

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 10 日現在

機関番号：17301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26550010

研究課題名(和文) 海洋亜表層の窒素循環を制御する微量金属元素の複合作用メカニズム

研究課題名(英文) Complex functions of trace metals on regulation of nitrogen cycle in the subsurface ocean

研究代表者

武田 重信 (TAKEDA, Shigenobu)

長崎大学・水産・環境科学総合研究科(水産)・教授

研究者番号：20334328

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：北太平洋における現場観測と船上培養実験の結果から、亜表層クロロフィル極大層付近の植物プランクトン群集は強い鉄制限を受けていること、植物プランクトンが増殖に必要とする鉄以外の微量金属元素のうち亜鉛やコバルトについても溶存濃度の低下が認められるが、亜鉛とコバルトによる増殖制限は受けていないこと、鉄供給により植物プランクトン群集の硝酸塩消費が増大することなどが明らかになった。これにより海洋亜表層における窒素循環に関する仮説の中で、鉄欠乏に伴う植物プランクトンの硝酸塩代謝の阻害作用が、亜硝酸塩の細胞外放出を促し、亜硝酸塩の極大層の形成に寄与している可能性が高まった。

研究成果の概要(英文)：Based on the field observations and on board incubation experiments conducted in the North Pacific Ocean, it became clear that the phytoplankton assemblages in the subsurface chlorophyll maximum layer are under severe iron-limitation, and that nitrate consumption by phytoplankton can be stimulated under iron-sufficient conditions. Although dissolved zinc and cobalt concentrations also decreased at the subsurface chlorophyll maximum layer, there was no response in phytoplankton growth in the zinc or cobalt enrichment incubation experiments. These results support a hypothesis that iron limitation stimulates nitrite release from phytoplankton cells to the surrounding water due to inhibition of nitrate metabolic pathway, and causes formation of the primary nitrite maximum in the oceanic subsurface layer.

研究分野：海洋生物地球化学

キーワード：海洋生態 物質循環 微量金属 窒素 植物プランクトン 鉄

1. 研究開始当初の背景

海洋における炭素など生元素の物質循環を把握するには、有光層外から供給される硝酸塩などをを用いた一次生産、すなわち新生産を正しく評価することが必須となる。近年、有光層内で微生物硝化による硝酸塩の生成が起きていることが示され、硝酸塩取り込みを指標として従来見積もられてきた新生産の見直しが求められている。この微生物硝化の寄与を評価する上で、海洋の亜表層で見られる亜硝酸塩の極大層の形成要因の解明が、重要な鍵になり得る。

亜硝酸塩の極大層が生じる要因としては、微生物によるアンモニアの硝化作用と、植物プランクトンからの亜硝酸塩放出の二つの機構が考えられる。硝化を担うアンモニア酸化酵素は銅、鉄、あるいは亜鉛を補因子として含んでおり、電子伝達系においても硝化細菌は鉄、硝化古細菌は銅に依存していることが分かっている。

植物プランクトンからの亜硝酸塩放出には、弱光下での亜硝酸還元への阻害に加えて、鉄欠乏により亜硝酸還元と硝酸還元のバランスが乱され余剰の亜硝酸塩が細胞外に放出されることが、珪藻培養株を使った室内実験結果から示唆されている (Milligan & Harrison, 2000)。しかし、海洋の現場におけるその意義については深く触れられてこなかった。また、外洋の溶存鉄の大部分を占める有機錯体鉄の取り込みには、銅を含む酸化酵素を必要とする。このため海洋亜表層では、微生物群と植物プランクトンの間で鉄、銅などに関する競合が起こり、その過不足が窒素循環を支配している可能性は高いと考えられる。さらに、植物プランクトンは、光合成に際して不可欠な炭酸脱水素酵素に、亜鉛やコバルトを必要とする。しかし、フィールドの現場においてこれらの相互関係を直接調べた研究はこれまでなかった。

2. 研究の目的

海洋の亜表層における栄養塩および微量元素分布の高感度・高分解能測定にチャレンジし、鉄や亜鉛などの微量栄養金属の動態が、植物プランクトンからの亜硝酸塩の細胞外放出や、微生物群による硝化作用に影響を及ぼし、亜硝酸塩極大層の形成を始めとする亜表層の窒素循環を制御する要因になっているとの新たな仮説を、現場観測によるプロセス研究を通して検証することを目的とする。

これにより、外洋域における海洋新生産の再評価に寄与するとともに、地球環境変動に対する海洋生態系の応答予測の高度化に貢献する。

3. 研究の方法

2014年6~8月の白鳳丸 KH-14-3 次航海に乗船し、北太平洋の亜寒帯・亜熱帯移行域の 35°N、170°W (7月21日) で亜表層クロロフ

イル極大層付近の高分解採水を行い、船上培養実験を実施するとともに、亜寒帯域の 50°N、170°W (7月25日) でも船上培養実験用の海水試料を採取した。採水は、チタン製アーマードケーブルで吊下した CTD-CMS システムに、酸洗浄した 12-L テフロンコーティング・ニススキン X 型採水器 24 本を装着し、微量元素による汚染防止に配慮して実施した。採取した海水試料は、栄養塩 (オートアナライザー分析) クロロフィル α DMF 抽出・Welschmeyer 蛍光法) 溶存微量元素濃度などを測定した。微量元素用の海水試料は、pH 1.7 以下で6カ月以上保存した後、自動キレート樹脂濃縮装置を備えた高分解能 ICP 質量分析計で測定した。

船上培養実験には、亜表層クロロフィル極大層付近のプランクトン群集だけでなく、表層の群集も用いて応答の違いを比較した。クリーンルーム内において、現場のプランクトン群集を含む海水を酸洗浄した 300 ml ポリカーボネート製培養ボトルに分注した後、1.0 nM の鉄 (FeCl_3)、亜鉛 (ZnCl_2) もしくは 0.1 nM のコバルト (CoCl_2) をそれぞれ添加し、無添加の培養ボトルを対照区 (コントロール) とした。培養ボトルは現場の光量・水温を模擬した LED 照明付恒温インキュベーター内にて 3~5 日間培養した。培養開始時および終了時に栄養塩濃度、Chl a 濃度の変化を調べた。

4. 研究成果

(1) 北太平洋の亜表層における栄養塩と微量元素の分布

亜寒帯・亜熱帯移行域 (35°N) の測点では、亜表層クロロフィル極大が深度 52 m 付近に認められ、その直下の深度 56 m 付近に亜硝酸塩極大層の形成が確認された (図 1)。硝酸塩躍層は深度 40~60 m にかけて発達していた。これらの亜表層クロロフィル極大、亜硝酸塩極大、硝酸塩躍層の位置関係は、太平洋亜熱帯循環域でよく見られるパターン (Lomas and Lipschultz, 2006) と類似していた。硝酸塩躍層は、亜表層クロロフィル極大層ならびに亜硝酸塩極大層と重なっていたことから、亜表層の植物プランクトン群集が取りこんだ硝酸塩を亜硝酸塩として水中に放出する過程が、亜硝酸塩極大層の形成に強く関与している可能性が伺える。

この測点における溶存鉄濃度は、150 m 以浅の水柱全体を通して 0.1 nM 以下の非常に低い値を示した (図 2)。亜表層クロロフィル極大から亜硝酸塩極大層にかけての深度では、溶存亜鉛濃度も 0.1 nM 程度にまで顕著に低くなる傾向を示した。また、溶存コバルト濃度も 100 m 以浅では深度が浅くなるにつれて濃度が減少する傾向にあった。これらのことから、亜硝酸塩極大層付近では鉄、亜鉛、コバルトの濃度が低くなっており、窒素循環に関わる生物活動を制限し得ることが示唆された。一方、溶存銅濃度は、20~60 m

でやや低い値を示したものの、150 m 以浅の水柱における濃度が 0.6 nM 以上と比較的高く、生物活動を制限している可能性は低いと考えられる。

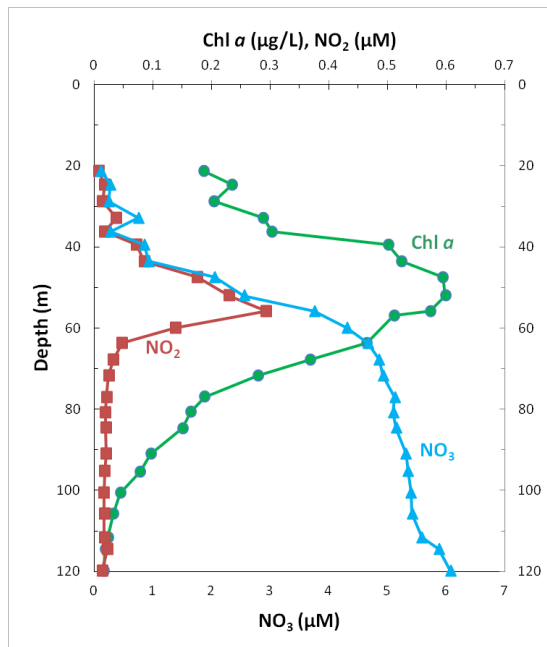


図1 北太平洋の亜寒帯・亜熱帯移行域における硝酸塩、亜硝酸塩、クロロフィル a 濃度の鉛直分布

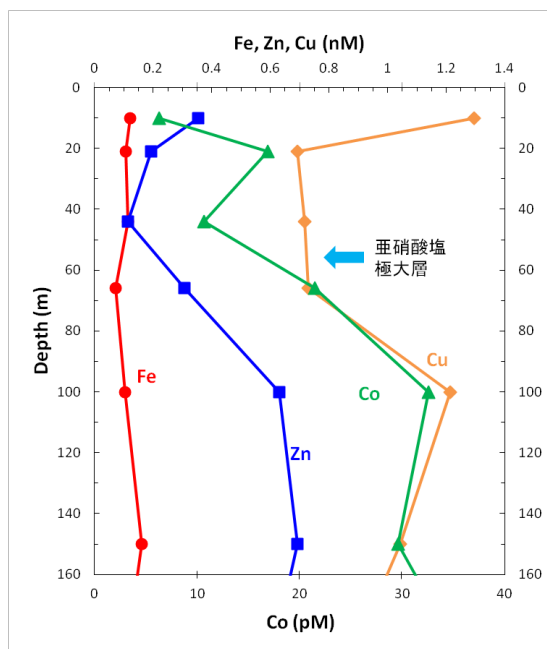


図2 北太平洋の亜寒帯・亜熱帯移行域における溶存微量元素（鉄、亜鉛、銅、コバルト）の鉛直分布

亜寒帯域（50°N）の測点は、高栄養塩・低クロロフィル（HNLC）海域であり、表層と亜表層ともに硝酸塩をはじめとする各種栄養塩が高濃度で検出された。亜表層クロロフィル極大層は 19 m と浅くなっており、その深度付近から下層にかけて硝酸塩躍層がみられ、深度 50 m 付近で特に亜硝酸塩濃度が高くなっていた。50 m 以浅の溶存鉄濃度は 0.08 ~ 0.17 nM と非常に低い値を示し、溶存亜鉛

濃度も 20 m 以浅で 0.4 nM 前後にまで低下していた。溶存銅濃度は、1.8 nM 程度と高く、明瞭な鉛直変化が見られなかった。また、溶存コバルト濃度は、亜表層クロロフィル極大層付近でやや高くなる傾向を示した。これらのことから、亜寒帯域の亜表層クロロフィル極大層においても、現場の溶存濃度が低い鉄に加えて、亜鉛も窒素循環に関与している可能性が示唆された。

(2) プランクトン群集の増殖と窒素代謝に及ぼす微量元素の影響

亜寒帯・亜熱帯移行域（35°N）の測点で実施した船上培養実験では、亜表層クロロフィル極大層付近の 44 m から採取したプランクトン群集において、鉄添加区でのみ明瞭なクロロフィル量の増加が見られた（図3(上)）。

この鉄添加区では硝酸塩濃度が他の実験区と比べて大きく減少しており、亜硝酸塩についても他の実験区より低くなっていた（図3(下)）。亜鉛添加区とコバルト添加区は、クロロフィル量や硝酸塩と亜硝酸塩濃度に関して対照区とほとんど差が認められなかった。アンモニウム塩については、いずれの実験区でも 3 日間の培養で大きく減少したが、鉄添加区とコバルト添加区では対照区よりもやや高い値を示した。一方、表層（21 m）から採取したプランクトン群集では、対照区ならびに微量元素添加区のいずれにおいても増殖応答は見られなかった。これは実験開始時の栄養塩濃度が溶存ケイ酸を除いてほぼ枯渇状態にあったためと考えられる。

平行して行った別の船上培養実験からは、鉄を添加した亜表層の植物プランクトン群集の中で、プロクロコッカスとシネコッカス（シアノバクテリア）と比べて小型の真核藻類の増殖がやや抑制される傾向にあったことが示され、藻類グループ間で鉄に対する競合が起きている可能性が示唆された。

これらの結果から、亜寒帯・亜熱帯移行域の亜表層クロロフィル極大層付近において、植物プランクトン群集は鉄不足による増殖ならびに硝酸塩利用の制限を受けていることが明らかになり、鉄不足の植物プランクトンから亜硝酸塩が放出されている可能性が高まった。

亜寒帯域（50°N）の測点は、いわゆる HNLC 海域で表層に栄養塩が多く残存していたため、表層（10 m）と亜表層クロロフィル極大層（19 m）のいずれのプランクトン群集においても鉄添加によるクロロフィル量の増加が見られ、培養 5 日目のクロロフィルバイオマスは対照区の約 4 倍にまで達した（図4(上)）。しかし、亜鉛添加区とコバルト添加区のクロロフィル量は、表層と亜表層のプランクトン群集で、ともに対照区と差が認められなかった。従って、亜寒帯域においても、プランクトン群集の制限要因としては、調べた微量元素の中で鉄のみが有意な影響を及ぼし得ることが確認された。

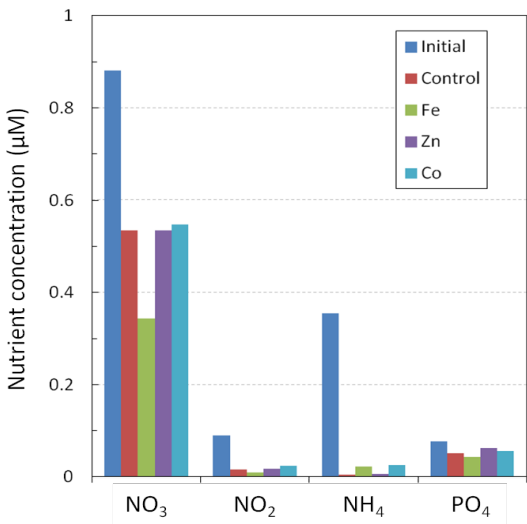
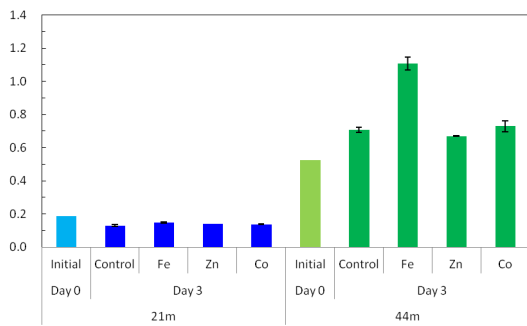


図3. 北太平洋の亜寒帯・亜熱帯移行域において表層(21 m)と亜表層クロロフィル極大(44 m)のプランクトン群集を対象に実施した船上培養実験における実験開始時と終了時(3日後)のクロロフィル濃度の変化(上)と、亜表層クロロフィル極大での実験における栄養塩濃度の変化(下)。培養開始時(Initial)、対照区(Control)、鉄1 nM添加区(Fe)、亜鉛1 nM添加区(Zn)、コバルト0.1 nM添加区(Co)

亜寒帯域の鉄添加区では、亜寒帯・亜熱帯移行域における実験と同様に、硝酸塩と亜硝酸塩濃度が他の実験区と比べて大きく減少しており、リン酸塩についても他の実験区との間で明瞭な濃度低下が認められたが、アンモニウム塩については対照区と差が無かった(図4(下))。すなわち鉄供給によって植物プランクトン群集による硝酸塩の利用がスムーズに行われるようになり、水中の亜硝酸塩も減少することが示された。

平行して行った別の船上培養実験からは、亜表層の植物プランクトン群集内において、鉄添加に主に増殖応答を示したのは珪藻を主体とする真核藻類であり、シネコッカス(シアノバクテリア)は細胞内色素含量を増加させるものの細胞数については明瞭な変化を示さないという結果が得られた。

KH-14-3次航海では、北極海の68°N、168°W(7月30日)においても同様な微量金属の添加培養実験を行った。現場における溶存鉄濃度は、約7nMと非常に高く、鉄による増殖制限は見られなかったが、亜鉛とコバルトの添加によって現場の植物プランクトン

ン群集の増殖ならびに硝酸塩やアンモニウム塩をはじめとする栄養塩類の消費量の増加が認められた。この新たな知見は、鉄が十分存在する環境下において、炭酸脱水素酵素の補因子として光合成系に影響を及ぼす亜鉛やコバルトが新たな制御要因になり得ることを示しており、沿岸域や湧昇域など鉄の供給量が比較的多い場所での窒素循環の制御過程として、今後、新たな研究展開に繋がる結果である。

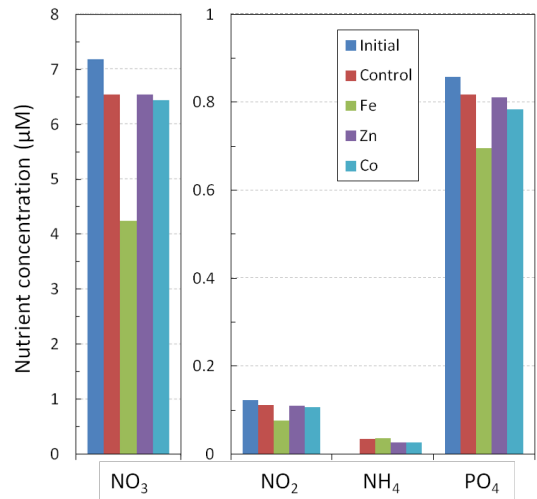
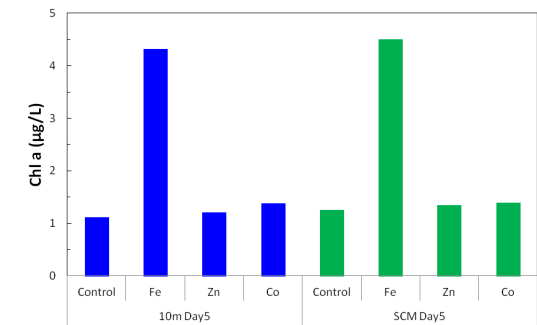


図4. 北太平洋の亜寒帯域において表層(10 m)と亜表層クロロフィル極大(SCM: 19 m)のプランクトン群集を対象に実施した船上培養実験における実験開始時と終了時(5日後)のクロロフィル濃度の変化(上)と、亜表層クロロフィル極大での実験における栄養塩濃度の変化(下)。培養開始時(Initial)、対照区(Control)、鉄1 nM添加区(Fe)、亜鉛1 nM添加区(Zn)、コバルト0.1 nM添加区(Co)

(3) 亜硝酸塩極大層の形成ならびに亜表層の窒素循環の制御要因に関する仮説

本研究で得られた結果から、北太平洋の亜熱帯から亜寒帯にかけての亜表層クロロフィル極大層付近において、現場の低い溶存鉄濃度により植物プランクトン群集の窒素代謝と増殖は強く制限されていることが初めて明らかになった。亜鉛やコバルトについても現場の溶存濃度が低くなっていたが、これらの微量金属を添加しても植物プランクトン群集の増殖や窒素代謝に変化が認められなかった。従って、亜表層の窒素循環に関わる微量元素としては、鉄が重要であり、他の

金属元素が直接的に作用する可能性は低いと考えられる。

今回の研究成果は、海洋亜表層における窒素循環に関する仮説の中で、鉄欠乏に伴う植物プランクトンの硝酸塩代謝の阻害が亜硝酸塩の細胞外放出を促し、亜硝酸塩極大の形成に寄与しているとの仮説を強く支持するものである。但し、鉄供給に対する植物プランクトンの増殖応答については、真核藻類とシネコッカスなどのシアノバクテリアの間で違いがみられたことから、植物プランクトンと硝化細菌・古細菌との相互作用に加えて、植物プランクトン群集内における鉄獲得の競争関係を考慮していく必要があると考えられる。今後は、これらの点を考慮した観測・実験を実施し、微生物群による硝化作用と植物プランクトン群集による亜硝酸塩放出の相対的な寄与について、定量的な解析を進める予定である。

<引用文献>

- Milligan, A.J., P.J. Harrison, 2000, Effects of non-steady-state iron limitation on nitrogen assimilatory enzymes in the marine diatom *Thalassiosira weissflogii* (BACILLARIOPHYCEAE), *Journal of Phycology*, 36, 78-86
- Lomas, M.W., F. Lipschultz, 2006, Forming the primary nitrite maximum: Nitrifiers or phytoplankton? *Limnology and Oceanography*, 51, 2453-2467.

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 2件)

- Shiozaki, T., S. Takeda, S. Itoh, T. Kodama, X. Liu, F. Hashihama, K. Furuya, 2015, Why is *Trichodesmium* abundant in the Kuroshio? *Biogeosciences*, 12, 6931-6943. 査読有,
DOI:10.5194/bg-12-6931-2015
- Tanita, I., S. Takeda, M. Sato, K. Furuya, 2015, Surface and middle layer enrichment of dissolved copper in the western subarctic North Pacific, *La Mer*, 53, 1-18. 査読有,
URL:https://www.researchgate.net/publication/277893132_Surface_and_middle_layer_enrichment_of_dissolved_copper_in_the_western_subarctic_North_Pacific

[学会発表](計 4件)

- 武田重信、太平洋の 170°W 線に沿った表層 200m 以浅における溶存微量金属濃度の南北分布、東京大学大気海洋研究所共同利用研究集会、2016 年 2 月 18-19 日、東京大学(千葉県・柏市)
- 藤田裕也・近藤能子・武田重信、東部東シ

ナ海陸棚域における亜表層クロロフィル極大層と硝酸塩躍層の 1 日スケール変動、九州大学応用力学研究所共同利用研究集会、2016 年 2 月 6 日、九州大学(福岡県・春日市)

武田重信・増田阿美、東部東シナ海における亜表層クロロフィル極大層付近の栄養塩環境、名古屋大学地球水循環研究センター共同利用研究集会、2015 年 6 月 13-14 日、名古屋大学(愛知県・名古屋市)

Obata, H., J. Nishioka, T. Kim, K. Norisuye, S. Takeda, Y. Wakuta, T. Gamo, Clean seawater sampling for trace metals during Japanese GEOTRACES cruises, Asia Oceania Geosciences Society 2014-AOGS 11th Annual Meeting, 2014 年 7 月 28 日-8 月 1 日、ロイトン札幌ホテル(北海道・札幌市)

6. 研究組織

(1)研究代表者

武田 重信 (TAKEDA, Shigenobu)
長崎大学・水産・環境科学総合研究科(水産)・教授
研究者番号: 20334328

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

和田 実 (WADA, Minoru)
長崎大学・水産・環境科学総合研究科(水産)・教授
研究者番号: 70292860

梅澤 有 (UMEZAWA, Yu)

長崎大学・水産・環境科学総合研究科(水産)・准教授
研究者番号: 50442538