

数種海産植物プランクトンの増殖に及ぼす染料排水などの 影響

誌名	日本水産學會誌
ISSN	00215392
著者	山田, 真知子 武居, 薫 鶴田, 新生
巻/号	48巻10号
掲載ページ	p. 1453-1456
発行年月	1982年10月

数種海産植物プランクトンの増殖に及ぼす染料排水などの影響*1

山田真知子・武居 薫・鶴田 新生

(1982年3月12日受理)

Effects of Industrial Effluents Containing Organic Materials such as Dyestuff on the Growth of Several Species of Marine Phytoplankton

Machiko YAMADA*2, Kaoru TAKESUE*3, and Arai TSURUTA*3

Dokai Bay (Kitakyushu City, Japan) is classified as an extremely eutrophic area; it receives various industrial waste waters. Four kinds of industrial effluents, three from the processes of producing dyestuff, coke, vegetable oil and fat, and the fourth from secondary sewage treatment facilities, are the main sources of the organic pollution of this bay.

In the cases of five species and strains of marine phytoplankton cultured by the medium containing three of these effluents not sewage effluent at the concentrations of 0.01, 0.1, 1.0, and 10 percent, the growth of *Skeletonema costatum* and *Olisthodiscus* sp., which cause red tides in Dokai Bay, were stimulated at the early logarithmic phase by 1.2 to 2.6 times compared with those of their controls. And maximum cell numbers of two strains of *S. costatum* and two strains of *Olisthodiscus* sp. which were isolated from Dokai Bay and the other seas increased by 1.2 to 14.6 times compared with those of their controls. In the case of the effluent of the secondary treated sewage, the cell numbers of most species and strains of phytoplankton tested increased at both the early logarithmic and the stationary phase. *S. costatum* and *Olisthodiscus* sp., which were isolated from Dokai Bay, were more tolerant of higher concentrations of matters contained in the three industrial effluents than were the other three species and strains.

北九州工業地帯に囲まれた洞海湾は、各種工場排水が大量に流入するため、有機汚濁のきわめて著しい内湾である。¹⁾ 赤潮は、水温が 20°C 以上になる 5 月以降、湾の中央部から奥部にわたって発生し、秋期水温が 20°C 以下になると急速に消滅する。そしてその主な赤潮形成生物は珪藻類の *Skeletonema costatum*, *Cyclotella striata* var. *subsalina*, 未同定の藍藻類の一種、次いで *Olisthodiscus* sp. などである。²⁾

著者らはさき³⁾に洞海湾に流入するコークス排水について、同湾をはじめ 6 海域から得た 24 種の植物プランクトン(単種培養)の初期増殖に及ぼす影響を調べ、洞海湾産の赤潮生物種は排水のある希釈濃度の範囲で増殖が促進され、また排水に対する抵抗性も同湾から分離したものでもかつて赤潮を形成したことの無いプランクトンや同湾以外の海域から分離されたプランクトンより強いことを報告した。

本報では数種の海産植物プランクトンを純粋分離し、これらの無菌化されたプランクトンを用いて、洞海湾に

流入する有機系排水である染料排水などについてプランクトンの増殖促進または阻害効果に関する実験を行ったのでこれらの結果を報告する。

材料と方法

工場排水 実験には染料、コークス、植物油脂製造排水、および下水処理水を用いた。これらの排水はそれぞれ活性汚泥法や中和凝集沈殿処理、加圧浮上処理などを完了し、希釈放流される直前のものを実験に供した。各種排水は採取後直ちに -80°C で冷凍保存し、実験には適宜解凍して用いた。なお、これらの排水の理化学的性状について pH、塩素量、アンモニア態窒素量、硝酸態および亜硝酸態窒素量、有機態窒素量、リン酸態リン量、全リン量、COD、溶解性鉄、および溶解性マンガンの分析を行った。これらの栄養塩類の測定は STRICKLAND and PARSONS⁴⁾の方法で、鉄とマンガンの測定は JIS K 0102⁵⁾の方法で行った。

植物プランクトン種株と培養法 実験に用いた植物プ

*1 本報の要旨は 1980 年 10 月、日本水産学会秋季大会(福岡)で発表した。

*2 北九州市環境衛生研究所(The Kitakyushu Municipal Institute of Environmental Health Sciences, Kitakyushu 804, Japan).

*3 水産大学校増殖学科(Department of Aquaculture and Biology, Shimono-seki University of Fisheries, Shimono-seki 759-65, Japan).

プランクトンは洞海湾産の *Skeletonema costatum*, *Olisthodiscus* sp. (以上同湾の赤潮生物), *Chaetoceros curvisetus*, 周防灘産の *Skeletonema costatum*, および徳山湾産の *Olisthodiscus* sp. の5種株であり, 純粋培養したものを用いた。なお, 培養実験中のプランクトン種株の無菌化の確認には ZOBELL 2216E 培地⁶⁾ および海水に Trypticase 0.5 g/l と酵母エキス 0.05 g/l を加えた培地⁷⁾ の二方法を用いて行った。

排水の希釈と対照区には, 響灘から採取した海水 1 l に硝酸ナトリウム 120 mg, グリセロリン酸ナトリウム 20 mg, ビタミン B₁₂ 1 µg, トリス 100 mg を加え, pH 約 8.0, 塩素量約 16.6‰ に調整した培養液を用いた。また, プランクトンの保存培養には珪藻類の *S. costatum* や *C. curvisetus* などは ESP 培養液,⁸⁾ 鞭毛藻類の *Olisthodiscus* sp. は SWM-3 培養液⁹⁾ を用いた。

4 種類の工場排水は希釈用の培養液に 0.01, 0.1, 1.0, および 10% の4段階の濃度になるように添加して試験液とした。各濃度の試験液を 10 ml ゴツパイレックス製の中試験管に分注し, これに対数増大期 (Logarithmic phase) に増殖したプランクトン各種を接種時の密度が *S. costatum* と *Olisthodiscus* sp. は, 5,000 cells/ml, *C. curvisetus* は 1,000 cells/ml になるように接種した。培養温度は 25°C に設定し, また照明は白色蛍光灯を用いて照度 3,000 lux で 16 時間明, 8 時間暗の周期で行った。

細胞数の計測 実験中, *S. costatum* と *C. curvisetus* では 1~2 日毎に, *Olisthodiscus* sp. は 2~3 日毎に対照区と実験区の細胞数を計測して, 増殖度を比較検討した。細胞数の測定には TATAI 血算盤や経線入スライドグラスなどを用いた。また, プランクトンの生死については, 顕微鏡観察により細胞内容物や葉緑体などの形態的異常により判定した。

排水のプランクトン増殖への影響判定法 判定は, 実験開始後 2 日目の各実験区の細胞数を初期増殖量として, また定常期 (Stationary phase) の細胞数を最大増殖

量として対照区の増殖量とそれぞれ比較検討することによって行うこととした。なお, Student の検定で対照区と実験区の増殖量の関係を検討した結果, 対照区に対して実験区の増殖量が 120% 以上または 80% 以下の場合有為の差 (危険率 5%) が認められることが多かった。そこで, 各実験区のプランクトン細胞の増殖量が対照区の 120% 以上または 80% 以下の場合を, それぞれ排水による増殖促進ありまたは増殖阻害ありの目安とした。

結 果

工場排水の理化学的性状 実験に用いた4種類の工場排水の水質分析結果を Table 1 に示した。染料排水にはマンガンが 0.42 ppm と多量溶存しており, 一方全リン量が 0.43 ppm と少なかった。コークス排水は全窒素量が 1050 ppm と多量測定され, 中でもアンモニア態窒素が 661 ppm と多かった。また, 鉄も 0.92 ppm と多量測定された。植物油脂製造排水では, 全リン量と COD がそれぞれ, 118 ppm, 566 ppm と多量測定されたが, 鉄やマンガンは検出されなかった。下水処理水は全窒素量 16.3 ppm, 全リン量 2.64 ppm, COD 5.2 ppm, および溶存鉄が 0.02 ppm であった。

各種排水の増殖促進・阻害作用 植物プランクトンの増殖に及ぼす各排水の影響について調べた結果を Fig. 1 に示した。

洞海湾産の *S. costatum* は初期増殖量と最大増殖量への促進作用が実験に用いたすべての排水の 0.1~10% 添加培養のものに認められ, 細胞数がそれぞれ対照区よりも最大 1.8~2.5 倍, 1.4~1.6 倍多くなった。一方, 増殖阻害作用はコークス, 植物油脂製造の両排水の 10% 添加培養のものに認められた。

周防灘産の *S. costatum* は, 初期増殖はいずれの排水によっても促進されなかった。しかし, 最大増殖量は 4 排水によって最大 1.2~1.5 倍対照区よりも増加した。また, 本種は下水処理水を除く 3 排水によって, 1.0% と 10% 添加した場合から増殖が阻害された。

Table 1. Water qualities of four kinds of effluents

Effluent*1	pH	Chlorinity (%)	NH ₄ -N (ppm)	(NO ₂ +NO ₃)-N (ppm)	NO ₂ -N	Organic-N (ppm)	Total-N (ppm)	PO ₄ -P (ppm)	Total-P (ppm)	COD (ppm)	Fe*4 (ppm)	Nn*4 (ppm)
A	6.8	6.8	98.1	8.23	+*2	5.13	112	0.06	0.43	35.8	0.11	0.42
B	8.3	10.0	661	322	+	70.1	1050	33.1	48.2	127	0.92	0.02
C	6.1	1.92	2.45	0.01	-*3	15.9	18.3	112	118	566	0.00	0.00
D	7.6	0.11	3.48	11.3	+	1.53	16.3	2.13	2.64	5.2	0.02	0.00

*1 A, from the coke oven process;

B, from the dyestuff producing process;

C, from the vegetable oil and fat producing process;

D, from the secondary treated sewage.

*2 Detected.

*3 None detected.

*4 Soluble in water.

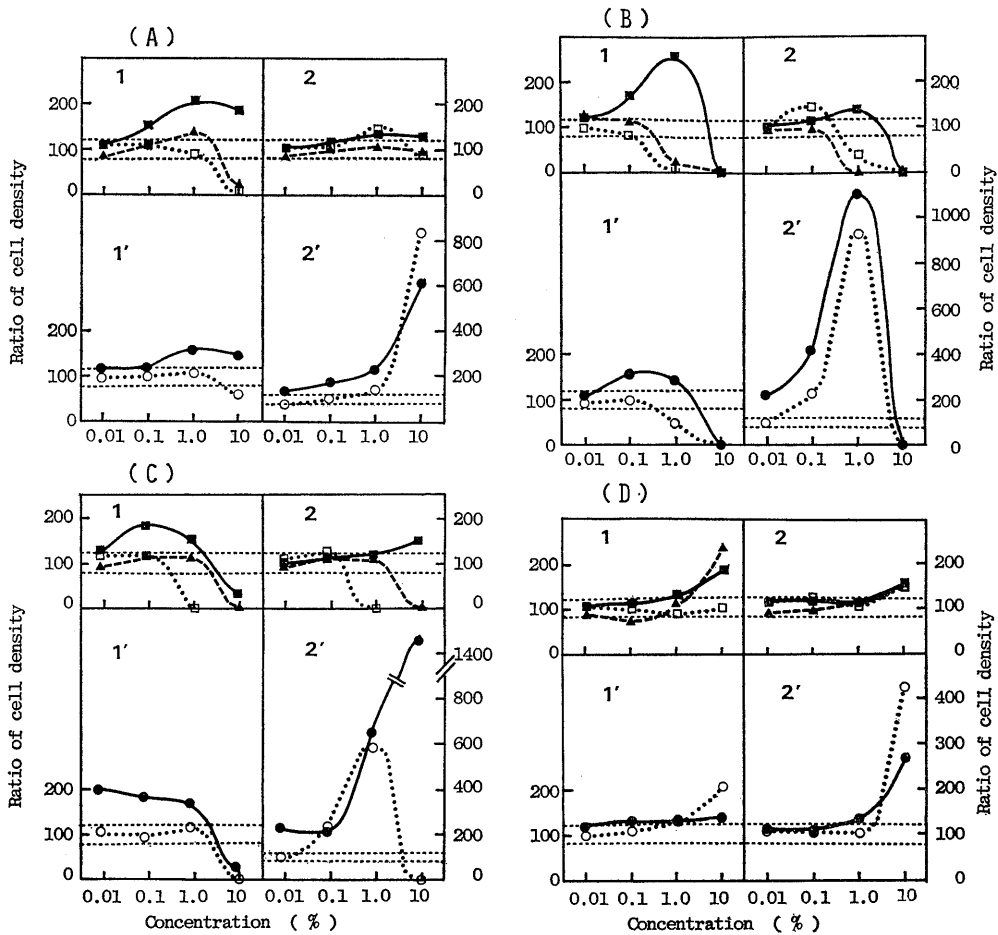


Fig. 1. Relationship between concentration of the effluent and ratio of cell density of phytoplankton.

Effluents A, B, C, and D are the same as those in Table 1. 1 and 1' in the figures, measured in terms of cell counts after 48 hours; 2 and 2' in the figures, measured in terms of maximum cell counts through the experiment.

—■—, *Skeletonema costatum* (Dokai Bay); —●—, *Olisthodiscus* sp. (Dokai Bay);
 ---□---, *Skeletonema costatum* (Suhoda Bay); ---○---, *Olisthodiscus* sp. (Tokuyama Bay);
 —▲—, *Chaetoceros curvisetus* (Dokai Bay).

Data points are the means of counts of triplicates, and are represented in percent of control.

洞海湾産の *C. curvisetus* は初期増殖量と最大増殖量への促進作用が下水処理水を除く3排水では認められず、下水処理水では細胞数がそれぞれ対照区の2.3倍と1.4倍増加した。増殖阻害作用は下水処理水を除く3排水で認められ、コークス排水では1.0%添加濃度以上で、染料排水と植物油脂製造排水では10%添加の場合で増殖阻害がみられた。

洞海湾産の *Olisthodiscus* sp. は初期増殖量および最大増殖量ともに4排水によって促進され、それぞれ細胞数が対照区の最大1.4~2.0倍、2.8~14.6倍増加した。また、これらの増殖促進を起こす排水の添加濃度は0.01%~10%と広範囲に及んだ。増殖阻害はコーク

ス排水と植物油脂製造排水の10%添加の場合に認められ、また前者の場合ではプランクトンが全て死滅した。

徳山湾産の *Olisthodiscus* sp. は、初期増殖は下水処理水でのみ促進された。最大増殖量は、4排水によって対照区の細胞数の最大4.3~9.4倍増加した。増殖阻害作用は下水処理水を除く排水で認められ、阻害作用の認められた濃度は染料排水、コークス排水、植物油脂製造排水でそれぞれ、10%、1.0%と10%、および10%であった。

考 察

染料、コークス、および植物油脂製造工場からの3排

水と下水処理水の水質は、Table 1 に示したようにそれぞれ異なっていた。しかし、3種の工場排水はいずれも洞海湾産の赤潮形成種 *S. costatum* と *Olisthodiscus* sp. 2種株の初期増殖を促進させ、また洞海湾産と他海域産の *S. costatum* 2株と *Olisthodiscus* sp. 2株の最大増殖量を増加させるというよく似た増殖促進傾向を示した。一方、下水処理水は3種の工場排水と同様な促進作用に加えて、さらに *C. curvisetus* の初期増殖量と最大増殖量、および洞海湾産 *Olisthodiscus* sp. の初期増殖量を増加させる作用を持っていた。

下水処理水は藻類潜在生産力 (AGP) が高いため、¹⁰⁾ 水域への有力な栄養塩補給源と考えられている。本報の4排水も同様の補給源であることが栄養塩類量の測定値から推定される。また、0.01% から 0.1% にまで希釈されてもこれらの4排水はプランクトンへの増殖促進作用をなおも失っていなかったことから、増殖刺激物質の補給源にもなると考えられる。*S. costatum* の増殖には、本実験の培養液にあらかじめ添加しておいたビタミン B₁₂ の他に鉄やモリブデンが必要¹¹⁾ と言われるが、溶存鉄の検出されなかった染料排水や植物油脂排水も本種の増殖を促進した。このことから、鉄は *S. costatum* の増殖の制限物質にはなっておらず、本種の増殖を刺激する未知の物質が排水中に混入していたと推定された。*Olisthodiscus* sp. (*Heterosigma inlandica*) の増殖刺激物質はプリンやピリミジンなどの核酸物質、¹²⁾ あるいは鉄やマンガン¹³⁾ であると報告されている。実験に用いた4排水中にこれらの物質が混入していたことが、製品の原料や排水の処理方法、また排水の分析結果などから推定できる。しかし、下水処理水中の淡水植物プランクトンの初期増殖量と最大増殖量の刺激物質はそれぞれ異なった有機物質であることも報告されている。¹⁴⁾ 本報の4排水中のプランクトン増殖刺激物質の同定は、今後の興味ある課題である。

前報⁹⁾ で報告したコークス排水の場合と同様、洞海湾の赤潮原因生物2種は、他の海域から分離された同種のものや洞海湾から分離されたものでもかつて赤潮を形成したことの無いプランクトンに比べて、3工場排水に対して強い抵抗性を持ち、最大増殖量の増加のみでなく初期増殖も促進されることが異なった。このことから、両

種は洞海湾に放出される排水に対してよく適応し、増殖しうる特性をもっていることが推察された。

本稿をまとめるにあたり、徳山湾の *Olisthodiscus* sp. をご提供いただいた水産大学校教授小林 博博士およびご助言を賜った京都大学助教授吉田陽一博士に衷心より感謝の意を表す。本研究の実施にあたって、便宜とご援助をいただいた北九州市環境衛生研究所長 園田真人博士、宮崎昭天主査、および同市公害対策局水質騒音課の皆様深く感謝する。

文 献

- 1) 山田真知子・鶴田新生・吉田陽一：日水誌，**46**，1439-1444 (1980)。
- 2) 鶴田新生・山田真知子：水産大研報，**28** 47-61 (1979)。
- 3) 鶴田新生・山田真知子：水産大研報，**29** 213-222 (1981)。
- 4) J. D. H. STRICKLAND and T. R. PARSONS: A Practical Handbook of Seawater Analysis, *Fish. Res. Bd. Canada, Bull.*, **167** (1972)。
- 5) 日本工業標準調査会審議：工場排水試験法 JIS K 0102-1971。
- 6) R. MORITA and C. E. ZOBELL: *Deep-Sea Res.*, **3**, 66-73 (1955)。
- 7) Y. ISHIDA and H. KADOTA: *Arc. Hydrobiol. Beih.*, **12**, 77-85 (1979)。
- 8) L. PLOVAZOLI: Cultures and Collections of Algae. Proc. U.S. Japan Conf. Hakone, Sept. 1966, *Jap. Soc. Plant Physiol.* **63-75** (1968)。
- 9) 尾形英二：水圏の富栄養化と水産増養殖，水産学シリーズ **1** (日本水産学会編)，恒星社厚生閣，東京，1973，p. 70。
- 10) 須藤隆一・森 忠洋・大竹久夫・合葉修一：下水道協会誌，**12**，34-42 (1975)。
- 11) 真鍋武彦：水域の自浄作用と浄化，水産学シリーズ **30** (日本水産学会編)，恒星社厚生閣，東京，1979，pp. 96-110。
- 12) 岩崎英雄・佐々田 憲：日水誌，**35**，943-947 (1969)。
- 13) 本城凡夫：赤潮-発生機構と対策，水産学シリーズ **34** (日本水産学会編)，恒星社厚生閣，東京，1980，pp. 25-37。
- 14) D. R. SACHDEV and N. L. CLESERI: *J. Wat. Pollut. Control. Fed.*, **50**，1810-1820 (1978)。