

製鋼スラグの添加が海産珪藻 *Skeletonema costatum* の 増殖に及ぼす影響に関する数値モデル解析： pHの影響の重要性

鈴木 雅巳*・山本 民次*

Numerical Model Analyses on the Effects of Steelmaking Slag Addition to Growth of
the Marine Diatom *Skeletonema costatum*: Importance of pH Effects

Masami SUZUKI and Tamiji YAMAMOTO

Synopsis : Numerical model analyses were made on the experimental results in order to determine the optimum amount of dephosphorized steelmaking slag addition to enhance the growth of the planktonic diatom *Skeletonema costatum*. In the batch culture experiments, the growth of *S. costatum* was optimally enhanced by an addition of 100 mg L⁻¹ slag due to dissolution of phosphate and silicate from the slag. However, increase in pH due to the effect of calcium oxide, which is the major constituent of the slag, negatively affected on the growth. The model outputs explained the processes underlying the batch culture experiments. Further, the sensitivity analyses provided the appropriate amount of slag addition that should be applied to enhance the growth of marine diatom populations under the influence of pH increase.

Key words: diatom; nutrient; pH; phosphorus; steelmaking slag; silicate.

1. 緒論

植物プランクトンは海洋生物生産の起点として重要な生物群であるが、中でも渦鞭毛藻類には有害・有毒な種が含まれ、魚介類の斃死や貝毒を引き起こす原因となるため、これらの発生やブルームの形成は水産業を営む上でマイナス要因となる場合がある。一方、珪藻類はカキなどの貝類や動物プランクトンの餌として適しており¹⁻⁴⁾、珪藻類が繁茂する海洋生態系の方が望ましいと考えられる。

製鋼スラグ（以下スラグ）は製鉄所の製鋼過程で生じる副生成物であり、リン、ケイ素、鉄といった元素が溶出することから、珪藻類の増殖促進に有効であることが分かってきており⁵⁻¹⁰⁾、珪藻の増殖を通じた水質改善剤としての利用が考えられている^{11,12)}。また、スラグは酸化カルシウム (CaO) を含むため、CaO の溶解 ($\text{CaO} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Ca}(\text{OH})_2 \rightarrow \text{Ca}^{2+} + 2\text{OH}^-$) により、海水の pH を上昇させることが知られている¹³⁾。海水中には CO₂ ガスや HCO₃⁻、CO₃²⁻ などの炭酸塩が存在し、これらが H⁺ と反応することで平衡が保たれているので（炭酸平衡）、これが pH 変化の緩衝機能として作用しており、通常、海水の平均 pH は 8.2 程度に保たれている。海水の pH は自然状態でも生物による呼吸や植物による光合成によって変動し、上記の緩衝作用により、

例えば植物プランクトンの急激な増殖による赤潮状態でも pH 上昇は 9.5 程度で止まる。自然海水に 200~500 mg L⁻¹ の脱りんスラグを添加した場合も、pH の上昇は 9.5 程度であることが確認されている^{9,10)}。

ただし、スラグの添加による pH の変化は、スラグ添加による植物プランクトン優占種の交替や種による増殖応答の違いの要因の一つとして考えられている^{9,10)}。植物プランクトンの増殖に対する pH の影響については、一般的に植物プランクトンは pH 6.3 から 10 までの広い pH の範囲で増殖が可能であるが、増殖に対する最適 pH は種や株によって異なり、また pH 0.5~1 程度の変化でも増殖に大きな影響を受ける場合もあることも知られている^{14,15)}。

本研究では沿岸海域で最も普遍的に見られる珪藻種 *Skeletonema costatum* を用い、脱りんスラグの添加が本種に与える影響を実験的に調べた結果¹⁶⁾ を対象として、数値モデルを用いてその個体群動態を再現することを試みる。上述の議論から、モデルには *S. costatum* の増殖に対して pH を考慮することで、通常の栄養塩の取り込みと増殖を表すモデルと比べて、どの程度実験結果の再現レベルが改善されるかを検討することを特徴とする。さらに、リン、ケイ素および pH のいずれが増殖律速要因になるかを明らかにするとともに、再現性の最も良いモデルを用いた感度

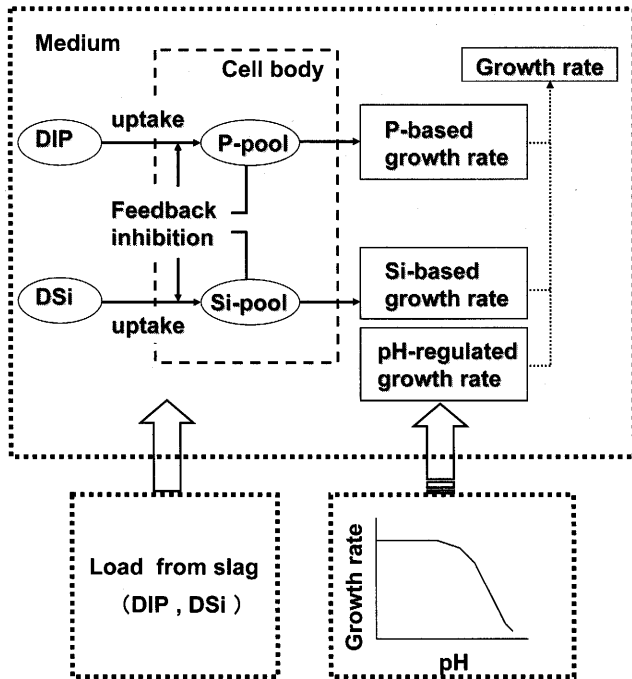


Fig. 1. Framework of the numerical model constructed in the present study. The growth rate of *Skeletonema costatum* is depending on nutrient (DIP, DSi) concentrations and regulated by pH as well.

解析から、海域環境を改善する目的で珪藻類を増殖させるための最適スラグ添加量について検討する。

2. 材料と方法

2.1 モデルの概要

モデルの概略を Fig. 1 に示す。リン酸塩 (DIP: Dissolved inorganic phosphorus), ケイ酸塩 (DSi: Dissolved inorganic silicon) の 2 種の栄養塩を考慮したモデル計算を Case I とし、それらに pH を加えたモデル計算を Case II とした。後者では、スラグ添加にともなう pH の変化が *S. costatum* の増殖および栄養塩の変動を再現する上で重要であるという考えに基づく。ここで、窒素も藻類の増殖にとって重要な元素であるが、本培養実験¹⁶⁾では *S. costatum* の増殖の制限とはなりえないほど十分な濃度 (NaNO₃ の形で窒素として 920 μM) を添加しているため、モデルでは考慮しなかった。

本モデル中では、*S. costatum* の pH に対する増殖は、環境水中の pH (実測値) によって最大増殖速度に対する割合 (0~100%) が変動するように設定した。各 pH における *S. costatum* の最大増殖速度に対する割合は文献値^{17,18)}を用い、ここで用いた文献値によってそれぞれ Case II-A_{ref}, Case II-B_{ref} とした。ただし、文献値のデータプロットにない部分は、既報において他の植物プランクトンで得られている pH に対する増殖速度の変化の傾向を参考にした。また、実測値をより良く再現するように文献値をもとにチューニングしたものを Case II-C_{tun} とした (Fig. 2)。以下、

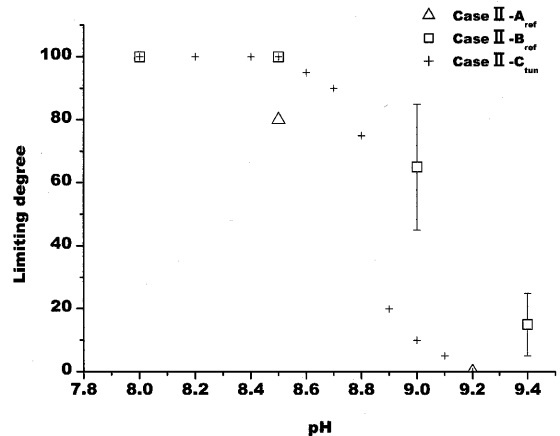


Fig. 2. Suppression of the growth rate of *Skeletonema costatum* by pH. Case II: the run considering pH in addition to DIP and DSi concentrations in the model. A_{ref}, B_{ref} and C_{tun} were the cases of which pH effect is cited from references 17, 18 and tuned between them to reproduce optimally the experimental results.

これを「最適モデル」と呼ぶこととする。

S. costatum による栄養塩の取り込み速度は環境水中の栄養塩濃度に依存するものとし、次の Michaelis-Menten の式¹⁹⁾で表した。

$$\rho_e = \rho_{\max e} \cdot S_e / (K_{\rho_e} + S_e)$$

ここで、

ρ_e : 取り込み速度 (pmol cell⁻¹ h⁻¹)

$\rho_{\max e}$: 最大取り込み速度 (pmol cell⁻¹ h⁻¹)

S_e : 環境水中の栄養塩濃度 (pmol L⁻¹)

K_{ρ_e} : 取り込みの半飽和定数 (pmol L⁻¹)

である。ただし、ケイ酸塩の取り込みについては、取り込みの閾値があるとする文献になら²⁰⁾、次式を用いた。

$$\rho_{\text{Si}} = \rho_{\max \text{Si}} \cdot (S_{\text{Si}} - S_{0\text{Si}}) / \{K_s + (S - S_{0\text{Si}})\}$$

ここで、

$S_{0\text{Si}}$: 取り込み可能なケイ酸塩濃度の閾値

また、細胞内栄養塩含量 (Q) は最小値 Q_{\min} と最大 Q_{\max} の間を変動すると考え、 Q_{\max} は次の式より見積もった²¹⁾。

$$\mu_{\max e} = \mu'_{\max e} (Q_{\max e} - Q_{\min e}) / Q_{\max e}$$

ここで、

$\mu_{\max e}$: 実験によって得られた最大比増殖速度 (h⁻¹)

$\mu'_{\max e}$: Droop の式より得られる理論上の最大比増殖速度 (h⁻¹)

$Q_{\max e}$: 最大細胞内栄養塩含量 (pmol cell⁻¹)

$Q_{\min e}$: 最小細胞内栄養塩含量 (pmol cell⁻¹)

である。

また、最大取り込み速度 (ρ_{\max}) は既報²²⁾ にならい、細胞内栄養塩含量 (Q) の増加に対して直線的に減少するものとした。

$$\rho_{\max e} = \rho_{\max e}^{hi} - (\rho_{\max e}^{hi} - \rho_{\max e}^{lo})(Q_e - Q_{\min e}) / (Q_{\max e} - Q_{\min e})$$

ここで、

$\rho_{\max e}^{hi}$: 各栄養塩 (e : P, Siのいずれか) 枯渇細胞を用いて行われた短時間実験より得られた値 (pmol cell⁻¹ h⁻¹)

$\rho_{\max e}^{lo}$: 以下の式²⁰⁾ より見積もった

$$\rho_{\max e}^{lo} = \mu'_{\max e} (Q_{\max e} - Q_{\min e})$$

つまり、 $Q_{\max e} - Q_{\min e}$ は細胞内の栄養塩プールに相当し²³⁾、プール内の栄養塩の増加によって栄養塩取り込みにフィードバックがかかる。本モデルではケイ酸塩についても同様のフィードバックを想定した。

植物プランクトンの増殖速度は自身の細胞内栄養塩含量に依存すると考え²⁴⁾、次の Droop の式により比増殖速度を規定した。

$$\mu_e = \mu'_{\max e} (1 - Q_{\min e} / Q_e)$$

ここで、

μ_e : 各栄養塩 (e : P, Siのいずれか) 制限下での比増殖速度 (h⁻¹)

よって、 μ_e は μ_p, μ_{Si} のうちいずれか

Q_e : 細胞内栄養塩含量 (pmol cell⁻¹)

である。また、バッチ培養では空間に限界があり、*S. costatum* 自身が排出する物質の増加や細胞相互による光の遮断等によって増殖は抑えられるため、種固有の内的自然増殖率はその時点における細胞密度の係数により抑制される。そこで、本モデルでも細胞密度による抑制を考慮した増殖率を次のように表した。

$$\mu_h = (r - hD)$$

ここで、

μ_h : 細胞密度による抑制を考慮した増殖率 (h⁻¹)

r : 種固有の内的自然増殖率 (h⁻¹)

D : Verhulst-Pearl 係数

h : その時点における細胞密度

である。以上により、Droop 式を次のように改変して増殖率とした。

$$\mu' = (\mu'_{\max} (Q_{\max} - Q_0) / (Q_{\max} - hD))$$

ここで、

μ' : バッチ培養における増殖率 (h⁻¹)

である。また、*S. costatum* の増殖速度は Blackman の増殖速度制限理論²⁵⁾ に従い、各栄養塩および pH から計算される増殖速度のうち最も小さい値とした。

$$\mu = \min(\mu_p, \mu_{Si}) \quad \text{or} \quad \mu = \min(\mu_p, \mu_{Si}, \mu_{pH})$$

以上から、本モデルは環境水中の栄養塩濃度 S 、細胞密度 N の状態変数を持ち、これらの時間変化はそれぞれ次のように表せる。

$$dS/dt = \text{load} - \rho N$$

$$dQ/dt = \rho - \mu Q$$

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

2.2 入力データ

スラッグ添加培養実験 (バッチ培養, 100 mg L⁻¹ スラッグ添加区)¹⁶⁾ で設定した条件をすべてモデルに適用し、それらをモデル計算の基準値とした。また、スラッグの組成、粒径等は既報の通りである¹⁰⁾。DIP 濃度と DSi 濃度の初期値はそれぞれ 0.01 $\mu\text{g P at L}^{-1}$ と 8.77 $\mu\text{g Si at L}^{-1}$ 、pH の初期値は 8.12 である。ただし、既報の実験値では DIP は検出限界値 (0.01 $\mu\text{g P at L}^{-1}$) 以下であったが、これは単に分析感度の問題であり 0 $\mu\text{g P at L}^{-1}$ であるということは考えにくいので、本モデルでは検出限界値の 0.01 $\mu\text{g P at L}^{-1}$ を初期値として与えた。栄養塩類 (リン酸塩、ケイ酸塩) のソースはスラッグのみであるので、これらの溶出速度は別に行った溶出実験 (水温: 15°C, 塩分: 30 PSU, 攪拌レベル: 100 rpm) より得られた実験結果から、それぞれ一定の速度で溶出するものと考え、0.106 $\mu\text{g P at L}^{-1} \text{d}^{-1}$ および

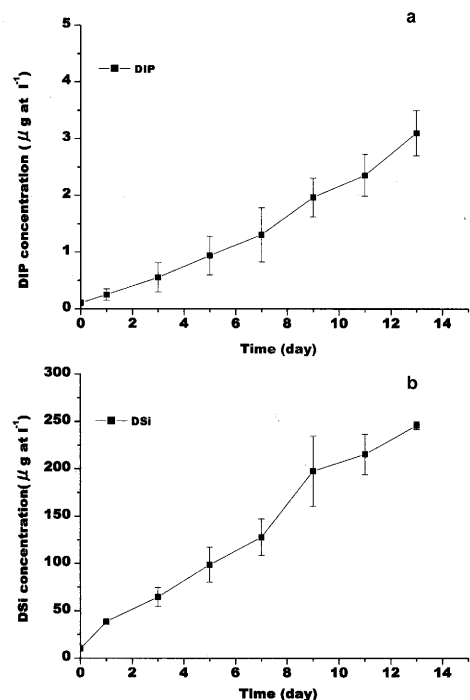


Fig. 3. Dissolution of (a) DIP and (b) DSi after an addition of 100 mg slag L⁻¹ to natural seawater.

Table 1. Physiological parameters of *Skeletonema costatum* used in the present model.

Symbols	Values	Unit	References
μ'_{\max}	1.25	d^{-1}	Tarutani and Yamamoto (1994)
μ_{\max}	1.2	d^{-1}	Yamaguchi (1995)
$\rho_{\max P}$	0.0384	$pmol\ cell^{-1}\ h^{-1}$	Tarutani and Yamamoto (1994)
$K_{s P}$	0.68	μM	Tarutani and Yamamoto (1994)
$Q_{\min P}$	0.0028	$pmol\ cell^{-1}$	Tarutani and Yamamoto (1994)
$Q_{\max P}$	0.07	$pmol\ cell^{-1}$	*
$\rho_{\max Si}$	0.095	$pmol\ cell^{-1}\ h^{-1}$	Tarutani (1997)
$K_{s Si}$	0.8	μM	Tarutani (1997)
$Q_{\min Si}$	0.043	$pmol\ cell^{-1}$	Tarutani (1997)
$Q_{\max Si}$	1.075	$pmol\ cell^{-1}$	*
$S_0 Si$	0.32	$pmol\ cell^{-1}$	Paasche (1973)

*:calculated from $\mu_{\max} = \mu'_{\max} (Q_{\max} - Q_{\min}) / Q_{\max}$ (Morel, 1987)

13.26 $\mu g\ Si\ at\ L^{-1}\ d^{-1}$ とした (Fig. 3(a), 3(b))。

モデルに導入した *S. costatum* の生理パラメータは、文献値を用いた^{20,21,26-28})。ただし、*S. costatum* の μ_{\max} に実験値²⁶)を用いると、増殖の立ち上がり勾配に実験値との差が生じたため、理論上の最大比増殖速度である μ'_{\max} の値を上限としてチューニングした。以上、モデル内で使用したパラメータの詳細を Table 1 にまとめた。

なお、数値計算には STELLA(R) Research J 5.1.1 (High Performance Systems, Inc.) を用いた。本研究では Blackman の増殖速度制限理論を扱う計算過程で MIN 関数を用いたが、STELLA(R) Research J 5.1.1 では、モデル構造が MIN 関数に依拠している場合にはオイラー法を使用することを推奨しているので、数値解析手法にはオイラー法を用いた。タイムステップは 1/48 時間 (1.25 分) とした。

2.3 感度解析

上記で作成した最適モデルを用いて、DIP 溶出速度、DSi 溶出速度について感度解析を行い、ここでは珪藻類の繁茂にスラグが有効であるかどうかという観点から、計算終了時の細胞密度と計算期間中の DSi 濃度の最低値を評価項目として最適スラグ添加量の検討を試みた。ここで、スラグからの栄養塩溶出量はスラグの添加量に比例すると仮定し、最適モデルに用いた溶出速度の値を基準値 (100%) として、DIP 溶出速度と DSi 溶出速度をともに基準値を 0~100% の間で任意に変化させて、各パーセンテージにおける計算終了時の細胞密度と計算期間内における DSi 濃度の最小値を算出した。スラグ添加量を少なくした場合は、加えられる CaO の量も少なくなることから pH の影響も小さくなるが、植物プランクトンの増殖に伴い二酸化炭素の消費が増えることで pH は上昇するため、スラグ添加量を減らした場合においても基準値程度の pH の上昇は十分予想される。よって、今回は栄養塩の溶出速度についてのみ感度解析を行い、pH については基準値と同じとした。

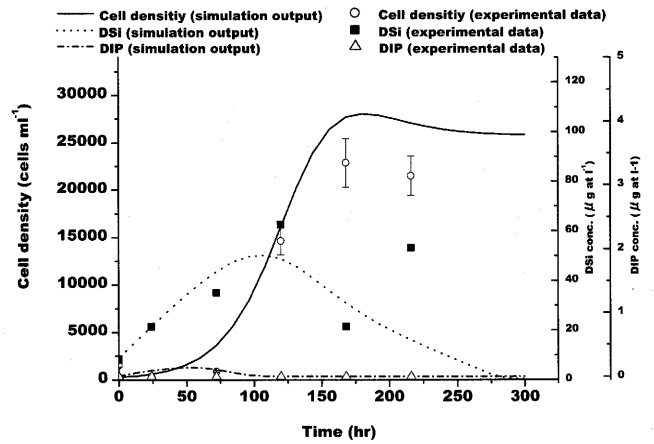


Fig. 4. Simulation outputs for cell density of *Skeletonema costatum*, and concentrations of DIP and DSi. Case I (P, Si): the run considering DIP and DSi concentrations. Symbols are the experimental data.

3. 結果

数値モデルにより室内実験結果の再現を試みたところ、Case I (P, Si) のモデルでは最高細胞密度と DSi 濃度の経時変化のピークにあたる部分のタイミングと値はほぼ実験値を再現できたが、DSi 濃度が急激に低下してから再度回復するという特徴的な経時変化は再現できなかった (Fig. 4)。また、DIP 濃度は実験では枯渇レベルであり、モデルでは 12~96 h で 0.026~0.14 $\mu g\ P\ at\ L^{-1}$ でわずかに過大評価となった期間が現れたが、その他の期間では 0.01 $\mu g\ P\ at\ L^{-1}$ 以下であり、実験値をほぼ再現した (Fig. 4)。

次に、pH を考慮した Case II (P, Si, pH) のモデルについて Case II-A_{ref}, -B_{ref} および -C_{turn} の結果をそれぞれ Fig. 5(a), (b), (c) に示した。Case II-A_{ref} では、最高細胞密度は実験値のおよそ半分の値と低かった。また、DSi 濃度は漸次増加していることから、実験値の経時変化はともに再現できなかった (Fig. 5(a))。Case II-B_{ref} では、Case I (P, Si) のモデルの結果と同様であり、最高細胞密度はほぼ再現できたが、DSi 濃度の経時変化は再現できなかった (Fig. 5(b))。

一方、最適モデル (Case II-C_{turn}) では、最高細胞密度及び Case I, Case II-A_{ref}, -B_{ref} では再現できなかった DSi 濃度の経時変化も再現できた (Fig. 5(c))。ただし、Case II-C_{turn} のモデルシミュレーションでは 156 h で最高細胞密度が約 $2.6 \times 10^4\ cells\ mL^{-1}$ に達し、実験期間の中頃に見られた DSi 濃度の山は 50.3 $\mu g\ Si\ at\ L^{-1}$ (108 h) で過小評価であり、谷は 33.9 $\mu g\ Si\ at\ L^{-1}$ (168 h) で過大評価であった (Fig. 5(c))。また、モデルにおいて DSi 濃度の経時変化に見られる山に当たる時間は 120 h であり、実験値との間に若干のタイムラグが見られた (Fig. 5(c))。また、DIP 濃度は Case I と同様、モデルでは 12~96 h で 0.01 $\mu g\ P\ at\ L^{-1}$ 以上とわずかに高い値がある期間が見られたものの、その他の期間では 0.01 $\mu g\ P\ at\ L^{-1}$ 以下で、実験値をほぼ再現した (Fig. 5(c))。

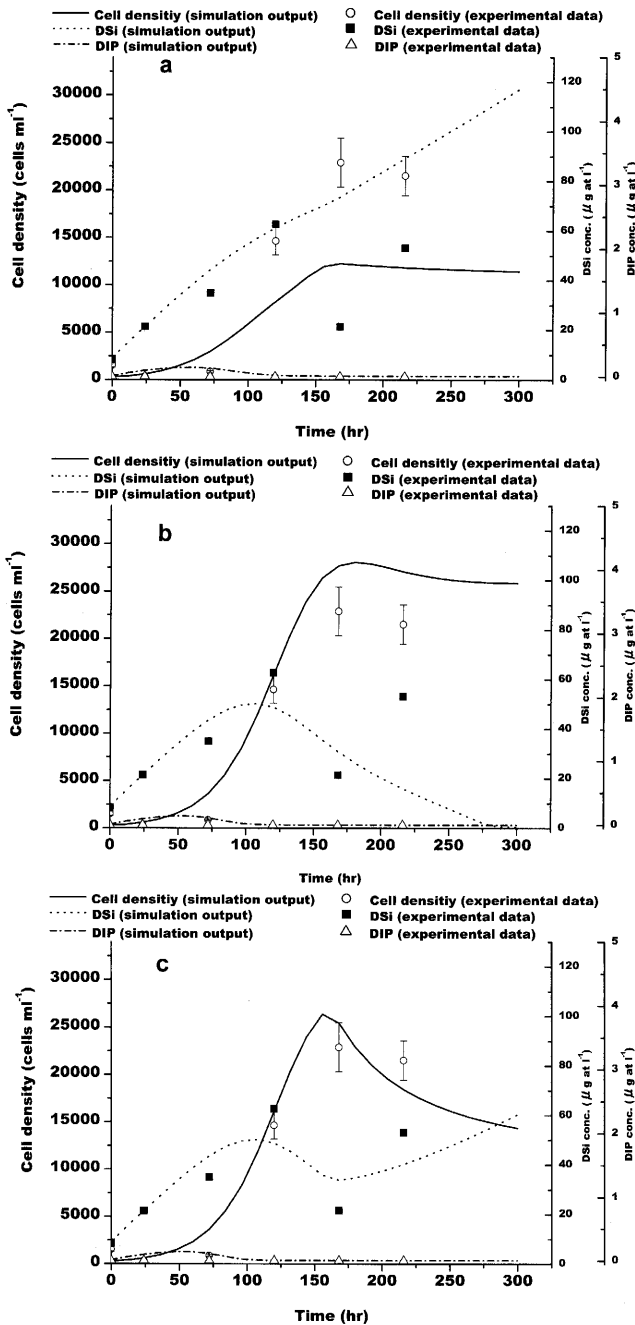


Fig. 5. Simulation outputs for cell density of *Skeletonema costatum*, and concentrations of DIP and DSi. Case II. (a) A_{ref} (b) B_{ref} and (c) C_{tun} . See Fig. 2 caption. Symbols are the experimental data.

最適モデル (Case II- C_{tun}) を用いて感度解析を行った結果、計算終了時における *S. costatum* の細胞密度は、DIP, DSi 溶出速度が基準値の30%があれば、約 1.2×10^4 cells mL^{-1} 以上の高い細胞密度を示したが、それ以下では徐々に低下した (Fig. 6(a), Table 2)。また、基準値の5%の溶出速度があれば、細胞密度を約 4.5×10^3 cells mL^{-1} (*S. costatum* の赤潮基準値程度) に維持することが可能であることが分かった (Fig. 6(a), Table 2)。計算期間中における108hに見られる DSi 濃度のピーク以降に得られた DSi 濃度の最小値は、DIP, DSi 溶出速度を基準値の60%に抑えた場合

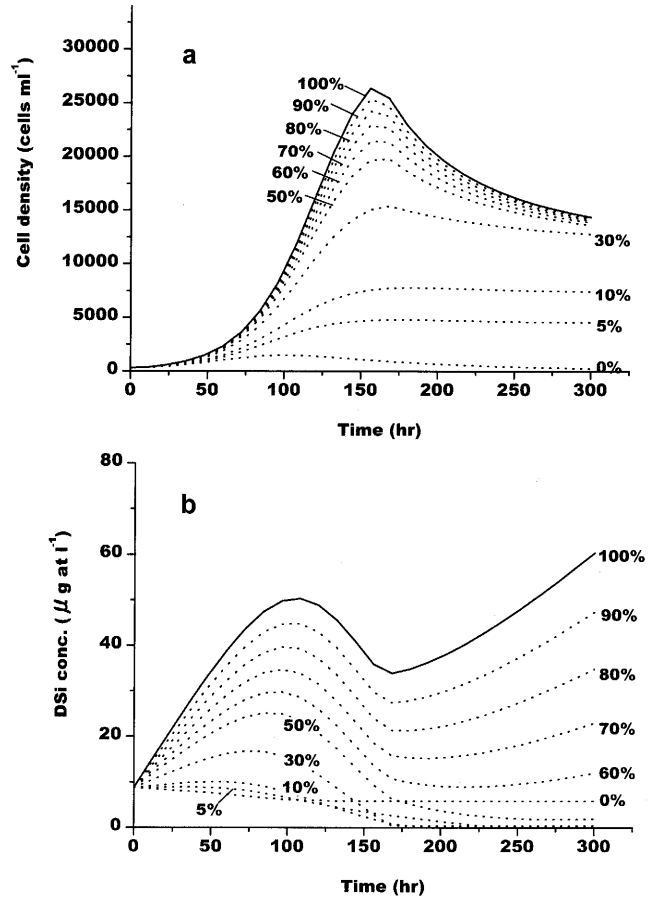


Fig. 6. Responses of (a) cell density of *Skeletonema costatum* and (b) DSi concentration to changes in DIP and DSi loads from slag. Case II- C_{tun} (see Fig. 2). 100% is the outputs with standard values.

Table 2. Model outputs for the maximum cell density, the final cell density, and the minimum DSi concentration with different DIP and DSi loads from the steelmaking slag.

	Maximum cell density (cells mL^{-1})	Final cell density (cells mL^{-1})	DSi concentration (μg at l^{-1})
100	26380	14364	33.90
90	25382	14278	27.44
80	24231	14172	21.34
70	22916	14037	15.20
60	21408	13862	8.94
50	19806	13625	1.82
30	15390	12774	0.42
10	7795	7434	0.37
5	4789	4541	0.36
0	1499	247	5.79

では $10 \mu g$ Si at L^{-1} 以下となり、基準値の30%以下では $1 \mu g$ Si at L^{-1} 以下となった (Fig. 6(b), Table 2)。

4. 考察

最適モデル (Case II- C_{tun}) においては、DSi 濃度の経時変化の再現性が最も良かった。Case II- C_{tun} では *S. costatum* の P と Si に対する増殖依存性に加え、pH に対する増殖依存性を加味した点が Case I と異なる。つまり、*S. costatum*

の増殖が実験期間の途中から pH によって制限されたために増殖速度が低下した分, DSi 濃度の消費が減少して DSi 濃度が上昇したりするという過程を再現することができたと考えられる。このことから, 本実験のように pH の変化が大きい系では, 従来行われてきた主要な栄養塩類の取り込みによる細胞の増殖というプロセスのみでなく, pH を考慮したモデルとすることが重要であると言える。また, pH を考慮した Case II-A_{ref}, -B_{ref}, -C_{tun} における *S. costatum* の増殖律速要因の変化について, それぞれ Fig. 7(a), (b), (c) に示した。Case II-A_{ref} では, 36h 以降ではつねに pH が増殖律速要因であり, Case II-B_{ref} では, ほぼ計算期間を通して DIP が律速要因であった。一方, Case II-C_{tun} (最適モデル) では, 144h まで DIP 律速であり, それ以降では pH が律速要因となっていたことから, 各律速要因の切り替わりのタイミングと律速の度合いが, 本実験の再現性に大きく影響していたことが理解できる。メソコズムを用いて行われた実験では, 窒素やリンが制限とならない条件において珪藻類を優占させるには DSi が常に $2 \mu\text{g at L}^{-1}$ 以上であることが望ましいとの研究報告がある⁴⁰⁾。しかし, スラッグを添加する場合には, スラッグから供給される DSi/DIP 比は 125 (Fig. 3(a), 3(b)) と本種の $Q_{\text{min Si}}/Q_{\text{min P}}$ 比の 1.5 あるいは植物プランクトンによる DSi/DIP 利用比の 15⁴¹⁾ よりも高いため, DSi が *S. costatum* の律速要因となることはないと考えられ, 本モデルにおいても DSi が律速となることはなかった (Fig. (a), (b), (c))。

本モデルでは, pH に対する *S. costatum* の増殖速度の影響について, 単純に pH に対する増殖速度低下率として考慮した。*S. costatum* の分裂速度は pH > 8.5 で急激に低下し, さらに高 pH 環境において細胞内 FAA (free amino acid) および細胞内の多糖類の一種である Glucan の量も低下することから, 高 pH による分裂速度の低下が細胞の生理作用が影響を受けたためであろうとの報告がある¹⁷⁾。また, pH の短期変動は, *S. costatum* の細胞内 NO_3^- 濃度と NO_3^- の取り込みに影響を及ぼすといった研究報告もある²⁹⁾。 NO_3^- の取り込みは高 pH で大きく低下し, このことについても高 pH によって細胞の生理作用が影響を受けるためであると考えられているが, そのメカニズムに関する詳細は不明である。このように, 現時点では植物プランクトンの生理について良く分かっていないことも多いため, 今回のモデルでは, pH に対する増殖速度低下率として与えた。したがって, モデルに炭酸系を組み入れたり, pH に対する生理作用を必ずしも組み込んだりしなくても, 実験結果を再現できたと言える。

海水中の pH は水温, 塩分とともに炭酸種の濃度を定める重要な要因であるが, 炭酸塩は通常, 植物プランクトンの増殖を制限する要因, すなわち栄養塩類としては取り扱われない。それは, 海水中にはさまざまな炭酸種が含まれており, 通常の pH の範囲内では炭酸平衡により CO_2 は枯

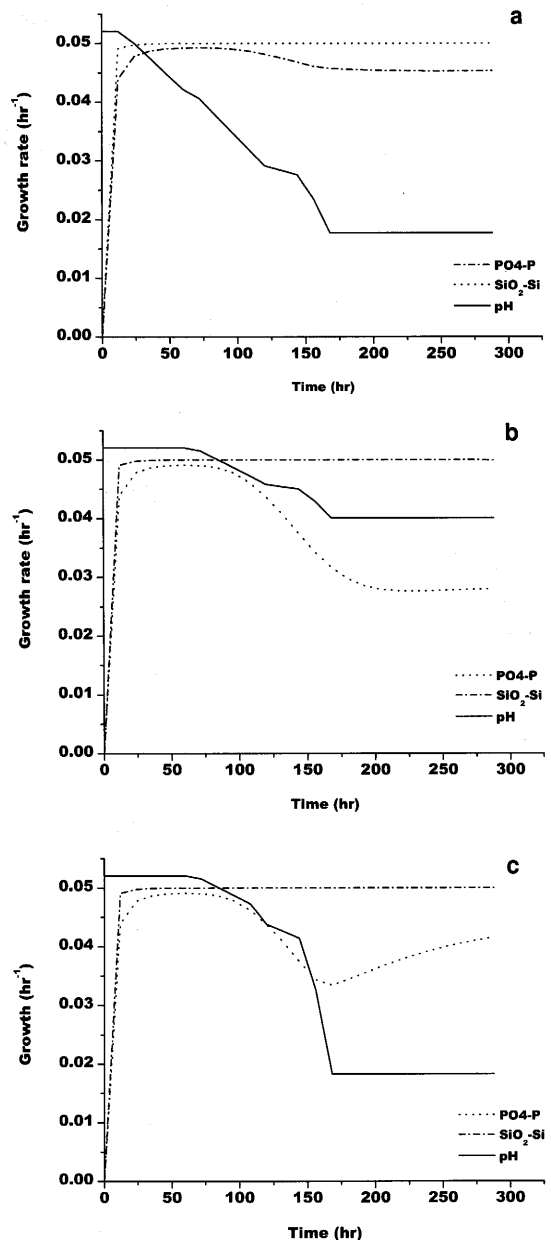


Fig. 7. Time changes in limiting factor of the growth of *Skeletonema costatum*. Case II. (a) A_{ref} (b) B_{ref} and (c) C_{tun} (see Fig. 2).

渇することがまず無いからである。しかし, 例えば通常の水の pH 8 付近においてさえ, CO_2 濃度は十数 μM 程度 (全炭酸濃度の 0.1~1% 程度) であり^{30,31)}, この値は一部の海産植物プランクトンで報告されている CO_2 の半飽和定数が数 μM 程度³²⁻³⁴⁾ であることと比較するとそれほど高くない。また, 光合成などで pH が上昇するにつれてさらに遊離の CO_2 の相対濃度は低下し, pH 9 付近では数 μM 以下となるので³⁵⁾, 今後検討が必要かもしれない。

海産珪藻類の多くは重炭酸 (HCO_3^-) を利用できず, ガス態の CO_2 のみに依存するが, *S. costatum* は CO_2 濃度が約 $5 \mu\text{M}$ 以下となると細胞外炭酸脱水素酵素 (Extracellular carbonic anhydrase: CAext) 活性が高まり, HCO_3^- を利用できることが報告されている³⁶⁾。また, この CAext は Zn が十

分量無い場合には活性化されないことが知られている³⁷⁾。*S. costatum* の CAext 活性についても、溶存態有機リンの glycerophosphate を唯一のリン源とした場合では、 Zn^{2+} 濃度によって HCO_3^- への親和性及び CO_2 取り込みとともに増減することが報告されている³⁸⁾。ただし、本モデルの検証に用いた *S. costatum* に対するスラグ添加実験 (Suzuki and Yamamoto, 2005) では、スラグから溶出する溶存態無機リンをリン源としており、また、Zn についても制限要因とならうように十分な量 (80 nM: Zn) を培地に添加していたことから、 Zn^{2+} 濃度による CAext 活性への影響はなかったものと考えられる。また、CAext により $HCO_3^- + H^+ \rightarrow CO_2 + H_2O$ の炭酸脱水素反応を通して CO_2 が得られるが、今回のスラグを用いた実験系のように水酸基 (OH^-) が供給される系あるいは高 pH となる系では水素イオン (H^+) を得にくいいため、CAext による炭酸脱水素反応が制限されるのではないかと考えられる。

モデルによる DSi 濃度の計算結果は培養実験で得られたその変動幅よりも小さかった。モデルでは細胞による栄養塩の取り込みとプール、その後の増殖を計算しているが、そのような主要なプロセス以外に、細胞からの物質の滲出や環境水中での不溶性物質の形成による DSi の除去が起こっているかもしれない。また、*S. costatum* をはじめとする珪藻類は、環境ストレスにより細胞の珪酸殻の厚みを厚くすることが知られており³⁹⁾、pH ストレスについても少なからず DSi の消費量に影響を及ぼしていたかもしれない。

最適モデルを用いた感度解析の結果より、計算終了時においても十分な細胞密度を維持するには溶出速度は基準値の 5% 程度で十分なことが示された (Fig. 6(a), Table 2)。このことから、 100 mg L^{-1} の 5% である 5 mg L^{-1} が一つの目安として導き出せる。本モデルで得られた出力結果から、なるべく少ない添加量で基準値と同程度の最大収量や最終収量を得るには、前者では基準値の 50% の 50 mg L^{-1} 程度で十分であり、後者では基準値の 30% の 30 mg L^{-1} で十分なことが示された (Fig. 6(a), Table 2)。この値は、既報⁸⁻¹⁰⁾の添加実験において、植物プランクトンの最大収量が得られた製鋼スラグ (脱リンスラグ) 添加量の範囲 ($33 \sim 200 \text{ mg L}^{-1}$) とほぼ同等の値である。本モデルによる計算では、DIP については基準値でも計算期間において余剰とならなかったことや、本モデルの検証に用いた実験が閉鎖的なバッチ培養系で得られたものであり、実海域では海水流動による拡散・希釈効果があることを考慮すると、先に示したスラグ添加量 ($5, 30, 50 \text{ mg L}^{-1}$) は実海域へのスラグ施肥量としてはかなり控えめな値であると言える。

ただし、本研究で示されたように pH 上昇によるストレスは、一時的であるにせよ植物プランクトンの増殖活性を低下させる可能性があり、さらに他の海洋動植物についても pH の変化に対する感受性の高い種がいる可能性もあ

り、このことについては十分に考慮されなければならないであろう。また、本モデルでは、栄養塩である DIP と DSi をスラグからの溶出のみに依存しているが、これらの栄養塩は実海域では河川や底泥から供給されたり、系内でのデトライタス等の分解によって回帰したりする。よって、実海域でスラグ施肥を行うには、各海域における栄養塩環境を考慮し、リンとケイ素のいずれを重点的に施肥したいのかという目的に応じた最適なスラグ添加量やスラグの種類を選定、さらには海域の地形や流動特性などの地域特性についても十分に検討して慎重に行う必要がある。また、利用方法によって赤潮問題、海洋生物資源の回復・維持、良好な底層環境の回復・維持あるいは海洋生物生産増大による二酸化炭素固定など様々な効果を発揮する手段となる可能性を有しており、海洋におけるスラグ利用について今後の研究の進展が望まれる。

文 献

- 1) M.Starr, J.A.Runge and J.-C.Therriault: *Sarsia*, **84** (1999), 379.
- 2) X.Irigoien, R.P.Harris, H.M.Verheye, P.Joly, J.Runger, M.Starr, D.Pond, R.Campbell, R.Shreeve, P.Ward, A.N.Smith, H.G.Dam, W.Peterson, V.Tirelli, M.Koski, T.Smith, D.Harbour and R.Davidson: *Nature (London)*, **419** (2002), 367.
- 3) A.L.Pennarun, C.Prost, M.Demaimay and J.Haure: *J. Agric. Food Chem.*, **51** (2003), 2006.
- 4) N.Hirose and S.Montani: *Tetsu-to-Hagané*, **89** (2003), 466.
- 5) Y.Nakamura, A.Taniguchi, S.Okada and M.Tokuda: *ISIJ Int.*, **38** (1998), 390.
- 6) K.Arita, Y.Umiguchi and A.Taniguchi: *Tetsu-to-Hagané*, **89** (2003), 415.
- 7) K.Arita, Y.Umiguchi and A.Taniguchi: *Tetsu-to-Hagané*, **89** (2003), 422.
- 8) K.Haraguchi, K.Suzuki and A.Taniguchi: *ISIJ Int.*, **43** (2003), 1461.
- 9) K.Haraguchi and A.Taniguchi: *Tetsu-to-Hagané*, **89** (2003), 430.
- 10) T.Yamamoto, M.Suzuki, S.Oh and O.Matsuda: *Tetsu-to-Hagané*, **89** (2003), 482.
- 11) 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, USA, (1999), 170.
- 12) T.Yamamoto: *Tetsu-to-Hagané*, **89** (2003), 114.
- 13) T.Futatsuka, K.Shitogiden, T.Miki, T.Nagasaka and M.Hino: *Tetsu-to-Hagané*, **89** (2003), 2.
- 14) K.R.Hinga: *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **238** (2002), 281.
- 15) P.J.Hansen: *Aquat. Microb. Ecol.*, **28** (2002), 279.
- 16) M.Suzuki and T.Yamamoto: *Tetsu-to-Hagané*, **91** (2005), 39.
- 17) M.Traldsvik and S.M.Mykkestad: *Eur. J. Phycol.*, **35** (2000), 189.
- 18) L.E.Schmidt and P.J.Hansen: *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **216** (2001), 67.
- 19) R.C.Dugdale: *Limnol. Oceanogr.*, **12** (1967), 685.
- 20) E.Paasache: *Mar. Biol.*, **19** (1973), 262.
- 21) F.M.M.Morel: *J. Phycol.*, **23** (1987), 137.
- 22) J.P.Grover: *Am. Nat.*, **138** (1991), 811.
- 23) A.D.Cembella, N.J.Antia and P.J.Harrison: *CRC Crit. Rev. Microbiol.*, **10** (1984), 317.
- 24) M.R.Droop: *J. Phycol.*, **9** (1973), 263.
- 25) F.F.Blackman: *Ann. Bot.*, **19** (1905), 281.
- 26) K.Tarutani and T.Yamamoto: *J. Fac. Appl. Sci., Hiroshima Univ.*, **3** (1994), 59.
- 27) M.Yamaguchi: Reports on the Development of the Ecological Regulations of HABs. Nansei Regional Fisheries Laboratory, Hiroshima, (1994), 55.
- 28) K.Tarutani: PhD Thesis, University of Hiroshima, Higashi-Hiroshima, (1997).
- 29) S.S.Thoresen, J.R.Clayton, Jr. and S.I.Ahmed: *J. Exp. Mar. Biol.*

- Ecol.*, **83** (1984), 149.
- 30) D.A.Huntchins and K.W.Bruland: *Nature (London)*, **393** (1998), 561.
- 31) V.M.Frank, M.A.Brzezinski, K.H.Coale and D.M.Nelson: *Deep-Sea Res. II*, **47** (2000), 3315.
- 32) M.A.Borowitzka and A.W.D.Larkum: *J. Exp. Bot.*, **27** (1976), 879.
- 33) C.Y.Chen and E.G.Durbin: *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **109** (1994), 83.
- 34) P.D.Tortell, J.R.Reinfeldler and F.M.M.Morel: *Nature (London)*, **390** (1997), 243.
- 35) U.Riebesell, D.A.Wolf-Gladrow and V.Smetacek: *Nature (London)*, **361** (1993), 249.
- 36) N.A.Nimer, M.Warren and M.J.Merrett: *Plant Cell Environ.*, **21** (1998), 805.
- 37) F.M.M. Morel: *Nature (London)*, **369** (1994), 740.
- 38) Y.Shi, H.Hu, R.Ma, W.Cong and Z.Cai: *Biotechnol. Lett.*, **26** (2004), 747.
- 39) S.Takeda: *Nature (London)*, **393** (1998), 774.
- 40) J.K.Egge and D.L.Aksnes: *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **68** (1992), 281.
- 41) S.M.Libes: *An Introduction to Marine Biogeochemistry*, John Wiley and Sons, Inc., New York, NY, 734.