

有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium tamarense* (広島湾株) による 溶存態有機リンの利用と排出

山本 民次・樽谷 賢治・河原 陸恵・呉 碩津

広島大学生物生産学部, 東広島市 739-8528

1999年11月30日 受付

要 旨 有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium tamarense* 広島湾株による溶存態有機リン (DOP) の取り込みと排出に関して, 広島湾汲み置き海水を用いたバッチ培養と半連続培養による実験を行った。バッチ培養では, 培養液中のリン酸塩濃度約 $2\mu\text{M}$ を境に, それ以下で有意な正味の DOP 取り込み, それ以上で正味の排出が見られた。半連続培養では, *A. tamarense* は希釈率が大きく, 培地中の十分なリン酸塩を利用して活発に増殖している場合に DOP の正味の排出を示した。以上のことから, 予備の実験結果ではあるが, *A. tamarense* 広島湾株はリン酸塩濃度が低い場合には DOP を利用し, リン酸塩濃度が高くて活発に増殖している場合には DOP を排出することが示唆された。

キーワード: *Alexandrium tamarense*, 取り込み, 排出, 溶存態有機リン

緒 言

近年, 有毒プランクトンによる貝類の毒化が世界的規模で拡大しており (ANDERSON, 1989; SHUMWAY, 1990; HALLEGRAEFF, 1993), 日本でも麻痺性貝毒 (PSP) の原因種である *Alexandrium tamarense* や *A. catenella* の発生及び分布域の拡大が見られる。広島湾では1992年に初めて *A. tamarense* による麻痺性貝毒が発生し, カキ養殖及びアサリ採貝漁業などの水産業に深刻な影響を及ぼした (広島県, 1993)。このように, これまで発生が見られなかった種が新たに出現する原因としては, “hidden flora” として存在したものが個体群を拡大する場合と (SMAYDA, 1989, 1990), 外部からもたらされる場合 (HALLEGRAEFF, 1993) の2通りが考えられる。いずれにせよ, その発生には増殖要因の一つとして栄養塩環境が適していることが必要条件となる。

瀬戸内海に対するリンの流入負荷量が, 排水中のリンの除去や無リン洗剤の使用などによって年々減少してきたことは良く知られている (瀬戸内海環境保全協会, 1998)。その結果, 大阪湾などでは海水中のリン酸塩濃度の低下が見られる (城, 1991)。広島湾においても *A. tamarense* が出現する春季にはリン酸塩が枯渇するという現象が見られる (樽谷, 1999; 山本ほか, 1999)。リン酸塩が枯渇する状況下において, ある種の植物プランクトンは, その増殖に溶存態有機リン (DOP) を利用することが古くから知られている (CHU, 1946; HARVEY, 1953; KUENTZLER, 1965; CEMBELLA *et al.*, 1984a, 1984b)。

一方, 植物プランクトンは DOP を排出することも知られており, 培養種を用いた実験では, DOP の排出は増殖の定常期に多いと言われている (KUENTZLER, 1970; LEAN and NAREWAJKO, 1976)。また, 東京湾での *Heterosigma akashiwo* の赤潮時に, ある特定の画分の DOP が増加することを MATSUDA and MARUYAMA (1985) はゲルクロマトグラフィーで調べている。DOP の排出に関する報告はあまり多くはないが, CEMBELLA *et al.* (1984a) のレビューで述べられているように, 排出された DOP は自然海水中のリン酸塩プールに寄与するものであり, とくにリン酸塩が枯渇する傾向にある海域ではリンのソースとして重要である。

そこで本研究では, 広島湾において採取, 分離した有毒渦鞭毛藻 *A. tamarense* を用いて, リン酸塩制限下における自然海水中の溶存態有機リンの利用を, バッチ培養及び半連続培養によって観察したので報告する。

材料と方法

1. 供試株と培養条件

1992年に広島湾から採取、分離した *A. tamarense* (ATHS92) を、ピベット洗浄法 (西澤・千原, 1979) および走光性を利用する方法 (IMAI and YAMAGUCHI, 1994) を併用することによって無菌クローン株を得た。広島湾奥部表層から採取した海水 (塩分30) をもとに作製した f/2 培地 (GUILLARD, 1975) を濾過滅菌し (Millipore, Type GS, 孔径 $0.22\mu\text{m}$), 基本培地として使用した。ただし, リン酸塩濃度は $2.79\mu\text{M}$ とし, ケイ酸塩は添加しなかった。培養は増殖に最適な条件 (山本・樽谷, 1997; 温度 $15\pm 1^\circ\text{C}$, 光強度 $200\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 12時間:12時間明暗サイクル) で行った。

実験に用いたガラス器具類は, 10% 希塩酸に一昼夜浸し, イオン交換水で十分に洗浄して自然乾燥させた後, オートクレーブ滅菌 (121°C , 15分) または乾熱滅菌 (170°C , 2時間) を行ってから使用した。

2. 溶存態リンの取り込み実験

3ℓの平底フラスコに基本培地を1.5ℓ入れ, これに *A. tamarense* を接種して培養液中のリン酸塩が枯渇し, 細胞の増殖が停止するまでバッチ培養を行った。このリン枯渇細胞を含む培養液を 50ml ずつ12個の100ml 三角フラスコに分注し (細胞密度は $3390\pm 150\text{ cells ml}^{-1}$), リン酸塩溶液を添加して, それぞれの濃度が 0.43, 0.73, 1.40, 2.29, 5.19, 7.47 μM のものを2本ずつ作成した。30分間培養した後, 速やかに濾過し (Millipore, Type RA, 孔径 $1.2\mu\text{m}$), 濾液中のリン酸塩濃度, 全溶存態リン (TDP) 濃度を測定した。リン酸塩の定量はモリブデンブルー法 (日本海洋学会, 1990), TDP定量は過硫酸カリ加圧分解-モリブデンブルー法 (KOROLEFF, 1983) によりそれぞれ行った。また, 正確な添加濃度を確認するために, 培養液を濾過 (Millipore, Type RA, 孔径 $1.2\mu\text{m}$) した後, 実験区と同じようにリン酸塩溶液を添加してリン酸塩濃度と TDP 濃度を測定した。なお, 実験開始時の培養液中 DOP 濃度は $0.68\pm 0.04\mu\text{M}$ であった。

3. 半連続培養による増殖実験

基本培地を用いてバッチ培養を行い, 対数増殖期の細胞を含む培養液を 100ml ずつ, 200ml 三角フラスコ 9個に分注した。翌日より毎日, 希釈率 ($D=0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25, 0.30, 0.35, 0.40, 0.45$) に応じて抜き取り, これと同量の基本培地を添加した。抜き取った培養液中の細胞数を光学顕微鏡で計数し, 細胞密度の変動が $\pm 5\%$ の誤差に3日間連続して取まった時, 定常状態に達しとみなし, リン酸塩濃度, TDP 濃度の測定を行った。ただし, $D=0.40$ と 0.45 については定常状態に至らなかったため, 途中で実験を打ち切り, リン酸塩濃度, TDP 濃度の測定を行った。なお, 供給培養液 (基本培地) 中の DOP 濃度は $0.02\pm 0.04\mu\text{M}$ であった。

半連続培養では, 定常状態において, 増殖速度 (μ, day^{-1}) と希釈率 (D, day^{-1}) との間には $\mu = -\ln(1-D)$ の関係があるので (TILMAN and KILHAM, 1976; NAKAMURA, 1985), 希釈率から増殖速度を算出した。

結 果

1. リン酸塩濃度と DOP 取り込み速度

培養後の DOP 濃度は, 添加したリン酸塩の量が少ない場合 ($0.43\sim 1.40\mu\text{M}$) には減少し, 多い場合 ($2.29\sim 7.47\mu\text{M}$) には増加した (Table 1)。今回の実験による DOP の増加または減少は取り込みと排出の差であるので, リン酸塩の添加が少ない場合には DOP の取り込みが排出を上回り, リン酸塩の添加が多い場合には DOP の排出が取り込みを上回ったことを示している。添加リン酸塩濃度に対する DOP の変化率を Fig. 1 に示した。添加リン酸塩濃度 $2\mu\text{M}$ 付近を境に, それ以下の濃度で DOP の取り込みが排出を上回り, その速度は約 $0.1\text{ pmol cell}^{-1}\text{ h}^{-1}$ 程度であった。これはリン酸塩の取り込み速度が $0.2\text{ pmol cell}^{-1}\text{ h}^{-1}$ 程度であるので, その半分に相当する。一方, リン酸塩添加が最も多かった場合では, 培養液中の DOP の増加速度は $0.25\text{ pmol cell}^{-1}\text{ h}^{-1}$ であり, 取り込まれたリン酸塩の約37%に相当する DOP が差し引き排出されている計算になる。これらが取り込みと排出の差であることを考慮すると, 実際の取り込み速度と排出速度はさらに大きいことが期待される。

Table 1. Uptake/excretion of phosphate and dissolved organic phosphorus (DOP) by *Alexandrium tamarense*. N: cell concentration, S_i^0 and S_o^0 : the initial concentration of phosphate and DOP, S_i and S_o : the final concentration of phosphate and DOP, and ρ_i and ρ_o : the uptake rate of phosphate and DOP. 15±1°C, 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 12L:12D (L=08:00-20:00).

N (cells ml ⁻¹)	S_i^0 (μM)	S_i (μM)	$S_i-S_i^0$ (μM)	ρ_i (pmol cell ⁻¹ h ⁻¹)	S_o (μM)	$S_o-S_o^0$ (μM)	ρ_o (pmol cell ⁻¹ h ⁻¹)
3580±30	0.43	0.16±0.03	-0.28±0.06	0.16±0.02	0.48±0.05	-0.20±0.05	0.11±0.03
3380±30	0.73	0.39±0.03	-0.34±0.03	0.20±0.02	0.56±0.04	-0.12±0.04	0.07±0.02
3460±10	1.40	1.01±0.02	-0.40±0.02	0.23±0.01	0.52±0.14	-0.16±0.14	0.09±0.08
3400±160	2.29	1.69±0.00	-0.60±0.00	0.36±0.02	0.97±0.09	-0.29±0.09	-0.17±0.06
3370±30	5.19	4.52±0.03	-0.68±0.03	0.40±0.02	0.90±0.10	0.22±0.10	-0.13±0.06
3150±40	7.47	6.41±0.01	-1.06±0.01	0.68±0.01	1.08±0.16	0.40±0.16	-0.25±0.10

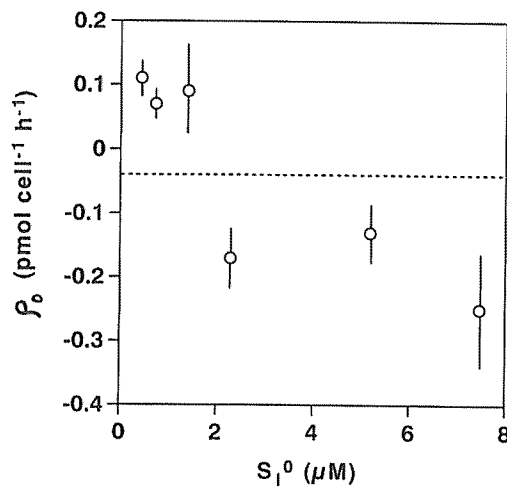


Fig. 1. Influence of phosphate concentration on net DOP uptake rate of *Alexandrium tamarense*. Circles and bars show the average and standard deviation of duplicate treatments, respectively. A tendency to uptake in low phosphate concentration and to excrete in high phosphate concentration is clearly observed.

2. 増殖速度と DOP の排出

半連続培養において、希釈率が小さい場合 (0.05~0.30 day⁻¹) には約10日で定常状態が得られたが、希釈率が大きい場合 (0.35~0.45 day⁻¹) には培養液中の細胞密度は日数の経過につれて減少した (Fig. 2). また、高い希釈率 (0.40 day⁻¹ と 0.45 day⁻¹) では定常状態が得られなかった。これは、高い希釈率に対して細胞の増殖が追いつかず細胞が流出 (washout) してしまったためである。定常状態が得られた希釈率 0.05~0.35 day⁻¹ のうち 0.35 day⁻¹ を除いて、培養液中のリン酸塩濃度は 0.00~0.05 μM でほとんど検出されず、これは *A. tamarense* の増殖がリン酸塩によって制限されていたことを意味している。

定常状態時の培養液中 DOP 濃度は、希釈率 0.05~0.30 day⁻¹ (比増殖速度 0.05~0.36 day⁻¹) では初期濃度 $0.02\pm 0.04 \mu\text{M}$ と大きく異ならなかったが、0.35 day⁻¹ (比増殖速度 0.43 day⁻¹) 以上では有意に高くなった (t-検定, $p<0.05$) (Table 2). このようにリン酸塩が十分に存在し、活発に増殖する場合には、取り込んだリンを DOP の形で排出することが示唆された (Fig. 3).

考 察

今回の予備的実験では、*A. tamarense* はリン酸塩濃度が低い場合には DOP を利用する可能性が示唆され

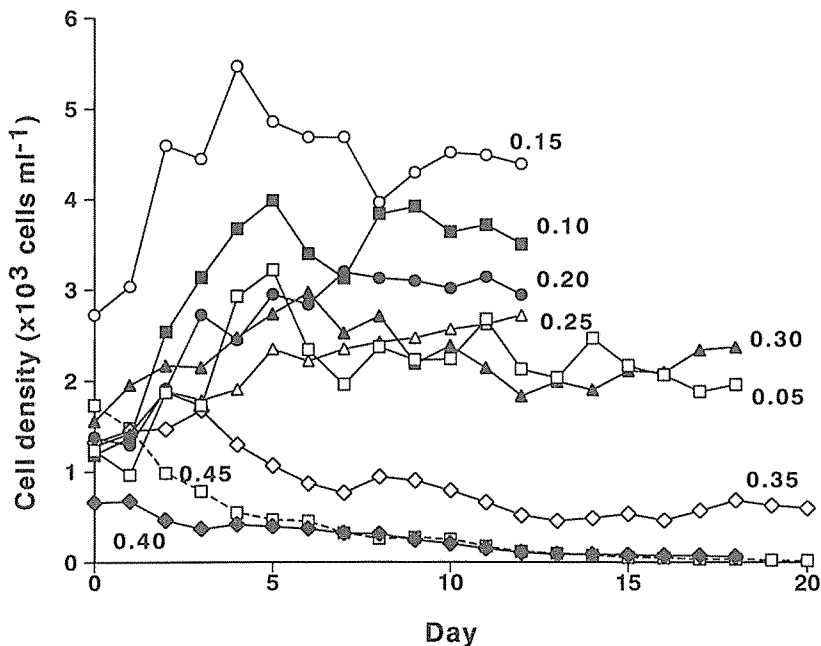


Fig. 2. Variations in cell density of *Alexandrium tamarense* at various dilution rates (numbers per day⁻¹) during the semi-continuous culture.

Table 2. Uptake/excretion of phosphate and dissolved organic phosphorus (DOP) by *Alexandrium tamarense* in the steady-state condition. D: dilution rate, μ : growth rate, S_i and S_0 : the final concentration of phosphate and DOP (the initial concentration of phosphate and DOP (S_i^0 and S_0^0) were 2.79 and 0.02 μ M, respectively). 15 \pm 1°C, 200 μ mol m⁻² s⁻¹, 12L:12D (L=08:00-20:00).

D (d ⁻¹)	μ (d ⁻¹)	S_i (μ M)	$S_i - S_i^0$ (μ M)	S_0 (μ M)	$S_0 - S_0^0$ (μ M)
0.05	0.05	0.05	2.74	0.03	-0.01
0.10	0.11	ND	ND	ND	ND
0.15	0.16	0.01	2.78	0.08	-0.06
0.20	0.22	0.00	2.79	0.00	0.02
0.25	0.29	0.00	2.79	0.03	-0.01
0.30	0.36	0.00	2.79	0.00	0.02
0.35	0.43	0.50	2.00	0.23	-0.21
0.40	0.51	1.38	1.41	0.42	-0.40
0.45	0.60	0.27	1.23	0.22	-0.20

た. 水中での DOP の再生は, 主に植物プランクトンやバクテリアの細胞表面や水中に溶存するアルカリフォスファターゼ (PERRY, 1972) と 5-スクレオチダーゼ (AMMERMAN and AZAM, 1985) (これらは細胞表面から容易に遊離して水中に溶存する) による加水分解によって起こる. フォスファターゼには酸性フォスファターゼもあるが (KUENZLER and PERRAS, 1965), アルカリ性である海水中やそれと接する細胞表面で作用するのはアルカリフォスファターゼであり, リン酸塩欠乏時に DOP の中でもリン酸モノエステルを加水分解して利用可能なリン酸塩に変える (KUENZLER, 1965; KUENZLER and PERRAS, 1965; PERRY, 1972). 今回の結果は, リン酸塩濃度が低いほどアルカリフォスファターゼ活性が高くなるという報告 (FITZGERALD and NELSON, 1966; SMITH and KALFF, 1981) と一致する. *A. tamarense* についてもリン酸塩濃度とアルカリフォスファターゼ活性との間に負の関係が報告されている (BONI *et al.*, 1989).

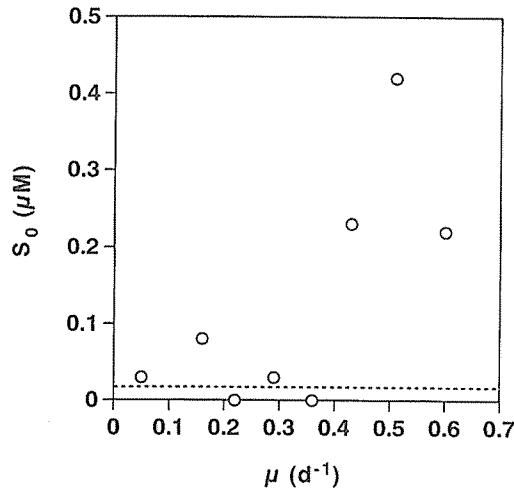


Fig. 3. DOP excretion by *Alexandrium tamarense* at high growth rates in the semi-continuous culture. A broken line shows the concentration of DOP ($0.02 \mu\text{M}$) supplied to the culture.

今回の実験では、リン酸塩約 $2 \mu\text{M}$ 以下で DOP の利用が相対的に DOP の排出を上回ることが示唆された。アルカリフォスファターゼは 5'-ヌクレオチダーゼよりも環境水中の低リン酸塩濃度に対して敏感であるため、リン酸塩枯渇の指標として用いられてきたが (PAASCHE and ERGA, 1988; AMMERMAN, 1991; LAPOINTE, 1995)、生成物であるリン酸塩によって活性が阻害されることも知られている (BENGIS-GARBER and KUSHNER, 1981, 1982; AMMERMAN and AZAM, 1985)。バルト海 の自然群集を対象とした NAUSCH (1998) の結果では、リン酸塩 $1 \mu\text{M}$ 付近にアルカリフォスファターゼの活性化が始まる閾値があり、 $0.2 \mu\text{M}$ で完全に DOP 利用に切り替わるようであると報告されており、渦鞭毛藻 *Pyrocystis noctiluca* を用いた単種培養ではリン酸塩 $0.05 \mu\text{M}$ 以上でアルカリフォスファターゼ活性が抑制され、 $3 \mu\text{M}$ で同酵素反応系は完全に作用しなくなると報告されている (RIVKIN and SWIFT, 1979, 1980)。今回の *A. tamarense* について得られた約 $2 \mu\text{M}$ という値はこれまでの報告と比べて高い方であり、本種のリン酸塩に対する親和性が低いことを考慮すると (YAMAMOTO and TARUTANI, 1999)、DOP の利用能に優れているのかもしれない。

今回の半連続培養において、*A. tamarense* は希釈率が高い実験区で DOP を排出することが示唆された。これまで、バッチ培養実験では、DOP の排出は増殖速度が低下した定常期に多いという報告がなされている (KUENTZLER, 1970; LEAN and NAREWAJKO, 1976)。バッチ培養の定常期は培養液中のリン酸塩が枯渇した状態にある。一方、今回の半連続培養での希釈率が高い場合はリン酸塩が十分量存在し、活発に増殖している状態であり、これらの状況はまったく異なる。すなわち、今回の結果から、リン酸塩が余剰に存在して、リン酸塩を多量に取り込む場合にも、DOP を排出するものと考察される。

DOP は現場海水中に溶存するリンの主要部分を占め (STRICKLAND and AUSTIN, 1960)、有光層内において植物プランクトンが利用できるリン源として重要視されている (JACKSON and WILLIAMS, 1985)。また、沿岸域では陸域から流入する DOP が植物の生長に大きな影響を与えていることも確かである (MEYBECK, 1993)。しかしながら、自然海水中に溶存する DOP のうち、どのような形態のものを植物プランクトンが利用するかについての研究は最近になって行われるようになったばかりである (例えば、BJORKMAN and KARL, 1994)。SUZUMURA *et al.* (1998) は最近、限外濾過により東京湾水を分子量の違いでサイズ分画することにより、一般にアルカリフォスファターゼにより分解されやすい低分子画分 (<10 kDa) の DOP が大半を占めていることを報告している。

プランクトンの DOP 利用に関する報告の多くは、リン酸塩が枯渇することが多い湖沼などの陸水に対して既知物質の人為的添加を行うという実験結果についてである (BERMAN, 1988; BENTZEN *et al.*, 1992;

COTNER and WETZEL, 1992). *A. tamarense* と近縁種である *A. catenella* に関しては、定性的ではあるが、人為的に添加した有機態リンの多くの種類を利用できることが報告されている(松田ら, 1999). *A. tamarense* については、グリセロリン酸を利用するかどうかということについて、利用しないという報告と(PRAKASH and RASHID, 1968), 利用するという報告があり(阿知波・岩崎, 1990), 定性的にも定量的にも十分な結論に至っていない。今後, *A. tamarense* の各種有機態リンに対する利用度をそのカイネティクスも含めて定量的に把握するとともに, *A. tamarense* が発生する春季にリン酸塩が枯渇する広島湾海水中に溶存する DOP の何割が本種にとって利用可能であるのかに関する研究を進める必要がある。

謝 辞

英文を見ていただいた Vaishali Pawar 女史に感謝する。

引用文献

- 阿知波英明・岩崎英雄 1990. 有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium tamarense* の増殖特性. 藻類, **38**, 51-59.
- AMMERMAN, J. W. 1991. Role of ecto-phosphorylases in phosphorus regeneration in estuarine and coastal ecosystems. *In*, CHROST, R. J. (ed.), *Microbial Enzymes in Aquatic Environments*, pp. 165-186, Springer-Verlag, New York.
- AMMERMAN, J. W. and F. AZAM 1985. Bacterial 5'-nucleotidase in aquatic ecosystems; a novel mechanism of phosphorus regeneration. *Science*, **207**, 1338-1340.
- ANDERSON, D. M. 1989. Toxic algal blooms and red tides: A global perspective. *In*, OKAICHI, T., ANDERSON, D. M. and NEMOTO, T. (eds.), *Red Tides*, pp. 11-16, Elsevier, New York.
- BENGIS-GARBER, C. and D. J. KUSHNER 1981. Purification and properties of 5'-nucleotidase from the membrane of *Vibrio costicola*, a moderate halophilic bacterium. *J. Bacteriol.*, **146**, 24-32.
- BENGIS-GARBER, C. and D. J. KUSHNER 1982. Role of membrane bound 5'-nucleotidase in nucleotide uptake by a moderate halophile *Vibrio costicola*. *J. Bacteriol.*, **149**, 808-815.
- BENTZEN, E., W. D. TAYLOR and E. S. MILLARD 1992. The importance of organic phosphorus to phosphorus uptake by limnetic plankton. *Limnol. Oceanogr.*, **37**, 217-231.
- BERMAN, T. 1988. Differential uptake of orthophosphate and organic phosphorus substrates by bacteria and algae in Lake Kinneret. *J. Plankton Res.*, **10**, 1239-1249.
- BJÖRKMANN, K. and D. M. KARL 1994. Bioavailability of inorganic and organic phosphorus compounds to natural assemblages of microorganisms in Hawaiian coastal waters. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **111**, 265-273.
- BONI, L., E. CARPENÉ, D. WYNNE and M. RETI 1989. Alkaline phosphatase activity in *Protogomyaulax tamarensis*. *J. Plankton Res.*, **11**, 879-885.
- CEMBELLA, A., N. J. ANTIA and P. J. HARRISON 1984a. The utilization of inorganic and organic phosphorous compounds as nutrients by eukaryotic microalgae: A multidisciplinary perspective: Part 1. *CRC Crit. Rev. Microbiol.*, **10**, 317-391.
- CEMBELLA, A., N. J. ANTIA and P. J. HARRISON 1984b. The utilization of inorganic and organic phosphorous compounds as nutrients by eukaryotic microalgae: A multidisciplinary perspective: Part 2. *CRC Crit. Rev. Microbiol.*, **11**, 13-81.
- CHU, S. P. 1946. Utilization of organic phosphorus by phytoplankton. *J. mar. biol. Ass. U.K.*, **26**, 285-295.
- COTNER, J. B. and R. G. WETZEL 1992. Uptake of dissolved inorganic and organic phosphorus compounds by phytoplankton and bacterioplankton. *Limnol. Oceanogr.*, **37**, 232-243.
- FITZGERALD, C. P. and T. NELSON 1966. Extractive and enzymatic analyses for limiting or surplus phosphorus in algae. *J. Phycol.*, **2**, 32-37.
- GUILLARD, R. R. L. 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. *In*, SMITH, W. L. and M. H. CHANLEY (eds.), *Culture of Marine Invertebrate Animals*, pp. 29-60, Plenum Publishing Corp., New York.
- HALLEGRAEFF, G. M. 1993. A review of harmful algal blooms and their apparent global increase. *Phycologia* **32**,

79-99.

- HARVEY, H. W. 1953. Note on the absorption of organic phosphorus compounds by *Nitzschia closterium* in the dark. *J. mar. biol. Assoc. U.K.*, **31**, 475-476.
- 広島県 1993. 平成4年度赤潮貝毒監視事業報告書 (貝毒調査事業). 6 pp.
- IMAI, I. and M. YAMAGUCHI 1994. A simple technique for establishing axenic cultures of phytoflagellates. *Bull. Japan. Soc. Microb. Ecol.*, **9**, 15-17.
- JACKSON, G. A. and P. M. WILLIAMS 1985. Importance of dissolved organic nitrogen and phosphorus to biological nutrient cycling. *Deep-Sea Res.*, **32**, 223-235.
- 城久 1991. 大阪湾の開発と海洋環境の変遷. 沿岸海洋研究ノート, **29**, 3-12.
- KOROLEFF, F. 1983. Determination of total phosphorus by acid persulphate oxidation. In, GRASSHOFF, K., M. EHRHARDT and K. KREMLING (eds.), *Methods of Seawater Analysis*, pp. 134-136, Verlag Chemie, Weinheim.
- KUENTZLER, E. J. 1965. Glucose-6-phosphate utilization by marine algae. *J. Phycol.*, **1**, 156-164.
- KUENTZLER, E. J. 1970. Dissolved organic phosphorus excretion by marine phytoplankton. *J. Phycol.*, **6**, 7-13.
- KUENTZLER, E. J. and J. P. PERRAS 1965. Phosphatases of marine algae. *Biol. Bull.*, **128**, 271-284.
- LAPOINTE, B. E. 1995. A comparison of nutrient-limited productivity in *Sargassum natans* from neritic vs. oceanic waters of the Western North Atlantic. *Limnol. Oceanogr.*, **40**, 625-633.
- LEAN, D. R. S. and C. NAREWAKO 1976. Phosphate exchange and organic phosphorus excretion by freshwater algae. *J. Fish. Res. Board Can.*, **33**, 1312-1323.
- MATSUDA, O. and A. MARUYAMA 1985. Gel chromatographic characterization of dissolved organic phosphorus in eutrophic seawater during a phytoplankton bloom. *J. Plankton Soc. Japan*, **32**, 91-99.
- 松田篤志・西島敏隆・深見公雄 1999. 有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium catenella* の増殖に及ぼす窒素・リン栄養塩の影響. 日本誌, **65**, 847-855.
- MEYBECK, M. 1993. C, N, P and S in rivers: From sources to global inputs. In. Wollast, R., F. T. Mackenzie and L. Chou (eds.), *Interactions of C, N, P and S Biogeochemical Cycles and Global Change*, pp. 163-193, Springer-Verlag, Berlin.
- NAKAMURA, Y. 1985. Kinetics of nitrogen- or phosphorus-limited growth and effects of growth conditions on nutrient uptake in *Chattonella antiqua*. *J. oceanogr. Soc. Japan*, **41**, 381-387.
- NAUSCH, M. 1998. Alkaline phosphatase activities and the relationship to inorganic phosphate in the Pomeranian Bight (southern Baltic Sea). *Aquat. Microb. Ecol.*, **16**, 87-94.
- 日本海洋学会 1990. 海洋観測指針. 気象庁 (編), 428 pp.
- 西澤一俊・千原光雄 1979. 藻類研究法, 共立出版, 754 pp.
- PAASCHE, E. and S. R. ERGA 1988. Phosphorus and nitrogen limitation of phytoplankton in the inner Oslofjord (Norway). *Sarsia*, **73**, 229-243.
- PERRY, M. J. 1972. Alkaline phosphatase activity in subtropical Central North Pacific waters using a sensifluorometric method. *Mar. Biol.*, **15**, 113-119.
- PRAKASH, A. and M. A. RASHID 1968. Influence of humic substance on the growth of marine phytoplankton: Dinoflagellates. *Limnol. Oceanogr.*, **13**, 598-606.
- RIVKIN, R. B. and E. SWIFT 1979. Diel and vertical patterns of alkaline phosphatase activity in the tropical marine dinoflagellate *Pyrocystis noctiluca*. *Limnol. Oceanogr.*, **24**, 107-116.
- RIVKIN, R. B. and E. SWIFT 1980. Characterization of alkaline phosphatase and organic phosphorus utilization in the oceanic dinoflagellate *Pyrocystis noctiluca*. *Mar. Biol.*, **61**, 1-8.
- 瀬戸内海環境保全協会 1998. 平成10年度瀬戸内海の環境保全-資料集-. 環境庁水質保全局 (監修), 83 pp.
- SHUMWAY, S. E. 1990. A review of the effects of algal blooms in shellfish and aquaculture. *J. World Aquacult. Soc.*, **21**, 65-104.
- SMAYDA, T.J. 1989. Primary production and the global epidemic of phytoplankton blooms in the sea: A linkage?.

- In, Coper, E.M., E.J. Carpenter and V.M. Bricej (eds.), Novel Phytoplankton Blooms: Causes and Impacts of Recurrent Brown Tides and Other Unusual Blooms (Lecture Notes on Coastal and Estuarine Studies), pp. 449-483, Springer-Verlag, Berlin.
- SMAYDA, T.J. 1990. Novel and nuisance phytoplankton blooms in the sea: Evidence for a global epidemic. In, GRANELL, E., B. SUNDSTRÖM, L. EDLER and D.M. ANDERSON (eds.), Toxic Marine Phytoplankton, pp. 29-40, Elsevier, New York, Amsterdam, London.
- SMITH, R. E. H. and J. KALFF 1981. The effect of phosphorus limitation on algal growth rates: Evidence from alkaline phosphatase. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **38**, 1421-1427.
- STRICKLAND, J. D. H. and K. H. AUSTIN 1960. On the forms, balance and cycle of phosphorus observed in the coastal and oceanic waters of the northeastern Pacific. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **17**, 337-345.
- SUZUMURA, M., K. ISHIKAWA and H. OGAWA 1998. Characterization of dissolved organic phosphorus in coastal seawater using ultrafiltration and phosphohydrolytic enzymes. *Limnol. Oceanogr.*, **43**, 1553-1564.
- 樽谷賢治 1999. 有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium tamarense* の増殖機構に関する生理生態学的研究. 瀬戸内水研報, **1**, 63-96.
- TILMAN, D. and S. S. KILHAM 1976. Phosphate and silicate growth and uptake kinetics of the diatoms *Asterionella formosa* and *Cyclotella meneghiniana* in batch and semicontinuous culture. *J. Phycol.*, **12**, 375-383.
- 山本民次・樽谷賢治 1997. 広島湾産有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium tamarense* の増殖に及ぼす水温、塩分及び光強度の影響. 藻類, **45**, 95-101.
- YAMAMOTO, T. and K. TARUTANI 1999. Growth and phosphate uptake kinetics of the toxic dinoflagellate *Alexandrium tamarense* from Hiroshima Bay in the Seto Inland Sea, Japan. *Phycol. Res.*, **47**, 27-32.
- 山本民次・樽谷賢治・松田 治 (印刷中) 有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium tamarense* ブルームの発生メカニズムとその予知および防御の可能性. 石田祐三郎 (編) : 有害・有毒赤潮の発生と予知・防除. 日本水産資源保護協会, 東京.

Utilization and Excretion of Dissolved Organic Phosphorus by *Alexandrium tamarense* (Hiroshima Bay Strain)

Tamiji YAMAMOTO, Kenji TARUTANI, Mutsue KAWAHARA and Seok-Jin OH

*Faculty of Applied Biological Sciences, Hiroshima University,
Higashi-Hiroshima 739-8528, Japan*

Capability of utilization and excretion of dissolved organic phosphorus (DOP) by the toxic dinoflagellate *Alexandrium tamarense* (Hiroshima Bay strain) was investigated with both batch and semi-continuous cultures using natural aged-seawater from Hiroshima Bay. In the batch cultures, significant net DOP uptake was detected in phosphate concentrations below $2\ \mu\text{M}$, while net DOP excretion was observed above this concentration. The semi-continuous culture showed that *A. tamarense* excretes DOP at high dilution rates. At these rates, this organism grows fast by utilizing sufficient phosphate in the medium. These experiments, although preliminary, suggest that *A. tamarense* (Hiroshima Bay strain) can utilize DOP of natural seawaters under a condition of low phosphate concentration and excretes DOP under a condition of high phosphate concentration.

Key words: *Alexandrium tamarense*, dissolved organic phosphorus, excretion, uptake