

令和4年度伊藤光昌氏記念学術助成金(研究助成)成果報告書

研究課題番号	R4-R3
研究課題名	有明海奥部海域における尿素の分布とシアノバクテリアによる尿素利用能の評価
研究代表者	高巢 裕之
所属・職 (または学年)	長崎大学 総合生産科学域・准教授

背景

有明海奥部海域では、赤潮の発生が増加および長期化傾向にあり、たびたび漁業に被害が及んでいる。当該海域では赤潮の発生に伴い、無機態窒素(DIN)が速やかに枯渇する傾向にあるため(李ら, 2016; Takasu and Uchino, 2021), 植物プランクトンは主に窒素制限下にあると考えられる。そのため、DINの枯渇に続いて赤潮の消長が生じるはずであるが、当該海域では、DINが枯渇しても、赤潮(高クロロフィル a (chl a)水塊)が長期に渡り発生し続ける(李ら, 2016; Takasu *et al.*, 2022)。一方で、海水中には、DINに匹敵する濃度の溶存有機態窒素(DON)が存在しており、これが細菌によって分解される際に再生するDINが、赤潮の長期化を助長する可能性も指摘されている(Takasu *et al.*, 2019; Takasu and Uchino, 2021)。また、有明海奥西部に位置する諫早湾の植物プランクトン群集にDONの主要な成分のひとつである尿素を添加した場合、その成長速度は、DINを添加した場合の成長速度を凌駕することが確認されている(Takasu *et al.*, 2022)。そのため、有明海奥部海域における赤潮の長期化には尿素をはじめとしてDONの供給が鍵を握っている可能性がある。しかしながら、有明海における尿素の分布に関する情報はほとんどない。そのため、実際に尿素が赤潮の発生や長期化に寄与しているのかは不明である。尿素は化学肥料中の窒素の40%を占めると試算されていること(Matthews, 1994)、そして有明海奥部の流入河川下流域には農業地帯が広がっていることや、諫早湾に流入する干拓調整池の排水は農業排水に由来することを考慮すると、当該海域には高濃度

の尿素が流入している可能性がある。そこで、本研究ではまず、(1)有明海奥部海域における尿素の濃度分布を調査した。また、先行研究において、尿素は植物プランクトンの中でも特にシアノバクテリアの増殖を助長することが示唆されたため、(2)シアノバクテリアと尿素の分布から、シアノバクテリアによる尿素の利用についても考察した。さらに、(3)諫早湾調整池由来のDONを濃縮し、その湾内の植物プランクトンによる利用能を評価した。

方法

有明海奥西部の諫早湾を調査対象として、湾口から湾奥にかけて7測点を設け、2022年4月から8月にかけて観測を実施した。各測点では、多項目水質計による水温、塩分の観測を行った。また、バンドーン採水器により、観測点で表層から採水を行った。尿素、DIN、無機態リン(DIP)分析用の試料は焼成済みのガラス繊維濾紙により濾過を行い、濾液は高密度ポリエチレンボトルに入れ、分析まで -20°C で保存した。尿素は直接分析法(Revilla *et al.*, 2005)を用いて測定した。アンモニア態窒素はインドフェノール法(Sagi, 1966)、硝酸・亜硝酸態窒素は銅-カドミウム還元・ナフチルエチレンジアミン法(Wood *et al.*, 1967)、リン酸態リンはモリブデンブルー法(Murphy and Riley, 1962)で測定を行い、アンモニアと硝酸・亜硝酸濃度の合算値をDIN濃度、リン酸態リン濃度をDIP濃度とした。Chl a 測定用として褐色ボトルに採取した試料は、 $0.7\ \mu\text{m}$ 孔径のガラス繊維フィルターと $2.0\ \mu\text{m}$ 孔径のポリカーボネートフィルターにより濾過した。それぞれのフィルターに捕集されたプランクトン細胞

から *chl a* を抽出し、Welschmeyer (1994) の方法に従い測定した。0.7 μm のフィルターの *chl a* 濃度から 2.0 μm のフィルターの *chl a* 濃度を差し引いたものを、ピコ植物プランクトン画分の *chl a* 濃度とした。シアノバクテリア計数用の試料は、15 mL 遠心チューブに採取し、20% グルタルアルデヒド溶液を終濃度 1% になるように添加して細胞を固定した。シアノバクテリアの細胞数を蛍光顕微鏡下で計数した。添加実験のため、2022 年 7 月と 8 月に調整池水から限外濾過法により DON を回収・濃縮し、それぞれを 8 月と 11 月に諫早湾から採取した海水に添加・培養し、培養前後の *chl a* 濃度の変化から植物プランクトンの成長速度を算出した。また、DON 添加による効果を評価するため、DON 無添加系も準備し、DON 添加系における植物プランクトンの成長速度と比較した。

結果・考察

DIN 濃度は 4 月に最も高く(最大値, 6.41 $\mu\text{mol L}^{-1}$; 中央値, 1.05 $\mu\text{mol L}^{-1}$)、夏場にかけて減少する傾向が見られ、6 月と 8 月の観測時にはほとんどの測点で枯渇状態 (0.1 $\mu\text{mol L}^{-1}$ 以下) であった。尿素濃度は全測点で調査期間を通して 1 $\mu\text{mol L}^{-1}$ を超えることはなく低濃度であったが、6 月と 8 月には多くの地点で DIN の濃度が枯渇状態であったため、尿素の濃度が DIN を上回る測点も多かった。DIN/DIP は調査期間を通してレッドフィールド比よりも低く、全域で植物プランクトンは窒素制限下にあったことが示唆された。Chl *a* 濃度は全測点で調査期間を通して 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ を超えており、DIN が枯渇状態であった夏場においても中央値で 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ を超えていた。全 *chl a* 濃度に対するピコ植物プランクトン画分の *chl a* 濃度の占める割合は 4.71–38.2% の範囲で変動しており (中央値, 22.6%)、夏場に高くなる傾向が見られた。顕微鏡観察の結果、ほぼ全てのピコ植物プランクトン細胞は、その蛍光特性から *Synechococcus* sp. (シアノバクテリア) であることが示唆された。 *Synechococcus*

sp. の細胞数は、夏場に急激に増加し、最大で $1.9 \times 10^6 \text{ cells mL}^{-1}$ に達した。一般に、シアノバクテリアは貧栄養海域において優占し、栄養塩濃度の増加とともにその現存量は減少すると考えられてきた (Marañón, 2009)。本海域は富栄養海域に分類されるため、植物プランクトン生物量に対するシアノバクテリアの寄与は無視できるものとして、これまで全く情報がなかったが、本研究の結果から、特に夏場において植物プランクトン生物量に対するシアノバクテリアの寄与は無視できないことが明らかとなった。全 *chl a* 濃度、ピコ植物プランクトン画分の *chl a* 濃度、*Synechococcus* sp. の細胞数のいずれの項目も、DIN や尿素の濃度と有意な相関は見られなかった。しかしながら、DIN 枯渇下にも関わらず、全 *chl a* 濃度も、*Synechococcus* sp. の細胞数およびそれに由来する *chl a* 濃度が高い状態が維持されていたことから、これらは尿素以外の DON を窒素源として生物量を維持していた可能性もある。実際、調整池から回収・濃縮した DON を海水に添加した実験では、濃縮 DON 中の全窒素に占める尿素の割合は 2% 程度であったが、DON 無添加系に比べて DON 添加系では、培養後の全 *chl a* 濃度とピコ植物プランクトン画分の *chl a* 濃度の増加が著しかった。そのため、諫早湾においては、DIN 枯渇下においても、尿素以外の DON が、シアノバクテリアを含む植物プランクトンの成長を支え、赤潮の長期化に関与している可能性がある (投稿中)。現在、DON 濃度と植物プランクトンの分布の関係を解析中である。

謝辞

伊藤光昌氏研究助成金の援助に対し、この場を借りて深く御礼申し上げます。

本研究の成果の公表

Takasu *et al.* (2023) High contribution of picophytoplankton to phytoplankton biomass in a shallow, eutrophic coastal sea. *Marine Environmental Research*, 184, 105852.