

汚濁海域浦ノ内湾における植物プランクトンの発生に対する尿素の寄与

深尾剛志¹⁾・故西島敏隆・深見公雄²⁾・足立真佐雄³⁾

¹⁾ 愛媛大学大学院連合農学研究科 〒790-8566 愛媛県松山市樽味 3-5-7

²⁾ 高知大学大学院黒潮圏海洋科学研究科 〒783-8502 高知県南国市物部乙 200

³⁾ 高知大学農学部 〒783-8502 高知県南国市物部乙 200

Contribution of urea to occurrence of phytoplankton in the eutrophic coastal environment Uranouchi Inlet

TSUYOSHI FUKAO¹⁾, THE LATE TOSHITAKA NISHIJIMA, KIMIO FUKAMI²⁾ AND MASAO ADACHI³⁾

¹⁾ *United Graduate School of Agricultural Science, Ehime University, 3-5-7 Tarumi, Matsuyama, Ehime 790-8566, Japan*

²⁾ *Graduate School of Kuroshio Science, Kochi University, 200 Monobeotsu, Nankoku, Kochi 783-8502, Japan*

³⁾ *Faculty of Agriculture, Kochi University, 200 Monobeotsu, Nankoku, Kochi 783-8502, Japan*

Abstract Urea is considered to be one of the most biologically available form in dissolved organic nitrogen (DON) compounds in marine environments, and it is therefore important to clarify the dynamics of urea pools in order to understand the marine nitrogen cycle properly. In the present study, the distribution of urea and the uptake by phytoplankton in seawater were examined to elucidate the contribution of urea to the growth of phytoplankton in a eutrophic coastal environment, Uranouchi Inlet, Kochi Prefecture in Japan from 2002 to 2004. Urea-N concentration in surface seawater was $0.1\text{--}48.6$ (average $2.87 \pm \text{SD } 5.58</math>) μM , while dissolved inorganic nitrogen (DIN) concentration was $0.16\text{--}22.7</math> (average $2.26 \pm \text{SD } 2.88</math>) μM , and DON (including urea) concentration was $2.61\text{--}185</math> (average $14.0 \pm \text{SD } 20.4</math>) μM . Urea-N concentration was, on average, 18.0% of dissolved total nitrogen (DTN: DIN + DON), 21.9% of DON, and 114% of DIN. Urea concentrations tended to increase in summer. Urea-N uptake (UP) rates using ^{14}C -urea of phytoplankton, which were calculated by subtraction of bacterial UP under DCMU treatment from total UP, were $2.57\text{--}55.1</math> $\text{nmol-N } l^{-1} \text{ h}^{-1}$. The contribution of UP by phytoplankton to the total UP in the seawater, was about 96%. Chl *a*-specific urea uptake rates were $0.58\text{--}8.70</math> $\text{nmol-N } \mu\text{g-chl } a^{-1} \text{ h}^{-1}$. Photosynthetic rates calculated using ^{14}C - NaHCO_3 were $243\text{--}5,345</math> $\text{nmol-C } l^{-1} \text{ h}^{-1}$. Assuming that the C/N ratio of phytoplankton was 7.8, assimilation rates of total nitrogen calculated from the photosynthetic rates were $31.2\text{--}685</math> $\text{nmol-N } l^{-1} \text{ h}^{-1}$. The contribution of UP to total nitrogen assimilation by phytoplankton was $2.3\text{--}29</math> (average 10)%. The present results show that urea is distributed at a relatively high concentration level throughout the year in eutrophic seawater and the urea is mainly assimilated and used as a nitrogen source by the phytoplankton communities. Therefore, this suggests that urea significantly contributes to the occurrence of phytoplankton in eutrophic coastal environments.$$$$$$$$$$

Key words: urea, nitrogen, phytoplankton, photosynthesis, coastal eutrophic seawater

緒 言

これまで、植物プランクトンは主として溶存無機態窒素 (DIN) を増殖基質に利用していると考えられてきた (Eppley et al. 1979, Paasche & Kristiansen 1982, Takahashi & Fukazawa 1982). しかしながら、植物プランクトンが活発に増殖する夏季はアンモニアおよび硝酸は枯渇する傾向にあることから、DIN のみで大量の植物プランクトン群集を維持することは難しい (Flynn & Butler 1986). これまで、培養実験において珪藻 *Thalassiosira pseudonana* あるいはハプト藻 *Emiliania huxleyi* 等の植物プランクトンは、尿素、アミノ酸およびアミド化合物等の海水中に溶存する有機態窒素 (DON) を窒素源として直接利用可能であることが報告されている (Antia et al. 1977, 1991, Berman et al. 1991, Palenik & Henson 1997). これら植物プランクトンに利用可能な有機態窒素のなかでも、尿素は生物の排出や生物遺骸の分解等により多量に供給されている (西條・三田村 1995). それゆえ、尿素は植物プランクトンの窒素源として DIN に匹敵するほど重要であるといわれている (Remsen et al. 1972, 1974, Carpenter et al. 1972b, Harrison et al. 1985).

Mitamura & Saijo (1975) は、三河湾海水中の尿素態窒素濃度は $1.3\sim 5.9\ \mu\text{M}$ であり、溶存態全窒素 (DTN) の $6.9\sim 25\%$ を占めること、さらにそのほとんどは植物プランクトンにより取り込まれていることを報告している。また、Remsen et al. (1972, 1974) は、Georgia 州 Savannah, Wilmington & Ogeechee 河川およびその周辺海域における海水中の尿素態窒素濃度は比較的高く $1.70\sim 17.9\ \mu\text{M}$, さらにそのほとんどがやはり植物プランクトンにより取り込まれていることを報告している。しかし、これらの実験は特定の季節における尿素的分布および尿素取込み速度を調べたものであり、年間を通じた変動を調べた報告は少ない。さらに、赤潮が多発するような汚濁内湾域において尿素が植物プランクトンの窒素源として有意に寄与しているのかはほとんどわかっていない。

そこで本研究は、水質汚濁の進行した高知県浦ノ内湾において海水中の尿素濃度の季節変動および分布を調べるとともに、本湾で発生する植物プランクトンの尿素取込み速度、ならびにその速度の全窒素同化速度に対する割合を解析し、これを総合して窒素源として尿素的の重要性を評価した。

実験方法

現場海域の試水の採取と処理

浦ノ内湾は土佐湾のほぼ中央に位置し、湾口部から湾奥部までの海上距離約 12 km に対し幅は約 0.5~1.5 km と、きわめて閉鎖性が強く海水交換が悪い (Fukami et al. 1991). このため本湾ではハマチおよびタイなどの養殖場から出る餌や糞の影響を受け水質汚濁が進行し、毎年のように赤潮が発生している (Patel et al. 2000). 2002年2月から2004年2月までの間週1回の頻度で、浦ノ内湾光松定点 (水深 16~17 m) の表層 (2 m) および底層水 (16 m) を北原式採水器で採取した。これらの海水は、後述するクロロフィル *a* 分析および栄養塩濃度測定に用いた。海水を約 4°C に冷蔵保存しつつ 2~3 時間以内に実験室に持ち帰った後、あらかじめ燃焼 (450°C , 3 時間) した GF/F フィルター (Whatman; 孔径 $0.7\ \mu\text{m}$) により濾過し、分析まで -20°C にて保存した。光合成速度および尿素取込み活性測定用の試水は、2002年12月から2004年1月までに月1回頻度で採取し、分析は後述する方法により行った。

クロロフィル *a* 量の測定

99.5% エタノール中に凍結保存した GF/F フィルターを 4°C で一晩置くことによりクロロフィル *a* を抽出し、SCOR/UNESCO (1966) の方法を改良した方法 (西条・三田村 1995) により比色定量した。

溶存態窒素の定量

尿素態窒素の測定は Newell et al. (1967) のジアセチルモノオキシム比色法を改良した松永・西村 (1972) の方法により行った。溶存無機態窒素 (DIN: NH_4 , NO_3 および NO_2) の測定はオートアナライザー TRAACS 800 (BRAN+LUEBBE) を用いて行った。全溶存有機態窒素 (DON) は、酸化剤として過硫酸カリウムを用いる Nydahl (1978) の方法により求めた溶存態全窒素 (DTN) から DIN を差し引いて求めた。

尿素取込み速度の測定

測定には $200\ \mu\text{m}$ ナイロンメッシュで大型動物プランクトンを除いた試水 50 ml を用いた。孔径 $0.22\ \mu\text{m}$ ミリポアディスクフィルター (Millipore Millex-GS type) で濾過滅菌した ^{14}C -Urea (Amersham; sp act, $2.15\ \text{GBq mmol}^{-1}$) を超純水 1 ml に溶解させた後、それぞれ $7.4\ \text{kBq } ^{14}\text{C-urea}$ を含む終濃度 $66.8\ \text{nM-N}$ にな

るよう試水に添加した。植物プランクトンによる尿素取込み活性を阻害させた上で、細菌による尿素取込みを測定するため、試水に終濃度 $100 \mu\text{M}$ となるよう光合成阻害剤の 1 種 3-(3',4'-ジクロロフェニル)-1,1-ジメチル尿素 (DCMU) を添加した (Webb & Haas 1976)。植物プランクトンによる尿素取込みは、全海水によって測定された活性と DCMU 処理海水の活性の差から求めた。なお、試水に終濃度 2% ホルマリンを添加することにより微生物の取込み活性を停止させた実験区をコントロールとした。照度 $200 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ および現場水温の条件下 2 本立てで培養を行った。4 時間後、すべての試験区に 1 ml のホルマリンを添加して生物による取込み活性を止めた。その後、まず 2-アミノエタノールを十分含ませた GF/C フィルター (Whatman; 孔径 $1.2 \mu\text{m}$) をダラム管に入れ、これを針金で試水に触れないように吊し (三好 1990)、2 日間室温に置くことで培養中に試水から遊離した $^{14}\text{CO}_2$ を 2-アミノエタノール中に吸収させた。得られた各区の試水を孔径 $0.22 \mu\text{m}$ ミリポアフィルター (Millipore GS type) を用い濾過した。フィルター上の試料をシンチレーションバイアルに入れ、これに 10 ml Scintisol ALX-2 (WAKO) を添加した。フィルター上の放射活性は Multi-Purpose Scintillation counter LS 6500 (BECKMAN) を用いて測定した。濾液は 100 ml の三角フラスコ中に移した。2-アミノエタノールを十分含ませた CF/C フィルターをダラム管に入れ、これを針金で濾液に触れないようにフラスコ内に吊るした。さらに、フラスコ内の濾液に 0.5 ml の 1.5 M 硫酸を添加した後密封し、4 日間室温に置くことにより濾液から遊離した $^{14}\text{CO}_2$ を 2-アミノエタノール中に吸収させた。これら $^{14}\text{CO}_2$ を含んだ CF/C フィルターは、シンチレーションバイアル中に置き、 10 ml Clear-Sol I (Nacalai-tesque) を添加後上記と同様に ^{14}C 量を測定した。

植物プランクトンは尿素をすべて細胞内に取り込んで分解することから (Price & Harrison 1988, Antia et al. 1991), DCMU 処理区の $^{14}\text{CO}_2$ はすべて細菌由来のものだと判断した。尿素取込み速度は、この細胞内の ^{14}C と細胞から放出された濾液中の $^{14}\text{CO}_2$ との合計放射活性から Silva (1985) の方法により求めた。

尿素取込み寄与率の算出

全窒素同化速度に占める尿素取込み速度の割合を尿素取込み寄与率と考えた。全窒素同化速度は、以下に述べる光合成速度の測定結果に植物プランクトン態 C/N 比の 7.8 (山本ほか 2002) で除することで求めた。

光合成速度の測定

光合成速度は ^{14}C 法 (Shimura et al. 1978) で測定した。試水 50 ml に $370 \text{ kBq } ^{14}\text{C-NaHCO}_3$ を添加し、尿素取込み速度測定実験と同様の条件で培養した。培養は 4 本立てで行い、うち 2 本は暗条件で行った。培養終了後、孔径 $0.45 \mu\text{m}$ ミリポアフィルター (Millipore HA type) で濾過し、フィルターを塩酸蒸気で処理して無機の ^{14}C を除去した。デシケータ中で乾燥後させたフィルターをシンチレーションバイアル中に置き、 10 ml Clear-Sol I (Nacalai-tesque) を添加後、上記と同様に ^{14}C 量を測定した。濾液に 0.5 ml の 1.5 M 硫酸を添加して無機の ^{14}C を除去した後、 1 ml をシンチレーションバイアル中に入れ、これに 10 ml Scintisol ALX-2 (WAKO) を添加し、細胞から放出された有機態 ^{14}C 量を測定した。試水中の二酸化炭素濃度は全有機体炭素計 TOC 5000 (Shimadzu) で測定した。光合成速度は以下の式で求めた。

$$\begin{aligned} \text{光合成速度 (CO}_2 \text{ mg l}^{-1} \text{ h}^{-1}) \\ = \text{試水中の全二酸化炭素濃度 (CO}_2 \text{ mg l}^{-1}) \\ \times (\text{明びんの放射活性} - \text{暗びんの放射活性}) / \\ (\text{試水に加えた放射活性} \times \text{培養時間}) \end{aligned}$$

結 果

クロロフィル a 量の変動

浦内湾表層および底層におけるクロロフィル a 量の年間変動を Fig. 1 に示した。表層のクロロフィル a 量は $1.29 \sim 70.0$ (平均 8.77) $\mu\text{g l}^{-1}$ であり、春季の終わりから秋季にかけて高くなる傾向を示し、2002 年 7 月 19 日、2003 年 6 月 13 日および 7 月 18 日において赤潮の発生がみられた。底層では $0.75 \sim 6.17$ (平均 2.48) $\mu\text{g l}^{-1}$ であり、観測期間を通して大きな変動はみられなかった。

海水中の溶存態窒素濃度

表層の尿素態窒素濃度は 0.1 未満 (検出限界) ~ 48.6 (平均 2.87) μM 、底層では 0.1 未満 (検出限界) ~ 10.2 (平均 2.62) μM であった (Fig. 2)。尿素態窒素は、両層において、夏季 (6 \sim 8 月) に高くなる傾向があり、夏季と冬季 (12 \sim 2 月) の間で有意差がみられた (表層: $p < 0.05$, 底層: $p < 0.01$)。DIN 濃度は、表層では $0.16 \sim 22.7$ (平均 2.26) μM 、底層で $0.16 \sim 22.5$ (平均 5.83) μM であった (Fig. 2)。DIN は、表層においておおむね低濃度であり、季節的変動がほとんどなかったのに対し、底

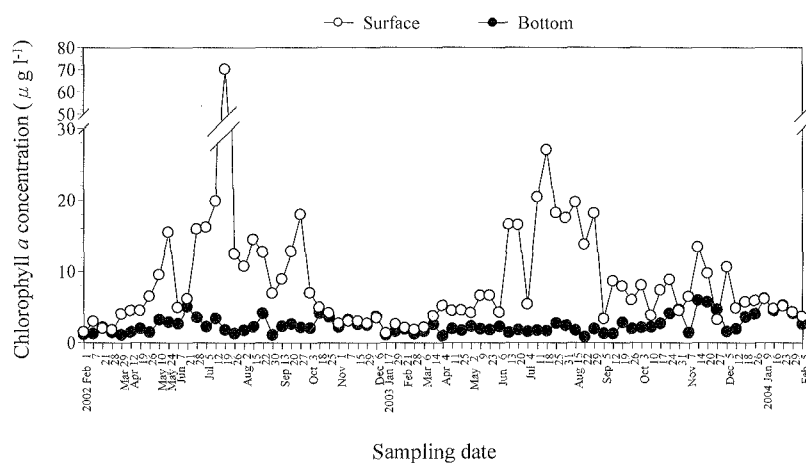


Fig. 1. Seasonal variation of chlorophyll *a* in surface and bottom seawaters of Uranouchi Inlet.

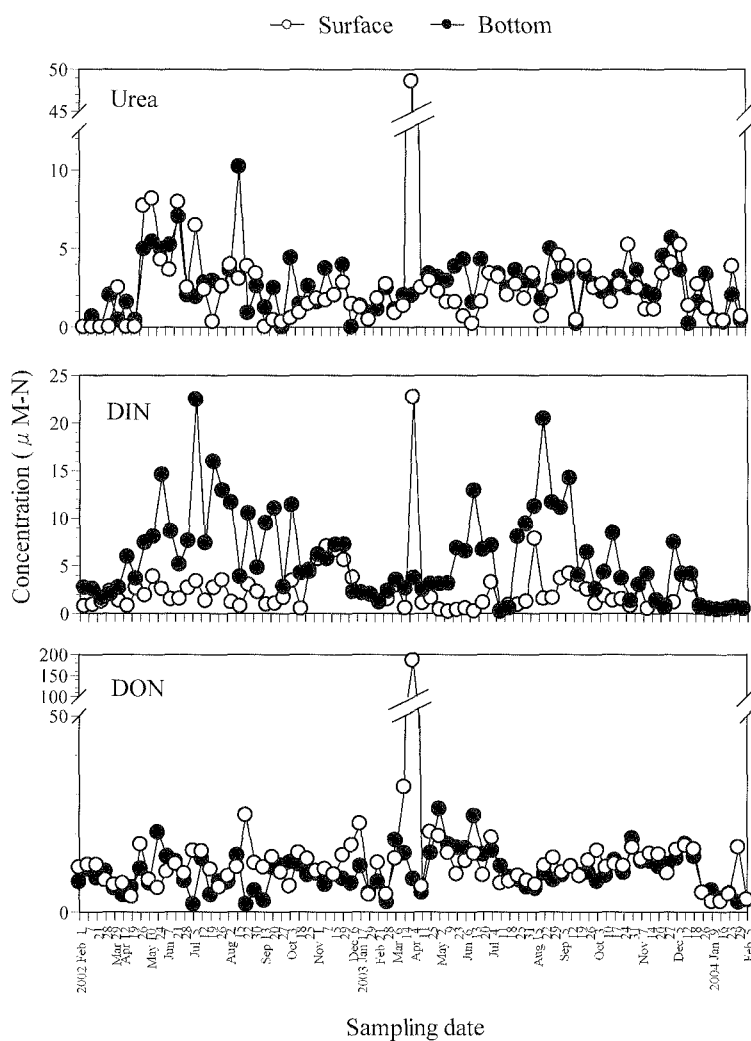


Fig. 2. Seasonal variation in concentrations of urea (upper), DIN (middle) and DON (lower) in surface and bottom seawaters of Uranouchi Inlet.

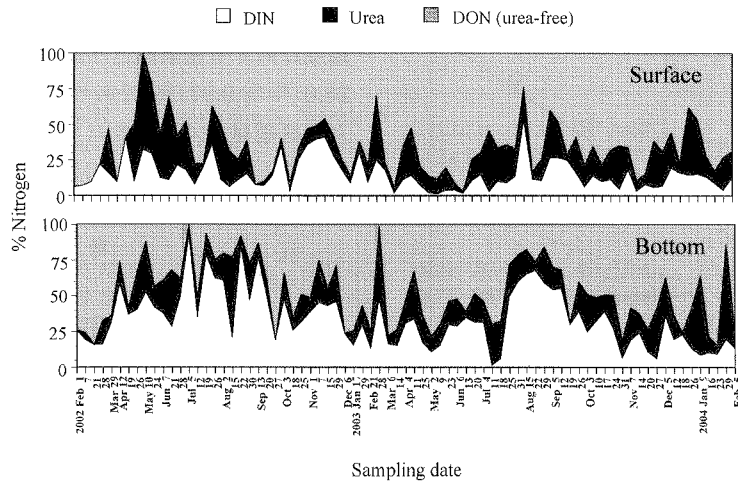


Fig. 3. Seasonal variation in the proportions of dissolved nitrogen present as DIN, urea and urea free-DON in surface and bottom seawaters of Uranouchi Inlet.

層では5月から9月にかけて高く、10月以降低くなる傾向がみられた。全DON濃度は、表層において2.61~185(平均14.0) μM であり、底層において1.90~26.2(平均10.2) μM であった(Fig. 2)。Fig. 3にDTN濃度に占める各種窒素濃度(DIN, 尿素および尿素を除いたDON)の割合を示した。全DON濃度のDTN濃度に対する割合は、表層において47.1~98.9(平均85.0)%, 底層において7.89~98.6(平均66.2)%であった。一方、尿素態窒素濃度は、表層において0~68.0(平均18.0)%および底層において0~66.9(平均17.7)%をそれぞれ占めた。さらに、全DONに対する尿素態窒素の割合は、表層において0~100(平均21.9)%および底層において0~99.8(平均30.0)%であった。尿素:DIN比は、表層において0~16.0(平均1.14)および底層において0~21.2(平均0.45)であった。

尿素取込み速度

浦ノ内湾における全尿素取込み速度は表層で2.99~55.4(平均19.3) $\text{nmol-N l}^{-1} \text{h}^{-1}$ であり、春季から夏季に高くなる傾向を示した(Fig. 4)。植物プランクトンによる尿素取込み速度は、2.57~55.1(平均18.5) $\text{nmol-N l}^{-1} \text{h}^{-1}$ であり(Table 1)、平均で全体の96%を占めた。一方、底層における全尿素取込み速度は0.16~24.8(平均5.50) $\text{nmol-N l}^{-1} \text{h}^{-1}$ であり(Table 1)、明確な季節の変動はみられなかった(Fig. 4)。植物プランクトンによる尿素取込み速度は0.14~24.8(平均4.78) $\text{nmol-N l}^{-1} \text{h}^{-1}$ であり、平均で全体の87%を占めた。本実験の、植物プランクトン細胞内に尿素由来の ^{14}C はほとんど残っておらず、 $^{14}\text{CO}_2$ として放出されていることか

ら、尿素は炭素源としてではなく主に窒素源として利用されていることは明らかである。両層における植物プランクトン尿素取込み速度と、クロロフィルa量あるいは後述する光合成速度との間に有意な相関は認められなかった。

光合成速度

浦ノ内湾における光合成速度の変動をTable 1に示す。表層の光合成速度は243~5,350 $\text{nmol-C l}^{-1} \text{h}^{-1}$ で変動し、春季から秋季にかけて大きくなる傾向を示したが、底層における光合成速度は10.3~946 nmol-C l^{-1}

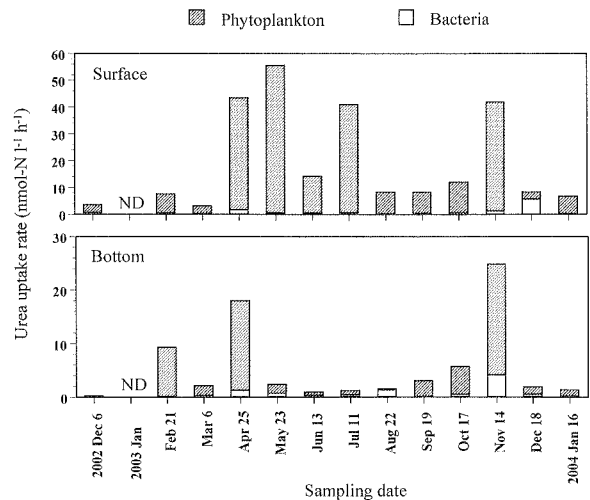


Fig. 4. Seasonal changes in urea uptake rates of bacteria and phytoplankton in surface and bottom seawaters of Uranouchi Inlet. ND shows as no data. See text for the detail.

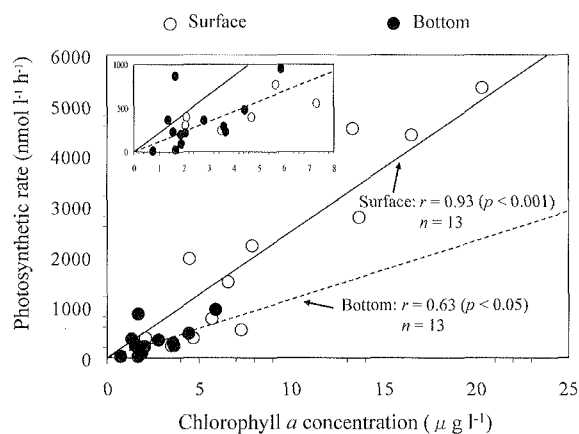


Fig. 5. Relationship between chlorophyll *a* concentration and photosynthetic rate in surface and bottom seawaters of Uranouchi Inlet. The inset displays the same relationship in the lower chlorophyll *a* concentrations.

h^{-1} の範囲にあり、表層のそれと比較すると小さかった。また、両層ともに光合成速度とクロロフィル *a* 量の間には正の相関がみられた (Fig. 5).

全窒素同化速度および尿素取込み寄与率

光合成速度を植物プランクトン態 C/N 比の 7.8 で除して求めた全窒素同化速度は、それぞれ $31.2 \sim 685 \text{ nmol-N } l^{-1} h^{-1}$ (表層) および $1.32 \sim 121 \text{ nmol-N } l^{-1}$

h^{-1} (底層) と算出され、植物プランクトンの全窒素同化速度に対する尿素取込み速度の比率 (寄与率) は $2.25 \sim 28.6$ (平均 9.97)% であり、季節的傾向はみられなかった。底層は $0.48 \sim 36.9$ (平均 12.4)% であった (Table 1).

考 察

現場海水中の尿素態窒素濃度ならびにその分布は、これまで特定の期間に限定して調べたものが多いため (Remsen et al. 1972, Harrison et al. 1985, Mitamura et al. 2000), 年間を通じた濃度変動や海域間の分布などの詳細は不明である。以上述べたとおり、富栄養海域浦ノ内湾では全 DON あるいは DIN 濃度に対して尿素が比較的高い割合で存在していることを明らかにした (Figs. 2, 3)。他の水域における尿素態窒素濃度と比較すると、浦ノ内湾海水中の濃度は、韓国 Mankyung & Dongjin 川河口域, Great South 湾, Savannah, Wilmington & Ogeechee 河川・沿岸域および Mississippi 川のものに匹敵し、それ以外の河川、湖および沿岸水中の濃度より相当高い (Table 2)。また、浦ノ内湾表層水中における平均尿素態窒素と DIN 濃度との比 (1.14) は、ブルームが多発している Great South 湾表層水中の 2.07 には比較的近いが、三河湾の 0.30 および中海水中の 0.27 よりもはるかに大きい。したがって、富栄養化

Table 1. Contribution of urea uptake (UP) rate by phytoplankton to nitrogen assimilation rate in surface and bottom seawaters of Uranouchi Inlet. P. R. is photosynthetic rate.

Sampling date	Surface				Bottom			
	P. R. (nmol $l^{-1} h^{-1}$)	N assim. (nmol $l^{-1} h^{-1}$)	UP rate (nmol $l^{-1} h^{-1}$)	Urea contribution (%)	P. R. (nmol $l^{-1} h^{-1}$)	N assim. (nmol $l^{-1} h^{-1}$)	UP rate (nmol $l^{-1} h^{-1}$)	Urea contribution (%)
Dec. 6, 2002	243	31.2	2.79	8.95	229	29.3	0.14	0.48
Feb. 21, 2003	304	39.0	7.09	18.2	194	24.9	9.18	36.9
Mar. 6	393	50.4	2.75	5.46	231	29.7	1.81	6.10
Apr. 25	1957	251	41.7	16.6	864	111	16.7	15.0
May. 23	1500	192	55.1	28.6	89.3	11.4	1.60	14.0
Jun. 13	4414	566	13.8	2.43	361	46.3	0.52	1.12
Jul. 11	5345	685	40.4	5.89	20.4	2.62	0.75	28.6
Aug. 22	2785	357	8.05	2.25	10.3	1.32	0.15	11.4
Sep. 19	2207	283	7.87	2.78	353	45.2	2.86	6.33
Oct. 17	553	70.9	11.4	16.0	213	27.3	5.15	18.8
Nov. 14	4545	583	40.6	6.96	946	121	20.7	17.1
Dec. 18	764	98.0	2.57	2.62	288	36.9	1.34	3.63
Jan. 16, 2004	391	50.2	6.43	12.8	475	60.8	1.17	1.92
Average				9.97				12.4

N assimilation rate (N assim.) and urea contribution were calculated as following equation 1 and 2, respectively. Equation 1: (N assim.)=(P. R.)/(C/N ratio: 7.8); Equation 2: Urea contribution=(UP rate)×100/(N assim.).

Table 2. Summary of urea, ammonium and nitrate concentrations, chlorophyll *a* (Chl *a*) concentration, urea uptake (UP) rate in marine and freshwater environments. Data only from surface sample were compared in the literature. ND: not detected.

Sampling site	Urea-N conc. (μM)	Ammonia-N conc. (μM)	Nitrate-N conc. (μM)	Chl <i>a</i> ($\mu\text{g l}^{-1}$)	UP rate ($\text{nmol-N l}^{-1} \text{h}^{-1}$)	Source
Marine						
Uranouchi Inlet:						
Surface water	ND-48.6 (2.87)	ND-22.4	ND-1.71	1.29-70.4	2.99-55.4	This study
Bottom water	ND-10.2 (2.62)	ND-19.5	0.06-6.37	0.75-6.17	0.16-24.8	
Off Peru	0.00-0.67 (0.28)					McCarthy (1970)
Savannah-Wilmington- Ogeechee coastal water	1.70-9.78 (3.70)			0.50-1.82	4.84-112.4	Remsen et al. (1972)
New York Bight:						
Sept. 1970	1.06-4.98 (2.48)					Remsen et al. (1974)
May 1971	2.00-7.00 (4.58)					
Estuarine system of Mankyung & Dongjin rivers	ND-12.5	ND-75.9		1.33-33.1	1.06-9.28	Shim et al. (1994)
Estuarine system of Mankyung & Dongjin rivers	1.34-8.66	4.0-75.9		1.3-15.9	0.8-11.8	Cho et al. (1996)
Great South Bay SW coast of Finland	(5.35) 0.28	(1.94)	(0.65)	1.0-27.0	76	Kaufman et al. (1983) Tamminen & Irmisch (1996)
Hiroshima Bay*	0.08-3.32 (0.67)					山本ほか (1994)
Etauchi Bay*	0.00-5.01 (0.85)					
Suo Nada*	0.15-2.50 (0.91)					
Osaka Bay	ND-2.22	0.07-12.8	0.12-25.5 ^a			Tada et al. (1998)
Harima Nada	ND-2.49	ND-6.24	0.11-9.09 ^a			
Hiroshima Bay	ND-1.18	ND-2.56	0.03-8.05 ^a			
Iyo Nada	0.01-4.22	ND-2.00	ND-5.99 ^a			
Suo Nada	ND-1.42	ND-1.84	ND-2.65 ^a			
Mikawa Bay	1.3-5.9	0.2-2.4	4.2-7.3		3.33-133.3	Mitamura & Saijo (1975)
Freshwater						
Lake Biwa:						
Oligotrophic	0.77-2.24	1.24-2.56	3.4-8.4	5.20-8.52	1.1-4.6	Mitamura & Saijo (1986)
Mesotrophic	1.37-2.08	1.56-2.57	11.6-14.4	3.33-5.68	13.4-33.0	
Eutrophic	3.03-3.66	10.9-13.1	20.4-21.1	33.2-50.6	32.2-35.2	
Lake Nakaumi	0.9-2.5	1.0-11.2	0.2-5.4	7.8-157.6	5.1-350	Mitamura et al. (2000)
The Ohta river*	0.23-3.15 (1.49)					山本ほか (1994)
Savannah, Wilmington & Ogeechee rivers	2.52-17.9 (7.32)			0.30-1.82	0.54-15.2	Remsen et al. (1972)
Mississippi river	2.32-15.0 (5.62)				11.5-53.4	Remsen et al. (1974)
Lake Kinneret*	0.0-10.7					Berman (1974)

(): average; a: $\text{NO}_2 + \text{NO}_3$; *: surface~bottom.

した浦ノ内湾海水には Great South 湾と同様に尿素が多く含まれていることがわかる。

水中の尿素の起源は鳥類, サメ・エイ類等の魚類および動物プランクトンによる排出 (Harrison et al. 1985, Mitamura & Saijo 1986b) と有機物の細菌による分解による生成, といわれている (Cho et al. 1996). 浦ノ内湾には, 大きな流量を有する流入河川はなく, 魚類養殖用の生簀が多く設置されているのが特徴である (Patel

et al. 2000, 山口ほか 2004). 本湾海水中の尿素は, このような養殖由来の餌飼料または魚類の排泄物等により直接供給される, あるいは養殖由来の有機物が細菌の分解作用を経て生成・供給されるのではないかと考えられる。

植物プランクトンの尿素取込みは光合成と密接な関係にあることが報告されている (Mitamura & Saijo 1975, 1986a, Webb & Haas 1976). Webb & Haas

(1976) は、植物プランクトンによる尿素取込みは、明条件下のみで行われること、光合成阻害剤 DCMU の添加により抑制されることを報告している。したがって、本研究では DCMU を併用することにより細菌および植物プランクトンの尿素取込み速度を分画・測定したが、本試験で得られた浦ノ内湾海水中の全尿素取込み速度は、他水域におけるものと同程度の範囲内にあり (Table 2), さらに、本湾表層水中における植物プランクトンによる尿素取込みは全尿素取込みの 31~99%, 平均で 96% を占めた。この結果は、他水域で得られた値 ($0.54 \sim 350 \text{ nmol-N l}^{-1} \text{ h}^{-1}$) の範囲内にあるものであり (Carpenter et al. 1972a, Remsen et al. 1972, 1974, Mitamura & Saijo 1975), 海水中の尿素は年間を通し主に植物プランクトンにより取り込まれていることを示している。また、単位クロロフィル *a* 量当たりの尿素取込み速度は $0.58 \sim 8.70 \text{ nmol-N } \mu\text{g-chl } a^{-1} \text{ h}^{-1}$ の範囲内にあり, Savannah, Wilmington & Ogeechee 河川・沿岸域の $1.26 \sim 81.5 \text{ nmol-N } \mu\text{g-chl } a^{-1} \text{ h}^{-1}$ (Remsen et al. 1972), Mankyung & Dongjin 川河口域の $0.074 \sim 1.91 \text{ nmol-N } \mu\text{g-chl } a^{-1} \text{ h}^{-1}$ (Cho et al. 1996) および地中海の $1.31 \sim 7.39 \text{ nmol-N } \mu\text{g-chl } a^{-1} \text{ h}^{-1}$ (Mitamura et al. 2000) とほぼ同じ範囲内であることがわかった。これらのことから、植物プランクトン群集の尿素取込み速度は海域間で大きな差がないものと示唆される。

浦ノ内湾表層における細菌の尿素取込み速度は $0.088 \sim 5.64 \text{ nmol-N l}^{-1} \text{ h}^{-1}$ であり、植物プランクトンのそれと比べるとはるかに小さいものであったが、他水域で得られた値は $0 \sim 0.88 \text{ nmol-N l}^{-1} \text{ h}^{-1}$ の Mankyung & Dongjin 川河口域 (Cho et al. 1996), N.D.~ $1.94 \text{ nmol-N l}^{-1} \text{ h}^{-1}$ の Southern California 湾 (Cho & Azam 1995) および $2 \text{ nmol-N l}^{-1} \text{ h}^{-1}$ の Georgia 州 Sapelo Island, Marsh Landing (Wheeler & Kirchman 1986) であり、浦ノ内湾表層とほとんど差がないことがわかった。他の有機態窒素基質について、Sapelo Island, Marsh Landing の細菌の取込み速度はアラニンの $14 \text{ nmol-N l}^{-1} \text{ h}^{-1}$, グリシンの $8 \text{ nmol-N l}^{-1} \text{ h}^{-1}$ およびアミノ酸混合物の $167 \text{ nmol-N l}^{-1} \text{ h}^{-1}$ であった (Wheeler & Kirchman 1986)。これらと比べると細菌の尿素取込みは少ないことから、細菌は尿素を窒素源として優先的に利用していないと思われる。

植物プランクトンによる尿素取込み速度は、クロロフィル *a* 量、光合成速度および尿素濃度と正の相関を示すことが報告されている (Mitamura & Saijo 1975, 1986a, Silva 1985, Park et al. 1997)。しかし本研究においてはいずれも相関は認められなかった。この要因と

して、植物プランクトンの尿素利用能が種によって異なる (Antia et al. 1977, 1991, Carpenter et al. 1972b, Price & Harrison 1988) ことが挙げられる。すなわち、本研究で得られた植物プランクトン群集としての尿素取込みは、その場に存在するプランクトン種の尿素利用能が反映されたものと考えるのが妥当である。浦ノ内湾では、植物プランクトンの現存量 (クロロフィル *a* 量) とともに種組成ひいては尿素の取込みも大きく変動していたため、上述した相関がみられなかったものと考えられる。

植物プランクトンの窒素利用過程における尿素の寄与を調べるにあたっては、全窒素同化速度に対する尿素取込み速度の比率を評価することが重要かつ必須である。これまで全窒素同化速度は、アンモニア、硝酸および尿素の 3 者の総取込みから求められてきたが (McCarthy 1972, Kaufman et al. 1983, Harrison et al. 1985, L'Helguen et al. 1996, Kudela & Cochlan 2000), 近年、植物プランクトンによる溶存遊離アミノ酸 (DFAA) 等の取込みが、DIN および尿素に匹敵する場合がある (Berg et al. 2001, 2003) ことも明らかにされている。そこで本報では、より正確に全窒素同化速度を求めるために、植物プランクトンの光合成炭素同化速度と全窒素同化速度は正の相関を示すこと (Mitamura & Saijo 1986a) に注目し、光合成速度を沿岸海域における植物プランクトンの平均 C/N 比 (山本ほか 2002) により除することで、全窒素同化速度を算出した。これにより求めた浦ノ内湾海水における植物プランクトンによる尿素の寄与率 (平均約 1 割程度) は、他沿岸海域である Southern California 湾沿岸の 28% (McCarthy 1972), カナダ東部の northern Baffin 湾の 32% (Harrison et al. 1985) およびイギリス海峡西部の French coast の 13% (L'Helguen et al. 1996) より低い。しかし、前述したように他の沿岸海域の寄与率は、植物プランクトンによる DFAA 等の取込みが考慮されていないため、過大評価されていた可能性が考えられ、今後さらなる検討が必要と思われる。また、前述したように植物プランクトンには尿素を利用可能なものと利用できないもの (Antia et al. 1977, 1991, Carpenter et al. 1972b, Price & Harrison 1988) がいることを考慮すると、浦ノ内湾における植物プランクトンによる尿素の寄与が期間を通して大きく変動していた理由として、尿素を利用可能な種の比率が変化することが原因であると考えられた。

以上のことから、浦ノ内湾海水中には、年間を通したほとんどの時期において DIN に匹敵あるいはそれ以上

の尿素が溶存しており、そのほとんどは植物プランクトンにより取り込まれていること、さらに窒素の同化に占める尿素の取込みは大きく変動し、時期によっては約30~40%程度にも達することが明らかとなったことから、浦ノ内湾をはじめとした有機汚濁化が進行した内湾域における植物プランクトンの発生機構を考えるに際し、尿素の寄与を考慮することは極めて重要であると考えられた。

引用文献

- Antia, N. J., R. B. Brigitte, D. J. Bonin & S. Y. Maestrini 1977. Effect of urea concentration in supporting growth of certain marine microplanktonic algae. *Phycologia* **16**: 105-111.
- Antia, N. J., P. J. Harrison & L. Oliveira 1991. The role of dissolved organic nitrogen in phytoplankton nutrition, cell biology and ecology. *Phycologia* **30**: 1-89.
- Berg, G. M., P. M. Glibert, M. B. Jorgensen & I. Purina 2001. Variability in inorganic and organic nitrogen uptake associated with riverine nutrient input in the Gulf of Riga, Baltic Sea. *Estuaries* **24**: 204-214.
- Berg, G. M., M. Balode, I. Purina, S. Bekere, C. Béchemin & S. Y. Maestrini 2003. Plankton community composition in relation to availability and uptake of oxidized and reduced nitrogen. *Aquat. Microb. Ecol.* **30**: 263-274.
- Berman, T. 1974. Urea in the waters of Lake Kinneret (Sea of Galilee). *Limnol. Oceanogr.* **19**: 977-980.
- Berman, T., S. Chava, B. Kaplan & D. Wynne 1991. Dissolved organic substrates as phosphorus and nitrogen sources for axenic batch cultures of freshwater green algae. *Phycologia* **30**: 339-345.
- Carpenter, E. J., C. C. Remsen & B. W. Schroeder 1972a. Comparison of laboratory and in situ measurements of urea decomposition by a marine diatom. *J. exp. mar. Biol. Ecol.* **8**: 259-264.
- Carpenter, E. J., C. C. Remsen & S. W. Watson 1972b. Utilization of urea by some marine phytoplankters. *Limnol. Oceanogr.* **17**: 265-269.
- Cho, B. C. & F. Azam 1995. Urea decomposition by bacteria in the Southern California Bight and its implications for the mesopelagic nitrogen cycle. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **122**: 21-26.
- Cho, B. C., M. G. Park, J. H. Shim & F. Azam 1996. Significance of bacteria dynamics in coastal surface waters. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **142**: 19-26.
- Eppley, R. W., E. H. Renger & W. G. Harrison 1979. Nitrate and phytoplankton production in southern California coastal waters. *Limnol. Oceanogr.* **24**: 483-494.
- Flynn, K. J. & I. Butler 1986. Nitrogen sources for the growth of marine microalgae: role of dissolved free amino acids. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **34**: 281-304.
- Fukami, K., T. Nishijima, H. Murata, S. Doi & Y. Hata 1991. Distribution of bacteria influential on the development and the decay of *Gymnodinium nagasakiense* red tide and their effects on algal growth. *Nippon Suisan Gakkaishi* **57**: 2321-2326.
- Harrison, W. G., E. J. H. Head, R. J. Conover, A. R. Longhurst & D. D. Sameoto 1985. The distribution and metabolism of urea in the eastern Canadian Arctic. *Deep Sea Res.* **32**: 23-42.
- Kaufman, Z. G., J. S. Lively & E. J. Carpenter 1983. Uptake of nitrogenous nutrients by phytoplankton in a Barrier Island Estuary: Great South Bay, New York. *Estuar. Coast. Shelf. Sci.* **17**: 483-493.
- Kudela, R. M. & W. P. Cochlan 2000. Nitrogen and carbon uptake kinetics and the influence of irradiance for a red tide bloom off southern California. *Aquat. Microb. Ecol.* **21**: 31-47.
- L'Helguen, S., C. Madec & P. Le Corre 1996. Nitrogen uptake in permanently well-mixed temperate coastal waters. *Estuar. Coast. Shelf. Sci.* **42**: 803-818.
- McCarthy, J. J. 1970. A urease method for urea in seawater. *Limnol. Oceanogr.* **15**: 309-313.
- McCarthy, J. J. 1972. The uptake of urea by natural populations of marine phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.* **17**: 738-748.
- 松永勝彦・西村雅吉 1972. 水中尿素定量法の改良法の検討. 分析化学. **21**: 1387-1389.
- Mitamura, O. & Y. Saijo 1975. Decomposition of urea associated with photosynthesis of phytoplankton in coastal waters. *Mar. Biol.* **30**: 67-72.
- Mitamura, O. & Y. Saijo 1986a. Urea metabolism and its significance in the nitrogen cycle in the euphotic layer of Lake Biwa. I. *In situ* measurement of nitrogen assimilation and urea decomposition. *Arch. Hydrobiol.* **107**: 23-51.
- Mitamura, O. & Y. Saijo 1986b. Urea metabolism and its significance in the nitrogen cycle in the euphotic layer of Lake Biwa. IV. Regeneration of urea and ammonia. *Arch. Hydrobiol.* **107**: 425-440.
- Mitamura, O., Y. Seike, K. Kondo, N. Ishida & M. Okumura 2000. Urea decomposing activity of fractionated brackish phytoplankton in Lake Nakaumi. *Limnology* **1**: 75-80.
- 三好英夫 1990. "4・5 有機物の分解活性". 沿岸環境調査マニュアルII (日本海洋学会編), pp.294-304. 恒星社厚生閣. 東京.
- Newell, B. S., B. Morgan & J. Cundy 1967. The determination of urea in seawater. *J. Mar. Res.* **25**: 201-202.
- Nydahl, F. 1978. On the peroxodisulphate oxidation of total nitrogen in waters to nitrate. *Wat. Res.* **12**: 1123-1130.
- Paasche, E. & S. Kristiansen 1982. Nitrogen nutrition of the phytoplankton in the Oslofjord. *Estuar. Coast. Shelf. Sci.* **14**: 237-249.
- Palenik, B. & S. E. Henson 1997. The use of amides and other organic nitrogen sources by the phytoplankton *Emiliania huxleyi*. *Limnol. Oceanogr.* **42**: 1544-1551.
- Park, M. G., J. H. Shim & B. C. Cho 1997. Urea decomposition activities in an ammonium enriched freshwater pond. *Aquat. Microb. Ecol.* **13**: 303-311.
- Patel, A. B., K. Fukami & T. Nishijima 2000. Regulation of seasonal variability of aminopeptidase activities in surface and bottom waters of Uranouchi Inlet, Japan. *Aquat. Microb. Ecol.* **21**: 139-149.
- Price, N. M. & P. J. Harrison 1988. Uptake of urea C and N by the coastal marine diatom *Thalassiosira pseudonana*. *Limnol. Oceanogr.* **33**: 528-537.
- Remsen, C. C., E. J. Carpenter & B. W. Schroeder 1972. Competition for urea among estuarine microorganisms. *Ecology* **53**: 921-926.

- Remsen, C. C., E. J. Carpenter & B. W. Schroeder 1974. The role of urea in marine microbial ecology, pp. 286-304 In *Effects of the Ocean Environment on Microbial Activities* (ed. Colwell, R. R. & R. Y. Morita). Univ. Park Press, Baltimore, MD.
- 西条八束・三田村緒佐武 1995. 新編 湖沼調査法. 講談社. 東京, 230 pp.
- SCOR/UNESCO 1966. Determination of photosynthetic pigments in seawater. Monographs on Oceanographic Methodology 1. UNESCO Publication Center, Paris. 1-69.
- Shim, J. H., B. C. Cho & M. G. Park 1994. Distributions of urea and urea decomposition rates in an estuarine system of Mankyung and Dongjin Rivers, Korea. *J. Korean Soc. Oceanogr.* **29**: 402-413.
- Silva, E. M. 1985. Microbial decomposition of urea in the Menai Straits. *Hydrobiologia* **126**: 245-251.
- Shimura, S., Y. Yamaguchi, Y. Aruga, Y. Fujita & S. Ichimura 1978. Extracellular release of photosynthetic products by a pelagic blue-green alga, *Trichodesmium thiebautii*. *J. Oceanogr. Soc. Japan.* **34**: 181-188.
- Tada, K., M. Tada & Y. Maita 1998. Dissolved free amino acids in coastal seawater using a modified fluorometric method. *J. Oceanogr.* **54**: 313-321.
- Takahashi, M. & N. Fukazawa 1982. A mechanism of "red-tide" formation: II. Effect of selective nutrient stimulation on the growth of different phytoplankton species in natural water. *Mar. Biol.* **70**: 267-273.
- Tamminen, T. & A. Irmisch 1996. Urea uptake kinetics of a midsummer planktonic community on the SW coast of Finland. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **130**: 201-211.
- Webb, K. L. & L. W. Hass 1976. The significance of urea for phytoplankton nutrition in the York River, Virginia, pp. 90-102 In *Estuarine Processes* (ed. Wiley), vol. 1, Academic Press, New York.
- Wheeler, P. A. & D. L. Kirchman 1986. Utilization of inorganic and organic nitrogen by bacteria in marine systems. *Limnol. Oceanogr.* **31**: 998-1009.
- 山口晴生・西島敏隆・小田綾子・深見公雄・足立真佐雄 2004. 沿岸海中におけるアルカリフォスファターゼ活性およびフォスファターゼ加水分解性リンの分布と消長. *日水誌* **70**: 333-342.
- 山本民次・山崎 徹・藤森 聡・松田 治 1994. 広島湾, 江田内湾, 周防灘北東部海域および太田川における尿素濃度について. *広島大学生物生産学部紀要* **33**: 51-58.
- 山本民次・橋本俊也・辻 けい子・松田 治・樽谷賢治 2002. 1991~2000年の広島湾海中における親生物元素の時空間的変動, 特に植物プランクトン態C:N:P比のレッドフィールド比からの乖離. *沿岸海洋研究* **39**: 163-169.