

海洋深層水が海産植物プランクトン, *Skeletonema costatum* の増殖に及ぼす影響

中島敏光 *¹ 豊田孝義 *¹

海洋深層水が植物プランクトン増殖に及ぼす影響を調べるために、大島沖合海域の0.5~600mまでの各深度水を対象にし、海産珪藻 *Skeletonema costatum* を用いて栄養物質添加静置培養実験を行った。

S. costatum は600m深度水で最終細胞濃度が $35.6 \times 10^4 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ に達するまで $\mu = 0.72 \cdot \text{day}^{-1}$ の速度で増殖したが、その細胞は増殖遅延を示した。600m深度水による栄養物質添加実験結果は、微量金属類、ビタミン類、EDTAおよびTRISのいずれも、増殖速度および最終細胞収量に実質的な影響を及ぼさないが、EDTAのみは増殖遅延の減少に実質的な影響を及ぼした。 $100 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ 以上のEDTA添加濃度が増殖遅延の減少に効果的であり、特に最大効果がみられる最適濃度は $200 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ であった。これらの結果は、植物プランクトン増殖から増殖遅延を消失するのに必要なキレート有機物質が深層水では不足していることを示唆する。接種サイズの増大によっても増殖遅延は減少し、*S. costatum*細胞が深層水を増殖に適した水質にするために、深層水中にキレート有機物質を産出していることが示唆された。

夏季成層期の調査点Bにおける水を鉛直的に次の3タイプに区分することができた。タイプI：キレート有機物質に富むが無機栄養物質に不足している補償深度以浅の水（表層水）。タイプII：キレート有機物質および無機栄養物質が適度の量で存在する補償深度直下層の水（混合水）。タイプIII：無機栄養物質に富むがキレート有機物質に不足している補償深度直下層水より以深の水（深層水）。

Effects of Deep Ocean Water on the Growth of a Marine Phytoplankton, *Skeletonema costatum*

Toshimitsu NAKASHIMA*², Takayoshi TOYOTA*²

Enrichment batch culture experiments were carried out with a marine diatom, *Skeletonema costatum* in an attempt to assess the effects of deep ocean water on the growth of phytoplankton. Water samples were collected at various depths from 0.5 to 600 m off Ōshima Island, southern Sagami Bay, Japan. The test culture was exposed to 23°C temperature in daily cycles of alternating 12h light and 12h dark periods at a light intensity of $3,000 \text{ lx}$ ($47 \mu\text{Einstein} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$).

*¹ 海洋科学技術センター海洋開発研究部

*² Marine Research and Development Department

Although *S. costatum* grew reaching a final cell concentration of $35.6 \times 10^4 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ at a rate of $\mu = 0.72 \cdot \text{day}^{-1}$ in the 600 m deep ocean water, the cell exhibited a delay in growth. The results of enrichment experiments revealed that none of the trace metals, vitamins, EDTA and TRIS had any substantial effects on growth rate and final cell yield, and only EDTA had a substantial effect of reducing the length of the time lag. Concentrations of EDTA over $100 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ were effective in reducing the length of the time lag, especially an optimum concentration of $200 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ EDTA. These results suggest that deep ocean water is deficient in organic chelators necessary to eliminate delayed growth of phytoplankton.

Increases in inoculum size also decreased the lag, suggesting that a *S. costatum* cell excretes an organic chelator to make the deep ocean water more suitable to exponential growth.

Water at Station B in the summer stratified period was classified vertically into three types on the basis of *S. costatum* growth responses to ocean water of various depths and water characteristics.

Type I: "Surface ocean water" above compensation depth: This water is rich in organic chelators and poor in inorganic nutrients. The values of the growth rate and the final cell yield may be small because of the limited inorganic nutrients.

Type II: "Mixed water" of the right layer at compensation depth: This water contains the proper quantities of organic chelators and inorganic nutrients. Phytoplankton may grow rapidly because of no restrictive effects on organic chelators and inorganic nutrients.

Type III: "Deep ocean water" below the right layer at compensation depth: This water is poor in organic chelators and rich in inorganic nutrients. Phytoplankton population may increase slowly in the early phase of growth because of the lag period arising from a deficiency in organic chelators.

1. 諸 言

海洋での植物プランクトンによる有機物生産の時間的および空間的变化は主に光エネルギーや無機栄養物質の時間的および空間的变化に起因することが知られている^{1),2)}。事実、硝酸塩、磷酸塩そして珪酸塩の無機栄養物に富む深層の水が表層の有光層に運ばれる自然湧昇海域ではその周辺海域に比較して大きな植物プランクトン現存量が観測されている^{3),4),5),6)}。一方、深層の水に源を発する自然湧昇水では光合成能が不活発であるという結果が天然植物プランクトン群集を対象にした¹⁴C,¹³Cあるいは¹⁵Nをトレーサーとする光合成能試験により得られている^{6),7),8),9)}。自然湧昇海域での大きな植物プランクトン生産および自然湧昇水や人工湧昇水での低生産力という相反する事実は、最終的な生産物収量が光や無機栄養物質に規定され得るとはいえ、その生産過程において他の要因の介在が示唆される。このような見地から、深層の水に対する植物プランクトンの増殖応答およびその影響因子について明らかにすることは自然湧昇海域での基礎生産機構を解明するうえで重要である。

本研究では、培養珪藻 *Skeletonema costatum* (GREVILLE) CLEVE を伊豆大島周辺海域の600m深度層までの各深度層水で静置培養し、その増殖特性を調べるとともに、深層水の増殖影響

因子について enrichment bioassayにより検討したので報告する。

2. 材料および方法

2.1 実験供試生物株

東京湾海水よりピペット洗浄法で無菌的に *S. costatum* を分離し、改変 *Erd-Schreiber* 培地 (土壌抽出液を削除し、微量金属類: $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $2 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$, ZnCl_2 , $10 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $1 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $100 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $250 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$, ビタミン類: Thiamin·HCl, $5 \text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$, Biotin, $0.5 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$, B₁₂, $0.5 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$, EDTA: $500 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ および TRIS: $100 \text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ を添加) で継代培養中の本種を予備培養し、その対数増殖期のものを実験供試生物株とした。予備培養は供試生物株の順化および改変 *Erd-Schreiber* 培地の影響を避けるために実験と同一培養条件のもとで深層の実験供試水を用いて2継代 (約15日) の静置培養を行った。改変 *Erd-Schreiber* 培地濃度は予備培養の最終段階で 10^4 倍に希釈された。

2.2 実験供試水

伊豆大島周辺海域の調査点Aおよび調査点B (Fig.1) でバンドーン採水器により各深度層の水を採取した。採取水は孔径 $0.45 \mu\text{m}$ HA

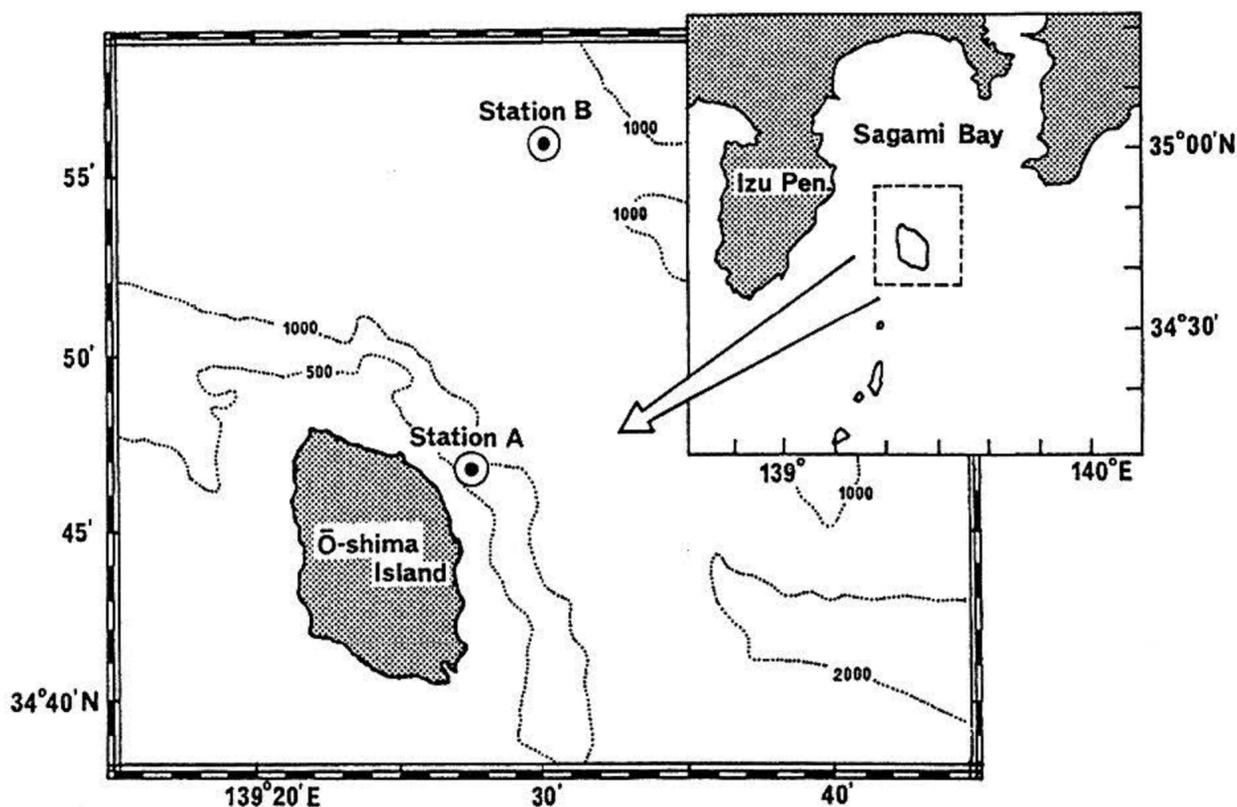


図1 採水調査点

Fig.1 Sampling stations off Ōshima Island, southern Sagami Bay.

ミリポアフィルターで濾過し、その濾液をそれぞれ実験供試水とした。実験供試水はポリエチレン容器に入れ、実験開始時まで5°Cで暗所保存した。フィルターは塩酸洗浄(2N塩酸溶液に30分間浸漬後、蒸留水250mlで2回リンス)したものを使用するとともに、ポリエチレン容器および他の実験器具も同様に塩酸洗浄したものをを用いた。Table 1に実験供試水の採水年月日、採水深度および水質性状を示す。

2.3 実験方法

温度23±1°C, 明期の照度3,000 lxの12時間明・暗周期(昼光色蛍光灯を使用)の条件のもとで、単種培養により次のような3実験を行った。

実験1では増殖に対する深層の水の効果とその影響因子について調べ、実験2では深層の水での増殖に及ぼす接種サイズの影響について調べた。また実験3では増殖に対する各深度層水の鉛直的效果特性について調べた。

実験1では調査点Aの600m深度層の無添加水(対照区)およびこれに微量金属類、ビタミン類、EDTAおよびTRISを個別に添加した供試水をそれぞれ調整した。Table 2に各添加物とそれらの濃度を示す。供試水の容積量に対して600m深度

表2 実験に用いた添加栄養物質の濃度

Table 2 Concentrations of factors used in enrichment experiments.

添加栄養物質	1 l当たりの添加量	
微量金属類		
Cu Cl ₂ · 2H ₂ O	2 μg	0.75 μg Cu
Zn Cl ₂	10 μg	4.8 μg Zn
Co Cl ₂ · 6H ₂ O	1 μg	0.25 μg Co
Mn Cl ₂ · 4H ₂ O	100 μg	27.7 μg Mn
Fe Cl ₃ · 6H ₂ O	250 μg	51.6 μg Fe
ビタミン類		
Thiamin HCl	5 mg	
Biotin	0.5 μg	
B ₁₂	0.5 μg	
EDTA	100 μg	0.342 μmole
TRIS	300 mg	

層水により予備培養した*S. costatum*株液をそれぞれ1%接種した。接種後の供試水の細胞濃度は 1.1×10^4 cells · ml⁻¹であった。

実験2では調査点Aの600m深度層の供試水容積量に対して同調査点600m深度層水による*S. costatum*株予備培養液をそれぞれ0.25, 0.5,

表1 培養実験試水の水質

Table 1 Water characteristics of samples used in culture experiments.

採水調査点	採水年月日	深度 (m)	海水密度 (kg · m ⁻³)	クロロフィルの量 (μg chl a · l ⁻¹)	無機栄養塩類 (μg at · l ⁻¹)			溶存有機炭素濃度 (mg C · l ⁻¹)	
					硝酸塩	リン酸塩	珪酸塩		
調査点A	4 June 1977	600	—	—	7.7	26.78	2.34	91.8	0.6
		0	23.70	1.54	8.1	0.92	0.04	3.5	1.2
		20	24.67	0.59	8.1	1.77	0.24	18.5	1.0
		40	25.53	0.33	8.0	7.56	0.56	24.1	1.0
		60	25.74	0.20	7.9	10.64	0.78	24.4	1.0
調査点B	13 June 1980	80	25.88	0.09	7.9	12.79	0.96	27.8	0.9
		150	26.29	—	7.8	19.50	1.39	38.3	0.9
		200	26.46	—	7.8	21.22	1.56	42.3	0.8
		300	26.75	—	7.7	28.08	1.95	57.1	0.8
		400	26.90	—	7.7	29.83	1.99	64.8	0.7
		500	27.02	—	7.6	32.46	2.37	76.2	0.7

—: non data

1.0 および 1.5 % 容積量接種した。接種後の供試水の細胞濃度はそれぞれ 2.75×10^3 , 5.5×10^3 , 1.1×10^4 および 1.65×10^4 cells \cdot ml $^{-1}$ であった。

実験 3 では調査点 B の 0.5, 20, 40, 60, 80, 150, 200, 300, 400 および 500 m の各深度層の無添加水 (対照区) とこれら各深度層水に EDTA を $200 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ 濃度添加した水をそれぞれ調整した。供試生物株は調査点 B の 500m 深度層水で予備培養し, 生育液の影響を避けるために遠心分離 (3,000 rpm) し, その生育上澄液を除去した後, さらに 500 m 深度層水で 60 倍希釈して, 再度前回と同じ遠心分離処理後, 上澄液を除去したものをを用いた。接種量は各供試水とも試水容積量の 0.2 % で, 接種後の細胞濃度はいずれの供試水も 3.1×10^3 cells \cdot ml $^{-1}$ であった。

実験 1, 実験 2 および実験 3 とも細胞数を経日測定することによりそれぞれの増殖曲線を調べ, これらの増殖曲線から増殖遅延期間, 増殖速度ならびに最終細胞収量 (最大細胞濃度) をそれぞれ求めた。細胞数測定は明期の定刻に血球計数盤を用いて行った。増殖遅延期間は増殖曲線から次のようにして求めた。接種後の供試水の細胞濃度値を時間軸に平行に延ばし, また対数増殖期の曲線を下方に外挿して, これら 2 線の交叉点に対応する時間を増殖遅延期間として求めた。増殖速度 (μ) は対数増殖期の $2 \times 10^4 \sim 2 \times 10^5$ cells \cdot ml $^{-1}$ までの細胞濃度範囲から次式により算出した。

$$\mu = \frac{\ln N_2 - \ln N_1}{t_2 - t_1}$$

ここで, N_2 および N_1 はそれぞれ t_2 および t_1 時の細胞濃度を示す。実験 3 の 0.5m および 20m 深度層水の増殖速度については接種時の細胞濃度から 1.5×10^4 cells \cdot ml $^{-1}$ までの細胞濃度範囲から算出した。最終細胞収量は定常期の最大細胞濃度を用いた。

3. 結 果

3.1 植物プランクトン増殖に対する深層水の効果とその影響因子 (実験 1)

対照区ならびに微量金属類, ビタミン類,

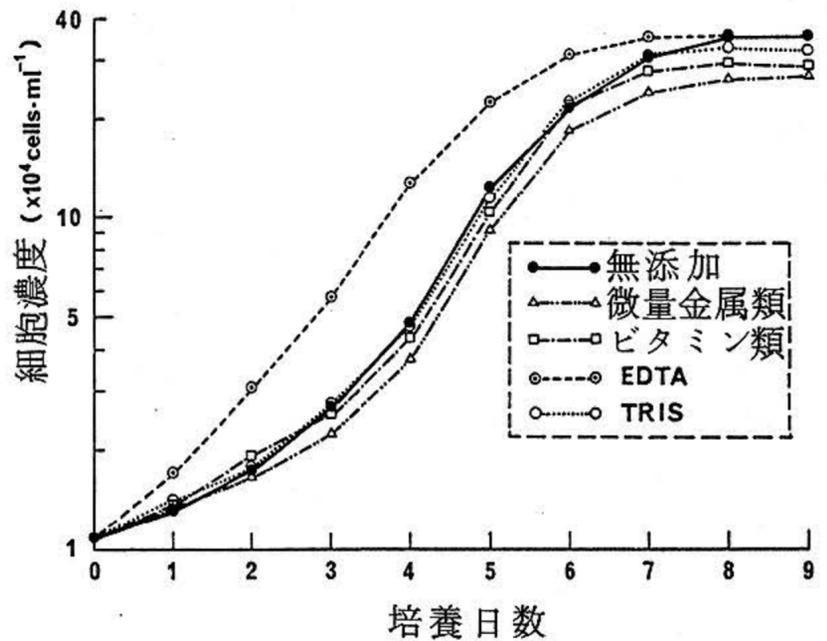


図 2 600m 深度深層水での *Skeletonema costatum* の増殖に及ぼす微量金属類, ビタミン類, EDTA および TRIS の影響

Fig.2 The effects of trace metals, vitamins, EDTA and TRIS on the growth of *Skeletonema costatum* in filtered 600m deep ocean water from station A. The line (—●—) shows the growth of the no addition control. Incubation was conducted at 23°C in 12:12 LD cycle, 3,000 lx.

EDTA および TRIS 添加による 600m 深度層水での増殖曲線を Fig. 2 に, またこれらの増殖曲線から求めた増殖遅延期間, 増殖速度および最終細胞収量を Table 3 に示す。600m 深度層水では細胞は約 1.8 日の増殖期間を経た後, $0.72 \cdot \text{day}^{-1}$ の増殖速度 (μ) で増殖した。最終細胞収量は 35.6×10^4 cells \cdot ml $^{-1}$ であった。一方, 微量金属類, ビタミン類, EDTA および TRIS の添加では, 増殖速度および最終細胞収量はいずれも対照区とほぼ同じであったが増殖遅延期間については差異がみられた。すなわち微量金属類, ビタミン類および TRIS の添加による増殖遅延期間はそれぞれ 2.1 日, 1.9 日および 1.8 日であり対照区の 1.8 日とほぼ同じであったが, EDTA 添加では 0.6 日となり対照区に比べて短縮された。本実験結果に対して増殖, 特に増殖遅延期間の最大短縮効果を示す EDTA 濃度を調べるために, 調査点 A の 600m 深度層の無添加水 (対照区) とこれに EDTA を 10, 50, 100, 200, 400, 600, 800 お

よび $1,000 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ 濃度添加した各供試水を調整して実験 1 と同条件での実験を行った。その結果を Table 4 に示した。 $100 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ 濃度以上の EDTA 添加では対照区に比べて増殖遅延に対する短縮効果がみられ、特に $200 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ 濃度の添加でその効果は最大であった。増殖速度および最終細胞収量については $400 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ 濃度の添加までは対照区とほぼ同じであるが、それ以上の添加濃度ではいずれも対照区に比べて若干小さくなる傾向がみられた。

3.2 深層水での植物プランクトン増殖に及ぼす接種サイズの影響 (実験 2)

600m 深度層水での増殖遅延期間は 0.25, 0.5, 1.0 および 1.5% の接種サイズでそれぞれ 3.7, 2.6, 1.8 および 0.8 日であり、接種サイズの増大に伴い増殖遅延期間は短縮した。増殖速度は接種サイズの違いによる差異は認められなかった。

表 3 600m 深度深層水での *Skeletonema costatum* の増殖遅延, 増殖速度および最終細胞収量に及ぼす微量金属類, ビタミン類, EDTA ならびに TRIS の影響

Table 3 The effects of trace metals, vitamins, EDTA and TRIS on lag period, growth rate and final cell yield of *Skeletonema costatum* in filtered 600 m deep ocean water from station A.

実験試水	増殖遅延期間 (day)	増殖速度 ($\cdot \text{day}^{-1}$)	最終細胞収量 ($\times 10^4 \text{cells} \cdot \text{ml}^{-1}$)
深層水 (対照区)	1.8	0.72	35.6
深層水 + 微量金属類	2.1	0.73	27.2
深層水 + ビタミン類	1.9	0.73	29.4
深層水 + EDTA	0.6	0.71	35.5
深層水 + TRIS	1.8	0.72	32.5

最終細胞収量は接種サイズの増大とともに若干高くなる傾向がみられた (Fig. 3)。

3.3 植物プランクトン増殖に対する各深度層水の効果 (実験 3)

増殖遅延期間は 0.5 m ~ 60 m 深度層水では 0.4 日以下 (0.5 m および 20 m 深度層水の増殖遅延期間は増殖速度の算出時に実験開始時の細胞濃度値を使用せざるを得なかったため求めることが出来なかった) であったが、それ以深層水では深度増加とともにその期間は長くなり、150 m 深度層より以深層の水では 1.0 ~ 1.1 日であった。一方、EDTA 添加の場合、すべての深度層水の増殖遅延期間は 0.2 ~ 0.5 日 (平均 0.4 日) であり、0.5 m ~ 60 m 深度層水では EDTA 添加による短縮効果はみられず、60 m 深度層より以深層水、特に 150 m 深度以深層水に短縮効果がみられた (Fig. 4, A)。増殖速度 (μ) は 0.5 m および 20 m 深度層水で $0.45 \cdot \text{day}^{-1}$ および $0.53 \cdot \text{day}^{-1}$ であり、

表 4 600m 深度深層水での *Skeletonema costatum* の増殖遅延, 増殖速度および最終細胞収量に及ぼす EDTA 濃度の影響

Table 4 The effects of various concentrations of lag period, growth rate and final cell yield of *Skeletonema costatum* in filtered 600 m deep ocean water from station A.

EDTA 添加濃度 ($\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$)	増殖遅延期間 (day)	増殖速度 ($\cdot \text{day}^{-1}$)	最終細胞収量 ($\times 10^4 \text{cells} \cdot \text{ml}^{-1}$)
無添加 (対照区)	1.2	0.65	46.6
10	1.3	0.66	44.5
50	1.2	0.67	43.8
100	0.5	0.65	45.7
200	0.3	0.64	45.7
400	0.7	0.64	45.5
600	0.6	0.61	40.9
800	0.7	0.60	39.6
1000	0.6	0.58	37.7

深度増加とともに大きくなり、40m深度より以深層水では $0.67 \cdot \text{day}^{-1} \sim 0.75 \cdot \text{day}^{-1}$ (平均 $0.75 \cdot \text{day}^{-1}$) のほぼ一定の値を示した。またEDTA添加による各深度層水の増殖速度は対照区とほぼ同じでありその影響は認められなかった (Fig. 4, B)。最終細胞収量は0.5 m~20 m深度層水では $1.6 \times 10^3 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ 濃度以下であったが深度増加とともに増大した。EDTA添加による最終細胞収量は各深度層水とも対照区とほぼ同じであった (Fig. 4, C)。また最終細胞収量は無機炭

養塩濃度と高い相関がみられた (Fig. 5)。各深度層における無添加水 (対照区) およびEDTA添加水での培養3日目の増殖細胞濃度をFig. 6に示す。対照区では深度増加とともに細胞濃度は高くなり、40m深度層水では $2.0 \times 10^4 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ の最大値を示した。本深度層より以深層水では細胞濃度は徐々に低くなり、150m深度より以深層水では約 $1.3 \times 10^4 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ の細胞濃度を示した。一方、EDTA添加の場合、0.5 m~40m深度層水では対照区とほぼ同じ細胞濃度を示し、その効果

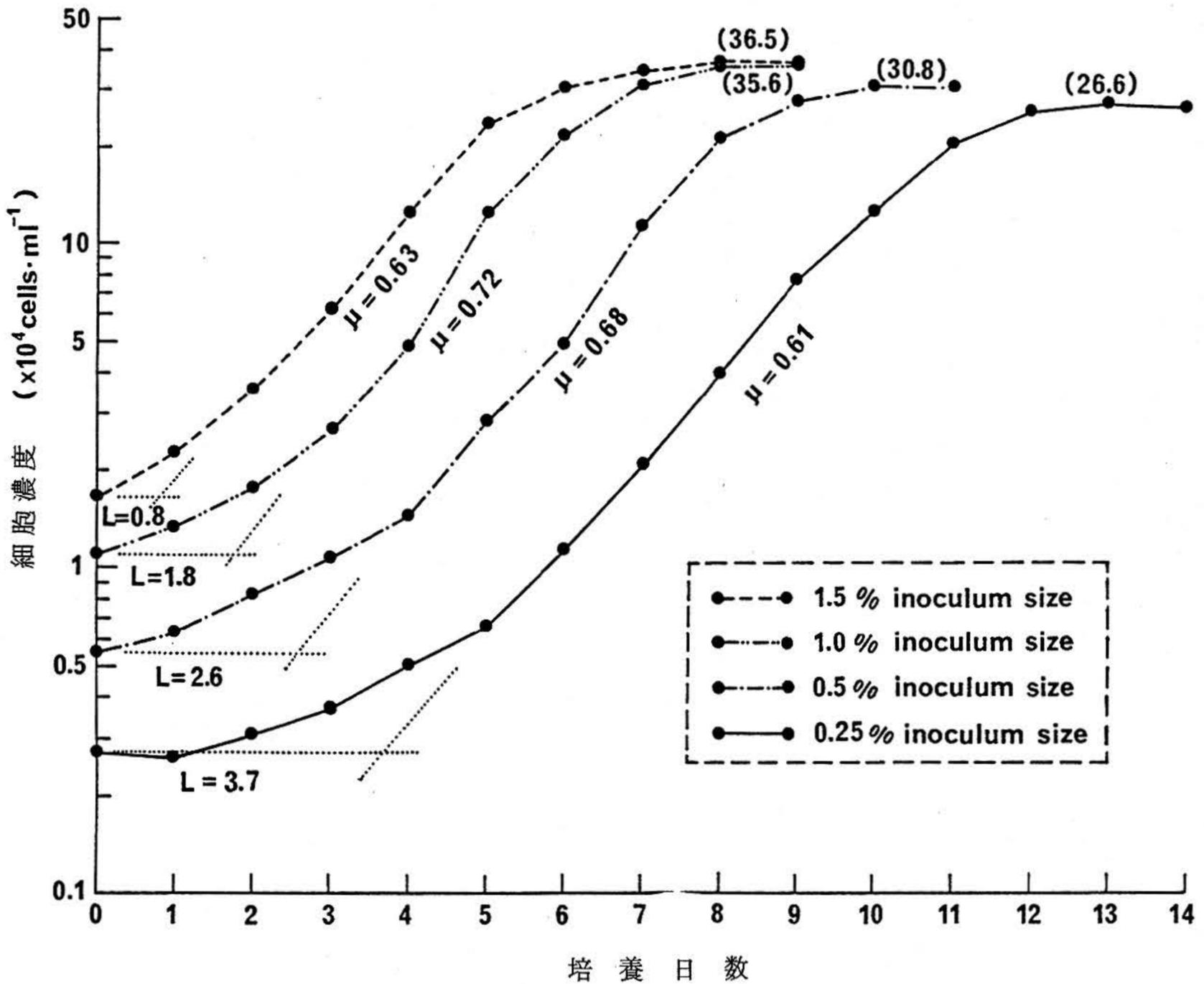


図3 600m深度深層水での *Skeletonema costatum* 増殖に及ぼす接種サイズの影響 ()内の値:最終細胞濃度 L:増殖遅延期間 μ:増殖速度

Fig.3 The effects of inoculum size on the growth of *Skeletonema costatum* in filtered 600 m deep ocean water from station A, Number in parenthesis is final yield ($\times 10^4 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$). L: lag period (day), μ: growth rate. Incubation was conducted at 23°C in 12:12 LD cycle, 3,000 lx.

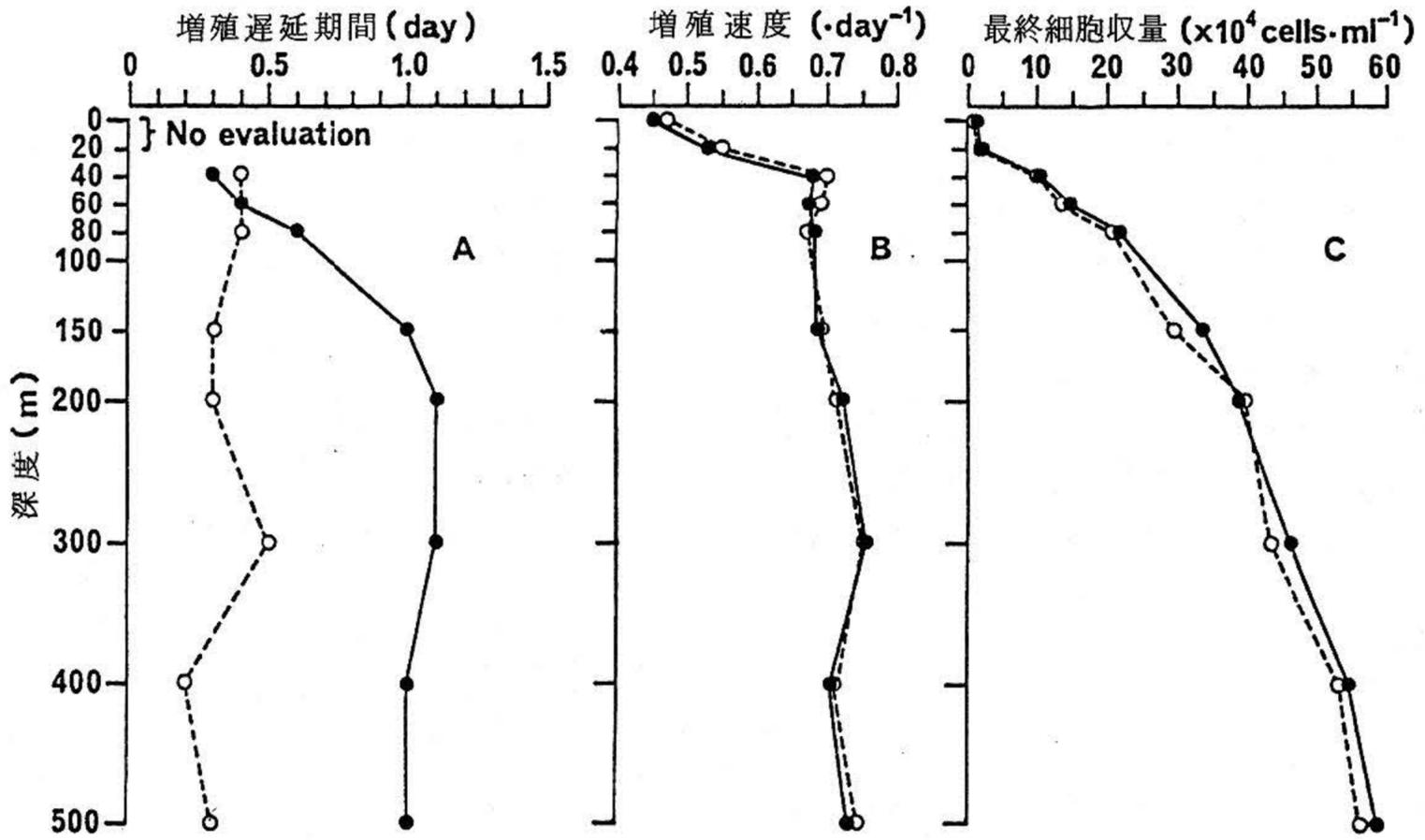


図4 EDTA無添加および添加による各深度水での *Skeletonema costatum* の増殖遅延期間，増殖速度および最終細胞収量

Fig.4 Lag period, growth rate and final cell yield of *Skeletonema costatum* in response to ocean water of various depths in the presence (---○---) and in the absence (—●—) of EDTA from station A.

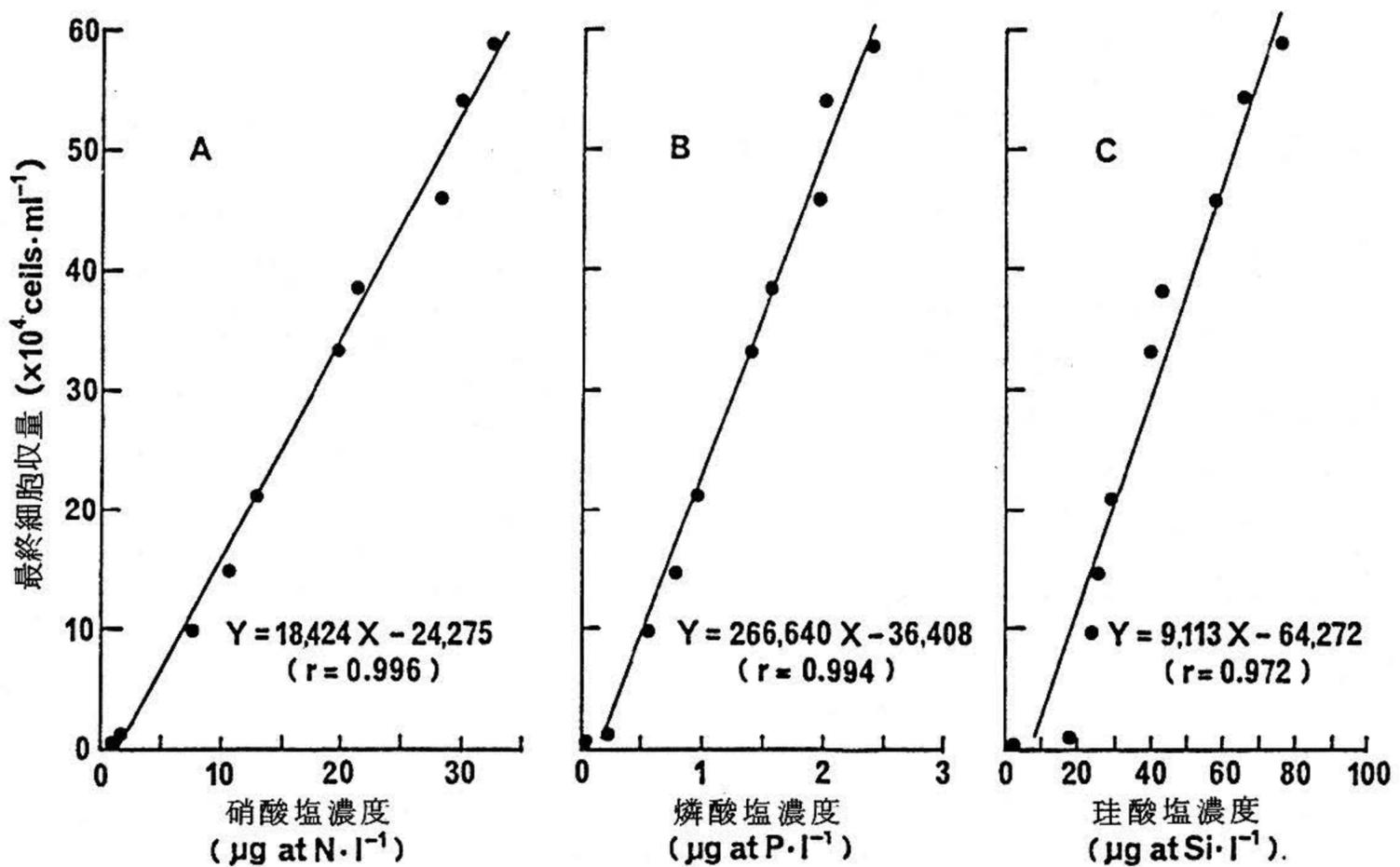


図5 *Skeletonema costatum* の最終細胞収量と硝酸塩濃度 (A)，磷酸塩濃度 (B) および珪酸塩濃度 (C) との相関

Fig.5 Relationship between final cell yield of *Skeletonema costatum* and nitrate-N concentration (A), phosphate-P conc. (B) and silicate-Si conc. (C) in ocean water from Station B.

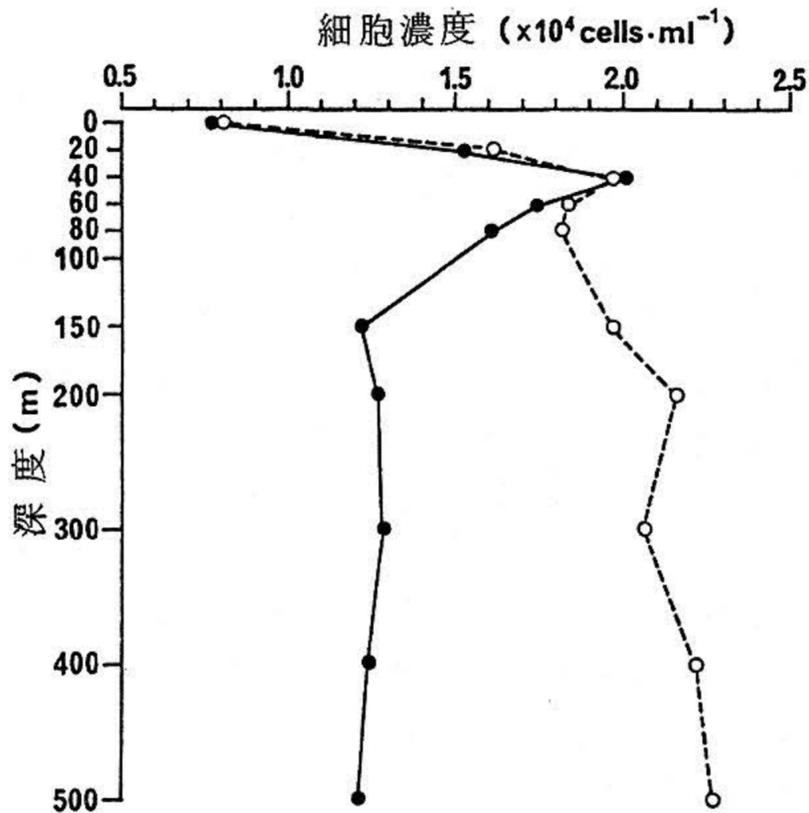


図6 EDTA無添加および添加による各深度水での培養3日目の*Skeletonema costatum*の増殖細胞濃度

Fig.6 Cell concentrations of *Skeletonema costatum* in response to ocean water of various depths in the presence (- -○- -) and in the absence (—●—) of EDTA from station B after 3 days incubation. Initial cell concentration was 3.1×10^3 cells·ml⁻¹.

は認められなかった。しかし40m深度層より以深層水では $1.8 \times 10^4 \sim 2.3 \times 10^4$ cells·ml⁻¹ (平均 2.0×10^4 cells·ml⁻¹) であり、対照区に比べて高い細胞濃度を示すとともにその濃度は対照区の40m深度層水のものとほぼ同じであった。

4. 考 察

温度 23°C および照度 3,000 lx, 12 時間明・暗周期の条件下の深層水で *S. costatum* は $0.61 \cdot \text{day}^{-1} \sim 0.75 \cdot \text{day}^{-1}$ の増殖速度 (μ) で増殖したが、増殖開始前に数日の増殖遅延の発現が確認された (Fig. 2)。一方、深層水での enrichment bioassay では増殖応答に特徴が認められた。すなわち、増殖速度および最終細胞収量は微量金属類、ビタミン類、EDTA および TRIS のいずれを添加しても対照区と差異はみられないが、増殖遅延期

間は EDTA の添加でのみ対照区に比べて短縮することが認められた (Table 3)。そしてその短縮効果は $100 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ 以上、特に $200 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ の EDTA 添加濃度で最大であった (Table 4)。増殖遅延期間は増殖のための準備期間といわれており、その発現や期間の長さは接種細胞の培養齢や培養条件に起因することが知られている^{10), 11)}。例えば対数増殖期の細胞を新鮮な培地に接種培養すると増殖遅延は発現しないが、他の増殖相では発現すること、また磷酸塩欠乏状態の細胞を接種培養すると磷酸塩含有濃度の高い培地ほどその期間が長くなることが *Nitzschia closterium* EHRENBERG により確かめられている¹⁰⁾。本実験では対数増殖期の細胞を用い、またこれらの細胞は磷酸塩欠乏状態ではなかったにもかかわらず増殖遅延が発現し、その期間は EDTA の添加により短縮された。このことは発現因子としてキレート有機物質が関与しており、深層水ではこれらの物質が不足していることを示すものである。

増殖遅延期間の短縮は深層水で予備培養した供試生物株の接種サイズの増大によっても認められた (Fig. 3)。本実験の接種では供試細胞ともにその生育液も含まれていた。海産植物プランクトンの多くの種類は細胞外に有機物を排出し^{11), 12), 13), 14)} *S. costatum* も光合成代謝産物としてグリコール酸を細胞外排出することが知られている¹²⁾。グリコール酸は EDTA ほどではないがキレート能力を有している¹⁵⁾。つまり接種サイズの増大は接種細胞数の増加にともないキレート有機物質生産能力を大きくし、またキレート有機物質に富む生育液を多量に添加することになるので増殖遅延期間の短縮効果が大きくなるものと考えられる。実際、人工培地による *N. closterium* の増殖実験においてグリコール酸 $1 \text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 濃度の存在で増殖遅延が消失し⁶⁾、また *S. costatum* の生育液の添加は深層水での増殖遅延期間に対して短縮効果があるという結果が得られている (中島, 未発表)。

海水の生物学的調整 (biological conditioning) による質的变化として微量有機物の関与が考えられ、これらは微量金属類の錯化状態に影響することが示唆されている⁷⁾。一方、海水における植物プランクトン栄養においてキレート物質供給は極めて重要であり、その供給は微量金属化合物の

安定度により決定されるとともに、海洋ではその供給にある未知の微量溶存有機物の介在が示唆されている¹⁵⁾。実験1および実験2で得られた結果はこれらの示唆を裏付けるものである。また深層水がキレート有機物質に不足しているためその初期に*S. costatum*の増殖が制限されていることを示すとともに、本種自身が増殖に適した環境水に調整するためキレート有機物質を深層水中に産出・蓄積している根拠を示すものである。

キレート有機物質に不足し増殖遅延を発現させる深層水の性状は調査点Bの各深度層水において60m深度層より以深層水、特に150m深度以深層水に認められた(Fig.4,A)。増殖速度は0.5mおよび20m深度層水では小さいが40m深度以深層水では $0.75 \cdot \text{day}^{-1}$ 前後であり(Fig.4,B), また最終細胞収量も0.5mおよび20m深度層水ではほとんど得られなかったが40m深度以深層水では深度増加とともに増大した(Fig.4,C)。最終細胞収量は無機栄養塩濃度と高い相関がみられた(Fig.5)。補償深度を透明度の2.1倍¹⁸⁾として推定すると調査点Bでのその深度は27m深度層付近であった。補償深度以浅層の0.5mおよび20m深度層水ではクロロフィルaは鉛直的には比較的高い濃度であり(Table1), これらの深度層水では以深層水に比べて植物プランクトン起源のキレート有機物質に富んでいることが考えられる。無機栄養塩濃度はこれらの深度層水では以深層水に比べて低濃度であった(Table1)。増殖速度および最終細胞収量が小さかったのは無機栄養塩が制限因子として作用していたためと考えられる。一方、補償深度以深層の40mおよび60m深度層水では増殖遅延が発現しにくく、またEDTA添加によるその短縮効果が認められないことはキレート有機物質が十分に存在していることを示唆する。事実、溶存有機炭素濃度は0.5m~60m深度層水では $1.0 \text{mg C} \cdot \text{l}^{-1}$ 濃度以上であり、以深層水では深度増加とともに減少傾向を示す(Table1)。これらの深度層水の溶存有機物は補償深度以浅層の有光層で産出されたものが例えば混合、濃度拡散等により供給されていることが示唆される。また、無機栄養塩濃度もこれらの深度層より深度増加とともに高くなる。以上のことから夏季成層期の調査点Bの各深度層水を次の3タイプの層水に区分

することを試みた。すなわち、タイプI:キレート有機物質に富むが無機栄養物質に欠乏している層水(有光層水, 0.5mおよび20m深度層水), タイプII:キレート有機物質および無機栄養物質の量が適度に存在する層水(混合層水, 40mおよび60m深度層水), およびタイプIII:キレート有機物質に不足し、無機栄養物質に富む層水(深層水, 60m深度以深層水)である。このような3タイプの層水が光および水温の制限を受けない環境条件下におかれた時の初期増殖特性としてタイプIIではキレート有機物質および無機栄養物質の制限を受けないため増殖細胞濃度は速やかに増大するが、タイプIでは無機栄養物質の制限により増殖が緩慢もしくは増殖せず、またタイプIIIではキレート有機物質の制限により増殖遅延が発現するために増殖細胞濃度は緩慢に高まることが考えられる(Fig.6)。

実験供試水を採取した調査点Bは大島北東沖に位置(Fig.1)しているがその隣接海域である大島東方海域でしばしば亜表層水の湧昇が観測される^{4), 19)}。これらの湧昇海域では60m深度以深層水が表面に湧出している測定結果が得られ、また“若い”湧昇水塊は高濃度の栄養塩類を含んでおり、クロロフィル含量は少ないが、“古い”湧昇水塊は多量のクロロフィルを含んでいることが測定されている¹⁹⁾。本海域のこれらの深度の亜表層水は実験3の結果が示すようにキレート有機物質に不足しており、植物プランクトン増殖環境水としては生物的に未熟であると考えられる。このような湧昇水では増殖遅延の発現などにより植物プランクトンの増殖は不活発であることが推定され、自然湧昇海域ではその増殖応答が開始されるには、それ以前に湧昇水のキレートの調整が何らかの過程で進行することが必要である。環境水へのキレート物質供給に植物プランクトン自身が細胞外有機物産出過程において関連していることはすでに知られるところであるが、自然湧昇海域レベルではキレート物質に富む有光層水もその混合過程において有機的調整に寄与していることが推定される。実際、表層水が人工湧昇深層水での植物プランクトンの増殖遅延に対してその短縮効果があることが知られている(中島, 未発表)。

5. 謝 辞

本稿を終るにあたり本研究に際して懇切な御指導を賜った長崎大学水産学部飯塚昭二教授, また御助言を賜った東京大学理学部高橋正征助教授ならびに水産庁養殖研究所飼料生物研究室長本城凡夫博士に感謝の意を表します。また本報告をとりまとめるにあたり終始, 御激励を頂いた当センター海洋開発研究部石井進一部長に深謝します。

文 献

- 1) RYTHER, J. H., 1963. Geographic variations in productivity, pp. 347-380. In *The Sea* (ed. Hill, M. N.), Interscience Publishers, New York.
- 2) TAKAHASHI, M., 1980. Autotrophic processes with special reference to microbial activities. *La mer*, 18: 206-212. (In Japanese with English abstract)
- 3) ANDERSON, G. C., 1964. The seasonal and geographic distribution of primary productivity off the Washington and Oregon coasts. *Limnol. Oceanogr.*, 9: 284-302.
- 4) TAKAHASHI, M., Y. YASUOKA, WATANABE, T. MIYAZAKI & S. ICHIMURA, 1981. Local upwelling associated with vortex motion off Oshima Island, Japan, pp. 119-124. In *Coastal Upwelling* (ed. Richards, F. A.). American Geophysical Union, Washington, D. C..
- 5) YODER, J. A., L. P. ATKINSON, T. N. LEE, H. H. KIM & C. R. McCLAIN, 1981. Role of Gulf Stream frontal eddies in forming phytoplankton patches on the outer southeastern shelf. *Limnol. Oceanogr.*, 26: 1103-1110.
- 6) KANDA, J., T. SAINO & A. HATTORI, 1985. Variation of carbon and nitrogen uptake capacity in a regional upwelling area around Hachijo Island. *J. Oceanogr. Soc. Japan*, 41: 373-380.
- 7) MENZEL, D. W., E. M. HULBURT & J. H. RYTHER, 1963. The effects of enriching Sargasso Sea water on the production and species composition of the phytoplankton. *Deep Sea Res.*, 10: 209-219.
- 8) BARBER R. T. & J. H. RYTHER, 1969. Organic chelators: factors affecting primary production in the Cromwell Current upwelling. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 3: 191-199.
- 9) CORREDOR, J. E., 1979. Phytoplankton response to low level nutrient enrichment through upwelling in the Columbian Caribbean Basin. *Deep Sea Res.*, 26: 731-741.
- 10) SPENCER, C. P., 1954. Studies on the culture of a marine diatom. *J. mar. biol. Ass. U. K.*, 33: 265-290.
- 11) FOGG, G. E., 1975. *Algal Cultures and Phytoplankton Ecology.*, 2nd ed., The University of Wisconsin Press, London, 175pp.
- 12) HELLEBUST, J. A., 1965. Excretion of some organic compounds by marine phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.*, 10: 192-206.
- 13) IGNATIADES, L., 1973. Studies on the factors affecting the release of organic matter by *Skeletonema costatum* (GREVILLE) CLEVE in field conditions. *J. mar. biol. Ass. U. K.*, 53: 923-935.
- 14) IGNATIADES, L. & G. E. FOGG, 1973. Studies on the factors affecting the release of organic matter by *Skeletonema costatum* (GREVILLE) CLEVE in culture. *J. mar. biol. Ass. U. K.*, 53: 937-956.
- 15) JOHNSTON, R., 1964. Sea water, the natural medium of phytoplankton. II. trace metals and chelation, and general discussion. *J. mar. biol. Ass. U. K.*, 44: 87-109.
- 16) TOKUDA, H., 1967. Elimination of lag phase from the growth of *Nitzschia closterium*, a marine pennate diatom, with glycolic acid. *Inf. Bull. Planktol. Japan, Commem. No. Dr. Y. Matsue*, 261-269.
- 17) PROVASOLI, L., 1963. Organic regula-

tion of phytoplankton fertility, pp. 165-219. In *The Sea* (ed. Hill, M. N.), Interscience Publishers, New York.

- 18) ICHIMURA, S., 1956. On the ecological meaning of transparency for the production of matter in phytoplankton community of lake. *Bot. Mag. Tokyo*, 69: 219-226.

- 19) TAKAHASHI, M., I. KOIKE, T. ISHIMARU, T. SAINO, K. FURUYA, Y. FUJITA, A. HATTORI & S. ICHIMURA, 1980. Upwelling plumes in Sagami Bay and adjacent water around the Izu Islands, Japan. *J. Oceanogr. Soc. Japan*, 36: 209-216.

(原稿受理 1987年11月2日)