

別紙 4

報告番 -	※ -	第
----------	--------	---

## 主 論 文 の 要 旨

### 論文題目

Study on factors controlling species composition and distribution of benthic diatoms inhabiting river mouth tidal flat

(河口干潟に生育する底生珪藻の種組成と種分布の規定要因に関する研究)

氏 名 山本 真里子

## 論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、河口干潟に生育する底生珪藻の種分布とその規定要因を、干潟堆積物の生物地球化学的分析と、珪藻の生理・生態学的分析から明らかにしたものである。

第1章では、干潟に生育する底生珪藻についてこれまでに分かっていることを整理し、課題をまとめ、本研究の目的と構成を示した。河口干潟の水と堆積物の境界では、河川から流入した有機物や重金属などの汚濁物質が干潟の食物網に取り込まれ、あるいは無機的な作用によって除去され、水質浄化が進んでいる。堆積物表層には微細藻類が生育し、一次生産を行うことで多様な生態系を支えているが、その中でも珪藻は砂や泥を基盤とする干潟において優占種であることが知られている。一般に、汽水域に生育する珪藻の種組成と分布は塩分によって規定されると言われている。しかし一方で塩分適応範囲は広いとも言われ、干潟域内での分布要因は十分にはわかっていない。また、珪藻の種の同定には殻の表面の微細な構造を顕微鏡下で観察する必要があるが、プレパラートを作成するのに、通常は酸などを用いて細胞内容物を除去する。このため、細胞の生死が判別つかなくなるという問題が生じ

る。河口干潟では上流から死細胞も多く流入し、時には死細胞が90%を占めることもあり、過大な評価をする可能性がある。

そこで本研究では、はじめに対象地である藤前干潟から採取した珪藻について塩分に対する生理的適応を調べ、さらに細胞の同定や計数を正確に行うために、生細胞を抽出する方法の開発を試みた。最後に生細胞を対象とした珪藻組成と分布を明らかにし、生育場所の堆積物の環境要因と合わせて、統計分析により種組成と分布の関係を議論した。

第2章では、河口干潟では河川の影響が大きいことを踏まえ、対象地から採取した6種の珪藻を用いて、特に低塩分に対する珪藻の適応を培養実験によって明らかにした。実験では塩分を10段階に調整した培地に単離培養した珪藻を入れ、増殖速度を確認した。その結果、すべての種が藤前干潟の変動幅を超える塩分適応を示した。高塩分側にはすべての種が50 psu (practical salinity unit: 実用塩分単位)でも増殖可能であった。一方、低塩分側では種によって塩分適応が異なり、3種は淡水での増殖が不可能であった。すなわち、低塩分側での適応の違いが河口干潟での種分布に影響を与える可能性が示唆された。

第3章では、異地性の死細胞が多く流入する河口という場所における正確な種組成の情報を得るため、プレパラート作成に染色法を用い、生細胞だけを抽出することを試みた。ただ染色法は有機物を分解しない方法であるため、細胞外分泌物によって基質に固着するタイプの種を取りこぼす可能性がある。そこで新たに篩法を導入した。篩法では、砂泥にゆるく付着している死細胞を篩で洗い流し、残渣に固着していた細胞を生細胞とみなして酸洗浄を行う方法である。さらに種同定の正確性を担保するため、従来の過酸化水素水による洗浄法でもプレパラートを作成した。すなわち本研究では、同一サンプルに対し、染色法、篩法、洗浄法の3種の方法でプレパラートを作成し、得られた種組成からそれぞれの方法を評価した。また、染色法と篩法で得られた生細胞の種組成から、藤前干潟の珪藻種分布の特徴を明らかにし、最後に従来の洗浄法を用いた先行研究との比較を行った。

従来の過酸化水素水による洗浄法で得られた種(295種)のうち約87%が染色法では出現せず、河口干潟に存在する珪藻には死細胞が多く含まれていることが明らかとなった。また、染色法で得られた種の半数(36種)が洗浄法では回収できなかつた。

った。洗浄法で回収できなかったこれらの種には、殻が壊れやすいものが含まれていた。このことから、洗浄法では処理過程で脆弱な殻が破壊されている可能性が示された。一方で、篩法では染色法では得られない固着種が多く回収できた。

染色法と篩法で得られた藤前干潟の珪藻は、全部で 104 種が確認できた。先行研究に基づき、30 種を汽水性付着・底生種、9 種を汽水性浮遊種と判定した。これらを含む 40 種は現地性であると考えられる。また、32 種は淡水性付着・底生種で、4 種は淡水性浮遊種であった。これら淡水種は、藤前干潟に流れ込む新川・庄内川上流の葦原や、淡水止水域を持つ日光川から流入してきたものと推定された。以上のように、従来の洗浄法で行った先行研究との比較から、染色法と篩法を用いることで、死細胞を除去しつつ脆弱な殻を持つ生細胞を回収でき、より現実に近い珪藻の種組成を再現できることが示された。

第 4 章では、藤前干潟の珪藻群集について、染色法で得られた生細胞の種組成と種分布そして堆積物の環境要因に対して 2 種類の統計分析を行った。環境要因として用いたのは、堆積物の炭素、鉄、リン、亜鉛、シルト、砂、間隙水のリン酸塩、アンモニウムイオンである。塩分は、潮汐による時間変化の影響を受けていた可能性があり分析に用いなかった。その代わりに、河川水の影響を評価するために、河口からの距離を加えた。珪藻については、各サンプルについて 200 細胞を計数し、全部で 5118 個体の同定と計数を行った。その結果、55 種の珪藻が確認できた。そのうち 10 箇所以上に出現した 14 種を統計分析に用いた。

統計分析に際し、珪藻の種組成と環境要因の関係には冗長性分析（RDA : Redundancy analysis）を、各種の分布と環境要因の関係には一般化線形モデル（GLM : Generalized linear model）を用いた。RDA により、「河口からの距離」が珪藻の種組成に最も強く影響を及ぼすことが示された。また、*Staurophora dubitabilis* は河口からの距離と相関性が高く、*Pseudostaurosira trainorii* と *Skeletonema costatum* は炭素と相関が高かったが、その他の種については環境要因との関連性は明確ではなかった。

GLM 分析から得られたベストモデルから、砂やシルト、河口からの距離によって分布が規定されていると考えられる付着・底生種と、それらとは関連のない浮遊種の二つのグループが確認できた。固着性の *Halamphora coffeiformis* は、砂との相関

が高く、砂粒子に固着して移動していたと考えられる。また、底生種の *Tryblionella apiculata*, *Hippodonta* sp.1, *Nitzschia pellucida*, や *Staurophora dubitabilis* も砂にゆるく付着し、河川水や潮汐によって運搬されていたことが出現頻度マップからも示唆された。浮遊性淡水種の *Aulacoseira granulate* は河口近くに多く出現し、海水種の *Skeletonema costatum* は沖に近い方に多く確認できることから、塩分適応の違いも種分布に影響を与えると考えられる。栄養塩については、*Pseudostaurosira trainorii*, *Nitzschia pellucida* と *Staurophora dubitabilis* は炭素と相関が見られ、特に *S. dubitabilis* は出現頻度も高く顕微鏡観察下でも多くの増殖中の個体が確認できた。*H. coffeiformis* と *Nitzschia pellucida*, *Navicula arenaria* var. *rostellata* はリンとの相関を示した。

第5章総論では、2章および3章の結果を踏まえ、4章で行った河口干潟の水と堆積物の境界に生育する珪藻の種分布と環境要因についてまとめた。その結果、藤前干潟における珪藻種の分布は一定のパターンを持っており、そのパターンは河川水や潮汐によって主に規定され、種の塩分適応能力にも影響を受けていたことを示すことができた。また、活発に増殖していた種は炭素と相関し、一次生産者として炭素固定に貢献していたことが示唆された。