

北太平洋における鉄の存在状態と 鉄が生物生産におよぼす影響に関する研究*

西岡 純†

要 旨

サイズ分画測定法を用いて外洋海域における鉄の存在状態を研究した。その結果、従来“溶解態”と定義されてきた画分中にはコロイド状鉄が含まれており、海水中の植物プランクトンによる鉄の利用過程や地球化学的鉄の循環を理解するために重要な画分であることを示した。また、国際共同プロジェクトとして、北太平洋亜寒帯域の西部および東部で現場鉄散布実験を行ない、大気から供給される鉄が他海域より多いと考えられる西部海域においても、鉄の不足が生物生産を制限する要因であることを明らかにした。さらに、西部海域が鉄制限海域になるプロセスとして、供給された鉄が、速やかに植物プランクトンが利用しづらい形態に変化してしまうことが重要であることを示した。海洋における鉄の生物地球化学的な研究は、自然海域における生物生産の諸過程を理解するためには欠かせない分野と成りつつある。本稿では、著者がこれまでに展開してきた、海水中の鉄の存在状態と鉄が生物生産に果たす役割に関する研究の一部を紹介した。

キーワード：鉄，存在状態，植物プランクトン，鉄散布実験，北太平洋亜寒帯域

1. はじめに

海洋化学の分野における微量金属の研究は、この四半世紀で飛躍的に進歩し、多くの元素で濃度レベルの訂正が繰り返され、ようやく確からしい値が得られるようになった(小畑, 2003)。このような現在の微量元素の分析技術に至るには、汚染や吸着を防ぎ、極めて低濃度を分析するためのクリーン技術の確立に、国内外の研究者の多大な努力が払われた(金森ら, 1985)。鉄はその中でも最も困難を極めた元素の一つであったが、

1980年代後半にアメリカ Moss Landing 海洋研究所の故 J. H. Martin 博士らのグループが外洋域の鉄の分析に成功した(Gordon *et al.*, 1982)。国内では小畑 元博士(現東大海洋研)と故中山 英一郎博士による超高感度の分析法の開発(Obata *et al.*, 1993, 1997)に代表される先駆的な業績が、現在の鉄測定技術を確立してきた。鉄が海洋の生物にとって不足しやすい元素であることについては、1930年代から指摘されていたが(Gran, 1931; Hart, 1934; 1942)、汚染が原因で海水中の鉄濃度の分析結果が高い値であったため、近年まで議論されてこなかった(de Baar, 1994)。Martin らのグループによって、海洋表層の鉄濃度が極低濃度であることが明らかになると、High Nutrient Low Chlorophyll (HNLC) 海域と呼ばれる栄養塩の残存する海域の植物プランクトンは鉄制限を受けているという「鉄仮説」(Martin,

* 2005年9月13日受領；2005年9月30日受理
著作権：日本海洋学会，2005

† (財)電力中央研究所 〒270-1166 我孫子市我孫子 1646
(現在)北海道大学 低温科学研究所
環オホーツク観測研究センター
〒060-0819 札幌市北区北 19 条西 8 丁目
e-mail address: nishioka@lowtem.hokudai.ac.jp

Table 1. Projects to research iron biogeochemistry and the role of iron for biological production and carbon cycle in the subarctic North Pacific

Project	Period	PI (s)	
OPES (Open Ocean Plankton Ecosystem Study)	1996-1999	S. Takeda and C. S. Wong	Mesocosm experiments in the coastal and open-ocean
Line-P Iron Study	1997-2004	C. S. Wong	Time series iron observation study in the Eastern subarctic N. Pacific
SEEDS I, II (Subarctic Pacific Iron Experiment for Ecosystem Dynamics Study)	2001, 2004	A. Tsuda	Iron enrichment experiment in the Western subarctic N. Pacific
SERIES (Subarctic Ecosystem Response to Fe Enrichment Study)	2002	A. Tsuda, P. Boyd, M. Levasseur	Iron enrichment experiment in the Eastern subarctic N. Pacific
SPINUP (Study for plankton and iron dynamics in the Northwestern subarctic Pacific)	2003	H. Saito	Observation study for iron and biological parameter during the spring phytoplankton bloom in the Oyashio region

1990) が注目され、生物生産や炭素循環の研究分野にとっても微量栄養物質として鉄が興味の対象となった。一部では1990年代は「海洋学における鉄の時代」と呼ばれ (Coale *et al.*, 1999), 海洋化学者が確立してきたクリーン技術と感度の高い分析法が、生物海洋学(海洋プランクトン研究)の分野にも広く普及し、鉄と植物プランクトンに関わる研究の数が加速的に増加した。その結果、近年になってようやく、各海域における正確な鉄の分布と、生物生産や炭素循環に果たす鉄の役割に関する知見が蓄積され始めた。

これまで私は、二つの側面からこのような背景で発展してきた海洋における鉄の研究に取り組んできた。一つは「鉄の地球化学的循環」を明らかにすることである。クリーン技術を用いて各海域の鉄濃度を水平・鉛直的に正確に測定し、供給過程や分布、挙動を検討することで、地球化学的な鉄の循環を紐解く情報を得ることができる。もう一つの側面は、「海洋の生物生産にかかわる鉄の役割」を理解する点にある。微量栄養物質としての鉄が植物プランクトンの増殖にどのように関与しているのかを明らかにすることである。これら二つの側面は、もちろんお互い密接に作用し合っているために、両者を理解することで初めて海洋システム全体の地球化学的な鉄の循環と鉄が生物生産に果たす役割が理解できると考えている。

海洋における鉄関連の研究を推進するために、国内で

も1996年から複数のプロジェクト(一部国際共同研究)が行なわれた。それらのプロジェクトの一覧を Table 1 に記す。これらのすべてのプロジェクトにおいては、海洋化学で発展してきたクリーン技術を、化学海洋学のみならず生物海洋学の分野に導入して、それを核にした鉄と植物プランクトンの研究を展開してきた。これらのプロジェクトの中で私は鉄という元素そのものを対象にして「鉄の地球化学的循環」と「海洋の生物生産にかかわる鉄の役割」の未解明な課題に関して、新たな知見を得ることを心がけて研究を進めてきた。

2. 微量金属研究のためのクリーン技術

まず、私の研究を進める上で柱となってきた微量金属研究のためのクリーン技術について、これまでの経験から得られた現時点での私なりの見解を記しておきたい。

海洋の鉄と植物プランクトンを研究するためには、「低濃度の鉄を正確に測定する」ことが必要になる。そのため採水・分析の過程でクリーン技術を用いて汚染や吸着を厳密に避けなければならない。厳密なクリーン技術とは、汚染の確率を限りなく「無」に近づけることであり、一見無駄とも思える作業を積み重ね、装備を整えることが重要になる。これらを着実に実行することによって初めて、後の議論に耐えうるデータが得られる。このクリーン技術は、採水器・採水ボトルの

材質(テフロンコート)、採水機材や実験道具の酸洗浄、採水ワイヤーの整備、陸上・船上のクリーン実験室の整備、クリーンろ過、超純水の確保、分析試薬の精製など、採水から分析に至る広範囲にわたる。研究船によってはクリーン実験室やチタン製アーマードケーブルなど専用の設備を有している。それ以外の研究船では採水および分析環境の整備が必要になる。私がこれまでに係わってきたプロジェクトにおいても例外ではなく、専用のクリーン採水器およびケブラーワイヤや表面クリーン連続採水システムを研究船に持ち込み、配水用ブースを作成し、クリーンテントを実験室とするなど船上の設備を整えることで鉄の研究が可能になった。また、我々の研究では海水中の鉄を測定するために、Obata *et al.* (1993; 1997) によって開発されたキレート樹脂濃縮-化学発光検出法を用いてきた。本測定法は、インラインで構成されており、船上のほぼリアルタイムで感度の高い測定が可能である。船上リアルタイムで結果が出るのは、汚染の有無を確認しながら観測や実験を進めていく上で、極めて重要な意味を持っていた。これらの作業の積み重ねの上に、微量金属研究の成果が得られるものと考えている。

3. 鉄の地球化学的循環に関する研究

3.1. 海水中における鉄の存在状態

先ず最初に取り組んだのは、海水中における鉄の存在状態の情報を発展させることであった。鉄は地殻中において4番目に豊富に存在する元素であるが、海水中の鉄の無機的な溶解度は極めて低く (Byrne and Kester, 1976; Kuma *et al.*, 1992), 容易に加水分解を受けて水酸化物の粒子となり除去されていく。そのため、このような性質の鉄は、外洋域のような供給源の限られた海域では極めて低濃度となっている。さらに、多種の化学形をとり、生物にも利用される重要な生元素であるために、その挙動は他の元素に比べて複雑である。鉄はあらゆる実験環境にも利用されているために汚染を受け易く、海水中の鉄の分析は極めて困難である。これらの理由により、海水中における鉄の分布と存在状態や、植物プランクトンの利用可能な形態など未解明な部分が数多く残されている。

海水中の鉄は、有機物と複雑に関わりあって存在しており、無機イオン、無機錯体、有機錯体、無機コロイド、有機コロイド、生物粒子、非生物粒子など様々な形態で存在している (Bruland and Rue, 2001)。近年急速に発達した測定法の開発によって、極低濃度の外洋海水中の鉄濃度が測定可能となってきた (Landing and Bruland, 1987; Obata *et al.*, 1993; Measures *et al.*, 1995; Wu and Boyle, 1998; Obata and van den Berg, 2001)。しかし、未だ直接海水中の鉄を存在状態別に測定する方法は確立されておらず、各形態別の存在量、挙動、植物プランクトンにとっての利用能 (bio-availability), さらには形態そのものを支配する要因などに関する知見は十分とはいえない。

これまでの海水中の鉄の存在状態の情報としては、測定前の船上での処理能力の問題から、孔径 0.2 (あるいは 0.4) μm のフィルターを通過したろ液に含まれるものを溶存態、フィルターに捕捉されるものを粒子態として扱い、海水中の鉄の挙動などについて議論が進められてきた。その後、「溶存態」のうち有機物との錯体形成に関しては、電気化学的分析法 (ACSV) を用いた金属錯化容量測定が行なわれ、潜在的に鉄と錯形成する有機リガンドの存在が報告された (Rue and Bruland, 1995; Wu and Luther, 1995; van den Verg, 1995)。また、「溶存態」の物理的な鉄のサイズ画分の情報として、コロイド状鉄に関してもいくつかの報告がなされてきた。海水中のコロイド粒子を遠心分離で集めて X 線解析を用いて分析した結果、海水中のコロイド粒子には確かに鉄が含まれることが確かめられていた (Wells *et al.*, 1992)。また、コロイド状鉄は光化学反応によって溶解したり (Wells *et al.*, 1991; Johnson *et al.*, 1994)、動物プランクトンによる捕食過程で低 pH の影響を受けて (Barbeau *et al.*, 1996)、反応性を高めるメカニズムが存在することが報告されていた。このようにコロイド状鉄は反応性を高めることで、植物プランクトンの増殖にも関わる重要な形態の一つであると考えられていた (Wells *et al.*, 1983; Kuma and Matsunaga, 1995)。

コロイド状鉄の実海域における分布に関しても、いくつかの報告があった。Wu and Luther (1994, 1996) は孔径 0.2 μm ~0.4 μm のサイズにはコロイド状鉄が

存在することを示し、その鉛直分布を報告している。しかし、従来の「溶存鉄」(0.2 μm 以下)に含まれてくる微細なコロイド状鉄を、有機錯体や無機イオンなどの溶存化学種と化学的手法で分離して定量することは難しく、現実的にはより孔径の小さなウルトラフィルターを適用して研究が行なわれた。分画分子量 1 kDa~10 kDa の Cross Flow Filter (限外ろ過膜)や孔径 0.025 μm を用いたコロイド粒子の分画法が試みられ、沿岸域では従来の「溶存鉄」に含まれる 80%~90%がコロイド状鉄であることが報告されていた (Wen *et al.*, 1996; Powell *et al.*, 1996; Kuma *et al.* 1998)。しかし、これらのコロイド粒子の分画方法では、操作中の試料の汚染や鉄の分画システム内への吸着、現場での試水の処理能力など、外洋レベルの低濃度でコロイド状鉄の分布を測定するには問題があった。そのため、外洋海域での従来の溶存態 (0.2 μm 以下)とされてきた画分に含まれるコロイド状鉄そのもの分布や植物プランクトンによる利用能などに関する情報は、その測定上の困難さから存在しなかった。

3.2. 鉄のサイズ分画測定法の確立

外洋海水の極めて低い濃度レベルの「溶存鉄」に含まれるコロイド状鉄を分画測定するためには、ろ過作業中に汚染を受けないこと、試水中の鉄がろ過システムなどに吸着しないこと、また試料の保管中に起こる凝集やボトル壁面への吸着を防ぐために迅速に処理ができること等が必要な条件となる。ここにおいて、私の研究では、ポリエチレン製の中空糸フィルターを用いて、船上の前処理技術としても十分に使用可能なサイズ分画方法を検討した。最適なウルトラフィルターを選択し (200 kDa ポリエチレン中空糸フィルター; 検討の結果、中空糸フィルターは三菱レーヨン株式会社に特注で作成してもらうことになった)、装置の洗浄方法、プランクテスト、吸着テスト、再現性などを一つ一つ確認し、サイズ分画測定法を確立した (Nishioka *et al.*, 2001a)。本サイズ分画装置は、操作時の汚染を避けるためペリスタリックポンプとテフロンラインからなるインラインのろ過システムとした。また、操作効率を良くするために 1 台の装置は連装できるようにし、船上での処理を迅速にできるようにした。すべての操作はクラス 100

以下のクリーンルーム内あるいはポータブルクリーンベンチ内で行なった。本システムを用いてろ過したろ液および未ろ過のサンプルに、ギ酸-アンモニウム緩衝液を添加して pH 3.2 に調整し、8HQ カラム濃縮-化学発光分析法で Fe(III) を分析した (Obata *et al.*, 1993; 1997)。本測定方法では、各サイズのフィルターでろ過された (未ろ過も含め) 海水試料中の鉄のうち、pH 3.2 で可溶化して 8HQ カラムに濃縮されるものが測定されている。私の研究では、未ろ過サンプル中で検出された鉄を《全可溶性鉄 (Total labile-Fe; T-Fe, 未ろ過)》, 0.22 μm 以下のろ液について測定される鉄濃度を《溶存鉄 (Dissolved Fe; D-Fe, サイズ; < 0.22 μm)》と定義した。さらに、分画分子量 200 kDa の中空糸ポリエチレンフィルターによってろ過し、得られたろ液について測定される鉄濃度を《真の溶存鉄 (Soluble Fe; S-Fe, サイズ; < 200 kDa)》と定義した。また、全可溶性鉄と溶存鉄の濃度差から《粒子状鉄 (Labile particulate Fe; LP-Fe, サイズ; > 0.22 μm)》を、溶存鉄と真の溶存鉄の濃度差から《コロイド状鉄 (Colloidal Fe; C-Fe, サイズ; 200 kDa - 0.22 μm)》を求めた (Table 2)。このサイズ分画測定法を用いることによって、外洋レベルの海水中の鉄をサイズ画分別に定量することが可能となった。これを外洋観測および室内培養実験や船上培養実験などに応用することで、海水中の鉄の存在状態や挙動、植物プランクトンによる鉄の利用能に関する新たな知見が得られるのではないかと考えたのである。

Table 2. Operationally definition of Fe in this study

Size fraction	Definition
1) Unfiltered	Total Fe (T-Fe)
2) < 0.22 μm	Dissolved Fe (D-Fe)
3) < 200 kDa	Soluble Fe (S-Fe)
4) > 0.22 μm : 1)-2)	Labile Particle Fe (LP-Fe)
5) 200 kDa-0.22 μm : 2)-3)	Colloidal Fe (C-Fe)

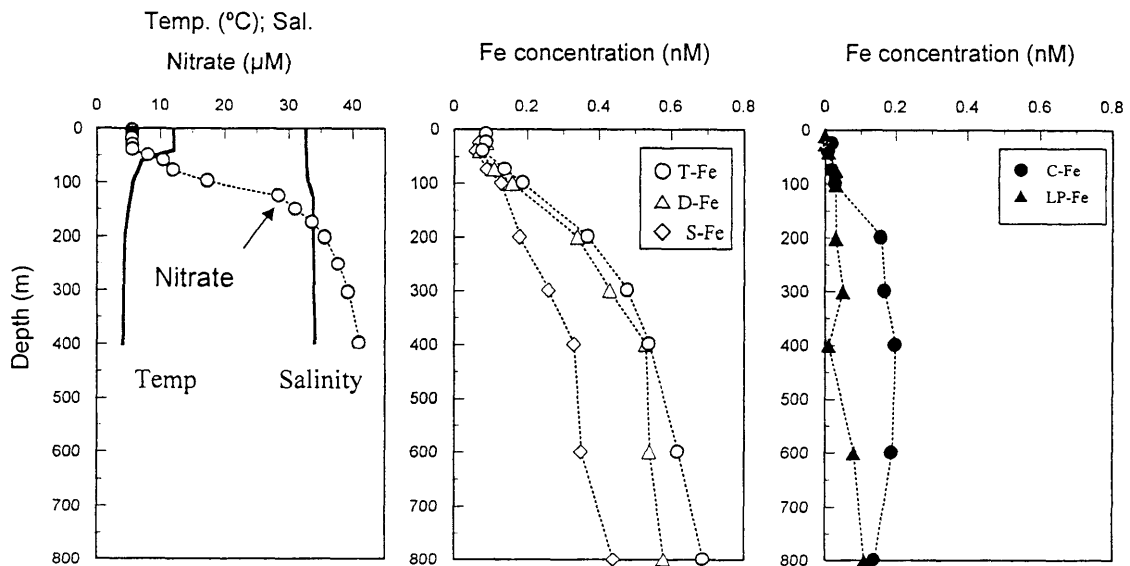


Fig. 1. Vertical distribution of the temperature, nitrate, salinity and size-fractionated Fe (total labile Fe, T-Fe; dissolved Fe, D-Fe; soluble Fe, S-Fe; colloidal Fe, C-Fe; labile particulate Fe, LP-Fe) concentration at Ocean Station Papa in September 1998 (cited from Nishioka *et al.*, 2001a).

3.3. 北太平洋亜寒帯外洋域における鉄の存在状態

1997年～1999年にかけて、カナダ海洋科学研究所 (IOS) の持つ定期観測航海 (Line-P cruise; Table 1, バンクーバー島南端から Sta. Papa (50° N, 145° W) までのライン) に参加し、東部北太平洋亜寒帯域 (アラスカ湾) において、サイズ分画測定法を用いた鉄濃度の観測を行なった。先に記したとおり、外洋における鉄の観測を行なう上では、採水から船上での分析に至るまでを汚染を防ぎながら行なう必要がある。IOS の持つクリーン採水技術は、カルフォルニア大サンタクルズ校の K. W. Blum 博士研究室において学んだものであり、ウインチにケブラロープを巻きつけ、30 L Go-Flo 採水器を1本掛けで連装するものであった。この IOS の行っていたクリーン技術に、洗浄方法など我々独自の改良を加えて (Nishioka *et al.*, 2001a), アラスカ湾において鉄に関する観測を行なった。この時学んだ技術は、その後、特別な装備を持たない船で研究を展開する上で大いに役に立った。

東部北太平洋亜寒帯ジャイア内の代表的な測点 Sta. Papa で、サイズ分画測定法を用いて得た鉄のサイズ別濃度鉛直分布を Fig. 1 に示す。季節を変えて合計4回

(9月が2回) のデータを得ることができ、いずれの時期も溶存鉄 (D-Fe) は、この海域で Moss Landing 海洋研究所のグループによって報告されている値とよく一致している。すなわち、表層で極低濃度 (< 0.1 nM) で、中深層で増加する栄養塩型の分布を示している。1997年9月の観測の結果では、コロイド状鉄 (C-Fe) は表層で検出限界以下、100 m～200 m で増加し、200 m 以深では 0.15 nM～0.20 nM の値となっていた。すべての季節で同様の傾向を示し、溶存鉄 (D-Fe) に占めるコロイド状鉄 (C-Fe) の割合は、中深層で13%～50%であった。このように、コロイド状鉄は外洋の表層付近には少ないが、中深層には主要な画分として存在していることが明らかとなった (Nishioka *et al.*, 2001a)。また、コロイド状鉄 (C-Fe) の増加が認められる100 m～200 m 層にかけて、栄養塩の増加傾向と良い相関があることから (Fig. 2)、表層から下層へ輸送される有機物が生物的に分解される際にコロイド状鉄 (C-Fe) が再生していることが示された。この栄養塩とコロイド状鉄 (C-Fe) の回帰直線の傾きが季節によって異なることから、海洋表層での粒子の質や、栄養塩と鉄の再生率、沈降粒子の量や速度が季節毎に違う可能性が考えられた。一方、大陸棚付近の鉄濃度は、コロイド状鉄 (C-Fe) お

よび粒子状鉄 (LP-Fe) が 80%以上を占め、栄養塩との明瞭な関係も見られなくなる。この現象は、近年我々が観測している北太平洋亜寒帯西部の大陸棚でも見られ、大陸棚付近の鉄の分布及び循環過程を理解するには、大陸棚から付加される粒子状鉄やコロイド状鉄の影響を明らかにすることが重要であることを示している (Nishioka *et al.*, 2001a)。

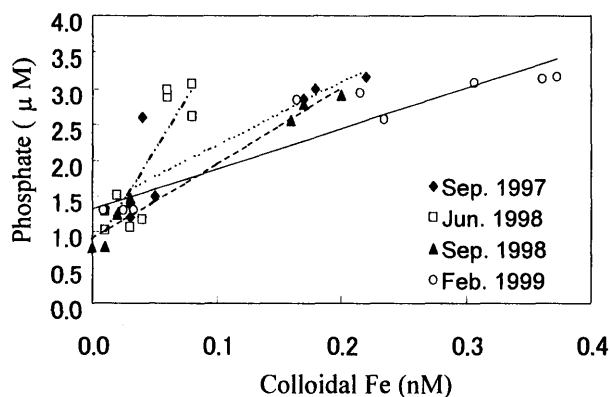


Fig. 2. Phosphate versus colloidal Fe at Ocean Station Papa (cited from Nishioka *et al.*, 2001a).

その後の研究で、他の HNLC 海域 (南極海、西部北太平洋亜寒帯域) においても同様の観測を行なった。観測を行なったいずれの海域においても、表層のコロイド状鉄は極めて低い値であり (Nishioka *et al.*, 2003; 2005)、中深層で増加する傾向が見られている。しかし、Wu *et al.* (2001) によれば、太平洋亜熱帯域や大西洋亜熱帯域では表層でコロイド状鉄が主要な画分を占めていることが報告されている。人為的に鉄を付加する実験では、海洋表面に無機態の鉄を供給すると、コロイド状の画分の鉄濃度を高めることが明らかとなっている (Nishioka *et al.*, 2003, Wells, 2003, Tsumune *et al.*, 2005, Nishioka *et al.*, 2005)。HNLC 海域と太平洋亜熱帯域および大西洋亜熱帯海域で見られた海洋表層でのコロイド状鉄の濃度の違いは、海域における鉄の供給源、供給量や生物活動の違いを表しているのかも知れない。

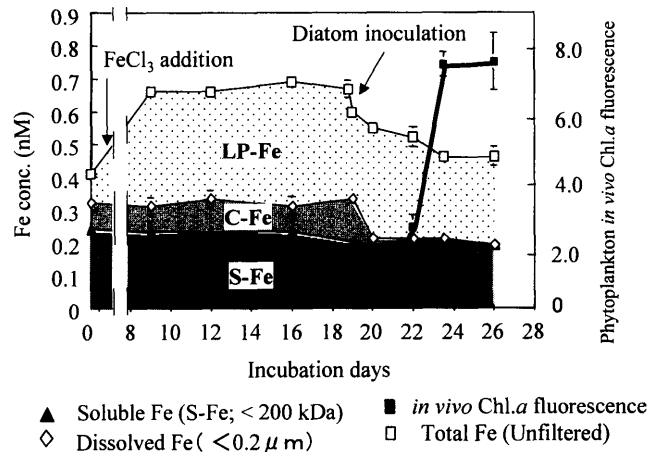


Fig. 3. Size-fractionated Fe concentrations and intensity of in vivo Chl.a fluorescence in the incubation bottles with diatoms (cited from Nishioka and Takeda, 2000).

さらに、Wu *et al.* (2001) は、太平洋亜熱帯域や大西洋亜熱帯域では、鉄の溶解キャパシティーを用いて Soluble ($< 0.02 \mu\text{m}$) の有機リガンド濃度を推定して、天然の海水中にはコロイド状有機リガンドが存在することを報告している。また、我々が南極海において行なったサイズ分画測定と ACSV を用いた測定を組み合わせた研究でも同様の結果が得られており、海洋にはコロイド状有機リガンドが存在しているものと考えられる。また、どちらの研究結果も、表層の粒子の沈降分解過程でコロイド状有機リガンドが生成されることを示している (Boye *et al.*, 2005)。しかし、Wu *et al.* (2001) は、鉄との安定度定数が Soluble の有機リガンド濃度の方が大きく、海水中でより鉄と安定な錯体をつくると報告しているが、我々の研究ではコロイド状有機リガンドの安定度定数の方が大きい結果を得ている。これが海域による差なのか、測定方法の違いに問題があるのか、今のところ明らかではない。しかし、有機リガンドの存在状態と鉄の錯形成能に関する情報は、海水中の鉄の挙動を支配する要因の一つになり得るので、今後も詳細を研究していく必要がある。

3.4. 植物プランクトンによるコロイド状鉄の利用

サイズ分画測定を応用して、鉄の存在状態と植物プランクトンによる利用能を室内実験で研究した (Fig. 3)。鉄の各サイズ画分が安定していることを確認した培養液中に、鉄制限下で培養した植物プランクトン (珪藻; *Chaetoceros* sp.) を接種し、植物プランクトン増殖中の鉄の各サイズ画分の濃度変化を調べた。この実験結果、植物プランクトンの増殖期間中に減少した全可溶性鉄 (T-Fe) のうち、コロイド状鉄 (C-Fe) の減少量の占める割合が 80%以上と高く、培養液中のコロイド状鉄 (C-Fe) が枯渇すると、主要な栄養塩や他の画分の鉄が残っているのにも関わらず、植物プランクトンは鉄制限状態になることを確認した。このことから、植物プランクトンの増殖期間における海水中ではコロイド状鉄の濃度の変化が大きく、コロイド状鉄は実験に使われた植物プランクトンが利用できる鉄の供給に関与していることが示された (Nishioka and Takeda, 2000)。真核植物プランクトンが、海水中に存在する主要な鉄の形態と考えられる有機錯体鉄を利用するメカニズムとしては、海水中での光化学反応や、プランクトン細胞表面の還元酵素の働き (Moldonado and Price, 2001)、あるいは海水中で生成された O_2^- との反応 (Croot *et al.*, 2005) によって鉄が還元され、有機錯体鉄からフリーの Fe(II) イオンが放出され、生成した Fe(II) を細胞表面の酸化酵素を用いて Fe(III) イオンにして摂取するなど、積極的に鉄の存在状態を変化させてから取り込んでいることが考えられている (Morel and Price, 2003; Maldonado *et al.*, in press)。一方、植物プランクトンは、直接コロイド状鉄や粒子状鉄を摂取出来ない。しかし、植物プランクトンは、海水中で起こる鉄の存在状態の変化を利用して、これらのコロイド状鉄あるいは粒子状鉄の一部を利用して可能性が高い (Chen *et al.*, 2003; Wells, 2003)。海水中でコロイド状鉄は、直接反応性を高められ利用される形態として、還元され Fe(II) を供給する形態として、また、化学的平衡を通して利用されやすい鉄 (例えば無機イオン種) を供給するためのリザーバーとして重要な役割を持つと思われるが (Nishioka and Takeda, 2000; Wells, 2003)、その詳細は未だ明らかにはなっていない。前述のとおり、有

機錯体鉄を形成する有機リガンドには、コロイドサイズのものの存在も確かめられており、植物プランクトンの鉄利用過程の中で海水中のコロイド状鉄がどのようなメカニズムで摂取されているのか、あるいはどのような役割を果たしているのかは今後の課題として残っている。

3.5. 海洋プランクトン生態系内での鉄の存在状態の変化と除去過程

海水中のプランクトン生態系内において、鉄の存在状態は食物網内での様々な生物活動の影響を受けている。1996年～1999年まで、IOSと共同で、海洋プランクトン生態系内の物質循環過程を定量的に把握するために、現場海域をポリエチレンバッグで囲い込む閉鎖生態系 (メソコスム) を用いた実験を沿岸および外洋で実施した (OPES; Table 1) (Nishioka *et al.*, 2001b; Suzuki *et al.*, 2002a)。この沿岸メソコスム実験に際して、珪藻ブルーム期間中の鉄の存在状態の変化と除去までの過程を定量的に解析するために、鉄のサイズ分画測定法を用いた観測を行なった。その結果、植物プランクトンのブルーム前に溶存鉄の 70%以上を占めたコロイド状鉄が、植物プランクトンの増殖に伴い粒子化し、ブルーム期間中粒子状鉄として表層に留まり、植物プランクトン態粒子の沈降とともに表層から除去される過程を定量的に明らかにした。この研究では、粒子態に変化した溶存鉄のうち、生物的に摂取されサイズを大きくした鉄は約 18%～26%と見積もられ、その大部分がブルーム開始直後に植物プランクトンを含む浮遊粒子へ吸着したか、化学的に凝集したものと見積もられた (Nishioka *et al.*, 2001b)。このような生態系内でのコロイド状鉄の更なる大きな粒子状鉄への変化は、後に記述する外洋における鉄散布実験でも見られ、海洋表層での主要な溶存鉄の除去プロセスであることが示されている。これは植物プランクトンが鉄制限に陥る過程や鉄の地球化学的な循環を理解する上でも重要なプロセスであると考えている。

このようにコロイド状鉄は、植物プランクトンによる鉄の利用に大きく関与しているだけでなく、海水中の鉄の存在状態の変化に大きく関わるために、地球化学的な鉄の循環を理解する上でも極めて重要な形態で

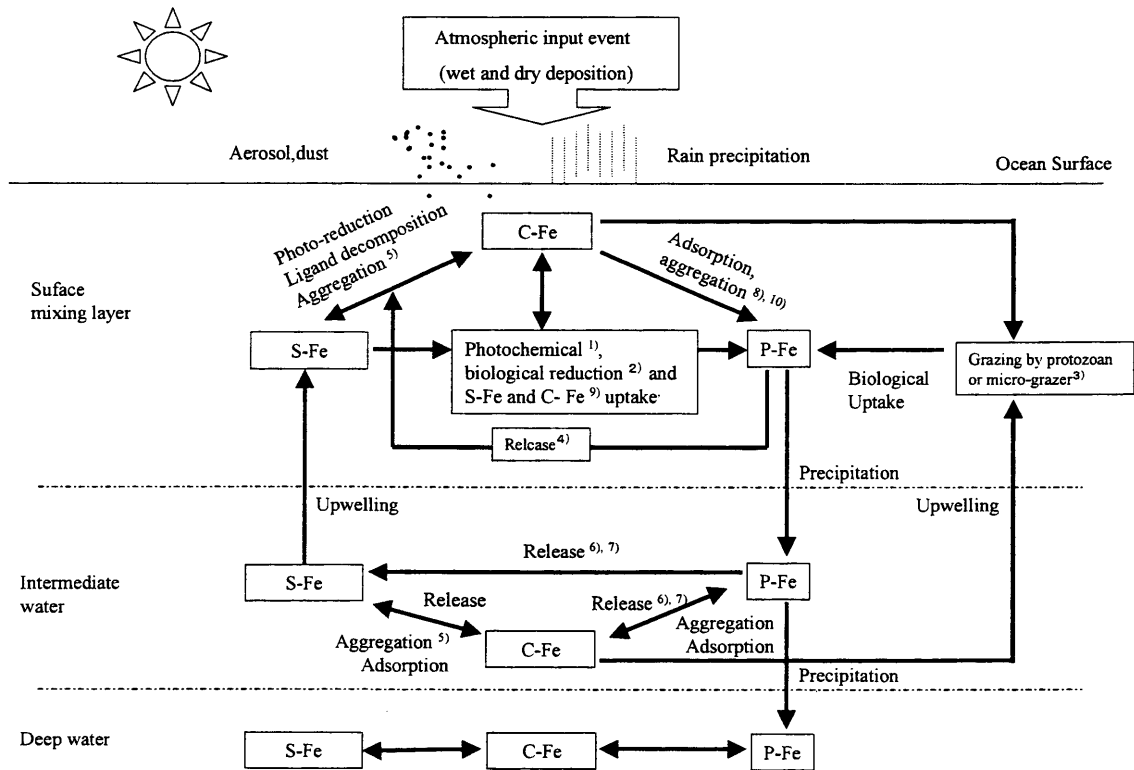


Fig. 4. Schematic showing the iron biogeochemical cycle using size-fractionation studies in the oceanic plankton ecosystem.

Ref. 1) Wells *et al.*, 1991; Johnson *et al.*, 1994; 2) Maldonado and Price, 2001; 3) Barbeau *et al.*, 1996; 4) Hutchins *et al.*, 1993; 5) Chin *et al.*, 1998; 6) Wu *et al.*, 2001; 7) Nishioka *et al.*, 2001a; 8) Nishioka *et al.*, 2001b; 9) Nishioka and Takeda, 2000; 10) Nishioka *et al.*, 2003

ある。Fig. 4 にコロイド状鉄の存在を考慮した生物地球化学的鉄の循環像を示している。今後、天然の供給過程や有機物と鉄の相互関係を含めて、海水中の鉄の存在状態の知見を定量的に集めていくことで、さらに発展した鉄の地球化学的な循環像が見えてくるのが期待される。

4. 海洋の生物生産に関わる鉄の役割に関する研究

4.1. 「鉄散布による大気中 CO₂ の海洋への固定」と科学的評価の重要性

Moss Landing 海洋研究所の故 J. H. Martin 博士によって、HNLC 海域では鉄が植物プランクトン増殖の制限因子となっているという「鉄仮説」が提唱された (Martin, 1990)。この「鉄仮説」は、HNLC 海域に鉄を

散布することで植物プランクトンの増殖を人為的に促進させて、光合成による有機炭素生成量を増やし、海洋生物ポンプ (海洋生態系を介した海洋中深層への炭素固定) の効率を上げ、大気中二酸化炭素の海洋への取り込みを高めるという地球温暖化対策案に発展した。1997 年に京都で行なわれた気候変動枠組条約第 3 回締約国会議 (COP 3) 後に、CO₂ 排出権取引の世界的な市場が生まれる可能性が指摘され、この鉄散布による大気中 CO₂ の海洋への固定についても、欧米のベンチャー企業において特許取得の動きも見られた。しかし、鉄散布による海洋生物ポンプの促進効果については、炭素の固定量や環境への影響などの不確定な要素が多く含まれており、科学的な検証・評価が求められていた (Workshop Report, 2001)。このような背景が後押ししたため、国内外で多くの研究費がつけ込まれ、鉄と植物プランクトンの研究は飛躍的に進展した。その結果、

海洋の物質循環における鉄の重要な役割が次々に明らかになってきている。

4.2. マニピュレーション実験

実海域における鉄と植物プランクトンの研究は、当初実験手法として船上ボトル培養実験を中心に展開されていた (Martin and Fitzwater, 1988; Martin *et al.*, 1989; de Baar *et al.*, 1990; Coale, 1991; Takeda and Obata, 1995; Boyd *et al.*, 1996)。この方法は、HNLC 海域の植物プランクトンが生理的に鉄不足であることを示すには十分であったが、HNLC 海域で植物プランクトンが主要な栄養塩を使い尽くすまで増殖できない理由として、動物プランクトンの捕食や光の環境などの要因も共存するため、鉄の重要性を決定づけるには至らなかった (Banse, 1990; Cullen, 1991; Buma *et al.*, 1991)。また地球温暖化対策の視点から見ても、多種の生物群で構成される海洋プランクトン生態系が、人為的鉄の供給にどのように応答し、炭素固定を促進するのにどの程度効果があるのか、また海洋環境をどのように変えてしまうのかについては、船上ボトル培養実験では明らかには出来なかった。

これらの問題を解決したのは、実海域に人為的操作を加えて実験系として利用するマニピュレーション実験であった。Watson *et al.* (1991) によって提案されたマニピュレーション実験は、実海域表層に水塊トレーサー (不活性ガスである SF₆) とともに鉄を数十平方キロメートルスケールで散布する手法であり、1993 年に Moss Landing 海洋研究所のグループによって太平洋赤道域で初めて実現された (IronEx I, Martin *et al.*, 1994; Coale *et al.*, 1998)。その後、1995 年に東部太平洋赤道域 (IronEx II, Coale *et al.*, 1996) で、1999 年には南極海 (SOIREE, Boyd *et al.*, 2000) で同様の実験が行なわれ (Fig. 5)、鉄の供給が植物プランクトンの増殖を促進することを実海域の生態系を用いて明らかにしている。さらに 2004 年までの間に、南極海と北太平洋亜寒帯域において同様の実験が、米国、ニュージーランド、ヨーロッパ、カナダ、日本のグループによって合計 11 回行われた (de Baar *et al.*, in press, Fig. 5)。

我々のグループが鉄と植物プランクトンの研究を実施するために、マニピュレーション実験として最初に取り

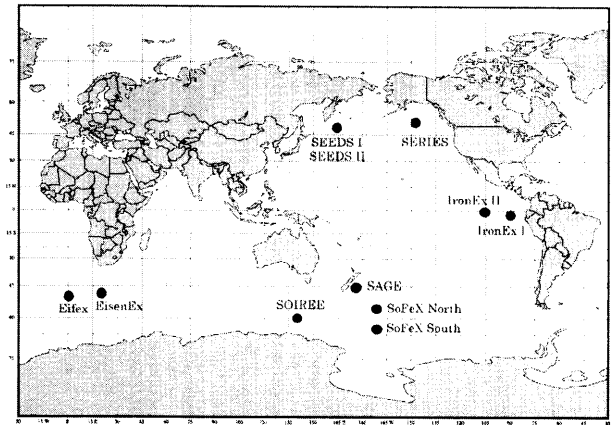


Fig. 5. Locations of the *in situ* Fe-enrichment experiments in the ocean.

り組んだのは、沿岸で用いられていたメソコスム実験を外洋に適用することであった (OPES; Takeda *et al.*, 1999)。この研究で、外洋におけるメソコスム実験は技術的に可能であることが立証されたが、その成功は天候に大きく左右されるため、北太平洋亜寒帯域における一連の鉄の研究においても実海域にトレーサーとともに鉄を散布する手法が採択された。

4.3. 北太平洋亜寒帯域における鉄散布実験

北太平洋亜寒帯域における鉄と植物プランクトンに関する研究は、主に東部海域のアラスカ湾を対象に行なわれていた (Martin and Fitzwater, 1988; Boyd *et al.*, 1996)。西部海域では、黄砂の飛来による大気からの鉄供給が東部に比べ多いと報告されていたが (Duce and Tindale, 1991)、鉄が一次生産に果たす役割についてはあまり議論されず、知見も少なかった。その後、Harrison *et al.*, (1999) によって、北太平洋亜寒帯域の東西それぞれに見られる生態系の特徴を決めている因子として、鉄の供給量の違いが取り挙げられ、その重要性が指摘されている。北太平洋亜寒帯域の生態系に対する鉄の役割を明らかにすることを最終的な目的に、1999 年に PICES (北太平洋海洋科学機構) に「Iron Fertilization Experiment Advisory Panel : IFEP, co-

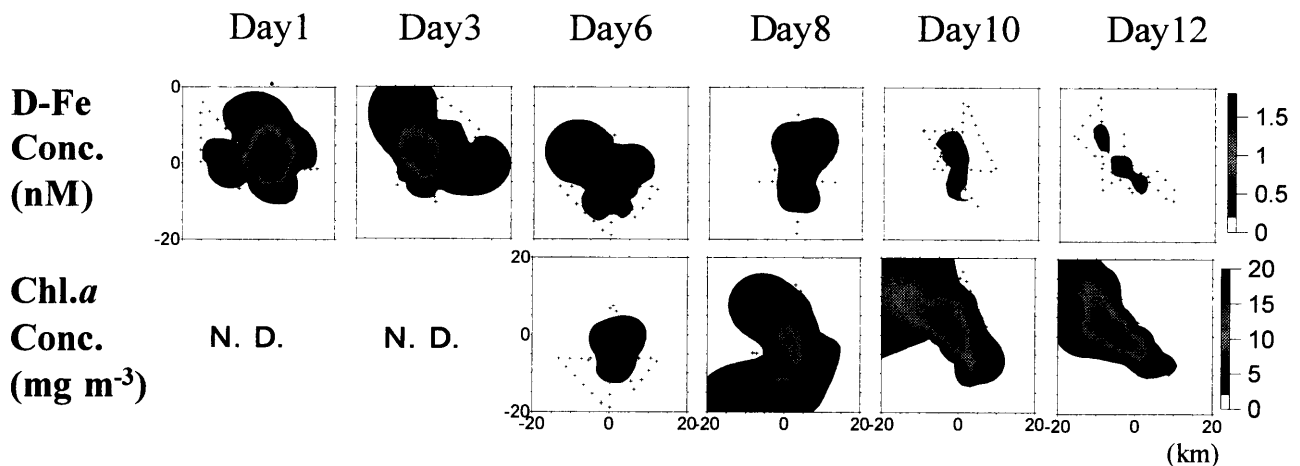


Fig. 6. Underway maps of dissolved iron and Chl.*a* concentrations of the iron-enriched patch during SEEDS iron-enrichment experiments (cited from Tsuda *et al.*, 2003).

chair: Takeda and Wong」が設置された。その IFEP において、実験内容や実験手法などを検討する「北太平洋亜寒帯域における現場鉄添加実験に関する計画立案ワークショップ (2000 年, つくば)」が行なわれ、北太平洋亜寒帯域の実験で明らかにすべき点などが話し合われた。このワークショップの結果、「大気経由でアジア大陸などから北太平洋亜寒帯域へ供給される鉄 (ダスト) のフラックスの東西における差異が、東西海域の海洋生態系の生物生産構造の違いを説明する重要な要因である」という作業仮説が立てられ、「鉄散布実験」国際共同プロジェクト (日, カナダ, 米国, 他) が立ち上げられた。このような経緯を経て、知見が不足している西部海域では 2001 年に日本側のメンバーが中心となって予備的な現場実験を、また、日本、カナダおよびアメリカが連携して 2 隻以上の調査船を同時に使用し、2002 年に東部海域で、2003 年には西部海域 (実際の実施は 2004 年) で共同実験を行なうこととなった (Takeda and Wong, 2004; Harrison, 2005)。また、これらの準備段階で、私はオランダ海洋科学研究所 (NIOZ) の要請を受けて、鉄の化学的研究を行なう一員として南極海の鉄散布実験 (EisenEx; Smetacek, 2001) に参加することが出来た。その実験を経験したことで、実験手法などノウハウを持ち帰ることができ、日本独自の鉄および水塊トレーサーの散布手法、鉄散布水塊の観測手法を確立して (Tsumune *et al.*, 2005)、実験に役立てる

ことが出来た。

これらの北太平洋亜寒帯域で行なった「鉄散布実験」(SEEDS, SERIES; Table 1, Fig. 5) の結果としては、鉄散布後のプランクトン生態系全体の応答を観測することに成功し (Tsuda *et al.*, 2003)、西部海域においても、鉄の供給が一次生産、植物プランクトンの種組成、有機炭素生成量をコントロールする要因であることが明らかとなった。特に西部北太平洋亜寒帯域は、鉄散布に対する植物プランクトン応答のポテンシャルが他 HNLC 海域に比べて大きいことが示された。その応答の大きさは、海域や時期、散布するタイミングによって大きく異なり、散布海域に存在するプランクトン種組成、生態系構造、混合層深さ、光環境、海洋表層での鉄の保持時間など散布海域の生物学的、物理的、化学的環境要因に左右されている可能性が示された。また、東部北太平洋亜寒帯域で行なわれた実験の結果では、鉄の散布によって有機炭素の下層への移送量が増加することが観測された (Boyd *et al.*, 2004)。2003 年に南極海で米国主導で行なわれた鉄散布実験においても、同様の結果が観測されており (Coale *et al.*, 2004; Bishop *et al.*, 2004; Buesseler *et al.*, 2004)、HNLC 海域では鉄の供給が有機炭素の下層への移送を促進することが示されている。しかし、表層で捕食あるいは分解される有機炭素量も、当初地球温暖化策として鉄散布を想定したときの見積もりよりも多い結果となっており、

地球温暖化対策としての鉄散布の有効性は大きな疑問符がついたままである。これまでの実験は短期的な時間スケールで局所的に行なわれたものである。植物プランクトンの大増殖する時空間的な要因の違い(生物種組成・化学的環境・物理的環境)を理解し、長期的な時間スケールで行なった局所的な海洋生態系の攪乱が、海洋全体の栄養塩および炭素の循環におよぼす影響を明らかにして、初めて人為的鉄散布による炭素固定量の評価が可能になるものと思われる。

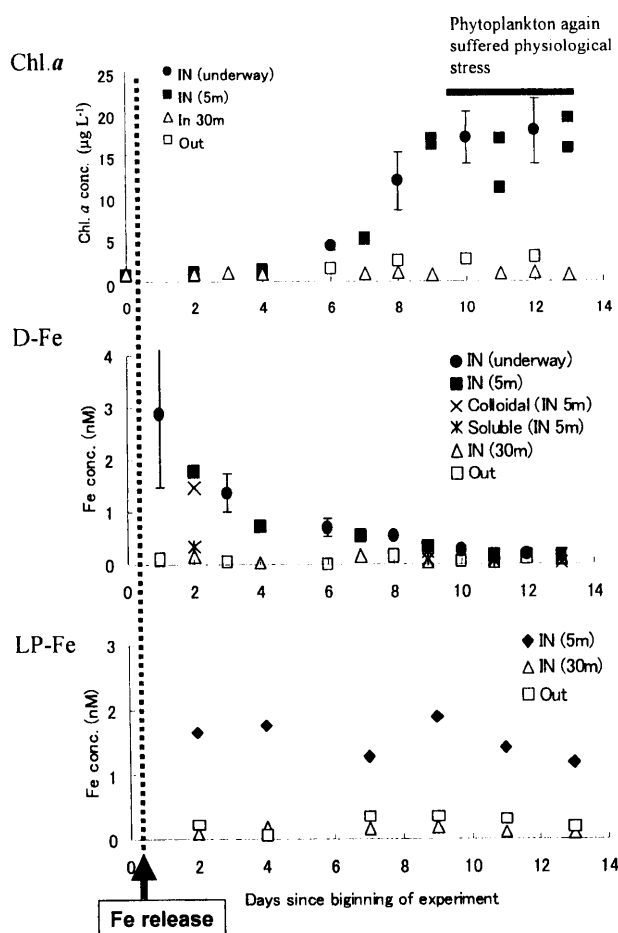


Fig. 7. Time-series measurements made of Chl.a concentrations, and dissolved Fe (D-Fe) and labile particulate Fe (LP-Fe) concentrations during SEEDS iron-enrichment experiments (cited and modified from Nishioka *et al.*, 2003).

4.4. 西部北太平洋亜寒帯域が鉄制限になるプロセス

鉄散布実験プロジェクトにおいて、私は海洋表層に散布した鉄の挙動の詳細と、鉄の存在状態の変化、植物プランクトンによる鉄の利用能の変化に関して研究を進めた。実験では海洋に人為的に溶存無機態の鉄(硫酸鉄; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)を散布すると、海洋表層混合層内の溶存鉄(D-Fe)濃度を、0.1 nM以下の植物プランクトン増殖を制限する濃度レベルから平均で約3 nMレベルまで高めることができた(Fig. 6)。海洋表層に生息していた植物プランクトンは、この鉄の一部を利用して大増殖(ブルーム)を起こした。この植物プランクトンのブルーム期間中に、海洋表層に溶け込んだ溶存鉄(D-Fe)は濃度が減少し、その存在状態も変化した(Fig. 7)。この濃度や存在状態の変化は、植物プランクトンによる鉄の利用能にも大きく影響していた(Fig. 7)。サイズ分画測定を用いて観測を行なった結果、人為的な鉄散布直後、表層混合層内(約10 m)に存在する溶存鉄(D-Fe)の大部分(75%以上)がコロイド状鉄(C-Fe)として存在していた。コロイド状鉄(C-Fe)と真の溶存鉄(S-Fe)からなる溶存鉄(D-Fe)濃度は徐々に減少したが、この溶存鉄(D-Fe)の減少は主にコロイド状鉄(C-Fe)濃度の変化に起因していた。鉄散布後の真の溶存鉄(S-Fe)の減少量($1.9 \mu\text{mol Fe m}^{-2}$)は、ブルームを起こした植物プランクトンに摂取されたと見積もられる最小の鉄量($2.4 \mu\text{mol Fe m}^{-2}$)よりも小さな値であり(Nishioka *et al.*, 2003; Tsumune *et al.*, 2005)、これはブルームを起こした植物プランクトンが、真の溶存鉄(S-Fe)以外の画分、つまり粒子状鉄(LP-Fe)かコロイド状鉄(C-Fe)の一部も利用していたことを示している。また溶存鉄(D-Fe)の減少分のうち10%~48%は植物プランクトンの摂取で減少したと見積もられた。表層の鉄散布海域内では、植物プランクトンの増殖期間中に粒子状鉄(LP-Fe)が増加し表層に留まることが確認された。これらのことから、鉄散布後に海洋表層に存在していたコロイド状鉄(C-Fe)は、水酸化物として粒子化・凝集して水柱から沈降除去されるだけでなく、プランクトンなどの懸濁粒子に吸着あるいは摂取されて粒子化し、表面混合層に留まっていたことが示された。実験後半には、鉄の不足の指標となる植物プランクトン

の光合成活性 (F_v/F_m 値) が減少した (Tsuda *et al.*, 2003)。また、同時に栄養塩の摂取比 (珪酸塩 : 硝酸塩比) が 1.5 : 1 から 3 : 1 に上昇した。珪藻種は鉄不足になると、栄養塩の摂取比を変化させて、珪酸塩 : 硝酸塩比を上昇させることが報告されている (Takeda, 1998)。このことから、実験後半には植物プランクトンの生理状態は悪化し、その原因の一つとして再び鉄不足になったことが示された (Kudo *et al.*, 2005)。このために、鉄パッチ内に留まった粒子状鉄 (LP-Fe) は、植物プランクトンにとって利用能が低い形態であることがわかる (Fig. 7)。このように、海水中で起こる鉄の形態の変化は、植物プランクトンによる鉄の利用能に大きな影響をおよぼしている。この実験では、極めて利用能の高いと考えられる溶存態の無機鉄を高い濃度で人為的に散布した場合でも、鉄の存在状態が変化することが理由で、植物プランクトンの増殖とともに鉄の利用能が低くなり、植物プランクトンは約 9 日で再び鉄制限になることが確認された (Nishioka *et al.*, 2003; Tsumune *et al.*, 2005)。

実際の天然海域の西部と東部の北太平洋亜寒帯域表層において、サイズ別鉄濃度を実測した結果を比較すると、夏季の海洋表層における溶存鉄 (D-Fe) 濃度は両海域とも極めて低濃度 (~ 0.1 nM) であるが、西部にのみ粒子状鉄 (LP-Fe) が残存している (0.2 nM ~ 0.4 nM) ことが分かる (Fig. 8)。西部海域に粒子状鉄 (LP-Fe) および全可溶性鉄 (T-Fe) が多いのは、西部海域は東部海域よりも鉄の供給が多いことを示している。これらの観測を行なった時の現場海域では、植物プランクトンは鉄制限状態にあることが鉄添加船上ボトル培養実験の結果から確認されており、西部海域に残存している粒子状鉄 (LP-Fe) は、鉄散布実験後半で表層に残存した粒子状鉄 (LP-Fe) 同様に、植物プランクトンにとって利用能が低いことが分かる。西部北太平洋亜寒帯域で実際に起こっている天然の鉄の供給過程においても、供給された後の海水中での鉄の存在状態の変化 (コロイド状鉄の粒子化) が鉄の利用能を低下させ、植物プランクトンの鉄制限状態を引き起こす重要な要因になっている可能性は高い。例えば、西部北太平洋亜寒帯域に何らかの過程を経て海洋表層に溶存態として鉄が供給されたとしても、植物プランクトンの増殖とともに

速やかに鉄は粒子化し利用能が低下してしまうと考えられる (Nishioka *et al.*, 2003)。Suzuki *et al.* (2002b) は、北太平洋亜寒帯域の植物プランクトンの光合成活性に地理的東西差があり、その差は海水中の鉄濃度の違いによるものであることを報告している。海洋に鉄が供給されてから、鉄の利用能が低下するまでに起こる植物プランクトンの応答を考慮すれば、東部および西部北太平洋亜寒帯域の鉄供給量の差が、植物プランクトンの生理状態から種組成に至るまでに影響を与え、東西海域の生態系の違いを生み出している要因であることが理解できる。

5. 今後の課題

残されている課題は多い。本稿でも一部紹介したとおり、鉄の存在状態については、いまだ限られた情報しかなく、特に植物プランクトンにとって利用可能な鉄の直接的な定量には至っていない。また、天然の鉄の供給過程に関する定量的な情報も不足している。これまでの研究では、海洋に人為的に鉄を供給する実験手法を用いて、微量栄養素である鉄分が、HNLC 海域で植物プランクトンの増殖量を制限し得る元素であることを明らかにしてきた。しかし、外洋の実海域で起こっている植物プランクトン増殖量の変動が、本当に天然の鉄の供給量に依存しているのかについて定量的に判断するには未だ十分な知見はない。例えば、西部北太平洋亜寒帯域の西端にある親潮域では、春季の植物プランクトンの大増殖が観測されるが、この春季の植物プランクトン増殖量と鉄供給量との定量的な関係は明らかになっていない。

世界的にも各海盆スケールで多くの海水中の鉄濃度データが集められるようになったが (de Baar and de Jong, 2001)、未だ分析技術を持つ研究機関が限られており、主要な栄養塩分析のように高密度の観測データが得られる体制は整っていない。高密度の観測を実現していくためには、研究船上の装備を整えていくことも欠かせない。現在、生物海洋学につながる微量栄養物質としての鉄をグローバルなデータセットとして把握していくために、研究船に乗り合わせた小規模なグループでの相互比較や (Measures and Vink, 2001; Bowie *et*

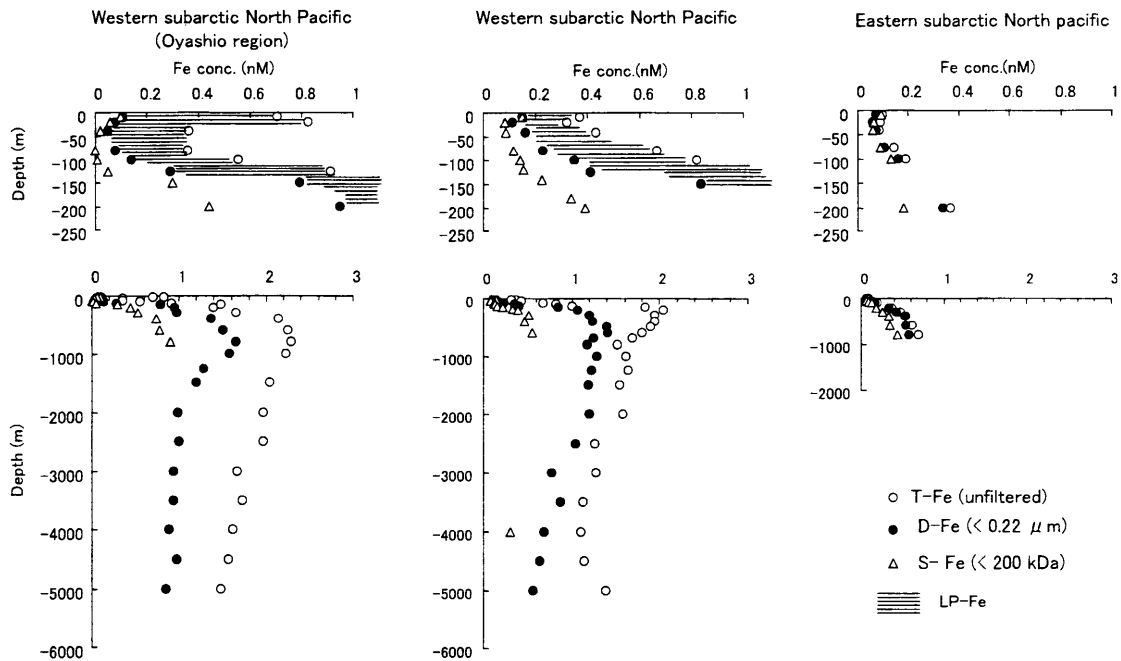


Fig. 8. Vertical distribution of size-fractionated iron in the western subarctic North Pacific and eastern subarctic North Pacific (cited from Nishioka *et al.*, 2003).

al., 2003), 国際的に鉄測定技術を持つ大多数の研究機関を取り込んだ相互比較のプログラムが行なわれている (SCORE-IUPAC WG 109: Worsfold *et al.*, 2003). このような、国際的な相互比較と標準海水の作成についても、今後も継続的に努力していく必要がある。

クリーン技術の普及のためには、これまで行なわれてきた一部の研究者による感覚的な技術から、理論に基づくマニュアル化された技術への転換も今後行なわなければならない課題の一つである。しかし、ここで強く主張したいことは正しいクリーン技術の普及である。試料の汚染を防ぐための丁寧で細やかな配慮、各ステップでの汚染のチェック、相互検定、標準試料、プランクなどクリーン操作の基本の普及が大事である。中途半端なクリーン技術が蔓延し、間違ったデータが次々に出てくる状況は絶対に避けなければならない。そのためには、容器の洗浄から採水、測定、データの解析まで一貫して行ない、疑わしき点をすべて確認出来る体制を整えて、一つ一つの過程を確実に積み重ねていくことが重要である。これらの過程を理解して進められる研究者の育成や、設備・資金の確保、テクニシャンの養成もこの分野をさらに発展させるための重要な

課題である。また、生物との関わりについて深く理解するためには、生物海洋学で既に確立されている実験方法や近年の進歩が著しいプランクトン生理生態研究分野へのクリーン技術の適用も、今後進めていくべき課題であろう。

謝辞

このたびは栄誉ある日本海洋学会岡田賞を頂いたことは身に余る光栄であり、推薦・選考を頂いた先生方、ならびに学会員の皆様に厚く御礼申し上げます。私のこれまでの研究全般では、武田 重信氏に微量金属研究のノウハウから研究者としての科学に対する姿勢に至るまで、厳しく的確なご指導頂き、さらに数多くのチャンスを与えていただきました。本研究の大部分は複数のプロジェクトの中で行なわれており、津田 敦氏、齊藤 宏明氏はそれらのプロジェクトを強力な指導力で推進し、私のような若輩者を研究の第一線に引き上げていただきました。本研究の根幹にある「鉄の分析」に当たっては、小畑 元氏、故中山 英一朗先生のご指導無しには進めることができませんでした。また、本研究

を進めるに当たって、鈴木 光次氏、今井 圭理氏、野尻 幸弘氏、小埜 恒夫氏、清沢 弘志氏、嶋本 晶文氏、久万 健志氏、工藤 勲氏、宗林 由樹氏、渡辺 豊氏、また C. S. Wong 氏、W. K. Johnson 氏、N. Shuterland 氏はじめとするカナダ海洋科学研究所の皆様、H. J. W. de Baar 氏を初めとするオランダ海洋科学研究所の皆様には数多くのご助言、ご協力と励ましをいただきました。また、私の関わったプロジェクトや航海に参加されたすべての研究者・乗組員の皆様の多大な努力のおかげでプロジェクトや航海の成功があり、その結果が本研究の成果に繋がりました。本研究は私が(財)電力中央研究所に所属していた時に行なったものであります。電力中央研究所にはこれまで恵まれた研究環境を与えていただきました。電力中央研究所の津旨 大輔氏、芳村 毅氏、坪野 孝樹氏、菊池 弘太郎氏、岩田 仲弘氏、古田 岳志氏、下島 公紀氏、河野 吉久氏、仲敷 憲和氏、清野 通康氏を初めとする諸先輩および同僚の皆様には、研究を遂行していく上で時に苦勞をともにし、多くの協力と励ましをいただきました。最後に、北海道大学水産学部時代の私の指導教官である松永 勝彦先生には、学生時代に「鉄」に関わる研究テーマをいただき、その後常に私の研究を見守っていただきました。

この紙面を借りてこれらのすべての皆様にご心から感謝の意を表します。

References

- Banse, K. (1990): Does iron really limit phytoplankton production in the offshore subarctic Pacific?. *Limnol. Oceanogr.*, **35**, 3, 772-775.
- Barbeau, K., J. W. Moffet, D. A. Caron, P. L. Croot, and D. L. Erdner (1996): Role of protozoan grazing in relieving iron limitation of phytoplankton. *Nature*, **380**, 61-64.
- Bishop, J. K. B., T. J. Wood, R. E. Davis, and J. T. Sherman (2004): Robotic Observations of enhanced carbon biomass and export at 55° S during SOFEX. *Science*, **304**, 16, 417-420.
- Bowie, A. R., E. P. Achterberg, S. Blain, M. Boye, P. L. Croot, H. J. W. de Baar, P. Laan, G. Sarthou, and P. J. Worsfold (2003): Shipboard analytical intercomparison of dissolved iron in surface waters along a north-south, transect of the Atlantic Ocean. *Mar. Chem.*, **84**, 19-34.
- Boyd, P. W., D. L. Muggli, D. E. Varela, R. H. Goldblatt, R. Chretien, K. J. Orians, and P. J. Harrison (1996): In vitro iron enrichment experiments in the NE subarctic Pacific. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **136**, 179-193.
- Boyd, P. W., A. J. Watson, C. S. Law, E. R. Abraham, T. Trull, R. Murdoch, D. C. E. Bakker, A. R. Bowie, K. O. Buesseler, H. Chang, M. Charette, P. Croot, K. Downing, R. Frew, M. Gall, M. Hadfield, J. Hall, M. Harvey, G. Jameson, J. LaRoche, M. Liddicoat, R. Ling, M. T. Maldonado, R. M. McKay, S. Nodder, S. Pickmere, R. Pridmore, S. Rintoul, K. Safi, P. Sutton, R. Strzepek, K. Tanneberger, S. Turner, A. Waite, and J. Zeldis (2000): A mesoscale phytoplankton bloom in the polar Southern Ocean stimulated by iron fertilization. *Nature*, **407**, 695-702.
- Boyd, P. W., C. S. Law, C. S. Wong, Y. Nojiri, A. Tsuda, M. Levasseur, S. Takeda, R. Rivkin, P. J. Harrison, R. Strzepek, J. Gower, M. R. McKay, E. Abraham, M. Arychuk, J. Barwell-Clarke, W. Crawford, D. Crawford, M. Hale, K. Harada, K. Johnson, H. Kiyosawa, I. Kudo, A. Marchetti, W. Miller, J. Needoba, J. Nishioka, H. Ogawa, J. Page, M. Robert, H. Saito, A. Sastri, N. Sherry, T. Soutar, N. Sutherland, Y. Taira, F. Whitney, S.-K. E. Wong, and T. Yoshimura (2004): The decline and fate of an iron-induced subarctic phytoplankton bloom. *Nature*, **428**, 549-553.
- Boye, M., J. Nishioka, P. L. Croot, P. Laan, K. R. Timmermans, and H. J. W. de Baar (2005): Major deviation of iron complexation during 22 days of a mesoscale iron enrichment in the open Southern Ocean. *Mar. Chem.*, **96**, 257-271.
- Bruland K. W. and E. L. Rue (2001): Analytical Methods for the Determination of Concentrations and Speciation of Iron, p. 255-289. *The Biogeochemistry of iron in seawater*, edited by D. R. Turner and K. A. Hunter, John Wiley & Sons LTD., Chichester.
- Buesseler, K. O., J. E. Andrews, S. M. Pike, and M. A. Charette (2004): The effects of iron fertilization on carbon sequestration in the Southern Ocean. *Science*, **304**, 414-417.
- Buma, A. G. J., H. J. W. de Baar, R. F. Nolting, and A. J. van Bennekom (1991): Metal enrichment experiments in the Weddell-Scotia Seas: Effects of iron and manganese on various plankton communities. *Limnol. Oceanogr.*, **36**, 8, 1,865-1,878.
- Byrne, R. H. and D. R. Kester, (1976): Solubility of hydroxyl ferric oxide and iron speciation in seawater. *Mar. Chem.*, **4**, 225-274.
- Chen, M., R. C. H. Dei, W. X., Wang, and L. Guo (2003): Marine diatom uptake of iron bound with natural colloids of different origins. *Mar. Chem.*, **81**, 177-189.

- Chin, W. C., M. V. Orellana, and P. Verdugo (1998): Spontaneous assembly of marine dissolved organic matter into polymer gels. *Nature*, **391**, 568–572.
- Coale, K. H. (1991): Effects of iron, manganese, copper, and zinc enrichments on productivity and biomass in the subarctic Pacific. *Limnol. Oceanogr.*, **36**, 1,851–1,864.
- Coale, K. H., K. S. Johnson, S. E. Fitzwater, R. M. Gordon, S. Tanner, F. P. Chavez, L. Ferioli, C. Sakamoto, P. Rogers, F. Millero, P. Steinberg, P. Nightingale, D. Cooper, W. P. Cochlan, M. R. Landry, J. Constantinou, G. Rollwagen, A. Trasvina, and R. Kudela (1996): A massive phytoplankton bloom induced by an ecosystem-scale iron fertilization experiment in the equatorial Pacific Ocean. *Nature*, **383**, 495–501.
- Coale, K. H., K. S. Johnson, S. E. Fitzwater, S. P. G. Blain, T. P. Stanton, and T. L. Coley (1998): IronEx-I, and *in situ* iron enrichment experiment: Experimental design, implementation and result. *Deep-Sea Res. II*, **45**, 919–945.
- Coale, K. H., P. Worsfold, and H. J. W. de Baar (1999): Iron Age in Oceanography. *EOS*, **80**, 34, 377–382.
- Coale, K. H., K. S. Johnson, F. P. Chavez, K. O. Buesseler, R. T. Barber, M. A. Brzezinski, W. P. Cochlan, F. J. Millero, P. G. Falkowski, J. E. Bauer, R. H. Wankhoff, R. M. Kudela, M. A. Altabet, B. E. Hales, T. Takahashi, M. R. Landry, R. R. Bidigare, X. J. Wang, Z. Chase, P. G. Stratton, G. E. Friederich, M. Y. Gorbunov, V. P. Lance, A. K. Hilting, M. R. Hiscock, M. Demarest, W. T. Hiscock, K. F. Sullivan, S. J. Tanner, R. M. Gordon, C. N. Hunter, V. A. Elrod, S. E. Fitzwater, J. L. Jones, S. Tozzi, M. Koblizek, A. E. Roberts, J. Herndon, J. Brewster, N. Ladizinsky, G. Smith, D. Cooper, D. Timothy, S. L. Brown, K. E. Selph, C. C. Sheridan, B. S. Twining, and Z. I. Johnson (2004): Southern Ocean iron enrichment experiment: Carbon cycling in high- and low- Si waters. *Science*, **304**, 408–414.
- Cullen, J. J. (1991): Hypotheses to explain high-nutrient conditions in the open sea. *Limnol. Oceanogr.*, **36**, 8, 1,578–1,599.
- Croot, P. L., P. Laan, J. Nishioka, V. Strauss, M. Boye, K. R. Timmermans, R. G. Bellerby, L. Goldson, P. Nightingale, and H. J. W. de Baar (2005): Spatial and temporal distribution of Fe(II) and H₂O₂ during EisenEx, and open ocean mesoscale iron enrichment. *Mar. Chem.* **95**, 51–63.
- de Baar, H. J. W. (1994): von Liebig's law of the minimum and plankton ecology. *Prog. Oceanogr.*, **33**, 347–386.
- de Baar, H. J. W., A. G. J. Buma, R. F. Nolting, G. C. Cadee, G. Jacques, and P. J. Treguer (1990): On iron limitation of the Southern Ocean: experimental observations in the Weddell and Scotia Seas. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **65**, 105–122.
- de Baar, H. J. W. and J. T. M. de Jong (2001): Distributions, sources and sinks of iron in seawater. p. 123–253. *The Biogeochemistry of iron in seawater*, edited by D. R. Turner and K. A. Hunter, John Wiley & Sons LTD., Chichester
- de Baar, H., P. W. Boyd, K. H. Coale, M. R. Landry, A. Tsuda, P. Assmy, D. C. E. Bakker, Y. Bozec, R. T. Barber, M. A. Brzezinski, K. O. Buesseler, M. Boye, P. L. Croot, F. Gervais, M. Y. Gorbunov, P. J. Harrison, W. T. Hiscock, P. Laan, C. Lancelot, C. Law, M. Lefevre, A. Marchetti, F. J. Millero, J. Nishioka, Y. Nojiri, T. van Oijen, U. Riebesell, M. J. A. Rijkenberg, H. Saito, S. Takeda, K. R. Timmermans, and M. J. W. Veldhuis: Synthesis of 8 Iron Fertilization Experiments: from the Iron Age in the Age of Enlightenment. *J. Geophys. Res., Ocean* (in press).
- Duce, R. A. and N. W. Tindale (1991): Atmospheric transport of iron and its deposition in the ocean, *Limnol. Oceanogr.*, **36**, 1,715–1,726.
- Gordon, R. M., J. H. Martin, and G. A. Knauer (1982): Iron in the northeast Pacific waters. *Nature*, **299**, 611–612.
- Gran, H. H. (1931): On the conditions for the production of plankton in the sea. *Rapp. Proc. Verb. Reun. Cons. Int. Explor. Mer.*, **75**, 37–46.
- Harrison, P. J. (2005): Editorial, *Prog. Oceanogr.*, **64**, 91–93.
- Harrison, P. J., P. W. Boyd, D. E. Varela, S. Takeda, A. Shiomoto, and T. Odate (1999): Comparison of factors controlling phytoplankton productivity in the NE and NW subarctic Pacific gyres. *Prog. Oceanogr.*, **43**, 205–234.
- Hart, T. J. (1934): On the phytoplankton of the south-east Atlantic and the Bellingshausen Sea, 1929–1931. *Discovery Reports*, **8**, 1–268.
- Hart, T. J. (1942): Phytoplankton periodicity in Antarctic surface waters. *Discovery Reports*, **21**, 261–365.
- Hutchins, D. A., DiTullio, G. R., and K. W. Bruland (1993): Iron and regenerated production: Evidence for biological iron recycling in two marine environments. *Limnol. Oceanogr.* **38**, 1,242–1,255.
- Johnson, K. S., K. H. Coale, V. A. Elrod, and N. W. Tindale (1994): Iron photochemistry in seawater from the equatorial Pacific. *Mar. Chem.*, **46**, 319–334.
- 金森 悟, 坪田 博行, 室住 正世, 中村 精次 (1985): 海洋における物質循環—海洋における重金属の分布と挙動, p. 223–263. 海洋の動態, 恒星社厚生閣出版.

- Kudo, I., Y. Noiri, K. Imai, Y. Nojiri, J. Nishioka, and A. Tsuda (2005): Primary productivity and nitrogen nutrient assimilation dynamics during the Subarctic Pacific Iron Experiment for Ecosystem Dynamics Study. *Prog. Oceanogr.*, **64**, 207–221.
- Kuma, K. and K. Matsunaga (1995): Availability of colloidal ferric oxides to coastal marine phytoplankton. *Mar. Biol.*, **122**, 1–11.
- Kuma, K., A. Katsumoto, J. Nishioka, and K. Matsunaga (1998): Size-fractionated iron concentrations and Fe(III) hydroxide solubilities in the various coastal waters. *Est., coast. shelf sci.*, **47**, 275–283.
- Kuma, K., S. Nakabayashi, Y. Suzuki, and K. Matsunaga (1992): Dissolution rate and solubility of colloidal hydrous ferric oxide in seawater. *Mar. Chem.*, **38**, 133–143.
- Landing, W. M. and K. W. Bruland (1987): The contrasting biogeochemistry of iron and manganese in the Pacific Ocean. *Geochem. Cosmochim. Acta*, **51**, 29–43.
- Maldonado, M. T. and N. M. Price (2001): Reduction and transport of organically bound iron by *Thalassiosira oceanica* (Bacillariophyceae). *J. of phycol.*, **37**, 298–309.
- Maldonado, M. T., A. E. Allen, J. S. Chong, K. Lin, D. Leus, N. Karpenko, and S. Harris: Copper-dependent iron transport in coastal and oceanic diatoms. *Limnol. Oceanogr.* (in press)
- Martin, J. H. (1990): Glacial-Interglacial CO₂ Change: THE IRON HYPOTHESIS. *Paleoceanography*, **5**, 1–13.
- Martin, J. H. and S. E. Fitzwater (1988): Iron deficiency limits phytoplankton growth in the north-east Pacific subarctic. *Nature*, **331**, 341–343.
- Martin, J. H., R. M. Gordon, S. E. Fitzwater, and W. W. Broenkow (1989): VERTEX: Phytoplankton/iron studies in the Gulf of Alaska. *Deep-Sea Res.*, **36**, 649–680.
- Martin, J. H., K. H. Coale, K. S. Johnson, S. E. Fitzwater, R. M. Gordon, S. J. Tanner, C. N. Hunter, V. A. Elrod, J. L. Nowicki, T. L. Coley, R. T. Barber, S. Lindley, A. J. Watson, K. van Scoy, C. S. Law, M. I. Liddicoat, R. T. Ling, Station, J. Stockel, C. Collins, A. Anderson, R. Bidigare, M. Ondrusek, M. Latasa, F. J. Millero, K. Lee, W. Yao, J. Z. Zhang, G. Friederich, C. Sakamoto, F. Chavez, K. Buck, Z. Kolber, R. Green, P. Falkowski, S. W. Chisholm, F. Hoge, R. Swift, J. Yangel, S. Turner, P. Nightingale, A. Hatton, P. Liss, and N. W. Tindale (1994): Testing the iron hypothesis in ecosystems of the equatorial Pacific Ocean. *Nature*, **371**, 123–129.
- Measures, C. I., J. Yuan, and J. A. Resing (1995): Determination of iron in seawater by flow injection-analysis using in-line preconcentration and spectrophotometric detection. *Mar. Chem.*, **50**, 3–12.
- Measures, C. I. and S. Vink (2001): Dissolved Fe in the upper waters of the Pacific sector of the Southern Ocean. *Deep-Sea Res. II*, **48**, 3,913–3,941.
- Morel, F. M. M. and N. Price (2003): The Biogeochemical cycles of trace metals in the Oceans. *Science*, **300**, 944–947.
- Nishioka, J. and S. Takeda (2000): Change in the concentrations of iron in different size fractions during growth of the Oceanic diatom *Chaetoceros* sp.: importance of small colloidal iron. *Mar. Biol.*, **137**, 231–238.
- Nishioka, J., S. Takeda, C. S. Wong, and W. K. Johnson (2001a): Size-fractionated iron concentrations in the northeast Pacific Ocean: distribution of soluble and small colloidal iron. *Mar. Chem.*, **74**, 157–179.
- Nishioka, J., S. Takeda, and C. S. Wong (2001b): Change in the concentrations of iron in different size fractions during a phytoplankton bloom in controlled ecosystem enclosures. *J. Exp. Mar. boil. Ecol.*, **258**, 237–255.
- Nishioka, J., S. Takeda, I. Kudo, D. Tsumune, T. Yoshimura, K. Kuma, and A. Tsuda (2003): Size-fractionated iron and iron-limitation processes in the subarctic NW Pacific. *Geophys. Res. Lett.*, **30**, 14, 1,730. doi:10.1029/2002GL016853.
- Nishioka, J., S. Takeda, H. J. W. de Baar, P. Laan, P. L. Croot, M. Boye, and K. R. Timmermans (2005): Change in the concentrations of iron in different size fractions during an iron fertilization experiment in the open Southern Ocean. *Mar. Chem.*, **95**, 51–63.
- 小畑 元, (2003): 海水中の微量金属(とくに鉄)に関する海洋分析化学的研究. 海の研究, **12**, 449–406.
- Obata, H., H. Karatani, and E. Nakayama (1993): Automated determination of Iron in seawater by chelating resin concentration and chemiluminescence detection. *Anal. Chem.*, **65**, 1,524–1,528.
- Obata, H., H. Karatani, M. Matsui, and E. Nakayama (1997): Fundamental studies for chemical speciation of iron in seawater with an improved analytical method. *Mar. Chem.*, **56**, 97–106.
- Obata, H. and C. M. G. van den Berg (2001): Determination of picomolar levels of iron in seawater using catalytic cathodic stripping voltammetry. *Anal. Chem.*, **73**, 2,522–2,528.
- Powell, T. R., W. M. Landing, and J. E. Bauer (1996): Colloidal trace metals, organic carbon and nitrogen in a southeastern U. S. estuary. *Mar. Chem.*, **55**, 165–176.

- Rue, E. L. and K. W. Bruland (1995): Complexation of iron (III) by natural organic ligands in the central North Pacific as determined by a new competitive ligand equilibration/adsorptive cathodic stripping voltammetric method. *Mar. Chem.*, **50**, 117–138.
- Smetacek, V. (2001): EisenEx: International Team Conducts Iron Experiment in Southern Ocean. *U. S. JGOFS News*, **11**, 1, 11.
- Suzuki, K., A. Tsuda, H. Kiyosawa, S. Takeda, J. Nishioka, T. Saino, M. Takahashi, and C. S. Wong (2002a): Grazing impact of microzooplankton on a diatom bloom in a mesocosm as estimated by pigment-specific dilution technique. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **271**, 99–120.
- Suzuki, K., H. Liu, T. Saino, H. Obata, M. Takano, K. Okamura, Y. Sohrin, and Y. Fujishima (2002b): East-west gradients in the photosynthetic potential of phytoplankton and iron concentration in the subarctic Pacific Ocean during early summer. *Limnol. Oceanogr.*, **47**, 1,581–1,594.
- Takeda, S. (1998): Influence of iron availability on nutrient consumption ratio of diatoms in oceanic water. *Nature*, **393**, 774–777.
- Takeda, S. and H. Obata (1995): Response of equatorial Pacific phytoplankton to subnanomolar Fe enrichment. *Mar. Chem.*, **50**, 219–227.
- Takeda, S., J. Nishioka, C. S. Wong, F. A. Whitney, W. K. Johnson, and T. J. Soutar (1999): Application of open-ocean enclosures to study the control of biological CO₂ pump in the subarctic North Pacific Ocean. *Proceedings of 2nd International Symposium CO₂ in the Oceans*, Tsukuba, CGER-I037-'99, 583–586.
- Takeda, S. and C. S. Wong (2004): PICES-IFEP Workshop on “*In situ* iron enrichment experiments in the eastern and western subarctic Pacific”. *PICES Press*, **12**, 2, 12–15.
- Tsuda, A., S. Takeda, H. Saito, J. Nishioka, Y. Nojiri, I. Kudo, H. Kiyosawa, A. Shiimoto, K. Imai, T. Ono, A. Shimamoto, D. Tsumune, T. Yoshimura, T. Aono, A. Hinuma, M. Kinugasa, K. Suzuki, Y. Sohrin, Y. Noiri, H. Tani, Y. Deguchi, N. Tsurushima, H. Ogawa, K. Fukami, K. Kuma, and T. Saino (2003): A mesoscale iron enrichment in the western subarctic Pacific induces large centric diatom bloom. *Science*, **300**, 958–961.
- Tsumune, D., J. Nishioka, A. Shimamoto, S. Takeda, and A. Tsuda, (2005): Physical behavior of the SEEDS iron-fertilized patch by sulphur hexafluoride tracer release. *Prog. Oceanogr.*, **64**, 111–128.
- van den Berg, C. M. G. (1995): Evidence for organic complexation of iron in seawater. *Mar. Chem.*, **50**, 139–157.
- Watson, A., P. Liss, and R. Duce (1991): Design of a small-scale *in situ* iron fertilization experiment. *Limnol. Oceanogr.*, **36**, 8, 1,960–1,965.
- Wells, L. M. (2003): The level of iron enrichment required to initiate diatom blooms in HNLC waters. *Mar. Chem.*, **82**, 101–114.
- Wells, M. L., N. G. Zokin, and A. G. Lewis (1983): The role of colloid chemistry in providing a source of iron to phytoplankton. *J. Mar. Res.*, **41**, 731–746.
- Wells, L. M. and E. D. Goldberg (1992): Marine submicron particles. *Mar. Chem.*, **40**, 5–18.
- Wells, M. L., L. M. Mayer, O. F. X. Donard, M. M. de Souza Sierra, and S. G. Ackelson (1991): The photolysis of colloidal iron in the oceans. *Nature*, **353**, 19, 248–250.
- Wen, L. S., M. C. Stordal, D. Tang, G. A. Gill, and P. H. Santschi (1996): An ultraclean cross-flow ultrafiltration technique for the study of trace metal phase speciation in seawater. *Mar. Chem.*, **55**, 129–152.
- Worsfold, P. J., E. P. Achterberg, A. R. Bowie, S. Ussher, S. Blain, H. J. W. de Baar, P. Laan, P. L. Croot, G. Sarthou, and M. Boye (2003): Intercomparison exercise for the determination of low level iron in seawater. EGS-AGU-EGU Joint Assembly, Abstracts from the meeting held in Nice, France, 6–11.
- Wu, J. and G. W. Luther III (1994): Size-fractionated iron concentrations in the water column of the western North Atlantic Ocean. *Limnol. Oceanogr.*, **39**, 1,119–1,129.
- Wu, J. and G. W. Luther III (1995): Complexation of Fe(III) by natural organic ligands in the Northwest Atlantic Ocean by a competitive ligand equilibration method and kinetic approach. *Mar. Chem.*, **50**, 159–177.
- Wu, J. and G. W. Luther III (1996): Spatial and temporal distribution of iron in the surface water of the northwestern Atlantic Ocean. *Geochim. Cosmochim. acta*, **60**, 2,729–2,741.
- Wu, J. and E. Boyle (1998): Determination of iron in seawater by high-resolution isotope dilution inductively coupled plasma spectrometry after Mg(OH)₂ coprecipitation. *Ana. Chim. Acta*, **367**, 183–191.
- Wu, J., E. Boyle, W. Sunda, and L. S. Wen (2001): Soluble and colloidal Fe in the oligotrophic north Atlantic and north Pacific. *Science*, **293**, 847–849.
- Workshop Report (2001): Workshop to identify the Scientific and Legal Questions Behind Fertilization of the Ocean to Sequester Atmospheric Carbon Dioxide. ASLO Workshop, Washington DC.

Speciation of Iron and the Role of Iron for Phytoplankton Growth in the Subarctic North Pacific

Jun Nishioka [†]

Abstract

A size-fractionation technique was used for observation and experimental studies to investigate iron speciation in oceanic seawater. The results showed that we need to consider the existence of colloidal Fe in the dissolved fraction to better understand Fe availability and the Fe biogeochemical cycle in the ocean. Moreover, an Fe-enrichment experiment in the western subarctic Pacific clearly demonstrated that iron availability controls phytoplankton growth in this region, even though there is a higher iron supply from atmospheric dust here than in the eastern region. Our results also suggested that Fe transformation is an important process in understanding how phytoplankton becomes iron limited in the western subarctic Pacific. Research on the biogeochemistry of Fe is becoming indispensable in understanding the processes of phytoplankton growth in a natural open-ocean environment. In this paper, the research results on Fe speciation and the role of Fe in phytoplankton growth in oceanic seawater are presented.

Key words: iron, iron speciation, phytoplankton, iron enrichment experiment, subarctic North Pacific

(Corresponding author's e-mail address: nishioka@lowtem.hokudai.ac.jp)

(Received 13 September 2005; accepted 30 September 2005)

(Copyright by the Oceanographic Society of Japan, 2005)

[†] Central Research Institute of Electric Power Industry, 1646 Abiko Chiba 270-1166, Japan.

Present address : Pan-Okhotsk research center, Institute of low temperature science, Hokkaido University, N19, W8, Kita-ku, Sapporo 060-0819, Japan