

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 16 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25440232

研究課題名(和文) 浅い湖沼におけるハス群落拡大がメタン食物網へあたえる影響

研究課題名(英文) Effect of expansion of lotus vegetation on methane food web in a shallow lake

研究代表者

鹿野 秀一 (SHIKANO, SHUICHI)

東北大学・東北アジア研究センター・准教授

研究者番号：70154185

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：宮城県伊豆沼は、浅い湖のため近年ハス群落が拡大し湖水中で貧酸素状態が起きやすい状況になっている。ハス群落内においては堆積物中のメタンが湖水中へ拡散し、夏季にハス群落外より高濃度で蓄積していた。環境DNAを用いた細菌群集解析から、メタン酸化細菌群集は水中に特有な細菌が増殖し、種組成の季節変化はメタン濃度や水温に対応していた。動物プランクトンや魚類の炭素安定同位体比が夏季に低下することから、メタンやメタン酸化細菌を起源とするメタン食物連鎖系が、水中へも拡大していることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：In Lake Izunuma, a shallow lake in Miyagi prefecture, the expansion of lotus vegetation caused oxygen-depleted lake water recently. In the lotus vegetation, methane diffused into lake water from the sediments and was accumulated in the lower layers during summer period. From the bacterial community analysis using the environmental DNA, the methane oxidizing bacteria which could grow in lake water were detected, and the changes in bacterial community corresponded to methane concentration and water temperature. Since carbon stable isotope ratios of zooplankton and fishes were depleted during summer period, it is suggested that methane food web originated from biogenic methane and methane oxidizing bacteria may be expanding to lake water environments.

研究分野：生態学

キーワード：湖沼 安定同位体比 メタン ハス群落

## 1. 研究開始当初の背景

成層する湖の堆積物中では、嫌気な環境で生成されたメタンを利用するメタン酸化細菌が増殖し、そのメタン酸化細菌を底生生物が餌資源としていることが報告されている。これは底生生物の炭素安定同位体比が非常に低く、メタンの値に近いことが根拠になっている(Deines et al. 2007)。しかし浅い湖沼ではこの現象は報告されていなかったが、宮城県に位置する最大水深 1.8 m の伊豆沼において炭素安定同位体比の極めて低い値をとるユスリカ幼虫と堆積物中のメタンの蓄積量に高い相関がみられ、浅い湖沼においてもメタン食物網の重要性が明らかになった(Yasuno et al. 2012)。

また、湖水中に酸素がある場合は、メタンは堆積物表層でメタン酸化細菌によって消費されるが、深底帯が無酸素になるとメタンは水中に拡散し、水中の酸素がある層付近でメタン酸化細菌が増殖すると考えられている。このような状況になると炭素安定同位体比が極めて低いメタン酸化細菌を基点とした微生物ループが形成され、動物プランクトンの炭素安定同位体も低くなることが報告されている(Taipale et al. 2008)。

一方、伊豆沼においては、ハス群落は 1998 年 8 月の大雨により生育面積が激減したが、その後生育面積が増加している傾向にあり、近年夏から秋にかけて湖面積の 80% 以上を占めるようになった。ハスの生育拡大は風による湖水の攪拌が低下することにより湖水下層では溶存酸素濃度が減少し、低酸素や無酸素状態を引き起こしやすくなる。ハス群落の生育拡大による無酸素層の形成は、浅い湖沼においても水中へメタンが蓄積し、メタン酸化細菌が水中の有酸素・無酸素界面で増加し、それを炭素源とするメタン食物連鎖が発達する可能性がある。

## 2. 研究の目的

浅い湖である伊豆沼においてハス群落の拡大が、湖水中の食物網へメタンの寄与を増大しているか検討するために、次の点を明らかにすることを目的とする。

- (1) ハス群落内と外における成層の有無と貧酸素や無酸素状態を観測する。
- (2) ハス群落内と外における湖水中と堆積物中のメタン濃度の分布様式とその季節変化を明らかにする。
- (3) 動物プランクトンや魚類の炭素安定同位体比の値が、酸素濃度やメタン濃度と関連があるか明らかにする。
- (4) 湖水より抽出した環境 DNA からメタン酸化細菌群集の解析を行い、水中のメタン濃度とメタン酸化細菌有無および動物プランクトンや魚類のメタン食物連鎖の寄与との関連を明らかにする。

## 3. 研究の方法

- (1) 伊豆沼は宮城県北部の仙北平野に位置す

る面積 3.7 km<sup>2</sup>、最大水深 1.6 m、平均水深 0.76 m の浅い湖である。伊豆沼において夏季にハスが生育する場所(ハス群落内)と生育しない場所(ハス群落外)の定点をもうけ、冬季をのぞいて毎月水温と溶存酸素濃度の鉛直分布を測定した。

(2) 水中と堆積物中のメタン濃度測定のため、ハス群落内外において、採水ポンプを用いて水深別に湖水を採水し、ガスタイトなバイアルビンに分注した。同時に、コア-サンプラーによって堆積物コア-を採集し、コア-サンプルより表層と 5~6 cm 層の 2 つのサブコア-を採取して、蒸留水をいれたガスタイトなバイアルビンに入れ、実験室に持ち帰った。実験室においてバイアルビン内のメタンガスはヘッドスペース法によってガラスシリンジに移し、ガスクロマトグラフィー GC-FID によりメタン濃度を測定した。

(3) メタン酸化細菌の群集解析は以下の方法で行った。湖水中の群集解析には湖水をフィルターでろ過し、そこから環境 DNA を抽出した。堆積物中の環境 DNA は抽出キットを用いてビーズビート法で得た。環境 DNA からメタン酸化細菌の Type 1 と Type 2 に特異的なプライマーセットを用いて PCR 増幅し、これらを鋳型として変性剤濃度勾配ゲル電気泳動法(DGGE法)の PCR 増幅をして、DNA 変性剤の濃度勾配のあるポリアクリルアミドゲルで電気泳動を行った。得られた電気泳動画像のバンドパターンは、Image-J 1.48v (NIH, USA) を用いてバンドをバックグラウンドから抽出し、各レーンのバンド位置を特定した。バンドパターンによる群集組成と環境要因の関係解析には、統計ソフト R の Vegan package を用いて正準対応分析を行った。電気泳動ゲル上の一部のバンドに関しては、バンドからゲルを切り出し、塩基配列を解析し、既知の塩基配列との相同性検索を行った。

(4) 動物プランクトンはプランクトンネットを用いて採集し、実験室においてカイアシ類と枝角類に分けてから、乾燥サンプルを作成した。魚類のサンプルは、宮城県伊豆沼・内沼環境保全財団が定置網や電気ショッカーボートで採集したものの一部を譲り受け、体長を測定した後、背側の筋肉を切り出し、乾燥保存した。これらのサンプルは粉末にしてメタノールとクロロホルムで脱脂した後、質量分析器(Delta-plus, Thermo Finnigan 社製)を用いて炭素・窒素安定同位体比を測定した。

## 4. 研究成果

(1) 湖水の水温分布と溶存酸素濃度分布の季節変化

伊豆沼の水深は 120~180cm と浅いため、夏季を除いて水温は表層から湖底付近までほぼ一定で成層はみられなかった。夏季の日中は表層の水温は下層のそれに比べて 2~3 高い傾向があり、弱い成層がみられた。水温分布の季節変化には、ハス群落内と外で

有意な差はなかった。溶存酸素濃度は春季と秋季では表層から低層までほぼ一定で 5 mg/L 以上の値だったが、夏季には水深が深くなるにつれ溶存酸素濃度が減少し、湖底付近では無酸素状態や貧酸素状態になっていた。夏季の貧酸素状態は、ハス群落内の方がハス群落外よりも長い期間継続していた。

### (2) メタン濃度分布の季節変化

2013 年のハス群落内外における湖水中のメタン濃度分布の季節変化を図 1 に示す。

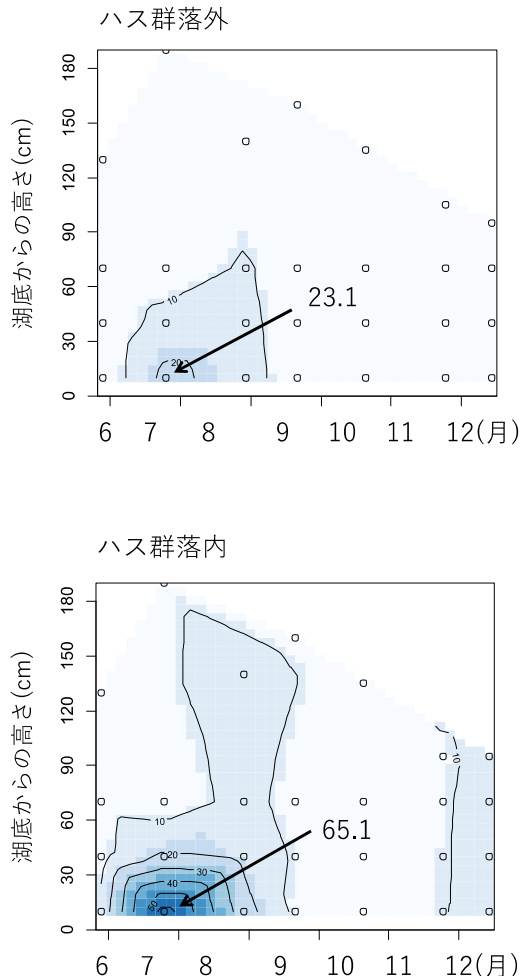


図 1 . メタン濃度 (µg/L) 分布の季節変化

ハス群落外では、7 月と 8 月に湖底付近でメタンが 10 µg/L 以上 (最大で 23.1 µg/L) の濃度で蓄積していたが、表層付近ではメタン濃度は低かった。これに対して、ハス群落内の夏季のメタン濃度は、湖水表面まで 10 µg/L 以上で、湖底付近では最大 65.1 µg/L にも達していた。一方、9 月になるとメタン濃度はハス群落内と外ともに湖底付近から表層まで低い濃度になっていた。2014 年のハス群落内と外における湖水中のメタン濃度分布も 2013 年のそれと同様の傾向がみられた。

### (3) メタン酸化細菌群集

図 2 にメタン酸化細菌の Type 1 (上図) と Type 2 (下図) の DGGE ゲル映像の例を示す。

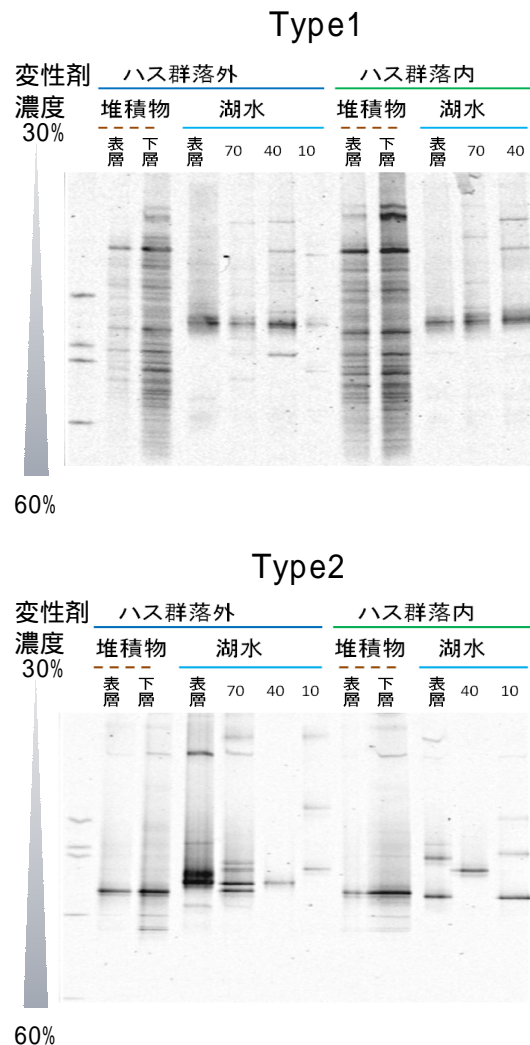


図 2 . メタン酸化細菌の DGGE ゲル画像例

堆積物中のメタン酸化細菌の DGGE ゲル上のバンドパターンはハス群落内外や堆積物の深さによっても差異が見られなかったことから、群集組成はほぼ均一と考えられる。一方、湖水中のメタン酸化細菌群集は、Type 1 と Type 2 とともに堆積物中のバンドと異なることから、湖水中に特有のメタン酸化細菌が増殖していると考えられる。湖水中のメタン酸化細菌群集は、ハス群落内外や水深によって組成が異なることから溶存酸素濃度やメタン濃度の影響を受けていることが示唆された。湖水中の Type 1 のメタン酸化細菌群集について月ごとの類似度について正準対応分析を行うと、大きく季節的な変化がみられ、7 月や 12 月は他の時期と大きく異なっていて、これらの変化にはそれぞれメタン濃度や水温の環境要因が対応していた。また、群集組成の季節変化の振れ幅はハス群落内の方がハス群落外より大きかった。

### (4) 動物プランクトンや魚類の炭素安定同位体比

通年採集できた動物プランクトンは、カイアシ類で、この炭素安定同位体比の値は、春季では -25‰ と高めだったが、8 月～9 月には -35～-37‰ の値に低下していた。動物プラン

クトンの炭素安定同位体比の値が-30‰より低下したことは、極めて低い値(-80~-50‰)をもつメタンがメタン酸化細菌に資化され、これらも動物プランクトンのエサとして寄与していた可能性が考えられる。

魚類の炭素安定同位体比の値は、5月に採集されたタモロコ、オイカワ、フナのコイ科魚類(計13個体)で-29.2~-27.4‰、ブルーギル(24個体)で-27.5‰だったのに対して、11月に採集されたタモロコ、オイカワ、モツゴ(計15個体)は-30.9~-32.2‰、ブルーギル(10個体)で30.2‰と春季より低い値だった。これらの魚類は炭素・窒素安定同位体によるミキシングモデルから動物プランクトンだけでなく、付着ソウ類やユスリカ幼虫も摂食していると推定されることから、これらの魚類の炭素安定同位体比が低下した原因として、低い値の動物プランクトンの寄与は部分的であると推定できる。

#### (5) ハス群落拡大の影響

浅い湖沼においては、ハス群落などの抽水植物が繁茂しやすく、抽水植物群落の拡大は貧酸素状態が広範囲に長期化することやそれに伴うメタンの蓄積など湖水環境へ大きく影響をあたえる。伊豆沼においてもハス群落の拡大により堆積物中だけでなく湖水中においてもメタンが蓄積し、それを利用するメタン酸化細菌が存在することが確認でき、さらに動物プランクトン群集にもメタン食物連鎖が寄与していることが示唆され、ハス群落拡大は貧酸素による魚類への悪影響だけでなく、湖沼の生産基盤のシフトもおこす可能性を問題提起できた。伊豆沼においては、2008年より自然再生事業が行われていて、近年拡大しすぎたハス群落の刈り取りなどが検討されているが、ハス群落刈り取りの影響を評価する上でも、本研究の成果は重要であるといえよう。

#### <引用文献>

Deines P, Grey J, Richnow H and Eller G. 2007. Linking larval chironomids to methane: seasonal variation of the microbial methane cycle and chironomid  $\delta^{13}\text{C}$ . *Aquat Microb Ecol* 46:273-282.

Taipale S, Kankaala P, Tirola M and Jones RI. 2008. Whole-lake dissolved inorganic  $^{13}\text{C}$  additions reveal seasonal shifts in zooplankton diet. *Ecology* 89:463-474.

Yasuno N, Shikano S, Muraoka A, Shimada T, Ito T and Kikuchi E. 2012. Seasonal increase of methane in sediment decreases  $\delta^{13}\text{C}$  of larval chironomids in a eutrophic shallow lake. *Limnology* 13:107-116.

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 1件)

Yasuno N, Chiba Y, Fujimoto Y, Shindo

K, Shimada T, Shikano S and Kikuchi E. Zoobenthos are minor dietary components of small omnivorous fishes in a shallow eutrophic lake. *Marine and Freshwater Research* (査読有)2016 (印刷中) DOI 10.1071/MF15156

[学会発表](計 11件)

鹿野秀一、迫裕樹、嶋田哲郎、浅い湖沼におけるハス群落拡大がメタン濃度にあたる影響、第63回日本生態学会、2016年3月24日、仙台国際センター(宮城県・仙台市)

安野翔、迫裕樹、鹿野秀一、芦澤淳、藤本泰文、嶋田哲郎、ハス群落内部におけるユスリカ幼虫へのメタン食物連鎖の寄与の季節変動、第63回日本生態学会、2016年3月24日、仙台国際センター(宮城県・仙台市)

迫裕樹、鹿野秀一、嶋田哲郎、伊豆沼におけるハス群落がメタン酸化細菌群集にあたる影響、第10回伊豆沼・内沼研究集会、2016年2月29日、宮城県伊豆沼・内沼サンクチュアリーセンター(宮城県・栗原市)

安野翔、上坂宗憲、迫裕樹、鹿野秀一、芦澤淳、藤本泰文、嶋田輝等、菊地永祐、伊豆沼におけるハス群落拡大後のメタン食物連鎖の季節変動パターン、第10回伊豆沼・内沼研究集会、2016年2月29日、宮城県伊豆沼・内沼サンクチュアリーセンター(宮城県・栗原市)

藤本泰文、森晃、鹿野秀一、伊豆沼・内沼のハス群落における貧酸素状態と魚類の生息状況、第10回伊豆沼・内沼研究集会、2016年2月29日、宮城県伊豆沼・内沼サンクチュアリーセンター(宮城県・栗原市)

鹿野秀一、上坂宗憲、高木優也、嶋田哲郎、藤本泰文、芦澤淳、ハス群落が拡大する浅い湖沼におけるブルーギルの食性、2015年9月29日、日本陸水学会第80回大会、北海道大学(北海道・函館市)

安野翔、迫裕樹、鹿野秀一、芦澤淳、藤本泰文、嶋田哲郎、菊地永祐、伊豆沼のハス群落拡大によるメタン食物連鎖への影響、2015年9月28日、日本陸水学会第80回大会、北海道大学(北海道・函館市)

安野翔、藤本泰文、嶋田哲郎、鹿野秀一、菊地永祐、安定同位体比を用いたコイ及びフナ属魚類の餌資源解析、平成27年度日本水産学会秋季大会、2015年9月22日、東北大学(宮城県・仙台市)

上坂宗憲、鹿野秀一、藤本泰文、芦澤淳、嶋田哲郎、伊豆沼におけるブルーギルの食性解析、第9回伊豆沼・内沼研究集会、2015年2月21日、宮城県伊豆沼・内沼サンクチュアリーセンター(宮城県・栗原市)

安野翔、鹿野秀一、嶋田哲郎、菊地永祐、

伊豆沼におけるメタン食物連鎖、第9回  
伊豆沼・内沼研究集会、2015年2月21  
日、宮城県伊豆沼・内沼サンクチュアリ  
センター（宮城県・栗原市）  
上坂宗憲、鹿野秀一、嶋田哲郎、藤本泰  
文、炭素・窒素安定同位体比からみた宮  
城県伊豆沼のブルーギルの食性、日本生  
態学会第61回大会、2014年3月16日、  
広島国際会議場（広島県・広島市）

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

鹿野 秀一（SHIKANO, Shuichi）  
東北大学・東北アジア研究センター・准教  
授

研究者番号：70154185