

生物対流の発生とその機構について Onset of Bioconvection and its Mechanism

国立公害研究所 正員 渡辺 正孝
国立公害研究所 原 島 省

1. はじめに

赤潮藻類（淡水および海水）の中でも特に重要とされる鞭毛藻は、平均 1 m/hr の速度で日周垂移動（vertical migration）を行い、昼間は表層に夜間は下層に移動する性質を持っている。（Eppley, R. W. et al 1958, Forward R. B. Jr. 1974, Hasle, G. R. 1950）。光合成を行うに必要な有光層への上昇と水表面への集積作用のみならず、栄養塩に富んだ下層に移行して増殖に必要な物質を摂取することができるゆえに、他種との競合関係において優位な生態的地位を持つことができる。同調培養された鞭毛藻による日周垂移動の実験中に興味ある現象がみられる。明期の大部分の時間、すなわち鞭毛藻が本来走光性によって上方に遊泳している時期においても、鞭毛藻を濃密に含む上層の培養液が指状の筋（falling finger）となって垂れ下がってくることもある。類似の現象は動物プランクトンにおいても見られ、生物対流（bioconvection）と呼ばれている（Platt, J. R. 1961, Winet, H and Jahn T. L. 1972, Plesset, M. S and H. Winet 1974）。この現象は、単に明暗サイクルに追従する走光性によってのみでは説明できず、これがいかなる機構によって起こるかはナゾとされてきた。本報告では鞭毛藻個体の精密な比重測定を行い、鞭毛藻を濃密に含む上層が、含まない下層よりも大きな密度をもつことを確かめた。さらに密度逆転にともなう不安定現象、すなわち自由表面を持つ Rayleigh-Taylor Instability の微小変位論による解析を行った。

2. 日周垂移動実験

高さ 75cm, 直径 20cm, 容積 23.6ℓ ガラス製の培養槽を用いて海産鞭毛藻 *Heterosigma akashiwo* の無菌培養（f/2 培地, 20℃, 4000ℓx, 12hr-12hr 明暗サイクル）を行い、日周垂移動実験を行った（渡辺等 1982）。初期細胞濃度 70 cells/ml で通気攪拌培養を行い、対数増殖期にあたる 17~18 日目の株を用い、表層、中層、底層の3層から試料を採取し、各層の時間ごとの細胞数の変化を計測した（図1）。実験開始前の通気攪拌状態での細胞濃度は $2.2 \times 10^4 \text{ cells/ml}$ と上下一様であったが、集積の結果表層での濃度は $4.2 \times 10^5 \text{ cells/ml}$ に達している。本種の日周垂移動の周期は明暗サイクルに追従しておらず、上下への移動は明暗切り換え時刻に先行して行われており、これは培養初期に与えられた明暗サイクルでそのパターンは規定される circadian rhythms に基づいている。この表層への集積が完了するとともに、光照射中にもかかわらず多くの指状のすじが垂れさがり、それに伴う加速された下降現象が観察される。そして下降速度と鞭毛藻自身の上方遊泳速度とが均衡する点まで下降した後は再び上方へ遊泳を行なう。

3. 密度勾配遠心法による細胞比重測定

従来からの藻類の比重測定には setting chamber を用いて沈降速度を計測し Stokes の沈降公式より計算する方法が用いられてきた（Eppley R. W. et al, 1967, Smayda T. J. 1970）。この方法では形状抵抗係数が不明であるため誤差が大きく、信頼できる比重測定は困難であった。ここでは密度勾配遠心法（Oliver R. L. et al 1981）を用いて、藻類が生きたままの比重測定を行った。

Percoll (Pharmacia Fine Chemicals社) は PVP (ポリビニルピロリドン) でコーティングした多分散コロイド状のシリカ粒子であり、約 $10,000 \times \rho_{av}$ 以上で超遠心を行うと成分各粒子は異なる速度で沈降し非常になめらかな勾配を形成する。密度勾配の組成は海水 100ml, MgCl_2 1.43g, TRIS 1g, Percoll to

1,000ml である。

15ml 遠心管を用い Beckman 超遠心機 L 5-65 B で 50Ti アングローターにより超遠心を 2 時間行った後、分画を行い、各分画の比重検定は 200ml メスシリンダー内に CCl_4 : Kerosene 混合物により形成された密度勾配層により行った (Wolff D. A. 1975)。

この勾配液の上にサンプルを 2ml 重層し、スイング型遠心機により約 $300 \times g$ 程度の遠心を行うことにより藻類は、同じ比重を持つ層に集積する。この密度勾配サンプルを分画し、Turner III 型蛍光光度計により集積した層のピークを同定することにより藻類の正確な比重を計測することができる。これより 14:00 サンプルした *H. akashiwo* は比重 1.10 であることが判明した。また藻類自身は一日の間で光合成 - 細胞分裂をくり返しており、その為比重の日周変化が見られ、一日の間で比重は 1.10~1.15 まで変化している (渡辺 1982)。

4. 密度不安定対流

以上の比重測定により *H. akashiwo* 単一粒子の沈降速度は Stokes 公式より約 7 cm/hr であることがわかり、実験により観測されている下降速度より一桁小さく、この falling finger が Stokes 公式による最終沈降速度によっては説明できないことがわかる。*H. akashiwo* が表層に集積すると、はっきりとした分離層を形成し、上下 2 層に分れる。*H. akashiwo* の集積した上層の個体数は 10^5 cells/ml オーダーに達し、下層での個体数は 10^2 cells/ml オーダーになる。このため藻類・海水の混合した上層としての平均密度は、下層の密度より $\Delta \rho = 0.62 \times 10^{-4} \text{ g/cm}^3$ だけ重くなる。このため生物対流現象は *H. akashiwo* 個々の粒子の挙動を見るよりも、集積した *H. akashiwo* を含む上層を連続体として扱い、上下 2 層間の密度逆転に伴う不安定問題、いわゆる Rayleigh-Taylor Instability として解析できることが明らかになった。

本論文においては自由表面を持つ Rayleigh-Taylor 不安定問題の一般解を求め密度不安定対流の最も発達しやすいモードすなわち卓越波長について理論的および実験的考察を加えることにより鞭毛藻による生物対流現象 (bioconvection) の機構を明らかにする。

5. 自由表面を持つ Rayleigh-Taylor Instability

非常縮圧流体が成層し static な状態にある時、圧力 P と密度 ρ は鉛直方向のみの関数となっている。この初期の static な平衡状態に微小擾乱を与え、その外乱の変動を追跡することにより密度不安定対流の機構を解析することができる。外乱によって生じる圧力変動を δP 、密度変動を $\delta \rho$ 、さらに流速成分 (非常に小さいと考えられる) を u, v, w (それぞれ x, y, z 方向の流速成分) とする。一様な粘性係数を考え、表面張力の影響を無視すると、運動量方程式、連続方程式はそれぞれ次のように与えられる (Chandrasekhar, 1961)。

$$\rho \frac{\partial u}{\partial t} = -\frac{\partial}{\partial x} \delta p + \mu \nabla^2 u \quad (1)$$

$$\rho \frac{\partial v}{\partial t} = -\frac{\partial}{\partial y} \delta p + \mu \nabla^2 v \quad (2)$$

$$\rho \frac{\partial w}{\partial t} = -\frac{\partial}{\partial z} \delta p + \mu \nabla^2 w - g \delta \rho \quad (3)$$

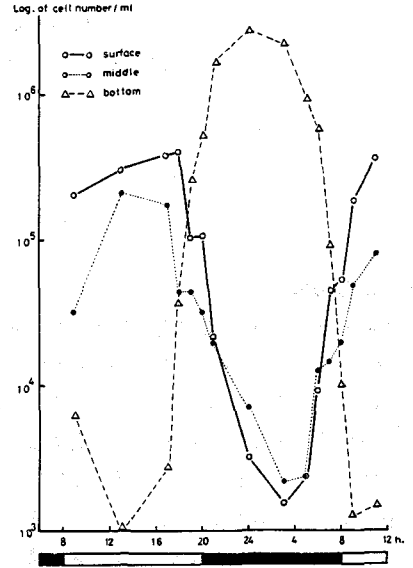


図1 マイクロコズム1号機での *H. akashiwo* の垂直移動

$$\frac{\partial u}{\partial x} + \frac{\partial v}{\partial y} + \frac{\partial w}{\partial z} = 0 \quad (4)$$

$$\frac{\partial}{\partial t} \delta \rho = -w \frac{d\rho}{dz} \quad (5)$$

但し x, y は水平方向, z は鉛直方向とする。 x, y および t の変数に対して次のような形の解を仮定する。

$$\exp(i k_x X + i k_y Y + n t) \quad (6)$$

ここで, k_x, k_y, n は定数とする。

(6) 式を(1)~(5)式に代入すると

$$i k_x \delta p = -\rho u n + \mu (D^2 - k^2) u \quad (7)$$

$$i k_y \delta p = -\rho v n + \mu (D^2 - k^2) v \quad (8)$$

$$D \delta p = -\rho w n + \mu (D^2 - k^2) w - g \delta \rho \quad (9)$$

$$i k_x u + i k_y v = -D w \quad (10)$$

$$n \delta \rho = -w D \rho \quad (11)$$

$$\text{ここで} \quad k^2 = k_x^2 + k_y^2$$

$$D = \frac{d}{dz}$$

(7) 式と(8)式にそれぞれ $-i k_x, -i k_y$ を掛け加え合わせ, (10) 式の関係を用いると

$$k^2 \delta p = \{-n \rho + \mu (D^2 - k^2)\} D w \quad (12)$$

(9) 式と(11)式より次の関係式が求められる。

$$D \delta p = -n \rho w + \mu (D^2 - k^2) w + g \frac{w}{n} D \rho \quad (13)$$

(11) 式と(13)式より δp を消去すると次のような粘性流体系を表現する一般式が求まる

$$D \left[\left\{ \rho - \frac{\mu}{n} (D^2 - k^2) \right\} D w \right] = k^2 \left[\left\{ \rho - \frac{\mu}{n} (D^2 - k^2) \right\} w - \frac{g}{n^2} (D \rho) w \right] \quad (14)$$

培養実験系においては密に上層に集積している。したがって図2に示すような二層流体系によるモデル化が可能である。すなわち, $Z = 0$ において密度および粘性がそれぞれ異なる二つの流体が接しており, $Z = H$ を水表面とする。下層は十分に深いため, ここでは $Z = -\infty$ で水底に接すると考える。それぞれの層内では流体は一樣な ρ_1, ρ_2 および粘性 μ_1, μ_2 を持つ。それぞれ上層, 下層の領域内においては密度 ρ , 粘性 μ は一定とすると(14)式は次のように与えられる。

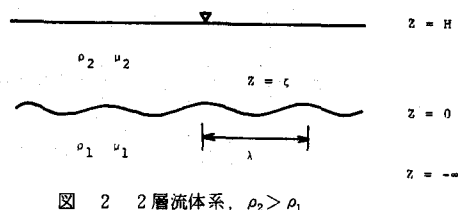


図 2 二層流体系, $\rho_2 > \rho_1$

$$\left[1 - \frac{\nu}{n} (D^2 - k^2) \right] (D^2 - k^2) w = 0 \quad (15)$$

$$\text{ここで} \quad \nu = \mu / \rho$$

(15) 式は次のような一般解を持つ (Chandrasekhar, 1961)

$$w = Ae^{kz} + Be^{-kz} + Ce^{qz} + De^{-qz} \quad (16)$$

したがって上層，下層における一般解は次式で与えられる。

$$w_1 = A_1 e^{kz} + B_1 e^{-kz} + C_1 e^{q_1 z} + D_1 e^{-q_1 z} \quad (z < 0) \quad (17)$$

$$w_2 = A_2 e^{kz} + B_2 e^{-kz} + C_2 e^{q_2 z} + D_2 e^{-q_2 z} \quad (z > 0) \quad (18)$$

$$\text{ここで } q_1 = \sqrt{k^2 + n/\nu_1}, \quad q_2 = \sqrt{k^2 + n/\nu_2}$$

⑦，⑧式に与えられた一般解は以下の境界条件を満足しなければならない

$$\text{i) } Z = -\infty \text{ において } w_1 = 0 \quad (19)$$

$$\text{ii) } Z = 0 \text{ において流速成分は連続。すなわち } w_1 = w_2 \quad (20)$$

$$Dw_1 = Dw_2 \quad (21)$$

iii) $Z = 0$ において tangential stress は連続

$$[\mu (D^2 + k^2) w]_1 = [\mu (D^2 + k^2) w]_2 \quad (22)$$

iv) $Z = \zeta$ において，normal stress は連続

$$[N]_1 = [N]_2 \quad (23)$$

ここで

$$N = -k^2 \left(\frac{\rho g}{n} w + 2\mu Dw \right) - n\rho Dw + \mu (D^2 - k^2) Dw \quad (24)$$

v) $Z = h$ において

$$w(h) = 0 \quad (25)$$

$$\frac{\partial^2}{\partial z^2} w(h) = 0 \quad (26)$$

境界条件 i) ~ iv) を式⑦，⑧に代入すると次のようなマトリックスで表現される方程式を得る。

$$\begin{vmatrix} 1 & 1 & -1 & -1 & -1 & -1 \\ k & q_1 & -k & k & -q_2 & q_2 \\ 2k^2\mu_1 & (q_1^2 + k^2)\mu_1 & -2k^2\mu_2 & -2k^2\mu_2 & -(q_2^2 + k^2)\mu_2 & -(q_2^2 + k^2)\mu_2 \\ \alpha_1 - R - F & -R - F \frac{q_1}{k} & -\alpha_2 - R - F & \alpha_2 - R + F & -R - F \frac{q_2}{k} & -R + F \frac{q_2}{k} \\ 0 & 0 & a & b & c & d \\ 0 & 0 & k^2 a & k^2 b & q_2^2 c & q_2^2 d \end{vmatrix} \begin{vmatrix} A_1 \\ C_1 \\ A_2 \\ B_2 \\ C_2 \\ D_2 \end{vmatrix} = 0 \quad (27)$$

ここで

$$\alpha_1 = \frac{\rho_1}{\rho_1 + \rho_2}, \quad \alpha_2 = \frac{\rho_2}{\rho_1 + \rho_2}, \quad \alpha_1 + \alpha_2 = 1$$

$$R = \frac{gk}{2n^2} \frac{\rho_2 - \rho_1}{\rho_1 + \rho_2} = \frac{gk}{2n^2} (\alpha_2 - \alpha_1)$$

$$F = \frac{k^2}{n} \frac{\mu_2 - \mu_1}{\rho_1 + \rho_2} = \frac{k^2}{n} (\alpha_2 \nu_2 - \alpha_1 \nu_1)$$

$$a = e^{kh}, \quad b = e^{-kh}, \quad c = e^{q_2 h}, \quad d = e^{-q_2 h}$$

(2-35) 式で表現される線型連立方程式の determinant はゼロでなければならないという条件より， $\alpha_1, \alpha_2, \mu_1, \mu_2, h$ が与えられれば， n の特性方程式が次のように求められる。

$$\begin{vmatrix}
 1 & 1 & -1 & -1 & -1 & -1 \\
 k & q_1 & -k & k & -q_2 & q_2 \\
 2k^2\mu_1 & (q_1^2+k^2)\mu_1 & -2k^2\mu_2 & -2k^2\mu_2 & -(q_2^2+k^2)\mu_2 & -(q_2^2+k^2)\mu_2 \\
 \alpha_1-R-F & -R-F\frac{q_1}{k} & -\alpha_2-R-F & \alpha_2-R+F & -R-F\frac{q_2}{k} & -R+F\frac{q_2}{k} \\
 0 & 0 & a & b & c & d \\
 0 & 0 & k^2a & k^2b & q_2^2c & q_2^2d
 \end{vmatrix} = 0 \quad (28)$$

上層と下層における kinematic viscosity はほぼ等しいと仮定すると

$$\nu_1 = \nu_2 = \nu \text{ (const)}$$

したがって

$$q_1 = q_2 = \sqrt{k^2 + \frac{n}{\nu}} = q \quad (29)$$

さらに次のような変数交換を行う

$$s = \frac{n}{k^2 \nu} \quad (30)$$

$$l = \frac{q}{k} = \sqrt{1+s} \quad (31)$$

$$Q = \frac{g}{k^3 \nu^2} \quad (32)$$

30)~32式より, k n は次式で与えられる。

$$k = \left(\frac{g}{\nu^2}\right)^{\frac{1}{3}} Q^{-\frac{1}{3}} \quad (33)$$

$$n = k^2 \nu (l^2 - 1) = \left(\frac{g^2}{\nu}\right)^{\frac{1}{3}} (l^2 - 1) Q^{-\frac{1}{3}} \quad (34)$$

さらに n の特性方程式28式は次のように変形される。

$$\begin{vmatrix}
 2(1 - \frac{\alpha_2}{\alpha_1}) & -2(l^2 - 1) \\
 -(\alpha_2 - \alpha_1) \left[1 + \frac{Q}{(l^2 - 1)^2} + \frac{2}{l^2 - 1} \right] & [2\alpha_2 + \frac{4(\alpha_2 - \alpha_1)}{l^2 - 1}] (l - 1) + 2\alpha_1 \\
 a & (b - a)(l - 1) \\
 (l^2 + 1)(1 - \frac{\alpha_2}{\alpha_1})(d - c) \\
 [-\frac{(\alpha_2 - \alpha_1)Q}{(l^2 - 1)^2} - \frac{\alpha_2 - \alpha_1}{l^2 - 1} l] (d - c) + 2\alpha_2 c y \\
 c(b - a)y
 \end{vmatrix} = 0 \quad (35)$$

34式より n は real であり positive である。したがって擾乱の振幅は時間とともに指数関数的 (e^{nt}) 増大し、すべての波数 k に対して不安定であることがわかる。35式において、任意の k の値を設定すれば、 $y > 1$ での種々の y の値に対して Q の値を求めることができる。特に密度差 ($\alpha_2 - \alpha_1$) および上層厚さ h を設定すると最大の不安定成長率 (最大の n 値) を与える卓越波数 k_m , したがって卓越波長 $\lambda_m = 2\pi/k_m$ が存在する。この最大不安定を与える卓越波長 λ_m は実験においては finger 間の距離として観測される。

生物対流を形成する実験装置として、高さ 40cm, 幅 10cm, 厚さ 3cm のポリカーボネイト製の培養器を用い、大阪湾に発生する *H. akashiwo* を、温度 21 °C, 照度 3,000 Lux , $f/2$ 培地使用, 12h-12h 明暗サイクルによる無菌培養を行った。生物対流の実験開始時に培養器内を弱く攪拌し *H. akashiwo* の分布を一様にし、30分放置撮影を行うとともに (図3), 上層より採水を行い個体数をカウントした。

上層の密度 ρ_2 は次のように求められる。

$$\rho_2 = \frac{v\rho_1 + v_0\rho_0}{v+v_0} = \rho_1 + \frac{v_0}{v+v_0} \Delta\rho$$

但し、 ρ_1 = 上層の液体の密度、 v = 上層の液体の体積、 $\rho_0 = H.akashiwo$ の細胞密度、 $v_0 = H.akashiwo$ の体積、 $\Delta\rho = \rho_0 - \rho_1$.

密度勾配速心法による *H.akashiwo* の細胞密度測定により $\Delta\rho \cong 0.12$ である。図3に示された実験の場合、上層厚さ $h \cong 0.3$ cm、個体数 = 6.68×10^5 cells/ml であり、B5式より $\rho_1 = 1.03$ とすると $\rho_2 = 1.0304$ となる。これより与えられた上下層の密度差 ($\alpha_2 - \alpha_1$) 及び上層厚さ h に対して、B5式より最大不安定 n を与える卓越波数 k_m が存在することがわかる (図4)。同様に最大不安定を与える卓越波長 $\lambda_m = 2\pi/k_m$ が存在することが図5よりわかる。

さらに与えられた上下層の密度差 ($\alpha_2 - \alpha_1$) に対して、上層厚さ h の変化に対する卓越波長 λ_m の変化を図6に示すが、最大不安定をもたらすモードは密度差 ($\alpha_2 - \alpha_1$) および上層厚さ h の関数であることがわかる。図5より卓越波長 $\lambda_m \cong 0.9$ という理論が得られる。図3の写真より falling finger の間隔として約 0.8~1.0 cm の値が読みとれ、鞭毛藻の垂直移動に伴う生物対流が、密度逆転による二層流体の密度不安定問題として、その現様が説明し得ることが判明した。

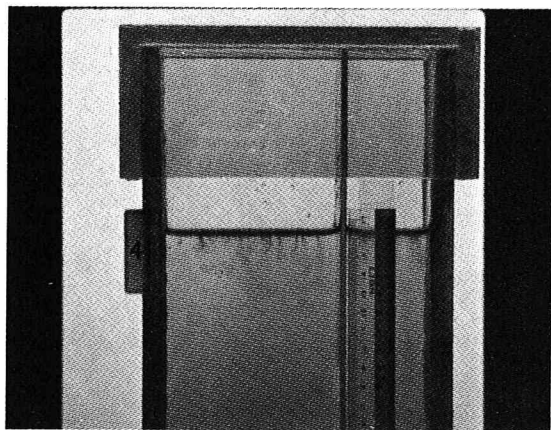


図3 実験条件が $\rho_1 = 1.03$, $\rho_2 = 1.03034$, $h = 0.3$ cm の場合の bioconvection

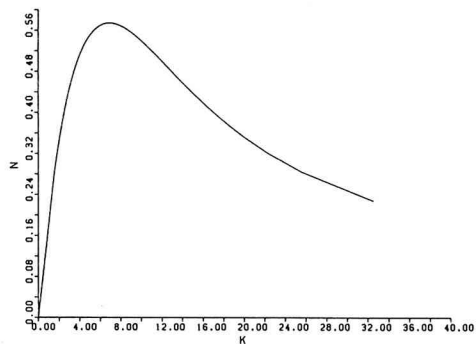


図4 擾乱増幅率 n と波数 k との関係

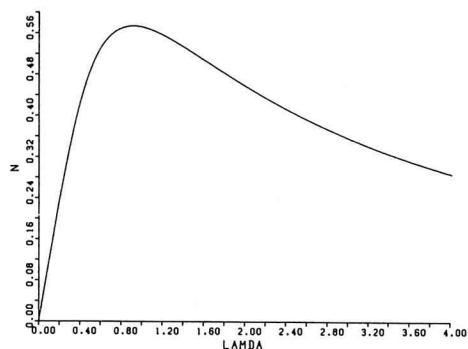


図5 擾乱増幅率 n と波長 λ との関係

4. 結 論

制御実験系において培養した鞭毛藻 *H.akashiwo* の垂直移動に伴う上層への集積と、明サイクルにもかかわらず加速された下降現象が観察され、赤潮を形成する鞭毛藻 *H.akashiwo* においても生物対流 (bioconvection) が存在することが判明した。この生物対流の機構として、無限小振幅を仮定し、密度逆転した二層流体系の不安定問題として理論解析を行い、生物対流の現象をよく説明し得ることを見出した。現在の解析においては最大不安定をもたらす卓越波長 λ_m を求め、実験結果との整合性を実証した。

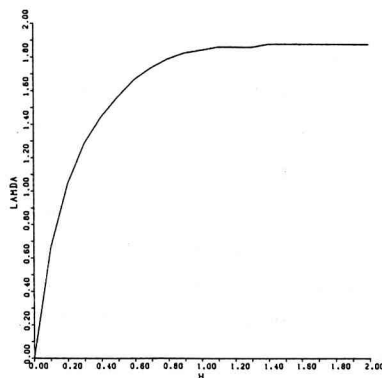


図6 波長 λ と上層厚 h との関係

引用文献

- Chandrasekhar, S. (1961) : Hydrodynamics and Hydromagnetic Stability, Chapter 10. Oxford University Press.
- Eppley, R. W., O. Holm-Hansen and J. D. H. Strickland (1958) : Some observations on the vertical migration of dinoflagellates. J. Phycol., 4, 333-340.
- Eppley, R. W., R. W. Holmes and E. Peasche (1967) : Periodicity in cell division and physiological behaviour of *Ditylum brightwellii*, a marine diatom, during growth in light-dark cycles. Arch. Mikrobiol., 56, 305-323.
- Forward, R. B. Jr. (1974) : Phototaxis by the dinoflagellates *Cymnodinium splendens* Lebour. J. Protozool., 21, 312-315.
- Hasle, G. R. (1950) : Phototactic vertical migration in marine dinoflagellates. Oikos, 2, 162-175.
- Loeffer, J. B. and R. B. Mefferd (1952) : Concerning pattern formation by free-swimming microorganisms. Am. Naturalist, 86, 325-329.
- Oliver R. L., Kinnear A. J. and Ganf G. G. (1981) : Measurements of cell density of three freshwater phytoplankters by density gradient centrifugation. Limnol. Oceanogr. 26(2). 285-294.
- Platt, J. R. (1961) : Bioconvection patterns in cultures of free-swimming microorganisms. Science, 133, 1766-1767.
- Robbins, W. J. (1952) : Patterns formed by motile *Euglena gracilis* var. *bacillaris*. Bull. Torrey Bot. Club, 79, 107-109.
- Smayda, T. J. (1970) : The suspension and sinking of phytoplankton in the sea, Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev., 8, 353-414.
- 渡辺正孝 (1982) : *Olisthodiscus luteus* と *Skeletonema costatum* の細胞密度の日周変動, 国立公害研究所研究報告, 第30号, 143-154.
- 渡辺 信・矢持 進・木幡邦男・渡辺正孝 (1982) : 赤潮鞭毛藻 *Olisthodiscus luteus* の垂直移動とリン酸摂取の日周性, 国立公害研究所研究報告, 第30号, 131-141.
- Winet, H. and T. L. Jahn (1972) : On the origin of bioconvective fluid instabilities in *Tetrahymena* culture systems. Biorheol, 9, 87-94.
- Wolff, D. A. (1975) : The separation of cells and subcellular particles by colloidal silica density gradient centrifugation. In D. M. Prescott [ed.] , Methods in cell biology, v. 10., p.85-104. Academic. Press.