

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 15 日現在

機関番号：12102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K13599

研究課題名(和文) 海洋蛍光性溶存態有機物の光化学反応と残存性 - バクテリアによる炭素長期隔離の鍵 -

研究課題名(英文) Photochemical reaction and stability of marine fluorescent dissolved organic matter - a key process of bacterial long-term isolation of carbon

研究代表者

濱 健夫 (HAMA, Takeo)

筑波大学・生命環境系・教授

研究者番号：30156385

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：バクテリアを起源とする蛍光性溶存態有機物(FDOM)の光化学的反応特性と有機物の残存性を評価するために、実験的解析を実施した。

静岡県下田沖の海水試料を用いて培養実験を実施し、FDOMの蛍光強度は、暗条件では昼夜を問わず上昇し、昼間の明条件下では減少する結果を得た。海洋表層では、バクテリアによりFDOMが昼夜を通して生成され、生成されたFDOMの蛍光は昼間に低下することが確認された。海水試料への光照射実験では、蛍光強度が大きな減少を示す一方で、有機炭素濃度は変化を示さなかった。バクテリア由来FDOMは、光照射下で蛍光が消光した後も、炭素は有機化合物として保持されていることが示唆される。

研究成果の概要(英文)：Experimental analysis was carried out to elucidate the photochemical reactivity of marine fluorescent dissolved organic matter (FDOM) derived from bacteria.

Sea water sample collected from Shimda Bay, Shizuoka, was incubated under light and dark conditions for 24 h. The fluorescence intensity increased under the dark condition throughout the incubation, whereas it showed decrease under light condition in daytime. These results confirmed that FDOM is produced by bacterial activity throughout the day and night time but quenching proceeds in the daytime in the oceanic surface layer.

Water sample collected was irradiated by a sun simulator corresponding. Fluorescence intensity decreased by 17-50% of the initial intensity showing the high photodegradability of the fluorophore of FDOM. Organic carbon, on the other hand, exhibited a little change during the exposure. This result strongly suggests that the lifetime of organic carbon of bacterial FDOM is much longer than its fluorescence.

研究分野：海洋物質循環

キーワード：蛍光性溶存態有機物 微生物炭素ポンプ 光化学反応

1. 研究開始当初の背景

海洋の溶存態有機物 (DOM) は炭素量として 700PgC に達し、地球表層の最大級の有機炭素リザーバーである。海洋 DOM の 90% 以上は、バクテリアの分解に対して耐性がある難分解性 DOM (RDOM) であり、数千年から一万年の「年齢」を有し、炭素の長期隔離物質として機能している。近年、この RDOM が海洋バクテリアにより生成されるとする「微生物炭素ポンプ」が提唱され、バクテリアによる RDOM 生成が炭素長期隔離機能を通して、気候変動にも関わっていることが示唆された。

バクテリアが生成する RDOM として、蛍光を有する FDOM が知られている。この蛍光強度は、海洋表層で弱く中深層で強い分布を示し、表層では光化学分解による FDOM の無機化が進行していると認識されてきた。

バクテリアの生物量が表層で高いことを考慮すると、バクテリアによる FDOM 生成も同様に表層で高いことが予想される。すなわち、FDOM の生産速度は、蛍光強度の鉛直分布とは逆のパターンを有し、「生産と濃度分布のパラドクス」の状況が予想される。

「生産と濃度分布のパラドクス」を解き明かす鍵は、FDOM の蛍光が消光した後の DOM (ポスト-FDOM) の存在である。パラドクスが成立するためには、(1) 表層で生産される FDOM の多くが、光化学反応により速やかに蛍光を失うこと、(2) 光化学反応では、FDOM の蛍光発色部位の構造が改変するのみで、化学構造の多くは「ポスト-FDOM」として残存すること、が条件となる。

2. 研究の目的

(1) 海洋表層から採取した自然微生物群集の培養実験を実施する。この際、明暗条件を設定することにより、FDOM 生成と分解 (消光) の過程を明らかにする。

(2) 沿岸から採取した海水試料を用いて、光照射装置を用いた光分解実験を実施する。得られた試料について、溶存有機炭素 (DOC) 濃度および蛍光成分の分析を実施し、「ポスト FDOM」の生成の可能性について議論する。

3. 研究の方法

(1) 海洋表層における FDOM の動態

外洋域 (北緯 32 度、東経 144 度) および沿岸域 (静岡県下田市鍋田湾) の 2ヶ所から採取した海水試料を用いて実験を行った。両測点ともに、採水時の試料、および栄養塩類 (N および P) を添加培養して植物プランクトンを増加させた試料を用いて、合計 4 回の実験を行った。

採取した試料は、紫外線を透過する石英瓶 (250 mL) に分取した。試料瓶は暗条件とした後、18 時から翌朝の 6 時まで水槽で培養を行った後、試料の一部を回収した。また、残りの培養瓶の半数は明条件、他は暗条件として 18 時まで培養を継続した。これにより、暗条件試料 (12 時間)、暗条件試料 (24 時間)

および暗-明条件 (12-12 時間) の 3 種類の試料を得た。

得られた試料はガラス繊維濾紙により濾過し、濾液に含まれる DOC 濃度を測定するとともに、蛍光分光光度計により蛍光特性を測定した。得られた蛍光情報については、Parallel Factor Analysis (PARAFAC) (Stedmon and Bro 2008) を行うことにより、構成成分に分割した。

(2) DOC と FDOM の光化学的安定性

下田市大浦湾の湾奥および湾口に測点を設定し、深度 1 m から海水試料を採取した。試料は孔径 0.2 μm のフィルターで濾過し、バクテリアを含む 0.2 μm 以上の粒子を除去した。濾過試料は石英瓶に移した後、人工光照射装置 (ATLAS 社製、SUNTEST XLS+) に設置し、摂氏 20 度で光を照射した。照射光は 765W^{-2} とし、0 (照射前)、1、2、3、4、12、24、48 時間の照射を行った。 765Wm^{-2} の照射は、我が国の夏季における自然光 1 週間に相当するため、本研究で実施した 48 時間の照射は、夏季自然状態の 2 週間分の太陽照射に相当する。

得られた試料について、(1) と同様に蛍光特性および DOC 濃度の測定を行った。

4. 研究成果

(1) 自然条件下における FDOM の生成と分解
外洋域および沿岸域で実施した 4 回の実験において得られた FDOM のデータを用いて PARAFAC 解析を実施した。その結果、C1 ~ C3 の 3 種類の蛍光成分が分離された (図 1)。

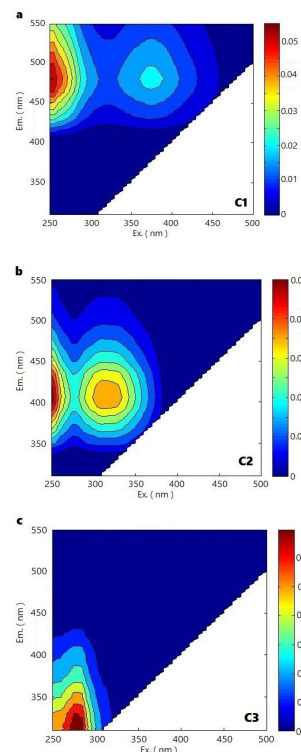


図 1 外洋域および沿岸域の試料に存在する FDOM の構成成分

これらの3成分は従来も海洋環境において普遍的に存在することが知られている。Goble (1996)を基準とすると、Component 1 (C1)は腐植様ピーク C、C2は腐植様ピーク M、C3はタンパク様と推定される。C1は、従来陸上において生成されると考えられてきたが、近年の研究から、海洋バクテリアによる生成が確認されている。C2は海洋腐植様 FDOM ともよばれるとおり、海洋を主たる起源としており、バクテリアにより生成されることが認められてきている。C3はアミノ酸が有する環構造に対応した蛍光であり、植物プランクトン、バクテリアなどの微生物を起源としている。

24時間の培養実験中を通して、これらの成分の蛍光強度は特徴的な変化を示した(図2)。C1の蛍光強度は、実施した4回の実験を通して、ほぼ同様の変化を示した。0から12時間の暗条件において、蛍光強度は増加を示し、増加の傾向は12から24時間においても、暗条件下でも認められた。一方、12時間後から明条件に設定した試料瓶では、蛍光強度の増加は認められず、2例(図2a、d)では比較的大きな減少を示した。C2およびC3においても、全体の変動の傾向はC1と類似していた。しかし、0-12時間の暗条件での増加はC1に比較して顕著ではなく、一方、12-24時間の明条件下での蛍光強度の低下は、C1に比較して顕著であった。

従来、FDOMの蛍光強度の変化について、現場に近い条件で明らかにした報告例はない。今回得られた結果は、海洋微生物の代謝により、FDOMが生成される過程を始めて明らかにすることができた。一方、12-24時間の明条件下では、多くの場合、蛍光強度の低下が認められた。4回の実験で得られた3成分の24時間後の蛍光強度は、ほとんどの場合(12例中11例)において、明条件と暗条件間に顕著な違いが認められた。この結果は、自然条件下において、バクテリアによる FDOM の生成は昼夜を問わず進行していること、また、日中には光化学的反応により FDOM の蛍光が消光することを示している。

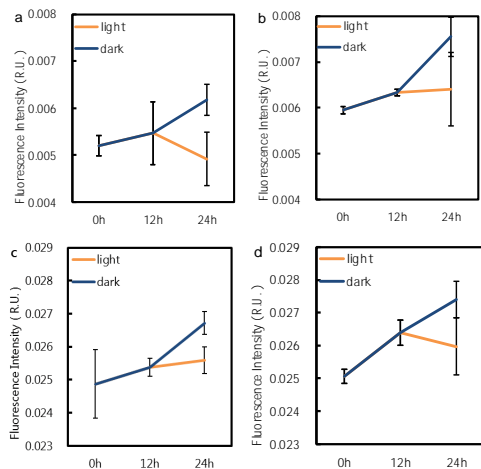


図2 C1 蛍光強度の時間的変化。外洋域(ab)および沿岸域(cd)試料。

FDOMの蛍光強度とバクテリアの代謝量とを比較するため、24時間の暗条件で得られたC1の蛍光強度の増加量と同時に測定した溶存酸素の減少量とを比較した(図3)。両者は正の相関($r=0.83$)を示した。溶存酸素濃度の減少はバクテリアの代謝量と考えられることから、本構成成分の生成がバクテリアによることが支持された。

(2)DOCとFDOMの光化学的安定性

湾奥および湾口部から採取した試水のDOC濃度は48時間の光照射の間、有意な変化は示さなかった(図3)。また、暗条件のコントロール試料と比較しても、両者の間の差は認められなかった。これは、今回実施した条件下では、DOCの無機炭素への無機化はほとんど進行しなかったことを強く示唆する。

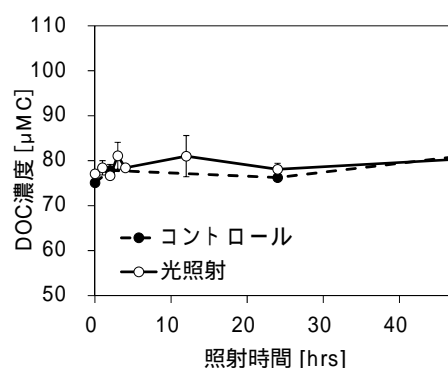


図3 湾口部試料の光分解実験におけるDOC濃度の変化

大浦湾の湾奥から湾口にかけて採取した試水のFDOMについてPARAFAC解析を実施したところ、(1)と同様にC1からC3まで3成分からなることが明らかとなった。これらFDOMを光分解実験に供したが、各構成成分の蛍光強度は、低下する傾向を示した。例として湾奥部の試料におけるC1およびC2の時間変化を図4に示す。暗条件のコントロールでは、C1およびC2の蛍光強度ともに大きな変動を示さなかったのに対して、照射試料においては、照射開始12時間以降において、蛍光の低下が認められた。照射試料の24時間後に測定された蛍光強度は、実験開始時の50%から60%に相当した。この結果は、海洋表層に存在するFDOMの蛍光強度が、2週間程度の太陽放射下では、40%から50%の消光が生ずることを示している。

DOC濃度が光化学反応では、ほぼ無機化が進行しないとされる一方で、光化学反応による蛍光強度の減少は顕著であった。この結果は、FDOMの蛍光団は、光化学反応により構造の変化が生ずるため一部の蛍光が失われるが、その一方で、有機物が無機化するまで分解することは少ないことを示唆している。すなわち、海洋表層では、生成されたFDOMの一部は、「消蛍光 FDOM」として、海水中に

残存する可能性が強く示唆される。

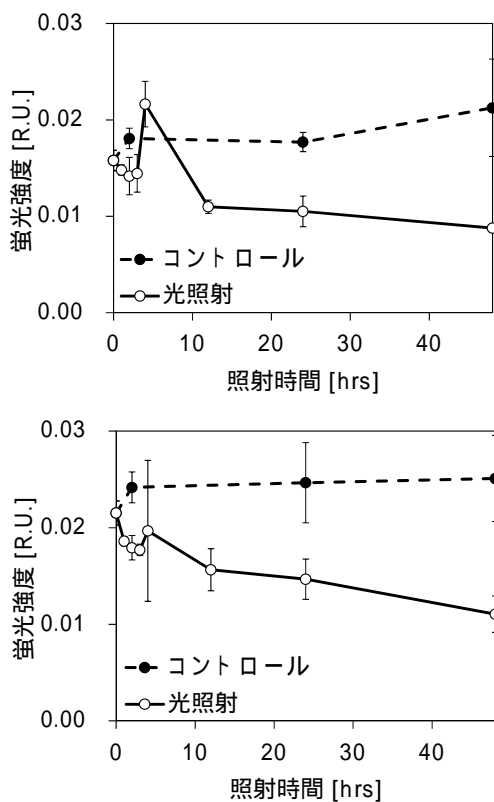


図 4 湾口部試料の光分解実験における C1(上)および C2(下)の蛍光強度の変化。

引用文献

Coble, P. G. (1996) Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission matrix spectroscopy. *Marine Chemistry*, 51, 325-346.

Stedmon, C. A. and Bro, R. (2008) Characterizing dissolved organic matter fluorescence with parallel factor analysis: a tutorial. *Limnology and Oceanography: Methods*, 6, 572-579.

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)

[学会発表](計2件)

濱 健夫 Effects of ocean acidification on phytoplankton community and biogeochemical processes, JAMBIO 国際シンポジウム、2016年9月21日、筑波大学東京キャンパス(東京都・文京区)

濱 健夫 溶存態有機物の代謝と安定性、日本地球化学会年会、2016年9月14日、大阪市立大学(大阪府・大阪市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

濱 健夫 (HAMA Takeo)
筑波大学・生命環境系・教授
研究者番号：30156385

(2) 研究分担者

和田 茂樹 (WADA Shigeki)
筑波大学・生命環境系・助教
研究者番号：60512720

(3) 研究協力者

岩澤 絵梨 (IWASAWA Eri)
佐伯 瑛 (SAEKI Akira)