

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 19 日現在

機関番号：82706
研究種目：基盤研究(B) (一般)
研究期間：2013～2015
課題番号：25281013
研究課題名(和文)クロロフィル窒素同位体比による海洋窒素循環の解析

研究課題名(英文)Nitrogen cycle in the surface ocean

研究代表者

小川 奈々子(Ogawa, Nanako O.)

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・主任技術研究員

研究者番号：80359174

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,300,000円

研究成果の概要(和文)：植物プランクトンの光合成に伴う無機態窒素利用に関する知見の獲得を目的として、西部太平洋の亜寒帯・亜熱帯の2地点(K2, S1)の2012年から2015年の夏季ブルーム期間に、表層域のクロロフィル色素の窒素同位体比、一次生産者の光合成基質となる無機態窒素の濃度と窒素同位体比を測定した。得られたデータを分担者が開発した安定同位体海洋窒素循環モデルを用いて解析した結果、西部北太平洋における植物プランクトンによる栄養塩窒素利用バランスが定量的に復元された。研究成果の一部は査読論文および国際学会・国内学会にて発表され、他の成果も早期に論文および学会として発表するよう準備中である。

研究成果の概要(英文)：In this study, nitrogen isotopic compositions of chlorophyll and substrate nitrate were determined to investigate the nitrogen cycle in the photic zone, from two Pacific sites (Station K2 and Station S1). Samples were collected during summer blooms in 2012, 2013, 2014, and 2015 (MR12-02, MR13-04, MR14-04, KH15-J01). The observed nitrogen isotopic compositions of chlorophyll at the stations K2 and S2 were -10.5 to $+1.9\text{‰}$ and -0.5 to $+2.3\text{‰}$, respectively. It was suggested that the nitrogen isotopic distribution of chlorophyll can be explained by either (1) large isotopic fractionation during nitrate assimilation by phytoplankton, or (2) significant contribution of ammonia as a substrate for the photosynthetic nitrogen assimilation, at Station K2. By applying a quantitative nitrogen cycle model in the surface ocean (Yoshikawa et al., 2005), it was concluded that there was a large (>50%) contribution of ammonia as a substrate for the phytoplankton.

研究分野：生物地球化学

キーワード：クロロフィル 光合成 窒素同位体比 硝酸態窒素 化合物レベル同位体比 海洋窒素循環

1. 研究開始当初の背景

Haber-Bosch 法による大量の窒素固定は、膨大な無機態窒素の水界への再供給を通して、地球全体の窒素循環に大きな影響を与え続けている。一方で、窒素は海洋における光合成生物の成長をコントロールする主要な因子であり、多くの海域において窒素の分布や循環は生物生産量や生態系構造を決める重要な情報である。

したがって、海洋における窒素循環の解析において、窒素安定同位体比を用いた動態解析が数多く実施されてきた。しかし、実際の研究では、微小な植物プランクトンと動物プランクトン・生物遺骸・その他の有機物粒子とを分離して採取することは困難なため、これら混合物の情報から「一次生産者の代替データ」として用いられてきた経緯がある(図1)。このことが、窒素同位体比の解釈および解析を不明瞭にする一因となってきた。つまり、一次生産者情報の不正確さが、海洋表層における窒素循環研究、ひいては海洋表層の物質循環研究の進展を妨げる一つの側面となってきた。

2. 研究の目的

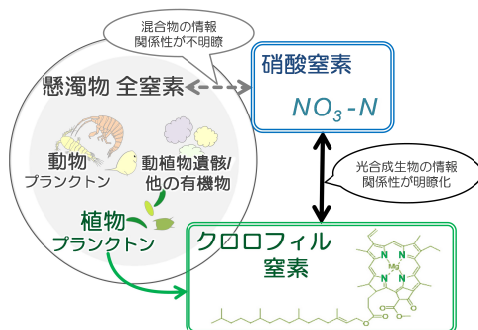


図1 懸濁物全窒素と化合物窒素 懸濁物試料には、植物プランクトンだけでなく、動物プランクトンやその遺骸、その他の粒子など様々な由来をもつ有機物類が混在している。こうした「混合物の情報」を一次生産者の代替値として用いて正確な解析結果を得ることは難しく、結果として曖昧な結論しか得られなくなるという事態が、往々にして発生する。化合物レベルの同位体分析技術を用いて、クロロフィルだけの情報を得られれば、より純粋な一次生産者情報を元にした、正確な解析を行うことが可能となる。

研究代表者のこれまでの研究経験をもとに、海洋表層水中に分布するクロロフィル a の窒素安定同位体比を測定し、一次生産者にも由来する純粋な窒素同位体比情報を得ることを第一の目的とする。調査海域は代表者の所属機関により長年の研究観測知見の蓄積がある西部太平洋の亜寒帯海域 K2 サイト (47° 00'N, 160° 00'E)、亜熱帯海域 S1

サイト(30° 00'N, 145° 00'E)を中心とする。得られた知見に分担者が構築してきた安定同位体海洋窒素循環モデルを適用し、窒素循環について定量的な理解を深めることを目的とする。

最も大きな特色は、植物プランクトンに直接由来する**クロロフィルを化合物レベルで抽出・精製し、その窒素同位体比情報を得る**ことである。化合物から得られた純粋な植物プランクトン情報由来の窒素同位体比情報と基質窒素(硝酸)の窒素同位体比情報について、分担者がこれまでに開発を進めてきた海洋物質循環モデルを適用することで、光合成生物を介する海洋窒素循環について正確性の高い定量的な解析結果を得る点である。

3. 研究の方法

純粋な一次生産者の情報を得ることを目的に、採取の容易な懸濁粒子試料を中心とした以下の手順で研究を進める。

(1) 懸濁態試料から抽出精製したクロロフィル色素の化合物レベル窒素同位体比測定
光合成色素であるクロロフィルを抽出し、単離・精製して測定することで、植物プランクトンの光合成による硝酸同化に関する、より直接的な窒素同位体比知見を得られる(図1)。

従来の手法では懸濁態中の全窒素(TN)同位体比の測定をもって「植物プランクトンの窒素データの代替」としてきた。懸濁態試料は植物プランクトンの他に、動物プランクトン、動植物遺骸、その他の様々な懸濁態有機物を含む混合物であり(図1)、その窒素同位体比情報における窒素同化のシグナルは、不明瞭にならざるを得なかった。本研究では、光合成に直接関連するクロロフィル色素の窒素同位体比情報を得ることで、海洋窒素の動態についてのより正確な知見を提供する。

(2) (1)と同時採取した海水中の硝酸態窒素の同位体比を測定する。

4. 研究成果

本研究課題では、本研究では「植物プランクトンの光合成に伴う無機態窒素利用」に関する知見の獲得を目的として、西部太平洋の亜寒帯・亜熱帯の2地点(K2, S1)の表層域(200m以浅)において、2012年から2015年の夏季ブルーム期間中に懸濁態試料および海水試料を採取し、そのクロロフィル色素の窒素同位体比、一次生産者の光合成基質となる無機態窒素の濃度と窒素同位体比を測定した。クロロフィル色素の分子レベル窒素同位体測定結果と、栄養塩濃度、硝酸態窒素同位体比のデータと、分担者が開発し本研究海域にあわせて再構築した安定同位体海洋窒素循環モデルを用いて、光合成における窒素

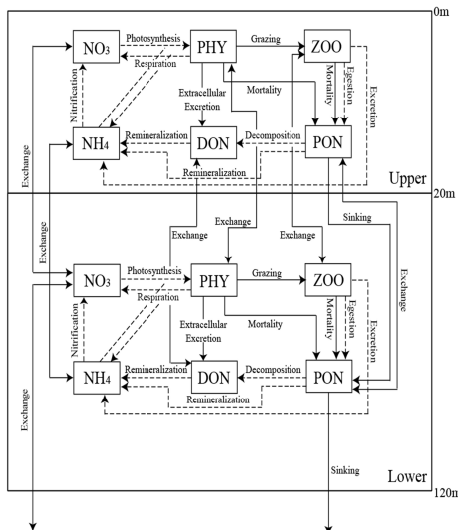


図2 海洋における窒素循環のモデル

(Yoshikawa et al. 2005)

植物プランクトン(PHY)、動物プランクトン(ZOO)、懸濁態有機物(PON)、溶存態有機物(DON)、硝酸(NO_3)、アンモニア(NH_4)。実線の矢印は同位体分別のないプロセス、破線の矢印は同位体分別のあるプロセスをそれぞれ示す。

利用の変化に関する解析が行われた。この結果、西部北太平洋における植物プランクトンによる栄養塩窒素利用バランスが定量的に復元された。

海洋表層試料は、海洋研究開発機構の海洋地球研究船「みらい」および学術研究船「白鳳丸」における2012年(平成24年)から2015年(平成26年度)の各研究航海(MR12-02, MR13-04, MR14-04, KH15-J01)において、200m以浅の海洋表層水にて分担者により採取されたものを用いた。クロロフィル分析における前処理手法および安定動態比測定システムの開発・改良には、海洋研究開発機構の横須賀本部で採取した表層海水試料および、上述の研究航海で採取された沿岸域の懸濁態試料を用いた。

懸濁態粒子はガラスファイバーフィルター上にろ過捕集され、クロロフィルは得られた懸濁態粒子より有機溶媒等を用いて抽出後、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用いて単離精製したのち、代表者が開発した超微量元素分析計安定同位体比測定システムにより、同位体比測定を行った。硝酸態窒素はクロロフィルと同水深の海水について濃度とその窒素同位体比が測定された。

本研究では海洋表層水試料に関する『ごく微量の成分を対象とした研究』であることを念に、研究期間の前半は、研究実施に必要な技術基盤の確立に特に注力した。具体的には、以下の3点についての検討を行った。

- (1) 海水試料ろ過による懸濁態試料捕集作業の簡便化
- (2) 懸濁態試料からのクロロフィル抽出手法の改良
- (3) 単離精製クロロフィル試料を測定する元素分析計・同位体比質量分析計における試料導入システムの高効率化

(1)については、採取した海水から船上でろ過を行う従来手法(船上ろ過法)のほか、

現場海水中に投下して直接ろ過をする大型ろ過装置(現場ろ過法)による採取手法を実施した。後者は前者の10倍以上のろ過を

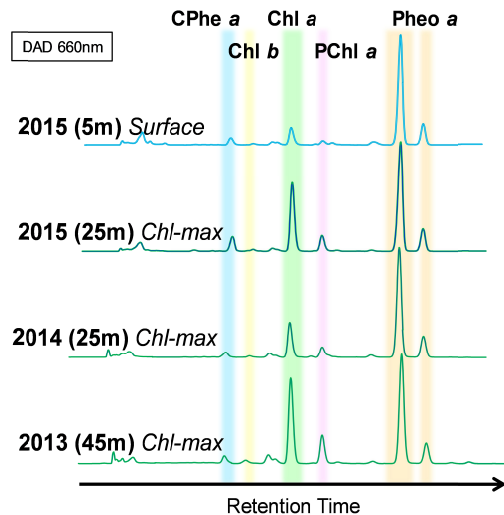


図3 K2 懸濁物中のクロロフィル色素

懸濁粒子から抽出されたクロロフィル色素のHPLCクロマトグラムの採取年(採取深度m)間での比較。2015(5m)(25m)は現場ろ過法、2014(25m)、2013(45m)は船上ろ過法で採取された。5m以外はクロロフィル濃度の極大深度で採取している。

実現することが可能であるが、ろ過速度が速く生物試料の破壊による化合物損失が懸念された。本研究で両者のクロロフィル分布を比較したところ、得られた内容に大きな変動はなく、現場ろ過法はクロロフィルの化合物レベル測定において有効な試料採取方法であることが確認された。

(2)・(3)についても平成26年度までに順当に実施され、懸濁態試料中のクロロフィル色素測定手法として一定の基準となる手法を確立させた。

研究期間の後半はこれらの技術を用いて、西部太平洋の亜寒帯・亜熱帯の2地点(K2, S1)で採取された試料を測定し、その安定同位体比データの解析を行った。

クロロフィル色素の分子レベル窒素同位体測定結果と、栄養塩濃度、硝酸態窒素同位体比のデータと、分担者が開発し本研究海域にあわせて再構築した安定同位体海洋窒素循環モデルを用いて、光合成における窒素利用の変化に関する解析が行われた。この結果、西部北太平洋における植物プランクトンによる栄養塩窒素利用バランスが定量的に復元された。

クロロフィル色素は沈降粒子や堆積物中でも長期にわたって保存されることから、その安定同位体比を用いた研究は、海洋表層域よりも堆積物コアや陸上・沿岸域の府営環境中の試料における研究が先行してきた(図4)。本研究で実際の海洋環境試料から得られ

た知見は、こうした堆積物等を利用した環境解析（古環境解析）研究に必要な基礎的知見となる。モデルを用いて定量的に解析する手法は、化合物レベル同位体比を用いた古環境解析研究に与える影響も大きいと期待している。

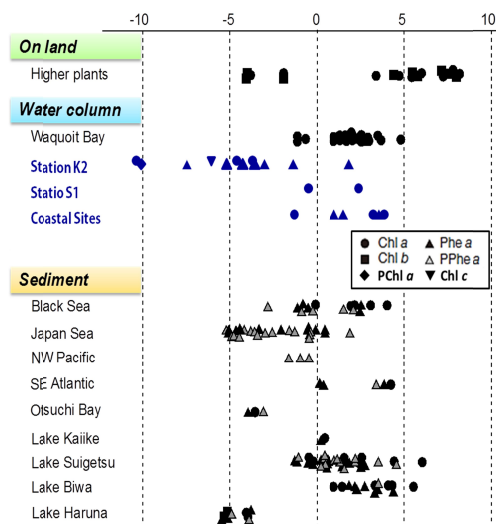


図4 K2, S1 とその他の環境試料中のクロロフィル色素同位体比分布

懸濁粒子から抽出されたクロロフィル色素の HPLC クロマトグラムの窒素同位体比分布。青い記号が本研究による結果。黒い記号は Ohkouchi & Takano (2013) Treatise on Geochemistry より抜粋。堆積物コアや陸上・沿岸域の府営用環境中の試料における研究が先行していることが伺える。

5. 主な発表論文等

(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1件)

Yoshikawa, C., Abe, H., Aita, M.N., Breider, F., Kuzunuki, K., Toyoda, S., Ogawa, N.O., Suga, H., Ohkouchi, N., Danielache, S.O., Wakita, M., Honda, M.C., and Yoshida, N. (2016) Insight into nitrous oxide production processes in the western North Pacific based on a marine ecosystem isotopomer model. *Journal of Oceanography*, 72(3), 491-508. (査読有) doi:10.1007/s10872-015-0308-2.

[学会発表](計12件)

Ogawa NO, Chisato Y, Suga H, Makabe A, Matsui Y, Yoshida O, Kawagucci S, Fujiki T, Harada N, Ohkouchi N Compound-specific nitrogen isotopic composition of chloropigments as a tool to access the N-cycle in the

surface ocean the 10th International Conference on the Applications of Stable Isotope Techniques to Ecological Studies (IsoEcol 2016) 2016/4/4 東京大学、東京都文京区 口頭発表

吉川 知里, 笹井義一, 脇田昌英, 本多牧生, 眞壁明子, 布浦拓郎, 松嶋修一郎, 豊田栄, 吉田尚弘, 小川奈々子, 菅寿美, 大河内直彦 分子内同位体比を用いた海洋N20モデルの開発 日本海洋学会 2016 年度春季大会 2016/3/17 東京大学、東京都文京区 口頭発表

Chisato Yoshikawa, Yoshikazu Sasai, Masahide Wakita, Makio C. Honda, Tetsuichi Fujiki, Naomi Harada, Akiko Makabe, Shuichiro Matsushima, Sakae Toyoda, Naohiro Yoshida, Nanako O. Ogawa, Hisami Suga, Naohiko Ohkouchi Insight into nitrous oxide production processes in the western North Pacific based on a marine ecosystem isotopomer model 2016 Ocean Science Meeting 2016/2/24 New Orleans, Louisiana, USA 口頭発表

小川奈々子, 吉川知里, 藤木徹一, 原田尚美, 大河内直彦「北太平洋亜寒帯域(K2サイト)におけるクロロフィルの窒素同位体比」2015 年度日本地球化学会年会(横浜国立大学、神奈川県横浜市、2015年9月17日)口頭発表

吉川知里, 笹井義一, 脇田昌英, 本多牧生, 眞壁明子, 松嶋修一郎, 豊田栄, 吉田尚弘, 小川奈々子, 菅寿美, 大河内直彦「海洋生態系 同位体分子種モデルを用いた西部北太平洋におけるN20生成プロセスの解明」2015 年度日本地球化学会第62回年会(横浜国立大学、神奈川県横浜市、2015/09/16)口頭発表

吉川知里 海洋窒素同位体モデリング 日本海洋学会ナイトセッション A:海洋若手研究交流会 2014年3月27日 東京海洋大学、東京都港区 口頭発表

OGAWA NO, Hisami SUGA, Chisato YOSHIKAWA, Naohiko OHKOUCI Ultra sensitive analysis of nitrogen isotope ratio and its application to chlorophyll for biogeochemical studies 2014 Ocean Sciences Meeting, 23-28 Feb. 2013, Honolulu, Hawaii

小川奈々子, 力石嘉人, 大河内直彦 アミノ酸から読みとく湖沼生態系の話 汽水域研究会 2013 年大会 2013 年 10

月27日、海洋研究開発機構横浜研、神奈川県横浜市（招待講演）

Ohkouchi N, Ogawa NO New insights into the marine nitrogen dynamics with new isotopic techniques, Symposium of nitrogen isotope 2013年9月6日 東京農工大学、東京都府中市（招待講演）

Yoshikawa C Insights into the production processes of N₂O in the western north Pacific by using a marine ecosystem model including nitrogen isotopes. Symposium of nitrogen isotope 2013年9月6日 東京農工大学、東京都

吉川知里、阿部瞳、野口真希、葛貫柱一、セバスチアンダニエラチェ、豊田栄、吉田尚弘、同位体分子種比を用いた西部北太平洋におけるN₂O生成メカニズムの解析、日本地球惑星科学連合大会 2013年大会、2013年5月12日 幕張メッセ、千葉県千葉市

OGAWA NO, Ultra sensitive stable isotope ratio analyses for ecological and biogeochemical studies, 第10回日独先端科学シンポジウム、2013年11月1日、京都ブライトンホテル、京都府京都市

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小川 奈々子 (OGAWA, Nanako O.)
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・主任技術研究員
研究者番号：80349174

(2) 研究分担者

吉川 知里 (YOSHIKAWA, Chisato)
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・技術研究員
研究者番号：40435839