

令和 6 年 5 月 6 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K12219

研究課題名(和文) 海洋物質循環の基準値であるレッドフィールド比を再考する

研究課題名(英文) Revisit a Redfield ratio as a reference value in marine bioactive element cycles

研究代表者

芳村 毅 (YOSHIMURA, Takeshi)

北海道大学・水産科学研究院・准教授

研究者番号：20371536

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：海洋物質循環の諸過程を考慮する際に必要となるプランクトンの元素組成比をサイズ別で考慮するための手法を世界に先駆けて検討した。その結果、孔径の異なるポリカーボネート製メンブレンフィルターを用いた逐次ろ過方式によって、プランクトン粒子をピコ・ナノ・マイクロサイズに分画して、炭素・窒素・リン・ケイ素を化学分析できる手法を構築した。北海道沿岸海域で調査した結果、4元素組成比はサイズ間の違いを明確に示し、これまでのサイズを考慮しない一纏め(バルク)では見逃されていた知見を得ることに成功した。今後はデータを蓄積して変動要因を理解し、動的な化学量論モデルに発展させることで、物質循環に新たな概念を導入する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

プランクトンの元素組成比は海洋での生物生産に伴う物質の挙動を考える際の基準であり、将来の気候変化を予測するためのシミュレーションモデルにおいても使われる値であるが、現状ではレッドフィールド比と呼ばれる固定値が用いられている。プランクトン生物は広範なサイズ分布を示し、サイズ毎に生態系内で異なるプロセスに参与しているが、それらを分離して考えることができなかった。本研究は物質の挙動を考慮するプロセスを細分化するための基盤データを取得する新たな手法を構築した。沿岸海水を分析した結果、元素組成比はサイズ毎に時空間変化を示したことから、これらを考慮した物質循環像を構築する必要性が示された。

研究成果の概要(英文)：We have newly developed the method to consider the elemental ratio of plankton by size, which is necessary when considering various processes in the marine biogeochemical cycle. As a result, we developed a method for chemical analysis of carbon, nitrogen, phosphorus, and silicon by fractionating plankton particles into pico, nano, and micro sizes using a sequential filtration method using polycarbonate membrane filters with different pore sizes. The pioneering samplings in the coastal waters of Hokkaido showed that the ratios of the four elements clearly differed among sizes, a finding that had been overlooked in the standard bulk method. In the future, we will accumulate data to understand the factors of variation and develop a dynamic stoichiometric model to introduce a new concept to the marine biogeochemical cycle of bioactive elements.

研究分野：海洋化学

キーワード：有機物粒子 サイズ分画 元素組成比 レッドフィールド比 生元素 精密分析 物質循環 プランクトン

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

海洋は人為起源 CO₂ の約 30% を吸収しており、この CO₂ 吸収量の変化は気候に影響を与えることとなります。海洋による CO₂ 吸収では、海洋の主たる基礎生産者である植物プランクトンの光合成が CO₂ から有機物を生産するプロセス (CO₂ 固定) が重要です。CO₂ 固定には窒素 N、リン P、ケイ素 Si といった栄養素が不可欠であり、CO₂ 固定量は植物プランクトンが利用する栄養素の存在量と、炭素と栄養素の利用比率によって変化することとなります。

その比率として、レッドフィールド比 (C:N:P:Si=106:16:1:16) が良く知られています。この値は海洋を広範に調査した結果を平均的に示したもので、プランクトンの元素組成比の指標となっています。例えば、基礎生産の制限要因の推定に用いるなど、海洋物質循環の基準値となっており、気候変化を予測する生態系モデルにおいても固定値として使われています。ただし、海洋環境での実測データの蓄積はいまだに十分ではありません。試料の採取と分析に多大な労力を必要とするためです。地球環境が着実に変化するなか、固定値であるレッドフィールド比の適用性が十分に検証されていないのが現状です。

また、プランクトンはサイズの異なる多くの種が群集を形成しています。海洋食物連鎖網の捕食 - 被食関係はサイズ依存であり、捕食者は自分より小さな餌をとります。有機物粒子はサイズにより異なる経路で高次栄養段階に伝達されることとなります (図 1)。現場の光、水温、栄養環境により、出現する植物プランクトンの種とサイズ組成は変化し、それに伴って群集の元素組成比は変化することが予想されますが、それを検証するようなデータは取得されていません。海水中の有機物粒子を適切にサイズ毎に分離して測定する方法論が存在しないためです。海洋環境の変化に伴って、プランクトンの群集組成が変化することが予測されており、その変化が生態系に与える影響を評価するための基盤が構築されていないこととなります。

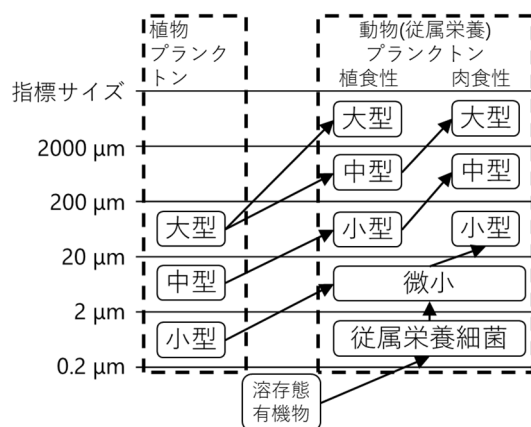


図 1 海洋食物連鎖網の概念図

2. 研究の目的

本研究は有機物生産の元素組成比に関わる課題に二つの視点でアプローチします。

(1) 有機物粒子のサイズ分画手法の確立と元素組成比測定への適用

世界に先駆けて新たな試料処理方法を検討し、サイズ別の 4 元素組成比データを得るための基盤技術を構築します。

(2) 粒子サイズ別での主要 4 元素組成比 (炭素 : 窒素 : リン : ケイ素) データの取得

(1) で構築した手法を用いて実際の海洋環境から試料を採取して 4 元素組成比を測定し、レッドフィールド比との差異を明らかにします。

3. 研究の方法

(1) 有機物粒子のサイズ分画手法の確立と元素組成比測定への適用

連続ろ過法と濃縮ろ過法の検討

有機物粒子を 0.2 ~ 2 μm (ピコ), 2 ~ 20 μm (ナノ), 20 ~ 200 μm (マイクロ) の三つのサイズに分画するため、孔径 0.2, 2, 20 μm のポリカーボネート製フィルターを用いてろ過するうえで、ろ過法として連続ろ過法と濃縮ろ過法を検討しました。連続ろ過法は、サンプルを孔径の大きいフィルターから小さいフィルターへ順に吸引ろ過する方法で、クロロフィル a のサイズ分画で一般的に用いられているろ過方法です (図 2)。つまり、連続ろ過法はフィルター上に有機物粒子を集める方法です。一方、濃縮ろ過法は攪拌型限外ろ過装置を応用した方法で、サンプルを濃縮器の下部にあるフィルターで加圧ろ過します (図 2)。ただし、濃縮器内にある回転子を回し、粒子を拡散させながらろ過できるため、濃縮ろ過法は有機物粒子をフィルター上ではなく濃

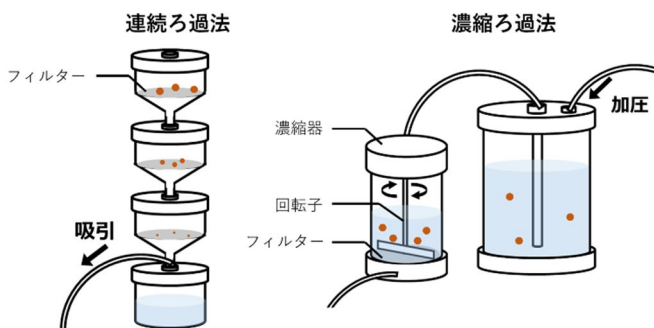


図 2 海水中有機物粒子をサイズ分画するための二つのろ過方法の概念図

縮した液体として集めることができます。二つのろ過法を比較するため、北海道厚岸湖の表層水を用いてそれぞれの方法でサイズ分画ろ過し、粒子態リン濃度を測定しました。

ろ過後の POM の分析方法の検討

連続ろ過法の場合はフィルター試料が、濃縮ろ過法の場合は有機物粒子が濃縮・懸濁した液体試料が得られます。いずれの試料についても、リンは酸性過硫酸カリウムを用いた高温高圧処理での分解とモリブデンブルー法を組み合わせることで分析します。ケイ素は炭酸ナトリウムを用いたアルカリ溶解とモリブデンブルー法を組み合わせることで分析します。炭素と窒素は全有機体炭素・窒素計（島津社製 TOC-V とヤナコ社製 ECL-880US）で分析することとし、液体試料の場合はそのまま、フィルター試料の場合はフィルター上の粒子を Milli-Q 水に懸濁させたのちに分析することで対応可能と考えました。

(2) 粒子サイズ別での主要 4 元素組成比（炭素：窒素：リン：ケイ素）データの取得

沿岸海水中有機物粒子のサイズ別元素組成比を明らかにするため、厚岸湾でサンプリングしました。2022 年 6 月 13 日、9 月 12 日、11 月 7 日、2023 年 10 月 16 日、12 月 12 日、2024 年 1 月 16 日に実施しました。北海道大学北方生物圏フィールド科学センター厚岸臨海実験所が所有する「みさご丸」に乗船し、厚岸湾口に近い AB16 地点の 0 m、10 m においてニスキン-X 採水器を用いて採水しました。船上で 2022 年は目合 200 μm 、2023 年は目合 100 μm のナイロンネットフィルターでろ過した海水試料を実験室に持ち帰り、連続ろ過法で有機物粒子をサイズ分画しました。フィルターとして直径 47 mm のポリカーボネート製メンブレンフィルターで孔径 0.2, 2, 20 μm タイプ（GVS 社製）の使用を想定していましたが、しかし、研究期間の途中で孔径 20 μm タイプが入手不可能となったため、直径 47 mm 孔径 20 μm ナイロンネットフィルター（Merck Millipore 社製）で代替しました。ただし、このフィルターは炭素、窒素、リンの深刻な汚染が生じることが判明したため、それ以降は孔径 10 μm ポリカーボネート製メンブレンフィルター（Whatman 社製）を用いることとしました。フィルター試料は冷凍保存して研究室に持ち帰り、海水をろ過していないブランク試料を含め、(1) - で示した方法で炭素、窒素、リン、ケイ素、クロロフィル a を分析しました。

4. 研究成果

(1) 有機物粒子のサイズ分画手法の確立と元素組成比測定への適用

ろ過手法の比較に用いた沿岸表層水中のピコ、ナノ、マイクロサイズの粒子態リン濃度は、連続ろ過法ではそれぞれ 0.019、0.060、0.354 $\mu\text{mol/L}$ 、濃縮ろ過法ではそれぞれ 0.000、0.002、0.050 $\mu\text{mol/L}$ で、濃縮ろ過法が過小評価することが分かりました。濃縮ろ過に用いたフィルターは目視で着色していることが確認できたことに加え、フィルター自体の分析により相当量のリンが検出されたことから、有機物粒子がフィルターに捕集されてしまっていました。この結果から、有機物粒子のサイズ分画には濃縮ろ過法は適していないことがわかり、連続ろ過法を用いることとしました。

連続ろ過法で得られたフィルター試料を化学分析するうえで、粒子態の有機炭素および窒素を液体試料として回収し、全有機体炭素・窒素計で分析するための方法を検討しました。フィルター上に捕集された有機物粒子がフィルターに付着・保持されることなく液体に懸濁させる必要があります。「フィルター両面に洗瓶で Milli-Q 水を吹き付けることで洗浄する」方法と「フィルターを Milli-Q 水につけ超音波洗浄する」方法を検討した結果、両者を組み合わせることで洗浄効果が高くなりました。従って、フィルター試料をガラスビーカー内で Milli-Q 水に漬けて超音波洗浄したのち、フィルター両面に洗瓶で Milli-Q 水を吹き付けて洗浄し、ビーカー内に得られた有機物粒子の懸濁溶液を炭素・窒素の分析用試料とすることにしました。

(2) 粒子サイズ別での主要 4 元素組成比（炭素：窒素：リン：ケイ素）データの取得

厚岸湾 AB16 地点の海水中の植物プランクトン量の指標となるクロロフィル a 濃度は季節により大きく変化し、夏から秋に高く冬に低下しました（図 3）。ピコ、ナノ、マイクロサイズの組成比も季節で変化しており、いずれの季節もマイクロサイズが優占することが多く、冬季はピコサイズの割合が増加しました。

このようなプランクトン量が変化する状況下において、サイズ別での元素組成比は各調査日においてサイズ毎に異なる値を示すとともに、各サイズが独

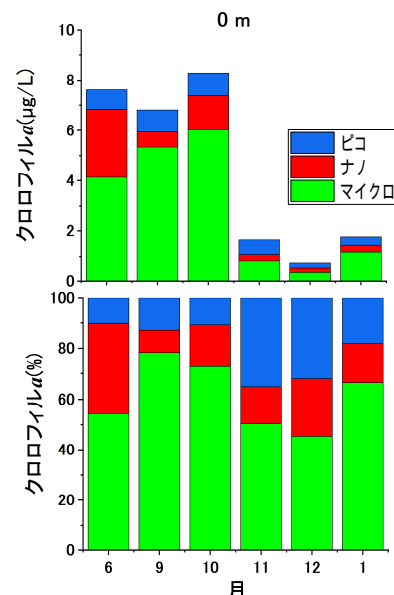


図 3 厚岸湾表層水のサイズ分画クロロフィル a の季節変化

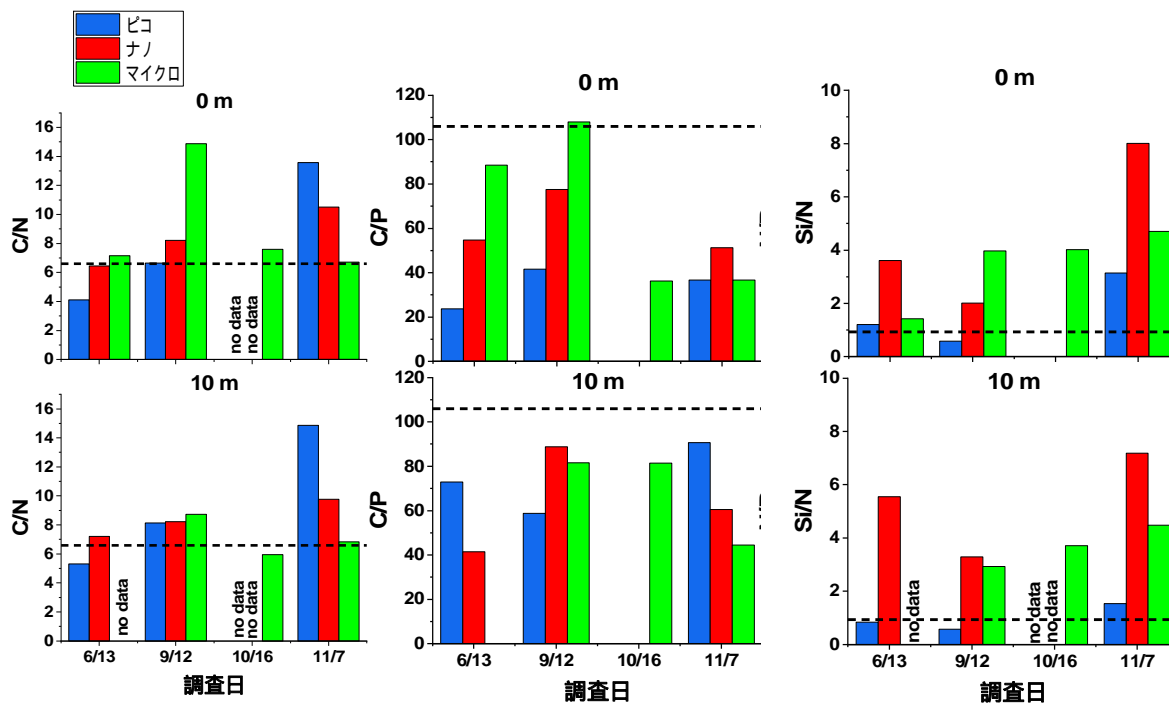


図4 厚岸湾 AB16 地点の水深 0 m および 10 m での有機物粒子のサイズ別の炭素：窒素比，炭素：リン比，ケイ素：窒素比。点線はレッドフィールド比を示す。

自の季節変化を示すことが明らかとなりました。これまで一般には、C/N 比はレッドフィールド比から大きく乖離しないと考えられており、本研究結果においても他の比に対して比較的レッドフィールド比に近い値を示しました。ただし、植物プランクトン量の優占度が高かった9月のマイクロサイズの C/N 比はレッドフィールド比の2倍以上の値で大きく乖離しました。一方、11月のマイクロサイズの C/N 比はレッドフィールド比と一致するのに対して、植物プランクトン量の優占度を上昇させたピコサイズやナノサイズの値は大きく上昇しました。C/N 比は窒素栄養塩の不足によりもたらされるとすると、ある窒素栄養塩濃度に対する植物プランクトンの応答はその環境条件下においてサイズ毎に異なることを示唆しています。C/P 比はほとんどがレッドフィールド比を下回っており、細胞内にリンが豊富であることが予想されます。6月と9月の0 m では細胞内のリンの豊富さはサイズが小さいほど大きくなっていましたが、11月の10 m では逆の傾向を示しており、ここでも植物プランクトンの応答がサイズ毎に異なることが示されました。Si/N 比についてもサイズ毎の違いが明確に示されました。特に、ケイ素の殻をもつ珪藻類がほとんど含まれないと考えられるピコサイズにも Si が検出できており、このサイズの Si の起源を明らかにすることは、ケイ素循環を考えるうえでの新たな知見となる可能性があります。これらのデータは、有機物粒子のサイズ分画によってサイズ間での元素組成比の差異を把握できることが、物質動態の議論をさらに深めることに有効であることを示しています。時空間的により多様なサンプルのデータを蓄積するとともに、元素組成比を変動させる環境要因を明らかにするために適切な統計学的手法を取り込んでいく必要があります。

(3) 考察

北海道沿岸海域のサイズ別の元素組成比では、過去の培養実験研究で明らかとなったピコプランクトンは C/P, N/P が高く、マイクロプランクトンは C/P, N/P が低いという一般的な傾向とは異なっていました。この要因を明らかにするとともに、他の海域でも培養実験と異なる傾向が見られるのかを検証する必要があります。本海域よりも低緯度で沖合の海域は、全プランクトンに対するピコプランクトンの割合が高くなり、海洋生態系も高緯度海域とは大きく異なります。そうした海域では C/P, N/P が高いピコプランクトンの影響を受け自然海水中の C/P, N/P が高くなるとされていますが、自然海水中の高い C/P, N/P が本当に生物群集構造によるものなのかという点についてはサイズ別の4元素組成比による直接的な考察が必要です。

本調査で、バルクのみでは見逃されていたピコ、ナノ、マイクロサイズそれぞれの元素組成比を明らかにすることができました。このことは、植物プランクトンが生態系に与える影響を生物群集別に理解することに繋がります。植物プランクトンは従属栄養生物に消費されたり溶存態有機物 (DOM) に変換されたり、DOM から栄養塩に変換されて再度植物プランクトンに消費されたりします。例えば本調査で、ピコプランクトンの C/P, N/P がレッドフィールド比よ

りも低く、 Si/C 、 Si/N がレッドフィールド比よりも高いサンプルが存在することが分かりました。つまり、そのサンプルのピコプランクトンが分解されて得られる DIP 、 DSi は、一般的なピコプランクトン (C/P 、 N/P がレッドフィールド比より高く、 Si/C 、 Si/N がレッドフィールド比よりも低い) よりも高くなります。珪藻は増殖速度が速いためリンの要求量が高く、被殻形成にケイ素を必要とします。そのため、本調査の一部のピコプランクトンは、一般的なピコプランクトンよりも珪藻の増殖に影響を与えていると考えられます。このように、サイズ別の4元素組成比はバルクのみ調査よりも、植物プランクトンが生態系へ与える影響を生物群集別に理解することができます。今後、海水温上昇に伴いプランクトン群集構造は変化すると考えられているため、サイズ別4元素組成比の重要性がさらに増す可能性があります。

レッドフィールド比は栄養塩循環や植物プランクトンの生産性など様々な生態系プロセスの推定に用いられています。近年、こうした海洋モデリングの世界では、モデルに利用される植物プランクトンの化学量論が固定的(レッドフィールド比)なものから動的なものへと移行しつつあります。本結果は近年の動的な化学量論モデリングの必要性を示しました。本調査ではバルクの C/P 、 N/P 、 Si/C 、 Si/N がレッドフィールド比と異なっていると分かりました。さらに、サイズ別の元素組成比は、レッドフィールド比と大きく異なっている群集の特定を可能としました。これらのことは、元素組成比をレッドフィールド比に固定したモデリングが、自然海水中の実際の元素動態とはかけ離れている可能性を示しました。そのため、POMの元素組成比を全球的に調査してデータセットを充実させ、動的な化学量論モデリングを構築していくことの重要性が本調査でも示されました。また、水温上昇に伴い海洋生態系は変化するため、サイズ別の元素組成比のデータを長期的に集めることで、生態系変化に伴う化学量論モデルの変化を追跡できると考えられます。

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 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Aizawa, A., Watanabe, Y., Hashioka, K., Kadoya, A., Suzuki, S., Yoshimura, T., & Kudo, I.	4. 巻 63
2. 論文標題 Contribution of ammonium oxidizing archaea and bacteria to intensive nitrification during summer in Mutsu Bay, Japan	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Regional Studies in Marine Science	6. 最初と最後の頁 102984
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.rsma.2023.102984	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 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 稲田真夕, 芳村毅, 工藤勲
2. 発表標題 粒子状有機物をサイズ分画して炭素：窒素：リン：ケイ素組成比を測定するための手法の検討
3. 学会等名 日本海洋学会2022年度秋季大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 川島有貴, 野坂裕一, 芳村毅, & 伊佐田智規
2. 発表標題 寒帯域のアマモ場におけるブルーカーボン貯蔵経路としての透明細胞外重合物質粒子（TEP）生成過程の評価
3. 学会等名 海洋生物シンポジウム2023
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 松野孝平, 飯田高大, 山口篤, & 芳村毅
2. 発表標題 2021年秋季道東の赤潮調査速報
3. 学会等名 第 51 回北洋研究シンポジウム「北海道周辺における赤潮の動態」
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

道東沖赤潮の横断観測にはじめて成功
<https://www.hokudai.ac.jp/news/2021/10/post-921.html>
厚岸沖赤潮発生海域でのクロロフィルaと栄養塩の分布（2021年10月）
<https://repun-app.fish.hokudai.ac.jp/course/view.php?id=1126>

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	工藤 勲 (KUDO Isao) (00195455)	北海道大学・水産科学研究院・教授 (10101)	
研究分担者	今井 圭理 (IMAI Keiri) (40725983)	北海道大学・水産学部・助教 (10101)	

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
---------	---------