

平成20年度

霧多布湿原学術研究助成成果報告書

石丸 夏海

(北海道大学大学院 環境科学院)

平成21年 3月

1 研究テーマ

火散布沼における低次生産過程をめぐる親生物元素の挙動の解明

2 研究の目的

海洋生態系において窒素などの親生物元素は、植物プランクトンに取り込まれ有機物となり、これを捕食する植食動物プランクトン、それに続く肉食動物プランクトン、魚類へと転送されるような食物連鎖と、バクテリアによる無機物への分解といった腐食連鎖を通過して循環している。海洋環境の中でも環境変動が最も大きい汽水域の物質循環過程は外洋域とは異なり、栄養段階数は小さく、生物生産性は非常に高い。近年、このような汽水域における基礎生産過程や、それに続く食物網のダイナミクスについての様々な素過程に関する知見が集積されつつある。Kohata(2003)は松川浦における物質循環過程の定量化により、二枚貝による粒状有機物の除去過程や大型草藻類による溶存無機物の取り込みの寄与について述べている。また、富栄養化した沿岸生態系においては微生物群集の働きが増大しているという腐食連鎖に関する報告もある(野村ら、2007)。また微生物群集は溶存態有機物を基質として利用し、増殖することで、溶存態有機物を捕食に耐える大きいサイズの粒子に作り変えることから、エネルギーフローの起点となる生産者の役割も担っていることが知られている(例えばAzam, 1983; Pomeroy, 1974)。これらの生物過程を全て考慮した生態系システムの解明が切に求められている一方で、様々な観測上の隘路により、そのような総合的な物質循環過程の定量化を行った報告例は極めて少ないのが現状である。

火散布沼における物質循環過程の解明に関する研究は、所属する研究室において、二枚貝を中心とした栄養塩ダイナミクスや、安定同位体比を用いた食物網の研究が行われているが、大型草藻類、微生物群集、動物プランクトンのファクターについてはいまだ十分に明らかになっていない。そこで本研究では、様々な生物過程の定量化を進め、亜寒帯汽水域(火散布沼)の詳細な生態系モデルの構築を行なうことを目的とし、本年度は1、火散布沼の動物プランクトン、バクテリア現存量の定量化を行い、その支配要因について考察する。2、アマモの物質代謝速度の推定を行い、火散布沼の親生物元素の挙動に主要な役割を果たす生物過程を推定する。以上の2つを目的とした。

亜寒帯汽水湖(火散布沼)における 低次生産過程をめぐる親生物元素の挙動の解明

北海道大学大学院 環境科学院 石丸 夏海

背景

海洋生態系において、窒素などの親生物元素は植物プランクトンに取り込まれ有機物となり、これを捕食する植食動物プランクトン、それに続く魚類へと転送されるような食物連鎖、バクテリアによる無機物への分解といった腐食連鎖をめぐり複雑に循環している。

これらの生物過程を全て考慮した総合的な物質循環過程の定量化を行った報告例は極めて少ない。

目的

様々な生物活動に着目し、汽水域の物質循環過程を総合的に解明することを目的とし…

1. 亜寒帯汽水湖(火散布沼)の動物プランクトン、バクテリア現存量の定量化を行い、その支配要因について考察する。
2. アマモの物質代謝速度の推定を行い、火散布沼の親生物元素の挙動に主要な役割を果たす生物過程を推定する。

方法

調査海域: 北海道道東の汽水湖(火散布沼)

現存量調査期間: 2008年4月~2009年2月

観測地点: St.A,B,C,D,E

測定項目: 水温・塩分・水柱・堆積物中Chl a量

動物プランクトン態($>50\mu$ サイズ)粒子量

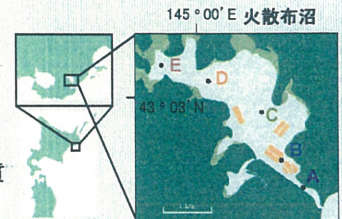
動物プランクトン態炭素・窒素・リン量

動物プランクトン態安定同位体比($\delta^{13}C$ ・ $\delta^{15}N$)

水柱・堆積物中バクテリア現存量

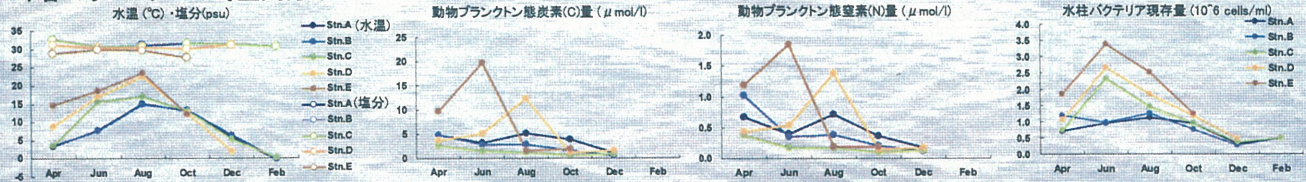
アマモ物質代謝速度:

2008年4月、火散布沼の潮間帯にてアマモ(*Zostera marina* L.)を採取し、培養ボトルにて48時間の培養実験を行う。培養前後の溶解態無機窒素(DIN)、有機窒素(DON)濃度の変化から物質消費・生産速度を算出する。



結果と考察

1) 各パラメータの時空間分布



2) 動物プランクトン・バクテリアの時空間分布を決める要因

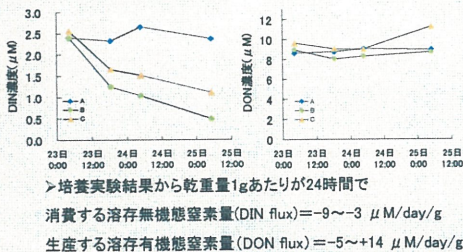
水温、塩分、動物プランクトン態粒子量、C/N/P、 $\delta^{13}C$ 、 $\delta^{15}N$ 、C/N/C/P/N/P及びバクテリア現存量の相関係数

	水温	塩分	動物プランクトン態粒子量	C	N	P	$\delta^{13}C$	$\delta^{15}N$	C/N	C/P	N/P	Bacteria
水温	1.00											
塩分	0.35	1.00										
動物プランクトン態粒子量	0.39	-0.25	1.00									
C	0.39	-0.14	0.89	1.00								
N	0.39	-0.14	0.89	0.96	1.00							
P	0.38	-0.12	0.90	0.99	0.98	1.00						
$\delta^{13}C$	0.31	-0.02	-0.01	-0.26	-0.20	-0.13	1.00					
$\delta^{15}N$	0.25	0.18	0.25	0.09	0.17	0.33	0.33	1.00				
C/N	0.49	-0.01	0.19	0.41	0.23	0.20	0.00	0.09	1.00			
C/P	0.37	-0.41	0.25	0.48	0.38	0.20	-0.22	-0.15	0.83	1.00		
N/P	0.60	0.02	0.08	0.15	0.18	-0.02	-0.24	-0.30	-0.19	0.82	1.00	
Bacteria	0.78	-0.50	0.51	0.64	0.58	0.56	0.21	0.32	0.55	0.30	-0.17	1.00

(*: $p < 0.05$)

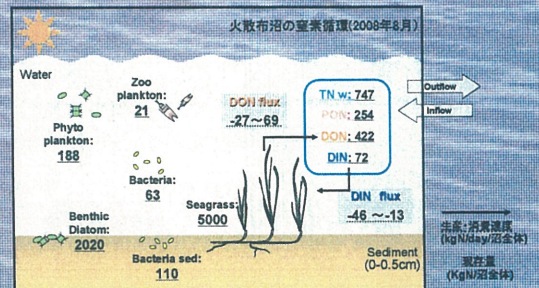
- 動物プランクトンと水柱バクテリアは相関関係にある。→バクテリア捕食者を介した食物連鎖?
- 動物プランクトンのC/Nは塩分と有意な相関を示した。→海水の流出入が動物プランクトンの種組成を変化させている。
- 水柱バクテリア現存量は水温と非常に高い相関係数を示した。→バクテリアの多寡は水温に依存している。

3) アマモ物質代謝速度



4) 火散布沼における窒素の挙動

窒素(N)ベースでそれぞれの生物の窒素(N)の現存量、生産・消費速度と比較する。



PON = 水柱粒状有機窒素
TNw(水柱全窒素) = PON + DON + DIN
引用: 2005年8月PON/DON/DIN現存量(藤原ら2006)
2003年8月アマモ・コアマモ現存量(藤原ら2006)

換算係数
植物プランクトン: N/Chl a = 16.5 (Anda et al. 1963)
底生微細藻類: N/Chl a = 5.6 (Shimada et al. 2003)
バクテリア現存量: 7.3g/cell (Fukuda et al. 1995)

- 夏季に水柱DIN現存量の20~65%はアマモによって消費される。
- 水柱バクテリア現存量は植物プランクトン現存量の1/3、動物プランクトン現存量の3倍に及んだ。
- バクテリアはアマモ類が生産する溶解態有機物(DOM)を利用する(Kaldy, 2006)。
- 植物プランクトン-動物プランクトンの浮遊系食物連鎖の規模が小さいことから、底生微細藻類を起点とする底生系食物連鎖および、アマモによる物質代謝を介したバクテリアの腐食連鎖が重要な役割を果たしている可能性が高いと考えられた。

まとめ

- 動物プランクトン、バクテリアの時空間分布には非生物環境要因(水温・塩分)と互いの相互作用が影響を与えている。
- 火散布沼における親生物元素の挙動には、浮遊系よりも底生系生物(アマモ、底生微細藻類)による寄与が大きい。

3 調査・研究の方法

3.1. 動物プランクトン・バクテリア現存量調査

本研究では2008年4、6、8、10、12月、及び2009年2月、浜中町火散布沼の中央トランセクトに設置した観測定点、5地点(Stn.A,B,C,D,E)にて動物プランクトン現存量、バクテリア現存量の調査を行った(Fig.1)。各月の調査は大潮の上げ潮時に行った。沼奥部の Stn.E,D は冬季に結氷するため、12月、2月において数回欠測となった。動物プランクトン試料は50 μ m プランクトンネットを使用し船上にて海水70リットルをろ過捕集し採取した。捕集した試料はポリ容器に入れ、実験室に持ち帰った。バクテリア分析用試料は Stn.A においては表層水を手柄付きビーカーにて、Stn.B~E においては底層水を海底から10cm層をポンプにて汲み上げて採水し、それぞれ2Lのプラスチックボトルに入れ、実験室に持ち帰った。また試料採取時に、船上から多項目水質計(YSI, Model 556)を海中に降ろして、各定点の水温、塩分の測定を行った。

動物プランクトン態(>50 μ m サイズ粒子)試料は実験室において、実体顕微鏡下で種組成を観察した後、ろ過海水にて適宜希釈し各分析用に分取、Whatman GF/F ガラス繊維フィルターを用いてろ過した。なお、全炭素、窒素、安定同位体比の分析用には450 $^{\circ}$ Cで4時間加熱したGFFフィルターを用いた。動物プランクトン態粒子量はろ過前後にフィルターを秤量することによって求めた。動物プランクトン態有機炭素・窒素量は、フィルターを凍結乾燥したのちに、脱炭酸処理し、CHNS Analyzer (Fisons, NA-1500NC)による乾式灰化法にて定量した。動物プランクトン態リン量は過硫酸カリウムを用い加圧分解した後、比色定量した。動物プランクトンの安定同位体比($\delta^{15}\text{N}$ - $\delta^{13}\text{C}$)は脱炭酸処理を行った後、EESdeltaVConfloにて測定した。また動物プランクトンサイズの植物プランクトンの存在を考慮するためにクロロフィル a 濃度の測定を行った。クロロフィル a 濃度はフィルターを90%アセトンに抽出後、約24時間後に蛍光光度計(ターナーデザイン, 10-AU)を用いて測定した。

バクテリア試料は採水した試料1.9mlをDAPI染色後、黒色メンブレンフィルターにろ過捕集し、落射型蛍光顕微鏡にて計数し、バクテリア現存量(cells/ml)を算出した。

3. 2. アマモの物質代謝速度の測定

2008年4月、火散布沼の潮間帯にてアマモ(*Zostera marina L.*)を採取し、培養ボトルにて4月23日5:00~25日5:00の間、48時間の培養実験を行った。培養水には同時に採取した現場海水を0.2 μ mフィルターにてろ過して用いた(滅菌海水)。実験区はA:コントロール、B:アマモシュートの培養、C:ゴム板を用いて付着物をそぎ落としたアマモシュートの培養の3区にて行った。現場の温度、光強度に近似させるため、散布漁業協同組合施設の野外に水道水を満たしたタンクを設置し、培養ボトルを浸して昼夜を通し、インキュベートした。これらの実験区から日の出時刻と日の入り時刻に計4回の採水を行った。採水試料は各態栄養塩、溶存有機態炭素、窒素、リン、バクテリア現存量の分析に供した。各態栄養塩は、Strickland & Parsons(1972)の方法に準じてオートアナライザー(Autoanalyzer II, Bran+Lubbe)を用いて比色定量した。溶存有機態炭素、窒素(DOC,N)の測定は無機炭素を除去した後、全有機炭素計(SHIMADZU, TOC-5000A)を用いて高温燃焼-非分散赤外線ガス分析法により測定した。溶存有機態リン(DOP)濃度は、過硫酸カリウムを添加し、加圧分解した試水中の溶存態全リン濃度を比色定量した後、溶存態全リン濃度とリン酸態リン(DIP)濃度の差として算出した。

4. 結果

4. 1. 動物プランクトン

4. 1. 1 優占種

顕微鏡観察の結果、優占種として主にカイアシ類が観察され、その他に端脚類、有鐘類、多毛類幼生、連鎖した珪藻などが見られた。また、2009年2月の優占種は動物プランクトンではなく、植物プランクトンの珪藻類であった。植物プランクトン量の指標となるクロロフィル *a* 濃度の時系列変化をFig.2に示した。50 μ m以上サイズ粒子のクロロフィル *a* 濃度は0.01~0.74 μ g/lの範囲で変化し、平均値は0.23 μ g/lであった。また、最高値は2009年2月に記録された。50 μ m以上のサイズ粒子のクロロフィル *a* 濃度は晩夏から初冬(8,10,12月)に低濃度を示す季節変化を示した。

4. 1. 2 動物プランクトン態粒子量、炭素(C)、窒素(N)、リン(P)量

2008年4月から12月の動物プランクトン態粒子量をFig.3に示す。乾重量は0.38~3.6mg/lで

5. 考察

5. 1. 動物プランクトン、バクテリアの多寡を決定する要因

水温、塩分、動物プランクトン態粒子、C,N,P, $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$, C/N, C/P, N/P 及びバクテリア現存量の相関係数を Table.1 にまとめた。動物プランクトンと水柱バクテリアは有意な正の相関関係にあった。しかし、一般にカイアシ類などのろ過性動物プランクトンはろ過用の付属肢が粗すぎて微小粒子を捕集できないためバクテリアを直接捕食できない(Lally & Parsons, 1993)。そのため、動物プランクトンとバクテリアは、小型のバクテリア捕食者による連結を介した食物連鎖の関係にあると考えられた。また、動物プランクトンの C/N は塩分と有意な相関を示した。動物プランクトンは種特有の C/N を持つことから(Urabe, 1993)、動物プランクトンの種組成は塩分によって変化している可能性が示唆された。水柱バクテリア現存量は水温と非常に高い正の相関係数を示したため、水柱バクテリア現存量の多寡は水温に依存していることが明らかになった。

5. 2. 火散布沼物質循環過程における動物プランクトン、バクテリアの寄与

本研究にて得られた各現存量(動物プランクトン態 N、水柱バクテリア態 N 量(2008 年 8 月全地点平均値)、堆積物中バクテリア態窒素量(2008 年 11 月~2 月全平均値;石丸ら,未発表)に加え、2005 年 8 月に得られた各現存量データ(濱田ら,2005;稲葉ら,2007)を用いて、夏季の火散布沼における窒素循環過程を Fig.10 に模式した。なお、植物プランクトン、底生微細藻を窒素に換算する係数にはそれぞれ N/Chl a=16.5、5.6 を用い(Antia et al.,1963;Montani et al., 2003)、バクテリア現存量を窒素に換算する係数には 7.3fg/cell(Fukuda et al.,1998)を用いた。水柱バクテリア態 N 現存量は植物プランクトン態 N 現存量の 1/3、動物プランクトン態 N 現存量の 3 倍に及んだ(Fig.10)。このことから、火散布沼における物質循環過程には動物プランクトンよりもバクテリアの果たす役割が大きいと考えられた。動物プランクトン態、植物プランクトン態 N 現存量は火散布沼全体でそれぞれ、21、188kgN であり、転送効率は約 10%であった(Fig.10)。海洋生態系における植物から動物への転送効率は約 20%と報告されているため(Lally & Parsons, 1993)、今回得られた転送効率はそれに比べて小さく、火散布沼では植物プランクトンから動物プランクトンへの食物連鎖だけでなく、他の植食者(ろ過性二枚貝)を含めた食物網が発達している可能性が示唆された。また、底生生物である底生微細藻類やアマモ類の N 現存量はそれぞれ、2020、5000kgN と水柱の生物や溶存物に比べ

一桁大きかった。

5. 3. 火散布沼物質循環過程におけるアマモの寄与

培養実験1日目、2日目で変化したDIN量、DON量から求めたアマモ乾重量1gあたりの平均DIN、DON代謝速度はそれぞれ、 $-126 \sim -35$ 、 $-74 \sim +189 \mu\text{gN/g/day}$ (−:消費、+:生産)であった。火散布沼のアマモ・コアマモの総現存量(シュート部+根部)は2005年の8月、363.1乾重量トンであった(濱田ら,2005)。これに上述の代謝速度を乗算すると、沼全体のアマモ・コアマモによるDIN代謝速度は $-46 \sim -13 \text{ kgN/day}$ 、DON代謝速度は $-27 \sim +69 \text{ kgN/day}$ と算出できる(Fig.10)。同時期の沼全体の水柱DIN現存量は72 kgNであったため(石丸ら,2007)、アマモは水柱のDINの約20~65%を1日に利用していると推定される。また、濱田ら(2005)はアマモ成長速度から沼全体におけるアマモの窒素消費速度を -60 kgN/day と試算している。この速度が本研究で得られた値より大きいことから、アマモには沼全体でさらに $14 \sim 47 \text{ kgN/day}$ の窒素が供給されている可能性が考えられる。Rubio et al.(2007)は培養水のDIN濃度を $100 \mu\text{M}$ に調整した実験において、 $-2.6 \sim -2.2 \text{ mgN/g/day}$ と本研究の15倍以上の高いアマモのDIN代謝速度を得ている。このことから、アマモの根部は水柱よりもはるかに高濃度に存在する間隙水中のDINを利用することが可能であるため、シュート部よりもそのDIN消費速度が大きくなるであろうと考えられた。よって、今回の試算と一致しなかった $14 \sim 47 \text{ kgN/day}$ の窒素は根部から供給された窒素である可能性が高いと考えられた。また、シュート部のDON生産速度はDIN消費速度を上回る場合がある(Fig.10)ことから、根部から吸収されたDINを草体内で有機化し、DONとしてシュートから水柱に放出するといったような、アマモの水柱—堆積物間をつなぐ物質循環過程が存在する可能性が示唆された。

5. 4. 火散布沼における親生物元素の挙動に主要な役割を果たす生物過程について

5. 2で述べたように、植物プランクトンから動物プランクトンへの浮遊系食物連鎖の規模は底生生物に比較して小さかった。バクテリアはアマモ類が生産する溶存有機物(DOM)を利用すると報告されている(Kaldy,2006)。これらのことから、火散布沼の親生物元素の挙動には1、底生微細藻類を起点とする底生系食物連鎖、2、水柱—堆積物間をつなぐアマモによる物質代謝、3、アマモによって生産されたDOMを起点とする水柱バクテリアの微生物食物連鎖、以上3つの過程が重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

参考文献

- Kohata et al.(2003): Natural water-purification system observed in a shallow coastal lagoon: Matsukawa-ura, Japan. *Marine pollution Bulletin*, **47**, 148-154, 2003
- 野村ら(2007): 富栄養型内湾の東京湾における従属栄養性細菌密度の時空間分布. *海の研究*, **16**(5), 349-360, 2007
- Azam et al.(1983): The ecological role of water-column microbes in the sea. *Marine ecology progress series*, **10**, 257-263, 1983
- Pomeroy (1974): The oceans food web, a changing paradigm. *Bioscience*, **24**, 499-504, 1974
- Strickland & Parsons(1972): A Practical Handbook of Seawater Analysis. 2nd., *Bulletin of Fishery Research*, **167**, 310, 1972
- 濱田ら(2005): 北海道火散布沼における大型草藻類現存量の推定と評価. 日本プランクトン・ベントス学会合同大会, 2005.
- 稲葉(2007): 亜寒帯汽水湖における低次生産過程の時空間変動. 北海道大学大学院、環境科学院、平成 18 年度修士論文.
- Antia, N.J., McAllister, C.D., Parsons, T.R., Stephens, K., Strickland, J.D.H.(1963): Further measurements of primary production using a large volume plastic sphere. *Limnology and Oceanography*, **8**, 166-183, 1963
- Montani, S., Magni, P. & Abe, N(2003): Seasonal and interannual patterns of intertidal microphytobenthos in combination with laboratory and areal production estimates. *Marine ecology progress series*, **249**, 79-91, 2003
- Fukuda et al.(1998): Direct determination of carbon and nitrogen contents of natural bacterial assemblages in marine environments. *Appl. Environ. Microbiol.*, **64**(9), 3352-3358, 1998
- Lally & Parsons(1993) *Biological oceanography*, Elsevier Science
- Urabe(1993): N and P cycling coupled by grazers' activities Food quality and nutrient release by zooplankton. *Ecology*, **74**, 2337-2350, 1993
- 石丸(2007): 亜寒帯汽水湖(火散布沼)における親生物元素の時空間分布とその支配要因について. 北海道大学大学院、水産科学研究科、平成 20 年度修士論文
- Rubio et al.(2007): Ammonium uptake kinetics in root and leaf cells of *Zostera marina* L. *Journal of Experimental Marine Biology Ecology*, **352**, 271-279, 2007

James E. Kaldy, Peter M. Eldridge, Luis A. Cifuentes, W. Brian Jones(2006): Utilization of DOC from seagrass rhizomes by sediment bacteria: ^{13}C -tracer experiments and modeling. *Marine ecology progress series*, 317,41-55,2006

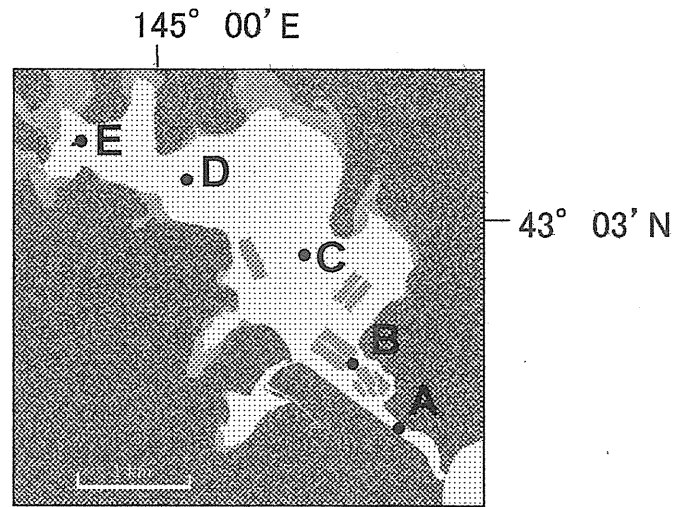


Fig.1. 火散布沼内の観測地点(Stn.A,B,C,D,E)

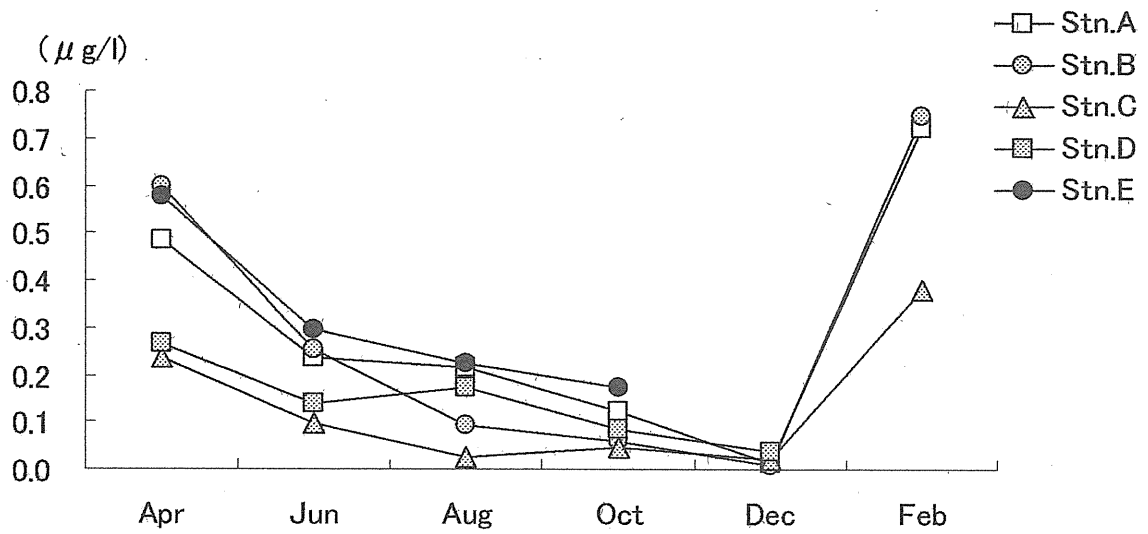


Fig.2. >50 μmサイズ粒子中のクロロフィルa濃度

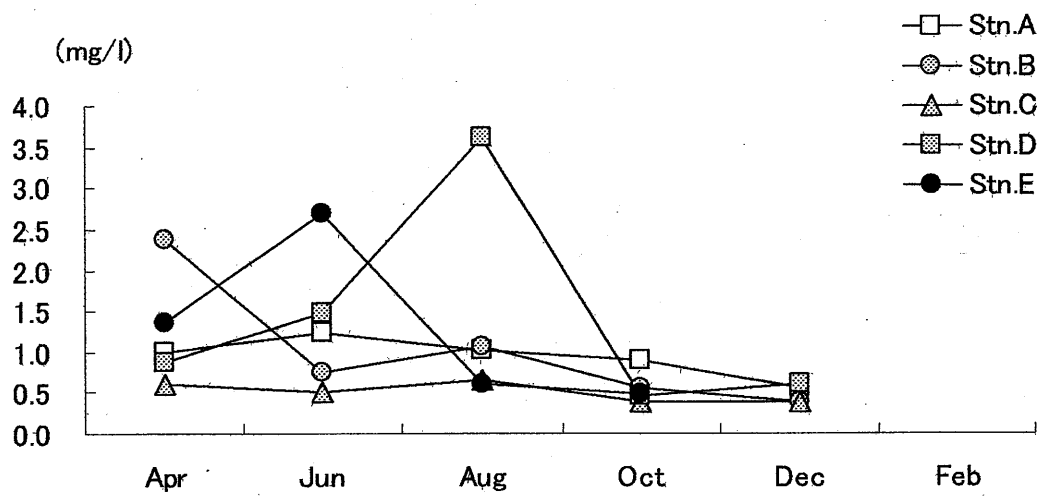


Fig.3. 動物プランクトン態粒子量

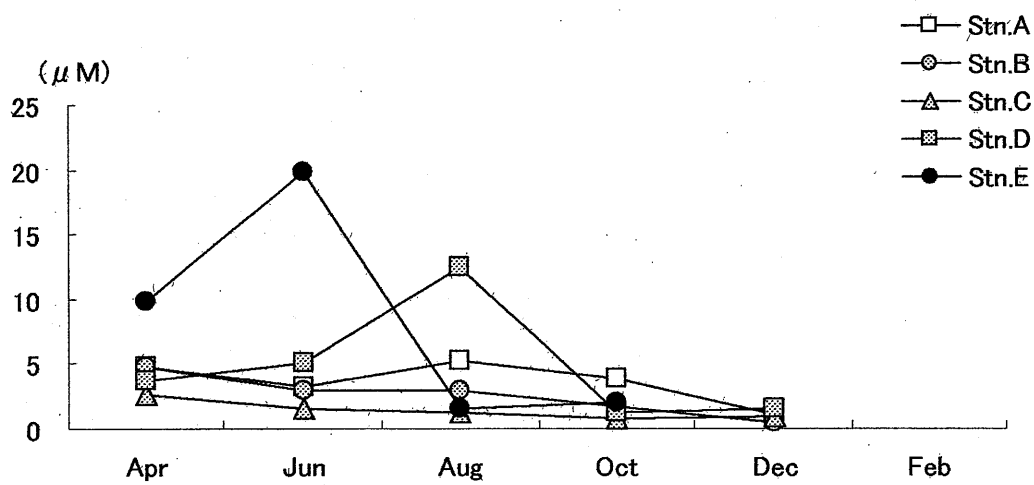


Fig.4. 動物プランクトン態炭素量

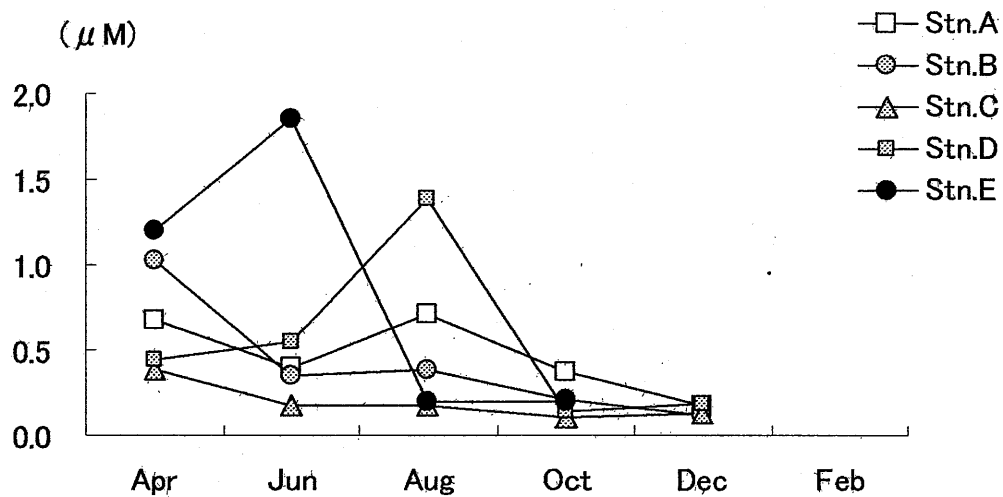


Fig.5. 動物プランクトン態窒素量

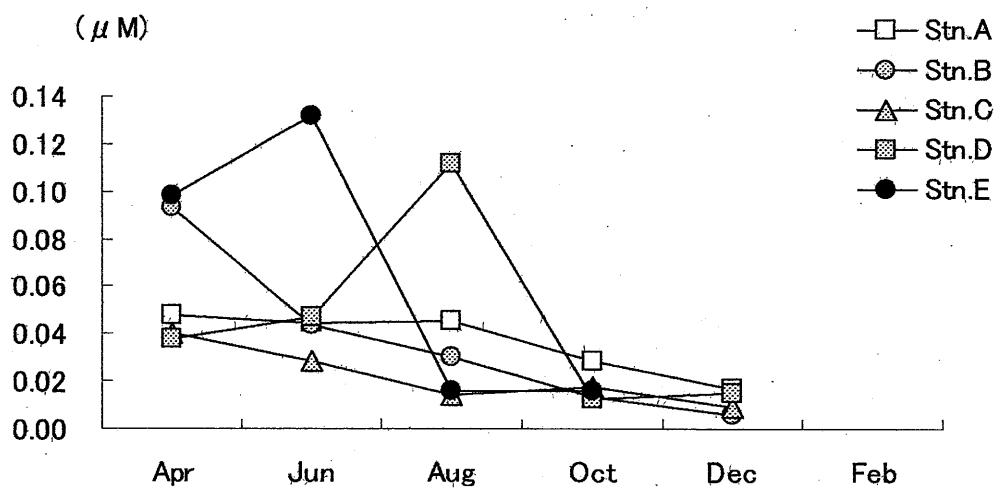


Fig.6. 動物プランクトン態リン量

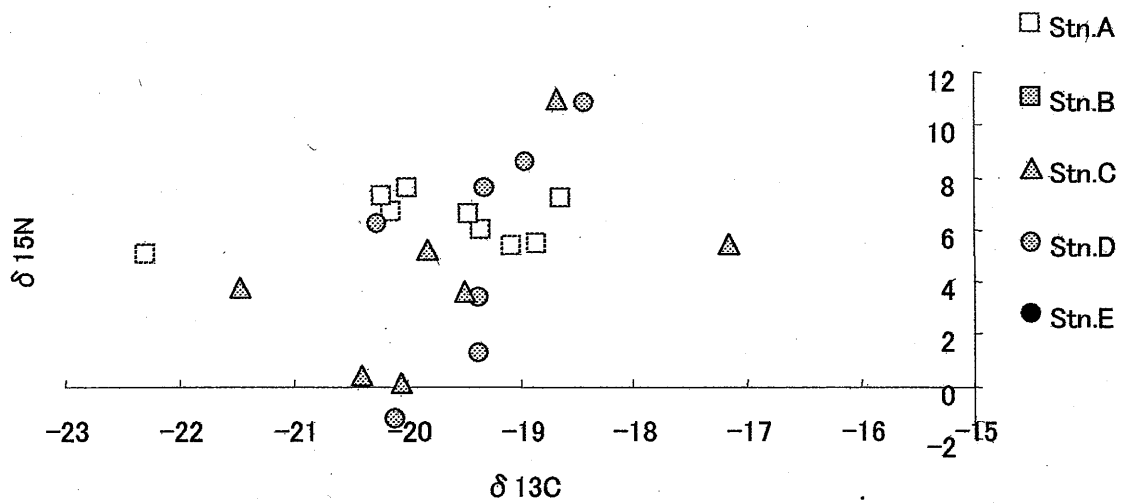


Fig.7. 動物プランクトン態粒子の安定同位体比

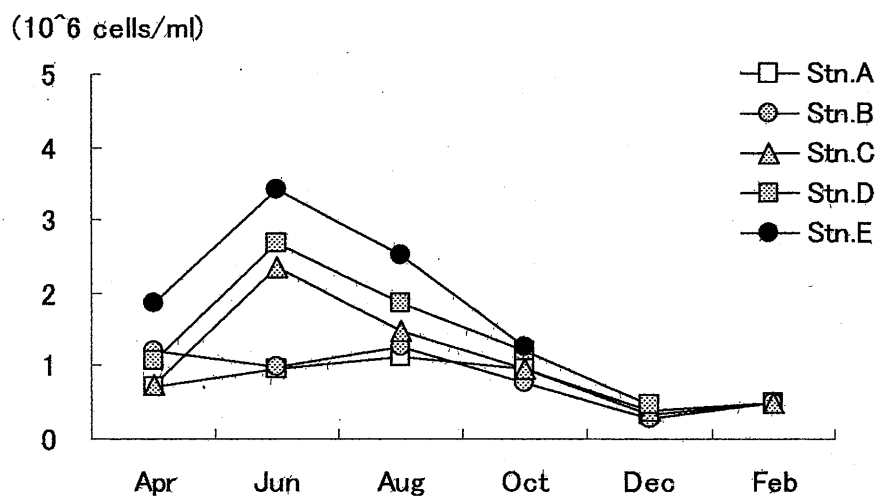


Fig.8. 水柱バクテリア現存量

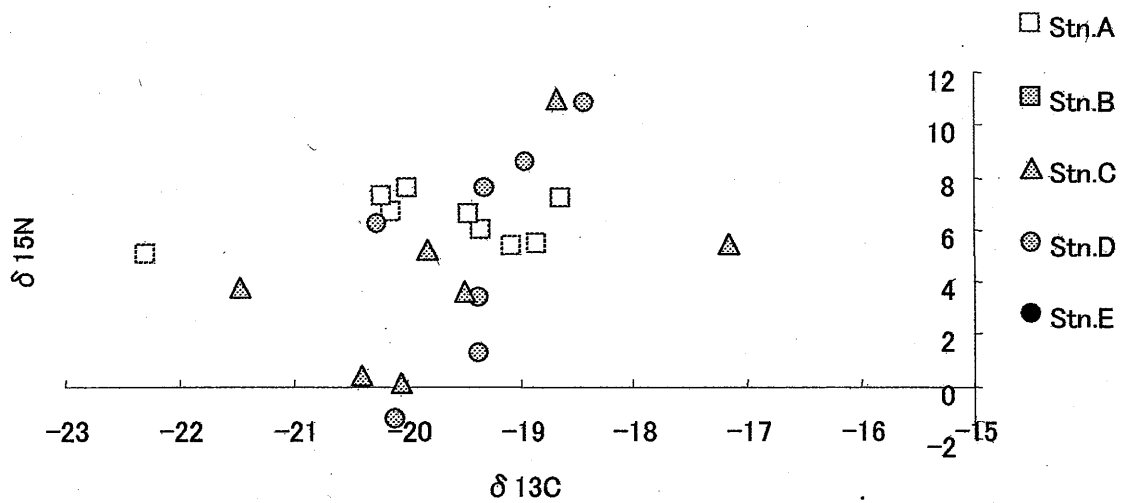


Fig.7. 動物プランクトン態粒子の安定同位体比

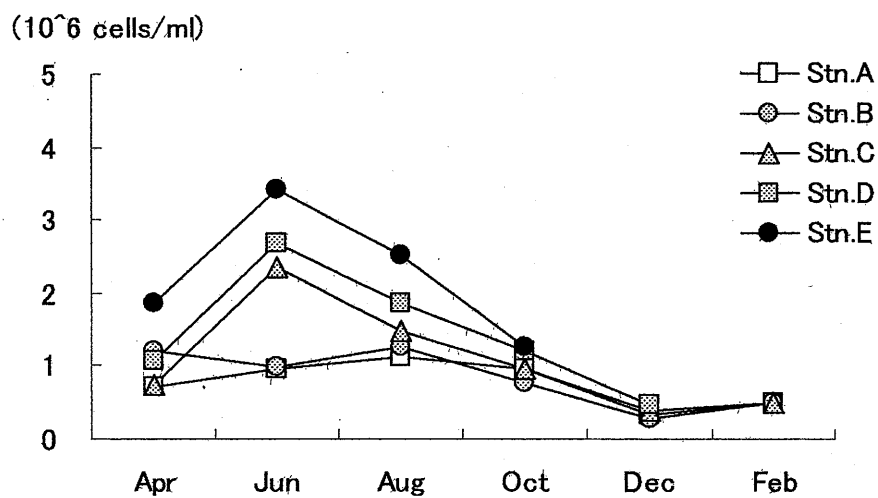


Fig.8. 水柱バクテリア現存量

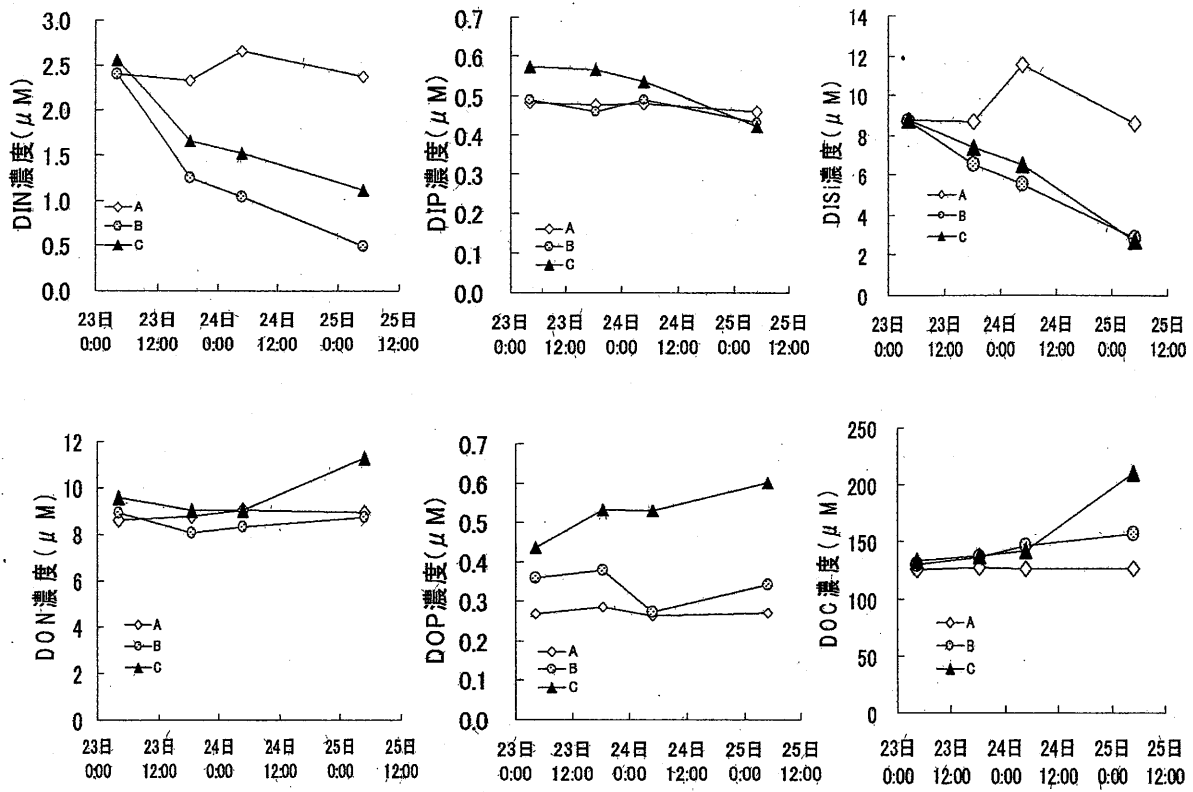


Fig.9.培養水中の溶存無機物(上)溶存有機物(下)濃度の変化

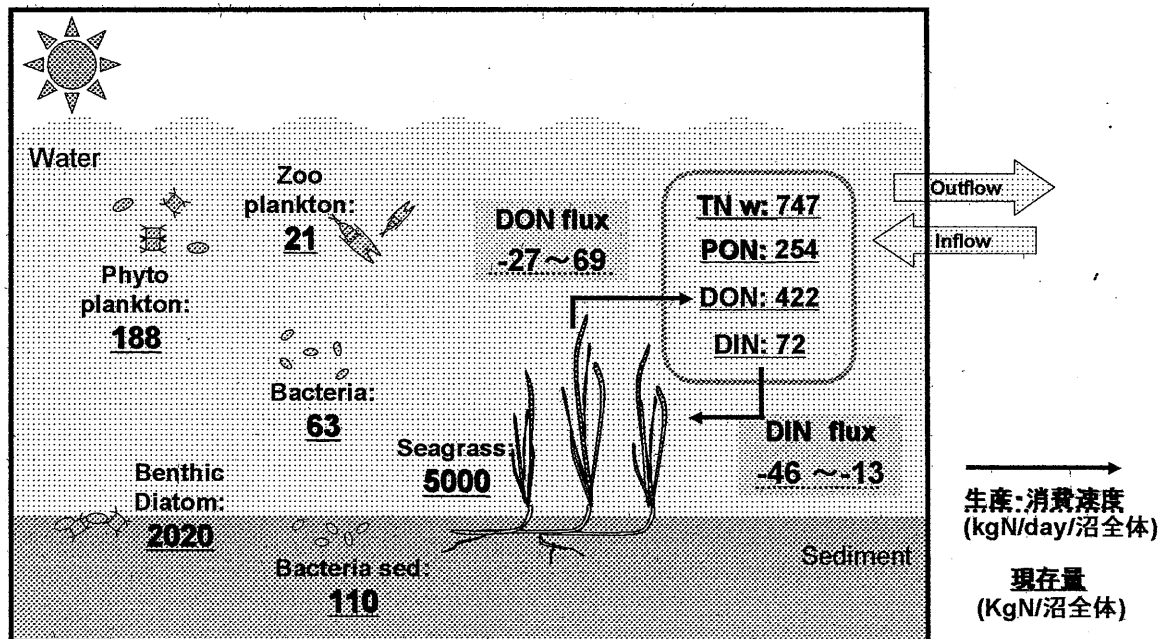


Fig.10.火散布沼の窒素循環(2008年8月)

	水温	塩分	粒子量	C	N	P	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	C/N	C/P	N/P	バクテリア 現存量
水温	1.00											
塩分	-0.55 *	1.00										
粒子量	0.35	-0.06	1.00									
C	0.39	-0.25	0.84 *	1.00								
N	0.29	-0.14	0.89 *	0.96 *	1.00							
P	0.26	-0.12	0.90 *	0.92 *	0.98 *	1.00						
$\delta^{13}\text{C}$	0.31	-0.02	-0.01	-0.26	-0.20	-0.13	1.00					
$\delta^{15}\text{N}$	0.25	0.16	0.25	0.09	0.17	0.23	0.33	1.00				
C/N	0.49 *	-0.61 *	0.19	0.41 *	0.23	0.20	0.00	0.09	1.00			
C/P	0.37	-0.41 *	0.25	0.48 *	0.36	0.20	-0.22	-0.15	0.63 *	1.00		
N/P	0.00	0.03	0.06	0.15	0.15	-0.02	-0.24	-0.30	-0.19	0.62 *	1.00	
バクテリア現存量	0.76 *	-0.50 *	0.51 *	0.64 *	0.56 *	0.56 *	0.21	0.32	0.55 *	0.30	-0.17	1.00

(* : p < 0.05)

Table.1.水温、塩分、動物プランクトン態粒子、C、N、P、 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 、C/N、C/P、N/P及びバクテリア現存量の相関係数