

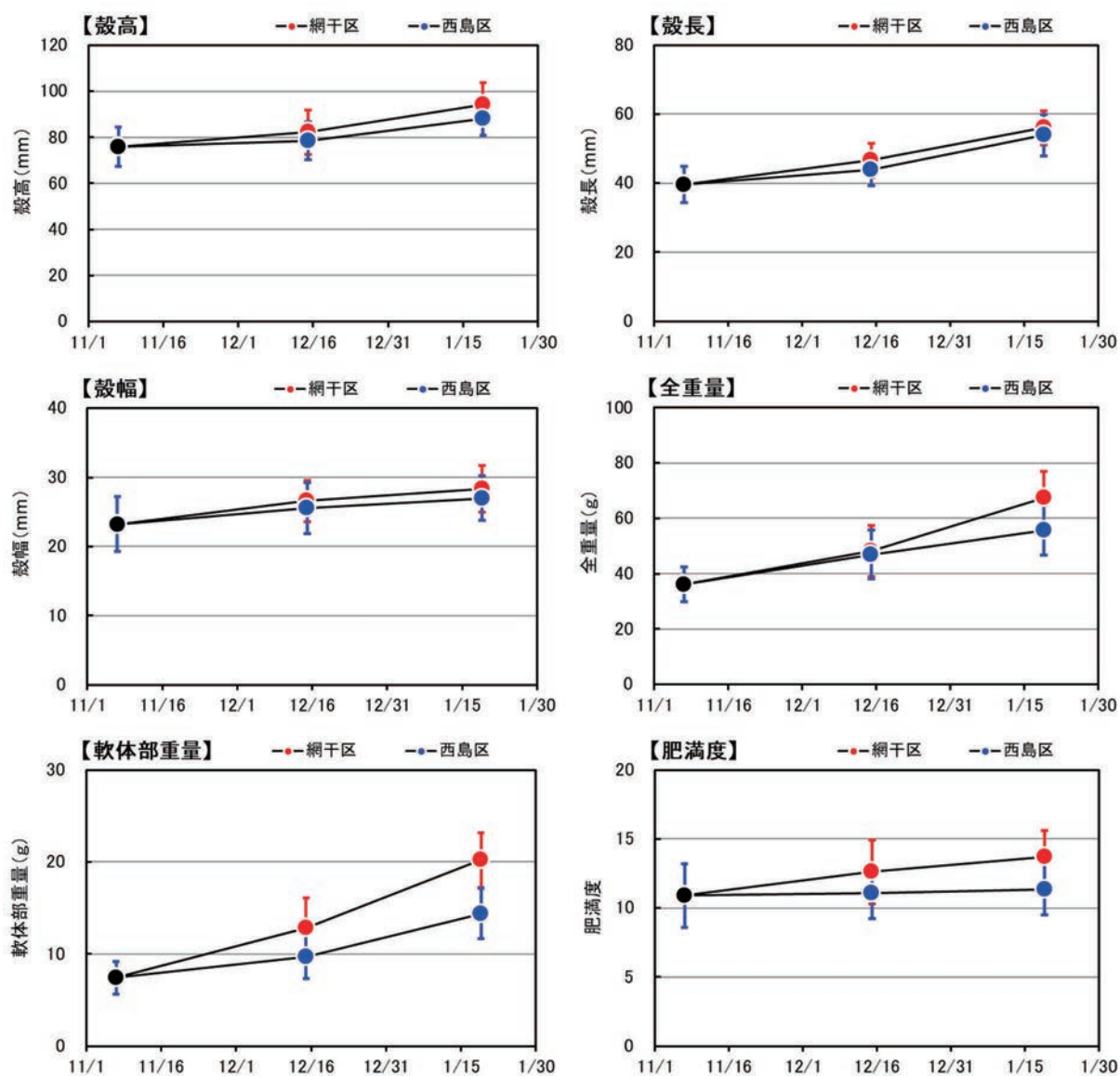


図 12 マガキの測定結果 (2022 年度)

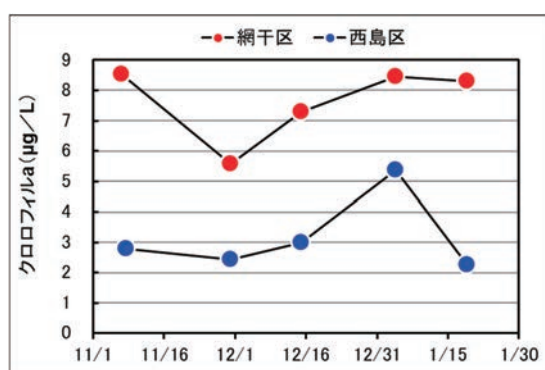


図 13 試験区表層水のクロロフィル a 濃度 (2022 年度)

課題番号：I－1）－イ－②

課題名：紀伊水道の栄養塩環境が二枚貝生産に及ぼす影響解明

和歌山県水産試験場

葦澤崇博，賀集健太

【背景・目的】

近年、瀬戸内海のアサリやハマグリ生産量は減少しているが、和歌山県の干潟域においても同様である。浜口（2011）は、瀬戸内海の浅海定線調査によって得られた30年以上の海洋観測データとアサリ・ハマグリの漁獲量を解析した結果、アサリ・ハマグリの生産性低下の原因のひとつとして、海域の栄養塩の低下や冬季水温の上昇など環境変化による影響を考察している。このため、アサリやハマグリにとって適切な栄養塩濃度の解明や、その適正管理手法の開発が望まれているが、実海域において栄養塩環境と二枚貝生産について調査・研究した事例は少ない。

本課題では、二枚貝漁場周辺海域における栄養塩などの水質等環境調査を実施するとともに、アサリ等二枚貝を用いた飼育試験を実施し、海域の栄養塩動態や餌料環境、二枚貝の成長量等を把握し、海域の栄養塩環境が二枚貝の生産性に及ぼす影響を検討する。

【方法】

(1) 水質等環境調査

和歌山市和歌浦漁港内（図1）（以後、「和歌浦」と表記）において、2022年5～9月の毎月1回、計5回、多項目CTD（RINKO-Profiler, JFEアドバンテック株式会社）による水温、塩分の測定を行った。（調査日：5/31, 6/28, 7/25, 8/29, 9/27）

栄養塩環境およびアサリ等二枚貝の餌料環境を把握するため、海水のサンプリングをアサリ垂下水深（1m）において実施し、自動分析機器（SWAAT, BLTEC株式会社）による海水の栄養塩分析（ $\text{NO}_3\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$, $\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{PO}_4\text{-P}$ ）および蛍光分光光度計（FP-6500, 日本分光株式会社）による海水中のクロロフィルa分析に供した。

海水のサンプリングは、和歌浦の筏に設置したアサリ飼育カゴ内試験区（以後、「筏区」と表記）と筏区から数m離れた岸壁試験区（以下、岸壁区と表記）で行い、筏区は、水深1mに設置したアサリ飼育用の提灯カゴ内に、チューブを差し込み、簡易ポンプを用いて採水した。また、岸壁区では、北原式採水器を用いて水深1mの地点で採水した。

採取した海水は、栄養塩測定用に水産試験場に持ち帰るとともに、 $0.2\mu\text{m}$, $2\mu\text{m}$, $10\mu\text{m}$, $20\mu\text{m}$ の濾紙で濾過し、その濾紙からNN-ジメチルホルムアミドを用いて抽出したクロロフィルaサンプルを $0.2\sim 2\mu\text{m}$, $2\sim 10\mu\text{m}$, $10\sim 20\mu\text{m}$, $20\mu\text{m}$ 以上の分画に分けて冷凍保存し、保存サンプルは和歌山県工業技術センターにおいて、蛍光分光光度計を使用してクロロフィルa量を測定した。

採取した海水中の微細藻類については、海水試料1LをMFミリポアフィルター（孔径 $5.0\mu\text{m}$ ）を用いて自然ろ過により約100倍に濃縮し、グルタルアルデヒド（終濃度1%）で固定後、種ごとの細胞密度を分析した。

(2) 二枚貝飼育試験

筏区において、アサリ（平均重量：8.6g）40個と軽石（300g）を入れた袋網（目合5mm）

を提灯カゴ (350×350×100mm, 目合, 20 mm) に収容した試験カゴを漁港内の養殖筏下の水深 1 m の地点に 4 基設置し, 5~9 月まで月 1 回アサリの成長等を調べた。

アサリの殻長は, 各月に無作為に抽出した 20 個体 (5 個体×4 カゴ) をデジタルノギスで測定し, 測定後は提灯カゴへ戻した。軟体部湿重量は, 各カゴからアサリ 2~3 個体, カゴ 4 個で計 10 個体を無作為に採取後, 持ち帰り, デジタルノギスで殻長, 殻高, 殻幅を測定後, メスで切開して取り出した軟体部をペーパータオルで水分除去して電子秤で計測した。軟体部湿重量の測定に用いたアサリの各個体データから各月の肥満度 [軟体部湿重量 g / (殻長×殻高×殻幅 cm) ×100] を算出するとともに, 9 月末に生残個体を計数し, 生残率を求めた。

(3) 連続調査

岸壁区において, 降雨前と降雨後を主体に, 連続調査 (7~9 月) を計 11 回実施した。多項目 CTD (RINKO-Profiler, JFE アドバンテック株式会社) による水温, 塩分の測定を行うとともに, 栄養塩環境およびアサリ等二枚貝の餌料環境を把握するため, 海水のサンプリングをアサリ垂下水深 (1 m) において実施し, 自動分析機器 (SWAAT, BLTEC 株式会社) による海水の栄養塩分析 ($\text{NO}_3\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$, $\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{PO}_4\text{-P}$) および蛍光分光光度計 (FP-6500, 日本分光株式会社) による海水中のクロロフィル *a* 分析に供した。

(連続調査日 : 7/7, 7/12, 7/13, 7/26, 8/30, 9/8, 9/9, 9/21, 9/22, 9/26, 9/28)

【結果および考察】

(1) 水質等環境調査

水温, 塩分の調査結果を図 2~3 に示した。水温 (図 2) は, 22.7~27.1 で推移し, 塩分 (図 3) は, 32.2~33.5 PSU の範囲で推移した。

岸壁区, 筏区ごとの栄養塩濃度 ($\text{NO}_2\text{-N}$, $\text{NO}_3\text{-N}$, $\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{PO}_4\text{-P}$, DIN) の調査結果を図 4~8 に示した。 $\text{NO}_2\text{-N}$ (図 4) は, 岸壁区で, 8 月に $1.25\ \mu\text{M}$ と最も高く, $0.2\sim1.25\ \mu\text{M}$ で推移し, 筏区では $0.14\sim0.21\ \mu\text{M}$ で推移した。 $\text{NO}_3\text{-N}$ (図 5) は, 岸壁区で $0.97\sim1.22\ \mu\text{M}$ で推移し, 筏区では $0.16\sim1.62\ \mu\text{M}$ で推移した。 $\text{NH}_4\text{-N}$ (図 6) は, 岸壁区では比較的高い値として 6 月に $3.66\ \mu\text{M}$ が測定された他は $0.97\sim2.03\ \mu\text{M}$ で推移し, 筏区では比較的高い値として 7 月に $3.43\ \mu\text{M}$ が測定された他は $0.61\sim1.82\ \mu\text{M}$ で推移した。 $\text{PO}_4\text{-P}$ (図 7) は, 岸壁区では比較的高い値として 8 月に $1.86\ \mu\text{M}$ が測定された他は $0.24\sim0.32\ \mu\text{M}$ で推移し, 筏区では期間を通して $0\sim0.43\ \mu\text{M}$ で推移した。DIN (図 8) は, 岸壁区では, 最も高い値として 6 月に $5.07\ \mu\text{M}$ が測定された他は, $2.07\sim5.07$ で推移し, 筏区においては, 7 月に $5.26\ \mu\text{M}$ が測定された他は, $1.03\sim5.26\ \mu\text{M}$ で推移した。

海水中のクロロフィル *a* (図 9) は, 岸壁区, 筏区とも 6 月に最も高く, 岸壁区で, $10.0\ \mu\text{g/L}$, 筏区で, $14.6\ \mu\text{g/L}$ であった。他の月は岸壁区で $0.2\sim7.1\ \mu\text{g/L}$ で推移し, 筏区では $0.3\sim12.9\ \mu\text{g/L}$ で推移した。

海水に含まれる微細藻類の細胞密度と種組成を図 10 に示した。細胞密度は, 岸壁区では浮遊性は 6 月に最も多く, 7, 969 cells/mL, 次いで 9 月には 5, 743 cells/mL となり, 178~7, 969 cells/mL で推移した。一方, 筏区においては, 中心目は 5 月に最も多く 3, 603 cells/mL, 次いで 9 月に 1, 570 cells/mL, 一方, 羽状目では, 9 月に最も多く 1, 706 cells/mL, 次いで 6 月に 380 cells/mL, となった。

岸壁区で, 5 月, 6 月は *Chaetoceros* 属, 9 月は *Skeletonema* 属が主体であり, 筏区では 5

月は *Chaetoceros* 属, 9 月は *Pseudonitzschia* 属, および *Chaetoceros* 属が主体であった。

(2) 二枚貝飼育試験

アサリの平均重量, 軟体部湿重量, 肥満度及び生残率の調査結果を図 11 に示した。平均重量は 5 月下旬の調査開始から 9 月まで増量し, 8.5~12.9g で推移した。軟体部湿重量は, 7 月をピーク (3.0g) に増加し, その後低下した。肥満度についても同様に 7 月をピーク (26.5%) に増加し, その後低下した。生残率は, 概ね 90.4~98.1% で推移した。

(3) 連続調査

北村他 (2019), 諏訪他 (2021) は和歌浦干潟における降雨後の河川水流入による陸域からの栄養塩供給を考察している。今年度は, 7~8 月までにまとまった降水量が少なかったが, 9 月後半にまとまった降水量がみられた。調査日 7 日前から調査日までの累積降水量と DIN との関係を図 12 に示した。和歌浦における DIN と降水量 (和歌山市内) に一定の相関があることが確認された。また, 調査期間中の DIN と微細藻類の関係について, 図 13 に示した。DIN と微細藻類密度は, 9 月後半に DIN の増加に伴い微細藻類が増加する傾向がみられたが, 他の期間ではそのような傾向はみられなかった。

【5 年間で得られた主要な成果】

- ・垂下式のアサリ飼育試験の結果, アサリの成長には, 海水中の微細藻類の密度が重要であることが確認された。
- ・干潟域でのアサリ飼育試験の結果, アサリの成長には, 干潟堆積物中の微細藻類が重要であることが確認された。
- ・干潟に設置された被覆網下のカゴで飼育されたアサリの炭素・窒素安定同位体分析の結果から, アサリは, 主に底生微細藻類を餌としていたことが考えられた。
- ・干潟に被覆網やカゴを設置することで, アサリの餌 (微細藻類) を増やす効果が確認された。
- ・栄養塩濃度が低下し, 微細藻類の生産が低迷した環境下でも, 被覆網やカゴの設置がアサリ等の二枚貝の餌料環境を改善する手法として有効であることが示された。

【参考文献】

- 浜口昌巳. 一次生産の変化と有用種の関係 (二枚貝). 水産総合研究センター研究報告, 独立行政法人水産総合研究センター, 神奈川. 2011, 33-47.
- Abdulkadir S, Tsuchiya M. One-step method for quantitative and qualitative analysis of fatty acids in marine animal samples. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 354(1), 1-8, 2008.
- 北村章博, 森康雅, 竜田直樹. 平成 30 年度漁場環境改善推進事業「栄養塩の水産資源に及ぼす影響の調査」報告書. 国立研究開発法人 水産研究・教育機構 瀬戸内海区水産研究所, 2019, 26-32.
- 北村章博, 森康雅, 竜田直樹. 平成 31 年度漁場環境改善推進事業「栄養塩の水産資源に及ぼす影響の調査」報告書. 国立研究開発法人 水産研究・教育機構 瀬戸内海区水産研究所, 2020, 26-34.
- 諏訪剛, 葦澤崇博, 内田廉. 令和 2 年度漁場環境改善推進事業のうち栄養塩, 赤潮・貧酸素

水塊に対する被害軽減技術等の開発「(1) 栄養塩の水産資源に及ぼす影響の調査」報告書.
 国立研究開発法人 水産研究・教育機構 水産技術研究所, 2021, 28-36.

諏訪剛, 葦澤崇博, 内田廉. 令和 3 年度漁場環境改善推進事業のうち栄養塩, 赤潮・貧酸素
 水塊に対する被害軽減技術等の開発「(1) 栄養塩の水産資源に及ぼす影響の調査」報告書.
 国立研究開発法人 水産研究・教育機構 水産技術研究所, 2022, 28-37.



図 1 調査位置

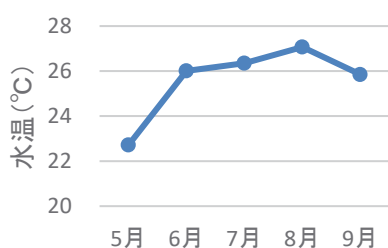


図 2 水温の調査結果



図 3 塩分の調査結果

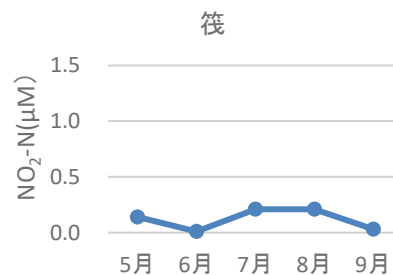
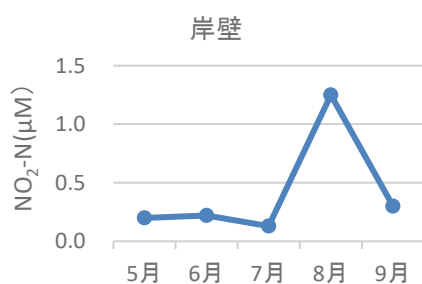


図 4 NO₂-N の調査結果

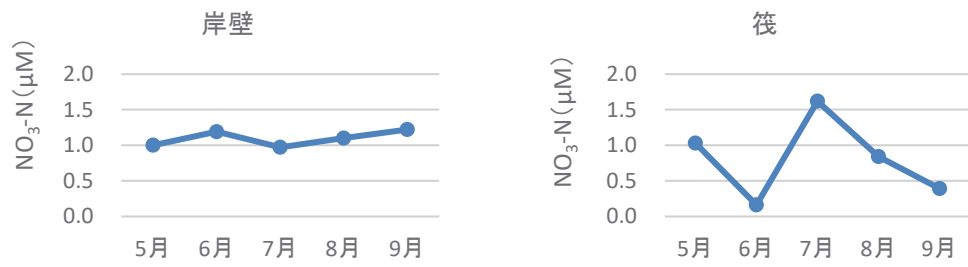


図5 $\text{NO}_3\text{-N}$ の調査結果

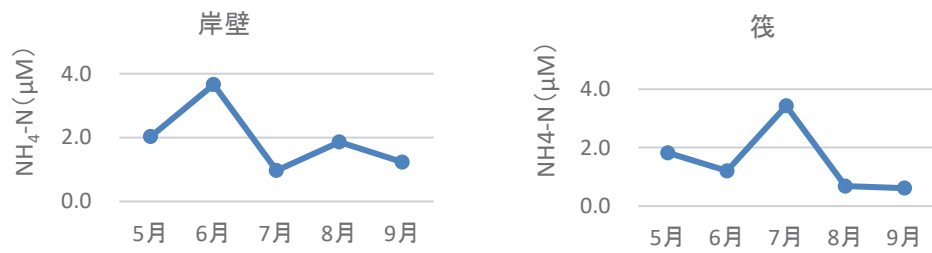


図6 $\text{NH}_4\text{-N}$ の調査結果

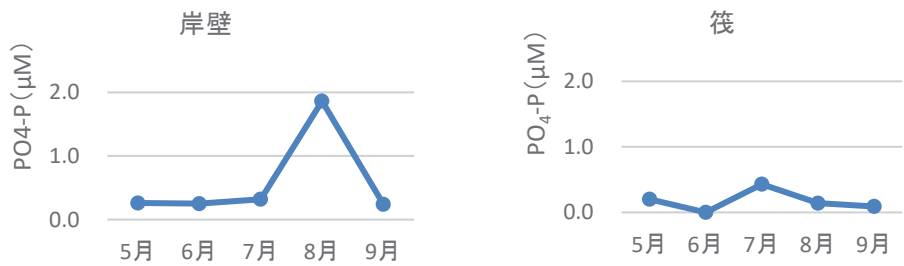


図7 $\text{PO}_4\text{-P}$ の調査結果

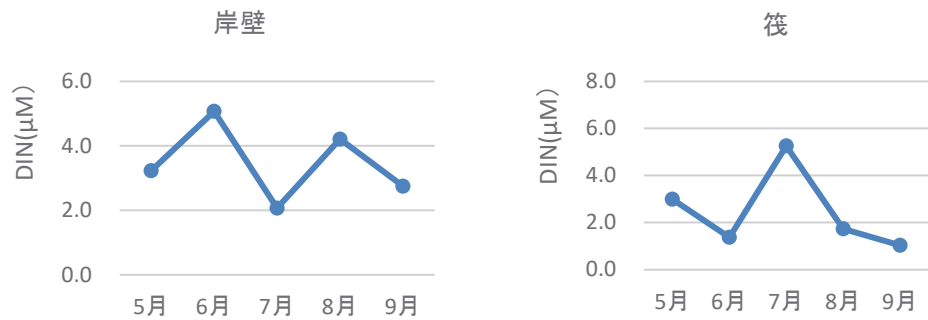


図8 DIN の調査結果

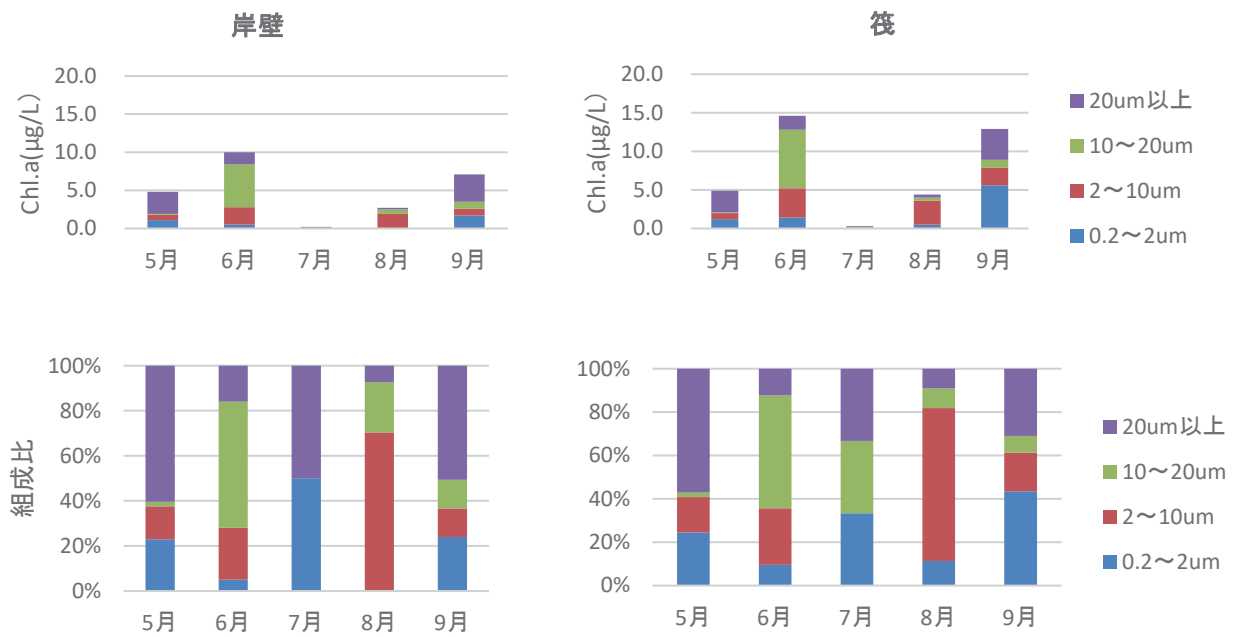


図9 海水 1L 中の分画別クロロフィル a 量(上段)と組成比(下段)

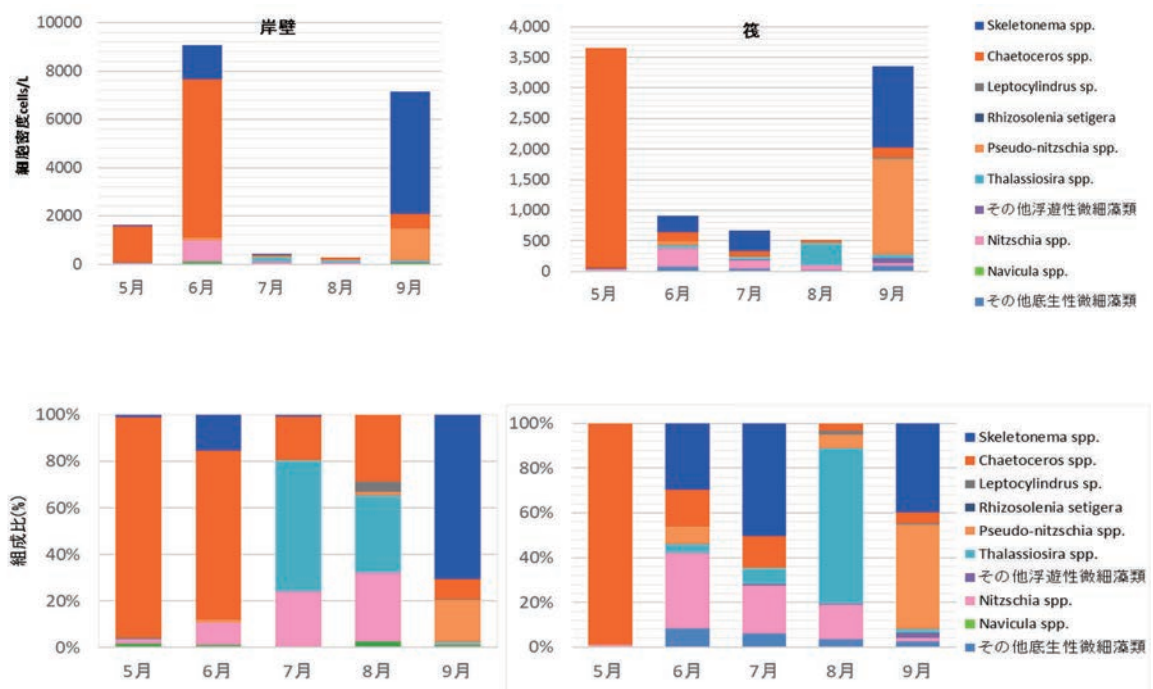


図10 海水中の微細藻類細胞密度(上段)と組成率(下段)

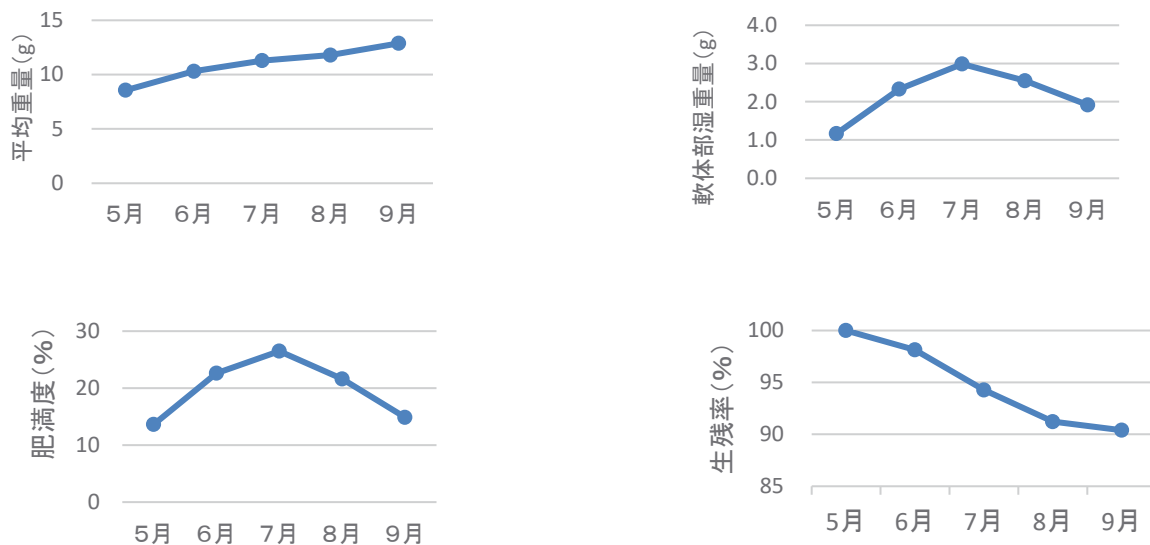


図 11 筏区におけるアサリ飼育試験結果

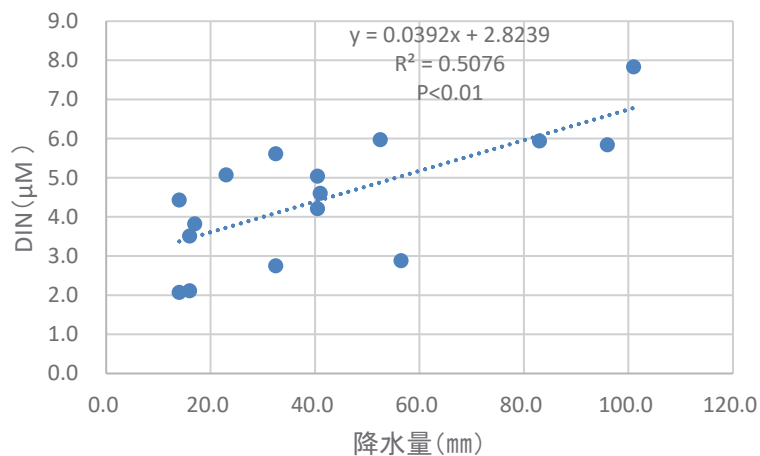


図 12 調査日 7 日前から調査日までの累積降水量(和歌山市)と DIN との関係

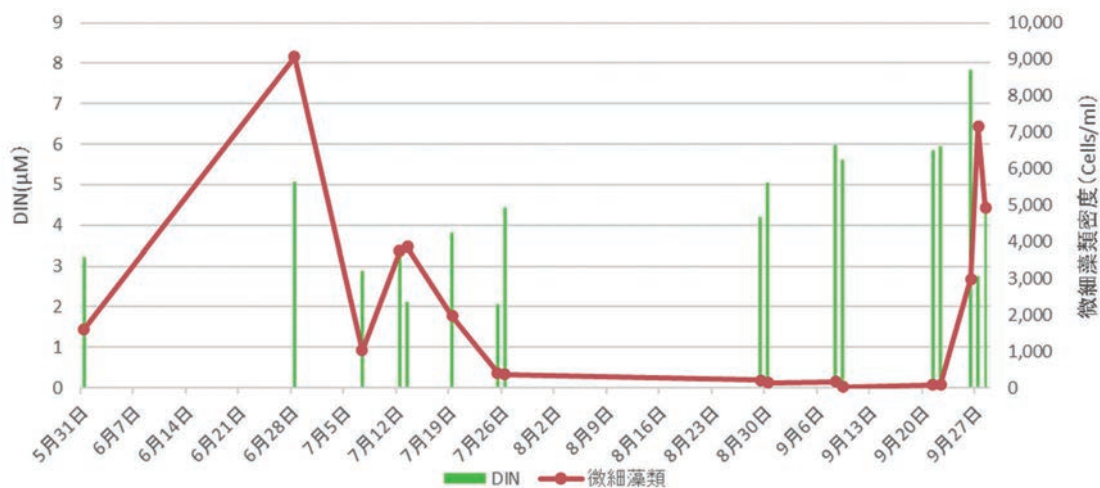


図 13 DIN と微細藻類密度との関係

課題番号：I－1）－イ－③

課題名：瀬戸内海の栄養塩環境が二枚貝生産に及ぼす影響の評価

水産研究・教育機構 水産技術研究所

松原 賢，岡村知海，鬼塚剛

【背景・目的】

本研究課題ではまず，最新の浅海定線のデータを加え，既存のデータを用いて瀬戸内海全体でアサリ・ハマグリ等の二枚貝の生産と海洋や栄養塩環境との関係を解析することになっていたが，これについては本事業の最初の2年間で終了した。そのため，一昨年度からは，二枚貝の生産と栄養塩類の関係を詳細に調べるための調査・研究に特化した。

本課題では，これまでの研究例が少ないアサリやマガキの浮遊幼生期の餌となる植物プランクトンについて，次世代シーケンサー等の新しい技術を活用してその生態調査を調べている。昨年度までの現場観測や飼育試験の結果から，広島湾のマガキ浮遊幼生は，10 µm 未満の珪藻類 *Cyclotella* 属を餌としている可能性が高まった（Matsubara et al., 2023）。一方，アサリ浮遊幼生の餌となる植物プランクトンについては不明なままである。

そこで本年度は，実環境中におけるアサリ浮遊幼生の餌生物を明らかにすることを目的とする。アサリの主要な産卵期である秋に優占する 10 µm 未満の珪藻類がアサリ浮遊幼生の餌として有力と考えられるため，まず過去に採取した秋季の広島湾海水サンプルのメタバーコーディング解析により，餌として有力な 10 µm 未満の珪藻類の探索を行う。そして，当該珪藻類については秋季の広島湾において出現動態を調べる。また，アサリ浮遊幼生が餌候補の珪藻類を捕食するかどうか，飼育試験により確認する。

【方法】

（1）アサリ浮遊幼生の餌となりうる珪藻類の探索

2021 年 10 月 11 日および 10 月 18 日に広島湾奥部の Stn. A（図 1）で，また 10 月 25 日および 11 月 15 日に広島湾奥部の Stn. A～D（図 1）で採取された表層海水を分析に用いた。海水試料は速やかに研究室に持ち帰り，孔径 10 µm のヌクレポアフィルターでろ過した。得られたろ液をさらに孔径 0.2 µm のヌクレポアフィルターでろ過し，フィルター上に 10 µm 未満の微細藻類を含む試料を得た。試料は遺伝子解析までフィルターごと凍結保存し，本課題を通して確立した手法（Matsubara et al., 2023）によりメタバーコーディング解析に供した。

（2）アサリ浮遊幼生の餌として有力な珪藻類の現場動態

2022 年 10 月 7 日から 12 月 30 日の期間，週に一回の頻度で Stn. X（図 1）で表層の水温および塩分を多項目水質計や棒状温度計で測定し，表層海水をバケツにて採取した。海水試料は速やかに研究室に持ち帰り，遺伝子解析まで凍結保存した。その後，本課題を通して確立した qPCR を用いた手法（浜口ほか, 2022）により，（1）によりアサリ浮遊幼生の餌として有力と考えられた珪藻類 *Chaetoceros tenuissimus* および *Skeletonema menzelii* の試料中における生物量（DNA コピー数）を調べた。

（3）アサリ浮遊幼生を用いた摂餌試験

山口県周防灘産のアサリ母貝から得られたアサリ浮遊幼生（D 型幼生）が、10 μm 未満の珪藻類である *Cyclotella* sp. 1, *Cyclotella* sp. 2, *Cyclotella* sp. 3, *S. menzelii* および *Minidiscus comicus* の培養株を捕食するか飼育試験により調べた。水温 23°C の条件下において、塩分 25 のろ過海水 100 mL を入れた 5 つのフラスコに、10 inds mL⁻¹ となるようアサリ浮遊幼生をそれぞれ添加した。そして、各フラスコに 10,000 cells mL⁻¹ となるよう各珪藻類を 1 種ずつ接種し、人工気象器内にて飼育した。接種 14 時間後にアサリ浮遊幼生をフラスコから取り出し、B 励起光照射下で幼生体内における珪藻類由来の自家蛍光の有無を確認することで、アサリ浮遊幼生による珪藻類の捕食の有無を確認した。

【結果】

(1) アサリ浮遊幼生の餌となりうる珪藻類の探索

図 2 および 3 に広島湾奥部の表層水におけるメタバーコーディング解析の結果を示す。全体に Chain-forming diatoms が目立つが、これらは *Pseudo-nitzschia* 属等の連鎖を形成する珪藻類から構成されており、その全長は 10 μm をはるかに超えるが、1 細胞の直径が数 μm であるため孔径 10 μm のフィルターを通過したものである。アサリ浮遊幼生が捕食可能な粒子のサイズは数 μm であり（Tezuka et al., 2009）、Chain-forming diatoms は大きすぎて餌とならないのでここでは議論しない。Stn. A における 10 月 11 日および 10 月 18 日の結果では *Thalassiosira* spp. が優占していたが、10 月 25 日には *Skeletonema menzelii*, 11 月 15 日には *Chaetoceros tenuissimus* と優占種が交替した（図 2）。10 月 25 日および 11 月 15 日には Stn. B～D でも観測を実施したが、10 月 25 日には全体的に *S. menzelii* が優占し、11 月 15 日には *C. tenuissimus* が優占していた（図 3）。アサリの産卵に好適な水温帯は、20°C 前後と報告されている（増殖場造成計画指針編集委員会, 1997）。10 月 11 日、10 月 18 日、10 月 25 日および 11 月 15 日の広島湾における表層水温はそれぞれ 25.1°C, 23.8°C, 22.1°C および 20.9°C であった（<http://www.haff.city.hiroshima.jp/suisansc/21suion.html>）ことから、10 月 25 日および 11 月 15 日に優占していた *S. menzelii* および *C. tenuissimus* がアサリ産卵盛期の比較的低水温条件下でも優占しうる珪藻類であり、アサリ浮遊幼生の餌として有力であると考えられた。

(2) アサリ浮遊幼生の餌として有力な植物プランクトンの現場動態

図 4 に、2022 年 10 月 7 日から 12 月 30 日の Stn. X における *S. menzelii* および *C. tenuissimus* の DNA コピー数の変動を示す。*S. menzelii* の DNA コピー数は観測開始時から低下傾向、*C. tenuissimus* の DNA コピー数は 10 月下旬に一度高くなったがその後低下し、11 月下旬以降はいずれの DNA コピー数も低い値であった。図 5 に示すように、10 月下旬～11 月上旬の水温が 20°C 前後であり、アサリの産卵盛期であった考えられるが、この時期にはいずれの珪藻類も減少していた。*S. menzelii* および *C. tenuissimus* の秋季における定量観測は今年度が初めてであり、この状況が通常なのか例外なのかは不明であるが、今秋におけるアサリ浮遊幼生の餌の量は十分ではなかったかもしれない。今後も観測データを蓄積することで、アサリ浮遊幼生の餌料環境を把握し、餌生物の動態に影響を与える環境因子を明らかにする予定である。

(3) アサリ浮遊幼生を用いた摂餌試験

図 6 に、各種珪藻類を捕食したアサリ浮遊幼生の蛍光撮影画像を示す。また、昨年度取得した、各種珪藻類を捕食したマガキ浮遊幼生の蛍光撮影画像についても参考に示す。アサリ浮遊幼生体内における珪藻由来の自家蛍光量から判断すると、アサリ浮遊幼生は *S. menzelii*

と *M. comicus* をよく捕食することが確認された。一方、マガキ浮遊幼生は *Cyclotella* sp. 1 をよく捕食することが確認され、同じ二枚貝でも種が違えば浮遊幼生が好む餌料生物が異なる可能性が考えられた。(1) や (2) の結果から、アサリの産卵時期には *S. menzelii* が優占することが確認され、また本飼育試験ではアサリ浮遊幼生がそれをよく捕食したことから、*S. menzelii* がアサリ浮遊幼生の餌として有力であることが強く示唆された。なお、昨年度実施した、マガキ浮遊幼生を用いた飼育実験では、今年度用いた 5 種の珪藻類に加え、*C. tenuissimus* の培養株も用いたが、浮遊幼生による捕食は確認されなかった。*C. tenuissimus* の長軸長は数 μm であるが、10 μm に及ぶ刺毛を四方に有し、それが障壁となりマガキ浮遊幼生は本種を捕食できなかったものと思われた。アサリの産卵時期には *C. tenuissimus* も優占することが確認されたが、捕食されにくいことを考慮すると、アサリ浮遊幼生の餌としてはあまり機能していない可能性が考えられた。

【5 ヶ年のまとめ】

本課題を 5 ヶ年実施したことで、栄養塩環境が二枚貝生産に与える影響を評価するためには、浮遊幼生の生残に影響する餌料環境の調査・研究が重要であることが示された（平成 30 年度、平成 31 年度成果）。そして、浮遊幼生の餌となる植物プランクトンが、数千 cells mL^{-1} の規模で発生する環境が、二枚貝の生産に適した環境であることを提示し（令和 2 年度成果）、これまで不明であったマガキおよびアサリの浮遊幼生の餌として有力な珪藻類の特定に成功した（マガキについては *Cyclotella* 属、アサリについては *Skeletonema menzelii*、令和 3 年度、令和 4 年度成果）。さらに、浮遊幼生の餌として有力な各種珪藻類の定量検出系を構築したことで、二枚貝浮遊幼生の餌料環境を高精度でモニタリングすることが可能になった（令和 3 年度成果）。本課題で得られた知見、構築された技術を駆使して研究を進めることで、浮遊幼生の餌が大量に発生し、二枚貝の生産に好適な環境条件の提示に繋がることが期待される。

【謝辞】

(1) で用いた海水は、元北里大学教授の山口峰生博士および（公財）広島市農林水産振興センターの広島市水産振興センターにより採取された。また、(3) で用いたアサリ浮遊幼生は、（公社）山口県栽培漁業公社から譲り受けた。この場を借りて、深く御礼申し上げる。

【参考文献】

- 浜口昌巳，阿保勝之，松原賢，鬼塚剛，岡村知海. 2)ーイー3 瀬戸内海の栄養塩環境が二枚貝生産に及ぼす影響の評価. 令和 3 年度漁場環境改善推進事業のうち栄養塩の水産資源に及ぼす影響の調査報告書，水産庁，東京，38-44，2022.
- Matsubara T, Yamaguchi M, Abe K, Onitsuka G, Abo K, Okamura T, Sato T, Mizuno K, Lagarde F, Hamaguchi M. Factors driving the settlement of Pacific oyster *Crassostrea gigas* larvae in Hiroshima Bay, Japan. *Aquaculture*, 563, 738911, 2023.
- Tezuka N, Ichisaki E, Kanematsu M, Usuki H, Hamaguchi M, Iseki K. Particle retention efficiency of asari clam *Ruditapes philippinarum* larvae. *Aquatic Biology*, 6, 281-287, 2009.
- 増殖場造成計画指針編集委員会. ヒラメ，アサリ編. 増殖場造成計画指針，全国沿岸漁業振興開発協会，東京，1997.

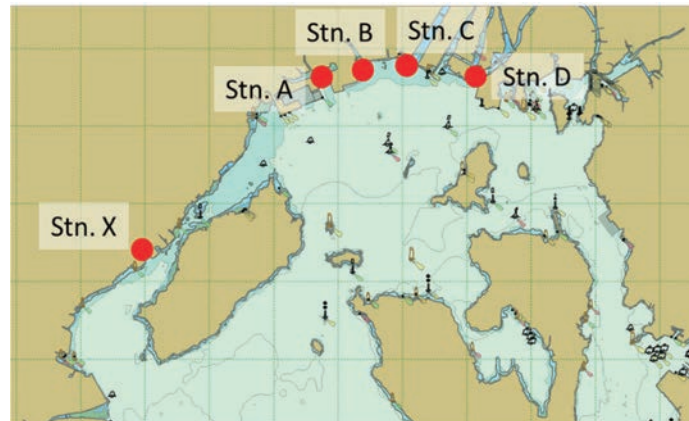


図1 広島湾奥部における観測定点

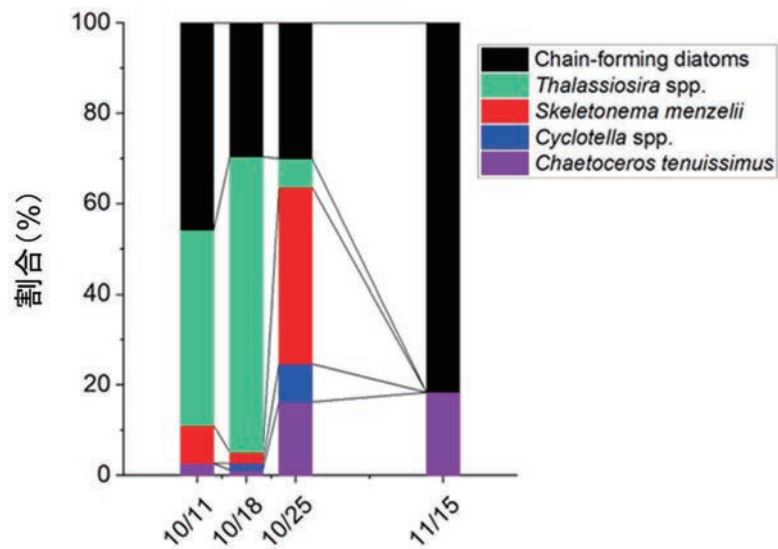


図2 10 µm のフィルターを通過した珪藻類組成の Stn. A における経時変化

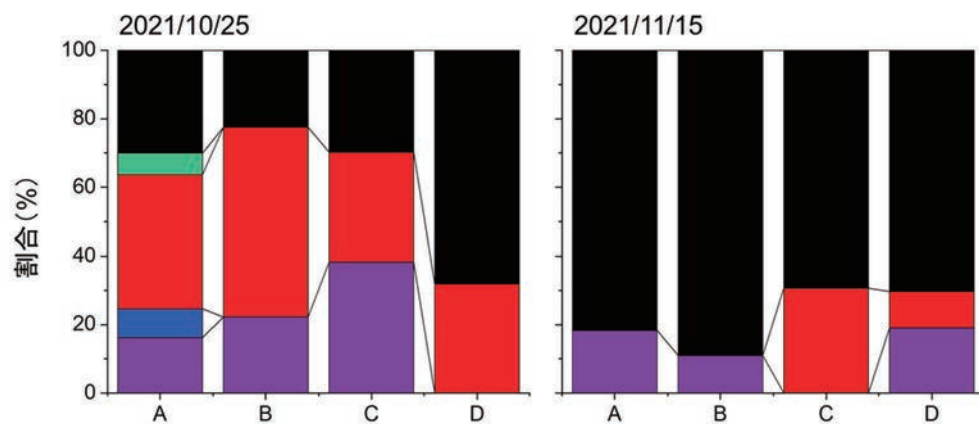


図3 2021年10月25日および11月15日の各定点における10 µm のフィルターを通過した珪藻類組成（凡例は図2を参照）

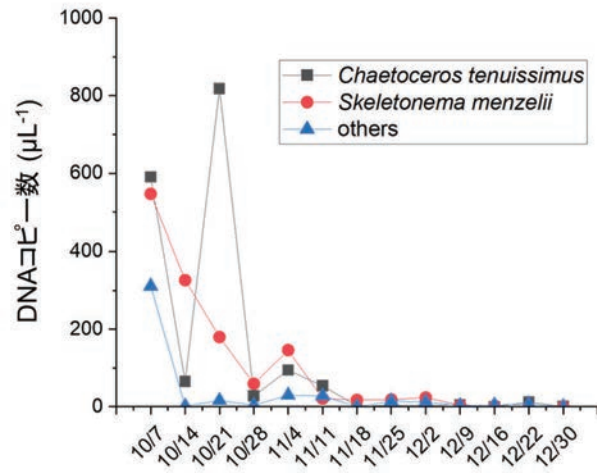


図4 2022年10月7日から12月30日の Stn. X における *Skeletonema menzelii* および *Chaetoceros tenuissimus* の DNA コピー数の変動

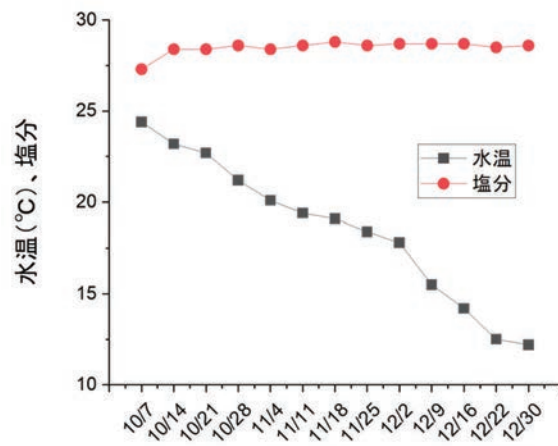


図5 2022年10月7日から12月30日の Stn. X における表層水温および塩分の変動

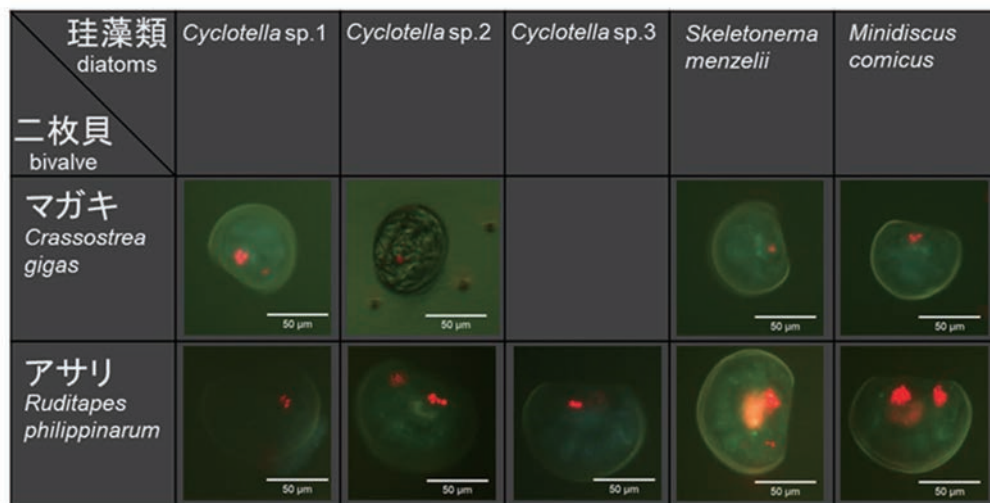


図6 各種珪藻類を捕食した、マガキおよびアサリ浮遊幼生の蛍光撮影画像

課題番号：I－1）－ウ

課題名：栄養塩等の水質環境が藻場の生物生産力等に及ぼす影響の解明

水産研究・教育機構 水産技術研究所

島袋寛盛，須藤健二

【背景・目的】

近年、瀬戸内海の貧栄養化が進み、養殖ノリの色落ち被害のみならず、生態系を底支えする一次生産者の基礎生産力の低下とそれによる漁業への影響が懸念されている。海藻・海草類で形成される藻場は、海域の一次生産に寄与するのみならず、生態系サービスとして産業上重要な魚介類の産卵場や稚仔期の生息場、あるいは餌料供給の場など様々な機能を有している。藻場を構成するこれら海産植物の成長を支えるものは海中の栄養塩である。栄養塩濃度の低下は、藻場を構成する一次生産者（海藻・海草類や葉上微細藻類）による生産物の量や質的な性状（窒素含量等で評価される餌料価値等）などへの直接的な影響だけではなく、その結果として藻場の物理的な景観構造が貧弱化し生息場としての機能が衰退していく。また餌料としての一次生産物の量・質的な変化が、食物連鎖を通じてより高次の生物生産に影響することも懸念されている。しかし、藻場の生物生産と栄養塩の関係を明らかにした知見は世界的にみても極めて少ない。

本課題では、藻場生態系の主要な構成者のうち、一次生産者（アマモ、ホンダワラ類、カジメ類等の大型海草と海藻、葉上微細藻類）、葉上小型甲殻類等の餌料生物（二次生産者）、藻場に依存性の強い重要魚介類（高次生産者）に焦点をあて、①栄養塩と藻場の一次生産との関係解明、②一次生産を介した植食動物（重要魚介類）との関係解明、③栄養塩の変化が藻場の低次から高次の食物連鎖に与える影響の解明の3つを大きな柱とし、本年は、②の一次生産を介した植食動物（重要魚介類）との関係解明のための試験を行った。

本事業を通じて、調査・実験による栄養塩濃度の影響の直接的解明を行い、瀬戸内海の藻場の生物生産力と機能の現状評価を行った。

【方法】

一次生産を介した植食動物（重要魚介類）との関係解明

近年、瀬戸内海の貧栄養化が進み藻類養殖ではノリの色落ちなどの問題が実際に生じている。天然のカジメ類やホンダワラ類の藻場についても影響が懸念されているが、実際に低栄養塩が原因で藻場が衰退したという報告はない。しかし藻場を利用する魚介類の減少は問題となっており、瀬戸内海の低栄養塩化により付着藻類や小型甲殻類の低下、また藻体自体に含まれる窒素やリンの低下など、魚介類の保育場や餌料場としての生態系機能の低下が危惧されている。本課題では温帯性コンブ目海藻のクロメを異なる栄養塩環境下で培養して窒素含量の異なる藻体を作成し、有用魚介類（サザエ）に与え成長を評価することで、低栄養塩下の藻場の餌料効果の検証を行った。

窒素添加・欠乏クロメの作出：実験に用いたクロメは、2022年5月頃から山口県大島郡周防大島町にて定期的に採集した（図1）。採集したクロメは常温にて持ち帰り、研究所にお

いて2 tの掛け流し水槽で馴化した。その後、屋内の100Lパンライト水槽に葉状部をおよそ30-50g程度に切り分け投入し、栄養塩を投入しない「栄養塩欠乏条件」と栄養塩を定期的に投入する「栄養塩添加条件」の2つの環境を設定し、砂濾過海水の止水化にて実験を開始した(図2)。栄養塩添加水槽には週に2回の頻度で NO_3 濃度が $20\mu\text{M}$ 程度になるように NaNO_3 を添加した。これらの2ヶ月以上培養したクロメを餌として供与した。また、窒素添加及び欠乏によるクロメの応答を把握するためにPAM(パルス変調クロロフィル測定)による光合成活性と、SPAD(葉緑素計)による色の濃さ、クロメ藻体中の全窒素含量を分析した。

磯根生物(サザエ)の飼育及び給餌方法：実験に用いた稚サザエは、京都府栽培漁業センターから7月に購入し、実験所地先の掛け流し海水環境にて天然のクロメを与えながら1ヶ月馴化した。飼育には2Lのスチロールケースを用いた。濾過海水で水温はおよそ 20°C に保ち、水替え頻度は2-3日に1回とした。照明は明：暗が12時間ごととした。実験区は窒素添加クロメを与える「N添加区」、天然のクロメを与える「天然区」、窒素欠乏クロメを与える「N欠乏区」とした。各試験区のサザエは17匹、各水槽には3-5匹のサザエを入れ、餌のクロメの交換頻度は週に1回とした。飼育実験期間は2022年8月23日～2023年1月25日のおおよそ5ヶ月間実施した(図3)。

磯根生物(サザエ)の計測方法：実験に用いたサザエは、最大殻幅と最大殻高をデジタルノギスで計測した(図4)。湿重量は水槽から取り上げたサザエの殻を拭き十分乾燥した状態で計測した。成長の度合いを把握するための湿重量変化率は、湿重量の変化(差分)を最後の計測時の湿重量で割って計算した。

【結果】

一次生産を介した植食動物(重要魚介類)との関係解明

窒素添加・欠乏クロメの応答：PAMにより光合成の光化学系IIの最大量子収率(F_v/F_m)を計測した結果($n=60$)、N欠乏のクロメは0.738、N添加のクロメは0.744の値を示した(図5-A)。SPAD計により色の濃さを計測した結果($n=44$)、N欠乏のクロメは23.66、N添加のクロメは38.33の値を示した(図5-B)。またクロメ藻体の全窒素量を解析した結果($n=13$)、藻体当たりの窒素の割合がN欠乏クロメは0.65%、N添加のクロメは1.18%となった(図5-C)。N欠乏になることによって、N添加したクロメとは色の濃さや含有窒素量に大きな違いがあったが、光合成活性の指標である最大量子収率には大きな変化はなく、クロメは低栄養塩に耐性が高いことが示された。

サザエの生存率及び成長：サザエにN添加のクロメ、天然のクロメ、N欠乏のクロメを与え、およそ5ヶ月間飼育したところ、飼育2ヶ月頃からN欠乏区のサザエが死亡し始めた。実験終了時には、N添加区及び天然区の生残率は87%で、N欠乏区は47%となり、N欠乏区のサザエの生残率が最も低かった(図6)。

実験期間におけるサザエの湿重量の変化率は、値のばらつきが大きかったため、平均値と中央値を示した(図7)。N欠乏区において湿重量の変化率が負の値となり、クロメを食べているものの重量は減少していることを示した。N添加区、天然区ともに湿重量の変化率は正の値となり、天然区のサザエの変化率が最も高かった。また、実験期間におけるサザエの最大殻高の差分についても平均値と中央値を示した(図8)。殻の高さはN添加区とN欠乏区では微増であったが、天然区において大きく増加していた。

本実験により、N 欠乏区の死亡率が、天然区、N 添加区に比べ高い値であった。また湿重量の変化率においても N 欠乏区のサザエは負の値であった。これらのことから N 欠乏のクロメが餌では十分な栄養を確保できなかった可能性が示唆された。湿重量の変化率では天然クロメを与えたサザエの成長が最も高く、殻高の差分においても天然クロメを与えたクロメの成長が最も良かった。N 添加区のクロメは止水環境で 2 ヶ月以上培養されているため、自然海域から採取しサザエに給餌された天然クロメに比べ、餌としての質が劣っていた可能性があった。これはサザエの成長には含有窒素以外の要素も大きく関係していることを示唆している。

しかし、主要な磯根生物の餌となるクロメは低栄養塩に比較的耐性があり、「見た目」は藻場として変化はなくても、窒素含有量など目に見えない「質」には変化があり、低栄養塩は磯根生物の生存にも影響を与えていることが考えられた。

本結果は、今まで解明されてこなかった低栄養塩下における藻場生態系の中の「藻場の質」について明らかにする重要なものであった。今後のさらなる社会実装に向け、今回実験に用いたクロメ等を主食にするアワビ類でも同様の実験を行い、現状の藻場の質を評価するため、現場海域で藻場を形成しているクロメの成分と海域の栄養塩との関係についても把握していく必要があると考えている。

【本事業における 5 年間のまとめ】

本事業では、藻場生態系の主要な構成者のうち、一次生産者（アマモ、ホンダワラ類、カジメ類等の大型海藻と海藻、葉上微細藻類）と葉上小型甲殻類等の餌料生物（二次生産者）、藻場に依存性の強い重要魚介類（高次生産者）に焦点をあて、①栄養塩と藻場の一次生産との関係解明、②一次生産を介した植食動物への影響解明、③栄養塩の変化が藻場の低次から高次の食物連鎖に与える影響の解明の 3 つを大きな柱とした。

①栄養塩と藻場の一次生産との関係解明：海域での栄養塩欠乏を想定し、窒素を添加せずに欠乏している海水（-N）と窒素を定期的に添加した海水（+N）を用いて、瀬戸内海の藻場構成海藻として一般的なアカモクとクロメ幼体を約 1 ヶ月間培養した。その結果、アカモクとクロメともに実験後は藻体に含まれる窒素含量が異なり、窒素を添加している実験区が有意に多く窒素が含まれた。また成長率はアカモクでは含有窒素量と同様に成長率にも差が見られたが、クロメでは有意な差が見られなかった（図 9）。これは、藻場を構成する大型褐藻の中でもアカモクは比較的栄養塩の影響を受けやすく、クロメは受けにくいことを示していた。また、アカモクに窒素を添加し藻体含有窒素が増加しても、含量およそ 2%（乾重量）程度で藻体の生産量が飽和に達することが分かった。天然海域の DIN 濃度とそこに生育するアカモクの窒素含量を調べたところ、DIN 濃度 2 μ M 以上であれば藻体 N 含量は 2%以上維持できることが分かった。これにより、天然の海域において DIN が 2 μ M 以上あればアカモク藻場の生産量を維持できることを示すことができた。

種子植物のアマモにおいても、広島湾各地のアマモ場の表層水と底質の間隙水の栄養塩を分析し、そこに形成されているアマモ場との関係を解析した。表層の栄養塩とアマモ場観（草長や密度など）との関係性は低かったが、底質の間隙水の DIN 濃度が高いほど、アマモ草体の質に関わる葉の幅や地下茎の太さが大きい傾向があることが分かった（図 10）。

これらの結果より、本事業において栄養塩と藻場の一次生産には大きな関係性があることが解明された。

②一次生産を介した植食動物への影響解明：本年度の実験において、低栄養塩下の海藻餌料がサザエの生残に影響を与えていることが示された。また同様に、異なる栄養塩環境で培養した緑藻のアナアオサを藻場の主要な葉上動物である端脚類のヨコエビに餌として与え飼育したところ、高窒素で育てられたアオサよりも低窒素で育てられたアオサを餌としたヨコエビの成長が悪かった。また、低栄養塩で育ったアオサを餌としたヨコエビの成熟率や抱卵率も低く、再生産の能力も低いことが分かった（図 11）。

先の実験により、栄養塩が藻場の一次生産に直接的な影響を与えていることが解明されたが、その影響を受けた一次生産者（藻場・海藻）が、それを餌とする植食動物にも影響を与えていることを示した。

③栄養塩の変化が藻場の低次から高次の食物連鎖に与える影響の解明：広島湾各地の藻場において、植物プランクトン量、葉上微細藻類量、藻場を構成するホンダワラ類であるノコギリモクの藻体窒素含量と、植食性端脚類であるヨコエビを含む葉上動物の密度や成熟状態との関係について解析した結果、それぞれの間には関係性は見出せなかった。したがって、低栄養塩環境が食物連鎖を通じてノコギリモク藻場の動物群集に影響を及ぼしているというデータは得られなかった。海藻の葉上では多様な種間関係や捕食者による影響が餌の影響よりも大きいことが考えられた。また、藻体窒素含量があまり低くない（最低でも 1% を越える）という調査時におけるノコギリモク自体の特徴も、それを植食性端脚類への影響が検出されなかった原因と考えられた。しかし栄養塩環境は、藻場生態系を間接的にでも利用している高次捕食者にも何らかの影響を与えていると考えられ、今後それを検出するための手法を検討が求められる。

瀬戸内海が低栄養塩となるなかで、ノリやワカメなどの海藻養殖に与える影響は以前より問題視されてきた。藻類養殖は天然ではあり得ない高密度な環境で人工的に育てているため、養殖海藻が必要とする単位水塊当たりの栄養塩要求量も天然の藻場に比べて高いためである。逆に瀬戸内海の天然の藻場は、暖流域で問題となっている水温上昇による磯焼けも顕著には生じておらず、藻場の衰退はあまり問題となっていなかった。しかし本課題でも解明されたように、藻場を構成する大型褐藻類は低栄養塩に比較的耐性があり、今の瀬戸内海の低栄養塩下にあっても「見た目」はあまり変化がない。しかし、含まれる窒素含量など人の目にはわかりにくい海藻の質にはすでに影響が出ており、それを利用する水産資源にも大きく影響を与えている可能性が高いことが分かった。藻場生態系における生物生産にとって一定の栄養塩は重要であり、社会実装のための研究をさらに進めていきたい。



図1 周防大島町に生育するクロメ.

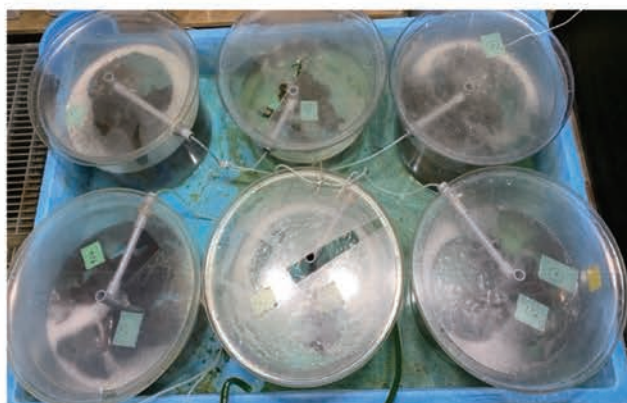


図2 異なる栄養塩下で培養したクロメ.



図3 サザエの実験風景.

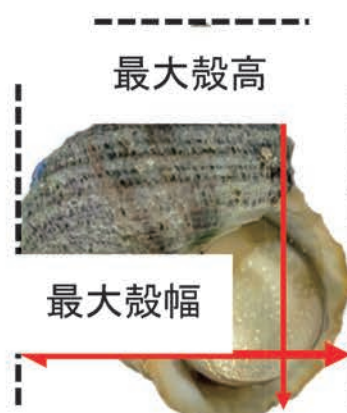


図4 サザエの計測部位.

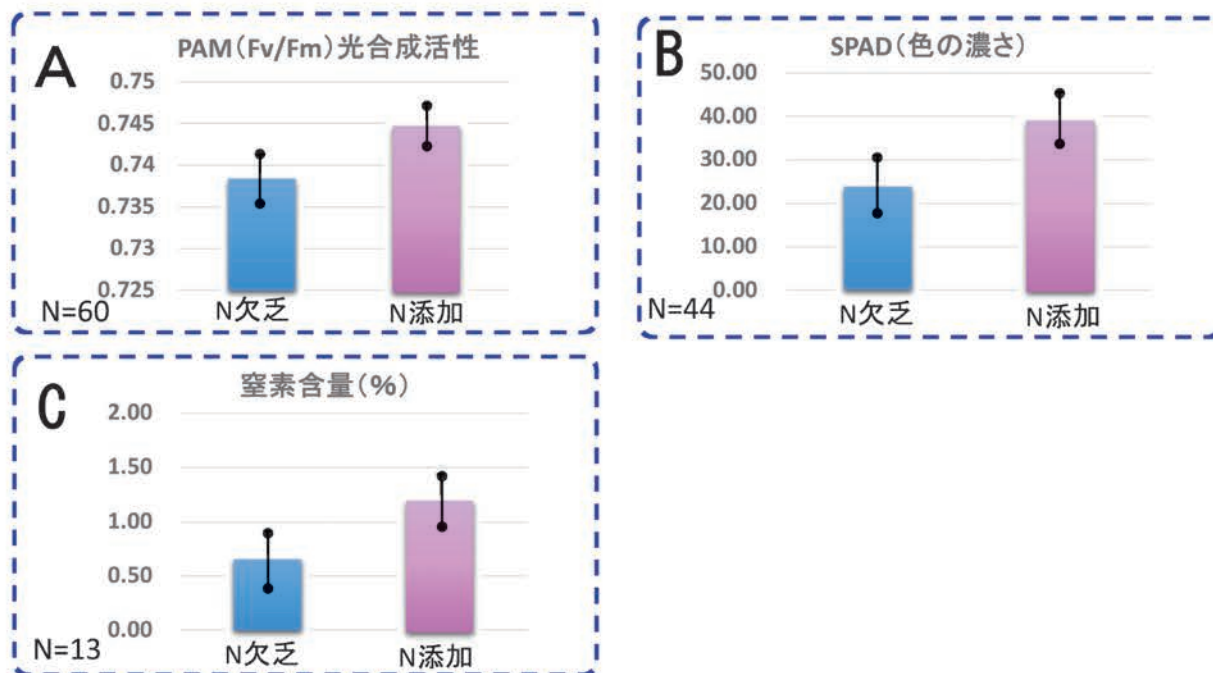


図5 窒素欠乏・添加のクロメの応答. A: 最大量子収率, B: SPAD 値, C: 含有窒素量.

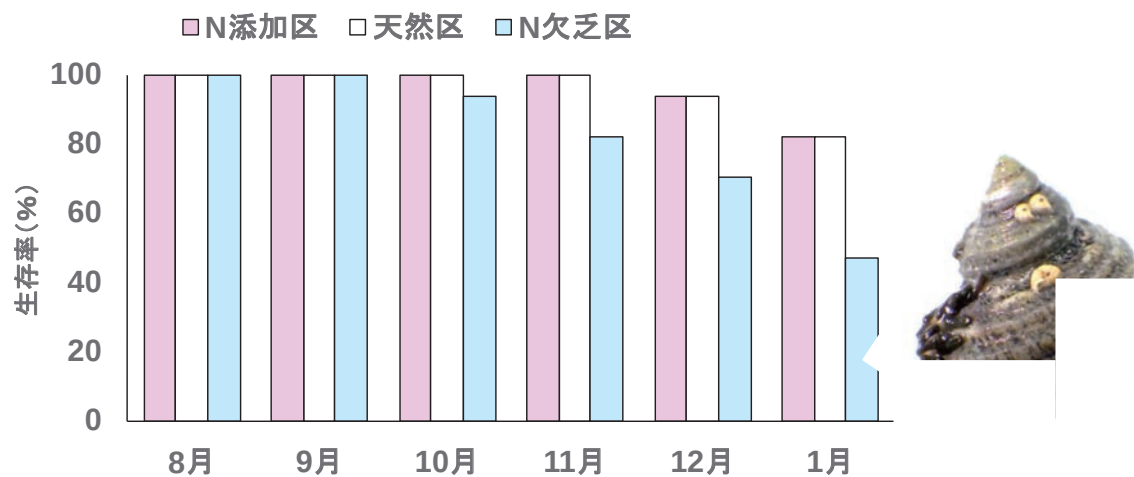


図6 N添加クロメ，天然クロメ，N欠乏クロメを餌料としたサザエの生存率.

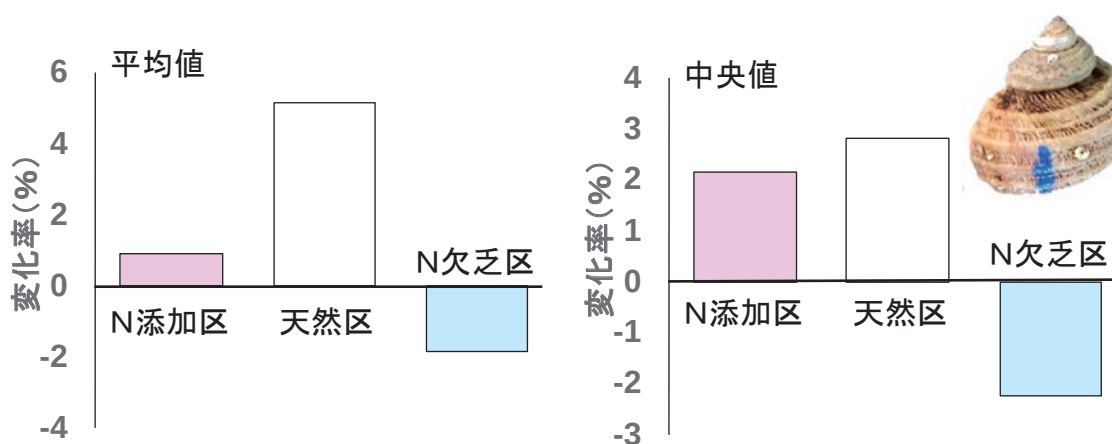


図7 N添加クロメ，天然クロメ，N欠乏クロメを餌料としたサザエの湿重量変化率.

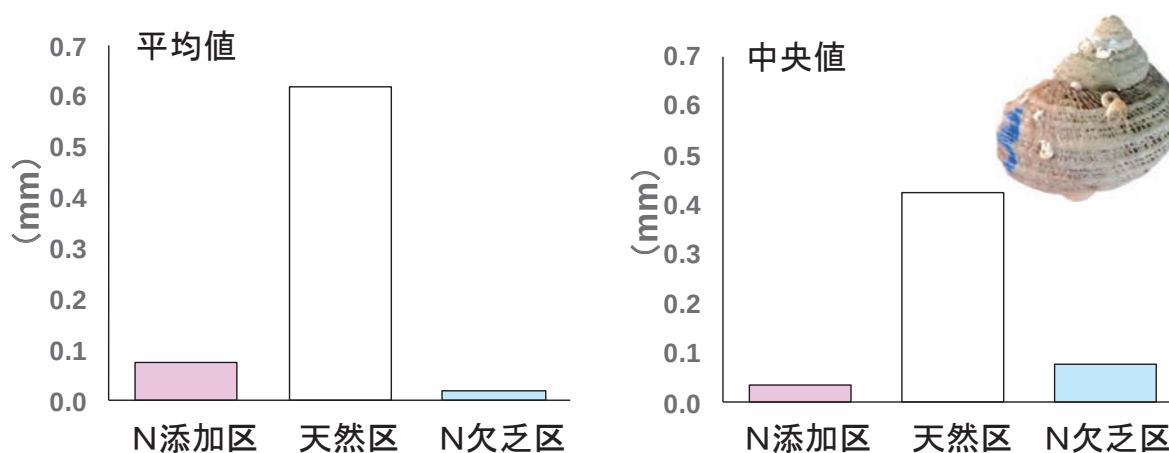


図8 N添加クロメ，天然クロメ，N欠乏クロメを餌料としたサザエの最大殻高の差分.

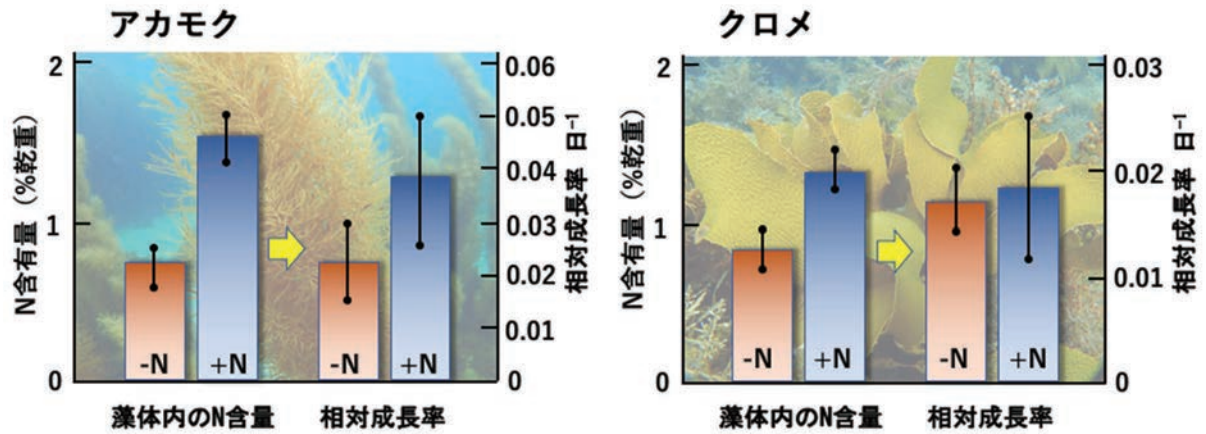


図9 アカモクとクロメの高栄養塩、低栄養塩下で培養した藻体内の窒素含量と、その後の相対成長率.

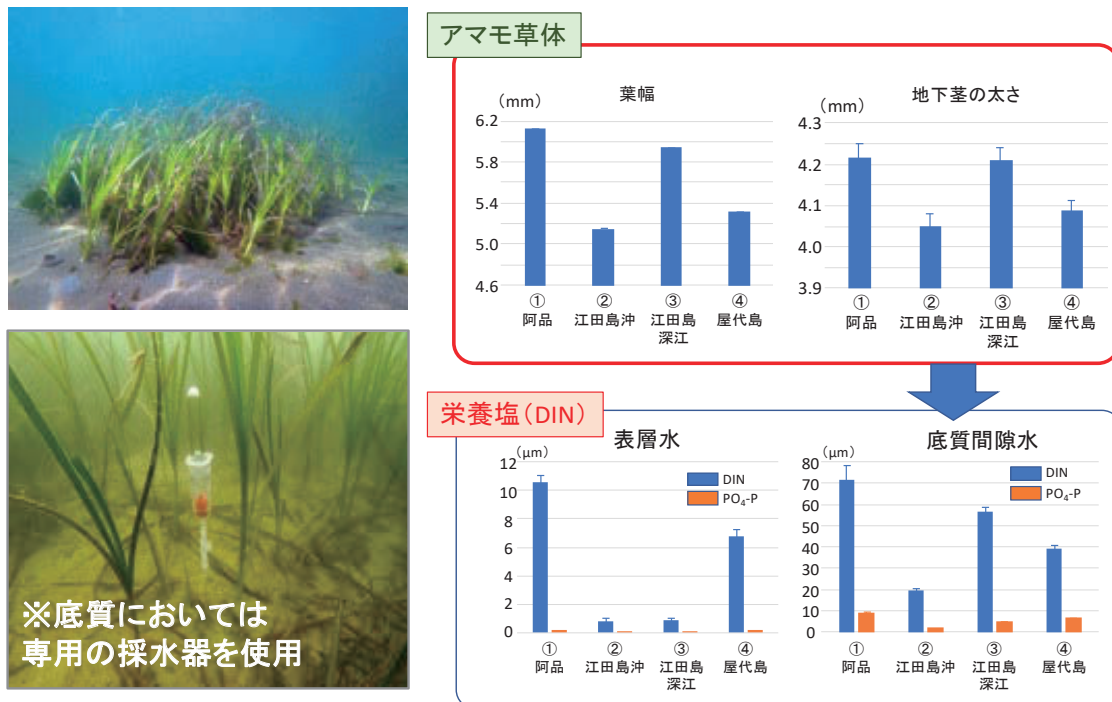
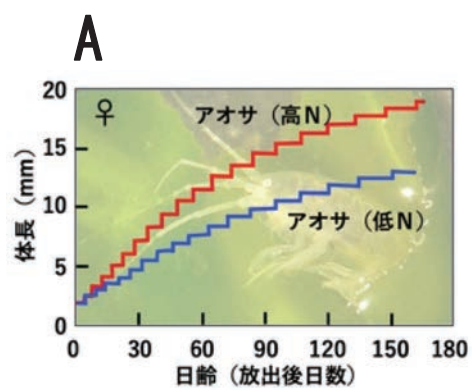


図10 広島湾におけるアマモ場と底質の間隙水採取の景観. アマモ草体 (葉幅・地下茎の太さ) と栄養塩 (DIN) の関係.



B

	<i>n</i>	成熟日齢	成熟体長 (mm)	成熟率 (%)	抱卵率 (%)
アオサ (高N)	11	44.0±3.2	10.1±0.6	90.1	72.7
アオサ (低N)	13	85.0±5.8	10.5±0.4	53.8	7.7

図 11 高栄養塩・低栄養塩下のアナアオサを餌とした端脚類（ヨコエビ）の応答. A: 体長の変化. B: 成熟率及び抱卵率.

課題番号：I－1）－エ

課題名：栄養塩等の水質環境が植物プランクトン等の低次生産に及ぼす影響の解明

水産研究・教育機構 水産技術研究所
松原 賢，岡村知海，鬼塚 剛，阿部和雄

【背景・目的】

近年の瀬戸内海における漁業生産低迷の要因として、貧栄養化等の環境変化に伴う植物プランクトン等の低次生産の低下が指摘されているが、生産の質（種組成やサイズ組成）がどのように変化したか未だ不明な点が多い。植物プランクトンのうち、餌として重要な珪藻類については、播磨灘(Nishikawa et. al., 2010)や大阪湾(多田ほか, 2012)等で長期的に *Skeletonema* 属の優占度が低下したことが報告されているが、その原因は不明である。また、植物プランクトンのサイズ組成が長期的にどのように変化したか、情報がほとんどない。本研究では、瀬戸内海で *Skeletonema* 属が特異的に減少した要因を明らかにするために、*Skeletonema* 属を含む各種珪藻類の生理・生態特性を培養試験や現場観測により調べる。さらに、水質環境が植物プランクトン群集のサイズ組成に与える影響について、培養試験等で検討する。

【方法】

(1) *Skeletonema* 属が特異的に減少した要因の検討

ア) 珪藻類休眠期細胞の培養試験

陸域負荷の削減は、沿岸域に生息する生物の生産を特異的に低下させることが考えられる。本研究では、瀬戸内海で *Skeletonema* 属が特異的に減少した要因を検討するにあたり、「*Skeletonema* 属は沿岸域を生息域とする珪藻類である」という仮説の検証を行うことにした。対象とする珪藻類が好む環境条件を明らかにするためには、休眠期細胞の発芽と発芽した栄養細胞の増殖（以降、発芽・増殖）に好適な条件を調べることに有効である（Matsubara et al., 2022）。そこで、*Skeletonema* 属が沿岸域の特徴である“低塩分・低照度”を好んで発芽・増殖するか室内試験で調べた。試験には 2022 年 4 月に広島湾で採取した底泥試料を用いた。試験に先立ち、試料には *Skeletonema* 属および *Chaetoceros* 属の休眠期細胞が多量にかつ同程度含まれることを MPN 法にて確認した。5 か月以上冷暗所で保存した底泥試料を、塩分 5, 10, 15, 20, 25 および 30 の 6 段階に調整した改変 SWM-3 培地に懸濁し、20℃、光量子束密度 40 および 300 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 、明暗周期 12 hL : 12 hD の条件下で培養した。そして、培養 7 日目の底泥懸濁液中における各珪藻類の細胞密度を調べた (n=3)。

イ) 広島湾および備後灘における現場観測

これまでの瀬戸内海広域における珪藻休眠期細胞の分布調査の結果から、栄養塩濃度に大差がないにも関わらず、広島湾では *Skeletonema* 属が優占し、備後灘では *Skeletonema* 属ではなく *Chaetoceros* 属が優占する傾向が確認された。昨年度に引き続き本年度も、*Skeletonema* 属が好む環境特性を把握し、*Skeletonema* 属が特異的に減少した要因解明の一助とすべく、両海域において海洋観測を実施した。2022 年 5, 8 および 10 月に、広島湾の 6 定点および備後灘

の6定点(図1)において、原則として表層、1, 3, 5およびB-1 m層の採水と多項目水質計による水質の鉛直観測を行った。定点は河川水由来の低塩分水の拡がりを考慮して設定した。採水試料は研究室に持ち帰り、植物プランクトン組成の検鏡と栄養塩濃度分析に供した。なお、2023年1月中旬に広島湾で観測を行ったが、対をなす2023年1月下旬の備後灘における試料の分析が処理の都合上終了してないため(2022年2月21日現在)、本稿では2023年1月の両海域における観測結果は割愛する。

(2) 水質環境が植物プランクトン群集のサイズ組成に与える影響の検討

これまでの本事業における観測結果から、瀬戸内海では負荷削減に伴い、播磨灘や燧灘で長期的にマイクロプランクトン(>20 μm)の優占度が低下し、ナノプランクトン(2~20 μm)の優占度が上昇している可能性が示された。そこで、マイクロプランクトンとして珪藻類 *Skeletonema* sp.の培養株、ナノプランクトンとして珪藻類 *Cyclotella* sp.の培養株を用いて、窒素濃度がマイクロプランクトンおよびナノプランクトンの増殖に与える影響を室内試験で調べた。試験には2021年7~8月に広島湾より分離した *Skeletonema* sp.および *Cyclotella* sp.を用いた。いずれも有菌株であるが、継代培養中および試験中にバクテリアの増殖による白濁等は確認されなかった。25℃、光量子束密度 300 μmol/m²/s、明暗周期 12 hL : 12 hD の条件下で、*Skeletonema* sp.および *Cyclotella* sp.を窒素源無添加の改変 SWM-3 培地(塩分 20)にて増殖が停止するまで飢餓培養した。そして、飢餓培養したそれぞれの培養株を、硝酸ナトリウムにて DIN の濃度を 1, 2, 6, 11, 51 および 201 μM に調整した改変 SWM-3 培地(塩分 20)に接種し、飢餓培養と同様の水温、光条件下で増殖速度(μ, divisions/day)を調べた。得られた増殖速度から次式により増殖速度に対する DIN の半飽和定数 K_s (μM) を求めた。

$$\mu = \mu_m \times S / (K_s + S)$$

ここで、μ_mは最大増殖速度、Sは培養開始時の栄養塩濃度(μM)である。半飽和定数の算出にはグラフ作成・データ解析ソフト Origin (Origin Pro 2022, OriginLab, Massachusetts, USA)を用いた。なお、昨年度も同様の試験を実施したが、培地に使用した基礎海水が天然海水であったため、DINは5 μMが下限であった。本年度は、基礎海水として人工海水を使用したので、DINの最低濃度として1 μMの設定が可能となった。

【結果】

(1) *Skeletonema* 属が特異的に減少した要因の検討

ア) 珪藻類休眠期細胞の培養試験

図2に各光量子束密度、塩分条件下で海底泥を6日間培養した後に確認された *Skeletonema* 属および *Chaetoceros* 属の細胞密度を示す。本試験ではこれらの他、*Thalassiosira* 属や *Asterionellopsis* 属等の出現も確認されたが、ここでは優占していた *Skeletonema* 属および *Chaetoceros* 属について示す。*Skeletonema* 属の発芽・増殖に好適な塩分条件は光量子束密度にかかわらず10~20であることが確認された。一方、*Chaetoceros* 属の発芽・増殖に好適な塩分条件は光量子束密度 300 μmol/m²/s では塩分 30、光量子束密度 40 μmol/m²/s では塩分 25~30であった。次に、各光量子束密度および塩分条件下における発芽・増殖ポテンシャルの相対値 P_{LS} (%) を次式により算出した結果を図3に示す。

$$P_{LS} = D_{LS}/D_{MAX} \times 100$$

ここで、 D_{LS} は各光量子束密度、塩分条件下における細胞密度、 D_{MAX} は *Skeletonema* 属においては光量子束密度 300 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 、塩分 15 における細胞密度、*Chaetoceros* 属においては光量子束密度 300 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 、塩分 30 における細胞密度である。*Skeletonema* 属の 40 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ における P_{LS} の最大値は塩分 20 における 17% であり、*Chaetoceros* 属における 14% (塩分 25~30) と同程度であった。本試験の結果、*Skeletonema* 属は低照度条件下における発芽・増殖が他種 (*Chaetoceros* 属) よりも特に優れているわけではないが、塩分に対する発芽・増殖特性から塩分の低い環境 (=沿岸域) を好む生物であることが考えられた。

イ) 広島湾および備後灘における現場観測

図 4 に 2022 年 5、8 および 10 月の広島湾および備後灘の表層にて確認された珪藻類の組成を示す。5 月の観測の結果、広島湾では全ての定点で *Skeletonema* 属が優占したが、備後灘では Stn. B1 を除き *Leptocylindrus* 属が優占した。この傾向は昨年度も同様であった。一方、8 月の観測では広島湾では *Chaetoceros* 属が優占しており、*Skeletonema* 属は備後灘で優占していた。10 月の観測では広島湾ではほとんどの定点で *Skeletonema* 属が優占したが、備後灘では *Coscinodiscus* 属が優占する定点が多かった。昨年度の観測も含めて、広島湾において *Skeletonema* 属以外の種が優占したのは今年度の 8 月の観測のみである。一方、備後灘で *Skeletonema* 属が優占した観測は昨年度分も含めても今年度 8 月と昨年度 10 月の 2 回に限られ、備後灘よりも広島湾のほうが *Skeletonema* 属の優占しやすい海域であることが強く示唆された。表 1 に各月の両海域における表層の水温および塩分と水柱あたりの栄養塩濃度の全定点平均値を示す。塩分に着目すると、備後灘の表層塩分は常に 31 を上回っていたが、広島湾の表層塩分は常に 30 を下回っており、広島湾は低塩分傾向であることが確認された。DIN については広島湾では 1.59~4.20 μM 、備後灘では 0.79~4.03 μM の範囲であり、全体としては両海域に大きな差はなく、5 月の値が低いことが共通していた。DIP については広島湾では 0.21~0.41 μM 、備後灘では 0.17~0.46 μM の範囲であり、こちらも両海域に大きな差はなかった。DSi については広島湾では 7.78~30.25 μM 、備後灘では 5.05~28.19 μM の範囲であり、広島湾では 5 月、備後灘では 10 月の値が最も低かった。海域の栄養塩濃度は、河川等からの供給や一次生産者による消費のタイミングで特に表層付近で大きく変動する。そこで本研究では、水柱当たりの平均値を算出することで両海域の栄養塩レベルを比較した。その結果、両海域に大きな差はなかったことから、広島湾と備後灘の栄養塩レベルは同程度であったと判断した。昨年度および本年度の観測結果から、広島湾は *Skeletonema* 属が優占しやすい海域であり、その特徴として、低塩分傾向であることが示された。

室内培養試験と現場観測の結果を総合すると、*Skeletonema* 属は塩分の低下しやすい沿岸域を主な生息域とすることが示された。最近行われた長期データを用いた解析で、負荷削減に伴い、瀬戸内海の栄養塩濃度は塩分 30 未満の沿岸域で大きく低下していることが明らかになった (梅原, 2022)。陸域負荷の削減により、*Skeletonema* 属の生息域である沿岸域の栄養塩濃度が特に低下したことが、瀬戸内海で長期的に *Skeletonema* 属の優占度が低下した要因の一つと考えられた。

(2) 水質環境が植物プランクトン群集のサイズ組成に与える影響の検討

図 5 に、各 DIN 濃度条件下における *Skeletonema* sp. および *Cyclotella* sp. の増殖速度を示す。*Skeletonema* sp. については、11 μM で増殖速度はほぼ飽和し、半飽和定数 K_s は 1.01 μM と計算された。*Cyclotella* sp. についても、11 μM で増殖速度はほぼ飽和し、半飽和定数 K_s は 0.25 μM と計算された。両者における K_s の比較から、*Skeletonema* sp. のほうが *Cyclotella* sp. よりも活発な増殖のために高い窒素濃度を必要とすることが示され、負荷削減によりナノプランクトン (*Cyclotella* sp.) よりもマイクロプランクトン (*Skeletonema* sp.) の増殖が強く抑制されることが示された。本試験の結果は、負荷削減により植物プランクトン群集のサイズ組成が小さくなったことを示す現場観測結果を支持するものである。

【5 ヶ年の取りまとめ】

本課題を 5 ヶ年実施したことで、陸域負荷削減により *Skeletonema* 属の生息域である沿岸域の栄養塩濃度が特に低下したことが、瀬戸内海で *Skeletonema* 属の優占度が特異的に低下した要因の一つであることが示された (令和 2~4 年度成果)。また、瀬戸内海では長期的に一次生産者に占めるマイクロプランクトンの割合が低下している可能性が示され (平成 30 年~令和 2 年度成果)、陸域負荷削減による DIN の低下がその要因の一つであることが示された (令和 3~4 年度成果)。*Skeletonema* 属と *Chaetoceros* 属を比較すると、瀬戸内海の小型魚類の重要な餌であるカイアシ類 *Calanus sinicus* の餌としては *Skeletonema* 属が好適であるとの報告 (Li et al., 2006) があり、*Skeletonema* 属の減少は *C. sinicus* の生産に悪影響を与えた可能性がある。また、カイアシ類の餌の最適サイズは前体長の 2~5% である (大塚・西田, 1997) ことから、前体長が 1,000 μm 以上である *C. sinicus* (Uye, 1982) の最適な餌は 20 μm 以上のマイクロプランクトンであると考えられ、瀬戸内海におけるマイクロプランクトンの減少もまた、*C. sinicus* の生産に悪影響を与えたかもしれない。今後は、餌となる植物プランクトンの種やサイズの変化が、各種動物プランクトンに与える影響を詳細に調べる必要がある。

【参考文献】

- Li J, Sun S, Li CL, Zhang Z, Tao ZC. Effects of single and mixed diatom diets on the reproduction of copepod *Calanus sinicus*. *Acta hydrochimica et hydrobiologica*, 34, 117-125, 2006.
- Matsubara T, Shikata T, Sakamoto S, Ota H, Mine T, Yamaguchi M. Effects of temperature and salinity on rejuvenation of resting cells and subsequent vegetative growth of the harmful diatom *Asteroplanus karianus*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 550, 151719, 2022.
- Nishikawa T, Hori Y, Nagai S, Miyahara K, Nakamura Y, Harada K, Tanda M, Manabe T, Tada K. Nutrient and Phytoplankton Dynamics in Harima-Nada, Eastern Seto Inland Sea, Japan During a 35-Year Period from 1973 to 2007. *Estuaries and Coasts*, 33, 417-427, 2010.
- 大塚攻, 西田周平. 海産浮遊性カイアシ類 (甲殻類) の食性再考. 海の研究, 6, 299-320, 1997.
- 多田邦尚, 山本圭吾, 一見和彦, 山田真智子, 西川哲也, 樽谷賢治, 山口一岩. 大阪湾の植物プランクトンの季節・経年変動とその要因. 瀬戸内海, 64, 75-77, 2012.
- 梅原亮. 岸沖の視点で見た瀬戸内海の栄養塩環境の変化. 第 21 回広島湾研究集会講演要旨集, 2022.
- Uye S. Length-weight relationships of important zooplankton from the Inland Sea of Japan. *Journal of the Oceanographical Society of Japan*, 38, 149-158, 1982.

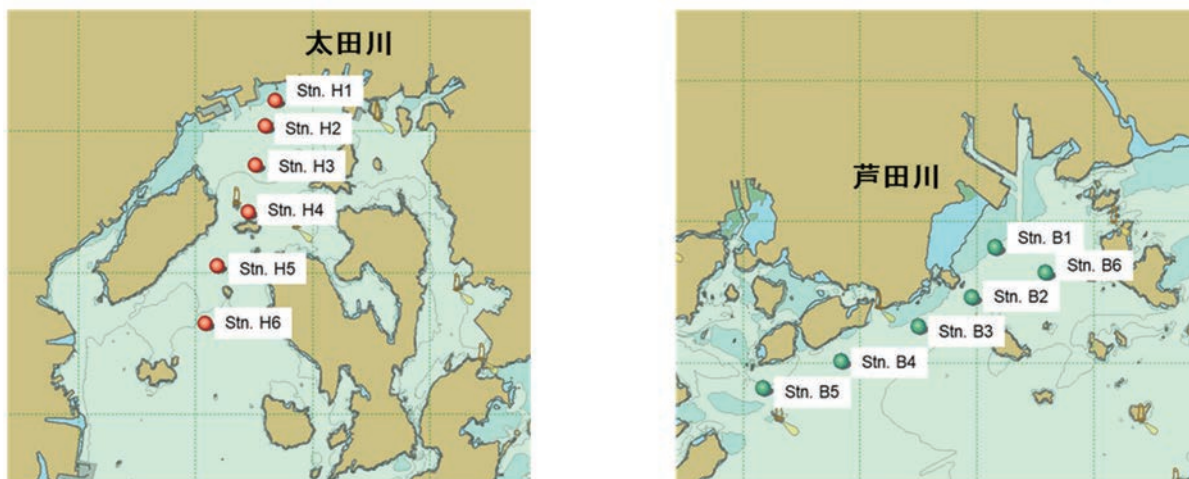


図1 観測定点図 (左：広島湾，右：備後灘)

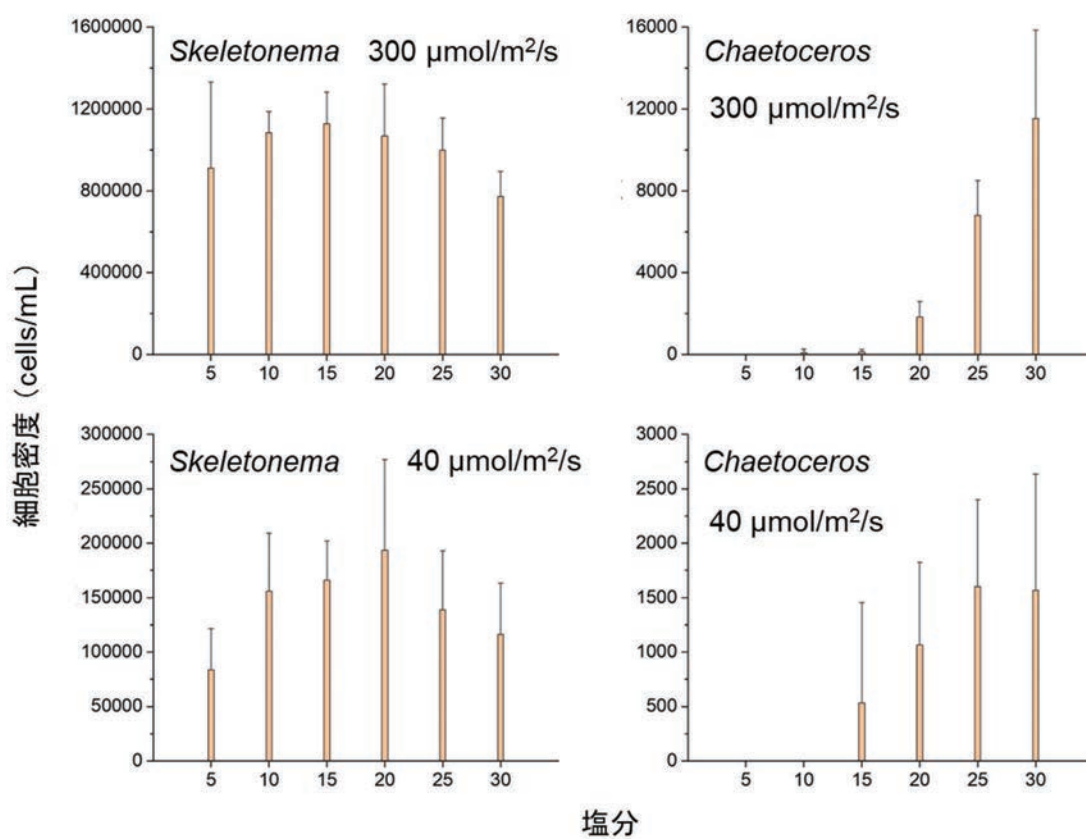


図2 各光量子束密度・塩分条件下で休眠期細胞から発芽・増殖した *Skeletonema* 属および *Chaetoceros* 属の細胞密度 (培養開始6日後)