

平成 20 年度

厚岸湖・別寒辺牛湿原学術研究奨励補助研究調査報告書

安定同位体比を用いた河川からの物質輸送がおよぼす  
厚岸湖の低次生物生産過程への影響把握

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

## (研究目的)

### 沿岸域の重要性

沿岸浅海域は、堆積物の表層まで光が届き、陸域からの高い栄養塩供給がある。そのため沿岸浅海域の生産を支えているのは、海洋で主要な基礎生産者である植物プランクトンとともに、堆積物表層に付着している底生珪藻や大型草藻類であると考えられる。また、沿岸域は生物生産性が高く、単位面積あたりの一次生産量は外洋の約 2 倍、魚類生産では全海洋の 50%を担っている (Ryther 1969) と言われ、沿岸域の肝要性が指摘されている。しかし、沿岸域は人間活動による影響を受け易く、高度経済成長の代償として、1980 年代以降富栄養化による赤潮の発生など、沿岸域の環境悪化が深刻な問題となっている。一方北海道沿岸域は、国立自然公園などとして自然環境が保全されている場所が多く残っている。今後、豊かな自然を保持しながら、持続可能な汽水湖利用を行う為には、対象域の現段階の環境評価を客観的にを行い、将来の変化を予想する事が重要である。そして、正確な環境評価のためには本来の生態系を把握する事が必要である。

### 安定同位体

安定同位体はほとんどの物質に含まれているが、軽元素の安定同位体のうち重い同位体の存在割合は多くが 1%以下である。しかしこの割合が、生物圏においてわずかに変動している事が明らかになり、1980 年代から生物地球化学の分野でも、生物が関与する物質循環の把握に役立てられている。植物は光合成経路の違いや光合成による炭素同化時の炭素源供給の制限などの要因により、異なる  $\delta^{13}\text{C}$  値を持つ (O'Leary 1981)。そのため、 $\delta^{13}\text{C}$  値の違いを利用して食物連鎖の解析や古環境学の研究が進められてきた。植物の光合成により生産された有機物は、食物連鎖に沿って、生態系中を高次栄養段階の生物へ移動する。この時、被食者と捕食者の間での同位体比の差は、 $\delta^{13}\text{C}$  値では、0~1‰程度高くなり、 $\delta^{15}\text{N}$  値では平均して 3.4‰程上昇する事が、経験的に知られている (DeNiro et al. 1978, 1981)。また、基礎生産者の  $\delta^{13}\text{C}$  値の違いを利用して、海底堆積物における陸上有機物や数種の基礎生産者の寄与率が推定されている (Peter et al. 1978, Sweeney and Kaplan 1980, Wada et al. 1986, Kuramoto and Minagawa 2001)。

これまで河川流入がほとんどなく人的影響が限られている浜中町の火散布沼において、様々な環境諸因子と共に、炭素および窒素安定同位体比を用いて、調査・研究を行ってきた。一方本研究対象域である厚岸湖は、火散布沼と異なり外海水とともに別寒辺牛川のような河川からの流入があり、集水域では農地等に用いられている。

そこで本研究では、様々な環境因子とともに炭素および窒素安定同位体比を用いて、厚岸湖と近隣にある火散布沼を比較することにより、河川から供給される物質が、厚岸湖の低次生物生産過程に与える影響を明らかにする事を目的とした。

## (調査・研究方法)

### 1. 調査地点

北海道東部厚岸郡厚岸町、浜中町に位置する厚岸湖および火散布沼において調査を行った。調査地点は、別寒辺牛川1点 (Stn.AR1)、大別川 1 点 (Stn.AR2)、厚岸湖内 4 点 (Stn.A1～A4)、厚岸沖 1 点 (Stn.A0)、火散布沼内 4 点 (Stn.5, 6, 10, 14) の全 11 地点である (図1)。Stn.A2 は潮間帯でアサリ (*Ruditapes philippinarum*)、Stn.A4, 6 はカキ (*Grassostrea gigas*) 養殖が行われている。

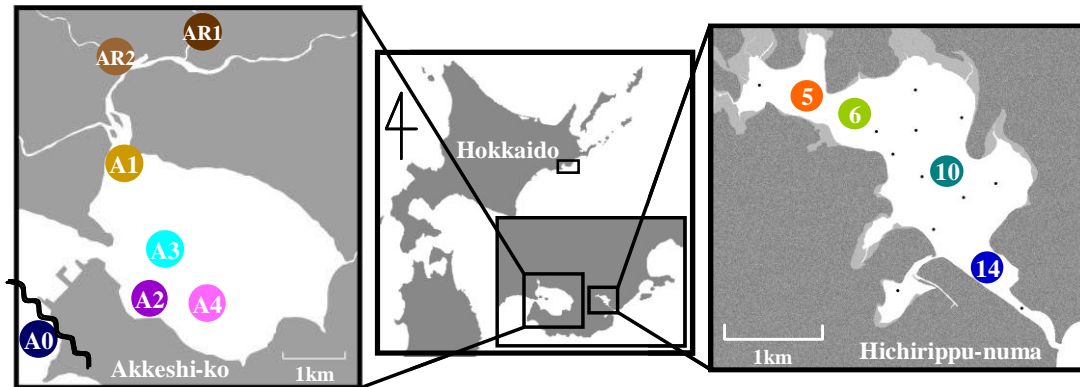


図 1 厚岸湖および火散布沼調査地点

### 2. 調査時期・項目

2008年6月26日および8月27日の下げ潮時に厚岸湖、6月18日および8月21日の上げ潮時に火散布沼で調査を行った。

定点では流速測定と観測機器を用いた水質調査を行った。同時に表層および底層水、表層(0-0.5cm)、亜表層(0.5-2cm)そして0-5cmの堆積物、底生生物を採取した。またカキはSt.A4にて採取した。採取した試料は、実験室に持ち帰り以下の項目を分析した。

### 3. 分析項目

水試料: Chlorophylla およびフェオ色素、懸濁態粒状有機炭素および窒素の現存量と安定同位体比、粒状リン、無機態栄養塩

堆積物試料: Chlorophylla およびフェオ色素、全有機炭素および窒素含有量と安定同位体比、全リン、間隙水中の無機態栄養塩、酸揮発性硫化物態硫黄、粒度組成

生物試料: 底生生物現存量、全有機炭素および窒素の安定同位体比

### 4. 分析方法

水試料:

Chlorophyll a (Chl.a) およびフェオ色素

海水試料 0.2L を、GF/F フィルター (Whatman、孔径  $0.7 \mu\text{m}$ ) 上に濾過捕集し、濾紙を 90%アセトン溶液に浸出させ、冷暗所で 24 時間放置し、色素の抽出を行った。抽出溶液は、超音波処理、遠心分離を行った後、蛍光法で定量した (Lorenzen 1967)。

#### 懸濁態粒状有機炭素および窒素 (POC・N)

海水試料 0.3L を、 $450^{\circ}\text{C}$ で強熱処理した GF/F フィルター (Whatman、孔径  $0.7 \mu\text{m}$ ) 上に濾過捕集し、少量の蒸留水で洗浄後に凍結保存した。後日、フィルターを凍結乾燥した後に、HCL 蒸気を一昼夜通気してフィルター上の無機態炭素を炭酸塩として除去した。処理後は、脱酸の為に真空デシケーター中で NaOH とシリカゲルとともに3~4週間放置した。この試料は、元素分析計 (Fisons 社製、NA-1500NC) による乾式灰化法にて、懸濁態有機炭素 (POC) および窒素 (PN) 量を定量した。

#### 炭素および窒素安定同位体比

海水試料 1L を、 $450^{\circ}\text{C}$ で強熱処理した GF/F フィルター上に濾過捕集し、少量の蒸留水で洗浄後に凍結保存した。後日1N 塩酸をフィルターにかけ、蒸留水で洗浄後凍結乾燥させた。この試料は、元素分析計 (ThermoElectron 社製、Flash Element1112Series) に接続された、質量分析計 (ThermoElectron 社製、DELTA V plus) で、窒素と炭素の安定同位体比( $\delta^{15}\text{N} \cdot \delta^{13}\text{C}$ )を測定した。

#### 粒状リン (PP)

海水試料 0.3L を、 $450^{\circ}\text{C}$ で強熱処理した GF/F フィルター上に濾過捕集し、少量の蒸留水で洗浄後に凍結保存した。後日、フィルターを凍結乾燥した後に、5%ペルオキシ二硫酸カリウム(W/V)に浸出し、オートクレーブ中で  $120^{\circ}\text{C}$ 、60 分間加圧分解を行った。分解溶液は、攪拌してから遠心分離を行い、上澄みを適量分取し、50ml に定量してから、分解溶液中の懸濁態全リン(PP)をリン酸塩として比色定量した (Menzel and Corwin 1965)。

#### 無機態栄養塩 ( $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{+NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 、 $\text{Si(OH)}_4\text{-Si}$ )

あらかじめ GF/F フィルターで濾過した海水について、アンモニア態窒素( $\text{NH}_4\text{-N}$ )、硝酸塩と亜硝酸態窒素の総和( $\text{NO}_2\text{+NO}_3\text{-N}$ )、リン酸態リン( $\text{PO}_4\text{-P}$ )、ケイ酸態ケイ素 ( $\text{Si(OH)}_4\text{-Si}$ ) 濃度を、栄養塩自動分析装置 (BRAN+LUEBBE 社製、QuAAtro) を用いて比色定量した (Strickland and Parsons 1972)。

#### 堆積物試料:

##### Chlorophyll a およびフェオ色素

湿泥を 90%アセトン溶液に浸出させ、冷暗所で 24 時間放置し、色素の抽出を行った。抽出溶液は、超音波処理、遠心分離を行った後、蛍光法で定量した (Lorenzen 1967)。

##### 全有機炭素および窒素 (TOC・TN)

堆積物試料を凍結乾燥し、メノウ製乳鉢で粉末状にした。また、無機炭酸を除去する為に、1N の塩酸を加え  $60^{\circ}\text{C}$ に砂浴しながら1~2日間放置した。処理後は、脱酸の為に真空デシケーター中で水酸化ナトリウムとシリカゲルとともに3~4週間放置した。この試料は元素分析計による乾式灰

化法にて、全有機炭素 (TOC) および窒素 (TN) 量を定量した。

#### 炭素および窒素安定同位体比

凍結乾燥し粉末状にすりつぶした堆積物試料を、無機炭酸を除去する為に、1N の塩酸に一昼夜浸した。その後遠心分離し、上澄み液を除去したのち蒸留水を加え再び遠心分離を行い、凍結乾燥させた。これらの試料は、元素分析計に接続された質量分析計で、窒素と炭素の安定同位体比 ( $\delta^{15}\text{N} \cdot \delta^{13}\text{C}$ ) を測定した。

#### 間隙水中の無機態栄養塩

堆積物試料に遠心分離を施し、上澄みをディスマックフィルター (ADVANTEC、孔径  $0.45 \mu\text{m}$  セルロースアセテートフィルター) を用いて加圧濾過し間隙水を採取した。その後間隙水のアンモニウム態窒素 ( $\text{NH}_4\text{-N}$ )、硝酸塩と亜硝酸態窒素の総和 ( $\text{NO}_2 + \text{NO}_3\text{-N}$ )、リン酸態リン ( $\text{PO}_4\text{-P}$ )、ケイ酸態ケイ素 ( $\text{Si}(\text{OH})_4\text{-Si}$ ) 濃度を、栄養塩自動分析装置を用いて比色定量した (Strickland and Parson 1972)。

#### 酸揮発性硫化物態硫黄 (AVS-S)

堆積物試料に、ガス発生管内で 18N 硫酸を加え、発生したガスのガステック検知管 (ヘデロテック-S 用) により得られた硫化物量から、酸揮発性硫化物の濃度を求めた (門谷 2003)。

#### 粒度組成

堆積物試料 (0~5cm) を、ウェットシービング法で7種の粒径 (2mm 以上、2~1mm、1mm~500  $\mu\text{m}$ 、500~250  $\mu\text{m}$ 、250~125  $\mu\text{m}$ 、125~63  $\mu\text{m}$ 、63  $\mu\text{m}$  以下) に分画し、質量測定済みの濾紙上にふるいわけ、乾燥後重量を測定した。

#### 生物試料:

##### 底生生物現存量

ステンレス製の方形枠 (10×10×10cm) を用いて各定点において1回採取し、1mm 目合いのふるいでふるったものを1サンプルとし、各定点で5サンプルずつ採取した。その他の主要な生物は適宜採取した。

##### 安定同位体比

採取した生物それぞれについて種を同定したのち、濾過海水に一昼夜放置し、その後凍結保存した。後日、凍結乾燥させ、乾重量を測定した。また、アサリやカキは、筋肉の一部を採取後、凍結乾燥した。乾燥させた生物は、粉末状に磨り潰した後、クロロフォルム:メタノール (2:1) 溶液を加えて脱脂し、再び乾燥させた。これらの試料は、元素分析計に接続された質量分析計で窒素と炭素の安定同位体比 ( $\delta^{15}\text{N} \cdot \delta^{13}\text{C}$ ) を測定した。

[安定同位体比の表示方法]

$$\delta^{15}\text{N}, \delta^{13}\text{C} = [\text{R}_{\text{sample}}/\text{R}_{\text{standard}} - 1] \times 1000 (\text{‰})$$

$$\text{R} = {}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C}, {}^{15}\text{N}/{}^{14}\text{N}$$

標準試料は、 $\delta^{13}\text{C}$  が PDB、 $\delta^{15}\text{N}$  が大気窒素である。

[表層堆積物 Chl.*a* 現存量の計算式]

表層堆積物は、現場調査で得られた Chl.*a* 量と以下の式 (Magni and Montani 1997) を用いて、1 m<sup>2</sup>あたりの Chl.*a* 現存量を算出し、地点間の比較を行った。また、有機炭素および窒素についても同様の計算を行った。

1m<sup>2</sup>当たりの Chl.*a* (mg/m<sup>2</sup>)

=表層 0-0.5cm の体積×堆積物粒子の比重×堆積物中粒子の体積割合×表層堆積物 Chl.*a* 量  
=5000cm<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>×2.5g/cm<sup>3</sup>×(S.C.×0.4)/(W.C.+0.4×S.C.)×mg Chl.*a* /g

S.C.:粒子含有量

W.C.:水分含有量

**(結果)**

それぞれの項目における2カ月の平均値を図2~7、表1および2に示す。

**1. 表層水の温度、塩分、溶存酸素濃度 (図2)**

水温は、厚岸湖内は約2℃程度で、火散布沼内では10℃以上地点間で違っていた。

塩分は、火散布沼は全点で30psu以上の値をとり厚岸湖より高い値であった。厚岸湖内では河口部のStn.A1以外は、厚岸湖沖に近い値をとっていた。

溶存酸素濃度は、全点5mg/L以上で3mg/L以下の貧酸素状態である地点はなかった。

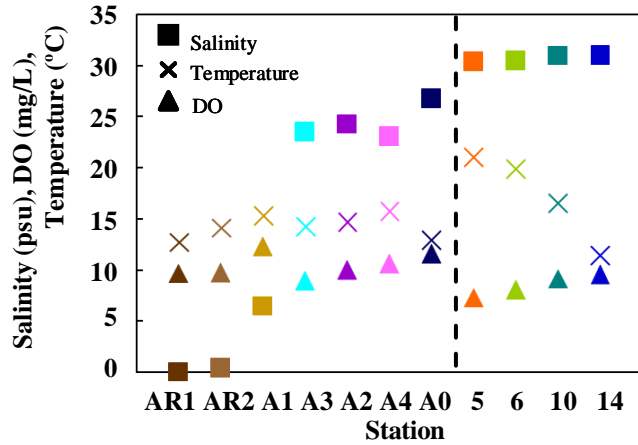


図2 表層水の水温、塩分および溶存酸素の空間分布

**2. Chl.a およびフェオ色素現存量 (図3)**

水柱のChl.a現存量は、厚岸湖口部や河口部で約10 μg/m<sup>2</sup>と高かった。また表層堆積物では、火散布沼奥、中央、口部で約170 μg/m<sup>2</sup>の高い値であった。

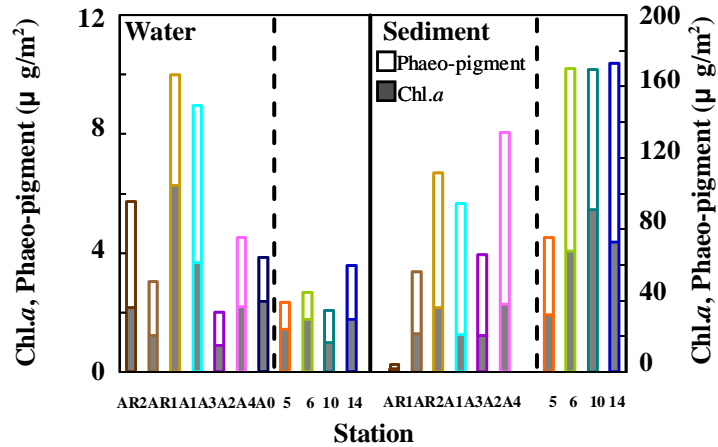


図3 水柱および表層堆積物におけるChl.a、フェオ色素の空間分布

**3. 有機炭素および窒素現存量 (図4)**

水柱の炭素および窒素現存量は、別寒辺牛川と厚岸湖口部そして河口部で高く、火散布沼口、中央部で低い値であった。一方、表層堆積物では、厚岸湖内部、火散布沼奥部で高い値が見られた。

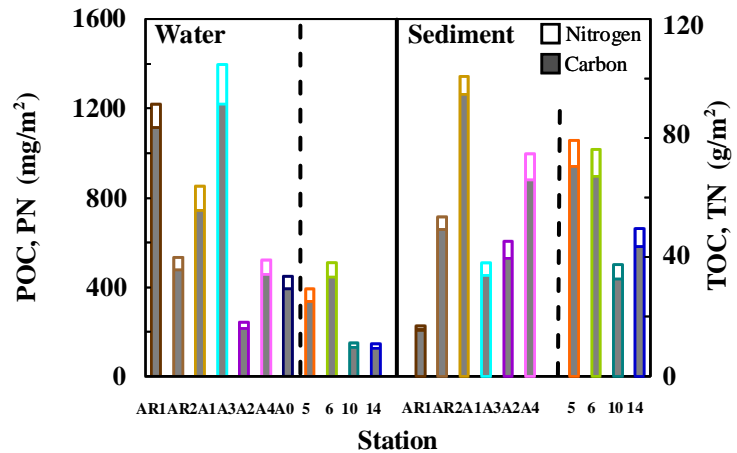


図4 水柱および表層堆積物における炭素、窒素現存量の空間分布

#### 4. 栄養塩現存量 (図5)

水柱の硝酸塩亜硝酸塩態窒素およびケイ酸塩ケイ素現存量は、厚岸の河川や湖口部で高かった。アンモニウム塩態窒素は、厚岸湖口部で最も高い値 (10.4mmol/m<sup>2</sup>) であり、厚岸湖の河口や沖、火散布沼の口や中央部で 0.5 mmol/m<sup>2</sup> 前後の低い値であった。またリン酸塩態リンもアンモニウム態窒素と同様の分布をしていた。

窒素とリンのモル比を比較すると、厚岸湖内 (全平均±標準偏差: 2.9±2.6) よりも火散布沼 (0.9±0.7) の方がより低かった。

間隙水のアンモニウム態窒素現存量は、厚岸湖では沼内部、火散布沼では奥部で高い傾向が見られた。

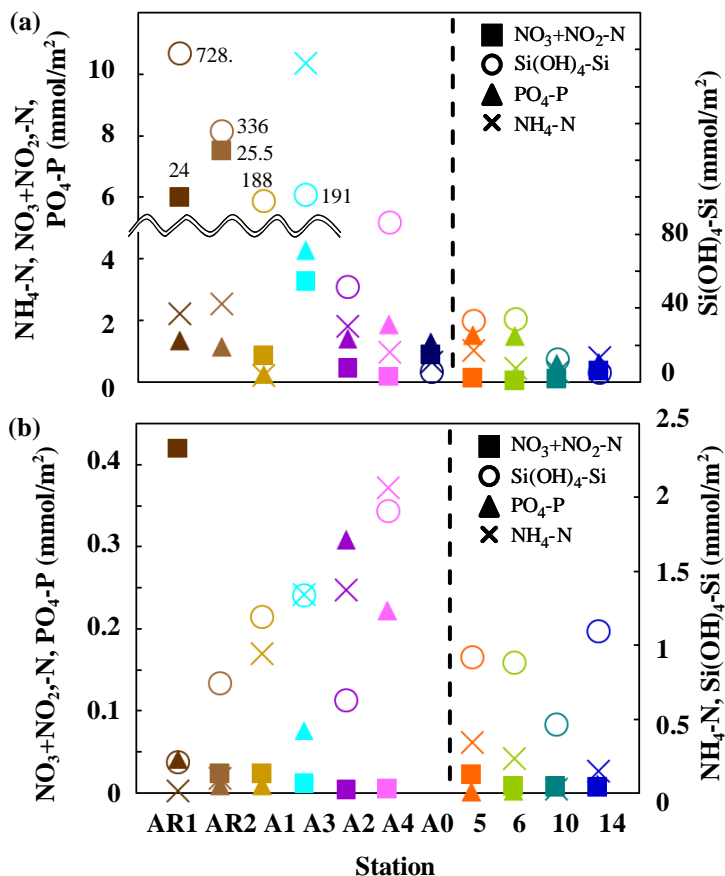


図5 水柱 (a) および間隙水 (b) における栄養塩現存量の空間分布

#### 5. AVS-S 濃度 (表1)

AVS-S 値は、全体的に 0.21mg/L 以下の低い値であったが、厚岸湖中央部や火散布沼中央、奥部で約 0.1mg とやや高くなっていた。

表1 表層堆積物における各地点の AVS-S 濃度

Station	AVS-S (mg/g)	Station	AVS-S (mg/g)
AR1	0.00	5	0.09
AR2	0.01	6	0.13
A1	0.03	10	0.13
A3	0.01	14	0.03
A2	0.01		
A4	0.10		



## 6. 粒度組成 (図 6)

厚岸湖では粒径  $250\ \mu\text{m}$  以上の大きな粒子が半分以上を占めていたが、中央部を除き火散布沼では  $250\ \mu\text{m}$  以下の粒子が 70% 程を占めていた。

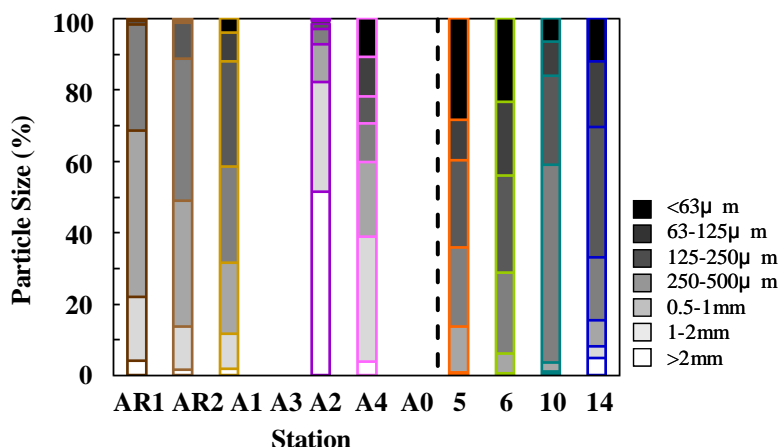


図 6 堆積物粒度組成の空間分布

## 7. 底生生物 (表 2)

2 回の調査で出現した種数の合計は、火散布沼口部で最も多かったが、その他は厚岸湖内と火散布沼で違いは見られなかった。しかし、2 カ月平均の個体数や生物量を比較すると、アサリが生息する潮間帯の Stn.A2 を除き、厚岸湖は火散布沼よりも低い値を示していた。

表2 各地点における底生生物の 2 カ月合計出現種数、2 カ月の平均個体数および生物量

Station	Species	Individual (ind./m <sup>2</sup> )	Biomass (gWW/m <sup>2</sup> )	Station	Species	Individual (ind./m <sup>2</sup> )	Biomass (gWW/m <sup>2</sup> )
AR1	2	40	0.16	5	9	2390	57.50
AR2	1	120	5.02	6	11	13130	39.31
A1	11	1670	21.12	10	12	3780	26.73
A3				14	24	3030	32.36
A2	13	9420	3314.66				
A4	10	250	8.53				

## 8. 炭素および窒素安定同位体比 (図 7)

炭素同位体比では、河川とともに厚岸湖内の表層堆積物、SOM、カキ、アサリも火散布沼よりも低い傾向があった。

窒素同位体比は、河川では低いが、厚岸湖内堆積物、SOM および生物は、火散布沼よりも高い値であった。

厚岸湖のカキの炭素安定同位体比は、生息する Stn.A4 の懸濁粒子に近い値であったが、アサリは Stn.A2 の懸濁粒子よりも約 4‰ 高い値であった。

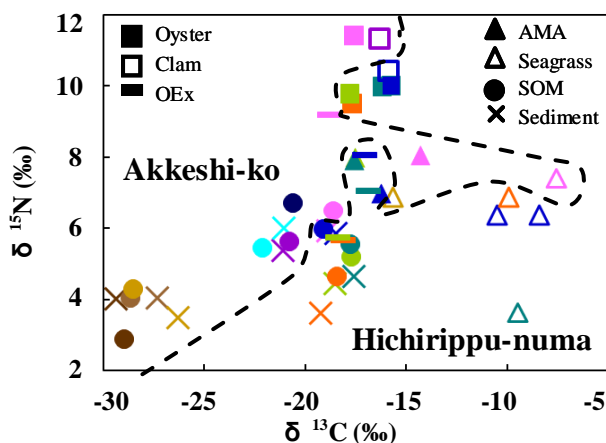


図7 表層堆積物、懸濁態有機物(SOM)、カキ、カキ排泄物(OEx)、アサリ、海草、付着微細藻類(AMA)の炭素および窒素安定同位体比

## (考察)

### 厚岸湖生態系の特徴

水柱の栄養塩現存量における窒素とリンのモル比を比較すると、ともにレッドフィールド比 (Redfield 1963) よりも低いが、厚岸湖内よりも火散布沼は低く、火散布沼は厚岸湖よりも窒素制限下にあると考えられる。また Chl. *a* 現存量から、表層堆積物と水柱に生息する全基礎生産者における水柱基礎生産者の割合を計算すると、厚岸湖内(9.9±5.9)は火散布沼(2.6±1.4)に比べ高かった。加えて、潮下帯の底生生物の現存量では、個体数で5倍、生物量で2倍以上、火散布沼の方が厚岸湖内よりも高かった。つまり、火散布沼は底生生態系が主要であるのに対し、厚岸湖は火散布沼に比べ水柱生態系が発達している事が示唆された。これは厚岸湖が火散布沼よりも水深が深く、継続的に河川から栄養塩が供給されているためであると考えられる。

### 河川による低次生物生産過程への影響

河川から流れ出る低い炭素同位体比を持つ陸生有機物(約-28‰)は、河口域 Stn. A1 の懸濁粒子や堆積物に影響を与えていた。しかし、厚岸湖内のその他の地点では炭素同位体比が-20‰前後の値をとり、河川よりも海洋生有機物や湖内で生産された有機物の割合が大きいと考えられる。またアマモ (*Zostera marina*)、コアマモ (*Zostera japonica*)そしてそれらに付着している微細藻類は、火散布沼のものよりも厚岸湖では窒素同位体比が高く、厚岸湖で生産される有機物は高い窒素同位体比を持つことが明らかとなった。

厚岸湖のカキの炭素安定同位体比は、生息する Stn. A4 の懸濁粒子に近い値であったが、アサリは Stn. A2 の懸濁粒子よりも約4‰高い値であった。そのため、カキは海洋や湖内で生産された有機物からなる懸濁粒子を摂食していると考えられる。アサリでは、植物プランクトンよりも高い-17±4‰の値をとるといわれている底生微細藻類 (France 1995) やアマモに付着している微細藻類などを選択的に摂食している可能性が示唆された。また、高い窒素安定同位体比を持つ厚岸湖内で生産された有機物を摂食しているために、厚岸湖に生息するカキやアサリは火散布沼よりも窒素同位体比が高い値をとると考えられた。

栄養塩を利用して湖内で生産された有機物はカキやアサリなどの1次消費者に運ばれており、厚岸湖の主要な栄養塩供給源は河川であることから、河川からの物質輸送が低次生物生産過程に影響を及ぼしていると考えられる。

本研究において、厚岸湖は河川流入の影響を受け、火散布沼よりも水柱生態系が発達していると考えられた。また低次生物生産過程においても河川が影響を与えていることが明らかとなった。

今後どのようにして河川供給物質が低次生物生産過程に影響するのかを明らかにするために、より詳細な調査および研究を行う必要があると考えられる。

## (引用文献)

- DeNiro, M.J. and S. Epstein (1978) Influence of diet on the distribution of carbon isotope in animals. *Geochimica Cosmochimica et Acta* 42, 495–506.
- DeNiro, M.J. and S. Epstein (1981) Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 45, 341–351.
- France, R.L. (1995) Carbon-13 enrichment in benthic compared to planktonic algae: foodweb implications. *Marine Ecology Progress Series* 124, 307–312.
- Kuramoto, T. and M. Minagawa (2001) Stable Carbon and Nitrogen Isotopic Characterization of Organic Matter in a Mangrove Ecosystem on the Southwestern Coast of Thailand. *Journal of Oceanography* 57, 421–431.
- Lorenzen, C.J. (1967) Determination of chlorophyll and phaeo-pigments: spectrophotometric equations. *Limnology and Oceanography* 12, 343–346.
- Menzel, D.W. and N. Corwin (1965) The measurement of total phosphorus in seawater based on the liberation of organically bound fractions by per sulfate oxidation. *Journal of Oceanography* 10, 280–282.
- O' Leary, N.H. (1981) Carbon isotope fractionation in plants. *Phytochemistry* 20, 553–567.
- Peter, K.E., R.E. Sweeney, and I.R. Kaplan (1978) Correlation of carbon and nitrogen stable isotope ratios in sedimentary organic matter. *Limnology and Oceanography* 23, 98–604.
- Redfield, A.C., B.H. Ketchum and F.A. Richard (1963) The influence of organisms on the composition of sea water. In: *the Sea* 2 ed. (eds. M.N. Hill, J. Wiley), pp26–77. New York.
- Ryther, J.H. (1969) Photosynthesis and fish production in the sea. *Science* 166, 72–76.
- Strickland, J.D.H. and T.R. Parsons (1972) A practical handbook of seawater analysis. *Bulletin of Fisheries Research Board in Canada* 167.
- Sweeney, R.E. and I.R. Kaplan (1980) Natural abundances of  $^{15}\text{N}$  as a source indicator for near-shore marine sedimentary and dissolved nitrogen. *Marine Chemistry* 9, 81–94.
- Wada, E., M. Minagawa, H. Mizutani, T. Tsuji, R. Imaizumi and K. Karasawa (1987) Biogeochemical studies on the transport of organic matter along the Otsuchi River watershed, Japan. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 25, 321–336.
- 門谷 茂 (2003) 3-9 硫酸化合物. 所収竹内均(監修), 地球環境計測事典—第3 巻沿岸域編. フジテクノシステム: 東京, pp. 233–236