

淡水赤潮プランクトン *Peridinium bipes* f. *occultatum* (LINDEM.) LEF. の増殖に及ぼすリン酸塩、カルシウムおよび B 群ビタミン類の影響

西堀 尚良, 西島 敏隆, 畑 幸彦

(1999 年 10 月 21 日受付, 2000 年 5 月 19 日受理)

Effects of Phosphate, Calcium and B-group Vitamins on the Growth of *Peridinium bipes* f. *occultatum* (LINDEM.) LEF.

Naoyoshi Nishibori,*¹ Toshitaka Nishijima,*² and Yoshihiko Hata*³

Peridinium bipes f. *occultatum* was able to use both orthophosphate and β -glycerophosphate as a sole source of phosphate. The maximum cell yield and the specific growth rate were saturated at 1 mgP/l in both phosphorus sources. The maximum growth rate under P-saturated condition was 0.16 d⁻¹. The half saturation constant for the growth and the minimum cell quota were calculated to be 126 mgP/l, 50.9 pgP/cell for orthophosphate and 46 mgP/l, 28.5 pgP/cell for β -glycerophosphate, respectively. Among fresh water phytoplanktons, *P. bipes* f. *occultatum* showed a higher Ks value of phosphate for growth and lower growth rate. The optimum N:P ratio of the alga calculated from minimum cell quota was relatively low. The alga did not require B-group vitamins for the growth and the growth yield was saturated at 2.0 mgCa/l.

From these characteristics, it is difficult to explain the excessive growth of this alga and the resultant red tide.

キーワード：キーワード：淡水赤潮, *Peridinium bipes* f. *occultatum*, リン要求量, B 群ビタミン, カルシウム

ダム湖で発生する淡水赤潮はその殆どが渦鞭毛藻類の *Peridinium* 属プランクトンによって引き起こされることが知られている。高知県穴内川ダム湖で発生する赤潮の原因種は *Peridinium bipes* f. *occultatum* (LINDEM.) LEF. と同定された。¹⁾ 前報¹⁾で本藻の増殖におよぼす温度・照度・pH の影響および窒素要求に関する増殖速度論的解析を行ったところ、これらの増殖生理特性から現場湖水において推定される本藻の増殖は極めて不良であり、現場における赤潮発生過程を説明することは困難であった。

ダム湖における *Peridinium* 赤潮の発生は比較的汚染の少ないダム湖等の河川流入部附近に限られており、赤潮発生には水温・照度および窒素・リンなどの基礎的な増殖条件のほか、ビタミンや、カルシウムの関与が示唆されている。²⁻⁴⁾ また、多くの植物プランクトンがフォスファターゼ活性を持つこと、⁵⁻⁸⁾ および湖水中の溶存

有機態リンのうち大部分がフォスフォモノエステラーゼで分解可能であることが報告されており、⁹⁾ 一般的にリンが制限要因になりやすい淡水域での赤潮発生過程を明らかにするために、オルトリン酸と同様にフォスフォモノエステルの利用能を明らかにすることが重要と思われる。

そこで本研究では、*P. bipes* f. *occultatum* による赤潮の発生機構解明を目的として、オルトリン酸としてリン酸二カリウムを、フォスフォモノエステルとして β -グリセロリン酸二ナトリウムを用いて、リン要求を増殖速度論的に解析すると共に、B 群ビタミンおよびカルシウムの要求性を明らかにし、現場湖水のこれらの濃度から本藻による赤潮の発生を考察した。

実験方法

供試生物および培養 前報¹⁾と同様に 1980 年 1 月高

*1 四国大学短期大学部 (Shikoku University Junior College, Shikoku University, Ojin, Tokushima 771-1192, Japan).

*2 高知大学農学部 (Faculty of Agriculture, Kochi University, Nankoku, Kochi 783-8502, Japan).

*3 高知大学名誉教授.

知県香美郡土佐山田町、穴内川ダム湖から分離した *P. bipes* f. *occultatum* の無菌、クローン株を試験に用いた。保存および培養実験には基礎培地として W-1 培地¹⁰⁾ を用いた。培養は内径 18 mm の試験管に 10 ml の培養液をいれ、照度 10,000 lx、水温 20°C および 14 時間明-10 時間暗の条件で培養し、実験目的に応じて培地成分を変更した。培養は 3 本立てで行い、細胞数は安達固定液⁴⁾で固定後、顕微鏡下で直接計数して求めた。なお、試験培養中は STPss¹¹⁾ 培地に培養液の一部を穿刺して培養し、細菌検査を行った。

リン酸の利用能 リン酸二カリウムまたは β -グリセロリン酸二ナトリウムを唯一のリン源として含む培地を用い、リン源を除いた培地で予め十分飢餓培養処理した藻体を接種して培養を行い、増殖の有無からリン要求性を判定した。

リン要求に関する増殖速度論的解析 リン酸二カリウムまたは β -グリセロリン酸二ナトリウムを唯一のリン源として、0~10 mgP/l の濃度を含む培地を用い、予めリン源を除いた培地で十分飢餓培養処理した藻体を接種藻として用いた。比増殖速度は、増殖量を経日的に計数して増殖曲線を求め、指数増殖期における細胞数から次式により求めた。

$$\ln N = \ln N_0 + \mu t \quad (1)$$

ここで、 N_0 ははじめの細胞数 (cells/ml), N は t 日後の細胞数 (cells/ml), μ は比増殖速度 (d^{-1}) を表わす。また、初期栄養物質濃度と増殖速度との関係は、前報¹⁾と同様に Monod 式(2)を直線化した(3)式により解析し、半飽和定数 (half saturation constant) を求めた。

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_s + S} \quad (2)$$

$$\frac{S}{\mu} = \frac{1}{\mu_{\max}} S + \frac{K_s}{\mu_{\max}} \quad (3)$$

ここで、 S はリン酸濃度 (mgP/l), $\mu_{\max}$ は最大比増殖速度 (d^{-1}), K_s は半飽和定数を示す。

一般に藻類の増殖がある必須の栄養物質に制限されている場合、バッチ培養において定常期に達した細胞中のその物質の濃度は、細胞維持に必要な最少量 (minimum cell quota; 最少細胞内含量) にとどまる。この際の 1 細胞当たりの制限栄養物質の濃度はほぼ一定値をとると期待され、初期制限栄養物質の濃度と定常期までに増殖した細胞数とは比例することになる。

$$Y_m - I = \frac{1}{Q_m} S$$

両者の関係を両対数グラフ上にプロットすれば傾き 1 の直線上に並ぶことになり、この関係からリン酸二カリ

Table 1. Maximum cell yield of *Peridinium bipes* f. *occultatum* for different phosphorus sources

Concentration (mg P/l)	Cell density (cells/ml)	
	PO ₄	Glycerophosphate
0	—*	—*
0.05	1,600	1,711
0.5	10,520	14,698

* No growth

ウムまたは β -グリセロリン酸二ナトリウムを唯一のリン源として用いた場合のリンに関する最少細胞内持ち分を算定した。

$$\log (Y_m - I) = \log S - \log Q_m$$

ここで Q_m は最少細胞内リン持ち分 (mgP/cell), Y_m は最大増殖量 (cells/ml), I は初期細胞密度 (cells/ml), S は初期リン濃度 (mgP/ml) を示す。

カルシウム要求量 予めカルシウム源を除いた培地で十分飢餓培養処理した藻体を用い、塩化カルシウムをカルシウム源として含む培地で培養した。

ビタミン要求性 種々の組合せで B 群ビタミン類を含む培地を用い 3 度繰り返し植え継ぎ、増殖量が維持されるかどうかによってビタミンの要求性を判定した。

結 果

リン酸の利用能 リン酸二カリウムおよび β -グリセロリン酸二ナトリウムをリン源とした場合の本藻の最大増殖量を Table 1 に示す。本藻は両リン源とも唯一のリン源として利用したが、いずれの場合も 0.05 mgP/l の濃度では増殖不良であった。リン濃度 0.5 mgP/l では、リン源の種類によって増殖量にほとんど差が認められず、いずれも良好に増殖した。このことから、本種は無機態のリンのみならず、フォスフォモノエステルを利用できることが明らかになった。

オルトリン酸に関する増殖パラメーター リン酸二カリウムの濃度 0~10 mgP/l の範囲で本藻を培養し、得られた増殖曲線を Fig. 1 に示す。最大増殖量は、リン酸二カリウムの濃度範囲 0.01~1 mgP/l で濃度に依存して増大し、5~10 mgP/l では抑制された。このことから最大増殖量を基準としたオルトリン要求量は、1 mgP/l 程度と予想される。また、比増殖速度は 0.5 mgP/l まで濃度に依存して増大し、5 mgP/l 以上で抑制された。Fig. 1 の増殖曲線のうち、比増殖速度の抑制の見られなかった濃度範囲で得られた初期オルトリン濃度と比増殖速度の関係を Fig. 2 に示す。(3)式により解

⁴⁾ 安達六郎：昭和 53 年度日本水産学会春季大会講演要旨集 p. 59.

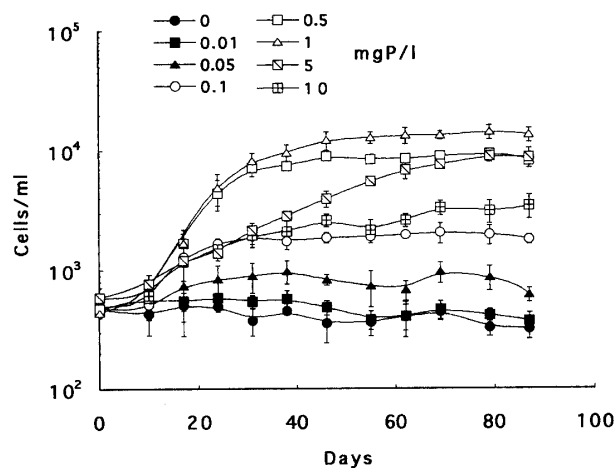


Fig. 1. Growth of *Peridinium bipes* f. *occultatum* under different $\text{PO}_4\text{-P}$ concentrations.

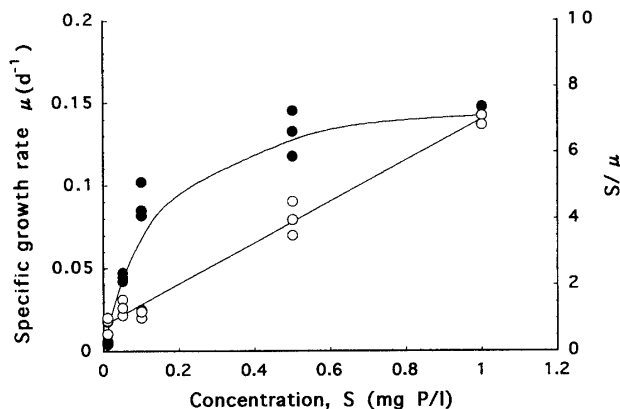


Fig. 2. Specific growth rate (μ) of *Peridinium bipes* f. *occultatum* versus initial concentration of $\text{PO}_4\text{-P}$ (S) in the medium (solid circles) and a linear transformation (open circles).

The symbols are the mean value of the triplicate.

析したオルトリンに関する半飽和定数 (K_s) は $126.6 \mu\text{gP/l}$ であり, オルトリンによる制限のない場合の最大比増殖速度は 0.16 d^{-1} と算定された。半飽和定数の10倍の濃度が飽和速度の90%を与えると算定されるので, およそ 1.2 mgP/l で比増殖速度がほぼ飽和すると考えられた。

リン濃度と定常期までに増殖した細胞数との関係を両対数グラフにプロットし傾き1の直線を想定した (Fig. 3)。その結果リン源として用いたオルトリン酸塩 1 mgP/l 以下の濃度で傾き1の直線で近似された。これらの結果から *P. bipes* f. *occultatum* の最少細胞内リン持ち分は, 50.9 pgP/cell と推算された。本種の細胞を実測値をもとにして, 平均直径 $44 \mu\text{m}$ の球とすると, 細胞の平均体積は $44,600 \mu\text{m}^3$ であり, 単位体積当りの

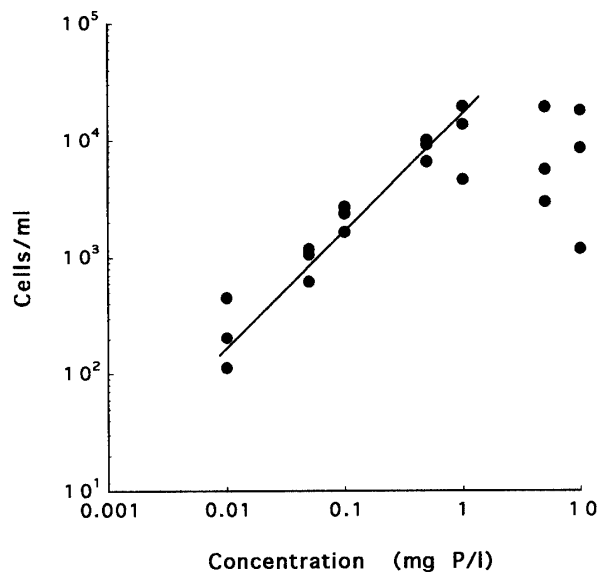


Fig. 3. Growth yields of *Peridinium bipes* f. *occultatum* grown in the different $\text{PO}_4\text{-P}$ concentrations.

The symbols are the mean value of the triplicate.

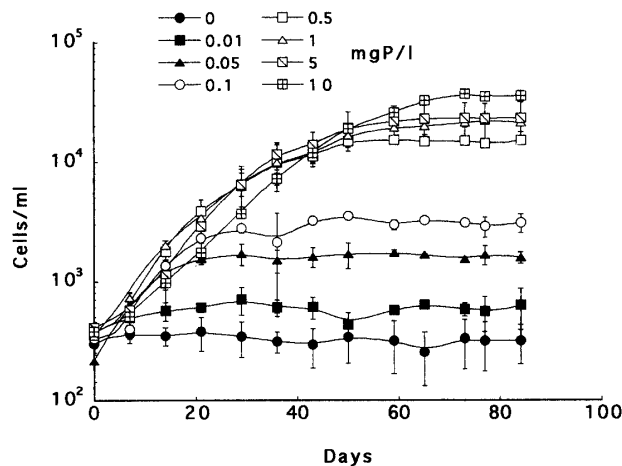


Fig. 4. Growth of *Peridinium bipes* f. *occultatum* under different glycerophosphate-P concentrations.

これらリンの最少持ち分は, $1.1 \times 10^{-3} \text{ pgP}/\mu\text{m}^3$ と算定された。

グリセリン酸に関する増殖パラメーター β -グリセリン酸二ナトリウムの濃度 $0 \sim 10 \text{ mgP/l}$ の範囲で本藻を培養し, 得られた増殖曲線を Fig. 4 に示す。用いた濃度範囲で最大増殖量は抑制されず, 1 mgP/l 以上の濃度ではほぼ一定の値となった。このことから最大増殖量を基準としたリン要求量は, オルトリン酸塩を用いた場合と同様で 1 mgP/l 程度と予想された。また, 比増殖速度の抑制はオルトリン酸塩を用いた場合とは異なる

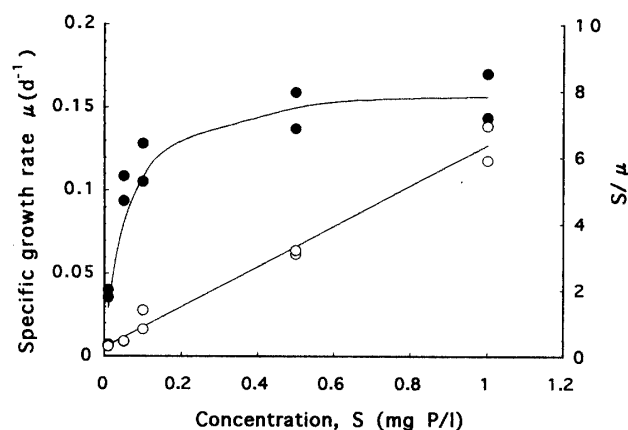


Fig. 5. Specific growth rate (μ) of *Peridinium bipes* f. *occultatum* versus initial concentration of glycerophosphate-P (S) in the medium (solid circles) and a linear transformation (open circles).

The symbols are the mean value of the triplicate.

り、10 mgP/l の濃度のみで抑制された。初期グリセロリン濃度と比増殖速度の関係を先の場合と同様に解析すると、半飽和定数と最大比増殖速度はそれぞれ 46.0 μ gP/l および 0.16 d⁻¹ と算定され、比増殖速度を基準としたグリセロリン酸の要求量は 0.5 mgP/l 程度と算定された (Fig. 5)。さらに、リン濃度と定常期までに増殖した細胞数との関係から最少細胞内リン持ちは、28.5 pgP/cell、単位体積当りのこれらリンの最少持ちは、 0.64×10^{-3} pgP/ μ m³ と算定された (Fig. 6)。

カルシウム要求量 0~50 mgCa/l の濃度で培養した結果、得られた最大増殖量は 2 mgCa/l までは濃度に依存して増大し 50 mgCa/l まではほぼ一定の値となった (Table 2)。このことから、最大増殖量を基準とした Ca 要求量は 2 mgCa/l 程度であると判断された。また、比増殖速度は 0.5 mgCa/l ですでに飽和していることが明らかとなった。

ビタミン類の要求 ビタミン要求性試験の結果を Table 3 に示す。ビタミン類の組合せの違いによる増殖量の差はほとんど見られず、本種は B 群ビタミン類の要求性がないことが明らかになった。

考 察

P. bipes f. *occultatum* はオルトリン酸に加えグリセロリン酸を単一のリン源として利用できることが明らかになった。これは高知県永瀬ダム湖に発生する赤潮の原因種 *Peridinium cunningtonii* や *P. penardii*^[12] と同様である。本種の最大比増殖速度および最大増殖量を与える要求量は両リン源で差がなく 0.16 d⁻¹ および 1 mgP/l で

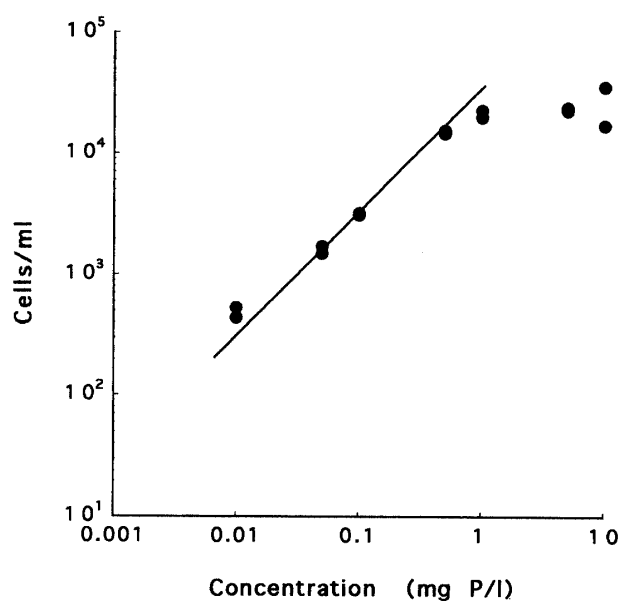


Fig. 6. Growth yields of *Peridinium bipes* f. *occultatum* grown in the different glycerophosphate-P concentrations.

The symbols are the mean value of the triplicate.

Table 2. Specific growth rates and maximum cell yields of *Peridinium bipes* f. *occultatum* for different Ca concentrations

Concentration (mg Ca)	Specific growth rate (d ⁻¹)	Maximum cell yield (cell/ml)
0	0.08 ± 0.01	2,346
0.5	0.13 ± 0.02	8,933
1.0	0.12 ± 0.02	10,031
2.0	0.13 ± 0.10	12,498
5.0	0.16 ± 0.02	14,831
10	0.14 ± 0.01	13,392
20	0.13 ± 0.01	13,845
50	0.16 ± 0.03	13,457

あったが、半飽和定数および最少細胞内持ちはオルトリン酸を用いた場合 (126 μ gP/l, 50.9 pgP/cell) よりもグリセロリン酸を用いた場合 (46 μ gP/l, 28.5 pgP/cell) に小さくなった。Berman ら^[8] は 4 種の緑藻類を用いて有機態リンおよび窒素の利用性が種により異なることを示し、このことが現場湖水中の種組成を決定する要因の一つであることを示唆している。穴内川ダム湖では有機態リンと無機態リンが同等の濃度で存在することがあることから、**P. bipes* f. *occultatum* が湖水中の有機態リンを有効に利用して増殖する可能性が示唆された。なお、*P. bipes* f. *occultatum* の増殖が高濃度のカリウム

Table 3. Yields of *Peridinium bipes* f. *occultatum* on various vitamin-containing media with serial transfers*¹

Additions* ²	Cell density (cells/ml)		
	1st.	2nd.	3rd.
None	8,951	5,671	10,827
Vitamin B ₁₂	7,724	5,947	10,547
Biotin	9,017	5,213	8,813
Thiamine	9,947	5,640	11,893
Vitamin B ₁₂ , Biotin	8,164	6,173	13,009
Vitamin B ₁₂ , Thiamine	10,997	6,147	9,904
Biotin, Thiamine	7,191	6,747	9,280
Vitamin B ₁₂ , Biotin, Thiamine	9,716	7,269	8,942
Vitamin mix S3, Vitamin B ₁₂	8,933	10,089	9,907

*¹ Cultured for 40–60 days.*² Vitamins were added to the vitamin-omitted w-1 medium: vitamin B₁₂, 0.2 µg/l; Thiamine-HCl, 20 µg/l; Biotin, 0.2 µg/l; vitamin mix S3, 10 ml/l. One ml of vitamin mix S3 contained: thiamine-HCl 0.05 mg; nicotinic acid, 0.01 mg; Ca pantothenate, 0.01 mg; p-aminobenzoic acid, 0.01 mg; biotin, 0.1 µg; in 5 mg; folic acid, 0.2 µg; thymine, 0.3 mg.

で抑制されること,¹⁰⁾ *P. cunningtonii* や *P. penardii* の増殖がリン酸二カリウムのおよそ 1 mgP/l の濃度で抑制されること¹²⁾ が報告されており, 本実験で 5 mgP/l 以上のオルトリン酸を用いた場合の増殖抑制もこれらの結果と同様にカリウムによる影響と思われる。

吉舎ら¹³⁾ はグリセロリン酸を用いた場合の本種の至適リン濃度, 最大比増殖速度および半飽和定数を 0.1 mgP/l, 0.12 d⁻¹ および 5 µgP/l と報告している。本実験で得られた最大比増殖速度は吉舎らの値とほぼ同様であったが, 増殖量が飽和するリン濃度および半飽和定数は 10 倍程度大きく, 本実験で得られた増殖量の飽和するリン濃度 (1 mgP/l) は *P. cunningtonii* および *P. penardii* の値 (0.5–2.0 mgP/l)¹²⁾ とほぼ等しかった。また, Chu の求めた *Asterionella gracillima* 等 7 種の淡水藻類の至適リン濃度は 0.1–0.2 mgP/l¹⁴⁾ であり, 本種のこの濃度はこれらの藻類に比べ高いことが明らかとなった。*Anabaena flos-aquae*, *Asterionella formosa* 等 7 種の淡水藻類の最大比増殖速度と半飽和定数はそれぞれ 0.54–1.35 d⁻¹ および 0.3–1.5 µgP/l^{15,16)} であり, これらの藻類に比べ本種の比増殖速度は低く, 半飽和定数が高いことが明らかになった。

本種のリンに関する最少細胞内含量は, 両リン源で 29–51 pgP/cell と算定されたが, これは *P. cunning-*

tonii の 15.7 pgP/cell,¹²⁾ *P. penardii* の 15.5–31.0 pgP/cell¹⁰⁾ に比べ 1–3 倍大きかった。*A. flos-aquae* および *A. formosa* 等 7 種の淡水藻類のリンに関する最少細胞内持ち分の多くは 0.05–0.14 pgP/cell^{15,16)} の範囲にあり, 本種のこの値はこれらに比べて甚だ大きい。しかしながら, これら 7 種の値を細胞体積当りの最少含量に換算すると, 0.22–6.28 × 10⁻³ pg/µm³ であり, 本種のこの値 0.64–1.1 × 10⁻³ pgP/µm³ はこの範囲内にある。結局本種の細胞当りの最少細胞内持ち分がこれらのプランクトンに比べ大きいのは, 本種の細胞体積が比較的大きいことによると考えられる。

本種はマグネシウムに比べ高濃度のカルシウムを増殖に要求することが報告されている。²⁾ 本実験で求めた増殖量を基準としたカルシウム要求量 (2 mgCa/l) は *P. cunningtonii* および *P. penardii*¹²⁾ の増殖量を基準とした要求量 (5 mgCa/l) に比べ小さく, Chu が求めた淡水藻類のカルシウム要求量 (0.02–1 mgCa/l)¹⁴⁾ に近いことが明らかになった。

B 群ビタミン類による本種の増殖への影響は見られず, *P. cunningtonii*, *P. penardii*¹²⁾ および海洋性 *Peridinium* 属の大部分がビタミン B₁₂ を要求すること^{17,18)} と異なり, *Peridinium inconspicuum* および *P. williei*¹⁹⁾ と同様に B 群ビタミン類を要求しないことが明らかになった。

以上に得られたパラメータから現場における本種の増殖ポテンシャルを推定した。すなわち, 赤潮発生現場における溶存態カルシウム濃度は 8.4–17.7 mgCa/l, 平均 11.0 mgCa/l (未発表データ) であり, 本種の最大増殖量および比増殖速度の飽和濃度 (2 mg/l および <0.5 mgCa/l) から, 本種の増殖は現場水中でカルシウムによって制限されていないと思われる。一方, 溶存態全リン濃度は 6–23 µgP/l (年平均 15 µgP/l) であり,^{*5} 最少細胞内リン濃度とこの平均濃度から, 現場における本種の増殖限度量はおよそ 300–500 cells/ml と算定される。この細胞数は, 前報で求めた窒素に関する増殖限度量 (250 cells/ml)¹⁾ と同程度であり本種の増殖限度量を基準にした現場の窒素およびリンの充足率はほぼ同程度で, 本種の増殖は窒素およびリンにより同程度に制限されていると思われる。さらに, この溶存態全リン濃度と本実験で求めたパラメータから本種の現場における比増殖速度は 0.02–0.04 d⁻¹ で, 最大比増殖速度の 13–25% と算定された。この速度は現場の窒素濃度から算定した比増殖速度 (0.1–0.13 d⁻¹) に比べ遅く, 本ダム湖での *P. bipes* f. *occultatum* の増殖速度がリンにより制限されている可能性を示している。

最適 N:P 比は最小細胞内濃度の比と考えられるの

*⁵ 畑 幸彦: 貯水池の淡水赤潮発生機構に関する研究, 四電技術コンサルタント報告書, p. 8 (1978).

で,²⁰⁾ *P. bipes* f. *occultatum* の最適 N:P 比は、前報で求めた最少細胞内窒素濃度 320 pgN/cell¹⁾ とリンのこの濃度から 13.9~24.8 と算定される。この値は *P. cunningtonii* の 5.5,¹²⁾ *P. penardii* の 6.0~12.0¹⁰⁾ に比べるとわずかに高いが、*A. falcatus* などの淡水藻類の最少細胞内濃度から求めた N:P 比 13.5~42.5^{15,21)} のうち比較的低い値であり、本藻の増殖がリンにより制限されやすいことがうかがえる。

Suttle and Harrison²²⁾ は種々の N:P 比で湖水を培養した結果、優占するプランクトン種が異なったことを報告しており、種によって異なる最適 N:P 比と環境水中の N:P 比が植物プランクトンの共存や排除を説明する上で重要であると考えられている。²⁰⁾ 穴内川ダム湖水の N:P 重量比は、赤潮発生現場の溶存態全窒素濃度 (年平均 0.08 mgN/l)⁵⁾ および溶存態全リン濃度から 11.7 と算定され、*P. bipes* f. *occultatum* の最適 N:P 比に比較的近く、本種の増殖しやすい環境であるように見える。しかしながら、本種の増殖速度が極めて遅いことからプランクトン間の最適 N:P 比の差から本種の赤潮発生過程を説明するのは困難であると思われる。

以上の様に本藻の最大比増殖速度、増殖速度半飽和定数などのパラメーターから赤潮発生過程を説明することは困難であった。淡水赤潮はダム湖への河川水の流入部位で特に顕著に観察されることが知られており、畑は河川水流入部位におけるダム湖水の逆流による集積過程がダム湖における淡水赤潮発生過程に重要な役割を果たしていることを示唆している。¹²⁾ 今後、本藻の栄養塩類の取り込みと増殖の動力学的解析をおこなうと共に、集積過程の解析が必要と思われる。

文 献

- 1) 西堀尚良, 西島敏隆, 畑 幸彦, 小野田義輝: 淡水赤潮プランクトン *Peridinium bipes* f. *occultatum* の増殖に及ぼす照度, 温度, pH および窒素栄養塩の影響. 日水誌, 57, 1729-1735 (1991).
- 2) 植田勝己: *Peridinium bipes* の増殖に及ぼすカルシウム, リン酸, マグネシウムの影響. 環境生物学研究報告, 1, 1-4 (1983).
- 3) 渡辺仁治, 高田美保: 旭ダム湖における *Peridinium cinctum* f. *westii* による淡水赤潮の発生機構の研究. 環境生物学研究報告, 1, 9-14 (1983).
- 4) A. Elgavish, M. Halman, and T. Berman: A comparative study of phosphorus utilization and storage in batch cultures of *Peridinium cinctum*, *Pediastrum duplex* and *Cosmarium* sp., from Lake Kinneret (Israel). *Phycologia*, 21, 47-54 (1982).
- 5) G. P. Fitzgerald and T. C. Nelson: Extractive and enzymatic analyses for limiting or surplus phosphorus in algae. *J. Phycol.*, 2, 32-37 (1966).
- 6) M. Jansson: Phosphatases in lake water: Characterization of enzymes from phytoplankton and zooplankton by gel filtration. *Science*, 194, 320-321 (1976).
- 7) F. P. Healey and L. L. Hendzel: Fluorometric measurement of alkaline phosphatase activity in algae. *Freshwater Biology*, 9, 429-439 (1979).
- 8) T. Berman, S. Chava, B. Kaplan, and D. Wynny: Dissolved organic substrates as phosphorus and nitrogen sources for axenic batch cultures of freshwater green algae. *Phycologia*, 30, 339-345 (1991).
- 9) R. T. Heath: Dissolved organic phosphorus compounds. Do they satisfy planktonic phosphate demand in summer? *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 43, 343-351 (1986).
- 10) 渡辺 信: 純粋培養法による淡水赤潮 *Peridinium* の増殖特性の解析—合成培地の確立. 国立公害研究所研究資料, 24, 111-121 (1982).
- 11) 岩崎英雄: 培養液の種類と組成, 「藻類研究法」(西沢・千原 編), 共立出版, 東京, 1979, pp. 281-293.
- 12) 畑 幸彦: ダム湖における淡水赤潮の発生事例, 「淡水赤潮」(門田 元編), 恒星社厚生閣, 東京, 1987, pp. 247-284.
- 13) 吉舎廣幸, 山本純也, 山林佳弘: 貯水地の淡水赤潮 (*Peridinium bipes*) の増殖必要元素に関する研究. 電力土木, 237, 35-40 (1992).
- 14) S. P. Chu: The influence of mineral composition of the medium on the growth of planktonic algae. *J. Ecol.*, 30, 284-325 (1942).
- 15) I. Gotham and G-Y. Rhee: Comparative kinetic studies of phosphate-limited growth and phosphate uptake in phytoplankton in continuous culture. *J. Phycol.*, 17, 257-265 (1981).
- 16) D. Tilman and S. Kilham: Phosphate and silicate growth and uptake kinetics of the diatom *Asterionella formosa* and *Cyclotella meneghiniana* in batch and semicontinuous culture. *J. Phycol.*, 12, 375-383 (1976).
- 17) 岩崎英雄: 赤潮鞭毛藻類に関する研究—Ⅲ. 五ヶ所湾の *Peridinium hangoei* SCHILLER について. *Bull. Plankton Soc. Japan*, 16, 132-139 (1969).
- 18) M. Droop: Requirement for thiamine among some marine and super-littoral protista. *J. mar. biol. Ass. U.K.*, 37, 323-329 (1958).
- 19) J. Holt and L. Pfister: A survey of auxotrophy in five fresh water dinoflagellates. *J. Phycol.*, 17, 415-416 (1981).
- 20) G-Y. Rhee and I. J. Gotham: Optimum N:P ratios and coexistence of planktonic algae. *J. Phycol.*, 16, 486-489 (1980).
- 21) I. Gotham and G-Y. Rhee: Comparative kinetic studies of nitrate-limited growth and nitrate uptake in phytoplankton in continuous culture. *J. Phycol.*, 17, 309-314 (1981).
- 22) C. A. Suttle and P. J. Harrison: Ammonium and phosphate uptake rates, N:P supply ratios, and evidence for N and P limitation in some oligotrophic lakes. *Limnol. Oceanogr.*, 33, 186-202 (1988).