

陸奥湾における窒素・炭素安定同位体比を用いた食物網解析

吉田 達・小坂 善信・篠原 由香・鹿内 満春

1 目 的

ホタテガイの餌料は植物プランクトンやデトライタスと一般的には言われているが、これは飼育試験や胃内容物調査に基づいたものである。近年、窒素と炭素の安定同位体比を用いた食物網解析に関する研究が数多く行われていることから、同手法を用いてホタテガイの餌料を明らかにするとともに、ホタテガイを中心とした陸奥湾の食物網解析を行うものである。

2 試験研究方法

(1) サンプルの採取と保存

川内地区において、平成16年2月2～3日にかけて図1に示す地点において、下記のとおりサンプルを採取して、保存した。

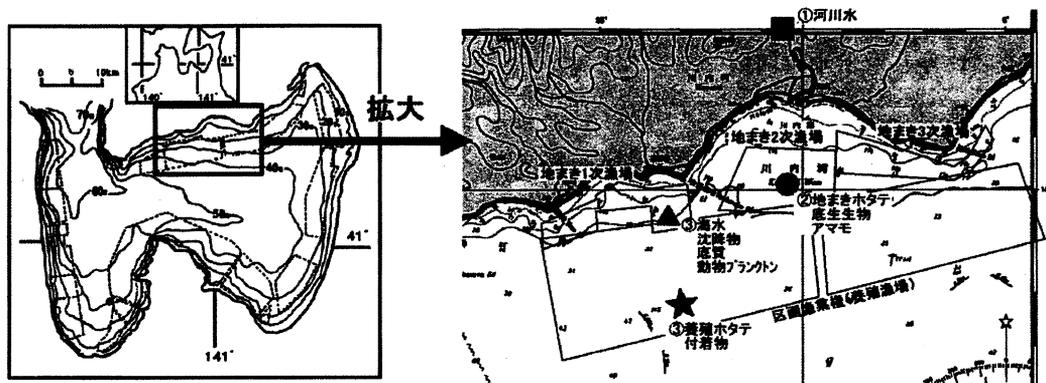


図1 窒素・炭素安定同位体比を用いた食物網解析のサンプリング地点

① ホタテガイ、付着物、底生生物

潜水による地まきホタテガイ操業中に採捕した地まきホタテガイ（3年貝）、底生生物（ニホンヒトデ：腕長20cm、マナマコ：体長16cm）を入手した。また、養殖漁業者から、養殖ホタテガイ（丸籠2年貝）、付着物（養殖籠に付着していたムラサキイソコ：殻長2～3cm、キヌマトイガイ：殻長5～10mm、ユーレイボヤ：被囊長5～8cm）を入手した。

ホタテガイは貝柱を、付着物はそのまま、ニホンヒトデは生殖巣を、マナマコは可食部を、個別にアルミ фольに包んで-30℃で凍結保存した。

② 海藻

地まきホタテガイ操業中に漁場内のアマモを採取してもらい、アルミ фольに包んで-30℃で凍結保存した。

③ 海水、河川水中の粒状有機物

海水は、宿野辺沖の水深20m地点でバンドーン採水器により水深15mから2リットルを採取し、動物プランクトンネット（100 μ m）で濾過後、1 ℓ ポリカーボネートビンに詰めた。河川水は川内川矢木沢合流点にて、1 ℓ ポリカーボネートビンに直接採水した。

濾過器具を3% NaCl溶液で洗浄し、炭素安定同位体比用（C用）は海水約100mlを、窒素安定同位体比用（N用）に約1000mlをGF/Fフィルターを用いて濾過した。ろ過終了直前に1 N塩酸を滴下し、海水に含まれる無機炭素を除去し、濾過後はペトリスライドに入れて-30℃で凍結保存した。

④ 動物プランクトン

上記、海水採水地点において、北原式定量ネット（目合XX13）で海底上3 mから鉛直曳きして採取し、200mlサンプルビンに入れた。150 μ mメッシュのフィルターを用いて3% NaCl溶液で良く洗浄し、動物プランクトン表面に付着している有機物を除去し、4% KCl溶液を添加して麻酔をかけた後、実体顕微鏡を用いて200 μ m以上のコペポータをGF/Fフィルター上にソーティングした。ソーティング終了後、ろ過装置にGF/Fフィルターをセットし、3% NaCl溶液と1 N塩酸を用いて無機炭素を除去した。フィルターは乾燥したサンプルが飛散しないように2つ折りにして、ペトリスライドに入れて-30℃で凍結保存した。

⑤ 底質中の粒状有機物

上記、海水採水地点において、エクマンバージ採泥器を用いて底質を採取した。底質を1000mlのメスフラスコに移して3% NaCl溶液を加え攪拌、静置後、砂粒が沈殿するのを確認してから、上澄みを排出した。この洗出しを3回繰り返したあと、上記③と同様にC用10ml、N用100mlを濾過して-30℃で冷凍保存した。

⑥ 沈降物中の粒状有機物

上記、海水採水地点において、セジメントトラップ（海底上3 m）を24時間設置して沈降物を採取し、上記③と同様にC用10ml、N用100mlを濾過して-30℃で冷凍保存した。

⑦ 24時間培養した海水（植物プランクトン）

1000mlポリカーボネートビンに海水を詰め、基礎生産量調査の擬似現場法による培養を行い、上記③と同様にC用100ml、N用1000mlを濾過して-30℃で冷凍保存した。

なお、培養前後のクロロフィル a 量の変化を把握するために、試水1000mlをワットマンGF/Cフィルター上にそれぞれ濾過して、凍結保存後、アセトンで抽出して蛍光法（日本分光FP-750）で測定した。

(2) 分析

① 前処理

生物サンプルは、小指の爪くらいのポリウムをアルミカップに入れて、乾燥機（IWAKI AFO-51）を用いて80℃で1日乾燥させた。その後、すり鉢と乳棒ですり潰して粉末化し、FOLCH法によりクロロホルム-メタノール（2：1）溶液を用いて脱脂処理を行った。脱脂処理後のサンプルは2mlサンプルチューブに入れてデシケータ内で保管した。フィルターサンプルは、乾燥機（IWAKI AFO-51）を用いて80℃で1日乾燥させ、ペトリスライドに入れてデシケータ内で保管した。

② 分析

生物サンプルは、スズカップ（小）にC用は0.06~0.1mg、N用は0.8~1 mgを取り、マイクロ電子天秤（SartoriusMC5）を用いて秤量した。1サンプルにつきC用2個とN用2個の計4個を作成した。

フィルターサンプルは、ポリウムを少なくするために、フィルターろ過部分をピンセットで薄く剥ぎ取り、スズカップ（大）に入れた。なお、フィルター毎に濃度が異なるため、C用はフィルターを1枚分入れたが、N用はフィルターろ過部分の濃さを見ながら調整し、1/3~2/3をスズカップに入れた。

分析は質量分析計 (Finnigan MATDELTA PLUS) を用いて、 $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{15}\text{N}$ を分析した。

3 結果と考察

各サンプルの分析結果を表1、図2に示した。

各サンプルとも基本的にはC用、N用を2回ずつ測定したが、サンプルが少ない場合は1回のみとした。

また、1回目と2回目の分析誤差が大きい場合は、3回目の測定を実施したが、 $\delta^{13}\text{C}$ のコペポータと海水のフィルターサンプルは、サンプルがなかったため3回目は分析できなかった。また、 $\delta^{15}\text{N}$ の海水、24時間培養後の海水、河川水のフィルターサンプルは、測定時の電圧が低かったことから、ろ過する試水量が少ないものと考えられた。

また、採水直後の海水と24時間培養後の海水のクロロフィル a 量は、それぞれ $1.30 \mu\text{g}/\ell$ から $0.78 \mu\text{g}/\ell$ に減少していたことから、植物プランクトンのサンプルとして代用できるほどの増殖がなかったものと推定された。今後は植物プランクトン分析用のサンプルについて、単離した種を透析膜に入れて現場で培養する手法¹⁾等を検討する必要がある。

表1 陸奥湾におけるN-C安定同位体比分析結果

種類	$\delta^{13}\text{C}$				備考
	1回目	2回目	3回目	平均値	
養殖ホタテ	-17.11	-17.12		-17.12	
地まきホタテ	-16.64	-16.57		-16.61	
養殖付着物(ムラサキイソ)	-18.22	-18.48		-18.35	
生物サンプル	養殖付着物(キヌマトイガイ)	-17.72	-17.92		-17.82
	養殖付着物(ユレイボヤ)	-18.75	-18.71		-18.73
	ヒトデ	-16.63	-16.72		-16.68
マナマコ	-17.85	-17.56		-17.71	
アマモ	-12.84	-11.75	-11.61	-11.68	2回目と3回目の平均値
沈降物	-20.29	-20.48		-20.39	
海底の底質	-21.20	-20.95		-21.08	
フィルターサンプル	コペポータ	-18.13	-19.96		-19.05
	海水(中層15m層)	-23.79	-22.99		-23.39
	24時間培養後の海水(植物プランクトン)	-23.13	-23.02		-23.08
	河川水	-25.76	-26.13		-25.95

種類	$\delta^{15}\text{N}$				備考
	1回目	2回目	3回目	平均値	
養殖ホタテ	8.57	8.29		8.43	
地まきホタテ	7.98	7.81		7.90	
養殖付着物(ムラサキイソ)	6.89	6.64		6.77	
生物サンプル	養殖付着物(キヌマトイガイ)	7.11	6.87		6.99
	養殖付着物(ユレイボヤ)	8.31	7.47		7.89
	ヒトデ	8.92	8.36		8.64
マナマコ	6.90	6.72		6.81	
アマモ	4.73	3.80		4.27	
沈降物	5.72	4.88		5.30	
海底の底質	4.71	4.25		4.48	
フィルターサンプル	コペポータ	8.40		8.40	
	海水(中層15m層)	3.23	4.69		3.96
	24時間培養後の海水(植物プランクトン)	4.64		4.64	
	河川水	3.64		3.64	

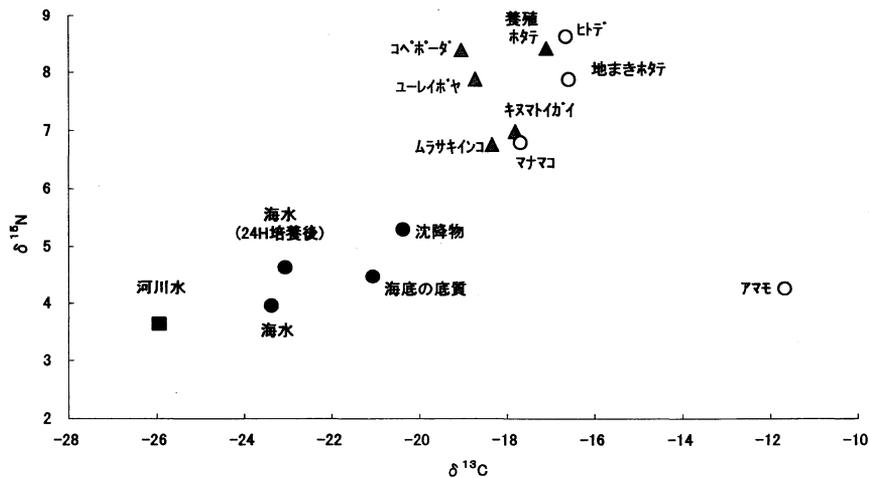


図2 陸奥湾における窒素・炭素安定同位体比分析結果

一般的に、 $\delta^{13}\text{C}$ は栄養段階が1レベル上昇すれば約1%、 $\delta^{15}\text{N}$ は約3~4%上昇することが知られている²⁾。

今回の分析で、河川水由来の有機物の $\delta^{13}\text{C}$ は-26.0%であり、ホタテガイの-16.6~17.1%と比べるとかなり低い値を示していた。厚岸湖における河川水由来の有機物とアサリの $\delta^{13}\text{C}$ にも同様の傾向が見られる³⁾ことから、河川水由来の有機物はホタテガイの直接の餌料ではないものと考えられた。また、アマモの $\delta^{13}\text{C}$ も-12%であり、ホタテガイと比べるとかなり離れていることから、同様にホタテガイの直接の餌料ではないものと考えられた。さらに、コペポータの $\delta^{15}\text{N}$ は8.4%であり、ホタテガイの7.9~8.4%とほぼ同じ値であった。このことから、コペポータとホタテガイの栄養段階は同じであり、コペポータはホタテガイの餌料ではないものと考えられた。セジメントトラップで採集された有機物の $\delta^{15}\text{N}$ は5.3%であり、ホタテガイの方が約3%高く、窒素については一般則があてはまるようにみえる。 $\delta^{13}\text{C}$ は-20%であり、ホタテガイの方が約3%高く、一般則より高く、矛盾がある。しかし、海水や底土の値よりもホタテガイの食物源としての可能性は高く、沈降物中の有機物の一部も栄養源にしていることが考えられる。

ホタテガイの餌料は一般的には植物プランクトンやデトライタスと言われているが、植物プランクトンの $\delta^{13}\text{C}$ は-19~23%²⁾であり、今回のホタテガイの値と比べるとかなりの差が見られた。France⁴⁾は浮遊珪藻の $\delta^{13}\text{C}$ を約 -22 ± 3 (SD)%、底生珪藻の $\delta^{13}\text{C}$ を約 -17 ± 4 (SD)%、伊藤¹⁾は浮遊珪藻の $\delta^{13}\text{C}$ を-18~21%、底生珪藻の $\delta^{13}\text{C}$ を-11~18%と、いずれも底生珪藻の $\delta^{13}\text{C}$ は浮遊珪藻に比べて高いことを報告している。また、ホタテガイの養殖籠、及び胃内容物には多数の底生珪藻が確認されている(伊藤未発表)。また、ホタテガイのような二枚貝が、これまでいわれているような一般則よりも炭素安定同位体比に関する同位体効果が高い可能性もある。

こうしたことから、ホタテガイは浮遊珪藻と底生珪藻の両者を捕食、吸収している可能性が考えられた。これについては、今後、①浮遊珪藻、底生珪藻の時期別出現量の調査、②浮遊珪藻、底生珪藻のN-C安定同位体比分析、③ホタテガイの同位体効果の測定、④ホタテガイの胃内容物調査等を行い明らかにしていく必要がある。

また、養殖付着物のムラサキインコ、キヌマトイガイ、底生生物のマナモコは、分析値が比較的近いことから、栄養段階(餌料)がすべて同じである可能性が考えられた。しかし、ホタテガイと比べると若干ではあるが低い位置にあることから、植物プランクトン以外に、ホタテガイの排泄物(同位体比は数%低い)等も餌料として利用している可能性が考えられた。これについても、①養殖付着物、底生生物の胃内容物調査、②ホタテガイ排泄物の組成とN-C安定同位体比分析、③沈降物の組成等を行い明

らかにしていく必要がある。

4 謝 辞

本研究にあたり、サンプリングから分析に対する御指導、御協力いただいた東北大学大学院農学研究科水圏資源生態学分野の佐々木浩一助教授、伊藤絹子助手に心から感謝申し上げます。

5 参 考 文 献

- 1) 伊藤絹子 (2002) : 浮遊性および底生性珪藻類の炭素・窒素安定同位体比について. 陸水学雑誌, **63**, 166-168.
- 2) 石樋由香 (2003) : 安定同位体を使って探る藻場の食物網. 月刊養殖, **506**, 86-88.
- 3) 飯泉仁ら (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.
- 4) R.L.France (1995) : Carbon-13 enrichment in benthic compared to planktonic algae: foodweb implications. MARINE ECOLOGY PROGRESS SERIES, **124**, 307-312.