底付近の境界層が付着藻類の生長に及ぼす 影響についての実験的研究

末 木 幸 子* 浅 枝 隆* 藤 野 毅*

Effects of Boundary Layer near the Substratum on the Periphyton Growth : an Experimental Study

Sachiko SUEKI*, Takashi ASAEDA* and Takeshi FUJINO*

* Department of Environmental & Human Engineering, Saitama University, Shimo-okubo 255, Urawa, Saitama 338-8570 Japan

Abstract

Sufficient nutrient supply is one of the key factors for the periphyton growth. The formation of the viscous sublayer near the substratum, however, extremely hampers the nutrient transport through the layer with its low diffusivity. Under two different velocities in a laboratory flume, the transition of Periphyton biomass and species were measured, together with light and nutrient conditions. A higher amount of biomass, mostly *Navicula* in both currents, occurred in the fast current than in the slow current, although nutrient concentrations in an upper layer and light conditions were almost the same. The estimation of the nutrient diffusion rate indicates that the absorbed amount by the periphyton mat is almost equal to the quantity transported by diffusion. Thus, with its higher diffusion rate, the higher biomass of periphyton occurred in the fast current. This result implies that, under the nutrient limited condition, the periphyton growth may be regulated by the nutrient diffusion rate in the viscous sublayer rather than the absolute concentration in the upper layer.

Key Words : Boundary layer, diffusion, nutrient uptake, viscous sublayer, periphyton

1. はじめに

付着藻類の生長には、温度、光、栄養塩、流速など周辺環境が大きく影響する。温度はそれぞれの種にあった適温があり、光は一般に比較的強い光を求める緑藻や、弱い光でも生育することができる珪藻などと種によって異なる。また、光は付着藻類のマットを通過する間に減少し、付着藻類の発達に影響を及ぼす^{1,2)}。また、通常、栄養塩が豊富であれば珪藻の発生量は多くなるものの³⁾、付着藻類マットが厚く発達すると、藻類の生長に利用される栄養塩の量が十分供給されなくなる^{4,5)}。また、流速が速くなると付着藻類の栄養塩摂取量は増加すると言われている⁶⁻⁸⁾。しかし、一方では、速い流れよりも、遅い流れにおいてより多く付着藻類が生育する事も報告されている⁹⁻¹¹⁾。流速はまた付着藻類の剥離や移入に大きく関わりを持っている。付着藻類は剪断応力により剥ぎ取られるが¹²⁻¹⁴⁾、速い流れにおいてより多く剥離する^{12,15,16)}。また、剥離の状況は付着藻類の種類によっても異なる。

このように、藻類にとって流れは非常に大きな影響を及ぼすことが知られている。なお、河床が水理学的に滑面である場合、流れの底付近の境界層最下部には粘性底層とよばれる境界層が発達し、バッファー層を介して乱流状態の外部境界層に遷移する。粘性底層では流れが層流状態にあり、拡散は分子拡散により支配され、物質の輸送は大きく制限される⁹⁾。特に珪藻をはじめとする小型の付着藻類は粘性底層内が主なハビタートであるため、これらの生長はこの粘性底層の影響を極めて大きく受けていることが予想される。

本研究では、こうした背景の元に、粘性底層およびその外縁を占めるバッファー層に埋没する小型の藻類を対象にして、粘性底層が藻類の生長に及ぼす影響を検討したものである。

2. 実験方法

2.1 実験水路

実験は両端に貯水槽を備えた長さ 1.8 m、幅 50 cm の

Fig. 1 An illustration of experimental equipment for periphyton growth and water quality

ガラス張りの水槽中に木製の板で仕切り流れ方向に分割した水路で行った (Fig. 1)。水は、5 台の水中用ポンプで循環させた。循環水は、一度上流側貯水槽にためられ、そこから分割した水路内を通水する。水面より 20 cm の高さにおいて、蛍光灯 (PG-Ⅲ, および PG-Ⅱ 各一本) を水路に平行に取り付け、5 時から 19 時まで照射し、それ以外は暗条件とした。河床で測られた光量は $1500 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 程度である。河床には滑らかな黒色のアクリル板を用いた。黒色にしたのはアクリル板下に滞留する水に藻類が繁殖するのを防止するためである。なお、付着藻マットの透過光量を測定するため、一部同じ材質で透明なものを用い、その下に照度センサー (ON-SET 社, StowAway LI) を設置した。さらに、水路上流, 中流, 下流の 3 地点において、粘性底層内の水質を調べるために採取用の穴 (直径 3 mm) を 1 地点につき 5 つ空けた。

2.2. 実験条件

水は浦和市内を流れる荒川の河川水を使用した。約 560 l の水を実験に使用し、その後、水質測定用にサンプリングした水の減少分を同じ河川水によって 2 週間に一度の割合で補った。

栄養塩濃度は常に高濃度でできるだけ一定になるよう硝酸カリウム等を加えた。ただし、実験開始から 23 日目に全窒素の値が大きく低下したこともあった。

流速の測定には超小型プロペラ流速計 (篠塚製作所, SV-3) を使用し、付着藻類が発生するまでの 2 つの水路内の平均流速はそれぞれ約 $8 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ と $22 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ (最大流速はそれぞれ $9 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ と $25 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$, Fig. 2 参照) であった。こうした流速は一般の河川の流速と比較すると小さく、発生する種もそれに応じたものになることが予想されるが、本研究の目的は粘性底層の影響を調べることであるため、両方の水路に同様な種が現れるよう低い流速とした。なお、付着藻類の発生後は水面付近のみで測定を行ったが、実験期間中の最大流速は一定であった。

水温は貯水槽内に設置した温度制御装置によって一定となるように試み、実験期間中約 20°C であった。その他貯水槽内の水質条件としては、pH7.7, 電気伝導率 $0.49 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$, 溶存酸素 $8.6 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ であった。

Fig. 2 Measured velocity distributions for slow current(a), and fast current(b)

2.3. 水質・付着藻類サンプルの採取方法

まず、付着藻類のサンプリングは、それが目視できるようになった実験開始後 6 日目から 3 日ごとに行った。付着藻類のサンプリングはランダムに $0.5 \text{ cm} \times 13 \text{ cm}$ の範囲を 3 箇所選択し、歯ブラシを用いて藻類を採取した。これより乾燥重量, Chlorophyll-a 量, 細胞数を測定した。乾燥重量の測定は 105°C で 24 時間乾燥させた後行った。Chlorophyll-a 量はユネスコ法より行った。細胞数はルゴール溶液で処理した後カウントした。

さらに、水路の上流と下流にそれぞれ植物プランクトン用ネット (離合社, 網目 $72 \mu\text{m}$) を 2 時間仕掛け、流下している細胞を採取した。これは両水路で河床と付着藻マット間の剥離・定着度合いを比較するために行ったもので、ネット設置時は流れに影響を及ぼすだけでなく、上下流同時に行うと浮遊数に影響するため、先に上流で採取後 6 時間経過した後に下流で採取した。ここで、この網目のサイズは発生する藻類の細胞のサイズと比較すると十分小さいものとはいえないが、流況をできるだけ変化させず、十分な捕捉率を得るためにこのサイズの網目サイズを用いた。顕微鏡観察によると、この網目サイズにおいても十分捕捉可能であることが確かめられた。

次に、底面水のサンプリングは、各地点をチューブで連結し、まとめて 1 つの注射器よりゆっくりと吸引した。無機栄養塩類は Whatman GF/C よりろ過後、それぞれ冷凍保存し、後日まとめて分析を行った。分析した測定項目は、全窒素, 全リン, 亜硝酸態窒素, 硝酸態窒素, ア

Fig. 3 Variations of TN(a), and TP(b)

ンモニア態窒素, リン酸態リンである。全窒素と全リンの測定はペルオキシニ硫酸カリウムによる湿式酸化法, 亜硝酸態窒素は BR 法, 硝酸態窒素はカドミウム-銅カラム法, アンモニア態窒素はインドフェノール法, リン酸態リンはモリブデン青法より行った。

3. 結果

本実験に入る前に数度予備実験を行い, いずれも同様な結果が得られることを確認した。そのため, ここでは本実験の結果のみを示す。

Fig. 3(a),(b)に全窒素および全リン濃度の変化を示す。全窒素は, 遅い流れ, 速い流れ共に 21 日目まで濃度が下がり続けている。それ以降, 23 日目に濃度の下がりすぎを防ぐため硝酸カリウムを加えたことにより濃度が上昇した。平均値としては, $2.9 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ である。全リンは全窒素と比べて約 100 分の 1 程度で平均 $0.17 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ であった。外部境界層と粘性底層を比較すると, 濃度はいずれも粘性底層で高い。これは付着した細胞を含んでいるためと考えられる。

Fig. 4(a),(b)に硝酸態窒素とリン酸態リンの測定結果を示す。実際に粘性底層で採取した水は外部境界層の部分を含んでいることや, 測定のレンジのため単純な比較は難しいが, 硝酸態窒素濃度は外部境界層と粘性底層は同程度であるのに対し, リン酸態リン濃度はどちらの水路とも粘性底層の方が低い傾向が見られる。

ここで, 全窒素濃度に占める硝酸態窒素濃度の割合は日数が経つにつれて低くなっている。その割合は大きく, 少なくとも一部は生物体に移行したためであるが詳

Fig. 4 Variations of nitrate(a), and phosphate phosphorus(b)

細は不明である。一方, アンモニア態窒素濃度は実験期間中 $0.02 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 以下であったため, 溶存態窒素の構成としては常に硝酸態窒素が支配的である。

Fig. 5(a),(b)は付着藻の乾燥重量の変化, および Chlorophyll-a 量の変化を示す。乾燥重量に関して, 遅い流れの場合には測定開始後初日に大きな値を示しているが, 3 日後には既に減少し, その後 18 日目までゆっくりと増加, 24 日目まで再び減少し, その後増加, 30 日目に最大値を示した。その後は測定最終日まで減少した。これに対し, 速い流れでは, 多少の変動はあるものの測定開始後 27 日目まで増加し続けている。その後, 33 日目までは減少し, 実験最終日まで再び増加した。

Chlorophyll-a 量の変化は, 乾燥重量とほぼ同様な動きを示している。しかし, 最大値を示す日が多少異なり, 遅い流れでは実験開始 18 日目に最大値を示しその後は漸減傾向にある。速い流れの場合にも乾燥重量と同様の動きを示しているが, 最大値が 24 日目となっており, その後 33 日目まで減少している。ここで, 実際には生細胞と枯死細胞が混在しているため, その割合によっては Chlorophyll-a 量の変化は乾燥重量のそれとは一致しないことが考えられる。

Fig. 6 は底板の下での照度の変化である。藻類の乾燥重量の変化はさほどではないが, 照度については測定開始から藻類の生物量の漸増に伴って 2 日間の間に急激に低下している。また, より急激に生物量が増加した遅い速度の場合の方が速い速度の場合より減少量は大きい。その後は, 藻類の生物量がより速い速度で増加するのにも関わらず, 底板下の照度の低下は緩やかである。この

Fig.5 Dry weight (a), and Chl-a(b)

減少速度は、速い流速の場合と遅い流速の場合との間に大きな差は見られず同様な低下曲線を描いている。遅い流速では5日目から、速い流速では10日目からほぼ安定した状態になっている。そのため、速い流速の方がより低い値となっている。速い流れでは、31日目から32日目にかけて照度がやや上昇している。

Fig. 7 は付着藻類の細胞数を示す。ここで、糸状の藻類は藍藻であり、21日目を過ぎてから藍藻が他多少増加傾向にあるものの、90%以上は珪藻で占められていた。また、珪藻の90%以上は *Navicula* spp. で占められていた。

Fig. 8 は流下する細胞数の変化を示す。まず、流れの速度に関わらず、上下流とも、ほとんどが優占種である *Navicula* spp. であり、糸状藻類は極めて少ない。遅い流れの場合には、11, 19日目に下流側が多少多くなっているのを除くと、上流から流下してくる細胞数の方が下流に流出する細胞数より多く、この区間に捕捉される数の方が、ここから剥離し流下する数より多いことを示している。しかし、25日目および34日目以降を除きその数は少ない。速い流れの場合には、遅い流れとは異なり、25日目以降28日目を除き、下流の方が圧倒的に多く、この区間から剥離し流下する細胞数が流入し捕捉される細胞数より多いことを示している。

なお、現れた藻類の種は、藍藻では、*Phormidium tenue*, *Anabaena flos-aquae*, 珪藻では、*Navicula* spp., *Fragilaria capucina*, *Cyclotella meneghiniana*, *Synedra acus*, 緑藻では、*Ulothrix aequalis*, *Scenedesmus dimorphus*, *Scenedesmus quadricauda*, *Pediastrum duplex* であった。

Fig. 6 Measured light intensity under a plate

Fig.7 Variations of cell number

S: Slow current, F: Fast Current

4. 考 察

付着藻は速い流れにおいて高い生物量を示した。ところが、一方では、流速が速い場合、付着藻類は付着しにくい¹²⁻¹⁴⁾ことや剥離しやすい^{12,15,16)}ことが原因となり、遅い流れと比べ付着藻類は生育しにくいとも報告されている。Fig. 8 の流下している藻類の細胞数をみると、遅い流れにおいて、上流を流れる細胞数が多くっており、速い流れにおいて下流を流れる細胞数が多くなっている。すなわち、遅い流では、水路を流れている間により多くの数の藻類が付着し、速い流れでは、藻類は付着するより剥離される方が多かったことを示している。しかし、付着や剥離がそれぞれ流れの特徴にそって生じているにもかかわらず、遅い流れよりも速い流れの方において付着藻類密度が高いという実験結果が得られた。

付着藻類の生育に影響を及ぼす条件としては、流速以外に光や栄養塩が挙げられる。光の透過量が低下したのは遅い流れが先であるが、その後速い流れにおいては多くの付着藻類が発生したため、遅い流れより照度は低下することとなった。しかし、底板下においても光強度にはそれ程大きな差はなく、光が原因となって遅い流れの生物量が少なくなったと考えることは難しい。

もう一つの制限要因として考えられるのは栄養塩である。窒素については流速による大きな違いはなく、高濃度の値であり生長が制限を受けていたとは考え難い。一方、リンは低濃度であった。これより、遅い流れにおいて付着藻類が生長しなかったのは、リンが付着藻類に十分に

Fig.8 Cell numbers floating in the water for slow current(a), and fast current(b)
U: upstream, D: downstream

行き渡らなかったことが考えられる。通常、藻類の近傍の栄養塩濃度は藻類に吸収され低下することが考えられるが、その外部に十分存在する栄養塩が拡散によって輸送されることによって補われる。水底に生育する付着藻類の場合、水底で吸収されて低濃度となった栄養塩の供給源は、より上部の乱流状態の外部境界層である。外部境界層内では乱流のために強い拡散が維持され、大量の栄養塩が供給されるが、藻類が埋没している最下層の粘性底層内では流れは層流状態であり、物質の拡散は制限される。そこに藻類による吸収が活発になると、粘性底層内の栄養塩は不足しやすくなることが考えられる。そのため、ここでは実験により得られたデータを用いて、粘性底層内における栄養塩の拡散が藻類の生長を制限する要因となり得るかどうかについて検討を行った。

本実験で観察された珪藻のマットはしっかりと形成されたものでないため、藻類は粘性底層厚内にあるものと考えられる。

まず、分子拡散による輸送量は、底部での濃度を 0 と仮定して以下の式で概略見積もる。

$$\text{拡散量 (mg} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}) = \gamma \frac{N}{\delta} \quad (1)$$

ここで、 γ は分子拡散係数であり、硝酸イオンにおいて $1 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ 、リン酸イオンにおいて $3.6 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ である。 N は粘性底層外部の栄養塩濃度であり、 δ は粘性底層厚を示している。実際には、粘性底層から外部境界層に至る過程には流れの状態が徐々に遷移するバッファ領域が存在しているため、 N の値や δ の値を求める

Fig.9 Estimated nutrient diffusion and uptake rate for Nitrogen (a), and Phosphate (b)

には複雑な過程を経なければならないが、ここでは概算による見積もりを行う。

次に、平板上での流速分布は、

$$\frac{\bar{u}(y)}{U_*} = \frac{1}{\kappa} \ln \frac{U_* y}{\nu} + 5.5 \quad (2)$$

で与えられることが示されており¹⁹⁾、粘性底層の厚さは

$$\frac{U_* \delta}{\nu} = 4 \quad (3)$$

で、バッファ層外縁の高さは

$$\frac{U_* \delta}{\nu} = 30 \quad (4)$$

で与えられる。

ただし、 U_* は摩擦速度、 κ はカルマン定数 ($=0.4$)、 ν は動粘性係数 ($=1.011 \times 10^{-2} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$) である。測定された流速分布に式(2)を当てはめるように U_* を求めると、速い流速の場合では $1.35 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ 、遅い流速の場合では $0.28 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ と得られた。これより、粘性底層およびバッファ層の厚さは、速い流速に対しては 0.030 cm および 0.22 cm 、遅い流速に対しては 0.15 cm および 1.1 cm となる。式(1)~(4)を適用して得られた両水路の河床への栄養塩(硝酸態窒素およびリン酸態リン)拡散量をプロットしたもの(図中の○および△)を Fig. 9 に示す。

次に、拡散量に対して付着藻類の栄養塩摂取量を見積もった。これには、測定値から得た乾燥重量、chl-a 量および細胞数の結果から 1 秒間に生長する割合を見積り、これに優占する付着藻類の細胞内に存在する栄養塩濃度

を乗じた。実際には呼吸、枯死によって消費、分解によっても変動するが、生細胞と死細胞の区別は行われていないため、各サンプルの最低値を使用した。すなわち、

$$\text{摂取量 (mg} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}) = \text{生長割合} \times 1 \text{ 細胞に含まれる栄養塩濃度} \quad (5)$$

である。ここで、1 細胞に含まれる栄養塩の濃度は過去の実験値を使用した。この値は、乾燥重量に対して窒素で 2.6 %²⁰⁾、リンに対しては 0.27 %²¹⁾である。これらの結果は拡散量とともに Fig. 9 にプロット (図中の●および▲) した。

これを見ると、窒素については十分な量が供給されているが、リンにおいては付着藻類が摂取したリンの量とリン拡散量がほぼ同程度の値を示している。このことは、水中の外部境界層中には栄養塩が豊富に存在していたが、付着藻類の生育場所である粘性底層内における栄養塩の拡散が限られていたために、付着藻類の生長が妨げられたことを示している。しかも、流速が速いほど粘性底層厚は小さくなり、それだけ栄養塩の拡散輸送量が増すため、付着藻類の生長量が大きくなったことを示している。藻類の生長は栄養塩濃度に影響を受け、栄養塩濃度が高いほど生長しやすい³⁾。しかし、付着藻類に対してはこれらの栄養塩濃度は水中内の栄養塩濃度ではなく、付着藻類の生育場所における栄養塩濃度であること示しており、それは水面近傍のものとは大きく異なることがあることを示している。

5. ま と め

粘性底層およびバッファー層に生育する小型の藻類を対象に、粘性底層が藻類の生長に及ぼす影響を検討した。得られた結果は以下のようにまとめられる。

1) これらの付着藻類は、乱流層内でなく、生育場所である境界層 (粘性底層およびバッファー層) 内の栄養塩濃度に大きく影響を受ける。

2) 乱流層内よりも栄養塩の拡散が極めて小さい滑面上の境界層内に生息する小型珪藻類の生長に対して、流速が速くなるほど境界層厚さは薄くなり、層内に栄養塩が供給されやすくなることから、低い無機栄養塩濃度下において流速は速いほうが有利に働く。

(原稿受付 2000 年 9 月 5 日)

(原稿受理 2001 年 3 月 19 日)

参 考 文 献

- Hogland, K.D.(1983) Short-term standing crop and diversity of periphytic diatoms in a eutrophic reservoir, *J. Phycol.*, 19, 125-132.
- Jørgensen, B.B. and Des Marais, D.J.(1988) Optical properties of benthic photosynthetic communities: fiber-optic studies of cyanobacterial mats, *Limnol. Oceanogr.*, 33, 99-113.
- Stevenson, R.J., Christopher, G.P., David, B.K., Christopher, C.K. and Nancy, C.T.(1991) Density-dependent growth, ecological strategies, and effects of nutrients and shading on benthic diatom succession in streams, *J. Phycol.*, 27, 59-69.
- Characklis, W.G. and Cooksey, K.E.(1983) Biofilms and microbial fouling, *Adv. Appl. Microbiol.*, 29, 93-138.
- Riber, H.H. and Wetzel, R.G.(1987) Boundary-layer and internal diffusion effects on phosphorus fluxes in lake periphyton, *Limnol. Oceanogr.*, 32, 1181-1194.
- Lock, M.A. and John, P.H.(1979) The effect of flow patterns on uptake of phosphorous by river periphyton, *Limnol. Oceanogr.*, 24, 376-383.
- Homer, R.R., Welch, E.B., Seely, M.R. and Jacoby, J.M.(1990) Responses of periphyton to changes in current velocity, suspended sediment and phosphorus concentration, *Freshwater Biol.*, 24, 215-232.
- Parker, H.S.(1981) Influence of relative water motion on the growth, ammonium uptake, and carbon and nitrogen composition of *Ulva lactuca* (Chlorophyta), *Mar. Biol. (Berl.)*, 63, 309-318.
- Stevenson, R.J.(1984) How currents on different sides of substrates in streams affects mechanisms of benthic algal accumulation, *Int. rev. Gesamten Hydrobiol.*, 69, 241-262.
- Lamb, M.A. and Lowe, R. L.(1987) Effects of current velocity on the physical structuring of diatom (Bacillariophyceae) communities, *Ohio J. Sci.*, 87, 72-78.
- Peterson, C.G.(1987) Influences of flow regime on development and desiccation response of lotic diatom communities, *Ecology*, 68, 946-954.
- McIntire, C.D.(1966) Some effects of current velocity on periphyton communities in laboratory streams, *Hydrobiologia*, 27, 559-570.
- Stevenson, R.J.(1983) Effects of current and conditions simulating autogenically changing microhabitats on benthic diatom immigration, *Ecology*, 64, 1514-1524.
- Stevenson, R.J. and Peterson, C.G.(1989) Variation in benthic diatom (Bacillariophyceae) immigration with habitat characteristics and cell morphology, *J. Phycol.*, 25, 120-129.
- McIntire, C.D.(1968) Physiological-ecological studies of benthic algae in laboratory streams, *J. Water Pollut. Control Fed.*, 40, 1940-1952.
- Bothwell, M.L., Suzuki, K.E., Bolin, M.K., and Hardy, F.J.(1989) Evidence of dark avoidance by phototrophic periphytic diatoms in lotic systems, *J. Phycol.*, 25, 85-94.
- Biggs, B.J.F. and Thomsen, H.A.(1995) Disturbance of stream periphyton by perturbations in shear stress: time to structural failure and differences in community resistance, *J. Phycol.*, 31, 223-241.
- Peterson, C.G. and Stevenson, R.J.(1990) Post-spate development of epilithic algal communities in different current environment, *Can. J. Bot.*, 68, 2092-2102.
- 日野幹雄(1983) 明解水理学, 丸善, 94-101.
- Fogg, G. E.(1956) Photosynthesis and formation of fats in a diatom, *Ann. Bot. N.S.*, 20, 265.
- Nalewajko, C. and Lean, D.R.S.(1978) Phosphorus kinetics-algal growth relationships in batch cultures, *Mitt. Internat. Verein. Limnol.*, 21, 184.