HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	14C－標識珪藻(Skeletonema costatum)を用いての粒状有機物の分解過程について
Author(s)	吉田, 秀見; 米田, 義昭; 深瀬, 茂
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 34(2), 148-167
Issue Date	1983-06
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/23823
Type	departmental bulletin paper
File Information	34(2)_P148-167.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

北大水産彙報
34(2). 148–167, 1983.

^{14}C-標識珪藻 (*Skeletonema costatum*) を用いての粒状有機物の分解過程について

吉田　秀見*・米田　義昭**・深瀬　茂*

On the Decomposition Processes of Particulate Organic Matter using ^{14}C-labeled Diatom, *Skeletonema costatum*

Hidemi YOSHIDA*, Yoshiaki MAITA** and Shigeru FUKASE*

Abstract

Decomposition processes of ^{14}C-labeled diatom, *Skeletonema costatum* (^{14}C-POM) were examined during the summer-fall of 1979 in Funka Bay using R/V Ushio Maru.

Decomposition of ^{14}C-POM can be approximately described by a first-order reaction equation. It was possible to express the reaction in two steps having differing slopes on a semi-logarithmic plot with time. In the initial incubation periods, the decomposition of ^{14}C-POM proceeded rapidly (expressed as first step), after which the decomposition was remarkably lower (second step). The apparent rate constants for decomposition were calculated as 0.08 to 0.3 day^{-1} for the first step and 0.06 day^{-1} for the second step.

In situ experiment during June to September, the mineralization rates, which were estimated from evolved $^{14}CO_2$, were lower than those compared with the decomposition of ^{14}C-POM. This fact suggests that ^{14}C-DOM was released in water as an intermediate step during decomposition. The mineralization rates per day were in the range of 2 to 13% (mean 7%) at 20 m, and 0.2 to 0.6% (mean 0.4%) at 60 m.

Major organic composition of ^{14}C-POM was changed during decomposition process in seawater. Each constituents of ^{14}C-POM tended to be decomposed preferentially in the order of protein, carbohydrate and then lipid.

緒　　言

海水中の粒状有機物 (POM) には，生物の破片であるデトリタス，植物プランクトン，動物プランクトンおよびバクテリアが含まれており，海洋全体で炭素に換算すると，それぞれ 2×10^{16}g, 4×10^{15} g, 1×10^{14}g および 1×10^{14}g であるといわれている[1]。POM は有光層において深層にくらべ約10倍もの存在量をもつ[2-5]。

一般に，海洋において有機物の分解は，酸素が大気との間で交換されている混合層において活発に起こっている。一方，深層での分解は非常に緩慢であり，このことは酸素濃度の減少が小さいことか

* 北海道大学水産学部海洋化学講座
(*Laboratory of Marine Chemistry, Faculty of Fisheries, Hokkaido University*)
** 北海道大学水産学部北洋水産研究施設海洋生産学部門
(*Division of Marine Biochemical Science, Research Institute of North Pacific Fisheries, Faculty of Fisheries, Hokkaido University*)

らも裏づけられる[6]。

有機物の分解および栄養塩の再生はその大部分が生物の代謝活性の結果であり，化学的な酸化分解は量的にはほとんど重要ではない。特に，有機物の分解は従属栄養生物群にとってエネルギー源となっており，有機物の生産（光合成など）とならんで海洋生態系の基部を構成している[7]。

海水中の有機物の分解に関するこれまでの研究の歴史は古く，1935年には Cooper が植物および動物プランクトンを用いたビン実験を行ない，窒素系およびリン系栄養塩の再生について報告している[8]。この分野の研究史については最近の総説[7,8]に詳しいが，その研究は，1) 有機物が無機化されて生成する栄養塩あるいは CO_2 の増加量，2) 溶存酸素の消費，および 3) 有機物濃度の減少を測定することにより進められてきた。

さらに近年は，実験系内の微生物群集の変遷をきたさずに短時間・高感度測定を可能にする ^{14}C, ^{15}N, および ^{32}P などの標識有機物を用いる研究が進められてきている[9~19]。

光合成された植物組織からほかのすべての栄養段階への物質の流束を定量的な動態として明らかにすることは海洋生態学において基本的かつ重要な課題である。本研究は，北方沿岸域における生物生産の維持ならびに生産力の大小を左右する要因の一つとして天然有機物の分解過程に注目し，噴火湾の水柱をモデルとして，直接的な方法を用いてその過程を質的・量的に解明することを試みた。

なお，噴火湾の海況および化学環境については総説[20~23]にまとめられている。噴火湾のような水深 100 m 以浅の沿岸域において，POM の量的，質的変化から分解過程を明らかにする試みはまだなされていない[24]。

材料と方法

^{14}C-標識珪藻の調製

本研究で用いられた珪藻の種には，沿岸種として広く日本周辺に分布していること，また，培養が容易であることから，中心目珪藻 *Skeletonema costatum* が選ばれた。

この珪藻の標識培養は，あらかじめオートクレーブにより 122±1°C で 20 分間湿熱・加圧滅菌処理を施した陸奥培養液 MAP_6 (Table 1) 2.5 l に対して，$NaH^{14}CO_3$ 水溶液 (NEN Co., 5μCi ml^{-1}) を 1 ml 添加し，さらに，保存培養しておいた珪藻培地を 2 ml 植え継いで，20°C, 3000 lux, 12h: 12h＝light：dark の条件に設定された培養器中で行なった。培養開始後，1ないし2日ごとに培地 1 ml を直径 25 mm の Millipore HA フィルターを用いて穏やかに吸引濾過し，そのフィルターは直ちに1昼夜真空乾燥してからシンチレーター No. 2 (Table 2) に溶解，液体シンチレーションカウンター (LSC; ALOKA, LSC-673 形) を用いて珪藻により固定された ^{14}C の放射能が測定された。本研究中の放射能の測定はいずれも1検体につき3回繰り返して行ない，その平均値を採用した。

このようにして藻体が ^{14}C で標識されながら増殖していく様子をみていくと，培養7日目以降には対数増殖をしなくなり，直線増殖期に入った (Fig. 1)。そこで15日目に湿熱・加圧滅菌した直径 47 mm の Millipore HA フィルターを用いて培地を 100 ml ずつ穏やかに吸引濾過し，直ちに真空乾燥して使用に供するまで乾燥状態で保存した。こうして調製された ^{14}C-標識藻体は ^{14}C-POM として以下の実験に用いられた。

この乾燥固定時に，標識培養と平行して実施していた常法による培養の培地中の藻体を計数したところ，2.86×10^6 cells ml^{-1} であった。

現場垂下

北大水産学部所属研究船うしお丸（当時98トン）により，1979年6月から9月にかけて毎月1回，北海道南西部に位置する噴火湾のほぼ中央部，Stn. 30 (42°16.2'N, 140°36.0'E, 水深 94 m) の水深 20 m および 60 m の2層において，現場垂下による ^{14}C-POM の分解実験を行なった (Fig. 2)。垂

Table 1. Culture solution "Mutsu MAP_6" for marine phytoplankton. (After Aomori-ken Susian-zoshoku Center)

Filtered seawater	1 liter
$NaNO_3$	200 mg (33 mg N)
$Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$	25 mg (2 mg P)
$Na_2SiO_3 \cdot 9H_2O$	2 mg
P_6 metals mix.*	1 ml
"Tris"**	100 mg
Vitamin mix.***	0.1 ml
pH (adjust using conc. HCl)	7.5

*:	Re-distilled water	1 liter
	$Na_2EDTA \cdot 2H_2O$	3.00 g
	$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	387 mg
	$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	432 mg
	$ZnCl_2$	31.3 mg
	$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	12.1 mg
	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	4.72 mg
	$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	126 mg
	H_3BO_4	3.43 g
**:	Tris (hydroxymethyl) amino methane	
***:	Re-distilled water	100 ml
	Vitamin B_1	100 mg
	Vitamin H	1 mg
	Vitamin B_{12}	0.2 mg

Table 2. Liquid scintillators for measurements of radioactivity of ^{14}C. (Ref. Ishikwa[25])

No.	Species		Uses
1	Toluene base I		$^{14}CO_2$
	2,5-Diphenyloxazole (DPO)	2.75 g	
	2,2′-p-Phenylene-bis-(5-phenyl-oxazole) (POPOP)	0.12 g	
	Toluene	500 ml	
2	Toluene base II		^{14}C-POM
	DPO	5.5 g	^{14}C-lipids
	POPOP	0.24 g	
	Toluene	600 ml	
	2-Ethoxyethanol	400 ml	
3	Dioxane base		^{14}C-sugars
	DPO	3.0 g	^{14}C-amino acids
	POPOP	0.12 g	^{14}C-DOM
	Naphthalene	36 g	
	Dioxane	500 ml	
	2-Ethoxyethanol	100 ml	

下層を設定するにあたり，岩崎[26]が報告している噴火湾における植物プランクトン群集（全細胞数およびクロロフィル *a*）の季節ごとの鉛直分布から，周年を通じての生物現存量の最大層を水深 20 m，また最小層を水深 60 m として選定した。現場垂下の期間および水温については Table 3 に示す。

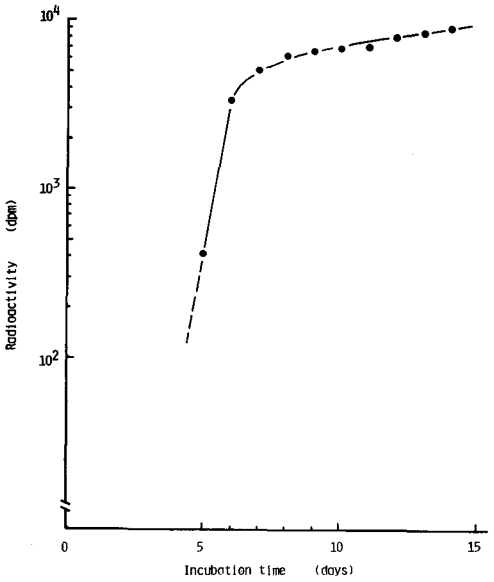

Fig. 1. Growth curve of *Skeletonema costatum* under 3000 lux of fluorescence lump and dark (12 h:12 h) after $NaH^{14}CO_3$ injection.

Table 3. Incubation time and water temperature of the *in situ* experiments.

Date	Incubation time (days)	Temperature (°C)	
		20 m depth	60 m depth
Jun. 18-20, 1979	1.1, 1.8	10.9	2.6*
Jul. 9-16, 1979	7.0	8.7	2.9
Aug. 14-15, 1979	1.0	17.4	3.1
Sep. 10-12, 1979	1.1, 1.8	18.0	7.1

*: No samples

実験操作の概要を Fig. 3 に示す。分解実験に用いた海水は，あらかじめ 6N 塩酸で処理したバンドン採水器を用いて水深 20 m および 60 m から採取した。採水後，直ちに孔径 330 μm のナイロンネットを通過させた海水を，あらかじめ酸処理および簡易乾熱滅菌処理 (140°C, 1hr) を施した 120 ml 耐熱ねじ口びん（柴田化学器械工業社，100A 形）に 100 ml ずつ分取し，^{14}C-POM 原液 1 ml をシリンジ（テルモ社，エチレンオキサイドガス滅菌済）を用いて添加した。^{14}C-POM 原液は，現場垂下の前夜または当日早朝に，それまで真空乾燥にて保存されていた Millipore HA フィルター上の ^{14}C-POM の一定量を，湿熱・加圧滅菌した濾過海水 (4°C) に約 5 分間の超音波処理を加えて再懸濁させ，使用直前まで冷所に保存したものである。一方，海水 100 ml および ^{14}C-POM 原液 1 ml のほかに昇コウの飽和水溶液 1 ml を添加したものを各層に用意してコントロールとした。いずれのねじ口びんも試水を入れた密栓状態で 20 ml ほどの空間をもたせ，内部が嫌気的になることを避けた。

こうして用意したねじ口びんを開放型の透明アクリル管に 3 個 1 組にして収納し，垂下用ロープに装着してそれぞれの採水層にもどして垂下した。

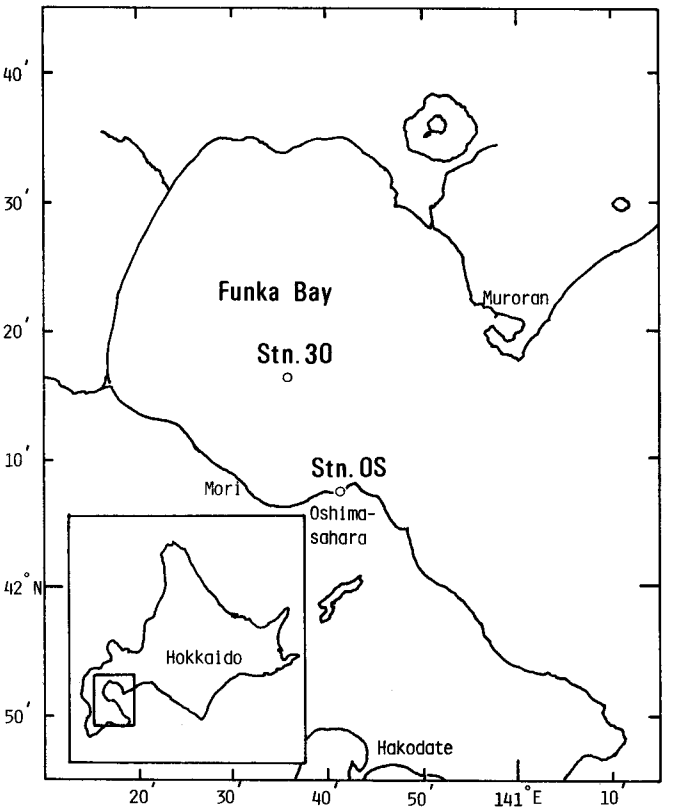

Fig. 2. Sampling and experimental stations in Funka Bay, Japan.

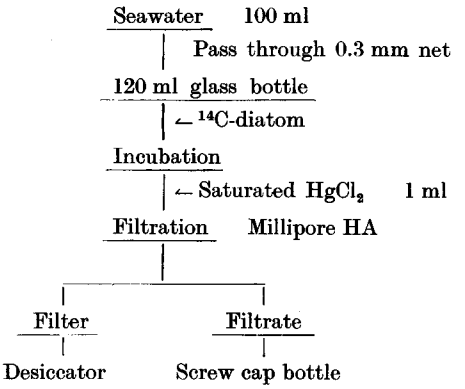

Fig. 3. Schema for *in situ* experiment.

設定時間経過後，船上に回収したねじ口びんに昇コウの飽和水溶液 1 ml を加え，できるだけはやく直径 25 mm の Millipore HA フィルターを用いて濾過し，固定を行なった。フィルターは直ちに真空乾燥し，濾液とともに実験室に持ち帰り，分析に供した。

室内実験

1. 濃縮操作を加えない現場海水を用いての分解実験

1979年11月20日に現場垂下実験と同じ Stn. 30 の同じ層（水深 20 m，水温 11.7°C; 60 m, 11.4 °C）で採水した海水，および同年12月20日に渡島砂原港岸壁（Stn. OS; Fig. 2）で採取した表面水（9.1°C）を用いて，実験室内の恒温器中（dark; 表面水および 20 m の試水には 20°C, 60 m の試水には 5°C）において培養を行なった。いずれの試水も採水時に孔径 330 μm のナイロンネットを通過したものである。培養は試水採取後6時間以内に開始した。

2. POM を 10 倍に濃縮した海水を用いての分解実験

1979年12月20日 Stn. OS において表面水（9.1°C）を孔径 330 μm のナイロネットを通過させて採取し，実験室に持ち帰った。その 9 l を，再蒸留水で煮沸滅菌した直径 47 mm の Millipore HA フィルターで穏やかに濾過し，フィルター上に集めたバクテリアを含む粒状物を，数十秒間の超音波処理により現場海水 1 l 中に再懸濁した。続いての操作は 1. と同様に行なった。

$^{14}CO_2$ の回収および測定

^{14}C-POM の分解に伴なって生成した $^{14}CO_2$ の回収および測定は，Seki[11] の方法を一部修正して行なった。実験室に持ち帰った濾液試料に濃硫酸を3ないし4滴加え，pH を 1.2 とした。そして，

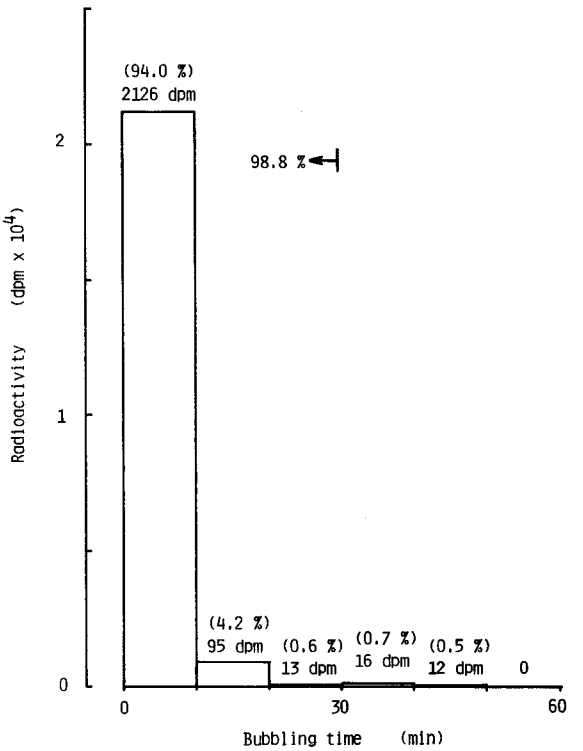

Fig. 4. Recovery of $^{14}CO_2$ by aeration under N_2 gas.

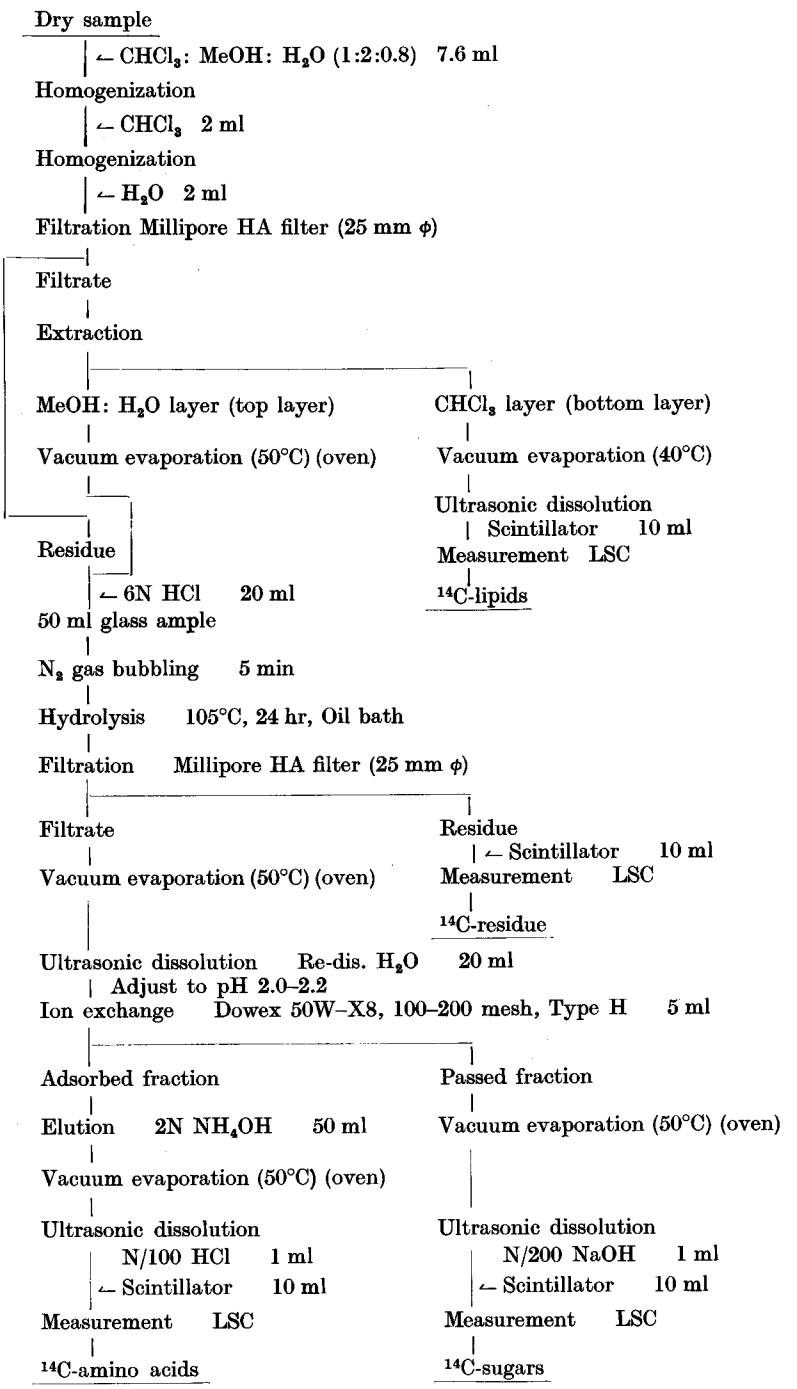

Fig. 5. Flow chart of fractionation of particulate organic matter.

ガラスキャピラリーを用いて窒素ガスを30分間通気し，LSC用バイアルに入れた1:2＝エタノールアミン：2-メトキシエタノール混液 10 ml 中に $^{14}CO_2$ を捕集した。捕集を終えたバイアルに $^{14}CO_2$ 用シンチレーター No. 1 (Table 2) を 10 ml 加え，LSC で10分間放射能を測定した。Fig. 4 に1試料の時間経過に伴う捕集の様子を示す。

溶存有機成分

30分間の窒素ガス通気により $^{14}CO_2$ を除去した濾液試料の 1 ml を LSC 用バイアルにとり，ジオキサンベースのシンチレーター No. 3 (Table 2) 10 ml を加え，LSC で放射能を測定した。この測定値を実験開始時の試水量における値に換算して ^{14}C-溶存有機物 (^{14}C-DOM) とした。

POM の主要有機成分への分画

実験室に持ち帰ったフィルター試料を Fig. 5 に示す手順に従って分画した。^{14}C-脂質の抽出およびそれに伴う水溶性画分の分離までの操作は，Bligh and Dyer[27] の方法を改良した Jeffries[28] の方法に従った。また，加水分解後の試料中のアミノ酸および糖質の分離は Starikova and Korzhikova[29] の方法を改良して行なった。ここで，水溶性画分から陽イオン交換樹脂 (Dowex 50W-X8, 100-200 mesh, Type H) で交換される画分を ^{14}C-アミノ酸，また，交換されない画分を ^{14}C-糖として測定した。ほかに，加水分解後も Millipore HA フィルター上に残る画分を ^{14}C-残渣とした。蒸発乾固されたそれぞれの画分試料を LSC 用バイアルに移し換える際には，10 ml のシンチレーター (Table 2) を3回に分けて加え，超音波処理で十分に溶解して行なった。

以上の方法を用いて分解時間ゼロのフィルター試料を繰り返し分画した結果を Table 4 に示す。本研究で用いた *Skeletonema costatum* の主要有機成分の組成は，Parsons ら[30] の報告している同珪藻の組成（たん白質 37%，炭水化物 20.8%，脂肪 4.7%，色素 1.8%，および灰分 39.0%）とくらべ，たん白質と糖質の含有率が異なっているという違いがある。これは，本研究の分画法では灰分の一部が色素とともに ^{14}C-糖質画分へ移行するため，さらに，培養液の成分，温度，および光量などの培養条件の違いにより藻体の有機組成に変化が起こるためと考えられる。

Table 4. Major organic composition of ^{14}C-labeled diatom, *Skeletonema costatum** used in this study.

No.	Lipids	Amino acids	Sugars	Residue	Total (dpm)
	(%)				
1	8.2	24.5	62.3	5.0	14781
2	9.2	24.0	61.7	5.1	14478
3	6.8	24.0	63.8	5.4	14388
4	9.9	25.9	60.0	4.3	14065
Mean	8.5	24.0	61.9	5.0	14428**
σ_{n-1}	1.3	0.9	1.6	0.5	295
$\%\sigma_{n-1}$	15	3.7	2.6	10	2.0

*: Expressed as ^{14}C-POM (decomposition time=zero) in text
**: Recovery calculated from no fractionation is 79%.

一般生菌数

海水試料を滅菌海水で適宜希釈し，その 1 ml を ZoBell 2216E 培地[31] に接種し，20°C で4日間培養し，現われたバクテリアのコロニーを計数した。

^{14}C-POM の dpm 値から mg C 値への換算

真空乾燥して保存しておいた ^{14}C-POM の HA フィルター1枚分を 33 ml の湿熱・加圧滅菌した濾過海水 (4°C) に超音波処理を加えながら再懸濁し，直ちに，その 1 ml ずつを滅菌済みのシリンジを用いて，前処理 (450°C, 1hr) した直径 25 mm の GF/C フィルターで濾過した．すみやかにそのフィルターを真空乾燥し，フィルターの一群を元素分析 (柳本 CHN Corder MT-2 型) して炭素量を求め，もう一群は LSC により dpm 数を求めた (Table 5)。本研究に用いた ^{14}C-POM は，1.1×10^2 dpm が 1.0 μg C に相当した。

これをもとに各実験に用いた各培養びん中の初期 ^{14}C-POM 濃度について mg C 濃度に換算した値を Table 6 に示す。

Table 5. Conversion from radioactivity (dpm) to carbon (μg C).

	Carbon (μg C)		Radioactivity (dpm)
#1	37.27	#1	4224
#2	42.33	#2	4289
#3	39.42	#3	4382
#4	33.50	#4	4263
Mean	38.13	Mean	4290
σ_{n-1}	3.72	σ_{n-1}	67
$\%\sigma_{n-1}$	9.8	$\%\sigma_{n-1}$	1.6

$\therefore$ 1.0 μg C $\fallingdotseq$ 1.1×10^2 dpm

Table 6. Conversion from initial concentration of ^{14}C-POM (dpm) of each experiment to weight concentration (mg C l^{-1}).

Date	dpm·100 ml^{-1}	mg C l^{-1}
Jun. 18, 1979	18436	1.6
Jul. 9, 1979	18356	1.6
Aug. 14, 1979	18131	1.6
Sep. 10, 1979	22280	2.0
Nov. 20, 1979	19200	1.7
Dec. 20, 1979	19356	1.7
Mean	19293	1.7

結　　果

室内実験における POM の分解過程

POM の分解による経時変化を，21 日間にわたる室内実験 (dark, 20°C) でみた。この実験に用いた 1979 年 12 月 20 日の Stn. OS 表面水の一般生菌数は 1.2×10^4 ml^{-1} であった。この値は，絵面ら[32]が大槌湾の表面水で報告している値(4～11 月: 3.9×10^2～9.9×10^4 ml^{-1}) や，山本[33]が函館湾の表面水(4～10 月: 4.7×10^3～1.4×10^5 ml^{-1}) および北太平洋，アラスカ湾，ベーリング海の表層 (6～8 月: それぞれ 10^3 ml^{-1}) で報告している値と同程度であった。

Fig. 6 に示すように，^{14}C-POM は約 1 日間の誘導期を経たのち指数関数的に減少した。一方，$^{14}CO_2$

は実験開始から3日目まで直線的に生成した。^{14}C-DOM は実験開始後1日間に減少をみせ，それ以降はほぼ一定であった。

昇コウの飽和水溶液を 1 ml 添加して生物活性を除いたコントロールでは，^{14}C-POM が7日間に約10% 減少し，それに相当する分が ^{14}C-DOM の増加に現われた。しかし，$^{14}CO_2$ は予想されるとおり，生成されずにほぼ一定値を保った。

実験開始時に添加された ^{14}C-POM に対する生成した $^{14}CO_2$ の割合（無機化率）は，3日後，7日後，および21日後で，それぞれ 49%，79%，および 100% であった。一方，初期 ^{14}C-POM に対

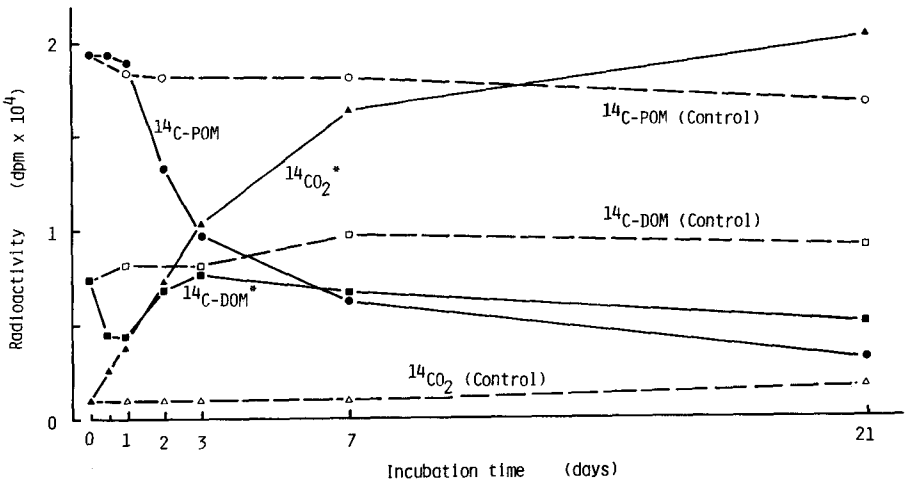

Fig. 6. Decomposition process of ^{14}C-POM (1.7 mg C l^{-1}) under dark at 20°C using surface seawater collected at Stn. OS in Funka Bay on Dec. 20, 1979. (*: Mean values of two samples)

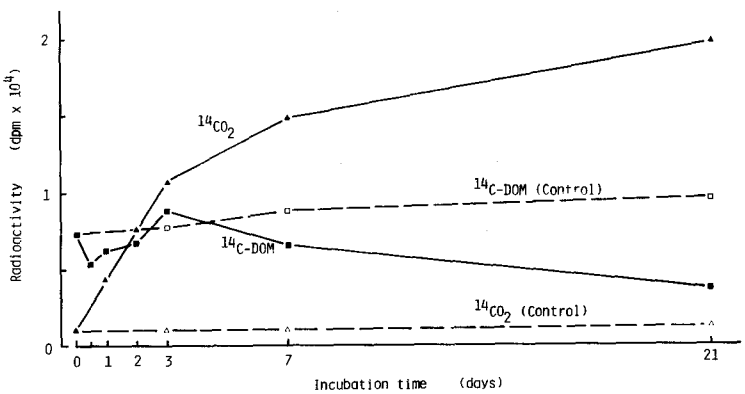

Fig. 7. Decomposition process of ^{14}C-POM (1.7 mg C l^{-1}) under dark at 20°C using surface seawater collected at Stn. OS in Funka Bay on Dec. 20, 1979. POM and bacteria in the seawater sample are enriched by filtration technique (See also text).

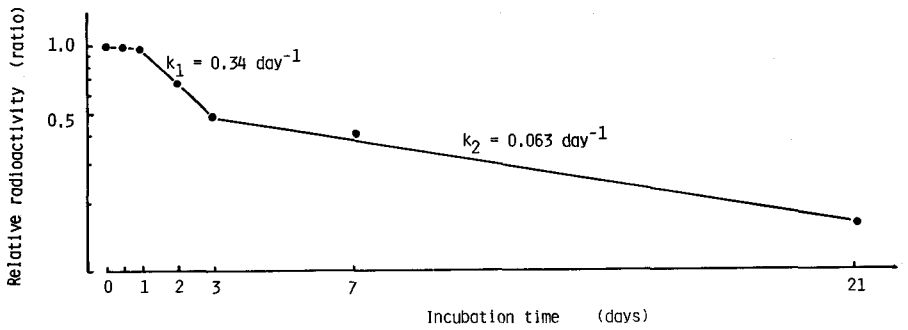

Fig. 8. Decomposition curve of ^{14}C-POM (1.7 mg C l^{-1}) under dark at 20°C using surface seawater collected at Stn. OS in Funka Bay on Dec. 20, 1979.

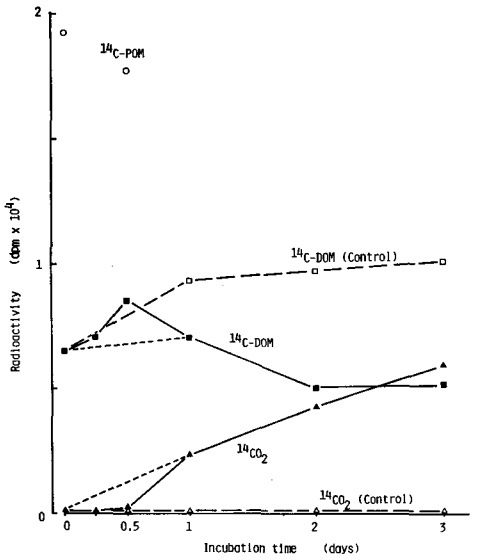

Fig. 9. Decomposition process of ^{14}C-POM (1.7 mg C l^{-1}) under dark at 20°C using 20 m depth seawater collected at Stn. 30 in Funka Bay on Nov. 20, 1979.

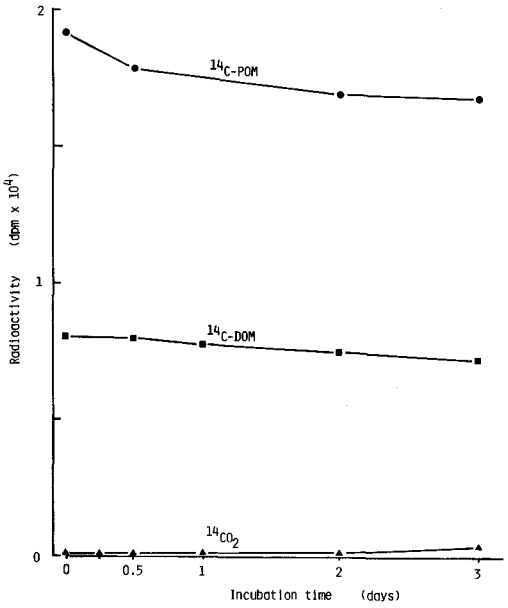

Fig. 10. Decomposition process of ^{14}C-POM (1.7 mg C l^{-1}) under dark at 5°C using 60 m depth seawater collected at Stn. 30 in Funka Bay on Nov. 20, 1979.

する減少 ^{14}C-POM の割合は，3日後，7日後，および21日後でそれぞれ，50%，68%，および84%であった。それぞれの時点における無機化率と減少率については，ほぼ一致しながらも若干の差異がみられた．これは実験開始時に ^{14}C-POM と同時に混入した ^{14}C-DOM の一部が微生物分解の基質としてそれらの無機化に付加的に寄与することによる影響も考えられる。

また，バクテリアを含む POM を Millipore HA フィルターを用いて10倍に濃縮した Stn. OS 表

面水を用いて行なった実験においても，サンプル，コントロールともにFig. 6で述べた結果と同様の傾向を示した (Fig. 7)。

Fig. 6の分解に伴うPOMの減少が1次反応式に従って起こる[8]と仮定し，その減少を片対数にプロットするとFig. 8となる。これをみるとPOMは1日目までの誘導期を除きみかけ上2段階に分解している。最初の比較的分解のはやい段階の分解速度定数 (k_1) は 0.34 day^{-1} であり，続く分解の緩やかな段階の分解速度定数 (k_2) は 0.063 day^{-1} である。この2段階分解の後段は，基質として用いた珪藻細胞中の難分解性画分[34]のごくゆっくりした分解によるもの，および，または，閉鎖された容器中 (100 ml) での実験という制約に起因するものと考えられる。

1979年11月20日 Stn. 30の水深20 mの海水を用いて行なった実験 (dark, 20°C) の結果は，Fig. 6および Fig. 7と同様の傾向を示した (Fig. 9)。ここで12時間目までの $^{14}CO_2$ 生成が低いのは，試料水温 (採水時 11.7°C) の培養器空調温度 (20°C) への対応の遅れがあったことによるものと思われる。それは，12時間目までの ^{14}C-DOM が Fig. 6 と異なり，コントロールに近い挙動を示すことからも考えられる。3日後の ^{14}C-POM の無機化率は 31% であり，減少率 32% とほぼ等値である。

他方，同日，同ステーションの水深 60 m の海水 (採水時 11.4°C) を用いて行なった実験 (dark, 5°C) では，$^{14}CO_2$ 生成がきわめて低く (335 dpm·100 ml^{-1})，^{14}C-POM および ^{14}C-DOM の変化も乏しく，Fig. 6 におけるコントロールと同様の傾向を示した (Fig. 10)。3日後の ^{14}C-POM の無機化率が 1.7% であるのに対し，減少率は 12% と大きく上まわっている。この ^{14}C-POM の減少の原因には，POM上に付着した腐生細菌類 (saprophyte) などが，低水温のため呼吸活性が低いにもかかわらず，分解酵素を分泌する[35]ことにより徐々にPOMを溶解しつづけていることも考えられる。

現場垂下における POM の分解

1979年6月から9月にかけて噴火湾中央部 Stn. 30 で行なった現場垂下による POM 分解実験の結果を Table 7 に示す。

Table 7. Rates of decrease and mineralization of ^{14}C-POM (1.6–2.0 mg C l^{-1}) by *in situ* method at Stn. 30 in Funka Bay in Jun.–Sep., 1979.

Incubation time (days) / Depth (m)	Jun. 1.8	Jul. 7.0		Aug. 1.1		Sep. 1.8	
	20	20	60	20	60	20	60
Decrease (%)	32	47	17	—	—	—	—
Mineralization (%)	23*	27*	4*	8*	0.3*	4*	0.3
M. per day (% day^{-1})	13	4	0.6	8	0.3	2	0.2

*: Mean values of two samples
Dashes indicate no data.

$^{14}CO_2$ は時間経過に伴ない3日目までほぼ直線的に生成する (Fig. 6, 7および9) ことから，1日あたりの無機化率について比較する。各月を通じて水深 20 m における1日あたりの無機化率の最大値は6月の 13% 最小値は9月の 2% であり，平均値は 7% であった。同様に水深 60 m では最大値は7月の 0.6%，最小値は9月の 0.2% であり，平均値は 0.4% であった。いずれの月も水温の高い水深 20 m の方が 60 m にくらべ高い値を示した。それを7月，8月，および9月で比較すると，それぞれ7倍，27倍，および10倍である。

一方，^{14}C-POM の減少過程については，実験時間内での分解速度定数の経時変化を得ていないた

め，単位時間あたりの減少率についての比較はできないが，いずれの値も無機化率を上まわっており，その差はDOMの形で留まっている中間分解産物であろうと考えられる。

Table 7 における濃度の2倍の ^{14}C-POM を添加して行なった現場垂下実験の結果を Table 8 に示す。基質濃度が2倍となったにもかかわらず，異常値と思われる9月の水深 20 m を除いて，Table 6 と同様の結果であった。このことは，POMの分解が1次反応で進行していることの傍証となろう。

Table 8. Rates of decrease and mineralization of ^{14}C-POM (3.2–4.0 mg C l^{-1}) by *in situ* method at Stn. 30 in Funka Bay in Jul.–Sep., 1979.

Incubation time (days) / Depth (m)	Jul. 7.0		Aug. 1.1		Sep. 1.8	
	20	60	20	60	20	60
Decrease (%)	41	26	—	—	—	—
Mineralization (%)	38*	5	10*	0.3*	30**	0.4
M. per day (% day^{-1})	5	0.7	10	0.3	17**	0.2

*: Mean values of two samples
**: Extraordinary values
Dashes indicate no data.

分解に伴う POM の有機組成変化

1979年6月から9月にかけて行なった現場垂下における ^{14}C-POM の主要有機成分の変化を Table 9 に示す。

水温の低い水深 60 m では明確ではないが，水温が高くバクテリア数も多いと思われる水深 20 m においては，相対的に糖質について増加，アミノ酸について減少の傾向がみられた。また，脂質はやや減少し，残渣は増加の傾向を示した。

9月水深 20 m の 1.8 日目については，1.0 日目までの傾向と逆行した。この点については，小閉

Table 9. Relative changes on major organic constituents of ^{14}C-POM after *in situ* experiments at Stn. 30 in Funka Bay in Jun.–Sep., 1979.

Injected ^{14}C-POM (mg C l^{-1}) / Incubation time (days)		Initial	Jun. 1.6		Jul. 1.6	Aug. 1.6	Sep. 2.0	
			1.1	1.8	7.0	1.0	1.0	1.8
20 m	^{14}C-POM (%)	100±2	79	68	56	—	—	—
	^{14}C-sugars (%)	62±2	68	72	65	67	67	62
	^{14}C-amino acids (%)	25±1	20	17	20	20	21	25
	^{14}C-lipids (%)	9±1	5	3	3	6	4	6
	^{14}C-residue (%)	5±1	7	9	13	8	8	7
60 m	^{14}C-POM (%)	100±2	—	—	83	—	—	—
	^{14}C-sugars (%)	62±2	—	—	65	62	66	62
	^{14}C-amino acids (%)	25±1	—	—	21	25	21	26
	^{14}C-lipids (%)	9±1	—	—	6	5	5	2
	^{14}C-residue (%)	5±1	—	—	8	8	8	10

Dashes indicate no data.

鎖系 (100 ml) におけるバクテリア自身の繁殖の影響，および，または，バクテリア相の変遷などの原因が考えられる。

1979年12月20日 Stn. OS 表面水中の10倍に濃縮された POM の主要有機成分の変化 (dark, 20°C) を1次反応形にあてはめ Fig. 11 に示す。主成分である糖質は Total とほぼ同じ値を示し，アミノ酸はより高い k 値を示した。脂質はバラツキが大きいが，k 値を求めて比較すると，相対的に低い傾向，すなわちより安定であることを示した。残渣は k 値が最も低く，ホモジナイズ処理後の 6N 塩酸による加水分解にも耐えうる珪藻細胞の被殻に含まれる安定な硬組織を主な構成成分としているものと考えられる。

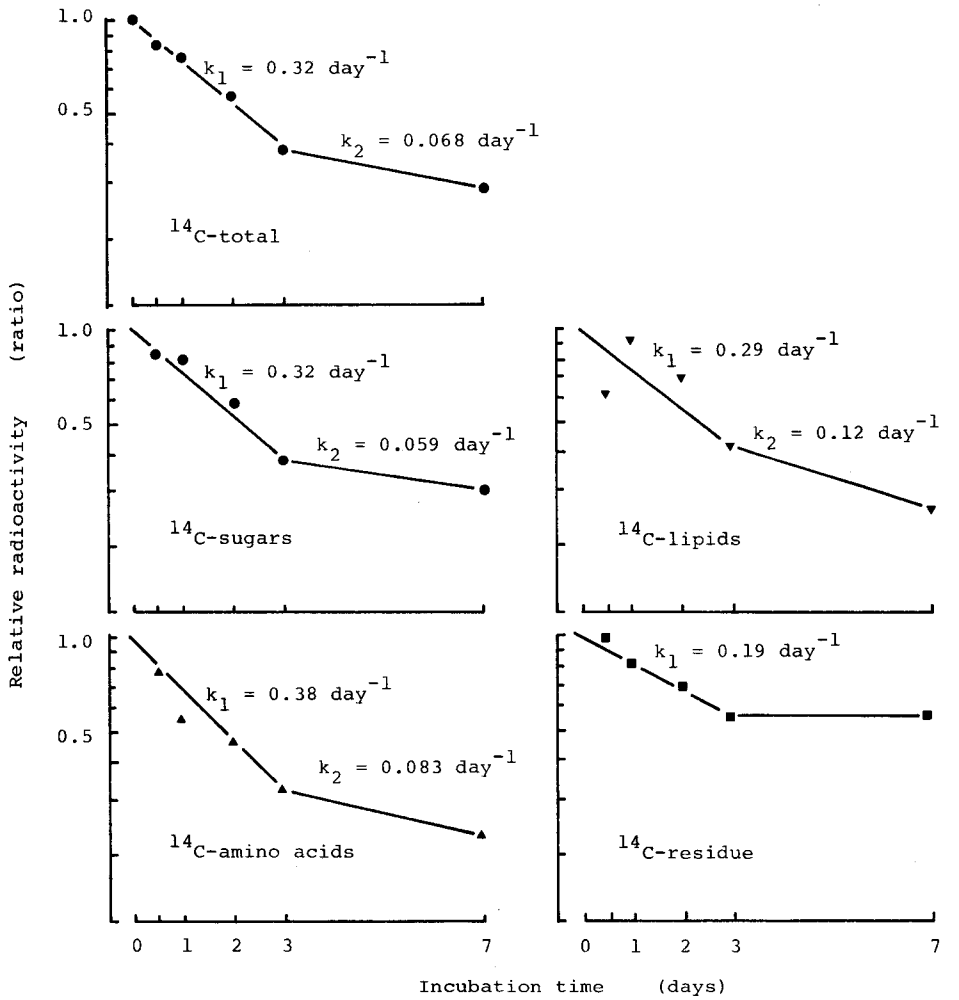

Fig. 11. Decomposition curves of major organic constituents in ^{14}C-POM under dark at 20°C using surface seawater at Stn. OS in Funka Bay on Dec. 20, 1979. POM and bacteria in the seawater sample are enriched by filtration technique (See also text).

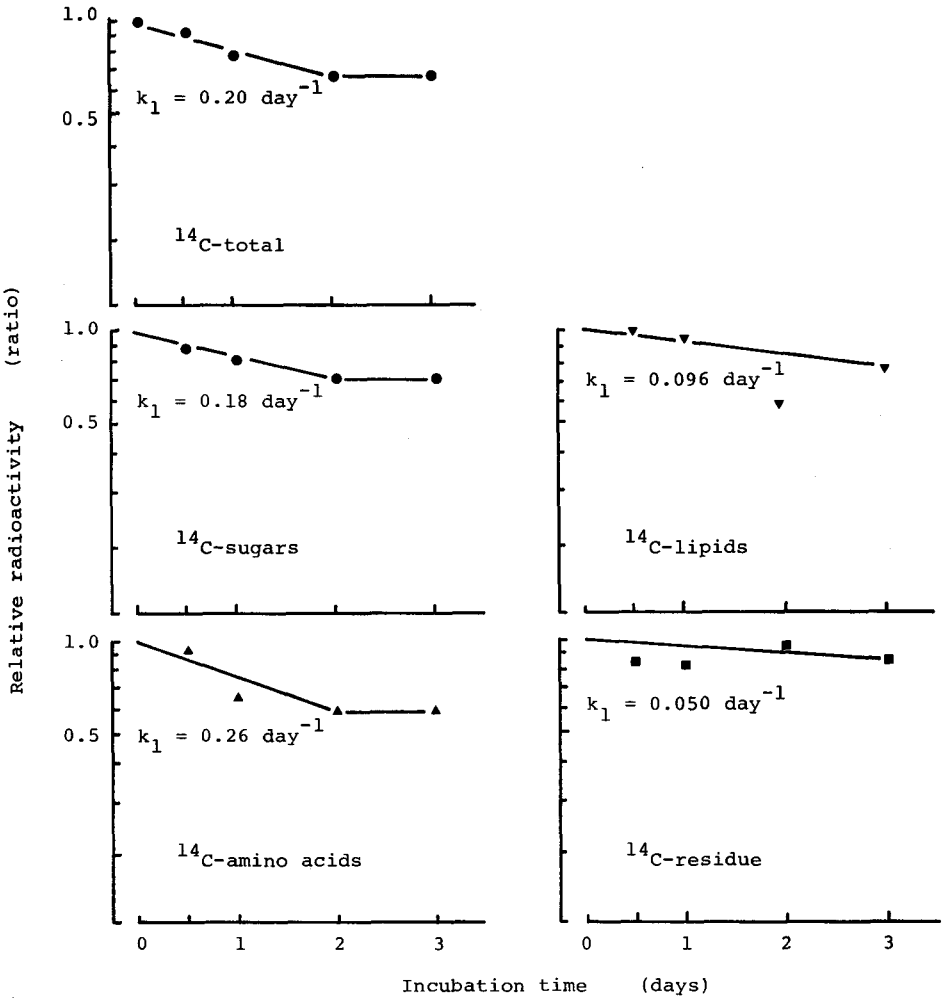

Fig. 12. Decomposition curves of major organic constituents in ^{14}C-POM under dark at 20°C using 20 m depth seawater collected at Stn. 30 in Funka Bay on Nov. 20, 1979.

したがって，POM の主要有機成分の中でもたん白系物質が，糖質その他の成分にくらべバクテリアによる分解を被りやすいことがわかる。

1979 年 11 月 20 日 Stn. 30 の水深 20 m および 60 m の海水を用いた実験においても同様の傾向が得られた (Fig. 12 および 13)。

考　　察

海水中の POM の分解による経時変化

分解に伴う POM の減少がみかけ上ほぼ 1 次反応式に従って 2 段階に起こる (Fig. 8, 11, 12, および 13) ことから，室内実験における POM (Total) のみかけ上の分解 (減少) 速度定数 (k_1) を求め

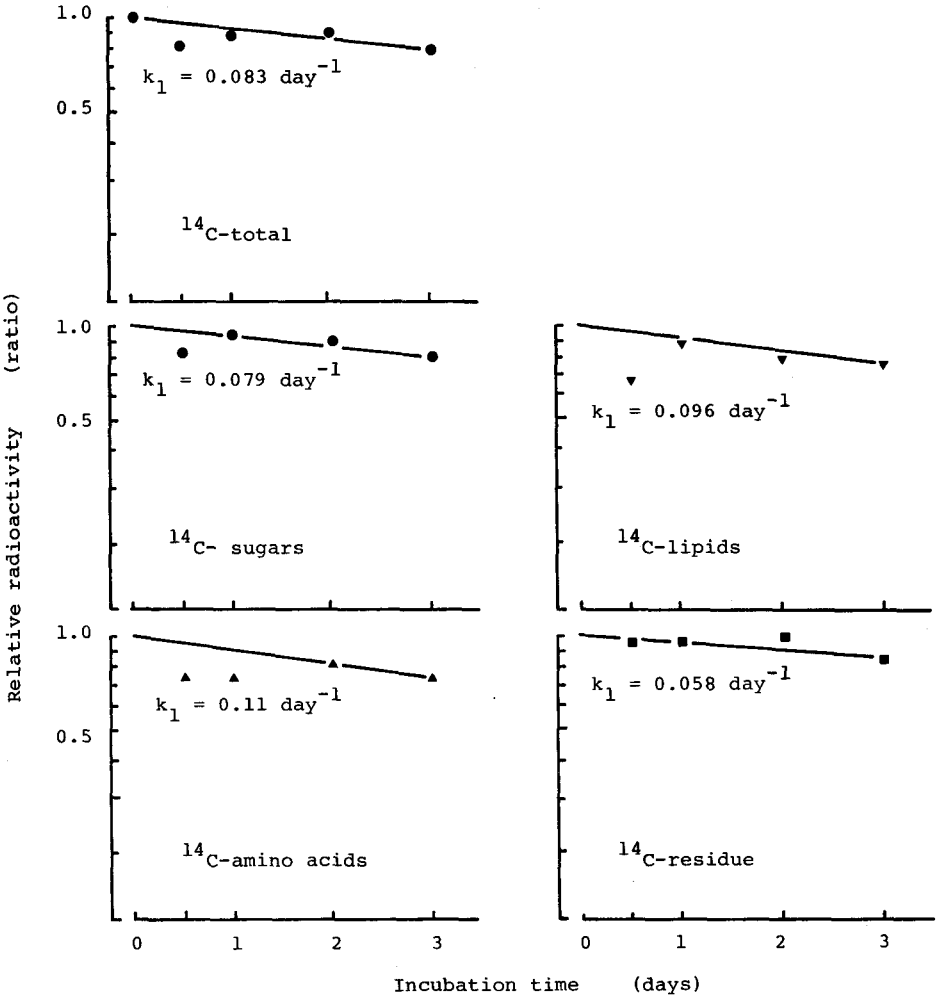

Fig. 13. Decomposition curves of major organic constituents in ^{14}C-POM under dark at 5°C using 60 m depth seawater collected at Stn. 30 in Funka Bay on Nov. 20, 1979.

ると，0.34 day^{-1}（12月 Stn. OS，表面水，20°C 培養），0.20 day^{-1}（11月 Stn. 30，水深 20 m，20 °C 培養），および 0.083 day^{-1}（11月 Stn. 30，水深 60 m，5°C 培養）である。また，k_2 は 0.063 day^{-1}（12月 Stn. OS，表面水，20°C 培養）が得られている。

粒状ではなく溶存態の例ではあるが，沿岸海域における有機物の2段階分解について，Ogura[36] は Whatman GF/C フィルターで濾過した東京湾表面水を 300 ml ガラスびんに入れ，20°C で暗所に保存し，溶存有機炭素がみかけ上2段階に分解することを報告している。そして，最初の画分（k_1=0.03 ～0.3 day^{-1}）を分解されやすい陸起源の DOM や赤潮生物などにより供給された有機物であろうとして，それ以降の画分（k_2=0.002～0.009 day^{-1}）と区別している。また，このようなびん実験では，壁効果や試水が静止状態におかれるなど現場と異なる条件になり，得られた分解速度を現場にそのま

ま適用することには問題があることを指摘しながらも[37]，k_1 の桁をもつ画分は外洋水では認められなかった[38]という。

本研究では，POM において $k_1=0.08\sim0.3\ day^{-1}$ および $k_2\approx0.06$ をもつ2段階分解をみいだした。植物プランクトンをはじめとする有機物の生成・分解の活発な沿岸域ではこの k_1 が重要な意味をもつものと思われる。が，ここでは培養温度を 20°C および 5°C に設定したときの典型的な分解過程をとらえるにとどめ，特に強い関連が予想される k_1 と現場水温との定量的な関係については別報で述べる。

夏期噴火湾水の POM 分解力の見積り

Iturriaga and Hoppe[13] は夏期西バルト海の表面水における ^{14}C-標識植物プランクトンの従属栄養生物による利用・分解について報告している。それによると彼らは，$NaH^{14}CO_3$ を添加して6時間培養した現場海水 50 ml 中に含まれる ^{14}C-POM を Whatman GF/C フィルター上に集め，現場海水 50 ml を入れた 300 ml フラスコ中で培養を行ない，生成した $^{14}CO_2$ を測定した結果，POM の無機化率は 6～20% (20時間後)，12～40% (40時間後)，および 24～45% (60時間後) であったが，長時間の培養の不利な影響を考慮して20時間後の 6～20% という値を典型値としている。

Fig. 6, 7, および9の $^{14}CO_2$ プロットが3日目までほぼ直線であることに基づき，Iturriaga と Hoppe の結果と比較するため Table 7 および8から20時間後にそろえて換算すると，夏期噴火湾の水深 20 m における ^{14}C-POM の無機化率は2 (9月)～11 (6月) % の範囲になる。これは西バルト海の典型値とほぼ同程度である。

本研究の直接的な方法によって得られた分解力 (無機化力) を Yanada and Maita[39] が現存量の変化から間接的に求めた分解速度と比較する。Table 7 の1日あたりの ^{14}C-POM の無機化率と，同季節，同ステーションの粒状有機炭素 (POC) の現場濃度[40]との積から POM の炭素についての1日あたりの無機化量を求め，Table 10 に示す。その結果，POM の1日あたりの無機化量は，生産層の代表としての水深 20 m において 3～27 mgC m^{-3} day^{-1} (平均15)，一方，分解層の代表としての水深 60 m では 0.3～0.8 mgC m^{-3} day^{-1} (平均0.5) である。

Table 10. *In situ* concentrations and mineralization rates of POM at Stn. 30 in Funka Bay.

Depth	*In situ* concentration of POM[a] (μg C l^{-1})				Mineralization rate of POM (mg C m^{-3} day^{-1})					
	Jun.	Jul.	Aug.	Sep.	Jun.	Jul.	Aug.	Sep.	Mean	Mean[a]
20 m	206[b]	237[b]	220[b]	144	27	9	20	3	15	8.7[d]
60 m	100[c]	140[c]	136[c]	172[c]	no data	0.8	0.4	0.3	0.5	0.6[e]

a: After Yanada and Maita (1978)
b: Mean values of 10 m and 30 m in depth
c: Mean values of 50 m and 70 m in depth
d: Value of 0–40 m in depth in Jun.-Sep., 1974
e: Value of 40–70 m in depth in Jun. -Sep., 1974

これらの値は，Yanada and Maita[39] が6月から9月にかけて得ている値，すなわち 0-40 m 層で 3.3～12.0 mgC m^{-3} day^{-1} (平均8.7)，および，40-70 m 層での 0.1～1.6 mgC m^{-3} day^{-1} (平均0.6) と近似している。

POM の主要有機成分の被分解性

Yanada and Maita[39] は噴火湾水が比較的停滞する3月から9月までの162日間に，本研究と同一ステーションの水柱において POC, PON, および POP の現存量の変化からそれぞれの分解量を見積っている。そして，POC, PON, および POP の分解量は3月の時点における基礎生産量および現存量の和に対してそれぞれ 60%, 71%, および 78% に相当することをみいだしている。このことは，それぞれの元素量に密接に影響を与えている有機成分として順に脂質系および糖系物質，たん白系物質，および核酸系物質が考えられることから，これらの成分の順に安定な傾向をもつことを意味している。海洋における POM の分解について，同様の傾向はいくつか報告されている[40,41]。

本研究においても海水中の POM の直接的な分解過程の測定により，たん白様化合物の分解が糖質および脂質などの分解にくらべ相対的にはやいことを裏づける結果が得られた。珪藻を起源とする POM が海水中で分解を被るはやさの順は，たん白質，糖質，そして脂質である。

この研究ではあらかじめ大型動物プランクトン (>330 μm) を除去し，その捕食効果は考慮していない。二次栄養段階以降の生物群集をも考慮に入れた検討については今後の研究課題であると考える。

摘　　要

1979年6～12月の噴火湾（水深 94 m）の海水（表面，20 m，および 60 m）をうしお丸を用いて採取し，現場垂下および室内実験により ^{14}C-標識珪藻体 (^{14}C-POM) の分解過程について研究した。

(1) POM はほぼ1次反応式に従って減少し，室内実験では分解速度定数はみかけ上 0.08～0.3 day^{-1} から 0.06 day^{-1} へと2段階に変化した。

(2) 6～9月の現場垂下において $^{14}CO_2$ の生成から見積られた POM の無機化率は POM の減少率を下まわっていた。このことは POM の分解中に中間産物として DOM が生成していることを示唆している。水深 20 m における1日あたりの無機化率は 2～13% (平均 7) であり，水深 60 m では 0.2～0.6% (平均 0.4) であった。

(3) 得られた無機化率と現場の POC 濃度との積から POM の1日あたりの無機化量を求めると，水深 20 m では 3～27 $mgC\ m^{-3}\ day^{-1}$ (平均 15)，および水深 60 m では 0.3～0.8 $mgC\ m^{-3}\ day^{-1}$ (平均 0.5) であり，以前に POC 現存量の変化から求められていたその分解量と近似していた。

(4) POM の主要有機成分の組成は海水中で分解を被る過程で変化した。すなわち，たん白質，糖質，そして脂質の順で分解されやすかった。

謝　　辞

本研究の遂行にあたり，適切かつ有益な助言をいただいた松永勝彦博士，築田満博士ならびに門谷茂博士に謝意を表します。また，野外実験に際し，御援助いただいた戸屋健治技官ならびにうしお丸乗組員一同に深く感謝します。

文　　献

1) Cauwet, G. (1981). Non-living particulate matter. p. 71–89. In Duursma, E.K. and Dawson, R. (eds.), *Marine Organic Chemistry*. 521 p. Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam.

2) Hobson, L.A. and Menzel, D.W. (1969). The distribution and chemical composition of organic particulate matter in the sea and sediments off the east coast of South America. *Limnol. Oceanogr.*, **14**, 159–163.

3) Jacobs, M.B. and Ewing, M. (1969). Suspended particulate matter: concentration in the major oceans. *Science*, **163**, 380–383.

4) Menzel, D.W. and Ryther, J.H. (1970). Distribution and cycling of organic matter in the oceans. p. 31–54. In Hood, D.W. (ed.), *Organic Matter in Natural Waters.* 625p. Institute of Marine Science, Occasional Publication, No. 1., Alaska.
5) Copin-Montegut, C. and Copin-Montegut, G. (1973). Comparison between two processes of determination of particulate organic carbon in sea water. *Mar. Chem.*, **1**, 151–156.
6) Duursma, E.K. (1981). Introduction. p. 1–6. In Duursma, E.K. and Dawson, R. (eds.), *Marine Organic Chemistry.* 521 p. Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam.
7) Sorokin, Yu. I. (1978). Decomposition of organic matter and nutrient regeneration. p. 501–616. In Kinne, O. (ed.). *Marine Ecology.* Vol. IV. 746 p. John Wiley & Sons, Chichester.
8) Skopintsev, B.A. (1981). Decomposition of organic matter of plankton, humification and hydrolysis. p. 125–177. In Duursma, E.K. and Dawson, R. (eds.), *Marine Organic Chemistry.* 521 p. Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam.
9) Takahashi, M. and Ichimura, S. (1971). Glucose uptake in ocean profiles with special reference to temperature. *Mar. Biol.*, **11**, 206–213.
10) Hobbie, J.E., Holm-Hansen, O., Packard, T.T., Pomeroy, L.R., Sheldon, R.W., Thomas, J.P. and Wiebe, W.J. (1972). A study of the distribution and activity of microorganisms in ocean water. *Limnol. Oceanogr.*, **17**, 544–555.
11) Seki, H., Nakai, T. and Otobe, H. (1972). Regional differences on turnover rate of dissolved materials in the Pacific Ocean at summer of 1971. *Arch. Hydrobiol.*, **71**, 79–89.
12) Maita, Y., Yanada, M. and Rikuta, A. (1974). Rates of net assimilation and respiration of amino acids by marine bacteria. *J. Oceanog. Soc. Japan*, **30**, 1–9.
13) Iturriaga, R. and Hoppe, H.G. (1977). Observations of heterotrophic activity on photoassimilated organic matter. *Mar. Biol.*, **40**, 101–108.
14) Harrison, W.G. (1978). Experimental measurements of nitrogen remineralization in coastal waters. *Limnol. Oceanogr.*, **23**, 684–694.
15) Conway, H.L. and Whitledge, E. (1979). Distribution, fluxes and biological utilization of inorganic nitrogen during a spring bloom in the New York Bight. *J. Mar. Res.*, **37**, 657–668.
16) Iturriaga, R. (1979). Bacterial activity related to sedimenting particulate matter. *Mar. Biol.*, **55**, 157–169.
17) Copping, A.E. and Lorenzen, C.J. (1980). Carbon budget of a marine phytoplankton-herbivore system with carbon-14 as a tracer. *Limnol. Oceanogr.*, **25**, 873–882.
18) Bell, W.H. (1980). Bacterial utilization of algal extracellular products. 1. The kinetic approach. *Limnol. Oceanogr.*, **25**, 1007–1020.
19) Bell, W.H. and Sakshang, E. (1980). Bacterial utilization of algal extracellular products. 2. A kinetic study of natural populations. *Limnol. Oceanogr.*, **25**, 1021–1033.
20) 角皆静男 (1978). 沿岸域における物質収支—噴火湾を実験水域として— p. 169–190. 日本地球化学会編, 水汚染の機構と解析. 292 p. 産業図書, 東京.
21) 大谷清隆 (1981). 日本沿岸海洋誌, その 22: 噴火湾 (I). 噴火湾の物理環境. 沿岸海洋研究ノート, **19**, 68–80.
22) 米田義昭 (1982). 日本沿岸海洋誌, その 22: 噴火湾 (II). 噴火湾の化学環境. 沿岸海洋研究ノート, **19**, 183–192.
23) 角皆静男 (1983). 化学的手法による沿岸域の研究. 沿岸海洋研究ノート, **20**, 118–124.
24) 築田 満・米田義昭 (1976). 噴火湾における粒状有機物質の鉛直分布と周年変化. 北大水産彙報, **27**, 152–159.
25) 石河寛昭 (1979). 液体シンチレーターの組成と特性. *Dojin News*, No. 12. 1–7.
26) 岩崎 順 (1978). 噴火湾における植物プランクトン群集の季節変化とその要因について. 北海道大学大学院水産学研究科 修士論文, 58 p.

27) Bligh, E.G. and Dyer, W.J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Phys.*, **37**, 911–917.
28) Jeffries, H.P. (1969). Seasonal composition of temperatre plankton communities: free amino acids. *Limnol. Oceanogr.*, **14**, 41–52.
29) Starikova, N.D. and Korzhikova, L.I. (1973). Determination of bound amino acids and bound sugars in seawater and bottom sediments. *Oceanology*, **12**, 920–924.
30) Parsons, T.R., Stephens, K. and Strickland, J.D.H. (1961). On the chemical composition of eleven species of marine phytoplankters. *J. Fish. Res. Bd. Canada*, **18**, 1001–1016.
31) ZoBell, C.E. and Grant, C.W. (1943). Bacterial utilization of low concentration of organic matter. *J. Bacteriol.*, **45**, 555–564.
32) 絵面良男・山本啓之・吉水　守・田島研一・木村喬久 (1980). 大槌湾サケ・マス海面養殖海域の微生物学的調査. 東京大学海洋研究所　大槌臨海研究センター報告, 第6号, p. 51–62.
33) 山本啓之 (1983). 海水中における微生物群集の相互作用の研究. 北海道大学大学院　水産学研究科　博士論文, 195 p.
34) 巌佐耕三 (1976). 珪藻の生物学. 東京大学出版会. 東京. 136 p.
35) Parsons, T.R. and Strickland, J.D.R. (1962). Organic detritus. *Science*, **136**, 313–314.
36) Ogura, N. (1975). Further studies on decmposition of dissolved organic matter in coastal seawater. *Mar. Biol.*, **31**, 101–111.
37) 小倉紀雄 (1978). 内湾の有機物とその分解. 海洋科学, **10**, 807–812.
38) Ogura, N. (1972). Rate and extent of decomposition of dissolved organic matter in surface seawater. *Mar. Biol.*, **13**, 89–93.
39) Yanada, M. and Maita, Y. (1978). Production and decomposition of particulate organic matter in Funka Bay, Japan. *Estuar. Coast. Mar. Sci.*, **6**, 523–533.
40) Handa, N. and Tominaga, H. (1969). A detailed analysis of carbohydrates in marine particulate matter. *Mar. Biol.*, **2**, 228–235.
41) Maita, Y. and Yanada, M. (1978). Particulate protein in coastal waters, with special reference to seasonal variation. *Mar. Biol.*, **44**, 329–336.