

## 底生微細藻 *Nitzschia* sp. の増殖に及ぼす水温、塩分及び光強度の影響

山本民次<sup>1</sup>・呉 碩津<sup>2</sup>・後藤郁恵<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 広島大学大学院生物圏科学研究科 (739-8528 東広島市鏡山1-4-4)

<sup>2</sup> 水産総合研究センター瀬戸内海区水産研究所赤潮環境部有毒プランクトン研究室 (739-0452 広島県佐伯郡大野町丸石2-17-5)

Tamiji Yamamoto<sup>1</sup>, Seok Jin Oh<sup>2</sup>, Ikuo Goto<sup>1</sup>: Effects of temperature, salinity and irradiance on the growth of microphytobenthos *Nitzschia* sp. Jpn. J. Phycol. (Sôru) 52: 5 - 11, Mar. 10, 2004

The effects of temperature, salinity and irradiance on growth of *Nitzschia* sp. isolated from surface sediment of Kaita Bay in Hiroshima, Japan were examined using batch cultures. The range of temperature and salinity in which *Nitzschia* sp. was able to grow were 10-30°C, 20-35 psu, and 15°C and 20°C in 15 psu. However, the growth was suppressed at lower (10°C) and higher temperature (25°C and 30°C) with salinity below 15 psu. The highest growth rate (0.66 day<sup>-1</sup>) was obtained at the combination of 15°C and 25 psu. The growth of *Nitzschia* sp. showed its peak at 50 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> and was inhibited at the irradiance higher than that irradiance. These characteristics of response to irradiance suggest that depth at 50 µmol photons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> in Hiroshima Bay is equivalent to ca. 2-3 m.

Keywords: growth, irradiance, microphytobenthos, *Nitzschia* sp., salinity, temperature

<sup>1</sup>Graduate School of Applied Biological Sciences, Hiroshima University  
Higashi-Hiroshima 739-8528, Japan

<sup>2</sup>National Research Institute of Fisheries and Environment of Inland Sea, Fisheries Research Agency, 2-17-5 Maruishi, Ohno, Saeki,  
Hiroshima 739-0452

閉鎖性水域は、その名のとおり閉鎖的であるために海水交換が悪い。例えば、瀬戸内海は周囲を中国・近畿・四国・九州に囲まれており、また内部には1015もの島があるため(瀬戸内海環境保全協会 2000)、外洋との海水交換や、枝湾内外の海水交換は必然的に小さいものとなる。さらに、人間活動に伴う陸上からの栄養塩の負荷や湾の閉鎖性環境を利用した養殖業による負荷などがあるため、富栄養化しやすい。

物質の負荷あるいは負荷の削減に対する底質の変化は水質の変化と比べると遅い。底泥内での物質の移動・交換は鉱物粒子や有機物粒子の間にわずかに存在する間隙水を通して行われるからである。例えば、冬季の水柱の鉛直混合は溶存酸素を海底まで運ぶが、有機物を高濃度で含むシルト質(いわゆるヘドロ)の底質では、深くまで酸化させるに至らない。そのような底質では温度が高くなる夏季には、バクテリアなどが大量に堆積した有機物を分解するために酸素が急激に消費されて還元的になり、硫化水素の発生が起こることも多い。貧酸素化や硫化水素の発生は好気性生物の生息を困難にし、生態系の構造を大きく崩すことになる。このような理由から、たとえ陸域からの物質負荷の削減などの改善策がとられたとしても、一度悪化してしまった底泥環境を修復することは簡単ではない。また、このような還元的な底質はアンモニア塩やリン酸塩などのような栄養塩類を水柱に溶出させるので(Yamamoto *et al.* 2000)、水質の改善も必然的に遅れることになる。このような底質環境を修復する手段として、これまでの覆砂や浚渫といった土木的手法がとられてきたが、一時的な環境改善効果しか得られず、逆に環境破壊につながるよ

うな場合も見受けられた。

そこで、自然のシステムが有する浄化能を最大限発揮させる方法が望まれる。底生微細藻は干潟や沿岸海域の主要な一次生産者であり、河口域における総一次生産の約50%以上を占めると言われている(Brotas & Catarino 1995, MacIntyre *et al.* 1996, Underwood & Kromkamp 1999)。また、底生微細

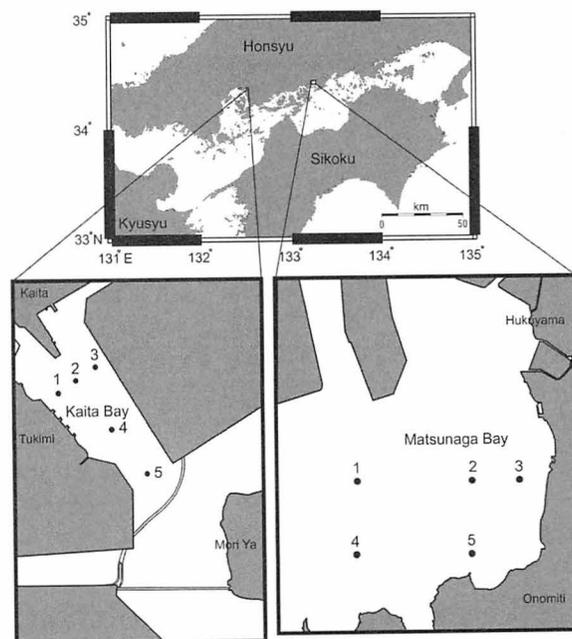


Fig. 1. Locations of sampling stations in Kaita Bay and Matsunaga Bay, Japan.

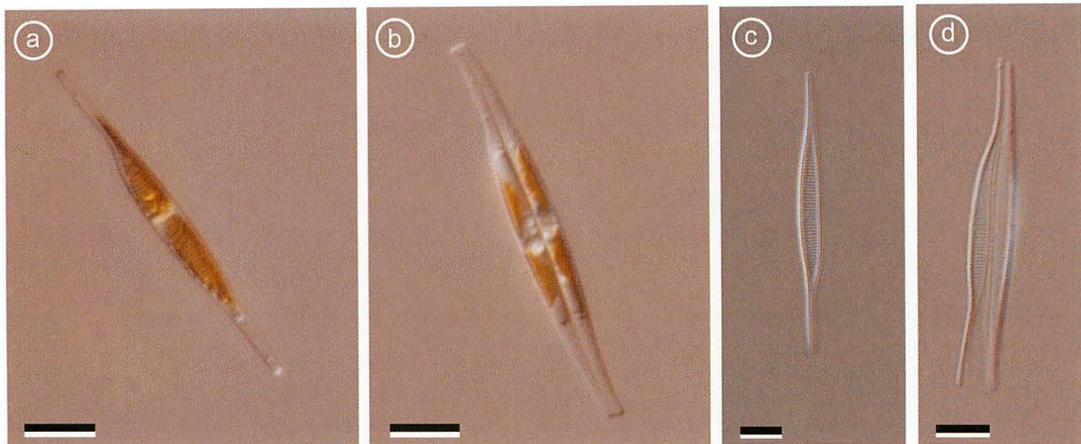


Fig. 2. (a) Light microscopic photographs (Nomarski differential interference contrast) of microphytobenthos *Nitzschia* sp., (b) a dividing cell, (c) an alkaline-cleaned cell and (d) a cell separated into hypotheca and epitheca among alkaline-cleaned cells in the light microscope. Scale bar = 10  $\mu\text{m}$ .

藻の多くを占める付着珪藻が細胞から浸出する extracellular polymeric substances (EPS) は低分子有機物であるため、上位栄養段階の meiofauna や macrofauna などに対する重要な炭素源になる (Decho 1990)。そこで、この研究では底質環境が悪化した場所にもともと生息していた底生微細藻類を用いて底質改善を行う技術を確認させることを最終目標とし、その前段階として現場底泥より単離した底生微細藻優占種 *Nitzschia* sp. の増殖に及ぼす水温、塩分、光強度を実験的に求め、その増殖能を評価することを目的とした。

#### 材料および方法

##### 底泥採取方法及び種の同定・計数

エクマンバージ型採泥器 (0.04  $\text{m}^2$ ) を用いて、広島県の海田湾から 2001 年 7 月 11 日 (第 1 回目) 及び 10 月 18 日 (第 2 回目)、同県松永湾から 2001 年 7 月 12 日 (第 1 回目) 及び 10 月 19 日 (第 2 回目) に各 5 測点から底泥資料の堆積物の層状構造を壊さないよう、表層 1 cm の試料を採取した (Fig. 1)。これらのサンプルそれぞれ 1 g を黒潮ろ過海水 100 mL に懸濁させ、0.1 mL を Sedgewick-Rafter counting chamber に取り、倒立顕微鏡 (Nikon, Type-210) 下で底生微細藻の種の同定及び計数を行った。

##### 底生微細藻の単離と培養

広島湾の表面海水を用いて調整した f/2 培地 (硝酸塩 883  $\mu\text{M}$ , リン酸塩 36  $\mu\text{M}$ , 珪酸塩 107  $\mu\text{M}$ , Guillard & Ryther 1962) 200 mL ずつ別々に 2 つの組織培養フラスコ (260 mL, Cellstar) に入れ、海田湾および松永湾から採取した表層泥サンプルを 5 g 添加し、松永湾の Stn. 4 における泥温 (25°C) と水深 2–3 m の光強度 (50  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ; 12L:12D) の条件下で維持培養した。また、無機栄養のみでは増殖速度が遅いことを予備実験で確認していたので、松永湾の底泥を用いた土壌抽出液を添加した。土壌抽出液は、オートクレーブ分解・滅菌 (121°C, 2 atm, 30 min) 後、クリーンベンチにおいて上澄み液を土壌抽出液として採取し、f/2 培地 1 L に対し、1 mL 添加した。用いた培養瓶は孔径 0.02  $\mu\text{m}$  のバイオフィルター付き組織培養フラスコであり、空気交換に擾れ、培養期

間中の pH の変化がほとんどないことを確認している。

これらの中から、両海域の表層泥サンプル中において優占種と判断された底生微細藻 *Nitzschia* sp. を海田湾の試料から単離した (Fig. 2)。クローン株を得るため、パスツールピペットを用いて一細胞ずつ拾い上げ、96 穴マイクロプレートに上記と同じ f/2 培地を分注したものに植え付けた。水温と塩分の培養条件は本種を採取した堆積物の条件 25°C, 32 psu で、光強度は水深 2–3 m に相当する 50  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (12L:12D) とした。羽状目付着珪藻は粘質糸を基物に付着して生育するため (Edgar & Pickett-Heaps 1984)、付着基質がない場合には増殖速度が著しく低下することを本種を用いた予備実験で確認している。そこで、付着基質としてガラスビーズ (井内盛栄堂, ガラスビーズ, BZ-01, 平均粒径約 0.1 mm) を添加した (Fig. 3)。

##### 光強度に対する増殖応答実験

7 mL ネジ口試験管 3 本に f/2 培地を 3.5 mL ずつ分注し、これに光強度 50  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (白色蛍光灯), 明暗周期 12L:12D (明期は 8:00–20:00), 水温 25°C, 塩分 32 psu, pH 8.2 (現場条件) で 7 日間前培養した *Nitzschia* sp. を 0.5 mL ずつ接



Fig. 3. The microphytobenthos *Nitzschia* sp. with glass beads in culture. Scale bar = 100  $\mu\text{m}$ .

種した(接種後の密度は110–190 cells mL<sup>-1</sup>)。これらをさまざまな目合いのメッシュで覆うことで光強度を10, 20, 30, 50, 100, 200, 400 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> (SL-2100 光量子計, Biospherical Instrument Inc.) の9段階に設定して実験を行った。これらを毎日1回10:00に攪拌するとともにその都度, 蛍光光度計(Turner, Model 10)を用いて蛍光値を測定した。

底生微細藻の比増殖速度(day<sup>-1</sup>)は次式に示したように, 光量に依存し, 強い光環境では強光阻害を表現するものとした(Eppley 1972, Steele 1962)。また, 各パラメータは非線形最小自乗法で近似して求めた。

$$\mu = \mu_{\max} \frac{I}{I_{\text{opt}}} \exp\left(1 - \frac{I}{I_{\text{opt}}}\right)$$

ここで,

$\mu$ : 比増殖速度 (day<sup>-1</sup>)

$\mu_{\max}$ : 最大比増殖速度 (day<sup>-1</sup>)

$I$ : 光強度 (μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>)

$I_{\text{opt}}$ : 最適光強度 (μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>)

である。

#### 水温と塩分に対する増殖応答実験

培養温度は10, 15, 20, 25, 30°Cの5段階, 塩分は15, 20, 25, 30, 35 psuの5段階とし(アタゴ海水濃度屈折計サリニティー, S/Mill), これらを組み合わせて25通りの設定で実験を行った(NK式温度勾配恒温器, MTI-201, 日本医理化学器械製作所)。MTI-201では設定温度±1°C以内の温度変動がある

が, 200 mLの容器に水を入れて棒状温度計でモニタリングしたところ, 水の熱容量が大きいので, 実際にはマニュアルに示された±1°C以下の温度変化しかないことを確認している。ただし, 実際に今回実験に使用した試験管は小型で培養液量は3.5 mLなので±1°C近く変動していたかもしれない。塩分の調整は, 15–30 psuについては超純水を加え, 35 psuについては水分を蒸発させることで行った。また, 栄養塩添加後にHClまたはNaOHでpH8.2に調整した。これらをメンブランフィルター(ポアサイズ0.22 μm, ミリポア, タイプGS)で濾過してから実験に使用した。

水温, 塩分の急激な変化は培養株にとって好ましくないと考え, 培養株の移植は次のようにした。まず, 水温25°C, 塩分32 psu, 光強度50 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>で前培養したものを, 塩分20, 25, 30, 35 psuの培地へ植え継いだ。さらに, 塩分20 psuで細胞の増加を待ち, それを15 psuへ植え継いだ。また, 水温については25°Cのものから1日当たり1°Cずつ上昇あるいは下降させ, その都度増殖を確認しながら15–30°Cに馴致させた。また, 15°Cから10°Cへ移行する際は, 一週間かけて目的の温度にした。

次に本実験として, 各水温, 塩分条件について3本の7 mLネジロ試験管にf/2培地を3.5 mLずつ分注しガラスビーズ(前述)を0.2 g添加して, 前述の前培養溶液を1 mLずつ接種した。光条件は先の実験で求められた最適強度50 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, 明暗周期は12L:12D(明期は6:00–18:00)とした。光強度は位置によって変わるが, 培養器の棚には印をつけ, 1日

Table 1. Composition of eukaryotic microalgae in the sediment of Matsunaga Bay and Kaita Bay in July 2001 (cells mL<sup>-1</sup>).

Area	Species	Stations				
		1	2	3	4	5
Matsunaga Bay	<i>Skeletonema costatum</i>	280	0	330	220	1100
	<i>Thalassiosira</i> spp.	280	70	140	90	130
	<i>Achnanthes</i> spp.	100	20	90	0	40
	<i>Diploneis</i> spp.	50	30	50	10	20
	<i>Distephanus</i> spp.	0	0	0	0	20
	<i>Gyrosigma</i> spp.	0	0	0	10	0
	<i>Melosira</i> spp.	210	320	310	290	180
	<i>Navicula</i> spp.	20	10	10	0	20
	<i>Nitzschia</i> spp.	280	80	0	20	40
<i>Pleurosigma</i> spp.	70	0	10	0	0	
Kaita Bay	<i>Skeletonema costatum</i>	550	0	120	0	60
	<i>Thalassiosira</i> spp.	10	170	80	150	190
	<i>Achnanthes</i> spp.	0	40	10	10	30
	<i>Diploneis</i> spp.	270	100	60	50	30
	<i>Distephanus</i> spp.	0	30	10	0	0
	<i>Melosira</i> spp.	0	0	0	30	20
	<i>Navicula</i> spp.	10	20	10	60	50
	<i>Nitzschia</i> spp.	240	110	170	130	100
	<i>Pleurosigma</i> spp.	0	60	40	20	30
<i>Dictyocha</i> spp.	0	40	40	3	50	

Table 2. Composition of eukaryotic microalgae in the sediment of Matsunaga Bay and Kaita Bay in October 2001 (cells ml<sup>-1</sup>).

Area	Species	Stations				
		1	2	3	4	5
Matsunaga Bay	<i>Skeletonema costatum</i>	350	160	120	150	580
	<i>Thalassiosira</i> spp.	130	80	140	180	140
	<i>Achnanthes</i> spp.	0	0	20	0	0
	<i>Diploneis</i> spp.	40	30	40	60	50
	<i>Gyrosigma</i> spp.	0	0	0	10	0
	<i>Melosira</i> spp.	240	160	130	300	260
	<i>Navicula</i> spp.	30	40	50	20	30
	<i>Nitzschia</i> spp.	110	60	90	190	20
Kaita Bay	<i>Pleurosigma</i> spp.	10	10	10	20	10
	<i>Skeletonema costatum</i>	120	370	1140	950	920
	<i>Thalassiosira</i> spp.	250	250	1110	1590	2930
	<i>Achnanthes</i> spp.	40	10	40	70	190
	<i>Diploneis</i> spp.	220	340	870	600	960
	<i>Distephanus</i> spp.	0	10	0	0	0
	<i>Melosira</i> spp.	30	90	120	190	260
	<i>Lauderia</i> spp.	740	920	720	560	490
	<i>Navicula</i> spp.	540	420	440	420	380
	<i>Nitzschia</i> spp.	340	290	150	390	410
	<i>Pleurosigma</i> spp.	20	10	30	40	50
	<i>Dictyocha</i> spp.	30	50	100	620	340

に2回、各試験管の位置を入れ替えることで、すべての試験管に同じ強度の光が当たるように配慮した。毎日1回10:00に攪拌し、蛍光光度計 (Turner, Model 10) を用いて蛍光強度を測定した。本種はガラスビーズに付着して試験管底部に固まりを形成するようになるため、1日1回の攪拌の際に固まりを崩すように心がけた。

比増殖速度は次の式にあてはめ、対数増殖期の値について最小自乗法により算出した。実験は triplicate で行ったので、それらの平均値をとった。

$$\mu = \frac{1}{\Delta t} \ln \frac{N_0}{N_t}$$

ここで、

$N_0$ : 対数増殖初期の蛍光値 (cells ml<sup>-1</sup>)

$N_t$ : 対数増殖終期の蛍光値 (cells ml<sup>-1</sup>),

$\Delta t$ : 対数増殖の期間 (day),

である。また、それぞれの設定条件下で行った triplicate の実験のうち、明らかに増殖の様子の異なったものは計算から除外した。

本種の増殖を水温・塩分の関数として次の多項式で表した。

$$\mu = \beta_{00} + \beta_{10} \cdot T + \beta_{20} \cdot T^2 + \beta_{30} \cdot T^3 + \beta_{01} \cdot S + \beta_{02} \cdot S^2 + \beta_{03} \cdot S^3 + \beta_{11} \cdot T \cdot S + \beta_{12} \cdot T \cdot S^2 + \beta_{21} \cdot T^2 \cdot S + \dots + \beta_{nn} \cdot T^n \cdot S^n + \varepsilon$$

ここで、 $\mu$ は増殖速度 (day<sup>-1</sup>),  $T$ は水温 (°C),  $S$ は塩分 (psu),  $\beta_{nn}$ は偏回帰係数,  $\varepsilon$ は誤差項をそれぞれ示す。ここでは3次

までをとり、変数増減法による重回帰分析によって偏回帰係数を求めた。

## 結果と考察

### 種の同定及び計数の結果

両湾における優占種は、第1回目のサンプリング時には、松

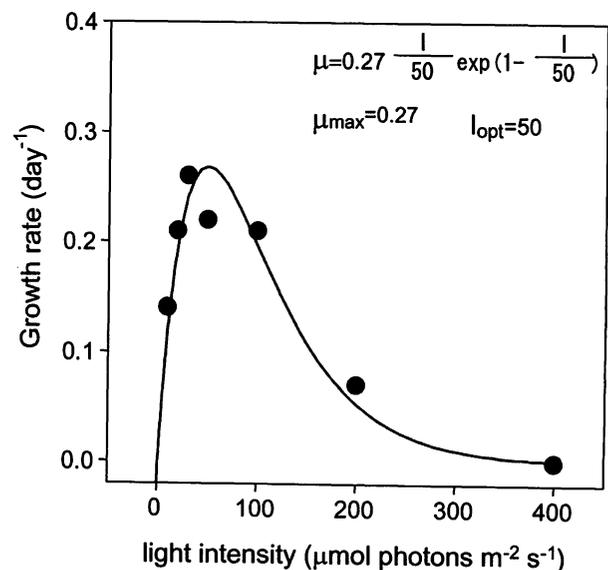


Fig. 4. Specific growth rate of *Nitzschia* sp. as a function of light intensity. 25 °C, 32 psu, pH8.2. A curve was fitted to the experimental data.

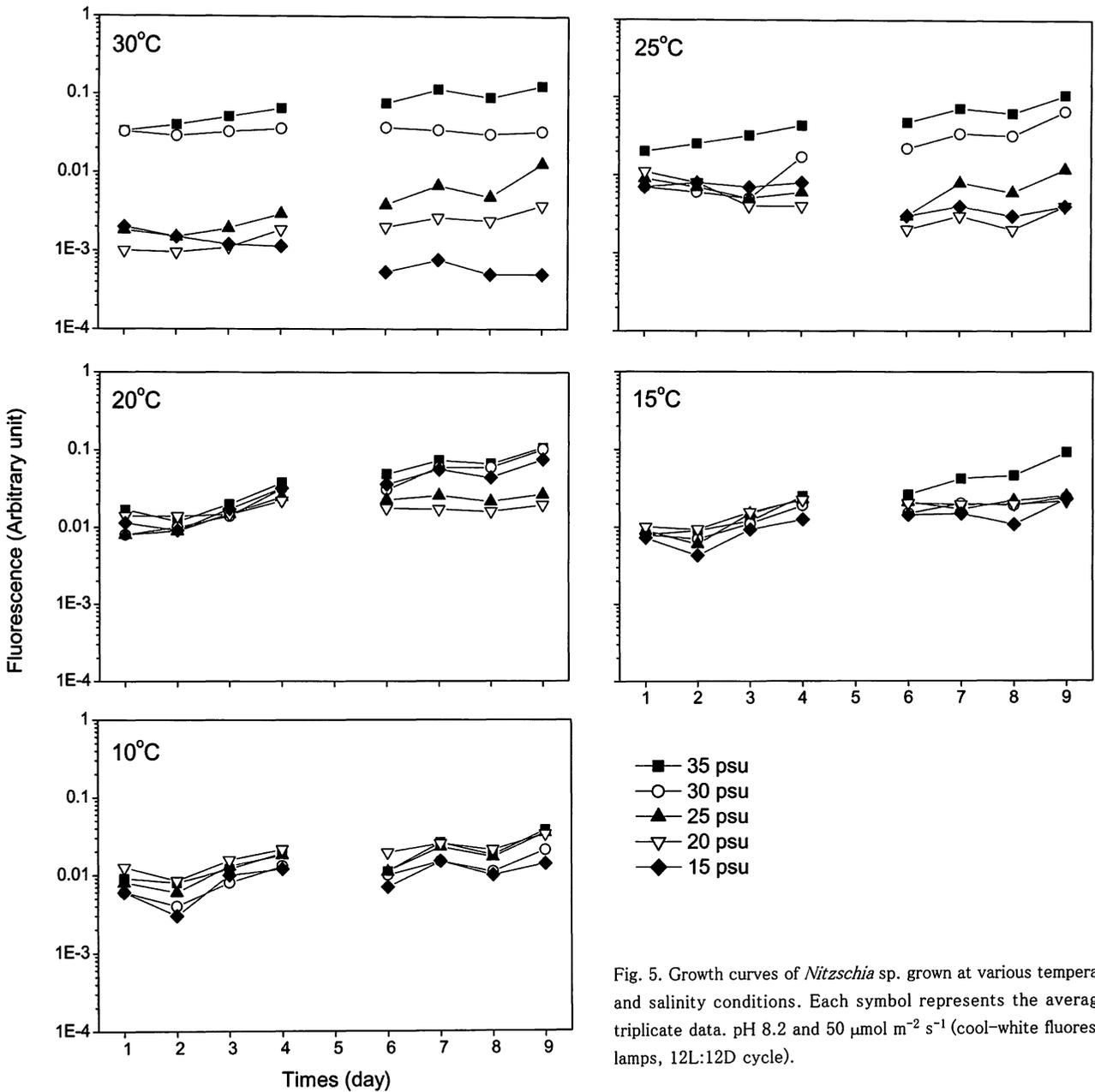


Fig. 5. Growth curves of *Nitzschia* sp. grown at various temperature and salinity conditions. Each symbol represents the average of triplicate data. pH 8.2 and  $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (cool-white fluorescent lamps, 12L:12D cycle).

永湾では *Skeletonema costatum*, *Thalassiosira* spp., *Melosira* spp., *Nitzschia* spp. で, Stn. 1と5で総細胞数が多かった (Table 1)。海田湾での優占種は *S. costatum*, *Thalassiosira* spp., *Diploneis* spp., *Nitzschia* spp. であり, Stn. 1が他の観測点より総細胞数が多かった (Table 1)。また, 第2回目のサンプリング時には, 松永湾の優占種は第1回目と類似していたが, 海田湾は種の多様性が高くなり, 総細胞数も多くなった (Table 2)。これらの結果において, *S. costatum*, *Thalassiosira* spp., *Lauderia* spp.などは浮遊性藻類であることから, それらが沈降して, 底泥サンプル中で相対的に多かったと考えられる。実際には底生性微細藻と考えられる種のうち, 優占したのは *Melosira* spp., *Diploneis* spp., *Nitzschia* spp. などであり, これらのうちの一種 *Nitzschia* sp. を今回の研究に用いた。

光強度に対する増殖応答実験

*Nitzschia* sp. の比増殖速度は  $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  の  $0.14 \text{ day}^{-1}$  から  $30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  の  $0.26 \text{ day}^{-1}$  まで上昇した (Fig. 3)。 $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  では  $0.22 \text{ day}^{-1}$  となり, それ以上では光強度の増加にともない比増殖速度の低下が見られ ( $0.21-0.07 \text{ day}^{-1}$ ),  $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  では増殖が認められなかった。つまり,  $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  以上ですでに強光阻害が起こることを示している (Fig. 3)。比増殖速度と光強度の関係は次の式で表せることが明らかになった。

$$\mu = 0.27 \frac{I}{50} \exp\left(1 - \frac{I}{50}\right)$$

最適光強度は  $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 最大比増殖速度は  $0.27 \text{ day}^{-1}$  と計算された。

通常, 浮遊ケイ藻では  $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  以上で最大増殖速度を示し (例えば, *S. costatum* や *Coscinodiscus wailesii* では約  $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  および約  $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , Yoder

Table 3. Growth rates of *Nitzschia* sp. in each temperature and salinity condition

	Temperature (°C)	Salinity (psu)				
		35	30	25	20	15
	30	0.15±0.04	ND*	0.22±0.03	0.17±0.01	0.00±0.00
	25	0.17±0.02	0.24±0.01	0.23±0.04	0.24±0.01	0.00±0.00
	20	0.28±0.01	0.30±0.01	0.52±0.03	0.52±0.01	ND*
	15	0.29±0.03	0.52±0.03	0.66±0.08	0.44±0.04	0.43±0.017
	10	0.17±0.03	0.30±0.12	0.17±0.02	0.14±0.03	0.00±0.00

\*ND: No data

1979, 西川ら2002), 300  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 以下では強光阻害は現れない。また、潮間帯から分離した *Nitzschia dissipata* では今回得られたような強光阻害は見られず、100  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ でも増殖した (Admiraal 1977)。このことは、潮間帯の藻類では干潮時に大気中へ露出して直射日光にさらされることもあるため、強い光条件でも生存できるように適応した結果と考えられる。一方、海水中では光の減衰は急激であり、指数関数的に低下する (山本 1998)。沿岸海域の海底に生息している底生微細藻はこれらの弱光環境に適応したため、強い光強度では強光阻害が現れると推測される。

夏季と秋季における広島湾海表面直下の平均光強度はそれぞれ約2000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 850  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ である (Yamamoto *et al.* 2002)。また、サンプリング時の透明度は第一回目では海田湾で0.6 m, 松永湾で1.6 mであり、第二回目では海田湾で2.6 m, 松永湾で2.0 mであった (広島県環境保健協会 2002)。 $K=2.1/T$  ( $K$ , 消散計数;  $T$ , 透明度(m) パーソズと高橋1974)として平均消散係数を求めると、第一回目は海田湾で3.5および松永湾で1.4, 第二回目は海田湾で0.8および松永湾で1.1となる。これらを  $I_d=I_0e^{-kd}$  ( $I_d$ , 深度  $d$  mにおける光強度( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ );  $I_0$ , 海表面における光強度( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ); パーソズと高橋1974)に当てはめて、今回の研究で得られた本種が最大増殖速度を発揮する光強度50  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ に相当する水深を求めると約2-3 mとなる。また、強光阻害が見られたことから、これ以浅でも以深でも増殖が低下すると想像される。さらに、実際の各観測点の水深は6-9 mであったことから、サンプルを採取した場所の海底での光強度はわずか0.3-0.5  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ であったと計算される。これらの値は本種の補償光量を示すものと考えられ、これは植物プランクトンで通常報告されている補償光量 (5-20  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 山本 2002)と比べてかなり低い。

#### 水温と塩分に対する増殖応答実験

塩分の違いによる *Nitzschia* sp. の増殖曲線をそれぞれの温度について Fig. 5 に示した。10°C, 15 psu は増殖が見られなかった。20-30 psu では増殖が認められたが、比増殖速度は0.14-0.30  $\text{day}^{-1}$ と低かった。15°Cではすべての塩分段階で増殖が認められ、比増殖速度は0.29-0.66  $\text{day}^{-1}$ であった。20°Cでは15 psuでデータの欠測があったが、15°Cと同様にすべての塩分段階で増殖が認められ、比増殖速度0.28-0.52  $\text{day}^{-1}$ となった。25°Cでは15 psu以外の全ての塩分条件で増殖が認められ、20-35 psuで比増殖速度0.17-0.24  $\text{day}^{-1}$ を示した。30°Cでは、15 psuにおいて25°Cのような増殖が認

められなかったが、20-35 psuで比増殖速度0.15-0.17  $\text{day}^{-1}$ であった (Fig. 5; Table 3)。以上、水温と塩分のさまざまな組み合わせに対する比増殖速度を Fig. 6 にプロットした。増殖可能な水温、塩分範囲はそれぞれ10-30°C, 20-35 psuであり、15°C, 25 psuで最大の比増殖速度を与えた。また、15 psuでは15°Cと20°Cで増殖可能であった。ただし、最大の細胞収量を与えたのは、15°C, 35 psuであった (Fig. 5)。

得られた結果を水温と塩分の2因子要因として解析したところ、以下の回帰式が得られた。

$$\mu = -5.353 + 0.659 \cdot T + 0.171 \cdot S - 0.029 \cdot T^2 - 0.003 \cdot S^2 - 0.006 \cdot T \cdot S + 0.0003787 \cdot T^3 + 0.00002267 \cdot S^3 + 0.000144 \cdot T^2 \cdot S$$

このときの重回帰係数は0.882であった (Fig 7)。

現場の泥温は、第1回目のサンプリング時には18-23°C, 第2回目には22°Cであった (広島県環境保健協会 2002)。この温度を Fig. 6 と照らし合わせると、この時期の温度は最適

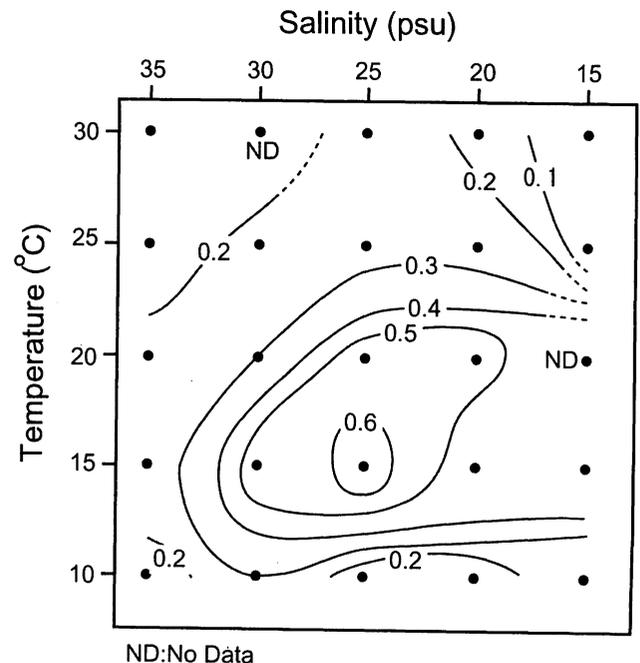


Fig. 6. Contour plots for specific growth rate ( $\text{day}^{-1}$ ) of *Nitzschia* sp. grown at various temperature and salinity conditions. Calculation was made for the exponential growth phase in the batch culture incubation (see Fig. 5).

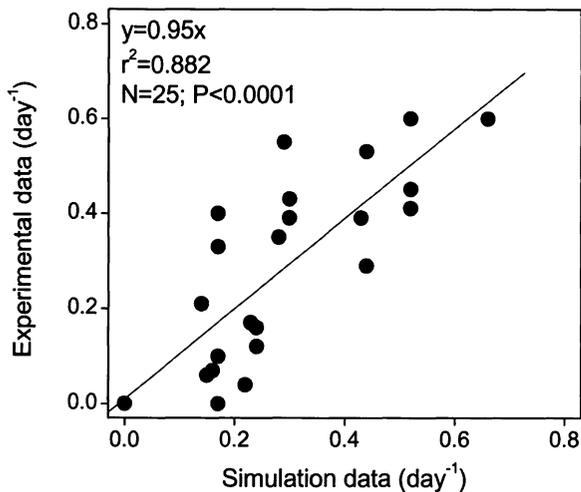


Fig. 7. Comparison between experimental data and simulation data for the growth rate of *Nitzschia* sp.

な条件に近く、比増殖速度は0.4 day<sup>-1</sup>から0.5 day<sup>-1</sup>を与える。

本研究で明らかになったように、水温・塩分および光強度は本種の群集動態を支配する重要な環境要因である。ただし、当然のことながら藻類の増殖には溶存態無機・有機栄養塩(西島・深見 1993, 樽谷・山本 1994)や微量元素(Brand *et al.* 1983, Harrison *et al.* 1988)なども必要である。したがって、今後、本種を含め底生微細藻類を用いた底質改善を行うためには、それらの栄養塩要求特性および生活史の解明など、種ごとの動態を左右する要因についてさらに知見を蓄積する必要がある。

#### 謝辞

本研究をとりまとめるにあたり、多くの有益な御助言を戴きました独立行政法人水産総合センター瀬戸内海区水産研究所山口峰生博士に感謝いたします。また、本研究に用いた *Nitzschia* sp. の写真を撮って頂いた瀬戸内海区水産研究所松山幸彦博士にも深く感謝いたします。この研究は日本財団助成事業「微細藻を用いた瀬戸内海の生態学的底質改善に関する調査・研究」によって行われたものであり、共同研究を進める上でさまざまなご助言を戴いた、財団法人広島県環境保健協会環境科学センター、センター長、皆川和明氏および同センター環境創造部創造二課担当課長、有吉英治氏に感謝します。

#### 引用文献

- Admiraal, W. 1977. Influence of light and temperature on the growth rate of estuarine benthic diatoms in culture. *Mar. Biol.* 39: 1-9.
- Brand, L. E., Sunda, W. G. & Guillard, R. R. L. 1983. Limitation of marine phytoplankton reproductive rates by zinc, manganese, and iron. *Limnol. Oceanogr.* 28: 1182-1198.
- Brotas, V. & Catarino, F. 1995. Microphytobenthos primary production of Tagues estuary intertidal flats (Portugal). *Neth. J. Aquat. Ecol.* 29: 333-339.

- Decho, A. W. 1990. Microbial exopolymer secretions in ocean environments. Their role(s) in foodwebs and marine processes. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.* 28: 73-153.
- Edgar, L. A. & Pickett-Heaps, J. D. 1984. Diatoms locomotion. *Prog. Phycol. Res.* 3: 47-88.
- Eppley, R.W. 1972. Temperature and phytoplankton growth in the sea. *Fish. Bull.* 70: 1063-1085.
- Guillard, R. R. L. & Ryther, D. 1962. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Can. J. Microbiol.* 8: 229-239.
- Harrison, P. J., Yu, P. W., Thompson, P. A., Price, N. M. & Phillips, D. J. 1988. Survey of selenium requirements in marine phytoplankton. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 47: 89-96.
- 広島県環境保健協会 2002. 微細藻を用いた瀬戸内海の生態学的底質改善に関する研究報告書(その1). 日本財団助成, 広島.
- MacIntyre, H. L., Geider, R. J. & Miller, D. C. 1996. Microphytobenthos: The ecological role of the "secret garden" of unvegetated, shallow-water marine habitats. I. Distribution, abundance and primary production. *Estuaries* 19: 186-201.
- 西島敏隆・深見公雄 1993. 植物プランクトンの増殖に及ぼす N:P 比の影響. 2. ラフィド藻類及び珪藻類. p20-28. 吉田陽一(編) 水域の窒素:リン比と水産生物. 恒星社厚生閣, 東京.
- 西川哲也・宮原一隆・長井 敏 2002. 播磨灘産有害珪藻 *Coscinodiscus wailesii* Gran の光強度に対する増殖応答. 日本プランクトン学会報 49: 1-8.
- パーソンズ T. R.・高橋正征 1974. 生物海洋学. 三省堂, 東京.
- 瀬戸内海環境保全協会 2000. 瀬戸内海の環境保全資料集. 環境省水環境部, 神戸.
- Steele, J. H. 1962. Environmental control of photosynthesis in sea. *Limnol. Oceanogr.* 7: 137-150.
- 樽谷賢治・山本民次 1994. 広島湾産 *Skeletonema costatum* のリン酸塩取り込みおよび増殖の動力学. 広島大学生物生産学部紀要 33: 59-64.
- Underwood, G. J. C. & Kromkamp, J. 1999. Primary production by phytoplankton and microphytobenthos in estuaries. *Adv. Ecol. Res.* 29: 93-153.
- 山口峰生・今井一郎・本城凡夫 1991. 有害赤潮ラフィド藻 *Chattonella antiqua* と *C. marina* の増殖速度におよぼす水温, 塩分および光強度の影響. 日水誌 57: 1277-1284.
- Yamamoto, T., Ikeda, H., Hara, T. & Takeoka, H. 2000. Applying heat and mass balance theory to determine the flow rate for the measurement of benthic material flux in a flow-through system. *Hydrobiologia.* 435: 135-142.
- Yamamoto, T., Oh, S. J. & Kataoka, Y. 2002. Effects of temperature, salinity and irradiance on the growth of the toxic dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* (Dinophyceae) isolated from Hiroshima Bay, Japan. *Fish. Sci.* 68: 356-363.
- 山本民次 1998. 植物プランクトン. P144-190. 平野敏行(編) 沿岸の環境圏. フジ・テクノシステム, 東京.
- 山本民次 2002. 水圏の生物生産と光合成. 恒星社厚生閣, 東京.
- Yoder, J. A. 1979. Effect of temperature on light-limited growth and chemical composition of *Skeletonema costatum* (Bacillariophyceae). *J. Phycol.* 15: 362-370.

(Received 22 Sept. 2003; Accepted 6 Feb. 2004)

