

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 25 年 5 月 29 日現在

機関番号：14301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2011～2012

課題番号：23810014

研究課題名（和文） 微生物分解に伴う湖沼有機物の窒素安定同位体比の変動機構の解明

研究課題名（英文） Study of alteration of nitrogen isotopic composition during microbial decomposition of lacustrine particulate organic matter

研究代表者

由水 千景（YOSHIMIZU CHIKAGE）

京都大学・生態学研究センター・研究員

研究者番号：50609394

研究成果の概要（和文）：懸濁態有機物の窒素安定同位体比は、物質の起源や、変質に関与した生物地球化学的プロセスの履歴情報を持つことから、湖沼生態系における窒素動態を明らかにする上で有益な情報をもたらす。それには同位体比の変動機構についての理解が必須である。本研究では、分子レベルで窒素安定同位体比を解析することにより、分解過程における有機窒素同位体比の変動機構の一端を明らかにした。

研究成果の概要（英文）： Measurement of stable nitrogen isotope ratio of particulate organic matter in lakes can provide valuable insights into sources and past biologically mediated nitrogen reactions. Therefore, understandings of the factors controlling isotopic variability of particulate organic nitrogen are essential. This study showed some of factors controlling isotopic variability during decomposition process using compound-specific isotopic measurement technique.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2011 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2012 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,500,000	750,000	3,250,000

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：窒素安定同位体比，有機物分解，琵琶湖

1. 研究開始当初の背景

窒素はリンなどと共に生物生産の制限因子となりやすい生元素であり、排水からの負荷による水質汚濁の主要因の一つであるため、その動態を明らかにすることは、環境変化に対する湖沼生態系の応答を予測し、保全を考える上で重要である。しかし、窒素化合物は環境中にさまざまな形態で存在し、複雑な変化をするため、濃度の分布や変動の情報のみでは、その起源や動態を正確に評価する

ことは困難である。一方、窒素安定同位体比は、窒素化合物の起源に関する情報を持つとともに、取り込みや窒素固定、硝化、脱窒といった物質代謝を反映して変動することから、窒素動態を明らかにする上で有益な情報をもたらす。この安定同位体比を湖沼生態系における窒素動態解析に用いるためには、湖内における同位体比の変動機構に関する理解が必須となる。特に、懸濁態粒子状有機物（主として一次生産者やデトリタス）の

窒素安定同位体比は、近年、安定同位体法による栄養段階推定の際のベースラインとして用いられるほか、水域の汚濁指標としての有用性も注目されていることから、その時空間分布特性や変動要因を明らかにすることは重要な課題である。しかしながら、琵琶湖のような大型湖沼においては未だその窒素安定同位体比の時空間分布に関する情報自体が少なく、窒素安定同位体比の変動パターンやその支配機構については不明な点が多く残されている。

温暖1回循環の大型湖沼である琵琶湖北湖沖帯の観測地点において、2005年から2007年にかけて、懸濁態粒子状窒素の濃度とその安定同位体比の季節的・鉛直的な変動を調べた結果、循環期には濃度・同位体比共に全層ほぼ一様であるが、成層期には、濃度は表水層で高く、深水層で低くなる一方、安定同位

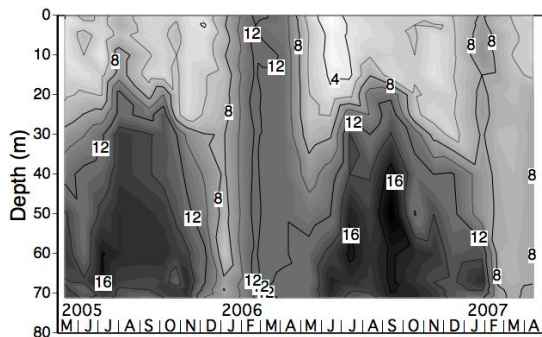


図1. 琵琶湖北湖近江舞子沖における懸濁態有機物の窒素安定同位体比の時空間変動 (Yoshimizu et al. in preparation)

体比は表水層で低く、深水層で高くなるという顕著な鉛直分布パターンが得られた (図1). この深層で窒素同位体比が高くなるという鉛直分布パターンは、これまでも海洋 (Saino & Hattori 1980; Nature 283: 752-754 他) などにおいて報告されてきた。高くなる要因としては、酸化分解に伴う¹⁵Nの濃縮 (Saino & Hattori 1980 他) や、捕食による効果 (Hoch et al. 1996; Mar. Ecol. Prog. Ser. 132: 229-239), 高い $\delta^{15}\text{N}$ をもつ有機物の外部負荷の影響 (Teranes & Bernasconi 2000; Limnol. Oceanogr. 45: 801-813) などが指摘されている。そこで、琵琶湖深水層で窒素安定同位体比が高くなる要因として、高い窒素安定同位体比をもった粒子状有機物の深水層への負荷、ならびに深水層における有機物の微生物分解過程での同位体濃縮の影響について検討したところ、深水層の有機物プールの窒素安定同位体比が高くなる主要な要因としては、粒子状有機物の微生物分解に伴う同位体濃縮が大きく関与している可能性が示唆された (Yoshimizu et al. in preparation). しかしながら、分解過程で¹⁵Nが濃縮するメカニ

ズムについては明らかにできていない。

経験的には多くの場合、分解によって懸濁態有機物の窒素同位体比が高くなるということが指摘されており、その要因としては易分解な物質が相対的に低い同位体比を持っている可能性 (Libes & Deuser 1988; Deep-Sea Res. 35: 517-533) や、たんぱく質の加水分解に伴う同位体効果 (Silfer et al. 1992; Chem. Geol. 101: 211-221) などが指摘されている。一方で、分解過程において窒素同位体比はほとんど変化しない、あるいは低くなるという観測結果も報告されている。これらは特に、嫌気的環境で報告されており、低い同位体比を持つ細菌の寄与が指摘されている (Libes & Deuser 1988, Lehmann et al. 2002; Geochim. Cosmochim. Acta 66: 3573-3584). しかしながら、その実態は明らかとはなっていない。琵琶湖の懸濁物を用いて行った分解実験では、懸濁物採取した季節や深度によって、分解に伴う窒素安定同位体比の変動パターンが異なることが明らかとなっており (Yoshimizu et al. in preparation), 有機物の性質や環境によって、分解時の窒素同位体比の変動パターンが異なることが示唆される。

懸濁態有機窒素の主要構成成分はタンパク質 (アミノ酸) である。近年、このアミノ酸の窒素同位体比の分析手法が開発されたことにより (力石ら 2007; RADIOISOTOPES 56: 463-477), 従来の全窒素同位体比分析では得ることの出来なかった有機物構成成分レベルでの窒素同位体比の情報を取得することが可能となり、物質動態解析の新たな展開が期待される。

2. 研究の目的

本研究では、窒素安定同位体比を用いた物質循環や食物網構造解析研究に資する、同位体比変動機構に関する知見を得ることを目的として、近年開発されたアミノ酸の窒素安定同位体比分析手法を導入し、分子レベルで窒素安定同位体比を解析することにより、微生物分解過程における有機窒素同位体比の変動機構の解明を試みた。

3. 研究の方法

本研究では、野外観測と有機物分解実験を組み合わせることにより、懸濁態有機物の分解に伴う窒素安定同位体比の変動機構の解明を試みた。

本研究は日本最大の湖である琵琶湖を研究対象水域とし、野外観測並びに実験用採水は、琵琶湖北湖近江舞子沖の京大生態学センター琵琶湖定期観測地点 (水深 76 m) にて行った。

2011年4月から2012年5月にかけて、月1回の頻度で層別採水 (2.5, 10, 20, 30, 50,

湖底直上 1m; 計 6 深度) を行い、懸濁態窒素の濃度と安定同位体比を測定した。また、懸濁態アミノ酸の濃度 (アラニン, アルギニン, アスパラギン酸, グルタミン酸, グリシン, ヒスチジン, イソロイシン, ロイシン, リシン, メチオニン, フェニルアラニン, セリン, トレオニン, チロシン, バリン) と同位体比 (アラニン, アスパラギン酸, グルタミン酸, グリシン, イソロイシン, ロイシン, メチオニン, フェニルアラニン, セリン, トレオニン, バリン) も併せて測定した。

有機物分解実験用の湖水は、2012 年 2 月, 6 月, 8 月, 10 月に、深度 2.5m ならびに 50m から採取した (10 月は 2.5m のみ)。湖水は実験室に持ち帰った後、ポリカーボネートタンクに分注し、暗条件下、現場温度に近い温度で培養した。培養期間中 (42~96 日間) の懸濁態窒素濃度とその安定同位体比、ならびに懸濁態アミノ酸濃度とその安定同位体比の経時変化を調べた。

4. 研究成果

懸濁態窒素濃度は、循環期は全層でほぼ一様 (1.4~1.6 μM) であった。成層期には、表水層で高く (~9.4 μM)、深水層で低かった (最小値は 0.4 μM)。懸濁態窒素の安定同位体比は、循環期には全層ほぼ一様 (6 ‰) で、成層期には、表水層で低く (3~7 ‰)、深水層で高い (~18 ‰) という顕著な鉛直勾配を示した。測定したアミノ酸窒素は、全窒素の 43~75% を占めた。主要なアミノ酸成分はアラニン、アスパラギン酸、グリシン、グルタミン酸、ロイシンで、これら 5 成分で測定したアミノ酸の約半分を占めた。アラニン、アルギニン、アスパラギン酸、グルタミン酸、イソロイシン、ロイシン、フェニルアラニンは、成層期には深度が増すとともに寄与率が減少する傾向にあり、グリシンは増加する傾向にあった。トレオニンは寄与率の変化はほとんど認められなかった。各種アミノ酸の窒素安定同位体比は、全窒素同位体比と同様、循環期には全層でほぼ一様、成層期には表水層で低く、深水層で高くなる顕著な傾向が認められた。各種アミノ酸の同位体比は、全窒素の同位体比に比べて -10~+10 ‰ の変化を示し、その大きさはアミノ酸の種類により異なった。季節、深度によらず、バリン、アラニン、グルタミン酸、アスパラギン酸、イソロイシン、ロイシンは全窒素の同位体比よりも高かった。一方で、グリシンならびにセリンは全窒素の同位体比に比べて顕著に低い傾向が認められた。

有機物分解実験を行ったところ、2 月の実験では、懸濁態窒素濃度の減少 (1.6 から 0.7 μM) とともに、その窒素安定同位体比は増加した (6.2 から 12.8 ‰)。6, 8, 10 月の、2.5m の湖水を用いた実験では、初期から中期 (14

~42 日) は濃度の減少とともに窒素安定同位体比も減少し、その後同位体比は増加に転じるという傾向が見られた。6, 8 月の 50m の湖水を用いた実験では、窒素安定同位体比は、採取時にすでに 15~16 ‰ と高く、実験期間中、ほとんど変化は認められなかった。分解実験中の各種アミノ酸濃度の変化は、ほとんどの場合、全窒素と同様の傾向を示したが、42 日間の実験期間中、全窒素同位体比が単調に下がり続けた 8 月の 2.5m の湖水を用いた実験では、分解に伴い、各種アミノ酸の寄与率が增大する傾向が認められた。各種アミノ酸の窒素安定同位体比は、総じては全窒素安定同位体比と同様の変化を示した。しかし、2 月の実験では、ほとんどのアミノ酸の同位体比が全窒素と同様に実験開始初期から増加したのに対して、グリシンとセリンは 28 日目までは大きな変化は見られなかった。

ほとんどのアミノ酸は、代謝の初期反応がアミノ基の脱離反応であるため、代謝にともない ^{15}N が濃縮、同位体比が増加する。一方で、メチオニンやフェニルアラニンなど、代謝反応の初期反応にアミノ基が関わらないアミノ酸では、代謝にともなう同位体分別が起こらず、同位体比の変動がほとんどみられない。深水層において窒素同位体比が高くなる要因として、捕食による ^{15}N 濃縮の寄与が指摘されているが、琵琶湖北湖沖帯においては、代謝の影響を受けないアミノ酸であるフェニルアラニンは、時空間的に、全窒素と同様の変動を示していることから、琵琶湖深水層における窒素安定同位体比の上昇要因として、捕食の効果はほとんど寄与していないことが示唆された。有機物分解過程においては、ほとんどのアミノ酸の同位体比は、全窒素と同様の変動パターンを示し、また、相対的に軽い同位体比を持つアミノ酸 (グリシン, セリン) は易分解性ではないことから、琵琶湖においては、分解にともなって ^{15}N が濃縮する要因として、相対的に軽い値を持つ易分解性の成分による効果はほとんどないことが示唆された。しかしながら、懸濁物を採取した季節や深度によって、分解に伴う全窒素安定同位体比の変動パターンは異なっており、また各種アミノ酸の同位体比の変動パターンも異なることがあった。微生物分解過程における窒素同位体比の変動機構を明らかにする上では、有機物の性質や環境、微生物の懸濁物への寄与率なども含めて、より詳細に検討する必要があるだろう。

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 0 件)

〔学会発表〕 (計 1 件)

1. Yoshimizu, C. and I. Tayasu: Alteration of nitrogen isotopic composition during microbial decomposition of suspended particulate organic matter in Lake Biwa. ASLO Aquatic Sciences Meeting 2012, July 12, 2012, Otsu, Japan.

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

- 出願状況 (計 0 件)
- 取得状況 (計 0 件)

[その他]

該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

由水 千景 (YOSHIMIZU CHIKAGE)
京都大学・生態学研究センター・研究員
研究者番号：50609394