

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 5 日現在

機関番号：12614

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24510009

研究課題名(和文) 転換期の東京湾物質循環系における長期モニタリング高度化

研究課題名(英文) Updates of long-term monitoring parameters for detection of future biogeochemical changes in Tokyo Bay

研究代表者

神田 稯太 (Kanda, Jota)

東京海洋大学・海洋科学技術研究科・教授

研究者番号：60202032

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：申請者の所属する東京海洋大学では、毎月1回の東京湾の海洋観測を20年以上継続してきた。陸域からの有機物、窒素、リン負荷の継続的な低下によって、今後は東京湾の物質循環系に大きな変化が生ずる可能性があり、その過程を把握するためのモニタリング対象項目への追加候補として、アルカリフォスファターゼ活性、炭酸系パラメータ、一次生産・窒素同化測定、脱窒(アナモックスを含む)速度の測定、について検討した。実際の観測結果から、リンによる一次生産の制限状態を検出するなど、これらの項目の有用性を確認した。

研究成果の概要(英文)：For more than 20 years, standard hydrographic observations have been conducted monthly in Tokyo bay by Tokyo University of Marine Science and Technology. Since a drastic change in biogeochemical setting is anticipated because of the continuing decrease of nutrient load into the bay, we have tested updates of our monthly monitoring with introduction of several new parameters. The tested parameters include alkaline phosphatase activity, carbonate parameters, primary production and nitrogen uptake, and denitrification (anammox) activity. The incorporation of these parameters are demonstrated to be very useful in detecting the nutrient-limitation events in the bay.

研究分野：海洋生物地球化学

キーワード：東京湾 富栄養化 長期モニタリング 生物生産

1. 研究開始当初の背景

(1) 東京海洋大学により 23 年間継続されてきた定点時系列モニタリング

申請者の所属する東京海洋大学(旧東京水産大学)では、東京湾内の 2ヶ所の定点(図 1)において、月 1 回の定期観測を継続している。栄養塩類濃度の鉛直分布を含むデータの取得は 1989 年から開始され、これまでに 23 年分のデータがある(魚ら, 1995; 松村ら, 2001; 神田ら, 2008)。このモニタリングは、海洋学における一般的な鉛直観測と同等のものであり、行政機関等の定期的水質調査に比べて情報量が格段に多いことが特色である。このような長期的なモニタリングによって環境変化を把握することは、沿岸水域の物質循環に関する基礎研究としてだけでなく、東京湾の水質の将来を予測し、必要な政策的措置を講じるためにも不可欠である。

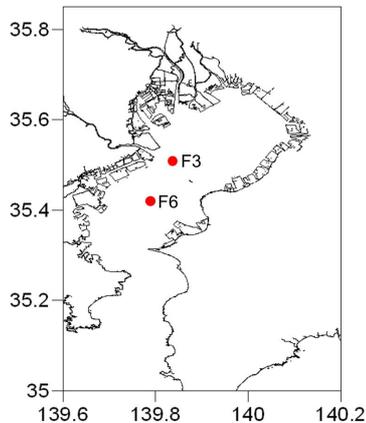


図 1. 観測海域

(2) 転換期を迎えつつある東京湾の物質循環系

東京湾への陸域からの有機物、窒素、リン負荷は着実に低下しているとされてきた。しかし、貧酸素水塊の広がりや赤潮の出現頻度などに顕著な改善は見られなかった。これは、栄養塩が過剰で生産律速に至っていなかったためと考えられる。一方で表層の栄養塩類濃度は低下し続け、その結果、最近になって春先から夏にかけてリン酸塩濃度が低下し、一次生産を律速すると想定されるケースが

増えてきていることが、モニタリングで明らかにされている(神田ら, 2008)。この状況が今後頻出すれば、有機物生産による二次汚濁そのものが低下を始める段階に達することが予期される。内部生産の低下と、それに伴う溶存酸素消費の減少は、有機物分解に伴う窒素やリンの再生過程にも大きく影響し、物質循環システムそのものの転換が進行すると考えられる。

(3) 最近の生物地球化学的研究手法の高度化

気候変動問題を背景とした炭素循環研究をはじめとして、窒素・リンも含めた生元素動態の研究手法は近年著しく高度化している。また、比較的古くから用いられてきた手法でも、機器分析の進歩等により、実施上の困難が取り除かれたものも多い。本研究で取り上げる安定同位体を用いた標識実験でも、必要試料量低下、測定精度向上、分析操作自動化などの進歩が著しい。こうした状況を反映したモニタリングの高度化に取り組む素地はあるといえる。

さらにライフサイエンス分野の技術進歩が、水界生態学の分野にも波及しており、例えば東京湾で予想されるリン酸塩制限状態のもとで発現されるアルカリフォスファターゼの高感度検出法なども、現場でも比較的容易に適用できるようになっている。

炭素循環研究のために外洋域で設けられた時系列観測点(HOT、BATS、KNOT等)では、炭酸系パラメータや一次生産速度測定を含む高度な観測が継続的に実施された。沿岸域での長期モニタリング研究においても、高度化された観測を導入する段階と考える。

2. 研究の目的

東京海洋大学のこれまでのモニタリングは、栄養塩濃度、クロロフィル、溶存酸素などのいわばストックの計測に限られてきた。¹⁴C法による一次生産測定はじめ、フローを

計測する手法は古くから存在するが、長期的なモニタリングにはなかなか取り入れられてこなかった。物質循環系が転換点を迎えるとき、ストックと共にフローも大きく変化する可能性がある。

申請者は東京湾における物質循環系の転換を、1) リン制限の進行、2) 一次生産の低下と CO₂ 収支の変化、3) 酸化還元状態の変化に伴う有機物分解系の変質、が中心になるととらえている。これを踏まえて本研究ではモニタリングの対象項目として、

- A) リン制限の指標としてのアルカリフォスファターゼ活性
- B) CO₂ 収支変化を反映する炭酸系パラメータ
- C) 一次生産過程のフロー測定としての¹³C、¹⁵N を用いた一次生産・窒素同化測定
- D) 脱窒（Anammox を含む）速度の測定

を取り上げ、各項目のモニタリング項目としてのフィーザビリティ、合理的な測定の組み合わせ・ルーチン化などを検討し、長期モニタリングに取り込むことの是非を明らかにする。

3. 研究の方法

- A) アルカリフォスファターゼ活性

試水をサイズ分画し(< 0.2 μm, 0.2 - 0.7 μm, 0.7 μm <)、それぞれの濾液にリン酸 4-メチルウンベリフェリル (MUF-P) を加え、現場水温で培養した。その後、アルカリフォスファターゼ活性により生成した 4-メチルウンベリフェロンを蛍光光度計 (TD-700, Turner Design) を用いて測定した。観測は東京湾内の 2 定点 (St. F3, F6: 表層から底層まで 5m 間隔で採水) において、2013 年 1 月から 2014 年 1 月まで毎月行った。

- B) 炭酸系パラメータ

海洋炭酸系には 4 つのパラメータがある (全炭酸、二酸化炭素分圧、アルカリ度、pH)。これらのうち 2 つを測定すれば、他の 2 つは計算で求めることができる。東京湾の鉛直的な二酸化炭素収支を明らかにするため、比較的容易に採取可能な全炭酸とアルカリ度のサンプル採取・測定を行った。得られた結果から CO₂sys プログラム (Lewis and Wallace, 1998) を用いて二酸化炭素分圧を計算した。東京湾内の 2 定点 (St. F3, F6: 表層から底層まで 5m 間隔で採水) において、2012 年 4 月から毎月サンプルを採取した。全炭酸濃度は、電量滴定法 (Model 5000, 日本アンス)、アルカリ度は電極滴定法 (ATT-05, 紀本電子) を用いて測定を行った。

- C) 一次生産・窒素同化速度

試水を 2.3 L のポリカーボネート製容器 2 本に分注した後、現場濃度の 10% 程度となるように “¹³C-HCO₃⁻ + ¹⁵N-NO₃⁻”、“¹³C-HCO₃⁻ + ¹⁵N-NH₄⁺” をそれぞれ添加した。試水は表面海水かけ流し式甲板水槽に移し培養した。培養終了後、試水を濾過し、フィルター中の炭素・窒素安定同位体比を測定した (質量分析計, ANCA-GSL/Hydra 20-20, SerCon)。得られた安定同位体比から、一次生産速度、窒素同化速度を算出した。東京湾内の 1 定点 (St. F3: 表層・底層で採水) において、2012 年 5 月から 2012 年 12 月まで毎月サンプルを採取した。

- D) 脱窒 (Anammox を含む) 速度

東京湾堆積物の無攪乱柱状コア試料の直上水に ¹⁵N-NO₃⁻ を加え培養し、培養後に生成される ²⁹N₂ と ³⁰N₂ から脱窒速度を算出した (改良 IPT (Isotope Pairing Technique) 法)。

また、窒素生成速度への Anammox の寄与を調べるために、スラリー法による培養も同時に行った。堆積物と無酸素化した直上水を均一にし、¹⁵N-NO₃⁻ と ¹⁵N-NH₄⁺ を加え培養し、

培養後に生成される $^{29}\text{N}_2$ から Anammox の寄与を求めた。

東京湾内の 1 定点 (St. F3) において、2012 年 5 月からサンプルを採取した。窒素安定同位体比の測定は、質量分析計 (ANCA-GSL/Hydra 20-20, SerCon) を用いて行った。

4. 研究成果

A) アルカリフォスファターゼ活性

クロロフィル *a* あたりのアルカリフォスファターゼ活性は春から夏にかけて高く、秋から冬にかけては検出限界以下であった。また、2013 年 7 月の表層で最も高いアルカリフォスファターゼ活性が見られた (図 2、St. F3: $94 \text{ nmol } \mu\text{g Chl}a^{-1} \text{ h}^{-1}$; St. F6: $19 \text{ nmol } \mu\text{g Chl}a^{-1} \text{ h}^{-1}$)。高いアルカリフォスファターゼ活性は、リン酸塩濃度が非常に低い時に見られたことから ($< 0.2 \mu\text{mol L}^{-1}$)、東京湾夏季表層水はリン酸塩の制限を受けていると考えられた。

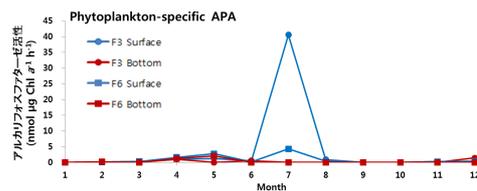


図 2. クロロフィル *a* あたりのアルカリフォスファターゼ活性

B) 炭酸系パラメータ

東京湾表層の二酸化炭素分圧は、St. F3 で $95 - 508 \mu\text{atm}$ (平均 $220 \mu\text{atm}$)、St. F6 で $143 - 447 \mu\text{atm}$ (平均 $248 \mu\text{atm}$) で変動していた (図 3)。一方、東京湾底層では、St. F3 で $215 - 1043 \mu\text{atm}$ (平均 $522 \mu\text{atm}$)、St. F6 で $177 - 692 \mu\text{atm}$ (平均 $441 \mu\text{atm}$) で変動していた (図 3)。表層の二酸化炭素分圧は、秋季を除いて大気中の二酸化炭素分圧より低くなっていた。一方、底層の二酸化炭素分圧は春季から夏季にかけて高くなり、秋季から冬季にかけて低くなっていた。表層では活発な生物活

動により二酸化炭素が消費され有機物が生成していると考えられた。さらに、生成した有機物が沈降・分解されることにより底層での二酸化炭素分圧が高くなっていたと考えられた。

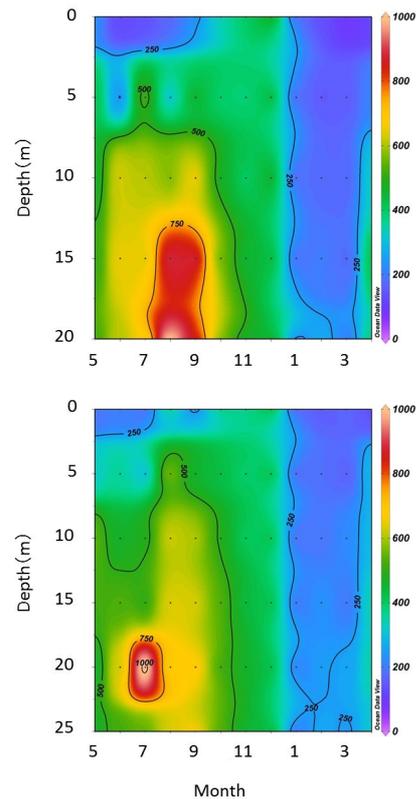


図 3. 二酸化炭素分圧の季節変化：
(上) St. F3、(下) St. F6

C) 一次生産・窒素同化速度

東京湾表層の一次生産速度は、 $3.2 - 23.1 \mu\text{mol C L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (平均 $10.1 \mu\text{mol C L}^{-1} \text{ h}^{-1}$) の範囲で変動しており、春季から夏季に高く、秋季から冬季にかけて低下する季節変化が見られた。また、クロロフィル *a* あたりの一次生産速度は光合成有効放射 (PAR) と良い正の相関がみられた (図 4)。一方、硝酸・アンモニア同化速度は、それぞれ $0.01 - 1.10 \mu\text{mol N L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (平均 $0.29 \mu\text{mol N L}^{-1} \text{ h}^{-1}$)、 $0.08 - 1.28 \mu\text{mol N L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (平均 $0.60 \mu\text{mol N L}^{-1} \text{ h}^{-1}$) の範囲で変動しており、一次生産速度と同様の季節変化が見られた。また、全ての観測でアンモニア同化速度の方が硝酸同化速度に比べ

が高かった。クロロフィル *a* あたりの硝酸・アンモニア同化速度は水温、PAR と正の相関がみられた (図 4)。また、栄養塩濃度と正の相関がみられなかったことから東京湾の一次生産・窒素同化速度は主に水温と PAR によって決まっていると考えられた。

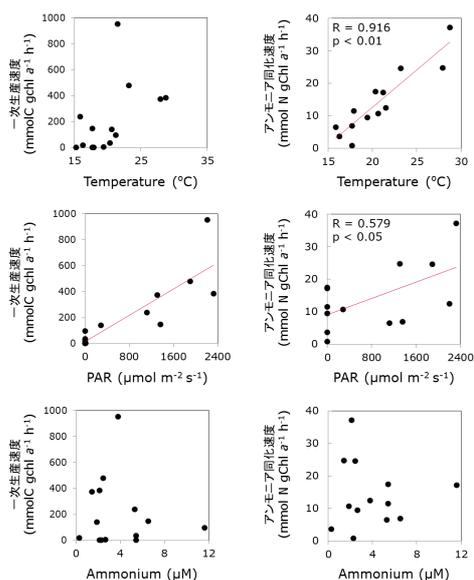


図 4. 一次生産速度・アンモニア同化速度と水温、光合成有効放射 (PAR)、アンモニウム塩濃度との関係

D) 脱窒 (Anammox を含む) 速度

堆積物コアの総脱窒速度は平均 $9.2 \mu\text{mol N m}^{-2} \text{h}^{-1}$ であった (図 5)。そのうち堆積物直上水由来の NO_3^- による脱窒速度は平均 $3.8 \mu\text{mol N m}^{-2} \text{h}^{-1}$ であり、堆積物表層の硝化によって生成された NO_3^- 由来の脱窒速度は平均 $5.4 \mu\text{mol N m}^{-2} \text{h}^{-1}$ であった。総脱窒速度および硝化によって生成された NO_3^- 由来の脱窒速度は冬季に比べ夏季の方が高かったが、直上水由来の NO_3^- による脱窒速度は夏季に比べ冬季に高かった。また、窒素生成におけるアナモックスの寄与は非常に小さかった。

A)~D) の結果と、過去に東京湾で行われた研究結果を比較すると、東京湾表層の一次生産速度は 1970~1990 年代と比べ、2 分の 1 から 3 分の 1 に低下していた (Yamaguchi et al.,

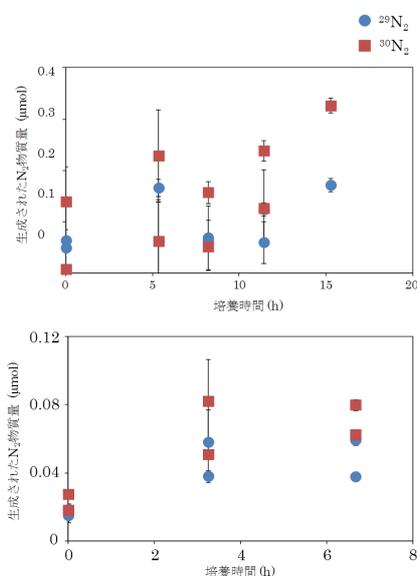


図 5. 改良 IPT 法による培養時間経過に伴う $^{29}\text{N}_2$ と $^{30}\text{N}_2$ 物質質量変化 : (上) 2012 年 5 月、(下) 2012 年 11 月

1991; Bouman et al., 2010)。さらに、夏季表層水のアルカリフォスファターゼ活性は、1970~1980 年代に東京湾で報告されている値の 7 倍以上であった (Taga and Kobori 1978; Hashimoto et al., 1985)。このことから、東京湾は栄養塩の流入量低下に伴い、生物生産に対してリン酸塩の制限が進行していると考えられた。一方、脱窒速度は 1980 年代の研究結果 (Nishio et al., 1982) とほぼ同程度の値であった。脱窒速度は底層水中の硝酸塩濃度と強い正の相関があることが知られている (小池, 1993)。現在の東京湾底層硝酸塩濃度は 1980 年代の値と大きく変化していないため、脱窒速度に大きな変化は見られなかったと考えられた。炭酸系パラメータに関しては、東京湾で参照できる過去の研究報告はない。しかし、一次生産速度の低下、有機物負荷量の減少に伴い CO_2 収支も大きく変化していると考えられる。

本研究では、特に 7 月にリン酸塩制限となっていると考えられたが、更なる栄養塩流入量低下により春先から夏にかけてリン酸塩制限が起こる可能性がある。それに伴い一次生産速度の低下・ CO_2 収支の変化が起こる可

能性が考えられる。そのため、アルカリフォ
スファターゼ活性、一次生産速度、炭酸系パ
ラメータを長期モニタリングに取り込み高
度化した観測を行っていく必要がある。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に
は下線)

[雑誌論文](計1件)

Atsushi Kubo, Michiyo Yamamoto
-Kawai, and Jota Kanda (2015)
Seasonal variations in concentration
and lability of dissolved organic
carbon in Tokyo Bay,
Biogeosciences, 12, 269-279, doi:
10.5194/bg-12-269-2015, 査読有.

[学会発表](計10件)

Sulin Sim, Fuminori Hashihama,
Naho Miyazaki, Jota Kanda (2014)
Seasonal variation in alkaline
phosphatase activity in Tokyo Bay, 日
本海洋学会春季大会, 東京, 2014年3月
29日

久保篤史, 神田穰太 (2013) 東京湾にお
ける溶存有機炭素の分解特性, 日本海洋
学会秋季大会, 札幌, 2013年9月18日

川合美千代, 川村奈津子, 久保篤史, 小
埜恒夫, 石井雅男, 神田穰太 (2013) 東
京湾におけるpHと炭酸カルシウム飽和
度の季節変動, 日本海洋学会春季大会,
東京, 2013年3月22日

永島智実, 杉山健太郎, 安井沙織, 神田
穰太 (2013) 東京湾における堆積物 - 直
上水間のリンのフラックス, 日本海洋学
会春季大会, 東京, 2013年3月23日

杉山健太郎, 久保篤史, 神田穰太 (2013)
東京湾堆積物における脱窒速度の測定,
日本海洋学会春季大会, 東京, 2013年3
月23日

碓井敏宏, 小川浩史, 神田穰太, 安井沙

織, 宮崎奈穂, 二瓶泰雄, 内川直洋, 小
林聡, 森重輝政, 池田宗平 (2013) 多摩
川河口域における懸濁物及び堆積物の
有機炭素・全窒素とそれらの安定同位体
比の2006-2012年度の変化, 日本海洋学
会春季大会, 東京, 2013年3月23日

Sulin Sim, Fuminori Hashihama,
Naho Miyazaki, Jota Kanda (2013)
Alkaline phosphatase activity in Tokyo
Bay, 6th China Japan Korea IMBER
Symposium, 東京, 2012年10月3日

Xiuqing Ge, Takahisa Mifune, Atsushi
Kubo, Fuminori Hashihama, Michiyo
Kawai, Naho Miyazaki, Jota Kanda
(2013) Nitrogen uptake and primary
production in Tokyo Bay, 6th China
Japan Korea IMBER Symposium, 東
京, 2012年10月3日

Atsushi Kubo, Yosaku Maeda, Jota
Kanda (2012) Tokyo Bay as a significant
net sink for carbon dioxide, Association
for the Sciences of Limnology and
Oceanography, 滋賀, 2012年7月12日
碓井敏宏, 小川浩史, 神田穰太, 安井沙
織, 堀本奈穂, 二瓶泰雄, 白井一洋, 小
林聡, 森重輝政, 古殿太郎 (2012) 東京
湾羽田沖における堆積物中の有機炭
素・全窒素とそれらの安定同位体比の鉛
直分布 - 出水および初期続成過程の影
響 -, 日本海洋学会春季大会, 東京,
2012年3月27日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

神田 穰太 (KANDA JOTA)

東京海洋大学・海洋科学技術研究科・教授
研究者番号: 60202032