

— 2018年度日本海洋学会賞受賞記念論文 —

## 海洋の炭素・窒素循環における微生物・ ウイルス群集の役割に関する研究\*

永田 俊†

### 要 旨

溶存有機物を起点として細菌から原生物やウイルスへとつながる微生物食物連鎖（微生物ループ）は、海洋の炭素・窒素循環の駆動システムとして重要な役割を果たしている。しかし、中・深層における微生物ループの変動や制御機構については未解明の点が多く、海洋生物地球化学モデルへの微生物過程の組み込みは依然として初歩的な段階にある。筆者は、1990年代に、深層における細菌の地理的分布に着目した研究を行い、粒子の沈降フラックスと、深層の細菌生産が共役していることを見出した。その後、この研究は、南北太平洋と南大洋を含む広域的な南北断面観測や、外洋域の定点での時系列観測へと発展した。その結果、表層からの炭素輸送と中・深層の細菌生産の応答の間に、時間的なずれが生ずる場合があることや、中・深層の微生物プロセスが従来考えられていた以上にダイナミックであることなどが明らかになってきた。本稿では、海洋の中・深層における微生物ループ研究の歴史的な流れを概説するとともに、ウイルスや細菌が関与する炭素循環制御システムの実験的な解析についてのいくつかの研究事例を紹介する。また、今後の課題として、表層から中・深層への炭素鉛直輸送の主要媒体である、凝集体（マリンスノー）の形成と崩壊に関わるメカニズムを解明することの重要性を指摘する。

キーワード：微生物ループ，物質循環，中・深層，細菌，ウイルス，凝集体

### 1. はじめに

この度の受賞対象となった研究の背景として、まず私の初期の研究経歴と、その時代の雰囲気を紹介さ

せていただこうと思う。私は、東京都立大学理学部生物学科を卒業後、1981年に、研究者を志して京都大学大学院理学研究科修士課程に進学した。動物学専攻で、所属は理学部附属大津臨湖実験所、指導教員は手塚康彦教授だった。微生物の食物連鎖関係に興味があったので、修士課程では琵琶湖水中の細菌を数えることから始め、次に細菌が動物プランクトン（ミジンコ）に摂餌されるか否かを調べた（Nagata, 1984; 1985）。その頃、世界的には微生物ループ（microbial loop）という新しい概念が提唱されており（Azam *et al.*, 1983）、学問的に大きな動きが

\* 2018年12月3日受理；2018年12月14日受理  
著作権：日本海洋学会，2019

† 東京大学大気海洋研究所  
〒277-8564 千葉県柏市柏の葉5-1-5  
e-mail:nagata@aori.u-tokyo.ac.jp

あった。それまで海洋や湖の食物連鎖は、植物プランクトン→動物プランクトン→魚類とつながる経路が主要なものであると考えられていたが、それに加えて、溶存有機物 (dissolved organic matter, DOM) →細菌→原生生物とつながる連鎖系も重要であることが認識され始めたのである。一言でいうと「もう一つの食物連鎖」が発見されたことになる。これを受けて1980年代半ば頃になると、様々な水域において、微生物ループを経由する炭素や窒素の流れについての研究が行われるようになり、各国の研究者が、その動態や制御機構の解明に本腰をいれて取り組み始めていた。

当時は、当然のことながらインターネットも Email も無かったので、情報が伝わる速度は今日と比べることができないほど遅かった。また、大学院生が海外の学会に出席する機会はまだほとんど無い時代であった。それでも海外から郵送されてくる主要専門誌に、毎号のように掲載されている関連論文をむさぼるように読みながら、自分なりの工夫をして、琵琶湖の微生物ループの研究を進めた。細菌の現存量や生産速度、あるいは微小鞭毛虫による細菌の摂餌速度等を調べ、微生物ループを経由する炭素フラックスの重要性を示し、これらを学位論文としてまとめた (Nagata, 1986a; 1986b; 1987; 1988a; 1988b; 1990; Nagata and Okamoto, 1988; Nagata and Watanabe, 1990)。

学位を取得した後、東京大学海洋研究所の助手であった木暮一啓先生 (後に同大学教授) のご紹介で、米国デラウェア大学の David Kirchman 教授のポスドクになり、1989年から1991年にかけて「原生生物の捕食過程における DOM の放出」というテーマで研究を行った。微生物ループの出発点である DOM の生成過程を明らかにするのが目的だった。この研究の成果をいくつかの論文として公表した (Nagata and Kirchman, 1990; 1991; 1992a; 1992b)。光栄なことに、これらの研究が認められて、日本海洋学会岡田賞を頂いた (永田, 1994)。また、後にこれらの論文を元にして、単行本 *Microbial Ecology of the Oceans* の一章として書いた「DOM の生成機構 (Nagata, 2000)」は、比較的良く引用されるようになった。

1991年に名古屋大学水圏科学研究所の坂本充教授の研究室の助手に採用していただき、帰国することになった。坂本先生は自由な研究環境を与えて下さり、そのお陰で

いろいろなプロジェクトに参加して研鑽を積むことができた。琵琶湖やバイカル湖での共同研究に参加して、陸水の研究を続ける一方で (Nagata *et al.*, 1994; 1996a; 1996b; Haga *et al.*, 1995), 重点領域研究「海洋フラックス」に加えてもらい、海の研究にも本格的に取り組み始めた。重点領域研究では、東京大学海洋研究所の小池勲夫教授が主席を務める学術研究船白鳳丸 KH-93-4 次航海に参加することになった。これは、晴海を出航し、西部北太平洋亜寒帯域から亜熱帯域を経て赤道域へと下り、さらに南太平洋の亜熱帯域に至る広範囲を観測する長期航海だった。

上述のように、もともと私は陸水学を専攻したので、これが初めての外洋航海だったが、経験不足がたたり色々な失敗をした。例えばチミジン法という方法を使って細菌の生産速度を全深度で測定する予定であったが、1,000 m 以上の深度になると、細菌の活性はきわめて低くなり、通常の実験のやり方では測定することができなかった。そこで培養海水の容量を増やす、あるいは培養時間を長くするなどの検討を行ったが、そうこうしているうちに、保管の仕方が悪かったせいか、試薬の大半が途中で使い物にならなくなってしまった。結局は、航海半ばで私の実験は進退窮まり、細菌生産の全深度測定という目標は達成できなかった。おまけに、ハワイから東京に向かうレグの途中で水疱瘡が発症し、入港するまで隔離室のベッドの上で点滴をしながら生活するという羽目に陥った。このように初航海は惨敗に終わったのである。しかし、ここでの失敗体験の数々が、その後の研究生活の中で貴重な糧になった。

この白鳳丸航海以来、私は、海洋の中・深層の微生物ループについての観測的な研究を進めてきた。中・深層に目を向けたのは、小池先生のご助言があったからである (小池先生は「海は上から下までつながっている」が口癖であられた)。幸運にも、その後、幾人もの若い共同研究者の協力を得ることができ、予想以上に大きな規模の研究に発展した。また、ポスドクの頃に Kirchman 教授の研究室で行っていた微生物ループの実験的解析についても、その後もいろいろと形を変えながら発展させ、一定の成果を得るに至った。

以上が、この度の受賞対象となった研究の背景である。では以下に、研究の概要を紹介するとともに、今後の研

究課題について考察を加えることにしよう。

なお、本稿での用語の使い方について、ひとつお断りしておきたい。今日では、海洋の中・深層には細菌 (Bacteria) だけではなくて、古細菌 (Archaea) も多く存在することが明らかになっている (Karner *et al.*, 2001)。細菌と古細菌は系統分類学的に大きく異なるが、本研究で用いた測定方法では区別することができない。従って、本文中で言及する中・深層の微生物については、厳密には「細菌」ではなくて「原核生物」(細菌と古細菌を含む微生物の総称) という用語を用いるのが正しい。しかしながら、本稿の特に第2章では、年代に沿っての叙述となるため、便宜上、細菌という用語で統一した。

## 2. 深層を含む広域な海洋における微生物動態と炭素循環に関する研究

### 2.1. 深層における細菌数の分布についてのデータから得たアイデア (事の発端)

前章で述べたように、初めての長期航海では、当初の目標を達成することができなかったが、あるアイデアを得ることはできた。各海域で得られた細菌数のデータを調べたところ、深層 (1,000 m から 5,000 m の深度) の細菌数の鉛直分布に次のような特徴があることに気が付いたのである。(1) 深度と細菌数の関係を両対数目盛でプロットすると、どの海域でもほぼ直線になる。(2) 深層の全層で積算した細菌数を高いほうから低いほうへ並べると、亜寒帯海域、赤道海域、亜熱帯海域の順番になる。これらは何を意味するだろうか？

Martin *et al.* (1987) は、セジメントトラップで得られた粒子状有機炭素 (particulate organic carbon, POC) の沈降フラックスのデータを整理し、深度 ( $z$ , m) と POC フラックス ( $F$ ,  $\text{mg C m}^{-2} \text{d}^{-1}$ ) の間に次のような一般的な関係があることを見出した。

$$F = F_{100} (z/100)^{-0.858},$$

但し  $F_{100}$  は深度 100 m における POC フラックス。これは後にマーチン式と呼ばれる有名な関係式である (べき関数になる理論的な根拠は無く、純粋な経験式である)。

この関係式からわかるように、深度に伴う POC フラックスの減衰率は、深くなるほど急速に小さくなる。大雑把にいうと、POC の 90% は中層 (1,000 m までの深度) で無機化され、深層への炭素供給量は全フラックスの 10% にしかすぎない。つまり POC フラックスを介した表層とのつながりの強弱という観点からいうと、中層は強いが、それより深い層になると弱くなると考えられる。実際、マーチン式の提案からそれほど間を置かず、POC フラックスと中層の細菌生産の間に密接な関連があるとの報告が現れた (Cho and Azam, 1988)。POC フラックスと中層の微生物ループのつながりが認識され始めたのである。しかし深層の微生物ループに関しては、観測例が乏しかったこともあり、表層とのつながりを議論した論文はまだ無かった。

私は、白鳳丸 KH-93-4 次航海で得られた細菌数のデータには何か重要な意味が隠されているに違いないと考えた。まず、深度と細菌数の関係がべき関数で近似できるということは、マーチンのべき乗式で記述される POC フラックスとの関係を予感させる。次に、積算細菌数が亜寒帯海域で最大で、それに赤道海域が続き、最小なのは亜熱帯海域というのは、POC フラックスの一般的な地理的分布パターンに一致しており、これも、表層と深層の共役関係を示唆するものである。乏しいデータではあったが、このような考察に至り、ある会合で、小池先生や木暮先生にこのアイデアを熱く語ったところ、いくつもの問題点を指摘された。そのひとつは「細菌は死んでいた (あるいは休眠していた) のでは？」というものだった。細菌数は蛍光染色した細胞を落射蛍光顕微鏡で計数して得られた値であったが、その方法では、細胞の生死や活性は判定することはできなかった。そこで「もし沈降粒子に付着した細菌が深層で剥がれ落ちてそこに蓄積したとしたら、君の結果は説明できるのでは？」と指摘されたのである。表層から運搬されて、深層で死んだ、あるいは休眠状態に陥った細菌が累々と蓄積している、つまり深層は「細菌の墓場」ではないか、というのである。たしかに私のデータからは、この墓場説を棄却できなかった。「墓場」として表層と深層が「つながっている」のは確かだとしても、それでは私の意図とは異なる。私が提案したかったのは、「表層から沈降粒子によって有機炭素が深層に供給され、それをエネルギーとし

て深層に微生物ループが発達する」というモデルだ。これを検証し、墓場説を棄却するためには、深層の細菌数だけでなく、細菌の活性(生産速度)に関する情報が必要なことは明白であった。白鳳丸 KH-93-4 次航海で失敗に終わった細菌生産速度の測定に、もう一度チャレンジする必要があった。

## 2.2. 細菌生産速度の全深度分布測定に挑戦

1995年に東京大学海洋研究所生化学部門の助教授に採用され、小池先生のもとで、細菌生産速度の全深度分布の測定に再挑戦することになった。大学院生の福田秀樹氏や福田(宗林)留美氏らに手伝ってもらいながら、測定方法の見直しや改良を行い、1995年から1999年にかけて実施された白鳳丸の3航海で、様々な海域における細菌生産速度の全深度分布データを得ることができた。得られた結果を整理してみると、予想は的中した。深層の

積算細菌生産速度は、亜寒帯海域で高く、亜熱帯海域では低くなるという結果が得られたのである (Fig. 1)。この地理的パターンは、表層のクロロフィルの積算量の分布パターンともよく一致していた。このことから海洋の表層と深層が、沈降粒子→DOM→細菌という炭素流を介して密接につながっていることが示されたのである(墓場説は葬られた)。この結果を論文(Nagata *et al.*, 2000)として公表するとともに、海外の学会でも発表をした。深層の細菌生産を広域的に測定したデータというのは前例の無いものだったので、かなり大きな手ごたえを感じた。なお、中層の細菌生産については、北太平洋亜寒帯域の東西横断観測(白鳳丸 KH-99-3 次航海)でまとまったデータを得ることができた。興味深いことに、単に表層の生産性を反映しているわけではなく、複雑な地理的分布を示すことが明らかになった。これは、おそらく北太平洋中層水の流入による DOM の供給が影響を

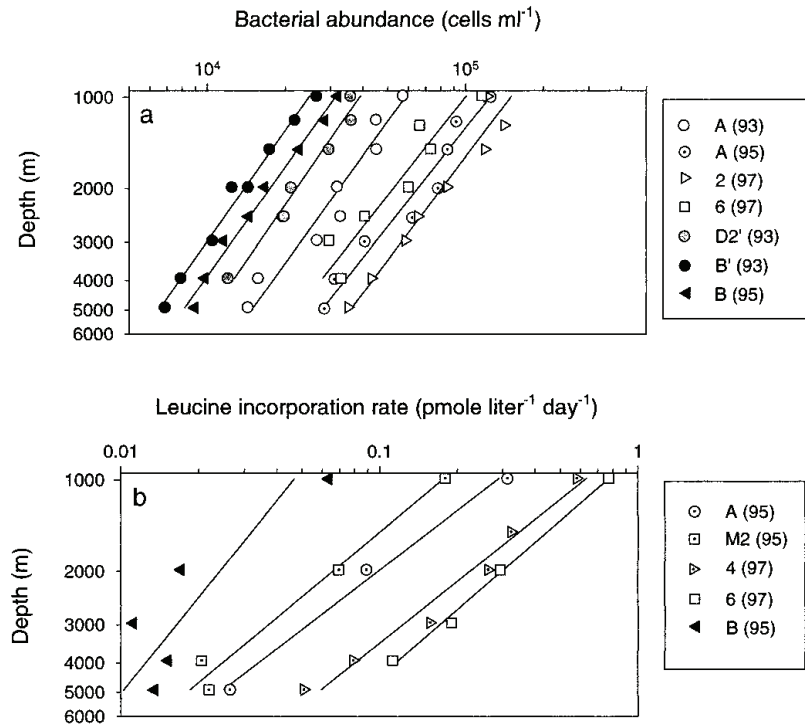


Fig. 1. Vertical distributions of bacterial (prokaryote) abundance (a) and leucine incorporation rate (b) in the bathypelagic layer of the Pacific Ocean. Bacterial production rate was estimated from the leucine incorporation rate using a conversion factor of 1.55 kg C mole Leu<sup>-1</sup>. Sampling stations include those in the subarctic (Stations A, 2, 4, and 6), subtropical (Stations M2, B', and B) and equatorial (Station D2') regions. Numbers in parentheses after the station codes are sampling years. From Nagata *et al.* (2000).

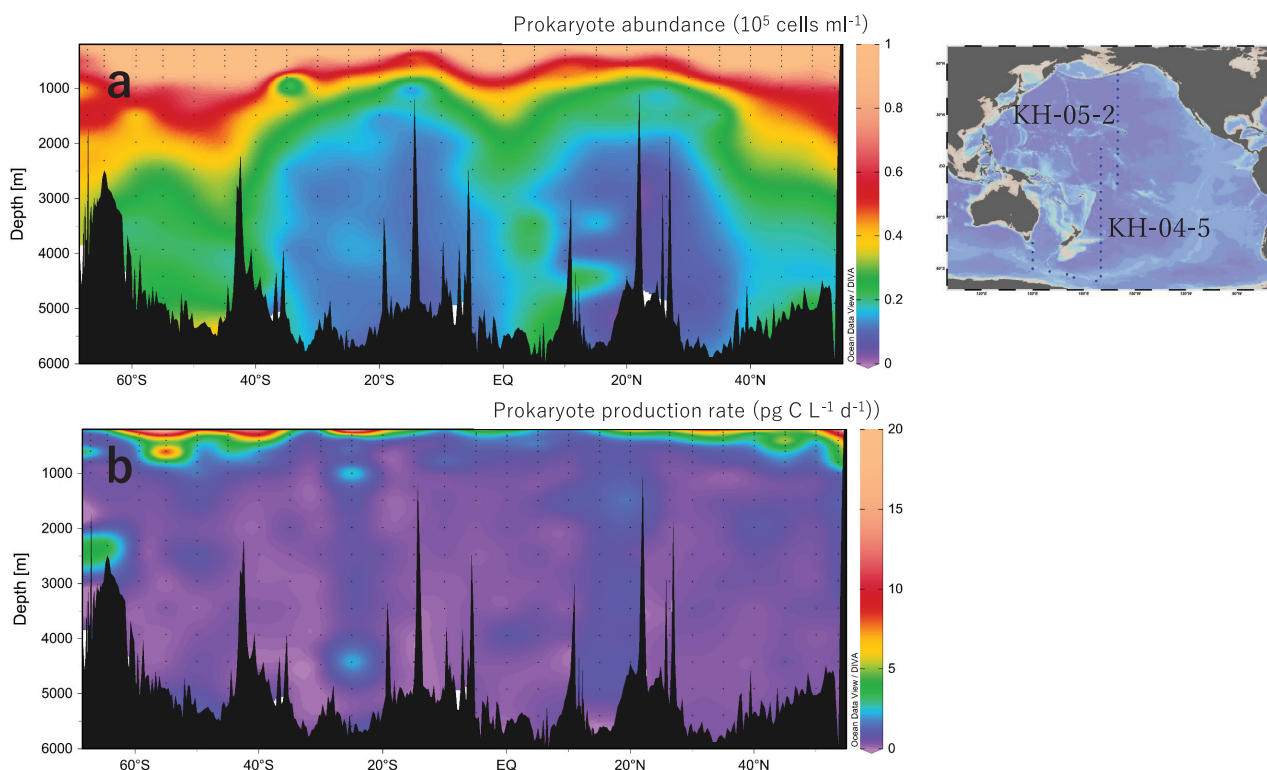
及ぼした結果であろうと考察した (Nagata *et al.*, 2001; この論文で日本海洋学会日高論文賞を頂いた)。なお、この航海では、中層の細胞外加水分解酵素活性や、鞭毛虫の全深度分布についても成果が得られた (Fukuda *et al.*, 2000; Fukuda *et al.*, 2007)。

### 2.3. 海洋内部に見出された細菌の見事な空間分布パターン

2000年から京大生態学研究センターの教授になり、再び、海と陸水(流域)を対象とした研究生活になった。丁度その頃、塚本勝巳教授が代表の学術創成研究「海洋生命系のダイナミクス」が始まり、私は小池先生の研究班に加えてもらい、とても幅広いプロジェクトの枠組みの中で楽しく研究をさせて頂いた。おかげで実験的解析に関わる国際共同研究を推進できたし、その一方で

中・深層の微生物ループの観測研究も進めることができた。ここでは後者について触れる。

この時期の最大の収穫は、白鳳丸のKH-04-5次航海とKH-05-2次航海という2つの長期航海での観測を通して得られた太平洋南北断面分布のデータである。大学院生の横川太一氏と茂手木千晶氏、学振外国人研究員の楊燕輝氏らが航海に参加してくれたが、特に横川氏は、全レグで細菌生産速度の測定を担当し、その働きぶりには瞠目すべきものがあつた。これらの航海で得られたデータは、Nagata *et al.* (2000) の結論を補強するとともに、新たな問題を提起することにもつながった (Fig. 2)。要約すると以下ようになる。(1) 中・深層の細菌数は、高緯度海域と赤道で高く、亜熱帯海域で低いという地理的パターンを明瞭に示した。このパターンは、POCフラックスの広域分布パターンとよく一致することから、



**Fig. 2.** Vertical distributions of prokaryote abundance (a) and production (b) along the meridional transects in the Southern Ocean and the Pacific Ocean. The samples were collected on board the R/V *Hakuho-Maru* during the KH-04-5 and KH-05-2 cruises. The figures were created by Taichi Yokokawa using Ocean Data View (Schlitzer, 2018). The original data are from Yokokawa *et al.* (2013) and are publicly available through the Fd-MAP database (Atmosphere and Ocean Research Institute, 2013).

Nagata *et al.* (2000) の結論を支持するものである。(2) ところが、細菌生産に関しては変則的な分布が見られた。特に顕著だったのは、貧栄養海域である北太平洋亜熱帯域の深層で、高緯度海域並みの高い値が観測されたことであった。この理由としては、なんらかのイベント（ブルームや底質の巻き上げ）に伴う有機物の供給があり、それを反映して細菌生産が局所的に高まったことが考えられた。この説明が正しいかどうかは今後の検証が必要であるが、細菌数や細菌生産速度の分布パターンから明らかにわかるのは、海洋の中・深層における細菌の空間分布が著しく不均一であるということである。そこには見事な規則性もみられるが、同時に変則的な側面もある。広大な海洋内部の空間の中で、大規模な炭素循環がダイナミックに駆動されている様子的一端が、細菌の空間分布のスナップショット（像）として捉えられたのである。白鳳丸の2航海のデータの結果は、このような広域分布パターンの記載とともに、炭素収支についての考察（後述）を加えて論文発表した（Yokokawa *et al.*, 2013）。

#### 2.4. ウィルスは深層流に流される？

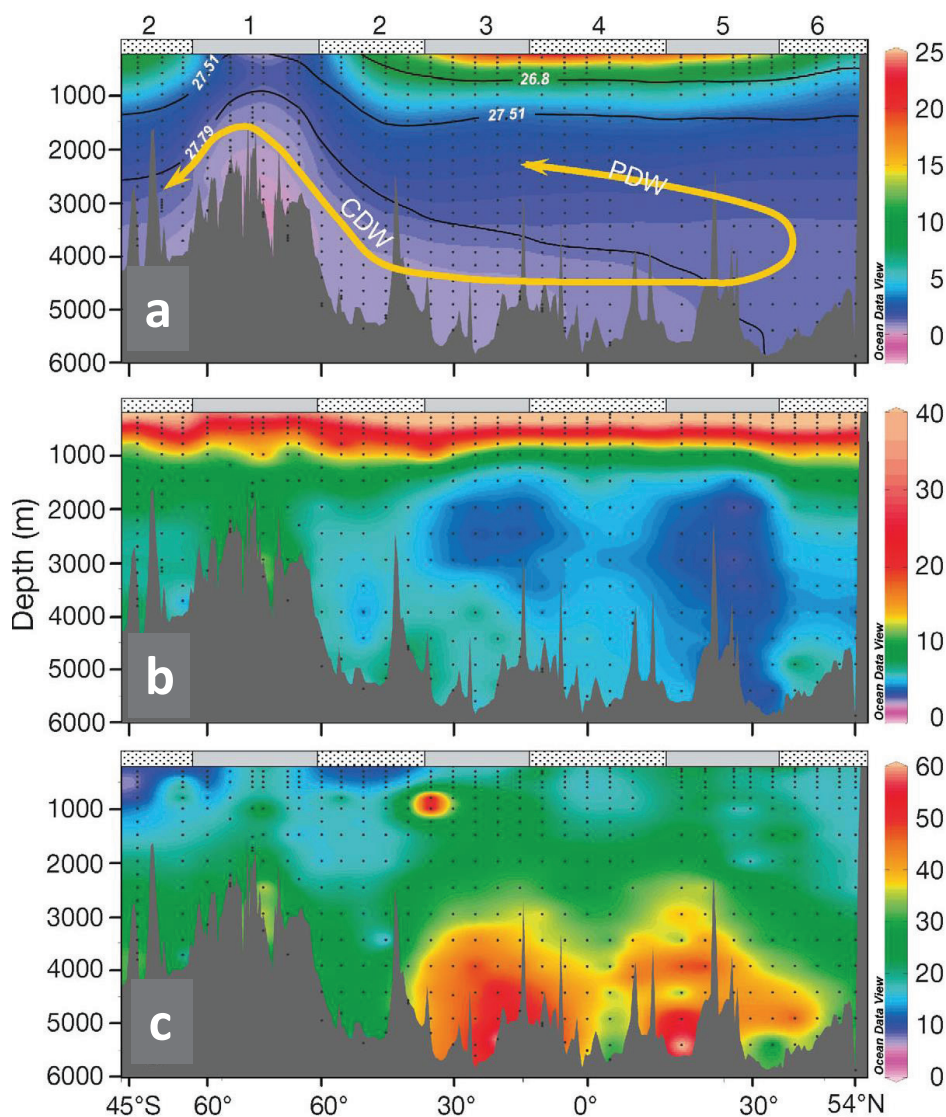
更にこれらの航海では、ウィルス数の全深度分布も調べた。微生物に感染するウィルスが海洋に存在することは1980年代に明らかになり、その全深度分布についても1990年代には既に報告されていた（Hara *et al.*, 1996）。しかし、広域的にウィルスがどのように分布をしているのかについての知見は無かった。そこで、丁度その頃に研究室に入ったフローサイトメーターを使って、上述の2航海で得られた試料中のウィルス数を計数してみようということになった。その結果、ここでも興味深い分布パターンが明らかになった（Fig. 3）。単純に考えると、深層でウィルスの宿主になりうるのは主に細菌（原核生物）であるから、ウィルスの分布は、細菌の分布と似たものになると予想された。実際に3,000 m くらいまでの層では、ウィルス数と細菌数の間には強い相関がみられ、予想とはそれほど違わなかった。ところが、これよりも深くなると、ウィルスと細菌の分布は大きく異なった。細菌数は、2.3節で述べたように、高緯度海域と赤道域で高く、亜熱帯海域では低かったのだが、ウィルス数に関しては、南半球から北半球に向けて単調に減少する傾向がみられたのである。これを、同じ海域における水温や

海水密度の分布とあわせてみると、周極深層水（Circumpolar Deep Water, CDW）の経路に沿って、ウィルス数が徐々に減少しているように見えた。実際、2,000 m 以深で得られたデータを解析すると、海水の密度とウィルス数の間に有意な正の相関が見られることもわかった。さらに驚いたことに、ウィルス数と細菌数の比（virus-to-bacteria ratio, VBR）をプロットすると、3,000 m より深い層に顕著な極大が見られることもわかった。海洋の表層ではVBRは10～20程度に収束するのが普通なのだが、底層において50～60という値が見られたのである。これらの結果は、3,000 m 以深の層では、ウィルス数の空間分布を決める要因が、細菌数の場合とは大きく異なることを意味している。我々は、南極海での海水の沈み込みに伴って表層のウィルスが底層に輸送され、さらにCDWによって北方に運ばれるあいだに徐々に崩壊し、このようなパターンが現れたのではないかと考察した（Yang *et al.*, 2014; 本論文は掲載誌のハイライト論文に選ばれた）。

#### 2.5. 炭素収支の不均衡問題（収入より支出が多い？）

東京大学を定年退職された小池先生の後任教授として、2008年に海洋研究所（2010年からは大気海洋研究所に改組）に着任した。丁度その年に、国際研究計画IMBER（海洋生物地球化学と生態系の統合研究）の第1回国際会議がフロリダで開かれ、私は深層に関するセッションの共同コンピーナーとして参加した。2.3節と2.4節で述べた南北断面観測の結果はまだ論文にはなっていないが、それらの結果を紹介したところ、セッション参加者から大きな関心が寄せられた。そんなこともあり、私が筆頭著者になって「深層の微生物過程に関する最新の知見—生物地球化学と生態学およびゲノムをめぐって」と題したセッション総括論文をとりまとめることになった（Nagata *et al.*, 2010）。

セッションでは様々な事が議論されたが、最も大きく取り上げられたのは、中・深層における有機炭素の供給量と、細菌による消費量との間の不均衡の問題であった。これは、セジメントトラップで測定されるPOCの鉛直輸送量（供給量）と、細菌生産速度の推定値等から見積もられた中・深層での細菌炭素消費量（消費量）が大きく食い違うという問題である。食い違うといっても、供給量



**Fig. 3.** (a) Water potential temperature ( $^{\circ}\text{C}$ , color scale) and  $\sigma_{\theta}$  ( $\text{kg m}^{-3}$ , contour lines), showing also the direction of the Circumpolar Deep Water (CDW) and Pacific Deep water (PDW) circulation. (b) Distributions of viral abundance ( $10^8$  particles  $\text{L}^{-1}$ ). (c) Virus-to-prokaryote abundance ratios. Sampling stations are shown in Fig. 2. From Yang *et al.* (2014). The original data are publicly available through the FddMAP database (Atmosphere and Ocean Research Institute, 2013).

が消費量を上回るのならば、細菌以外の消費者（たとえば動物プランクトン）が有機炭素を消費しているという理屈で説明をする余地があるのだが、2000年代中葉を過ぎた頃から、米国や欧州の主要研究グループが、細菌炭素消費速度が供給速度を大幅に上回る（最大で10倍から100倍も）という結果を相次いで報告し始めていたので

る (Reinthaler *et al.*, 2006; Steinberg *et al.*, 2008)。

この食い違いには、いくつかの要因が複雑に絡んでいる可能性が指摘された。第1に供給量と消費量の推定値の誤差の問題である。特に細菌炭素消費速度の推定値には、それを導くときに仮定される転換係数やパラメータ（細菌数を炭素量に換算する係数や、ロイシンやチミジン

の取り込み速度を生産速度に換算する係数、あるいは細菌生産速度を炭素消費速度に換算するときに使われる増殖効率)に大きな不確定性がある。それに加えて、深層の高静水圧条件下で生息する細菌群集の生産速度を、船上の大気圧条件下で測定することに関わる問題もある。これらの問題の為に、細菌炭素消費量が過大評価される可能性があると言われた (Burd *et al.*, 2010)。

第2に、中・深層への有機炭素供給が、セジメントトラップで捉えられる沈降粒子以外の媒体で駆動されている可能性も指摘された。実際、中層では、鉛直混合や水平移流にともなう DOM の供給があることは既に知られており (Carlson *et al.*, 1994)、それが細菌炭素消費を大きく支えている可能性も否定できない。あるいは、セジメントトラップでは捕捉することが難しいとされる「ゆっくりと沈降する粒子」が、中・深層への有機炭素供給のかなりの部分を担っているのではないかという意見も出された (Baltar *et al.*, 2009)。さらにウィーン大学の Herndl 博士らは、深層において、アンモニアを酸化する化学合成微生物による溶存無機炭素の固定 (有機物供給) が起きている可能性を指摘した (Reinthal *et al.*, 2010)。

第3に、有機炭素の供給と、細菌による炭素消費の間に時間的なずれがある可能性が指摘された。それまで、沈降粒子量と、中・深層の細菌炭素消費量の比較は、ある短い時間断面 (数日から数週間以内) で得られたいわゆるスナップショットデータに基づいて行われてきた。しかし、もし観測を行った時点よりも前におきたイベント (ブルームなど) に付随する沈降粒子の供給が、時間的なずれ (たとえば数か月) を伴って中・深層の細菌炭素消費に結びついていたとしたら、見かけ上「細菌炭素消費量が沈降粒子量を大きく上回る」という現象が現れるかもしれない。実際、文献によれば、細菌炭素消費量と沈降粒子量の間大きな不均衡が見られたという報告 (Reinthal *et al.*, 2006; Steinberg *et al.*, 2008; Uchimiya *et al.*, 2013) がある一方で、両者はほぼ均衡していたという報告 (Cho and Azam, 1988; Nagata *et al.*, 2000) もあった。供給と消費をある短い時間断面で比較する時には、暗に定常状態が仮定されているが、現実の海洋で起きている現象は非定常であり、このことが見かけ上の不均衡問題を引き起こしている可能性がある。

以上のように IMBER 国際会議では、炭素収支の不均衡をめぐって、「方法的な不確定性」、「有機炭素のミッシングソース」、「非定常過程」という3つの論点が整理されたが、これらはいずれもそう簡単には解決できそうにない難問である。外洋の中・深層というのは、観測が困難なうえに広大であるため、息の長い研究が必要な研究対象である。また、高精度な観測データを取得できる研究グループや研究船は、世界に数えるほどしか無い。私は、なんとか日本発の研究で、この問題の一角に食い込めないものかと考えながら、フロリダを後にした。

## 2.6. K2S1 プロジェクトへの参加

IMBER 国際会議のとりまとめも一段落ついた頃、海洋研究開発機構の才野敏郎博士から、研究船みらいを使ったプロジェクトについてのお話があった。西部北太平洋の亜寒帯域に設置した定点 K2 と、亜熱帯域の定点 S1 をベースに、生物地球化学的な総合時系列観測を実施するので、「中・深層の微生物観測」というテーマで参加しないかというお誘いであった。係留型セジメントトラップの観測も実施するというのであったので、私にとってはまさに渡りに船であった。つまり、2.5節で述べた「非定常過程」を調べる絶好のチャンスと考えたのである。とても悲しいことに、才野博士は、闘病の末、2014年にお亡くなりになったが、本多牧生博士らが後を継ぎ、この総合観測は「K2S1 プロジェクト」として実施された (Honda *et al.*, 2017)。私自身は、この頃は所属機関の運営に係わる仕事が多くなり、航海に参加することは難しい状況であったが、大学院生の内宮万里央氏が、福田秀樹氏らとともに2010年から2012年の間に実施された研究船みらいの5回の航海に参加し、細菌生産の全深度分布データを取得してくれた。また、同じ分野の小川浩史准教授や、微生物分野の濱崎恒二准教授 (現教授) にもいろいろな面で助けてもらった。

このプロジェクトでは、POC フラックスの時系列観測と、細菌生産速度の全深度分布の季節的な観測を同時に行い、大変に貴重なデータセットを得ることができた。解析結果について、ここでは要点だけを述べる。セジメントトラップを設置した500 m から4860 m の間の層において、POC フラックス減衰量 (つまり対象とする層への有機炭素供給量) と、層内での細菌炭素消費量を、各々



の観測を実施した時点で比較したところ、消費量が供給量を最大で7倍も上回る不均衡が生じている時期があった。一方、観測期間(2.5年)全体について、供給量と消費量のそれぞれを時間積分して比較をすると、不均衡の程度は緩和され、供給量と消費量の違いは2倍の範囲(消費量が供給量を2倍上回る)に収まった。このことは、深層にみられる有機物の供給と消費の間の大きな不均衡は、数年スケールでの時間的なずれを考慮すると部分的に解消することを意味している。このような時間的なずれがどのようなメカニズムで起きるのかは現時点では十分に明らかではない。可能性としては、沈降粒子から放出される溶存有機物や非沈降性POCが水中に一時的に蓄積し、それが深層の細菌群集によってゆっくりと消費されるという循環の存在が考えられる。炭素収支のデータを、このような考察とともに論文にまとめ、故才野博士への献辞を添えて公表した(Uchimiyama *et al.*, 2018)。

## 2.7. データベースとモデル化

共同研究者達の努力で、海洋の中・深層における細菌数や生産速度を含むものとしては、おそらく世界で最大規模のデータセットができあがり、これらをデータベースにして公開した(Atmosphere and Ocean Research Institute, 2013)。我々のデータを使ったメタ解析の論文も散見するようになったが、せっかくだから日本製のモデルの中で生かしてもらえないかと思っていた。そんな時、羽角博康准教授(後に東京大学大気海洋研究所教授)から、DOMを明示的に組み込んだ全球モデルを考えているというお話を伺った。それならば細菌とDOMの相互作用を入れたらということになり、ディスカッションを始めた。何年かかかったように思うが、羽角先生のご努力で、NPZDモデルにDOMと細菌を組み込んだ全球モデルができあがった。感度解析の結果、DOMが在ると全球一次生産が減少することや、亜熱帯域の一次生産の維持にDOMの輸送が寄与していること等が明らかにされ、論文として公表された(Hasumi and Nagata, 2014)。私にとって興味深かったのは、2.4節で紹介した細菌数の南北断面分布(Fig. 2の(a))がこのモデルでおおむね再現されたことであった。これを足掛かりにして、2.5節で紹介したウイルスの分布の形成機構の解明や、2.6

節で考察した非定常過程の研究をより定量的に進められる可能性がでてきたのである。

## 3. 実験的解析による有機物と微生物の相互作用に関する研究

### 3.1. 実験的解析の必要性

前章で紹介した海洋中・深層での細菌やウイルスの広域分布パターンは、有機物供給場や中・深層流による輸送で、概ね規定されていると思われる。この事はHasumi and Nagata (2014)のモデル解析の結果からも窺うことができる。しかし、環境条件が変化した時に細菌群集がどう応答するか、あるいは、細菌群集の変動が有機物場にどのような影響を及ぼすか、といった問題を扱おうとすると、分布パターンを観察しているだけではなかなか答えは得られない。微生物の動態を規定する要因(メカニズム)についてのより深い理解が必要になってくる。言うまでもなく、これは、なにも中・深層に限ったことではなく、海洋表層についても同じである。

そこで、現場観測とあわせて、実験的解析が必要になる。第1章で述べたように、私はポストドクの時に主に室内実験を行っていた。それ以降も、大学院生や、その他の共同研究者の協力を得て、微生物と有機物の相互作用の素過程について実験的な解析を進めてきた。その中には「微粒子に吸着したタンパク質の分解」(Nagata and Kirchman, 1996)とか「膜たんぱく質と可溶性タンパク質の分解速度の違い」(Nagata *et al.*, 1998)といった様々な内容が含まれるが、以下では、「細菌の細胞壁は難分解性か?」、「ウイルスが支配する細菌の増殖効率」、「細菌が支配する粒子動態」という3課題について、その研究の概要を紹介する。

### 3.2. 細菌の細胞壁は難分解性か?

DOMは海水中の最大の有機炭素リザーブであり、その全海洋規模での炭素量(700 Pg)は、大気中二酸化炭素量(750 Pg)に匹敵するほどの規模である。このことから、DOMの動態やその制御機構の理解は、海洋生物地球化学における重要な研究課題になっている(Ogawa and Tanoue, 2003; Nagata, 2008)。特に、海水中に蓄積

する難分解性 (refractory) あるいは準易分解性 (semi-labile) と呼ばれる、微生物によって分解されにくい DOM がどのようにして生成されるのか、またそれらはどのようにして微生物の分解を免れるのか、といった事については長年に渡り議論的であった。様々なメカニズムが提唱されてきたが、その1つが「細菌起源説」である。細菌は海洋における有機物分解の主役であるが、その細菌自身が作り出すある種の有機物が、難分解性 (あるいは準易分解性) DOM の起源ではないか、という考えである。この考えを裏付ける重要な根拠は、2003年に本学会賞を受賞した田上英一郎博士らによってもたらされた。田上博士らは、細菌の膜たんぱく質の1種であるポリンが海水中に多量に蓄積していることを発見し、細菌が生成するある種のタンパク質が、海水中で選択的に保存される可能性を初めて指摘したのである (Tanoue *et al.*, 1995)。これに続いて米国の研究グループが、溶存有機窒素の中に D-アミノ酸 (光学異性体) が多く含まれることを見出した。D-アミノ酸は普通のタンパク質の中には存在せず、主に、細菌細胞壁 (ペプチドグリカン) に見られる。このことから、海水中に蓄積する溶存有機窒素の主要な起源は、細菌細胞壁であると結論付けたのである (McCarthy *et al.*, 1998)。一方、小川浩史博士らは、グルタミン酸のような既知の化合物を単独の有機基質として海洋細菌群集を培養したときに、「化学的に同定ができない DOM (つまり分子構造が不明な化合物)」が培地中に蓄積することを見出した (Ogawa *et al.*, 2001)。この結果からも、細菌起源説が支持された。しかし、細菌細胞壁が実際にどの程度分解されにくいのか、また、その分解過程で「化学的に同定ができない DOM」が生成するのか、といったことについての直接的な証拠は得られていなかった。

1998年頃だったと思うが、私はポスドクの時にお世話になった Kirchman 教授とこの問題について話し合う機会があり、細菌細胞壁の構成成分であるペプチドグリカンの分解速度を測定してみようという事になった。比較対象としては、分解され易いことがわかっているタンパク質を用い、このタンパク質に比べてペプチドグリカンが分解されにくいことを確認しようというアイデアである。方法としては、まず、ペプチドグリカンを構成するペプチド鎖 (D-アミノ酸を含む数個のアミノ酸が結合したも

の) と、糖鎖 (N-アセチルグルコサミンと N-アセチルムラミン酸が交互に結合したもの) のそれぞれを、放射性同位体 ( $^3\text{H}$  ないしは  $^{14}\text{C}$ ) で標識する。次に、この標品を海水中に添加して、放射アッセイ法によって分解速度を測定するという計画を立てた。こうすることで、ペプチドグリカン分子の部位 (糖鎖とペプチド鎖) による分解速度の違いを調べることができる。

放射標識ペプチドグリカン標品の調製と高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いた純度検定にかなりの時間を費やした後、主に沿岸域の海水を用いて分解実験を行った。その結果、確かにタンパク質に比べると、ペプチドグリカンの分解速度は遅い事 (2~21倍)、また糖鎖はペプチド鎖に比べて分解されにくい事などが明らかになった。分子量を調べると、培養後期になって、化学的に同定のできない (つまり HPLC で検出することができない) 低分子の DOM が蓄積することもわかった。以上の結果は、細菌細胞壁由来の成分が、タンパク質と比べて分解されにくく、従って DOM プールの中に選択的に保存される (蓄積する) という仮説を支持した。ただし、注意が必要なのは、以上はあくまでも分離精製したペプチドグリカンを用いて得られた結果であるという点である。現実の海水中では、ペプチドグリカンが他の有機物と会合して、より複雑な状態で存在する可能性も十分にある。その場合には、分解性はさらに低下するかもしれない。このような考察を加えて論文を発表した (Nagata *et al.*, 2003)。

### 3.3. ウィルスが支配する細菌の増殖効率

京都大学生態学研究センターにいた頃、大学院博士課程に編入してきた茂手木千晶氏は、「ウィルスが物質循環に及ぼす影響について、フランスのグループと共同研究をしたい」という強い希望を持っていた。フランスのグループとは、地中海沿岸の町ヴィルフランシュに在るパリ第6大学海洋研究所の研究者達のことで、その中には海洋ウィルス研究の専門家である Markus Weinbauer 博士がいた。私は彼らと旧知であり、ヴィルフランシュにも何度か訪問したことがあったので、速やかに日仏共同研究が立ち上がり、茂手木氏は1年間、フランスに滞在して実験を行う事になった。

地中海はリン制限の海域として知られている (リンの

供給が一次生産の制限要因になっている)。そこで、培養実験を行って、リンの添加がウイルスの動態や物質循環に及ぼす影響を調べようということになった。また、限外ろ過法で濃縮したウイルス粒子を添加した実験区も設けて、ウイルス感染を促進したら物質循環がどのように変化するのかも調べるということになった。具体的には、細菌生産速度と呼吸速度を測定して、リンやウイルスの添加が、細菌増殖効率(=生産速度÷(生産速度+呼吸速度))に及ぼす影響を評価するというアイデアであった。

細菌増殖効率は、リンや窒素の無機化効率とも関係し、海洋での栄養循環や微生物食物連鎖を通しての炭素転送効率を考える上で重要なパラメータである。先行研究では次のことが分かっていた。1) 一般的に制限元素を添加すると細菌増殖効率は上昇する、2) ウィルス感染による溶菌が活発に起こると、細菌増殖効率は低下する(宿主細菌から DOM が排出され、それが生き残った細菌によって消費されるという循環的な炭素流が生じるため)(Wilhelm and Suttle, 1999)。では、リンの添加(増殖効率を上昇させる)と、ウイルス感染の増加(増殖効率を低下させる)が同時に起きたら、どのような相互作用が現れるのだろうか? これについてまだ明確な答えはなかった。我々は、添加実験を行うことで、この問題を統一かつ定量的に把握しようとしたのであった。

実験の結果は予想以上に複雑で、どうやってデータ解析をするか悩まされたが、理論生態学者の三木健博士に助けてもらい、単純モデルを使って解析する道が開けた(Fig. 4)。さらに、地中海での培養実験のデータだけでは一般性がどの程度あるのかが疑問視されたため、白鳳丸航海(太平洋)で得られた実験結果も追加した。その結果、ウイルスによる細菌感染の程度を表すウイルス分流量率(=VS÷(BP+VS)、ただしBPは細菌生産速度、VSはウイルス感染による細菌の死亡速度)という新たなパラメータを導入することで、細菌増殖効率の変動に及ぼす溶菌と栄養添加という2つの効果を統一的に説明できることが示された。すなわち、細菌増殖効率は、栄養添加による正の効果と、ウイルス添加による負の効果という2つの相反する効果のバランスによって規定されていることが示されたのである。今後、本研究で考え出した新しい概念枠組みを使うことで、微生物食物連鎖を通じての炭素転送効率の変動をより深く理解すること

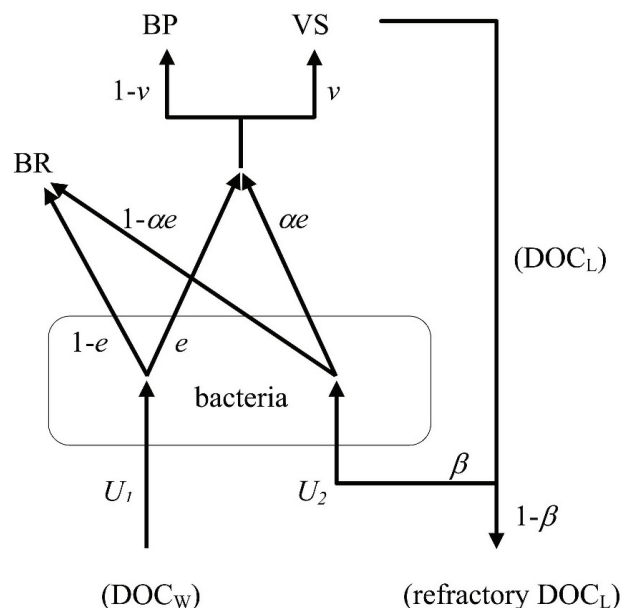


Fig. 4. Carbon flow model of the bacteria-virus system. BP: bacterial production, VS: viral-induced bacterial mortality, BR: bacterial respiration, DOC<sub>L</sub>: dissolved organic carbon supplied by the viral shunt, DOC<sub>w</sub>: dissolved organic carbon originally in the seawater, U<sub>1</sub>: uptake rate of DOC<sub>w</sub>, U<sub>2</sub>: uptake rate of DOC<sub>L</sub>. e, α, β, and ν are dimensionless parameters. From Motegi *et al.* (2009).

ができると期待される。このような考察とともに、日仏共同研究プロジェクトの成果は論文になった(Motegi *et al.*, 2009)。なお、以上の実験では、細菌群集組成の変動も調べたが、それに関しても興味深いデータが得られた。そこで、ウイルス感染と細菌群集多様性の関係に着目した解析を行い、別の論文として発表した(Motegi *et al.*, 2013)。

### 3.4. 細菌が支配する粒子の動態

第2章では表層と中・深層がPOCフラックスを介してつながっていると述べたが、この「つながって」いることには、そもそもどんな意味があるのだろうか? これを理解する為には、海洋炭素循環におけるPOCフラックスの役割を思い出す必要がある。それは、一言でいえば、大気中CO<sub>2</sub>濃度を(従って地球の気候を)調節する働きにある。POCが沈降することで海洋表層から中・深層へ

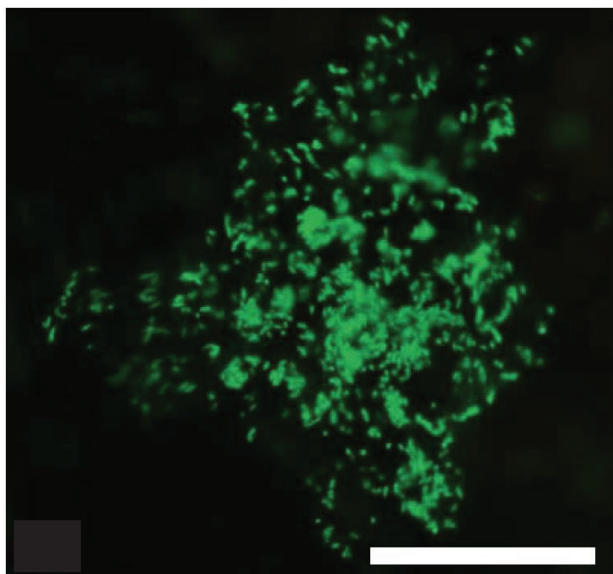
と炭素が鉛直輸送され、海洋による炭素貯留が促進されるのである。数値計算によれば、もし、この炭素循環のメカニズム(生物炭素ポンプとも呼ばれる)が無くなると、大気中二酸化炭素濃度は現在の2倍近くになる。つまり、生物炭素ポンプはそれだけCO<sub>2</sub>削減に大きく寄与していることになる。このことから、生物炭素ポンプがどのような仕組みで制御されているのかを理解し、今後どのように変動するのかを予測することが、海洋生物地球化学における重大な関心事になっている。第2章で紹介した中・深層における細菌の広域分布パターンは、生物炭素ポンプが駆動する大規模な炭素循環を映す巨大な鏡像のようなものであり、海洋深部への炭素輸送の強度や変動を把握する手がかりになりうる。しかし、3.1節でも述べたように、分布パターンだけからは、生物炭素ポンプの変動を制御するメカニズムを明らかにすることは難しい。「POCが沈降する」という現象の根本に立ち返り、その素過程やメカニズムを一つ一つ解きほぐす必要がある。

ここでは、粒子の凝集という素過程を考えてみよう。海水中に存在する様々な粒径の粒子は、互いに衝突し、凝集と分散を繰り返すという動的な状態にある。微生物が分泌し、あるいは捕食やウイルス感染に伴って海水中に排出される多糖類やタンパク質等のポリマーは、一般に粘着性が高い(ネバネバしている)ことから、粒子の凝集を促進する働きがある。これらのポリマーによって凝集が促進されれば、沈降速度の速い大型凝集体(マリンスノー)の生成が活発化する。したがって、これらのポリマーの増加は、生物炭素ポンプによる炭素の鉛直輸送を加速させる効果を持っていると期待される。1980年代には透明細胞外ポリマー粒子(transparent exopolymer particles, TEP)と呼ばれる酸性多糖類からなる粒子の定量法が考案され、その分布や変動要因に関する研究が活発に行われるようになった(Alldredge *et al.*, 1993)。また1990年代後半には、海水中の溶解有機物が自発的な会合によってゲル化するという現象も発見された(Chin *et al.*, 1998)。上述のように、TEPやその他のゲル状粒子は、粒子動態に強い影響を及ぼす因子である。その一方で、これらの粒子は、細菌にとって格好の栄養基質(おいしい餌)でもある。実際、TEPやゲル状粒子の表面や内部には、たくさんの細菌が生活を営んでおり、海

中の小さな「オアシス」であることが知られていた。では細菌が生息していることは、粒子動態に何らかの影響を及ぼすのだろうか？これは、微生物生態学的な関心(粒子に付着した細菌の多様性や活性)と、生物地球化学的な関心(粒径分布や沈降といった粒子動態)の間にある、いわゆる境界領域的な問題であり、まだ未解明の点が多く残されていた。

2010年に大学院生として大気海洋研究所の私の研究室に加わった山田洋輔氏は、「凝集体と細菌の相互作用」という境界領域の問題に挑戦した。先任の小池教授が海洋の微粒子動態について大きな成果を挙げられており(Koike *et al.*, 1990; Yamasaki *et al.*, 1998)、その技術や知識を福田秀樹氏が引き継いでいたので、我々の研究室には粒子動態を調べる道具立てやノウハウがあった。一方、微生物生態学的な側面については、海洋微生物分野の木暮先生にご助言をお願いした。

山田氏は、薬学関係のある文献をヒントに、フコイダン(がごめ昆布から抽出した多糖類)とキトサン(カニの甲羅から精製したキチンを部分加水分解した多糖類)という2種類の多糖類を海水中で混ぜると、粒径が100 μm程度のゲル状粒子が自発的に生成することをつぎとめた。そこでこのゲル状粒子をモデルにして、細菌が粒子動態に及ぼす影響を調べることにした。修士課程で検討したのは、「細菌が付着することで粒子の沈降速度はどのように変化するか？」という問いであった。もちろん粒子の沈降速度は粒径に強く依存するから(大きいほど速く沈む)、この問いは「同じ粒径の粒子について」という条件をつけないと意味が無い。孔径0.8 μmのフィルターでろ過した沿岸海水中に浸漬して天然の付着細菌群集を増殖させたモデル粒子(処理区; Fig. 5)と、細菌を取り除いた(0.2 μmのフィルターでろ過)海水で同じ処理をしたモデル粒子(対照区)を使って、沈降速度を比較したところ、おもしろいことに、同じ粒径で比較すると、処理区は対照区に比べて沈降速度が有意に遅くなる事(約1/2~1/5)が明らかになった(粒径範囲は62~119 μm)。細菌が付着すると粒子は沈みにくくなったのである。その原因をいろいろ検討した結果、付着細菌がいると、粒子の空隙率(すきま)が大きくなり、密度が低下する為に沈みにくくなることが示された。おそらく、細菌群集が細胞外加水分解酵素を使ってポリマーを切断



**Fig. 5.** Epifluorescence microscopic image of bacteria attached on the model gel particle. Bacteria were stained by SYBR Green 1. Scale bar = 50  $\mu\text{m}$ . From Yamada *et al.* (2013).

したことで、粒子内部がスカスカになったと考察された (Yamada *et al.*, 2013)。

山田氏は、博士課程でも引き続き、このモデル系を用いて研究を進めた。その結果、付着細菌群集が増殖することで、粒子の凝集が加速され、沈降速度の速い大型凝集体の形成が顕著に促進されるという、これまた興味深い現象を見出した。微生物学的な解析の結果、*Pseudoalteromonas* 属の細菌の中に、顕著な凝集促進作用を持つものがあることも判明した。以上の実験データを基に、大型凝集体の形成機構を考察した結果、ある種の付着細菌が粘着性の物質を分泌し、粒子と粒子が結合するのを促進したと推察された (Yamada *et al.*, 2016)。

細菌が細胞外加水分解酵素でポリマーを切断することや、粘着性ポリマーを細胞外に分泌することは、細菌の生理学分野では古くから知られていることで、驚くには値しない。しかし、そのような作用が、粒径分布や粒子の密度 (空隙率) の改変を通して、海洋炭素循環を駆動する生物炭素ポンプの働きを支配しているとすれば、それは生物地球化学的にはコンテンポラリーな意味を帯びてくる。山田氏の研究の重要なポイントは、モデル実験

を通してその可能性を示したという点にある。問題を解いたというよりも、新たな問題群の扉を開いたのである。

#### 4. 今後の展望

自然環境中の微生物群集の多様性や機能を、遺伝子情報 (DNA や RNA の塩基配列) を基にして解析する手法が広く使われるようになってきている。特に近年は、高速で安価な塩基配列決定技術の普及や、大量の遺伝子情報を効率良く解析する計算機科学の発達にも支えられ、医学や一般生物学だけでなく、生態学や生物多様性の研究においても、遺伝子解析手法は基本ツールになったといえるであろう。物質循環研究の分野でも、遺伝子解析手法は、有用な手段として浸透しつつある。たとえば、微生物群集の遺伝子を調べると、ある機能を有する微生物の種類 (系統分類学的な帰属)、すなわち物質循環をつかさどる「キープレイヤー」を特定できる場合がある。また代謝機能に関わる遺伝子の発現状態 (DNA から RNA への転写がどの程度起きたか) を調べると、その代謝がどのような環境条件の下で亢進あるいは抑制されるのかについての情報を得ることができる。

ところで、海洋環境中の微生物群集が、ある物質フラックスに対して「正の効果」と「負の効果」の両方を持つということはしばしばある。3.4 節で紹介した微生物群集の沈降フラックスへの影響もその一例である。細菌群集は凝集体の内部の空隙を増やすことで、沈降フラックスを減衰させる (負の効果)。その一方で、細菌群集は、凝集体同士の接着を促進して沈降フラックスを加速する (正の効果)。当然、次に疑問になってくるのは、では、「正味の」効果はどちらなのか、また、どのような要因で正と負のバランスは変化するのかといったことであろう。私は、凝集体上に生息する微生物群集の遺伝子を解析することで、このような疑問に答える手がかりが得られるのではないかと考えている。「凝集体の空隙を増やす」という作用においては、細胞外加水分解酵素が重要な役割を果たすであろう。一方、「凝集体同士を接着させる」という作用においては、粘着性の強い細胞外多糖類や細胞外突起物 (ピリなど) が重要になってくるだろう。とすれば、これらの生成に関わる遺伝子の挙動を詳しく調べれば、凝集体の沈降速度をコントロールする仕組み

みやキープレイヤーが見えてくるのではないだろうか。

これまで、遺伝子解析は、主に海洋微生物群集の組成や多様性の地理的分布や季節変動の解明において、大きな威力を発揮してきた。このような情報を、物質フラックスのデータと合わせて解析することで、思いがけない関連性が浮かび上がってくることもある。例えば、近年、微生物やウイルスの群集組成と、粒子の沈降フラックスの地理的な分布を広域的に比較したところ、ある種の微生物やウイルスの存在量と、沈降粒子フラックスの間に強い正の相関が見られることが示された (Guidi *et al.*, 2016)。特に、シアノバクテリアに感染するウイルスの存在量と、粒子の沈降フラックスの間に強い関連が見られたことから、ウイルスが沈降フラックスを促進する働きをしている可能性が示唆された。もちろん、相関関係のみから因果関係を結論付けることはできないので解釈には注意が必要であるが、もし本当にウイルス感染が沈降フラックスを制御する重要な要因であるとしたら、その意義は大きい。

近年、我々の研究室では、珪藻 (*Chaetoceros tenuissimus*) の培養系を用い、ここに DNA ウィルス (CtenDNAV type II) を感染させた場合と、感染させない場合で、凝集体の挙動がどう異なるかを調べる室内実験を行った。その結果、興味深いことに、ウイルスに感染した珪藻の培養系の中には、沈降速度の速い大型凝集体が多量に生成するという結果が得られた (Fig. 6; Yamada *et al.*, 2018)。この結果は、「ウイルスは細胞を破壊し、粒子を小型化する」という一般的な考え方とは相反するが、上述の、「ウイルスが沈降フラックスを促進する」という仮説とは整合的である。大型凝集体の形成が促進されるメカニズムについては、現段階では推測の域をでない。しかし、①ウイルスによって細胞が破壊されるのに伴い、粘着性の高い細胞内ポリマーが海水中に放出され、それらが接着剤となって大型凝集体の形成を促進する、あるいは、②ウイルス感染に対する防御反応として、珪藻がなんらかの細胞外多糖類を分泌し、これが大型凝集体の形成を促進する、などの可能性が考えられる。今後、このようなウイルスの新たな役割とそのメカニズムを解明していくことが、海洋炭素循環の制御機構をより深く理解するうえで、重要な研究課題の1つになるであろう。さらに付け加えれば、大型凝集体の形成機構の解明は、

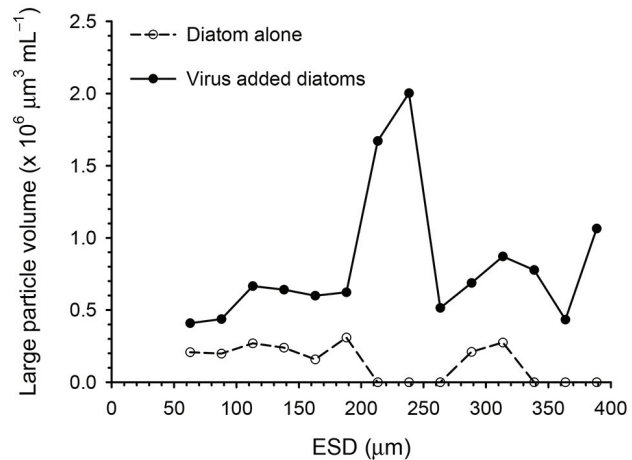


Fig. 6. Size distributions of large particles (aggregates) in the diatom-alone control and the virus-added diatoms. ESD, equivalent spherical diameter. From Yamada *et al.* (2018).

汚染物質 (放射性核種やナノプラスチックを含む) の海洋における挙動や、動物プランクトンや稚魚の餌資源の動態を解明する上でも重要な意義を有するのである。

私の研究者人生はもはや最終ラウンドに差し掛かっているが、若い研究者たちや遺伝子解析の専門家との新たな共同研究を進めることで、微生物群集やウイルスによる海洋炭素循環の制御機構の解明を、上述のような新しい切り口から、もう一歩深められないかと考えているところである。

## 謝 辞

この度、栄誉ある日本海洋学会賞を受賞し、大変光栄であると同時に身の引き締まる思いでいます。選考に当たられた委員長ならびに委員の先生方には、深く感謝申し上げますとともに、これを励みに、残された期間を研究に精進したいと考えています。研究者としてこれまで曲がりなりにもやってこられたのは、多くの先達のご指導やご助言があったからです。恩師である渡辺泰徳先生、手塚泰彦先生、David Kirchman 先生を始め、職場の上司や先輩としてご指導いただいた、坂本充先生、小池勲夫先生、(故) 才野敏郎先生、木暮一啓先生の学恩に深く感謝します。また研究船での観測を始め、本稿で紹介さ

せていただいた研究の中では、実に多くの皆様のご助力をいただきました。特に、小川浩史氏、福田秀樹氏、宗林留美氏、横川太一氏、茂手木千晶氏、楊燕輝氏、三木健氏、内宮万里央氏、山田洋輔氏には、境界分野の険しい道を共に歩んでくれたことに対して、記して感謝の意を表します。最後になりますが、研究の舞台裏を支えてくれた船舶や陸上の技術職員の皆様や、研究室の歴代のスタッフの皆様のサポートに深く感謝します。なお本研究はJSPS 科研費(課題番号 JP04232212, JP06680489, JP06044066, JP08458142, JP09044207, JP10480125, JP11694197, JP11874112, JP12800016, JP13308029, JP17201004, JP18651007, JP20310010, JP22651004, JP24241003, JP15H01725)の助成を受けました。

## References

- Allredge, A. L., U. Passow, and B. E. Logan (1993): The abundance and significance of a class of large, transparent organic particles in the ocean. *Deep-Sea Res. I*, **40**, 1131-1140.
- Atmosphere and Ocean Research Institute (2013): Full depth distribution of microbial abundance and production database (FddMAP). [http://cesdweb.aori.u-tokyo.ac.jp/~database/FddMAP/FddMAP\\_EN.html](http://cesdweb.aori.u-tokyo.ac.jp/~database/FddMAP/FddMAP_EN.html) (最終閲覧年月日 2018年12月25日)
- Azam, F., T. Fenchel, J. G. Field, J. S. Gray, L. A. Meyer-Reil, and F. Thingstad (1983): The ecological role of water-column microbes in the sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **10**, 257-263.
- Baltar, F., J. Arri´stegui, J. M. Gasol, E. Sintes, G. J. Herndl (2009): Evidence of prokaryotic metabolism on suspended particulate organic matter in the dark waters of the subtropical North Atlantic. *Limnol. Oceanogr.*, **54**, 182-193.
- Burd, A. B., D. A. Hansell, D. K. Steinberg, T. R. Anderson, J. Arístegui, F. Baltar, S. R. Beupré, K. O. Buesseler, F. DeHairs, F. A. Jackson, D. C. Kadko, R. Koppelman, R. S. Lampitt, T. Nagata, T. Reinthaler, C. Robinson, B. H. Robison, C. Tamburini, and T. Tanaka (2010): Assessing the apparent imbalance between geochemical and biochemical indicators of meso- and bathypelagic biological activity: What the @ \$#! is wrong with present calculations of carbon budgets? *Deep-Sea Res. II.*, **57**, 1557-1571.
- Carlson, C. A., H. W. Ducklow, and A. F. Michaels (1994): Annual flux of dissolved organic carbon from the euphotic zone in the northwestern Sargasso Sea. *Nature*, **371**, 405-408.
- Chin, W.-C., M. V. Orellana, and P. Verdugo (1998): Spontaneous assembly of marine dissolved organic matter into polymer gels. *Nature*, **391**, 568-572.
- Cho, B. C., and F. Azam (1988): Major role of bacteria in biogeochemical fluxes in the ocean's interior. *Nature*, **332**, 441-443.
- Fukuda, H., R. Sohrin, T. Nagata, and I. Koike (2007): Size distribution and biomass of nanoflagellates in meso- and bathypelagic layers of the subarctic Pacific. *Aquat. Microb. Ecol.*, **46**, 203-207.
- Fukuda, R., Y. Sohrin, N. Saotome, H. Fukuda, T. Nagata, and I. Koike (2000): East-west gradient in ectoenzyme activities in the subarctic Pacific: Possible regulation by zinc. *Limnol. Oceanogr.*, **45**, 930-939.
- Guidi, L., S. Chaffron, L. Bittner, D. Eveillard, A. Larhlimi, S. Roux, Y. Darzi, S. Audic, L. Berline, J. R. Brum, L. P. Coelho, J. C. I. Espinoza, S. Malviya, S. Sunagawa, C. Dimier, S. Kandels-Lewis, M. Picheral, J. Poulain, S. Searson, Tara Oceans Consortium Coordinators, L. Stemmann, F. Not, P. Hingamp, S. Speich, M. Follows, L. Karp-Boss, E. Boss, H. Ogata, S. Pesant, J. Weissenbach, P. Wincker, S. G. Acinas, P. Bork, C. de Vargas, D. Iudicone, M. B. Sullivan, J. Raes, E. Karsenti, C. Bowler, and G. Gorsky (2016): Plankton networks driving carbon export in the oligotrophic ocean. *Nature*, **532**, 465-470.
- Haga, H., T., Nagata, and M. Sakamoto (1995): Size-fractionated NH<sub>4</sub><sup>+</sup> regeneration in the pelagic environments of two mesotrophic lakes. *Limnol. Oceanogr.*, **4**, 1091-1099.
- Hara, S., I. Koike, K. Terauchi, H. Kamiya, and E. Tanoue (1996): Abundance of viruses in deep oceanic waters. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **145**, 267-277.
- Hasumi, Y., and T. Nagata (2014): Modelling the global cycle of marine dissolved organic matter and its influence on marine productivity. *Ecol. Model.*, **288**, 9-24.
- Honda, M. C., M. Wakita, K. Matsumoto, T. Fujiki, E. Siswanto, K. Sasaka, H. Kawakami, Y. Mino, C. Sukigara, M. Kitamura, Y. Sasai, L. S. Smith, T. Hashioka, C. Yoshikawa, K. Kimoto, S. Watanabe, T. Kobari, T. Nagata, K. Hamasaki, R. Kaneko, M. Uchimiyama, H. Fukuda, O. Abe, and T. Saino (2017): Comparison of carbon cycle between the western Pacific subarctic and subtropical time-series stations: highlights of the K2S1 project. *J. Oceanogr.*, **73**, 647-667.
- Karner, M. B., E. F. DeLong, and D. M. Karl (2001): Archaeal dominance in the mesopelagic zone of the Pacific Ocean. *Nature*, **409**, 507-510.
- Koike, I., S. Hara, K. Terauchi, and K. Kogure (1990): The role of submicrometer particles in the ocean. *Nature*, **345**, 242-244.
- Martin, J. H., G. A. Knauer, D. M. Karl, and W. W. Broenkow (1987): VERTEX: carbon cycling in the northeast Pacific. *Deep Sea Res. Part A*, **34**, 267-285.
- McCarthy, M., D. J. Hedges, I. and R. Benner (1998): Major bacterial contribution to marine dissolved organic nitrogen. *Science*, **281**, 231-234.
- Motegi, C., T. Nagata, T. Miki, M. G. Weinbauer, L. Legendre, and F. Ras-soulzadegan (2009): Viral control of bacterial growth efficiency in marine pelagic environments. *Limnol. Oceanogr.*, **54**, 1901-1910.
- Motegi, C., T. Nagata, T. Miki, M. G. Weinbauer, L. Legendre, and F. Ras-soulzadegan (2013): Interactive effects of viral and bacterial production on marine bacterial diversity. *PLoS ONE*, **8**(11), e76800. doi:10.1371/journal.pone.0076800
- Nagata, T. (1984): Bacterioplankton in Lake Biwa: Annual fluctuations of bacterial numbers and their possible relationship with environmental variables. *Jpn. J. Limnol.*, **45**, 126-133.
- Nagata, T. (1985): Filter mesh-sizes of *Daphnia longispina* and its filtering rates on natural bacteria. *Mem. Fac. Sci. Kyoto Univ., Ser. Biol.*, **10**, 109-114.
- Nagata, T. (1986a): Carbon and nitrogen content of natural planktonic bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, **52**, 28-32.
- Nagata, T. (1986b): The seasonal abundance and vertical distribution of the <3-µm phytoplankton in the north basin of Lake Biwa. *Ecol. Res.*, **1**, 207-221.

- Nagata, T. (1987): Production rate of planktonic bacteria in the north basin of Lake Biwa Japan. *Appl. Environ. Microbiol.*, **53**, 2872-2882.
- Nagata, T. (1988a): Seasonal abundance, grazing impacts on bacteria, and vertical distribution of heterotrophic microflagellates in the south basin of Lake Biwa. *Jpn. J. Limnol.*, **49**, 167-174.
- Nagata, T. (1988b): The microflagellate-picoplankton food linkage in the water column of Lake Biwa. *Limnol. Oceanogr.*, **33**, 504-517.
- Nagata, T., and K. Okamoto (1988): Filtering rates on natural bacteria by *Daphnia longispina* and *Eodiaptomus japonicus* in Lake Biwa. *J. Plankton Res.*, **10**, 835-850.
- Nagata, T. (1990): Contribution of picoplankton to the grazer food chain of Lake Biwa. P. 526-539. In: *Large Lakes - Ecological Structure and Function*, edited by M. M. Tilzer, and C. Serruya, Springer-Verlag, Berlin.
- Nagata, T., and D. L. Kirchman (1990): Filtration-induced release of dissolved free amino acids: application to cultures of marine protozoa. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **68**, 1-5.
- Nagata, T., and Y. Watanabe (1990): Carbon- and nitrogen-to-volume ratios of bacterioplankton grown under different nutritional conditions. *Appl. Environ. Microbiol.*, **56**, 1303-1309.
- Nagata, T., and D. L. Kirchman (1991): Release of dissolved free and combined amino acids by bacterivorous marine flagellates. *Limnol. Oceanogr.*, **36**, 433-443.
- Nagata, T., and D. L. Kirchman (1992a): Release of dissolved organic matter by heterotrophic protozoa: Implications for microbial food webs. *Arch. Hydrobiol., Beih. Ergebn. Limnol.*, **35**, 99-109.
- Nagata, T., and D. L. Kirchman (1992b): Release of macromolecular organic complexes by heterotrophic marine flagellates. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **83**, 233-240.
- 永田俊 (1994): 海洋微生物群集の捕食過程における有機物代謝に関する研究. (1994年度日本海洋学会岡田賞受賞記念講演). *海の研究*, **3**, 427-436.
- Nagata, T., K. Takai, K. Kawanobe, D-S. Kim, R. Nakazato, N. Guselnikova, N. Bondarenko, O. Mologawaya, T. Kostronova, V. Drucker, Y. Satoh, and Y. Watanabe (1994): Autotrophic picoplankton in southern Lake Baikal: abundance, growth, and grazing mortality during summer. *J. Plankton Res.*, **16**, 945-959.
- Nagata, T., and D. L. Kirchman (1996): Bacterial degradation of protein adsorbed to model submicron particles in seawater. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **132**, 241-248.
- Nagata, T., T. Ogawa, J-J. Frenette, L. Legendre, and W. F. Vincent (1996a): Uncoupled responses of bacterial and algal production to storm-induced mixing in Lake Biwa. *Jpn. J. Limnol.*, **57**, 533-543.
- Nagata, T., K. Takai, K. Kawabata, M. Nakanishi, and J. Urabe (1996b): The trophic transfer via a picoplankton-flagellate-copepod food chain during a picocyanobacterial bloom in Lake Biwa. *Arch. Hydrobiol.*, **137**, 145-160.
- Nagata, T., R. Fukuda, I. Koike, K. Kogure, and D. L. Kirchman (1998): Degradation by bacteria of membrane and soluble protein in seawater. *Aquat. Microbial. Ecol.*, **14**, 29-37.
- Nagata, T. (2000): Production mechanisms of dissolved organic matter. p. 121-152. In *Microbial Ecology of the Oceans*, edited by D. L. Kirchman, John Wiley & Sons, New York.
- Nagata, T., H. Fukuda, R. Fukuda, and I. Koike (2000): Bacterioplankton distribution and production in deep Pacific waters: Large-scale geographic variations and possible coupling with sinking particle fluxes. *Limnol. Oceanogr.*, **45**, 426-435.
- Nagata, T., R. Fukuda, H. Fukuda, and I. Koike (2001): Basin-scale geographic patterns of bacterioplankton biomass and production in the subarctic Pacific, July-September 1997. *J. Oceanogr.*, **57**, 301-313.
- Nagata, T., B. Meon, and D. L. Kirchman (2003): Microbial degradation of peptidoglycan in seawater. *Limnol. Oceanogr.*, **48**, 745-754.
- Nagata, T. (2008): Organic Matter -Bacteria Interactions in Seawater. p. 207-241. In *Microbial Ecology of the Oceans (2nd edition)*, edited by D. L. Kirchman, John Wiley & Sons, New York.
- Nagata, T., C. Tamburini, J. Aristegui, F. Baltar, A. Bochdansky, A. Fonda-Umani, H. Fukuda, A. Gogou, D. A. Hansell, R. L. Hansman, G. J. Herndl, C. Panagiotopoulos, T. Reinthaler, R. Sohrin, P. Verdugo, N. Yamada, Y. Yamashita, T. Yokokawa, and D. H. Bartlett (2010): Emerging concepts on microbial processes in the bathypelagic ocean - ecology, biogeochemistry, and genomics. *Deep-Sea Res. II.*, **57**, 1519-1536.
- Ogawa, H., Y. Amagai, I. Koike, K. Kaiser, and R. Benner (2001): Production of refractory dissolved organic matter by bacteria. *Science*, **292**, 917-920.
- Ogawa, H., and E. Tanoue (2003): Dissolved organic matter in oceanic waters. *J. Oceanogr.*, **59**, 129-147.
- Reinthal, T., H. M. van Aken, and G. J. Herndl (2010): Major contribution of autotrophy to microbial carbon cycling in the deep North Atlantic's interior. *Deep-Sea Res. II*, **57**, 1572-1580.
- Reinthal, T., H. M. van Aken, C. Veth, J. Aristegui, C. Robinson, P. J. L. R. Williams, P. Lebaron, and G. J. Herndl (2006): Prokaryotic respiration and production in the meso and bathypelagic realm of the eastern and western North Atlantic basin. *Limnol. Oceanogr.*, **51**, 1262-1273.
- Schlizer, R. (2018): Ocean Data View. <https://odv.awide>.
- Steinberg, D. K., B. A. S. Van Mooy, K. O. Buesseler, P. Boyd, T. Kobari, and D. M. Karl (2008): Bacterial vs. zooplankton control of sinking particle flux in the ocean's twilight zone. *Limnol. Oceanogr.*, **53**, 1327-1338.
- Tanoue, E., S. Nishiyama, M. Kamo, and A. Tsugita (1995): Bacterial membranes: Possible source of a major dissolved protein in seawater. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **59**, 2643-2648.
- Uchimiya, M., H. Fukuda, S. Nishino, T. Kikuchi, H. Ogawa, and T. Nagata (2013): Vertical distribution of prokaryote production and abundance in the mesopelagic and bathypelagic layers of the Canada Basin, western Arctic: Implications for the mode and extent of organic carbon delivery. *Deep-Sea Res. I.*, **71**, 103-112.
- Uchimiya, M., H. Fukuda, M. Wakita, M. Kitamura, H. Kawakami, M. C. Honda, H. Ogawa, and T. Nagata (2018): Balancing organic carbon supply and consumption in the ocean's interior: Evidence from repeated biogeochemical observations conducted in the subarctic and subtropical western North Pacific. *Limnol. Oceanogr.*, **63**, 2015-2027.
- Wilhelm, S.W., and C. A. Suttle (1999): Viruses and nutrient cycles in the sea. *Bioscience*, **49**, 781-788.
- Yamada, Y., H. Fukuda, K. Inoue, K. Kogure, and T. Nagata (2013): Effects of attached bacteria on organic aggregate settling velocity in seawater. *Aquat. Microb. Ecol.*, **70**, 261-272.
- Yamada, Y., H. Fukuda, Y. Tada, K. Kogure, and T. Nagata (2016): Bacterial enhancement of gel particle coagulation in seawater. *Aquat. Microb. Ecol.*, **77**, 11-22.
- Yamada, Y., Y. Tomaru, H. Fukuda, and T. Nagata (2018): Aggregate for-



- mation during the viral lysis of a marine diatom. *Front. Mar. Sci.*, **5**, 167. doi:10.3389/fmars.2018.00167.
- Yamasaki, A., H. Fukuda, R. Fukuda, T. Miyajima, T. Nagata, H. Ogawa, and I. Koike (1998): Submicrometer particles in northwest Pacific coastal environments: Abundance, size distribution and biological origins. *Limnol. Oceanogr.* **43**, 536-542.
- Yang, Y., T. Yokokawa, C. Motegi, and T. Nagata (2014): Large-scale distribution of viruses in deep waters of the Pacific and Southern Oceans. *Aquat. Microb. Ecol.*, **71**, 193-202.
- Yokokawa, T., Y. Yang, C. Motegi, and T. Nagata (2013): Large-scale geographical variation in prokaryotic abundance and production in meso- and bathypelagic zones of the central Pacific and Southern Ocean. *Limnol. Oceanogr.*, **58**, 61-73.

# The role of microbes and viruses in oceanic carbon and nitrogen cycling

Toshi Nagata\*

## Abstract

The microbial food chain (microbial loop), which links dissolved organic carbon through bacteria to protists and viruses, is an important driver of carbon and nitrogen cycling in the oceans. However, there are many unknown aspects of the variability in and controlling mechanisms of microbial loops in the meso- and bathypelagic zones, and the embedment of microbial processes in oceanic biogeochemical models remains rudimentary. During the 1990's, the author examined the geographic distribution of bacteria in deep oceans, which led to the finding that bacterial production in the deep layer was coupled to sinking particle fluxes. In the following years, this study was further developed not only through large-scale, meridional transect studies conducted in the North and South Pacific Oceans and the Southern Ocean but also through time-series observations conducted at fixed oceanic stations. The new data have revealed that, in some cases, there are time lags between carbon transport from the surface and bacterial production response at depth. It has also become clear that microbial processes in the meso- and bathypelagic layers are more dynamic than previously thought. This paper provides an overview of the history of microbial loop studies in the meso- and bathypelagic zones and introduces case studies on the experimental analyses of carbon cycle systems that are driven by viruses and other microbes. Future research should focus on clarifying the mechanisms underlying the formation and destruction of large aggregates (marine snow), which are major mediators of the vertical carbon transport that connects the surface and the deep ocean.

**Key words:** microbial loop, material cycling, mesopelagic ocean, bathypelagic ocean, bacteria, virus, aggregates

(Corresponding author's e-mail address: nagata@aori.u-tokyo.ac.jp)

(Received on 3 December 2018; accepted on 14 December 2018)

(doi: 10.5928/kaiyou.28.1\_1)

(Copyright by the Oceanographic Society of Japan, 2019)

---

\* Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo  
5-1-5 Kashiwanoha, Kashiwa, Chiba 277-8564, Japan  
e-mail: nagata@aori.u-tokyo.ac.jp