

西部北太平洋亜寒帯域における植物プランクトンの 鉄ストレスとその応答に関する研究

学位論文内容の要旨

植物プランクトンは海洋における主要な基礎生産者であり、植物プランクトンが作り出す有機物は食物連鎖を通して高次の栄養段階に転送されており、海洋生態系は植物プランクトンの基礎生産によって支えられている。同時に、植物プランクトンの生産は、海洋に溶け込む二酸化炭素の濃度を決定する要因の一つとなっている。特に珪藻類のブルームは、光合成によって海洋表層において固定した二酸化炭素を中深層への炭素の輸送を促進する効果が大きく、海洋の炭素循環において重要な役割を担っている。そのため、植物プランクトンの基礎生産を支配する因子を同定することは、海洋の炭素循環過程を理解する上で非常に重要である。近年、鉄はHNLC(High Nutrient Low Chlorophyll)海域における植物プランクトンの増殖制限要因の一つといわれ、人為的な鉄添加によって大型珪藻類の増殖が促進されることが報告された。HNLC海域のひとつである北太平洋亜寒帯域において、西部北太平洋亜寒帯域の鉄の供給量は、中国大陸からの黄砂の飛来の他にオホーツク海陸棚を経由して海洋循環によって外洋域に供給される経路も存在するため、東部北太平洋亜寒帯域と比較すると高い。本海域では基礎生産量に季節変動が見られ、特に親潮域においては毎年春季に大規模な珪藻ブルームが発生する。この春季ブルームの発達にともない鉄濃度が減少することが報告されており(Nishioka *et al.*, 2007)、本海域の基礎生産は鉄によって支えられている可能性が示唆されている。しかし、自然に供給される鉄が春季珪藻ブルームなど、植物プランクトンの増殖を制限しているかについての知見は未だ不十分である。本研究では、光合成タンパク質であるフェレドキシンおよびフラボドキシンから、植物プランクトンの鉄ストレスを評価することを試みた。植物プランクトンは鉄ストレスを受けた際、光合成光化学系Iの電子受容部において、鉄硫黄タンパク質であるフェレドキシンの合成が抑制される。その代わりに鉄を含まないフラボドキシンの合成が誘導されて、明反応を進行させ、暗反応のための還元力(NADPH)を作る。この生理特性を利用し、ウエスタンブロッティング法を用いてこれらの光合成タンパク質を検出し、西部北太平洋亜寒帯循環域、親潮域およびオホーツク海における植物プランクトン群集中の大型珪藻類(体長20~200 μm)の鉄ストレス応答を調査した。

2004年西部北太平洋亜寒帯循環域において行われた中規模現場鉄散布実験(SEEDS-II)において、表層(5 m)のクロロフィル a (Chl a)濃度 0.62mg m^{-3} から 2.84mg m^{-3} に、光化学系II

の最大量子収率(F_v/F_m)は0.29から0.42に増加し、植物プランクトン群集は鉄制限から開放された。しかし、大型珪藻類のフェレドキシンおよびフラボドキシンの分析結果によると、鉄散布パッチ内においてフェレドキシンは検出されず、フラボドキシンは常に検出された。さらに、フラボドキシンバンドの強度比は、鉄パッチ内外で有意な差が認められなかった($p>0.05$)。この結果から、鉄散布後も大型珪藻類の鉄ストレスは解消されなかったことが示唆された。SEEDS-IIでの表層混合層水深は約30mと深く、希釈効果により鉄散布直後以外、鉄パッチ内5m深において、0.5 nM以上の溶存鉄濃度を維持することができなかったため、細胞内鉄要求量が高い大型珪藻類の増殖に十分な鉄が供給されず、珪藻類がSEEDS-IIではブルームを作らなかった理由の1つとして考えられた。

一方、2005年5月の親潮域における表層(5 m)のChl a 濃度はブルームが発生した観測点では9.01 mg m^{-3} に達するものの、それ以外の観測点では2 mg m^{-3} 以下であった。溶存鉄濃度は0.23~6.37 nMであり、溶存鉄濃度が最も高かった沿岸の観測点ではフェレドキシンが検出された一方で、フラボドキシンは明瞭に現れなかったため、鉄ストレスの影響を受けていないことが示唆された。それ対し、海水中の溶存鉄濃度が低い観測点では、ブルームが珪藻認められた観測点を含めて、フラボドキシンが検出された。春季親潮ブルームの発生・終息には、珪藻類の鉄増殖制限の可能性が今まで示唆されていたが、本研究のフラボドキシン発現の結果から、ブルーム時の大型珪藻類が鉄ストレス状態にあったことが初めて証明された。

さらに詳細に春季親潮珪藻ブルームにおける珪藻群集の鉄ストレスを時空間的に調査するために、2007年4月に北海道・東北沖のA-line観測線上のA5観測点(42° 00' N, 145° 15'E)において1ヶ月間の高頻度定点観測を、5月および6月にA-Line観測線およびその東部に位置するB-Line観測線においてトランセクト観測を行った。4月の観測においては、表層Chl a 濃度および珪藻類の現存量は観測期間を通して高く(それぞれ1.8-29 mg m^{-3} , 0.81×10^5 - 1.08×10^6 cells l^{-1})、継続的に珪藻ブルームが発生していた。5月および6月の観測ではA-Line観測線上の観測点のChl a 濃度は1 mg m^{-3} 以下まで低下していたが、B-Line観測線上の観測点においては0.82-6.51 mg m^{-3} であり、ブルームが認められた。3つの観測において、植物プランクトンブルームが認められた観測点では常に円心目珪藻類が優占していた。本観測における溶存鉄濃度は0.08-0.53 nMであり、全ての観測においてフラボドキシンのみが検出され、春季親潮ブルームにおける珪藻類は鉄ストレスを抱えながら増殖していたことが明らかとなった。過去の知見において、珪藻類のフラボドキシンは鉄欠乏の初期段階から発現し、溶存鉄濃度が1 nM以下で強く発現することが知られている

(Davey and Geider, 2001; LaRoche *et al.*, 1996)、本研究におけるフラボドキシン蓄積と溶存鉄濃度の閾値は、これらの知見と一致した。しかしながら、フラボドキシンの蓄積量と F_v/F_m および溶存鉄濃度との間に単純な相関関係は見られず、抗体の交差性、鉄要求量など溶存鉄濃度以外の要因が影響を与えている可能性が考えられた。フラボドキシンの発現は細胞が利用可能な鉄の現存量に制限されており、その閾値は種によって異なることが知られている。本研究においてもブルームを構成する珪藻種が時空間的に大きく変化していたことから、フラボドキシンの蓄積量の変化は出現した珪藻種の鉄要求量の違いを反映していたと考えられた。

学位論文審査の要旨

主 査 准教授 鈴木 光 次

副 査 教 授 乗 木 新一郎

副 査 教 授 吉 川 久 幸

副 査 教 授 久 万 健 志

副 査 教 授 服 部 寛 (東海大学生物理工学部)

学 位 論 文 題 名

西部北太平洋亜寒帯域における植物プランクトンの 鉄ストレスとその応答に関する研究

植物プランクトンは、海洋における主要な基礎生産者であり、海洋の生態系や炭素循環の起点となっている。このため、植物プランクトンの基礎生産を支配する因子を同定することは、海洋の炭素循環過程を理解する上で極めて重要である。近年、海水中の鉄は高栄養塩、低クロロフィル (HNLC) 海域における植物プランクトンの増殖制限要因の1つとして知られており、人為的な鉄添加によって植物プランクトン (特に、大型珪藻類) の増殖が促進されることが数多く報告された。しかし、自然に供給される鉄が西部北太平洋亜寒帯域および縁辺海域における植物プランクトンの増殖を制限しているかどうかに関する知見は極めて限られている。このため、申請者は、植物プランクトンが鉄欠乏ストレスを受けた際、光合成光化学系Iの電子受容部において、鉄硫黄タンパク質であるフェレドキシンの合成が抑制され、その代わりに鉄を含まないフラボドキシンの合成が抑制される特徴を利用し、フェレドキシンおよびフラボドキシンの存在比から現場の植物プランクトンの鉄欠乏ストレスを定量的に評価する試みを行った。

申請者は、先ず、2004年夏季に実施された西部北太平洋亜寒帯循環域における現場鉄散布実験において、大型珪藻類の大増殖 (ブルーム) が発生しなかった理由を考察するため、大型珪藻類に対してフェレドキシンおよびフラボドキシンアッセイを行った。その結果、実験期間中、フェレドキシンが検出されず、フラボドキシンのみが見られたことから、鉄散布後も大型珪藻類が鉄欠乏ストレス下にあったことを発見した。即ち、同海域で大型珪藻類のブルームを人為的に発生させ、生物ポンプ能を高めるためにはより多量の鉄散布が必要であることが示唆された。

次に、申請者は、毎春、親潮域でブルームを形成する大型珪藻類の鉄欠乏ストレスを評価することを試みた。親潮域における春季珪藻ブルームは、冬季鉛直混合による表層への

栄養塩供給と日射量の増加に伴う水温上昇による水柱の成層化により、発達する。通常、このブルームは6、7月に終息するが、親潮域の一部はHNLC状態になることから、春季親潮珪藻ブルームの規模および期間は、海水中の鉄によって制御されている可能性が考えられる。申請者は、2005年春季親潮域の海洋観測において、海水中の溶存鉄濃度が比較的高い観測点ではフェレドキシンを検出した。一方、珪藻ブルームが発生していた溶存鉄濃度の低い観測点ではフラボドキシンが検出されたことから、ブルームを形成する大型珪藻類が鉄欠乏ストレス下にあったことを初めて明らかにした。しかし、この2005年の観測は2日間のみで実施された寸断的なものであったことから、2007年4月から6月にかけて高頻度定点および定線海洋観測航海に参加し、春季親潮域の大型珪藻類の鉄欠乏ストレスを評価した。植物プランクトンブルームが発生していた観測点では、常に円心目珪藻類が優占していた。この際、表層海水中の溶存鉄濃度は低く、全ての観測点において、フラボドキシンのみが検出されたことから、春季親潮域でブルームを形成する大型珪藻類は、鉄欠乏ストレスを抱えながら、増殖していたことが本研究で実証された。

最後に、申請者は、2006年夏季のオホーツク海および西部北太平洋亜寒帯域とオホーツク海を挟む千島列島海域における大型珪藻類の鉄欠乏ストレスを評価した。オホーツク海は、世界有数の巨大河川であるアムール川などから多量の栄養塩や鉄が供給されることから、春から夏にかけて、高い基礎生産力を持つことが知られている。しかし、オホーツク海における大型珪藻類の鉄欠乏ストレスに関する知見は過去に報告されていないため、申請者は、その評価を行った。その結果、アムール川河口付近ではフェレドキシンの蓄積が高く、サハリン島東沿岸から南の沖合へ向かうに従い、フェレドキシンの蓄積が減少し、フラボドキシンの蓄積が増加する傾向が見られた。この結果は、海水中の溶存鉄濃度の分布と比較的良好一致を示した。また、千島列島海域では、海水中の溶存鉄濃度が比較的高かったにもかかわらず、フラボドキシンのみが検出された。千島列島海域では、潮汐による水柱の鉛直混合が活発なため、大型珪藻類は表層に留まることが困難であることから、その増殖が光により制限されていたことが推測された。また、光制限下の大型珪藻類は、光捕集能力を増加させるために多くの鉄を使って光合成色素を合成しなければならなくなることから、結果的に大型珪藻類は鉄欠乏ストレス状態にあったと考えられた。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、また研究者として誠実かつ熱心であり、大学院博士課程における研鑽や修得単位などもあわせ、申請者が博士（環境科学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。