

Thalassiosira 属珪藻 2 種によるスラグ由来鉄の 生物学的有用性の持続度の検討

杉江 恒二*・谷口 旭*²

Bioavailability and Durability of the Iron Released from a Steelmaking Slag for Two *Thalassiosira* Species

Koji SUGIE and Akira TANIGUCHI

Synopsis : Iron is an essential element for plant life in the sea and on land. However, in the sea, especially in open ocean, photosynthesis is limited by iron deficiency because of both limited supply from land and rapid oxidation and sedimentation of dissolved iron. Although previous studies demonstrated that marine phytoplankton under such iron stress can grow actively using steelmaking slag as an iron source. In this study, we followed the temporal change in efficiency of the powdered decarburization slag on the growth of the diatoms *Thalassiosira oceanica* and *T. nordenskiöldii* in a modified ESAW medium. To avoid limitation in other nutrients than iron, cultures were spiked with macronutrients in excess concentration. The cultures ran at 20°C for *T. oceanica* and 10°C for *T. nordenskiöldii* and growth was determined by *in vivo* fluorescence of the cultures. The results demonstrated that availability of the iron originating from the slag was high for both species. The bioavailability persisted for at least 23 d for *T. oceanica* and 30 d for *T. nordenskiöldii* when the slag was initially added at the concentration of 20 mg/L, probably because of slow but continual dissolution of iron from the slag. This indicates that continual positive effect of iron fertilization can be expected by slag input at an interval of a month or more.

Key words : steelmaking slag; iron fertilization; diatoms; continual availability of iron.

1. 序論

1.1 研究の背景

生命にとって鉄は必須元素の1つである。海洋の植物プランクトンにとっても鉄は必須であり、光合成、呼吸およびクロロフィルaの生合成などを司る補因子である¹⁾。しかし、海水は弱アルカリ性であり、しかも海洋表層は酸化的環境なので、過剰な溶存無機態の鉄種はすみやかに加水分解され、生物が利用しにくい非結晶状の粒状物へと変化する(am-Fe)²⁾。すなわち、海水中では三価の鉄イオンの溶解度は非常に低い³⁾。さらにam-Feは時間を経るごとに結晶構造を発達させ、生物がほとんど利用できない形態へと遷移し、最終的にはコロイド状の巨大分子となって表層から下層へと除去される^{3,4)}。

表層海洋への鉄の主な供給源は陸域にあり、河川水や大気ダスト(例えば黄砂)によってもたらされる⁵⁾。還元的な海底泥から回帰することも知られているが、その恩恵を受ける海域はごく沿岸域の浅海部に限られる。陸地から離れた外洋域、すなわち海洋のほとんど全体といってもよい海域では、鉄は実質的に不足しており、植物プランクトンの光合成生産を律速している⁶⁾。その結果、硝酸塩などのマクロ栄養塩が利用されずに残存している海域が全海洋面積の約25%存在するといわれている^{6,7)}。このような海域

をHNLC(High Nitrate Low Chlorophyll)海域という。したがって、HNLC海域に鉄だけを撒布すれば、植物プランクトンの光合成生産が増大して大気から二酸化炭素を吸収することになり、さらに生産された有機物が深層へ沈降することによって炭素が深層へ隔離されると期待できる。この原理によって、近年の世界的な課題である大気中の二酸化炭素濃度の低減が可能になるという仮説が、いわゆるMartinの鉄仮説^{8,9)}である。

上述の鉄仮説を受けて、HNLC海域として知られる東部赤道太平洋、南大洋および北部北太平洋において、大規模な鉄撒布実験が行われてきた¹⁰⁻¹²⁾。このとき、海水への金属鉄および三価の鉄の溶解度がきわめて低いため、実際にはFeSO₄をあらかじめ塩酸に溶解した溶液を撒布することが多かった。しかし、いずれの実験においても、撒布された鉄は海水中ですみやかに生物学的有用性を失うので、3日から7日に一度の頻度で鉄溶液を撒布する必要があるとされた¹⁰⁻¹²⁾。これらの鉄撒布実験では、実際に植物プランクトンの大增殖と海面直上の大気中二酸化炭素分圧の低下が観測された。しかし、光合成量に匹敵する炭素が深層へ沈降したという現象は観察されたことがなく、鉄溶液撒布による炭素の海洋隔離に関して、否定的な意見が徐々に始めている^{13,14)}。

平成19年1月11日受付 平成19年4月27日受理 (Received on Jan. 11, 2007; Accepted on Apr. 27, 2007)

* 北海道大学大学院環境科学院 (Graduate School of Environmental Science, Hokkaido University, Kita 13-Nishi 8 Kita-ku Sapporo 060-0813)

* 2 東京農業大学生物産業学部 (Faculty of Bio-industry, Tokyo University of Agriculture Okhotsk)

1.2 本研究の目的

製鋼スラグは、水砕スラグなどと比較すると再利用率が低い、鉄の含有量は高い。そこで、これをHNLC海域への鉄供給源として利用することができれば、炭素の海洋隔離のための資源となる。あるいは、海域の生物生産力の増大、すなわち漁業生産の増大のための資源として利用することも不可能ではない¹⁵⁾。本研究の目的は、そのような製鋼スラグの可能性を評価することにある。

製鋼スラグが水中で鉄を溶出させることはすでに明らかになっており¹⁶⁾、その鉄が植物プランクトンにとって有用であることも確認されている¹⁷⁾。しかし、これらの結果は、比較的短期間の培養実験で得られたものである。培地内に投入されたスラグ粉粒から生物学的利用性のある鉄が長期に亘って持続的に溶出し続けるか否かは、いまだ試験されたことはない。本研究では、製鋼スラグ粉粒を投入した培地内での植物プランクトンの増殖応答を長期にわたって観察し、鉄供給源としての製鋼スラグの有効性の持続程度について考察する。

2. 材料と方法

本研究で使用した器具は、全てクリーンテクニック^{18,19)}によって洗浄した。また、空気中のダストなどによる鉄の混入を避けるため、培養実験区の調整は可能な限りHEPAフィルターを装備したクリーンベンチ内(Class 100)で行った。

2.1 供試スラグ

本研究に供したスラグは、東北大学大学院工学研究科日野研究室より分与していただいた脱炭スラグ粉砕粒子であり、その成分組成は、Total-Fe 17.9%、SiO₂ 14.1%、P₂O₅ 2.1%、CaO 43.4%、MgO 8.6%、MnO 3.4%、Al₂O₃ 2.8%、TiO₂ 0.91%、S 0.07%およびOthers 6.9%であった(日野研究室調べ)。このスラグ粉砕粒子をさらに篩い別けし、粒径20 μm以下の画分を使用した。

2.2 供試植物プランクトン

本研究は実験1および実験2からなるが、実験1では宮城県仙台新港の海水から単離した*Thalassiosira oceanica*を用いた。この種は殻径3~12 μmの比較的小型の中心目珪藻で、温暖性汎分布であり、培養実験に比較的良く用いられる種である。実験2で用いた種は、宮城県女川湾の底泥より単離した休眠孢子から発芽した*T. nordenskiöldii*で、一宮睦雄博士から分与していただいた。この種は殻径10~50 μmの比較的大型の種で、直鎖の群体を形成する。北半球のHNLC海域である亜寒帯北太平洋において春のブルームを形成する種群の一つで、時にはその卓越種となるため、海洋生態学や生物地球化学の観点から注目されている種である。

2.3 培地および培養条件

2.3.1 実験1

本実験で使用した基礎培地はESAW²⁰⁾である。ただし、スラグを添加したときに補給されるPとSiによる増殖促進がFeの補給による増殖促進をマスクすることを防ぐために、マクロ栄養塩のうちスラグから溶出しないNが律速要因になるように改変した。すなわち、実験1ではRedfield比(N:P:Si=16:1:15)²¹⁾に比べてN律速的になるように、N:P:Siの比を10:3:15(70 μM:21 μM:105 μM)とした。また、ESAWには通常EDTAが添加されるが、スラグから生物学的に有用な鉄の溶出が持続的に起こるか否かを検証するために、本研究ではEDTAを無添加とした。

供試プランクトンの鉄のcell quotaを最小限にするために、実験開始5日前から供試株を鉄飢餓培養した。その他の培養条件は、鉄飢餓培養から本実験を通じて、温度20°C、明暗周期14L:10D、光量100 μmol m⁻² s⁻¹とした。使用したインキュベーターはTOMY(CF-305)であった。培養期間中全容器は、通気性があり、かつ、オートクレーブ滅菌が可能なミリラップ(Millipore)で蓋をした。

2.3.2 実験2

実験2の培地のN:P:Si比もN律速的な10:2:16(100 μM:21 μM:160 μM)とし、EDTAを添加しなかった。

実験2では、予め鉄飢餓培養を行わなかったが、次の処置によって本実験系に持ち越される鉄の量を最小限に減らした。すなわち、本実験開始直前に20 μm目合いのメッシュフィルターで重ろる過を行って鉄を含有した培養液を捨て、こし集めた細胞群を鉄無添加のESAWに再懸濁させた。これらの前培養および本実験は、ともに温度10°Cとし、その他の培養条件は実験1と同様とした。

2.4 実験区の設定

2.4.1 実験1 (Table 1)

実験1で使用する*Thalassiosira oceanica*は、非常に低濃度の鉄に順応できる種であるため、スラグ添加濃度を低くする必要があった。近縁種である*T. guillardii*の最適濃度は有田ら¹⁷⁾によって20 mg/L(≒66 μM Total-Fe)とされているので、これを基準とし(Slag 20区)、その他に低濃度区と

Table 1. Eight treatments in Experiment 1 to test bioavailability and durability of the iron released from a decarburization steelmaking slag for *Thalassiosira oceanica*.

Treatments	Final conc. in media	
	Slag (mg/l)	Fe (μM)
Slag 0.2	0.2	
Slag 20	20	
Fe 1		6.6
Fe 1/10		0.66
Fe 1/1000		0.0066
Fe 0		0

Table 2. Eight treatments in Experiment 2 to test bioavailability and durability of the iron released from a decarburization steelmaking slag for *Thalassiosira nordenskiöldii*.

Treatments	Final conc. in media	
	Slag (mg/l)	Fe (μM)
Slag 2	2.0	
Slag 20	20	
Fe 1		6.6
Fe 1/10		0.66
Fe 1/100		0.066
Fe 0		0

して0.2 mg/L (Slag 0.2区) を設けた。これらの実験区に対する対象区として、有効性が明らかにされている塩化鉄添加区を調整した。まず ESAW の規定濃度である 6.6 μM 区を作って Fe 1区とし、ほかに 0.66 μM の Fe 1/10区、0.066 μM の Fe 1/100区を設定した。さらに、以上の全区に対するブランクとして鉄無添加の Fe 0区を設けた。これら合計6実験区は全て triplicate に作った。

2.4.2 実験2 (Table 2)

実験2で使用した *Thalassiosira nordenskiöldii* はその分布特性から *T. oceanica* に比較して鉄要求量が大きいと考えられるため²²⁾、スラッグの低濃度区を 2 mg/L とした (Slag 2区)。最適濃度添加区は実験1と同様に 20 mg/L とした (Slag 20区)。塩化鉄添加濃度は、実験1と同様の3段階とした (Fe 1区, Fe 1/10区, Fe 1/100区)。これら5実験区は全て triplicate で行った。ただし、ブランクである Fe 0区は duplicate であった。

2.5 栄養塩添加

2.3に述べたように、本実験はN律速系に調整されているので、定常期に達したときにN (硝酸塩) を加えると再び増殖が始まるはずである。しかし、N以外の栄養塩や鉄も不足していれば、Nを添加しても増殖の再開は起こらない。このことを利用して、本研究ではスラッグ由来鉄の有用性の持続度を長期にわたって観察することとした。すなわち、定常期ごとにFe以外の栄養塩を添加して増殖再開の有無を確認することとした。このとき添加するマクロ栄養塩の組成はおよそ N:P:Si=10:1:10.5 であり、やはりN律速とした (Table 3)。

2.6 Chlorophyll a の *in vivo* 蛍光値の測定

本研究で用いた培養容器は蛍光光度計用ガラス製キュベット (PYREX USA, Borosilicate Test Tube, 25 mm×150 mm) である。このキュベットで植物プランクトンを培養することにより、培養系を直接蛍光光度計 (TURNER DESIGNS, MODEL 10-AU-005-CE) に差し込んで植物プランクトン Chlorophyll a の *in vivo* 蛍光値を測定することができる。この方法によれば培養を分取する必要がなく、コンタミネーションを排除することができるとともに、次第に培養量が

Table 3. Composition of nutrients spiked in Experiments 1 and 2.

Elements	g L ⁻¹ in stock solutions	Final conc. in media (μM)
NaNO ₃	4.3	50
Na ₂ HPO ₄	0.71	5.0
Na ₂ SiO ₃ · 9H ₂ O	7.5	53
MnSO ₄ · 5H ₂ O	0.15	0.61
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	0.018	0.064
CoSO ₄ · 7H ₂ O	0.0040	0.014
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	0.032	0.13
H ₃ BO ₃	0.95	15
Na ₂ SeO ₃	0.00043	0.00025

減少することも防ぐことができる。

本研究では、*in vivo* 蛍光値 (無名数) そのものの値の経時変化をプロットして増殖曲線を描いた。測定した *in vivo* 蛍光値を Chlorophyll a の絶対濃度や細胞数に換算することは可能ではあるが、増殖曲線を描くには *in vivo* 蛍光値そのものだけで可能である。本研究では、*in vivo* 蛍光値の測定は毎日定刻 (18:00) に行った。また小容量のキュベット内では液層は浅く、細胞が容器底に沈降しやすいので、原則として毎日明期に3回、小型ミキサー (IKA, MS-1) で攪拌した。その3回目が *in vivo* 蛍光値測定時にあたる。

2.7 増殖速度

増殖曲線から日間増殖速度 (μ/d) を算出するために次の式を用いた。

$$\mu = \ln \left(\frac{F_{t+1}}{F_t} \right)$$

ここで F_t は培養開始後 t 日目の *in vivo* 蛍光値であり、 F_{t+1} は $t+1$ 日目の *in vivo* 蛍光値である。

3. 結果

本研究で観察された増殖は、全て横軸に培養経過日数、縦軸に *in vivo* 蛍光値を対数メモリでプロットした増殖曲線で示す。

3.1 実験1

3.1.1 スラッグ添加実験系 (Fig. 1)

Slag 0.2区および Slag 20区の両実験区では、培養初日から非常に早い増殖がみられ、それぞれの最大増殖速度は1~2日目に1.43 μ/d および2~3日目に2.33 μ/d であった。その後も対数増殖が続き、Slag 0.2区では6日目に最大 *in vivo* 蛍光値 167、Slag 20区では4日目に199を記録した。その後、*in vivo* 蛍光値は9日目まで徐々に低下し、培養群は定常期に至ったと判断されたので、9日目にマクロ栄養塩を添加して増殖が再開するか否かを観察した。同様の栄養塩添加は16および23日目にも行い、スラッグ溶出鉄の効果を判断した。その結果、Slag 0.2区および Slag 20区とも毎回増殖能が回復した。特に Slag 20区での回復は速やか

であり、23日目においても $0.92 \mu/d$ の増殖速度を記録した。一方、Slag 0.2区では、23日目には $0.31 \mu/d$ まで減少した (Table 4)。

3・1・2 塩化鉄添加実験系 (Fig. 2)

塩化鉄添加区においても初日から増殖が見られ、Fe 1区では1~2日目にかけて、その他の実験区では0~1日目にかけて、それぞれ最大増殖速度が見られた。その値はFe 1区、Fe 1/10区、Fe 1/1000区およびFe 0区で、それぞれ2.04、1.26、0.86および $0.86 \mu/d$ であった。その後、Fe 1区ではすみやかな増殖が継続し、5日目に最大 *in vivo* 蛍光値216を記録した後、9日目まで *in vivo* 蛍光値は減少した。Fe 1/10区では、2日目以降増殖速度は徐々に低下したものの9日目まで増殖が続き、同日最大 *in vivo* 蛍光値155を記録した。Fe 1/1000区およびFe 0区でも、Fe 1/10区と同様の傾向が見られ、2日目以降増殖速度は $0.5 \mu/d$ 前後に低下した。ともに9日目に最大 *in vivo* 蛍光値を示し、その値はそれぞれ32および30であった。

9、16および23日目の栄養塩添加に対して増殖再開応答を示した実験区はFe 1区のみであり、その他の実験区では、ほとんどあるいは全く増殖再開はみられなかった。また、

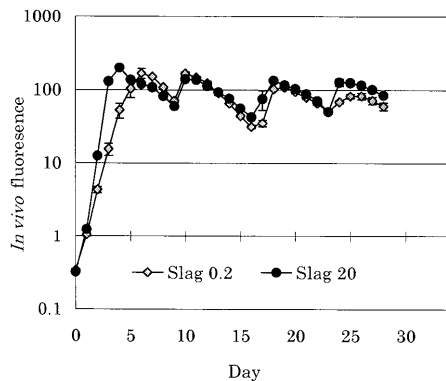


Fig. 1. *Thalassiosira oceanica*. Growth curves determined by *in vivo* fluorescence of cultured populations with different amounts of a decarburization steel-making slag.

Fe 1区においても、栄養塩添加による増殖再開の程度は、9、16、23日目の順に徐々に小さくなる傾向がみられた (Table 4)。

3・2 実験2

3・2・1 スラグ添加実験系 (Fig. 3)

Slag 2区およびSlag 20区とも、培養開始直後から非常に早い増殖がみられたが、3日目からはSlag 2区の増殖速度が低下したのに対してSlag 20区では増殖が継続し、両区における差が明らかとなった。最大増殖速度は両実験区とも1~2日目にかけてみられ、その値はそれぞれ $1.48 \mu/d$ (Slag 2区)と $1.55 \mu/d$ (Slag 20区)であった。最大 *in vivo* 蛍光値は両実験区とも6日目にみられ、それぞれ119および229であった。

これらの実験区に対する栄養塩添加は14、22および30日目に行った。14日目の栄養塩添加により、Slag 2区では回復増殖速度が $0.62 \mu/d$ を示し、*in vivo* 蛍光値も51から95へと上昇した。Slag 20区では増殖能の回復はさらに顕著で、回復増殖速度は $1.06 \mu/d$ に、*in vivo* 蛍光値は46から137まで、それぞれ上昇した。次の22日目における栄養塩添加では、Slag 2区ではほとんど効果は見られず、回復増殖速度は $0.13 \mu/d$ に、*in vivo* 蛍光値が27から31まで上昇し

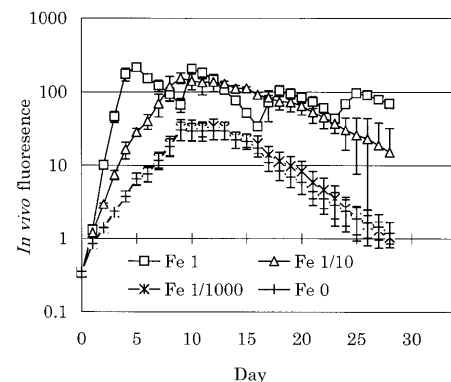


Fig. 2. *Thalassiosira oceanica*. Growth curves determined by *in vivo* fluorescence of cultured populations with different concentrations of $FeCl_3$.

Table 4. *Thalassiosira oceanica*. Maximum fluorescence (F_{max}) and growth rate (μ_{max}) at the initial phase and after 1st, 2nd and 3rd nutrient spikes (cf. Table 3) in each treatment.

Treatments	Initial (0-9)		1 st spike (9)		2 nd spike (16)		3 rd spike (23)	
	F_{max}	μ_{max}	F_{max}	μ_{max}	F_{max}	μ_{max}	F_{max}	μ_{max}
Slag 0.2	167 (6)	1.43 (1-2)	165 (10)	0.85 (9-10)	109 (19)	1.08 (17-18)	82 (26)	0.31 (23-24)
Slag 20	199 (4)	2.33 (2-3)	139 (10)	0.85 (9-10)	133 (18)	0.61 (17-18)	127 (24)	0.92 (23-24)
Fe 1	216 (5)	2.04 (1-2)	208 (10)	1.15 (9-10)	104 (18)	0.67 (16-17)	96 (25)	0.47 (23-24)
Fe 1/10	155 (9)	1.26 (0-1)	N.G.	-	N.G.	-	N.G.	-
Fe 1/1000	32 (9)	0.86 (0-1)	N.G.	-	N.G.	-	N.G.	-
Fe 0	30 (9)	0.86 (0-1)	N.G.	-	N.G.	-	N.G.	-

The days F_{max} and μ_{max} were recorded are given in parentheses. N.G. means the cases when nutrient spike didn't recover growth rate.

たにすぎなかった。これに対して、Slag 20区では回復増殖速度は0.94 μ /dまで、*in vivo*蛍光値は120まで、ともに上昇した。30日目の栄養塩添加でも Slag 2区では効果が見られなかったが、Slag 20区では回復増殖速度は0.66 μ /dに、*in vivo*蛍光値は101まで上昇した (Table 5)。

3.2.2 塩化鉄添加実験系 (Fig. 4)

塩化鉄添加実験では、全実験区で培養開始直後からすみやかに増殖した。Fe 1/10区では2~3日目、その他の実験区では1~2日目にかけて最大増殖速度がみられ、その値はFe 1区、Fe 1/10区、Fe 1/100区およびFe 0区の順に、それぞれ1.51、1.32、1.21および1.22 μ /dであった。その後もFe 1区およびFe 1/10区では速い増殖速度が維持され、ともに6日目に最大*in vivo*蛍光値221および165に達した。一方Fe 1/100区およびFe 0区では、4日目以後定常期となった。14日目までの最大*in vivo*蛍光値は、両実験区とも12日目に記録されたが、その値は、Fe 1/100区では23およびFe 0区では12にすぎなかった。

14日目に行った1回目の栄養塩添加では、鉄無添加区であるFe 0区を含む全ての実験区で、わずかな増殖再開が観察された。しかし、2回目22日目の栄養塩添加では、増殖

の再開はほとんどみられなかった。さらに3回目30日目の栄養塩添加では、全実験区で増殖応答は全くみられなかった (Table 5)。

4. 考察

4.1 実験1

4.1.1 製鋼スラグ存在下における初期増殖

Slag 20区およびFe 1区における最大増殖速度である2.33および2.04 μ /dという値は、これまでに報告された *Thalassiosira oceanica* の最大増殖速度1.66²²⁾や1.4²³⁾ μ /dと比較して、明らかに高い値である。EDTA無添加培地に無機イオン状の鉄を添加すると、生物学的利用性の非常に高い溶存無機態の鉄種が一時的に過飽和に溶在することとなり、早い増殖速度を達成しうるとされる^{2,24,25)}。したがって、本研究でSlag 20区で最も早い増殖速度が観察されたことは、スラグ由来鉄の生物学的利用性が極めて高いことを示唆している。

4.1.2 製鋼スラグ由来鉄の有用性の持続度

定常期にマクロ栄養塩を添加した際、スラグを鉄源とする実験区では毎回速やかな増殖再開が確認された。特に

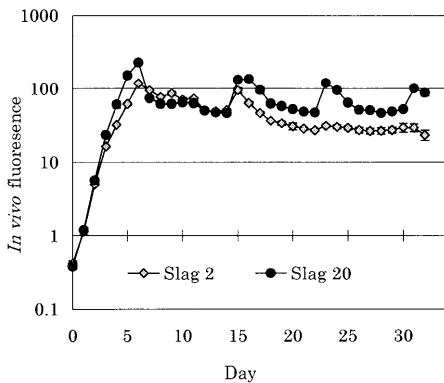


Fig. 3. *Thalassiosira nordenskiöldii*. Growth curves determined by *in vivo* fluorescence of cultured populations with different amounts of a decarburization steelmaking slag.

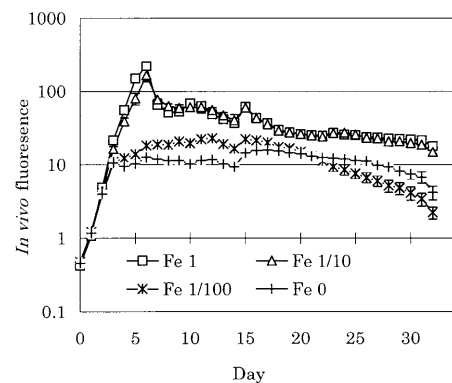


Fig. 4. *Thalassiosira nordenskiöldii*. Growth curves determined by *in vivo* fluorescence of cultured populations with different concentrations of FeCl₃.

Table 5. *Thalassiosira nordenskiöldii*. Maximum fluorescence (*F*_{max}) and growth rate (μ _{max}) at the initial phase and after 1st, 2nd and 3rd nutrient spikes (cf. Table 3) in each treatment.

Treatments	Initial (0-14)		1 st spike (14)		2 nd spike (22)		3 rd spike (30)	
	<i>F</i> _{max}	μ _{max}	<i>F</i> _{max}	μ _{max}	<i>F</i> _{max}	μ _{max}	<i>F</i> _{max}	μ _{max}
Slag 2	119 (6)	1.48 (1-2)	95 (15)	0.62 (14-15)	31 (23)	0.13 (22-23)	N.G.	-
Slag 20	229 (6)	1.55 (1-2)	137 (16)	1.06 (14-15)	120 (23)	0.94 (22-23)	101 (31)	0.66 (30-31)
Fe 1	221 (6)	1.51 (1-2)	61 (15)	0.50 (14-15)	N.G.	-	N.G.	-
Fe 1/10	165 (6)	1.32 (2-3)	60 (15)	0.41 (14-15)	27 (23)	0.10 (22-23)	N.G.	-
Fe 1/100	23 (12)	1.21 (1-2)	22 (15)	0.30 (14-15)	N.G.	-	N.G.	-
Fe 0	12 (12)	1.22 (1-2)	16 (15)	0.44 (14-15)	N.G.	-	N.G.	-

The days *F*_{max} and μ _{max} were recorded are given in parentheses. N.G. means the cases when nutrient spike didn't recover growth rate.

Slag 20区では、3回繰り返した栄養塩添加の最終回にも増殖速度は $0.92 \mu\text{d}^{-1}$ へ回復した (Table 4)。このことは、Slag 20区では、スラグ投入後23日を経ても、スラグから利用性の高い鉄が十分な濃度で溶出していたことを示している。また、Slag 0.2区においても、回復程度は小さくなったものの、23日目にも栄養塩添加によって増殖再開がみられた。これに対して、塩化鉄を鉄源とした実験区のうち Fe 1/10区および Fe 1/1000区では9日目に行った第1回目の栄養塩添加によっても増殖再開は起こらなかった。このことは、塩化鉄を鉄源とした場合には、培養系内は速やかに鉄律速状態に陥ることを示している。

Slag 0.2区および Fe 1区で23日目に行った栄養塩添加による回復増殖速度は、それぞれ 0.31 および $0.47 \mu\text{d}^{-1}$ であり、ほぼ等しかった (Table 4)。このことから、鉄の初期添加濃度 (量) が約1:10である Slag 0.2区と Fe 1区とにおける鉄の有効度の持続性はほぼ同等であったといえる。すなわち、EDTAを添加しなくても、スラグからは生物学的利用性のある鉄が持続的に溶出し続けるものと判断される。

本研究では、スラグ由来の鉄の有用性は、スラグ投入直後には塩化鉄と同等もしくはそれ以上に高いこと、さらに投入後時間を経ても持続することが示された。このとき、スラグ添加濃度が 20mg/L であれば *Thalassiosira oceanica* が速やかな増殖を維持するほどに十分な濃度の鉄が長期にわたって持続的に供給されることが示唆された。

4.2 実験2

4.2.1 製鋼スラグ存在下における初期増殖

Slag 2区、Slag 20区、Fe 1区および Fe 1/10区で観察された最大増殖速度 1.48 、 1.55 、 1.51 および $1.32 \mu\text{d}^{-1}$ は、過去の研究によって報告されている *Thalassiosira nordenskiöldii* の増殖速度 $1.02\sim 1.25 \mu\text{d}^{-1}$ ^{26,27)}と比較して、明らかに高い値であった。しかし、同様の高い値は Fe 1/100区と Fe 0区においてもみられ、その値は $1.21\sim 1.22 \mu\text{d}^{-1}$ であった。鉄無添加の Fe 0区でも速やかな増殖が起こった原因は、実験2では鉄飢餓の前培養を行わなかったため、鉄の cell quota が残っていたためだと考えられる。この実験区で鉄の cell quota がなくなった結果増殖が停止したと考えられる3~6日目には、Slag 2区、Slag 20区、Fe 1区、Fe 1/10区および Fe 1/100区における増殖速度は、それぞれ 0.66 、 0.76 、 0.78 、 0.77 および $0.17 \mu\text{d}^{-1}$ であった。すなわち、Slag 20区と Fe 1区および Fe 1/10区での値は同等であった。このことは、培養温度が 10°C と低かった実験2では、培養温度 20°C の実験1と比較して鉄の生物学的利用性の失効がゆっくりと進行したことを示していると考えられる²⁹⁾。

4.2.2 製鋼スラグ由来鉄の有用性の持続度

Fe 0区においても1回目の栄養塩添加によって増殖再開が起こったことは、添加した栄養塩ストックに鉄の混入があったことを示している。しかし、その回復増殖速度は $0.44 \mu\text{d}^{-1}$ (Table 5) にすぎず、Slag 添加区、Fe 1区および Fe

1/10区で記録された $0.41\sim 1.06 \mu\text{d}^{-1}$ への回復に比較して著しく小さい。中でも、Slag 2区および Slag 20区における回復増殖速度は、それぞれ 0.62 および $1.06 \mu\text{d}^{-1}$ であり、Fe 1区および Fe 1/10区における値と比較してもはるかに大きい。この結果から、14~15日の間に塩化鉄添加区において加水分解し、粒状化した鉄粒子から溶解度平衡により放出される鉄に比べて、スラグからはるかに多量の鉄が供給されていたと理解される。さらに22日目の栄養塩添加では、塩化鉄添加区では増殖はほとんど回復せず、Slag 2区においても回復増殖速度は低かった。一方、Slag 20区では $0.94 \mu\text{d}^{-1}$ へと明らかな増殖回復がみられた。30日目になると、Slag 2区および塩化鉄添加区では回復増殖はなくなったのに対して、Slag 20区ではなお明らかな回復増殖がみられた (Fig. 3)。したがって、投入後30日を経てもなお、 20mg/L のスラグからは鉄要求量の大きな *Thalassiosira nordenskiöldii* の増殖を維持するだけの鉄の溶出が続いていたといえる。

4.3 総括

実験1, 2において、ともにスラグ 20mg/L 添加区では生物学的有用性のある鉄が長期にわたって供給されることが示された。一方、スラグ添加量が低濃度の実験区では、*Thalassiosira oceanica* に対しては 0.2mg/L のスラグ添加が23日以上有効であったのに対して、*T. nordenskiöldii* に対しては 2mg/L のスラグの有効性が22日目にはすでにかなり低下していた。このときの培養水温は、*T. oceanica* では 20°C 、*T. nordenskiöldii* では 10°C であり、溶存鉄の生物学的利用性の低下速度は前者に対して速く起こるはずである²⁵⁾。しかるに前者においてより低濃度のスラグの有効性がより長く持続したことは、スラグからの鉄の溶離速度が高温では遅いこと、および *T. oceanica* の鉄要求量は *T. nordenskiöldii* に比べて小さいことを示していると考えられる。すなわち、スラグを撒布する際には水温や植物プランクトン群集の種組成を考慮に入れて撒布濃度を決定する必要がある。このことは、スラグ撒布濃度を選択することによって植物プランクトン群集の種組成をコントロールすることができるという可能性を示唆している²⁸⁾。

本研究の結果から、スラグ由来鉄の有用性は、添加濃度が 20mg/L のときには、水温や珪藻の種にかかわらず、23~30日以上持続するといえる。これまでHNLCで行われた数々の鉄撒布実験では、生物学的有用性のある鉄は3~7日の持続性しかなかったことと比較して、スラグは格段に長期間に及ぶ有効性を有しているといえる。仮に本研究で観察された持続時間が現場海域でも発揮されるとすれば、月に1度程度の撒布で有用性の高い鉄を持続的に供給し続けることができることになる。製鋼スラグの比重はおよそ2であり、これを長時間表層生産層内に懸濁させるには新たな工夫が必要である。スラグ粒子の粒径を小さくして沈降速度を低下させることやスラグを多孔質にして比重を小

さくするなどの工夫は別途考究されているので²⁹⁾, その結果に期待することができる。

文 献

- 1) R.J.Geider and J.La Roche: *Photosynth. Res.*, **39** (1994), 275.
- 2) K.Kuma, J.Tanaka, K.Matsunaga and K.Matsunaga: *Limnol. Oceanogr.*, **45** (2000), 1235.
- 3) K.Kuma and K.Matsunaga: *Mar. Biol.*, **122** (1995), 1.
- 4) E.A.Boyle, J.M.Edmond and E.R.Sholkvitz: *Geochim. Cosmochim. Acta*, **41** (1977), 1313.
- 5) G.Sarthou, A.R.Baker, S.Blain, E.P.Achterberg, M.Boye, A.R.Bowie, P.Croot, P.Laan, H.J.W. de Baar, T.D.Jickells and P.J.Worsfold: *Deep-Sea Res., Pt. 1*, **50** (2003), 1339.
- 6) F.F.M.Morel, R.J.M.Hudson and N.M.Price: *Limnol. Oceanogr.*, **36** (1991), 1742.
- 7) M.T.Maldonado, P.W.Boyd, J.LaRoche, R.Strzeppek, A.Waite, A.R.Bowie, P.L.Croot, R.D.Frew and N.M.Price: *Limnol. Oceanogr.*, **46** (2001), 1802.
- 8) J.H.Martin: *Paleoceanography*, **5** (1990), 1.
- 9) J.H.Martin and S.E.Fitzwater: *Nature (London)*, **331** (1988), 341.
- 10) J.H.Martin, K.H.Coale, K.S.Johnson, S.E.Fitzwater, R.M.Gordon, S.J.Tanner, C.N.Hunter, V.A.Elrod, J.L.Nowicki, T.L.Coley, R.T.Barber, S.Lindley, A.J.Watson, K.van Scoy, C.S.Law, M.I.Liddicoat, R.Ling, T.Stanton, J.Stockel, C.Collins, A.Anderson, R.Bidigare, M.Ondrusek, M.Latasa, F.J.Millero, K.Lee, W.Yao, J.Z.Zhang, G.Friederich, C.Sakamoto, F.Chavez, K.Buck, Z.Kolber, R.Greene, P.Falkowski, S.W.Chisholm, F.Hoge, E.Swift, J.Yungel, S.Turner, P.Nightingale, A.Hatton, P.Liss and N.W.Tindale: *Nature (London)*, **371** (1994), 123.
- 11) K.H.Coale, K.S.Johnson, S.E.Fitzwater, R.M.Gordon, S.Tanner, F.P.Chavanz, L.Feroli, C.Sakamoto, P.Rogers, F.Millero, P.Steinberg, P.Nightingale, D.Cooper, W.P.Cochlan, M.R.Landry, J.Constantinou, G.Rollwagen, A.Trasvina and R.Kudela: *Nature (London)*, **383** (1996), 495.
- 12) A.Tsuda, S.Takeda, H.Saito, J.Nishioka, Y.Nojiri, I.Kudo, H.Kiyosawa, A.Shinomoto, D.Tsumune, T.Yoshimura, T.Aono, A.Hunuma, M.Kinugasa, K.Suzuki, Y.Sohrin, Y.Noiri, H.Tani, Y.Deguchi, N.Tsurushima, H.Ogawa, K.Fukami, K.Kuma and T.Saino: *Science*, **300** (2003), 958.
- 13) R.Dalton: *Nature (London)*, **420** (2002), 722.
- 14) K.O.Buesseler and P.W.Boyd: *Science*, **300** (2003), 67.
- 15) A.Taniguchi: The Coast. Environ. Sci. Technol. (CEST), Panel of the USA-Japan Coop. Prog. Nat. Res. (UJNR), Internat. Program Office, Nat. Ocean Service/NOAA, MD, USA, (1999), 170.
- 16) T.Futatsuka, K.Shitogiden, T.Miki, T.Nagasaka and M.Hino: *Tetsu-to-Hagané*, **89** (2003), 381.
- 17) K.Arita, Y.Umiguchi and A.Taniguchi: *Tetsu-to-Hagané*, **89** (2003), 415.
- 18) H.Obata, H.Karatani and E.Nakayama: *Anal. Chem.*, **65** (1993), 1524.
- 19) S.Takeda and H.Obata: *Mar. Chem.*, **50** (1995), 219.
- 20) P.J.Harrison, R.E.Waters and F.J.R.Taylor: *J. Phycol.*, **16** (1980), 28.
- 21) A.C.Redfield, B.H.Ketchum and F.A.Richards: The Sea: Ideas and Observations on Progress in the Study of the Seas, Vol. 2, ed. by M.N.Hill, Wiley-Intersci., New York, (1963), 26.
- 22) W.G.Sunda and S.A.Huntsman: *Mar. Chem.*, **50** (1995), 189.
- 23) M.T.Maldonado and N.M.Price: *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **141** (1996), 161.
- 24) S.Iwade, K.Kuma, Y.Isoda, M.Yoshida, I.Kudo, J.Nishioka and K.Suzuki: *Aquat. Microb. Ecol.*, **43** (2006), 177.
- 25) M.Yoshida, K.Kuma, S.Iwade, Y.Isoda, H.Takata and M.Yamada: *Mar. Biol.*, **149** (2006), 379.
- 26) E.G.Durbin: *J. Phycol.*, **10** (1974), 220.
- 27) E.Paasche: *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **18** (1975), 173.
- 28) K.Haraguchi and A.Taniguchi: *Tetsu-to-Hagané*, **89** (2003), 50.
- 29) 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, クリーン・ジャパン・センター, 東京 (2000), 102.