

論文の内容の要旨

水圏生物科学専攻
平成 28 年度 博士課程進学
氏 名 中 村 賢 一
指導教員名 高 橋 一 生

論文題目 太平洋亜熱帯海域窒素循環に果たす動物プランクトンの
窒素排泄の役割

漂泳区生態系において動物プランクトンのアンモニア排泄は基礎生産者やバクテリア群集に窒素を供給する重要な過程である。とくに全地表面積の約半分を占める亜熱帯外洋海域の大部分は、通年成層が発達し、表層の生物生産が栄養塩に律速されている貧栄養海域であり、動物プランクトンの排泄が栄養塩動態に与える影響は他の海域に比べて大きいと予想される。貧栄養海域表層の窒素循環において動物プランクトンは、再生生産を駆動するアンモニア供給と、日周鉛直移動による表層からの窒素除去（アクティブフラックス）という対照的な二つの側面を担っている。このため、窒素循環に果たす役割を理解するためにはその排泄特性を分類群毎に明らかにし、各過程における寄与や役割を理解する必要があるが、その知見は十分ではない。その原因のひとつとして手法的問題が挙げられる。従来、排泄速度測定に使用されてきた分析法は感度が低く、これを補うため実験を小型容器、高密度飼育、長期飼育などの不自然な条件下で行う必要があった。そのため、アンモニア排泄速度測定には、多大な時間や労力が必要とされ、またその測定結果は実験環境に起因する過度のストレスを受けていた可能性が内在していた。この問題点を解決するため、本研究では、近年開発されたナノモルレベル高感度分析法を用いて、動物プランクトン、特にカイアシ類のアンモニア排泄速度を最もストレスが少ない状態で測定する実験手法を確立し、より正確なアクティブフラックスおよび表層窒素再生量を見積もった。更に同様

の手法を用いて知見の少ない尿素態窒素の排泄速度についても実測し、亜熱帯外洋域における動物プランクトン群集が窒素循環に果たす役割を定量的に評価することを目的とした。

1. 高感度分析法を用いたカイアシ類アンモニア排泄速度測定法の検討

高感度分析法を用い、飼育容器サイズ、個体密度、飼育時間がカイアシ類のアンモニア排泄速度に与える影響を吟味した。実験に使用した種は大型カイアシ類 5 種 *Calanus sinicus*、*Eucalanus californicus*、*Metridia pacifica*、*Pleuromamma abdominalis*、*P. gracilis*、小型カイアシ類 2 種 *Acartia steueri*、*Oithona oculata* の 7 種である。それぞれについて、小型容器（100 もしくは 30 mL）または大型容器（300 もしくは 10 mL）で 4 時間飼育し、容器サイズの影響を検証した。大型容器では続けて 20 時間の飼育を行い、飼育時間の影響を検討した。小型カイアシ類 2 種では、各条件間での排泄速度の変化は見られなかった。大型カイアシ類 5 種では、実験条件に対する応答は種それぞれに異なるものの、一般に小型飼育容器の使用は排泄速度の過大評価（最大 2.6 倍）の原因となることが示された。また、同一容器内で複数個体を飼育することも排泄速度の過大評価（最大 1.9 倍）の要因となる一方、長時間飼育に対する排泄速度の応答は種毎に異なる事が示された。特に過去の多くの研究で示されてきた長期飼育によるアンモニア排泄速度低下は絶食の影響に加えて、不自然な飼育環境に馴化した結果である可能性が示された。本実験の結果、現場カイアシ類のアンモニア排泄速度を測定するためには、大型容器中に単独個体を短時間飼育し、これを高感度法により測定する方法が最も適切であることが示されたことから、この条件を用いて本研究の飼育実験を行った。

2. 日周鉛直移動性 *Pleuromamma* 属カイアシ類によるアンモニア排泄

熱帯・亜熱帯海域で優占する日周鉛直移動性カイアシ類 *Pleuromamma* 属に着目し、黒潮周辺海域における窒素再生量と輸送量の季節変化を測定した。測定の結果、本属のアンモニア排泄速度は主に水温に影響されることが確認された。また単位体重あたりのアンモニア排泄速度と水温には種間で有意差は認められなかった。本属のアンモニア排泄速度は、既往の経験式より求められる予想値よりも 1.2–2.2 倍高く、本属は再生アンモニア供給において重要な役割を果たしていると考えられた。本属によって下層に輸送される窒素量は、黒潮流軸域で 0.04–0.27、外側域で 0.03–0.16 mg N m⁻² d⁻¹ であった。外側域での年平均値 (0.07 mg N m⁻² d⁻¹) は、近傍海域における日間沈降粒子中窒素量の 4.4% に相当し、本海域での窒素輸送者として重要な役割を果たしていることが示された。また、表層での窒素再生量に対する 200 m 以深への窒素輸送量の比は、流軸域では 0.26–0.75（年平均 0.55）、外側域では 0.36–0.76（年平均 0.53）となり、両海域ともに下層の水温が高くなる時期に最大値を示し、高水温の時期や海域において表層から窒素除去としての働きが相対的に活発になることが示された。

3. カイアシ類群集のアンモニア排泄による表層窒素再生および下層への窒素輸送

亜熱帯表層カイアシ類群集中に優占する小型種 (<1.5 mm) は、単位体重あたりの排泄速度が高く、窒素再生に果たす役割も大きいと予想されるが、その体サイズの小ささ故、実測例はほとんど存在せず、正確な群集全体の窒素再生量見積もりの妨げとなっていた。そこで高感度分析法を用いて小型種を含めた表層カイアシ類のアンモニア排泄速度を測定し、亜熱帯におけるカイアシ類群集全体の窒素再生量を見積もった。実験は西部北太平洋亜熱帯海域の23°N線上の横断観測ライン (120°W–137°E) において行った。小型種 (<1.5 mm) を含む表層性カイアシ類12属28種145個体について得られた結果に基づき、排泄速度を目的変数、体重と水温を説明変数とする回帰式を求めた。これにより既往研究の経験式には含まれていなかった乾燥重量0.5–7 µgの小型種の排泄速度推定が可能となった。昼夜間の表層混合層内におけるカイアシ類の種組成の検鏡解析結果に基づき見積もられた西部、中部、東部北太平洋におけるカイアシ類群集による表層窒素再生量は、548–1069 µg N m² d⁻¹であった。これらの値は、現場のアンモニア態窒素現存量の3.5–24.1%、基礎生産者による窒素要求量の2.8–4.8%に相当し、それぞれ中部北太平洋 (ハワイ沖) において最大となった。海域ごとの種別寄与をみると、西部の測点では生物量において卓越した小型種*Oncaea*、*Paracalanus*属の寄与が大きく、カイアシ類群集による全窒素再生量の50%を超えていた。中部では最も寄与が高かったのが小型種の*Clausocalanus*属で、昼夜平均で13% (5.3–21.4%) となった。次いで、大型種の*Eucalanus*、*Euchaeta*、*Scolecithrix*属、小型種の*Farranula*属の寄与が同程度であり、それぞれ昼夜平均で約9%となった。東部では小型種の*Clausocalanus*、*Farranula*属の寄与が高く、昼夜平均で34%の寄与率となっていた。排泄速度の昼夜間の変動については、いずれの種についても明瞭な傾向はみられなかった。そのため、窒素再生量は生息環境の水温変化や群集生物量に左右されていた。

本海域の日周鉛直移動性カイアシ類群集内では*Pleuromamma*属が優占した。本属の下層 (200 m以浅) への窒素輸送量は52.5–122 µg N m² d⁻¹で沈降粒子中窒素量 (210–220 m) の0.6–2.9%に相当し、西部で最も高くなった。混合層内から混合層深度 (30–45 m) 以深への窒素輸送量は、鉛直移動した生物量が高かった東部で最大で、2.5 µg N m² d⁻¹となり、西部では最も低く0.29 µg N m² d⁻¹となった。一方で、表層混合層での窒素再生量と下層への窒素輸送量との比は、西部で最大値0.6を示し、東部で最小値0.4となり、窒素輸送量との関係はみられなかった。これは下層の水温が東部よりも西部において高かったことが原因であり、海洋物理構造が本属の窒素循環果たす役割に影響を与えることが示された。

4. *Pleuromamma* 属カイアシ類による尿素排泄

カイアシ類はアンモニア態窒素に加え、尿素態窒素を排泄することが知られているが、その実測例は少ない。そこで高感度分析法を用い、カイアシ類 *P. abdominalis* の尿素排泄の時系列変動を調べた。アンモニア排泄速度に対する尿素排泄速度の割合は、窒素換算で6–33%となり、平均で12%となった。尿素排泄速度は1.6–5.6 ng N ind⁻¹ h⁻¹の範囲を変動し、

実験開始から4時間目から8時間目にかけてやや上昇し、その後12時間目にかけて顕著な低下が見られた。一方、同時に測定したアンモニア排泄速度は8時間目に最も低くなるV字型の変動を示した(1.2–4.3 ng N ind⁻¹ h⁻¹)。すなわち尿素排泄はアンモニア排泄に対して相補的な変動を示すことが明らかとなり、アンモニア排泄速度が低い状態でも、代わって尿素排泄速度が高まることで窒素循環における寄与が見かけほど低下していない可能性が示された。

本研究の結果、高感度分析法を用いることで、動物プランクトンアンモニア排泄速度の測定に不可分的に潜んでいた実験ストレスの影響を極力取り除くことが可能となり、現場における動物プランクトンのアンモニア排泄速度をより高精度で求める手法が確立された。本法により得られた結果は、研究が少なかった太平洋亜熱帯域における知見の空白を埋めるだけでなく、従来の手法的問題点を極力排除した見積もりである点に価値があり、その信頼性において亜熱帯貧栄養海域の窒素循環に果たす動物プランクトンの役割を評価するための基礎的な知見になると考えられる。