

平成 21 年度霧多布学術助成報告書

亜寒帯汽水湖における
炭素および窒素安定同位体比を用いた
カキ成長に作用する主要な環境因子の把握

北海道大学大学院環境科学院 生物圏科学専攻
海洋生物生産環境学コース
梶原瑠美子

1.はじめに

亜寒帯汽水湖は現在、ホタテやカキの養殖などが活発に行われ、日本の食を支える上で重要な役割を担っている。しかし近年、世界的に養殖による汽水湖内の環境悪化が問題視されている。今後、持続可能な養殖活動を行なっていく必要がある。そしてそのために、生物の成長を作用する主要な環境要因を把握し、効率的な養殖方法を見出すことが求められる。

そこで本研究では、様々な環境諸因子とともに、食物源解析に適しているとされる炭素および窒素の安定同位体比を測定することで、(1) マガキ (*Crassostrea gigas*) の餌源、(2) カキの成長に影響を与える主要な環境因子 (水温および餌量) について明らかにすることを目的とした。

2.これまでの研究成果

本研究対象域である火散布沼 (図 1) は、北海道東部の厚岸郡浜中町 (北緯 43 度 2 分 31、東経 145 度 1 分 5) に位置し、沼の南東端が太平洋と繋がっている汽水湖である。規模は小さく面積は約 3.56km²、平均水深は 1 m である。周囲に大きな河川はなく、集水域は塩性湿地と森林で覆われており、人間活動の影響は限られている。これまでの研究により、夏期には沼の中央部に水温フロントが発達し、沼の奥部 (北西端) では水が滞り易い環境であることが明らかとなっている。また沼奥部は冬季に結氷する。そのため、汽水湖内において空間的に水温等の環境傾度が大きいことが示唆されている。

3.材料と方法

火散布沼 (図 1) に、水質環境が異なると考えられる沼口・沼中央・沼奥・沼最奥部 (Stn A, B, C, D) の 4 地点を設定し、4、6、8、10 月に調査を行った。

1) 環境因子

水質は、CTD (YSI, model556) を用いて水温、塩分、溶存酸素 (DO) について測定した。海水試料は、表層および海底から 10cm の底層で、ポンプ採水を行った。採取した海水試料は、Chlorophyll *a* (Chl.*a*) およびフェオ色素、懸濁態有機炭素および窒素安定同位体比を分析した。Chlorophyll *a* およびフェオ色素の分析の為に、採取した海水試料 0.4 L を Whatman GF/F フィルター上に濾過捕集し、濾紙とともに 90%アセトンに抽出した。-20℃の暗所に 24 時間静置後、5 分間超音波処理を施した。抽出溶媒に含まれ

る光合成色素を分光蛍光光度計 (Turner Designs, Sunnyvale, Turner 10-AU-5) を用いて蛍光光度法により測定した。炭素および窒素安定同位体比を分析する為に、採取した海水試料 4 L を 450°C で予め 5 時間焼いた Whatman GF/F 濾紙に濾過捕集した後、1 N HCl を垂らし無機態炭素を取り除いた。これらをイオン交換水で洗浄し、凍結乾燥させたものを用いた。

2) カキ (*Crassostrea gigas*)

4 月にカキ 80 個体を入れたかごを上記 4 地点の海水中に設置した。その内の 50 個体には、それぞれの殻に番号を記した。設置前の 4 月と設置後の 6、8、10 月にカキの殻長・殻幅・殻高・全湿重量を測定した。同時に残りの 30 個体の内、6 個体を選び濾過海水中に一日設置し、排泄物を 450°C で予め 5 時間焼いた Whatman GF/F 濾紙上に採取した。採取した排泄物は、1 N HCl を垂らし無機態炭素を除去し、イオン交換水で洗浄後、凍結乾燥させ炭素および窒素安定同位体比を測定した。またカキ 6 個体から軟体部を採取し、軟体部湿重量を測定後、凍結乾燥させ乾燥重量を測定した。さらに 3 個体については、筋肉部を採取し、炭素および窒素安定同位体比を分析した。分析には、筋肉部を凍結乾燥後に粉末状にし、脱脂処理を行った試料を用いた。脂肪を除去する為に、粉末をクロロホルム：メタノール混合液 (2:1) に 1 昼夜浸し、450°C で予め 5 時間焼いた Whatman GF/F 濾紙に濾過後、メタノールで洗浄したものを再度乾燥させた。

また懸濁態粒子の他に、カキの餌源になると考えられるカゴに付着する微細藻類を 8 月に採取した。採取した微細藻類は、イオン交換水で洗浄し凍結乾燥後粉末状にして、炭素および窒素安定同位体比を測定した。

炭素および窒素安定同位体比は、元素分析計 (Thermo Electron, Flash Elemental Analyzer 1112 Series) に接続された、質量分析計 (Thermo Electron, DELTA V plus) により分析を行った。

すべての同位体値は、下式の通り、標準物質からの相対千分率で表示した。

$$\delta X = (R_{\text{sample}} / R_{\text{standard}} - 1) \times 1000 (\text{‰})$$

X は ^{13}C または ^{15}N 、R は $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ もしくは $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ 比であり、標準物質は炭素では Pee Dee Belemnite (PDB)、窒素では大気である。なお、使用機器の分析誤差は 0.2 ‰以内であった。

4. 結果

1) 環境因子

各地点の表層および底層水 (S, B) における水温、塩分、溶存酸素 (DO) 濃度、Chl. α

濃度の時間変化を表1に示す。どの因子も表層と底層で大きな違いは見られなかった。水温は、4月に最も低く8月に最も高くなり、その後低下していた。沼口部の Stn D で4月に約3℃と最も低く、沼奥部の Stn A で8月に約23℃と最も高い値であった。そして4月から8月の期間では、Stn A はDよりも6℃以上高かった。一方、10月は沼口部の方が沼奥部よりも約1℃高かった。塩分は、調査期間を通して29.2~32.7 psu の範囲で変動していた。また、沼口部が沼奥部よりも0.5~2.6 psu 高かった。溶存酸素濃度は、4月に最も低かったが、6.6 mg/L 以上であった。Chl.a 濃度は、6月で高く、8および10月では低い値であった。特に、6月には沼奥部で約9 μg/L と最も高い値を示していた。よって水温およびChl.a 濃度は、顕著な季節変動や4地点間での差異が存在することが明らかになった。

2) カキ (*Crassostrea gigas*)

各地点におけるカキの平均殻長、殻付全湿重量、全湿重量当たりの軟体部割合、水分含有率、および軟体部湿重量の時間変化を表2に示す。軟体部湿重量は、殻付全湿重量に全湿重量当たりの軟体部割合を乗じることで算出した。平均殻長および殻付全湿重量は、明確な地点間の差異が見られた。平均殻長は、4月では80 mm 程度であったが、10月には100 mm 以上に成長していた。特に沼奥部の Stn A では、10月に115 mm と Stn D に比べ15 mm 程大きくなっていった。平均殻付全重量は、4月では30 g 程度であったが、10月にはおよそ60 g 以上に成長していた。Stn B では、10月に83.7 g に達し、Stn D に比べ24.4 g 重かった。殻長および殻付全湿重量はともに、4月では Stn A で最も低く、Stn D で最も高かったのに対し、6月以降 Stn D で最も低く、沼奥部で高い値を示していた。また2ヶ月間の全湿重量の増加量を日数で割ることで、全湿重量における日変化速度を求め、成長速度として、その季節変動を図2に示す。平均成長速度は、4月から8月までの期間は増加し、8月から10月の間では減少していた。4月から8月の期間は、沼口部よりも沼奥部で高く、特に6月から8月の期間では、Stn A および B では0.36や0.37 g/day と最も高い値を示した。6ヶ月間における50個体の平均成長速度(±標準偏差)は、Stn A で0.24 ±0.07 g/day、Stn B 0.25 ±0.10 g/day、Stn C 0.16 ±0.06 g/day、Stn D 0.12 ±0.05 g/day であった。そのため、カキの成長が地点により異なることが明らかになった。

各地点におけるカキ、付着微細藻類、排泄物、懸濁態粒子の調査期間の平均炭素および窒素安定同位体比の値を、図3に示す。カキの平均炭素同位体比は、-17.5~-15.5‰であり、-18.8~17.8‰の範囲であった懸濁態粒子よりも、-17.8~-16.2‰の範囲を示す付着微細藻類に近い値を示していた。カキの平均窒素同位体比は、9.6~10.2‰であり、4.6~5.5‰の範囲であった懸濁態粒子より4.1~5.6‰高く、7.0~8.3‰の範囲を示した付着微細藻類よりも1.3~3.2‰高かった。カキの排泄物の窒素安定同位体比は、懸濁態粒子よりも0.9~1.9‰高い値であった。

5. 考察

1) カキの餌源

炭素および窒素安定同位体比は、被食者と捕食者の間で一定の割合で上昇することが経験的に知られている ($\delta^{13}\text{C}$: $0.8 \pm 1.1\text{‰}$, $\delta^{15}\text{N}$: $3.4 \pm 1.1\text{‰}$, DeNiro & Epstein 1978, 1981, Minagawa & Wada 1984)。カキの餌源としては、一般的に懸濁態粒子に含まれる植物プランクトンが主要な餌源であると考えられる。しかし、カキの平均炭素同位体比は、懸濁態粒子よりも、付着微細藻類に近い値を示していた (図 3)。またカキの平均窒素安定同位体比は、懸濁態粒子より $4.1 \sim 5.6 \text{‰}$ 高く、付着微細藻類よりも $1.3 \sim 3.2\text{‰}$ 高かった。そして、カキの排泄物の窒素安定同位体比は、懸濁態粒子よりも $0.9 \sim 1.9\text{‰}$ 高い値であった。カキカゴ周辺の懸濁態粒子だけでなく、カゴに付着する微細藻類を餌源としていると考えられる。また、カキ排泄物を顕微鏡観察した結果、動物プランクトンの破片が見られた。動物プランクトンは、植物プランクトンよりも窒素安定同位体比が高いことが予想される。そのため、カキは懸濁物態粒子中から植物プランクトンよりも動物プランクトンを選択的に摂食している可能性があると考えられる。

本研究では、懸濁態粒子をカキカゴの外部周辺で採取した。今後、カキにより近いカキカゴ内部の懸濁物を採取し、同位体比測定や顕微鏡観察を行う必要があると考えられる。それにより、カゴに付着する微細藻類を実際にカキが摂食することが可能であるのか、また動物プランクトンの存在量について調べることで、より正確にカキの餌源を明らかにすることが出来ると思われる。

2) カキの成長に影響を及ぼす主要な環境因子

上記した全湿重量における日変化速度で表わされる成長速度と、各環境因子の設置期間平均値との相関関係を調べた。水温および $\text{Chl.}a$ 濃度と成長速度との関係を、図 4 に示す。

全調査期間を通して、水温と成長速度には有意な相関関係は見られなかった ($r=0.54$ $p>0.05$, 図 4)。しかし、沼口部と奥部で明確な水温差異が確認された 4 月から 8 月では (Stn A, Stn B > Stn C > Stn D)、成長速度は水温と正の相関関係を示していた。4~6 月の期間では相関係数は $r=0.97$ ($p<0.05$)、6~8 月では $r=0.98$ ($p<0.05$) であり、水温と成長速度間の有意な高い相関が明らかとなった。そのため、春から夏期におけるカキの成長は、水温に影響を受けていると考えられる。特に、空間的な水温の違いが、成長速度の空間的な差異に影響を及ぼしていると考えられる。

全調査期間を通して、 $\text{Chl.}a$ 濃度と成長速度に有意な正の相関関係が見られた ($r=0.71$ $p<0.01$, 図 4)。しかし水温と異なり、4 月から 8 月までの期間は、 $\text{Chl.}a$ 濃度は沼奥部で顕著に高く、沼口部で低いが (Stn A, Stn B > Stn C, Stn D)、各調査期間では有意な相

関関係は見られなかった。4～6月の期間では相関係数は $r=0.92$ ($p>0.05$)、6～8月では $r=0.92$ ($p>0.05$) であった。そのため、季節変動の内、特に夏期から秋期におけるカキの成長の変化は、Chl.a濃度に影響を受けていると考えられる。また有意な相関関係は確認出来なかったが、Chl.a濃度の高い沼奥部で沼口部よりも成長速度が高いため、カキの成長に影響を与えるのは、 $4 \mu\text{g/L}$ のようなある一定のChl.a濃度条件である可能性が考えられる。

兵庫県相生養殖漁場において、2004年9月から2005年3月までの期間1カ月おきに、カキの成長および養殖環境について調査された(増田・杉野 2006)。調査期間の平均水温は約 27°C から約 8°C に減少し、平均Chl.a濃度は約 $2 \mu\text{g/L}$ から約 $12 \mu\text{g/L}$ の範囲で変動することが明らかにされている。この時、殻長が86.9 から119.5 mmに成長したカキの全湿重量における日変化速度による成長速度は、 0.15 g/day から 1.00 g/day の範囲で変動し、水温およびChl.a濃度と有意な相関関係が見られないことが報告されている。また6ヶ月間を通しての成長速度は 0.40 g/day であった。本研究域と比較すると、兵庫県相生養殖漁場は、夏から冬の期間であっても水温が高く、Chl.a濃度も高い範囲で変動していた。そのため低い水温とChl.a濃度の影響を受け、火散布沼の成長速度は、相生養殖場のおよそ半分程度の 0.07 g/day から 0.37 g/day の範囲で変動し、6ヶ月間の成長速度は、沼口部では約30%、沼奥部で60%程度の低い値に抑えられていると考察される。

6. まとめ

本研究において、火散布沼におけるカキの餌源は、カキカゴ外周の懸濁態粒子だけでなく、カゴに付着する微細藻類や動物プランクトンなどが主要である可能性が示唆された。また、カキの成長速度は水温およびChl.a濃度に影響を受け、時空間的に変動していることが明らかとなった。

7. 引用文献

DeNiro MJ, Epstein S (1978) Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochim Cosmochimi Acta* 42: 495-506.

DeNiro MJ, Epstein S (1981) Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. *Geochim Cosmochimi Acta* 45: 341-351.

増田恵一・杉野雅彦 (2006) 兵庫県相生養殖漁場における漁場環境とマガキの成長 兵庫県農技総研報 (水産) 39: 17-22.

Minagawa M, Wada E (1984) Stepwise enrichment of ^{15}N along food chains: further evidence and the relation between $\delta^{15}\text{N}$ and animal age. *Geochim Cosmochim Acta* 48: 1135-1140.

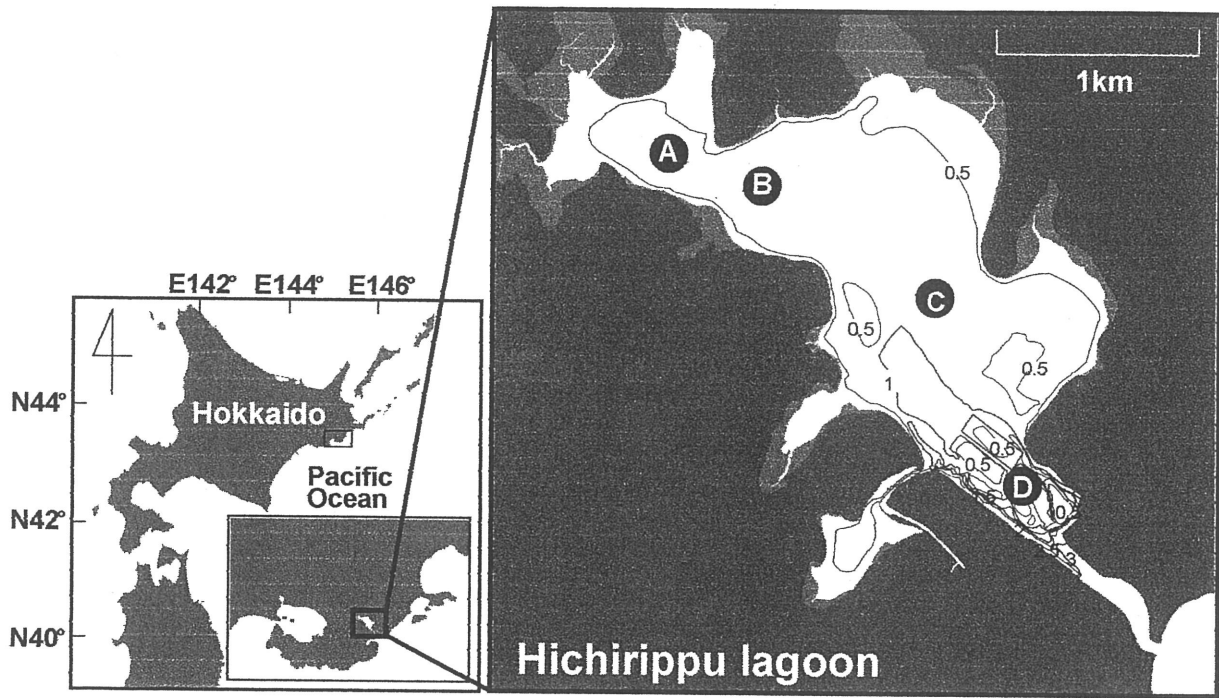


図1 調査域および調査地点

表2 各地点におけるカキの成育状態の時間変動 (平均値±標準偏差)

地点		4月24日	6月18日	8月21日	10月28日
殻長 (mm)					
Stn A		82.3 ± 16.6	96.6 ± 15.3	108.1 ± 15.4	115.0 ± 14.7
Stn B		84.1 ± 15.5	95.5 ± 17.1	105.7 ± 14.7	114.6 ± 16.5
Stn C		83.5 ± 10.8	90.0 ± 11.7	99.9 ± 12.6	108.1 ± 12.6
Stn D		87.2 ± 13.4	90.4 ± 13.7	99.0 ± 14.4	99.9 ± 14.7
殻付全湿重量 (g)					
Stn A		33.3 ± 11.9	50.2 ± 15.5	74.3 ± 19.5	80.1 ± 20.0
Stn B		35.3 ± 13.2	47.6 ± 16.2	72.7 ± 21.3	83.7 ± 23.7
Stn C		36.4 ± 11.0	42.7 ± 12.3	59.0 ± 15.4	66.8 ± 17.2
Stn D		37.1 ± 11.5	40.8 ± 12.8	50.8 ± 13.6	59.3 ± 13.8
全湿重量当たりの軟体部割合 (%)					
Stn A		11.8 ± 2.4	22.8 ± 1.9	13.2 ± 2.3	19.7 ± 4.0
Stn B		11.8 ± 2.4	22.8 ± 1.9	18.7 ± 3.3	19.8 ± 3.0
Stn C		11.8 ± 2.4	21.9 ± 6.4	27.3 ± 1.9	21.6 ± 5.5
Stn D		11.8 ± 2.4	13.3 ± 1.8	26.2 ± 2.6	24.6 ± 3.0
水分含有率 (%)					
Stn A		82.4 ± 2.8	73.5 ± 2.1	87.1 ± 1.3	91.4 ± 1.3
Stn B		82.4 ± 2.8	72.9 ± 1.1	85.4 ± 3.5	85.1 ± 1.2
Stn C		82.4 ± 2.8	78.3 ± 5.9	78.6 ± 3.1	84.6 ± 3.6
Stn D		82.4 ± 2.8	79.6 ± 1.6	78.6 ± 3.1	79.4 ± 1.3
軟体部湿重量 (g)					
Stn A		3.9	11.5	9.8	15.8
Stn B		4.2	10.9	13.6	16.5
Stn C		4.3	9.4	16.1	14.4
Stn D		4.4	5.4	13.3	14.6

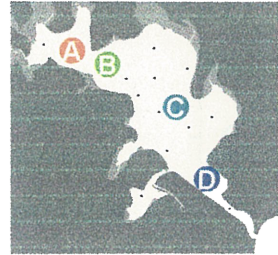
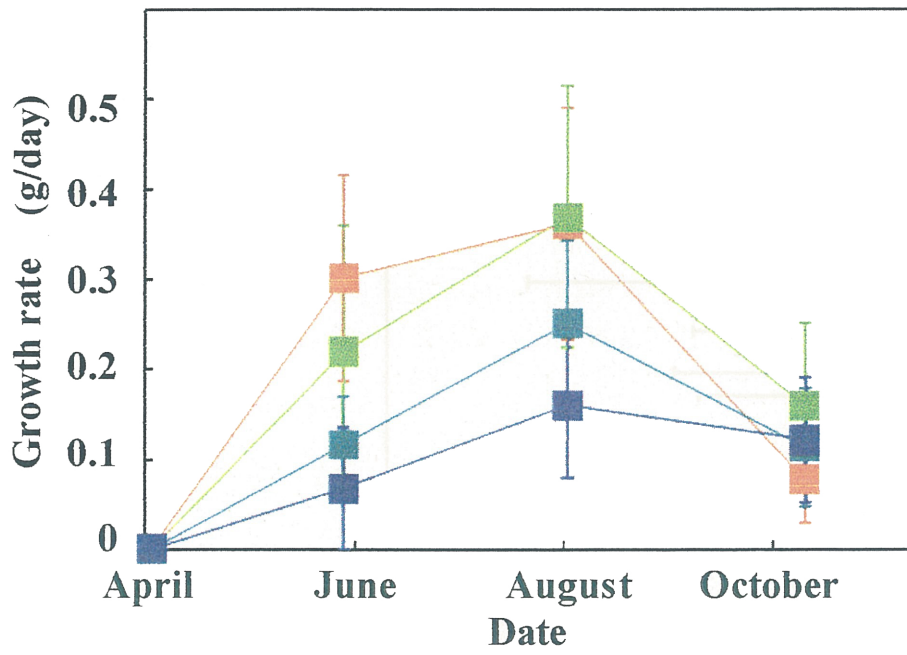


図2 全湿重量における日変化速度の季節変動

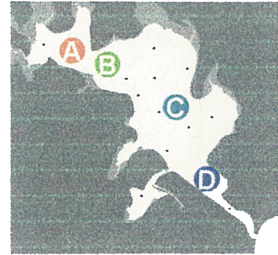
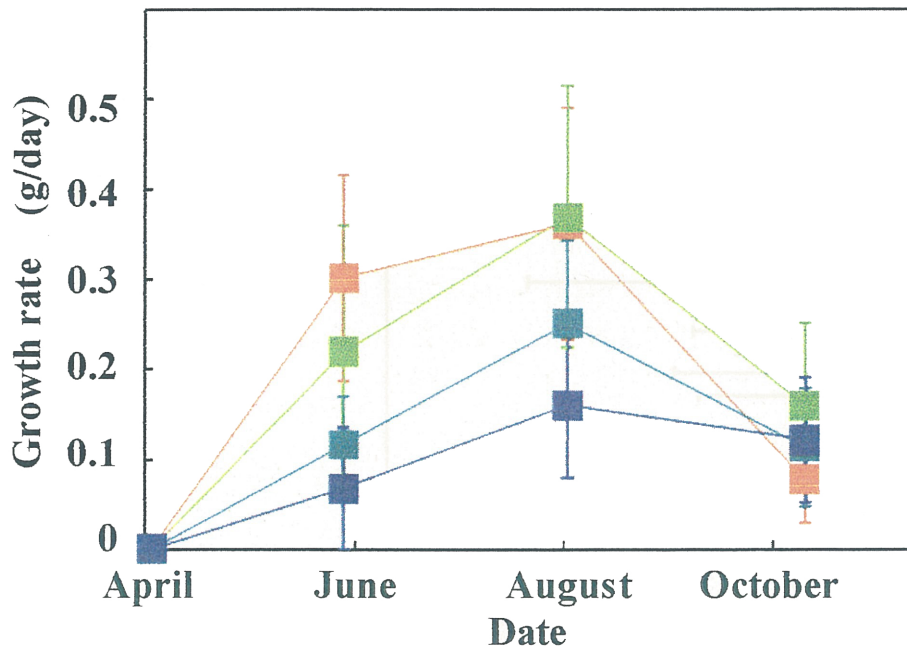


図2 全湿重量における日変化速度の季節変動

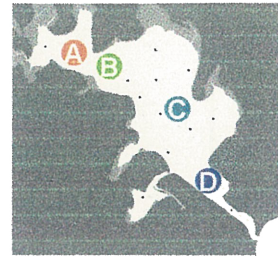
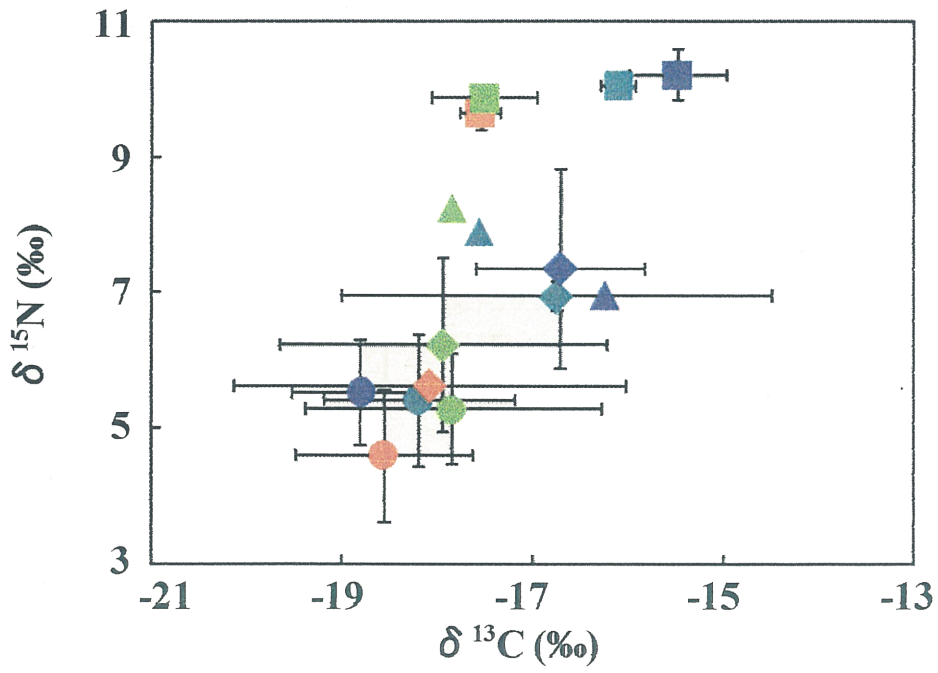


図3 カキ (□)、付着微細藻類 (△)、排泄物 (◇)、懸濁態粒子 (○) の平均炭素および窒素安定同位体比

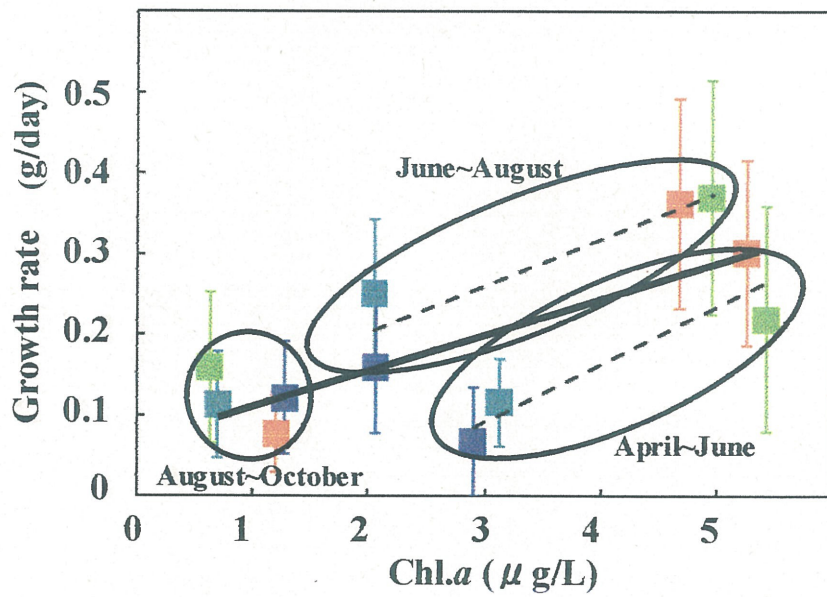
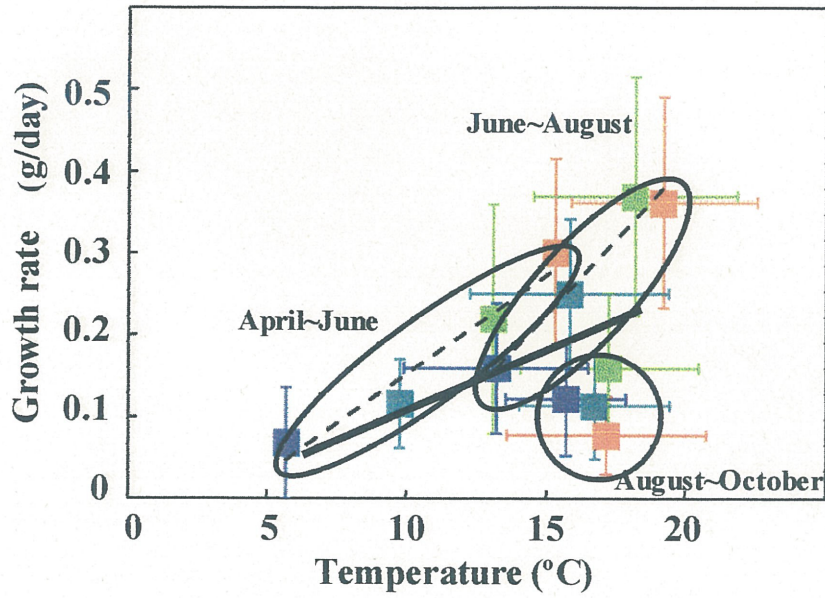


図4 全湿重量における日変化速度と水温およびChl.a濃度との関係