

亜熱帯外洋域における栄養塩環境変動に対する

植物プランクトン群集の増殖応答

○増田貴子¹・塩崎拓平¹・児玉武稔¹・松井崇人²・鈴木光次²・古谷研¹

¹東京大学農学生命科学研究科、²北海道大学環境科学院

【目的】亜熱帯外洋域では成層が発達してほぼ通年にわたり表層の栄養塩が枯渇する。このような貧栄養海域では、生物量が相対的に低く、変動性に乏しいことから「海の砂漠」と呼称されている。こうした概念は、Stn. ALOHA や BATS における定点観測の結果や海盆スケールからサブメソスケールにおける栄養塩濃度のナノモルレベルの栄養塩変動が明らかになるにつれて、大きく修正されつつある。しかし、ナノモルレベルの栄養塩環境変動に対する植物プランクトン群集の増殖応答については知見が殆どない。本研究では、亜熱帯貧栄養海域において現場群集を用いた栄養塩添加培養実験から、興味ある結果を得たので報告する。

【方法】「みらい」MR08-02 航海でグアム沖の定点（12° N 135° E）にて 2008 年 6 月の 20 日間に 5 回の窒素添加実験（実験 1-5）を行った。実験には、微量金属の混入を避けたクリーンテクニックを用い、表層 5~10m からテフロンポンプを用いて表層水を採取した。捕食者の影響を免れるために 1 μm のフィルターで濾過した画分に、硝酸塩、アンモニウム、尿素を窒素源として添加量を終濃度 100 nmol L⁻¹ となるよう付加し、対照区として無添加区およびリン酸塩添加区（10 nmol L⁻¹）を設けた。表面海水掛け流し式の培養水槽内で現場表面海水温度（約 29°C）にて 3 日間培養して、毎日試料を採取し、栄養塩濃度を高感度栄養塩分析装置で、*Prochlorococcus*、*Synechococcus*、真核植物プランクトン、細胞径 2 μm 以上の単細胞性シアノバクテリア（ナノシアノバクテリア）の細胞密度、細胞径、蛍光特性をフローサイトメトリーで、植物色素濃度を HPLC で、窒素固定生物の *nifH* 遺伝子コピー数を定量 PCR で分析した。顕微鏡観察の結果、実際には 6 μm 以下の細胞が観察の対象であった。

【結果と考察】

[窒素固定者が海域表層にアンモニウム塩を供給する]

20 日間の定点滞在中に表面水塊は高塩分水塊（塩分 34.3）から低塩分水塊（塩分 33.9）に置き換わり、それに伴い培養用試水の栄養塩環境は実験 1-3 と実験 4、5 で異なった。すなわち、実験 1-3 のアンモニウム塩濃度は低く（平均 8 nmol L⁻¹）、リン酸塩濃度は高かった（平均 58 nmol L⁻¹）が、実験 4、5 ではアンモニウム塩濃度が高く（平均 26 nmol L⁻¹）リン酸塩濃度が低かった（平均 31 nmol L⁻¹）。なお、硝酸塩+亜硝酸塩濃度は常に 7 nM 以下であった。低塩分水塊は実験 3 と実験 4 の間に定点の北側から移動してきた窒素固定活性が活発な水塊であった（Shiozaki et al., 2013）。窒素固定者としてナノシアノバクテリアが卓越していたが、大型の窒素固定生物 *Trichodesmium* や *Richelia intracellularis* も観察された（Shiozaki et al., 2013）。ナノシアノバクテリアは全ての測点で観察され、その細胞数は Group B 窒素固定者の *nifH* コピー数とほぼ等しかったことから、ナノシアノバク

テリアの大部分は窒素固定能を有すると考えられた。ナノシアノバクテリア細胞密度は実験 1-3 に比べて実験 4、5 で高く、特に実験 4 の細胞密度 $1512 \pm 684 \text{ cells mL}^{-1}$ は実験 1-3 の平均細胞密度 ($152 \pm 106 \text{ cells mL}^{-1}$) に比べて 10 倍高かった。以上から前述の栄養塩濃度の変化は窒素固定者によるアンモニウム塩の供給とリン酸塩の消費の結果と考えられた。

[ナノモルレベルの栄養塩の付加が植物プランクトン群集組成を変える]

栄養塩の付加に対し、全ての培養実験で以下の共通した傾向が認められた。すなわち、*Prochlorococcus*、*Synechococcus* および真核植物プランクトンは全ての窒素添加区で無添加区に比べて増殖速度が高く、細胞密度が有意に増加した。増殖速度は窒素化合物の種類によっても異なった。すなわち、*Prochlorococcus* および真核植物プランクトンは尿素およびアンモニウム付加で硝酸塩よりも高い増殖速度を示し、これに対し、*Synechococcus* は硝酸塩添加区で増殖速度が最も高かった。他方、ナノシアノバクテリアの増殖速度は添加した窒素化合物の種類による違いを示さず、いずれの実験区でも収量に有意差が認められなかった。以上から、1) *Prochlorococcus*、*Synechococcus*、および真核植物プランクトンの増殖は窒素制限を受けていたこと、2) *Prochlorococcus* および真核植物プランクトンは還元型の窒素、*Synechococcus* は硝酸塩を利用して効率的に増殖していたことが明らかとなった。

窒素添加に対する増殖応答の程度は実験間で異なったが、これは実験開始時の無機態窒素 (DIN) 濃度が影響しているためであった。すなわち、実験開始時の DIN の低い ($< 9 \text{ nmol L}^{-1}$) 条件下ではアンモニウムおよび尿素添加区では *Prochlorococcus* の増殖速度が最も高く、*Synechococcus* がそれに続いた。硝酸塩添加区では *Synechococcus* の増殖速度が他のグループに比べて高かった。これに対し、現場の窒素濃度の高い ($> 20 \text{ nmol L}^{-1}$) 水塊ではいずれの実験区においても真核植物プランクトンあるいは *Synechococcus* の増殖速度が最も高かった。実験開始時の細胞密度に対する相対的な収量で見た増殖促進効果は *Prochlorococcus* および *Synechococcus* では実験開始時の DIN 濃度が低いほど高いのに対し、真核植物プランクトンでは実験開始時の DIN 濃度によらずその効果が一定であった。これらの結果から、増殖応答は、付加される窒素化合物の種類と現場の栄養塩濃度に依存することが明らかになった。

[窒素固定由来の窒素は *Prochlorococcus*、*Synechococcus* の増殖を促進する]

窒素固定由来の窒素が供給された実験 4 および 5 では、実験開始時 *Prochlorococcus*、*Synechococcus* の細胞密度が実験 1-3 の細胞密度に比べて 7 倍および 27 倍高かったが、真核植物プランクトンの細胞密度は 1.5 倍に留まった。既報の細胞内 N 含量を用いると、このような非窒素固定者の細胞密度の増加に必要な窒素量は 11 nmol L^{-1} と見積もられた。表層の窒素固定活性は実験 1-3 ($0.0 - 3.5 \text{ nmol L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) に比べて実験 4、5 で顕著に高く、最大で $15.2 \text{ nmol L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ であった。*Trichodesmium* では固定した窒素の 50-90% が DON、アンモニウム塩などとして排出されることが知られている (Glibert and Bronk, 1994, Mulholland and Bernhardt, 2005)。これらから、窒素固定由来の窒素は非窒素固定者の増殖に必要な窒素のうち大部分を賄い得ることが明らかとなった。以上の結果から、*Prochlorococcus*、*Synechococcus* の実験 4、5 における高い現存量は窒素固定由来の窒素を利用した可能性が高く、*Prochlorococcus*、*Synechococcus* の増殖に対して、窒素固定由来の窒素が重要であることが示唆された。