

1. 緒言

海洋溶存態有機物 (Dissolved Organic Matter: DOM) は地球表層で最大級の有機炭素プールである。DOM の約 9 割を占める難分解性 DOM (Refractory DOM: RDOM) は、生物学的に分解されにくい性質を示す成分であり、数千年の時間規模で炭素を固定する機能をもつと考えられている。そのため RDOM の動態を明らかにすることがグローバルな炭素循環を解明する上で重要な課題となっているが、近年の研究でバクテリアの代謝活動の副産物として生産される経路が存在することが示された。DOM のうち蛍光特性をもつものは蛍光性溶存態有機物 (Fluorescent DOM : FDOM) と呼称される。FDOM はその起源により特有の波長特性を示す。生物学的に難分解性の腐植様物質と同様の波長特性を示す FDOM は、RDOM 動態の指標として利用されている。DOM 濃度は海洋表層において高く中深層で低くなる鉛直分布を示す一方、腐植様 FDOM 蛍光強度は表層へ近づくにつれ小さくなる逆の分布が観測されている。このため、海洋表層において FDOM は DOM を構成する主要な成分でないと考えられてきた。しかし、腐植様 FDOM もバクテリアによって生産されることが実験的に示されており、バクテリア活性が高い表層で FDOM が生産されていない可能性は低い。先行研究により FDOM は光化学反応により蛍光を失いやすいことが示されており、海洋表層では、太陽光への暴露によりバクテリア起源 FDOM の蛍光の消失していることが推測される。しかし、バクテリア起源 FDOM の光感受性や、光化学反応による無機化の程度は未解明な点が多い。

本研究ではバクテリア起源 FDOM の光脱色過程とその有機物の残存性を明らかにし、海洋表層の炭素循環におけるバクテリア起源有機物の重要性を評価することを目的として実験を行った。

2. 試料と方法

1)バクテリアによる FDOM 生成実験

2013 年 6 月に静岡県下田沖において採取した海水を有効保持粒子径 $0.7\mu\text{m}$ ガラス繊維ろ紙 (GF/F, Whatman) でろ過し、ろ液を自然バクテリア群集として体積比 10%となるよう人工海水培地に導入した。炭素源としてグルコースを 10mg C L^{-1} の濃度で添加し、20L タンクにて 90 日間の培養を行った。培養期間中はタンクを設置したインキュベーター内を 20°C 、暗条件に設定した。タンクは 4 基用意し、15 日目と 90 日目に照射実験に用いるため 2 基ずつ回収した。培養 0, 1, 3, 5, 10, 15, 20, 30, 60, 90 日目に培地試料を各タンクから 200ml 採取し、溶存有機炭素 (Dissolved Organic Carbon: DOC) 濃度、バクテリア細胞数、FDOM をモニターした。

2)光照射実験

培養によって得られた試水を GF/F と無機メンブレンフィルター (Anodisc, Whatman, 孔径 $0.2\mu\text{m}$) でろ過し、1L 石英ビンに分配した。1 回の実験につき石英ビンは 3 本使用、このうち 1 本は暗条件コントロールとし、SuntestXLS+ (ATLAS) を用いて人工太陽光を照射した。照射強度は 765 Wm^{-2} に設定し、0~24 時間の範囲で照射時間を変え、7 回実験を行った。照射実験中、石英ビンは水温を 22°C に設定した水槽に設置し、試料温度を一定に保った。照射実験後の試水の DOC 濃度、FDOM 蛍光強度の変化を観察した。

3)分析

バクテリア細胞数はフローサイトメーター (FACSCalibur, BD) を用いて計測した。DOC 濃度は全炭素計 (TOC-V, 島津) を用いて高温触媒燃焼酸化法により測定した。FDOM については蛍光分光光度計 (F4500, 日立) による測定で 3 次元励起蛍光等高線図を作成、平行因子分析 (Parallel Factor analysis: PARAFAC) を行うことにより蛍光成分の分画と各画分の蛍光強度の変化を分析した。蛍光強度は超純水のラマン散乱光

のピーク面積を用いて値を標準化した。

3. 結果と考察

1) バクテリア起源 FDOM 生産

培養期間中、バクテリアの増殖に伴う FDOM の生産が確認された。PARAFAC 分析の結果、培地中の FDOM は Component1~4 までの 4 つの蛍光成分に分離され、その蛍光特性は海洋で一般的に認められる腐植様 FDOM 及びタンパク様 FDOM の波長特性とほぼ一致するものであった (図 1)。このうち Component3 蛍光成分は先行研究において海洋腐植様 FDOM と定義される自生性 RDOM の指標として用いられている (Coble, 1996)。

2) FDOM 光感受性

培養 15 日目の試水を用いた 24 時間の光照射実験の結果、Component3 の蛍光強度は初期値の約 10%まで急激に減少した(図 2)。これは自然光に約 10 日間暴露されることにより、海洋腐植様 FDOM が蛍光強度にして 9 割消失することを意味する。一方、無機化された DOM 炭素量は初期濃度の 2%にとどまり、有機物レベルではバクテリア起源 DOM の大部分が光化学反応に対し抵抗性を持つことが示された (図 2)。この結果は、バクテリア起源 FDOM は光化学反応によって蛍光を消失するが、有機物としては残存し海洋表層の DOM プールに寄与していることを示唆する。今回の実験で観察された DOC あたりの蛍光強度の値 (照射 0 時間 : 0.71×10^{-3} R.U. μMC^{-1} 、24 時間 : 0.06×10^{-3} R.U. μMC^{-1}) と西部北太平洋表層で観測された値 ($0.02 \sim 0.03 \times 10^{-3}$ R.U. μMC^{-1} 、宇角, 2013) から算出すると、バクテリア起源 DOM は表層の DOM に対して 30~50%の寄与をもつと推定することができる。

海洋表層では FDOM 光脱色が生じることから光学的なトレーサーを用いた DOM 動態の評価が進んでいなかった。本研究では、バクテリア起源 FDOM の生産と光化学反応による速やかな蛍光特性の消失が生じる一方、有機炭素の 90%以上が残存する過程を明らかとなった。これは海洋表層の DOM プールに対して、バクテリアが RDOM 生産者として無視できない役割を果たしている可能性を示唆するが、DOM 動態の詳細を評価するためには、環境中での FDOM 生産速度や、光化学反応後有機物として残存する成分の微生物利用性に関する研究を継続する必要がある。

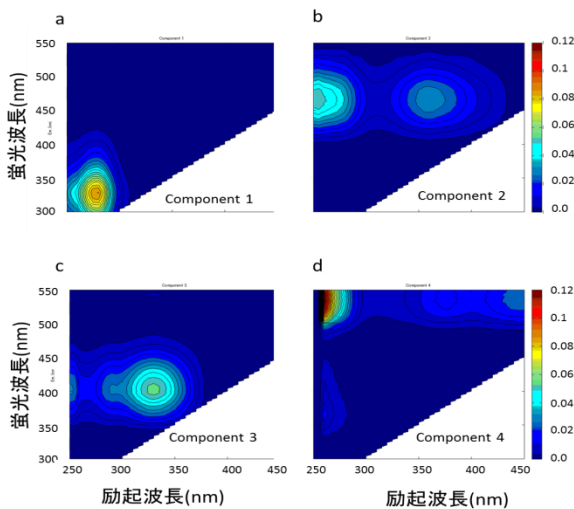


図 1 培養中に生産された FDOM の 3 次元励起蛍光等高線図。

軸の縦横はそれぞれ蛍光、励起波長 (nm) を、カラーバーは蛍光強度 (R.U.) を示す。a,b,c,d は分離された蛍光成分でそれぞれタンパク様、UV・可視腐植様、海洋腐植様、UV 腐植・フルボ酸様 FDOM を示す。

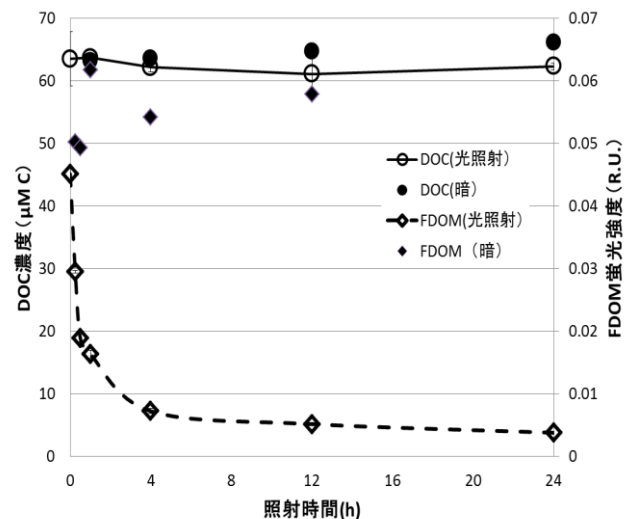


図 2 光照射実験における DOC 濃度、FDOM 蛍光強度の変化(培養 15 日目の試水)。値は 2 ボトルの平均値を示す。