

令和5年度伊藤光昌氏記念学術助成金(研究助成)成果報告書

研究課題番号	R5-R1
研究課題名	北西太平洋におけるビタミン B ₁₂ の分布と植物プランクトン増殖への影響
研究代表者	近藤 能子
所属・職 (または学年)	長崎大学総合生産科学域・准教授

研究目的

海洋植物プランクトンの増殖には、窒素やリンなどの主要栄養塩に加え海水中に極僅かにしか存在しない鉄やビタミン B₁₂ などの微量栄養物質が不可欠であり、南極海など一部の海域では鉄・ビタミン B₁₂ の同時的な不足による制限（共制限）を受けていることが指摘されている（Bertrand et al., 2007）。北西太平洋亜寒帯高栄養塩低クロロフィル（HNLC）海域では鉄が一次生産の制限要因となることが知られるが（例えば、橋濱ら, 2021）、微量栄養物質を含めた複数栄養物質の不足による共制限については十分に検証がなされていない。また、コバルト錯体であるビタミン B₁₂ についてはその分布に関する知見も僅かである。海洋真核植物プランクトンの約半数の種は生長にビタミン B₁₂ を必要とすることから（例えば、Tandon et al., 2017）、植物プランクトンのビタミン B₁₂ 要求性の相違が共制限のメカニズムに影響している可能性も考えられる。これらの背景から、本研究では北西太平洋亜寒帯域で植物プランクトン増殖が共制限を受けている可能性について評価することを目的とし、現場植物プランクトン群集への栄養物質添加に対する応答を調べた。

方法

培養実験に用いた海水試料は、2023年7月に実施された白鳳丸 KH-23-2 次航海中、亜寒帯域に位置する測点 OP-17（北緯 51 度、東経 165.75 度）にて微量金属汚染防止に注意を払ったクリーン採水により 10 m 層より採取した。試料は酸洗浄したポリカーボネートボトルに採取し、

Table 1. Treatment of bottle incubation experiment

Treatment	Added nutrient
Control	-
Fe	2 nM Fe
B ₁₂	100 pM cyanocobalamin (vitamin B ₁₂)
Fe+B ₁₂	2 nM Fe, 100 pM cyanocobalamin (vitamin B ₁₂)

Table 1 に示す処理を行った。培養は各実験区につき 3 連で行い、甲板に設置した温度調節機付掛け流し水槽内で 7 日間行った。光量は水槽に黒色メッシュ布をかぶせ入射光の 30% になるよう調節した。培養開始から 3, 5, 7 日後にボトルを回収し、サイズ分画クロロフィル *a* (Chl-*a*) 濃度 ($\geq 10 \mu\text{m}$, $<10 \mu\text{m}$) (蛍光法)、主要栄養塩濃度 (比色分析法)、ピコ・ナノ植物プランクトン細胞密度 (フローサイトメトリー法) を測定した。培養開始時と終了時には、植物プランクトン分類群組成 (顕微鏡観察) についても調べた。また、栄養物質添加前の培養用海水については、上記項目に加え溶存ビタミン B₁₂ 濃度を固相抽出濃縮-液体クロマトグラフィー質量分析法 (Heal et al., 2017) で測定するための試料も採取した。

研究成果

培養開始時の全 Chl-*a* 濃度は 2.2 $\mu\text{g/L}$ と HNLC 海域としては高めで、95% は $>10 \mu\text{m}$ サイズ画分が占めていた (Fig. 1)。顕微鏡観察結果からは *Chaetoceros* spp. や *Thalassiosira* spp. など珪藻が多く観察された。ピコ・ナノ植物プランクトン細胞密度からは、培養開始時はピコ真核植物プランクトンが *Synechococcus* や Cryptophyte, ナノ真核植物プランクトンに比べ多く存在していた。

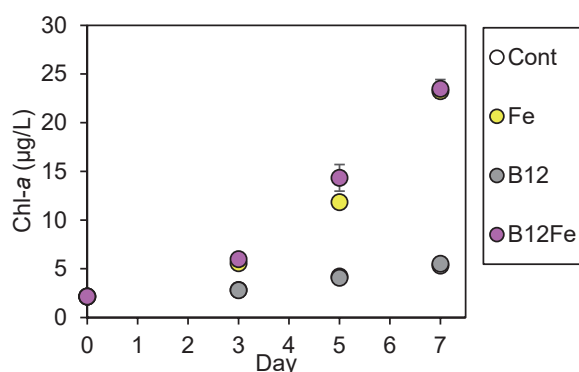


Fig. 1. Changes in total chlorophyll *a* concentration during the incubation period.

培養開始時の現場の栄養塩濃度は硝酸塩+亜硝酸塩 (N+N), リン酸塩 (PO₄), 溶存ケイ素 (SiO₂) でそれぞれ 21 µM, 1.7 µM, 40.5 µM と、いずれの栄養塩も残存していた。

培養終了時における全 Chl-*a* は、いずれの系でも >10 µm サイズ画分の割合が 99% を占め、Fe 添加区と Fe+B₁₂ 添加区では Control に比べて増加した (Fig. 1)。Fe+B₁₂ 添加区は 5 日目の時点では Fe 添加区と比較しても有意に高い値を示したものの ($p < 0.05$), その後の 7 日目では同程度の濃度となった。一方、B₁₂ 添加区では Control との違いは見られなかった。植物プランクトン顕微鏡観察結果からも、Fe 添加区と Fe+B₁₂ 添加区で Control に比べ細胞密度が上昇し、特に増加した植物プランクトンは *Chaetoceros* spp. と *Nitzschia* spp. であり、これらが Chl-*a* 増加に寄与していたと推察される。一方、<10 µm サイズ画分の Chl-*a* 濃度は培養前後で Fe+B₁₂ 添加区のみで上昇したが、3 連中 1 本は他系列と同等程度の低濃度であったためにその影響は判断できなかった。しかし、ピコ・ナノ植物プランクトン細胞密度の推移からは、ピコ真核植物プランクトン、ナノ真核植物プランクトン、Cryptophyte で Control よりも高い細胞密度を示したのは Fe+B₁₂ 添加区のみであったことから、鉄とビタミン B₁₂ の同時添加はこれらの小型植物プランクトンの増殖を促進していた可能性は否定できない。栄養塩濃度はいずれも Fe 添加区と Fe+B₁₂ 添加区で大きく減少した。消費された SiO₂ と N+N の濃度比 (Si/N) は

Control と B₁₂ 添加区では 2.2 であったのに対し、Fe 添加区と Fe+B₁₂ 添加区では 1.4 と低い値を示した。以上のことから、2023 年夏季の北緯 165 度付近の現場植物プランクトン群集は、鉄制限状態にあったことが示唆された。一方、鉄とビタミン B₁₂ との共制限については、一部のパラメーターで Fe 添加区との違いが見られたものの、バイオマスを変化させるほどのインパクトは見られず、南極海で報告された結果 (Bertrand et al., 2007) とは異なった。その原因としては、現場に十分量のビタミン B₁₂ が存在していた可能性が考えられ、今後、現場のビタミン B₁₂ 濃度を調べ確認する必要がある。

謝辞

本助成研究を遂行するにあたり、JAMSTEC 研究船白鳳丸 KH-23-02 航海船長ならびに船員の皆様、主席研究者の小畑元教授 (東京大学大気海洋研究所) はじめ乗船研究者の皆様には観測全般にてご協力いただきました。佐藤光秀博士 (長崎大学) にはフローサイトメトリーによるピコ・ナノ植物プランクトン細胞密度測定においてご協力賜りました。皆様のご協力に感謝いたします。

参考文献

- Bertrand, E. M., Saito, M. A., Rose, J. M., Riesselman, C. R., Lohan, M. C., Noble, A. E., Lee, P. A., DiTullio, G. R. (2007) Vitamin B₁₂ and iron colimitation of phytoplankton growth in the Ross Sea. *Limnol. Oceanogr.* 52, 1079-1093.
- 橋濱史典, 瀬瀬慎也, 近藤能子, 佐々木克徳, 杉本周作, 高橋一生, 長井健容, 西岡純, 林田博士, 平井惇也 (2021) 海洋学の 10 年展望 2021 : 中緯度. *海の研究*, 30, 131-158.
- Heal, K. R., Qin, W., Ribalet, F., Bertagnolli, A. D., Coyote-Maestas, W., Hmelo, L. R., Moffett, J. W., Devol, A. H., Armbrust, E. V., Stahl, D. A., Ingalls, A. E. (2017) Two distinct pools of B12 analogs reveal community interdependencies

in the ocean. PNAS, 114, 364–369.

Tandon, P., Jin, Q., Huang, L. (2017) A promising approach to enhance microalgae productivity by exogenous supply of vitamins. *Microb. Cell. Fact.* 16, doi: 10.1186/s12934-017-0834-2