石炭灰・貝殻混和固化体の藻類増殖好適性の検証 —非破壊的測定手法を用いた付着珪藻増殖特性の把握から—

本 多 正 樹¹⁾

今 村 正 裕^{1),†}
日恵井 佳 子²⁾

小 林 卓 也¹⁾

Verification of Suitability of Fly-Ash-Shell Blocks for Algal Growth: Understanding Growth Characteristics of Periphytic Diatoms by Using Non-Destructive Measurement Method

Masaki HONDA¹⁾, Masahiro IMAMURA^{1),†}, Takuya KOBAYASHI¹⁾ and Yoshiko HIEI²⁾

¹⁾ Central Research Institute of Electric Power Industry, Environmental Science Research Laboratory, Abiko 1646, Abiko, Chiba 270-1194, Japan

²⁾ Central Research Institute of Electric Power Industry, Energy Power Engineering Research Laboratory, Nagasaka 2-6-1, Yokosuka, Kanagawa 240-0196, Japan

Abstract

We evaluate the suitability of a fly-ash-shell blocks (FSBs) for periphytic diatom growth. FSBs and concrete and granite blocks (length 4 cm, width 16 cm, and height 4 cm) were immersed in an aquarium filled with sea water for two weeks. The upper surfaces of the blocks were photographed by digital cameras every weekday. The increase of the periphytic diatom biomass (Chl-a) on the blocks with time was understood from image analysis using a color channel having a high correlation with Chl-a. Factors defining the growth characteristics, such as specific growth rate in the exponential phase and initial recruitment rate, were obtained from the temporal change in the biomass, and were compared among each type of material of the blocks. The results, show that while the diatom recruitment rate was fastest on concrete, the specific growth rate in the exponential phase showed no difference among the materials.

Keywords: Fly-ash-shell block; Periphytic diatoms; Biomass; Growth characteristic; Digital image

1. はじめに

我が国では、港湾の自然再生を図る生物共生型港湾構造物整備が推進されている。港湾構造物に生物共生機能を付加するためのガイドライン¹⁾が作成され、ここでは生物生息基盤へのリサイクル材活用についても述べられている。基盤の形状や材質によって生物の着生（付着と成長）状況に差があると言われ、石炭灰等の産業副産物を利用した材質への着生状況から生物着生基質としての好適性を評価する取り組みがなされている^{2, 3)}。微粉炭火力発電所から発生するフライアッシュ（FA）の量は年々増大しており、埋立処分場の逼迫や現在有効利用の約7割を占めるセメント原料としての利用も上限に達していることから、土木資材のような大量にリサイクルできる用途での活用促進が急務となっている。FAと水産系副産物として排出される貝殻砕粉を混合したセメント非配合の固化体（FA-Shell Block, 以下FSBと記す）は、港湾土木資材として十分な強度を有するとともに、重金属

等の溶出が環境安全品質基準値以下であり、アルカリ溶出性も低いことが確認された⁴⁾。生物共生型港湾構造物へのFSB利用には、これら材質強度や溶出安全性に加えて、海生生物の着生基質としての好適性検証が不可欠である。

水中に浸漬される自然石やコンクリートブロックなどの表面には短期間で、アワビやウニなどの水産動物稚仔をはじめ多くの無脊椎動物の餌料となる付着珪藻を優占種とするバイオフィームが形成される^{5, 6)}。基質表面に着生する珪藻量は、材料の物理的特性（表面の粗さ、疎水性など）と化学的特性（定着や生長を促進させる化学物質の徐放など）に左右され^{2, 6-8)}、生物着生基質（以下、基質と記す）としての好適性評価では、バイオフィーム形成に視点を置いた評価もなされている⁶⁾。材質の物理化学的特性と珪藻着生量の関係は、海域実験と水槽実験により確認されてきたが^{2, 9, 10)}、海域での浸漬試験では珪藻量に大きな影響をおよぼす動物の摂食影響を除去できないため、材質による影響のみを抽出することは困難で

1) 一般財団法人電力中央研究所環境科学研究所 〒270-1194 千葉県我孫子市我孫子 1646

2) 一般財団法人電力中央研究所エネルギー技術研究所 〒240-0196 神奈川県横須賀市長坂 2-6-1

† 連絡先: mima@criepi.denken.or.jp

ある。一方、水槽実験は、摂食影響を排除し、材質の物理的・化学的特性の影響を把握するために有効である。ただし、珪藻を剥ぎ取り乾燥重量や Chl-a 量を測定する手法で着生量の経時変化を詳細に把握するためには、多くの試験体が必要になるとともに大きな水槽も必要になる。そこで本研究では、試験体数を抑えた小規模な水槽実験から基質上の付着珪藻着生量の経時変化を把握できるように、試験体表面の撮影画像の RGB 解析から付着珪藻着生量を非破壊で計測する手法を検討し、FSB 上での付着珪藻増殖特性すなわち対数増殖期の比増殖速度、初期加入の早さ等を求め、FSB の藻類増殖好適性について考察した。

2. 実験条件と測定方法

2.1 海水掛け流しによる付着藻類着生実験

本実験は、すべて（公）海洋生物環境研究所中央研究所（千葉県御宿）の設備を用いて実施した。屋外実験水槽（縦 92 cm×横 62 cm×高 21 cm）には研究施設前面の沖合約 100 m の海水を砂ろ過した海水を流量 5 L min⁻¹ 連続注水し（滞留時間約 20 分程度で掛け流し）、連続日射と降雨を遮るため白色ビニール（遮光率 50%）で水槽を覆った（Fig. 1）。水槽に当所にて配合打設した FSB（配合比 石炭灰：貝殻：二水石膏：消石灰 = 70:15:4:11 [質量%比]）ならびに、市販のコンクリート、自然石（花崗岩）を同じサイズの直方体（縦 4 cm×横 16 cm×高 4 cm）に切り出し、これら 5 個ずつを藻類着生用試験体として浸漬した。これらの試験体の物性分析結果を Table 1 に示す。表面粗さについては東京精密製サーフコム 1400A、濡れ性（接触角）については協和化学（株）製コンタクトングルメーター、空隙率については島津製作所製 Autopore9520 を用いてそれぞれ測定した。Ca 溶出量は、環境告示 46 号試験に準じ、2 mm 以下に粗砕したそれぞれの試験体を、質量比体積比 10 倍の脱イオン水で 6 時間振とうし、得られた検液を ICP 発光分析法にて分析することで得た。Table 1 の下段に示す各種資材の組成分析については、溶出試験と同様に 2 mm 以下に壊砕したそれぞれの試験体を酸で分解後、底質調査方法に従い塩酸硝酸過塩素酸分解を行い ICP 発光分光法にて実施した。なお、花崗岩については、切り出し磨かれた滑断

Fig. 1 A schematic diagram of the experimental aquarium.

面 Fine (Exp.3) との粗断面 Coarse (Exp.1&2) の 2 種類で実験を実施した。試験体上方の水平面（縦 4 cm×横 16 cm）を藻類着生面（以下、試験体上と記すものはこの着生面を示す）とし、上方から照射する光を他の試験体が遮らない配置とした。各試験体に海水が均一に接するように、水中ポンプ REI-SEA RSD-20A（イワキ社）により水流を発生させた。水流によるバイオフィーム剥離を避けるため、噴流が試験体に直接あたらないようにした。空隙率の高い FSB 試験体では、浸漬後数日間試験体内の空気が小気泡となり試験体表面を覆ったが、水流はこの気泡を除去するほど速くなかった。1 回あたりの実験期間を 2 週間とし、2017 年 3 月 1 日から 4 月 14 日までに 3 回実施した。実験期間中毎平日、各試験体上の藻類着生状況を画像撮影するとともに、浸漬 5 日以降に 5 回、Chl-a 測定用サンプルとして各試験体上 4 cm×8 cm 範囲から、着生量が少ない段階で 4 cm×4 cm、着生量が多

Table 1 Physical and Chemical Properties of Substrata.

	Surface Roughness		Porosity (%)	Wettability	Ca Concentration in Leachate (mg L ⁻¹)					
	Rc (μm)	RSm (μm)		Contact Angle (°)						
FSB	23.2±5.40 ^a	154±5.55 ^a	32–35	30.7±15.7 ^a	232					
Concrete	21.0±6.04 ^a	255±54.6 ^b	21–23	17.2±6.14 ^b	125					
Granite (coarse, Exp.1 & 2)	173±13.0 ^b	1149±212 ^c	3.6–7.9	17.9±6.57 ^b	3.0					
Granite (fine, Exp.3)	21.8±2.90 ^a	198±20.7 ^d		15.1±3.10 ^b						
Chemical Composition (%)										
	SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	CaO	MgO	TiO ₂	P ₂ O ₅	Na ₂ O	K ₂ O	SO ₃
FSB	39.0	15.2	2.9	17.9	0.5	0.2	0.4	0.7	2.2	19.5
Concrete	45.0	8.9	2.8	19.6	1.3	0.4	2.2	1.2	1.1	17.1
Granite (coarse, Exp.1 & 2)	71.2	15.2	2.5	2.7	0.5	0.2	4.1	2.9	0.1	0.2
Granite (fine, Exp.3)										

(a and b.: significantly different pairwise comparisons (p<0.05) are indicated by different letters)

い段階で直径 2.5 cm の円形範囲内の藻類を 2 カ所から剥ぎ取り、GF/C ガラス繊維フィルターで濾過採集した後凍結保存した。このサンプルを *N,N*-dimethylformamide (DMF) で抽出し蛍光光度計 TD-700 Laboratory Fluorometer (TURNER DESIGNS 社) を用いて Chl-a 量を分析した。また、各試験最終日に各試験体上 4 cm × 4 cm 範囲からバイオフィームを採集しホルマリン固定後種同定用サンプルとした。なお、資材表面の動物については一部目視により確認した。取り扱い時に着生面に触れるなどして藻類が剥がれた試験体は解析から除外した。水槽内の水温と光量を HOBO UA-002-08 (ONSET 社) で連続測定するとともに、栄養塩濃度 (3 態窒素, リン酸塩, ケイ酸塩) をオートアナライザー QuAAtro (BLTEC 社) を用いて吸光光度法により測定した。

2.2 光学的測定手法を用いた珪藻着生状況の把握

試験体上の藻類着生状況の撮影機材には PENTAX K-7 と HD PENTAX-DA 35 mm F2.8 Macro Limited (いずれもリコーイメージング社) を、撮影光源には人工太陽照明灯 SOLAX XC-100 (セリック社) を用いた (Fig. 2)。撮影した全画像の色調を、ColorChecker Passport (X-Rite 社) で作成した撮影機材固有のプロファイルを用いて補正した。色調補正した画像から、付着珪藻を剥ぎ取った部位に相当する範囲において、撮影画像の各ピクセルに与えられた RGB 値を用い、先述の蛍光光度計で分析した Chl-a 量と相関が高い色チャンネルを探索した。実験期間の毎平日に撮影した各試験体の画像から 3.8 cm × 5.7 cm (1,000 ピクセル × 1,500 ピクセル) 範囲を抽出し、Chl-a 量と相関が高い色チャンネルで解析し、同一部位の Chl-a 量の時系列変化を把握した。各試験体上での Chl-a 量の時系列変化から、① Chl-a 量が一定量 (本実験では $0.2 \mu\text{g cm}^{-2}$ とした) に達するまでの浸漬日数、② 対数増殖期の比増殖速度、③ 実験後期 (浸漬後 12-14 日) の比増殖速度、④ 実験終了時 (浸漬後 14 日) に到達した Chl-a 量を求め、材質毎、実験期間毎の藻類着生状況の相違を比較した。なお、各データについては二次元配置分散分析によって統計的解析を行った。

Fig. 2 Equipment for material surface photography.

3. 結果

3.1 水槽内の環境

水中光量は天候に左右され、日積算量は $1.3\text{--}18.0 \text{ mol m}^{-2} \text{ day}^{-1}$ の範囲で変化した (Fig. 3)。日積算光量の平均値は実験 1 と 3 に比べて実験 2 で有意に大きかった ($p < 0.05$, Kruskal-Wallis 検定, Table 2)。日平均水温は $13.2\text{--}16.9 \text{ }^{\circ}\text{C}$ の範囲で変化した (Fig. 3)、各実験期間の平均水温は実験 2 と 3 に比べて実験 1 で有意に低かった ($p < 0.01$, Kruskal-Wallis 検定, Table 2)。一方、 $\text{NO}_3\text{--N}$, $\text{SiO}_4\text{--Si}$, $\text{PO}_4\text{--P}$ 濃度のいずれも実験期間による有意差はなかった (Table 2)。

3.2 試験体上に出現した藻類

材質による付着藻類の種組成の違いはなく、資材毎に各水槽の結果を平均しても (Table 3: 資材毎の平均値と標準偏差) 珪藻綱藻類の *Navicula* 属と *Nitzschia* 属が全細胞数の 8 割以上、*Licmophora* 属と *Cylindrotheca* 属が約 1 割を占めていた (このため、以下、試験体上の藻類を付着珪藻と記す)。砂濾過海水を通水することで動物の加入を抑えられたため、繊毛虫と線形動物が僅かに見られたにとどまった。

3.3 材質と実験期間による着生状況の比較

撮影画像の RGB 各チャンネルの割合と付着珪藻着生量に関連性が見られた。着生量増大に伴い全チャンネル

Fig. 3 Daily changes in solar irradiance and water temperature in each experiment. Bars represent solar irradiance, and lines represent water temperature in the aquarium.

Table 2 Values of Solar Irradiance, Daily Mean Water Temperature, and Nutrient Concentration in Each Experimental Period (daily mean $\pm$ SD).

	Exp.1	Exp.2	Exp.3
Irradiance ($\text{mol m}^{-2} \text{ day}^{-1}$)	5.65 ± 2.87^a	9.44 ± 3.97^b	7.15 ± 4.00^{ab}
Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	14.3 ± 0.841^a	15.0 ± 0.615^b	15.5 ± 0.991^b
$\text{NO}_3 + \text{NO}_2\text{-N}$ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	4.91 ± 2.28	4.83 ± 1.52	4.40 ± 2.73
SiO-Si ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	7.34 ± 1.35	6.52 ± 1.40	6.92 ± 3.36
$\text{PO}_4\text{-P}$ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0.324 ± 0.0395	0.332 ± 0.0646	0.328 ± 0.132

(a and b.: significantly different pairwise comparisons ($p < 0.05$) are indicated by different letters)**Table 3** Dominant and Common Periphytic Diatom Taxa on Experimental Blocks.

			% of Mean Total Cell Number $\pm$ SD		
			FSB	Concrete	Granite
Pennales	Diatomaceae	<i>Licmophora gracilis</i>	$8 \pm 9\%$	$7 \pm 6\%$	$10 \pm 14\%$
		<i>Synedra tabulata</i>	$1 \pm 1\%$	—	—
	Naviculaceae	<i>Navicula agnita</i>	$1 \pm 0\%$	$4 \pm 2\%$	$1 \pm 1\%$
		<i>Navicula duerrenbergiana</i>	$49 \pm 14\%$	$43 \pm 17\%$	$39 \pm 8\%$
		<i>Navicula</i> spp.	$15 \pm 7\%$	$11 \pm 5\%$	$17 \pm 5\%$
		<i>Pleurosigma</i> spp.	—	—	$2 \pm 2\%$
	Nitzschiaceae	<i>Cylindrotheca closterium</i>	$2 \pm 1\%$	$3 \pm 1\%$	$2 \pm 2\%$
		<i>Nitzschia laevis</i>	$2 \pm 2\%$	$2 \pm 1\%$	$3 \pm 2\%$
		<i>Nitzschia panduriformis</i>	$4 \pm 5\%$	$1 \pm 1\%$	$4 \pm 5\%$
		<i>Nitzschia</i> spp.	$14 \pm 12\%$	$27 \pm 11\%$	$19 \pm 15\%$

Fig. 4 Examples of RGB value sifts with increase in Chl-a on the experimental blocks (FSB).

の和に占める R チャンネルの割合すなわち $R/(R+G+B)$ は高まり、逆に B チャンネルの割合 $B/(R+G+B)$ は低下した。両者に比べて G チャンネルの割合 $G/(R+G+B)$ の変化は小さかった (Fig. 4)。R チャンネルと B チャンネ

ルの差が全チャンネルの和に占める割合 $(R-B)/(R+G+B)$ (以下、R-B 値) と各材質ブロック上で得られた Chl-a 量を指数分布関数 (式 (1)) で回帰したところ、いずれも決定係数 0.979 以上のよい当てはまりが見られ

た (Fig. 5)。材質毎に係数が異なったのは、各材質が背景色となり、RGB 各値が影響されるためである。

$$y = a(1 - e^{-bx}) + C \quad \text{式(1)}$$

ここに y : R-B 値, x : Chl-a 量 ($\mu\text{g cm}^{-2}$) である。

式 (1) の逆関数を用いて R-B 値から Chl-a 量を算出した。試験体上の付着珪藻着生状況が均質でないため、先述のトリミング画像 (1,000 ピクセル×1,500 ピクセル, 3.8 cm×5.7 cm) を 250 ピクセル四方 (0.95 cm 四方) 24

Fig. 5 Relation between values of $(R-B)/(R+G+B)$ and Chl-a on the material of each block. Lines represent nonlinear regression results.

区画に分割して、各区画の Chl-a 量を算出した後、3.8 cm×5.7 cm 範囲の Chl-a 量を計算した。

試験体上の Chl-a 量は、浸漬後数日間は変化がなく、5-8 日で指数関数的に増殖する対数増殖期に入り、12 日以降の比増殖速度が低下する増殖パターンを示した (Fig. 6)。なお実験後期 (12 日以降) にも増殖は続き、実験 2 を除き増殖が頭打ちとなる静止期に達することはなかった。この Chl-a 量経時変化から、増殖パターンを特徴づける以下の 4 項目に着目して、材質間の着生状況を比較した (Table 4)。

- ① Chl-a 量が一定量 (本実験では $0.2 \mu\text{g cm}^{-2}$ とした) に達するまでの浸漬日数
 - ② 対数増殖期の比増殖速度
 - ③ 実験後期 (浸漬後 12-14 日) の比増殖速度
 - ④ 実験終了時 (浸漬後 14 日) に到達した Chl-a 量
- 上記の 4 項目のいずれも 3 回の実験間で有意な差が認められた。実験期間により異なった環境要因は光量と水温であった (Table 2)。Chl-a 量が $0.2 \mu\text{g cm}^{-2}$ に達するまでの日数は光量が多い実験 2 で短かった。対数増殖期の比増殖速度に材質間の有意差は認められなかったものの、光量との間には相関 (決定係数 0.617) が見られた (Fig. 7)。一方、実験後期の比増殖速度は光量が多かった実験 2 で低かった。実験 2 では、試験体上のバイオ

Fig. 6 A schematic diagram of parameters for periphytic diatom growth analysis.

Table 4 Two-Way ANOVA Results of Material (M), Experimental Period (P), and Their Interaction (M×P) in Periphytic Diatom Growth Parameters.

	FSB	Concrete	Granite	F Ratio	P Value
Mean Number of Days Until $0.2 \mu\text{g Chl-a cm}^{-2}$					
Exp.1	9.4 ± 0.30^a	8.3 ± 0.45^b	9.0 ± 0.63^{ab}	M 11.80	M $p < 0.01$
Exp.2	6.7 ± 0.23^c	6.45 ± 0.36^c	7.1 ± 0.53^c	P 52.79	P $p < 0.01$
Exp.3	8.2 ± 0.52^b	7.4 ± 0.75^{bc}	9.0 ± 0.86^{ab}	M×P 2.98	M×P NS
Mean Value of Specific Growth Rate in Exponential Phase (day^{-1})					
Exp.1	1.02 ± 0.19^a	0.88 ± 0.12^{ac}	0.96 ± 0.17^a	M 1.49	M NS
Exp.2	1.24 ± 0.16^b	1.09 ± 0.13^{ab}	1.13 ± 0.25^{ab}	P 32.45	P $p < 0.01$
Exp.3	0.83 ± 0.10^c	0.82 ± 0.13^c	0.80 ± 0.05^c	M×P 2.09	M×P NS
Mean Value of Specific Growth Rate Between Day 12 and 14 (day^{-1})					
Exp.1	0.30 ± 0.09^a	0.27 ± 0.16^a	0.19 ± 0.19^{ab}	M 1.13	M NS
Exp.2	0.04 ± 0.13^{bc}	0.06 ± 0.08^{bc}	0.15 ± 0.14^{abc}	P 4.92	P $p < 0.05$
Exp.3	0.25 ± 0.17^{abc}	0.12 ± 0.19^{abc}	0.38 ± 0.26^{ab}	M×P 1.28	M×P NS
Mean Value of Chl-a on Last Day of Each Experiment ($\mu\text{g Chl-a cm}^{-2}$)					
Exp.1	4.51 ± 1.05^a	6.15 ± 0.52^b	4.26 ± 0.62^a	M 4.85	M $p < 0.05$
Exp.2	3.68 ± 1.27^{ac}	4.47 ± 1.60^{abc}	3.38 ± 0.91^{ac}	P 9.96	P $p < 0.01$
Exp.3	3.29 ± 0.37^c	3.63 ± 1.00^{ac}	2.93 ± 0.62^c	M×P 0.62	M×P NS

(a, b, and c.: significantly different pairwise comparisons ($p < 0.05$) are indicated by different letters)

Fig. 7 Relation between specific growth rates of periphytic diatoms and solar irradiance in the exponential phase. Closed circles and bars represent mean values and standard deviations of the specific growth rates, respectively. F, C, and G represent FSB, concrete, and granite, respectively.

フィルムに気泡や破れが観察された。実験終了時のChl-a量は2.9–6.2 $\mu\text{g cm}^{-2}$ であり、実験期間の積算光量が最も少なかった実験1で最大となった。一方、水温に関しては各試験期間の平均水温が13.2–16.9 $^{\circ}\text{C}$ と幅が狭く、この水温との関係性を示すまでにはいたらなかった。

材質間で有意差が認められたのはChl-a量が0.2 $\mu\text{g cm}^{-2}$ に達するまでの日数と終了時のChl-a量であり、コンクリート区ではその日数が短く、終了時Chl-a量も高かった。

4. 考察

付着珪藻の種組成は光量と摂食に影響を受けながら時間経過とともに遷移する¹¹⁾。本実験で試験体上に優占した付着珪藻は、増殖が速く付着力が弱い単独性匍匐滑走型の*Navicula*属、*Nitzschia*属で、実海域の摂食圧が低く光量が高い条件で基質上に最初に入植しコロニーを形成する珪藻^{11, 12)}であった。

Mélédér *et al.* (2003)¹³⁾は、珪藻バイオマスと可視光域反射スペクトルの分析から、バイオマス増加に伴う波長500 nm以下の反射強度の急速な低下と600 nm付近の緩やかな低下さらに720 nm域の反射強度が変わらない特徴と、反射強度低下が約10 $\mu\text{g Chl-a cm}^{-2}$ で飽和することを示している。本研究では、この珪藻着生量増大に伴う可視光域反射特性すなわち短波長側の反射強度成分の減少と相対的な長波長成分の増加を利用して、R-B値から珪藻着生量を定量評価できた。一方、この手法を用いる上で留意すべき点は、①珪藻種により可視光域の反射特性が異なり¹³⁾また背景色(着生基質の色)の違いに式(1)の係数が影響を受けることから基質毎、珪藻分類群毎の係数を求める必要がある点、②R-B値が飽和値に近い場合、着生量推定値には大きな誤差を含む点にある。本実験では、いずれの基質上も*Navicula*属、*Nitzschia*属に限られた珪藻が優占し、実験終了時の着生量(Chl-a量)は6 $\mu\text{g cm}^{-2}$ 程度でR-B値が未飽和であったため、色情報から着生量の定量推定が可能な条件を満たしていた。

以降、R-B値を用いて、同一カ所の珪藻着生量を経時的に把握し増殖速度を解析した結果について考察する。

対数増殖期には光量が大きいほど比増殖速度は高かったが、実験後期には光量が最も大きい実験2で比増殖速度が低かった。実験2の後期にはバイオフィームに閉じ込められた泡や破れが観察された。バイオフィームに強い光があたると盛んな光合成で酸素の気泡が生成され、気泡が十分な浮力を得るとフィルムに裂け目が生じ、バイオフィームが付着した泡が解放される¹⁴⁾。光量が大きかった実験2では、対数増殖期には盛んな光合成と基質上の着生量の増大を促した一方で、バイオフィームが形成された実験後期には増殖とともにフィルムの剥離が生じたため、“見かけの”比増殖速度の低下が生じたと推察される。実験1は、実験期間前半の光量は少なかったものの、対数増殖期にあたる7–11日の光量が多かったために珪藻が高い増殖を達成できた。続く後期の光量が抑えられたためバイオフィーム剥離に繋がる過剰な酸素発生がなく終了時のChl-a量が大きくなった。実験1と逆に実験3では、前半の光量は多かったものの対数増殖期の光量が少なかったため増殖が遅れた。後期の光量は多かったが、それまでに蓄積された着生量自体が小さかったため終了時のChl-a量も抑えられた。このように、実験実施期間の違いによる比増殖速度および実験終了時Chl-a量の相違は光量の違いにより生じたと考えられる。Chl-a量は2週間で3–6 $\mu\text{g cm}^{-2}$ に達し、佐藤ら(2003)²⁾の報告した約5ヵ月で約2 $\mu\text{g cm}^{-2}$ に比べて著しい増殖を示した。この違いは試験体の配置方法の違い、すなわち、既報告²⁾では付着面を上下に立てて数cm間隔で密に配置したのに対し、本研究では付着面に照射する光(日射量の50%)を他の試験体が遮らない配置とした、これにより珪藻が受ける光量が大きかったことさらには上下に立てることで剥離もかなり見られたと考えられる。

Chl-a量が0.2 $\mu\text{g cm}^{-2}$ に達するまでの期間は材質間で有意差が認められた。この差を生じる要因として①比増殖速度の違いと②珪藻加入のタイミングの違いが考えられるが、上記のとおり比増殖速度に材質間で差がなかったことから、コンクリート区で早く0.2 $\mu\text{g cm}^{-2}$ に達したのは他材質に比して加入するタイミングが早かったためと考えられる。着生に影響する要因として物理的特性(疎水性、表面の粗さ)と化学的特性(定着や生長を促進させる化学物質の徐放など)が報告されている。海中に浸漬された基質表面には、まず溶存高分子有機物が吸着し有機薄膜が形成され、次いで細菌と珪藻からなるバイオフィームが形成される。珪藻の付着が顕著になるのは細菌被膜が形成された後である^{12, 15)}。細菌は基質表面の薄膜に接触した後、静電力やファンデルワールス力によって基質表面に付着し、その後、細菌自身が分泌する糖タンパクにより固着する。細菌の表面エネルギーが周囲の液体の表面エネルギーより小さい場合には、疎水性物質(表面エネルギーが小さい)に付着しやすく¹⁶⁾、細菌と珪藻が疎水性の基質に多く着生する^{8, 17)}。コンクリートの接触角は花崗岩と同程度で、FSBに比べて小さく(Table 1)、コンクリートでの早い珪藻着生が疎水性の違いによるものではないと考えられた。ブロック表面への粒子輸送は試験体表面の粗さに影響されるが¹⁸⁾、平均凹凸高さ(Rc)はFSB、コンクリートおよび平滑な花崗岩で約20 μm と同程度かつ極めて小さく(Table 1)、コンクリートブロック表面への輸送効果が他材質ブロック

に比べて大きかったとは考えられない。Ca イオンは珪藻の付着を促進するという報告もあり¹⁹⁾、花崗岩に比べて CaO 含有率が高いコンクリートブロックと FSB で Ca の溶出が多く、コンクリートでは花崗岩の 40 倍、FSB では 80 倍であった。以上の化学的特性からは、FSB がコンクリートと同等に珪藻着生に適した性質があると考えられる。しかし、FSB への付着珪藻の初期加入は、花崗岩より早かったがコンクリートに比べると遅かった。これは、本実験に用いた多孔質の FSB では、海水浸漬後数日間は基質内の空気が表面の孔から出て小気泡を形成し基質を覆ったため、珪藻の加入抑制要因となった可能性がある。

着生した珪藻の比増殖速度は光量に依存し、FSB、コンクリート、花崗岩各試験体上ではいずれも同様に増殖することが確認された。従って、実験終了時（バイオマスが頭打ちとなる静止期に達していない）の Chl-a 量がコンクリート上で大きかったのは、他材質に比べて珪藻が早く加入したことに起因したと考えられた。

以上、フライアッシュと水産系廃棄物である貝殻を混合したセメント非配合の固化物である FSB を付着珪藻着生基質の視点からコンクリートおよび花崗岩と比較すると、① FSB は、化学的特性からコンクリートと同等に珪藻着生に適した性質があると考えられる。②多孔質の FSB では、海水浸漬後短期間は空隙から空気が放出され珪藻加入が抑制される可能性がある。一方、流動により気泡が除去されやすい環境では、FSB 上に珪藻がより早く加入できる可能性がある。コンクリートおよび自然石付着生物群集の着生と成長に優れた基質といわれている²⁰⁾。本実験で確認された FSB 上での珪藻の初期加入および増殖はこれらと同等であることが確認された。

人工資材の生物着生基質としての好適性は、大型海藻の生育や底生動物の定着の視点からも評価されている^{2, 3, 20)}。今後、大型海藻着生基質や底生動物生息基質の観点からも FSB の好適性を確認し、廃棄物利用資材を活用した沿岸環境創造と廃棄物問題の解決に向けた取り組みを進めたい。

謝 辞

実験実施にあたり多大なご協力を賜った公益財団法人海洋生物環境研究所中央研究所の職員各位および佐藤真理子氏にお礼申し上げます。

(原稿受付 2019 年 9 月 2 日)

(原稿受理 2020 年 1 月 7 日)

参 考 文 献

- 1) 国土交通省港湾局, 2014. 生物共生型港湾構造物の整備・維持管理に関するガイドライン. URL. http://www.mlit.go.jp/kowan/kowan_tk6_000019.html (2019 年 3 月時点).
- 2) 佐藤利夫, 野中資博, 山本廣基, 高田竜一, 福田康伴, 2003. 廃棄物を利用した生物易付着性コンクリートの開発と藻類への応用. 日本海水学会誌 57(6), 469-480.
- 3) 友田啓二郎, 藤倉慎也, 東健一, 鈴木達雄, サトイトシリルグレン, 北村等, 2007. 新長崎漁港における石炭灰コンクリート基板に対する付着生物調査. Sessile Organisms 24(2), 141-145.
- 4) 日恵井佳子, 山本武志, 布川信, 2016. 貝殻含有フライアッシュ固化物の港湾土木資材としての利用検討. 電力中央研究所報告 M15006. 一般財団法人電力中央研究所, 東京.
- 5) 河村知彦, 1991. 幼生の行動と付着 2 珪藻. 水産無脊椎動物研究所編, 海洋生物の付着機構, 恒星社厚生閣, 東京, pp. 11-25.
- 6) Sweat, L.H., Johnson, K.B., 2013. The effects of fine-scale substratum roughness on diatom community structure in estuarine biofilms. Biofouling 29(8), 879-890.
- 7) Holland, R., Dugdale, T.M., Wetherbee, R., Brennan, A.B., Finlay, J.A., Callow, J.A., Callow, M.E., 2004. Adhesion and motility of fouling diatoms on a silicone elastomer. Biofouling 20(6), 323-329.
- 8) Li, Y., Gao, Y.H., Li, X.S., Yang, J.Y., Que, G.H., 2010. Influence of surface free energy on the adhesion of marine benthic diatom *Nitzschia closterium* MMDL533. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 75(2), 550-556.
- 9) Nenadović, T., Šarčević, T., Čizmek, H., Godrić, J., Pfannkuchen, D.M., Pfannkuchen, M., Ljubešić, Z., 2015. Development of periphytic diatoms on different artificial substrates in the Eastern Adriatic Sea. Acta Botanica Croatica 74(2), 377-392.
- 10) Sempere-Valverde, J., Ostalé-Valderrivas, E., Farfán, G.M., Espinosa, F., 2018. Substratum type affects recruitment and development of marine assemblages over artificial substrata: A case study in the Alboran Sea. Estuarine, Coastal and Shelf Science 204, 56-65.
- 11) 河村知彦, 1998. 付着珪藻 その生態と付着生物群集における役割. Sessile Organisms 15(1), 15-22.
- 12) 田中信彦, 1987. 微生物と付着珪藻. 梶原武編, 水産学シリーズ 64 海産付着生物と水産増養殖, 恒星社厚生閣, 東京, pp. 18-27.
- 13) Méléder, V., Barillé, L., Launeau, P., Carrère, V., Rincé, Y., 2003. Spectrometric constraint in analysis of benthic diatom biomass using monospecific cultures. Remote Sensing of Environment 88(4), 386-400.
- 14) Sutherland, T.F., Grant, J., Amos, C.L., 1998. The effect of carbohydrate production by the diatom *Nitzschia curvilineata* on the erodibility of sediment. Limnology and Oceanography 43(1), 65-72.
- 15) Zobell, C.E., Allen, E.C., 1935. The significance of marine bacteria in the fouling of submerged surfaces. Journal of Bacteriology 29(3), 239-251.
- 16) Tuson, H.H., Weibel, D.B., 2013. Bacteria-surface interactions. Soft Matter 9(17), 4368-4380.
- 17) Ista, L.K., Callow, M.E., Finlay, J.A., Coleman, S.E., Nolasco, A.C., Simons, R.H., Callow, J.A., Lopez, G.P., 2004. Effect of substratum surface chemistry and surface energy on attachment of marine bacteria and algal spores. Applied and Environmental Microbiology 70(7), 4151-4157.
- 18) Eckman, J.E., 1990. A model of passive settlement by planktonic larvae onto bottoms of differing roughness. Limnology and Oceanography 35(4), 887-901.
- 19) Cooksey, K.E., 1981. Requirement for calcium in adhesion of a fouling diatom to glass. Applied and Environmental Microbiology 41(6), 1378-1382.
- 20) Artificial Reef Subcommittees of the Atlantic and Gulf States Marine Fisheries Commissions, 2014. Guidelines for Marine Artificial Reef Materials (Second edition). URL. <http://www.gsmfc.org/publications/GSMFC%20Number%20121.pdf> (2020 年 1 月時点).

〔論文要旨〕

本研究では、石炭灰・貝殻混和固化体 (fly ash-shell block, FSB) の付着珪藻増殖に対する好適性評価を目的とした。海水を注水した水槽内に FSB, コンクリートおよび花崗岩のブロック (縦 4 cm×横 16 cm×高 4 cm) を 2 週間浸漬し, 毎平日, ブロック上面をデジタルカメラで撮影した。Chl-a 量と相関が高い色チャンネルを用いた画像解析から, ブロック上で経時的に増加する珪藻着生量 (Chl-a 量) を把握した。着生量の経時変化から, 増殖特性を特徴づける項目すなわち対数増殖期の比増殖速度, 初期加入の早さ等を求め, 各材質間で比較した。珪藻加入がコンクリートで他材質に比べて早かった一方で, 対数増殖期の比増殖速度には材質間で差が見られなかった。

キーワード：石炭灰・貝殻混和固化体；付着珪藻；着生量；増殖特性；デジタル画像解析