

9321 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。昨年度は、栄養塩濃度が炭素固定速度(増殖および石灰殻形成速度)に及ぼす影響に関する検討を行ってきた。本年度はそれらの結果を踏まえて、将来の大気中の二酸化炭素濃度の上昇に対する微細藻類の応答という観点から、通気ガス中の二酸化炭素分圧の上昇が無機および有機炭素の固定速度に及ぼす影響について検討した。

2. 研究方法

代表的な石灰藻 *Pleurochrysis carterae* (*Cricosphaera* aff. *carterae*) の培養を行ない、その増殖および石灰殻の形成速度を有機および無機炭素の固定速度として実験的に評価検討した。実験には栄養塩強化海水培地を用い、白色蛍光灯によって12時間/12時間の明暗周期をつけ、細胞濃度が定常に達するまで半連続培養を行った。通気ガス中の二酸化炭素濃度は、350 ppm(通常空気)と2000 ppmで比較検討した。

3. 研究結果および考察

- (1) 半連続培養における比増殖速度が、分裂直前の細胞内の栄養塩(窒素源)濃度によって決定するという内部栄養調節モデル(Droopの式)を満たすことが示され、この関係はCO₂濃度350 ppmと2000 ppmの間に大きな違いは見られなかった。
- (2) 細胞あたりの有機炭素固定速度は、細胞外窒素源濃度が大きくなるに従って増大し、CO₂濃度350 ppmと2000 ppmの間に違いは見られなかった。しかしながら、細胞あたりの無機炭素固定速度はCO₂濃度350 ppmでは細胞外窒素源濃度が大きくなると大きくなった。CO₂濃度2000 ppmでは細胞外窒素源濃度に拠らずほぼ一定であることが示された。これは、細胞外からCO₂を比較的容易に獲得できるので、石灰化によるCO₂の獲得に対する依存性が相対的に低下するためと考えられる。

9321 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存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¹⁾。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²⁾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¹⁾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³⁾。この点を考慮して、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^{4,5)}。

石灰藻の生態^{5,8)}、および石灰化機構^{9,13)}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*Pleurochrysis carterae*の培養を行い、その外部環境、特に栄養塩濃度およびCO₂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。

本年度は、栄養塩濃度が炭素固定速度に及ぼす影響に関する昨年度まで行ってきた検討結果を踏まえて、通気ガス中の二酸化炭素分圧の上昇が無機および有機炭素の固定速度に及ぼす影響について検討する。

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 *Pleurochrysis* aff. *carterae* CCAP 961/2 (syn.; *Cricosphaera* 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)⁽¹⁴⁻¹⁵⁾ を用い、静置培養で20日毎に継代した。海水は外洋水を0.45 μ でメンブレンフィルターで濾過し、栄養塩等を添加後オートクレーブをかけてから実験に用いた。また、半連続培養には窒素源 (NaNO₃) 濃度のみ0.2倍に制限した改変 GUI 培地を用いた。

2.2 実験装置

実験装置図を Fig.1 に示す。所定濃度の CO₂ を含む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 cm³/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 450cm³ である。搅拌には Magnetic stirrer を用いた。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 0.2 N 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 白色蛍光灯を 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。

2.3 半連続培養

本研究では、次のような実験を行った。

- (1) 通常空気 (CO₂ 濃度 350ppm) を通気した半連続培養系を用いた栄養塩濃度 (比増殖速度) に対する無機炭素および有機炭素の固定速度の測定。
- (2) 高 CO₂ 濃度空気 (CO₂ 濃度 2000ppm) を通気した半連続培養系を用いた栄養塩濃度 (比増殖速度) に対する無機炭素および有機炭素の固定速度の測定。

GUI 培地を用いて 20 日ごとの継代保存してきた細胞を改変 GUI 培地に移し、1 週間程度静置培養した後、本培養に用いた。本培養開始時の初期細胞濃度は約 2×10^8 cells/L とした。

Fig.1 に示した反応器中の培養液を、増殖停止直後の暗期終了の 1 時間後に、希釈率 D に応じて改変 GUI 培地と交換した。希釈率は、 $D = 120/450 \text{ d}^{-1}$ (一日一回 450 cm³ の培地のうち 120cm³ を交換)、 $150/450 \text{ d}^{-1}$ 、 $180/450 \text{ d}^{-1}$ 、 $210/450 \text{ d}^{-1}$ の 4 条件を選んだ。

希釈は一日一回同時刻に行ない、抜き取った培養液中の細胞濃度を測定し、細胞濃度が定常 ($\pm 5\%$ の変動以内) になるまで繰り返した。

半連続培養における培養液中のpHは、通気中のCO₂濃度に対して平衡な海水のpH¹⁶⁾になるようにコントロールした。通気中のCO₂濃度が2000ppmの場合には、培養液中のpHは約7.4となるように調整した。

2.4 分析方法

実験器具はできるかぎり1N HNO₃で洗浄したものを使用した。

細胞濃度は、培養液1 cm³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4 cm³の培養液から細胞を捕集し、Table 1のCa-free solutionで洗浄後、11.7 g/litre 酸化ランタン、1N HCl溶液5 cm³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5 mLを20 mLに希釈した後、12000 rpmで10分間遠心分離し、原子吸光分析によりCa濃度として測定した。原子吸光分析には原子吸光光度計（日立製作所：170-10型）を用いて測定した。検量線は原子吸光分析用カルシウム標準液（和光純薬工業）を用いて、Ca濃度0.4, 0.8, 1.2, 2.0 ppmの4本により毎回作った。

全有機体炭素計（TOC計、島津製作所：TOC-5000型）を用いて、全炭素（TC）と無機炭素（IC）を測定し、その差から有機炭素（OC）を求めた。培養液50 mLを3000 rpmで10分間遠心分離して細胞を落とし、沈殿物が溶け出さないように上澄み液50 mLを取り除いた後、炭酸カルシウムが溶け出さないようにろ過海水25 mLを静かにそそぎ再び10分間遠沈させて上澄みを取り除いた。この沈殿物をろ過海水で10 mLに希釈しホモジナイズしたものと、洗浄に用いたろ過海水の差から求めた。ホモジナイズには超音波ホモジナイザー（日本精機製作所：US-150型）を用い、3分間ホモジナイズした。測定は、基本的に1サンプルにつき3度測定し平均値をとった。TOC計は使用開始直後、測定値の安定が悪いので、変動係数が2%未満になるまで測定を繰り返した。

CO₂濃度の定量は、ガスクロマトグラフ（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。試料調整法は、サンプリングした培養液1 mLをMilliporeメンブレンフィルター（0.22 μm）で細胞がつぶれないように軽く吸引ろ過後、ろ紙ごと試料台に固定し、スパッタリングした。スパッタリングは、イオンスパッタリング装置（日本電子：JFC-1100型）を用いて厚さ約180 Åとなるようにした。電子顕微鏡はSEM（日本電子：JSM-840型）を用い、細胞を見る際の倍率は5000倍前後を使用した。写真撮影の際のフィルムはネオパンSS（富士写真フィルム）を使用した。

2.5 細胞内栄養塩濃度と比増殖速度の評価

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。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¹⁷⁾。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。

ここで、一日中平均的に増殖が起こったと考えると、半連続培養系での比増殖速度(μ)と希釈率(D)の関係は以下ようになる。

ある時間中に細胞濃度(N)は増加し、 N_0 に達する。その後希釈が行われるので、細胞濃度は $N_0(1-D)$ にまで減少する。この値は次の分裂時間帯が来るまで一定に保たれる。ある時間に培地の交換によって $N_0(1-D)$ まで減少した細胞濃度が比増殖速度 μ で指数的に増殖を行うことで翌日培地交換前には N_0 にまで回復すると考えると μ と D の関係は、

$$N_0 = N_0(1-D) \exp(\mu t) \quad (1)$$

となり、

$$\mu = -\ln(1-D) / t \quad (2)$$

の関係が得られる。本実験の場合、 t は1日である。

植物プランクトンの増殖と栄養源濃度の関係を示すには、2種のモデルがある¹⁷⁾。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。

$$\mu = \mu_m \left(\frac{S}{K_S + S} \right) \quad (3)$$

本実験系では、昨年度までの研究により、最大増殖速度 $\mu_m = 0.9 \text{ d}^{-1}$ 、半飽和定数 $K_S = 12 \mu\text{g-N/litre}$ となることが示されている¹⁸⁾。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¹⁹⁾(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。

$$\mu = \mu_m \left(1 - \frac{Q_0}{Q} \right) \quad (4)$$

Eqs.(3),(4)が同時に成立するということは、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²⁾、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. 研究結果および考察

3. 1 半連続培養における比増殖速度と細胞濃度の関係

半連続培養における細胞濃度は、希釈率すなわち1回の希釈操作で供給される栄養塩（窒素源）の量によって決まる。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¹⁷⁾、栄養源として窒素のみの影響を検討した。与えられた栄養塩はすべて細胞に取り込まれると考えられるため、分裂直前の細胞内の窒素源濃度 Q は、

$$Q = (\text{培地中の窒素源濃度}) / (\text{細胞濃度}) \quad (5)$$

と求められる。

また、式(2)より希釈率から比増殖速度を求めることができる。GUI培地の作成に用いた海水中の窒素源濃度はかなり低いので培地中の栄養塩濃度をほぼ 2.5×10^{-3} [g-N/L]として、横軸を細胞内窒素含量 Q 、縦軸を比増殖速度 μ としてプロットしたのがFig.2である。実線は式(4)より求めたDroopの式である。両者はほぼ一致しており、この系でもDroopの式を満たすことがわかる。また、 CO_2 濃度350 ppmと2000 ppmの間に大きな違いは見られなかった。

3. 2 細胞外窒素源濃度の炭素固定速度への影響

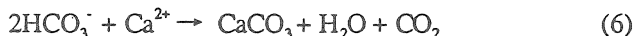
細胞外窒素源濃度 S と細胞あたりの有機炭素固定量の関係をFig.3に示す。横軸の細胞外窒素源濃度 S は、Eqs.(1),(3)により希釈率 D より求めたものである。細胞あたりの有機炭素固定量は細胞外窒素源濃度が大きくなると一旦小さくなり、またわずかに大きくなっている。また、 CO_2 濃度350 ppmと2000 ppmの間に違いは見られなかった。

細胞外窒素源濃度 S と細胞あたりの無機炭素固定量の関係をFig.4に示す。細胞あたりの無機炭素固定量は CO_2 濃度350 ppmでは細胞外窒素源濃度が大きくなってあまり変わらなかった。 CO_2 濃度2000 ppmでは細胞外窒素源濃度が大きくなると小さくなる傾向が見られた。

細胞外窒素源濃度 S と無機炭素／有機炭素固定比の関係をFig.5に示す。 CO_2 濃度350 ppmでは無機炭素／有機炭素固定比は細胞外窒素源濃度が大きくなってあまり変わらなかった。この値は、Matsunaga and Takano²⁰⁾の実験結果とほぼ一致する。 CO_2 濃度2000 ppmでは細胞外窒素源濃度が大きくなると無機炭素固定量が小さくなるために、無機炭素／有機炭素固定比も小さくなる傾向が見られた。

細胞外窒素源濃度 S と細胞あたりの有機炭素固定速度の関係をFig.6に示す。細胞あたりの有機炭素固定速度は細胞外窒素源濃度が大きくなるに従って増大している。また、 CO_2 濃度350 ppmと2000 ppmの間に違いは見られなかった。

細胞外窒素源濃度 S と細胞あたりの無機炭素固定量の関係をFig. 7に示す。細胞あたりの無機炭素固定速度は CO_2 濃度350 ppmでは細胞外窒素源濃度が大きくなると大きくなった。 CO_2 濃度2000 ppmでは細胞外窒素源濃度が大きくなってあまり変わらなかった。Sikesら²¹⁾が、 ^{14}C を用いた研究により提案したモデルによると、石灰化は下式で総括される。



ここで、副生する CO_2 は、光合成に使われるとしている。本研究において、 CO_2 濃度2000 ppmではIC固定速度が大きく変わらなかったのは、細胞外から CO_2 を比較的容易に獲得できるので、石灰化による CO_2 の獲得に対する依存性が相対的に低下するためと考えられる。

3. 3 細胞の大きさとココリスの数

細胞の大きさとココリスの数をTable 2に示した。この測定は非常に誤差が大きいため、定量的な議論は難しいが、 CO_2 濃度2000 ppm、希釈率 $D=210/450$ では明らかにココリスの数が減少している。これは、これは、無機炭素の固定量が減少していることと一致している。

4 今後の展開

かつて大気中の CO_2 濃度がほぼ一定だった時代には炭酸カルシウムを介した炭素循環はほぼ定常に達していたと考えられる。しかしながら、大気中の CO_2 濃度が上昇し続けている現在、海底への炭酸カルシウムのフラックスの定常も崩れている可能性がある。また、緑藻においては通気ガス中の CO_2 濃度を徐々に上げて行った場合には CO_2 濃度が40%程度でも生育する²²⁾ことが報告されている。

円石藻よりも珊瑚礁と魚礁の様な系のほうが炭酸ガス固定に意義があるのではないかという議論も一部ではある。しかし、円石藻は1細胞あたりで“珊瑚礁（ココリス）と魚礁（ココスフェラ）を形成している系”であるとも言え、石灰藻が生存可能な環境の多様性を考慮すれば、その生存意義を過小に評価してはならないと考えられる。

また、本研究では CO_2 濃度2000 ppmにしてもOkazaki et al.²³⁾の結果のように炭素固定速度は上昇していない。この点についてpHを平衡濃度に変化させたことの影響も含めてさらなる検討が必要であると考えられる。さらに、 CO_2 濃度だけでなく光強度や温度といった因子に対する炭素固定速度の応答性についても検討する必要があると考えられる。

Nomenclature

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

K_s = saturation constant [μ g/litre]

N = cell concentration in the medium [cell/L]

N_0 = final cell concentration [g-N/cell]

Q = nitrate content in the cell [g-N/cell]

Q_0 = minimum cell quota of nitrogen [g-N/cell]

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

S = nutrient concentration in culture medium [μ g/litre]

t = time [d]

μ = specific growth rate [d^{-1}]

μ_m = maximum specific growth rate [d^{-1}]

Literature cited

- 1) Horiuchi, K., T. Kojima and A. Inaba: *Kagaku Kogaku Ronbunshu*, 18, 471(1992)
- 2) 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)
- 3) Kanmera, K. et al. eds.: "Chikyu Hyoso no Busshitsu to Kankyo (Global Near-Surface Materials and Environment)", p58, Iwanami Shoten, Tokyo (1991)
- 4) Handa, N.: *Gendai Kagaku*, 1989 ,35 (1990)
- 5) Marumo, R. ed. : "Marine Plankton", p.19, Tokyo Univ. Press, Tokyo (1974)
- 6) Bernard,F.: *Deep-Sea Res.*, 1, 34 (1953)
- 7) Hasle,G.R.: *Nytt. Mag. Bot.*, 8, 77 (1960)
- 8) Okada,H.and S.Honjo: *Deep-Sea Res.*,20, 355 (1973)
- 9) Blackwelder, P.L., R.E.Weiss and K.M.Wilbur: *Marine Biol.*, 34, 11 (1976)
- 10) Dorigan, J.L. and K.M.Wilbur: *J.Phycol.*, 9, 450 (1973)
- 11) Okazaki, M. and K.Furuya : *Jap.J.Phycol.*, 33, 328 (1985)
- 12) Oomori,M. et al. eds. : "Biom mineralization and Phylogeny of Marine Organisms", p.59, Tokai Univ. Press, Tokyo (1988)
- 13) Stillwell, E.M and K.E.Corum : *Marine Biol.*, 66, 227 (1982)
- 14) CCAP ed.: "List of Strains", p.21, CCAP, Cambridge, England (1983)
- 15) Guillard, R.R.L. and J.H. Ryther : *Can. J. Microbiol.*, 8, 229 (1962)
- 16) Kondo, S. : "Taiki Kyokai-so no Kagaku (Science of Atomospheric Boundary Layer)", p.188, Tokyo-do Shuppan, Tokyo (1982)
- 17) Darley, W.M. (Translated by Y.Tezuka et al.) : "Algal Biology : a physiological approach"

- , pp.37-40, p.63, Baifu-kan, Tokyo (1987)
- 18) Seki, M., K. Shigematsu, K. Shigeta and S. Furusaki : Kagaku Kogaku Ronbunshu, 19, 893 (1993)
 - 19) Rhee, G. Y.: "Advances in Aquatic Microbiology", 2, 151, Academic Press, New York (1980)
 - 20) Matsunaga, T. and H. Takano : Kagaku Kogyo, 43, 648 (1992)
 - 21) Sikes, C. S. et al. : Limnol. Oceanogr., 25, 248 (1980)
 - 22) Kodama, M. : Proceedings of the 56th Annual Meeting of the Botanical Society of Japan, 95 (1991)
 - 23) Okazaki, M. et al. : Proceedings of the 56th Annual Meeting of the Botanical Society of Japan, 89 (1991)

Table 1 Composition of Ca-free Solution

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

Make up to 1 litre with distilled water. Adjust pH to 8.1 or 7.4 with HCl.

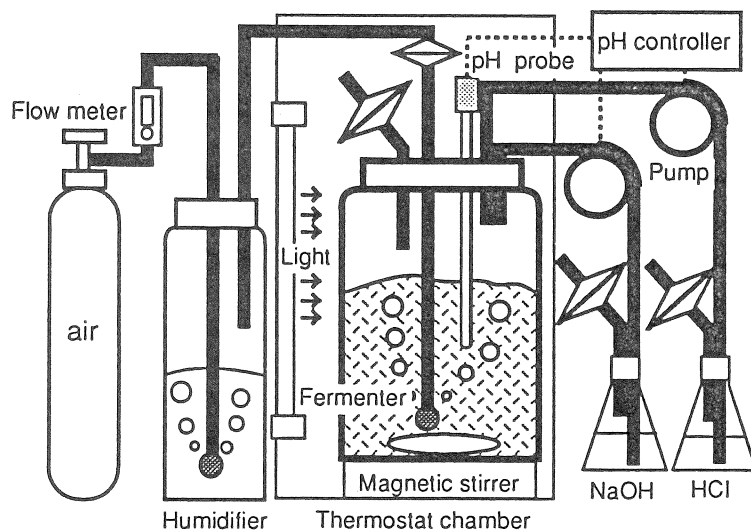


Fig.1 Schematic diagram of experimental apparatus

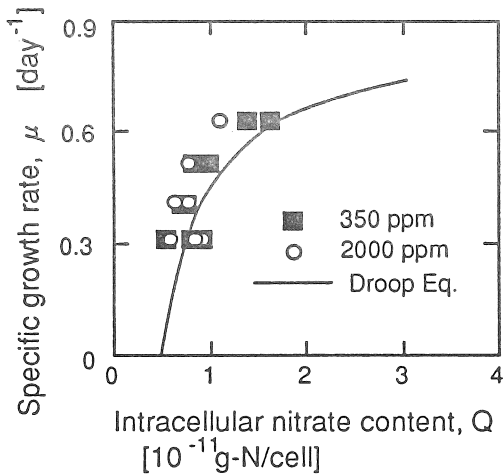


Fig.2 Relation between specific growth rate and nitrate content in a cell

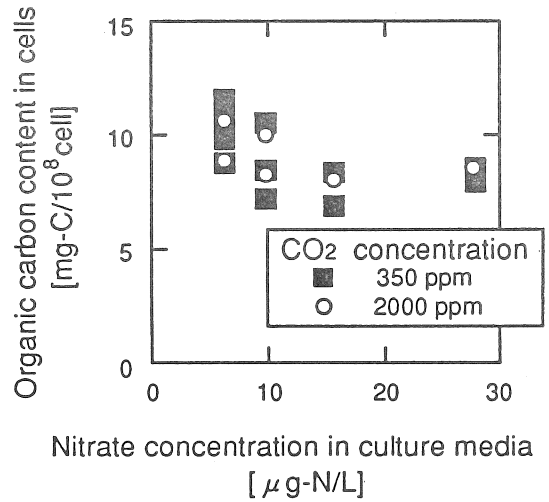


Fig.3 Effect of nitrate concentration on organic carbon content in cells

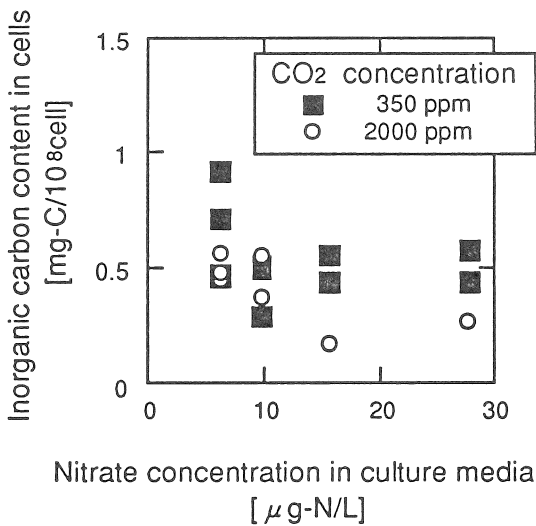


Fig.4 Effect of nitrate concentration on inorganic carbon content in cells

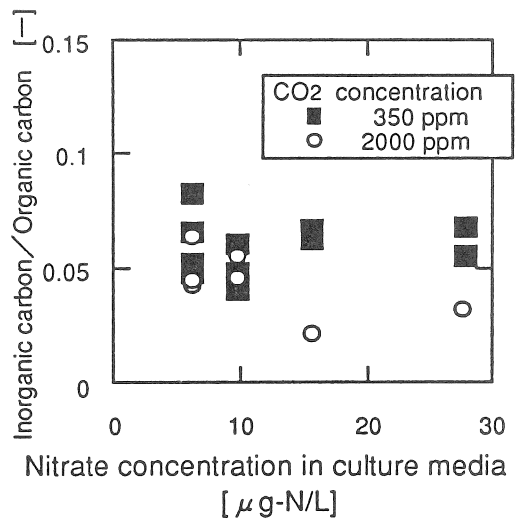


Fig.5 Relation between extracellular nitrate concentration and ratio of inorganic carbon content to organic carbon content in cells

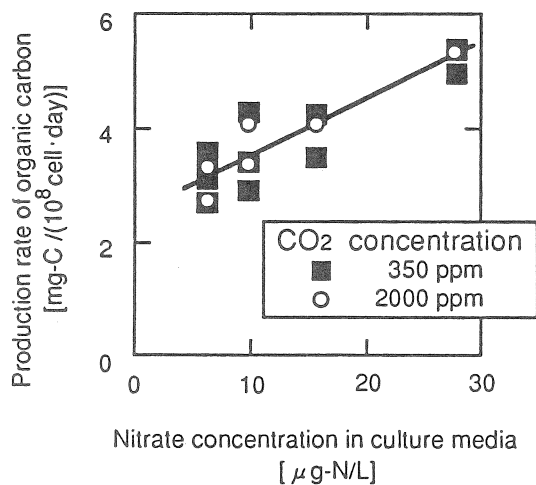


Fig.6 Effect of nitrate concentration on organic carbon production rate

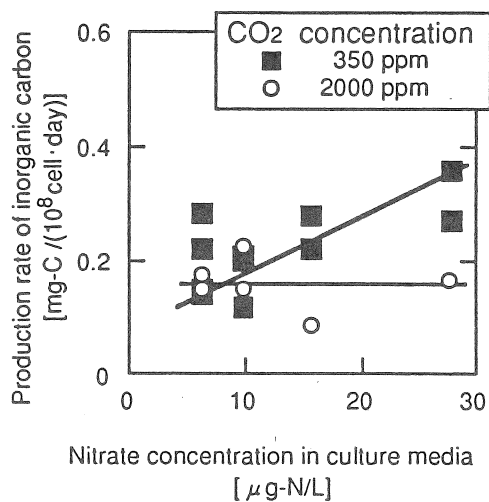


Fig.7 Effect of nitrate concentration on inorganic carbon production rate

Table 2 Cell size and coccolith formation

Dilution rate [day ⁻¹]	Cell diameter [μm]		No. of coccolith [cell ⁻¹]	
	350 ppm	2000 ppm	350 ppm	2000 ppm
120/450	15.1	14.0	151	112
150/450	15.5	15.8	147	146
210/450	15.05	13.2	121	48

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

Shintaro Furusaki and Minoru Seki

*Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering
The University of Tokyo, Tokyo 113*

Summary

Future increase in the atmospheric concentration of carbon dioxide as a result of the combustion of fossil fuels for energy is expected to result in substantial global-scale warming in future decades. Oceanic microalgae are playing an important role in the global carbon cycle. In this study, we investigated effects of environmental conditions such as nutrients, light, and carbondioxide concentration on carbon fixation rate of oceanic algae.

Organic and inorganic carbon fixation rates of a typical calcareous alga *Pleurochrysis carterae* (*Cricosphaera* aff. *carterae*), which plays an important role in global carbon cycle, were measured *in vitro* culture system. *P.carterae* was grown in a semi-continuous system until a steady-state cell concentration was reached at 18°C in enriched seawater medium (GUI medium). The cultures were exposed to a repeating photo-cycle of 12 hr of light followed by 12 hr of darkness. Air with 350 ppm and 2000 ppm carbondioxide were supplied through a sparger into the culture medium.

Specific growth rate of *P.carterae* was changed with a nutrient (nitrate) content in the cells. This relation is explained using an intracellular nutritional regulation model (Droop's equation).

Organic carbon fixation rate of *P.carterae* increased with increasing extracellular nitrate concentration and had no difference between the culture with 350 ppm and 2000 ppm CO₂ supply. Inorganic carbon fixation rate of *P.carterae* with 350 ppm CO₂ also increased with increasing extracellular nitrate concentration, whereas the inorganic carbon fixation rate in the culture with 2000 ppm CO₂ kept almost constant with changing extracellular nitrate concentration.