

令和 2 年 6 月 10 日現在

機関番号：12608

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H01851

研究課題名(和文) 海洋酸性化に伴う微生物起源温室効果気体の生成過程の量的および質的变化の解明

研究課題名(英文) Elucidation of quantitative and qualitative change in microbiological production processes of greenhouse gases caused by ocean acidification

研究代表者

豊田 栄 (Toyoda, Sakae)

東京工業大学・物質理工学院・准教授

研究者番号：30313357

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,300,000円

研究成果の概要(和文)：微生物起源温室効果気体のうちCO<sub>2</sub>およびメタンに次いで重要な一酸化二窒素(N<sub>2</sub>O)に着目し、その放出量や生成・消滅過程が海洋酸性化に対して示す応答を明らかにすることを目的として、微生物純粋培養実験および現場海水培養実験を行った。海洋性硝化細菌をpH=8.3, 8.0, 7.7の3条件で培養したところ、酸性化に伴ってN<sub>2</sub>O生成速度は増加した。N<sub>2</sub>Oの同位体比は、生成過程自体は不変で同位体効果がpHによって変化する可能性を示唆した。15N標識試薬添加による現場海水培養実験を西部北太平洋および東部インド洋で行ったところ、前者では酸性化でN<sub>2</sub>O生成速度が増加することが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

大気中CO<sub>2</sub>濃度の増加による海洋酸性化が海洋生物へ影響を及ぼす影響は広く知られるようになってきたが、微生物の窒素代謝反応、とりわけN<sub>2</sub>Oの生成過程への影響については研究例が未だに乏しい状況にある。2011年に米国の研究者らによって海洋酸性化によってN<sub>2</sub>O生成は弱まるとの仮説が発表されていたが、本研究では少なくとも西部北太平洋においては、この仮説とは逆にN<sub>2</sub>O放出量が増加する可能性を明らかにした。これはCO<sub>2</sub>の増加が間接的に別の温室効果気体を増加させる、正のフィードバックが起きうることを示しており地球環境化学の分野だけでなく、温暖化防止のための政策決定においても重要な意義をもつ。

研究成果の概要(英文)：This study focused on nitrous oxide (N<sub>2</sub>O), one of the important greenhouse gases produced by microorganisms as well as CO<sub>2</sub> and methane. For the purpose of elucidating the response of microbial production and consumption processes to ocean acidification, incubation experiments were conducted with pure microbial culture in the laboratory and with in situ seawater on board. When incubated under three pH conditions (8.3, 8.0, 7.7), pure culture of oceanic nitrifying bacteria showed increased production rate of N<sub>2</sub>O. Isotope ratios of N<sub>2</sub>O suggested that the production pathway is not changed by the acidification but isotope effect might depend on pH. In the western North Pacific and the eastern Indian Ocean, seawater was collected and incubated onboard with addition of 15N-labeled reagents. In the western North Pacific, N<sub>2</sub>O production rate was found to increase with acidification.

研究分野：環境化学

キーワード：一酸化二窒素 安定同位体 海洋酸性化 硝化 生成過程

## 1. 研究開始当初の背景

大気中の二酸化炭素(CO<sub>2</sub>)濃度は産業革命以降単調に増加しており、その主な原因は人類による化石燃料の燃焼であることが示されているが、CO<sub>2</sub>の一部は海洋に溶解し、炭酸系の化学平衡を通して海水のpHを低下させる(海洋酸性化)ことが知られている。実際、北半球高緯度地域では、中・低緯度地域と比べてpHが低くなっている。海洋の酸性化が海水中の物質の分布や循環、海洋生物などに

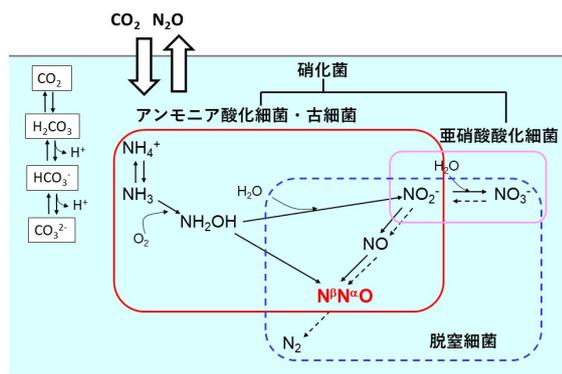


図1. 海洋における微生物によるN<sub>2</sub>O生成過程

与える影響については多様な視点から研究が行われているが、最近、微生物の窒素代謝の一つである硝化の速度が酸性化により減少する可能性が報告された。硝化では一酸化二窒素(N<sub>2</sub>O)が副生成物として放出されることが知られている(図1)。N<sub>2</sub>Oは温室効果気体の一つであると同時に、今世紀で最も主要なオゾン層破壊気体でもあり、海洋の微生物による生成が全球発生源の約20%を占めると見積もられている。したがって、酸性化に伴って海洋からのN<sub>2</sub>O放出がどのように変化するかを明らかにすることは、将来の地球環境を予測する上で必要不可欠である。

酸性化が微生物の窒素代謝に与える影響のうち、窒素固定については酸性化で代謝速度が増えるという傾向が明らかになっている。しかし硝化、脱窒などN<sub>2</sub>O生成にかかわる過程の酸性化応答についての研究例は未だ少なく、たとえば硝化速度については酸性化に呼応して減少するという報告と増加するという報告とがある。その原因として、酸性化の影響評価は模擬実験に頼らざるを得ないため実験の条件によって異なる結果が得られる可能性があることが挙げられる。たとえば、既往の研究では、塩酸などの無機強酸の添加により低いpH環境を模擬したものが多く、海水中のCO<sub>2</sub>分圧(pCO<sub>2</sub>)が増加した場合の環境を必ずしも再現できていない可能性がある。また、pHをどのような速度で変化させるかによっても異なる結果が得られる可能性もある。また、既往研究は代謝産物の生成量や生成速度に着目したものが多く、複数の生成経路がありうる場合の寄与率や、生成反応の質的な変化(たとえば律速段階の変化や複数の生成経路がありうる場合の寄与率の変化)について調べた例は申請者らの知る限り存在しない。

## 2. 研究の目的

生元素の安定同位体比はその起源物質や反応過程に応じて特異的な値を示すことが知られており、酸性化などの環境条件の変化に微生物がどのように呼応するのかを調べるのに適している。研究代表者らは、これまでに海水中に溶存しているN<sub>2</sub>Oの濃度、安定同位体比分析を行い、様々な海域、深度におけるこれらの分布とその生成・消滅過程について解析を行ってきた。また、微生物の純粋培養、環境水や土壌の培養実験などを行ってN<sub>2</sub>Oが生成あるいは消滅する際の安定同位体比の特徴的な変化(同位体濃縮係数)についても明らかにしてきた。

そこで本研究では、地球環境に大きな影響を与えるN<sub>2</sub>Oを生成・消費する海洋微生物の代謝過程に焦点を絞り、海洋酸性化を模擬した実験を種々の条件で行ってこれら気体の生成・消費速度を調べるとともに、安定同位体比も測定することで生成・消滅過程の質的な変化を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) 純粋培養実験

ジャーファーメンター、多成分ガス分析計、同位体比分析用ガス採取機構から成る培養系を構築し、海洋性硝化細菌 *Nitrosococcus oceani* strain NS58 を pH=8.3, 8.0, 7.7 の3条件で培養した。初期  $\text{NH}_4^+$ 濃度を38mMとし、実験中、水温はヒーターと冷却器により25°Cに、溶存酸素濃度は空気の通気流量および攪拌速度を調節することにより飽和条件に、pHはHClおよびNaOHの添加により一定に保った。 $\text{N}_2\text{O}$ 濃度をリアルタイムで測定しつつ、適度なタイミングで安定同位体比測定用ガス試料をガラス容器に採取した。また、紫外可視分光計を用いて、培養液中の菌体濃度を濁度法により、 $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{NO}_2^-$ 濃度を比色法によりそれぞれ測定した。

安定同位体比の測定は研究代表者らが開発した、自動前処理装置、ガスクロマトグラフー安定同位体比質量分析計 (GC-IRMS) からなる測定システムを利用して行った。

#### (2) 海水試料を用いた培養実験

JAMSTECの観測船みらい等の航海を利用して、西部北太平洋の4測点(図2)で水深100–200mの海水を採取し、船上にて $^{15}\text{N}$ で標識された $\text{NH}_4^+$ を添加して現場水温に近い温度、遮光条件で数日間静置培養した。微量のHClを添加することによりいくつかのpH条件を設定した。一定時間経過後に殺菌(ガス分析用試料の場合)またはろ過・凍結(溶存イオン種分析用試料の場合)した試料を研究室に持ち帰り、 $\text{N}_2\text{O}$ および $\text{NO}_2^-$ の窒素同位体比を測定することにより $\text{N}_2\text{O}$ 生成速度および $\text{NO}_2^-$ 生成速度(硝化速度)を求めた。東京大学海洋研の白鳳丸を利用して同様の実験を東インド洋の3測点でも行った。

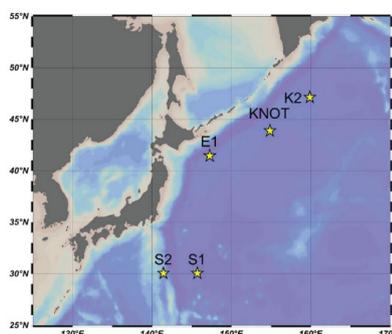


図2. 西部北太平洋の採水測点。

### 4. 研究成果

純粋培養実験において、酸性化に伴って *N. oceani* の菌体の増殖速度および硝化速度は増加し、 $\text{N}_2\text{O}$ 生成速度も増加した。 $\text{N}_2\text{O}$ の同位体比は、生成過程自体は不変で同位体効果がpHによって変化する可能性を示唆した。

海水培養実験においては、硝化速度にはいずれの測点においても酸性化に伴う有意な変化は認められなかったが、西部北太平洋の亜寒帯域では $\text{N}_2\text{O}$ 生成速度の増加傾向が認められた(図3)。これはBeman et al.(2011)

による、酸性化に伴って $\text{N}_2\text{O}$ 生成は弱まるとの仮説と真逆の結果である。本研究により、少なくとも西部北太平洋においては、酸性化で $\text{N}_2\text{O}$ 放出量が増加する可能性が明らかになった。これは、 $\text{CO}_2$ の増加が間接的に別の温室効果気体である $\text{N}_2\text{O}$ を増加させるという、温暖化の相乗効果が起きうることを示しており、

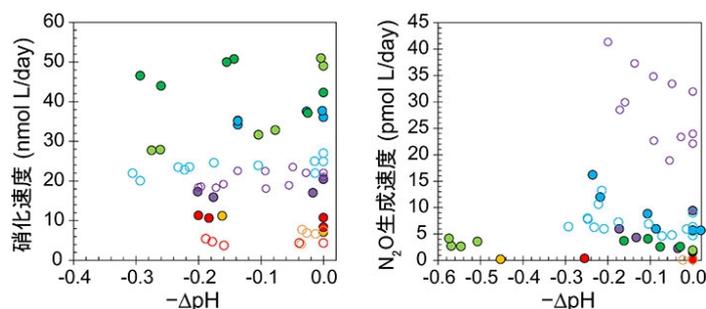


図3. 酸性化実験の結果。縦軸は硝化速度と $\text{N}_2\text{O}$ 生成速度、横軸はpHの減少量を示す。暖色系は亜熱帯、寒色系は亜寒帯の観測結果を示す。pHの低下に伴い、硝化速度は減少し、 $\text{N}_2\text{O}$ 生成速度は増加する傾向がみられる。

地球環境化学の分野だけでなく、温暖化防止のための政策決定においても重要な意義をもつ成果である。

$\text{N}_2\text{O}$  には今回研究対象とした硝化以外にも複数の生成・消費プロセスがあり、海域によって主要な生成・消費プロセスは異なる。大気中の  $\text{N}_2\text{O}$  の増加は、温暖化を加速させ、オゾン層の回復を遅らせてしまう。酸性化に対する他の  $\text{N}_2\text{O}$  生成・消費プロセスの応答とともに他の海域の調査が今後の課題として挙げられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Breider Florian, Yoshikawa Chisato, Makabe Akiko, Toyoda Sakae, Wakita Masahide, Matsui Yohei, Kawagucci Shinsuke, Fujiki Tetsuichi, Harada Naomi, Yoshida Naohiro	4. 巻 9
2. 論文標題 Response of N2O production rate to ocean acidification in the western North Pacific	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Climate Change	6. 最初と最後の頁 954 ~ 958
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41558-019-0605-7	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 該当する

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Naohiro YOSHIDA, Sakae TOYODA, Osamu YOSHIDA, Shuichi WATANABE
2. 発表標題 Isotopomer and Isotopologue Abundance of Nitrous Oxide in Mid and Deep Oceans for its Source and Sink Indicator
3. 学会等名 Asia Oceania Geosciences Society 2018 (AOGS2018) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sakae Toyoda, Osamu Yoshida, Hiroaki Yamagishi, Ayako Fujii, Naohiro Yoshida, Syuichi Watanabe
2. 発表標題 Origin of nitrous oxide dissolved in deep ocean water deduced from concentration and isotopocule analyses
3. 学会等名 9th International Symposium on Isotopomers (ISI2018) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松井智哉, 豊田栄, 藤原健智, 吉田尚弘
2. 発表標題 硝化菌による一酸化二窒素生成過程に海洋酸性化が及ぼす影響の解明
3. 学会等名 日本地球化学会年会2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 豊田 栄, 松井 智哉, 藤原 健智, 吉田 尚弘
2. 発表標題 海洋性硝化細菌によるN <sub>2</sub> O生成の酸性化への応答
3. 学会等名 2019年度日本地球化学会年会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>豊田研究室 ホームページ 研究内容紹介  <a href="http://nylab.chemenv.titech.ac.jp/~stoyoda/project.html">http://nylab.chemenv.titech.ac.jp/~stoyoda/project.html</a>          東工大ニュース「海洋酸性化により北西太平洋の一酸化二窒素放出量が増加」  <a href="https://www.titech.ac.jp/news/2019/045452.html">https://www.titech.ac.jp/news/2019/045452.html</a></p>
---

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
研究分担者	吉川 知里  (Yoshikawa Chisato)  (40435839)	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    (82706)	