

有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium tamarense* の増殖機構 に関する生理生態学的研究

樽谷賢治

Ecophysiological Studies on the Population Dynamics of Toxic Dinoflagellate *Alexandrium tamarense*

Kenji Tarutani

Abstract In spring of 1992, the first paralytic shellfish poisoning (PSP) was experienced in Hiroshima Bay due to the occurrence of toxic dinoflagellate *Alexandrium tamarense* bloom. Since then, PSP due to this species has become an annual event and poses a serious problem to the oyster culture industry as well as to public health because Hiroshima Bay has the highest production of cultured oyster in Japan. In order to elucidate the ecophysiology of *A. tamarense* in Hiroshima Bay, the physiological characteristics were experimentally obtained along with field observations, and the community dynamics of phytoplankton was investigated using the mathematical models in the present study. Environmental factors affecting the population dynamics of phytoplankton monitored in Kure Port, Hiroshima Bay, from February to May 1995 suggested that nutrient supply into this area was largely depending on the inflow of freshwater, and the growth of phytoplankton was limited by the availability of phosphate or silicate. Field monitoring data also showed that *A. tamarense* was not predominant in the phytoplankton community but coexisted with other species (*Skeletonema costatum*, *Chaetoceros* spp., *Heterocapsa triquetra* etc.). Population dynamics of *A. tamarense* and *S. costatum* were studied under two different phosphate supply modes in non-steady state semicontinuous cultures; daily supply and weekly supply modes. In the daily supply mode, the simulation model based on both the truncation model and the Droop model predicted the population dynamics of these species well. In the weekly supply mode, while the simulation model more appropriately described the observed dynamics of *S. costatum*, it could not reproduce the experimental growth of *A. tamarense*. This seemed to be due to time lag between phosphate supply and the growth response. An improved model, which includes the processing time of incorporated intracellular phosphate, could describe these non-steady state dynamics of *A. tamarense*. The dynamics of competition among three phytoplankton species (*A. tamarense*, *H. triquetra*, and *S. costatum*) studied using the same numerical model under various phosphate and silicate supply conditions. *A. tamarense* and *H. triquetra* were able to coexist with *S. costatum* only when silicate load was small. Under high frequency nutrient supply (daily), *H. triquetra* always predominated over *A. tamarense*. On the other hand, under low frequency nutrient supply (weekly), *A. tamarense* often predominated over *H. triquetra* and sometimes coexisted with *S. costatum* while *H. triquetra* was depressed. These results showed that *A. tamarense* can coexist with *S. costatum* only when the latter is limited by the availability of silicate. However, low frequency nutrient supply conditions are highly favorable to *A. tamarense* than *H. triquetra*. These results obtained in the present study suggest that the proliferation of the toxic dinoflagellate *A. tamarense* in estuaries can be prevented by controlling the riverine nutrient loading ratio and the supply intervals.

Key words: *Alexandrium tamarense*, growth, Hiroshima Bay, model, uptake

1999年2月26日受理 (Accepted on February 26, 1999)

瀬戸内海区水産研究所業績A第6号 (Contribution No. A 6 from National Research Institute of Fisheries and Environment of Inland Sea)
樽谷賢治 (科学技術特別研究員): 瀬戸内海区水産研究所 〒739-0452 広島県佐伯郡大野町丸石2-17-5 (K. Tarutani: Japan Science and Technology Corporation, Domestic Research Fellow, and National Research Institute of Fisheries and Environment of Inland Sea, 2-17-5 Maruishi, Ohno, Saeki, Hiroshima 739-0452, Japan)

目 次

第 I 章	序 論	64
第 II 章	広島湾における <i>Alexandrium tamarense</i> の 個体群動態と環境要因との関係	65
第 III 章	<i>Alexandrium tamarense</i> のリン酸塩取り込 みおよび増殖の動力学: <i>Heterocapsa tri-</i> <i>quetra</i> および <i>Skeletonema costatum</i> との 比較	71
第 IV 章	非定常条件下での <i>Alexandrium tamarense</i> の個体群動態とそのモデル化	76
第 V 章	植物プランクトン群集動態のモデルによる 解析: <i>Alexandrium tamarense</i> の増殖機構	82
第 VI 章	論 議	89
謝 辞		93
文 献		93

第 I 章 序 論

海洋には数千~数万種の植物プランクトンが生息しており (Sournia *et al.* 1991), その分布は赤道直下の熱帯域から南北極域にまで及ぶ。植物プランクトンの主要な機能は太陽光をエネルギー源とし, 周囲の環境水中から無機栄養物質を取り込むことによって有機物を生産することにある。この機能は植物プランクトンが自らの生命を維持するために必要であると同時に, 食物連鎖を通してより高次の栄養段階にある生物にエネルギーと有機物を供給するという側面も持つ。このことが植物プランクトンを一次生産者もしくは基礎生産者と称する所以であり, 海洋生態系においては, 大型の海藻類などが卓越するごく一部の海域を除くとこれらの微細な植物プランクトンが一次生産の主要な担い手となっている。

このように海洋生態系を維持していくうえで必要不可欠な存在である植物プランクトンであるが, なかには毒性物質を産生して魚介類を毒化させたり, 赤潮を形成して魚介類の大量斃死をもたらすような種も存在する。本邦沿岸域では, 前者の代表種として麻痺性貝毒を産生する渦鞭毛藻 *Alexandrium tamarense* (Lebour) Balech や *A. catenella* (Whedon et Kofoid) Balech が, 後者の代表種としては瀬戸内海を中心に大きな漁業被害をもたらしているラフィド藻 *Chattonella antiqua* (Hada) Ono や *Heterosigma akashiwo* (Hada) Hada ex Hara et Chihara, 渦鞭毛藻 *Gymnodinium mikimotoi* Miyake et Kominami ex Oda などがこのような有害・有毒プランクトンに相当する。

広島湾は瀬戸内海の中でも赤潮が多発する海域の 1 つであり, これまでも多大な漁業損害を受けてきたが, 貝類の毒化は認められていなかった。ところが, 1992年

Table 1-1. Shellfish toxification with paralytic shellfish poisoning (PSP) in Hiroshima Bay during 1992-1995

Year	Species	Duration	Maximum toxicity (MU · g ⁻¹)
1992	<i>Crassostrea gigas</i>	23 Apr. - 15 May	38.0
1993	<i>Crassostrea gigas</i>	9 Apr. - 21 Apr.	9.84
		6 May - 28 May	
1994	<i>Crassostrea gigas</i>	-	2.78
	<i>Tapes japonica</i>	11 May - 25 May	6.41
	<i>Mytilus edulis</i>	-	2.50
1995	<i>Crassostrea gigas</i>	22 Apr. - 22 May	37.4
	<i>Tapes japonica</i>	18 Apr. - 17 May	34.8
	<i>Mytilus edulis</i>	14 Apr. - 22 May	9.96

4月に麻痺性貝毒による二枚貝類の大規模な毒化が起こり, 貝類生産, 特にマガキの関連産業に甚大な被害をもたらした。Table 1-1 は, 広島県水産試験場事業報告 (広島県水産試験場 1993, 1994, 1995, 1996) をもとに 1992年以降の広島湾における二枚貝の麻痺性貝毒による毒化状況を取りまとめたものである。1992年以降, その規模に多少の相違が見られるものの, 毎年, 麻痺性貝毒が検出されており, 何らかの出荷規制措置が執られている。幸いなことに中毒事件は発生していないが, 広島湾のマガキ生産量は全国生産量の約 7 割を占めており, 出荷規制に伴う直接的な被害はもちろんのこと, 商品イメージの低下という点からも広島県下の水産業に深刻な影響を及ぼしている。

広島湾における麻痺性貝毒の原因種は *Alexandrium tamarense* (Lebour) Balech である。本種は渦鞭毛藻綱ペリディニウム目ゴニオラックス科に属する長さ 25~48 μm, 幅 25~48 μm の球形の小型藻類である。長い連鎖群体を形成することなく, まれに 2 または 4 細胞の群体が見られるだけである。また, その分布域は北米, 欧州, 東アジアを中心に, 北はロシア (Konovalova 1989), 南は台湾 (Su *et al.* 1989), ウルグアイ (Mendez *et al.* 1996) に至るまできわめて広範囲に及んでいる。

A. tamarense が赤潮を形成するような他の有害プランクトン種と異なるのは, 比較的低密度であっても貝類を毒化させ, その生産に被害をもたらす点にある。このことは, 本種が植物プランクトン群集中で優占種とならなくとも貝毒の発生を引き起こす可能性があることを示唆するものである。したがって, *A. tamarense* の増殖機構を解明するためには, 本種と他の植物プランクトン種間の競合関係に加え, それらが共存可能となる機構についても明らかにすることが必要となる。

広島湾は閉鎖性の強い典型的な富栄養化海域であることから, 栄養塩類の動態が同湾での *A. tamarense* を始めとする海産植物プランクトンの個体群動態を左右する要因のひとつとして重要な役割を担っているであろうこと

が予想される。そこで、本研究では、栄養塩に対する海産植物プランクトンの増殖応答ならびに種間の相互作用という観点から、広島湾における *A. tamarense* の増殖機構を解明することを目的とした。

本論文の構成は以下の通りである。次の第Ⅱ章ではまず、広島湾における *A. tamarense* の発生中心海域の1つである呉港で現場観測を行った結果を示し、本種の増殖と環境要因との関係について検討する。第Ⅲ章では、*A. tamarense* と本種の増殖時に現場海域において比較的高密度に出現していた渦鞭毛藻 *Heterocapsa triquetra* (Ehrenberg) Stein および珪藻 *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve の増殖ならびに栄養塩取り込みの動力学的特性について調べた実験結果を示す。それらの結果をもとに、第Ⅳ章では、非正常条件下でも適用可能な個体群動態モデルを作成するとともに、その再現性を実験的に検証する。最後に第Ⅴ章では、3種の植物プランクトン (*A. tamarense*, *H. triquetra* および *S. costatum*) から形成される群集を想定し、様々な栄養塩環境条件下での種組成の動的変化を群集動態モデルを用いて解析した結果について述べる。

第Ⅱ章 広島湾における *Alexandrium tamarense* の個体群動態と環境要因との関係

自然環境下での植物プランクトンの個体群動態は、水温、塩分、光強度、栄養塩、他の植物プランクトン種との競合、動物プランクトンをはじめとする高次生産者による捕食など様々な要因によって影響を受ける。このような数多くの要因から目的とする植物プランクトン種の個体群動態を支配している要因を明らかにするためには、現場観測によって、物理学的、化学的あるいは生物学的なパラメータを可能な限り詳細に収集し、それらを解析することが最も基本的なアプローチとなる。

瀬戸内海の西部に位置する広島湾は、湾口部を屋代島と倉橋島とに囲まれていることから、瀬戸内海の中でも極めて閉鎖性の強い内湾である。特に湾奥部には集水域に広島市を含む一級河川太田川が流入していることから、高濃度の栄養塩が負荷されるうえに、厳島、江田島などの大小様々な島々が存在し、複雑な地形を形成しているため、負荷された栄養塩類が長期にわたり滞留すると言われている (日本海洋学会沿岸海洋研究部会 1985)。したがって、夏季を中心に表層および中層では赤潮が多発し (木村他 1973)、底層では有機物の分解にともない溶存酸素濃度が著しく低下することがある (湯浅他 1984, 1995)。

呉湾は広島湾奥東部に位置し、呉水道、音戸瀬戸を経てそれぞれ広島湾奥部、安芸灘と接する (Fig. 2-1)。面積は約 51 km²、平均水深は約 20 m で、湾奥部に位置する呉港には二河川が流入する。広島湾では広島県が制定

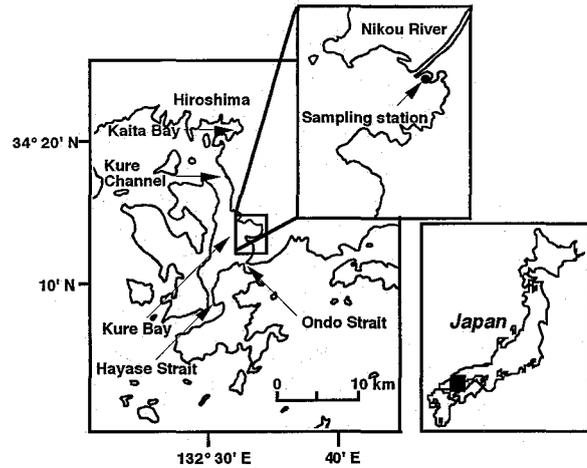


Fig. 2-1. Location of the sampling station in Kure Bay.

した「貝毒対策実施要領」に基づき、毎年、貝類の毒化と原因プランクトンである *Alexandrium tamarense* の出現状況に関するモニタリング調査が広島県水産試験場を中心に行われている。その調査結果から、呉港、特に二河川河口域が広島湾北部沿岸域とともに *A. tamarense* が最も高密度に分布する海域であることが明らかとなり、また、その出現時期が他の海域と比べ若干早いことから、広島湾における本種の発生源の一つであろうという推定がなされている (広島県 1995)。これらのことは、本海域における *A. tamarense* の消長を把握することが広島湾全体の動向を推測するうえで極めて重要であることを示唆するものである。

このような観点から、本章では広島湾における *A. tamarense* の発生機構を解明する第一歩として、呉港で 1995年2月から5月まで行った観測結果について述べる。さらに、得られた結果から、同海域における *A. tamarense* の個体群動態と環境要因との関係について考察する。

観測方法

観測は呉港にある広島大学附属練習船基地棧橋 (水深約 10 m) において、1995年2月16日から5月31日まで行った (Fig. 2-1)。観測頻度は週1~2回とし、原則として日中の満潮時前後2時間以内に行った。

水温および塩分はアレック電子社製クロロテックもしくはメモリー式STDによって測定した。また、バケツを用いて表層 (0 m) から、バンドン採水器を用いて中層 (5 m) および底層 (海底上 1 m) から採水し、溶存物質および粒状物質濃度の分析ならびに植物プランクトン種の同定・計数に供した。

粒状態有機炭素 (POC) および粒状態有機窒素 (PON) は採取した試水をあらかじめ強熱 (450°C, 2時間) したグラスファイバーフィルター (Whatman GF/F) で吸引濾過 (<20 cmHg) し、Yanaco 社製 CHN コーダ

(MT-3) によって分析した。また、その濾液を用いて、アンモニア態窒素 ($\text{NH}_4\text{-N}$)、硝酸 + 亜硝酸態窒素 ($(\text{NO}_2 + \text{NO}_3)\text{-N}$) および溶存態全窒素 (DTN) をそれぞれインドフェノール法 (Sasaki and Sawada 1980), Cu-Cd 還元-ナフチルエチレンジアミン法 (Wood *et al.* 1967) および過硫酸カリ加圧分解-Cu-Cd 還元法 (Koroleff 1983a) によって分析した。 $\text{NH}_4\text{-N}$ と $(\text{NO}_2 + \text{NO}_3)\text{-N}$ の和を DIN, DTN から DIN を差し引いたものを溶存態有機窒素 (DON) とした。

粒状態リン (PP) の分析は試水をあらかじめ湯洗 (80°C , 10分) したメンブレンフィルター (Millipore type HA, 孔径 $0.45 \mu\text{m}$) で吸引濾過後、過塩素酸加圧分解-モリブデンブルー法 (Strickland and Parsons 1972) によって行った。また、その濾液を用いて、リン酸態リン ($\text{PO}_4\text{-P}$) および溶存態全リン (DTP) をそれぞれモリブデンブルー法 (Murphy and Riley 1962) および過硫酸カリ加圧分解-モリブデンブルー法 (Koroleff 1983b) によって分析した。DTP から $\text{PO}_4\text{-P}$ を差し引いたものを溶存態有機リン (DOP) とした。

生物態ケイ素 (BSi) は試水をニュクリポアー・ポリカーボネイト・メンブレンフィルター (孔径 $0.4 \mu\text{m}$) で吸引濾過し、NaOH 分解-モリブデンブルー法 (Ragueneau and Treguer 1994) によって分析した。また、濾液はモリブデンブルー法 (Strickland and Parsons 1972) によるケイ酸態ケイ素 ($\text{SiO}_2\text{-Si}$) の分析に供した。

クロロフィル *a* (Chl. *a*), フェオ色素 (Phaeo) は試水を硝酸セルロースフィルター (Saltorius SM11306, 孔径 $0.45 \mu\text{m}$) で吸引濾過し、95%アセトンで抽出後、吸光法 (Strickland and Parsons 1972) により分析した。

植物プランクトン種の同定および細胞数の計数は未固定の試水を5時間以内に光学顕微鏡下で検鏡することによって行った。

結 果

Alexandrium tamarense の細胞密度の変動 *A. tamarense* は3月上旬に $1 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ の細胞密度で出現した (Fig. 2-2A)。4月中旬に細胞密度は $10 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ を上回り、4月17日5m層で最高密度 ($140 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$) に達した。その後、一時的に減少したものの4月下旬から5月初旬にかけて再び増加し、5月中旬には消滅した。また、4月28日には2連鎖細胞に加え、おそらく遊走接合子であろうと思われる大型の細胞 (Fukuyo 1985) の存在も観察された。

鉛直的には、観測期間を通して、表層よりも中層付近で高密度に存在する傾向がみられた。しかしながら、雨天もしくは曇天時には高密度層が表層にみられた。これは、光強度の低下にともない、細胞が表層まで移動したことによるものと思われる。

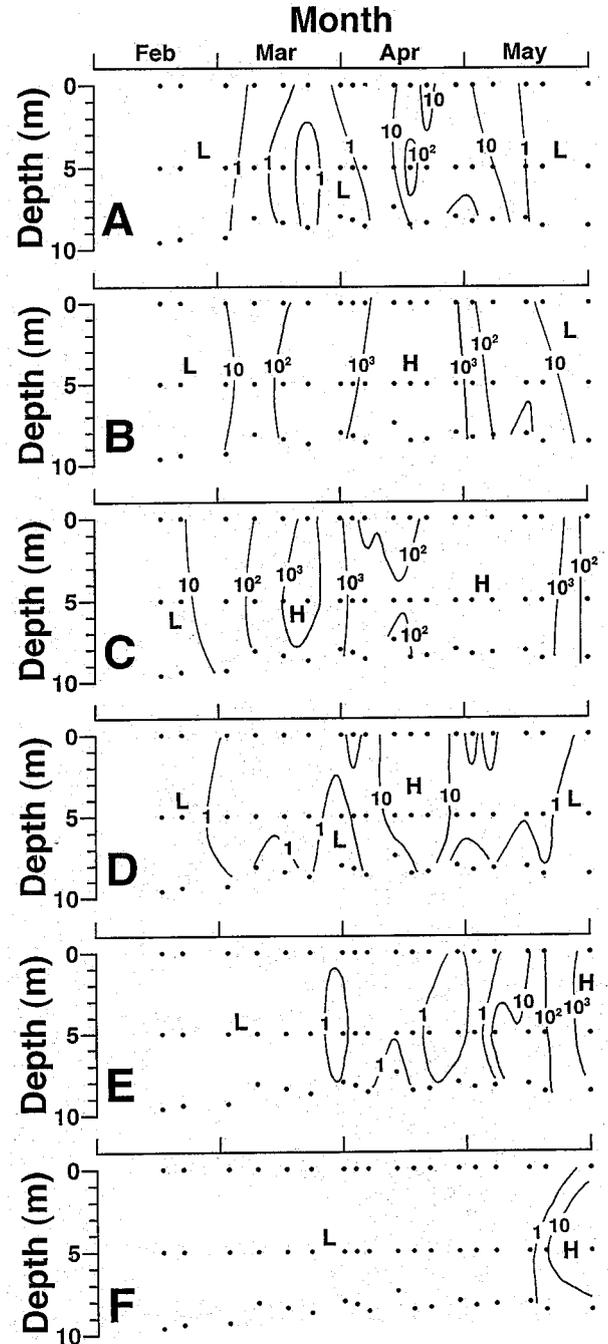


Fig. 2-2. Temporal changes in cell density ($\text{cells} \cdot \text{ml}^{-1}$) of the dominant phytoplankton species in Kure Bay from February 17 to May 31, 1995. (A) *Alexandrium tamarense*, (B) *Skeletonema costatum*, (C) *Chaetoceros* spp., (D) *Heterocapsa triquetra*, (E) *Leptocylindrus danicus*, and (F) *Prorocentrum dentatum*.

他の植物プランクトン種の細胞密度の変動 観測期間中、未同定種を含むと少なくとも48種の植物プランクトンが $1 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ 以上の細胞密度で出現した。2月から3月初旬にかけて比較的多くみられた植物プランクトンは大型の珪藻 *Coscinodiscus wailesii* Gran と小型の鞭毛藻類であった。3月中旬頃より珪藻類の *Skeletonema*

costatum や *Chaetoceros* spp., 渦鞭毛藻類の *Heterocapsa triquetra*, *Scrippsiella trochoidea* (Stein) Loeblich, III などがみられるようになった (Fig. 2-2B, C, D)。 *S. costatum* および *Chaetoceros* spp. の細胞密度はともに4月以降, $1.0 \sim 2.0 \times 10^3 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ 程度で推移し, それぞれ, 4月13日に中層 ($2.9 \times 10^3 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$), 5月19日に表層 ($2.5 \times 10^3 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$) で最高密度に達した。一方, *H. triquetra* は *A. tamarense* の細胞密度が一時的に減少した4月21日に表層で最高密度に達し ($53 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$), その後, 速やかに減少した。 *S. costatum* は5月上旬以降, *Chaetoceros* spp. は5月中旬以降減少し, 替わって, 珪藻類の *Leptocylindrus danicus* Cleve および渦鞭毛藻類の *Prorocentrum dentatum* Stein が優占した (Fig. 2-2E, F)。

水温, 塩分および密度の変動 観測期間中の水温, 塩分および密度 (σT) の鉛直分布の変動を Fig. 2-3 に示す。観測当初の水温は $10 \sim 11^\circ\text{C}$ であり, 表層と底層の水温差はほとんどみられなかった (Fig. 2-3A)。その後, 水温は上昇し, 観測終了時 (5月31日) に表層で最高 17.4°C に達した。また, このとき, 表層と底層で約 2°C の水温差がみられた。

塩分は全期間を通しておおむね33程度であったが, 降雨による多量の淡水供給を反映して3月30日, 5月2日および15日に表層付近で25~32程度にまで低下した (Fig. 2-3B)。

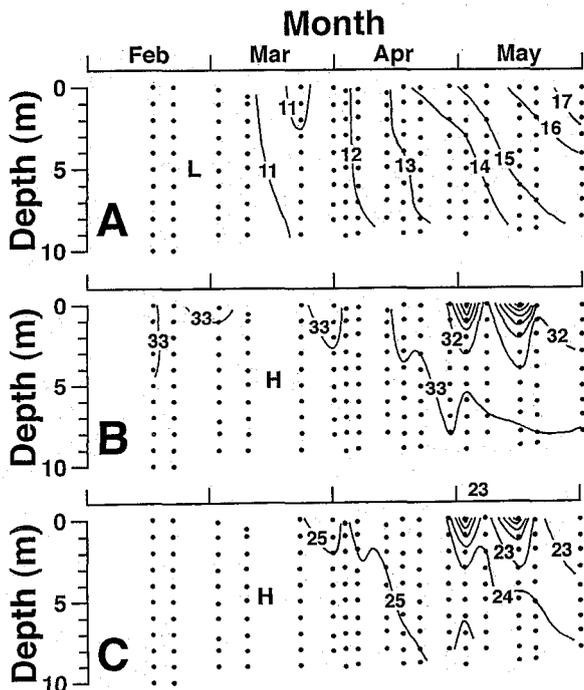


Fig. 2-3. Temporal changes in (A) water temperature ($^\circ\text{C}$), (B) salinity, and density (σT) in Kure Bay from February 17 to May 31, 1995.

密度は4月半ばまでは25程度でほぼ一様であったが, その後, 表層と底層で徐々に差がみられるようになった (Fig. 2-3C)。

溶存物質濃度の変動 $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度は $0.2 \sim 4.3 \mu\text{M}$ の範囲で変動し, 表層および底層で高く, 中層で低い傾向がみられた (Fig. 2-4A)。 $(\text{NO}_2 + \text{NO}_3)\text{-N}$ 濃度は中・底層

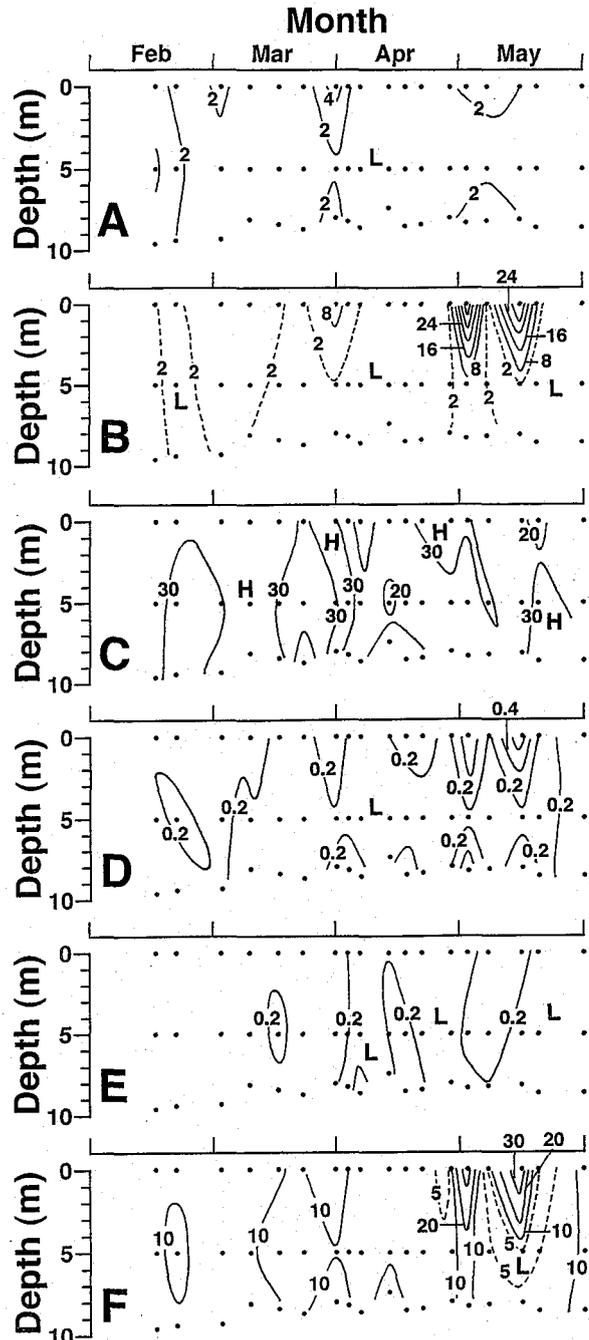


Fig. 2-4. Temporal changes in concentration (μM) of (A) ammonia-N, (B) (nitrite + nitrate)-N, (C) dissolved organic nitrogen, (D) phosphate-P, (E) dissolved organic phosphorus, and (F) silicate-Si in Kure Bay from February 17 to May 31, 1995.

に比べ表層で高く、また、特に表層では $0.3\sim 42\ \mu\text{M}$ の範囲で大きく変動した (Fig. 2-4B)。一方、中・底層では5月2日を除き、3月中旬以降、 $<1\ \mu\text{M}$ の低濃度で推移した。DON 濃度は $14\sim 39\ \mu\text{M}$ の範囲で変動し、観測期間中、比較的高濃度で存在していた (Fig. 2-4C)。

$\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度は $<0.10\sim 0.66\ \mu\text{M}$ の範囲で変動し、 $\text{NH}_4\text{-N}$ と同様、表層および底層に比べ中層で低い傾向がみられた (Fig. 2-4D)。中層では観測最終日の5月31日を除き、 $0.20\ \mu\text{M}$ を越えることはなかった。また、DOP 濃度は $<0.10\sim 0.37\ \mu\text{M}$ の範囲で変動したが、鉛直的な分布に明瞭な傾向は認められなかった (Fig. 2-4E)。

表層の $\text{SiO}_2\text{-Si}$ 濃度は $(\text{NO}_2+\text{NO}_3)\text{-N}$ と同様、 $3.1\sim 39\ \mu\text{M}$ の範囲で大きく変動した (Fig. 2-4F)。一方、中・底層では $3.4\sim 14\ \mu\text{M}$ の範囲で変動した。

粒状物質濃度の変動 POC, PON および PP はそれぞれ $21\sim 84\ \mu\text{M}$, $2.9\sim 8.5\ \mu\text{M}$ および $0.13\sim 0.70\ \mu\text{M}$ の範囲で変動し、それらの鉛直分布ならびに変動傾向は互いに類似していた (Fig. 2-5A, B, C)。ともに表層および中層では4月以降、比較的高濃度で推移し、表層では5月15日 (POC $68\ \mu\text{M}$, PON $7.3\ \mu\text{M}$, PP $0.69\ \mu\text{M}$) に、中層では4月17日 (POC $84\ \mu\text{M}$, PON $8.5\ \mu\text{M}$, PP $0.70\ \mu\text{M}$) に最高値を記録した。

BSi 濃度は $1.3\sim 17\ \mu\text{M}$ の範囲で変動し、5月15日を除くと通常表層に比べ中層および底層で高い傾向がみられた (Fig. 2-5D)。また、*S. costatum* および *Chaetoceros* spp. の細胞密度が最大であった4月13日および5月19日に極大となった。

Chl. *a* 濃度は $2.2\sim 13\ \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ の範囲で変動し、通常、表層、底層に比べ中層で高い傾向がみられた (Fig. 2-5E)。中層では3つのピーク (4月13~17日, 4月28~5月2日, 5月15~19日) が認められ、それぞれ *A. tamarense* と *S. costatum*, *A. tamarense* と *Chaetoceros* spp., *Chaetoceros* spp. の細胞密度の増加に対応していた。Phaeo 濃度は観測期間中、おおむね低濃度であったが ($<5\ \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$)、Chl. *a* 濃度の減少がみられた4月21日に全層 (表層 $10\ \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, 中層 $14\ \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, 底層 $17\ \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$) で急激に増加した (Fig. 2-5F)。

考 察

1995年に呉港で *A. tamarense* の出現が確認されたのは3月上旬であった。その後、細胞密度は4月中旬から5月初旬にかけてピークに達し、5月中旬には消滅した (Fig. 2-2A)。このような細胞密度の推移は過去3年間 (1992~1994年) の場合とほぼ類似している (広島県1993, 1994, 1995)。したがって、3月に出現し始め、4~5月に増殖後、遅くとも6月には消滅するというのが、広島湾における本種の典型的な消長パターンであるといえよう。ちなみに1995年にカキおよびアサリの毒量

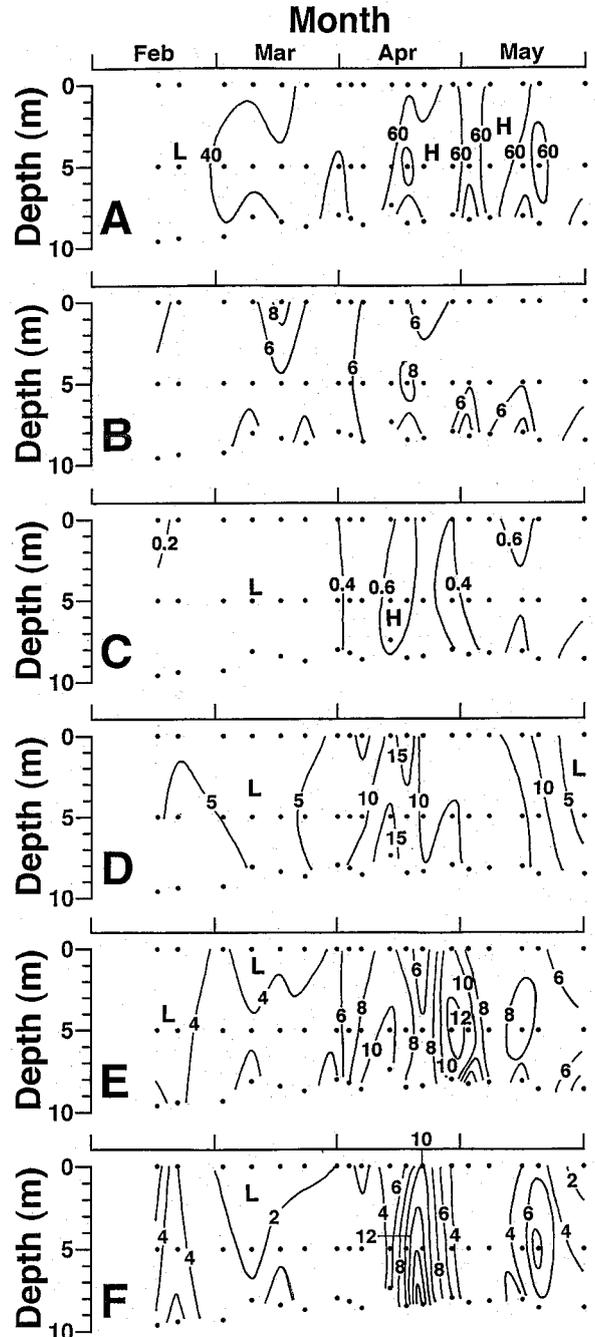


Fig. 2-5. Temporal changes in concentration of (A) particulate organic carbon (μM), (B) particulate organic nitrogen (μM), (C) particulate phosphorus (μM), (D) biogenic silica (μM), (E) chlorophyll *a* ($\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$), and (F) pheopigments ($\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$) in Kure Bay from February 17 to May 31, 1995.

が $4\ \text{MU}\cdot\text{g}^{-1}$ を超え、採取規制処置がとられたのは4月18日から5月22日までであり (広島県水産試験場1996), *A. tamarense* が高密度に存在していた期間とほぼ一致していた。

A. tamarense の活発な増殖がみられた4月中旬から5

月初めの水温は 12~15°C、塩分は26~33であった (Fig. 2-3A, B)。培養条件下で本種広島湾産株の増殖に及ぼす水温、塩分の影響について調べたところ、水温 12~20°C、塩分25~35の範囲で比増殖率が 0.30 d⁻¹ を上回ることが明らかとなっている (山本・樽谷 1997)。したがって、4月中旬から5月初めの水温、塩分は本種の増殖至適範囲にあり、このことが本種の増殖を可能とする一つの要因であったものと推察される。一方、水温の上昇が *A. tamarense* の消滅に大きく関与しているとする報告がいくつかなされてきた (Uchida *et al.* 1980, 山本他 1995)。しかしながら、今回の観測では水温 (16~18°C) が上記の増殖至適範囲内にあったにも関わらず、本種は消滅に至ったことから、水温の上昇と本種の消滅とを直接関連づけることは困難である。

植物プランクトンが現場海域において高密度の群集を形成するためには、生息する水塊の拡散率以上に高い増殖速度を維持することが必要となる (Okubo 1978)。*A. tamarense* は赤潮を形成するような他の植物プランクトン種と比較すると増殖速度が小さい (本報告第三章, 飯塚 1987)。また、擾乱にも弱く、ラングミュア循環や内部波、潮汐などはもちろんのこと、碎波による泡の形成のようなごく小規模の擾乱によっても、増殖が阻害されるであろうと推察されている (White 1976)。Therriault *et al.* (1985) は St. Lawrence Estuary での *A. tamarense* の分布と、隣接する河川によって形成されるプルームの分布とが一致していることから、水柱の安定をもたらす河川水の流入が本種の増殖を左右しているであろうと推測している。一方、呉港のような水深の浅い内湾域では降雨により湾内へ大量の河川水が流入すると、隣接する海域間との海水交換が増すため、湾内で増殖中の植物プランクトンを湾外へ運び去ってしまう。今回の観測でも表層塩分の低下がみられた降雨直後に *A. tamarense* が消滅に向かった (Fig. 2-2A, 3B)。このことから、本種の消滅に物理的な輸送もしくは拡散が密接に関与しているものと推察される。

DIN, PO₄-P および SiO₂-Si 濃度は、河川水が流入し、塩分濃度の低下した日の表層で急激に増加した。また、これらの日を除くと DIN および PO₄-P は観測期間中、おおむね低濃度であり、SiO₂-Si に関しても、3月中旬から5月中旬までの中層で低下する傾向がみられた (Fig. 2-4)。このことは、春季に呉港海域に供給される栄養塩の大部分が河川水の流入に依存しているであろうことを示唆している。そこで、栄養塩濃度と塩分との関係を調べたところ、表層では3種の栄養塩ともに塩分との間に有意な負の相関が認められた (Fig. 2-6, DIN; r = 0.95, PO₄-P; r = 0.89, SiO₂-Si; r = 0.92, p < 0.01)。ここで、塩分が33の時の濃度を海域でのバックグラウンド値 (DIN; 1.8 μM, PO₄-P; 0.22 μM, SiO₂-Si; 11 μM) であ

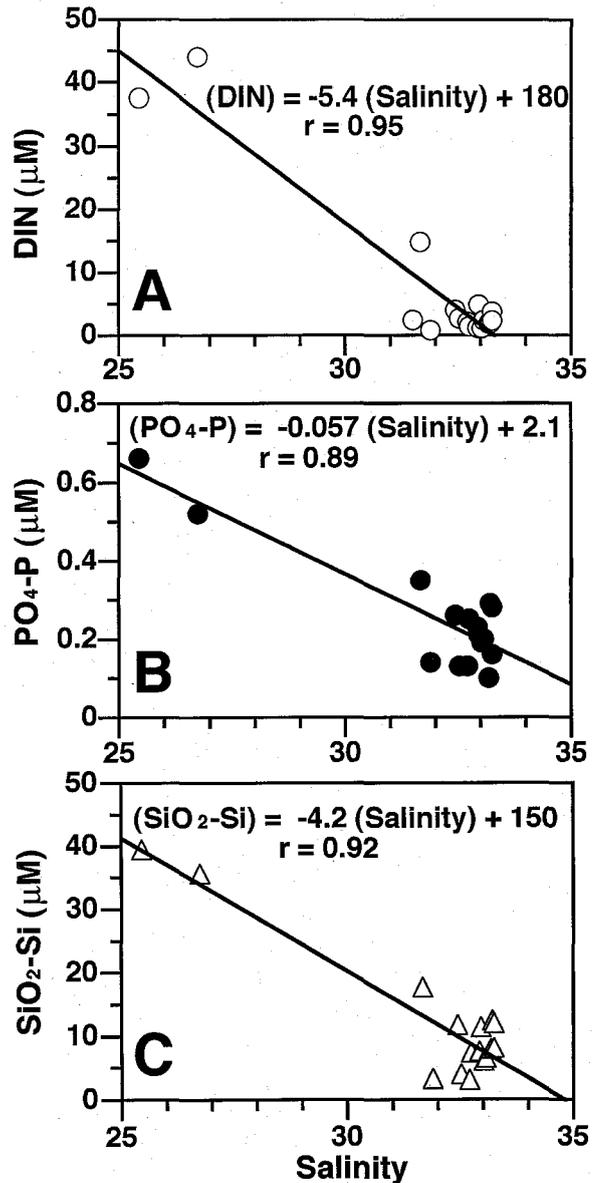


Fig. 2-6. Relationship between salinity and (A) dissolved inorganic nitrogen, (B) phosphate-P, and silicate-Si concentration at surface in Kure Bay from February 17 to May 31, 1995.

ると仮定すると、それぞれの回帰直線の切片の値からこのバックグラウンド値を差し引いた値は、負荷される淡水中の栄養塩濃度を示しているものと考えられる。このような手法から、負荷された淡水中の DIN, PO₄-P および SiO₂-Si 濃度はそれぞれ 180 μM, 1.9 μM および 140 μM と推定された。これらの値を1996年3~6月に太田川上流の大芝水門周辺域で測定された各栄養塩の最高濃度 (DIN; 120 μM, PO₄-P; 1.8 μM, SiO₂-Si; 180 μM, 杉山私信) と比較してみると、DIN については1.5倍程度高かったが、PO₄-P および SiO₂-Si に関してはほぼ一致していた。概算ではあるが、この結果も春季に呉港海域

Table 2-1. Reported half-saturation constants of nutrient uptake (K_p) for the marine phytoplankton species observed in the present study.

Species	K_p (μM)			
	$\text{NH}_4\text{-N}$	$\text{NO}_3\text{-N}$	$\text{PO}_4\text{-P}$	$\text{SiO}_2\text{-Si}$
Bacillariophyceae				
<i>Asterionellopsis glacialis</i>	0.6 – 1.5 ^{a)}	0.7 – 1.3 ^{a)}	–	–
<i>Chaetoceros debile</i>	0.5 ^{b)}	–	–	2.2 ^{b)}
<i>Ditylum brightwellii</i>	1.1 ^{a)}	0.6 ^{a)}	–	1.9 – 4.5 ^{c)}
<i>Leptocylindrus danicus</i>	0.5 – 3.4 ^{a)}	1.2 – 1.3 ^{a)}	–	–
<i>Skeletonema costatum</i>	0.5 – 3.6 ^{a)}	0.4 – 0.5 ^{a)}	0.7 ^{d, e)}	0.4 – 1.3 ^{e)}
Dinophyceae				
<i>Alexandrium tamarense</i>	2.0 ^{f)}	1.5 – 2.8 ^{f)}	1.9 – 2.6 ^{e, g)}	–
<i>Heterocapsa triquetra</i>	–	–	1.6 ^{e)}	–
<i>Prorocentrum minimum</i>	–	–	2.0 ^{b)}	–

^{a)} Eppley *et al.* (1969); ^{b)} Conway and Harrison (1977); ^{c)} Paasche (1973);

^{d)} Tarutani and Yamamoto (1994); ^{e)} This study; ^{f)} MacIsaac *et al.* (1979);

^{g)} Yamamoto and Tarutani (1996); ^{h)} Cembella *et al.* (1984)

に供給される栄養塩，特に $\text{PO}_4\text{-P}$ および $\text{SiO}_2\text{-Si}$ の大部分は河川水の流入に依存していることを支持するものである。

$\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度は観測期間中，おおむね低濃度であり，特に中層では観測最終日である5月31日を除くと $0.2 \mu\text{M}$ 以下であった。室内培養実験から得られている海産植物プランクトン種による $\text{PO}_4\text{-P}$ 取り込みの半飽和定数は $0.5\sim 3 \mu\text{M}$ 程度である (Table 2-1)。一方，DIN 濃度は低濃度時においても $0.7\sim 1.0 \mu\text{M}$ 程度存在しており，沿岸域で普遍的にみられる *S. costatum* や *Chaetoceros debile* の半飽和定数 ($0.4\sim 0.5 \mu\text{M}$) と比較すると高い。したがって，リンが呉港における観測期間中の植物プランクトンの増殖を制限していた要因の一つであると推察される。

$\text{SiO}_2\text{-Si}$ 濃度は，沿岸域で生息する珪藻類によるケイ酸塩取り込みの半飽和定数 ($0.6\sim 7 \mu\text{M}$; Table 2-1) と比べ，必ずしも小さいとは言えない。しかしながら， $\text{SiO}_2\text{-Si}$ については， $5\sim 10 \mu\text{M}$ の閾値が存在し，これ以下の濃度では他の増殖条件が揃っていても珪藻類は生育できないという報告もあることから (角皆 1979)，ケイ素が珪藻類の増殖を制限していた可能性も充分考えられる。また，今回の観測において，*S. costatum* から *Chaetoceros* spp.，次いで *L. danicus* へという順で珪藻類の優占種が変化した。大部分の珪藻類はケイ素濃度の低下に鋭敏に反応し，ケイ素による増殖制限下でその沈降速度が増加するが (Bienfang *et al.* 1982, Harrison *et al.* 1986)，*L. danicus* や *Chaetoceros* 属の数種はケイ素濃度の低下時にも小さい沈降速度を維持することが知られている (Bienfang and Harrison 1984)。したがって，呉港で観察された珪藻類の種遷移を沈降速度に代表される各珪藻種のケイ素濃度の低下に対する反応の相違とし

て説明することも可能である。

A. tamarense は生活史のある時期に休眠シストを形成することから，底泥中に存在するシストの現存量や分布ならびにシストの休眠・発芽生理に関する情報が本種の個体群動態を明らかにするうえで重要であるという指摘がなされている (Anderson and Wall 1978, Anderson *et al.* 1983, Anderson *et al.* 1984)。山口他 (1995) は広島湾底泥中における本種シストの水平・鉛直分布について調査を行い，シストの高密度分布域と栄養細胞の高密度出現域とが極めてよく一致していること，また，一部の海域 (呉湾を含む) では $1.0 \times 10^3 \text{ cysts} \cdot \text{cm}^{-3}$ を越える高い密度で本種シストが存在していることを明らかにした。このようにシストが本種の seed population として重要な役割を果たしていることは確かであるが，仮にこれらのシストがすべて発芽し，約 10 m 程度の水深の海域中に放出されたとしても，その密度は $1 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ 程度に過ぎず，実際に観測された最高密度と比較すると 1~2 桁小さい。したがって，ブルームの形成という点では，シストの分布や生態に関する研究に加え，栄養細胞の増殖生理に関する研究も重要となる。

今回の観測から，呉港においては，(1) *A. tamarense* の増殖期にも *S. costatum* や *Chaetoceros* spp. などの珪藻類が比較的高密度で存在しており，これらの間で明瞭な種遷移は認められないこと，(2) 環境水中の無機栄養塩濃度，特に $\text{PO}_4\text{-P}$ が低濃度であることから，植物プランクトンの増殖は $\text{PO}_4\text{-P}$ によって制限されている可能性が高いこと，(3) 栄養塩の供給は主に河川水の流入に依存しており，比較的低頻度であること，が明らかとなった。このような結果は，広島湾における *A. tamarense* の増殖機構を解明するうえで，栄養塩に対する植物プランクトンの増殖反応ならびに群集動態に着目した研究が必

要であることを示すものである。

第三章 *Alexandrium tamarense* のリン酸塩取り込みおよび増殖の動力学：*Heterocapsa triquetra* および *Skeletonema costatum* との比較

栄養塩は植物プランクトン細胞レベルでの増殖や機能的応答にとどまらず、自然環境下における種間の競争的排除や共存、ひいては種遷移機構に影響を及ぼす重要な要因の一つである。そのため、植物プランクトンの増殖と栄養塩との関係を定量的に把握しようとする試みが多く、研究者によって行われてきた。

植物プランクトンの増殖速度と栄養塩との関係は、通常、2種類の双曲線型のモデル式で表される。ひとつは、増殖速度 (μ) がその増殖を制限している栄養塩の濃度 (S) に依存するというもので、Monod の式として知られている (Monod 1949)。

$$\mu = \mu_m \frac{S}{K_s + S}, \quad (3.1)$$

ここで、 μ_m は最大比増殖速度、 K_s は半飽和定数である。Monod の式は、環境水中の栄養塩濃度と植物プランクトンの増殖応答とを直接関連づけたものであることから、生態学的議論を進めるうえで有益である。しかしながら、通常の化学分析法では低濃度の栄養塩濃度を測定することが非常に難しいという方法論的な問題から (例えば、ケモスタット連続培養の場合、増殖速度が μ_m に近い時を除くと、増殖を制限している栄養塩の濃度は通常、検出限界以下となる)、実際のデータへの(3.1)式の適用はしばしば困難となる。一方、Droop (1968, 1973) は、増殖速度が環境水中の栄養塩濃度に直接依存するのではなく、むしろ栄養塩の細胞内含有量 (Q) に依存していることを実験的に示した。これが、次のDroop の式である。

$$\mu = \mu'_m \left(1 - \frac{Q_0}{Q}\right), \quad (3.2)$$

ここで、 μ'_m は Q が無限大の時の比増殖速度、 Q_0 は Q の最小含有量である。Droop の式は植物プランクトンや栄養塩の種類を問わず、実験的に良く当てはまることが知られている (Droop 1983)。

植物プランクトンによる栄養塩の取り込み速度 (ρ) は、環境水中の濃度 (S) に依存して、酵素反応式である Michaelis-Menten 式と同じ形の次のようなモデル式で表現される (Dugdale 1967)。

$$\rho = \rho_{\max} \frac{S}{K_p + S}, \quad (3.3)$$

ここで、 ρ_{\max} は最大取り込み速度、 K_p は半飽和定数である。

植物プランクトンは種によってそれぞれ異なった生理

的特性を持っており、その違いが栄養塩をめぐる種間競争にも反映される。栄養塩の取り込みや増殖は多数の系から成る非常に複雑な過程であり、上記のモデル式の導入はあくまで経験的なもの以上の根拠はない。したがって、DroopモデルやMichaelis-Mentenモデルから得られる各種のパラメータがどのような生理的意味を持つかという点においても明確であるとはいえない。しかしながら、栄養塩の取り込みや増殖といった過程を総括してとらえた場合、これらのパラメータが植物プランクトンの生理的特性を表す何らかの指標となりうることも確かである。また、これまでに数多くの研究の蓄積があることから、比較論的な側面においても、その有用性は高い。

通常、海洋における植物プランクトンの増殖は窒素によって制限されている場合が多いと考えられている (Kilham and Hecky 1988, Mahoney 1989)。そのため、上記のような海産植物プランクトンの増殖および栄養塩取り込みの動力学解析は、もっぱら $\text{NO}_3\text{-N}$ もしくは $\text{NH}_4\text{-N}$ を対象に行われてきた感がある。しかしながら、近年、本邦沿岸域では排水中のリンの除去や無リン合成洗剤の使用などの措置によって、リンの流入負荷量が減少傾向にある (例えば、城 1991)。また、阿知波・岩崎 (1990) は、伊勢湾海水に $\text{NO}_3\text{-N}$ を添加しても *A. tamarense* の増殖促進はみられなかったが、 $\text{PO}_4\text{-P}$ の添加でその増殖が数倍促進されたと報告している。これらのことは、本邦沿岸域では窒素よりもリンが植物プランクトンの増殖を制限していることを示唆するものである。

そこで本章では、*A. tamarense* と本種の増殖時にも現場海域で比較的高密度に存在していた渦鞭毛藻 *H. triquetra* および珪藻 *S. costatum* のリン制限条件下における増殖ならびに $\text{PO}_4\text{-P}$ 取り込みの基本的な動力学的特性を明らかにした。

材料および方法

供試株と培養条件 実験に用いた *A. tamarense* は1992年5月に広島県水産試験場の高山晴義氏が広島湾から採取、分離した単種株 (ATHS92) を譲り受け、ピペット洗浄法 (西澤・千原 1979) によって無菌化したクローン株である。また、*S. costatum* および *H. triquetra* はともに筆者が1995年5月に広島湾から分離し、同様に処理した無菌クローン株である。

継代培養時には、広島湾表層海水を用いて作成した海水強化 f/2 培地 (Guillard 1975; Table 3-1) に土壌抽出液を5%の割合で添加したものを培地として使用した。土壌抽出液は、広島湾奥部から採取した底泥に同重量のイオン交換水を加え、オートクレーブ分解 (121°C, 30分) することにより作成した。一方、前培養ならびに本実験の際には、人工海水 L1 培地 (Guillard and Hargraves

Table 3-1. Chemical composition of culture media.

	f/2 (Guillard 1975)	L1 (Guillard 1995)
Seawater	1000 ml	
Distilled water		1000 ml
NaCl		410 mM
KCl		8.0
MgCl ₂ · 6H ₂ O		14.8
MgSO ₄ · 7H ₂ O		20.3
CaCl ₂ · 2H ₂ O		2.7
KBr		10.0 μM
SrCl ₂ · 6H ₂ O		100.0
H ₃ BO ₃		97.0
NaF		10.0
KI		0.20
NaHCO ₃		4.76 mM ^a
Macro nutrients		
NaNO ₃	883 μM	883 μM
NaH ₂ PO ₄ · 2H ₂ O	36.3	36.3
Na ₂ SiO ₃ · 9H ₂ O	107	107
Trace metals		
FeCl ₃ · 6H ₂ O	11.7 μM	11.7 μM
Na ₂ EDTA · 2H ₂ O	11.7	11.7
MnCl ₂ · 4H ₂ O	900 nM	900 nM
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	80.0	80.0
CoCl ₂ · 6H ₂ O	50.0	50.0
CuSO ₄ · 5H ₂ O	20.0	10.0
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	30.0	90.0
Na ₂ SeO ₃		10.0
NiCl ₂ · 6H ₂ O		10.0
Vitamins		
Thiamin HCl	300 nM	300 nM
Biotin	2.1	2.1
B ₁₂	0.37	0.37

^a 2.38 mM in original L1 media (Guillard 1995)

1993, Guillard 1995; Table 3-1) を用いた。ただし、培養が進むにつれ炭酸塩が植物プランクトンの増殖を制限する可能性を危惧し、NaHCO₃ の添加量を 2.38 mM から 4.76 mM に増量した。窒素源およびリン源としてはそれぞれ NaNO₃ および NaH₂PO₄ · 2H₂O を用い、SiO₂-Si (Na₂SiO₃ · 9H₂O) は *S. costatum* の培養時にのみ添加した。NO₃-N, PO₄-P および SiO₂-Si 濃度は、それぞれ 200 μM, 2 μM および 200 μM とした。これらをろ過滅菌後、培養に使用した。培養時の温度は 15 ± 1°C, 光強度は 200 μE · m⁻² · s⁻¹ とし、明暗周期は 12L: 12D に設定した。

半連続培養 増殖とその制限栄養塩の細胞内含有量との関係を定量的に把握する際には、培養法としてケモスタット連続培養系もしくはサイクロスタット連続培養系を用いる場合が多い。本研究においても当初、サイクロスタット連続培養の適用を試みたが、供試種の一つ *A.*

tamarense が培養液を攪拌することでその増殖を著しく阻害されたことから、攪拌を必要としない半連続培養を採用した。

PO₄-P を増殖制限因子としたバッチ培養で対数増殖中の細胞を含む培養液を 10~12 本の 300 ml 三角フラスコに 150 ml ずつ分注した。翌日より毎日 10:00~10:30 に希釈率 (*A. tamarense* および *H. triquetra*; 0.10~0.35 d⁻¹, *S. costatum*; 0.10~0.50 d⁻¹) に応じて培養液を抜き取り、これと同量の L1 培地を添加した。抜き取った培養液中の細胞密度を連日測定し、その変動が ±5% の相対誤差内に収斂したとき、系は定常状態に達したとみなして細胞密度、培養液中の PO₄-P 濃度および POC 濃度を測定した。

細胞内リン含有量 (*Q*) は PO₄-P の濃度変化から次式により求めた。

$$Q = \frac{S_0 - S}{N}$$

ここで、*S*₀ は添加培地中の PO₄-P 濃度、*S* は培養液中の PO₄-P 濃度、*N* は細胞密度である。また、培養液の希釈により減少した細胞密度が指数的に増殖を行うことで翌日の希釈時には回復するものと考え、比増殖速度 (*μ*) は次式によって算出した (Tilman and Kilham 1976, Nakamura 1985)。

$$\mu = -\ln(1 - D)$$

ここで、*D* は希釈率である。

比増殖速度は細胞内リン含有量の関数として Droop の式 (3.2) で表し、細胞内含有量依存性について定量的に評価した。パラメータ (*μ*'_{*m*}, *Q*₀) は、非線形最小自乗法によって推定した。

リン酸塩の取り込み 栄養塩取り込みの濃度依存性を評価するためには、栄養塩添加後、その取り込み速度が一定である時間内、すなわち、細胞の履歴が変化しないような時間内で実験を行うことが必要となる (Harrison *et al.* 1989)。そこで、本研究では、まず、PO₄-P 取り込みの経時的な変動傾向を明らかとし、その結果をもとに可能な限り細胞の履歴が変化しないような時間内で PO₄-P 取り込みの濃度依存性について検討することとした。

実験は、リン欠乏状態にある細胞を対象に行った。そのため、まず、PO₄-P を増殖制限因子としたバッチ培養系において、培養液中の PO₄-P が枯渇し、細胞の増殖が停止するまで前培養を行った。この前培養液を PO₄-P を含まない L1 培地で希釈した後、濃度が約 4 μM となるように PO₄-P を添加した。10 秒間攪拌後、2~30 分間隔で培養液を採取し、PO₄-P 濃度の経時変化を追跡した。

同様の操作で得られた前培養液を 100 ml 三角フラスコ 12 本に 50 ml ずつ分注した。これらに濃度が約 0.50~10 μM となるよう PO₄-P を添加し、一定時間培養後、

培養液中の PO₄-P 濃度を測定した。培養時間は上述の取り込み速度の経時変化に関する実験結果に基づき、*A. tamarense* および *H. triquetra* の場合には20分間、*S. costatum* の場合には5分間とした。また、添加時の PO₄-P 濃度は、あらかじめ前培養液を濾過して細胞を除去した培養液に PO₄-P を添加し、その濃度を測定することによって求めた。すべての実験は、明期期間中に行った。取り込み速度は、培養前後の PO₄-P の濃度変化から求め、添加時の PO₄-P 濃度の関数として Michaelis-Menten 式(3.3)で表すことで、その濃度依存性について定量的に評価した。パラメータ (ρ_{max} , K_p) は、非線形最小自乗法によって推定した。

分析方法 PO₄-P および PP 濃度は、試水をあらかじめ湯洗 (80°C, 10分) したメンブランフィルター (Millipore, Type RA, 孔径 1.2 μm) で吸引濾過 (<10 cmHg) し、それぞれモリブデンブルー法 (Murphy and Riley 1962), 過塩素酸加圧分解-モリブデンブルー法 (Strickland and Parsons 1972) によって分析した。また、POC濃度は試水をあらかじめ強熱 (450°C, 2時間) したグラスファイバーフィルター (Whatman GF/C) で吸引濾過し、Yanaco 社製 CHN コーダ (MT-3) を用いて分析した。

細胞密度は、試水をルゴール液で固定後、Sedgwick-Rafter 計数板, Palmer-Maloney 計数板もしくは血球計数板を用い、少なくとも400細胞を計数することによって求めた。

結 果

増殖の細胞内リン含有量依存性 *H. triquetra* および *S. costatum* では、その定常状態時において、培養液中の PO₄-P 濃度はすべての希釈率で検出限界 (0.01 μM) 以下であり、これらの増殖が PO₄-P によって制限されていることが確認された。*A. tamarense* についても、希釈率が 0.10~0.25 d⁻¹ の範囲では PO₄-P が検出されず、本種の場合にもその増殖が PO₄-P によって制限されていた。しかし、希釈率が0.30および0.35 d⁻¹ の場合には、細胞密度が急激に減少するとともに、微量ながら培養液中に PO₄-P が残存していた。これは、おそらく希釈率が本種の最大増殖速度に近づいたために生じた現象 (washout) であると考えられる。

Droop の式から見積もられた *A. tamarense* の μ_m^C および Q_0^C はそれぞれ 0.54 d⁻¹, 0.56 pmol · cell⁻¹ であった。また、*H. triquetra* および *S. costatum* の μ_m^C はそれぞれ 0.72 d⁻¹ および 1.2 d⁻¹, Q_0^C はそれぞれ 0.21 pmol · cell⁻¹ および 4.0 fmol · cell⁻¹ と見積もられた。

種によって細胞サイズが大きく異なるため、細胞内リン含有量の指標として細胞内 P/C 比を用い、3種の増殖特性を比較した (Fig. 3-1, Table 3-2)。*A. tamarense* の

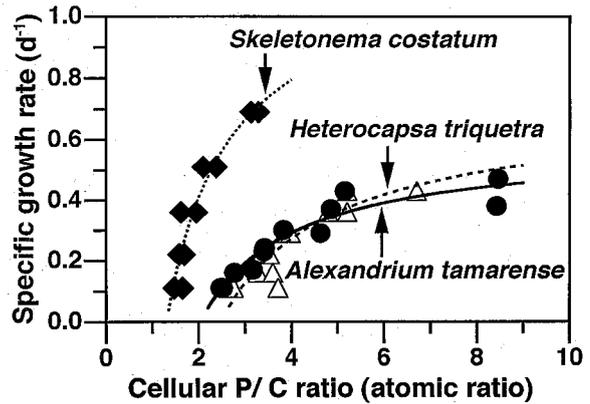


Fig. 3-1. Comparison of specific growth rates as a function of cellular phosphorus to carbon ratio for *Alexandrium tamarense* (●), *Heterocapsa triquetra* (△), and *Skeletonema costatum* (◆). Each curve shows the best fit to the Droop equation.

Table 3-2. Growth kinetics parameters of *Alexandrium tamarense*, *Heterocapsa triquetra*, and *Skeletonema costatum* obtained by fitting the Droop model to the experimental data. 95% confidence limits in parentheses

	Q_0^C (pmol P · nmol C ⁻¹)	μ_m^C (d ⁻¹)
<i>Alexandrium tamarense</i>	2.0 (1.7 - 2.3)	0.59 (0.50 - 0.68)
<i>Heterocapsa triquetra</i>	2.5 (1.9 - 2.8)	0.71 (0.50 - 0.91)
<i>Skeletonema costatum</i>	1.3 (1.1 - 1.5)	1.2 (0.88 - 1.5)

細胞内 P/C 比は、*S. costatum* の1.0~5.8倍に相当した。このことは、本種の単位細胞内リン含有量あたりの炭素収量が *S. costatum* に比べ相対的に小さいことを示している。また、 μ_m^C , Q_0^C (それぞれ細胞内リン含有量を単位炭素含有量あたりで表したときの最大比増殖速度および単位炭素含有量あたりの最少細胞内リン含有量) に関しては両種間で有意な差 (P<0.05) が認められた。すなわち、*A. tamarense* は *S. costatum* に比べ、 μ_m^C が 1/2 であるのに対し、 Q_0^C は約1.5倍であった。同様の関係は *H. triquetra* と *S. costatum* との間でもみられ、*H. triquetra* の μ_m^C および Q_0^C は *S. costatum* のそれぞれ約 3/5 および 1.9倍であった。一方、*A. tamarense* と *H. triquetra* とを比較すると、両種間に有意な差は認められないものの、*A. tamarense* の方が *H. triquetra* よりも μ_m^C (0.83倍), Q_0^C (0.82倍) ともに小さい傾向にあった。リン酸塩取り込みの経時変化 *A. tamarense* の場合、PO₄-P 添加後約20分間は、ほぼ一定の速度で取り込みを行い、20分後の細胞内リン含有量は添加前の約1.3倍に達した。その後の PO₄-P 取り込み速度も実験終了時までほぼ一定であったが、添加後20分間の取り込み速度と比べると有意に低下した (P<0.05, Fig. 3-2)。*H. triquetra* の場合にも、同様に取り込み速度の低下が PO₄-P 添加後

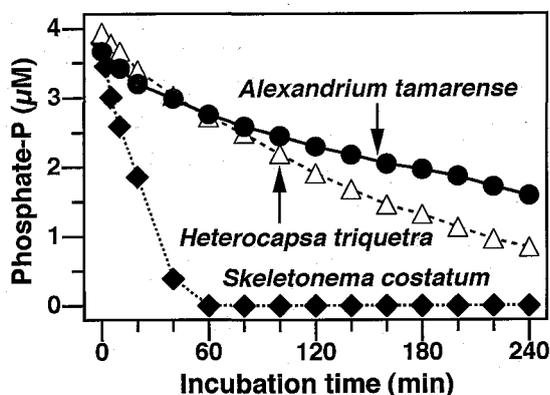


Fig. 3-2. Changes in external phosphate concentration after perturbing the phosphorus-starved cultures of *Alexandrium tamarense* (●), *Heterocapsa triquetra* (△), and *Skeletonema costatum* (◆) with 4 μM phosphate.

約20分でみられた。また、20分以降の取り込み速度も実験終了時までほぼ一定であった。*S. costatum* の場合には、取り込み速度の低下が $\text{PO}_4\text{-P}$ 添加後10分以内にみられた。

リン酸塩取り込みの濃度依存性 Michaelis-Menten 式

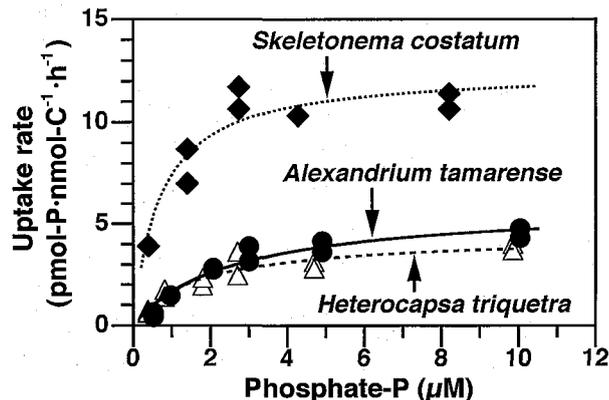


Fig. 3-3. Comparison of carbon-normalized phosphate uptake rates as a function of external phosphate concentration for *Alexandrium tamarense* (●), *Heterocapsa triquetra* (△), and *Skeletonema costatum* (◆). Each curve shows the best fit to the Michaelis-Menten equation.

から見積もられた *A. tamarense* の ρ_{\max} および K_p はそれぞれ 1.4 pmol · cell⁻¹ · h⁻¹, 2.6 μM であった。また、*H. triquetra* および *S. costatum* の ρ_{\max} はそれぞれ 0.39 pmol · cell⁻¹ · h⁻¹ および 38 fmol · cell⁻¹ · h⁻¹, K_p はそれぞれ 1.6 μM および 0.68 μM と見積もられた。

$\text{PO}_4\text{-P}$ 取り込み速度を単位炭素含有量あたりで表し、3種の $\text{PO}_4\text{-P}$ 取り込み能を比較した (Fig. 3-3, Table 3-3)。*A. tamarense* は *S. costatum* に比べ ρ_{\max}^C (単位炭素含有量あたりの最大 $\text{PO}_4\text{-P}$ 取り込み速度) が小さいのに対し、 K_p^C ($\text{PO}_4\text{-P}$ 取り込み速度を単位炭素含有量あたりで表したときの半飽和定数) は大きいという結果が得られた ($P < 0.05$)。*H. triquetra* の ρ_{\max}^C も *S. costatum* のそれに比べて有意に小さかったが、 K_p^C に関しては *H. triquetra* の方が大きいもののその差は有意であるとはいえなかった。*A. tamarense* と *H. triquetra* とでは ρ_{\max}^C , K_p^C ともに有意な差が認められなかったが、両種の $\text{PO}_4\text{-P}$ 取り込み速度を比較すると、高濃度条件下 (> 2 μM) で *A. tamarense* の方が大きい傾向にあった。

考 察

A. tamarense と *S. costatum* との各動力学的パラメータを比較すると、増殖の点においても、また、 $\text{PO}_4\text{-P}$ の取り込みに関しても有意な差が認められた。すなわち、*A. tamarense* の μ'_m は *S. costatum* の約1/2に過ぎず、また、*A. tamarense* が *S. costatum* と同等の速度で増殖するためには約1.5~2倍の細胞内リン含有量を必要とした。さらに *A. tamarense* の $\text{PO}_4\text{-P}$ 取り込み速度は、環境水中の $\text{PO}_4\text{-P}$ がいかなる濃度であっても、*S. costatum* を下回った。同様の関係は、*H. triquetra* と *S. costatum* との間にも成り立つ。このことは、自然環境下において、 $\text{PO}_4\text{-P}$ のみを植物プランクトンの増殖制限因子として考えた場合には、*A. tamarense* や *H. triquetra* が *S. costatum* より優占することはもちろんのこと、共存することでさえも不可能であることを意味している。したがって、*A. tamarense* や *H. triquetra* がその個体群を拡大するためには *S. costatum* の増殖が他の要因、例えば $\text{SiO}_2\text{-Si}$ 濃度など、によって制限されることが必要となる。

Table 3-3. Phosphate uptake kinetics parameters of *Alexandrium tamarense*, *Heterocapsa triquetra*, and *Skeletonema costatum* obtained by fitting the Michaelis-Menten model to the experimental data. 95% confidence limits in parentheses

	K_p^C (μM)	ρ_{\max}^C (pmol P · nmol C ⁻¹)	ρ_{\max}^C / K_p^C
<i>Alexandrium tamarense</i>	2.6 (1.5 - 4.6)	5.9 (4.8 - 7.6)	2.3
<i>Heterocapsa triquetra</i>	1.7 (0.78 - 3.5)	4.4 (3.5 - 5.8)	2.6
<i>Skeletonema costatum</i>	0.68 (0.13 - 1.6)	13 (11 - 15)	19

一方, *S. costatum* の増殖が $\text{PO}_4\text{-P}$ 以外の要因によって制限されている場合を想定すると, *A. tamarense* と *H. triquetra* の優劣関係が $\text{PO}_4\text{-P}$ の濃度や供給頻度によって変化する可能性が生じる。植物プランクトンの栄養塩獲得戦略には以下の3つのタイプがあることが知られている (Sommer 1985, 1989)。

(1) 低濃度の栄養塩を効率的に取り込む親和性戦略 (affinity strategy; ρ_{\max}/K_p が大)。

(2) 取り込んだ栄養塩を速やかに利用して増殖する増殖戦略 (growth strategy; μ'_m が大)。

(3) 取り込んだ栄養塩を細胞内に蓄える蓄積戦略 (storage strategy; $\rho_{\max} > \mu'_m$)。

A. tamarense は μ'_m に比べると ρ_{\max} が大きいことから, 蓄積戦略をとる種であると考えられる。一方, *H. triquetra* は μ'_m が比較的大きいことから, 増殖戦略をとる種であるとみなせよう。したがって, $\text{PO}_4\text{-P}$ が連続的に供給されているような条件下では, 取り込んだ $\text{PO}_4\text{-P}$ を速やかに利用して増殖する *H. triquetra* が有利であるのに対し, $\text{PO}_4\text{-P}$ がパルス的に供給されるような条件下では, 供給時に必要量以上の $\text{PO}_4\text{-P}$ を取り込み, $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度が低下した際にこれを利用して増殖することが可能な *A. tamarense* が有利な地位を占めるであろうことが推察される。

植物プランクトンによる栄養塩の取り込み速度は, 通常, その濃度に依存して, 酵素反応式である Michaelis-Menten 式と同じ形のモデル式 (3.3) で表現される (Dugdale 1967)。しかしながら, 栄養塩の取り込み速度が, 栄養塩濃度のみならず, 細胞の生理状態 (細胞内の栄養塩含有量) にも依存し, 時間とともに変化する例が海産植物プランクトンのいくつかの種で知られている (Conway *et al.* 1976, Collos 1983, Harrison *et al.* 1989)。例えば, Conway *et al.* (1976) は, $\text{NH}_4\text{-N}$ または $\text{SiO}_2\text{-Si}$ を増殖制限因子とした *S. costatum* に各栄養塩を添加したときの取り込み速度の変動を調べ, 添加後30~60分以内に急速な取り込みが見られること, また, その後数時間はそれよりもかなり小さい一定の速度で取り込みを行うことを示し, それぞれを V_s (surge uptake) および V_i (internally controlled uptake) と定義した。*A. tamarense* をはじめとする3種の植物プランクトンのリン欠乏細胞に $\text{PO}_4\text{-P}$ を添加したときの $\text{PO}_4\text{-P}$ 取り込み速度にも同様の変動が認められた (Fig. 3-4)。Conway *et al.* (1976) は, V_s を細胞内に存在する栄養塩プールの充足期間と位置づけ, V_i は細胞内栄養塩プールの充足による制限が働いている場合の取り込み速度であろうと推察した。また, Dugdale (1977), Dugdale *et al.* (1981) は, このような現象を Truncation モデルという考え方で一般化することを提唱した。すなわち, 潜在的な取り込み能は不変であると仮定した場合に, 細胞内栄養塩

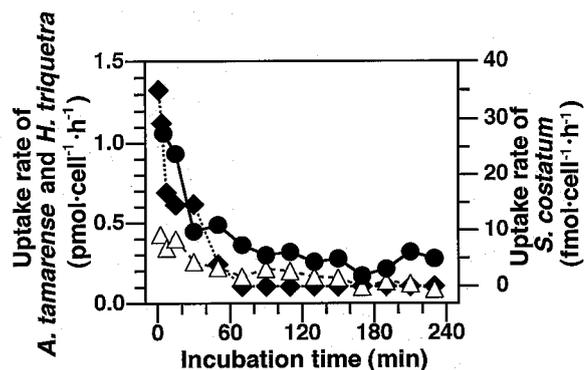


Fig. 3-4. Changes in phosphate uptake rates after perturbing the phosphorus-starved cultures of *Alexandrium tamarense* (●), *Heterocapsa triquetra* (△), and *Skeletonema costatum* (◆) with 4 μM phosphate.

プールの充足によるフィードバック阻害などが働くと, 取り込み速度の Michaelis-Menten 型濃度依存曲線のある範囲が切り取られた形で表現されるとするものである。リン欠乏状態にある *A. tamarense* 細胞の $\text{PO}_4\text{-P}$ 取り込み速度に関しても, その $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度依存性が V_s に相当する短時間の取り込みから得られた濃度依存曲線の一部が切り取られた形で表された (Fig. 3-5A)。同様の関係は *H. triquetra* および *S. costatum* の $\text{PO}_4\text{-P}$ 取り込みについても成り立つ (Fig. 3-5B, C)。

このような現象は, 栄養塩欠乏状態にある細胞に栄養塩を添加した場合に必ず観察されるとは限らない (Collos 1983)。ただ, 最近の報告例では, 上記のような急速取り込みが数分以内の時間スケールで見られる場合もあることから (Parslow *et al.* 1985, Harrison *et al.* 1989), 実験時間の設定によって見落とされていた可能性があることも事実である (神田 1993)。今回の結果から, 少なくとも *A. tamarense*, *H. triquetra* および *S. costatum* の $\text{PO}_4\text{-P}$ 取り込みに関しては時間的な変動を考慮すべきである。これまでの研究では, 特定のタイムスケールで得られたパラメータを種間で比較して, 環境への適応を論じたり, 単一の Michaelis-Menten 式を組み込んだ生態系モデルによって, 現場環境を再現しようとする場合がしばしば見られた。しかしながら, 自然環境下, 特に沿岸域における植物プランクトンの個体群動態を考える場合, 栄養塩環境は時間的・空間的に大きく変動していることから, 定常状態を想定した議論は必ずしも適切ではない。したがって, 植物プランクトン種間の競合関係や複数種の共存機構を解明するためには, さらに非定常条件下での動態をも考慮したモデルを導入することが必要であると考えられる。

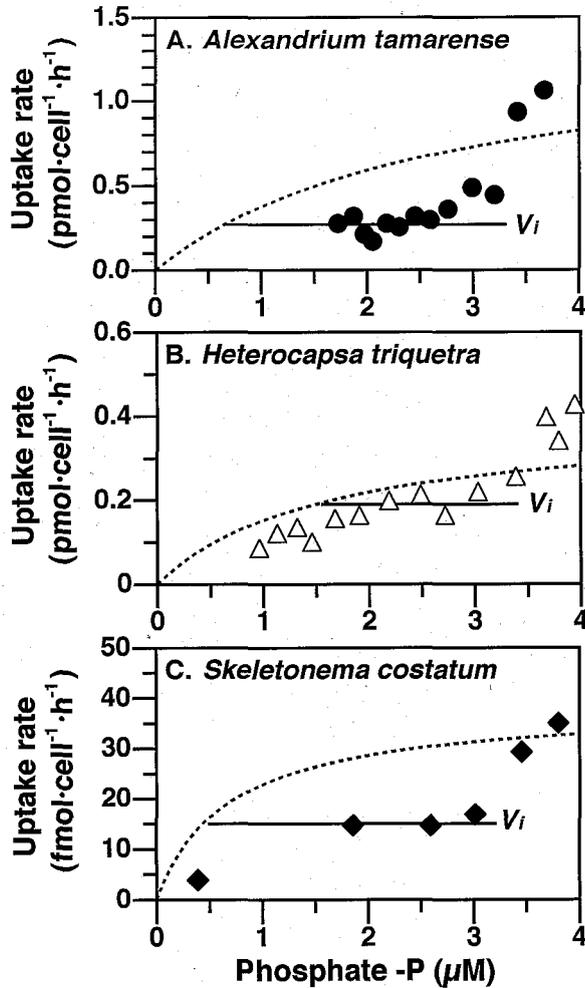


Fig. 3-5. Phosphate uptake rate versus phosphate concentration after perturbing phosphorus-starved culture of (A) *Alexandrium tamarense*, (B) *Heterocapsa triquetra*, and (C) *Skeletonema costatum* with $4 \mu\text{M}$ phosphate. The dashed curves show the Michaelis-Menten equation obtained with short-term uptake experiments. The solid lines show the internally controlled uptake rates (V_i).

第四章 非定常条件下での *Alexandrium tamarense* の個体群動態とそのモデル化

栄養塩の取り込みや増殖を動力学的に解析し、植物プランクトンの個体群動態や群集の形成機構を明らかにしようとする試みは、これまでも数多く行われてきた。例えば、Eppley *et al.* (1969) は、海産植物プランクトン種について、その栄養塩の取り込みと増殖をそれぞれ Michaelis-Menten 式および Monod 式で近似し、それらの半飽和定数を比較することにより分布特性や種遷移機構を解析した。また、Tilman (1980, 1981) は、Monod 式を組み込んだ資源競合モデルから、淡水産植物プランクトンの種間競合や共存機構を説明した。

これらの研究は、その大部分が定常状態という仮定に

基づくものである。個体群の平衡が成り立つのは、それらの動態に影響を及ぼす様々な要因が時間的に安定している場合に限られる。しかしながら、比較的安定した環境が長期にわたり維持されていると考えられてきた亜熱帯外洋域においても、内部波や二重拡散などの作用によって、物理的な擾乱の生じることが明らかとなってきた (Denman and Gargett 1983)。時間的、空間的な環境変動が大きい内湾、沿岸域においては、さらに多種多様な要因が作用することによって、系が定常状態に達するのを妨げている。したがって、沿岸海洋環境下での植物プランクトンの個体群動態や種遷移機構を議論するためには、定常状態の仮定に基づく理論の見直しもしくは非定常状態を想定した新たな理論の構築が必要不可欠である。

ある個体群の動態が定常状態に達するのを妨げる機構のひとつとして擾乱が挙げられる (Hutchinson 1961, Connell 1978)。海洋においては、このような擾乱のひとつとして栄養塩供給の変動が想定されている (McGowan and Walker 1985)。本章では、定常状態における増殖や栄養塩取り込みの動力学的特性が顕著に異なる2種の植物プランクトン、*A. tamarense* および *S. costatum* を $\text{PO}_4\text{-P}$ の供給頻度が異なる条件下で培養し、それらの個体群動態について検討した。また、実験結果をもとに、このような非定常条件下での個体群動態の予測を可能とする動的モデルの構築を試みた。

材料および方法

供試株および培養条件 実験に用いたのは *A. tamarense* および *S. costatum* の無菌クローン株である。培養条件などは第三章と同じである。

非定常半連続培養 実験は半連続培養系で行い、希釈率は *A. tamarense* 細胞が washout せず、かつ *S. costatum* 細胞の増殖が過度のリン制限状態に陥らないように 0.25 d^{-1} とした。培養容器にはあらかじめオートクレーブ滅菌を施した 500 ml 三角フラスコを用い、培養液の容量は 240 ml とした。 $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度を $2 \mu\text{M}$ とした L1 培地に、細胞密度が *A. tamarense* の場合には $1.0 \times 10^2 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ 、*S. costatum* の場合には $1.0 \times 10^4 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ となるように、リン酸塩を増殖制限因子としたバッチ培養で対数増殖中の細胞を接種し、翌日からサンプリングを開始した。

増殖制限栄養塩である $\text{PO}_4\text{-P}$ の供給頻度を変えた2通りの実験系を組んだ。一つは、通常の半連続培養と同様に1日1回、 $2 \mu\text{M}$ の $\text{PO}_4\text{-P}$ を含む培地で希釈することによって、 $\text{PO}_4\text{-P}$ を供給した。もう一つは、 $\text{PO}_4\text{-P}$ を7日間隔で供給した。すなわち、0, 7 および14日目のみ $\text{PO}_4\text{-P}$ を含む培地を添加し、1~6日目、8~13日目および15~20日目 (*A. tamarense* の培養時のみ) は $\text{PO}_4\text{-P}$ を含まない培地で希釈を行った。添加培地中の

PO₄-P 濃度は、供給する PO₄-P の総量が上記の実験系と同量となるように 14 μM とした。

1 日 1 回、希釈の際に抜き取る培養液について、細胞密度と培養液中の PO₄-P 濃度を測定した。細胞内リン含有量は、細胞からのリンの排泄が無視しうるほど小さいと仮定し、培養液中の PO₄-P 濃度の変動から次式によって算出した。

$$Q_{t+1} = \frac{S_{0,t} - S_t}{N_{t+1}}, \quad (4.1)$$

ここで、 Q_{t+1} および N_{t+1} はそれぞれ (t+1) 日目の細胞内リン含有量および細胞密度、 $S_{0,t}$ および S_t はそれぞれ t 日目の添加培地中および培養液中の PO₄-P 濃度である。

モデル

植物プランクトンによる栄養塩の取り込み速度が栄養塩濃度のみならず、細胞の生理状態（細胞内栄養塩含有量）にも依存し、時間とともに変動する場合のあることは前章で述べた。また、*A. tamarense* および *S. costatum* の PO₄-P 取り込みに関しては、このような時間依存性が Truncation モデル (Dugdale 1977, Dugdale et al. 1981) という考え方によって説明できることが明らかとなった。そこで本章では、PO₄-P の取り込みをこの Truncation モデルを用いて表すこととした。

Truncation モデルの適用は、Davis et al. (1978) が珪藻 *S. costatum* による SiO₂-Si 取り込みに用いたモデルと基本的に同一の考え方に基づいた。まず、細胞内に PO₄-P のプール (internal phosphate pool; S_I) が存在しており、このプールを経てさらに高次のリン化合物が生成されるものと仮定した。PO₄-P 欠乏もしくは制限状態にある細胞、すなわち、プールが枯渇もしくは充足されていない細胞に高濃度の PO₄-P が添加されると、その濃度に依存して PO₄-P がプールに取り込まれる。一方、プールが充足されると、細胞はもはや濃度依存型の取り込みを持続できず、その速度はプールから細胞構成物質や細胞内貯蔵物質などが生合成される代謝プロセス (ρ_I) によって制限される。さらに取り込みが進行すると、環境水中の PO₄-P 濃度が低下するため、代謝速度よりも細胞外部からの取り込み速度の方が小さくなり、再び環境水中の PO₄-P 濃度に依存した取り込みを行う。PO₄-P 取り込みの濃度依存性を Michaelis-Menten 式で表すと上記の過程は以下のように記述される。

$$\rho = \rho_{max} \frac{S}{K_p + S},$$

ただし、 $S_I = S_{I,max}$ であるときは、

$$\rho = \text{MIN} \left(\rho_{max} \frac{S}{K_p + S}, \rho_I \right). \quad (4.2)$$

ここで、 ρ は (単位細胞あたりの) PO₄-P 取り込み速度、 S は PO₄-P 濃度、 S_I は細胞内プール中の PO₄-P 含

有量、 ρ_{max} は最大 PO₄-P 取り込み速度、 K_p は半飽和定数、 $S_{I,max}$ は細胞内プールの最大 PO₄-P 含有量、 ρ_I は代謝速度である。Davis et al. (1978) は ρ_I をさらに S_I の関数として Michaelis-Menten 式で表しているが、本モデルでは未知のパラメータを削減し、モデルをより簡略化するために ρ_I は一定と仮定し、第三章で得られた V_I 値を代入した。また、 $S_{I,max}$ は取り込み速度が細胞内での代謝速度によって制限されている時間 (T_S) に取り込まれた PO₄-P 量から代謝により POP へと移行した PO₄-P 量を差し引くことによって推定した。すなわち、

$$S_{I,max} = T_S (\rho - \rho_I), \quad (4.3)$$

となる。増殖過程については、Droop のモデル (3.2 式) を適用した。

したがって、本モデルは 4 つの状態変数、すなわち、栄養塩濃度 S 、細胞内リン含有量 Q 、細胞内プール中の PO₄-P 含有量 S_I および細胞密度 N から構成される。半連続培養系で行った実験への適用を考慮すると、希釈後のそれぞれの状態変数の時間変化は次式によって記述される。

$$\frac{dS}{dt} = -\rho \cdot N, \quad (4.4)$$

$$\frac{dQ}{dt} = \rho - \mu \cdot Q, \quad (4.5)$$

$$\frac{dS_I}{dt} = \rho - \rho_I, \quad (4.6)$$

$$\frac{dN}{dt} = \mu \cdot N. \quad (4.7)$$

また、*A. tamarense* は明暗周期条件下において、明期にのみ PO₄-P を取り込み、暗期に細胞分裂を行うことが確認されていることから (樽谷 1994)、暗期の ρ をゼロとし、かつ細胞分裂は暗期終了と同時にされるものと仮定した。希釈後の初期値は、希釈率 D をもとに算出した。用いた変数および定数は Table 4-1 および 4-2 にまとめて示した。シミュレーションは、タイム・ステップを 0.6 分とした 4 次のルンゲ・クッタ差分法を用い、(4.4)~(4.7) 式を解析することによって行った。

結果

リン酸塩の供給が高頻度 (毎日) の場合 *A. tamarense* の細胞密度は実験開始後、速やかに増加し、その増加は実験終了時まで続いた (Fig. 4-1A)。実験終了時の細胞密度は $2.5 \times 10^3 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ であった。一方、培養液中の PO₄-P 濃度および細胞内リン含有量はともに減少し、PO₄-P 濃度は 10 日目以降検出限界以下 ($< 0.01 \mu\text{M}$) の値で、また、細胞内リン含有量は 15 日目以降、ほぼ一定の値 ($0.8 \sim 1.0 \text{ pmol} \cdot \text{cell}^{-1}$) で推移した (Fig. 4-1B, C)。

S. costatum の細胞密度も速やかに増加したが、*A. tamarense* と比較すると、その増加はより急激であり、

Table 4-1. Lists of symbols, with their description and units used in this study

State variables	Description	Unit
S	External phosphate concentration	μM
Q	Cellular phosphorus	$\mu\text{mol}\cdot\text{cell}^{-1}$
S_i	Internal phosphate pool	$\mu\text{mol}\cdot\text{cell}^{-1}$
Q_p	Processed cellular phosphorus	$\mu\text{mol}\cdot\text{cell}^{-1}$
N	Cell density	$\text{cells}\cdot\text{l}^{-1}$
Variables		
ρ	Phosphate uptake rate	$\mu\text{mol}\cdot\text{cell}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$
μ	Specific growth rate	d^{-1}
S_0	Influent phosphate concentration	μM
Constants		
ρ_{\max}	Maximum phosphate uptake rate	$\mu\text{mol}\cdot\text{cell}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$
K_p	Half saturation constant	μM
ρ_i	Assimilation rate	$\mu\text{mol}\cdot\text{cell}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$
$S_{i,\max}$	Maximum internal phosphate pool	$\mu\text{mol}\cdot\text{cell}^{-1}$
μ'_m	Maximum specific growth rate	d^{-1}
Q_0	Minimum cellular phosphorus	$\mu\text{mol}\cdot\text{cell}^{-1}$
Q_m	Maximum cellular phosphorus	$\mu\text{mol}\cdot\text{cell}^{-1}$
τ'	Processed time	h
D	Dilution rate	d^{-1}

Table 4-2. Parameter values of *Alexandrium tamarensis* and *Skeletonema costatum* used in this study

Parameter	<i>Alexandrium</i>	<i>Skeletonema</i>	Unit
ρ_{\max}	1.4×10^{-6}	3.8×10^{-8}	$\mu\text{mol}\cdot\text{cell}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$
K_p	2.6	0.68	μM
ρ_i	2.7×10^{-7}	1.5×10^{-8}	$\mu\text{mol}\cdot\text{cell}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$
$S_{i,\max}$	3.8×10^{-7}	1.4×10^{-9}	$\mu\text{mol}\cdot\text{cell}^{-1}$
μ'_m	0.54	1.2	d^{-1}
Q_0	5.6×10^{-7}	4.0×10^{-9}	$\mu\text{mol}\cdot\text{cell}^{-1}$
Q_m	2.0×10^{-5}	5.1×10^{-8}	$\mu\text{mol}\cdot\text{cell}^{-1}$
τ'	48	0	h

5日目には定常状態に達した (Fig. 4-2A)。培養液中の $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度は実験3日目に検出限界以下 ($<0.01\ \mu\text{M}$) となり、細胞内リン含有量も細胞密度が定常状態に達した5日目以降、ほぼ一定の値 ($5.4\sim 8.7\ \text{fmol}\cdot\text{cell}^{-1}$) で推移した (Fig. 4-2B, C)。

これらの実験データをもとに、非定常条件下における Droop モデル適用の妥当性について検討した。比増殖速度 (μ) は次式から算出し、得られた値を非線形最小自乗法を用いて Droop の式に当てはめることにより、 μ'_m

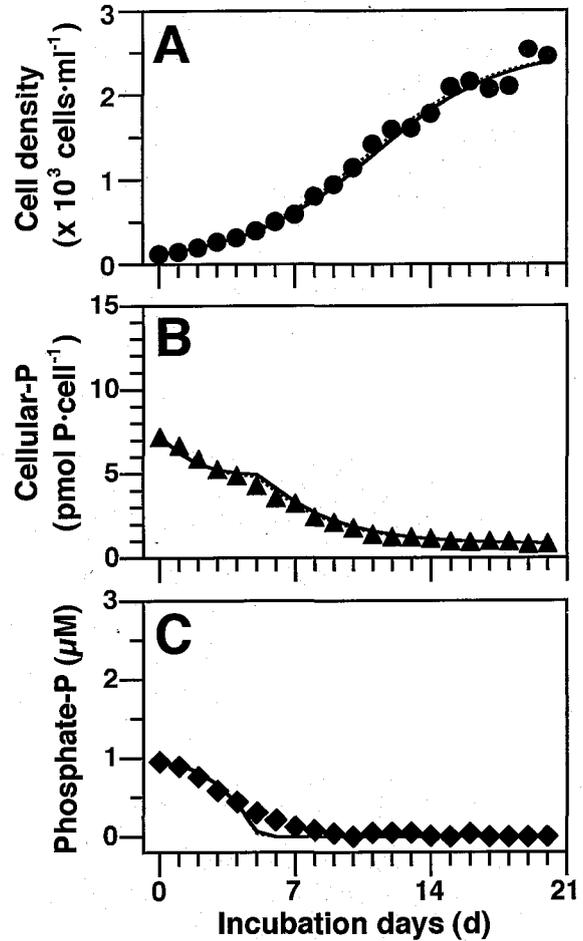


Fig. 4-1. Time courses of (A) the cell density, (B) the phosphorus cell quota of *Alexandrium tamarensis*, and (C) the external phosphate concentration during the experiment with daily phosphate supply. The dashed and solid lines show the simulation results by the model based on the Droop equation and the processed nutrient equation, respectively.

および Q_0 を推定した。

$$\mu = \{\ln N_{t+1} - \ln N_t (1-D)\}, \quad (4.8)$$

ここで、 N_{t+1} および N_t はそれぞれ ($t+1$) および t 日目の細胞密度、 D は希釈率である。両種とも比増殖速度と細胞内リン含有量との関係を Droop の式で表すことが可能であった (Fig. 4-3)。また、得られた μ'_m (*A. tamarensis* $0.57\ \text{d}^{-1}$, *S. costatum* $1.1\ \text{d}^{-1}$) および Q_0 (*A. tamarensis* $0.54\ \text{pmol}\cdot\text{cell}^{-1}$, *S. costatum* $6.3\ \text{fmol}\cdot\text{cell}^{-1}$) は、定常条件下での実験結果をもとに推定した値 (第III章参照) とほぼ一致していた。

モデルによって、細胞密度、培養液中の $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度および細胞内リン含有量の経時変化を予測したところ、*A. tamarensis* および *S. costatum* とも、それらの個体群動態をかなり正確に再現することが可能であった (Fig. 4-1

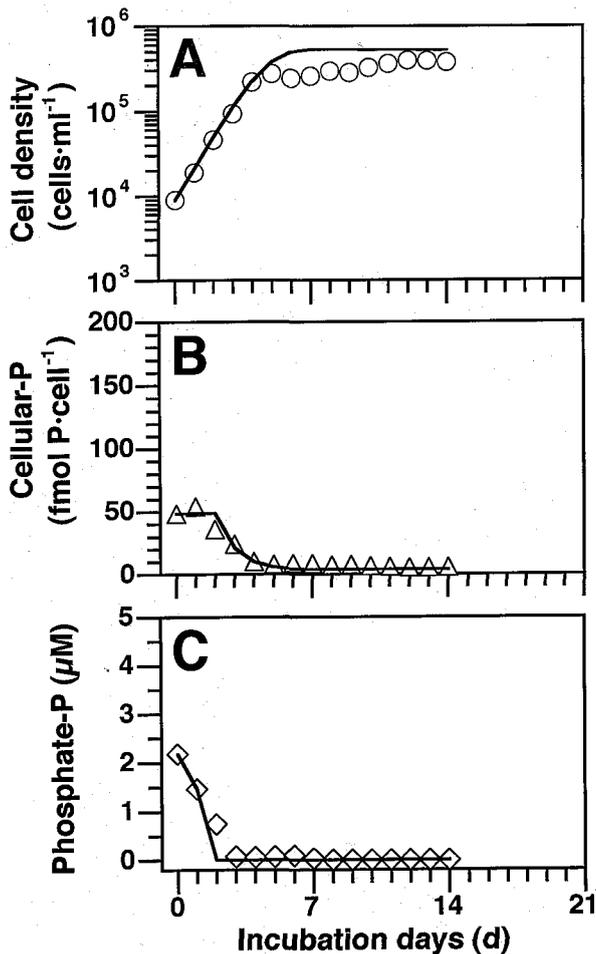


Fig. 4-2. Time courses of (A) the cell density, (B) the phosphorus cell quota of *Skeletonema costatum*, and (C) the external phosphate concentration during the experiment with daily phosphate supply. The solid lines show the simulation results by the model based on the Droop equation and the processed nutrient equation. Simulation results by both models were completely equal.

中の波線および Fig. 4-2 中の実線)。

リン酸塩の供給が低頻度 (7日間隔) の場合 $\text{PO}_4\text{-P}$ の供給を7日間隔で行った場合、実験開始後の *A. tamarense* の細胞密度の増加は非常に緩やかであり、10日目の細胞密度 ($5.3 \times 10^2 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$) は $\text{PO}_4\text{-P}$ を毎日供給した場合 ($1.1 \times 10^3 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$) の約1/2に過ぎなかった (Fig. 4-4A)。その後、細胞密度は15~16日目に減少に転じた後、17日目以降、再び増加した。実験終了時の細胞密度は $1.7 \times 10^3 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ であった。培養液中の $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度および細胞内リン含有量は、 $\text{PO}_4\text{-P}$ の供給に呼応し、それぞれ $< 0.01 \sim 3.8 \mu\text{M}$ および $0.57 \sim 8.3 \text{ pmol} \cdot \text{cell}^{-1}$ の範囲で増減を繰り返した (Fig. 4-4B, C)。

S. costatum の細胞密度は、 $\text{PO}_4\text{-P}$ を毎日供給した場合

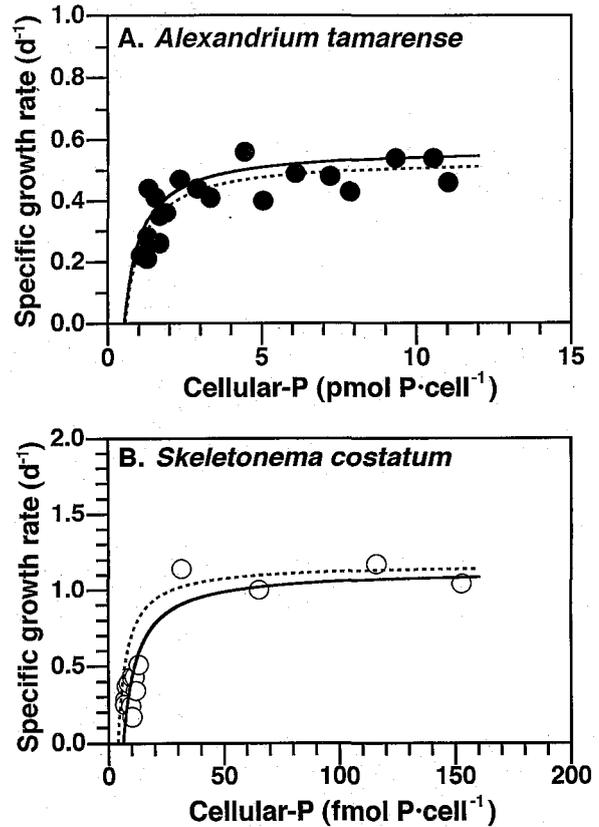


Fig. 4-3. Fitting of the Droop equation to the plots of the specific growth rate against the cellular phosphorus content obtained from the experiment with daily phosphate supply. The dashed curve shows the fitting from the steady state experiments. (A) *Alexandrium tamarense* and (B) *Skeletonema costatum*.

と同様に、実験開始後、速やかに増加した (Fig. 4-5A)。しかしながら、定常状態は得られず、 $\text{PO}_4\text{-P}$ の供給にともない増加し、その後減少するという変動パターンを示した。培養液中の $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度は1日目に増加した後、減少し、3日目以降は検出限界以下 ($< 0.01 \mu\text{M}$) であった (Fig. 4-5C)。細胞内リン含有量は $\text{PO}_4\text{-P}$ の供給にともない増加するものの、その後速やかに一定値 ($3.4 \sim 4.9 \text{ fmol} \cdot \text{cell}^{-1}$) にまで減少するという変動パターンを示した (Fig. 4-5B)。

S. costatum の場合には、 $\text{PO}_4\text{-P}$ を毎日供給した場合と同様に、その比増殖速度と細胞内リン含有量との関係を Droop の式で表すことが可能であり、また、得られた μ_m (1.4 d^{-1}) および Q_0 ($4.2 \text{ fmol} \cdot \text{cell}^{-1}$) も定常条件下での実験結果をもとに推定した値 (第三章参照) とほぼ一致していた (Fig. 4-6B)。しかしながら、*A. tamarense* の場合は、その実験結果に Droop の式を適用することは困難であった (Fig. 4-6A)。

S. costatum の個体群動態はモデルによって、かなり正確に再現された (Fig. 4-5 中の実線)。一方、*A.*

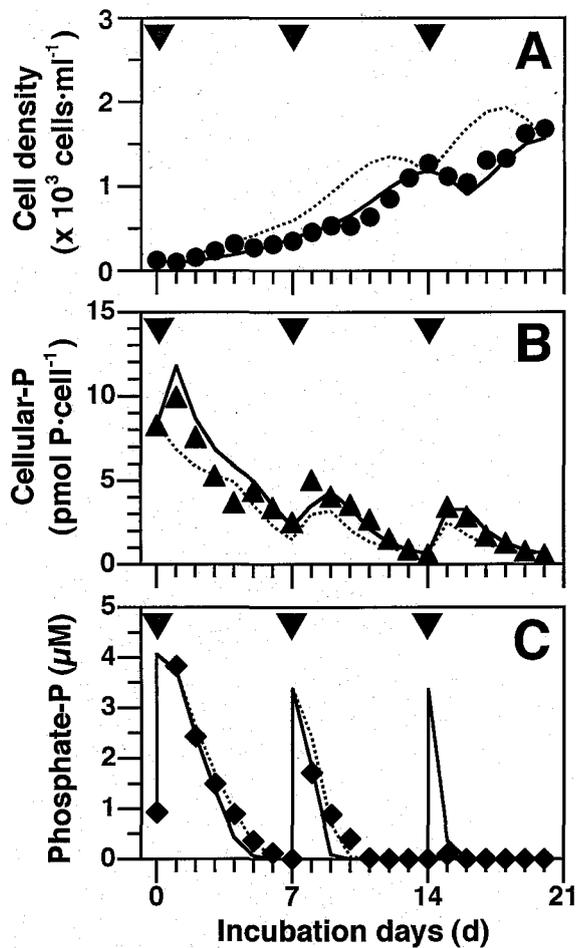


Fig. 4-4. Time courses of (A) the cell density, (B) the phosphorus cell quota of *Alexandrium tamarense*, and (C) the external phosphate concentration during the experiment with weekly phosphate supply. The dashed and solid lines show the simulation results by the model based on the Droop equation and the processed nutrient equation, respectively. Inverted triangles indicate the day when phosphate was spiked.

tamarense の場合には、その経時変化を再現できたのは培養液中の $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度のみであった (Fig. 4-4C 中の波線)。細胞密度に関しては、実測値との間に約 2 日のタイム・ラグがみられた (Fig. 4-4A 中の波線)。一方、細胞内リン含有量に関しては、時間的な変動は再現されたが、過小評価する傾向にあった (Fig. 4-4B 中の波線)。

考 察

供給される $\text{PO}_4\text{-P}$ の総量と同じ場合でも、その供給頻度によって、植物プランクトンの個体群動態が異なることが実験的に明らかとなった。 $\text{PO}_4\text{-P}$ を毎日供給した場合、*S. costatum* は短期間で定常状態に達し、一定の細胞密度を維持し続けた。*A. tamarense* は実験期間中に定常状態に達するまでには至らなかったが、細胞密度は比較的滑らかに増加を続けた。一方、 $\text{PO}_4\text{-P}$ を 7 日間隔で

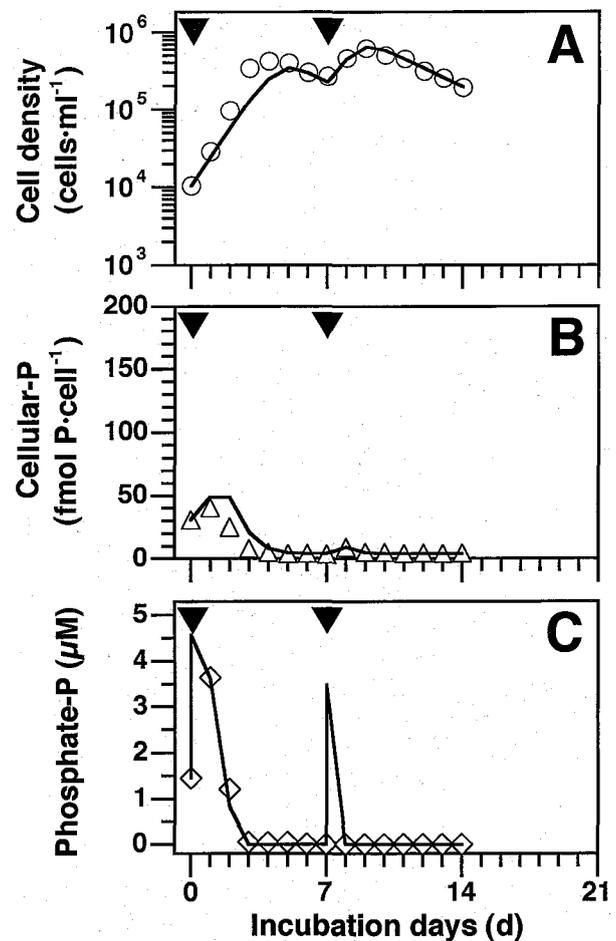


Fig. 4-5. Time courses of (A) the cell density, (B) the phosphorus cell quota of *Skeletonema costatum*, and (C) the external phosphate concentration during the experiment with weekly phosphate supply. The solid lines show the simulation results by the model based on the Droop equation and the processed nutrient equation. Simulation results by both models were completely equal. Inverted triangles indicate the day when phosphate was spiked.

供給した場合には、両種ともにその供給頻度に呼応した形で細胞密度が増減した。このような実験結果は、栄養塩の供給頻度が自然環境下での植物プランクトンの個体群動態にも影響を及ぼすことを示唆するものである。

$\text{PO}_4\text{-P}$ を毎日供給した場合には、*A. tamarense*, *S. costatum* とも比増殖速度と細胞内リン含有量との関係を Droop の式で表すことが可能であった。また、 $\text{PO}_4\text{-P}$ の取り込みおよび増殖過程にそれぞれ Truncation モデルおよび Droop モデルを適用することによって、両種の個体群動態をかなり正確に予測できた。したがって、 $\text{PO}_4\text{-P}$ が比較的高頻度に供給されているような場合、すなわち、連続培養的な供給機構が卓越しているような環境条件下における植物プランクトンの個体群動態を予測する手段として、本モデルは有効であるといえる。

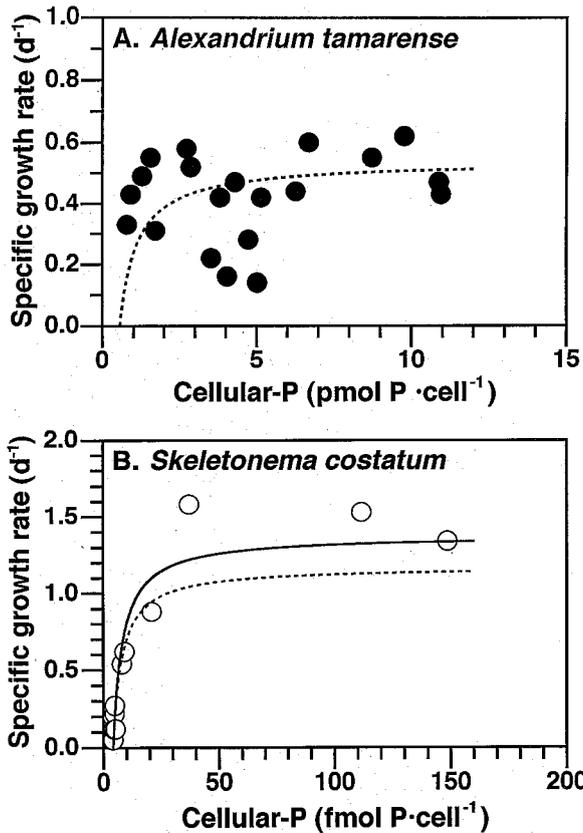


Fig. 4-6. Fitting of the Droop equation to the plots of the specific growth rate against the cellular phosphorus content obtained from the experiment with weekly phosphate supply. The fitting was not succeeded for *Alexandrium tamarense* due to the dispersion of the plot. The dashed curve shows the fitting from the steady state experiments. (A) *Alexandrium tamarense* and (B) *Skeletonema costatum*.

一方、 $PO_4\text{-P}$ を 7 日間隔で供給した場合には様相が異なった。すなわち、*S. costatum* に関しては、その個体群動態を本モデルによってかなり正確に予測することが可能であったが、*A. tamarense* の個体群動態に関しては、実測値とモデルによる予測値とが一致しなかった。ただし、培養液中の $PO_4\text{-P}$ 濃度の経時変化は本モデルによって再現されたことから、 $PO_4\text{-P}$ の取り込み過程に Truncation モデルを適用したことは妥当であり、比増殖速度がその時の細胞内リン含有量に依存するという仮定に誤りがあったものと推測される。このように非定常条件下での植物プランクトンの増殖過程を Droop モデルで代表されるような内部栄養調節型モデルで表したときに実測値とモデルによる予測値とが一致しない例は、これまでも報告されており、栄養塩の取り込みと増殖との時間的ずれ、すなわち、取り込みと増殖との不一致がその原因であると推察されている (Burmester 1979, Cunningham and Nisbet 1980, Sciandra 1991)。

この問題を解決するために Burmester (1979) は、増

殖速度と細胞内栄養塩含有量との間に一定のタイム・ラグを導入することを提案した。

$$\mu = \mu'_m \left(1 - \frac{Q_0}{Q_{t-\tau}} \right), \quad (4.9)$$

ここで、 τ はタイム・ラグ、 $Q_{t-\tau}$ は τ 時間前の細胞内栄養塩含有量である。しかしながら、このようなタイム・ラグの導入によって、実測値とは異なる変動を示す例も報告されており (Cunningham and Nisbet 1980)、必ずしも適切であるとはいえない。一方、取り込んだ栄養塩を増殖に利用するまでには多くの過程を経るはずであるという見地から、Demanche *et al.* (1979) は多数の細胞内成分によって構成されるモデルの適用を提案した。このモデルは理論的に優れたものではあるが、その複雑性ゆえに実用という点では困難をとまなう。最近になって、Davidson *et al.* (1993), Davidson and Cunningham (1996) は、再現性が高く、しかも比較的簡便なモデルとして “processed nutrient model” を提案した。このモデルは、取り込んだ栄養塩を増殖に利用可能な形にまで生合成するのに一定の時間を要するという点では Burmester (1979) と同じであるが、増殖が生合成された栄養塩の細胞内含有量に依存するという点で異なる。この生合成された栄養塩濃度 (N_p) を細胞内である時間 (τ) 以上存在していた栄養塩濃度と定義すると、連続培養条件下での N_p の時間変化は、

$$\frac{dN_p}{dt} = \rho_{t-\tau} \cdot N_{t-\tau} \cdot \exp(-D \cdot \tau) - D \cdot N_p, \quad (4.10)$$

で表される。ここで、 $\rho_{t-\tau}$ および $N_{t-\tau}$ はそれぞれ τ 時間前の栄養塩取り込み速度および細胞密度である。また、生合成された栄養塩の細胞内含有量 ($Q_p = N_p/N$) と比増殖速度 (μ) との関係を表すのに、Davidson *et al.* (1993), Davidson and Cunningham (1996) は、次の一次式を採用している。

$$\mu = \gamma(Q_p - Q_{p,0}), \quad (4.11)$$

ここで、 γ は比例定数、 $Q_{p,0}$ は Q_p の最小含有量 (= Droop の式における Q_0) である。一方、半連続培養条件下において、 Q_p の時間変化は、

$$\frac{dQ_p}{dt} = \frac{\rho_{t-\tau} \cdot N_{t-\tau} (1-D)^{\tau/24}}{N} - \mu \cdot Q_p, \quad (4.12)$$

で表される。また、今回の *A. tamarense* を供試種とした実験結果 ($PO_4\text{-P}$ を 7 日間隔で供給した場合) から、 τ を 48 時間と仮定し μ と Q_p との関係を求めたところ、両者の関係を表すには、上記の一次式よりもむしろ Droop の式と同じ形の双曲線型のモデル式を用いる方が妥当であった (Fig. 4-7)。

$$\mu = \mu'_m \left\{ 1 - \frac{Q_0 (1-D)^{\tau/24}}{Q_p} \right\}. \quad (4.13)$$

得られた μ'_m (0.54 d^{-1}) および Q_0 ($0.59 \text{ pmol} \cdot \text{cell}^{-1}$)

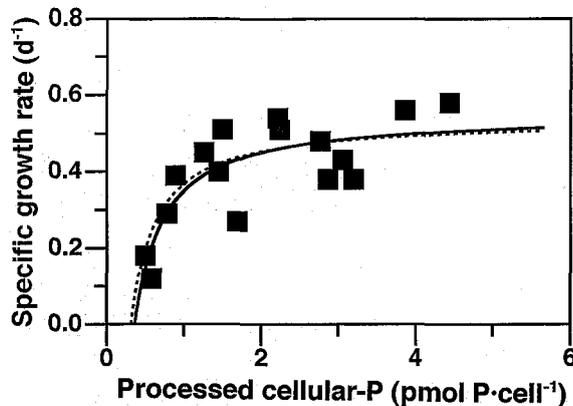


Fig. 4-7. Fitting of the processed nutrient equation to a plot of the specific growth rate against the processed phosphorus content obtained from *Alexandrium tamarensis* culture with weekly phosphate supply. The dashed curve shows the fitting from the steady state experiments.

も、定常条件下で得られた Droop の式のそれとはほぼ一致した (第三章)。そこで、 μ と Q_p との関係を (4.13) 式で表し、*A. tamarensis* の実験結果に適用したところ、その個体群動態をほぼ再現することが可能となった (Fig. 4-1 および 4-4 中の実線)。

栄養塩、特にリン欠乏状態にある植物プランクトン細胞が高濃度の $PO_4\text{-P}$ にさらされると、しばしば増殖に必要とする以上の $PO_4\text{-P}$ を急速に取り込む、いわゆる “luxury uptake” として知られている現象を示す (Cembella *et al.* 1984, Rhee 1973)。この余剰の蓄積リンを利用することで、植物プランクトンは環境水中の $PO_4\text{-P}$ が枯渇しても増殖を維持することが可能となる。*A. tamarensis* および *S. costatum* の両種についても、リン欠乏状態において高濃度の $PO_4\text{-P}$ が負荷されると luxury uptake を行うことが確認された。それでは、*A. tamarensis* で認められた $PO_4\text{-P}$ の取り込みと増殖との時間的なずれは、本種の個体群動態にどのような影響を及ぼすであろうか。 $PO_4\text{-P}$ の取り込みと増殖との間に時間的なずれが存在することによって、 $PO_4\text{-P}$ 添加直後の細胞内リン含有量の増加がより顕著に認められた (Fig. 4-4B)。このことは、このような取り込みと増殖との時間的なずれがリンの蓄積という点で luxury uptake と同様の効果をもたらすことを示唆している。したがって、この2つの機能を共に有する *A. tamarensis* は、 $PO_4\text{-P}$ の供給が低頻度で、環境水中の $PO_4\text{-P}$ がしばしば枯渇するような条件下において、より有利に個体群を維持することが可能であると推察される。

栄養塩の取り込みと増殖との間に時間的なずれが生じる場合のあることは以前から知られていたが、その詳細な機構についてはいまなお明らかにされていない。また、植物プランクトンの個体群動態をモデルによって

再現する場合には、しばしば無視される場合もあった (Grover 1991a, b)。しかしながら、特に *A. tamarensis* のように現場海域において、低密度であり、また、その出現期間が比較的短い種の個体群動態について論じる際には無視しえない生理的特性のひとつであると考えられる。

第V章 植物プランクトン群集動態のモデルによる解析：*Alexandrium tamarensis* の増殖機構

生物群集の種組成やその動態を明らかにすることは、生態学的見地から重要な研究課題の一つである。プランクトンに関しては、Hutchinson (1961) による “paradox of the plankton” と呼ばれる問題に端を発し、その多様性を維持する機構、すなわち、多種多様なプランクトン種が比較的均質な環境下で共存することが可能となる機構について主に湖沼域を対象に研究が進められてきた (Tilman 1981, Kilham 1986, Tilman *et al.* 1986)。

近年になって、海域の富栄養化という観点から、有害・有毒プランクトンの増殖と栄養塩の構成比とを関連づけた研究が行われているが、共存機構に着目したものは Sommer (1995) などごく少数に過ぎない。呉港で1995年春季に行った観測においても、*A. tamarensis* の増殖時に珪藻類をはじめとする他の植物プランクトン種が比較的高密度で存在していることが確認され、共存機構の解明が重要であることが示唆された (第二章)。

前章までは、もっぱら $PO_4\text{-P}$ を中心に議論を進めてきたが、 $SiO_2\text{-Si}$ も窒素やリンとともに海洋における栄養塩の一つとみなされており、ケイ酸質の殻を持つ珪藻類や一部の鞭毛藻類のみが必要とするという点で特殊な存在である。角皆 (1979) は、この点に注目し、 $SiO_2\text{-Si}$ が植物プランクトンの種組成を決定する第1因子であるという仮説を提案した。すなわち、 $SiO_2\text{-Si}$ が充分量溶解する海水中では珪藻類が卓越するが、珪藻類の細胞内 Si/P および Si/N 比は通常、海水中よりもかなり大きいことから、海水中の $SiO_2\text{-Si}$ が $PO_4\text{-P}$ や $NO_3\text{-N}$ よりも先に使い尽くされ、その結果、残った $PO_4\text{-P}$ や $NO_3\text{-N}$ を使って $SiO_2\text{-Si}$ を必要としない鞭毛藻類が増殖すると考えた。特に人間活動による富栄養化過程では、 $PO_4\text{-P}$ や $NO_3\text{-N}$ の負荷量が相対的に増すため、鞭毛藻類の増殖が一層促される。このような富栄養化した海域における $SiO_2\text{-Si}$ の減少もしくは枯渇という状況は、近年の有害・有毒プランクトン発生 の広域化、多発化の原因としても指摘されている (Smayda 1990)。

そこで、本章では *A. tamarensis*、*H. triquetra* および *S. costatum* の3種から構成される仮想的な植物プランクトン群集を対象に、それらの個体群動態をモデルを用いて再現することによって、供給される $PO_4\text{-P}$ および $SiO_2\text{-Si}$ の比、総量ならびに供給頻度が種組成や群集動

態に及ぼす影響を検討した。

モデル

栄養塩の取り込み PO₄-P の取り込みに関しては、第 IV 章で詳述したため、ここでは省略する。S. costatum による SiO₂-Si の取り込みについても、PO₄-P の場合と同様に、Truncation モデルを用いて表すこととした。PO₄-P の場合と異なるのは、その取り込みの濃度依存性を通常の Michaelis-Menten 式ではなく、Paasche (1973) によって提案された次式を用いて表した点である。

$$\rho^{Si} = \rho_{max}^{Si} \frac{S^{Si} - S_{\rho 0}}{K_p^{Si} + (S^{Si} - S_{\rho 0})}, \quad (5.1)$$

ここで、S_{ρ0} は取り込み可能な SiO₂-Si 濃度の閾値である。

また、細胞内のリン含有量およびケイ素含有量が最大値 (それぞれ Q_m^P および Q_m^{Si}) に達すると、PO₄-P および SiO₂-Si の取り込みは停止するものと考えた。なお、Q_m^P および Q_m^{Si} には、リンもしくはケイ素欠乏状態にある細胞を接種してバッチ培養を行った際に得られた最大リン含有量および最大ケイ素含有量をそれぞれ用いた。増殖 増殖過程については、“processed nutrient model” (第 IV 章参照) を適用した。ただし、S. costatum の増殖速度は、リービッヒの最小律に従い、次式によって決定されるものとした。

$$\mu = \text{MIN} \left[\mu'_m{}^P \left\{ 1 - \frac{Q_0^P (1-D)^{\tau^P/124}}{Q_P^P} \right\}, \mu'_m{}^{Si} \left\{ 1 - \frac{Q_0^{Si} (1-D)^{\tau^{Si}/124}}{Q_P^{Si}} \right\} \right], \quad (5.2)$$

となる。

ここでは、系として半連続培養系を想定しているため、希釈後のそれぞれの変数の時間変化は次式によって記述される。

$$\frac{dS^j}{dt} = -\sum(\rho^{ij} \cdot N^i) \quad i = 1, 2, 3; j = P, Si, \quad (5.3)$$

$$\frac{dQ^{ij}}{dt} = \rho^{ij} - \mu^i \cdot Q^{ij} \quad i = 1, 2, 3; j = P, Si, \quad (5.4)$$

$$\frac{dS_i^{ij}}{dt} = \rho^{ij} - \rho_i^{ij} - \mu^i \cdot S_i^{ij} \quad i = 1, 2, 3; j = P, Si, \quad (5.5)$$

$$\frac{dN^i}{dt} = \mu^i \cdot N^i \quad i = 1, 2, 3, \quad (5.6)$$

$$\frac{dQ_P^{ij}}{dt} = \frac{\rho_{1-\tau^{ij}}^{ij} \cdot N_{1-\tau^{ij}}^i (1-D)^{\tau^{ij}/124}}{N^i} - \mu \cdot Q_P^{ij} \quad i = 1, 2, 3; j = P, Si. \quad (5.7)$$

ここで、添字 i は各植物プランクトン種を、j はリンもし

くはケイ素を示す。希釈後の初期値は、希釈率 D をもとに算出した。シミュレーションは、タイム・ステップを 0.6 分とした 4 次のルンゲ・クッタ差分法を用い、(5.3) ~ (5.7) 式を解析することによって行った。用いた変数および定数は Table 5-1 および 5-2 にまとめて示した。

Table 5-1. Lists of symbols, with their description and units used in this study

State variables	Description	Unit
S ^P	External phosphate concentration	μM
S ^{Si}	External silicate concentration	μM
Q ^P	Cellular phosphorus	μmol·cell ⁻¹
Q ^{Si}	Cellular silica	μmol·cell ⁻¹
S _i ^P	Internal phosphate pool	μmol·cell ⁻¹
S _i ^{Si}	Internal silicate pool	μmol·cell ⁻¹
Q _P ^P	Processed cellular phosphorus	μmol·cell ⁻¹
Q _P ^{Si}	Processed cellular silica	μmol·cell ⁻¹
N	Cell density	cells·l ⁻¹
Variables		
ρ ^P	Phosphate uptake rate	μmol·cell ⁻¹ ·h ⁻¹
ρ ^{Si}	Silicate uptake rate	μmol·cell ⁻¹ ·h ⁻¹
μ	Specific growth rate	d ⁻¹
S ₀ ^P	Influent phosphate concentration	μM
S ₀ ^{Si}	Influent silicate concentration	μM
Constants		
ρ _{max} ^P	Maximum phosphate uptake rate	μmol·cell ⁻¹ ·h ⁻¹
ρ _{max} ^{Si}	Maximum silicate uptake rate	μmol·cell ⁻¹ ·h ⁻¹
K _p ^P	Half saturation constant for phosphate uptake	μM
K _p ^{Si}	Half saturation constant for silicate uptake	μM
S _p ⁰	Threshold concentration for silicate uptake	μM
ρ _i ^P	Phosphate assimilation rate	μmol·cell ⁻¹ ·h ⁻¹
ρ _i ^{Si}	Silicate assimilation rate	μmol·cell ⁻¹ ·h ⁻¹
S _{i,max} ^P	Maximum internal phosphate pool	μmol·cell ⁻¹
S _{i,max} ^{Si}	Maximum internal silicate pool	μmol·cell ⁻¹
μ _m ^P	Maximum specific growth rate for phosphate	d ⁻¹
μ _m ^{Si}	Maximum specific growth rate for silicate	d ⁻¹
Q ₀ ^P	Minimum cellular phosphorus	μmol·cell ⁻¹
Q ₀ ^{Si}	Minimum cellular silica	μmol·cell ⁻¹
Q _m ^P	Maximum cellular phosphorus	μmol·cell ⁻¹
Q _m ^{Si}	Maximum cellular silica	μmol·cell ⁻¹
τ ^P	Phosphate processed time	h
τ ^{Si}	Silicate processed time	h
D	Dilution rate	d ⁻¹

Table 5-2. Initial values and constants used in the present model simulations

State variables	Initial values			Unit
S^P	0.2			μM
S^{Si}	5.0			μM
	<i>Alexandrium</i>	<i>Heterocapsa</i>	<i>Skeletonema</i>	
Q^P	1.0×10^{-6}	5.0×10^{-7}	1.0×10^{-8}	$\mu\text{mol} \cdot \text{cell}^{-1}$
Q^{Si}	—	—	1.0×10^{-7}	$\mu\text{mol} \cdot \text{cell}^{-1}$
S_i^P	0	0	0	$\mu\text{mol} \cdot \text{cell}^{-1}$
S_i^{Si}	—	—	0	$\mu\text{mol} \cdot \text{cell}^{-1}$
Q_P^P	5.6×10^{-6}	2.1×10^{-7}	4.0×10^{-9}	$\mu\text{mol} \cdot \text{cell}^{-1}$
Q_P^{Si}	—	—	4.3×10^{-8}	$\mu\text{mol} \cdot \text{cell}^{-1}$
N	1.0×10^3	1.0×10^3	1.0×10^5	$\text{cells} \cdot \text{l}^{-1}$
Constants	Values			
	<i>Alexandrium</i>	<i>Heterocapsa</i>	<i>Skeletonema</i>	
ρ_{max}^P	1.4×10^{-6}	3.9×10^{-7}	3.8×10^{-8}	$\mu\text{mol} \cdot \text{cell}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$
ρ_{max}^{Si}	—	—	9.5×10^{-8}	$\mu\text{mol} \cdot \text{cell}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$
K_p^P	2.6	1.6	0.68	μM
K_p^{Si}	—	—	0.80	μM
S_{p0}	—	—	0.32	μM
ρ_i^P	2.7×10^{-7}	1.9×10^{-7}	1.5×10^{-8}	$\mu\text{mol} \cdot \text{cell}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$
ρ_i^{Si}	—	—	3.0×10^{-8}	$\mu\text{mol} \cdot \text{cell}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$
$S_{i,max}^P$	3.8×10^{-7}	9.2×10^{-8}	1.4×10^{-9}	$\mu\text{mol} \cdot \text{cell}^{-1}$
$S_{i,max}^{Si}$	—	—	4.0×10^{-9}	$\mu\text{mol} \cdot \text{cell}^{-1}$
μ'_m^P	0.54	0.72	1.2	d^{-1}
μ'_m^{Si}	—	—	1.2	d^{-1}
Q_0^P	5.6×10^{-7}	2.1×10^{-7}	4.0×10^{-9}	$\mu\text{mol} \cdot \text{cell}^{-1}$
Q_0^{Si}	—	—	4.3×10^{-8}	$\mu\text{mol} \cdot \text{cell}^{-1}$
Q_m^P	2.0×10^{-5}	1.3×10^{-6}	5.1×10^{-8}	$\mu\text{mol} \cdot \text{cell}^{-1}$
Q_m^{Si}	—	—	1.0×10^{-7}	$\mu\text{mol} \cdot \text{cell}^{-1}$
τ'^P	48	0	0	h
τ'^{Si}	—	—	0	h
D	0.25	0.25	0.25	d^{-1}

それぞれの変数の初期値は、1995年春季に行った呉港での観測結果に基づくものである（第II章参照）。また、解析時間は60日とし、解析終了時、すなわち、60日後の細胞密度が初期値を上回っていた場合には増殖可能であると判定した。

モデルによる解析条件と結果

Si/P 比の影響 希釈率を 0.25 d^{-1} とした半連続培養系において、供給する $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度を $0.8 \mu\text{M}$ （負荷量は $0.2 \mu\text{M} \cdot \text{d}^{-1}$ となる）に固定し、 $\text{SiO}_2\text{-Si}$ 濃度のみを変化させることにより、Si/P 比（1~10）が *A. tamarense*, *H. triquetra* および *S. costatum* の3種から構成される植物プランクトン群集の種組成や動態に及ぼす影響を検討した。

S. costatum は Si/P 比が 1~10のいずれの場合においても、8~10日程度で定常状態に達し、解析終了時の60日後まで、その状態を維持した（Fig. 5-1）。しかしながら、定常状態時の細胞密度は Si/P 比の低下、すなわち、 $\text{SiO}_2\text{-Si}$ による増殖制限が増すとともに $2.0 \times 10^5 \text{ cells} \cdot$

ml^{-1} から $1.1 \times 10^4 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ にまで減少した。

一方、*A. tamarense* および *H. triquetra* は、Si/P 比が 2~10の場合にはともに個体群を拡大することができず、*S. costatum* によって排除された（Fig. 5-1A, B, C）。Si/P 比が 1 の場合には、これら2種の植物プランクトン種が *S. costatum* と共存可能となった（Fig. 5-1D）。しかしながら、両種の個体群動態には相違がみられ、*H. triquetra* が60日後まで高密度で定常状態を維持していたのに対し、*A. tamarense* は低密度であり、また、30日目以降、細胞密度が減少に向かった。

リン酸塩およびケイ酸塩総供給量の影響 Si/P 比を 2 に固定し、供給する $\text{PO}_4\text{-P}$ および $\text{SiO}_2\text{-Si}$ 濃度をともに変化させることによって、 $\text{PO}_4\text{-P}$ および $\text{SiO}_2\text{-Si}$ の総供給量が植物プランクトン群集の種組成ならびにその動態に及ぼす影響を検討した。

$\text{SiO}_2\text{-Si}$ の負荷量が $0.3 \mu\text{M} \cdot \text{d}^{-1}$ 以上では *S. costatum* が優占し、*A. tamarense* および *H. triquetra* はともに排除された（Fig. 5-2A, B）。 $\text{SiO}_2\text{-Si}$ の負荷量が 0.15

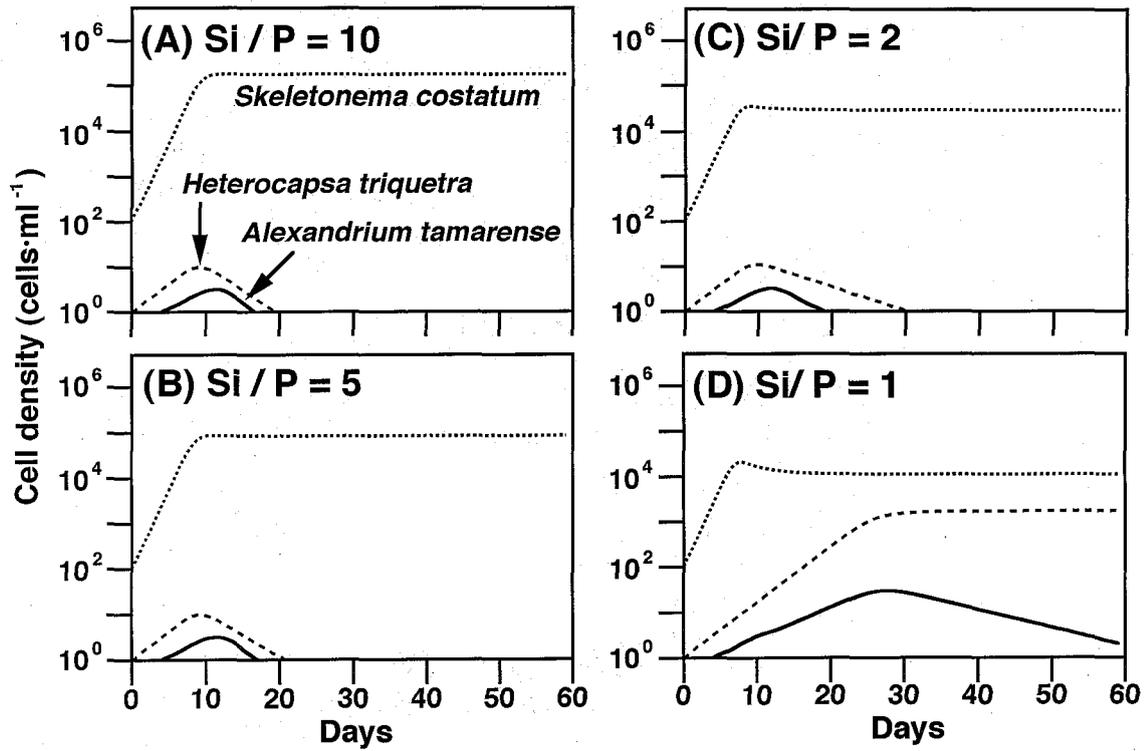


Fig. 5-1. Effect of different Si/P supply ratios on the population dynamics of three marine phytoplankton species (*Alexandrium tamarensis*, *Heterocapsa triquetra*, and *Skeletonema costatum*) with the daily phosphate and silicate supply. The Si/P supply ratios are 10 (A), 5 (B), 2 (C), and 1 (D), respectively. Phosphate load was fixed at $0.2 \mu\text{M} \cdot \text{d}^{-1}$.

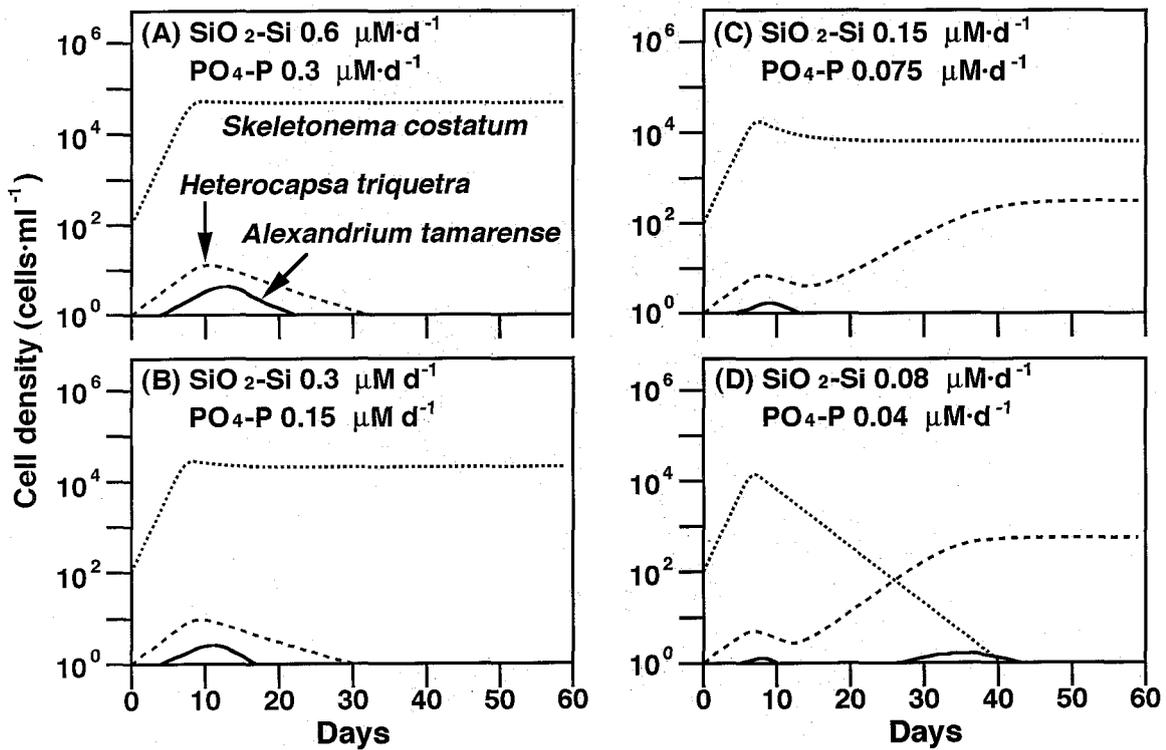


Fig. 5-2. Effect of different phosphate and silicate loads on the population dynamics of three marine phytoplankton species (*Alexandrium tamarensis*, *Heterocapsa triquetra*, and *Skeletonema costatum*) with the daily phosphate and silicate supply. Si/P supply ratio was fixed at 2.

$\mu\text{M} \cdot \text{d}^{-1}$ まで低下すると, *S. costatum* の細胞密度が減少し, *H. triquetra* の共存が可能となったが, *A. tamarensis* の細胞密度の増加はほとんど認められなかった (Fig. 5-2C)。さらに $\text{SiO}_2\text{-Si}$ の負荷量が低下すると *S. costatum* は個体群を維持することが不可能となり, 優占種が *H. triquetra* へと移行した (Fig. 5-2D)。しかし, *S. costatum* が系から排除されても *A. tamarensis* の細胞密度は増加しなかった。

供給頻度の影響 供給する $\text{PO}_4\text{-P}$ および $\text{SiO}_2\text{-Si}$ の総量は上記の場合と同量であるが, 7日間隔で添加することによって, $\text{PO}_4\text{-P}$ および $\text{SiO}_2\text{-Si}$ の供給頻度が植物プランクトン群集の種組成ならびにその動態に及ぼす影響について検討した。

A. tamarensis および *H. triquetra* が *S. costatum* によって排除されたのは Si/P 比が10の場合のみであった (Fig. 5-3A)。また, Si/P 比が5もしくは2であるときの *A. tamarensis* の細胞密度は *H. triquetra* に匹敵するものであり, Si/P 比が1の場合においても, その細胞密度は増加を続けた (Fig. 5-3B, C, D)。

総供給量が及ぼす影響に関しても, $\text{PO}_4\text{-P}$ および $\text{SiO}_2\text{-Si}$ を毎日供給した場合と比較すると相違がみられた。 $\text{SiO}_2\text{-Si}$ の負荷量が0.3もしくは $0.6 \mu\text{M} \cdot \text{d}^{-1}$ の場合においても, *A. tamarensis* および *H. triquetra* は *S. costatum* と共存することが可能であり, むしろ細胞密度はともに

増加傾向にあった (Fig. 5-4A, B)。また, $\text{SiO}_2\text{-Si}$ の負荷量が $0.6 \mu\text{M} \cdot \text{d}^{-1}$ であるときには, *A. tamarensis* の細胞密度が *H. triquetra* のそれを上回った。一方, $\text{SiO}_2\text{-Si}$ 負荷量が $0.08 \mu\text{M} \cdot \text{d}^{-1}$ にまで低下すると, 先の解析では *S. costatum* から *H. triquetra* へ優占種の移行がみられたが (Fig. 5-2D), 栄養塩を7日間隔で供給した場合には, 逆に *H. triquetra* および *A. tamarensis* が *S. costatum* によって排除される結果となった (Fig. 5-4D)。

$\text{SiO}_2\text{-Si}$ および $\text{PO}_4\text{-P}$ の負荷量がそれぞれ $0.1 \sim 100 \mu\text{M} \cdot \text{d}^{-1}$ および $0.01 \sim 1.0 \mu\text{M} \cdot \text{d}^{-1}$ の範囲にあるときのモデルによる解析結果から得られた負荷量と植物プランクトンの種組成との関係を Fig. 5-5 および 5-6 にまとめた。 *A. tamarensis* や *H. triquetra* が *S. costatum* と共存するためには, 基本的に $\text{SiO}_2\text{-Si}$ の負荷量が低下することを必要とした。また, あくまでその前提のもとではあるが, $\text{SiO}_2\text{-Si}$ および $\text{PO}_4\text{-P}$ の供給が低頻度 (7日間隔) である場合の方が, 高頻度 (毎日) である場合に比べ, その共存可能範囲が拡大した (Fig. 5-6)。さらに, 供給が高頻度である場合には *H. triquetra* が *A. tamarensis* を常に凌駕していたが, 低頻度の場合には, *A. tamarensis* の細胞密度が *H. triquetra* のそれを上回ったり, また, ときには *H. triquetra* のみが系から排除され, *A. tamarensis* と *S. costatum* の2種が共存することも可能であった。

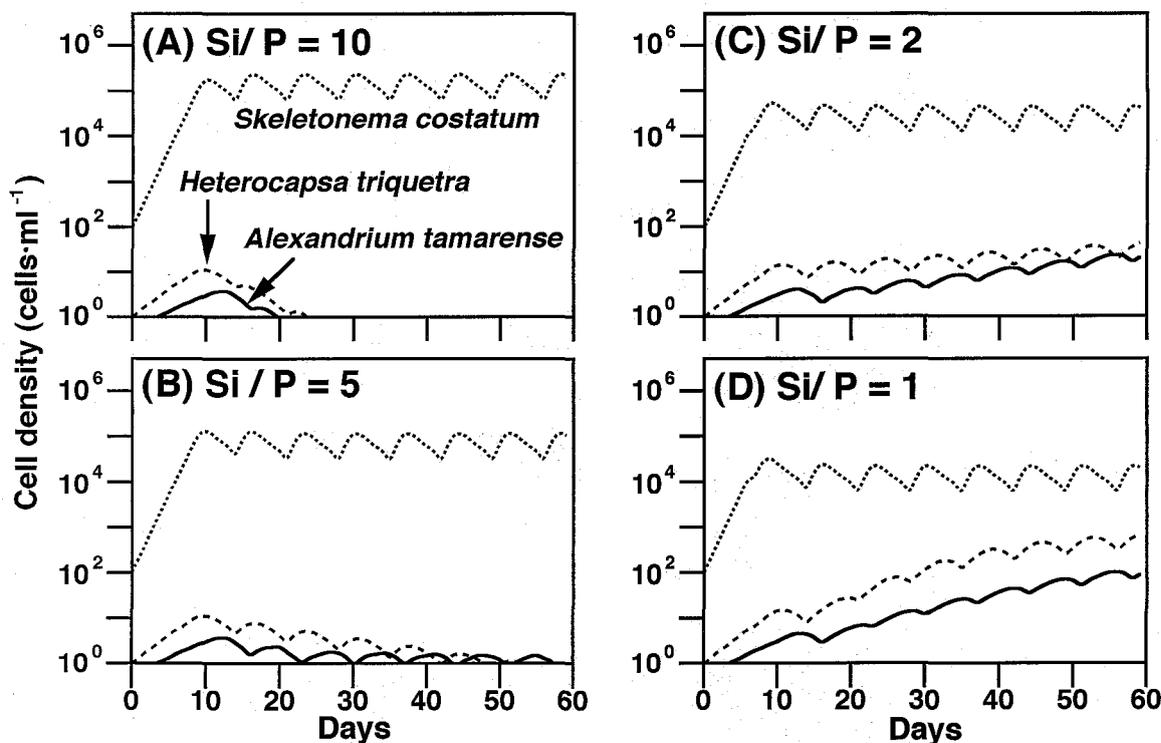


Fig. 5-3. Effect of different Si/P supply ratios on the population dynamics of three marine phytoplankton species (*Alexandrium tamarensis*, *Heterocapsa triquetra*, and *Skeletonema costatum*) with the weekly phosphate and silicate supply. The Si/P supply ratios are 10 (A), 5 (B), 2 (C), and 1 (D), respectively. Phosphate load was fixed at $0.2 \mu\text{M} \cdot \text{d}^{-1}$.

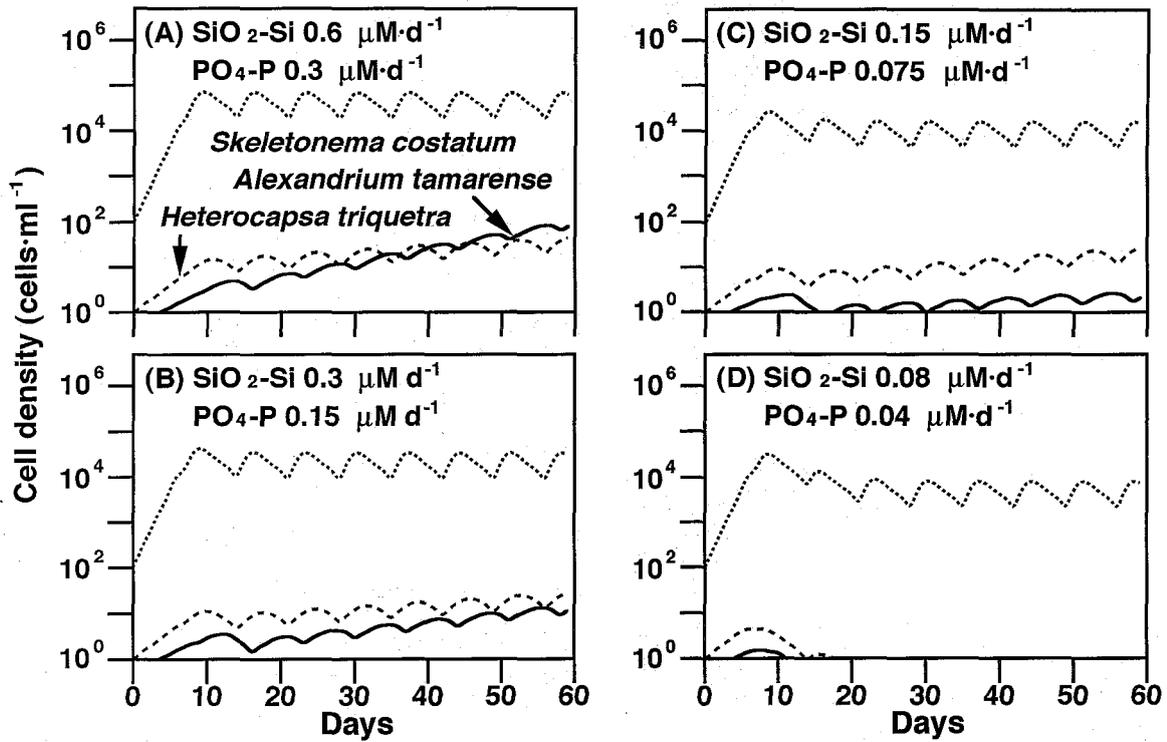


Fig. 5-4. Effect of different phosphate and silicate loads on the population dynamics of three marine phytoplankton species (*Alexandrium tamarense*, *Heterocapsa triquetra*, and *Skeletonema costatum*) with the weekly phosphate and silicate supply. Si/P supply ratio was fixed at 2.

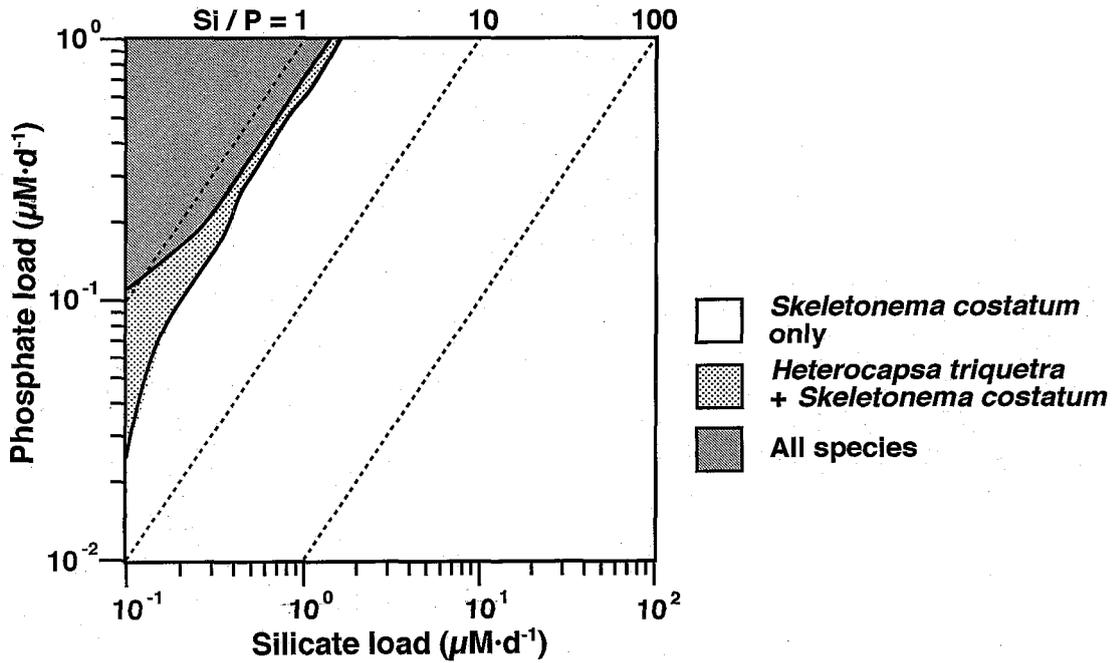


Fig. 5-5. Predicted species compositions on day 60 in various combinations of daily phosphate and silicate loads (0.01–1 $\mu\text{M P} \cdot \text{d}^{-1}$ and 0.1–100 $\mu\text{M Si} \cdot \text{d}^{-1}$, respectively). $D=0.25 \text{ d}^{-1}$. The dashed lines show the Si/P supply ratios.

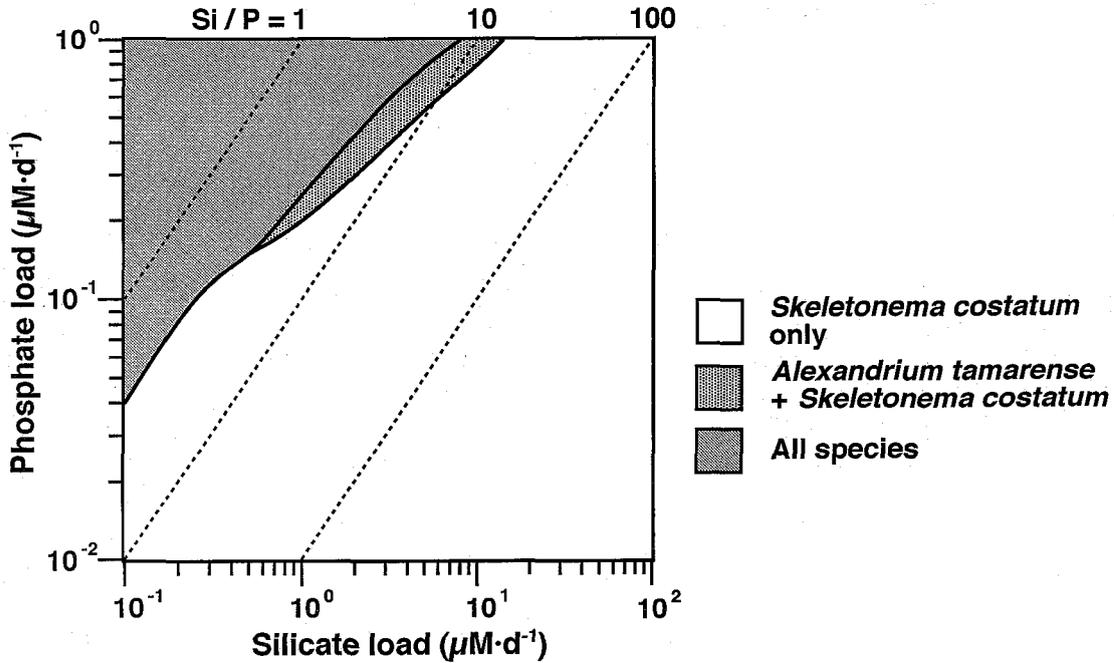


Fig. 5-6. Predicted species compositions on day 60 in various combinations of weekly phosphate and silicate loads ($0.01-1 \mu\text{M P} \cdot \text{d}^{-1}$ and $0.1-100 \mu\text{M Si} \cdot \text{d}^{-1}$, respectively). $D=0.25 \text{ d}^{-1}$. The dashed lines show the Si/P supply ratios.

考 察

栄養塩の供給が高頻度である条件下では、 $\text{SiO}_2\text{-Si}$ の負荷量が極めて小さい場合 ($<0.4 \mu\text{M} \cdot \text{d}^{-1}$) を除くと、*A. tamarensis* および *H. triquetra* が *S. costatum* と共存可能であるか否かは、負荷される $\text{SiO}_2\text{-Si}$ と $\text{PO}_4\text{-P}$ の比に依存していた (Fig. 5-5)。Tilman (1980) は、Monod のモデルから得られる「純生長ゼロの等値線 (zero net growth isocline: ZNGI)」という考え方を導入することにより、植物プランクトンの共存や競争的排除が栄養塩の供給比によって決定されるとする理論を提示した。Tilman の理論は、あくまで定常状態という仮定のもとで成り立つものであるが、グラフ上で理解できるという点で簡明であり、かつ洗練された理論であり、植物プランクトンの群集動態を理解する際の基本的な概念である (van Donk and Kilham 1990, Grover 1991b)。今回のモデルによる解析結果も、栄養塩の供給が高頻度である場合にはおおむねこのような Tilman の理論によって、共存や競争的排除といった植物プランクトン種間関係を予測することが可能であることを示唆している。

一方、栄養塩の供給が低頻度になると様相は異なり、高頻度である場合に比較して3種が共存可能となる範囲が拡大したうえに種間関係もより複雑なものとなった (Fig. 5-6)。例えば、*A. tamarensis* の細胞密度が *H. triquetra* のそれを上回るという高頻度条件下では見られなかった状況が生じ (Fig. 5-4A)、また、*A. tamarensis* と *H. triquetra* の細胞密度の大小関係が栄養塩の供給に呼

応して短周期で変動する場合があることも確認された (Fig. 5-3B)。

このような栄養塩の低頻度供給に代表される擾乱によってもたらされる非定常条件下において、群集の動態パターンは、その構成種の個体群動態を反映したものとなる (Connell and Sousa 1983)。例えば、Turpin and Harrison (1979) は、 $\text{NH}_4\text{-N}$ を連続的に供給した場合には $\text{NH}_4\text{-N}$ 取り込みに関する親和性 (ρ_{\max}/K_p) が高い *Chaetoceros* spp. が優占するのに対し、 $\text{NH}_4\text{-N}$ を1日1回パルス的に添加した場合には ρ_{\max} が大きい *S. costatum* が優占することを連続培養条件下で示した。また、Watanabe and Miyazaki (1996) も湖沼でしばしば優占種となる緑藻 *Scenedesmus quadricauda* (Turpin) Brmbisson とラン藻 *Microcystis navacekii* (Kom.) Comp. との間に同様の関係が成り立つことを報告している。そこで、ここでは Watanabe and Miyazaki (1996) にならい、*A. tamarensis* の増殖ならびに $\text{PO}_4\text{-P}$ 取り込みに関する様々なパラメータ ($\rho_{\max}^P, K_p^P, \rho_I^P/\rho_{\max}^P, \mu_m^P, Q_o^P, Q_m^P/Q_o^P$) をそれぞれ *H. triquetra* と等しい値に変換した場合の群集動態をモデルで解析することによって、栄養塩の供給頻度による両種の個体群動態の相違がどのような生理学的特性に依存するものであるかを検討した。本来、*A. tamarensis* の増殖に有利であるはずの条件下で、本種の細胞密度が著しく低下したのは、 Q_m^P/Q_o^P を変えた場合のみであった (Fig. 5-7)。したがって、栄養塩の供給が低頻度である条件下で *A. tamarensis* の増殖が有利となるのは、 Q_m^P/Q_o^P が大きいこと、すなわ

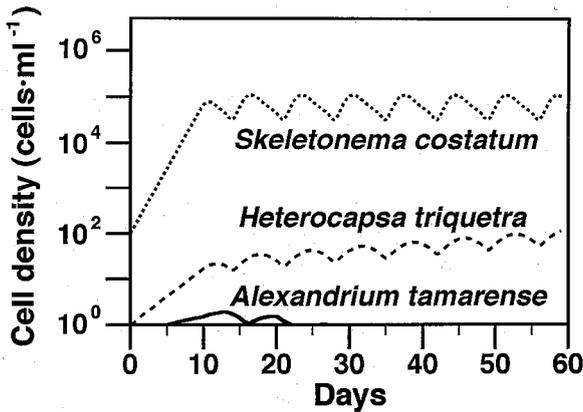


Fig. 5-7. Simulation of competition among three marine phytoplankton species (*Alexandrium tamarense*, *Heterocapsa triquetra*, and *Skeletonema costatum*) where Q_m^P/Q_0^P values of *A. tamarense* changed from 20 to 1.3. Silicate and phosphate loads, where both of nutrients were supplied once a week, were set to 1.0 and 0.5 $\mu\text{M} \cdot \text{d}^{-1}$, respectively. Compare with the simulation result of Fig. 5-3 (C).

ち、細胞内に蓄積可能なリン含有量が大きいためであると推察される。

A. tamarense および *H. triquetra* が *S. costatum* と共存することが可能となるためには、負荷される $\text{SiO}_2\text{-Si}$ と $\text{PO}_4\text{-P}$ の比が高頻度供給条件下では1.5程度、低頻度供給条件下においても10程度にまで低下することが必要であった。この値は広島湾に負荷されているであろう Si/P 比（おそらく、25~100程度）と比較すると相対的に小さい。

その理由のひとつとして、解析の対象とした植物プランクトン種のなかで、増殖に $\text{SiO}_2\text{-Si}$ を必要とするのは *S. costatum* のみであったため、 $\text{SiO}_2\text{-Si}$ を単独で利用可能であったことが考えられる。自然環境下においては、*S. costatum* が単独で $\text{SiO}_2\text{-Si}$ を利用可能な状況は生じない。1995年春季に呉港で行った観測においても、*Chaetoceros* spp. や *Asterionellopsis glacialis* (Castracane) Round, *Pseudo-nitzschia* spp. といった珪藻類が比較的高密度で存在していることが観察された。これらの珪藻類のなかには、*S. costatum* ほど高い $\text{PO}_4\text{-P}$ 取り込み能は有していないが、 $\text{SiO}_2\text{-Si}$ の利用という点においては *S. costatum* より優っている種が存在していても不思議ではない。このような状況下では、 $\text{PO}_4\text{-P}$ と同時に $\text{SiO}_2\text{-Si}$ をめぐる種間競争も生じうる。したがって、自然環境下においては、 $\text{SiO}_2\text{-Si}$ の負荷量がより大きい場合であっても *A. tamarense* や *H. triquetra* が *S. costatum* と共存することが可能であると想像される。また、河口域に生息する付着珪藻によって、河川水中の $\text{SiO}_2\text{-Si}$ が消費されてから海域に流入するという可能性も考えられよう。さらに、捕食や沈降といった珪藻類が選択的に排除され

るような機構についても考慮することが必要であるが、この点については章を改め、後ほど議論する。

モデルによる解析結果から、(1) *A. tamarense* が *S. costatum* と共存するためには、*S. costatum* の増殖が $\text{SiO}_2\text{-Si}$ によって制限されていなければならないこと、また、(2) *A. tamarense* は栄養塩の供給が低頻度である条件下において、*H. triquetra* より有利に増殖することが可能であることが明らかとなった。このような結果は、1995年春季に呉港で行った観測で得られた *A. tamarense* の増殖時の栄養塩環境とよく一致する。したがって、広島湾における *A. tamarense* の増殖には、 $\text{PO}_4\text{-P}$ および $\text{SiO}_2\text{-Si}$ の負荷量ならびに供給頻度が重要な役割を果たしていると結論づけられる。

第VI章 論 議

第I章で述べたように、広島湾においては1992年以降、*A. tamarense* を原因種とする麻痺性貝毒が毎年春季に発生しているが、マガキをはじめとする二枚貝類の毒化や *A. tamarense* の増殖状況に年による違いが認められる。1992年の *A. tamarense* の細胞密度については、発生初年度であることから詳細な情報は得られていないが、重点調査が開始された4月下旬にはすでに消滅過程にあったものと推定されている（広島県 1993, Fig. 6-1）。また、マガキから検出された毒量が最高 $38.0 \text{ MU} \cdot \text{g}^{-1}$ 、ムラサキイガイに至っては最高 $240 \text{ MU} \cdot \text{g}^{-1}$ にまで達したことが特筆される。これらの毒量はともに以降の3年間を含め（1992~1995年）最高値に相当する。1993年にも、*A. tamarense* が最高 $10^2 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ のレベルまで増殖し、マガキから最高 $18.3 \text{ MU} \cdot \text{g}^{-1}$ の麻痺性貝毒が検出された（広島県 1994, Fig. 6-1）。しかしながら、1992年と比較すると *A. tamarense* の増殖は遅れ、広島湾奥部の海田湾において最高密度が記録されたのは5月上旬であった。一方、1994年度の *A. tamarense* の細胞密度のピークはさらに遅れて5月中旬となり、最高密度は $30 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ 程度に過ぎず、また、マガキから出荷規制値以上の貝毒は検出されなかった（広島県 1995, Fig. 6-1）。

今回の研究成果は、栄養塩をめぐる植物プランクトンの種間競争という観点から *A. tamarense* の増殖機構に新たな解釈を加えた。しかしながら、上述したような増殖状況の年による違いを栄養塩をめぐる植物プランクトンの種間競争のみから説明することは困難である。現場海域における植物プランクトンの現存量は、細胞の増殖や物理的・生物的集積といった密度増加要因と、拡散、沈降、さらには動物プランクトンによる摂食などの密度減少要因とのバランスによって決定される。これまでの各章では増加要因の一つである *A. tamarense* 細胞の増殖と栄養塩との関係に論点を絞り、解析を行った。そこで、

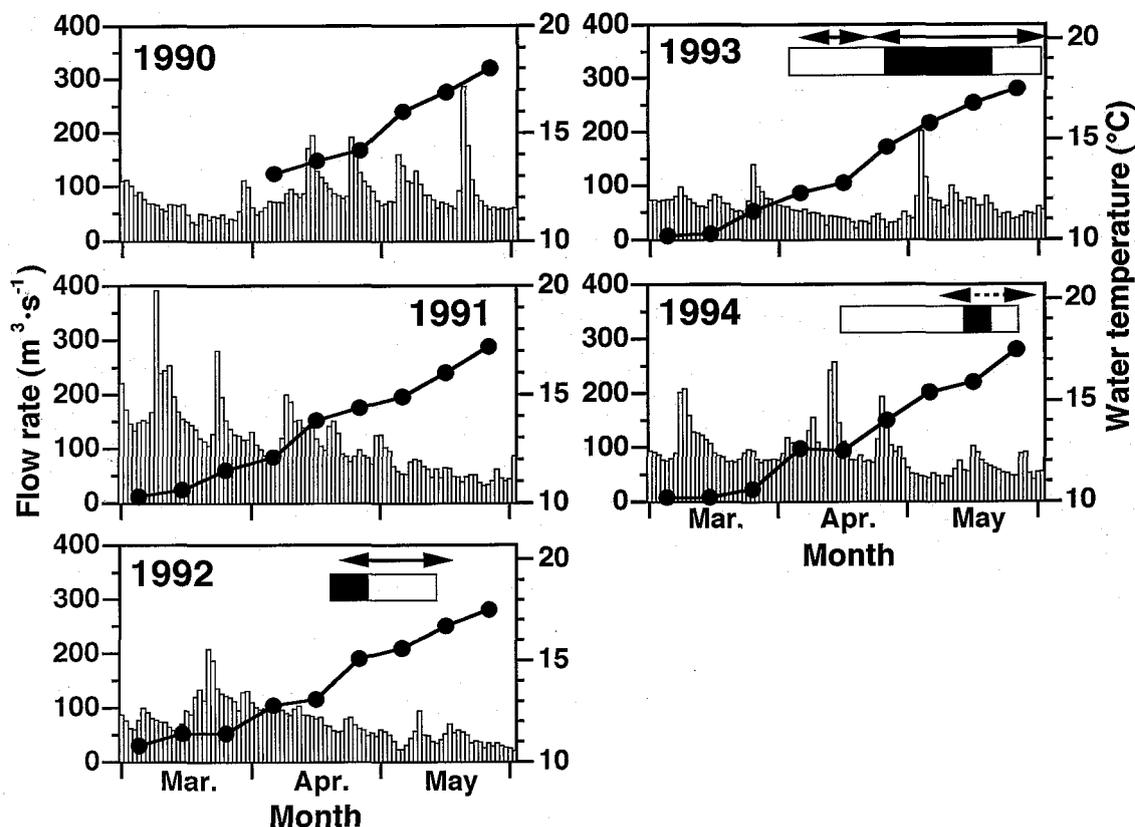


Fig. 6-1. Discharge of the Ohta River (column) at the Yaguchi 1 station and water temperature (solid line) at Ondo during March–May in 1990–1994. Arrows indicate the duration of significant shellfish toxicities ($>4 \text{ MU} \cdot \text{g}^{-1}$). Open and closed bars indicate periods of the cell density of *Alexandrium tamarense* being $>1 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ and $>10 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$, respectively.

ここでは他の要因について考察を試みる。

広島湾奥部の表層水温は1～3月に最低(10.1～11.6°C)となり、4月頃から上昇し始める。3か年ともに *A. tamarense* の細胞密度が $10 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ を上回ったときの表層水温は13～16°Cの範囲にあった(広島県水産試験場 1993, 1994, 1995, Fig. 6-1)。この水温は、培養条件下で得られた本種の増殖至適範囲(12～20°C)ともほぼ一致しており(山本・樽谷 1997)、春先の水温の上昇が本種の活発な増殖を促す重要な要因の一つであることが示唆される。しかしながら、表層水温の推移のみから前述した年度による増殖状況の相違を説明することは困難である。また、麻痺性貝毒の発生が見られなかった1990および1991年度についても、貝毒発生年と表層水温の変動傾向に大きな違いは認められなかった(広島県水産試験場 1991, 1992, Fig. 6-1)。したがって、水温は *A. tamarense* の増殖を促す必要条件ではあるが、必ずしも十分条件ではなく、他の要因が関与しているであろうことが想像できる。塩分についても同様で、*A. tamarense* の増殖至適範囲である25～35(山本・樽谷 1997)は、広島湾奥部において毎年満たされている。

広島湾に流入する太田川は、広島県西部を貫流する中

国地方有数の一級河川であり、広島湾、特に湾奥部の海況、水質に多大な影響を及ぼす(建設省河川局 1996)。1990～1994年の5年間の平均流量は $82 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ 、最低は1994年の $45 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ 、最高は1993年の $130 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ であった。月別平均流量に関しては、年変動が大きいのが、通常、雪解けの起こる春先と梅雨期に増加する傾向にある(湯浅他 1987)。*A. tamarense* の細胞密度と太田川の流量の変動を比較すると、3か年ともに *A. tamarense* が高密度($>10 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$)となった約30日前に河川流量の急激な増加が認められる。Hallegraeff *et al.* (1995)は、海況および気象データを解析することによって、タスマニア島南部海域における *Gymnodinium catenatum* Graham(麻痺性貝毒原因プランクトンの一種)のブルーム形成が3週間前の河川流量の増加と密接な関係にあることを明らかにした。*A. tamarense* は増殖速度が小さく、個体群を拡大するためにはかなりの日数を要することを考慮すると、本種の場合にもこのような河川流量の増加が増殖を誘発する引き金としての役割をはたしていることが想像される。

A. tamarense の増殖期間中の河川流量の推移に関しては、予想に反し、貝毒非発生年である1990, 1991年を

含めいずれの年においても、本研究で得られた *A. tamarense* の増殖に有利な条件、すなわち、栄養塩の供給が低頻度であるという条件を充たしていると言える。しかしながら、増水時の流量に関しては年による違いが認められる。河川から大量の淡水が流入すると、栄養塩が負荷される反面、隣接する海域間との海水交換が増すため、湾内で増殖中の植物プランクトンを湾外へ運び去ってしまう。特に表層水は移流（密度流）によって淡水流入量と湾の容積から求められる海水交換率を上回る速度で湾外へ流出するであろう。*A. tamarense* は補償光量が高く、活発な増殖を行うには比較的高い光強度を必要とするため (Langdon 1987, 山本他 1995, 山本・樽谷 1997), 曇天あるいは降雨時には表層付近にまで浮上することが推察される。Fig. 6-2 は、 $PO_4\text{-P}$ および $SiO_2\text{-Si}$ が7日間隔で供給される希釈率 0.25 d^{-1} の半連続培養系において、栄養塩供給時の希釈率のみを 0.25 d^{-1} から 0.75 d^{-1} まで変化させたときの *A. tamarense*, *H. triquetra* および *S. costatum* の3種から構成される群集の動態を第V章と同様の方法でモデルにより解析した結果である。希釈率の増加に伴い栄養塩の負荷量が増すにもかかわらず、*A. tamarense* の細胞密度は増加せず、 0.75 d^{-1} では washout される結果となった。この結果は、本種の増殖期に当たる4月中旬～5月上旬に河川流量の増加が顕著であった1990年および1994年の事例を

説明するように思える。

成層した海域において、遊泳力を持たない珪藻類などが潮流によって湾外へと流出してしまう状況下で、しばしば鞭毛藻類がブルームを形成する。これは、遊泳力を持つ鞭毛藻類が移流・拡散速度の小さい中・底層へと移動することによって、選択的に湾内に保持されるためであると考えられている (Seliger *et al.* 1970, Tyler and Seliger 1978, 1981)。一般的に、このような機構は成層期のみ成立するものであるが、Anderson and Stolzenbach (1985) は、混合条件下においても同様に鞭毛藻類が選択的に湾内に保持される機構が存在することを、コッド岬にある Salt Pond での *A. tamarense* のブルーム形成と潮汐との関係を例に挙げ説明した。この場合には、(1) Salt Pond は外海と水路によってつながった特殊な海域であり、混合条件下であっても、主に表層水が下げ潮時に湾外へ流出すること、(2) 晴天時に *A. tamarense* は光強度の高い表層を忌避すること、という2つの要因が重要であることが指摘されている。河川流量の急激な増加が *A. tamarense* の増殖を抑制するであろうことは先に述べたが、ここで示した例は、同じ物理的な流動であっても潮汐を考えた場合には逆に本種の増殖を促進し、珪藻類の細胞密度を低下させる方向に作用するであろうことを示唆している。

動物プランクトンやその他の濾過摂食者による選択的

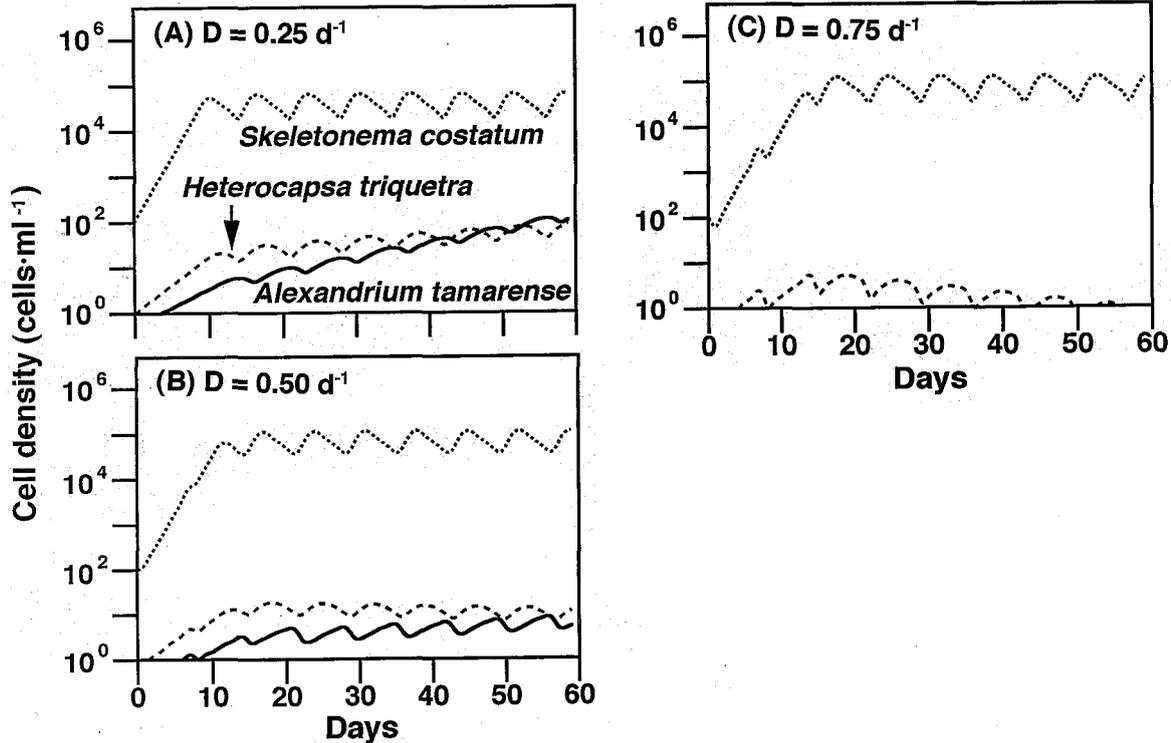


Fig. 6-2. Effect of different dilution rates on the population dynamics of three marine phytoplankton species (*Alexandrium tamarense*, *Heterocapsa triquetra*, and *Skeletonema costatum*) with the weekly phosphate and silicate supply. (A) 0.25 d^{-1} , (B) 0.50 d^{-1} , and (C) 0.75 d^{-1} .

な摂食も自然環境下における植物プランクトン群集の種組成を変化させる。通常, *S. costatum* などの珪藻類は, カイアシ類を始めとする植食性動物プランクトンの好適な餌料であるとみなされている。一方, *A. tamarense* に対する摂餌応答に関しては種特異性が強く, *Paracalanus parvus* (Claus) (s.lat.) や *Acartia omorii* Bradford など本種を摂餌する種が存在する一方で, *Calanus pacificus* Brodsky など本種を拒食する種の存在も知られている (White 1981, Huntley et al. 1986)。また, 上 (1993) は, 広島湾で大規模な養殖がなされているマガキが珪藻類 (*S. costatum*, *Thalassiosira weissflogii* (Grunow) Fryxell et Hasle) を選択的に摂餌し, *A. tamarense* と同属の *A. catenella* を拒食することを報告している。このような選択的摂食が *A. tamarense*, *H. triquetra* および *S. costatum* の3種から構成される群集の種組成に及ぼす影響をモデルによって検討した。解析条件は Fig. 5-6 と同一であるが, *A. tamarense* と *S. costatum* に対する選択的捕食を仮定し, 細胞密度にかかる希釈率をそれぞれ 0.20 d^{-1} および 0.30 d^{-1} とした。その結果, *S. costatum* の細胞密度が減少するとともに *A. tamarense* が増殖可能な $\text{PO}_4\text{-P}$ および $\text{SiO}_2\text{-Si}$ 負荷量の範囲が大幅に拡大した (Fig. 5-6, Fig. 6-3)。

拒食するにも関わらず, 広島湾において, マガキが毒化するという事実は好適な餌である珪藻類の現存量が低下し, *A. tamarense* を摂食せざるを得なかったことを示

唆するものである。マガキの生産では, 「栄養塩→珪藻→マガキ」という循環が有効に機能することによって始めて最大限の生産力が得られる (石岡 1995)。珪藻類の現存量の低下は, このような物質循環のパイプを細くするものであり, 近年, 広島湾で見られる養殖マガキの身入りの低下や成長の遅れをもたらしている要因の一つでもあると推測される。

このように現場海域における状況は複雑であり, 単一の要因によって決定されるものではない。現在, 河川流量や栄養塩の負荷量, 海水交換率, 摂食率などの具体的なデータが揃いつつある。したがって, これらのデータを実際にモデルに当てはめ, *A. tamarense* の各年の増殖状況を再現することが今後の課題として挙げられる。広島湾では, 底泥中に seed population として重要な役割を果たす *A. tamarense* のシストが高密度に存在していること (山口他 1995) を考慮すると, 栄養塩環境が急激に変化しない限り, 今後も本種による麻痺性貝毒が発生し続ける可能性が高いと予想される。わが国を含む多くの先進諸国では, 毒化モニタリングによる貝類毒化の監視体制が確立しており, 毒化貝による食中毒の発生が未然に防がれている。しかしながら, 毒化に伴う出荷規制は貝類養殖漁業者に甚大な経済的損失をもたらすものであり, 原因プランクトンである *A. tamarense* の増殖予知ならびに増殖抑制技術の開発は早急に解決されるべき重要な課題である。今回の研究結果から, 栄養塩の負荷

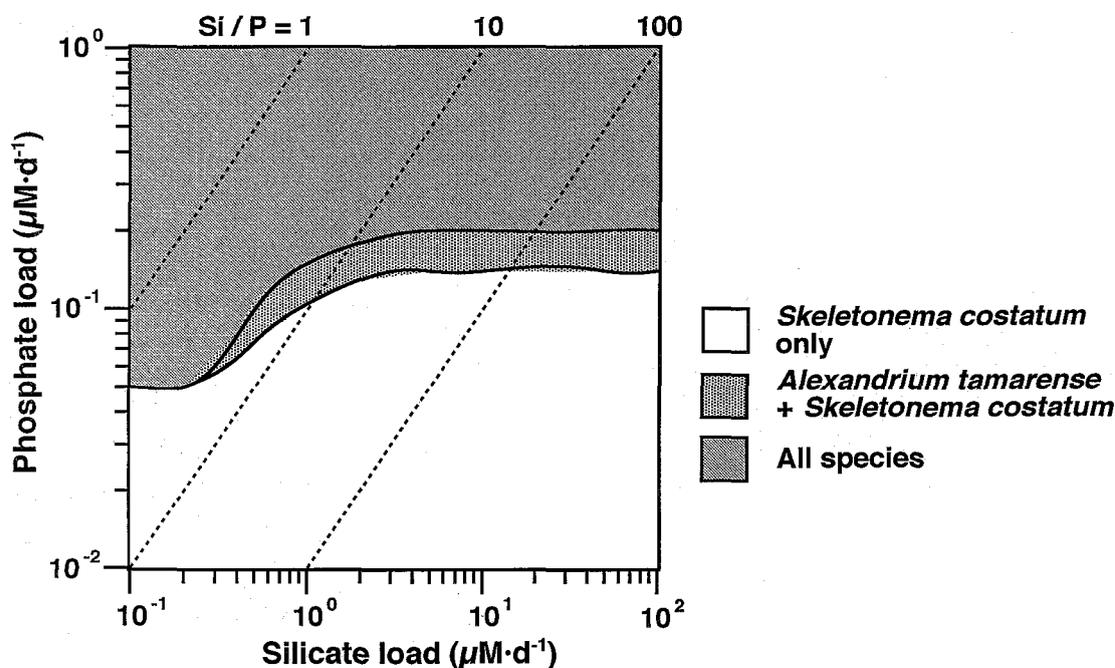


Fig. 6-3. Predicted species compositions on day 60 in various combinations of weekly phosphate and silicate loads ($0.01\text{--}1 \mu\text{M P} \cdot \text{d}^{-1}$ and $0.1\text{--}100 \mu\text{M Si} \cdot \text{d}^{-1}$, respectively) at different loss rates for three marine phytoplankton species. The loss rates were set to 0.20 d^{-1} for *Alexandrium tamarense*, 0.25 d^{-1} for *Heterocapsa triquetra*, and 0.30 d^{-1} for *Skeletonema costatum*, respectively.

量ならびに供給頻度が *A. tamarense* の増殖に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。広島湾では、本種の増殖期に当たる春季に湾内に負荷される栄養塩の大部分を河川水の流入に依存している（第Ⅱ章）。したがって、河川から流入する栄養塩の負荷比、負荷量ならびに負荷頻度が *A. tamarense* の増殖に不利となるように調節することによって、本種の増殖が抑制される可能性は高い。同時に、*A. tamarense* の増殖に利用されていた栄養塩を用いて、マガキの餌量として好適な珪藻類などの現存量が増すはずであり、マガキ生産量の回復も期待される。具体的には次のような2つの対策が考えられる。1つは $\text{SiO}_2\text{-Si}$ 負荷量を増加もしくは $\text{PO}_4\text{-P}$ 負荷量を削減することによって、 Si/P 比を上昇させることである。瀬戸内海では大阪湾の例に見られるように、瀬戸内海環境保全特別措置法によって、近年、リン濃度の低下が認められる（城 1991）。したがって、さらなる $\text{PO}_4\text{-P}$ 負荷量の削減を行うよりも、*A. tamarense* の増殖初期にケイ酸塩を散布し、珪藻類の増殖を促す方が容易であろう。もう1つは栄養塩の負荷を連続的に行うことである。広島湾に流入する太田川をはじめ、我が国の大部分の河川には上流域に利水ならびに治水用のダムや堰が設置されている。したがって、ダムや堰から、常時一定量以上の放水を行うことによって、栄養塩が連続的に負荷されるような状況を創出することは比較的容易であると思われる。また、このように河川流量を人為的に制御することは生態系の保全や安全性の面からも問題が少ないと考えられることから、ここに *A. tamarense* の増殖抑制技術の一つとして本法の実施を提案する次第である。

謝 辞

本稿をまとめるに当たり、有益な御指導と御助言を賜り、かつまた本稿の御校閲をいただきました広島大学生物生産学部教授松田 治博士ならびに同助教授山本民次博士に心より感謝の意を表します。

また、同じく御校閲の労を賜り、有益な御助言をいただいた広島大学生物生産学部教授宮澤啓輔博士、同教授上 真一博士、水産庁南西海区水産研究所赤潮環境部海況動態研究室室長（現水産庁瀬戸内海区水産研究所瀬戸内海海洋環境部生産環境研究室室長）内田卓志博士に謹んで御礼申し上げます。

広島大学生物生産学部教授 Narasimalu Rajendran 博士、同助手橋本俊也博士には本研究を進めるに当たり、数多くの助言、御指導をいただいた。併せて御礼申し上げます。

また、貴重な *Alexandrium tamarense* の分離株を快く提供していただいた広島県水産試験場資源環境部長高山晴義氏に深く感謝いたします。

本研究は広島大学生物圏科学研究科在学中に行ったも

のであり、在籍していた広島大学生物生産学部水圏環境学研究室の先輩、友人、後輩には実験や観測の際に御協力いただき、また、精神的にも支えていただいた。心から感謝いたします。

最後に、本稿を御校閲いただいた水産庁瀬戸内海区水産研究所赤潮環境部部長玉井恭一博士、同部赤潮生物研究室室長山口峰生博士をはじめ、同研究所編集委員の皆様には深謝いたします。

文 献

- Anderson, D. M., S. W. Chisholm, and C. J. Watras, 1983. Importance of life cycle events in the population dynamics of *Gonyaulax tamarensis*. *Mar. Biol.*, **76**, 179-189.
- Anderson, D. M., D. M. Kulis, and B. J. Binder, 1984. Sexuality and cyst formation in the dinoflagellate *Gonyaulax tamarensis*. Cyst yield in batch cultures. *J. Phycol.*, **20**, 418-425.
- Anderson, D. M. and K. D. Stolzenbach, 1985. Selective retention of two dinoflagellates in a well-mixed estuarine embayment. the importance of diel vertical migration and surface avoidance. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **25**, 39-50.
- 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**, 224-234.
- 阿知波英明・岩崎英雄, 1990. 有害渦鞭毛藻 *Alexandrium tamarense* の増殖特性. 藻類, **38**, 51-59.
- Bienfang, P. K. and P. J. Harrison, 1984. Sinking rate response of natural assemblages and subtropical phytoplankton to nutrient depletion. *Mar. Biol.*, **83**, 293-300.
- Bienfang, P. K., P. J. Harrison, and L. M. Quarmby, 1982. Sinking rate response to depletion of nitrate, phosphate and silicate in four marine diatoms. *Mar. Biol.*, **67**, 295-302.
- Burmaster, D. E., 1979. The unsteady continuous culture of phosphate-limited *Monochrysis lutheri* Droop: experimental and theoretical analysis. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **39**, 167-186.
- Cembella, A. D., N. I. Antia, and P. J. Harrison, 1984. The utilization of inorganic and organic phosphorous compounds as nutrients by eucaryotic microalgae: a multidisciplinary perspective: Part 1. *CRC Crit. Rev. Microbiol.*, **10**, 317-391.
- Collos, Y., 1983. Transient situations in nitrate assimilation by marine diatoms. 4. Non-linear phenomena and the estimation of the maximum uptake rate. *J. Plankton Res.*, **5**, 677-691.
- Collos, Y., 1986. Time-lag algal growth dynamics: Biological constraints on primary production in aquatic environments. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **33**, 193-226.
- Connell, J. H., 1978. Diversity in tropical rainforests and coral reefs. *Science*, **199**, 1304-1310.
- Connell, J. H. and W. P. Soursa, 1983. On the evidence needed to judge ecological stability or persistence. *Am. Nat.*, **121**, 789-824.
- Conway, H. L., P. J. Harrison, and C. O. Davis, 1976. Marine diatoms grown in chemostats under silicate or ammonium limitation. II. Transient response of *Skeletonema costatum* to a single addition of the limiting nutrient. *Mar.*

- Biol.*, **35**, 187–199.
- Conway, H. L. and P. J. Harrison, 1977. Marine diatoms grown in chemostats under silicate or ammonium limitation. IV. Transient response of *Chaetoceros debilis*, *Skeletonema costatum*, and *Thalassiosira gravida* to a single addition of the limiting nutrient. *Mar. Biol.*, **43**, 33–43.
- Cunningham, A. and R. M. Nisbet, 1980. Time lag cooperativity in the transient growth dynamics of microalgae. *J. Theor. Biol.*, **84**, 189–203.
- Davidson, K. and A. Cunningham, 1996. Accounting for nutrient processing time in mathematical models of phytoplankton growth. *Limnol. Oceanogr.*, **41**, 779–783.
- Davidson, K., A. Cunningham, and K. J. Flynn, 1993. Modeling temporal decoupling between biomass and numbers during the transient nitrogen-limited growth of a marine phytoplankton. *J. Plankton Res.*, **15**, 351–359.
- Davis, C. O., N. F. Breitner, and P. J. Harrison, 1978. Continuous culture of marine diatoms under silicon limitation. 3. A model of Si-limited diatom growth. *Limnol. Oceanogr.*, **23**, 41–52.
- DeManche, J. M., H. C. Curl, Jr., D. W. Lundy, and P. L. Donaghay, 1979. The rapid response of the marine diatom *Skeletonema costatum* to changes in external and internal nutrient concentration. *Mar. Biol.*, **53**, 323–333.
- Denman, K. L. and A. E. Gargett, 1983. Time and space of vertical mixing and advection of phytoplankton in the upper ocean. *Limnol. Oceanogr.*, **28**, 801–815.
- Droop, M. R., 1968. Vitamin B₁₂ and marine ecology. IV. The kinetics of uptake, growth and inhibition of *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., 1983. 25 years of algal growth kinetics. *Bot. Mar.*, **26**, 99–112.
- Dugdale, R. C., 1967. Nutrient limitation in the sea: dynamics, identification, and significance. *Limnol. Oceanogr.*, **12**, 685–695.
- Dugdale, R. C., 1977. Modeling. In “The Sea: Ideas and Observations of Progress in the Study of the Seas” Vol. 6. (ed. by E. D. Goldberg), John Wiley & Sons Interscience, New York, 789–806.
- Dugdale, R. C., B. H. Jones Jr., J. J. MacIsaac, and J. J. Goering, 1981. Adaptation of nutrient assimilation. In “Physiological Bases of Phytoplankton Ecology” (ed. by T. Platt), *Can. Bull. Fish. Aquat. Sci.*, **210**, 234–250.
- Eppley, R. W., J. N. Rogers, and J. J. McCarthy, 1969. Half-saturation constants for uptake of nitrate and ammonium by marine phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.*, **14**, 912–920.
- Fukuyo, Y., 1985. Morphology of *Protogonyaulax tamarensis* (Lebour) Taylor and *Protogonyaulax catenella* (Whedon and Kofoid) Taylor from Japanese coastal waters. *Bull. Mar. Sci.*, **37**, 529–537.
- Grover, J. P., 1991a. Non-steady state dynamics of algal population growth: Experiments with two Chlorophytes. *J. Phycol.*, **27**, 70–79.
- Grover, J. P., 1991b. Resource competition in a variable environment: phytoplankton growing according to the variable-internal-stores model. *Am. Nat.*, **138**, 811–835.
- Guillard, R. R. L., 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In “Culture of marine invertebrate animals” (eds. by W. L. Smith and M. H. Chanley), Plenum Publishing Corp., New York, 29–60.
- Guillard, R. R. L., 1995. Culture Methods. In “Manual on Harmful Marine Microalgae” (eds. by G. M. Hallegraeff, D. M. Anderson and A. D. Cembella), Intergovernmental Oceanographic Communication of UNESCO, Paris, 45–62.
- Guillard, R. R. L. and P. E. Hargraves, 1993. *Stichochrysis immobilis* is a diatom, not a chrysophyte. *Phycologia*, **32**, 234–236.
- Hallegraeff, G. M., M. A. McCausland, and R. K. Brown, 1995. Early warning of toxic dinoflagellate blooms of *Gymnodinium catenatum* in southern Tasmanian waters. *J. Plankton Res.*, **17**, 1163–1176.
- Harrison, P. J., J. S. Parslow, and H. L. Conway, 1989. Determination of nutrient uptake kinetic parameters: a comparison of methods. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **52**, 301–312.
- Harrison, P. J., D. H. Turpin, P. K. Bienfang, and C. O. Davis, 1986. Sinking as a factor affecting phytoplankton species succession: the use of selective loss semi-continuous cultures. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **99**, 19–30.
- 広島県, 1993. 平成4年度赤潮貝毒監視事業報告書(貝毒調査事業), 6 pp.
- 広島県, 1994. 平成5年度赤潮貝毒監視事業報告書(貝毒調査事業), 7 pp.
- 広島県, 1995. 平成6年度赤潮貝毒監視事業報告書(貝毒調査事業), 5 pp.
- 広島県水産試験場, 1991. 広島県水産試験場事業報告(平成2年度), 91 pp.
- 広島県水産試験場, 1992. 広島県水産試験場事業報告(平成3年度), 102 pp.
- 広島県水産試験場, 1993. 広島県水産試験場事業報告(平成4年度), 99 pp.
- 広島県水産試験場, 1994. 広島県水産試験場事業報告(平成5年度), 68 pp.
- 広島県水産試験場, 1995. 広島県水産試験場事業報告(平成6年度), 62 pp.
- 広島県水産試験場, 1996. 広島県水産試験場事業報告(平成7年度), 73pp.
- Huntley, M. P. Sykes, S. Rohan, and V. Marin, 1986. Chemically-mediated rejection of dinoflagellate prey by the copepods *Calanus pacificus* and *Paracalanus parvus*: mechanism, occurrence and significance. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **28**, 105–120.
- Hutchinson, G. E., 1961. The paradox of the plankton. *Am. Nat.*, **95**, 137–145.
- 飯塚昭二, 1987. 群成長・生物間関係・行動生態。「赤潮の科学」(岡市友利編), 恒星社厚生閣, 91–123.
- 石岡宏子, 1995. カキ養殖の現状と問題点. 瀬戸内海, **4**, 29–33.
- 城久, 1991. 大阪湾の開発と海域環境の変遷. 沿岸海洋研究ノート, **29**, 3–12.
- 神田稜太, 1993. 微細藻類の栄養塩取り込みと増殖の栄養塩律速モデル—半飽和濃度の可塑性—. 日本微生物生態学会誌, **8**, 109–123.
- 建設省河川局, 1996. 1994日本河川水質年鑑, 日本河川協会(編), 山海堂, 1158 pp.
- Kilham, P. and R. E. Hecky, 1988. Comparative ecology of marine and freshwater phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.*, **33**, 776–795.
- Kilham, S. S., 1986. Dynamics of Lake Michigan phytoplank-

- ton communities in continuous cultures along a Si: P loading gradient. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **43**, 351–360.
- 木村知博・溝上昭男・橋本俊将, 1973. 漁業被害をもたらした広島湾の赤潮: その発生状況と発生環境. 日本プランクトン学会報, **19**, 24–38.
- Konovalova, G. V., 1989. Phytoplankton blooms and red tides in the Far East coastal waters of the USSR. In "Red Tides" (eds. by T. Okaichi, D. M. Anderson and T. Nemoto), Elsevier, New York, 97–100.
- Koroleff, F., 1983a. Total and organic nitrogen. In "Methods of Seawater Analysis" (eds. by K. Grasshoff, M. Ehrhardt and K. Kremling), Verlag Chemie, Weinheim, 162–173.
- Koroleff, F., 1983b. Determination of phosphorus. In "Methods of Seawater Analysis" (eds. by K. Grasshoff, M. Ehrhardt and K. Kremling), Verlag Chemie, Weinheim, 125–139.
- Langdon, C., 1987. On the causes of interspecific differences in the growth-irradiance relationship for phytoplankton. Part I. A comparative study of the growth-irradiance relationship of three marine phytoplankton species: *Skeletonema costatum*, *Olisthodiscus luteus* and *Gonyaulax tamarensis*. *J. Plankton Res.*, **9**, 459–482.
- MacIsaac, J. J., G. S. Grunseich, H. E. Glover, and M. Y. Clarice, 1979. Light and nutrient limitation in *Gonyaulax excavata*: nitrogen and carbon tracer results. In "Toxic Dinoflagellate Blooms" (eds. by D. L. Taylor and H. H. Seliger), Elsevier, Amsterdam, 107–110.
- Mahoney, J. B., 1989. Algal assay of relative abundance of phytoplankton nutrients in northeast United States coastal and shelf waters. *Water Res.*, **23**, 603–615.
- McGowan, J. A. and P. W. Walker, 1985. Dominance and diversity maintenance in an oceanic ecosystem. *Ecol. Monogr.*, **55**, 103–118.
- Mendez, S., D. Severov, G. Ferrari, and C. Mesones, 1996. Early spring *Alexandrium tamarense* toxic blooms in the Uruguayan waters. In "Harmful and Toxic Algal Blooms" (eds. by T. Yasumoto, Y. Oshima and Y. Fukuyo), Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Paris, 113–116.
- Monod, J., 1949. The growth of bacterial cultures. *Ann. Rev. Microbiol.*, **3**, 371–394.
- Murphy, J. and J. P. Riley, 1962. A modified single-solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acta.*, **27**, 31–36.
- Nakamura, Y., 1985. Kinetics of nitrogen- or phosphorus-limited growth and effects of growth conditions on nutrient uptake in *Chattonella antiqua*. *J. Oceanogr. Soc. Japan*, **41**, 381–387.
- 日本海洋学会沿岸海洋研究部会, 1985. 日本全国沿岸海洋誌, 東海大学出版会, 1106 pp.
- 西澤一俊・千原光雄, 1979. 藻類研究法, 共立出版, 754 pp.
- Okubo, A., 1978. Horizontal dispersion and critical scales for phytoplankton patches. In "Spatial Pattern in Plankton Communities" (ed. by J. H. Steele), NATO Conf. Ser. IV. Vol. 3. Plenum Press. New York and London, 21–42.
- Paasche, E., 1973. Silicon and the ecology of marine plankton diatoms. II. Silicate-uptake kinetics in five diatom species. *Mar. Biol.*, **19**, 262–269.
- Parslow, J. S., P. J. Harrison, and P. A. Thompson, 1985. Interpreting rapid changes in uptake kinetics in the marine diatom *Thalassiosira pseudonana* (Hustedt). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **91**, 53–64.
- Ragueneau, O. and P. Treguer, 1994. Determination of biogenic silica in coastal waters: applicability and limits of the alkaline digestion method. *Mar. Chem.*, **45**, 43–51.
- Rhee, G.-Y., 1973. A continuous culture study of phosphate uptake, growth rate and polyphosphate in *Scenedesmus* sp. *J. Phycol.*, **9**, 495–506.
- Sasaki, K. and Y. Sawada, 1980. Determination of ammonia in estuary. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **46**, 319–321.
- Sciandra, A., 1991. Coupling and uncoupling between nitrate uptake and growth rate in *Prorocentrum minimum* (Dinophyceae) under different frequencies of pulsed nutrient supply. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **72**, 261–269.
- Seliger, H. H., J. H. Carpenter, M. Loftus, and W. D. McElroy, 1970. Mechanisms for the accumulation of high concentrations of dinoflagellates in a bioluminescent bay. *Limnol. Oceanogr.*, **15**, 234–245.
- Smayda, T. J., 1990. Novel and nuisance phytoplankton blooms in the sea: Evidence for a global epidemic. In "Toxic Marine Phytoplankton" (eds. by E. Graneli, B. Sundstrom, L. Edler and D. M. Anderson), Elsevier, New York, 29–40.
- Sommer, U., 1985. Comparison between steady state and nonsteady state competition: Experiments with natural phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.*, **30**, 335–346.
- Sommer, U., 1989. The role of competition for resources in phytoplankton succession. In "Plankton Ecology: Succession in plankton communities" (ed. by U. Sommer), Springer, Berlin, 57–106.
- Sommer, U., 1995. An experimental test of the intermediate disturbance hypothesis using cultures of marine phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.*, **40**, 1271–1277.
- Sournia, A., M. J. Chretiennot-Dinet and M. Richard, 1991. Marine phytoplankton: how many species in the world ocean? *J. Plankton Res.*, **13**, 1093–1099.
- Strickland, J. D. and T. Parsons, 1972. "A Practical Handbook of Seawater Analysis", *Fish. Res. Bd. Canada*, 293 pp.
- Su, H.-M., I.-C. Liao, and Y. M. Chiang, 1989. A toxic dinoflagellate first recorded in Taiwan. In "Red Tides" (eds. by T. Okaichi, D. M. Anderson and T. Nemoto), Elsevier, New York, 85–88.
- 樽谷賢治, 1994. 有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium tamarense* の増殖および栄養塩の取り込みに関する動力学的研究. 広島大学大学院生物圏科学研究科修士論文.
- 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.
- Therriault, J. C., J. Painchaud, and M. Levasseur, 1985. Factors controlling the occurrence of *Protogonyaulax tamarensis* and shellfish toxicity in the St. Lawrence Estuary: freshwater runoff and the stability of the water column. In "Toxic Dinoflagellates" (eds. by D. M. Anderson, A. White and D. Baden), Elsevier, New York, 141–146.
- Tilman, D., 1980. Resources: a graphical-mechanistic approach to competition and predation. *Am. Nat.*, **116**, 362–393.
- Tilman, D., 1981. Test of resource competition theory using four species of Lake Michigan algae. *Ecology*, **62**, 802–815.
- Tilman, D., R. Kiesling, R. Sterner, S. S. Kilham, and F. A.

- Johnson, 1986. Green, bluegreen and diatom algae: Taxonomic differences in competitive ability of phosphorus, silicon and nitrogen. *Arch. Hydrobiol.*, **106**, 473-485.
- 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.
- 角皆静男, 1979. 植物プランクトン組成を決定する第1因子としての溶存ケイ素. 北大水産彙報, **30**, 314-322.
- Turpin, D. H. and P. J. Harrison, 1979. Limiting nutrient patchiness and its role in phytoplankton ecology. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **39**, 151-166.
- Tyler, M. A. and H. H. Seliger, 1978. Annual subsurface transport of a red tide dinoflagellate to its bloom area: water circulation patterns and organism distributions in the Chesapeake Bay. *Limnol. Oceanogr.*, **23**, 227-246.
- Tyler, M. A. and H. H. Seliger, 1981. Selection for a red tide organism: physiological responses to the physical environment. *Limnol. Oceanogr.*, **26**, 310-324.
- Uchida, T., K. Kawamata, and Y. Nishihama, 1980. Vertical distribution of paralytic toxin-producing species, *Protogonyaulax* sp. in Funka Bay, Hokkaido. *Jpn. J. Phycol.*, **28**, 133-139.
- 上 真一, 1993. 植物プランクトン摂食者に及ぼす N:P 比の影響. 「水域の窒素:リン比と水産生物」(吉田陽一編), 恒星社厚生閣, 63-72.
- van Donk, E. and S. S. Kilham, 1990. Temperature effects on silicon- and phosphorus-limited growth and competitive interactions among three diatoms. *J. Phycol.*, **26**, 40-50.
- Watanabe, T. and T. Miyazaki, 1996. Maximum ammonium uptake rates of *Scenedesmus quadricauda* (Chlorophyta) and *Microcystis novacekii* (Cyanobacteria) grown under nitrogen limitation and implications for competition. *J. Phycol.*, **32**, 243-249.
- White, A. W., 1976. Growth inhibition caused by turbulence in the toxic marine dinoflagellate *Gonyaulax excavata*. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **33**, 2598-2602.
- White, A. W., 1981. Marine zooplankton can accumulate and retain dinoflagellate toxins and cause fish kills. *Limnol. Oceanogr.*, **26**, 103-109.
- Wood, E. P., F. A. Armstrong, and F. A. Richards, 1967. Determination of nitrate in seawater by cadmium-copper reduction to nitrite. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.*, **47**, 23-31.
- 山口峰生・板倉 茂・今井一郎, 1995. 広島湾海底泥における有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium tamarense* および *Alexandrium catenella* シストの現存量と水平・鉛直分布. 日水誌, **61**, 700-706.
- Yamamoto, M. and M. Yamasaki, 1996. Japanese monitoring system on shellfish toxins. In "Harmful and Toxic Algal Blooms" (eds. by T. Yasumoto, Y. Oshima and Y. Fukuyo), Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Paris, 19-22.
- Yamamoto, T. and K. Tarutani, 1996. Growth and phosphate uptake kinetics of *Alexandrium tamarense* from Mikawa Bay, Japan. In "Harmful and Toxic Algal Blooms" (eds. by T. Yasumoto, Y. Oshima and Y. Fukuyo), Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Paris, 293-296.
- 山本民次・吉津祐子・樽谷賢治, 1995. 三河湾産有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium tamarense* の増殖に及ぼす水温, 塩分及び光強度の影響. 藻類, **43**, 91-98.
- 山本民次・樽谷賢治, 1997. 広島湾産有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium tamarense* の増殖に及ぼす水温, 塩分及び光強度の影響. 藻類, **45**, 95-101.
- 湯浅一郎・上嶋英機・宝田盛康・橋本英資, 1984. 広島湾・呉湾における水質変動特性. 中国工業技術試験所報告, **22**, 47-66.
- 湯浅一郎・上嶋英機・宝田盛康・橋本英資, 1987. 太田川感潮域の水質変動. 中国工業技術試験所報告, **29**, 1-14.
- 湯浅一郎・山崎宗広・橋本英資・宝田盛康・田辺弘道, 1995. 広島湾・呉湾における貧酸素水塊の分布と歴史. 中国工業技術研究所報告, **44**, 9-17.