

製鋼スラッグの添加が珪藻 *Skeletonema costatum* および渦鞭毛藻 *Alexandrium tamarense* の増殖に及ぼす影響

鈴木 雅巳*・山本 民次*

Effect of Steel-making Slag Addition on Growth of the Diatom *Skeletonema costatum* and the Dinoflagellate *Alexandrium tamarense*

Masami SUZUKI and Tamiji YAMAMOTO

Synopsis : Effects of steel-making slag addition on growth of the diatom *Skeletonema costatum* and the dinoflagellate *Alexandrium tamarense*, which are common phytoplankton species in spring in Hiroshima Bay, were examined. While the growth of *S. costatum* was intensified optimally with addition of 100 mg slag L⁻¹, that of *A. tamarense* was depressed with addition of the slag in the range of 50–150 mg L⁻¹. From monitoring nutrient concentrations, it was clear that *S. costatum* utilized efficiently the nutrients dissolved from the slag. On the other hand, *A. tamarense* appeared to be too sensitive to pH increase by slag addition to grow. The different growth responses were discussed in terms of the carbonate-pH system. It is concluded that an application of steel-making slag can be a useful measure to remediate coastal marine ecosystems where Si and P are depleted if amount and timing of addition are well studied.

Key words: diatom; dinoflagellate; slag; nutrient; pH.

1. 緒論

製鋼スラッグ（以下スラッグ）は製鉄所で銑鉄から銅を精製する工程で、炭素(C)、リン(P)、ケイ素(Si)などの不要成分を石灰に吸着除去して生じた副産物である。したがって、このスラッグはP、Siに富み、鉄(Fe)も含んでいる。また、カドミウムや水銀などの有害重金属は含まないものを作ることは原料の精選を含み技術的に可能である。スラッグは粗鋼1t当り平均約130kg生成し、主に道路用、土木用、セメント用などに利用されているが、埋め立てに回されるものや在庫として利用待ちのものもあり、すべてが有効利用されているとは言えない。したがって、スラッグの有効利用は資源の再利用に寄与する。

スラッグ利用の新たな方策として、スラッグに含まれるP、Si、Feに注目し、植物プランクトンの増殖促進剤としての利用が提案されている¹⁾。海洋の基礎生産を増大させることは地球温暖化の元凶である二酸化炭素を減少させることでもあり、同時に海洋の食物連鎖を通して漁獲という形で食料生産を高めることにもつながる。スラッグ添加対象海域としては、太平洋亜寒帯域などの外洋湧昇域で一年を通して栄養塩が豊富に存在するにも関わらず鉄不足のためにクロロフィル現存量が少ないことが指摘されている、いわゆるHNLC (High Nutrient Low Chlorophyll) 海域に注目が集まっている。

一方、沿岸海域でも、植物プランクトンの増殖に不可欠なPやSiなどの元素が不足することがしばしば指摘されるようになってきた。例えば瀬戸内海では、富栄養化対策として長年取られてきたPの削減によりP不足の海域が散見されるようになり、P制限に起因して珪藻から有毒・有害な渦鞭毛藻への優占種の変化や、それに関連してカタクチイワシなどのプランクトン食性魚類の漁獲量減少^{2,3)}や有害な渦鞭毛藻による魚貝類の斃死などの増加が懸念されている^{2,3)}。珪藻類の増殖に必須であるケイ酸塩は、河川水流入が少ない海域では季節によっては枯渇することが知られている^{4,5)}。細胞殻は植物体（主に珪藻類）に取り込まれて殻としてトラップされ、細胞の枯死とともに海底へ沈降するが、ケイ素はPや窒素(N)に比べて分解されにくいので、Siは水柱へ回帰しにくい。また、沿岸海域へのSiの供給は河川からの自然流出のみであるため、近年では、ダムや工業用水地の増加にともない、貯水池内での淡水珪藻の発生により沿岸海域へのSiの流出減少が懸念されている^{6,7)}。海域におけるケイ酸塩の減少や枯渇についても有害・有毒な渦鞭毛藻類が繁茂する要因の一つと考えられ、実際、ドナウ川上流のダム建設により、下流域では河川水中のケイ酸塩濃度が低下し、黒海に出現する植物プランクトン種が珪藻類から渦鞭毛藻類へ遷移したとの報告がある⁸⁾。

以上の諸問題に対してスラッグの添加は水質（栄養塩バラ

ンス)を維持・改善することで植物プランクトン相を改善し、有毒・有害プランクトンの発生を抑制する有効な対応策となる可能性が指摘され始めた⁹⁾。これまでの研究により、スラグからは十分量のP, Siが溶出し、植物プランクトンの増殖促進に対するスラグの有効性が確認されてきた^{10,11)}。しかし、一方でスラグ添加に対する増殖応答が植物プランクトン種によって異なることや、スラグの過剰添加により植物プランクトンの増殖が抑制されたり、増殖に遅延がみられたりすることも確認されている^{10,11)}。また、これらの実験は植物プランクトン自然群集や単一の珪藻培養株を対象として行われてきたが、今後、実際に沿岸海域へのスラグの添加を行うに当たっては、珪藻類だけでなくそれらと競合関係にある他の分類群の藻類についてもスラグ添加の影響を確認しておく必要がある。

本研究では、瀬戸内海を含め沿岸域で普遍的に見られる *Skeletonema costatum* (珪藻)、それと同時期 (いずれも春季) に出現する *Alexandrium tamarense* (渦鞭毛藻) を用いて、両種の増殖に対するスラグの影響について調べることを目的とした。

2. 材料と方法

実験には安芸灘表層海水に超純水を加えて塩分30 PSUとしたものをベースとした f/2 medium¹²⁾を用いた。ただし、後述するように、P, Si, Feはスラグからの溶出による影響を評価するため、f/2 mediumから除いてある。2L三角フラスコを用いて、最終溶液量が2Lになるようにし、シリコン製のゴム栓で蓋をした。既報¹¹⁾により、植物プランクトン自然群集 (主に珪藻類) の増殖に対して100 mg L⁻¹のスラグの添加で最も良い増殖が示されたことから、本研究では50, 100, 150 mg L⁻¹の3段階のスラグ添加区を設定した。また、コントロールとして無添加区 (0 mg L⁻¹) も設けた。スラグは日本鉄鋼協会より分与頂いた脱リンスラグを篩にかけてスラグ粒径を250 μm以下としたものを用いた。また、今回の実験に使用したスラグの組成と有害重金属溶出試験結果は既報¹¹⁾のとおりである。

スラグ中に含まれる栄養塩 (P, Si) の溶出を促し、培養液中の栄養塩濃度を均一にするとともに、植物プランクトンを懸濁させるためにスターラー (ヤマト科学, MS500D) で連続攪拌しながら培養した。スターラーの回転速度は、*S. costatum* と *A. tamarense* の増殖に大きな影響をおよぼさない100 rpmに設定した¹³⁾。*S. costatum* と *A. tamarense* の初期細胞密度はそれぞれ1370および264 cells mL⁻¹とした (3回計数した平均)。これを恒温器 (東京理化機器, FLI-160) に入れ、*S. costatum* と *A. tamarense* 両種について、それらの自然海域での発生時期の平均的環境条件である、水温15±1°C、塩分30 PSU、光強度200 μE m⁻² s⁻¹に設定し¹⁴⁻¹⁶⁾、明暗周期12L:12D (6:00点灯-18:00消灯) として培養を

行った。

培養期間は、既報¹¹⁾により *S. costatum* の増殖に対して最適添加量と考えられる100 mg L⁻¹のスラグ添加区において定常状態が確認されるまでとし、本実験では9日間培養を行った。一定の時間間隔で300 mLずつ試水を採取した。そのうち5 mLには12.5%のグルタルアルデヒドを1滴添加して固定し、顕微鏡下で細胞数を計数した。残りはpHを測定したのち (pHメーター, HORIBA, F22), メンブランフィルター (Millipore HA, pore size 0.45 μm) でろ過し、溶存態無機リン (DIP) および溶存態無機ケイ素 (DSi) を、いずれもモリブデンブルー法¹⁷⁾で分析した。

3. 結果

3.1 *Skeletonema costatum*

S. costatum は無添加区と150 mg L⁻¹ではほとんど増殖が認められなかった (Fig. 1)。スラグ添加区の添加量50 mg L⁻¹と100 mg L⁻¹では誘導期が見られ、それぞれDay 1およびDay 3からと、添加量の増加とともに誘導期が長くなる傾向が認められた (Fig. 1)。最終細胞収量はスラグ添加量50 mg L⁻¹では10200±1300 (avg.±S.D., n=3) cells mL⁻¹ (Day 3), 100 mg L⁻¹で22900±2600 (avg.±S.D., n=3) cells mL⁻¹ (Day 7) であり、後者では十分な密度まで増殖しなかった。

DIP濃度は、無添加区、50 mg L⁻¹および100 mg L⁻¹添加区で実験期間を通して検出限界 (0.01 μg at L⁻¹) 以下であったのに対して、150 mg L⁻¹添加区では実験期間を通して増加した (Fig. 2(a))。DSiにおいても150 mg L⁻¹添加区で濃度の上昇が見られたのに対して、無添加区、50 mg L⁻¹および100 mg L⁻¹添加区では50 μg at L⁻¹以下程度の濃度レベルが保たれた (Fig. 2(b))。

pHは、無添加区では実験期間を通して緩やかに低下したのに対して、すべてのスラグ添加区において上昇が見ら

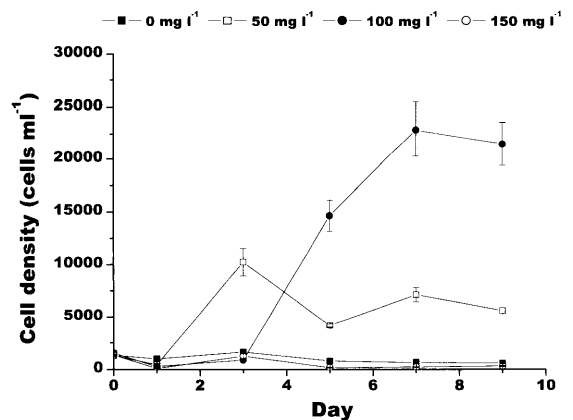


Fig. 1. Variations in cell densities of *Skeletonema costatum* with addition of different concentrations of a steelmaking slag. Numbers in the legends denote the concentrations of slag added; 0, 50, 100 and 150 mg slag L⁻¹, respectively.

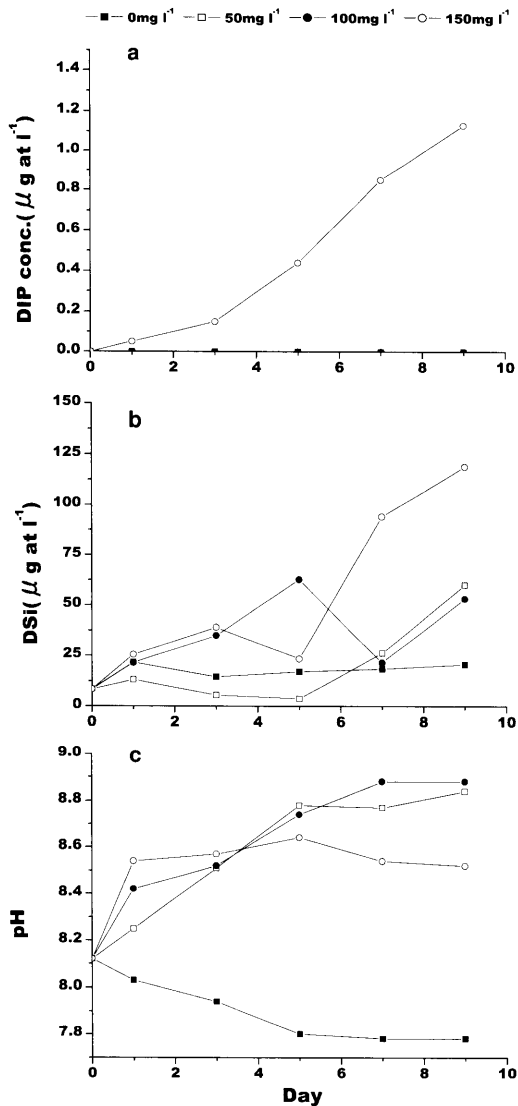


Fig. 2. Variations of (a) DIP, (b) DSi and (c) pH after the addition of a slag to the culture media containing *Skeletonema costatum*. Numbers in the legends denote the concentrations of slag added; 0, 50, 100 and 150 mg slag L⁻¹, respectively.

れた (Fig. 2(c)). ただし、150 mg L⁻¹ 添加区での上昇が急激であったのに対して、50 および 100 mg L⁻¹ 添加区では緩やかで、かつ Day 5 以降は 150 mg L⁻¹ 添加区よりも高くなった。

3.2 *Alexandrium tamarense*

A. tamarense では、すべてのスラグ添加区において、実験開始時 (Day 0~1) の細胞数の減少が顕著であり、その後徐々に回復するものの、対照区に比べて有意に増殖が抑制された (Fig. 3)。この傾向は 150 mg L⁻¹ 添加区で特に顕著で、実験期間中に対照区と同等レベルまでは回復しなかった。

DIP の濃度は、無添加区では実験期間を通して検出限界以下 (0.01 μg at L⁻¹) であったのに対して、50 mg L⁻¹ では Day 1 にかけて大きく増加したが、それ以降は約 0.1 μg at L⁻¹ でほぼ一定であり、100 と 150 mg L⁻¹ 添加区では良く似た増加傾向を示し、とくに Day 7 から Day 9 にかけての増

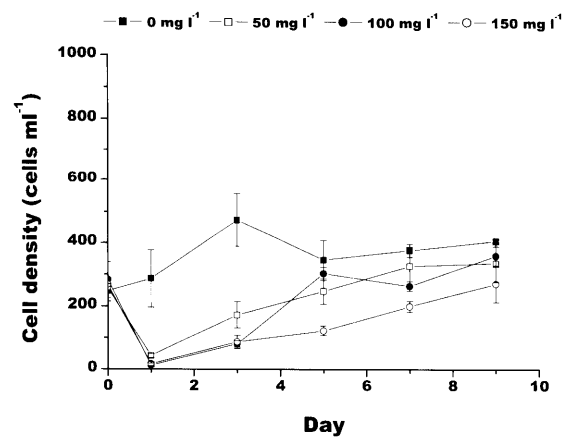


Fig. 3. Variations in cell densities of *Alexandrium tamarense* with addition of different concentrations of a steelmaking slag. Numbers in the legends denote the concentrations of slag added; 0, 50, 100 and 150 mg slag L⁻¹, respectively.

加が大きかった (Fig. 4(a)). DSi の濃度は、すべての添加区において実験期間を通して増加したのに対して、無添加区では約 18 μg at L⁻¹ でほぼ一定であった (Fig. 4(b)).

pH は無添加区では実験期間を通して低下したのに対して、すべてのスラグ添加区で添加直後からそれぞれ Day 1 まで上昇して、Day 3 までそれぞれ一定、その後は Day 7 まで低下して Day 9 までは横ばいとなった (Fig. 4(c)). ただし、Day 1 までの上昇の程度はスラグ添加量に応じて大きく、50, 100 および 150 mg L⁻¹ スラグ添加区における Day 1 の pH はそれぞれ 8.35, 8.48, 8.62 であった。

4. 考察

S. costatum は、コントロール区ではほとんど増殖が確認されなかったのに対して、50, 100 mg L⁻¹ で良く増殖した。このことは、スラグから溶出した栄養塩 (P, Si) により増殖が促進されたためであると考えられる。100 mg L⁻¹ スラグ添加区で得られた *S. costatum* の最高細胞密度は約 2.3 × 10⁴ cells mL⁻¹ であり、スラグの添加により、他の環境条件が良ければ赤潮状態 (>10³~10⁴ cells mL⁻¹) にまで増殖させることが可能であることが分かった (Fig. 1)。フラスコスケールで行われたいくつかの研究報告によると、植物プランクトンの増殖にとって最適なスラグ添加量は 100 mg L⁻¹ 程度であり、200~1000 mg L⁻¹ の添加では増殖抑制が確認されているので^{10,11)}、今回の実験結果は既報と一致する。

一方、150 mg L⁻¹ で増殖が抑制されたのは、スラグからの栄養塩供給による正的作用よりも、pH の上昇による二酸化炭素濃度の低下などの影響が大きいと考えられる。150 mg L⁻¹ のスラグ添加により pH は 8.5 以上になったが、この時の二酸化炭素濃度を文献^{18,19)}を参考に見積もると 5 μg at L⁻¹ 程度である。また、プランクトンを除去した海水培地を対象に、培養実験と同様に 100 rpm の回転速度で

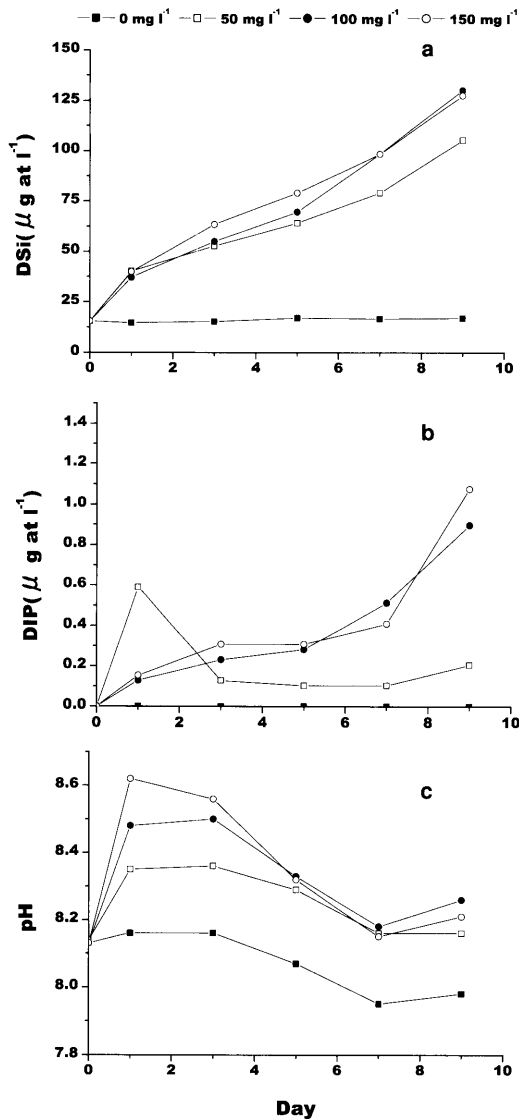


Fig. 4. Variations of (a) DIP, (b) DSi and (c) pH after the addition of a slag to the culture media containing *Alexandrium tamarense*. Numbers in the legends denote the concentrations of slag added; 0, 50, 100 and 150 mg slag L⁻¹, respectively.

連続攪拌を与えながら、より短時間でのpHの変化を調べたところ、100および150 mg L⁻¹のスラグを添加した場合には、初期pH 7.94から8.5以上となるのにそれぞれ120分と60分を要した (Fig. 5)。つまり、150 mg L⁻¹のスラグ添加での単位時間当たりのpHの上昇が大きく、*S. costatum*の増殖生理に与える影響も大きかったものと考えられる。培養実験後半では50および100 mg L⁻¹添加区のpHの方が150 mg L⁻¹添加区のpHよりも高くなっているが、これは*S. costatum*の増殖によるCO₂の消費に起因するものと考えられる。以上のことから、150 mg L⁻¹添加区のように急激なpH上昇は*S. costatum*の増殖を阻害するが、*S. costatum*自身の増殖によって自然状態でもpHは十分に高くなることが分かる²⁰⁾。

*A. tamarense*では*S. costatum*とは異なり、150 mg L⁻¹でもDay 1以降で増殖が緩やかに回復した点が既報¹¹⁾と異なっ

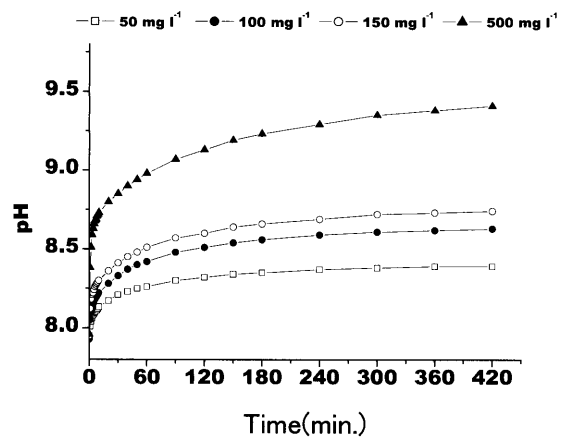


Fig. 5. Increase of pH by addition of steel-making slag. f/2 medium based on filtered natural seawater collected from Hiroshima Bay. Experimental conditions (15±1°C, 30 PSU, 100 rpm stirring) are the same as those used in the other experiments of the present study.

た (Fig. 1, 3)。この原因として、両種の炭素利用特性の違いが考えられる。一般に海産珪藻類の多くは炭素源として二酸化炭素のみを利用することが知られており^{21,22)}、*S. costatum*の増殖速度がpH 8.5から9.4にかけて大きく低下することも報告されている²³⁾。一方、渦鞭毛藻類は実海域において高pH水中でブルームが見られることが多いことから²⁴⁾、炭素源として重炭酸などを利用することで二酸化炭素濃度の変化に大きく影響されない戦略を有している可能性がある。*A. tamarense*ではどのスラグ添加量においても実験初期に上昇したpHはそれ以降で徐々に回復した (Fig. 4(c))。これは、*A. tamarense*が重炭酸塩を利用することにより、炭酸平衡が作用してpHが低下・回復したことによるのかもしれない。

今回の実験から、脱リンスラグの添加は*S. costatum*の増殖を促進する一方、*A. tamarense*の増殖を抑制することが明らかとなった。このことは、近年、珪藻の発生が減少し、有害・有毒な渦鞭毛藻のブルームが目立ってきている海域に対する有効な水質改善剤として脱リンスラグが適用できる可能性を示唆している。すでに、脱リンスラグは相対的にリンの溶出が少なくケイ素の溶出が多いことがすでに確認されており¹¹⁾、この点において、ケイ素やリンが不足した海域に対する肥沃化を行ううえで、リンの過剰な溶出によって再び富栄養化を引き起こさないという点で脱リンスラグは有効である。

例えば、広島湾は高度経済成長時には富栄養化が進行したが、すでに河川を経由して負荷されるリンの量はピーク時の1/3にまで低下し、それに呼応するように養殖カキの生産量の低下が見られている³⁾。北部広島湾における養殖カキによる海水中懸濁物の濾過量は炭素 (C) 換算で約41トンC/日と見積もられており²⁵⁾、これは純一次生産の約25%に相当するほど大きなものである。養殖カキの餌とし

では、珪藻が優れており、渦鞭毛藻は不適であるので、スラグの添加は養殖カキ生産量の増加につながる事が予想される。添加時期や投入量などについて十分な検討を行えば、実海域へのスラグの適用は有効であろう。

文 献

- 1) A.Taniguchi: The Coast. Environ. Sci. Technol. (CEST) Panel of the USA-Japan Coop. Prog. Nat. Res. (UJNR), International Program Office, National Ocean Service/NOAA, MD., US, (1999), 170.
- 2) T.Yamamoto: *Mar. Poll. Bull.*, **47** (2003), 37.
- 3) T.Yamamoto: *Fish. Sci.*, **68** (2002), 538.
- 4) S.Tsunogai and Y.Watanabe: *J. Oceanogr. Soc. Jpn.*, **39** (1983), 231.
- 5) S.Itakura, M.Yamaguchi, M.Yoshida and Y.Fukuyo: *Jpn. Fish. Sci.*, **68** (2002), 77.
- 6) T.Yamamoto: *Tetsu-to-Hagané*, **89** (2004), 494.
- 7) A.Harashima: *Scientific Forum of the Seto Inland Sea*, **31** (2002), 34.
- 8) C.Humborg, V.Ittekkot, A.Cociasu and B.V.Bodugen: *Nature*, **386** (1997), 385.
- 9) 財団法人クリーン・ジャパン・センター：平成11年度国庫補助事業廃棄物の高度再資源化処理技術等の調査・検討事業報告書（溶銑予備処理スラグ），財団法人クリーン・ジャパン・センター，東京，(2000)，1.
- 10) K.Haraguchi and A.Taniguchi: *Tetsu-to-Hagané*, **89** (2003), 430.
- 11) T.Yamamoto, M.Suzuki, S.Oh and O.Matsuda: *Tetsu-to-Hagané*, **89** (2003), 482.
- 12) R.R.L.Guillard: Culture of Marine Invertebrates, ed. by W.L.Smith and M.H.Chanley, Plenum Publ. Corp., New York, (1975), 26.
- 13) T.Yamamoto and M.Suzuki: *Jpn. J. Phycol.*, **51** (2004), 1.
- 14) T.Yamamoto, K.Tarutani, M.Kawahara and S.Oh: *J. Fac. Appl. Biol. Sci. Hiroshima Univ.*, **38** (1999), 151.
- 15) 山口峰生：南西海区水産研究所平成2年度研究報告書，南西海区水産研究所，広島，(1992)，55.
- 16) 山口峰生：南西海区水産研究所平成3年度研究報告書，南西海区水産研究所，広島，(1993)，49.
- 17) J.D.H.Strickland and T.R.Parsons: *Bull. Fish. Res. Bd. Canada*, **167** (1972), 1.
- 18) N.A.Nimer, M.Warren and M.J.Merrett: *Plant Cell Environ.*, **21** (1998), 805.
- 19) P.K. ワイル 著，杉浦吉雄 訳：海洋科学—海洋環境の展望—，共立出版，東京，(1972)，430.
- 20) E.Granum and S.M.Myklestad: *J. Plankton Res.*, **24** (2002), 533.
- 21) E.T.Degens, R.R.L.Guillard, W.M.Sackett and J.A.Hellebust: *Deep-Sea Res.*, **15** (1968), 1.
- 22) U.Riebesell, D.A.Wolf-Gladrow and V.Smetacek: *Nature*, **361** (1993), 249.
- 23) M.Taraldsvik and S.M.Myklestad: *Eur. J. Phycol.*, **35** (2000), 189.
- 24) K.R.Hinga: *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **86** (1992), 181.
- 25) O.Matsuda, P.Songsangjinda, T.Yamamoto and N.Ragendran: MED-COAST '99/EMECS '99 Joint Conf., International EMECS Center, (1999), 13.