

## 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 山口珠葉  
指導教員名 高橋一生

論文題目 北太平洋におけるリン酸塩および易分解性溶存態リンの動態に関する研究

リンは生体の必須元素であり、窒素と共に海洋における生物生産の主要な制限栄養素である。リンの多様な存在形態の中でも、リン酸塩は生物に利用されやすく、亜熱帯貧栄養海域ではしばしば広域にわたり枯渇する。そのような海域では、溶存有機態リン (DOP) が代替リン源として重要である。しかしながら DOP、とりわけ生物に利用されやすい易分解性 DOP (LDOP) に関して、その化学形態や分布などの動態を理解する上で必要な知見は極めて乏しい。そこで本研究は、LDOP としてリン酸モノエステル (ME) およびジエステル (DE) 画分に着目し、北太平洋亜熱帯海域を中心とした現場観測からその時空間的分布について明らかにすることを第一の目的とした。さらに、そこから示唆された LDOP の変動要因として、窒素固定生物による LDOP 利用および LDOP 供給源としての動物プランクトンの役割について培養実験から明らかにするとともに、ME および DE 利用の要となるアルカリフォスファターゼ (AP) の金属要求性を鑑み、海洋におけるリン - 微量金属共制限の有無について明らかにすることを第二の目的とした。

### 1. リン酸塩および LDOP の時空間分布

海洋研究開発機構の研究船「白鳳丸」による計 4 回の航海にて、北太平洋を縦横断する夏季観測ライン (170°W、5 - 35°N の南北断面および 23°N、120°W - 137°E の東西断面)、冬季黒潮域および冬季西部北太平洋 (23°N、127 - 147°E の東西断面およびケラマ海裂) より水平・鉛直的な空間分布について観測を行った。また、同機構の研究船「新青丸」航海で夏

季の父島沖観測定点にて 9 日間の連続観測を行った。これらの観測では表層 200 m 以浅におけるリン酸塩、ME、DE、DOP 濃度をナノモルレベルで測定した。併せて、ME および DE の生物利用に関わるモノエステラーゼ活性 (MEA) およびジエステラーゼ活性 (DEA) を測定した。

全航海を通じて、ME は検出限界以下 ( $<3$  nM) から 61 nM、DE は検出限界以下 ( $<3$  nM) から 38 nM 存在し、DOP 全体の概ね 10%以下を占めた。よって、両エステルはマイクロモルレベルで変動するリン酸塩などの栄養塩と比べて、常に極めて低い濃度で推移することが明らかとなった。

表層内の ME は多くの場合、表面リン酸塩がおおよそ 10 nM 以下の枯渇状態に近づくほど栄養塩型の鉛直分布を示し、反対に表面リン酸塩が 10 nM 以上の場合には深度とともに低下し、DOP 型の鉛直分布となった。ここで、MEA から算出した ME の回転時間は ME 濃度が低い環境下では最短 3 日と短かったことから、栄養塩型分布における表層上部の低い ME 濃度は、リン酸塩の枯渇に伴い ME が代替リン源として消費されたことによると考えられた。これに対し、DOP 型の分布がみられた東部北太平洋などでは表層内の MEA が低かったが、このように ME 消費圧が低い海域で上層ほど ME 濃度が高かったのは、DOP と同様に ME が主に上層で生成されていることを示唆した。

一方、DE には ME のような一貫した分布傾向はみられず、濃度のほとんどが 5 nM 以下であり、局所的に十数 nM 程度のピークが認められた。分析に用いた酵素の基質特異性から、この DE 貯留は回転時間の短い核酸ならびに核酸様物質を含むと考えられ、ME よりも生物可用性が高いことが示唆された。また、本研究においてリン酸塩の多寡に関わらず DE がほとんど検出されなかったが、これは核酸がしばしばリン酸塩よりも生物利用されやすいことが一因であったと考えられた。

父島沖定点連続観測では安定した成層構造がみられた。リン酸塩および ME 濃度は 100 m 以浅において検出限界以下から 20 nM の範囲で変動しており、その水柱積算値は同程度の振幅で互いに逆位相の増減を繰り返していた。時差相関解析から両者の変動周期は 48 - 60 時間と推定され、その変動量と併せると  $0.2 \text{ nM h}^{-1}$  という回転速度が導出された。この回転速度から ME の回転時間はおよそ 1.5 日と見積もられたが、これは MEA による見積もりの平均 9 日より大幅に低かった。このため、本手法では ME の生物可用性を過小評価しがちである、もしくは加水分解以外の過程を介する ME の消長に関わっている可能性が示唆された。

## 2. 窒素固定生物による LDOP 利用

窒素固定生物は窒素制限を受けにくい一方で、相対的にリンや鉄制限を受けやすいため、リン酸塩枯渇海域では DOP の利用がその増殖の鍵になると考えられる。このため、窒素固定生物が LDOP を積極的に利用しているという仮説を現場観測および室内培養実験から検証した。

冬季黒潮域を除く前述の4航海にて窒素固定活性を測定した結果、活性はME濃度、MEA、DEAと正の相関を示した。加えて、特に中部北太平洋ではDE濃度とも正の相関を示し、窒素固定活性とLDOP利用の同所的な高まりが確認された。ここで、窒素固定活性は高水温・やや残存したリン酸塩・高い窒素固定性シアノバクテリア現存量の3条件が揃った環境で高くなる傾向が認められた。代表的な窒素固定性シアノバクテリアである*Trichodesmium*と*Crocospaera*は他の藻類よりもリン酸塩取り込み能が低いことから、リン酸塩とLDOPを並行活用するリン獲得戦略は窒素固定生物では効果的であると考えられ、上述の現場パラメータ間の正相関を説明すると考えられる。

上記2種を用いた室内培養実験では、リン制限培地で培養した*Trichodesmium*において窒素固定の盛んなジアゾサイトと推定される部位でMEAが集中して確認される場合があり、窒素固定に伴うME利用の増大が示唆された。また、一般にDEを単一リン源として十分に活用できない藻類が多く報告されるなか、両種はDE培地にてリン酸塩利用時と遜色なく増殖可能であったことから、高いDE利用能を有することが示唆された。

### 3. 動物プランクトンによるLDOP・DOP排泄

上述のように、MEの鉛直分布から表層上部に主な供給源があることが示唆された。そこで夜間表層にて摂餌を行う動物プランクトンに着目し、LDOP排泄の有無を確かめるとともに、DOP供給源としての寄与および排泄速度の経時変化を明らかにすべく、西部北太平洋外洋域を中心に以下の培養実験を行った。

1個体ごと4時間の短期飼育によりカイアシ類、オキアミ類、端脚類、多毛類、エビ類幼生、貝虫類のリン酸塩およびDOP排泄速度を求めた。昼間は120 - 200 m以深、夜間は100 - 130 m以浅より実験個体を得たところ、どの分類群も夜間におけるDOP排泄速度はリン酸塩排泄速度と同等以上であった。加えて、カイアシ類では夜間DOP排泄速度が昼間の2倍以上も高かったほか、オキアミ類の夜間DOP排泄速度もカイアシ類のそれと同程度であり、夜間表層上部におけるDOP供給源としての動物プランクトンの重要性が示された。

夜間100 - 130 m以浅から採集したカイアシ類およびオキアミ類の複数個体を用いた長期飼育では、リン酸塩、ME、DE、DOP排泄速度の経時変化を4時間毎に12時間観察した。全溶存リン(リン酸塩+DOP)排泄に占める割合は、ほとんどの場合リン酸塩が量的に多く、50%を超えていた。その一方で、MEやDEを含むDOPの割合は特に培養開始直後に高く、その後減少する傾向にあった。このようなDOP排泄速度の経時変化は主に摂餌に伴うものであると考えられ、動物プランクトンが表層上部におけるDOP供給源になりうることが示唆された。ただし、同種であっても海域によって排泄速度の経時変化や割合は変化し、現場のリン酸塩濃度が高い場合にはより多くのリンが排泄される傾向が認められた。

### 4. 微量金属元素とリンの共制限環境

リン酸エステル利用の要となるAPは鉄や亜鉛などの金属元素を補欠因子に持つが、亜熱

帯海域ではリン酸塩のみならず鉄・亜鉛濃度もまた極めて乏しいことから、そのどちらもが増殖制限要因となりうる。そこで、北太平洋外洋域におけるリン - 微量金属共制限の有無を明らかにすべく、以下の添加培養実験を行った。

観測は北太平洋 23°N 東西ライン（夏季・冬季）での前述の 2 航海にて行い、鉄または亜鉛の添加によって各種リン化合物濃度、MEA、DEA、微生物群集組成が 2 日間の培養期間でどのように応答したかを分析した。夏冬ともに、160°E 以西では培養開始時のリン酸塩濃度が 10 nM 以下とほぼ枯渇しており、リン制限環境であると考えられた。しかしながら、微量金属添加による MEA、DEA の上昇は夏季にのみ観察され、このとき両活性は対照群より最大で 1.4 - 2.5 倍有意に増加した。よって、西部北太平洋亜熱帯域では季節的にリン - 微量金属の共制限環境になることが示唆され、そのような時期に散発的なダスト供給などが重なった場合には表層におけるリン消費が促進され、貧栄養化が加速すると考えられた。なお、LDOP 濃度や Chl *a* 濃度、植物プランクトン組成には微量金属添加による影響はみられず、これらの応答には AP の発現促進よりも長い培養期間が必要であると考えられた。

また、夏季の観測において、亜鉛添加による両活性の上昇は 170°W および 160°E でみられたのに対し、鉄添加による上昇は 160°E 以西でのみ確認されたことから、制限要因となる微量金属はアジア大陸近傍から順に鉄から亜鉛へと遷移したことが伺えた。AP の金属要求性は翻訳される遺伝子タイプ別に異なっていることから、これらの海域では発現していた AP の種類、ひいてはそれを保有する微生物群集が異なっていたと推察された。

以上、本研究によって、これまで知見がほとんどなかった外洋域における LDOP の動態について、ME および DE が北太平洋亜熱帯貧栄養海域において重要なリン源であること、その濃度が北太平洋の広範囲にわたって時空間的にナノモルレベルの低い水準にあること、また、その中でも分布傾向に特定のパターンがみられることが初めて明らかになった。そして、その動態における窒素固定生物による利用および動物プランクトンの排泄が密接に関与することが示された。さらに、北太平洋において鉄や亜鉛がリン利用の律速要因となる可能性が初めて示された。