ヤマトオサガニの造巣活動に伴う底質から水中へのDIN回帰と藻類による固定

DIN Fixation by Macroalgae and Release from Sediment by the Burrowing *Macrophthalmus japonicus*

大谷 壮介¹・石田 達憲²・山中 亮一³・上月 康則⁴

Sosuke OTANI, Tatsunori ISHIDA, Ryoichi YAMANAKA and Yasunori KOZUKI

The relationship burrows of *Macrophthalmus japonica* and utilization DIN by microphytobenthos in river mouth tidal flat was evaluated. Seasonal variation and temporal variation about DIN for one tide were investigated in the crab burrows. Though dissolved oxygen decreased during ebb tide for respiration by crab and organic decomposition, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ in the burrows increased for metabolism by crab and elution from wall surface. Burrows supplied DIN for tidal flat area in flood tide and microphytobenthos efficiently assimilated DIN. It found that burrows served DIN for microphytobenthos as fertilizer application.

1. 緒論

干潟に生息する多くの底生生物は巣穴を利用した生活史を基本とし、現場では無数の巣穴が認められる。底生生物の巣穴に関しては従来、多毛類やアナジャコ等の巣穴構造 (Kikuchi, 1987; Kinoshita, 2002) や物質循環への影響 (Kristensen and Blackburn, 1987) は示されているが、スナガニ類を対象とした検討は今だ見当たらない。著者らはこれまでに比較的大型の底生生物で生物攪拌量も大きく、多くの泥質干潟で優占するヤマトオサガニに着目して、造巣活動に伴う物理的な生物攪拌作用について定量的に明らかにしてきた (大谷ら, 2009)。また、室内実験および現地実験 (大谷ら, 2007)、二潮汐という短時間 (大谷ら, 2010) においてヤマトオサガニとその餌資源である底生微細藻類の量・質的変動を明らかにしてきた。このようにヤマトオサガニによる底生微細藻類の利用および底生微細藻類量に及ぼす影響を示してきたが、餌資源である底生微細藻類が栄養塩を摂取・利用する過程までは明らかになっていない。海産性藻類は栄養塩の中でも $\text{NH}_4^+\text{-N}$ を好んで利用することから (Goldman and Glibert, 1982; McCarthy and Goldman, 1979)、干潟上でのDIN ($\text{NH}_4^+\text{-N}$, $\text{NO}_2^-\text{-N}$, $\text{NO}_3^-\text{-N}$) の変動や起源を把握することは、藻類による窒素の固定、干潟の浄化機能を試算する上では重要である。そこで本研究では、生物攪拌とDINの関係に着目して、ヤマトオサガニの造巣活動による巣穴からのDINの回帰量の定量化および底生微細

藻類による栄養塩の固定について考察した。

2. 実験・調査方法

(1) 底質の栄養塩の溶出量および同化量

調査は徳島県勝浦川河口干潟 (図-1) の泥質域 (約5000m²) において2007年3月から12月に行った。本調査域はヨシ原に囲まれており、波浪は数cm程度、潮流は小さい地点であった。また、当調査域の底質環境についてシルト・クレイ率は約40%、含水率は約28%、D.L.は0.90mであった。試料はコアサンプラー (Φ8cm) を用いて深さ10cmまでの底質を採取し、実験室に持ち帰って底質の栄養塩の溶出量および同化量の測定を行った。調査は現場において毎月2~3回の底質試料 (n=3) を採取し、実験に供した。実験にあたっては、底質試料の入ったコアサンプラーの周りにアルミホイルを巻き、横からの光を遮断した後、作成したチャンバー容器にセットした。底質が巻き上がらないように滅菌ろ過海水を注入し、密封した。その後、恒温水槽 (TAITAC製: CL-150F) にチャンバー容器を移し、実験中は底質に影響を与えないよう攪拌を行って、現地で測定した水温に恒温水槽を設定した。また、ハロゲンランプ (Dupla製: Electra)

1 正会員	博(工)	大阪府立大学工業高等専門学校助教
2 正会員	修(工)	エコ建設コンサルタント
3 正会員	博(工)	徳島大学大学院ソシオテクノサイエンス研究部講師
4 正会員	博(工)	徳島大学大学院ソシオテクノサイエンス研究部教授

図-1 調査地域

図-2 底質からのDIN溶出量 (a) および底生微細藻類によるDIN同化量 (b)

を用いて光量子は $220\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ とした。実験は好気条件下でチャンバー容器内の水温が安定した後、まず明条件で2時間の馴致を行った後に2時間培養を行って、実験開始と終了時の栄養塩濃度 ($\text{NH}_4^+\text{-N}$, $\text{NO}_2^-\text{-N}$, $\text{NO}_3^-\text{-N}$, $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$) の測定をオートアナライザー (BLTEC製: AACS-V) を用いて行った。また、暗条件でも同様の作業を行って、滅菌ろ過海水のみの実験系をコントロールとした結果を考慮して、底質からのDINの溶出量および底生微細藻類によるDINの同化量を算出した。実験終了後、Chl.a量 (Whitney and Darley, 1979) の測定を行った。なお、実験は少なくとも3サンプルを採取しており、以後のデータに関しても得られたデータは平均値で示している。

(2) ヤマトオサガニのアンモニア排出速度

現地で採取したヤマトオサガニを実験室にて24時間の絶食状態におき、糞の排泄を行った後、海水で満たした密閉した容器にヤマトオサガニを投入し、ストレス解消のため2時間放置した。その後、酸素飽和させた状態の滅菌ろ過海水と交換し、実験前後の $\text{NH}_4^+\text{-N}$ を測定して、アンモニア排出速度を算出した。実験条件は水温を30, 20, 10℃に設定し、測定は1時間とした。

(3) 巢穴水の栄養塩濃度および溶存酸素(DO)の測定

2010/8/7, 11/20, 2011/1/8, 5/3, 8/18の干潮時に巢穴水、河川水、間隙水を採取し ($n=10$)、栄養塩濃度の測定を行った。巢穴水はピペットを用いて採水し、間隙水はデイスボシリンジ (Φ 30mm) を用いて、深さ5cmまでの底質を採取した後、実験室において遠心分離 (Kubota製: 5420) を行って採水した。また、2011年7月~2012年1月の各月には巢穴水 ($n=5$) のDINに関して干出直後から冠水直後までの時間変化の測定を行った。さらに、2011/1/11 ($n=3$) と8/18 ($n=4$) には栄養塩濃度の時間変化と合わせて蛍光式溶存酸素計 (Hack製: HQ30d) を用いてDOの時間変化を測定した。

図-3 ヤマトオサガニの甲幅とアンモニア排出速度

表-1 ヤマトオサガニの甲幅とアンモニア排出速度の関係式 (Y: アンモニア排出速度, X: 甲幅)

温度 (℃)	回帰式	決定係数: R^2
30	$Y=9.98 \times 10^{-5} X^{2.45}$	0.92
20	$Y=2.43 \times 10^{-5} X^{2.70}$	0.91
10	$Y=2.49 \times 10^{-6} X^{3.08}$	0.96

3. 結果

(1) 底質の栄養塩の溶出量および同化量

底質の栄養塩の溶出量および同化量を図-2に示す。図-2より、底質からのDINの溶出量は $0.84\sim 2.37\text{mgN}/\text{m}^2/\text{h}$ であり、溶出したDINの平均58%は $\text{NH}_4^+\text{-N}$ であった。また底生微細藻類によるDINの同化量は $1.67\sim 6.75\text{mgN}/\text{m}^2/\text{h}$ であり、溶出量の1.98~2.85倍であった。DINの溶出量、同化量はともに実験水温と統計的に有意な正の相関関係が認められ ($p<0.01$)、DINの中でも $\text{NH}_4^+\text{-N}$ と $\text{NO}_2^-\text{-N}$ は統計的に正の相関関係が認められたが、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ は統計的な相関関係が認められなかった。また、Chl.aあたりのDINの同化量は $2.77\sim 9.27\text{mgN}/\text{Chl.a}/\text{h}$ であり、その中でも $\text{NH}_4^+\text{-N}$ の同化量は水温と統計的に有意な正の相関関係が認められ、それぞれ $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ の約6.8倍、4.7倍であった。

(2) ヤマトオサガニのアンモニア排出速度

ヤマトオサガニのアンモニア排出速度を図-3、ヤマト

図-4 巣穴水、河川水、間隙水の栄養塩濃度の季節変化

オサガニの甲幅とアンモニア排出速度の関係式を表-1に示す。ヤマトオサガニの甲幅8.81~28.71mmに対してアンモニア排出速度は0.002~0.413mgN/hと水温が高く、体のサイズが大きくなるに伴って大きくなった。例えば、ヤマトオサガニの甲幅25mmの場合、表-1の回帰式より、30℃においてアンモニア排出速度は0.266mgN/h、20℃において0.146mgN/h、10℃において0.050mgN/hと推定できた。

(3) 栄養塩濃度の季節変化

巣穴水、河川水、間隙水の栄養塩濃度の季節変化を図-4に示す。図-4より、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ について間隙水が季節を通して高く、巣穴水、河川水の順に高かった。 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ は $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ と比べると低濃度であるが、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ と同様に巣穴水は河川水よりも季節を通して高かった。 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ は河川水が季節を通して最も高く、間隙水および巣穴水は同程度であった。 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ は $\text{NH}_4^+\text{-N}$ と同様に間隙水が季節を通して最も高かった。また、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ および $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ について、巣穴水は季節を通して河川水よりも常に高いという特徴があった。

(4) 巣穴内部水の栄養塩濃度と溶存酸素の時間変化

巣穴内部の栄養塩濃度の時間変化を図-5に示す。図-5において、冠水は少なくとも水深が10cm程度ある時、

図-5 巣穴内部の栄養塩濃度の時間変化 (2011/8/18)

干出は地表面が干出している時に採水を行った。夏季の巣穴内部の栄養塩濃度について、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ は干出直後より時間の経過に伴って増加して、冠水後に大きく減少した。また、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ は低濃度で時間変化は小さく、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ は干出直後より徐々に減少しているが、冠水後には $\text{NO}_3^-\text{-N}$ は急激に増加していた。 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ は $\text{NH}_4^+\text{-N}$ と同様に干出中に増加し、冠水後に減少した。また、冠水直前の巣穴内部水のDINの約95%が $\text{NH}_4^+\text{-N}$ はであった。

巣穴内部の溶存酸素の時間変化を図-6に示す。図-6より、冬季の巣穴内部のDOは徐々に減少し、冬季においても巣穴内部は貧酸素化する傾向にあったが、冠水後にDOは急激に増加した。また、夏季のDOは干出前から0 mg/Lであり、冠水後も酸素消費が激しく、わずかにしか増加しなかった。

(5) 巣穴水の栄養塩濃度の変化のまとめ

各調査月の巣穴内部のDINの変化のまとめを図-7に示す。図-7より、巣穴内部水の水質は、全ての調査日において干出直後から冠水直前にかけてDIN濃度が増加し、8月に最大1.01mgN/Lの増加があった。また、冠水直後には増加したDIN濃度は大幅に低下する傾向があった。間隙水については、1月を除く全ての月で干出直後の巣穴内部水よりDIN濃度は高い傾向があった。

図-6 巣穴内部の溶存酸素の時間変化 (a: 2011/1/11, b: 2011/8/18)

図-7 巣穴内部などのDIN

4. 考察

(1) 巣穴内での栄養塩濃度の変動特性

本研究ではヤマトオサガニの巣穴の栄養塩濃度の時間変化を測定したところ $\text{NH}_4^+\text{-N}$ と $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ は時間の経過とともに増加した。また、図-4より季節変化に関しても夏季に $\text{NH}_4^+\text{-N}$ と $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ は高く、水温が関連しているようにヤマトオサガニによるアンモニアの排出 (図-2)、有機物分解、壁面からの溶出によって巣穴内部水の $\text{NH}_4^+\text{-N}$ と $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ が増加したためである。実際に二枚貝によるDINの排出に関しては、その場の物質循環に与える影響が大きいことが報告されている (Nakamura et al., 1988; Magni et al., 2000)。また、冬季にDOは徐々に減少したが、冠水後にDOは増加しており、 $\text{NO}_3^+\text{-N}$ の冠水後の変化を考慮すると冠水後に巣穴内部の水は瞬時に河川水と入れ替わっていることがわかる。巣穴内のDOに関しては、*Uca tangeri* (Wolfrath, 1992) やアナジャコ、ニホンスナモグリ (Koike and Mukai, 1983) の巣穴内でもDOは低濃度であり、栄養塩濃度に関しても直上水よりも高かったことが確認されている。巣穴内でDOが低くなることの原因はヤマトオサガニ自身の呼吸 (Otani et al., 2010)、巣穴壁面での酸素消費によるものと考えられる。ここで、甲幅25mmのヤマトオサガニを対象とした場合、表-1を用いて算出したアンモニア排出速度と図-7より算出した巣穴内でのアンモニアの増加速度を比較すると、ヤマトオサガニによるアンモニアの排出の寄与率は29~69%で特に夏季に高くなっていた。以上のことから、巣穴内部ではヤマトオサガニ自身の代謝や排出によってDOは減少し、栄養塩濃度が高くなっていることが示唆された。

(2) 巣穴からのDINの回帰と藻類による固定

ヤマトオサガニの現存量、コホート解析の結果、巣穴容積 (大谷ら, 2009) および巣穴内のDINの濃度変化から、1潮汐当たりの巣穴からのDIN供給量を算出した。なお、DINの濃度変化は図-7の冠水直後のDINから冠水直前のDINの差分から求めた。また単位面積あたりの巣

図-8 巣穴からのDIN供給量

図-9 冠水直後におけるDIN動態 (2011年8月)

穴からのDIN供給量を図-8に示す。巣穴からのDIN供給量は0.02~0.28mgN/m²と推定され、8月に最大となり、冬季の約14倍であった。

以上のことより、これまでの結果を用いて算出した冠水直後におけるDIN動態を図-9に示す。なお、ヤマトオサガニの排出量は、3(2)で求めた実験結果の値に、ヤマトオサガニの個体数密度を掛け合わせて求めたものであり、図中の摂餌量は、実験から求めたヤマトオサガニの排出量、観測された生産量から差し引いた推測値である。図-9より、夏季の巣穴に蓄積されていたDIN量は、単位時間あたりに巣穴を除く底質から溶出するDIN量の11.7%に相当した。一方で、巣穴から供給されるDIN量は底生微細藻類が単位時間あたりに固定する量の4.1%に相当していた。また、ヤマトオサガニの排出量は底質か

らの溶出量と同程度であり、その溶出量は英虞湾の浚渫ヘドロを用いた人工干潟での溶出量（国分ら，2006）と同レベルであった。さらに、ヤマトシジミの夏季の排出量は $2.63\text{mgN/m}^2/\text{h}$ （Yamamuro and Koike, 1993）であり、1個体当たりの大きさや個体群密度は異なるが、ヤマトオサガニの排出量はヤマトシジミと同等の値であった。ヤマトシジミの排出はその場の一次生産量に影響を及ぼすことが報告されている（Yamamuro and Koike, 1993）ことからヤマトオサガニによる排出量の大きさが伺える。

以上のことより、干潟上での栄養塩の挙動における底生生物のバイオターベーションおよび排出量の影響は無視できないことを示すことができた。なお、本研究ではDINに関して底質-海水間の物質収支を示したが、さらに大気への脱窒および熱収支の影響を示す必要があると考えられる。

5. 結論

- 1) 底質からのDINの溶出量は $0.84\sim 2.37\text{mgN/m}^2/\text{h}$ 、底生微細藻類によるDINの同化量は $1.67\sim 6.75\text{mgN/m}^2/\text{h}$ であった。また、ヤマトオサガニのアンモニア排出速度は水温が高く、体のサイズが大きくなるに伴って大きくなった。
- 2) NH_4^+-N は四季を通して、間隙水>巣穴水>河川水の順で高く、 NO_3^--N は四季を通して河川水が高かった。夏季の巣穴内部の NH_4^+-N は干潟の干出後から時間の経過に伴って増加していた。 NO_3^--N は干出直後より徐々に減少したが、冠水後には NO_3^--N が急激に増加していた。また、DOは干出直後から徐々に減少したが、冠水後に増加しており、栄養塩の時間変化を考慮すると巣穴水が瞬時に河川水と入れ替わっていることがわかった。
- 3) 巣穴水のDINは干出直後から冠水直前にかけて増加して、冠水直後には減少した。冠水直後には巣穴に蓄積されたDINは水中に回帰するが、その中でも藻類が好んで同化する NH_4^+-N を干潟域に供給しており、 NH_4^+-N は藻類に利用されていた。
- 4) 単位時間あたりに巣穴から供給された NH_4^+-N は、ヤマトオサガニの生産量と同程度であったと試算された。ヤマトオサガニの巣穴は、生息場としての機能だけでなく、そこに NH_4^+-N を蓄え、自身の餌である藻類に“施肥”する働きもあることが示唆された。

謝辞：本研究を実施するにあたり、実験・調査に協力頂いた徳島大学社会リスク工学研究室の石山哲氏、片山大輔氏、竹本大起氏、松重摩耶女史に感謝いたします。

参考文献

- 大谷壮介・上月康則・酒井 孟・石山 哲・笹岡宏光・渙津賀仁・安葉映宏・村上仁士（2007）：干潟底質環境に及ぼすヤマトオサガニの生物攪拌作用に関する基礎的実験，海岸工学論文集，第54巻，pp.1191-1195.
- 大谷壮介・上月康則・山中亮一・石山 哲・酒井 孟・笹岡宏光・渙津賀仁（2010）：吉野川河口干潟における二潮汐間での干潟底生微細藻類群集の変動特性，環境工学研究論文集，第47巻，pp.1-7.
- 大谷壮介・上月康則・山中亮一・酒井 孟・藤木洋二・斎藤 梓・岩雲貴俊（2009）：ヤマトオサガニの造巣活動に伴う物理的攪拌作用の定量評価，土木学会論文集 B2-65（海岸工学），pp.1086-1090.
- 国分秀樹・奥村宏征・高山百合子・湯浅城之・上野成三（2006）：英虞湾の浚渫ヘドロを用いた人工干潟における潮汐に伴う水質変動の連続観測，海岸工学論文集，第53巻，pp.1231-1235.
- Goldman, J. C. and P. M. Glibert (1982) : Comparative rapid ammonium uptake by four species of marine phytoplankton, *Limnology and Oceanography*, 27, pp.814-827.
- Kikuchi, E. (1987) : Effects of the Brackish Deposit-Feeding Polychaetes *Notomastus* sp. (Capitellidae) and *Neanthes japonica* (Izuka) (Nereidae) on Sedimentary O_2 Consumption and CO_2 Production Rates, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 114, pp.15-25.
- Kinoshita, K. (2002) : Burrow Structure of the Mud Shrimp *Upogebia major* (Decapoda: Thalassinidea : Upogebiidae), *Journal of Crustacean Biology*, 22(2), pp.474-480.
- Koike, I. and H. Mukai (1983) : Oxygen and inorganic nitrogen contents and fluxes in burrows of the shrimps *Callinassa japonica* and *Upogebia major*, *Marine Ecology Progress Series*, 12, pp.185-190.
- Kristensen, E. and T. H. Blackburn (1987) : The fate of organic carbon and nitrogen in experimental marine sediment system: Influence of bioturbation and anoxia, *Journal of Marine Research*, 45, pp.231-257.
- Magni, P., S. Montani, C. Takada and H. Tsutsumi (2000) : Temporal scaling and relevance of bivalve nutrient excretion on a tidal flat of the Seto Inland Sea, Japan, *Marine Ecology Progress Series*, 198, pp.139-155.
- McCarthy, J. J. and J. C. Goldman (1979) : Nitrogenous nutrition of marine phytoplankton in nutrient-depleted waters, *Science*, 203, pp.670-672.
- Nakamura, M., M. Yamamuro, M. Ishikawa and H. Nishimura (1988) : Role of the bivalve *Corbicula japonica* in the nitrogen cycle in a mesohaline lagoon, *Marine Biology*, 99, pp.369-374.
- Otani, S., Y. Kozuki, R. Yamanaka, H. Sasaoka, T. Ishiyama, Y. Okitsu, H. Sakai and Y. Fujiki (2010) : The role of crabs (*Macrophthalmus japonicus*) burrows on organic carbon cycle in estuarine tidal flat, Japan., *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 86, pp.434-440.
- Whitney, D. E. and W. M. Darley (1979) : A method for the determination of chlorophyll a in samples containing degradation products, *Limnology and Oceanography*, 24, pp.183-186.
- Wolfarth, B. (1992) : Burrowing of the fiddler crab *Uca tangeri* in the Ria Formosa in Portugal and its influence on sediment structure, *Marine Ecology Progress Series*, 85, pp.237-243.
- Yamamuro, M. and I. Koike (1993) : Nitrogen metabolism of the filter-feeding bivalve *Corbicula japonica* and its significance in primary production of a brackish lake in Japan., *Limnology and Oceanography*, 38, pp.997-1007.