

大阪湾湿地帯における有機物分解システムの解明

—湿地帯生物の難分解性有機物分解能の把握と湿地帯健康度評価の試み

劉 文

京都大学 地球環境学助教

1. 研究の背景および目的

湿地帯には陸上で生産された高分子有機物を低分子栄養分まで分解する能力を持つ多種多様な生物が生息しており、そこは古くから「天然の浄化槽」として知られている。本研究では近年注目されはじめた湿地帯に生息する水生無脊椎動物とこれまでに高分子有機物分解能の存否を見落としていた微細藻類を対象にして、これらの生物がもつセルラーゼ活性の有無を網羅的に調査し、湿地帯の浄化機能への関わり（分解能力）を解明すること、また、安定同位体比に基づいて湿地帯で優占する生物が担う陸上由来有機物を分解する能力の確認とその機能の割合（全食糧に対するセルロースの比率）を調べることを目的とした。

2. 研究手法

生物多様性が高い湿地帯として、男里川河口域干潟（泉南市）および十三干潟（大阪市）を選定し、マクロベントスおよびメイオベントスを採取した（図1）。微細藻類については、男里川河口域干潟の堆積物と海水を採取し、Ishii（2018）の方法で分離・無菌培養株を作成した。

セルラーゼ活性測定では、内臓の摘出が可能なマクロベントスについては摘出した内臓を CMC Agar Plate Assay で活性評価を行った。内臓を摘出できないマクロベントスは個体を試料として同様の方法で評価した。微細藻類無菌株は培養液に CMC を加え、Somogyi-Nelson 法で活性を評価した。

安定同位体分析では、筋肉が分離できるマクロベントスでは筋肉のみを分析に供した。分離が難しい生物では全個体を分析に供した。海水サンプルはガラス繊維フィルター（GF/F、45mm）を用いて 5 L 程度をろ過した。その後、ガラスフィルターを生物サンプルと同様に乾燥し、分析用サンプルとした。土壌サンプルはそのまま乾燥し、分析用サンプルとした。

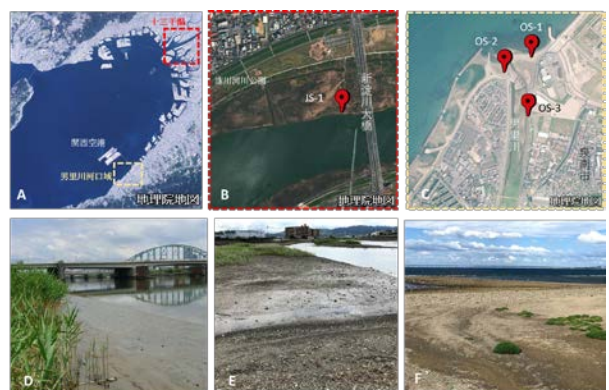


図1：サンプリング地点および干潟の様子。A：十三干潟および男里川河口域干潟が大阪湾にあたる位置；B：十三干潟におけるサンプリング地点；C：男里川河口域干潟におけるサンプリング地点；D：十三干潟（JS-1）の様子；E：男里川河口域干潟（OS-1）における様子；F：男里川河口域干潟（OS-2）における様子

3. 研究結果

サンプル採取からみる生物多様性

表1に示した通り、十三干潟からは4種マクロベントスが採集された（節足動物2種、環形動物1種、軟体動物1種）。男里川河口域干潟からは17種のマクロベントスが採集された（節足動物5種、軟体動物11種、刺胞動物1種。近隣の市場で購入した試料を含む）。採取したマクロベントスの種数は男里川河口域干潟が十三干潟より多かった。これは十三干潟が河口近くに位置し、干潮時には淡水域になることから海産マクロベントスが生息しにくい環境であることに起因すると言える。

一方、十三干潟および男里川河口域干潟からメイオベントスの存在は確認できなかった。メイオベントスの生息は溶存酸素（DO）、栄養塩、水温、底泥の粒度組成などさまざまな環境要因に支配されると考えられるが、大阪湾全体にメイオベントスが生息していないことはありえず、今後はさらに広範囲（大阪湾外域の底泥も含む）に探索する必要がある。

また、男里川河口域干潟の底泥および海水中の枯れ葉から、浮遊性珪藻3種、底生性珪藻3種を単離し、それらの無菌株を確立した。

セルラーゼ活性

マクロベントスでは十三干潟から採取した4種、および男里川河口域干潟から採取した17種の計21種すべてにセルラーゼ活性が認められた。

1997年にヤマトシロアリに内源性セルラーゼが発見されて以来、陸生・水生無脊椎動物がセルラーゼを所有していることが明らかになってきた。本研究で大阪湾沿岸部干潟で採取したマクロベントス全種がセルラーゼ活性を持っている事実は、これらの生物が大阪湾の干潟の「浄化機能」に寄与する能力を持っていることを示唆している。

表1：十三干潟および男里川河口域干潟に採取されたマクロベントスのセルラーゼ活性

門	綱	目	科	学名	和名	採取地点	食性	セルラーゼ活性	先行研究		
Arthropoda	Malacostraca	Decapoda	Varunidae	<i>Helic tridens</i>	モズクガニ	OS-1	unkonwn	○	なし		
				<i>Hemigrapsus sanguineus</i>	インガニ	JS-1	unkonwn	○	なし		
			Sesamidae	<i>Chironantes dehaani</i>	クロベンケイガニ	JS-1	carnivorous	○	なし		
				Ocypodoidea	<i>Uca lacta lacta</i>	ハクセンシオマネキ	OS-1	sediment filter organic (bacteria) detritus	○	なし	
			<i>Macrophthalmus japonicus</i>		ヤマトオサガニ	OS-1	sediment filter microbenthic algae	○	なし		
			Paguridae		<i>Pagurus filholi</i>	ホンヤドカリ	OS-1	omnivorous detritus, algae, animals	○	なし	
			Hexanauplia	Pedunculata	Pedunculata	<i>Capitulum mitella</i>	カメノテ	OS-1	water filter detritus, plankton	○	なし
Mollusca	Polyplacophora	Neoloricata	Acanthochitonidae	<i>Acanthopleura japonica</i>	ヒザラガイ	OS-1	scrapping diatom, algae, bacteria	○	なし		
				Vetigastropoda	Turbinidae	<i>Turbo sazae</i>	サザエ	青空市場購入	scrapping algae	○	なし
		Babylonidae	<i>Babylonia japonica</i>			バイ	青空市場購入	carnivorous carrion feeder	○	なし	
		Buccinidae	<i>Buccinum inclythum</i>		ヒモマキバイ	青空市場購入	carnivorous	○	なし		
		Batillariidae	<i>Batillaria multiformis</i>	ウミニナ	OS-1	sediment filter detritus	○	あり			
			Potamiidae	<i>Cerithdea moerchii</i>	フトヘナタリ	OS-1	sediment filter detritus	○	あり		
		Teguridae	<i>Chlorostoma liskei</i>	クボガイ	OS-1	sediment filter	○	なし			
			Pelecypoda	Mytiloidea	Mytilidae	<i>Xenostrobus atratus</i>	クログチ	OS-1	water filter	○	なし
		Pinnidae				<i>Atrina pectinata</i>	タイラギ	青空市場購入	water filter	○	なし
						<i>Tresus keenae</i>	ミルクイ	OS-2	water filter	○	あり
Arcida	Arcidae					<i>Anadara broughtonii</i>	アカガイ	青空市場購入	water filter	○	なし
Bivalve	Veneroidea					Corbiculidae	<i>Corbicula japonica</i>	ヤマトシジミ	JS-1	water filter	○
Annelida	Polychaeta	Phyllozoa	Nereididae	<i>Hediste japonica</i>	ゴカイ	JS-1	sediment filter	○	あり		
Cnidaria	Anthozoa	Actiniaria	Haliphanellidae	<i>Haliphanella lineata</i>	タテジマイソギンチャク	OS-1	water filter	○	なし		

男里川河口域干潟から単離した微細藻類計6種（すべて珪藻類）にはセルラーゼ活性が認められなかった。微細藻類のセルラーゼ活性に関する研究は、単離・培養の技術的問題によってこれまで皆無であった。今回大阪湾から単離した6種においてセルラーゼ活性は認められなかった。

表2：十三干潟および男里川河口域干潟に採取されたマイクロベントスのセルラーゼ活性

門	綱	目	科	学名	採取地点	生活型	セルラーゼ活性	先行研究
Heterokonta	Coscinodiscophyceae	Biddulphiineae	Chaetocerotaceae	<i>Chaetoceros debilis</i>	男里川OS-1	浮遊性	×	なし
				<i>Chaetoceros socialis</i>	男里川OS-1	浮遊性	×	なし
		Thalassiosirales	Skeletonemataceae	<i>Skeletonema sp.</i>	男里川OS-1	浮遊性	×	なし
	Bacillariophyceae		Bacillariaceae	<i>Nitzschia sp.1</i>	男里川OS-1	底生性	×	なし
				<i>Nitzschia sp.2</i>	男里川OS-1	底生性	×	なし
				<i>Nitzschia sp.3</i>	男里川OS-1	底生性	×	なし

安定同位体分析

生物が単にセルラーゼ活性を持っているだけで、実際にセルロースを分解しなければ、湿地帯の浄化機能に貢献していることは言えない。そのため、セルラーゼ活性評価以外に安定同位体分析を通してセルラーゼ活性を持つ「保有者」から「実行者」を見つけ出すことが重要である。本研究では安定同位体分析の結果、図2が示している通り、下記のこと明らかになった：①男里川河口域干潟の底泥は $\delta^{13}\text{C}$ の値が低いことから、陸上由来・湿原由来の植物を多く含んでいる、②男里川河口域干潟の干潮域や海域の水試料の低い $\delta^{13}\text{C}$ 値はそこに粒子状植物性有機物が多く含まれていることを示している、③ウミニナ、フトヘナタリ、クボガイ、クロベンケイガニの $\delta^{13}\text{C}$ 値は季節によって変動し、陸上由来有機物を利用する割合が季節によって異なることを示唆している、④フトヘナタリはウミニナやクボガイに比べ低い $\delta^{13}\text{C}$ 値を示し、植物由来有機物をより多く利用している、⑤貧毛類は最も低い $\delta^{13}\text{C}$ 値を示し、多量の植物由来有機物を利用していると考えられる、と共に高い栄養段階に位置する、⑥カメノテはフトヘナタリと同程度に植物由来有機物を利用しているが、栄養段階が一番高く、外海の動物由来有機物も多く利用していることが考えられる。

4. 考察および結論

ヤマトシロアリに内源性セルラーゼが発見されて以来、多くの無脊椎動物に内源性セルラーゼの存在が明らかになり、無脊椎動物も陸上由来難分解性有機物の利用能を有することがこれまでの調査研究から判明している。「森は海の恋人」という言葉は森と海の深い関係性を表していて、今では多くの人に知られている。その関係の本質は「陸上植物由来の有機物が海産生物に利用されやすい低分子に変換する機能が山～海のいずこかに存在すること」で、その候補の一つが干潟である。干潟などの湿地帯には陸上由来の難分解性有機物（セルロースなど）が多く堆積しているが、そこではそれらが直接海域に入る前に無機化されていることから古くより天然の浄化槽として知られ、炭素循環において重要な機能を有していることが論じられてきた。これまでも湿地帯に生息している内源性セルラーゼ等の難分解性有機物分解酵素を持っている

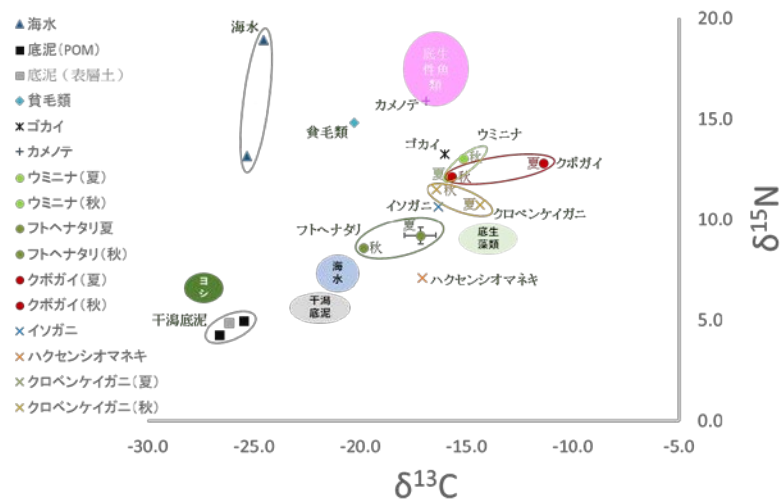


図2：安定同位体分析の結果。無色の楕円は本研究のデータであり、色付きの楕円は、先行研究等データを参考に作成している（土居内，2011；高井，2003）。

生物が上述の陸上由来難分解性有機物の分解（浄化作用）に大きく寄与していることが示唆されていた。しかし、どのような分類群の生物がこの過程にどの程度関わっているのか、不明な点が今もって多い。今回の調査で大阪湾沿岸にある2つの干潟（図1）に生息するマクロベントスのセルラーゼ活性を網羅的に調べた結果、採取した全種においてセルラーゼ活性が確認された。調査した種類にいままでセルラーゼ活性に関する報告がない種も多く含まれていた（表1、先行研究列参照）。また、両干潟に優先的に生息するマクロベントスの安定同位体分析を行った結果、これらの動物はセルラーゼ活性を持つだけの単なる「保有者」ではなく、陸上植物や干潟植物由来の有機物を実際に利用している「分解実行者」でもあることが明らかになった。今回の調査では採取したマクロベントス全種の安定同位体分析を行うことができなかったが、これらの動物の多くが大阪湾沿岸部の浄化機能（植物由来有機物の分解）に関わっている可能性が高いと考えられる。

一方、メイオベントスも干潟浄化機能の有力な貢献者であることが先行研究によって報告されている。しかし今回の調査では、両干潟の底泥にメイオベントスの存在が確認できなかった。この結果の意義を明らかにするためには今後大阪湾沿岸部の広域的な探索が必要である。

また、微細藻類では今回の調査で調べた6種の珪藻（うち3種は浮遊性、3種は底生性）にセルラーゼ活性が認められなかった。少なくとも大阪湾に生息する微細藻類にセルラーゼ活性が普遍的には存在しないことが明らかになった。今後は大阪湾に生息する他の微細藻類種にも注意を払うが、セルラーゼ活性（別地域を含む）が認められる種類が出現しない限り、大阪湾での網羅的な調査は不要と考える。

[参考文献]

- 高井則之、三島康史、星加章、吉原喜好。炭素・窒素安定同位体比分布から推察した安芸灘に生息する底生動物群集の炭素供給源。水産海洋研究 67(3):148-162 (2003)。
- 土居内龍、安江尚孝、竹内照文、山内信、奥山芳生、諏訪剛、向野幹生、小久保友義、芳養晴雄。炭素・窒素安定同位体比に基づく紀伊水道におけるタチウオとその他の底生魚類の炭素源の比較。Nippon Suisan Gakkaishi 77(2):205-214 (2011)。