

令和 3 年 6 月 11 日現在

機関番号：82708

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K24396

研究課題名（和文）海洋における易分解性溶存有機態リンの供給・消費過程の解明

研究課題名（英文）Elucidation of the production and consumption processes of labile dissolved organic phosphorus in the ocean

研究代表者

山口 珠葉（Yamaguchi, Tamaha）

国立研究開発法人水産研究・教育機構・水研機構（横浜）・研究員

研究者番号：30845293

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000 円

研究成果の概要（和文）：易分解性溶存有機態リン（LDOP）は、栄養塩の乏しい海洋環境において生物生産を支える重要な化合物の一つである。本研究は、このLDOPが環境中へ供給される生物学的プロセスの一つとして、微小動物プランクトンの捕食による影響を初めて実証した。加えて、この捕食行動に伴うLDOP供給は現場濃度の変動を十分説明できるほど大きかったことから、LDOP動態そのものにおいても重要なプロセスであることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

海洋における溶存有機物、とりわけLDOPの動態については未だ不明な点が多いことから、その供給プロセスにおける微小動物プランクトンの捕食の重要性を定量的に評価したことで、その起源に迫る新規知見が得られた。一般に「海の砂漠」と称される貧栄養海域ではあるが、その全球的な生物生産の規模は大きく、今回それを支える栄養塩動態の一端が明らかになったことで、将来的に持続可能なよりよい海洋利用へ繋がると期待される。

研究成果の概要（英文）：Labile dissolved organic phosphorus (LDOP) is one of the important nutrients for primary production in the oligotrophic ocean. Here we demonstrated the grazing effect of microzooplankton on the production of LDOP for the first time. Because the estimated production rate was sufficient enough to explain the actual fluctuation of LDOP concentration in the field, it was indicated that microzooplankton plays an essential role in the dynamics of LDOP.

研究分野：生物海洋学

キーワード：貧栄養海域 リン 溶存有機物

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

海洋において、リンは基礎生産を担う植物プランクトンなどの主要な増殖制限要因である。しかしながら、成層の発達した貧栄養海域では表層のリン酸塩がナノモルレベルまで枯渇するため、微生物群集は細胞外酵素などを用いて溶存有機態のリンを活用することが知られている (Yentsch et al. 1972)。このとき、微生物によって活用される画分は易分解性溶存有機態リン (LDOP) と呼ばれ、貧栄養海域における重要な代替リン源となる。

LDOP の検出には高感度比色分析法 (Hashihama et al. 2009) が必要不可欠なため、これまで技術的な制約で知見が限られてきたが、近年北太平洋亜熱帯域にて広域的な水平・鉛直分布傾向が報告されるなど (Yamaguchi et al. 2019, 2021)、その動態が明らかになりつつある。LDOP 動態の網羅的な把握には、こうした現場貯留の大きさだけでなく、その供給・消費メカニズムの解明もまた欠かせない要素となる。LDOP は海水中の酵素活性などからその消費過程については比較的簡便に推察できる一方、その供給過程に着目・実証した研究例は未だない。そもそも、LDOP のみならず海洋における溶存有機物そのものの供給過程に関する研究は未だ不十分であり、無機態栄養塩の枯渇した貧栄養海域における生物生産を支えるメカニズム解明のためにも、その供給プロセスについて詳細を明らかにすることが求められる。

2. 研究の目的

上記をふまえ、本研究では貧栄養海域において重要な代替リン源となる LDOP の供給・消費メカニズム、とりわけその供給過程について解明することを目的とした。溶存有機物の主な供給過程としては、例えば健康な細胞からの滲出や排出の他 (Karl & Bjorkman 2015)、捕食やウイルス浸食に伴う細胞損傷や崩壊による漏出 (Roy et al. 1989)、多細胞生物の代謝に伴う排泄 (LeBorgne 1986) などが挙げられる。その中でも、貧栄養海域では微生物ループを介した再生生産がさかんであることから、本研究では微小動物プランクトンによる捕食を介した LDOP の供給過程 (以降捕食-供給プロセスと称する) に着目し、以下のような希釈培養実験を通してその検証を行った。

3. 研究の方法

漁業調査船「蒼鷹丸」による調査航海に参加し、夏季から冬季にかけて船上希釈培養実験を計 5 回実施した。黒潮流軸以南の貧栄養海域における表層 10 m 層から、100 μm のメッシュまたは 0.2 μm のカートリッジフィルタを通した海水を採集し、各 5 L のロンテナに 0, 10, 100% 希釈系列を作成した。一部のボトルには硝酸塩とリン酸塩をそれぞれ 1 μM 、200 nM 添加したのち、50% 遮光布を被せたうえで甲板のかけ流し水槽にて 1 あるいは 3 日間培養した。培養後は各種フィルター試料や固定サンプルを持ち帰り、クロロフィル濃度の分析、検鏡によるマイクロプランクトン群集やフローサイトメーターによるピコナノプランクトン群集の解析に供した。また、高感度比色分析法 (Hashihama et al. 2009, 2013) を用いてリン酸塩および LDOP 濃度について分析を行った。

希釈培養実験において、各プランクトン群集の正味の成長速度 (μ) は、 t 日後における現存量 (P_t) や希釈率 (X ; 現場海水の割合) などにより以下の式で表される (Landry et al. 1995)。

$$\mu = \frac{1}{t} * \ln\left(\frac{P_t}{P_0}\right) = \mu_0 - m * X \quad (\text{式 1})$$

ここで、式 1 の傾き (m) は各群集に対する微小動物プランクトンの摂食速度、切片 (μ_0) は各群集の最大成長速度を示す。この式をもとに、プランクトンの対数増殖に伴い栄養塩の消費量が対数的に減少すると仮定すると、栄養塩の正味の変動速度 (μ_L) は次のように表されるとした。

$$\mu_L = \frac{1}{t} * \ln\left(\frac{L_t}{L_0}\right) = \mu_{0,L} + m_L * X \quad (\text{式 2})$$

ここで、 L_t は t 日後の LDOP 濃度であり、傾き (m_L) は捕食に伴う LDOP 供給速度となる。また、切片 ($\mu_{0,L}$) は LDOP の最大変動速度であり、 μ_0 における群集全体の LDOP 収支が供給・消費のどちらへ傾くかの指標となる。

4. 研究成果

秋季の SY1911 航海および冬季の SY2001 航海における初期環境条件およびプランクトン群集組成について表 1 および図 1 に示す。測点位置はどちらも変わらず黒潮外側域にあったものの、秋季は硝酸塩とリン酸塩が枯渇した一方、冬季では余剰に残存していた。このことから秋季の方がより厳しい栄養塩制限下にあり、代替リン源としての LDOP の重要性も高かったことが考えられる。それに伴い、秋季では渦鞭毛藻類が優占する低クロロフィル環境であったのに対し、冬季は珪藻類が優占する高クロロフィル環境であった。ピコナノサイズの群集では常に従属バクテリアが優占したものの、冬季にはその現存量は低下し、ピコナノ藻類の割合が増加した。捕食者となる微小動物プランクトン群集は、いずれの季節も無殻繊毛虫類が個体数でおよそ 80% 以上を占めた。

表 2 には、希釈実験より得られた各種パラメータについて示した。秋季の 2 系列および冬季の 3 日培養系列では希釈率が高いほど正味の LDOP 変動速度 (μ_L) が高く、捕食に伴う LDOP 供給速度 (m_L) が正の値となることが示された。このことから、当初の仮説通り、微小動物プランクトンによる捕食-供給プロセスによって LDOP が水柱内へ供給されることが初めて実験的に明らかとなった。さらに、これら 3 系列では LDOP の最大変動速度 (μ_{0L}) は負であり、群集全体から滲出する LDOP がそれらの増殖によって消費される LDOP によって打ち消される程度に少ないことが示された。

季節間で m_L を比較すると、冬季よりも秋季の方が総じて高く (表 2)、これには各プランクトン群集の現存量や摂食速度 (m) などが関連したと考えられる。まず秋季の 1 日培養系列では、従属バクテリアにおける m , μ_0 (最大成長速度) がともに最も高く、クロロフィル群集と比べてそれぞれ 13 または 21 倍高かった。文献値 (Lee & Furman 1987, Taylor et al. 1997) を用いた炭素量換算の生物量では、従属バクテリアはクロロフィル群集のおよそ半分に相当したことから、秋季の高い m_L は主に従属バクテリアに対する捕食に起因すると考えられた。従属バクテリアが主要な LDOP 供給源となりうることは、秋季の栄養塩添加系列において各植物プランクトン群集の m , μ_0 がいずれも増加したにもかかわらず、 m_L が 1 日培養系列とほぼ変わらなかったことから支持される (表 2)。一方で、冬季の 3 日培養系列では従属バクテリアの現存量および m , μ_0 がいずれも低く (表 1, 2)、またピコナノ群集における藻類の割合が増加したこと (図 1)、これらピコナノ藻類における LDOP 供給源としての重要性が相対的に高まったと考えられた。

また冬季の 1 日培養系列の結果からは、上記とは異なる LDOP 供給プロセスが卓越し、またその影響は日単位のタイムスケールで変化しうることが示唆された。 m_L が負、かつ μ_{0L} が正となるためには、LDOP 収支に主たる影響を及ぼしたプランクトン群集が高い現存量を示し、かつ負の m , μ_0 となる必要があるが、ここであてはまるのはクロロフィル群集、すなわちそれを代表する珪藻類のみと考えられた (図 1, 表 2)。ここで、 m , μ_0 が負であるとは、常に群集の成長よりも自然死亡が卓越し、かつ希釈による捕食者の除去効果がみられないことを意味する。このことは珪藻類がその形状やサイズなどにより微小動物プランクトンに食べられにくいとする報告 (Pierce & Turner 1992) と合致する。したがって、この系列における高い μ_{0L} は主に珪藻類の自然死細胞からの滲出であることが考えられたほか、リン酸塩が余剰に存在していたことも他群集の成長による LDOP 取込を抑え、 μ_{0L} を高める一因になった可能性がある。しかしながら、最終的に 3 日培養系列では m_L が正、 μ_{0L} が負へと転じていたことを鑑みるに、細胞滲出を主とする LDOP 供給経路は次第に捕食-供給プロセスにより打ち消されるような短期的なものであることが推察された。

今回実測した m_L をもとに、現場海洋における LDOP 濃度の変動速度 (~ 0.2 nM/h, 山口 2019) に対する捕食-供給プロセスの寄与について検証を行った。先述の 3 系列における正の m_L 、ならびに先行研究における表層の平均 LDOP 濃度 8 nM から、捕食に伴う LDOP 濃度の時間変化を算出したところ 0.06-0.25 nM/h となり、先の変動速度とほぼ同じオーダーであることが示された。LDOP の供給経路としては、捕食-供給プロセス以外にも細胞滲出や大型動物プランクトンからの排泄などが挙げられるが、後者は現場 LDOP 貯留の 1.3% 程度である (山口 2019) ほか、前者も特に貧栄養環境では無視できる程度に小さいことが本研究により明らかになった。以上より、本研究にて着目した微小動物プランクトンによる捕食-供給プロセスは、想定される他の LDOP 供給経路の中でも極めて重要なものであることが示唆された。今後は残り 3 航海の実験結果と併せて捕食-供給プロセスについてより多角的かつ幅広いタイムスケールにおける検証を重ねることで、貧栄養海域における LDOP の供給・消費過程について統合的な理解が深まるものと期待される。

表 1 各航海における初期環境条件

| Cruise | SY1911 | SY2001 |
|---|-------------|-------------|
| Season | 2019 Nov | 2020 Jan |
| Location | 30°N, 138°E | 30°N, 138°E |
| Temperature [°C] | 24.9 | 21.3 |
| Salinity | 34.55 | 34.69 |
| NO ₃ +NO ₂ [μM] | nd | 0.27 |
| SiO ₂ [μM] | 1.32 | 1.52 |
| PO ₄ [μM] | nd | 0.03 |
| PO ₄ [nM] | nd | 38 |
| LDOP [nM] | 9 | 11 |
| Chlorophyll [μg/L] | 0.13 | 0.55 |
| Heterotrophic bacteria [*10 ⁵ cells/mL] | 4.93 | 1.18 |

nd = not detected

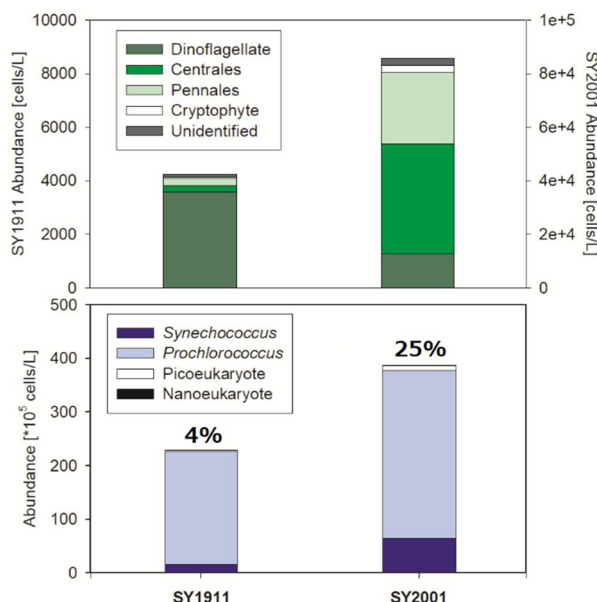


図 1 各航海におけるマイクロおよびピコナノ藻類群集組成 (数値%はピコナノ群集全体に占める藻類の割合)

表2 各群集別の成長・摂食速度およびLDOPの供給・変動速度

| m [day] | Cruise | SY1911 | | SY2001 | |
|------------------------|-------------------|--------|---------|--------|-------|
| | Incubation period | 1day | 1day+NP | 1day | 3day |
| LDOP (m_L) | | 0.56 | 0.54 | -0.16 | 0.16 |
| Chlorophyll | | 0.14 | 0.14 | -0.17 | -0.09 |
| Heterotrophic bacteria | | 2.88 | 3.08 | 0.37 | 0.16 |
| <i>Synechococcus</i> | | 0.33 | 0.70 | 0.78 | 0.06 |
| <i>Prochlorococcus</i> | | 0.23 | 0.82 | 0.29 | 0.27 |
| Picoeukaryote | | -0.20 | 0.66 | -0.13 | -0.08 |
| Nanoeukaryote | | -2.11 | -0.37 | 0.50 | 0.29 |

| μ_0 [day] | Cruise | SY1911 | | SY2001 | |
|------------------------|-------------------|--------|---------|--------|-------|
| | Incubation period | 1day | 1day+NP | 1day | 3day |
| LDOP (μ_{0L}) | | -0.07 | -0.19 | 0.64 | -0.09 |
| Chlorophyll | | 0.23 | 0.56 | -0.07 | -0.03 |
| Heterotrophic bacteria | | 2.93 | 3.11 | 0.90 | 0.70 |
| <i>Synechococcus</i> | | 0.46 | 0.69 | 0.23 | 0.63 |
| <i>Prochlorococcus</i> | | -0.30 | 0.18 | -0.03 | 0.34 |
| Picoeukaryote | | -0.10 | 0.47 | -0.12 | 0.22 |
| Nanoeukaryote | | -1.73 | 0.64 | 0.37 | 0.47 |

+NP; addition of nitrate and phosphate

引用文献

- Hashihama, F., Furuya, K., Kitajima, S., Takeda, S., Takemura, T., and Kanda, J. (2009). Macro-scale exhaustion of surface phosphate by dinitrogen fixation in the western North Pacific. *Geophys. Res. Lett.* 36, 2–6. doi:10.1029/2008GL036866.
- Hashihama, F., Kinouchi, S., Suwa, S., Suzumura, M., and Kanda, J. (2013). Sensitive determination of enzymatically labile dissolved organic phosphorus and its vertical profiles in the oligotrophic western North Pacific and East China Sea. *J. Oceanogr.* 69, 357–367. doi:10.1007/s10872-013-0178-4.
- Karl, D. M., and Björkman, K. M. (2015). *Dynamics of Dissolved Organic Phosphorus*. Second Ed., eds. D. Hansel and C. Carlson Amsterdam: Elsevier Inc. doi:10.1016/B978-0-12-405940-5.00005-4.
- Landry, M. R., Kirshtein, J., and Constantinou, J. (1995). A refined dilution technique for measuring the community grazing impact of microzooplankton, with experimental tests in the central equatorial Pacific. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 120, 53–64. doi:10.3354/meps120053.
- Le Borgne, R. (1986). “The release of soluble end products of metabolism,” in *The biological chemistry of marine copepods*, eds. E. D. S. Corner and M. S. C. O’Hara (Oxford University Press), 109–164.
- Lee, S., and Fuhrman, J. E. D. A. (1987). Relationships between biovolume and biomass of naturally derived marine bacterioplankton. *Deep Sea Res. Part B. Oceanogr. Lit. Rev.* 34, 1069. doi:10.1016/0198-0254(87)96080-8.
- Pierce, R. W., and Turner, J. T. (1992). Ecology of Planktonic Ciliates in Marine Food Webs. *Rev. Aquat. Sci.* 6, 139–181.
- Roy, S., Harris, R. P., and Poulet, S. A. (1989). Inefficient feeding by *Calanus helgolandicus* and *Temora longicornis* on *Coscinodiscus wailesii*: quantitative estimation using chlorophyll-type pigments and effects on dissolved free amino acids. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 52, 145–153.
- Taylor, A. H., Geider, R. J., and Gilbert, F. J. H. (1997). Ratios: Results of a Modelling Study. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 152, 51–66.
- Yamaguchi, T., Sato, M., Hashihama, F., Ehama, M., Shiozaki, T., Takahashi, K., et al. (2019). Basin-scale variations in labile dissolved phosphoric monoesters and diesters in the central North Pacific Ocean. *J. Geophys. Res. Ocean.*, <https://doi.org/10.1029/2018JC014763>. doi:10.1029/2018JC014763.
- Yamaguchi, T., Sato, M., Hashihama, F., Kato, H., Sugiyama, T., Ogawa, H., et al. (2021). Longitudinal and Vertical Variations of Dissolved Labile Phosphoric Monoesters and Diesters in the Subtropical North Pacific. *Front. Microbiol.* 11. doi:10.3389/fmicb.2020.570081.
- Yentsch, C. M., Yentsch, C. S., and Perras, J. P. (1972). Alkaline phosphatase activity in the tropical marine blue-green alga, *Oscillatoria erythroa* (“*Trichodesmium*”). *Limnol. Ocean.*, 772–774.
- 山口珠葉 (2019) 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. 東京大学大学院農学生命科学研究科博士論文.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 2件）

| | |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名 Yamaguchi T, Sato M, Gonda N, Takahashi K, Furuya K | 4. 巻 85 |
| 2. 論文標題 Phosphate diester utilization by marine diazotrophs <i>Trichodesmium erythraeum</i> and <i>Crocospaera watsonii</i> | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Aquatic Microbial Ecology | 6. 最初と最後の頁 211 ~ 218 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3354/ame01951 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|--------------------|
| 1. 著者名 Yamaguchi Tamaha, Sato Mitsuhide, Hashihama Fuminori, Kato Haruka, Sugiyama Takanori, Ogawa Hiroshi, Takahashi Kazutaka, Furuya Ken | 4. 巻 11 |
| 2. 論文標題 Longitudinal and Vertical Variations of Dissolved Labile Phosphoric Monoesters and Diesters in the Subtropical North Pacific | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Frontiers in Microbiology | 6. 最初と最後の頁 1-16 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fmicb.2020.570081 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 - |

| | |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名 Yamaguchi Tamaha, Sato Mitsuhide, Hashihama Fuminori, Ehama Makoto, Shiozaki Takehei, Takahashi Kazutaka, Furuya Ken | 4. 巻 124 |
| 2. 論文標題 Basin Scale Variations in Labile Dissolved Phosphoric Monoesters and Diesters in the Central North Pacific Ocean | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Geophysical Research: Oceans | 6. 最初と最後の頁 3058 ~ 3072 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1029/2018JC014763 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

| |
|---|
| 1. 発表者名 Yamaguchi Tamaha, Takahashi Kazutaka, Sato Mitsuhide, Furuya Ken |
| 2. 発表標題 Stimulated phosphorus utilization of microbes by zinc and iron addition in the western North Pacific |
| 3. 学会等名 日本海洋学会秋季大会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 山口珠葉・佐藤光秀・権田夏月・高橋一生・古谷 研 |
| 2. 発表標題 海産窒素固定性シアノバクテリアにおけるリン酸ジエステル利用能 |
| 3. 学会等名 日本海洋学会秋季大会 |
| 4. 発表年 2019年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|---------------------------|-----------------------|----|
| | | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
| | |