

四万十川河口域の栄養塩変動がスジアオノリの 藻体長と色素含有量に及ぼす影響

和 吾郎^{1*}・木下 泉²・平岡雅規²・東 健作³

¹ 株式会社西日本科学技術研究所 (〒780-0812 高知県高知市若松町9-30)

² 高知大学総合研究センター海洋生物研究教育施設 (〒781-1164 高知県土佐市宇佐町井尻194)

³ 株式会社西日本科学技術研究所四万十リサーチセンター (〒787-0050 高知県四万十市渡川2-1-13)

Goro Nigi¹, Izumi Kinoshita², Masanori Hiraoka² and Kensaku Azuma³: The effect of fluctuation in nutrients on the thallus length and pigment content of *Ulva prolifera* in the Shimanto River estuary. Jpn. J. Phycol. (Sôrui) 66: 7-16, March 10, 2018

To clarify the effect of fluctuation in nutrients on the growth state of *Ulva prolifera* in the brackish waters of the Shimanto River estuary, nutrients concentrations in the surrounding waters of habitat, tissue nitrogen (N) and phosphorus (P) contents, length, and pigment (chlorophyll *a*) content of the thallus were investigated during the growing period in 2009-2011. Concentrations of nutrients, especially dissolved inorganic phosphorus (DIP), in this study were much lower than those of 30 years ago when the yield of *U. prolifera* had been rich. Since there was no change in DIP concentration in western Tosa Bay from the 1980s to the present, it is considered that riverine DIP input have decreased across the 30 years. DIP concentration had a significant correlation not only with tissue P content but also tissue N content, despite there being sufficient dissolved inorganic nitrogen (DIN). Thallus length grew long at least in part even when tissue N and P and chlorophyll *a* contents were low. These results suggest that a deficiency of DIP for nutrients demand of *U. prolifera* growing in the Shimanto River estuary causes deterioration of quality as thallus discoloration.

Key Index Words: nutrient, tissue N and P content, chlorophyll *a* content, *Ulva prolifera*, the Shimanto River estuary

¹Nishinohon Institute of Technology, 9-30, Wakamatsu, Kochi, Kochi 780-0812, Japan

²Utsunomiya Marine Biological Institute, Kochi University, 194 Inoshiri, Usa, Tosa, Kochi 781-1164, Japan

³Nishinohon Institute of Technology Shimanto Research Center, 2-1-13, Watarigawa, Shimanto, Kochi 787-0050, Japan

*Author for correspondence: nigi@ule.co.jp

緒言

スジアオノリ *Ulva prolifera* Müller は主に汽水域に生育し (新崎 1946), 中国の黄海では 2007 年以降, グリーンタイドの主要な構成種として世界最大規模の増殖が報告されている (Shi & Wang 2009, Liu *et al.* 2010, Zhang *et al.* 2011, Liu *et al.* 2013)。一方, 日本では, 汽水産アオサ属は古くから食用として採取され, このうちスジアオノリは水産資源としての価値が最も高いとされている (平岡・嶋田 2004)。日本のスジアオノリ生産は養殖産と天然産があり, 天然産では四国南西部の四万十川河口域が主要産地となっている (平岡・嶋田 2004)。収穫されたスジアオノリは色相等によって等級が決定し, 濃緑色を呈するものは最高級と評価され (大野 1990), 特に四万十川産は高値で取引されてきた (平岡・嶋田 2004)。しかし, 四万十川における天然スジアオノリの収穫量は 1980 年代中頃より 10 ~ 20 t/年 で推移していたが, 1990 年代後半には沿岸の海水温上昇に伴う生育不良によって減少し, 2006 ~ 2008 年も不作が原因で 2 ~ 3 t/年 まで落ち込んだ (平岡ら 2012)。以降も, 1 ~ 2 t/年 の不作が多発している (平岡 2015)。

日本のスジアオノリに関する研究は主要産地である四万十川において中心的に行われ, 季節変化として 1 ~ 2 月に最大藻体長となり (大野ら 1999, Hiraoka & Higa 2016), その水平分布範囲は河口から約 7 km までで (大野・高橋 1988), 塩分の縦断変化に沿った形態変化 (平岡・嶋田 2004) 及び生活史・生殖型の変化が報告されている (Hiraoka *et al.* 2003, Hiraoka & Higa 2016)。環境条件については, 生産量が多い場所の濁度が 1.5 ~ 2.9 mg L⁻¹ (カオリン粘土濃度として) の範囲にあり (Ohno & Miyanoue 1980), 幼体の初期生長は水温 20°C, 塩分 24.5 の条件が最適と報告されている (Soe-Htun *et al.* 1986)。しかし, 一般に大型緑藻の増殖を促す栄養塩について, 四万十川では 1980 年代に大野・高橋 (1988) によりスジアオノリ生育域における環境条件の一つとして測定値が報告されているのみで, 栄養塩と生育状態との関連については明らかにされていない。

スジアオノリの生長と栄養塩との関係について, ヨーロッパや北米では 1970 年代から富栄養化と大規模増殖との関係が指摘され (Fletcher 1996, Ye *et al.* 2011, Smetacek &

Zingone 2013), 近年では, 中国黄海における富栄養化の影響を指摘した複数の報告例がある (Leliaert *et al.* 2009, Lin *et al.* 2011, Liu *et al.* 2013, Li *et al.* 2014, Shi *et al.* 2015, Xing *et al.* 2015)。スジアオノリの生長に対する各栄養塩の影響については, 窒素の増加が生長を促進する事例が多く報告され (McClanahan *et al.* 2007, Shi & Wang 2009, Luo *et al.* 2012, Li *et al.* 2014, Zhou *et al.* 2015), 近縁種のボウアオノリ *Ulva intestinalis* も窒素添加による生長促進が示されている (Lotze & Schramm 2000, Kamer & Fong 2001, McAboy & Klug 2005)。その一方で, 溶存無機態窒素: 溶存無機態リン (DIN:DIP) 比の上昇により, リンが制限因子となってスジアオノリの生長を抑制した事例もあり (O'Brien 1987, O'Brien & Wheeler 1987), オオバアオサ *Ulva lactuca* でも同様の事象が報告されている (Pedersen *et al.* 2010)。また, スジアオノリ及びボウアオノリでは藻体中の N 及び P 含有量が少ない時に生長が抑制され (O'Brien 1987, Fong *et al.* 1994), その他のアオサ属では藻体内 N 及び P 含有量の増加に伴って生長が促進されている (Björnsäter & Wheeler 1990, Villares *et al.* 1999)。

本研究ではスジアオノリ生産量が低下傾向にある四万十川河口域において, 栄養塩の動態とスジアオノリのバイオマスとの関連を明らかにすることを目的とし, スジアオノリ生長期に生育地の栄養塩濃度の測定を行うとともに, スジアオノリ藻体中の N 及び P 含有量, 並びにバイオマスの指標として藻体長の測定を行った。さらに本研究では, 水産資源としての価値を左右する色相にも注目した。アマノリ属の養殖で生じる「色落ち」した藻体ではクロロフィル *a* 含有量が低下し (Zhang *et al.* 2004), またスジアオノリやヒトエグサ *Monostroma nitidum* Wittrock といった汽水産アオサ属の等級を左右する緑色の濃淡にも藻体中のクロロフィル *a* 含有量が関係している (Ohno & Miyano 1980, Ohno 1995)。以上を踏まえ, 色相の指標としてクロロフィル *a* 含有量を測定し, 栄養塩変動との関係を検討した。

材料と方法

試料の採取時期と採取地点

Hiraoka & Higa (2016) による季節的消長に基づき, 本研究では, 2009 ~ 2011 年の 1 月中旬から 2 月中旬の間に, 隔週で年 3 回の採水と藻体採取を行った。スジアオノリの生育場となる汽水域は潮汐に伴う塩分変化が生じ, その影響を受けて栄養塩濃度も変動する (Head 1985)。採水はスジアオノリ生育域の栄養塩の変動範囲と平均的水準を明らかにするため, 潮回りや潮汐を考慮し, 1 日の塩分変化が大きい大潮時に, 水温塩分観測と合わせて 1 日 5 回 (満潮時, 下げ潮時, 干潮時, 上げ潮時, 満潮時で約 3 時間程度の間隔) 行った。

藻体と試水の採取地点は, 大野・高橋 (1988) に基づき, 河口から 7 km の分布範囲内で上流側 (Stn. U1), 中央部 (Stn. U2), 下流側 (Stn. U3) の 3 ヶ所を選定した (Fig. 1)。また, スジアオノリは標高によって被度が変化するので (大野ら

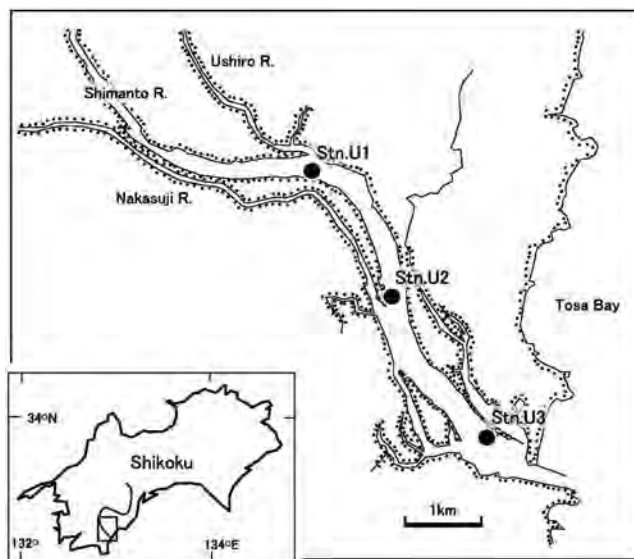


Fig. 1. Map showing sampling stations (●) located in the Shimanto River estuary.

1999), 各地点の水温塩分観測, 採水, 藻体採取は, 各年の 1 回目の調査時にスジアオノリの被度を観察し, 最も高被度に生育する標高で行った。

現地観測及び試料の採取, 分析方法

各地点の藻体採取位置で, 電導度センサー (YSI ナノテック社製 model 30 型) により水温と塩分を測定した後, ハイロート採水器 (柴田科学社製) を使用して採水し, ポリエチレンボトルに移した。水深が 0.5 m 以浅の場合は, 直接, ポリエチレンボトルで採水した。試水は採取後直ちに冷蔵保存し, その日のうちに濁度を積分球式法により測定後, Whatman GF/C フィルターを用いてろ過した。ろ液は Parsons *et al.* (1984) に従って硝酸塩 + 亜硝酸塩, アンモニウム塩, リン酸塩をそれぞれ比色定量した。

Hiraoka & Higa (2016) は, 2004 ~ 2007 年に四万十川汽水域から採集された 5,387 個体のアオノリについて, 胞子から育てた培養形態に基づき, 96%がスジアオノリと同定している。このとき採集された別種は分枝が少ない形態を示し, 最近, *Ulva mediterranea* Alongi, Cormaci & G. Furnari と同定された (Hiraoka *et al.* 2017)。また, この種は主に外海に面した河口部に繁茂し, 本研究の藻体採取地点周辺ではほとんど観察されていない (Hiraoka & Higa 2016)。したがって, 本研究では採取地で細かい分枝を多数もつ藻体をスジアオノリとみなした。各地点でアオノリ藻体が固着している石礫を採集し, 無作為に 50 個体をピンセットで付着根から摘み取り, 藻体長を測定した。残りの石礫に固着している藻体も削ぎ取り, 蒸留水で十分に洗浄して表面の付着物を取り除き, 暗所に一昼夜風乾した。藻体が恒量になったことを確認後, ミキサーで粉碎して粉末状試料とした。試料は Buapet *et al.* (2008) に従って, ケルダール分解-インドフェノール法により N 含有量を, 硝酸・

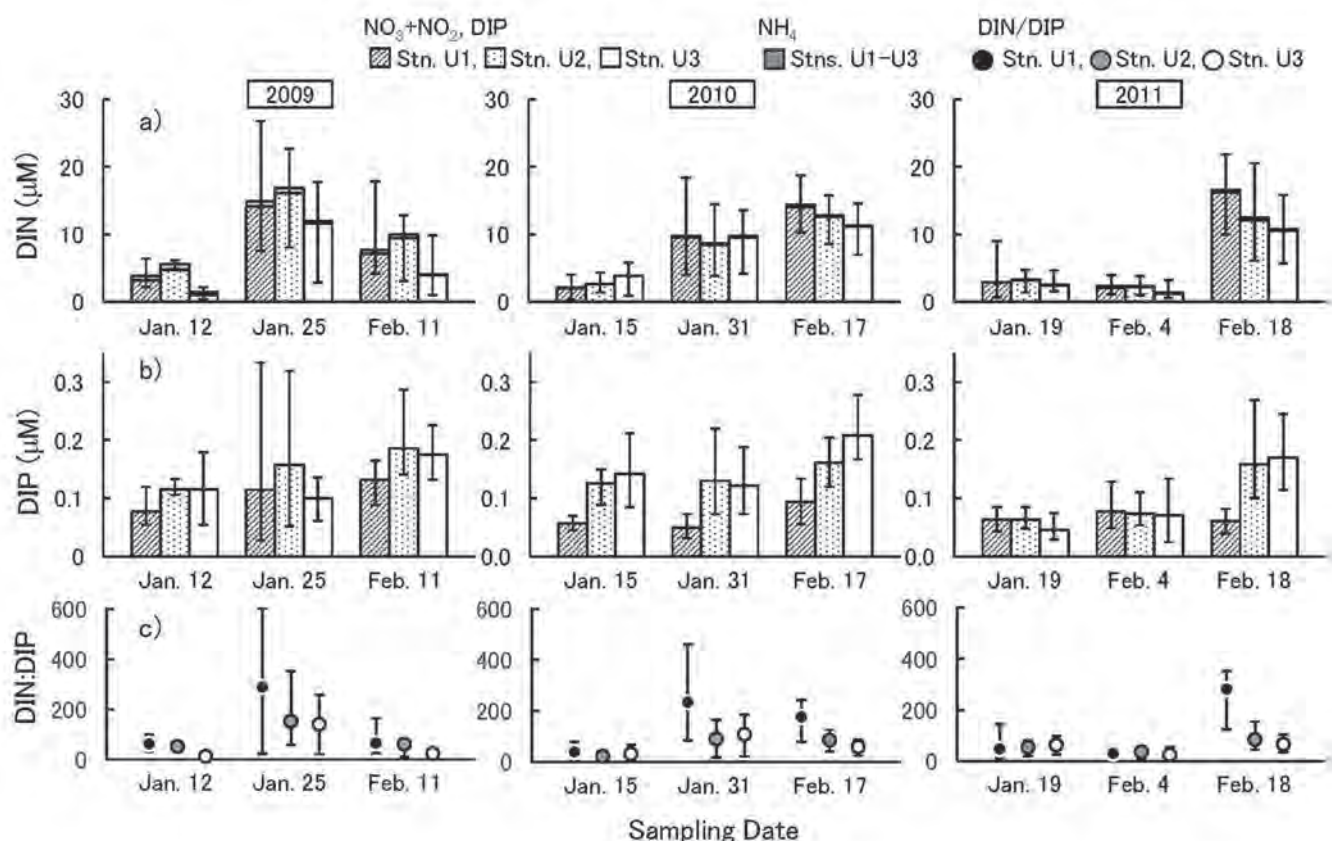


Fig. 2. Daily average (a) DIN ($\text{NO}_3+\text{NO}_2+\text{NH}_4\text{-N}$) and (b) DIP ($\text{PO}_4\text{-P}$) concentrations, and (c) DIN:DIP ratio at three sampling stations in the Shimanto River estuary during the growing period (January to February) of *Ulva prolifera* in 2009-2011. Water samples were collected five times a day during the high tides of morning and evening. Error bars represent the minimum and maximum values on each sampling day.

過塩素酸分解ーモリブデン青法により P 含有量を測定した。なお、ケルダール分解法では藻体内中の硝酸は定量できないため、過小評価の可能性が高くなる。ただし、Soulsby *et al.* (1985), Fong *et al.* (1994, 1996) もボウアオノリ藻体内のケルダール窒素を N 含有量とし、また、Lartigue & Sherman (2006) による *Ulva lingulata* 藻体内の N 含有量に占める硝酸態窒素量の割合は最大 3% 程度と低かったため、本研究もケルダール窒素量を N 含有量と定義した。さらに粉末状試料については、色素含有量の代表としてクロロフィル *a* 量を 90% アセトン抽出により比色定量した (Buapet *et al.* 2008)。藻体内の N 含有量, P 含有量, クロロフィル *a* 含有量については各地点の粉末状試料につき 3 回の測定を行い、その平均値を算出した。

結果

環境条件 (水温, 塩分, 濁度)

各地点の試料採取日における水温, 塩分, 濁度の変動範囲と平均値, 及び河川流量を Table 1 に示した。2009 ~ 2011 年の各地点の日平均水温は 9.4 ~ 15.5°C の範囲で変動し, 3 ヶ年とも各地点の水温に有意な差は見られなかった (ANOVA, $p>0.05$)。各地点の水温の日内変動は, 上流側の Stn. U1 では他の 2 地点に比べて大きな変化を示す日が多く, 3 ヶ年の観測で日最低値が 6°C 以下, 日最高値が 17°C 以上に達する状況も

見られた。3 ヶ年の全観測値の塩分は 0.5 ~ 33.4 の範囲で変動し, 淡水に近い状態からほぼ海水までの広範な塩分変化を示した。各地点の日平均塩分は各調査日における淡水供給量の多寡を反映した結果となった。四万十川の日平均流量が 20 ~ 30 $\text{m}^3 \text{s}^{-1}$ の際には各地点とも日平均塩分 20 以上を記録したのに対し, 日平均流量が増加した 2010 年と 2011 年の 2 月中旬では全体的に低塩分で, Stn. U1 では塩分 4 ~ 6 まで低下した。各地点の日平均塩分を地点間で比較すると, 上流側から下流側に向かって高くなる傾向が見られた。ただし, 各年とも日平均塩分に地点間の有意な差は見られなかった (ANOVA, $p>0.05$)。日平均濁度について, Stn. U1 と Stn. U2 では全観測日が濁度 2 mg L^{-1} 以下の水準にあった。Stn. U3 では 2010 年 2 月中旬と 2011 年 2 月中旬に日最大濁度 5 mg L^{-1} 以上, 日平均濁度 2 mg L^{-1} 以上を記録し, 2011 年についてはその他 2 地点との有意な差が認められた (ANOVA, $p<0.05$)。

栄養塩濃度

各調査日の各地点の DIN と DIP, DIN:DIP 比の日平均値と変動範囲を Fig. 2 に示した。DIN は 3 地点とも硝酸塩 + 亜硝酸塩がアンモニウム塩よりも高濃度で, DIN の 71 ~ 99% を占めた。DIN は四万十川の流量が少なかった 2011 年の 1 月中旬から 2 月上旬にかけて (Table 1), 3 地点とも低濃度となった。

Table 1. Daily average values with daily minimum and maximum values of environmental conditions (water temperature, salinity, and turbidity) at three sampling stations in the Shimanto River estuary, and fresh water discharge from the three rivers (Shimanto, Ushiro, and Nakasuji Rivers) to in the brackish waters on each sampling day. Discharge data were cited from the website of Ministry of Land, Infrastructure and Transport, Japan.

Date	Environmental conditions at sampling station				Freshwater discharge	
	Station	Water Temp. (°C)	Salinity	Turbidity (mg L ⁻¹)	River	Discharge (m ³ s ⁻¹)
2009 Jan. 12	U1	14.0 (11.6–15.8)	24.3 (16.4–29.1)	1.1 (0.7–1.5)	Shimanto R.	26.35
	U2	14.8 (13.7–16.4)	27.1 (22.4–31.9)	0.7 (0.3–1.4)	Ushiro R.	0.51
	U3	13.9 (13.6–14.2)	28.4 (25.8–29.7)	0.9 (0.6–1.0)	Nakasuji R.	1.18
	U1	10.6 (5.8–14.3)	11.8 (0.5–22.7)	1.6 (0.9–3.3)	Shimanto R.	39.60
	U2	11.4 (9.0–16.6)	14.2 (5.7–32.5)	2.0 (1.3–3.3)	Ushiro R.	0.74
	U3	11.9 (9.2–15.8)	17.7 (7.2–32.6)	0.9 (0.7–1.0)	Nakasuji R.	1.30
	U1	14.6 (11.2–16.5)	18.5 (3.7–29.7)	1.1 (0.6–1.4)	Shimanto R.	32.47
	U2	13.8 (12.3–16.6)	17.2 (11.2–33.3)	1.1 (0.8–1.3)	Ushiro R.	1.18
	U3	15.5 (13.3–16.5)	24.4 (17.6–33.4)	1.4 (1.1–1.8)	Nakasuji R.	1.69
2010 Jan. 15	U1	15.0 (12.1–17.0)	22.9 (8.9–30.5)	1.1 (0.8–1.6)	Shimanto R.	32.89
	U2	15.3 (12.4–16.8)	24.6 (18.0–29.3)	1.1 (0.8–1.4)	Ushiro R.	0.13
	U3	13.2 (10.9–16.1)	21.1 (14.6–30.6)	1.5 (1.0–2.3)	Nakasuji R.	1.19
	U1	12.9 (10.1–15.2)	15.4 (2.9–24.8)	1.7 (1.0–3.0)	Shimanto R.	37.52
	U2	14.2 (11.6–16.8)	20.1 (11.5–30.0)	1.8 (0.9–2.3)	Ushiro R.	0.35
	U3	13.3 (11.3–15.6)	17.9 (9.0–29.4)	1.8 (1.2–2.5)	Nakasuji R.	1.55
	U1	11.0 (10.0–12.2)	4.2 (0.9–13.4)	0.9 (0.4–1.5)	Shimanto R.	47.35
	U2	12.5 (10.7–14.4)	10.3 (3.3–20.2)	1.1 (0.5–1.7)	Ushiro R.	1.13
	U3	12.2 (11.2–13.9)	14.2 (7.2–25.0)	2.1 (0.7–5.0)	Nakasuji R.	1.66
2011 Jan. 19	U1	14.0 (9.4–17.2)	22.0 (9.9–30.1)	0.8 (0.4–1.3)	Shimanto R.	25.05
	U2	14.4 (13.1–16.8)	23.7 (20.0–29.6)	1.1 (0.9–1.4)	Ushiro R.	0.41
	U3	13.6 (10.4–15.2)	22.5 (14.8–29.6)	0.9 (0.8–1.0)	Nakasuji R.	1.15
	U1	13.0 (10.4–14.6)	20.8 (14.5–29.0)	0.7 (0.3–1.3)	Shimanto R.	22.03
	U2	13.0 (10.6–15.0)	22.5 (16.2–28.9)	0.8 (0.4–1.2)	Ushiro R.	0.20
	U3	13.6 (11.4–14.9)	26.0 (20.3–31.1)	1.1 (0.9–1.3)	Nakasuji R.	1.09
	U1	9.4 (5.9–11.2)	6.1 (1.4–13.1)	1.1 (0.5–1.9)	Shimanto R.	72.87
	U2	12.7 (10.9–13.8)	14.4 (7.0–21.4)	1.5 (1.2–2.2)	Ushiro R.	7.66
	U3	13.2 (11.4–14.2)	16.9 (8.3–25.8)	3.0 (1.5–5.9)	Nakasuji R.	3.78

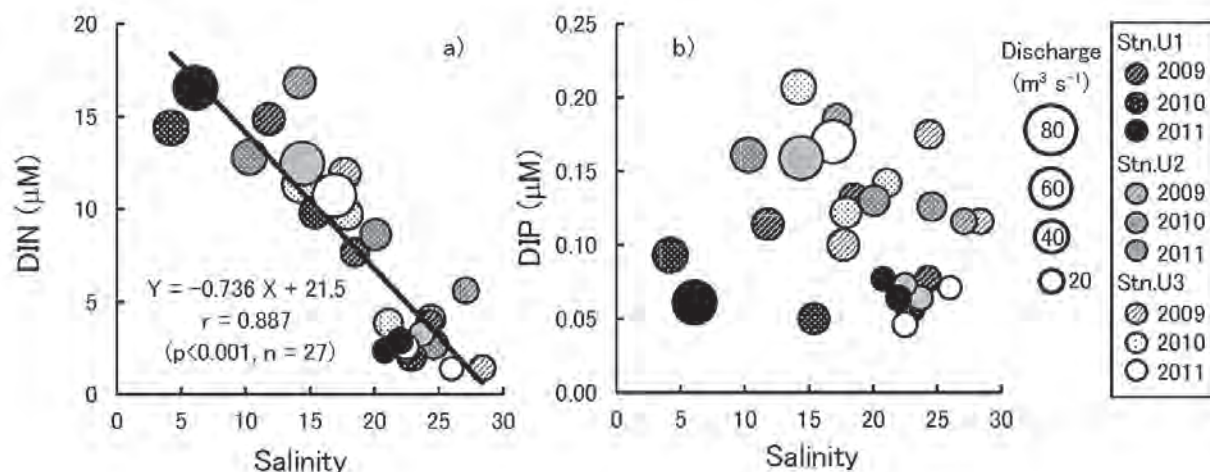


Fig. 3. Correlations between salinity and water column nutrients ((a) DIN, (b) DIP) concentrations at three sampling stations in the Shimanto River estuary. The salinity and nutrients concentrations represent daily average values. Size of circles is proportional to daily average discharge of the Shimanto River on each sampling day.

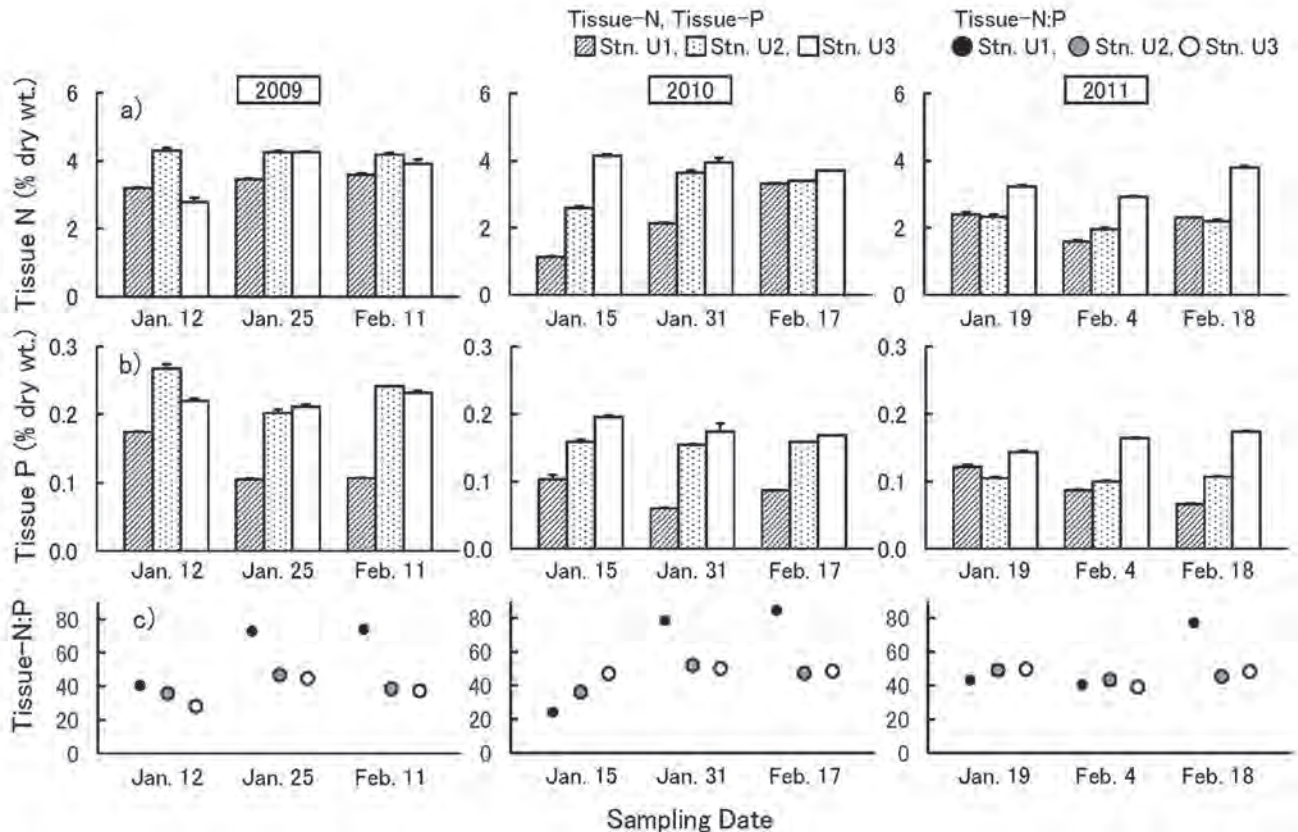


Fig. 4. Tissue- (a) N and (b) P contents, and (c) Tissue-N:P molar ratio of *Ulva prolifera* at three sampling stations in the Shimanto River estuary during the growing period (January to February) in 2009-2011. Analyses of the tissue N and P contents were repeated three times at each station. Error bars represent the standard deviations.

各地点の DIN の日平均値は、2009 年では常に Stn. U2 > Stn. U1 > Stn. U3 となる特徴を示した。ただし、3 地点の平均値の差は有意ではなかった (ANOVA, $p > 0.05$)。2010 年と 2011 年の DIN は地点間の高低に一貫性はなく、差は有意ではなかった (ANOVA, $p > 0.05$)。DIP の 3 ケ年の日平均値は、上流側の Stn. U1 が低濃度となる状況が多く見られ、2010 年では他 2 地点との差は有意であった (ANOVA, $p < 0.01$)。DIP の経年動向は、Stn. U1 では 2009 年に比べて 2010 ~ 2011 年が低濃度となり、Stn. U2 と Stn. U3 では 2009 ~ 2010 年は顕著な変化はなく、2011 年の 1 月中旬 ~ 2 月上旬の間は Stn. U1 と同等の水準まで低下した。3 ケ年の 3 地点の DIN:DIP 比の日平均値は 12 ~ 288 の範囲にあり、大きく変動した。地点間で DIN:DIP 比を比べると、Stn. U1 が他 2 地点に対して同等以上の値を示す場合が多く、日内では最大 600 に達した。Stn. U2 と Stn. U3 の DIN:DIP 比の日平均値は、Stn. U3 の方が低比率を示す場合が多かった。

栄養塩濃度に対する塩分の影響を検討するため、各地点の日平均塩分と DIN 及び DIP 濃度の日平均値との関係を Fig. 3 に示した。また塩分は河川流量によって変化するため、各調査日の四万十川の日平均流量も円のサイズで表した。DIN 濃度は塩分の低下に伴って高くなる傾向、すなわち河川流量の増加時に上昇する特徴を示した。一方、DIP は塩分との関係性が認められず、Stn. U1 では塩分変化に関係なく低濃度であった。

藻体内 N 及び P 含有量

各調査日の各地点の藻体内 N 含有量と P 含有量、藻体内 N:P 比を Fig. 4 に示した。藻体内 N 含有量について、下流側の Stn. U3 は 3 ケ年を通じて 3 ~ 4% の水準を維持し、2011 年では他 2 地点よりも多かった (ANOVA, $p < 0.05$)。Stn. U1 と Stn. U2 の藻体内 N 含有量は、両地点とも 2009 年が相対的に高水準で 3 地点が同等の状態にあり、Stn. U1 では 2010 年以降、Stn. U2 では 2011 年に減少した。藻体内 P 含有量は Stn. U1 が常に 0.2% 未満の低水準で推移し、2009 ~ 2010 年では他 2 地点より有意に少なかった (ANOVA, $p < 0.01$)。Stn. U1 の藻体内 P 含有量は 2009 年に比べて 2010 ~ 2011 年が低く、藻体内 N 含有量と同様の経年変化を示した。Stn. U2 の藻体内 P 含有量は 2009 年から 2011 年にかけて減少傾向を示し、2011 年は Stn. U1 と同等の水準となった。Stn. U3 では経年的な変化が小さく、2011 年は他 2 地点よりも多かった (ANOVA, $p < 0.01$)。3 ケ年の 3 地点の藻体内 N:P 比 (モル比) は 24 ~ 85 の範囲で変動し、Stn. U1 が他 2 地点よりも高比率となる場合が多かった。

環境水中の栄養塩濃度と藻体中への栄養塩の蓄積との関係を検討するため、各地点の DIN 及び DIP 濃度の日平均値に対する藻体内 N 及び P 含有量をそれぞれ Fig. 5 に示した。DIN 濃度と藻体内 N 含有量の間には正の相関が認められず、

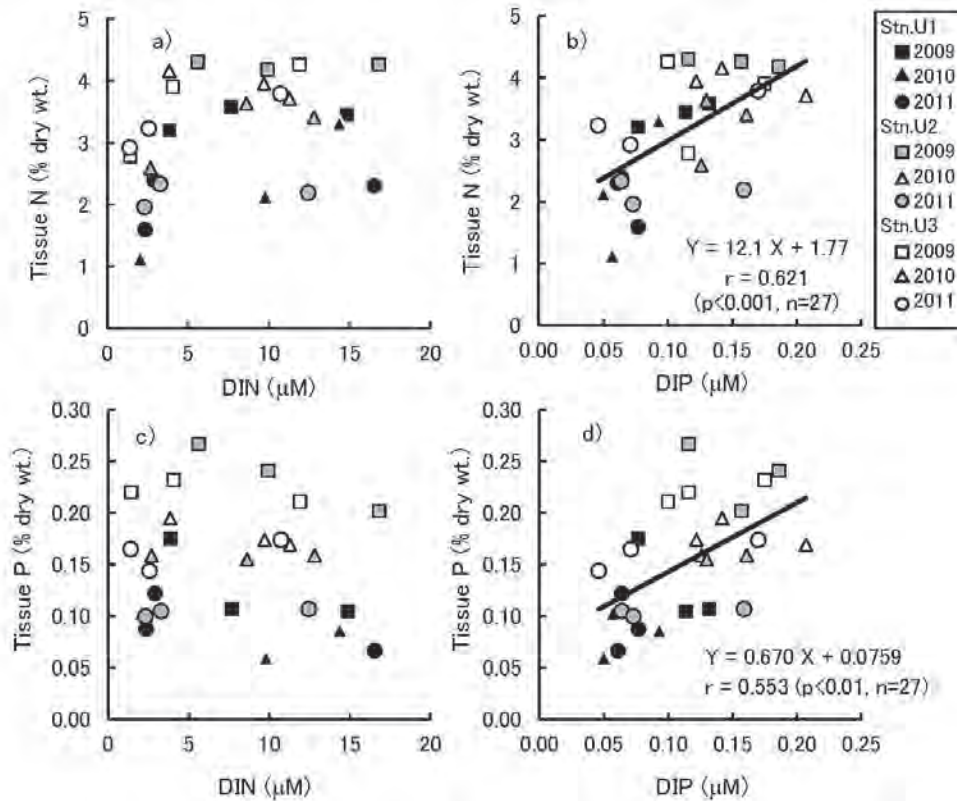


Fig. 5. Correlations between (a) water column DIN concentration and tissue N content of *Ulva prolifera*, (b) water column DIP concentration and tissue N content, (c) water column DIN concentration and tissue P content, and (d) water column DIP concentration and tissue P content at three sampling stations in the Shimanto River estuary. The nutrients concentrations represent daily average values.

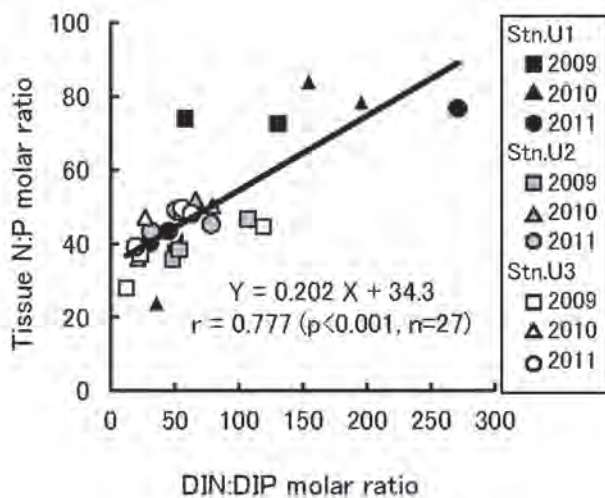


Fig. 6. Correlation between water column DIN:DIP molar ratio and tissue N:P molar ratio at three sampling stations in the Shimanto River estuary. The DIN:DIP molar ratio represents daily average values.

DIN $5 \mu\text{M}$ 以上では、濃度の増加に対して藻体内 N 含有量は 4% 程度が上限となった。また Stn. U1 の 2010 ~ 2011 年、Stn. U2 の 2011 年では、DIN が $10 \mu\text{M}$ 以上の存在下で藻体内 N 含有量が 2% 程度に留まることがあった。DIN 濃度は藻体内 P 含有量に対しても関係性は見られなかった。DIP 濃度の変動に対しては、藻体内 P 含有量だけでなく藻体内 N 含有量

との間にも正の相関が認められた。また DIN:DIP 比の日平均値と藻体内 N:P 比の間にも正の相関が認められた (Fig. 6)。ただし、DIN:DIP 比の変動範囲よりも藻体内 N:P 比の変動範囲は小さく、DIN:DIP 比が高比率となるにつれて藻体内 N:P 比の上昇は鈍化する特徴が見られた。

藻体長とクロロフィル a 含有量

各調査日の各地点の藻体長とクロロフィル a 量を Fig. 7 に示した。2009 年の各調査日の平均藻体長は、2 月中旬の Stn. U2 を除いて 200 mm 程度で地点間の差は有意ではなかった (ANOVA, $p > 0.05$)。Stn. U1 では 2010 年も 2009 年と同等の藻体長を示したのに対し、Stn. U2 と Stn. U3 では前年よりも短く、Stn. U1 との差は有意であった (ANOVA, $p < 0.01$)。2011 年は 3 地点とも 2009 年に比べて藻体長が短く、地点間差は有意ではなかった (ANOVA, $p > 0.05$)。クロロフィル a 含有量は Stn. U1 が 3 ヶ年を通じて相対的に少なく、2010 年では他 2 地点より有意に少なかった (ANOVA, $p < 0.01$)。Stn. U1 のクロロフィル a 含有量の経年変化は 2009 年に比べて 2010 ~ 2011 年が少なく、Stn. U2 では 2011 年に Stn. U1 と同等の水準まで減少した。Stn. U3 のクロロフィル a 含有量は相対的に変動が小さく、2011 年は他 2 地点よりも多かった (ANOVA, $p < 0.01$)。

藻体長及びクロロフィル a 含有量と藻体内 N 及び P 含有量

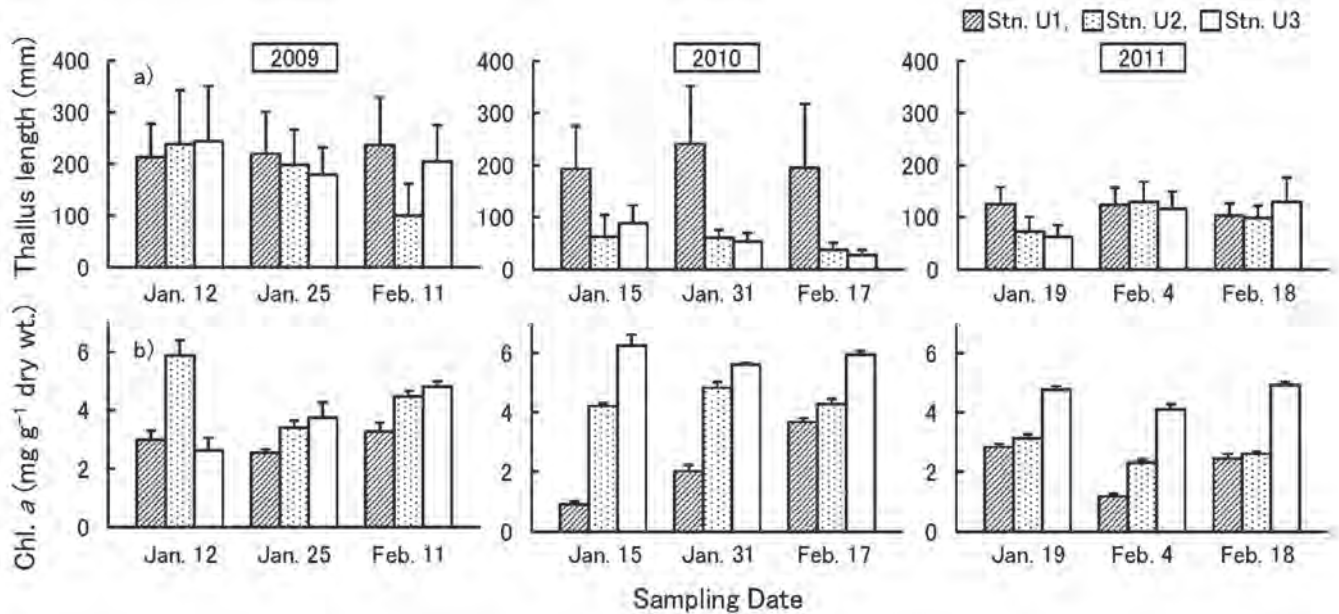


Fig. 7. Average (a) thallus length and (b) tissue Chl. *a* content of *Ulva prolifera* at three sampling stations in the Shimanto River estuary during the growing period (January to February) in 2009-2011. Measurements of the thallus length were made using 50 individuals at each station. Analyses of the tissue Chl. *a* content were repeated three times at each station. Error bars represent the standard deviations.

との関係は、藻体長については藻体内 N 及び P 含有量とも一定の関係性は認められなかったのに対し (Fig. 8a, b), クロロフィル *a* 含有量は両要素と正の相関が認められた (Fig. 8c, d)。

考察

環境条件

調査期に観測された水温、塩分、濁度の条件はスジアオノリの生長に適していた。平岡ら (1999) による異なる水温条件でのスジアオノリの培養実験によると、藻体の生長速度は水温上昇に伴い高くなるが、水温が 20℃ 以上になると成熟 (胞子放出) が頻繁に起こり、短い藻体長での伸長停滞もしくは減少が報告されている。3 ヶ年の各地点の採水時はほぼ 10 ~ 15℃ の範囲で変動し、成熟を促す水温 20℃ 以上は観測されなかった。スジアオノリの生長と塩分との関係を調べた培養実験によると、Ogata & Matsui (1965) では塩分 1 ~ 35, Soe-Htun *et al.* (1986) では塩分 5 ~ 56, 牧野ら (2003) では塩分 2 ~ 44 で伸長が認められている。本研究における各地点の日平均塩分は、Ogata & Matsui (1965) と牧野ら (2003) の生長条件の範囲内にあった。また藻体長が大きかった 2009 年の各地点と 2010 年の Stn. U1 の日平均塩分の変動 (塩分 4 ~ 28) は、藻体長が小さかった時の変動 (塩分 6 ~ 26) よりも広範囲であったため、各調査日の塩分は藻体の生育に支障がなかったと考えられる。濁りがスジアオノリの生育に及ぼす影響について、Ohno & Miyanoue (1980) による四万十川の調査では、藻体が伸長した場所の濁度は 1.5 ~ 2.9 mg L⁻¹ であった。本研究の日平均濁度は 0.7 ~ 3.0 mg L⁻¹ で、Ohno & Miyanoue (1980) の上限値を超えたのは 1 回のみであり、またその大半が濁度 2 mg L⁻¹ 以下の水準であったため、藻体の生育を阻害する濁りは

生じていなかったと考えられる。

四万十川汽水域の栄養塩濃度の変化

1986 年にスジアオノリ収穫量は 20 t 以上に達し (平岡ら 2012), その時のスジアオノリ繁茂期における栄養塩濃度の平均は NO₃+NO₂ 15 μM, NH₄ 13 μM, DIP 1 μM で (大野・高橋 1988), スジアオノリが大増殖した黄海の栄養塩濃度と近かった (Huo *et al.* 2015, Xing *et al.* 2015)。これらと本研究の測定値 (3 地点の 3 ヶ年平均で NO₃+NO₂ 7.3 μM, NH₄ 0.29 μM, DIP 0.11 μM) とを比べると、四万十川汽水域では約 30 年間で NH₄ と DIP が大きく減少し、貧栄養化した状況が窺える。NH₄ の観測結果はないものの、2005 年に観測した土佐湾西部海域の冬季の NO₃+NO₂ 濃度と DIP 濃度はそれぞれ 2 ~ 3 μM, 0.1 ~ 0.3 μM で (和ら 2008), 1982 年の同時期の観測もこれらと同等であったため (山中 1985), 汽水域の貧栄養化は河川の栄養塩濃度の低下が主要因と考えられる。

本研究で DIN の主体であった NO₃+NO₂ 濃度は、近年の観測でも四万十川下流の淡水域 (平均 14 μM) の方が大差をもって土佐湾よりも高濃度であることが報告されている (和ら 2008)。本研究における DIN は、その濃度差によって塩分と高い負の相関を示したと考えられる。塩分との相関が見られなかった DIP については、他水域では河川水の方が海水よりも高濃度となる事例が多い (e.g. Goldberg 1971)。しかし、近年の四万十川の場合、冬季の DIP は土佐湾と同等であるため (和ら 2008), 四万十川による淡水供給は必ずしもスジアオノリ生育場に対する主要な DIP 供給源ではないと考えられる。和 (2004) による 2004 年の観測では、Stn. U1 の下流側で合流する中筋川 (平均 1.1 μM) の方が四万十川本川 (平均 0.091

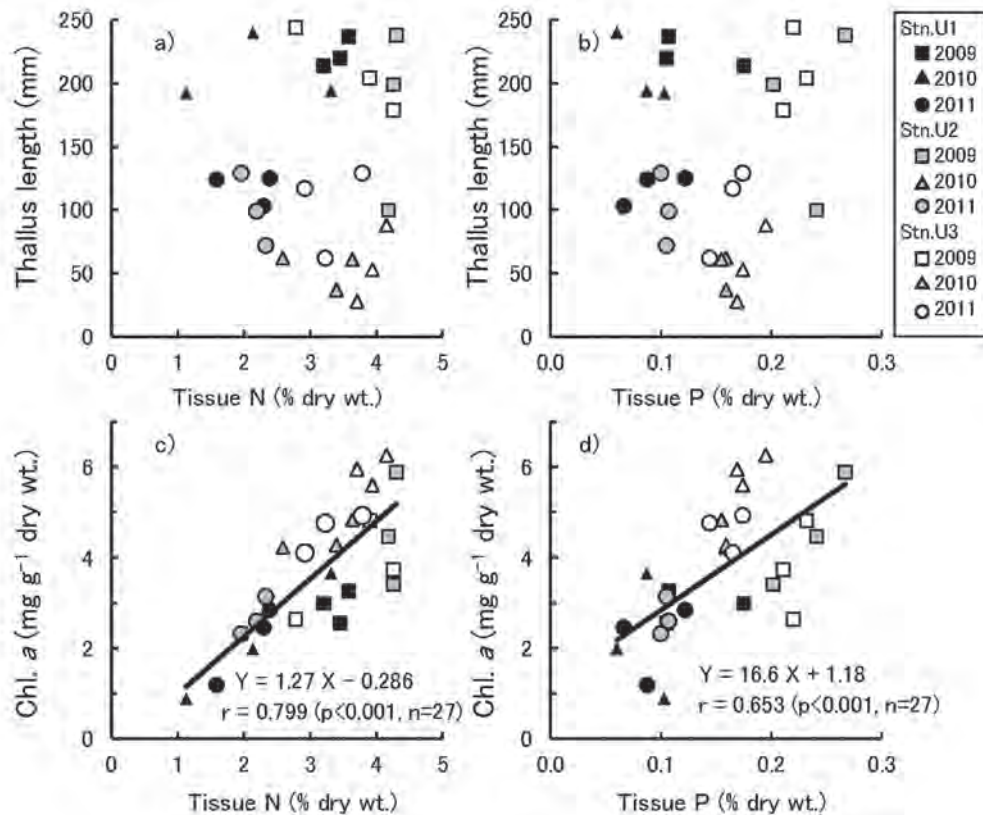


Fig. 8. Correlations between (a) tissue N content and thallus length, (b) tissue P content and thallus length, (c) tissue N content and Chl. *a* content, and (d) tissue P content and Chl. *a* content of *Ulva prolifera* at three sampling stations in the Shimanto River estuary.

μM) に比べて DIP が高濃度であった。それが Stns. U2, U3 の DIP 濃度が Stn. U1 よりも高い一因となった可能性が高く、DIP 供給源としての中筋川の寄与は小さくないと考えられる。

栄養塩と藻体内 N 及び P 含有量との関係

本研究で得られた藻体内 N 及び P 含有量と栄養塩との関係は、DIP の低下により、藻体の P 摂取のみならず、N 摂取も抑制された状況を示している。スジアオノリは他のアオサ属の種に比べて、DIN の低濃度下の栄養塩吸収能を示す $V_{\max}/K_s$ (最大摂取速度 / 半飽和定数) が高い特徴を有しており (Rees 2003, Luo *et al.* 2012), O'Brien & Wheeler (1987) によれば、藻体内 N 含有量 2.7% のスジアオノリ藻体の K_s は $2.3 \mu\text{M}$ の低濃度であった。また、O'Brien & Wheeler (1987) では、藻体内 N 含有量 3.7% の藻体は培地の NO_3 濃度が $20 \mu\text{M}$ 以上存在しても NO_3 を吸収せず、これはスジアオノリの藻体内 N 含有量が 4% 程度で飽和状態に達したことを示唆している。実際に Lin *et al.* (2007) では、窒素負荷の大きい水域で採集されたスジアオノリ藻体の N 含有量は 3.6% と報告されている。本研究における藻体内 N 含有量の最大値は 4.3% で、その時の DIN 濃度は $5 \mu\text{M}$ 程度であったため、DIN が低濃度の環境下において藻体は N 飽和量に達した可能性がある。その一方で、DIN が $10 \mu\text{M}$ 以上存在しても、藻体内 N 含有量が 2 ~ 3% 程度しか含まれない状況は、他の要因によって DIN 摂取が抑制された可能性を示している。本研究では、DIP 低下時

に藻体内 P 含有量のみならず N 含有量も減少したため、DIP が制限因子となって藻体の DIN 摂取を抑制したと考えられる。この現象は、O'Brien (1987) による培養実験において、DIP が低濃度の際に DIP 摂取速度と DIN 摂取速度が遅くなった状況と一致する。

藻体による DIN 摂取の抑制について、栄養塩比の観点から、Fan *et al.* (2014) では DIN:DIP 比が 136 となる高い値の時に、DIN 摂取速度が低下した。また近縁のボウアオノリでも、環境水の DIN:DIP 比の上昇時に藻体は藻体内 N:P 比のバランスを維持するため、DIN 摂取が抑制された (Björnsäter & Wheeler 1990)。本研究における DIN:DIP 比が高比率となった時の藻体内 N:P 比との乖離は、生育地の DIP が不足した時に DIN:DIP 比が上昇することによって、藻体が体内 N:P 比のバランスを維持しようとし、DIN の摂取を抑制したことを示唆している。

藻体内 N 及び P 含有量と藻体長、クロロフィル *a* 含有量との関係

本研究では藻体内 N 及び P 含有量の多寡に応じて藻体長が変化する状況は見られず、栄養塩とバイオマスとの関係は明らかにならなかった。四万十川汽水域におけるスジアオノリの冬季の藻体長は、通常、200 mm 以上に達する (大野・高橋 1988, 大野ら 1999, Hiraoka & Higa 2016)。それと比べて本研究の藻体長は、2010 年の Stn. U1 を除く 2 地点、2011 年の全地点で短い状態にあった。O'Brien (1987) によれば、藻体

の生長を維持するのに必要な藻体内 N 含有量 (C_N) 及び P 含有量 (C_P) はそれぞれ 2%, 0.2% と報告されている。2010 年の Stn. U1 の藻体内 N 及び P 含有量は C_N 及び C_P 以下まで減少したにもかかわらず、2009 年と同等の藻体長であったため、栄養塩以外の要因がバイオマスに関与したと考えられる。なお Kamer & Fong (2001) によれば、藻体内 N 及び P 含有量は藻体の伸長に伴って希釈される可能性を指摘している。しかし本研究では、藻体長と藻体内 N 及び P 含有量との間に負の相関はなく、また 2009 年の Stns. U2, U3 のように長い藻体でも N 及び P 含有量が高い場合があり、伸長に伴う希釈が生じたとは考えられない。

藻体内のクロロフィル *a* 含有量について、本研究では藻体内 N 及び P 含有量との増減が一致し、これは当該水域における栄養塩変動が藻体の色相に影響を及ぼすことを示している。本研究で得られたクロロフィル *a* 含有量 ($0.91 \sim 6.3 \text{ mg g}^{-1}$) は、Pandey & Ohno (1985) による四国南部の浦ノ内湾に生育するスジアオノリの事例 ($6 \sim 13 \text{ mg g}^{-1}$) と比べて全般的に少なく、近年の貧栄養化の影響を示唆している。通常、藻体のクロロフィル *a* 含有量は直接的には窒素と関係が深いものの (e.g. Fan *et al.* 2014), 東京湾等のアマノリ養殖では DIP 不足によって「色落ち」が生じたことが指摘されている (e.g. 石井ら 2008)。四万十川では DIN:DIP 比が 100 ~ 200 の高い比率を示すため (和ら 2008), 上流側を中心に DIP が不足して藻体による栄養塩吸収が抑制され、クロロフィル *a* 含有量が減少したと考えられる。

まとめ

本研究では、日本の天然産スジアオノリの主産地である四万十川河口域の近年の栄養塩水準と、それがスジアオノリ藻体内の N 及び P 含有量並びにクロロフィル *a* 含有量に及ぼす影響を示した。2009 ~ 2011 年の栄養塩の水準は、スジアオノリ収穫量が多かった 30 年前との比較において、 NH_4 と DIP が大きく低下した。しかし、藻体による栄養塩吸収が抑制された中で、藻体長が大きい状況も見られた。一方、藻体内 N 及び P 含有量とクロロフィル *a* 含有量との間には正の関係が認められ、本水域では DIP が制限因子となって栄養塩の吸収を左右し、クロロフィル *a* 含有量の多寡に関与することが示された。特に上流側を中心とする DIP 濃度の低下時にはクロロフィル *a* 含有量が大きく減少し、DIP 不足は藻体の淡緑色化を招く要因と考えられた。スジアオノリ藻体の P 不足には、河川水からの供給量の減少以外に、他の藻類との栄養塩競合も考えられ、今後その影響を明らかにすることが求められる。

謝辞

本研究は四万十市・高知大学連携事業の一環として実施したものである。本研究を進めるにあたり、(株)西日本科学技術研究所の故福留脩文前所長、福留いく子社長、福留康智専務にご支援いただいた。また調査の計画立案において高知大学名誉教授の大野正夫博士にご助言いただいた。試水の採取から処理、

分析試験の際には、同研究所の藤田真二博士、平賀洋之氏、水環境研究室の分析室員諸氏、四万十川下流漁協組合の山崎清実氏にご協力いただいた。上記の皆様に深く感謝の意を表す。

引用文献

- 新崎盛敏 1946. 青海苔. 霞ヶ関書房. 東京.
- Björnsäter, B. R. & Wheeler, P. A. 1990. Effect of nitrogen and phosphorus supply on growth and tissue composition of *Ulva fenestrata* and *Enteromorpha intestinalis* (Ulvales, Chlorophyta). J. Phycol. 26: 603-611.
- Buapet, P., Hiranpan, R., Ritchie, R. J. & Prathep, A. 2008. Effect of nutrient inputs on growth, chlorophyll, and tissue nutrient concentration of *Ulva reticulata* from a tropical habitat. Sci. Asia 34: 245-252.
- Fan, X., Xu, D., Wang, Y., Zhang, X., Cao, S., Mou, S. & Ye, N. 2014. The effect of nutrient concentrations, nutrient ratios and temperature on photosynthesis and nutrient uptake by *Ulva prolifera*: implications for the explosion in green tides. J. Appl. Phycol. 26: 537-544.
- Fong, P., Boyer, K. E., Desmond, J. S. & Zedler, J. B. 1996. Salinity stress, nitrogen competition, and facilitation: what controls seasonal succession of two opportunistic green macroalgae? J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 206: 203-221.
- Fong, P., Donohoe, K. R. M. & Zedler, J. B. 1994. Nutrient concentration in tissue of the macroalga *Enteromorpha* as a function of nutrient history: an experimental evaluation using field microcosms. Mar. Ecol. Prog. Ser. 106: 273-281.
- Fletcher, R. L. 1996. The occurrence of "Green Tide" – a Review. In: Schramm, W. & P. H. Nienhuis (eds.) Marine benthic vegetation – recent changes and the effects of eutrophication-. pp. 7-43. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Germany.
- Goldberg, E. D. 1971. River-ocean interactions. In: Costlow, J. D. (ed.) Fertility of the sea volume 1. pp. 143-156. Gordon and Breach Science Publishers, New York.
- Head, P. C. 1985. Data presentation and interpretation. In: Head, P. C. (ed.) Practical estuarine chemistry. pp. 278-330. Cambridge University Press, New York.
- 平岡雅規 2015. 海洋深層水を利用したスジアオノリ生産の現状と課題. 日本水産学会誌 81: 309.
- 平岡雅規・團昭紀・萩平将・大野正夫 1999. 異なる温度条件下におけるスジアオノリのクローン藻体の成長と成熟. 日本水産学会誌 65: 302-303.
- Hiraoka, M., Dan, A., Shimada, S., Hagihira, M., Migita, M. & Ohno, M. 2003. Different life histories of *Enteromorpha prolifera* (Ulvales, Chlorophyta) from four rivers on shikoku Island, Japan. Phycologia 42: 275-284.
- Hiraoka, M. & Higa, M. 2016. Novel distribution pattern between coexisting sexual and obligate asexual variants of the true estuarine macroalga *Ulva prolifera*. Ecol. Evol. 6: 3658-3671.
- Hiraoka, M., Ichihara, K., Zhu, W. *et al.* 2017. Examination of species delimitation of ambiguous DNA-based *Ulva* (Ulvaophyceae, Chlorophyta) clades by culturing and hybridisation. Phycologia 56: 517-532.
- 平岡雅規・島田智 2004. 四万十川の特産品スジアオノリの生物学. 海洋と生物 26: 508-515.
- 平岡雅規・田中幸記・田井野清也・蜂谷潤 2012. 温暖化最前線の藻場変動と対応策. 海洋と生物 34: 314-318.
- Huo, Y., Han, H., Shi, H. *et al.* 2015. Changes to the biomass and species composition of *Ulva* sp. on *Porphyra* aquaculture rafts, along the coastal radial sandbank of the Southern Yellow Sea. Mar. Pollut. Bull. 93: 210-216.
- 石井光廣・長谷川健一・松山幸彦 2008. 東京湾のノリ生産に影響を及ぼす環境要因: 栄養塩の長期変動および最近の珪藻赤潮発生. 水産海洋研究 72: 22-29.
- Kamer, K. & Fong, P. 2001. Nitrogen enrichment ameliorates the negative

- effects of reduced salinity on the green macroalga *Enteromorpha intestinalis*. Mar. Ecol. Prog. Ser. 218: 87-93.
- Lartigue, J. & Sherman, T. D. 2006. A field study of nitrogen storage and nitrate reductase activity in the estuarine macroalgae *Enteromorpha lingulata* (Chlorophyceae) and *Gelidium pusillum* (Rhodophyceae). Estur. Coast. 29: 699-708.
- Leliaert, F., Zhang, X., Ye, N. *et al.* 2009. Identity of the Qingdao algal bloom. Phycol. Res. 57: 147-151.
- Li, H., Zhang, C., Han, X. & Shi, X. 2014. Changes in concentrations of oxygen, dissolved nitrogen, phosphate, and silicate in the southern Yellow Sea, 1980–2012: Sources and seaward gradients. Estur. Shelf Sci. 163: 44-55.
- Lin, A., Wang, C., Pan, G. *et al.* 2011. Diluted seawater promoted the green tide of *Ulva prolifera* (Chlorophyta, Ulvales). Phycol. Res. 59: 295-304.
- Lin, H., Wu, C., Kao, S., Kao, W. & Meng, P. 2007. Mapping anthropogenic nitrogen through point source in coral reefs using $\delta^{15}\text{N}$ in macroalgae. Mar. Ecol. Prog. Ser. 335: 95-109.
- Liu, D., Keesing, J. K., He, P., Wang, Z., Shi, Y. & Wang, Y. 2013. The world's largest macroalgal bloom in the Yellow Sea, China: Formation and implications. Estur. Coast. Shelf Sci. 129: 2-10.
- Liu, F., Pang, S. J., Xu, N., Shan, T. F., Sun, S., Hu X. & Yang, J. Q. 2010. *Ulva* diversity in the Yellow Sea during the large-scale green algal blooms in 2008-2009. Phycol. Res. 58: 270-279.
- Lotze, H. K. & Schramm, W. 2000. Ecophysiological traits explain species dominance patterns in macroalgal blooms. J. Phycol. 36: 287-295.
- Luo, M. B., Liu, F. & Xu, Z. L. 2012. Growth and nutrient uptake capacity of two co-occurring species, *Ulva prolifera* and *Ulva linza*. Aquat. Bot. 100: 18-24.
- 牧野賢治・團昭紀・廣澤晃 2003. 異なる塩分濃度条件におけるスジアオノリの初期成長. 徳島県立農林水産総合技術センター水産研究所研究報告 2: 45-46.
- McAvoy, K. M. & Klug, J. L. 2005. Positive and negative effects of riverine input on the estuarine green alga *Ulva intestinalis* (syn. *Enteromorpha intestinalis*) (Linnaeus). Hydrobiologia 545: 1-9.
- McClanahan, T. R., Carreiro-Silva, M. & DiLorenzo, M. 2007. Effect of nitrogen, phosphorous, and their interaction on coral reef algal succession in Glover's Reef, Belize. Mar. pollut. Bull. 54: 1947-1957.
- 和吾郎 2004. 四万十川流域の栄養塩類 一源流域から沿岸域まで一. 海洋と生物 26: 501-507.
- 和吾郎・木下泉・深見公雄 2008. 四万十川から供給される栄養塩が土佐湾西部沿岸海域の栄養塩分布と基礎生産の季節変化に及ぼす影響. 海の研究 17: 357-369.
- O'Brien, M. C. 1987. Nitrogen and phosphorus uptake by *Enteromorpha prolifera* (Mull.) J. Ag. M. S. thesis, Oregon State University, Corvallis.
- O'Brien, M. C. & Wheeler, P. A. 1987. Short term uptake of nutrients by *Enteromorpha prolifera* (Chlorophyceae). J. Phycol. 23: 547-556.
- Ogata, E. & Matsui, T. 1965. Photosynthesis in several marine plants of Japan was affected by salinity, drying and pH, with attention to their growth habitats. Bot. Mar. 8: 199-217.
- 大野正夫 1990. 河口域に生育する海藻・海草類. 伊藤猛夫 (編) 四万十川—しぜん・いきもの—. pp. 131-148. 高知市民図書館. 高知.
- Ohno, M. 1995. Cultivation of *Monostroma nitidum* (Chlorophyta) in a river estuary, southern Japan. J. Appl. Phycol. 7: 207-213.
- Ohno, M. & Miyanoue, K. 1980. The ecology of the food alga *Enteromorpha prolifera*. Rep. Usa Mar. Biol. Inst., Kochi Univ. 2: 11-17.
- 大野正夫・水谷里香・田井野清也・高橋勇夫 1999. 四万十川に生育するスジアオノリの生態. Bull. Mar. Sci. Fish., Kochi Univ. 19: 27-35.
- 大野正夫・高橋勇夫 1988. 高知県下・四万十川に生育するスジアオノリの分布域について. Rep. Usa Mar. Biol. Inst., Kochi Univ. 10: 45-54.
- Pandey, R. S. & Ohno, M. 1985. An ecological study of cultivated *Enteromorpha*. Rep. Usa Mar. Biol. Inst., Kochi Univ. 7: 21-31.
- Parsons, T. R., Maita, Y. & Lalli, C. M. 1984. A manual of chemical and biological methods for seawater analysis. Pergamon Press, Oxford.
- Pedersen, M. F., Borum, J. & Fotel, F. L. 2010. Phosphorus dynamics and limitation of fast- and slow-growing temperate seaweeds in Oslofjord, Norway. Mar. Ecol. Prog. Ser. 399: 103-115.
- Rees, T. A. V. 2003. Safety factors and nutrient uptake by seaweeds. Mar. Ecol. Prog. Ser. 263: 29-42.
- Shi, W. & Wang, M. 2009. Green macroalgae blooms in the Yellow Sea during the spring and summer of 2008. J. Geophy. Res. 114: C12014.
- Shi, X., Qi, M., Tang, H. & Han, X. 2015. Spatial and temporal nutrient variations in the Yellow Sea and their effects on *Ulva prolifera* blooms. Estuar. Coast. Shelf Sci. 163: 36-43.
- Smetacek, V. & Zingone, A. 2013. Green and golden seaweed tides on the rise. Nature 504: 84-88.
- Soe-Htun, U., Ohno, M. & Mizuta, S. 1986. Effects of salinity and temperature on the growth of the green alga, *Enteromorpha prolifera*, in culture. Rep. Usa Mar. Biol. Inst., Kochi Univ. 8: 9-13.
- Soulsby, P. G., Lowthion, D., Houston, M. & Montgomery, H. A. C. 1985. The role of sewage effluent in the accumulation of macroalgal mats on internal mudflats in two basins in southern England. Neth. J. Sea Res. 19: 257-263.
- Villares, R., Puente, X. & Carballeira, A. 1999. Nitrogen and phosphorus in *Ulva* sp. in the Galician Rias Bajas (northwest Spain): Seasonal fluctuations and influence on growth. Bol. Inst. Esp. Oceanogr 15: 337-341.
- Xing, Q., Tosi, L., Braga, F., Gao, X. & Gao, M. 2015. Interpreting the progressive eutrophication behind the world's largest macroalgal blooms with water quality and ocean color data. Nat. Hazards 78: 7-21.
- 山中弘雄 1985. 土佐湾 化学. 日本海洋学会 沿岸海洋研究部会 (編) 日本全国沿岸海洋誌. pp. 736-740. 東海大学出版会. 東京.
- Ye, N., Zhang, X., Mao, Y., Liang, C., Xu, D., Zou, J., Zhuang, Z. & Wang, Q. 2011. Green tides are overwhelming the coastline of our blue planet: taking the world's largest example. Ecol. Res. 26: 477-485.
- Zhang, J., Nagahama, T., Ohwaki, H., Ishibashi, Y., Fujita, Y. & Yamazaki, S. 2004. Analytical Approach to the Discoloration of Edible Laver "Nori" in the Ariake Sea. Anal. Sci. 20: 37-43.
- Zhang, X., Xu, D., Mao, Y., *et al.* 2011. Settlement of vegetative fragment of *Ulva prolifera* confirmed as an important seed source for succession of a large-scale green tide bloom. Limnol. Oceanogr. 56: 233-242.
- Zhou, Y., Tan, L., Pang, Q., Li, F. & Wang, J. 2015. Influence of nutrients pollution on the growth and organic matter output of *Ulva prolifera* in the southern Yellow Sea, China. Mar. Pollut. Bull. 95: 107-114.