

赤泥が海洋植物プランクトンに及ぼす影響実験*

鈴木 繁美**・辻田 時美***

Experimental evaluation of the effects of dumped bauxite residue (red mud) on marine phytoplankton*

Shigemi SUZUKI** and Tokimi TSUJITA***

Abstract: Experiments were carried out to know the effects of bauxite residue (red mud) dumped in the sea on the activity of phytoplankton. The diatom *Skeletonema costatum* (GREVILLE) was cultured in the media with 6 different concentrations of red mud; 0 (control), 1, 5, 10, 50 and 100 mg/l. The number of cells, chlorophyll *a* and ATP were measured as indices of the diatom growth. The growth curves of *S. costatum* showed the same pattern in all the media. The period of logarithmic growth was 3 days in the media of 0–10 mg/l, but it was 4 days in the media of 50 and 100 mg/l. The growth constant was 0.47–0.68 for cell number (K_{cell}), 0.46–0.57 for chlorophyll *a* (K_{chl}) and 0.39–0.54 for ATP (K_{ATP}). It is considered from the analyses of chlorophyll *a* and ATP contents in the cell that the decrease of light intensity due to the addition of red mud influences the growth of phytoplankton. However, within the low concentration range of red mud as measured in the dumping experiments in the sea the effects of red mud are regarded to be not influential on the growth of marine phytoplankton.

1. 緒 言

アルミニウムの製造過程で赤褐色の微細粒子から成る残渣が生じるが、これは通常赤泥 (red mud) と呼ばれ、多くの場合海に投棄処理される。TAKENOUTI *et al.* (1979) は、赤泥が海洋投棄された場合の輸送分布の状況を探る目的で、黒潮縁辺の外海域で赤泥の投棄実験を行い、赤泥の時空間的分布状況を追跡観察した。その結果によれば、投入直後の赤泥塊は小さな半径をもって、大部分が急速に沈降しながら、次第にその周辺から赤泥粒子が剥離拡散する。この剥離して海中に懸濁する赤泥粒子の濃度は、濁度計による光透過率で表すと 0% から

60% (赤泥濃度で約 1.7 ppm に相当) の間を変動した。また、赤泥粒子濃度の経時変化については、100 m 以下の層では投棄 3 時間後に 10ppm であったものが、6 時間後には 0.01ppm 以下となった。したがって、海中に長時間懸濁する赤泥粒子の濃度は 10ppm 以下と考えられる。

しかし、赤泥を海洋投棄する場合、このような希薄な濃度においてもプランクトン等の微小生物に対して何等かの影響を与えるかどうかについて知る必要がある。このため、海洋投棄後、希薄となった赤泥粒子が植物プランクトンの生理活性に対してどのような影響をおよぼすかを検討するため室内実験を行った。

* 1986年8月6日受理 Received August 6, 1986

** 三洋水路測量株式会社, 〒103 東京都中央区日本橋堀留町 1-3-17

Sanyo Hydrographic Survey Co., Ltd., Nihonbashi-Horidomecho 1-3-17, Chuo-ku, Tokyo, 103 Japan

*** 〒251 神奈川県藤沢市大庭3874 湘南ライフタウン 1-1-1134

Shounanraifutaun 1-1-1134, Ooba 3874, Fujisawa-shi, Kanagawa, 251 Japan

2. 実験材料と方法

(1) 供試プランクトンの基礎培養

供試生物として東京湾奥部より採集したプランクトンの中から珪藻 *Skeletonema costatum* (GREVILLE) を単離し、SW II 培養液 (岩崎, 1967) で基礎培養を行った。培養条件は、水温 $10 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 、照度 3,000 lux (蛍光灯) で12時間 : 12時間の明暗周期を与えた。

(2) 実験液の調整と実験方法

10 l の SW II 培養液を入れた広口ガラス瓶（直径約 20cm）に赤泥を 1, 5, 10, 50, 100 mg/l の 5 段階の濃度になるように添加し、これを実験区とした。また、別に赤泥無添加の対照区を設けた。

これらの実験区および対照区に対数増殖期にある *S. costatum* を 200 cells/ml になるように接種した。実験中の条件は水温 $10 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 、照度は実験瓶の表面で 10,000 lux（蛍光灯）とし、明暗周期は 12時間：12時間とした。

なお、添加した赤泥の沈降防止と酸素の供給を目的として曝気を行い、更に 1 日数回実験瓶を振とうした。

(3) 活性判定のための指標の測定

赤泥の *S. costatum* に対する影響を知るために、細胞数、クロロフィル *a* および ATP の変化を活性判定の指標とした。これらの指標項目の測定のために、24 時間毎に各実験区から試料を採取した。なお、採取は明期に行った。

- 1) 細胞数: 各実験区から採取した試料 10 ml にホルマリンを加えて細胞を固定した後、その一定量をプランクトン計数板に取り、細胞数を計数した。
- 2) クロロフィル *a*: 各実験区から採取した試料 200 ml を用い、海洋観測指針（気象庁, 1970）に示された蛍光法に従って測定した。

3) ATP: 各実験区から採取した試料 100 ml をろ過した径 25mm の Whatman GF/C グラスファイバーフィルターを、沸騰水中で湯浴してある 0.3% トリス緩衝液 5 ml に直ちに浸し、ATP の抽出を 5 分間行った。この抽出液は分析まで -20°C で冷凍保存した。ルシフェリン・ルシフェラーゼ (Sigma 社製 FLE-50) 液 0.1 ml に、解冻した ATP 抽出液 0.1 ml を加え、ATP 用蛍光光度計 (SAI Technology 社製 Model 2000) で ATP 量の測定を行った。

3. 結 果

(1) 細胞数, クロロフィル *a*, ATP の経時変化

各実験区における細胞数の経時変化を Fig. 1 に示す。ここで得られた増殖曲線は、対照区を含めた全実験区において、対数増殖期、定常期など SPENCER (1954) が示した基本型とほぼ一致した。

対照区および赤泥濃度 1, 5, 10 mg/l の 3 つの実験区 (Fig. 1A-D) では、実験開始から 3 日目までが対数増殖期に相当し、その後もやや細胞数の増加が見られるものの、ほぼ一定の値となり、定常期の相を呈した。一方、赤泥濃度 50 および 100 mg/l の実験区 (Fig. 1E, F) では、前述の 4 つの区より 1 日長い 4 日目まで対数増殖期が続き、それ以後は定常期に入った。

クロロフィル *a* 量の経時変化を Fig. 2 に示す。クロ

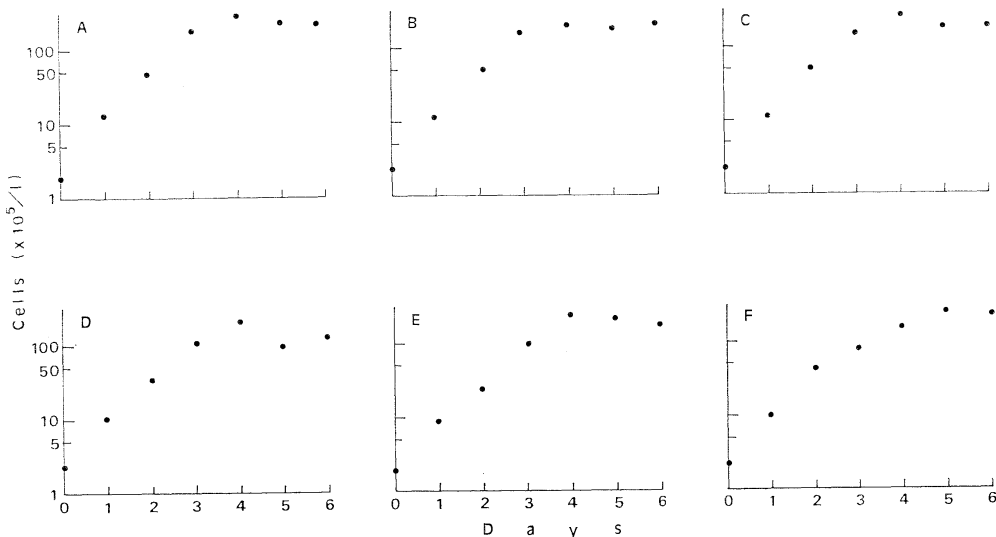


Fig. 1. Growth in cell numbers of *Skeletone nema costatum* in the media with various concentrations of red mud. A, 0 mg/l (control); B, 1 mg/l; C, 5 mg/l; D, 10 mg/l; E, 50 mg/l; and F, 100 mg/l.

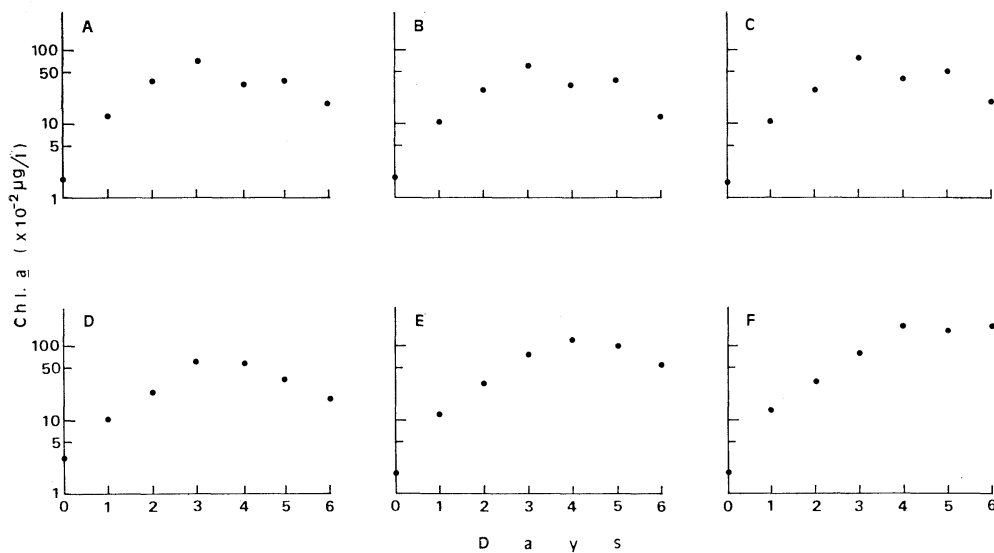


Fig. 2. Growth in chlorophyll *a* of *Skeleto nema costatum* in the media with various concentrations of red mud. A, 0 mg/l (cotrol); B, 1 mg/l; C, 5 mg/l; D, 10 mg/l; E, 50 mg/l; and F, 100 mg/l.

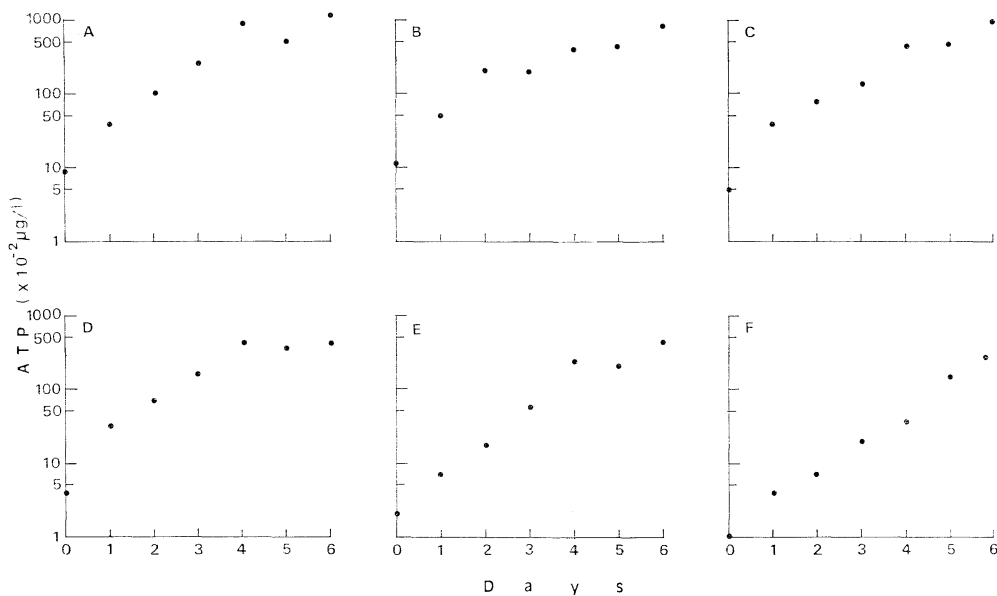


Fig. 3. Growth in ATP of *Skeletonema costatum* in the media with various concentrations of red mud. A, 0 mg/l (control); B, 1 mg/l; C, 5 mg/l; D, 10 mg/l; E, 50 mg/l; and F, 100 mg/l.

ロフィル *a* 量の経時変化は細胞数の増殖曲線に見られた相とはほぼ一致して、対照区および赤泥濃度 1, 5, 10 mg/l の各実験区 (Fig. 2A-D) では 3 日目まで増加が認められた。また、赤泥濃度 50 および 100 mg/l の実験区 (Fig. 2E, F) においても細胞数の場合と同様に 4 日目

まで増加が続いた。しかし、それ以後は、いずれの区においても細胞数の場合と異なり定常状態を示さずに急速に減少した。この傾向は特に赤泥濃度の低い区において明らかであった。

ATP 量は Fig. 3 に表わしたような経時変化を示し

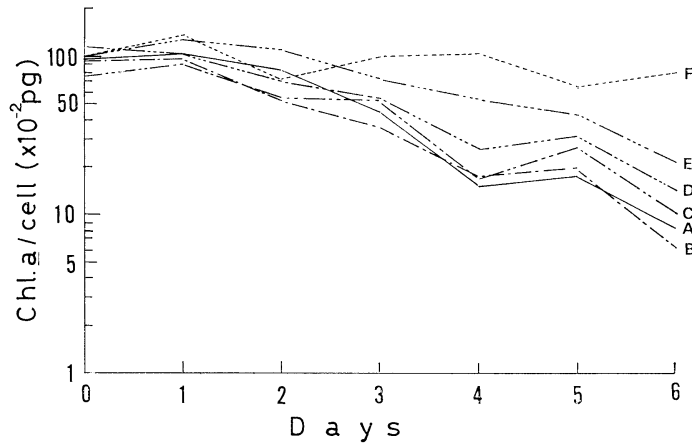


Fig. 4. Changes in chlorophyll *a* content per cell of *Skeletonema costatum* in the media with various concentrations of red mud. A, 0 mg/l (control); B, 1 mg/l; C, 5 mg/l; D, 10 mg/l; E, 50 mg/l; and F, 100 mg/l.

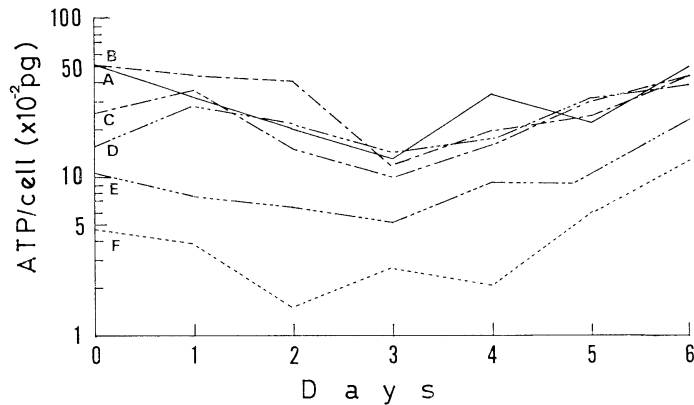


Fig. 5. Changes in ATP content per cell of *Skeletonema costatum* in the media with various concentrations of red mud. A, 0 mg/l (control); B, 1 mg/l; C, 5 mg/l; D, 10 mg/l; E, 50 mg/l; and F, 100 mg/l.

た。ATP量は、細胞数やクロロフィル*a*量の変化に比べ測定値の変動が大きく、データ解析が容易でないが、対照区および赤泥濃度 1, 5, 10 mg/l の各実験区では3日目ないし4日目まで増加し、その後は、ほぼ定常状態となった。一方、赤泥濃度 50 および 100 mg/l の実験区では実験の開始日から終了日の6日目まで増加が続き、定常状態は認められなかった。

(2) 1細胞中のクロロフィル*a*含量およびATP含量の経時変化

1細胞に含まれるクロロフィル*a*の経時変化を Fig. 4 に示す。実験初期のクロロフィル*a*含量は赤泥濃度に関係無くどの区においてもほぼ同様であったが、時間の経過とともに含量に差が見られるようになった。クロロフィル*a*含量は全ての区で減少する傾向が見られたが、この傾向は赤泥濃度の低い区で顕著であった。

1細胞中のATP含量の経時変化を Fig. 5 に示す。ATP含量は、増殖曲線で見られた対数増殖期には減少する傾向があり、定常期になると増加する傾向が認めら

Table 1. Effects of various concentrations of red mud on the growth constant K of *Skeletonema costatum* in logarithmic growth phase. K_{cell} is for cell numbers, K_{chl} is for chlorophyll a and K_{ATP} is for ATP. Relative values are shown in parentheses.

Conc. of red mud (mg/l)	K_{cell}	K_{chl}	K_{ATP}
0	0.68 (100.0)	0.56 (100.0)	0.48 (100.0)
1	0.62 (91.2)	0.49 (87.5)	0.42 (87.5)
5	0.62 (91.2)	0.57 (101.8)	0.49 (102.1)
10	0.55 (80.9)	0.44 (78.6)	0.54 (112.1)
50	0.53 (77.9)	0.46 (82.1)	0.52 (108.3)
100	0.47 (69.1)	0.48 (85.7)	0.39 (81.3)

れた。赤泥濃度の高い区ほど含量は低い傾向があった。なお、ATP含量の差は実験開始直後から明らかであった。

4. 考 察

アルミニウムの製造過程において、その原料であるボーキサイトに含まれる酸化アルミニウムに水酸化ナトリウムを作用させ、アルミン酸ナトリウムに変える過程（バイヤ法）があり、その際に不純物である多量の酸化鉄および珪酸が赤泥として取り除かれる。この他に赤泥には酸化アルミニウムや酸化チタンが含まれている。このような化学的成分の他に赤泥がプランクトンのような微小生物に影響を与える要因として、赤泥の粒子の大きさ、特に微細な粒子の影響が考えられる（赤泥の粒子は粒径数 μm ～十数 μm のものが大部分を占める）。

このような諸性状を持つ赤泥を添加した各実験区における *Skeletonema costatum* の増殖曲線 (Fig. 1) およびクロロフィル a 量と ATP 量の増加曲線 (Fig. 2 と Fig. 3) の形は、いずれも対照区で見られた曲線とほぼ一致したが、赤泥濃度 50 および 100 mg/l の実験区では対照区および赤泥濃度 1, 5, 10 mg/l の実験区と比べ対数増殖期が 1 日長く、赤泥によると思われる時相のずれが認められた。

各実験区の対数増殖期における細胞の活性（増殖率）を比較するために、次の式を用いて増殖速度定数 (K_{cell}) を求めた (Table 1)。

$$K_{cell} = \frac{1}{t} \log \frac{C_t}{C_0}$$

ここに、 t は対数増殖期間（対照区および赤泥濃度 1,

5, 10 mg/l 区では 3 日間、赤泥濃度 50 および 100 mg/l 区では 4 日間）、 C_0 は初期細胞密度、 C_t は t 日目の細胞密度である。

また、細胞数の代わりにクロロフィル a 量または ATP 量を用いて同様の式で求めたクロロフィル a と ATP の増加速度定数（それぞれ K_{chl} , K_{ATP} ）を Table 1 に示した。細胞数の増殖速度定数 K_{cell} は 0.47～0.68 の範囲にあり、この値は赤泥濃度が高くなるほど小さくなる傾向があり、100 mg/l 区では対照区より約 30% 低い値を示した。クロロフィル a については 0.44～0.57 の範囲にあり、対照区の概ね 80% 以上で、赤泥濃度に伴う一定の傾向は認められなかった。さらに、ATP では 0.39～0.54 の範囲にあり、どの実験区においても対照区の 80% 以上で、クロロフィル a と同様に一定の傾向は見られなかった。なお、各実験区で得られた細胞密度の最大値は $2.0 \times 10^4 \sim 2.7 \times 10^4$ cells/ml で、大きな差は見られなかった。

1 細胞中に含まれるクロロフィル a 量の経時変化 (Fig. 4) を見ると、接種直後はどの実験区においてもほぼ同じ値であったが、その後はどの実験区においても減少する傾向を示した。特に、この減少傾向は対照区を含む低濃度で顕著であったのに対し、高濃度区（50 および 100 mg/l）では高い値を維持し続けた。一方、1 細胞中の ATP 量は、接種当初から高濃度区ほど低い値を示したのが、クロロフィル a の場合と大きく異なる点であった。

植物プランクトンのクロロフィル a 含量は低照度下ではそれによく適応して増加する (STEELE, 1964) と言われており、また UNO (1971) は明暗周期のもとで培養した *Phaeodactylum* のクロロフィル a 含量が暗期に増加したことを報告している。このようにクロロフィル a 含量は環境の光の強さによって大きく影響される。培養容器の中に赤泥を添加すれば光強度は当然減衰し、その適応反応の結果として赤泥濃度の高かった 50 mg/l と 100 mg/l の両区では対照区および赤泥濃度の低い 1～10 mg/l 区に比べクロロフィル a 含量が高い値を維持し続けたものと考えられる。

培養容器内に赤泥粒子を添加すると、粒子の凝集が起こって、やがて肉眼でも確認できるような大きさの凝集体となる。この凝集体を顕微鏡で観察すると、*S. costatum* の細胞の周辺に多くの赤泥粒子が付着しており、このことが細胞表面に達する光量をいっそう低下させる原因となると思われる。なお、この現象は赤泥濃度 50 mg/l および 100 mg/l の両区において特に顕著であっ

た。このような凝集体の吸着現象は、赤潮生物の除去手段として試みられている凝集剤の成分（アルミニウム塩、鉄塩、珪酸塩等）（代田，1980）と赤泥の成分がほとんど同じであることから、凝集とこれに続く吸着機構もほぼ同じであろうと考えられる。

光合成の過程は明反応と暗反応からなり、明反応では葉緑体のはたらきで吸収された光エネルギーによって水分子が光分解され、光リン酸化によって ATP が作られる（有賀，1973）ため、赤泥によって細胞に当たる光量が著しく低下した赤泥濃度 50mg/l および 100mg/l の両区においては他の低濃度区に比較して低い ATP 値を示したものと考えられる。なお、赤泥の ATP への影響はクロロフィル a の場合に比べ短時間のうちに現れたのが特徴と言える。

TAKENOUTI *et al.* (1979) によれば、海洋投棄された赤泥は 3 時間後には拡散によって 10 ppm の濃度になり、6 時間後には 0.01 ppm となった。また、水産庁（1972）が実施した投棄実験によれば、投棄後 4 時間で半径 500m の範囲では平均濃度が 10 ppm となり、10 時間後には半径が 1,100 m となり平均濃度 2 ppm となった。このように、海洋に投棄された赤泥は、いずれの場合も半日以内に今回の実験において対照区と生理活性上ほとんど差の認められなかった 5 mg/l 区およびそれ以下の区に相当する濃度まで低下するので、植物プランクトンに対する赤泥の影響はほとんど現れないものと思われる。

謝 辞

本稿作成にあたって懇切な御指導と御助言を賜った東京水産大学有賀祐勝教授に心からお礼申し上げる。

文 献

- 有賀祐勝 (1973): 水界植物群落の物質生産Ⅱ—植物プランクトン— (生態学講座 8). 共立出版, 東京. 91pp.
- 岩崎英雄 (1967): 微細藻類の分離と培養. 日本水産資源保護協会, 東京. 55pp.
- 気象庁編 (1970): 海洋観測指針. 日本海洋学会, 東京. 427pp.
- 代田昭彦 (1980): 赤潮生物の駆除. 日本水産学会編: 赤潮—発生機構と対策—(水産学シリーズ34). 恒星社厚生閣, 東京. p. 105~123.
- SPENCER, C. R. (1954): Studies on the culture of a marine diatom. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, **33**, 265-290.
- STEELE, J. H. (1964): A study of production in the Gulf of Mexico. *J. Mar. Res.*, **22**, 211-222.
- 水産庁 (1972): 赤泥の海洋投棄が漁業におよぼす影響調査報告書. 57pp.
- TAKENOUTI, Y., H. NATUME and T. MIYATA (1979): On the sinking and diffusion of bauxite residue discharged into the sea. *Mar. Sci. Comm.*, **6**, 195-215.
- UNO, S. (1971): Turbidometric continuous culture of phytoplankton. Construction of the apparatus and experiments on the daily periodicity in photosynthetic activity of *Phaeodactylum tri-cornutum* and *Skeletonema costatum*. *Bull. Plankton Soc. Japan*, **18**, 14-27.