

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 9 月 9 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24310008

研究課題名(和文) 海洋の炭素固定における微生物炭素ポンプ機能の検証

研究課題名(英文) Verification of the function of carbon fixation in the ocean by microbial carbon pump

研究代表者

小川 浩史 (OGAWA, Hiroshi)

東京大学・大気海洋研究所・准教授

研究者番号：50260518

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 10,800,000円

研究成果の概要(和文)：大気中の二酸化炭素の海洋へ固定メカニズムとして近年提唱された“微生物炭素ポンプ”という新しい概念を検証するために、太平洋における難分解性の溶存有機物(DOM)と細菌群集の分布調査と船上培養実験から明らかにした。その結果、亜熱帯表層には炭素に富んだ微生物利用性の低い相対的に難分解なDOMが蓄積していることが明らかとなった。また、リグニンを指標とした陸起源の難分解性DOMの分布は、北太平洋中層水(NPIW)にピークを示し、ユーラシア大陸起源の河川水中に含まれる陸起源DOMがNPIWによって輸送され北太平洋全体に広く分布しているメカニズムが示唆された。

研究成果の概要(英文)：A new concept “Microbial Carbon Pump” as a mechanism which atmospheric carbon dioxide could be fixed into the ocean was examined by investigating distributions of refractory dissolved organic matter (DOM) and bacterial community in the Pacific Ocean, and using an incubation experiment on board. Consequently, it was evident that DOM poorly available for microbial utilization, which was enriched with carbon, accumulated in surface waters of subtropical areas. The distribution of terrigenous refractory DOM indicating by dissolved lignin, showed a clear peak in the North Pacific Intermediate Water (NPIW), suggesting that terrigenous DOM derived from rivers in the Eurasian Continent would be transported by NPIW and spread over the whole of the North Pacific.

研究分野：海洋生物地球化学

キーワード：炭素循環 生元素動態 海洋微生物 海洋有機物

1. 研究開始当初の背景

(1) 大気中の二酸化炭素ガスの濃度上昇に伴う地球温暖化の問題が深刻化するにつれ、その高精度な将来予測に向け、地球表層圏内の炭素循環の精密な理解が不可欠な状態となっている。大気中の二酸化炭素ガスが海洋に吸収されるメカニズムには、物理的な溶解ポンプ、化学的なアルカリポンプ、そして生物ポンプが知られているが、その一方で、二酸化炭素ガスは、水に溶解後、解離して水の pH を下げる効果をもつため、海洋に吸収、蓄積される二酸化炭素量が増加するに従い、次第に海洋が酸性化し、将来、海洋生態系に深刻な影響をもたらす可能性が危惧され始めている。このように、現在、海洋における炭素循環の研究は、人為起源二酸化炭素ガスの吸収の結果として、地球温暖化の抑制と海洋酸性化という、人間社会の持続性にとって相反する二つの現象を、平行して評価することを課せられた新たなステージに立ちつつある。

(2) 2010 年、これまであまり注目されてこなかった、新たな海洋における炭素吸収固定メカニズムの概念、すなわち、Microbial Carbon Pump (微生物炭素ポンプ、以降略して MCP と記述) が提唱された (Jiao et al, 2010, Nature Rev. Microb.)。これは、海洋の一次生産によって供給された有機物を微生物群集が利用する過程で、一部難分解な溶解有機物 (Dissolved Organic Matter: DOM) に変換され、これによって炭素が海洋内部に長期間安定に固定されるとの概念に基づいている。海洋には、大気中の二酸化炭素ガスの炭素量にほぼ匹敵する 700 Gt 程度に上る溶解有機炭素 (Dissolved Organic Carbon: DOC) のプールが存在し、その大部分は難分解な性質を有することが知られており、その年齢は最長で 6,000 年にも達することが明らかになっている。難分解な性質とは、すなわち長期間にわたり二酸化炭素に回帰しない炭素プールを意味し、酸性化に結びつかない二酸化炭素の吸収固定先として潜在的に価値の高い炭素貯蔵庫と言える。しかしその生成メカニズムは未だに謎に包まれている。一方、本申請代表者らは、海洋細菌群集がグルコースに代表される易分解性の化合物を利用し増殖する過程で、一部難分解な DOM が生成することを実験的に明らかにした (Ogawa et al., 2001, Science)。そして、これら一連の研究成果を根拠に上記 MCP の概念が生まれている。

2. 研究の目的

大気中の二酸化炭素の海洋への吸収・固定メカニズムとして、“微生物炭素ポンプ (MCP)” という新しい概念が提唱されている。これは、海洋表層の生物生産によって固定された有機炭素が、微生物過程を通じて難分解性の DOC に変換する事によって、より長期間海洋内部に安定して炭素が固定されるメカニズムである。このしくみは、溶解ポ

ンプ等を通じ海洋に吸収される二酸化炭素の量が増加する際に問題となる、海洋酸性化の効果を持たないため、その役割が注目されている。一方、その具体的なメカニズムの内容はブラックボックスのままであり、本申請課題では、特に、地球化学的アプローチと微生物学的なアプローチの両者を用いたメカニズム解明の枠組み構築を目的とした。

3. 研究の方法

(1) 学術研究船白鳳丸の研究航海を利用した太平洋における調査:

本科学研究費の研究期間中に、下記に示す白鳳丸による研究航海 3 回に参加し (いずれも研究代表者の小川が航海主席) それらの航海を利用し太平洋域を対象とした試料採取を中心とした調査研究を実施した。また、過去の研究航海 (KH-08-2 次航海 (2008 年 8 ~ 9 月): 西部北太平洋東経 155 度線の南北断面観測) において採取された試料についても測定対象とした。

・KH-12-3 次航海 (2012 年 7 ~ 8 月): 西部北太平洋東経 160 度線の南北断面観測

・KH-13-7 次航海 (2013 年 12 月 ~ 2014 年 2 月): 中部南太平洋西経 170 度線の南北断面観測

・KH-14-3 次航海 (2014 年 6 ~ 8 月): 中部北太平洋西経 170 度線の南北断面観測

DOM と微生物群集の分布

上記の航海において、難分解性 DOM の化学的特徴を調べるため (高温燃焼酸化法による DOC/DON、超高速液体クロマトグラフィーによるアミノ酸 (一部の試料については D/L 光学異性体比を含む) の測定) 各子午線上に緯度 5 度間隔で設定した各定点において鉛直各層採水を行い、得られた海水試料をガラス繊維濾紙にて濾過を行った後、ガラスアンプル内に熔封し凍結保存して陸上に持ち帰った。また、微生物群集の組成解析 (抽出 DNA に対して 454 シーケンサーによるディープシーケンス法を用いた測定) のため、一部の試料について、海水 5 L ~ 10 L を孔径 3.0 μm と 0.2 μm のメンブランフィルターで濾過し、フィルタ上に捕集された試料を凍結して陸上に持ち帰った。

亜熱帯海域表層に蓄積する DOM の微生物利用性 (一部別研究課題との共同実験)

亜熱帯循環域表層に広く安定して蓄積している事が知られている DOM の微生物利用性を調べるため、KH-13-7 次航海と KH-14-3 次航海において、北緯 20 度、東経 160 度の定点において表層海水を用いた船上培養実験を実施した。微生物利用性は、 ^3H 標識したロイシンの取り込み活性を用いて評価した。微生物利用性の制御要因を明らかにするために、比較として亜表層の微生物群集を接種した系、栄養塩 (深層水) を添加した系について培養を行った。

陸起源難分解性 DOM の分布

当該科学研究費の研究では、海洋の DOM の

研究において世界的な権威である、米国サウスキャロライナ大学の Benner 教授が海外共同研究者として加わり、特に上記のアミノ酸（特に光学異性体比）の測定に参画して頂いた。一方、ほぼ同時期に Benner 教授が米国の NSF に申請していた、同様に MCP をテーマにした研究計画が採択され（No.1504137: 小川が共同研究者として参画）、その研究プロジェクトと共同で、KH-12-3 次航海を利用し、陸起源の難分解 DOM の強力な指標である溶存態リグニン由来フェノール類の測定を試みた。測定は、濾過海水試料から腐植様 DOM を固相抽出した後、溶離したものを酸化銅を用いて酸化し、GC/MS で同定定量した。固相抽出後の分析操作は全て Benner 教授の研究室にて実施した。

(2) 海草・大型藻類由来の難分解 DOM

沿岸海域における難分解性 DOM の生成過程を明らかにする目的で、海草・海藻類を材料に用いて溶出・分解実験を行い、海草・海藻類由来の DOM の分解特性を調べた。試料として、海草（アマモ：Zostera marina）の葉部と根茎部、大型藻類（コンブ：Laminaria sp.）の 3 種類を用いた。これらの試料を人工海水中に浸し細菌群集とともに好気的条件下にて 10 日間培養し、DOM を溶出させた。その後植物試料を取り除き、DOM の分解過程を 120 日間調べた。DOM の量として、DOC・DON 濃度を測定した。

4. 研究成果

(1) 学術研究船白鳳丸の研究航海を利用した太平洋における調査：

DOM と微生物群集の分布

本研究期間に白鳳丸による複数の長期航海に参加する機会に恵まれ、太平洋における広範囲な海域から 1000 を超える膨大な試料を採取することができた。全ての試料を分析するには多大な時間を要するため、研究期間内には代表的な試料の測定だけにとどまったが、特に KH-08-2 次航海において、西部北太平洋の亜熱帯～亜寒帯における DOC/DON の濃度と C:N 比、全溶存アミノ酸濃度・組成、およびその D/L 比のデータセットを初めて得ることができた。特に、海洋有光層内の DOM の C:N 比は、亜寒帯において 12～14 の値を示すのに対し、移行帯で 14～17、亜熱帯では 20～22 と、明らかに貧栄養海域に向かうほど C リッチな組成に変化する傾向が認められた。亜熱帯海域では年間を通じて強い成層構造のため、表層内に（準）難分解性の DOM が蓄積し、難分解化の過程において、N に対し C が選択的に残存するメカニズムが推察された。

一方、微生物群集組成の解析に関しては、従来法（PCR-DGGE 法、クローンライブラリー法）に加えて、454 シーケンサーによるディープシーケンス法の検討を行った結果、

16SrRNA 遺伝子の可変領域の一つである V1-V2 領域の配列を用いることで、効率的かつ従来法とも一致する群集組成解析ができることが示唆された。

亜熱帯海域表層に蓄積する DOM の微生物利用性

上記で示したように、亜熱帯海域表層には、見かけ上難分解な DOM が蓄積していることが知られているが、それが本当に生化学的に難分解な構造によるものなのか、あるいは、何らかの要因によって、細菌群集が利用できないのかは明らかではない。これに対し、細菌群集による有機物利用能の違い、あるいは、で明らかになったように、C リッチであるため、N や P 源の不足が別な要因として考えられた。KH-13-7 および KH-14-3 で行った培養実験では、表層の DOM を表層の細菌群集と共に培養した系に対し、表層の DOM を亜表層の細菌群集と共に培養した系、および栄養塩を添加した系では、それぞれ約 2 倍程度、細菌群集の取込活性が増加する傾向が認められ、上記のような制御要因が一部働いている可能性が示された。ただし、得られた細菌群集の活性は、DOC 濃度を変化させるには不足しており、基本的には、亜熱帯表層に蓄積している DOM は生化学的に難分解な性質を有しているものと考えられた。

陸起源難分解性 DOM の分布

KH-12-3 次航海を利用し、リグニン由来フェノール類を指標とした西部北太平洋における陸起源難分解性 DOM の南北分布の詳細を世界で初めて明らかにすることに成功した。溶存態リグニンは沿岸域で報告されている値に比べ、極めて微量であり DOM 全体に対する陸起源の寄与は極めて僅かであることを示したが、大陸から遠く離れた亜熱帯海域の中深層域にも有意な濃度で存在しており、陸域から供給された DOM のうち難分解なものが海洋全体に広く分布していることが示された。また、リグニンの鉛直分布は、水深 600-800 m 程度の中層でピークを持つ特徴を示し、これは北太平洋中層水（North Pacific Intermediate Water: NPIW）が分布する層と一致した。NPIW は、アムール川等のユーラシア大陸起源の河川水の影響を強く受けていることが知られており、それらの河川水に含まれる陸起源有機物源の中で難分解性のものが NPIW によって輸送され、北太平洋全域に分布しているメカニズムが推察された。

(2) 海草・大型藻類由来の DOM の分解特性

分解実験開始後 120 日目における DOM の残存率は、海草葉部で $66 \pm 9\%$ 、海草根茎部で $12 \pm 3\%$ 、大型藻類で $48 \pm 3\%$ であった。このことから、大型藻類と海草葉部からは難分解な DOM が多く生成し、海草根茎部では比較的分解性が高い DOM が生成することが示唆された。また、残存した DOM の C:N 比は、海草葉部で 14 ± 5 、海草根茎部で 20

±9、大型藻類で 252±28 であり、特に大型藻類からは炭素リッチな難分解性の DOM が生成することが示唆された。大型藻類由来の DOM は、溶出前に実験に供した材料中の有機炭素量に対する残存率も 10±4% で最も高く、難分解性 DOM への移行により潜在的に高い炭素隔離能をもつことが示唆された。

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 16 件)

Uchimiya, M., H. Ogawa, T. Nagata (2015): Effects of temperature-elevation and glucose-addition on prokaryotic production and respiration in the mesopelagic layer of the western North Pacific. *Journal of Oceanography*, 72, 419-426, DOI: 10.1007/s10872-015-0294-, 査読有

Yamashita, Y., C.-J. Lu, H. Ogawa, J. Nishioka, H. Obata, and H. Saito (2015): Application of in situ fluorometer to determine the distribution of fluorescent dissolved organic matter in the open ocean. *Marine Chemistry*, 177, 298-305, DOI:10.1016/j.marchem.2015.06.025, 査読有

小川浩史, 鈴木 亨, 杉本隆成, 齋藤宏明 (2015): 太平洋を中心とした海洋の物質循環と生態系動態の研究, *地球環境*, 20, 173-180, 査読有

Tanaka K., K. Kuma, K. Hamasaki, Y. Yamashita (2014): Accumulation of humic-like fluorescent dissolved organic matter in the Japan Sea. *Scientific Reports*, 4, 5292 DOI:10.1038/srep05292, 査読有

Hamasaki, K., Sato-Takabe, Y., Taniguchi, A., Tada, Y. (2014): Photoheterotrophic process in surface seawater environments. In: *Western Pacific Air-Sea Interaction Study* (Eds. M. Uematsu, Y. Yokouchi, Y. W. Watanabe, S. Takeda, and Y. Yamanaka), TERRAPUB, pp199-202. DOI:10.5047/w-pass.a03.003, 査読無

Ogawa, H., K. Kogure, J. Kanda, F. Hashihama, M. Suzumura (2014): Detailed variations in bioactive elements in the surface ocean and their interaction with microbiological processes, In: *Western Pacific Air-Sea Interaction Study*, eds. M. Uematsu, Y. Yokouchi, Y. W. Watanabe, S.

Takeda, and Y. Yamanaka, pp.177-197, TERRAPUB, Tokyo, DOI: 10.5047/w-pass.a03.002, 査読無

Yoshimura T., J. Nishioka, H. Ogawa, K. Kuma, H. Saito, A. Tsuda (2014): Dissolved organic phosphorus production and decomposition during open ocean diatom blooms in the subarctic Pacific. *Marine Chemistry*, 165, 46-54, DOI:10.1016/j.marchem.2014.08.003, 査読有

Uchimiya M., H. Fukuda, S. Nishino, T. Kikuchi, H. Ogawa, T. Nagata (2013): Vertical distribution of prokaryote production and abundance in the mesopelagic and bathypelagic layers of the Canada Basin, western Arctic: Implications for the mode and extent of organic carbon delivery, *Deep Sea Research Part I*, 71, 103-112, DOI: 10.1016/j.dsr.2012.10.001, 査読有

Kawasaki, N., Komatsu, K., Kohzu, A., Tomioka, N., Shinohara, R., Satou, T., Watanabe, F., Tada, Y., Hamasaki, K., Kushairi, MRM and Imai, A. (2013): Bacterial contribution to dissolved organic matter in eutrophic Lake Kasumigaura, Japan. *Appl Environ Microbiol*, 79:7160-7168, DOI:10.1128/AEM.01504-13, 査読有

Yamashita Y, Y. Nosaka, K. Suzuki, H. Ogawa, K. Takahashi, H. Saito (2013): Photobleaching as a factor controlling spectral characteristics of chromophoric dissolved organic matter in open ocean. *Biogeosciences*, 10, 7207-7217, DOI:10.5194/bg-10-7207-2013, 査読有

Yamada N., H. Fukuda, H. Ogawa, H. Saito, M. Suzumura (2012): Heterotrophic bacterial production and extracellular enzymatic activity in sinking particulate matter in the western North Pacific Ocean, *Frontier in Aquatic Microbiology*, 3, 1-13, 2012, DOI: 10.3389/fmicb.2012.00379, 査読有

[学会発表](計 12 件)

Ogawa H., N. Saotome, A. Sakai, M. Uchimiya, H. Fukuda: Glycine as a potentially specific biomolecule of semi-labile dissolved organic matter in the ocean, 2016 Ocean Science Meeting, 2016年2月24日, 米国・ニューオーリンズ

Ogawa H., C.J. Lu, J. Nishioka, Y. Yamashita, H. Obata, H. Fukuda, C.G. Fichot, R. Benner: Distributions of dissolved lignin in the western, North Pacific: Implication for transportation of terrigenous dissolved organic matter accompanied with iron, 2014 Ocean Science Meeting, 2014年2月25日, 米国・ホノルル

Hamasaki K., R.Kaneko, S. Suzuki, Y. Cui: Spatiotemporal dynamics of bacterioplankton in the Pacific Ocean: clues to ecosystem functioning, The 5th Taiwan-Korea-Japan International Symposium on Microbial Ecology, 2013年10月31日, 台湾・台北

小川浩史・呂佳蓉・西岡純・山下洋平・小畑元・福田秀樹・C. G. Fichot・R. Benner: 西部北太平洋における溶存態リグニンの分布-NPIWによる陸起源溶存有機物と鉄の長距離輸送の可能性-, 2013年度日本海洋学会秋季大会, 2013年9月19日, 札幌・北海道

Ogawa H., M. Uchimiya, H. Fukuda: DECOMPOSITION CHARACTERISTICS OF DISSOLVED ORGANIC MATTER IN SURFACE WATERS OF THE WESTERN NORTH PACIFIC, ASLO 2013 Aquatic Sciences Meeting, 2013年2月19日, 米国・ニューオリンズ

鈴木翔太郎・金子亮・浜崎恒二: 太平洋超貧栄養海域における細菌および古細菌の群集構造, 日本微生物生態学会年会, 2012年9月20日, 豊橋・愛知県

6. 研究組織

(1)研究代表者

小川浩史 (OGAWA, Hiroshi)
東京大学・大気海洋研究所・准教授
研究者番号: 50260518

(2)研究分担者

浜崎恒二 (HAMASAKI, Kouji)
東京大学・大気海洋研究所・准教授
研究者番号: 80277871