

論文の内容の要旨

水圏生物科学専攻
平成 22 年度博士課程進学

氏名 谷田 巖
指導教員名 古谷 研

論文題目 太平洋における窒素固定の栄養制限に関する研究

窒素固定は熱帯亜熱帯貧栄養海域における基礎生産の重要な窒素供給源であり、窒素固定の制御要因を明らかにすることは海洋の生物生産機構を解明する上で重要である。しかし、地球最大の大洋である太平洋において、窒素固定を制御する要因の時空間的な変動様態についての知見は乏しい。本研究は、太平洋において窒素固定生物の分布および窒素固定活性を制御する要因を明らかにし、それらが海域によってどのように変動するのかを明らかにすることを目的とした。窒素固定は微量金属の影響を受けることから、まず、鉄および銅の影響に重点を置いて実験条件を検討した。次に、植物プランクトンに毒性を示すことが知られている銅について、溶存銅の鉛直分布とその供給過程を明らかにした。さらに、定量 PCR および検鏡により測定した窒素固定生物の分布と環境要因の関係を解析するとともに、添加培養実験から鉄、銅およびリン酸の供給に対する窒素固定の応答を海域間で比較した。以上の結果をもとに、太平洋の窒素固定と環境要因との関係の特徴を明らかにした。

実験方法の検討

培養実験における鉄混入の影響を防ぐため、用いる培養容器のセプタムキャップからの鉄溶出を調べた。熱可塑性エラストマー製またはシリコンゴム製のセプタムキャップを人工海水と 24 時間接触させても、いずれからも鉄溶出が検出されず、本研究での使用に適することが確認された。次に、溶存銅サンプルの前処理として、紫外線照射について検討した。溶存銅濃度を測定するための吸着カソーディックストリッピングボルタンメトリー(AdCSV)法では、海水中に混在す

る有機物が測定を阻害する可能性があるため、沿岸試料では有機物を分解するための前処理として紫外線照射が必要とされているが、外洋試料についての必要性は不明であった。そのため、外洋試料を用いて照射時間と検出銅濃度との関係を調べた結果、照射による効果は認められなかった。また、紫外線未処理の外洋水から調製した標準海水の測定結果が海外機関による検定値と有意差を示さなかったことから、外洋試料については紫外線処理は不要と判断した。

溶存銅の鉛直分布

西部北太平洋の亜寒帯域および熱帯域の各 1 測点において AdCSV 法を用いて水深 5000m までの各層から得た濾過海水から溶存銅濃度を求めた。溶存銅濃度は 1000 m 以浅では、亜寒帯域で高く、熱帯域の 1.3–2.7 倍であり、既存知見と比較しても高かった。亜寒帯域では、表層に見られた低塩分水中で溶存銅濃度が高く、この低塩分水是東カムチャツカ海流による沿岸水の水平移流によってもたらされたと考えられた。また、亜寒帯域の 400–3000 m および熱帯域の 300–2000 m で溶存銅とケイ酸濃度に有意な正の相関が認められ ($p<0.05$)、珪藻が銅の下方への輸送に参与していることが示唆された。

窒素固定生物の分布と環境要因との関係

南北太平洋亜熱帯域および赤道湧昇域、東シナ海において、窒素固定生物の分布と水温、栄養塩および鉄との関係を明らかにするため、定量 PCR による *nifH* 測定および検鏡により窒素固定生物の分布を調べた。窒素固定生物の出現はダスト供給が比較的高い西部北太平洋および東シナ海に限られ、その中でも海域により窒素固定生物の組成が異なった。すなわち、*Trichodesmium* spp. および γ -プロテオバクテリア 24774A11 は東シナ海および西部北太平洋亜熱帯域の 148° E 以西に多かった。このうち、西部北太平洋亜熱帯域の 148° E 以西では、SPRINTARS によるダスト沈着フラックスおよび溶存鉄濃度が高かった。これに対して、*Crocospaera watsonii* は西部北太平洋の 25° N 以南で多く、この海域ではダスト沈着フラックスおよび溶存鉄濃度が低かった。このことから、*Trichodesmium* spp. と *C. watsonii* の分布の違いは両者の鉄要求量の違いを反映したものと考えられた。また、*C. watsonii* の分布は水温にも依存することが示唆された。 γ -プロテオバクテリア 24774A11 の分布はダスト沈着フラックスと有意な正の相関を示し、このグループの分布も鉄供給に依存することが示された。一方、UCYN-A は夏季の 35° N で現存量が高く、水温との関係が示唆された。これらすべての窒素固定生物はいずれも東部南太平洋では検出されず、この海域がダスト供給源であるオーストラリアおよび島嶼域から遠いことから、鉄不足のためと考えられた。

リン酸塩・溶存鉄・溶存銅が窒素固定に及ぼす影響

天然群集を用いた添加培養実験により、溶存鉄(III)およびリン酸塩が窒素固定に及ぼす効果を調べた。さらに、西部北太平洋亜熱帯域では、溶存銅(II)が窒素固定活性およびピコ・ナノ植物プランクトン細胞密度に及ぼす影響を評価した。培養中の窒素固定は $^{15}\text{N}_2$ バブル添加法により

評価した。また、培養前の銅の化学形態を、サリチルアルドキシムを用いた競合配位子平衡 AdCSV 法により調べた。

鉄あるいはリン酸の添加に対する窒素固定の応答は海域によって異なった。すなわち、夏季の西部北太平洋 160° E の南北測線上では 25° N 以北の海域で鉄添加により窒素固定が増加したが、それ以南では対照的にリン酸添加により増加した。境界である 25° N ではいずれの添加でも窒素固定が増加し、窒素固定はリン酸と鉄の共制限を受けていた。また、同じく西部北太平洋の 134–138° E でも鉄制限またはリン酸と鉄の共制限の傾向が認められ、ダスト沈着フラックスおよび溶存鉄濃度の高い海域では鉄制限、低い海域ではリン酸制限の傾向があることが判った。この傾向は窒素固定生物の分布と良い関係を示し、リン酸制限の海域は *C. watsonii* の分布域と、鉄制限の海域はそれ以外の窒素固定生物の分布域と一致した。また、夏季の東シナ海ではリン酸添加の効果は見られなかった。一方、冬季の 23° N の東西測線上では二つの低気圧性渦内でリン酸あるいはリン酸+鉄添加により、また、冬季の東部南太平洋の赤道湧昇域では鉄添加により窒素固定が増加したが、亜熱帯循環内では全く応答が認められなかった。これらの結果から、窒素固定のリン酸制限は成層が強くリン酸濃度の低い環境に限定されることが明らかになった。これに対し、窒素固定の鉄制限はダスト沈着フラックスおよび溶存鉄濃度の高い海域で認められた。東部南太平洋での添加実験および窒素固定生物の分布生態から得られた結果と考え合わせると、鉄制限が起こる海域はある程度鉄が供給される海域であり、鉄供給が非定常的であることから鉄が不足した際に鉄制限が現れたと考えられた。一方、鉄供給が長期にわたり低レベルであれば、栄養供給に対して応答能を持つ窒素固定生物自体が分布しないため、添加効果が現れないのである。以上、海域による窒素固定のリン酸、鉄添加への応答の違いは、これらの供給様態の海域間での違いを反映することが判った。

溶存銅の添加実験の結果、植物プランクトン群集への影響に濃度依存性が認められた。すなわち、添加実験を行った 3 測点いずれでも 1 nM の銅添加では窒素固定および植物プランクトン細胞密度が変化しなかったが、10 nM ではともに大きな阻害効果が認められた。窒素固定の減少の程度は測点間で異なったが、培養液中の遊離銅イオン濃度には測点間で差が無かった。これは窒素固定生物組成が測点間で異なることから、窒素固定生物の銅耐性がグループによって異なるためであると考えられた。特に、*C. watsonii* が主要な窒素固定生物であった測点では銅添加によって窒素固定が大きく低下し、さらに *C. watsonii* を含むシアノバクテリアの細胞密度も大きく減少したことから、本種の銅耐性が低い可能性がある。また、銅 10 nM の添加による細胞密度の減少は真核植物プランクトンで小さく、シアノバクテリアで大きかったことから、溶存銅の存在は窒素固定生物から真核植物プランクトンへの遷移を促進する可能性がある。亜熱帯外洋域ではエアロゾルによる銅の供給が低い一方、陸域からの供給を受けて濃度が大きく上昇することが知られている。この既往知見および本研究で明らかになった現場溶存銅濃度および配位子濃度、条件安定度定数から、外洋域では有毒レベルまで溶存銅濃度が上昇することは考えにくく、銅による毒性は陸域に比較的近い海域での現象であると考えられた。

以上、本研究から、太平洋では、ダスト供給の勾配に対して窒素固定生物群集の組成が明瞭に変化し、それに伴い、栄養供給に対する窒素固定の短期的応答が変化することが明らかになった。この結果は、ダストおよびアマゾン川プルーム等により東から西まで全域にわたり鉄供給の高い大西洋とは対照的である。従って、太平洋では、窒素固定の環境要因による制御を理解するうえで、鉄およびリン酸供給の時空間的不均一性と海域による窒素固定生物の組成の違いを解明することが鍵になる。現在、地球規模で進む海洋環境の変動に対して、海洋生物群集がどのように応答するかが生物海洋学の重要な課題となっているが、将来の気候変動に対する窒素固定の応答様態を予測するにあたっては、ダスト輸送過程の予測に加えて、鉄供給に対する窒素固定生物の応答能の地理的変動を予測する必要があると考えられる。そのためには、窒素固定と光合成系などの代謝系の相互の関係、およびリン、鉄の細胞内貯蔵を評価して、栄養供給に対する窒素固定の応答能の違いをもたらすメカニズムを解明することが今後必要である。