

令和元年6月21日現在

機関番号：82706

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H02236

研究課題名(和文)古海洋表層窒素サイクル研究の深化

研究課題名(英文)Deepen the nitrogen cycle in the paleoceanography

研究代表者

大河内 直彦(OHKOUCI, Naohiko)

国立研究開発法人海洋研究開発機構・生物地球化学研究分野・分野長

研究者番号：00281832

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 31,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、まず現在の海水中のクロロフィルaの窒素同位体比を測定し、その窒素安定同位体比を決定する要因について考察した。さらに、海底堆積物や太古の堆積岩中に含まれるクロロフィル誘導体であるポルフィリンについて窒素同位体比を測定し、その有用性について確認した。クロロフィルはポルフィリン化合物として長らく堆積物に残され、海洋表層の窒素同位体比を忠実に記録していることが確認された。本研究では、堆積物からクロロフィルの誘導体であるポルフィリンの窒素同位体比を測定することによって、過去の海洋表層における窒素サイクルを復元することが有効な方法論であることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

海洋の生物生産、つまりバイオマスを決めているのは主に海洋表層における窒素サイクルである。本研究は、その窒素サイクルの過去の変遷を明らかにするために、クロロフィルの窒素同位体比が利用できることを明らかにした。またクロロフィルが堆積物中で変質して生成されるポルフィリンの窒素同位体比が、クロロフィルのそれをそのまま保持していることを明らかにした。窒素サイクルは炭素サイクルを駆動するエンジンでもあるため、過去の表層窒素サイクルは、過去の気候変動を復元するうえで必須の情報となる。海洋の生物資源量を考えるうえでも重要な情報となるであろう。

研究成果の概要(英文)：We have determined the nitrogen isotopic composition of chlorophyll a in the water column and shallow sediments and discussed its controlling factor. We also measured nitrogen isotopic composition of (geo)porphyrins, geological derivatives of chlorophylls in the deep sea sediments and sedimentary rocks formed in ancient time. With these information, we carefully evaluated and confirmed that the nitrogen isotopic composition of chlorophyll is long preserved in the porphyrins conservatively. With this isotopic information, we can reconstruct the nitrogen cycle in the surface water of the geological past.

研究分野：地球化学

キーワード：窒素サイクル

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

海洋表層水中の硝酸濃度は、海洋の一次生産を決める主要な要因である。それゆえ、海洋全体のバイオマスを決める主要因であるとともに、海洋の炭素サイクルを駆動するエンジンとすることができる。したがって過去の海洋変動を理解する古海洋学にとって、海洋表層の窒素循環は長らく研究の本丸と見なされてきた。この重要な地球環境要素を復元するため、堆積物に含まれる全窒素の窒素同位体比が長らくプロキシとして用いられてきた。しかし堆積物に含まれる窒素は、各種生物が合成した各種アミノ酸・クロロフィルなど多様な化合物の混合物に由来している。したがって当然、堆積物中の全窒素の同位体比の時間変化は、当時の海洋表層の硝酸の窒素同位体比だけでなく、堆積後の続成作用にともなう各種化合物の組成比の変動にも強く影響を受ける。そこで研究代表者らは、植物プランクトンのみが合成するクロロフィルの窒素同位体比を測定することによって、過去の表層水の窒素サイクルを復元するという研究戦略が有効であることを提唱し、実証してきた(Ohkouchi et al., 2015)。この方法論は、クロロフィルの精製を必要とする手間がかかるものの、最近徐々に注目されるようになり、欧米各国でクロロフィルの窒素同位体比をもとに古海洋の表層水の栄養塩環境を復元しようとする動きがある。そのような中で、申請者らが確立した方法論を、海外のチームに先駆けて展開するために、本研究を行った。

2. 研究の目的

海洋表層水中に生息する一次生産者の窒素同位体比は、理論的には、供給される硝酸の窒素同位体比、同化時の同位体分別、その場における栄養塩の利用効率(=[同化量]/[供給量])、窒素固定生物の有無などによって決まる。したがって、窒素同位体比記録の解釈には複数の可能性が生じるため、その海域や時代の特性に応じた解析が必要となる。本研究の独創性は、クロロフィルの窒素同位体比記録を得るとともに、その記録を海洋生態系-窒素同位体モデルを結合した地球システムモデルを駆使してその時間変動を包括的かつ定量的に理解することにある。

本研究では、多様な時代や気候レジームに属する海域を対象とするとともに、研究対象とする時間範囲は、過去から現在にかけての気候の大規模な再編期を含む時期である。さらに本研究では、研究分担者の吉川が開発した海洋生態系-窒素同位体モデルを地球システムモデルに導入し、「地球システム-窒素同位体モデル」を世界に先駆けて構築する。構築したモデルを用いて、様々な時間スケールでの気候変動と窒素循環の変遷について再現実験と感度実験を実施し、その結果をもとに、上述のクロロフィル窒素同位体比記録を包括的かつ定量的に解釈する。このようなケース・スタディを通して、まだ黎明段階とも言える古海洋表層の窒素サイクル研究の深化に先鞭をつける。そして本研究の最終段階には、古海洋表層における窒素サイクルの新しい標準的な研究方法として提示する。

3. 研究の方法

本研究では、海水の場合は硝酸およびクロロフィル *a* を、堆積物の場合はクロロフィル *a* だけでなく、その誘導体である各種有機化合物を用いた(図1)。また数百万年以前の堆積物については、クロロフィル系化合物(クロリン環)は、酸化されてポルフィリン系化合物に変質している。したがってそういった試料については、ポルフィリンを窒素同位体比の測定対象とした。分析法の詳細、特にこれらクロロフィル誘導体の単離・精製法については、クロロフィル等のクロリン化合物については Tyler et al. (2010) を、ポルフィリン化合物については Kashiyama et al. (2007) に基本的に従っている。窒素安定同位体比の測定については、Ogawa et al. (2010) で報告された微量同位体比測定装置を用いた。これにより 1 μg 程度の化合物量で、 $\pm 0.5\%$ 程度の誤差で窒素同位体比が測定できる。この方法論の詳細についても現在論文を執筆中である (Isaji et al., in prep.)。

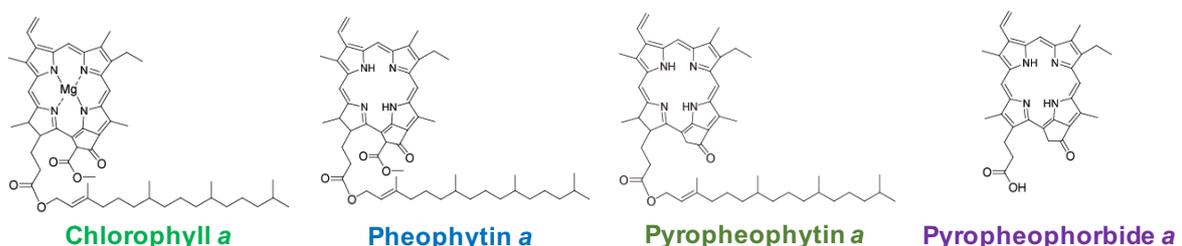


図1. 本研究で測定対象となったクロロフィル系化合物。左から、クロロフィル *a*、フェオフィチン *a*、パイロフェオフィチン *a*、パイロフェオフォルバイド *a* を示した。

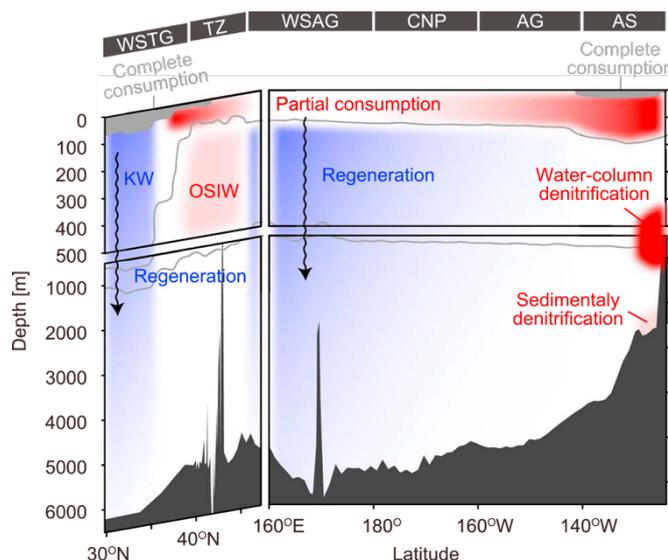
4. 研究成果

本研究においては、現在の堆積物や最近の堆積物に含まれるクロロフィル、その規定要因について解析することをまず最初に行った。その上で、クロロフィルが堆積物中で変質することによって生成される各種ポルフィリン化合物の窒素安定同位体比を測定した応用研究を行い、その結果を元に、当時の海洋表層環境の復元を試みた。

(1) 北部北太平洋域における硝酸の窒素同位体比の制御要因の研究

窒素同位体比分析結果の解析に、海洋窒素循環-同位体比モデルが用いられた例はこれまでほとんどない。本研究では、現在の北部北太平洋における海洋環境を一例として、硝酸の窒素同位体比を詳細に吟味するとともに、それを海洋生態系モデル (Yoshikawa et al., 2005) を用いて詳細に解析した。

海洋観測船みらい MR14-04 航海において、北緯 47 度線 (WOCE P01・P10N 側線) に沿って採取された海水試料は、植物プランクトン・沈降粒子・硝酸・アンモニアや各種有機化合物とともに、溶存している硝酸の窒素同位体比が測定された。海洋表層水中に生息する植物プランクトンは軽い (^{14}N をより多く含む) 硝酸を選択的に同化するため、表層水に残される硝酸は同化が進むにつれて高い窒素同位体比を示す。しかし北部北太平洋の西部亜寒帯循環海域では、鉄が海洋表層の一次生産を律速しているため、夏でも表層に硝酸が高濃度で存在することが知られている。硝酸利用効率 ([春から夏の同化]/[冬の供給]比) が低いため、西部亜寒帯循環海域では有光層でも硝酸の $\delta^{15}\text{N}$ 値が $\sim 9\text{‰}$ と比較的高い値を示す。その一方で、西部亜寒帯循環海域では、上流域で窒素固定の影響を強く受けた黒潮水の影響により、有光層でも $\sim 5\text{‰}$ と比較的低い窒素同位体比を示した。また東部亜寒帯海域 (カナダ西海岸沖) では、水柱中や海底堆積物中の脱窒



の影響により、中層・低層の水塊で周りの水塊よりも約 1 ‰ 高い窒素同位体比を示した。本研究によって得られたデータを基に、窒素サイクルの概要を示したのが図 3 である。精緻化した海洋窒素同位体モデルを用いてシミュレーションを行った結果、当海域の植物プランクトンの同位体比変動は、硝酸とともにアンモニアの変動によって強く制御されていることを明らかにした (図 2)。

図 2. 北部北太平洋 (WOCE P01-P10N 測線) で得られた各種窒素物質の安定同位体比の測定結果を元にしたシミュレーションから明らかにされた窒素サイクルの概要を模式化したもの (Yoshikawa et al., 2018 を改変)

(2) 南極アデリー海の窒素サイクル

本研究では、東南極ウィルキスランド沖のアデリー海で採取された海底堆積物 (IODP exp. 318, site U1357B) について、その中に残存しているクロロフィル *a* およびその分解生成物について測定した (図 1)。個々の化合物を単離・精製して窒素同位体比も測定を行った。その結果について、海洋窒素循環-同位体比モデルを用いて過去 2000 年にわたって詳細に解析した。

東南極ウィルキスランド沖で採取された海底堆積物中のクロロフィル窒素同位体比の分析結果は、約 -7‰ から約 -1‰ までおよそ 6 ‰ の振幅をもって変動し (図 3)、その変動の時間パターンは、北ヨーロッパで特に知られている小氷期や暗黒期といった気候変動と同調しているように見える。もし北半球高緯度陸域と南極大陸縁辺の海洋が何らかのテレコネクションで結ばれているとすれば、非常に興味深いことである。

本研究では、この海底堆積物中のクロロフィルの化合物レベル窒素同位体比の分析結果の解釈のために海洋窒素循環-同位体比モデルを構築し、アデリー海における過去 2000 年間の表層窒素循環変動を復元した。窒素同位体比モデルに与えた境界条件 (水温, 日射, 混合層深度, 混合層下部における栄養塩濃度) には、Chikamoto et al. (2016) による地球システムモデル (LOVECLIM) を用いた過去 2000 年の再現実験から、研究対象海域の環境情報を抽出したものをを用いた。この窒素同位体比モデルを用いたシミュレーションによると、植物プランクトンの年平均窒素同位体比は、 0‰ から 2‰ の間で変動するにすぎないことが明らかになった。これは、クロロフィル窒素同位体比に換算すると -4.5‰ から -2.5‰ の間の変動に相当し (Ohkouchi et al., 2006)、堆積物から実測されたクロロフィル窒素同位体比の変動と比べて振幅は 3 分の 1 程度しかない。そこで、堆積物中の微古生物学的情報をもとに復元したアデリー海固有の混合層深度の変化をモデルに与えた結果、モデル・シミュレーションは堆積物の分析結果をほぼ再現することができた。このことから、アデリー海で見られた産業革命以前にみられる栄養塩環境は長期的にみると、直接的にはメルツ氷河の成長・崩壊に伴う混合層深度の変化に起因してきた可能性が示唆された。その一方で、この海域における混合層深度が、北半球高緯度域でみられる気候変動 (小氷期-中世温暖期-暗黒時代-ローマ温暖期など) とどのように関わっているかは未だ不明で、今後に残された課題である。

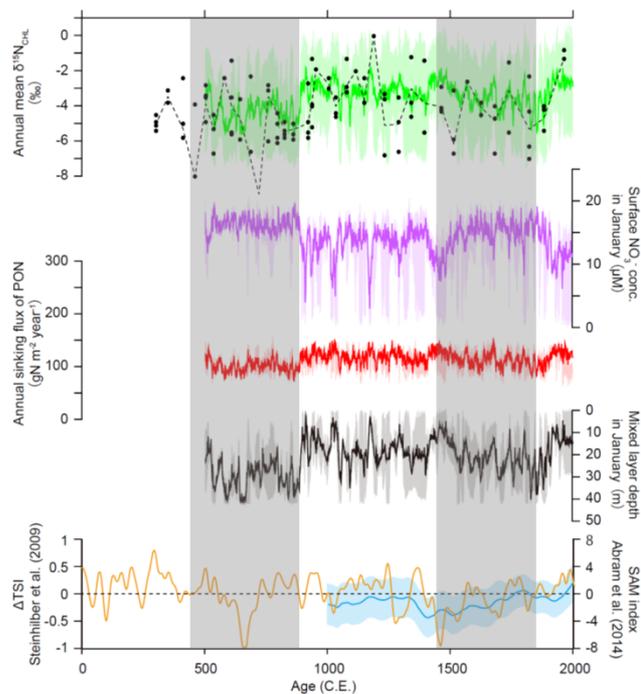


図3. 上から順に、過去 2000 年間のクロロフィル窒素同位体比（黒丸は分析値、点線はその移動平均、緑実線はモデル値を著す）、表層水中の硝酸濃度、沈降フラックス、混合層深度、日射強度、南半球環状モードを示す。

(3) メッシニアン塩分危機時の表層窒素サイクルの復元

「メッシニアン塩分危機」とは、第三紀中新世後期（597-533 万年前）に地中海のほぼ全域において最大層厚 2 km 以上に及ぶ蒸発岩が形成された蒸発岩形成イベントである。塩分は生物の生息限界を規定する重要な環境因子の一つであるにもかかわらず、高塩環境における生物地球化学的なプロセスに関しては研究が非常に限られている（Isaji et al., 2017）。特に窒素サイクルの研究については皆無に等しい。そこで本研究では、メッシニアン塩分危機中

の光合成生物組成および表層窒素サイクルを明らかにすることを目的とした。そのうえで、海洋光合成生物を起源とし、岩石中に残されているクロロフィルの化学化石である各種ポルフィリン化合物の単離・精製、構造決定、および化合物レベルの炭素・窒素同位体比の測定を行った。

本研究で対象としたのは、北アペニン山脈 Vena del Gesso に見られる、メッシニアン塩分危機初期に堆積した石膏（ $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ）と頁岩の互層と、塩分危機最盛期に堆積したシチリア島レアルモンテ岩塩鉱山の岩塩（ NaCl ）と頁岩の互層の頁岩である。どちらの頁岩中からも、貧酸素～無酸素水界で特徴的に見られる原生生物が合成するガンマセランが検出されており、底層付近に無酸素水塊が存在したと考えられるが、両者の堆積環境は大きく異なっている。Vena del Gesso 頁岩は塩分危機の初期の堆積物で、2 万年の周期をもつ当時の気候の湿潤期において、石膏を析出する高塩海水（5 倍以上濃縮）に陸水が流入したことで密度成層が形成され堆積したものと考えられる。それに対し、レアルモンテ頁岩は塩分危機最盛期の堆積物で、1 年のうちの雨期に岩塩を析出する高塩海水（10 倍以上濃縮）に陸水が流入したことで堆積したと考えらる。

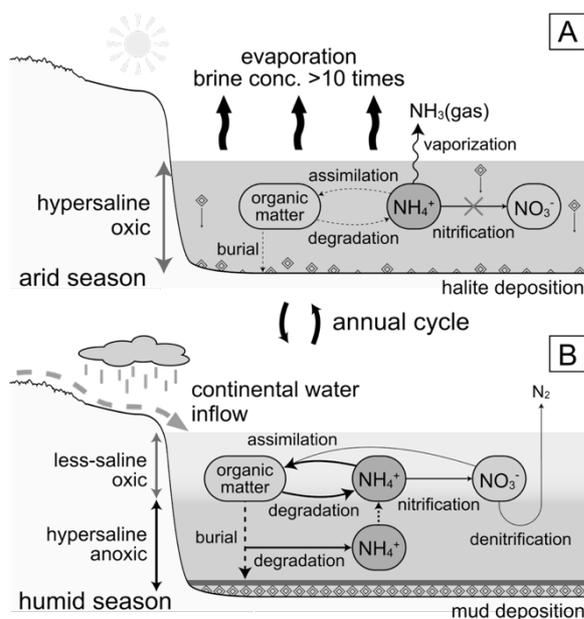


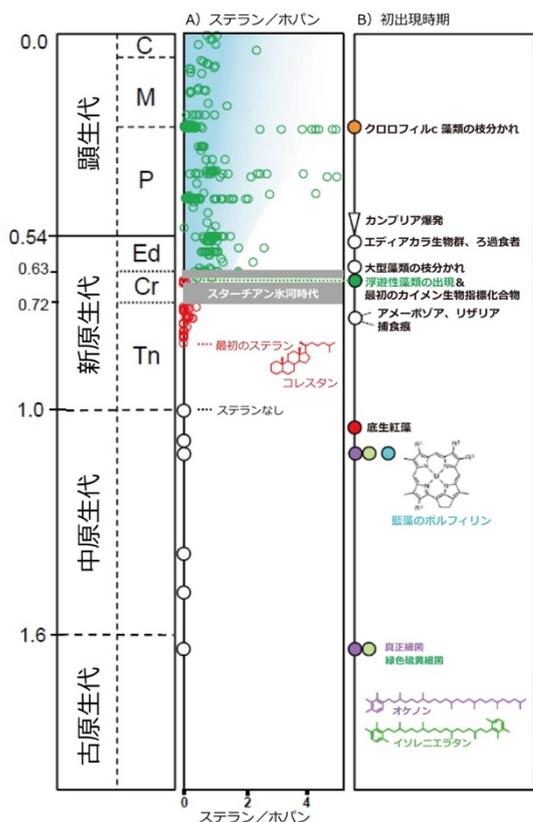
図4. メッシニアン塩分危機最盛期の海洋表層における窒素循環の模式図。1 年のうちの(上図 A) 乾期と(下図 B) 雨期の対比。雨期には、岩塩を析出する高塩海水(海水の 10 倍以上濃縮)に陸水が流入したことで頁岩が堆積した

(4) 11 億年前の海洋表層窒素サイクルの復元

先カンブリア代の海洋にどのような生物が存在し、どれほど複雑な生態系が確立されていた

のかは、長らく謎に包まれてきた問題である。特に太陽エネルギーを海洋生態系にもたらし、動物（従属栄養生物、つまり他の生き物を食べることによって生きる生物）を育む基礎エネルギーを供給する一次生産者（植物プランクトン）として、どのような生物が当時存在していたのかについては、特に 8 億年前以前は生物化石がほとんど残されていないため、ほとんど知られてこなかった。

本研究では、オーストラリア国立大学などと共同で、アフリカ北西部のタウデニ盆地から採取された 11 億年前の地層を詳細に解析した。その結果、この地層からクロロフィルの化石分子であるポルフィリンを見出すことに成功した。個々のポルフィリンの化学構造は核磁気共鳴装置などを用いて詳細に決定された。それらの化学構造はテトラピロール構造の外側に 5 員環をもつものが多いことから、その多くは当時の植物プランクトンが合成したものの残存物（分子化石）であることが強く示唆された（図 5）。上述の通り、これまでも堆積岩中からしばしばクロロフィルの化石としてのポルフィリンは見出されてきたが、本研究で見出されたポルフィリンは、過去に厳密に構造決定されたものよりも少なくとも 6 億年古い地層から見出されものであり、厳密な意味で現時点では世界最古のクロロフィルの化学化石である。



それらのポルフィリンの窒素同位体比は、5-11‰という比較的高い値を示した。海洋生態系において、食物連鎖に沿って窒素同位体比が上昇していくことは、広く知られてきたことである。堆積物中に含まれる全窒素の同位体比を当時の生態系の窒素同位体比の平均値と仮定するならば、ポルフィリンと全窒素の間にみられる窒素同位体比の差は、生態系の栄養段階の関数と考えることができる。本結果では、当時の両者の差が 3‰程度しかなく、これまで測定されたいかなる試料よりも小さなものである。このことは、当時はまだ光合成で捉えられた太陽エネルギーが高次捕食者にまでつながっておらず、食物連鎖があまり発達していなかったことを示唆している。

あまり強い変成を受けてこなかった地層中には、ポルフィリンが今も残されていたと考えられる。まだ研究例だけでなく測定試料数が少ないため、モデル化には至っていないものの、今後データを増やして当時の海洋表層窒素サイクルをさらに厳密に規定していく予定である。

図 5. 過去 20 億年間にわたる A) 原核生物と真核生物の膜脂質バイオマーカーの量比（ステラン／ポルフィン比）と、B) 光合成色素および光合成生物の出現のタイミングに関して現時点の知見をまとめたもの。

(5) まとめ

本研究では、まず現在の海水中のクロロフィル a の窒素同位体比を測定し、その窒素安定同位体比を決定する要因について考察した。さらに、海底堆積物や太古の堆積岩に含まれるクロロフィル誘導体であるポルフィリンについて窒素同位体比を測定し、その有用性について確認した。つまり、クロロフィルはポルフィリン化合物として長らく堆積物に残され、光合成生物（つまり海洋表層の）の窒素同位体比を忠実に記録していることが確認された。本研究では、堆積物からクロロフィルの誘導体であるポルフィリンの窒素同位体比を測定することによって、過去の海洋表層における窒素サイクルを復元することが有効な方法論であることが示された。今後、古海洋の表層水中の窒素サイクルの研究を進展させるための基礎固めができた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計 9 件、全て査読あり）

- ① Isaji, Y., Kawahata, H., Ogawa, N. O., Kuroda, J., Yoshimura, T., Jiménez-Espejo, F. J., Makabe, A., Shibuya, T., Lugli, S., Santulli, A., Manzi, V., Roveri, M., and Ohkouchi, N. (2019) Efficient recycling of nutrient in the modern and past hypersaline environments. *Scientific Reports*, 3718.
- ② Jiménez-Espejo, F. J., García-Alix, A., Harada, N., Bahr, A., Sakai, S., Chang, Q., Sato, K., Suzuki, K., and Ohkouchi, N. (2018) Changes in detrital input, ventilation and productivity in the central Okhotsk Sea during the marine isotope stage 5e, penultimate interglacial period. *Journal of Asian Earth Sciences*, **156**, 189-200.
- ③ Gueneli, N., McKenna, A. M., Ohkouchi, N., Boreham, C., Beghin, J., Javaux, E. J., and Brocks, J. J. (2018) 1.1 billion years old porphyrins and their isotopic composition establish a marine ecosystem dominated by bacterial primary producers. *Proceedings of the National Academy of Science, USA*, **115**,

E6978-E6986.

- ④ Yoshikawa, C., Makabe, A., Matsui, Y., Nunoura, T., and Ohkouchi, N. (2018) Nitrate isotope distributions in the subarctic and subtropical North Pacific. *Geochemistry Geophysics Geosystems*, **19**, 2212-2224.
- ⑤ Camuera, J., Jiménez-Moreno, G., Ramos-Román, M. J., García-Alix, A., Toney, J. L., Anderson, R. S., Jiménez-Espejo, F., Kaufman, D., Bright, J., Webster, C., Yanes, Y., Carrión, J. S., Ohkouchi, N., Suga, H., Yamame, M., and Yokoyama, Y., and Martínez-Ruiz, F. (2018) Orbital-scale environmental and climatic changes recorded in a new ~200,000-year-long multiproxy sedimentary record from Padul, southern Iberian Peninsula. *Quaternary Science Reviews*, **198**, 91-114.
- ⑥ Kajita, H., Kawahata, H., Wang, K., Zheng, H., Yang, S., Ohkouchi, N., Utsunomiya, M., Zhou, B., and Zheng, B. (2018) Extraordinarily frequent and abrupt cold episodes around 4.2 ka in eastern China - collapse of the earliest rice cultivating civilization in Yangtze delta. *Quaternary Science Reviews*, **201**, 418-428.
- ⑦ Isaji, Y., Kawahata, H., Kuroda, J., Yoshimura, T., Ogawa, N. O., Suzuki, A., Shibuya, T., Jimenez-Espero, F. J., Lugli, S., Santulli, A., Manzi, V., Roveri, M., and Ohkouchi, N. (2017) Influence of biological processes on the chemical composition of the brine along increasing salinity in the shallow hypersaline environment of the Trapani (Italy). *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **208**, 354-367.
- ⑧ Yoshikawa, C., Abe, H., Aita, M.N., Breider, F., Kuzunuki, K., Ogawa, N.O., Suga, H., Ohkouchi, N., Danielche, S.O., Wakita, M., Honda, M.C., Toyoda, S., and Yoshida, N. (2016) Insights into the production processes of nitrous oxide in the western North Pacific using a marine ecosystem isotopomer model. *Journal of Oceanography*, **72**, 491-508.
- ⑨ Naeher, S., Suga, H., Ogawa, N. O., Takano, Y., Grice, K., and Ohkouchi, N. (2016) Distributions and compound-specific isotopic signatures of sedimentary chlorins reflect the composition of phototrophic communities and carbon and nitrogen sources in Swiss lakes and the Black Sea. *Chemical Geology*, **443** 210-219.

[学会発表] (計 6 件)

- ① Isaji, Y., Kawahata, H., Takano, Y., Ogawa, N. O., Kuroda, J., Yoshimura, T., Lugli, S., Manzi, V., Roveri, and Ohkouchi, N., Porphyrins reveal modes of nitrogen cycle controlled by chemocline depth under density-stratified condition during the Messinia Salinity Crisis. JpGU 2018, 2018/5/22
- ② Yoshikawa, C., Makabe, A., Matsui, Y., Nunoura, T., and Ohkouchi, N., Nitrate isotope distributions in the subarctic and subtropical North Pacific. JpGU 2018, 2018/5/22
- ③ 吉川千里, 重光雅仁, 山本林友, 岡頭, 大河内直彦, 海洋窒素同位体モデルで窒素同位体比の季節変化の海域特性を明らかにする。2018 年度日本地球化学会年会, 2018/9/11
- ④ 小川奈々子, 吉川千里, 菅寿美, 眞壁明子, 松井洋平, 川口慎介, 藤木徹一, 原田尚美, 大河内直彦, 海洋における光合成物質循環: クロロフィル化合物レベル窒素同位体による解析。2017 年度日本地球化学会年会, 2017/9/13
- ⑤ Isaji, Y., Kawahata, H., Takano, Y., Ogawa, N. O., Kuroda, J., Yoshimura, T., Lugli, S., Manzi, V., Roveri, and Ohkouchi, N., Nitrogen isotopic composition of porphyrins indicate importance of N₂-fixation during the deposition of organic-rich sediments. 28th International Meeting on Organic Geochemistry, 2017/9/18
- ⑦ Ohkouchi, N. Widening the application of compound-specific isotope analysis to less volatile molecules. Goldschmidt Conference, 2016/6/29

[その他]

研究代表者のホームページ

<http://www.jamstec.go.jp/res/ress/nohkouchi/>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名: 吉川 千里

ローマ字氏名: YOSHIKAWA, Chisato

所属研究機関名: 国立研究開発法人海洋研究開発機構

部局名: 生物地球化学研究分野

職名: 技術研究員

研究者番号 (8 桁): 40435839

(2) 研究協力者

研究協力者氏名: 近本 めぐみ

ローマ字氏名: CHIKAMOTO, Megumi

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。