

## 9219 海洋中に存在する石灰藻による二酸化炭素の固定と地球環境浄化の機構学的研究

助成研究者:古崎新太郎(東京大学 工学部)

共同研究者:関 実(東京大学)

## 1.研究目的

大気中の二酸化炭素濃度の上昇に起因する地球温暖化が危惧されている。地球規模の炭素循環においては海洋の果たす役割は大きく、人間活動に伴って放出される二酸化炭素の50%は海洋に溶け込んでいると考えられている。しかしながら、海洋中の炭素移動に重要な働きをしていると考えられる海洋生物特に、微細藻類の炭素固定が果たす役割については十分な検討がなされてこなかった。本研究においては、海洋の微細藻類の中で石灰藻に注目し、その増殖および炭素固定速度に及ぼす環境因子の影響を明らかにすることを目的とした。

## 2.研究方法

代表的な石灰藻 *Cricosphaera carterae* の培養を行ない、その増殖および炭素固定速度の栄養塩濃度および二酸化炭素濃度に対する依存性を実験的に検討した。実験には栄養塩強化海水培地と人工海水培地を用い、白色蛍光灯によって12時間/12時間の明暗周期をつけて培養した。通気ガス中の二酸化炭素濃度は、通常空気と二酸化炭素富化空気を混合することにより調整した。

## 3.研究結果および考察

まず、栄養塩の取り込み速度が、分裂の起きない明期に高く、暗期の増殖期には低下することを明らかにした。また、硝酸イオン濃度に対する増殖速度の依存性を半連続培養により実測し、外部栄養塩濃度と内部の蓄積濃度に対する2種類の定式化が可能であることを示した。海洋表層の平均窒素濃度  $15\text{mg}/\text{m}^3$  では、比増殖速度は、 $0.53\text{ d}^{-1}$  であった。最大比増殖速度は  $0.9\text{ d}^{-1}$  であり、有機炭素に対する無機炭素の固定比は概ね0.1であった。さらに、通気ガス中の二酸化炭素濃度を約2倍(715ppm)に増加させて培養を行った。二酸化炭素濃度の上昇に6週間かけた条件も検討したが、増殖速度および細胞あたりの無機炭素の固定量には大きな差が見られなかった。これらの知見を用いて、地球全体での石灰藻による炭素固定量を概算した。



## 9219 海洋中に存在する石灰藻による二酸化炭素の固定と地球環境浄化の機構学的研究

助成研究者:古崎新太郎(東京大学 工学部)

共同研究者:関 実(東京大学)

## 1. 研究目的

大気中の二酸化炭素濃度の上昇に起因する地球温暖化が危惧されている。一方、人間活動により大気中に放出されている炭素の大気残留率は約50%であり、残りの大部分は海洋に吸収されていると考えられている。そのため、様々な大気-海洋間の炭素循環モデルが提案されてきているが、未だに上述の大気残留率を説明できないでいる。その原因として、海洋内の生物活動を考慮していないことが指摘されている<sup>10)</sup>。植物プランクトンの純生産量は、炭素換算で概ね年間200-300億tonと推定<sup>1)</sup>されており、これら海洋生物由来の粒子状物質の沈降並びに生物由来の溶存有機物の拡散による深海への輸送が、海洋表層からの炭素除去に大きな役割を果たしていると考えられる。

従って、温暖化問題の将来予測や対策技術の評価には、海洋中の生物活動、特に、環境変動に対する生物の応答をも考慮した炭素循環モデルの構築が必要である。実際、植物プランクトンによる炭素固定も考慮したモデルが提案されている<sup>10)</sup>が、そのモデル化に必要とされるデータが不足しているのが現状である。

現海洋の生物起源の堆積物の中で量的に最も多いのは、石灰藻に由来するココリス類(Coccolithophores)と呼ばれる炭酸カルシウムである<sup>11)</sup>。このことを考慮して、我々は植物プランクトンのうち石灰藻に着目した。中でも本研究に用いる円石藻類は、海洋全域に広く分布し、形は小さいが量が多く、特に外洋においてはその生産量も大きく、海洋における炭素の循環に大きな役割を果たしていると推定されている<sup>8,13)</sup>。

石灰藻の生態<sup>29,13,15)</sup>、および石灰化機構<sup>3,6,16,17,19)</sup>については多くの研究があるが、これまで増殖および炭素固定に関する速度論的研究はほとんど行なわれて来なかった。そこで、本研究の目的は、石灰藻の一種である円石藻類に属する*Cricosphaera carterae*の培養を行い、その外部環境、特に栄養塩濃度およびCO<sub>2</sub>濃度に対する増殖(光合成)と石灰化の速度の依存性について実験的な検討を行うことによって、海洋中での炭素の循環に果たす石灰藻の役割の一端を明らかにすることである。

## 2. 研究方法

## 2.1 藻株および培地

実験に用いた藻株は、ハプト藻綱の円石藻と呼ばれる一群に属する *Cricosphaera* aff. *carterae* CCAP 961/2 (syn. ; *Pleurochrysis* aff. *carterae*, *Hymenomonas* aff. *carterae*) である。保存には、栄養塩強化海水培地の一種であるGUI培地 (Guillard's Medium = f/2)<sup>4,7)</sup> を用い、静置培養で20日毎に継代した。培養温度18℃、光照射には白色蛍光灯を使用し、照度約8000 lux、12時間/12時間の明暗周期で培養を行なった。

栄養塩摂取速度の実験には、Table 1 に示した人工海水培地を用い、必要に応じて硝酸ナトリウムあるいはリン酸水素カリウムの濃度を調整した。

## 2.2 回分培養

実験装置をFig. 1 に示す。必要に応じて通常空気 (CO<sub>2</sub>濃度約350 ppm) とCO<sub>2</sub>富化空気を混合することによりCO<sub>2</sub>濃度を制御した空気を水中に吹き込み加湿飽和させ、ガラスボールフィルターを用いて通気量100 cm<sup>3</sup>/minで反応槽に吹き込んだ。反応槽はガラス製直径84mmの円筒状で内容量約450cm<sup>3</sup>である。反応槽内の培養液のpHはオンラインでモニターし、場合により0.2N HClおよびNaOHを自動添加して調整した。さらに、反応槽の両側に20W蛍光灯を4本ずつ設置し、反応槽表面で8000 luxに保たれるようにした。また、タイマーを用

Table 1 Composition of Artificial Seawater Medium

NaCl	18.0 g
KCl	0.600 g
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.100 g
CaCl <sub>2</sub>	0.2775 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.030 g
NaSiO <sub>3</sub> ·9H <sub>2</sub> O	0.200 g
NaNO <sub>3</sub>	0.500 g
Tris(hydroxymethyl)aminomethane	1.00 g
Vitamin B <sub>12</sub>	0.000003 g
Thiamine·HCl	0.0001 g
Sodium lactate	2.0 g
Trace metal solution	10.0 cm <sup>3</sup>
Make up to 1 litre with distilled water.	
Trace metal solution	mg / 100 cm <sup>3</sup> of water
Hydroxyethyl ethylenediamine	300.0
-triacetic acid ( HEDTA)	
FeCl <sub>2</sub>	20.0
MnCl <sub>2</sub>	10.0
ZnCl <sub>2</sub>	5.0
CoCl <sub>2</sub>	0.1
CuCl <sub>2</sub>	0.2
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub>	5.0
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	20.0
Adjust pH to 8.1 .	

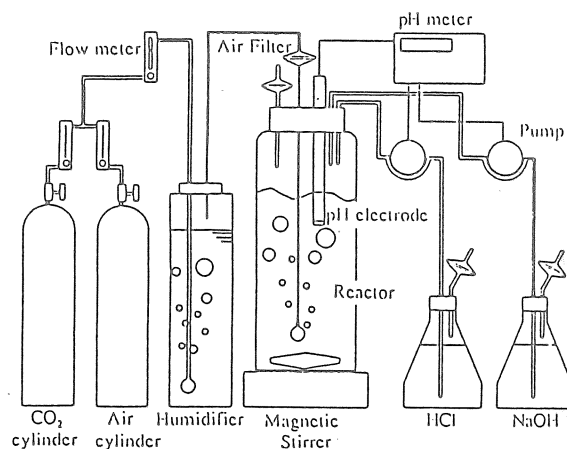


Fig.1 Schematic diagram of experimental apparatus

いて、12時間/12時間の明暗周期を付けた。装置全体を温度18℃に制御したインキュベーター内に設置した。

栄養塩摂取速度の栄養塩濃度依存性の測定は初速度法により、対象となる栄養塩を所定濃度含む培養液に細胞を添加し、Magnetic stirrerで攪拌しながら培養し、添加時と30分後にサンプリングした。サンプリング後ただちに0.45 μmのメンブレンフィルターで濾過し、濾液中の栄養塩濃度を測定した。

### 2.3 半連続培養

増殖速度の窒素源濃度依存性の実験は、次の手順によった。①窒素源制限人工海水培地 (NaNO<sub>3</sub>: 14 mg/litre) で1週間程度前培養を行った。②200 cm<sup>3</sup>の三角フラスコに①の培養液を150 cm<sup>3</sup>ずつ分注し、増殖停止直後の暗期終了の約3時間前に、希釈率*D*に応じて新鮮な窒素源制限培地と交換した。希釈率は、 $D=30/150 \text{ d}^{-1}$  (一日一回150 cm<sup>3</sup>の培地のうち30 cm<sup>3</sup>を交換)、 $40/150 \text{ d}^{-1}$ 、 $50/150 \text{ d}^{-1}$ 、 $60/150 \text{ d}^{-1}$ 、 $70/150 \text{ d}^{-1}$ 、 $80/150 \text{ d}^{-1}$ の6条件を選んだ。光照射条件は回分培養と同じである。攪拌にはMagnetic stirrerを用いた。③抜き取った培養液中の細胞濃度を測定した。④以後、一日一回同時刻に培地交換を行ない、細胞濃度が定常 (±5%の変動以内) になるまで繰り返した。培地交換の前後で容器重量を測定し蒸発量に見合う滅菌蒸留水を添加した。⑤細胞濃度が定常になった時点で、培養液中の窒素濃度変化を測定した。

CO<sub>2</sub>濃度依存性の実験に用いた装置は、回分培養に用いたものとはほぼ同じである。しかし、この場合は窒素制限をしたGUI培地 (NaNO<sub>3</sub>濃度を上述の窒素源制限人工海水培地と一致させたもの) を用いた。希釈率は $0.4 \text{ d}^{-1}$ で一定とした。

高濃度CO<sub>2</sub>に対する馴化培養にも、Fig.1の装置を用い、CO<sub>2</sub>濃度を約350 ppmから719 ppmまでを9段階に分けて階段状に増加させた繰り返し回分培養を行なった。各段階の接種サイズは440 cm<sup>3</sup>に対して10 cm<sup>3</sup>とした。また、各段階のCO<sub>2</sub>濃度に対して平衡な海水のpHはほぼ8.1から7.8へと変化する<sup>12)</sup>ので培養液中のpHも対応するように変化させた。

### 2.4 分析方法

細胞濃度は、培養液1 cm<sup>3</sup>に25%グルタルアルデヒド溶液を1滴滴下して固定後、Burker-Turk血球計算盤を用いて計数した。炭酸カルシウム固定量は、メンブレンフィルター (Millipore, 0.22 μm) により3~4 cm<sup>3</sup>の培養液から細胞を捕集し、Table 2のCa-free solutionで洗浄後、11.7

Table 2 Composition of Ca-free Solution

NaCl	24 g
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	5.0 g
MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	3.6 g
KCl	6.0 g
Tris(hydroxymethyl)aminomethane	0.24 g
NaHCO <sub>3</sub>	0.168 g

Make up to 1 litre with distilled water. Adjust pH to 8.1 with HCl.

g/litre 酸化ランタン，1N HCl溶液 5 cm<sup>3</sup> 中に16時間放置し炭酸カルシウムを溶解させ，この溶出液を希釈後遠心分離し，原子吸光光度計（Hitachi：Model 170-10）によりCa濃度として定量した。

有機炭素固定量は，培養液から細胞を遠心捕集し，濾過海水で洗浄後，超音波ホモジナイズし，全有機炭素計（島津：TOC-5000）により定量した。バックグラウンドとして濾過海水を用いた。同一サンプルに対し2回測定し，誤差が2%以内となるようにした。

硝酸性窒素は，カドミウム・銅カラム還元法<sup>9)</sup>により，リン酸性的リンは，モリブデンブルー法<sup>20)</sup>によって定量した。CO<sub>2</sub>濃度の定量は，ガスクロ（島津：GC-3BT）によった。カラムはPorapak Qを用い，検出はTCDを用いた。

細胞の形状および石灰殻の観察には，走査型電子顕微鏡を用いた。細胞懸濁液をグルタルアルデヒドで固定し，0.22 μmのメンブレンフィルター（Nippon Millipore Kogyo, Yonezawa）を用いて濾過し，フィルター上に捕集された細胞を洗浄後，フィルターごと乾燥させ，白金を蒸着させて顕微鏡試料とした。

### 3. 研究結果および考察

#### 3.1 回分培養

通常空気による回分培養の増殖曲線をFig.2に示した。pHをコントロールした場合は，12時間/12時間の明暗周期であっても，増殖は速く，最終細胞量も $1.64 \times 10^6$  cells/cm<sup>3</sup>と，pHをコントロールしない連続光照射に比べて，約3倍になった。これは，増殖に従って培養液中の炭酸水素イオンが取り込まれたため，pHをコントロールしない場合，培養液のpHが最初の約8.1から6日目に9.0を超え，最終的には9.7となったことに起因すると考えられる。海洋での状況を実験的に明らかにするという目的から，以後の実験ではpHを海洋での平衡濃度になるように制御した。

Fig.2におけるpHを制御した培養において，細胞あたりのカルシウム固定量は概ね $10 \sim 20 \mu\text{g-Ca}/10^6$  cellsであり，Dorigan and Wilbur<sup>9)</sup>が*Cricospaera carterae*の別の藻株について得た結果ともほぼ一致している。これはCaCO<sub>3</sub>として無機炭素固定量に換算すると， $3 \sim 6 \times 10^{-9}$  mg-C/cellとなる。しかしながら，回分培養であるため，細胞あたりの固定量は培養経過に従い減少していく傾向にあった。

#### 3.2 栄養源摂取速度

明暗周期を付けた回分培養における増殖曲線は，正確にはFig.2のように滑らかな増加を示す訳ではない。便宜上，光照射開始時を0時とすると，細胞分裂（増殖）は明期にはほとんど起こらず，主として暗期の12時から20時30分にかけて起こって

いることが分かった。藻類の細胞分裂が一日のうちのある一定の時間に同調的に起こることは、多くの種で観察されており、栄養状態、温度、光周期などの種々の要因が影響すると考えられている<sup>9)</sup>。そこで、この同調性に栄養塩の取り込みがどのように関係しているのか検討した。

通常の世界では、植物プランクトンの増殖のために必要とされる元素のうち窒素とリンの濃度が、しばしば制限因子となることがあるため<sup>9)</sup>、 $\text{NO}_3^-$ および $\text{PO}_4^{3-}$ の摂取速度の栄養塩濃度依存性を実験により求めた。

栄養塩の取り込み速度は、細胞外の栄養塩の濃度に依存し、経験的にMichaelis-Menten(M-M)式で記述できるとされている<sup>9)</sup>。本実験の結果もM-M式で整理でき、最大取り込み速度 $V_{max}$ および飽和定数 $K_s$ で整理するとTable 3のようになった。その結果、栄養源摂取の最大速度は暗期の細胞分裂直前に小さく、細胞分裂直後の暗期および明期には比較的大きいことが明らかになった。また、飽和定数は海洋表層における平均濃度とオーダー的には一致した。

### 3.3 増殖速度の窒素濃度依存性

栄養源摂取の挙動は、窒素、リンに共通していたが、海洋においては、リンよりも窒素が制限因子となることが多いため<sup>9)</sup>、栄養源として窒素のみの影響を検討した。増殖速度に対する制限因子である窒素濃度の影響を調べることは、現在の海洋における炭素固定速度の見積りに有効であるばかりでなく、今後の人間活動による窒素源の海洋への流出あるいは $\text{CO}_2$ 濃度軽減のための積極的な対策としての窒素源の放出などの技術評価に際しても有益な情報を与える。

前節の結果からも明らかなように、海洋で起こっている現象を実験的に解明するに際して、周期一日の半連続培養を行って定常状態を与えることは、光の日周性から考えても合理的である。窒素源の影響を調べるために、まず窒素源が制限因子となる条件を設定した。最大細胞濃度に対する初期窒素源濃度の依存性を人工海水培地の硝酸ナトリウム濃度を変えることにより調べた。結果をFig.3に示した。窒素濃度に換算して、0~2.3 mg/litre の範囲では直線となり、硝酸イオンが制限因子となっていることが明らかとなった。よって、半連続培養においては、窒素濃度は2.3 mg/litre ( $\text{NaNO}_3$ 濃度にして14 mg/litre) とした。また、Fig.3の直線の傾きは、一個の細胞が必要な最小限の窒素量（最小細胞内窒素含有量）を意味しており、 $5.1 \times 10^{-12}$  g-N/cellであった。

半連続培養においては、一日一回暗期終了の3時間前（便宜上の時間で21:00）に希釈率に応じて150 cm<sup>3</sup>の培養液の一部を新鮮培地と交換した。培養時間の経過に従い、培養槽内の細胞濃度が徐々に増加し、一週間程度で定常となった。この場合、

一日のうちの特定の時期しか増殖は起きていないが、一日中平均的に増殖が起こったと考えると、比増殖速度 $\mu$ は希釈率 $D$ を用いて次式<sup>20)</sup>で表される。

$$\mu = -\ln(1-D)/t \quad (1)$$

本実験の場合、 $t$ は1日である。定常時の硝酸イオン濃度の日周変化の一例をFig.4に示した( $D=0.2 \text{ h}^{-1}$ の場合)。前節の実験でも示されたように明期に窒素濃度は大きく減少し、暗期では極くわずか取り込まれることが分かる。ここで、分裂開始時(12:00)の培養液中の窒素濃度の分析値とEq.(1)で計算される $\mu$ との関係を図示したのが、Fig.5である。一方、分裂開始時と希釈時の窒素濃度の差から、分裂開始時に細胞内に取り込んだ窒素量に対して $\mu$ をプロットしたのが、Fig.6である。

植物プランクトンの増殖と栄養源濃度の関係を示すのには、2種のモデルがある<sup>5)</sup>。一つは外部栄養調節モデルと呼ばれるもので、Monod型の次式で表される。

$$\mu = \mu_m \left( \frac{S}{K_S + S} \right) \quad (2)$$

本実験系では、Fig.5より、最大増殖速度 $\mu_m = 0.9 \text{ d}^{-1}$ 、半飽和定数 $K_S = 12 \mu \text{ g-N/litre}$ となった。一方、別の研究では、増殖速度は栄養塩の細胞内含量(蓄積量)に関係することが観察されている<sup>18)</sup>(内部栄養調節モデル)。この場合、増殖速度はDroopの式と呼ばれる次式で表現される。

$$\mu = \mu_m \left( 1 - \frac{Q_0}{Q} \right) \quad (3)$$

Fig.7の実線はEq.3で、最大増殖速度 $\mu_m = 0.9 \text{ d}^{-1}$ 、最小細胞内窒素含量 $Q_0 = 5.1 \times 10^{-12} \text{ g-N/cell}$ (Fig.3の直線の傾きとして求めたもの)として引いたものである。Figs.5,6に示されたように、Eqs.(2),(3)が同時に成立するという事は、定常状態における細胞内外の栄養塩濃度の間のある種の平衡関係の成立を意味しているが、実際の海洋中においても、局所的には成立しうると考えられる。

また、最大増殖速度は一般には光強度に依存するが、本実験における8000 luxは光合成の飽和開始強度程度であり<sup>1)</sup>、これ以下の光強度ではより低い値になると考えられる。

### 3.4 炭素固定速度に及ぼす通気 $\text{CO}_2$ 濃度の影響

$\text{CO}_2$ 濃度が約350 ppmの通常空気と、現在の濃度のほぼ2倍にあたる715 ppmの空気をを用いて、炭素固定速度に及ぼす通気中の $\text{CO}_2$ 濃度の影響を調べた。

炭素固定速度は半回分培養の定常期の細胞濃度と有機および無機炭素固定量を用いて評価した。分裂直前の窒素濃度が実際の海洋表層の平均窒素濃度約 $15 \mu \text{ g/litre}$ <sup>1)</sup>と一致するように、Fig.5の関係から、 $\mu = 0.53 \text{ d}^{-1}$ とし、Eq.(1)より $D = 0.4 \text{ d}^{-1}$ とした。



通常空気(350 ppm)を用いた場合、いきなり715 ppmに上げた場合、6週間かけて719 ppmまで上げた場合の3つのケースについて検討したが、細胞増殖はほとんど変わりがなかった。細胞あたりの無機炭素の固定量にも大きな差はなかったが、CO<sub>2</sub>濃度が高い場合に若干低くなった。通気ガス中のCO<sub>2</sub>濃度を2倍に上昇させても、pHを海洋の平衡濃度に保つ限り、そのBuffer効果により溶存全炭素量は10%程度しか上昇しない<sup>10)</sup>。これにより大きな差を生じるとは考えにくい、馴化に必要な培養期間も含めて、平衡pH変化の影響も考慮する必要がある。

最後に、本報における実験結果から、石灰藻の炭素循環への寄与を概算すると以下のようになる。相対照度約1%の深度として有光層の厚みを100mとする<sup>1)</sup>。有光層の全海洋の体積を $3.6 \times 10^7 \text{ km}^3$ 、石灰藻の平均濃度を $5 \times 10^3 \text{ cell/litre}^{14)}$ 、平均窒素濃度を $15 \mu \text{ g/litre}^{1)}$ とする。細胞あたりの無機炭素固定量を上述の実験結果より $8 \times 10^9 \text{ mg/cell}$ とすると、Fig.5より $\mu = 0.53 \text{ d}^{-1}$ となるので、一日あたり、細胞の現存量の $\exp(\mu) - 1 = 0.70$ だけ再生産されることが分かる。即ち無機炭素の固定量は、これらの積から年間約3.7億トンと見積れる。無機/有機の固定比を0.1とすれば、全体の固定(一次生産)量は約40億ton-C/yearとなる。

## 5.今後の課題

地球規模での炭素循環に及ぼす海洋の植物プランクトン、特に石灰藻の影響を評価するために、円石藻類に属する*Cricosphaera carterae*の培養を行ない、上記のことを実験的に明らかにした。今後の課題としては、以下の項目が考えられる。

(1)大気中の二酸化炭素分圧の変化が石灰藻の炭素固定速度に及ぼす影響は、今後の地球温暖化の推移を予測する点では重要な因子と考えられる。上述の実験よりもさらに高い二酸化炭素分圧の場合も含めて、より詳細な検討が必要となろう。

(2)海洋中では、湧昇流の存在や人間活動の結果として、栄養塩濃度が局所的に大きく変化する。これに伴い石灰藻の比増殖速度も変化するが、その際に有機炭素と無機炭素の固定比がどのように変化するのかは明らかにされていない。

(3)石灰藻の炭素固定速度の光強度に対する依存性は、炭素固定速度の鉛直方向の分布を推算する上では今後の検討課題となろう。

## Nomenclature

$D$  = dilution rate [  $\text{d}^{-1}$  ]

$K_s$  = saturation constant [  $\mu \text{ g/litre}$  ]

$Q$  = Nitrate content in the cell [  $\text{g-N/cell}$  ]

$Q_0$  = Minimum cell quota of nitrogen [  $\text{g-N/cell}$  ]

$V_{max}$  = maximum nutrient uptake rate [ g/cell/h ]

$S$  = nutrient concentration in culture medium [  $\mu$  g/litre ]

$t$  = time [ d ]

$\mu$  = specific growth rate [  $d^{-1}$  ]

$\mu_m$  = maximum specific growth rate [  $d^{-1}$  ]

### Literature cited

- 1)Akiyama, Y. et al. eds.: " Sorui no Seitai (The Ecology of Algae)", p.84, p.86, p.90, p.116, Uchida Rokakuho Publising Co., Tokyo(1986)
- 2)Bernard,F.: *Deep-Sea Res.*, 1, 34 (1953)
- 3)Blackwelder, P.L., R.E.Weiss and K.M.Wilbur: *Marine Biol.*, 34, 11 (1976)
- 4)CCAP ed.: "List of Strains", p.21, CCAP, Cambridge, England (1983)
- 5)Darley, W.M. (Translated by Y.Tezuka et al. ) : "Algal Biology : a physiological approach", pp.37-40, p.63, Baifu-kan, Tokyo (1987)
- 6)Dorigan, J.L. and K.M.Wilbur : *J.Phycol.*, 9, 450 (1973)
- 7)Guillard, R.R.L. and J.H. Ryther : *Can. J. Microbiol.*, 8, 229 (1962)
- 8)Handa, N.: *Gendai Kagaku*, 1989 ,35 (1990)
- 9)Hasle,G.R.: *Nytt. Mag. Bot.*, 8, 77 (1960)
- 10)Horiuchi, K., T. Kojima and A. Inaba: *Kagaku Kogaku Ronbunshu*, 18 , 471(1992)
- 11)Kanmera, K. et al. eds.: "Chikyu Hyoso no Busshitsu to Kankyo (Global Near-Surface Materials and Environment)", p58, Iwanami Shoten, Tokyo (1991)
- 12)Kondo, S. : "Taiki Kyokai-so no Kagaku (Science of Atomospheric Boundary Layer)", p.188, Tokyo-do Shuppan, Tokyo (1982)
- 13)Marumo, R. ed. : "Marine Plankton", p.19, Tokyo Univ. Press, Tokyo (1974)
- 14)Murphy, J. and J. P. Riley : *Anal. Chim. Acta.*, 27, 31(1971)
- 15)Okada,H.and S.Honjo: *Deep-Sea Res.*,20, 355 (1973)
- 16)Okazaki, M. and K.Furuya : *Jap.J.Phycol.*, 33 , 328 (1985)
- 17)Oomori,M. et al. eds. : "Biominaleralization and Phylogeny of Marine Organisms", p.59, Tokai Univ. Press, Tokyo (1988)
- 18)Rhee, G.Y.: "Advances in Aquatic Microbiology", 2, 151, Academic Press, New York (1980)
- 19)Stillwell, E.M and K.E.Corum : *Marine Biol.*, 66 , 227 (1982)
- 20)Sudo, R. : "Kankyo Biseibutsu Jikkenn-ho (Methods in Environmental Microbes)", p.210, Kodansha Scientific Co., Tokyo (1989)

Table 3 Nutrients Uptake Rate

Condition (Time)	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N		PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> -P	
	V <sub>max</sub> [g-N/cell/h]	K <sub>s</sub> [μg/litre]	V <sub>max</sub> [g-P/cell/h]	K <sub>s</sub> [μg/litre]
Light (0:30)	7.1 × 10 <sup>-13</sup>	66	4.6 × 10 <sup>-13</sup>	58
Dark (12:30)	2.1 × 10 <sup>-13</sup>	58	2.8 × 10 <sup>-13</sup>	29
(21:00)	N.T.	N.T.	4.2 × 10 <sup>-13</sup>	21

(N.T. = Not tested)

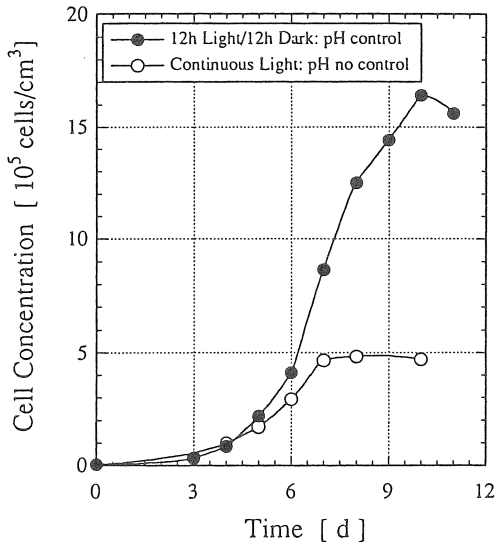


Fig.2 Growth curve in batch culture

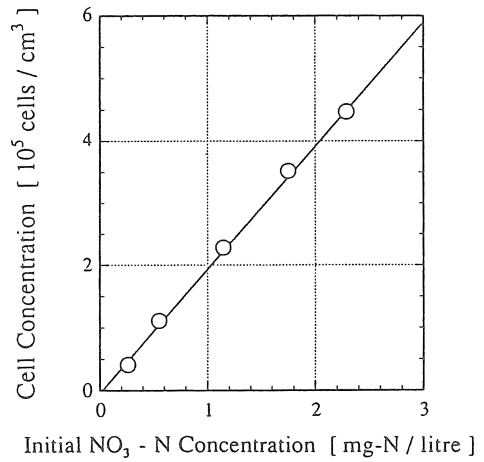


Fig.3 Relation between maximum cell concentration and the initial nitrate concentration in batch culture

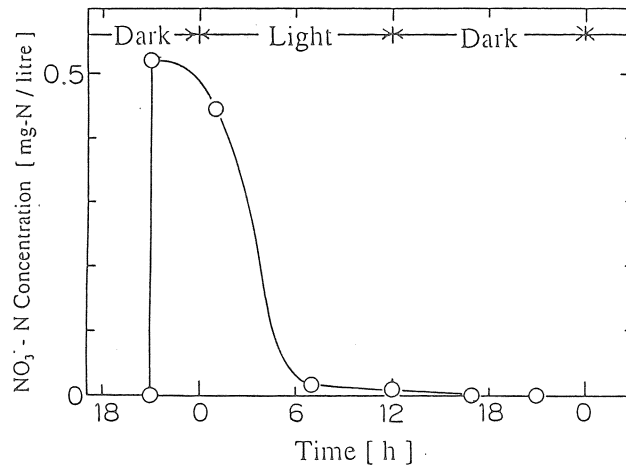


Fig.4 Nitrate concentration change at steady state of growth cycle in semi-continuous culture

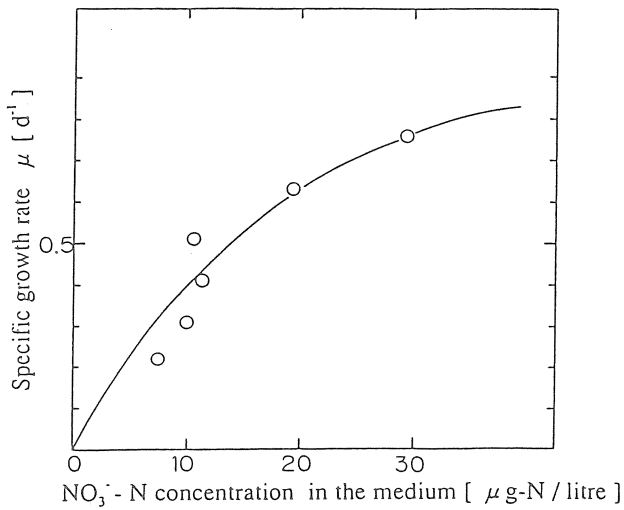


Fig.5 Relation between specific growth rate and nitrate concentration in the medium

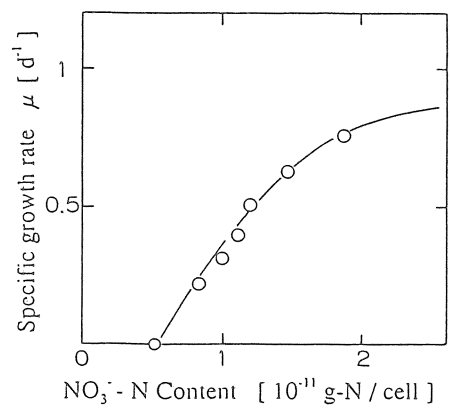


Fig.6 Relation between specific growth rate and nitrate content of the cell

# Mechanistic Study on Carbon Fixation Rate and Global Environment Remediation by Oceanic Calcareous Algae

Shintaro Furusaki and Minoru Seki

Dept. of Chem. Eng., The Univ. of Tokyo, Tokyo 113

## Summary

Growth and carbon fixation rates of a typical calcareous alga *Cricosphaera carterae*, which plays an important role in global carbon cycle, were investigated. Nutrient uptake rates of the cells in light were higher than those in the dark. Dependence of nitrate concentration on specific growth rate was determined and formulated using a semi-continuous culture system. The specific growth rate was  $0.53 \text{ d}^{-1}$  at  $15 \text{ mg/m}^3$  of nitrogen concentration in the medium. This nitrogen concentration is the average value in surface ocean. The maximum growth rate was  $0.9 \text{ d}^{-1}$ . The ratio of inorganic carbon fixed to organic carbon fixed was about 0.1. The  $\text{CO}_2$  enriched air (715 ppm) was used for the microalgae cultivation. The growth rate and the amount of inorganic carbon fixed by a cell were little affected by the  $\text{CO}_2$  enrichment. The similar result was obtained for the cells after the acclimation culture where the  $\text{CO}_2$  concentration was gradually increased during 6 weeks. Using these results, the amount of total carbon fixation by the calcareous algae in the ocean was estimated for the global carbon balance.