

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 27 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2016

課題番号：25550010

研究課題名(和文)リン酸の酸素安定同位体比を指標とする海洋一次生産とリン循環の研究方法論の確立

研究課題名(英文) Application of oxygen isotope systematics of dissolved phosphate to the study of biological production and phosphorus cycling in coastal marine ecosystems

研究代表者

宮島 利宏 (Miyajima, Toshihiro)

東京大学・大気海洋研究所・助教

研究者番号：20311631

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：水域における富栄養化の最も重要な要因の一つであるリンの動態と供給源を解明する有力な手法として、リン酸の酸素安定同位体比を指標とする方法を熱帯沿岸海域に初めて導入し、適用した。熱帯沿岸海域における主要な一次生産者である造礁サンゴ、海草、大型藻類、プランクトンの代謝が環境中のリン酸酸素安定同位体比に及ぼす影響を実験的に定量評価した。また事例研究として、フィリピン北部の富栄養化した内湾域に本法を適用し、富栄養化が持続している主要な原因が漁業規制実施前に投入され堆積物中に蓄積されたリンの溶出回帰に求められることを立証した。

研究成果の概要(英文)：The oxygen isotope systematics of dissolved phosphate was introduced for the first time as a novel technique to elucidate the dynamics and the provenance of one of the most important eutrophication agent, dissolved orthophosphate, in tropical coastal marine ecosystems. The magnitudes of isotope fractionation associated with phosphorus uptake by major primary producers such as hermatypic corals, seagrasses, seaweeds, and phytoplankton, were determined experimentally. It was demonstrated as a case study that the recycling from sediments of phosphate that had been accumulated by intensive mariculture activities during preceding decades is the principal cause for sustained eutrophication and extremely low N:P ratios observed in a coastal embayment of Bolinao, northern Philippines.

研究分野：海洋生態系生態学

キーワード：リン 酸素安定同位体比 沿岸海洋生態系 富栄養化 同位体分別 起源解析 熱帯海洋 サンゴ

1. 研究開始当初の背景

リンは窒素・ケイ素と並んで海洋の生物生産を制御する最も重要な栄養素の一つであるが、環境中で原則として酸化還元反応を起さないことと安定同位体比が定義できないことから、その環境中での挙動を解明する手段が乏しい。そうした中で近年、リン酸と結合している酸素原子の安定同位体比を正確に測定する技術が確立され、それが水域環境中でのリン酸の挙動を解明する有力なトレーサーとなり得ることが示されるようになった。しかしながらその適用例は温帯の内湾域や河川などに限られていて、その可能性が十分に実証されないままになっていた。また自然環境中でのリンの動態解明に本法を適用する場合、環境中に生息する主要な生物、特に一次生産者によるリンの代謝に伴う同位体効果が実測されていなければならないが、研究開始当初の段階では、水生生物としてはバクテリアや大型海藻類など、ごく少数の生物についてその同位体効果が測定された例が存在するに過ぎなかった。そこで本研究は、サンゴ礁等の熱帯海洋生態系におけるリンの動態を解明するために本法を適用することを目標として、そのために必要な技術と情報の整備を行うことを意図して企画された。

2. 研究の目的

本研究の目的は沿岸生態系におけるリンの挙動を解明する手法としてのリン酸酸素安定同位体比法の有用性を実証することである。特に、これまで適用例のない熱帯浅海域生態系に実地適用することを目標とする。このために、McLaughlin et al. (2006)が開発した海水中のリン酸前処理技術を導入して実態に合わせて改良する。またこれまでに研究例のないサンゴ、海草、熱帯性大型海草、植物プランクトンにおけるリン酸の代謝に伴う同位体効果を実験により実測して決定する。さらに、サンゴ・海草藻場、地下水流入、底層の貧酸素化、養殖漁業等の複合的な影響を受けているフィリピン沿岸の熱帯浅海域(図1)に本法を適用し、リン酸の動態を解明するために他の方法では得難い有益な情報が得られることを実証する。

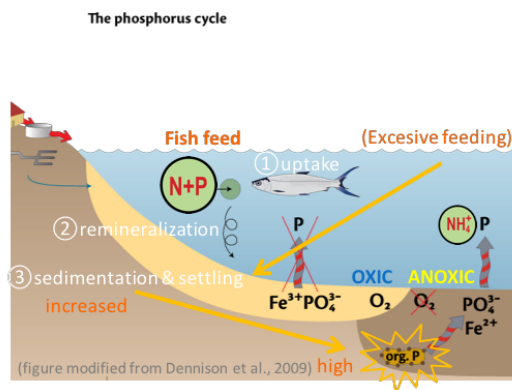


図1. 養殖海域におけるリンの循環の模式図

3. 研究の方法

初めに溶存リン酸の酸素安定同位体比分析システムを McLaughlin et al. (2006)に記載された方法に準拠して東京大学大気海洋研究所にセットアップした。測定の正確さや再現性についてチェックしたのち、初期の試料処理過程に必要な装置を必要に応じて遠隔地の実験施設等にセットアップできるように可搬化した。前処理を終えた試料(リン酸銀)の同位体比分析は、同研究所に設置されている TC/EA-IRMS を用いて行われた。

リン酸の酸素安定同位体比情報の解釈のためには、同時に採水された水の酸素安定同位体比情報が不可欠であり、これは CRDS 式のレーザー型同位体比分析計により測定された。

熱帯性一次生産者によるリン酸酸素安定同位体の同位体分別を測定するための実験は、沖縄県石垣市の西海区水産研究所石垣支所、およびフィリピン大学ポリナオ臨海実験所に設置されている屋外水槽施設を利用して実施された。実験施設付近の沿岸域に優占して生息している代表的な造礁性サンゴ、海草、大型藻類を採集し、一定期間の馴化ののち、30 L の自然光下の恒温水槽に移して飼育実験を行った。実験の初期に同位体比既知のリン酸塩と硝酸塩を栄養塩として添加し、飼育期間中1~2日おきに採水して試水に必要な前処理を行った。処理後の試料を持ち帰り、もとの海水の酸素安定同位体比と、含まれるリン酸の濃度と酸素安定同位体比を測定した。残存していたリン酸の濃度とその酸素安定同位体比の時間変化から、水槽中の生物によるリン酸の取込速度と取込に伴う同位体分別係数を求めた。

植物プランクトンのリン酸取込に伴う同位体効果は、前述のポリナオ臨海実験所付近の海水から分離されてフィリピン大学海洋科学研究所で継代培養されている植物プランクトン株を用いて、同研究所の培養実験室を利用して行われた。閉鎖系の培養容器を使用したこと以外は、上述のサンゴ等の場合と同様の手順を踏んだ。

実際の沿岸海域におけるケーススタディは、上述のポリナオ臨海実験所付近のポリナオアング半閉鎖性海域をフィールドとして実施した。雨季と乾季に面的な採水と、潮汐周期に従う時系列採水を実施した。また当該の海域に供給されるリン酸の起源を特定するために、流入河川水、地下水、堆積物中の間隙水の試料も採取した。間隙水の採取は遠心分離法により行った。またこの海域では養殖漁業がさかんであり、養殖のために使用される餌料から溶出する栄養塩が水質汚染限となっていることから、現地で使用されている餌料を手して栄養塩溶出実験を実施した。採水した試料は必要な前処理を行って持ち帰り、分析に供した。

4. 研究成果

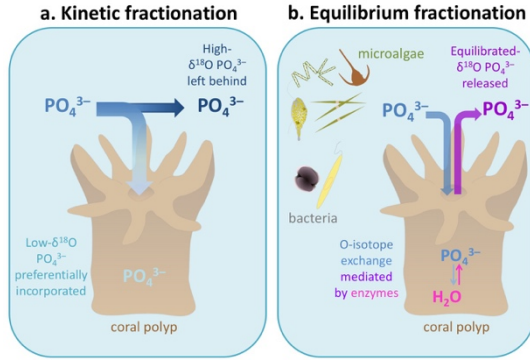


図2. 生物のリン酸の取込の際に起こりうる2種類の同位体効果。

(1) 生物代謝に伴う同位体効果の実測

生物の代謝作用によって海水中のリン酸の酸素同位体比が影響を受けるメカニズムには大別して2種類があり、一つは代謝に伴う速度論的同位体効果のために同位体比の低いリン酸が生成される、もしくは同位体比の高いリン酸があとに残されるというものである。もう一つは酵素が触媒する同位体交換平衡反応によるもので、もともと海水中に存在するリン酸の酸素同位体比がその水温での平衡値から外れている場合に、水分子との酸素同位体交換を触媒することにより平衡化を促進するというものである(図2)。

本研究では熱帯沿岸海域の主要な一次生産者を実験条件下で飼育し、リン酸の取込に伴うリン酸の酸素安定同位体比の変化を追跡し、それを同条件下での同位体交換平衡値と比較した。その結果、一部の造礁サンゴ(図3)ではリン酸の取込に伴う明らかな速度論的同位体効果が認められた。このようなケースでは、残存するリン酸の濃度と酸素安定同位体比から同位体分別係数を計算した。

また別のケース(大型藻類等)では、リン酸の取込と共に酸素同位体比の平衡化が進行し

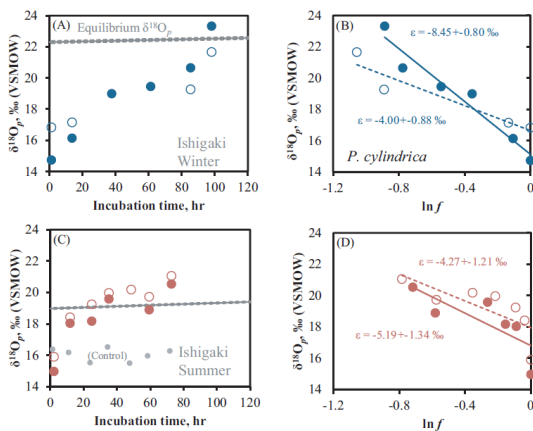


図3. 飼育実験結果の一例。石垣島の造礁サンゴの一種 *Porites cylindrica* を使い、夏(上)と冬(下)にリン酸の取込実験を行った。いずれも顕著な速度論的同位体効果が認められる。

ていると推定される結果が得られた。大型藻類の代謝による同位体交換平衡化は、先行研究の中にも報告例が認められるものである。

一方、リン酸の取込が進行しても酸素同位体比の変化がほとんど伴わず、速度論的同位体比も同位体交換平衡化も進行していないように思われる例も見られた(アオサンゴ、海草など)。一部のサンゴ種の場合、見かけ上の速度論的同位体効果がリン酸の取込速度によって変化し、取込速度が大きいと同位体効果が小さくなる傾向が認められたが、取込速度にかかわらず同位体効果がほとんど認められない種もあった。

このように生物代謝が海水中のリン酸の酸素安定同位体比に及ぼす効果は、生物の種類によっても成長条件によっても異なるため、一般化が難しいことが示唆された。

(2) 熱帯沿岸海域への適用例

事例研究を実施したフィリピン北部のボリナオ沿岸海域は、1970年代には一面に豊かなサンゴ礁の広がる静かな内湾域であったが、20世紀末頃から生簀を用いたミルクフィッシュの養殖がさかんになり、そこで投与される餌料のために著しく富栄養化が進み、底層水の無酸素化や有毒藻類ブルームが頻繁に発生するようになった。現在では内湾部にはサンゴは生息せず、海草も著しく減少している。一方、海峡を抜けた外洋に面した海域には、現在もなお豊富なサンゴ礁と海草藻場が残されている。我々は本研究の一環として、この海域における基礎的な栄養塩分布調査を実施した。この海域では貧酸素化や有害藻類ブルームの被害が顕著になってから養殖施設の設置に対する規制が実施されており、最盛期に比べると養殖事業は減少している。しかしながら、栄養塩濃度の時空間変動を詳しく調べたところ、窒素栄養塩の濃度は確かに養殖規制導入前に比べて減少しているものの、リン

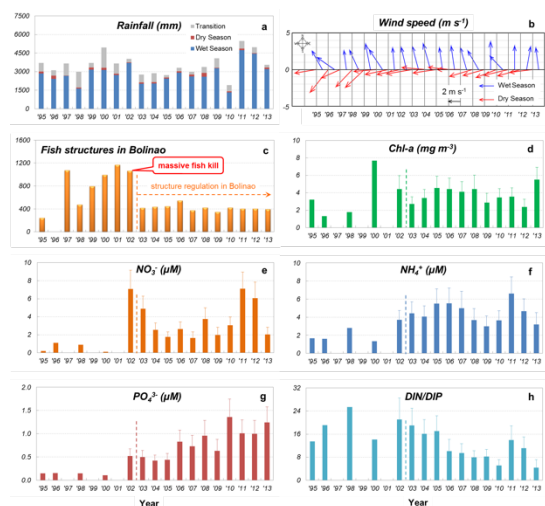


図4. ボリナオ海域(内湾域)における1995年以降の年平均栄養塩・クロロフィル濃度の推移。養殖規制が導入された2002年以降、降水量の以上に多かった2011, 12年を除き NO_3^- と NH_4^+ は減少傾向にあるが、 PO_4^{3-} (リン酸) の濃度は増加傾向にある。

の濃度はむしろ増加傾向にあることが判明した(図4)。この結果、制限栄養素がリンから窒素へ経年的に推移しており、植物プランクトンの種構成にも影響していることが示唆された。このように規制導入後もリンの濃度が減少しないのは、一つには規制前に大量に投入されて堆積物中に蓄積されたリンがその後も徐々に溶出を続け、規制による負荷減少分を打ち消していることが原因と考えられる。

我々はこの海域で現在なお滞留ないしは増加しつつあるリン酸の起原を明らかにするために、リン酸の酸素安定同位体比を指標として用いることの有効性を検証することを試みた。リン酸の酸素安定同位体比は、その生成源に応じて特有の値をもっているが、生成後の時間が経過するにつれて、環境中に生息する微生物の代謝作用により環境水の酸素原子との間に同位体交換反応が進み、酸素安定同位体比は同位体交換平衡値に近づいていると考えられている。この同位体交換平衡値は、環境水の酸素同位体比と水温だけによって決まる値である。

この海域に供給されるリンの主要な起原に相当するサンプルのリン酸酸素安定同位体比を調べたところ(図5)、養殖餌料から溶出した直後のリン酸は同位体交換平衡値よりも5%ほど高い同位体比を示した。それに対して主に雨季に河川水や地下水を通じて流入するリン酸は、河川水や地下水の酸素同位体比がもともと低いため、リン酸の酸素安定同位体比も海域のリン酸に比べると5%以上低い値になっていた。一方、堆積物の間隙水中のリン酸は、間隙水中にある間に既に微生物作用を受けているため、その酸素安定同位体比は平衡値に近い値(2%以内の差)を示した。

これに対して、養殖海域の海水に含まれるリン酸については、濃度・酸素安定同位体比とも潮汐等に応じた変動を示すものの、酸素同位体比の平衡値との差は0~4%の間であった(図5)。このことは、この海域のリン酸の起原は養殖餌料から溶出するリンと堆積物から溶出するリンとの混合によってほぼ説明され、比率としては後者の方が若干優勢であることを示している。このことは雨季と乾季

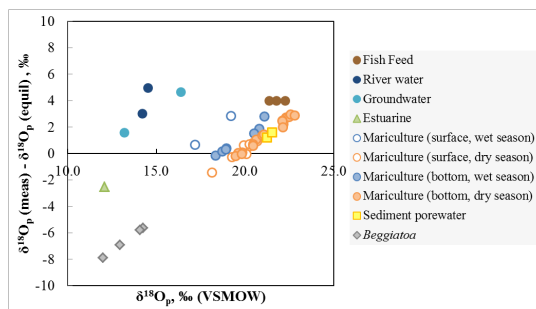


図5. フィリピン北部のボリナオ沿岸海域で得られたさまざまな水試料に含まれるリン酸の酸素安定同位体比(横軸)と、その同位体交換平衡値からのオフセット(縦軸)の関係。

とで目立った違いはなかったことから、河川や地下水によって供給されるリンはこの海域のリンの収支に大きな影響を与えていないことが示唆される。また海水中のリン酸酸素安定同位体比が餌料溶出物のそれを上回る例が一度も確認されていないことから、海域の一次生産者による同位体分別が海水中のリン酸酸素安定同位体比に及ぼす影響はこの海域の場合は無視できると考えられる。

以上の結論は、栄養塩濃度の経年変動傾向から予想された、リン酸の内部負荷が富栄養化において持つ意義の重要性を裏付けるものである。またそれと同時に、本研究はリン酸の供給源を推定する手法としてのリン酸酸素安定同位体比法の有用性を実証している。

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3件)

① 宮島 利宏 (2013) 安定同位体技術を利用した異地性流入評価における最近の展開. 水環境学会誌, 35: 225-230.

<http://ci.nii.ac.jp/naid/40019743706>

② Ferrera CM, Miyajima T, Watanabe A, Umezawa Y, Morimoto N, San Diego-McGlone ML, Nadaoka K (2015) Variation in oxygen isotope ratio of dissolved orthophosphate induced by uptake processes in natural coral holobionts. Coral Reefs 35: 655-668.

doi:10.1007/s00338-015-1378-8.

③ Ferrera CM, Watanabe A, Miyajima T, San Diego-McGlone ML, Morimoto N, Umezawa Y, Herrera E, Tsuchiya T, Yoshikai M, Nadaoka K (2016) Phosphorus as a driver of nitrogen limitation and sustained eutrophic conditions in Bolinao and Anda, Philippines, a mariculture-impacted coastal area. Marine Pollution Bulletin 105: 237-248.

doi:10.1016/j.marpolbul.2016.02.025

[学会発表] (計6件)

① Ferrera CM, Watanabe A, Miyajima T, Umezawa Y, Morimoto N, Nadaoka K: Dynamics of the uptake of nitrate and phosphate of three coral species in the subtropical and tropical Western Pacific following nutrient enrichment. 2014 Asia-Pacific Coral Reef Symposium, 29 June 2014, Kenting, Taiwan.

② Ferrera CM, Watanabe A, Morimoto N, Umezawa Y, Nadaoka K, Miyajima T: Variation in the oxygen isotope ratio of dissolved orthophosphate induced by uptake process by natural hermatypic

corals. 2015 年日本地球惑星科学連合大会, 2015 年 5 月 27 日, 千葉県千葉市.

③ Ferrera CM, 宮島 利宏, San Diego-McGlone ML, 森本 直子, 梅澤 有, Herrera E, 土屋 匠, 吉開 仁哉, 灘岡 和夫, 渡邊 敦: リン酸の酸素安定同位体比を含む生物地球化学的指標を用いたフィリピン・ボリナオおよびアンダ沿岸の養殖海域における継続的な富栄養化状態の原因解明. 2016 年日本地球惑星科学連合大会, 2016 年 5 月 24 日, 千葉県千葉市.

④ Ferrera CM, Miyajima T, Watanabe A, Umezawa Y, San Diego-McGlone ML, Morimoto N, Nadaoka K: Tracing the sources and evaluating the cycling of phosphate using $\delta^{18}\text{O}_p$ in a eutrophic tropical mariculture area. Goldschmidt Conference 2016, 27 June 2016, 神奈川県横浜市.

⑤ Watanabe A, Miyajima T, Villanoy C, San Diego-McGlone ML, Gordon AL: Spatial distribution of oxygen and hydrogen isotope ratios in seawater in the nascent Kuroshio of Lamon Bay. 2016 年日本地球惑星科学連合大会, 2016 年 5 月 24 日, 千葉県千葉市

⑥ Ferrera CM, Watanabe A, Miyajima T, San Diego-McGlone ML, Nitrogen limitation due to mariculture-derived phosphorus and the recurring incidence of algal blooms in Bolinao and Anda, Pangasinan, Philippines. The 17th International Conference on Harmful Algae, 9 October 2016, Florianopolis, Brazil.

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宮島 利宏 (MIYAJIMA, Toshihiro)

東京大学・大気海洋研究所・助教

研究者番号: 20311631

(2) 研究分担者

渡邊 敦 (WATANABE, Atsushi)

東京工業大学・環境・社会理工学院・助教

研究者番号: 00378001

(3) 連携研究者

梅澤 有 (UMEZAWA, Yu)

長崎大学・水産・環境科学総合研究科・准教授

研究者番号: 50442538

(4) 研究協力者

Carissa M. Ferrera (FERRERA, Charissa M.)

森本 直子 (MORIMOTO, Naoko)

栗原 晴子 (KURIHARA, Haruko)

Maria Lourdes San Diego-McGlone (SAN DIEGO-MCGLONE, Maria Lourdes)

中村 隆志 (NAKAMURA, Takashi)