

B-5 海洋における炭素の循環と固定に関する研究

(1) 海洋プランクトンによる炭酸ガス固定能力に関する研究

研究代表者 国立環境研究所 渡辺 正孝

環境庁 国立環境研究所

地球環境研究グループ	海洋研究チーム	切刀正行・原島省・原田茂樹
地域環境研究グループ	海域保全研究チーム	木幡邦男
水圏環境部	部長	渡辺正孝
	土壌環境研究室	高松武次郎

平成2-4年度合計予算額 34,055千円

[要旨]

海洋炭素循環を把握するためには、海洋-生物間の炭素循環と、大気-海洋間の炭素交換を明らかにする必要がある。本研究では、海洋部と大気部からなる培養槽を用いて、海洋炭素循環を再現する制御実験系（海洋マイクロコズム）を構築し、植物プランクトンの増殖過程における炭素同化と、気相中CO₂濃度変化の定量的な把握を可能にすることを目的とした。

植物プランクトンの増殖により、海水中の無機炭素（全炭酸）は同化作用により有機炭素に変化するとともに大気部から海洋へとCO₂が吸収される過程が詳細に計測された。同化された炭素は植物プランクトンに固定された形の粒子状有機炭素として存在するとともに、同化された無機炭素の約17%は溶存態有機炭素として細胞外に放出されることも明らかになった。このことは海洋表層でのDOC生産過程を理解する上できわめて重要な知見と言える。

本藻類種（*C. antiqua*）の増殖速度が8日目以後 $\mu = 0.68\text{day}^{-1}$ から $\mu = 0.11\text{day}^{-1}$ に低下したが、藻類にとって利用可能な形態の炭素である $[\text{H}_2\text{CO}_3^*]$ 及び $[\text{HCO}_3^-]$ 濃度の変化から本種が同化作用により取り込む無機炭素の形態は $[\text{H}_2\text{CO}_3^*]$ であることが示唆された。

[キーワード] 海洋マイクロコズム、海洋炭素循環、海産藻類、炭素固定

1. 序

化石燃料消費により放出されたCO₂のうち約半分が大気に蓄積すると考えられ、大気に蓄積されなかった残りの炭素の行方は明確ではなく、ミッシングシンクとして解明が求められている。海洋は炭素のsinkであると考えられているが、詳細は不明であり、海洋炭素循環の解明が求められている。海洋炭素循環を把握するためには、海洋-生物間の炭素循環と、大気-海洋間の炭素交換を明らかにする必要がある。前者は、海洋中の無機炭素（全炭酸：CT）が植物プランクトンにより同化され、粒子状有機炭素（POC）、さらに溶存態有機炭素（DOC）として排出される過程である。また後者は、海洋中のCO₂濃度（CTとpHにより決定される）と、大気中のCO₂濃度との差によりCO₂が吸収・放散される過程である。この二つの過程はCTを通じて連動している。現存量で見ると、大気中には約6500億tonの炭素が存在すると考えられている。また海洋の表層水には約8000億

tonのCTと約1200億tonのDOCが、中深層水には約 3.5×10^5 億tonのCTと約9000億tonのDOCが存在すると言われており、これらは大気中炭素量の約50倍にあたる。さらに海洋生物として約30億tonの炭素が存在し、これは表層炭素量の約0.1%にあたり、近年の大気中炭素の年間増加量とほぼ等しいと考えられている。海洋中のCTが大気および海洋に含まれる全炭素量の大部分を占めており、海洋炭素循環の動的把握のためには、大気-海洋-生物を通じた炭素循環系において、CT、POC、DOC、CO₂濃度変化を計測する必要があり、中でも特にCTを精度良く計測する必要がある。本研究では、海洋部と大気部からなる培養槽を用いて、海洋炭素循環を再現する制御実験系（海洋マイクロコズム）を構築し、植物プランクトンの増殖過程における炭素同化と、気相中CO₂濃度変化の定量的な把握を可能にすることを目的とした。

2. 実験方法

海洋マイクロコズム（大容量純粋培養装置）を用いて *Chattonella antiqua* (NIES-1) の無菌培養を行い (Watanabe et. al. 1991)、大気-海洋-海産藻類間の炭素動態を詳細に計測した。

図1に培養槽およびガス調製槽の概要図を示す。培養槽（1=図1中の番号に対応、以下同様）は高さ2 m、内径1 m、培地部（2）容量1 m³で上方に0.4 m³の大気部（3）をもつ。槽は鋼鉄製で内面にチタンライニングが施されている。槽内に培養槽上部からキセノンランプ（4）により照明を与えることができる。槽の側面および下部にサンプリングライン（5-1～5-5）が設置されており、鉛直方向5層のサンプリングが可能である。槽内液は、コンプレッサー（7）により槽下部の散気口（6）から除菌フィルターを通した外気を送り込み、曝気混合することができる。槽の外壁には温度調整用のジャケット（8）が設置されており、槽内温度を調整できる。ジャケットは上下5層に分かれており、下層温度を上層温度より高く設定することで、槽内液を熱対流混合することができる。また、槽外壁の上下3箇所へのぞき窓が設置されており、内部の様子を目視観測できる。

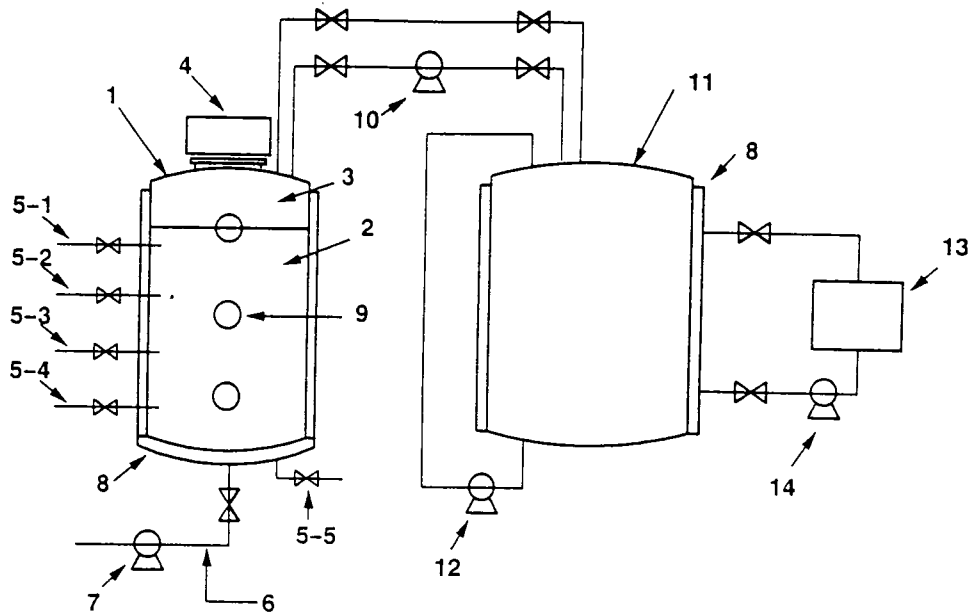


図1 海洋マイクロコズムの概略図

ガス調整槽(11)(容量 2 m^3)は培養槽内の大気部と接続されており、ポンプ(10)によって内部の気体を循環できる。ガス調整槽内の気体はその組成を均一に保つためにブローア(12)により混合されている。ポンプ(14)により槽内のガスを連続的にサンプリングすることが可能である。サンプリングされたガスはNDIR(13)をもちいて CO_2 濃度を計測した後、ガス調整槽内に戻すことができる。

培養層を蒸気滅菌(121°C 、 1 atm 、 30 min.)した後、あらかじめ溶解槽で調整した $f/2$ 培地を除菌フィルターを通して導入した。照明は 5 kw のキセノンランプで与え、 $12:12$ 時間の明暗周期に設定した。培養槽内及びガス調整槽内の水温は $25\pm 1^\circ\text{C}$ に保った。

培養槽内海水の初期条件を測定するために、サンプリングを行った後、プランクトンの植え付けを行った。プランクトンは予備培養で $7\times 10^3\text{ cells}\cdot\text{ml}^{-1}$ に達したものの 1 L を無菌的に培養層に入れ、槽内の初期プランクトン濃度を $7\text{ cells}\cdot\text{ml}^{-1}$ にした。

培養開始後、プランクトン濃度が $500\text{ cells}\cdot\text{ml}^{-1}$ を越えるまで(植え付け翌日を1日目として6日目09:00まで)ガス調整槽との循環は行わず、除菌フィルターを通した外気を用いて、曝気混合培養を行った。その後、曝気を停止しガス調整槽と気相部の循環を開始した。この時の槽内海水は、熱対流のみの混合となる。また、ガス調整槽の CO_2 濃度は、あらかじめ $5\%-\text{CO}_2$ を用いて約 600 ppm に調整しておいた。

プランクトンを植え付けた3時間後およびその後毎日13:00にサンプリングを行った。サンプリングは水面下 30 cm に設置されているサンプリングライン5-2を用いて行い、その測定値を槽内の代表値とした。槽内の海水はサンプリングラインのバルブを空けると水圧により自然落下してくる。全炭酸はシリンジ(25 ml)に採水し、pHは専用のセル(直径 80 mm 、高さ 150 mm のアクリル製セル)に採水した。その他の項目用のサンプルはまとめて 1 L 三角フラスコに採水した。

プランクトン濃度は3日目まで顕微鏡による計数が行われた。5日目からはコールターカウンターTA-II型を用いて行われた。

粒子状炭素、粒子状窒素は、サンプル海水をGF/Fフィルターでろ過し、ろ紙上にのったものを柳本製CHNコーダーMT-3を用いて測定された。

リン酸態リンは上と同様に海水をろ過しろ紙上にのったものを、またリン酸態リンは上と同様に海水をろ過したろ液を、それぞれテクニコン製オートアナライザーIIを用いて測定された。

溶存有機炭素は、サンプル海水をGF/Fフィルターでろ過し、ろ液を島津製作所製TOC計TOC-5000を用いてMackinnon(1981)の方法に基づいて測定された。

気相部の CO_2 濃度はポンプによってサンプリングし、サンプルガス中に含まれる水分を取り除いた後、富士電機製非分散型赤外線ガス分析計(NDIR)ZRC型を用いて測定された。計測後は滅菌用エアフィルターを通して大気部にもどす閉鎖循環系により大気部 CO_2 濃度を連続的に測定した。

pHの測定は直径 80 mm 、高さ 150 mm のアクリル製のセルにpH電極(東亜電液製pH計HM-60V型)を固定し、気泡が残らないようにサンプル水を導入後計測した。全炭酸はDicksons(1991)の方法にもとづき、クーロメーター(UIC社製、本体はModel 5012 CO_2 Coulometer、酸性化装置にはModel 5130 Acidification Module)を用いて計測した。

クーロメーターのセル溶液はカソード溶液、アノード溶液ともUIC Inc.の製品(CM300-001 Carbon Cathode Solution、CM300-002 Carbon Anode Solution)を用いた。アノード溶液には錯化剤としてヨウ化カリウム(Wako 164-03972、99.5%)を加えた。

サンプルの酸性化には、8.5% (v/v) リン酸 (Wako 167-02166、85.0%) を用いた。キャリアガスには純窒素 (日本酸素、99.9995%) を使用し、キャリアガススクラバーには40% (w/v) 水酸化カリウム (Wako 168-03855、85.0%) 水溶液を用いた。このスクラバーはキャリアガス中のCO₂を取り除くために用いる。

サンプルガススクラバーには飽和硫酸銀水溶液を用いた。この溶液は2 gのAgSO₄ (Wako 193-00922、99.5%) を100mlの0.7N-H₂SO₄ (Wako 192-04755容量分析用 0.5mol·ml⁻¹) に溶解し、溶液の使用時に3 mlの硫酸銀溶液に対して過酸化水素水 (Wako 081-04215、30%) を3滴加え、pHを3以下に調整して用いた。このスクラバーはサンプルガス中のCO₂以外のガスを取り除くために用いる。

シリンジ (Terumo 樹脂製 25ml、ss20-ES) に採取したサンプルは、直ちに0.45 μmフィルターを装着した同量のシリンジに接続され、空気と接触することなくサンプルをろ過した。

シリンジに注射針を取り付け質量を計測した。サンプルは酸性化装置上部のセプタムからインジェクト (約20ml) し、インジェクト後シリンジの質量を計測しサンプル量を求めた。

3. 実験結果

培養開始時の初期プランクトン濃度は、7 cells·ml⁻¹であった。この時の栄養塩濃度は、リン酸態リンが31.13 μm、硝酸態窒素が846.1 μmであった。

プランクトン濃度の変化を図2に示す。8日目までの増殖率は $\mu = 0.68\text{day}^{-1}$ であり対数増殖期にあった。8日目以後の増殖率は $\mu = 0.11\text{day}^{-1}$ であった。

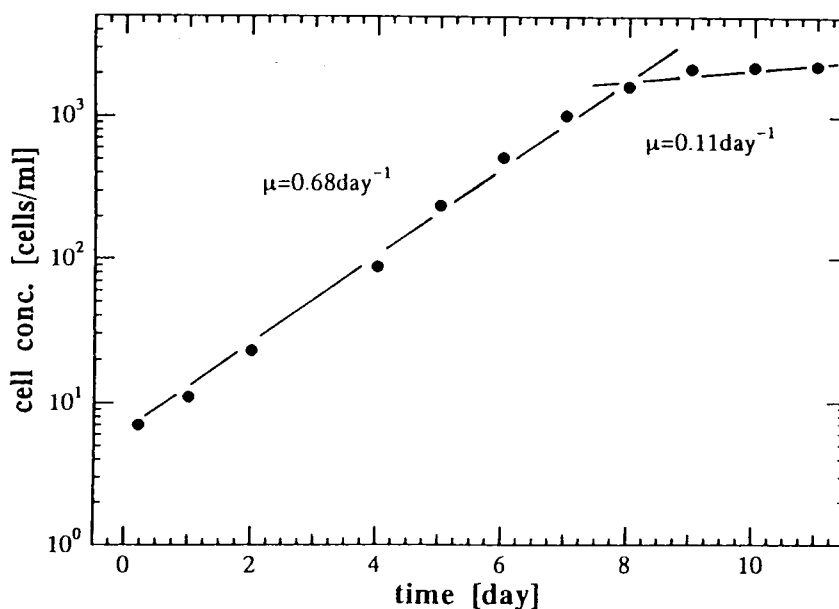


図2 *C. antiqua* 細胞数変化

実験系内に存在する炭素は、海水中の全炭酸 (CT)、溶存有機炭素 (DOC)、粒子状有機炭素 (POC) および気相中のCO₂のいずれかとして存在すると考え、これらの濃度変化を計測した。また、実験系を外界と遮断し閉鎖系とした6日目から9日目までの4日分の測定値について、各形

態の炭素量の総和を求めマスバランスを確認した。以下にその詳細を示す。

海水中の全炭酸濃度の初期濃度は $1985\mu\text{m}$ であった。6日目までは外気を導入して曝気混合を行っていることと、プランクトン濃度が小さく炭素同化が顕著でないことから、ほとんど変化しなかった。6日目に実験系を閉鎖系にすると、濃度の減少が顕著になり、6日目から9日目までの3日間で $1808\mu\text{m}$ から $1550\mu\text{m}$ へと $258\mu\text{m}$ 減少した。10日目以後はほとんど減少しなかった(図3)。

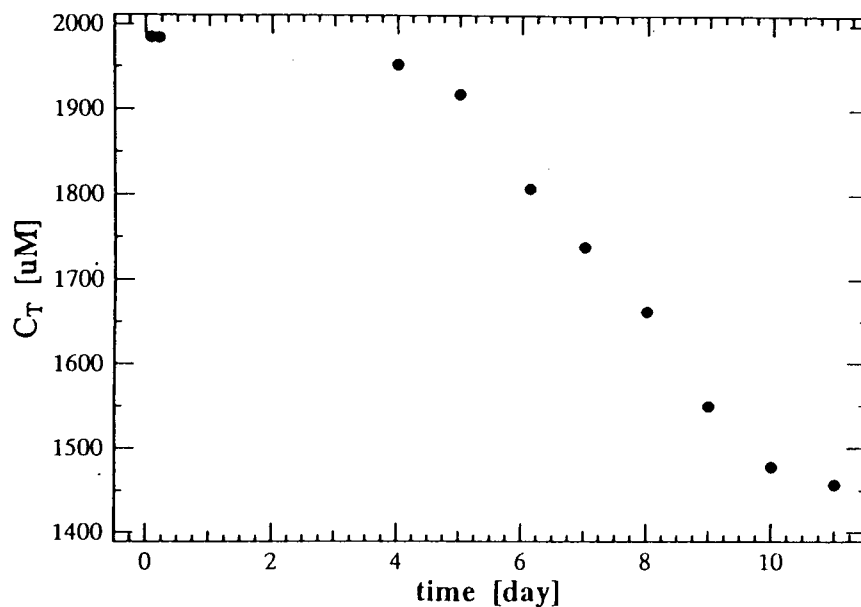


図3 *C. antiqua* 増殖中の全炭酸濃度変化

培養が進むにつれ、pHは上昇した。初期値は8.202であり、全炭酸濃度と同様に、閉鎖系にした後に顕著な変化が見られ、10日目以後はあまり変化が見られなかった(図4)。

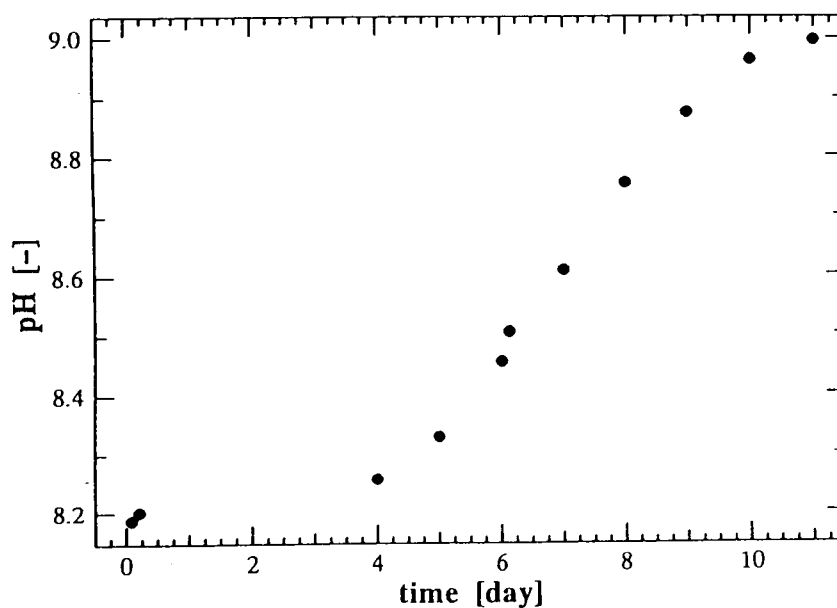


図4 *C. antiqua* 増殖中のpH変化

海水中の溶有機炭素濃度は初期濃度が $175.7\mu\text{m}$ であり、培養が進むにつれ増加した。6日目から9日目までの3日間で $235.3\mu\text{m}$ から $294.2\mu\text{m}$ へと $58.9\mu\text{m}$ 増加した。

粒子状有機炭素はプランクトンにより固定された炭素と考えられる。この濃度変化は6日目から9日目までの3日間で $101.3\mu\text{m}$ から $359.0\mu\text{m}$ へと $257.7\mu\text{m}$ 増加した(図5)。また粒子状有機炭素濃度をプランクトン濃度で割ることで、1個体当たりの細胞内炭素含量を求め、その経時変化を図6に示した。

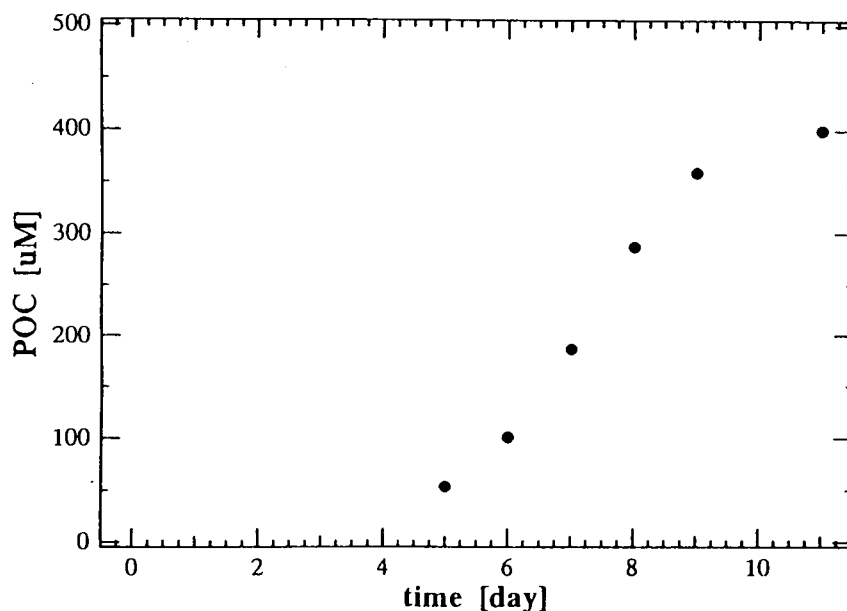


図5 *C. antiqua* 増殖中のPOC変化

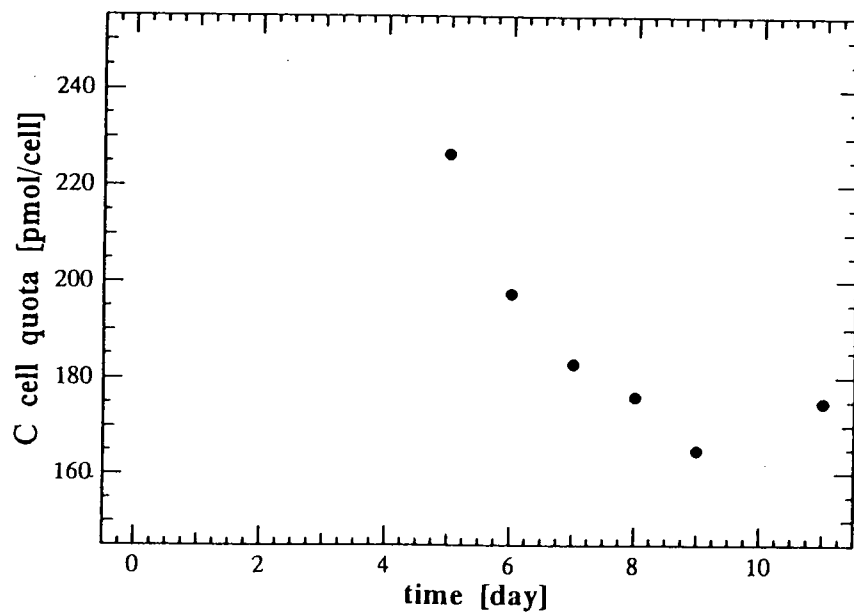


図6 *C. antiqua* 増殖中の細胞当たりの炭素量

気相中のCO₂濃度は6日目にガス調整槽との循環を開始し、実験系を閉鎖系とした後から計測を行い、6日目のサンプリング時に514.7ppmであったものが、培養が進むにつれ減少し、9日目に189.6ppmとなった(図7)。

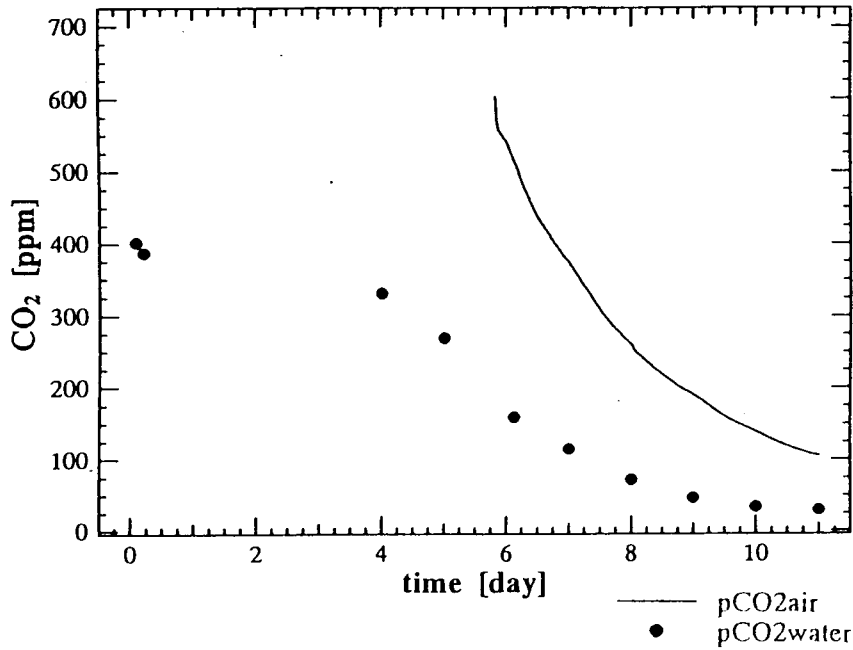


図7 *C. antiqua* 増殖中の pCO₂ air と pCO₂ water の変化

実験系を閉鎖系とした6日目から9日目までの4日分のデータについて、実験系内の炭素量の総和を求め、マスバランスを確認した。海水の体積を1 m³、気相部の体積を2.4 m³として、各形態炭素の濃度から炭素量をmol数として求めた。その結果、6日目を規準とすると、8日目の値が6日目の値に対して3.98%多く、これがばらつきの最大であった。つまり、6日目から9日目までの3日間において、この実験系は4%以下のばらつきの範囲でマスバランスがとれていたといえる。全炭酸の繰返し誤差(再現性)は±0.3%以下であり、溶存態有機炭素及び粒子状有機炭素の繰返し誤差はともに±1%程度である。

培養槽内の混合は温度逆転による熱対流であり十分完全混合していない可能性がある。このことを考えあわせると総炭素量のばらつきが4%以内で計測されていることは系内のマスバランスが保たれていると考えることができる。

植物プランクトンの増殖が進むにつれ、海水中の無機炭素(全炭酸)は同化作用により有機炭素に変化する。同化された炭素は植物プランクトンに固定された形の粒子状有機炭素と、植物プランクトンから排出された(excreted)形の溶存態有機炭素として系内に存在している。実験系内の炭素のマスバランスがとれており、また気相部のCO₂量が無視できると考えられることから、全炭酸、溶存態有機炭素、粒子状有機炭素それぞれの総炭素量に占める割合(存在比)の変化について議論する。総炭素量を1とした場合の各形態炭素量の変化を図8に示す。全炭酸の存在比は6日目に84.3%であったものが、9日目には70.3%まで減少した。全炭酸の減少量は溶存態有機炭素と粒子状有機炭素の増加量に等しく、それぞれの存在比は11.0%から13.4%、4.7%から16.3%へと増加した。つまり、6日目から9日目までの間に減少した全炭酸のうち83%が植物プラ

ンクトン内に固定され、17%が溶存態有機炭素に変化したことが分かった。

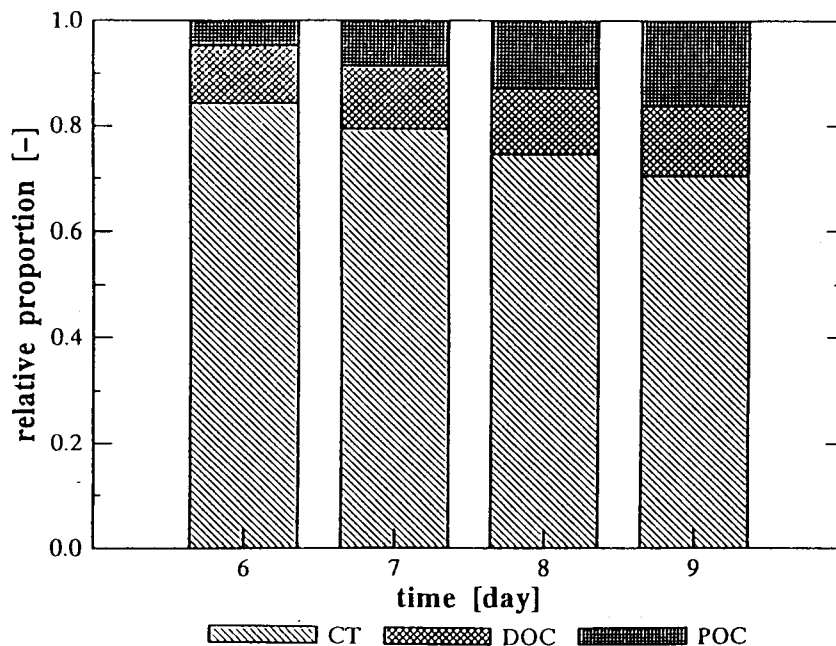


図8 *C. antiqua* 増殖中の全炭酸、DOC、POCの割合変化

実験系内において、溶存態有機炭素が全炭酸から直接変化して生じる経路は存在しないと考えられるため、増加した溶存態有機炭素は植物プランクトンから排出されたものと考えられる。つまり、植物プランクトンは取り込んだ無機炭素の17%程度に当たる量を排出していると考えられる。

4. 考察

植物プランクトンの増殖により、海水中の無機炭素（全炭酸）は同化作用により有機炭素に変化するとともに大気部から海洋へとCO₂が吸収される過程が詳細に計測された。同化された炭素は植物プランクトンに固定された形の粒子状有機炭素として存在するとともに、同化された無機炭素の約17%は溶存態有機炭素として細胞外に放出されることも明らかになった。このことは海洋表層でのDOC生産過程を理解する上できわめて重要な知見と言える。

*C. antiqua*細胞の増殖速度が8日目以後 $\mu = 0.68\text{day}^{-1}$ から $\mu = 0.11\text{day}^{-1}$ に低下した（図1）。この時植物プランクトンにとって利用可能な形態の炭素である炭酸濃度 [H₂CO₃*] が約1 μm 以下及び炭酸イオン濃度 [HCO₃⁻] が約900 μm であったことから本種が同化作用により取り込む無機炭素の形態は炭酸 [H₂CO₃*] であることが示唆された。すなわち炭酸濃度が低下し、植物プランクトンが十分に炭素を取り込めなくなったことが増殖を制限していたと考えられる。利用可能な炭素の形態が [H₂CO₃*] か [HCO₃⁻] かは藻類種に依存しており、[HCO₃⁻]のみを利用する藻類種もある。どちらの形態の炭素を利用するかは海洋炭素循環解明にとって重要であり、利用可能な炭素形態の濃度変化と増殖との詳細な計測は従来全く行われていなかった。今後はいくつかの代表的な藻類種について実験を行うとともに、海洋炭素循環の基礎モデルの構築とその検証を行うことが必要である。

引用文献

- Dickson, A. G. and C. Goyet (eds.) (1991) : Handbook of methods for the analysis of the various parameter of the carbon dioxide system in sea water. Version 1.0, U. S. Department of energy, special research grant program 89-7A.
- Watanabe, M., K. Kohata, and T. Kimura (1991) : Diel vertical migration and nocturnal uptake of nutrients by *Chattonella antiqua* under stable stratification. *Limnol. Oceanogr.*, 36, 593-602.

研究発表の状況

- 藤森・渡辺・切刀・木幡・木村・佐藤 制御実験系を用いた海洋物質循環のモデル化に関する研究 (I) 大気-海洋-海産藻類間の炭素計測とシステム特性 日本海洋学会1993年度春季大会
- 藤森・渡辺・切刀・木幡・佐藤 制御実験系における海産藻類の炭素循環過程に関する研究 化学工学会1992年度秋季大会
- 仁木・切刀・渡辺・東 微生物によるDMSPの分解とDMSの生成 日本海洋学会1993年度春季大会