



2014 年度



公開臨海実習「基礎水圏生物学」

全学フレッシュマンセミナー「北海道東部の水域生態系」



2014年8月20日～8月25日

北海道大学北方生物圏フィールド科学センター厚岸臨海実験所

【スケジュール】

- 8月20日(水) 18:00 集合(宿泊所食堂)、夕食、ガイダンス
- 8月21日(木) 河川実習(別寒辺牛川の水質調査)
- 8月22日(金) アマモ場の生態学
- 8月23日(土) 海洋観測実習
- 8月24日(日) まとめ・発表会
- 8月25日(月) 朝食後解散(公用バス利用者は札幌へ)

注:実習予定は、海況・気象条件に応じて大幅な変更がありうる。

注:各日の実習項目のガイダンスは原則として前日の夕方に行う(2Fの黒板に指示する)。

【厚岸湾における干潮時刻と潮位】

日付	干潮時刻	潮位(cm)
8月20日(水)	4:21	41
8月21日(木)	5:43	37.1
8月22日(金)	6:50	31.5
8月23日(土)	7:42	26.5

【実習およびレポートについて】

1:実習は原則として4~5人で1班となつて行う。レポートは各日の項目それぞれについて、各自提出する。

2:レポートの〆切は **9月26日**

提出方法は下記のいずれかにする

- a) 電子メールの添付書類として送信 (email: nakaoka@fsc.hokudai.ac.jp、メールのタイトルは「公開臨海実習レポート_氏名」とすること)
- b) 郵送(〒088-1113 北海道厚岸郡厚岸町愛冠1 北海道大学北方生物圏フィールド科学センター厚岸臨海実験所 仲岡雅裕宛)

【スタッフ】

仲岡 雅裕（北海道大学北方生物圏フィールド科学センター・教授）
 伊佐田 智規（北海道大学北方生物圏フィールド科学センター・助教）
 清家 弘治（東京大学大気海洋研究所・助教）
 須藤 健二（北海道大学大学院環境科学院・大学院生）
 伊藤 美菜子（北海道大学大学院環境科学院・大学院生）
 楠崎 真央（北海道大学大学院環境科学院・大学院生）
 須貝 広海（北海道大学大学院環境科学院・大学院生）

【実習生】

公開臨海実習

氏名	所属	学年	班
近藤 絹代	信州大学・理学	3	1
高橋 飛鳥	酪農学園大学・農食環境	2	2
社本 麗南	酪農学園大学・農食環境	2	3

全学フレッシュマンセミナー(北海道大学)

氏名	所属	学年	班
高木 良太	経済	1	1
波多腰 純也	理学	2	2
早川 美奈子	歯学	2	3
大谷 龍誠	理系総合	1	1
鈴木 裕貴	理系総合	1	2
神頭 渉	理系総合	1	3
中野 雄貴	理系総合	1	1
波多野 凌	医学	1	2
黒柳 友菜人	水産	1	3
河村 眞美	水産	1	1

1日目（8月21日）

【陸域と海域の相互作用】

海洋、特に沿岸生態系は河川を通じて流入する淡水や陸上生態系由来の物質の動態に大きく影響される。また、海洋生態系は、鳥類や魚類の移動、あるいは海藻類の海岸への打ち上げなどを通じて陸上生態系に影響を与える。本実習ではこのような陸域と海域の相互作用について、別寒辺牛川水系の変化を実際に観察することにより学ぶことを目的とする。

【準備するもの】

カヌー、胴長あるいは長靴、採水用ボトル、クーラーボックス、メモリー式多項目水質計、栄養塩分析試薬キット、ノート、鉛筆、時計、飲料水、虫除け、日焼け止め

【野外調査】

1. 別寒辺牛川中流の森林域から下流の感潮域（海水の流入があるところ）まで、カヌーで下ることにより、河川の変化を実際に観察する。実際には約10 km程度の距離を2～3時間かけて下ることになる。カヌーの操作方法や乗船中の注意点については当日現地にて説明する。
2. 中流域から下流域にかけてカヌーで移動中にあらかじめ設定した場所で河川の水温と塩分の変化を水質計で観測すると共に、栄養塩分析用の河川水を採集する。

【室内分析】

1. 採集した河川水の栄養塩濃度について栄養塩分析試薬キット（バックテスト）を使って調べる。
2. 川下り中に観測した水温と塩分の変化について、水質計のデータを分析する。



【採水予定地点】

1. 別寒辺牛川カヌー乗り場周辺
2. 別寒辺牛川中～下流
3. 別寒辺牛川カヌー中間駅付近
4. チライカリベツ川合流地点
5. 水鳥観察館前
6. 大別川下流

2日目（8月22日）

【アマモ場の生物群集と食物網】

海の潮間帯から潮下帯に生息する大型植物（海藻や海草）が主体となった景観的なまとまりを「藻場」と呼ぶ。藻場のうち、種子植物である海草類（アマモなど）が主体となるものは「アマモ場（Seagrass bed）」と呼ばれる。アマモ場には多様な動物が生息し、その現存量も大きい。動物各種はアマモ場を生息空間、餌場、隠れ家、産卵場所などさまざまな用途で利用しており、その結果、複雑な種間相互作用が成立している。

本実習では、厚岸湾のアマモ場において、動植物を採集する。その種多様性を調べると共に、動物の胃内容物の解析を通じて、食物網を明らかにし、アマモ場の生物群集のなりたちを理解する。

【準備するもの】

野外：スコップ、大型の篩、ポリ袋、持ち運び用バケツ、ポリ袋、記録用紙（耐水性のものがよい）、そりネット、氷を入れたバケツ、篩（1 mm メッシュ）、GPS、メモリー式多項目水質計
実験室：トレイ、小型の篩、ピンセット、シャーレ、解剖用具

【野外調査】

1. 実習船「うみあいさ」に乗船して、厚岸湾東部（アイニンカップ）と厚岸湖南部（チカラコタン）のアマモ場に行く。現地では、そりネットでアマモ場の動物を採集すると共に、岸に降りて、浅い部分の海草類および内在性ベントスを採集する。
2. 実験室に戻った後、生物をより分け、図鑑などを用いて同定する。分類群（種）への同定は、外部形態でわかるところまで行う。
3. 代表的な動物（魚類、エビ類、アミ類、二枚貝類等）について、解剖して胃内容物を調べてみる。それを元に、アマモ場における食物網を図に表してみる。
4. 以上の結果をもとに、アマモ場の生物多様性および食物網構造がどのような要因に影響されて決まっているかについて考察する。

3日目（8月23日）

【海洋環境と植物プランクトン】

1. 海洋環境の測定と海水の採水、プランクトン採集（船上での作業）

海洋の物理的環境要因としては、温度、塩分、密度、圧力、日射などがあり、それぞれ海洋に生息している生物に影響を及ぼしている。特に、海洋生態系における物質循環（食物連鎖）の基盤を担っている植物プランクトンにとって、光は光合成を行うために必要不可欠である。水中において光は、水分子や懸濁物質によって吸収され、指数関数的に減衰していく。そのため、植物プランクトンが生息できる水深は光合成を十分に行う事ができる光が到達する深度に限られる。また、水温は海洋生物の分布に影響を与える大きな要因のひとつでもある。

上記の光環境で効率良く光合成を行うために、植物プランクトンは海水中の光を吸収するための様々な色素を有している。また、植物プランクトン種の違いによって有する色素は異なる。植物色素は、クロロフィル、カロテノイド、フィコビリンの3つに大別されるが、全ての植物プランクトン（例外1種あり）は「クロロフィル a」という色素必ず持っている。そのため、この色素は植物プランクトンの現存量を表す指標として、世界中で測定されている。

今回の実習では、実習観測船「みさご丸」に乗船し、厚岸湾の海洋環境の調査と、そこに生息している植物プランクトンを採取する。班毎に異なる地点でいくつかの項目についての測定を行い、後ほど班毎のデータを比較する。また、表層、低層それぞれにおけるクロロフィル a 濃度も測定する。

準備するもの

観測野帳とクリップボード、鉛筆、透明度板、空中・水中光量子計、CTD センサー、ひもつきバケツ、温度計、褐色採水ボトル(1 L;クロロフィル測定用)、採水ボトル(100 mL;プランクトン用)、クーラーボックス、プランクトンネット(口径 20 μm)、ニスキン採水器、採水器用メッセンジャー

船上での作業手順

1.1 調査地点で船が停止したら、以下の項目を観測野帳に記録する。

- ◎日時および到着時間
- ◎観測点の名前(班の番号)
- ◎緯度と経度(船に搭載の GPS で確認)
- ◎水深(船に搭載の魚群探知機で確認)

1.2 透明度の測定

透明度板(直径 30 cm の白色の平らな円盤、Secchi disk とも言う)を用いて海水中の透明度を測定する。透明度板の上部に予め長さをはかっているロープを、また下部に錘をつけ、船上からゆっくり下ろし、透明度版が見えなくなった深度を透明度として決定する。観測時に船陰にならない様に注意する。

1.3 有光層深度の測定

水中光量子センサーを透明度板と同じ要領でゆっくり海水中に投下し、植物プランクトンの光合成に必要な海水中の光照度(光合成有効放射、PAR)を測定する。空中器センサーの値を 100%とした時、その値が水中器センサーで見たとき 1%となる深度まで降下し、その深度を

有光層深度として決定する。

1.4 水温・塩分の鉛直分布の測定

CTD センサーを用い海表面から海底直上までの水温・塩分の鉛直分布を測定する。センサーは PC と通信しながら観測するため、PC オペレータとセンサーを繰り出す人に手分けして行う。PC オペレータが現在の深度伝えるなど、お互いに声を掛け合いながら観測を行う。

1.5 表層水の水温の測定と採水

ひも付きバケツを船から放り投げ、海表面水を採取し、海表面水温とクロロフィル *a* 濃度測定のための採水を行う(このとき、バケツを共洗いするため 2 回くみ上げては捨てる)。バケツに汲み取った海水に温度計を入れ、値が十分に安定してから目盛を読み取る。その際、目線は温度計と直角になるようにして正確に読み取る。水温の測定終了後、もう一度バケツで海水を採取し、クロロフィル *a* 濃度測定用の採水ボトルに海水を移す(この時も採水ボトルは 2 回共洗い)。採水後はボトルをクーラーボックスに保存する。

1.6 底層の採水

1.3 で測定した有光層深度付近まで、ニスキン採水器を沈める。目的の水深に達したらロープをその深度で固定し、メッセンジャー(おもり)をロープに沿わせて投げ込んで採水器のふたを閉じる。採水器を引き上げ、海水をクロロフィル *a* 濃度測定用の採水ボトルに 2 回共洗いの後、満水になるまで移す。採水後のボトルはクーラーボックスに保存する。

1.7 プランクトンの採集

植物プランクトン用のプランクトンネット(口径 20 μm)を用いてプランクトン採集をおこなう。船上からプランクトンネットを投下し、2~3 m くらい水平に引いた後、ネットを引き上げる。ネットに溜まったプランクトンをプランクトン用ボトルに移し、ボトルをクーラーボックスに保存する。



観測実習船「みさご丸」



透明度の測定

2. 植物プランクトンの現存量～クロロフィル a 濃度の測定

植物プランクトンのクロロフィル a 濃度を測定して、植物プランクトンの現存量を調査する。今回は、蛍光光度計 (Turner designs, Turner 10-AU) を用いたクロロフィル a 濃度定量法 (Welschmeyer, 1994) により測定を行う。植物プランクトンの色素抽出には有機溶媒であるジメチルホルムアミド (2-4-4 dimethylholmamid (DMF)) を用いる (Suzuki and Ishimaru, 1990) (注: ジメチルホルムアミドは、有害なので皮膚等につけないように十分注意する)。

用意するもの

船で採取した海水 (表層水と底層水)、メスシリンダー、ろ過機、吸引ポンプ、真空ゲージ、ガラス繊維フィルター (GF/F、口径 ca. 0.7 μm , 直径 25 mm)、定性濾紙、ピンセット、ガラスチューブ (10 ml)、ラベル用シール、鉛筆、DMF、Turner 蛍光光度計、実験用手袋

ろ過の手順

- 2.1 蛍光光度計の電源を入れ、ランプを安定化させる (最低、試料測定1時間前に電源を入れる)。
- 2.2 ガラス繊維フィルターをろ過器にセットする。
- 2.3 採水したボトルをゆっくりやさしく攪拌した後、メスシリンダーに100 mlの海水を汲み取る。
- 2.4 メスシリンダーに移した海水を、ろ過器に注ぎ、0.013 MPa以下の圧力で吸引しながらろ過を行う (これ以上強く吸引すると、植物プランクトンがフィルターを通り抜けてしまう可能性がある)。メスシリンダーの内側をろ過海水で注ぎ、その海水もろ過器にまた注ぐ。
- 2.5 海水が引き終わったら、ろ過機の側面にもろ過海水を注ぐ。
- 2.6 ろ過されたフィルターをピンセットで半分に折りたたみ、濾紙に軽く挟み水分を取り除く。そのフィルターをガラスチューブに入れ、6 mlのDMFを加え、暗所に冷蔵庫で1時間以上保存する。
- 2.7 一時間後、ガラスチューブ内のフィルターをピンセットにて取り除いた後、ガラスチューブを蛍光光度計に入れ、その時の蛍光値を読み取る(F_0)。
- 2.8 ブランクとして、DMFのみをガラスチューブに入れ、その値を測定する (0点)。

計算方法

$$\text{Chlorophyll } a \text{ (mg/m}^3\text{)} = (F_0 - 0\text{点}) * v / V * 0.2461$$

v: クロロフィルa抽出に用いた有機溶媒量(ml)

V: 濾過した水の量(ml)

0.2461: 校正值。既知のクロロフィルa濃度とその時の蛍光値との間の傾き (いくつかの希釈系列を作って求める)。

サンプルNo.	観測点	深度(m)	ろ過量(ml)	DMF(ml)	蛍光値	Chl a濃度(mg/m ³)

3. 植物プランクトン観察と同定

プランクトンネットにて採取したサンプルを実験室に持ち帰り、自分たちの班で持ち帰ったサンプルを中心にどのような植物プランクトンが出現するかを顕微鏡にて観察する。そのサンプルに含まれる植物プランクトンを出来るだけ多く同定する。プランクトン図鑑を用いて、種名までわかるものは種名まで、属名までわかるものは属名まで、それより上位の分類群までしか同定できないものはそこまでを同定し、その結果を採集地点毎に黒板に記入する。

4. 結果のまとめ

調査地点の違いによる環境要因および植物プランクトンの現存量を比較できるように、自分たちのデータを黒板に記入せよ。

- 1) 位置 (GPS 情報)
- 2) 透明度 (m)
- 3) 有光層深度 (m)
- 4) 各深度毎の水温、塩分、クロロフィル濃度

深度毎の環境および植物プランクトンの現存量およびプランクトンの組成などについて、他の班の調査地点とのデータを比較して厚岸湾・厚岸湖の環境・生物相についてわかることを各自まとめよ。

* 自分たちのデータとCTDのデータとも比較してみよう。

実習2014 海洋観測

観測点	1	2	3	4
緯度・経度				
到着時間				

水深 (m)				
透明度 (m)				
有光層深度 (m)				
海表面水温 (°C)				
海表面塩分				

表層

Chl <i>a</i> (mg m ⁻³)				
------------------------------------	--	--	--	--

低層

Chl <i>a</i> (mg m ⁻³)				
------------------------------------	--	--	--	--

植 ¹ 種 (属) 1				
" 2				
" 3				
" 4				
" 5				
" 6				
" 7				
" 8				
" 9				
" 10				
" 11				
" 12				
" 13				
" 14				
" 15				
" 16				
" 17				
" 18				
" 19				
" 20				