

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 年 月 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22710001

研究課題名（和文）微小画分の窒素固定速度定量－海洋窒素ミッシングソースを求めて－

研究課題名（英文）Determination of total N_2 fixation in the ocean taking into account both the particulate and filtrate fractions

研究代表者

中川 書子（NAKAGAWA FUMIKO）

北海道大学・大学院理学研究院・助教

研究者番号：70360899

研究成果の概要（和文）：現在の海洋における結合態窒素収支のアンバランスを解決するために、過小評価されていると考えられている「窒素固定フラックス」について、申請者らが開発した「高感度 ^{15}N -PON(粒状有機態窒素)・ ^{15}N -TDN(溶存態窒素)法」を用いて見直しを行った。従来の低感度 ^{15}N -PON 法では出来なかった微小画分〔0.7mm 以下の PON+TDN〕への窒素固定速度定量を行うことにより、正確で精度の良い窒素固定フラックスの定量を試み、過小評価分を評価した。

研究成果の概要（英文）：Using the $^{15}N_2$ tracer method and high-sensitivity stable nitrogen isotopic composition analytical systems, we determined N_2 fixation rates for ocean samples by dividing them into particulate and filtrate fractions. While N_2 fixation in the filtrate fraction had been ignored in previous studies, we found a significant N_2 fixation rates in the filtrate fraction in our study.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2011年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：環境学・環境動態解析

キーワード：窒素固定速度・PON 画分・TDN 画分・海洋・窒素同位体組成

1. 研究開始当初の背景

海洋の窒素（N）循環は生物生産や炭素循環に深く関わっており、水産資源や地球環境問題を検討する上でも、その定量化や時間変化の解明は非常に重要な課題である。海洋では N の大部分が窒素ガス（ N_2 ）として存在し、

相対的に僅かな部分が結合態窒素〔粒状有機態窒素(PON)、溶存有機態窒素(DON)、溶存無機態窒素(DIN){硝酸イオン(NO_3^-)・亜硝酸イオン(NO_2^-)・アンモニア(主に NH_4^+)}の総称〕として循環している。好氣的な海洋環境では、有機態窒素は微生物によって無機化さ

れて最終的には酸化数の一番大きな NO_3^- になり、再び生物に利用される。しかし、海洋堆積物や海水の貧酸素層など一部の嫌気的環境においては、脱窒反応や嫌気的アンモニア酸化反応によって DIN が N_2 化する反応が進行し、海洋環境から生物が利用可能な N が失われてしまう。この失われた N を補う反応が、海洋中の一部の生物にしかできない窒素固定 (N_2 を生物一般が利用できる結合態窒素に変換する反応) であり、 NO_3^- の供給が乏しい亜熱帯海域を中心に反応が進行していると考えられている。

最新の結合態窒素収支の見積もり (Codispoti, 2007) によると (図 1)、シンクの方がソースに比べて約 230TgN/yr 大きく見積もられており (約 5 千年で海洋全体の結合態窒素が無くなる)、それを補うだけの大きな窒素固定フラックスの存在が示唆されている。さらに、近年、これまで窒素固定を行なう生物として考慮されていなかった微小な単細胞藍藻類や単細胞細菌プランクトンが海洋の窒素固定担体として大きな割合を占めている可能性が高いことがわかってきており、定量法を含めて従来の見積もり値の見直しが必要である。

2. 研究の目的

海洋の窒素固定速度を直接定量する方法として、窒素固定生物(実際には窒素固定生物がその一部を構成する PON)を $^{15}\text{N}_2$ 雰囲気下で培養し、その $\delta^{15}\text{N}$ 値の変化速度から見積もる ^{15}N -PON 法が一般的である。しかし、この方法ではガラス繊維ろ紙 (GF/F: 孔径 $0.7\mu\text{m}$) で回収された有機物のみを定量するため、窒素固定生物の排泄物や分解物などの溶存態窒素 (TDN = DON + DIN) として固定された ^{15}N や $0.7\mu\text{m}$ 以下の生物による窒素固定量が無視されており、窒素固定速度を過小評価

してしまう。そこで ^{15}N -PON 法で見逃していた窒素固定速度を見積もるために培養試料の TDN の $\delta^{15}\text{N}$ 値の変化速度を測定すること (^{15}N -TDN 法) が考えられるが、従来の $\delta^{15}\text{N}$ 定量法では感度が低いため TDN の $\delta^{15}\text{N}$ 値を測定することは難しかった。そこで申請者らは 4 年前より高感度で各種結合態窒素の $\delta^{15}\text{N}$ 値を定量する方法を開発することにより、PON, DON については従来の百分の一、各種 DIN については従来の千分の一の試料量で定量可能にした。

本研究では、現在の海洋における結合態窒素収支のアンバランスを解決するために、新しく開発した「高感度 ^{15}N -PON(粒状有機態窒素)・ ^{15}N -TDN(溶存態窒素)法」を用いて、過小評価されていると考えられている「窒素固定フラックス」の見直しを行うことを目的とした。従来の低感度 ^{15}N -PON 法では出来なかった微小画分 [0.7mm 以下の PON + TDN] への窒素固定速度定量を行うことにより、正確で精度の良い窒素固定フラックスの定量を行い、過小評価分を評価することを試みた。

3. 研究の方法

(1) 調査航海

調査は、貧酸素層での結合態 N の N_2 化速度が大きいことから、それを補う窒素固定速度も大きいと考えられる太平洋やインド洋で行った他、日本海や陸水環境でも行った。

(2) 培養実験

$^{15}\text{N}_2$ 雰囲気下で培養し、結合態窒素への ^{15}N 濃縮速度から窒素固定速度の見積もりを行った。窒素固定速度の深度分布をとるために、海水試料を深さ方向に 6 層以上採取し、総 PON や TDN の $\delta^{15}\text{N}$ 値変化速度を定量する培養実験を行った。また、窒素固定速度の時間変化を調べるために、6, 12, 18, 24 時

間培養を行った。特にTDN(大部分がDON)画分への窒素固定率に着目し、生物種や環境因子(栄養塩濃度、水温、日射量等)との関係を解析した。

(3) 各種結合態窒素の $\delta^{15}\text{N}$ 値定量

培養試料中の各種結合態Nの $\delta^{15}\text{N}$ 値について高感度分析手法を用いて定量する。具体的な手順としては、まずPON, DONについては、酸化剤を加え、オートクレーブに入れて高温(120°C)下で NO_3^- に変換する。 NO_3^- はカドミウム還元法によって NO_2^- 化した後、それをアジ化水素と反応させて一酸化二窒素(N_2O)に変換した後、連続フロー型気体質量分析法を用いた N_2O 窒素同位体定量システムを導入して $\delta^{15}\text{N}$ 値を定量する。

4. 研究成果

初夏の西部北太平洋の北緯10°から北緯40°までの海域の調査では、西部北太平洋の低緯度から中緯度域では窒素固定が活発に行われていることが分かった。さらに、従来は無視されていたTDN(大部分がDON)画分への海洋窒素固定速度を、新分析法により初めて直接定量化することに成功し、その速度はPON画分への海洋窒素固定速度に匹敵する大きさであることが見積もられた。特に北緯30°~40°におけるTDN画分への窒素固定率は4分の3程度と大きく、生物種の解析から主にトリコデスミウムによって固定された窒素が培養期間中に二次的に放出された結果であることが考えられた。これらの結果より、海洋の総窒素固定量の見積値は、従来の倍前後に増大する可能性があることが示唆された。インド洋や日本海については、調査時期において、窒素固定が殆ど行われていない結果となった。

5. 主な発表論文

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計4件)

(1) Konno, U., U. Tsunogai, D.D. Komatsu, S. Daita, F. Nakagawa, A. Tsuda, T. Matsui, Y.-J. Eum and K. Suzuki (2010) Determination of total N_2 fixation rates in the ocean taking into account both the particulate and filtrate fractions. *Biogeosciences*, 7, 2369-2377.

(2) Tsunogai, U., S. Daita, D.D. Komatsu, F. Nakagawa, and A. Tanaka (2011) Quantifying nitrate dynamics in an oligotrophic lake using $\Delta^{17}\text{O}$. *Biogeosciences*, 8, 687-702.

(3) Tsunogai, U., K. Kamimura, S. Anzai, F. Nakagawa, and D.D. Komatsu (2011) Hydrogen isotopes in volcanic plumes: Tracers for remote temperature sensing of fumaroles. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 75, 4531-4546.

(4) Komatsu, D.D., U. Tsunogai, K. Kamimura, U. Konno, T. Ishimura, and F. Nakagawa (2011) Stable hydrogen isotopic analysis of nanomolar molecular hydrogen by automatic multi-step gas chromatographic separation. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 25, 3351-3359.

[学会発表] (計24件)

(1) 角皆潤, 小松大祐, 中川書子 「硝酸の三酸素同位体組成を指標に用いた水環境中の窒素循環の定量化: 非培養・現場型の窒素同化速度定量法開発」(MIS023-04) 日本地球惑星科学連合 2011 年大会、幕張メッセ国際会議場、2011 年 5 月 22 日 (招待講演)。

(2) 中川書子, 小松大祐, 角皆潤, 梅田信 (2011) 「硝酸態窒素・三酸素同位体組成を指標に用いたポリビア熱帯氷河流域における窒素循環解析」(AHW023-07) 日本地球惑星科学連合 2011 年大会、幕張メッセ国際会議場、2011 年 5 月 25 日。

(3) 鈴木 敦之, 角皆 潤, 中川 書子, 小松大祐, 柴田 英昭, 福澤 加里部「植物体内に含まれる硝酸中に見つかった三酸素同位体異常」2011年度日本地球化学会第58回年会、北海道大学学術交流会館、2011年9月14-16日.

(4) 中川 書子, 角皆 潤, 小松 大祐, 久保篤史, 神田 穰太「硝酸の同位体組成を指標に用いた東京湾における窒素循環解析」2011年度日本地球化学会第58回年会、北海道大学学術交流会館、2011年9月16日.

(5) 中川 書子, 鈴木 敦之, 大山 拓也, 小松 大祐, 角皆 潤, 梅田 信, 柴田 英昭, 小畑 元, 田副 博文「170, 180, 15N をトレーサーに用いた陸水環境における溶存硝酸の起源および窒素循環の解析法」2011年度日本地球化学会第58回年会、北海道大学学術交流会館、2011年9月16日.

(6) 大山 拓也, 角皆 潤, 小松 大祐, 代田里子, 中川 書子, 野口 泉, 山口 高志, 佐藤 啓市, 大泉 毅, 坪井 一寛, 木戸 瑞佳「硝酸の三酸素同位体組成を指標に用いたNO_xの光化学反応過程の解析」2011年度日本地球化学会第58回年会、北海道大学学術交流会館、2011年9月14-16日.

(7) 大山 拓也, 小松 大祐, 代田 里子, 中川 書子, 角皆 潤, 野口 泉, 山口 高志, 佐藤 啓市, 大泉 毅, 坪井 一寛 (2011)「硝酸の三酸素同位体組成を指標に用いた大気硝酸の定量」(P3) 生物地球化学研究会10周年記念セッション、北海道大学地球環境科学研究所、2011年10月22日.

(8) 角皆 潤, 今野 祐多, 小松 大祐, 代田

里子, 伊豆田 岳志, 中川 書子, 津田 敦, 松井 崇人, Y.-J. Eum, 鈴木 光次 (2011)「海洋における生物窒素固定における溶存態の固定窒素生産」生物地球化学研究会10周年記念セッション、北海道大学地球環境科学研究所、2011年10月22日.

(9) 鈴木敦之, 角皆潤, 中川書子, 小松大祐, 柴田英昭, 福澤加里部 (2011)「植物体内に含まれる硝酸中に見つかった三酸素同位体異常」生物地球化学研究会10周年記念セッション、北海道大学地球環境科学研究所、2011年10月22日.

(10) 蓼沼 雪衣, 角皆 潤, 大山 拓也, 鈴木 敦之, 小松 大祐, 中川 書子, 田中 敦 (2011)「硝酸の三酸素同位体を指標に用いた貧栄養湖沼の窒素循環定量とその検証」生物地球化学研究会10周年記念セッション、北海道大学地球環境科学研究所、2011年10月22日.

(11) 南 翔, 佐久間 博基, 小松 大祐, 中川 書子, 角皆 潤, 田中 敦 (2011)「溶存酸素の三酸素同位体組成を指標に用いた成層水塊中での総一次生産量定量法開発：夏季支笏湖における観測結果」生物地球化学研究会10周年記念セッション、北海道大学地球環境科学研究所、2011年10月22日.

(12) 中川書子, 小松大祐, 角皆潤, 梅田信 (2011)「硝酸の同位体組成を指標に用いたボリビア Tuni 湖流域における窒素循環解析」生物地球化学研究会10周年記念セッション、北海道大学地球環境科学研究所、2011年10月22日.

(13) 佐久間博基, 小松大祐, 中川書子, 角

皆 潤 (2011) 「溶存酸素の三酸素同位体組成を指標に用いた西部北太平洋海域の総一次生産量分布」生物地球化学研究会10周年記念セッション、北海道大学地球環境科学研究院、2011年10月22日.

(14) Tsunogai, U., D.D. Komatsu, and F. Nakagawa (2011) Breakthrough in Isotope-Ratio Mass Spectrometry. Pre-seminar 2011 in Busan, Meeting on Isotope-ratio mass spectrometry, The Mass Spectrometry Society of Japan, Haeundae Grand Hotel in Busan, Korea, 23 November, 2011.

(15) Suzuki, A., U. Tsunogai, F. Nakagawa, D.D. Komatsu, H. Shibata, K. Fukuzawa (2011) Triple oxygen isotopic composition of nitrate in plants (P9). Meeting on Isotope-ratio mass spectrometry, The Mass Spectrometry Society of Japan, Haeundae Grand Hotel in Busan, Korea, 23 November, 2011.

(16) Ohayama, T., D.D. Komatsu, S. Daita, F. Nakagawa, U. Tsunogai, I. Noguchi, T. Yamaguchi, K. Sato, T. Ohizumi, K. Tsuboi (2011) Regional differences in the photochemical reaction paths of NO_x estimated from the 17O tracer of nitrate (P22). Meeting on Isotope-ratio mass spectrometry, The Mass Spectrometry Society of Japan, Haeundae Grand Hotel in Busan, Korea, 23 November, 2011.

(17) Tsunogai, U., D.D. Komatsu, S. Daita, G.A. Kazemi, F. Nakagawa, I. Noguchi, and J. Zhang (2010) Tracing the fate of

atmospheric nitrate deposited onto a forest ecosystem in eastern Asia using triple oxygen isotopes (solicited talk), European Geosciences Union General Assembly 2010, EGU2010-3841, Vienna, Austria, 02?07 May 2010.

(18) Komatsu, D.D., S. Daita, U. Konno, S.B. Ohkubo, F. Nakagawa, and U. Tsunogai (2010) The oxygen isotope anomaly of nitrate as tracer of atmospheric nitrate in marine nitrogen cycling. European Geosciences Union General Assembly 2010, EGU2010-9246, Vienna, Austria, 02?07 May 2010.

(19) 佐久間博基・小松大祐・中川書子・角皆 潤 (2010) 「溶存酸素の三酸素同位体組成から求めた西部北太平洋の総一次生産量及び水塊の挙動」日本海洋学会秋季大会、東京農業大学オホーツクキャンパス、2010年9月6-10日.

(20) 中川書子・角皆 潤・小松大祐・桑原潤・久保篤史・神田譲太 (2010) 「硝酸の同位体組成を指標に用いた東京湾における窒素循環解析」日本海洋学会秋季大会、東京農業大学オホーツクキャンパス、2010年9月6-10日.

(21) 今野祐多・角皆 潤・小松大祐・代田里子・伊豆田岳志・中川書子・津田敦・松井崇人・Y.-J. Eum・鈴木光次 (2010) 「生物窒素固定における溶存態の固定窒素生産」日本海洋学会秋季大会、東京農業大学オホーツクキャンパス、2010年9月6-10日.

(22) Tsunogai, U., Daita, S., Komatsu, D.D., Nakagawa, F., Tanaka, A. (2010) Tracing the fate of atmospheric nitrate

deposited onto an oligotrophic lake in eastern Asia (B51H-0459). 2010 AGU Fall Meeting, 13-17 December, Moscone Convention Center, San Francisco, California, USA.

(23) Komatsu, D.D., Tsunogai, U., Daita, S., Konno, U., Ohkubo, S.B. Nakagawa, F. (2010) Tracing atmospheric nitrate deposited onto western north Pacific ocean (B31C-0314). 2010 AGU Fall Meeting, 13-17 December, Moscone Convention Center, San Francisco, California, USA.

(24) Hirota, A., U. Tsunogai, D.D. Komatsu and F. Nakagawa (2010) Simultaneous determination of stable isotopic compositions of nitrous oxide ($\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{18}\text{O}$ of N_2O) and methane ($\delta^{13}\text{C}$ of CH_4) in nanomolar quantities from a single water sample (V51B-2200). 2010 AGU Fall Meeting, 13-17 December, Moscone Convention Center, San Francisco, California, USA.

[その他]

ホームページ等

<http://marchem.ep.sci.hokudai.ac.jp/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中川 書子 (NAKAGAWA FUMIKO)

北海道大学・大学院理学研究院・助教

研究者番号：70360899

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし