

27

助成番号 0127

海氷中の高塩分ブラインに生息するアイス・アルジー群集の生理活性

助成研究者：田口 哲 (創価大学・工学部・生物工学科)
共同研究者：柴田 晃 (創価大学・工学部・生物工学科)
今井 亜紀 (創価大学・工学部・生物工学科)
高砂 知史 (創価大学・工学部・生物工学科)

高緯度海域の海水は冬季に結氷する。日本ではオホーツク海に面した北海道沿岸に毎年、流氷が着岸したり、沿岸域にあるサロマ湖は冬季に全面結氷が見られる。海水は結氷するが、海氷中に含まれる塩分は結氷せず、海氷中のブラインと呼ばれる細長いチャンネル内に閉じ込められる。このブラインは高塩分・高栄養塩環境である。

海氷が形成される時に海氷中の植物プランクトンは海氷中に取り込まれる。海氷が発達するにつれて、海氷中に取り込まれた植物プランクトンは、除々にブライン中に移動する。ブライン中に集まった植物プランクトン細胞は通常の海水の2倍の塩分と温度が -2°C 近くの低温と、海氷面上の数%しかない太陽照度という極限環境にもかかわらず、豊富な栄養塩を利用して、アイス・アルジー群集として新しい生物群集を形成する。

海氷がよく発達した冬季のアイス・アルジー群集の研究は現在まで高緯度海域で多く行われてきた。しかし、海氷形成初期のアイス・アルジー群集の研究は、研究上の困難さのため、ほとんど行われず、知見も大変限られている。そのため当研究では、プランクトン群集の海氷への物理的な取り込みと、ひとたび取り込まれた細胞が物理的環境の変化に順応するのかを明らかにすることを目的とした。

海氷が充分に発達しているサロマ湖において $1.5\text{m}\times 2.0\text{m}$ の開水面を作り、表層水を培養槽に入れて、現場実験を行った。培養槽中に新しく海氷を形成させ、8日間、試料を採集した。日射量、積雪、水温、塩分、栄養塩濃度、クロロフィルa濃度、光合成活性、バクテリア、ウィルスと微少鞭毛虫類の現存量を測定した。植物プランクトン、バクテリア、ウィルス、微少鞭毛虫類全て新生海氷中に取り込まれることが観測された。

海氷形成初期には、取り込まれた植物プランクトン細胞は光合成活性は無かった。しかし、その後光合成活性を示し、海氷中で、クロロフィルa濃度が増加した。その増加と同時期に、バクテリア、ウィルス、微少鞭毛虫類も増加したその増加速度は、それぞれ分類群で異なるが、それぞれの分類群ごとの現存量は、当初の差よりも少なくなる。

高緯度海域の海氷中の微小生物による炭素循環を研究することは、海氷中の溶存有機物質によって起動している食物網の生物地球化学的意義を明らかにして行く上で貢献していこう。

海水中の高塩分ブラインに生息するアイス・アルジー群集の生理活性

助成研究者：田口 哲（創価大学・工学部・生物工学科）

共同研究者：柴田 晃（創価大学・工学部・生物工学科）

今井 亜紀（創価大学・工学部・生物工学科）

高砂 知史（創価大学・工学部・生物工学科）

① 研究目的

高緯度海域の海水は冬季に結氷する。日本ではオホーツク海に面した北海道沿岸に毎年、流氷が着岸したり(Enomoto 1996)、沿岸域にあるサロマ湖や能取湖は、冬季に湖の全面結氷が見られる。特にサロマ湖では、近年全面結氷期の期間が短くなったり、不規則になったりしている (Taguchi and Takahashi 1993)。

海水は結氷するが、海水中に含まれる塩分は結氷せず、海水中のブラインと呼ばれる細長いチャンネル内に閉じ込められる (Squire 1990)。このブラインは高塩分濃度環境である (Cox and Weeks 1983)。また溶存の栄養塩類も濃縮されている (Smith et al. 1990)。

海水が形成される時に海水中の植物プランクトンは海水中に取り込まれる (Garrison et al. 1983, 1989, Gradinger and Ikavalko 1998)。海水が発達するにつれて海水中に取り込まれた植物プランクトンは、除々にブライン中に移動する。ブライン中に集った植物プランクトン細胞は通常の海水の2倍の塩分と温度が -2°C 近くの低温と、海水面上の数%しかない太陽照度という極限環境にもかかわらず、豊富な栄養塩を利用して、アイス・アルジー群集として新しい生態群集を形成する。

冬季に結氷する高緯度海域では、海水中に生息している植物プランクトンの現存量も低く、それによる基礎生産量はほとんどない。そのため、アイス・アルジー群集が基礎生産者として重要な役割を果たしている。アイス・アルジー群集の光合成色素であるクロロフィル a 濃度は $300 \text{ m}\cdot\text{gm}^{-3}$ 以上にも達する (Robineau et al. 1997)。アイス・アルジー群集は海水の中に閉じ込められているだけではなく、ブライン中の高塩分水はまわりの海水よりも比重が大きいいため、ブライン底部が温度の変化や海水の動き等によって破壊されると、海水中に自らの重さによって放出される。このときに、ブライン中に生息していたアイス・アルジーも一緒に海水中に放出される。そのため、放出されたアイス・アルジー群集は海水中に生息している水産養殖生物の重要な餌の供給源となるだけでなく、冬季の生態系の中で欠くことのできない基礎生産者である。

海水がよく発達した冬季のアイス・アルジー群集の研究は現在まで高緯度海域で多く行われてきた (Homer 1985, Garrison 1991)。しかし、海水形成初期のアイス・アルジー群集の研究は、研究上の困難さのため、ほとんど行われず、知見も大変限られている。そのため、海水初期形成期に海水中の植物プランクトンが遭遇する物理的環境

の変化が、その後のアイス・アルジー群集への発展にどのような影響を与えるのかは明らかにされていない。当研究では、植物プランクトン群集の海水への物理的な取り込み速度と、ひとたび取り込まれた植物プランクトン細胞が、物理的環境の変化に順応する期間と順応後の光合成速度を明らかにすることを目的とした。

当研究助成金は、平成13年4月1日から平成14年3月31日までの1年間であり、今年度の北海道サロマ湖の調査は、海水が充分にはり、安全に実験ができる2月26日から3月9日まで行った。助成研究終了報告書を作成するためには、現在全ての試料は分析途中であり、間に合わない。そのため、平成13年2月に行った実験の結果を報告する。

② 研究方法

現場実験:海水が十分に発達している平成13年2月21日に1.5 m x 2.0 mの開水面を栄浦沖のサロマ湖定点に作った。(図1)。開水面の表層水をバケツで採水した。30 cm x 40 cm x 30 cmのは小型の培養槽に4リットルの表層水を入れた。太陽光を通す培養槽5個と太陽光を通さない培養槽5個を用意して開水面に浮かべた。植物プランクトン群集による光合成活性を測定するために、安定同位体 $\text{Na}_2\text{H}^{13}\text{CO}_3$ を各培養槽に加え、2月21日より開水面に浮かべ、現場培養実験を行った。培養実験は3月1日まで8日間行った。培養実験期間中は、空中太陽日射量と培養槽内水温の連続測定を行った。実験開始時に開水面の近くの海水をC R R E L コア採集器で50 cm層の海水を採集した(Rand and Mellor 1985)。猛吹雪のため、1日目は、現場に出ることが出来ず、試料の採集は出来なかった。培養槽の上に積もった積雪量と、新しく形成された氷の厚さを測定した。2日目から、採集を行い、3、4、6、そして8日目の計5回行った。結氷した海水と、その海水下の海水を採集した。海水は、浸透圧の急激な変化による細胞への影響を最小限にとどめるため、濾過海水で、室温で溶かした。(Sime-Ugando et al. 1997)。

硝酸塩、亜硝酸塩、リン酸塩及び珪酸塩濃度の測定用の試料は、ミリポアメンブラン・フィルターMILLES-HVで濾過した濾液を供した。クロロフィル a 色素量の測定用の試料は、ワットマン・グラス・ファイバー・フィルターGF/F上に濾過した。細胞の大きさの分画は孔径 $2\ \mu\text{m}$ のミリポアのポリカーボネイト・フィルターで行った。孔径 $2\ \mu\text{m}$ のフィルターを通過した濾液は、ワットマン・グラス・ファイバー・フィルターGF/F上に濾過した。懸濁有機炭素と窒素濃度及び安定同位体 ^{13}C の取り込み速度の測定用の試料は $450\ ^\circ\text{C}$ で2時間焼いたワットマン・グラス・ファイバーフィルターGF/F上に濾過した。塩分濃度は塩分屈折計で測定した。濾過海水中で溶かした海水の塩分は、濾過海水の塩分を用いて補正した。溶存栄養塩類の測定は自動栄養塩測定装置を使ってParsons et al. (1984)の方法で行った。クロロフィル a 色素はN, N-dimethylfolmamideを用いて、暗所 $4\ ^\circ\text{C}$ で24時間抽出を行った。(Suzuki and Ishimaru 1990)。クロロフィル a 濃度の測定は、蛍光光度計を用いてHolm - Hansen et al. (1965)の方法で行った。懸濁有機炭素と窒素濃度の測定は、元素分析計を用いてNagao et al.

(2001)の方法で行った。安定同位体¹³Cの取り込み速度の測定は、質量計を用いてHama et al. (1983)の方法で行った。

③ 研究結果

太陽日射量は、日周変動を示し、現場実験期間中は、最大値は $0.60 \text{ kW} \cdot \text{m}^{-2}$ を超える値を示した(図 2)。培養槽中の海水温も太陽日射量の日周変化に合わせて、日変化を示し、 -1.8 と -1.1 °Cの間を変動した(図 2)。培養槽上の積雪量ははじめの2日間で $23.3 \pm 2.5 \text{ cm}$ あったが、3日と4日目は、 $3 \text{ cm} \cdot \text{d}^{-1}$ 以下となり、6日と8日目には $7 \sim 8 \text{ cm} \cdot \text{d}^{-1}$ の積雪量があった(図 2)。培養槽中に新しく形成された海水の厚さは、2日目で 0.5 cm あったが、6日目以降は 3.0 cm であった(図 2)。

培養槽に入れた海水の塩分は 34.0 PSU であった。培養槽中に新しく形成された海水の塩分は、3日目に 28.3 PSU であり、培養期間中には、 20 PSU 以下に減少した(図 2)。しかし、その新生海水下の海水の塩分は、開始時の 34.0 PSU から、海水の形成とともに徐々に増加し、8日目には 46 PSU まで 12 PSU の増加を示した。しかし、アイス・アルジーが良く発達した36日目の海水では、 29.3 PSU であった。

新生海水中の硝酸塩、リン酸塩、及び珪酸塩濃度は同じような変化を示し、4日目か6日目に最大値を示した(図 2)。新生海水下の海水中的、それらの栄養塩濃度は、3日目か4日目まで増加したが、その後は、あまり変化を示さなかった(図 2)。新生海水中に蓄積した栄養塩濃度の最大値を海水中的の栄養塩濃度と比較すると、硝酸塩で 23% 、リン酸塩で 17% とやや低く、珪酸塩で 60% とやや高い値を示した。新生海水と比較すると、36日目の海水底部では、栄養塩濃度は $1/10$ 以下と低く、硝酸塩で $0.38 \mu\text{M}$ 、リン酸塩で $0.023 \mu\text{M}$ 、そして珪酸塩で $0.25 \mu\text{M}$ であった。

新生海水下の海水中の植物プランクトンの現存量を示すクロロフィル *a* 濃度は培養実験期間中、約2倍の増加を示した(図 3)。新生海水中に蓄積したクロロフィル *a* 濃度は海水中的のクロロフィル *a* 濃度の 28 から 43% であった。また海水中的のクロロフィル *a* 濃度の 67% 以上は $2 \mu\text{m}$ 以上の分画の大型の植物プランクトンであったのにもかかわらず、新生海水中に取り込まれた植物プランクトンは $2 \mu\text{m}$ 以下の分画の小型の植物プランクトンが 48% 以上占めていた(図 3)。

新生海水下の海水中的の懸濁有機炭素と窒素の濃度は、 215 から $282 \text{ mgC} \cdot \text{m}^{-3}$ と 30 から $42 \text{ mgN} \cdot \text{m}^{-3}$ とあまり変化を示さなかった。新生海水中には、懸濁有機炭素は $267 \text{ mgC} \cdot \text{m}^{-3}$ であり懸濁有機窒素は $39 \text{ mgN} \cdot \text{m}^{-3}$ であった。しかし、これらの値は、36日目のアイス・アルジーが十分に成長している海水と比較するとわずか 7% の値しかあたらない。

懸濁有機物の C/N 比は、新生海水下の海水では、 8.5 から 6.7 まで、現場培養実験期間中に減少した(図 4)。しかし、新生海水では、 7.1 ± 0.3 であり、あまり変化を示さなかった。懸濁有機物の C/Chl *a* 比は、新生海水下の海水では、現場培養実験期間前半の3日目までは、 160 以上であったが、その後 100 以下に減少した。しかし、新生海水では、前半で 750 以上の高い値を示したが、その後 430 と減少した。

新生海水下の海水中の植物プランクトンによる安定同位体 ^{13}C の取り込み速度は、ほとんど検出されなかった。新生海水中に取り込まれた植物プランクトンによる ^{13}C の取り込み速度は、現場培養実験期間の前半の5日目までは検出できなかったが、6日目以降に検出でき、 $0.4 \text{ mgC} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ の値を示した。

新生海水下の海水中のバクテリア、ウイルス、そして微小鞭毛虫類の細胞密度は現場培養実験期間中、あまり変化を示さなかった。それぞれの平均細胞密度はバクテリアで $6.9 \pm 2.0 \times 10^5$ であり、ウイルスで $1.7 \pm 0.5 \times 10^7$ であり、微小鞭毛虫類で $82 \pm 9.8 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ であった。2日目の新生海水ではバクテリアで $1.7 \pm 0.95 \times 10^2$ であり、ウイルスで $4.6 \pm 3.6 \times 10^2$ であり、微小鞭毛虫類で $1.0 \times 10^{-3} \text{ cells} \cdot \text{m}^{-1}$ 以下であった(図5)。それ以後、バクテリアは 10^2 倍、ウイルスは 10^4 倍、そして微小鞭毛虫類は 10^3 倍の増加を示した。それぞれの最大細胞密度は、バクテリアで $1.1 \pm 0.27 \times 10^5$ であり、ウイルスで、 $1.3 \pm 0.33 \times 10^6$ であり、微小鞭毛虫類では 14 cells/m^{-1} と飽和状態を示した。前者2つのバクテリアとウイルスは、アイス・アルジー群集がよく発達している36日目の海水底部のそれらの細胞密度の10倍も高かった。しかし、微小鞭毛虫類は、ほとんど同じ細胞密度であった。新生海水中へのこれらの生物群の蓄積割合は、バクテリアで15%であり、ウイルスで7.6%であり、微小鞭毛虫類で17%であった。アイス・アルジー群集がよく発達した36日目の海水では、底部に最大細胞密度が見られ、バクテリアでは $8.2 \pm 7.2 \times 10^4$ であり、ウイルスでは $4.0 \pm 3.1 \times 10^4$ であり、微小鞭毛虫類では $21 \pm 4.5 \text{ cells} \cdot \text{m}^{-1}$ であった。

④ 考察

現場培養実験の問題点

外洋と比較して深度の浅い沿岸域では、水柱全体で海水結晶の形成は起こる(Week and Ackley 1982)。水柱で形成される海水結晶の量は、水柱の長さに依存している。しかし、本実験は、表面海水だけを用いて、しかも深さ5cm以下という、浅い水深を培養水槽内に作り出して実験を行った。このことは以下の2点について十分に考慮しなくてはならない。始めに、表面海水だけを用いて、培養実験を行ったため、表面海水中に存在していた微小生物と懸濁物質だけが海水中に取り込まれる。現場の海域では、水柱全体に生息している微小生物と懸濁している粒子が海水中に取り込まれるので、冬季海水形成時に起こっているであろう現象を正確には再現していない。そのため、36日目の海水中によく発達しているアイス・アルジー群集と本実験の結果とを比較する時には、注意する必要がある。第2には、培養水槽を用いたので、下層からの海水結晶の加入が制限されて無いことである。すなわち、培養水槽内の水深より深い水槽から形成された海水結晶は、現在の実験では全く考慮に入れていないことである。

さらに、培養水槽を用いたことによって、新しく形成される海水結晶に取り込まれる微小生物や懸濁粒子が、新生海水下の海水中から、使いつくされて、正確な取り込み速度を測定できない可能性がある。しかし、培養実験期間中は、新生海水下の海水

中ではバクテリアもウイルスも微小鞭毛虫類もあまり変化していなかった。また、植物プランクトンの現存量を示すクロロフィル a 濃度も減少せず、逆に増加していたので、海水中からのそれらの微生物の供給量には制限があったわけではなかった。

培養水槽には、太陽光を透過するプラスチックの蓋をして、現場実験を行った。そのため、降雪は、自然界で起っているように、新生海水の形成には全て貢献していない。蓋の上には、1日あたり10 cm 以上も観測された。これらの積雪が新生海水にどのような影響を与えるのかは明らかではないが、海水形成に雪の加入は、微生物や懸濁粒子の取り込み速度を見かけ上、減少させることになる。本実験では、この影響が考慮されていない。

最後に、ブライン中にアイス・アルジーが高密度に存在していたことが、バクテリアやウイルスの計数に以下の2点の影響があったので、過少評価している可能性がある。はじめに、バクテリアやウイルスの大きさに比較して、アイス・アルジーの細胞や群体の大きさは10倍以上も大きいので、細胞の下に重なってしまい、正確に計数できなかった可能性がある。アイス・アルジーは、細胞外溶存有機物質を形成するので、バクテリアやウイルスはアイス・アルジー細胞の外側に付着している。この付着状態から、海水試料中に自由に懸濁させて計数する必要がある。次に、アイス・アルジーは細胞内に大型の葉緑体を持っているので、この葉緑体から発する蛍光は、バクテリアやウイルスが発する蛍光よりも強力であるので、その影響を受ける可能性がある。アイス・アルジー細胞に付着していたり、隣接していた場合には、バクテリアやウイルスの計数を正確に出来ないことがある。そのため、上記の海水試料中に自由に懸濁させた試料を、バクテリアやウイルスを通過させる濾紙を用いて、アイス・アルジー細胞を取り除いた試料で計数することが必要である。以上のことから、今回のバクテリアやウイルスの現存量は、過少評価されているが、その程度は、今回の実験では明らかでない。この問題は今後改善していかなければならない。

微生物相互作用の生態学的意義

新生海水の形成速度は、初日で約 $0.25 \text{ cm} \cdot \text{d}^{-1}$ であった。同じ海域で Niimura et al. (2000) によって測定された $1.2 - 3.6 \text{ cm} \cdot \text{d}^{-1}$ よりも遅い速度であった。この形成速度は大気と海水の温度によって支配されている (Anderson 1961)。海水は形成されるにつれて塩分が低下していく。しかし、その変化巾が2倍以下であれば、ブラインの中に生息しているアイス・アルジーには、あまり影響がないことが知られている (Arrigo and Surrivan 1992)。また、バクテリアや微小鞭毛類にも影響がないことが知られている (Sime-Ugando et al. 1997)。初期新生海水中には、珪酸塩の蓄積が顕著である。しかし、海水形成初期に、珪藻が取り込まれない場合には、すぐには消費されず、しばらくしてから、珪藻に利用されて、珪藻が優占するアイス・アルジー群集へと変遷する。

新生海水へ取り込まれる速度は微生物や懸濁物質によって異なるが、それら全ては新生海水に取り込まれる。懸濁有機物質もよく取り込まれ、その C/N 比はアイス・アルジー群集の C/N 比とよく似ているが、取り込まれた植物プランクトン以外の非生

物起源であるため、C/Chl *a* 比は、海水形成初期では 700 以上と高いがその後、クロロフィル *a* 濃度の増加により C/Chl *a* 比は 300 以下へと減少する。この海水形成初期には、取り込まれた植物プランクトンは、海表面に蓄積した海水結晶中にとじ込められたために、強度阻害の影響を受けたり、新生海水中での浸透圧の急激な変化の影響を受けて、代謝活性は極端に低下させているものと考えられる。本実験でも、海水形成初期には安定同位体 ^{13}C の光合成による取り込みが全く検出されなかったのは、そのためと考えられる。その後、この安定同位体 ^{13}C が光合成によって取り込まれるようになると、新生海水中のクロロフィル *a* 濃度も、海水形成の物理的な取り込み速度で説明される濃度以上に増加する。また同時に、バクテリアやウイルス、そして微小鞭毛虫類も増加して極大値に達する。しかし、その増加速度は、それぞれの分類群で異なるが、それぞれの分類群ごとの細胞密度は、当初の差よりも少なくなる。このことは、微小生物群が相互関係を持ち、ある一定の値へと安定していくものと考えられる。同じような分類群間の細胞密度の差の減少はカナダ北極で、バクテリアとウイルスで Maranger et al. (1994)によって、バクテリアと微小鞭毛虫類で Laurion et al. (1995)によって報告されている。

本実験でもアイス・アルジー群集がよく発達している 36 日目のアイス・コア中の各分類群の細胞密度との相互関係は、各分類群が生息してきた海水から新生海水と生息場所が異なるにもかかわらず、ある一定の関係にあった(図 6)。微小生物間の相互関係は本実験では明らかにすることはしていないが、ウイルスが、バクテリアの細胞溶解することにより、バクテリアの細胞密度を支配している(Bratbak et al. 1990)。微小鞭毛虫類は、バクテリアを餌として利用しているので、(Laurion et al. 1995)、その現存量はバクテリアの細胞密度に依存している。しかし、本実験の結果は、ウイルスによって細胞溶解を受けた後に残っているバクテリアを計数しているのでウイルスによるバクテリアの細胞溶解が無い状態の関係の時とは、回帰直線の傾きはゆるやかな状態で安定していると考えられる。ウイルスと微小鞭毛虫類との間には、有意義な一次関係があるものの、その傾きは極端に小さいのでウイルス自体が微小鞭毛虫類の餌となり得るかは今後の研究課題である。

⑤ 今後の課題

高緯度海域における炭素循環の生物地球化学的研究は全球的な気候変動と関連して、近年、多くの注目をあびてきている。この高緯度海域で、優先して起こる現象に、季節海水の存在がある。この季節海水には、バクテリアやウイルスや微小鞭毛虫類を含む、アイス・アルジー群集があり、活発な代謝活性を持ち、それらが生息している環境は、大きく変動し、その変動も急激でありながら海水中とは、比較にならない程の高い生物現存量を形成する。これらの微小生物による炭素循環を研究することは、海水中の溶存有機物質によって起動している食物網の生物地球化学的意義を明らかにして行く上で明らかに貢献していくであろう。

⑥文献

- Anderson, D.L. 1961. Growth rate of sea ice. *Journal of Glaciology* 3: 1170-1172.
- Arrigo, K.R. and C. W. Sullivan 1992. The influence of salinity and temperature covariation on photo physiological characteristics of Antarctic sea ice microalgae. *Journal of Phycology* 28: 746-756.
- Bratbak, G., M. Heldal, S. Norland and T. F. Thingstad 1990. Viruses as partners in spring bloom trophodynamics. *Applied Environmental Microbiology* 50: 1400-1405.
- Cox, G. F. N. and W. F. Weeks 1983. Equations for determining the gas and brine volumes in sea-ice samples. *Journal of Glaciology* 29: 306-316.
- Enomoto, H. 1996. Observation of thin ice area in the Okhotsuk Sea and impact for climatological study. *Journal of Remote Sensing Society of Japan* 16: 14-25.
- Garrison, D. L. 1991. Antarctic sea ice biota. *American Zoologist* 31: 17-33.
- Garrison, D. L., S. F. Ackley, and K. R. Buck 1983. A physical mechanism for establishing algal population in frazil ice. *Nature* 306: 363-365
- Garrison, D. L., A. L. Close, and E. Reimnitz 1989. Algae concentrated by frazil ice: evidence from laboratory experiments and field measurements. *Antarctic Science*. 1: 313-316.
- Gradinger, R. and J. Ikavalko 1998. Organism incorporation into newly forming Arctic sea ice in the Greenland Sea. *Journal of Plankton Research* 20: 871-886.
- Hama, T., T. Miyazaki, Y. Ogawa, T. Iwakuma, M. Takahashi, A. Otsuki, and S. Ishimura 1983. Measurement of photosynthetic production of a marine phytoplankton population using a stable ^{13}C isotope. *Marine Biology* 73: 31-36.
- Holm-Hansen, O., C. Lorenzen, R. W. Holmes, and J.D.H. Strickland 1965. Fluorometric determination of chlorophyll. *Journal on Counseil* 30: 3-15.
- Horner, R. 1985. Ecology of sea ice microalgae, pp. 147-157. In, R. Horner (ed.), *Sea Ice Biota*, CRC Press, Boca Raton.
- Laurion, I., S. Demer, and A. F. Vezina 1995. The microbial food web associated with the ice

algae assemblage: biomass and bacterioplankton of nanoflagellate protozoans in Resolute Passage (High Canadian Arctic). *Marine Ecology Progress Series* 120: 77-87.

Maranger, R., D. F. Bird, and S. K. Juniper 1994. Vernal and bacterial dynamics in Arctic sea ice during the spring algal bloom near Resolute, N. W. T., Canada. *Marine Ecology Progress Series* 111: 121-127.

Nagao, N., T. Toda, K. Takahashi, K. Hamasaki, T. Kikuchi and S. Taguchi 2001. High ash content in net-plankton samples from shallow coastal water: Possible source of error in dry weight measurement. *Journal of Oceanography* 57: 247-258.

Parsons, T.R., Y. Maita, and C. M. Lalli 1984. A manual of chemical and biological methods for seawater analysis. Pergamon Press, New York, 000p.

Rand, J. and M. Mellor 1985. Ice-core augers for shallow depth sampling. CRREL Report 85: 1-22.

Robineau, B., L. Legendre, M. Kishino, and S. Kudoh 1997. Horizontal heterogeneity of microalgal biomass in the first year sea ice of Saroma-ko Lagoon (Hokkaido, Japan). *Journal of Marine System* 11: 81-91.

Sime-Ugando, T., K.S. Juniper, and S. Demers 1997. Ice-brine and planktonic microheterotrophs from Saroma-ko lagoon, Hokkaido (Japan): Quantitative importance and trophodynamics. *Journal of Marine System* 11: 149-161.

Smith, R. E. H., W. G. Harrison, L. R. Harris and A. Herman 1990. Vertical fine structure of particulate matter and nutrients in sea ice of the High Arctic. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* 47: 1348-1355.

Squire, V. A. 1990. Sea ice: its formation, distribution and properties, pp.3-8. In, L. K. Medling and J. Priddle (eds), *Polar Marine Diatoms*, Cambridge, British Antarctic Survey.

Suzuki, R. and T. Ishimaru 1990. An improved method for the determination of phytoplankton chlorophyll using N, N-dimethylformamide. *Journal of Oceanographic Society of Japan* 46: 190-194.

Taguchi, S. and M. Takahashi 1993. Ecosystem of Lake Saroma under sea ice covered

condition in winter: Summary of the Plankton Colloquim. Bulletin of Plankton Society of Japan 39: 151-175.

Week, W. F. and S. F. Ackley 1982. The growth, structure, and properties of sea ice. CRREL monograph 82: 1-130.

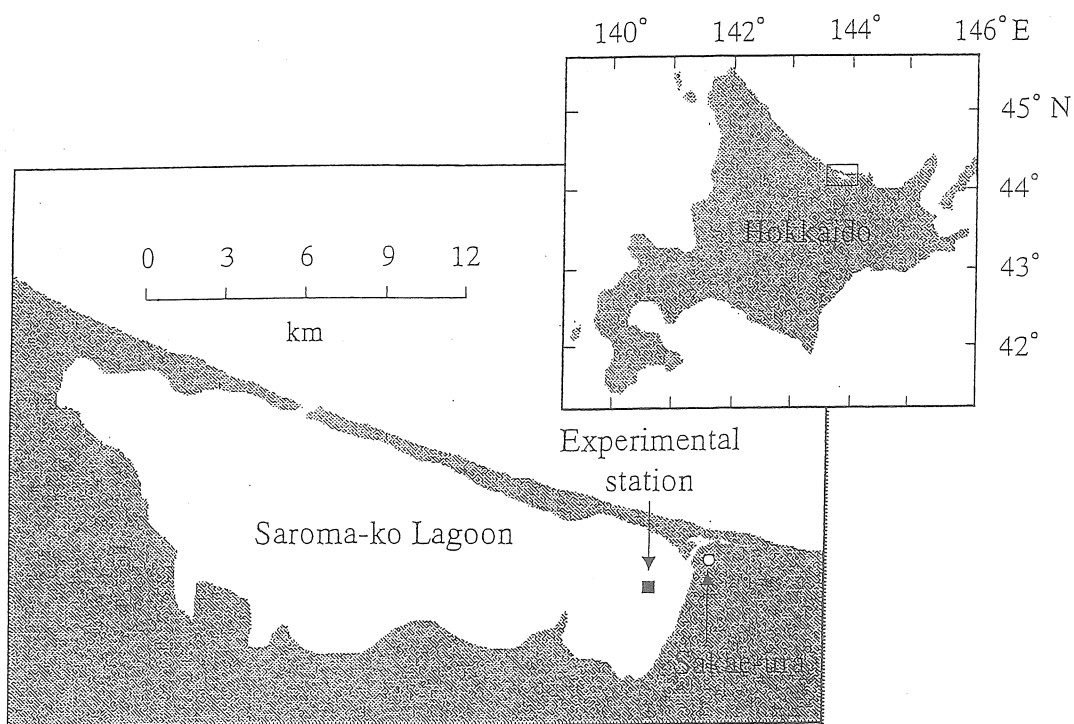


Figure1. Map of Saroma-ko Lagoon, Hokkaido and the experimental station.

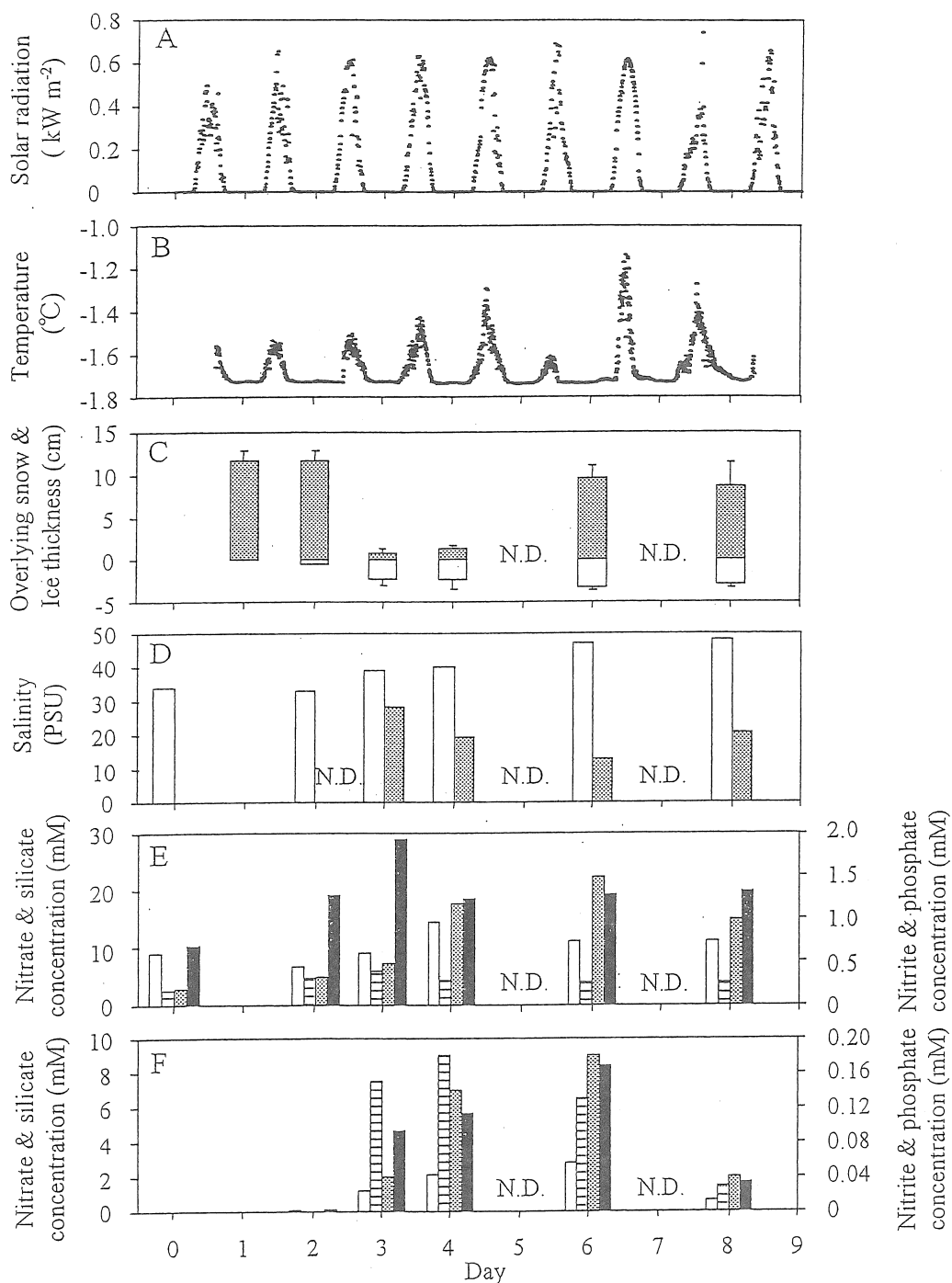


Figure 2. Solar radiation (A), water temperature of seawater (B), amount of snow on the culture vessel (stippled bar) and the thickness of newly formed sea ice (open bar) (C), salinity in seawater under the newly formed sea ice (open bar) and the newly formed sea ice (stippled bar) (D), concentration of nitrate (open bar), nitrite (hatched bar), phosphate (stippled bar), and silicate (dark bar) in seawater under the newly formed sea ice (E), and the newly formed sea ice (F) during the *in situ* incubation. N.D. indicates no data.

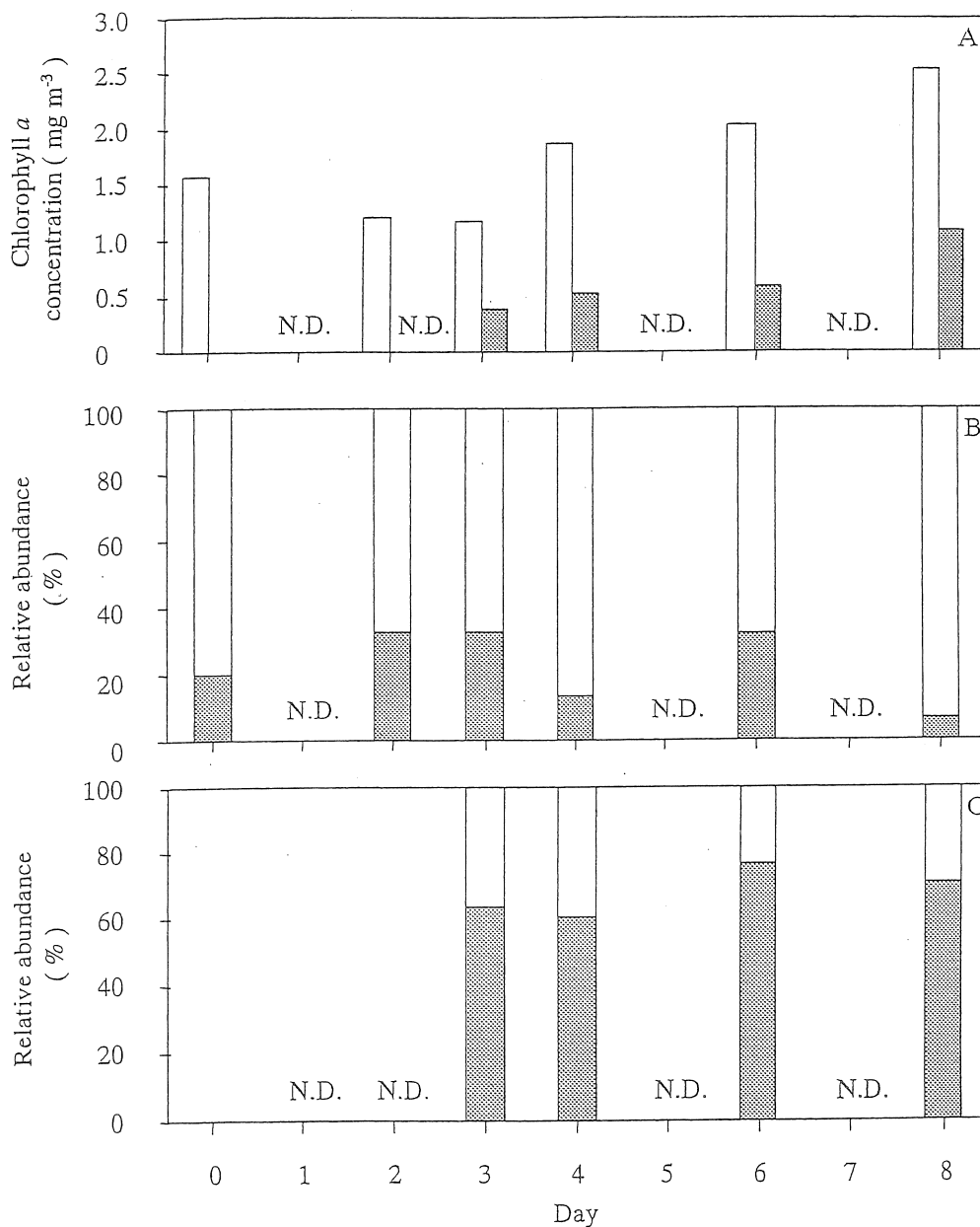


Figure 3. Chlorophyll *a* concentration in seawater under the newly formed sea ice (open bar) and the newly formed sea ice (stippled bar) (A), relative abundance of chlorophyll *a* concentration in the size fraction of > 2 μm (open bar) and < 2 μm (stippled bar) in seawater under the newly formed sea ice (B), and the newly formed sea ice (C) during the *in situ* incubation. N.D. indicates no data.

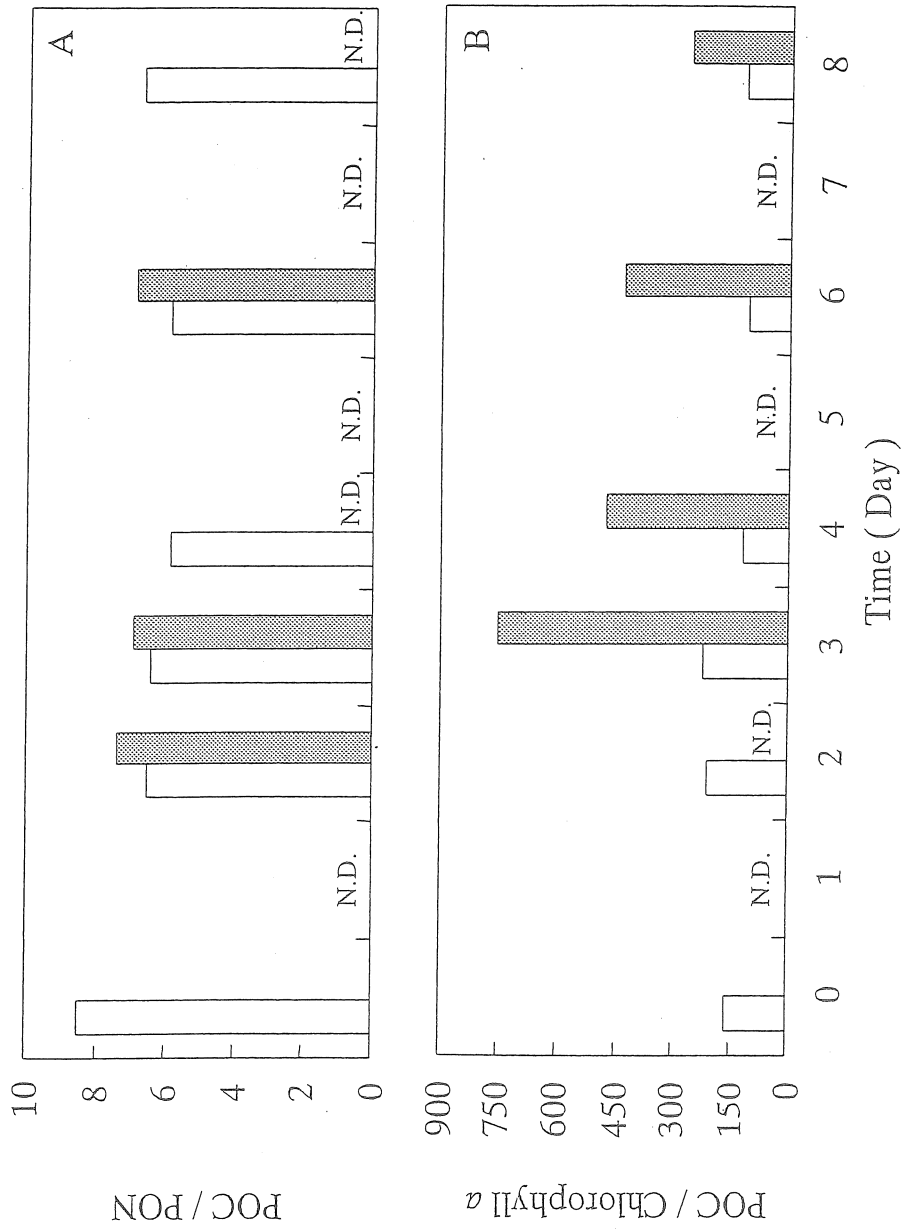


Figure 4. A ratio of carbon to nitrogen (A) and carbon to chlorophyll *a* (B) in seawater under the newly formed sea ice (open bar) and the newly formed sea ice (stippled bar) during the *in situ* incubation. N.D. indicates no data.

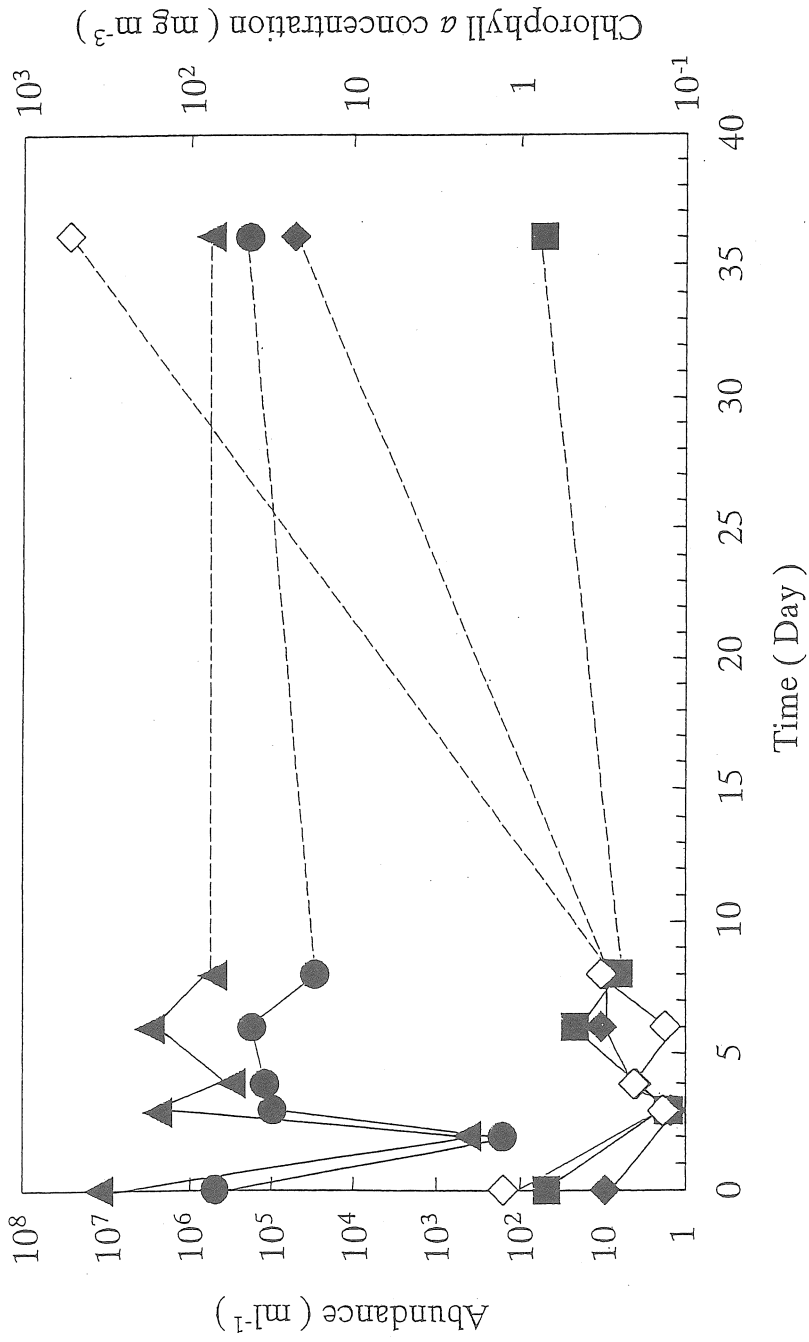


Figure 5. Bacteria (circle), viruses (triangle), nanoflagellates (square), and chlorophyll *a* concentration in a size fraction of > 2 μm (open diamond) and < 2 μm (dark diamond) in seawater at the beginning of the incubation, the newly formed sea ice, and the 36 days old ice core.

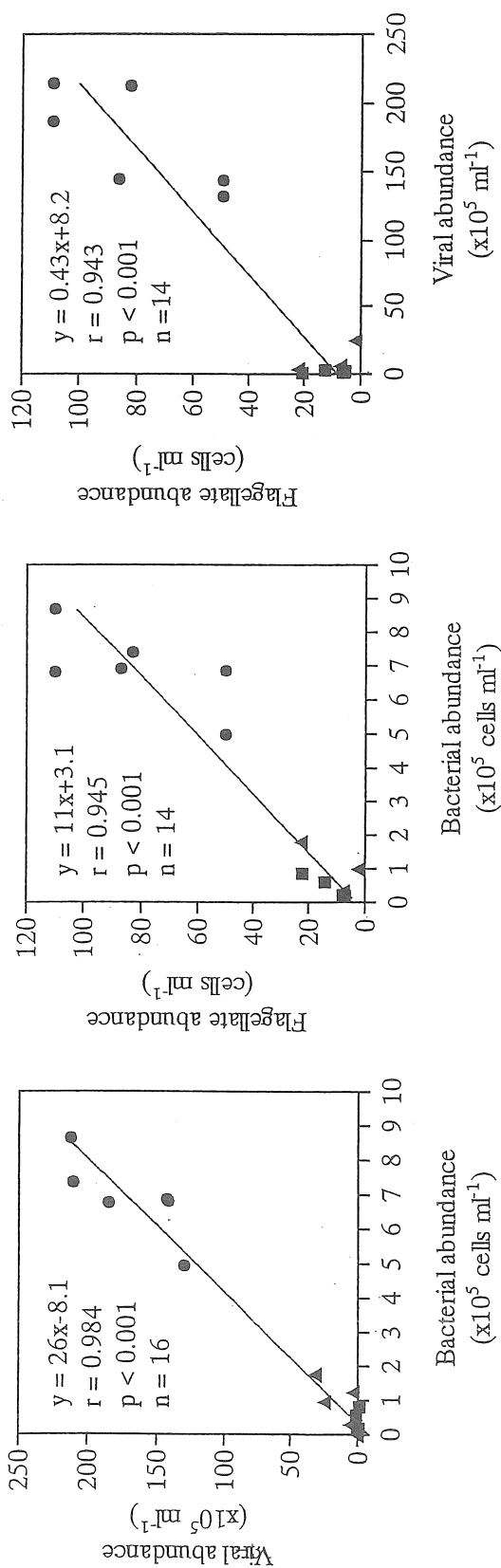


Figure 6. Relationships between bacteria and viruses (A), bacteria and nanoflagellates (B), and viruses and nanoflagellates (C) in the seawater under the newly formed sea ice (circle), the newly formed sea ice (triangle), and the 36 days old sea ice core (square).

Ice Algal Community in High Saline Brine of Sea Ice

Satoru Taguchi, Akira Shibata, Aki Imai, and Tomofumi Takasuna
Department of Bioengineering, Faculty of Engineering, Soka University

Summary

In the high latitudes, sea ice is formed annually. Sea ice contains brine, which consisted of high saline and nutrients. Ice algal community is developed in this brine although temperature is as low as $-1.8\text{ }^{\circ}\text{C}$ and solar irradiance is less than 1 % of sea ice surface. Ice algae is the most important primary producer in the high latitudes during ice season since phytoplankton in a water column under sea ice is extremely scarce. Most study has focused on ice algal community in the well developed sea ice. However the initial incorporation of plankton from seawater to newly formed sea ice has never been studied due to a logistic problem. Therefore, the novel *in situ* incubation experiments were conducted to determine the initial development of microbial community in relation to size groups of ice algae during the initial formation of fragile sea ice in Saroma-ko Lagoon, Hokkaido, Japan. Bacteria, viruses, and nanoflagellates were incorporated into the newly forming sea ice together with smaller than $2\text{ }\mu\text{m}$ picophytoplankton. Timing for those organisms to reach their plateau abundance in the sea ice was coincided with that photosynthetic ^{13}C assimilation was detected from the incorporated phytoplankton cells. Dissolved organic matter produced by the acclimatized phytoplankton cells may mediate microbial dynamics. Microbial association among bacteria, viruses, and nanoflagellates except for picophytoplankton was observed although they had different incorporation rates. Ecological significance of microbial association was discussed in relation to their implication to biogeochemical carbon cycle in the high latitudes.