夏の実験では、N+P系での増殖速度は明らかに無添加系での値を上回っていた。

今回得られた培養実験並びに水質調査結果を *C. antiqua* の栄養塩摂取と増殖の動力学的結果と比較することで、両年とも家島諸島の表層海水では少なくともリン酸塩が本種の増殖速度を制限しており、このことが、両年とも本種の赤潮が発生しなかった原因の一つになっていると推定された。

Abstract

Using surface seawater of Harima-nada, where red tides of *Chattonella antiqua* often occur, semicontinuous culture experiment of *C. antiqua* was conducted ($25^\circ C$, $0.04 ly \cdot min^{-1}$, 12:12LD, dilution ratio= $0.5d^{-1}$) in the summer of 1984 and 1985. Water qualities (temperature, salinity, transparency, DO, chl-a, nutrients and cell concentration of *C. antiqua*) was also monitored.

In both years, temperature, salinity and light intensity were optimum for the growth of *C. antiqua*, but red tides of this species did not occur.

In the experiment of 1984, growth of *C. antiqua* in unenriched and in f/2-metal enriched surface seawater was poor (growth rate $< 0.1d^{-1}$) and cells became small ($< 50 \mu m$). Growth in NO_3^- ($400 \mu M$) plus PO_4^{3-} ($40 \mu M$) enriched seawater was rapid (growth rate $\approx 0.5d^{-1}$) and comparable to the cells grown in full enriched (NO_3^- , PO_4^{3-} , vitamin B₁₂ and f/2 metal).

In the experiment of 1985, cells died abruptly in experimental period, and clear-cut results were not obtained. However, the growth rate of *C. antiqua* cultured in NO_3^- plus PO_4^{3-} enriched surface seawater exceeded than that cultured in unenriched seawater.

Combining the results obtained in those experiments and field observations with those from previous studies on nutrient uptake and growth kinetics, it was suggested that phosphate is at least one of the controlling factors for the population of *C. antiqua* at Harima-nada in the summer of 1984 and 1985.

1 はじめに

Chattonella antiqua は夏の瀬戸内海で大規模な赤潮を形成するラフィド藻である (Ono & Takano, 1980)。我々はこれまで本種の赤潮発生にかかわる化学的環境因子の役割を明らかにするために、室内培養実験に基礎をおいた研究を行ってきた (中村, 1986; 中村ら, 1986)。

これらの結果をふまえた上で我々は、1984, 85年の夏、*C. antiqua* 赤潮頻発海域である瀬戸内海家島諸島 (西島) において、本種の現場海水を用いた半連続培養実験並びに水質調査を実施した。本報ではその結果を報告すると共に、これらの結果を過去室内培養系で得られた結果と結びつけることで、実際の海域ではどの栄養塩が *C. antiqua* の増殖速度を律しているのか (又は栄養塩は増殖を律していないのか) について議論を展開する。

現場海水を用いて藻類を培養し海水の“藻類増殖潜在能力”を評価する方法としては従来 AGP 法 (例, 須藤ら, 1973) や透析膜を用いた透析培養法 (e.g. Sakshaug, 1977; Takahashi & Fukazawa, 1982) が用いられてきた。そのうち AGP 法はその簡便さ故に広く用いられているが系がバッチ系であるために系内の化学環境が時間と共に変化してしまうという欠点がある。つまり AGP 法は、海水中で藻類がどの位のバイオマスまで増殖し得るか—換言すれば最終収量 (final yield) に対してどの栄養塩が制限因子となり得るか—を評価する手法としては極めて有効であるけれども、現実の海水が与えられた藻類をどの位の速度で増殖させ得るのかの目安とはならない。一方、透析培養法では系外との海水交換が継続的に起こっているために、AGP 法の欠点を補うことができるものの、培養の経過に伴い、透析膜表面にバクテリアが付着したり、系内の細胞濃度が大きくなって系への栄養塩の供給が藻類による栄養塩摂取に追いつかなくなり、系内の化学環境が系外のそれと異なってくる可能性がある (cf. Sakshaug, 1977)。これらの欠点のある程度まで補うために今回の現場海水を用いた培養実験では、我々は半連続培養法を用いた (Tilman & Kilham, 1976; 中村, 1985c)。この方法では系の海水交換率 (希釈率) を一定に保つことができ、しかも希釈率を大きく細胞濃度をできるだけ小さく保つことで系内の化学環境を系外のそれに近づけることができる。そこで本研究では、現場海水を input として、*C. antiqua* の半連続培養を行い、海水がどの位の速度で本種を増殖させ得るのか、そして増殖速度を律している化学物質 (もしあれば) は何なのかを明らかにすることを試みた。

2 調査及び実験

2.1 概要

1984年8月1日～11日及び1985年7月26日～8月13日、瀬戸内海西島 (家島諸島) において培養実験並びに水質調査 (水温・塩分・透明度・DO・クロロフィル a・栄養塩-NH₄⁺, NO₂⁻, NO₃⁻+NO₃⁻, PO₄³⁻, DTP⁻ 及び *C. antiqua* 個体数) を行った (図1)。毎朝8:30、坊勢島の宿泊所を渡船で出発し、84年はA点及びB点で、85年はB点のみで採水及び測定を行った。A点は水深約 30m で比較的潮の流れが速く、B点は水深約 20m で魚類畜養いけすのわきである。調査期間中畜養いけすへの

大規模な飼料投入は行われなかった。採水・測定完了後、西島の漁師小屋において試水の処理、培養実験、植物プランクトンの観察を行った。夕刻渡船にて坊勢港に戻り栄養塩及びクロロフィル分析試料を漁協冷凍庫に保管した。

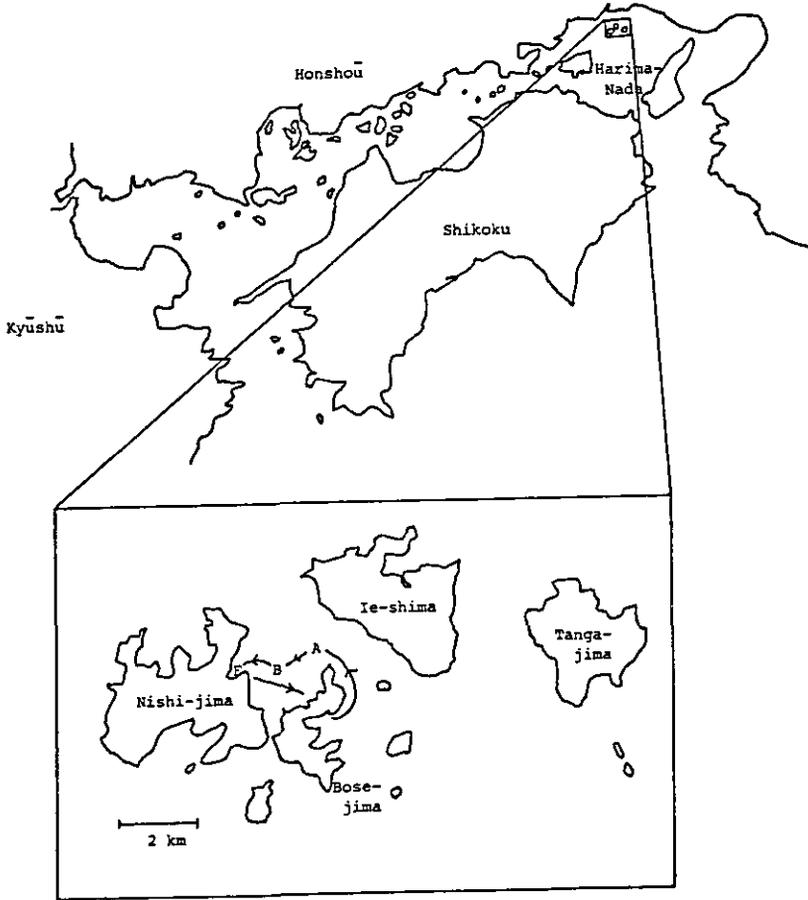


図 1 調査海域図

A, B: 調査採水地点, E: 実験場

Fig.1 Study area

A, B: sampling stations, E: Field lab

2.2 水質調査

1) 水温・塩分・DO: ハイドララボ社製水質測定器(サーベイヤII型)を用い各定点の0,1,2,3,5,7,10,15,20m, 底層の水温・塩分・DOを測定した。なおpHは84年はセンサー部接触不良のため, 85年はセンサー部破損のため, 有意なデータが得られなかった。

2) 透明度: 84年の調査は, サーベイヤIIのソング(白色, ϕ 20cm)が水中確認できなくなる

深度を近似的な透明度とした。85年はセッキ板によって透明度を測定した。

3) 栄養塩類, クロロフィル a: バンドーン採水器 (10 l) にて, 0, 5, 10, 20m 層から採水を行い船上でポリびん (1 l) に採取した。実験場到着後ただちに 200m l を GF/C ろ紙にてろ過し, ろ液のうち 20m l をガラス製バイアルびん (50m l) に分取し溶存全リン (DTP) 分析試料とした。残りのろ液は 200m l のポリびんに入れ NH_4^+ , NO_2^- , $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$, PO_4^{3-} 分析試料とした。次に試水 500m l に塩基性炭酸マグネシウム (5g/l) を 1m l 加えた後 GF/C ろ紙にてろ過を進行紙をクロロフィル分析試料とした。これら試料は当日夕刻までアイスボックス (<5°C; 84年) か小型冷凍庫 ($\cong -10^\circ\text{C}$) に保存した後, 坊勢漁協の冷凍庫に移し替えた。全調査終了後試料を再びアイスボックスにつめて研究所に持ち帰った。研究所では測定まで -20°C の冷凍庫に保管してできるだけ速やかに分析を行った。

NH_4^+ は Solórzano (1969) の方法, NO_2^- は Bendschneider & Robinson (1952) の方法, $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ は Wood et al. (1967) の方法, PO_4^{3-} は Murphy & Riley (1962) の方法に基づき, テクニコン社製オートアナライザー II 型で測定した。DTP は Menzel & Corwin (1965) の方法に基づき, 有機態のリンをリン酸塩にまで分解して測定を行った。

クロロフィル a は Strickland & Parsons (1965) の方法に基づき日立 220A 分光光度計で測定を行った。

4) プランクトン群集の観察: 各深度, ポイントごとの採水試料から 5m l を小型試験管 (5m l) に分取し, このうち 1m l を光学顕微鏡で観察し, 試水中の C. *antiqua* 個体数を計数した。

2. 3 現場海水を用いた半連続培養実験

1) 材料及び培養条件: C. *antiqua* のクローン株 (Ho-1: 中村・渡辺, 1984a; 中村, 1986) を実験に供した。すべての培養は実験場に設置したインキュベータ内, 25°C , $0.04 \text{ ly} \cdot \text{min}^{-1}$ (昼光色蛍光灯, 12:12 LD サイクル (08:00 点灯, 20:00 消灯) にて行った。また半連続培養用の input 海水は当日採水したものを使用した。

2) 予備培養: 一連の実験のフローチャートを図 2 に示す。f/2 培地 (Guillard & Ryther, 1962) で培養した C. *antiqua* ($\cong 10^4 \text{ cells} \cdot \text{m}^{-1}$) の培養約 10m l を実験場前の表層 GF/C ろ過海水 500m l に植え継ぎ予備培養を行った。細胞濃度が $1000 \text{ cells} \cdot \text{m}^{-1}$ 程度 (増殖がピークに達する直前) に達した時点で, 半連続培養の本実験を行った。

3) 本実験: 本実験の期間と使用した GF/C ろ過海水, 各栄養塩の添加仕様を表 1 に示す。本実験当日, 200m l 三角フラスコに 90m l の海水を加え, これに予備培養株 10m l を植え継ぎ, 翌日から希釈率 0.5 d^{-1} で半連続培養を行った。海水培地の交換は 10:00~11:00 の間に行い output 中の C. *antiqua* 細胞濃度を光学顕微鏡下計数 (2m l) した。なお本実験開始時の f/2 培地からの N, P, B_{12} の持ち込みはほとんど無視でき, EDTA, 鉄の持ち込みは 10^{-9} M 以下と考えられる。

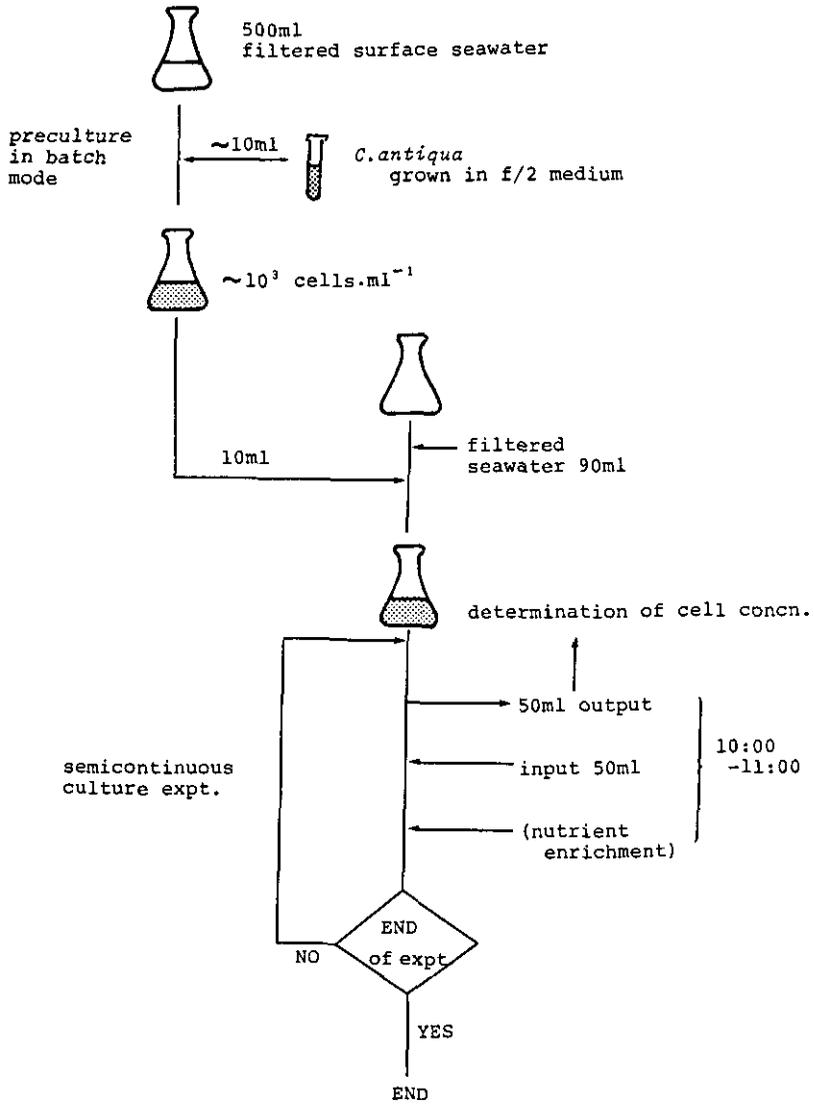


図 2 半連続培養実験の概要

Fig.2 Schematic diagram of semicontinuous culture system

3 結果

3.1 水質調査

1) 天候：1984年の調査期間中は連日好天に恵まれ、8月8日夕刻にごく軽い夕立があった他は快晴・微風の日が続き、連日最高気温は 32℃ を越す猛暑であった。85年の7月中は好天に恵まれ、好天微風の日が続いた。8月に入ってから、太平洋上の台風の影響で風が強まった。曇天やにわか雨の日もあったが、おおむね好天で最高気温は30℃を越えていた。

表 1 現場海水を用いた半連続培養実験の培養モード

Table 1 Experimental mode of the semicontinuous culture system using natural seawater

| | Expt. period | Seawater | Expt. Mode |
|------------|--------------|----------|---|
| Expt 84 | 84.8.6 | B-5m | 1) non-enriched |
| | -8.11 | | 2) NO_3^- (400 μM) + PO_4^{3-} (30 μM) 3) f/2 metal (1 ml/l) 4) full enriched (NO_3^- 400 μM , PO_4^{3-} 30 μM , f/2 metal 1 ml/l, B_{12} 0.1 $\mu\text{g/l}$) |
| Expt 85 | 85.7.29 | B-0m | 1) non-enriched |
| | -8.2 | | 2) NO_3^- (50 μM) 3) PO_4^{3-} (5 μM) 4) NO_3^- (50 μM) + PO_4^{3-} (5 μM) 5) f/2 metal (1 ml/l) 6) full enriched (NO_3^- 400 μM , PO_4^{3-} 30 μM , f/2 metal 1 ml/l, B_{12} 0.1 $\mu\text{g/l}$) |
| Run1 | | | |
| Expt 85 | 85.8.7 | B-0m | 1) non-enriched |
| | -8.10 | | 2) NO_3^- (50 μM) 3) PO_4^{3-} (5 μM) 4) NO_3^- (50 μM) + PO_4^{3-} (5 μM) 5) NO_3^- (50 μM) + PO_4^{3-} (5 μM) + f/2 metal (1 ml/l) 6) NO_3^- (50 μM) + PO_4^{3-} (5 μM) + B_{12} (1 $\mu\text{g/l}$) 7) full enriched (NO_3^- 400 μM , PO_4^{3-} 30 μM , f/2 metal 1 ml/l, B_{12} 1 $\mu\text{g/l}$) |
| Run2 | | | |
| | | B-15m | 1) non-enriched |

after Guillard & Ryther (1962)

2) 水温・塩分など：図3, 4に定点Bでの84, 85年の水温・塩分・DOの鉛直分布（調査期間中の平均値）を示す。84年の水温は表層～5m層で26～27℃, 10m層で24～26℃, 底層で22～23℃であった。定点Aとの間にも有意の差は認められなかった。経日的には水温は上昇傾向にあった。85年の水温は0～5m層で25～27℃, 10m層で23～26℃, 底層で21～23℃であった。

塩分は両年とも全層を通して30.8～32.2‰の範囲にあり、ゆるやかな塩分成層が認められた。

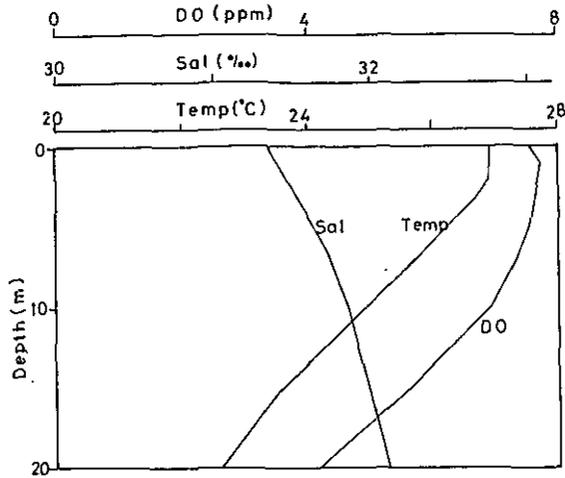


図 3 1984年, 定点Bでの水温, 塩分, DOの鉛直分布 (8月1日~11日の平均)

Fig.3 Vertical profiles of temperature, salinity and DO at station B in 1984 (average over Aug.1-Aug.11)

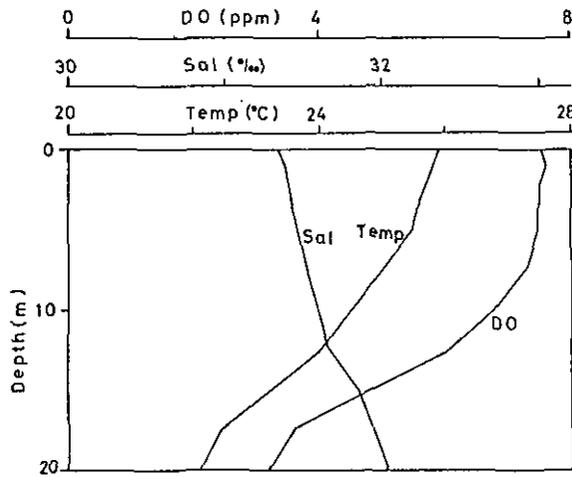


図 4 1985年定点Bでの水温, 塩分, DOの鉛直分布 (7月26日~8月13日の平均)

Fig.4 Vertical profiles of temperature, salinity and DO at station B in 1984 (average over Jul.26-Aug.13)

透明度は兩年とも 7~10m 程度 (通常10m前後)で推移したが, 85年8月1日以降は風による鉛直混合が起こったためか 7m 前後まで低下した。

DO は兩年とも 0~5m 層で 8ppm 前後, 底層で 3ppm 前後であった。0~10m層のクロロフィル a は84年で $1\sim 3\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, 85年は $1\sim 5\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ 程度 (通常 $3\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ 以下)で推移した。

3) 栄養塩類: 図5, 6に84, 85兩年の定点Bでの PO_4^{3-} , DTP, NH_4^+ , NO_2^- , $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ の鉛直分布調査期間中の平均)を示す。兩年とも PO_4^{3-} は 0~5m で $0.01\sim 0.05\mu\text{M}$, 底層で $0.3\mu\text{M}$ 程

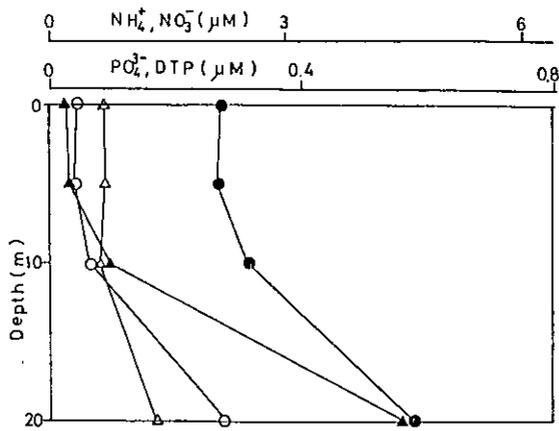


図 5 1984年定点Bでの栄養塩の鉛直分布 (8月1日~11日の平均)
○ : PO₄³⁻ , ● : DTP, △ : NH₄⁺, ▲ : NO₃⁻

Fig.5 Vertical profiles of nutrients at station B in 1984 (average over Aug.1-Aug.11)

○ : PO₄³⁻ , ● : DTP, △ : NH₄⁺, ▲ : NO₃⁻

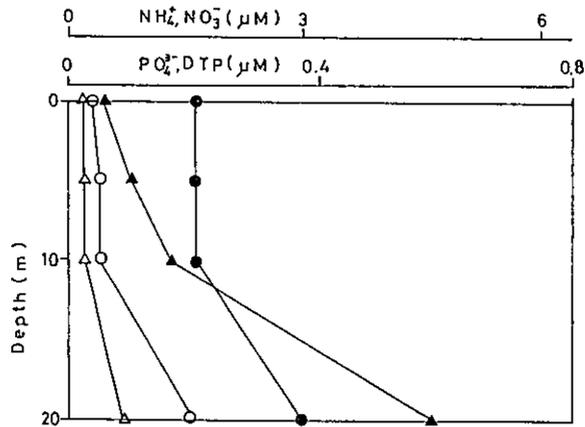


図 6 1985年, 定点Bでの栄養塩の鉛直分布 (7月26日~8月13日の平均)
○ : PO₄³⁻ , ● : DTP, △ : NH₄⁺, ▲ : NO₃⁻

Fig.6 Vertical profiles of nutrients at station B in 1985 (average over Jul.26-Aug.13)

○ : PO₄³⁻ , ● : DTP, △ : NH₄⁺, ▲ : NO₃⁻

度であった。

DTP は両年とも 0~10m 層で 0.2~0.3 μM, 底層で 0.5~0.6 μM 程度であった。

NH₄⁺ は84年は 0~10m で 0.4~1 μM, 底層で 1.3~2 μM であった。一方, 85年は 0~10m で

0.0~1 μ M, 底層で 1.0~2 μ M 程度であった。

NO₃ は 84 年は 0~5m で 0.1~0.3 μ M, 10m で 0.1~1 μ M, 底層で 4~6 μ M であった。85 年は 0~5m で 0.1~1 μ M, 10m で 0.8~2 μ M, 底層では 3~8 μ M であった。なお 84 年においては定点 A と B の間で栄養塩濃度に有意の差は認められなかった。

4) 現場における *C. antiqua* の消長: 兩年とも, 家島周辺では *C. antiqua* 及び他の種による赤潮は発生しなかった。84 年は 8 月 8 日まで *C. antiqua* は全く計数にかからなかったが 8 月 9, 10 日の両日 (調査終了間際) A, B 両点の各深度から 1 cell \cdot m⁻¹ 年度が検出された。85 年は調査開始直後の 7 月 28 日に底層で最大 25 cells \cdot m⁻¹ の個体が検出された。7 月中は各層でおおむね 10 cells \cdot m⁻¹ の個体が検出されたが 0m 層で少ない (<7 cells \cdot m⁻¹) のが特徴的であった。8 月に入ると *C. antiqua* は試水中にほとんど検出されなかった (<1 cell \cdot m⁻¹) 。

3. 2 現場海水を用いた *C. antiqua* の半連続培養実験

1) 84 年の実験結果: 図 7 に 84 年に行った半連続培養実験の細胞濃度の経日変化を示す。実験に用いた海水は定点 B の 5m 層海水である。半連続培養系の希釈率は 0.5d⁻¹ であるため増殖速

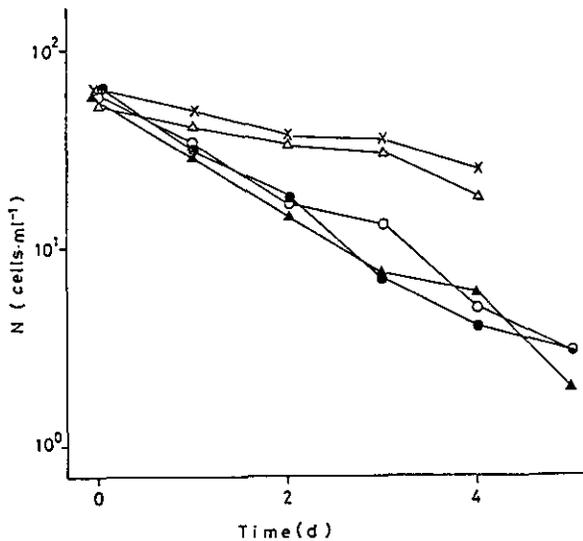


図 7 半連続培養系での細胞濃度の経日変化 (1984年8月6日~11日)

○:ろ過海水系 A, ●:ろ過海水系 B, △: N+P系, ▲: f/2メタル型, ×: 完全系

Fig.7 Semicontinuous culture experiment in 1984. Time course of cell concentration over Aug.6-Aug.11

○:non-enriched(A), ●:non-enriched (B), △:NO₃ and PO₄³⁻ enriched, ▲:f/2 -metal solution enriched, ×:full enriched.

度 (μ) が 0 の場合細胞濃度 (N_t) は前日の値の半分になり、 $\mu = 0.69d^{-1}$ (倍加時間 1d) の場合 N_t は前日と同じ値となる。

栄養塩無添加の系(ろ過海水系)での C. *antiqua* の増殖は極めて貧弱であり細胞濃度は急激にしかも指数関数的に減少した。実験期間を通じての平均的な増殖速度 μ を次式によって算出した：

$$\ln N_t = \ln N_0 + (\mu - \ln 2) t \quad (1)$$

ここに N_t は実験開始後 (8月6日) t 日目の細胞濃度である。 μ はろ過海水系 A で $0.11d^{-1}$, B で $0.00d^{-1}$ であった。また f/2 メタル添加系でも増殖は貧弱であり μ は $-0.12d^{-1}$ であった。またろ過海水系, f/2 メタル系では培養の進行と共に細胞は矮小化した。f/2 メタル系に 8月10日に NO_3^- を $400 \mu M$, PO_4^{3-} を $30 \mu M$ 添加したところ翌日には細胞は通常の大きさにまで回復した。

N+P系では8月6日の実験開始時には細胞がいくぶん小型化 ($\approx 70 \mu m$) していたものの翌日には通常の大きさ ($\approx 100 \mu m$) にまで回復した。また増殖も速やかで8月6日～8月9日の平均で $0.51d^{-1}$ であった。しかし8月10日に珪藻 *Skeletonema costatum* の混入が認められたため、この時点で培養を中止した。

Full enrich 系でも C. *antiqua* は速やかな増殖を示し、 μ は $0.47d^{-1}$ であった。

2) 85年夏の実験結果：85年の半連続培養実験は都合 2 回 (Run 1. 7月29日～8月2日；Run 2. 8月7日～8月10日) 行った。Run 1 では、いずれの培養モードでも増殖速度 (μ) は極めて低く、5m ろ過海水に N, P, B_{12} , f/2 メタルを full enrich した場合でも $0.3d^{-1}$ 程度であった。また、ろ過海水系での μ は $0.1d^{-1}$, N+P系で $0.25d^{-1}$ 程度であった。また実験開始後 4 日目にはすべての培養系で細胞の突然の死滅が起こった。

Run 2 でも実験開始後 3 日目に細胞の突然の死滅が起こってしまった。しかし 0 日目～22 日目の増殖は全く“順調”で表 2 に示すような結果が得られた。

4 考察

4.1 水温・塩分など

C. *antiqua* は日周鉛直運動を行って日中は表層、夜間は下層に移動するが夜間集積を行う深度は、10m 程度である (浜本ら, 1979)。したがって本種の生息深度はほぼ 0～10m 程度にあると考えてよくこの深度での調査期間中の水温、塩分等が本種の増殖にとって好適であったかどうかを考察する。

中村・渡辺 (1984a) によると C. *antiqua* の増殖の好適水温、塩分、照度はそれぞれ 22～28℃, 25～41‰, $>0.04 ly \cdot min^{-1}$ である。調査期間中の 0～10m 層の水温は 84, 85 年とも 24～27℃ 程度であり、塩分は 31～32‰ の範囲にあった。このことは両年とも水温、塩分が C. *antiqua* 増殖の好適範囲にあったことを示している。一方調査期間中の透明度は両年とも 7～10m と高く、しかも好天に恵まれていたため、水中照度も C. *antiqua* 増殖に好適であったと考えられる。こ

表 2 1985年の半連続培養実験 (Run2)
各モードでの増殖速度 (8月7日~9日)。
Table 2 Semicontinuous culture experiment in 1985 (Run 2)
Growth rates in each mode (Aug.7-Aug.9).

| sea water | Mode | μ (d ⁻¹) | |
|-----------|---|--------------------------|------|
| | non-enriched | 0.15 | 0.13 |
| | NO ₃ ⁻ (50 μ M) | -0.19 | 0.20 |
| | PO ₄ ³⁻ (5 μ M) | -0.16 | 0.20 |
| | NO ₃ ⁻ (50 μ M)+PO ₄ ³⁻ (5 μ M) | 0.58 | 0.66 |
| | NO ₃ (50 μ M)+PO ₄ (5 μ M) | 0.60 | 0.70 |
| 0m | +f/2 (1m/l) | | |
| | NO ₃ (50 μ M)+PO ₄ (5 μ M) +B ₁₂ (1 μ g/l) | 0.41 | 0.54 |
| | NO ₃ ⁻ (50 μ M)+PO ₄ (5 μ M) +f/2(1m/l/l)+B ₁₂ (1 μ g/l) | 0.70 | 0.69 |
| 15m | non-enriched | 0.50 | 0.50 |

のように兩年とも水温、塩分、照度とも *C. antiqua* 赤潮発生の条件を満たしていると思われるにもかかわらず *C. antiqua* の赤潮の発生は認められなかった。このことは、これら以外の因子—栄養塩類の制限や動物プランクトンによる摂食—が本種の増殖を抑えていたことを示唆している。

4. 2 栄養塩類

表3に84,85年の0~10m層における PO₄³⁻, DIN, (=NH₄⁺+NO₂⁻+NO₃⁻)の平均濃度, *C. antiqua* のN, Pに対するminimum cell quota(中村, 1985a)及びPO₄³⁻, DINに対応するminimum cell quotaで除した値(Y値; 中村・渡辺, 1984b)を示す。低いY値を示す栄養塩ほど最終増殖量に対する制限因子となりやすいと考えられる。表3を見る限り、兩年ともPの方が最終増殖量に対する制限因子となりやすいと考えられる。なお調査期間中DOP(=DTP-PO₄³⁻)が84年には0.3 μ M, 85年には0.2 μ M程度存在しているが*C. antiqua*は有機態のリンをリン源として利用できないため(中村, 1985b)Y値の計算から除外した。

表4に兩年の調査期間を通じての0~10m層の栄養塩濃度及び*C. antiqua*の増殖速度に対する各栄養塩の半飽和定数(K₀)を示す。兩年ともPO₄³⁻濃度はK₀^{PO₄³⁻}に比べてかなり小さく、したがってリン酸塩は*C. antiqua*の増殖速度を制限する一つの因子であったことが推定される。また兩年ともNH₄⁺, NO₃⁻濃度の変動範囲にK₀^{NH₄⁺}, K₀^{NO₃⁻}が含まれているため、窒素も(リンほどではないにせよ)*C. antiqua*の増殖速度を律する要因となっていた可能性がある。

表 3 調査期間中の定点BでのDIN, PO_4^{3-} 平均濃度, N, P に対する最小細胞内含量, 及びY値

Table 3 Averaged concentration of DIN and PO_4^{3-} during experimental period, minimum cell quotas for nitrogen and phosphorus and Y values

| | '84 (8/1-8/11) | | '85 (7/26-8/13) | |
|---|----------------|-------------|-----------------|-------------|
| | DIN | PO_4^{3-} | DIN | PO_4^{3-} |
| nutrient concentration (0-10m) | 1.28 | 0.06 | 1.1 | 0.04 |
| minimum cell quota ($pmol \cdot cell^{-1}$) | 7.8 | 0.62 | 7.8 | 0.62 |
| Y ($cell \cdot m^{-1}$) | 160 | 90 | 140 | 70 |

4.3 半連続培養

1) 1984年の実験: ろ過海水系での増殖が極めて貧弱であることはB点 5m 層の海水では何らかの栄養塩が不足していたか, あるいは重金属等によって増殖阻害 (e.g. Cu による阻害) が起こっていたことを示している。また f/2メタル溶液の添加 (1ml / l) によっても増殖はやはり貧弱であったが, これは Cu等による増殖阻害が貧弱な増殖の原因でなかったことを示唆している。一方 NO_3^- と PO_4^{3-} の同時添加によって(N+P系)C. antiqua の速やかな増殖が起こったこととN+P系と full enrich 系間の増殖速度に差が認められなかったことは実験期間中のB点 5m 層の海水では N 又は P が C. antiqua の増殖速度を律していたと考えられる。実験期間中(8月6日~8月10日)のB点 5m 層の PO_4^{3-} 濃度は $0.01 \sim 0.02 \mu M$, NH_4^+ 濃度は $0.4 \sim 0.7 \mu M$, NO_3^- は $0.2 \sim 0.5 \mu M$ であり, これらの値を表4に示した K_0 の値と比較すると PO_4^{3-} 濃度は $K_0^{PO_4}$ に比べてはるかに小さいのに対し, NH_4^+ 濃度は $K_0^{NH_4}$ に比べて同程度かそれよりも大きい。したがって実験期間中のB点 5m 層海水ではリン酸塩が C. antiqua の増殖速度を律していたと考えてよさそうである。

2) 1985年の実験: 不幸にして2回行った実験のいずれも細胞の急激な死滅が起こり, 明りょうな結果が得られなかった。死滅の原因についてはいまだ明らかではないが培養中にプラスチック内にバクテリアが混入, 増殖し C. antiqua 増殖阻害物質を分泌した可能性があるかもしれない(古城, 私信)。ただし検鏡によってもバクテリアの著しい増殖は認められなかった。

なお2回目の実験のうち最初の2日間は比較的順調に経過したので本節ではこのデータを用いて議論を行う(表2)。この表をみると表層海水を input とした系では無添加, N単独, P単独で

表 4 PO_4^{3-} , NH_4^+ 及び NO_3^- の平均濃度
及び各栄養塩に対する増殖速度の半飽和定数 (K_0)
Table 4 Averaged concentration of PO_4^{3-} , NH_4^+ and NO_3^- , and half saturation
constants for growth (K_0) for each nutrient

| | ¹⁹⁸⁴ (0-10m) (μM) | ¹⁹⁸⁵ (0-10m) (μM) | K_0 (μM) |
|-------------|--|--|-------------------|
| PO_4^{3-} | 0.06 (0.00-0.15) | 0.04 (0.01-0.15) | 0.25 |
| NH_4^+ | 0.6 (0.0-1.3) | 0.20 (0.0-1.8) | 0.23 |
| NO_3^- | 0.65 (0.2-2.3) | 0.8 (0.1-2.2) | 0.65 |

は増殖が極めてゆるやかである反面, N と P を同時に添加した系では (N, P に更に B_{12} , f/2 メタルを加えた系も含め) 速やかな増殖が生じている。このことは表層海水では PO_4^{3-} と同時に NH_4^+ , NO_3^- も *C. antiqua* 増殖の制限因子となっていたことを示唆している。一方この期間中の表層海水中の PO_4^{3-} 濃度は $0.01 \sim 0.02 \mu M$, NH_4^+ は $0.0 \sim 0.2 \mu M$, NO_3^- は $0.2 \sim 0.6 \mu M$ である。これらの値を各 K_0 (表4) と比較しても PO_4^{3-} と同時に NH_4^+ , NO_3^- が本種の増殖速度を律していたことは十分考えられる。また底層海水を用いた系では栄養塩添加しなくても増殖速度が $0.50 d^{-1}$ と速やかな増殖を示しているが、この期間中の底層の PO_4^{3-} 濃度は $0.40 \sim 0.43 \mu M$, NH_4^+ が $0.2 \sim 2.0 \mu M$, NO_3^- が $3 \sim 8 \mu M$ であり、 PO_4^{3-} , NO_3^- 濃度が、各々 $K_0^{PO_4}$, $K_0^{NO_3}$ を上回っており増殖が N, P 制限から解放されたためと考えられる。

5 おわりに

1984年及び85年 夏 *Chattonella antiqua* 赤潮多発海域である瀬戸内海家島諸島で、水質調査並びに現場海水を用いた *C. antiqua* の半連続培養実験を行った。その結果以下の点が明らかとなった。

1) 両年とも現場水温, 塩分, 照度は *C. antiqua* の増殖にとって至適温度にあったにもかかわらず、本種の赤潮は発生しなかった。

2) 両年とも栄養塩濃度は低かった。栄養塩濃度と *C. antiqua* の増殖速度の栄養塩濃度依存性との比較から、両年ともリン酸塩が本種の増殖速度を律していたと考えられた。

3) 半連続培養実験において両年とも *C. antiqua* の速やかな増殖を得るためには PO_4^{3-} の添加が必要であり現場海水中の PO_4 濃度が *C. antiqua* の速やかな増殖を支えるには低すぎることを示された。

4) 以上の結果から現場での PO_4^{3-} の欠乏が両年とも *C. antiqua* 赤潮の発生しなかった(一つの)原因と考えられた。今後は半連続培養法を更に改良(例えば無菌系での解析等)を行って、より明確な結果を得るように努力したい。

引用文献

- Bendschneider, K. and R. J. Robinson (1952): A new spectrophotometric determination of nitrite in seawater. *J. Mar. Res.*, 11, 87-96.
- Guillard, R. R. L. and J. H. Ryther (1962): Studies of marine planktonic diatoms, I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea*(Cleve) Gram. *Can. J. Microbiol.*, 8, 229-239.
- 浜本俊作・吉松定昭・山田達夫 (1979): 昭和53年6月発生ホルネリア赤潮に関する調査報告書, 香川県, 33-47.
- Menzel, D. W. and N. Corwin (1965): The measurement of total phosphorus in seawater based on the liberation of organically bound fraction by persulfate digestion. *Limnol. Oceanogr.*, 10, 280-282.
- Murphy, J. and J. P. Riley (1962): A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acta*, 27, 31-36.
- 中村泰男 (1985a): 窒素あるいはリン制限下における *Chattonella antiqua* の増殖の動力学. 国立公害研究所研究報告書, 第80号, 73-83.
- 中村泰男 (1985b): *Chattonella antiqua* と *Heterosigma akashiwo* のアルカリホスファターゼ活性. 国立公害研究所研究報告書, 第80号, 67-72.
- 中村泰男 (1986): 赤潮鞭毛藻 *Chattonella antiqua* の硝酸塩, アンモニウム塩, リン酸塩摂取に及ぼす増殖条件の影響. 国立公害研究所研究報告書, 第110号,
- 中村泰男・渡辺 信 (1984a): *Chattonella antiqua* の増殖に及ぼす温度, 塩分, 照度, pHの効果. 国立公害研究所研究報告書, 第63号, 79-85.
- 中村泰男・渡辺 信 (1984b): *Chattonella antiqua* の増殖に及ぼす栄養塩の効果. 国立公害研究所研究報告書, 第63号, 87-95.
- 中村泰男・沢井一浩・渡辺正孝(1986): *Chattonella antiqua* の増殖に及ぼす銅イオン活動度の効果. 国立公害研究所研究報告書, 第110号, 127-138
- Ono, C. and T. Takano (1980): *Chattonella antiqua* (Hada) comb. nov., and its occurrence on the Japanese coast. *Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab.*, 102, 93-100.
- Sakshaug, E. (1977): Limiting nutrients and maximum growth rate for diatoms in Narragansett Bay. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 28, 109-123.
- Solórzano, L. (1969): Determination of ammonia in natural waters by the phenylhypochlorite method. *Limnol. Oceanogr.*, 14, 799-801.
- Strickland, J. D. H. and T. R. Parsons (1965): A manual of seawater analysis. 2nd Ed., Fish. Res. Board Canada Bulletin, 125.
- 須藤隆一・森 忠洋・岡田光正 (1973): 藻類培養試験による富栄養化の評価. 用水と排水, 15, 107-116.
- Takahashi, M. and N. Fukazawa (1982): A mechanism of "red-tide" formation II. Effect of selective nutrient stimulation on the growth of different phytoplankton species in natural water. *Mar. Biol.*, 70, 267-273.
- Tilman, D. and S. S. Kilham (1976): Phosphate and silicate growth and uptake kinetics of the diatoms *Asterionella formosa* and *Cyclotella meneghiniana* in batch and semicontinuous culture. *J. Phycol.*, 12, 375-383.

中村泰男ら

Wood, E. P., F. A. Armstrong and F. A. Richards (1967): Determination of nitrate in seawater by cadmium-copper reduction to nitrite. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.*, **47**, 23-31.

cage culture を用いた Heterosigma akashiwo (Hada) Hada の
増殖特性と日周鉛直移動実験

In situ Cage Culture Experiments for the Growth of Heterosigma akashiwo (Hada)
Hada and for the Diel Vertical Migration

渡辺正孝¹・野中昭彦²・木幡邦男¹・中村泰男¹・原島 省¹・河原長美²

Masataka WATANABE¹, Akihiko NONAKA², Yasuo NAKAMURA¹,
Akira HARASHIMA¹ and Osami KAWARA²

要 旨

現場海域の環境をよく再現し、かつ動物プランクトンによる捕食、他の藻類種との競合の影響、流動に伴う集積・分散の影響を除外した現場設置型の cage culture を製作した。膜を通しての物質移動量の定量的把握を室内実験及び現場海域実験により行い、24時間で全容量の約40%が入れ換わることが判明した。これを富栄養化海域である大阪湾泉佐野食品湾に設置、培養株 H. akashiwo の増殖実験及び野外観測を実施した。培養状態から現場海水への急激な環境の変化にもかかわらず H. akashiwo は良く順応し、良好な増殖が得られた。現場で得られた増殖特性は室内実験結果をよく再現しており、このような富栄養化海域では栄養塩はもはや制限因子とはなり得ず、照度が制限因子であることが判明した。cage culture 内の栄養塩濃度は膜を通しての物質移動量に依存するが、細胞濃度が $5 \times 10^3 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ 以下の領域で実験を行うかぎり、外部から系内への栄養塩の供給量が H. akashiwo による栄養塩摂取量を下まわることがないことが判明した。水温・塩分・栄養塩の

-
1. 国立公害研究所 水質土壌環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Water and Soil Environment Division, the National Institute for Environmental Studies. Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
 2. 昭和59~60年度 客員研究員 (岡山大学工学部 〒700 岡山市津島中3-1-1)
Visiting Fellow of the National Institute for Environmental Studies. Present Address: The Faculty of Engineering, Okayama University, Tushimanaka, Okayama 700, Japan.

鉛直分布が顕著な成層構造を示す家島諸島海域において、cage culture 内に培養株 *H. akashiwo* を接種し、一方は表層 (0.5m) に設置した。他方は昼間は表層 (0.5m) に、夜間は底層 (15m) に設置する強制的な日周鉛直移動実験を行った。表層設置の場合、*H. akashiwo* の増殖は見られなかった。一方日周鉛直移動したものは良好な増殖を示した ($\mu = 0.7 \sim 1.1 \text{ d}^{-1}$)。底層での栄養塩摂取と表層での活発な光合成を日周鉛直移動により有利に行っていることが現場海域において初めて明らかになった。

Abstract

In situ cage culture was made and it can eliminate the effects of grazing due to zooplankton, competition with other phytoplanktons and accumulation or dispersion due to flow. Exchange rate through the filter was evaluated quantitatively by laboratory and field experiments and it was found that 40 % of total volume was exchanged within 24h. The cage cultures were installed in Izumisano Harbor, Osaka Bay and the growth experiments of *H. akashiwo* and field survey were conducted. In spite of drastic change from incubated condition to field condition *H. akashiwo* showed rapid adaptation to the field environment and satisfactory growth was obtained. Characteristics of growth in the field was similar to those in the laboratory culture and it was found that the level of nutrient concentration did not limit the growth of *H. akashiwo* in this eutrophic sea and the underwater irradiance limited the growth.

The nutrient concentration in the cage culture was depending on the degree of exchange rate through the filter and it was found that the supply from outside sea to the cage culture was sufficient comparing with the uptake of the nutrient by *H. akashiwo*, as long as the cell concentration of *H. akashiwo* was below $5 \times 10^3 \text{ cells} \cdot \text{m}^{-3}$. In the sea of Ieshima Island, where strong stratifications due to temperature, salinity and nutrient, were observed, clone culture of *H. akashiwo* was inoculated into the cage culture. One group was installed in the surface (0.5m) during experiment. The other group was installed in the surface (0.5m) during daytime and in the bottom (15m) during night. *H. akashiwo*, installed in the surface, showed no significant growth. *H. akashiwo*, which was forced to conduct diel vertical migration, showed large growth rate ($\mu = 0.7 \sim 1.1 \text{ d}^{-1}$). It was clearly shown in the field that this species had ecological advantage in terms of nutrient uptake in the bottom and active photosynthesis in the surface by doing diel vertical migration.

1 はじめに

H. akashiwo の増殖に及ぼす水温、塩分、栄養塩の効果が純粋培養実験により明らかにされてきた (Watanabe, et al., 1982; 木幡・渡辺, 1985a, 1985b)。しかし純粋培養下で得られた環境因子と増殖速度との定量的関係が現場対象海域において適用し得るかどうかの検証はまだ十分には行われていない。現場海域の環境をよく再現し、現場海域で増殖実験を行うものとして透析培養 (dialysis culture) が古くから行われてきた。Maestrini et al.(1984)は現場におけるバイオアッセイの手法として詳細な review を行っている。この場合透析膜 (dialysis sack or dialysis tube)は分子重量 12,000 以下のものだけを通過させることができる。現場海域に直接つるす方法は波浪等による破損の問題がありあまり行われていない。通常行われている方法はポンプ揚水しタンク内に透析膜バッグをつるし増殖実験を行っている (Jensen et al., 1972; Prakash et al., 1973; Sakshaug, 1977; Yoder, 1979; Maestrini & Kossut, 1981)。特に Jensen et al.(1972)は直径 16mm のセルロース透析チューブを用い、中にガラスのビーズを入れ回転させながらビーズの上下運動によりチューブの中をかくはんし拡散を増加させている。この方法はその他多くの研究者により用いられている (Jensen & Rystad, 1973; Prakash et al., 1973; Jensen et al. 1974; Eide et al., 1979; Yoder, 1979)。

しかしこの透析チューブを通しての内と外との物質移動量が正確に把握できていないこと、さらに夏期水温が高い場合膜に有機物が付着し、バクテリアの作用により膜が破損したり、さらにバクテリア分解物 (特にビタミン類) による影響などが生じるなど多くの問題がある。

本論文では堅固な構造で現場海域に直接つるすことができ、内部の栄養塩・細胞濃度等変化がモニターできるだけの内部採水量を十分にとることのできる容量を有している cage culture を用いて現場培養実験を行った。さらに水温・塩分・栄養塩の成層が発達している現場海域につるし、日周鉛直移動を人為的に行わせ、栄養塩摂取における鞭毛藻の生態的優位性を現場において検証した。

2 cage culture の膜を通しての物質移動

対象とする藻類種を閉じ込め、現場海域の環境をよく再現し、かつ流動に伴う集積・分散の影響等を除外した cage culture を作製した (図 1)。直径 20cm、幅 10cm の透明なアクリル製円筒の両側面をアクリル板で貼り合わせ、両側面に直径 3mm の穴を 590 個開けてある。この側面に同様の穴を開けたアクリル板を重ね合わせ、その間にミリポアフィルター (0.8 μ m) を挟み込み、テフロン製リングとアクリル製ボルト・ナットにより固くしめつけ、内部の藻類が外部に漏れない構造になっている。類似の cage culture は Owens ら(1977)により作製されているが、容量が 32 ml しかなく、内部の栄養塩状態も不明であり解析を困難にしている。外部の栄養塩環境の変化に対して、直ちに内部環境が追従するようなフィルターを通しての大きな物質交換が理想であるが、本実験では *Heterosigma akashiwo* (直径約 10 μ m 程度) を用いるため、内部から漏れ

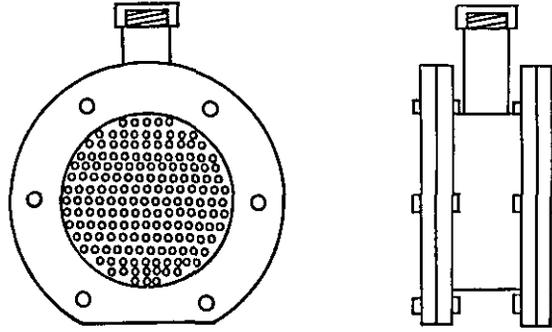


図 1 cage culture の概略図
Fig. 1 Schematic view of cage culture

ないように孔径 $0.8\mu\text{m}$ を用い、実際上は物質移動はかなり限定されたものになっている。この物質移動量の正確な推定が解析上大きな問題となる。

cage culture のフィルターを通して溶存態物質がどれほど速やかに拡散するのか、また現場海域に設置した場合に付着性生物や浮遊物質がフィルターを通しての拡散にどの程度影響を与えるのかを明らかにするため、単純化した系での膜を通しての物質移動解析と室内及び現場実験を行った。また、フィルターを通じての光の透過性を室内実験により検討した。

a) 物質移動係数

図2に示すような単純な実験系を考える。 $c(t)$ =cage culture 内部の物質濃度, c_0 =外部タンクの物質濃度, V =体積, A =フィルターの表面積, $\bar{c}=c(t)$ の初期濃度, K_F =総括物質移動係数とすると, cage culture 内部の物質収支式は次のように表される。

$$V \frac{dc}{dt} = A \cdot K_F \cdot (c_0 - c) \tag{1}$$

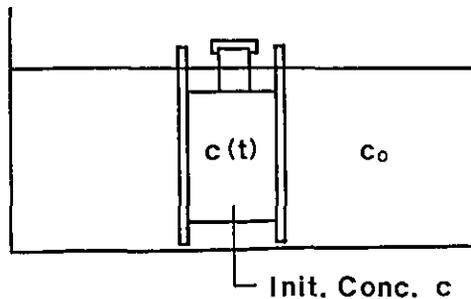


図 2 cage culture 膜を通しての物質移動の概略図
Fig. 2 Schematic view of mass transfer through the filter of cage culture

初期条件 $t = 0$ で $c(0) = \bar{c}$ とすると (1) 式は次の解を得る。

$$c(t) = c_0 - (c_0 - \bar{c}) e^{-t/T} \quad (2)$$

ここで

$$T = \frac{V}{AK_F}$$

(2) 式より cage culture 内部の物質濃度変化 $c(t)$ の測定により、膜を通しての物質移動係数を求めることができる。本論文においてはメチレンブルーを用い、cage culture 膜を通しての拡散実験を室内・現場海域にて行い、その物質移動係数を決定した。

b) 室内での物質移動実験

現場海域には種々のスケールの流れや乱流が存在し、cage culture のまわりに多様な流れや渦が発生する。これにより膜を通しての拡散性は異なってくるものと思われる。ここでは室内閉水路内に cage culture を設置し、静水状態と流水状態（フィルターに対して平行な流速 $5.6 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ 、ただしこの流速は潮汐流に基づく流速と同じ程度の流速である）の二つの場合に対して拡散実験を行った。沿岸海域は塩分濃度の変化が顕著であり、また cage culture の内と外とで塩分濃度差を生じる。この塩分濃度差が膜を通しての拡散能に与える影響を明らかにするため、静水・流水のそれぞれについて cage culture の内・外に塩分濃度差をつけた。表 1 に実験条件の一覧を示す。cage culture 内にメチレンブルーを溶解させた黒潮海水を入れ、静水・流水両条件下で水中に設置し、内部のメチレンブルー濃度の経時変化を測定した。メチレンブルー濃度の吸光度が極大である波長 665 nm で吸光光度計を用いて測定を行った。1回のサンプリング時に 5 ml ずつ採水し、これを24時間内に10回程度のサンプリングで測定した。得られたメチレンブルー濃度の経時変化に対し (2) 式を適用し最小自乗法により物質移動係数 $1/T$ を求めた(表 1)。

静水状態での実験 (Run 1 ~ Run 8) については物質移動係数に塩分濃度差の影響が認められる。この場合 cage culture 内部の塩分濃度が外部より高くても低くても同様の傾向が認められ、塩分濃度差が大きくなる程物質移動係数も大きくなっている。これは膜境界を通して rock exchange 型の密度流が発生しているためと考えられる。一方流水状態においては塩分濃度差に基づく物質移動係数の系統だった変化は見られず、実験誤差は見られるものの、流速の存在が塩分濃度差の影響を打ち消し、ほぼ一定の物質移動係数とできてさしつかえない結果が得られた。流水状態では cage culture の内部の塩分濃度が外部より低い場合の方がより大きい物質移動係数となっている。しかし Run 9 ~ Run 16 の平均値として約 $0.02 \text{ (h}^{-1}\text{)}$ という値を得た。現場の海域では $5 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ 程度の流れは常に存在しているため、この流水状態で得られた実験結果は現場海域にも適用可能と考えられる。

表 1 室内実験で得られた物質移動係数

Table 1 Mass transfer coefficients obtained in the laboratory experiment

| Run | Flow Speed ($\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$) | ΔS (%) | 1/T (h^{-1}) |
|-----|---|-------------------|----------------------------|
| 1 | 0 | 0 | 0.006 |
| 2 | 0 | +1 | 0.007 |
| 3 | 0 | +3 | 0.011 |
| 4 | 0 | +5 | 0.017 |
| 5 | 0 | 0 | 0.007 |
| 6 | 0 | -1 | 0.016 |
| 7 | 0 | -3 | 0.019 |
| 8 | 0 | -5 | 0.019 |
| 9 | 5 | 0 | 0.016 |
| 10 | 5 | +1 | 0.013 |
| 11 | 5 | +3 | 0.016 |
| 12 | 5 | +5 | 0.017 |
| 13 | 5 | 0 | 0.044 |
| 14 | 5 | -1 | 0.021 |
| 15 | 5 | -3 | 0.025 |
| 16 | 5 | -5 | 0.036 |

(注) $\Delta s = (+)$: cage culture の内部が外部より高塩分

$\Delta s = (-)$: cage culture の内部が外部より低塩分

c) 現場海域での海水交換実験

播磨灘家島海域において1986年8月7日より8月13日にわたって、cage culture を海中に設置し、現場海域での cage culture 膜を通しての物質移動係数の推定並びに浮遊物質・付着生物等の影響を調べた。実験期間中海水の透明度は 7~10m の範囲にあり、きれいな海であると言える。海上に設置されたいけす骨組みから水深 1.5m のところに cage culture 3個をつるし設置した。第1回目の実験は 8月7日にメチレンブルーを溶解した海水を 3個の cage culture に注入し、24時間にわたって cage culture から採水し、内部メチレンブルー濃度測定を行った。cage culture はそのまま海中に設置し続け、第2回目の実験は8月9日に内部メチレンブルー海水溶液を入れ替え、再び24時間にわたって内部メチレンブルー濃度測定を行った。その後 cage culture を海中に設置し続け8月12日に第3回目の実験を再び行った。表2に実験結果の一覧を示す。実験第1日目での物質移動係数は平均 0.058 (h^{-1}) と高い値を示した。しかし海水中に設置後 3日、6日後での物質移動係数は平均 0.023とほぼ一定の値を示した。この値はまた室内実験により得られた値 (0.02h^{-1})とも近似している。実験第1日目に高い物質移動係数を示した原因は不明であるが、

表 2 現場海域での物質移動係数 (1986, Ieshima)

Table 2 Mass transfer coefficients obtained in the field (1986, Ieshima)

| Run | Experimental Period (day) | Secchi Disk (m) | 1/T (h ⁻¹) |
|-----|---------------------------|-----------------|------------------------|
| 1 | 8/7 | 10.7 | 0.053 |
| 2 | 8/7 | 10.7 | 0.054 |
| 3 | 8/7 | 10.7 | 0.062 |
| 4 | 8/9 | 7.5 | 0.021 |
| 5 | 8/9 | 7.5 | 0.018 |
| 6 | 8/9 | 7.5 | 0.022 |
| 7 | 8/12 | 7.5 | 0.025 |
| 8 | 8/12 | 7.5 | 0.025 |
| 9 | 8/12 | 7.5 | 0.027 |

後述する環境調査より 8月5日～7日にかけて風による鉛直混合が顕著に起こり、このため局所的な乱れや流れが発生したために物質移動係数が大きく見積もられたのではないかと考えられる。なお透明度は 7.5～10.7 の間で比較的清い海水であった。このため浮遊物質による物質移動係数への影響は小さい。

室内実験及び現場海域での実験により、cage culture の膜を通しての物質移動係数は 0.02～0.025 (h⁻¹) という値を用いることが妥当と思われる。

d) 光の透過性

cage culture の両面は白色のミリポアフィルターにより挟まれており、アクリル製の透明な円筒部が全表面積の50%、残り50%が白色フィルターに被われている。このため外部から入射する光はその角度によりかなりの反射・吸収を受ける可能性がある。cage culture に角度を変えながらランプ光を当て、cage culture の外部と内部での照度を照度計(Biospherical Instruments Inc. Model QSP-170D)にて計測した。この内部照度と外部照度との比を透過率として各角度ごとに示したのが 図3 である。平均 87%の光透過率が得られており、これより水中照度が測定されれば cage culture 内部の照度は推定可能である。

3. 富栄養化海域での増殖実験

cage cultureを用いて、まず富栄養化した海域である大阪湾泉佐野食品コンビナート漁港において現場培養実験を行った。本港は水深 6～11m、面積 4.4×10⁵m² の港で船舶停留用棧橋から cage culture を設置し実験を行った。実験は昭和58年(1983年)8月7日～8月21日までと、昭和59年(1984年)7月29日～8月7日の2度にわたって行った。

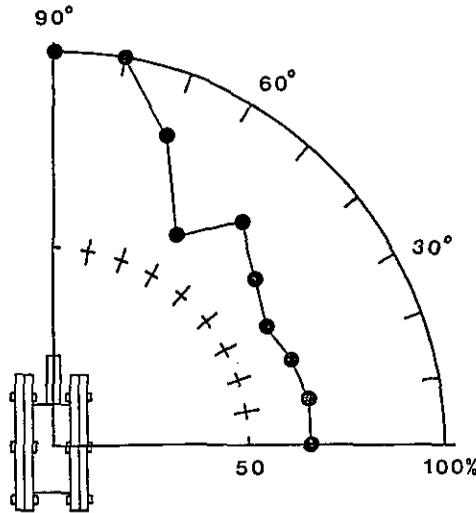


図 3 光の入射角と光透過率

Fig. 3 The relation between the directional angle from light and light transmission efficiency

3. 1 現場培養実験

cage culture をステンレス製網カゴの中に固定し、パイにそれらカゴをつり下げ、(1)0.5 m, (2)1.5m 又は 2m, (3) 3mの各深度に設置した。各 cage culture には対応する深度の海水をGF/C フィルターによりろ過した海水を満たし、これに f/2培地 (Guillard & Ryther, 1962) で培養した対数増殖期にある *H. akashiwo* (NIES-6) を初期細胞濃度が $2 \times 10^2 \sim 1 \times 10^3 \text{ cells} \cdot \text{m}^{-1}$ 程度となるように接種した。毎日 13:00 に cage culture を引き上げ、よく振動・かくはんさせ cage culture 内を均一にした後、ふたのまわりを蒸留水にて洗浄ふきとり、他藻類混入防止を行った後、100ml 採水を行った。直ちに現場実験室に持ち帰り、その内 10ml は細胞濃度計測に用いられ、1ml カウンティンチャンバーを用いて光学顕微鏡下で細胞濃度を計測した。残りのサンプルは直ちに GF/C フィルターによりろ過後直ちに凍結保存した。

表3, 4に昭和58年, 59年の cage culture による増殖実験の一覧を示す。実験期間中は同時に cage culture 設置場所にて朝 10:00 に現場環境調査を行った。水温・塩分は Hydro Lab を用いて鉛直分布を測定した。照度は水中照度計を用いてその鉛直分布を測定した。透明度は Secchi disk を用いて測定した。栄養塩測定のため 13:00 にバンドン採水器を用いて表層(水深 0.5m) と底層(底層上 0.5m)のところで採水を行った。サンプル水は直ちに GF/C フィルターにてろ過凍結保存した。

保存試料は凍結したまま持ち帰り、 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 及び $\text{NO}_2^- \text{-N}$ は Woodらの方法(1967), $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ は Solórzanoの方法(1969), $\text{PO}_4^{3-} \text{-P}$ は Murphy & Riley(1962)の方法に基づき、テクニコンオートアナライザーII型で測定した。

表 3 1983年の cage culture 実験のまとめ
 Table 3 Summary of cage culture experiments in 1983

| Run | Location (m) | Duration | Init.cell conc. (cells·m ⁻¹) | μ (day ⁻¹) | Temp (°C) | Sal (‰) | Light (ly·min ⁻¹) | Secchi Disk (m) |
|-----|--------------|-----------|--|------------------------|-----------------|-----------------|-------------------------------|-----------------|
| 1 | 0.5 | 8/10-8/15 | 821 | 0.55 | Max 30.2 | Max 31.8 | Max 0.17 | Max 1.9 |
| 2 | 0.5 | 8/10-8/15 | 1055 | 0.72 | Min 25.0 | Min 28.4 | Min 0.02 | Min 0.9 |
| | | | | | <u>Ave 28.5</u> | <u>Ave 29.5</u> | <u>Ave 0.088</u> | <u>Ave 1.5</u> |
| 3 | 2.0 | 8/11-8/15 | 506 | 0.3 | Max 29.4 | Max 32.1 | Max 0.03 | Max 1.9 |
| 4 | 2.0 | 8/11-8/15 | 708 | 0.0 | Min 23.7 | Min 29.8 | Min 0.01 | Min 1.4 |
| | | | | | <u>Ave 26.4</u> | <u>Ave 30.8</u> | <u>Ave 0.024</u> | <u>Ave 1.6</u> |
| 5 | 0.5 | 8/17-8/21 | 1390 | 0.31 | Max 27.6 | Max 32.2 | Max 0.21 | Max 2.3 |
| 6 | 0.5 | 8/17-8/21 | 998 | 0.48 | Min 24.2 | Min 31.1 | Min 0.04 | Min 0.8 |
| | | | | | <u>Ave 25.8</u> | <u>Ave 31.8</u> | <u>Ave 0.106</u> | <u>Ave 1.6</u> |
| 7 | 2.0 | 8/17-8/21 | 1159 | 0.0 | Max 26.2 | Max 32.1 | Max 0.06 | Max 2.3 |
| 8 | 2.0 | 8/17-8/21 | 1030 | 0.13 | Min 24.1 | Min 31.7 | Min 0.01 | Min 0.8 |
| | | | | | <u>Ave 25.4</u> | <u>Ave 32.0</u> | <u>Ave 0.03</u> | <u>Ave 1.6</u> |
| 9 | 3.0 | 8/17-8/21 | 1374 | 0.0 | Max 26.1 | Max 32.5 | Max 0.03 | Max 2.3 |
| 10 | 3.0 | 8/17-8/21 | 1103 | 0.0 | Min 24.0 | Min 31.7 | Min 0.01 | Min 0.8 |
| | | | | | <u>Ave 24.9</u> | <u>Ave 32.1</u> | <u>Ave 0.018</u> | <u>Ave 1.6</u> |

表 4 1984年の cage culture 実験のまとめ

Table 4 Summary of cage culture experiments in 1984

| Run | Location (m) | Duration | Init.cell conc. (cells \cdot m ⁻³) | μ (day ⁻¹) | Temp (°C) | Sal (‰) | Light (ly \cdot min ⁻¹) | Secchi Disk (m) |
|-----|-----------------|----------|---|-------------------------------|-----------------|-----------------|--|--------------------|
| 1 | 0.5 | 7/29-8/2 | 680 | 0.90 | Max 28.8 | Max 31.4 | Max 0.21 | Max 4.3 |
| 2 | 0.5 | | 619 | 0.92 | Min 24.6 | Min 29.5 | Min 0.06 | Min 2.8 |
| 3 | 0.5 | | 627 | 0.98 | <u>Ave 26.7</u> | <u>Ave 30.5</u> | <u>Ave 0.152</u> | <u>Ave 3.4</u> |
| 4 | 1.5 | | 718 | 0.56 | Max 28.7 | Max 31.5 | Max 0.13 | |
| 5 | 1.5 | | 688 | 0.65 | Min 24.3 | Min 29.8 | Min 0.03 | |
| 6 | 1.5 | | 621 | 0.75 | <u>Ave 26.5</u> | <u>Ave 30.7</u> | <u>Ave 0.096</u> | |
| 7 | 3.0 | | 341 | 0.58 | Max 28.6 | Max 32.5 | Max 0.07 | |
| 8 | 3.0 | | 646 | 0.39 | Min 23.9 | Min 30.2 | Min 0.02 | |
| | | | | | <u>Ave 25.9</u> | <u>Ave 31.3</u> | <u>Ave 0.056</u> | |
| 9 | 0.5 | 8/3-8/7 | 320 | 0.66 | Max 29.1 | Max 30.4 | Max 0.2 | Max 4.9 |
| 10 | 0.5 | | 320 | 0.93 | Min 28.5 | Min 24.9 | Min 0.12 | Min 3.4 |
| 11 | 0.5 | | 320 | 0.74 | <u>Ave 28.8</u> | <u>Ave 27.1</u> | <u>Ave 0.155</u> | <u>Ave 4.2</u> |
| 12 | 1.5 | | 130 | 0.70 | Max 28.8 | Max 30.5 | Max 0.15 | |
| 13 | 1.5 | | 130 | 0.76 | Min 28.1 | Min 25.4 | Min 0.08 | |
| 14 | 1.5 | | 130 | 0.76 | <u>Ave 28.5</u> | <u>Ave 27.4</u> | <u>Ave 0.11</u> | |
| 15 | 3.0 | | 328 | 0.24 | Max 28.8 | Max 32.0 | Max 0.09 | |
| 16 | 3.0 | | 328 | 0.54 | Min 26.7 | Min 25.4 | Min 0.04 | |
| 17 | 3.0 | | 328 | 0.47 | <u>Ave 27.4</u> | <u>Ave 28.1</u> | <u>Ave 0.06</u> | |

3. 2 1983年の実験結果

cage culture 内の *H. akashiwo* 増殖実験の概要を表3に、細胞濃度変化を図4、5に示す。なおここで求められた増殖速度 (μ)は、対数増殖期での値である。以下に *H. akashiwo* の増殖と水温、塩分、照度、栄養塩とのかかわりを論じる。

i) 水温

図6(a)に実験期間中の水温変化を示す。8月3日～8月15日までの間は強い成層状態が保たれ、表層においては28～30℃と非常に高温となっている。Run1, Run2(表層0.5m設置)では平均水温28.5℃で増殖率 $\mu=0.55, 0.75(d^{-1})$ と良好な値を得ている。これは室内実験で得られた値を良く再現している。Run5, Run6(表層0.5m設置)では平均水温25.8℃で増殖率 $\mu=0.31, 0.48(d^{-1})$ という結果を得ている。室内培養実験より少し低い値となっている。

ii) 塩分

図6(b)に実験期間中の塩分濃度変化を示す。*H. akashiwo*は9～30‰の広い範囲で最大増殖速度を示し30‰以上では直線的に増殖速度が低下することが知られている(Watanabe et al., 1982)。表層0.5m設置のRun1, Run2では平均塩分濃度は29.5‰であったが、Run3, Run4では平均塩分濃度は31.8‰と高くなっていた。Run3, Run4の増殖率が $\mu=0.31, 0.48d^{-1}$ とRun1, Run2に比較して低いのは塩分濃度が31‰と高かったことに起因していると考えられる。

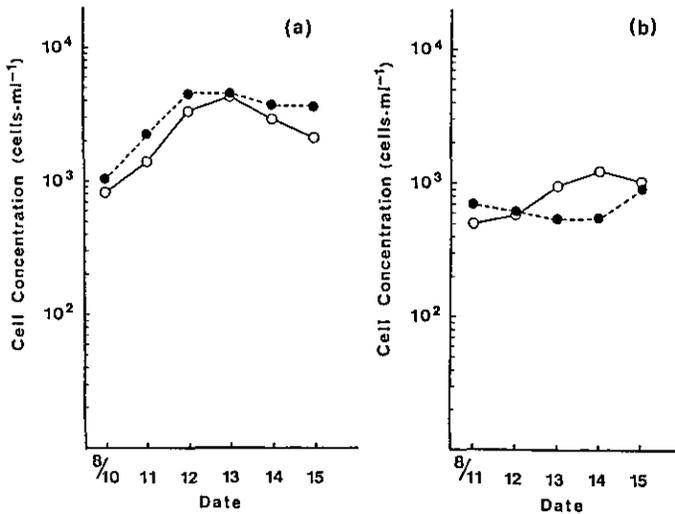


図 4 1983年の泉佐野港での *H. akashiwo* 増殖実験結果

(a) 水深 0.5m 設置 (— ○ — : Run1, ---- ● ---- : Run2)

(b) 水深 2m 設置 (— ○ — : Run3, ---- ● ---- : Run4)

Fig. 4 The growth of *H. akashiwo* at Izumisano Harbor in 1983

(a) Installation at the depth of 0.5m

(b) Installation at the depth of 2m

iii) 照度

室内培養実験 (Watanabe et al., 1982) によれば *H. akashiwo* は $0.022 \text{ ly}\cdot\text{min}^{-1}$ 以上で増殖可能となり, $0.034 \text{ ly}\cdot\text{min}^{-1}$ 以上で最大増殖速度に達する。図 6(c) に実験期間中の照度変化を示す。透明度は平均 1.5m 程度しかなく, 非常に懸濁物の多い状態となっている。水深 2m で平均照度は $0.024\sim 0.03 \text{ ly}\cdot\text{min}^{-1}$ と増殖可能限界程度となっている。このため 2m 層に設置した場合 (Run3, Run4 及び Run7, Run8) では増殖率は著しく小さくなる。ただし塩分濃度も 31~32‰ と高くなるため増殖率も低下する傾向にあるが, この場合はむしろ照度による影響と考えられる。水深 3m 層に設置した Run9, Run10 では増殖は認められなかった。

iv) 栄養塩

図 7 に実験期間中のリン酸塩濃度, アンモニウム塩濃度, 硝酸塩濃度の変化を示す。表層では平均 $\text{PO}_4\text{-P}=0.5 \mu\text{M}$, $\text{NO}_3\text{-N}=2 \mu\text{M}$, $\text{NH}_4\text{-N}=10 \mu\text{M}$ 程度存在していた。外海水の栄養塩濃度は *H. akashiwo* 増殖にとって十分な濃度であるが, フィルターを通しての cage culture 内の栄養塩は 1983 年は測定していないので不明である。しかし表層 0.05m に設置した Run1, Run2 (図 4)

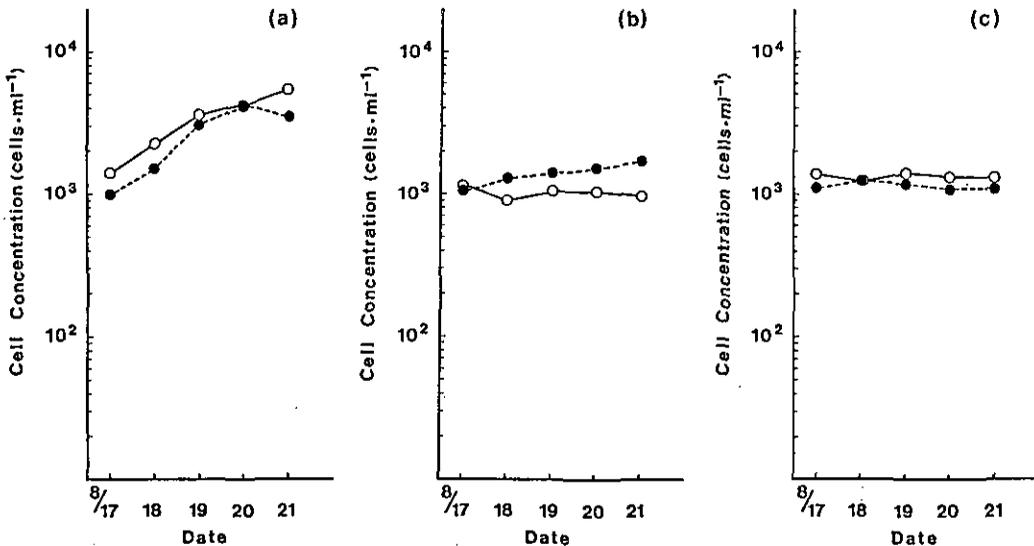


図 5 1983年の泉佐野港での *H. akashiwo* 増殖実験結果

- (a) 水深 0.5m 設置 (—○— : Run5, ----●---- : Run6)
- (b) 水深 2m 設置 (—○— : Run7, ----●---- : Run8)
- (c) 水深 3m 設置 (—○— : Run9, ----●---- : Run10)

Fig. 5 The growth of *H. akashiwo* at Izumisano Harbor in 1983

- (a) Installation at the depth of 0.5m
- (b) Installation at the depth of 2m
- (c) Installation at the depth of 3m

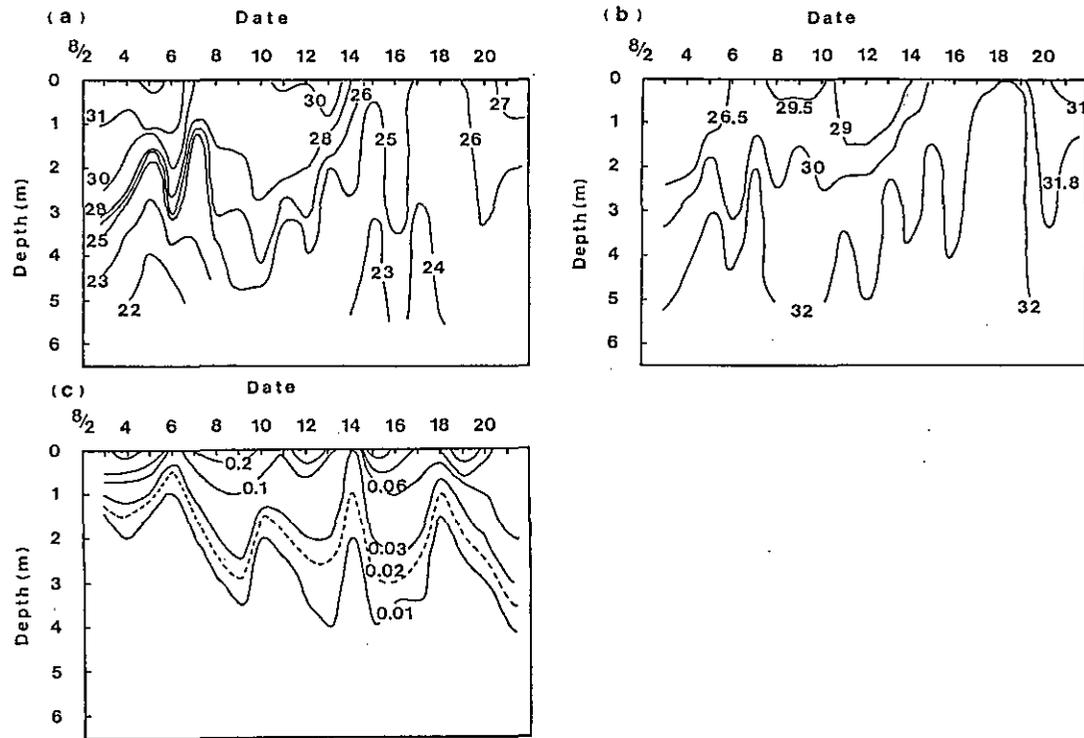


図 6 1983年の泉佐野港での水温・塩分・水中照度の日変化
(a) 水温 (°C) (b) 塩分 (‰) (c) 水中照度 ($\text{ly}\cdot\text{min}^{-1}$)

Fig. 6 Daily variations of water temperature, salinity, underwater irradiance at Izumisano Harbor in 1983
(a) Water temperature (°C), (b) Salinity (‰), (c) Underwater irradiance ($\text{ly}\cdot\text{min}^{-1}$)

は増殖率 0.55, 0.72 (d⁻¹) と良好な増殖を示したが、実験開始後4日目で増殖が止まる現象が観察された。後述する1984年の実験においては cage culture 内部の栄養塩濃度は *H. akashiwo* 細胞濃度の増加と共に外海水中の栄養塩濃度より低下することが確認されている。このことから特に透明度が平均 1.5m と低く、水中の浮遊物質が多かったと考えられる1983年にはフィルターの海水交換能力が低下し、外部からの栄養塩供給量を内部の *H. akashiwo* 細胞による摂取量が上回ったものと思われる。この結果内部栄養塩が枯渇状態になり、増殖が停止したものと推定される。

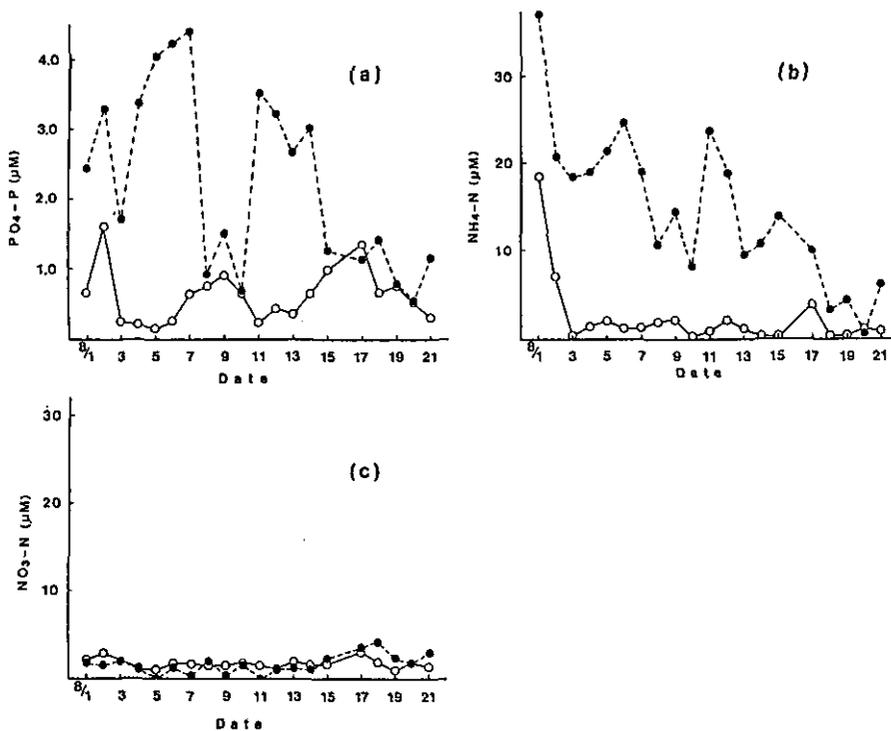


図 7 1983年の泉佐野港でのリン酸塩・アンモニウム塩・硝酸塩濃度の日変化

- (a) リン酸塩濃度 (— ○ — : 表層, ---●--- : 底層)
- (b) アンモニウム塩濃度 (— ○ — : 表層, ---●--- : 底層)
- (c) 硝酸塩濃度 (— ○ — : 表層, ---●--- : 底層)

Fig. 7 Daily variations of PO₄-P, NH₄-N, NO₃-N concentrations at Izumisano Harbor in 1983

- (a) PO₄-P concentration (— ○ — : surface, ---●--- : bottom)
- (b) NH₄-N concentration (— ○ — : surface, ---●--- : bottom)
- (c) NO₃-N concentration (— ○ — : surface, ---●--- : bottom)

3.3 1984年の実験結果

cage culture 内の *H. akashiwo* 細胞濃度変化を 図8, 9に示す。表層 0.5m 層に設置した Run 1, 2, 3 の場合, 平均水温 26.7°C, 平均塩分 30.5‰, 平均照度 0.152 ly·min で増殖速度 $\mu = 0.9$ 以上を示す良好な増殖結果を得た。実験期間中表層 0.5mにおける栄養塩濃度(図11)は平均 $PO_4-P \approx 0.5 \mu M$, $NO_3-N \approx 1 \mu M$, $NH_4-N \approx 0.3 \mu M$ であり *H. akashiwo* 増殖にとって十分な濃度であった。この実験期間中, 水温・塩分濃度(図10(a), (b))は1983年の場合と比較して明りょうな差は見られなかった。一方水中照度(図10(c))は1983年に比較して高く, 最大増殖速度を与える下限照度 $0.034 \text{ ly}\cdot\text{min}^{-1}$ でさえ水深 4m にまで達していた。また表層 0.5m おける平均照度は $0.152 \text{ ly}\cdot\text{min}^{-1}$ と1983年の約2倍の照度となっていた。このことから1984年の高い増殖率は高い照度条件によるものと考えられる。

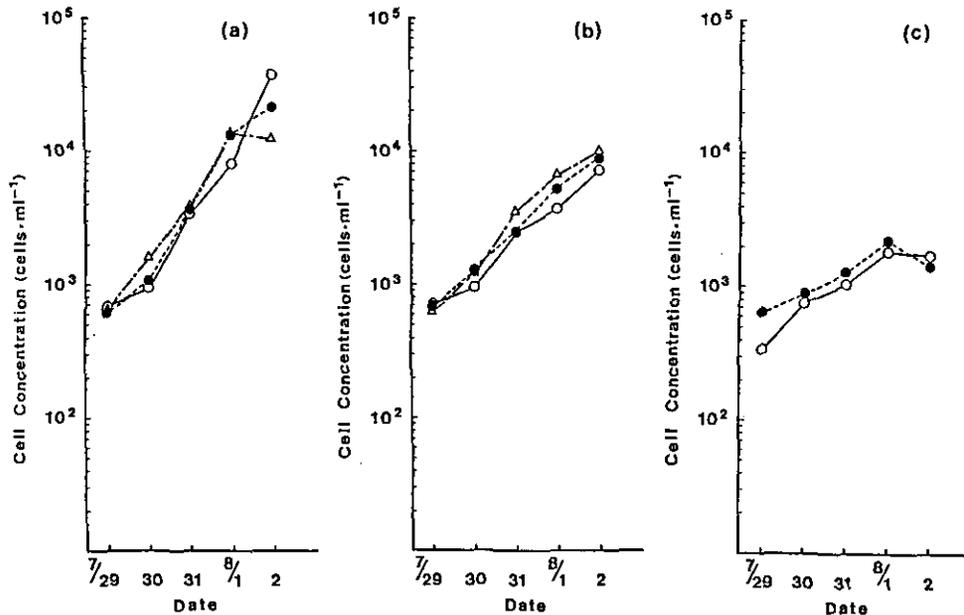


図 8 1984年の泉佐野港での *H. akashiwo* 増殖実験結果

- (a) 水深 0.5m 設置 (— ○ — : Run1, ---- ● ---- : Run2,
 ----△---- : Run3)
 (b) 水深 1.5m 設置 (— ○ — : Run4, ---- ● ---- : Run5,
 ----△---- : Run6)
 (c) 水深 3m 設置 (— ○ — : Run7, ---- ● ---- : Run8)

Fig. 8 The growth of *H. akashiwo* at Izumisano Harbor in 1984

- (a) Installation at the depth of 0.5m
 (b) Installation at the depth of 1.5m
 (c) Installation at the depth of 3m

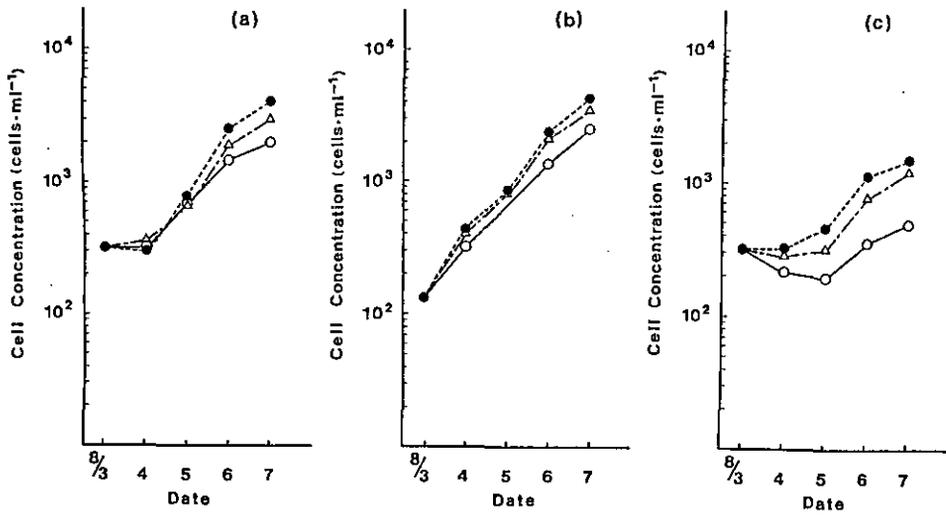


図 9 1984年の泉佐野港での *H. akashiwo* 増殖実験結果

- (a) 水深 0.5m 設置 (— ○ — : Run9, ---- ● ---- : Run10,
 ----△---- : Run11)
- (b) 水深 1.5m 設置 (— ○ — : Run12, ---- ● ---- : Run13,
 ----△---- : Run14)
- (c) 水深 3 m 設置 (— ○ — : Run15, ---- ● ---- : Run16,
 ----△---- : Run17)

Fig. 9 The growth of *H. akashiwo* at Izumisano Harbor in 1984

- (a) Installation at the depth of 0.5m
- (b) Installation at the depth of 1.5m
- (c) Installation at the depth of 3 m

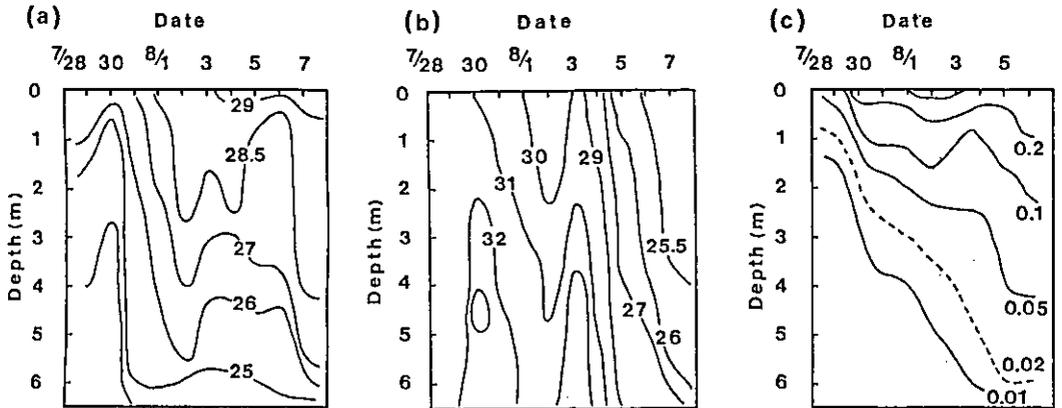


図 10 1984年の泉佐野港での水温・塩分・水中照度の日変化
(a)水温(°C) (b)塩分(%) (c)水中照度($\text{ly}\cdot\text{min}^{-1}$)

Fig. 10 Daily variations of water temperature, salinity, underwater irradiance at Izumisano Harbor in 1984

(a) Water temperature (°C), (b) Salinity (%),
(c) Underwater irradiance ($\text{ly}\cdot\text{min}^{-1}$)

図11, 12に実験期間中の cage culture 内と外海水中の栄養塩濃度変化を示す。1984年7月29日から30日にかけて外海水中の栄養塩濃度が大きく変動した。Run1, 2, 3について実験開始時の cage culture 内部の栄養塩濃度が欠損している。cage culture に同じ深度で採水した海水をろ過して実験を開始したが、栄養塩分析用採水時刻と採水時間が異なることにより、cage culture 内部の初期栄養塩濃度と外海水栄養塩濃度とが合致しない場合があった。潮汐流が卓越するため、時刻により栄養塩濃度が変動するためである。しかしいずれにしても cage culture 内の初期栄養塩濃度は外海水栄養塩濃度に近いものと考えることができる。7月29日から30日にかけて表層 0.5m 外海水においては $\text{PO}_4\text{-P}$ ($0.58\ \mu\text{M}\rightarrow 1.25\ \mu\text{M}$), $\text{NO}_3\text{-N}$ ($0.76\ \mu\text{M}\rightarrow 2.12\ \mu\text{M}$), $\text{NH}_4\text{-N}$ ($0.19\ \mu\text{M}\rightarrow 1.45\ \mu\text{M}$) と大きく増加した。これに伴い cage culture 内の栄養塩濃度は増加し、7月30日においては cage culture 内部の $\text{NO}_3\text{-N}$, $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度は共に外海水より高い値となっている。一方 $\text{PO}_4\text{-P}$ については7月30日の cage culture 内部の濃度は外海水より低い値となっている。このことは *H. akashiwo* によりまず $\text{PO}_4\text{-P}$ が最初に大量に摂取されたことを示している。7月31日には外海水栄養塩の急激な低下の影響を受け、cage culture 内部の栄養塩は急激に低下し、外海水栄養塩濃度に近い値となっている。その後の外海水中の $\text{PO}_4\text{-P}$, $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度の増加により膜を通して cage culture 内部にそれら栄養塩は入ってくるが、細胞濃度が $5\times 10^9\ \text{cells}\cdot\text{ml}^{-1}$ をこえる程度に増殖すると *H. akashiwo* による摂取量が上回るため、cage culture 内の $\text{PO}_4\text{-P}$, $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度は低下を続け $\text{PO}_4\text{-P}$ で約 $0.1\ \mu\text{M}$, $\text{NO}_3\text{-N}$ で約 $0.2\ \mu\text{M}$ 程度となっている。一方 Run2, Run3 については cage culture 内部の $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度は外海水での $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度に追従している。この傾向は同じく表層 0.5m に設置した Run9, 10, 11についても同様の結果

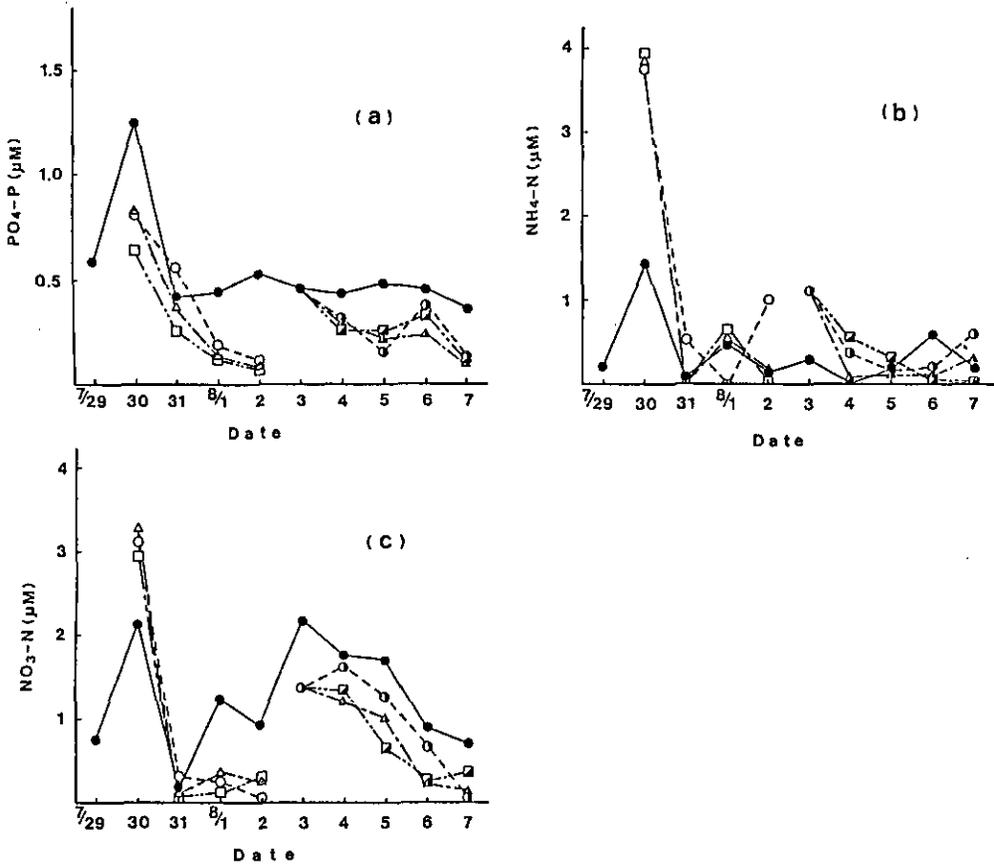


図 11 0.5m 層設置での cage culture 内と外海水中の栄養塩濃度変化

(a)リン酸塩濃度, (b)アンモニウム塩濃度, (c)硝酸塩濃度

(— ● — : 外海水,

---○---: Run1, ---△---: Run2, ---□---: Run3,

---●---: Run9, ---▲---: Run10, ---■---: Run11)

Fig. 11 Daily variations of nutrient concentrations measured in the cage culture and in the ambient sea for the installation at the depth of 0.5m

(a) $PO_4\text{-P}$ concentration, (b) $NH_4\text{-N}$ concentration,

(c) $NO_3\text{-N}$ concentration

(— ● — : ambient sea,

---○---: Run 1, ---△---: Run 2, ---□---: Run 3,

---●---: Run 9, ---▲---: Run 10, ---■---: Run 11)

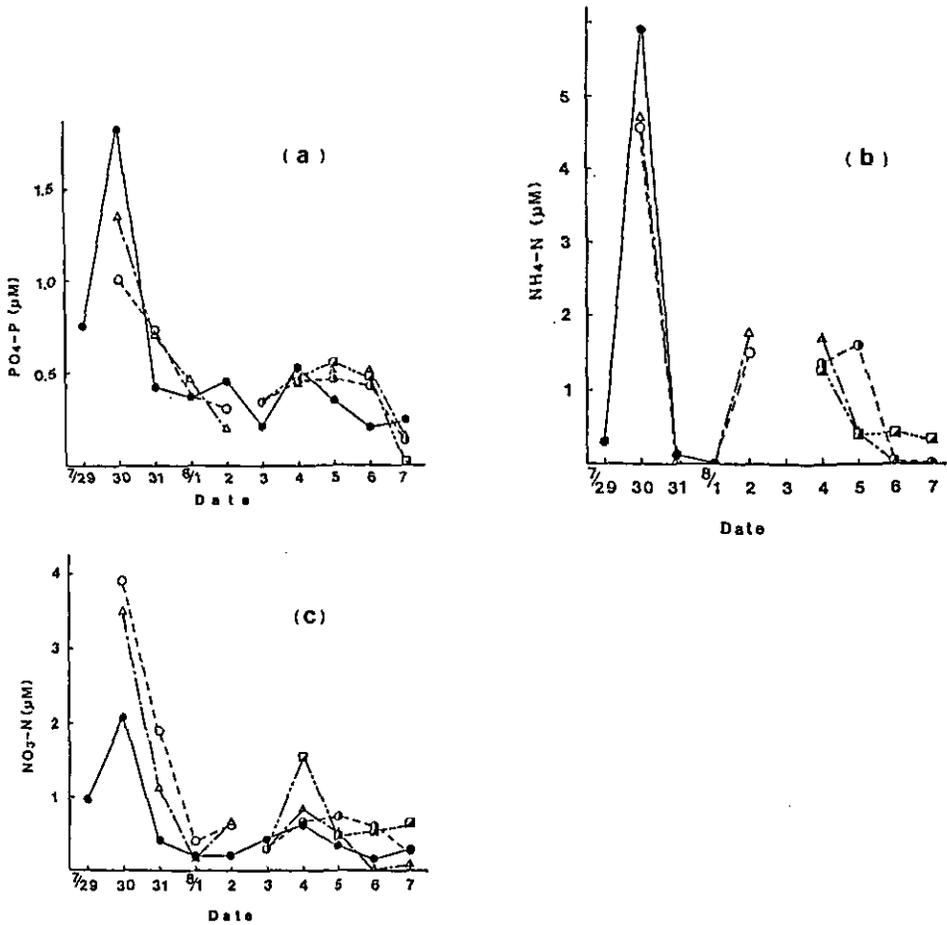


図 12 3m 層設置での cage culture 内と外海水中の栄養塩濃度変化
 (a) リン酸塩濃度, (b) アンモニウム塩濃度, (c) 硝酸塩濃度
 (— ● — : 外海水, ---○--- : Run7, ---△--- : Run8,
 ---●--- : Run15, ---▲--- : Run16, ---■--- : Run17)

Fig. 12 Daily variations of nutrient concentrations measured in the cage culture and in the ambient sea for the installation at the depth of 3 m

(a) $PO_4\text{-P}$ concentration, (b) $NH_4\text{-N}$ concentration,
 (c) $NO_3\text{-N}$ concentration
 (— ● — : ambient sea, ---○---: Run 7, ---△---: Run 8,
 ---●---: Run15, ---▲---: Run16, ---■---: Run17)

となっている。

水深 3m に設置した Run7, Run8 についても同様に cage culture 内部の $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度は外海水よりも高くなり、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度は外海水より低くなっている。Run1, 2, 3 と同様に *H. akashiwo* による $\text{PO}_4\text{-P}$ 摂取量が外海水からの供給を上回ったためと見られる。一方 $\text{NO}_3\text{-N}$ については $\text{NO}_3\text{-N}$ 摂取量が外海水からの供給を下回っている。このように cage culture 内部の栄養塩濃度変化と外海水中の栄養塩濃度変化の比較より、*H. akashiwo* 細胞濃度が低い場合、cage culture 内部の栄養塩環境は外海水栄養塩環境に追従していることがわかる。しかし *H. akashiwo* 細胞濃度が $5 \times 10^3 \text{ cells} \cdot \text{m}^{-1}$ 程度以上となると *H. akashiwo* による栄養塩摂取量が外海水からの供給量を上回るため、cage culture 内部栄養塩濃度は外海水栄養塩濃度に追従しなくなる。このため *H. akashiwo* を用いた cage culture 実験においては、細胞濃度が $5 \times 10^3 \text{ cells} \cdot \text{m}^{-1}$ 以下の領域で実験を行うことが必要とされる。このような範囲内で cage culture による現場増殖実験を行う限り、cage culture 内部の栄養塩環境は極めて外海水栄養塩濃度に近い状態にあることが判明した。

4 成層した現場海域における cage culture を用いた *H. akashiwo* の日周鉛直移動実験

cage culture は現場海域の水温、塩分、照度条件をそのまま反映させ、かつ culture 内部の海水は24時間で約40%程度交換される。水温、塩分、栄養塩の鉛直分布が顕著な成層構造を示す海域において、cage culture 内に *H. akashiwo* 培養株を接種し、現場における日周鉛直移動実験を行った。現場海域の環境調査と共に cage culture 内部の栄養塩濃度測定を行い *H. akashiwo* の増殖に及ぼす成層海域での日周鉛直移動の生態的意味を明らかにする。実験を行った場所は瀬戸内海播磨灘北部に浮かぶ家島諸島の西島である。家島諸島付近は *C. antiqua* をはじめとする大規模な赤潮が頻発した海域である。また付近には現在約9万匹のハマチ養殖イケスがある。水深 15m の定点に cage culture を設置すると共に、現場環境調査を行った。

4.1 環境調査

現場観測は1985年7月26日～8月13日にかけて行われた。毎日午前9～10時の間に水温、塩分、水中照度、栄養塩濃度の挙動を知るため測定及び採水を行った。水温、塩分は Hydro-Lab 社製 サーベイヤII型を用いた。照度は Biospherical Instrument 社製 Model No. QSP-170D を用いた。栄養塩については水深 0m と 15m でバンドン式採水器を用いて採水を行い、第3章で述べた方法によりサンプルの処理、分析を行った。

1985年8月5日から8月10日まで台風の影響で風が強く、8月8日には約 $10 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ の東風が吹いた。図13(a)に水温測定結果を示す。表層では約 26°C 前後で安定した水温となっているが、その鉛直構造は不安定な変動を示しており、特に8月1日～5日にかけては底層での水温変動が顕著に発生し低水温域が底層に形成されている。このことは複雑な流れが海底で発生していることを示し

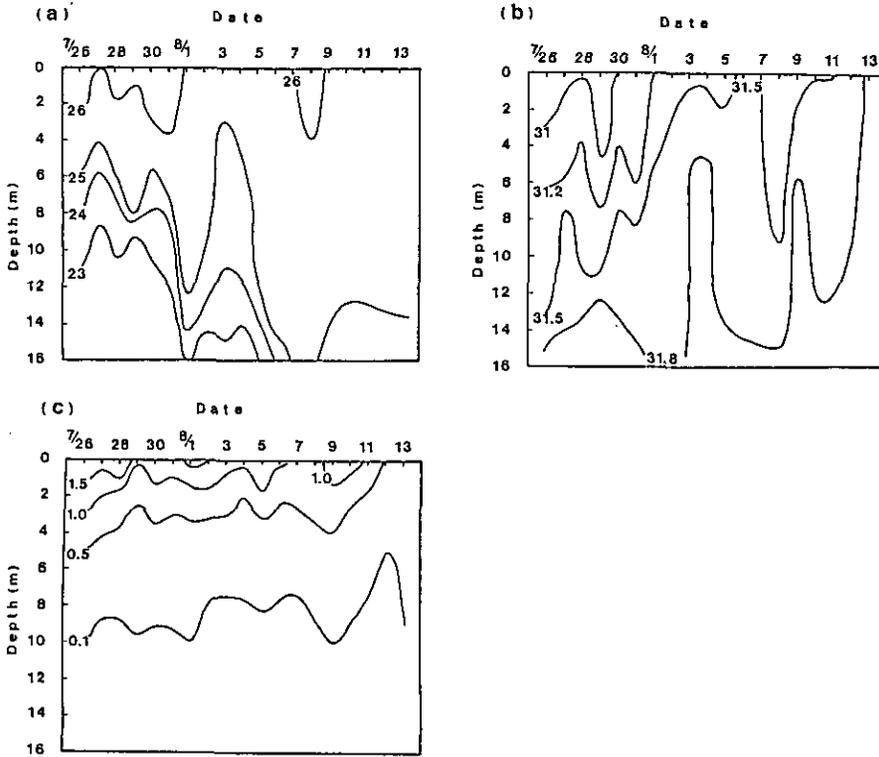


図 13 1985年の家島での水温・塩分・水中照度の日変化

(a) 水温 (°C) (b) 塩分 (‰) (c) 水中照度 ($\times 10^3 \mu E \cdot s^{-1} \cdot m^{-1}$)

Fig. 13 Daily variations of water temperature, salinity, underwater irradiance at Ieshima island in 1985

(a) Water temperature (°C), (b) Salinity (‰),
 (c) Underwater irradiance ($\times 10^3 \mu E \cdot s^{-1} \cdot m^{-1}$)

ている。8月5日～8月10日までは台風の影響により鉛直混合が発達し、ほぼ鉛直方向に均一な水温分布となっている。8月11日～13日は徐々に水温成層が形成されつつある。

図13 (b)に塩分測定結果を示す。水温測定結果と類似した変動パターンを示し、特に8月1日～5日にかけては底層で高塩分域が形成されている。このように8月1日～8月5日にかけては低水温、高塩分域が底層に形成されていることから、外部から低水温、高塩分海水が底層に流入してきたものと思われる。図13 (c)に照度測定結果を示す。表層 1m 付近では平均 $1.0 \times 10^3 \mu E \cdot s^{-1} \cdot m^{-1}$ (約 $0.32 \text{ ly} \cdot \text{min}^{-1}$) 程度であった。これは後述する *H. akashiwo* の増殖にとって十分な光条件であった。栄養塩については日周鉛直移動実験結果のところで述べる。

4.2 cage culture を用いた日周鉛直移動実験

1985年7月28日～8月11日にわたり家島での実験海域において cage culture を用いた日周鉛直

移動実験を行った。図14に示した筏に cage culture をそれぞれ3個ずつ入れた二つのカゴをつるし、一つのカゴは水深 0.5m に、他のカゴは 8:30~17:00 は水深 0.5m, 17:00~8:30 は水深 15mに設置し日周鉛直移動を強制的に行わせた。各シリーズでの実験条件は表5に示すとおりである。本実験においては、*H. akashiwo* を cage culture に接種する前に、10m^lの f/2 培地に保存されている *H. akashiwo* 株を現場表層のろ過海水 200m^l 入りフラスコに移し、2日間本株を予備培養した。これにより f/2 培地からの栄養塩持ち込みを極力排除することを試みた。cage culture内での培養を開始する手順や採水、細胞数係数、栄養塩測定のためのサンプル処理等は前節に示した手順と全く同じである。

実験は 7月28日~8月2日, 8月2日~8月7日, 8月7日~ 8月11日の3回にわたってそれぞれ表層設置, 日周鉛直移動の実験を行った。それぞれの実験における *H. akashiwo* 細胞数の変化を図15~17に, またその対数増殖期における増殖速度を表5に示す。

シリーズ1~3を通して表層 0.5m に設置した cage culture は増殖が見られず, 初期個体数とほとんど変化がない。ただし Run1, Run2, Run9 については接種4日目で個体数が減少してしまっている。一方Run15 については接種2日目に個体数は 123 cells·m⁻¹から 509cells·m⁻¹ に増加したが, その後増加せず一定の細胞濃度を維持した。これはわずかではあるが栄養塩の持ち込みがあったのかもしれない。実験期間中表層 0.5m においては平均水温 25.5~26.1℃, 平均塩分濃度 31.0~31.6‰, 照度約 1×10³ μE·s⁻¹·m⁻¹と *H. akashiwo* 増殖には好適な環境条件にあった。

日周鉛直移動を行った cage culture は Run12 の場合を除いて高い増殖率を示した。この中でシリーズ1 (Run4, 5, 6)とシリーズ3 (Run16, 17, 18)は実験開始後 1~2日間に細胞数の減少又は停滞がみられたが, その後良好な増殖を示した。特にシリーズ3 (Run16, 17, 18)では増殖率が 0.79~1.14 と非常に高い増殖率を示した。日周鉛直移動実験期間中は *H. akashiwo* が経験する上層・下層の平均水温は 24.1~25.3℃, 平均塩分は 31.6~31.8‰, 平均照度は 1.0

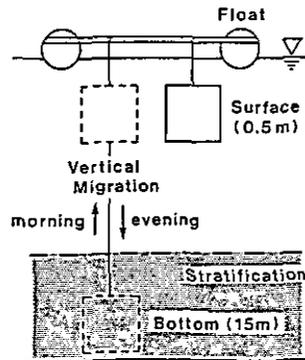


図 14 cage culture による日周鉛直移動実験の概略図

Fig. 14 Schematic view of diel vertical migration by using cage culture

表 5 1985年の cage culture 実験のまとめ

Table 5 Summary of cage culture experiments in 1985

| Series | Run | Location (m) | Duration | Init.cell conc. (cells · m ⁻¹) | μ (day ⁻¹) | Temp (°C) | Sal (‰) | Light ($\times 10^3 \mu E \cdot sec^{-1} \cdot m^{-1}$) | Secchi Disk (m) |
|--------|-----|-----------------|----------|---|-------------------------------|-----------------|-----------------|--|--------------------|
| 1 | 1 | 0.5 | 7/28-8/1 | 462 | - | Max 26.5 | Max 31.4 | Max 1.5 | Max 10.5 |
| | 2 | 0.5 | | 550 | - | Min 25.8 | Min 30.5 | Min 0.95 | Min 9.5 |
| | 3 | 0.5 | | 616 | - | <u>Ave 26.1</u> | <u>Ave 31.0</u> | <u>Ave 1.19</u> | <u>Ave 9.9</u> |
| | 4 | V.M(0.5-15) | 534 | 0.61 | Max 26.5 | Max 31.9 | | | |
| | 5 | V.M(0.5-15) | 438 | 0.54 | Min 21.3 | Min 30.5 | | | |
| | 6 | V.M(0.5-15) | 500 | 0.40 | <u>Ave 24.1</u> | <u>Ave 31.6</u> | | | |
| 2 | 7 | 0.5 | 8/2-8/7 | 177 | - | Max 25.7 | Max 31.6 | Max 1.4 | Max 8.0 |
| | 8 | 0.5 | | 177 | - | Min 25.1 | Min 31.4 | Min 0.74 | Min 7.0 |
| | 9 | 0.5 | | 177 | - | <u>Ave 25.5</u> | <u>Ave 31.5</u> | <u>Ave 1.03</u> | <u>Ave 7.3</u> |
| | 10 | V.M(0.5-15) | 177 | 0.66 | Max 25.7 | Max 31.9 | | | |
| | 11 | V.M(0.5-15) | 177 | 0.66 | Min 22.4 | Min 31.4 | | | |
| | 12 | V.M(0.5-15) | 177 | (0.46) | <u>Ave 24.5</u> | <u>Ave 31.7</u> | | | |
| 3 | 13 | 0.5 | 8/7-8/11 | 123 | - | Max 26.2 | Max 31.7 | Max 1.35 | Max 9.5 |
| | 14 | 0.5 | | 123 | - | Min 25.8 | Min 31.5 | Min 0.64 | Min 7.0 |
| | 15 | 0.5 | | 123 | - | <u>Ave 26.0</u> | <u>Ave 31.6</u> | <u>Ave 0.99</u> | <u>Ave 8.4</u> |
| | 16 | V.M(0.5-15) | 105 | 0.98 | Max 26.2 | Max 32.2 | | | |
| | 17 | V.M(0.5-15) | 105 | 1.14 | Min 23.5 | Min 31.5 | | | |
| | 18 | V.M(0.5-15) | 105 | 0.79 | <u>Ave 25.3</u> | <u>Ave 31.8</u> | | | |

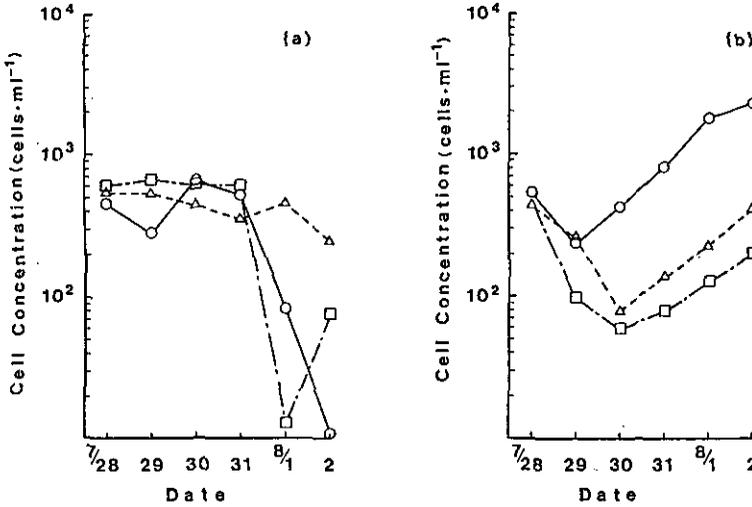


図 15 1985年の家島での *H. akashiwo* 増殖実験結果
 (a) 水深 0.5m 設置
 (—○— : Run 1, ----△---- : Run 2, ----□---- : Run 3)
 (b) 日周鉛直移動
 (—○— : Run 4, ----△---- : Run 5, ----□---- : Run 6)

Fig. 15 The growth of *H. akashiwo* at Ieshima island in 1985
 (a) Installation at the depth of 0.5m
 (b) Diel vertical migration

$\times 10^3 \mu E \cdot s^{-1} \cdot m^{-1}$ といずれも増殖に好適な環境であった。

表層 (0.5m) 及び底層 (15m) での外海水中の栄養塩濃度は、フィルターを通しての物質移動により cage culture 内部の栄養塩濃度に影響を及ぼす。一方 cage culture 内部の栄養塩濃度はまたその中で増殖する *H. akashiwo* による栄養塩摂取により変動する。ここでは表層に設置した cage culture と日周鉛直移動を行った cage culture での *H. akashiwo* 増殖に及ぼす栄養塩濃度の影響を考察する。

0.5 m 層に設置した cage culture 内部の栄養塩濃度変化を 図18, 19, 20 のそれぞれ (a), (b), (c) に示す。それら3シリーズの実験を通じて cage culture 内部のリン酸塩濃度は常に外海水 (0.5m) 中のリン酸塩濃度より低い状態にある。一方 cage culture 内部の硝酸塩・アンモニウム塩濃度はともに外海水 (0.5m) 中の硝酸塩・アンモニウム塩濃度より常に高い状態にあった。外海水中と cage culture 内部との初期の無機態窒素濃度に差があったとしても、フィルターを通しての物質移動により cage culture 内部の無機態窒素濃度は外海水中のそれに収束するはずである。しかし cage culture 内部の無機態窒素濃度が常に外海水中のそれより高く、時にはシリーズ1の Run 1, Run 3(図18(a),(b))のように急激な上昇を示したりしている。このことから cage culture 内では無機態窒素が生産されているものと考えられる。これが何に起因す

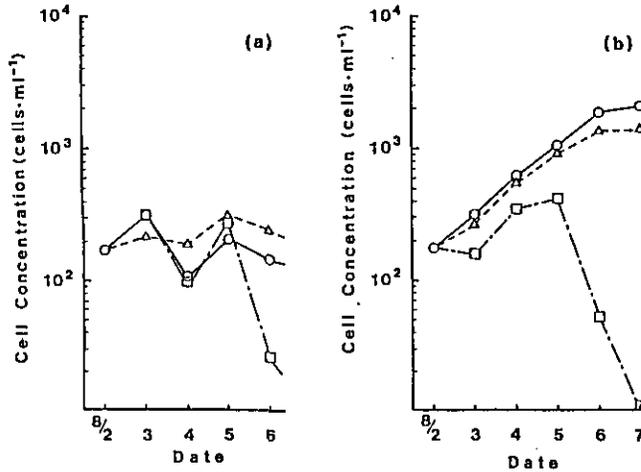


図 16 1985年の家島での *H. akashiwo* 増殖実験結果

(a) 水深 0.5m 設置

(—○— : Run7, ----△---- : Run8, ----□---- : Run9)

(b) 日周鉛直移動

(—○— : Run10, ----△---- : Run11, ----□---- : Run12)

Fig. 16 The growth of *H. akashiwo* at Ieshima island in 1985

(a) Installation at the depth of 0.5m

(b) Diel vertical migration

るものか不明である。さらにシリーズ1についてはアンモニウム塩(高い場合 4~6 μ M),硝酸塩(2~3.5 μ M)ともに増殖に十分な量があったにもかかわらず 0.5 m 層に設置した cage culture では *H. akashiwo* の増殖が全く見られなかった(図15-(a)。これは cage culture 内部のリン酸塩濃度が 0.1~0.15 μ Mと非常に低いためであり、表層海水は *H. akashiwo* 増殖にとってリン酸塩が制限因子となっていたと考えられる。

日周鉛直移動を行った cage culture 内部の栄養塩濃度変化を図18, 19, 20 のそれぞれ (d), (e), (f)に示す。シリーズ1(図18(d), (e), (f))において、リン酸塩、硝酸塩に強い成層構造が存在し、アンモニウム塩については弱い成層構造が存在している。日周鉛直移動を行うことにより表層ではリン酸塩・硝酸塩濃度は低いが、夜間高濃度のリン酸塩・硝酸塩が存在する底層に移動することができる。この時フィルターを通しての物質移動により cage culture 内にはリン酸塩・硝酸塩が流入してくる。cage culture 内の硝酸塩濃度はこの日周鉛直移動に伴い夜間のフィルターを通しての物質移動を反映して底層の硝酸塩濃度によく追従している(図18(f))。しかし cage culture 内のリン酸塩濃度は表層での外海水中のリン酸塩濃度とほぼ等しい濃度となっている(図18(d))。すなわち夜間リン酸塩、硝酸塩が多量にある底層に移動し、フィルターを通して cage culture 内に流入したそれら栄養塩のうちリン酸塩はほとんどすべて *H. akashiwo*

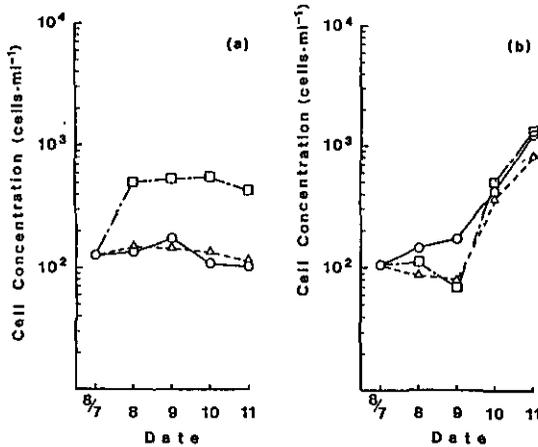


図 17 1985年の家島での *H. akashiwo* 増殖実験結果

(a) 水深 0.5m 設置

(—○— : Run13, ----△---- : Run14, ----□---- : Run15)

(b) 日周鉛直移動

(—○— : Run16, ----△---- : Run17, ----□---- : Run18)

Fig. 17 The growth of *H. akashiwo* at Ieshima island in 1985

(a) Installation at the depth of 0.5m

(b) Diel vertical migration

により摂取されてしまうが、硝酸塩については、ほとんど摂取されないため cage culture 内の硝酸塩濃度は底層外海水中の硝酸塩濃度に追従して増加していくものと考えられる。この日周鉛直移動した cage culture 内の *H. akashiwo* はシリーズ1~3のそれぞれについて良好な増殖 ($\mu = 0.4 \sim 1.14$) を示しており、この増殖は日周鉛直移動により夜間底層に移動することでリン酸塩の制限から開放されたためと考えられる。渡辺ら(1987)は *H. akashiwo* が日周鉛直移動に伴い夜間に底層でリン酸塩を過剰に摂取し細胞内にポリリン酸として蓄積し、昼間リン酸塩が欠乏している表層に移動した時蓄積したポリリン酸を分解して光合成に用いていることを ^{31}P -NMR により実験的に明らかにした。この実験結果と同様の挙動が現場海域において行われていることを示唆している。

栄養塩、水温、塩分による強い成層が発達している現場海域において、表層設置及び日周鉛直移動を行った cage culture 内の *H. akashiwo* 細胞による栄養塩摂取速度を推定した。リン酸塩、硝酸塩ともに明確な成層状態にあるのはシリーズ1 (図18 (d), (e), (f)) のみであることから、シリーズ1に対して栄養塩摂取速度を計算した。初期栄養塩濃度 \bar{c} 、外海水中の栄養塩濃度 C_0 、物質移動係数 $1/T$ とするとフィルターを通しての物質移動のみによる cage culture 内部の栄養塩濃度 $c(t)$ は(2)式によって表示される。まず(2)式を現場海域に適用して物質移動のみによる cage culture 内の栄養塩濃度を推定する概念図を図21に示す。外海水中の栄養

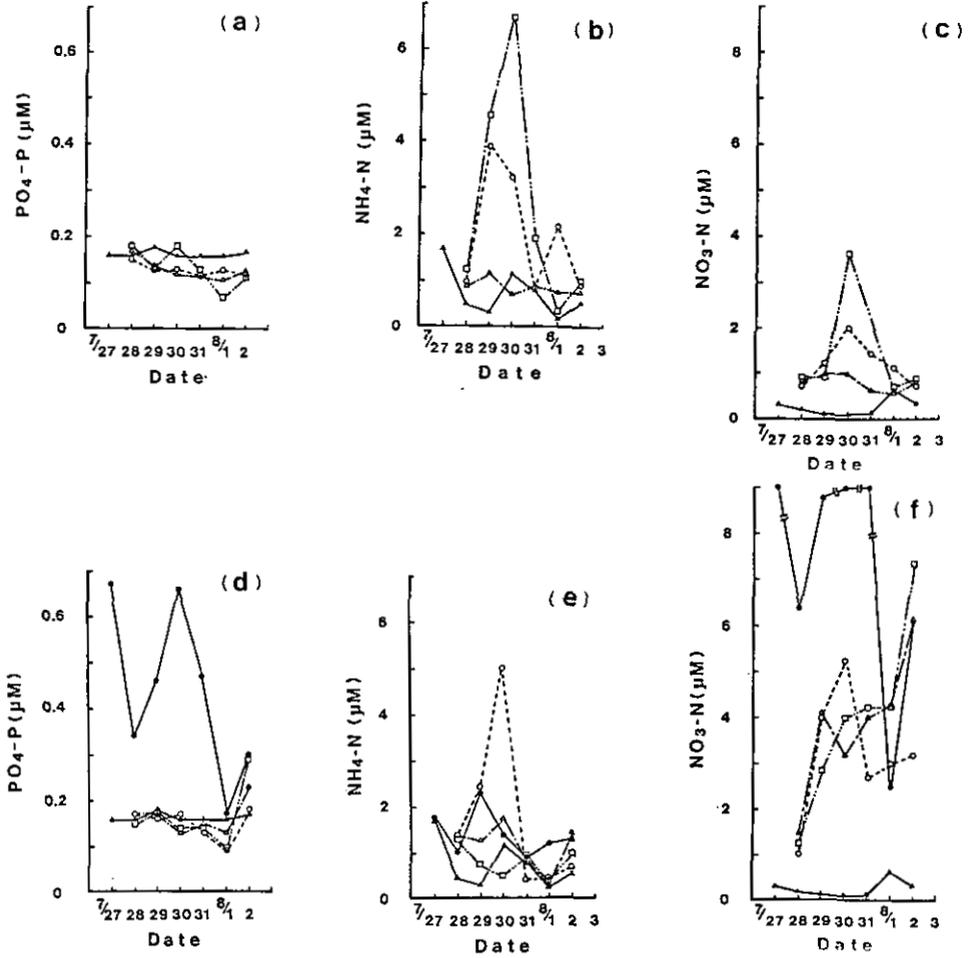


図 18 実験シリーズ1での cage culture 内と外海水中の栄養塩濃度変化
 (a),(b),(c): 水深 0.5m に設置した cage culture 中のそれぞれリン酸塩, アンモニウム塩, 硝酸塩濃度(— ▲ — : 外海水 0.5m, ---○--- : Run1, ---△--- : Run2, ---□--- : Run3)
 (d),(e),(f): 日周鉛直移動した cage culture 中のそれぞれリン酸塩, アンモニウム塩, 硝酸塩濃度(— ▲ — : 外海水 0.5m, — ● — : 外海水 15m, ---○--- : Run4, ---△--- : Run5, ---□--- : Run6)

Fig. 18 Daily variations of nutrient concentrations measured in the cage culture and in the ambient sea for the experimental series 1
 (a),(b),(c): $PO_4\text{-P}$, $NH_4\text{-N}$ and $NO_3\text{-N}$ concentrations respectively for the cage cultures installed at the depth of 0.5m
 (d),(e),(f): $PO_4\text{-P}$, $NH_4\text{-N}$ and $NO_3\text{-N}$ concentrations respectively for the cage cultures of diel vertical migration

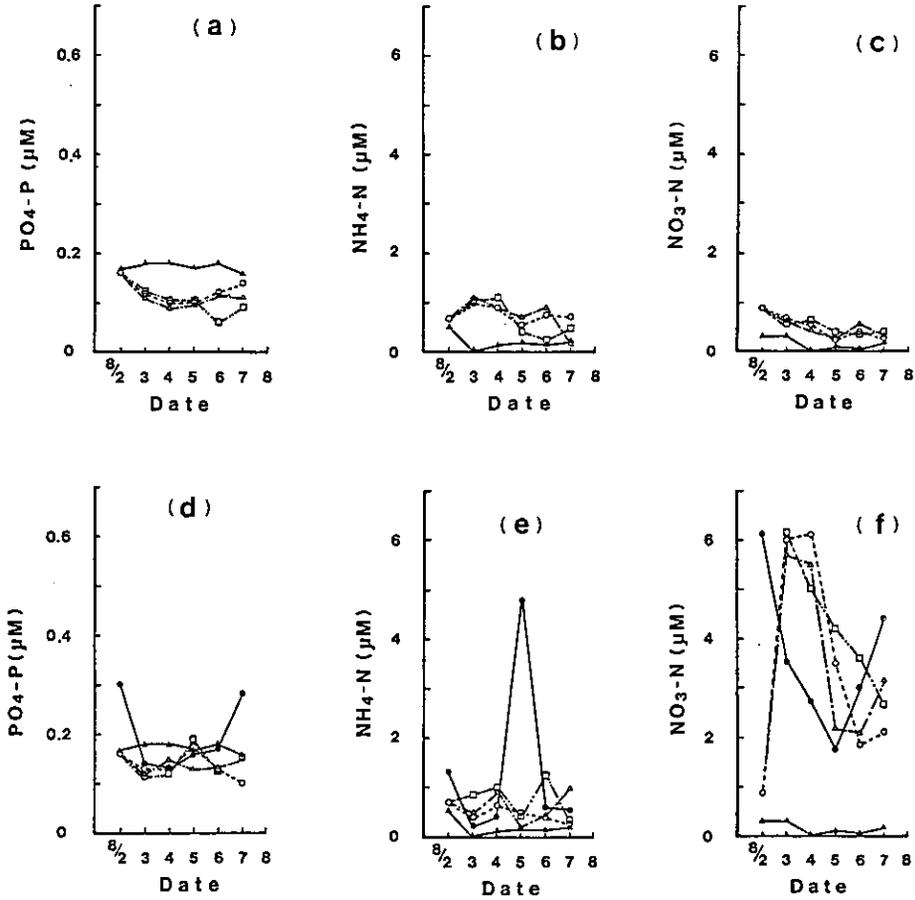


図 19 実験シリーズ2での cage culture 内と外海水中の栄養塩濃度変化
 (a),(b),(c): 水深 0.5m に設置した cage culture 中のそれぞれリン酸塩,
 アンモニウム塩, 硝酸塩濃度 (— ▲ — : 外海水 0.5m,
 ---○--- : Run7, ---△--- : Run8, ----□---- : Run9)
 (d),(e),(f): 日周鉛直移動した cage culture 中のそれぞれリン酸塩,
 アンモニウム塩, 硝酸塩濃度
 (— ▲ — : 外海水 0.5m, — ● — 外海水 15m,
 ---○--- : Run10, ---△--- : Run11, ----□---- : Run12)

Fig. 19 Daily variations of nutrient concentrations measured in the cage
 culture and in the ambient sea for the experimental series 2
 (a),(b),(c): $\text{PO}_4\text{-P}$, $\text{NH}_4\text{-N}$ and $\text{NO}_3\text{-N}$ concentrations respectively
 for the cage cultures installed at the depth of 0.5m
 (d),(e),(f): $\text{PO}_4\text{-P}$, $\text{NH}_4\text{-N}$ and $\text{NO}_3\text{-N}$ concentrations respectively
 for the cage cultures of diel vertical migration

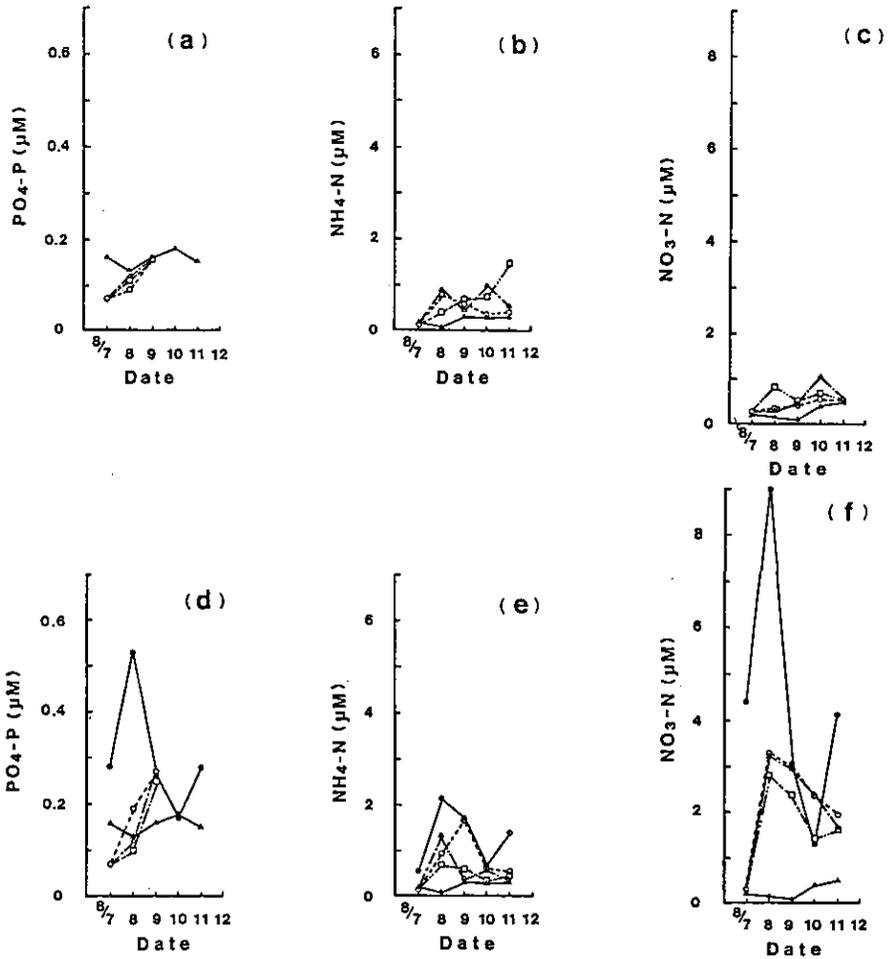


図 20 実験シリーズ3での cage culture 内と外海水中の栄養塩濃度変化
 (a),(b),(c): 水深 0.5m に設置した cage culture 中のそれぞれリン酸塩、アンモニウム塩、硝酸塩濃度 (— ▲ — : 外海水 0.5m, ---○--- : Run13, ---△--- : Run14, ---□--- : Run15)
 (d),(e),(f): 日周鉛直移動した cage culture 中のそれぞれリン塩、アンモニウム塩、硝酸塩濃度
 (— ▲ — : 外海水 0.5m, — ● — : 外海水 15m, ---○--- : Run16, ---△--- : Run17, ---□--- : Run18)

Fig. 20 Daily variations of nutrient concentrations measured in the cage culture and in the ambient sea for the experimental series 3
 (a),(b),(c): $PO_4\text{-P}$, $NH_4\text{-N}$ and $NO_3\text{-N}$ concentrations respectively for the cage cultures installed at the depth of 0.5m
 (d),(e),(f): $PO_4\text{-P}$, $NH_4\text{-N}$ and $NO_3\text{-N}$ concentrations respectively for the cage cultures of diel vertical migration

塩濃度は流水等の影響により時間的に変動する。毎朝 9:00 の実測値 C_{B1} , C_{B2} 及び C_{S1} , C_{S2} を直線的に補間し、毎時間ごとの外海水中の栄養塩濃度 $C_B(t)$, $C_S(t)$ を求めた。計算は毎日 12:00 の cage culture 内の栄養塩濃度の実測値 C を初期値として行った。表層設置の cage culture の場合は翌日の 12:00 まで $C_S(t)$ を外海水栄養塩として内部栄養塩濃度を計算した。日周鉛直移動の cage culture の場合、外海水中の栄養塩濃度として 12:00 から 18:00 までは $c(t)$, 18:00 から翌日 9:00 までは $C_B(t)$, 翌日 9:00 から 12:00 までは $C_S(t)$ を用いて毎時間ごとに逐次計算を行った。このようにして得られた翌日 12:00 の cage culture 内の栄養塩濃度 CC_2 はフィルターを通しての物質移動のみによるものである。したがって $H. akashiwo$ による栄養塩摂取量は $\Delta C = CC_2 - C_2$ として求められる。これより $H. akashiwo$ 細胞当たりの平均的な栄養塩摂取速度を求めた。なお物質移動係数は現場海域で実測された平均値(表2)を用い、実験初日は 0.056, 2日目以降は 0.023 を用いた。本計算で cage culture 内の栄養塩濃度計算値がその実測値より低い場合が出現するが、この場合細胞当たりの栄養塩摂取速度の推定は行えなかった。

環境条件が大きく変動する現場海域で、限定された実測値をもとに求めた栄養塩摂取速度(表6)はかなりのばらつきを示しているが、日周鉛直移動による栄養塩摂取を現場において初めて定量的に把握したものである。

表層設置の cage culture (Run1~3) 内の硝酸塩、アンモニウム塩濃度は高い(図18)にもかかわらず、硝酸塩・アンモニウム塩摂取速度はゼロの場合が多い。一方リン酸塩摂取速度は $5.5 \text{ fmol} \cdot \text{cell}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 以下と低く、表層でのリン酸塩濃度も低いことから、表層海水ではリン酸塩が制限因子となっていることがわかる。

日周鉛直移動を行わせた cage culture (Run4~6) でのリン酸塩摂取速度は表層設置の場合に比べて 5~数十倍となっており、日周鉛直移動により夜間底層でのリン酸塩摂取を可能にしている。リン欠乏状態の $H. akashiwo$ にリン酸塩の添加実験を行った場合(Watanabe, 1987)のリン酸塩摂取速度は $V_{PO_4} = 11.6 \text{ fmol} \cdot \text{cell}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ であり、Run4~6 で得られたリン酸塩摂取速度はこれよりかなり高い値となっている。しかし日周鉛直移動によりリン酸塩摂取を活発に行うことができるということは明らかに示されている。この間 Run4~6 においては増殖率 $\mu = 0.4 \sim 0.61$ と良好な増殖を示しており同時に硝酸塩、アンモニウム塩も活発に摂取されていることがわかる。但し、ここで得られている無機態窒素摂取速度は報告されている値 ($V_N = 22 \text{ fmol} \cdot \text{cell}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, $\mu = 0.36$; 木幡・渡辺, 1985b) よりかなり高い値となっている。これらの値は変動する環境条件下での推定値であるため過大評価されていると思われるが、日周鉛直移動に伴う底層での栄養塩摂取を現場海域で定量的に実証した点に意義があると思われる。

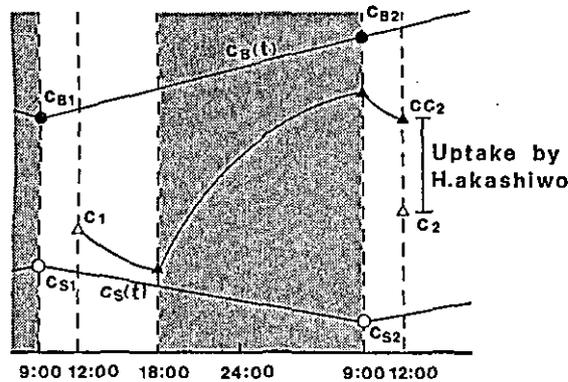


図 21 cage culture 内の栄養塩濃度推定の概念図

(C_{S1} , C_{S2} : 表層での外海水栄養塩濃度, C_{B1} , C_{B2} : 底層での外海水栄養塩濃度, $C_S(t)$: 補間された表層での外海水栄養塩濃度, $C_B(t)$: 補間された底層での外海水栄養塩濃度, C_1 , C_2 : cage culture 内の栄養塩濃度の実測値, CC_2 : cage culture 内の栄養塩濃度の推定値)

Fig. 21 Conceptual illustration for the estimation of nutrient concentration in cage culture

(C_{S1} , C_{S2} : nutrient concentrations in the surface ambient sea;
 C_{B1} , C_{B2} : nutrient concentrations in the bottom ambient sea;
 $C_S(t)$: interpolated nutrient concentration in the surface ambient sea; $C_B(t)$: interpolated nutrient concentration in the bottom ambient sea; C_1 , C_2 : measured nutrient concentration in cage culture; CC_2 : estimated nutrient concentration in cage culture)

5 考察

現場海域でのバイオアッセイ手法として従来より行われてきた透析培養 (dialysis culture) は膜を通しての物質移動量が正確に把握できないこと, 膜に有機物が付着しやすくバクテリアの作用により膜が破損しやすいこと, そしてバクテリアによる分解物の影響など多くの問題を含んでいる。ここでは現場海域に直接つるすことができ, かつ上記諸問題を解決することのできる cage culture を製作した。ここに提示された cage culture の概念と技術は今後も多くの改良を必要とするが, 以下のような特色と位置付けを持っている。

1) 膜を通しての物質移動量の定量的把握を室内実験及び現場海域実験により行い, 24時間に全容量の約 40%が入れ替わる。

2) 培養株は f/2 培地と共に注入されるため栄養塩の持ち込みを防止する必要がある。ここでは現場ろ過海水を用いた予備培養期間を十分持つことにより栄養塩持ち込みの影響をなくした。

表 6 cage culture 内での *H. akashiwo* 細胞による栄養塩摂取速度の推定値
($\text{fmol}\cdot\text{cell}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)

Table 6 Estimated values of nutrient uptake rate by *H. akashiwo* cells
in cage culture ($\text{fmol}\cdot\text{cell}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)

| シリーズ 1 (表層) | | | | |
|-------------|------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Run | Days | PO ₄ -P uptake rate | NO ₃ -N uptake rate | NH ₄ -N uptake rate |
| 1 | 1 | 5.5 | - | - |
| | 2 | 1.0 | - | - |
| | 3 | 1.8 | - | 119.3 |
| | 4 | 3.5 | - | - |
| | 5 | - | - | - |
| Run | Days | PO ₄ -P uptake rate | NO ₃ -N uptake rate | NH ₄ -N uptake rate |
| 2 | 1 | 2.5 | - | - |
| | 2 | 3.0 | - | 30.8 |
| | 3 | 2.0 | - | - |
| | 4 | 2.5 | 1.1 | - |
| | 5 | 0.7 | - | - |
| Run | Days | PO ₄ -P uptake rate | NO ₃ -N uptake rate | NH ₄ -N uptake rate |
| 3 | 1 | 2.8 | - | - |
| | 2 | - | - | - |
| | 3 | 2.9 | 149.2 | 162.5 |
| | 4 | - | - | - |
| | 5 | - | - | - |

| シリーズ 1 (日周鉛直移動) | | | | |
|-----------------|------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Run | Days | PO ₄ -P uptake rate | NO ₃ -N uptake rate | NH ₄ -N uptake rate |
| 4 | 1 | 23.7 | 43.5 | - |
| | 2 | 10.9 | 20.5 | - |
| | 3 | 7.1 | 173.9 | 151.2 |
| | 4 | 1.9 | - | 3.8 |
| | 5 | - | - | - |
| Run | Days | PO ₄ -P uptake rate | NO ₃ -N uptake rate | NH ₄ -N uptake rate |
| 5 | 1 | 31.8 | 51.3 | 33.2 |
| | 2 | 83.4 | (1246.5) | - |
| | 3 | 29.1 | 245.6 | 173.1 |
| | 4 | 9.8 | - | 120.2 |
| | 5 | - | - | - |
| Run | Days | PO ₄ -P uptake rate | NO ₃ -N uptake rate | NH ₄ -N uptake rate |
| 6 | 1 | 51.3 | 606 | 274.7 |
| | 2 | 104.9 | 580 | 357.4 |
| | 3 | 57.6 | 559 | - |
| | 4 | 28.5 | - | 156.8 |
| | 5 | - | - | - |

3) 変動する現場海域の水温・塩分・照度・栄養塩等の環境因子をそのまま反映させながら藻類の増殖速度を直接現場海域で計測することが可能である。

4) 内部の栄養塩・細胞濃度変化等がモニターできるだけの内部採水量を十分とることができる。このため変動する現場環境条件下での藻類の生理特性を把握することが可能となった。

5) 本論文で提示したように、安定した成層海域で強制的に cage culture を日周鉛直移動させることにより、現場海域での鞭毛藻の日周鉛直移動に伴う底層での栄養塩摂取及びその生態的優位性を実証することができた。

今後は他藻類種との混合培養による現場での種間競合実験や動物プランクトンによる現場での捕食実験等の研究展開を行うことが可能と思われる。

謝 辞

本研究の遂行に当たり御協力戴いた岡山中島重信君、大阪府水産試験場矢持進氏、国立公害研究所渡辺信博士、大阪府佐野漁港管理事務所、兵庫県家島漁業協同組合の方々に感謝致します。

引 用 文 献

- Eide, I., A. Jensen and S. Melsom (1979): Application of in situ cage cultures of phytoplankton for monitoring heavy metal pollution in two Norwegian Fjords. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 37, 271-286.
- Guillard, R.R.L. and J.H. Ryther (1962): Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleve) Gram. *Can. J. Microbiol.*, 8, 229-239.
- Jensen, A. and B. Rystad (1973): Semi-continuous monitoring of the capacity of sea water for supporting growth of phytoplankton. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 11, 275-285.
- Jensen, A., B. Rystad and L. Skoglund (1972): The use of dialysis culture in phytoplankton studies. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 8, 241-248.
- Jensen, A., B. Rystad and S. Melsom (1974): Heavy metal tolerance of marine phytoplankton. I. The tolerance of three algal species to zinc in coastal seawater. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 15, 145-157.
- 木幡邦男・渡辺正孝 (1985a): 制御実験生態系 (マイクロコズム) を用いた赤潮発生機構の解析 (Ⅲ) - 赤潮鞭毛藻 *Heterosigma akashiwo* の日周鉛直移動と日周体積変化の関係. 国立公害研究所研究報告, 第80号, 13-22.
- 木幡邦男・渡辺正孝 (1985b): 制御実験生態系 (マイクロコズム) を用いた赤潮発生機構の解析 (Ⅳ) - 赤潮鞭毛藻 *Heterosigma akashiwo* の増殖中細胞にみられる C/N 比とクロロフィル a/c 比の日周変化. 国立公害研究所研究報告, 第80号, 23-32.
- Maestrini, S.Y. and M.G. Kossut (1981): In situ cell depletion of some marine algae

- enclosed in dialysis sacks and their use for the determination of nutrient-limiting growth in Ligurian coastal waters (Mediterranean Sea).
- Maestrini, S. Y., M. R. Droop and D.J. Bonin (1984): Test algae as indicators of sea water quality: Prospect. In : *Algae as Ecological Indicators*, (ed.) Shubert, L.E., Academic Press, London.
- Murphy, J. and J.P. Riley (1962): A modified single-solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acta.*, 27, 31-36.
- Owens, O.H., P.Dresler, C.Crawford, M.Tyler and H.H. Seliger (1977): Phytoplankton cages for the measurement in situ of the growth rates of mixed natural populations. *Chesapeake Science*, 18, 325-333.
- Prakash, A., L.Skoglund, B.Rystad and A.Jensen (1973): Growth and cell size distribution of marine planktonic algae in batch and dialysis cultures. *J. Fish Res. Bd. Can.*, 30, 143-155.
- Sakshaug, E. (1977): Limiting nutrients and maximum growth rates for diatoms in Narragansett Bay. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 28, 109-123.
- Solórzano, L. (1969) : Determination of ammonium in natural waters by the phenol-hypochlorine method. *Limnol. Oceanogr.*, 14, 799-801.
- Watanabe, M.M., Y.Nakamura, S.Mori and S.Yamochi(1982): Effects of physico-chemical factors and nutrients on the growth of Heterosigma akashiwo Hada from Osaka Bay. *Jpn. J. Phycol.*, 30, 279-288.
- Watanabe, M., K. Kohata and M.Kunugi (1987): ³¹P-Nuclea magnetic resonance study of intracellular phosphate pools and polyphosphate metabolism in Heterosigma akashiwo (Hada) Hada (Raphidophyceae). *J. Phycol.*, 23, 54-62.
- 渡辺正孝・木幡邦男・刃刀正行 (1987): 塩分・リン酸塩による成層条件下での Heterosigma akashiwo の日周鉛直移動と体内リン蓄積過程. 国立公害研究所研究報告, 第110号, 103-114
- Wood, E. P., F.A. Armstrong and F. A. Richards (1967): Determination of nitrate in seawater by cadmium-copper reduction to nitrite. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.*, 47, 23-31.
- Yoder, J.A.(1979): A comparison between the cell division rate of natural populations of the marine diatom Skeletonema costatum (Greville) Cleve grown in dialysis culture and that predicted from a mathematical model. *Limnol. Pceanogr.*, 24, 97-106.

Chattonella antiqua の生態モデル
Ecological Model of Chattonella antiqua

渡辺正孝¹・中村泰男¹・木幡邦男¹

Masataka WATANABE¹, Yasuo NAKAMURA¹ and Kunio KOHATA¹

要 旨

Chattonella antiqua の増殖過程及び日周鉛直移動性を組み込んだモデルを作成した。増殖速度は分裂直前の細胞内窒素・リン含量に支配されるという quota model を用いた (Nakamura, 1985b)。さらにリン酸塩及びアンモニウム塩・硝酸塩の摂取速度は Michaelis-Menten 式により記述される (Nakamura & Watanabe, 1983c; Nakamura, 1985b)。対象海域をコントロール・ボリュームと考へて流入・流出を考慮し、独立変数として $PO_4\text{-P}$, 粒子状P, C. antiqua 細胞濃度, p cell quota, $NO_3\text{-N}$, $NH_4\text{-N}$, 粒子状N, N-cell quota をとり、それぞれに保存式を求めた。海水マイクロゾムでの増殖実験及び日周鉛直移動実験結果との検証により C. antiqua の増殖過程はよく再現されており、生物拡散方程式により日周鉛直移動現象をよく記述できることが判明した。連続観測を行っている家島諸島海域に本モデルを適用し、環境因子 (成層位置, 海水交換性, 鉛直混合, 栄養塩負荷, 動物プランクトン等) の C. antiqua 増殖に対する影響を感度解析により明らかにした。

Abstract

Mathematical model of Chattonella antiqua, which incorporated the growth process and diel vertical migration, was developed. The growth rate was controlled by the cell quota of P or N before the cell division, so called quota model (Nakamura, 1985b). Uptake rates of phosphate, nitrate and ammonium were described by Michaelis-Menten eq. (Nakamura & Watanabe, 1983c; Nakamura, 1985b). Control volume concept with inflow and outflow was adopted to the sea, and conservation equations were obtained for, the

-
1. 国立公害研究所 水質土壌環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Water and Soil Environment Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

independent variables of $PO_4\text{-P}$, particulate P, *C. antiqua* cell concentration, P cell quota, $NO_3\text{-N}$, $NH_4\text{-N}$, particulate N, N-cell quota. By comparing with experimental data of the growth and diel vertical migration in the microcosm, it was found that the growth process was well simulated by the model and diel vertical migration could be described by bio diffusion equation. This model was applied to the area of Ieshima Island, where continuous measurement during summer had been conducted, and the effects of environmental factors (much as the location of stratification, exchange flow, vertical mixing, nutrient load, grazing by zooplankton, and etc.) on the growth of *C. antiqua* by using sensitivity analysis.

1 はじめに

赤潮発生に至る過程は複雑であり、赤潮藻類種の生理学的増殖特性のみならず、赤潮藻類種とそれを取り巻く環境との相互作用を理解することが重要である。本特別研究においては *Chattonella antiqua*, *Heterosigma akashiwo* 等特定赤潮藻類種を制御環境条件下で維持し、赤潮発生現場海域に見られる特徴的な海洋物理的・海洋化学的環境要因との相互関係を明らかにしてきた。特に *C. antiqua* についての (1) 増殖速度に及ぼす照度, 温度, 塩分, 微量金属類, 窒素・リン濃度, ビタミン類等の影響, (2) 硝酸塩, アンモニウム塩及びリン酸塩摂取速度, (3) 窒素あるいはリン制限下における増殖速度の定式化がなされてきた (Nakamura & Watanabe, 1983 a,b,c; Nakamura, 1985 a,b)。さらに *C. antiqua*, *H. akashiwo* の日周鉛直移動特性が明らかにされてきた (Watanabe et al., 1983; 木幡・渡辺, 1984, 1985; Kohata & Watanabe, 1986)。それら個々の知見をそれぞれ別個に見ただけでは赤潮発生機構を明らかにすることは不可能である。ここでは赤潮藻類と環境との相互作用を数値モデルの構築により再現し、赤潮発生にかかわる各環境因子の役割を明らかにすることを試みた。

2 従来の研究

海洋における生態系モデルとしては外洋から沿岸まで多くのものが報告されている (Steele, 1958; O'Brien & Wroblewski, 1972; Walsh & Dugdale, 1971; Walsh, 1975)。さらに著書として多くのモデルがまとめられている (Patten, 1975; Hall & Day, 1977; Cronin, 1975, Nihoul, 1975; Kremer & Nixon, 1978)。それらモデルは各 trophic レベル間の関係を定量化させたもので、必ずしも特定藻類種の場の独占, いわゆる赤潮状態を問題としたものではなかった。*C. antiqua* 赤潮に焦点をしばってモデル化したものは過去に岸ら (1985) の研究があるのみである。岸ら (1985) は特に鉛直一次元モデルを用い栄養塩として $PO_4\text{-P}$, $NO_3\text{-N}$, 無機鉄, 藻類として *Skeletonema costatum*, *C. antiqua*, 動物プランクトンとして *Paracalanus parvus* を考慮した。彼らは *C. antiqua* は日周鉛直移動を行っても3日目には消滅してしまうという計算結果を得ている。しかし, *C. antiqua* 自身のモデル化に関しては従来得られている培養実験結果とは異なっ

たモデル化を行っている。特に C. *antiqua* 赤潮の発生現場は夏期顕著な塩分、水温、栄養塩の成層が発達し、表層では栄養塩が欠乏状態となり、底層では栄養塩が豊富な状態となっている。このような成層構造の顕著な場を日周鉛直移動する場合、藻類が経験するであろう栄養塩濃度は時間と共に急激に変化し、増殖過程と栄養塩摂取過程は連結しない (uncoupled) (Mickelson et al., 1979)。この場合増殖速度を栄養塩の関数として表現することはできず、細胞内栄養塩含量の関数として増殖速度が記述される、いわゆる quota model を用いる必要がある (Droop, 1973)。

以上の点を考慮して、本研究では従来得られている C. *antiqua* に関する培養実験結果を十分組み込んだモデルの開発とその検証を行った。

3 C. *antiqua* の増殖モデル

3.1 C. *antiqua* の growth kinetics

C. *antiqua* の細胞分裂は 2:00~8:00 の間に集中的に起こることが判明している (Watanabe et al., 1983)。C. *antiqua* 細胞濃度の変化は、単純のため細胞分裂が 4:00 に同調して起こると仮定すると、次のような日周変動を示す。

$$\begin{array}{ll} 0:00 \leq t < 4:00 & N = N_0 \\ t = 4:00 & N = N_1 = N_0 \exp(\mu) \\ 4:00 < t \leq 24:00 & N = N_1 \end{array}$$

ここで、 μ = 平均的な増殖速度、 N_0 = 細胞分裂前の細胞濃度、 N_1 = 細胞分裂後の細胞濃度。

一般に増殖速度は制限要因となっている環境因子 [水温 (T), 照度 (I), 塩分 (S), pH...] 及び栄養塩 i の細胞内含量 (q_i) の関数として表現される。しかし夏の瀬戸内海的环境下では C. *antiqua* の増殖は塩分、pH には依存しないこと、さらに C. *antiqua* の増殖は細胞分裂直前の細胞内窒素・リン含量 (Q^N , Q^P) に支配されることが判明している (Nakamura, 1985b)。したがって、

$$\begin{aligned} \mu &= f(T, I, Q^N, Q^P) \\ &\cong f_1(T) \cdot f_2(I) \cdot f_3(Q^N, Q^P) \end{aligned} \quad (1)$$

窒素制限系又はリン制限系を用いた室内実験によれば、増殖速度と分裂直前の細胞内窒素・リン含量の関係は Droop (1966) の式で表現されることが判明している (Nakamura, 1985b)。すなわち窒素制限系では

$$\mu_N = \mu_N^* (1 - q_0^N / Q^N) \quad (2)$$

リン制限系では

$$\mu_P = \mu_P^* (1 - q_0^P / Q^P) \quad (3)$$

ここに μ_N , μ_P はそれぞれ窒素制限下及びリン制限下における増殖速度, q_0^N , q_0^P はそれぞれ窒素及びリンの最小細胞内含量, μ_N^* , μ_P^* はそれぞれ Q^N 及び Q^P を無限大に補外した時の増殖速度である。

表1に *C. antiqua* の増殖パラメーター (Nakamura, 1985b) を示す。

培養実験では窒素制限系, リン制限系のそれぞれについて *C. antiqua* の増殖速度 μ_N, μ_P が求められたが同時に制限する場合については求められていない。Rhee (1978) は次式(4)で示されることを示唆しており, ここではその仮定を用いた。すなわち

$$f_3 = \min [\mu_N, \mu_P] \quad (4)$$

従来より藻類の増殖における温度関数としては, Chen & Orlob (1975), Lassiter & Kearns (1974), Lehman ら(1975), Jørgensen (1976), Lamanna & Malette (1965), Park ら(1979), 等の研究がある。ここでは Lamanna & Malette (1965) が用いた温度関数によって培養実験結果を近似する。

$$f_1(T) = \left(\frac{T - T^*}{T_{opt} - T^*} \right)^n \exp \left[1 - \left(\frac{T - T^*}{T_{opt} - T^*} \right)^n \right] \quad T^* \leq T \leq T_{opt} \quad (5)$$

$$f_1(T) = 1 - \left(\frac{T - T_{opt}}{T_{max} - T_{opt}} \right)^m \quad T_{opt} \leq T \leq T_{max}$$

ここで T^* = 増殖率に対する水温しきい値

T_{opt} = 最大増殖率を与える水温

T_{max} = 増殖可能な最大水温

n, m = 藻類種に固有の定数

図1に $T^* = 10^\circ\text{C}$, $T_{opt} = 25^\circ\text{C}$, $T_{max} = 31^\circ\text{C}$, $n = 5.0$, $m = 2.2$ の場合の $f_1(T)$ と培養実験結果 (Nakamura & Watanabe, 1983a) との比較を示す。 n, m の二つのパラメーターによって良く実験結

表 1 *Chattonella antiqua* の増殖パラメータ (Nakamura, 1985b)

Table 1 Growth parameters for *Chattonella antiqua*

| | | |
|------|--|------|
| 窒素制限 | q_0^N ($\mu\text{mol} \cdot \text{cell}^{-1}$) | 7.8 |
| | μ_P^N (d^{-1}) | 0.78 |
| リン制限 | q_0^P ($\mu\text{mol} \cdot \text{cell}^{-1}$) | 0.62 |
| | μ_P^P (d^{-1}) | 0.93 |

培養条件: 25°C , $0.04 \text{ l} \cdot \text{y} \cdot \text{min}^{-1}$, 12:12 LD

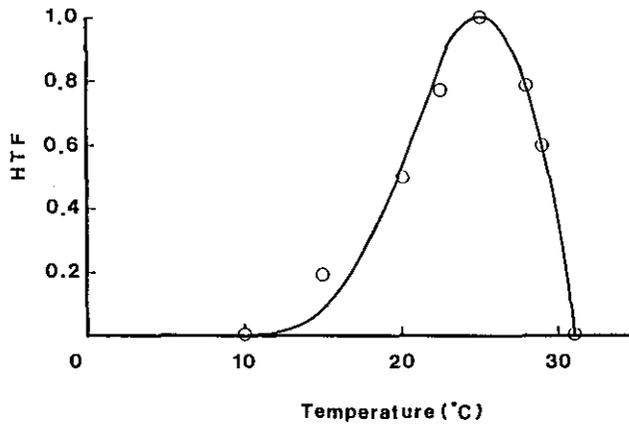


図 1 *C. antiqua* の増殖速度と水温の関係

(○: 実験結果(Nakamura and Watanabe, 1983b), -: (5) 式を用いた計算結果)

Fig.1 Relation between the growth rate of *C. antiqua* and temperature

(○: Experimental data obtained by Nakamura & Watanabe, 1983b.

-: Numerical results by using eq.(5).)

果を表現し得ることがわかる。藻類の増殖と照度に関する研究は従来多くなされている。照度のモデルについては, Bannister(1979), Webbら(1974), Jassby & Platt (1976), Vollenweider (1965), Plattら(1980), Parker(1973), Jørgensen(1976), Talling(1957), Takahashiら(1973) その他によって, 種々の関数型が提示されている。ここでは培養実験より得られた増殖速度の照度依存性を最も良く説明し得るモデルとして Bannister(1979) のモデルを修正して用いている。すなわち

$$f_2(I) = \frac{i/i_k}{[1+(i/i_k)^m]^{1/m}} \quad (6)$$

ここで $i = I - I_0$

$i_k = I_k - I_0$

I_0 = 増殖率に対する照度のしきい値

I_k = 最初に最大増殖速度 μ_{max} に達する照度

m = 藻類種に固有の定数

図2に $I_k = 0.04 \text{ ly} \cdot \text{min}^{-1}$, $I_0 = 0.011 \text{ ly} \cdot \text{min}^{-1}$, $m = 10$ の場合の $f_2(I)$ と培養実験結果との比較を示す。

したがって *C. antiqua* の増殖速度は (1), (4), (5), (6) 式により記述される。

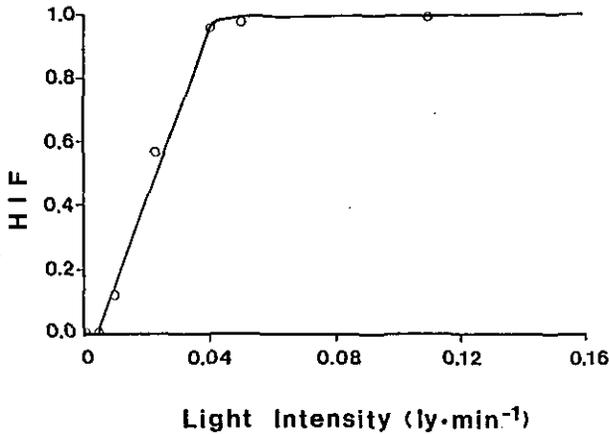


図 2 *C. antiqua* の増殖速度と照度の関係

(○: 実験結果(Nakamura & Watanabe, 1983b), -: (6)式を用いた計算結果)

Fig.2 Relation between the growth rate of *C. antiqua* and light intensity

(○: Experimental data obtained by Nakamura & Watanabe, 1983b.
-: Numerical results by using eq.(6).)

3. 2 *C. antiqua* の窒素・リン摂取過程

C. antiqua はアルカリフォスファターゼ活性を持たない(中村, 1985)ことから, 細胞内リン含量はリン酸塩の摂取のみに依存する。リン酸塩の摂取速度 (V_{PO_4}) は 細胞の生理的状态(cell quota)によらず Michaelis-Menten 式に従うことが判明している(Nakamura & Watanabe, 1983c; Nakamura, 1985b)。

リン摂取

$$V_p = V_{PO_4} = V_{max}^{PO_4} = \frac{S_{PO_4}}{K_s^{PO_4} + S_{PO_4}} \quad (7)$$

ここで $V_{max}^{PO_4}$: リン酸塩の最大摂取速度, $K_s^{PO_4}$: リン酸塩の半飽和定数, S_{PO_4} : リン酸塩濃度

C. antiqua のアンモニウム塩及び硝酸塩摂取速度は, それぞれの塩が単独で存在する場合 Michaelis-Menten 式により記述される (Nakamura & Watanabe, 1983c; Nakamura, 1985a)。また, 硝酸塩, アンモニウム塩が共存する場合, アンモニウム塩摂取速度は硝酸塩によって影響を受けないが, 硝酸塩摂取はアンモニウム塩によって阻害を受け, また V_{NO_3} , V_{NH_4} の cell quota 依存性は小さい (Nakamura, 1985a, b)。

以上の培養実験結果をもとに次式が窒素摂取速度(V_N)として得られている(Nakamura, 1985a)。

窒素摂取

$$V_N = V_{NH_4} + V_{NO_3}$$

$$= V_{max}^{NH_4} \frac{S_{NH_4}}{K_S^{NH_4} + S_{NH_4}} + \frac{1}{1 + \frac{S_{NH_4}}{K_I}} V_{max}^{NO_3} \frac{S_{NO_3}}{K_S^{NO_3} + S_{NO_3}} \quad (8)$$

ここで $V_{max}^{NH_4}$, $V_{max}^{NO_3}$: NH_4 , NO_3 の最大摂取速度, $K_S^{NH_4}$, $K_S^{NO_3}$: NH_4 , NO_3 の半飽和定数, K_I : 阻害定数, S_{NH_4} , S_{NO_3} : アンモニウム塩, 硝酸塩濃度。表2に *C. antiqua* の栄養塩摂取パラメータを示す。

表 2 *Chattonella antiqua* の栄養塩摂取パラメータ(Nakamura, 1985a, b)Table 2 Nutrient uptake parameters for *Chattonella antiqua*

| | | | |
|-----------------|------------------|---|------|
| NO ₃ | $K_S^{NO_3}$ | (μM) | 2.81 |
| | $V_{max}^{NO_3}$ | ($pmol \cdot cell^{-1} \cdot h^{-1}$) | 0.91 |
| | K_I | (μM) | 2.0 |
| NH ₄ | $K_S^{NH_4}$ | (μM) | 2.19 |
| | $V_{max}^{NH_4}$ | ($pmol \cdot cell^{-1} \cdot h^{-1}$) | 2.02 |
| PO ₄ | $K_S^{PO_4}$ | (μM) | 1.76 |
| | $V_{max}^{PO_4}$ | ($pmol \cdot cell^{-1} \cdot h^{-1}$) | 0.14 |

4 *C. antiqua* の生態系モデル

*C. antiqua*の細胞濃度は本種固有の増殖・死滅特性のみならず、捕食や流れによる移送、混合、拡散により大きく変動する。一方本種は日周鉛直移動を行い、海域の鉛直構造は *C. antiqua* 細胞濃度変動に大きく影響している。このため、まず鉛直一次的な *C. antiqua* の挙動を解析する必要があり、水平的な *C. antiqua* 分布やバッチについては平均化した現象として把握することを試みた。

4.1 基礎方程式

図3にモデルの概念図を示す。対象海域としては湾、入り江等地形的に囲まれた領域を control volume とする。流入・流出は短い時間スケールの潮流よりはむしろ長期的スケールの恒流による control volume への流入・流出を考えている。これより平均的な湾内での海水の滞留時間を見積ることができる。流入・流出の鉛直分布は考慮されている。地形により囲まれていない海域においても概念的に control volume をとることができる。

独立変数としては PO_4-P (C_1), 粒子状 P (C_2), *C. antiqua* 細胞濃度 (C_3), P cell quota (C_4), NO_3-N (C_5), NH_4-N (C_6), 粒子状 N (C_7), N -cell quota (C_8) をとり、それぞれの保存式を以下のように求めた (図4)。

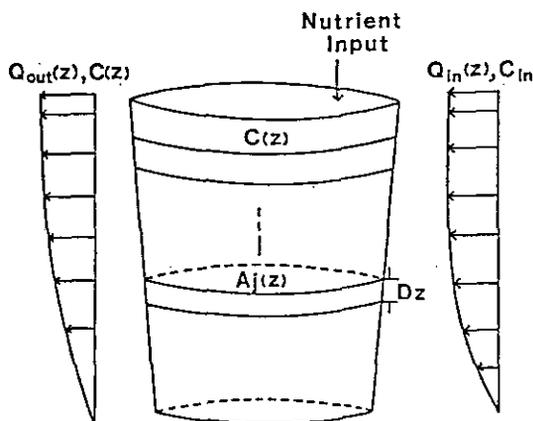


図 3 コントロールボリュームの概念図
Fig.3 Schematic view of control volume

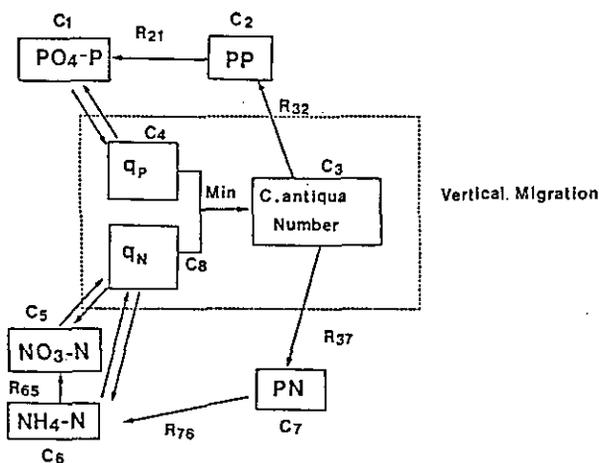


図 4 *C. antiqua* 生態系モデル
Fig.4 Ecological model of *C. antiqua*

$$\frac{\partial C_1}{\partial t} = -\frac{1}{A} \left[\frac{\partial}{\partial z} (Q_v \cdot C_1) + \frac{\partial}{\partial z} \left(A \cdot E \cdot \frac{\partial C_1}{\partial z} \right) \right] + R_{21} \cdot C_2 - C_3 \cdot V_{max}^P \frac{C_1}{K_S^P + C_1} + \frac{U_i C_1^i}{A} - \frac{U_o C_1}{A} \quad (9)$$

$$\frac{\partial C_2}{\partial t} = -\frac{1}{A} \left[\frac{\partial}{\partial z} \{ (Q_v + W_s \cdot A) C_2 \} + \frac{\partial}{\partial z} \left(A \cdot E \cdot \frac{\partial C_2}{\partial z} \right) \right] - R_{21} \cdot C_2 + R_{32} \cdot C_3 + \frac{U_i C_2^i}{A} - \frac{U_o C_2}{A} \quad (10)$$

$$\begin{aligned} \frac{\partial C_3}{\partial t} = & -\frac{1}{A} \left[\frac{\partial}{\partial z} \{ (Q_V + V_M \cdot A) C_3 \} + \frac{\partial}{\partial z} \left(A \cdot E \cdot \frac{\partial C_3}{\partial z} \right) \right] \\ & + (\mu - D) C_3 + \frac{U_i C_3^0}{A} - \frac{U_o C_3}{A} \end{aligned} \quad (11)$$

$$\frac{\partial C_4}{\partial t} = -\frac{1}{A} \left[\frac{\partial}{\partial z} \{ (Q_V + V_M \cdot A) C_4 \} + \frac{\partial}{\partial z} \left(A \cdot E \cdot \frac{\partial C_4}{\partial z} \right) \right] + C_3 \cdot V_{\max}^P \frac{C_1}{K_S^P + C_1} \quad (12)$$

$$\begin{aligned} \frac{\partial C_5}{\partial t} = & -\frac{1}{A} \left[\frac{\partial}{\partial z} (Q_V \cdot C_5) + \frac{\partial}{\partial z} \left(A \cdot E \cdot \frac{\partial C_5}{\partial z} \right) \right] \\ & + R_{65} \cdot C_6 - C_3 \cdot V_{\max}^{NO_3} \frac{C_5}{K_S^{NO_3} + C_5} \cdot \frac{1}{1 + \frac{C_6}{K_I}} + \frac{U_i C_5^0}{A} - \frac{U_o C_5}{A} \end{aligned} \quad (13)$$

$$\begin{aligned} \frac{\partial C_6}{\partial t} = & -\frac{1}{A} \left[\frac{\partial}{\partial z} (Q_V \cdot C_6) + \frac{\partial}{\partial z} \left(A \cdot E \cdot \frac{\partial C_6}{\partial z} \right) \right] \\ & - R_{65} \cdot C_6 + R_{76} \cdot C_7 - C_3 \cdot V_{\max}^{NH_4} \frac{C_6}{K_S^{NH_4} + C_6} + \frac{U_i C_6^0}{A} - \frac{U_o C_6}{A} \end{aligned} \quad (14)$$

$$\begin{aligned} \frac{\partial C_7}{\partial t} = & -\frac{1}{A} \left[\frac{\partial}{\partial z} \{ (Q_V + W_S \cdot A) C_7 \} + \frac{\partial}{\partial z} \left(A \cdot E \cdot \frac{\partial C_7}{\partial z} \right) \right] \\ & - R_{76} \cdot C_7 + R_{37} \cdot C_3 + \frac{U_i C_7^0}{A} - \frac{U_o C_7}{A} \end{aligned} \quad (15)$$

$$\begin{aligned} \frac{\partial C_8}{\partial t} = & -\frac{1}{A} \left[\frac{\partial}{\partial z} \{ (Q_V + V_M \cdot A) C_8 \} + \frac{\partial}{\partial z} \left(A \cdot E \cdot \frac{\partial C_8}{\partial z} \right) \right] \\ & + C_3 \left[V_{\max}^{NH_4} \frac{C_6}{K_S^{NH_4} + C_6} + V_{\max}^{NO_3} \frac{C_5}{K_S^{NO_3} + C_5} \cdot \frac{1}{1 + \frac{C_6}{K_I}} \right] \end{aligned} \quad (16)$$

ここで Q_V = vertical flow rate (鉛直流量)

$$= \int_0^a [U_i(z, t) - U_o(z, t)] dz$$

U_i = 水平流入流速

U_o = 水平流出流速

A_i = control volume の水平断面積

D_z = element 厚さ

C_i^0 = コンポーネント i の流入濃度

E = 鉛直渦拡散係数

W_s = 粒子沈降速度

$$\begin{aligned}
 V_n &= \text{日周鉛直移動速度} \\
 &= + 0.6 \text{ m}\cdot\text{h}^{-1} \quad (\text{上向き}) \quad 4:00 < t < 16:00 \quad (\text{昼間}) \\
 &= - 0.6 \text{ m}\cdot\text{h}^{-1} \quad (\text{下向き}) \quad 16:00 < t < 4:00 \quad (\text{夜間}) \\
 D &= \text{死滅率} \\
 G &= \min[\mu_N, \mu_P \times f_1(T) \times f_2(I)] \quad \text{at } t=4:00 \\
 &= 0 \quad \text{at } t \neq 4:00
 \end{aligned}$$

水中での照度 I は浮遊粒子や藻類等の影響により深度と共に減衰する。ここでは次式を仮定する。

$$\begin{aligned}
 I(z) &= I_0 \exp(-kz) \\
 I_0 &= \text{深度 } 0\text{m} \text{ での照度} \\
 k &= k_0 + \alpha \times 4.7 \times 10^{-7} \times N(z) \\
 \alpha &= 5.0 \\
 N(z) &= \text{Chattonella 細胞濃度} \\
 k_0 &= \text{海水による減衰係数} \\
 z &= \text{深度 (m)}
 \end{aligned}$$

4.2 日周鉛直移動平均の照度・温度

C. antiqua の日周鉛直移動速度は後述するごとく $0.6 \text{ m}\cdot\text{h}^{-1}$ 程度と考えられているが、現場海域で顕著な成層が存在する場合、*C. antiqua* 細胞が経験する照度及び水温は鉛直方向に急激に変化する。温度、照度関数として得られている (5), (6) 式は一定水温・照度に対して得られたものである。この関数を日周鉛直移動している *C. antiqua* に適用する場合、時刻により細胞が存在する鉛直位置が変化し、このためどの照度・水温に対して (5), (6) 式が適用されるべきかが問題となる。現在までのところ水温・照度が変動する場合の *C. antiqua* の増殖特性については実験も行われておらず未知である。本モデルにおいては日周鉛直移動した区間の水温・照度の細胞濃度で重み付けした平均値が *C. antiqua* の増殖を規定すると仮定した。すなわち

$$\bar{I} = \frac{\int_{t=t_i}^{t=t_{i+m}} \int_{z=J_i}^{z=J_{i+m}} I(J) \cdot N(J) \, dz \, dt}{\int_{t=t_i}^{t=t_{i+m}} \int_{z=J_i}^{z=J_{i+m}} N(J) \, dz \, dt} \quad (17)$$

$$\bar{T} = \frac{\int_{t=t_i}^{t=t_{i+m}} \int_{z=J_i}^{z=J_{i+m}} T(J) \cdot N(J) \, dz \, dt}{\int_{t=t_i}^{t=t_{i+m}} \int_{z=J_i}^{z=J_{i+m}} N(J) \, dz \, dt} \quad (18)$$

ただし、 m =日周鉛直移動距離、 t_i 、 t_{i+n} =移動開始・終了時刻。この細胞濃度で重み付けして移動平均された I 、 T を (5)、(6) 式に適用した。この仮定は今後培養実験により検証されるべきであるが、照度に関してこの仮定を支持する実験結果が得られている (木幡・渡辺, 1997)。

4.3 鉛直混合と平均照度・温度

風による表層混合は底層からの栄養塩巻き上げにとって重要な因子となっている。一方表層混合はまた *C. antiqua* が経験する照度・水温が混合層内で平均化されることを意味している。水温については鉛直混合により混合平均水温を計算している。照度については鉛直混合層内で *C. antiqua* が経験する照度の平均値に対してその増殖が規定されると仮定した。この仮定は基本的には日周鉛直移動平均と同様の考え方に基づいており、(17)、(18) 式を鉛直混合層内に適用している。

5 モデルの検証

5.1 *C. antiqua* 増殖の検証

マイクロコズムを用いて *C. antiqua* の無菌培養を行い、その増殖の検証を行った。実験には *C. antiqua* の無菌クローン株 (NIES-1:微生物系統保存施設保存Ha-1と同様) を用いた。予備培養は 2 l の三角フラスコ内に 1 l の f/2 培地 (Guillard & Ryther, 1962) を入れ本株を培養した。照明は12時間明期、12時間暗期の周期で、明期に約 $80 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ になるように調整された昼・光色蛍光灯で与えた。温度は $21\pm 1^\circ\text{C}$ に保たれた。

マイクロコズムを使った培養では、蒸気滅菌された孔径 $0.22 \mu\text{m}$ のミリポアフィルターでろ過された f/2 培地を 1m^3 用いた。培養槽は使用前に蒸気滅菌 (110°C , 30分) した。

予備培養で細胞濃度が約 $4\times 10^9 \text{ cells}\cdot\text{m}^{-1}$ に達したものを、滅菌された注入口より無菌的に培養槽に入れ (1 l)、培養槽内の初期細胞濃度を約 $4 \text{ cells}\cdot\text{m}^{-1}$ にした。照明は 5kw のキセノンランプで与え、実験期間中 06:00 点灯、18:00 消灯の 12:12 時間の明暗周期下、表層の中央での照度が約 $565 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ となるよう調整した。培養槽下部から滅菌された空気を入れ槽内を一様にかくはんした。水温は $25\pm 1^\circ\text{C}$ に保った。サンプルは培養槽の中層からテフロンチューブを通して、3 l の三角フラスコにアスピレーターを用いて吸引採水した。採水したサンプルの細胞濃度・平均体積、乾燥重量、炭素・窒素含有量、TP、DTP、DIP を測定した。細胞濃度・平均体積の測定にはコールターカウンターTA-11 型を使用した。乾燥重量、炭素・窒素含有量の測定には、直径 47mm のあらかじめ 400°C で4時間焼いた GF/C フィルター上にサンプルを 500 ml ろ過捕集したものをを用いた。GF/C フィルターは、ろ過後に 0.5M ギ酸アンモニウム水溶液で洗浄した。ろ紙の乾燥は 80°C で 48時間行い、重量はメトラー・M36で秤量した。炭素・窒素含有量は柳本 CHNコーダー・MT-3を用いて測定した。

上記実験について cell quota が計測可能な培養4日目から *C. antiqua* 生態モデルを適用し

た。初期値として細胞濃度=33 cells·m⁻¹, DIP=12.3 μM, DIN=400 μM, P-cell quota=5.0 pmol·cell⁻¹, N-cell quota=40 pmol·cell⁻¹, 水中0mでの照度=0.08 ly·min⁻¹ (マイクロコズム内海水による減衰係数として実測値 $k_a=0.005\text{ cm}^{-1}$) を与えた。

図5に細胞濃度変化, 図6に DIP 変化を示す。培養7日目 (~10⁴ cells·m⁻¹) から DIPが9μM あるにもかかわらず *C. antiqua* の細胞濃度の増殖が低下し始めており, *C. antiqua* 自身による self-shading の効果が顕著に現れている。P-cell quota, N-cell quota (図7, 図8) ともに実測値に近い値に収束している。

本実験において $\mu=0.6\text{ d}^{-1}$ は数値実験では窒素制限系より求められた増殖率であり, 本実験での *C. antiqua* 増殖は窒素により制限されていると思われる。

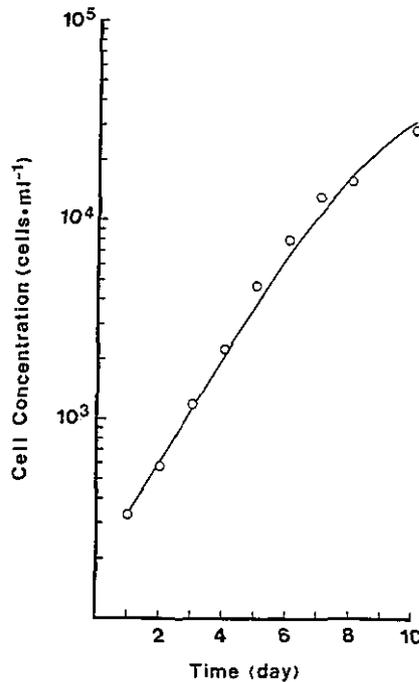


図 5 *C. antiqua* 細胞濃度の計算結果と実測値の比較

Fig.5 Comparison between predicted and observed cell concentrations of *C. antiqua*

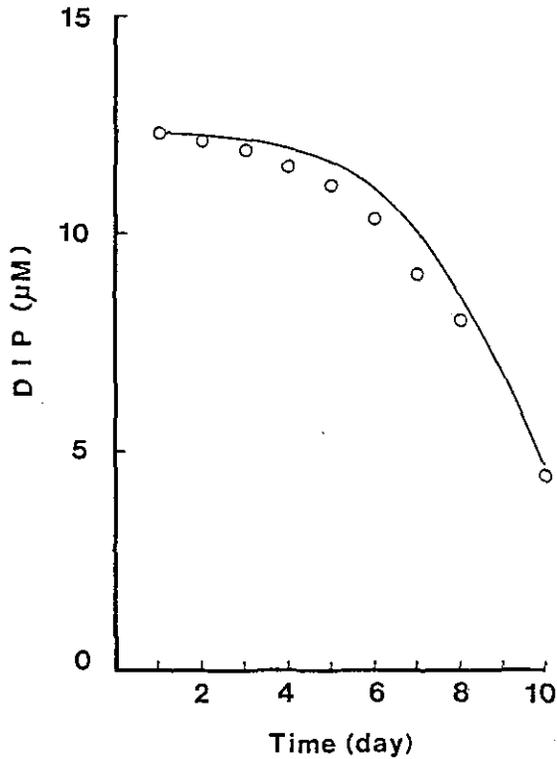


図 6 溶存無リン濃度の計算結果と実測値の比較

Fig.6 Comparison between predicted and observed dissolved inorganic phosphate

5.2 C. antiqua 日周鉛直移動の検証

マイクロコズム内に *C. antiqua* の無菌クローン株 (NIES-1) を 5.1 に述べた方法で培養した。初期細胞濃度に $58 \text{ cells} \cdot \text{m}^{-1}$ を与え、水温は $25 \pm 1^\circ\text{C}$ に保ち曝気混合状態で培養を行った ($\mu = 0.58 \text{ d}^{-1}$)。培養3日目で細胞濃度が約 $310 \text{ cells} \cdot \text{m}^{-1}$ に達した時に曝気を停止し日周鉛直移動の実験を開始した。マイクロコズム内、上、中、下層の鉛直3点で採水を行い、細胞濃度、平均体積をコールターカウンターTA-11型により計測した。図9に上、中、下層の鉛直3点での細胞濃度経時変化を示す。昼間でも下層に数十個体の細胞が残っており、また夜間でも上層に100個体程度の細胞が計測された。このことはすべての細胞が完全に同調して日周鉛直移動を行っていないことを示している。この日周鉛直移動実験を再現する数値実験を行った。*C. antiqua* 細胞濃度 (C_3) の保存式において $Q_v = 0$, $D = 0$, $U_i = U_b = 0$ として計算を行った。 μ は実測値 $\mu = 0.58 \text{ d}^{-1}$ を与え、細胞分裂は 4:00 に行わせた。初期細胞濃度として培養3日目の

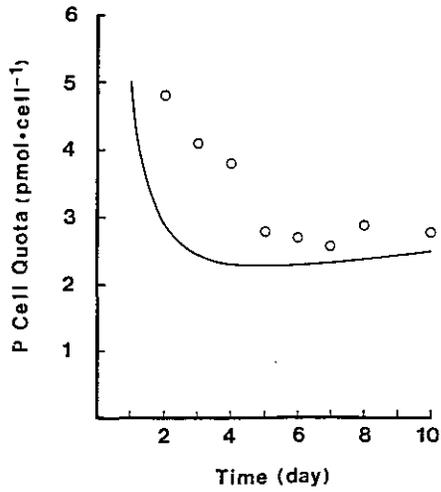


図 7 細胞内リン含量の計算結果と実測値の比較

Fig.7 Comparison between predicted and observed P-cell quota

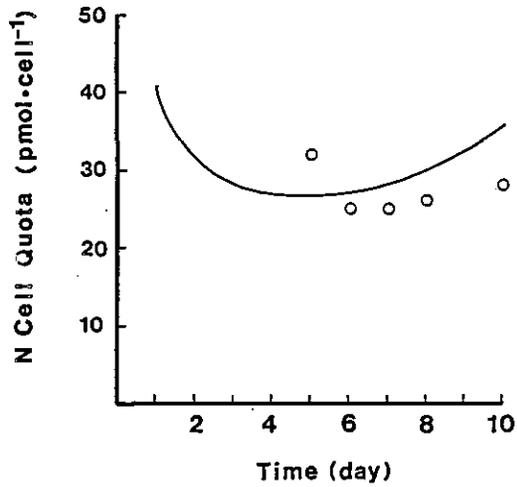


図 8 細胞内窒素含量の計算結果と実測値の比較

Fig.8 Comparison between predicted and observed N-cell quota

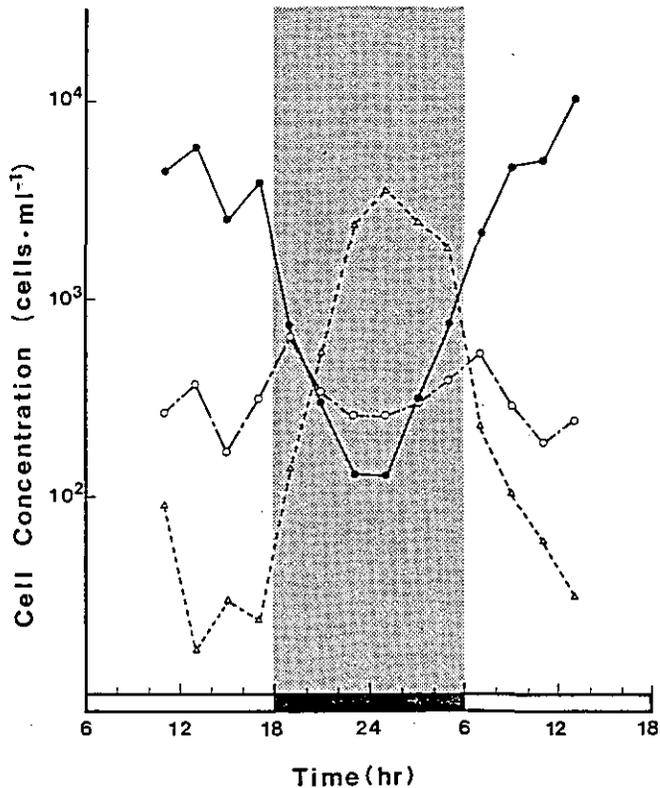


図 9 *C. antiqua* の日周鉛直移動実験結果

(●: 表層, ○: 中層, △: 底層)

Fig.9 Experimental results of diel vertical migration of *C. antiqua*

(●: surface, ○: middle, △: bottom)

9:00に $310 \text{ cells}\cdot\text{ml}^{-1}$ を与え日周鉛直移動のシミュレーションを行った。図10 に示すごとく $V_M = \pm 0.6 \text{ m}\cdot\text{h}^{-1}$ (上向き (+): $4:00 < t < 16:00$, 下向き (-): $16:00 < t < 4:00$) とした場合が中層での細胞濃度のピークを与える時刻が最も良く実測値と合致する。数値計算ではすべての細胞が完全に同調しているため昼間は底層で、また夜間は表層で細胞濃度がほぼゼロになってしまう。しかし中層でのピーク時刻、表層並びに底層へ集積した細胞濃度など数値計算結果は全体としてよく実験結果を説明している。

ランダム運動モデルを拡張して生物拡散方程式 (Biodiffusion Eq.) を提示したPatlak(1953)のモデル, さらにその走性への適用を行った Keller & Segel (1971), Okubo (1980)のモデルを本論文においては適用している。数値計算結果と実験結果の良好な一致は、生物拡散方程式において細胞の方向持続性を鉛直移動速度 V_M , 細胞のランダム運動性を拡散係数 (一定値)により表現することにより鞭毛藻の日周鉛直移動現象を記述し得ることを示している。

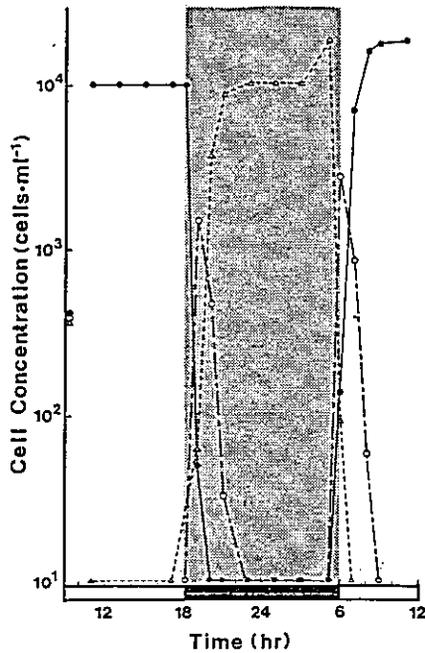


図 10 日周鉛直移動の数値実験結果

(●: 表層, ○: 中層, △: 底層)

Fig.10 Numerical results of diel vertical migration

(●: surface, ○: middle, △: bottom)

6 現場適用上の問題点

第4章に提示された *C. antiqua* の生態系モデルは *C. antiqua* 細胞が単独で環境中に存在し増殖する過程をモデル化したものであり、モデル化の第1段階である。そこには他藻類種との栄養塩競合関係、他藻類種との増殖阻害関係等を組み込んだものとはなっていない。したがって本モデルを現場に適用した場合、そこに得られる結果は *C. antiqua* が他生物群との相互作用なしに単独で、与えられた物理、化学環境下で最大どの程度まで増殖可能なのか、そしてその支配環境因子は何であるかを提示している。他生物群との相互作用は *C. antiqua* の増殖にとっておおむね negative に働くものが多く、またそれら相互作用の定量化は現在のところ不明なものが多い。このためモデル化の第1段階は *C. antiqua* の最大増殖可能量を正確に見積もることを目的とし、第2段階以降は今後の課題とした。

増殖モデルは培養実験結果を基本としているため、海域の栄養塩濃度、照度、温度が既知であれば、*C. antiqua* の増殖過程は増殖モデルのみによってある程度は推定することができる。しかし海域に明らかな鉛直成層構造が存在し、*C. antiqua* の増殖が日周鉛直移動と密接に関連している場合、本種細胞濃度は栄養塩濃度レベルのみならず、成層位置、海水交換性、鉛直混合性とい

った海洋構造に大きく影響を受けることになる。このような *C. antiqua* と海洋構造との相互作用を直接的に現場で観測又は実験系で再現することが困難であった。

ここでは継続的に現場観測実験を行ってきた播磨灘家島諸島の内湾に対し本モデルを適用した。特に *C. antiqua* と海洋構造との相互作用が *C. antiqua* の増殖に対してどのような影響を与えるのかを、環境因子（成層位置、海水交換性、鉛直混合性、栄養塩負荷等）の増殖に対する感度解析により明らかにし、現場海域への適用上の問題点を抽出してみた。

6.1 モデル計算の環境・初期条件

本モデルで用いた環境条件・初期条件は過去3か年にわたり播磨灘家島諸島で夏期（7月中頃～8月中頃）に得られた観測値の平均値を用いた。すなわち

(1) 家島での栄養塩濃度は過去3か年大きくは変化せず、平均的に表層で $PO_4-P=0.04\mu M$, $NO_3-N=0.2\mu M$, $NH_4-N=0.4\mu M$, 下層で $PO_4-P=0.3\mu M$, $NO_3-N=4.0\mu M$, $NH_4-N=2.0\mu M$ という値が得られており、これらの値を計算期間中用いた（図11）。

(2) 水温は観測期間の平均値として表層 27℃, 下層 22℃を与えた。

(3) 水中 0m の照度及び水中消散係数は観測期間の平均値としてそれぞれ

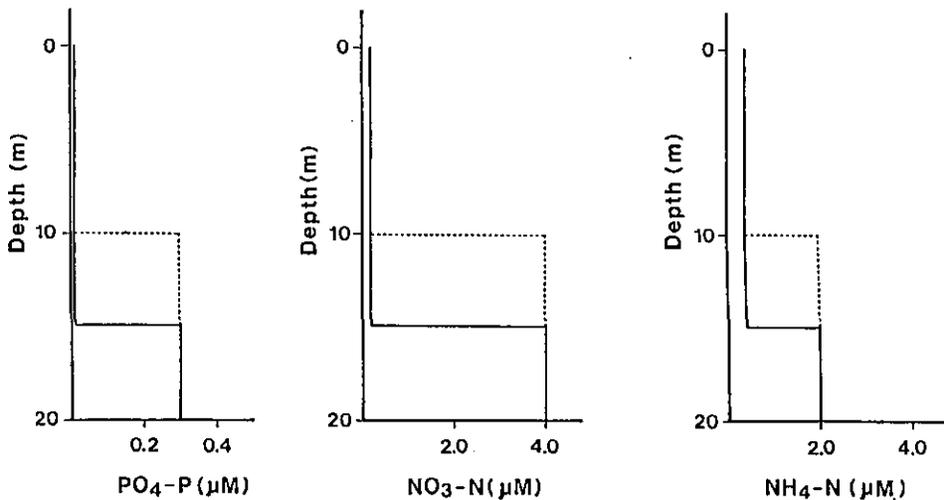


図 11 家島海域に見られる代表的な栄養塩成層構造
(実線：15m 成層， 破線：10m 成層)

Fig.11 Nutrient stratification typically observed in the vicinity of Ieshima Island
(solid line : stratification at 15m, dashed line : stratification at 10m)

$$I_0 = 0.44 \sin \left[\frac{\pi}{12} (t-6) \right] \quad (\text{ly} \cdot \text{min}^{-1})$$

$$k_e = 0.34 \quad (\text{m}^{-1})$$

を与えた。

(4) 対象海域の有効容積は $V=3.34 \times 10^7 \text{m}^3$ ，平均水深 $H=20\text{m}$ を与えた。

(5) 鉛直格子 $\Delta z=1\text{m}$ ($J=1 \sim 21$; $J=1$ が底, $J=21$ が水面)，時間間隔 $\Delta t=0.02\text{h}$ とした。

(6) *C. antiqua* はシストより発芽し初期細胞濃度を底 ($J=1$) に与えた。

(7) 流入してくる海水の栄養塩濃度は初期値の栄養塩濃度と常ば等しいとする。また流入・流出分布は鉛直方向に一様な分布を与えている。

原則として以上のような播磨灘家島での観測を環境条件として与え計算を行うことができる。現場へのモデル適用において問題となるのは *Chattonella*細胞濃度に大きく影響を与える環境因子の定量的把握が困難な場合が多い点にある。このためそれら環境因子の *Chattonella*細胞濃度変化に対する感度解析を行い，環境因子間の相対的重要性の比較検討を行った。

6. 2 動物プランクトンによる摂食のパラメータ

赤潮藻類の消長過程を理解するには，赤潮藻類の増殖要因のみならず，赤潮藻類に摂食圧を加えている動物プランクトンの役割もまた重要である。Uye (1986)は瀬戸内海に出現する代表的なろ過性かいあし類(5種)の *C. antiqua* に対する摂食実験を行っている。本モデルにおいては報告されているかいあし類5種の中でも特に 1983年6月29日～7月3日 と 8月26日～28日 に Uye (1986)が行った播磨灘での調査において最優占種であった *Paracalanus parvus* をモデル中に組み込むこととした。*P. parvus* による摂食率は Uye (1986) のデータより次式を求めた(図12)。

$$f = 2500 \frac{P - P_0}{K_z + P - P_0} \quad (19)$$

ここで $f = \underline{P. parvus}$ による摂食率 ($\text{cells} \cdot \text{indiv}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)

$K_z =$ 半飽和定数 ($100 \text{ cells} \cdot \text{m}^{-1}$)

$P_0 =$ 摂食のための閾値 ($\text{cells} \cdot \text{m}^{-1}$)

$P = \underline{C. antiqua}$ 細胞濃度 ($\text{cells} \cdot \text{m}^{-1}$)

この摂食率 f によれば，*C. antiqua* 細胞濃度が低い(数十 $\text{cells} \cdot \text{m}^{-1}$) 領域においては，かいあし類の摂食圧は非常に大きく，したがって摂食のための閾値 P_0 は *C. antiqua* 細胞濃度に対し大きな感度を持っていると考えられる。*P. parvus* の室内摂食実験においては摂食のための

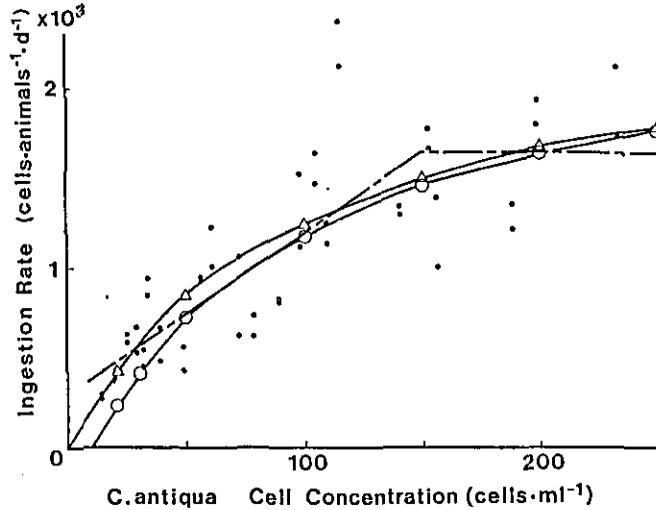


図 12 動物プランクトン *P. parvus* による *C. antiqua* の摂食率
 (●: 上(1986)による実験結果, ○: $P_0=10 \text{ cells}\cdot\text{m}^{-1}$ の場合の摂食率,
 △: $P_0=0 \text{ cells}\cdot\text{m}^{-1}$ の場合の摂食率)

Fig.12 Ingestion rate of *P. parvus*
 (●: Experimental data by Uye (1986), ○: Ingestion rate in the
 case of $P_0=10 \text{ cells}\cdot\text{m}^{-1}$, △: Ingestion rate in the case of
 $P_0=0 \text{ cells}\cdot\text{m}^{-1}$)

閾値の存在は観察されなかった (Uye, 1986)と報告されているが、ここでは感度解析のパラメーターと考えて解析を行った。

6.3 感度解析結果

表3に感度解析パラメータの一覧を示す。

現在の播磨灘家島での栄養塩レベル (レベル1) において、滞留時間10日、成層位置 15m, *C. antiqua* の遊泳速度 $0.6 \text{ m}\cdot\text{h}^{-1}$, 鉛直拡散係数 $5 \times 10^{-3} \text{ m}^2\cdot\text{h}^{-1}$, 初期シスト発芽細胞濃度 $20 \text{ cells}\cdot\text{m}^{-1}$, 鉛直混合 0m, 動物プランクトン 0 ($\text{indiv}\cdot\text{l}^{-1}$) の状態を Base Run (Run1) とし、すべての比較の基本とした。結果の比較は鉛直平均細胞濃度及び表層集積細胞濃度 (14:00の値) を用いて行った。本計算は HITAC-M280にて行ったが30日間の計算で CPU時間は約 90分であった。ケースによっては完全に定常に到達しない場合もあったが、計算時間の問題及び実際の *C. antiqua* 赤潮発生期間を考慮して一応30日間の計算結果の比較を行った。

(1) 鉛直拡散係数

式 (9) ~ (16) に用いられている鉛直拡散係数 E は鞭毛藻のランダム運動性に由来する成分

表 3 感度解析実験の一覧

Table 3 Summary of sensitivity analysis

| Run | 滞留時間 (day) | 成層位置 (m) | V_n ($m \cdot h^{-1}$) | DO ($m^2 \cdot h^{-1}$) | 初期CYST発芽 ($cells \cdot m l^{-1}$) | 鉛直混合 (m) | NUTRIENT LEVEL | ZOO ($indiv \cdot l^{-1}$) |
|-------------|---------------|-------------|-------------------------------|------------------------------|--|-------------|-------------------|---------------------------------|
| (Base Run)1 | 10 | 15 | 0.6 | 5×10^{-3} | 20 | 0 | 1 | 0 |
| 2 | 10 | 15 | 0.6 | 5×10^{-5} | 20 | 0 | 1 | 0 |
| 3 | 10 | 15 | 0.6 | 5×10^{-2} | 20 | 0 | 1 | 0 |
| 4 | 10 | 15 | 0.6 | 5×10^{-3} | 2 | 0 | 1 | 0 |
| 5 | 20 | 10 | 0.6 | 5×10^{-3} | 2 | 0 | 4 | 0 |
| 6 | 20 | 15 | 0.6 | 5×10^{-3} | 20 | 0 | 1 | 0 |
| 7 | 5 | 15 | 0.6 | 5×10^{-3} | 20 | 0 | 1 | 0 |
| 8 | 10 | 10 | 0.6 | 5×10^{-3} | 20 | 0 | 1 | 0 |
| 9 | 20 | 10 | 0.6 | 5×10^{-3} | 20 | 0 | 1 | 0 |
| 10 | 10 | 15 | 1.0 | 5×10^{-3} | 20 | 0 | 1 | 0 |
| 11 | 20 | 10 | 1.0 | 5×10^{-3} | 20 | 0 | 1 | 0 |
| 12 | 10 | 15 | 0.6 | 5×10^{-3} | 20 | 10 | 1 | 0 |
| 13 | 10 | 15 | 0.6 | 5×10^{-3} | 20 | 0 | 4 | 0 |
| 14 | 20 | 10 | 0.6 | 5×10^{-3} | 20 | 0 | 4 | 0 |
| 15 | 10 | 15 | 0.6 | 5×10^{-3} | 20 | 0 | 1 | 10($P_0=10$) |
| 16 | 10 | 15 | 0.6 | 5×10^{-3} | 20 | 0 | 1 | 10($P_0=0$) |
| 17 | 20 | 10 | 0.6 | 5×10^{-3} | 20 | 0 | 4 | 10($P_0=10$) |
| 18 | 20 | 10 | 0.6 | 5×10^{-3} | 20 | 0 | 4 | 10($P_0=0$) |

(E_r)と海域の乱流に由来する成分(E_t)とがある。 E_r についてはその定量的推定は現在明らかではない。閉鎖性が強い海域として知られる燧灘東部海域において、水温の鉛直分布から鉛直一次元3層ボックスモデルにより推定された鉛直拡散係数 E_t は $0.04 \sim 0.19 \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ (又は $0.01 \sim 0.07 \text{ m}^2 \cdot \text{h}^{-1}$) 程度と推定している(武岡ら, 1984)。この鉛直拡散係数 E は一方で *C. antiqua* 細胞濃度の拡散効果を持つと同時に、栄養塩の巻き上げに影響を与える。Run 1, 2, 3において $E = 5.0 \times 10^{-3}, 5.0 \times 10^{-5}, 5.0 \times 10^{-2} (\text{m}^2 \cdot \text{h}^{-1})$ を与え計算を行い、30日目の $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度の鉛直分布を図13に示す。 $E = 0.05 \text{ m}^2 \cdot \text{h}^{-1}$ (Run3)とした場合、深さ15mのところステップ状に $\text{PO}_4\text{-P}$ を初期濃度として与えたにもかかわらず、深さ7mにまで $\text{PO}_4\text{-P}$ が拡散していることがわかる。本モデル実験では初期条件として与えた $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度の鉛直分布が十分保持され、かつ推定されている鉛直拡散係数に近いものとして $E = 5.0 \times 10^{-3} \text{ m}^2 \cdot \text{h}^{-1}$ を Base Run (Run1)として選択した。図14, 15にそれぞれの E の値に対する *C. antiqua* 細胞濃度の鉛直分布を示す。 $E = 5 \times 10^{-2} \text{ m}^2 \cdot \text{h}^{-1}$ (Run3)の場合7m層にまで $\text{PO}_4\text{-P}$ その他栄養塩が拡散され、鉛直移動(速度 $0.6 \text{ m} \cdot \text{h}^{-1}$)した *C. antiqua* に摂取されるため細胞濃度は $E = 5 \times 10^{-3}, 5 \times 10^{-5}$ のケースに比較して大きなものになっている。特に鉛直移動速度 $0.6 \text{ m} \cdot \text{h}^{-1}$ の場合、午前4時(図14)での鉛直分

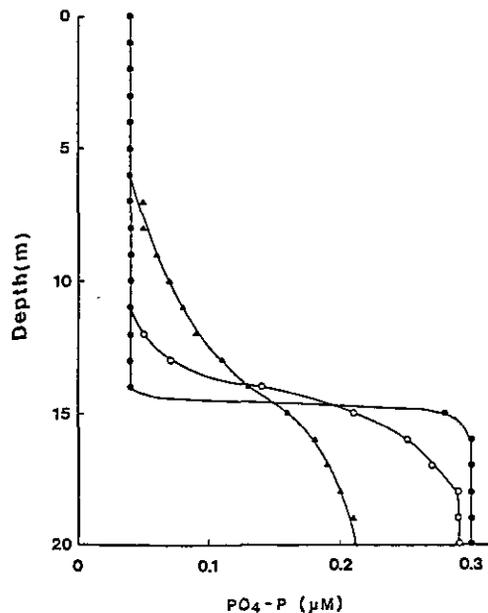


図 13 $\text{PO}_4\text{-P}$ の鉛直分布に及ぼす鉛直拡散係数の影響

(●: $E = 5 \times 10^{-5} \text{ m}^2 \cdot \text{h}^{-1}$, ○: $E = 5 \times 10^{-3} \text{ m}^2 \cdot \text{h}^{-1}$, ▲: $E = 5 \times 10^{-2} \text{ m}^2 \cdot \text{h}^{-1}$)

Fig.13 Effects of vertical eddy viscosities on the vertical distributions of $\text{PO}_4\text{-P}$

(●: $E = 5 \times 10^{-5} \text{ m}^2 \cdot \text{h}^{-1}$, ○: $E = 5 \times 10^{-3} \text{ m}^2 \cdot \text{h}^{-1}$, ▲: $E = 5 \times 10^{-2} \text{ m}^2 \cdot \text{h}^{-1}$)

布のピークは約7m層に存在するため、 PO_4 -P濃度の底層から7m層への拡散は *C. antiqua* 増殖にとって非常に重要となる。しかし $E=5 \times 10^{-3} m^2 \cdot h^{-1}$ (Run 1) と $E=5 \times 10^{-5} m^2 \cdot h^{-1}$ (Run 2) を比較すると *C. antiqua* 細胞濃度の鉛直分布はほとんど変化がない(図14, 15)。このように $E=5 \times 10^{-3} m^2 \cdot h^{-1}$ より小さくしても細胞濃度の鉛直分布に変化を与えないことから、この値を Base Run とした。

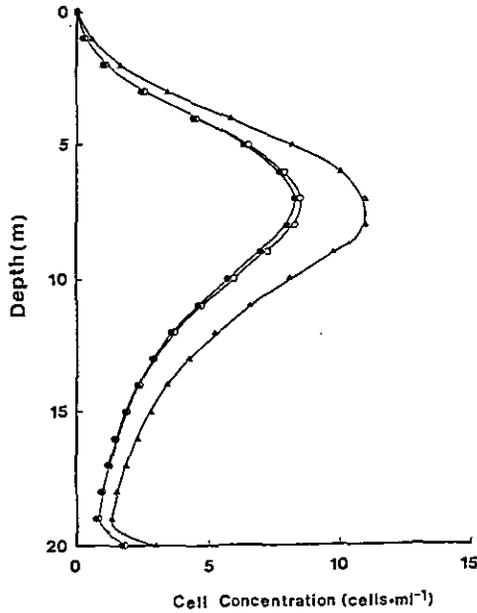


図 14 4:00に見られる *C. antiqua* 細胞濃度の鉛直分布に及ぼす鉛直拡散係数の影響

(●: $E=5 \times 10^{-5} m^2 \cdot h^{-1}$, ○: $E=5 \times 10^{-3} m^2 \cdot h^{-1}$, ▲: $E=5 \times 10^{-2} m^2 \cdot h^{-1}$)

Fig.14 Effects of vertical eddy viscosities on the vertical distributions of *C. antiqua* cell concentrations observed at 04:00

(●: $E=5 \times 10^{-5} m^2 \cdot h^{-1}$, ○: $E=5 \times 10^{-3} m^2 \cdot h^{-1}$, ▲: $E=5 \times 10^{-2} m^2 \cdot h^{-1}$)

(2) 初期シスト発芽細胞濃度

図16に初期シスト発芽細胞濃度が $20 \text{ cells} \cdot m^{-3}$ (Base Run)と $2 \text{ cells} \cdot h^{-1}$ の比較を示す。Base Run の環境条件に対し計算結果は定常に達しており、定常細胞濃度及び表層集積細胞濃度は初期シスト発芽細胞濃度の相異によりそれぞれ計算結果を平行移動したものとなっている(図16)。したがって、Base Run で与えられた海水交換性、栄養塩レベルにおいては初期シスト発芽細胞濃度は大きい方が定常細胞濃度は高くなる。しかし初期発芽細胞濃度が低くても、他の環境条件とのかかわりにおいて十分赤潮状態になることは可能である。滞留時間20日、成層位置10

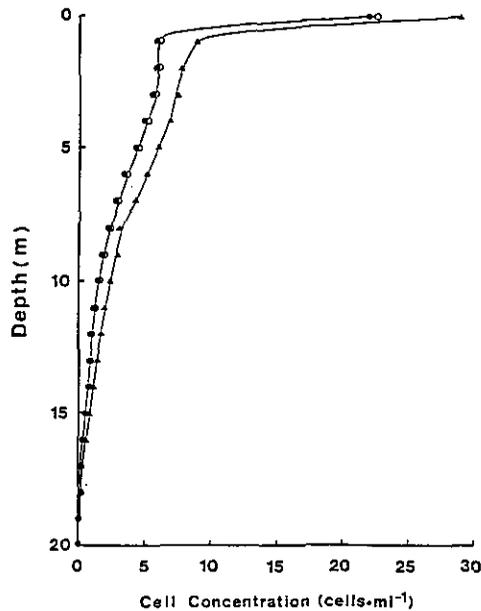


図 15 14:00に見られる *C. antiqua* 細胞濃度の鉛直分布に及ぼす鉛直拡散係数の影響

(●: $E=5 \times 10^{-5} \text{m}^2 \cdot \text{h}^{-1}$, ○: $E=5 \times 10^{-3} \text{m}^2 \cdot \text{h}^{-1}$, ▲: $E=5 \times 10^{-2} \text{m}^2 \cdot \text{h}^{-1}$)

Fig.15 Effects of vertical eddy viscosities on the vertical distributions of *C. antiqua* cell concentrations observed at 14:00

(●: $E=5 \times 10^{-5} \text{m}^2 \cdot \text{h}^{-1}$, ○: $E=5 \times 10^{-3} \text{m}^2 \cdot \text{h}^{-1}$, ▲: $E=5 \times 10^{-2} \text{m}^2 \cdot \text{h}^{-1}$)

m, 栄養塩レベルを4とした場合, 初期発芽細胞濃度が $20 \text{ cells} \cdot \text{m} \text{ l}^{-1}$ と $2 \text{ cells} \cdot \text{m} \text{ l}^{-1}$ では計算初期では Base Run の場合と同様平行な増殖を示す。しかし栄養塩はもはや制限因子とはなっていないので最終的には同じ値に収束するものと思われる(図16)。ただし初期発芽細胞濃度が低い場合, ある程度の細胞濃度に達するまでかなりの時間遅れ(図16の場合は約10日の遅れ)が存在しこの時間遅れが *C. antiqua* 赤潮発生にとって重要な因子であることも事実である。

(3) 海水交換性

海水交換性を平均滞留時間により表現した。滞留時間が小さい場合は, 海水交換性が高く, *C. antiqua* 細胞濃度に対しては flushing (流出) 効果として細胞濃度を減ずる方向に働く。純増殖率 = 増殖率 - 流出率により表現され, 増殖率と流出率の相対関係により *C. antiqua* 細胞濃度は決定される。図17に示すように, 滞留時間が5日程度では *C. antiqua* 細胞濃度は消滅してしまう。Base Run (Run1) として滞留時間を10日としているが, 定常な平均細胞濃度として $4 \text{ cells} \cdot \text{m} \text{ l}^{-1}$, 表層集積細胞濃度 $25 \text{ cells} \cdot \text{m} \text{ l}^{-1}$ となっている。一方滞留時間が20日になると平

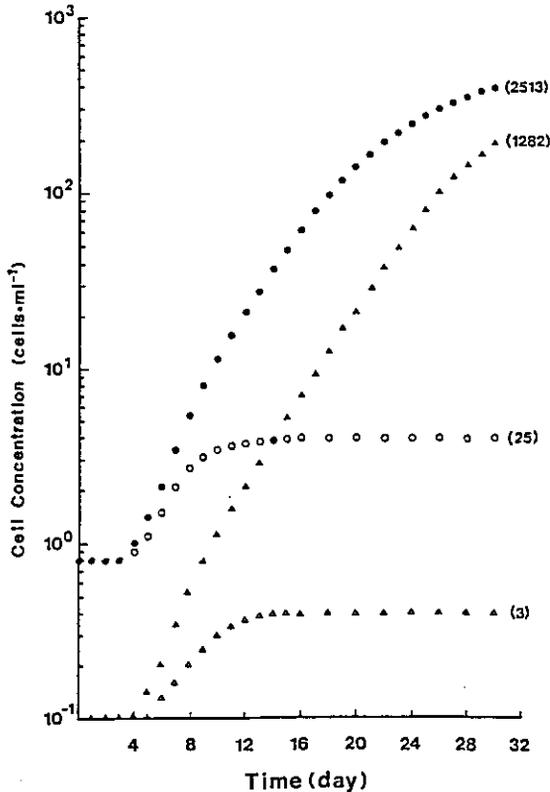


図 16 *C. antiqua* 細胞濃度の経時変化に与える初期シスト発芽細胞濃度の影響
 (○: Base Run, シスト発芽細胞濃度=20 cells·m⁻¹, △: Run4, シスト発芽細胞濃度=2 cells·m⁻¹, ●: Run14, Base Run のケースで滞留時間=20日, 成層位置=10m, 栄養塩レベル=4とした場合, ▲: Run4 のケースで滞留時間=20日, 成層位置=10m, 栄養塩レベル=4とした場合)

Fig.16 Effects of initial cell concentrations due to the excystment on the variation of *C. antiqua* cell concentrations

(○: Base Run, initial cell concentration due to the excystment = 20 cells·m⁻¹, △: Run 4, initial cell concentration due to the excystment = 2 cells·m⁻¹, ●: Run 14, same as Base Run except residence time = 20 days, location of stratification = 10m and nutrient level = 4; ▲: Same as Run 4 except residence time = 20 days, location of stratification = 10m and nutrient level = 4)

均細胞濃度は 10 cells·m⁻¹, 表層集積細胞濃度は 81 cells·m⁻¹となっている。このように海水交換性が悪く, 閉鎖性が高くなる程, 同じ成層構造と栄養塩レベルであっても *C. antiqua*

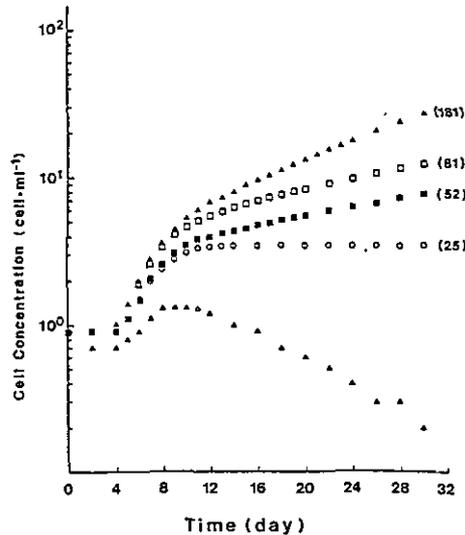


図 17 *C. antiqua* 細胞濃度の経時変化に与える滞留時間と成層位置の影響

(○: Base Run, 滞留時間=10日, 成層位置=15m; □: Run 6, 滞留時間=20日; △: Run 7, 滞留時間=5日; ■: Run 8, 成層位置=10m; ▲: Run 9, 滞留時間=20日, 成層位置=10m)

Fig.17 Effects of residence time and location of stratification on the variation of *C. antiqua* cell concentration

(○: Base Run, residence time = 10 days, location of stratification = 15m; □: Run 6, residence time = 20 days, △: Run 7, residence time = 5 days; ■: Run 8, location of stratification = 10m; ▲: Run 9, residence time = 20 days, location of stratification = 10m)

細胞濃度は著しく増加する。過去3年間に平均的に観測される栄養塩レベル, 成層位置 (Base Run), *C. antiqua* 細胞濃度をもとに考慮すると, 家島海域では平均滞留時間は10~20日程度と推測される。

(4) 成層位置

播磨灘家島海域には夏期安定な塩分・水温成層が発達することが, 過去3年間の連続観測により確認されている。しかし成層の位置は年により 5~15 m と大きく変化する。成層の位置は *C. antiqua* の日周鉛直移動速度とも相まって *C. antiqua* 細胞濃度に大きく影響する。成層位置が 15m (Base Run) の場合平均細胞濃度は $4 \text{ cells} \cdot \text{m}^{-1}$, 表層集積細胞濃度は $25 \text{ cells} \cdot \text{m}^{-1}$ であったのが, 成層位置 10m (Run7) では平均細胞濃度 $8 \text{ cells} \cdot \text{m}^{-1}$, 表層集積細胞濃度は 52

cells·m⁻¹となっている(図17)。さらに成層位置10m, 滞留時間20日(Run8)では平均細胞濃度は 27 cells·m⁻¹, 表層集積細胞濃度 181 cells·m⁻¹となる(図17)。このように成層位置が水表面に近付くにつれて *C. antiqua* 細胞濃度は増加する。

(5) 遊泳速度

遊泳速度は日周鉛直移動に基づく夜間底層への移動距離を規定する。成層位置とも関連して、遊泳速度により栄養塩の豊富な底層に到達し得るかどうかは *C. antiqua* 細胞濃度に大きく影響する。マイクロソムでの日周鉛直移動実験によれば 0.6 m·h⁻¹という値が得られ(5. 2), この値を Base Run に用いた。一方 V_H=1.0 m·h⁻¹では平均細胞濃度は 7 cells·m⁻¹, 表層集積細胞濃度は 48 cells·m⁻¹と Base Run より増加する(図18)。図19, 20に V_H=0.6m·h⁻¹と 1.0m·h⁻¹の場合の 4時, 14時における *C. antiqua* 細胞濃度の鉛直分布を示す。V_H=0.6m·h⁻¹の場合, ピークは 7m 層(4時)にしか達することができないが, V_H=1.0m·h⁻¹の場合, 12m層(4

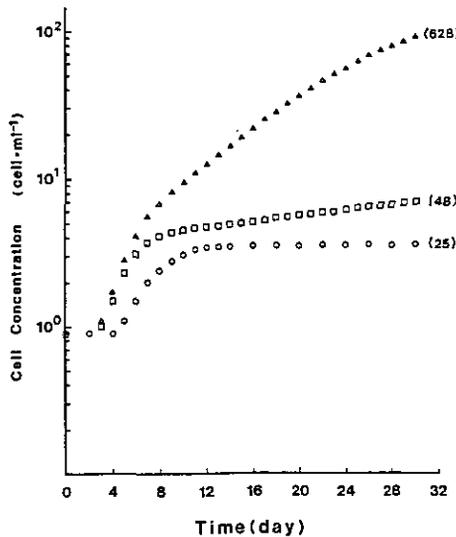


図 18 *C. antiqua* 細胞濃度の経時変化に与える遊泳速度の影響

(○: Base Run, V_H=0.6m·h⁻¹; □: Run 10, V_H=1.0m·h⁻¹;
△: Run 11, V_H=1.0m·h⁻¹, 滞留時間=20日, 成層位置=10m)

Fig.18 Effects of migration speed on the variation of *C. antiqua* cell concentration

(○: Base Run, V_H = 0.6m·h⁻¹; □: Run 10, V_H = 1.0m·h⁻¹;
△: Run 11, V_H = 1.0m·h⁻¹, residence time = 20 days, location of stratification = 10m)

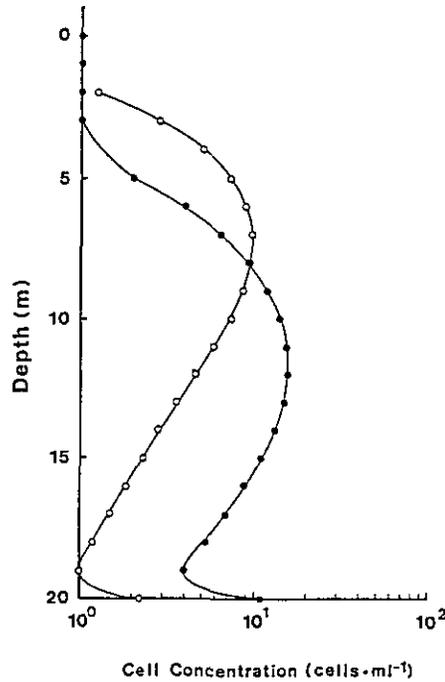


図 19 4:00 における *C. antiqua* 細胞濃度の鉛直分布に及ぼす遊泳速度の影響
(○: Base Run, $V_m=0.6\text{m}\cdot\text{h}^{-1}$; ●: Run10, $V_m=1.0\text{m}\cdot\text{h}^{-1}$)

Fig.19 Effects of migration speed on the vertical distribution of *C. antiqua* cell concentration observed at 4:00
(○: Base Run, $V_m=0.6\text{m}\cdot\text{h}^{-1}$; ●: Run10, $V_m=1.0\text{m}\cdot\text{h}^{-1}$)

時)にまで達していることがわかる(図19)。このことは成層位置とも相まって *C. antiqua* が夜間栄養塩を摂取できるかどうかを決定するため、遊泳速度の $0.6\text{m}\cdot\text{h}^{-1}$ と $1.0\text{m}\cdot\text{h}^{-1}$ の相違は *C. antiqua* 細胞濃度に大きく影響を与えていると考えられる。特に滞留時間20日、成層位置10m、 $V_m=1.0\text{m}\cdot\text{h}^{-1}$ とした場合、平均細胞濃度は $88\text{cells}\cdot\text{m}^{-3}$ 、表層集積細胞濃度 $628\text{cells}\cdot\text{m}^{-3}$ (図18)となることからその影響が大きいことがわかる。

(6) 鉛直混合

風、密度不安定、Langmuir循環流等による鉛直混合は海洋表層混合に大きな役割を占めている。内海域での夏期成層が発達した場合、特に風による鉛直混合が不規則に発生し、下層からの栄養塩巻き上げ、沈降物質の再浮上に影響を与える。家島での連続観測においても、風による鉛直混合発生の後には珪藻類が増加する現象が確認されている。図21に鉛直混合 0m (Base Run)と鉛直混合を10m 与えた場合の *C. antiqua* 細胞濃度の鉛直分布(14時)を示す。また図22に平均細胞濃度の変化を示す。鉛直混合を 10m 与えた場合 *C. antiqua* 平均細胞濃度は $7\text{cells}\cdot\text{m}^{-3}$

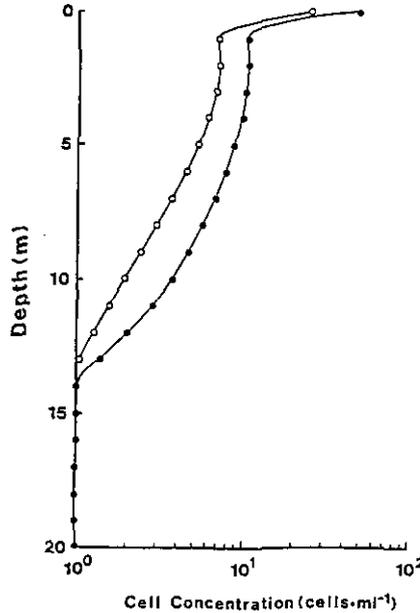


図 20 14:00 における *C. antiqua* 細胞濃度の鉛直分布に及ぼす遊泳速度の影響
(○: Base Run, $V_h=0.6\text{m}\cdot\text{h}^{-1}$; ●: Run10, $V_h=1.0\text{m}\cdot\text{h}^{-1}$)

Fig.20 Effects of migration speed on the vertical distribution of *C. antiqua* cell concentration observed at 14:00
(○: Base Run, $V_h=0.6\text{m}\cdot\text{h}^{-1}$; ●: Run10, $V_h=1.0\text{m}\cdot\text{h}^{-1}$)

と Base Run 平均細胞濃度 $4\text{ cells}\cdot\text{m}^{-3}$) に比較して大きくなる。これは栄養塩の巻き上げによるものと思われる。しかし表層集積細胞濃度は $11\text{ cells}\cdot\text{m}^{-3}$ (Base Run の場合は $25\text{ cells}\cdot\text{m}^{-3}$) と低下する。風による鉛直混合はまた珪藻に対する有光層内での浮上及び増殖に必要な栄養塩の下層からの巻き上げに対しても大きな影響を与えているものと思われる。

(7) 栄養塩レベル

栄養塩レベルと *C. antiqua* 細胞濃度との関係は多くの研究がなされつつある。しかし本モデルに提示したように、*C. antiqua* 細胞濃度は栄養塩レベルのみによって決定されるのではなく、海水交換性、成層位置、遊泳速度、鉛直混合等との相互作用により決定される。さらに本モデルには組み込んではいないが、ビタミン類、微量金属類等他の増殖必須物質との相互作用も影響してくる。ここではそれら他の増殖必須物質が十分に供給されているとした場合、窒素・リン濃度のみを増加させた場合の *C. antiqua* 細胞濃度への影響を考慮した。

現在の家島海域での平均的栄養塩レベル (レベル 1) に対し、表層での栄養塩レベルを 4 倍とした。この場合、初期の表層栄養塩レベルを 4 倍とするのみならず、表層への流入海水の栄養塩

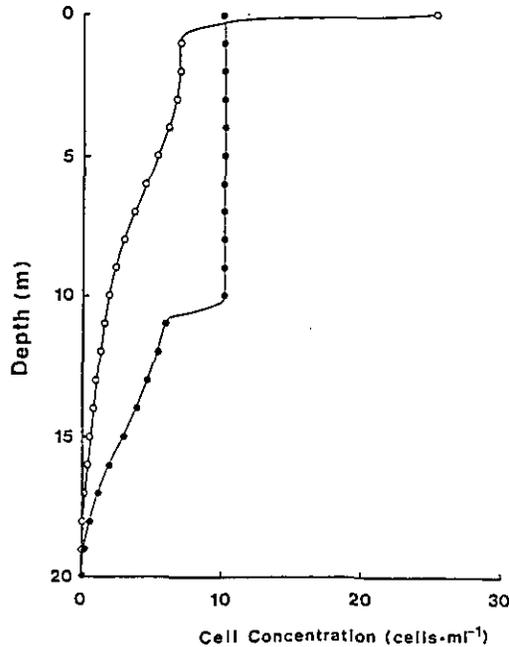


図 21 14:00 における *C. antiqua* 細胞濃度の鉛直分布に及ぼす鉛直混合の影響
(○: Base Run, 鉛直混合=0m; ●: Run12, 鉛直混合=10m)

Fig.21 Effects of vertical mixing on the vertical distribution of *C. antiqua* cell concentration observed at 14:00
(○: Base Run, vertical mixing = 0m; ●: Run 12, vertical mixing = 10m)

レベルも4倍した。平均細胞濃度は $100 \text{ cells} \cdot \text{m}^{-1}$ 、表層集積細胞濃度は $626 \text{ cells} \cdot \text{m}^{-1}$ となり (図22), Base Run (平均細胞濃度 $4 \text{ cells} \cdot \text{m}^{-1}$ 、表層集積細胞濃度 $25 \text{ cells} \cdot \text{m}^{-1}$) の25倍の増殖を示した。さらに4倍の栄養塩レベルで滞留時間を20日とすると、平均細胞濃度は $405 \text{ cells} \cdot \text{m}^{-1}$ 、表層集積細胞濃度は $2314 \text{ cells} \cdot \text{m}^{-1}$ (図22) と Base Runの約100倍の増殖を示した。このように栄養塩レベルの増加は *C. antiqua* の細胞濃度の増加に強い感度を示していることがわかる。さらに海水交換性の低下を加えると *C. antiqua* の細胞濃度に対し著しい感度を示すことが判明した。

(8) 摂食圧

上(私信)によれば、播磨灘海域には *P. parvus* として平均約 $10 \text{ indiv} \cdot \text{l}^{-1}$ 程度と考えることが適当であるとしている。この値をもとに(19)式を用いて計算を行った。Base Runと同じ環境条件を用い、*P. parvus* を $10 \text{ indiv} \cdot \text{l}^{-1}$ 全層に均一に分布させ、*P. parvus* の鉛直移動及び増殖を考慮せず、計算期間中一定値($10 \text{ indiv} \cdot \text{l}^{-1}$)を与えた。閾値 $P_0 = 10 \text{ cells} \cdot \text{m}^{-1}$ を設定

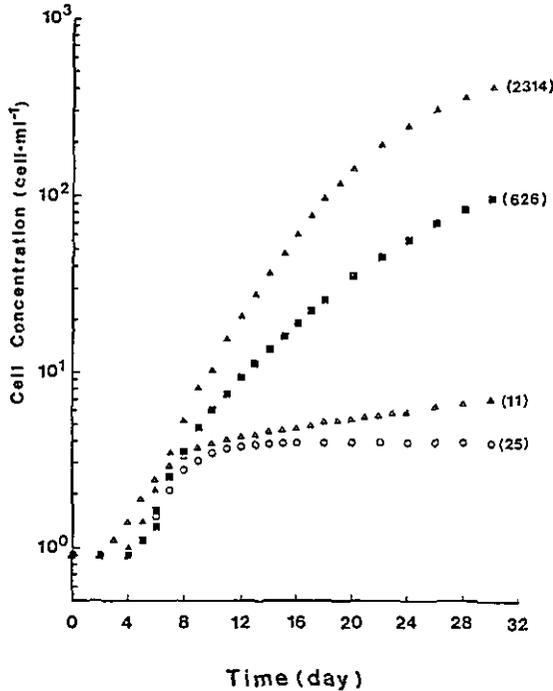


図 22 *C. antiqua* 細胞濃度の経時変化に及ぼす鉛直混合と栄養塩レベルの影響 (○: Base Run, 鉛直混合=0m, 栄養塩レベル=1; △: Run12, 鉛直混合=10m; ■: Run13, 栄養塩レベル=4; ▲: Run14, 栄養塩レベル=4, 滞留時間=20日, 成層位置=10m)

Fig.22 Effects of vertical mixing and nutrient level on the variation of *C. antiqua* cell concentration (○: Base Run, vertical mixing = 0m, nutrient level = 1; △: Run 12, vertical mixing = 10m; ■: Run13, nutrient level = 4; ▲: Run14, nutrient level = 4, residence time = 20 days, location of stratification = 10m)

すると平均細胞濃度は $3 \text{ cells} \cdot \text{m}^{-1}$, 表層集積細胞濃度は $19 \text{ cells} \cdot \text{m}^{-1}$ となり, Base Run (平均細胞濃度は $4 \text{ cells} \cdot \text{m}^{-1}$, 表層集積細胞濃度は $25 \text{ cells} \cdot \text{m}^{-1}$) に比較してそれ程変化は見られない(図23)。しかし閾値 $P_0 = 0 \text{ cells} \cdot \text{m}^{-1}$ とすると14日後には *C. antiqua* は消滅してしまう。

滞留時間20日, 成層位置 10m, 栄養塩レベル4とした場合, *P. parvus* が全くいない時には平均細胞濃度は $405 \text{ cells} \cdot \text{m}^{-1}$, 表層集積細胞濃度は $2514 \text{ cells} \cdot \text{m}^{-1}$ となった。この環境条件下に *P. parvus* $10 \text{ indiv} \cdot \text{l}^{-1}$ で閾値 $P_0 = 10 \text{ cells} \cdot \text{m}^{-1}$ とした場合, 平均細胞濃度は $116 \text{ cells} \cdot \text{m}^{-1}$, 表層集積細胞濃度は $767 \text{ cells} \cdot \text{m}^{-1}$ となる。一方閾値 $P_0 = 0 \text{ cells} \cdot \text{m}^{-1}$

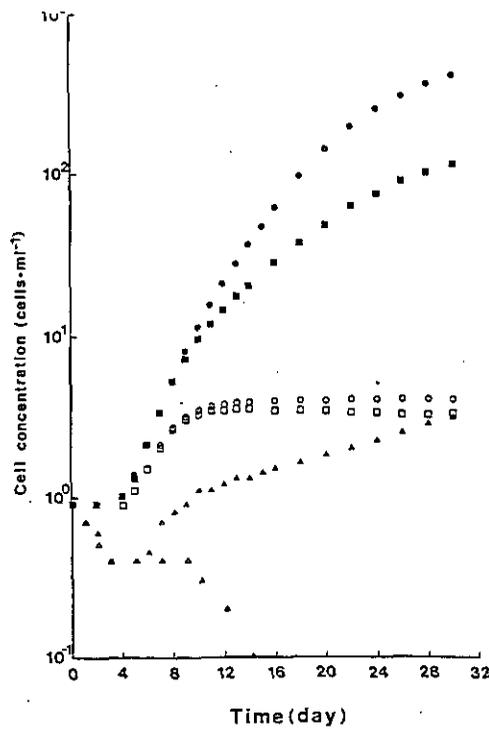


図 23 *C. antiqua* 細胞濃度の経時変化に及ぼす *P. parvus* による捕食の影響
 (○: Base Run, 捕食なし; □: Run15, *P. parvus* = 10 indiv·l⁻¹, P₀ = 10 cells·m l⁻¹; △: Run16, *P. parvus* = 10 indiv·l⁻¹, P₀ = 0 cells·m l⁻¹; ●: Run9, 滞留時間=20日, 成層位置=10m, 捕食なし; ■: Run17, 滞留時間=20日, 成層位置=10m, 栄養塩レベル=4, *P. parvus* = 10 indiv·l⁻¹, P₀ = 10 cells·m l⁻¹; ▲: Run18, 滞留時間=20日, 成層位置=10m, 栄養塩レベル=4, *P. parvus* = 10 indiv·l⁻¹, P₀ = 0 cells·m l⁻¹)

Fig.23 Effects of grazing by *P. parvus* on the variation of *C. antiqua* cell concentration

(○: Base Run, no grazing; □: Run15, *P. parvus* = 10 indiv·l⁻¹, P₀ = 10 cells·m l⁻¹; △: Run16, *P. parvus* = 10 indiv·l⁻¹, P₀ = 0 cells·m l⁻¹; ●: Run9, residence time = 20 days, location of stratification = 10m, no grazing; ■: Run17, residence time = 20 days, location of stratification = 10m, nutrient level = 4, *P. parvus* = 10 indiv·l⁻¹, P₀ = 10 cells·m l⁻¹; ▲: Run18, residence time = 20 days, location of stratification = 10m, nutrient level = 4, *P. parvus* = 10 indiv·l⁻¹, P₀ = 0 cells·m l⁻¹)

とした場合、30日間の計算では定常に達せず、まだ増殖を続けているが、計算開始後30日後で平均細胞濃度は $3 \text{ cells} \cdot \text{m}^{-1}$ 、表層集積細胞濃度は $22 \text{ cells} \cdot \text{m}^{-1}$ と著しく減少した。このように動物プランクトン個体濃度の高低のみならず、摂食の閾値が存在するかどうかで *C. antiqua* 細胞濃度の消長に大きく影響を与えていることが判明した。

7. おわりに

C. antiqua の消長を規定しているものは、*C. antiqua* 自身の増殖能力のみならず、動物プランクトンをはじめとする他生物群や海洋構造（特に海水交換性、成層位置等）や気象条件（照度・鉛直混合等）などとの複雑な相互関係による影響であることを示し得た。計算結果はまだ実際の *C. antiqua* 赤潮発生時の現場データにより検証されていないが、少なくとも過去3か年の夏期連続現場観測に基づく現在の家島海域に見られる環境条件下では、計算結果は *C. antiqua* 細胞濃度の観測値をオーダーとして良く再現していると考えられる。

従来より赤潮を論じる場合、“閉鎖性海域”、“富栄養化”等の言葉と赤潮発生との関連がどのようなものであるかということが長く論議されてきた。本モデルにより、それら key word と *C. antiqua* 消長の定量的な関連を提示することができた。特に海水交換性、成層位置、鉛直混合、遊泳速度、水温・塩分構造等のパラメータは人為的に制御困難なものであり、それゆえに赤潮発生に及ぼす栄養塩レベルの影響を定量的に示し得たことは、赤潮発生の制御に一つの可能性を示したことになる。対象海域を control volume と考え、その容量に対する海水交換性、栄養塩レベルを考察しているため、与えられた地形、海洋環境条件下での赤潮発生制御のための環境管理を試行することが可能になったのではないかと考えている。

本モデルの中で *C. antiqua* の増殖過程は室内培養実験結果で得られた係数を用いている。このため環境条件が与えられれば、計算結果は予測 (prediction) となり得る。しかし本モデルが真に予測モデルとなり得るためには、この環境条件（水温・塩分構造、海水交換性、気象条件等）をも予測する必要がある。本論文ではその第1歩としての *C. antiqua* の動態を理解し得た段階であり、今後は他藻類種との相互関係、物質循環過程をも含めた海域生態系のモデルとして発展させていく必要がある。

謝 辞

本研究を進めるに当たって、種々の有益な議論をしていただいた広島大学の上 真一助教授及び国立公害研究所の原島 省博士に深謝いたします。

引用文献

Bannister, T. T.(1979): Quantitative description of steady state, nutrient-saturated

- algal growth, including adaptaion. *Limnol. Oceanogr.*, 24, 76-96.
- Chen, C.W. and C.T.Orlob (1975): Ecological simulation for aquatic environments. In: B.C.Patten (eds.) *System analysis and simulation in Ecology*, vol.III. Academic Press, New York, 476-587.
- Cronin, J.(1975): (ed.) *Estuarine Research. roc. 2nd Int. Est. Res. Conf.*, Academic Press, New York.
- Droop, M.R.(1966): Vitamin B₁₂ and marine ecology:the response of *Monochrysis lutheri*. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.*, 46, 659-671.
- Droop, M.R.(1973): Some thoughts on nutrient limitation in algae. *J. Phycol.*, 9, 264-272.
- Hall, C. and J. Day (1977): (Ed.) *Ecosystem modeling in theory and practice: An introduction with case histories*, John Wilry and Sons, New York.
- Jassby, A.D. and T. Platt (1976): Mathematical formulation of the relationship between photosynthesis and light for phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.*, 21, 540-547.
- Jørgensen, S.E. (1976): An eutrophication model for a lake. *Ecological Modelling*, 2, 147-165.
- Keller, E.F. and L.A. Segel(1971): Model for chemotaxis. *J. Theor. Biol.*,30, 225-234.
- 岸 道郎・池田三郎・平野敏行・西村 陽(1985): 赤潮生態系の数値モデル. 沿岸海洋研究ノート, 第22巻, 第2号, 109-118.
- 木幡邦男・渡辺正孝(1984): 制御実験生態系(マイクロコズム)を用いた赤潮発生機構の解析(II) - マイクロコズム内での赤潮鞭毛藻 *Heterosigma akashiwo* の増殖. 国立公害研究所研究報告, 第63号, 111-121.
- 木幡邦男・渡辺正孝(1985): 制御実験生態系(マイクロコズム)を用いた赤潮発生機構の解析(III) - 赤潮鞭毛藻 *Heterosigma akashiwo* の日周鉛直移動と日周体積変化の関係. 国立公害研究所研究報告, 第80号, 13-22.
- Kohata, K. and M. Watanabe (1986): Synchronous division and the pattern of diel vertical migration of *Heterosigma akashiwo* (Hada) Hada (Raphidophyceae) in a laboratory culture tank. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 100, 209-224.
- 木幡邦男・渡辺正孝(1987): 制御実験生態系(マイクロコズム)を用いた赤潮発生機構の解析(VII) - 赤潮鞭毛藻 *Heterosigma akashiwo* の光制限同調培養下の増殖とそのモデル化 - 国立公害研究所研究報告, 第110号, 79-88.
- Kremer, J.N. and S.W. Nixon (1978): *A coastal marine ecosystem*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Lamanna, C. and M.F. Mallette (1965): *Basic Bacteriology*, The Williams and Wilkins Co., Baltimore, Md.
- Lassiter, R.R. and D.K. Kearns(1974): Phytoplankton population changes and nutrient fluctuations in a simple aquatic ecosystem model. In: E.J. Middlebrooks, D.H. Falkenberg and T.E. Maloney (eds.) *Modeling the Eutrophication Process*. Ann Arbor Science, MI., 131-138.
- Lehman, J.T., D.B. Botkin and G.E.Likens (1975): The assumptions and rationales of a computer model of phytoplankton population dynamics. *Limnol. Oceanogr.*, 20, 343-364.

- Mickelson, M.J., H. Maske and R.C. Dugdale (1979): Nutrient-determined dominance in multispecies chemostat cultures of diatoms. *Limnol. Oceanogr.*, **24**, 298-315.
- Nakamura, Y. and M.M. Watanabe (1983a): Growth characteristics of Chattonella antiqua (Raphidophyceae) Part 1. Effects of temperature, salinity, light intensity and pH on growth. *J. Oceanogr. Soc. Japan*, **39**, 110-114.
- Nakamura, Y. and M.M. Watanabe (1983b): Growth characteristics of Chattonella antiqua Part 2. Effects of nutrients on growth. *J. Oceanogr. Soc. Japan.*, **39**, 151-155.
- Nakamura, Y. and M. M. Watanabe (1983c): Nitrate and phosphate uptake kinetics of Chattonella antiqua grown in light/dark cycles. *J. Oceanogr. Soc. Japan*, **39**, 167-170.
- Nakamura, Y. (1985a): Ammonium uptake kinetics and interactions between nitrate and ammonium uptake in Chattonella antiqua. *J. Oceanogr. Soc. Japan*, **41**, 33-38.
- Nakamura, Y. (1985b): Kinetics of nitrogen- or phosphorus- limited growth and effects of growth conditions on nutrient uptake in Chattonella antiqua. *J. Oceanogr. Soc. Japan*, **41**, 381-387.
- 中村泰男(1985): Chattonella antiqua と Heterosigma akashiwo のアルカリホスファターゼ活性. 国立公害研究所研究報告, 第80号, 60-72.
- Nihoul, J. C. J. (1975): Modeling of marine systems. Elsevier, New York.
- O'Brien, J. J. and Wroblewski, J.S. (1972): An ecological model of the lower marine trophic levels on the continental shelf off West Florida. Technical Report, Geophys. Fluid Dyn. Inst., Florida st. Univ., Tallahassee.
- Okubo, A. (1980): Diffusion and ecological problems: Mathematical models. Springer-Verlag. Berlin Heidelberg, New York.
- Park, R. A., T. W. Gorden and C. J. Desormeau (1979): Modification to model CLEANER, requiring further research. In: D. Scavia and A. Robertson (eds.), Perspectives on Lake Ecosystem Modeling. Ann Arbor Science, MI., 87-108.
- Parker, R.A. (1973): Some problems associated with computer simulation of an ecological system. In: M.S. Bartlett and R.W. Hiorns (eds.) The mathematical theory of the dynamics of biological populations. Academic Press, New York, 269-288.
- Patlak, C.S. (1953): Random walk with persistence and external bias. *Bull. Math. Biophys.*, **15**, 311-338.
- Patten, B.C. (1975): (Ed.). System Analysis and Simulation in Ecology. Academic Press, New York, Vols I-III.
- Platt, T., C.L. Gallegos and W.G. Harrison (1980): Photoinhibition of photosynthesis in natural assemblages of marine phytoplankton. *J. Mar. Res.*, **38**, 687-701.
- Rhee, G.Y. (1978): Effects of N : P atomic ratios and nitrate limitation on algal growth, cell composition and nitrate uptake. *Limnol. Oceanogr.*, **23**, 10-25.
- Steele, J. H. (1958): Plant production in the northern North Sea. Scottish Home Dept. *Mar. Res.*, **7**, 1-36.
- Takahashi, M., K. Fujii and T.R. Parson (1973): Simulation study of phytoplankton photosynthesis and growth in the Fraser River Estuary. *Mar. Biol.*, **19**, 102-116.
- 武岡英隆・高谷和彦・山下 真 (1984): 燧灘東部海域の成層と流動の特性。「環境科学」研究報

告集, B210-R01-3, 17-29.

- Talling, J.F. (1957): The phytoplankton populations as a compound photosynthetic system. *New Phytol.*, 56, 133-149.
- Uye, S. (1986): Impact of copepod grazing on the red-tide flagellate *Chattonella antiqua*. *Mar. Biol.*, 92, 35-43.
- Vollenweider, R.A. (1965): Calculation models of photosynthesis-depth curves and some implications regarding day rate estimates in primary production measurements. *Mem. Ist. Ital. Idrobiol. Suppl.*, 18, 425-457.
- Walsh, J. J. and R.E. Dugdale (1971): A simulation model of the nitrogen flow in the Peruvian upwelling system. *Invest. Pesq.*, 35, 309-330.
- Walsh, J.J. (1975): A spatial simulation model of the Peruvian upwelling ecosystem. *Deep-Sea Res.*, 22, 201-236.
- Watanabe, M. M., Y. Nakamura and K. Kohata (1983): Diurnal vertical migration and dark uptake of nitrate and phosphate of the red tide flagellates, *Heterosigma akashiwo* Hada and *Chattonella antiqua* (Hada) Ono (Raphidophyceae). *Jpn. J. Phycol.*, 31, 161-166.
- Webb, W. L., M. Newton and D. Starr (1974): Carbon dioxide exchange of *Alnus rubra*; A mathematical model. *Oecologia*, 17, 281-291.

国立公害研究所特別研究成果報告

- 第1号 陸水域の富栄養化に関する総合研究—霞ヶ浦を対象域として—昭和51年度。(1977)
第2号 陸上植物による大気汚染環境の評価と改善に関する基礎的研究—昭和51/52年度 研究報告。(1978)

(改称)

国立公害研究所研究報告

- ※第3号 A comparative study of adults and immature stages of nine Japanese species of the genus *Chironomus* (Diptera, Chironomidae).(1978)
(日本産ユスリカ科 *Chironomus* 属9種の成虫、サナギ、幼虫の形態の比較)
第4号 スモッグチャンパーによる炭化水素-窒素酸化物系光化学反応の研究—昭和52年度 中間報告。(1978)
第5号 芳香族炭化水素-窒素酸化物系の光酸化反応機構と光酸化二次生成物の培養細胞に及ぼす影響に関する研究—昭和51、52年度 研究報告。(1978)
第6号 陸水域の富栄養化に関する総合研究(Ⅱ)—霞ヶ浦を中心として—昭和53年度。(1979)
※第7号 A morphological study of adults and immature stages of 20 Japanese species of the family Chironomidae(Diptera).(1979)
(日本産ユスリカ科20種の成虫、サナギ、幼虫の形態学的研究)
※第8号 大気汚染物質の単一および複合汚染の生体に対する影響に関する実験的研究—昭和52、53年度 研究報告。(1979)
第9号 スモッグチャンパーによる炭化水素-窒素酸化物系光化学反応の研究—昭和53年度 中間報告。(1979)
第10号 陸上植物による大気汚染環境の評価と改善に関する基礎的研究—昭和51~53年度 特別研究報告。(1979)
※第11号 Studies on the effects of air pollutants on plants and mechanisms of phytotoxicity.(1980)
(大気汚染物質の植物影響およびその植物毒性の機構に関する研究)
第12号 Multielement analysis studies by flame and inductively coupled plasma spectroscopy utilizing computer-controlled instrumentation.(1980)
(コンピュータ制御装置を利用したフレイムおよび誘導結合プラズマ分光法による多元素同時分析)
第13号 Studies on chironomid midges of the Tama River.(1980)
Part 1. The distribution of chironomid species in a tributary in relation to the degree of pollution with sewage water.
Part 2. Description of 20 species of Chironominae recovered from a tributary.
(多摩川に発生するユスリカの研究
—第1報 その一支流に見出されたユスリカ各種の分布と下水による汚染度との関係
—第2報 その一支流に見出された Chironominae亜科の20種について)
第14号 有機廃棄物、合成有機化合物、重金属等の土壤生態系に及ぼす影響と浄化に関する研究—昭和53、54年度 特別研究報告。(1980)
※第15号 大気汚染物質の単一および複合汚染の生体に対する影響に関する実験的研究—昭和54年度 特別研究報告。(1980)
第16号 計測車レーザーレーダーによる大気汚染遠隔計測。(1980)
※第17号 流体の運動および輸送過程に及ぼす浮力効果—臨海地域の気象特性と大気拡散現象の研究—昭和53、54年度 特別研究報告。(1980)
第18号 Preparation, analysis and certification of PEPPERBUSH standard reference material.(1980)
(環境標準試料「リヨウブ」の調整、分析および保証値)
※第19号 陸水域の富栄養化に関する総合研究(Ⅲ)—霞ヶ浦(西浦)の湖流—昭和53、54年度。(1981)
第20号 陸水域の富栄養化に関する総合研究(Ⅳ)—霞ヶ浦流域の地形、気象水文特性およびその湖水環境に及ぼす影響—昭和53、54年度。(1981)
第21号 陸水域の富栄養化に関する総合研究(Ⅴ)—霞ヶ浦流入河川の流出負荷量変化とその評価—昭和53、54年度。(1981)
第22号 陸水域の富栄養化に関する総合研究(Ⅵ)—霞ヶ浦の生態系の構造と生物現存量—昭和53、54年度。(1981)
第23号 陸水域の富栄養化に関する総合研究(Ⅶ)—湖沼の富栄養化状態指標に関する基礎的研

- 究—昭和53、54年度。(1981)
- 第24号 陸水域の富栄養化に関する総合研究(Ⅷ)—富栄養化が湖利用に及ぼす影響の定量化に関する研究—昭和53、54年度。(1981)
- 第25号 陸水域の富栄養化に関する総合研究(Ⅷ)—*Microcystis* (藍藻類)の増殖特性—昭和53、54年度。(1981)
- 第26号 陸水域の富栄養化に関する総合研究(X)—藻類培養試験法によるAGPの測定—昭和53、54年度。(1981)
- 第27号 陸水域の富栄養化に関する総合研究(XI)—研究総括—昭和53、54年度。(1981)
- 第28号 複合大気汚染の植物影響に関する研究—昭和54、55年度 特別研究報告。(1981)
- 第29号 Studies on chironomid midges of the Tama River.(1981)
Part 3. Species of the subfamily Orthoclaadiinae recorded at the summer survey and their distribution in relation to the pollution with sewage waters.
Part 4. Chironomidae recorded at a winter survey.
(多摩川に発生するユスリカ類の研究
—第3報 夏期の調査で見出されたエリユスリカ亜科Orthoclaadiinae 各種の記載と、その分布の下水汚染度との関係について
—第4報 南浅川の冬期の調査で見出された各種の分布と記載)
- ※第30号 海域における富栄養化と赤潮の発生機構に関する基礎的研究—昭和54、55年度 特別研究報告。(1982)
- 第31号 大気汚染物質の単一および複合汚染の生体に対する影響に関する実験的研究—昭和55年度 特別研究報告。(1981)
- 第32号 スモッグチャンバーによる炭化水素-窒素酸化物系光化学反応の研究—環境大気中における光化学二次汚染物質生成機構の研究(フィールド研究1)—昭和54年度 特別研究中間報告。(1982)
- 第33号 臨海地域の気象特性と大気拡散現象の研究—大気運動と大気拡散過程のシミュレーション—昭和55年度 特別研究報告。(1982)
- ※第34号 環境汚染の遠隔計測・評価手法の開発に関する研究—昭和55年度 特別研究報告。(1982)
- 第35号 環境面よりみた地域交通体系の評価に関する総合解析研究。(1982)
- ※第36号 環境試料による汚染の長期モニタリング手法に関する研究—昭和55、56年度 特別研究報告。(1982)
- ※第37号 環境施策のシステム分析支援技術の開発に関する研究。(1982)
- 第38号 Preparation, analysis and certification of POND SEDIMENT certified reference material.(1982)
(環境標準試料「池底質」の調整、分析及び保証値)
- ※第39号 環境汚染の遠隔計測・評価手法の開発に関する研究—昭和56年度 特別研究報告。(1982)
- 第40号 大気汚染物質の単一及び複合汚染の生体に対する影響に関する実験的研究—昭和56年度 特別研究報告。(1983)
- 第41号 土壌環境の計測と評価に関する統計学的研究。(1983)
- ※第42号 底泥の物性及び流送特性に関する実験的研究。(1983)
- ※第43号 Studies on chironomid midges of the Tama River.(1983)
Part 5. An observation on the distribution of Chironominae along the main stream in June with description of 15 new species.
Part 6. Description of species of the subfamily Orthoclaadiinae recovered from the main stream in the June survey.
Part 7. Additional species collected in winter from the main stream.
(多摩川に発生するユスリカ類の研究
—第5報 本流に発生するユスリカ類の分布に関する6月の調査成績とユスリカ亜科に属する15新種等の記録
—第6報 多摩本流より6月に採集されたエリユスリカ亜科の各種について
—第7報 多摩本流より3月に採集されたユスリカ科の各種について)
- 第44号 スモッグチャンバーによる炭化水素-窒素酸化物系光化学反応の研究—環境大気中における光化学二次汚染物質生成機構の研究(フィールド研究2)—昭和54年度 特別研究中間報告。(1983)
- 第45号 有機廃棄物、合成有機化合物、重金属等の土壌生態系に及ぼす影響と浄化に関する研究—昭和53~55年度 特別研究総合報告。(1983)
- 第46号 有機廃棄物、合成有機化合物、重金属等の土壌生態系に及ぼす影響と浄化に関する研究—昭和54、55年度 特別研究報告 第1分冊。(1983)
- 第47号 有機廃棄物、合成有機化合物、重金属等の土壌生態系に及ぼす影響と浄化に関する研究

- 昭和54、55年度 特別研究報告 第2分冊。(1983)
- ※第48号 水質観測点の適正配置に関するシステム解析。(1983)
- 第49号 環境汚染の遠隔計測・評価手法の開発に関する研究—昭和57年度 特別研究報告。(1984)
- ※第50号 陸水域の富栄養化防止に関する総合研究(I)—霞ヶ浦の流入負荷量の算定と評価—昭和55~57年度 特別研究報告。(1984)
- ※第51号 陸水域の富栄養化防止に関する総合研究(II)—霞ヶ浦の物質循環とそれを支配する因子—昭和55~57年度 特別研究報告。(1984)
- ※第52号 陸水域の富栄養化防止に関する総合研究(III)—霞ヶ浦高浜入における隔離水界を利用した富栄養化防止手法の研究—昭和55~57年度 特別研究報告。(1984)
- 第53号 陸水域の富栄養化防止に関する総合研究(IV)—霞ヶ浦の魚類及び甲かく類現存量の季節変化と富栄養化—昭和55~57年度 特別研究報告。(1984)
- 第54号 陸水域の富栄養化防止に関する総合研究(V)—霞ヶ浦の富栄養化現象のモデル化—昭和55~57年度 特別研究報告。(1984)
- 第55号 陸水域の富栄養化防止に関する総合研究(VI)—富栄養化防止対策—昭和55~57年度 特別研究報告。(1984)
- 第56号 陸水域の富栄養化防止に関する総合研究(VII)—湯ノ湖における富栄養化とその防止対策—昭和55~57年度 特別研究報告。(1984)
- ※第57号 陸水域の富栄養化防止に関する総合研究(VIII)—総括報告—昭和55~57年度 特別研究報告。(1984)
- 第58号 環境試料による汚染の長期的モニタリング手法に関する研究—昭和55~57年度 特別研究総合報告。(1984)
- 第59号 炭化水素-窒素酸化物-硫黄酸化物系光化学反応の研究—光化学スモッグチャンパーによるオゾン生成機構の研究—大気中における有機化合物の光酸化反応機構の研究—昭和55~57年度 特別研究報告(第1分冊)。(1984)
- 第60号 炭化水素-窒素酸化物-硫黄酸化物系光化学反応の研究—光化学エアロゾル生成機構の研究—昭和55~57年度 特別研究報告(第2分冊)。(1984)
- 第61号 炭化水素-窒素酸化物-硫黄酸化物系光化学反応の研究—環境大気中における光化学二次汚染物質生成機構の研究(フィールド研究1)—昭和55~57年度 特別研究報告(第3分冊)。(1984)
- 第62号 有害汚染物質による水界生態系のかく乱と回復過程に関する研究—昭和56~58年度 特別研究中間報告。(1984)
- 第63号 海域における富栄養化と赤潮の発生機構に関する基礎的研究—昭和56年度 特別研究報告。(1984)
- ※第64号 複合大気汚染の植物影響に関する研究—昭和54~56年度 特別研究総合報告。(1984)
- ※第65号 Studies on effects of air pollutant mixtures on plants—Part 1.(1984)
(複合大気汚染の植物に及ぼす影響—第1分冊)
- ※第66号 Studies on effects of air pollutant mixtures on plants—Part 2.(1984)
(複合大気汚染の植物に及ぼす影響—第2分冊)
- 第67号 環境中の有害物質による人の慢性影響に関する基礎的研究—昭和54~56年度 特別研究総合報告。(1984)
- ※第68号 汚泥の土壌還元とその環境影響に関する研究—昭和56~57年度 特別研究報告。(1984)
- ※第69号 中禅寺湖の富栄養化現象に関する基礎的研究。(1984)
- 第70号 Studies on chironomid midges in lakes of the Nikko National Park.(1984)
Part I. Ecological studies on chironomids in lakes of the Nikko National Park.
Part II. Taxonomical and morphological studies on the chironomid species collected from lakes in the Nikko National Park.
(日光国立公園の湖沼のユスリカに関する研究
—第1部 日光国立公園の湖のユスリカの生態学的研究
—第2部 日光国立公園の湖沼に生息するユスリカ類の分類学的、生態学的研究)
- ※第71号 リモートセンシングによる残雪及び雪田植生の分布解析。(1984)
- 第72号 炭化水素-窒素酸化物-硫黄酸化物系光化学反応の研究—環境大気中における光化学二次汚染物質生成機構の研究(フィールド研究2)—昭和55~57年度 特別研究報告(第4分冊)。(1985)

- ※第73号 炭化水素-窒素酸化物-硫黄酸化物系光化学反応の研究—昭和55~57年度 特別研究総合報告.(1985)
- ※第74号 都市域及びその周辺の自然環境に係る環境指標の開発に関する研究. 環境指標—その考え方と作成方法—昭和59年度 特別研究報告.(1984)
- 第75号 Limnological and environmental studies of elements in the sediment of Lake Biwa.(1985)
(琵琶湖底泥中の元素に関する陸水学及び環境化学的研究)
- 第76号 A study on the behavior of monoterpenes in the atmosphere.(1985)
(大気中モノテルペンの挙動に関する研究)
- 第77号 環境汚染の遠隔計測・評価手法の開発に関する研究—昭和58年度 特別研究報告.(1985)
- 第78号 生活環境保全に果たす生活者の役割の解明.(1985)
- 第79号 Studies on the method for long term environmental monitoring—Research report in 1980-1982.(1985)
(環境試料による汚染の長期的モニタリング手法に関する研究)
- 第80号 海域における赤潮発生モデル化に関する研究—昭和57/58年度 特別研究報告.(1985)
- 第81号 環境影響評価制度の政策効果に関する研究—地方公共団体の制度運用を中心として.(1985)
- 第82号 植物の大気環境浄化機能に関する研究—昭和57~58年度 特別研究報告.(1985)
- 第83号 Studies on chironomid midges of some lakes in Japan.(1985)
(日本の湖沼のユスリカの研究)
- 第84号 重金属環境汚染による健康影響評価手法の開発に関する研究—昭和57~59年度 特別研究総合報告.(1985)
- 第85号 Studies on the rate constants of free radical reactions and related spectroscopic and thermochemical parameters.(1985)
(フリーラジカルの反応速度と分光学的及び熱力学的パラメーターに関する研究)
- 第86号 GC/M Sスペクトルの検索システムに関する研究.(1986)
- 第87号 光化学二次汚染物質の分析とその細胞毒性に関する研究—昭和53~58年度 総合報告.(1986)
- 第88号 都市域及びその周辺の自然環境等に係る環境指標の開発に関する研究Ⅱ. 環境指標—応用例とシステム—昭和59年度 特別研究報告.(1986)
- 第89号 Measuring the water quality of Lake Kasumigaura by LANDSAT remote sensing.(1986)
(LANDSATリモートセンシングによる霞ヶ浦の水質計測)
- 第90号 ナショナルトラスト運動にみる自然保護にむけての住民意識と行動—知床国立公園内100平方メートル運動と天神崎市民地主運動への参加者の分析を中心として.(1986)
- 第91号 Economic analysis of man's utilization of environmental resources in aquatic environments and national park regions.(1986)
(人間による環境資源利用の経済分析—水環境と国立公園地域を対象にして)
- 第92号 アオコの増殖及び分解に関する研究.(1986)
- 第93号 汚泥の土壌還元とその環境影響に関する研究(I)—昭和58~59年度 特別研究総合報告 第1分冊.(1986)
- 第94号 汚泥の土壌還元とその環境影響に関する研究(II)—昭和58~59年度 特別研究総合報告 第2分冊.(1986)
- 第95号 自然浄化機能による水質改善に関する総合研究(I)—汚濁負荷の発生と流出・流達—昭和58~59年度 特別研究報告.(1986)
- ※第96号 自然浄化機能による水質改善に関する総合研究(II)—水草帯・河口域・池沼の生態系構造と機能—昭和58~59年度 特別研究報告.(1986)
- 第97号 自然浄化機能による水質改善に関する総合研究(III)—水路及び土壌による水質の浄化—昭和58~59年度 特別研究報告.(1986)
- 第98号 自然浄化機能による水質改善に関する総合研究(IV)—自然浄化機能を活用した処理技術の開発と応用—昭和58~59年度 特別研究報告.(1986)
- 第99号 有害汚染物質による水界生態系のかく乱と回復過程に関する研究—昭和56~59年度 特別研究総合報告.(1986)
- 第100号 バックグラウンド地域における環境汚染物質の長期モニタリング手法の研究—特定汚染選択的検出法及び高感度分析技術の開発—昭和58~60年度 特別研究報告.(1986)

- 第101号 複合ガス状大気汚染物質の生体影響に関する実験的研究—昭和57～60年度 特別研究報告。(1986)
- 第102号 地球規模大気質変動に関する予備的研究。(1986)
- 第103号 環境調和型技術としての電気自動車の評価に関する基礎的研究。(1987)
- 第104号 Studies on chironomid midges in lakes of the Akan National Park.(1987)
(北海道阿寒国立公園の湖におけるユスリカ相の研究)
- 第105号 畑地土壌における水分と諸元素の動態。(1987)
- 第106号 筑波研究学園都市における景観評価と景観体験に関する研究。(1987)
- 第107号 遠隔計測による環境動態の評価手法の開発に関する研究—昭和59～60年度 特別研究報告。(1987)
- ※第108号 植物の大気環境浄化機能に関する研究—昭和57～60年度 特別研究総合報告。(1987)
- 第109号 地域環境評価のための環境情報システムに関する研究。(1987)
- 第110号 海域における赤潮発生のモデル化に関する研究—昭和59～60年度 特別研究総合報告。(1987)

※ 残部なし

Report of Special Research Project the National Institute for Environmental Studies

- No. 1 * Man activity and aquatic environment—with special references to Lake Kasumigaura—Progress report in 1976.(1977)
- No. 2 * Studies on evaluation and amelioration of air pollution by plants—Progress report in 1976-1977.(1978)

[Starting with Report No.3, the new title for NIES Reports was changed to;]

Research report from the National Institute for Environmental Studies

- ※No. 3 A comparative study of adults and immature stages of nine Japanese species of the genus *Chironomus*(*Deptera*, *Chironomidae*). (1978)
- No. 4 * Smog chamber studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides system—Progress report in 1977.(1978)
- No. 5 * Studies on the photooxidation products of the alkylbenzene-nitrogen oxides system, and on their effects on Cultured Cells—Research report in 1976-1977. (1978)
- No. 6 * Man activity and aquatic environment—with special references to Lake Kasumigaura—Progress report in 1977-1978.(1979)
- ※No. 7 A morphological study of adults and immature stages of 20 Japanese species of the family *Chironomidae*(*Deptera*). (1979)
- ※No. 8 * Studies on the biological effects of single and combined exposure of air pollutants—Research report in 1977-1978.(1979)
- No. 9 * Smog chamber studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides system—Progress report in 1978.(1979)
- No. 10 * Studies on evaluation and amelioration of air pollution by plants—Progress report in 1976-1978.(1979)
- ※No. 11 Studies on the effects of air pollutants on plants and mechanisms of phytotoxicity. (1980)
- No. 12 Multielement analysis studies by flame and inductively coupled plasma spectroscopy utilizing comouter-controlled instrumentation. (1980)
- No. 13 Studies on chironomid midges of the Tama River. (1980)
Part 1. The distribution of chironomid species in a tributary in relation to the degree of pollution with sewage water.
Part 2. Description of 20 species of *Chironominae* recovered from a tributary.
- No. 14 * Studies on the effects of organic wastes on the soil ecosystem—Progress report in 1978-1979.(1980)
- ※No. 15 * Studies on the biological effects of single and combined exposure of air pollutants—Research report in 1979.(1980)
- No. 16 * Remote measurement of air pollution by a mobile laser radar. (1980)
- ※No. 17 * Influence of buoyancy on fluid motions and transport processes—Meteorological characteristics and atmospheric diffusion phenomena in the coastal region—Progress report in 1978-1979.(1980)
- No. 18 Preparation, analysis and certification of PEPPERBUSH standard reference material. (1980)
- ※No. 19 * Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas—Lake current of Kasumigaura(Nishiura)—1978-1979.(1981)
- No. 20 * Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas—Geomorphological and hydrometeorological characteristics of Kasumigaura watershed as related to the lake environment—1978-1979.(1981)
- No. 21 * Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas—Variation of pollutant load by influent rivers to Lake Kasumigaura—1978-1979.(1981)
- No. 22 * Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas—Structure of ecosystem and standing crops in Lake Kasumigaura—1978-1979.(1981)
- No. 23 * Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas—Applicability of trophic state indices for lakes—1978-1979.(1981)
- No. 24 * Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas—Quantitative analysis of eutrophication effects on main utilization of lake water resources—1978-1979.(1981)

- No. 25 * Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas—Growth characteristics of Blue-Green Algae, *Mycrocystis*—1978-1979.(1981)
- No. 26 * Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas—Determination of argal growth potential by algal assay procedure—1978-1979.(1981)
- No. 27 * Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas—Summary of researches—1978-1979.(1981)
- No. 28 * Studies on effects of air pollutant mixtures on plants—Progress report in 1979-1980.(1981)
- No. 29 Studies on chironomid midges of the Tama River.(1981)
Part 3. Species of the subfamily Orthocladiinae recorded at the summer survey and their distribution in relation to the pollution with sewage waters.
Part 4. Chironomidae recorded at a winter survey.
- ※No. 30 * Eutrophication and red tides in the coastal marine environment — Progress report in 1979-1980.(1982)
- No. 31 * Studies on the biological effects of single and combined exposure of air pollutants—Research report in 1980.(1981)
- No. 32 * Smog chamber studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides system—Progress report in 1979—Research on the photochemical secondary pollutants formation mechanism in the environmental atmosphere (Part 1).(1982)
- No. 33 * Meteorological characteristics and atmospheric diffusion phenomena in the coastal region—Simulation of atmospheric motions and diffusion processes — Progress report in 1980.(1982)
- ※No. 34 * The development and evaluation of remote measurement methods for environmental pollution—Research report in 1980.(1982)
- No. 35 * Comprehensive evaluation of environmental impacts of road and traffic.(1982)
- ※No. 36 * Studies on the method for long term environmental monitoring—Progress report in 1980-1981.(1982)
- ※No. 37 * Study on supporting technology for systems analysis of environmental policy —The Evaluation Laboratory of Man-Environment Systems.(1982)
- No. 38 Preparation, analysis and certification of POND SEDIMENT certified reference material.(1982)
- ※No. 39 * The development and evaluation of remote measurement methods for environmental pollution—Research report in 1981.(1983)
- No. 40 * Studies on the biological effects of single and combined exposure of air pollutants—Research report in 1981.(1983)
- ※No. 41 * Statistical studies on methods of measurement and evaluation of chemical condition of soil—with special reference to heavy metals— . (1983)
- ※No. 42 * Experimental studies on the physical properties of mud and the characteristics of mud transportation.(1983)
- ※No. 43 Studies on chironomid midges of the Tama River.(1983)
Part 5. An observation on the distribution of Chironominae along the main stream in June, with description of 15 new species.
Part 6. Description of species of the subfamily Orthocladiinae recovered from the main stream in the June survey.
Part 7. Additional species collected in winter from the main stream.
- No. 44 * Smog chamber studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides system—Progress report in 1979—Research on the photochemical secondary pollutants formation mechanism in the environmental atmosphere(Part 2).(1983)
- No. 45 * Studies on the effect of organic wastes on the soil ecosystem—Outlines of special research project—1978-1980.(1983)
- No. 46 * Studies on the effect of organic wastes on the soil ecosystem—Research report in 1979-1980, Part 1.(1983)
- No. 47 * Studies on the effect of organic wastes on the soil ecosystem—Research report in 1979-1980, Part 2.(1983)
- No. 48 * Study on optimal allocation of water quality monitoring points.(1983)

- No. 49* The development and evaluation of remote measurement method for environmental pollution—Research report in 1982.(1984)
- ※No. 50* Comprehensive studies on the eutrophication control of freshwaters—Estimation of input loading of Lake Kasumigaura—1980-1982.(1984)
- ※No. 51* Comprehensive studies on the eutrophication control of freshwaters—The function of the ecosystem and significance of sediment in nutrient cycle in Lake Kasumigaura—1980-1982.(1984)
- ※No. 52* Comprehensive studies on the eutrophication control of freshwaters—Enclosure experiments for restoration of highly eutrophic shallow Lake Kasumigaura—1980-1982.(1984)
- No. 53* Comprehensive studies on the eutrophication control of freshwaters—Seasonal changes of the biomass of fishes and crustacea in Lake Kasumigaura—1980-1982.(1984)
- No. 54* Comprehensive studies on the eutrophication control of freshwaters—Modeling the eutrophication of Lake Kasumigaura—1980-1982.(1984)
- No. 55* Comprehensive studies on the eutrophication control of freshwaters—Measures for eutrophication control—1980-1982.(1984)
- No. 56* Comprehensive studies on the eutrophication control of freshwaters—Eutrophication in Lake Yunoko—1980-1982.(1984)
- ※No. 57* Comprehensive studies on the eutrophication control of freshwaters—Summary of researches—1980-1982.(1984)
- No. 58* Studies on the method for long term environmental monitoring — Outlines of special research project in 1980-1982.(1984)
- No. 59* Studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides-sulfur oxides system — Photochemical ozone formation studied by the evacuable smog chamber—Atmospheric photooxidation mechanisms of selected organic compounds —Research report in 1980-1982,Part 1.(1984)
- No. 60* Studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides-sulfur oxides system—Formation mechanisms of photochemical aerosol—Research report in 1980-1982,Part 2.(1984)
- No. 61* Studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides-sulfur oxides system — Research on the photochemical secondary pollutants formation mechanism in the environmental atmosphere(Part 1) —Research report in 1980-1982,Part 3.(1984)
- No. 62* Effects of toxic substances on aquatic ecosystems —Progress report in 1980-1983.(1984)
- ※No. 63* Eutrophication and red tides in the coastal marine environment —Progress report in 1981.(1984)
- ※No. 64* Studies on effects of air pollutant mixtures on plants—Final report in 1979-1981.(1984)
- ※No. 65 Studies on effects of air pollutant mixtures on plants—Part 1.(1984)
- ※No. 66 Studies on effects of air pollutant mixtures on plants—Part 2.(1984)
- No. 67* Studies on unfavourable effects on human body regarding to several toxic materials in the environment, using epidemiological and analytical techniques —Project research report in 1979-1981.(1984)
- ※No. 68* Studies on the environmental effects of the application of sewage sludge to soil—Research report in 1981-1983.(1984)
- ※No. 69 Fundamental studies on the eutrophication of Lake Chuzenji — Basic research report.(1984)
- No. 70 Studies on chironomid midges in lakes of the Nikko National Park
Part I.Ecological studies on chironomids in lakes of the Nikko National Park.
Part II.Taxonomical and morphological studies on the chironomid species collected from lakes in the Nikko National Park.(1984)
- ※No. 71* Analysis on distributions of remnant snowpack and snow patch vegetation by remote sensing.(1984)
- No. 72* Studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides-sulfur oxides system—Research on the photochemical secondary pollutants formation mechanism in the environmental atmosphere — Research report in 1980-1982,

Part 4.(1985)

- ※No. 73 * Studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides-sulfur oxides system—Final report in 1980-1982.(1985)
- ※No. 74 * A comprehensive study on the development of indices system for urban and suburban environmental quality—Environmental indices—Basic notion and formation.(1984)
- No. 75 Limnological and environmental studies of elements in the sediment of Lake Biwa.(1985)
- No. 76 A study on the behavior of monoterpenes in the atmosphere.(1985)
- No. 77 * The development and evaluation of remote measurement methods for environmental pollution—Research report in 1983.(1985)
- No. 78 * Study on residents' role in conserving the living environment.(1985)
- No. 79 Studies on the method for long term environmental monitoring—Research report in 1980-1982.(1985)
- No. 80 * Modeling of red tide blooms in the coastal sea—Research report in 1982-1983.(1985)
- No. 81 * A studies on effects of implementing environmental impact assessment procedure —With particular reference to implementation by local governments.(1985)
- No. 82 * Studies on the role of vegetation as a sink of air pollutants—Research report in 1982-1983.(1985)
- No. 83 Studies on chironomid midges of some lakes in Japan.(1985)
- No. 84 * A comprehensive study on the development of assessment techniques for health effects due to environmental heavy metal exposure—Final report in 1982-1984.(1985)
- No. 85 Studies on the rate constants of free radical reactions and related spectroscopic and thermochemical parameters.(1985)
- No. 86 * A novel retrieval system for identifications of unknown mass spectra.(1986)
- No. 87 * Analysis of the photochemical secondary pollutants and their toxicity on cultured cells—Research report in 1978-1983.(1986)
- No. 88 * A comprehensive study on the development of indices systems for urban and suburban environmental quality II —Environmental indices—Applications and systems.(1986)
- No. 89 Measuring the water quality of Lake Kasumigaura by LANDSAT remote sensing.(1986)
- No. 90 * National trust movement in Japanese nature conservation — Trustworthy or illusion?(1986)
- No. 91 Economic analysis of man's utilization of environmental resources in aquatic environments and national park regions.(1986)
- No. 92 * Studies on the growth and decomposition of water-bloom of *Microcystis*.(1986)
- No. 93 * Studies on the environmental effects of the application of sewage sludge to soil(I)—Research report and papers(Part 1)in 1983-1984.(1986)
- No. 94 * Studies on the environmental effects of the application of sewage sludge to soil(II)—Research report and papers(Part 2)in 1983-1984.(1986)
- No. 95 * Comprehensive studies on effective use of natural ecosystems for water quality management(I)—Drainage and flowing down of pollutant load— Research report in 1983-1984.(1986)
- ※No. 96 * Comprehensive studies on effective use of natural ecosystems for water quality management(II)—Structure and function of the ecosystems of littoral zone — Research report in 1983-1984.(1986)
- No. 97 * Comprehensive studies on effective use of natural ecosystems for water quality management(III)—Self-purification in stream and soil—Research report in 1983-1984.(1986)
- No. 98 * Comprehensive studies on effective use of natural ecosystems for water quality management(IV)—Development and application of wastewater treatment technologies utilizing self-purification ability—Research report in 1983-1984.(1986)
- No. 99 * Effects of toxic substances on aquatic ecosystems—Final report in 1981-1984.(1986)
- No.100 * Studies on the methods for long-term monitoring of environmental pollutants in

the background regions—Development of highly sensitive and selective analytical methods for measurement of pollutants in the background regions—Progress report in 1983-1985.(1986)

- No.101* Experimental studies on the effects of gaseous air pollutants in combination on animals.(1986)
- No.102* A review on studies of the global scale air quality perturbation.(1986)
- No.103* Technological assessment of electric vehicle from the environmental protection viewpoint.(1987)
- No.104 Studies on chironomid midges in lakes of the Akan National Park.(1987)
 - Part I .Distribution of chironomid larvae in Lake Akan, Lake Panke and Lake Kussyaro.
 - Part II .Chironomid midges collected on the shore of lakes in the Akan National Park, Hokkaido(Diptera, Chironomidae)
- No.105* Formulation of the dynamic behavior of water and solites leaching through the field soil.(1987)
- No.106* Appraised landscape and thier environmental value in Tsukuba Science City.(1987)
- No.107* Studies on remote sensing for spatial and temporal analysis of environment—Research report in 1984-1985.(1987)
- ※No.108* Studies on tje role of vegetation as a sink of air pollutants—Final report in 1982-1985.(1987)
- No.109* Studies on environmental information system for regional environmental evaluation.(1987)
- No.110* Modeling of Red Tide Blooms in the Coastal Sea —Final report in 1984-1985.(1987)

* in Japanese
※ out of stock

[昭和62年6月18日受領]

RESEARCH REPORT FROM
THE NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES, JAPAN

No.110

国立公害研究所研究報告 第110号
(R-110-'87)

昭和62年7月31日 発行

編集 国立公害研究所

発行 環境庁国立公害研究所

〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2

印刷 日青工業株式会社

東京都港区西新橋2-5-10

Published by the National Institute for Environmental Studies
Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan
July 1987