



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	北海道東部厚岸湖および厚岸湾における微生物食物網を構成する 微生物群の春季から初夏の変動
Author(s)	大西, 由花; 山口, 篤; 今井, 一郎
Citation	北海道大学水産科学研究彙報, 64(2), 45-54
Issue Date	2014-07-31
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/56737
Type	departmental bulletin paper
File Information	45-54.pdf



北海道東部厚岸湖および厚岸湾における微生物食物網を構成する 微生物群の春季から初夏の変動

大西 由花¹⁾・山口 篤¹⁾・今井 一郎¹⁾

(2014 年 4 月 11 日受付, 2014 年 5 月 22 日受理)

Temporal fluctuations of constituent microorganisms of the microbial food webs from spring to early summer at Akkeshi-ko Estuary and Akkeshi Bay, Eastern Hokkaido, Japan

Yuka ONISHI, Atsushi YAMAGUCHI and Ichiro IMAI

Abstract

Temporal fluctuations of bacteria, heterotrophic nanoflagellates (HNF), autotrophic nanoflagellates (ANF) and ciliates were investigated from spring to early summer at the stations in Akkeshi-ko Estuary with large scale seagrass bed of *Zostera marina* and Akkeshi Bay, Eastern Hokkaido, Japan. The ranges of bacterial density were 5.4×10^5 – 3.0×10^6 cells mL⁻¹ in Akkeshi-ko Estuary (Stn. 1) and 2.3×10^5 – 1.9×10^6 cells mL⁻¹ in Akkeshi Bay (Stns. 2, 3). The ranges of HNF were 3.1×10^2 – 3.3×10^3 cells mL⁻¹ in the estuary and 2.2×10^1 – 1.1×10^3 cells mL⁻¹ in the bay. The densities of ANF were 1.8×10^2 – 5.0×10^4 cells mL⁻¹ (Stn. 1) and 2.2×10^1 – 3.6×10^4 cells mL⁻¹ (Stns. 2, 3). The densities of microorganisms were higher in the coastal area than off-shore. In contrast, ciliate densities were <80 – 9.8×10^3 inds. L⁻¹ in the estuary and <80 – 1.1×10^4 inds. L⁻¹ in the bay. Significant correlations were found between HNF and ANF, temperature and them, suggesting that major parts of ANF were mixotrophs of bacterial grazers like HNF.

Key words : Microbial loop, Seagrass bed, *Zostera marina*, Bacteria, Heterotrophic nanoflagellates, Autotrophic nanoflagellates, Ciliates

緒 言

Fenchel (1982a, b, c) によって沿岸海水中に從属栄養性微小鞭毛虫が多数生息し, 細菌捕食者として重要な役割を果たしていることが指摘された。その後, Azam et al. (1983) はマイクロバイアルループという概念を提唱し, 近年は広く周知されている。しかし, マイクロバイアルループの主要な構成員である細菌や細菌を捕食するナノ鞭毛虫, 原生動物群の定量的研究はまだ知見が少ないのが現状である。特に, 日本では温帯域を中心に調査が実施される傾向にあり, 北海道では定量的データがほとんど得られていない。

アマモ場は, 稚仔魚の加入および生育の場 (海のゆりかご), 多くの海洋生物の餌生物の供給場, 避難場 (捕食者からのシェルター) としての機能を持つ (Williams and Heck, 2001)。さらに, アマモ葉体表面に形成されるバイオフィーム中には, 細菌だけでなく, 多種の羽状目珪藻が膨大な密度で付着生息するという独特な微小生態系が育まれている。

本研究は, 北海道東部に位置し, 我が国でも最大級の

アマモ場を有する厚岸湖および厚岸湾をフィールドに, マイクロバイアルループを構成する生物である細菌, 從属栄養性ナノ鞭毛虫, 独立栄養性ナノ鞭毛藻, ならびに繊毛虫について, その密度を定量的に把握することにより, 北海道のアマモ場における低次生物生産過程の中で, ほとんど知見のないマイクロバイアルループの構成生物に関する基礎的知見を得ることを目的とした。

材 料 と 方 法

2-1. 試料の採集

試料の採集は, 2011 年 4 月 21 日から 6 月 29 日にかけて, 北海道厚岸郡厚岸町に位置する厚岸湖および厚岸湾にて, 週に 1 回実施した (Table 1)。

採集地点は, 厚岸湖の湖内中央部 (Stn. 1, 43°02.74'N, 144°53.29'E), 厚岸湾北部 (Stn. 2, 43°02.54'N, 144°49.69'E) および南部 (Stn. 3, 42°57.86'N, 144°51.05'E) に 1 地点ずつ設けた (Fig. 1)。厚岸湖内にはアマモ (*Zostera marina*) が潮間帯のほぼ全域に繁茂しており, その面積は約 12 km² にも及ぶ (向井, 2005)。また, 本湖北西部には第一級河川に認定

¹⁾ 北海道大学大学院水産科学院海洋生物資源科学専攻浮遊生物学領域 (E-mail: imai1ro@fish.hokudai.ac.jp)
(Plankton Laboratory, Graduate School of Fisheries Sciences, Hokkaido University)

Table 1. Sampling date and time and the time at the low tide in Akkeshi-ko Estuary, Eastern Hokkaido, Japan.

Date	Sampling time			Time of Low tide
	St. 1	St. 2	St. 3	
Apr. 21	9:28	9:46	10:24	9:03
Apr. 27	15:22	14:48	14:13	12:53
May 6	9:43	10:24	11:26	9:12
May 12	9:13	9:32	10:09	13:03
May 18	11:17	10:39	9:58	7:26
May 25	11:23	10:50	10:13	11:50
Jun. 2	11:03	10:25	9:47	7:35
Jun. 8	11:01	9:55	10:29	11:23
Jun. 15	12:05	12:20	10:00	6:08
Jun. 23	7:08	6:51	6:22	11:32
Jun. 29	10:07	10:28	11:53	5:15

されている別寒辺牛川が流入している。Stn. 2 および Stn. 3 の水深は、それぞれ約 6 m および約 23 m であり、それぞれの観測点周辺ではアマモなどの海草および海藻類は繁茂していなかった。また、観測点付近に流入する河川も無かった。

全定点でCTDを用いた水温および塩分の測定を行った。全定点で表面海水、Stn. 2 では水深 5 m で、Stn. 3 では水深 10 m と 20 m 層からバンドン採水器を用いて採水を行った。また、第一管区海上保安本部海洋情報部の HP にて厚岸湖の干潮時刻を確認し、水理環境を考察する際の材料にした。

2-2. 海水試料の固定

毎回の調査で各定点の各深度から得た未処理の海水試料は、遠沈管 (15 mL) に入れ、終濃度 1% になるよう 25% グルタルアルデヒドで固定した。これらの試料は、後に DAPI 染色により総細菌数、FITC-DAPI 二重染色により HNF (Heterotrophic nanoflagellates, 従属栄養性微小鞭毛虫) および ANF (Autotrophic nanoflagellates, 独立栄養性微小鞭毛藻) を、落射型蛍光顕微鏡を用いて計数するために、温度 4°C の冷暗所で保存した。

2-3. 細菌の直接計数

グルタルアルデヒドで固定し冷暗所で保存した海水試料を直接計数した。試料を DAPI (4', 6-diamidino-2-phenylindole, 終濃度 1.0 $\mu\text{g mL}^{-1}$) により 5 分間染色し、ヌクレポアフィルター (孔径 0.2 μm , 50% エタノール溶媒の 0.2% Sudan Black B 溶液中で一晩染色し、濾過蒸留水でよく洗浄した後に使用) を用いて吸引濾過して捕集した後に、無蛍光イマージョンオイルを用いてカバーガラスで封入し、細菌計数用のプレパラートを作成した (Zimmermann et al., 1978; Imai, 1987)。これを、落射型蛍光顕微鏡を用い、UV 励起光下で細菌数を計数した (Porter and Feig, 1980; Imai, 1987)。計数は全ての試料で 10 視野以上を計

数し、海水試料中の細菌数を算出した (cells mL^{-1})。

2-4. HNF および ANF の計数

グルタルアルデヒドで固定し、遠沈管 (15 mL) に入れて冷暗所で保存した海水試料について、FITC-DAPI 二重染色を施して計数を行った (今井・深見, 2000)。固定試料 10 mL に DAPI (終濃度 0.2 $\mu\text{g mL}^{-1}$) と FITC (Fluorescein isothiocyanate, 終濃度 2.0 $\mu\text{g mL}^{-1}$) を添加し、5 分間染色した。その後、2-3 と同様に Sudan Black B で染色した孔径 1.0 μm のヌクレポアフィルターを用いて吸引濾過し、プレパラートを作成した。落射型蛍光顕微鏡を用い、青色励起光下および UV 励起光下で計数した。その際、青色励起光下で細胞質が緑色の蛍光を発するものを HNF、青色励起光下で赤色の自家蛍光を発する葉緑体を持つものを ANF として計数した。また UV 励起光により、DAPI 染色で核が青色に発することを確認し、非生物粒子と HNF を区別した。これらの計数は 30 視野以上行い、1 視野あたりの平均値と濾過量から、海水 1 mL あたりのこれらの生物の細胞数を求めた。

2-5. 纖毛虫試料の固定および計数

纖毛虫を計数するために、採水直後の海水試料 500 mL を終濃度 1% になるようグルタルアルデヒドで固定した。そして静置沈殿法により濃縮 (25 倍) し、計数に用いた。この濃縮試料のうち 0.2-0.5 mL を界線入りスライドグラスにとり、倒立型落射顕微鏡下 (200-600 倍) で計数を行った。

結 果

3-1. 水理環境—水温および塩分

調査期間中の水温および塩分の変動を Fig. 2 に示した。まず厚岸湖中央部に設けた Stn. 1 の水温は、本調査の初回である 4 月 21 日の 3.89°C が最も低く、6 月 23 日の 15.65°C が最も高かった (Fig. 2a)。調査最終日の 6 月 29 日まで、全体的に緩やかに上昇していた。塩分を見ると、調査初日に 29.79 psu という比較的高い値をとったが、その翌週には観測期間中の最低値である 23.02 psu を記録した (Fig. 2b)。期間中の最高値は 6 月 8 日の 30.02 psu であった。4 月 21 日の初回を除いて、水温と同様に塩分も、観測期間を通じて少しずつ上昇していた。

厚岸湾北部に設けた Stn. 2 について、まず水温をみると、海表面 (0 m) と水深 5 m 層との差が小さかったのは 4 月 21 日 (0.23°C) および 5 月 25 日 (0.55°C) で、他の観測日では 2.70-8.61°C の差があり、成層が見られた (Fig. 2c)。塩分ではその傾向がより顕著に表れており、4 月 21 日 (0.25 psu) および 5 月 25 日 (0.28 psu) 以外は、1.38 psu (6 月 8 日)-8.43 psu (4 月 27 日) の差があった (Fig. 2d)。従って、水温と塩分の両方の要因による成層が認められた。

ここで、調査実施時刻と厚岸湖の干潮時刻を見比べる

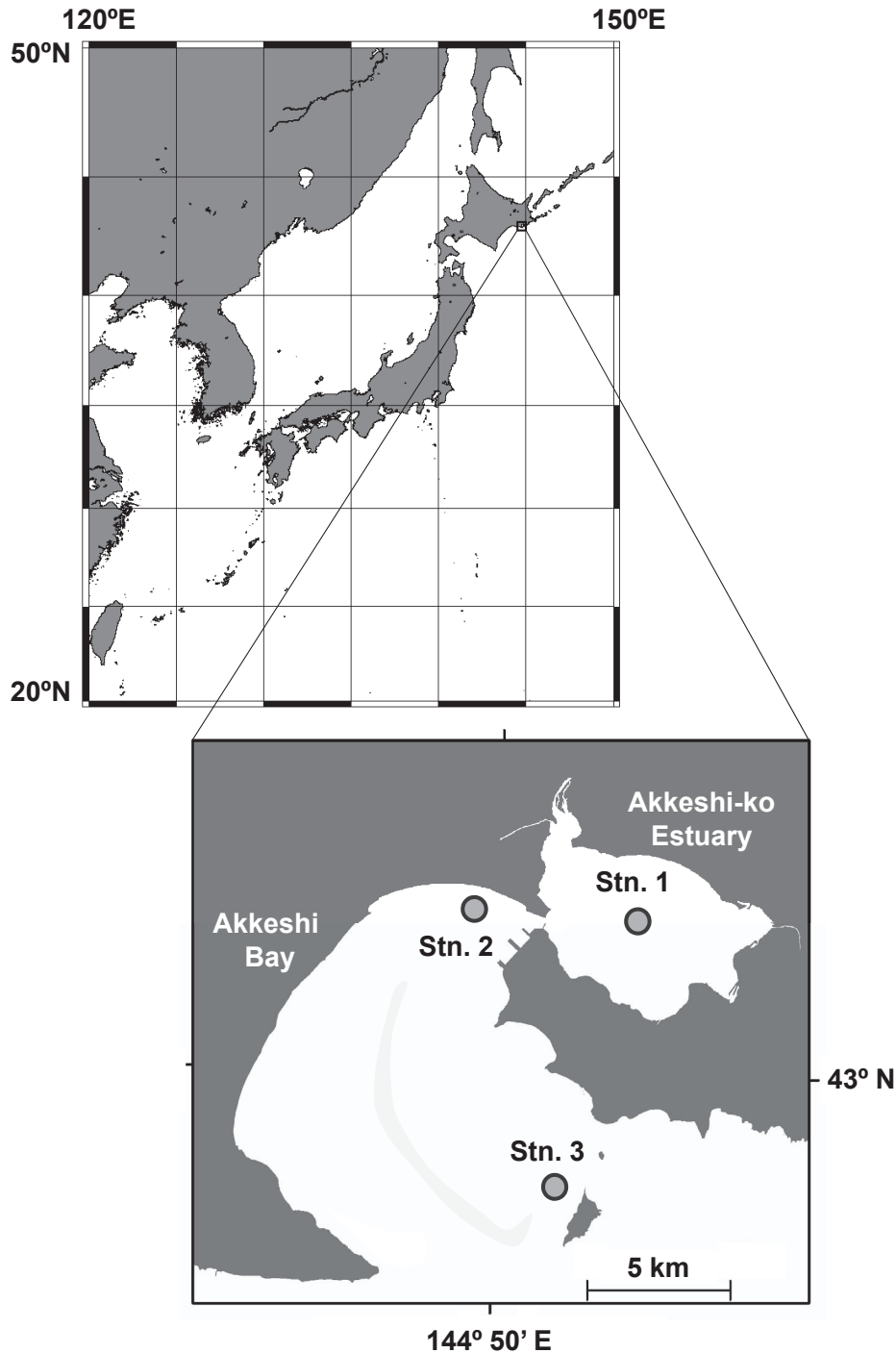


Fig. 1. Location of the sampling stations in Akkeshi-ko Estuary and Akkeshi Bay.

と、ほとんどの観測日で干潮の時刻から大きく外れた時間に採集を行っていたことが分かった。しかし、4月21日および5月25日は、最干潮の前後1時間以内に Stn. 2 での観測を行っていたことが分かった (Table 1)。

最後に、沖合の定点 Stn. 3 についてみると、水温は4月21日のみ海表面と底層 (20 m) でほとんど差がみられなかった (上下差 0.85°C, Fig. 2e)。しかし、その他の観測日で上下差は 2.38 (5月6日)–7.12°C (6月29日) と、Stn. 2

と同様に海表面と底層で差があり、成層化していることが分かった。塩分は、5月6日および5月12日で 0 m と 20 m 層に差がみられた (1.38 psu および 2.00 psu) が、それ以外の調査日では 0.21–1.18 psu の間に収まっており、Stn. 2 ほどの差は認められなかった (Fig. 2f)。

3-2. 海水中の細菌数

直接計数法で計数した、各定点および各深度の細菌数

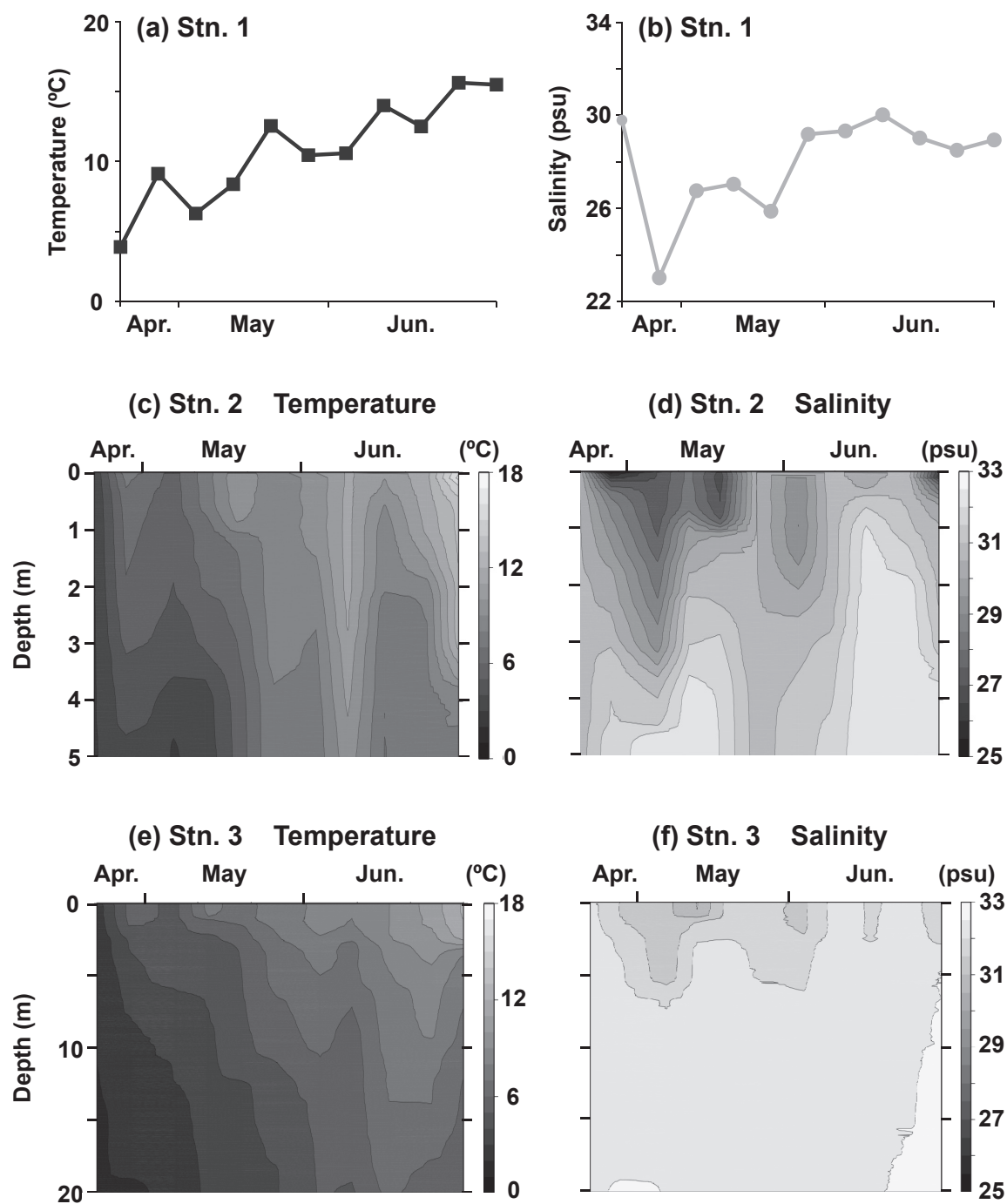


Fig. 2. Temporal changes of temperature (a, c, e) and salinity (b, d, f) monitored at three stations.

を Fig. 3 に示した。まず Stn. 1 の細菌数は、 5.4×10^5 – 3.0×10^6 cells mL^{-1} の範囲であった (Fig. 3a)。6 月 2 日に最低値をとり、その翌週 6 月 8 日に最高値を記録したが、大部分が 10^5 cells mL^{-1} の後半から 10^6 cells mL^{-1} の前半に収まっており、期間中に目立った変動はみられず、比較的安定していた。

次に、Stn. 2 の結果を Fig. 3b に示す。細菌数は、0 m 層では 3.9×10^5 – 1.9×10^6 cells mL^{-1} 、5 m 層では 2.4×10^5 – 6.7×10^5 cells mL^{-1} の範囲であった (Fig. 3b)。 10^6 cells mL^{-1} を超え

たのは最高密度を記録した 5 月 18 日の 0 m 層のみであり、それ以外では 10^5 cells mL^{-1} のオーダーの密度であった。

Stn. 3 の結果を Fig. 3c に示す。細菌数についてみると全体に、 2.3×10^5 – 1.3×10^6 cells mL^{-1} という範囲で、Stn. 2 と同様にほとんどの水深で 10^5 cells mL^{-1} のオーダーの密度であった。

3-3. HNF の出現密度

各地点・各深度の、従属栄養性鞭毛虫 (HNF) の密度の

経時的な変動を Fig. 4 に示した。

まずアマモ場の Stn. 1 では、調査期間を通じて HNF は 3.1×10^2 – 3.3×10^3 cells mL⁻¹ の範囲で出現していた (Fig. 4a)。HNF の密度が 10^2 のオーダーだったのは 2 度だけであり、5 月 12 日以降は常に 10^3 のオーダーの密度を維持していた。初日に最低値をとったが、その後徐々に増加し、6 月 15 日に最高値をとるという傾向がみられた。

次に、Stn. 2 の 0 m 層では、 4.5×10^2 – 1.7×10^3 cells mL⁻¹ の間で変動していた (Fig. 4b)。調査期間に密度が 10^3 のオーダーを超えたのは 4 回だけであり、あと 7 回は全て 10^2 のオーダーの値であった。最高値を 5 月 6 日にとった以外は、全期間を通じて特定の傾向はみられなかった。

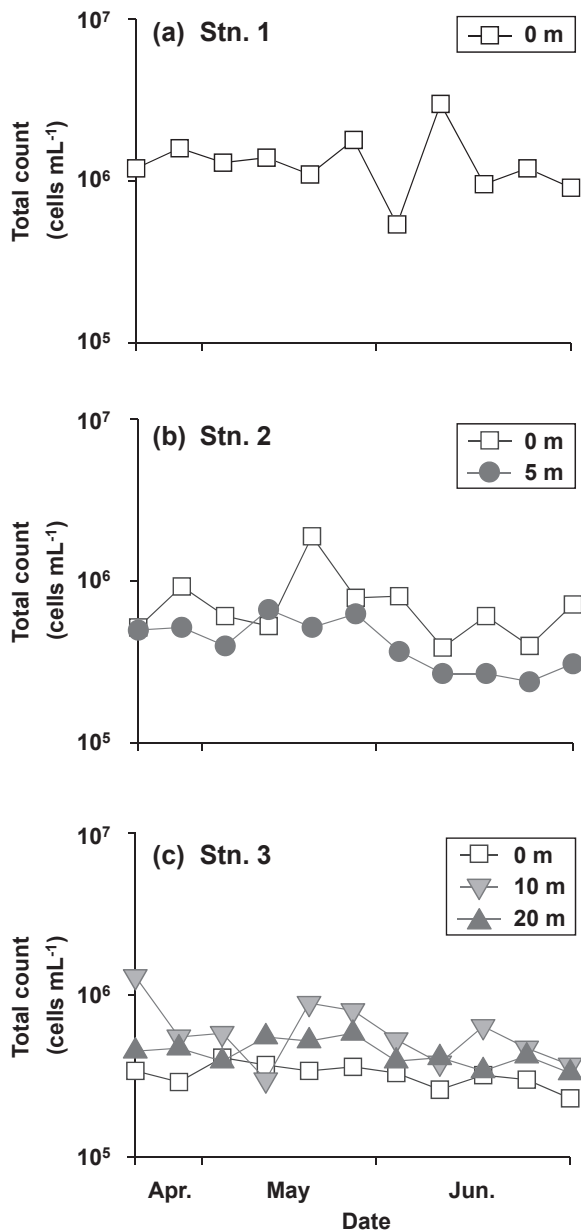


Fig. 3. Changes in total bacterial numbers in seawater collected at Stn. 1 (surface), Stn. 2 (0 m and 5 m) and Stn. 3 (0 m, 10 m, and 20 m) from April to June of 2011.

Stn. 2 の 5 m 層での密度の変動幅は、 3.4×10^2 – 1.6×10^3 cells mL⁻¹ であった。全 11 回の調査の中で HNF の密度が 10^3 を超えたのは 3 度だけ (4 月 21 日、5 月 12 日、6 月 15 日) であった。

沖合の定点 Stn. 3 の 0 m 層では、 9.6×10^1 – 1.1×10^3 cells mL⁻¹、同定点 10 m 層では 2.2×10^1 – 4.8×10^2 cells mL⁻¹ であり、全体的に密度が低かった。20 m 層では、 4.5×10^1 – 5.3×10^2 cells mL⁻¹ であった (Fig. 4c)。

3-4. ANF の出現密度

各地点・各深度の、独立栄養性鞭毛虫 (ANF) の細胞密度の経時的な変化を Fig. 5 に示した。

Stn. 1 では、ANF は 1.8×10^2 – 5.0×10^4 cells mL⁻¹ という広範囲で出現していた (Fig. 5a)。4 月の調査初日に最低値をとったが、5 月 18 日以降は急激に増加し、6 月 8 日に最大値を示した。その後減少した。

Stn. 2 の 0 m 層では、 7.4×10^1 – 3.6×10^4 cells mL⁻¹ の間で変動していた (Fig. 5b)。この定点でも、5 月 18 日以降に増加し、6 月 8 日に最も高い密度を示した。Stn. 2 の 5 m 層における密度は 4.5×10^1 – 9.1×10^3 cells mL⁻¹ で、5 月 12 日から 6 月 2 日にかけて増加した。密度は Stn. 1 よりも低かったが、変動は Stn. 1 および同定点 0 m 層と類似していた。

Stn. 3 の 0 m 層では、 3.1×10^1 – 1.2×10^3 cells mL⁻¹、調査初日から 6 月 15 日にかけて緩やかに増加しており、変動は比較的小さかった (Fig. 5c)。同定点 10 m 層は、 2.2×10^1 – 4.9×10^2 cells mL⁻¹ で、他の定点・水深と変動が一致していなかった。同定点 20 m 層では、 3.9×10^1 – 1.2×10^3 cells mL⁻¹、6 月 8 日にピークをとった点では他の定点および深度と共通していた。

3-5. 繊毛虫の出現密度

各地点・各深度の、繊毛虫を計数した密度を、Fig. 6 に示した。

Stn. 1 では、 $<8.0 \times 10$ – 9.8×10^3 inds. L⁻¹ の範囲で出現した (Fig. 6a)。調査期間の初めは密度が高かったが、徐々に減少し、その後も目立って増えることはなかった。

Stn. 2 の 0 m 層では、 $<8.0 \times 10$ – 9.6×10^3 inds. L⁻¹ という、Stn. 1 と変わらない範囲を示した (Fig. 6b)。大きなピークを 2 度とったが、全体的に値は低かった。同定点 5 m 層での密度は 1.0 – 4.8×10^3 inds. L⁻¹ で、比較的安定していた。

Stn. 3 の 0 m 層は、 4.0×10^2 – 1.1×10^4 inds. L⁻¹、同定点 10 m 層は、 4.0×10^2 – 9.2×10^3 inds. L⁻¹、20 m 層では 8.0×10^2 – 3.4×10^3 inds. L⁻¹ で、海表面は変動が大きかったが、深くなるにつれて変動は小さくなった (Fig. 6c)。

3-6. 細菌数、HNF、ANF および繊毛虫の環境要因との関係

Stn. 1、Stn. 2 および Stn. 3 の各層それぞれで得た、細菌、HNF、ANF および繊毛虫の全データと、水温および塩分の環境パラメーターとの相関関係を調べた (Table 2)。これ

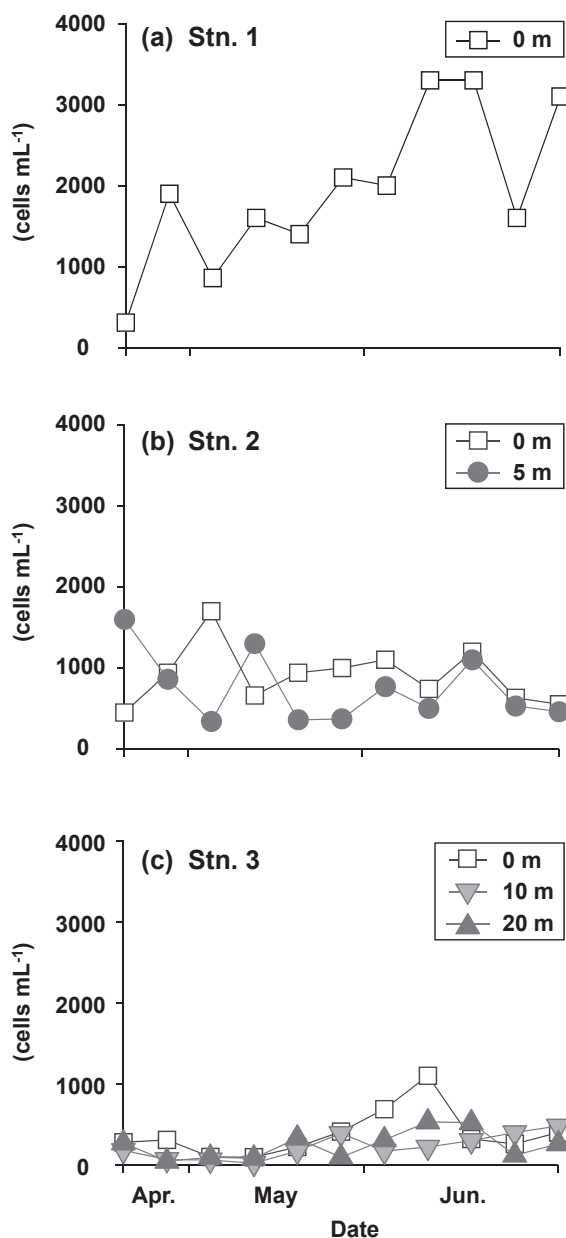


Fig. 4. Temporal changes of heterotrophic nanoflagellates (HNF) at three stations.

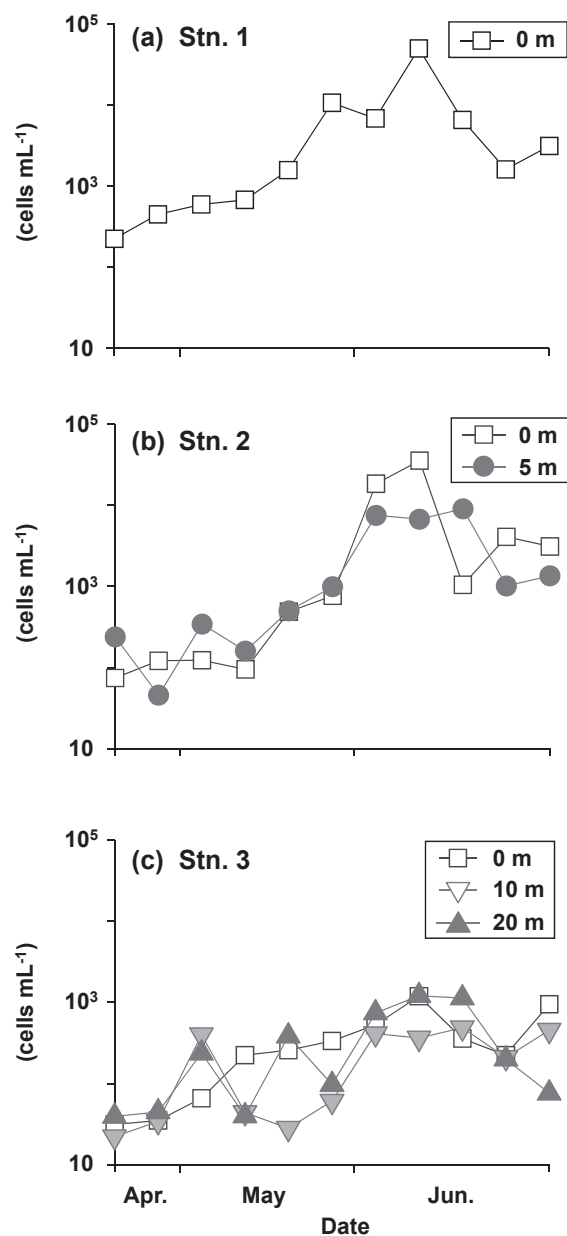


Fig. 5. Temporal changes of autotrophic nanoflagellates (ANF) at three stations.

をみると、HNF および ANF 間、水温と HNF および ANF 間に、強い相関があったことが分かった。また、塩分においては、細菌、HNF および水温と負の相関があったことが検出された。

考 察

4-1. 水理環境

厚岸湖は最大水深 9 m の海跡湖である (飯泉・鈴木, 2002)。そして第一級河川の別寒辺牛川が流入している。厚岸湖には数本の河川が流れ込んでいる (大別川, 尾幌川など) が、別寒辺牛川は全河川の流量の 98.8% を占めてい

る (向井ら, 2002)。その流域面積は 447 km², うち農地が約 2 割を占め、残りの 8 割は森林及び湿原から構成されている。終点である厚岸湖に注ぐ流量は膨大で、定常時の流量は約 1,000 万 ton/week であるが、融雪期には約 2,000 万 ton/week にまで増加するという。

まず、調査期間の各定点の水温および塩分の結果をみると、厚岸湖内の水温の変動は、4 月 21 日が最も低く (3.89°C), 6 月 23 日に最も高い値をとり (15.65°C), 調査期間を通じて全体的に緩やかに上昇していたのは、気温の上昇によるものである。対して、塩分が 4 月 21 日に 29.79 psu, その翌週には観測期間中の最低値 (23.02 psu) を記録し、その後少しずつ上昇したことについては、別寒

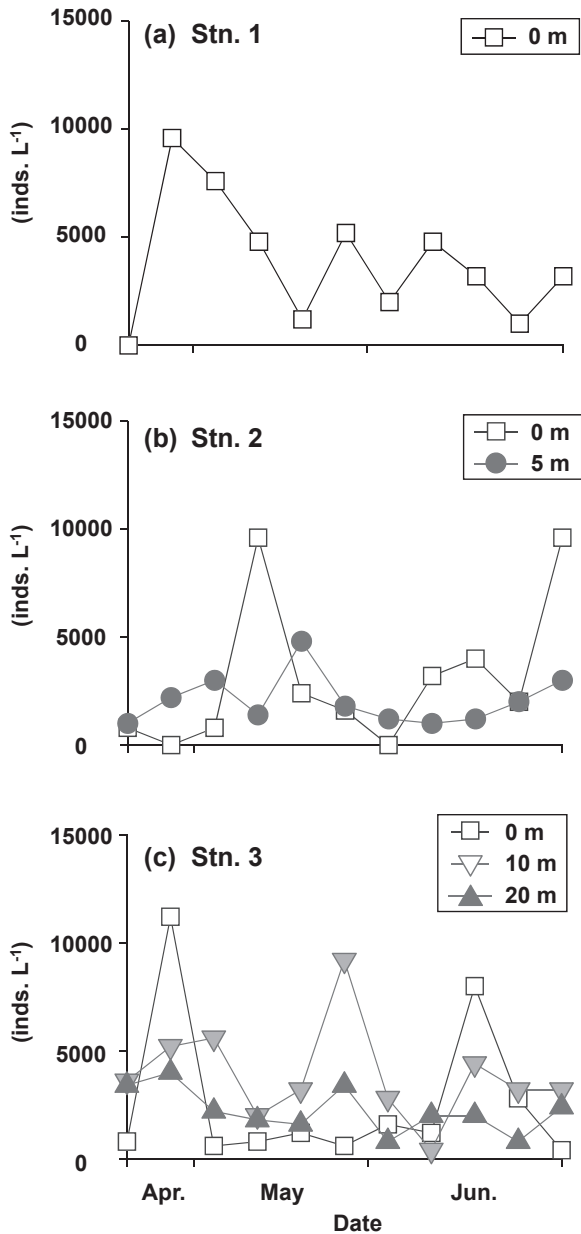


Fig. 6. Temporal changes of ciliates at three stations.

辺牛川から大量の雪解け水が流入した結果と思われる。

厚岸湾北部の定点 Stn. 2 の水温と塩分をみると、4 月 27 日は海表面で水温 7.6°C、塩分 23.26 psu、5 m 層では水温 3.5°C、塩分 31.98 psu という差の大きな値をとっている (Fig. 2c, d)。この差は全 11 回の観測で最大であった。これをもたらしたのも別寒辺牛川から厚岸湖への河川水の流入であろう。この定点は厚岸湖の湖水が厚岸湾内に流出する影響を強く受けている定点だといえる。また、同定点の 4 月 21 日および 5 月 25 日のデータをみると、海表面から底層まで鉛直的な混合があったことが伺えたが、この 2 日間、最干潮の前後 1 時間以内に Stn. 2 での観測を行った結果と考えられる。最干潮付近では、厚岸湖から流出する低塩分水の影響が及ぶと推測されるからである。

続いて厚岸湾南部の定点 Stn. 3 の水理環境を考察する。水温の鉛直分布をみると、4 月 21 日には鉛直的に混合していた様子が伺えたが、6 月 29 日には 5 m 以浅に水温躍層がみられた。本湾では、5 m 付近に水温躍層が発達することが報告されており (Ezura et al., 1974; Nishizawa and Iseki, 1977)、本調査が行われた春から初夏の時期は、水温躍層形成の時期であったと言えよう。塩分をみると、5 月 6 日、12 日および 6 月 2 日は海表面で低いことを除いて、全体的に他の 2 定点よりも塩分は高く、変動が小さかった。本湾の湾口から中央部にかけては湾の外から海水が流入し、湾外からの海水の流入が活発なほど湾内の塩分が上昇することが知られている (Nishizawa and Iseki, 1977)。比較的低い塩分が観測された日は、流出した湖水の影響を受けていると考え、Stn. 3 では外洋から厚岸湾に流入してきた海水と湖水が混合しており、前者の影響が強く出ている定点と言えよう。

4-2. 細菌数

海水中の細菌数について考察する。自然海水中には、およそ 10^6 cells mL⁻¹ の細菌が存在することが知られている (今井, 1989)。本研究において、Stn. 1 および 2 では 10^6 cells mL⁻¹ 前後、Stn. 3 では 10^5 cells mL⁻¹ のオーダーと、陸から沖に出るほど細菌の密度が減少している傾向にあったが (Fig. 3)、既報の値から大きく逸脱するものではなかった。

Table 2. Correlation coefficients among each parameters.

	HNF	ANF	Ciliate	Temperature	Salinity
Bacteria	0.366*	0.057	0.275*	0.141	-0.476***
HNF	—	0.640***	-0.00402	0.632***	-0.664***
ANF		—	-0.045	0.760***	-0.367*
Ciliate			—	0.050	0.018
Temperature				—	-0.575***
Salinity					—

*= $p < 0.05$

**= $p < 0.01$

***= $p < 0.001$

厚岸湖のアマモのバイオマスは、4月に約 16 g DW m^{-2} であったのが、その後急激に増え、6月には約 220 DW m^{-2} 、8月には年間最大の約 247 DW m^{-2} に達することが報告されている (Hasegawa et al., 2007)。本調査は4月から6月に実施しており、アマモのバイオマスの急激な増加期と重なっているが、この間には海水中の細菌数には大きな変化が見られないことが判明した。

4-3. HNF の出現密度

続いて、従属栄養性微小鞭毛虫 (HNF) の出現密度を考察する。海洋では、細菌は主に原生動物プランクトンによって捕食される。そのうち、従属栄養性微小鞭毛虫が最も強力な細菌捕食者であると報告されている (Fenchel, 1982b)。カイアシ類をはじめとする動物プランクトンは、細菌を捕食することはできないが、鞭毛虫は捕食できるため、HNF は食物網において、細菌と動物プランクトンを繋ぐ重要な役割を果たしていると言える (Fenchel, 1982c)。その密度は直接計数法で調べられており、国外では、米国ジョージア州の河口域で $4.0 \times 10^3 \text{ cells mL}^{-1}$ 、その沖合で $0.4 \times 10^3 \text{ cells mL}^{-1}$ (Sherr and Sherr, 1982)、デンマークのフィヨルド (夏季) で、平均 $1.0 \times 10^3 \text{ cells mL}^{-1}$ (Fenchel, 1982a) と報告されている。日本国内の知見をみると、夏期の広島湾では $3.27\text{--}9.09 \times 10^3 \text{ cells mL}^{-1}$ (岩本ら, 1993)、周防灘では5月に $0.5\text{--}3.5 \times 10^3 \text{ cells mL}^{-1}$ 、7月に $0.9\text{--}4.5 \times 10^3 \text{ cells mL}^{-1}$ (今井・伊藤, 1984)、広島湾に位置する南西海区水産研究所前の栈橋 2 m 層では $1.0\text{--}8.8 \times 10^3 \text{ cells mL}^{-1}$ (1984-1985 年, 今井・山口, 1996) および $1.01\text{--}10 \times 10^3 \text{ cells mL}^{-1}$ (1990-1991 年, Iwamoto et al., 1994)、7月の瀬戸内海では $6.5 \times 10^3 \text{ cells mL}^{-1}$ (Nakamura et al., 1994)、 $0.52\text{--}11.06 \times 10^3 \text{ cells mL}^{-1}$ (Kamiyama, 2003)、女川湾では $0.3\text{--}3.0 \times 10^3 \text{ cells mL}^{-1}$ (Tanaka and Taniguchi, 1996) と、いずれの沿岸域でも 10^3 のオーダーであったことが分かった。北海道近海においても、函館近郊の七重浜海岸では MPN 法によって $10^2 \text{ cells mL}^{-1}$ と推定された例があるが (山本・絵面, 1985)、噴火湾では直接計数法により $0.5\text{--}5.6 \times 10^3 \text{ cells mL}^{-1}$ (Lee et al., 2001) と、本州とあまり変わらない密度で分布していたことが報じられている。本研究では、厚岸湖内で $10^2 \times 10^3 \text{ cells mL}^{-1}$ の密度であった (Fig. 4a)。これは妥当な密度であることが、過去の研究との比較で言える。また、岸から沖合へ向かうに従って、HNF の生息数と種数は減少すること、表層から底層へいくほど密度が低くなっていったこと (今井・伊藤, 1984; 岩本ら, 1993; Iwamoto et al., 1994) を考慮すると、厚岸湾の2定点で得られた値も想定範囲と考えられた。

本調査で得られた細菌と HNF の細胞密度比を算出すると、Stn. 1 では平均 1,006、Stn. 2 の 0 m 層および 5 m 層では 886 および 741 であった。それらに対して Stn. 3 では、0 m 層、10 m 層および 20 m 層のそれぞれで 1,459、4,967、3,491 と、上記2定点の比を大きく上回る結果となった。海洋および陸水における細菌と HMF (heterotrophic microfla-

gellate) の比は約 1,000 であると言われており (Fenchel, 1986)、国内でも、周防灘における調査により、両者の出現密度の比が約 1,000 であったと報じられている (今井・伊藤, 1986)。本調査で得られた細菌と HNF の出現密度の結果から、厚岸湾内よりも、厚岸湖内の定点および湖水の影響を比較的強く受けている定点の方が、密度だけでなく細菌との相対的な細胞数を比較しても、HNF の密度が高かったことが分かった。

ここで、アマモ場である Stn. 1 でのみ、高密度の HNF がみられた理由を考察する。HNF の食性をみると、Sherr (1988) では、分子量 2,000 k の多糖類デキストランを添加したときに鞭毛虫が増殖したことから、従属栄養性微小鞭毛虫は、細菌だけでなく多糖類を餌にして増えることを報告している。付着珪藻がアマモに付着するために出している粘液が多糖類であるとの報告 (河村, 1991) を考慮すると、アマモ葉体上に生息していた無数の付着珪藻が生成する粘質物が HNF の増殖を支えている可能性がある。もうひとつ考えられるのは、デトライタス粒子の寄与である。Fenchel (1970) によれば、1 g のデトライタス粒子上には、細菌が 10^9 、鞭毛虫が 10^7 存在するという。そして、Caron et al. (1982) によると、太平洋中部において採取したマリンスノー表面の細菌捕食性原生動物数が、周囲の海水の $10\text{--}10^4$ 倍にも達していたと報告されている。このことから、デトライタスは HNF にとって重要な生息場所であることが分かる。厚岸湖のアマモ場では、アマモ表面のバイオフィームが剥離してデトライタスになっていると想定される。また、アマモが枯死し、分解されたあとの有機物粒子が、湖内の生態系に非常に重要な貢献をしているとも言われている (向井ら, 2002)。さらに、厚岸湖が別寒辺牛川の河口であることも考慮しなければならない。淡水性の植物プランクトンが塩分の勾配が要因で海水域に流入した際に破裂し、それが河口域の細菌にとって重要な有機物源となっている可能性があるからである (Crump et al., 1998)。このことから、アマモ場は従属栄養性の鞭毛虫が増殖するに好ましい環境であることが容易に推測できる。アマモ場 (厚岸湖) は、アマモ場でない海域 (厚岸湾) と比較して、従属栄養性微小鞭毛虫の増殖しやすい環境と考えられる。

4-4. ANF の出現密度

独立栄養性微小鞭毛虫 (ANF) の結果を考察する。3 定点 6 層それぞれの傾向をみると、Stn. 1 および Stn. 2 の 0 m 層では $10^4 \text{ cells mL}^{-1}$ のオーダーと高い密度まで増え、その他の定点および採集層では $10^2\text{--}10^3 \text{ cells mL}^{-1}$ のオーダーの値まで増加していた (Fig. 5)。過去の知見をみると、夏季の瀬戸内海において $0.43\text{--}19.2 \times 10^3 \text{ cells mL}^{-1}$ (岩本ら, 1993)、同じく広島湾において、独立栄養性ナノプランクトンとして $2.41\text{--}59.00 \times 10^3 \text{ cells mL}^{-1}$ (Iwamoto et al., 1994) と報告されている。他にも、日本国内では、周防灘において、珪藻も含む Total nano plankton として $1.1\text{--}9.5 \times 10^3$

cells mL⁻¹ (今井・伊藤, 1984) とも報告されている。これらには ANF としての単独の密度は記されていないが、概ね 10³ cells mL⁻¹ のオーダーで分布していると考えてよいであろう。国外の知見をみてもその値にさして差は無く、フランス西岸の Biscay 湾南部では、7 月に 4.29×10³ cells mL⁻¹ (Granda and Álvarez, 2008) と報告されている。同じくフランス西岸の Marais du Plomb という半閉鎖的な入り江においては、ナノ鞭毛虫 (HNF と ANF を足し合わせたもの) が 2,500×10⁵ cells L⁻¹ (Dupuy et al., 2007) という密度で分布し、そのうち 80-90% が ANF であったと報告している。本研究で得られた ANF の密度の最高値 5.0×10⁴ cells mL (6 月 8 日, Stn. 1) という密度は、比較的高い値であるが、報告の範囲内であることが分かった。しかし、ここで述べた過去の報告は、通年の調査を実施しているものが多く、ANF の値が最も高い値を示しているのは夏季 (7 月もしくは 8 月) であった。本研究では 6 月までしか調査を実施しなかったが、上記のような高密度で ANF を検出できたことから、本海域における夏季の ANF 密度は非常に高い可能性がある。本海域における ANF の一次生産力への寄与は大きいことが推測された。繊毛虫を含むマイクロサイズの動物プランクトンの餌として重要な役割を果たしているものと考えられる。

HNF よりも ANF の方が変動の幅が大きく、HNF の密度を上回った理由について、Safi and Hall (1997) および Granda and Álvarez (2008) は、ANF は光と水温が好適な条件になれば増殖できるからと述べている。厚岸湖においても、同様の理由で ANF の密度が高かったと考えられる。

また、ANF は光合成をするが、実際には混合栄養性のものも存在し、それらは細菌を捕食すると言われている (今井, 1989)。本研究で ANF の分布が、沖合の定点では比較的低密度だったのは、細菌の密度に影響を受けていた可能性がある。

4-5. 繊毛虫の出現密度

繊毛虫の分布と密度について考察する。過去の研究において、繊毛虫の密度は内湾域では 10²-10⁴ inds. L⁻¹ (Pierce and Turner, 1992) といわれている。実際に、夏季の広島湾では最高密度で 20.5×10³ inds. L⁻¹ (Kamiyama et al., 2003)、春季の北海道岩内湾では、最大 10.6×10³ inds. L⁻¹ (小達ら, 1993) と報告されている。海外の知見をみると、オスロフィヨルドでは 1.0×10⁴ inds. L⁻¹ (Paasche and Kristiansen, 1982)、極海の縁辺域においては 9.0×10³ inds. L⁻¹ (Buck and Garrison, 1983)、フランス西部のエスチュアリーでは 1.45×10⁵ inds. L⁻¹ (Dupuy et al., 2007) と、Pierce and Turner (1992) が示した値よりも高い密度が得られた海域もあったが、概ねその範囲内に収まる。本研究でも、最高値は 1.1×10⁴ inds. L⁻¹ で、概ね 10³ inds. L⁻¹ のオーダーであったことから、沿岸域では既報のものと比較しても妥当な値であったことが分かった (Fig. 6)。

繊毛虫は、動物プランクトンが効率的に利用できない

ナノ植物プランクトンを摂食する (小達ら, 1993)。そしてその分布は餌生物の出現に依存しているという (Kamiyama et al., 2003)。厚岸湖内で調査初期に密度が高かったのは、別寒辺牛川からの融雪水の流入がほとんどなく、湖外から流入した海水の影響と考えられ、そこから徐々に融雪水によって希釈されたと考えられる。湖内で高密度に分布する HNF や ANF も、重要な餌であると想像される。Stn. 2 および Stn. 3 では、しばしば高密度で繊毛虫の出現が確認されたが、これは湾外から流入してきた水塊中に分布していた可能性がある。

4-6. 細菌数, HNF, ANF および繊毛虫の環境要因との関係

本研究では、HNF および ANF 間、水温と HNF および ANF 間に正の相関、塩分と細菌、HNF および水温との間に負の相関があったが、これらは広島湾で得られた報告とほとんど合致していた (岩本ら, 1993)。HNF および ANF 間で正の相関があったのは、先に述べた通り、ANF としてカウントしたものの中に混合栄養性の鞭毛虫を含んだ可能性がある。水温とそれらに正の相関があったのは、気温の上昇と共に海水温も上昇し、HNF および ANF の増殖を促したためと考えられる。塩分と細菌および HNF との間に負の相関があったのは、細菌および HNF の密度が比較的高かった厚岸湖内に、別寒辺牛川が流入していたためと考えられた。

本研究により、北海道の沿岸域におけるマイクロバイアループ構成生物の基礎的知見を得ることができた。また、アマモ場という独特な環境でのデータを得られたことは大変貴重であった。今後は、これらの生物のより詳細な関わり合いを、数値モデルなどを利用して検証していく必要がある。

謝 辞

本研究を進めるにあたって、厚岸湖および厚岸湾における試料採集に御協力を頂きました北海道大学北方フィールド科学センター厚岸実験所所長の仲岡雅裕教授、同実験所技官の濱野章一様、桂川英徳様に心より感謝いたします。本研究の実施にあたっては、独立行政法人水産総合研究センター北海道区水産研究所開放型施設利用制度を活用させて頂きました。その際に、落射型蛍光顕微鏡の使用にご便宜を戴きました独立行政法人水産総合研究センター増養殖研究所養殖システム部環境管理グループの長谷川夏樹博士に心より御礼申し上げます。なお本研究は函館バイオクラスター UMI プロジェクト研究の一環で行われた。

参 考 文 献

Azam, F., Fencjel, T., Field, J.G., Gray, J.S., Mayer-Reil, L.A. and

- Thingstad, F. (1983) The ecological role of water-column microbes in the sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **10**, 257-263.
- Buck, K.R. and Garrison, D.L. (1983) Protists from the ice-edge region of the Weddel Sea. *Deep-Sea Res.*, **30**, 1261-1277.
- Caron, D.A., Davis, P.G., Madin, L.P. and Sieburth, J.M. (1982) Heterotrophic bacteria and bacterivorous protozoa in oceanic macroaggregates. *Science*, **218**, 795-797.
- Crump, B.C., Baross, J.A. and Simenstad, C.A. (1998) Dominance of particle-attached bacteria in the Columbia River estuary, USA. *Aquat. Microb. Ecol.*, **14**, 7-18.
- Dupuy, C., Ryckaert, M., Le Gall, S. and Hartman, H.J. (2007) Seasonal variations in planktonic community structure and production in an atlantic coastal pond: The importance of nanoflagellates. *Microb. Ecol.*, **53**, 537-548.
- Ezura, Y., Daiku, K., Tajima, K., Kimura, T. and Sakai, M. (1974) Seasonal differences in bacterial counts and heterotrophic bacterial flora in Akkeshi Bay. pp. 112-123, Colwell, R.R. and Morita, R.Y. (eds) *Effect of the ocean environment on microbial activities*. University Park Press, Baltimore.
- Fenchel, T. (1970) Studies on the decomposition of organic detritus derived from the turtle grass *Thalassia testudinum*. *Limnol. Oceanogr.*, **15**, 14-20.
- Fenchel, T. (1982a) Ecology of heterotrophic microflagellates. I. Some important forms and their functional morphology. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **8**, 211-223.
- Fenchel, T. (1982b) Ecology of heterotrophic microflagellates. II. Bioenergetics and growth. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **8**, 225-231.
- Fenchel, T. (1982c) Ecology of heterotrophic microflagellates. IV. Quantitative occurrence and importance as bacterial consumers. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **9**, 35-42.
- Fenchel, T. (1986) The ecology of heterotrophic microflagellates, pp. 57-97., Marshall, K.C. (ed) *Advances in microbial ecology*. Plenum Press, New York.
- Granda, A.P. and Álvarez, R.A. (2008) The annual cycle of nanoflagellates in the Central Cantabrian Sea (Bay of Biscay). *J. Mar. Systems*, **72**, 298-308.
- Hasegawa, N., Hori, M. and Mukai, H. (2007) Seasonal shifts in seagrass bed primary producers in a cold-temperate estuary: Dynamics of eelgrass *Zostera marina* and associated epiphytic algae. *Aquat. Botany*, **86**, 337-345.
- 飯泉 仁・鈴木健吾 (2002) 厚岸湖生態系における安定同位体比の分布. 月刊海洋, **34**, 412-416.
- Imai, I. (1987) Size distribution, number and biomass of bacteria in intertidal sediments and seawater of Ohmi Bay, Japan. *Bull. Jpn. Soc. Microb. Ecol.*, **2**, 1-11.
- 今井一郎 (1989) 沿岸域における微生物の生態. 沿岸海洋研究ノート, **27**, 85-101.
- 今井一郎・伊藤克彦 (1984) 1983 年 5 月周防灘における従属栄養性微小鞭毛虫類の分布. 南西海区水産研究所研究報告, **17**, 219-233.
- 今井一郎・山口峰生 (1996) 北部広島湾における海洋細菌の現存量と生産量, および従属栄養性微小鞭毛虫類の季節変化. 南西海区水産研究所研究報告, **29**, 75-86.
- 今井一郎・深見公雄 (2000) 従属栄養性微小鞭毛虫の識別と計数法. pp. 133-136, 石田祐三郎, 杉田治男 (編), 増補・改訂版海洋環境アセスメントのための微生物実験法, 恒星社厚生閣, 東京.
- 岩本典子・今井一郎・上 真一 (1993) 夏季の広島湾における細菌と従属栄養性微小鞭毛虫類の出現密度の変動. 日本プランクトン学会報, **40**, 55-66.
- Iwamoto, N., Imai, I. and Uye, S. (1994) Seasonal fluctuation in abundance of bacteria, heterotrophic nanoflagellates, autotrophic nanoflagellates and nanodiatoms in Hiroshima Bay, the Seto Inland Sea of Japan. *Bull. Plankton Soc. Japan*, **41**, 31-42.
- Kamiyama, T., Arima, S. and Tsujino, M. (2003) Characteristics of the distribution of bacteria, heterotrophic nanoflagellates and ciliates in Hiroshima Bay in summer. *Fish. Sci., Int. J. Systematic Evol. Microbiol.*, **69**, 755-766.
- 河村知彦 (1991) II 幼生の行動と付着. 2, 珪藻. pp. 11-25, 公益財団法人水産無脊椎動物研究所 (編), 海洋生物の付着機構, 恒星社厚生閣, 東京.
- Lee, C.W., Kudo, I., Yanada, M. and Maita, Y. (2001) Bacterial abundance and production and heterotrophic nanoflagellate abundance in subarctic coastal waters (Western North Pacific Ocean). *Aquat. Microb. Ecol.*, **23**, 263-271.
- 向井 宏 (2005) 陸域-沿岸域統合系における藻場生態系. 月刊海洋, **37**, 148-155.
- 向井 宏・飯泉 仁・岸 道郎 (2002) 厚岸水系における定常時と非定常時における陸域からの物質流入—森と海を結ぶケーススタディー—. 月刊海洋, **34**, 449-457.
- Nakamura, Y., Fukami, K., Sasaki, S. and Hiromi, J. (1994) Population dynamics of bacteria and heterotrophic nanoflagellates following the summer diatom bloom in the Seto Inland Sea. *Bull. Plankton Soc. Japan*, **41**, 1-8.
- Nishizawa, S. and Iseki, K. (1977) Physical and chemical parameters. pp. 223-227, Hogetsu, K., hatanaka, M., Hanaoka, T. and Kawamura, (eds.) *JIBP Synthesis 14*, University of Tokyo Press, Tokyo.
- 小達恒夫・宮園 章・梁田 満・八木宏樹・米田義昭 (1993) 1988 年春季岩内湾における植物プランクトンおよび絨毛虫類の鉛直分布. 沿岸海洋研究ノート, **30**, 194-200.
- Paasche, E. and Kristiansen, S. (1982) Ammonium regeneration by microzooplankton in the Oslofjord. *Mar. Biol.*, **69**, 55-63.
- Pierce, R.W. and Turner, J.T. (1992) Ecology of planktonic ciliates in marine foodwebs. *Rev. Aquat. Sci.*, **6**, 139-181.
- Porter, K.G. and Feig, Y.S. (1980) The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnol. Oceanogr.*, **25**, 943-948.
- Safi, K.A. and Hall, J.A. (1997) Factors influencing autotrophic and heterotrophic nanoflagellate abundance in five water masses surrounding New Zealand. *New Zealand J. Mar. Freshwater Res.*, **31**, 51-60.
- Sherr, E.B. (1988) Direct use of high molecular weight polysaccharide by heterotrophic flagellates. *Nature*, **335**, 348-351.
- Sherr, B. and Sherr, E. (1982) Enumelation of heterotrophic microprotozoa by epifluorescence microscopy. *Est. Coast. Shelf Sci.*, **16**, 1-7.
- Tanaka, T. and Taniguchi, A. (1996) Short-term variation in abundance of bacteria and heterotrophic nanoflagellates in summer observed in Onagawa Bay, Japan. *Bull. Plankton Soc. Japan*, **43**, 21-29.
- Williams, S.L. and Heck, K.L. (2001) Seagrass community ecology. pp. 317-337, Bertness, M.D., Gaines, S.D. and Hay, M.E. (eds.) *Marine community ecology*. Sinauer Associates, Inc., Massachusetts.
- 山本啓之・絵面良男 (1985) 海洋における細菌捕食性鞭毛虫の分布および生態. *La mer*, **23**, 81-88.
- Zimmermann, R., Iturriaga, R. and Becker, B.J. (1978) Simultaneous determination of the total number of aquatic bacteria and the number of thereof involved in respiration. *Appl. Environ. Microbiol.*, **36**, 926-935.