原著

渡島大沼における栄養塩濃度の季節変化と 植物プランクトンの生長制限要因

芳村 毅・工藤 勲

摘 要

1995年6月から1997年3月にかけて渡島大沼において調査をおこない、栄養塩の時空間分布を明らかにするとともに植物プランクトンの生長制限要因を推定した。大沼では一年を通して窒素態栄養塩は多量に残存している一方で、溶存反応性リンは結氷期および数回の観測日を除き、全層にわたって非常に低濃度であることが明らかとなった。栄養塩現存量の N:P 比は74-3000 (モル比) であり、窒素と比較してリンの現存量の割合が非常に小さかった。クロロフィル a 濃度は $5-22 \mu\text{g L}^{-1}$ (平均 $12 \mu\text{g L}^{-1}$) であり、一年を通して植物プランクトン現存量が高いことが明らかとなったが、植物プランクトンの C:P および N:P 比はレッドフィールド比 (C:P=106, N:P=16) を上回っており、生長がリン制限を受けている傾向が見られた。また、単位クロロフィル a 当たりのアルカリフォスファターゼ活性が $0.2-1.4 \text{ nmol-P } \mu\text{g Chlorophyll } a^{-1} \text{ min}^{-1}$ と高かったことから植物プランクトンがリン制限下にあったことが示唆されたが、リン制限の程度は季節により大きく異なっていたことが明らかとなった。アルカリフォスファターゼ活性は比較的簡便に測定することができ、栄養塩濃度からは明らかにならない植物プランクトンのリンに関する制限状態を判断するよい指標であった。

キーワード：栄養塩・アルカリフォスファターゼ活性・リン制限・渡島大沼

はじめに

水圏の生態系は多種多様の生物が食物連鎖、あるいは食物網を形成することにより成り立っており、この食物連鎖を通して物質とエネルギーが高次の栄養段階に転送される。独立栄養生物は水圏の生態系に有機物を供給する唯一の生産者であるが、その中で量的に重要なものは植物プランクトンである。植物プランクトンが作り出す有機物が食物連鎖の出発点であることから、水圏の生態系は植物プランクトンによって支えられていると考えることができる。このため基礎生産過程は最も重要な研究課題の一つとして、その量的な把握とそれを制御する要因に関する研究が世界各水域において活発に進められてきた。

植物プランクトンは二酸化炭素と水から、光のエネルギーを利用して光合成をおこない、有機物を生産している。この基礎生産を制限するものとしては主に光・水温・栄養素が挙げられ、自然環境下では必ずこれらのうちの一つの制限因子によって基礎生産が制御されている (リー

ビツヒの最少律)。植物プランクトンは増殖のために窒素、リン、ケイ素、カリウム、硫黄、鉄、マグネシウムなど多くの栄養素を必要とするが、このうち最も不足しがちな栄養素は一般に窒素とリンであり、基礎生産の制限要因として第一に考えられるべきである (Parsons et al., 1984)。特に温帯域の湖沼の特徴は窒素と比較してリンの現存量が少ないことである (Horne and Goldman, 1994)。日本の湖沼においても琵琶湖、洞爺湖をはじめ多くの湖沼において同様の傾向が報告されている (Tezuka, 1984; Kudo and Matsunaga, 1986)。

植物プランクトンの栄養塩制限を明らかにするために植物プランクトン中の炭素・窒素・リンの組成比や栄養塩添加培養実験 (AGP 試験) などが指標として用いられている (Healey and Hendzel, 1980; Waiser and Robarts, 1995)。また、リン酸モノエステルの加水分解酵素であるアルカリフォスファターゼはリン酸塩が枯渇したときにのみ、溶存有機リンをリン源として利用するために作り出される酵素であることから、リン制限の指標として用いられている (Jansson et al., 1988;

Istváovics et al., 1992)。

北海道南部に位置する渡島大沼に関しては松永ら(1979)が1977-1978年にかけて調査し、リン酸塩濃度は期間を通じて検出限界に近いこと、また硝酸塩濃度も夏期には検出限界以下となることを報告している。ただし、この20年の間に富栄養化が進行し、渡島大沼の基礎生産量は5-30倍に増加している(Yoshimura et al., 2000)。そこで、現在の渡島大沼における栄養塩濃度の季節変化を明らかにするとともに、アルカリフォスファターゼ活性を測定し、基礎生産の制限要因の解明を試みた。

材料と方法

調査地点の概要

渡島大沼(42° 00' N, 140° 41' E)は函館市から約20 km、駒ヶ岳南麓に位置する。この湖は、駒ヶ岳の火山噴出物が折戸川を堰き止めた堰止湖である(北海道公害防止研究所, 1990)。湖内には多くの島々が浮かび、風光明媚であることから、渡島大沼周辺は国定公園に指定されており、年間300万人前後の観光客が訪れる。渡島大沼は大沼・小沼の二つの湖から成り立っており、それぞれはセバットと呼ばれる狭い水路でつながっている。大沼は湖面積5.3 km²、最大水深11.6 m、平均水深5.9 m、小沼は湖面積3.8 km²、最大水深4.4 m、平均水深2.1 mの淡水湖で、湖沼型は富栄養湖とされている(国立天文台, 1999)。大沼・小沼ともに、例年、12月から4月にかけて全面結氷する(石川, 2000)。主な流入河川は宿野辺川・軍川・荻間川の三河川であり、すべて大沼に注いでいる。大沼の水はセバットを通過して小沼に流入し、小沼南端の発電所取水口に取り込まれた後、久根別川を経由して函館湾に注がれている。

試料採取および分析方法

サンプリングは1995年6月から1997年3月にかけて大沼の湖心付近(水深10 m)において解氷期は月1回の割合で、結氷期は1997年3月に2回おこなわれた(Fig. 1)。採水は水深0 m から2 m 間隔で、1995年は6 m まで、1996年は8 m まで鉛直的におこなわれた。試水はナイロンローブに取り付けた5リットルの Go-Flo 採水器(General Oceanics 社製)を用いて採取し、酸洗浄したポリエチレンビンに分注した。また、採水後ただちに水温・pHを測定した。

栄養塩分析用の試水はワットマン社製 GF/F フィルター(孔径0.7 μm)を用いてろ過し、24時間以内に分析した。

Fig. 1. Map of Lakes Ohnuma and Konuma and adjacent rivers, showing sampling location (closed circle).

硝酸塩+亜硝酸塩および溶存反応性リン(soluble reactive phosphorus, SRP)濃度についてはテクニコン社製オートアナライザーⅡを用いて測定した。アンモニウム塩濃度についてはMatsunaga and Nishimura (1974)の方法により測定した。全リン(TP)および溶存全リン(TDP)についてはそれぞれ未ろ過の試水およびGF/F フィルターのろ液を過硫酸カリウムを用いて加水分解後(Menzel and Corwin, 1965), SRPとして測定した。溶存有機リン(DOP)はTDPとSRPの差として計算した。全窒素(TN)および溶存全窒素(TDN)はそれぞれ未ろ過の試水およびGF/F フィルターのろ液をアルカリ性下で過硫酸カリウムを用いて加水分解後(日本工業標準調査会, 1991), 硝酸塩として測定した。溶存有機窒素(DON)はTDNと溶存無機窒素(DIN)(硝酸塩+亜硝酸塩+アンモニウム塩)の差として計算した。硝酸塩, SRPおよびアンモニウム塩濃度測定の変動係数(CV)は、それぞれ4 μmol L⁻¹において0.35%, 0.5 μmol L⁻¹において0.0%, 3 μmol L⁻¹において1.1%(すべてn=5)であった。検出限界を試薬ブランクの標準偏差の3倍と定義した場合、硝酸塩, SRPおよびアンモニウム塩濃度測定の検出限界はそれぞれ、0.06 μmol L⁻¹, 0.01 μmol L⁻¹および0.22 μmol L⁻¹であった(すべてn=5)。

粒状炭素(PC)および粒状窒素(PN)はあらかじめ450℃で4時間焼いたGF/F フィルター上に、粒状リン(PP)は450℃で4時間焼いた後イオン交換水100 mLを

通過させることにより洗浄した GF/F フィルター上に懸濁物を捕集し分析した。PC, PN は CHN 分析計 (Yanaco MT-5) を用いて測定された。PP は過硫酸カリウム分解後, SRP として測定した。

クロロフィル *a* (Chl *a*) 濃度は試水を GF/F フィルターを用いてろ過後, 1995 年は 90% アセトンを用いて, 1996 年は N, N-ジメチルホルムアミド (DMF) を用いて抽出し (Suzuki and Ishimaru, 1990), 日立蛍光分光光度計 650-10S を用いて蛍光法により測定した (Parsons et al., 1982)。Chl *a* 濃度測定の CV は, $10 \mu\text{g L}^{-1}$ において 2.6% であった ($n=5$)。

アルカリフォスファターゼ活性 (APA) については p-ニトロフェニルフォスフェートを用いて比色法で測定した (Huber et al., 1985)。未ろ過の試水, 0.1 M トリス-塩酸緩衝溶液 (pH 8.4), および 10 mM MgSO_4 に溶解させた 0.7 mM p-ニトロフェニルフォスフェートを 2:2:1 の割合で混合し, 暗所・現場水温で培養した。細胞を破壊せずに生物活動を停止させるためにアジ化ナトリウム (最終濃度 0.1% w/v) を添加した。48 時間後, 401 nm の吸光度を測定することにより, 基質の加水分解産物である p-ニトロフェノールを定量し, 活性を求めた。p-ニトロフェニルフォスフェートが加水分解されることにより p-ニトロフェノールとリン酸塩が等量生成されるため, 本方法で得られた APA は $\text{nmol-P L}^{-1}\text{min}^{-1}$ と

して表した。

結 果

水理環境

調査期間を通じて表層と底層の間に水温差はほとんどなく, 顕著な水温躍層の形成はみられなかった (Fig. 2a)。解氷後, 水温は徐々に上昇し, 1995 年, 1996 年ともに 8 月に 22°C 以上の最高値に達した。その後は徐々に減少し, 11 月下旬には 4°C 付近まで低下した。pH は, 1996 年 8 月の 0 m および 2 m においてそれぞれ 8.65 および 8.61 と特異的に高かったものの, それ以外は 1995 年は 6.62-7.62, 1996 年は 6.72-7.45 の範囲で変化した (Fig. 2b)。pH の鉛直的な変化は非常に少なかったが, 底層 (6 m) よりも表層 (0 m) が有意に高かった ($n=14$, $p<0.05$)。

栄養塩

水温と同様に, 栄養塩濃度は鉛直的に均一な分布を示した。SRP 濃度は非常に低く, 検出限界付近, もしくは検出限界以下の濃度が多く見られた (Fig. 3a)。ただし, 1996 年 9 月においては $0.1 \mu\text{mol L}^{-1}$ 以上, 10 月は $0.2 \mu\text{mol L}^{-1}$ 以上存在した。また, 結氷期の 1997 年 3 月においても 0.1 - $0.2 \mu\text{mol L}^{-1}$ 存在した。1995 年の 0 m の硝

Fig. 2. Seasonal variations in (a) water temperature and (b) pH in Lake Ohnuma.

Fig. 3. Seasonal variations in (a) soluble reactive phosphorus (SRP), (b) nitrate plus nitrite ($\text{NO}_3 + \text{NO}_2$) and (c) ammonium (NH_4) concentrations in Lake Ohnuma.

酸塩＋亜硝酸塩濃度は6月に $19 \mu\text{mol L}^{-1}$ であったものが急激に減少し、8月に $2 \mu\text{mol L}^{-1}$ に達した (Fig. 3b)。その後、9月には $23 \mu\text{mol L}^{-1}$ まで増加した後、再び減少し、11月には $13 \mu\text{mol L}^{-1}$ であった。一方、1996年は、4月の $14 \mu\text{mol L}^{-1}$ から5月に $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ 以上に増加した後、8月を除くと、11月まで徐々に減少した。8月には顕著な栄養塩躍層がみられ、0 mおよび2 mは $1 \mu\text{mol L}^{-1}$ まで減少し、底層では $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ 以上の高濃度で存在していた。また、7月、9月にも底層において若干の硝酸塩＋亜硝酸塩の蓄積がみられた。両年とも8月の上層において最小値が観測されたが、それ以外は全層にわたってほぼ $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ 以上であった。また、結氷期は $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ 以上と高濃度であった。解氷期のアンモニウム塩濃度は0 mではほぼ $2\text{--}3 \mu\text{mol L}^{-1}$ の一定の値を示した (Fig. 3c)。1995年7月と10月および1996年7月から

9月にかけて、底層で高濃度のアンモニウム塩が観測された。また、結氷期には $17 \mu\text{mol L}^{-1}$ 以上の高濃度が観測された。

TP濃度は1995年は $0.7\text{--}0.8 \mu\text{mol L}^{-1}$ 、1996年は $0.2\text{--}0.9 \mu\text{mol L}^{-1}$ であり、結氷下では $0.5 \mu\text{mol L}^{-1}$ であった (Fig. 4a)。1995年6月から1997年3月にかけての平均 TP濃度は $0.6 \mu\text{mol L}^{-1}$ であった。また、各月の全層平均 TN濃度は $23\text{--}44 \mu\text{mol L}^{-1}$ (平均 $34 \mu\text{mol L}^{-1}$) であり (Fig. 4b)、TN:TP比は30-360 (モル比) の範囲で変動した。DOP濃度は1996年6月および結氷期を除いて $0.1 \mu\text{mol L}^{-1}$ 以下であり、検出限界以下の濃度も多く見られた (Fig. 4c)。DON濃度は $4\text{--}17 \mu\text{mol L}^{-1}$ で変動し、8月・9月に高い値が見られた (Fig. 4d)。

Fig. 4. Seasonal variations in (a) total phosphorus (TP), (b) total nitrogen (TN), (c) dissolved organic phosphorus (DOP) and (d) dissolved organic nitrogen (DON) concentrations in Lake Ohnuma.

粒状物質

Chl *a* 濃度は春から夏にかけて増加し、秋に減少する傾向が見られた (Fig. 5a)。1995年の0 m における Chl *a* 濃度は6月に $8 \mu\text{g L}^{-1}$ であったが7月には $10 \mu\text{g L}^{-1}$ を越え、9月に $15 \mu\text{g L}^{-1}$ に達した。その後減少したものの11月でも $10 \mu\text{g L}^{-1}$ 以上を保っていた。鉛直的には濃度変化は少なかったが、10月は中層が高濃度であり、2

m において $20 \mu\text{g L}^{-1}$ の年間最高値が観測された。1996年は解氷後の4月下旬に表層で $5 \mu\text{g L}^{-1}$ であった濃度は急速に増加し、6月には $17 \mu\text{g L}^{-1}$ に達した。この後、11月まで増加と減少を繰り返したが、8月に2 m で $22.3 \mu\text{g L}^{-1}$ の最高値が見られた。6月から10月にかけては Chl *a* 濃度は0 m もしくは2 m に極大を持ち、底層で低い分布を示した。

Fig. 5. Seasonal variations in (a) chlorophyll *a* (Chl *a*), (b) particulate carbon (PC), (c) particulate nitrogen (PN) and (d) particulate phosphorus (PP) concentrations in Lake Ohnuma.

PC濃度は1995年10月に2 mにおいて $110 \mu\text{mol L}^{-1}$ の高い値が観測されたが、それ以外の観測日はほぼ $50\text{--}70 \mu\text{mol L}^{-1}$ の範囲で変動した (Fig. 5b)。PN濃度も1995年10月に最大値が観測された (Fig. 5c)。Chl *a*濃度は1995年10月、1996年6月および8月の主に三つのピークが見られたが、PCおよびPNのピークもこれに良く一致しており、Chl *a*とPC、PNの分布は同様の傾向を示し

た。PP濃度は1996年6月、7月はほぼ全層において $0.5 \mu\text{mol L}^{-1}$ であったが8月・9月は $0.6\text{--}0.7 \mu\text{mol L}^{-1}$ と若干増加した (Fig. 5d)。しかし、それ以降は減少し、冬期は $0.2 \mu\text{mol L}^{-1}$ であった。また、結氷期を除いてPPはTPの平均83%を占めた。

Fig. 6. Seasonal variation in alkaline phosphatase activity (APA) in Lake Ohnuma.

APA

APA は1996年8月を除き鉛直的に比較的一様であった (Fig. 6)。1996年8月の0 m および2 m は19-20 nmol-P L⁻¹ min⁻¹ と特異的に高かったが、その他の4-11月は2.4-9.1 nmol-P L⁻¹ min⁻¹ の範囲で変動した。湖水表面が氷で覆われていた3月は0.5-0.7 nmol-P L⁻¹ min⁻¹ であり、4月-11月と比較して低かった ($p < 0.05$)。

考 察

栄養塩の季節変化

1995年から1997年にかけての観測の結果、大沼では一年を通してDINは豊富に残存している一方で、SRPは結氷期および数回の観測日を除き、全層にわたって非常に低濃度であることが明らかとなった (Fig. 3)。大沼湖水中のDINおよびSRPの0-8 mを積算した現存量はそれぞれ39-230 mmol-N m⁻² および検出限界以下から1.6 mmol-P m⁻² であったことから、SRP現存量が検出限界以下であった観測日を除くと、現存量のDIN:SRP比は74-3000 (モル比) であり、無機態栄養塩は常に窒素過剰であった。湖内の栄養塩類の分布は、系外からの負荷 (外部負荷) と湖内での消費と分解 (内部循環) によって決定されることが考えられるが、外部負荷源として主に考えられるのは河川および降雨である。大沼に流入する河川水中の栄養塩は窒素に富んでおり、N:P比は175 (モル比) である (Yoshimura et al., 2000)。また、降雨水中には高濃度のアンモニウム塩が含まれており、N:P比が高いことが知られている (田淵ら, 1979; 多田, 1998)。2000年に函館において採取した降水中のDINおよびSRPの加重平均濃度はそれぞれ52 μmol

L⁻¹ および0.28 μmol L⁻¹ であり ($n=22$) (芳村, 未発表), N:P比は190 (モル比) と河川と同様に高かった。ただし、6月から10月にかけての大沼に流入する平均の全河川流量は4.8 m³ s⁻¹ である一方 (Yoshimura et al., 2000), 月別降水量から算出した同期間に大沼に直接降下する降水量は0.17-0.29 m³ s⁻¹ であり (札幌管区気象台, 1996), 降水から負荷される栄養塩の影響は少ないと考えられた。河川流量と大沼の体積から計算した水の平均滞留時間は約80日と比較的短いことから、河川が湖水の栄養塩濃度に与える影響が大きいために一年を通して窒素過剰な栄養塩環境が維持されていたと推測された。

一方、大沼の水温や栄養塩類の鉛直分布を考えると、季節的躍層は形成されていなかったことから、大沼は成層する期間がほとんどない湖であると考えられた。ただし、夏期に栄養塩躍層が形成された観測日があったことから、晴天と穏やかな天候が続くことによる水柱の安定化と風が吹くことによる底層までの混合が頻繁に繰り返されていたと考えられた。1996年8月には水柱の安定化にともない、表層では硝酸塩濃度が減少するとともにChl *a* 濃度およびpHの増加が観測され、植物プランクトンの増殖の活発化が示唆された。一方、底層では速やかな有機物の分解のためにアンモニウム塩およびその酸化態である硝酸塩が蓄積されていた。その後、硝酸塩濃度の減少した表層水と濃度の増加した底層水が再び混合されたことにより、9月の硝酸塩濃度が約10 μmol L⁻¹ で鉛直的に均一であったと推測された。また、水温躍層が見られない観測日においても底層においてアンモニウム塩の蓄積が見られたことから、水柱が安定化すると、表層における水温の増加や硝酸塩濃度の減少が見られない初期段階においてもアンモニウム塩はすみやかに堆積

物から溶出していたと考えられた。一方、SRP は底層における濃度の増加は見られなかった。底層水が無酸素になると堆積物から多量のリン酸塩が水柱に放出されることが知られているが (Theis and McCabe, 1978; Riley and Prepas, 1984), 大沼の底層水の溶存酸素量が極度に低下することはない (Yoshimura et al., 2000)。ただし、底層水が十分酸化的な条件下においても堆積物は水柱への重要なリン酸塩の供給源となっていると考えられることから (Gardner et al., 1981; Jensen and Andersen, 1992), 溶出したリン酸塩は浮遊微小生物にすみやかに利用されたか、粒子に吸着されたために濃度の増加が見られなかったと推測された。

植物プランクトン現存量の季節変化と制限要因

植物プランクトン現存量の指標としての Chl *a* 濃度は結氷期を除いてほぼ $10 \mu\text{g L}^{-1}$ 以上であり、他の富栄養湖と同程度の高い植物プランクトン現存量が維持されていた (Horne and Goldman, 1994)。また、Chl *a* 濃度は解氷後水温の増加に伴って増加したが、水温の低下する秋期においても高い濃度を維持していた。植物プランクトンの現存量は自身の生長速度と動物プランクトンによる捕食圧の釣り合いによって決定されと考えられる。大沼において秋期に Chl *a* 量が高くなることは石川 (2000) によっても報告されており、その一つの要因として秋期に動物プランクトン量がワカサギの捕食により減少することがあげられている。一方、栄養塩環境は生長速度を支配する大きな要因であると考えられるが、大沼では一年を通して DIN 濃度は高く、DIN が生長を制限することはないと考えられた。一方で、SRP は全層にわたって非常に低濃度であった。DOP も同様に低濃度であり、大沼においてリンの80%以上は粒状態として存在していた。Chl *a* 現存量と SRP 現存量との間には有意な相関はなかったことから ($p > 0.1$), SRP 現存量が非常に低いために、SRP の現存量ではなく循環速度の違いがもたらすリンの利用可能度の違いが生長を支配していたことが推測された。また、光は栄養塩と並んで植物プランクトンの生長速度を支配する要因である。大沼と同様に SRP 現存量の少ないオンタリオ湖においてもリンと光が時期を変えて基礎生産を制限している (Millard et al., 1996)。ほとんどの植物プランクトンは増殖するために最低数 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の光を必要とし、 $200 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ を越えると光障害が見られるようになる (Horne and Goldman, 1994)。春期および秋期の晴天時に測定した大沼の光強度は4-5 m 以浅では $10 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$

以上であり (芳村, 未発表), 少なくともこの深度では光不足のために植物プランクトンが増殖できないことはないと考えられた。

一般に、植物プランクトンのリン酸塩取り込みの半飽和定数は $0.03\text{--}0.1 \mu\text{mol L}^{-1}$ であることから (Horne and Goldman, 1994), 大沼の非常に低いリン酸塩濃度は植物プランクトンのリン酸塩の取り込みに影響を与えていると考えられた。現場の植物プランクトンの生長を制限している栄養塩を明らかにするための生理的な指標として、懸濁物中の C:N:P 比とレッドフィールド比 (C:N:P=106:16:1) (Redfield et al., 1963) との比較がしばしばおこなわれる (Waiser and Roberts, 1995; Roberts et al., 1998)。最大生長速度下の植物プランクトンの元素比はほぼレッドフィールド比と等しくなるが (Goldman et al., 1979), 生長が制限されている場合はその制限元素の割合が少なくなると考えられる。大沼湖水中の懸濁物の元素組成比は時空間的に変動したが、C:N 比は5.6-6.9, C:P 比は72-143, N:P 比は11-24 (モル比) であった。しかしながら、浅い湖沼や沿岸域の水柱内の懸濁物には、堆積物の巻き上がりにより非生物粒子および非生物体粒子が含まれており、懸濁物の元素組成比の植物プランクトン態元素組成比としての信頼性は低い (Holmboe et al., 1999)。そこで山本ら (1999) の方法に従い、粒状態の各元素濃度と Chl *a* 濃度との回帰直線の傾きから Chl *a* に対する各元素の比を求め、ここから得た各元素間の比を植物プランクトンの元素組成比とみなした。大沼における1996年4月から11月の結果から求めた植物プランクトン態 C:N:P 比は166:33:1であった (Fig. 7)。この元素比は懸濁物の分析から得られた元素比と比較して、C:N 比は低く、C:P 比および N:P

Fig. 7. Correlations between chlorophyll *a* (Chl *a*) and particulate carbon (PC), particulate nitrogen (PN) and particulate phosphorus (PP) in Lake Ohnuma from April to November, 1996.

比は高かった。堆積物表層の粒子はリンに富んでいる一方で窒素含量が少ないことから (Holmboe et al., 1999), 水柱内の懸濁物は植物プランクトン以外に舞上った堆積物を含んでいたと考えられた。Healey and Hendzel (1980) の指標によると, 大沼の植物プランクトン態元素組成比は窒素に関する制限は見られない一方, リンに関して中程度の制限が見られることを示唆していた。ただし, これは一年を通しての傾向であり, PP と Chl *a* の関係はばらつきが大きいことから, 観測日により植物プランクトンのリンに関する栄養状態は異なると考えられた。

元素組成比に加えてリン制限の指標となる APA は 1996 年では 8 月の表層で約 $20 \text{ nmol L}^{-1} \text{ min}^{-1}$ であったのははじめ, その他の観測においても $0.5\text{--}9 \text{ nmol L}^{-1} \text{ min}^{-1}$ の範囲で大きく変動した。アルカリフォスファターゼはリン酸塩濃度が低下した際に DOP を利用するために作り出される酵素であることから, APA はリン制限の度合いを知る指標となる。ただし, 活性は生物量に大きく影響されるため, リン制限の度合いを比較するためには標準化が必要がある。アルカリフォスファターゼは主に植物プランクトンおよびバクテリアによって作りだされるが (Jansson et al., 1988), 一般的に表水層においては植物プランクトン由来のアルカリフォスファターゼが卓越することから, Chl *a* 濃度による標準化が多くおこなわれている (Smith and Kalff, 1981; Waiser and Robarts, 1995; Zohary and Robarts, 1998)。大沼においても, バクテリアが含まれると思われる $0.2\text{--}1 \mu\text{m}$ 画分が APA に占める割合は小さかったことから (芳村, 未発表), APA のほとんどは植物プランクトン由来であったと考えられた。大沼における Chl *a* 濃度により標準化した APA (Chl *a*-specific APA, SAPA) は $0.2\text{--}1.4 \text{ nmol-P } \mu\text{g Chl } a^{-1} \text{ min}^{-1}$ であったが (Fig. 8), この値は他の多くのリン制限湖沼および海域における報告値と同等もしくはそれ以上であったとともに (Pick, 1987), Healey and Hendzel (1979) が示した著しいリン不足の基準値 $0.08 \text{ nmol-P } \mu\text{g Chl } a^{-1} \text{ min}^{-1}$ を上回っていた。0 m の SAPA は日により大きく増減し, 高い活性が見られたのは 4 月・5 月および 7 月・8 月であった (Fig. 8)。結氷期の SAPA は $0.5 \text{ nmol-P } \mu\text{g Chl } a^{-1} \text{ min}^{-1}$ であり, Healey and Hendzel (1979) に従えば, このときの植物プランクトンもリン制限下にあったと考えられたが, SRP 濃度は $0.15 \mu\text{mol L}^{-1}$ と比較的高く, また, 植物プランクトンの光合成活性は低かったと考えられ, この時期の植物プランクトンがリン制限を受けていたとは考え

Fig. 8. Seasonal variation in Chl *a*-specific APA (SAPA) at 0 m in Lake Ohnuma.

られなかった。SRP 濃度が高かった 1996 年 9 月および 10 月も 3 月と同程度の SAPA であったことから, Healey and Hendzel (1979) の基準を大沼に適用することができのかどうかは明らかではない。一方, SRP 濃度が検出限界以下であった 11 月において高い SAPA が見られなかったのは, SRP 濃度が低かったことが必ずしもリンの利用可能性が低かったことを意味するわけではなかったことを示していたと推測された。植物プランクトンの増殖速度は環境水中に存在する制限栄養塩濃度に依存すると考えられているが (Monod の式), 特にリンの栄養状態に関しては, 環境水中よりもむしろ細胞内の栄養物質含量に依存している (Droop の式) (Droop, 1973)。リン酸塩濃度が高い環境下では植物プランクトンはリン酸塩を必要以上に過剰に取り込み, 細胞内にポリリン酸顆粒としてリンを貯蔵する。そして環境水中のリン酸塩が欠乏しても貯蔵リンを利用することにより, 植物プランクトンは 20 回に及ぶ細胞分裂をおこなうことができる (Horne and Goldman, 1994)。このような点から, APA を測定することにより, 水中の SRP 濃度を測定しても明らかにならない植物プランクトンのリン栄養状態を明らかにすることができたと考えられた。

調査期間中最大の APA を示したのは 1996 年 8 月であったが, このときは湖が安定化し, 表層の硝酸塩濃度が $1 \mu\text{mol L}^{-1}$ に低下したときであった (Fig. 3b)。表層の Chl *a* 濃度は $20 \mu\text{g L}^{-1}$ 以上であり (Fig. 5a), 酸素飽和度は 250% を上回っていたことから (Yoshimura et al., 2000), 植物プランクトンが非常に活発に増殖していたことが示唆された。それに伴ってリン酸塩に対する要求量が増加したために, リン酸塩の利用可能性が低下し, APA が著しく増加したと考えられた。一方, SAPA は 1996 年 8 月よりも 1996 年 4 月に高かった (Fig. 8)。観測をおこなった 4 月 26 日は冬期間中大沼の表面を覆って

いた氷が融けて間もないときであったが、冬の栄養塩濃度は夏期と比較して高かったことから (Fig. 3), 水温と日射量の増加により植物プランクトンの生長が促進され、リン要求量の増加にともない一個体当たりのリン不足が強まったものと推測された。しかしながら、そのリン不足は急速に解消され、6月にSAPAは最小となった。4月から6月にかけて生物量が大きく増加したにも関わらずリン不足が緩和されたことから、リンに関する栄養状態は系内でのリンの循環速度と大きく関わっていることが推測され、リンの循環速度の変化を明らかにする必要がある。リンが系内をすみやかに再循環していたことが示唆された。表水層内での栄養塩の再循環量は系外からの負荷量と比較して非常に大きく、基礎生産を支える主要な栄養塩源となっている (Hudson et al., 1999)。ウイルスによるセストンの溶解 (Gobler et al., 1997)、植物プランクトン - 動物プランクトンの生食食物連鎖における動物プランクトンの捕食 (Peters and Rigler, 1973) を通しての栄養塩の回帰が報告されているが、近年注目されているのはバクテリア、鞭毛虫、絨毛虫等によって構成される微生物食物連鎖を介しての栄養塩の循環である (中野, 2000)。物質が生食食物連鎖と微生物食物連鎖のどちらを経由するかにより、その循環速度や効率が大きく異なることが予測される。

結 論

渡島大沼のChl *a* 濃度は $5\text{--}22\ \mu\text{g L}^{-1}$ (平均 $12\ \mu\text{g L}^{-1}$) であり、一年を通して植物プランクトン現存量が高いことが明らかとなった。また、一年を通してDIN濃度が高くSRP濃度が低いという、温帯域の湖沼に典型的な栄養塩環境であった。これは河川水を通してのN:P比の高い栄養塩の負荷が大きく影響していたと考えられた。一方、植物プランクトンのC:PおよびN:P比はレッドフィールド比 (C:P=106, N:P=16) を上回っており、生長がリン制限を受けている傾向が見られた。解氷期の多くの期間に植物プランクトンがリン制限であったことはAPAが高かったことから示唆された。また、SAPAが変動を示したことから、植物プランクトンのリンに関する栄養状態が変化していたことが明らかとなった。APAは比較的簡便に測定することができ、栄養塩濃度からは明らかにならないリンに関する栄養状態の変化を明らかにするよい指標であった。大沼のSRP現存量は非常に少ないことから、湖内でのリンの循環速度が植物プランクトンのリン利用可能度を変化させ、植物プ

ランクトンの現存量および生理状態に影響を与えていたと推測された。

謝 辞

サンプリングおよび栄養塩分析に多大なご協力をいただいた戸屋健治技官をはじめ、海洋化学講座の皆様に感謝いたします。

文 献

- Droop, M. R. (1973): Some thoughts on nutrient limitation in algae. *Journal of Phycology*, 9: 264-272.
- Gardner, W. S., T. F. Nalepa, M. A. Quigley and J. M. Malczyk (1981): Release of phosphorus by certain benthic invertebrates. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 38: 978-981.
- Gobler, C. J., D. A. Hutchins, N. S. Fisher, E. M. Cosper and S. A. Sañudo-Wilhelmy (1997): Release and bioavailability of C, N, P, Se, and Fe following viral lysis of a marine chrysophyte. *Limnology and Oceanography*, 42: 1492-1504.
- Goldman, J. C., J. J. McCarthy and D. G. Peavey (1979): Growth rate influence on the chemical composition of phytoplankton in oceanic waters. *Nature*, 279: 210-215.
- Healey, F. P. and L. L. Hendzel (1979): Fluorometric measurement of alkaline phosphatase activity in algae. *Freshwater Biology*, 9: 429-439.
- Healey, F. P. and L. L. Hendzel (1980): Physiological indicators of nutrient deficiency in lake phytoplankton. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 37: 442-453.
- 北海道公害防止研究所 (1990): 北海道の湖沼. 北海道公害防止研究所.
- Holmboe, N., H. S. Jensen and F. Ø. Andersen (1999): Nutrient addition bioassays as indicators of nutrient limitation of phytoplankton in an eutrophic estuary. *Marine Ecology Progress Series*, 186: 95-104.
- Horne, A. J. and C. R. Goldman (1994): *Limnology*. McGraw-Hill, Inc., New York.
- Huber, A. L., J. O. Gabrielson and D. K. Kidby (1985): Phosphatase activities in the waters of a shallow estuary, Western Australia. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 21: 567-576.
- Hudson, J. J., W. D. Taylor and D. W. Schindler (1999): Planktonic nutrient regeneration and cycling efficiency in temperate lakes. *Nature*, 400: 659-661.
- 石川 靖 (2000): 北海道渡島大沼の環境の長期変遷. 国立環境研究所研究報告, 153: 98-123.
- Istvánovics, V., K. Pettersson, D. Pierson and R. Bell

- (1992): Evaluation of phosphorus deficiency indicators for summer phytoplankton in Lake Erken. *Limnology and Oceanography*, 37: 890-900.
- Jansson, M., H. Olsson and K. Pettersson (1988): Phosphatases; origin, characteristics and function in lakes. *Hydrobiologia*, 170: 157-175.
- Jensen, H. S. and F. Ø. Andersen (1992): Importance of temperature, nitrate, and pH for phosphate release from aerobic sediments of four shallow, eutrophic lakes. *Limnology and Oceanography*, 37: 577-589.
- 国立天文台 (1999): 理科年表. 丸善, 東京.
- Kudo, I. and K. Matsunaga (1986): Distribution of cadmium in Lake Tohya. *Japanese Journal of Limnology*, 47: 351-354.
- Matsunaga, K. and M. Nishimura (1974): A rapid and sensitive method for determination of submicrogram amounts of ammonia in fresh and sea waters. *Analytica Chimica Acta*, 73: 204-208.
- 松永勝彦・米田義昭・深瀬 茂 (1979): 北海道大沼湖における栄養塩と基礎生産力について. *陸水学雑誌*, 40: 123-128.
- Menzel, D. W. and N. Corwin (1965): The measurement of total phosphorus in seawater based on the liberation of organically bound fractions by persulfate oxidation. *Limnology and Oceanography*, 10: 280-282.
- Millard, E. S., D. D. Myles, O. E. Johannsson and K. M. Ralph (1996): Seasonal phosphorus deficiency of Lake Ontario phytoplankton at two index stations: light versus phosphorus limitation of growth. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 53: 1112-1124.
- 中野伸一 (2000): 湖沼有機物動態における微生物ループでの原生動物の役割. *日本生態学会誌*, 50: 41-54.
- 日本工業標準調査会 (1991): JIS ハンドブック. 日本規格協会, 東京.
- Parsons, T. R., Y. Maita and C. M. Lalli (1982): A Manual for Chemical and Biological Methods for Seawater Analysis. Pergamon, Oxford.
- Parsons, T. R., M. Takahashi and B. Hargrave (1984): Biological oceanographic processes. Pergamon, Oxford.
- Peters, R. H. and F. H. Rigler (1973): Phosphorus release by *Daphnia*. *Limnology and Oceanography*, 18: 821-839.
- Pick, F. R. (1987): Interpretations of alkaline phosphatase activity in Lake Ontario. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 44: 2087-2094.
- Redfield, A. C., B. H. Ketchum and F. A. Richards (1963): The influence of organisms on the composition of seawater. In *The Sea*, M. N. Hill (ed.): 26-77. Wiley-Interscience, New York.
- Riley, E. T. and E. E. Prepas (1984): Role of internal phosphorus loading in two shallow, productive lakes in Alberta, Canada. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 41: 845-855.
- Roberts, R. D., M. J. Waiser, O. Hadas, T. Zohary and S. MacIntyre (1998): Relaxation of phosphorus limitation due to typhoon-induced mixing in two morphologically distinct basins of Lake Biwa, Japan. *Limnology and Oceanography*, 43: 1023-1036.
- 札幌管区气象台 (1996): 北海道気象月報.
- Smith, R. E. and J. Kalff (1981): The effect of phosphorus limitation on algal growth rates: evidence from alkaline phosphatase. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 38: 1421-1427.
- Suzuki, R. and T. Ishimaru (1990): An improved method for the determination of phytoplankton chlorophyll using N, N-dimethylformamide. *Journal of the Oceanographical Society of Japan*, 46: 190-194.
- 田淵俊雄・高村義親・鈴木誠治 (1979): 雨と雪の中の窒素とリン. *水温の研究*, 23: 4709-4718.
- 多田邦尚 (1998): 降水中の窒素・リン濃度と内湾への栄養塩負荷. *海と空*, 73: 125-130.
- Tezuka, Y. (1984): Seasonal variations of dominant phytoplankton, chlorophyll a and nutrient levels in the pelagic regions of Lake Biwa. *Japanese Journal of Limnology*, 45: 26-37.
- Theis, T. L. and P. J. McCabe (1978): Phosphorus dynamics in hypereutrophic lake sediments. *Water Research*, 12: 667-685.
- Waiser, M. J. and R. D. Roberts (1995): Microbial nutrient limitation in prairie saline lakes with high sulfate concentration. *Limnology and Oceanography*, 40: 566-574.
- 山本民次・橋本俊也・松田 治・多田邦尚 (1999): 瀬戸内海における植物プランクトン態 N:P 比とその変動要因. *水産海洋研究*, 63: 6-13.
- Yoshimura, T., I. Kudo, M. Yanada and K. Matsunaga (2000): Change in the water quality in Lake Ohnuma, Hokkaido, Japan: a comparison of 1977 and 1996. *Limnology*, 1: 63-68.
- Zohary, T. and R. D. Roberts (1998): Experimental study of microbial P limitation in the eastern Mediterranean. *Limnology and Oceanography*, 43: 387-395.

芳村 毅：〒041-8611 函館市港町3-1-1，北海道大学大
学院水産科学研究科

現在：〒270-1194 千葉県我孫子市我孫子1646，電力
中央研究所我孫子研究所応用生物部

E-mail: ytakeshi@criepi.denken.or.jp

工藤 勲：〒041-8611 函館市港町3-1-1，北海道大学大
学院水産科学研究科

E-mail: ikudo@fish.hokudai.ac.jp

(受付：2001年2月26日；受理：2001年6月4日)

[Original article]

Seasonal variations in nutrients and a factor limiting phytoplankton growth in Lake Ohnuma

Takeshi YOSHIMURA* and Isao KUDO

Graduate School of Fisheries Science, Hokkaido University,
3-1-1 Minato, Hakodate 041-8611, Japan

※Present address: Central Research Institute of Electric Power Industry,
1646 Abiko, Abiko, Chiba 270-1194, Japan

Abstract

Nutrient concentrations and alkaline phosphatase activity were measured in Lake Ohnuma from June 1995 to March 1997. Sufficient amounts of dissolved inorganic nitrogen remained throughout the year, whereas soluble reactive phosphorus concentrations were extremely low (close to the detection limit). The N:P ratio in the standing stock of nutrients ranged 74-3000 (by atoms), far richer in nitrogen than the Redfield ratio. Chlorophyll *a* concentrations were high ($5-22 \mu\text{g L}^{-1}$) during ice-free seasons, but the elemental composition of phytoplankton exhibited a moderate phosphorus deficiency. A high seasonal variability in alkaline phosphatase activity suggested that not only was phytoplankton growth highly limited by phosphorus, but that the degree of this limitation varied. Alkaline phosphatase activity served as a simple and an effective indicator for judging the phosphorus status of phytoplankton.

Key words: nutrients, alkaline phosphatase activity, phosphorus limitation, Lake Ohnuma
E-mail (Takeshi Yoshimura): ytakeshi@criepi.denken.or.jp