

国立公害研究所研究報告 第30号

Research Report from the National Institute for Environmental Studies No. 30, 1982

R-30-82

# 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

Eutrophication and Red Tides in the Coastal Marine Environment

Progress Report in 1979-1980

THE NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES

環境庁 国立公害研究所

## 序

近年瀬戸内海、琵琶湖等閉鎖性水域において赤潮現象の発生が増大し、たんに景観を劣化しているだけでなく、沿岸漁業にも多大の被害をもたらしている。したがって、昭和53年4月に参議院公害対策及び環境保全特別委員会においてなされた“赤潮発生機構の解明と防止のための措置を早急に講ずる”ことを要請する決議にも見られるとおり、これに対する対策が緊急に求められている。

赤潮現象は植物プランクトンの異常増殖により発生し、この意味では生物学の対象となる現象であるが、気象学的、海洋物理学的、地球化学的な諸要因が複雑に関与している。赤潮という植物プランクトンの特定種による空間の独占状態には、赤潮藻類、栄養塩類等の物質の分布構造の時間的、空間的変動を誘発する海洋現象との複雑な関連が存在する。この現象を解明するために、当研究所では海水用のマイクロゾムを設置して赤潮プランクトンの垂直移動に関する機構を明らかにした。このような知識は、最初に当所において得られたものである。

国立公害研究所では、昭和54年度から3か年計画をもって、海域における富栄養化と赤潮の発生に関する研究を行っており、これまでにいろいろな知見が得られたのでこの機会に印刷に付する次第である。もしこの報告が赤潮発生機構の解明に貢献し、研究者の興味をよび起こし、読まれた方から今後の研究の指針となる示唆を受けることができるならば、研究所としてのこれにすぐる喜びはない。

昭和 56 年 6 月

国立公害研究所

所長 近藤次郎

## 緒 言

この研究報告は、赤潮研究の第一段階として、その発生の機序、赤潮生物増殖のための条件や増殖・集積の機構を主対象とし、実験室規模の研究と海域での現象との整合点、特異点などを明確にすることをめざした。

本冊に盛られた各個の研究論文の特徴や、それらの研究を展開することになった経緯は、次に記す渡辺海洋環境研究室長の一文に説明されているので、ここでは、昭和54、55年度に得られた成果が赤潮研究において有する意義を、黄色鞭毛藻 *Olisthodiscus luteus* に関して行った一連の研究を例として説明する。

試作したマイクロコズム2号機は、そのスケール、機構において現今の国内における実験室規模の赤潮生物培養装置としては最大級で、現場の海域での現象ともかかわりの深いものであるが、*O. luteus* を用いての純培養により、明期に水面で明瞭な赤潮パッチを形成させることができ、その増殖に必要な栄養条件や照度、塩分などの物理・化学的条件を明らかにすることができた。次に、ベンチスケールでの研究であるが、*O. luteus* が明暗条件に応じて上昇・下降を行う際、成層の上と下とで栄養塩濃度に格段の差がある場合、上層でN、P濃度が低い場合でも、下降した暗期に底面近くで外液  $PO_4-P$  を摂取すること、また同様に  $NO_3-N$  を活発に摂取することが確かめられた。このうち  $NO_3-N$  に関しては同様のことがすでに *Gonyaulax polyedra* で確認されている。これは、従来瀬戸内海などで、表層のTN、TP濃度が相当低いかかわらず赤潮が発生していた理由の一つと考えられる。このことは、海域の栄養レベルを区分けして水質目標値等を定める上でも見逃せない事実である。

更に、*O. luteus* の他に *Skeletonema costatum* についても、その生体密度 — 見かけの密度 — の変化範囲を、密度勾配遠沈法を用いて精密に、非破壊的に測定したが、これは生物対流機構を説明する上で重要な意義を有する。その生物対流では、上層で生じた密度不安定が対流の原動力となり、convection が起こるが、その安定・不安定を支配する物理因子が理論的に明らかになり実験結果もこれを支持した。また、*O. luteus* が示す対流渦場での分布形態は、細胞の平均遊泳速度と場の最大上昇流速の比のみに支配されることが明らかになった。あとは現場での検証を待つことになる。

*O. luteus* による赤潮が頻発する現場である大阪湾谷川港での実態調査は、上に述べた室内実験の成果と現場現象との整合を検討する好個の研究となったが、生物対流等に関しては上述のように十分な検証はできていない。

以上、本冊に盛られた赤潮に関する基礎研究の意義を、*O. luteus* をめぐる生理学、化学、物理学的諸研究を代表的にとりあげ説明した。本報告全体を通じ、謎の多い赤潮現象の解明に相当の寄与をし得たものと思う。

昭和 56 年 6 月

国立公害研究所 水質土壌環境部長  
合 田 健

# 目 次

I	研究の概要と意義(渡辺 正孝) .....	1
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 .....	11
	渡辺 正孝・渡辺 信・木幡 邦男・原島 省	
2.	赤潮鞭毛藻のシスト形成と発芽-1, <i>Scrippsiella trochoidea</i> におけるシスト 形成の誘起条件について .....	27
	渡辺 信・渡辺 正孝・福代 康夫	
3.	赤潮鞭毛藻のシスト形成と発芽-2, <i>Protogonyaulax tamarensis</i> と <i>P. catenella</i> におけるシストの発芽の季節性 .....	43
	福代 康夫・渡辺 信・渡辺 正孝	
4.	赤潮藻類の増殖量に及ぼす環境因子の影響 I. <i>Chattonella antiqua</i> .....	53
	中村 泰男・渡辺 信・渡辺 正孝	
5.	赤潮藻類の増殖量に及ぼす環境因子の影響 II. <i>Olisthodiscus luteus</i> .....	71
	森 栄・中村 泰男・渡辺 信・矢持 進・渡辺 正孝	
6.	赤潮藻類の増殖量に及ぼす環境因子の影響 III. <i>Gymnodinium splendens</i> .....	87
	中村 泰男・渡辺 信・渡辺 正孝	
7.	赤潮鞭毛藻 <i>Olisthodiscus luteus</i> のリン酸制限下での静置培養：増殖及びリン 摂取の動力学的確析 .....	95
	木幡 邦男・渡辺 信・中村 泰男・渡辺 正孝	
8.	赤潮鞭毛藻 <i>Olisthodiscus luteus</i> のリン酸制限下連続培養：その方法の確立と 増殖の動力学解析 .....	113
	渡辺 信・木幡 邦男・中村 泰男・渡辺 正孝	
9.	赤潮鞭毛藻 <i>Olisthodiscus luteus</i> の垂直移動とリン酸摂取の日周性 .....	131
	渡辺 信・矢持 進・木幡 邦男・渡辺 正孝	
10.	<i>Olisthodiscus luteus</i> と <i>Skeletonema costatum</i> の細胞密度の日周変動 .....	143
	渡辺 正孝	
11.	鞭毛藻 <i>Olisthodiscus luteus</i> による生物対流と Rayleigh-Taylor Instability .....	155
	渡辺 正孝・原島 省	
12.	対流渦場での鞭毛藻 <i>Olisthodiscus luteus</i> の分布構造 .....	175
	渡辺 正孝・原島 省	

13. 大阪湾谷川港に於ける <i>Olithodiscus luteus</i> の赤潮発生機構に関する研究： 出現特性と日周鉛直移動について(1) .....	191
矢持 進・安部 恒之・城 久	
14. 気仙沼湾における赤潮発生環境 .....	215
渡辺 正孝・渡辺 信・木幡 邦男・原島 省・中村 泰男・森 栄	
15. 海水の赤潮生物生産能力の評価 .....	289
矢木 修身・須藤 隆一・今岡 務・寺西 靖治	
16. 混合種透析培養法によるAGP試験 .....	303
庵谷 晃・渡辺 信・渡辺 正孝	
17. 気仙沼湾における植物プランクトンの多様性と平坦さ .....	311
田井 慎吾	
18. 赤潮藻類の増殖におけるATP量の変化 .....	323
菅原 淳・小林 善親・渡辺 信・渡辺 正孝	
19. 有限要素法を用いた潮汐流の数値モデル .....	329
渡辺 正孝・原島 省	
20. 海洋環境データの鉛直2次元補間法について .....	363
木幡 邦男・渡辺 正孝	
21. 赤潮藻類 <i>Olithodiscus luteus</i> の分光特性と水質 .....	371
宮崎 忠国	
22. 遠隔計測による気仙沼の定量的水質計測 .....	379
宮崎 忠国	

## CONTENTS

I. Outline and Significance of the Studies . . . . .	1
Masataka Watanabe	
II. Papers	
1. The use of a controlled experimental ecosystem (microcosm) in studies of the mechanism of red tide outbreaks . . . . .	11
Masataka Watanabe, Makoto M. Watanabe, Kunio Kohata and Akira Harashima	
2. Encystment and excystment of red tide flagellates. I. Induction of encystment of <i>Scrippsiella trochoidea</i> . . . . .	27
Makoto M. Watanabe, Masataka Watanabe and Yasuo Fukuyo	
3. Encystment and excystment of red tide flagellates II. Seasonality on excystment of <i>Protogonyaulax tamarensis</i> and <i>P. catenella</i> . . . . .	43
Yasuo Fukuyo, Makoto M. Watanabe and Masataka Watanabe	
4. The effect of various environmental factors on the growth yield of red tide algae.	
I. <i>Chattonella antiqua</i> . . . . .	53
Yasuo Nakamura, Makoto M. Watanabe and Masataka Watanabe	
5. The effect of various environmental factors on the growth yield of red tide algae.	
II. <i>Olisthodiscus luteus</i> . . . . .	71
Sakae Mori, Yasuo Nakamura, Makoto M. Watanabe, Susumu Yamochi and Masataka Watanabe	
6. The effect of various environmental factors on the growth yield of red tide algae.	
III. <i>Gymnodinium splendens</i> . . . . .	87
Yasuo Nakamura, Makoto M. Watanabe and Masataka Watanabe	
7. Growth and phosphate uptake kinetics in <i>Olisthodiscus luteus</i> growth on synchronized batch cultures . . . . .	95
Kunio Kohata, Makoto M. Watanabe, Yasuo Nakamura and Masataka Watanabe	
8. Phosphate-limited continuous culture of a red tide flagellate, <i>Olisthodiscus luteus</i> : Establishment of its method and the analysis of growth kinetics . . . . .	113
Makoto M. Watanabe, Kunio Kohata, Yasuo Nakamura and Masataka Watanabe	

9. Vertical migration and diel periodicity of phosphate uptake in a red tide flagellate, <i>Olisthodiscus luteus</i> . . . . .	131
Makoto M. Watanabe, Susumu Yamochi, Kunio Kohata and Masataka Watanabe	
10. The diurnal variations in cell densities of <i>Olisthodiscus luteus</i> and <i>Skeletonema costatum</i> . . . . .	143
Masataka Watanabe	
11. Bioconvection in culture of <i>Olisthodiscus luteus</i> and Rayleigh-Taylor instability . . . . .	155
Masataka Watanabe and Akira Harashima	
12. The distribution pattern of <i>Olisthodiscus luteus</i> in convection cells . . . . .	175
Masataka Watanabe and Akira Harashima	
13. Study on the mechanisms of red water blooms by <i>Olisthodiscus luteus</i> at Tanigawa Fishing Port, Osaka Bay. Characteristics in occurrence of <i>O. luteus</i> and its diurnal vertical migration . . . . .	191
Susumu Yamochi, Tsuneyuki Abe and Hisashi Joh	
14. Oceanographic factors associated with red tide outbreaks in Kesenuma Bay . . . . .	215
Masataka Watanabe, Makoto M. Watanabe, Kunio Kohata, Akira Harashima, Yasuo Nakamura and Sakae Mori	
15. Determination of algal growth potential on sea water using red tide organisms . . . . .	289
Osami Yagi, Ryuichi Sudo, Tsutomu Imaoka and Seiji Teranishi	
16. An experiment of multispecies dialysis culture for evaluating algal growth potential, AGP . . . . .	303
Teru Ioriya, Makoto M. Watanabe and Masataka Watanabe	
17. Diversity and evenness in phytoplankton of Kesenuma Bay . . . . .	311
Singo Tai	
18. Changes in cellular contents of ATP during growth of red tide algae . . . . .	323
Kiyoshi Sugahara, Yoshichika Kobayashi, Makoto M. Watanabe and Masataka Watanabe	
19. Numerical modelling of tidal current using finite element method . . . . .	329
Masataka Watanabe and Akira Harashima	
20. Vertically two dimensional interpolation of oceanographical data . . . . .	363
Kunio Kohata and Masataka Watanabe	
21. Spectroscopic characteristics of red tide algae <i>Olisthodiscus luteus</i> and water quality . . .	371
Tadakuni Miyazaki	
22. Quantitative studies of water quality in Kesenuma Bay using remote sensing . . . . .	379
Tadakuni Miyazaki	

## I. 研究の概要と意義 Outline and Significance of the Studies

渡辺正孝<sup>1</sup>  
Masataka WATANABE<sup>1</sup>

### 1. はじめに

赤潮という現象は、植物プランクトンの異常増殖による水の着色現象として古くから知られており、発生場所も内海、外海ともに報告されている。しかし赤潮発生機構解明のための研究が積極的に進められるようになったのは、内湾や沿岸海域での富栄養化現象の進行とともに赤潮が多発し(図1, 図2)、それに伴う漁業被害が深刻になってからのことであり、ごく最近のことである。例えば瀬戸内海において報告されている赤潮発生件数は昭和41年に44件であったのが、昭和51年には326件とピークに達した。特にホルネリア赤潮による養殖ハマチの斃死が頻発し、瀬戸内海臨時措置法制定のきっかけとなった。その後昭和52年236件、昭和53年165件と減少しているものの、漁業被害は依然として続いている。

このように環境保全、漁業保全にとって重要な問題である富栄養化および赤潮発生の機構解明を行うことは、単に学問的な課題であるのみならず、その社会的意義ははなはだ大きい。

赤潮現象は植物プランクトンの異常増殖により発生し、その意味では生物学の対象となる現象であるが、その発生に至るまでの環境形成の過程には、気象学的、海洋物理学的、地球化学的な諸現象が複雑に関与している。

このため赤潮発生機構を把握するためには、単に生物学的知識によってのみでは不可能であり、それら広範な学際的知識の集積が重要であり、理論、実験、現場観測など総合的に研究を推進する必要がある。

このため昭和54年4月に特別研究「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」が開始された。

本特別研究はサブテーマとして、1)赤潮発生機構の生理的・化学的および物理的要因の解明、2)赤潮生物の増殖指標に関する研究、3)赤潮関連データの収集と解析に関するシステム分析、の三つを挙げている。

---

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



本特別研究の目的を達成するために、国立公害研究所内の4部（水質土壌環境部、総合解析部、生物環境部、環境情報部）から16名の研究者が参加し、さらに16名の客員研究員の協力を得て本研究を推進している。

## 2. 赤潮発生機構解明の問題点

赤潮現象は一次生産者である植物プランクトンの大発生という現象だけでなく、植物プランクトンの特定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あげる要因はなにかという命題だけでは理解できないものである。さらに赤潮発生は必ずしも同じ場所、同じ時期にいつも起こるとはかぎらない。そこには赤潮藻類、栄養塩類、その他の物質の分布構造の時間的・空間的変動を規定する海洋物理現象との複雑な関連が存在する。もしこのような海洋物理現象との関連がまったくないとするならば赤潮発生機構は、赤潮藻類の生理学的な研究のみによって解明することができるはずである。従来特定種については生理学的研究により、増殖最適条件は既知であるが、にもかかわらずその情報によってのみではその特定種による赤潮発生機構を解明することはできない状態である。

近年の赤潮をもたらす藻類の生活史 (life cycle) に関する研究 (例えば Anderson D.M. and Wall D. 1978) により少なくとも赤潮発生の過程は、i) Bloom initiation (シストの発芽段階) と、ii) Bloom development & continuation (単一種または複合種による場の独占) の2段階過程であると考えられるに至った。しかしこれはまだ仮説段階であり、特に第1の過程に関してはほとんどの赤潮藻類種についてはまだその life cycle は明確にされておらず、シストの採集、採集法の改良、環境条件の変化によるシストの形成過程、発芽過程の解明、シストの分類法等大きな研究課題である。

第2の過程に関しては大きく分けて、赤潮藻類の栄養要求性、増殖誘因物質、その他増殖至適環境条件の解明といった、藻類の異常増殖に重点をおいた増殖機構からのアプローチと、特定藻類種に個有の走光性、浮上性、沈降性、と潮目、ラングミュアー循環流、成層流など海洋物理現象との相互作用により形成される藻類の集積機構からのアプローチがある。特に室内培養実験によれば、鞭毛藻は他の藻類（特に珪藻）に比較して増殖速度が低いとされているが、それにもかかわらず鞭毛藻による赤潮が多発している。このことは鞭毛藻が他の藻類をおさえて赤潮を発生させるための何か特殊な環境条件が必要である。増殖機構からのアプローチとしては、鞭毛藻の異常増殖をもたらす増殖誘因物質等をあきらかにし、更にその増殖特性が環境因子の変化に伴ってどう展開されていくかを解析する必要がある。

一方赤潮を形成する藻類の中で特に重要と言われている鞭毛藻類は垂直移動性を持ち、昼間は表層に、夜間は下層に移動することができる。このことは水表面への物理的集積作用のみならず、増殖に必要な栄養塩に富んだ底層に下降することができ、このことが他の種との競合関係において優位な生態的地位を持つことができると考えられている。従って海域の成層化や鉛直対流渦の形成と鞭毛藻類の走光性、垂直移動性との相互関係と、その結果としての鞭毛藻や他の藻類の集積機構を



図 1 ノクチルカによる赤潮 (1974. 6. 16 大多府島 岡山県)  
水産航空(株)提供

Fig. 1 Outbreaks of red tide caused by *Noctiluca*  
(1974.6.16, Otafu Island, Okayama) Courtesy of Suisan-Koku Co.

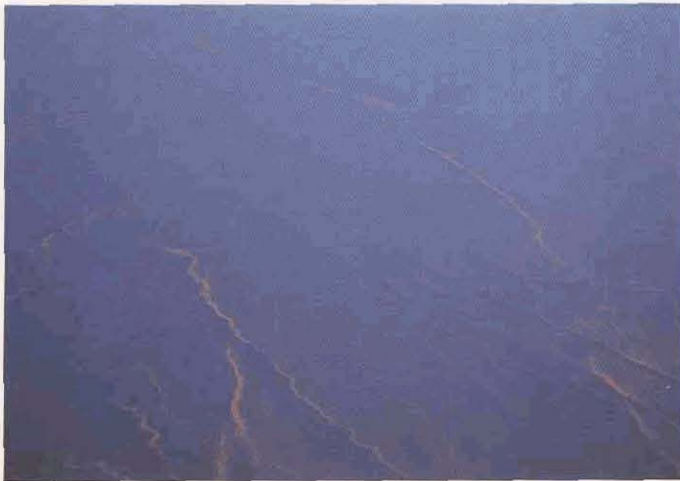


図 2 播磨灘に Streak 状に発生したノクチルカ赤潮 (1976. 4. 15)  
水産航空(株)提供

Fig. 2 Distribution of patches and lanes of *Noctiluca* in Harima-Sea  
(1976.4.15) Courtesy of Suisan-Koku Co.

明らかにするとともに、成層や鉛直対流渦の形成過程、さらには赤潮が発生しやすい内湾、内海の海洋構造および物質循環機構を把握する必要がある。

一方、それぞれの赤潮発生海域では水質も異なり、海域特性もまちまちであり、多くのプロセスが複雑に関連しているため、実用的な評価および制御のためのより簡便な、水と藻類とを同時に含む系の総合指標の必要性が高い。従って海水の赤潮藻類増殖のポテンシャルを求め、赤潮現象の評価を行うとともに、制御指標としての意義を明らかにする必要がある。

赤潮発生現場は地域的に大きな広がりをもち、船舶を用いて赤潮発生の広がりや、他の環境因子の空間的分布との関連をもたせた観測を短時間でを行うことは困難であり、また非常な労力を必要とした。このように多項目でかつ空間的にも広域にまたがる海洋の水質水理データ採取を最適に行う方法を開発する必要がある。

### 3. 研究成果の概要

赤潮発生海域では、現象が複合されて起こるばかりでなく、その現象が時間的に大きく変動することが特徴である。そのため従来よりの現場観測を中心とした赤潮研究においては、赤潮発生の因果関係を明確に把握することは困難であった。本特別研究では、まず室内実験と理論から、制御条件下での挙動を明らかにし、それを現場海域で検証するというアプローチを試みた。昭和54、55年度においては基礎研究を特に重視し、本報告書にその成果をとりまとめた。

赤潮藻類の中で特に重要と考えられる鞭毛藻類の走光性、垂直移動性と、海域の外的環境の変化の相互作用を実験的に解析する方法として、室内実験型制御実験生態系（マイクロコズム）を開発し、*Olithodiscus luteus* の無菌培養による赤潮状態の再現に成功した（論文1）。これにより鞭毛藻の日周垂直移動の周期、上昇下降速度、集積パターン、温度成層等を現場海域におけるそれらと類似した状態に再現させ、精密な計測を連続的に行うことにより、垂直移動が持つ生態的意義を解明することが可能になった。

休眠孢子（cyst）は、海域の同一場所での赤潮発生の initiation を行い得ること、季節的な環境変化に同調して、同じ時期に赤潮発生の initiation を行い得ること、さらに潮・海流による移送・拡散に対しても破壊されることなく地域的に分散し得ること、など赤潮発生の“場所”および“時間”を決定する重要な役割を担っている。しかし赤潮藻類の cyst を含めた生活史の研究はやっと始まったばかりであり、近年 Andersonら（1978, 1979, 1980）によるシストの発芽条件の研究があるのみでシスト形成過程についてはまったく未知であった。過去1969年と1980年に大阪湾で大発生した *Scrippsiella trochoidea* (syn. *Peridinium trochoideum*) のシスト形成を誘起する最適条件を実験的に解析し、温度25°C、照度1,500lx～10,000lx、窒素・リンのいずれかが欠乏状態になった時誘起され、また炭酸塩はシスト形成を促進することが判明した（論文2）。大船渡湾（岩手県）において貝毒の原因種となっている *Protogonyaulax catenella* と *P. tamarensis* のシストを

毎月採取しその発芽率を調べたところ、*P. catenella* は6～9月に多く発芽したのに対して、*P. tamarensis* は1～3月に多く発芽した(論文3)。大船渡湾では*P. catenella* が9～10月に出現し、*P. tamarensis* が3～4月に出現することから、これら2種のシスト発芽率の変遷は、それらの出現時期を非常によく説明しうることを、従ってシストは赤潮発生の時期を決定する重要な役割を果たしていることが判明した。

増殖機構に関する研究の中で、第1段階として最も基礎的な部分である、赤潮藻類の増殖量に及ぼす環境因子の影響を、*Chattonella antiqua* (播磨灘、兵庫県沖1978年採集)、*Olisthodiscus luteus* (大阪湾谷川港、1979年採集)、*Gymnodinium splendens* (播磨灘引田沖、1979年採集)について、無菌クローン株を用いて解析した(論文4,5,6)。*Chattonella antiqua* については人工海水培地Hを、*O. luteus* については人工海水培地ASP<sub>7</sub>-Mを基本培地として用い、また*G. splendens* については海水培地f/2を使用し、好適温度範囲、好適照度範囲、好適塩分範囲、pH依存性、栄養塩要求性(窒素、リン)、微量元素(Fe, Mn, Cu)、ビタミン類、有機物等の増殖量に及ぼす影響の定量化を試みた。

自然界においては数多くの藻類種が存在しており、限りある栄養塩類の摂取において競合しており、単一種による場の独占を説明する上で基本的問題として、増殖の制限因子となっている栄養塩類を他の藻類種をおさえて、どれだけ速く効果的に摂取し、増殖できるかを解析する必要がある。第1段階で得られた各種環境要因と赤潮藻類の最大増殖量との関連の基礎的な知見をもとに、第2段階としてリン制限下における*Olisthodiscus luteus* のバッチ培養、連続培養を行い、増殖の動力学的解析を行った(論文7,8)。その結果*O. luteus* の増殖速度は制限栄養塩 $PO_4-P$ の外液濃度に依存するとしたMonodの式よりも、細胞内含有量に依存するとしたDroopの式によって良く表現されることが判明した。

赤潮藻類の中で特に重要と言われている鞭毛藻類は、それが示す日周垂直移動性により、光合成を行うに必要な有光層への上昇を行い、かつ海面への物理的集積作用を行い得るのみならず、栄養塩に富んだ下層に移行し増殖に必要な物質を摂取できる可能性があり、他種藻類に比較して優位な増殖機構を持ち、鞭毛藻の個体群発達に重要な役割を持つであろうと考えられていたが、それは単に仮説にしかすぎなかった。*Olisthodiscus luteus* のバッチ培養系での細胞分裂と $PO_4-P$ 取り込みの日周変化を解析し、垂直移動と増殖の関連を検討した(論文9)。その結果*O. luteus* は暗期末より明期初めにかけて細胞分裂を行い、明期と暗期にそれぞれ $PO_4-P$ を摂取し、このことから表層が $PO_4-P$ 欠乏状態であっても、夜間底層へ移動し増殖に必要な $PO_4-P$ を摂取し、分裂・増殖できることが判明した。

培養系において表層に集積した鞭毛藻*O. luteus* は、照射中にもかかわらず下降現象を示し、明暗サイクルに追従する走光性によっては説明できない。鞭毛藻*O. luteus* の比重は海水より重いことが判明したが(論文10)、海水より重い鞭毛藻が垂直移動により表層に集積し、その結果密度逆転による密度不安定をもたらしたことによる生物対流であることを見出した。無限小振幅を仮定し、

密度逆転した二層流体系の不安定問題として理論解析を行い、下降現象が起こる条件を集積層厚と密度差により与え、実験結果との整合性を実証した(論文11)。

海域に存在する種々のスケールの鉛直対流渦により、遊泳性、非遊泳性の藻類の patch の形成や分布構造が異なり、増殖・競合・種の遷移に大きく関与している。培養実験系内の鉛直対流渦を発生させ、*O. luteus* の集積パターンを実験的に解析し、さらに数値モデルによるシミュレーションを行い、このモデルにより実験結果をよく説明し得ること、さらに鞭毛藻の遊泳速度と最大鉛直流速の比により鞭毛藻の分布構造が決定されることを見出した(論文12)。

以上のように *Olisthodiscus luteus* を用いての増殖機構・集積機構の基礎的研究と並行して、大阪湾谷川港における *O. luteus* の増殖・集積機構に関する現場観測と現場実験を行った(論文13)。その結果論文1で示されたマイクロコズム内での *O. luteus* と類似な垂直移動パターンが観測され、赤潮渦過海水を用いての AGP 試験により Fe の影響が顕著であることを見出した。

*Prorocentrum* による赤潮が毎年見られる気仙沼湾において観測を行い、夏期成層の発達により上層での湾口への流れ、下層での湾奥への流れが卓越し、DO, pH, chl-*a*, NH<sub>3</sub>, PO<sub>4</sub>, NO<sub>3</sub>+NO<sub>2</sub>等の分布、変動はその海洋構造によって規定されていることが判明した(論文14)。特に成層発達に伴う底層での DO の低下と NH<sub>3</sub>, PO<sub>4</sub> の増加が顕著に見られ、鞭毛藻による日周垂直移動の赤潮発生機構における重要性が示唆された。

富栄養化現象をもたらす要因は単一ではなく、種々の現象が複雑に関連しており、その評価は単純ではない。しかし富栄養化の評価指標、制御指標としてのより簡便な方法が強く求められている。海水に含まれる種々の栄養物質を反映した、潜在的な藻類生産能力(Algal Growth Potential, AGP)の測定方法を、赤潮藻類3種について開発し、現場海水への応用を試みた(論文15)。その結果、海水の藻類増殖制限因子としてのリンの重要性を定量的に評価した。このような単藻培養による AGP 評価に対して、より自然界に近い状態での AGP 評価法として、藻類を除去しない試水による混合培養を行い、試水に適応した最終的な優占藻類種により AGP を評価する混合種透析培養法を試み、単藻培養よりもより自然状態での AGP 評価の可能性を見出した(論文16)。

このように自然界における藻類の群集構造の変化と富栄養化との関連を、単純化された培養系により検証する試みに対して、情報エントロピーにより評価する多様性指数がある(論文17)。気仙沼湾における藻類観測データをもとに多様性指数による評価を行い、多様性指数の経日変化は *Skeletonema costatum* の増殖の様子をよく表現し得ることが判明した。

藻類細胞増殖と環境変化との関連を、細胞内生理活性により表現し、特に ATP の指標性について検討を行った(論文18)。その結果、赤潮藻類(*O. luteus*, *P. triestinum*)の増殖過程において、細胞内 ATP 量の日変化と Biomass, ATP の1日の中での時間変動と cell cycle に関連があることが判明した。

赤潮発生をもたらす海域の特徴として、強度の閉鎖性と海水交換の低さが挙げられる。このため地形効果と非線型効果による潮汐残差流が生じ、環流系が形成される。このことが汚染物質の停

滞を招き、富栄養化の原因と考えられるが、この潮汐流および環流系の数値シミュレーションを有限要素法を用いて行った(論文19)。東京湾口において  $K_1$ 、 $O_1$ 、 $M_2$ 、 $S_2$  の4分潮を与え、第1海堡での観測により求めた流速楕円、潮位変動との良い一致を見た。スペクトル解析によりエネルギーレベルにおいても4分潮を再現し得ることが確認された。この数値計算結果をもとにラグランジュ的に浮標の軌跡図を求め、東京湾内に大小いくつかの環流系が存在することが示唆された。

海域全体にわたり環境因子を連続的に観測を行うことは實際上困難であり、有限個数の観測データにより対象海域の全体像を推定する必要がある。海洋環境データの鉛直2次元の補間にスプライン法を適用し、データの空間分布特性により初期値推定法が異なることを考慮した鉛直2次元データ補間法を開発した(論文20)。

広域環境計測に有効であるリモートセンシング技術を用いて、赤潮藻類の水平分布状態を非接触、広域的、同時に定量化する可能性を、培養系における赤潮藻類の分光反射特性により検討した(論文21)。高速ラジオスペクトロメータにより *Olisthodiscus luteus* の反射スペクトルの測定を行い、リモートセンシングによる赤潮定量の最適波長帯の選択、さらに赤潮藻類の活性度の測定の可能性について検討を行った。さらに実験フィールド(気仙沼湾)において、航空機搭載のマルチスペクトルスキャナー(MSS-BG-1A)による画像データの収集を行い、同時に行われた湾内全域での水質調査データとの相関解析より、クロロフィル- $a$ および表面水温の推定分布図を作成した(論文22)。

#### 4. おわりに

昭和54、55年度の研究成果のほとんどは基礎研究に重点を置いたもので、赤潮研究および富栄養化現象の理解にとって必要不可欠と思われる研究分野の把握とその研究方法の確立に努めた。今後はこれら基礎研究により得られた方法論を発展・充実させるとともに、複雑な現象が交錯する現場海域においても適用し得るものにするために、自然界により近づけた制御実験系であるマイクロゾムの展開とともに、実験および理論に基づく現象のモデル化と現場フィールドにおける検証とを並行して行い、赤潮現象を含めた海域の富栄養化現象の解明を行っていく必要がある。

赤潮発生機構の複雑さは、非常に多くの現象が関連し合っているところに起因しており、原因となり得る環境因子の数が膨大であるが故に研究は発散的となりがちである。この中において研究を収束させるためには、実験室で得られた物理的・化学的・生理学的な総合知見と、自然現場でのデータの対比を繰り返し行い、両者の相違がより少なくなる方向に研究指針を立てることであり、また両者の相違の理由解明こそが目的達成へ向けて収束させる唯一の方法であるように思える。

終わりに当たり、本特別研究を推進する上に御協力いただいた多くの大学関係者、試験研究機関の研究者に厚く御礼申し上げます。特に以下に列記する方々には、本特別研究の客員研究員ならびに講師として、日頃の研究活動ならびに第1回赤潮シンポジウム(昭和55年3月)、第2回赤潮シンポジウム(昭和56年3月)を通じて多くの御指導を賜わった。ここに深く感謝の意を表する次第で

ある。

(1) 客員研究員：

荒田洋治（東京大学理学部）、市村輝宣（東京大学応微研）、池辺八洲彦（筑波大学電子情報学系）、庵谷 晃（東京水産大学）、飯塚昭二（長崎大学水産学部）、門田 元（京都大学農学部）、狩谷貞二（東北大学農学部）、小林善親（鹿児島大学理学部）、佐々 勤（宮崎医科大学）、玉井信行（東京大学工学部）、寺西靖治（広島大学工学部）、中川博次（京都大学工学部）、西沢義矩（広島大学工学部）、野沢治治（鹿児島大水産学部）、平野礼次郎（東京大学農学部）、藤田善彦（東京大学海洋研究所）、福代康夫（北里大学水産学部）、堀 輝三（筑波大学生物系）、柳田友道（富山大学）、矢持 進（大阪府水産試験場）、横山隆三（岩手大学工学部）、渡辺 弘（兵庫県公害研究所）

(2) 講 師：

村上彰男（三洋水路）、遠藤拓郎（広島大学生物生産学部）、川合英夫（京都大学農学部）、坂本充（名古屋大学水圏研究所）、中原紘文（京都大学農学部）、内田卓志（北海道大学理学部）

謝辞

貴重な赤潮発生の航空写真を掲載することを快諾していただいた 水産航空(株)に深謝いたします。

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

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

渡辺正孝<sup>1</sup>・渡辺 信<sup>1</sup>・木幡邦男<sup>1</sup>・原島 省<sup>1</sup>

Masataka WATANABE<sup>1</sup>, Makoto M. WATANABE<sup>1</sup>, Kunio KOHATA<sup>1</sup>  
and Akira HARASHIMA<sup>1</sup>

要 旨

赤潮鞭毛藻の増殖・集積機構の解明を目的として、遊泳性の赤潮鞭毛藻(平均1m/hの速度で日周垂直移動を行う)の生理・生態的特性と物理的(光・水温・塩分・成層・対流・乱れ等)・化学的(栄養塩・微量金属類等)特性の時間的・空間的変動との関連を、綿密な計測により解析することのできる室内設置型制御実験生態系(マイクロコズム第1号・第2号機)の開発を行った。

マイクロコズム第1号機(高さ75cm, 直径20cm, 容積23.6lのガラス製)により、無菌培養による *Prorocentrum minimum*, *Olisthodiscus luteus* の垂直移動周期, 垂直移動パターン, 集積パターン等を現場と類似した状態に再現させることができた。マイクロコズム第2号機(高さ1.5m, 直径1m, 容積1m<sup>3</sup>, 内部ガラスライニング製)は、第1号機の性能をすべて踏襲しているのみならず、温度・塩分の成層化, 栄養塩の濃度勾配の固定化が可能であり、物理的・化学的要因の垂直構造を自然界により近付けた実験系での赤潮鞭毛藻の生理・生態的特性の解析が可能になった。

Abstract

Controlled Experimental Ecosystems (Microcosm-I, Microcosm-II) on land have been developed in order to study the mechanism of growth and accumulation of red tide flagellates.

In particular, the physiological and ecological characteristics of red tide flagellates have been investigated in detail under the temporal or spacial variations of physical and chemical factors (such as light, temperature or salinity stratification, convection, turbulence, nutrients, trace-metal, etc.).

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



*Prorocentrum minimum* and *Olisthodiscus luteus* were grown in pure culture using Microcosm-I (75 cm deep, 20 cm diam., volume of 23.6 l, made of glass and homogeneous in vertical direction) and the behavior of these organisms, such as the cycle of vertical migration and accumulation patterns, were found to be similar to those in the field.

The construction of Microcosm-II (1.5 m deep, 1 m diam., volume of 1 m<sup>3</sup>, stratified in temperature and salinity, coated on the inside with glass-lining) made it possible to study the physiological and ecological characteristics of red tide flagellates under temperature, salinity and nutrients distributions simulated to those in the field in terms of vertical structure.

## 1. はじめに

赤潮発生機構解明のための方法論としては従来より大別して二つの方法が用いられてきた。すなわち i) 実験室内で試験管もしくはフラスコを用いて、制御した環境因子下での培養を行いながら、dose-response の関係を求めることにより現象把握を行う方法と、ii) 現場での観測を行い、環境因子と発生機構との関連を求める方法がある。前者は計測も容易であり、藻類の生理学的な性質を知るのに有効である反面、系が極度に単純化されており、その知見をそのまま応用して現場の現象を説明することには困難があり、その解析にはおのずと限界がある。一方後者はあまりにも多くの環境要因(海象・気象)を同時に含んでおり、系の非線型的な複雑さに加えて、現場での計測の困難さのために発生機構の解明を阻んでいる。通常は両者を繰り返し行うことにより、たとえば実験室で得られた知見を現場で検証したり、その逆を行うことにより、より正確な現象把握を行う努力がなされているが、現実には実験室と現場での観察にはかなりの隔りがあることが指摘されている(Fogg, 1975)。この隔りを埋めるため、両者の中間に位置するものとしてマイクロコズムを用いた種々の制御実験生態系の実験が多く行われてきた。マイクロコズム(microcosm)は“対象とする一生物種あるいは生物群集を、生物過程の時間および空間スケールを満足し得るような制御環境条件下で維持し、物理的・化学的環境要因と生物過程とのかかわりあいを再現させる実験系”とすることができる。したがって環境条件の設定および設置場所に応じ、天然水中に設置する現場型(Strickland and Turhune, 1961; McAllister, et al., 1961; Anita, et al., 1963; Davies, et al., 1975; Gamble, et al., 1977; Menzel and Case, 1977; Case, 1978; Takahashi, et al., 1975; Takahashi and Whitney, 1977; Steele, et al., 1977; Goldman, 1962; Bodungen, et al., 1976; Smetacek, et al., 1976; Brockmann, et al., 1977; Grice, et al., 1977) と、陸上に設置する室内実験型(Pilson, 1978; Strickland, et al., 1969; Mullin and Evans, 1974; Evans, 1977; Conover and Paranjape, 1977; Okada and Sudo, 1978) の特殊条件培養のものまで多種多様である。

現場型および室内実験型のいずれのマイクロコズムにとっても根本的な問題は、その制御実験系で得られた結果が現実の対象とする海域を再現し得るかどうかにある。流動現象は相似則により、現場での流動特性を時間と長さのスケールを縮小しても再現させることが可能であるが、生物過程

においては現場での増殖・分裂過程を縮小された時間の中で再現させることは不可能である。従って物理過程による相似則により縮小された時間および空間スケール内で生物過程を再現させることは不可能であり、物理過程と生物過程の両者を同時に満足させるような相似則は存在しない。従って空間スケールを歪ませることのない現場型マイクロコズムの方が、空間的歪の大きい室内実験型マイクロコズムよりすぐれているように思えるかもしれない。

しかし一方現場型マイクロコズムでは、生態系を構成する trophic level, 光、温度、塩分、栄養塩等の垂直分布は、実験開始時においては系外の状態と等しく設定することはできる。しかし外壁により隔離され、流動による輸送、攪拌、混合などの影響が欠如しており、またマイクロコズム内への栄養塩もなく、基本的には閉鎖バッチ系となっており、現場海域における局所的に見た場合の開放連続系とは根本的に異なっており、時間の経過とともに系内の trophic level, 栄養塩等の垂直分布は現場海域とは異なったものとなってくる。特に系内のプランクトン組成が、現場海域のそれと異なってくる問題が生じている (Takahashi, *et al.*, 1975)。このように現場型マイクロコズムと言えども現場海域を再現することは不可能であることがわかる。

マイクロコズムの特質は、むしろ環境因子および諸過程を、制限された範囲の中で歪ませた形ではあってもマイクロコズム内に再現させ、それら環境因子と諸過程の相互作用を綿密に計測することによって、基礎的な因果関係の機構を解明する点にその有効性がある。その意味で再現させるべき環境因子および諸過程を正確に制御し、綿密な計測能力を持ち、“基礎モデル”としての性格を持った室内実験型マイクロコズムの方が、制御が困難な現場型マイクロコズムより、マイクロコズム本来の特質と有効性をより多く兼ねそなえていると言える。さらに赤潮現象の最大の特徴は、その構成プランクトン種がほとんどの場合に単一種であるということである。すなわち、赤潮現象はある生態系において生物的抑制の下で、ある種の占めている地位 — realized niche — が大きく、かつ生物的抑制のない下で理論的に占めうる最大の地位 — fundamental niche — に近似した状態にあると言える。その意味から、室内実験型マイクロコズムで単一種を扱い、その fundamental niche を解析することの赤潮現象解析に果たす役割は大きいといえるし、それをふまえて他種プランクトンとの混合培養を行うことで、その種の realized niche の実験的解析も可能であるという点に室内実験型マイクロコズムの特色がある。

特に赤潮現象をもたらすものとして鞭毛藻が最も重要であるが、鞭毛藻の示す垂直移動性は、表面への物理的集積作用のみならず、増殖に必要な栄養塩に富んだ底層に下降することができると同時に、光合成を行うに必要な有光層への上昇を行うことができ、そのことが増殖機構に重要な意味を持つと考えられる。このように赤潮発生機構の中で重要な位置を占める鞭毛藻の垂直移動に基づく増殖、集積等の素過程を温度・塩分成分層状態を形成することのできる“基礎モデル”の中で再現させ、さらに垂直移動を行わせつつ、鞭毛藻による栄養塩の uptake を正確に追跡することが可能な純粋培養系としての条件を満足し、連続培養系としての流入・流出を可能にする室内実験型マイクロコズムは、赤潮研究に重要な位置を占めていくものと思われる。本論文においては、海洋環境

研究室が開発を行った室内実験型マイクロコズムの概要と実験結果の一部について報告するとともに、マイクロコズム法の応用について論じる。

## 2. 室内実験型マイクロコズムの試作とその実験結果

“基礎モデル”の中で再現させる素過程として、i) 鞭毛藻による垂直移動現象とそれに伴う栄養塩のuptake, 増殖過程, ii) 温度成層が垂直移動現象および増殖過程に及ぼす影響, をとりあげ, その目的に適した室内実験型マイクロコズムの開発を行い実験を行ったので, その概要について論じる。

### 2.1 マイクロコズム第1号機

空間的歪みをもたせた室内実験型マイクロコズムにおいて, 鞭毛藻による垂直移動現象を現場海域に見られるようなパターンと同じ現象を再現できるかどうかをまず検証する必要がある。そのため試作された小型マイクロコズム第1号機の概略を図1に示す。本体は高さ75cm, 直径20cm, 容積23.6 l, のガラス製のもので, 垂直方向に5点サンプリング口がある。排水口は無菌的にメンブランフィルターを取り付け, または取りはずしの可能な系になっており, 目的に応じ連続培養, 透析培養が可能な装置となっている。さらに速度可変な上下攪拌装置により, 系内に既知の乱れ

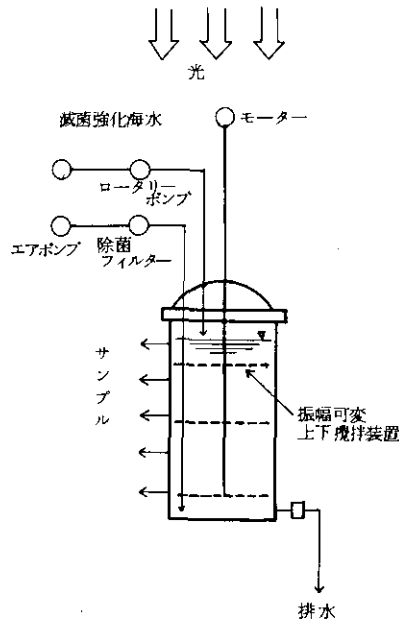


図 1 マイクロコズム第1号機の概略図

Fig. 1 Schematic view of Microcosm-I

(turbulence)を再現できるようになっており、鉛直拡散係数を現場海域と相似に保つことが可能になっている。マイクロコズム1号機を用いて *Prorocentrum minimum* (1978年6月に東京湾で採水単離)の垂直移動の実験を行った。栄養物添加海水 (f/2 培地)を用いて、除菌フィルターを通した空気で静かにバブリングを行いながら静置無菌培養を行った。周囲温度は $21 \pm 1^\circ\text{C}$ に制御され、照明には昼光色けい光燈を用い、照度 4,000lxの照明下で、明12時間、暗12時間の24時間周期である。図2に示したように対数増殖期にあたる14日目の株を用いたが、*Prorocentrum minimum*の相対的増殖速度定数は $K' = 0.1$ であり、三角フラスコ ( $K' = 0.22$ )や試験管 ( $K' = 0.24$ )での増殖速度よりも遅い。サンプリングは培養14日目の朝9時にばっ気を停止した後、2時間毎に表層、中層、底層の3層から行い、細胞数はノイバウエル血球計算盤を用いて数えた。図3に示すように *Prorocentrum minimum*の初期濃度は上中下層とも $1 \times 10^4$  cells/mlで一様であったが、垂直移動にもとづく集積の結果、実験開始から4時間後には表層の濃度は $3 \times 10^5$  cells/mlに達した。図4にはその表層への集積状態を示す。

さらに図3より、垂直移動は明もしくは暗となる時間よりも数時間先行することがわかる。明け方は8時の点燈よりも早く、6~7時に上昇が始まり、夕方は20時の消燈よりも早く18時頃に沈降が始まり、表層の個体数は明サイクルにもかかわらず著しく減少する。同様の結果は現場においても観察されている(藤田ら, 1977)。

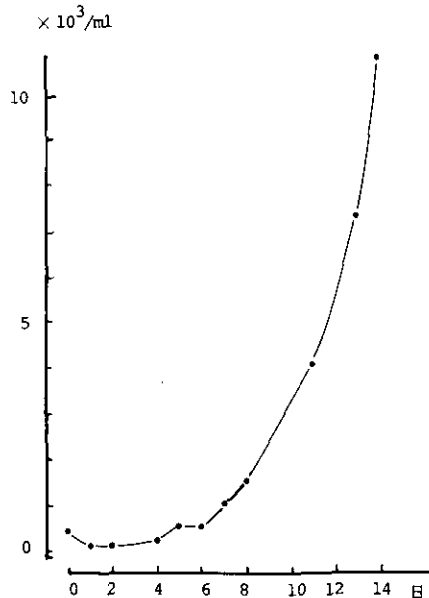


図 2 マイクロコズム第1号機での *Prorocentrum minimum* の増殖曲線

Fig. 2 Growth curve of *Prorocentrum minimum* in Microcosm-1

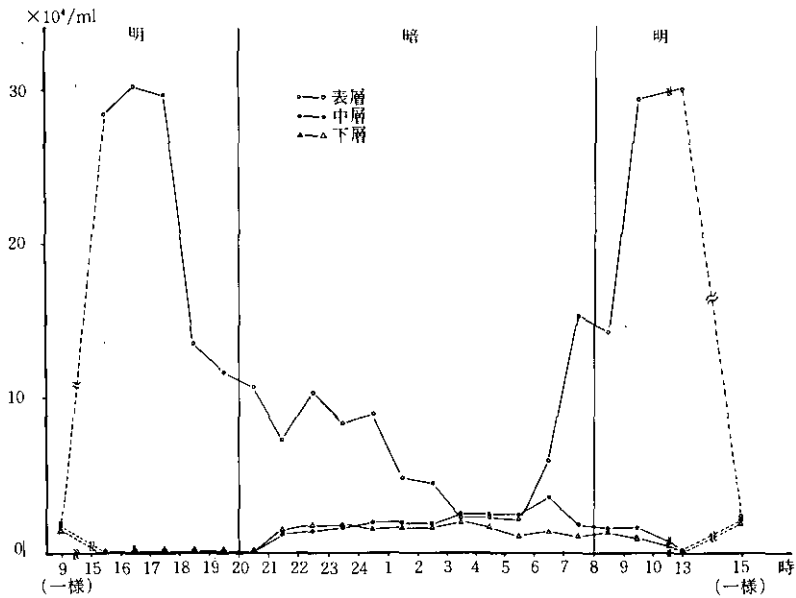


図 3 マイクロコズム第1号機内での *Prorocentrum minimum* の垂直移動(培養14～15日目)

Fig. 3 Vertical migration of *Prorocentrum minimum* in Microcosm-I

このようにマイクロコズム第1号機は高さ75cmと小さく、現場の水深とはまったく異なるにもかかわらず、少なくとも垂直移動の周期およびその垂直移動のパターン、集積された濃度等の生物過程は現場観測での結果と非常に類似しており、したがって他の物理的・化学的環境因子の空間的分布の歪みを考慮しないならば、このマイクロコズム第1号機によっても鞭毛藻の垂直移動に基づく集積特性およびそれに伴う増殖を見ることが可能であると言える。

## 2.2 マイクロコズム第2号機

マイクロコズム第1号機の基本性能を備え、さらに温度、塩分、栄養塩、光等の垂直分布を作成し、長期間の水質・生物量連続観測を可能にするような大容量のマイクロコズム第2号機を完成した。図5にその概略図を示す。八丈島沖の黒潮域より搬入した海水は、まずストレージタンク(容量 $10\text{m}^3$ 、内部はグラスライニング製)に貯蔵される。これより圧縮空気により溶解槽(容量200l)に送られ、ここで硝酸塩、リン酸塩等の栄養塩と混合される。これより定量ポンプで殺菌装置に送られる。ろ過滅菌法を用い、培養液を $0.22\mu$ のミリポアフィルターにより無菌化された培養液が培養槽本体に送られる。培養槽本体は高さ1.5m、直径1m、容積 $1\text{m}^3$ であり、内部はグラスライニング製となっており、壁面からの溶出は防止されている。培養槽本体、殺菌装置およびそれ以後の配管系統はすべて1気圧、 $150^\circ\text{C}$ の蒸気による蒸気滅菌が行えるようになっている。培養槽内の攪

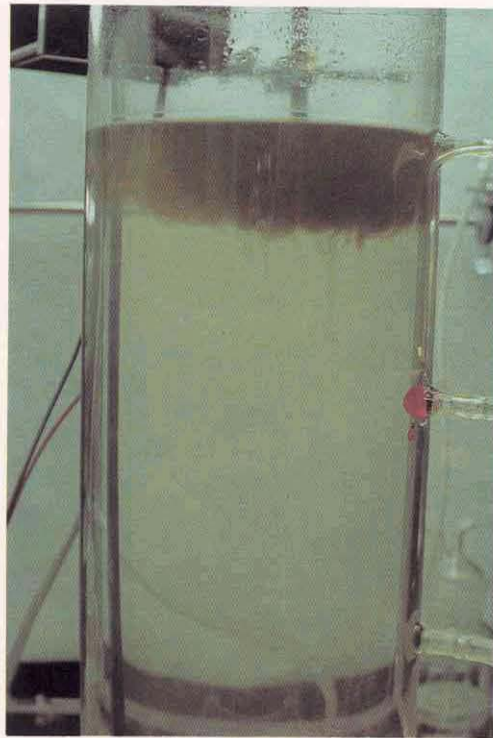


図 4 マイクロコスモス第 1 号機内での *Prorocentrum minimum* の集積  
Fig. 4 Accumulation of *Prorocentrum minimum* in Microcosm-I

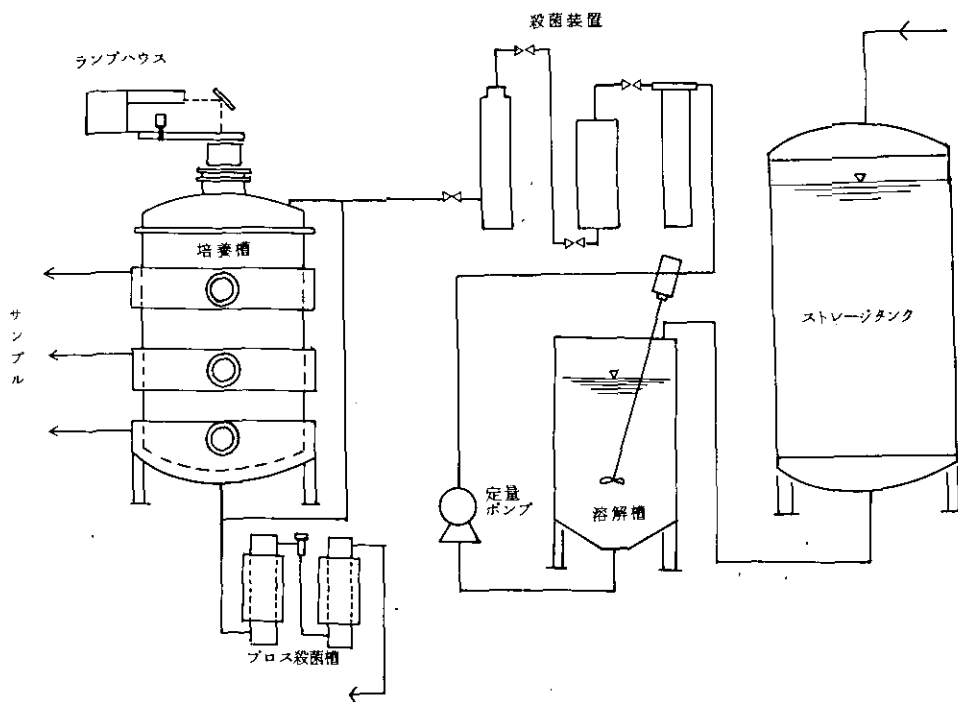


図 5 マイクロコズム第 2 号機の概略図  
Fig. 5 Schematic view of Microcosm-II

様は除菌フィルターを通した空気を吹き込ませることにより行い、機械的な攪拌装置は用いなかっ  
 た。培養槽より放流される培養液は蒸気殺菌槽（100°C、流量10 l/h、滞留時間2時間）を通し、  
 赤潮藻類を死滅させる。培養槽本体の上部に設置された人工太陽照明装置（2 kW, Xenon lamp）に  
 より、太陽光線に近い分光分布をもった光を照射し、種々のサイズの wire mesh をもった金網に  
 光を通すことにより、一定周期で明るさを8段階（200lx～20,000lx）に自動調光する。培養槽本  
 体の外側は三つのジャケット（幅35cm、厚さ5cm）により被われ、この中を温度調整槽にて設定  
 温度に制御された循環水（流量2～6 l/min）を通すことにより、培養槽本体の中に任意の垂直温  
 度勾配を設定することができる。初期の垂直温度分布を一様に設定した後、上層・中層・下層の設  
 定温度を時間とともに変化させ、培養槽内に設置した温度計により垂直水温分布をモニターした結  
 果を図6に示す。このように夏季の強い温度成層（上下層の温度差  $\Delta T \cong 10^\circ\text{C}$ ）から秋・冬期の密  
 度不安定による鉛直対流まで再現させることが可能である。その他塩分、PH、DO、栄養塩類を自  
 動計測し、連続モニタリングを行うことが可能である（図7）。

海洋性赤潮藻類の室内実験型大型マイクロコズムによる無菌培養は世界でもあまり例がなく、従  
 ってマイクロコズムの特性を解析する以前に、マイクロコズム内での大量培養の問題点を克服せね  
 ばならない。

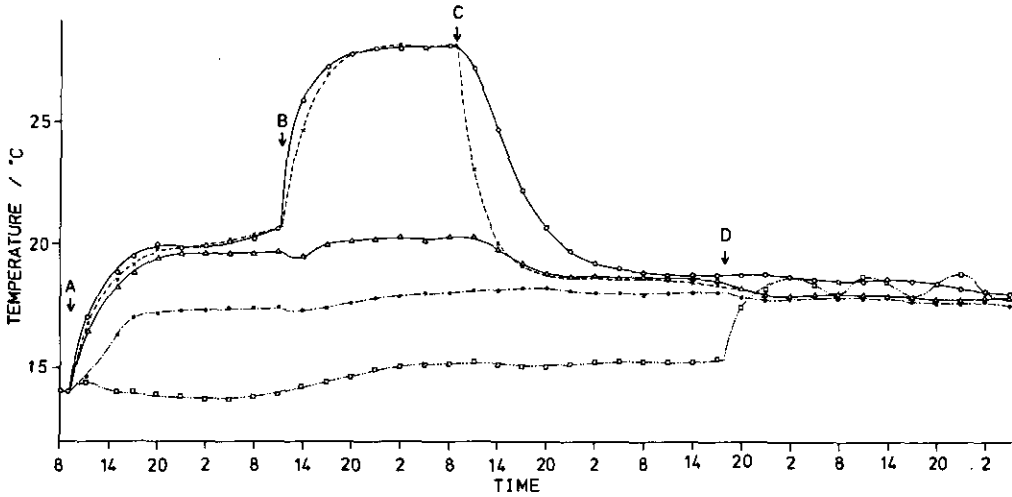


図 6 マイクロコズム第2号機内での上層, 中層, 下層での水温の時間変化  
 Fig. 6 Temporal variations of temperature at upper, middle and lower levels in Microcosm-II

Temperature setting (in centigrade)					
	A	B	C	D	
upper	14-16	19-21	29-31	19-21	14-16
middle	14-16	19-21	19-21	19-21	14-16
lower	14-16	14-16	14-16	14-16	19-21

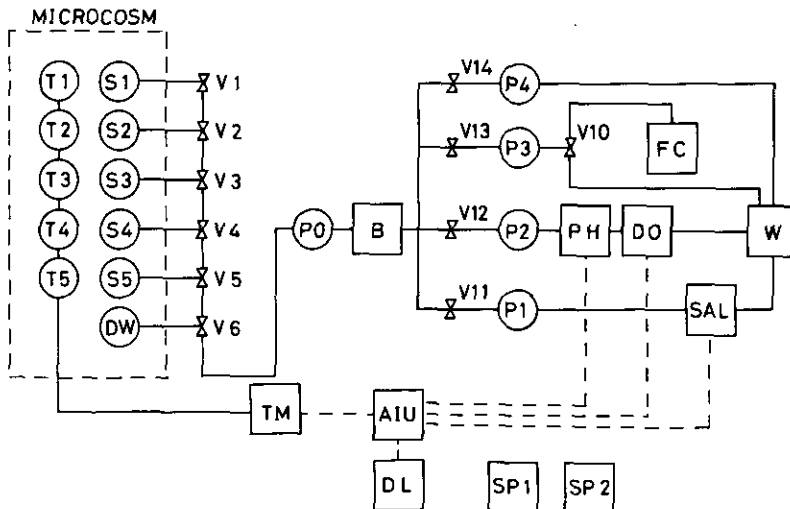


図 7 マイクロコズム第2号機内でのデータ自動計測システムの Flow Diagram  
 Fig. 7 A flow diagram of the automated system for processing data on the microcosm-II

T1-5; thermocouples, S1-5; sapling inlets, V1-14; valves, P0-4; pumps, FC; fraction collector, PH; PH meter, DO; DO meter, SAL; salinometer, TM; thermometer, D; distilled water for cleaning, W; waste water, AIU; analogue input unit, DL; data logger, SP; sequence programmers



大阪湾より採水・単離した *Olisthodiscus luteus* の無菌クローン株を、培養温度18~21°C、照明は12時間-12時間の明暗周期の条件下で、f/2-mediumにより静置無菌培養を行った。初期細胞数濃度は210 cells/mlと与え、最下層よりのばっ気による攪拌を加え内部を均一とし、サンプリングは上層で行い細胞数を計数した。70日間にわたって行った連続実験での増殖曲線を図8に示す。

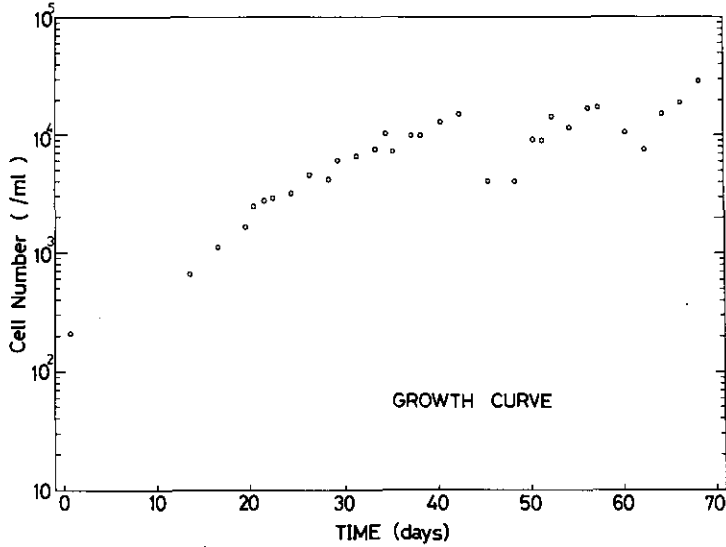


図 8 マイクロコズム第2号機における *Olisthodiscus luteus* の増殖曲線  
Fig. 8 Growth curve of *Olisthodiscus luteus* in Microcosm-II

培養開始後約1か月で細胞数濃度は $1 \times 10^4$  cells/mlに達し、その対数増殖期における増殖定数 $k$ は約 $0.1 \text{ d}^{-1}$ であり、フラスコ( $k = 0.68$ )での増殖速度が $2.8 \times 10^4$  cells/mlの時にばっ気を中止すると *O. luteus* は垂直移動による表層への集積を示し、図9に示すように、昼間表層に顕著なパッチ状分布を形成することが確認された。さらに表1にはその時の各層での細胞数濃度を示すが、表層での細胞数( $82.1 \times 10^4$  cells/ml)は均一な状態での細胞数( $2.8 \times 10^4$  cells/ml)に比較して一桁高い細胞数濃度を示しており、マイクロコズム第1号機による結果と同様の集積パターンを示すことが確認できた。

表 1 マイクロコズム第2号機内での各層の細胞数  
Table 1. Cell numbers at four levels in Microcosm-II

表層(パッチ状)	$82.1 \times 10^4$ cells/ml
上層	$7.0 \times 10^4$
中層	$5.0 \times 10^4$
底層	$0.0 \times$

### 3. 結 論

新しく開発された室内実験型制御実験生態系（マイクロコズム）の2例を示し、その実験系のフローシート、培養液組成、実験操作条件を提示するとともに、これらの実験装置を用いて、無菌培養による赤潮状態の再現を行い、赤潮藻類および環境因子の時間的・空間的分布の変動を定量的に解析し得る段階に達したことを示した。室内実験型マイクロコズムは、その空間的歪みのゆえに、その結果の解析には多くの制約が加えられている。しかし赤潮発生機構の解明にとって本質的であると考えられる種々の素過程、すなわち鞭毛藻の日周垂直移動の周期、上昇下降速度、集積パターン、等を現場海域におけるそれら素過程に類似した状態に再現させることが可能になり、精密な計測を連続的に行うことにより、物理的・化学的環境因子と生物過程との複雑な関連を解明することの可能性が示唆された。さらに一様混合している場合に比較して温度、塩分、照度、栄養塩類などの鉛直分布形状による赤潮藻類の増殖・集積パターンへの影響の定量化など、より複雑な環境因子との関連の解析を行うことにより、マイクロコズム法の改良を加えていく予定である。



図 9 マイクロコズム第2号機内での表層における*Olisthodiscus luteus*の集積状態  
Fig. 9 Accumulation of *Olisthodiscus luteus* at the surface in Microcosm-II

## 引用文献

- Anita, N.J., C.D. McAllister, T.R. Parsons, K. Stephens and J.D.H. Strickland (1963): Further measurements of primary production using a large volume plastic sphere. *Limnol. Oceanogr.*, 8, 166-183.
- Bodungen, K. von Bröckel, V. Smetacek and B. Zeitzschel (1976): The plankton tower. I. A structure to study water/sediment interactions in enclosed water column. *Mar. Biol.*, 34, 369-372.
- Brockmann, U.H., K. Eberlein, G. Hentzschel, H.K. Schöne, D. Siebers, K. Wandschneider and A. Weber (1977): Parallel plastic tank experiments with cultures of marine diatoms, *Helgoländer wiss. Meeresunters.*, 30, 201-216.
- Case, J. (1978): The engineering aspects of capturing a marine environment. CEPEX and others. Proc. Verbau.
- Conover, R.J. and M.A. Paranjape (1977): Comments on the use of a deep tank, *Helgoländer wiss. Meeresunters.*, 30, 105-117.
- Davies, J.M., J.C. Gamble and J.H. Steele (1975): Preliminary studies with a large plastic enclosure in Cronin, L.E. ed. *Estuarine Research*, vol. 1 p. 251-264, Academic Press, New York.
- Fogg, G.E. (1975): *Algal cultures and phytoplankton ecology*, 2nd ed. The University of Wisconsin Press 175.
- 藤田則孝・五十嵐輝夫・岩井拓郎・渡辺誠樹(1977): *Prorocentrum micans* の垂直移動について, 宮城県気仙沼水産試験場研究報告 3, 46-55.
- Gamble, J.C., J. M. Davies and J.H. Steele (1977): Loch Ewe bag experiment, 1974, *Bull. Mar. Sci.*, 27, 146-175.
- Goldman, C.R. (1962): A method of studying nutrient limiting factors in situ in water columns isolated by polyethylene film. *Limnol. Oceanogr.*, 7, 98-101.
- Grice, G.D., M.R. Reene, P. Koeller and D.W. Menzel (1977): The use of large volume, transparent, enclosed sea-surface water columns in the study of stress on plankton ecosystems, *Helgoländer wiss. Meeresunters.*, 30, 118-133.
- McAllister, C.D., T.R. Parsons, K. Stephens and J.D.H. Strickland (1961): Measurements of primary production in coastal sea water using a large-plastic sphere. *Limnol. Oceanogr.*, 6, 237-258.
- Menzel, D.W. and J. Case (1977): Concepts and design: Controlled Ecosystem Pollution Experiment. *Bull. Mar. Sci.*, 27, 1-7.
- Mullin, M.M. and P.M. Evans (1974): The use of a deep tank in plankton ecology. II. Efficiency of a plankton food chain. *Limnol. Oceanogr.*, 19, 902-911.
- Okada, M. and R. Sudo (1980): Microcosm system study of algal bloom formation. *J. Water Pollution Control Federation*, 52(5), 1029-1034.
- Pilsoň, M.E.Q. (1978): An adventure in studying marine ecosystems. *Maritimes*, 22, 12-15.
- Smetacek, V., V. von Bodungen, K. von Bröckel and B. Zeitzschel (1976): The plankton tower II. Release of nutrients from sediment due to changes in the density of bottom water. *Mar. Biol.*, 34, 373-378.
- Steele, J.H., D.M. Farmer and E.W. Henderson (1977): Mixing in large enclosures. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 34, 1095-1104.
- Strickland, J.D.H. and L.D.B. Turhune (1961): The study of in situ marine photosynthesis using a large plastic bag. *Limnol. Oceanogr.*, 6, 93-96.
- Strickland, J.D.H., O. Holm-Hansen, R.W. Eppley and R.J. Linn (1969): The use of a deep tank in plankton ecology; I. Studies of the growth and composition of phytoplankton crops at low nutrient levels. *Limnol. Oceanogr.*, 14, 23-34.
- Takahashi, M., W.H. Thomas, D.L. Seibert, J. Beers, D. Koeller and T.R. Parsons (1975): The replication of biological events in enclosed water columns. *Arch. Hydrobiol.*, 76, 5-23.

Takahashi, M. and F.A. Whitney (1977): Temperature, salinity and light penetration structures: Controlled ecosystem pollution experiment. Bull. Mar. Su., 27, 8-16.

高橋正征 (1979): 水質汚濁研究におけるマイクロコスムの利用. 水質汚濁研究, 2 (1), 12-19.

渡辺正孝・渡辺 信・合田 健 (1980): マイクロコスムによる赤潮発生機構解明へのアプローチ, 赤潮研究会編 "赤潮に関する近年の知見と研究の問題点". 日本水産資源保護協会.

2. 赤潮鞭毛藻類のシスト形成と発芽 I.  
*Scripsiella trochoidea* におけるシスト  
形成の誘起条件について

Encystment and Excystment of Red Tide Flagellates I.  
Induction of Encystment of *Scripsiella trochoidea*.

渡辺 信<sup>1</sup>・渡辺正孝<sup>1</sup>・福代康夫<sup>2</sup>

Makoto M. WATANABE<sup>1</sup>, Masataka WATANABE<sup>1</sup> and Yasuwo FUKUYO<sup>2</sup>

要 旨

赤潮鞭毛藻 *Scripsiella trochoidea* (syn. *Peridinium trochoideum*) のシスト形成を誘起する条件を実験的に解析した。本種のシスト形成に最適の温度、照度はそれぞれ 25°C, 900 lx ~ 10,000 lx であり、いづれも増殖の最適条件と一致している。又栄養塩欠乏海水への各種栄養塩の添加実験から、シスト形成は窒素、磷のいずれかが欠乏状態となった時誘起され、また炭酸塩はシスト形成を促進すること、それに対してビタミンは阻害的に働いていることがわかった。以上の結果から、本種のシスト形成は、細胞分裂はほとんど行われぬが光合成は十分行いうる条件で誘起されることが示唆された。

Abstract

Encystment was established for a culture of *Scripsiella trochoidea* (strain 2-10-8). Optimum temperature for encystment was 25°C and optimum light intensity was 900 to 10,000 lx.

These conditions coincided with those for growth of this strain. Encystment was induced when the cells were inoculated into either nitrogen- or phosphate-depleted medium. Encystment was accelerated by the addition of sodium bicarbonate and inhibited when vitamins were added.

The results indicated that encystment of this species occurred when cells were able to photosynthesize but were unable to divide.

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  
Water and Soil Environment Division, The National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
2. 北里大学水産学部 〒022-01 岩手県気仙郡三陸町越喜来鳥頭 160 番の 4  
School of Fisheries Sciences, Kitasato University, Sanriku-cho, Kesen-gun, Iwate 022-01, Japan.

## 1. はじめに

鞭毛藻による赤潮は直接的には、その生活史の段階で運動性を有す *flagellated stage* により引き起こされるが、多くの赤潮鞭毛藻は *neritic* なプランクトンであり、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游泳期の *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 (cf. Wall and Dale, 1968a, b, 1969; Wall *et al.*, 1967; Fukuyo *et al.*, 1977; Harland, 1979; Harland and Hill, 1979; Damassa, 1979; Reid, 1977).

赤潮現象にシストが直接的に関与していないのは確かではあるが、閉鎖系浅海域という生態系の中での *neritic* な種のトータルな適応を考慮すると、シストの果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。その役割としては、1) シストが運動性を持たないが為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、時にはかなり長期間)、同一場所での *repopulation* を行いうること、2) 一般にシストには多かれ少なかれ休眠期が存在するが為に *repopulation* 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) 休眠期にあたるシストは *damage* や *predation* に対する抵抗性が強い為に *species* の分散・移行 (*dispersion and migration*) 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* をおこし、結果として集団を *heterozygotic* な状態に保ち、適応力を保持・強化する役割を果していること、があげられよう (cf. Wall, 1975; Prakash, 1967; Steidinger, 1975).

かようにシストが赤潮形成に対して潜在的に持っている重要性は非常に高いにもかかわらず、これらの役割について具体的に解析した研究は Anderson and Wall (1978), Anderson and Morel (1979), Anderson (1980) 等の報告を除くとほとんどみあたらない。また彼等の研究も主にシスト発芽の研究であり、シスト形成・発芽のサイクルが赤潮発生・消滅とどのように関連しているのかまだ不明のままである。

以上に述べた背景を基礎に我々は赤潮発生に対するシストの役割を具体的に明らかにすることを目的として、各種の赤潮鞭毛藻についてのシスト形成・発芽サイクルの研究を実験系と野外の双方で進めている。本論文では、過去1969年と1980年に大阪湾で大発生し赤潮を形成した *Scrippsiella trochoidea* (syn. *Periodinium trochoideum*) (図1) のシスト形成を誘起する条件について実験的に解析した結果を報告する。

## 2. 材料と方法

本実験に用いた材料は、1979年6月瀬戸内海播磨灘で採取した海水より単離し、滅菌海水によるマイクロペット洗浄法で無菌的にクローン培養した株、2-10-8である。本種は f/2 培地

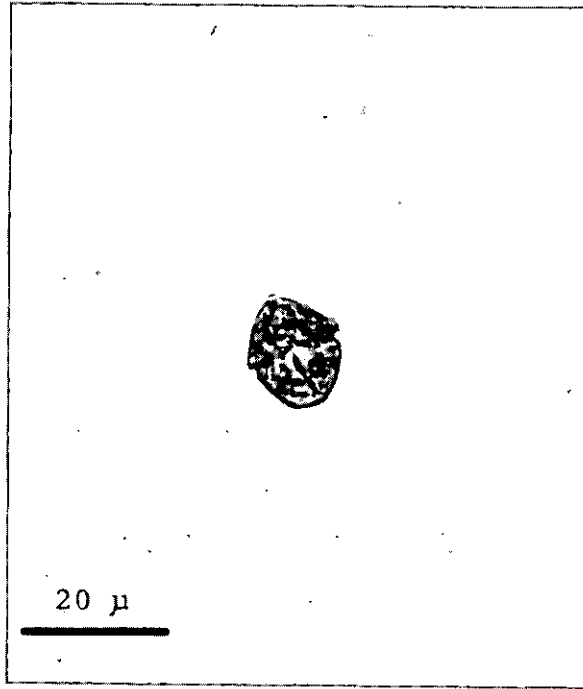


図 1 *Scripsiella trochoidea* の栄養細胞  
Fig. 1 Vegetative cell of *Scripsiella trochoidea*



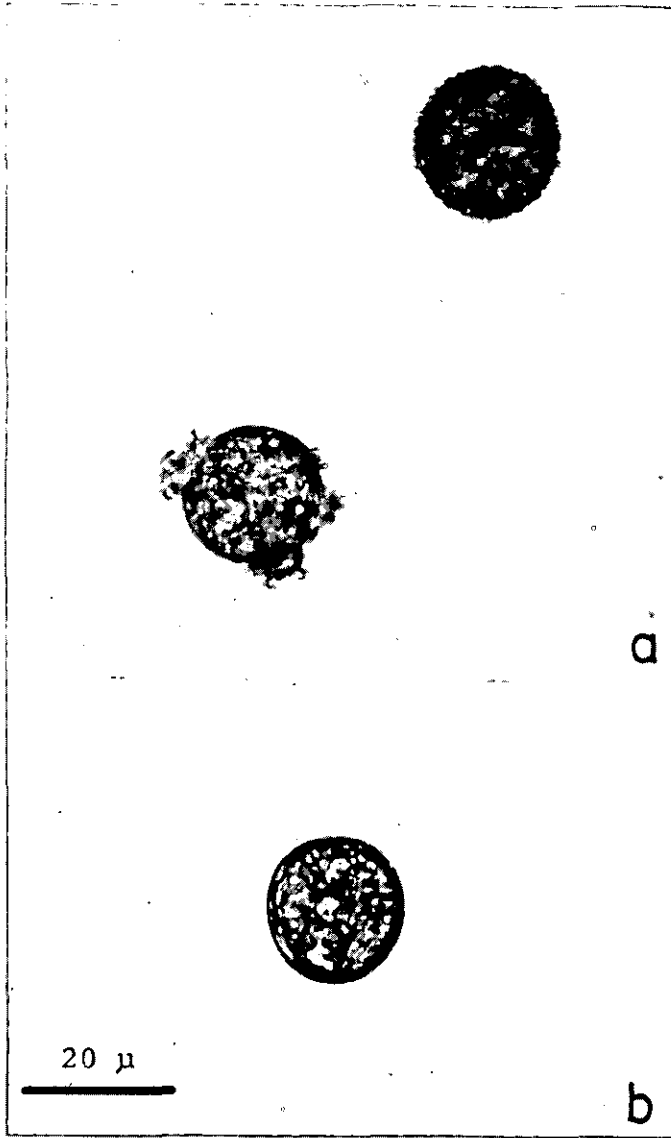


図 2 *Scripsiella trochoidea* のシスト

(a): 棘を有すシスト

(b): 棘のないシスト

Fig. 2 Cysts of *Scripsiella trochoidea*

(a): Cysts with spine

(b): Cysts with no spine

(McLachlan, 1973)でよく増殖し、culture ageが進むにつれシストが約5% (17 days culture) みうけられるようになる。

シスト形成誘起実験にて使用された基本培養液として栄養塩欠乏海水 1lに炭酸水素ナトリウム100 mgを溶解した培地-WM培地を用い、ネジ蓋付き試験管 (15mm × 150mm) 各々に3ml加え、オートクレーブ処理 (120°C, 1kg/cm<sup>2</sup>, 20min) で滅菌した。実験では f/2 培地で17日間前培養した本藻の懸濁液を約 600cells/mlとなるようWM培地に植えつけ、シスト形成に関する温度・照度・各種栄養塩の影響を調べた。光源には昼光色けい光灯を用い、16時間明期8時間暗期の光条件で行った。

シスト形成率の測定にはカウンティングチャンバー (1ml) を使い、栄養細胞とシストの数をもとめ、また後述するように本種のシストは有性生殖の結果できた休眠接合子 (hypnozygote) であると考えられる為、下式に従ってシスト形成指数 (C・I) とした。

$$C \cdot I (\%) = \frac{2Nc}{N + 2Nc} \times 100$$

$N$  : 栄養細胞の数/ml

$Nc$  : シストの数/ml

### 3. 結果

#### 3.1 シスト形成の時間変化

本種のシストは、ほとんど球形で棘を有す厚膜におおわれ (図2(a)), 細胞質内に red body を観察することができるが、中には部分的に棘を有するものや全く棘をもたないシステムも観察される (図2(a)(b))。図3は温度25°C, 照度 10,000lx 下で栄養塩欠乏培地, WM培地に f/2 培地で17日間前培養したものを接種した後の全細胞数 ( $N_a = N + 2Nc$ ) とシスト形成率 (C・I) の時間変化を示したものである。この条件下での細胞数の変化  $dN_a/dt$  は定常期に入るまで対数的に増加していることが示されている。シスト形成率の増加  $dCI/dt$  は摂取後4日目から確認され、その後6日目にかけ  $dCI/dt$  は最も大きく、7日目~16日目にかけてほぼ一定の率と数で (細胞数  $N_a$  は定常期の為) 形成されていき、16日目以降は定常期に入る。このようなシスト形式の変化が、配偶子の交配 → シスト形成にいたる有性生殖過程それぞれの量的時間変化とその過程を完遂する時間と密接に関連していると推察されるが、後述するように、本種のシスト形成に至る有性生殖過程を完全に把握していない為に、図5に示したシスト数と形成率の時間変化に関して詳細に解析することはできない。この問題は有性生殖過程の完全な把握とともに今後に残された課題であるといえる。

この実験結果から明らかなのは、WM培地接種後16日目からシスト形成率は定常期に入っているということであり、従って後述するシスト形成に及ぼす環境因子に関する実験は、培地接種後16日目以降のサンプルで比較・検討した。

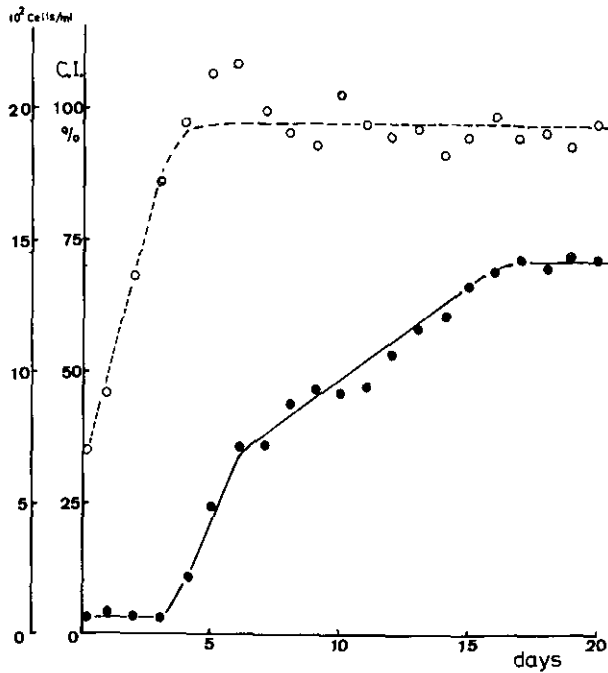


図 3 WM培地接種後の細胞数とシスト形成指数の変化

Fig. 3 Changes of cell number and cyst formation index following to the inoculation to WM medium

### 3.2 シスト形成に及ぼす環境因子

WM培地は基本的には非汚染域(黒潮海水)の海水に炭酸源を加えた培地であるため、増殖の為の強化海水培地と比べて、窒素、リン、ビタミン、微量元素は欠乏した状態となっている。この培地を基本としてシスト形成に及ぼす環境因子の影響をしらべた結果を図4~19に示す。

温度に関しては、 $25^{\circ}\text{C}$ でC・Iは約70%と最も高く、 $10\sim 15^{\circ}\text{C}$ の低温では10~15%と低いC・Iを示す(図4)。このシスト形成に関する温度の効果は増殖に対する効果と非常に類似した効果を示すことは注目に値する(図5)。

照度に関して、 $9001\text{x}$ 以上で最大のC・Iを示し、暗黒下では全くシストは形成されない(図6)。温度の時と同様に、照度においてもシスト形成に及ぼす効果は増殖に対するそれと類似した効果を示している(図7)。

シスト形成に関する各種栄養塩の効果に関しては、図8に示した組みあわせで実験を行い、また添加した各栄養塩の濃度は $f/2$ 培地の構成濃度に従った。また、同実験での細胞の増殖量については図9に示している。その結果、海水に炭酸塩添加、即ちWM培地ではコントロール海水に比べてシスト形成が高まり、またWM培地に $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 、 $f/2$ メタルをそれぞれ単独に添加してもシスト形成には影響はないが、ビタミンの添加でC・Iは低くなり、 $\text{NO}_3\text{-N}$ と $\text{PO}_4\text{-P}$ の混合

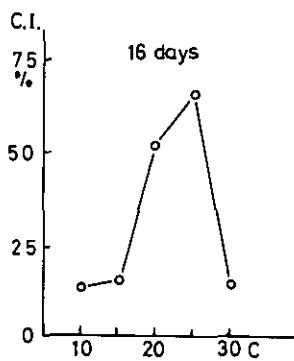


図 4 シスト形成に及ぼす温度の効果  
Fig. 4 Effect of temperature for the encystment

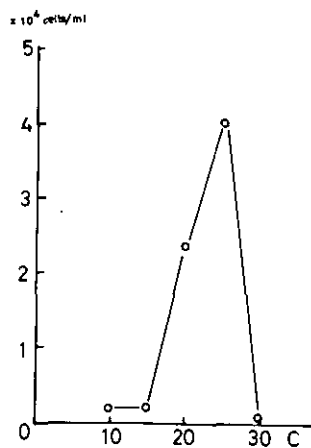


図 5 増殖に及ぼす温度の効果  
Fig. 5 Effect of temperature for the growth

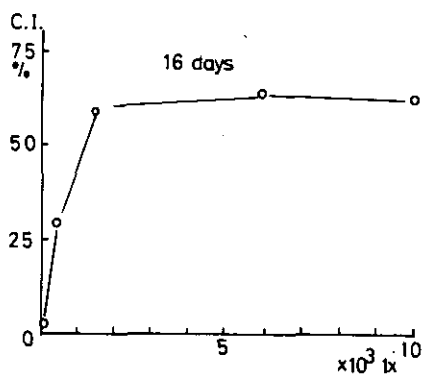


図 6 シスト形成に及ぼす照度の効果  
Fig. 6 Effect of light intensity for the encystment

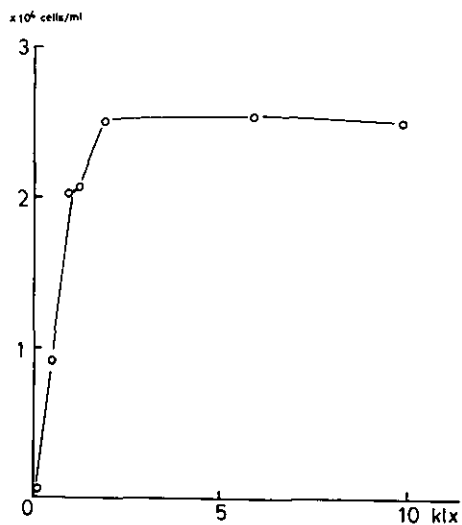


図 7 増殖に及ぼす照度の効果  
Fig. 7 Effect of light intensity for the growth

添加と f/2 培地の添加 ( $\text{NO}_3\text{-N}$ ,  $\text{PO}_4\text{-P}$ , f/2 メタル, ビタミンの混合添加) では C·I は著しく低くなる。また、細胞の増殖量は、コントロール海水 (生海水) に比べて  $\text{HCO}_3$ ,  $\text{NO}_3\text{-N}$ , ビタミン, f/2 メタルの添加の場合変化せず,  $\text{PO}_4\text{-P}$  添加で約 1.5 倍,  $\text{NO}_3\text{-N}$  と  $\text{PO}_4\text{-P}$  の混合添加を f/2 培地添加では著しく増殖量は高まった。このことより使用した海水はリン制限下にあ

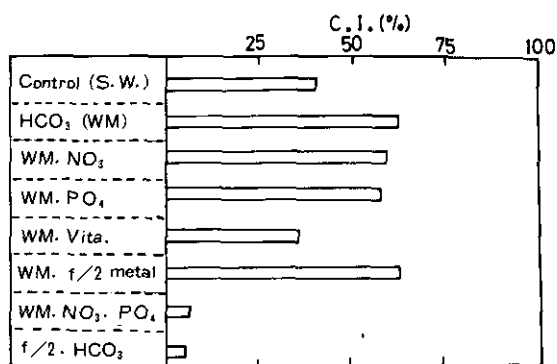


図 8 シスト形成に及ぼす各種栄養塩の効果  
 Fig. 8 Effects of various sorts of nutrient salts for the encystment

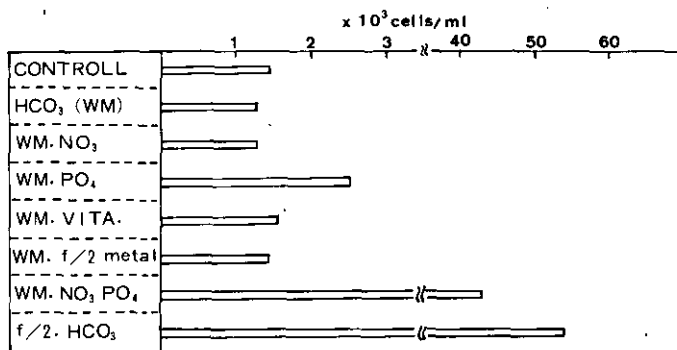


図 9 増殖に及ぼす各種栄養塩の効果  
 Fig. 9 Effects of various sorts of nutrient salts for the growth

ったと結論される。シスト形成と増殖量に及ぼす各種栄養塩の効果を総合すれば、シスト形成は窒素、リンのいずれかが欠乏状態になった時誘起され、また炭酸塩はシスト形成を促進すること、それに対してビタミンは阻害的に働いていることがわかる。

#### 4. 考察

かつて *dinoflagellates* においては、有性生殖はほとんど知られていなかったが (Fritch, 1935; Graham, 1951; Smith, 1938), 最近になって、いくつかの種において有性生殖の確認がなされてきている (Stosch, 1965, 1972, 1973; Cao Vien, 1967, 1968; Zingmark, 1970; Tuttle and Loeblich, 1975; Pfiester, 1975, 1976, 1977; Turpin *et al.*, 1978; Pfiester and Skvarla, 1979, 1980; Walker and Steidinger, 1979)。ほとんどの場合、有性生殖は N-free の条件によって誘起され、運動性を有す *planozygote stage* と不動の *hypnozygote stage* が、そして *homothallism* (同株交配型) の種と

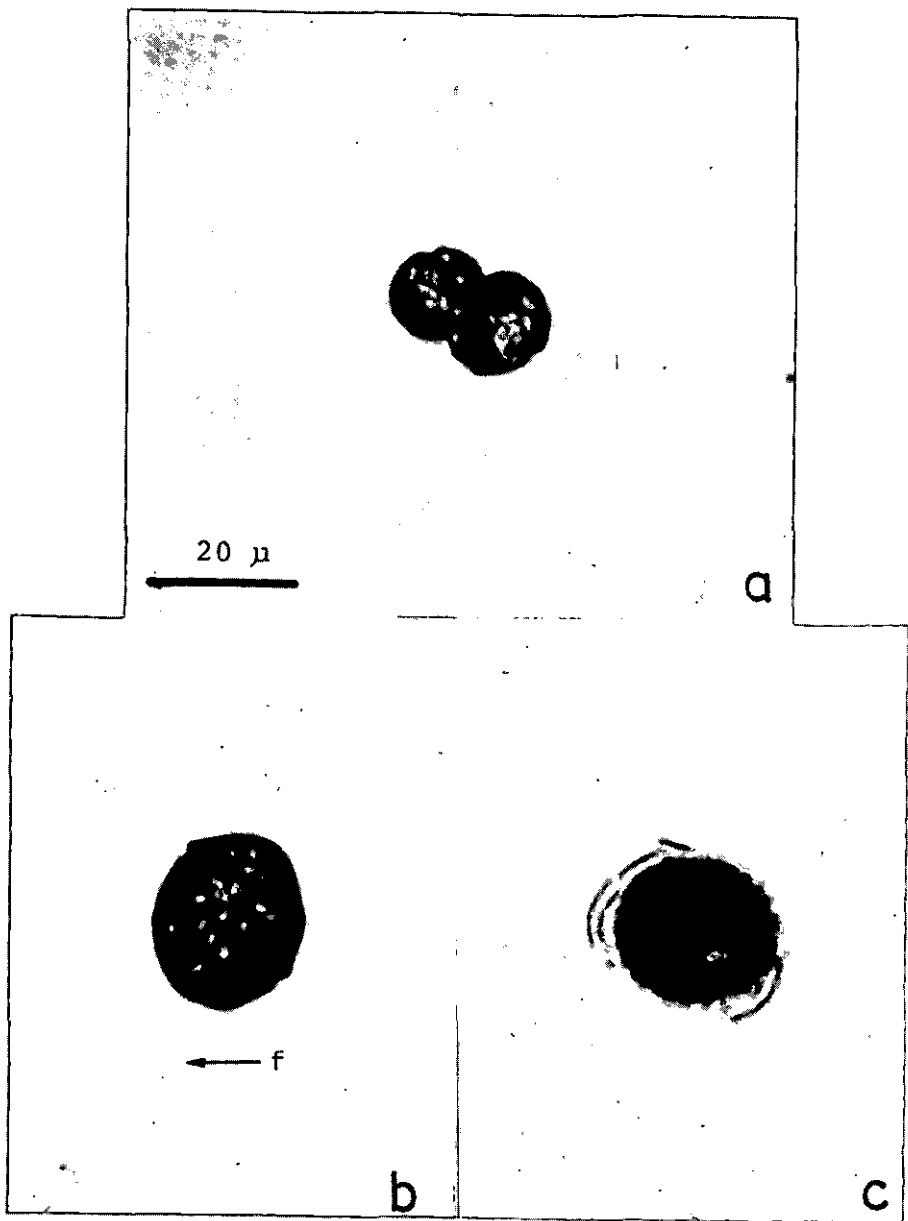


図 10 *Scrippsiella trochoidea* の有性生殖過程  
 (a): 細胞の融合  
 (b): 黒ずんだ, サイズの大きい運動性細胞。f: 鞭毛  
 (c): 殻を脱いでいる状態のシスト

Fig. 10 Processes of sexual reproduction of *Scrippsiella trochoidea*  
 (a): Fusion of two cells  
 (b): Motile, large sized cells with dark color. f: flagellum  
 (c): Cyst taking off thecal cover.

heterothallism (異株交配型) の種が確認されている。

本種 *Scrippsiella trochoidea* (syn. *Peridinium trochoideum*) の培養における増殖の過程でシストが形成されることが、Braarud (1958) によって報告されて以来、Sousa e Silva (1962), Wall *et al.* (1970) により、その形態的な特徴は詳細に観察されており、また Wall *et al.* はシストの発芽の為の温度条件・休眠期間についてあきらかにしている。しかし、本種のシスト形成が果して有性生殖過程を通じておこるのかどうか、またシスト形成を誘起する因子は何か、まだ不明のところが多い。

本種のシスト形成過程に関して、我々が観察した限りでは、シストが形成される前に細胞の融合 (図10(a)) と1本ないしは2本の縦鞭毛と時として red body を有するサイズの大きい黒ずんだ細胞が確認されている (図10(b))。この細胞をWM培地に1個ずつ単離すると早いものでは2~3時間後に動きがとまり、その後殻をぬぎすて (図10(c))、本種特有のシスト (図2) が形成される。また、福代 (未発表) は、大船渡湾より分離した *S. trochoidea* の場合、大サイズの黒ずんだ細胞のほとんどは red body を有しており、また核は2核の状態であることを明らかにしている。以上のことから考えると、この細胞は図10(a)に示した細胞 (配偶子) の融合により、即ち有性生殖によって形成された運動性接合子 (planozygote) であり、従ってその後に形成されるシストは休眠接合子 (hypnozygote) であると考えられる。運動性接合子とみなされる細胞のほとんどは1本の縦鞭毛しかなく、2本の縦鞭毛が確認された細胞は少い。1本しか縦鞭毛のない細胞でもそれ以外の特徴に関しては運動性接合子の特徴を有しており、WM培地に分離するとすみやかに本種特有のシストに移行することから、恐らくは2本の縦鞭毛のうち1本が機械的に消失したものと思われる。これらの事実と論議をまとめれば本種のシストは、配偶子形成 → 配偶子の融合 → 運動性接合子 (2縦鞭毛 → 1縦鞭毛) → 休眠接合子 (シスト) という有性生殖過程で形成されると推察することができる。

以上のように本種のシストは有性生殖の結果形成された hypnozygote であると判断され、またその過程がクローン内で遂行されることから同株交配型 (homothallism) の種類と結論することができる。

一般に、微細藻類の有性生殖に影響を及ぼすと考えられている環境条件として栄養塩濃度、光、温度が指摘されている (Ichimura, 1971, 1973; Watanabe and Ichimura, 1978a, b)。渦鞭毛藻では有性生殖の存在の発見が比較的新しく、かつ少ない為、その誘起条件の解析は十分になされていない。前述したように、最近の一連の渦鞭毛藻の有性生殖の研究では窒素欠が重要な因子とされているが、海産の渦鞭毛藻 *Gonyaulax tamarensis* では、野外の底泥に多くの休眠接合子が存在し、またプランクトンサンプル中にも運動性接合子が多くみられている (Anderson and Wall, 1978; Turpin *et al.*, 1978; Anderson, 1980) にもかかわらず、培養中では窒素欠下においても有性生殖誘起率は1%以下ときわめて低い (Turpin *et al.*, 1978) ことから、窒素源だけでない他の因子の関与が示唆される。

本種, *S. trochoidea* の場合, 窒素欠乏状態ないしは, リン欠乏状態が有性生殖を誘起する要因であるが, それに付け加えて炭酸塩濃度, 温度, 照度が重要な因子となっている。後者の因子がシスト形成にもっとも効果的に働く範囲は増殖にも適した範囲であり, 温度に関しては通常報告されているような急激な温度変化により有性生殖が誘起される (von Stosch, 1973; Drebes, 1966; Werner, 1971) という事はない。従って, この結果は, 窒素ないしはリン欠乏状態で増殖がほとんど起こらない条件下でも光合成は活発に行いうる条件, 即ち炭素固定が活発に行いうる条件がシスト形成に関連していることを示している。細胞の増殖がほとんど起こらない状態でも, 光合成を行いうる温度・光・CO<sub>2</sub>濃度の条件下では炭素固定が起こっていることは報告されており (Fuhs et al., 1972; Lehmann et al., 1975; Holm-Hansen, 1970), 従って体内の炭素量は窒素やリンと比較して非常に多くなっている。微細藻類において, 栄養増殖から有性生殖への切りかえが生体内のいかなる因子の変化に基づくものがまだ十分に検討されていないけれど, Lewin (1956), Sager and Granik (1954), Starr (1964) 等は細胞内の CN比が高まる事が有性生殖にきりかわる一因子であると指摘している。本種の場合, 有性生殖への切りかわりが上述した体内の CN比に基づいているのかどうか, 体内の元素比の解析を行っていない為論議することはできないが, 少なくとも本種のシスト形成が, 細胞分裂はあまり行われないうる光合成は十分行いうる条件により誘起されるという結果は, 上記で論議した体内の元素比が有性生殖への切りかわりに関与している可能性を示唆しているものと考えられる。

## 5. おわりに

従来の赤潮研究の中で, シスト形成・発芽のサイクルの研究は明確な形で位置づけられて進められてはなかった。その大きな原因は, 水界生態学があまりにも生産生態学的手法にかたよりすぎ, 生態系の中でのトータルな種の適応という問題に対する解析が陸生生物のそれと比べて立ち遅れているというところにあると考えられる。本報告で, 今まで不明であった赤潮藻類種の encystment の条件を一種ではあるが実験的に解明しえたことは, 今後の excystment の解析に十分寄与するものであるといえるし, 赤潮発生機構の中でのシスト形成・発芽サイクルの果す役割がより具体化されていくであろう。

## 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.
- 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.



- Braarud, T. (1958): Observations on *Peridinium trochoideum* (Stein) Lemm. in culture: Cell division and size variation; Encystment. *Norw. J. Bot.*, **6**, 39-42.
- Cao Vien, De. M. (1967): Sur l'existence de phénomènes sexuels chez un *Peridinien libre*, l'*Amphidinium Carteri*. *C.R. Acad. Sci. ser. D.*, **264**, 1006-1008.
- Cao Vien, De.M. (1968): Sur la germination du zygote et sur un mode particulier de multiplication vegetative chez le *Peridinien libre Amphidinium Carteri*. *C.R. Acad. Sci. ser. D.*, **267**, 701-703.
- Damassa, S.P. (1979): Eocene dinoflagellates from the coastal belt of the Franciscan complex, northern California. *J. Paleontology*, **53**, 815-840
- Drebes, G. (1966): On the life history of the marine plankton diatom *Stephanopyxis palmeriana* (Grev.) Grunow. *Helgolander wiss. Meeresunters.*, **13**, 101-114.
- Fritsch, F.E. (1935): The structure and reproduction of the algae, vol. 1. Cambridge Univ. Press, London, 791
- Fuchs, G.W., S.D. Demmerle, E. Canelli and M. Chen (1972): Characterization of phosphorus limited algae (with reflections on the limiting nutrient concept), p. 113-132. In G.E. Likens (ed.), *Nutrients and eutrophication*. Am-Soc. Limnol. Oceanogr. Spec. Symp. 1.
- Fukuyo, Y., J. Kittaka and R. Hirano (1977): Studies on the cysts of marine dinoflagellates-I. *Bull. Plankton Soc. Japan*, **24**, 11-18.
- Graham, H.W. (1951): *Pyrrophyta*, p. 105-118. In G. Smith (ed.), *Manual of Phycology*. Chronica Botanica Co., Waltham, Mass.
- Harland, R. (1979): *Agerrasphaera* nov. gen., an *Eisenackia*-like dinoflagellate cyst from the thanet sands (Paleocene) of southeast England. *Rev. Palaeobot. Palynology*, **28**, 27-35.
- Harland, R. and J. Hill (1979): A reappraisal of the cainozoid dinoflagellate cyst "*Hystrichosphaeridium*" *Choanophorum* Deflandre et Cookson 1955. *Rev. Palaeobot. Palynology*, **28**, 37-45.
- Holm-Hansen, O. (1970): ATP levels in algal cells as influenced by environmental conditions. *Plant & Cell Physiol.*, **11**, 689-700.
- Ichimura, T. (1971): Sexual cell division and conjugation-papilla formation in sexual reproduction of *Closterium strigosum*. *Proc. VIIth Inter. Seaweed Symp.*, 208-214.
- Ichimura, T. (1973): The life cycle and its control in some species of *Closterium*, with special reference to the biological species problems. Dr. thesis, Univ. of Tokyo.
- Lehman, T.J., 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.
- Lewin, R.A. (1956): Control of sexual activity in *Chlamydomonas* by light. *J. Gen. Microbiol.*, **15**, 170-185.
- McLachlan, J. (1973): Growth media - marine. In *Handbook of Phycological Methods. Culture Methods and Growth Measurements*, ed. J.R. Stein: Cambridge Univ. Press., 25-51.
- Pfiester, L.A. (1975): Sexual reproduction of *Peridinium cinctum* f. *ovoplanum* (*Dinophyceae*). *J. Phycol.*, **11**, 259-265.
- Pfiester, L.A. (1976): Sexual reproduction of *Peridinium willei* (*Dinophyceae*). *J. Phycol.*, **12**, 234-238.
- Pfiester, L.A. (1977): Sexual reproduction of *Peridinium gatunense* (*Dinophyceae*). *J. Phycol.*, **13**, 92-95.
- Pfiester, L.A. (1980): Comparative ultrastructure of vegetative and sexual thecae of *Peridinium limbatum* and *Peridinium cinctum* (*Dinophyceae*). *Amer. J. Bot.*, **67**, 955-958.
- Pfiester, L.A. and J.J. Skvarla (1979): Heterothallism and thecal development in the sexual life history of *Peridinium volzii* (*Dinophyceae*). *Phycologia*, **18**, 13-18.
- Prakash, A. (1967): Growth and toxicity of a marine dinoflagellate *Gonyaulax tamarensis*. *J. Fish. Res. Board Canada.*, **24**, 1589-1606.
- Reid, P.C. (1979): *Peridiniacean* and *Glenodiniacean* dinoflagellate cysts from the british isles. *Nova Hedwigia*

XXIX. 18. XI; 429-463.

- Sager, R and S. Granik (1953): Nutritional studies with *Chlamydomonas reinhardi*. Ann. N.Y. Acad. Sci., 56, 831-838.
- Smith, G.M. (1938): Cryptogamic Botany. Algae and Fungi. McGraw-Hill, N.Y. Vol. 1. 545 pp.
- Souse e Silva, E. (1962): Some observation on marine dinoflagellate cultures. III. *Gonyaulax spinifera* (Clap. & Lach) Dies., *Gonyaulax tamarensis* Leb. and *Peridinium trochoideum* (Stein) Lemm. Notas Estud. Inst. Biol. Mar., Lisb, 26, 1-24.
- Starr, R.C. (1964): The culture collection of algae at Indiana University. Amer. J. Bot., 51, 1013-1044.
- Steidinger, K.A. (1975): Basic factors influencing red tides. p. 153-162. In Toxic dinoflagellates blooms. Proc. Int. Conf. (1st). Mass. Sci. Technol. Found.
- Stosch, J.A. von. (1965): Sexualitat bei *Ceratium cornutum* (Dinophyta). Naturwissenschaften, 5, 52-53.
- Stosch, J.A. von. (1972): La signification cytologique de la "cyclose nucleaire" dans le cycle de vie des Dinoflagelles. Soc. Bot. France, Mem., 1972, 201-212.
- Stosch, J.A. von. (1973): Observations on vegetative reproduction and sexual life cycles of two freshwater dinoflagellates, *Gymnodinium pseudopalustre* Schiller and *Woloszynskia apiculata* sp. nov. Br. Phycol. J., 8, 104-134.
- Tuttle, R.C. and A.R. III. Loeblich (1975): Sexual reproduction and segregation analysis in the dinoflagellate *Cryptocodinium cohnii*. J. Phycol., 11 (supple), 15
- Turpin, D.H., P.E.R. Dobell and F.J.R. Taylor (1978): Sexuality and cyst formation in pacific strains of the toxic dinoflagellate *Gonyaulax tamarensis*. J. Phycol., 14, 235-238.
- Wall, D. (1975): Taxonomy and cysts of red-tide dinoflagellates. p. 249-255. In Toxic dinoflagellate blooms. Proc. Int. Conf. (1st). Mass. Sci. Technol. Found.
- Wall, D., R.R.L. Guillard and B. Dale (1967): Marine dinoflagellate culture from resting spore. Phycologia, 6, 83-86.
- Wall, D. and B. Dale (1968a): Modern dinoflagellate cysts and evolution of the *Peridinales*. Micropaleontology, 14, 265-304.
- Wall, D. and B. Dale (1968b): Quaternary calcareous fossil dinoflagellate (*Calciadinellidae*) and their natural affinities. J. Paleont., 42, 1395-1408.
- Wall, D. and B. Dale (1969): The "histrichosphaerid" resting spore of the dinoflagellate *Pyrodinium bahamense*. Plate, 1906. J. Phycol., 5, 140-149.
- Wall, D., R.R.L. Guillard, B. Dale, E. Swift and N. Watabe (1970): Calcitic resting cysts in *Peridinium trochoideum* (Stein) Lemmermann, an autotrophic marine dinoflagellate. Phycologia, 9, 151-156.
- Watanabe, M.M. and T. Ichimura (1978a): Biosystematic studies of the *Closterium peracerosum-strigosum-littorale* complex. II. Reproductive isolation and morphological variation among several populations from the northern Kanto area in Japan. Bot. Mag. Tokyo, 91, 1-10.
- Watanabe, M.M. and T. Ichimura (1978b): Biosystematic studies of the *Closterium peracerosum-strigosum-littorale* complex. III. Degrees of sexual isolation among the three population groups from the northern Kanto area. Bot. Mag. Tokyo, 91, 11-24.
- Walker, L.M. and K.A. Steidinger (1979): Sexual reproduction in the toxic dinoflagellate *Gonyaulax monilata*. J. Phycol., 15, 312-315.
- Werner, D. (1971): Der Entwicklungscyclus mit Sexulaphase bei der marinen Diatome *Coscinodiscus asteromphalus*. III. Differenzierung und Spermatogenese. Arch. Microbiol., 80, 134-146.
- Zingmark, R.G. (1970): Sexual reproduction in the dinoflagellate *Noctiluca miliaris* Suriray. J. Phycol., 6, 122-126.

### 3. 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

#### Encystment and Excystment of Red-Tide Flagellates

#### II. Seasonality on Excystment of *Protogonyaulax tamarensis* and *P. catenella*

福代康夫<sup>1</sup>・渡辺 信<sup>2</sup>・渡辺正孝<sup>2</sup>

Yasuwo FUKUYO<sup>1</sup>, Makoto M. WATANABE<sup>2</sup> and Masataka WATANABE<sup>2</sup>

#### 要 旨

有毒渦鞭毛藻 *Protogonyaulax tamarensis* と *P. catenella* のシストの発芽における季節性を調べ、游泳細胞の天然での発生状況と比較して、シストの休眠期間について解析した。実験材料には大船渡湾で採集したシストを用い、游泳細胞の発生状況についても同湾での調査資料を参考にした。*P. tamarensis* のシストは5～11月にはごくわずかししか発芽しなかったが、12～4月には高い発芽率を示した。大船渡湾で *P. tamarensis* の発生は2～6月に認められているため、その発生の前半期間あるいはその1～2か月前よりシストから多く発芽し、シストとしての休眠期間は約半年と考えられた。一方、同湾に9～10月に出現する *P. catenella* は、シストから6月に一時的に高率で発芽したが、他の時期は10～20%とほぼ一定の発芽率で、特に季節性は認められなかった。

#### Abstract

Seasonality of excystment of the two toxic dinoflagellates, i.e. *Protogonyaulax tamarensis* and *P. catenella*, has been analyzed using cysts isolated from the bottom muds in Ofunato Bay, Iwate Prefecture, during May in 1980 and April in 1981.

Vegetative cells of *P. tamarensis* have been found in February to June and those of *P. catenella* have been found in September to October every year.

In our experiments a high level of excystment of *P. tamarensis* (30 to 60%) was observed in December to April. Therefore it was found that resting periods of hypnocyst of this species were about six months (from July to December).

Also constant excystment of *P. catenella* at the level of 10 to 20% was observed. We found no seasonality of excystment in the case of this species.

1. 北里大学 水産学部 〒022-01 岩手県気仙郡三陸町越喜来字烏頭 160 の 4  
School of Fisheries Sciences, Kitasato University, Sanriku-cho, Kesen-gun, Iwate 022-01, 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  
Water and Soil Environment Division, The National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

## 1. はじめに

渦鞭毛藻類には、その生活史の一時期にシストとなって鞭毛を失ない、海底に沈降後休眠生活 (resting stage) を送る種が知られている。このような種は、ある期間経つとシストから発芽 (excystment) して、再び浮游生活 (planktonic stage) に戻り増殖 (blooming) するため、例えば赤潮においては発生源 (seed) あるいは他海域への伝播の原因として重要視されている (飯塚・入江, 1972; Steidinger, 1975; Anderson and Wall, 1978; その他)。このシストの休眠や発芽の条件についての研究は、生理面では生活史の中でシストの持つ意味を、生態面ではプランクトンの増殖、遷移の機構をとく鍵となると考えられているが、単一種のシストを実験に利用できるだけ大量に得ることが困難なため、海産種では Wall and Dale (1969) や Anderson and Wall (1978), Anderson and Morel (1979), Anderson (1980) により *Pyrodinium bahamense*, *Protogonyaulax tamarensis* など少数種について行われているのみで、更に多くの研究例を集積しなければならない現状にある。

本研究はこのような観点から、岩手県大船渡湾で毎年発生し、水産上・食品衛生上看過できない程高濃度の貝類毒化を引き起こし問題となっている貝毒生産プランクトン *Protogonyaulax tamarensis* と *P. catenella* の発生機構、特にシストの発芽時期について調査を行ったものである。実験は昭和

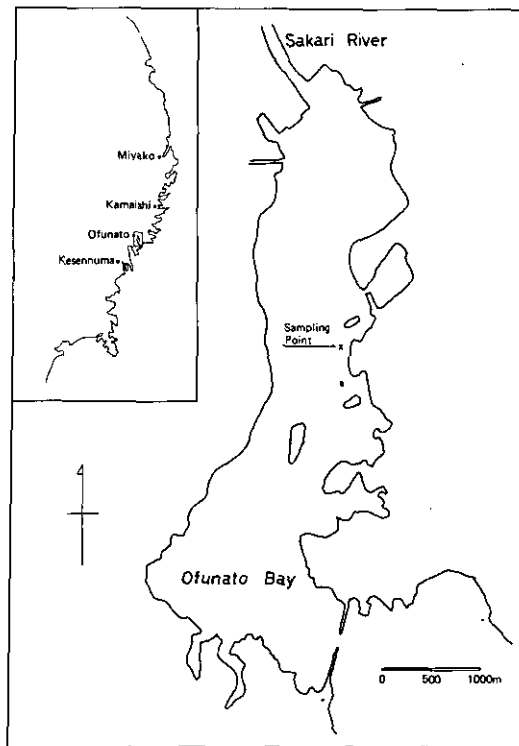


図 1 岩手県大船渡湾

Fig. 1 Ofunato Bay, Iwate Prefecture

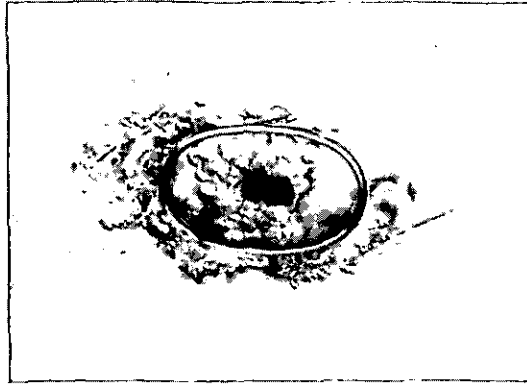


図 2 *Protogonyaulax tamarensis* の休眠シスト

Fig. 2 Hypnocyte of *Protogonyaulax tamarensis*

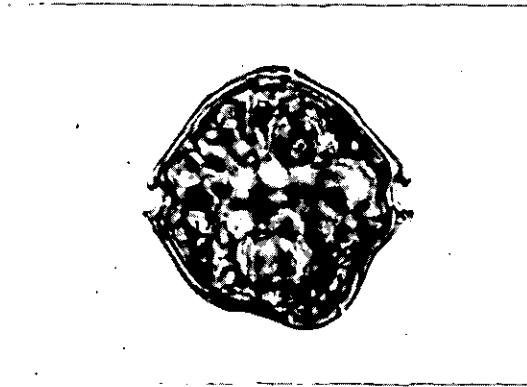


図 3 *Protogonyaulax tamarensis* の栄養細胞

Fig. 3 Vegetative cell of *Protogonyaulax tamarensis*

56年12月まで継続して実施する予定であり、ここでは55年5月から56年4月までの結果をとりまとめて報告する。

## 2. 材料と方法

シストの採集・保存：昭和55年5月より毎月下旬に大船渡湾の清水地先（図1）で海底泥を柱状に採取し、2cmまでの表層部を分取して超音波照射・節分画法（福代，1980a）に基づきシストを濃縮した。次いで、顕微鏡下でこの濃縮液から毛細管でシストを一個体ずつ拾い上げ培養実験に供した。シストは採泥日に処理を行い培養を開始したが、低温保蔵による影響を調べる実験においては4℃の冷蔵庫に採泥日の状態で未処理のまま保存した。

シストの培養：ヌンク製24穴マルチディッシュの各穴にSWII（Iwasaki, 1961）培地を1ml入れ、シストを1個体ずつ110～130個体接種した。接種後は13～16℃、700～1,200lx連続照明下で培養を行い発芽、増殖の有無を毎日約2週間にわたり観察した。

種の査定：*Protogonyaulax tamarensis*と*P. catenella*のシスト（図2）は外見上は全く区別がつかない。そのためシストを培養し、発芽増殖したプランクトンの鎧板の特徴を調べて、腹孔のある株を*P. tamarensis*（図3）、ない株を*P. catenella*と判定した（福代，1980b）。発芽したが全く増殖せずに死んだものもあり、このような株では鎧板を形成していないことが多く、種を決定できないため“種名不詳”とした。

## 3. 結果

### 3.1 毎月の発芽状況（図4）

5月には113個体のシストを培養したところ36個体が発芽し、発芽率は31.9%で、*P. tamarensis* 1個体と*P. catenella* 8個体の増殖が認められた。6月には発芽率が48.2%に上昇し、*P. catenella*が多く発芽増殖した。7、8、9月はそれぞれ22.9、27.1、23.8%と低い発芽率であったが、10月には一時的に*P. tamarensis*が多くなり発芽率も58.8%と最高を示した。しかし11月には22.4%と7～9月の状態に戻った。12月から翌年1981年4月にかけては*P. tamarensis*が多数発芽して増殖するようになり、発芽率も1月からは45.2、48.3、58.3、47.5%と連続して高い値を示した。

*P. tamarensis*のみに注目すれば、この種は発芽に著しい季節性が認められた。1980年5月から11月までは、10月に一時的に多くはなっているものの、他の月には培養した約120個体のシストの中で発芽したものは0～3個体と極めて少なく、特に7月は1個体も発芽増殖しなかった。しかし、12月から翌年4月には発芽数が多くなり、そのうち1～4月には毎月30個体以上のシストに発芽増殖が認められた。これに対して、*P. catenella*の発芽には季節性が認められず、6月の57個体を除けば毎月5～20個体発芽増殖していた。

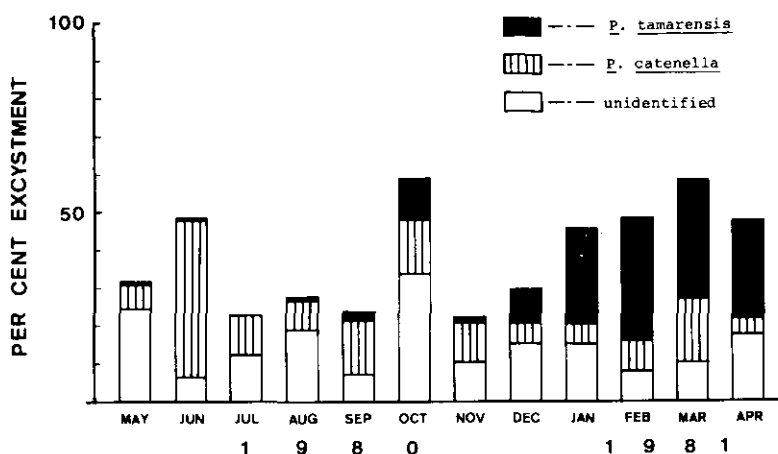


図 4 *Protogonyaulax* 属のシストの発芽成功率

Fig. 4 Excystment success of *Protogonyaulax* hypnocyst from fresh sediment sample

*P. tamarensis* と *P. catenella* のシストの培養日数と発芽数との関係を図5に示した。*P. tamarensis* では発芽数の多い1980年1～3月には培養を開始してから3～6日後に発芽数のピークが現れた。*P. catenella* も全期間を通じて培養開始後4～7日間に多くが発芽した。

### 3.2 1か月間低温保存後の発芽状況

1980年5, 7, 9, 11月と1981年1, 3月の底泥を採集後1か月間4°Cの暗所に保存した後、約120個体のシストを拾い上げて培養を行った。図6Aには採集後直ちに培養を行った場合の発芽シスト数の経日変化、Bには1か月保存後のそれを示した。両者を比較すると、5月と7月では発芽シスト数は増加したが、1月と3月には反対に減少しており、また発芽のピークは保存後では保存前より遅れる傾向が見られた。

### 3.3 4, 6か月間低温保存後の発芽状況

1980年5月に採集した底泥を、4°Cの暗所に4か月および6か月間保存した後培養実験を行った。その発芽状況を保存前と1か月間保存の結果と併せて図7に示した。1か月間と6か月間の保存では発芽シスト数に増加したが4か月間保存では減少していた。また発芽のピークも1か月間保存と同様、4か月と6か月のものでは数日遅れて現れた。

## 4. 考察

シストの発芽には、シストが形成されてからの休眠期間と発芽時の環境水温の二つの要因が働く

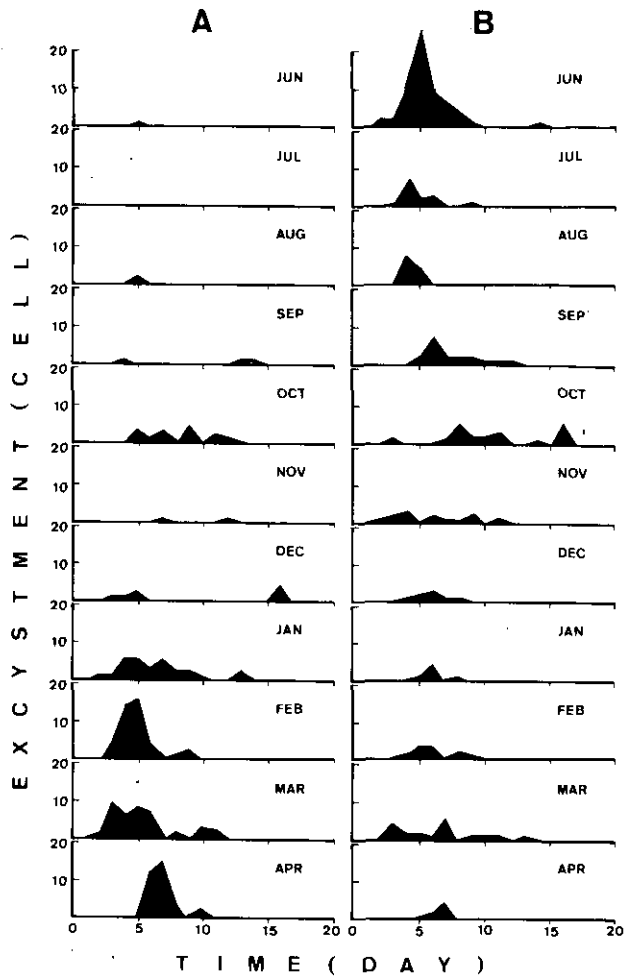


図 5 *Protogonyaulax tamarensis* (A) と *P. catenella* (B) のシストの培養日数と発芽数の関係

Fig. 5 Time series of excystment success of hypnocyist A: *Protogonyaulax tamarensis*. B: *P. catenella*.

(Huber and Nipkow, 1923)。この休眠期間には、渦鞭毛藻類も菌類や細菌類と同様にシストの原形質内容物の熟成(ripening)が行われ(Wall, 1971), 原形質の無色化や赤色体 (red body) の出現などの現象から浮游期とは異なった物質代謝経路の存在が推定される。それ故、一定の休眠期間はシストの発芽にとって必要不可欠であり、実際 Huber and Nipkow (1923) は *Ceratium hirundinella* で 6 週間、また Wall and Dale (1969) も *Pyrodinium bahamense* で同じ 6 週間という期間を認めている。

実験に用いたシストを採集した大船渡湾では、ほぼ毎年春から初夏にかけて *P. tamarensis*, 初秋



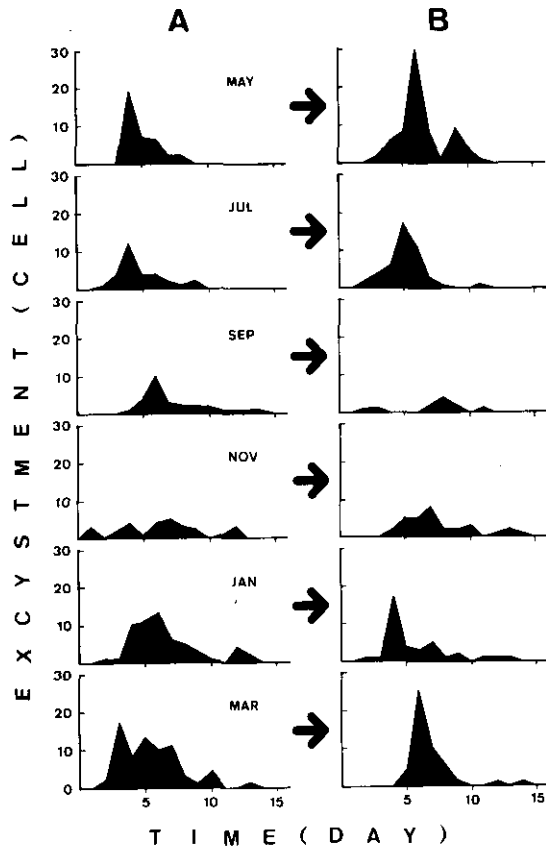


図 6 採集直後のシスト(A)と1か月間4°Cで暗所に保存したシスト(B)の培養日数と発芽数の関係の比較

Fig. 6 Comparison of time series of excystment success between hypnocyts from fresh sediment sample and ones stored in the dark at 4°C about one month.

には *P. catenella* が発生している (岩手県, 1980)。1980年から1981年にかけても例年と同様な発生経過であり, 1980年は2月下旬から *P. tamarensis* が現れ, 3月と6月中旬の2度発生の盛期があり, 7月上旬には全く姿を消してしまった。9月には *P. catenella* が少量現れ, 10月中旬に一時多くなったがすぐ消滅してしまっ (福代, 未発表)。1981年にも *P. tamerensis* が2月下旬から出現し, 4月に大量に増殖した後, 5月現在も少量認められる (福代, 未発表)。

大船渡湾におけるプランクトン期の *P. tamarensis* のこのような出現推移を考えると, *P. tamarensis* のシストの発芽数の季節性は極めて理にかなったものと言える。即ち, 1980年の発生盛期の3月あるいは6月にシストとなった *P. tamarensis* は10~11月頃まで発芽せずに約半年間休眠し, その期間をすぎて1981年1月から徐々に発芽し始め, その発芽した *P. tamarensis* が増殖して2月からブ

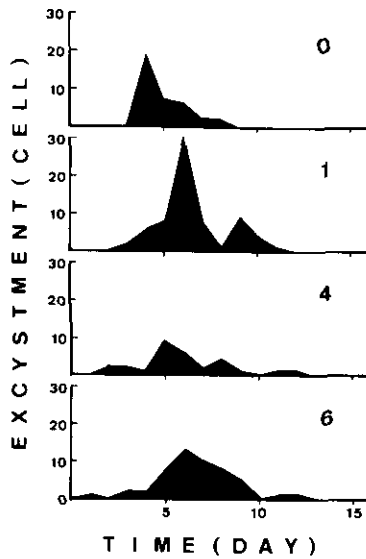


図 7 採集直後のシスト(0)と1か月(1), 4か月(4), 6か月(6)間4°Cの暗所で保存したシストの培養日数と発芽数の関係の比較

Fig. 7 Comparison of time series of excystment success of hypnocyist from fresh sediment sample (0), collected 30th May and ones stored in the dark at 4°C about one (1), four (4), and six months

ランクトン中に認められるという訳である。ただ、このように *P. tamarensis* の休眠期間は6か月であり、前述の *C. hirundinella* や *P. bahamense* の6週間よりかなり長い。これは種の特性的の違いかもしれない。

プランクトンとして大船渡湾に9~10月に現れる *P. catenella* は、*P. tamarensis* のようなシスト発芽とプランクトン出現の両時期の明確な対応はみられず、6月を除いて毎月10~20%のコンスタントな発芽率を示していた。6月には57%の発芽率を示したが、その後3か月間本種の栄養細胞は確認されず、栄養増殖に関与していないと判断することができる。以上の点を考慮すると、*P. catenella* の周期的発生サイクルは、シストの休眠により制御されているのではなく発芽・増殖に関与する環境因子(特に水温)の季節的変動により制御されていると思われる。

近年 Anderson and Morel (1979) は、*P. tamarensis* が春と秋の2回増殖する海域において、天然で採集したシストの発芽率の時期的な変化とプランクトンの発生傾向を調べ、春群は水温の下降、秋群は水温の上昇がそれぞれの群のシストの発芽の引き金になるとした。大船渡湾においても種は異なるが春と秋の2回 *Protogonyaulax* が増殖する点で似た環境にあり、各々の増殖期が水温の最低期と最高期にあたることから、*P. tamarensis* は明らかに水温下降が発芽の引き金となっていると思われる。

von Stosch (1967)は *Ceratium cornutum* で、シストを3°Cという低温下に長期間保存することにより、休眠期間が短縮されることを報告している。更に *Woloszynskia apiculata* と *Gymnodinium pseudoplaustre* では4週間の低温保存が効率よい同調的発芽に効果のあることを認めている (von Stosch, 1973)。しかし、本実験においては1か月間あるいは4か月間、6か月間4°Cに保存した場合でも発芽率の著しい上昇は認められず、発芽のピークが保存前より遅れ、わずかに発芽時期が同調的になる傾向がみられた。これは、*Protogonyaulax tamarensis* が4°Cでも発芽しうること (福代, 1980c) と関係があると思われるが、*Protogonyaulax tamarensis* の発芽には低温保存は影響しないと判断しうる。

## 5. 謝 辞

本研究の一部は文部省科学研究費及び三島海雲記念財団の助成金で行った。ここに謝意を表する。

## 引 用 文 献

- Anderson, D. M. 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. M. 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. M. (1980): Effects of temperature conditioning on development and germination of *Gonyaulax tamarensis* (Dinophyceae) hypnozygotes. *J. Phycol.*, **16**, 166-172.
- 福代康夫 (1980a): 渦鞭毛藻類のシスト。赤潮マニュアル, I. 試料の採集・処理・観察法, 安達六郎・入江春彦編, (赤潮研究会分類班), 40-46.
- 福代康夫 (1980b): 有毒プランクトン, 赤潮に関する近年の知見と研究の問題点。赤潮研究会編集委員会編 (日本水産資源保護協会), 46-53.
- 福代康夫 (1980c): *Protogonyaulax* 属シスト培養実験, 昭和54年度全国総点検調査報告書 (岩手県), 28-30.
- Huber, G. and F. Nipkow (1923): Experimentelle Untersuchungen über die Entwicklung und Formbildung von *Ceratium Hirundinella* O. Fr. Müll. *Flora, Jena*, **116**, 114-215.
- 飯塚昭二・入江春彦 (1972): 大村湾の発生環境と発生要因。内湾赤潮の発生機構, 花岡 資編 (日本水産資源保護協会), 35-57.
- Iwasaki, H. (1961): The life-cycle of *Porphyra tenera* in vitro. *Biol. Bull.*, **121**, 173-187.
- 岩手県 (1980): 昭和54年度全国総点検調査報告書 (大船渡湾麻ひ性貝毒毒化機構究明調査), 15-20.
- Steidinger, K. A. (1971): Implication of dinoflagellate life cycles on initiation of *Gymnodinium breve* red tides. *Environ. Letters*, **9**(2), 129-139.
- von Stosch, H. A. (1967): Dinophyta. in Ettl, H. et al. *Vegetative Fortpflanzung, Parthenogenese und Apogamie bei Algen*, *Handb. Pflphysio.*, **18**, 626-636.
- von Stosch, J. A. (1973): Observations on vegetative reproduction and sexual life cycles of two fresh water dinoflagellates, *Gymnodinium pseudoplaustre* Schiller and *Woloszynskia apiculata* sp. nov., *Br. Phycol. J.*, **8**, 104-134.
- Wall, D. and B. Dale (1969): The "hystrichosphaerid" resting spore of the dinoflagellate *Pyrodinium behamense*, Plate 1906. *J. Phycol.*, **5**, 140-149.
- Wall, D. (1971): Biological problems concerning fossilizable dinoflagellates, *Geoscience and Man*, **3**, 1-15.

#### 4. 赤潮藻類の増殖量に及ぼす環境因子の影響

##### I. *Chattonella antiqua*

#### The Effect of Various Environmental Factors on the Growth Yield of Red Tide Algae.

##### I. *Chattonella antiqua*

中村泰男<sup>1</sup>・渡辺 信<sup>1</sup>・渡辺正孝<sup>1</sup>

Yasuo NAKAMURA<sup>1</sup>, Makoto M. WATANABE<sup>1</sup> and Masataka WATANABE<sup>1</sup>

#### 要 旨

播磨灘に発生する赤潮 *Chattonella antiqua* (ホルネリア) の増殖量に及ぼす環境因子の影響を検討した。培養の基礎培地としては新たに開発した人工海水H培地を用いた。その結果以下の諸点が明らかになった。

1) 22.5°Cで最大増殖が得られる。好適温度範囲は20~25°Cと狭く、28°C以上ではほとんど増殖しない。

2) 好適塩分範囲が14~34%と広く、27%で最大増殖量が得られる。

3) 増殖量と培地に添加したリンの関係から、minimum cell quota が 0.4~0.5 pmol/cell と見積もられた。

4) 窒素源としてNO<sub>3</sub><sup>-</sup>、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>、尿素のいずれも利用できるが、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>では80 μM、尿素では150 μM (as N) で急激な阻害が現れる。20 μM以下の低窒素濃度ではNO<sub>3</sub><sup>-</sup>、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>のいずれを窒素源として用いても増殖量に差は認められない。また、minimum cell quota は7~8 pmol/cell であり、藻体内のP:N比は重量比で1:(7~8)となる。

5) キレート剤EDTAの存在下(80 μM)、Fe<sup>3+</sup>の添加(>3.5 μM)は増殖を著しく促進するが、Mn<sup>2+</sup>の添加(0~40 μM)では促進効果はみられない。また、7 μMの鉄の存在下、0.02 μMの銅の添加が増殖を促進する。

6) ビタミン類ではB<sub>12</sub> (>10 ng/l) のみが増殖を促進する。

7) グルコースの添加によっても増殖は促進されず、また完全暗所ではたとえグルコースが存在しても成育はみられない。

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

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

## Abstract

*Chattonella antiqua*, the organism which causes heavy red tide on the inland sea of Seto, Japan, was grown axenically on the artificial medium newly developed in our lab. The effect of various environmental factors on the growth yield of *C. antiqua* was examined. The optimum conditions for the growth of *C. antiqua* were obtained when temperature was 20 to 25°C, pH was greater than 8.0 and salinity was 14 to 34‰. This organism utilizes nitrate, ammonium and urea as nitrogen source, while the growth was inhibited when ammonium level was greater than 80 μM and urea level was greater than 150 μM. Addition of Fe<sup>3+</sup> (>3.5 μM) with EDTA (80 μM) well promoted the growth of this organism. However addition of Zn<sup>2+</sup> (0 ~ 10 μM), Mn<sup>2+</sup> (0 ~ 40 μM) and Co<sup>2+</sup> (0 ~ 0.4 μM) did not. Addition of Cu<sup>2+</sup> (0.02 μM) with Fe<sup>3+</sup> (7 μM) and EDTA (80 μM) promoted the growth. The effect of vitamins were also investigated. Vitamine B<sub>12</sub> greater than 10 ng/l promoted the growth, while biotin and thiamine did not. Glucose did not help the growth of *C. antiqua*, and under complete darkness *C. antiqua* was unable to grow even when glucose was present.

## 1. はじめに

多くの生物は環境因子の時間的・空間的変遷と関連しながら、劣悪な環境の中での生存 (survival) と生命活動に好適な環境下での個体群の拡大 (development) を行っており、赤潮を形成する藻類でも劣悪な環境下ではシスト形成・休眠という様式で生存し、好適環境下では細胞分裂による栄養増殖という様式で個体群の拡大を行っている。特に、赤潮は直接的には栄養増殖の段階で引き起こされる現象であり、また特定種の異常増殖という点で特徴づけられる現象である為、赤潮発生の最低条件として増殖にとって劣悪な環境因子からの解放、即ち増殖に必要な諸条件が整わねばならないことはもちろんとして、更に特定種のみが増殖して個体群を拡大していく環境の存在、例えば増殖を促進する因子や他の生物種の増殖を阻害する因子の存在が必要であると考えられる。

従って、上記の観点で赤潮研究を進めていくとすれば、赤潮の本体である植物プランクトン種各々の好適増殖環境を把握し、更にその環境下で特定種のみが増殖に導びく因子が何かを把握することが重要な課題であるといえる。この課題の追及は、野外では種々の因子が錯綜している為非常に困難であるので、自然界より赤潮藻類を無菌的に分離・培養してその種の増殖特性を明らかにしていくことが基本となってくる。

岩崎 (1971, 1979) は早くからこの課題に取り組んでおり、赤潮生物の無菌培養を行い、個々の種の生理特性を詳細に調べ、その結果は、野外でなされた観察より演繹された仮定を証明すると同時に、野外調査をより意義のあるものにするを示している。しかし、岩崎自らが言及しているように、生理的な諸性質が詳しく調べられている赤潮生物はまだ10種類ほどしかなく、主な赤潮藻類だけでも50種類を数える (柳田, 1976) ほど多様な赤潮種の中でのごく一部分を占めているだけである。従って、この極めて基本的な課題ですら十分に研究されているとは言いがたく、このところに赤潮発生機構が今だに基本的なところで不明のままである原因の一つがあると言える。

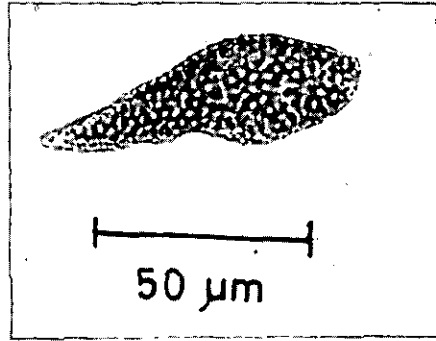


図 1 *C. antiqua* の顕微鏡写真  
Fig. 1 Microscopic figure of *C. antiqua*

以上の点を考慮し、我々は種々の赤潮藻類を無菌培養して、その増殖の動力学を含めた増殖・生理特性の解析を行っており、これら一連の研究の最も基礎的な部分である種々の赤潮藻類の増殖量に及ぼす環境因子の影響を解析した結果のうち、*Chattonella antiqua*, *Olisthodiscus luteus*, *Gymnodinium splendens* について明らかになった点を本報およびこれに続く2報で報告する。

*Chattonella antiqua* (ホルネリア, ラフィド藻, 図1) は日本近海に発生する赤潮のうちでも発生規模、漁業被害額とも最大の赤潮を形成する種で、従って本種の増殖・生理特性を正確に把握することは、緊急の課題である。しかし、*Chattonella* は人工海水培地を用いた無菌的な培養が難しく、その成育に及ぼす環境因子の影響を無菌的な条件下で研究した例は、わずかに岩崎(1971)と野沢(1980)の報告があるのみである。岩崎は備後灘に出現した *Chattonella* の赤潮から単離した株を用いて、物理、化学的環境因子とくにビタミン類の増殖量に及ぼす影響を調べているが、リン、窒素以外の栄養物質の効果については、それを添加した場合と、しない場合の二つについて増殖量を比較するに止っており、増殖量の栄養物質濃度依存性を定量的に把握するに至っていない。また、野沢は、鹿児島湾の *Chattonella* について、温度、塩分量等の物理的因子が増殖量に及ぼす効果を増殖速度を含めて、極めて精力的に扱っているが、培養に成分が一定しない海水培地を使用している為、栄養物質の増殖に及ぼす効果は扱っていない。本報では、本種の増殖・生理特性を詳細に解析する一環として、播磨灘の *Chattonella* 赤潮から単離した株を用いて、物理・化学的環境因子が *Chattonella* の増殖量に及ぼす影響をより定量的に研究した結果を報告する。

## 2. 実験：材料と方法について

赤潮藻類の増殖特性を解析するに当たり、注意すべき点が三つある。すなわち、1) 培養に用いる株は遺伝的に等価なクローン株であること。2) 無菌であること。3) 化学的環境因子の影響を調べる際には海水培地ではなく、成分のはっきり分かった人工海水培地を用いることの三点である。これらはいずれも、培養系を実験者の制御下におくという点で重要であり、これらの条件を欠いた培養実験系では再現性のある結果は得がたい。従って本研究ではこれらの点に留意して実験を行った。

**材料** 1978年9月、兵庫県沖の播磨灘に発生した赤潮から無菌的にクローン分離した株 (Ho-1) を用いた。

**無菌化の検定** 細菌検査用の STP 培地 (Provasoli 他, 1957) を用いて、株が無菌であることを各実験ごとに確認した。

**培養条件** a) 光 照度変化の実験を除き、昼光色けい光灯 3,000~3,500 lx, 12時間-12時間明暗周期での培養を行った。照度変化の実験では、陽光タングステンランプを用い、上と同様の明暗周期で実験を行った。

b) 温度 温度変化の実験を除き、培養温度は22~23℃に保たれた。温度変化の実験には、自作の温度こう配培養装置(図2)を用いた。本装置はアルミブロックの両端に冷水と温水を通じて、そ

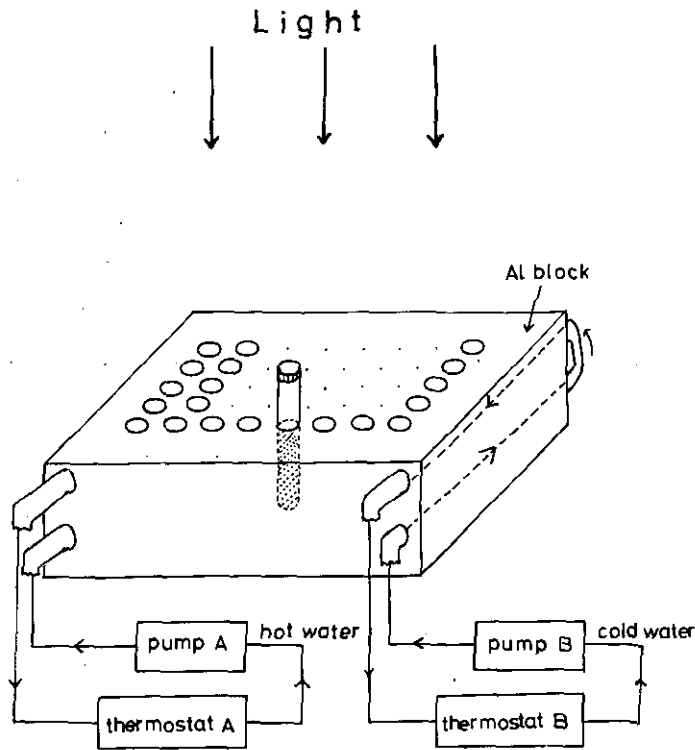


図 2 温度こう配式培養装置  
Fig. 2 Thermogradient type incubator

の結果生じる温度こう配を利用して、1台の培養器で一度に8段階の温度での培養を可能にしたものである。

c) 基礎培地 従来用いられている人工海水培地では *C. antiqua* の成育が芳しくないので、まず *C. antiqua* の成育に適した培地を開発することを試みた。すなわち、まず通常広く用いられる人工海水培地 ASP<sub>7</sub> を若干改良した ASP<sub>7</sub>-M (表 1) を出発培地として各環境因子が増殖量に及ぼす影響を予備的に調べ、各因子について増殖の最適値を求めた。しかる後に、培地の成分を各因子の最適値に再調整して新たな培地 (H培地、表 1) を開発した。このH培地を用いて、*Chattonella* を培養した際の増殖曲線を図 3 に示す。この結果、最大増殖量が  $1.1 \times 10^4$  cells/ml と、従来の人工海水培地では得られなかった高い、増殖量が得られた。そこでH培地を基礎培地として増殖量に及ぼす環境因子の影響を考察した。なお増殖曲線を logistic 式:  $\frac{dN}{dt} = kN - bN^2$  にあてはめると、

$k = 0.255 \text{ d}^{-1}$  (doubling time に換算して 2.8 日)  $b = 2.3 \times 10^{-5} \text{ d}^{-1} \cdot \text{ml}^{-1}$  になる値が得られる。

d) 前培養 化学的因子 (栄養塩、微量元素、ビタミン類) の影響を調べる際には、着目している



表1 人工培地の組成

Table 1. Composition of synthetic medium

	H-medium (1000 ml)	ASP <sub>7</sub> -M (1000 ml)
NaCl	25 g	25 g
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	9 g	9 g
KCl	0.7 g	0.7 g
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.3 g	0.3 g
NaNO <sub>3</sub>	25.5 mg (300 μM)	50 mg (600 μM)
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	2.35 mg (15 μM)	9.4 mg (60 μM)
Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub> ·9H <sub>2</sub> O	10 mg	10 mg
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	34 mg	34 mg
Na <sub>2</sub> EDTA·2H <sub>2</sub> O	50 mg	50 mg
FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O	1.9 mg (7 μM)	1.9 mg (7 μM)
CoSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	28 μg (0.1 μM)	28 μg (0.1 μM)
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.36 mg (1.25 μM)	1.4 mg (5 μM)
MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	1.0 mg (5 μM)	1.0 mg (5 μM)
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	5 μg (0.02 μM)	—
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	6.3 μg (0.03 μM)	—
vitamin B <sub>12</sub>	0.2 μg	1.0 μg
thiamine	0.5 mg	0.5 mg
biotin	1 μg	1 μg
TRIS	1.0 g	1.0 g
NTA	70 mg	70 mg
nicotic acid	—	0.1 mg
Ca pantothenate	—	0.1 mg
p-amino benzoic acid	—	10 μg
inositol	—	5 mg
folic acid	—	2 μg
thymine	—	3 mg
pH	8.2	8.2

因子を添加しない培地で前培養を行った株を接種材料として用いた。前培養の期間は栄養塩、鉄、ビタミン類については1週間前後、鉄以外の微量元素は2週間前後である。

e) 培養容器 18 mmφ×150 mmの栓口試験管に10 mlの培地を加えオートクレーブ滅菌後に、株を接種した。

f) 増殖量の比較 上に述べた条件下で培養を行い、一定期間培養後に計数を行って増殖量を比較した。計数には改良ノイバウエル血球計算板を用いた。なお、得られた結果は同一条件の2本の培地を用いて得られた値の平均値で示してある。

### 3. 結果と考察

#### 温度、塩分量、pH、照度の効果

a) 温度 増殖量に及ぼす温度の効果を図4に示す。この図から明らかなように *C. antiqua* の好適

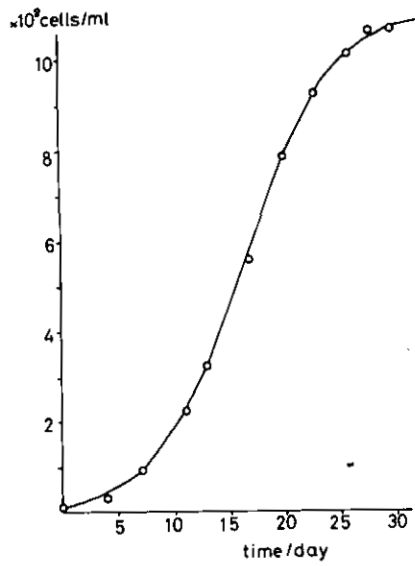


図 3 H培地での *C. antiqua* の増殖曲線  
 Fig. 3 Growth curve of *C. antiqua* in H-medium

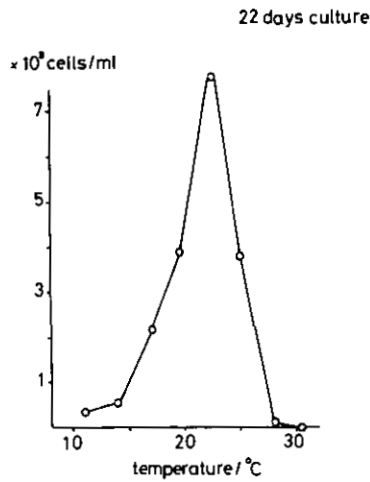


図 4 増殖量に及ぼす温度の効果  
 Fig. 4 The effect of temperature on the growth yield

温度範囲は20～25℃と非常に狭く (cf. *Olisthodiscus*, *Gymnodinium* の温度依存性, 森他, 1981, 中村他, 1981) 22.5℃で最大の増殖を示す。また28℃以上では成育は著しく阻害される。以上の結果は野沢 (1980) が鹿児島湾の *Chattonella* を用いた結果とよく一致している。一方, 野沢は20℃以下においては *Chattonella* の形態変化 (紡錘型→丸型) の割合が高まることを指摘しているが, 我々の観察では20℃以下の水温 (12℃においてさえも) において形態変化はほとんどみられなかった。このことは *C. antiqua* の形態変化は温度変化のみによって生じるのではなく周囲の栄養条件等も関与することを示唆している。なお, ここで得られた *Chattonella* の増殖に適する温度範囲, 20～25℃は播磨灘においては丁度 *Chattonella* 赤潮の初期段階の水温に対応している。(山田, 1979) このことは *Chattonella* 赤潮形成過程において水温が重要な因子として働いていることを示している。

b) 塩分量 培地に含まれるNaCl,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , KCl,  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$  の濃度比は一定に保ったまま, その絶対量を変化させて塩分量が増殖量に及ぼす効果を検討した(図5)。この図に示すように, 好適塩分範囲は14～34‰であり27‰で最大の増殖量が得られる。このことは *C. antiqua* はかなり広塩性の藻類であり, しかも外洋水 (~34‰) に比べて低い塩分量でよく増殖することを示している。一方 *Chattonella* 赤潮発現場での塩分量は瀬戸内海で平均的にみられる30～32‰の値を示す場合がほとんどであるが, 降雨のあと塩分量が22～27‰と低下した際に大発生がみられることもある(環境庁, 1980)。この事実は *C. antiqua* が広塩性であって外洋水より低い塩分量でよく増殖するという我々の培養結果ともよく一致している。

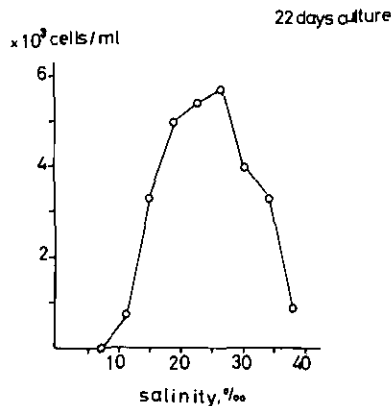


図 5 増殖量に及ぼす塩分量の効果

Fig. 5 The effect of salinity of the growth yield

c) pH 図6に *C. antiqua* の増殖量に及ぼす培地の初期 pH の影響を示す。この図から明らかなように *C. antiqua* の好適 pH は 8.0 以上であり, pH 8.3 以上で最大増殖量が得られた。一方, 夏期

の播磨灘の海水のpHは一般に8.2～8.5の範囲に保たれており、藻類が増殖して表層に集積して表層でのPHが8.5以上になるときでも5 m層以下ではPH 8.2～8.5に保たれているので、(環境庁, 1980) *C. antiqua* の成育に適していると考えられる。

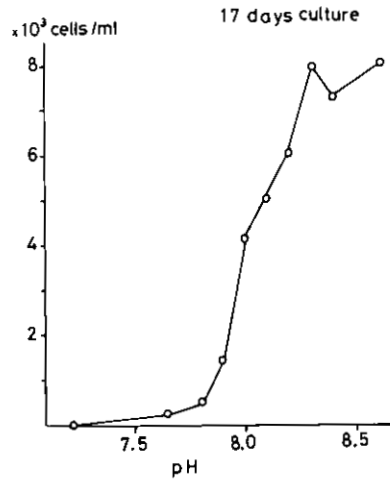


図 6 増殖量に及ぼす pH の効果  
Fig. 6 The effect of pH on the growth yield

d) 照度, 図 7 に *C. antiqua* の増殖量に及ぼす照度の影響を示す。この図から, 11,000 lx で弱い強光阻害が現れる他は, 1,000～8,000 lx で増殖量はほぼ一定している。しかし照度は増殖量よりもむしろ増殖速度に大きな影響をもつと思われるので, 今後は増殖速度に対する照度の効果を扱う必要がある。

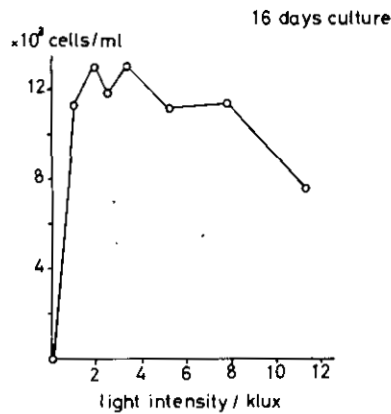


図 7 増殖量に及ぼす照度の効果  
Fig. 7 The effect of light intensity on the growth yield

以上の結果から、夏期の播磨灘の海水は、温度、塩分量、PHのいずれの点からみても *C. antiqua* の成育に適していることが示された。しかし、これらの物理的条件は *Chattonella* の赤潮が発生しない場合でも夏期の播磨灘で通常にみられる値であり、これら物理的因子のみでは *Chattonella* 赤潮の発生を説明することは不可能であろう。

**栄養塩の効果** 水域の一次生産力を規定する因子として栄養塩（リン、窒素）の増殖量に及ぼす影響は重要である。リン源としてオルトリン酸塩を用い、窒素源としては硝酸塩、アンモニウム塩、尿素を用いて *C. antiqua* を培養し、これらの栄養塩が増殖量に及ぼす影響を検討した。

a) リンの効果、培地中のリンの初期濃度に対する増殖量の影響を図18に示す。この図から、0～4 μMの範囲ではリンが制限要因となっており、とくに0～2 μMの範囲では増殖量はリン濃度に比例している。更に、4 μM以上では増殖は飽和に達し、120 μMで阻害が現れる。0～2 μMの濃度範囲で増殖量がリン濃度に比例しているということは、培養終了時において、培地中のリンが全て藻体中に吸収され、しかも各藻体は生存に必要な最低限度のリンしか含有していないことを示唆している。この仮定を用いると *C. antiqua* が生命を維持するのに必要な藻体当たりのリンの量 ( $q_{min}$ , minimum cell quota) は、 $q_{min} = (\text{培地中に初めて含まれるリンの量})_{(mol/l)} / (\text{増殖量})_{(cell/ml)}$  で与えられ、その値はほぼ0.4～0.5 pmol/cell (=12～15 pg/cell)となる。また *Chattonella* 一細胞当たりのクロロフィル *a* 含量は～10 pg/cellであるので、クロロフィル *a* に対する藻体内のリンの重量比はほぼ1.2～1.5になる。一方 *Chattonella* 赤潮発生現場における（藻体中のリン）/（クロロフィル *a*）は重量比で1.3～1.8程度である（環境庁, 1980）。一般に藻類はリンが豊富な環境におかれた場合“luxury uptake”によって藻体内に過剰のリンをとり込み、藻体当たりのリンの濃度  $q$  (cell quota) は  $q_{min}$  の20倍以上にも達することが知られている (Elgavish, 1980)。現場において測定された cell quota がリン制限下の培養実験で得られた minimum cell quota にきわめて近いことから、赤潮発生現場においては *Chattonella* は、かなりリンが欠乏した状況に陥っていることが予想される。

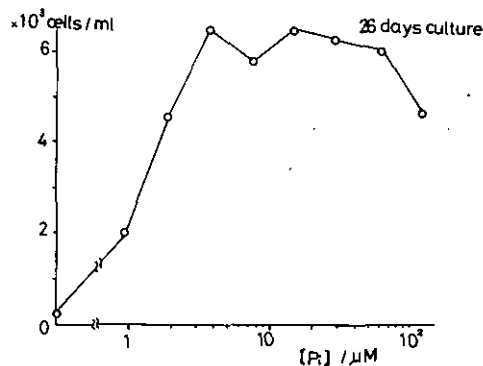


図 8 増殖量に及ぼすオルトリン酸塩の効果

Fig. 8 The effect of orthophosphate on the growth yield

b) 窒素の効果, 窒素源として  $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , 尿素を用い, *C. antiqua* の増殖に及ぼす窒素の効果を検討した。得られた結果を図9に示す。この図から明らかなように80  $\mu\text{M}$  以下で硝酸塩, アンモニウム塩は *C. antiqua* の成育に, 制限要因として働き, 80  $\mu\text{M}$  以上では硝酸塩の場合増殖量は飽和に達し, アンモニウム塩では急激な阻害が現れる。また尿素を窒素源として用いた場合でも増殖量は  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NH}_4^+$  に比べて小さいが *C. antiqua* はある程度の増殖を示し, 150  $\mu\text{M}$  以上で阻害を示す。0~40  $\mu\text{M}$  の低窒素濃度範囲では硝酸塩を窒素源とした場合, 増殖量は窒素濃度にほぼ比例している。このことから *C. antiqua* の窒素に対する minimum cell quota を算出すると7~8 pmol/cell となる。従ってリン, 窒素に対して得られた minimum cell quota から *C. antiqua* 体内の P : N 比を重量比で算出すると 1 : (7~8) となり, 一般に言われている藻類の標準的な P : N 比 1 : 7 とほぼ一致する。なお我々の培養結果から, 20  $\mu\text{M}$  以下の低窒素濃度においては, 硝酸塩, アンモニウム塩のいずれを窒素源として用いても増殖量に差はみられない。このことは窒素源が硝酸態, アンモニウム態のいずれで与えられるかにかかわらず窒素制限下での培養では, アンモニウム塩による阻害がない限り増殖量は培養初期に培地中に含まれる窒素量によってきまってくるという事実を示しているにすぎない。しかし, 増殖量に差が出ないとはいっても, 増殖の速度ないしは窒素源のとり込みの速さに硝酸態, アンモニウム態の間で差が出ることも考えられるので, 今後, 環境中での硝酸塩, アンモニウム塩の動向と, *Chattonella* 赤潮の消長を関連づけようとするならば, 単に試験管レベルで増殖量を比較するのみではなく, 更に大型の培養器を用いて増殖の速度や, 硝酸塩, アンモニウム塩のとり込みの速さを測定する必要があるだろう。

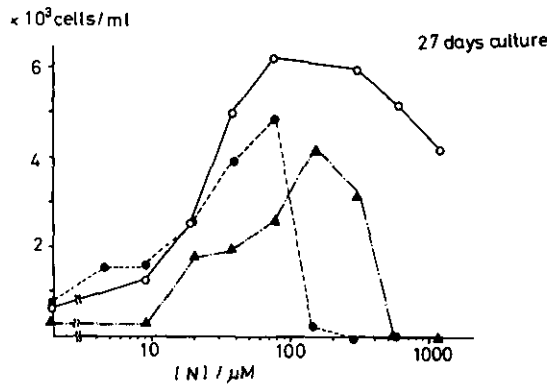


図 9 増殖量に及ぼすチッソの効果  
Fig. 9 The effect of nitrogen on the growth yield

**微量元素の効果** 微量元素の藻類に対する効果, とくに鉄, マンガンの増殖効果および銅の阻害効果は, 水域中の藻類の生存量を規定することもあるといわれているので (Glover, 1978, Anderson 他, 1978), *C. antiqua* の増殖量に及ぼす微量元素の影響を正確に把握しておく必要がある。このよ

うな観点から *C. antiqua* の増殖に及ぼす鉄、マンガン、亜鉛、コバルト、銅の影響を検討した。なお、これら微量元素は各々、 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  の形で添加したが、基礎培地には  $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  が  $50 \text{ mg/l}$  と、微量元素に対して過剰に含まれている為、培地中で微量元素はほとんどが EDTA とキレートした形で溶存していると考えられる。

得られた結果を図10~14に示す。図10から、*C. antiqua* の増殖には鉄が必須でしかもかなり多量に必要 ( $> 3.5 \mu\text{M}$ ) なのが分かる。備後灘の株を用いた岩崎の研究では (岩崎, 1971) 海水培地への鉄の  $5 \mu\text{M}$  の添加で *Chattonella* の増殖が無添加のものの8倍にも達することが指摘されており、*Chattonella* 赤潮発生に関する、環境因子としての鉄の重要性が改めて確認された。今後は海水中の鉄の溶存状態までを含めた分析、*C. antiqua* の増殖速度と鉄の濃度、溶存状態との関連を明らかにしてゆく必要がある。

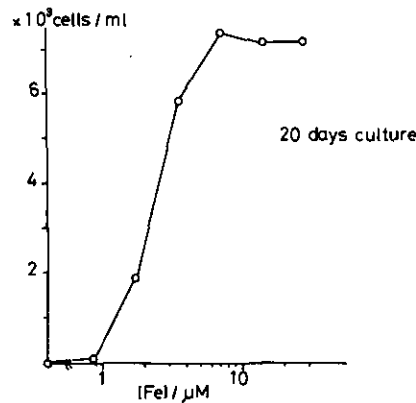


図 10 増殖量に及ぼす鉄の効果  
Fig. 10 The effect of iron on the growth yield

一方マンガンに関しては図11に示すように、添加による増殖量の変化は  $0 \sim 40 \mu\text{M}$  の範囲では認められない。これは岩崎の得た結果 (岩崎, 1971) すなわち、海水培地 SWII にマンガンを  $40 \mu\text{M}$  添加すると無添加のものの8倍の増殖量が得られるという結果とは異なっている。この食い違いが、我々の用いた株が岩崎の用いた株と異なった種に属する為に生じたものか、あるいは同一種でありながらマンガン要求性に地域での差 (ないしは遺伝型の差) がある為に生じたものかは *Chattonella* の分類体系が混んとしている現在の状況では明らかでない。しかし我々の用いた株では海水にリン、窒素、鉄、ビタミン  $\text{B}_{12}$ 、EDTA を添加するのみで、マンガンを添加せずにも  $2 \times 10^9 \text{ cells/ml}$  程度の増殖量が得られることから、我々の用いた播磨灘の株はマンガンを特に要求しないことは確実であろう。

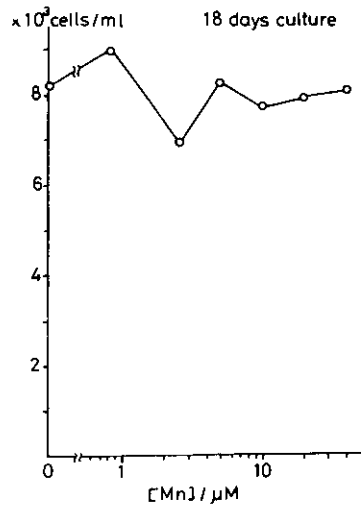


図 11 増殖量に及ぼすマンガンの効果  
 Fig. 11 The effect of manganese on the growth yield

亜鉛、コバルトについては図12、13に各々示すように、添加による増殖促進効果は、認められない。このように、マンガン、亜鉛、コバルトは植物体の必須元素であるにも拘らず、これらを添加しなくても *C. antiqua* が成育するのは培地に多量に加えられる  $\text{NaCl}$  (25g/l)  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (9g/l) からの混入によると思われる。

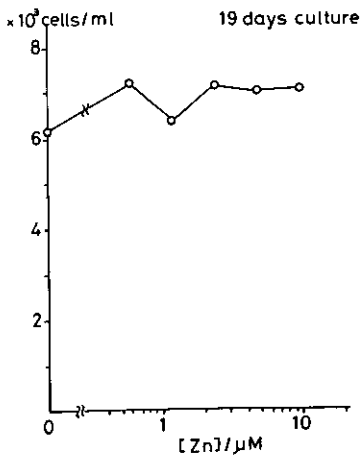


図 12 増殖量に及ぼす亜鉛の効果  
 Fig. 12 The effect of zinc on the growth yield

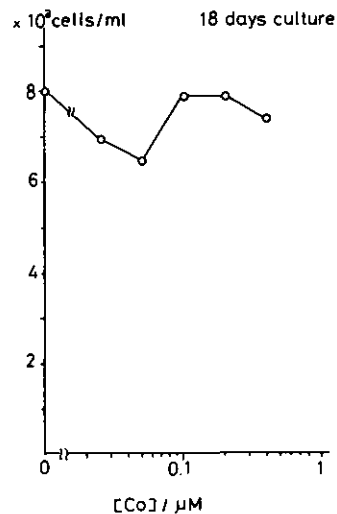


図 13 増殖量に及ぼすコバルトの効果  
 Fig. 13 The effect of cobalt on the growth yield



銅については図14に示したように0.02  $\mu\text{M}$ の添加で増殖量が無添加のものを上回る。この結果を更に確実なものとする為、銅を除いたH培地と通常のH培地 ( $\text{Cu}$ 添加量0.02  $\mu\text{M}$ )を8本ずつ用意し、14日間、銅無添加の培地で予備培養した株を接種した。14日間の培養後計数を行った結果、銅を除いたものは平均  $3.5 \times 10^3$  cells/ml (標準偏差 800 cells/ml) にしか達しなかったのに対し、添加したものは平均  $6.2 \times 10^3$  cells/ml (標準偏差 600 cells/ml) に達した。銅の添加で増殖量  $N$  に差がどうかを  $t$  検定しても  $t = 6.62$  で、危険率 0.1% で仮説:  $N_{\text{添加}} = N_{\text{無添加}}$  は棄却される。以上の結果から 0.02  $\mu\text{M}$  の銅の添加は *Chattonella* の増殖量を増大すると結論できる。銅は藻類にとって必須であると同時に培地中の水和イオン濃度が  $10^{-9}\text{M}$  以上になると成育を阻害するといわれているが (Anderson, 1978, Sunda, 1976) H 培地での培養ではほとんどの銅は EDTA によって“無毒化”され、かつ成育に十分な量の銅が、培地に供給されているのであろう。今後は、培地中の銅の溶存状態を含めた定量と各溶存状態が *C. antiqua* の増殖にどのような影響をもたらすかを関連づける必要がある。

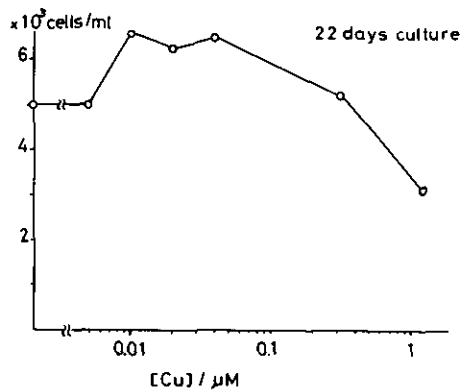


図 14 増殖量に及ぼす銅の効果

Fig. 14 The effect of copper on the growth yield

**ビタミン類の効果** 赤潮藻類のうちには、ある種のビタミンによって増殖が著しく促進される例があるので (岩崎, 1979) *C. antiqua* の増殖に及ぼすビタミン類の効果を検討した。まず基礎培地に含まれる三種のビタミン (ビタミン  $\text{B}_{12}$ , チアミン, ビオチン) に着目し、これら各々のビタミンを基礎培地と同濃度含む場合と含まない場合の 8 種類の培地を作製しその増殖量を比較した。結果を図15に示す。この図から、*C. antiqua* の成育にビタミン  $\text{B}_{12}$  のみが必須であることが明らかとなった。また、チアミン、ビオチンが  $\text{B}_{12}$  と共存する際の増殖促進効果はほとんど認められない。次に *C. antiqua* の増殖量に及ぼすビタミン  $\text{B}_{12}$  の濃度依存性を検討した (図16)。この図から、0.06  $\mu\text{g/l}$  以下の濃度では  $\text{B}_{12}$  が制限因子として働いており、これ以上の濃度で増殖量は飽和に達する。なお、0 ~ 0.02  $\mu\text{g/l}$  の範囲では増殖量が  $\text{B}_{12}$  濃度に比例することから *Chattonella* の  $\text{B}_{12}$  に関する

る minimum cell quota を見積ると  $\sim 3$  fg/cell の値が得られた。

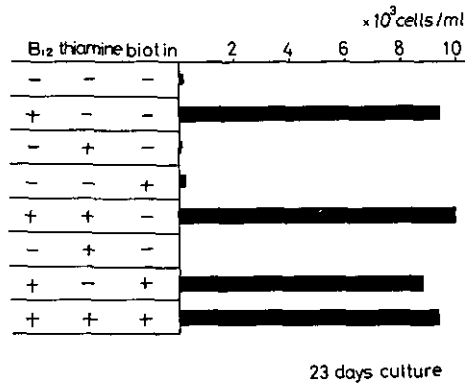


図 15 増殖量に及ぼすビタミン類の効果  
Fig. 15 The effect of vitamins on the growth yield

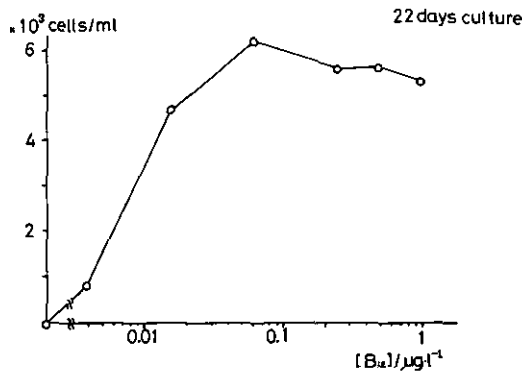


図 16 増殖量に及ぼすビタミン B<sub>12</sub> の効果  
Fig. 16 The effect of vitamin B<sub>12</sub> on the growth yield

**有機物の効果** 赤潮藻類のなかには有機物を炭素源として利用し、増殖を行うことができるものもある(岩崎, 1979)。C. antiqua についてもこのようなことが生じているかどうかを検討する為代表的な有機物としてグルコースを選び、培地にグルコースを添加した際の増殖に及ぼす効果を調べた。その結果を図17に示す。この図から、グルコースには、Chattonella の増殖を促進する効果はないことが分かる。なお、この結果は12時間-12時間の明暗サイクル下での培養結果であるが、上と同じ培地を用いた完全暗闇下での培養では、グルコースの有無にかかわらず、C. antiqua は全く成育しない。すなわち C. antiqua は独立栄養的にのみ成育すると考えられる。しかし有機物(グルコース)に増殖促進効果がないからといって有機物による海域汚染が、Chattonella 赤潮の

発生に無関係であるとは結論できない。すなわち、有機物の環境への流入が細菌類の増殖を促し、細菌類が放出する代謝産物が *Chattonella* の増殖を促進する可能性があるからである。事実、細菌類の混入した条件下で *Chattonella* を培養すると、H培地では無菌的な培養に比べ約3倍 ( $\sim 3 \times 10^4$  cells/ml)の増殖量が得られる。このような点から考えると有機物による海域の汚染は *Chattonella* 赤潮の発生と深いところでかかわりあっている可能性がある。

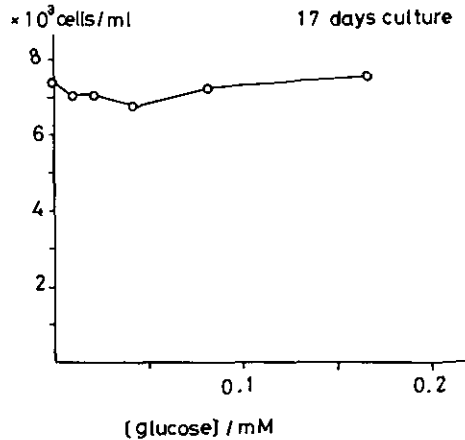


図 17 増殖量に及ぼすグルコースの効果  
Fig. 17 The effect of glucose on the growth yield

#### 4. 総括

以上、物理、化学的な環境因子が日本の代表的な赤潮藻類である *Chattonella antiqua* (ホルネリア) の増殖量に及ぼす影響を調べてきた。今後は、ここに得られた結果を基礎に、*Chattonella* のより詳細な増殖・生理的な特性を明らかにしてゆく必要がある。

#### 引用文献

- Anderson, D. M. and F. M. More (1978): Copper sensitivity of *Gonyaulax tamalensis*. *Limnol. Oceanogr.*, **23**, 283-295.
- Elgavish, A., G. A. Elgavish, M. Halmann, T. Berman and I. Shomer (1980): Intracellular phosphorus pools in intact algal cells. *FEBS Lett.*, **117**, 137-142.
- Glover, H. E. (1978): Iron in marine coastal waters; seasonal variation and its apparent correlation with a dinoflagellate bloom. *Limnol. Oceanogr.*, **23**, 534-537.
- 岩崎英雄 (1979): 赤潮鞭毛藻に関する研究IV. 日本海洋学会誌, **27**, 152-157.
- Iwasaki, H. (1979): Physiological ecology of red tide flagellates. *Biochemistry and physiology of protozoall*. Academic Press, New York, 357-397.

- 環境庁 (1980) : 赤潮発生機構総合解析調査 データ表. 335-404.
- 森 栄・中村泰男・渡辺信・矢持進・渡辺正孝 (1981) : 赤潮藻類の増殖量に及ぼす環境因子の影響Ⅱ.  
*Olisthodiscus luteus*. 国立公害研究所研究報告, 第30号, 71-86.
- 中村泰男・渡辺信・渡辺正孝 (1981) : 赤潮藻類の増殖量に及ぼす環境因子の影響Ⅲ. *Gymnodinium splendens*.  
国立公害研究所報告書, 第30号.
- 野沢洽治 (1980) : 海産緑色鞭毛藻の生理特性の研究. 水産庁. 潜伏期における赤潮原因挙動調査報告書. I.  
発生期構 p.1 -10.
- Provasoli, L., J. J. A. McLaughlin and M. R. Droop (1957): Arch. Mikrobiol., 25, 392-428.
- Sanda, W. and R. R. L. Guillard (1976): The relationship between cupric ion activity and the toxicity of copper to phytoplankton. *J. Mar. Res.*, 34, 511-528.
- 柳田友道 (1976) 赤潮, 講談社, p.198.
- 山田達夫 (1979) : 赤潮発生前後の環境, 香川県. 昭和53年6月発生 ホルネリア赤潮に関する調査報告書.  
11-17.

## 5. 赤潮藻類の増殖量に及ぼす環境因子の影響

### II. *Olisthodiscus luteus*

#### The Effect of Various Environmental Factors on the Growth Yield of Red Tide Algae

### II. *Olisthodiscus luteus*

森 栄<sup>1</sup>・中村泰男<sup>2</sup>・渡辺 信<sup>2</sup>・矢持 進<sup>3</sup>・渡辺正孝<sup>2</sup>

Sakae MORI<sup>1</sup>, Yasuo NAKAMURA<sup>2</sup>, Makoto M. WATANABE<sup>2</sup>,  
Susumu YAMOCHI<sup>3</sup> and Masataka WATANABE<sup>2</sup>

#### 要 旨

大阪湾赤潮 *Olisthodiscus luteus* の増殖量に及ぼす環境因子の影響を、人工海水培地 ASP<sub>7</sub>-M を用いて検討した。その結果以下の諸点が明らかになった。

- 1) *Chattonella* sp. に比べ好適温度範囲 (15~25 °C) が広く、また低温 (12 °C) でもある程度増殖可能である。
- 2) 好適塩分域が 2.5 ~ 35 ‰ ときわめて広い。
- 3) NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, 尿素有のいずれも窒素源として利用可能であるが、アミノ酸は利用できない。NH<sub>4</sub><sup>+</sup> は 1,000 μM の高濃度でも増殖を阻害しない。また窒素源として NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, 尿素有のいずれを用いても増殖速度に変化は認められない。
- 4) 鉄の添加は増殖を著しく促進するが、マンガンでは顕著ではない。
- 5) ビタミン類では B<sub>12</sub> のみを必須とする。
- 6) 有機物には増殖促進効果はない。また完全暗所では有機物が存在しても成育できない。

#### Abstract

*Olisthodiscus luteus*, the organism which causes heavy red tide on the bay of Osaka, Japan, was grown axenically on an artificial medium. The effect of various

- 
1. 東北大学 農学部 〒980 仙台市提通兩宮町1の1  
Faculty of Agriculture, Tohoku University, Amamiya, Sendai, Miyagi 980, 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  
Water and Soil Environment Division, The National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
  3. 大阪府水産試験場 〒599-03 大阪府泉南町多奈川谷川  
Osaka Prefectural Fisheries Experimental Station, Misaki-cho, Sennan, Osaka 599-03, Japan.

environmental factors on the growth yield of *O. luteus* was examined. The optimum conditions for the growth of *O. luteus* was obtained when temperature was 15 to 25°C, pH was greater than 8.0 and salinity was 2.5 to 35‰. This organism utilizes ammonium and urea as well as nitrate as nitrogen source and growth was not inhibited with those nitrogen source over 1 mM. The growth rates were not affected by the difference in nitrogen source.

Addition of  $\text{Fe}^{3+}$  ( $> 1 \mu\text{M}$ ) with EDTA (80  $\mu\text{M}$ ) well promoted the growth of this species, while  $\text{Mn}^{2+}$  (0 ~ 20  $\mu\text{M}$ ),  $\text{Zn}^{2+}$  (0 ~ 10  $\mu\text{M}$ ),  $\text{Co}^{2+}$  (0 ~ 1  $\mu\text{M}$ ) and  $\text{Cu}^{2+}$  (0 ~ 1  $\mu\text{M}$ ) did not.

Addition of vitamin  $\text{B}_{12}$  ( $> 1 \text{ ng/l}$ ) promoted the growth of this organism but other vitamins such as biotin and thiamine did not.

## 1. 序 論

*O. luteus* は (ラフィド藻, 図1) は5~9月に大阪湾, 徳山湾等に発生する赤潮で, 我が国に出現する赤潮生物のうち最も出現頻度の高いものの一つである (柳田, 1976)。海外においても米国北東部 (Thomas 1978 a, b, 1979, 1980 a, b), 西海岸 (Lackey and Clendenning, 1965), 英国 (Lackey and Lackey, 1963), ベルギー (Conrad and Kufferath, 1954) で *O. luteus* の赤潮が報告されており世界的にみても最も分布の広い赤潮藻類であるといえよう。従って, 本種の増殖・生理特性に関しても, 興味のある報告がなされている (Cattolico *et al.*, 1975; Tomas, 1978a, b, 1979, 1980a, b)。Cattolicoらは, 本種の増殖に及ぼす照度, 炭酸塩, ビタミン $\text{B}_{12}$ の効果を明らかにしており, また同調培養下での本種の細胞分裂時期, DNA合成期と葉緑体複製期を明らかにしている。Thomasは, 米国北東部, Rhode IslandのNarragansett湾に発生し, 赤潮を形成する *O. luteus* の生理・生態を精力的に解析しており, 一連の報告の中で, *O. luteus* の増殖・生存・運動を含めた生命活動に関する温度, 塩分の影響 (Thomas, 1978a), *O. luteus* に確認された benthic stage の生理的特徴とその生態的意義 (Thomas, 1978b), 窒素とリンの摂取の動力学的特性 (Thomas, 1979)を明らかにし, 更に *O. luteus* の細胞内の窒素, リン濃度, クロロフィル $a$ 量と光合成に及ぼす温度と照度の効果を解析している (Thomas, 1980a)。これら一連の実験研究を基礎としてNarragansett湾における *O. luteus* の動態を調査・解析し, 本種個体群の拡大には温度, 生活史, 運動性, 排泄物質が照度, 塩分, 栄養塩よりも強く関与していること, そして湾内での *O. luteus* 赤潮の分布は運動性, benthic stage 形成, 吹送流によって影響をうけることを明らかにした (Thomas, 1980b)。Thomasの研究は, 我々が赤潮研究を遂行する場合に非常に参考になるものであるが, 彼の成果を日本各地の内湾で発生する *O. luteus* の赤潮発生の説明に無条件に適用することは危険である。Thomasが *O. luteus* について明らかにした増殖特性は温度, 塩分濃度, 照度と栄養塩では窒素, リンのみであり, 矢持等 (1981) が大阪湾谷川港での *O. luteus* の増殖には鉄が強く関与しているとの報告に対して Thomas のデータから説明することはできない。また, 形態的に同一種に属する藻類であっても, 生殖的隔離によって生理, 増殖特性が全く異なる可能性があることが示されている (Watanabe, 1977, b)。従って, ある特定の海域に於ける赤潮の発生機構を論じる為には, その海域に出現した種の株を

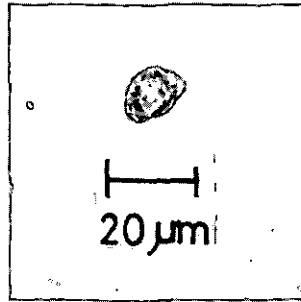


図 1 *O. luteus* の顕微鏡写真  
Fig. 1 Microscopic figure of *O. luteus*

用いてその増殖・生理特性を明らかにし、かつその海域の構造を把握していく必要があるといえる。

以上の観点にたつて我々は、Thomas がなした研究方法を参考にしつつ、大阪湾谷川港における *O. luteus* の赤潮発生機構を解析しており、本報では谷川港現場より分離した *O. luteus* の無菌クローン培養株を用いて、その増殖量に及ぼす環境因子の影響について解析した結果を報告する。

## 2. 実験

**材料** 1979年8月、大阪湾谷川港で深沢が採取した *O. luteus* を無菌的にクローン分離した株を用いた。

**基礎培地** ASP<sub>7</sub>を若干改良したASP<sub>7</sub>-Mを用いた (Table 1)。この培地における *O. luteus* の増殖はきわめて良好で、最大増殖量  $4 \times 10^5$  cells/ml が得られる。

**培養容器** 200 ml の三角フラスコに培地を 100 ml 加えオートクレーブ滅菌後に株を接種した。これ以外の実験条件は前報 (中村ら, 1981) に準じた。

## 3. 結果と考察

### 物理的因子の効果

#### a) 温度

増殖量に及ぼす温度の影響を図2に示す。*O. luteus* の好適温度範囲は15~25℃にあり20℃で最大の増殖を示す。また28℃以上では成育は著しく阻害される。大阪湾谷川港における *O. luteus* の大規模な赤潮 ( $> 1 \times 10^4$  cells/ml) は水温が20℃に上昇する6月初旬と、夏を過ぎて水温が25℃に低下してくる9月中旬に観測され、7~8月の高水温 (25~29℃) 期には観測されない (矢持ら, 1979)。このことは *O. luteus* 赤潮の発生には水温が重要な因子として関与していることを示している。

#### b) 塩分量

塩分量が *O. luteus* の増殖量に及ぼす影響を図3に示す。好適塩分範囲は2.5~35%ときわめて広く、5~30%の範囲で最大の増殖量を得られる。このことから *O. luteus* は、きわめて広い塩分域で適応可能であって、塩分量の変動によって現場での増殖が制限されることはないと考えられる。

#### c) pHの効果

pHの効果を図4に示す。*O. luteus* はpH 8.0以上で非常によく増殖しpH 8.8で最大の増殖量を得られた。夏期谷川港に於けるpHは8.2~8.5であるので *O. luteus* の増殖に適していると考えられる。

#### d) 照度

照度の効果を図5に示す。800~5,000 lxで好適な増殖を得られたが、10,000 lxでは阻害が見られる。



表1 基礎培地の組成

Table 1. Composition of basal medium

	ASP <sub>7</sub> -M (1000 ml)	ASP <sub>7</sub> (1000 ml)
NaCl	25 g	25 g
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	9 g	9 g
KCl	0.7 g	0.7 g
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.3 g	1.1 g
NaNO <sub>3</sub>	51 mg (600 μM)	50 mg (590 μM)
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	9.4 mg (60 μM)	
Na <sub>2</sub> glycerophosphate		20 mg (60 μM)
Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub> ·9H <sub>2</sub> O	10 mg	70 mg
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	34 mg	34 mg
Na <sub>2</sub> EDTA·2H <sub>2</sub> O	30 mg	30 mg
FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O	1.9 mg (7 μM)	1.5 mg (5 μM)
CoSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	28 μg (0.1 μM)	140 μg (0.5 μM)
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	1.4 mg (5 μM)	0.66 mg (2.3 μM)
MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	1.0 mg (5 μM)	4.9 mg (22 μM)
vitamin B <sub>12</sub>	1.0 μg	1.0 μg
biotin	1.0 μg	1.0 μg
thiamine	0.5 mg	0.5 mg
TRIS	1.0 g	1.0 g
NTA	70 mg	70 mg
nicotic acid	0.1 mg	0.1 mg
Ca pantothenate	0.1 mg	0.1 mg
p-amino benzoic acid	10 μg	10 μg
inositol	5 mg	5 mg
folic acid	2 μg	2 μg
thymine	3 mg	3 mg
pH	8.2	7.8-8.0

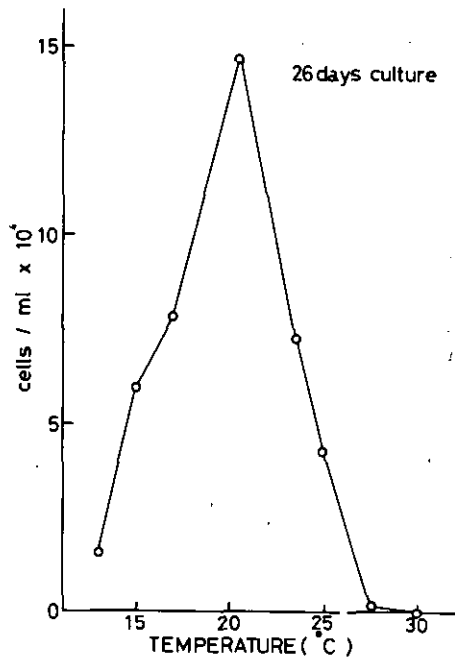


図 2 増殖量に及ぼす温度の効果  
 Fig. 2 The effect of temperature on the growth yield

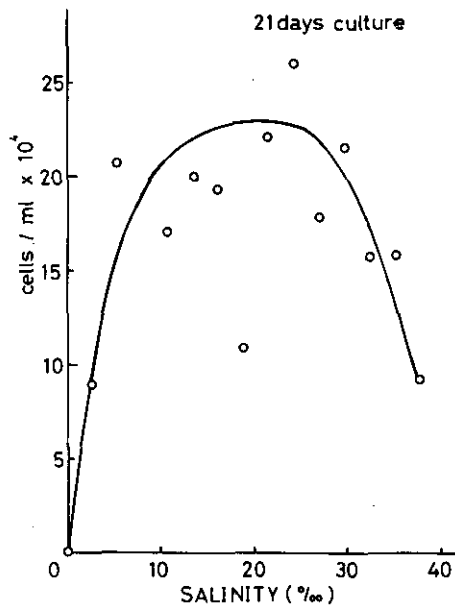


図 3 増殖量に及ぼす塩分量の効果  
 Fig. 3 The effect of salinity on the growth yield

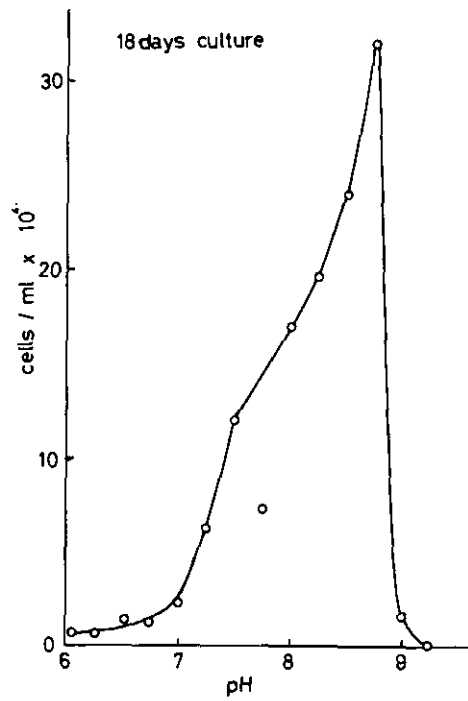


図 4 増殖量に及ぼす pH の効果  
 Fig. 4 The effect of pH on the growth yield

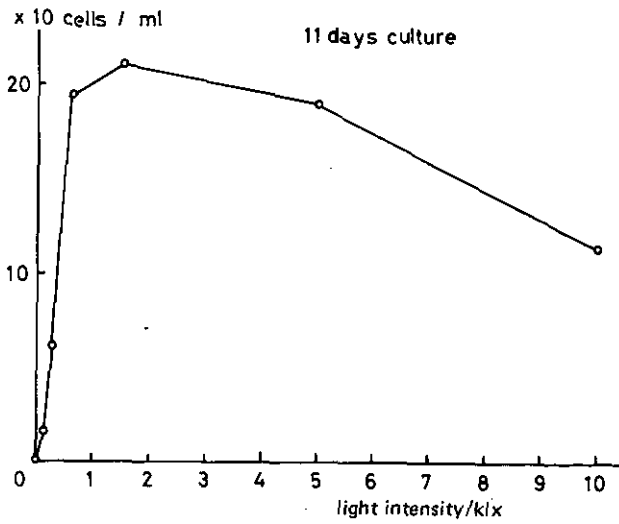


図 5 増殖量に及ぼす照度の効果  
 Fig. 5 The effect of light intensity on the growth yield

## 栄養塩の効果

### a) リン

リン酸源としてオルトリン酸 ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) を用い、リンの初期濃度と *O. luteus* の増殖量の関係を調べた (図 6)。0 ~ 60  $\mu\text{M}$  でリンが制限要因となっており 60  $\mu\text{M}$  以上で増殖量は飽和する。また 0 ~ 10  $\mu\text{M}$  の範囲では増殖量はリン濃度に比例している為、minimum cell quota,  $q_{\min}$  を見積ることが可能であって  $q_{\min} \cong 90 \text{ fmol} \cdot \text{cell}^{-1}$  ( $1 \text{ fmol} = 1 \times 10^{-15} \text{ mol}$ ) の値が得られる。また、オルトリン酸の代わりにグリセロリン酸を用いた場合 *O. luteus* はほとんど成育しなかったことから本種はフォスフィターゼ活性がないことが示唆された。

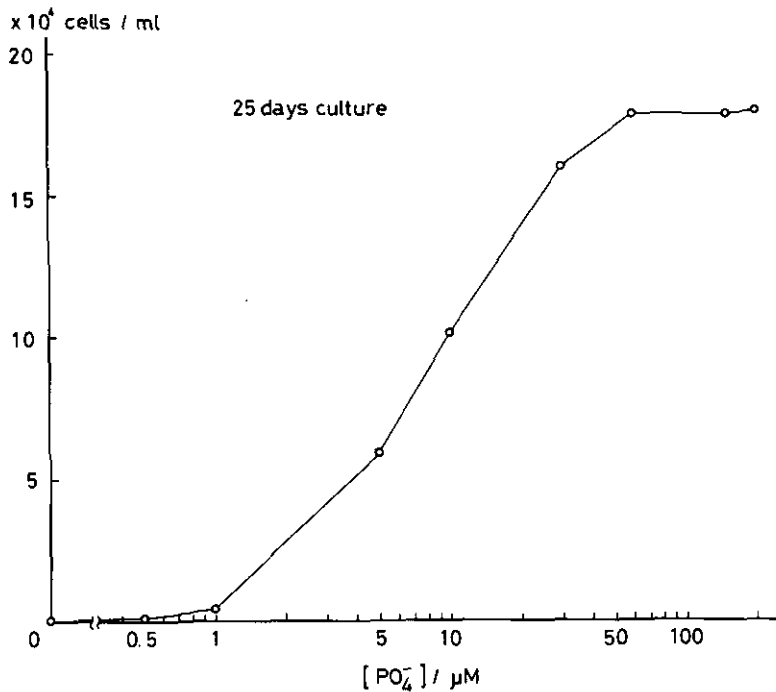


図 6 増殖量に及ぼすオルトリン酸の効果

Fig. 6 The effect of orthophosphate on the growth yield

### b) 窒素

窒素源として硝酸塩 ( $\text{NaNO}_3$ ), アンモニウム塩 ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ), 尿素を用い、窒素濃度と増殖量の関係をしらべた (図 7)。硝酸塩, 尿素を用いた場合には全濃度範囲 (0 ~ 2,000  $\mu\text{M}$  as N) で窒素が制限因子となっている。アンモニウム塩を用いた場合には 1,000  $\mu\text{M}$  まで前二者と同様の増殖を示すが 2,000  $\mu\text{M}$  でゆるい阻害を示す。一般にアンモニウム塩は高濃度で藻類の増殖を阻害することが知られており、例えば *Chattonella antiqua* では 80  $\mu\text{M}$  で増殖は完全に阻害され (中村ら,

1981) *Prorocentrum micans* では  $160 \mu\text{M}$  で増殖量が最大増殖量の  $1/10$  まで阻害される (森, 1980)。ところが, *O. luteus* については  $2,000 \mu\text{M}$  でゆるい阻害が現れるのみであり尿素についても *C. antiqua* では  $150 \mu\text{M}$  で強い阻害が現れるのに対し *O. luteus* では  $2,000 \mu\text{M}$  まで阻害は認められない。このことは非常に強度のアンモニア, 尿素負荷のかかった水域でも *O. luteus* は成育しうること示している。

次に窒素源として $\alpha$ -アミノ酸が利用されうかどうかを検討する為、グリミン, アラニン, グルタミン酸塩について, 窒素濃度を  $0 \sim 1,000 \mu\text{M}$  の範囲で8段階変化させた培地を作製し, *O. luteus* を培養したが, どの条件でも増殖はみられなかった。一方 Mahoney ら (1977) は *O. luteus* による種々の窒素化合物の同化を論べ, 13種のアミノ酸のうちグリシンを含む8種が利用されるとしており, 我々の得た結果とはくい違っている。おそらくこの差異は地理的な隔離により生理的性質に変化がおきている為生じたものであろう。

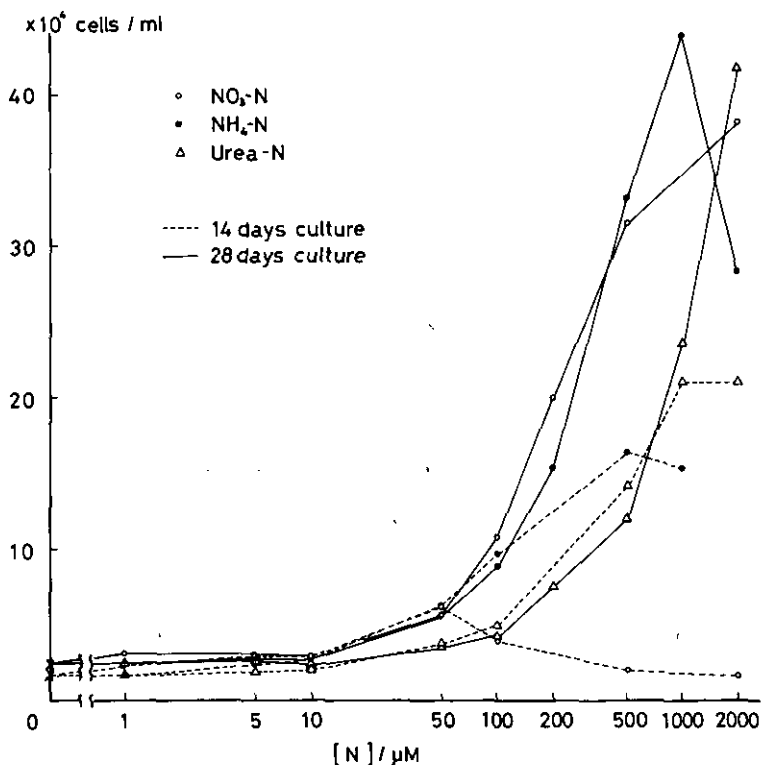


図 7 増殖量に及ぼすチッソの効果

Fig. 7 The effect of nitrogen on the growth yield

以上の結果 *O. luteus* は窒素源として硝酸塩、アンモニウム塩、尿素をよく利用することが分かったので、各々を  $100 \mu\text{M}$  (as N) ずつ含む3種類の培地での増殖曲線を比較した(図8)。この図から、いずれを窒素源として用いても、増殖速度に差は認められず、いずれも  $k = 0.85 \text{ day}^{-1}$  (doubling time で0.8日) で増殖する。一方 *O. luteus* 赤潮発生現場においてはアンモニウム塩の方が硝酸塩より速やかに消費されることが示唆されており(矢持ら, 1981), 従って今後はアンモニウム塩と硝酸塩を同時に含んだ培地で *O. luteus* へのこれら栄養塩のとり込みを分析し、現場との対応づけを行ってゆく必要がある。

図7から *O. luteus* の窒素に対する minimum cell quota を算出すると  $1 \text{ pmol/cell}$  となる。藻体中の P:N 比はリンに対する minimum cell quota  $95 \text{ fmol/cell}$  を用いると、モル比で 1:10, 重量比で 1:5 となる。

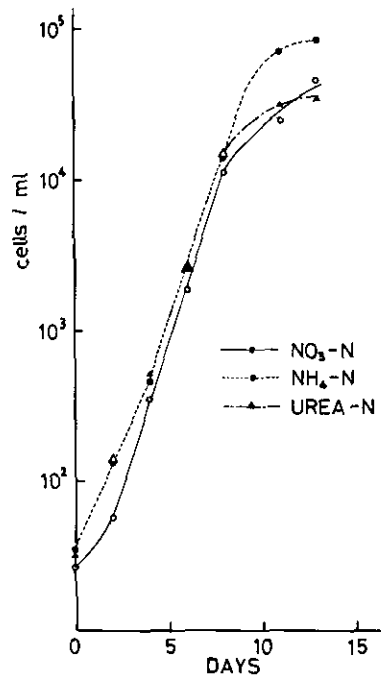


図 8 硝酸塩、アンモニウム塩、尿素を窒素源として用いたときの増殖曲線  
 Fig. 8 Growth curve of *O. luteus* using the N-source as nitrate, ammonium and urea

微量元素の効果 *Chattonella antiqua* の場合と同様の方法で微量元素(鉄, マンガン, 亜鉛, コバルト, モリブデン, ホウ素)が *O. luteus* の増殖に及ぼす影響を調べた。鉄については図9に示したように  $20 \mu\text{M}$  以下で制限因子として働いており、これ以上の濃度では増殖量は飽和する。また  $0 \sim 7 \mu\text{M}$  の範囲では増殖量が鉄の添加濃度に比例しており、minimum cell quota を見積ると

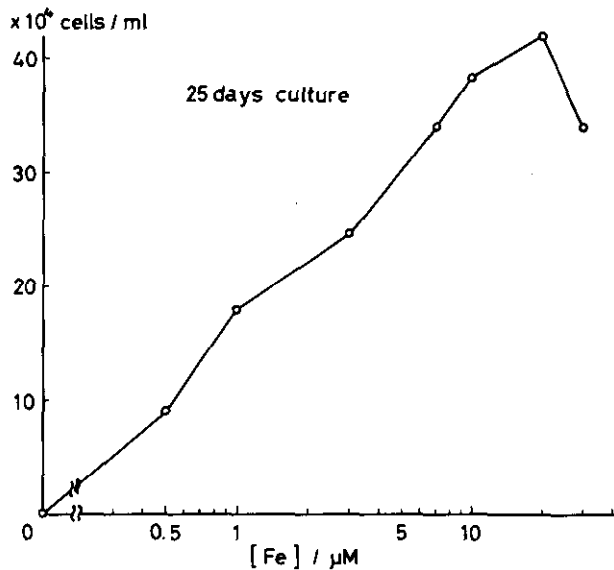


図 9 増殖量に及ぼす鉄の効果  
Fig. 9 The effect of iron on the growth yield

$q_{min} = 6 \text{ fmol. cell}^{-1}$  となる。このように鉄は *O. luteus* の増殖に必須であることが明らかとなった。一方、矢持ら (1981) は、大阪湾においては、*O. luteus* の増殖に鉄が制限因子となっていることを示唆しており、今後は培養系で *O. luteus* 藻体中の鉄を分析するとともに、培地、海水中で鉄の溶存状態を解析して *O. luteus* の赤潮発生に関わる鉄の役割りを明らかにしてゆく必要がある。マンガンについては図10に示すように、0~20 μMの添加で増殖に差がみられなかった。亜鉛についても図11に示すように0~10 μMの添加で増殖量はほとんど変化しない。コバルトは図12に示すように0.05 μMの添加である程度増殖量が増加する。銅は図13に示すように0~0.25 μMの添加で、増殖量はほとんど変化しないが、0.5 μMで増殖量の低下がみられる。モリブデンの効果は図14に示すように1 μMまで添加量に応じて増殖量が増加する。モリブデンは藻類が体内にとり入れた硝酸イオンを亜硝酸イオンに還元する反応の酵素に含まれる (柳田, 1980)。従ってアンモニウム塩を窒素源として培養すれば、モリブデンの増殖効果は現れない可能性が考えられる。ホウ素については図15に示すように0~55 μMの範囲で制限因子として働いている。しかし海水にはホウ素が400 μMも含まれる為、ホウ素が実際の海域で制限要因となることはないと思われる。

**ビタミンの効果** *O. luteus* のビタミン要求性を知る為、ビタミンB<sub>12</sub>とビタミンミックスS<sub>3</sub> (チアミン、ビオチン等を含む) について検討した。その結果を図16に示す。この図から *O. luteus* はB<sub>12</sub>のみを必須とし、B<sub>12</sub>が0.01 μg/l以下ではB<sub>12</sub>が必須となっていることが分かる。またS<sub>3</sub>にはほとんど増殖促進効果は認められなかった。

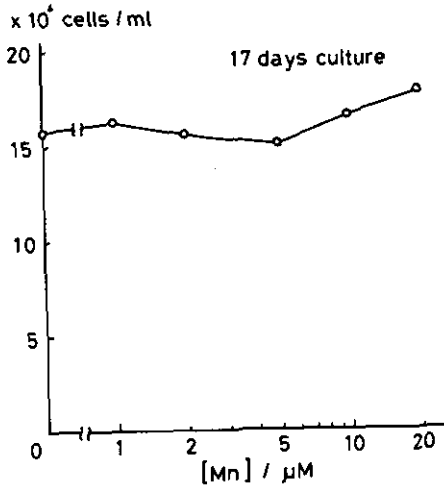


図 10 増殖量に及ぼすマンガンの効果  
 Fig. 10 The effect of manganese on the growth yield

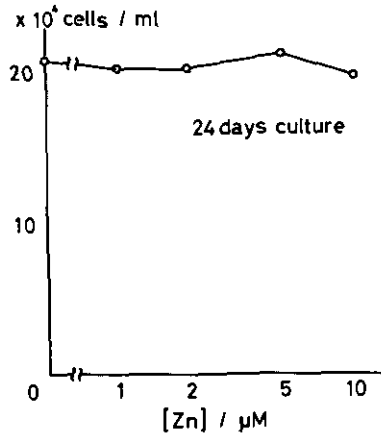


図 11 増殖量に及ぼす亜鉛の効果  
 Fig. 11 The effect of zinc on the growth yield

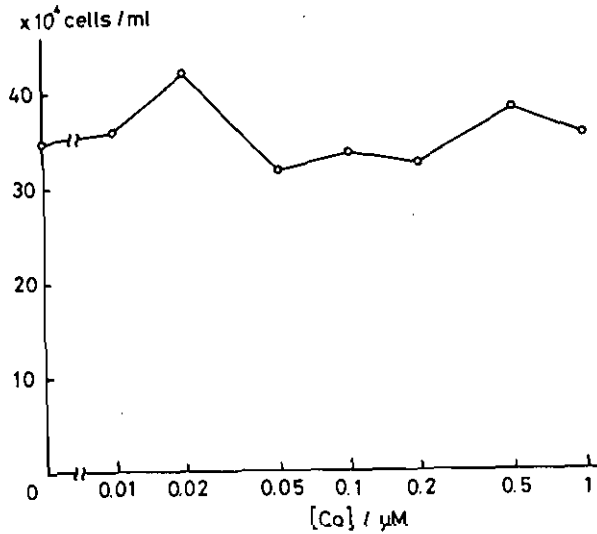


図 12 増殖量に及ぼすコバルトの効果  
 Fig. 12 The effect of cobalt on the growth yield



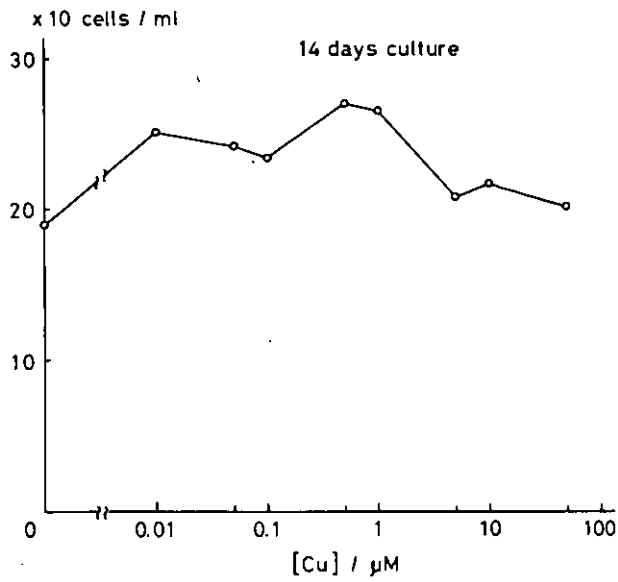


図 13 増殖量に及ぼす銅の効果  
 Fig. 13 The effect of copper on the growth yield

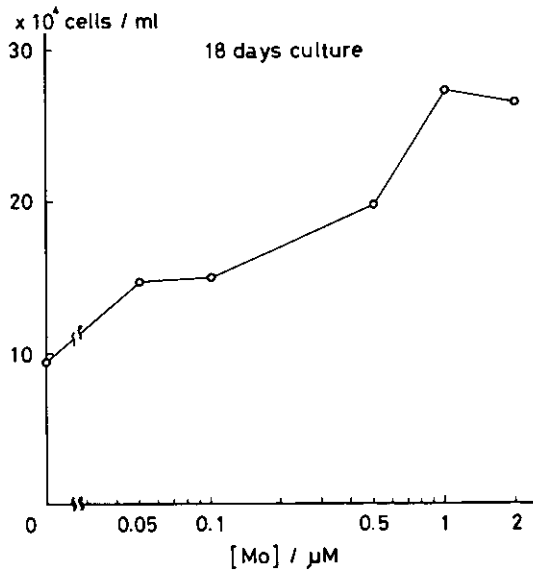


図 14 増殖量に及ぼすモリブデンの効果  
 Fig. 14 The effect of molybdenum on the growth yield

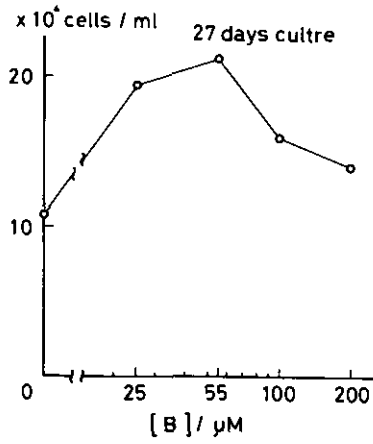


図 15 増殖量に及ぼすホウ酸の効果  
 Fig. 15 The effect of borate on the growth yield

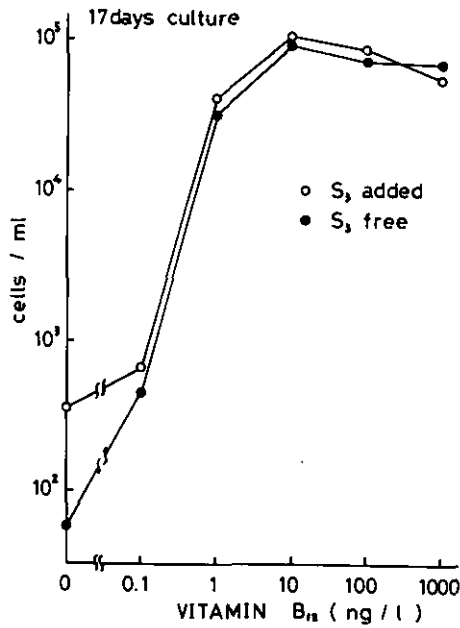


図 16 増殖量に及ぼすビタミン類の効果  
 Fig. 16 The effect of vitamins on the growth yield

## 引用文献

- Cattolico, R. A., J. C. Boothroyd and S. P. Gibbes (1976): Synchronous growth and plastid replication in the naturally wall-less alga *Olisthodiscus luteus*. *Plant Physiol.*, **57**, 497-503.
- Conrad, W. and H. Kufferath (1954): Recherches sur les eau saumâtres des environs de Lilloo. Parti II. Descriptive. *Inst. R. Sci. Nat. Belgig. Mem.*, **127**, 1-346.
- Lackey, J. B. and E. Lackey (1963): Microscopic algae and protozoa in the waters near Plymouth in August 1962. *J. Mar. Ass. U. K.*, **43**, 797-805.
- Lackey, J. B. and K. A. Clendenning (1965): Ecology of the microbiota of San Diego Bay, California. *Trans. San Diego Soc. Nat. Hist.*, **14**, 9-40.
- Mahoney, J. B. and J. J. A. McLaughlin (1977): The association of phtoflagellate blooms in lower New York Bay with hypertrophication. *J. exp. mar. Biol. Ecol.*, **28**, 53-65.
- 森 栄 (1980): 東北大学農学部修士論文
- 中村泰男・渡辺 信・渡辺正孝 (1981): 赤潮藻類の増殖量に及ぼす環境因子の影響 I. *Chattonella antique*. 国立公害研究所報告, 第30号, 53-70.
- Thomas, C. R. (1978a): *Olisthodiscus luteus* I. Effects of salinity and temperature on growth motility and survival. *J. Phycol.*, **14**, 309-313.
- Thomas, C. R. (1978b): *Olisthodiscus luteus* II. Formation and survival of bentic stage. *J. Phycol.*, **14**, 314-319.
- Thomas, C. R. (1979): *Olisthodiscus luteus* III. Uptake and utilization of nitrogen and phosphorus. *J. Phycol.*, **15**, 5-12.
- Thomas, C. R. (1980a): *Olisthodiscus luteus* IV. Effect of light intensity and temperature on photosynthesis and cellular composition. *J. Phycol.*, **16**, 149-156.
- Thomas, C. R. (1980b): *Olisthodiscus luteus* V. Its occurrence, abundance and dynamics in Narraganset Bay, Rhode Island. *J. Phycol.*, **16**, 157-166.
- Watanabe, M. M. (1977): Biosystematic in *Closterium* of sexual unicellular green algae and *Calothrix* and *Spirulina* of asexual filamentous blue-green algae, with special reference to the analyses of natural populations. Dr. thesis, Hokkaido Univ.
- 矢持 進・安部恒之・城 久 (1979): 赤潮多発期に於ける植物プランクトン組成とその推移について, 昭和53年度水産庁赤潮予察調査報告書 (瀬戸内海ブロック) 115-132.
- 矢持 進, 安部恒之, 城 久 (1981): 大阪湾谷川港における *Olisthodiscus luteus* の赤潮発生機構に関する研究 — 出現特性と日周鉛直移動について, 国立公害研究所報告書, 第30号, 191-214.
- 柳田友道 (1976): 赤潮, 講談社, 134.
- 柳田友道 (1980): 微生物科学 I. 学会出版センター, 190-191.

## 6. 赤潮藻類の増殖量に及ぼす環境因子の影響

### III. *Gymnodinium splendens*

#### The Effect of Various Environmental Factors on the Growth Yield of Red Tide Algae.

### III. *Gymnodinium splendens*

中村泰男<sup>1</sup>・渡辺 信<sup>1</sup>・渡辺正孝<sup>1</sup>

Yasuo NAKAMURA<sup>1</sup>, Makoto WATANABE<sup>1</sup> and Masataka WATANABE<sup>1</sup>

#### 要 旨

播磨灘の赤潮*Gymnodinium splendens*の増殖量に及ぼす物理的環境因子の影響を海水培地 f/2 を用いて検討した。その結果以下の諸点が明らかになった。

- 1) 好適温度範囲は13~24°Cにあり、17~20°Cで最大増殖量が得られる。すなわち *Chattonella antiqua* よりも低水温を好む。
- 2) 好適塩分範囲は15~35‰にあり20~32‰で最大増殖量が得られる。
- 3) 好適 pH が7.5~8.5と広い。

#### Abstract

*Gymnodinium splendens*, the organism which causes red tide on the inland sea of Seto, Japan, was grown axenically on the enriched seawater medium. The effect of physical environmental factors on the growth yield of *G. splendens* was examined.

This organism grew well at the temperature of 13 to 24°C, pH of 7.5 to 8.5, salinity of 15 to 35‰, and light intensity greater than 2000 lux.

#### 1. 序 論

*Gymnodinium* 属による赤潮は我が国では瀬戸内海、九州大村湾、および三重県五ヶ所湾で夏から秋にかけて発生する。また海外においては、米国フロリダ半島西岸に大発生して魚貝類に大被害を及ぼす例が知られている。我国に発生する *Gymnodinium* 赤潮に関する研究は、飯塚(1976, 1979)の研究に代表されており、彼は大村湾での赤潮発生状況、赤潮に至るまでの *Gymnodinium*

---

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

個体群の発達過程に関し、野外調査、室内実験を通じて精力的に解析しており、その成果の赤潮研究の進展に寄与するところは大きいといえる。

瀬戸内海播磨灘においては、夏期に *Chattonella antiqua* が赤潮を形成した後、*Gymnodinium* が優占種となって赤潮を形成することが報告されている(安田ら、1978; 小野、1979)が、この種の分類学的実態と生態についてはほとんど不明である。筆者の一人、渡辺(信)が1979年播磨灘より採水した試水より無菌的に分離培養した *Gymnodinium* の培養株、B-0-2は東京水産大・庵谷博士により *Gymnodinium splendens* と同定された(図1)。この種が *C. antiqua* に入れかわって赤潮を形成する *Gymnodinium* と同種かどうかは、今まで報告されている赤潮 *Gymnodinium* の分類があいまいの為、不明であるが、少なくとも形態的に両者は非常によく類似しているといえる。従って、若干の分類学上の問題は残るが、*G. splendens* と同定された培養株の生理的特性の解析は、播磨灘における赤潮種の遷移を説明する場合において重要な情報を提供するものと思われる。

以上の考慮の下に、我々は *G. splendens* の増殖に及ぼす環境因子の効果を解析しており、この過程で現在まで明らかとなっている温度、塩分濃度、pH、照度に対する特性に関して報告する。

## 2. 実験

**材料** 1979年1月、香川県引田沖で採取した *G. splendens* を無菌的にクローン分離した株(B-0-2)を用いた。

**基礎培地** 不幸にして今までのところ、人工海水培地では *G. splendens* の十分な成育がみられないうえ、海水強化培地 f/2 を基礎培地として用いた。従って環境因子としては物理的因子の影響のみを検討した。なお f/2 培地のベースとなる海水は、黒潮海水を使用した。

これ以外の実験条件は前報に準じた。

## 3. 結果と考察

### a) 温度の効果

図2に *G. splendens* の増殖量に及ぼす温度の影響を示す。図から明らかのように、増殖の好適温度は13~24℃にあり、17~20℃で最大の増殖量が得られる。この結果 *G. splendens* は *C. antiqua* に比べて好適温度範囲が広く、かつ最大増殖を示す温度が *C. antiqua* に比べて低いことが明らかとなった。( *C. antiqua* の好適温度は20~25℃、22.5℃で最大増殖を示す。)一方、播磨灘に於ては1980年、*Chattonella* の赤潮が発生せず、*Gymnodinium* による赤潮が発生した(矢持, 私信)。この年は記録的な冷夏の為、海水温度が例年より2~3℃低かった。我々の培養結果ともあわせると、水温は優先種が *C. antiqua* になるか *G. splendens* になるかを決定する重要な因子であることがわかった。

### b) 塩分量

海水を蒸留水で希釈することによって5~35%の塩分量のf/2培地を作製し、*G. splendens* の

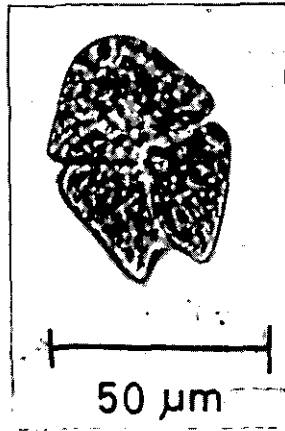


図 1 *G. splendens* の顕微鏡写真  
Fig. 1 Microscopic figure of *G. splendens*

増殖に及ぼす塩分量の効果をみた(図3)。*G. splendens*の好適塩分域は15~35‰にあり、20~32‰で最大の増殖量が得られる。このことは*G. splendens*は*C. antiqua*や*Olisthodiscus luteus*と同様広塩性で外洋水よりうすい塩分濃度でよく、増殖することを示している。一方*Gymnodinium*赤潮発生の際の播磨灘の塩分濃度はほぼ32‰であるので(環境庁 1980b) *G. splendens*の成育に適していると考えられる。

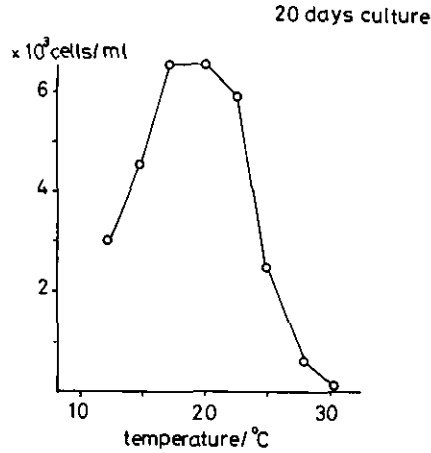


図 2 増殖量に及ぼす温度の効果  
Fig. 2 The effect of temperature on the growth yield

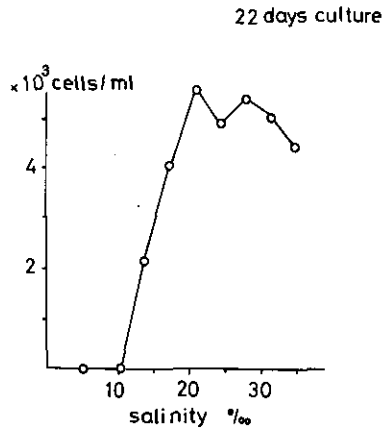


図 3 増殖量に及ぼす塩分量の効果  
Fig. 3 The effect of salinity on the growth yield

c) pH

f/2 培地に tris (hydroxymethyl) aminomethane (TRIS) を 1g/1 添加し、塩酸で pH を 7.5~8.6 の範囲で変化させて、増殖に及ぼす pH の効果を調べた (図 4)。 *G. splendens* の好適 pH は 7.5~8.5 と広く、pH 7.9~8.1 で最大の増殖を示す。

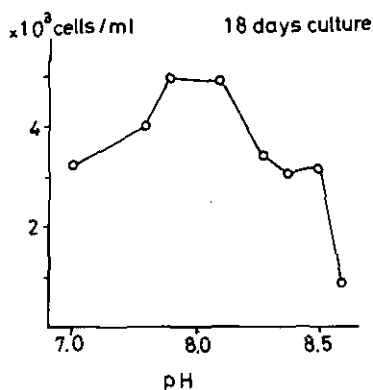


図 4 増殖量に及ぼす pH の効果  
Fig. 4 The effect of pH on the growth yield

d) 照度

0~12,000 lx の範囲で *G. splendens* の増殖に及ぼす照度の影響を調べた (図 5)。この図から、2,000 lx 以上で増殖量は飽和に達し、これ以下では光が制限因子となっていることが分かる。しかし培養期間が 14 日と短かった為、更に培養を継続すれば、2,000 lx 以下での培養でも、2,000 lx 以上と同等の増殖量が得られるかもしれない。今後は増殖速度に対する照度の影響をみてゆく必要がある。

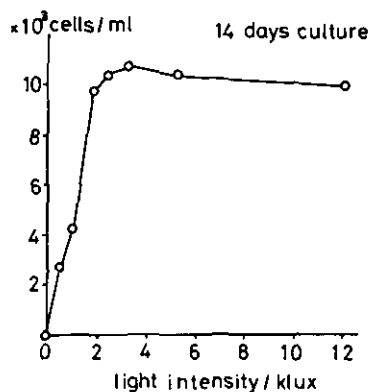


図 5 増殖量に及ぼす照度の効果  
Fig. 5 The effect of light intensity on the growth yield



## 引用文献

- 飯塚昭二 (1976) : 大村湾における汚染の進行と赤潮プランクトンの変遷. 日本プランクトン学会報, **23**, 31 - 43.
- 飯塚昭二 (1979) : 赤潮に至るギムノジニウム個体群の発展, 微生物の生態 6, 学会出版センター, 21 - 36.
- 環境庁 (1980) : 赤潮発生機構総合解析調査データ表. 49 - 80.
- 小野知足 (1979) : 各海域におけるプランクトン. 1. 播磨灘, 水産庁赤潮予察調査報告書, 73 - 80.
- 上野俊士郎・岩崎英雄・藤山虎也 (1977) : 渦鞭毛藻 *Gymnodinium nelsonii* Martin (SF type) の栄養要求. 日本プランクトン学会報, **24**, 94 - 98.
- 安田 基 (1978) : 播磨灘の赤潮発生状況および赤潮予察調査結果の整理と検討. 水産庁赤潮予察調査 (昭和 51, 52年度研究報告書), 101 - 123.

7. 赤潮鞭毛藻 *Olithodiscus luteus* のリン酸制限下での静置培養：  
増殖およびリン摂取の動力学的解析

Growth and Phosphate Uptake Kinetics in *Olithodiscus luteus*  
Grown on Synchronized Batch Cultures

木幡邦男<sup>1</sup>・渡辺 信<sup>1</sup>・中村泰男<sup>1</sup>・渡辺正孝<sup>1</sup>

Kunio KOHATA<sup>1</sup>, Makoto M. WATANABE<sup>1</sup>, Yasuo NAKAMURA<sup>1</sup>  
and Masataka WATANABE<sup>1</sup>

要 旨

リン制限下で *Olithodiscus luteus* の静置 (バッチ) 培養を行い、増殖およびリン摂取の動力学的解析を行った。*O. luteus* は12-12の明暗周期下で同調培養した。培地中のリン酸濃度 ( $S: 0 \sim 5 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ) と藻類細胞内リン含有量 ( $Q$ ) との間には、平衡状態に於て Michaelis-Menten 形の動力学モデルが適用できた。

静置培養で得られた比増殖速度  $\mu$  と  $S$  との関係、または  $\mu$  と  $Q$  との関係は、同株について連続培養で得られたものと異なる部分があり、後者で構築された定常状態でのモデル式は、そのままの形では前者の移行状態での増殖を記述できなかった。

Abstract

The characteristics of phosphate uptake and growth of *Olithodiscus luteus* were studied using phosphate limited populations in batch cultures synchronized with a cycle of 12:12 LD. The relationship between cell phosphorus content ( $Q$ ) and dissolved orthophosphate ( $S$ ) was found to obey the Michaelis-Menten equation when the phosphate level was between 0 and 5  $\mu\text{M}$ . The relationship between growth rate ( $\mu$ ) and  $Q$  and the relationship between  $\mu$  and  $S$  were compared with the respective relationship obtained in chemostat cultures by the use of the same strain. Those relationship obtained in a chemostat experiment which established in a steady state condition were not applicable to a batch culture in a transient condition.

1. 序 論

海域の富栄養化が植物プランクトンの生産性を著しく高め、赤潮を引き起こす。赤潮が特定種の

---

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

異常増殖によるものであることを考えるならば、富栄養という環境下で植物プランクトンの種間競合の、あるいは単一種が優先する機構を解明することが、赤潮発生機構を明確にする上で必要なことであろう。

海域での種間競合は、リン・窒素などの必須栄養塩制限下で起こることが多い。このような状況下では、藻類各種の栄養塩を取り込む機構を明らかにすることが、種間競合を解析するための基本である。

本研究では、リン酸態リンの藻類による取り込み機構を明らかにするため、その動力的解析を試みた。

動力的解析を行うための実験手法は連続培養系、静置（バッチ）培養系の二つに大別できる。一定の流量を培地に与え、定常状態（steady state）での挙動を調べる連続培養系の方が、実験の再現性や安定性の点で優れている（Watanabe *et al.*, 1982a）。

本研究では、理想化された状態（定常状態）での解析で得た増殖およびリン摂取機構のモデル（Watanabe *et al.*, 1982a）が、実際に海域等での増殖で起こる移行状態（transient state）での挙動にどの程度適用できるのか検討するために、*Olisthodiscus luteus* のリン制限下での静置培養実験を行った。

また、藻類の細胞内外リン量の間にもみられるような、平衡に達するまでの時間が速く、連続培養では扱えない問題を取りあげ、両者の関係に新たな知見を得た。

## 2. 実験

実験 I～IV の異なる 4 系統のバッチ培養を行った。各実験の特徴を表 1 にまとめる。全ての実験で、*O. luteus* は森ら（Mori *et al.*, 1982）の株を用いた。リンを制限因子とした ASP<sub>7</sub>-M 培地（Mori *et al.*, 1981）を用い、培養中の周囲温度は 22±1°C に保った。昼光色蛍光灯（約 4,000 lx）を用いて、12-12 時間の明暗周期で照明した。

表 1 実験条件  
Table 1. Experimental condition

Experiment No.	I	II	III	IV
Experimental period	long	long	short	short
Range of initial PO <sub>4</sub> concentration/ $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$	0.01-50.0	5.2	0.5-5.5	0.4-3.9
Measured articles	$N$	$N, S, Q$	$N, S, Q$	$S, Q$
Objective relation	$\frac{dN}{dt} : S_0$	$\frac{dN}{dt} : S$ $\frac{dN}{dt} : Q$	$\frac{dN}{dt} : S$ $\frac{dN}{dt} : Q$	$\frac{dN}{dt} = 0$ $S : Q$

*O. luteus* の分裂は前記の条件の下で同調的に行われ、午前5時より午後1時の間であることが知られている (Watanabe *et al.*, 1982b)。従って、実験Ⅰ、Ⅱ、Ⅲでは、サンプリング時間は分裂による細胞数変化の最も少ない13時から15時の間を選んだ

(A) 実験Ⅰでは、 $\text{PO}_4$ 欠乏の  $\text{ASP}_7\text{-M}$  培地にて10日間の予備培養を行った。*O. luteus* の株をリン酸濃度だけが異なる11種類の  $\text{ASP}_7\text{-M}$  培地 100 ml 中に inoculate した。初期リン酸濃度は  $0.07 \sim 50.0 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$  の培地についてテクニコンオートアナライザー A 型で測定した (Murphy and Riley, 1962)。リン酸濃度  $0.01$  および  $0.05 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$  の培地では、濃度がオートアナライザーによる測定限界以下なので、希釈率から計算した濃度の値を用いた。初期細胞数濃度は約  $6 \times 10^4$  cells/ml で与えた。試料は 2～3 日ごとにサンプリングを行い、細胞数を計数盤を用いて計数した。

(B) 初期リン酸濃度  $5.2 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$  の培地 500 ml に対数増殖期にある *O. luteus* を inoculate して、実験Ⅱを行った。0～15日目までの毎日、13～15時の間にサンプリングして、細胞数を計数盤を用いて計数した。実験Ⅱでは、細胞数計数の他に、細胞内外のリン量の変化を調べるために、培地中に残るリン酸量を次のようにして測定した。試料の 10 ml を、ワットマン GF/C フィルターを用いてろ過し、ろ液中のリン酸をオートアナライザーで測定した。ろ過時の吸引圧力は  $\frac{1}{2}$  気圧より高くした。この条件で、細胞内のリンがろ過中に漏出することはなかった。従って、各サンプル時について初期リン酸濃度から培地中に残ったリン酸濃度を差し引き、藻類内に蓄積されたリン量を計算した。

(C) 初期リン酸濃度  $0.5 \sim 5.5 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$  の 6 種類の培地各 500 ml に初期細胞数濃度が約  $5 \times 10^4$  cells/ml となるように対数増殖期にある *O. luteus* を inoculate して、実験Ⅲを行った。各培地について、細胞数濃度が約 2,000～5,000 cells/ml に達した日より 1 日 1 回のサンプリングを始めた。試料の 20 ml を GF/C フィルターでろ過した後、ろ液中のリン酸濃度をオートアナライザーで測定した。また、実験Ⅱと同様にして、藻類内に備蓄されたリン量を計算した。

(D) 考察の項で述べるように、細胞内リン量の変化は、培地中のリン濃度ばかりでなく、細胞分裂により細胞数が増加することでも影響を受ける。連日、細胞数およびリン酸濃度の変化がある実験Ⅱ、Ⅲでは、この複雑さから逃れられない。細胞内外のリン量の関係を、分裂による影響を切り離して調べるために、*O. luteus* の分裂の起こらない 13時から17時までの測定に限り実験Ⅳを行った。リン欠乏状態の *O. luteus* ( $1.2 \times 10^4$  cells/ml) を 100 ml の三角フラスコ 10 個に分け、各フラスコに培地中リン酸濃度が  $0.4 \sim 3.9 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$  になるようにリン酸ナトリウム水溶液を 200～400  $\mu\text{l}$  加えた。3 時間後に各 15 ml づつを実験Ⅱと同様にろ過し、ろ液中のリン酸濃度をオートアナライザーで測定した。

### 3. 結果

(A) 実験Ⅰで得られた細胞数の変化を図 1 に示す。それぞれの培養の初期では、培地中リン酸濃度 ( $S: \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) の変化は小さい。リン酸濃度が  $0.01 \sim 0.05 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$  の試料については 0～

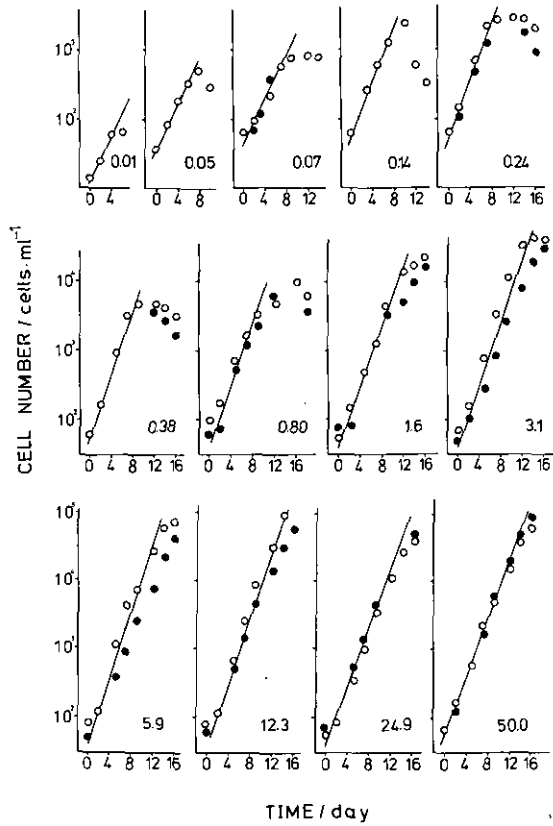


図 1 バッチ培養系における *Olisthodiscus luteus* の細胞数の日変化  
 黒丸と白丸は二つの独立な実験の結果を表し、直線は(1)式で求めた値を示す。グラフ中の数字は培地中の初期リン酸濃度を表す。

Fig. 1 Increase in cell number of *Olisthodiscus luteus* in a batch culture shown with linear regression as calculated from Eq. 1  
 Open and closed circles indicated cell numbers obtained in two different experiment. The number in each graph denoted initial phosphate concentration in medium.

4日目の細胞数変化から、 $0.07 \sim 0.38 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$  の試料については0～7日目の細胞数変化から各リン酸濃度における対数増殖期の比増殖速度定数 ( $\mu: \text{d}^{-1}$ ) を求めた。初期リン酸濃度が  $0.80 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$  の試料では潜伏期 (lag phase) が観察されたため、2～9日目の細胞数変化を用いて  $\mu$  を求めた。定数  $\mu$  は、細胞数を下式に最小2乗法を用いた当てはめを行い計算した。

$$N(t) = N_0 \cdot \exp\{\mu(t - t_0)\} \quad (1)$$

ただし、 $N(t)$  ( $\text{cells} \cdot \text{l}^{-1}$ ) は時刻  $t$  (d) における細胞数を、また  $N_0$  は時刻  $t_0$  における細胞数を表す。

計算の結果得られた  $\mu$  を、 $\mu$  と  $S$  の逆数とともに表 2 に示す。表 2 中、 $\mu$  の誤差は、二つの実験の再現性と、計数誤差に帰因する誤差から、また  $S$  の誤差はオートアナライザーでの測定誤差から見積った。他の量の誤差は次式の誤差伝播関係を用いて計算した。

$$R = f(z_1, z_2, \dots, z_n)$$

のとき

$$\sigma_R = \sum_{i=1}^n \left( \frac{\partial f}{\partial z_i} \right) \sigma_i^2 \quad (2)$$

ただし、 $z_i$  は直接観測される量を、 $\sigma_i$  はその 2 乗平均誤差を表す。また、 $z_i$  の関数である  $R$  の 2 乗平均誤差を  $\sigma_R$  で表す。

表 2 実験 I で得られた増殖速度  
Table 2. Growth rate obtained in experiment I

$S^a)$	$1/S^b)$	$\mu^a)$	$1/\mu^b)$	$\mu/S^b)$
0.01(3)	100(300)	0.36(5)	2.8(4)	36(108)
0.05(3)	20(12)	0.40(5)	2.5(3)	8(5)
0.07(3)	14(6)	0.36(5)	2.8(4)	5(2)
0.14(3)	7(2)	0.44(5)	2.3(3)	3.1(8)
0.24(3)	4.2(5)	0.47(5)	2.1(2)	2.0(3)
0.38(3)	2.6(2)	0.57(4)	1.6(1)	1.5(2)
0.80(3)	1.25(5)	0.48(9)	2.0(4)	0.6(1)
1.59(3)	0.63(1)	0.51(4)	2.0(2)	0.32(2)
3.09(3)	0.323(3)	0.53(9)	1.9(3)	0.17(3)
5.88(6)	0.169(2)	0.52(13)	1.9(5)	0.09(2)
12.3(1)	0.0813(6)	0.57(8)	1.8(2)	0.046(7)
24.9(2)	0.0402(3)	0.54(3)	1.9(1)	0.022(1)
50.0(3)	0.0200(1)	0.52(4)	1.9(1)	0.011(1)

a) Estimated uncertainties in the last significant digits are given in parentheses. Phosphate concentration ( $S$ ) is in  $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$  unit and growth rate ( $\mu$ ) is in  $\text{d}^{-1}$  unit.

b) Uncertainties are calculated values. (see Text)

栄養塩濃度と藻類の比増殖速度との関係は多くの研究者により解析されてきた (Droop, 1973, 1974, 1975; Nyholm, 1976; Tilman and Kilham, 1976; Brown and Harris, 1978; MacIsaac and Dugdale, 1979; Perry and Eppley, 1981).

増殖機構に対し既に幾つかのモデル式が与えられているが、その内、最も単純で、しかも良く利用されているものは Monod の式 (Monod, 1942, 1950) であろう。Monod によれば比増殖速度  $\mu$  は、最大比増殖速度を  $\mu_{\max}$ 、栄養塩濃度を  $S$  とすると

$$\mu = \mu_{\max} \cdot \frac{S}{K + S} \quad (3)$$

で表される。ここで  $K(\text{mol} \cdot \text{l}^{-1})$  は  $\mu = \frac{1}{2} \cdot \mu_{\max}$  を与える栄養塩濃度で、half saturation constant と呼ばれる。

式(3)は双曲線であるが、実測のデータから二つの定数  $\mu_{\max}$  と  $K$  を求め易くするための幾つかの直線化が知られている (Segel, 1976)。同時に、これらの変形により測定値が直線で表されることで、比増殖速度と栄養塩濃度との間に Monod の式で表される関係のあることが検証される。

ここでは、酵素反応速度の解析で通常用いられる3種の直線化を試みた (Segel, 1976)。

(i) Lineweaver - Burk plot

$$\frac{1}{\mu} = \frac{K}{\mu_{\max}} \cdot \frac{1}{S} + \frac{1}{\mu_{\max}} \quad (4)$$

(ii) Woolf plot

$$\frac{S}{\mu} = \frac{1}{\mu_{\max}} \cdot S + \frac{K}{\mu_{\max}} \quad (5)$$

(iii) Eadie - Scatchard plot

$$\frac{\mu}{S} = -\frac{1}{K} \cdot \mu + \frac{\mu_{\max}}{K} \quad (6)$$

図2に  $S$  と  $\mu$  の関係を、また図3～5に式(4)～(6)で与えられる関係をそれぞれ示す。図3、5では、リン酸濃度の低い場合に直線からの系統的なずれが表れているのに対し、図4の Woolf plot では見かけ上、その差が小さい。従来、藻類の比増殖速度を解析する際に Woolf plot が多用されている (Tomas, 1979; Chisholm and stross, 1976; Packard, 1979; Perry and Eppley, 1981)。しかし、この直線化では直線の傾斜は比較的求まり易い  $\mu_{\max}$  だけで決まり、反面、切片から得られる  $K$  の値には大きな誤差を含む危険性がある。また、他の図においても、主観で直線を引いた場合、各測定点の変形による誤差の評価を誤る危険性がある。以上の理由により、本研究では最小2乗法を用いて得られた測定値の式(3)への直接の当てはめを行ってパラメーターを決定し、各直線化の図は Monod の式の検証に使用した。最小2乗法の結果、表2の測定値  $K$  に対し  $\mu_{\max} = 0.51 \pm 0.17 \text{ d}^{-1}$ 、 $K = 0.007 \pm 0.003 \mu \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$  が得られた。これらの値で計算されるグラフを図2～5中に実線で表す。*O. luteus* に限らず藻類は一般に必要な以上のリンを細胞内に備蓄している (Nyholm, 1976; Tilman and Kilham, 1976; Brown and Harris, 1978)。この細胞内リン含有量と比増殖速度との関係は、*Monochrysis lutheri* の例について Droop らの研究が報告されている (Droop, 1974, 1975)。*O. luteus* における細胞内外のリン量と比増殖速度との関係を実験Ⅱ、Ⅲで調べた。

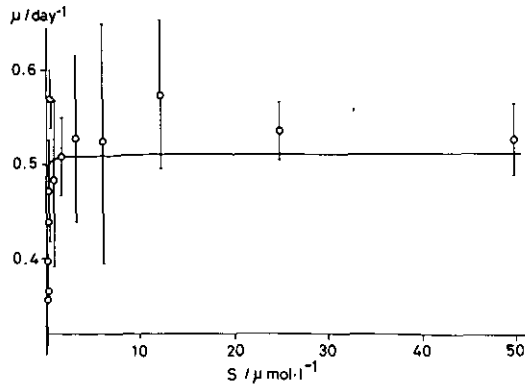


図 2 リン酸濃度の関数として表した *Olisthodiscus luteus* の比増殖速度  
 (3)式で  $\mu_{\max} = 0.51 \text{ d}^{-1}$ ,  $K = 0.007 \mu \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$  を用いた理論曲線を図中に示す。縦線は誤差限界を示す。

Fig. 2 *Olisthodiscus luteus* growth rate as a function of phosphate concentration. Solid line was a theoretical curve as calculated from Eq. 3 with  $\mu_{\max} = 0.51 \text{ d}^{-1}$  and  $K = 0.007 \mu \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ . Vertical bar denoted estimated limit of error.

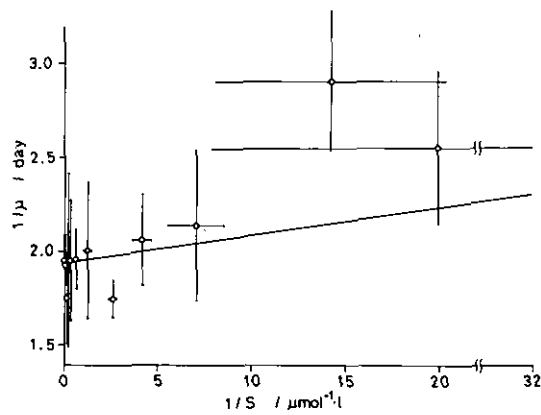


図 3  $1/S$  と  $1/\mu$  の関係 (Lineweaver-Burk plot)  
 縦線と横線は、誤差伝播の式 2 により計算された誤差限界を示す。

Fig. 3 Double reciprocal plot of  $S$  and  $\mu$ . (Lineweaver-Burk plot)  
 Vertical and horizontal bars denoted error limits calculated from Eq. 2.



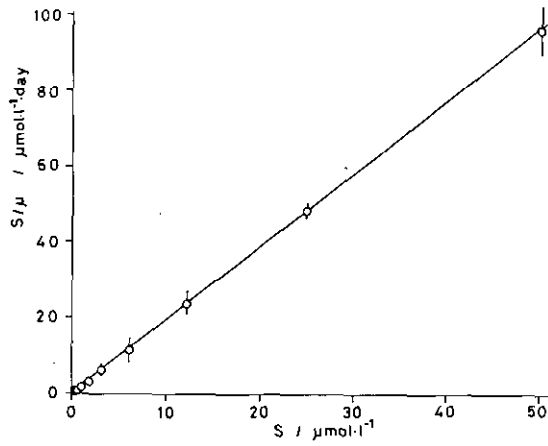


図 4  $S/\mu$  と  $S$  の関係 (Woolf plot)  
縦線は  $S/\mu$  に対し(2)式で計算された誤差を示す。

Fig. 4  $S/\mu$  vs.  $S$  curve. (Woolf plot)  
Vertical bar denoted error limit calculated from Eq. 2.

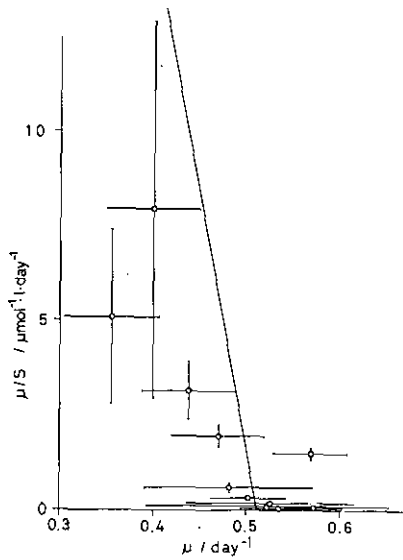


図 5  $\mu/S$  と  $\mu$  の関係 (Eadie-Scatchard plot)  
縦線と横線は(2)式で計算された誤差を示す。

Fig. 5  $\mu/S$  vs.  $\mu$  curve for growth rate of *O. luteus* (Eadie-Scatchard plot)  
Vertical and horizontal bars denoted error limits calculated from Eq. 2.

実験Ⅱでは15日間に渡り、細胞数 $N$ と培地中リン酸濃度( $S$ )の変化を追った。その結果を表3および図6に示す。表3中、 $\mu = \frac{1}{N} \cdot \frac{dN}{dt}$ の値は細胞数の値を滑らかにつないで得られる曲線の接線の傾斜から求めた。細胞内リン含有量( $Q: \text{mol} \cdot \text{cell}^{-1}$ )は、培地中リン酸の初期濃度から各測定時の濃度を差引いた値を同時刻の細胞数で割った。これら $S$ と $\mu$ 、および $Q$ と $\mu$ の関係を図7、8にそれぞれ示す。また、図9に $S$ と $Q$ の関係を示す。

表 3 実験Ⅱで得られた増殖速度と細胞内リン含有量  
Table 3. Growth rate and cell quota obtained in experiment II

Time/d	$N/10^7 \text{ cells} \cdot \text{l}^{-1}$	$\mu/\text{d}^{-1}$	$S/\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$	$Q/\text{fmol} \cdot \text{cell}^{-1}$
0	0.0191	—	5.52	—
1	0.0475	0.75	5.48	68
2	0.0898	0.60	5.39	144
3	0.1635	0.58	5.19	197
4	0.2922	0.56	4.94	198
5	0.4914	0.50	4.52	204
6	0.8002	0.46	3.74	222
7	1.26	0.46	2.55	236
8	1.94	0.41	1.19	223
9	2.79	0.35	0.19	190
10	3.87	0.31	0.03	142
11	5.22	0.19	0.00	106
12	5.77	0.04	0.00	96
13	5.84	0.00	0.00	95
15	5.77	—	0.00	95

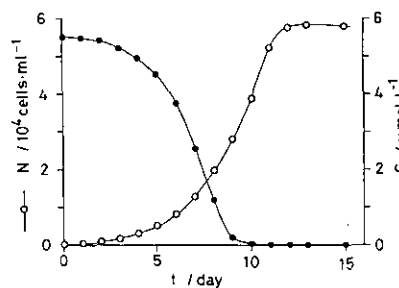


図 6 実験Ⅱで得られた、細胞数(○)とリン濃度(●)の日変化

Fig. 6 Time history of phosphate concentration (●) in medium and cell number (○) of *Olisthodiscus luteus* grown in a synchronized batch culture as experiment II.

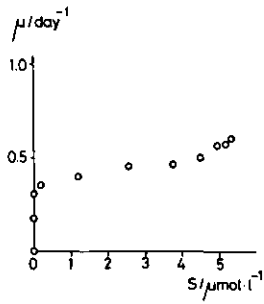


図 7 実験 II で得られたリン濃度に対する比増殖速度の関係

Fig. 7 Growth rate observed in experiment II as a function of phosphate concentration.

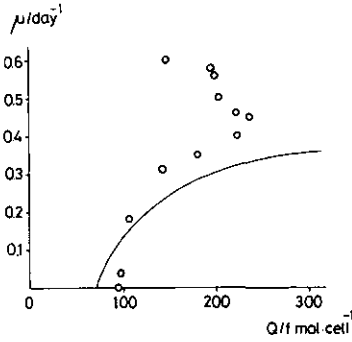


図 8 実験 II で得られた細胞内リン含有量に対する比増殖速度の関係

図中の曲線は、連続培養での結果 (M.M.Watanabe *et al.*, 1981a) を基に、Droop の関係式から求めた。

Fig. 8 Growth rate observed in experiment II as a function of cell quota,  $Q$ .

Droop's relation with parameters obtained in a continuous culture (M. M. Watanabe *et al.*, 1981) was illustrated in the figure as a solid curve.

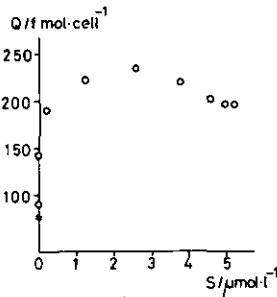


図 9 実験 II で得られた細胞内リン含有量と培地中リン酸濃度との関係

Fig. 9 Relation between cell quota and phosphate concentration in medium. Plotted data were obtained in experiment II.

(C) 実験Ⅱでは、初期リン酸濃度 ( $S_0$ ) が  $5.52 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$  の 1 種の試料につき連日測定を行ったが、実験Ⅲでは  $S_0$  が  $0.5\sim 5.5 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$  の 6 種類の試料について実験Ⅱと同様の測定を平行して短期間行った。結果を表 4 に示す。表 4 中、 $Q$  および  $\mu$  の値は実験Ⅱと同様にして計算した。 $S$  と  $\mu$ 、および  $Q$  と  $\mu$  の関係をそれぞれ図 10、11 に、また図 12 に  $S$  と  $Q$  の関係を示す。細胞内リン含有量 ( $Q$ ) は培地中リン酸濃度 ( $S$ ) の関数で表されることが図 9、12 より期待される。しかし、後で考察する理由により、実験Ⅱ、Ⅲでは、 $Q$  は細胞分裂の影響を受けて変化しているため  $S$  だけの関数となっていない。この  $S$  と  $Q$  との関係は次の実験Ⅳで詳細に取り扱う。

表 4 実験Ⅲで得られた増殖速度と細胞内リン含有量  
Table 4. Growth rate and cell quota obtained in experiment III

$S_0/\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$	time/d	$N/10^6 \text{ cells}\cdot\text{l}^{-1}$	$\mu/\text{d}^{-1}$	$S/\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$	$Q/\text{fmol}\cdot\text{cell}^{-1}$
0.66	0	5.11	0.28	0.06	117
	2	6.89	0.04	0.04	90
0.87	0	3.78	0.56	0.28	156
	2	7.89	0.09	0.06	103
	3	7.89	0.01	0.04	105
1.15	0	4.33	0.24	0.57	134
	2	5.22	0.16	0.19	184
	3	7.11	0.14	0.07	152
1.73	0	1.94	0.54	1.11	319
	2	4.67	0.48	0.61	240
	3	8.67	0.45	0.26	170
2.56	0	3.67	0.27	1.90	180
	2	5.56	0.19	1.46	198
	3	6.67	0.17	1.21	202
5.57	0	1.94	0.51	4.94	324
	2	4.44	0.27	4.52	236
	3	5.56	0.23	4.24	239

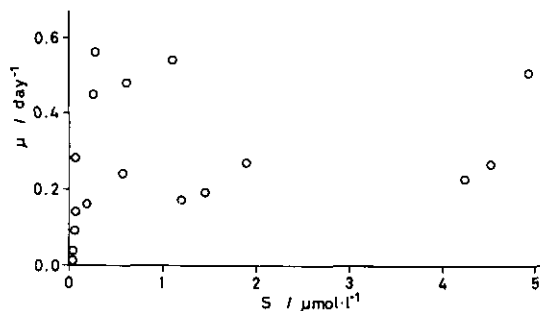


図 10 実験Ⅲで得られたリン濃度に対する比増殖速度の関係

Fig. 10 Growth rate observed in experiment III as a function of phosphate concentration

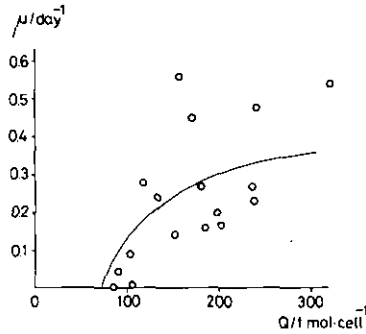


図 11 実験Ⅲで得られた細胞内リン含有量に対する比増殖速度の関係  
 図中の曲線は、連続培養での結果 (M.M.Watanabe *et al.*, 1981a) を基に、Droop の関係式から求めた。

Fig. 11 Growth rate observed in experiment III as a function of cell quota,  $Q$ . Droop's relation with parameters obtained in a continuous culture (M. M. Watanabe *et al.*, 1981) was illustrated in the figure as a solid curve.

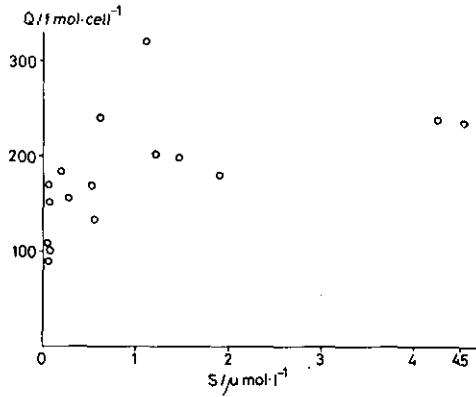


図 12 実験Ⅲで得られた細胞内リン含有量と培地中リン酸濃度との関係

Fig. 12 Relation between cell quota and phosphate concentration in medium. Plotted data were obtained in experiment III.

(D) 静置培養では、細胞数 ( $N$ )、比増殖速度 ( $\mu$ )、細胞内リン含有量 ( $Q$ )、および培地中リン酸濃度 ( $S$ ) との間に

$$\frac{1}{N} \cdot \frac{dN}{dt} = \mu(N, Q, S) \quad (7)$$

$$\frac{dQ}{dt} = v(Q, S) - Q \cdot \mu(N, Q, S) \quad (8)$$

$$\frac{dS}{dt} = -N \cdot v(Q, S) \quad (9)$$

が一般に成立する (Tilman and Kilham, 1976)。ただし  $v(Q, S)$  ( $\text{mol} \cdot \text{cell}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ) は細胞一つあたりのリン摂取速度を表す。(8)式に表されるように、 $Q$ の変化はリン摂取速度ばかりでなく、第2項に示された比増殖速度にも依存する。 $Q$ に対する速度式のうち、増殖に係わる項を無視 ( $dN/dt = 0$ ) して解析するため、*O. luteus* が全く細胞分裂を行わない時間帯を選び、培地中にリン酸を添加後、*O. luteus* が1度も分裂をしない条件下で実験IVを行った。得られた  $S$  と  $Q$  を表5, 図13に示す。表5中、 $Q$ は初期リン酸濃度から、ろ液のリン酸濃度を差し引いたものを細胞数  $1.2 \pm 0.2 \times 10^7 \text{ cells} \cdot \text{s}^{-1}$  で割って求めた。

表 5 培地中リン濃度と細胞内リン含有量との関係

Table 5. Interrelation between phosphate concentration and cell quota<sup>a)</sup>

$S_0$ <sup>b)</sup>	$S$ <sup>b)</sup>	$Q$ <sup>c)</sup>	$1/S$ <sup>c)</sup>	$1/Q \times 10^3$ <sup>c)</sup>
0.39(3)	0.20(3)	101(17)	5.00(75)	9.90(17)
0.78(3)	0.43(3)	114(18)	2.33(16)	8.77(14)
1.17(3)	0.65(3)	129(19)	1.54(7)	7.75(11)
1.56(3)	0.89(3)	141(20)	1.12(4)	7.09(10)
1.95(3)	1.22(3)	146(20)	0.82(2)	6.85(9)
2.34(3)	1.54(3)	152(21)	0.65(1)	6.58(9)
2.73(3)	2.05(3)	142(20)	0.488(7)	7.04(10)
3.12(3)	2.30(3)	154(21)	0.435(6)	6.49(9)
3.51(3)	2.64(3)	158(21)	0.379(4)	6.33(4)
3.90(3)	3.15(3)	148(21)	0.317(3)	6.76(3)

a) Phosphate concentration ( $S$ ) is in  $\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$  and cell quota is in  $\text{fmol} \cdot \text{cell}^{-1}$

b) Estimated uncertainties in the last significant digits are given in parentheses.

c) Uncertainties are calculated values. (see Text)

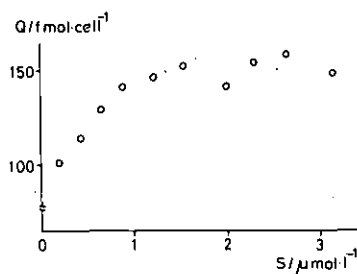


図 13 細胞数変化の影響のない条件下で求めた、細胞内リン含有量と培地中リン酸濃度との関係

Fig. 13 Relation between cell quota and phosphate concentration in medium observed under the condition independent of cell number change.

この逆数  $1/Q$  と培地中リン酸濃度の逆数  $1/S$  の関係 (Lineweaver - Burk plot) を図14に示す。図14で、 $1/S$  と  $1/Q$  の間に直線で表される関係があることは、 $Q$  が、その平衡状態において  $S$  と Michaelis Menten type の関係のある事を示唆する。図9および図12でも同様の事が推察されたが、図13、図14では、それがより明確な形で表されている。

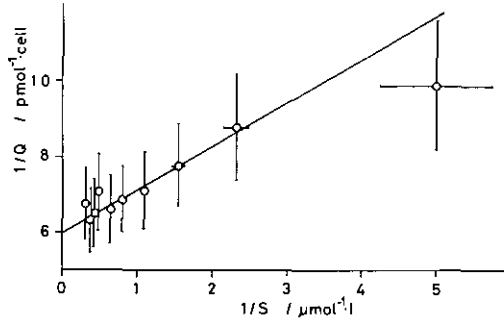


図 14 図13に示した  $S$  と  $Q$  の両逆数の関係  
縦線と横線は(2)式で計算された誤差を示す。

Fig. 14 Double reciprocal plot of Fig. 13.

Vertical and horizontal bars denoted error limits calculated from Eq. 2.

#### 4. 考 察

藻類増殖の動力的取り扱いのなかで、Monod の式が占める歴史的な重要性は大きいと言えるし、また、その式が単純であるため、生態学に広く利用されていて、現在までに提出された生態系のモデル式の内でも基本的には Monod の式が採用された例は多い (MacIsaac and Dugdale, 1979; Di Toro, 1980; Perry and Eppley, 1981)。本研究でも、第1に、*O. luteus* のリン制限下での増殖が Monod の式で表現できるか否かを検証した。

最小2乗法で得られた曲線を図2中で実線で表したが、計算値と実測値との差はそれぞれの測定誤差の範囲内ではあるものの、 $S$  の大小に対し系統性がみられる。この点を詳細に検討するために3種の直線化を試みた。図4に示した Woolf plot と呼ばれる図では、測定された値が Monod の式から大きくずれる場合でも、(5)式で変形された値は見かけ上良く直線上に並ぶことが指摘されている (Packard, 1979; Watanabe, 1980)。このことに留意しないために本質的に Monod の式、(3)式で表現できない場合にこの式を適用し、見かけのパラメーターとして  $\mu_{max}$  や  $K$  を求めた報告が過去にあるが、増殖機構の本質を見誤りかねない。

計算値と実測値との系統的な差は図5に良く表現されている。図5に示された値は、切片と傾斜がそれぞれ異なる二つの直線の重ね合わせと見れる。これは、比増殖速度が異なる2経路で培地中リン酸濃度と関係している (Segel, 1976; Chisholm and Stross, 1976) ことを示唆する。

比増殖速度は、培地中リン酸濃度の他に細胞内リン含有量にも依存することが知られている (Tilman and Kilham, 1976; Nyholm, 1976; Brown and Harris, 1978)。連続培養による定常状態 ( $dN/dt = dQ/dt = dS/dt = 0$ )での増殖機構の解析によれば、比増殖速度 ( $\mu$ ) と細胞内リン含有量 ( $Q$ ) との間には密接な関係があった。最大比増殖速度を  $\mu_{\max}$  とすれば、

$$\mu = \mu_{\max} \left(1 - \frac{k_Q}{Q}\right) \quad (10)$$

で  $Q$  についての関数として  $\mu$  が表される。ただし、(10)式中で  $k_Q$  ( $\text{mol} \cdot \text{cell}^{-1}$ ) は細胞において  $Q$  の取り得る最小値である。

実験Ⅱ, Ⅲで得られた  $Q$  と  $\mu$  をそれぞれ図8, 11に示す。両図中、実線は連続培養 (Watanabe *et al.*, 1982 a) で得た結果を表す。定常状態では(10)式で  $\mu$  が表されているが、静置培養では、 $N$ ,  $Q$ , および  $S$  が刻一刻と変化し、また増殖やリン摂取には有限の時間が必要で、各反応には時間の遅れがあるために、図8, 11に見られるように、(10)式で与えられる値からの差が大きいのであろう。

実験Ⅱ, Ⅲで得られた  $S$  と  $Q$  をそれぞれ図9, 11に示す。両図から、 $S$  と  $Q$  の間に双曲線で表せる関係が推察される。しかし、静置培養実験では、増殖に係る多くの要因が多く錯綜しているため、得られた情報を解釈するのは連続培養の平衡状態での解釈に比較して容易ではない。前述したように、リン摂取の機構を明確にするには、状態変数を減ずる必要があった。この目的のため  $dN/dt = 0$  とした実験Ⅳの結果では、残りの2変数  $S$  と  $Q$  の関係が浮き彫りにされた。図13に示したように、平衡状態での  $Q$  は

$$Q = Q_{\max} \cdot \frac{S}{K_Q + S} \quad (11)$$

で与えられる。(11)式で  $Q_{\max}$  ( $\text{mol} \cdot \text{cell}^{-1}$ ) は細胞の取り得る  $Q$  の最大値を、また  $K_Q$  ( $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ) は  $Q = \frac{1}{2} Q_{\max}$  を与える培地中リン酸濃度を表す。

リン摂取機構は

$$\frac{dQ}{dt} = v_{\max} \cdot \frac{S}{K_v + S} \quad (12)$$

の速度式で表現されてきた (Nyholm, 1976; Tilman and Kilham, 1976)。しかし、図13に示した様に、短時間で平衡状態 ( $dQ/dt = 0$ ) に達し、 $Q$  が(11)式に従う値をとることを考慮するならば、(12)式の速度式に逆反応を取り入れる必要があるだろう (Droop, 1974)。このとき細胞内リン含有量の分裂によらない変化は

$$\frac{dQ}{dt} = v^+(S) - v^-(Q) \quad (13)$$

の形で一般的に書き表せる。 $v^+(S)$  ( $\text{mol} \cdot \text{cell}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ) は、 $S$  の関数として表された1細胞あたりのリン摂取速度を、また  $v^-(Q)$  ( $\text{mol} \cdot \text{cell}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ) は  $Q$  の関数として表された1細胞あたりのリン排泄速度を表す。 $v^+$  および  $v^-$  とも、それらの関数形を定めることは、本研究では出来なかったが、



$v^+$ については、*O. luteus* について Tomas らが同位体 ( $^{32}\text{P}$ ) を用い、次の Michael Menten 形の式で表されるといふ結果を得ている (Tomas, 1979)。

$$v^+(S) = v_{\max}^+ \cdot \frac{S}{K_v^+ + S} \quad (14)$$

彼らの求めた  $v_{\max}^+$  および  $K_v^+$  を表 6 に示す。表(6)で(1), (2)は独立な二つの実験により求められている。

表 6 Tomas により求められたリン摂取速度定数  
Table 6. Uptake kinetic constant by Tomas

	$K_v^+$ / $\mu\text{mol}^{-1}$	$\pm 95\%$	$v_{\max}^+$ / $\text{fmol} \cdot \text{cell}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$	$\pm 95\%$
(1)	1.00	0.55	3.80	1.62
(2)	1.98	0.74	7.22	2.44

リン摂取速度  $v^+$  として(15)式を用いた場合、平衡状態 ( $dQ/dt = 0$ ) で(12)式を満足する  $v^-$  として次の2例が考えられる。

$$(i) \frac{dQ}{dt} = v_{\max}^+ \cdot \frac{S}{K_v^+ + S} - v_{\max}^- \cdot \frac{Q}{K_v^- + Q} \quad (15)$$

$$(ii) \frac{dQ}{dt} = v_{\max}^+ \cdot \frac{S}{K_v^+ + S} - v^- \cdot Q \quad (16)$$

(15)式では、リン排泄機構として、摂取機構と同様の Michaelis Menten 形の反応と仮定した。(16)式では、リン排泄機構として細胞外への拡散を仮定した。現段階では、これらの差を実験的に見出すことは出来ず、今後の検討事項の一つであろう。

#### 引用文献

- Brown, E. J. and R. F. Harris (1978): Kinetics of Algal Transient Phosphate Uptake and the Cell Quota Concept. *Limnol. Oceanogr.*, **23**, 35-40.
- Chisholm, S.W. and R. G. Stross (1976): Phosphate Uptake Kinetics in *Euglena Gracilis* (Z) (Euglenophyceae) Grown on Light/dark Cycles. 1. Synchronized Batch Cultures. *J. Phycol.*, **12**, 210-217.
- Di Toro, D. M. (1980): Applicability of Cellular Equilibrium and Monod Theory to Phytoplankton Growth Kinetics. *Ecological Modelling*, **8**, 201-218.
- Droop, M. R. (1973): Some Thought on Nutrient Limitation in Algae. *J. Phycol.*, **9**, 264-272.
- Droop, M. R. (1974): The Nutrient Status of Algal Cells in Continuous Culture. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, **54**, 825-855.
- Droop, M. R. (1975): The Nutrient Status of Algal Cells in Batch Culture. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, **55**, 541-555.
- MacIsaac, J. J., R. C. Dugdale, S. A. Huntsman and H. L. Conway (1979): The Effect of Sewage on Uptake of

- Inorganic Nitrogen and Carbon by Natural Population of Marine Phytoplankton. *J. Marine Res.*, **37**, 51-66.
- Monod, J. (1942): *Recherches sur la Croissance des Cultures Bactériennes*, 210pp. Paris: Hermann.
- Monod, J. (1950): *La Technique de Culture Continue; Theorie et Applications*. *Ann. Inst. Pasteur Lille.*, **79**, 390-410.
- Mori, S., Y. Nakamura, M. M. Watanabe, M. Watanabe and S. Yamochi (1981): The Effect of Various Environmental Factors on the Growth Yield of Red Tide Algae. II. *Olisthodiscus luteus*. *Res. Rep. Natl. Inst. Environ. Stud.*, No. 30. 71-86.
- 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.
- Nyholm, N. (1976): A Mathematical Model for Microbial Growth under Limitation by Conservative Substrates. *Biotechnology and Bioengineering.*, **18**, 1043-1056.
- Packard, T. T. (1979): Half-saturation Constants for Nitrate Reductase and Nitrate Translocation in Marine Phytoplankton. *Deep-Sea Res.*, **26A**, 321-326.
- Perry, M. J. and R. W. Eppley (1981): Phosphate Uptake by Phytoplankton in the Central North Pacific Ocean. *Deep-Sea Res.*, **28A**, 39-49.
- Segel, I. H. (1976): *Biochemical Calculations*, 2nd ed. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- 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.
- Tomas, C. R. (1979): *Olisthodiscus luteus* (Chrysophyceae) II. Uptake and Utilization of Nitrogen and Phosphorus. *J. Phycol.*, **15**, 5-12.
- Watanabe, M. M., K. Kohata, Y. Nakamura and M. Watanabe (1982a): Phosphate-limited Continuous Culture of the Red-tide Flagellate. *Olisthodiscus luteus*: Establishment of Its Method and the Analysis of Growth Kinetics. *Res. Rep. Natl. Inst. Environ. Stud.*, No. 30. 113-130.
- Watanabe, M. M., S. Yamochi, K. Kohata, and M. Watanabe (1982b): Vertical Migration and Diel Periodicity of Phosphate Uptake in the Red-tide Algae. *Olisthodiscus luteus*. *Res. Rep. Natl. Inst. Environ. Stud.*, No. 30. 131-141.
- 渡辺正孝 (1980): 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. 国立公害研究所研究発表会予稿集

8. 赤潮鞭毛藻 *Olisthodiscus luteus* のリン酸制限下連続培養  
：その方法の確立と増殖の動力学的解析

Phosphate-limited Continuous Culture of a Red Tide Flagellate,  
*Olisthodiscus luteus*: Establishment of Its Method and the Analysis  
of Growth Kinetics

渡辺 信<sup>1</sup>・木幡邦男<sup>1</sup>・中村泰男<sup>1</sup>・渡辺正孝<sup>1</sup>

Makoto M. WATANABE<sup>1</sup>, Kunio KOHATA<sup>1</sup>, Yasuo NAKAMURA<sup>1</sup>  
and Masataka WATANABE<sup>1</sup>

要 旨

赤潮鞭毛藻 *Olisthodiscus luteus* のリン酸制限下連続培養を行い、定常状態における増殖速度 ( $\mu$ ) = 稀釈率 ( $D$ ) と外液  $\text{PO}_4\text{-P}$  濃度 ( $S$ )、 $\mu$  と細胞内  $\text{PO}_4\text{-P}$  含有量 ( $Q$ ) との間の関係を解析した。本実験は、連続培養系の問題の吟味と *O. luteus* を材料とした場合の系の設計と操作法の確立をもとに遂行された。

その結果、 $\mu$  と  $Q$  はどの稀釈率のところでも密接に関係しており、その関係は  $\mu$  と  $Q$  の関係式である Droop の式で説明することができるのに対し、 $\mu$  と  $S$  の関係は、低稀釈率のところでは、 $S$  の正確な測定が困難であるために不明瞭となり、広く微生物の増殖の動力学で用いられてきた Monod の式の適用は困難であることが判明した。

Abstract

A red tide flagellate, *Olisthodiscus luteus* was grown in continuous culture under phosphate limitation to examine the relationship between steady state growth rate ( $\mu$ ) = dilution rate ( $D$ ) and ambient  $\text{PO}_4\text{-P}$  concentration ( $S$ ), and the relationship between ( $\mu$ ) and intracellular  $\text{PO}_4\text{-P}$  quota ( $Q$ ). This experiment was performed on the basis of the examinations and discussions of the problems of continuous culture system and on the basis of the establishment of layout and method of operation of its system in the case of using *O. luteus* as a material.

As results of experiment the distinct relationship between  $\mu$  and  $Q$  was obtained; and this relationship can be expressed by Droop equation. In contrast, the relationship between  $\mu$  and  $S$  became indistinct at low  $D$  due to the extreme difficulties in accurate measurement of  $S$  value. Consequently it does not seem adequate to apply

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

Monod equation to this case, though it has generally been used in growth kinetics of microorganisms.

## 1. はじめに

近年、都市活動や産業活動の活発化に伴い、栄養塩の富んだ廃水の水域への供給が増加し、その結果として水域の富栄養化が進展して植物プランクトンの生産が著しく高まり、それと現象的には呼応する形で赤潮現象の多発化が起こっている。しかし、赤潮現象は植物プランクトンの全般的な増殖ではなく特定種の量的異常増殖という点で特長づけられるところに従来の種の問題を除外した生産生態学的手法のみでは解決のつかない問題を提起しているといえる。この特長を考えるならば、少なくとも特定種が豊富ではあるが限りある栄養塩をほぼ独占的に摂取して個体群を拡大していく環境が存在しているはずであり、そしてこの環境を把握することが赤潮研究の重要な目的であるといえる。この目的を完遂する為には、Nakamura *et al.*, (1982a, b)の報告にもあるように各々の種の増殖の至適環境条件や増殖促進物質を解析することが必要であると同時に、限りある栄養塩、特に増殖の制限因子となっている栄養塩を他種よりどれだけ速く、効果的に摂取し増殖することができるかという点を解明する必要がある。即ち、栄養塩の供給形態・供給量・供給速度と赤潮を形成する特定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が赤潮研究の重要な課題になると考えられる。

しかし、上記の解析を志向した場合、種々の環境因子が複雑に錯綜している自然系や初期に存在した栄養塩が消費され生物の増殖が止まるまでの常に移行状態 (transient state) にあるバッチ培養系では、栄養塩と増殖速度との定量的な関係を正確に把握することは極めて困難である。従って、増殖の動力学的解析を正確に行う為には、増殖の制限因子を人為的に制御でき、定常状態 (Steady state) を確立することが可能な系が必要とされる。

連続培養系ケモスタットは、栄養塩の供給・流出を行うことで自然界における栄養塩の連続的な回転 (turnover) を模擬し、かつ培養生物の流出を行うことで自然界でおこっている捕食 (predation) や移行 (emigration) による消失を模擬して系の定常状態を確立することができる単純でかつ理想化された自然の模擬開放実験系であるといえる。また異った流量、異なった制限栄養塩供給濃度で様々な定常状態を確立することができ、それぞれの定常状態での制限栄養塩と増殖速度を比較して、その間の依存関係を定量的に formulate することが可能な実験系である。

ケモスタットはバクテリアの増殖の解析に適用されて (Monod, 1950; Novick and Szilard, 1950) 以来、藻類にも適用されて (Droop, 1966)、藻類の有する増殖の動力学的特性の解析とその生態学的重要性が論議されてきている (Droop, 1966, 1968, 1973, 1974, 1975; Dugdale, 1967; Williams, 1971; Caperton and Meyer, 1972; Williams, 1973; O'Brien, 1974; Lehman *et al.*, 1975; Nyholm, 1976; Goldman, 1977; Tilman, 1977; Brown *et al.*, 1978; Brown and Harris, 1978; Brown and Button, 1979)。連続培養ケモスタット系の基本的原理は mass が保存されていなければならないこ

とは当然として、制限栄養塩が實際上制限因子となっていること、系が完全に混合されていること、培養細胞がすべて対数増殖を行っていること、が満足されなければならない、対象となった生物種の特性により、その装置内容や手法は詳細において異なってくる。

本論文では上記の論議を基に、純粋培養下で示される藻類の基本的な増殖相の議論より連続培養系の問題点を明らかにした上で、大阪湾で赤潮を形成する鞭毛藻 *Olisthodiscus luteus* を材料とした連続培養系の確立と、それによる増殖の動力的解析の結果を報告する。

## 2. 純粋培養下での藻類の増殖相

一般に連続培養においてもバッチ培養においても、藻類の増殖の動力的解析を行う場合、培養藻類が対数増殖を行っていることが前提とされる。しかし実際には、培養下での藻類の基本的な増殖相は、図1に示すように、1)ある期間全く細胞の増加がみられない誘導期 (lag phase) から、2) 対数的な増加を示す対数期 (exponential phase) と、3)直線的な増加を示す直線期 (linear growth phase), 4)漸次増殖速度が低下していく相 (phase of decreasing growth rate) を経て、5)細胞数の変化しない定常期 (stationary phase) に入り、最後に 6)死滅期 (death phase) となるパターン

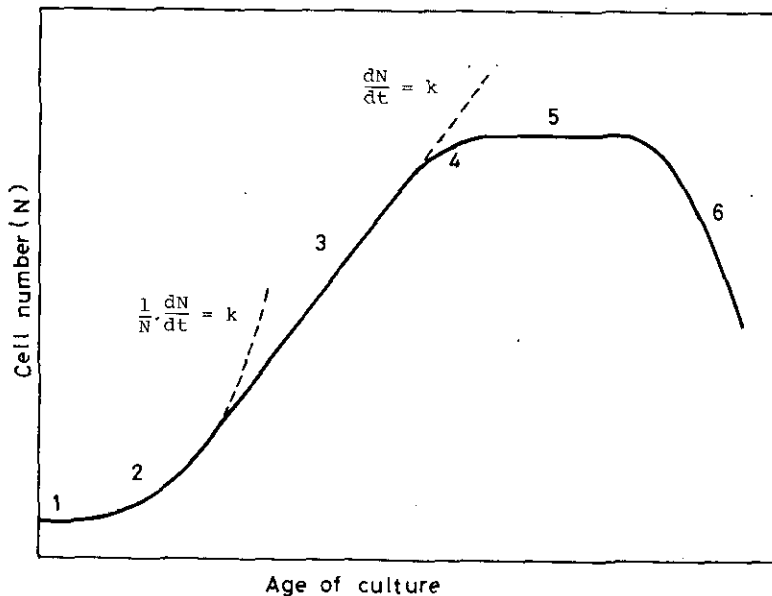


図 1 純粋培養下における藻類の増殖相

1 : 誘導期, 2 : 対数期, 3 : 直線期, 4 : 増殖速度が低下していく相, 5 : 定常期  
6 : 死滅期

Fig. 1 Growth phase of algae in a pure culture

1: lag phase, 2: exponential phase, 3: linear growth phase, 4: phase of decreasing growth rate, 5: stationary phase, 6: death phase.

を示すことが明らかとなっている (Fogg, 1975; 柳田, 1976)。自然水域においても、池や湖沼、内湾など生物の漏えい (leakage) が少ない閉鎖的な水域では類似した増殖相が示されていると考えることができる (cf. 柳田, 1976)。

ケモスタット連続培養系では解析対象の藻類を植え継いだ場合、一定期間バッチ培養を行って培養藻類が対数増殖を行っていることを確かめた上で、そのシステムを加動させる。従って、後述するように複雑な特性を有する誘導期を切り捨て、対数増殖期だけの特性を解析することができる系であるようにみえる。しかし、基本的な藻類の増殖相を顧みれば、直線期をどのように除外するか問題となる。直線期とは、藻類を研究対象とした場合に現在まで明らかにされている限りでは細胞数がある濃度以上に達した時に細胞による光のしゃへい効果の結果、光が増殖の制限因子となって直線的に増殖すると考えられている時期で、どの程度の細胞濃度でこの時期が出現するかは、藻類種の吸光係数と培養容器の深度(上部照射の場合)と増殖速度の関係によるといわれている (Tamiya et al., 1953)。図2は水域で異常増殖する代表的な藻類の無菌クローン株、*O. luteus*, *Prorocentrum triestinum*, *Skeletonema costatum*, *Microcystis aeruginosa* の照度 7,000 lx 下での増殖速度と細胞数の増加を比較したものである。このうち、*O. luteus* は最大増殖量の約 $\frac{1}{2}$ まで ( $1.4 \times 10^5$  cells  $\cdot$  ml $^{-1}$  /  $3 \times 10^5$  cells  $\cdot$  ml $^{-1}$ )、*P. triestinum* は約 $\frac{2}{3}$  ( $2.2 \times 10^5$  cells  $\cdot$  ml $^{-1}$  /  $3.1 \times 10^5$  cells  $\cdot$  ml $^{-1}$ ) まで対数期が続き、直線期がほとんどみられなかったのに対して、*S. costatum* は約 $\frac{1}{4}$  ( $2.2 \times 10^5$  cells  $\cdot$  ml $^{-1}$  /  $8.1 \times 10^5$  cells  $\cdot$  ml $^{-1}$ )、*M. aeruginosa* は約 $\frac{1}{10}$  ( $4.2 \times 10^5$  cells  $\cdot$  ml $^{-1}$  /  $47.2 \times 10^5$  cells  $\cdot$  ml $^{-1}$ ) と対数期が短く直線期が非常に長い。以上のように種によって直線期の現れる細胞密度は異なってくるが、問題になるのは、多かれ少なかれ藻類の増殖相には直線期が存在しており、ケモスタット系でもある稀釈率以下で、ある細胞濃度以上になった場合、細胞の増加は対数的にではなく直線的になることは避けられず、この時点ですでにケモスタットでの制限因子は照度にきりかわっている可能性があるということである。従って、あくまでも対数期のもので動力学的解析を行うのなら、供給する制限栄養塩の濃度を制御して、稀釈率が低くなくても直線期の現れない細胞濃度におさめておく必要がある。特に比較的薄い細胞濃度で直線期となる *S. costatum*, *M. aeruginosa* は細心の注意が必要となるであろう。後述するように、我々が研究対象とした *O. luteus* では、全ての稀釈率下で照度が制限因子とならないように、直線期の現れない細胞濃度に制御している。

このように対象となった藻類種の増殖相の特徴を正確に把握した上で、連続培養を行うことが最も基本的で正確な増殖の動力学的解析につながるということが理解されるが、ここでもう一つ、連続培養で除外されている誘導期に関して、その重要性を論議しておく必要がある。誘導期は増殖の為の準備期間といわれ、細胞の履歴状態と与えられた環境条件によりその時期の長短が規定されることが判明してきている (Spenser, 1954; Fogg, 1944, 1975)。例えば、矽藻 *Phaeodactylum tricorutum* は新鮮な培地に植え継ぐ時の培養齢により誘導期の長さが変化し、またリン酸塩欠乏状態で長く培養されていた細胞をリン酸塩濃度の高い培地と低い培地に植えついで場合、前者の方がかなり長い誘導期を示すこと (Spenser, 1954)、また藻類の体外代謝産物として知られているグリコール酸が

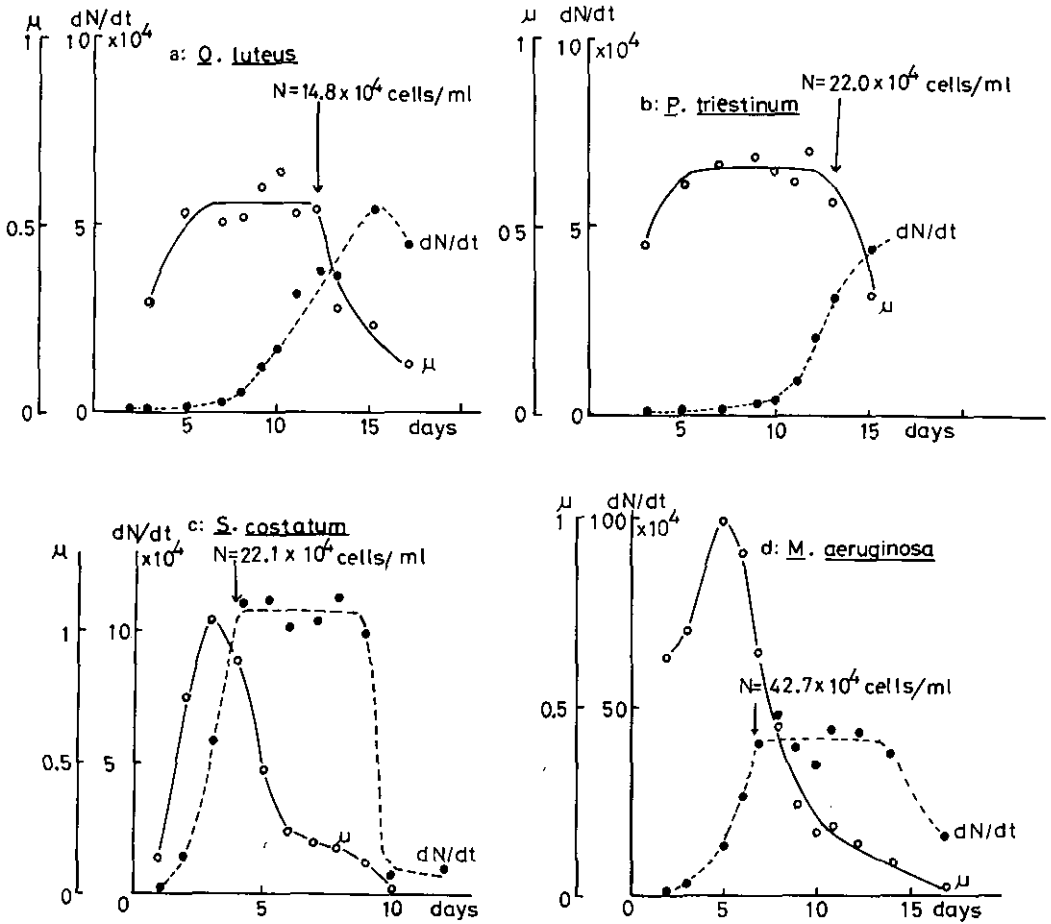


図 2 バッチ培養系における4種の藻類の細胞数の増加 ( $dN/dt$ ) と日増殖速度 ( $\mu$ ) の変化

Fig. 2 Changes of increase in cell number ( $dN/dt$ ) and diel growth rate ( $\mu$ ) of four algal species in a batch culture

(a) *Olisthodiscus luteus* (b) *Prorocentrum triestinum* (c) *Skeletonema costatum*  
 (d) *Microcystis aeruginosa*

低濃度存在すると誘導期が著しく短縮されることが *Chlorella* (Fogg, 1975) や海産硅藻 *Ditylum brightwellii* (Paredes, 1967, 1968a), *Nitzschia closterium* (Tokuda, 1966), *Skeletonema costatum* (cf. Fogg, 1975), 鞭毛藻 *Micromonas squamata* (Paredes, 1967, 1968b) 等で知られている。このように誘導期が細胞の履歴状態と環境条件によりその長短が規定されるということは生態学的にも重要な意味をもってくる。即ち、もし履歴状態の異なる複数種が存在する系(自然界ではむしろ一般的である)において、新たな栄養塩が負荷されたとすれば、その栄養塩の利用とそれに伴う個

体群の発達をめぐる競合の出発点において、即座に対数増殖を示す種と長い誘導期を示す種との間に大きな差がみられるはずである。また、一時期個体群の大増殖を為しえた種がある栄養塩の制限で消滅しなかった場合、その制限がきれても即座に個体群の回復を行うことは困難であろう。この誘導期に関する乏しい知見を下に、これ以上の仮定と想像は避けねばならないが、少なくとも上述のように論議できるほど誘導期のもつ生態学的意味は大きく、その動力学的解析 (Fogg, 1975) の必要性は対数期のそれと等しく増してくるであろう。

以上のように、連続培養系は注意せねばならない問題点やその系であるが為の限界を有しており、決してオールマイティな実験系であるとはいえない。しかし、赤潮という特定の藻類種の異常増殖は直接的には増殖を活発に行っている対数期での環境因子との定量的な関係が基盤になっていると考えられる為に、上記のような限界を有していても、連続培養による動力学的解析の研究は赤潮研究において重要な位置を占めると考えられる。

### 3. 装置と方法

前述したように、連続培養ケモスタットは基本的には特定の制限栄養塩を含む培養液の供給・流出と培養細胞の流出を一定の稀釈率 (dilution rate) で行う実験系であるが、その装置内容の詳細では培養生物や制限栄養塩の種類により若干の差異がみられ、それがこの実験を遂行する上で重要なものとなっている。図3に、我々が *O. luteus* を材料としてリン酸制限下での連続培養を行った時の装置の概略を示す。ここでは、リン酸制限の人工培地として、ASP-7修正培地 (表1) を使用し、8 l の培地貯蔵器に入れてオートクレーブ滅菌を行い、培地はローラーポンプ (古江サイエンス製) で強硬度シリコンチューブを通して培養シリンダーにおくられるようになっている。培養シリンダーでは、側面の流出口によりシリンダー内の液量を固定するように調節されている。我々の実験では、流量により 200 ml, 500 ml, 1 l と 3 種類の容量の培養シリンダーを使いわけている。また、培地貯蔵器と培養シリンダーの双方で栄養塩や培養細胞を一様にする為に攪拌を行う必要がある為、培地貯蔵器では通常のテフロンコーティングを施した攪拌棒 (stirring bar) で攪拌しているが、培養シリンダーでは攪拌棒を使った攪拌では *O. luteus* 等の鞭毛藻はほとんど成育しなくなる。従って、そこでは  $1\text{N H}_2\text{SO}_4$  とインライン・フィルター (0.45  $\mu\text{m}$  のミリポアフィルターまたは綿栓) を通した無菌空気を通気することによって攪拌を行っている。この攪拌をより完全にす為にも、培養器はシリンダー状にする必要がある。ここで注意せねばならないことは、攪拌が培養細胞の増殖に影響を与えないかどうかである。図4には *P. triestinum*, *S. costatum*, *O. luteus* の増殖に及ぼす攪拌の効果を調べた結果が示されている。図より明らかのように、3種とも増殖に及ぼす攪拌の効果は大きく、その効果は種によって異なることがわかる。この攪拌と増殖の関係がいかなる因果関係に基づくものかはその種の研究が少なく、乏しい知見しかないが、今まで明らかにされた限りでは乱流 (turbulence) が光合成活性、呼吸活性、栄養塩の取り込みに直接関与しており、その関係は種特異性をもつことが報告されており (Whitford, 1960; Whitford & Schumacher, 1964;



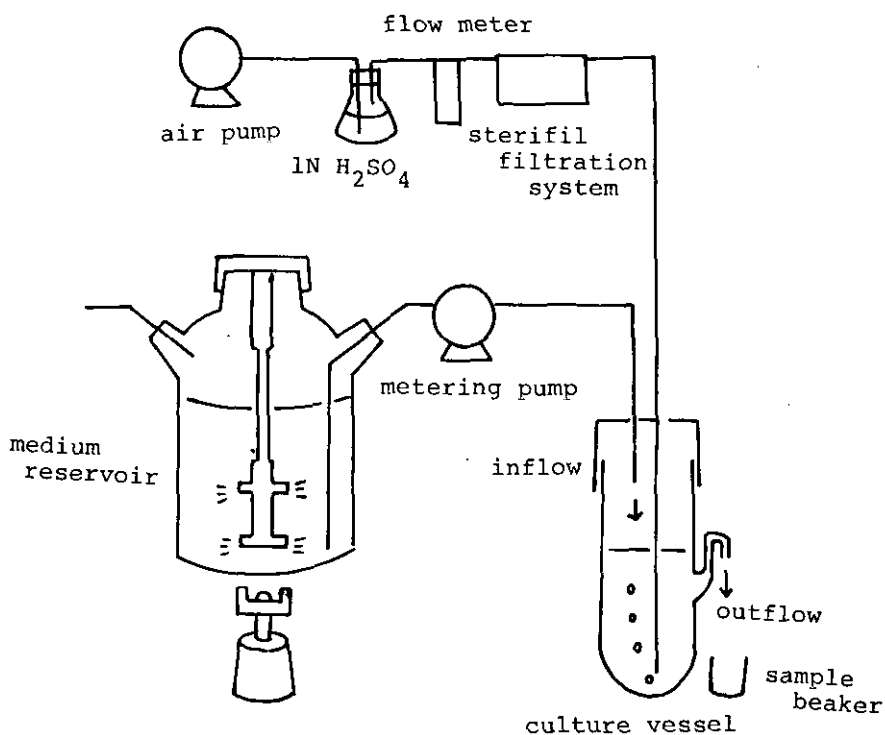


図 3 連続培養の概要図

Fig. 3 Schematic diagram of the continuous culture system

表 1 ASP7 修正培地の組成

Table 1. Composition of ASP 7 modified medium

NaCl	25 g	vitamin B <sub>12</sub>	1.0 μg
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	9 g	biotin	1.0 μg
KCl	0.7 g	thiamine	0.5 mg
CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0.3 g	nicotinic acid	0.1 mg
NaNO <sub>3</sub>	50 mg	Ca pantothenate	0.1 mg
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0.78 mg	p-amino benzoic acid	10 μg
Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub> · 9H <sub>2</sub> O	70 mg	inositol	5 mg
Na <sub>2</sub> EDTA · 2H <sub>2</sub> O	30 mg	folic acid	2 μg
FeCl <sub>3</sub> · 6H <sub>2</sub> O	1.9 mg	thymine	3 mg
CoSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	28 μg	TRIS	1.0 g
ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	1.4 mg	NTA	70 mg
MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	1.0 mg	H <sub>2</sub> O	1000 ml
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	34 mg	pH	8.0

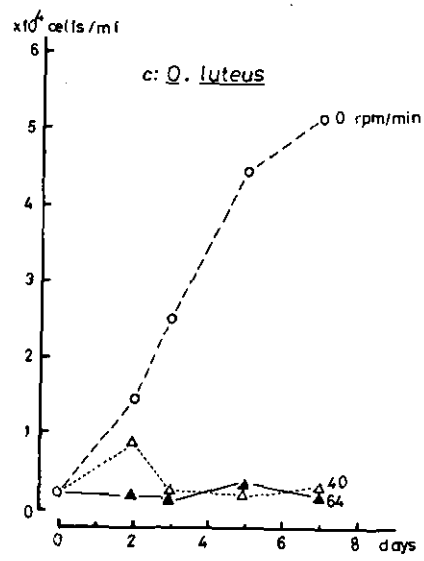
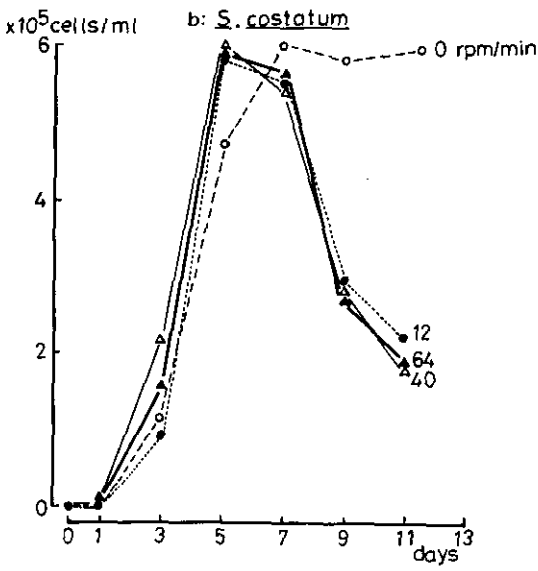
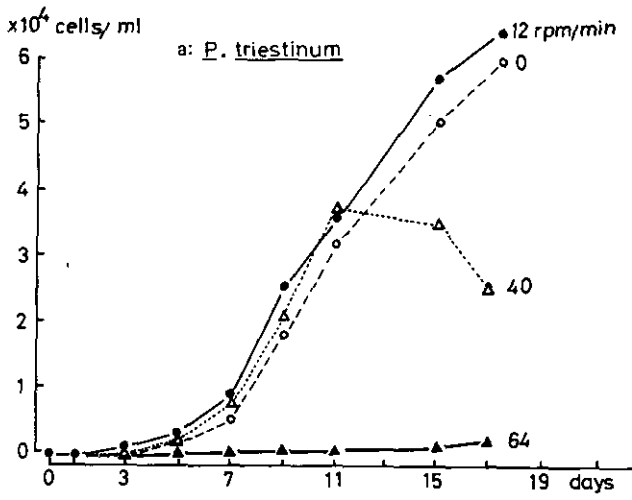


図 4 3種の藻類の増殖に及ぼす攪拌(振とう)の効果

Fig. 4 Effect of mixings (oscillations) of three algal species

(a) *Prorocentrum triestinum* (b) *Skeletonema costatum* (c) *Olisthodiscus luteus*

McIntire, 1966a, b; Gavis, 1976), また, 光合成・呼吸に関連する物質の輸送には能動輸送を含めた拡散過程の他に乱流輸送 (turbulent transport) の過程が存在していることが示唆されている (Kemp and Mitsch, 1979)。以上のように攪拌または乱流が藻類の増殖に及ぼす効果を無視することはできず, 常に攪拌を一定の力で行うことができるようにコントロールせねばならない。我々の実験系では流量計を用いることにより常に安定した攪拌を与えるように制御している。

以上に述べた装置を使い, 我々が行った実験では, 光源には昼光色蛍光灯を使い, 12時間明期12時間暗期の明暗サイクル, 照度は培養液表面で7,000lx, 温度20°Cの条件下で3日間静置培養を行い, 対数的に増殖していることを確認した上で連続培養を行った。*O. luteus* は本実験で設置した照度下ではバッチ培養系で  $1.4 \times 10^5$  cells/ml まで対数期を示すことが判明しており (図2), 5~6  $\mu$ M に設定した制限栄養塩  $PO_4 - P$  の供給濃度では最大細胞密度が約  $7.5 \times 10^4$  cells/ml までしか到達しない為, 途中で光が制限因子となることはないと考えられる。分析の為のサンプルとして, 13:00~16:00の間に得られたサンプルを使い,  $PO_4 - P$  濃度の分析はテクニコン・オートアナライザーTM-II型を使い, また細胞数は改良ノイバウエル血球計算盤を使って行った。また, 連続培養での細胞数の増加は,

$$dN/dt = N(\mu - D) \quad (1)$$

( $N$ : 細胞数,  $D$ : 稀釈率 = 流量 / 容積,  $\mu$ : 増殖速度)

で表され, 定常状態では  $dN/dt = 0$  である為, (1)式は,  $\mu = D$  となり, 稀釈率は増殖速度と等しくなる。

#### 4. 連続培養ケモスタットにおける *O. luteus* の増殖と制限栄養塩の動態

##### 4.1 移行状態 (transient state)

連続培養では, 定常状態 (steady state) での解析が主となるが, その前に移行状態 (transient state) での細胞数の増加と制限栄養塩濃度の変化を明らかにしておく必要がある。

図5は, リン酸制限下連続培養での *O. luteus* の細胞数 ( $N$ ), 外液リン酸濃度 ( $S$ ) と細胞内リン酸含有量 ( $Q$ ) の, 稀釈率 ( $D$ ) 0.1と0.2  $d^{-1}$  における移行状態での変化を調べた結果を示している。図より, 最初に  $S$  が定常状態に入り, その後  $N$  と  $Q$  が定常状態に入ることがわかる。また  $Q$  は移行状態の過程で optimum の値を示す時期があることが理解されよう。このような移行状態での動態は, 培養齢の古い *Skeletonema costatum* が連続培養下におかれた場合, 即座に有性生殖過程に入り, その後 auxospore より発芽した細胞が活発に分裂して定常状態に入るという報告 (Davis et. al., 1973) を除けば, 一般的にみられる動態であり (Williams, 1971), また定常状態で終焉するという点を除けばバッチ培養系で示される動態とよく類似しているといえる (Williams, 1971; Droop, 1975)。

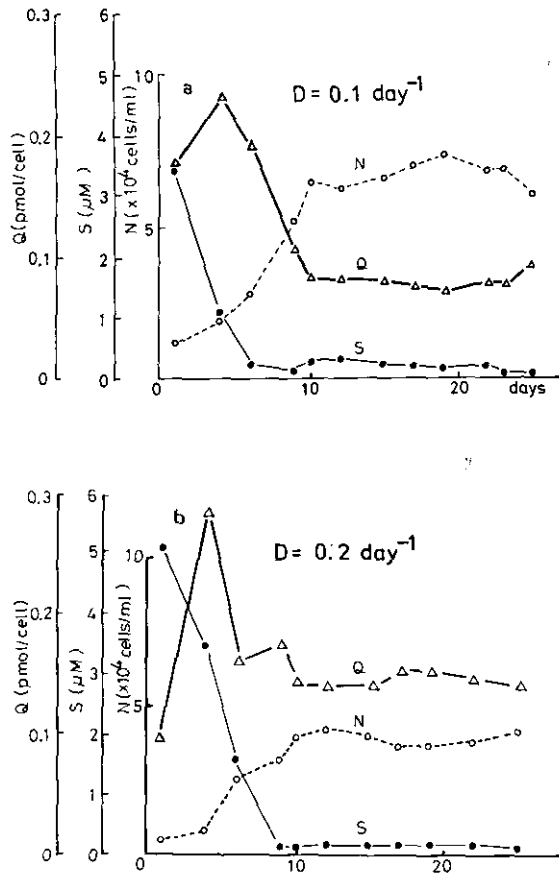


図 5 連続培養下における *Olisthodiscus luteus* の細胞数( $N$ ), 細胞内リン含有量( $Q$ ), 外液リン酸濃度( $S$ )の変化  
 (a) 稀釈率( $D$ ) =  $0.1 \text{ d}^{-1}$  (b) 稀釈率( $D$ ) =  $0.2 \text{ d}^{-1}$

Fig. 5 Changes of cell number ( $N$ ) and cell quota ( $Q$ ) of *Olisthodiscus luteus* and ambient  $\text{PO}_4\text{-P}$  concentration in a continuous culture  
 (a) dilution rate ( $D$ ) =  $0.1 \text{ d}^{-1}$  (b) dilution rate ( $D$ ) =  $0.2 \text{ d}^{-1}$

#### 4.2 定常状態 (steady state)

前述したように定常状態では  $dN/dt = 0$  となる為, 稀釈率 ( $D$ ) は増殖速度 ( $\mu$ ) と等しくなる。従って, 定常状態での  $D$  と制限栄養塩外液濃度 ( $S$ ), 細胞内含有量 ( $Q$ ) との関係を解析することにより,  $\mu$  と  $S$ ,  $\mu$  と  $Q$  の定量的関係を明らかにすることができる。しかし, この関係を議論する前に, 藻類の培養下における増殖, のみならず自然界における増殖はバクテリアと違って光の明暗サイクル下で制御されている為, タイムスケールを日単位として, 定常状態であっても経時的にはどうなるのか明らかにしておかねばならない。

一般に藻類のように光合成を行う生物は光周期下で育成した場合、同調的な分裂 (Tamiya, 1964; Weiler and Chisholm, 1976; Chisholm and Stross, 1976) と周期的な栄養塩の取り込み (Chisholm and Stross, 1976; Eppley *et al.*, 1971; Eppley and Renger, 1974) がみられる。 *O. luteus*, *S. costatum* 等の赤潮形成種においても同調的な分裂と周期的な栄養塩の取り込みがバッチ培養系で確認されている (Watanabe *et al.*, 1982)。

図6は *O. luteus* を稀釈液 ( $D$ )  $0.3\text{d}^{-1}$  で、12h/D サイクルで連続培養した時の経日的に定常状態、即ち経日的に、 $dN/dt = 0$ ,  $dS/dt = 0$ ,  $dQ/dt = 0$  の状態における  $N$  と  $S$  の経時的な変化を示したものである。暗期終期より明期初期にかけての  $N$  の増加は本種の細胞分裂の時期と一致し、明期と暗期のそれぞれにみられる  $S$  の減少は本種の  $\text{PO}_4\text{-P}$  取り込みの時期と一致している。従って、 *O. luteus* は明暗サイクル下で示す同調的な細胞分裂と  $\text{PO}_4\text{-P}$  の取り込みによって経時的には  $N$  と  $S$  の周期的な振動を示し、経日的には定常状態に入っていると理解することができる。

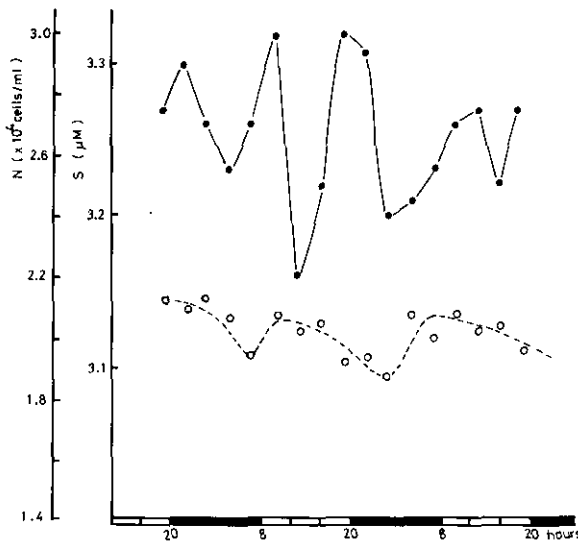


図 6 連続培養定常状態における *Olisthodiscus luteus* の細胞数と外液リン酸濃度の周期的振動  
稀釈率 ( $D$ )  $= 0.3\text{d}^{-1}$

Fig. 6 Periodic oscillations of cell number of *Olisthodiscus luteus* and ambient  $\text{PO}_4\text{-P}$  concentration in a steady state continuous culture  
dilution rate ( $D$ )  $= 0.3\text{d}^{-1}$

上のように経日的には定常状態であっても、 $N$  と  $S$  の日周経時変動がある為、増殖の動力学解析は一定時間におけるサンプルの分析に基づくものか、または1日平均値に基づくものかいずれかで

なければならぬ。我々の実験での解析は、細胞分裂が終り、 $\text{PO}_4\text{-P}$ の取り込みが活発に起こっている時期、即ち $N$ が最大で $S$ が最小になる時間帯でのサンプルで行っている。

以上の論議をふまえ、経日的に $dN/dt = 0$ 、 $dS/dt = 0$ 、 $dQ/dt = 0$ となった状態を定常状態として、現在まで7種類の $D$ のところで定常状態が得られ、その解析結果は表2に示されている。またこの実験では $D = 0.5\text{d}^{-1}$ のところですべての細胞は流出し、従って最大増殖速度( $\mu_m = D_m$ )は0.4と0.5の間にあると考えられる。

表 2 定常状態における動力的データ

Table 2. Steady state kinetic data

$D$ ( $\text{d}^{-1}$ )	$N$ ( $\times 10^4$ $\text{cells}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	$S$ ( $\mu\text{M}$ )	$S_0$ ( $\mu\text{M}$ )	$Q$ ( $\text{fM}\cdot\text{cell}^{-1}$ )	$1/Q$ ( $\text{cell}\cdot\text{pM}$ )	$DQ$ ( $\text{fM}\cdot\text{cell}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ )
0.05	6.07	0.64	5.40	78	12.8	3.9
0.08	7.27	0.08	5.40	73	13.7	5.8
0.10	6.68	0.19	5.55	81	12.5	8.1
0.20	3.87	0.12	5.55	142	7.1	28.4
0.224	2.26	1.40	5.20	168	6.0	37.6
0.30	1.34	3.35	5.64	171	5.9	51.3
0.40	0.63	4.25	5.91	263	3.8	105.3

$D$ : 稀釈率  $N$ : 細胞数  $S$ : 外液 $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度  $S_0$ : 流入 $\text{PO}_4\text{-P}$   $Q$ : 細胞内 $\text{PO}_4\text{-P}$ 含有量

$D$ : dilution rate,  $N$ : cell number,  $S$ : ambient  $\text{PO}_4\text{-P}$  concentration,  $S_0$ : input  $\text{PO}_4\text{-P}$  concentration,

$Q$ : intracellular  $\text{PO}_4\text{-P}$  quota.

図7は表2をもとに $D$ と $S$ との関係を表したものである。 $D = 0.2\text{d}^{-1}$ 以上のところでは $S$ と $\mu$ の依存性が伺えるのに対して、それ以下では $S$ の測定が技術上困難となる為 $S$ と $D$ の関係を議論することは不可能である。むしろ $D = 0.05\text{d}^{-1}$ のところでは $S$ の swing back 現象 (Müller, 1972; Paasche, 1973; Droop, 1974) が起こっていることに注目せねばならない。この $\text{PO}_4\text{-P}$ 制限下、低稀釈率での swing back 現象は、*Nitzschia actinastroides*でもみられており (Müller, 1972)、それは細胞の death rate が增大することに基づいているといわれている (Müller, 1972)。しかし、仮にそうであるとすれば、すでに細胞の増殖は対数期にあるとはいえず、連続培養での解析における基本原理より逸脱した系になっていることに気づく必要がある。このように、 $S$ の低濃度域ではその測定の困難さにより $S$ と $D$ の関係を把握することはできない為、広く微生物、特にバクテリアの増殖に Michaelis-Menten の式を適用した Monod の式、

$$D = D_m \cdot \frac{S}{K_s + S} \quad (2)$$

( $D$ : 増殖速度,  $D_m$ : 最大増殖速度,  $K_s$ : half saturation constant,  $D = D_m/2$ となる $S$ の濃度)

の藻類への適用は困難であるといえる (Eppley and Renger, 1974; Goldman, 1977)。

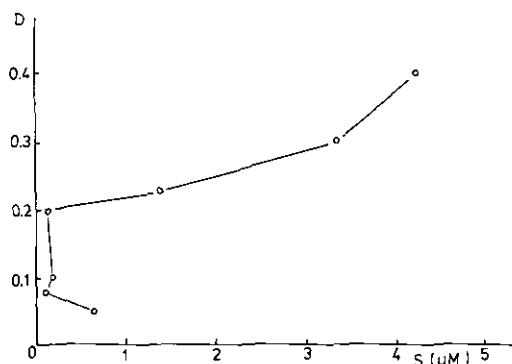


図 7 定常状態における稀釈率 ( $D$ ) と外液リン酸濃度 ( $S$ ) との関係

Fig. 7 Relation between dilution rate ( $D$ ) and ambient  $\text{PO}_4\text{-P}$  concentration ( $S$ ) in steady state

図 8~10 は、 $D$  と  $Q$ 、 $D$  と  $1/Q$ 、 $DQ$  と  $Q$  の関係を表したものである。 $Q$  と  $\mu (=D)$  の関係については Droop (1968, 1973, 1974) が、*Monochrysis lutherii* を材料として得られたデータを基に表した下式が代表的なものとして知られている。

$$D = D_m(1 - k_q/Q) \quad (3)$$

( $k_q$  : 最小細胞内含有量)

(3)式は  $D$  と  $1/Q$  の直線的関係を示しており、また、

$$DQ = D_m(Q - k_q) \quad (4)$$

と表すことができる為、(4)式は  $D$  と  $Q$  の hyperbolic な関係、 $DQ$  と  $Q$  の直線的な関係を示している。ここで  $DQ$  とは、連続培養での  $Q$  の変化は、

$$\frac{dQ}{dt} = u - DQ \quad (5)$$

( $u$  : 取り込み速度)

で表されることから、定常状態では  $dQ/dt = 0$  である為、 $u = DQ$  となり、定常状態における取り込み速度を意味している。この Droop の式は増殖速度が、低濃度域では測定困難な  $S$  とは独立にもとまることから、Monod の式よりも、得られた動力学的データをよく表現することができる (Goldman, 1977) といえる。図 8~10 に示したように、*O. luteus* の  $D$  と  $Q$  との関係は、 $D$  と  $S$  との関係では不明確であった  $D = 0.2 \text{ d}^{-1}$  以下での関係が非常に明確になっている。また得られたデータから Droop の式のパラメーター、 $D_m = 0.47 \text{ d}^{-1}$ 、 $k_q = 72 \text{ f} \cdot \text{mole/cell}$  がもとなり、これ

によって計算されるグラフは実験値とよく一致していると判断することができる。

以上のことから、制限栄養塩と増殖速度との定量関係を解析する場合に、外液濃度 ( $S$ ) と増殖速度 ( $\mu$ ) の関係は  $S$  の低濃度域で不明瞭になるのに対し、細胞内含有量 ( $Q$ ) と  $\mu$  の関係は低濃度域でも明確にとらえることができることがわかる。 *O. luteus* の場合、現在まで得られたデータを比較する限りでは、 $\text{PO}_4\text{-P}$  濃度と増殖速度の定量的関係は、Droop の式で表されることが可能であると思われる。

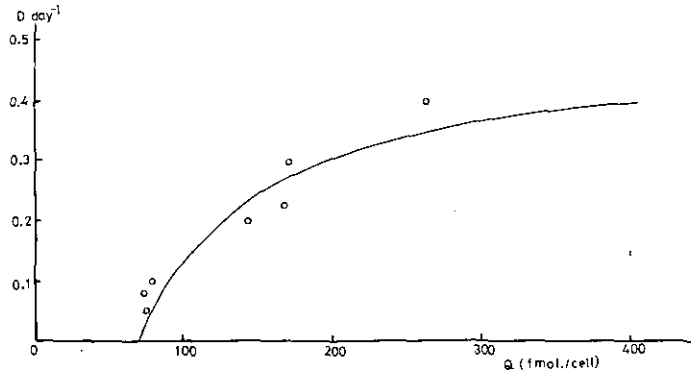


図 8 定常状態における稀釈率 ( $D$ ) と細胞内リン酸含有量 ( $Q$ ) との関係  
実線は Droop 式より得られた理論値。

Fig. 8 Relation between dilution rate ( $D$ ) and intracellular  $\text{PO}_4\text{-P}$  quota ( $Q$ ) in steady state. Line is obtained from regression with Droop equation

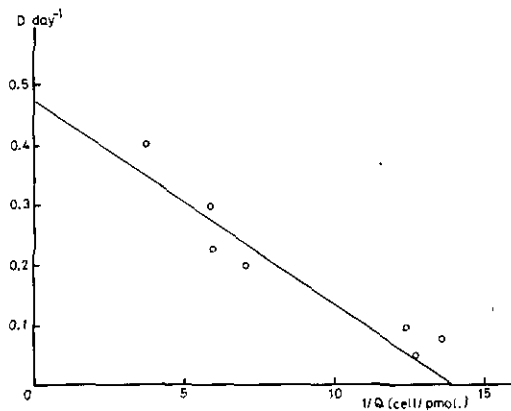


図 9  $D$  と  $1/Q$  との関係  
実線は Droop 式より得られた理論値。

Fig. 9 Relation between  $D$  and  $1/Q$ . Line is obtained from regression with Droop equation



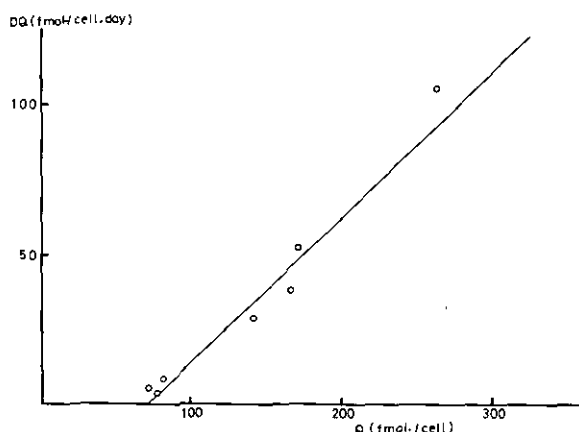


図 10  $D$  と  $DQ$  との関係  
 実線は Droop 式より得られた理論値。

Fig. 10 Relation between  $D$  and  $DQ$ . Line is obtained from regression with Droop equation

## 5. おわりに

注意しなければならないことは、Monod の式にしても Droop の式にしても、その式は明確な論理的基盤に基づいているのではなく、あくまでも得られたデータを基盤とした経験的 (empiric) なものであるということである。確かに *O. luteus* は、 $PO_4$ -P 制限下での増殖の動力学は Droop の式で説明できるが、設定された制限栄養塩の種類、培養種の差異により、詳細においては異った  $\mu$  と  $S$ 、 $\mu$  と  $Q$  の関係が得られることがある。例えば *Selenastrum capricornutum* の場合、 $S$  と  $\mu$ 、 $Q$  と  $\mu$  が直線的な関係で表され、 $\mu Q$  と  $Q$  は曲線的な関係になっていることが報告されている (Brown and Button, 1979) し、*Skeletonema costatum* ではケイ酸を制限因子とした場合に  $\mu_m$  の shift up が観察され (Harrison et al., 1976)、低濃度域と高濃度域での代謝系の相違が示唆されている。また、最近 *Scenedesmus quadricauda* は coenobia を構成する細胞数により増殖速度を制御していることが判明しており (Gavis, 1979)、この種の増殖の動力学的特性は複雑なものであることが推察されている。

連続培養に基づいた増殖の動力学的解析が為された藻類種はまだ数える程しかないにもかかわらず、種により制限因子の差異により独特の動力学的特性を示す場合が多い。現時点で、最も重要なことは Monod の式や Droop の式を盲目的にあてはめ  $\mu_m$ 、 $K_s$ 、 $k_q$  値を求め比較することではなくて、種や制限因子の相違により示される独特の動力学的特性を解明することにあるといえる。

## 謝 辞

稿を終えるにあたって、有益な御助言を賜り、また貴重な文献をお送り戴いた富山大学、柳田友

道学長と *Prorocentrum triestinum* の培養株を提供していただいた筑波大学, 原慶明博士に厚く御礼申し上げます。

#### 引用文献

- Brown, E. J., R. F. Harris and J. F. Koonce (1978): Kinetics of phosphate uptake by aquatic microorganisms: Deviation from a simple Michaelis-Menten equation. *Limnol. Oceanogr.*, **23**, 26-34.
- Brown, E. J. and R. F. Harris (1978): Kinetics of algal transient phosphate uptake and the cell quota concept. *Limnol. Oceanogr.*, **23**, 35-40.
- Brown, E. J. and D. K. Button (1979): Phosphate-limited growth kinetics of *Selenastrum capricornutum* (*Chlorophyceae*). *J. Phycol.*, **15**, 305-311.
- 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.
- Chisholm, S. W. and R. G. Stross (1976): Phosphate uptake kinetics in *Euglena gracilis* (Z) (*Euglenophyceae*) grown in light/dark cycles. II. Phased  $PO_4$ -limited cultures. *J. Phycol.*, **12**, 217-222.
- Davis, C. O., P. J. Harrison and R. C. Dugdale (1973): Continuous culture of marine diatoms under silicate limitation. I. Synchronized life cycle of *Skeletonema costatum*. *J. Phycol.*, **9**, 175-180.
- Droop, M. R. (1966): Vitamin  $B_{12}$  and marine ecology: the response of *Monochrysis lutheri*. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, **46**, 659-671.
- Droop, M. R. (1968): Vitamin  $B_{12}$  and marine ecology. IV. The kinetics of uptake, growth and inhibition in *Monochrysis lutheri*. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, **48**, 689-733.
- Droop, M. R. (1973): Some thoughts on nutrient limitation in algae. *J. Phycol.*, **9**, 264-272.
- Droop, M. R. (1974): The nutrient status of algal cells in continuous culture. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, **54**, 825-855.
- Droop, M. R. (1975): The nutrient status of algal cells in batch culture. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, **55**, 541-555.
- Dugdale, R. C. (1967): Nutrient limitation in the sea: dynamics, identification, and significance. *Limnol. Oceanogr.*, **12**, 685-695.
- Eppley, R. W., J. N. Rogers, J. J. McCarthy and A. Sournia (1971): Light-dark periodicity in nitrogen assimilation of the marine phytoplankters *Skeletonema costatum* and *Coccolithus huxleyi* in N-limited culture. *J. Phycol.*, **7**, 150-154.
- Eppley, R. W. and E. H. Renger (1974): Nitrogen assimilation of an oceanic diatom in nitrogen-limited continuous culture. *J. Phycol.*, **9**, 264-272.
- Fogg, G. E. (1944): Growth and heterocyst production in *Anabaena cylindrica* Lemm. *New Phytol.*, **43**, 164-175.
- Fogg, G. E. (1975): Algal cultures and phytoplankton ecology. 2nd ed. The University of Wisconsin Press., 175 pp.
- Gavis, J. (1976): Munk and Riley revisited: Nutrient diffusion transport and rates of phytoplankton growth. *J. Mar. Res.*, **34**, 161-179.
- Gavis, J., C. Chamberlin and L. D. Lystad (1979): Coenobial cell number in *Scenedesmus quadricauda* (*Chlorophyceae*) as a function of growth rate in nitrate-limited chemostats. *J. Phycol.*, **15**, 273-275.
- Goldman, J. C. (1977): Steady state growth of phytoplankton in continuous culture: comparison of internal and external nutrient equations. *J. Phycol.*, **13**, 251-258.

- Harrison, P. J., H. L. Conway and R. C. Dugdale (1976): Marine diatoms grown in chemostats under silicate or ammonium limitation. I. Cellular chemical composition and steady state growth kinetics of *Skeletonema costatum*. Mar. Biol., **35**, 177-186.
- Kemp, W. M. and W. J. Mitsch (1979): Turbulence and phytoplankton diversity: a general model of the "paradox of plankton". Ecol. Model., **7**, 201-222.
- 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.
- McIntire, C. D. (1966a): Some factors affecting respiration of periphyton communities in lotic environments. Ecology, **47**, 918-930.
- McIntire, C. D. (1966b): Some effects of current velocity on periphyton communities in laboratory streams. Hydrobiology., **28**, 559-570.
- Monod, J. (1950): La technique de culture continue; theorie et applications. Anns. Inst. Pasteur, Paris, **79**, 390-401.
- Müller, H. (1972): Wachstum und Phosphatbedarf von *Nitzschia actinastroides* (Lemm.) v. Goor in statischer und homokontinuierlicher Kultur unter Phosphat-limitierung. Arch. Hydrobiol. (Suppl.), **38**, 399-484.
- Nakamura, Y., M. M. Watanabe and M. Watanabe (1982a): The effect of various environmental factors on the growth yield of red tide algae. I. *Chattonella antiqua*. Res. Rep. Natl. Inst. Environ. Stud., No. 30, 53-70.
- Nakamura, Y., M. M. Watanabe and M. Watanabe (1982b): The effect of various environmental factors on the growth yield of red tide algae. III. *Gymnodinium splendens*. Res. Rep. Natl. Inst. Environ. Stud., No. 30, 87-93.
- Novick, A. and L. Szilard (1950): Description of the chemostat. Science, Washington, D. C., **112**, 715-716.
- Nyholm, N. (1976): A mathematical model for microbial growth under limitation by conservative substrates. Biotech. Bioengineer., **18**, 1043-1056.
- O'Brien, W. J. (1974): The dynamics of nutrient limitation of phytoplankton algae: a model reconsidered. Ecology, **55**, 135-141.
- Paasche, E. (1973): Silicon and the ecology of marine plankton diatoms. I. *Thalassiosira pseudonana* (*Cyclotella nana*) grown in a chemostat with silicate as limiting nutrient. Mar. Biol., **19**, 117-126.
- Paredes, J. F. (1967/68a): Studies on cultures of marine phytoplankton. I. Diatom *Ditylum brightwellii* West. Mems. Inst. Invest. cient. Mocamb., Serie A, **9**, 157-183.
- Paredes, J. F. (1967/68b): Studies on cultures of marine phytoplankton. III. Chlorophycean *Micromonas aquamata* Manton & Parke. Mems. Inst. Invest. cient. Mocamb., Serie A, **9**, 249-292.
- Spenser, C. P. (1954): Studies on the culture of a marine diatom. J. Mar. Biol. Ass. U. K., **33**, 265-290.
- Tamiya, H., E. Hase, K. Shibata, A. Mitsuya, Y. Iwamura, T. Nihei and T. Sasa (1953): Kinetics of growth of *Chlorella*, with special reference to its dependence on quantity of available light and on temperature. "Algal Culture, From Laboratory to Pilot Plant" Carnegie Inst. Washington, **600**, 204-232.
- Tamiya, H. (1964): Growth and cell division of *Chlorella*. In Synchrony in Cell Division and Growth, ed. E. Zeuthen; New York, 247-305.
- Tilman, D. (1977): Resource competition between planktonic algae: an experimental and theoretical approach. Ecology, **58**, 338-349.
- Tokuda, H. (1966): On the culture of a marine diatom *Nitzschia closterium*. In Cultures and Collection of Algae, ed. A. Watanabe and A. Hattori, Tokyo; 53-58.
- Watanabe M. M., S. Yamochi, K. Kohata and M. Watanabe (1982): Vertical migration and diel periodicity of phosphate uptake in a red tide flagellate, *Olisthodiscus luteus*. Res. Rep. Natl. Inst. Environ. Stud., No. 30, 131-141.

- 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.
- Whitford, L. A. (1960): The current effect and growth of freshwater algae. *Trans. Am. Microsc. Soc.*, **79**, 302-309.
- Whitford, L. A. and G. T. Schumacher (1964): Effect of a current on respiration and mineral uptake in *Spirogyra* and *Oedogonium*. *Ecology*, **45**, 168-170.
- Williams, F. M. (1971): Dynamics of microbial populations. In *Systems Analysis and Simulation in Ecology*, ed. B. C. Patten; Academic Press., 197-264.
- Williams, P. J. LeB. (1973): The validity of the application of simple kinetic analysis to heterogeneous microbial populations. *Limnol. Oceanogr.*, **18**, 159-164.
- 柳田友道 (1976) : 赤潮. 講談社刊, 東京, 198.

9. 赤潮鞭毛藻 *Olisthodiscus luteus* の垂直移動  
とリン酸摂取の日周性

Vertical Migration and Diel Periodicity of Phosphate Uptake in a Red  
Tide Flagellate, *Olisthodiscus luteus*

渡辺 信<sup>1</sup>・矢持 進<sup>2</sup>・木幡邦男<sup>1</sup>・渡辺正孝<sup>1</sup>

Makoto M. WATANABE<sup>1</sup>, Susumu YAMOCHI<sup>2</sup>, Kunio KOHATA<sup>1</sup>  
and Masataka WATANABE<sup>1</sup>

要 旨

赤潮鞭毛藻 *Olisthodiscus luteus* の示す日周垂直移動とリン酸摂取の日周性を実験的に解析した。*O. luteus* は明期には表層に、暗期には底層に集積し、その上下の移動は明暗切り換え時刻に先行して行われている。又一定期間明暗サイクル下で培養後、連続暗期にしても同様の垂直移動のパターンが観察されることにより、本種の示す垂直移動にはサーカディアンリズムが存在することが確認された。*O. luteus* は暗期終期より明期初期にかけ同調的に細胞分裂を行い、明期と暗期のそれぞれで  $\text{PO}_4\text{-P}$  を摂取することができる。

本種に確認された上記の明期暗期それぞれで  $\text{PO}_4\text{-P}$  を摂取しうる能力と有光層と栄養塩を豊富に含む底層の間を日周期的に移動しうる能力は、成層期における本種の個体群の発達に大きな役割を果すものと考えられる。

Abstract

Diurnal vertical migration and diel periodicity of phosphate uptake observed on a red tide flagellate, *Olisthodiscus luteus* were experimentally analyzed. *O. luteus* concentrated at the surface during the light period and at the bottom during the dark period. Timing of upward and downward migrations did not exactly coincide with the beginning or end of light phases, but slightly preceded light changes. Furthermore, since such vertical migratory pattern persisted at least for two days under continuous darkness, circadian rhythmicity was demonstrated in vertical migration of this species.

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  
Water and Soil Environment Division, The National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
2. 大阪府水産試験場 〒599-03 大阪府泉南郡岬町多奈川谷川  
Osaka Prefectural Fisheries Experimental Station, Misaki-cho, Sennan, Osaka Pref. 599-03, Japan.

*O. luteus* cells divided at the end of dark period to the beginning of light period, and uptake of  $\text{PO}_4\text{-P}$  was observed in each of light and dark periods.

The uptake of  $\text{PO}_4\text{-P}$  in light and dark periods observed in *O. luteus*, together with the ability to migrate between the illuminated surface and nutrient-enriched bottom, seems to play a major role in the population growth of this species in stratified season.

## 1. はじめに

すでに主張されているように、赤潮現象は特定種の異常増殖という点で特長づけられる (Watanabe *et al.*, 1982; Sakamoto, 1980) が、この特長は生物構造的に把えた場合であって、可視的に把えた場合は海面への植物プランクトンの集積による海水の変色で特長づけることができる。このような海水の変色をもたらす植物プランクトンの集積は躍層、内部波や対流渦の循環流の発生等の物理過程によるものと、生物に内在する因子によるものとの二つの機構が関与していると考えられている。

生物に内在する因子に基づく集積には、藍藻 *Microcystis*, *Anabaena*, *Trichodesmium* のようにガス胞の発達による浮力現象によるものと、鞭毛藻のように鞭毛運動によるものがあるが、特に内湾での赤潮構成種のはほとんどは鞭毛藻か又は自ら集積の為の潜在力を持たない硅藻である為、海域での生物的因子による集積は専ら鞭毛藻の運動性に基いているといえる。

鞭毛藻が日周垂直移動を示すことは多くの研究者によって報告されており (Hasle, 1950, 1954; Yoneda and Yoshida, 1957; Wheeler, 1966; Eppley *et al.*, 1968; Eppley and Harrison, 1975; 藤田等, 1977; Wandschneider, 1979), ほとんどの場合、垂直移動の要因として光に対する反応、即ち走光性があげられている。しかし、Eppley *et al.*, (1968) が深さ 10 m の大型タンクで観察した渦鞭毛藻 *Gonyaulax polyedra* と *Cachonia niei* の垂直移動では、光の点滅以前の上方と下方への移動が確認されたことから生物の内因的なものに基づいている可能性を示唆している。

また、鞭毛藻の示す垂直移動は単なる海面への集積作用を示しているのみならず、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することができると同時に、光合成を行う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が為に、鞭毛藻の個体群の発達に重要な役割をもつことが主張されている (Holmes *et al.*, 1967; Eppley *et al.*, 1968; Packard and Blasco, 1974; Eppley and Harrison, 1975; Harrison, 1976)。しかし、一般に鞭毛藻の示す垂直移動は日中は表層に夜間は下層へと移行するパターンを示す為、上記のような生態的意味が論じられるには明暗周期下で栄養塩取り込みの日周変動がどうなっているのか解析される必要がある。垂直移動と関連させた栄養塩取り込みの日周性についての研究は Packard and Blasco (1974), Eppley and Harrison (1975), Harrison (1976) 等によって為されているだけである。

本報告では、大阪湾谷川港で赤潮を形成し、日周垂直移動を行うことが現場で確認されている *Olisthodiscus luteus* の無菌クローン培養株を用いてマイクロコズム一号機 (Watanabe *et al.*, 1982) で実験的に *O. luteus* の垂直移動を解析し、その外因性・内因性を明らかにすると同時に、パッチ

培養系での細胞分裂と  $\text{PO}_4\text{-P}$  取り込みの日周変化を解析して、本種の示す垂直移動と増殖の関連を検討した結果を報告する。

## 2. 材料と方法

### 2.1 垂直移動の実験

大阪湾谷川港にて赤潮を形成し、日周垂直移動を示す *O. luteus* の無菌クローン培養株 O-791213 (Mori *et al.*, 1982) を実験材料として、マイクロコズム一号機 (Watanabe *et al.*, 1982) と NRC ガラス製角型培養管を使用して、温度  $22^\circ\text{C}$ 、照度  $5,000\text{lx}$ 、8 時点澄 20 時消澄の 121/D サイクル下で、*O. luteus* の垂直移動の実験を行った。

黒色ビニールで側面をおおったマイクロコズム一号機に f/2 培地を 12.2 l 加え、初期細胞濃度  $70\text{ cells/ml}$  で通気攪拌培養を行った。培養中の本種の増殖を把握する為に、3 日毎に 15 時に試料を採取し細胞数を計測した。培養開始後 13 日目の午前 10 時に通気を中止すると本種の細胞集団は表層に集積し、15 時に再び通気を行って試料を採取した後、再び通気を中止すると少なくとも 10 分後には細胞集団の表層への集積が観察され、その後 4 時間後の 19 時に細胞集団は底層へと移動していた。同様のことを 14~16 日目にも観察し、本種が活発に垂直移動を行っていることが確認されたので、17 日目の a.m. 9:00 より 18 日目の a.m. 11:00 まで、表層、中層 (容器底より 35 cm)、底層の 3 層から 1~3 時間間隔で試料を採取し、細胞数を計測して各層の時間ごとの細胞数の変化を比較した。18 日目の実験終了後、15 時に再び通気攪拌して系を一様にし、試料を採取して細胞数を計測した。

角型培養管では、実験開始より通気を行わない静置培養を行った。培養開始 10 日後までには細胞は増殖し、褐色の可視的集団となって、明期の大半は表層に集積し、暗期には下層へと移行する現象を肉眼的に観察することが出来る。培養開始 12 日目~13 日目にかけ、121/D サイクルを連続暗期にした。121/D サイクルと連続暗期それぞれにおける垂直移動の観察方法としては、肉眼的観察では a.m. 6:00 頃から表層へ移行し、p.m. 5:00 には底層への移行がはじまることが判明しているので、a.m. 4:00~p.m. 9:00 にかけて 1~2 時間間隔で培養管の細胞集団を写真撮影し、その平均位置をもとめて比較検討した。

### 2.2 $\text{PO}_4\text{-P}$ 取り込みと細胞数の日周変化に関する実験

この実験に関しては *O. luteus* の他に、大阪湾谷川港より単離した *Skeletonema costatum* の無菌クローン株、OSK-1 を材料とした。方法として、 $\text{PO}_4\text{-P}$  濃度  $10\ \mu\text{M}$  に設定した f/2 培地 500 ml を 1 l 三角フラスコに加え、オートクレーブ滅菌した後、両種の培養株をそれぞれ単独に摂取した。培養は静置培養を行い、毎日 p.m. 1:00 に三角フラスコを手で攪拌して、試料を無菌的に採取し 1 部は細胞数を計測し、1 部は GF/C フィルターでろ過してろ過液の  $\text{PO}_4\text{-P}$  濃度を測定した。また、培養開始後 *O. luteus* では  $2 \times 10^4\text{ cells/ml}$ 、*S. costatum* では  $4 \times 10^4\text{ cells/ml}$  に達した日 p.m. 1:00 から次の日の p.m. 1:00 まで 2~3 時間おきに前述した要領で試料を採取し、その細胞数、外液の

PO<sub>4</sub>-P濃度を測定した。

実験を通じてPO<sub>4</sub>-P濃度はテクニコン・オートアナライザーTM-II型を使って分析し、又細胞数は改良型ノイバウエル血球計算盤を使って計測した。

### 3. 結果

#### 3.1 マイクロコズム一号機における *O. luteus* の垂直移動

実験期間中、マイクロコズム一号機における *O. luteus* は活発な増殖を示しており(図1)、従って18日目~19日目にかけて行った *O. luteus* の垂直移動の実験は、本種が十分に増殖を行いうる環境下で為されたものであると考えられることが出来る。図2は *O. luteus* の垂直移動の実験結果を表したものである。図より、実験開始前(摂取後17日目)の通気攪拌状態での細胞濃度は  $2.2 \times 10^4$  cells/mlと上下一様であったものが、明期にはほとんどの細胞が表層へ集積しており(最大濃度は  $41.5 \times 10^4$  cells/ml)、暗期になると下層へ(最大濃度は  $294.9 \times 10^4$  cells/ml)、次の時期には再び表層へと集積している(最大濃度  $37.8 \times 10^4$  cells/ml)ことから、本種は日周垂直移動を行っていることがわかる。又、この垂直移動は必ずしも明暗サイクルに追従しておらず、むしろそれに先行して、表層又は下層への移動が行われていることが明らかとなった。

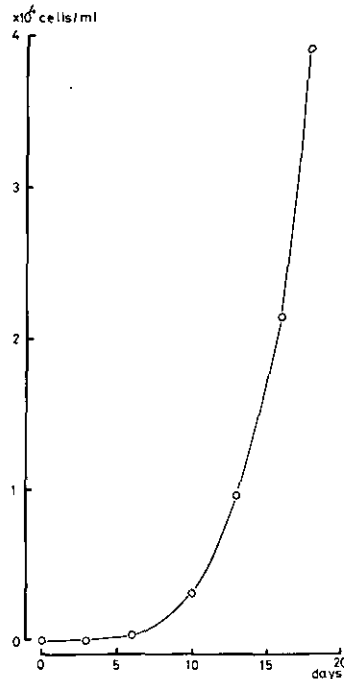


図 1 マイクロコズム1号機での *Olisthodiscus luteus* の増殖

Fig. 1 Growth of *Olisthodiscus luteus* in microcosm-1



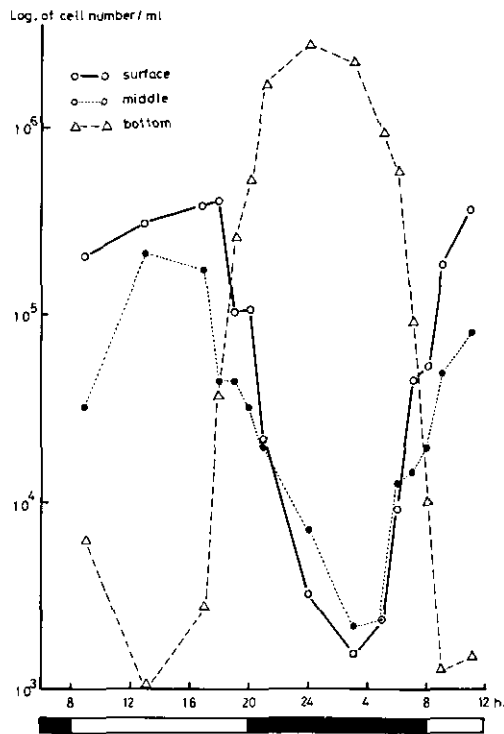


図 2 マイクロコズム 1 号機での *Olisthodiscus luteus* の垂直移動  
 Fig. 2 Vertical migration of *Olisthodiscus luteus* in microcosm-1

### 3.2 角型培養管における *O. luteus* の垂直移動とそのサーカディアンリズム

図 2 に示すように角型培養管における *O. luteus* は、12L/D 明暗周期下では明期には表層へ、暗期には底層へと集積し、又明暗周期に先行する垂直移動を行っており、マイクロコズム一号機でのそれを全く同様のパターンを示していることがわかる。その後、12L/D 明暗サイクルを連続暗期にした場合でも、全く同様の垂直移動のパターンが続いており (図 3)、従って、本種の示す垂直移動には内因的な日周性リズム、即ちサーカディアンリズムが関与していることが判明した。

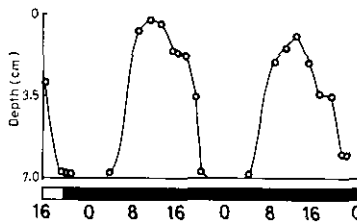


図 3 連続暗期下での *Olisthodiscus luteus* の垂直移動のパターン  
 Fig. 3 Vertical migratory pattern of *Olisthodiscus luteus* under continuous darkness

### 3.3 $PO_4 - P$ 取り込みと細胞数の日周変化

実験期間中、*O. luteus* と *S. costatum* の細胞数は経日的に増加しており、又兩種各々の培養液中の  $PO_4 - P$  濃度も経日的に減少していることから、兩種とも活発に  $PO_4 - P$  を取り込んで増殖していると判断することができる (図4, 5)。この条件下での *O. luteus* と *S. costatum* の細胞数と外液  $PO_4 - P$  濃度の経時的变化を図6, 7に示す。図より *O. luteus* の細胞数は a.m 7:00 ~ p.m 1:00 にかけて増加しており、*S. costatum* の細胞数は p.m 5:00 ~ p.m 9:00 にかけて増加していることから、*O. luteus* の細胞分裂は暗期終期より明期初期にかけ、又 *S. costatum* のそれは明期終期から暗期初期にかけほぼ同調的に起こっていることがわかる。外液  $PO_4 - P$  濃度に関して、*O. luteus* の場合は明期と暗期それぞれに減少する時間帯が確認され、又、*S. costatum* に関しては明期にその減少が確認されるのが暗期ではほとんど確認することはできない。この結果から *O. luteus* は明期と暗期の双方で  $PO_4 - P$  を摂取しているが、*S. costatum* はほとんど明期でのみ  $PO_4 - P$  の摂取が行われていると考えることができる。

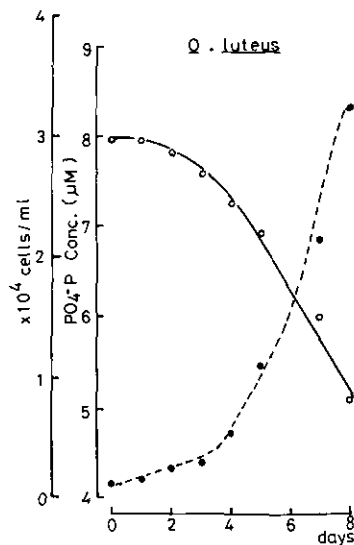


図 4 *Olisthodiscus luteus* の細胞数と外液  $PO_4 - P$  濃度の変化

Fig. 4 Changes of cell number of *Olisthodiscus luteus* and ambient  $PO_4 - P$  concentration

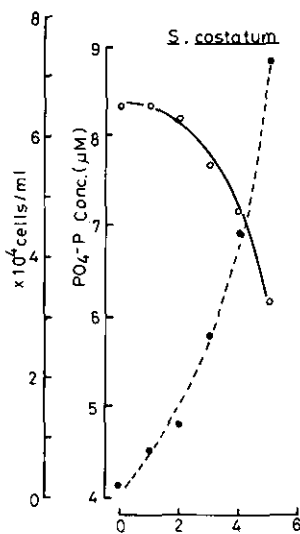


図 5 *Skeletonema costatum* の細胞数と外液 PO<sub>4</sub>-P 濃度の変化  
 Fig. 5 Changes of cell number of *Skeletonema costatum* and ambient PO<sub>4</sub>-P concentration

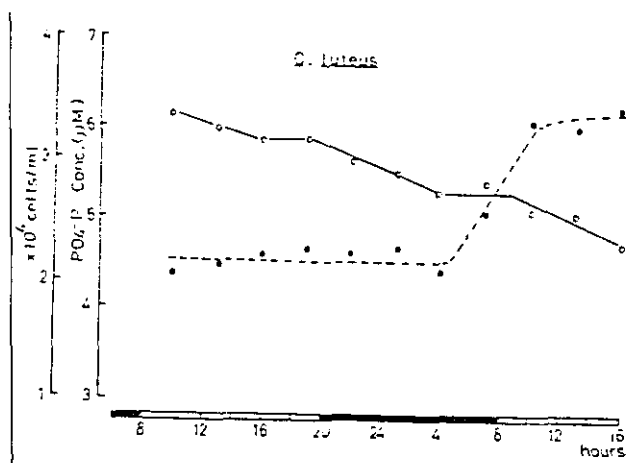


図 6 明暗サイクル下での *Olisthodiscus luteus* の細胞数の増加と外液 PO<sub>4</sub>-P の減少  
 Fig. 6 Increase of cell number of *Olisthodiscus luteus* and decrease of ambient PO<sub>4</sub>-P concentration under a light-dark cycle

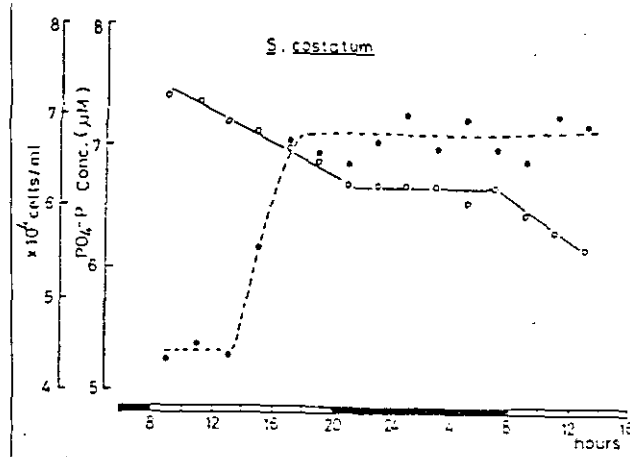


図 7 明暗サイクル下での *Skeletonema costatum* の細胞数の増加と外液  $PO_4-P$  の減少

Fig. 7 Increase of cell number of *Skeletonema costatum* and decrease of ambient  $PO_4-P$  concentration under a light-dark cycle

#### 4. 考 察

本実験下で *O. luteus* が示した垂直移動は矢持等(1982) の大阪湾谷川港での本種の垂直移動の現場観察結果と非常によく一致している。即ち、本種は日中は表層に夜間は底層に集積し、その上下への移動は明暗切り換え時刻に先行して行われていると結論することができる。又、角型培養管で一定期間の明暗サイクル下培養後連続暗期にしても、同様の垂直移動のパターンが観察されたことより、本種の示す垂直移動にはサーカディアンリズムの存在を確認することができる。この垂直移動がいかなる細胞内因子の日周変化に基づくのか明らかではないが、現在進行中の実験では12/12サイクルを反転させた場合(8:00~20:00暗期, 20:00~8:00明期)にも明期に表層へ、暗期に底層へと光の明暗切り換え時刻に先行して移動・集積するパターンが観察されており、又それに続く連続暗期でも同様のパターンが続くというサーカディアンリズムを示していることから、本種の垂直移動は培養初期にあたえられた明暗サイクルでそのパターンは規定され、短期間の連続暗期等の perturbation でもその前歴で支配され、従って底層に集積していた細胞が翌朝雨天や曇天で底層が暗黒下におかれたとしても再び表層へ移行して赤潮のパッチを形成しうることが推察される。

一般に藻類は明暗周期下では同調的な細胞分裂(Tamiya, 1964; Chisholm *et al.*, 1978, Chisholm and Stross, 1976; Galleron, 1976; Weiler *et al.*, 1976)と栄養塩の取り込みの日周性(Harsey and Swift, 1976; Grant and Turner, 1969; Nelsen and Conway, 1979; Chisholm and Stross, 1976; Chisholm *et al.*, 1978)を示すといわれている。今回、我々の実験でも *O. luteus* は暗期後期(ca 7:00)から明期前期(ca 13:00)にかけ、*S. costatum* は明期後期(ca 17:00)から暗期前期(ca 21:00)にかけ細胞分裂を行っている。*O. luteus* の細胞分裂の始まる時刻は上方へ移動する時刻とほぼ一致しており、

細胞分裂に致るまでの細胞内の生理生化学的反應の変化と垂直移動との関連性が示唆される。

また、*O. luteus*は明期と暗期にそれぞれ $\text{PO}_4\text{-P}$ の摂取を行うのに対し、*S. costatum*の $\text{PO}_4\text{-P}$ の摂取は明期に限定され、暗期にはほとんど行われぬ。*O. luteus*の $\text{PO}_4\text{-P}$ の摂取の日周変化は $\text{PO}_4\text{-P}$ 制限下ケモスタットの定常状態でも同様に確認されており(Watanabe *et al.*, 1982)、またP欠状態の*O. luteus*の細胞は、明期でも暗期でも与えられた $\text{PO}_4\text{-P}$ を活発に取り込むことが判明してきている(木幡, 未発表)。従って、この結果と*O. luteus*の垂直移動の特性を関連させて考えれば、表層が $\text{PO}_4\text{-P}$ 欠状態であっても*O. luteus*は夜間底層へ移行して増殖に必要な $\text{PO}_4\text{-P}$ を摂取することができるといえる。同様のことは、*Gonyaulax polyedra*でも報告されており、この種が日周垂直移動を示し、また暗期でも活発に $\text{NO}_3\text{-N}$ の摂取と同化(assimilation)を行い、特に細胞がN欠状態にあった場合は暗期下だけで増殖に必要な量の50~100%は摂取しうることが実験的に検証されている(Eppley and Harrison, 1975; Harrison, 1976)。

鞭毛藻赤潮のほとんどは、浅くかつ強い温度成層が発達した海域(10~20m)で発生しており(Holms, 1967; 柳田, 1975; 村上, 1976)、その場合成層以浅と以深では栄養塩濃度が著しく異なっていること、即ち成層以浅では栄養塩は乏しい状態にあるのに対して、成層以深では栄養塩は豊富に存在していることが報告されている(Holms *et al.*, 1967)。このように、光合成を行う際に必要な光と、増殖に必要な栄養塩に関して垂直方向に相反する分布を示す海域では、個体群の拡大・維持の為の有効な戦略として、夜間は栄養塩の豊富な底層へ移行し増殖に必要な栄養塩、例えば $\text{NO}_3\text{-N}$ (*G. polyedra*)、 $\text{PO}_4\text{-P}$ (*O. luteus*)を摂取し、日中は有光層へ移行して光合成を活発に行う特性を保持することが必要となる。海域によって増殖の為の制限因子となる栄養塩は異なってくると考えられるが、少なくとも、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 制限下にある海域では、*O. luteus*に確認された垂直移動とその移動が温度成層を突きやぶって行われ(Yamochi *et al.*, 1982)、そして暗期での $\text{PO}_4\text{-P}$ を摂取しうるという特性は本種の個体群の発達に有効な戦略であるといえる。

本種の赤潮が頻発する大阪湾谷川港では $\text{Fe}$ が制限因子となっていることが主張されており(Yamochi *et al.*, 1982)、今後は $\text{PO}_4\text{-P}$ のみならず、 $\text{Fe}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 等の栄養塩摂取の日周変化を本種の細胞の栄養状態と関連させて解析していく必要がある。

## 5. おわりに

従来の赤潮発生研究において検討された原因種の増殖特性は、静置培養にしても連続培養でもあくまで系が一様な状態で解析されたものでしかない。もちろん、そこで得られる知見が赤潮研究の進展に果たす役割は非常に大きかったし、現在においても将来においてもその研究方法の重要性はむしろ増大していくであろう。しかし、現実の自然界では、温度、塩分濃度、栄養塩は不均一な分布を示しており、特に赤潮が頻発する夏季はその傾向が著しい。現実の赤潮発生はその不均一な系の中で起こる栄養塩摂取と個体群拡大をめぐる種間競合のドラマであり、それに対する実験研究はその不均一性を因子ごとに切りはなして、生物の示す生理特性との関連で解析していき、得られた

結果の重ね合わせで一般的な法則性を明らかにしていく方向性を必要とする。鞭毛藻の示す日周垂直移動と栄養塩摂取の日周変化の研究は、不均一な系の中での個体群の拡大と維持を解析していく上で重要な研究課題であるといえる。

#### 引用文献

- Chisholm, S.W. and R. G. Stross (1976): Phosphate uptake kinetics in *Euglena gracilis*. (Z) (*Euglenophyceae*) grown in light/dark cycles. II. Phased  $PO_4$ -limited cultures. *J. Phycol.*, **12**, 217-222.
- Chisholm, S. W., F. Azam and R. W. Eppley (1978): Silicic acid incorporation in marine diatoms on light: dark cycles: Use as an assay for phased cell division. *Limnol. Oceanogr.*, **23**, 518-529.
- Eppley, R. W., O. Holm-Hansen and J. D. Strickland (1968): Some observations on the vertical migration of dinoflagellates. *J. Phycol.*, **4**, 333-340.
- Eppley, R. W., and W. G. Harrison (1975): Physiological ecology of *Gonyaulax polyedra*, a red water dinoflagellate off southern California, p. 11-22. In *Toxic dinoflagellate blooms*. Proc. Int. Conf. (1st). Mass. Sci. Technol. Found.
- 藤田則孝・五十嵐輝夫・岩井拓郎・渡辺誠樹 (1977): *Prorocentrum micans* の垂直移動について. 宮城県気仙沼水産試験場研究報告, No. 3, 46-55.
- Galleron, C. (1976): Synchronization of the marine dinoflagellate *Amphidinium Carteri* in dense cultures. *J. Phycol.*, **12**, 69-73.
- Grant, B. R. and I. M. Turner (1969): Light-stimulated nitrate and nitrite assimilation in several species of algae. *Comp. Biochem. Physiol.*, **29**, 995-1004.
- Harrison, W. G. (1976): Nitrate metabolism of the red tide dinoflagellate *Gonyaulax polyedra* Stein. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **21**, 199-209.
- Hasle, G. R. (1950): Phototactic vertical migration in marine dinoflagellates. *Oikos*, **2**, 162-175.
- Hasle, G. R. (1951): More on phototactic diurnal migration in marine dinoflagellates. *Nytt. Mag. f. Bot.*, **2**, 139-147.
- Hersey, R. L. and E. Swift (1976): Nitrate reductase activity of *Amphidinium carteri* and *Cochonina niei* (*Dinophyceae*) in batch culture: diel periodicity and effects of light intensity and ammonia. *J. Phycol.*, **12**, 36-44.
- Holms, R. W., P. M. Williams and R. W. Eppley (1967): Red water in La Jolla Bay, 1964-1966. *Limnol. Oceanogr.*, **12**, 503-512.
- Mori, S., Y. Nakamura, M. M. Watanabe, S. Yamochi and M. Watanabe (1982): The effects of various environmental factors on the growth yield of red-tide algae. II. *Olisthodiscus luteus*. *Res. Rep. Natl. Inst. Environ. Stud.*, No. 30, 000-000.
- 村上彰男 (1976): 赤潮と富栄養化. 公害技術同好会刊, 東京, pp. 207.
- Nelson, D. M. and H. L. Conway (1979): Effects of the light regime on nutrient assimilation by phytoplankton in the Baja California and northwest Africa upwelling systems. *J. Mar. Res.*, **37**, 301-318.
- Packard, T. T. and D. Blasco (1974): Nitrate reductase activity in upwelling regions. 2. Ammonia and light dependence. *Tethys*, **6**, 269-280.
- Sakamoto, M. (1980): Physiological and ecological analyses of the dynamics of phytoplankton production and its dependency on nutrients in coastal waters. 潜伏期における赤潮原因種挙動調査, 水産庁, 11~19.
- Tamiya, H. (1964): Growth and cell division of *Chlorella*, p. 247-305. In *Synchrony in Cell Division and Growth*, ed. E. Zeuthen, New York.

- Wandschneider, K. (1979): Vertical distribution of phytoplankton during investigations of a natural surface film. *Mar. Biol.*, **52**, 105-111.
- Watanabe, M. M., K. Kohata, Y. Nakamura and M. Watanabe (1982): Phosphate-limited continuous culture of a red tide flagellate, *Olisthodiscus luteus*: Establishment of the method and the analysis of growth kinetics. *Res. Rep. Natl. Environ. Stud.*, No. 30, 113-130.
- Watanabe, M., M. M. Watanabe, K. Kohata and A. Harashima (1982): The use of a controlled experimental ecosystem (microcosm) in studies of the mechanism of red tide outbreaks. *Res. Rep. Natl. Environ. Stud.*, No. 30, 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.
- Wheeler, B. (1966): Phototactic vertical migration in *Exuviella baltica*. *Botanica Mar.*, **9**, 15-17.
- Yamochi, S., T. Abe and H. Joh (1982): Studies on the mechanisms of red water blooms by *Olisthodiscus luteus* at Tanigawa Fishing Port, Osaka bay. Characteristics in occurrence of *O. luteus* and its diurnal vertical migration (1). *Res. Rep. Natl. Environ. Stud.*, No. 30, 191-214.
- 柳田友道 (1976): 赤潮. 講談社刊, 東京, 198頁.
- Yoneda, Y. and Y. Yoshida (1957): Physiological and ecological studies on red tide-I. On the vertical migration of the plankton producing red tide (1). *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **19**, 405-409.

10. *Olisthodiscus luteus* と *Skeletonema costatum* の  
細胞密度の日周変動

The Diurnal Variations in the Cell Densities of *Olisthodiscus luteus*  
and *Skeletonema costatum*

渡辺正孝<sup>1</sup>

Masataka WATANABE<sup>1</sup>

要 旨

透過性もなく原形質分離を起こさず、海水との混合にも懸濁しない silica sol である Percoll を用いて密度こう配を遠沈管内に作成し、培養した珪藻 *Skeletonema costatum* および鞭毛藻 *Olisthodiscus luteus* の細胞密度を生きたまま直接測定する密度こう配遠心法を開発した。この方法により細胞密度の日周変動を計測した結果、細胞密度は *O. luteus*、*S. costatum* とともに最小  $\rho = 1.10$ 、最大  $\rho > 1.146$  であること、最小細胞密度を与える時間が細胞分裂時間 (*O. luteus* は 7:00 AM ~ 1:00 PM, *S. costatum* は 5:00 PM ~ 9:00 PM) に合致していること、さらにそれぞれの種の最小細胞密度を与える時間に約12時間の位相差が存在することが判明した。

Abstract

The method of density gradient centrifugation has been developed for direct measurement of the densities of *Olisthodiscus luteus* and *Skeletonema costatum*. Silica sol (Percoll) was used as gradient material and did it neither cause plasmolysis nor gel at salinity of sea-water. By the use of this method the diurnal variations in the cell densities of *O. luteus* and *S. costatum* were measured.

It was found that in both organisms maximum cell density was over 1.146 and minimum cell density was about 1.10. Minimum cell density occurred at cell division time (*O. luteus*: 7:00 AM - 1:00 PM; *S. costatum*: 5:00 PM - 9:00 PM). Namely there was 12 hrs time difference between the time when *O. luteus* showed minimum cell density and the time when *S. costatum* showed minimum cell density.

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



## 1. はじめに

藻類による光合成は主に有光層 (euphotic zone) 内にかに長く浮上し存在し得るかにかかっているといわれている。藻類の増殖と生存にとっては、連続的にいつも有光層に存在する必要性はないが、1日平均の有光層内での滞留時間によって行われる光合成量が、1日の呼吸量および代謝量の総量よりも大きくなければならない。したがって定期的に有光層内に滞留するための浮上機構が必要である。Smayda (1970) は藻類の浮遊と沈降の機構に関して詳細な review を行い、藻類の浮上機構と種の競合・遷移現象との関連を論じている。一般に海水中に浮遊している藻類が受ける力は重力と浮力の差、すなわち  $F = gkd^3(\rho' - \rho)$  で表現される。ここで  $kd^3$  = 細胞の体積、 $d$  = 代表長さ、 $g$  = 重力加速度、 $\rho'$  = 藻類の密度、 $\rho$  = 流体の密度。もし上昇流や乱流の影響がなければ、この密度差  $\Delta\rho = (\rho' - \rho)$  が遊泳力をもたない藻類 (non-motile phytoplankton) の浮上もしくは沈降を決定すると考えられる。遊泳力をもつ藻類 (motile phytoplankton) の浮上、沈降は走性の影響等によって異なるが、それでも上述の外力を受けることには変わりがない。通常海水の比重は 1.021~1.028 程度と一定している。藻類の密度  $\rho$  は細胞壁、細胞質、細胞液の組成とその量による。通常有光層内での浮遊の必要性にもかかわらず、ほとんどの藻類は重い物質による細胞壁を形成しており、浮遊にとって negative な作用をもたらす、そのため “flotation paradox” と呼ばれている。

藻類浮遊のためには、物理的機構を除いては少なくとも二つの機構が考えられている (Smayda, 1970)。すなわち i) 形態的機構、ii) 生理的機構がある。

一般に藻類の沈降速度は Stokes の法則に従い次のように与えられる。

$$v_d = \frac{2gr^2}{9} \frac{(\rho' - \rho)}{\nu \cdot \phi_r}$$

ここで  $r$  = 藻類の半径、 $\phi_r$  = 形状抵抗係数。このことより藻類の大きさは直接沈降速度を増大させる方向に働く。さらに colony を形成する藻類は *Skeletonema costatum* を除いては沈降速度を増大させる。colony のサイズと沈降速度が逆比例する *S. costatum* については細胞を silica rod により結合し chain を形成することにより形状抵抗係数  $\phi_r$  を増大させ沈降速度を低下させていると考えられる。Silica 欠如で培養された *S. costatum* の沈降速度が早くなるのはこの影響と考えられる。その他突起、外殻の粗度、鞭毛、等による形状抵抗係数の変化が沈降速度に影響を及ぼすが、それは単に沈降速度を減少させることはあっても、藻類を浮上させる力とはなり得ない。

一方より効果的な浮上手段として生理的な方法による藻類体内の密度制御を行うことが考えられる。すなわち生理的方法により藻類の体内密度  $\rho'$  を減少させ、水との相対的密度差 ( $\Delta\rho = \rho' - \rho$ ) を小さく (もしくは負) することにより沈降速度を減少 (もしくは浮上) させることが考えられる。従来より二つの生理的機構が研究されてきた。すなわち i) 脂肪質の蓄積、ii) 細胞液の化学組成の制御、の二つが考えられる。*Olisthodiscus luteus* は脂肪質を蓄積することが知られ (Dodge, 1973)、さらに *S. costatum* も脂肪質を蓄積する (Bold and Wynne, 1978)。しかし脂肪質の含まれる量は通常多くなく、浮上効果にそれ程寄与しない (Smayda, 1970)。さらに珪藻中での多量の脂肪質の出現

は細胞組織の破壊を示すことが実験的に確認されている(Fogg, 1966)。 *Noctiluca miliaris* (Kesseler, 1966) が海水中で表面浮上する能力は、海水に比較して細胞液の化学組成が以下の性質を持つことによると結論づけられた。すなわち i) 比較的重い 2 価イオン (特に  $\text{SO}_4^{2-}$ ) の排除、 ii) 細胞内の  $\text{Na}^+$  濃度が  $\text{K}^+$  に比較して高い (後者は前者に比較して約 40% 程重い)、 iii) 軽いイオンである  $\text{NH}_4^+$  が高濃度に含まれる。その他に *Ditylum brightwelli* (Gross and Zeuthen, 1948; Eppley *et al.*, 1967; Eppley *et al.*, 1968)、 および *Valonia macrophysa*, *Halicystis osterhouti* (Gross and Zeuthen, 1948) 等について同様に細胞液の化学組成についての研究が行われたが、細胞液内の化学組成の変化によって藻類の浮上機構を説明することは、 *N. miliaris* は例外として、まだ完全な段階に達していない (Smayda, 1970)

以上のように、藻類は環境因子に反応して自らの沈降速度を形態的、生理的機構により制御し、特に生理的機構により自らの密度を変化させていることがうかがえる。

従来からの藻類の密度測定は、Eppley R.W. *et al.*, (1967) が行ったように、 *settling chamber* を用いて沈降速度を実験的に求めることにより、Stokes の沈降公式より細胞密度を計算するのが通常の方法であった。この方法では細胞の形状抵抗係数の影響が入り、細胞密度の値に大きな誤差が含まれる。

以上のことから、本論文においては藻類の細胞密度を生きたまま、より正確に測定する方法 (密度こう配遠心法) を開発し、それを用いて、大阪湾をはじめとし多くの海域において競合関係にある鞭毛藻 *O. luteus* と珪藻 *S. costatum* の細胞密度の日周変化を測定し、珪藻における細胞密度変化による浮力獲得への影響、ならびに鞭毛藻の垂直移動における細胞密度変化の生態的意味について論じる。

## 2. 密度こう配遠心法

Price *et al.*, (1974), St. Onge and Price (1975), Morgenthaler and Price (1976), Price and Reardon (1978) の一連の研究により、 *silica sol* を用いた密度こう配遠心法により鞭毛藻および他の藻類を分離する方法が行われた。通常密度こう配に用いられる *sucrose* を海水に用いると、浸透ポテンシャルを増大させ、原形質分離を起こし結果的に細胞密度を増大させる可能性がある。通常用いられる *sucrose* と *Ficoll* (polymer) の混合物は海水にとけにくく、さらに非常に粘性が高い。*Ludox AM* (*silica sol*, DuPont 社) は粘性が低く、浸透ポテンシャルも低いが、0.2 M 以上の *NaCl* と混合すると懸濁する (海水の *NaCl* 濃度は約 0.5 M)。このように通常用いられている密度こう配液は藻類にとって不適であり、 *silica sol* は海水と混合できない。この困難さを Price and Reardon (1978) は *Percoll* (Pharmacia Fine Chemicals 社) を用いることにより解決した。*Percoll* は生物膜に付着又は細胞内に浸透しないので、細胞密度の見かけ上の増加を引き起こすことがなく、*Percoll* 中でバンド形成した粒子はその真実の密度の個所にあると考えられる。Price and Reardon (1978) が用いた密度こう配液の組成を表 1 に示す。

表 1 密度こう配液の組成 (Price and Reardon (1978) より引用)  
 Table 1 Composition of gradient solutions (From Price and Reardon (1978))

	Component	Amount	Final concentration
Starting solution (low density)			
$\rho = 1.04$	sorbitol	91.1 g	0.5M
	{ TRIS-HCl TRIS base	2.64 g 4.03 g	0.05M TRIS, pH 8.5
		MgCl <sub>2</sub>	
	seawater	100 ml	10%vol/vol
	distilled water	to 1,000 ml	
	Final solution (high density)		
$\rho = 1.146$	sorbitol	91.1 g	0.5M
	{ TRIS-HCl TRIS base	2.64 g 4.03 g	0.05M TRIS, pH 8.5
		Percoll	
	MgCl <sub>2</sub>	1.43 g	0.015M
	seawater	100 ml	10%vol/vol
	Percoll	to 1,000 ml	

NaCl (0~1M)および MgCl<sub>2</sub> (0~0.1M) は50% vol/volの Percollとの混合においても懸濁しない。より高い密度こう配を作るために sorbitolを用いているが、sorbitol (0.5M), TRIS (0.05 M), MgCl<sub>2</sub> (0.015M), 10% vol/vol海水の混合 (SSW) において鞭毛藻は通常の動きを示し、さらにこの混合液 (SSW) に Percollを加えた Percoll-SSW 液においても鞭毛藻は通常の動きを示し、光合成活性も変化しないことが確認されている (Price and Reardon, 1978)。混合物 (SSW) は海水に比較して浸透性も低いが、高濃度の sorbitolを用いると sucroseと同様に原形質分離を起こすので注意しなければならない。

密度 1.146 (Percoll-SSW) の液 50 ml と密度 1.04 (SSW) の液 50 ml を密度こう配作製装置 (図 3) 内の二つのシリンダーに入れ、コックを用いて二つのシリンダーを連通させ、マグネット・スターラーで攪拌し混合を行いながら細管を用いて corex ガラス製遠心管 (150 ml) の壁をつたわせ、底部から上部へと濃 → 淡の密度こう配を作成した (two-cylinder method)。この遠心管の中に作成された密度こう配を直接測定する方法として、密度マーカービーズを用いた。この密度マーカービーズは sephadex を特別に加工した誘導体であり、Percoll 中で異なった密度値を持つビーズを混合し、各々のビーズは識別し易いように、各密度ごとに着色されており、遠心管内に作成された密度こう配の上にその密度マーカービーズを重層し、2,000rpm で25分の遠心を行い、各々のビーズと等しい密度の位置まで沈降することにより、遠心管内の密度こう配を知ることができる。図 1 は密度マーカービーズのバンド形成位置を示し、これにより各密度マーカービーズ間の距離を測定することにより直接密度こう配をプロットできる (図 4)。遠沈管内に作成した密度こう配の上に藻類を含んだ試料を重層し、アンプルヘッドローターにより、2,000rpm で25分間の遠心を行った。

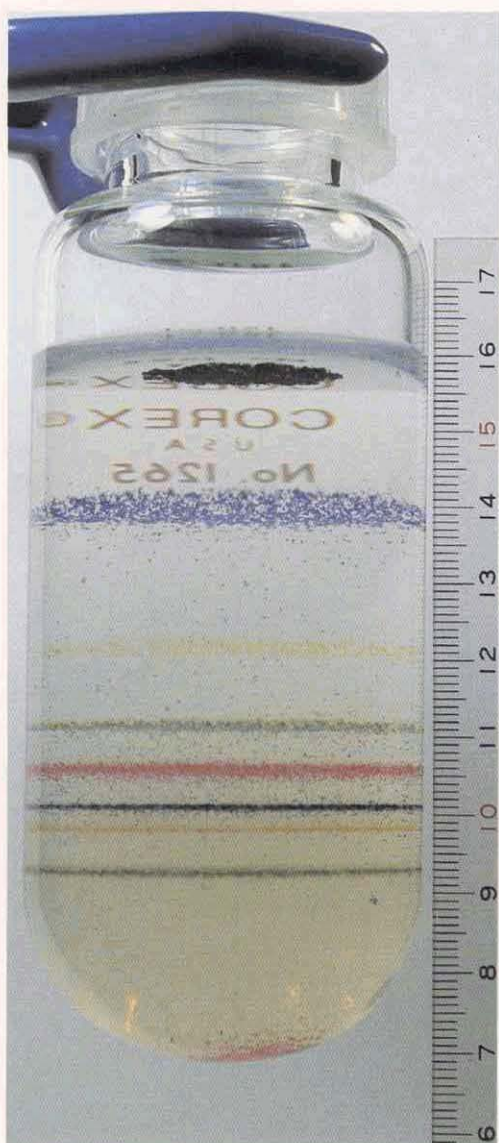


図 1 密度マーカービーズのバンド形成位置  
Fig. 1 Banding of density marker beads

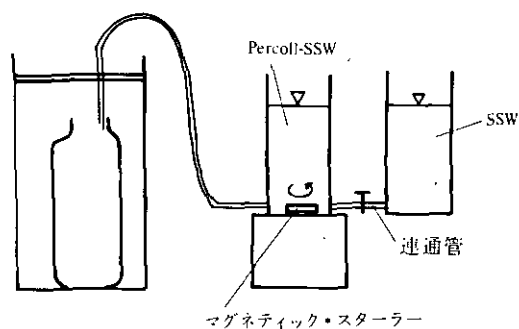


図 3 密度こう配作成装置

Fig. 3 Instruments of forming density gradient

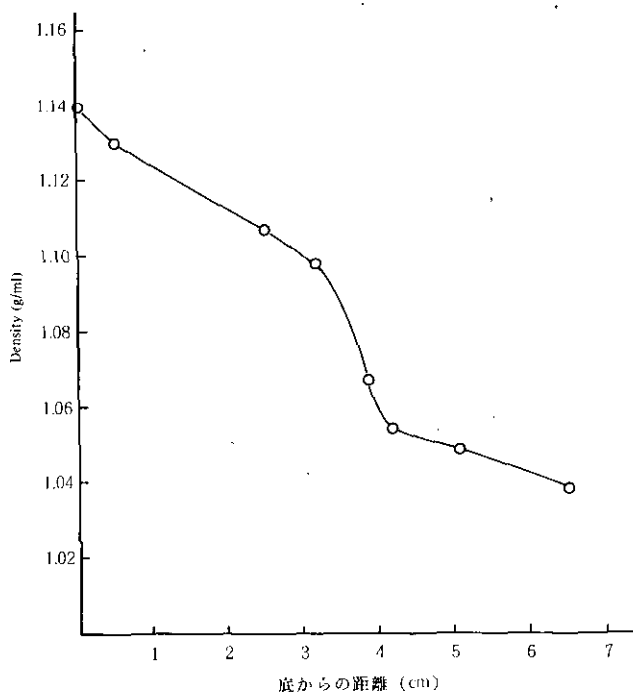


図 4 遠心管内の密度こう配

Fig. 4 Density gradients in a centrifuge tube

藻類は平衡状態において、自らの細胞密度と等しい所に帯状に分離されるが、図2はその分離された様子を示す。St. Onge and Price (1975)は silica solを用いた密度こう配により分離した細胞粒子の密度を密度マーカービーズにより検定し、測定された細胞密度が種々の polymer の存在によって、さらに pH によっても影響を受けることがわかっている。したがってここに計測された藻類の細胞

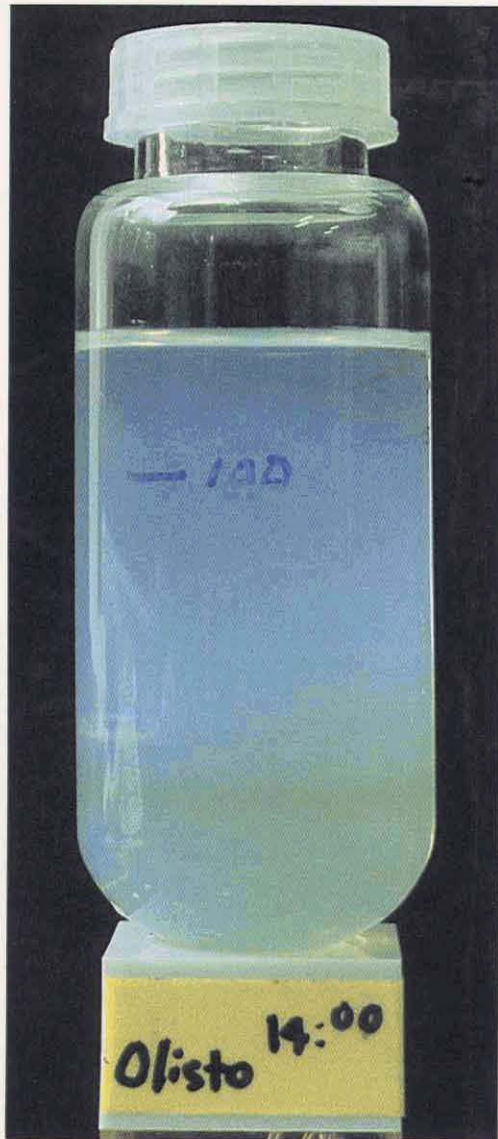


図 2 Percoll-SSW で作成した密度こう配によって帯状に分離された *O. luteus* (14:00 PMでのサンプル)

Fig. 2 Banding of *O. luteus* in density gradient of Percoll-SSW (sampled at 14:00 PM)

密度はそれらによる誤差は含んでいるが、遊泳性の鞭毛藻であっても細胞を破壊せず光合成活性も低下せずに生きたまま直接細胞密度を測定することができる点に特色がある。

### 3. *O. luteus* と *S. costatum* の密度変化の日周期性

1)の三角フラスコを用いて、*O. luteus* および *S. costatum* を f/2 培地を使用して無菌的に培養した。実験条件は周囲温度21°C、3,000 lxの照度下で12hr-12hrの明暗サイクルのもとで培養実験を行った。図5にそれぞれの種の増殖曲線を示すが、それからわかるように対数増殖期にあたる培養7日目の株を用いて細胞密度測定を行った。第2節で述べた方法で Percoll-SSW (50 ml) と SSW (50 ml) を用いて密度こう配を作成した上に、サンプル40mlを重層し、アングルローターにより2,000rpmで遠心を行い、藻類のバンド形成位置の高さを計測することにより、図2を用いて藻類の細胞密度を測定した。*O. luteus* および *S. costatum* の細胞密度の日周変化を表2に示す。作製された Percoll-SSW (表1) による最大密度は1.146であり、藻類の細胞密度がこれ以上大きくなると底に沈澱し浮上分離することができなくなる。この場合の藻類の細胞密度は正確な値を出すことができず、単に  $\rho > 1.146$  とのみ記述した。表1に示した sorbitol 濃度では浸透圧はバラン

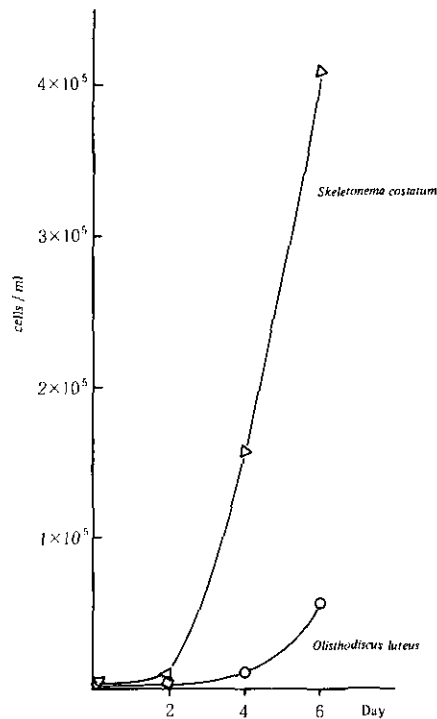


図 5 *O. luteus* 及び *S. costatum* の増殖曲線

Fig. 5 Growth curves of *O. luteus* and *S. costatum*

表 2 *O. luteus* と *S. costatum* の細胞密度の日周変化

Table 2 The diurnal variations in the cell densities of *O. luteus* and *S. costatum*

	<i>Olisthodiscus luteus</i>		<i>Skeletonema costatum</i>	
14:00	2.6 cm	$\rho = 1.102$	底	$\rho > 1.146$
19:30	底	$\rho > 1.146$	2.2 cm	$\rho = 1.108$
2:00	1.9 cm	$\rho = 1.112$	2.0 cm	$\rho = 1.100$
7:30	2.5 cm	$\rho = 1.104$	2.0 cm	$\rho = 1.100$
9:00	2.6 cm	$\rho = 1.102$	底~2.0 cm	$\rho > 1.146$
11:00	2.4 cm	$\rho = 1.105$	底~1.5 cm	$\rho > 1.146$
14:00	2.0 cm	$\rho = 1.100$	底	$\rho > 1.146$

スされており、藻類は正確な細胞密度平衡を保っているが、sorbitolの濃度をあまり増大させると浸透圧のアンバランスをもたらす、藻類試料の水分が失われる結果、見かけ上高い細胞密度をもたらす結果となる。浸透圧の調整を行いながらsorbitolの濃度を増大させることを検討中である。

*O. luteus* は朝7:00~1:00 PMにかけて細胞分裂を行い、*S. costatum* は夜5:00~9:00 PMにかけて細胞分裂を行うことが知られているが、表2に示された*O. luteus*と*S. costatum*の細胞密度変化の中で最小の細胞密度を与える時間が、それぞれの種の細胞分裂の時間に対応していることがこの実験結果から判明した。さらに競合関係にある*O. luteus*と*S. costatum*とは、細胞密度最小となる時間(すなわち細胞分裂時間)が約12時間の位相差が存在するという興味ある結果を得た。

*O. luteus* は遊泳性の藻類であり、垂直移動能力が、重力による沈降の効果よりはるかに優っており、*O. luteus*の垂直移動に与える沈降の影響は無視できる。したがって夜間栄養塩の豊富な下層に移動し、昼間水表面で光合成を行なうという垂直移動は遊泳力に支配され、他の non-motile な藻類に比較して有利な競合力を持っている。

これに反して*S. costatum*は遊泳力をもち、もし流体の乱れ(turbulence)がなければ沈降の効果により有光層に滞留できないと考えられてきた。しかし*S. costatum*の細胞密度の日周変動測定結果より、夜間においては著しく沈降速度を低下させることができ、従って増殖速度が沈降による減少速度よりも大きい領域においては、*S. costatum*は十分に有光層内に滞留し得る可能性がある。

温度、塩分による成層状態とそれに伴う栄養塩類の分布、ならびに流体の乱流状態の影響を*O. luteus*と*S. costatum*について考察することにより、競合関係に占める環境因子の役割を知ることができ、大型マイクロコズムによる実験を含めて、今後の研究課題となるであろう。

#### 4. 結論

*O. luteus*ならびに*S. costatum*の細胞密度をより正確に測定する密度こう配遠沈法を開発した。従来の settling chamberを用いてStokesの沈降式より細胞密度を求める方法に比較して、精度もすぐれており、細胞を破壊せず生きたまま正確に細胞密度を計測できる点にその特色がある。*O. luteus*ならびに*S. costatum*の細胞密度の日周変動を測定し、細胞密度は*O. luteus*, *S. costatum*



ともに最小 $\rho=1.10$ , 最大 $\rho > 1.146$ であること, 最小細胞密度を与える時間が細胞分裂時間に合致していること, さらに *O. luteus* と *S. costatum* とは最小細胞密度を持つ時間が約12時間の位相差があることが判明した。

細胞分裂と関係して細胞密度が日周変動をすることは, その細胞液の化学組成の変動と関連する可能性があり今後の研究課題となる。さらに場合によっては十分な浮上分離することができず,  $\rho > 1.146$  という不等式によってのみ値を示したが, 浸透ポテンシャルを増大させずに Percoll-SSW の密度こう配を増加させる方法について検討する必要があると思われる。

### 引用文献

- Bold, H. C. and M. J. Wynne (1978): Introduction to the algae. Prentice-Hall Inc.
- Dodge, J. D. (1973): The fine structure of algal cells. Academic Press, London and New York.
- Eppley, R. W., R. W. Holmes and E. Peasche (1967): Periodicity in cell division and physiological behaviour of *Ditylum brightwellii*, a marine diatom, during growth in light-dark cycles. Arch. Mikrobiol., 56, 305-323.
- Eppley, R. W., R. W. Holmes and J. D. H. Strickland (1968): Sinking rates of marine phytoplankton measured with a fluorometer. J. Exptl. Marine Biol. Ecol., 1, 191-208.
- Fogg, G. E. (1966): In Marine Biology, vol. 2, Phytoplankton., Edited by Oppenheimer, C. H.
- Fogg, G. E. (1975): Algal cultures and phytoplankton ecology, University of Wisconsin Press, Madison.
- Gross, F. and E. Zeuthen (1948): The buoyancy of plankton diatoms: a problem of cell physiology. Proc. Roy. Soc. Edinb., 135, 382-389.
- Kessler, H. (1966): Veroff. Inst. Meeresforsch. Bremerh. Sonderband 2, 357-368.
- Morgenthaler, J. J. and C. A. Price (1976): Density gradient sedimentation in silica sols. Biochem. J., 153, 487-490.
- Price, C. A., L. R. Mendiola-Morgenthaler, M. Goldstein, E. N. Breden and A. R. Guillard (1974): Harvest of planktonic marine algae by centrifugation into gradients of silica in the CF-6 continuous-flow zonal rotor. Biol. Bull., 147, 136-145.
- Price, C. A. and E. M. Reardon (1978): Collection of dinoflagellates and other marine microalgae by centrifugation in density gradients of a modified silica sol. Limnol. Oceanogr., 23 (3), 548-553.
- Smayda, T. J. (1970): The suspension and sinking of phytoplankton in the sea, Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev., 8, 353-414.
- St. Onge, J. M. and C. A. Price (1975): Automatic sorting of ichthyoplankton; factors controlling plankton density in gradients of silica. Mar. Biol., 29, 187-194.
- Steele, J. H. and C. S. Yentsch (1960): The vertical distribution of chlorophyll, J. Mar. Biol. Ass. U. K., 39, 217-226.

## 11. 鞭毛藻 *Olisthodiscus luteus* による生物対流と Rayleigh-Taylor Instability

### Bioconvection in Culture of *Olisthodiscus luteus* and Rayleigh-Taylor Instability

渡辺正孝<sup>1</sup>・原島 省<sup>1</sup>

Masataka WATANABE<sup>1</sup> and Akira HARASHIMA<sup>1</sup>

#### 要 旨

制御実験系(マイクロコズム)において培養された *Olisthodiscus luteus* の垂直移動の実験を行った。表層に集積した *O. luteus* は照射中にもかかわらず多くの指状のすじが垂れさがり(falling finger), それに伴う加速された下降現象が観察され, この下降現象は明暗サイクルに追従する走光性によっては説明できない。これは海水より重い鞭毛藻が垂直移動により表層に集積し, その結果密度逆転による密度不安定をもたらしたことによる“生物対流”という現象であることが判明した。無限小振幅を仮定し, 密度逆転した二層流体系の不安定問題, いわゆる Rayleigh-Taylor Instability として理論解析を行い, 最大不安定をもたらす卓越波数  $\lambda_m$  を求め, 実験結果との整合性を実証することにより, 生物対流の機構を解明した。

#### Abstract

Vertical migration of *O. luteus* was observed in controlled experimental ecosystem. Although *O. luteus* tends to swim toward the upper surface due to phototaxis, aggregations or patterns characterized by falling finger have been observed during a light period. The phenomena of this falling finger can not be explained by phototaxis. Flagellates which are heavier than sea-water gather at the upper surface in response to light.

Such instability due to density inversion causes accelerated convection, called bioconvection. The instability theory of superposed two-layer fluids with density inversion, called Rayleigh-Taylor instability, is applied to obtain a critical wave number (or a critical wave length) for instability as a function of density difference and upper-layer depth. The result indicates that this theory provides sufficient explanation for the observed patterns of bioconvection.

- 
1. 国立公害研究所 水産土壌環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町  
Water and Soil Environment Division, The National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

## 1. はじめに

鞭毛藻は平均 1 m/h の速度で垂直移動 (vertical migration) を行い、昼間は表層に夜間は下層に移動することが知られている (Hasle, 1950; Eppley *et al.*, 1958; Holmes *et al.*, 1967; Forward, 1974; Keifer and Lasker, 1974; Yamochi *et al.*, 1979)。生態系における鞭毛藻の垂直移動の意義は、藻類種の遷移 (succession) 及び特定藻類種による場の独占 (dominance) と結びつけて論じられており、赤潮発生機構解明にとって重要な位置を占めている。

マイクロコズムー号機 (高さ 75 cm, 直径 20 cm, 容積 23.6 l のガラス製培養器) を用いて *Olisthodiscus luteus* の無菌培養 (f/2 培地, 21 °C, 3,000lx, 12h-12h 明暗サイクル) を行い、垂直移動の実験を行った結果 *O. luteus* は照射中は上層に移動し、ごく表層に集積し、さらに暗となる時間よりも数時間も先行して下降をはじめ (渡辺他, 1982)、特に図 1 に示すように照射中にもかかわらず多くの指状のすじが垂れさがり (falling finger)、それに伴う加速された下降現象が観察される。このような下降現象は明暗サイクルに追従する走光性によってのみでは説明できないことを示しており、これがいかなる機構によって起こるのかはナゾとされてきた。

類似の現象は動物プランクトン *Tetrahymena pyriformis* (Loeffler and Mefferd, 1952, Winet and Jahn, 1972)、および *Euglena gracilis* (Robbins, 1952) について観察されており、'bioconvection' と呼ばれている。*Tetrahymena pyriformis* による bioconvection の機構については種々の仮説が提案されており、Platt (1961) はそれらをまとめて、i) Bénard instability にもとづく対流による、ii) 個々の動物プランクトンの凝集効果による沈降速度の上昇、iii) 流体よりも重い不規則に自由遊泳する生物群集における動的不安定、iv) 流体より重い生物群集が上層へ遊泳することに起因する密度逆転に伴う対流、等に分類した。種々の実験結果より Platt (1961) は iii) もしくは iv) の仮説が現象をよく説明し得る可能性があることを結論づけた。

*O. luteus* の細胞密度を密度こう配遠沈法により直接測定を行ない約 1.10 ~ 1.15 という値を得た。*O. luteus* の単一粒子の沈降速度は Stokes の式により次のように与えられる。

$$v_a = \frac{2}{9} g r^2 (\rho_a - \rho) \nu^{-1} \quad (1-1)$$

ここで  $g$  = 重力加速度,  $r$  = 粒子半径,  $\rho_a$  = 粒子密度,  $\rho$  = 流体密度,  $\nu$  = 流体粘性。(1-1) 式で計算された *O. luteus* の沈降速度は約 7 cm/h であり、観測されている下降速度 (1 m/h) の約 1/15 にすぎず、鞭毛藻の下降現象を単なる沈降速度によっては説明できないことがわかる。

表層に集積した *O. luteus* によって形成される上層は、はっきりとした分離層を形成し、*O. luteus* を含む上層の流体密度は、下層の流体密度よりもわずかに重いことが判明した。例えば上層に集積した *O. luteus* の個体数を  $1 \times 10^5$  cells/ml とすると  $\Delta \rho \approx 0.62 \times 10^{-4}$  g/cm<sup>3</sup> の密度差だけ上層が下層よりも重くなる。以上のことより *O. luteus* 個々の粒子の挙動を見るよりも、集積した *O. luteus* を含む上層の流体を連続体として扱い、上下 2 層間の密度逆転に伴う不安定問題、いわゆる Rayleigh-Taylor Instability、として解析すべきことが明らかになった。Plesset and Winet, (1974),



図 1 鞭毛藻 *O. luteus* による bioconvection  
Fig. 1 Bioconvection caused by flagellate *O. luteus*

Plesset and Whipple, (1974)は動物プランクトン *Tetrahymena pyriformis* による bioconvection の現象を論じ、2層流体の不安定問題として small amplitude theory による近似解として解析を行った。しかしその近似解は適用範囲が限定されていることが指摘されており (Plesset and Whipple, 1976; Craik, 1976), さらに鞭毛藻を用いた解析は今までまったくなされていなかった。本論文においては、従来より解析されることのなかった自由表面を持つ Rayleigh-Taylor 問題の一般解を求め、鞭毛藻 *O. luteus* に適用し、不安定をもたらす限界層厚さ (critical depth) および限界密度 (critical density) について理論的および実験的考察を加えることにより、鞭毛藻の加速された下降現象および bioconvection の機構を明らかにする。

## 2. 自由表面をもつ Rayleigh-Taylor Instability

非圧縮性流体が static な状態として成層している場合、圧力  $P$  と密度  $\rho$  は鉛直軸方向  $Z$  のみの関数となる。この初期の static な平衡状態における流体の運動の特性は、この static な状態に微小擾乱を与え、その外乱の変動を追跡することによって知ることができる。外乱によって生じる密度変動を  $\delta\rho$ 、圧力変動を  $\delta p$ 、さらに流速成分 (非常に小さいと考えられる) を  $u, v, w$  (それぞれ  $x, y, z$  方向の流速成分) とする。一様な粘性係数を考え、表面張力の影響を無視すると、運動量方程式、連続方程式はそれぞれ次のように与えられる (Chandrasekhar, 1961)。

$$\rho \frac{\partial u}{\partial t} = -\frac{\partial}{\partial x} \delta p + \mu \nabla^2 u \quad (2-1)$$

$$\rho \frac{\partial v}{\partial t} = -\frac{\partial}{\partial y} \delta p + \mu \nabla^2 v \quad (2-2)$$

$$\rho \frac{\partial w}{\partial t} = -\frac{\partial}{\partial z} \delta p + \mu \nabla^2 w - g \delta \rho \quad (2-3)$$

$$\frac{\partial u}{\partial x} + \frac{\partial v}{\partial y} + \frac{\partial w}{\partial z} = 0 \quad (2-4)$$

$$\frac{\partial}{\partial t} \delta \rho = -w \frac{d\rho}{dz} \quad (2-5)$$

但し  $x, y$  は水平方向、 $z$  は鉛直方向とする。 $x, y$  および  $t$  の変数に対して次のような形の解を仮定する。

$$\exp(i k_x X + i k_y Y + n t) \quad (2-6)$$

ここで、 $k_x, k_y, n$  は定数とする。

(2-6) 式を (2-1) ~ (2-5) 式に代入すると

$$i k_x \delta p = -\rho u n + \mu (D^2 - k^2) u \quad (2-7)$$

$$i k_y \delta p = -\rho v n + \mu (D^2 - k^2) v \quad (2-8)$$

$$D \delta p = -\rho \omega n + \mu (D^2 - k^2) \omega - g \delta \rho \quad (2-9)$$

$$i k_x u + i k_y v = -D \omega \quad (2-10)$$

$$n \delta \rho = -\omega D \rho \quad (2-11)$$

ここで  $k^2 = k_x^2 + k_y^2$

$$D = \frac{d}{dz}$$

(2-7) 式と (2-8) 式にそれぞれ  $-i k_x$ ,  $-i k_y$  を掛け加え合わせ, (2-10) 式の関係を用いると

$$k^2 \delta p = \{-n \rho + \mu (D^2 - k^2)\} D \omega \quad (2-12)$$

(2-9) 式と (2-11) 式より次の関係式が求められる。

$$D \delta p = -n \rho \omega + \mu (D^2 - k^2) \omega + g \frac{\omega}{n} D \rho \quad (2-13)$$

(2-11) 式と (2-13) 式より  $\delta p$  を消去すると次のような粘性流体系を表現する一般式が求まる。

$$D \left[ \left\{ \rho - \frac{\mu}{n} (D^2 - k^2) \right\} D \omega \right] = k^2 \left[ \left\{ \rho - \frac{\mu}{n} (D^2 - k^2) \right\} \omega - \frac{g}{n^2} (D \rho) \omega \right] \quad (2-14)$$

マイクロズム一号機での *O. luteus* の集積した状態は, 図2にschematicに表現したような二層流体系と考えることができる。すなわち,  $z=0$  において密度および粘性がそれぞれ異なる二つの流体が接しており,  $z=h$  を水表面とする。下層は十分に深いので, ここでは  $z=-\infty$  で水底に接すると考える。それぞれの層内では流体は一様な密度  $\rho_1, \rho_2$  および粘性  $\mu_1, \mu_2$  を持つ。

それぞれ上層, 下層の領域内においては密度は均一なので次式が成立する (但し添字 1, 2 は省略する)。

$$D \left[ \left\{ \rho - \frac{\mu}{n} (D^2 - k^2) \right\} D \omega \right] = k^2 \left[ \left\{ \rho - \frac{\mu}{n} (D^2 - k^2) \right\} \omega \right] \quad (2-15)$$

密度  $\rho$ , 粘性  $\mu$  はそれぞれの層内では一定であるので, (2-15) 式は次のように与えられる。

$$\left[ 1 - \frac{\nu}{n} (D^2 - k^2) \right] (D^2 - k^2) \omega = 0 \quad (2-16)$$

ここで  $\nu = \mu / \rho$

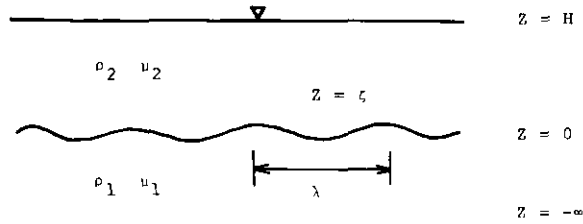


図 2 2層流体系,  $\rho_2 > \rho_1$   
Fig. 2 Two-layer flow system,  $\rho_2 > \rho_1$

(2-16) 式は次のような一般解を持つ (Chandrasekhar, 1961).

$$w = Ae^{kz} + Be^{-kz} + Ce^{q_1 z} + De^{-q_1 z} \quad (2-17)$$

したがって上層, 下層における一般解は次式で与えられる。

$$w_1 = A_1 e^{kz} + B_1 e^{-kz} + C_1 e^{q_1 z} + D_1 e^{-q_1 z} \quad (z < 0) \quad (2-18)$$

$$w_2 = A_2 e^{kz} + B_2 e^{-kz} + C_2 e^{q_2 z} + D_2 e^{-q_2 z} \quad (z > 0) \quad (2-19)$$

ここで  $q_1 = \sqrt{k^2 + n/\nu_1}$ ,  $q_2 = \sqrt{k^2 + n/\nu_2}$

(2-18), (2-19) 式に与えられた一般解は以下の境界条件を満足しなければならない。

i)  $z = -\infty$  において  $w_1 = 0$  (2-20)

ii)  $z = 0$  において流速成分は連続, すなわち  $w_1 = w_2$  (2-21)

$$Dw_1 = Dw_2 \quad (2-22)$$

iii)  $z = 0$  において tangential stress は連続,

ここで

$$\tau_{xz} = \mu \left( \frac{\partial u}{\partial z} + \frac{\partial w}{\partial x} \right) = \mu (Du + i k_x w)$$

$$\tau_{yz} = \mu \left( \frac{\partial v}{\partial z} + \frac{\partial w}{\partial y} \right) = \mu (Dv + i k_y w)$$

したがって tangential stress は

$$i(k_x \tau_{xz} + k_y \tau_{yz}) = -\mu (D^2 + k^2) w$$

よって tangential stress の連続条件は次式となる,

$$[\mu (D^2 + k^2) w]_1 = [\mu (D^2 + k^2) w]_2 \quad (2-23)$$

IV)  $z = \zeta$ において, normal stress は連続, normal stress は次のように求められる。

$$\begin{aligned} N &= - (p + \delta p) + 2\mu Dw \\ &= - p(0) - \delta p + \rho g \zeta + 2\mu Dw \\ &= - p(0) - \delta p + \frac{\rho g}{n} w + 2\mu Dw \end{aligned}$$

ここで  $w = n\zeta$ ,  $\zeta$  は内部境界面の変位で, 一般解と同じ exponential factor を持つと仮定する。  
 $p(0)$  は  $z=0$  における圧力, そして  $\delta p$ ,  $w$ ,  $Dw$ , は  $z=0$  における値をとる。(2-12) 式より

$$\delta p = \frac{1}{k^2} [-n\rho + \mu(D^2 - k^2)] Dw$$

よって normal stress の連続条件は次のようになる。

$$[N]_1 = [N]_2 \quad (2-24)$$

ここで

$$N = -k^2 \left( \frac{\rho g}{n} w + 2\mu Dw \right) - n\rho Dw + \mu(D^2 - k^2) Dw \quad (2-25)$$

V)  $z = h$  において

$$w(h) = 0 \quad (2-26)$$

$$\frac{\partial^2}{\partial z^2} w(h) = 0 \quad (2-27)$$

境界条件 i) より  $B_1 = D_1 = 0$ , よって

$$w_1 = A_1 e^{kz} + C_1 e^{q_1 z} \quad (2-28)$$

境界条件 ii) より

$$A_1 + C_1 = A_2 + B_2 + C_2 + D_2 \quad (2-29)$$

$$kA_1 + q_1 C_1 = kA_2 - kB_2 + q_2 C_2 - q_2 D_2 \quad (2-30)$$

境界条件 iii) より

$$\mu_1 [2k^2 A_1 + (q_1^2 + k^2) C_1] = \mu_2 [2k^2 A_2 + 2k^2 B_2 + (q_2^2 + k^2) C_2 + (q_2^2 + k^2) D_2] \quad (2-31)$$



境界条件 iv) より

$$\begin{aligned}
 & \left[ \rho_1 - \frac{kg}{2n^2} (\rho_2 - \rho_1) - \frac{k^2}{n} (\mu_2 - \mu_1) \right] A_1 + \left[ -\frac{kg}{2n^2} (\rho_2 - \rho_1) - \frac{kq_1}{n} (\mu_2 - \mu_1) \right] C_1 \\
 & + \left[ -\rho_2 - \frac{kg}{2n^2} (\rho_2 - \rho_1) - \frac{k^2}{n} (\mu_2 - \mu_1) \right] A_2 + \left[ \rho_2 - \frac{kg}{2n^2} (\rho_2 - \rho_1) + \frac{k^2}{n} (\mu_2 - \mu_1) \right] B_2 \\
 & + \left[ -\frac{kg}{2n^2} (\rho_2 - \rho_1) - \frac{kq_2}{n} (\mu_2 - \mu_1) \right] C_2 + \left[ -\frac{kg}{2n^2} (\rho_2 - \rho_1) + \frac{kq_2}{n} (\mu_2 - \mu_1) \right] D_2 = 0
 \end{aligned} \tag{2-32}$$

境界条件 v) より

$$A_2 e^{kh} + B_2 e^{-kh} + C_2 e^{q_2 h} + D_2 e^{-q_2 h} = 0 \tag{2-33}$$

$$A_2 k^2 e^{kh} + B_2 k^2 e^{-kh} + C_2 q_2^2 e^{q_2 h} + D_2 q_2^2 e^{-q_2 h} = 0 \tag{2-34}$$

次のような変数を定義する。

$$\alpha_1 = \frac{\rho_1}{\rho_1 + \rho_2}, \quad \alpha_2 = \frac{\rho_2}{\rho_1 + \rho_2}, \quad \alpha_1 + \alpha_2 = 1$$

$$R = \frac{gk}{2n^2} \frac{\rho_2 - \rho_1}{\rho_1 + \rho_2} = \frac{gk}{2n^2} (\alpha_2 - \alpha_1)$$

$$F = \frac{k^2}{n} \frac{\mu_2 - \mu_1}{\rho_1 + \rho_2} = \frac{k^2}{n} (\alpha_2 \nu_2 - \alpha_1 \nu_1)$$

$$a = e^{kh}, \quad b = e^{-kh}, \quad c = e^{q_2 h}, \quad d = e^{-q_2 h}$$

(2-29) ~ (2-34) 式はマトリックスを用いて次のように表現される。

$$\begin{vmatrix}
 1 & 1 & -1 & -1 & -1 & -1 \\
 k & q_1 & -k & k & -q_2 & q_2 \\
 2k^2\mu_1 & (q_1^2 + k^2)\mu_1 & -2k^2\mu_2 & -2k^2\mu_2 & -(q_2^2 + k^2)\mu_2 & -(q_2^2 + k^2)\mu_2 \\
 \alpha_1 - R - F & -R - F \frac{q_1}{k} & -\alpha_2 - R - F & \alpha_2 - R + F & -R - F \frac{q_2}{k} & -R + F \frac{q_2}{k} \\
 0 & 0 & a & b & c & d \\
 0 & 0 & k^2 a & k^2 b & q_2^2 c & q_2^2 d
 \end{vmatrix} \begin{vmatrix} A_1 \\ C_1 \\ A_2 \\ B_2 \\ C_2 \\ D_2 \end{vmatrix} = 0 \tag{2-35}$$

(2-35)式で表現される線型連立方程式の determinant はゼロでなければならないという条件より、 $\alpha_1, \alpha_2, \mu_1, \mu_2, h$  が与えられれば、 $n$  の特性方程式が次のように求められる。

$$\begin{vmatrix}
 1 & 1 & -1 & -1 & -1 & -1 \\
 k & q_1 & -k & k & -q_2 & q_2 \\
 2k^2\mu_1 & (q_1^2+k^2)\mu_1 & -2k^2\mu_2 & -2k^2\mu_2 & -(q_2^2+k^2)\mu_2 & -(q_2^2+k^2)\mu_2 \\
 \alpha_1-R-F & -R-F\frac{q_1}{k} & -\alpha_2-R-F & \alpha_2-R+F & -R-F\frac{q_2}{k} & -R+F\frac{q_2}{k} \\
 0 & 0 & a & b & c & d \\
 0 & 0 & k^2a & k^2b & q_2^2c & q_2^2d
 \end{vmatrix} = 0$$

(2-36)

上層と下層における kinematic viscosity はほぼ等しいと仮定すると、

$$\nu_1 = \nu_2 = \nu \text{ (const)}$$

したがって

$$q_1 = q_2 = \sqrt{k^2 + \frac{n}{\nu}} = q \quad (2-37)$$

さらに次のような変数変換を行う

$$s = \frac{n}{k^2 \nu} \quad (2-38)$$

$$l = \frac{q}{k} = \sqrt{1+s} \quad (2-39)$$

$$Q = \frac{g}{k^3 \nu^2} \quad (2-40)$$

(2-38) ~ (2-40) 式より、 $k$ ,  $n$  は次式で与えられる。

$$k = \left(\frac{g}{\nu^2}\right)^{\frac{1}{3}} Q^{-\frac{1}{3}} \quad (2-41)$$

$$n = k^2 \nu (l^2 - 1) = \left(\frac{g^2}{\nu}\right)^{\frac{1}{3}} (l^2 - 1) Q^{-\frac{2}{3}} \quad (2-42)$$

さらに  $n$  の特性方程式 (2-36) 式は次のように変形される。

$$\begin{vmatrix}
 2\left(1 - \frac{\alpha_2}{\alpha_1}\right) & -2(l^2-1) \\
 -(\alpha_2-\alpha_1)\left[1 + \frac{Q}{(l^2-1)^2} + \frac{2}{l^2-1}\right] \left[2\alpha_2 + \frac{4(\alpha_2-\alpha_1)}{l^2-1}\right] (l-1) + 2\alpha_1 & \\
 a & (b-a)(l-1) \\
 (l^2+1)\left(1 - \frac{\alpha_2}{\alpha_1}\right)(d-c) & \\
 \left[-\frac{(\alpha_2-\alpha_1)Q}{(l^2-1)^2} - \frac{\alpha_2-\alpha_1}{l^2-1} l\right] (d-c) + 2\alpha_2 c y & \\
 c(b-a)y &
 \end{vmatrix} = 0 \quad (2-43)$$

(2-42) 式より  $n$  は real であり positive である。したがって擾乱の振幅は時間とともに指数関数的 ( $e^{nt}$ ) に増大し、すべての wave number  $k$  に対して不安定であることがわかる。

(2-43) 式において、任意の  $k$  の値を設定すれば、 $y > 1$  での種々の  $y$  の値に対して  $Q$  の値を求めることができ、この  $Q$  を用いて (2-42) 式より  $n$  を求め、最終的に  $(k, n)$  の関係を求めることができる。図3に示したように、与えられた密度差 ( $\alpha_2 - \alpha_1$ ) と厚さ  $h$  に対して最大の不安定成長率 (または最大の  $n$  値) を与える  $k_m$  が存在することがわかる。同様に最大不安定を与える wave length  $\lambda = 2\pi/k$  が存在することが図4よりわかる。この最大不安定を与える wave length  $\lambda_m$  が falling finger の増大をもたらし、実験においてはお互いの finger 間の距離として観測される。さらに図5において与えられた密度差 ( $\alpha_2 - \alpha_1$ ) に対して、層厚を  $h$  の変化に対する wave length  $\lambda_m$  の変化を示したもので、これより最大不安定をもたらすモードは密度差 ( $\alpha_2 - \alpha_1$ ) および上層の厚さ  $h$  の関数であることがわかる。

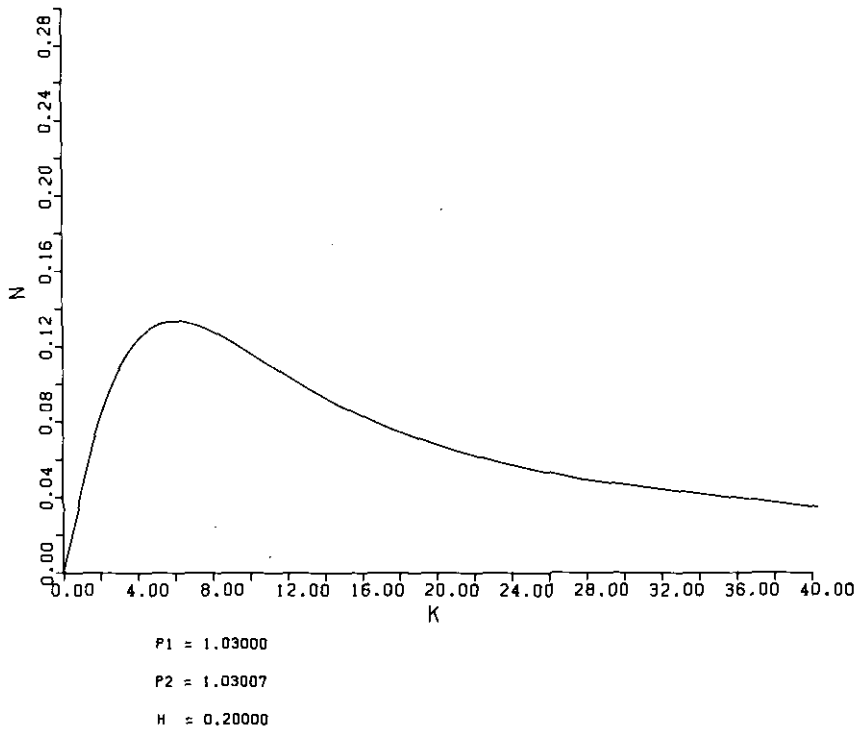
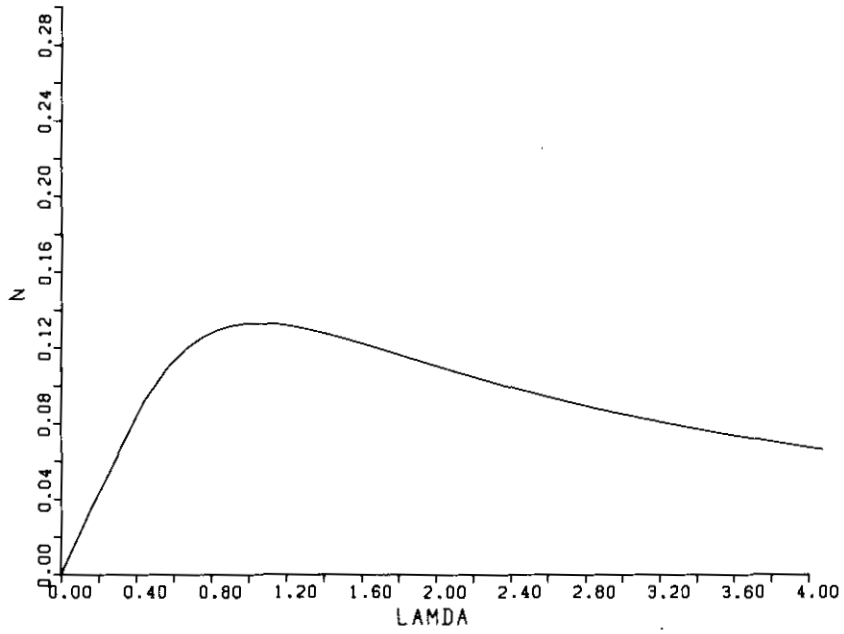


図 3 微小擾乱増幅率  $N$  と wave number  $k$  との関係

Fig. 3 The dependence of the rate of growth  $N$  of a disturbance on its wave number  $k$



P1 = 1.03000

P2 = 1.03007

H = 0.20000

図 4 微小擾乱増幅率  $N$  と Wave length  $\lambda$  との関係

Fig. 4 The dependence of the rate of growth  $N$  of a disturbance on its wave length

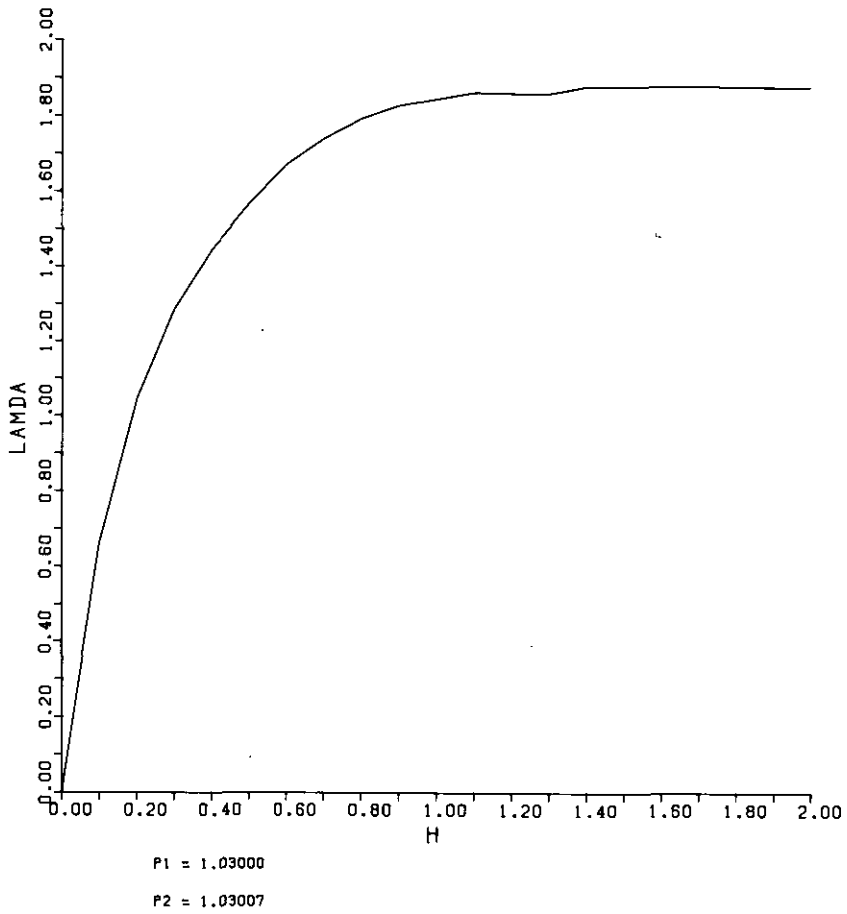


図 5 Wave length  $\lambda$  と上層厚との関係  
 Fig. 5 Wave length  $\lambda$  as a function of the upper layer thickness

### 3. 実験結果

生物対流を形成する実験装置として、高さ40cm、幅10cm、厚さ3cmのポリカーボネイト製の培養器を用い、大阪湾に発生する *O. luteus* を、温度21°C、照度3,000lx、f/2培地使用、12h-12h明暗サイクルによる無菌培養を行った。生物対流の実験開始時に培養器内を弱く攪拌し *O. luteus* の分布を一様にし、30分放置後撮影を行うとともに、上層より採水を行い個体数をカウントした。

上層の密度  $\rho_2$  は次のように求められる。

$$\rho_2 = \frac{v\rho_1 + v_0\rho_0}{v+v_0} = \rho_1 + \frac{v_0}{v+v_0} \Delta\rho \quad (3-1)$$

但し  $\rho_1$  = 上層の液体の密度、 $v$  = 上層の液体の体積、 $\rho_0$  = *O. luteus* の細胞密度、 $v_0$  = *O. luteus* の体積、 $\Delta\rho = \rho_0 - \rho_1$ 。

密度こう配遠心法による *O. luteus* の細胞密度測定により、 $\Delta\rho \cong 0.12$  と計測された。*O. luteus* の直径を約20 $\mu$ とし球形を仮定すると上層での *O. luteus* の個体数が  $m$  cells/cm<sup>3</sup> の場合

$$\rho_2 = \rho_1 + m \times 0.5 \times 10^{-9} \text{ g/cm}^3 \quad (3-2)$$

図6に示された実験の場合、上層厚さ  $h = 0.3$  cm、個体数 =  $6.68 \times 10^5$  cells/cm<sup>3</sup> であり、(3-2)式より計算された上層密度  $\rho_2$  は  $\rho_1 = 1.03$  とすると  $\rho_2 = 1.030334$  となる。

それらの値を用いて (2-43) 式より最大不安定  $n$  を与える  $k$ 、および波長  $\lambda m$  を求めたのが図7および図8であるが、これより  $\lambda m \cong 0.9$  という理論値が得られる。図6の写真より falling finger の間隔として約0.8~0.9cmの値が読みとれ、鞭毛藻の垂直移動に伴う生物対流が、密度逆転による二層流体の密度不安定問題として、その機構が説明し得ることが判明した。

### 4. 結論

制御実験系において培養した鞭毛藻 *O. luteus* の垂直移動に伴う上層への集積と、明サイクルにもかかわらず加速された下降現象が観察され、赤潮を形成する鞭毛藻 *O. luteus* においても生物体流 (bioconvection) が存在することが判明した。この生物対流の機構として、無限小振幅を仮定し、密度逆転した2層流体系の不安定問題として理論解析を行い、生物体流の現象をよく説明し得ることを見出した。現在の解析においては最大不安定をもたらす卓越波数  $\lambda m$  を求め、実験結果との整合性を実証した。

さらに擾乱が有限の振幅まで発達し、fingerあるいはconvection cellとして認識されるような段階では現象は非線型となり、鞭毛藻を含む媒質のfinger状に下降する流れを解析するためには、有限振幅の Rayleigh-Taylor Instability を解析する必要があると思われる。

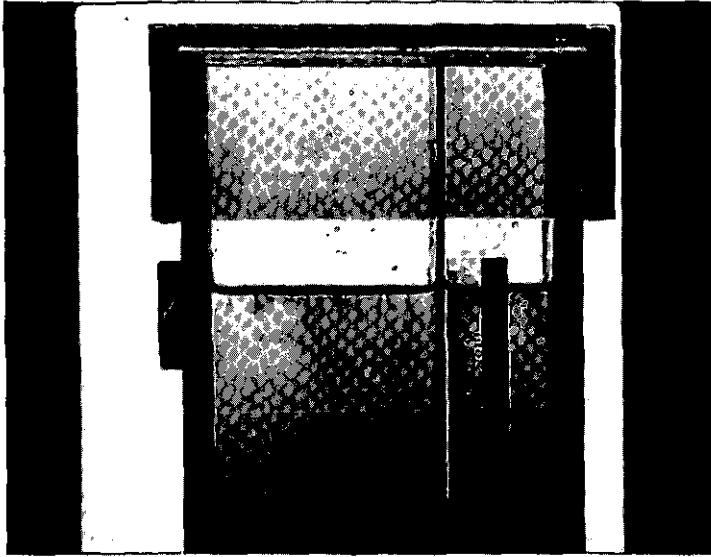
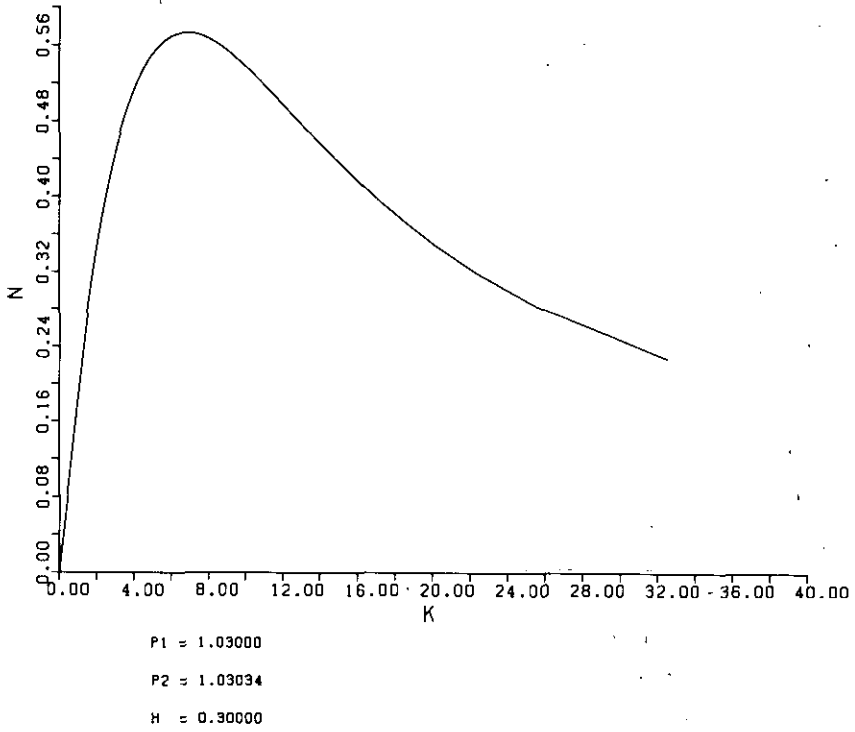


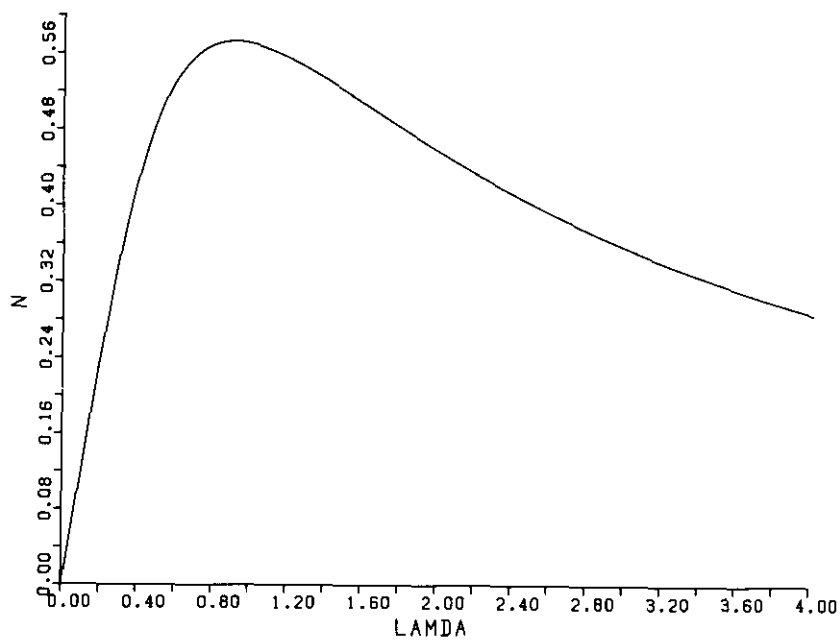
図 6 実験条件が  $\rho_1 = 1.03$ ,  $\rho_2 = 1.03034$ ,  $h = 0.3$  cm の場合の bioconvection  
Fig. 6 Bioconvection in the case of experimental conditions as  $\rho_1 = 1.03$ ,  
 $\rho_2 = 1.03034$ ,  $h = 0.3$  cm



☒ 7 微小擾乱増幅率  $N$  と wave number  $k$  との関係。  
 ( $\rho_1 = 1.03$ ,  $\rho_2 = 1.03034$ ,  $h = 0.3$  cm)

Fig. 7 The relationship between the rate of growth  $N$  of a disturbance and wave number  $k$  ( $\rho_1 = 1.03$ ,  $\rho_2 = 1.03034$ ,  $h = 0.3$  cm)





P1 = 1.03000

P2 = 1.03034

h = 0.30000

図 8 微小擾乱増幅率  $N$  と wave length  $\lambda$  との関係  
 ( $\rho_1 = 1.03$ ,  $\rho_2 = 1.03034$ ,  $h = 0.3$  cm)

Fig. 8 The relationship between the rate of growth  $N$  of a disturbance and wave-length ( $\rho_1 = 1.03$ ,  $\rho_2 = 1.03034$ ,  $h = 0.3$  cm)

## 引用文献

- Chandrasekhar, S. (1961): Hydrodynamics and Hydromagnetic Stability, Chapter 10. Oxford University Press.
- Craik, A. D. D. (1976): Rayleigh-Taylor instability of thin viscous layers. *Phys. Fluids.*, **19**, 479-480.
- Eppley, R. W., O. Holm-Hansen and J. D. H. Strickland (1958): Some observations on the vertical migration of dinoflagellates. *J. Phycol.*, **4**, 333-340.
- Forward, R. B. Jr. (1974): Phototaxis by the dinoflagellates *Gymnodinium splendens* Lebour. *J. Protozool.*, **21**, 312-315.
- Hasle, G. R. (1950): Phototactic vertical migration in marine dinoflagellates. *Oikos*, **2**, 162-175.
- Holmes, R. W., P. M. Williams and R. W. Eppley (1967): Red Water in La Tella Bay, 1964-1966. *Limnol. Oceanogr.*, **12**, 503-512.
- Keifer, D. A. and R. Lasker (1974): Two blooms of *Gymnodinium splendens* (Lebour), a large naked dinoflagellate.
- Loeffer, J. B. and R. B. 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. and C. G. Whipple (1976): Comments on "Rayleigh-Taylor instability of thin viscous layers." *Phys. Fluids*, **19**, 485.
- Robbins, W. J. (1952): Patterns formed by motile *Euglena gracilis* var. *bacillaris*. *Bull. Torrey Bot. Club*, **79**, 107-109.
- Smayda, T. J. (1970): The suspension and sinking of phytoplankton in the sea, *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.*, **8**, 353-414.
- Turner, J. S. (1973): Buoyant effects in fluids. Cambridge University Press.
- 渡辺信・矢持進・木幡邦男・渡辺正孝 (1982): 赤潮鞭毛藻 *Olisthodiscus luteus* の垂直移動とリン酸摂取の周期性, 国立公害研究所研究報告, 第30号, 131-141.
- Winet, H. and T. L. Jahn (1972): On the origin of bioconvective fluid instabilities in *Tetrahymena* culture systems. *Biorheol*, **9**, 87-94.
- 矢持進・安部恒之・城久 (1979): 赤潮多発期に於ける植物プランクトン組成とその推移について (1979年大阪湾谷川港継続観察結果), 昭和53年度赤潮予察調査報告書, 115 - 132.

## 12. 対流渦場での鞭毛藻 *Olisthodiscus luteus* の分布構造

### The Distribution Pattern of *Olisthodiscus luteus* in Convection Cells

渡辺正孝<sup>1</sup>・原島 省<sup>1</sup>

Masataka WATANABE<sup>1</sup> and Akira HARASHIMA<sup>1</sup>

#### 要 旨

Langmuir circulation による鉛直対流渦を diffuser により模擬的に励起した水槽内において、走光性による遊泳力を持つ鞭毛藻 *Olisthodiscus luteus* を純粋培養し、鞭毛藻の集積分布パターンに対する鉛直対流渦の影響を実験的に解析した。さらに室内実験に対応して、単純化された Stommel (1949) の対流渦場の solution を用い、その対流渦場での走光性プランクトンの軌跡を数値的に求め、無次元量  $\phi = V_o/V_p$  (ここで  $V_p$  は遊泳速度、 $V_o$  は最大鉛直流速) のパラメータ値によって鞭毛藻の集積及び保有領域が決定されることを見出した。さらに数値シミュレーションにより得られた *O. luteus* の分布と実験より求めた分布構造がよく一致することが判明した。

#### Abstract

Motile flagellate, *Olisthodiscus luteus* was grown in pure culture (60 cm × 30 cm × 3 cm, f/2-medium), in which vertical convection cells, called a Langmuir circulation, was simulated by a diffuser, and the distribution of *O. luteus* was measured under various intensities of convection cells.

Stream function in convection cells defined by Stommel (1949) was used to simulate a trajectory of motile-phytoplankton in convection cells and it was found that a non-dimensional parameter  $\phi = V_p/V_o$  (where  $V_p$  is a moving speed of motile phytoplankton and  $V_o$  is a maximum velocity in convection cells) determines an accumulation of flagellates and the regions of retention. The simulation results explain the distribution of *O. luteus* observed in the experiments.

#### 1. はじめに

海水よりも比重の大きい藻類が、有光層内に滞留し光合成・増殖を行うためには、海水の流動による suspension が不可欠な条件となる (Hutchinson, 1967; Smayda, 1970). また遊泳力を持つ藻類

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

は流れに対して完全に受動的ではないことから、海水の流動と藻類の沈降や遊泳といった運動との  
かかわりあい、増殖・競合・種の遷移及び patch の形成とその分布形態にとって重要な問題とな  
る。

湖や海洋においては、種々の力学的バランスおよび時空間スケールを持つ流れが存在している。  
その中で藻類の patch の形成やその分布にとって重要なものとして、水面上に風が吹いている時に  
観測される対流渦とそれに伴う水の鉛直運動、いわゆる Langmuir circulation がある (Langmuir,  
1938; Woodcock, 1944; Woodcock, 1950, Faller and Woodcock 1964; Scott *et al.*, 1969; Faller,  
1971). Langmuir circulation が存在する海域では水表面に風向とはほぼ平行に streak が走り、木  
片・水草・プランクトンなどが集積される収れん線となっている。さらにそれらの streak の間には  
発散域があり、下層からの湧昇流が存在することが知られている。赤潮発生時にはしばしばすじ状  
のプランクトンパッチが観測され (図 1), Ryther (1955) により対流渦による赤潮藻類の集積の重  
要性が指摘された。Stavn (1971) は *Daphnia* (ミジンコ) の鉛直・水平方向の棲息場の分布を、  
*Daphnia* の反走光性と対流渦との組み合わせにより実験的に説明し、光に対する順応性の違いに応  
じて鉛直方向にすみ場を分けて分布するのみならず、同じような光順応性をもつ種でも遊泳力と対  
流渦の組み合わせにより、水平方向にもすみ場を分けて分布する、いわゆる生態的地位 (niche) に  
おける対流渦の役割を論じた。現場観測 (Ragotzkie and Bryson, 1953; George and Edward, 1973)  
において得られた *Daphnia* の棲息場の分布は、この Stavn (1971) の行った実験により定性的に説  
明されている。このように多くの観測事実からプランクトンの集積・suspension にとって Langmuir  
circulation の重要性が論じられているにもかかわらず、その形成および維持機構については種々の  
理論が提唱されているものの今後の研究が必要とされている (Scott *et al.*, 1969; Faller, 1971; Craik  
and Leibovich, 1976; Craik, 1977; Leibovich, 1977; Leibovich and Radhakrishnan, 1977; Stewart  
and Schmitt, 1968; Faller, 1969).

このような対流渦を簡単な流れ関数 (stream function) によって表現し、Stommel (1949) は沈  
降性のプランクトン粒子の軌跡と対流渦との相互作用を論じ、プランクトン粒子の運動がただ一つ  
のパラメータ  $R = V_s / V_0$  ( $V_s$  はプランクトン粒子の沈降速度、 $V_0$  は流体場の最大流速) によ  
つてのみ決まる単純化されたモデルを提案した。すなわち  $R > 1$  (プランクトン粒子の沈降速度が鉛直  
流速より相対的に大きい) の場合、プランクトン粒子はすべて沈降してしまう (図 2-A)。そして  
 $R < 1$  (プランクトン粒子の沈降速度が相対的に小さい) の場合、湧昇流の部分に閉じた軌跡が生  
じ、この軌跡に入ったプランクトン粒子は無限に循環する。つまりプランクトン粒子自身は流体  
に対し相対的にはいつも沈降しているにもかかわらず、対流渦から沈降できない、いわゆる保有領  
域 (region of retention) ができることを示した (図 2-B)。その保有領域の大きさは、 $R$  が小さく  
なるほど大きくなることが図 2-C よりわかる。従って沈降速度の異なるプランクトン粒子が、こ  
の対流渦の中にランダムに存在する場合、あるものは沈降してしまうが、あるものはこの保有領域  
に滞留する。また沈降速度の異なるプランクトン粒子は、異なった保有領域をもつので重いものは



図 1 播磨灘における *Noctiluca* 赤潮の水平分布 水産航空(株)提供  
Fig. 1 Horizontal distribution of red tide caused by *Noctiluca* in Harima-sea  
Courtesy of Suisan-Koku Co.

ど湧昇流の中心部に集中的に分布し、軽いものほど湧昇流の中心部から遠いところにまで分布する。つまり対流渦の存在がプランクトン粒子に“ふるい”をかけていることになる。 Hutchinson (1967) は Ragotzkie and Bryson (1953) の行った現場観測結果および Stommel (1949) の解をもとに、対流渦のもとでの走光性をもつ遊泳性プランクトンの軌跡図を作成し、図 2-D のように下降流域のある深さの点にプランクトンが集積すると結論した。

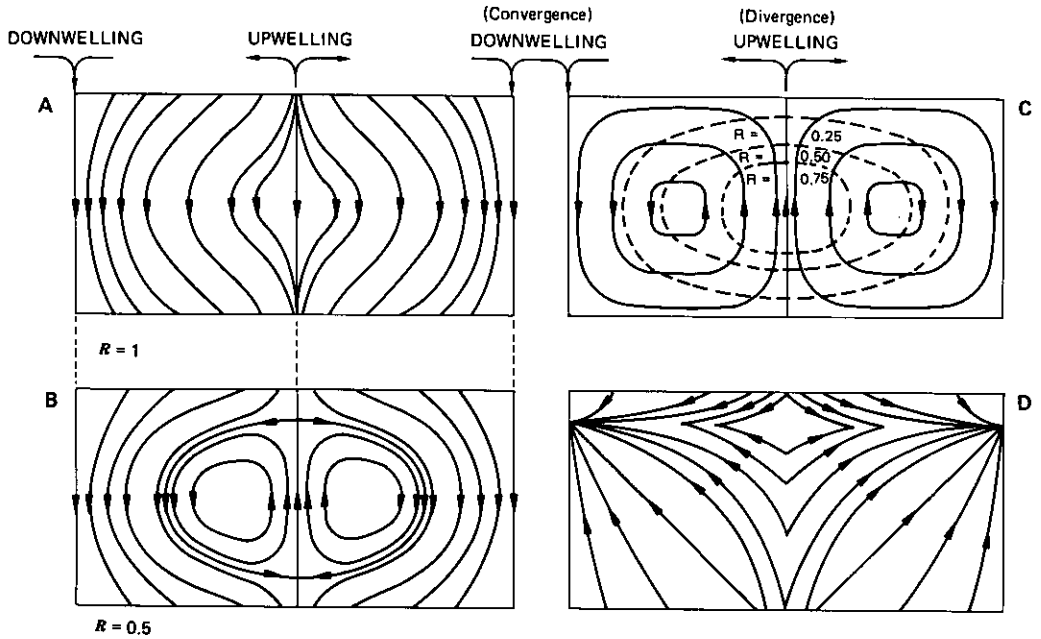


図 2 鉛直対流渦での植物プランクの軌跡図 ( Hutchinson, 1917より)

Fig. 2 Trajectories of phytoplankton cells settling through a vertical convection cells (From Hutchinson, 1967)

本論文では、鉛直二次元の培養槽内に diffuser から空気泡を噴出させて左右対称な Langmuir circulation を模擬的に励起し、正の走光性をもつ鞭毛藻 *O. luteus* の純粋培養を行い、その集積分布パターンを写真撮映により実測した。その結果 Hutchinson (1967) の提示した軌跡図 (図 2-D) とは一致しないことが判明した。以上の実験結果をもとに Stommel (1949) のモデルで用いられた流線関数により定義される単純化された対流渦を仮定し、そこで正の走光性をもつプランクトン粒子の軌跡を数値シミュレーションにより求め、実験により求めた *O. luteus* の分布パターンとよく一致していることを見出した。ここではその詳細について述べるとともに、対流渦が持つ生態的な意味について言及する。

## 2. 対流渦場での培養実験

Langmuir circulation を実験系で再現するには大規模な設備を必要とし (水野, 1979), しかもそこにプランクトンの培養を行うことは現在のところ不可能である。従って Langmuir circulation とプランクトン集積の相互作用を実験的に解析するために, Langmuir circulation による対流渦を模擬的に近似したものとして, 微小なメッシュを持つ diffuser より発生する 気泡により励起された強制対流渦を用いることにした。

実験系の概略図を図 3 に示す。培養槽はポリカーボネイト製 (長さ 60 cm, 高さ 30 cm, 幅 3 cm) で, *O. luteus* の増殖に阻害作用を持たない材質であることが検証されている。ポンプから送られた空気は, 1 規定の希硫酸を満した洗浄ビンと除菌用 U 字管を通し, diffuser に送られる。空気流量はピトー管での液面のの高さを読むことにより測定を行った。diffuser は硬質ガラス粒子を熱処理して作成したもので, 空気はその空隙 (5 ~ 10  $\mu\text{m}$ ) を通り細かい泡となって上昇する。この結果, 左右対称な鉛直二次元の対流渦が形成されることが確認された。実験条件は空気量を変化させ, それぞれの流速分布及び *O. luteus* の分布を写真撮影により求めた。

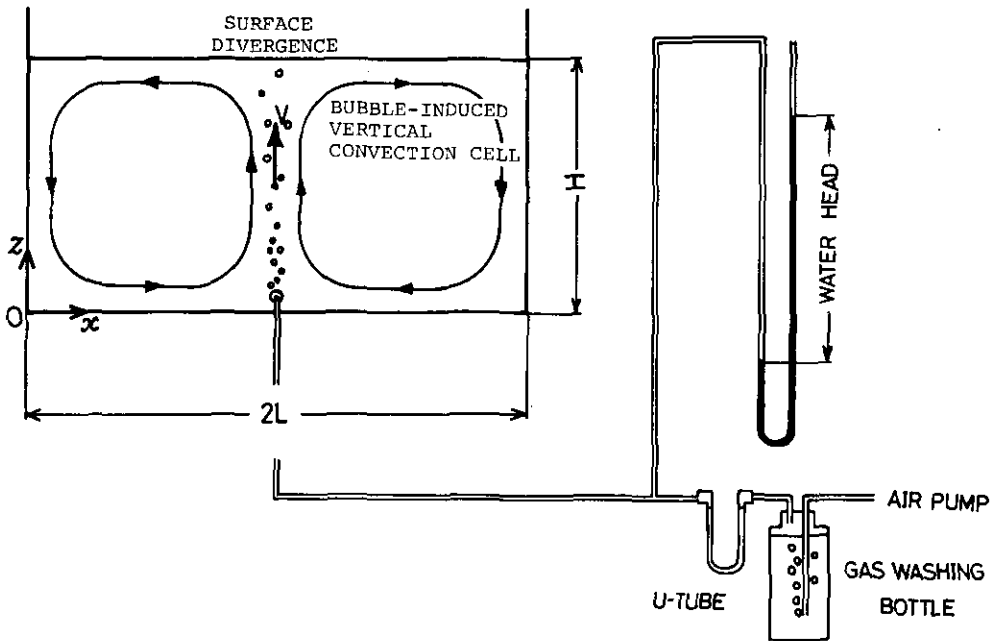


図 3 鉛直対流渦場での培養実験系の概略図

Fig. 3 Schematic view of a culture system in vertical convection cells



$V_0 = 4.28 \text{ cm/s}$



$V_0 = 1.07 \text{ cm/s}$



$V_0 = 0.32 \text{ cm/s}$

図 4 中立浮標による鉛直対流パターン計測

Fig. 4 Measurements of vertical convection patterns using neutral beads



## 2-1 流速分布測定とその結果

Diffuser からの気泡によるジェットにより形成される対流渦の流速分布を、流体と等比重を持つように調整した中立浮標（発泡スチロール製のビーズ）を実験槽内に入れ、4～8秒間露出による写真撮影を行い、それぞれの空気量における軌跡図を求め、さらに槽内でのビーズの移動速度を求めることにより流速ベクトルの概略値を求めた。図4に軌跡図およびそれぞれの空気量（ピトー管内の水頭高さで表示）に対応して形成される最大流速  $V_0$  を示す。diffuser 上方には上昇する気泡により噴流（ジェット）が形成されており、さらに隣接水域からの連行加入（entrainment）により対流渦が形成される。この噴流は水面で左右に発散する水平流となり、しだいに流速を減じながら左右の壁に近づく。表層の左右端ではこのため水平流の収束が顕著になり、この収束の直下では鉛直下降流が生じ、水面収束を補償している。空気量が多くジェット流が強い場合 (Run 2) は全域にわたって流れが励起され、Stommel (1949) が用いた流線函数によく近似されることがわかる (図5)。一方空気量を減少させ、ゆるやかなジェットによる対流渦の場合 (Run 3, 4), ジェットによる momentum input は全域内に流れを発達させるのに十分ではなく、粘性の影響による momentum の減衰が大きく、培養槽のすみにおいて停滞減が発生し、図5に与えられた Stommel (1949) が用いた流線函数による流れのパターンとは変形したパターンが得られる。これは Stommel (1949) の解が粘性効果を考慮していないための当然の帰結であるが、この点を除外すれば実験を行った  $W. Head = 50 \sim 65 \text{ cm}$  の領域において得られた流速パターンは、Stommel (1949) を用いた流線函数によってある程度再現されていると言える。

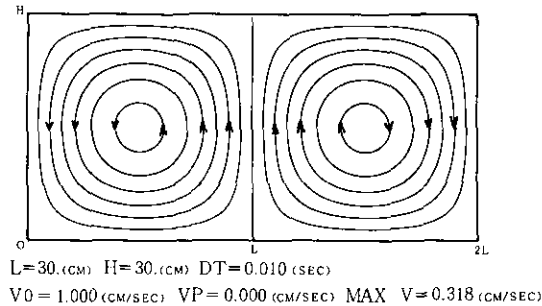


図 5 Stommel (1949) により与えられた流線函数に基づく流れのパターン  
Fig. 5 Flow pattern based on a stream function given by Stommel (1949)

## 2-2 *O. luteus* の分布測定

実験系のうちU字管から培養槽までをオートクレーブで蒸気滅菌し、f/2 培地を用いて無菌的に *O. luteus* を培養し、平均細胞数が  $8.3 \times 10^4 \text{ cells/ml}$  に達した段階で実験を行った。Run 3, Run 4 と同様の空気量において形成された対流渦での *O. luteus* の分布状態を写真撮影し計測を行った (図6)。

まず *O. luteus* の上方遊泳速度と鉛直下降流とが均衡する表層の左右両端 (A点) に集積パッチが見られる。さらに両対流渦の中心部分にも *O. luteus* の上方への遊泳速度と下降流速がほぼつり合っている、いわゆる“保有領域”にも集積パッチが見られる。このことは Hutchinson (1967) が提案した走光性プランクトンの対流渦中での軌跡図 (図2-D) とは著しく異なることが判明した。

### 3. *O. luteus* の対流渦場での軌跡の数値シミュレーション

前節において得られた培養実験より、diffuserからの気泡により励起された対流渦を表現するモデルとして、Stommel (1949) が与えた流線関数を単純化した近似解として用い、その中での走光性をもつ *O. luteus* の軌跡をモデル化することにより、前節で得られた *O. luteus* の分布構造の機構を説明する。

図5に示すような座標系において、水平方向  $2L$ 、鉛直方向  $H$  の長さをもつ領域の中央において、鉛直上向き最大流速  $V_0$  を持つ対流渦は、流線関数により次のように与えられる (Stommel, 1949)。

$$\psi = \psi_0 \sin \frac{\pi}{L} x \cdot \sin \frac{\pi}{H} z \quad (3-1)$$

ここで  $\psi = V_0 L / \pi$

*O. luteus* は鉛直上方遊泳速度  $V_p$  を持つ。従って *O. luteus* の運動は水平方向の速度  $dx/dt$  は流れの場の速度  $U$  に等しく、鉛直方向の速度  $dz/dt$  は流れの場の速度  $W$  に *O. luteus* の上方遊泳速度  $V_p$  を加えたものに等しい。すなわち

$$\frac{dx}{dt} = U = -\frac{\partial \psi}{\partial z} = -\frac{V_0 L}{H} \sin \frac{\pi}{L} x \cdot \cos \frac{\pi}{H} z \quad (3-2)$$

$$\frac{dz}{dt} = W + V_p = \frac{\partial \psi}{\partial x} + V_p = V_0 \cos \frac{\pi}{L} x \cdot \sin \frac{\pi}{H} z + V_p \quad (3-3)$$

(3-2), (3-3) 式より *O. luteus* の軌跡は

$$\frac{dz}{dx} = -\frac{H}{L} \frac{\cos \frac{\pi}{L} x \cdot \sin \frac{\pi}{H} z + \frac{V_p}{V_0}}{\sin \frac{\pi}{L} x \cdot \cos \frac{\pi}{H} z} \quad (3-4)$$

なる微分方程式の解として表現される。さらに次のような無次元量を定義する。

$$X = \frac{x}{L}$$

$$Z = \frac{z}{H}$$

$$\phi = \frac{V_p}{V_0}$$

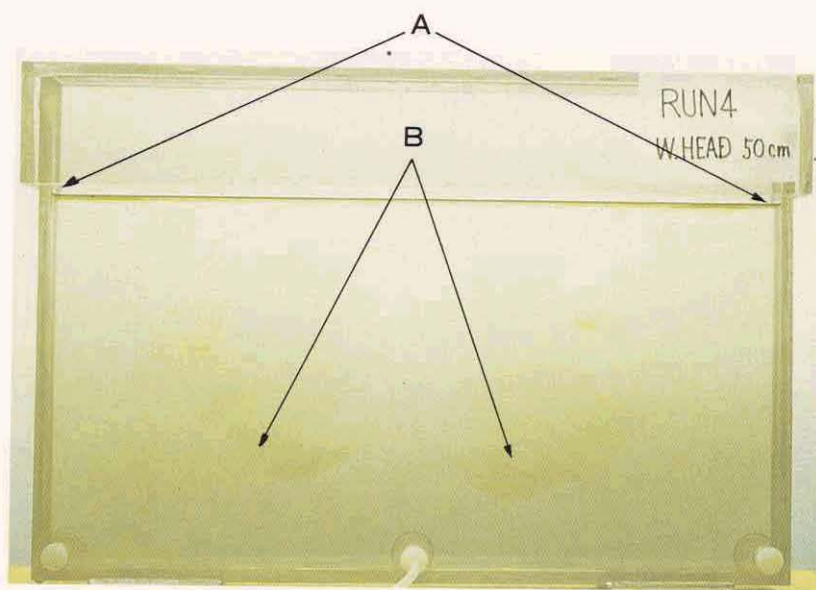
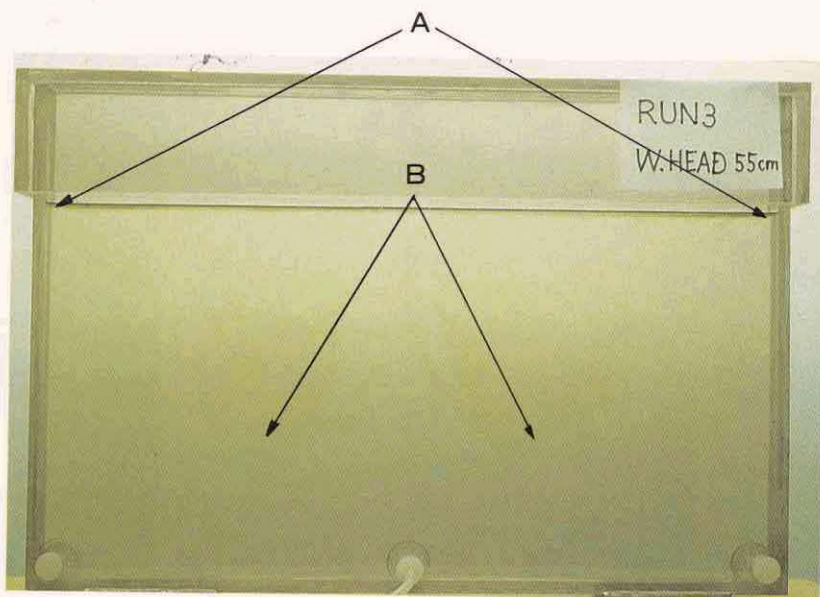


図 6 *O. luteus* の集積パターン  
 Fig. 6 Accumulation patterns of *O. luteus*

(3-4) 式は次のような無次元方程式に変換される。

$$\frac{dZ}{dX} = -\frac{\cos \pi X \sin \pi Z + \phi}{\sin \pi X \cos \pi Z} \quad (3-5)$$

したがって *O. luteus* の軌跡を特徴づけるパラメータは無次元量  $\phi = V_p/V_0$  のみであることがわかる。ここで最大鉛直流速  $V_0$  の測定は中立浮標を用いて可能である。*O. luteus* の平均遊泳速度  $V_p$  は以下のように実験的に求めた。

高さ  $H = 30$  cm, 幅  $B = 9.5$  cm, 厚さ  $D = 3$  cm のポリカーボネイト製培養槽に *O. luteus* を一様に分布させる ( $2 \times 10^5$  cells/ml)。まわりを黒紙で被覆し, 上方からのみ光 (照度 3,000 lx) を与え, 表層で1分ごとにサンプリングを行い, 表層での *O. luteus* の個体数の時間変化をプロットしたのが図7である。もし *O. luteus* が秩序正しく一定速度で上昇するならば, 表層での *O. luteus* の個体数の時間変化は直線的に増加した後, 時間  $t_c$  で定常に到達するはずである。しかし実際には random な運動を行い, 光の鉛直分布も一様ではなく, *O. luteus* 自身による self-shading の効果があり, 表層での細胞数は直線よりずれて増加する。さらに海水より比重の大きい鞭毛藻 *O. luteus* の表層での集積が臨界状態 (集積個体数と集積層厚さの関数として与えられる) に達した後は bioconvection が急速に発達し (渡辺・原島, 1981), そのため表層の *O. luteus* の細胞個体数は臨界時間  $t_c$  以後は急激な減少を示す。しかしその後は *O. luteus* の個体数は定常状態に収束する。したがってこの臨界時間  $t_c$  をもって定常に達した時間と定義し, *O. luteus* の平均遊泳速度を次のように求めた。

$$V_p = \frac{H}{t_c} \quad (3-6)$$

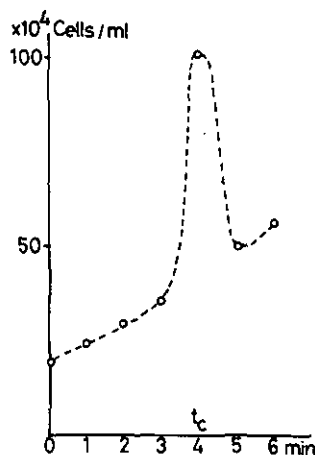


図 7 表層での *O. luteus* の個体数の時間変化  
Fig. 7 Temporal variation of cell numbers of *O. luteus* at the surface

ここで培養槽高さ  $H = 30$  cm,  $t_c = 4$  min より *O. luteus* の平均遊泳速度  $V_p$  は 4.5 m/h となる。現場海域では, *O. luteus* 個体数の鉛直分布の時間変化を求め, そのピークの移動速度をもって遊泳速度を見積り, 1.0 ~ 1.5 m/h を得ている (矢持ら, 1981)。しかし海面下 5 ~ 10 m での照度は培養槽での照度より暗く; 流れや温度・塩分成層の影響を強く受けており, *O. luteus* の鉛直分布のピークの移動速度は決ずしも *O. luteus* 自身の速度とは一致しない。培養槽より求められた遊泳速度  $V_p$  は, 対流渦実験と同じ条件下での *O. luteus* 自身の平均遊泳速度を見積ったもので, この実験により得られた平均遊泳速度を用いて無次元量  $\phi = V_p/V_0$  を計算した。

Run 3 の場合  $\phi = 0.12$ , Run 4 の場合  $\phi = 0.4$  となる。これらの値を用いて (3-5) 式を用いて *O. luteus* の軌跡を求めると図 8 のように与えられる。図 8 より走光性に基いて遊泳する鞭毛藻の場合には, Stommel (1949) によって提示された沈降性プランクトン粒子の軌跡図とは逆に, 下降流域を中心に左右対称な保有領域が形成されることがわかる。さらに保有領域外のいわゆる浮上領域の鞭毛藻は表層に浮上し, そこで水平流による移流を受け, 左右の表層収束域に集積する。図 6 と図 8 を比較すると, この数値モデルが, 実験で得られた *O. luteus* の分布構造をよく説明し

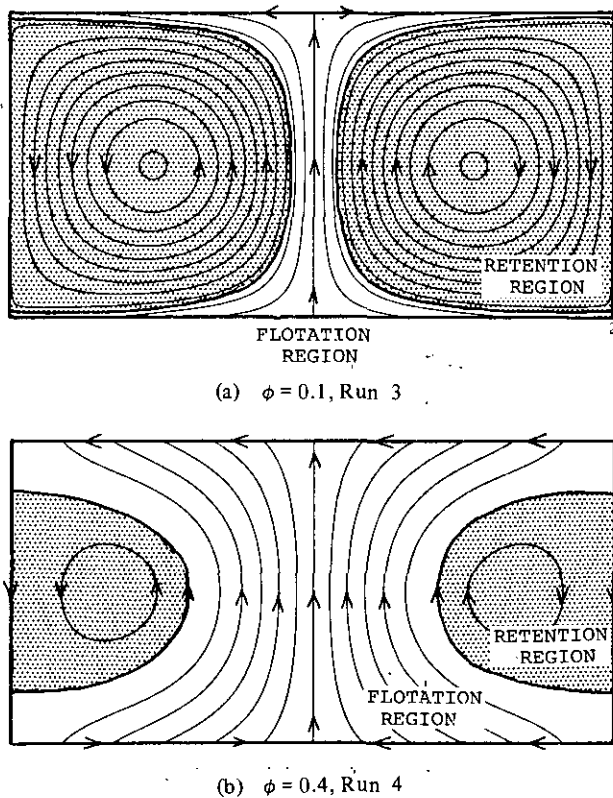


図 8 数値シミュレーションにより求められた *O. luteus* の軌跡  
 Fig. 8 The trajectories of *O. luteus* obtained by numerical simulation

ていることがわかる。さらに表層での *O. luteus* の分布をとってみると、表層収束域にすじ状 (streaks) に、ほぼ対流渦スケールの2倍の長さの間隔で平行して並んでいる現象(例えば図1参照)は、鉛直対流渦と走光性をもつ藻類との相互作用によってのみ発生する現象であることが判明した。

#### 4. 結 論

Langmuir circulation による鉛直対流渦を、diffuserにより模擬的に発生させた培養槽内で、鞭毛藻 *O. luteus* を純粋培養し、鉛直対流渦と走光性にもとづく遊泳力との相互作用により、*O. luteus* が保有領域および表層の下降流域の両方に集積することが、室内実験及び数値シミュレーションによって解明された。そして *O. luteus* の分布構造は、無次元量  $\phi = V_p/V_0$  のパラメータ値によってのみ決まることが判明した。

現場海域においては種々の時空間スケールの鉛直対流渦が常に形成されており、この鉛直対流渦の存在により、沈降性及び遊泳性のプランクトンは、その保有・集積される領域を異にする。すなわちプランクトン種の集積状況の相異 — 棲みわけおよびふるい分け — の可能性が示唆される。

現場海域におけるプランクトン調査を基礎とした解析においては、上述の鉛直対流渦とプランクトン分布構造との関連が、サンプリングの時間間隔、空間間隔に大きく影響していることを示唆している。従来より水質項目とプランクトン種の遷移との関連を理解しようとする試みがなされてきたが、両者は多くの場合ランダムな挙動を示し、両者の間に法則性を見出すことが困難であった。本論文に示された解析により、プランクトン種の棲みわけにかかわる鉛直対流渦の役割の重要性が示され、今後は水質要因のみならず、物理的要因をも総合的に解析することが必要であると思われる。

#### 引 用 文 献

- Craik, A. D. D. (1977): The generation of Langmuir circulations by an instability mechanism. *J. Fluid Mech.*, 81(2), 209-223.
- Craik, A. D. D. and S. Leibovich (1976): A rational model for Langmuir circulations. *J. Fluid Mech.*, 73(3), 401-426.
- Faller, A. J. (1969): The generation of Langmuir circulations by the eddy pressure of surface waves. *Limnol. Oceanogr.*, 14, 504-513.
- Faller, A. J. (1971): Oceanic turbulence and the Langmuir circulations. *Annual Rev. Ecol. Systematics.*, 2, 201-236.
- Faller, A. J. and A. H. Woodcock (1964): The spacing of windrows of Sargassum in the ocean. *J. Mar. Res.*, 22, 22.
- George, D. G. and R. W. Edwards (1973): *Dephnia* distribution within Langmuir circulations. *Limnol. Oceanogr.*, 18, 798-800.
- Hutchinson, G. E. (1967): *A Treatise on Limnology*, vol. 2, New York.
- Langmuir, I. (1938): Surface motion of water induced by wind. *Science*, 87, 119-123.

- Leibovich, S. (1977): On the evolution of the system of wind drift currents and Langmuir circulations in the ocean. Part 1. Theory and averaged current. *J. Fluid Mech.*, 79(4), 715-743.
- Leibovich, S. and K. Radhakrishnan (1977): On the evolution of the system of wind drift currents and Langmuir circulations in the ocean. Part 2. Structure of the Langmuir vortices. *J. Fluid Mech.*, 80(3), 481-507.
- 水野信二郎 (1979): Langmuir 循環流の実験的研究. 日本海洋学会春季大会, 359.
- Ragotzkie, R. A. and R. A. Bryson (1953): Correlation of currents with the distribution of adult *Daphnia* in Lake Mendota. *J. Mar. Res.*, 12, 157-172.
- Ryther, J. H. (1955): *Ecology of autotrophic marine dinoflagellates with reference to red water conditions.* Book. In the *Limnology of Biological Systems.*
- Scott, J. T., G. E. Myer, R. Stewart and E. G. Walther (1969): On the mechanism of Langmuir circulations and their role in epilimnion mixing. *Limnol. Oceanogr.*, 14, 493-503.
- Smayda, T. J. (1970): The suspension and sinking of phytoplankton in the sea. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.*, 8, 353-414.
- Stavn, R. H. (1971): The horizontal-vertical distribution hypothesis: Langmuir circulations and *Daphnia* distributions. *Limnol. Oceanogr.*, 16, 453-466.
- Stewart, R. and R. K. Schmitt (1968): Wave interaction and Langmuir circulations. *Proc. 11th Conf. Great Lakes Res.*, 496-499.
- Stommel, H. (1949): Trajectories of small bodies sinking slowly through convection cells, *J. of Mar. Res.*, 8, 24-29.
- 渡辺正孝・原島 省 (1981): 鞭毛藻による生物対流と Rayleigh-Taylor Instability. 日本海洋学会春季大会.
- Woodcock, A. H. (1944): A theory of surface water motion deduced from the wind-induced motion of the *Physalia*, *J. Mar. Res.*, 5, 196-205.
- Woodcock, A. H. (1950): Subsurface pelagic sargassum. *J. Mar. Res.*, 9, 77-92.
- 矢持 進・安部恒之・城 久・渡辺 信・渡辺正孝 (1981): 赤潮鞭毛藻 *Olisthodiscus luteus* の垂直運動とその生態的意味 - 2. 日本海洋学会春季大会.

## 謝辞

貴重な赤潮発生の航空写真を掲載することを快諾していただいた 水産航空(株)に深謝いたします。

13. 大阪湾谷川港に於ける *Olisthodiscus luteus* の赤潮発生機構に関する研究  
— 出現特性と日周鉛直移動について\*

Study on the Mechanisms of Red Water Blooms by *Olisthodiscus luteus* at  
Tanigawa Fishing Port, Osaka Bay — Characteristics in Occurrence  
of *O. luteus* and Its Diurnal Vertical Migration

矢持 進<sup>1</sup>・安部恒之<sup>1</sup>・城 久<sup>1</sup>

Susumu YAMOCHI<sup>1</sup>, Tsuneyuki ABE<sup>1</sup> and Hisashi JOH<sup>1</sup>

要 旨

大阪湾谷川港に於ける野外調査と培養実験結果から赤潮鞭毛藻 *Olisthodiscus luteus* の出現特性と日周鉛直移動について検討した。

*O. luteus* の個体群密度の変動は *Eutreptiella* sp. の増減傾向と類似するのに対し、*Skeletonema costatum* との間には細胞数の変動に相反関係が認められる。これら3種の季節的消長は *O. luteus* および *Eutreptiella* sp. と *S. costatum* とが拮抗的關係にある競合種であることを示唆している。

谷川港で最も優勢な *O. luteus* は20~30日周期で規則的に bloom を形成する傾向が見られた。

本種は日中は表層に集積し、夜間は下方へ移動する生態的特性を有するが、この浮上並びに下降等の垂直運動は光刺激の発現・消失より数時間先行して出現する。生息密度の極大層と Chlorophyll a 濃度の経時変化とから *O. luteus* の上昇速度を求めると1.0~1.3 m/h となる。この日周鉛直移動は水温と塩分の鉛直差が各々6.5℃、5.7‰の水塊中でも観察された。

*O. luteus* が夜間、 $2.0 \times 10^3$  cells/ml 以上の細胞密度で分布する谷川港の底層水は溶存酸素量の減少が著しい為、貧酸素化に伴う底泥から直上水への鉄の溶出が起っていると考えられた。

本種の赤潮濾過海水に  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  を添加すると収量が著しく増加した。他方、 $\text{NaNO}_3$ 、 $\text{K}_2\text{HPO}_4$ 、ビタミン類等の単独添加では収量の増加が認められなかった。

*O. luteus* の日周鉛直移動と増殖特性とを考え併せるならば、本種は下方に移動した時、個体群の維持・増大に不可欠な鉄などの微量金属を底泥直上水から摂取すると

\* 本論文の一部は1980年度日本海洋学会(1980年4月、東京)に於いて口頭発表した。

1. 大阪府水産試験場 〒599-03 大阪府泉南郡岬町多奈川谷川  
Osaka Prefectural Fisheries Experimental Station, Misaki-cho, Sennan, Osaka Pref., 599-03, Japan.



期待される。

*O. luteus* の日周鉛直移動の役割を透析膜実験によって検証した。

### Abstract

In order to obtain data concerning the characteristics in occurrence and diurnal vertical migration of *O. luteus*, field surveys at Tanigawa fishing port, Osaka Bay and culture experiments have been carried out.

Characteristics in change of phytoplankton assemblages in surface water from Jun. to Oct., 1978 and from Jun. to Aug., 1979 are summarized as follows; population density of *O. luteus* increased coincidentally with that of *Euglenomonad.*, *Eutreptiella sp.*, while *Skeletonema costatum* and *O. luteus* were almost never abundant simultaneously. The most predominant organism *O. luteus* was well developed periodically about 20–30 day intervals.

This red tide flagellata migrated to the surface water early in the morning at a rate of 1.0–1.3 m/h and migrated downward during the afternoon. *O. luteus* more than  $2.0 \times 10^3$  cells/ml were concentrated in the bottom water at night. The upward and downward migrations were observed to begin before sunrise and sunset, indicating that migration is associated with a cellular periodicity called circadian rhythm. Further evidence for such a periodicity was obtained by culture experiment of this organism. *O. luteus* crossed a gradient of  $6.5^\circ\text{C}$ , 5.7‰ during its diurnal vertical migration.

On the other hand, iron enrichment enhanced remarkably the growth of *O. luteus* more than nitrogen, phosphorus, vitamin, and other metals such as Co, Cu, Mn, Mo, Zn in the water sample collected from its red tide. In Tanigawa fishing port, it was supposed that iron was eluted from bottom sediment into water due to decrease of oxygen contents.

From the result of these research, it is expected that the downward migration of *O. luteus* positions it in iron-enriched water where it take up iron eluted from bottom sediment in the dark. Concentration in surface water in daylight would likely be advantage in providing more light for photosynthesis.

Dialysis culture in situ was also used to confirm the significance of vertical migration in *O. luteus*.

### 1. はじめに

赤潮発生機構を解明するに際しては従来から現場の環境変化と植物プランクトンの挙動とを追跡し、赤潮発生に至る動的過程を野外調査を通じて解析する方法、並びに単離培養した赤潮生物の基本的な属性を把握した後、種固有の生理的特性から赤潮発生を考察する室内実験的手法が用いられている。

前者の場合、出現に至る海域環境と植物プランクトンの変動状況については正確な情報が得られる反面、プランクトンの異常増殖を起こす環境要因が相互に錯綜し発生の必要条件の吟味に困難を伴う。他方、後者では赤潮現象を単純化する余り、実験条件の設定が現場の状況から遊離する危険に陥り易い。

したがって発生機構の解析に当たっては現場の環境特性を把握した後、抽出・整理した情報を培養実験系に於いて再現させて吟味を加え、赤潮藻類と環境要因との相互関係を総合的に解析する必要がある。

このような観点からまず我々は閉鎖性海域であり、かつ赤潮が頻発する大阪湾谷川港に於いて植物プランクトン相を継続的に観察することによって赤潮生物の出現状況とその推移の特徴を明らかにした。

次に港内で最も優勢に分布し、しかも日本各地で赤潮構成種として知られている鞭毛藻の一種、*Olisthodiscus luteus* (藤田ら, 1979) に着目し、赤潮発達期に於ける本種の個体群生態と海域環境の変動把握に努めた。

更に、栄養塩等添加生物試験の手法に準拠して純粋分離した *Olisthodiscus luteus* を現場赤潮海水に接種し、その増殖特性を検討した。

本研究の最終目的は赤潮鞭毛藻 *Olisthodiscus luteus* の発生・発達・消滅機構を明らかにすることであるが、今回はこれら一連の調査および実験を通じて得られた結果を中心として *O. luteus* の出現特性と日周鉛直移動について報告する。

## 2. 調査並びに実験の方法

### 2.1 野外調査

調査は主に大阪湾谷川港で実施した。谷川港は大阪湾の南部に位置し、水深3m強・面積約20,000 m<sup>2</sup>の小さな港である。港内水は幅約10mの開口部を通じて港外水と接しており、港の閉鎖性は比較的強い。周辺地域から港内への流入負荷はわずかな生活排水だけで汚濁物質の負荷量は小さい。谷川港に於ける野外調査は継続調査・連日観測及び昼夜観測の三つに大別される。

○継続調査；1978年5月から10月、並びに'79年6月から8月にかけて図1に示す港内奥部の採水地点で延べ78回にわたって表層水を採取した。試水は直ちに実験室に持ち帰り、プランクトン計数盤で1ml中の植物プランクトン種類数と種類別の細胞数を測定した。

○連日観測；'79年8月16日から25日の期間は毎日、継続観測と同じ採水点で表層・底から2.5m層・底から1.5m層・および底から0.5m層の海水を採取し、植物プランクトン相、水温、塩分、PO<sub>4</sub>-P、NH<sub>4</sub>-N、NO<sub>2</sub>+NO<sub>3</sub>-N、Chlorophyll *a* 等を測定した。なお、継続および連日観測の採水は何れも午前9時に実施した。水温は現場で測定し、又塩分、無機態栄養塩、植物プランクトン相、Chlorophyll *a* 等の分析は以下の方法で行った。

塩分；サリノメータを用いて測定（鶴見精機製デジタル塩分計TS-E2型）

栄養塩類；オートアナライザーにより測定（Technicon Autoanalyzer II型）且し、PO<sub>4</sub>-Pについてはメンツェルの方法に準じて分光光度計で測定した。

Chlorophyll *a*；アセトン抽出後蛍光法で分析（ターナー蛍光光度計111型）

植物プランクトン相；継続観測時と同様の方法

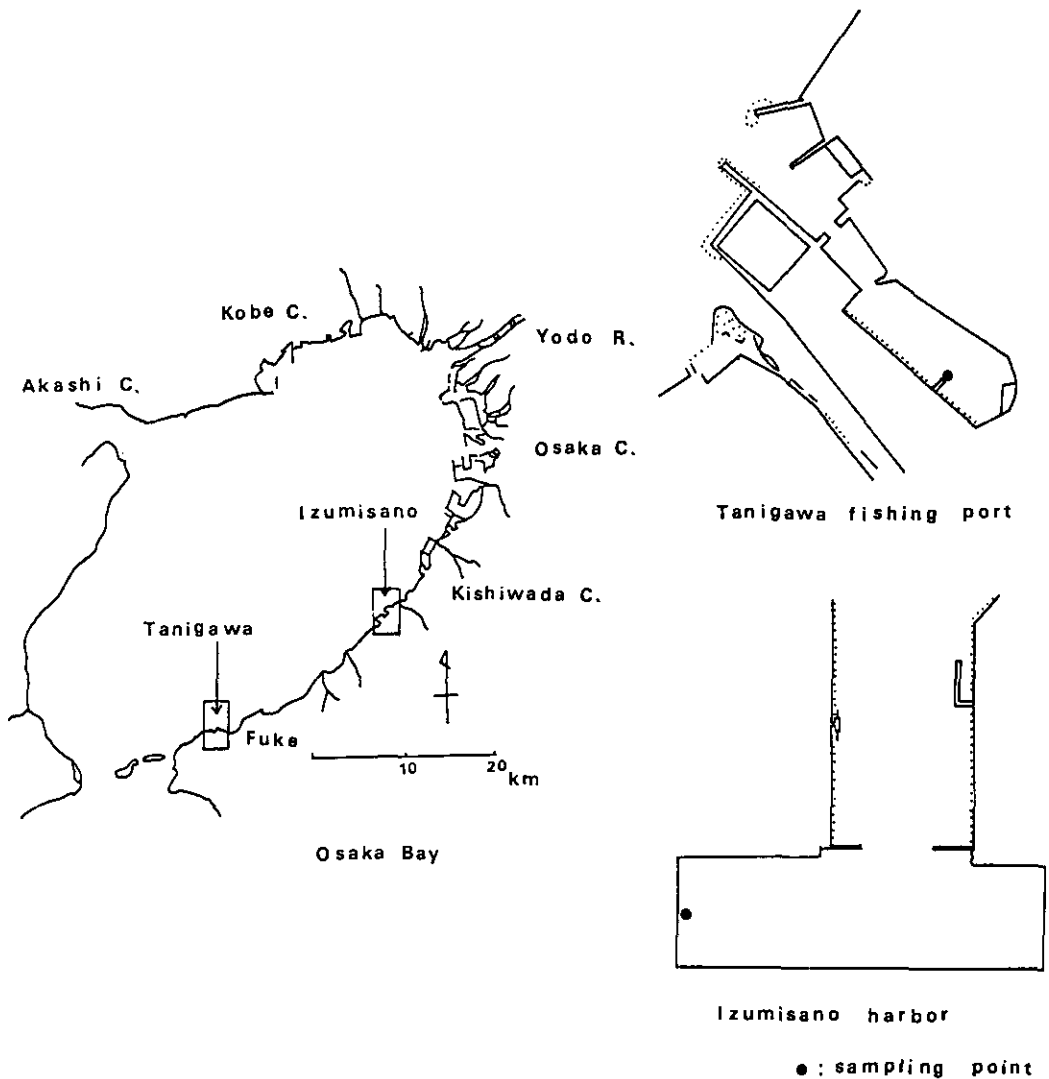


図 1 大阪湾谷川港, 泉佐野港でのサンプリング地点

Fig. 1 Map showing the sampling stations in Tanigawa fishing port and Izumisano harbor, Osaka Bay

○昼夜観測；'79年8月25日から26日にかけて昼夜観測を行った。採水は0.5 - 3.0時間間隔で、表層・底から3.0 m層・底から2.5 m層・底から1.5 m層・底から0.5 m層の計5層について実施し、水温、塩分、*Olisthodiscus* の生息密度、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 、溶存酸素量、Chlorophyll *a*、水中照度等を測定した。溶存酸素量と水中照度の測定についてはAndrews & George 社製溶存酸素計 1,510型と石川産業製水中照度計 IU-2B型等の機器を使用した。又、

*Olisthodiscus* の生息密度については12時間以内に生海水 1 ml 中の細胞数を計数することによって求めた。その他の項目は連日観測時の方法と同様である。

なお、'80年6月16日と17日に大阪湾泉佐野港奥部の一点（面積 440,000 m<sup>2</sup>，水深6～12m，図1）で躍層形成時に於ける*Olisthodiscus*の鉛直分布についての調査を実施した。

## 2.2 栄養塩および微量金属添加培養実験

'80年6月16日，大阪湾岸和田沖（34° 28' 00" N，135° 20' 00" E）で採取した *Olisthodiscus luteus* 赤潮発達期の海水（*O. luteus*  $1.8 \times 10^4$  cells/ml）をワットマンGF/C濾紙で濾過し，コントロール海水とした。このコントロール海水10mlをスクリュウ栓付試験管に採取し栄養塩，ビタミン，微量金属，キレート物質等を添加した。NaNO<sub>3</sub>，K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>，ビタミンB<sub>12</sub>はASP<sub>2</sub>培地に，又Fe・Zn・Mn・Co，及びCu・Moは各々PII metalとf/2 metalに準拠して添加を行った。また，微量金属に対するNa<sub>2</sub> EDTAの添加量はモル濃度比で1：1になるよう調整した。栄養塩・ビタミン・微量金属・キレート物質等の添加後，5日間コントロール海水で予備培養した*Olisthodiscus luteus*を無菌的に接種した。培養は20±1°C，5,000 lx，12L-12Dの条件下で実施し，培養試験管の位置を毎日ランダムに変えて，光が均一に当たるよう努めた。培養実験開始時の*Olisthodiscus luteus*の細胞数は158 cells/mlであった。

## 3. 結果

### 3.1 *Olisthodiscus luteus* の出現特性

#### 3.1.1 大阪湾に於ける *O. luteus* の赤潮発生状況

大阪湾に於ける *O. luteus* の赤潮発生状況を1974年から1980年の7年間について表1に整理した。表から本種は主に6月～7月の水温上昇期に bloom を形成する特徴を有することが分かる。赤潮発生時の表層水温と塩分は各々19.4～30.7°C，19.76～33.05‰であり，本種はやや低塩分域で優勢な広温・広塩分性の赤潮鞭毛藻である。大阪湾に於いて *O. luteus* は毎年，赤潮の発生が確認され，又'74年・'75年のように $1 \times 10^5$  cells/ml以上の高い細胞密度で出現するなど，代表的な赤潮プランクトンの一種と言える。

#### 3.1.2 谷川港内に於ける主要種の季節的消長

図2に谷川港内に於ける主要植物プランクトンの優占状況を'78年4月～10月および'79年6月～8月の期間について表した。期間中港内では *O. luteus*, *Eutreptiella* sp., *Skeletonema costatum*, *Thalassiosira* sp., *Nitzschia seriata*, *Leptocylindrus minimus*, *Chattonella* sp., *Prorocentrum micans*, *Gymnodinium nelsonii*, *Gyrodinium estuariale* 類似種, *Gyrodinium* sp., *Cryptomonas* sp., *Cricosphaera roscoffensis*, *Oltmansiiella* sp. 不明小型鞭毛藻2種など，計16種の植物プランクトンの blooming が認められた。この内，単独で濃密な赤潮を形成したのは *O. luteus*, *Eutreptiella* sp.,

表 1 大阪湾で1974~1980年に発生した*Olisthodiscus luteus*による赤潮

Table 1 Summary of red water blooms by *Olisthodiscus luteus* during 1974 and 1980 in Osaka Bay

Date	Temperature and salinity of surface water		Maximum density Cells/ml
	Temp. (°C)	Sal. (‰)	
12. Jun. - 2. Jul., 1974	22.6 - 24.1	28.97 - 33.05	$> 3 \times 10^5$
9 - 17. Jun., 1975	20.7 - 22.7	29.09 - 32.44	$1.3 \times 10^5$
11. Jun., 1976	19.6 - 20.6	19.76 - 27.99	$1.5 \times 10^3$
12 - 23. Jul., 1976	27.0 - 28.9	21.49 - 30.12	$4.6 \times 10^3$
23 - 30. Aug., 1976	29.5 - 30.7	19.86 - 27.87	$1.2 \times 10^3$
13 - 21. Jun., 1977	20.2 - 21.9	27.60 - 31.17	$8.1 \times 10^3$
5 - 6. Jun., 1978	19.4 - 22.0	25.10 - 32.01	$9.0 \times 10^3$
21. May, 1979	22.9	21.79	-
12 - 18. Jun., 1979	22.9 - 24.4	25.33 - 32.81	$2.5 \times 10^4$
10. Jun. - 1. Jul., 1980	20.5 - 22.2	20.25 - 30.21	$8.7 \times 10^4$

*Chattonella* sp., 小型鞭毛藻-(1)の4種である。最も高い頻度で発現した *O. luteus* と *Eutreptiella* sp. については前者が9回、後者は6回の赤潮発生を確認した。ただ、'78年の状況から *O. luteus* は6月から10月の夏期~秋期にかけて優勢となるのに対し、*Eutreptiella* sp. は4月から7月の春期~夏期に卓越するなど、優占時期に相違が認められる。

*Skeletonema costatum*, *Thalassiosira* sp. *Nitzschia seriata* 等の珪藻群集の発達は7月に集中する傾向がある。その他 *Gyrodinium estuariale* 類似種, *Gyrodinium* sp., *Gymnodinium nelsonii*, 不明小型鞭毛藻-(1) (体長2~3 $\mu$ m) 等は6月に、又 *Oltmannsiella* sp. と不明小型鞭毛藻-(2) (体長5~6 $\mu$ m) が7月に、*Cryptomonas* sp. および *Cricosphaera roscoffensis* 等の鞭毛藻が8月に各々優占種として出現している。

なお、'78年・'79年の夏期、大阪湾で大規模な赤潮を形成した *Chattonella* sp. は78年の7月と8月に谷川で赤潮生物として発現した。比較的大型の渦鞭毛藻 *Prorocentrum micans* (体長40~50 $\mu$ m) は'79年の6月と7月に100~500 cells/ml の生息密度で分布した。

図3に *O. luteus*, *Eutreptiella* sp., *S. costatum* の生息密度の変動状況を示す。*S. costatum* は78年の6月3日、7月3日~14日および8月24日に、又'79年は7月10日~26日、8月13日~15日にかけて各々  $1 \times 10^3$  cells/ml 以上の細胞数を記録した。特に7月は本種が非常に優勢で10日以上も珪藻赤潮が継続している。

*Eutreptiella* sp. は主として春期~初夏に優勢なプランクトンである。即ち、6月~7月はしばしば  $1 \times 10^3$  cells/ml 以上の細胞密度に達した。他方、8月以降は全般的に劣勢に推移し、生息密度も比較的低い。この変動結果は *Eutreptiella* sp. の港内に於ける至適環境が春期から水温上昇期にかけて存在することを示唆している。

Species	1978						
	Apr.	May	Jun.	Jul.	Aug.	Sep.	Oct.
<i>Olisthodiscus luteus</i>			—	—	—	—	—
<i>Eutreptiella</i> sp.	—	—	—	—			
<i>Skeletonema costatum</i>				—			
<i>Thalassiosira</i> sp.				—	—		
<i>Nitzschia seriata</i>				—			
<i>Chattonella</i> sp.					—	—	
<i>Gyrodinium estuariale?</i>			—				
<i>Gymnodinium nelsonii</i>			—				
<i>Oltomansiella</i> sp.				—			
<i>Small flagellata</i> - 1			—				

Species	1979		
	Jun.	Jul.	Aug.
<i>Olisthodiscus luteus</i>	— — —		—
<i>Eutreptiella</i> sp.	—		—
<i>Skeletonema costatum</i>		— — —	—
<i>Thalassiosira</i> sp.		— — —	
<i>Leptocylindrus minimus</i>			—
<i>Prorocentrum micans</i>		—	
<i>Gyrodinium</i> sp.	— —		
<i>Gyrodinium estuariale?</i>	—		
<i>Cryptomonas</i> sp.			—
<i>Cricosphaera roscoffensis</i>			—
<i>Small flagellata</i> - 2		—	

図 2 谷川港での赤潮生物種とそれらの発生時期  
(1978年4月~10月, 1979年6月~8月)

Fig. 2 Red water organisms and their occurred periods at Tanigawa fishing port from April to October, 1978 and from June to August, 1979

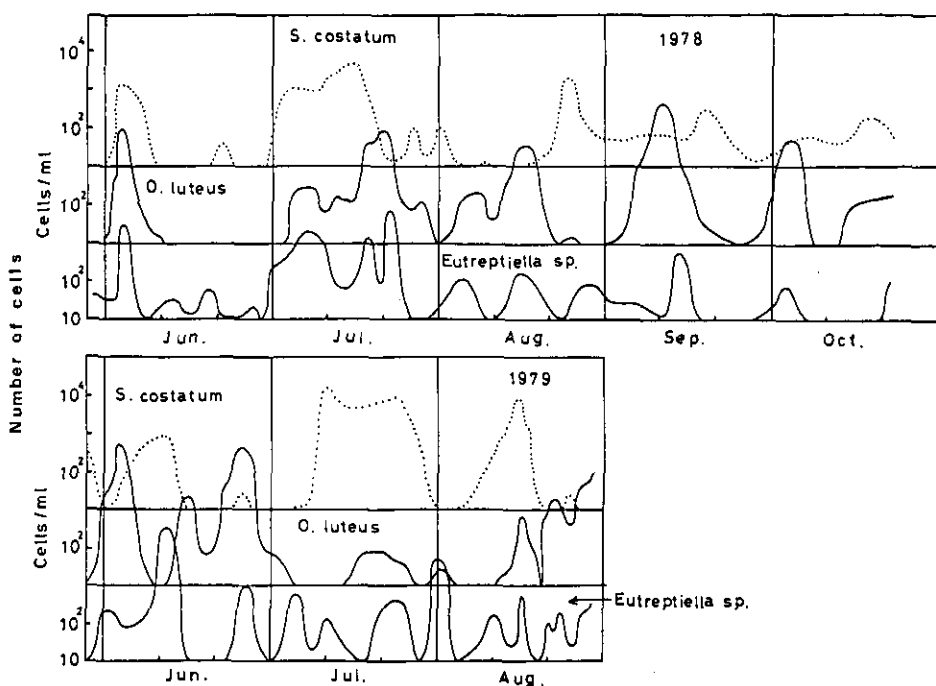


図 3 谷川港での *Olisthodiscus luteus*, *Eutreptiella* sp., *Skeletonema costatum* の消長 (1978年6月~10月, 1979年6月~8月)

Fig. 3 Abundance of *Olisthodiscus luteus*, *Eutreptiella* sp. and *Skeletonema costatum* in surface water of Tanigawa fishing port from June to October, 1978 and from August, 1979

*O. luteus* は6月に初めて赤潮生物として出現した後、港内に定着し、以後最も卓越した植物プランクトンとして分布する。bloomの見られた期日は78年; 6月3日, 7月20日, 8月15日, 9月11日, 10月2日, 79年; 6月3日, 6月25日, 8月25日などであり、発達した珪藻群集が長期間港内で支配的な時期以外は20~30日間隔で周期的に赤潮を形成する特徴が見られる。最大生息密度は'79年6月3日に観察した  $5.6 \times 10^4$  cells/ml であった。

これら3種の細胞数の変化から、細胞密度の増減傾向が類似している種類は *O. luteus* と *Eutreptiella* sp. であるのに対し、*O. luteus* と *S. costatum* とは細胞数の変動が相反することが判る。これら3種の変動に於ける特徴は、*O. luteus* と *Eutreptiella* sp. が基本的に共存可能な種間関係であるのに対して *O. luteus* と *S. costatum* は拮抗的關係を示す競合種であることを推察させる。

### 3.1.3 谷川港に於ける主要種の日変動と海域環境

1979年8月16日から25日の谷川港に於ける水温・塩分・Chlorophyll *a* 等の鉛直分布の日変化を図4に示す。水温と塩分は各々 24.6~28.1°C, 31.75~33.20% の範囲を推移した。8月17~18

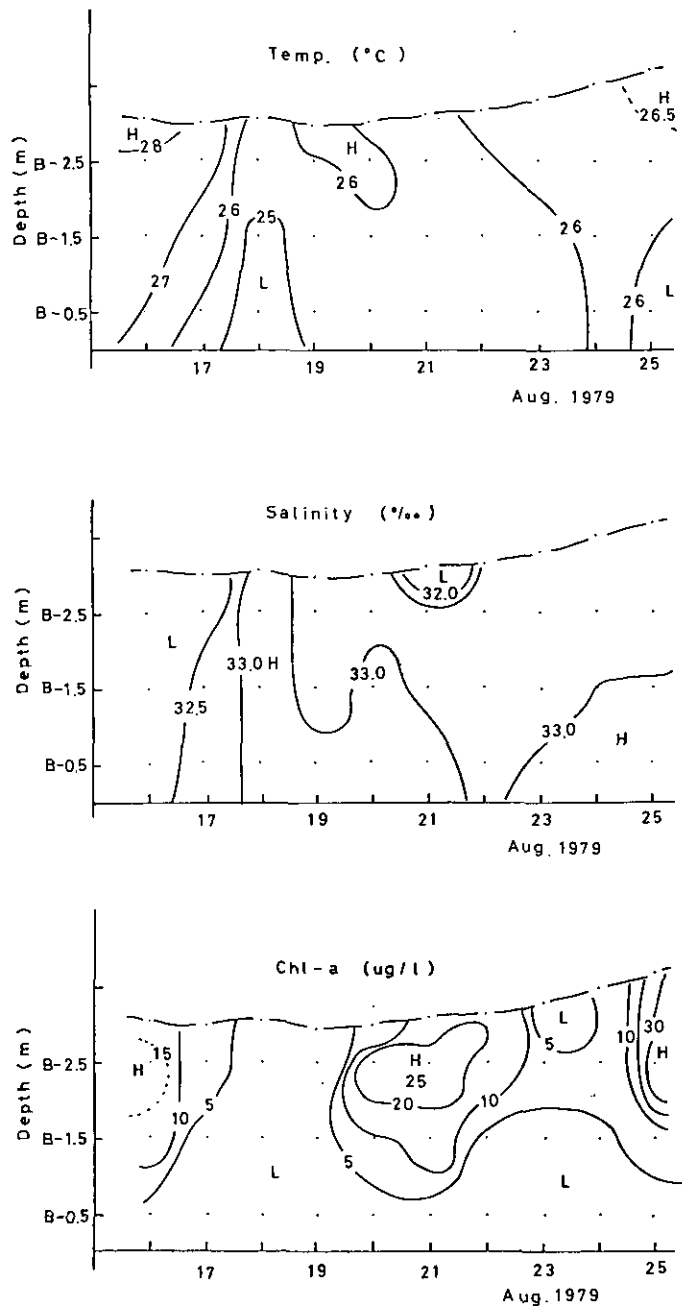


図 4 谷川港での水温、塩分 Chl-a 量の日変化 (1979年8月16日~25日)

Fig. 4 Daily changes of temperature, salinity, and chlorophyll *a* content in the water of Tanigawa fishing port during 16 and 25, August, 1979

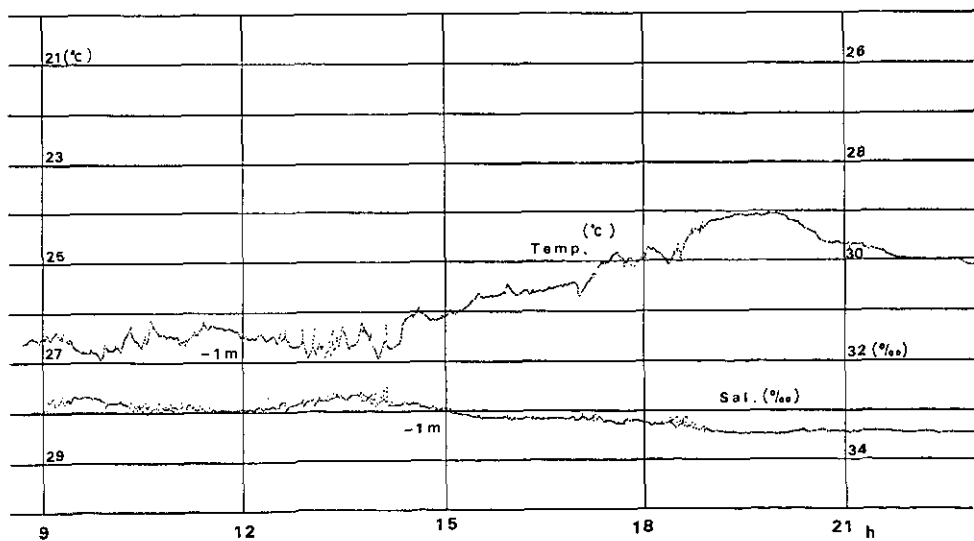


日にかけては港内水の塩分が33%以上に増加し、下層には25°C以下の低温水塊が見られる。この現象は谷川港地先150mに設置した水温・塩分自動観測装置の記録でも認められ、17日の15時頃から低温で高塩分な水塊が優勢となっている(図5)。夏期の大阪湾に於いて低温で高塩分な水塊は外海系水の特徴の一つであることから、谷川港内海水の塩分上昇と水温の低下は外海系水の港内への流入に伴う現象であると考えられる。一方、21日の表層に於ける32%以下の低塩分水は同日07~09時にかけての降雨(2時間で20mmの雨量を記録)に起因する。

Chlorophyll *a* 濃度が10 µg/l以上を示したのは8月16日、20~22日・25日の3回であり前者は *S. costatum*、後二者は *O. luteus* の bloom に原因する。港外水との海水交換が行われた18日には Chlorophyll *a* 濃度も5 µg/l以下に減少している。したがって16日に谷川港内で見られた *S. costatum* を優先種とする赤潮は、プランクトン現存量が小さい外海系水との海水交換により個体群密度が減少し、解消したものと考えられる。

海水中の無機態栄養塩(NH<sub>4</sub>-N・NO<sub>2</sub>+NO<sub>3</sub>-N・PO<sub>4</sub>-P)の鉛直分布の日変化を図6に示した。期間中、PO<sub>4</sub>-Pは1.1~2.6 µg-at/l、NO<sub>2</sub>+NO<sub>3</sub>-Nが1.8~8.6 µg-at/l、又NH<sub>4</sub>-Nは1.6~13.8 µg-at/lの濃度で経過した。

*S. costatum* が優勢な16日は無機態栄養塩濃度が低下し、上層水のDIN濃度(無機三態窒素の計)は3.4~5.5 µg-at/lを示すに過ぎない。*O. luteus* の bloom の場合にも25日の表層水で



17, AUG. 1979

図 5 谷川港地先海域での水温、塩分の連続記録(1979年8月17日)

Fig. 5 Continuous recording of temperature and salinity at Tower station on August 17, 1979

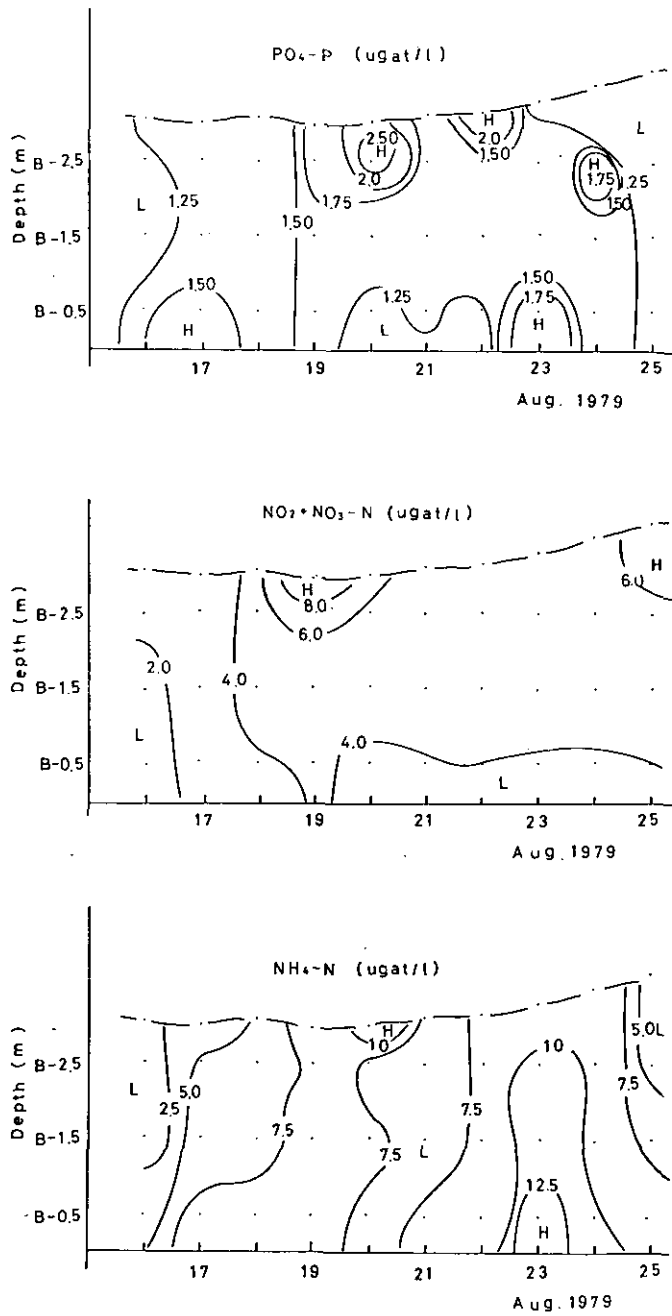


図 6 谷川港の海水の無機態窒素，無機態磷の日変化

Fig. 6 Daily changes of inorganic phosphorus and nitrogen in the water of Tanigawa fishing port

$\text{NH}_4\text{-N}$ が  $5.0 \mu\text{g-at/l}$  以下に減少している。ただ、全体を通じて  $\text{PO}_4\text{-P} \cdot \text{NO}_2 + \text{NO}_3\text{-N} \cdot \text{NH}_4\text{-N}$  などの濃度レベルが高く、港内水は無機態栄養塩に富んでいることが判る。特に *O. luteus* の赤潮発生に先立つ23日の中層から下層にかけては  $\text{NH}_4\text{-N}$  が高濃度で分布し、濃度レベルも  $10.4 \sim 13.8 \mu\text{g-at/l}$  に及んでいる。

期間中の主要出現種の推移を図7に表した。値は表層から底層に至る4点の細胞密度を種類別に平均したものである。図から分かるように *S. costatum* を主体とする珪藻群集が18~19日に衰退した後、*O. luteus*, *Eutreptiella*, *Cryptomonas* などのプランクトンの個体群密度が増加している。これら3種の細胞密度は23~24日に低下するが、*O. luteus* については25日以降再び増加傾向に転じ、単一種による濃密な赤潮を形成した。このプランクトン群集の日変化に見られる珪藻から *O. luteus* への推移は図3に表した主要種の季節的消長に於ける特徴と一致する。このように、港外水の港内流入(17~18日)に伴って優占種が珪藻から *O. luteus* に交代しており、谷川港では外海系水との海水交換が赤潮プランクトン群集の短期的な遷移を結果的に誘発している。

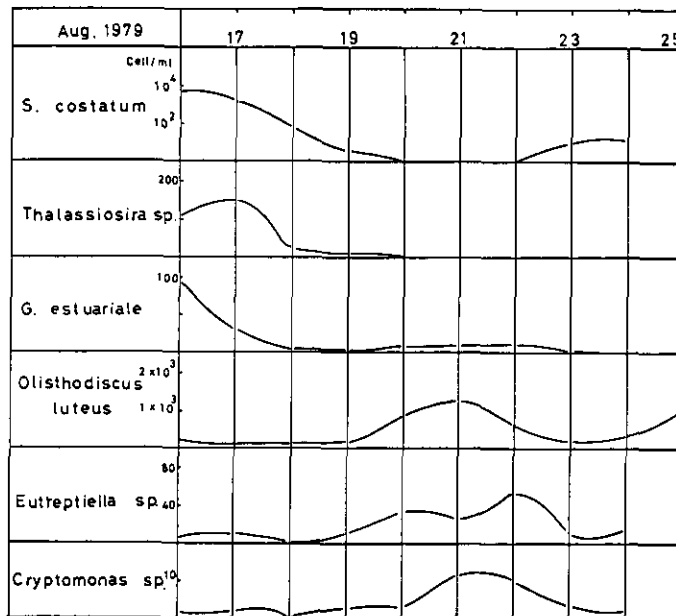


図 7 1979年8月16日から25日にかけての谷川港での植物プランクトン、6種の量的変化(各々の種の細胞密度はサンプリング地点4層でえられた値の平均値を示す。)

Fig. 7 Population density of six dominant species in the phytoplankton of Tanigawa fishing port on August 16-25, 1979  
Cell density of each species is shown in a mean value obtained from four different layers at sampling station

### 3.2 *Olithodiscus luteus* の日周鉛直移動

#### 3.2.1 谷川港に於ける *O. luteus* の鉛直移動

*O. luteus* の個体群密度が増加し、赤潮発達期に相当する'79年8月25日から26日にかけて谷川港で昼夜観測を実施した。この時の水温、塩分、溶存酸素量の経時変化を図8に示した。水温と塩分は25.0~27.1 °C, 32.75~33.17 ‰の範囲を各々推移している。ただ両者の鉛直変化は少なく、水温の鉛直差が最大で1.2 °C, 塩分のそれは0.21 ‰に過ぎない。一方、溶存酸素量の時間変化では25日の日中に光合成作用の影響を受け上層水が過飽和状態となるのに対し、日没後は急速に飽和度が減少し、表層水から底層水に至るまで100%を下回るようになる。酸素飽和度の最小値は20時の底層水に於ける36%である。谷川港では夜間、溶存酸素量の低下が著しく、その影響は翌朝(26日, 09時)の酸素飽和度にまで及んでいる。

図9はNH<sub>4</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N, NO<sub>3</sub>-N, 並びにPO<sub>4</sub>-Pの時間変化を表したものである。図から分かるように無機態窒素ではNH<sub>4</sub>-Nの濃度変化が著しいのに反して、NO<sub>2</sub>-NやNO<sub>3</sub>-Nは各々0.8~1.4 μg-at/l, 2.0~4.4 μg-at/lの濃度レベルを維持し、値の変動が少ない。25日の16~19時および26日の06~09時にはNH<sub>4</sub>-Nが4.0 μg-at/l以下に減少している。PO<sub>4</sub>-P濃度は0.56~1.88 μg-at/lの範囲を推移し、25日の15時30分で表底層間の濃度差が大きくなって現れている。

図10に *O. luteus* 細胞数, Chlorophyll *a*, 水中照度の経時変化を示す。*O. luteus* の個体群密度とChlorophyll *a* 濃度の変動から *O. luteus* は日中、上層水中に集積し、夜間は底層水中に移動することが分かる。夜間の上層水は細胞密度が100 cells/ml, Chlorophyll *a* 濃度で10 μg/l以下に各々減少する。生息密度の極大層とChlorophyll *a* 濃度の時間変化から *O. luteus* の浮上速度を求めると、1.0~1.3 m/hとなる。この浮上現象は夜明け前の4時過ぎに発現しており、その時 *O. luteus* が濃密に分布する底層水の照度レベルは照度計の検知感度以下(<1 lx)である。

一方、表層から底層への降下は日没以前に始まっており、下降速度は0.2~0.3 m/hと浮上のそれより緩やかになっている。

このように *O. luteus* の鉛直移動は光刺激の発現および消失に先立って開始されていることから、本種の浮上・下降等の垂直運動については単に藻の走光性だけでなく、概日周期を有する Rhythm 性を考慮しなければならないことが分かる。

#### 3.2.2 躍層形成時の鉛直移動

図11に躍層形成時の *O. luteus* の鉛直分布についての観察結果を示す。観測は大阪湾中部の泉佐野港奥部の地点(水深8.4 m, 図1)で'80年6月16日23時15分と翌17日09時40分に実施した。泉佐野港では *O. luteus* による赤潮が同月13日頃から全面に発生していた。23時15分の観測では細胞密度の極大層は4 m層に見られるが、5および6 m層にも各々 $7.4 \times 10^3$ ,  $4.7 \times 10^3$  cells/mlの密度で生息している。ところが、翌日の09時40分には個体群の高密度層は水深4 m以浅の上層に移動し、表層・1 m・2 m・および4 m層では各々 $8.4 \times 10^3$ ,  $9.7 \times 10^3$ ,  $1.4 \times 10^4$ ,  $2.2 \times 10^4$  cells/ml

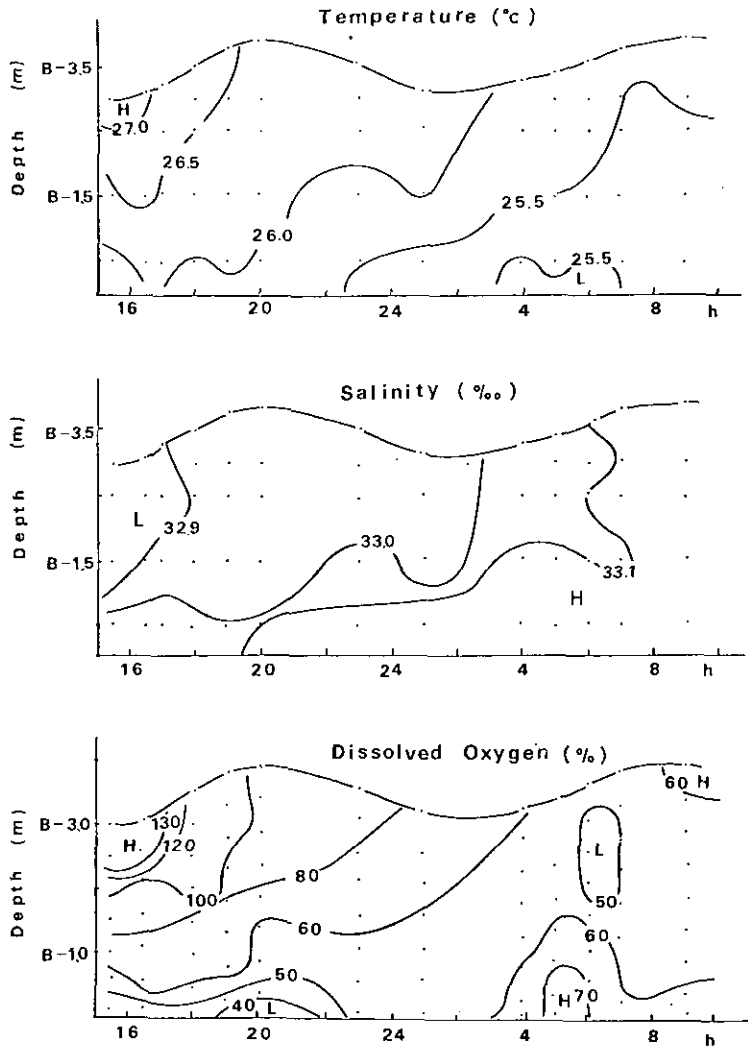


図 8 谷川港の水溫，塩分，DOの分布の縦断面図  
(8月25日15:00~8月26日10:00)

Fig. 8 Profile of temperature, salinity, and dissolved oxygen obtained at 0.5-3.0 h intervals for 17.5 h from Tanigawa fishing port on August 25-26, 1979

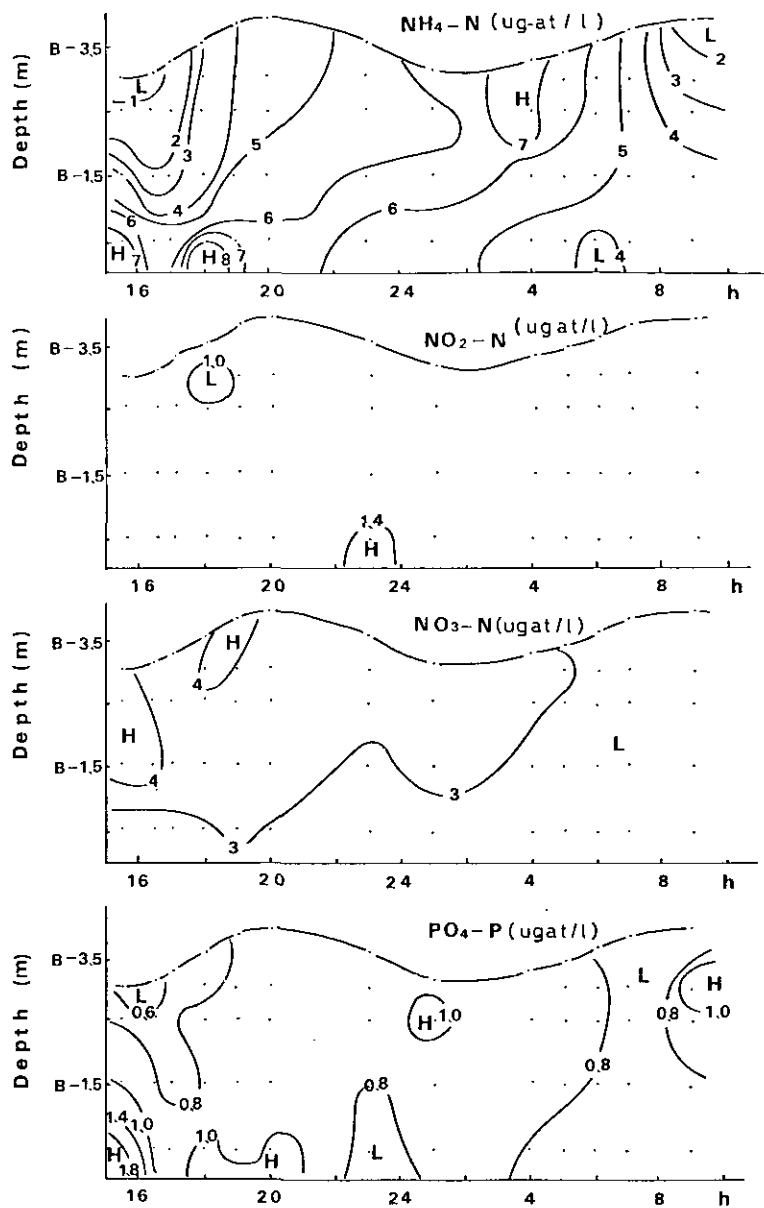


図 9 谷川港の  $\text{NH}_4\text{-N}$ ,  $\text{NO}_2\text{-N}$ ・ $\text{NO}_3\text{-N}$ ,  $\text{PO}_4\text{-P}$  の分布の縦断面図  
(8月25日 15:00~8月26日 10:00)

Fig. 9 Profile of inorganic phosphorus and nitrogen obtained at 0.5-3.0 h intervals for 17.5 h from Tanigawa fishing port on August 25-26, 1979

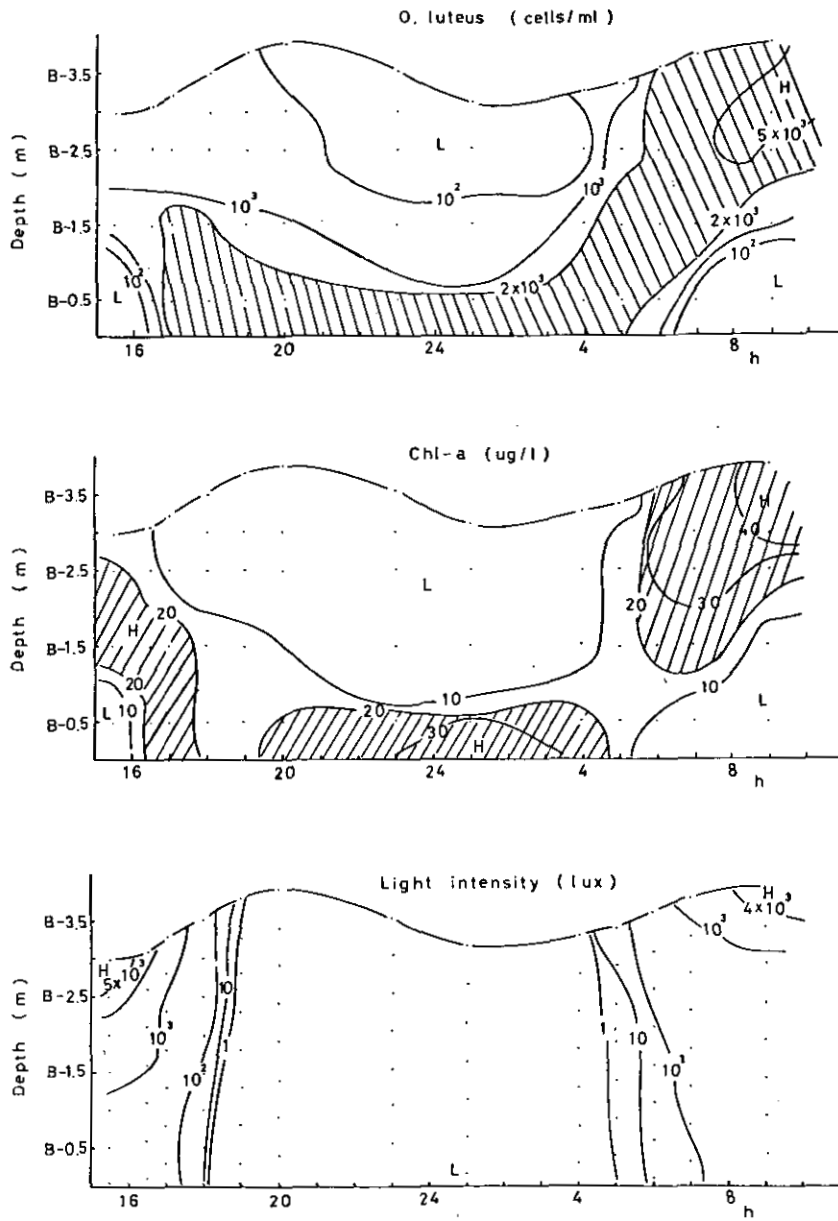


図 10 谷川港での *Olisthodiscus luteus* の垂直移動  
(1979年8月25日15:00~8月26日10:00の間, 0.5~3時間間隔で観察)

Fig. 10 Vertical migration of *Olisthodiscus luteus* obtained at 0.5-3.0 h intervals for 17.5 h from Tanigawa fishing port on August 25-26, 1979

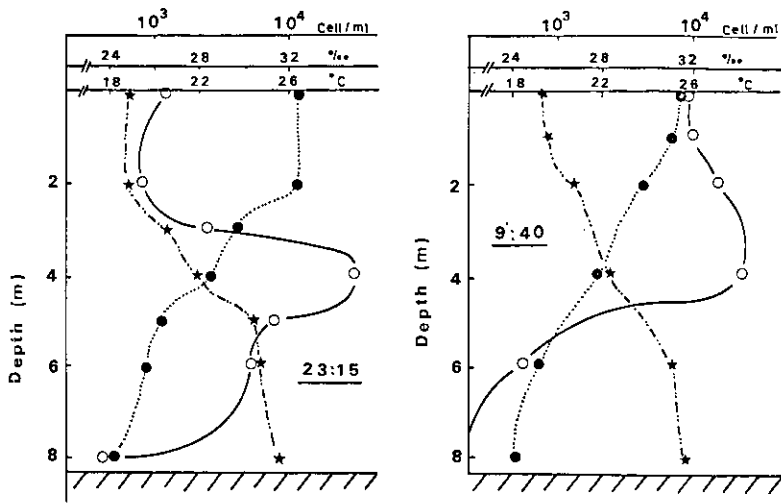


図 11 1980年6月, 泉佐野港での水温, 塩分, *Olisthodiscus luteus* の垂直分布,  
 左図: 夜間23時15分に測定. 右図: 翌朝9時40分に測定  
 ○ *Olisthodiscus luteus* の細胞数  
 ● 水温  
 ★ 塩分

Fig. 11 Vertical distributions of temperature, salinity, and *Olisthodiscus luteus* at Izumisano harbor, Osaka Bay on June, 1980

Data of left figure obtained at mid night (23:15) and those of the right in the next morning (09:40), respectively.

- ; number of cells in *O. luteus* (cells/ml)
- ; temperature (°C)
- ★; salinity (‰)

の細胞数を記録した。

表層と, 夜間に本種が  $4.7 \times 10^3$  cells/ml の生息密度で分布した6m層との水温および塩分の鉛直差は, 23時15分; 6.6°C, 5.9‰, 又09時40分では6.5°C, 5.7‰にも及んでいる。

これらの事実から *O. luteus* の赤潮個体群の一部は発達した躍層を突破して日周鉛直移動を行うことが推察される。

なお, 両時間とも, 水深4m層に於いて細胞密度の極大層を形成しているが, 躍層下端に近いこの層では浮上・下降運動に伴うプランクトンの trap が著しかったのであろう。

### 3.3 *O. luteus* の増殖制限物質

*O. luteus* の赤潮が発生している海域の海水を採取し, (*O. luteus*  $1.8 \times 10^4$  cells/ml, 全プランクトン数に対する *O. luteus* の細胞数百分率が約90%) その濾過液に栄養塩・ビタミン・金属類・キレート物質等を添加して本種の増殖特性を調べた。コントロールとして用いた試験海水の塩分・



NH<sub>4</sub>-N・NO<sub>2</sub>-N・NO<sub>3</sub>-N並びにPO<sub>4</sub>-P濃度は各々、24.0%, 19.1, 2.0, 5.2, 0.36 μg-at/lであった。

得られた収量を図12に示した。各計数値は3例平均値で表してある。

図から分かるようにコントロール海水（濾過海水）にN・P・ビタミン類・EDTA等を添加しても収量の増加は認められない。一方、コントロール海水に P II metal を加えると細胞数が 1 × 10<sup>4</sup> cells/ml まで増加した。そこで P II metal を構成する FeSO<sub>4</sub>・7H<sub>2</sub>O, ZnSO<sub>4</sub>・7H<sub>2</sub>O, MnCl<sub>4</sub>・4H<sub>2</sub>O, CoSO<sub>4</sub>・7H<sub>2</sub>O 等と, CuSO<sub>4</sub>・5H<sub>2</sub>O・Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>・2H<sub>2</sub>O を各々 P II metal および f/2 metal に於ける濃度と等しくして単独に添加してみたところ、P II metal 添加時の収量増加を FeSO<sub>4</sub>・7H<sub>2</sub>O の添加で賄えることが判明した。即ち、コントロール海水に鉄を加えると、*O. luteus* 細胞数の著しい増加が認められた。これらの事実は *O. luteus* にとって赤潮海水中の増殖制限物質は N, P 等の栄養塩類ではなく、鉄であること、並びに本種による赤潮の発達・拡大に際しては海水中に於ける鉄の存在が重要な役割を果たすことを示している。

#### 4. 考 察

谷川港では *O. luteus*, *Eutreptiella* sp. 並びに *S. costatum* を中心とする珪藻群集等の中で短期的な種の遷移が観察された。これらの種はしばしば場を独占し、赤潮として出現した。

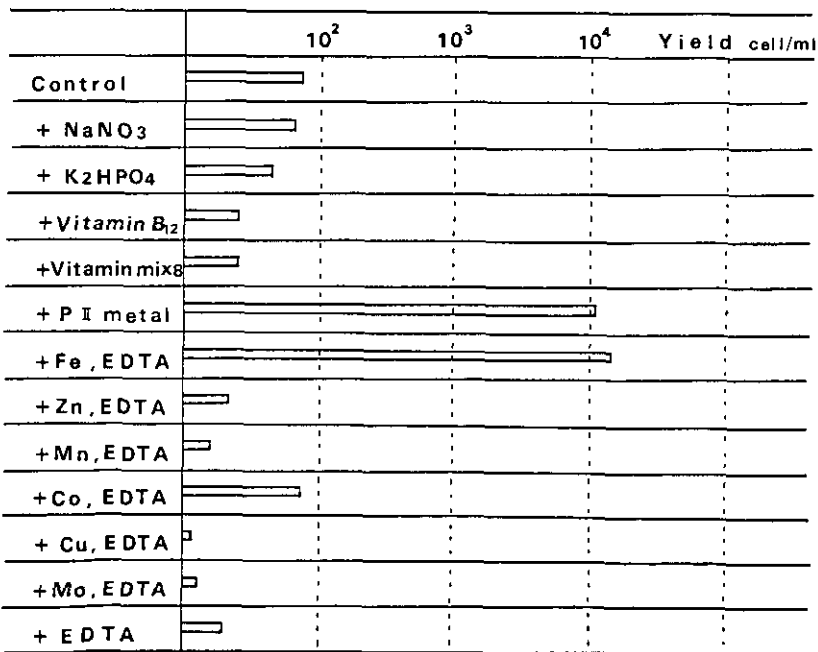


図 12 栄養塩を強化した海水中的の *Olisthodiscus luteus* の増殖量

Fig. 12 Yield of *Olisthodiscus luteus* in seawater enriched with various nutrients

谷川港で出現した赤潮が、港内での生物群集の増殖に基づく現象なのか、それとも港外で発達したプランクトン群集が海水の交換に伴い港内に流入したことに起因するのかを区別してみた。

表2に'78年・'79年の大阪湾南東部海域に於ける主要出現プランクトンを示す。湾南東部海域と谷川港との卓越種が時間的に一致する場合、谷川港の赤潮群集は港外から由来したと推測されるのに対し、両者の主要出現種が異なれば、谷川港内の赤潮は内部で独自に増殖・発達したと考えることができる。

表2と図2とから港内の赤潮生物と湾南東部海域の優占種との出現日時がほぼ一致するのは、*S. costatum*・*Thalassiosira* sp.・*Nitzschia seriata*・*Leptocylindrus minimus*などの珪藻、および *Chattonella* sp.・*Gyrodinium estuariale* 類似種・*Prorocentrum micans*・*Cricosphaera roscoffensis* などの鞭毛藻である。一方、両者に時間的な共通点が見い出せないのは *O. luteus*・*Eutreptiella* sp.・*Gymnodinium nelsonii*・*Oltmannsiella* sp.・*Gyrodinium* sp.・*Cryptomonas* sp.・不明鞭毛藻2種となる。(且し、谷川港で'78年6月上旬および'79年6月15日に出現した *O. luteus* の bloom を除く。)

したがって港内増殖タイプの赤潮プランクトンは *O. luteus*・*Eutreptiella* sp.・*Gymnodinium nelsonii*・*Oltmannsiella* sp.・*Gyrodinium* sp.・*Cryptomonas* sp.・不明鞭毛藻2種らの藻であり、その他のプランクトンによる赤潮は港外からの高密度群集の加入によって結果的に海面が赤潮状態を呈した可能性が強い。

一方、種類別の生息密度を継続的に観察した結果(図3)から、細胞数の増減傾向が類似する種類は *O. luteus* と *Eutreptiella* sp.、又細胞数の変動が相反する種類は *O. luteus* と *S. costatum* であることが判明した。この関係は主要個体群密度の日変化(図7)に於いても認められた。

これらの事実から、共に港内増殖型のプランクトンである *O. luteus* と *Eutreptiella* sp. とは基本的に共存可能な種間関係を示すのに対し、港外に初期発生域を有する *S. costatum* と *O. luteus* とは拮抗の関係にある競合種であることが分かる。このように谷川港ではプランクトンの発生・増殖に於ける起源の相違が港内での種間関係に反映され、群集構造の推移に影響を及ぼしている。

*O. luteus* と *S. costatum* との競合関係については Pratt (1966) が *O. luteus* から代謝された *S. costatum* の増殖阻害物質の影響を指摘している。又内田(1977)は渦鞭毛藻の1種 *Prorocentrum micans* が珪藻の生長を阻害する物質を分泌し、この物質は高分子量成分から構成されて、オートクレーブ処理によって失活することを報告している。

ただ、日中は表層に集積し、夜間は底層へ移動する *O. luteus* と鞭毛を持たず、移動能力に乏しい *S. costatum* との種間競合を代謝産物の阻害効果だけでは上手に説明できない。更に、*O. luteus* の代謝産物による *S. costatum* の増殖抑制効果はバッチ培養系に於いて非常に高密度 ( $> 1.0 \times 10^5$  cells/ml) に本種を培養した時の濾過海水でのみ認められており、この個体群密度は谷川港で赤潮を形成した時の密度より相当高い。この点に関して、1979年8月16~25日の連日観測結果は興味深い事実を提起すると言えよう。即ち、*S. costatum* を主体とする珪藻群集から *O. luteus* への遷移はプランクトン現存量の小さい外海系水との海水交換に伴って発現している。外海系水の流入は谷

表 2 谷川港近海での優占種 (1978年5月~9月, 1979年5月~8月)

Table 2 Predominant organisms in the region near by Tanigawa fishing port, South-eastern part of Osaka Bay from May to September, 1978 and from May to August, 1979

1978	Dominant organism	Maximum density (cell/ml)	1979	Dominant organism	Maximum density (cell/ml)
May 8	<i>Gyrodinium estuariale?</i>		May 18-23	<i>Skeletonema costatum</i> <i>Chaetoceros curvisetus</i> <i>Asteromonas</i> sp. <i>Eucampia zodiacas</i> <i>Prorocentrum minimum</i>	$5.3 \times 10^3$ $4.0 \times 10^3$ $2.4 \times 10^3$
23	<i>Gyrodinium estuariale?</i> <i>Asteromonas</i> sp. <i>Eutreptiella</i> sp.			29	<i>Prorocentrum minimum</i> <i>Skeletonema costatum</i> <i>Gyrodinium estuariale?</i>
29	<i>Gyrodinium estuariale?</i> * <i>Prorocentrum minimum</i>		Jun. 6	<i>Gyrodinium estuariale?</i> * <i>Rhizosolenia delicatula</i> <i>Prorocentrum micans</i>	
Jun. 2	<i>Olisthodiscus luteus</i> * <i>Gyrodinium estuariale?</i> * <i>Skeletonema costatum</i>				
5	<i>Skeletonema costatum</i> <i>Olisthodiscus luteus</i>	$2.4 \times 10^3$ 300	12	<i>Olisthodiscus luteus</i> * <i>Thalassiosira</i> sp. <i>Prorocentrum micans</i> <i>Skeletonema costatum</i>	
12	<i>Thalassiosira</i> sp.	$4.0 \times 10^3$			
27	<i>Prorocentrum triestinum</i>	240	18	<i>Thalassiosira</i> sp. <i>Skeletonema costatum</i> <i>Olisthodiscus luteus</i> * <i>Listodesmium</i> sp. <i>Prorocentrum micans</i> *	$5.0 \times 10^3$ $3.0 \times 10^3$ 480 140
Jul. 3	<i>Skeletonema costatum</i> <i>Nitzschia seriata</i> * <i>Thalassiosira</i> sp. *	$3.2 \times 10^3$ $2.6 \times 10^3$ $2.5 \times 10^3$			
10	<i>Thalassiosira</i> sp. * <i>Skeletonema costatum</i> * <i>Prorocentrum minimum</i> <i>Eutreptiella</i> sp.	$1.1 \times 10^4$	Jul. 9	<i>Prorocentrum micans</i> * <i>Skeletonema costatum</i> * <i>Chaetoceros decipiens</i>	$2.6 \times 10^3$ $3.5 \times 10^4$ $1.9 \times 10^3$
17	<i>Mesodinium rubrum</i>	220			
Jul. 24 - Aug. 17	<i>Chattonella</i> sp. *	$1.3 \times 10^3$	19	<i>Skeletonema costatum</i> * <i>Thalassiosira</i> sp. *	$3.0 \times 10^3$ $1.2 \times 10^3$
Aug. 21	<i>Skeletonema costatum</i> <i>Thalassiosira</i> sp.				
Sep. 9-13	<i>Thalassiosira</i> sp. <i>Skeletonema costatum</i>	$4.2 \times 10^3$ 830	30	<i>Chattonella</i> sp. <i>Rhizosolenia delicatula</i>	34 110
					Aug. 6
20	<i>Skeletonema costatum</i> <i>Rhizosolenia delicatula</i>		13	<i>Cricosphaera roscoffensis</i> * <i>Skeletonema costatum</i> * <i>Prorocentrum triestinum</i> <i>Thalassiosira</i> sp. <i>Prorocentrum minimum</i>	$9.0 \times 10^3$ $9.1 \times 10^3$ $1.7 \times 10^3$ $1.1 \times 10^3$ 400
					26
			20	<i>Chattonella</i> sp.	$6.8 \times 10^3$

川港に分布するプランクトン群集に新たな生育環境を提供したと考えることができる。

ところで、大阪湾では塩分の低い湾奥域ほど Chlorophyll *a* 濃度が高く、プランクトン現存量も大きい(城ら, 1978) この大きいプランクトン現存量はしばしば *S. costatum* を中心とする珪藻群集から構成され、本種は湾奥内湾系水の指標種と考えられている(矢持ら, 1978)。又、谷川港に於いて *S. costatum* などの珪藻による赤潮が長期間卓越した時は港内に低塩分水が支配的な時期と一致し(矢持ら, 1979)、湾奥内湾系水の継続的な影響が推察された。これらの結果を考え併せると、'79年8月16日に観察した *S. costatum* による赤潮は湾口部に近い谷川港に流入するまでに相当期間が既に経過した生物群集であると考えられる。したがって、この時の *S. costatum* の生理活性は培養藻の定常期細胞のそれに近い状態であったと予想される。

一般にプランクトンの増殖特性として、定常期に達した藻を新しい培養液に接種した場合、誘導期の長さは対数増殖期の藻を接種した時より当然長くなる。

このような状況で海水交換によって港内での個体群密度が低下すると共に、新たな生息環境が提供されたとしたら、*S. costatum* の増殖開始は遅れ他種との種間競争に負けてしまうであろう。

更に、渡辺(1982)の実験結果によれば生きた *S. costatum* の比重は1.15前後で相当重い。谷川港のように水深3m前後で躍層の未発達な海域では、遊泳能力に乏しく、比重の大きい *S. costatum* は底へ沈降し易いと考えられる。このような *S. costatum* の生理・生態的側面も谷川港に於ける本種の赤潮消滅に関与しているのかも知れない。

以上のことから谷川港での *S. costatum* 赤潮の終息に際しては、本種の生物的なマイナス要因(比重・生理活性)と港の海水交換・躍層の強弱などの物理的な影響とが相互に深く関係すると考えられる。

谷川港で最も赤潮の発生頻度が高い *O. luteus* の生理・生態的特性に注目してみよう。

*O. luteus* は広温・広塩分性の赤潮鞭毛藻(Tomas, 1978)で日中は表層に集積し、夜間は下方へ移動する。この日周鉛直移動は水温傾斜が6.5°C、塩分で5.7%の鉛直差を有する水塊に於いても観察された。植物プランクトンの鉛直移動については数種の赤潮鞭毛藻で確認されている(藤田ら1977; 米田, 1957)が、この内渦鞭毛藻の1種 *Cachonia niei* は1~2m/hの速度で垂直移動を行い、かつ5°Cの水温躍層を日周鉛直移動により通過する(Eppley *et al.*, 1968; Kamykowski and Zentara, 1977)。*O. luteus* の鉛直移動能力はこの *Cachonia niei* の運動能力に匹敵している。

次に、*O. luteus* の赤潮発達期の濾過海水に鉄を補強した液は、本種の増殖を著しく促進した。鉄の増殖促進効果については *Olisthodiscus* の Synonym と考えられている *Heterosigma* について本城(1974)も報告している。この鉄の増殖促進効果は、*O. luteus* による赤潮の発達・拡大に際し、鉄が極めて重要な役割を果たすことを期待させる。

一般に鉄などの金属元素は海水より底質中に豊富に存在する(城ら, 1974)。又、底層水が貧酸素化すると底泥の表層も嫌気性になる為、鉄が3価から2価に還元されて水中に溶出する機構(村上, 1975)が知られている。谷川港に於いて *O. luteus* の赤潮形成に至った'79年8月25~26日も底層水

中の酸素飽和度は低く、25日20時は36%の値を示すに過ぎない。したがって、底層水の貧酸素化に伴う底泥から直上水への鉄の溶出が起こっていたと考えても不思議ではない。

この溶出現象を夜間底泥直上に集積する(矢持, 未発表) *O. luteus* の生態特性とから、本種は個体群の発達に不可欠な鉄などの微量金属を日周鉛直移動によって下方へ移動した時、底泥直上水から摂取することが期待される。

さて、無機態栄養塩レベルが比較的高い谷川港では  $\text{NH}_4\text{-N}$  濃度の時間変化が顕著で、プランクトンによる取り込みの影響を反映した推移結果を示した(図9)。この  $\text{NH}_4\text{-N}$  濃度の低下は *O. luteus* が浮上した08時以降の表層水で著しく、光合成に伴う藻体中への取り込みを表している。他方、 $\text{NH}_4\text{-N}$  濃度の急激な低下に対して  $\text{NO}_2\text{-N}$  や  $\text{NO}_3\text{-N}$  はほぼ一定の濃度レベルを維持している。この変動に於ける相違は *O. luteus* が3種の無機態窒素の混在する場合、 $\text{NH}_4\text{-N}$  を選択的に吸収することを示唆している。

以上の調査・実験結果から、谷川港に於ける *O. luteus* 個体群の増殖機構として夜間、底層に移動した時増殖に不可欠な鉄などの微量金属類を底泥直上水から藻体中に取り込むと共に、日中は表層に浮上して光合成を営む機構が推察される。

そこで、日周鉛直移動の役割を吟味する為、表3に *O. luteus* 個体群の生長に関する透析膜実験結果(矢持, 未発表)の一部を示す。これは谷川港で *O. luteus* の赤潮が発達する時、現場の赤潮生物を透析 bag 内に封入し、表層垂下、底層固定、並びに日周鉛直移動に合せて、日没時は表層から底層に、又夜明け時は底層から表層へ人為的に移動させた三つのグループについて増殖量を比較した実験である。この場合、赤潮生物 *O. luteus* は透析膜に封入されている為実験開始時と同じ個体群であり、かつ現場環境の変化をある程度反映した状況での測定結果と見なすことができる。表から分かるように透析 bag を日周鉛直移動させた場合に、*O. luteus* の細胞数、SS、POC、PON等の増加が最大となる。底層に固定した透析膜内の *O. luteus* は光が生長の制限要因として作用し、増殖が抑制されたのであろう。この実験から得られた表層垂下と日周鉛直移動をさせた場合との増殖量の相違(鉛直移動>表層垂下)は、*O. luteus* 個体群の発達に際して日周鉛直移動の重要性を示唆するものであり、本種の増殖機構についての先の仮説を側面的に支持している。

従来、赤潮の発生機構としては水塊の鉛直混合に伴って下層の豊富な栄養塩類やビタミン・微量物質等の増殖促進物質が上層に供給され、これらの物質を表層水中に分布する赤潮プランクトンが取り込む為異常増殖が起こると考えられていた。事実、赤潮発生の前駆現象としての水塊の鉛直混合はしばしば観察される現象(矢持ら, 1978)である。ただ、*O. luteus* のように垂直運動の活発な鞭毛藻では生物自身が下方に移動し、増殖に不可欠な物質を摂取すると考えても不思議はない。谷川港に於ける一連の調査結果はこの推察の妥当性を示すものであろう。

ところで、渡辺ら(1982)は無菌・連続培養系に於いて *O. luteus* をP制限の環境で飼育し、本種が暗期にも無機態栄養塩( $\text{PO}_4\text{-P}$ )を藻体中へ取り込むことを明らかにした。この実験結果と現場海域に於ける本種の挙動とから、表層水中の無機態栄養塩レベルが減少し生長の制限要因にな

表 3 谷川港において 26.5 時間設置した透析膜内での *Olisthodiscus luteus* の増殖  
 Table 3 Growth of *Olisthodiscus luteus* in dialysis bags suspended for 26.5 h in the water of Tanigawa fishing port on August 21-22, 1980

	Cell density <sup>1)</sup> (cells/ml)	SS <sup>2)</sup> (ppm)	POC <sup>1)</sup> (mg/ml)	PON <sup>1)</sup> (mg/ml)
Initial value	20724	8.0 ± 0.44	3.73 × 10 <sup>-3</sup>	5.44 × 10 <sup>-4</sup>
Surface 26.5 h after	35973	15.9 ± 1.4	7.03 × 10 <sup>-3</sup>	9.10 × 10 <sup>-4</sup>
Bottom 26.5 h after	23193	11.6 ± 0.84	3.80 × 10 <sup>-3</sup>	6.71 × 10 <sup>-4</sup>
Diurnal vertical migration 26.5 h after	38369	19.9 ± 1.7	7.9 × 10 <sup>-3</sup>	10.4 × 10 <sup>-4</sup>

1); Result is expressed as mean value of three samples

2); Result is expressed as mean value and Standard Deviation of six samples

りうる場合にも、*O. luteus* は底層水中に含まれる豊富な栄養塩を夜間、利用することによって個体群の維持・増大をはかることが考えられる。

一方、*O. luteus* は日中、表層への集積が著しい。培養実験の結果では当初  $2.2 \times 10^4$  cells/ml であった表層水の細胞密度が集積作用に基づき  $4.2 \times 10^5$  cells/ml と約 20 倍増加している (渡辺・矢持他, 1982)。この集積効果と谷川港に於いて赤潮形成に至る個体群密度の最小値 (約  $5.0 \times 10^3$  cells/ml, 表層水) とを併せて考えるならば、赤潮発生時の water column 当たりの平均細胞密度はかなり減少する。赤潮現象は従来、その突然な出現性からプランクトンが異常な速度で増殖したものと考えられがちであったが、上記の結果は、*O. luteus* の発生から赤潮形成に至るに際し、著しく大きな増殖速度で生長する必要のないことを推察させる。

又、*O. luteus* の表層への集積は他の植物プランクトンにとっては照度の低下を招く為増殖のマイナス要因として作用するであろう。この点、*O. luteus* と共存関係にある *Eutreptiella* sp. は正の走光性を有し、日中は表層に集積する (岡市, 1969) 共通点を持つことは興味深い。

以上の結果から、谷川港で見られる *O. luteus* の周期的な赤潮発生は、表層への集積作用によって光合成を能率的に行うと共に、夜間底層へ移動し増殖に不可欠な鉄などの微量物質を摂取できる優位性から、本種個体群が港内で着実に増殖できたことに起因する現象と考えるのが妥当であろう。

赤潮生物として関心を集めている鞭毛藻類の日周鉛直移動の実態と役割を明らかにすることは赤潮発生機構を検討するに際し、極めて重要な課題であり、今後この方面に於ける調査・研究の発展が望まれる。

#### 謝 辞

本論文を終わるに際し、御指導と原稿の校閲を賜った国立公害研究所・渡辺正孝博士および渡辺

信博士に深謝の意を表します。又、本研究の遂行にあたり終始適切な助言を頂いた東海区水産研究所・本城凡夫博士に厚く御礼申し上げます。なお、本研究の一部は水産庁赤潮予察調査事業補助金によった。

## 引用文献

- 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.
- 藤田則孝・五十嵐輝夫・岩井拓郎・渡辺誠樹 (1977): *Prorocentrum micans* の垂直移動について. 宮城県気仙沼水試験報, 第3号, 46-54.
- 藤田則孝・五十嵐輝夫・岩井拓郎・渡辺誠樹 (1979): 気仙沼湾における赤潮プランクトンの遷移と環境. 宮城県気仙沼水試験報, 第5号, 114-137.
- 本城凡夫 (1974): 博多湾における赤潮発生機構に関する研究-IV, 赤潮発生期の内湾環境と発生要因. 東海区水研報, 第79号, 77-121.
- 城久・矢持進・安部恒之 (1974): 大阪湾に於ける重金属汚染の現況. 大阪水試験報, 第4号, 1-41.
- 城久・矢持進・安部恒之 (1978): 大阪湾の富栄養化に関する調査研究. 昭和51年度瀬戸内海赤潮予察調査報告, 水産庁, 9-67.
- Kamykowski, D. and Sora-Joan Zentara (1977): The diurnal vertical migration of motile phytoplankton through temperature gradients. *Limnol. Oceanogr.*, **22**, 148-152.
- 村上健 (1975): 底泥中の有機物質と水質汚濁. 公害と対策, 11(6), 623-629.
- 岡市友利 (1969): 海産 *Eutreptiella* sp. による青潮について. 日プ学報, 16(2), 115-121.
- Pratt, D. M. (1966): Competition between *Skeletonema costatum* and *Olisthodiscus luteus* in Nassagansett Bay and in culture. *Limnol. Oceanogr.*, **11**, 447-455.
- Tomas, C. R. (1978): *Olisthodiscus luteus* (*Chrysophyceae*). I. Effects of salinity and temperature on growth, motility and survival. *J. Phycol.*, **14**, 309-313.
- 内田卓誌 (1977): *Prorocentrum micans* Ehrenberg による珪藻阻害物質の分泌について. 日生態会誌, 27, 1-4.
- 渡辺信・木幡邦男・中村泰男・渡辺正孝 (1982): 赤潮鞭毛藻 *Olisthodiscus luteus* のリン酸制限下連続培養: その方法の確立と増殖の動力学解析. 国立公害研究所報告書, 第30号.
- 渡辺信・矢持進・木幡邦男・渡辺正孝 (1982): 赤潮鞭毛藻 *Olisthodiscus luteus* の垂直移動とリン酸摂取の日周期性. 国立公害研究所報告書, 第30号.
- 渡辺正孝 (1982): *Olisthodiscus luteus* と *Skeletonema costatum* の細胞密度の日周変動. 国立公害研究所報告書, 第30号.
- 矢持進・城久・安部恒之 (1978): 昭和52年度赤潮予察調査事業報告書 (昭和52年5月の連日観測結果), 水産庁, 69-89.
- 矢持進・城久・安部恒之 (1979): 赤潮多発期に於ける植物プランクトン組成とその推移について, 昭和53年度赤潮予察報告書 (瀬戸内海ブロック), 115-132.
- 矢持進: *Olisthodiscus luteus* に於ける日周鉛直移動の役割について, 未発表.
- 米田勇一・吉田陽一 (1957): 赤潮の生理生態学的研究-I. 赤潮プランクトンの垂直移動について(1). 日水誌, 23 (7 & 8), 405-409.

## 14. 気仙沼湾における赤潮発生環境

### Oceanographic Factors Associated with Red Tide Outbreaks in Kesenuma Bay

渡辺正孝<sup>1</sup>・渡辺 信<sup>1</sup>・木幡邦男<sup>1</sup>・原島 省<sup>1</sup>・中村泰男<sup>1</sup>・森 栄<sup>2</sup>

Masataka WATANABE<sup>1</sup>, Makoto WATANABE<sup>1</sup>, Kunio KOHATA<sup>1</sup>,  
Akira HARASHIMA<sup>1</sup>, Yasuo NAKAMURA<sup>1</sup> and Sakae MORI<sup>2</sup>

#### 要 旨

海水交換が少なく、富栄養化した、細長い、代表的な内湾である気仙沼湾の現地調査を1980年6月～11月に行った。

夏季における温度・塩分による強い成層の発達と、上層での湾口への流れ、下層での湾奥への流れが定常的に存在する。このような海洋構造に規定されて、DO, pH, chl-*a* は表層では高く、底層では低いというパターンを示す。特に底層でのDOの低下による嫌気的分解作用に伴い、最終産物であるNH<sub>3</sub>, PO<sub>4</sub>が増加し、さらに陸水からの供給と安定した成層構造とも相まって、NH<sub>3</sub>とPO<sub>4</sub>は表層と底層に多く、中層は少ないというパターンを示す。これに対してNO<sub>3</sub>+NO<sub>2</sub>は表層に多く、下層は少ない。10月以降は、密度不安定による強度の鉛直混合のため、生物量および化学量の鉛直分布は類似なものとなってくる。

このように気仙沼湾においては、栄養塩類、DO, PH, Chl-*a*, 従って藻類生産活動は温度、塩分による密度分布と流況によって決められる海洋構造に直接・間接的な支配を受けていることが明らかになった。

#### Abstract

A hydrographical and biogeochemical investigation was made in Kesenuma Bay, a semi-closed and eutrophic bay, in June to November, 1980. Here red tide outbreaks have been annually observed in July, August and September. During the summer period, the vertical mixing was relatively weak owing to the strong stratification in the bay. The density current (inflowing lower water and outflowing upper water) was confirmed to exist by the hydrographical data. Concentration of DO, pH and Chl-*a* were higher in the upper layer. NH<sub>3</sub>-N and PO<sub>4</sub>-P concentrations had a

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  
Water and Soil Environment Division, The National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
2. 東北大学 農学部 〒980 仙台市提通雨宮町1の1  
Faculty of Agriculture, Tohoku University, Amamiya, Sendai, Miyagi 980, Japan.



minimum in the middle layer reflecting both the polluted waste discharge in the surface layer and the ellutions from the bottom muds due to anaerobic decomposition, while  $\text{NO}_3\text{-N}$  and  $\text{NO}_2\text{-N}$  concentrations, which are not endproducts of anaerobic decomposition, were higher in the upper layer. From October on, biological and chemical characteristics were vertically uniform because of intense mixing by unstable density stratification. It was found that the characteristics of distribution of nutrients, DO, pH and Chl- $\alpha$  were controlled by the hydraulic structure in Kesenuma Bay.

## 1. はじめに

赤潮発生に關与する現象は、海域の物理的および化学的環境、生物種の構成環境、さらには赤潮藻類自身の増殖特性および集積特性にわたると考えられる。しかもそれらの諸要因による素過程の単なる重ね合わせとしてではなく、非線型的結合として赤潮現象が形成されていると考えざるを得ない。各素過程については制御実験系においてその機構を明らかにしている段階であるが、最終的な赤潮発生機構の解明のためには、現実の海域での物理的、化学的および生物的環境の観測を行い、赤潮発生環境と現場での把握を確立し、制御実験系での知見との整合性を検証することが現時点で必要なプロセスであると考えられる。

今回の調査に選んだ気仙沼湾は富栄養化した内湾であり、外海との海水交換の度合や成層の発達など赤潮発生の代表的な海洋構造を持っており、毎年赤潮が決まったパターンで発生するなど、赤潮発生とそれをとりまく海洋環境を調査する上で、良い条件を備えている。

観測は1980年6月より開始され、夏期には1か月2回、秋期～冬期には1か月1回の割合で行い、現在観測を継続中である。

本報告では、これまでに得られた赤潮発生期の1980年6月～11月までのデータと予備解析の結果を提示する。

## 2. 気仙沼湾の概況

気仙沼湾は奥行約10km、幅1kmほどの細長い湾であり、図1に示した様に湾口部は大島によってへだてられた東湾と西湾によって太平洋に通じている。西湾は浅く、水深10m内外であり、東湾は比較的深く、西湾との接合部まで30m近くの水深を保っている。したがって潮流は直進する西湾よりも、むしろ屈曲する東湾をう回して湾奥部に達する傾向がみられる。

湾奥部に陸水が集中的に流入しており、特に大川からの流入流量は約 $10^5 \text{m}^3/\text{d}$ と見積られている。この他に生活排水、水産加工場排水、魚市場排水等が流入しており、湾奥部を中心に富栄養化現象と赤潮発生がみられる。

藤田ら(1977)によれば気仙沼の一般的なパターンとして「珪藻を含む *Prorocentrum* 以外の種による赤潮」から「*Prorocentrum triestinum* による赤潮」そして「*Prorocentrum micans* による赤潮」へと遷移が起ることである。このように湾内での海洋構造、栄養塩供給、プランクトン種

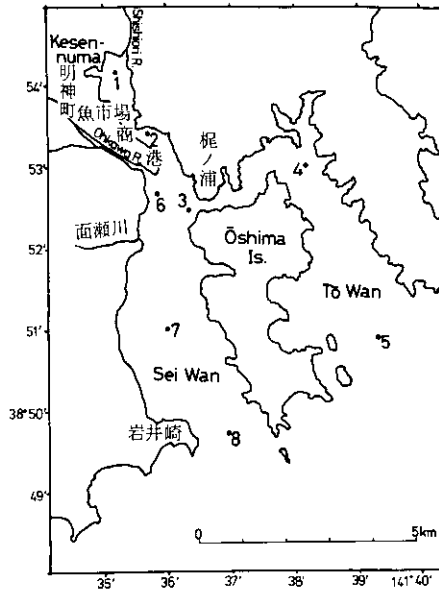


図 1 観測点  
Fig. 1 Sampling stations

の遷移, 等ある一定のパターンをもって1年間のサイクルを行っていることがうかがえる。

### 3. 観測方法およびデータ処理

図1に観測点の位置を示す。通常1回の観測には2日間を要し, 第1日目には湾奥から東湾にかけてst.1, st.2, st.3, st.4, st.5, の順に, 第2日目には湾奥から西湾にかけてst.1, st.2, st.6, st.7, st.8, の順にサンプリングを行う。測定の方法は二つの系統に分かれる。まず水質メータ(ハイドロラボ社)のセンサーを海中に下げることにより, 表層, 1m, 2m, 3m, 4m, 5m, 7.5m, 10m, 20m, 30mの深度における, i)温度, ii)電気伝導度, iii)溶存酸素量, iv) pHを現場測定した。

またバンドン採水器(10 l)により採水した海水を用いて, クロロフィルa, b, c, 栄養塩( $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ ,  $\text{NH}_4^+$ , Ortho-phosphate, DTP, TP)を測定し, 同時に動植物プランクトンの種の同定と, カウント数の定量を行った。具体的な方法は以下のとおりである。

1) クロロフィル: 下船直後, 試水1 lに炭酸マグネシウム懸濁液(5 g/l)を添加し, GF/C filterにて濾過した。濾紙は5°C以下に保存したまま研究所に持ち帰り, 直ちに吸光法(Strickland and Parsons, 1968)にてクロロフィルの定量を行った。

2) 栄養塩: 下船直後, 試水1 lをGF/C filterにて濾過し, 濾液を5°C以下に保存したまま研究所に持ち帰った。-20°Cで凍結保存し, 1週間以内に $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ ,  $\text{NH}_4^+$ , Ortho-pho-

sphate の分析に供した。この濾過海水試料の一部 (20ml) をとって、ペルオキシニ硫酸カリによる分解を行い (Menzel and Corwin, 1965), 試水中の有機リンを、オルトリン酸に変化させて、DTP 分析試料とした。TP は試水を 5℃ 以下に保存して研究所に持ち帰り、DTP と同様の処理を行って分析に供した。これら栄養塩の分析にはオートアナライザー (テクニコン社製 AA II 型) を用いた。オルトリン酸イオン、DTP、TP は Murphy and Riley (1962) 法、 $\text{NO}_2^-$  は Bendschneider and Robinson (1952) 法、 $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$  は銅カドミウムカラムを用いて試水中の  $\text{NO}_3^-$  を  $\text{NO}_2^-$  に還元して定量する Wood *et al.* (1967) の方法、 $\text{NH}_4^+$  はテクニコン社の方法 (Technicon, 1977) に基づき測定を行った。

3) 植物プランクトンの種と個体数の同定： グルタルアルデヒド 25% 溶液を、試水 1 l に 40 cc 添加・固定して、冷暗所に保存し研究所に持ち帰った。上述の試水 1 l を 50 倍に濃縮 (沈殿法) し、プランクトンカウンティングチャンバー (1 ml) で植物プランクトンの種の同定と細胞数をカウントした。

以上のように各 station で各層ごとに測定されたデータをもとに、木幡・渡辺 (1981) が行った方法を用いて、水温、塩分、DO、PH、Chlorophyll *a*、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 、TP、DTP、 $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$ 、 $\text{NH}_4^+$  の鉛直二次元分布図を作成し、細長い内湾の代表的な気仙沼湾での鉛直二次元構造の特質を表現するとともに、その全体像の把握に努めた。

#### 4. 観測結果

プロットされた鉛直二次元分布図より、気仙沼湾の 6 月～11 月までの変動パターンの概要を知ることができる。

##### 4.1 海況

生活排水、水産加工場排水、魚市場排水等が集中的に流入している湾奥、とくに明神崎以上については低塩分量の分布がみられ、陸水流入による高栄養化水塊を形成している。夏期には海面での加熱による鉛直水温成層の形成と、陸水の流入による塩分成層の形成と相まって、6 月 26 日～9 月 7 日まで強い温度・塩分成層が形成されていることがわかる。流入した陸水は表層を湾口へと流れて行き、一方外海の高塩分海水が下層を湾奥へと流れていく、いわゆる密度流に基づく counter current が形成される。これに潮汐流が重ね合わされて、気仙沼湾の夏場での流況が形成されるわけであるが、気仙沼水産試験場での流動調査によれば、上層においては潮汐による往復運動がみられるが、長期間平均流 (もしくは net flow) としては湾奥から湾口への流出があり、下層においては湾口から湾奥への流入する流れが定常的に存在する (渡辺ら, 1977)。

9 月 29 日以降については海面での冷却による密度不安定に基づく鉛直対流によって成層は破壊されていくのがわかる。

通常夏期の水温は表層で 25℃、下層で 20℃ 程度に上昇するが、1980 年の夏期は特に冷夏で、表

層で20℃、下層で15℃程度となり、強い成層を形成していたが、水温は上下層とも例年より約5℃低い状態であった。

#### 4-2 水質

DO, pH, Chl-*a* の分布・変動：DO, pH, Chl-*a* は互いに対応した分布・変動を示すといわれている。即ち Chl-*a* 量の多い層では、光合成作用で炭酸が失われることでpH値が上昇し、又酸素が放出されることでDO量は高くなるが、Chl-*a* 量の少ない層では呼吸が光合成をうわまわる為、酸素が消費されてDO量は低くなり、又炭酸ガスが放出・溶解する為にpH値は低下してくるとされている。このような関係は温度・塩分成層が発達して上下混合がほとんどない時期に顕著であり、表層での豊富な Chl-*a* 量、高いDO量、pH値に対して底層は透明度の低下による光の不足で Chl-*a* 量は減り、分解層の発達でDO量、pH値ともに低くなっていく。

前述したように、気仙沼湾では6月～9月初めにかけて湾奥部 St.1 で温度・塩分の成層が発達しており、その時期の DO, pH, Chl-*a* 分布をみると表層に高く、底層に低いという上記した典型的なパターンを示している。特に7月末に最も顕著であり、表層でDO = 14.2 ppm, PH = 8.4, Chl-*a* = 14.8～24.7 μg/l に対して、底層でDO = 1.6 ppm, PH = 7.5, Chl-*a* = 3.6 μg/l という分布を示していた。9月末以降は成層が破壊され、循環期に入る為、DO, pH, Chl-*a* の垂直差はなくなる。このように、DO, pH, Chl-*a* の分布の大略は、前項で述べた海域の物理構造によって規定されていることがわかる。

栄養塩、特に N, P の分布・変動：栄養塩の分布・変動は二つの因子によって引き起こされると思われる。一つは河川や都市・工場排水からの負荷によるものと、もう一つは底泥からの回帰による負荷である。前者は淡水である為に主に表層の濃度変化に影響を及ぼし、時として降雨により河川の流量が増加したり突発的な排水負荷量の増大によって、局所的な栄養塩濃度の変化を起こす場合がある。後者は主に底層でのバクテリアの生命活動による為、その活動を規定する因子によって負荷量や分布がきまってくるといえる。

気仙沼湾の栄養塩の分布をみると、湾奥部 St.1 で最も栄養塩が豊富であり、湾口部になるにつれて栄養塩は少なくなる。これは湾奥部が排出の影響を直接受けていることによることと、6～9月にかけての温度・塩分成層の発達によって底泥からの栄養塩の回帰が多くなることによると考えられる。即ち、湾奥部 St.1 では塩分・温度成層が最も強く発達しており、それに伴って底層ではDOが著しく低下して嫌気の状態になることで嫌気性バクテリアによる分解作用が活発化して、底泥からの無機栄養塩の溶出が増加してくる現象が現れる。特にNとPに関して、嫌気性バクテリアの分解作用の最終産物であるNH<sub>3</sub>、PO<sub>4</sub> に関してその現象は顕著である。従って、成層期には湾奥部 St.1 のように、排水の影響と底泥からの溶出による影響を受けるところでは、NH<sub>3</sub> と PO<sub>4</sub> は表層と底層に多く、中層に少ないという分布を示している。これに対してNO<sub>3</sub>+NO<sub>2</sub> の分布は成層期には全期間を通して表層に多く下層に少ないというパターンを示すが、このことは底層が嫌

氣的状態になっている為、底泥の窒素化合物は嫌気性バクテリアによってほとんど $\text{NH}_3$ まで分解されて溶出してくることに起因する。従って、成層期における $\text{NO}_3 + \text{NO}_2$ の供給はほとんど排水ないしは河川からの流入負荷により行われているといえる。

このような栄養塩の分布は9月以降の循環期に入ると失われ、上下一様の分布を示すようになってくる。従って栄養塩の分布・変動も、DO, pH, Chl-aと同様に海域の物理構造で大略は規定されているといえる。以上のことから、海洋の生態系の中では、様々な素過程が独立して遂行されているのではなく、むしろ温度・塩分による密度分布と流況によって決められる物理的構造によって各々の素過程の動向が互いに関連しながら規定されていることがわかる。

このような構造は気仙沼湾で例年みられる現象でもあり(五十嵐ら, 1976; 藤田ら, 1977), 又1980年度の調査期間中, N, P に関しては常に豊富な状態にあり, にもかかわらず赤潮が例年ほど発生しなかったのは, 後述するように夏期の低温が原因となっているのではないかと思われる。

#### 4-3 植物プランクトン優占種の遷移:

気仙沼湾での植物プランクトンの優占種の遷移は、通常5~7月上旬にかけての「珪藻を含む *Prorocentrum* 以外の種」——特に最近では *Heterocapsa triquetra* が優占して赤潮状態になることが報告されている——から、7月中旬~8月上旬にかけての「*Prorocentrum triestinum*」,そして8月中旬から「*Prorocentrum micans*」が優占種となって10月上旬までその種の赤潮状態が続くというパターンを示すことが報告されている(藤田ら, 1977)。

1980年の6月下旬~9月下旬までの植物プランクトン優占種の遷移は以下のようなものである。6月下旬には *Heterocapsa triquetra* がSt. 1で優先種となって赤潮状態となっていたが、7月上旬になると *Heterocapsa triquetra* は激減し、かわって *Skeletonema costatum* が増加し、8月末まで優先種となっていた。この期間の *Skeletonema costatum* は7月下旬にはSt. 2, 3で最高  $3.1 \times 10^4$  cells/mlと赤潮状態になり、8月上旬に  $0.4 \times 10^4$  cells/mlと減少したが、8月下旬には再び  $1.2 \times 10^4$  cells/mlと増加していた。例年7月~8月にかけて大発生し赤潮を形成する *Prorocentrum triestinum* は8月下旬にSt. 1の表層で600 cells/mlの細胞数を示したのが最高で、9月のサンプルにはその出現を捉えることはなかった。さらに例年8月中旬より赤潮状態となる *Prorocentrum micans* の出現を捉えることはできず、代わって *Skeletonema costatum* が発生し、続いて8月下旬より *Pyramimonas* が出現し、9月下旬には優占種となった。しかし赤潮状態になる程度には増加していない。

1980年に *Prorocentrum triestinum*, *Prorocentrum micans* の赤潮発生が見られなかった理由は不明であるが、海洋構造、栄養塩類の分布など例年と特に変わったところはなく、又非常に高栄養化した内湾であり、栄養塩類濃度も制限要因となる程近くはない。ただ例年と大きく異なる点は、4-1で述べたごとく、水温は上下層とも例年より約5℃低く、20℃(上層)および15℃(下層)となっており、*Prorocentrum micans* の最適温度(20℃~25℃)(Iwasaki, 1979)より低い。特に

*Prorocentrum* は垂直移動を行い夜間底層にいることが観測結果より知られているが、例年は上層 25℃、下層 20℃ で、上下層とも最適温度範囲内であったのに対し、1980年夏期は下層 15℃ であり、表層を除いてはすべて最適温度により低い範囲にあった。これはあくまで推論であり、現在その原因を検討中である。

## 5. 結 論

海水交換が少なく、富栄養化した細長い内湾であり、夏季における温度・塩分による強い成層の発達と、鞭毛藻による赤潮発生という定常的パターンの見られる気仙沼湾の現地調査を1980年6月～11月まで行った。6月～9月において温度・塩分による強い成層の発達と、上層での湾口への流れ、下層での湾奥への流れが定常的に存在し、それから9月下旬の対流期へと移行していく。このような海洋構造に規定されて、DO, pH, Chl-*a* は表層では高く、底層では低いというパターンを示す。気仙沼湾における栄養塩類の供給としては陸水からのものと底泥からの回帰がある。特に底層でのDOの低下により嫌気性バクテリアによる分解作用にともない、最終産物である NH<sub>3</sub> と PO<sub>4</sub> が増加する。このように陸水と底泥からの供給と、安定した成層構造とが相まって、NH<sub>3</sub> と PO<sub>4</sub> は表層と底層に多く、中層は少ないというパターンを示す。これに対して NO<sub>3</sub> + NO<sub>2</sub> は表層に多く、中層は少ない。以上のように、栄養塩、DO, pH, Chl-*a* の分布・変動は海洋構造によって大略は規定されており、従って海洋生態系も同様に温度・塩分による密度分布と流況によって決められる物理構造によって、直接又は間接的に支配されていることが明らかになった。

例年見られる5～7月上旬での珪藻を含む *Prorocentrum* 以外の種から、7月中旬～8月上旬にかけての *Prorocentrum triestinum* として8月中旬からの *Prorocentrum micans* の赤潮発生パターンが見られなかったのは、夏期の低温（上下層とも例年より5℃低い）が原因となっていたと思われる。

## 引 用 文 献

- Bendschneider, K. and R.J. Robinson (1952): A new spectrophotometric determination of nitrate in sea water. *J. Mar. Res.*, **11**, 87-96.
- 藤田則孝・五十嵐輝夫・渡辺誠樹 (1976) : 昭和49年気仙沼湾に発生した赤潮, *Prorocentrum micans* について. 宮城県気仙沼水産試験場研究報告, 第2号, 66-75.
- 藤田則孝・五十嵐輝夫・岩井拓郎・渡辺誠樹 (1976) : 気仙沼湾における赤潮の分布および出現頻度について. 宮城県気仙沼水産試験場研究報告, 第3号, 38-45.
- Iwasaki, H. (1979): Physiological ecology of red tide flagellates. In *Biochemistry and Physiology of Protozoa*. Ed. M. Levandowsky and S.H. Hutner. Vol. 1, Academic Press.
- 五十嵐輝夫・藤田則孝・広沢一郎 (1976) : 気仙沼湾の環境 - 1, 昭和48年度の水質について. 宮城県気仙沼水産試験場研究報告, 1-27.
- 本幡邦男・渡辺正孝 (1981) : 海洋環境データの鉛直二次元補間法について. 国立公害研究所研究報告, 第30

号,

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.

Strickland J.D.H. and T.R. Parsons (1968): A practical handbook of sea water analysis. Fish. Res. Bd. Canada. Bull., No. 167, 311 pp.

Technicon Method (1977): No. 337-14W/B

渡辺誠樹・五十嵐輝夫・藤田則孝・関二郎・郷古富雄・須田善治 (1977) : 気仙沼湾西湾の海水交流について, 宮城県気仙沼水産試験場研究報告, 第3号, 56-77.

渡辺誠樹・五十嵐輝夫・岩井拓郎・藤田則孝 (1978) : 気仙沼湾奥部の富栄養化機構. 宮城県気仙沼水産試験場研究報告, 第4号, 59-75.

Wood, E.D., F.A.J. Armstrong and F.A. Richards (1967): Determination of nitrate in sea water by cadmium-copper reduction to nitrite. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, **47**, 23-31.

#### 謝辞

本研究を遂行するに当たり, 多大なる御便宜をお計り下さった宮城県気仙沼水産試験場 渡辺誠樹氏, 五十嵐輝夫氏, 藤田則孝氏, 及び筑波大学 原慶明博士に厚く御礼申し上げます。

付録 - I

鉛直二次元分布図

温度, 塩分, DO, PH, Chl-a, T.P. PO<sub>4</sub>-P, DTP.

上段が東湾 (St. 1, 2, 3, 4, 5)

下段が西湾 (St. 1, 2, 6, 7, 8)

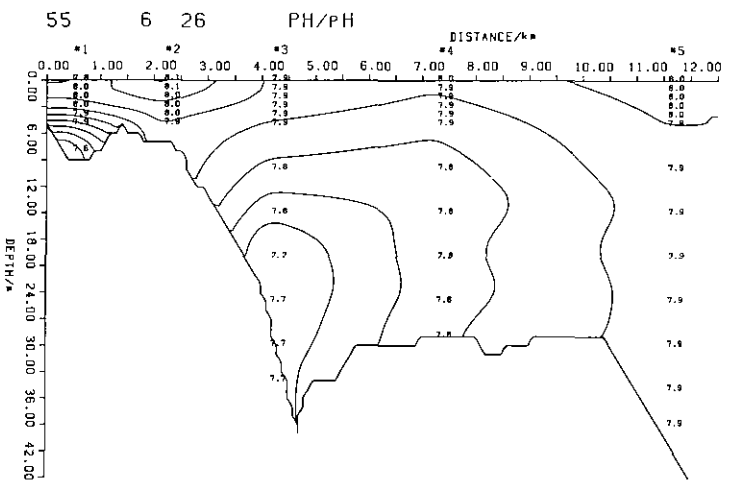
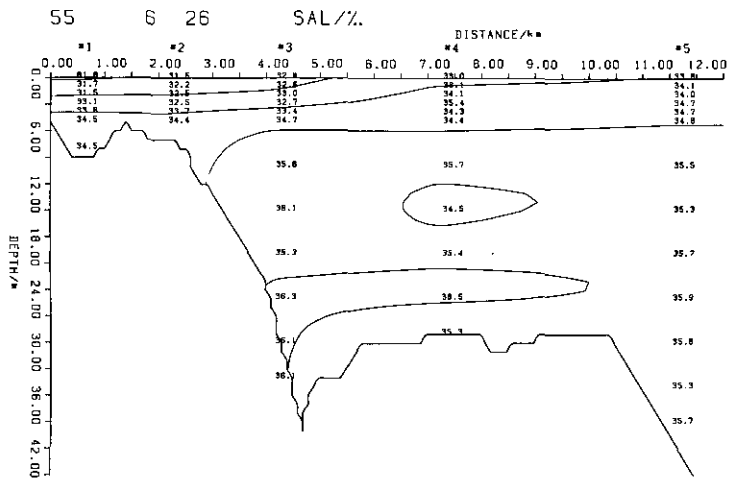
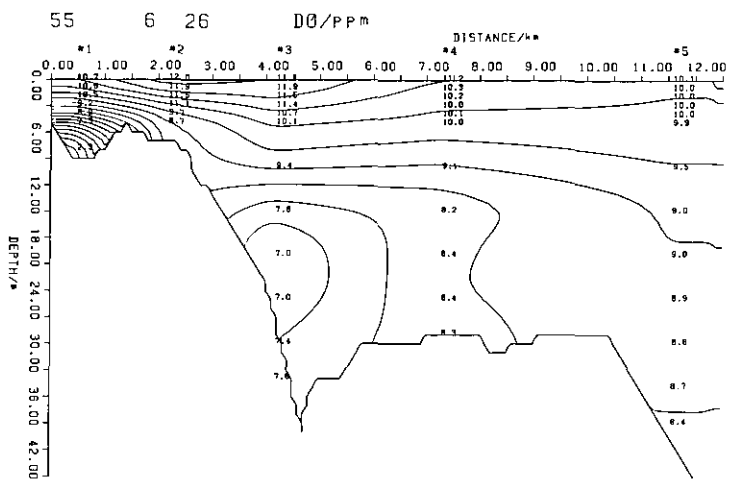
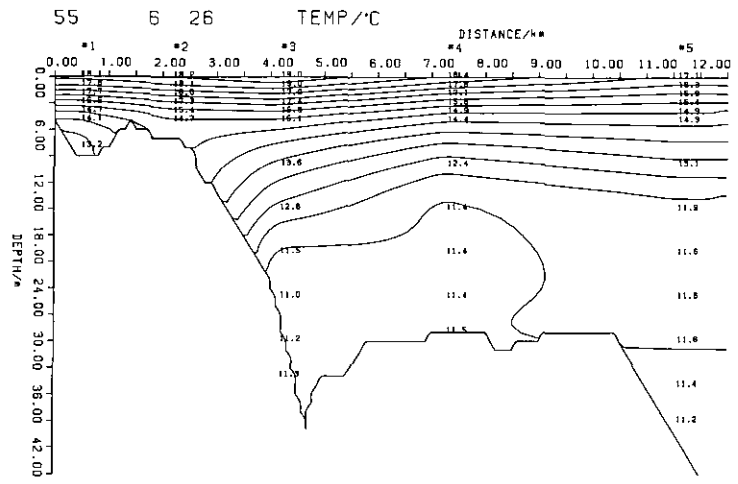
Appendix-I

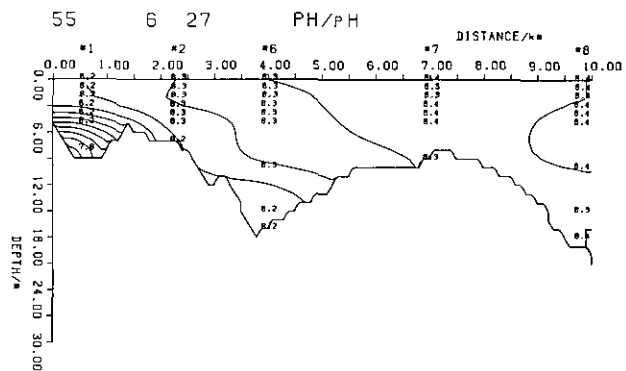
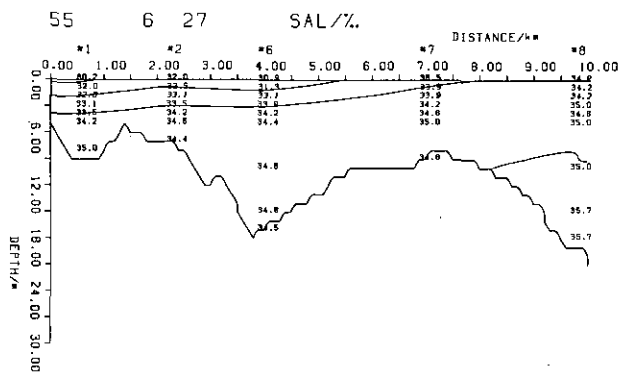
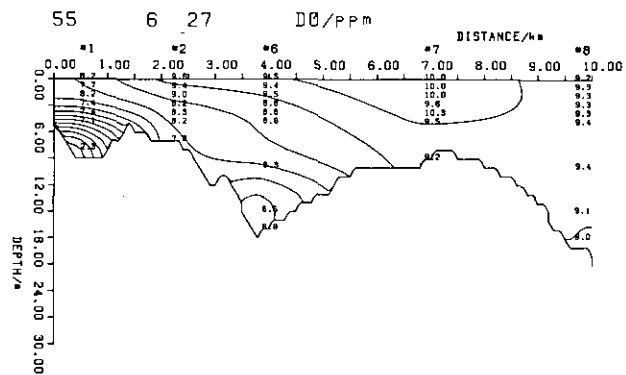
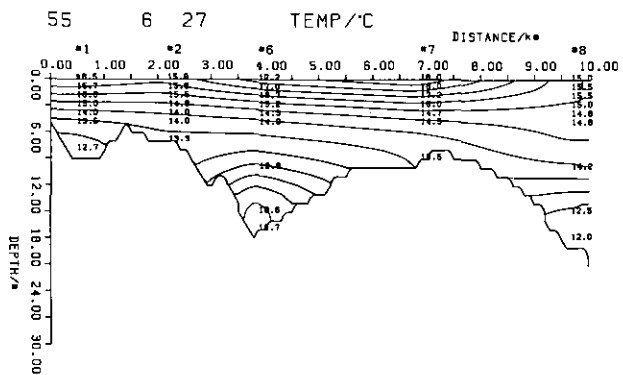
Vertically two dimensional distribution of  
temperature, salinity, DO, PH, Chl-a, T.P., PO<sub>4</sub>-P, DTP

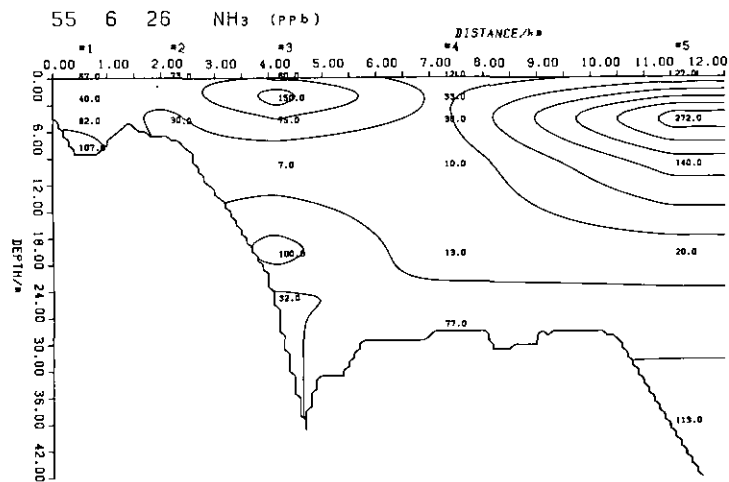
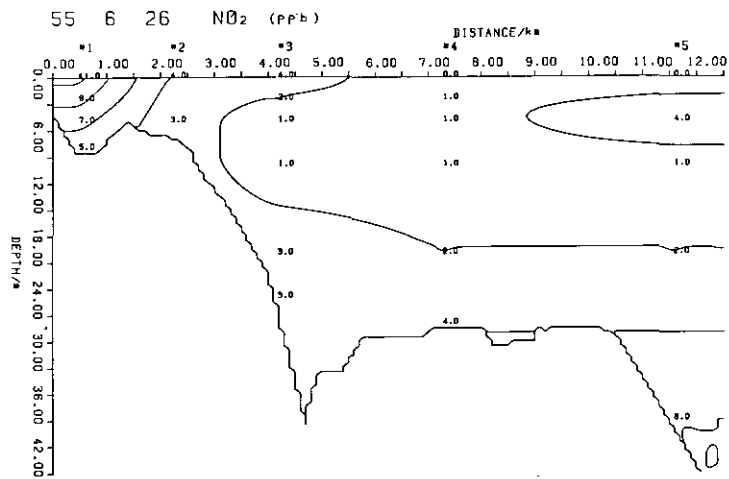
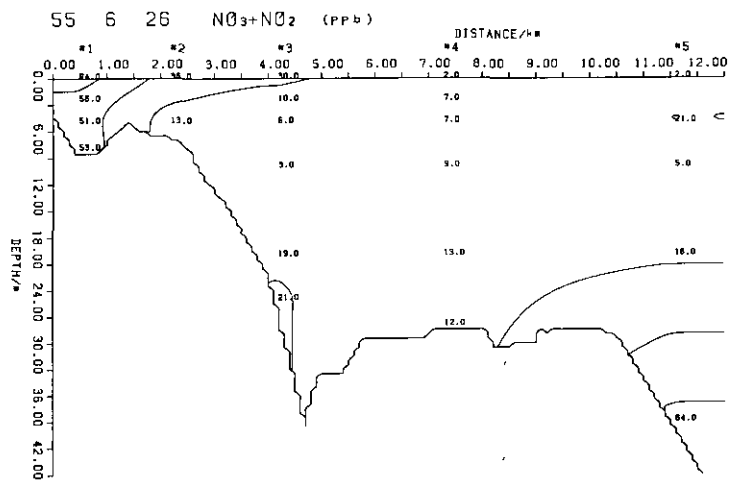
Upper figure : Eastern Bay

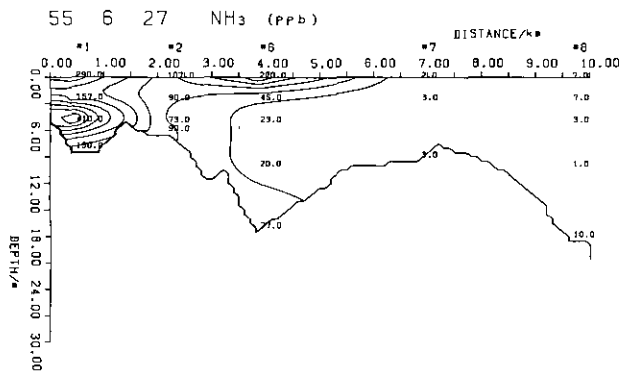
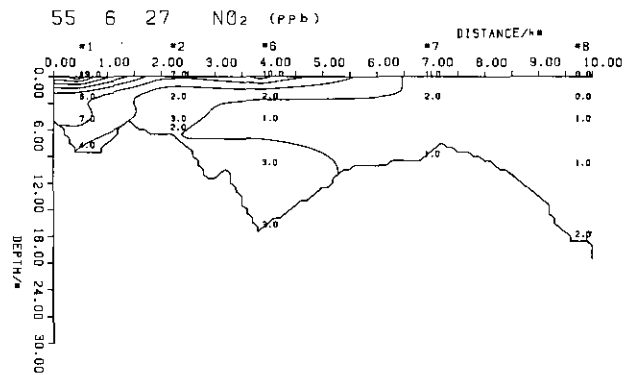
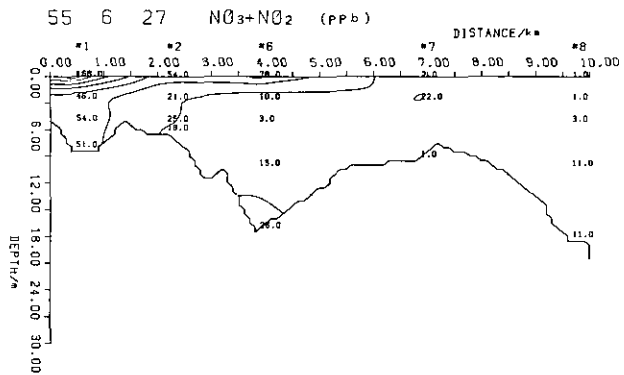
Lower figure : Western Bay

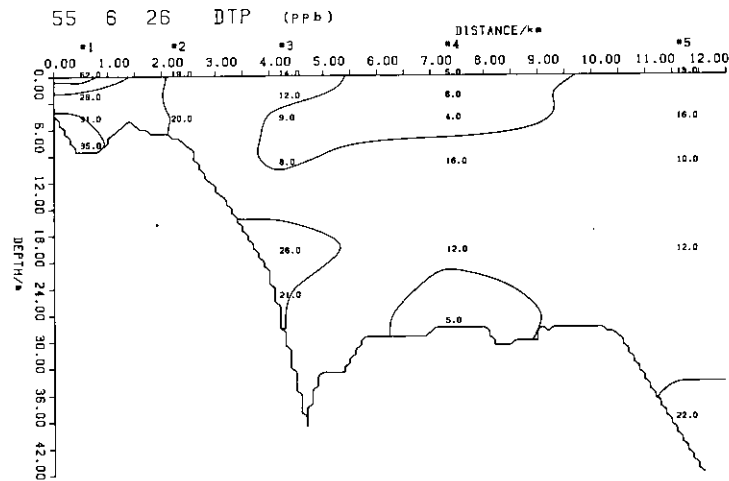
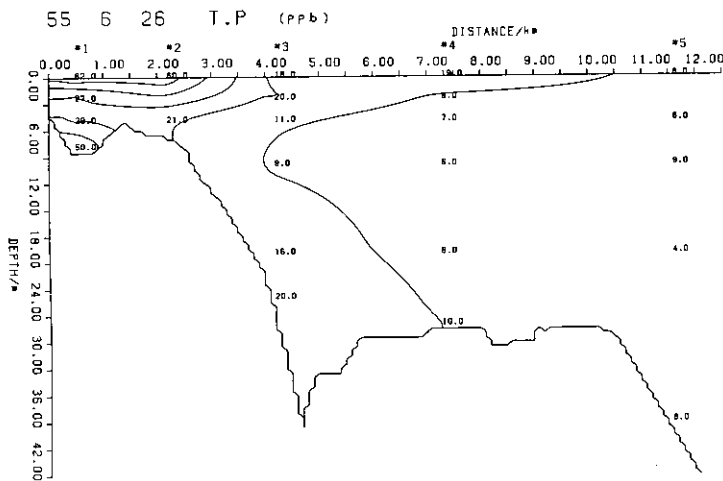
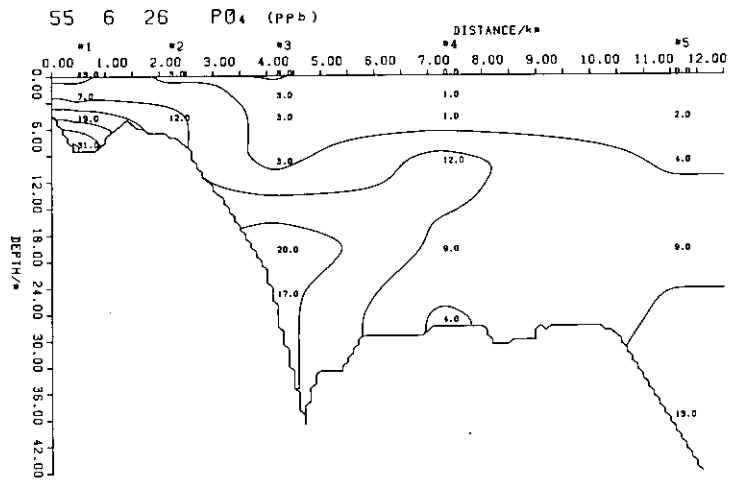
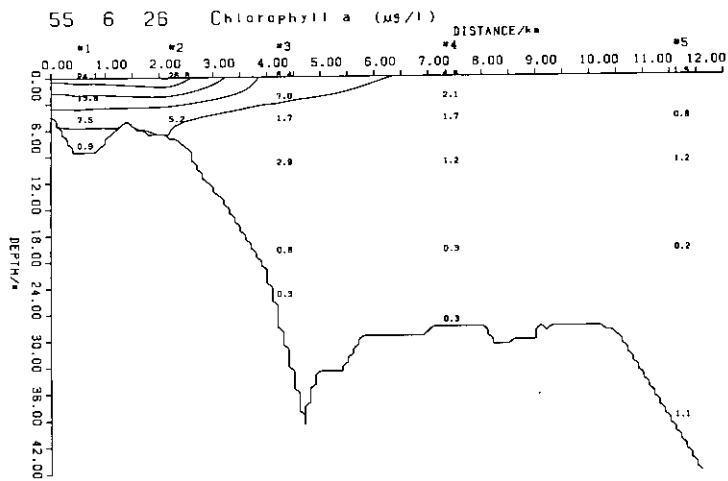


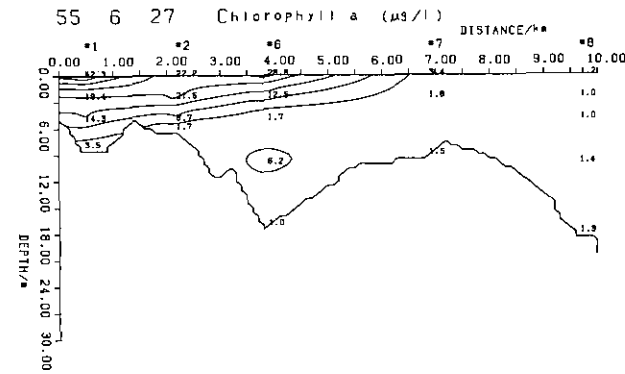
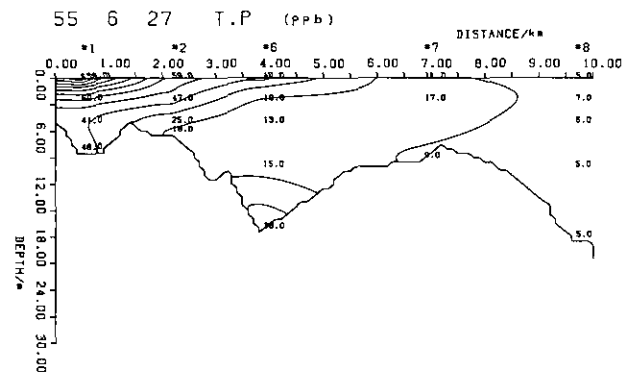
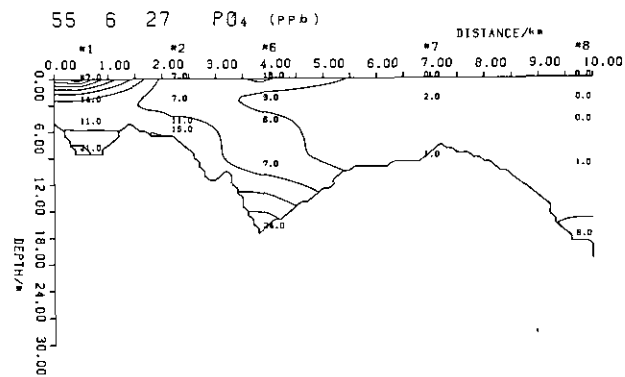
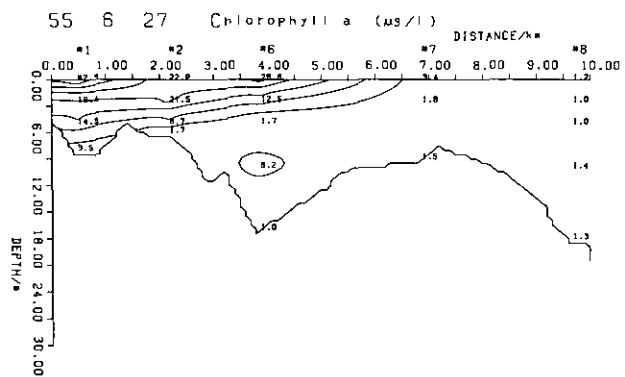


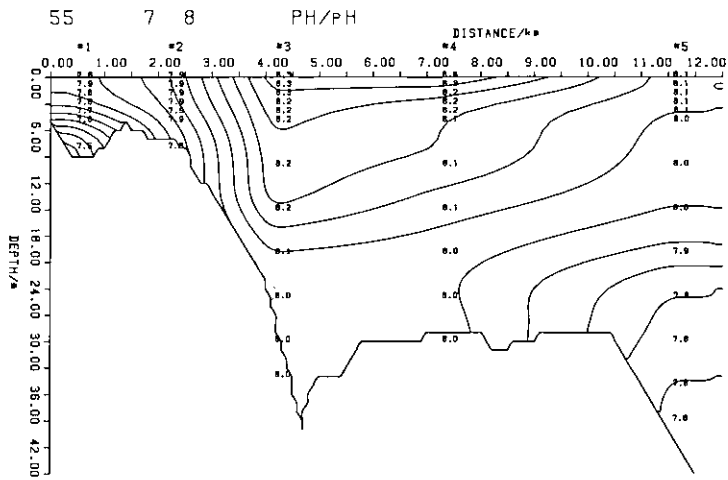
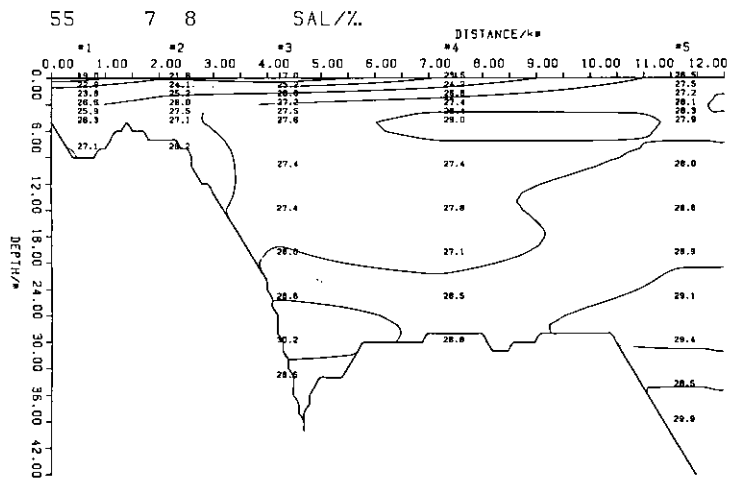
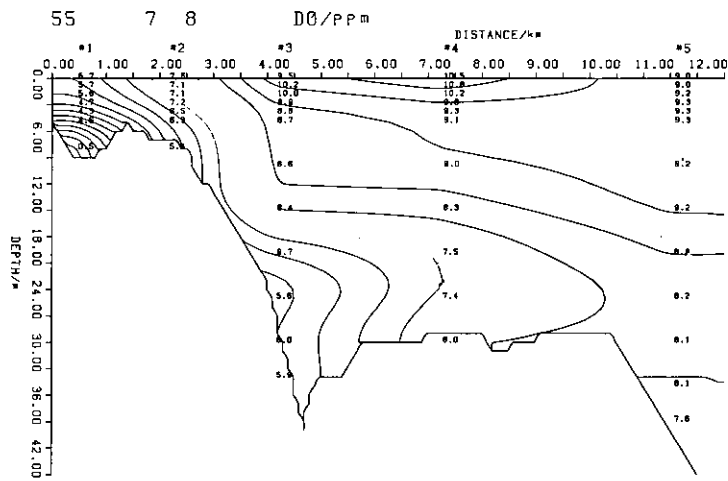
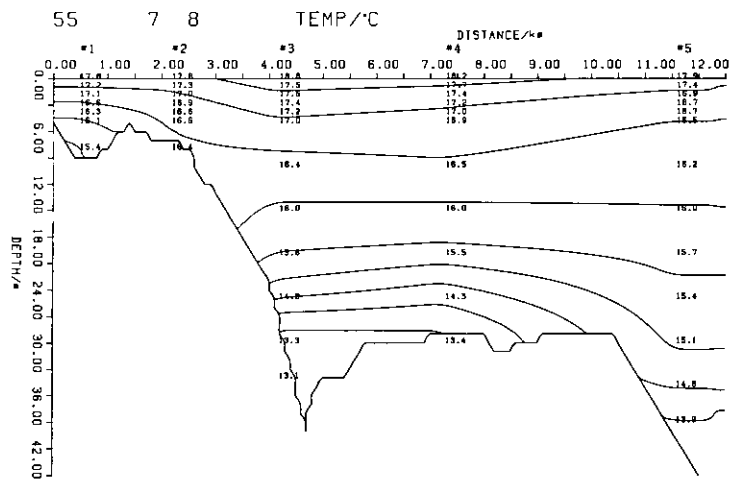






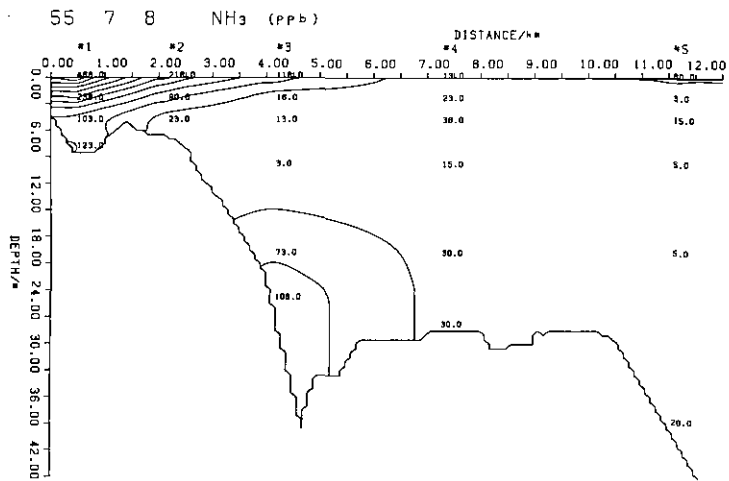
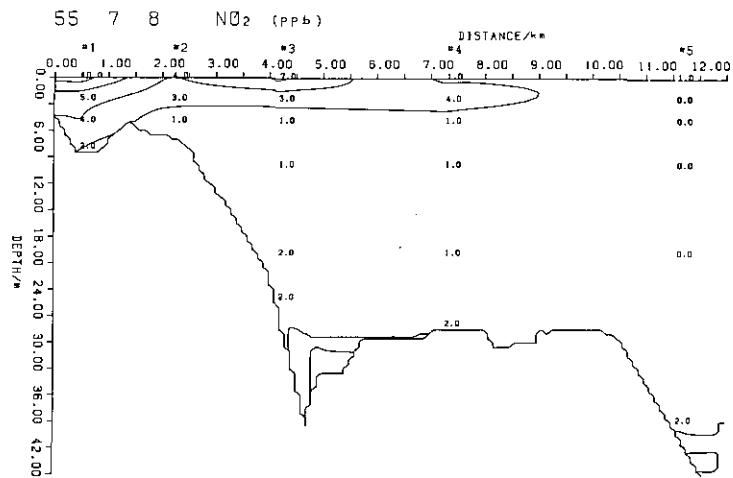
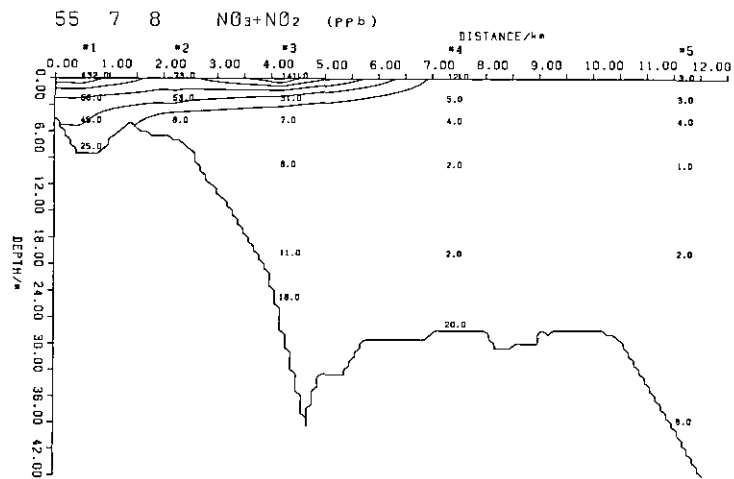


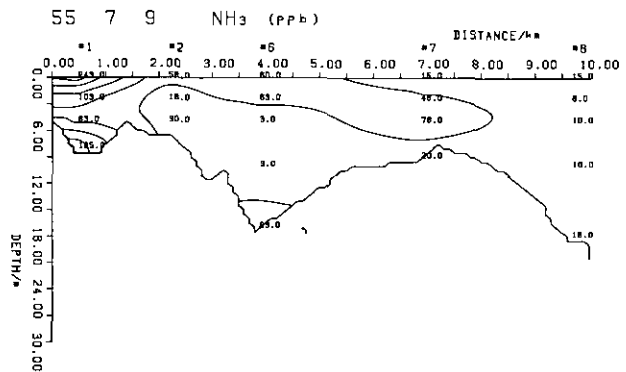
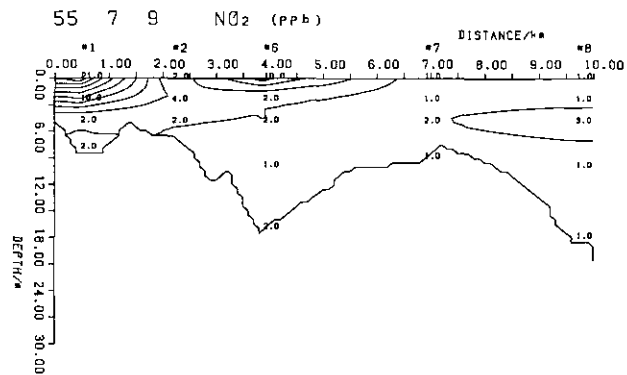
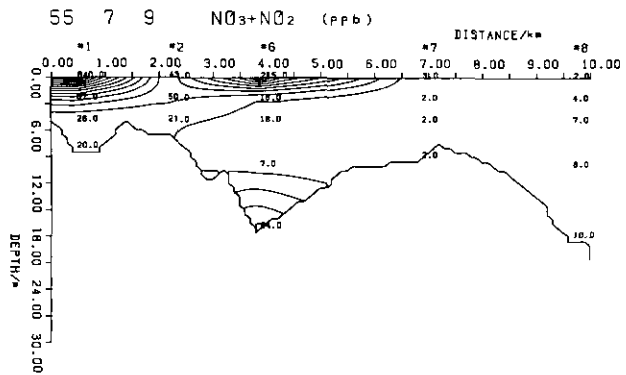


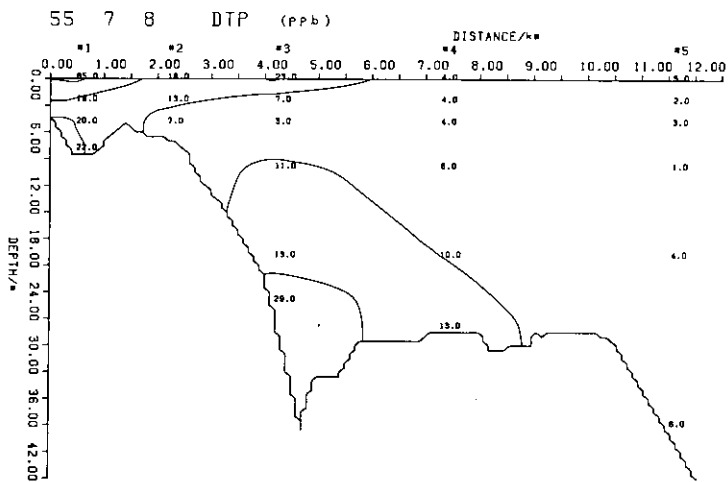
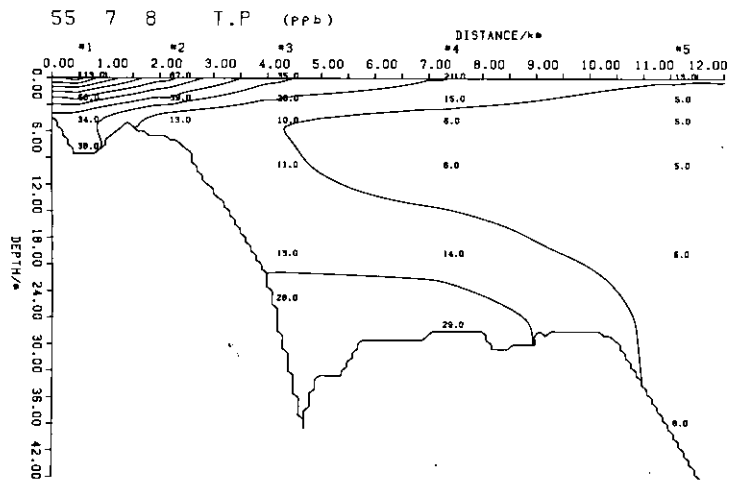
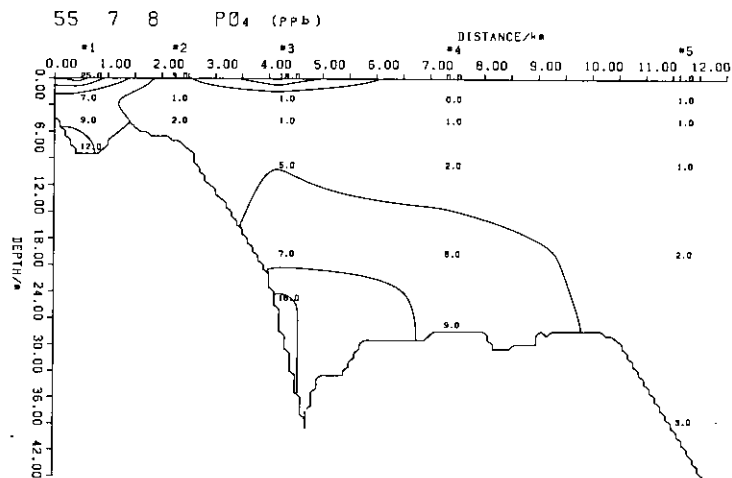
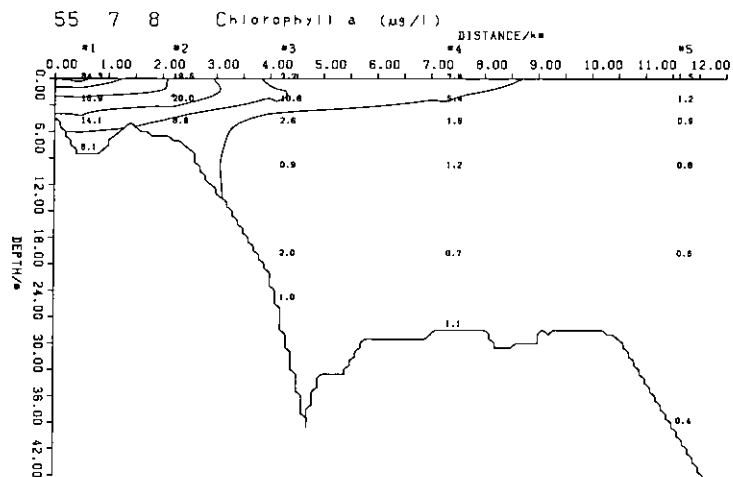


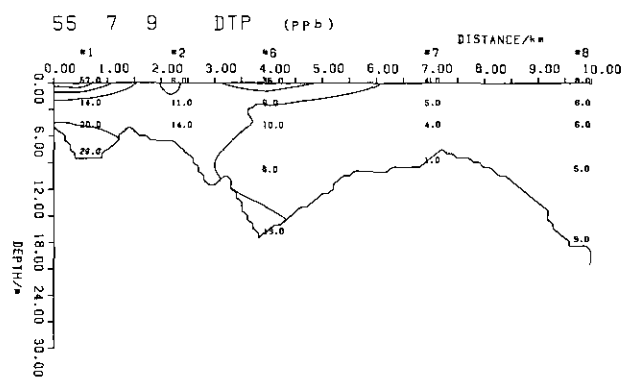
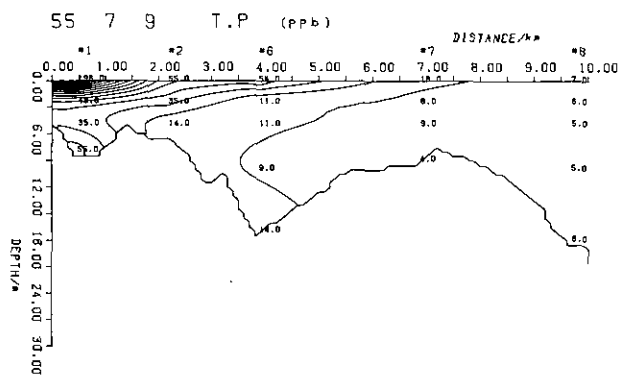
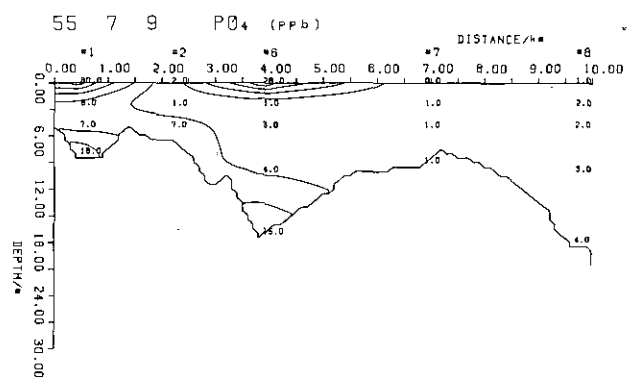
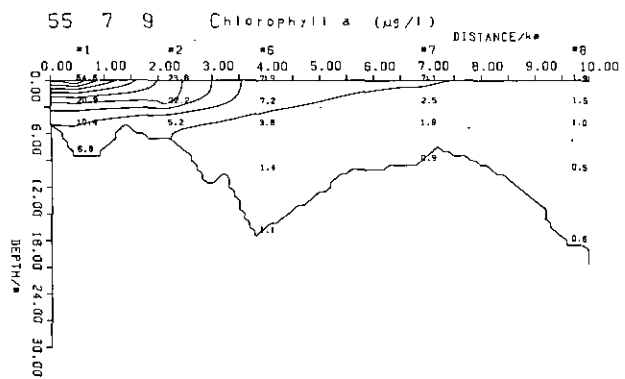


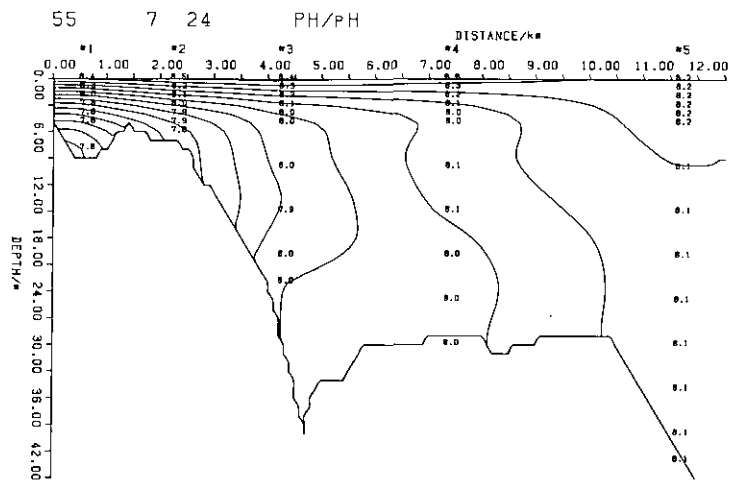
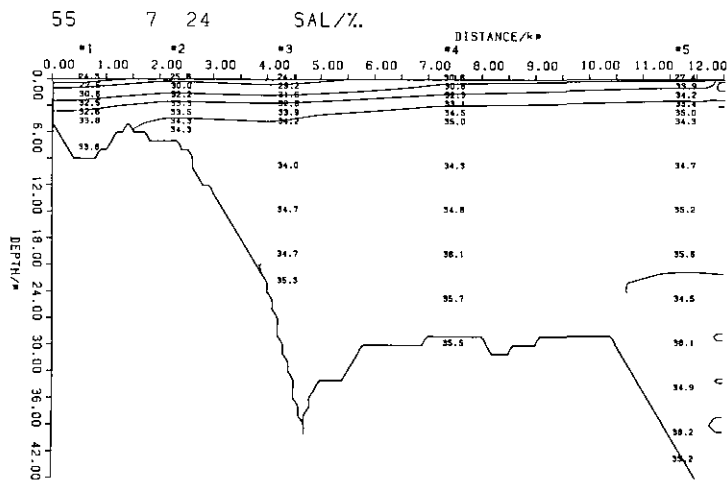
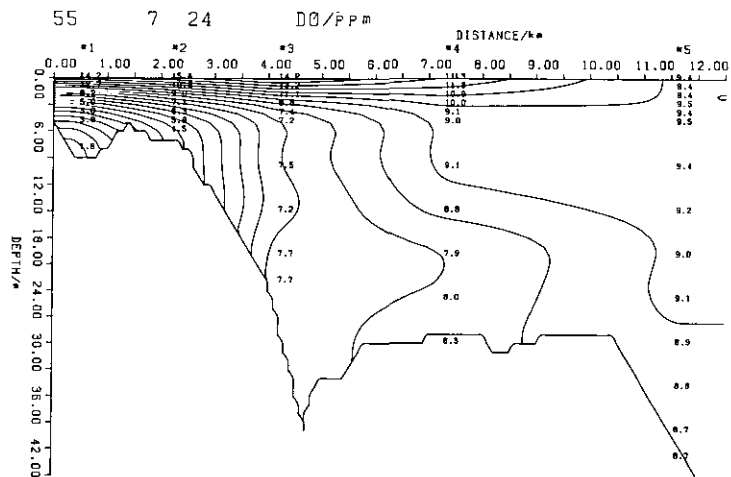
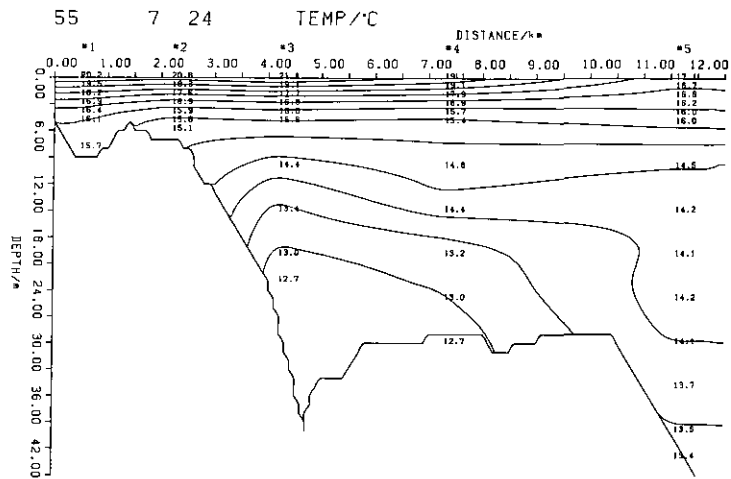


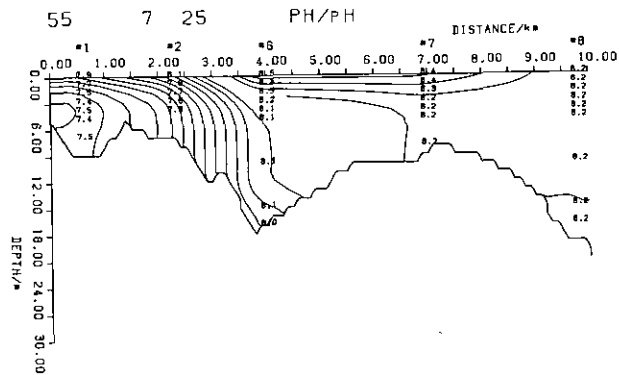
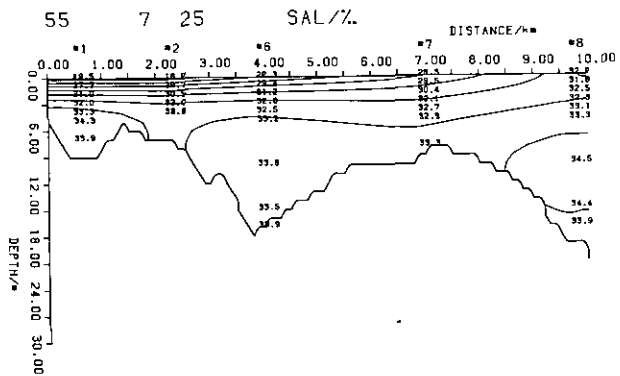
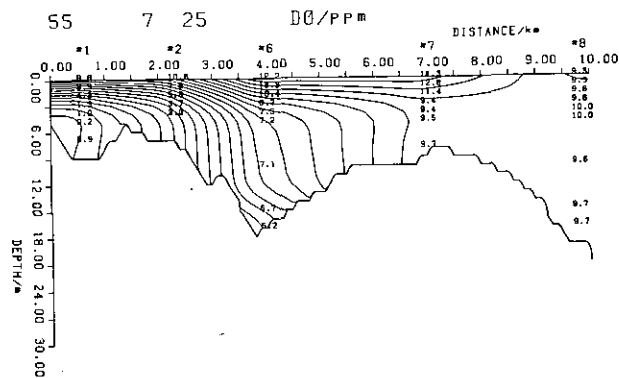
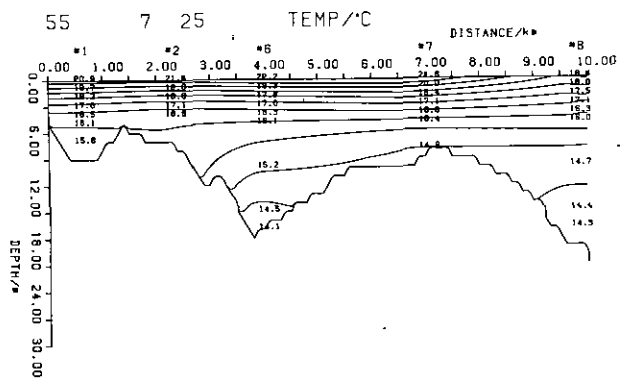


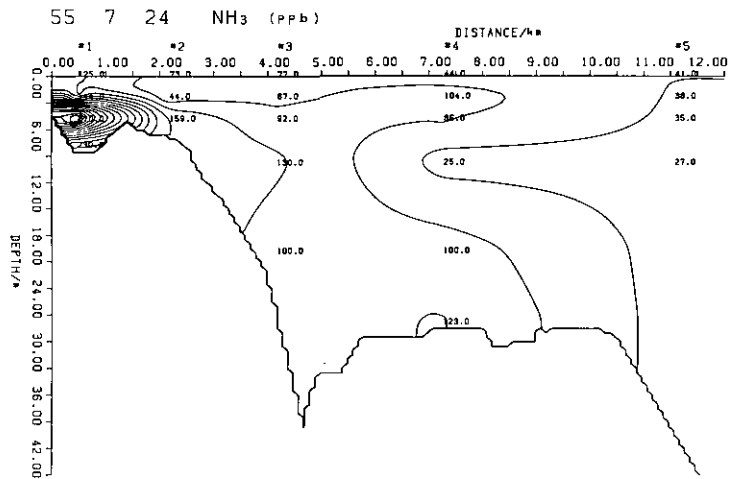
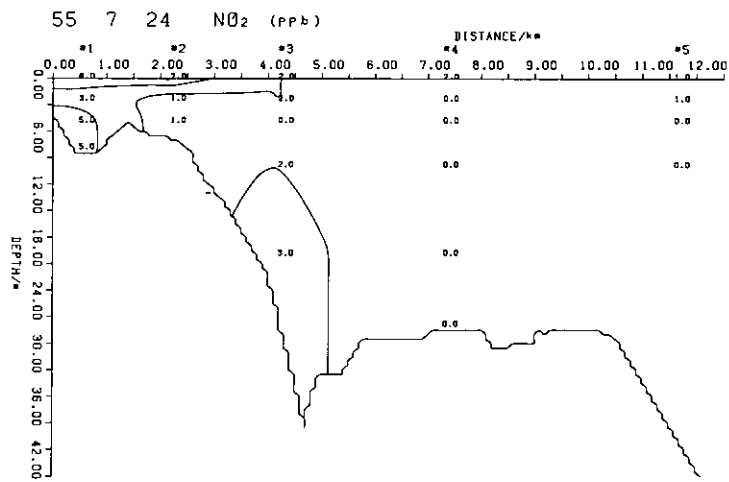
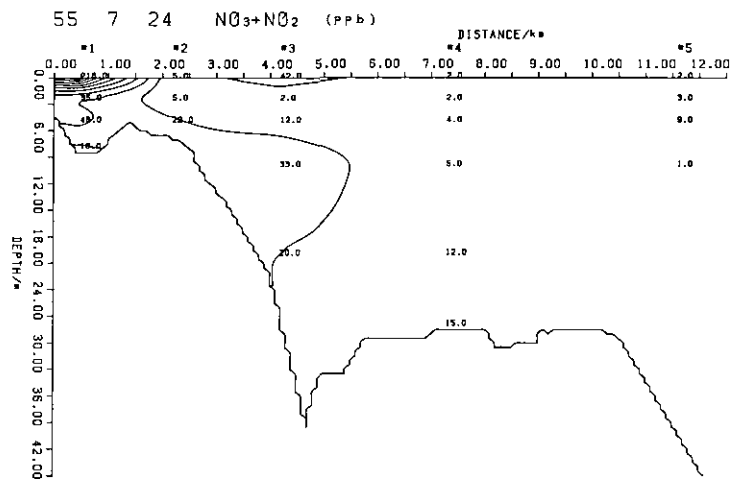


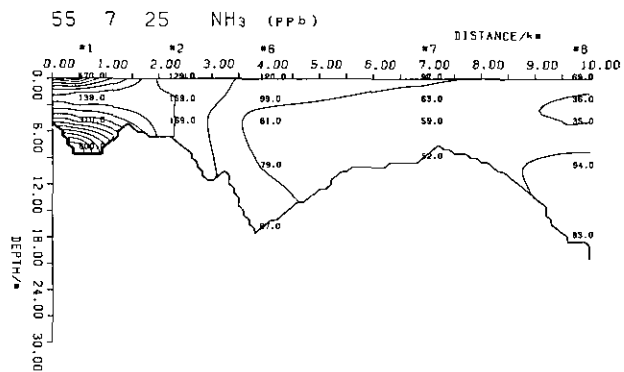
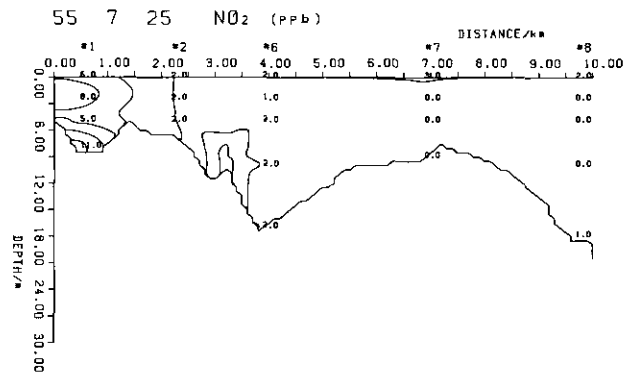
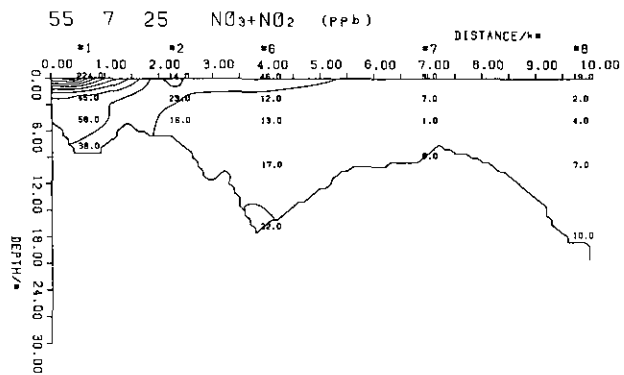




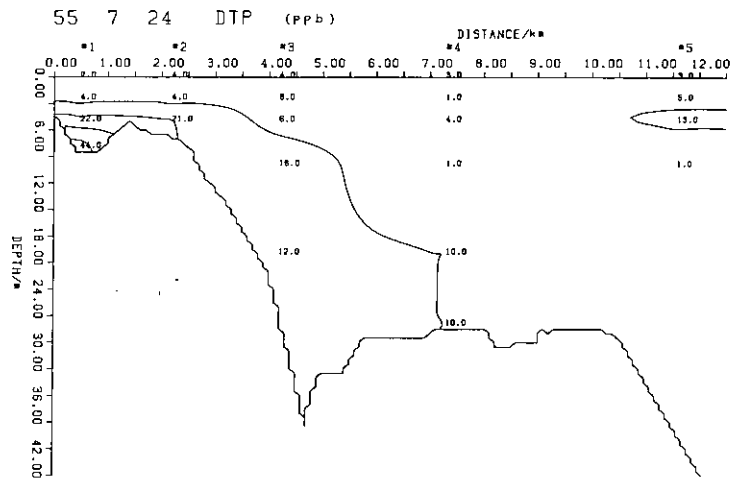
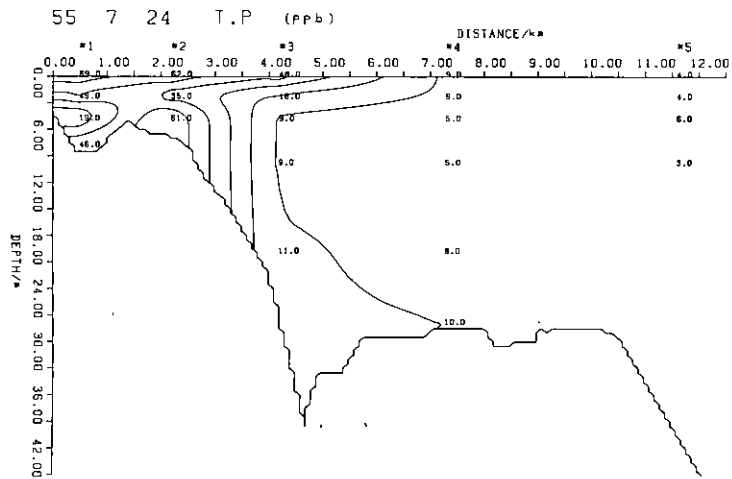
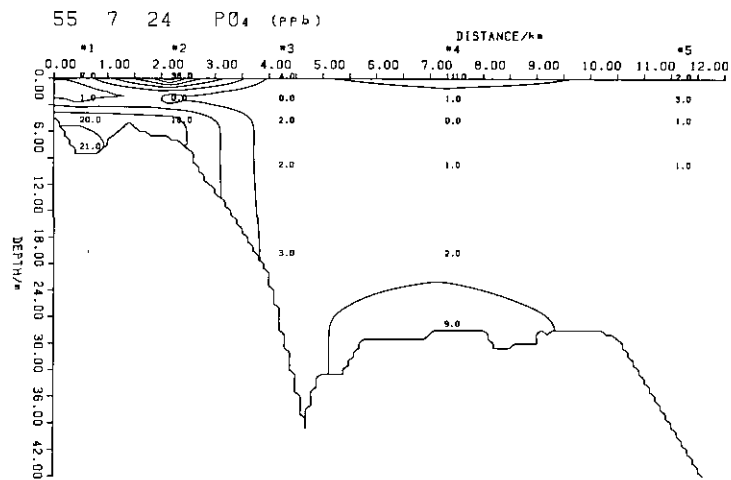
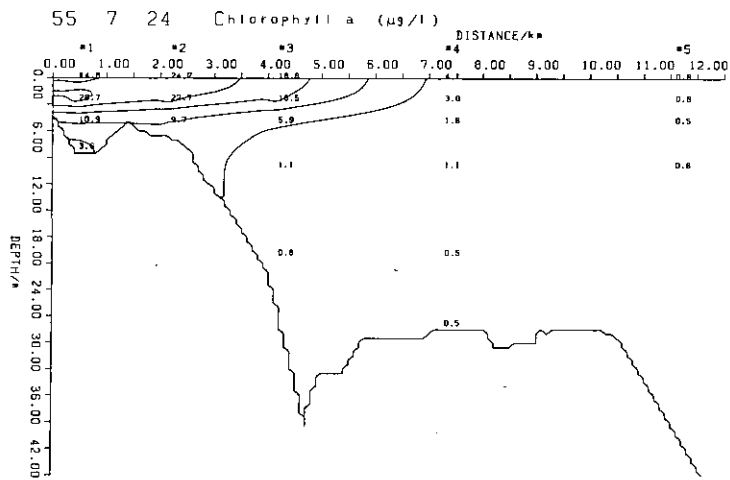


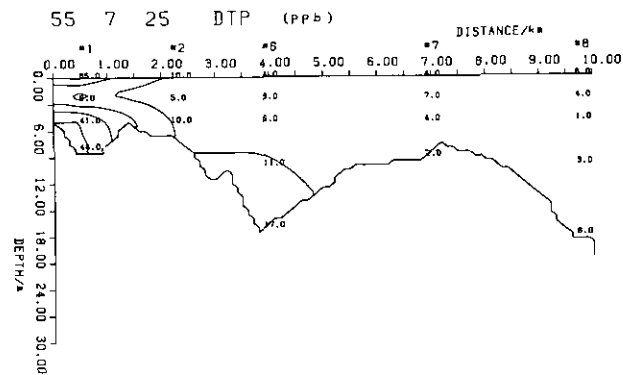
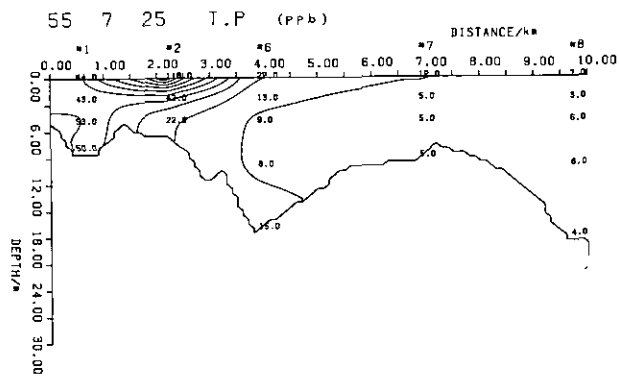
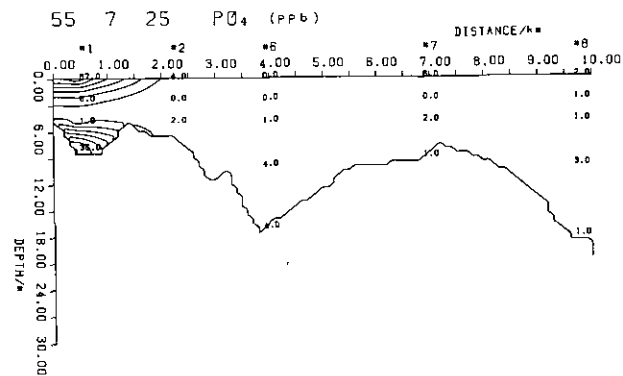
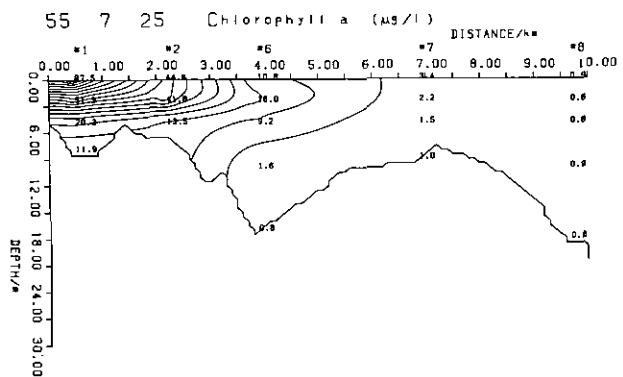


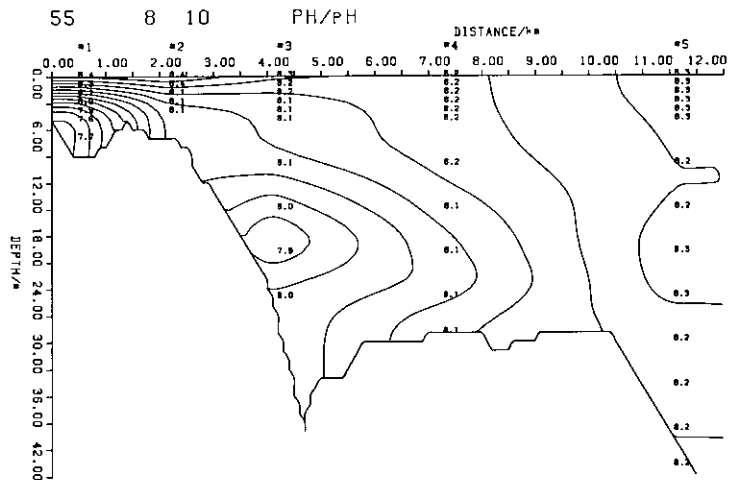
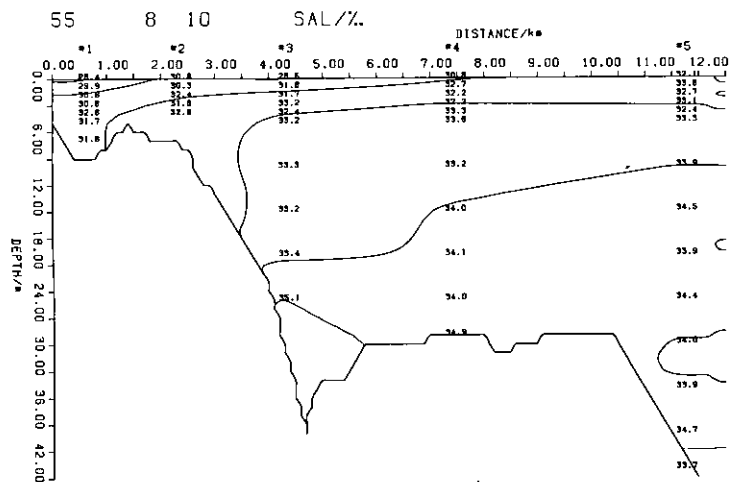
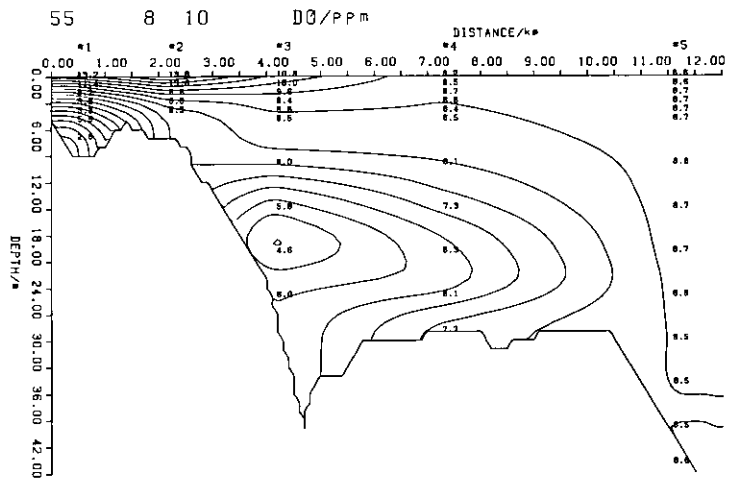
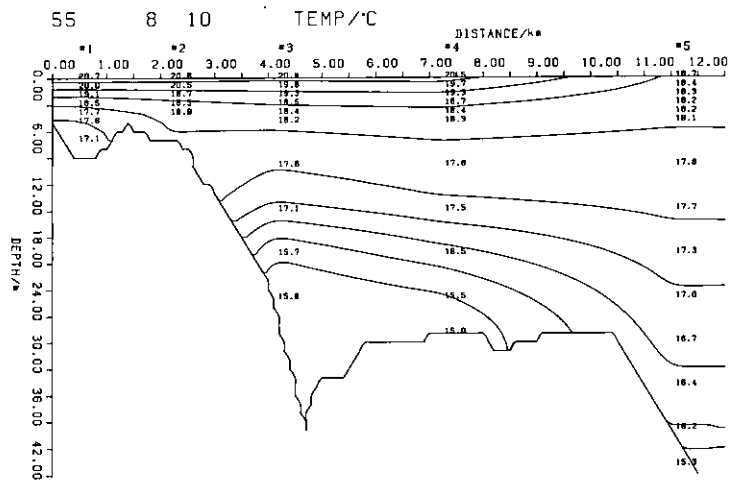


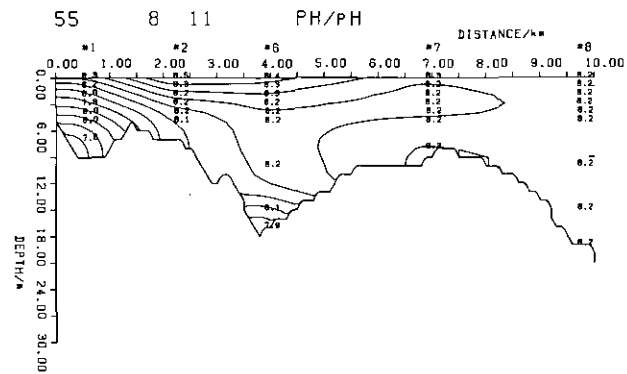
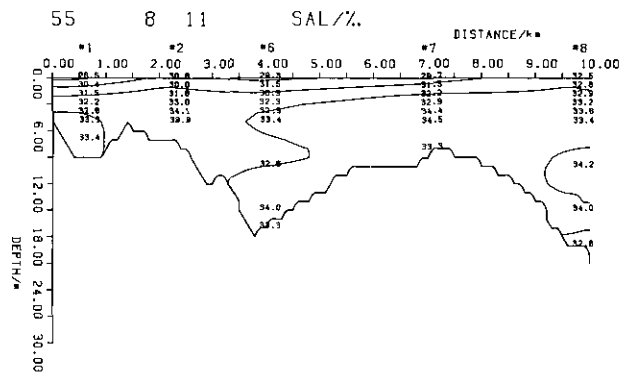
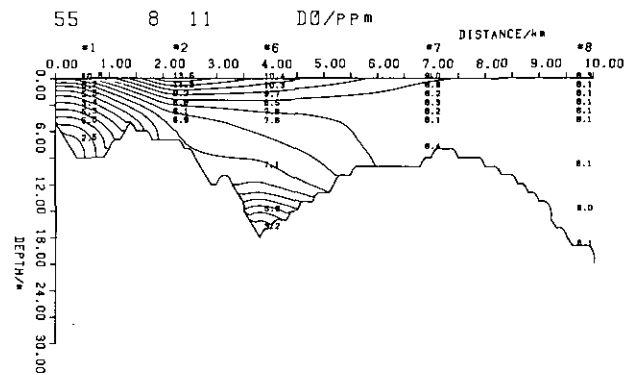
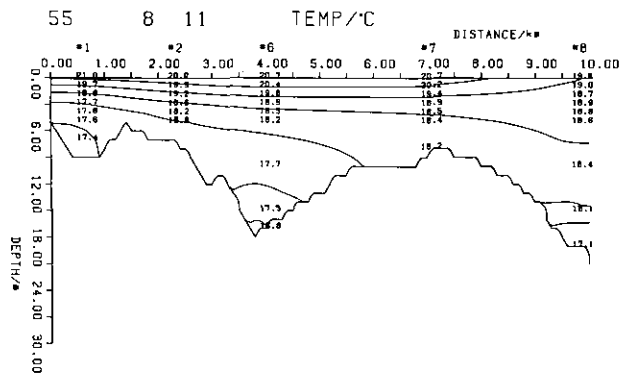


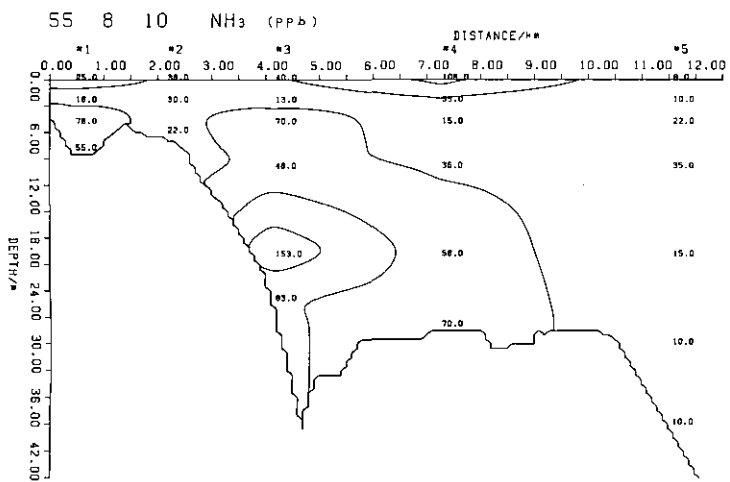
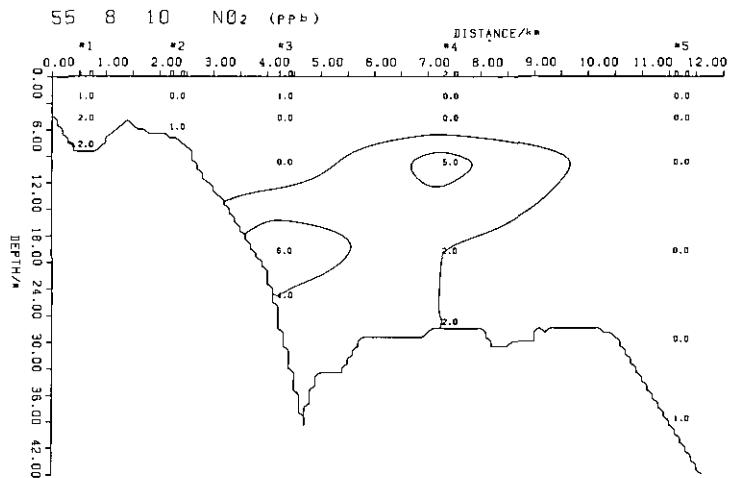
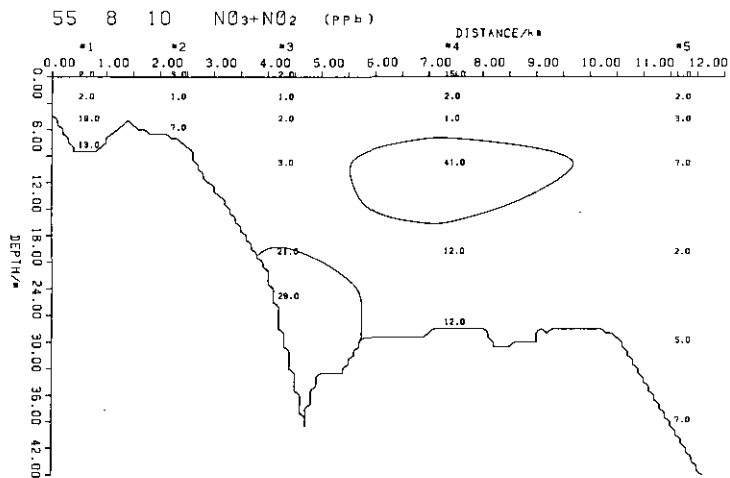


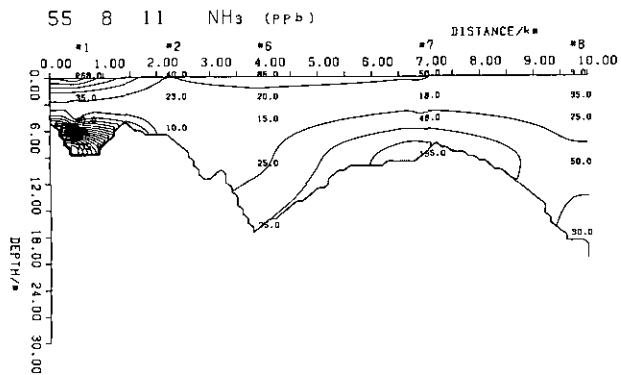
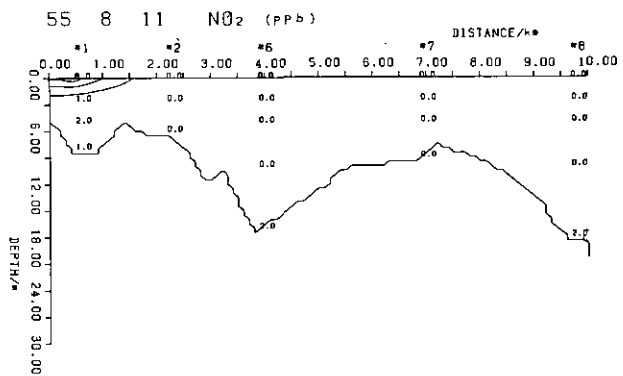
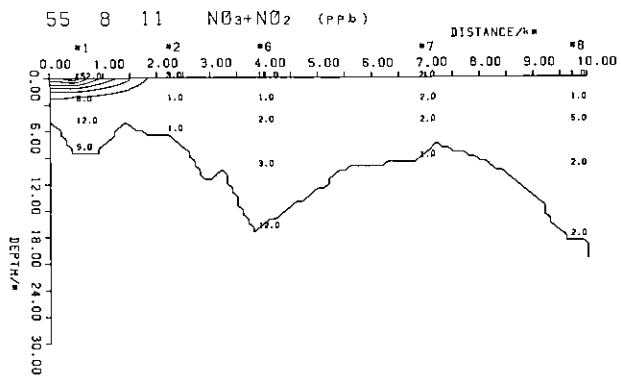


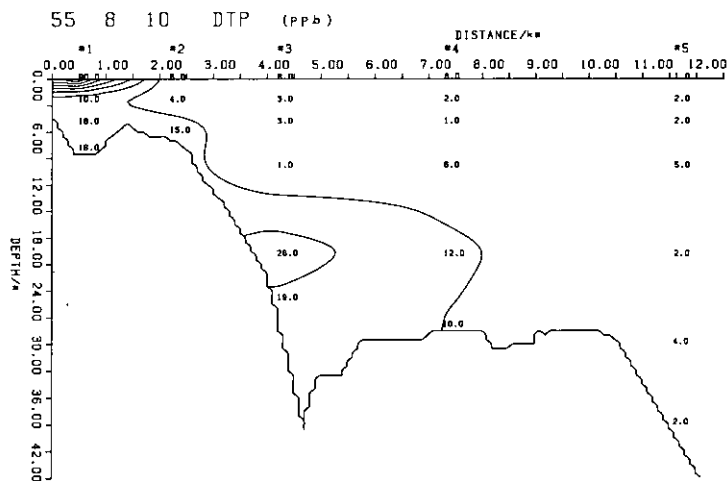
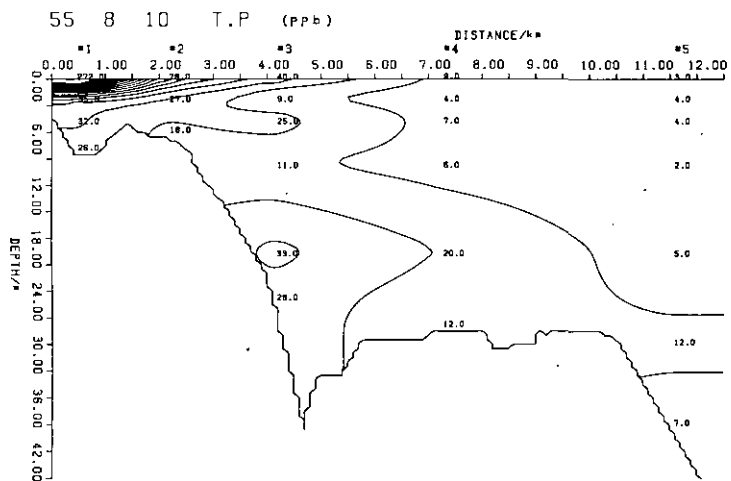
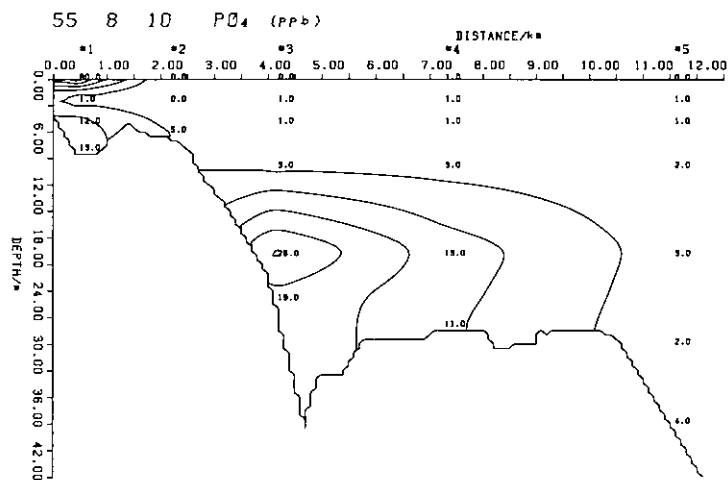
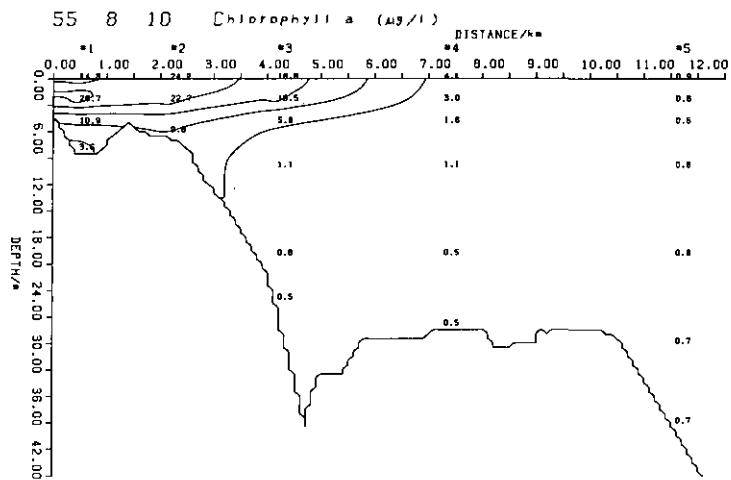


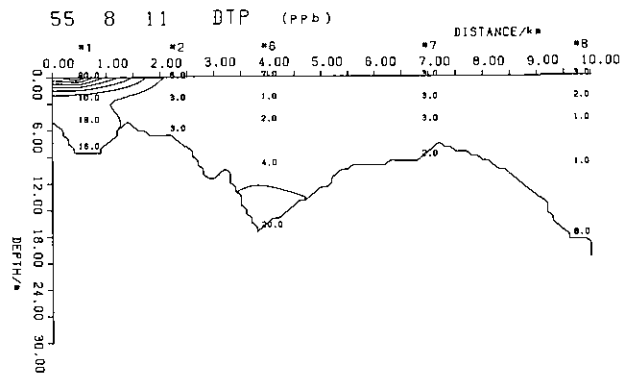
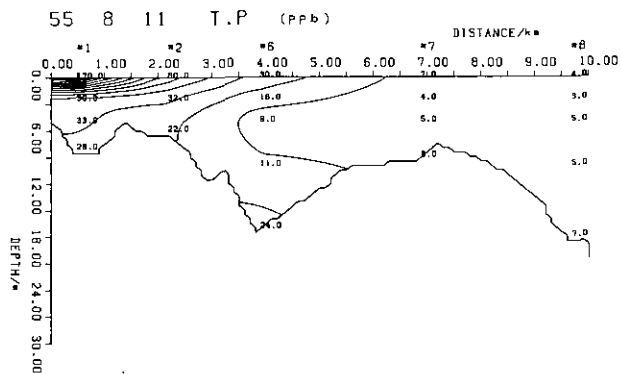
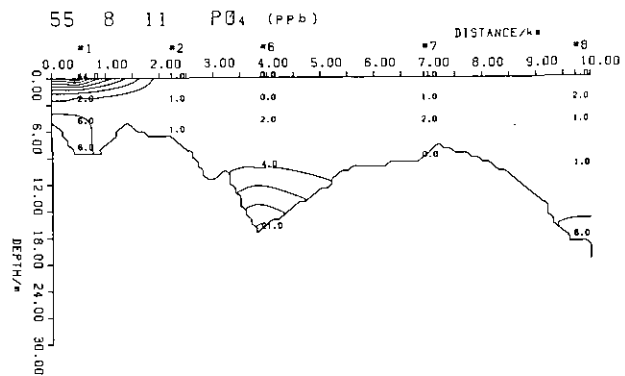
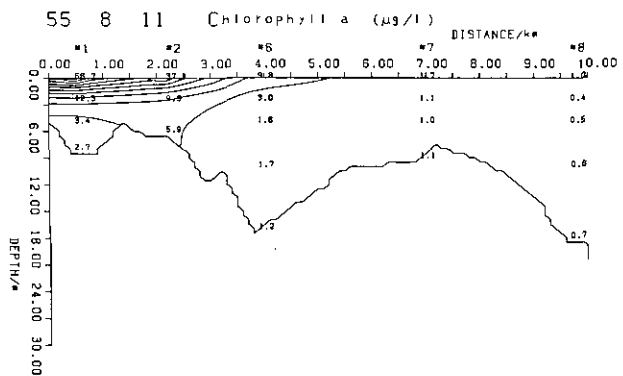




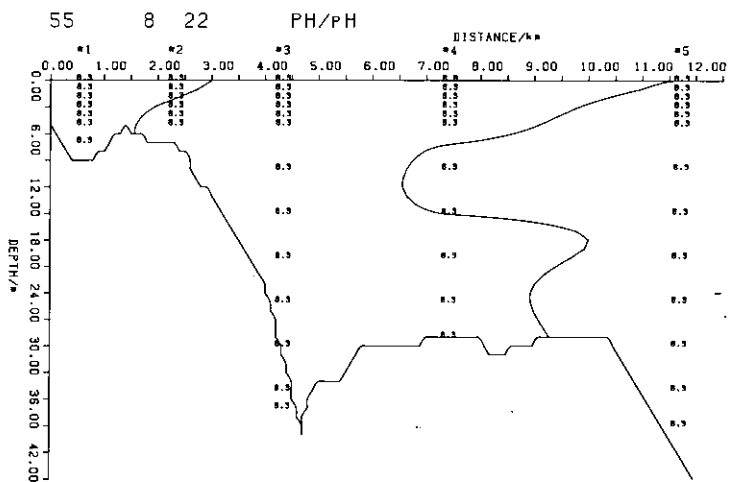
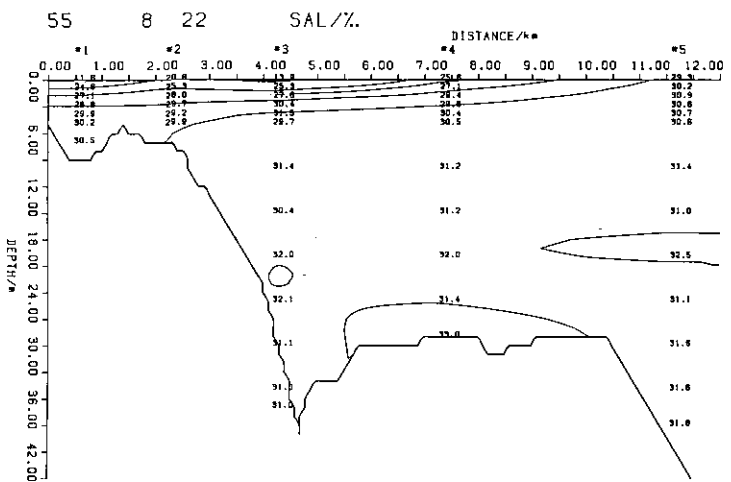
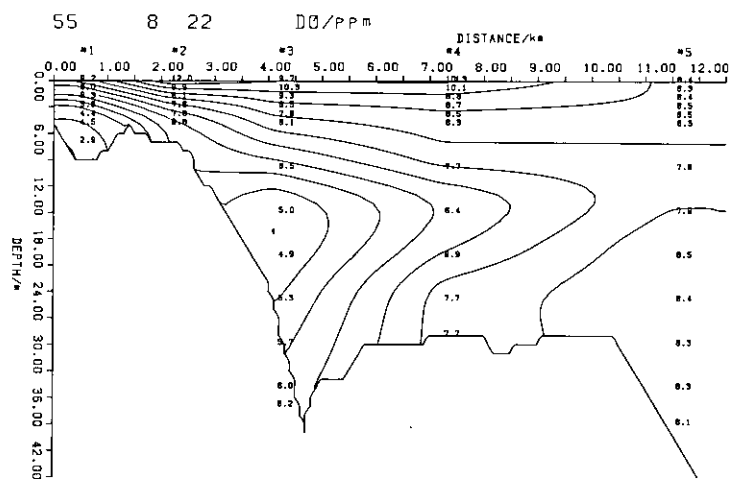
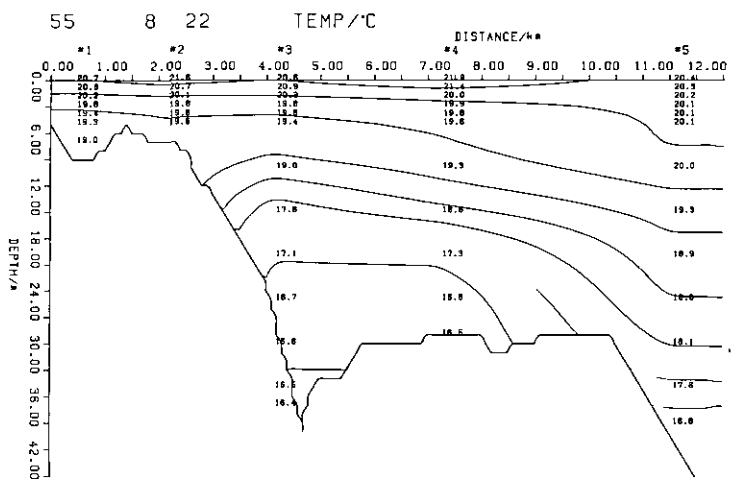


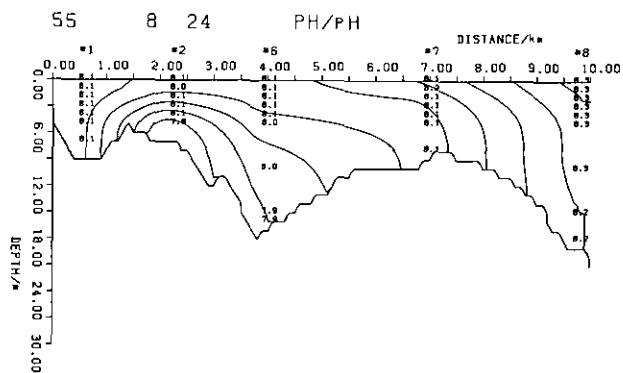
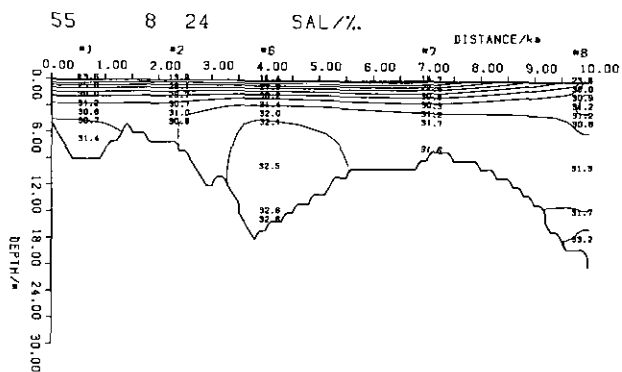
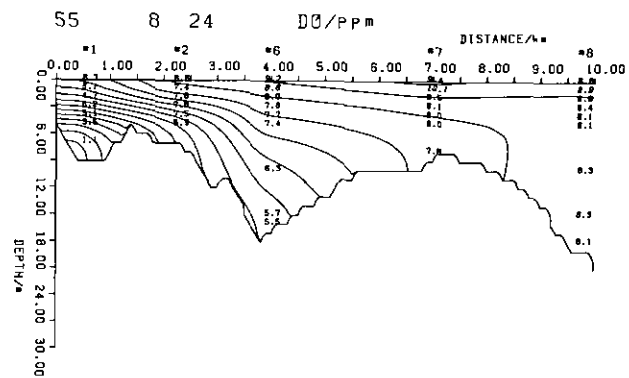
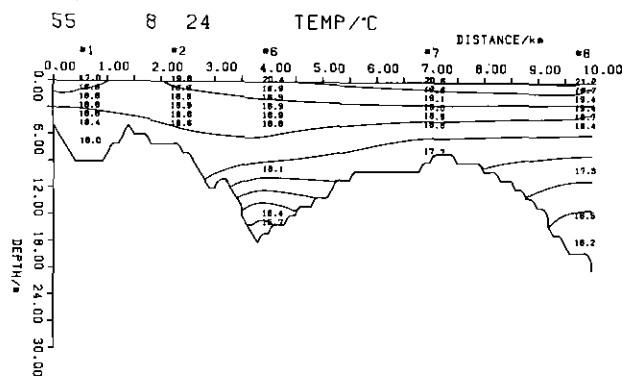


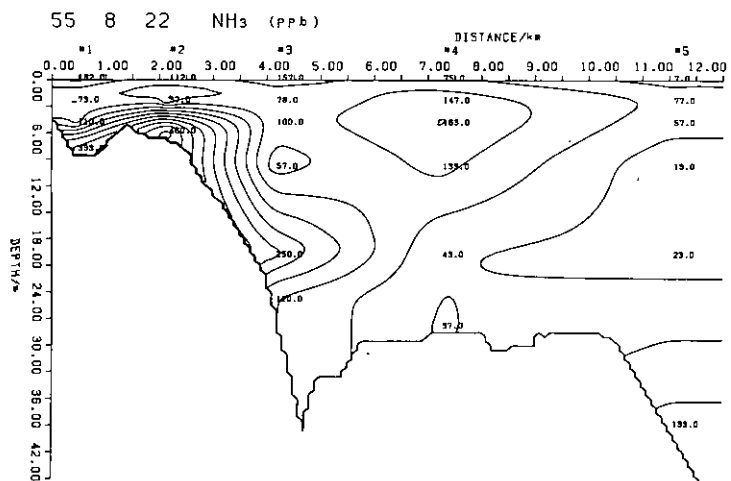
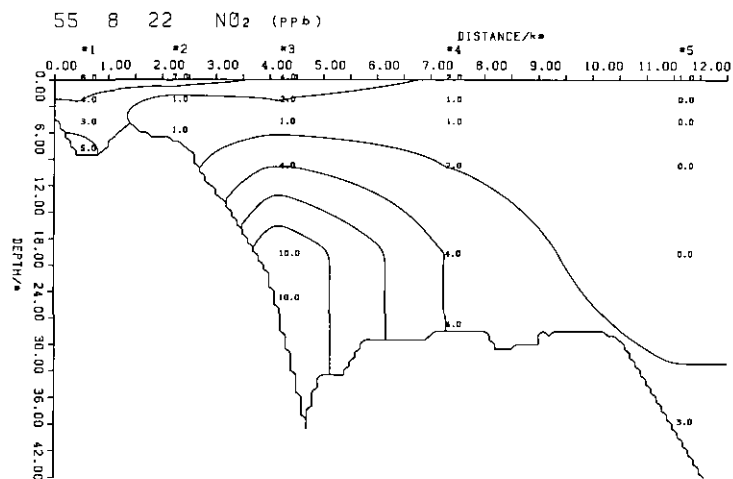
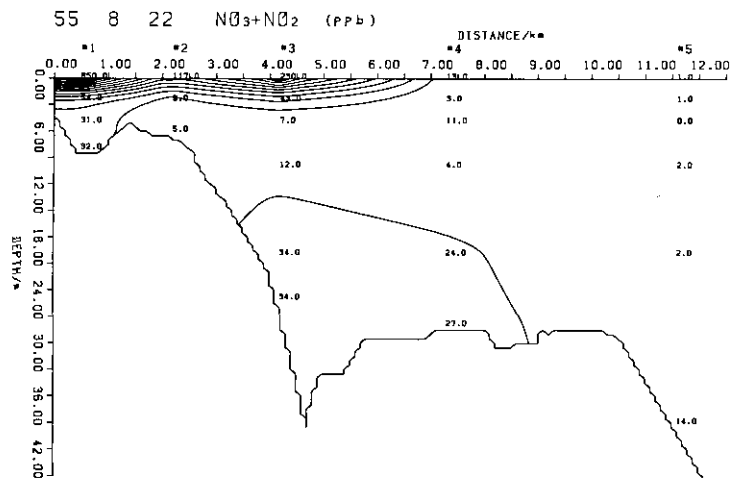


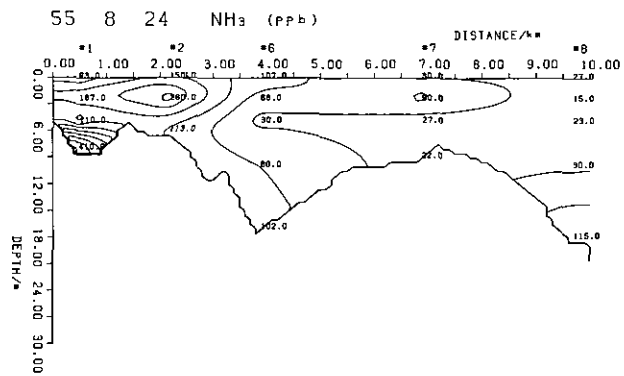
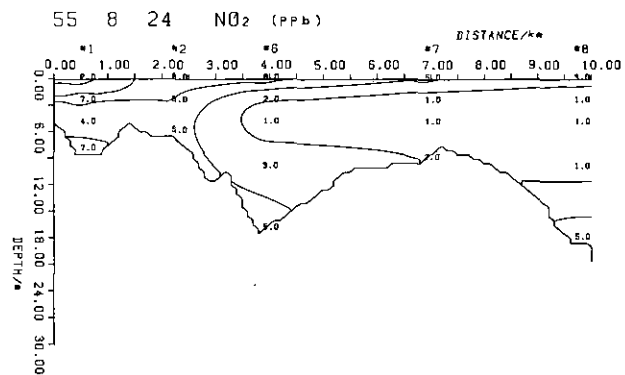
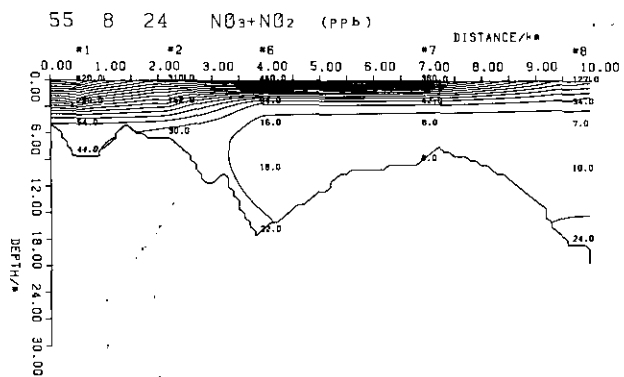


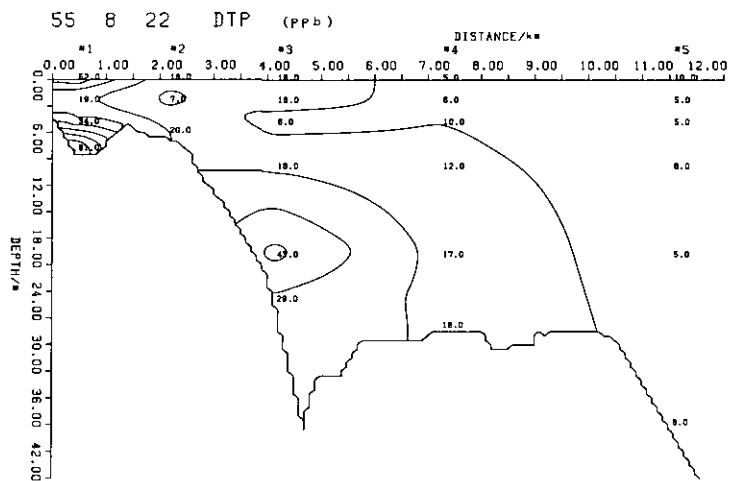
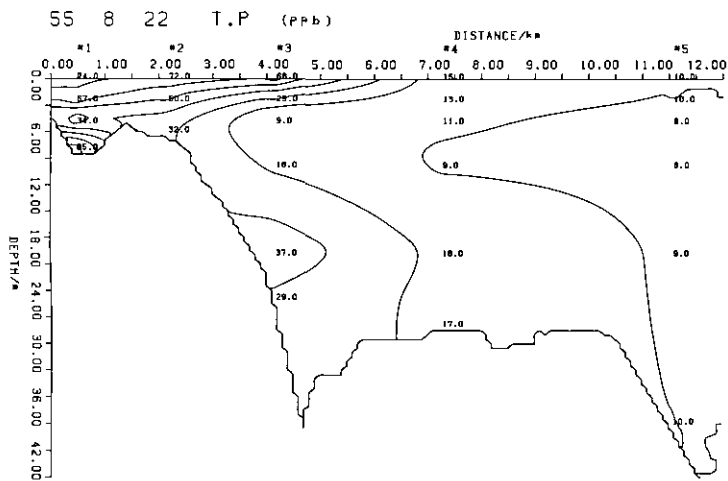
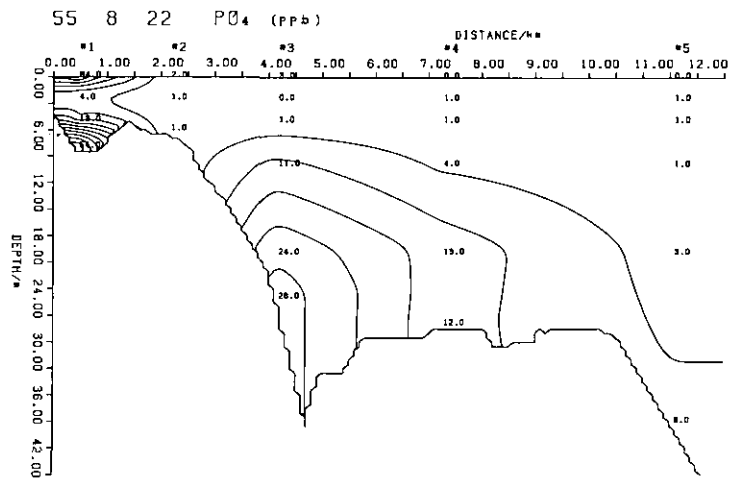
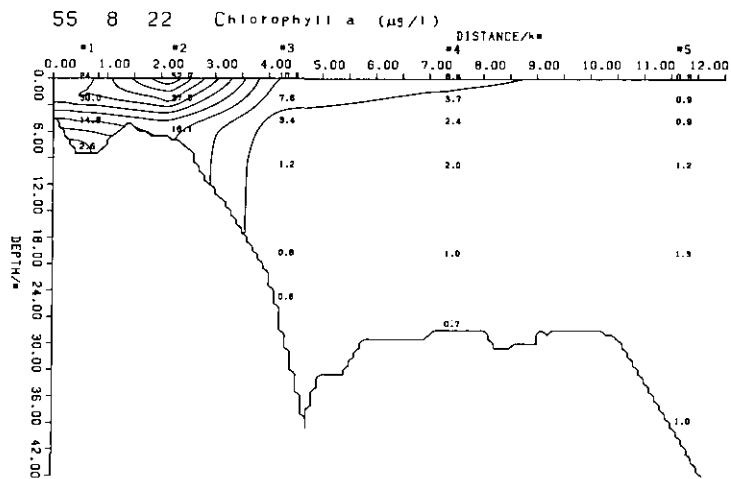


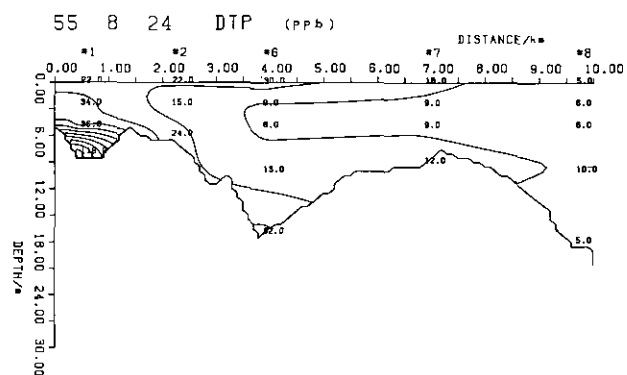
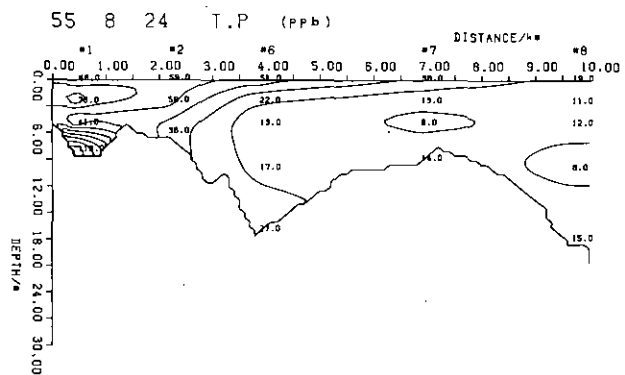
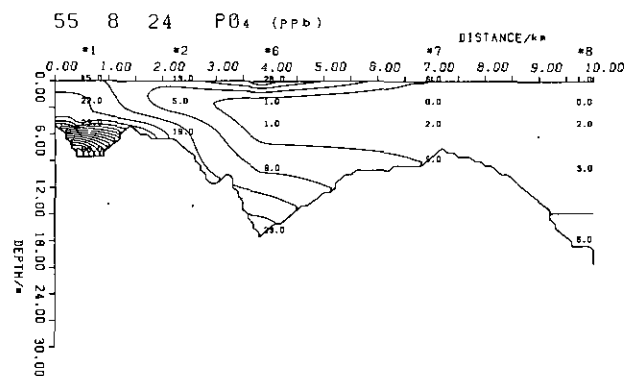
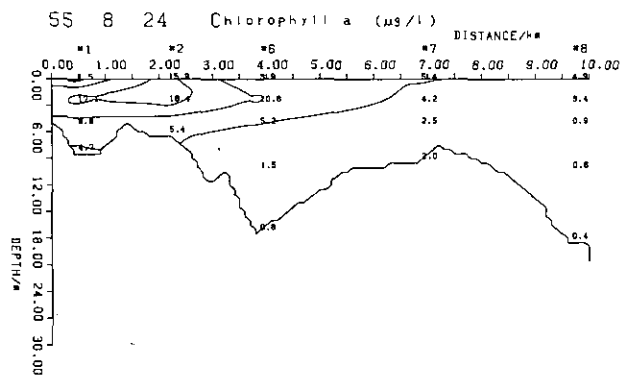


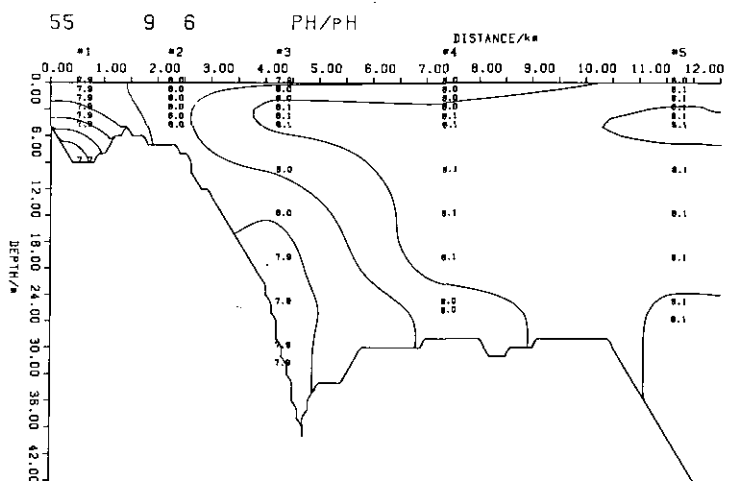
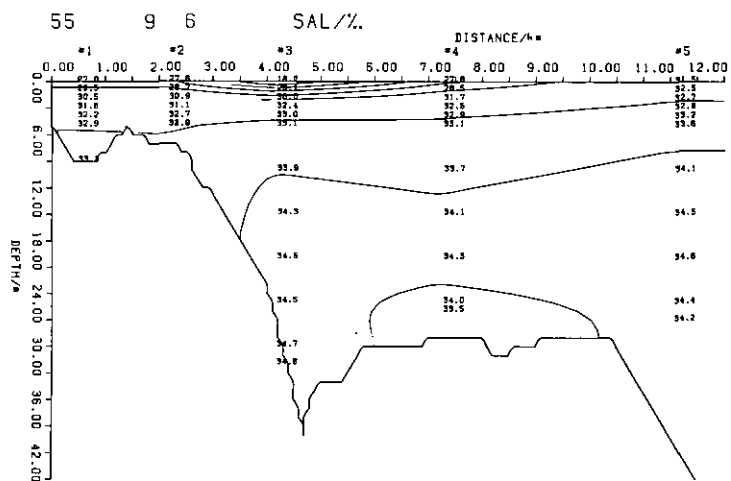
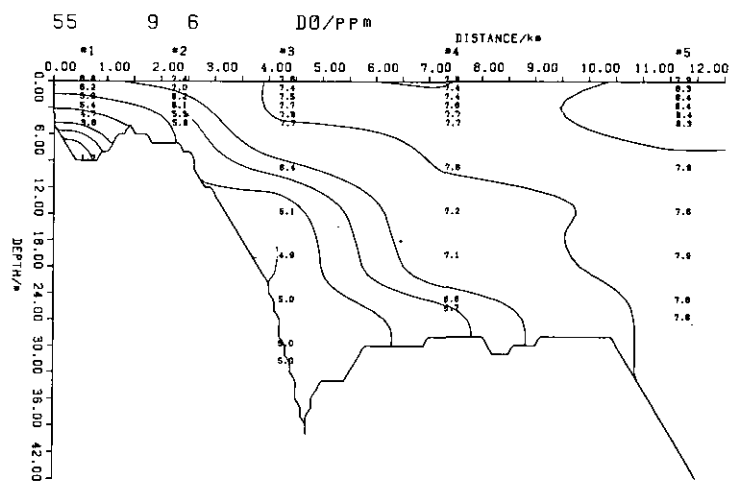
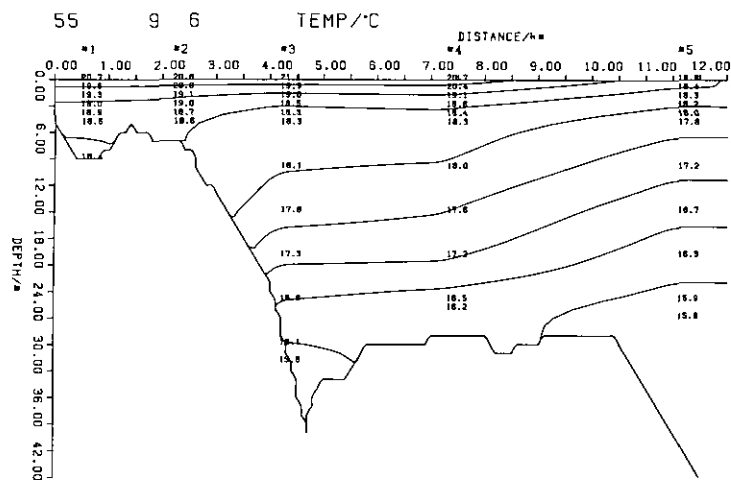


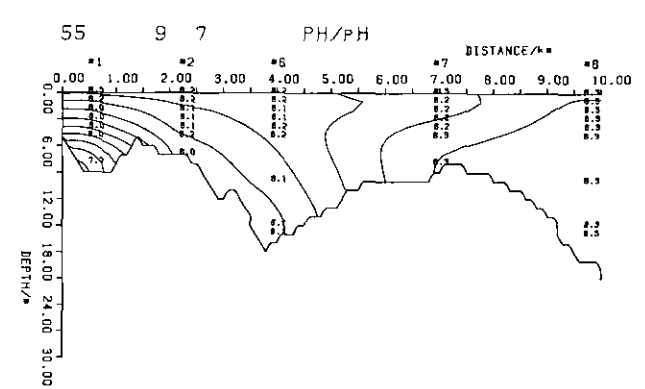
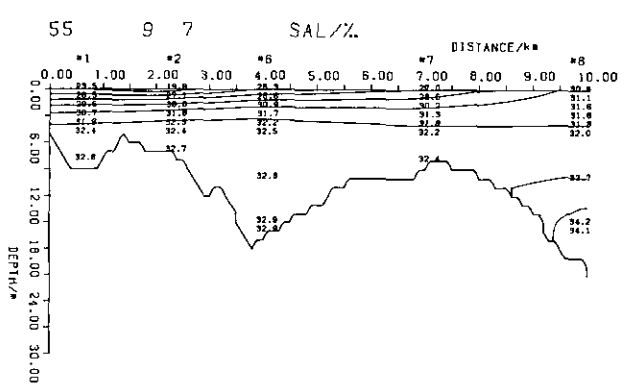
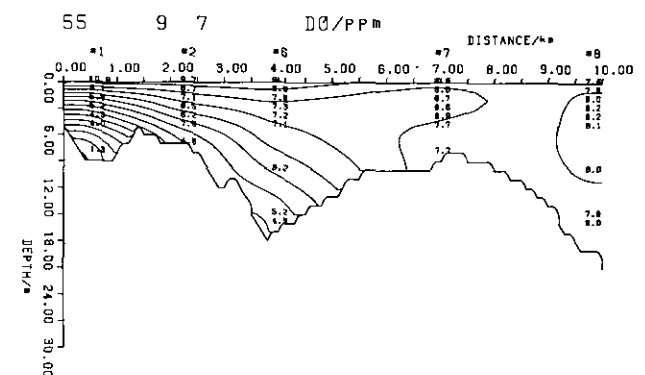
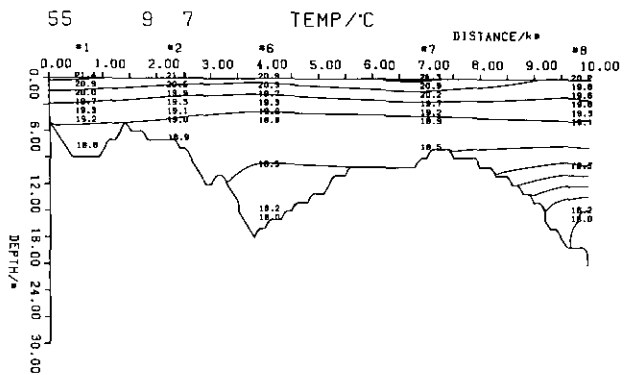




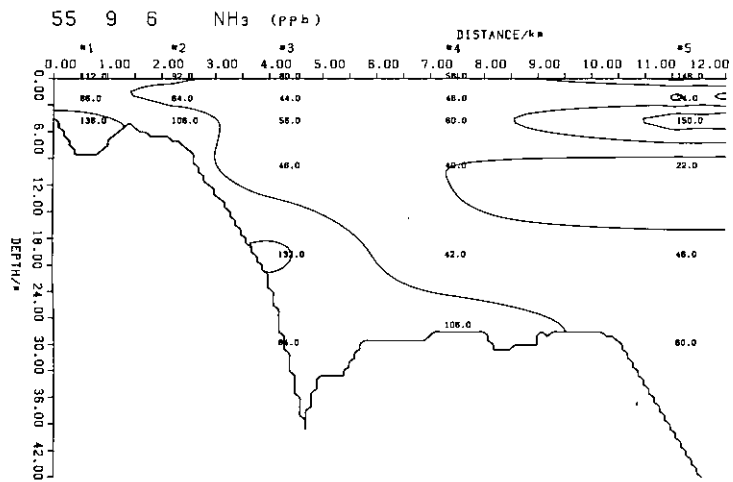
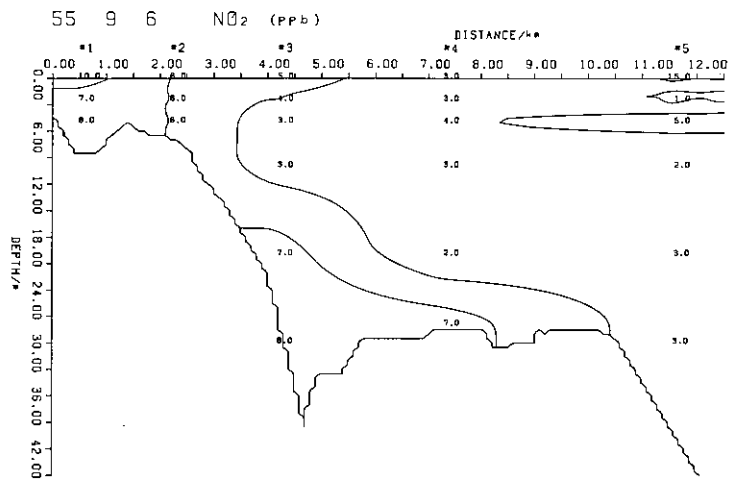
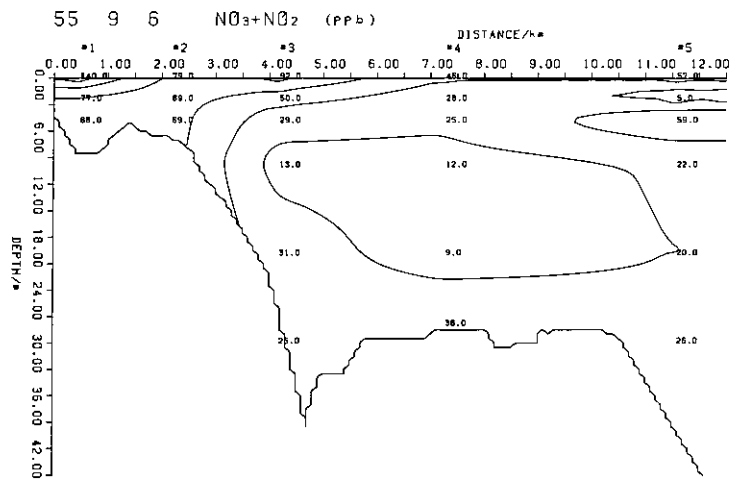


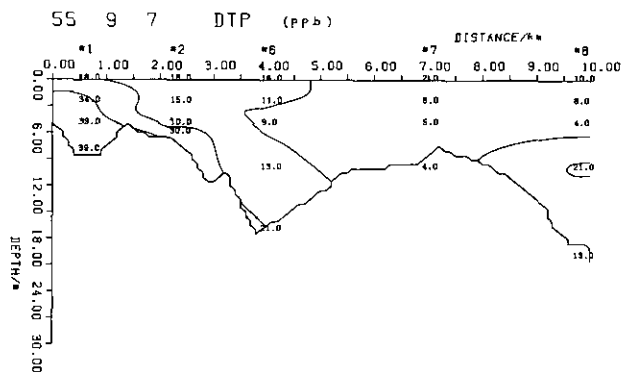
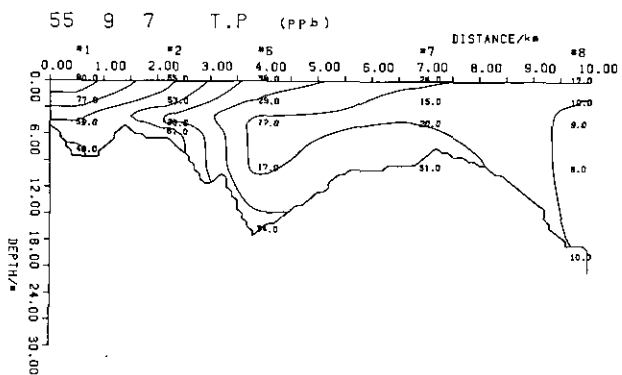
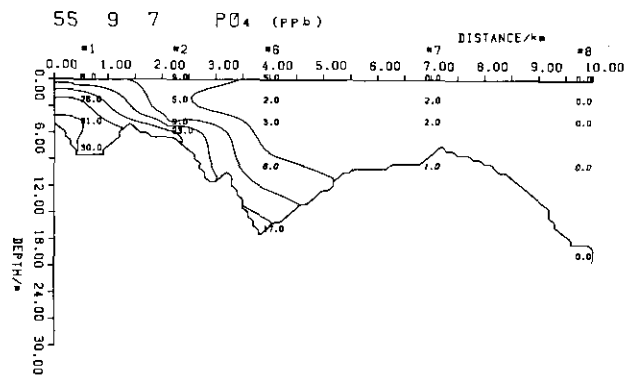
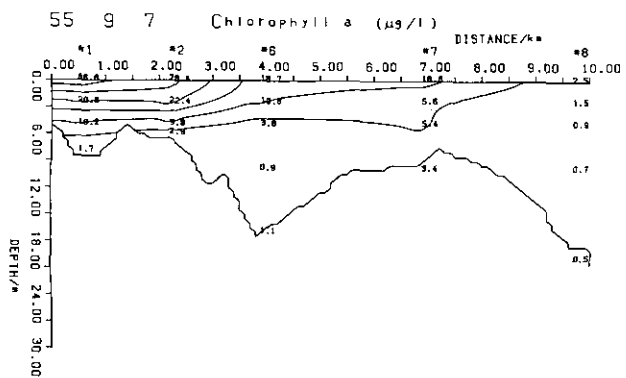


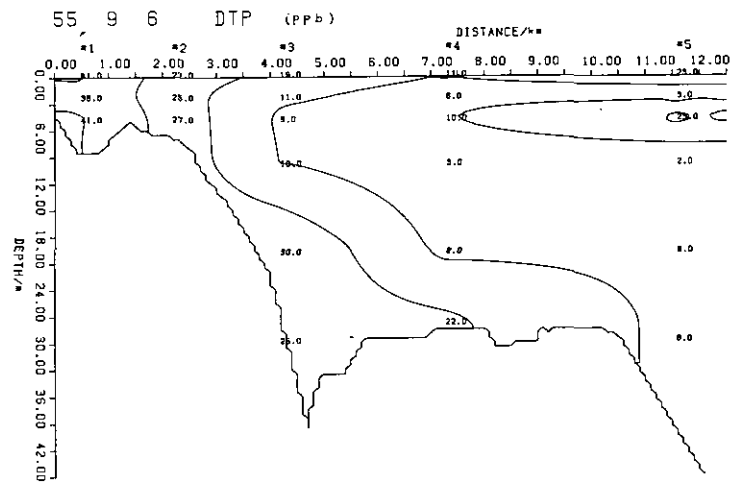
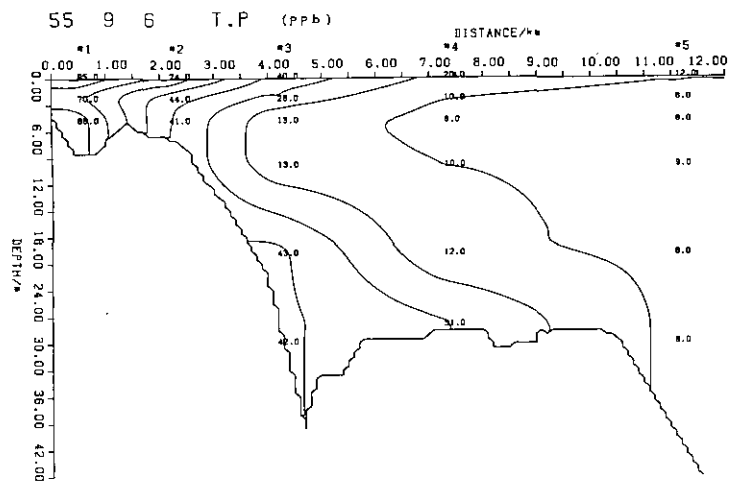
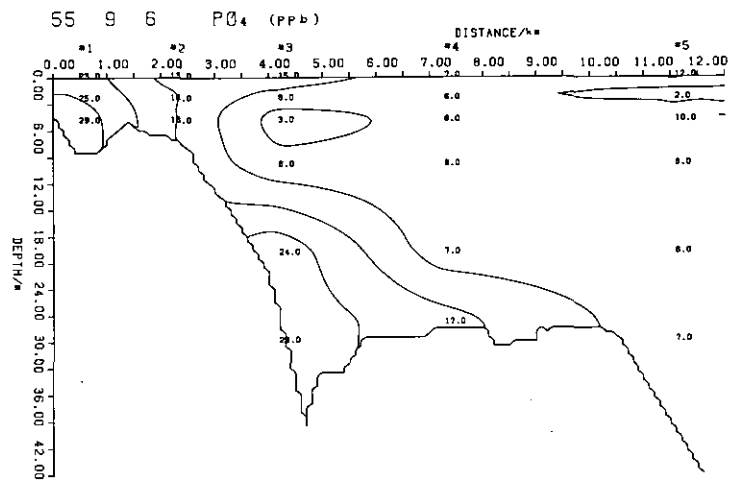
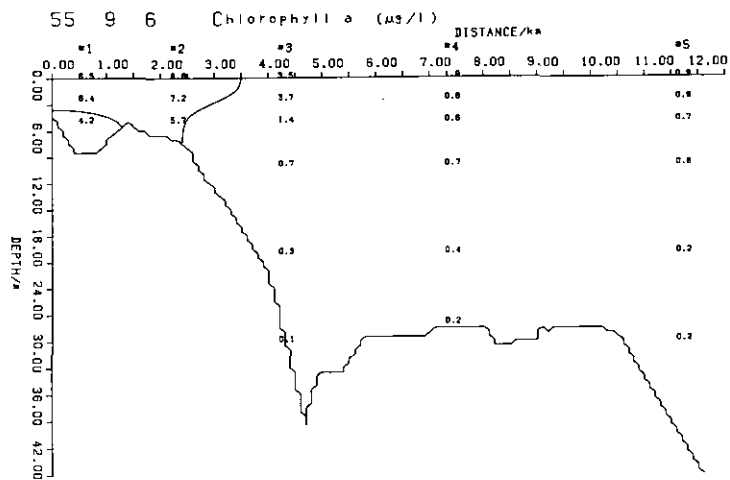


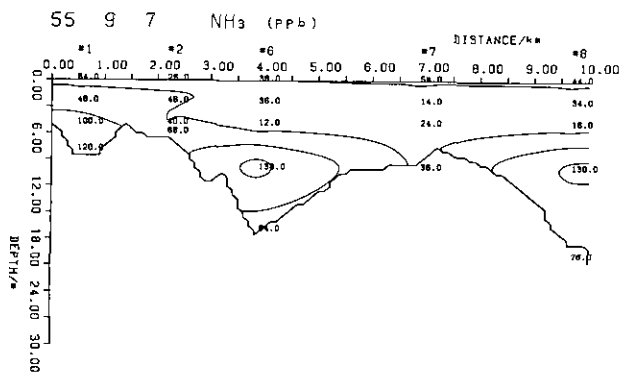
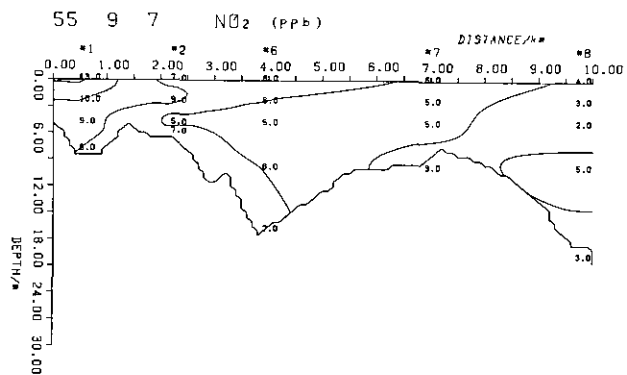
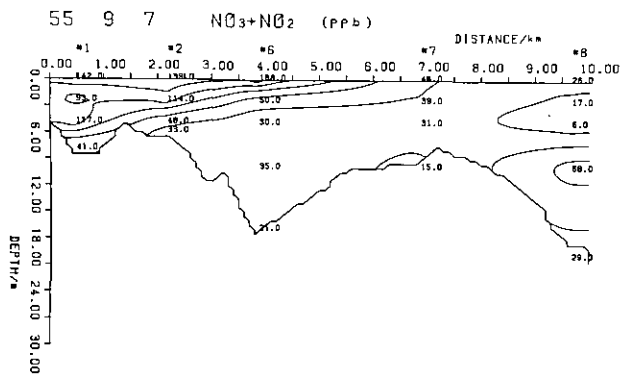


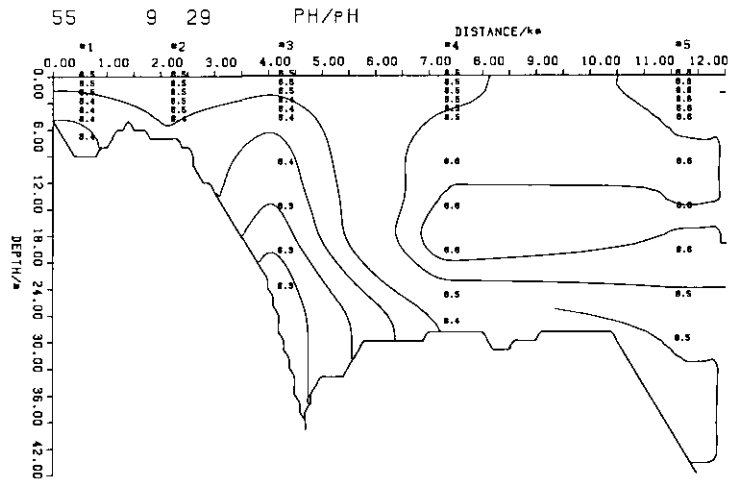
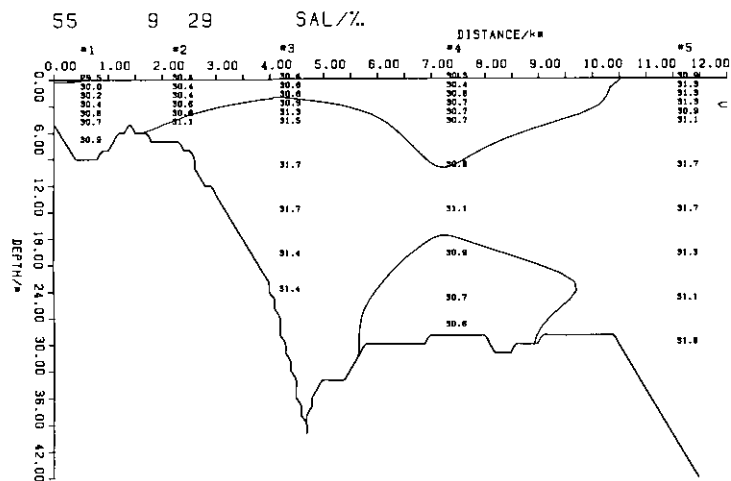
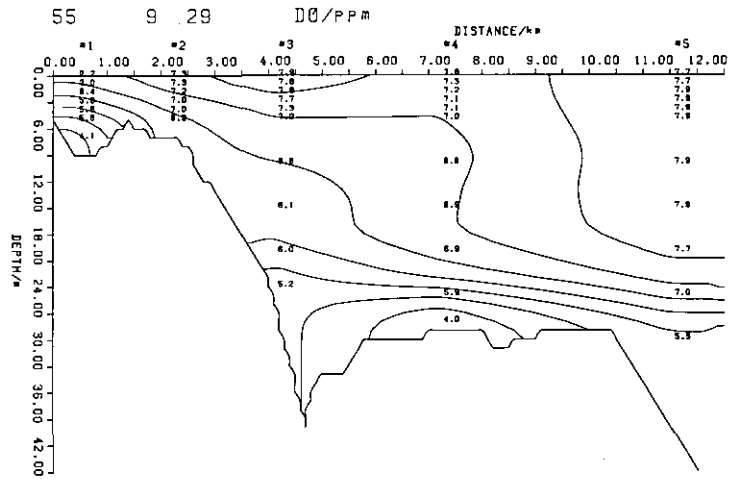
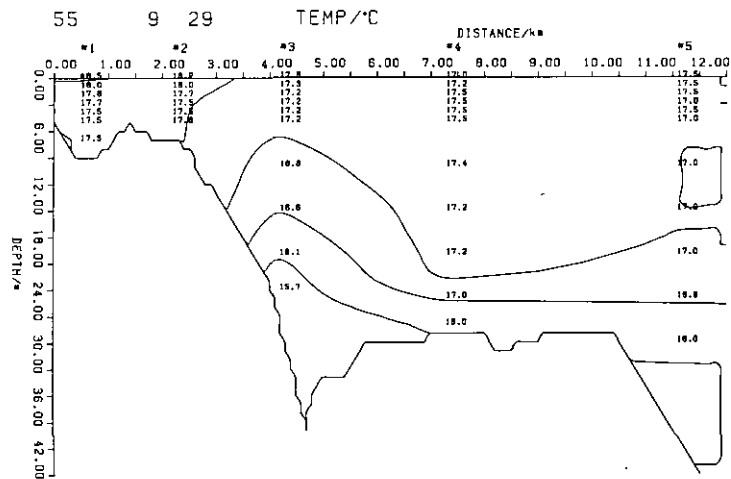


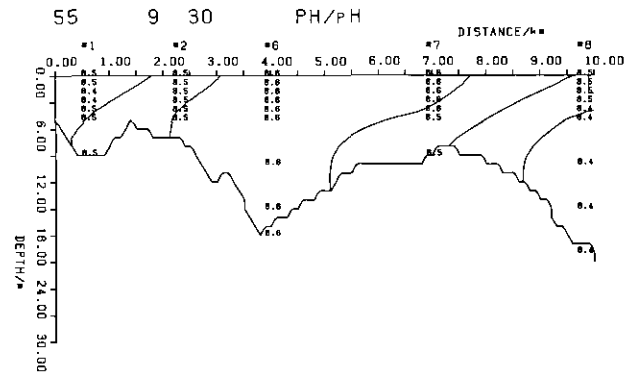
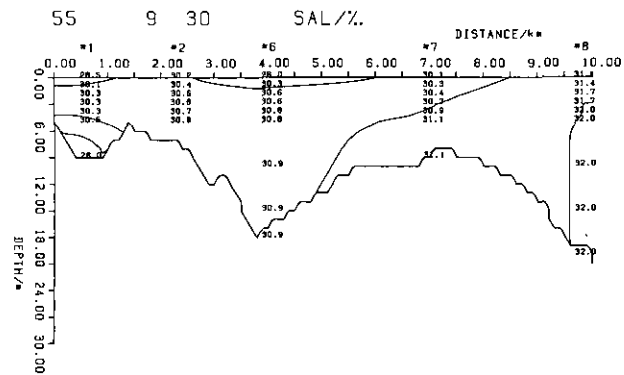
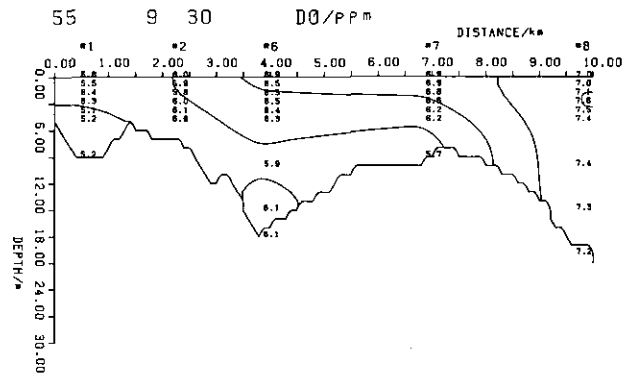
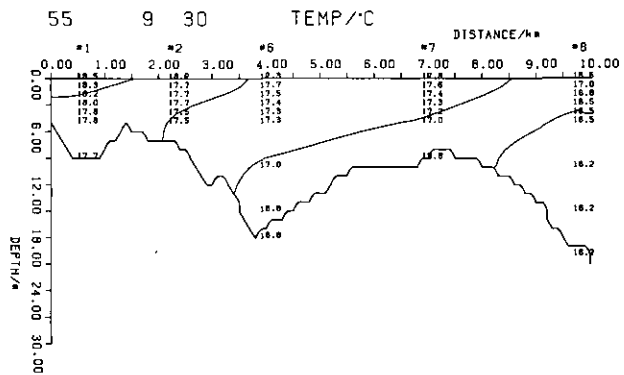


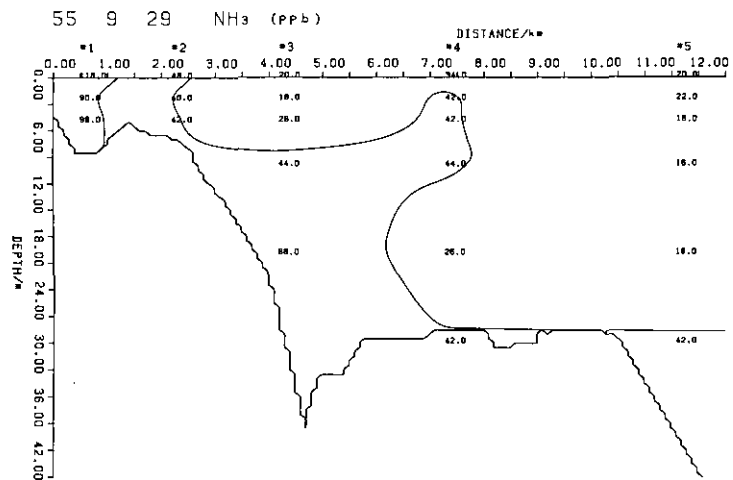
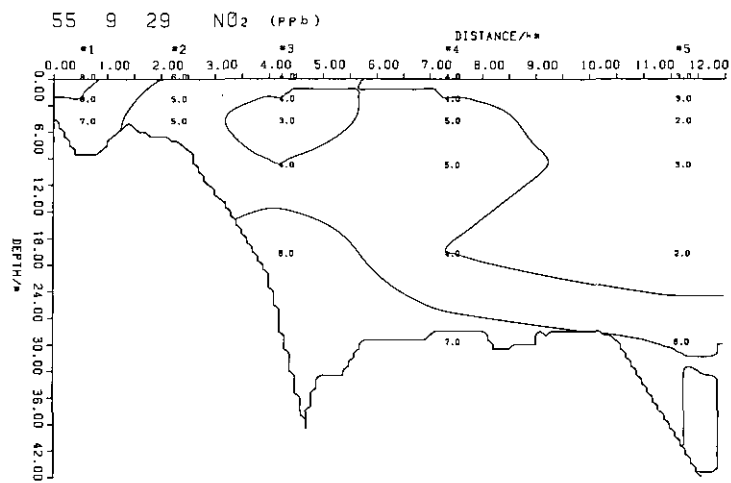
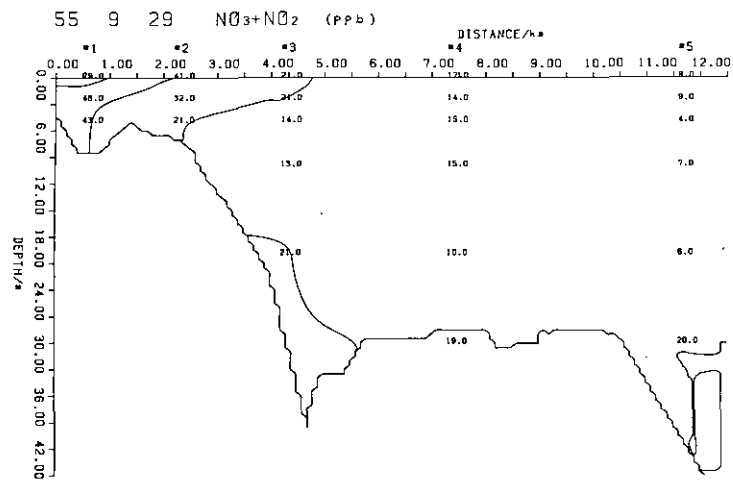


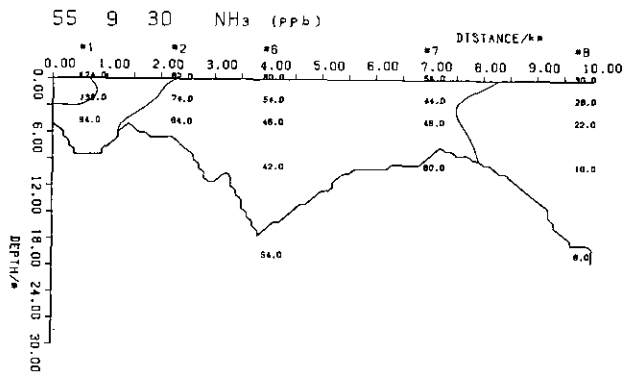
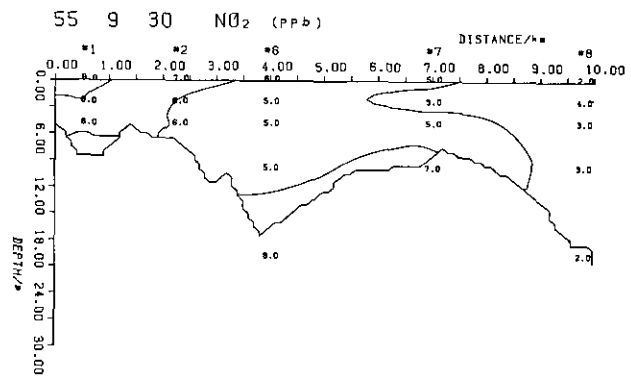
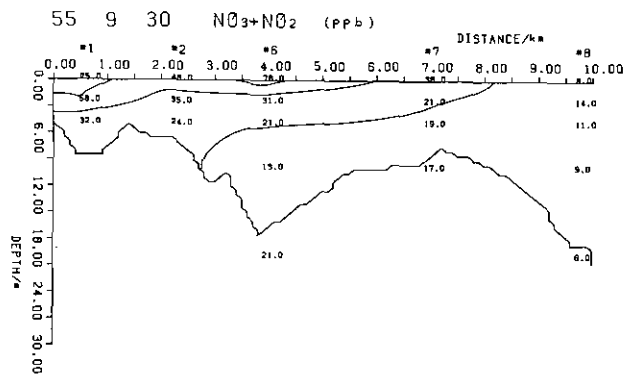




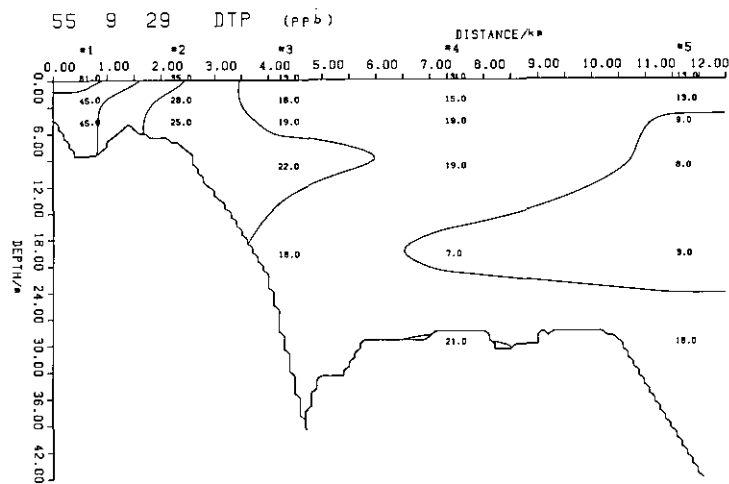
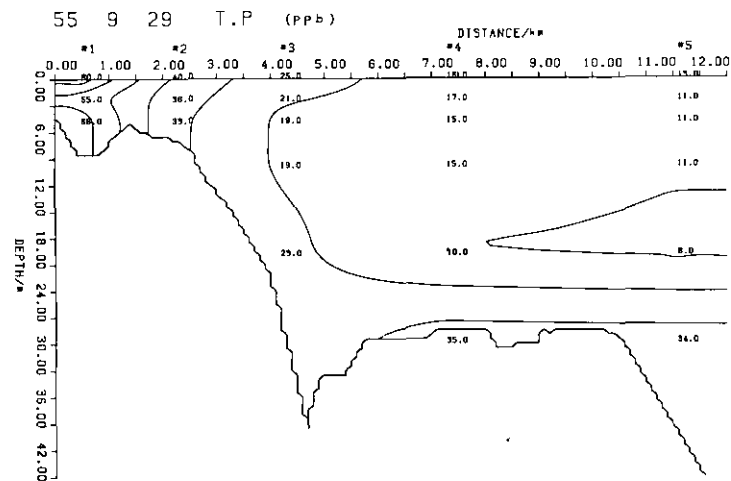
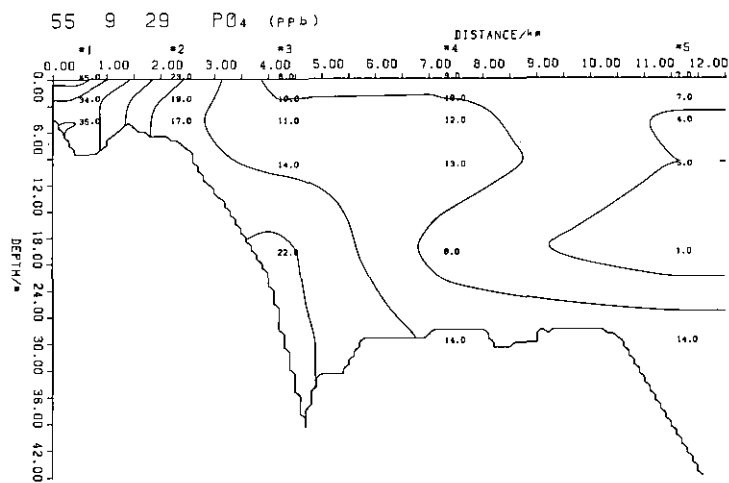
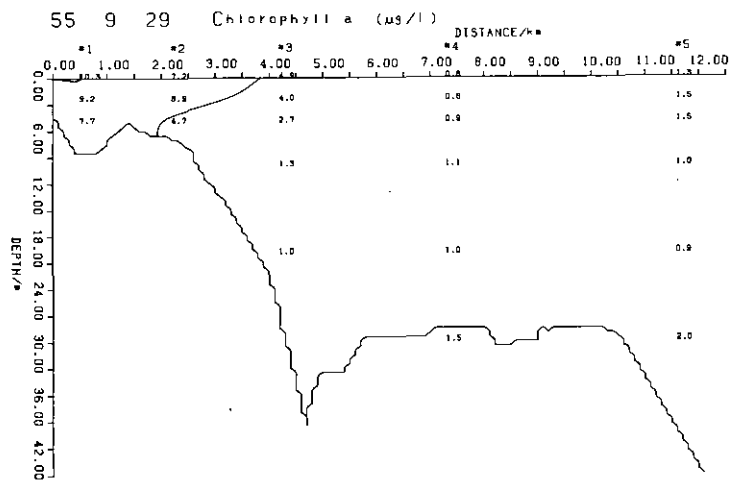


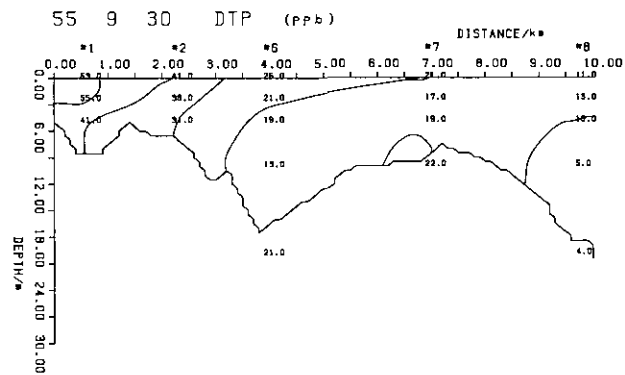
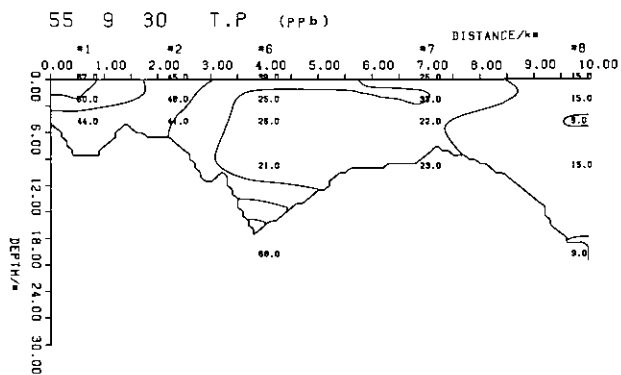
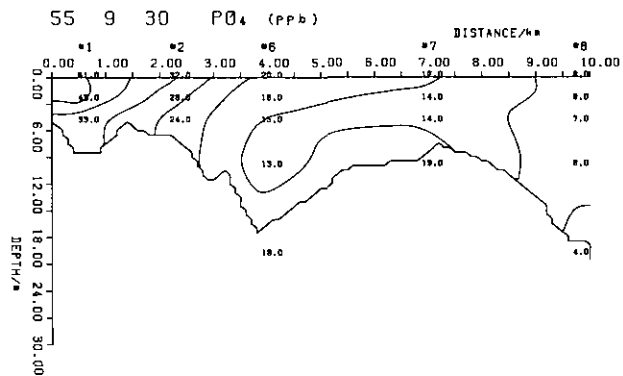
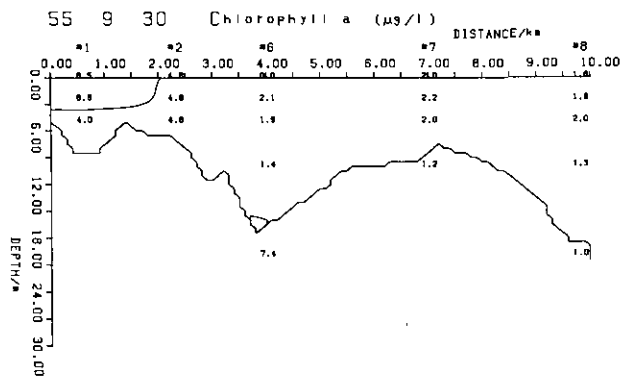


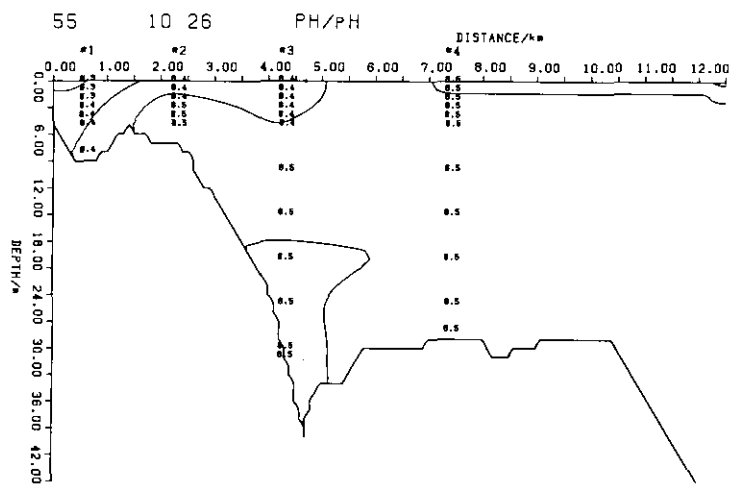
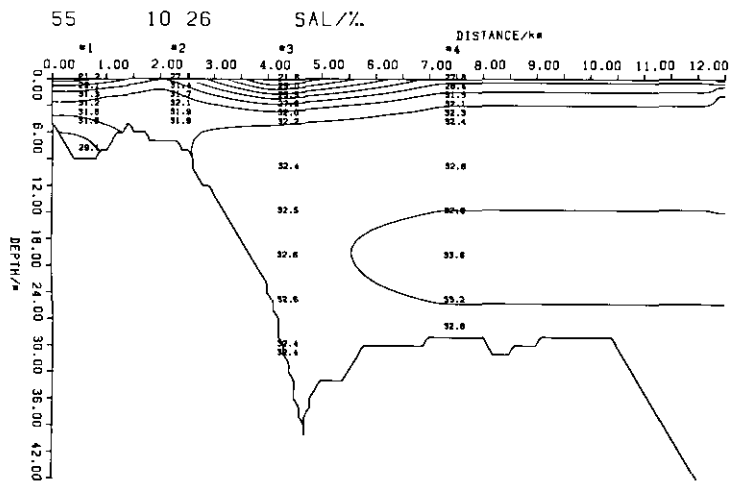
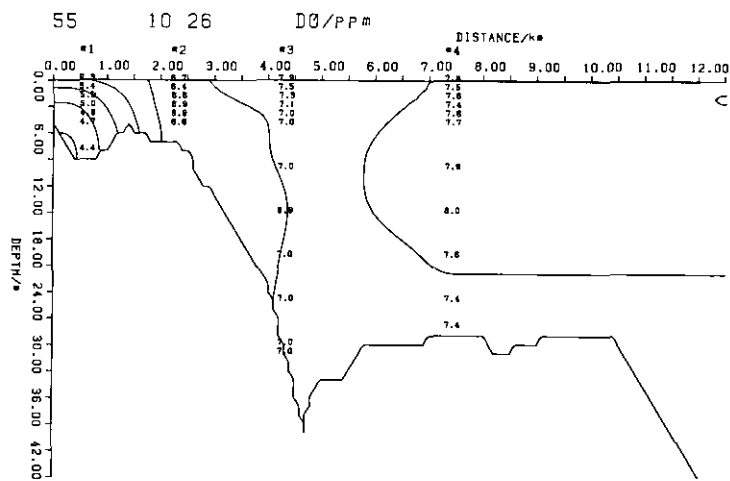
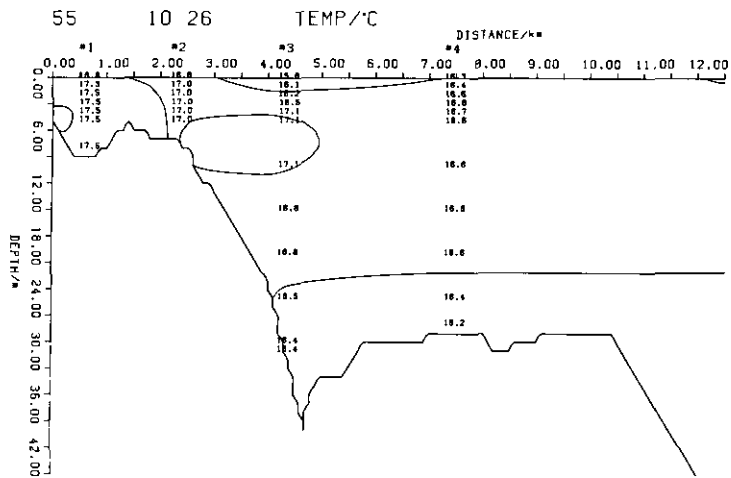


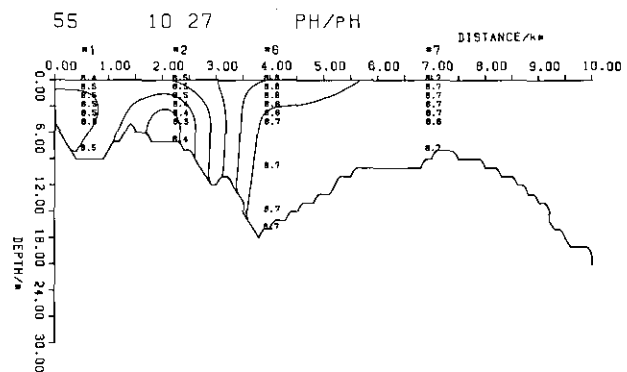
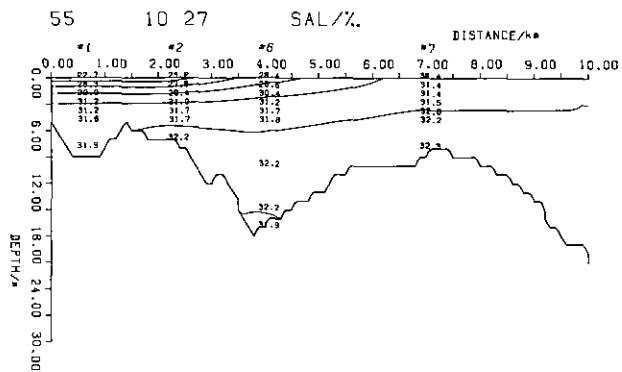
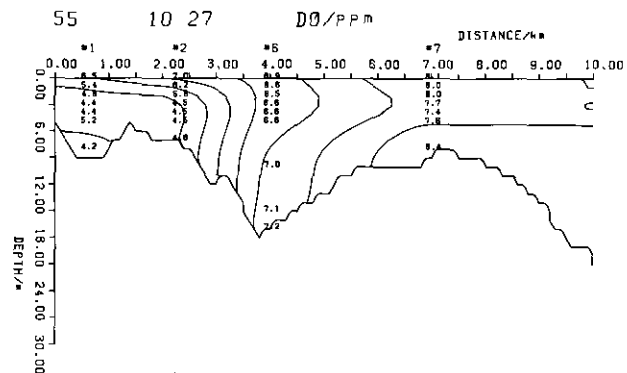
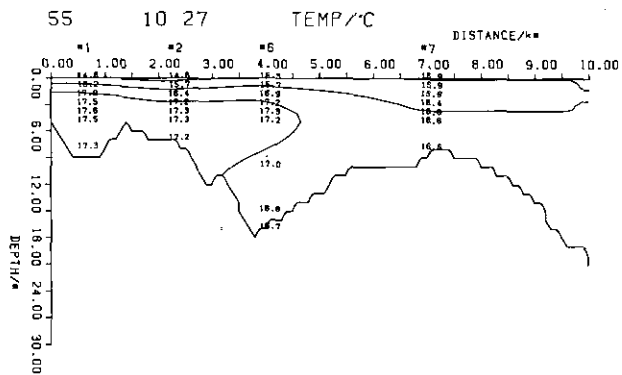


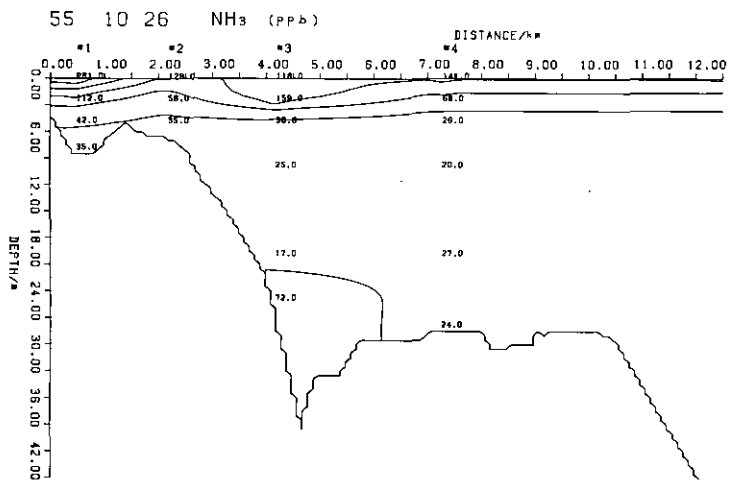
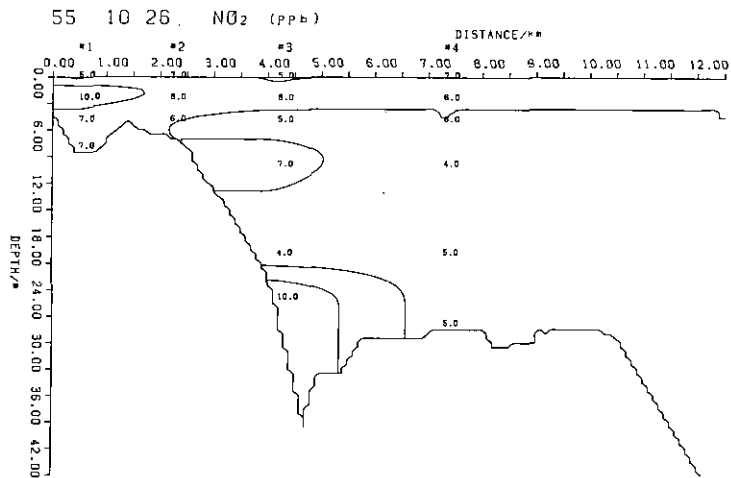
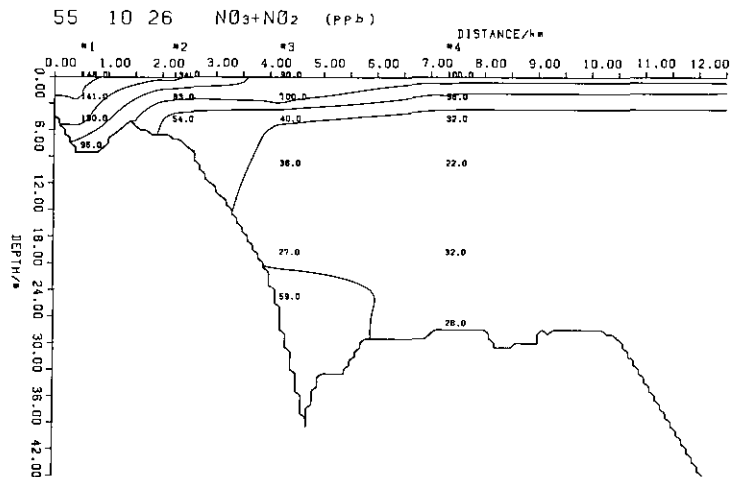


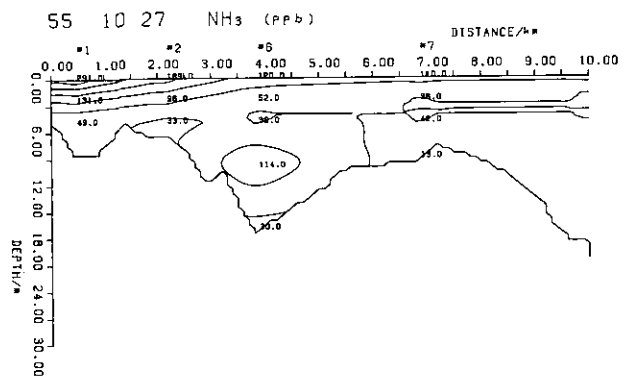
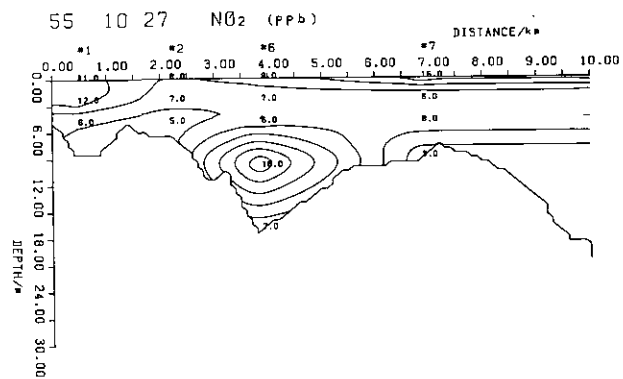
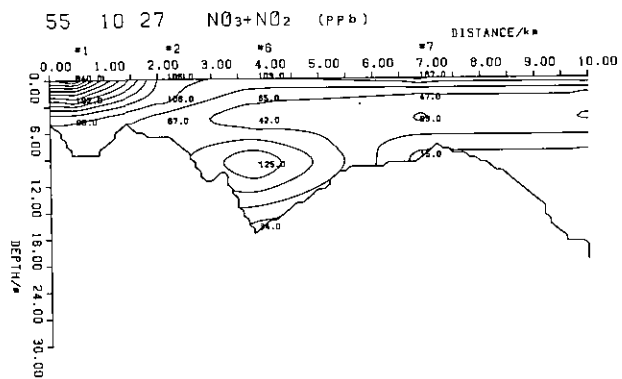


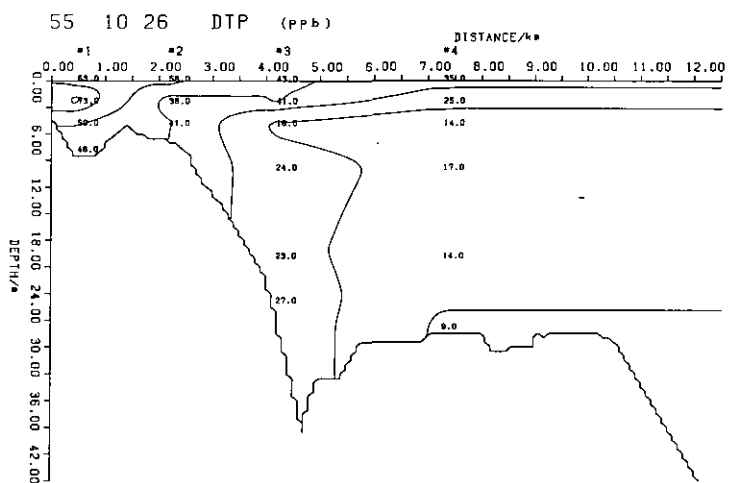
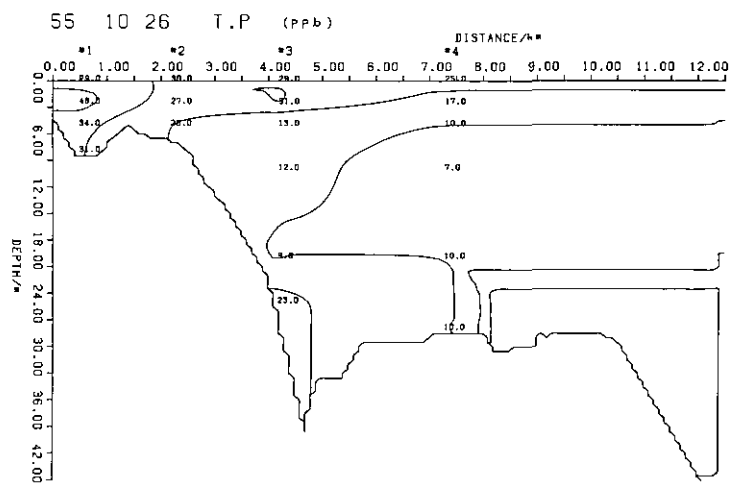
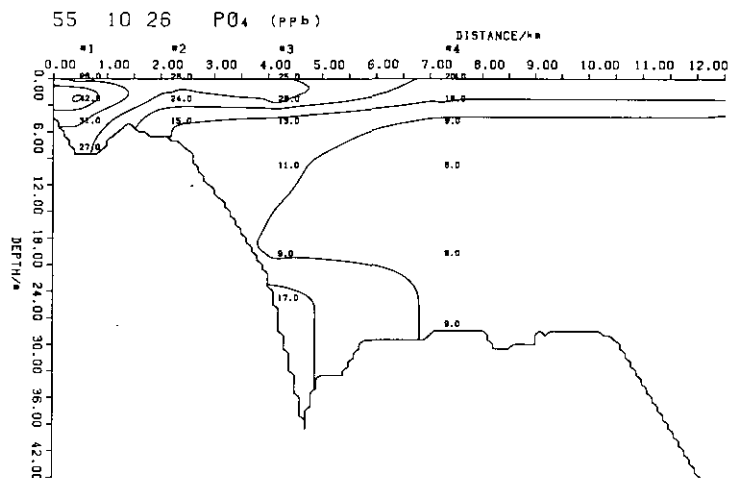
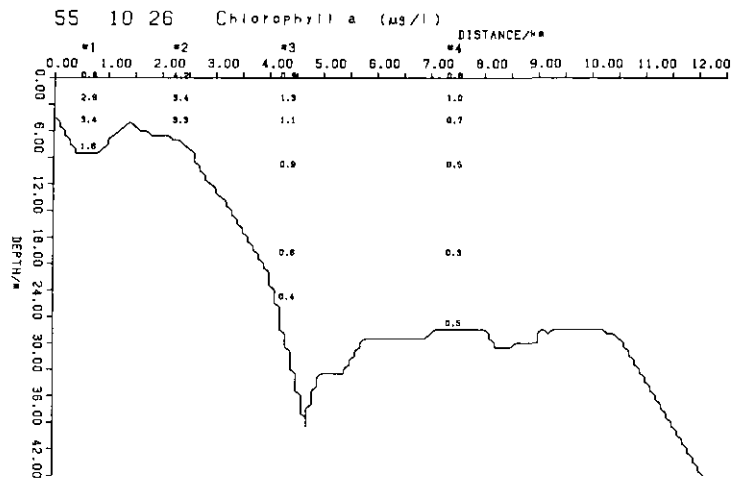


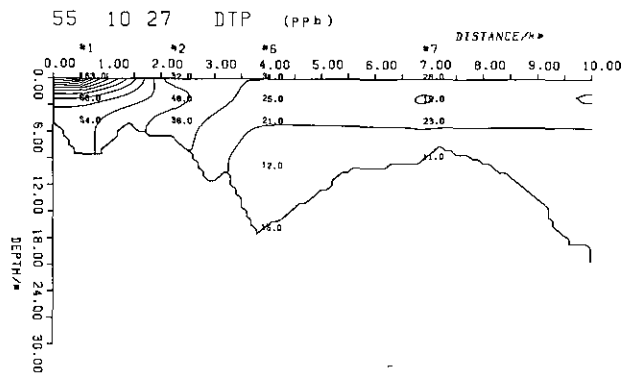
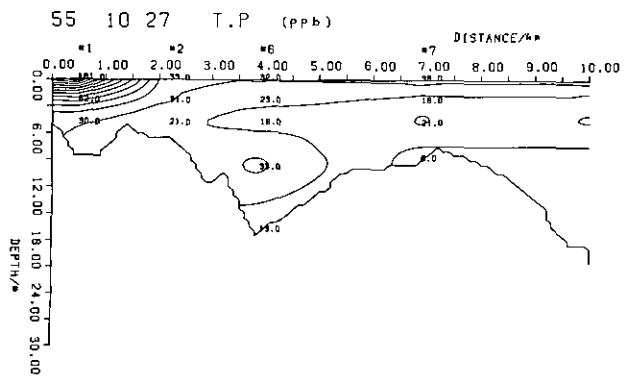
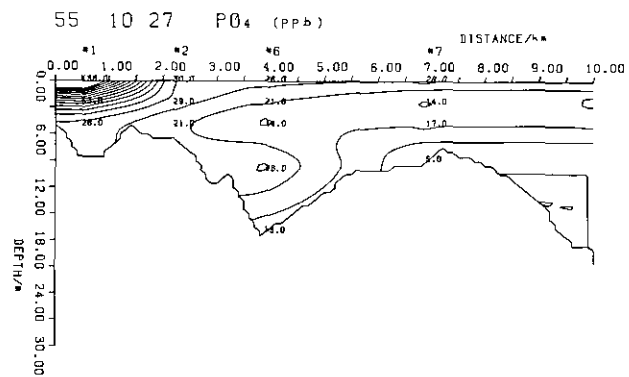
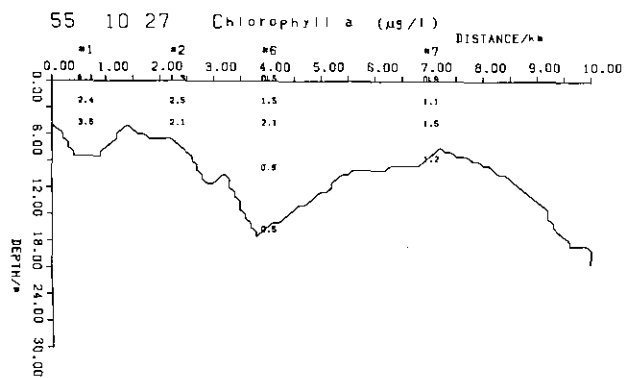




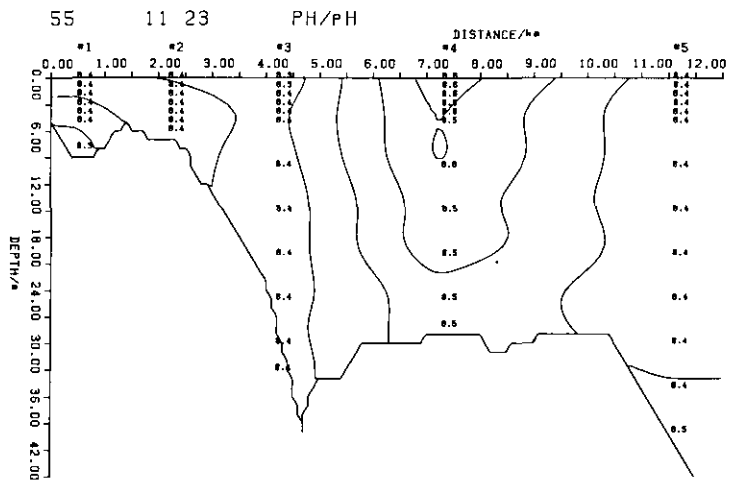
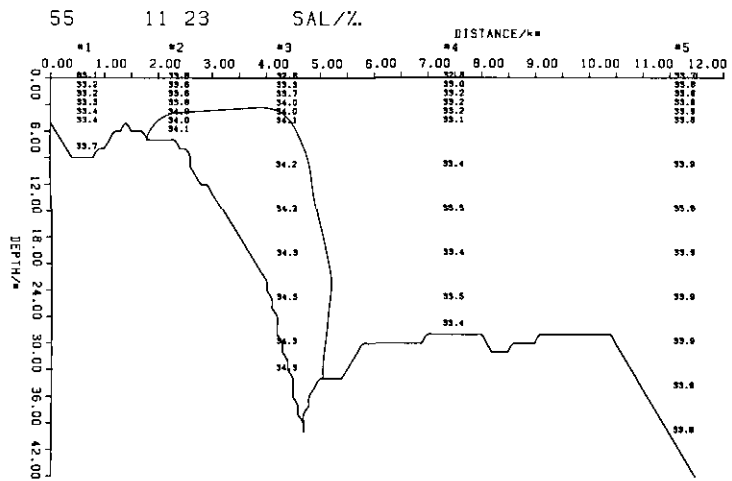
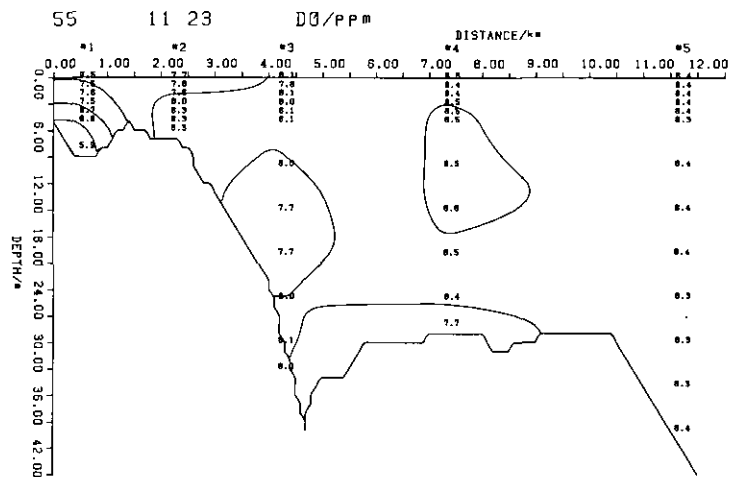
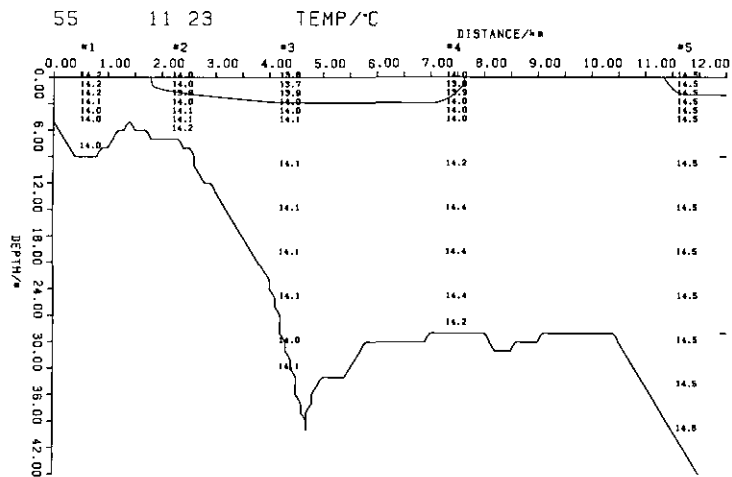


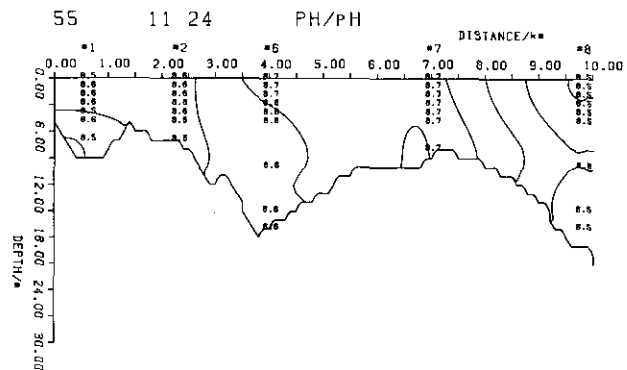
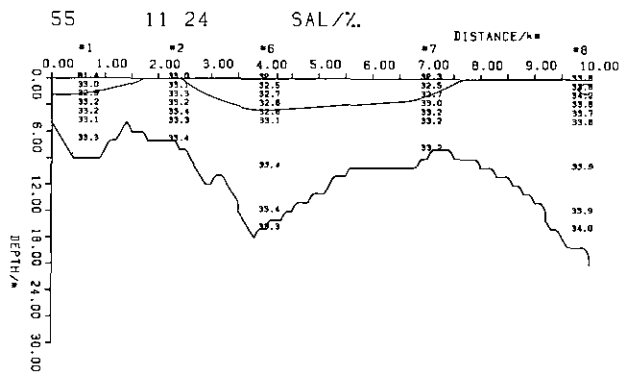
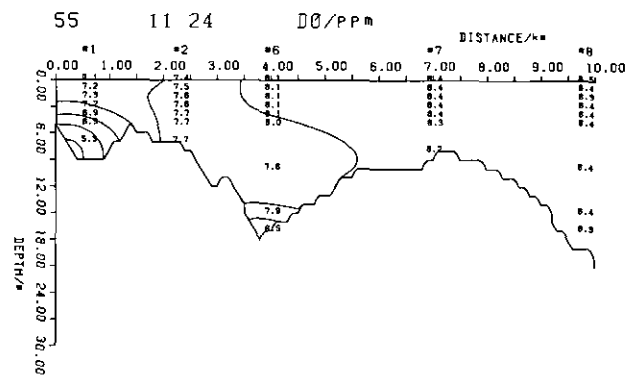
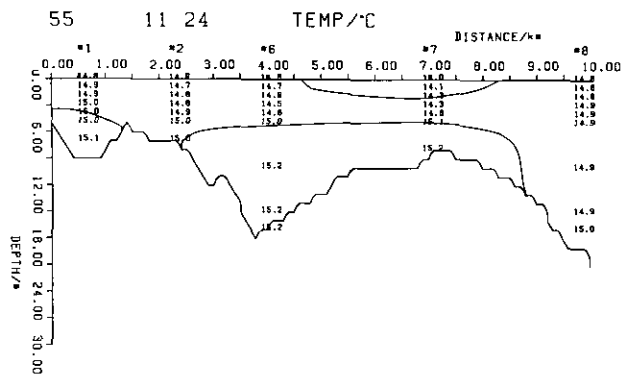


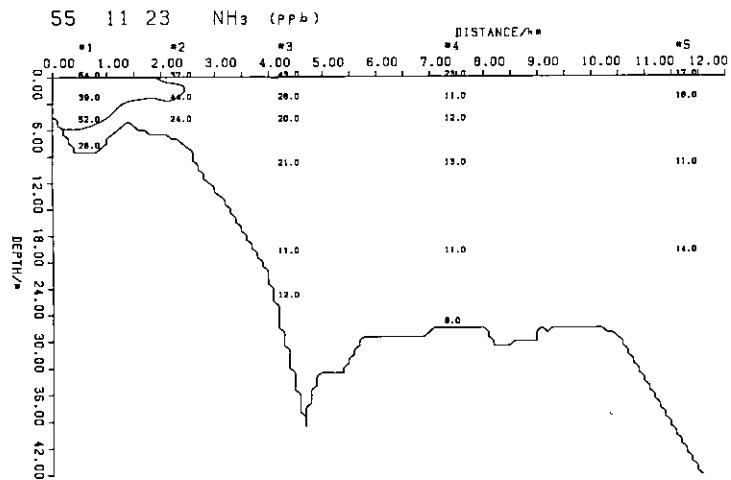
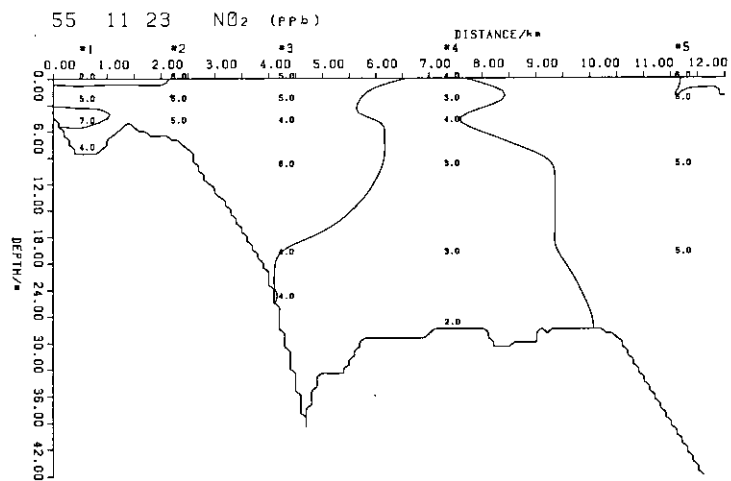
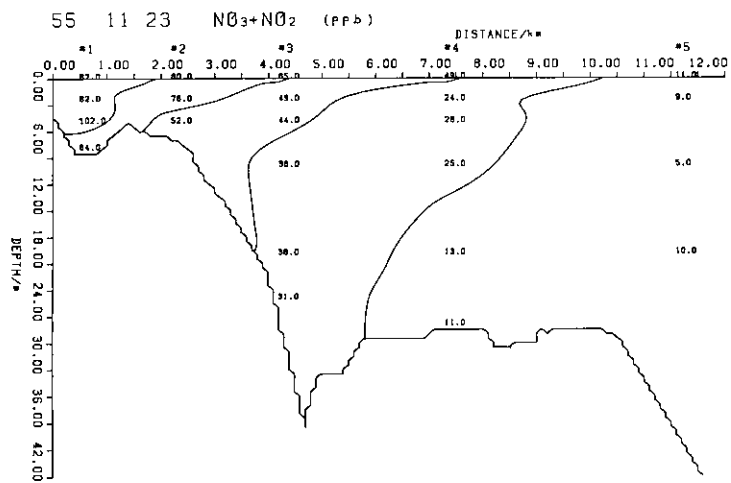


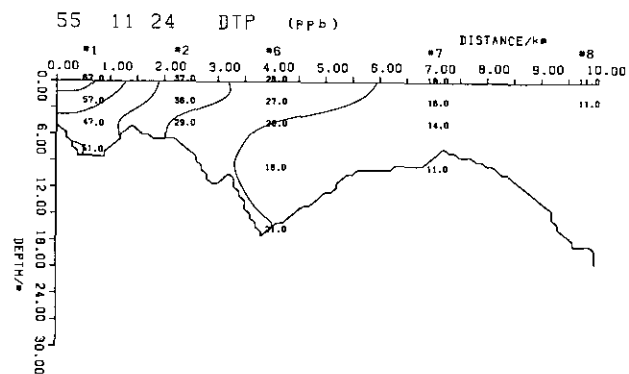
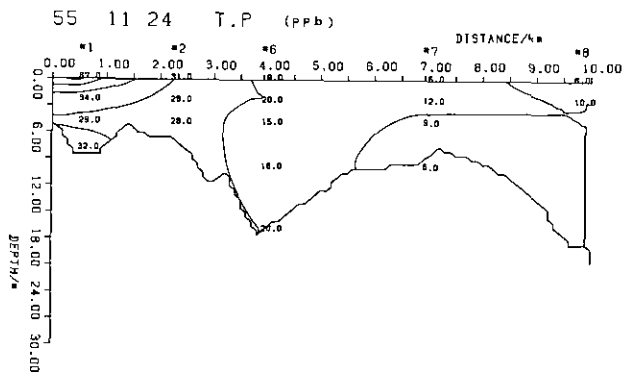
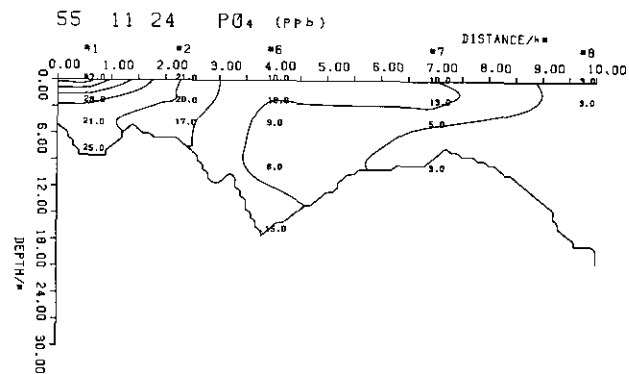
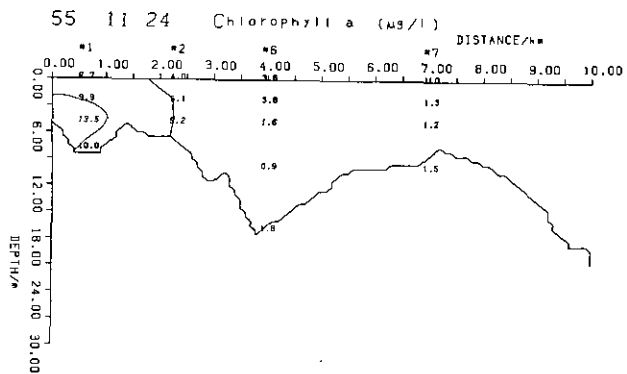


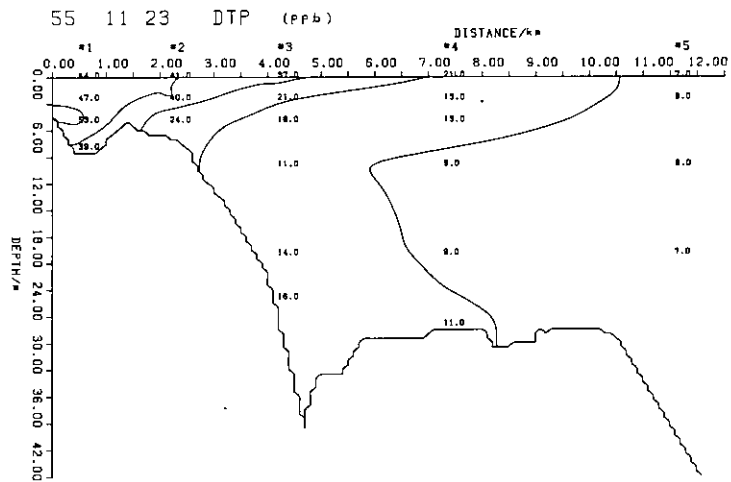
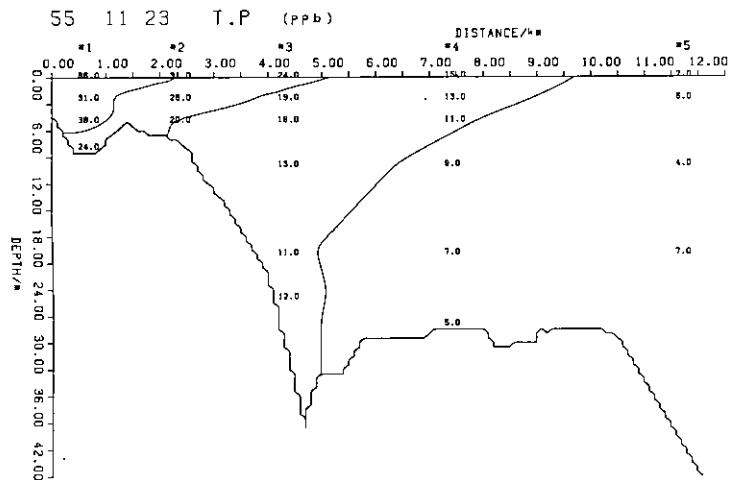
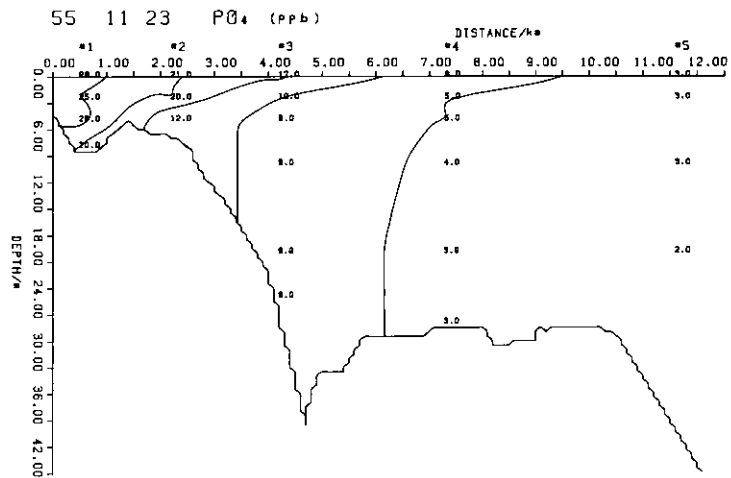
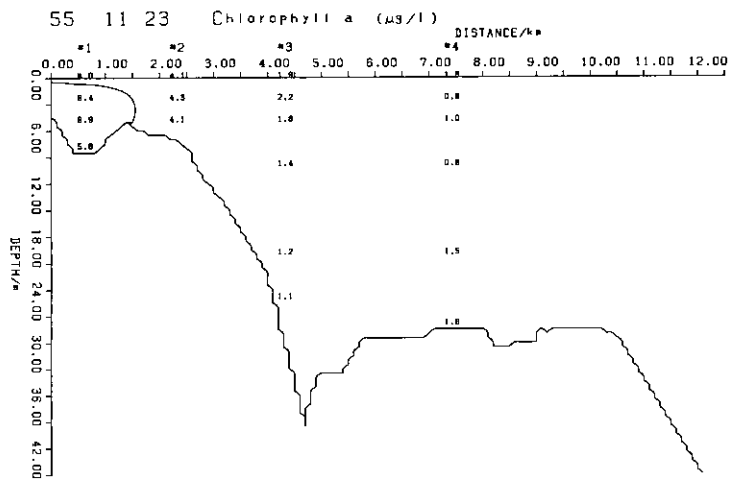


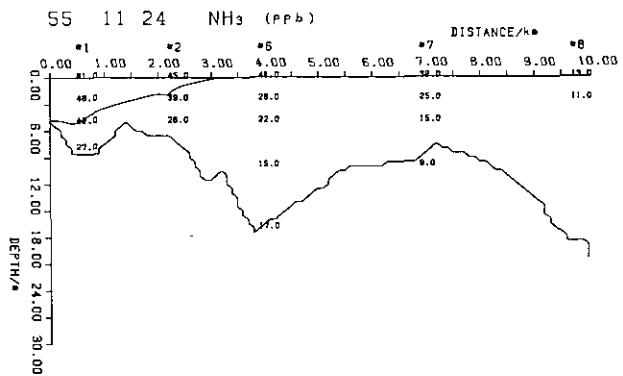
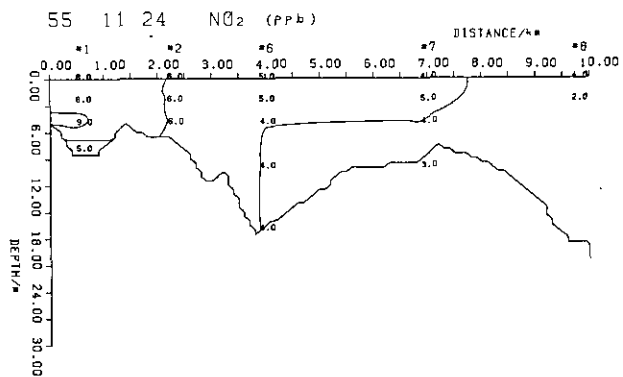
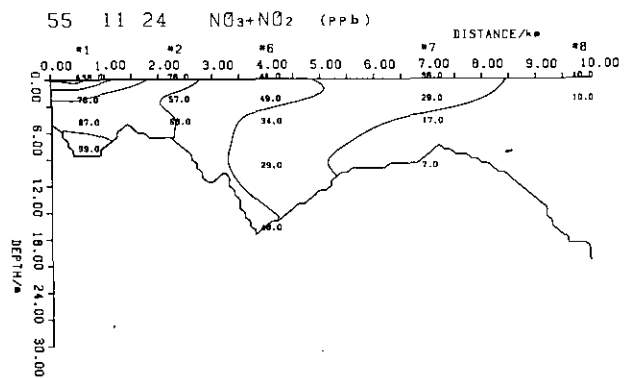












付録-Ⅱ

植物プランクトン細胞数

St. 1 (0m, 2.5m, 5m, Bottom)

St. 2 (0m, 2.5m, 5m)

St. 3 (0m, 2.5m)

St. 6 (0m)

Appendix-II

Cell numbers of phytoplankton

植物プランクトン ( $\times 10^5$  cells/l), 1980.6.27

	1-0	1-2.5	1-5	1-B	2-0	2-2.5	2-5	3-0	3-2.5	6-0
<i>Bacillariophyceae</i>										
<i>Bacteriostrum</i> sp.									0.5	3.0
<i>Chaetoceros curvisetus</i>						3.5		3.5	5.5	4.0
<i>C. didymus</i> var. <i>anglica</i>										2.0
<i>C. difficile</i>	1.3									
<i>C. lacinosus</i>		1.5								
<i>C. pelagicus</i>										8.0
<i>C. perpusillum</i>										3.0
<i>C. pseudocrinitus</i>						1.0		10.0	9.0	11.0
<i>C. radicans</i>										5.0
<i>C. socialis</i>									0.5	
<i>C. tortissimum</i>					5.0					
<i>C. sp.</i>		1.5						1.5		17.5
<i>Coscinodiscus</i> sp.			0.3							
<i>Diatoma</i> sp.				0.1						
<i>Hyalodiscus stelliger</i>								0.5		
<i>Leptocylindrus minimus</i>		1.5							1.5	0.8
<i>Nitzschia closterium</i>		0.5								
<i>Rhizosolenia flagilissima</i>									0.4	
<i>Skeletonema costatum</i>	1.3		0.5		3.5	1.0				1.0
<i>Thalassiosira angusta-lineata</i>	1.5	3.5	2.0		1.0	1.5	2.0	0.5	1.5	
<i>T. sp.</i>	1.0									
<i>Dinophyceae</i>										
<i>Heterocapsa triquetra</i>	33.0	3.0	2.5	0.1	4.5	1.5	0.1	4.5	0.5	0.5
<i>Peridinium trochoideum</i>	2.0				3.0	2.0		1.0	1.5	
<i>P. sp.</i>		0.3						0.3		
<i>Chlorophyceae</i>										
<i>Chlamydomonas</i> sp.				0.2						
<i>Polyblepharidaceae</i>	1.0									
unknown flagellata	40.5	3.0	4.0	0.1	28.0	20.0	0.3	22.5	7.0	4.0
<i>Euglenophyceae</i>										
<i>Euglena</i> sp.								1.0	1.0	1.0
<i>Eutreptiella</i> sp.	0.3		0.1		1.0			0.3		



植物プランクトン ( $\times 10^5$  cells/l), 1980.7.9

	1-S	1-2.5	1-5	1-B	2-S	2-2.5	2-5	2-B	3-0	6-0
<i>Bacillariophyceae</i>										
<i>Chaetoceros brevis</i>										1.8
<i>C. decipience</i>						1.3			0.6	
<i>C. didymus</i>				4.0	1.5	0.8	1.3	0.5	0.2	4.0
<i>C. gracile</i>									0.3	
<i>C. pelagicus</i>									4.5	18.0
<i>C. perpusillum</i>		2.5							5.5	
<i>C. pseudocrinitus</i>					5.0			2.0		4.5
<i>C. radicans</i>	2.0									
<i>C. sp.</i>	8.0	3.5	3.5	1.0	7.5	2.0			3.5	
<i>Coscinodiscus sp.</i>	0.2									
<i>Cymbella sp.</i>	1.5									
<i>Leptocylindrus minimus</i>					2.5	2.5				6.5
<i>Nitzschia seriata</i>							0.5			
<i>Skeletonema costatum</i>	15.0	21.0	5.0	0.3	11.5	33.0	16.5	22.0	14.0	13.5
<i>Thalassiosira angusta-lineata</i>	0.3	1.0	5.5	2.5	2.0	0.5	1.0	1.5		0.3
<i>Dinophyceae</i>										
<i>Heterocapsa triquetra</i>	2.0				2.5	0.5				
<i>Peridinium trochoideum</i>	0.3					0.5				
<i>P. sp.</i>	0.8				0.5		0.2			
<i>Prorocentrum triestinum</i>	0.1									
<i>Chlorophyceae</i>										
<i>Polyblepharidaceae</i>	21.5	1.0	0.5		5.0	1.5		0.5		0.5
<i>unknown flagellata</i>	11.0	9.0	5.5	1.5	8.0	2.5	1.5	4.5	0.5	3.0
<i>Euglenophyceae</i>										
<i>Euglena sp.</i>	0.1									0.5
<i>Eutreptia sp.</i>	0.5								0.5	
<i>Eutreptiella sp.</i>	0.3				2.5			0.3		

植物プランクトン ( $\times 10^5$  cells/l), 1980.7.24

Phytoplankton	1-0	1-2.5	1-5	1-B	2-0	2-2.5	2-5	2-B	3-0	6-0
<i>Bacillariophyceae</i>										
<i>Chaetoceros pelagicus</i>		1.5							21.5	
<i>C. perpusillum</i>					5.0					
<i>C. sociale</i>					2.2					
<i>C. sp.</i>		0.5		0.5		1.2				1.5
<i>Cocconeis sp.</i>		0.5								
<i>Coscinodiscus sp.</i>					0.1					
<i>Leptocylindrus danicus</i>	14.0	5.5								
<i>L. minimus</i>							0.2		0.5	
<i>Navicula sp.</i>				0.3						
<i>Nitzschia sp.</i>					0.1					
<i>Pleurosigma affine</i>				0.3						
<i>Skeletonema costatum</i>	93.5	63.5	47.0	4.0	203.0	310.0	56.0	6.1	294.0	23.5
<i>Dinophyceae</i>										
<i>Dinophysis sp.</i>				0.2						
<i>Heterocapsa triquetra</i>					0.2	0.2				
<i>Peridinium minusculum</i>			0.3		0.2	0.6	0.1		0.3	0.3
<i>P. oceanicum</i>										0.5
<i>P. trochoideum</i>					0.1	0.4				1.0
<i>P. sp.</i>	0.5				0.1	0.2			0.3	
<i>Prorocentrum triestinum</i>	0.5									
<i>Chlorophyceae</i>										
<i>unknown flagellata</i>					0.9	1.0	0.6	0.2		3.0
<i>Polyblepharidaceae</i>										1.5
<i>Euglenophyceae</i>										
<i>Euglena sp.</i>		0.5			2.2	0.8	0.4	0.1	1.5	0.5

植物プランクトン ( $\times 10^5$  cells/l), 1980.8.10

Phytoplankton	1-0	1-2.5	1-5	1-B	2-0	2-2.5	3-0	4-0	5-0	6-0
<i>Bacillariophyceae</i>									0.4	
<i>Bacteriastrum hyalinum</i>									0.3	
<i>Chaetoceros boreale</i>						0.6	0.6	0.7	0.8	1.2
<i>C. curvisetus</i>	0.6						0.8			
<i>C. decipiens</i>		0.3								0.2
<i>C. distans</i>				0.15	0.4					
<i>C. pelagicus</i>	0.7				0.3		3.4	2.5		1.7
<i>C. perpusiculum</i>						0.6		1.0	0.6	1.2
<i>C. sp.</i>					0.8	0.2				0.2
<i>Diatoma hyalina</i>		0.1						0.1		
<i>Eucampia zoodiacus</i>	0.5	0.2								
<i>Hemiaulus hauckii</i>									0.2	
<i>Navicula sp.</i>										0.2
<i>Nitzschia sp.</i>						0.08				
<i>Rhizosolenia flagilissima</i>									0.4	0.3
<i>Skeletonema costatum</i>	12.9	18.5	5.2	3.95	34.0	35.3	14.0	8.4	1.8	46.0
<i>Thalassiosira angusta-lineata</i>						0.3				
<i>T. decipiens</i>										0.4
<i>Dinophyceae</i>										
<i>Dinophysis forthii</i>			0.08							
<i>Gonyaulux sp.</i>	0.1									
<i>Peridinium trochoideum</i>	0.2				0.1					
<i>P. sp.</i>									0.1	
<i>Prorocentrum micans</i>						0.08				
<i>P. triestinum</i>	0.8	0.1			1.8		0.4	0.1		
<i>Chlorophyceae</i>										
<i>unknown flagellata</i>	1.1	1.8	0.3		0.9	0.2	1.4	0.4		0.7
<i>Euglenophyceae</i>										
<i>Euglena sp.</i>	0.6				0.1		0.6			0.1
<i>Eutreptia sp.</i>							0.2			

植物プランクトン ( $\times 10^5$  cells/l), 1980.8.22

	1-0	1-2.5	1-5	1-B	2-0	2-2.5	2-5	2-B	3-0	6-0
<i>Bacillariophyceae</i>										
<i>Leptocylindrus minimus</i>					2.0	3.0				
<i>Nitzschia closterium</i>							0.5			
<i>N. seriata</i>			0.8							
<i>Rhizosolenia flagilissima</i>						2.0				
<i>Skeletonema costatum</i>	121.5	125.0	72.5	11.0	54.0	91.5	29.0	6.0	106.5	19.0
<i>Dinophyceae</i>										
<i>Dinophysis fortii</i>						0.3			0.5	
<i>Gonyaulax catenatum</i>	1.0									
<i>Peridinium minusculum</i>						0.5				
<i>Prorocentrum triestinum</i>	6.0	0.5	0.5			1.0	0.5			0.5
<i>Chlorophyceae</i>										
<i>Pyraminomas</i> sp.	15.0	4.0			15.0	5.0	1.0	1.0		
unknown flagellata	1.5	1.0	3.0	1.0	11.0			0.5	2.0	1.0
<i>Euglenophyceae</i>										
<i>Eutreptiella</i> sp.					0.5	0.3	0.5		0.5	

植物プランクトン ( $\times 10^5$  cells/l), 1980.9.7

Phytoplankton	1-0(F)	2-0(F)	3-0(F)	6-0(F)
<i>Bacillariophyceae</i>				
<i>Chaetoceros pseudocrinitum</i>			0.9	
<i>C. spp.</i>	1.8	1.0		
<i>Leptocylindrus minimus</i>	4.5		3.5	2.0
<i>Skeletonema costatum</i>	79.5	72.0	25.0	72.5
<i>Chlorophyceae</i>				
<i>Pyramimonas sp.</i>		1.0		
<i>unknown flagellata</i>		0.5	0.3	3.0
<i>Euglenophyceae</i>				
<i>Eutreptia sp.</i>	6.0	0.5		
(Cell number $\times 10^5$ /l)				

植物プランクトン ( $\times 10^5$  cells/l), 1980.9.29

Phytoplankton	1-0	1-2.5	1-5	2-0	2-2.5	2-4	3-0	6-0	7-0
<i>Bacillariophyceae</i>									
<i>Chaetoceros curvisetus</i>				0.4					
<i>C. pelagicus</i>				2.1		0.2	2.1		
<i>C. sp.</i>			0.8	0.3		0.1			
<i>Dactyliosolen mediterraneus</i>		1.5	0.4						
<i>Ditylum brightwellii</i>							0.1		
<i>Fragilaria sp.</i>									0.1
<i>Leptocylindrus danicus</i>			2.0						
<i>Licmophora abbreviata</i>					0.1				
<i>Navicula sp.</i>				0.1	0.1			0.1	
<i>Nitzschia closterium</i>		0.3					0.2		
<i>Skeletonema costatum</i>	29.0	5.5	36.5	45.5	45.0	20.7	26.0	3.3	8.0
<i>Stephanopyxis palmeriana</i>		2.0	0.4						
<i>Thalassiosira anguste-lineata</i>			0.3	0.2		0.4	0.2		
<i>T. decipience</i>								0.2	
<i>T. pacifica</i>				0.8	1.0		0.5		
<i>T. sp.</i>	1.0								
<i>Dinophyceae</i>									
<i>Gonyaulux sp.</i>	1.5	0.5	1.5		0.1				
<i>Peridinium minisculum</i>			0.5	0.1	0.1				
<i>P. roseum</i>				0.1					
<i>Prorocentrum triestinum</i>	1.3	1.5	0.1	0.1			0.1		
<i>Chlorophyceae</i>									
<i>Pyramimonas sp.</i>	28.5	8.0	15.0	0.6	0.3		0.1	0.8	
<i>unknown flagellata</i>	1.0	0.5	0.5	0.3		0.3	0.1	0.1	0.3
(Cell number $\times 10^5$ /l)									

## 15. 海水の赤潮生物生産能力の評価

### Determination of Algal Growth Potential on Sea Water Using Red Tide Organisms

矢木修身<sup>1</sup>・須藤隆一<sup>1</sup>・今岡 務<sup>2</sup>・寺西靖治<sup>2</sup>

Osami YAGI<sup>1</sup>, Ryuichi SUDO<sup>1</sup>, Tsutomu IMAOKA<sup>2</sup> and Seiji TERANISHI<sup>2</sup>

#### 要 旨

全国各地の海水の藻類生産の潜在能力(AGP)を *Chattonella antiqua*, *Heterosigma* sp. ならびに *Skeletonema costatum* の赤潮生物を用いて測定した。これらの赤潮生物は、20°C, 4,000 lx, 静置培養の条件で良好な増殖を示した。海水のAGPは3~29mg/lの範囲であった。これらの値は、海水中のリン濃度と、相関が認められた。海水への各種の栄養塩添加実験を行った結果、海水中の藻類増殖に対する制限栄養物質は多くの場合、リンであった。

#### Abstract

Determinations of algal growth potential (AGP) for various sea waters were carried out using red tide organisms, *Chattonella antiqua*, *Heterosigma* sp. and *Skeletonema costatum*. These red tide organisms grew well without shaking under the conditions of 20°C and 4,000 lx. The values of AGP for sea waters were ranging from 3 to 29 mg/l. These values were correlated to the phosphorus concentration of sea waters. From the experiments of the various nutrients additions to sea waters, the limiting nutrient for algal growth was almost phosphorus.

#### 1. はじめに

瀬戸内海を始めとしてわが国沿岸域で多発する赤潮は、大きな社会問題となっている。赤潮の発生機構に関しては、不明の部分が多く、有効な対策が立てにくいのが現状である。赤潮生物の多くは窒素・リンなどの栄養物質とともに鉄・ビタミンなど微量の増殖刺激物質を要求し、それらが発生への引き金的な役割を果していることが指摘されている。それゆえ、赤潮の発生を予測あるいは

- 
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  
Water and Soil Environment Division, The National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
  2. 広島大学工学部 〒730 広島市中区千田町3-8-2  
The Faculty of Engineering, Hiroshima University, Senda-cho, Naka-ku, Hiroshima 730, Japan.

制御するためには、窒素・リン濃度だけではなく、増殖刺激物質にも着目して、海水のもつ赤潮生物生産能力を正しく評価する必要がある。藻類培養試験法は、試水に含まれる種々の栄養物質を反映した潜在的な藻類生産能力 (Algal Growth Potential, AGP) の把握を目的の一つとしており、富栄養化の評価の一手法として最近よく用いられるようになった\*。これまでに、湖沼や河川などの淡水域のAGPならびに都市下水および処理水のAGPが数多く報告されているが\*\*、多くの場合は、*Selenastrum* や *Chlorella* など比較的培養の容易な淡水性の藻類を用いて測定したものであり、海水のAGPを測定した報告は少ない。現在、海域で問題となっている藻類は *Chattonella* および *Peridinium* などの鞭毛藻であり\*\*\*、赤潮発生の予測および制御を行うためにはこれらの問題となっている藻類でのAGP測定が必要となってくる。しかしながら、これらの鞭毛藻は一般に培養が困難とされており、鞭毛藻を用いた培養試験法は確立されていない。そこで、本研究では、赤潮生物である *Chattonella antiqua* および、*Heterosigma* sp. の2種の鞭毛藻ならびに珪藻である *Skeletonema costatum* を用いて藻類培養試験法の確立ならびに海域のAGP測定を実施すると同時に、栄養物質の添加実験による海水の藻類増殖制限因子の検討を行った。

## 2. 実験方法

### 2.1 供試藻類

培養試験には、播磨灘赤潮海水から分離した *Chattonella antiqua* ならびに東京湾海水から分離した *Heterosigma* sp., *Skeletonema costatum* を用いた。保存培養には表1に示すS-5培地を用い、培養試験の前培養には栄養塩の持ち込みの影響を少なくするため、S-5培地中の窒素・リンをそれぞれ1.0 mg-N/l, 0.1 mg-P/lとしたS-11培地を用いた。

表 1 S-5培地組成  
Table 1 Composition of S-5 Medium

Reagent	Amount
NaNO <sub>3</sub>	100 mg
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	10 mg
Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub> ·9H <sub>2</sub> O	10 mg
FeCl <sub>3</sub>	1 mg
Thiamine-HCl	0.2 mg
Biotin	0.1 μg
Vitamin B <sub>12</sub>	0.1 μg
Sea water	750 ml
Deionized water	250 ml

\* National Eutrophication Research Program. EPA. 1971, EPA.1975, Shubert. 1975

\*\* 須藤等. 1973, Skluberg. 1970

\*\*\* 柳田. 1977



## 2.2 培養条件の検討

AGPの測定を目的とした培養試験は、供試藻類の増殖に最適な条件下で行う必要がある。そこで、3種の赤潮生物の増殖に及ぼす温度、照度および振とうの影響について検討を行った。照度は500~15,000 lx 連続照射、温度は10~30℃の条件下で実施した。

## 2.3 試料

培養試験に用いた海水は、茨城県大洗(54.11.)、播磨灘(54.11.)、広島湾(54.9.)、新潟湾(55.6.)、および気仙沼湾(55.9.)から採取したものであり5℃で保存し、速やかに試験に供した。試水の処理として、1.2 μmのメンブレンフィルターによって濾過処理を行った場合(濾過法)とオートクレーブ(120℃、15分間)による熱分解後、濾過処理をした場合(熱分解法)について実験を行った。

## 2.4 培養試験

培養試験は、藻類培養試験法(Algal Assay Procedure, EPA, 1975)に準じて行った。すなわち、S-11培地を用いて培養した培養液をオートクレーブ滅菌した人工海水によって3倍に希釈し、*C. antiqua*の場合は、1,000rpmで1分間、*Heterosigma* sp.の場合は4,000rpmで4分間それぞれ遠沈した後、上澄み液を捨て残った濃縮液を植種液とした。*S. costatum*の場合は3,000rpmで10分間遠沈し、上澄み液を捨てた濃縮液に人工海水を添加し、遠沈を繰り返す。3回の遠沈後、その濃縮液を植種液として用いた。次に前処理した試水100mlを300mlの三角フラスコに入れ、上述した赤潮生物の懸濁液を、初期濃度が*C. antiqua*, *Heterosigma* sp.の場合はそれぞれ、20cells/ml, 150cells/ml, *S. costatum*の場合は0.1mg/lとなるように接種した。培養は20℃, 4,000 lx, 静置培養で行った。赤潮生物の増殖量は、コーンターカウンタを用いて細胞数と平均細胞容積を測定し、これらの値より乾燥重量として換算して表示した。

同時に海水への栄養塩添加実験を行ったが、添加した栄養塩濃度は次のとおりである。窒素：NO<sub>3</sub>-N 1mg/l, リン：PO<sub>4</sub>-P 0.1 mg/l, 鉄：FeCl<sub>3</sub>-Fe 1mg/l, ビタミン：チアミン塩酸塩 0.2mg/l, ビオチン 0.1μg/l, ビタミンB<sub>12</sub> 0.1μg/lである。

## 3. 実験結果

### 3.1 赤潮生物の増殖特性

S-11培地を用いて、20℃, 4,000 lxの条件下で静置培養した場合の増殖曲線を図1に示した。*C. antiqua*, *Heterosigma* sp., *Skeletonema costatum*の比増殖速度( $\mu$ )はそれぞれ、0.77, 0.63, 1.16 d<sup>-1</sup>で*S. costatum*が最も高い $\mu$ を示した。増殖量が最大になるのに、*C. antiqua*, *Heterosigma* sp., *S. costatum*はそれぞれ、3週間、2週間、10日間を要した。3種の中で*C. antiqua*が最も高い最大増殖量を示した。

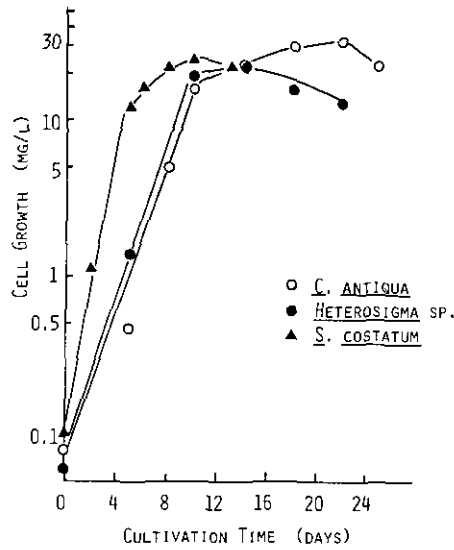


図 1 赤潮生物の増殖曲線

Fig. 1 Growth Curve of Red Tide Organisms

### 3.2 培養条件の検討

20°CでS-5培地を用いて、500、1,000、2,000、4,000、8,000、15,000 lxと照度を変えて培養した場合の最大増殖量を図2に示した。*C. antiqua*は500~8,000 lxの範囲で高い最大増殖量が得られた。しかしながら4,000 lxの場合には3週間で増殖量が最大となったのに対し、500~1,000lxの低照度の場合には最大増殖量を得るのに40~50日間の長時間の培養が必要であった。*Heterosigma sp.*の場合500~1,000 lxの低照度における最大増殖量は低く、2,000~8,000 lxで高い最大増殖量が得られた。*S. costatum*の場合、500~8,000 lxと幅広い範囲で高い増殖量を示した。いずれの藻類も15,000 lxでは最大増殖量が著しく低下したが、これは強光阻害によるものと考えられる。

3種の赤潮生物の最大増殖量に及ぼす温度の影響について、検討した結果を図3に示した。いずれの藻類も、20°Cで増殖量が最大となり、30°Cでは増殖量がやや減少し、14°C以下では増殖量が著しく低下した。

次に、最大増殖量に及ぼす振とうの効果について検討を加えた。1分間に70および90回転の条件で振とう培養を実施し、静置培養と比較を行った。その結果を図4に示した。*Heterosigma sp.*の場合は振とう培養と静置培養とはほぼ等しい最大増殖量が得られたが、*C. antiqua*と*S. costatum*の場合は、振とうとして培養するとフロックの形式が認められ、また、最大増殖量もかなり低いものであった。培養試験は、供試藻類を最適条件下で培養することが好ましいと考えられる。したがって、以上の結果から、照度4,000 lx、温度20°C、静置培養で培養試験を実施することとした。

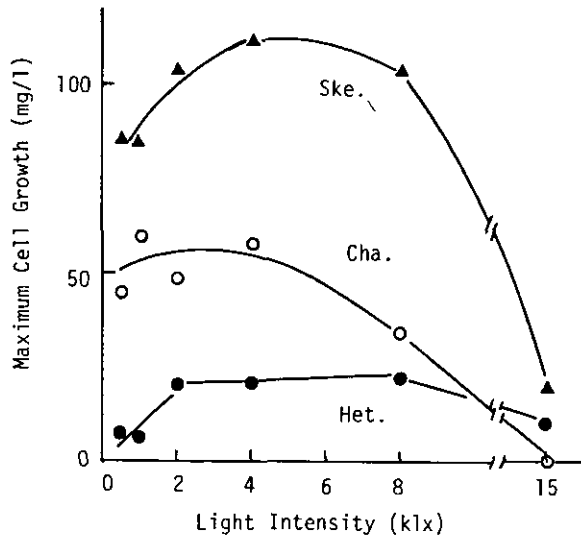


図 2 最大増殖量に及ぼす照度の効果

Fig. 2 Effect of Light Intensity on Maximum Cell Growth

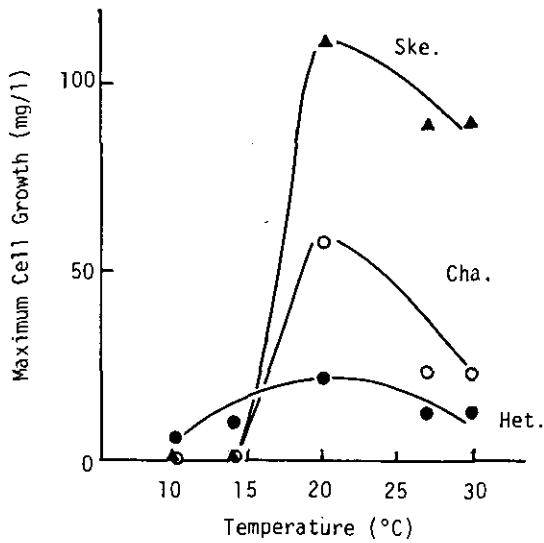


図 3 最大増殖量に及ぼす温度の効果

Fig. 3 Effect of Temperature on Maximum Cell Growth

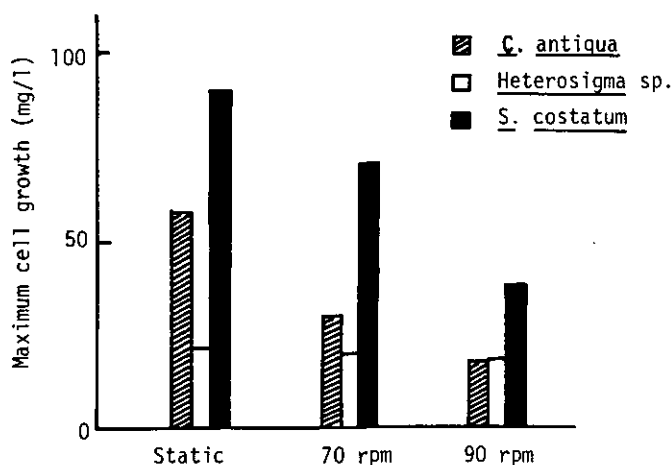


図 4 最大増殖量に及ぼす振とうの効果

Fig. 4 Effect of Shaking on Maximum Cell Growth

### 3.3 最大増殖量に及ぼすキレート物質および微量金属の影響

赤潮生物の中には、その増殖に窒素、リンなどの栄養塩以外に微量の増殖刺激物質を要求するものが知られている。刺激物質としては、NTA、EDTAなどのキレート物質、微量金属類およびTrisなどが知られているが(村上, 1976)、ここでは、NTA、Tris および微量金属の増殖に及ぼす効果について検討を加えた。培地としては、刺激物質の混入を防ぐため、表2に示した人工海水培地を用いた。添加量はNTA70mg/l Tris 1g/lであり、微量金属は人工海水培地の微量の金属の10倍量を添加した。これらを添加して培養した結果を図5に示した。*Heterosigma sp.*、*S. costatum* は人工海水培地で良好な増殖が認められたのに対し、*C. antiqua* は、人工海水培地では増殖が認められなかった。*C. antiqua* はTrisを添加することにより、増殖が可能となった。しかしながら、Trisの添加は *S. costatum* に対してはやや阻害的に働いた。微量金属の添加は、いずれの藻類に対しても特別の影響を与えなかったことから、微量金属量は人工海水培地中の量で充分であると思われる。

### 3.4 培養試験結果

大洗の海水を用いて *C. antiqua* による培養試験を行った結果を図6に示した。大洗海水の濾過法によるAGPは5mg/lであった。また、栄養塩の添加実験において、リン添加により無添加の場合の約3倍の最大増殖量が得られたことから、大洗の海水はリン制限であると判定された。さらに、窒素とリンを同時に添加した場合その最大増殖量は約30mg/lと非常に高い値となり、リンについて窒素が制限栄養塩となっているといえる。鉄およびビタミンの効果は認められなかった。

表 2 人工海水培地組成

Table 2 Composition of Artificial Sea Water Medium

Reagent	Amount
NaNO <sub>3</sub>	1.0 mg-N/l
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.1 mg-P/l
FeCl <sub>3</sub>	1.0 mg/l
Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub> ·9H <sub>2</sub> O	1.0 mg/l
Na <sub>2</sub> EDTA·2H <sub>2</sub> O	1.0 mg/l
Thiamine-HCl	0.2 mg/l
Biotin	0.1 μg/l
Vitamin B <sub>12</sub>	0.1 μg/l
trace metals*	1 ml
ASW**	750 ml
Deionized water	250 ml

\* trace metals: MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O 0.208g, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 92.8mg  
 ZnCl<sub>2</sub> 16mg, CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 0.714mg, CuCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 0.0107mg  
 Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O 3.63mg, to H<sub>2</sub>O 500 ml

\*\* ASW: NaCl 23.48g, MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 10.61g, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 3.92g  
 CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 1.47g, KCl 0.66g, NaHCO<sub>3</sub> 0.19g, KBr 0.10g  
 SrCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 0.04g, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 0.04g, to H<sub>2</sub>O 1000 ml

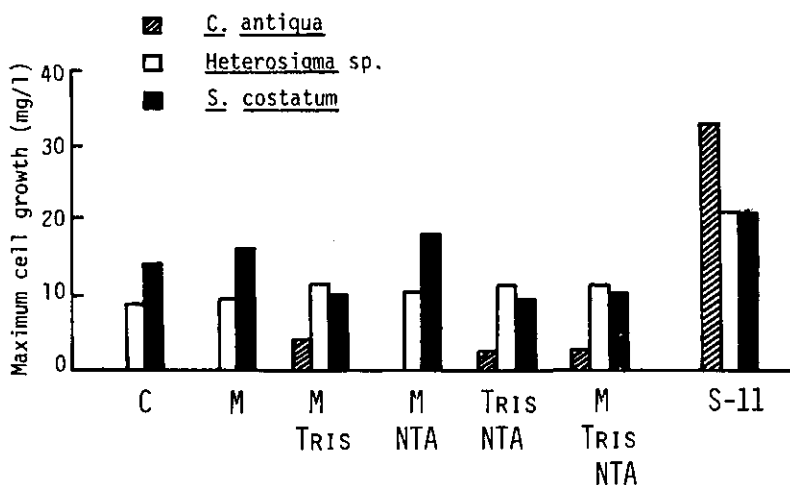


図 5 最大増殖量に及ぼすNTA, TRIS, 微量金属の効果

Fig. 5 Effect of NTA, TRIS and Trace Metal on Maximum Cell Growth

C: control

M: trace metals

図 7 は大洗の海水を用いた *Heterosigma* sp. の培養試験結果を示したものである。 *Heterosigma* sp. による汙過法の AGP は 3.3 mg/l と *C. antiqua* に比べてやや低い値を示した。 *C. antiqua* の場合

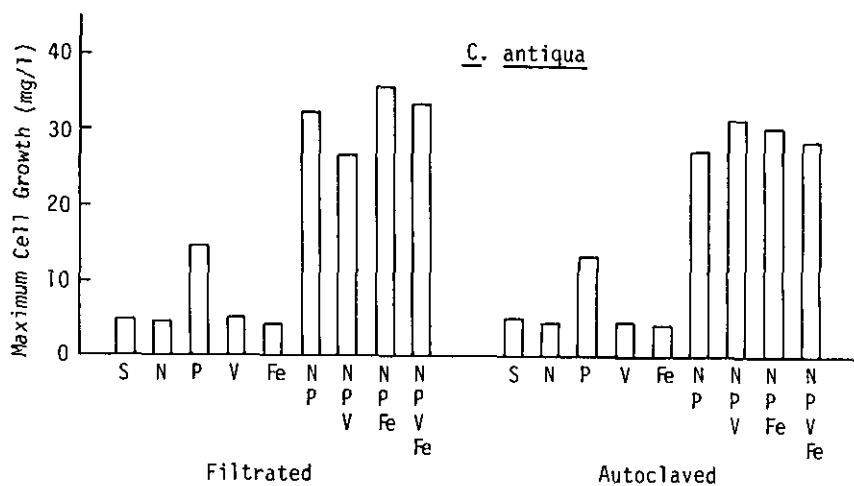


図 6 最大増殖量に及ぼす栄養塩の添加効果 (大洗海水)

Fig. 6 Effect of Nutrient Additions on Maximum Cell Growth (Oharai Sea Water)

S: no addition,  
 N: NO<sub>3</sub>-N addition,  
 P: PO<sub>4</sub>-P addition,  
 V: Vitamin mixture addition,  
 Fe: FeCl<sub>3</sub>-Fe addition

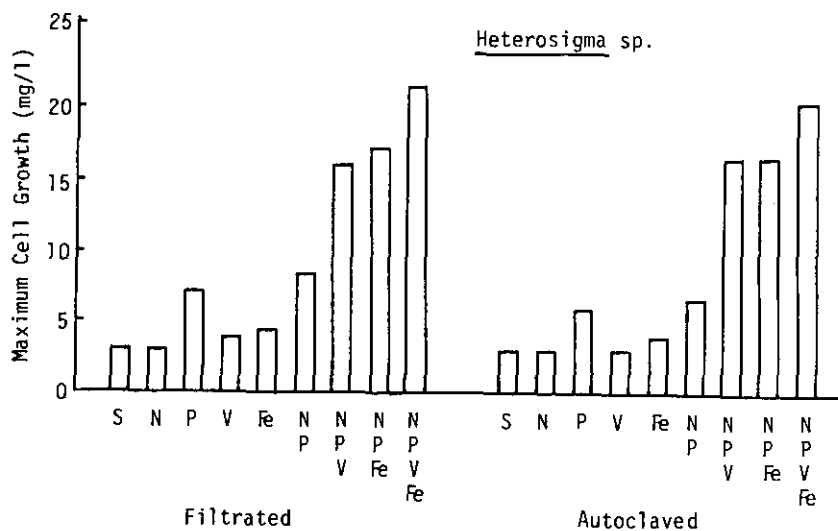


図 7 最大増殖量に及ぼす栄養塩の添加効果 (大洗海水)

Fig. 7 Effect of Nutrient Additions on Maximum Cell Growth (Oharai Sea Water)

と同様に、リン添加により最大増殖量が増大したことから、この海水はリン制限になっているといえる。また、窒素・リン・鉄添加および窒素・リン・ビタミン添加を行ったが、窒素・リンのみを添加した場合の約2倍の最大増殖量が得られ、鉄とビタミンによる2次的な増殖促進効果が認められた。熱分解法では、濾過法とほぼ同様の結果が得られたが、*C. antiqua*の場合と同様にオートクレーブの効果は認められなかった。

図8に広島湾の海水を用いて行った *C. antiqua* の培養試験結果を示した *C. antiqua* による濾過法でのAGPは表層(0m)で7.6mg/l、中層(6m)で10.3mg/l、下層(11m)で8.9mg/lであった。表層水にリンを添加した場合、その最大増殖量は無添加の場合の2倍以上になり、リン制限であると推定された。熱分解法の場合、表層水、下層水ともに濾過法とほぼ同じAGPを示したが、

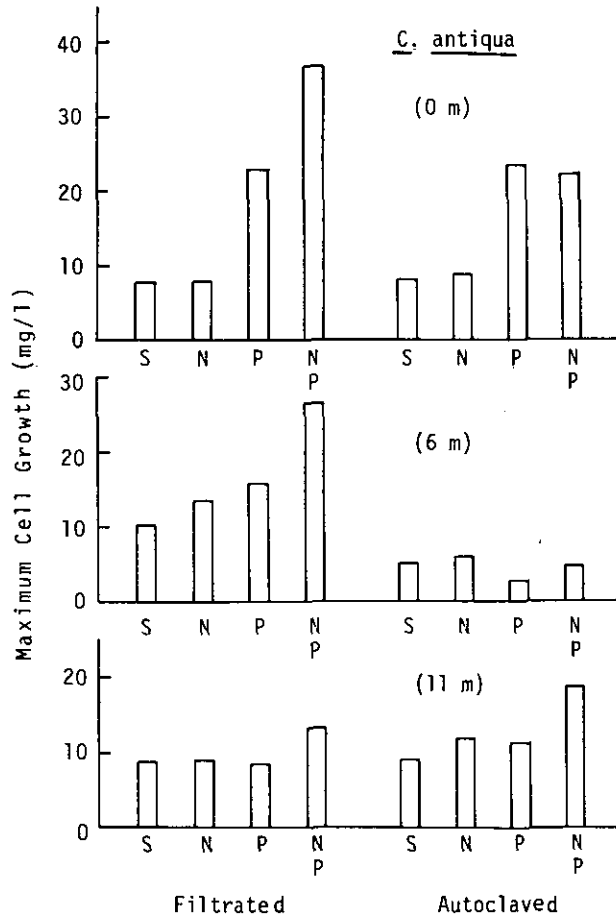


図 8 最大増殖量に及ぼす栄養塩の添加効果 (広島湾海水)

Fig. 8 Effect of Nutrients Additions on Maximum Cell Growth (Hiroshima Bay Sea Water)

中層水ではやや低いAGPを示した。なお熱分解法では、窒素およびリンの添加による増殖量の増加は上層水のリン添加を除いてほとんど認められなかった。

播磨灘の海水を用いて行った *C. antiqua* ならびに *Heterosigma* sp. の培養試験結果を図9, 図10に示した。濾過法の場合 *C. antiqua* 28.9 mg/l, *Heterosigma* sp. で 11.3 mg/l と非常に高いAGPが得られた。また, *C. antiqua*, *Heterosigma* sp. とともに窒素, リンを添加しても, あまり増殖量が增大しなかった。このことは, 窒素, リン以外の物質が制限栄養塩になっている可能性もあることを示している。一方, 熱分解法によるAGPは *C. antiqua* で 10.9 mg/l, *Heterosigma* sp. で 4.3 mg/l と濾過法に比べ著しく低く, 窒素, リンの添加による増殖量の増加もほとんど認められなかった。

新潟港, 島原湾および気仙沼湾の海水の濾過水について, *C. antiqua*, *Heterosigma* sp. ならびに *S. costatum* を用いて行った培養試験結果を図11, 図12, 図13に示した。これらの海水の

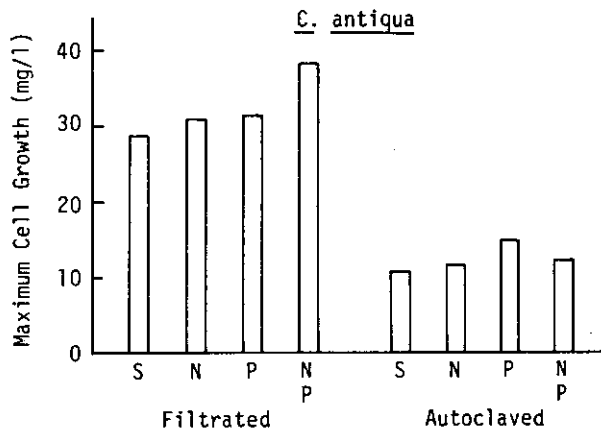


図 9 最大増殖量に及ぼす栄養塩の添加効果 (播磨灘海水)

Fig. 9 Effect of Nutrient Additions on Maximum Cell Growth (Harima Nada Sea Water)

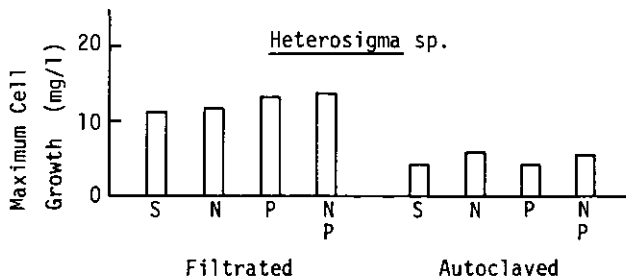


図 10 最大増殖量に及ぼす栄養塩の添加効果 (播磨灘海水)

Fig. 10 Effect of Nutrients Additions on Maximum Cell Growth (Harima Nada Sea Water)



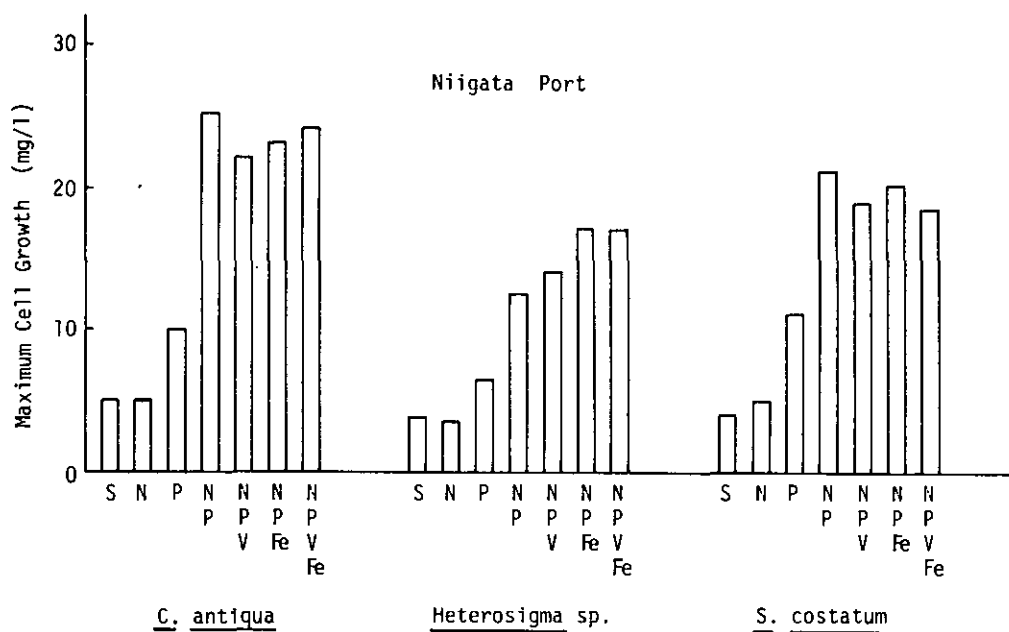


図 11 最大増殖量に及ぼす栄養塩の添加効果 (新潟港海水)

Fig. 11 Effect of Nutrients Additions on Maximum Cell Growth (Niigata Port Sea Water)

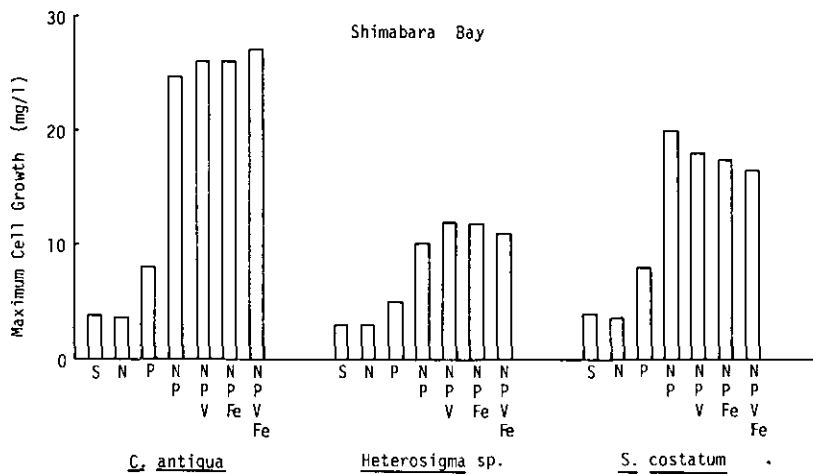


図 12 最大増殖量に及ぼす栄養塩の添加効果 (島原湾海水)

Fig. 12 Effect of Nutrients Additions on Maximum Cell Growth (Shimabara Bay Sea Water)

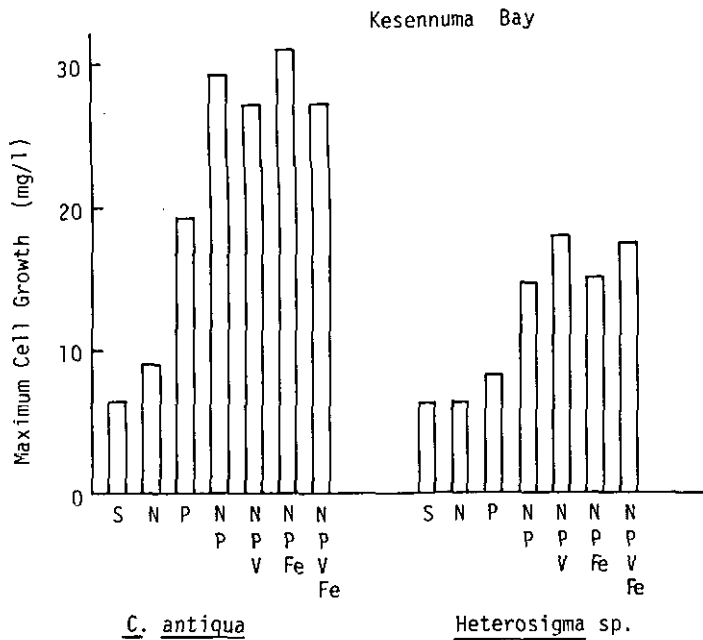


図 13 最大増殖量に及ぼす栄養塩の添加効果 (気仙沼海水)

Fig. 13 Effect of Nutrient Additions on Maximum Cell Growth (Kesennuma Sea Water)

AGP は、いずれの赤潮生物を用いても、ほぼ 5 ~ 6 mg/l であった。いずれの海水もリン添加により増殖量が増大することから、リンが制限栄養塩になっていることが推定された。

#### 4. 考 察

赤潮生物を用いる培養試験に関しては、岡市 (1976) が *Eutreptiella sp.*, *Heterosigma inlandica* を用いて各種工場廃水の増殖刺激効果を調べた報告がある。また、海水の AGP の測定については林等 (1978) による *Gymnodinium sp.*, *Hemietreptia antiqua*, *Chlamidomonas sp.*, *Skeletonema sp.*, *Navicula sp.* を用いた広島湾の報告、あるいは堀江等 (1980) による *Skeletonema costatum*, *Heterosigma inlandica*, *Dunaliella tertiolecta* を用いた東京湾の AGP 分布について報告されている。藻類培養試験法による AGP は、海水の 1 次生産力を調べる生物検定法であるから、窒素、リンの化学的水質分析値と比較し、再現性にやや欠ける欠点はあるが、試水の総合的な栄養状態を評価することが可能であり、赤潮発生の予測や制御の一手法として有効なものと考えられる。

AGP を測定する際にまず問題になるのはどのような藻類種を用いるかである。米国の試験法である MAAP (Marine Algal Assay Procedure, 1975) では *Dunaliella tertiolecta* と *Thalassiosira pseudonana* を標準種として推奨している。しかしながら、一般には用いる藻類が対象とする水域で問題となっているかどうか、評価の上で重要なことと考えられる。今回用いた赤潮生物は、*C.*

*antiqua*, *Heterosigma* sp., *S. costatum*の3種であるが, *C. antiqua*は養殖ハマチへい死の原因種として, 現在わが国で最も問題となっている赤潮生物である。

また, *Heterosigma*も瀬戸内海を始めとして各地で赤潮を引き起こしている種類である。*S. costatum*はわが国沿岸域における最も一般的な珪藻で, しばしば大量増殖が認められている。これら赤潮生物の増殖特性に関してはあまり明らかにされておらず, まずこれらの赤潮生物を用いるAGPの測定法を確立することを目的として実験を行った。*C. antiqua*, *Heterosigma* sp., *S. costatum*のいずれも, S-11培地で前培養を行い, 次いで20°C, 4,000 lx, 静置培養の条件で, AGPが再現性よく測定できることが判明した。これまでに, 赤潮生物を用いた培養試験によりAGPが測定されているが, いずれも増殖量が単位体積当たりの細胞数あるいは細胞容量で表されているため, 藻種間の比較が困難である。細胞の大きさは藻類によってかなり異なり, 同じ藻類であっても培養時期により細胞の容量の変動が認められる。したがって, AGPの測定の場合, 増殖量は乾燥重量として示すことが望ましいと思われる。本研究では藻類増殖量を, コルターカウンタにより細胞数と平均細胞容積を求め, 得られた細胞容積全量を乾燥重量に換算する方法を採用した。乾燥重量と全細胞容積量との相関は非常に高く, *C. antiqua*, *Heterosigma* sp., *S. costatum*でそれぞれ, 相関係数として0.96, 0.94, 0.97が得られた。この関係から, 対数増殖期における細胞1個当たりの乾燥重量を求めると, *C. antiqua*は $6.5 \times 10^{-6}$  mg/cell, *Heterosigma* sp. は $2.5 \times 10^{-7}$  mg/cellであった。

今回の実験に用いた海水中の窒素およびリン含量と培養試験によって得られたAGPを表-3に示した。瀬戸内海という閉鎖性海域にある広島湾および播磨灘のAGPは太平洋沿岸である大洗の

表 3 海水の水質とAGP  
Table 3 AGP and Nutrient Concentrations of Sea Waters

Sea water	Pre-treatment	N-compound (mg/l)		P-compound (mg/l)	AGP (mg/l)			
		NH <sub>3</sub> -N	NO <sub>3</sub> -N+NO <sub>2</sub> -N	PO <sub>4</sub> -P	Cha.	Het	Ske	
Oharai	F	0.00	0.18	0.013	5	3	-	
	A	0.00	0.18	0.016	5	3	-	
Harimanada	F	0.40	0.26	0.096	29	11	-	
	A	0.42	0.03	0.108	11	4	-	
Hiroshima Bay	0 m	F	0.43	0.02	0.022	8	-	-
		A	0.42	0.02	0.024	8	-	-
	6 m	F	0.13	0.02	0.032	10	-	-
		A	0.15	0.02	0.037	5	-	-
	11 m	F	0.07	0.02	0.033	9	-	-
		A	0.08	0.00	0.038	9	-	-
Niigata Port	F	-	-	-	5	4	4	
Shimabara Bay	F	-	-	-	4	3	4	
Kesennuma Bay	F	-	-	-	7	7	-	

F: Filtrated, A: Autoclaved

海水に比べてかなり高く、とくに汙過法による播磨灘の海水のAGPは*C. antiqua*の場合で大洗の約6倍、*Heterosigma* sp.の場合では3倍以上の値を示している。一方、海水中の栄養塩濃度は、播磨灘で $\text{NH}_4\text{-N}$  0.44mg/l、 $\text{NO}_2\text{-N} + \text{NO}_3\text{-N}$ が0.26 mg/l、 $\text{PO}_4\text{-P}$ が0.09 mg/lと大洗海水に比べて著しく高い値を示した。また、大洗の海水に窒素とリンを添加すると藻類の増殖量が著しく増大することから、AGPは、窒素およびリン含量により大きく左右されるものと考えられる。

また試水の前処理として汙過法と熱分解法について検討を加えたが、試水が淡水の場合汙過法に比べ熱分解法の方が一般に、高いAGPを示すが、海水の場合には、熱分解法でのAGPは汙過法のAGPとほぼ同じかそれ以下の値を示し、淡水の場合とは逆の結果が得られた。この理由については現在のところ不明である。

#### 引用文献

- 林光則・葉山八千代・秋山広子・永井史郎(1978): 海洋プランクトンの栄養要求と藻類培養試験による海水の富栄養評価に関する研究. 水質汚濁研究, 1, 199-202.
- 堀江毅・細川恭史・三好英一(1980): 東京湾春・夏季のAGP分布の測定, 第14回日本水質汚濁研究会年次学術講演会講演集, 79-80.
- 村上彰男(1976): 赤潮と富栄養化. 公害対策技術同友会.
- National Eutrophication Research Program EPA (1971): Algal Assay Procedure Bottle Test.
- 岡市友則(1976): 沿岸における赤潮発生域の形式と工場廃水の影響. 環境技術, 15, 770-777.
- Skluberg, O.M. (1970): The importance of algal cultures for the assessment of the eutrophication of Oslofjord. Helgolander wiss. Meeresunters, 20, 111-125.
- Shubert, L.E. (1978): The algal growth potential of an inland saline and eutrophic lake. Mitt. Internat. Verein. Limnol., 21, 555-574.
- 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. 用水と廃水, 15, 107-116.
- U.S. Environmental Protection Agency (1975): Marine Algal Assay Procedure Bottle Test. EPA-660/3-75-034.
- 柳田友道(1977): 赤潮. 講談社, 198 P.

## 16. 混合種透析培養法によるAGP試験

### An Experiment of Multispecies Dialysis Culture for Evaluating Algae Growth Potential (AGP)

庵谷 晃<sup>1</sup>・渡辺 信<sup>2</sup>・渡辺正孝<sup>2</sup>

Teru IORIYA<sup>1</sup>, Makoto M. WATANABE<sup>2</sup> and Masataka WATANABE<sup>2</sup>

#### 要 旨

試水の富栄養化度をより自然界に近い状態で評価することを目的として、混合種透析培養法によってAGPを把握する実験を行った。

同一条件下での装置毎のAGPのばらつきは、5日間の培養で変異係数15.7%という値を示しており、この値をふまえて、東京湾天王州運河の試水での実験結果を検討すると、栄養塩無添加のコントロール試水のAGPと比べ窒素・リンの栄養塩添加試水のAGPは明らかに高くなっていた。又、多様性指数(DI)に関しては、供与試水のDIと比べて実験系のDIはすべて著しく低下しており、実験系の中でのDIの変化はコントロールと比べ栄養塩添加の試水のDIがわずかに低下しただけであった。

以上の結果よりこの系でのAGPの評価は可能であるように思われるが、多様性指数の評価に関しては、さらに改良が必要と思われる。

#### Abstract

AGP (Algal Growth Potential) experiments using a multispecies dialysis culture was conducted in order to evaluate a trophic state in the sea. The variance of AGP values for four dialysis cultures under same experimental conditions was considerably large (15.7%). The result indicates that the differences in AGP values smaller than this obtained under different experimental condition are not significant.

Sea water was sampled from Tennyos-channel in Tokyo Bay, and AGP of the sample water enriched by nutrients (nitrogen and phosphate) showed significantly higher values than AGP of control water without nutrients. Also DI (Diversity Index) was evaluated using Shannon's equation. DI value obtained from control water showed a significant fall compared with DI value evaluated in the field of

1. 東京水産大学 〒103 東京都港区港南4丁目  
Fisheries of Tokyo University, Minato-ku, Tokyo 114, 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  
Water and Soil Environment Division, The National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

Tokyo Bay. However DI value obtained from the sample water enriched by nutrients showed little change compared to DI value of control water.

Therefore it was possible to evaluate AGP in more natural condition, but some modification in system of multi-species dialysis culture is necessary in order to evaluate DI value of phytoplankton community.

## 1. はじめに

AGP (Algal Growth Potential: 藻類生産の潜在力) は、試水を基礎とした培養液で藻類の培養を行い、その増殖量から試水の藻類生産の潜在力を分析した一種の生物検定(Bioassay)である。従って、藻類生産が主役となる汚染、即ち富栄養化を評価するものとして使用される手法であるといえる。AGP測定は、基本的には1971年に刊行された藻類培養試験回分法(Algal Assay Procedure Bottle Test: AAP) に準じて為されている。AAP法の基本は、バッチ培養系にて現存する試水中の生物をフィルター方法又は熱分解法で除去した試水に、選定した供試藻類(ほとんどは単一種)を接種して、その増殖量を定量的にとらえるところであり、試水の前処理、供試藻類の選定、前培養と接種、培養条件・期間、評価方法において諸々の問題を含みながらも(岡田・須藤, 1978)、処理水・自然水のAGP評価、藻類増殖の制限栄養塩の推定、藻類に利用可能な栄養塩量の推定、増殖阻害物質の推定、藻類現存量の予測等、AAP法の応用範囲は着実に広がっているといえる(須藤ら, 1975; 須藤ら, 1981; 矢木ら, 1981)。

田井ら(1979)は、AAP法に基づくAGP試験法の変法として、藻類を除去しない湖沼水、河川水を試水に植種してAGPを求める方法である混合培養によるAGP試験法、AGP<sup>M</sup>を提起し、1) 試水に適応した藻類種が優占的に増殖する為、単藻培養よりも正確なAGPを示すこと、2) 細菌との相互作用も考慮したAGPが得られること、3) 培養後の試水の藻類の種と個体数を計測することによって潜在多様性指数を求めることができること、4) 従って、従来のAGP法と比べてAGP<sup>M</sup>法は自然界に近い状態でAGPを測定できるという利点があることを主張している。又、Cain & Trainner(1973)は、自然界では栄養塩の流入、流出が存在していることに着目して、試水の転移検定(transferred assay)である透析培養法に基づくAGP測定法、ABC法を提起し、栄養塩の乏しい水域のAGPや栄養塩濃度差の少ない試水間のAGPを測定・比較する場合には、従来の回分法に基づくAGPよりも正確な測定・比較を行うことができることが報告されてきている(Cain & Trainner, 1973; Cain *et al.*, 1979; Koltz *et al.*, 1975; Lin, 1977)。

本報告では、上記の報告を基にして、より自然界に近い状態で試水のAGPを求める為に、田井ら(1979)のAGP<sup>M</sup>法とCain & Trainner(1973)のABC法を結合させた混合種透析培養法の確立を目的として行った実験結果を報告する。

## 2. 方法

図1に本実験の為に作製した培養装置を示す。藻類培養部分の容量は約250 mlで、径5 μmのナ

イロンネットにより覆われており、その中の藻類が流れ出ないような構造になっている。培養容器内の試水が1日に入れ替わるように定量ポンプで250 ml/dの試水を連続的にネットの内側に補給し、また系を完全に攪拌する為に容器内に連続して洗浄空気を通気した。

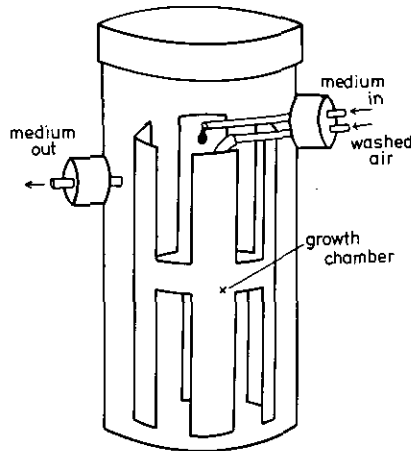


図 1 透析培養装置

Fig. 1 Diagram of the dialysis system. The growth chamber was covered with 5 $\mu$ m mesh netting.

照明は白色蛍光灯により約4,000 lx, 16時間明期8時間暗期, 温度は20  $\pm$  1 $^{\circ}$ Cの条件で5日間培養した。

試水は1980年10月21日に東京水産大学繋船場(東京都港区天王州運河)で採水し、即座に、Whatman GF/C Filter (径約1.2  $\mu$ m)で濾過したものを実験に供した。採水時の水温は約20 $^{\circ}$ Cであった。試水に生存するプランクトン群集を容器に接種する場合は、プランクトンネット(径約60  $\times$  80  $\mu$ m)で濾過し大型の動物プランクトン、懸濁物を除いた後に250 ml容器に接種した。この方法では60  $\mu$ m以下の小型動物プランクトンが除去されないが、そのほとんどは小型であるが為にバクテリア・フィーダーまたはナノプランクトン・フィーダーであり、試水に存在した植物プランクトンは未同定の鞭毛藻(個体数は非常に少ない)を除いて10  $\mu$ m以上のサイズを有している為、補食によるAGPの低下、種組成の変化は無視しうる程度のものでしかないと考えられる。

栄養塩を補強する場合、窒素はNaNO<sub>3</sub>をNとして1mg/l, リンはK<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>をPとして0.1mg/lの濃度に添加した。AGP試験では藻類生産量として乾重量が用いられているが、この実験ではバクテリア、小型動物プランクトンが混在している為に、Chl-a量で藻類生産量を把握した。Chl-a量の定量はSCOR-Unesco(1966)によった。細胞数の測定には、プランクトンカウンティングチャンパー(1ml)を用いて行い、多様性指数(Diversity Index : DI)は次のように計算した。

$$DI = - \sum_{i=1}^S \frac{n_i}{N} \log_{10} \frac{n_i}{N}$$

ここで

$n_i$  =  $i$  番目の species の数

$N$  = 総個体数

$S$  = species の数

である。

### 3. 結果と考察

#### 3.1 AGP の評価

東京湾天王州運河より10月26日採取の試水を使って、そこに生存する藻類群を接種して行ったAGP試験の結果を図2と表1に示す。この試水の初期Chl- $a$ 量は $2.1 \mu\text{g}/\text{l}$ であったのが、実験では栄養塩無添加の試水で $100.0 \mu\text{g}/\text{l}$ 、窒素源添加で $535.0 \mu\text{g}/\text{l}$ 、リン源添加で $929.0 \mu\text{g}/\text{l}$ 、窒素・リン混合添加で $552.0 \mu\text{g}/\text{l}$ という値を示した。この結果は、本実験系での実験結果の誤差がどの程度か把握した上で検討されなければならない為に、次のような実験を行った。即ち、同地域より11月19日に採取して、即座にGF/C filterで濾過した試水に窒素とリンを添加したものを培養液として、海水のAGPを求める際の標準種である *Dunaliella tertiolecta* の培養株をChl- $a$ 量で $110.6 \mu\text{g}/\text{l}$ となるように接種した四つの実験装置で5日間透析培養した後の藻類生育量の違いを検討した。この結果、5日目で $4,311.6 \pm 696.9 \mu\text{g}/\text{l}$ の変異を示し、その変異係数は15.7%であった(図3)。

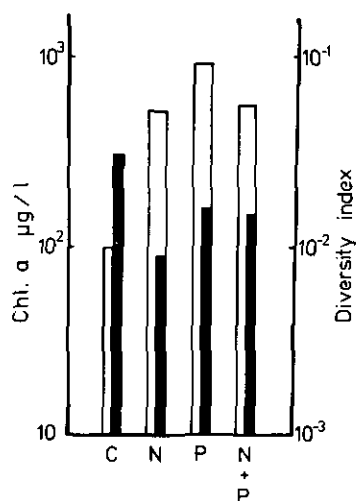


図 2 東京湾の試水による藻類生育量 (Chl- $a$  量: 白棒), 多様性指数 (黒棒)

Fig. 2 AGP (Chl- $a$ : white bar) and DI (black bar) obtained for sample water in Tokyo Bay



表 1 東京湾天王洲運河の試水による混合種透析培養実験の細胞数, Chl-*a* および多様性指数

Table 1 Cell numbers, Chl-*a* and DI obtained for sample water in Tokyo Bay using multi-species dialysis culture

	21 October 1980				
	initial	control	N	P	N+P
Cell number × 10 <sup>6</sup> /l					
<i>Skeletonema costatum</i>	0.0059	81.200	486.0	608.000	396.000
<i>Ditylum brightwellii</i>	0.0011	0.050		0.200	0.600
<i>Euglena</i> sp.	0.0012				
<i>Rhizosolenia fragilissima</i>					
<i>Nitzschia closterium</i>					
<i>Prorocentrum minimum</i>	0.0005				
<i>P. triestinum</i>	0.0006				
<i>Thalassiosira</i> sp.	0.0009	1.000	1.400	3.200	1.400
<i>Navicula</i> sp.	0.0005				
<i>Melosira nummuloides</i> (Unidentified flagellata)	0.0018			2.000	
Chl- <i>a</i> μg/l	2.1	100.0	535.0	929.0	552.0
Diversity Index	0.723	0.031	0.009	0.016	0.015

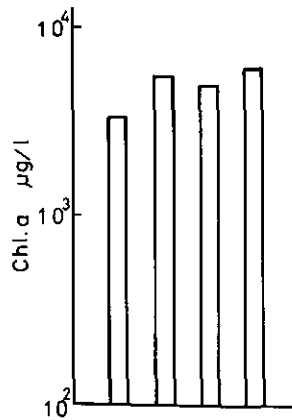


図 3 同条件下 (Chl-*a* 初期濃度, 110 μg/l, NO<sub>3</sub>-N 1mg/l+PO<sub>4</sub>-P 0.1mg/l) による藻類生育量の違い

Fig. 3 Difference in growth of four dialysis cultures under the same conditions (NO<sub>3</sub>-N 1 mg/l + PO<sub>4</sub>-P 0.1 mg/l, initial chl-*a*: 110.6 μg/l)

この結果は、この装置で種々の条件下で培養して得られた結果を比較・検討する場合に、小さな相違から結論を導くことが困難であることを示している。この結果を考慮して前述のAGPの結果を検討すると、栄養塩無添加のコントロール試水と比べ、栄養塩を添加した場合は明らかにAGPは

高くなっているといえる。

### 3-2. 多様性指数の評価

実験に供与した試水での優占種は、*Skeletonema costatum*であったが、多様性指数は0.723と高く、他の藻類種との共存状態にあることを示している。これに対して実験では、コントロールで多様性指数は0.031と著しく低下し、ほとんど*S. costatum*で占められていた。また栄養塩の添加は*S. costatum*の増加にいたり、従ってコントロールと比べて多様性指数はわずかに低下している。水域の富栄養化が多様性指数を低下させることはすでに報告されているが(田井ら, 1979), 供与試水とコントロール試水とでは外液の栄養塩濃度においては近似しているにもかかわらず多様性指数が後者の方で著しく低下していることは注目すべきことであり、それと比べると栄養塩添加による低下は無視しうるほど少ない。この実験での温度(20±1°C)は試水採取時の水温(約20°C)とほぼ同じ温度に設定されている為、田井ら(1979)の報告にあるように水温による多様性指数の変化はこの場合考えられない。むしろ、実験系の構造上の問題にその原因を求めねばならないと考えられる。

種の多様性には、水域の富栄養化のみならず、生物と環境との相互作用の結果として形成される構造とその構造の多様性が重要な要素として関与していると考えられている(Odum, 1971)。たとえば1)層状構造(stratification)のパターン(海域では有光層、温度・塩分の躍層等)、2)帯状構造のパターン(ラングミュアサーキュレーションによる植物プランクトン種の水平的な分離等)、3)活動性のパターン(細胞分裂や栄養塩摂取の時期、鞭毛藻の示す垂直移動等)、4)食物網のパターン(食物連鎖の網状構造、選択的補食等)、5)相互作用のパターン(競争、相利共生等)、6)生活史のパターン(無性繁殖、有性繁殖等)、などが多様性と密接な関連をもっていることが報告されている(Odum, 1971)。本実験では、系が通気によって一様にされ、食物網も消費者としてはバクテリアまたはナノプランクトンフィーダーの小型動物プランクトンのみしか存在していないことから、系の構造は自然界と比べて非常に単純化したものとなっている。従って、恐らくはこの系の非構造化が、供与試水に対して実験系の試水の多様性指数が著しい低下を示した原因ではないかと思われる。

以上のように、実験は東京湾天王州運河で10月21日に採水した試水でのみ行われているにすぎないが、実験結果から判断して混合種透析培養系によるAGPの評価は可能であるように思われる。また、多様性指数に関しては、栄養塩レベルの問題よりもむしろ構造の多様性が密接に関与しているように思われる。

### 引用文献

- Cain, J.R. and F.R. Trainor (1973): A bioassay compromise. *Phycologia*, **12**, 227-232.  
Cain, J.R., R.L. Klotz, F.R. Trainor and R. Costello (1979): Algal assay and chemical analysis: A comparative

- study of water quality assessment techniques in a polluted river. *Environ. Pollut.*, 215-224.
- Klotz, R.L., J.R. Cain, and F.R. Trainor (1975): A sensitive algal assay: An improved method for analysis of freshwaters. *J. Phycol.*, **11**, 411-414.
- Lin, C.K. (1971): Continuous flow culture of benthic diatoms and its application to bioassay. *J. Phycol.*, **13**, 267-271.
- National Eutrophication Research Program EPA "Algal Assay Procedure Bottle Test" (1971).
- Odum, E.P. (1971): *Fundamentals of Ecology*. (生態学の基礎: 三島次郎訳, 培風館刊)
- 岡田光正・須藤隆一(1978): AGPをめぐる諸問題. *用水と廃水*, **20**, 765-779.
- Scor-Unesco, W.G. 17. (1966): Determination of photosynthetic pigments. *Monogr. Oceanogr. Methodol.* 1. Sydney.
- 須藤隆一・森忠洋・大竹久夫・岡田光正・合葉修一(1975): 都市下水の2次処理水が示す藻類生産の潜在能力. *下水道協会誌*, **12(b)**, 1-9.
- 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): 陸水域の富栄養化に関する総合研究(x), 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 No.26.
- 田井慎吾・岡田光正・須藤隆一(1979): 情報エントロピーとAGPによる富栄養化の評価, 国立公害研究所研究報告, No.6.
- 矢木修身・須藤隆一・今岡務・寺西靖治(1981): 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 No.30.

## 17. 気仙沼湾における植物プランクトンの多様性と平担さ

### Diversity and Evenness in Phytoplankton of Kesenuma Bay

田井 慎吾<sup>1</sup>

Shingo TAI<sup>1</sup>

#### 要 旨

気仙沼湾の植物プランクトンの観測結果を例に Shannon の情報エントロピーを用いた多様性指数が海域富栄養化の評価に有効であるかを検討した。植物プランクトンは海域の栄養塩濃度が増すにつれて個体数を増すが、その増加は存在するすべての種に一律でなく水温などの物理的環境に応じてある特定の種が優占的に増殖する。すなわち、富栄養化によって植物プランクトン群集の構造の変化をまねく。多様性指数はこの群集構造の変化を一つの尺度で表現するのに最も適した指標であり、気仙沼湾においてもこのことが確かめられた。また、植物プランクトンの分類階級の属の段階での多様性指数は種の段階での多様性指数と相関が高く、分類の容易さから属の段階での分類で十分有用な指標が得られることもわかった。

#### Abstract

The propriety of using diversity index ( $DI$ ) from Shannon's equation as a trophic state of marine was examined for phytoplankton from Kesenuma Bay. Species diversity index for phytoplankton ( $DI_s$ ) give a better indication of environmental differences between stations.

For phytoplankton, generic diversity index ( $DI_g$ ) revealed nearly as much about community structures as  $DI_s$ , suggesting that discriminating higher taxa rather than identifying species can be used in the community of phytoplankton, with saving of time and money.

#### 1. はじめに

生物はその環境に適したものが現存し、一定の生物群集を構成している。したがって環境条件が異れば当然成員(member)と個体数(individual)が変化する。生物に対する環境条件の変化は気温、

---

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

日照などの物理的なもの、農薬、殺虫剤、NO<sub>x</sub>、SO<sub>x</sub>などの有害物質などの化学的なものあるいは天敵、帰化植物の移入などの生物的なものなどあらゆるものが考えられる。富栄養化現象もその1つで、閉鎖性水域内での窒素、リンなどの栄養塩類の増加という環境条件の変化によって動・植物プランクトンや魚類などの種 (species) と個体数に変化をきたす。

観測された生物群集の種と個体数の関係を、すなわち異なる種の個体数の分布の状態を数学的に表現するものの一つに“多様性指数 (diversity index)”あるいは“平坦さ (evenness)”がある。人為的な影響による生物群集の構造の変化を多様性指数で表現する試は Wilhm (1972), Orlob, *et al.* (1977), Martin (1980) など多くのものがあるが、ここでは海水中の動・植物プランクトンの観測データから多様性指数、平坦さを求め海域の栄養状態との関連について検討を加えた。

## 2. 多様性と平坦さの指数

生物群集の多様性を表現する指数には表1のように多くのものが提案されている。この表で Margalef, MacArthur, Pielou の式は Shannon (1964) の情報エントロピー

$$H = -K \sum_{i=1} p_i \log_e p_i \quad (1)$$

$$\text{ここに, } p_i = \frac{n_i}{N}$$

の対数の底をそれぞれ e, 2, 10 とし,  $K = 1$  としたものである。情報エントロピーは無秩序さの尺度であるから環境汚染の尺度としても有用である。すなわち、環境質の組成が図1のように  $n_1, n_2, \dots, n_s$  で表わされるとき、その環境の情報エントロピーは(1)式で表わされる。なお、 $n_1, n_2, \dots, n_s$  が分子のモル数を表し、 $n_1 + n_2 + \dots + n_s = N$  が 1 モの場合、 $n_1/N = X_1, n_2/N = X_2, \dots, n_s/N = X_s$  は各分子のモル分率であるから、(1)式で  $K = 1$  とすると情報エントロピーは

$$H = - \sum_{i=1}^s X_i \log_e X_i \quad (2)$$

となり、熱力学における混合のエントロピー

$$\Delta S^M = -R \sum_{i=1}^s X_i \log_e X_i \quad (3)$$

ここに  $R$  ; 気体定数

と気体定数を除いて同じ形となり情報エントロピーは互いに密接に関係していることがわかる。混合のエントロピーは、たとえば水に汚染物質を溶解させたときに増加するエントロピーであり、環境汚染の総合的な尺度である (田井ら, 1978)。

ところで、多様性指数は、Pielou のように対数の底を 10、 $K = 1$  で表すと表2のような生物群集のなかの種 (あるいは属) の数と、その種に属する個体数の分布の状態、すなわち平坦さによって

表 1 種々の多様性指数

Table 1 Various diversity indices

	Diversity Index	
Gleason (1922)	$DI = \frac{S}{\log N}$	
Simpson (1949)	$DI = \frac{1}{\sum_{i=1}^S \left(\frac{n_i}{N}\right)^2}$	
Margalef (1957)	$DI = \frac{S - 1}{1 \ln N}$	
Margalef (1958)	$DI = -\sum_{i=1}^S \frac{n_i}{N} \ln \frac{n_i}{N}$	(Shannon's equation)
	$DI = \frac{1}{N} \ln \frac{N!}{n_1! \cdot n_2! \cdots n_S!}$	(Brillouin's equation)
MacArthur (1961)	$DI = -\sum_{i=1}^S \frac{n_i}{N} \log_2 \frac{n_i}{N}$	
Menhinick (1964)	$DI = \frac{\log S}{\log N}, \quad DI = \frac{S}{\sqrt{N}}$	
Pielou (1966) and Good (1953)	$DI = -\sum_{i=1}^S \frac{n_i}{N} \log_{10} \frac{n_i}{N}$	
McIntosh (1967)	$DI = \frac{N - \sqrt{\sum_{i=1}^S n_i^2}}{N - \sqrt{N}}$	
Hurlbert (1971)	$DI = \sum_{i=1}^S \frac{n_i}{N} \left(\frac{N - n_i}{N - 1}\right)$	

$DI$  ; diversity index  
 $S$  ; species number  
 $N$  ; total number of individuals  
 $n_i$  ; number of individuals of  $i$  th species

決まる。表2は生物群集の中に多くの種が存在し、しかもそれぞれの種の個体数がほぼ等しいときに多様性指数は最も大きくなり、逆に種の数少なく、個体数が等しくないときに多様性指数は小さくなることを示している。また、表2では個体数を10としたが、個体数を限定しない場合には、たとえば4種の個体数が等しい分布のとき  $DI = 0.602$  となり、5種で分布にかたよりのある場合の  $DI$  より大きくなっており、種数は少ないが平坦さの大きい生物群集が、種数は多いが平坦さの小さい生物群集と同一か、あるいは大きい多様性指数を示す場合があることを示している。

湖沼、内湾、内海などの閉鎖性水域の栄養塩濃度が上昇すると植物プランクトンのある特定の種

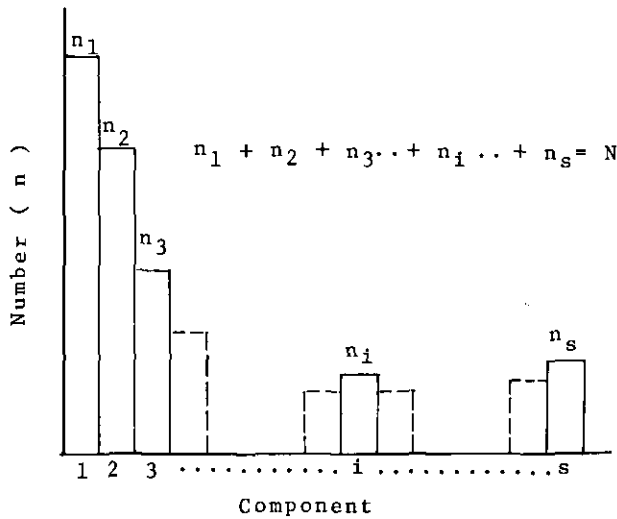


図 1 環境質の組成

Fig. 1 The composition of environmental quality

が大きな個体数を示し、種の数が増えることが多い。富栄養化が著しく進んだ霞ヶ浦では夏期には *Microcystis* が異常に増殖し個体数は 1ml 中に数万に達するが種数は 2~3 に減少する(田井ら, 1981)。栄養塩濃度の少ない場合は植物プランクトンの種数が比較的多くなりそれぞれの種の個体数も少ない, しかし, さらに栄養塩濃度が減少し, 清冽になると植物プランクトンの種数が減少し, 個体数も減少して平坦になる(田井ら, 1979)。

このことから植物プランクトンの種と個体数から求めた多様性指数がその水域の富栄養化の評価指標として利用できることが示唆される。

ところで生物群集の平坦さの尺度として最大多様性指数と観測された多様性指数との比が考えられる。平坦さの尺度としては表 3 のように種々のものがあるが, 多様性指数として, (1)式のタイプを用いたものがよい。すなわち, 種の個体数が一様で平坦であるとき, (1)式の値は最大値を示し, 平坦さの指数において, (1)式対数の底に観測された指数,  $S$  をとると最大多様性指数は 1 となり平坦さの指数  $J$  は多様性指数と等しくなる。

### 3. 気仙沼湾における植物プランクトンの多様性と平坦さ

気仙沼湾の植物プランクトンのデータ(14 付録 II)のうち植物プランクトンの多様性指数を(1)式対数の底を 10 として求めた。

図 2 に観測点 St. 1, St. 2, St. 3, St. b における多様性指数の日変動を示した。St. 1, St. 2, St. 3, St. 6 の表層の TP 濃度は多少の変動はあるがそれぞれ, ほぼ 0.08 mg/l, 0.06 mg/l, 0.04 mg/l, 0.04 mg/l でありさほど日変動はない。6 月 26 日, 7 月 9 日の  $DI$  値は各観測点とも

表 2 種数および平坦さと多様性指数の関係

Table 2 The relation between diversity index and number of species and evenness in communities

	measure of evenness
Patten (1962)	<p>Measure of redundancy;</p> $R = \frac{DI_{\max} - DI}{DI_{\max} - DI_{\min}}$ <p><math>DI</math> ; Brillouin's equation</p>
Lloyd (1964) and Ghelardi (1964)	<p>Measure of equitability;</p> $E = \frac{S'}{S}$ <p><math>S</math> ; theoretical number of species <math>S'</math> ; observed number of species</p>
Pielou (1966)	<p>Evenness of component diversity;</p> $J' = \frac{DI'}{DI_{\max}}, \quad J = \frac{DI}{DI_{\max}}$ <p><math>DI'</math> ; Shannon's equation <math>DI</math> ; Brillouin's equation</p>
Sheldon (1969)	<p>Measure of evenness;</p> $E = \frac{e^{DI'}}{S}$
Hurlbert (1973)	<p>Measure of evenness;</p> $V = \frac{DI - DI_{\max}}{DI_{\max} - DI_{\min}}$ <p><math>DI</math> ; Hurlbert's equation</p>

0.5以上と大きいが、*Skeletonema costatum*が増殖し植物プランクトン全個体数の大部分を占める7月24日以降は $DI$ が0.5以下に低下しており、 $DI$ 値は植物プランクトン組成の温度、照度による変化をよく表現している。この傾向は淡水の植物プランクトンにも見られる。図3に1978年夏期における霞ヶ浦木原沖および霞ヶ浦水道事務所沖表層の植物プランクトンの $DI$ 経日変化を示した。水温が上昇する7月中旬までは緑藻類と珪藻類が主体で種数も15~20種で $DI$ も0.5以上と高いが、



表 3 種々の平担さと指数

Table 3 Various measures of evenness

$$N = 10, \quad DI = - \sum_{i=1}^S \frac{n_i}{N} \log_{10} \frac{n_i}{N}$$

number of species	probability	diversity index
10	$\frac{1}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}$	1
9	$\frac{2}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}$	0.940
8	$\frac{2}{10}, \frac{2}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}$	0.880
8	$\frac{3}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}$	0.857
7	$\frac{3}{10}, \frac{2}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}$	0.797
7	$\frac{4}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}$	0.759
6	$\frac{3}{10}, \frac{3}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}$	0.714
6	$\frac{4}{10}, \frac{2}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}$	0.699
6	$\frac{5}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}$	0.651
5	$\frac{4}{10}, \frac{3}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}$	0.616
5	$\frac{5}{10}, \frac{2}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}$	0.591
5	$\frac{6}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}$	0.533
4	$\frac{4}{10}, \frac{4}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}$	0.518
4	$\frac{5}{10}, \frac{3}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}$	0.508
4	$\frac{7}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}$	0.473
4	$\frac{6}{10}, \frac{2}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}$	0.408
3	$\frac{5}{10}, \frac{4}{10}, \frac{1}{10}$	0.410
3	$\frac{6}{10}, \frac{3}{10}, \frac{1}{10}$	0.390
3	$\frac{7}{10}, \frac{2}{10}, \frac{1}{10}$	0.348
3	$\frac{8}{10}, \frac{1}{10}, \frac{1}{10}$	0.278
2	$\frac{5}{10}, \frac{5}{10}$	0.301
2	$\frac{6}{10}, \frac{4}{10}$	0.292
2	$\frac{7}{10}, \frac{3}{10}$	0.265
2	$\frac{8}{10}, \frac{2}{10}$	0.218
2	$\frac{9}{10}, \frac{1}{10}$	0.141
1	$\frac{10}{10}$	0

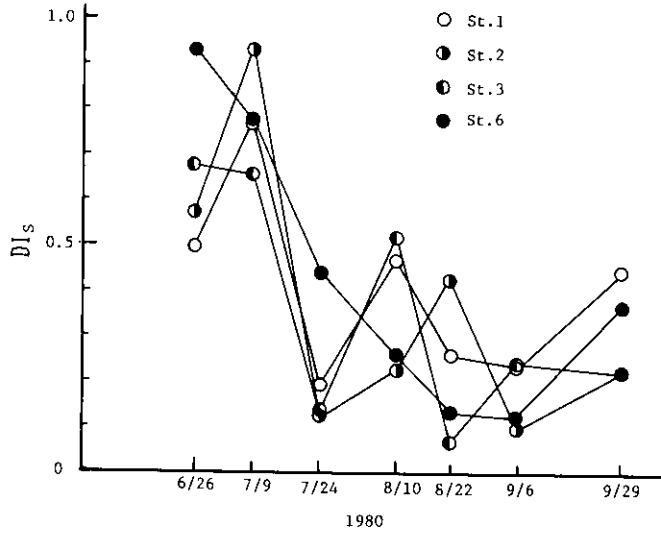


図 2 気仙沼湾表層における植物プランクトンの多様性指数の経日変化

Fig. 2 Diurnal variation of diversity index in phytoplankton of surface layer of Kesenuma Bay

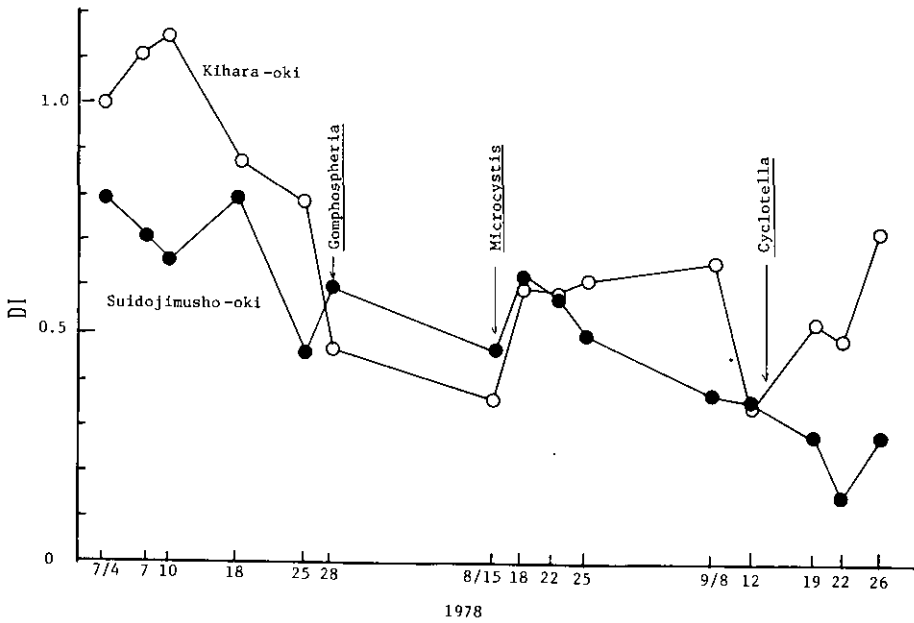


図 3 霞ヶ浦表層における植物プランクトンの多様性指数の経日変化

Fig. 3 Diurnal variation of diversity index in phytoplankton of surface layer of Lake Kasumigaura

7月末からは *Microcystis* などの藍藻類が増殖し種数も5~10種に減少して *DI* が0.5以下となっている。なおTP濃度は0.05~0.2 mg/lである。

気仙沼湾（西湾および東湾）表層のTP濃度は西湾の湾奥 St.1, 0.08mg/lから湾口に向かって低下し、TP濃度の低い(0.005~0.01mg/l) 東湾の海水が流入し混合した後の St.7, St.8は0.01~0.02 mg/lに低下する。図4に8月10日および9月26日の各観測点における植物プランクトンの *DI* を示した。観測データが少いため明確な傾向は見られないが St.2で *DI* が最も小さく St.3では *DI* の高い東湾からの海水の流入で *DI* 値が上昇している。

8月22日における St.1, St.2での植物プランクトンの *DI*, 全個体数TP濃度の深さ方向の変化を図5に示した。TP濃度は表層で0.07mg/l 程度であるが深くなるにつれて濃度が減少し全個体数も減少して同時に *DI* も小さくなっている。すなわち表層では *Skeletonema costatum* が優占しているが種数が St.1では5 (St.2では8)であり、*DI* も比較的大きいが、低層では2種 (St.2では3種) になり *DI* 値も小さくなっている。

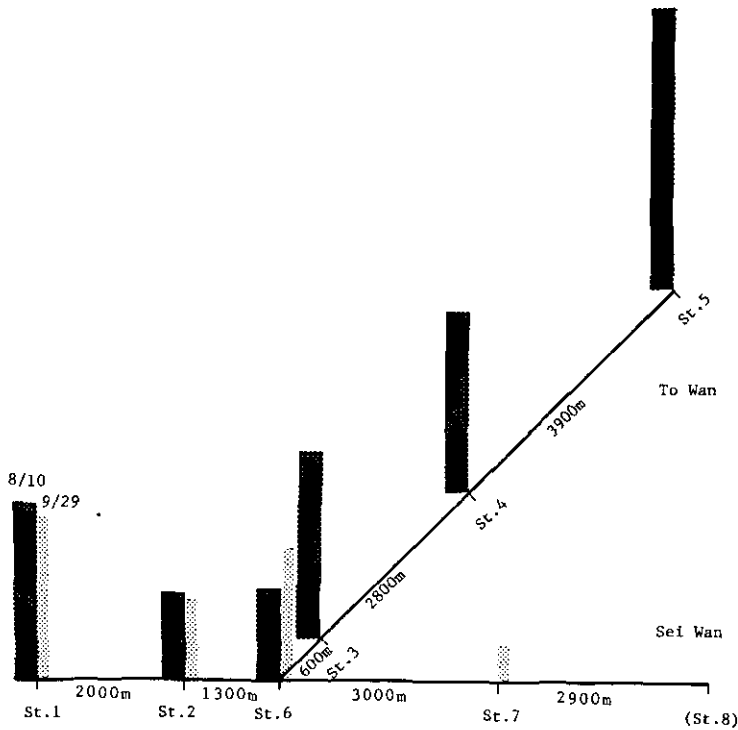


図 4 気仙沼湾各観測点表層における植物プランクトンの多様性指数

Fig. 4 Horizontal distribution of diversity index in phytoplankton of surface layer of Kesenuma Bay

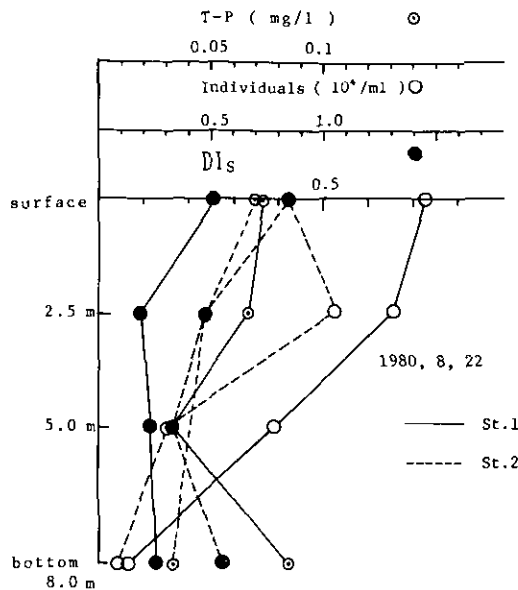


図 5 気仙沼湾における植物プランクトンの多様性指数の垂直分布

Fig. 5 Vertical distribution of diversity index in phytoplankton by Kesenuma Bay

#### 4. 分類階級における多様性指数

これまでに求めた多様性指数は分数学上の階級における種段階におけるものであるが、植物プランクトンを種の段階で分類し個体数を求めることは非常に熟練と時間、労力を必要とする。そこで分類階級のより上位の段階で分類整理をすることができ、種段階での多様性指数と相関があれば分類学の専門家でなくとも比較的容易に植物プランクトンの多様性を知ることが可能となる。図6に気仙沼湾における種多様性指数 ( $DI_s$ ) と属多様性指数 ( $DI_G$ ) の関係を示した。両者はほぼ等しく植物プランクトンの多様性は属多様性指数で十分に評価できることがわかる。なお、図6で  $DI_G = DI_s$  の直線から大きく離れている点は、珪藻類の *Chaetoceros* 属のみが多種存在している場合のものである。

ところで、平坦さの指数 ( $h$ ) は

$$h = \frac{DI}{DI_{max}} \quad (4)$$

で与えられるが、 $DI_{max}$ の求める方が問題である。気仙沼湾の植物プランクトンの観測データで個々のサンプルでは3~15種、3~13属であるが、全サンプルについてみると63種、33属が出現している。 $DI_{max}$ として各サンプルの種あるいは属数と全サンプルの種あるいは属数をとることが考えられる。表4に気仙沼湾8月10日の各観測点の  $DI_{max}$  および  $h$  を示した。全サンプルに出現する種および属数による最大多様性指数は  $DI_{s, max} = 1.799$ ,  $DI_{G, max} = 1.519$  で、 $h_s = 0.556 DI_s$

$h_G = 0.658 DI_G$  となり多様性指数と平担さの指数は大きさが異なるのみである。一方各サンプルの種あるいは属数から  $DI_{max}$  を求める場合も多様性指数と平担さの指数との関係は図7のように高い相関があり気仙沼湾に関しては多様性指数と平担さの指数とで意義の違いは見られない。これは観測期間中で各サンプルの種数が比較的少く、サンプル間であまり差がなかったためであろう。

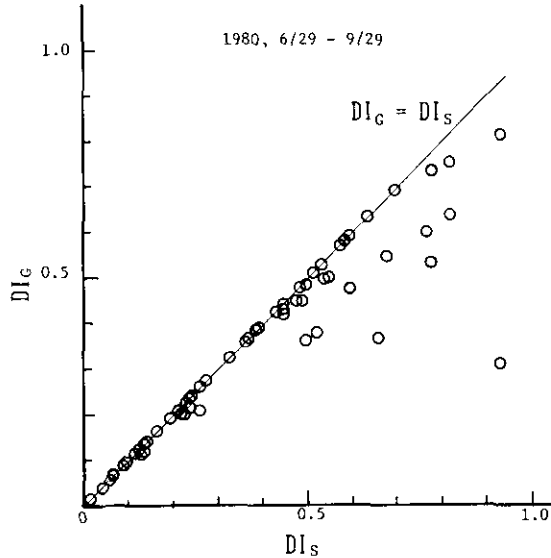


図 6 気仙沼湾における植物プランクトンの種多様性指数と属多様性指数との関係  
 Fig. 6 Relation between species diversity index and generic diversity index in phytoplankton of Kesenuma Bay

表 4 気仙沼湾における植物プランクトンの多様性指数と平担さの指数  
 Table 4 Diversity index and measure of evenness in phytoplankton of Kesenuma Bay

	St.1	St.2	St.3	St.4	St.5	St.6
Number of genus per liter	8	6	6	5	6	7
Number of species per liter	9	8	8	7	8	11
Total individuals per liter	1750	3840	1840	1320	460	5220
$DI_G$	0.448	0.216	0.380	0.361	0.599	0.209
$DI_S$	0.470	0.233	0.517	0.492	0.764	0.259
$DI_{G, max}$ (for numbers of genus in each samples)	0.903	0.778	0.778	0.699	0.778	0.845
$DI_{G, max}$ (for 33 genus)	1.519	1.519	1.519	1.519	1.519	1.519
$DI_{S, max}$ (for numbers of species in each samples)	0.954	0.903	0.903	0.845	0.903	1.041
$DI_{S, max}$ (for 63 species)	1.799	1.799	1.799	1.799	1.799	1.799
$h_G$ (for numbers of genus in each samples)	0.496	0.278	0.488	0.516	0.770	0.247
$h_G$ (for 33 genus)	0.295	0.142	0.250	0.238	0.394	0.556
$h_S$ (for numbers of species in each samples)	0.493	0.258	0.573	0.582	0.846	0.249
$h_S$ (for 63 species)	0.261	0.130	0.287	0.273	0.425	0.144

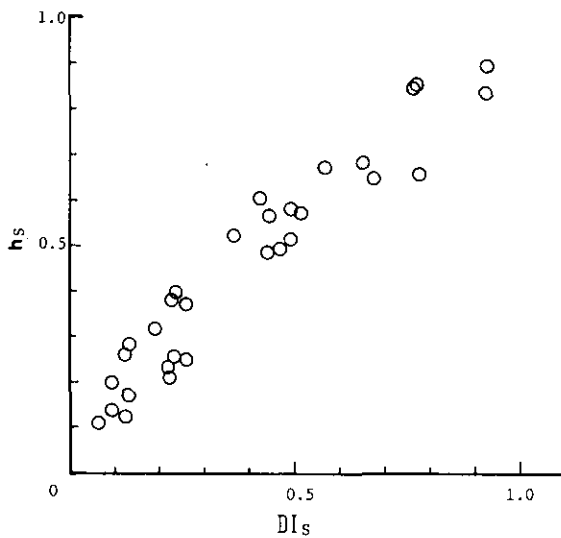


図 7 気仙沼湾における植物プランクトンの多様性指数と平坦さの指数の関係

Fig. 7 Relation between diversity index and measure of evenness in phytoplankton of Kesennuma Bay

## 5. むすび

閉鎖性の海域に窒素・リンなどの栄養塩が流入しその海域内での栄養塩濃度が高まると一次生産が盛んになり、一定の物理的環境条件のもとである特定の植物プランクトンが優占的に増殖する。したがって、窒素、リン濃度あるいは植物プランクトンの生物量に関係したCOD、透明度などのほかに植物プランクトンの種と個体数の関係も海域の富栄養化の指標となる。

植物プランクトンの種あるいは属と個体数の関係を表わす尺度として多様性指数と平坦さの指数に着目し気仙沼湾の観測データをもとにその有用性を検討した。気仙沼湾では、*Skeletonema costatum*による赤潮が発生するが、多様性指数の経日変化はその植物プランクトンの増殖の様子をよく表現している。また、最も栄養塩濃度の高い湾奥よりも数km湾口に近い地点(St.2, St.3)で多様性指数が小さいという結果を得たが、この点については潮流による植物プランクトンの集積も考えられ、今後さらに多くのデータについて栄養塩濃度と多様性指数との関係も含めて検討されるべき点である。また、種多様性指数と属多様性指数との関係、多様性指数と平坦さの指数との関係についても検討を加えたが、多様性指数という点のみであれば属多様性指数は種多様性指数と高い相関が見られ分類の容易さという点から属段階での分類で十分であることがわかった。なお、多様性指数と平坦さの指数についても与えられたデータの範囲では両者に高い相関が見られ、平坦さの指数を用いる意義は見い出せなかった。

## 引用文献

- Martin, Y.P. and M.A. Bianchi (1980): Structure, diversity and catabolic potentialities of aerobic heterotrophic bacterial populations associated with continuous cultures of natural marine phytoplankton. *Microbial Ecology*, 5, 265-279.
- Orlob, G.T. and D.A. O'Leary (1977): Impact on marine benthos of wastewater discharge, *Proceeding. ASCE. EE2*, 307-320.
- Shannon, C.E. and W. Weaver (1964): 長谷川淳, 井上光洋訳「コミュニケーションの数学的理論 — 情報」
- 田井慎吾・須藤隆一・合田 健 (1981): 情報エントロピーによる湖沼の栄養状態の評価. 国立公害研究所報告, 第23号, 49-61.
- 田井慎吾・岡田光正・須藤隆一 (1979): 情報エントロピーとAGPによる富栄養化の評価. 国立公害研究所報告, 第6号, 203-212.
- Wilhm, J. (1972): Graphic and mathematical analysis of biotic communities in polluted streams. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 3, 223-252.

## 18. 赤潮藻類の増殖におけるATP量の変化

### Changes in Cellular Contents of ATP during Growth of Red Tide Algae

菅原 淳<sup>1</sup>・小林善親<sup>2</sup>・渡辺 信<sup>3</sup>・渡辺正孝<sup>3</sup>

Kiyoshi SUGAHARA<sup>1</sup>, Yoshichika KOBAYASHI<sup>2</sup>,  
Makoto M. WATANABE<sup>3</sup> and Masataka WATANABE<sup>3</sup>

#### 要 旨

赤潮藻類の増殖過程において、細胞内 ATP 量の日変化は、1日の定時に測定すればかなり一定であり、この定常値を biomass 推定に使用できることが確認された。

一方、細胞内 ATP 量は1日において大きな時間変化を示した。この変化のうち、明期に見られるものは細胞の垂直運動性と関連があり、暗期に見られるものは細胞分裂と関連があることが示唆された。

細胞の生命活動の変化に伴って ATP 量が変動することが示されたことから、ATP の増殖過程における指標性を検討した。

#### Abstract

During the exponential growth phase, red tide flagellates of *Oilthodiscus luteus* and *Proprocentrum triestinum* showed constant values of cellular ATP content when the measurement of ATP was carried out at the fixed time of the day. The result seems to confirm what has previously been reported in the past, i.e. that is useful as an indicator for quantifying the microbial biomass.

In the meanwhile, the cellular ATP content of the flagellates fluctuated markedly in a day. It was suggested from the analysis of the time course of the fluctuation that the large fluctuation observed in the daytime was related to the vertical migration of the flagellates and the small fluctuation which appeared during the night was associated with the cell division. Since ATP change is associated with the activity of the living cell, it is possible to use the cellular ATP content as an indicator of the growth.

1. 国立公害研究所 生物環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町  
Environmental Biology Division, The National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
2. 鹿児島大学 理学部 〒890 鹿児島市郡元 1-21-35  
Faculty of Science, Kagoshima University, Koorimoto, Kagoshima-shi, Kagoshima 890, Japan.
3. 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  
Water and Soil Environment Division, The National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.



## 1. はじめに

ATP は細胞が生命活動を営んでいる限り、絶えず生産され消費されており、細胞が通常に活動している場合はある一定値を保っているが、環境が変化し、細胞内諸生理活性が変化を受ければ、当然その含有量も変化を受けると考えられる。

Holm-Hansen (1970) は種々の植物プランクトンや水生バクテリアについて、培養細胞の exponential growth phase で、有機炭素と ATP の比 (C/ATP) が 250 近くで一定になっていることを示した。また、Paerl and Williams (1976) も湖の微生物群集について C/ATP がかなり一定であることを報告した。一方、Paerl ら (1976) はクロロフィル *a*/ATP の比が、多くの湖の混合表水層では一定であることを示した。彼らはこれらの値を指標として biomass の現存量を推定しようと試みている。

しかしながら、環境条件の変化に伴う ATP 量の変動を追求するためには、なるべく多くの時間において測定することが必要である。本研究はこの観点から、細胞内 ATP 量の変動を時間単位で調べて、細胞増殖と環境変化の関係を探る ATP の指標性を追求する。

## 2. 材料と方法

赤潮藻類 *Olithodiscus luteus* は大阪湾谷川港より、また *Prorocentrum triestinum* は気仙沼湾より採取し、分離、無菌化した。培地は当研究所海洋環境研究室で修正、開発した人工海水培地 A SP-7-M を用いた。

培養は温度 20°C、照度 4,000~5,000 lx、12 時間明期、12 時間暗期で行った。

ATP の測定は次の通りである。1.6 ml の細胞培養液に 0.1 ml の 2.5 M HClO<sub>4</sub> を加え、10 分以上抽出後 -20°C に分析を行うまで保存する。全試料の採取が終了した時点で溶解し、0.5 N KOH で中和後、その上清について luciferin-luciferase system による蛍光を、arsenate-MgSO<sub>4</sub> を含むリン酸緩衝液中で、ATP photometer (米国テクノロジー社製) を用いて測定した。

ADP, AMP の定量は Strehler (1974) の方法により、順次酵素反応により ATP に転換させ、ATP として上述の方法で測定した。

## 3. 結果と考察

図 1 は *Olithodiscus luteus* の培養過程における ATP, ADP および AMP の量の日変化を示したものである。毎日明期の定時 (午前 10~11 時) に培養液を採取して測定した。ATP 量は、細胞数の増加と平行して増加し、また細胞数の減少と共に減少している。この平行関係から、細胞あたりの ATP 含量はかなり一定であることがわかる。このように日変化で見ると、細胞の増殖過程で細胞内 ATP 量は定常値を示しており、この結果は、ATP 量が現在までに報告されたような、biomass の推定の指標となり得ることを示唆している。一方、同時に測定した ADP, AMP の量と ATP 量との関連から、細胞の代謝活性の変動を求めようとしたが、1 日 1 回の定時測定だけでは

増殖過程における代謝活性の高い時期を認めることはできなかった。

次いで、細胞内 ATP 量が生命活動の変化と共に変動しているかどうかを調べるために、増殖期にある細胞の ATP 含量の 1 日における時間変化を測定した。図 2 に見られるように、調べた 2 種の藻類とも大きな変動を示した。明期の 13 時頃から増加しはじめ、15~17 時頃に最大値を示し、その後 20 時の暗期に入ると大きく減少し、その後幾分元にもどるが、5 時頃から再び減少する。一方、図 3 はこの時間変化と平行した細胞数の変化を示している。2 種の藻類とも極めて同調的に増殖し、ATP 量が大きく変動する頃の明期では細胞数に変化なく、暗期の 5 時頃から分裂しはじめ、明期に入った 11 時頃に完了する。これらの結果から、暗期で見られた 5 時頃からの ATP 量の減少は細胞分裂に関係あるものと思われる。一方、明期における大きな ATP 量の変動は、これらの藻類に関する他のデータと照合した結果、藻類の行う垂直運動性と関連があるのではないかと推測された(本報告書における垂直運動性のデータ参照)。すなわち、ATP 量が最大値を示す 15~17 時頃は、藻類はほとんど表層にあって活発に光合成を行い、光リン酸化反応で ATP を生成して細胞増殖に必要な物質を合成しているものと思われる。暗期に入る数時間前から細胞が下降しはじめるが、この時期も ATP 量の減少と一致しているように思われる。しかし、ATP 量を測定した時間が、垂直運動性を測定した時間と一致していないので、今後同一試料で両者の測定を行い詳しく検討する必要がある。

以上の結果から、細胞内 ATP 量は細胞の生命活動の変化に伴って変動していることが確認された。従って環境条件の変化が細胞の生命活動に影響を与えるならば、ATP 量の変化から逆に環境

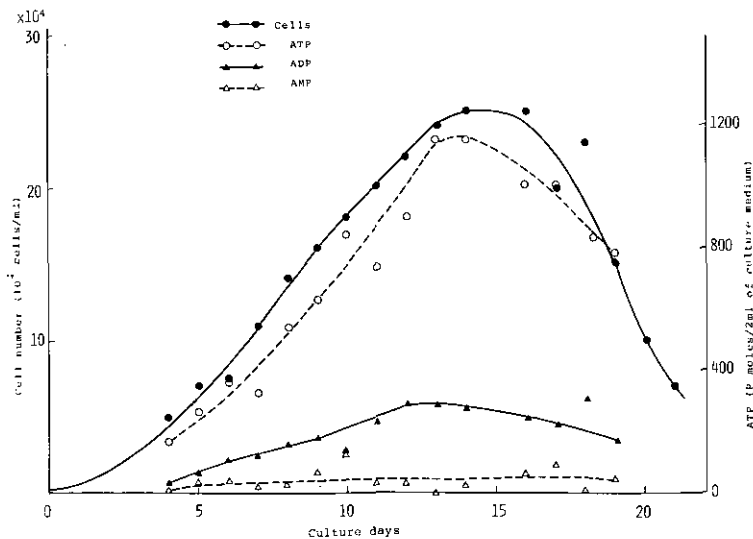


図 1 *Olisthodiscus luteus* の培養過程におけるアデニレートレベルの日変化

Fig. 1 Daily changes in the cellular adenylate level of *Olisthodiscus luteus* under culture condition

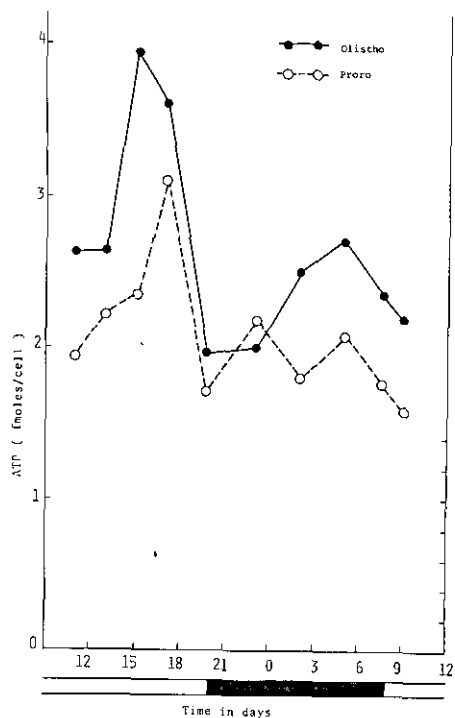


図 2 細胞内 ATP 量の時間変化 (培養 7 ~ 8 日目)

Fig. 2 Changes in the cellular ATP content of flagellates in a day. (the flagellates cultured for 7-8 days)

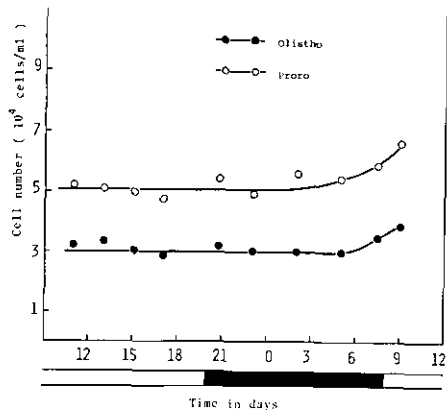


図 3 培養における細胞数の時間変化 (培養 7 ~ 8 日目)

Fig. 3 Changes in the cell number of the flagellates in a day. (the flagellates cultured for 7-8 days)

変化を検知できることになる。

また、細胞内 ATP 量が時間変化を示すことから、biomass 推定に必要な ATP 量の正常値を日変化で求める際には、1日の一定時刻で測定しなければならないことも明らかになった。

細胞の垂直運動性と ATP 量との関係という興味ある事実が指摘されたが、今後詳しく追求して行く。これと同時に、ATP の指標性をさらに明確にするため、環境要因を変化させた時の細胞内 ATP 量の変動と諸生理活性との関連を追求する。

#### 引用文献

- Holm-Hansen, O. (1970): ATP levels in algal cells as influenced by environmental conditions. *Plant & Cell Physiol.*, **11**, 689-700.
- Paerl, H.W. and N.J. Williams (1976): The relation between adenosine triphosphate and microbial biomass in diverse aquatic ecosystems. *Int. Rev. Ges. Hydrobiol.*, **61**, 659-664.
- Paerl, H.W., M.M. Tilzer and C.R. Coldman (1976): Chlorophyll *a* versus adenosine triphosphate as algal biomass indicators in lakes. *J. Phycol.*, **12**, 242-246.
- Strehler, B.L. (1974): Adenosine-5'-triphosphate and creative phosphate determination with luciferase. In *method of Enzymatic Analysis*, 2112-2126, ed. by Bergmeyer, H.U., Weinheim, Verlag Chemie.

## 19. 有限要素法を用いた潮汐流の数値モデル

### Numerical Modelling of Tidal Current using a Finite Element Method

渡辺正孝<sup>1</sup>・原島 省<sup>1</sup>

Masataka WATANABE<sup>1</sup> and Akira NARASHIMA<sup>1</sup>

#### 要 旨

鉛直方向に積分を行った1層モデルを有限要素法を用いて解析し、東京湾における潮汐流の数値モデル実験を行った。境界条件として、城ヶ島-洲崎間を開口端とし、ここでの主要4分潮 ( $M_2$ ,  $S_2$ ,  $K_1$ ,  $O_1$ ) の潮位を与えた。シミュレーション結果より得られた時系列と、冬季の実測データ (30日間) に対し、調和解析およびスペクトル解析を行い、次のような知見を得た。このモデルにより得られた流速のエネルギーレベルは、主要4分潮付近の潮流をよく再現しており、潮流楕円も実測のそれとほぼ等しいものが得られた。しかし主要4分潮より高周波側および低周波側において、エネルギーレベルは実測のそれよりも低く、乱れとみなせる高周波の流れや、密度流、吹送流に起因すると思われる低周波の流れは表現していない。

#### Abstract

A numerical model experiment of tidal currents in Tokyo Bay was performed by using a finite element method.

The boundary condition was given as the variation of the sea surface elevation composed of four tidal components ( $M_2$ ,  $S_2$ ,  $K_1$ ,  $O_1$ ) at the open boundary of the one-layered model basin.

The following results were obtained from a harmonic and spectrum analysis of the current velocity calculated by the use of this numerical model. The energy density of the velocity obtained from the numerical experiment coincided with that of the observed velocity at the corresponding mooring station in Tokyo Bay within the spectrum range of the four tidal components mentioned above and the tidal ellipses were almost equal to those obtained from the observational data. But the energy density did not reach the observed level in the other spectrum range as the model did not explicitly simulate the flow of higher frequency which can be regarded as turbulence, nor the flow of lower frequency that might be attributed to wind-driven current or density current.

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

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

## 1. はじめに

藻類の異常増殖に代表される海域の富栄養化現象は、汚濁物質の負荷の増大がその原因に挙げられるとともに、海域の停滞性の強さ、外海との交換過程の強さ、成層度の強さ、流入河川水による塩分濃度への影響の度合等その海域特性にも規定されることが多い。藻類の増殖は水温、塩分、光照度、栄養塩等の分布構造に強く影響を受ける以上、それらの要因を直接的に規定する海洋構造は、生物生産にとっては最も重要な要因の一つといえる。海域の流動を支配している要因として、潮汐流、密度流、吹送流、さらにそれらが非線型的に結合された流系を挙げることができる。特に閉鎖性の強い海域においては、異なった時空間規模を持つ流れが重さなりあって海洋構造が形成されており、卓越した定常な基本場は存在せず、季節的にも流況は大きく変化する。これら沿岸海域における物質分布変動に影響を与える種々の流れの素過程の機構を環境条件、地形条件を考慮しながら、解析する必要がある。

通常特定海域現場について解析を行う場合、問題の性質が非線型であること、さらに地形の形状が複雑であること、環境要因が時空間について変動することなどの理由により解析的に解くことは困難となる。このためそれぞれの素過程を表現する数値モデルを作製し、観測結果との対比をくり返し行うことにより特定現場海域の現象を把握することが現在最も適切な手段となっている。従来多く行われてきた数値モデルの方法としては、基礎方程式を差分化して解く Finite Difference Method がとられてきた。この場合空間格子を小さくとらないと複雑な沿岸地形を表現できない場合が多い。流体問題における地形効果をより良く表現する方法として Finite Element Method (有限要素法) の応用が試みられてきた。Watanabe and Connor (1976) は Finite Element Method を湖や貯水池における熱拡散の問題に応用し、また Wang and Connor (1975) は Massachusetts 湾における流動の問題に応用し成功している。ここではまず素過程の中の潮汐流をとりあげ、Wang and Connor (1975) により用いられた鉛直方向に積分した連続方程式、運動量方程式を Weighted Residual Method により数値解を求める方法を用い、東京湾の潮汐流解析を行った。このモデル化により得られるシミュレーション結果は、生物過程にとって重要な鉛直分布構造を持たないため、その応用は限定されるが、鉛直平均したマクロな循環流及び長期的に見た net flow (恒流成分) の解析に用いることが可能である。シミュレーション結果は冬期観測結果と比較しモデルの適合性の検証を行った。

## 2. Model Formulation

三次元の連続方程式及び運動量方程式は、鉛直方向に hydrostatic を仮定し、次のように与えられる (Wang and Connor, 1975)

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \frac{\partial}{\partial x} (\rho u) + \frac{\partial}{\partial y} (\rho v) + \frac{\partial}{\partial z} (\rho w) = e \quad (2-1)$$

$$\begin{aligned} \frac{\partial}{\partial t}(\rho u) + \frac{\partial}{\partial x}(\rho u^2) + \frac{\partial}{\partial y}(\rho uv) + \frac{\partial}{\partial z}(\rho uw) - \rho f v \\ = -\frac{\partial p}{\partial x} + \frac{\partial}{\partial x}(\tau_{xx}) + \frac{\partial}{\partial y}(\tau_{yx}) + \frac{\partial}{\partial z}(\tau_{zx}) \end{aligned} \quad (2-2)$$

$$\begin{aligned} \frac{\partial}{\partial t}(\rho v) + \frac{\partial}{\partial x}(\rho uv) + \frac{\partial}{\partial y}(\rho v^2) + \frac{\partial}{\partial z}(\rho vw) + \rho f v \\ = -\frac{\partial p}{\partial y} + \frac{\partial}{\partial x}(\tau_{xy}) + \frac{\partial}{\partial y}(\tau_{yy}) + \frac{\partial}{\partial z}(\tau_{zy}) \end{aligned} \quad (2-3)$$

$$0 = -\frac{\partial p}{\partial z} - \rho g \quad (2-4)$$

$e$  は source, sink.

ここで  $u, v, w$  は  $x, y, z$  方向の流速成分, そして  $\rho$  は流体密度,  $f$  は Coriolis parameter,  $p$  は圧力,  $g$  は重力加速度,  $\tau_{ij}$  は stress (viscous stress  $\tau_{ij}^v$  Reynolds stress を加えたもの),

$$\tau_{ij} = \tau_{ij}^v - \rho \langle u_i' u_j' \rangle \quad i, j = 1, 2, 3$$

$u_i'$  は turbulent velocity fluctuation の  $i$  成分。

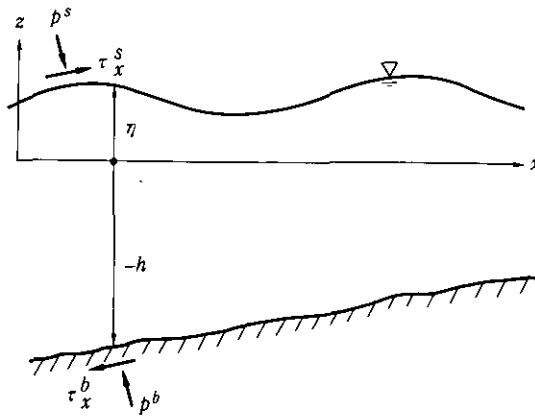


図 1 潮汐流系の概略図

Fig. 1 Schematic view of tidal flow system

自由表面において kinematic condition が成立する。

$$w|_{z=\eta} = \frac{D\eta}{Dt} = \left[ \frac{\partial \eta}{\partial t} + u \frac{\partial \eta}{\partial x} + v \frac{\partial \eta}{\partial y} \right]_{z=\eta} \quad (2-5)$$

同じく底面において kinematic condition が与えられる。

$$w|_{z=-h} = \frac{Dh}{Dt} = \left[ -u \frac{\partial h}{\partial x} - v \frac{\partial h}{\partial y} \right]_{z=-h} \quad (2-6)$$

自由表面および底面の傾斜が小さいと仮定すると、自由表面 ( $z = \eta$ ) と底面 ( $z = -h$ ) において internal stress は次のように近似できる。

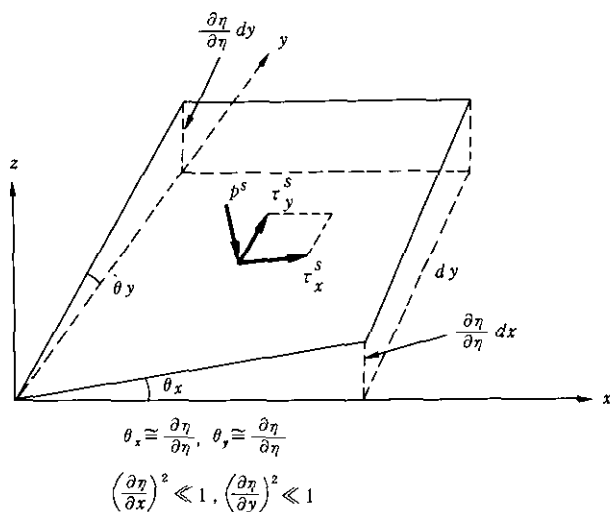


図 2 表面での応力とその記号

Fig. 2 Surface force notation

$$\tau_x^s \cong \left[ -\tau_{xx} \frac{\partial \eta}{\partial x} - \tau_{yx} \frac{\partial \eta}{\partial y} + \tau_{zx} \right]_{z=\eta} \quad (2-7)$$

$$\tau_y^s \cong \left[ -\tau_{xy} \frac{\partial \eta}{\partial x} - \tau_{yy} \frac{\partial \eta}{\partial y} - \tau_{zy} \right]_{z=\eta} \quad (2-8)$$

$$\tau_x^b \cong \left[ \tau_{xx} \frac{\partial h}{\partial x} + \tau_{yx} \frac{\partial h}{\partial y} + \tau_{zx} \right]_{z=-h} \quad (2-9)$$

$$\tau_y^b \cong \left[ -\tau_{xy} \frac{\partial h}{\partial x} + \tau_{yy} \frac{\partial h}{\partial y} + \tau_{zy} \right]_{z=-h} \quad (2-10)$$

ここで、 $\tau_x^s$ 、 $\tau_y^s$  はそれぞれ wind stress の  $x$ 、 $y$  成分、 $\tau_x^b$ 、 $\tau_y^b$  は bottom stress の  $x$ 、 $y$  成分。

(2-1) ~ (2-4) 式を鉛直方向に水底 ( $-h$ ) から水表面 ( $\eta$ ) まで積分を行なう。

(2-1) 式より

$$\int_{-h}^{\eta} \frac{\partial \rho}{\partial t} dz + \int_{-h}^{\eta} \frac{\partial (\rho u)}{\partial x} dz + \int_{-h}^{\eta} \frac{\partial (\rho v)}{\partial y} dz + \int_{-h}^{\eta} \frac{\partial (\rho w)}{\partial z} dz = \int_{-h}^{\eta} e dz$$



さらに次式で与えられる Leibnitz 公式を用いる。

$$\begin{aligned} \frac{\partial}{\partial x_1} \int_{h_1(x_1, x_2)}^{h_2(x_1, x_2)} f(x_1, x_2, x_3) dx_3 &= \int_{h_1}^{h_2} \frac{\partial f}{\partial x_1} dx_3 + f \Big|_{h_2} \frac{\partial h_2}{\partial x_1} - f \Big|_{h_1} \frac{\partial h_1}{\partial x_1} \\ \frac{\partial}{\partial t} \int_{-h}^{\eta} \rho dz - \rho \frac{\partial \eta}{\partial t} + \frac{\partial}{\partial x} \int_{-h}^{\eta} (\rho u) dz - \rho u \Big|_{\eta} \frac{\partial \eta}{\partial x} + \rho u \Big|_{-h} \frac{\partial (-h)}{\partial x} \\ &+ \frac{\partial}{\partial y} \int_{-h}^{\eta} (\rho v) dz - \rho v \Big|_{\eta} \frac{\partial \eta}{\partial y} + \rho v \Big|_{-h} \frac{\partial (-h)}{\partial y} + \rho w \Big|_{\eta} - \rho w \Big|_{-h} = \rho q_1 \end{aligned}$$

kinematic condition (2-5), (2-6) を用いると鉛直方向に積分された連続方程式が得られる。

$$\frac{\partial \rho H}{\partial t} + \frac{\partial}{\partial x} (\rho q_x) + \frac{\partial}{\partial y} (\rho q_y) = \rho q_1 \quad (2-11)$$

ここで

$$H = \int_{-h}^{\eta} dz = h + \eta$$

$$q_x = \int_{-h}^{\eta} u dz$$

$$q_y = \int_{-h}^{\eta} v dz$$

ここで  $q_1$  は単位断面積を通過する単位時間当たりの流入(出)体積 kinematic condition (2-5), (2-6) および dynamic equilibrium condition (2-7), (2-9) を用いて  $x$ -方向の運動量方程式 (2-2) を鉛直方向に積分を行うと

$$\begin{aligned} \frac{\partial}{\partial t} (\rho q_x) + \frac{\partial}{\partial x} \int_{-h}^{\eta} (\rho u^2) dz + \frac{\partial}{\partial y} \int_{-h}^{\eta} (\rho uv) dz - \rho f q_y \\ = - \frac{\partial}{\partial x} \int_{-h}^{\eta} p dz + \frac{\partial}{\partial x} \int_{-h}^{\eta} \tau_{xx} dz + \frac{\partial}{\partial y} \int_{-h}^{\eta} \tau_{yx} dz + \tau_x^s - \tau_x^b \\ + p^s \frac{\partial \eta}{\partial x} + p^b \frac{\partial h}{\partial x} \end{aligned} \quad (2-12)$$

密度  $\rho$  を平均値  $\rho_0$  と変動値  $\Delta\rho$  で表現し ( $\rho = \rho_0 + \Delta\rho$ ,  $\Delta\rho \ll \rho_0$ ), さらに Boussinesque 近似を行う。圧力項は hydrostatic pressure からの変動と定義すると次式で与えられる。

$$\begin{aligned} \rho_0 F_p &= \int_{-h}^{\eta} p dz - \frac{1}{2} \rho_0 g h^2 \\ &= \frac{1}{2} \rho_0 g H^2 + p^s H - \frac{1}{2} \rho_0 g h^2 \end{aligned}$$

$$= \frac{1}{2} \rho_o g \eta^2 + \rho_o g h \eta + \frac{1}{2} \Delta \rho g H^2 + p^s H \quad (2-13)$$

よって

$$\int_{-h}^{\eta} p dz = \rho_o F_p + \frac{1}{2} \rho_o g h^2$$

$$p^b = \rho g H = \rho_o g h + \rho_o g \eta + \Delta \rho g H$$

これより

$$\begin{aligned} \frac{\partial q_x}{\partial t} + \frac{\partial}{\partial x} \int_{-h}^{\eta} u^2 dz + \frac{\partial}{\partial y} \int_{-h}^{\eta} u v dz - f q_y = -\frac{\partial}{\partial x} (F_p - F'_{xx}) \\ + \frac{\partial}{\partial y} F'_{yx} - \frac{1}{\rho_o} (\tau_x^s - \tau_x^b) + \frac{p^s}{\rho_o} \frac{\partial H}{\partial x} + g \eta \frac{\partial h}{\partial x} + \frac{\Delta \rho}{\rho_o} g H \frac{\partial h}{\partial x} \end{aligned} \quad (2-14)$$

ここで

$$\rho_o F'_{xx} = \int_{-h}^{\eta} \tau_{xx} dz$$

$$\rho_o F'_{xy} = \rho_o F'_{yx} = \int_{-h}^{\eta} \tau_{yx} dz$$

$$\rho_o F'_{yy} = \int_{-h}^{\eta} \tau_{yy} dz$$

同様に  $y$ -方向についても次式が得られる。

$$\begin{aligned} \frac{\partial q_y}{\partial t} + \frac{\partial}{\partial x} \int_{-h}^{\eta} u v dz + \frac{\partial}{\partial y} \int_{-h}^{\eta} v^2 dz + f q_x = \frac{\partial}{\partial x} F'_{xy} \\ - \frac{\partial}{\partial y} (F_p - F'_{yy}) - \frac{1}{\rho_o} (\tau_y^s - \tau_y^b) + \frac{p^s}{\rho_o} \frac{\partial H}{\partial y} + g \eta \frac{\partial h}{\partial y} + \frac{\Delta \rho}{\rho_o} g H \frac{\partial h}{\partial y} \end{aligned} \quad (2-15)$$

convection 項の鉛直積分および internal stress を定義しなければならない。Wang and Connor (1975) は流速場  $U, V$  を次のように定義した。

$$U = u + u' = (\bar{u} + \bar{u}') + (u'' + u''')$$

$$V = v + v' = (\bar{v} + \bar{v}') + (v'' + v''')$$

ここで  $u, v$  : ensemble average

$u', v'$  : turbulent fluctuation,

$$\langle u' \rangle = \langle v' \rangle = 0$$

$\bar{u}, \bar{v}$  :  $u, v$  の鉛直平均値

$\bar{u}', \bar{v}'$  :  $u', v'$  の鉛直平均値

$u'', v''$ :  $u, v$  の  $\bar{u}, \bar{v}$  からの変動

$u''', v'''$ :  $u', v'$  の  $\bar{u}', \bar{v}'$  からの変動

そして (-) は鉛直平均を表す。

convection項  $U, V$  の ensemble average を行いその鉛直積分を行うと次式を得る。

$$\int_{-h}^{\eta} \langle UV \rangle_{\text{ensemble}} dz = \frac{q_x q_y}{H} + \int_{-h}^{\eta} (\langle u'v' + u'''v''' \rangle_{\text{ensemble}} + u''v'') dz$$

右辺積分項の中の第1項は turbulent Reynolds stress であり、他の2項は鉛直流速分布による momentum transfer の項である。この右辺積分項を平均流によって表現する関係式は現在のところ存在せず、ここでは一応 “eddy viscosity” を用いて次のように仮定した。すなわち

$$\begin{aligned} F_{x_i x_j} &= \int_{-h}^{\eta} \left[ \frac{\tau_{x_i x_j}^v}{\rho_0} - \langle (u'_i u'_j) + (u'''_i u'''_j) \rangle_{\text{ensemble}} - u''_i u''_j \right] dz \\ &\cong E_{ij} \left( \frac{\partial q_j}{\partial x_i} + \frac{\partial q_i}{\partial x_j} \right) \end{aligned} \quad (2-16)$$

ここで  $E_{ij}$  = eddy viscosity.

以上より鉛直方向に積分し、密度変化を考慮しない場合の連続方程式、運動量方程式は次のように与えられる。

$$\frac{\partial H}{\partial t} + \frac{\partial}{\partial x} (q_x) + \frac{\partial}{\partial y} (q_y) = q_t \quad (2-17)$$

$$\begin{aligned} \frac{\partial q_x}{\partial t} + \frac{\partial}{\partial x} (\bar{u} q_x) + \frac{\partial}{\partial y} (\bar{v} q_y) - f q_y &= -\frac{\partial}{\partial x} (F_p - F_{xx}) + \frac{\partial}{\partial y} F_{yx} \\ &\quad - \frac{1}{\rho_0} (\tau_x^s - \tau_x^b) + \frac{p^s}{\rho_0} \frac{\partial H}{\partial x} + g \eta \frac{\partial h}{\partial x} + \frac{\Delta \rho}{\rho_0} g H \frac{\partial h}{\partial x} \end{aligned} \quad (2-18)$$

$$\begin{aligned} \frac{\partial q_y}{\partial t} + \frac{\partial}{\partial x} (\bar{v} q_x) + \frac{\partial}{\partial y} (\bar{v} q_y) + f q_x &= \frac{\partial}{\partial x} F_{xy} - \frac{\partial}{\partial y} (F_p - F_{yy}) \\ &\quad - \frac{1}{\rho_0} (\tau_y^s - \tau_y^b) + \frac{p^s}{\rho_0} \frac{\partial H}{\partial y} + g \eta \frac{\partial h}{\partial y} + \frac{\Delta \rho}{\rho_0} g H \frac{\partial h}{\partial y} \end{aligned} \quad (2-19)$$

ここで

$$\begin{aligned} \bar{u} &= \frac{q_x}{H} \\ \bar{v} &= \frac{q_y}{H} \\ F_p &= \frac{1}{2} g \eta^2 + g h \eta + \frac{1}{2} \frac{\Delta \rho}{\rho_0} g H^2 + \frac{p^s}{\rho_0} H \end{aligned} \quad (2-20)$$

底面での shear  $\tau^b$  は次のように与えられる。

$$\tau_x^b = C_f \rho_o (q_x^2 + q_y^2)^{\frac{1}{2}} \frac{q_x}{H^2} \quad (2-21)$$

$$\tau_y^b = C_f \rho_o (q_x^2 + q_y^2)^{\frac{1}{2}} \frac{q_y}{H^2}$$

ここで  $C_f = \frac{n^2 g}{H^{\frac{1}{3}}}$

風による shear  $\tau^s$  は次のように与えられる。

$$\tau^s = \rho_{\text{air}} C_D W_{10}^2 \quad (2-22)$$

ここで、 $\rho_{\text{air}}$  = 空気の密度、 $W_{10}$  = 水面上 10m での風速 (m/s)、 $C_D$  = wind drag coefficient で次式で表される。

$$C_D = (1.1 + 0.9536 \cdot W_{10}) \times 10^{-3} \quad (2-23)$$

初期・境界条件

(2-11), (2-14), (2-15) 式を解くために、まず時間  $t=0$  において、 $q_x, q_y, H$  の初期条件を設定しなければならない。

境界条件については二つのタイプがある。すなわち流量もしくは応力に関する境界条件である。

1) normal または tangential 方向の flux ( $q_n^*, q_s^*$ ) が与えられる。

$$q_n = \alpha_{nx} q_x + \alpha_{ny} q_y = q_n^* \quad (2-24)$$

$$q_s = -\alpha_{ny} q_x + \alpha_{nx} q_y = q_s^* = 0 \quad (2-25)$$

もし  $x, y$  component で表現するなら

$$q_x = \alpha_{nx} q_n - \alpha_{ny} q_s = q_x^*$$

$$q_y = \alpha_{ny} q_s + \alpha_{nx} q_n = q_y^*$$

ここで  $\alpha_{nx} = \cos(n, x)$ ,  $\alpha_{ny} = \cos(n, y)$ 。潮汐流モデルでは tangential flux  $q_s^*$  は考慮しない。従って land boundary においては  $q_n^* = 0$ 。河川流入、外海水流出入に対しては  $q_n = q_n^*$  が与えられる。

2) normal または tangential 方向の応力 ( $F_n^*, F_s^*$ ) が与えられる。

$$F_{nx} = \alpha_{nx} (F_{xx} - F_p) + \alpha_{ny} F_{xy}$$

$$F_{ny} = \alpha_{nx} F_{xy} + \alpha_{ny} (F_{yy} - F_p)$$

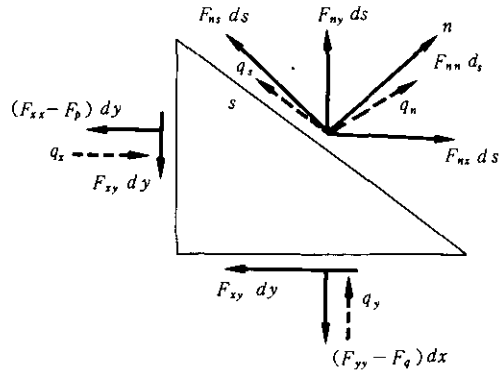


図 3 境界における応力と流束  
Fig. 3 Boundary forces and discharges

これより normal と tangential force は座標変換により次のように得られる。

$$\begin{aligned} F_{nn} &= \alpha_{nx} F_{nx} + \alpha_{ny} F_{ny} \\ &= \alpha_{nx}^2 F_{xx} - \alpha_{nx}^2 F_p + \alpha_{nx} \alpha_{ny} F_{xy} + \alpha_{nx} \alpha_{ny} F_{xy} + \alpha_{ny}^2 F_{yy} - \alpha_{ny}^2 F_p \\ &= -F_p + \alpha_{nx}^2 F_{xx} + \alpha_{ny}^2 F_{yy} + 2\alpha_{nx} \alpha_{ny} F_{xy} = F_n^* \end{aligned} \quad (2-26)$$

$$\begin{aligned} F_{ns} &= -\alpha_{ny} F_{nx} + \alpha_{nx} F_{ny} \\ &= -\alpha_{ny} \alpha_{nx} (F_{xx} - F_p) - \alpha_{ny}^2 F_{xy} + \alpha_{nx}^2 F_{xy} + \alpha_{nx} \alpha_{ny} (F_{yy} - F_p) \\ &= (\alpha_{nx}^2 - \alpha_{ny}^2) F_{xy} + \alpha_{nx} \alpha_{ny} (F_{yy} - F_{xx}) = F_s^* \end{aligned} \quad (2-27)$$

もし  $x, y$  component で表現するなら

$$F_{nx} = \alpha_{nx} (F_{xx} - F_p) + \alpha_{ny} F_{yx} = F_{nx}^*, \quad F_{ny} = \alpha_{nx} F_{xy} + \alpha_{ny} (F_{yy} - F_p) = F_{ny}^*$$

理論的には応力境界条件  $F_{nn}, F_{ns}$  を考慮し得ても、実際には測量不可能であり、唯一潮位変動、すなわち圧力の境界条件  $F_p^*$  のみが現実に与え得る。したがってここでは boundary においては、 $F_{ij} = 0$  と仮定する。従って応力境界条件としては

$$F_{nn} = F_n^* = -F_p \quad \text{のみが与えられる。} \quad (2-28)$$

### 3. 有限要素法による数値解析

#### 3.1 Weak Formulations

前節で得られた鉛直方向に積分した運動量方程式および連続方程式を有限要素法を用いて数値計算を行うのであるが、ここでは有限要素法の中でも汎用性のある **weighted residual methods** を用いて解析を行った。**weighted residual methods** は  $n$  階微分方程式の任意の演算子および境界条件に適用可能であるが、解の  $(n-1)$  階微分の連続性を同時に満たさねばならないという必要条件を緩和し、解の  $(n-1)$  階微分よりも低い微分における連続性のみを満たす “**weak solution**” を求め、その中でも解の **uniqueness** と **existence** が平衡した最適な “**weak solution**” を与える **weighted residual methods** の一般方法について触れ、さらにその流動計算への応用について述べる。

次のような **second-order equation** を考える。

$$L(u) = u_{,xx} + u - x = 0 \quad (3-1)$$

ここで  $L$  は **differential operator**.

境界条件としては次のものを  $x=0$ 、および  $x=1$  において考える。

$$u = f \quad \text{at} \quad x = 0 \quad (3-2)$$

$$u_{,x} = g \quad \text{at} \quad x = 1 \quad (3-3)$$

trial function  $\hat{u}$  は **essential boundary condition** を満足し、**test (weighting) function**  $W$  は **essential condition** の **homogeneous form** を満足しなければならない、すなわち必要条件として次式が与えられる。

$$\hat{u} = f \quad \text{at} \quad x = 0$$

$$W = 0 \quad \text{at} \quad x = 0 \quad (3-4)$$

近似解である **trial solution**  $\hat{u}$  を **original differential equation** (3-1) および **natural boundary condition** (3-3) に適用することによって生じる **error measure** は、その **residual**  $\varepsilon$  と **test (weighting) function**  $W$  との内積 (**inner product**) によって与えられる、すなわち

$$\text{Error measure} = \langle \varepsilon, W \rangle$$

$$= \int (u_{,xx} + u - x) W dx + \left. (g - u_{,x}) W \right|_{x=1} = 0 \quad (3-5)$$

次に **trial function**  $\hat{u}$  および **weighting function**  $W$  が属する **function space** が満たさねばならない最小必要条件として、(3-5) 式で与えられた積分が有限 (**finite**) である必要がある。このこと

よりそれぞれの関数  $\hat{u}_{,xx}$  および  $W$  は  $W_2^{(2)}$  (Hilbert または Sobolev space, 通常  $L_2$  と表示) に属し、関数そのものが square integrable でなければならない。すなわち

$$W \in L_2 \Rightarrow \|W\|_0 = \int W^2 dx < \infty \quad (3-6)$$

同様に trial solution  $\hat{u}$  は  $W_2^{(2)}$  に属し、 $\hat{u}$  の second-order derivative が square integrable でなければならない。すなわち

$$\hat{u} \in W_2^{(2)} \Rightarrow \|\hat{u}\|_2 = \int (\hat{u}^2 + u_{,x}^2 + u_{,xx}^2) dx < \infty \quad (3-7)$$

したがって trial solution  $\hat{u}$  および first derivative  $\hat{u}_{,x}$  は連続でなければならない。(それぞれの space とその連続性については図 4 を参照)

trial solution  $\hat{u}$  に要求される first-derivative までの連続性を緩和し、同時に解の existence と uniqueness を保証する、いわゆる “weak solution” を求めることにより演算可能な近似解を求める。すなわち (3-5) 式を部分積分を行い、(3-4) 式を用いると Error measure は次のように与えられ、function space の order を低下させることができる。

$$\text{Error measure} = \int [(u-x)W - u_{,x}W_{,x}] dx + |gW|_{x=1} = 0 \quad (3-8)$$

(3-8) 式より明らかなように trial solution  $\hat{u}$ 、および weighting function  $W$  は  $W_2^{(1)}$  space に属し、function そのものが連続であればよい。すなわち

$$\hat{u}, W \in W_2^{(1)} \Rightarrow \int (\hat{u}^2 + \hat{u}_{,x}^2) dx < \infty \quad (3-9)$$

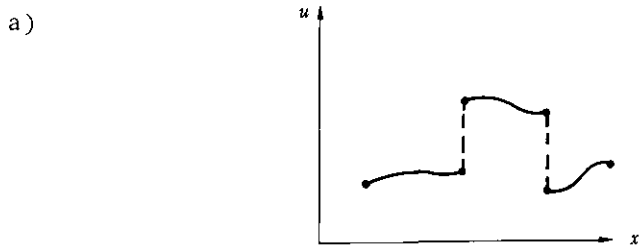
このように  $\hat{u} \in W_2^{(2)}$  から  $\hat{u} \in W_2^{(1)}$  に space を広げたことにより ( $W_2^{(2)} \subset W_2^{(1)}$ )、解の existence (存在) の space は拡大した。しかしその trial solution が unique であるかどうかは依然証明が困難であるが、少なくとも計算の立場からは実行可能な最適方法であると言える。

このように演算子の最高次微分の order を部分積分により低下させることにより解の derivative の連続性の必要条件を緩和させ、さらに trial function  $\hat{u}$  と weighting function  $W$  を同じ function space より選び、解の existence と uniqueness とをバランスさせる、いわゆる “weak formulation” を論じた。

### 3.2 Finite Element Formulation

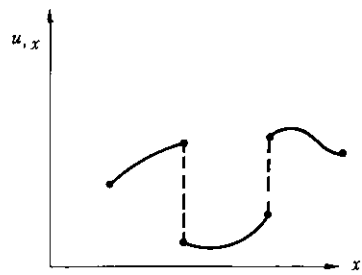
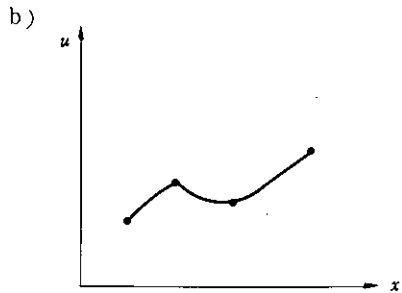
前節で述べられた方法を、鉛直方向に積分した連続方程式 (2-17)、運動量方程式 (2-18)、(2-19) 及び境界条件 (2-24)、(2-25)、(2-28) に適用し、鉛直方向に積分した潮汐流モデルの weak formulation を行う。

連続方程式 (2-17) は次のような weighted residual form に変換される。(但しここでは密度は一定と仮定している)。



Discrete functions

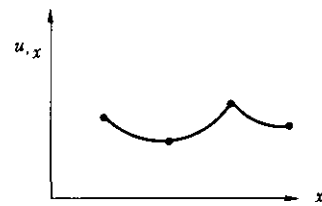
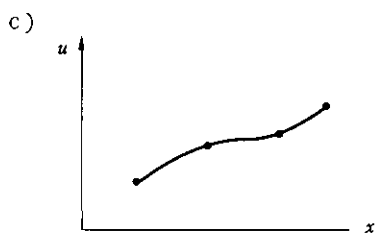
$$W_2^{(0)}$$



First-derivative square integrable

$$W_2^{(1)}$$

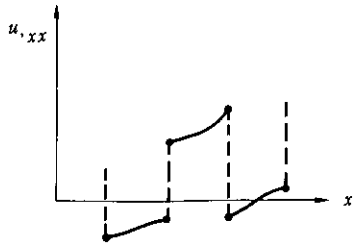
関数  $u$  のみ連続



Second-derivative square integrable

$$W_2^{(2)}$$

関数  $u$  および  $u_x$  が連続



$$W_2^{(2)} \subset W_2^{(1)} \subset W_2^{(0)} = L_2$$

図 4 関数型

Fig. 4 Types of Functions



$$\iint \left[ \frac{\partial H}{\partial t} + \frac{\partial}{\partial x} (q_x) + \frac{\partial}{\partial y} (q_y) - q_t \right] \Delta H dA = 0 \quad (3-9)$$

(3-9) 式より  $H, q_t, \Delta H \in L_2$ , および  $q_x, q_y \in W_2^{(1)}$  であることがわかる。

運動量方程式 (2-18), (2-19) 及び境界条件 (2-24), (2-25), (2-26), (2-27) は次のような weighted residual form に変換される。

$$\begin{aligned} & \iint \left[ \frac{\partial q_x}{\partial t} + \frac{\partial}{\partial x} (\bar{u} q_x) + \frac{\partial}{\partial y} (\bar{u} q_y) - f q_y + \frac{\partial}{\partial x} (F_p - F_{xx}) - \frac{\partial}{\partial y} F_{yx} \right. \\ & \quad + \frac{1}{\rho_o} (\tau_x^s - \tau_x^b) - \frac{1}{\rho_o} (p^s \frac{\partial H}{\partial x} + \Delta \rho g H \frac{\partial h}{\partial x}) - g \eta \frac{\partial h}{\partial x} \left. \right] \Delta q_x dA \\ & \quad + \int_{S_F} [\alpha_{nx} (F_{xx} - F_p) + \alpha_{ny} F_{yx} - F_{nx}^*] \Delta q_x ds \\ & \quad + \int_{S_q} [\alpha_{nx} q_n - \alpha_{ny} q_s - q_x^*] \Delta q_x ds = 0 \end{aligned} \quad (3-10)$$

$$\begin{aligned} & \iint \left[ \frac{\partial q_y}{\partial t} + \frac{\partial}{\partial x} (\bar{v} q_x) + \frac{\partial}{\partial y} (\bar{v} q_y) + f q_x - \frac{\partial}{\partial y} F_{xy} + \frac{\partial}{\partial y} (F_p - F_{yy}) \right. \\ & \quad + \frac{1}{\rho_o} (\tau_y^s - \tau_y^b) - \frac{1}{\rho_o} (p^s \frac{\partial H}{\partial y} + \Delta \rho g H \frac{\partial h}{\partial y}) - q \eta \frac{\partial h}{\partial y} \left. \right] \Delta q_y dA \\ & \quad + \int_{S_F} [\alpha_{nx} F_{xy} + \alpha_{ny} (F_{yy} - F_p) - F_{ny}^*] \Delta q_y ds \\ & \quad + \int_{S_q} [\alpha_{ny} q_n + \alpha_{nx} q_s - q_y^*] \Delta q_y ds = 0 \end{aligned} \quad (3-11)$$

Internal stress  $F_{x_j}$  に (2-16) 式を代入すると,  $q_x, q_y$  は少なくとも first derivatives においては連続であり, 従って  $q_x, q_y \in W_2^{(2)}$  である必要がある。一方 weighting function は  $\Delta q_x, \Delta q_y \in L_2$  であり, trial solution と weighting function が異なる space に属するというアンバランスが生じる。前節で述べたように最高次微分項を部分積分することにより “weak formulation” を次のように行う。

$$\begin{aligned} & \iint \left[ \frac{\partial}{\partial x} (F_p - F_{xx}) - \frac{\partial}{\partial y} F_{yx} \right] \Delta q_x dA \\ & = \int_{S_F + S_q} [\alpha_{nx} (F_p - F_{xx}) \Delta q_x - \alpha_{ny} F_{yx} \Delta q_x] ds \\ & \quad - \iint [(F_p - F_{xx}) \frac{\partial}{\partial x} \Delta q_x - F_{yx} \frac{\partial}{\partial y} \Delta q_x] dA \\ & \quad \iint \left[ - \frac{\partial}{\partial x} F_{xy} + \frac{\partial}{\partial y} (F_p - F_{yy}) \right] \Delta q_y dA \end{aligned} \quad (3-12)$$

$$\begin{aligned}
&= \int_{S_F+S_q} [-\alpha_{nx} F_{xy} + \alpha_{ny} (F_p - F_{yy})] \Delta q_y ds \\
&\quad - \iint [-F_{xy} \frac{\partial}{\partial x} \Delta q_y + (F_p - F_{yy}) \frac{\partial}{\partial y} \Delta q_y] dA \quad (3-13)
\end{aligned}$$

(3-12), (3-13) を (3-10), (3-11) に代入すると

$$\begin{aligned}
&\iint \left\{ \left[ \frac{\partial q_x}{\partial t} + \frac{\partial}{\partial x} (\bar{u} q_x) + \frac{\partial}{\partial y} (\bar{u} q_y) - f q_y + \frac{1}{\rho_o} (\tau_x^s - \tau_x^b) - \frac{1}{\rho_o} (p^s \frac{\partial H}{\partial x} \right. \right. \\
&\quad \left. \left. + \Delta \rho g H \frac{\partial h}{\partial x}) - g \eta \frac{\partial h}{\partial x} \right] \Delta q_x - [(F_p - F_{xx}) \frac{\partial}{\partial x} \Delta q_x - F_{yx} \frac{\partial}{\partial y} \Delta q_x] \right\} dA \\
&\quad - \int_{S_q} [\alpha_{nx} (F_{xx} - F_p) + \alpha_{ny} F_{yx}] \Delta q_x ds + \int_{S_F} \alpha_{nx} F_p^* \Delta q_x ds \\
&\quad + \int_{S_q} [\alpha_{ny} q_n + \alpha_{nx} q_s - q_y^*] \Delta q_y ds = 0 \quad (3-14)
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
&\iint \left\{ \left[ \frac{\partial q_y}{\partial t} + \frac{\partial}{\partial x} (\bar{v} q_x) + \frac{\partial}{\partial y} (\bar{v} q_y) + f q_x + \frac{1}{\rho_o} (\tau_y^s - \tau_y^b) - \frac{1}{\rho_o} (p^s \frac{\partial H}{\partial y} \right. \right. \\
&\quad \left. \left. + \Delta \rho g H \frac{\partial h}{\partial y}) - g \eta \frac{\partial h}{\partial y} \right] \Delta q_y - [-F_{xy} \frac{\partial}{\partial x} \Delta q_y + (F_p - F_{yy}) \frac{\partial}{\partial y} \Delta q_y] \right\} dA \\
&\quad - \int_{S_q} [\alpha_{nx} F_{xy} + \alpha_{ny} (F_{yy} - F_p)] \Delta q_y ds + \int_{S_F} \alpha_{ny} F_p^* \Delta q_y ds \\
&\quad + \int_{S_q} [\alpha_{ny} q_n + \alpha_{nx} q_s - q_y^*] \Delta q_y ds = 0 \quad (3-15)
\end{aligned}$$

$S_q$  boundary においては flux  $q_x, q_y$  が与えられていることより,  $S_q$  boundary においては weighting function  $\Delta q_x, \Delta q_y = 0$  でなければならない。  $S_F$  boundary において潮位変動が境界条件として与えられているならば, (2-20)式より  $F_p$  を求めることができ,  $F_p = F_p^*$  は常に満足される。従って (3-14), (3-15) 式における  $S_F$  boundary 上の線積分は weighted residual に含む必要がない。従って最終的には次のような運動量方程式の weak form が得られる。

$$\begin{aligned}
&\iint \left\{ \left[ \frac{\partial q_x}{\partial t} + \frac{\partial}{\partial x} (\bar{u} q_x) + \frac{\partial}{\partial y} (\bar{u} q_y) - f q_y + \frac{1}{\rho_o} (\tau_x^s - \tau_x^b) - \frac{1}{\rho_o} (p^s \frac{\partial H}{\partial x} \right. \right. \\
&\quad \left. \left. + \Delta \rho g H \frac{\partial h}{\partial x}) - g \eta \frac{\partial h}{\partial x} \right] \Delta q_x - [(F_p - F_{xx}) \frac{\partial}{\partial x} \Delta q_x - F_{yx} \frac{\partial}{\partial y} \Delta q_x] \right\} dA \\
&= 0 \quad (3-16)
\end{aligned}$$

$$\iint \left\{ \left[ \frac{\partial q_y}{\partial t} + \frac{\partial}{\partial x} (\bar{v} q_x) + \frac{\partial}{\partial y} (\bar{v} q_y) + f q_x + \frac{1}{\rho_o} (\tau_y^s - \tau_y^b) - \frac{1}{\rho_o} (p^s \frac{\partial H}{\partial y} \right. \right.$$

$$\begin{aligned}
 & + \Delta \rho g H \frac{\partial h}{\partial y} - g \eta \frac{\partial h}{\partial y} \} \Delta q_y - \left\{ -F_{xy} \frac{\partial}{\partial x} \Delta q_y + (F_p - F_{yy}) \frac{\partial}{\partial y} \Delta q_y \right\} dA \\
 & = 0 \tag{3-17}
 \end{aligned}$$

weighted residual form で書かれた潮汐流の基礎方程式 (3-9), (3-16), (3-17) より, trial solution  $H, q_x, q_y$  および weighting function  $\Delta q_x, \Delta q_y$  はすべて space  $W_2^{(1)}$  に属し, test solution ならびに weighting function は連続でなければならない。

このようにして得られた基礎方程式を, 有限要素法 (Finite Element Method) を用いて数値解を求める。全領域は *element* と呼ばれる小領域 (subdomain) に分割され, それぞれの *element* においては関数 (又は解) は *element* に独立な多項式 (polynomial) に展開されており, 従って各 *element* からの寄与を集合させることによって全領域における解を求めることができる。(3-16), (3-17) 式において, trial solution 及び weighting function は連続でなければならないという条件を満足する最も簡単な解の展開式は, 次に示すような linear triangular element である。

$$\begin{aligned}
 q_x &= \xi_1 Q_{x_1}^e + \xi_2 Q_{x_2}^e + \xi_3 Q_{x_3}^e = \underline{\phi}(x, y) \underline{Q}_x^e(t) \\
 q_y &= \xi_1 Q_{y_1}^e + \xi_2 Q_{y_2}^e + \xi_3 Q_{y_3}^e = \underline{\phi}(x, y) \underline{Q}_y^e(t) \\
 H &= \xi_1 H_1^e + \xi_2 H_2^e + \xi_3 H_3^e = \underline{\phi}(x, y) \underline{H}^e(t)
 \end{aligned} \tag{3-18}$$

ここで "e" は *element* の各 node 点における値を示し,  $\xi_{1,2,3}$  は正規化された *element* の座標を示す。

$$\underline{\phi} = [ \xi_1 \quad \xi_2 \quad \xi_3 ] \tag{3-19}$$

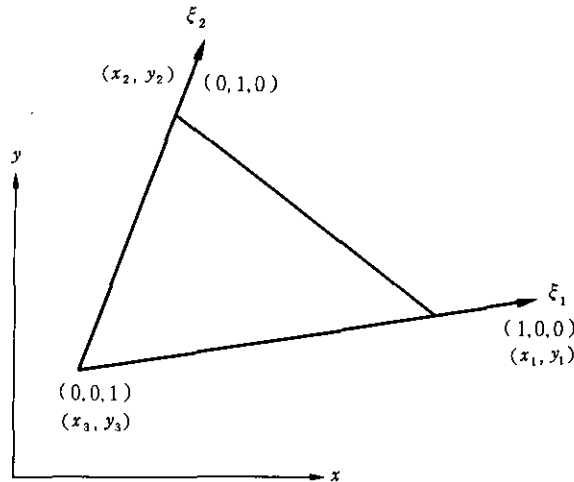


図 5 正規化された element 座標

Fig. 5 Normalized element coordinates

$x, y$  座標から正規化された座標への変換は次のように与えられる。

$$\xi_i = \frac{1}{2A} (2A_i + b_i x + a_i y) \quad (3-20)$$

ここで

$$a_i = x_k - x_j$$

$$b_i = y_j - y_k$$

$$2A_i = x_j y_k - x_k y_j$$

$$A = \frac{1}{2} (b_1 a_2 - b_2 a_1)$$

連続方程式 (3-9), 運動量方程式 (3-16), (3-17) に (3-18) 式を代入し shape function (または interpolation function)  $\underline{\phi}$  と nodal values によって全領域を展開する。連続方程式 (3-9) においては, 特に system coefficient matrix を正の対称行列 (symmetric positive real) とするために連続方程式に  $gh$  を掛けたものに適用する。全領域での積分を行う場合は, 各 element  $e_i$  での展開を行った後, 各 element からの寄与の総和をとることにより達成できる。

$$\begin{aligned} & \iint [gh \frac{\partial H}{\partial t} + gh \frac{\partial}{\partial x} (q_x) + gh \frac{\partial}{\partial y} (q_y) - gh q_i] \Delta H dA \\ &= \sum_{i=1}^{NMEL} (\Delta H^{e_i})^T \int_{A_i} \underline{\phi}^T [g(\underline{\phi} h) \underline{\phi} \frac{\partial H^e}{\partial t} + g(\underline{\phi} h) \frac{\partial \underline{\phi}}{\partial x} \underline{Q}_x^e \\ & \quad + g(\underline{\phi} h) \frac{\partial \underline{\phi}}{\partial y} \underline{Q}_y^e - g(\underline{\phi} h) \underline{\phi} \underline{Q}_i^e] dA \quad (3-21) \\ &= \sum_{i=1}^{NMEL} (\Delta H^{e_i})^T [ \underline{M}_h^i \frac{\partial H^{e_i}}{\partial t} + \underline{G}_x^i \underline{Q}_x^{e_i} + \underline{G}_y^i \underline{Q}_y^{e_i} - \underline{M}_i^i \underline{Q}_i^{e_i} ] = 0 \end{aligned}$$

ここで NMEL = 全 element 数

$$\underline{M}_h^i = \int_{A_i} g \underline{\phi}^T (\underline{\phi} h) \underline{\phi} dA$$

$$\underline{G}_x^i = \int_{A_i} g \underline{\phi}^T (\underline{\phi} h) \underline{\phi}_{,x} dA$$

$$\underline{G}_y^i = \int_{A_i} g \underline{\phi}^T (\underline{\phi} h) \underline{\phi}_{,y} dA$$

$\underline{M}_h^i, \underline{G}_x^i, \underline{G}_y^i$  は element matrix を示し,  $\underline{M}_h^i$  は対称行列。 (3-21) 式を全 element について総和を行い, 次のような system equation を得る。

$$\underline{M}_h \frac{\partial \underline{H}}{\partial t} + \underline{G}_x \underline{Q}_x + \underline{G}_y \underline{Q}_y - \underline{M}_h \underline{Q}_t = 0 \quad (3-22)$$

ここで,  $M_h, G_x, G_y$  は system matrix を表す。同様に運動量方程式についても次のような system equation を得る。

$$\underline{M} \frac{\partial \underline{Q}_x}{\partial t} - \underline{G}_x^T \underline{\eta} + \underline{E}_{xx} \underline{Q}_x + \underline{E}_{yx} \underline{Q}_y - f \underline{M} \underline{Q}_y = \underline{P}_x \quad (3-23)$$

$$\underline{M} \frac{\partial \underline{Q}_y}{\partial t} - \underline{G}_y^T \underline{\eta} + \underline{E}_{xy} \underline{Q}_x + \underline{E}_{yy} \underline{Q}_y + f \underline{M} \underline{Q}_x = \underline{P}_y \quad (3-24)$$

ここで element matrix で表した coefficient matrix は次のように表せる。

$$\underline{M}^i = \int_{A_i} \underline{\Phi}^T \underline{\Phi} dA$$

$$\underline{E}_{xx}^i = \int_{A_i} \{ E_{xx}^i \underline{\Phi}_{,x}^T \underline{\Phi}_{,x} + E_{yx}^i \underline{\Phi}_{,y}^T \underline{\Phi}_{,y} \} dA$$

$$\underline{E}_{yx}^i = (\underline{E}_{xy}^i)^T = \int_{A_i} E_{yx}^i \underline{\Phi}_{,y}^T \underline{\Phi}_{,x} dA$$

$$\underline{E}_{yy}^i = \int_{A_i} \{ E_{yy}^i \underline{\Phi}_{,y}^T \underline{\Phi}_{,y} + E_{xy}^i \underline{\Phi}_{,x}^T \underline{\Phi}_{,x} \} dA$$

$$\begin{aligned} \underline{P}_x^i = \int_{A_i} & \{ -\underline{\Phi}^T \underline{\Phi}_{,x} \underline{C}_{xx}^i - \underline{\Phi}^T \underline{\Phi}_{,y} \underline{C}_{yx}^i - \underline{\Phi}^T \underline{\Phi} \underline{T}_x^s \\ & + C_f^i \underline{\Phi}^T \underline{\Phi} \underline{T}_x^b + \frac{1}{\rho_0} \underline{\Phi}^T \underline{\Phi} \underline{P}^{si} \underline{\Phi}_{,x} H^i + \frac{g}{\rho_0} \underline{\Phi}^T \underline{\Phi} \underline{\Delta} \rho^i \underline{\Phi} \underline{H}^i \underline{\Phi}_{,x} \underline{h}^i \\ & + g \underline{\Phi}^T \underline{\Phi} \underline{\eta}^i \underline{\Phi}_{,x} \underline{h}^i + \frac{g}{2} \underline{\Phi}_{,x}^T \underline{\Phi} \underline{\eta}^i \underline{\Phi} \underline{\eta}^i \\ & + \frac{g}{2 \rho_0} \underline{\Phi}_{,x}^T \underline{\Phi} \underline{\Delta} \rho^i \underline{\Phi} \underline{H}^i \underline{\Phi} \underline{H}^i + \frac{1}{\rho_0} \underline{\Phi}_{,x}^T \underline{\Phi} \underline{P}^{si} \underline{\Phi} \underline{H}^i \} dA \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \underline{P}_y^i = \int_{A_i} & \{ -\underline{\Phi}^T \underline{\Phi}_{,x} \underline{C}_{xy}^i - \underline{\Phi}^T \underline{\Phi}_{,y} \underline{C}_{yy}^i - \underline{\Phi}^T \underline{\Phi} \underline{T}_y^s + C_f^i \underline{\Phi}^T \underline{\Phi} \underline{T}_y^b \\ & + \frac{1}{\rho_0} \underline{\Phi}^T \underline{\Phi} \underline{P}^{si} \underline{\Phi}_{,y} H^i + \frac{g}{\rho_0} \underline{\Phi}^T \underline{\Phi} \underline{\Delta} \rho^i \underline{\Phi} \underline{A}^i \underline{\Phi}_{,y} \underline{h}^i \\ & + g \underline{\Phi}^T \underline{\Phi} \underline{\eta}^i \underline{\Phi}_{,y} \underline{h}^i + \frac{g}{2} \underline{\Phi}_{,y}^T \underline{\Phi} \underline{\eta}^i \underline{\Phi} \underline{\eta}^i \\ & + \frac{g}{2 \rho_0} \underline{\Phi}_{,y}^T \underline{\Phi} \underline{\Delta} \rho^i \underline{\Phi} \underline{H}^i \underline{\Phi} \underline{H}^i + \frac{1}{\rho_0} \underline{\Phi}_{,y}^T \underline{\Phi} \underline{P}^{si} \underline{\Phi} \underline{H}^i \} dA \end{aligned}$$

$$C_{ij} = \frac{q_i q_j}{H} \quad i, j = x, y$$

$$\frac{\tau_x^s}{\rho_0} \cong \underline{\Phi} \underline{T}_x^s, \quad \frac{\tau_y^s}{\rho_0} \cong \underline{\Phi} \underline{T}_y^s$$

$$(q_x^2 + q_y^2)^{\frac{1}{2}} \frac{q_x}{H^2} \cong \underline{\Phi} \underline{T}_x^b, \quad (q_x^2 + q_y^2)^{\frac{1}{2}} \frac{q_y}{H^2} \cong \underline{\Phi} \underline{T}_y^b$$

このようにして有限要素法を用いることにより (3-22), (3-23), (3-24) 式に与えられるような非線型常微分方程式が得られる。これらを Runge-Kutta 法により時間積分を行った。数値計算の安定条件としては Courant-Friedricks-Lewy を用いた。すなわち

$$\Delta t \leq \frac{\Delta x}{\sqrt{2} C}$$

$$C = \sqrt{gh}$$

#### 4. 東京湾における潮汐流シミュレーション

東京湾は長さ約60 km, 幅約34 km, 面積約1,000 km<sup>2</sup>, 平均水深は約20 m であり, S字形の浦賀水道を経て太平洋に連なっている。その最狭部は約6 km と狭く, 湾内水の停滞性は強いと予想される。東京湾に流入する河川として江戸川, 中川, 荒川, 隅田川, 多摩川, 鶴見川等があげられる。

湾内で最も卓越した流れは, 周期的な潮汐流であり, 多くの潮流観測が行われてきた。ここでは図6に示したように, 城ヶ島-洲崎間を外海との境界線と設定し, この境界上に境界条件として  $M_2, S_2, K_1, O_1$  の4成分の潮位を与えシミュレーションを行った。城ヶ島-洲崎間では位相のずれはほとんどないので, 城ヶ島で得られている潮汐の調和定数を用いた。

表 1 城ヶ島における潮汐の調和定数 (海上保安庁水路部資料による)

Table 1 Harmonic constants of tidal flow at Jogashima

	$M_2$	$S_2$	$K_1$	$O_1$
振 幅 (cm)	38.0	17.0	22.0	18.0
遅 角 (度)	136.8	161.8	172.4	154.4

海図を用いて海岸線を読みとり, 有限要素の格子を組み (図7), それぞれの格子点において水深を読みとる。静水 (または平均水面) は, この海図より読みとった水深より  $M_2, S_2, K_1, O_1$  の4分潮の振幅の和だけ上げた水位として計算を行った。計算に用いられたパラメーターを次に示す。

$$\Delta t = 50_s$$

$C_f = 0.005$  (海底を砂地, 平均水深 = 30 cm として)

$E_{xx} = E_{yy} = 1,000 \text{ m}^2/\text{s}$

$W = 0.0$

河川流入 = 0.0

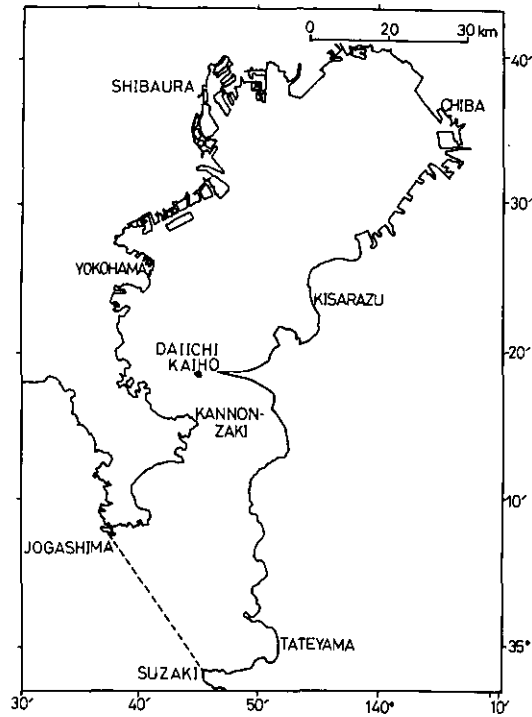


図 6 東京湾原型, 破線は境界条件として潮位を与えた開口端に対応する

Fig. 6 Prototype of Tokyo Bay

The broken line corresponds to the open boundary where sea surface elevation is given as a boundary condition

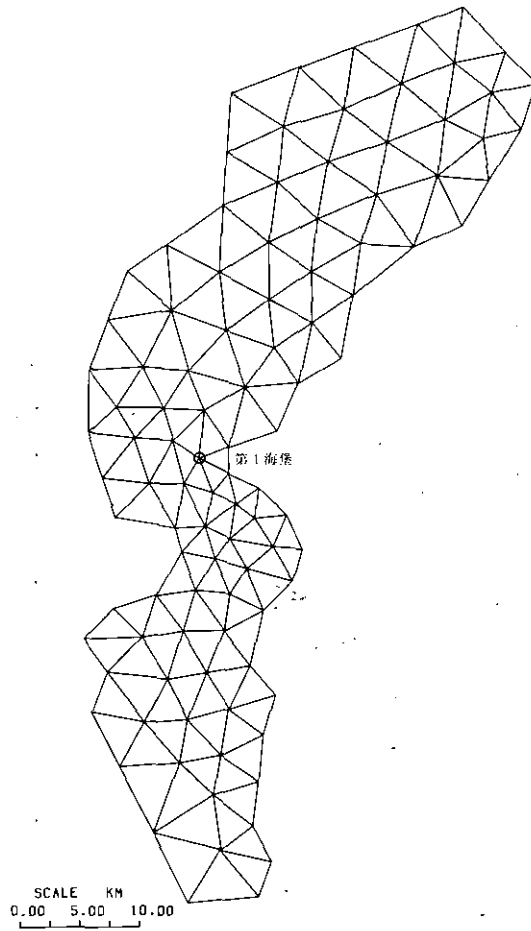


図 7 本モデルにおける東京湾の有限要素分割  
●は海一海堡の位置を示す。

Fig. 7 Finite element discretization of Tokyo Bay  
● Corresponds to the location of Daichi-Kaiho

初期条件として静水状態，すなわち  $U = V = 0$ ， $\eta = 0$  を与えた。湾口における潮位変動の境界条件を，計算開始時から与えると，計算領域内に急激な擾乱を加えることになり，計算不安定を起す。そこで計算開始後1日間については，水位変動値に  $\{1 - \cos(t/T)\}$ ， $T = 1$  (日) のファクターをかけたものを境界条件とした。図8に，計算領域の中央部に存在する第1海堡（位置については図7参照）における潮位の計算値と実測値を示す。ただし，実測値とは実測の調和定数より合成した値に，最初の1日間のみ上記のファクターをかけたものである。これによれば，潮位については，その振幅，位相ともによく再現されていることがわかる。



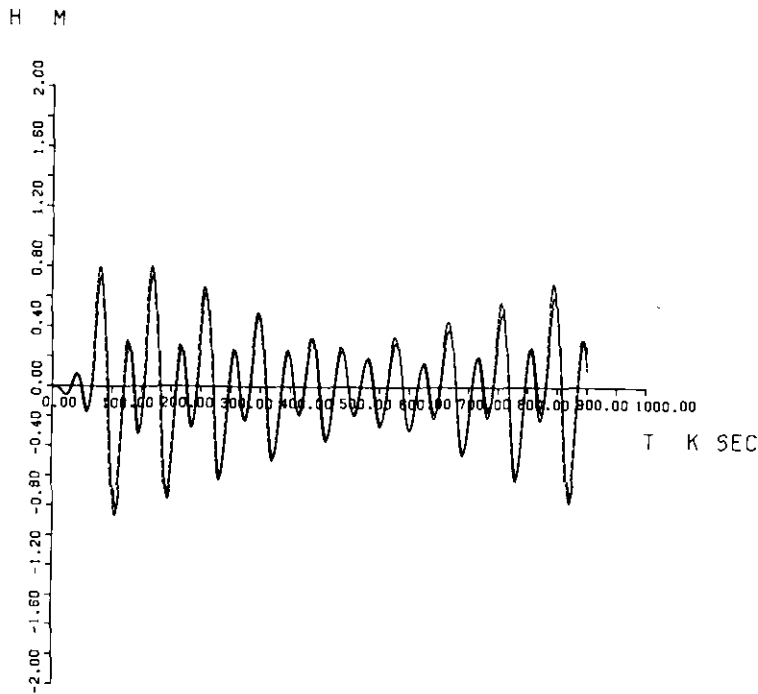


図 8 第一海堡付近における潮位の計算値（実線）と実測値（破線），ただし後者は  $M_2$ ,  $S_2$ ,  $K_1$ ,  $O_1$  各潮位の和のみを表す

Fig. 8 Variation of seasurface elevation at Daiichi-Kaiho obtained by the model (solid line) and the observation (broken line). The latter shows the sum of  $M_2$ ,  $S_2$ ,  $K_1$ ,  $O_1$  components.

次に流速に関する再現性を調べてみよう。計算開始後14日目の、下げ潮最強時、下げ潮→上げ潮転流時、上げ潮最強時、上げ潮→下げ潮転流時における流速ベクトルの分布をそれぞれ図9, 10, 11, 12に示す。これによれば、流速は、観音崎-富津間の東京湾狭隘部において、上げ潮、下げ潮時には1 (m/s) を越える場合があることがわかる。また、転流時において、一つの横断面中で流向が均一でないこと、つまり転流する時間が場所により異なることがわかる。ただし、現実の東京湾での任意の時刻における流速ベクトルの分布は必ずしも十分実測されているとはいえない。したがって流速の再現性の検証に関しては、その空間分布に関する記述よりも、次に述べる時系列的側面に関する記述のほうがより正確に行える。

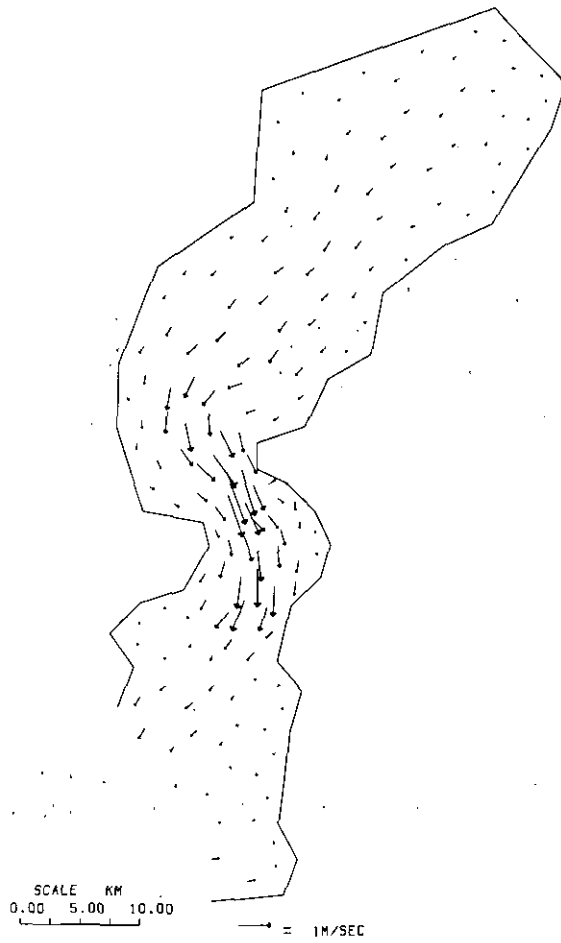


図 9 下げ潮最強時における流速ベクトルの分布  
 Fig. 9 Distribution of current velocity at the ebb

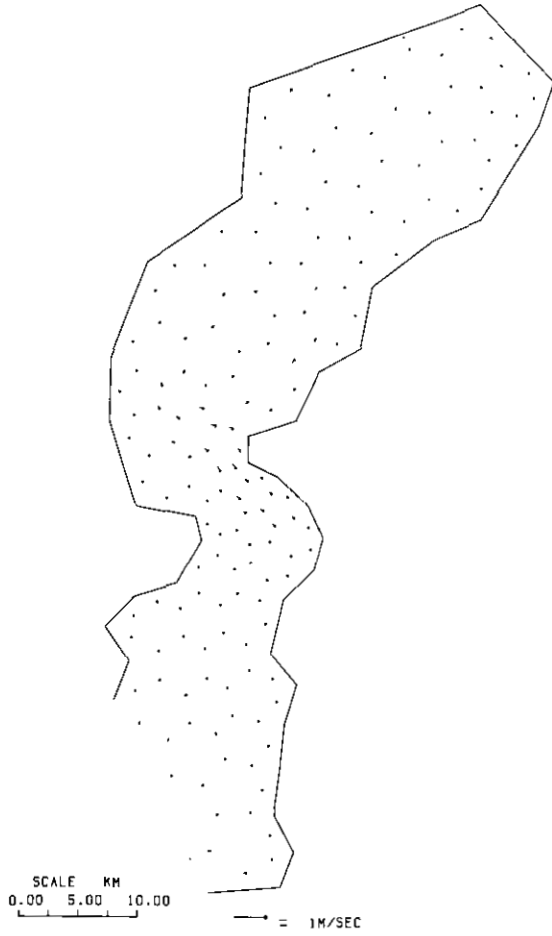


図 10 下げ → 上げ転流時における流速ベクトルの分布  
Fig. 10 Distribution of current velocity at the slack (ebb - flood)

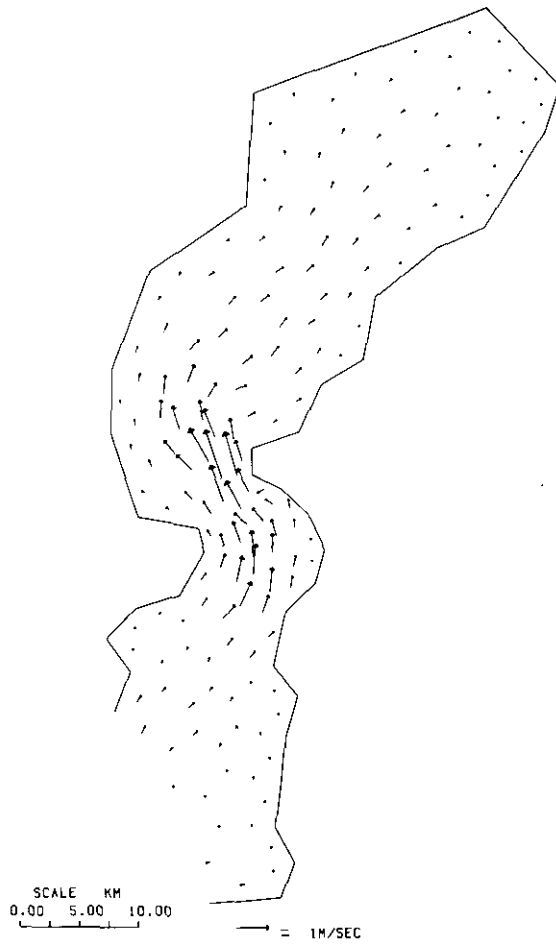


図 11 上げ潮最強時における流速ベクトルの分布  
 Fig. 11 Distribution of current velocity at the flood

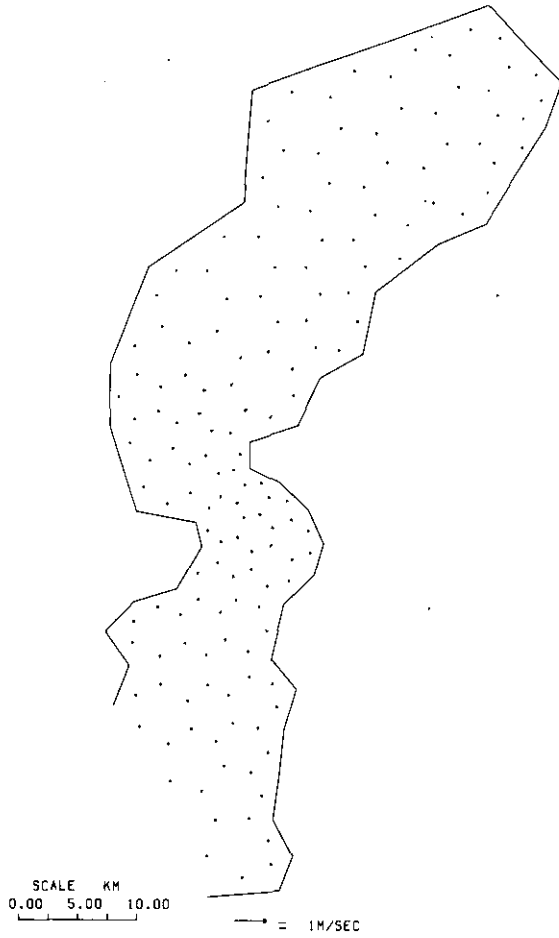


図 12 上げ → 下げ転流時における流速ベクトルの分布  
 Fig. 12 Distribution of current velocity at the slack (flood - ebb)

第一海堡付近における流速のシミュレーション結果について調和分解を行い、 $S_2$ 、 $M_2$ 、 $K_1$ 、 $O_1$  各成分について、東西成分を横軸に、南北成分を縦軸にプロットして得た潮流楕円を図13に示す。これらの図から、各分潮においてU成分とV成分の相関がよいこと、および流速の振幅については $M_2$ 成分の寄与が大きいたことが示される。また、ほぼこの点に近い測定点における流速の実測データ（運輸省東京湾口航路調査、1979）から同様に潮流楕円を求め、図14に示す。両者の比較により、これらの4分潮に関しては、流速値がよく再現されていることがわかる。

WTIDE (NO.51)

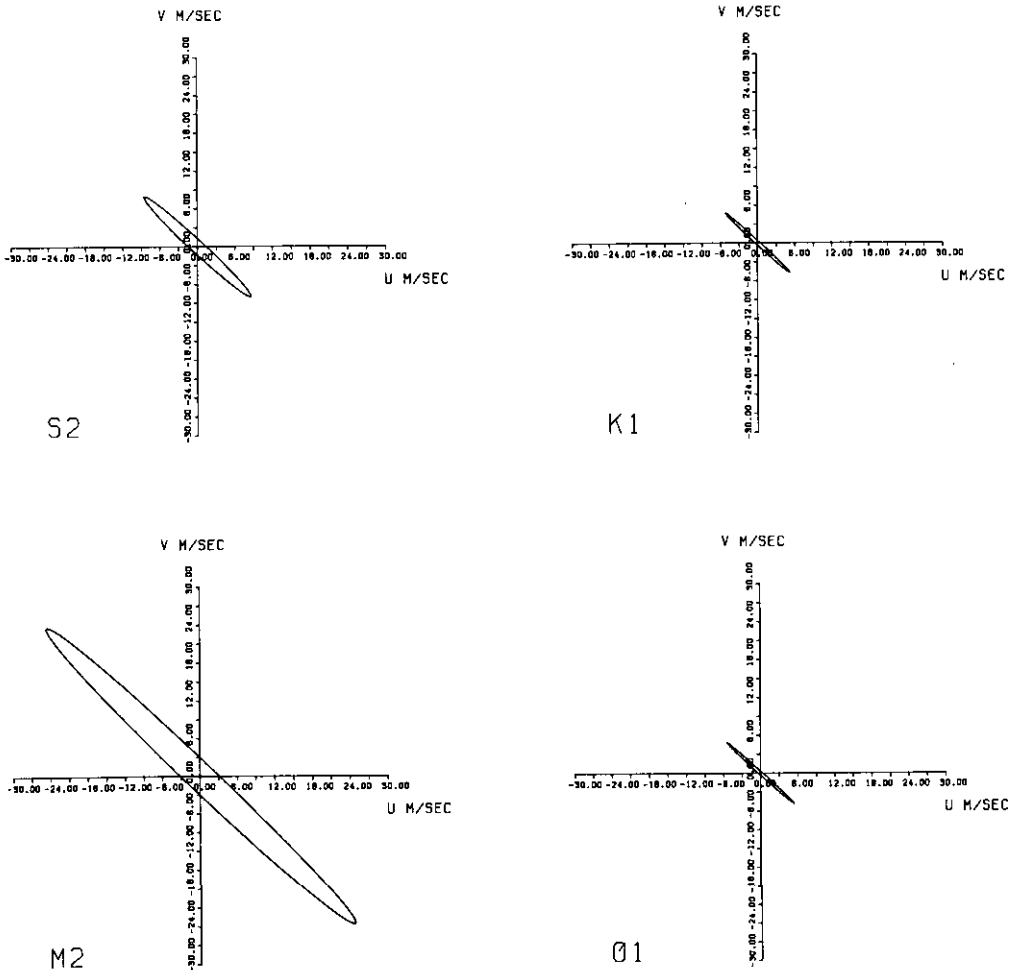


図 13 計算結果より得られた、第一海堡付近における主要4分潮の潮流楕円  
 Fig. 13 Tidal ellipses of the four main components at Daichi-Kaiho obtained from the numerical results

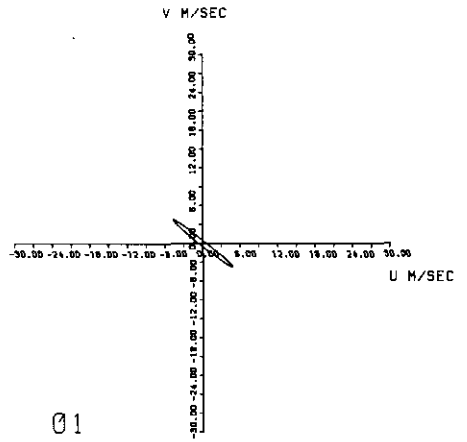
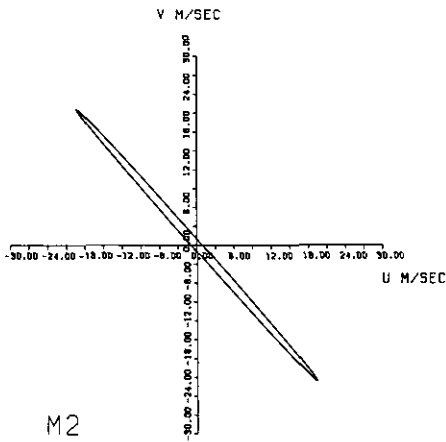
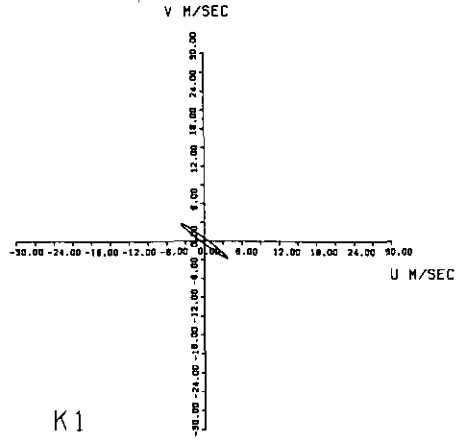
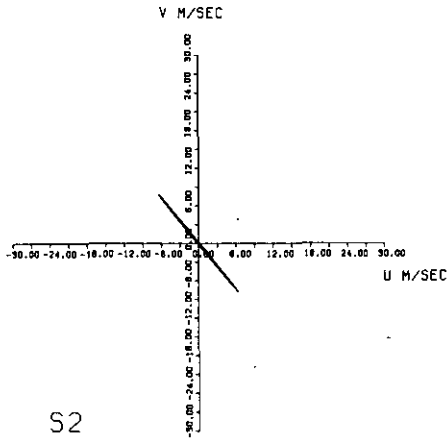


図 14 実測（運輸省，東京湾口航路潮流調査）より得られた第一海堡付近における主要 4 分潮の潮流楕円

Fig. 14 Tidal ellipses of the four main tidal components at Daiichi-Kaiho obtained from the numerical results

次に、流速のパワースペクトル密度を調べてみよう。図15-A, Bに、それぞれ計算領域中、第一海堡における流速の東西成分の時系列曲線およびMEMにより得られたパワースペクトル密度を示す。同様に図16-A, Bに南北成分についての時系列曲線とパワースペクトルを示す。これらに対応し、前述の実測データから得た時系列曲線とパワースペクトルを図17-A, Bおよび図18-A, Bに示す。図15-Bと図17-B, 図16-Bと図18-Bを比較することにより、境界条件として与えた半日周潮(約0.08 cycle/h)および1日周潮(約0.04 cycle/h)付近のエネルギーレベルはほぼ再現されていることがわかる。なお、計算結果のスペクトルの高周波領域では、実測データのそれに比べてエネルギーレベルが急激に落ちこんでいる。これは、各時系列曲線を比較することにより、現実の海域で存在する、種々の成因をもつ乱流成分をこの数値計算がシミュレートしていないことに起因する。また、1日周潮よりも低周波側のエネルギーレベルに関しても実測値のほうが計算値よりも高いことが示される。現実の東京湾においては、潮汐流の他に、密度流、吹送流に起因する流れが存在することが推測されている(長島ら, 1979)。したがって、潮汐流のみを考慮した本計算で低周波側のエネルギーレベルが低いことは、それらの時間スケールの長い流動をシミュレートしていないことに起因しているといえる。

以上のように計算結果と実測データとの比較検討により、この数値シミュレーションが主要4分潮付近の周期をもつ潮汐流をほぼ再現していることが確認できた。

Finite Element Grid の任意の点に中立浮標を投入し、その軌跡をラグランジュ的にシミュレートした軌跡図を図19に示す。これにより東京湾での海水の平均移動方向が得られる。これによると東京湾の中の流動は、いくつかの時計または反時計まわりの小規模の環流によって構成されていることがわかる。これは潮汐流と地形効果との非線型効果により、往復流が元の位置にもどらないことにより生じた流れであり、ラグランジュ的な意味での恒流と言えるかもしれない。なおこのシミュレーションには潮汐流のみしか含まれず、密度流、吹送流、河川流入等の影響により環流系の規模、流向は変化するものと思われるが、本論文においては、中立浮標の軌跡図によるラグランジュ的な恒流成分解析の可能性を提示するにとどめ、その具体的な解析は今後の研究課題とする。

#### 4. 結論

地形効果をより良く表現できる有限要素法を用いて、非定常2次元一層モデルにより東京湾での潮汐流を解析した。湾口部で $M_2$ ,  $S_2$ ,  $K_1$ ,  $O_1$ の4分潮を境界条件として与え、第一海堡付近で得られた潮位の実測データおよび実測された流速の調和解析より得られた $M_2$ ,  $S_2$ ,  $K_1$ ,  $O_1$ の流速楕円との比較を行い、シミュレーション結果と実測値の良好な一致を得た。さらに流速のパワースペクトル密度を調べ、半日周潮および一日周潮付近のエネルギーレベルはほぼ再現されていることが判明した。これらシミュレーション結果をもとに、中立浮標の軌跡図を求め、東京湾にはラグランジュ的な意味での環流系の存在が示唆された。今後は風や流入河川等の影響を検討していく必要がある。



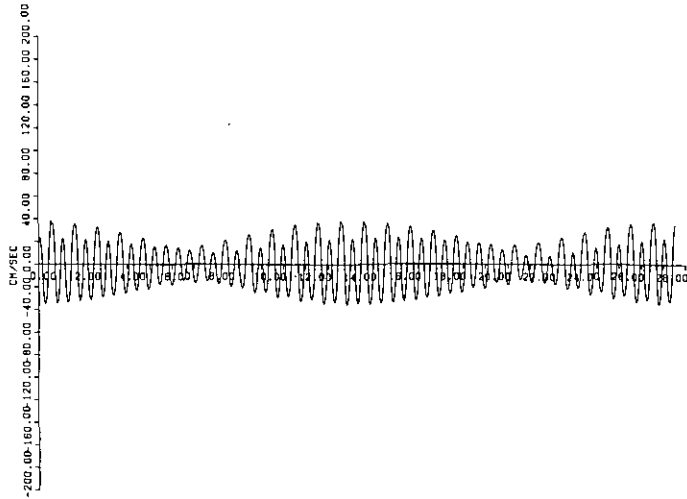


図 15-A 計算結果より得られた第一海堡付近における流速の東西成分の時系列  
 Fig. 15-A Time series of the east-west component of the velocity obtained from the numerical results

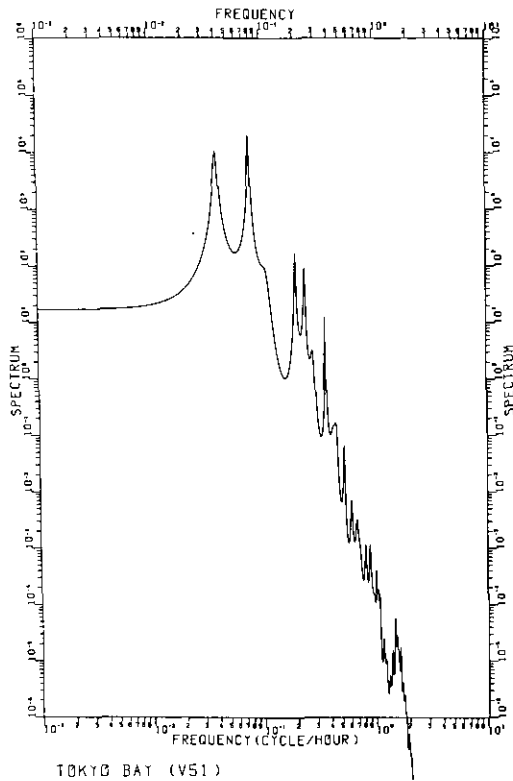


図 15-B 計算結果より得られた第一海堡付近における流速の東西成分のパワースペクトル

Fig. 15-B Power spectrum of the east-west component of the velocity obtained from the numerical results

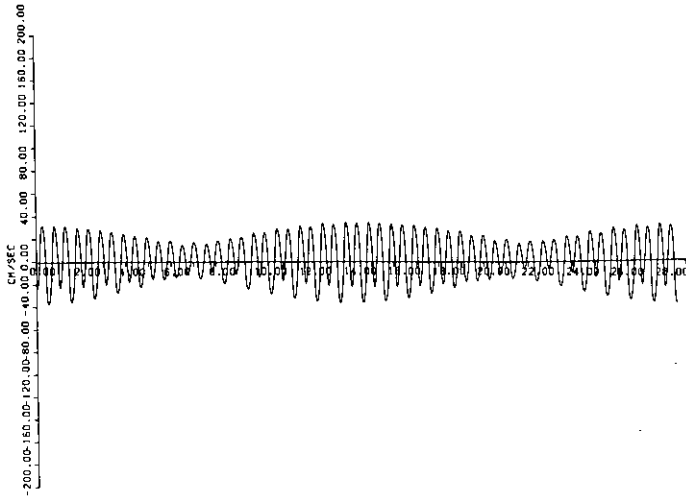


図16-A 計算結果より得られた第一海堡付近における流速の南北成分の時系列  
 Fig. 16-A Time series of the north-south component of the velocity obtained from the numerical results

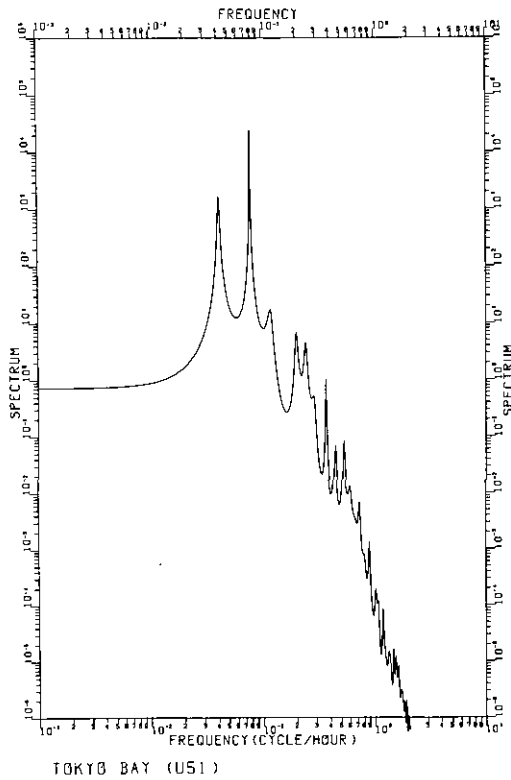


図16-B 計算結果より得られた第一海堡付近における流速の南北成分のパワースペクトル  
 Fig. 16-B Power spectrum of the north-south component of the velocity obtained from the numerical results

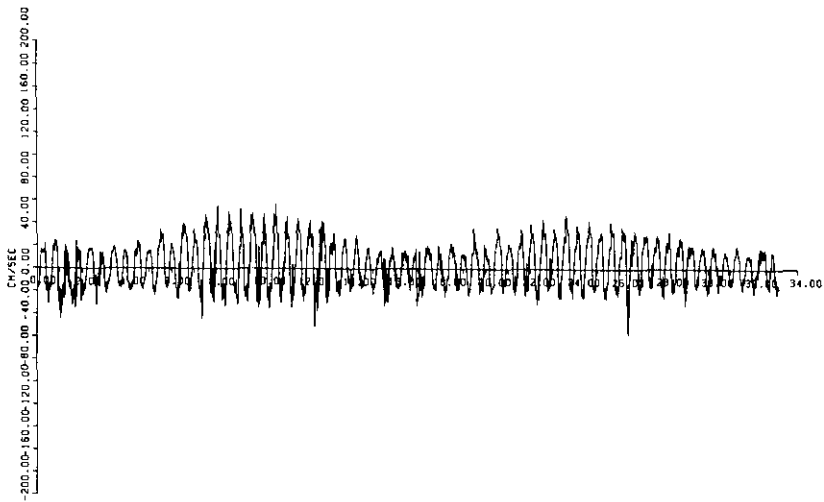


図17-A 実測より得られた、第一海堡付近における流速の東西成分の時系列  
 Fig. 17-A Time series of the east-west component of the velocity obtained from the field data

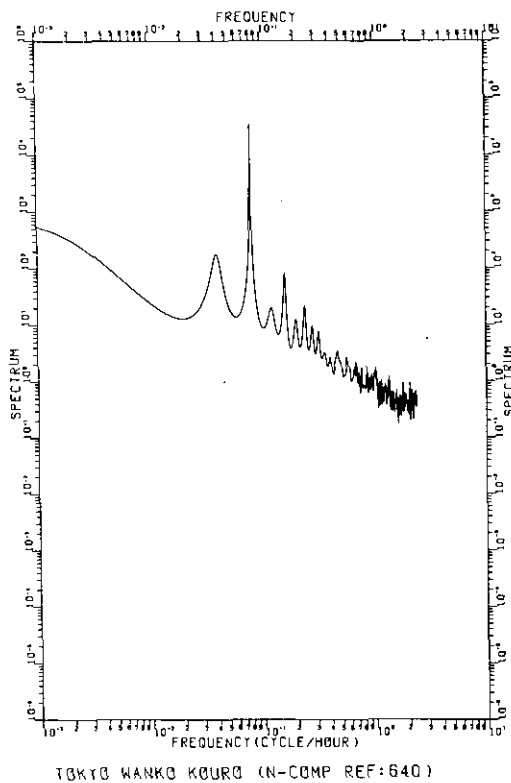


図17-B 実測より得られた第一海堡付近における流速の東西成分のパワースペクトル  
 Fig. 17-B Power spectrum of the east-west component of the velocity obtained from the field data

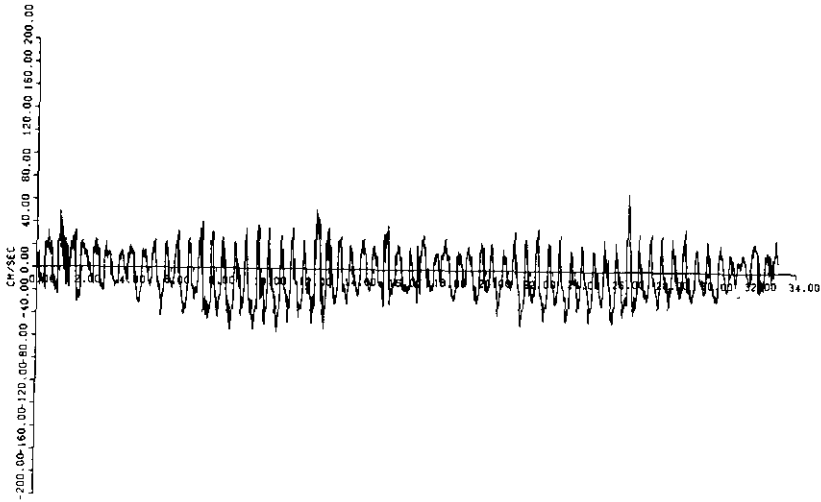


図18-A 実測より得られた第一海堡付近における流速の南北成分の時系列  
 Fig. 18-A Time series of the north-south component of the velocity obtained from the field data

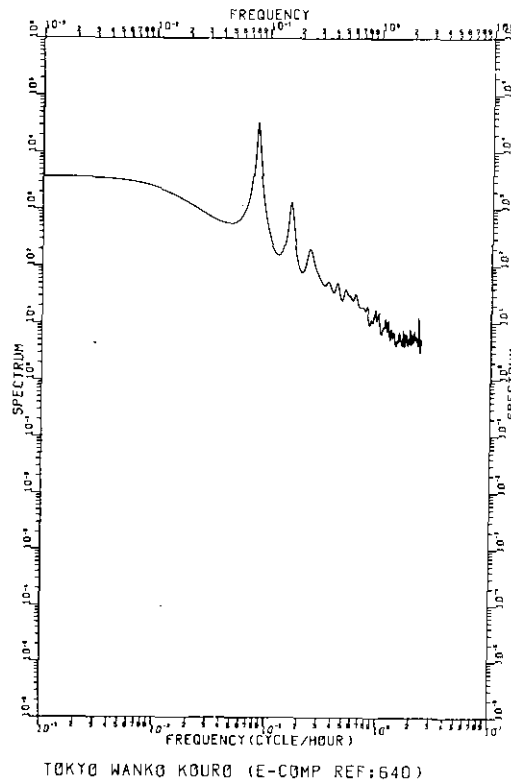


図18-B 実測より得られた第一海堡付近における流速の南北成分のパワースペクトル  
 Fig. 18-B Power spectrum of the north-south component of the velocity obtained from the field data



図 19 投入された浮標の軌跡, ○は投入点を表す

Fig. 19 The trajectories of the neutral buoys casted at the point expressed by the symbol ○

## 引用文献

- Wang, J. D. and J. J. Connor (1975): Mathematical Modeling of Near Coastal Circulation, Technical Report No. 200, Ralph M. Parsons Laboratory for Water Resources and Hydrodynamics, M. I. T., Cambridge, Mass.
- Watanabe, M., D. R. F. Harleman and J. J. Connor (1975): Finite Element Model for Transient Two-Layer Cooling Pond Behavior, Technical Report No. 202, Ralph M. Parsons Laboratory for Water Resources and Hydrodynamics, M. I. T., Cambridge, Mass.
- Watanabe, M. and J. J. Connor (1976): Mathematical Modelling of a Stratified Cooling Pond. J. of Applied Mathematical Modelling, Vol. 1, Sep.
- 長島秀樹・岡崎守良 (1979): 冬季における東京湾の流況と海況. 沿岸海洋研究ノート, 16 (2), 76-86.
- 運輸省第二港湾建設局横須賀港工事事務所  
東京湾口航路潮流調査報告書 昭和54年3月  
東京湾口航路潮流調査報告書 昭和54年9月

## 謝辞

本研究を遂行するに当たり、東京湾潮流観測データの使用に関し多大なる御便宜をお計り下さった運輸省第二港湾建設局横須賀港工事事務所に厚く御礼申し上げます。

## 20. 海洋環境データの鉛直2次元補間法について

### Vertically Two Dimensional Interpolation of Oceanographical Data

木幡邦男<sup>1</sup>・渡辺正孝<sup>1</sup>

Kunio KOHATA<sup>1</sup> and Masataka WATANABE<sup>1</sup>

#### 要旨

従来より2次元データ補間にはスプライン法が広く用いられている。海洋環境データの鉛直2次元の補間にスプライン法を適用する場合、環境データの空間分布特性——例えば温度・塩分などは強い成層構造を形成し、一方向のデータのこう配が他方向の傾斜に比較して著しく小さく、空間異方性が大きい、一方栄養塩類やクロロフィルなどは空間異方性が小さい——によっては、初期推定値の与え方によって、補間された結果は大きく影響を受ける。空間異方性の大きいデータに対しては、縞状補間による初期値を用い、空間異方性の小さいデータに対しては、距離によって定まる重み関数を用いた荷重平均によって初期値を推定し、スプライン法により補間を行い、良好な結果を得た。

#### Abstract

Two dimensional interpolation was made through a modified spline method on the basis of anisotropic data such as a vertical structure of temperature or salinity measured in a strongly stratified bay. These data have different gradients along horizontal (longitudinal) and vertical axes, and it is difficult to interpolate by a usual spline method which assumes isotropical inputs. In spline interpolation, the number of iteration is finite because of computation. Under these circumstances the accuracy of interpolation is affected by initial values.

Initial estimations for the modified spline iteration were carried out in two ways according to trends of data. In order to interpolate the data with strong anisotropy, for instance temperature and salinity, initial values were given by two linear interpolations; first along horizontal axis and then along vertical axis. In order to estimate the less anisotropic data, such as nutrient and chlorophyll, concentrations were averaged with weights defined as a function of distance between data point and each grid point to estimate initial values. This algorithm affords sufficient smoothness and fitness in interpolated data.

---

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

## 1. はじめに

湾や内海といった地形的に限られた海域での海洋観測においても、全域にわたり環境因子を連続的に測定を行うのは実際上困難であり、通常は数点から数十点の測定点での観測値を用いて、対象とする海域の全体像を推定してきた。測定値は水平または鉛直 2 次元図の形で整理され、人間が主観的に引いた等値線により全体像の把握を行ってきた。しかしある 1 点での測定値をもってその周辺の状態をどのように代表させるか、またそれらの有限個の測定値をもって海域の全体像をどのように表現するかといった、観測データの空間特性については極めて重要な問題であるにもかかわらず体系立ってはあまり論じられてこなかった。近年気象学の分野において数値予報の初期値を得るために客観解析の方法と言われる 2 次元データの補間法の研究が行われ、さらに大西 (1975) はスプライン法を用いて水平 2 次元補間法を開発し、水平 2 次元の水温ならびに流速の水平分布図を作成し良好な結果を得た。また、2 次元データの平滑化に関する一般論は市田ら (1979) の成書にある。しかし実際の計算を実行し補間していくにあたり、環境データの空間異方性が強い場合 (例えば鉛直温度・塩分成層の場合) の補間には種々の問題点があり、また格子点が多い場合に初期推定値が良好でないで多くの計算時間を必要とするなどその運用上には未解決な部分が多い。

本論文においては、観測データの空間異方性の度合によって、初期値推定の方法を区分し、スプライン法の適用による鉛直 2 次元補間法を検討した。

## 2. 鉛直 2 次元補間法

1 次元データを補間する方法に、張力の下での 3 次のスプライン関数を用いる方法 (Cline, 1973) があるが、大西 (1975) はこの方法を 2 次元データに適用するために (1) 式で表現されるエネルギー ( $E$ ) を定義し、このエネルギーを最小とする曲面  $Z(x, y)$  として目的の曲面を求めた。

$$E = \int_R \{ (\Delta Z)^2 + \sigma (VZ)^2 \} dx dy \quad (1)$$

ただし

$$\Delta = \frac{\partial^2}{\partial x^2} + \frac{\partial^2}{\partial y^2}, \quad V = \frac{\partial}{\partial x} \mathbf{i} + \frac{\partial}{\partial y} \mathbf{j}$$

$\sigma$  は得られる曲面の滑らかさを規定するパラメータで、これはデータの性質により経験的に定める。

(1) 式の積分の範囲  $R$  は、対象とする領域を含むより広い領域とし、その境界  $\partial R$  で (2) 式に示すような境界条件を課す。

$$\frac{\partial Z}{\partial n} = \Delta Z = 0 \quad \text{on} \quad \partial R \quad (2)$$

この条件下で (1) 式の変分を 0 とおくと

$$\Delta^2 Z - \sigma \Delta Z = 0 \quad (3)$$



を得る。従って目的の曲面  $Z(x, y)$  は、基本的にはデータ点において与えられた値をとり、 $R$  において(3)式を満たし、境界  $\partial R$  において条件(2)を満足するような関数として定まる。

計算を実行する場合、補間したい領域を含むより大きな領域で格子線を描き、(3)式を差分方程式におきかえ逐次近似解を求め、各格子点での値を得ることができる(大西, 1975)。

しかし実際の計算を実行するにあたり、主な問題点として、i) 空間異方性の強い観測データの場合、初期値の与え方によっては測定値近傍に歪みや褶曲を発生する、ii) (3)式中のパラメータ  $\sigma$  の選び方により異常な極値が現れる場合がある、iii) 計算時間は、およそ格子間隔の2乗と(3)式の逐次解法の反復回数との積に比例し、格子点が多い場合に各格子点上の初期推定値が良好でないと、多くの計算時間を必要とする、等があげられる。

以上のように、観測データの空間異方性の度合と初期値の与え方により補間された結果は大きく影響される。初期値の与え方については i) 荷重平均を用いるもの、ii) 綫状補間を行うもの、との二つがある。

#### i) 荷重平均による初期値

データ点と格子点間の距離  $r_i$  によって定まる重み関数  $W(r)$  を用いた荷重平均によって初期値を推定した。格子点  $(x, y)$  における推定値  $Z(x, y)$  は

$$Z(x, y) = \frac{\sum_{i=1}^n \{W(r_i) \cdot Z_i\}}{\sum_{i=1}^n W(r_i)} \quad r_i \neq 0 \quad (4)$$

$$Z(x, y) = Z_i \quad r_i = 0 \quad (5)$$

で与えられる。上式で  $n$  はデータ数である。重み関数としては指数関数

$$W(r) = \exp(-ar) \quad (6)$$

を用いる。

このようにして得られた初期値を用いてスプライン補間を行う。

#### ii) 綫状補間による初期値

水平方向に(7)式で示されるニュートン形式の多項式を用いた補間を行う。

$$Z(x, y_k) = \sum_{i=0}^n f[x_0, \dots, x_i] \prod_{j=0}^{i-1} (x - x_j) \quad (7)$$

続いて同様の補間を垂直方向に行い、得られた初期値を用いてスプライン補間を行う。

海洋環境データには、塩分・水温のように夏期に強い成層を形成し、一方向のデータのこう配が他方向の傾斜に比較して著しく小さく空間異方性の大きいデータと、栄養塩類やクロロフィルのような空間異方性の小さいデータがあり、それぞれのデータの特徴により初期値の与え方が補間結果に

及ぼす影響を検討してみた。なお格子点は水平・鉛直方向にそれぞれ  $120 \times 55$  で与え、計算機は HITAC M180を使用した。

### 2.1 空間異方性の大きいデータ

強く成層し水平方向の温度こう配が、鉛直方向の温度こう配に比較して著しく小さいような場合、距離によって決まる重みを用いた荷重平均により初期値を決めスプライン補間を行うと、測定値近傍に歪みを発生し、繰り返し計算回数を増加させてもその歪みは消すことができないことがわかる (図1, 2)。

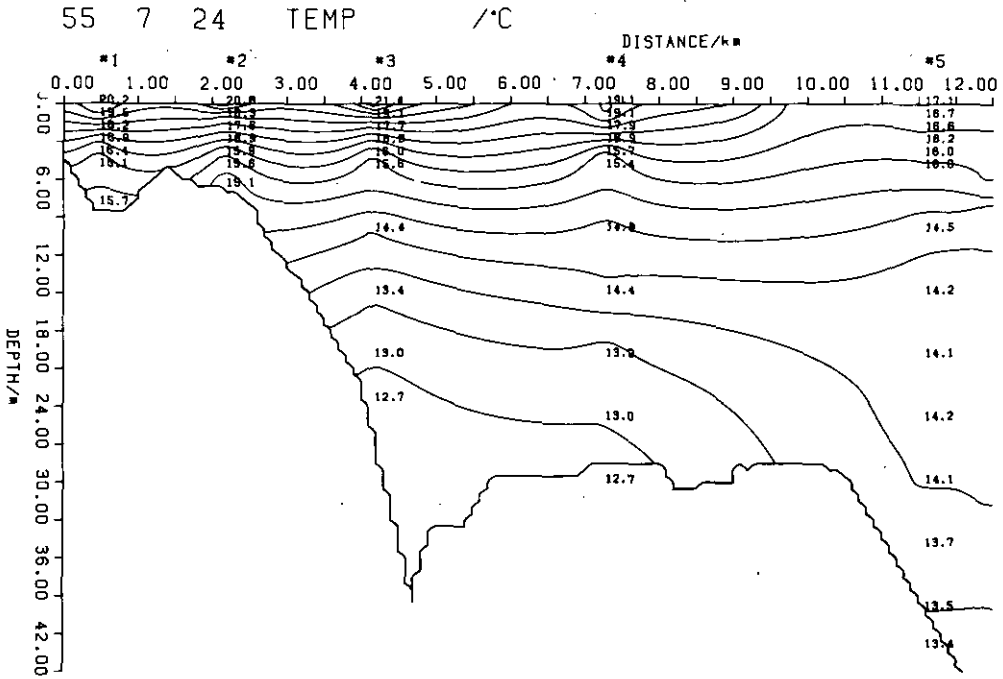


図 1 空間異方性の大きいデータ  
荷重平均による初期値,  $N=10$ , CPU time  $t = 3 \sim 5s$

Fig. 1 The more anisotropic data. Initial values were given by a weighted average. CPC time,  $t = 3 \sim 5s$ , for 10 times iteration.

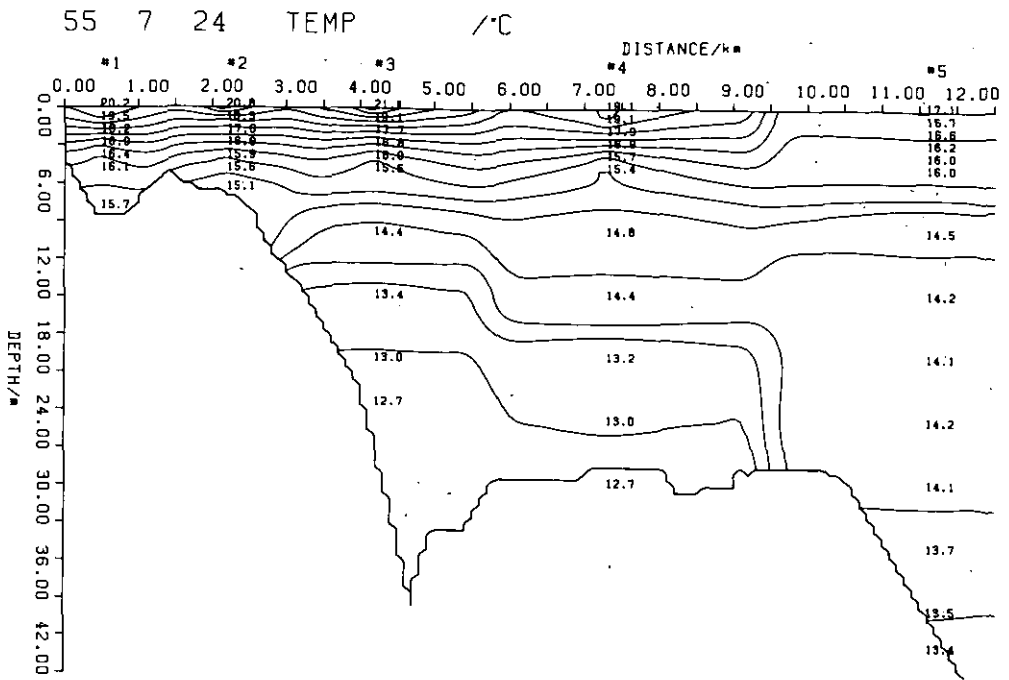


図 2 空間異方性の大きいデータ  
荷重平均による初期値,  $N=1000$ , CPU time  $t=300\sim 500s$

Fig. 2 The more anisotropic data. Initial values were given by a weighted average.  
CPU time,  $t = 300\sim 500s$ , for 1000 times iteration.

これに対して、まず水平方向に多項式を用いた補間を行い、続いて同様の補間を鉛直方向に行う  
縞状補間による初期値の場合、成層構造に沿って初期推定値が滑らかに与えられるため、測定値近  
傍に歪みは発生せず、反復計算回数も10回程度で収斂し、パラメータ $\sigma$ を $10^{-2}$ から $10^2$ の範囲で変  
化させても異常な極値は出現しなかった(図3)。

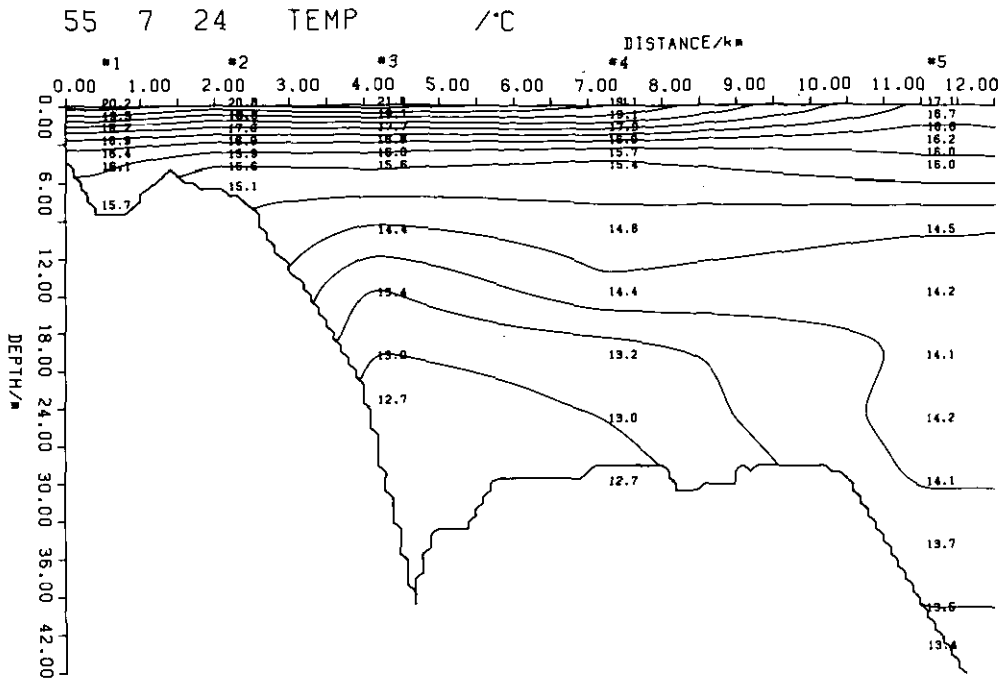


図 3 空間異方性の大きいデータ  
縞状補間による初期値,  $N=10$ , CPU time  $t = 3 \sim 5s$

Fig. 3 The more anisotropic data. Initial values were given by two linear interpolations. CPU time,  $t = 3 \sim 5s$ , for 10 times iteration.

## 2.2 空間異方性の小さいデータ

栄養塩やクロロフィル量の分布は、むしろ水平方向へのこう配と鉛直方向へのこう配とが著しく異なるということではなく、空間異方性が小さい。むしろパッチ状分布を形成する傾向にある。このようなデータの特質に対しては、距離によって決まる重みを用いた荷重平均による初期値を用いる方が良好な結果が得られる(図4)。 $\sigma$ は $10^{-2}$ から $10^2$ の範囲では異常な極値は見られないことが確認されている。

一方縞状補間の場合、データの空間異方性が小さいにもかかわらず、その異方性を強調しすぎた補間となる(図5)。

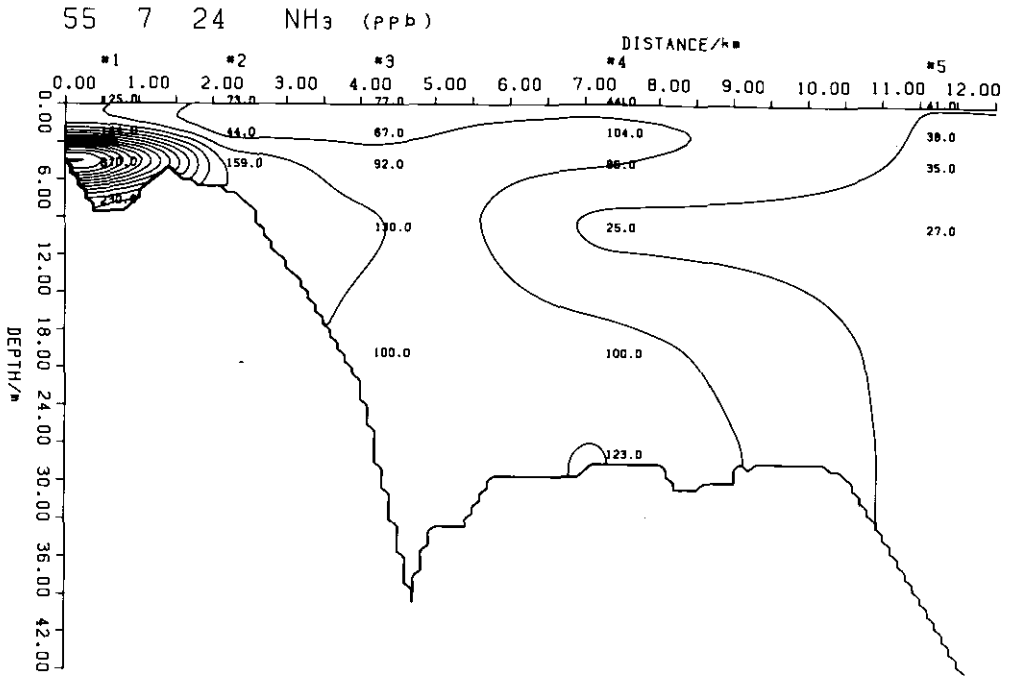


図 4 空間異方性の小さいデータ  
荷重平均による初期値,  $N=10$ , CPU time  $t = 3 \sim 5$ s

Fig. 4 The less anisotropic data. Initial values were given by a weighted average.  
CPU time,  $t = 3 \sim 5$ s, for 10 times iteration.

### 3. 結論

それぞれの海洋環境データの性質に適した初期推定値を与え、スプライン法を用いた鉛直2次元補間法を検討した。水温や塩分のような空間異方性の大きいデータに対しては、縞状補間による初期値を用い、空間異方性の小さいデータに対しては、距離によって定まる重み関数を用いた荷重平均によって初期値を推定し、スプライン法により補間を行うべきであることが判明した。両者とも反復計算回数は10回で収斂し、パラメータ $\sigma$ は $10^{-2}$ から $10^2$ の範囲で変化させても異常な極値は出現せず、計算時間は CPU time で3~5sであった。

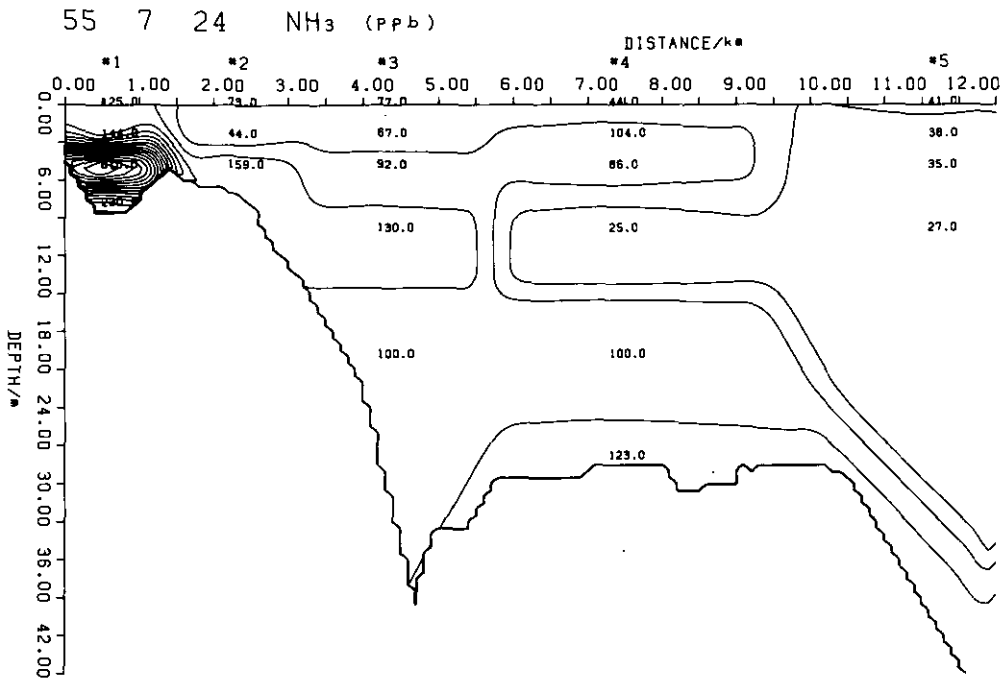


図 5 空間異方性の小さいデータ  
 縞状補間による初期値,  $N=10$ , CPU time  $t = 3\sim 5s$

Fig. 5 The less anisotropic data. Initial values were given by two linear interpolations. CPU time,  $t = 3\sim 5s$ , for 10 times iteration.

### 謝 辞

スプライン法のプログラムについて御指導下さった国立公害研究所の落合美紀子研究員, 内藤正明博士に, また等値線作図のプログラムについて御指導下さった松戸修氏に深く謝意を表します。また計算機作業の補助を行ってくれた筑波大学電子情報学系の柴田修・河合利信両君に感謝いたします。

### 引用文献

- 市田浩三・吉本富士市 (1979): スプライン関数とその応用. 教育出版.  
 大西行雄 (1975): スプライン法を用いた2次元補間について. J. Oceanogr. Soc. Jpn., 31, 259-264.  
 Cline, A.K. (1973): Curve fitting using splines under tension. Atmos. Technol., NCAR., 3, 60-65.

## 21. 赤潮藻類 *Olithodiscus luteus* の分光特性と水質

### Spectroscopic Characteristics of Red Tide Algae *Olithodiscus Luteus* and Water Quality

宮崎 忠国<sup>1</sup>

Tadakuni MIYAZAKI<sup>1</sup>

#### 要旨

実験室において純粋培養された赤潮藻類 *Olithodiscus luteus* の分光反射スペクトルを測定し、リモートセンシングによる赤潮藻類の定量の可能性を検討した。培養期間の短い赤潮藻類の分光反射スペクトル強度は、400～510, 660～670 nm領域で赤潮藻類の細胞数と負の相関を示し、培養期間の長い藻類では400～800 nm領域において正の相関を示した。これらの結果からリモートセンシングによる赤潮藻類の活性度の計測について検討を行った。

#### Abstract

An attempt was made of devising a method to represent activity level of red-tide in water body by remote sensing techniques. The measurements of spectral reflectance of different activity level of *Olithodiscus-luteus* by high-speed rediospectrometer showed significant changes in the wave length of 400~510 and 660~670 mm region. Cell number of the highly activated red-tide correlated inversely with the reflectance energy in the region while low activated tide correlated positively with the reflectance intensity in the whole region.

#### 1. はじめに

近年、人工衛星や航空機によるリモートセンシング技術により水域の水質を定性的、定量的に把握することが各方面で試みられている。赤潮藻類やアオコの定量的計測は、植物プランクトン中のクロロフィル-*a*の吸収帯430 nmおよび680 nm付近の反射率を測定し、その濃度あるいは分布状況を推測しようとしている。しかしながら、植物プランクトンの濃度あるいは活性度、さらにはデータ収集のための航空機の高度や大気の影響、水面の反射などの要因によりリモートセンシング技

---

1. 国立公害研究所 環境情報部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町  
Environmental Information Division, The National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi,  
Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

術による赤潮藻類やアオコの定量は必ずしも満足な結論を得ていない。

ここでは実験室において、赤潮藻類の一種である *Olisthodiscus lutens* の分光反射率の測定を行い、*O. lutens* の濃度および培養開始からの時間の違いによる反射スペクトルの変化から、リモートセンシングによる赤潮藻類計測の波長選択および活性度と分光反射率の関係の検討を行った。

## 2. 測定装置

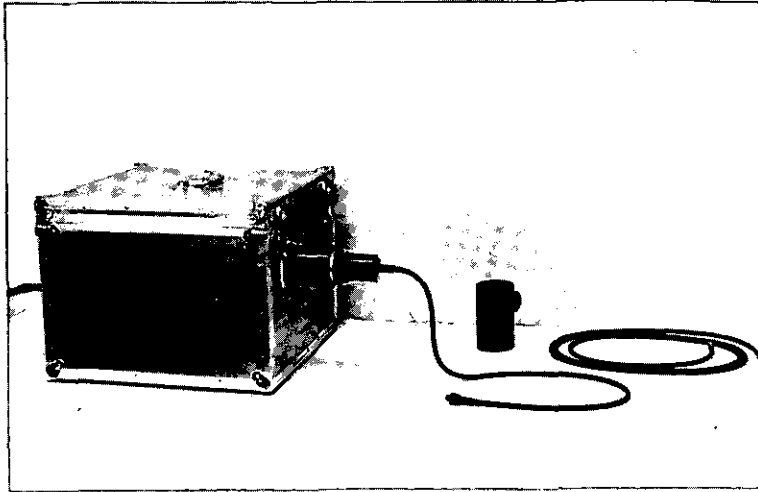
### 2.1 ラジオスペクトロメータ

この実験において、反射特性を得るために使用されたラジオスペクトロメータ（宮崎ら，1980）は、グレーティングによる分光方式，フォトマルチプライヤーによる検出方式からなる多用途高速小型ラジオスペクトロメータである。その仕様を表1に示す。このラジオスペクトロメータは図1に示すように分光器部とデータ処理部の二つのユニットに分かれており，実験室あるいはフィールドでの測定を容易にしている。集光部は図2に示すように3通りの方式があり，この実験においては，オプティカルファイバーによる集光方式を採用した。

表 1 ラジオスペクトロメータの仕様  
Table 1 Specification of radio spectrometer.

分光器部	マウント方式	軸はずし変形エバート	コンピュータ	CPU	8085
	焦点距離	300 mm		バス型式	マルチバス
	スリット	375 $\mu$		RAM	4 Kバイト
	逆分教	5.4 nm/mm		ROM	16 Kバイト
	回折格子	刻線数：600本 ブレース波長：400 mm ルールドエリア：52×52 mm	A/D変換部	分解能	12ビットバイナリー
	F値	6		変換時間	10 $\mu$ s
	駆動方式	カムによる回折格子回転方式	磁気テープ	データ形式	ISO 3407, JISC 6281
	フィルター	回折格子同期自動制御		記録密度	800 BPI (32ビット/mm)
	波長精度	$\pm 2$ mm		テープ速度	15 IPS, 45 IPS
	波長領域	400~850 nm	ブラウン管	キャラクタ	15行×30文字
検知器部	検知器	S-20特性サイドオン光電子増倍管		グラフィックス	240×200ドット/画面
	電源	方式：発振整流方式 出力電圧：最大1200 V 安定度：0.1%以下 電圧表示：デジタル3桁	キーボード	画面サイズ	5インチ
	プリアンプ	帯域：DC~10 KH 安定度：10 $\mu$ V/°C 出力： $\pm 10$ V	測定単位	数値キー及び コマンドキー	25
パルスモータ ドライバー モーター	励磁方式	1~2相励磁方式	電源	照度	$\mu$ W/nm $\cdot$ cm $^2$
	パルスレート	1 nm/パルス		輝度	$\mu$ W/str $\cdot$ nm $\cdot$ cm $^2$
	VR型パルスモーター			AC	100 V (50 Hz), 200 VA
				DC	12 V





(A)



(B)

図 1 ラジオスペクトロメータ,  
(A) 分光器部 (B) データ処理部

Fig. 1 Radiospectrometer,  
(A) Monochromometer unit and optical attachments, (B) Recorder unit.

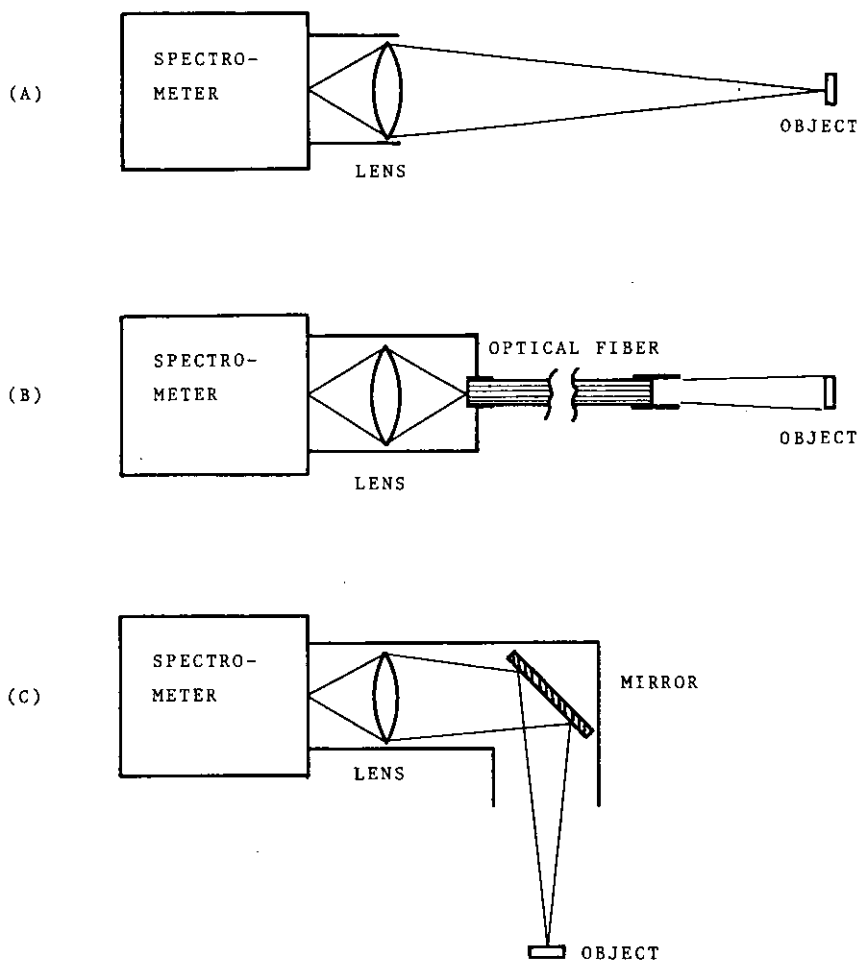


図 2 ラジオスペクトロメータの光学系構成  
 (A) 標準構成 (B) オプティカルファイバー使用時  
 (C) 下方向アタッチメント使用時

Fig. 2 Optical arrangements of radiospectrometer,  
 (A) Standard arrangement, (B) Optical fiber, (C) Downward attachment.

## 2.2 測定装置および光源

図3に示すような装置によって赤潮藻類 *O. lutens* の分光反射スペクトルを測定した。16×16×200, 肉厚1 mmのガラス製セルに深さ15 cmまで *O. lutens* を入れ測定装置にセットし、水面上4 cmのところにセンサー部を置き、横方向から光を照射し、*O. lutens* による反射光を計測した。測定装置は、黒色アクリル製で内面は反射防止の為の処理が施されている。

この実験に使用された光源は、500 Wハロゲンランプを使用し、セル中心部より25 cm離れた点にセットし、実験を通して照度を一定に保った。

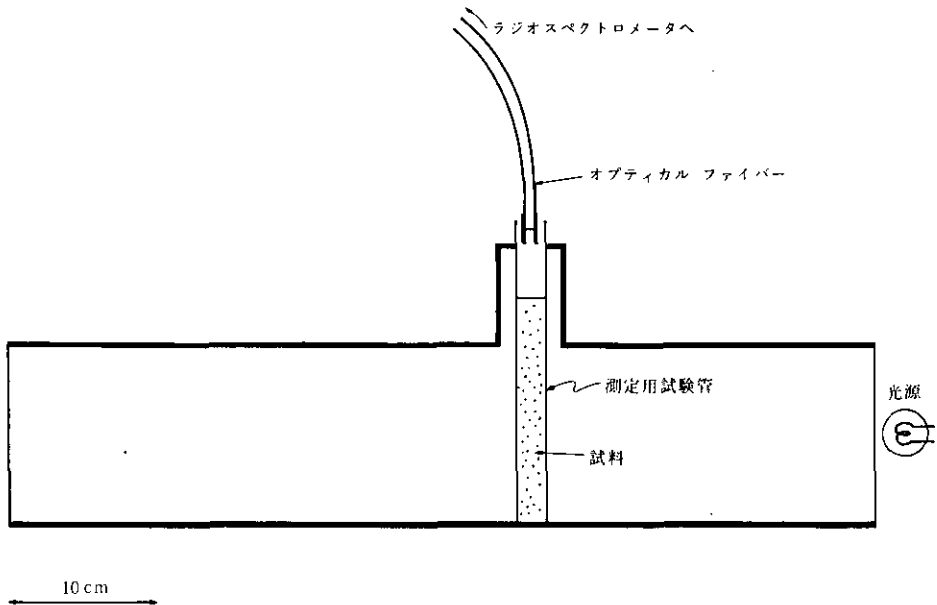


図 3 測定装置の概要

Fig. 3 Measurement system for radiance reflectance.

### 3. 測定結果

実験に使用した赤潮藻類は、 $f/2$ 培養液により純粋培養された *Olithodiscus lutens* で、活性の異なる2サンプルを用意した。各々のサンプルを、表2に示すような段階で濃度を低くし、反射スペクトルの測定を行った。

図4および図5に *O. lutens* の反射スペクトル特性を示す。なお、測定値は20回の平均値である。測定された反射スペクトル特性と *O. lutens* の濃度および活性度との関係を調べるために、各波長における反射エネルギーと *O. lutens* 濃度との相関解析を行った。図6は *O. lutens* のセル数と各波長における反射エネルギーの単相関係数をプロットしたものである。また図7はセル数の対数とエネルギーの相関係数をプロットした図である。

表 2 測定に使用した赤潮の濃度

Table 2 Cell numbers of measured *Olithodiscus lutens*.

I		II	
昭和56年2月6日植つけ		昭和56年2月17日植つけ	
1	$49.4 \times 10^4$ (cells/ml)	1	$23.5 \times 10^4$ (cells/ml)
2	$23.8 \times 10^4$	2	$15.4 \times 10^4$
3	$12.6 \times 10^4$	3	$7.69 \times 10^4$
4	$6.19 \times 10^4$	4	$5.09 \times 10^4$
5	$3.02 \times 10^4$	5	$1.97 \times 10^4$
6	$0.96 \times 10^4$	6	$1.21 \times 10^4$

測定日：昭和56年3月10日

培養液： $f/2$

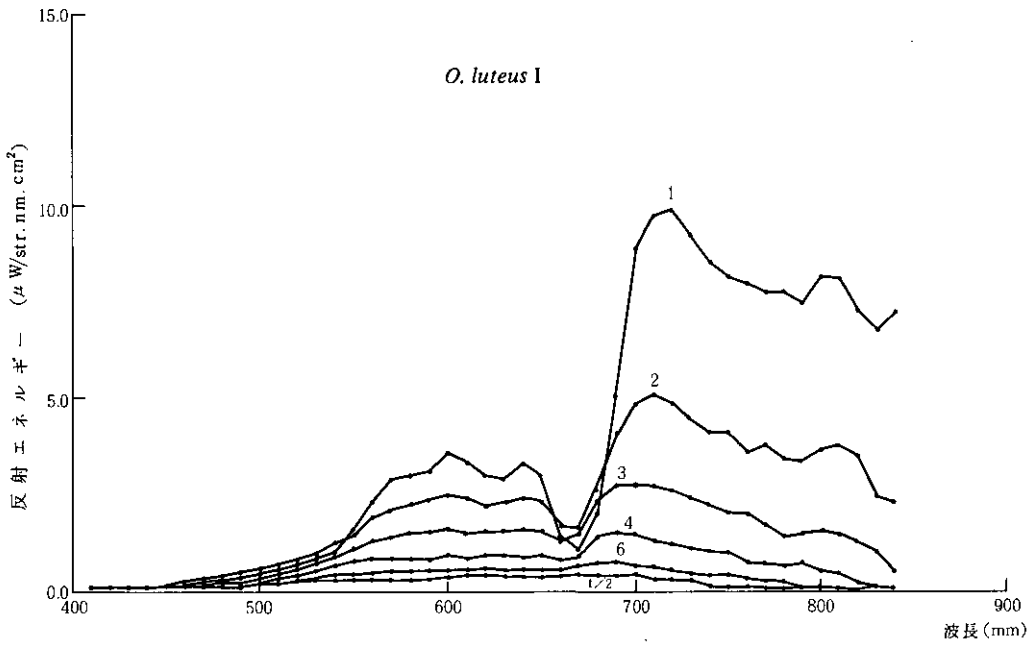


図 4 *O. luteus* I の分光反射スペクトル特性  
 Fig. 4 Spectral reflectance curves of *Olisthodiscus luteus* I.

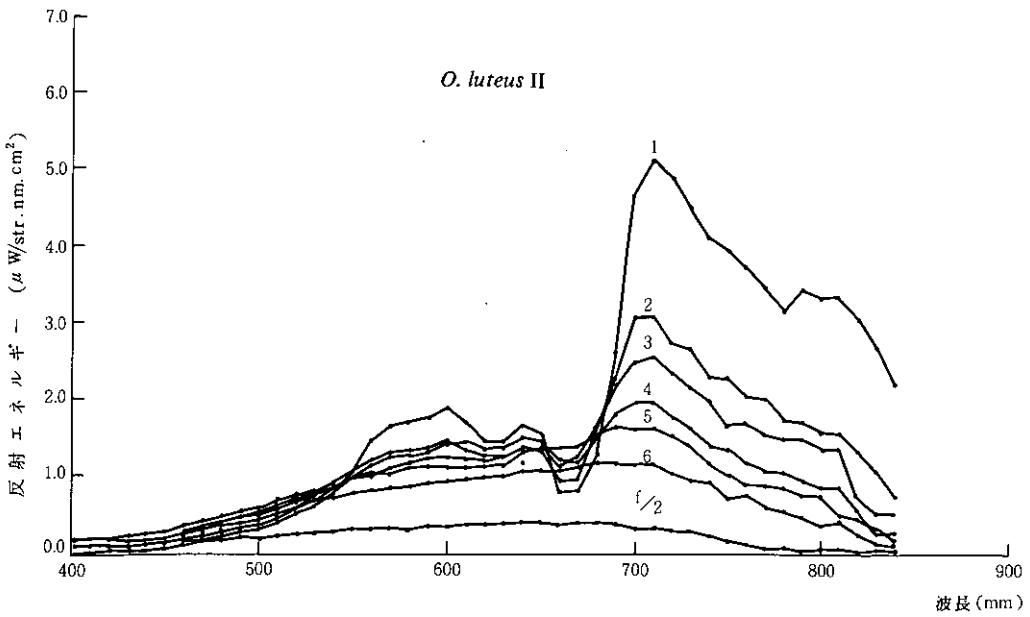


図 5 *O. luteus* II の分光反射スペクトル特性  
 Fig. 5 Spectral reflectance curves of *Olisthodiscus luteus* II.

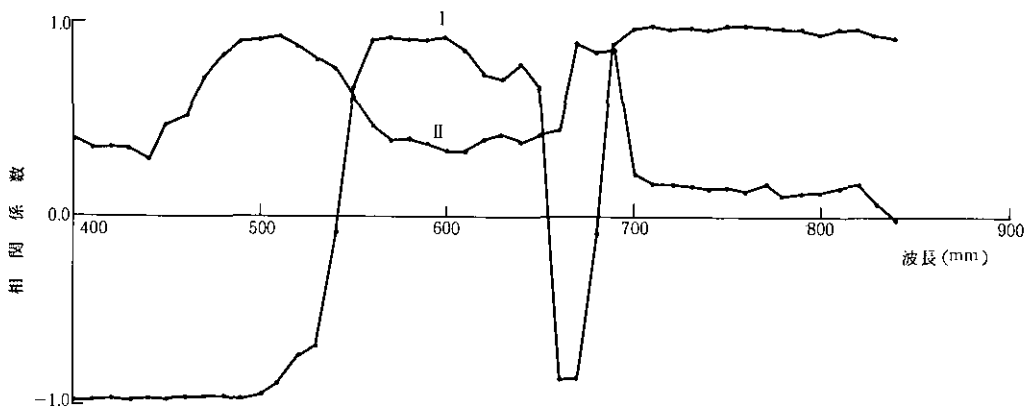


図 6 *O. luteus* の細胞数と反射エネルギーの単相関係数  
 Fig. 6 Correlation coefficients between radiance reflectance and cell number of *Olisthodiscus luteus*.

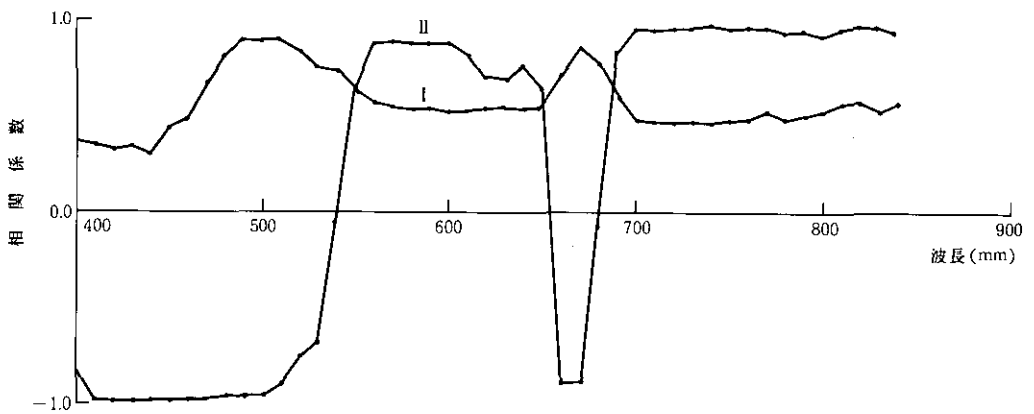


図 7 *O. luteus* の細胞数の対数と反射エネルギーの単相関係数  
 Fig. 7 Correlation coefficients between radiance reflectance and logarithms of cell number of *Olisthodiscus luteus*.

これらの図から分かるように、

- 1) *O. lutens* I, II 両者において、濃度がある程度 ( $5.0 \times 10^4$  cells/mol) 以上の場合は、この装置によってクロロフィル-*a*の吸収と見える極小が660~670 nm付近に観察される。
- 2) 430 nm付近のクロロフィル-*a*の吸収帯は観察できなかった。
- 3) *O. lutens* Iは、全波長域に対して正の相関を示す。
- 4) *O. lutens* IIは、400~520および660~670 nm領域で負の相関を示し、560~640および690~840 nm領域で正の相関を示す。

#### 4. 考察

ラジオスペクトロメータにより、赤潮藻類 *Olisthodiscus lutens* の反射スペクトル特性を測定し、*O. lutens* の濃度および活性度に対する反射スペクトル特性の違いから、リモートセンシング技術による赤潮藻類の定量および活性度の推定に関する可能性の検討を行った。この結果、現在の測定方法ではクロロフィル-*a*の長波長側の吸収帯は観測できるが短波長側は測定できない。これは測定用セルの大きさ、特に深さに問題があるように思われる。*O. lutens* の濃度と反射スペクトルの相関解析において、*O. lutens* Iは全波長領域に対して正の相関を示し、*O. lutens* IIにおいては、短波長側および660~670 nmで負の相関を示した。これは、*O. lutens* Iが培養開始日から32日目であるのに対し、*O. lutens* IIは21日目の観測であることから、*O. lutens* Iは、古い、死亡した細胞を多く含んでいる、すなわち活性度の低い細胞とみなせる。他方、*O. lutens* IIは新しい活性度の高いサンプルとみなすことができる。すなわち、短波長側(400~520 nm)および660~670 nm帯で負の相関を示す赤潮藻類ほど活性が高いといえる。しかしながら、ここでの相関解析において、*O. lutens* の濃度はセル数を用いたため、必ずしもクロロフィル-*a*量との相関はここで示したものと同様な結果になるとは限らない。*O. lutens* IはIIに比べてクロロフィル-*a*の量がかなり低いことも考えられる。以上のことから、赤潮藻類の濃度として取り扱う値は、細胞数よりもクロロフィル-*a*値を、あるいは細胞の死亡により分解されるフェオフィチン-*a*等の値を考慮する必要がある。さらに実験室での結果を実際のフィールドに応用する為には海水中の容存物質やSSのスペクトル特性や、大気や水面での妨害光の除去などの基礎的研究も必要となってくる。

#### 引用文献

宮崎忠国・清水 浩・安岡善文 (1980): 多用途高速スペクトロメータの特性. 文部省「環境科学」特別研究, 研究報告集, B62-R52-2, 13-21.

## 22. 遠隔計測による気仙沼湾の定量的水質計測

### Quantitative Studies of Water Quality in Kesenuma Bay Using Remote Sensing

宮崎 忠 国<sup>1</sup>

Tadakuni MIYAZAKI<sup>1</sup>

#### 要 旨

航空機から撮影された遠隔計測画像（マルチスペクトル画像）データおよび湾内で観測された水質データをもとに気仙沼湾の水質分布の推定を試みた。航空機によるマルチスペクトル画像において、チャンネル2がクロロフィル-*a*の定量に有効であることが示され、その推定分布図の作成を行った。また、チャンネル11（熱赤外バンド）による湾内の表面水温の推定分布図を作成した。

#### Abstract

A quantitative method is devised for measuring water quality distribution from remotely sensed multi-spectral images. Water quality is estimated quantitatively for the extracted water area using a regression model which correlates image densities of the multi-spectral data with ground truth data. The proposed method was applied to the measurement of the chlorophyll-*a* concentration and the distribution of the surface temperature of Kesenuma Bay where there has been serious water pollution caused by eutrophication processes. Chlorophyll-*a* was shown to correlate highly with the image densities of the 2-th channel in the multi-spectral data while surface temperature correlated with the 11-th channel.

#### 1. はじめに

閉鎖性水域における富栄養化現象は、内湾において赤潮の発生を引き起こし、生活環境に大きな打撃を与えている。この現象を解明し、水質の予測、制御さらには浄化を行ってゆくためには、赤潮の生物化学的性質の解明はもとより、対象水域の流況等の研究と共に、広域にわたる赤潮分布の現況を定量的に計測することが必要である。赤潮の発生分布の広域的把握には、その主成分である

---

1. 国立公害研究所 環境情報部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町  
Environmental Information Division, The National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi,  
Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

植物プランクトン中のクロロフィル-*a*を遠隔計測することが有効であるが、実際の遠隔計測データには、水面での反射や大気による影響が含まれるために、必ずしも満足な結果は得られていない。

本研究では、気仙沼湾における遠隔計測画像データおよび表面実測データの相関解析により、クロロフィル-*a*および水温の分布状況の定量的推定を試みた。

## 2. データの収集

昭和55年5月19日、気仙沼湾を対象として遠隔計測実験を実施し、航空機によるマルチスペクトル画像データの収集および水質調査を行った。データ処理の流れを図1に示す。

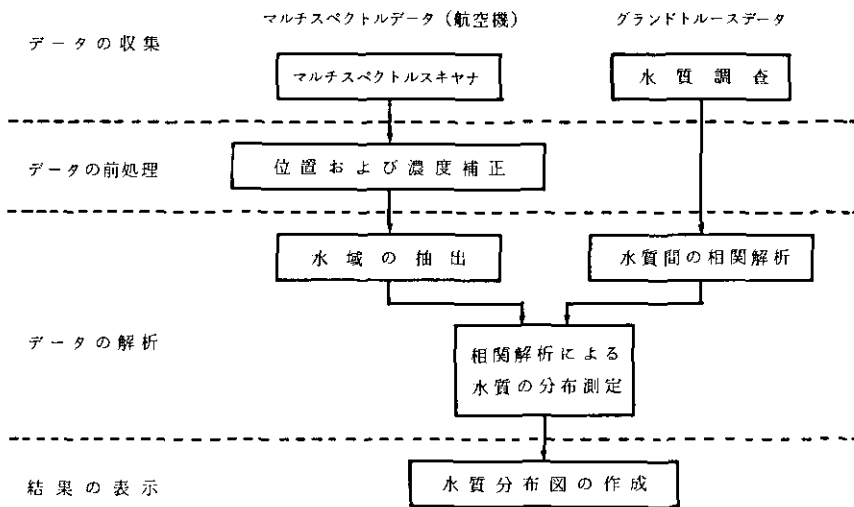


図 1 遠隔計測による水質分布図作成処理の流れ図

Fig. 1 Block diagram of water quality measurement by remote sensing.

### 2.1 航空機によるマルチスペクトル画像データの収集

マルチスペクトルスキャナ（日本造船振興財団所有MSS-BG-1A）により高度9,200ftから画像データの収集を行った。撮影コースおよびマルチスペクトルスキャナーの仕様をそれぞれ図2、表1に示す。

### 2.2 水質調査

航空機による画像データの収集に同期して、湾内で水質調査を実施した。図3には水質調査地点の配置図を、表2には観測結果を示す。





図 2 撮影コース

Fig. 2 Flight course.

表 1 撮影装置の仕様

Table 1 Specification of Multispectral scanner (MSS-BG-1A).

装 置	マルチスペクトルスキャナMSS-BG-1A
チャンネル数	12
チャンネル波長帯 ( $\mu\text{m}$ ) および検 出器	0. 0.30 - 0.35 (PM) 1. 0.35 - 0.40 (PM) 2 A. 0.433 - 0.453 (PM) 3 A. 0.470 - 0.490 (PM) 4 A. 0.510 - 0.530 (PM) 5 A. 0.540 - 0.560 (PM) 6. 0.60 - 0.65 (PM) 7 A. 0.660 - 0.680 (PM) 8 0.70 - 0.80 (PM) 9 0.80 - 0.90 (Si Cell) 10 0.90 - 1.10 (Si Cell) 11 10.5 - 12.5 (Hg Cd Te)
走査本数	20, 40, 80line/s 切替
走査角度	90°
瞬間視野角	2.5m rad

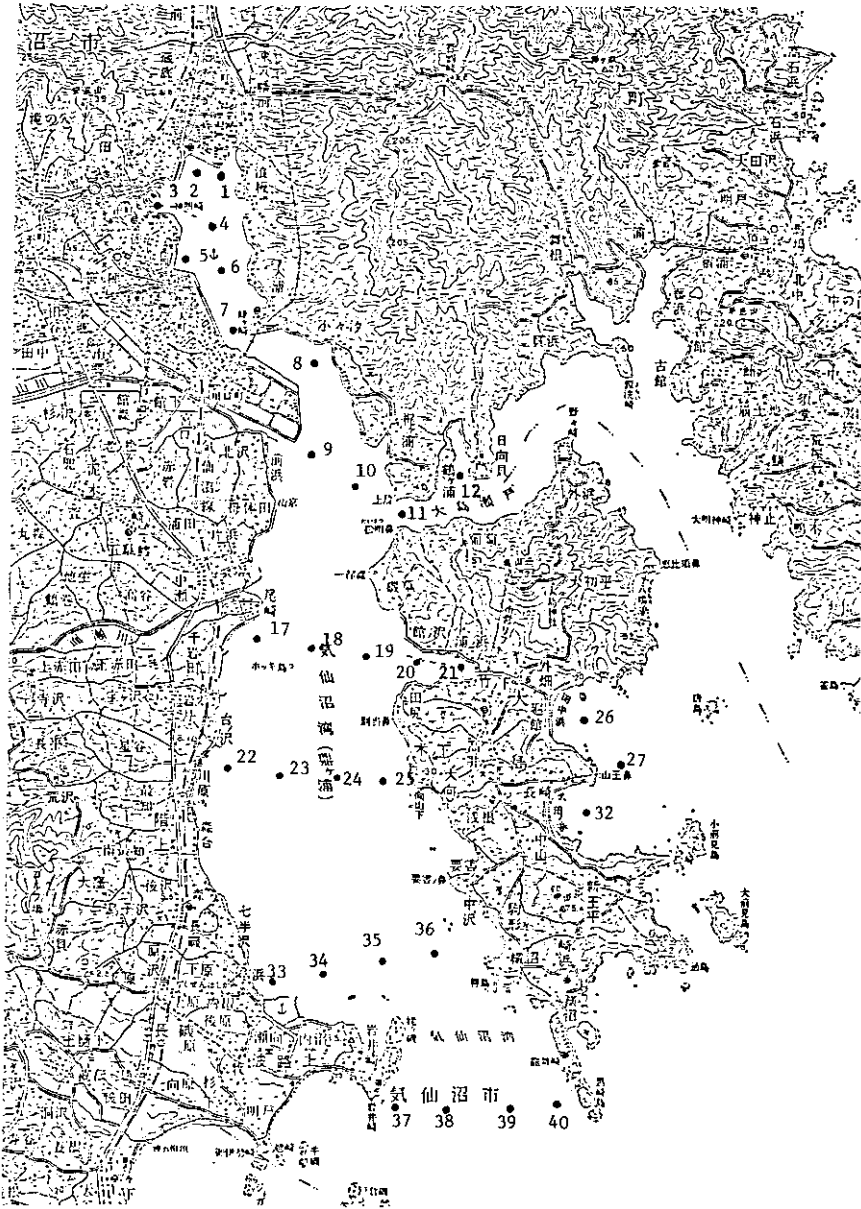


図 3 水質調査地点

Fig. 3 Surface truth points.

表 2 水質調査結果

Table 2 Water quality measurement of Kesenuma Bay.

調査地点	採水時間 時 分	水 温 °C	透 明 度 m	クロロフィル- <i>a</i> μg/l	SS mg/l
1	14:55	13.6	1.50	12.70	
2	14:35	13.5	1.50	17.27	12.2
3	14:28	11.4	1.80	15.22	
4	14:21	11.2	2.60	9.70	
5	14:16	11.1	2.95	15.01	
6	14:05	11.2	2.50		5.5
7	13:57	12.2	2.30	15.38	
8	13:45	12.9	2.50	16.92	6.8
9	13:40	13.1	3.40	9.71	
10	13:25	11.0	3.10	12.08	6.3
11	14:10	11.8	2.00	13.37	5.0
12	14:35	12.6	2.10		
17	13:24	12.6	3.00	4.18	
18	13:30	12.4	3.30	5.00	
19	13:35	11.5	3.00	4.91	4.2
20	13:52	11.6	3.70	4.55	
21	14:00	10.6	2.80	5.95	
22	15:08	12.4	3.00	1.17	
23	15:16	12.0	5.50	1.43	
24	15:25	11.5	5.50	1.73	4.5
25	15:37	11.6	4.50	2.65	
27	14:35	10.2	7.00		
32	14:30	11.3	6.50		
33	14:57	13.1	2.50	1.19	
34	14:50	13.0	3.50	0.60	
35	14:45	10.4	6.00	1.85	
36	14:28	11.2	6.00	2.79	4.9
37	13:43	11.0	8.00	2.57	
38	13:53	10.0	6.00	2.32	
39	14:00	11.3	8.00	2.47	6.2
40	14:15	9.8	7.50	2.55	

### 3. マルチスペクトルデータによる水質の解析

対象水域の水質分布を求めるために、水質調査地点における観測データと航空機によるマルチスペクトル画像中の対応点の濃度レベルの相関解析を行い、統計的回帰モデルの構成を試みた。水質データとしては先にあげた水温、透明度、クロロフィル-*a*、SSを採用した。このうちクロロフィル-*a*は、富栄養化現象と密接な関係のある赤潮の重要な因子となるものである。

観測地点  $i$  における水質測定値を  $y_i$  とし、 $i$  地点に対応するマルチスペクトル画像（チャンネル  $j$ ）中の画素の濃度レベルを  $x_j^i$  とすると。ここでの画像濃度は、水質測定地点に対応する画像中の

近傍の画素の平均値を用いた。  $y_i$  および  $\{x_i^j\}$  に対し、

$$y_i = f(x_i^1, x_i^2, \dots, x_i^m) \quad \text{および}$$

$$\log_e(y_i) = f(x_i^1, x_i^2, \dots, x_i^m)$$

なる形の推定モデルを構成し、関数  $f$  の要素として、

- (1)  $x_i^j$  : 単独チャンネルとの単回帰
- (2)  $1/x_i^j$  : 逆数
- (3)  $\log_e x_i^j$  : 対数
- (4)  $x_i^j/x_i^{j'}$  : チャンネル間の比
- (5)  $x_i^j - x_i^{j'}$  : チャンネル間の差
- (6)  $x_i^j/S$  ( $S = \sum x_i^j$ ) : 正規化
- (7)  $(x_i^j - x_i^{j'})/(x_i^j + x_i^{j'})$  : 差と和の比

をとりあげ、計 228 種について、回帰式、相関係数を算出した。画像データ ( $j = 1, 2, 5, 7, 9$ ) と  $y$  の相関係数を表 3 に示す。表中下線は  $t$  検定により相関ありと認められたことを示す。

表 3 水質と画像データ濃度間の単相関係数

Table 3 Correlation coefficients between water qualities and image densities.

チャンネル番号	水 温	透 明 度	クロロフィル- $a$	SS
1	-0.54	<u>0.83</u>	<u>-0.83</u>	-0.35
2	-0.52	<u>0.87</u>	<u>-0.81</u>	-0.29
5	-0.44	<u>0.78</u>	<u>-0.73</u>	-0.12
7	-0.35	<u>0.63</u>	<u>-0.58</u>	-0.07
9	0.15	0.24	-0.02	0.06
11	<u>0.81</u>	-0.57	0.44	0.74
ポイント数	24	24	20	9

表中下線部は  $t$  検定により相関有りとして認められたことを示す。

この結果

- (1) 表面水温とチャンネル11 (熱赤外) との相関係数は0.84で高い相関を示した。
- (2) 透明度およびSSはチャンネル9と良い相関があるといわれている (安岡・宮崎, 1978) が、この実験結果からは透明度はチャンネル2と、SSはチャンネル11と相関があり、これらに関して物理的意味づけは得られなかった。
- (3) クロロフィル- $a$ はチャンネル1, 2, 5と逆相関を示した。湖沼におけるリモートセンシング実験では、クロロフィル- $a$ 濃度はそのスペクトル吸収帯 (440  $\mu\text{m}$  および 670  $\mu\text{m}$ ) に対

応するチャンネル2および7の画像データと高い相関を示すことが指摘されている（安岡・宮崎，1978）。しかしながらこの実験結果からはチャンネル7との相関はチャンネル2に比べて良くない。

#### 4. 水質分布図の作成

相関解析の結果を用いて表面水温およびクロロフィル-*a*の推定分布図を作成した。図4にチャンネル11の画像濃度と表面水温との回帰式を図5にチャンネル2とクロロフィル-*a*との回帰式を示す。この回帰式をもとに推定された気仙沼の水温分布を図6にまた、クロロフィル-*a*の分布図を図7に示す。図6において水温9.0°C~14.0°Cを8レベルにカラー表示したものである。また図7はクロロフィル-*a*濃度0.5 μg/l~30.0 μg/lを8レベルにカラー表示したものである。

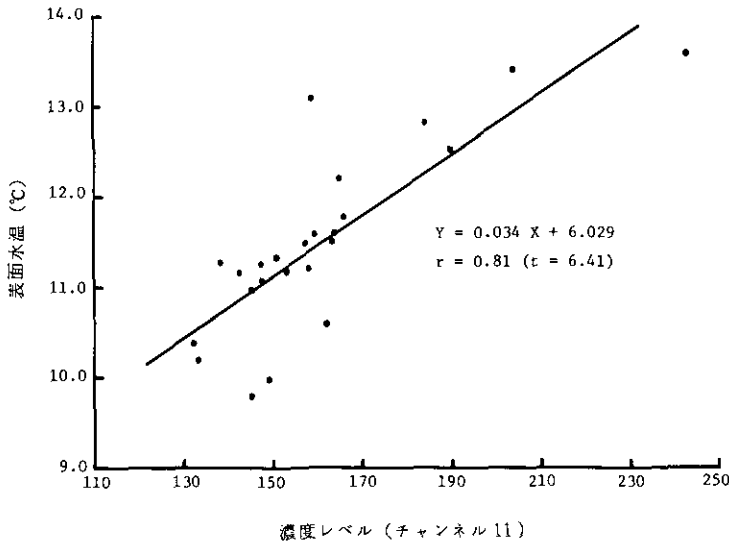


図 4 表面水温とMSS画像濃度（チャンネル11）の相関

Fig. 4 Correlation between surface temperature and density level of MSS 11-channel image.

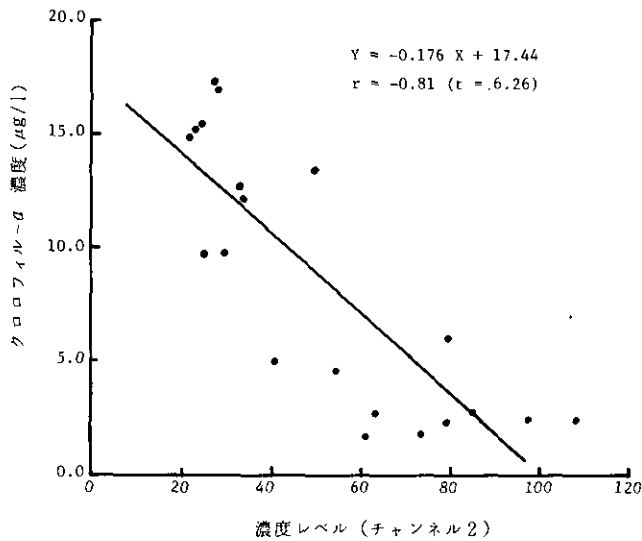


図 5 クロロフィル-a 濃度とMSS 画像濃度 (チャンネル2) の相関

Fig. 5. Correlation between chlorophyll-a concentration and density level of MSS 2-channel image

## 5. 考 察

遠隔計測手法により水質の定量的分布図を作成するために、水質と画像濃度との相関解析を行いその定量を試みた。この結果、表面水温に関してはチャンネル11 (熱赤外) の画像データが表面水温と高い相関を示した。クロロフィル-a の定量にはそのスペクトル吸収帯に対応するチャンネル2の画像データが有効であった。しかしながら長波長側の吸収帯に対応するチャンネル7は良い相関を示さなかった。湖沼に比べて海洋ではクロロフィル-a 濃度が極端に低い場合が多く、海水の吸収などにより検出感が低下することが考えられる。このため低濃度のクロロフィル-a を検出するためのセンサーの開発とともに、画像データ中に含まれている大気効果や水面反射光の除去に関する研究も必要となってくる。

## 謝 辞

本研究を遂行するに当たり、航空機によるデータ収集に関しては日本造船振興財団の御助力を賜った。また水質調査データは宮城県気仙沼水産試験場の提供によるものである。関係各位に深く感謝する。

## 引 用 文 献

安岡善文・宮崎忠国 (1978) : 遠隔計測による湖水域の定量的水質計測—その2. 第4回リモートセンシングシンポジウム, 119-121.



14.0 13.4 12.8 12.1 11.5 10.9 10.3 9.6 9.0 (°C)

图 6 表面水温推定分布图

Fig. 6 Estimated distribution of surface temperature.



20.0 17.6 15.1 12.7 10.3 7.8 5.4 2.9 0.5 ( $\mu\text{g}/\text{l}$ )

図 7 クロロフィル- $a$  推定分布図

Fig. 7 Estimated distribution of chlorophyll- $a$  concentration.



国立公害研究所特別研究成果報告

- 第 1 号 陸上域の富栄養化に関する総合研究 — 霞ヶ浦を対象域として. (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 スモッグチャンバーによる炭化水素 — 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. (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 スモッグチャンバーによる炭化水素 — 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, 重金属等の土壌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「リョウブ」の調製, 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(Ⅸ) — *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 Orthocladinae 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 Orthocladinae 各種の記載と, その分析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)

### 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 1966. (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* (Diptera, 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 (Diptera). (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 computer-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 effect 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. (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 hydro-meteorological 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 *Microcystis* – 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 Tama River (1981)
- Part 3. Species of the subfamily Orthocladiinae recorded at the summer survey and their sistribution in relation to the pollution with sewage waters.
- Part 4. Chironomidae recorded at a winter survey.
- No. 30\* Eutrophication and Red Tides Coastal Marine Environment progress Report in 1979-1980. (1982)
- \* in Japanese

RESEARCH REPORT FROM  
THE NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES

No. 30

国立公害研究所研究報告 第30号

(R-30-'82)

---

昭和57年1月20日発行

編集・発行 国立公害研究所

茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2

---

印刷 三栄印刷株式会社  
東京都千代田区猿樂町2-7-11

Published by the National Institute for Environmental Studies

Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan

January 1982