

— 2013 年度日本海洋学会岡田賞受賞記念論文 —

## 高感度栄養塩類分析法を用いた亜熱帯海域表層の 生物地球化学的研究\*

橋濱 史典†

### 要 旨

亜熱帯海域表層の栄養塩類動態を明らかにするために、長光路セルを組み込んだ高感度分析システムを確立し、太平洋亜熱帯域においてナノモルレベル栄養塩類の分布を調査した。硝酸塩+亜硝酸塩は大部分の海域において枯渇していた (<10 nM)。一方、リン酸塩は検出限界以下 (<3 nM) から 300 nM の範囲で地理的に変動しており、特に西部北太平洋では 2,000 km 以上の領域で枯渇 (<10 nM) していた。リン酸塩濃度の低下は南太平洋の島周辺でも認められ、活発な窒素固定に伴う一次生産の向上によりリン酸塩が消費されたと解釈された。また、窒素固定の維持にはダスト沈着等に伴う鉄供給が重要であると考えられた。さらに、リン酸塩枯渇域の一次生産を支えるリン源として溶存有機態リン (DOP) に着目した。西部北太平洋ではリン酸塩枯渇下において顕著に高いアルカリフォスファターゼ活性が認められ、DOP のうち易分解性の画分が積極的に利用されていることが示された。

キーワード：太平洋亜熱帯域，長光路吸光光度分析，ナノモルレベル栄養塩類，窒素固定，溶存有機態リン

### 1. はじめに

全地表面積の約半分を占める亜熱帯海域表層は、貧栄養、低生物量で特徴付けられ、陸上の砂漠になぞらえて「海の砂漠」とも呼称される (Karl, 2002)。この領域では、周年にわたり成層が発達し、下層から表層への栄養塩供給が乏しいため表層における栄養塩類濃度は極めて

低く、栄養塩類が一次生産を律速する主要因となっている。このように亜熱帯海域表層は均一、希薄さが特徴の領域であるが、一方で、広大な面積が故に全球レベルの物質循環を考える上では無視できない領域でもある (Field *et al.*, 1998)。

1955 年に Sverdrup が発表した一次生産についての海洋区系では、亜熱帯海域表層は栄養塩供給の乏しい領域であるため、一次生産が最も低い領域に区分された (Sverdrup, 1995)。この概念は、基本的に現在も変わっておらず、Sarmiento and Gruber 著「Ocean Biogeochemical Dynamics」の栄養塩供給過程に基づく海洋区系では、極域、亜寒帯域、赤道域についてはかなり詳細に区分されたが、亜熱帯域については広範にお

\* 2013 年 6 月 10 日受領；2013 年 7 月 5 日受理

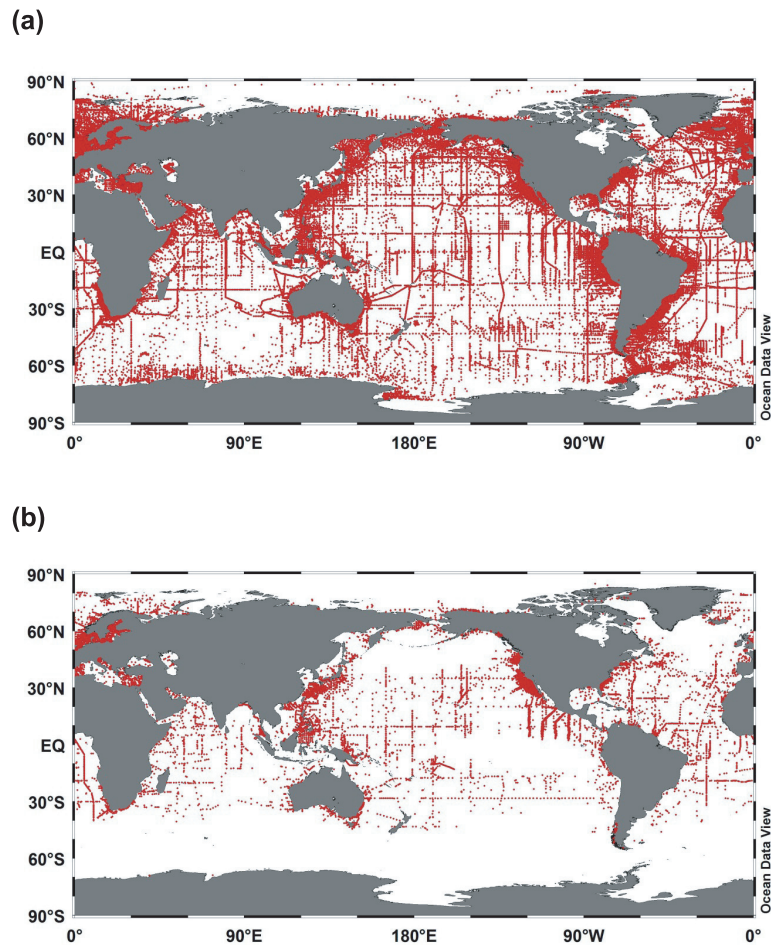
著作権：日本海洋学会，2013

† 東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科

〒108-8477 東京都港区港南 4-5-7

TEL・FAX: 03-5463-0731

e-mail: f-hashii@kaiyodai.ac.jp



**Fig. 1.** (a) Locations of nitrate measurements in surface waters (<10 m) of the global ocean. (b) Locations of the stations where nitrate concentration of “zero” was recorded in (a). Nitrate data was obtained from World Ocean Atlas 2001 ([http://www.nodc.noaa.gov/OC5/WOA01/pr\\_woa01.html](http://www.nodc.noaa.gov/OC5/WOA01/pr_woa01.html)).

いて一様のままである (Sarmiento and Gruber, 2006)。このように亜熱帯海域のイメージが古典的海洋像に執着している理由の一つとして、亜熱帯海域における表層栄養塩類の微細な変動とそれに関連した生物地球化学的プロセスを正確に把握できなかったことが挙げられる。

Fig. 1a は、World Ocean Atlas 2001 のデータに基づいて作成したもので、10 m 以浅の表層硝酸塩について観測された定点をプロットしたものである。総定点数は、146956 におよび、全海洋表層を一様にカバーしている。一方、Fig. 1b は、Fig. 1a の総定点のうち硝酸塩濃度ゼロ (0) が記録された点をプロットしたものである。硝酸塩濃度ゼロの点は総定点数の 11% を占め、

その多くは太平洋赤道湧昇域を除く 30°N から 30°S の亜熱帯海域に集中している。すなわちこれは、今世紀に入る前にルーチンの測定されてきたマイクロモルレベルの栄養塩類分析法では、亜熱帯海域表層の硝酸塩濃度は広範において検出限界以下 (<0.1  $\mu\text{M}$ ; Strickland and Parsons, 1972) であることを意味している。

亜熱帯海域表層の栄養塩類濃度がルーチン測定法の検出限界以下になることは古くから認識されており、1980 年代から栄養塩類分析技術の改良に関する取り組みが行われてきた。硝酸塩および亜硝酸塩については化学発光法 (Garside, 1982)、リン酸塩についてはマグネシウム共沈 (magnesium-induced coprecipitation) 法、略称

MAGIC 法 (Karl and Tien, 1992) が開発され、海水中のナノモルレベルの栄養塩類濃度を精度良く測定することが可能となった。その後、今世紀に入ってからは、化学発光法および MAGIC 法を用いた現場海域におけるナノモルレベル栄養塩類動態に関する研究成果が徐々に発表されるようになってきた。

特に、ハワイ沖やバミューダ沖の時系列定点周辺域では充実したデータセットが得られており、表層の硝酸塩+亜硝酸塩濃度は数 nM 程度といずれの海域でも枯渇しているのに対し、リン酸塩はバミューダ沖では数 nM 程度、ハワイ沖では 1 桁から 2 桁高濃度であることが明らかにされている (Wu *et al.*, 2000; Cavender-Bares *et al.*, 2001; Karl, 2002)。また、このリン酸塩濃度分布の地理的違いについては以下のようにメカニズムに踏み込んだ解釈がなされている。ハワイ沖では、中深層水から有光層に供給される硝酸塩+亜硝酸塩：リン酸塩の濃度比が 16 以下であるのに対し、表層では植物プランクトンによりレッドフィールド比 (N:P=16) で利用されるため、リン酸塩濃度が硝酸塩+亜硝酸塩濃度に比べて高くなる。一方、バミューダ沖では、リンリッチな水が下層から供給されるが、表層では窒素固定が盛んに行われており、固定した窒素を植物プランクトンが利用する際にリン酸塩が消費されるため、リン酸塩は硝酸塩+亜硝酸塩と同様に枯渇レベルになる。バミューダ沖で窒素固定が活発なのは、サハラ砂漠から鉄を豊富に含んだダストが供給されるためであるとされている (Wu *et al.*, 2000; Cavender-Bares *et al.*, 2001; Karl, 2002)。このようにハワイ沖やバミューダ沖の時系列定点ではメカニズムに踏み込んだ解釈がなされたが、亜熱帯海域全域に着目すると表層栄養塩類の分布については未解明のままであった。

栄養塩類の高感度分析に関しては、今世紀に入ってから化学発光法や MAGIC 法に代わる手法として、水よりも屈折率の低いアモルファステフロンが材質の液相ウェーブガイド毛管セル (liquid waveguide capillary cell)、略称 LWCC、を用いた硝酸塩+亜硝酸塩およびリン酸塩の長光路吸光光度分析法が確立された (Zhang, 2000; Zhang and Chi, 2002)。この手法は、空気分節型連続フロー分析装置の検出部に光路長 200 cm の LWCC を組み込んだもので、試水の連続測定が可能な上、試料濃

縮が不要という利点を有している。筆者らは、LWCC を用いた長光路吸光光度分析法を現場観測に導入し、亜熱帯海域の広範な領域における表層栄養塩類の分布を把握することを目的に研究を開始した。

本稿では、まず第 2 節にて筆者らが確立した長光路吸光光度分析法の概要、第 3 節にて表層連続観測システムを紹介する。第 4 節および 5 節では、筆者らが表層連続観測によって明らかにした西部北太平洋表層におけるリン酸塩大規模枯渇および表層栄養塩類のメソスケール変動についてそれぞれ紹介する。第 6 節では、最新知見を盛り込んだ亜熱帯海域表層の栄養塩類分布に基づく海洋区系について概観する。第 7 節では、リン酸塩枯渇下における溶存有機態リン (DOP) のリン源としての重要性についてふれる。第 8 節では、本稿の総括および今後の展望について言及する。

## 2. 長光路吸光光度分析法

### 2.1 硝酸塩+亜硝酸塩

硝酸塩+亜硝酸塩の空気分節型連続フロー分析装置は、銅・カドミウム還元ナフチルエチレンジアミン法のフローダイアグラム (Whitledge *et al.*, 1981) を参考に、AutoAnalyzer II (Technicon, 現 SEAL analytical) のマニホールドパーツを用いて組み上げた (Fig. 2)。本法では、発色試薬による試水の希釈を軽減することで感度を高める方法 (Oudot and Montel, 1988) を参考に、Whitledge *et al.* (1981) の原法よりも試水の流量を大きくし、反対に塩化アンモニウム溶液の流量を小さくした。これに伴い、試水と塩化アンモニウム溶液が混合した際の塩化アンモニウムの最終濃度が原法の場合と同様になるように、予め高濃度の塩化アンモニウム溶液を調製した。スルファニルアミド溶液およびナフチルエチレンジアミン溶液については原法に従って調製した。試水および発色試薬ラインの吸引口には孔径 20  $\mu\text{m}$  のポリエチレン製溶液フィルター (GL Sciences) を取り付け、検出部へ繋がる最終ラインには孔径 0.2  $\mu\text{m}$  の Anotop 25 シリンジフィルター (Whatman) を取り付けた。

検出部には、光路長 50 cm の LWCC (LWCC-2050,

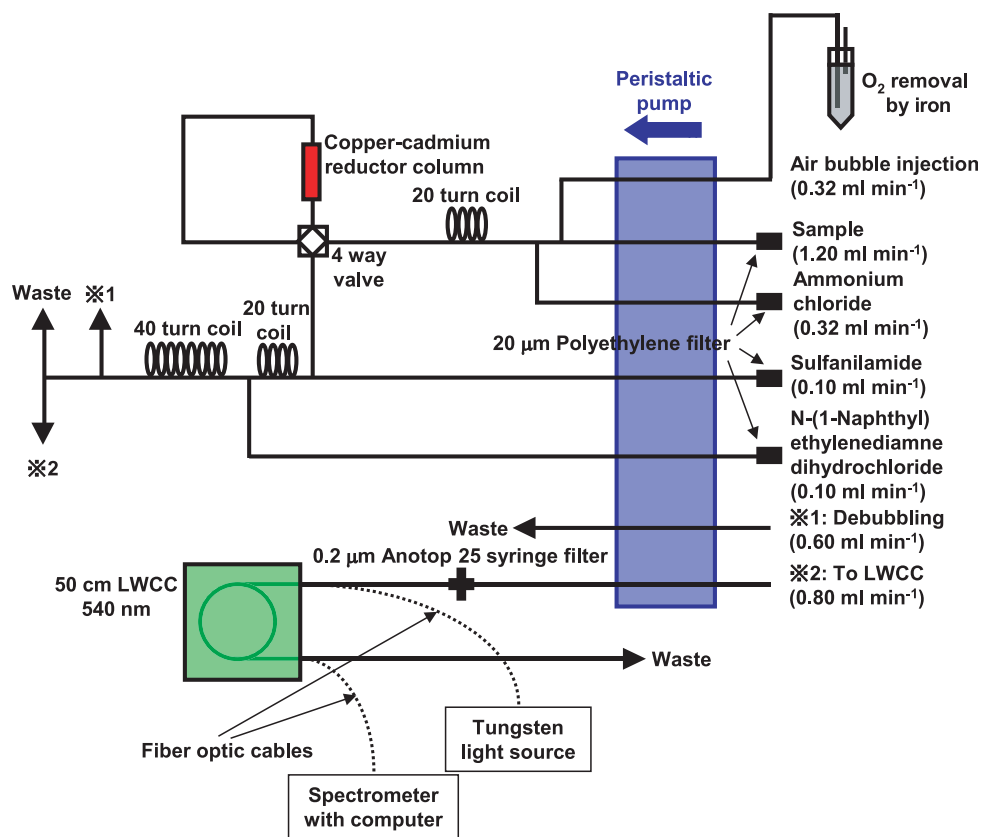


Fig. 2. Manifold configuration and flow diagram for gas-segmented continuous-flow analysis of nitrate+nitrite with an LWCC system. The flow rate of each pumping tube is given to the right of the peristaltic pump.

World Precision Instruments), 光源 (FO-6000, World Precision Instruments), 分光器 (USB2000, Ocean Optics) を組み込んだ (Fig. 2)。Zhang (2000) の硝酸塩+亜硝酸塩に関する長光路吸光度分析法では光路長 200 cm の LWCC を採用していたが、筆者らの検討実験より LWCC は内径が 550  $\mu\text{m}$  と細いので光路長が長いほど短時間でつまりやすく、さらに洗浄に手間がかかることがわかったため、現場での実用性を考慮して光路長 50 cm の LWCC を採用した。測定波長は 540 nm とし、専用ソフトウェア (SpectraSuite, Ocean Optics) を用いてコンピューター上で吸光度をモニターすると同時にデータ記録を行った。

標準溶液は、硝酸カリウム溶液をブランク海水でナノモルレベルまで希釈して調製した。また、銅・カドミウ

ムカラムによる還元率を調べるために、亜硝酸ナトリウム溶液もブランク海水で希釈して調製した。ブランク海水には、孔径 10  $\mu\text{m}$  のヌクレポアフィルター (Whatman) でろ過後、1 年以上保存した西部北太平洋亜熱帯域表層水を用いた。この海水の硝酸塩+亜硝酸塩濃度を化学発光法 (Garside, 1982) によって測定し、その濃度を「ブランクの濃度」として試料濃度を計算した。検出限界をブランク吸光度の標準偏差の 3 倍から求めたところ 3 nM であった。また、1000 nM までの検量線は有意な直線性を示し、強い相関が確認された ( $r^2 = 0.999$ )。

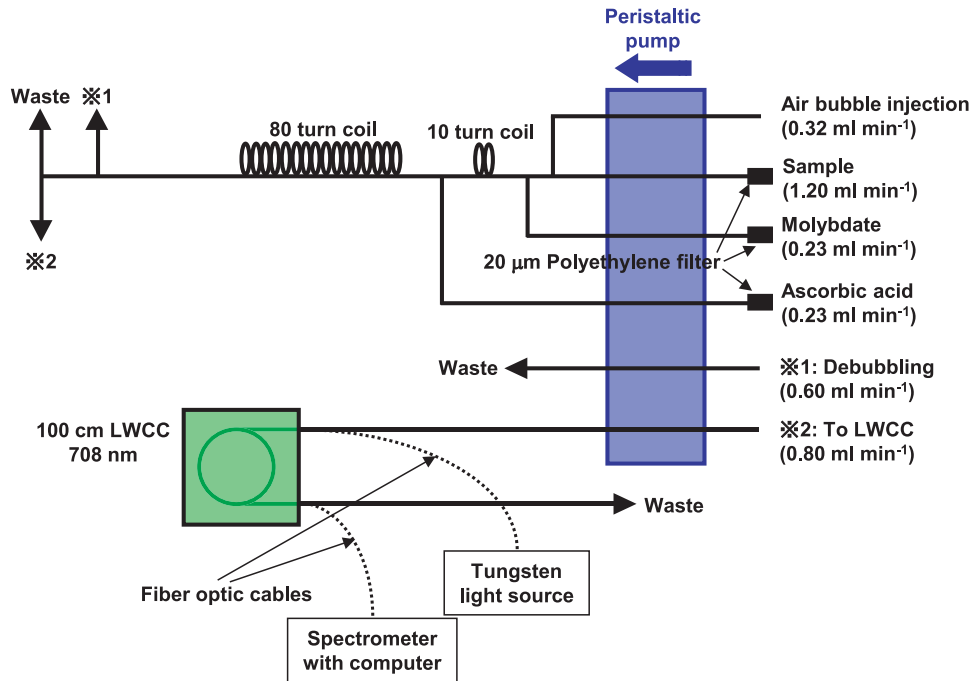


Fig. 3. Manifold configuration and flow diagram for gas-segmented continuous-flow analysis of phosphate with an LWCC system. The flow rate of each pumping tube is given to the right of the peristaltic pump.(after Hashihama *et al.*, 2013)

## 2.2 リン酸塩

リン酸塩のモリブデンブルー法 (Murphy and Riley, 1962) が常法として用いられており, 筆者らの長光路吸光光度分析法もこの方法に基づいている。モリブデンブルー法で反応するのはほとんどがオルトリン酸であるが, 酸性条件下で反応するオルトリン酸以外の無機態リンや有機態リンもわずかに含まれる。このため, しばしば溶存反応性リン (soluble reactive phosphorus), 略称 SRP, と定義されている。本稿では, リン酸塩 = SRP とみなし, 用語としてはリン酸塩を一貫して用いる。

リン酸塩の空気分節型連続フロー分析装置は, モリブデンブルー法のフローダイアグラム (Hansen and Koroleff, 1999) を参考に, AutoAnalyzer II (Technicon, 現 SEAL analytical) のマニホールパーツを用いて組み上げた (Fig. 3) (Hashihama *et al.*, 2013)。発色試薬の調製は, モリブデン酸溶液については Hansen and Koroleff (1999) の原法に従い, アスコルビン酸溶液に

については原法から少し改変した。アスコルビン酸溶液には, ベースラインドリフトを軽減するためにアセトンと 15%ドデシル硫酸ナトリウム溶液を加えた。試水および発色試薬ラインの吸引口には孔径 20  $\mu\text{m}$  のポリエチレン製溶液フィルター (GL Sciences) を取り付けた。発色反応により生成するリン・モリブデン錯体はガラス繊維フィルターや各種メンブレンフィルターに吸着するため, 検出部へ繋がる最終ラインにはフィルターを使用しなかった。

検出部には, 光路長 100 cm の LWCC (LWCC-2100, World Precision Instruments), 光源 (FO-6000, World Precision Instruments), 分光器 (USB2000, Ocean Optics) を組み込んだ (Fig. 3)。Zhang and Chi (2002) ではリン酸塩の長光路吸光光度分析に光路長 200 cm の LWCC を採用していたが, 光路長の長い LWCC は短時間でつまりやすく, 洗浄に手間がかかるため, 光路長 100 cm の LWCC を採用した。リン酸塩の吸光光度分析における測定波長は 880 nm であるが,

本システムでは LWCC の有効測定波長が 230 nm から 730 nm であるため、第二吸収ピークの 708 nm を測定波長とした。硝酸塩+亜硝酸塩の場合と同様に、専用ソフトウェア (SpectraSuite, Ocean Optics) を用いて吸光度のモニターおよびデータ記録を行った。

標準溶液は、リン酸二水素カリウム溶液をブランク海水でナノモルレベルまで希釈して調製した。ブランク海水には、MAGIC 法 (Karl and Tien, 1992) に基づいて西部北太平洋亜熱帯域表層水からリン酸塩を沈殿除去した後の上清をリン酸塩フリー海水として用いた。検出限界をブランク吸光度の標準偏差の 3 倍から求めたところ 3 nM であった。また、1000 nM までの検量線は有意な直線性を示し、強い相関が確認された ( $r^2=0.999$ )。

### 3. 表層連続観測システム

海洋研究開発機構「白鳳丸」および「淡青丸」の研究航海に乗船し、太平洋亜熱帯域において観測を行った (航海名、観測時期および海域は後節で紹介する)。広範な領域における表層栄養塩類の分布を明らかにするために、船舶航走中に船底からポンプで汲み上げた表層水を連続的に観測した (Hashihama *et al.*, 2009; 2010; Kodama *et al.*, 2011)。硝酸塩+亜硝酸塩およびリン酸塩については 2 節で紹介した長光路吸光度分析法を用いて連続計測した。連続計測は最大でも 10 時間程度可能で、装置の洗浄および試薬の調製を間に挟みながら繰り返し実施した。栄養塩類連続計測の空間分解能は、15 ノット ( $27.8 \text{ km h}^{-1}$ ) で航走した場合でも 1 km 未満であった。栄養塩類の連続計測に併せて、水温、塩分、クロロフィル蛍光の連続計測も行った。栄養塩類、水温、塩分、クロロフィル蛍光のデータは 1 分間隔で取得した。

栄養塩類の連続計測に併せて、植物プランクトン群集解析のための顕微鏡観察、フローサイトメトリー (FCM)、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 植物色素分析用の試料もポンプで汲み上げた表層水から採取した (Hashihama *et al.*, 2010)。試水はプログラムタイマーと電磁弁を組み込んだ海水連続採取装置を用いて 15 分おきに採取した。栄養塩類のシグナルは発色に時間がかかるため試水を吸い込んでから数十分後にでてくる。このため航走中に栄養塩類濃度の変動が認められた

海域の試水をさかのぼって採取することは困難である。この装置は時系列的に連続採水が可能なので、変動が認められた海域の水を前もってくまなく採取できる。15 分おきに採取した試水は、栄養塩類濃度の変動との対応関係をみて選択的に試料処理に用いた。

顕微鏡観察用の試水は、船上にて直ちにグルタルアルデヒドで最終濃度 1% になるように固定した。陸上研究室に持ち帰った顕微鏡試料は、ウタモール法 (Utermöhl, 1958) に基づいて沈殿濃縮した後、倒立顕微鏡でプランクトンの観察および窒素固定者である *Trichodesmium* の藻糸を計数した。FCM 用の試水は、船上にて直ちにグルタルアルデヒドで最終濃度 1% になるように固定した。固定試料の一部は船上にて直ちに分析し、一部は液体窒素で凍結した後に陸上研究室に持ち帰って分析した。488 nm のアルゴンイオンレーザーを備えた PAS-III 型フローサイトメーター (Partec) を用いて、*Prochlorococcus*, *Synechococcus*, ピコ・ナノ真核藻類 (Marie *et al.*, 1999) および単細胞性シアノバクテリア (Sato *et al.*, 2010) の細胞数を計数した。HPLC 植物色素分析用の試水は、船上にて GF/F フィルター (Whatman) でろ過後、フィルターを液体窒素で凍結し、陸上研究室に持ち帰って分析した。植物色素分析は、Zapata *et al.* (2000) の方法に基づき、島津 HPLC システム (Shimadzu) を用いて行った (Furuya *et al.*, 2003, Hashihama *et al.*, 2008a; 2008b)。Monovinyl chlorophyll *a* (MVchl *a*), divinyl chlorophyll *a* (DVchl *a*), peridinin (Perid), 19'-butanoyloxyfucoxanthin (But-fuco), fucoxanthin (Fuco), 19'-hexanoyloxyfucoxanthin (Hex-fuco), myxoxanthophyll (Myxo), zeaxanthin (Zea) について、標準色素 (DHI Water and Environment) を用いて同定および濃度計算を行った。

### 4. 西部北太平洋表層におけるリン酸塩大規模枯渇

2004 年 11 月から 2005 年 3 月にかけて実施された「白鳳丸」KH-04-5 次航海および 2005 年 8 月から同年 9 月にかけて実施された「白鳳丸」KH-05-2 次航海に乗船し、中西部太平洋において表層連続観測を実施した。

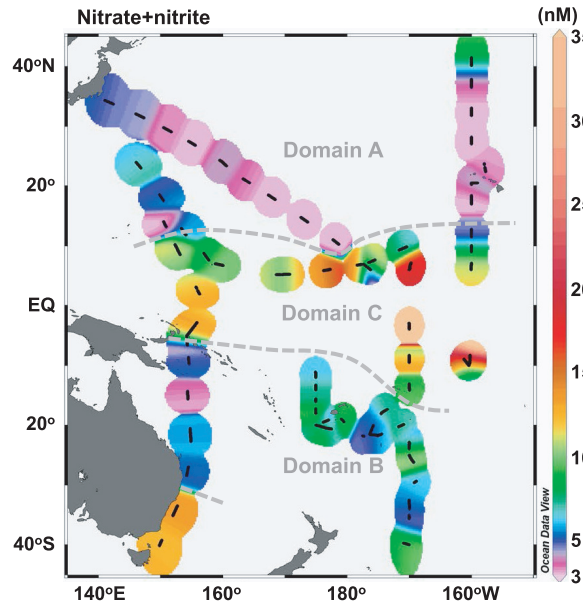


Fig. 4. Surface distribution of nanomolar nitrate + nitrite in the western and central parts of the Pacific Ocean. (after Hashihama *et al.*, 2009)

硝酸塩+亜硝酸塩およびリン酸塩の濃度分布は、2,000 km を超えるマクロスケールでの水平変動を示した (Hashihama *et al.*, 2009)。硝酸塩+亜硝酸塩濃度は極めて低く、大部分の海域で 10 nM 以下であったが、南北方向にわずかな勾配が認められた (Fig. 4)。すなわち、10~40°N の A 海域では概ね 5 nM 以下と検出限界付近であったのに対して、オーストラリア沿岸域を除く 5~40°S の B 海域では 3~10 nM 程度と検出限界をわずかに上回った。一方、A 海域と B 海域の間に位置する C 海域では 5~35 nM と B 海域に比べて高い傾向があった。この硝酸塩+亜硝酸塩の地理的分布は水塊特性と対応しており、A、B、C 海域の順に表層混合層の深度は増加し、水柱安定度が減少した (Hashihama *et al.*, 2009)。従って、上記の南北勾配は下層から表層への硝酸塩+亜硝酸塩の供給程度の違いを反映したものと考えられた。

リン酸塩は硝酸塩+亜硝酸塩に比べて海域による濃度の違いがより顕著であり、硝酸塩+亜硝酸塩と同様に南北方向の勾配を示した (Fig. 5)。A 海域では 150 nM 以下、B 海域では A 海域より高く概ね 20~200 nM、

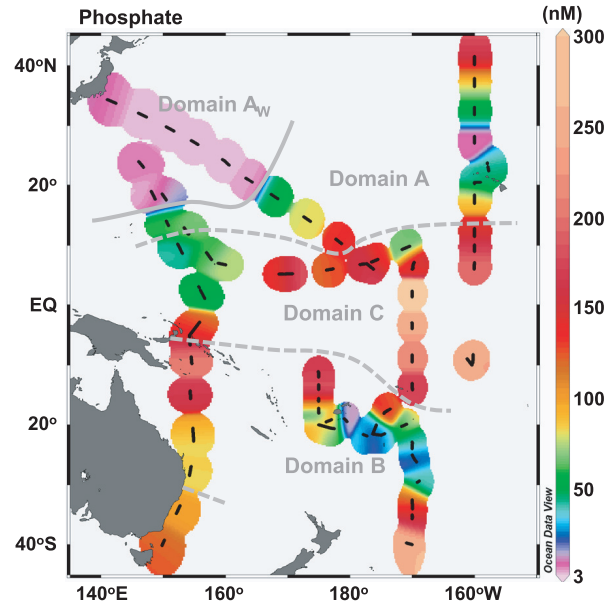


Fig. 5. Surface distribution of nanomolar phosphate in the western and central parts of the Pacific Ocean. (after Hashihama *et al.*, 2009)

C 海域では 50 nM を上回っており、海域による違いは硝酸塩+亜硝酸塩と同様に下層からの供給が異なることを反映したものと考えられた。さらに、A 海域では東西方向に勾配が認められ、165°E よりも西側の A<sub>w</sub> 海域では夏季、冬季を問わず水平距離で 2,000 km を超える領域で 10 nM 以下と検出限界付近であることがわかった。

西部北太平洋に位置する A<sub>w</sub> 海域ではリン酸塩濃度が極端に低かったが、ほぼ同時期に西部北太平洋表層においてアセチレン還元法によって測定した窒素固定活性をみると、リン酸塩が 10 nM 以下と枯渇した海域において周辺海域に比べて窒素固定活性が高くなっていた (Hashihama *et al.*, 2009; Kitajima *et al.*, 2009)。さらに、Spectral radiation-transport model for aerosol species, 略称 SPRINTARS (Takemura *et al.*, 2000) によって得られた観測日の 2 週間前からのアジア大陸からの平均ダスト降下量の分布をみると、リン酸塩枯渇海域において周辺海域に比べて顕著なダスト降下があった (Hashihama *et al.*, 2009; Kitajima *et al.*, 2009)。以上の結果より、A<sub>w</sub> 海域はバミューダ沖の事例 (Wu *et al.*,

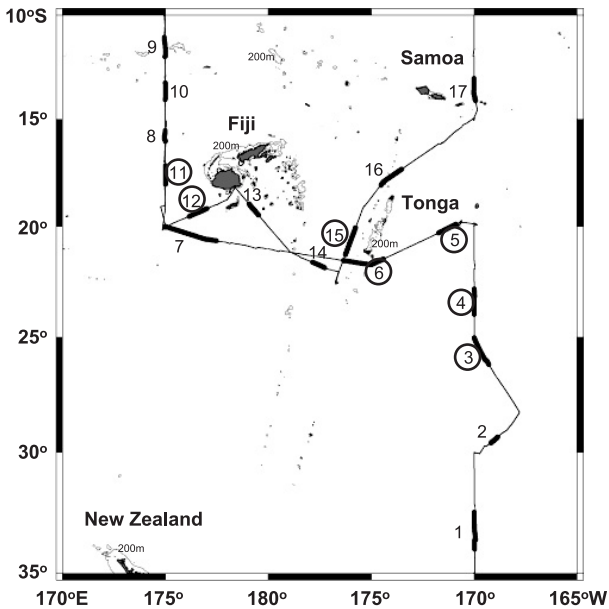


Fig. 6. Cruise track in the vicinity of the subtropical South Pacific islands. Thick lines with numbers denote transects where nanomolar nutrients and phytoplankton were continuously measured. Black circles denote transects where mesoscale decrease in phosphate occurred with an elevation of chlorophyll fluorescence. (after Hashihama *et al.*, 2010)

2000)と同様に、アジア大陸からの鉄を豊富に含んだダスト供給が窒素固定能を向上させ、固定窒素を植物プランクトンが利用する際にリン酸塩が消費されたためにリン酸塩が枯渇したと考えられ、その枯渇はマクロスケールで維持されていることが明らかとなった。

## 5. 表層栄養塩類のメソスケール変動

表層栄養塩類のマクロスケールでの水平変動に加えて、100 km以下のメソスケールにおける表層栄養塩類の局所の変動も観測された。「白鳳丸」KH-04-5次航海では南太平洋の島周辺を観測中にリン酸塩濃度が局所的に低下する事例が捉えられた (Hashihama *et al.*, 2010)。南太平洋亜熱帯域において表層連続観測を実施した17トランゼクトのうち、7つのトランゼクト (#3, 4, 5, 6, 11, 12, 15)においてリン酸塩濃度の局所的低下が認められた (Fig. 6)。リン酸塩濃度の局所的低下は、ク

ロロフィル蛍光の上昇と対応しており、水温および塩分の変動とは明確な対応関係は認められなかった。

リン酸塩濃度とクロロフィル蛍光の鏡像関係は、特にトンガ東方のトランゼクト (#5; Fig. 7) およびフィジー西方のトランゼクト (#11; Fig. 8) で顕著であった。リン酸塩濃度は、トンガ東方トランゼクトでは99 kmの間に17~125 nM、フィジー西方トランゼクトでは98 kmの間に23~136 nMの範囲で変動しており、両トランゼクトともリン酸塩濃度が最も低下した領域において窒素固定者 *Trichodesmium* のブルーム ( $1600 \text{ filaments l}^{-1}$ ) が認められた。また、リン酸塩濃度が最も低下した領域では、*Prochlorococcus*, *Synechococcus*, ピコ・ナノ真核藻類の細胞密度および各植物プランクトン分類群指標色素、MVchl *a* (*Prochlorococcus* 以外の植物プランクトン), DVchl *a* (*Prochlorococcus*), Perid (渦鞭毛藻), But-fuco (ペラゴ藻), Fuco (珪藻), Hex-fuco (ハプト藻), Myxo (*Trichodesmium*), Zea (シアノバクテリア) の濃度上昇も認められた。一方、単細胞性ナノシアノバクテリアについてはリン酸塩濃度が最も低下した領域よりもむしろその周辺域において高密度であった。これらのことから南太平洋の島周辺におけるリン酸塩濃度の局所的低下は、植物プランクトンによるリン酸塩の利用に密接に関係しており、*Trichodesmium* による窒素固定がリン利用において重要であることが示唆された。この海域の鉄供給についてSPRINTARSのデータを用いて解析したところ、ダスト供給とリン酸塩濃度低下には明確な因果関係は認められなかった。南太平洋の島周辺では溶存鉄濃度が局所的に高くなることが報告されており (Campbell *et al.*, 2005), おそらく島からの鉄供給が *Trichodesmium* による窒素固定およびリン酸塩濃度低下に寄与していた可能性が考えられた。

さらに、「淡青丸」KT-05-24 (2005年9~10月), KT-06-21 (2006年9月), KT-07-22 (2007年9月) 次航海では、アジア大陸近傍の東シナ海およびフィリピン海を観測中に硝酸塩+亜硝酸塩濃度が局所的に上昇する事例が捉えられた (Kodama *et al.*, 2011)。当該海域において表層連続観測を実施した19トランゼクトのうち、7つのトランゼクト (#1, 4, 5, 10, 16, 17, 18) において硝酸塩+亜硝酸塩濃度のみの局所の上昇が認められた



**Transect-5**

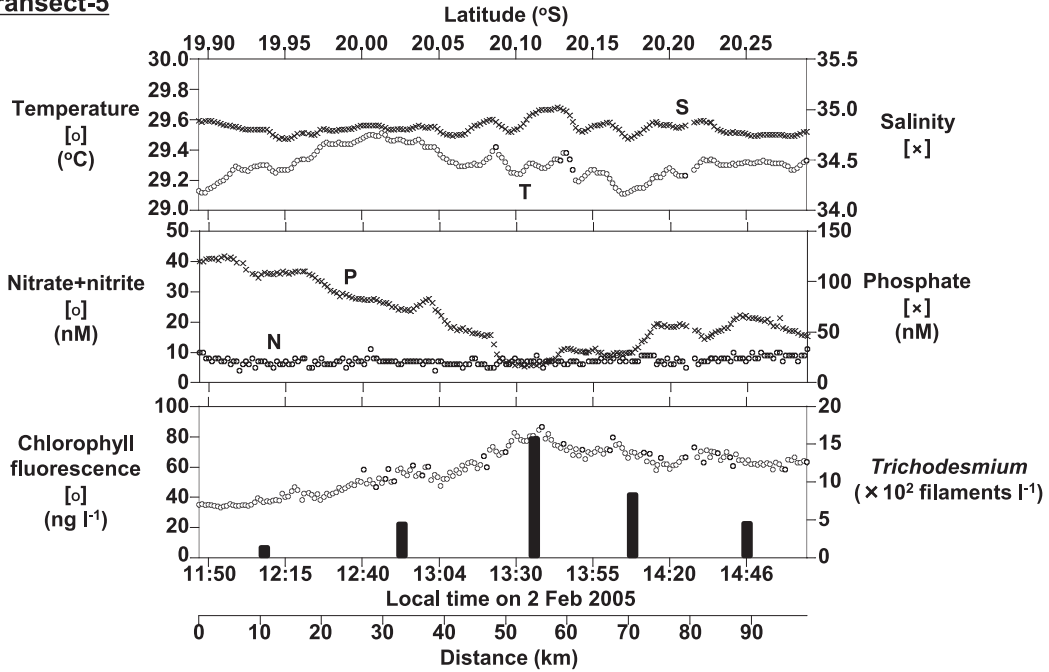


Fig. 7. Horizontal distributions of temperature, salinity, nitrate+nitrite, phosphate, chlorophyll fluorescence, and *Trichodesmium* on transect 5 in Fig. 6. Abundance of *Trichodesmium* is shown by black bars. (after Hashihama *et al.*, 2010)

**Transect-11**

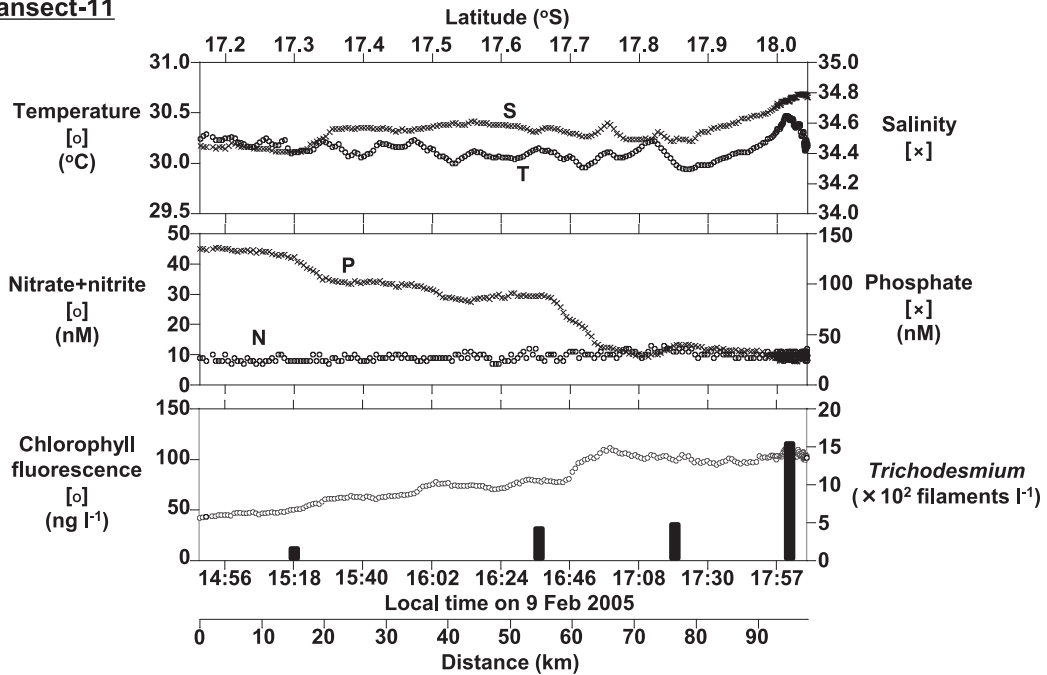


Fig. 8. Horizontal distributions of temperature, salinity, nitrate+nitrite, phosphate, chlorophyll fluorescence, and *Trichodesmium* on transect 11 in Fig. 6. Abundance of *Trichodesmium* is shown by black bars. (after Hashihama *et al.*, 2010)

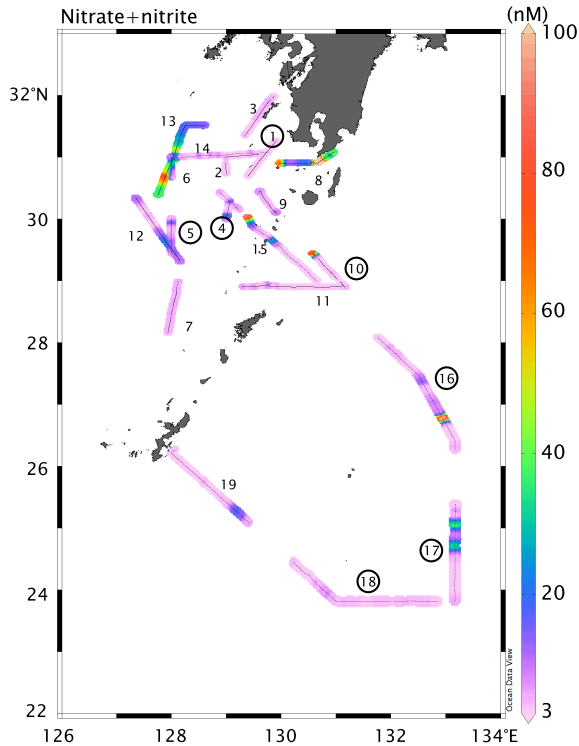


Fig. 9. Surface distribution of nanomolar nitrate+nitrite in the East China Sea and Philippine Sea. Transects where nanomolar nutrients were continuously measured are numbered. Black circles denote transects where nitrate+nitrite patch occurred with lowered salinity and no notable change in phosphate or chlorophyll fluorescence. (after Kodama *et al.*, 2011)

(Fig. 9)。この硝酸塩+亜硝酸塩濃度の局所的上昇はリン酸塩濃度の上昇を伴わず、塩分の低下と対応しており、水温およびクロロフィル蛍光の変動とは明確な対応関係を示さなかった。

硝酸塩+亜硝酸塩濃度の局所の上昇の一例としてフィリピン海におけるトランゼクト (#16) を Fig. 10 に示す。航走距離 180~210 km の領域において局所的な塩分低下に伴って硝酸塩+亜硝酸塩濃度が 204 nM まで上昇しており、これに対応したリン酸塩濃度の上昇はないことがわかる。こういった硝酸塩+亜硝酸塩濃度の局所の上昇は、リン酸塩濃度の上昇を伴わないため下層からの供給ではなく、塩分低下を伴うことから降雨由来の供

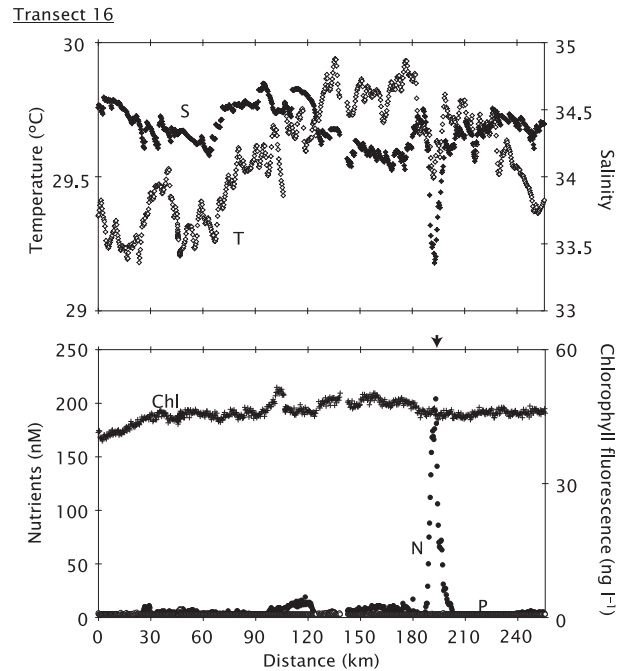


Fig. 10. Horizontal distributions of temperature (open diamond), salinity (closed diamond), nitrate+nitrite (closed circle), phosphate (open circle), and chlorophyll fluorescence (cross) on transect 16 in Fig. 9. The arrowhead denotes the peak of nitrate+nitrite patch. (after Kodama *et al.*, 2011)

給に起因すると考えられた。硝酸塩+亜硝酸塩濃度と塩分の直線回帰式から雨水中の硝酸塩+亜硝酸塩濃度を求め、さらにその濃度と降水量から当該海域への降雨由来の硝酸塩+亜硝酸塩供給量を見積もったところ、見積値は当該海域における夏季の窒素固定量および鉛直渦拡散による下層からの硝酸塩供給量と同程度であった (Kodama *et al.*, 2011)。近年、アジア大陸から西部北太平洋への大気由来人為起源窒素の沈着量が加速的に増えつつある (Duce *et al.*, 2008)。西部北太平洋はリン酸塩大規模枯渇として特徴付けられるが、リン酸塩枯渇が生じる要因としてダスト (鉄) 沈着・窒素固定に併せて大気経由窒素沈着のプロセスも重要になると考えられる。

**Table 1.** Concentrations of nitrate+nitrite and phosphate in surface waters of the world's subtropical oceans as measured by highly-sensitive analytical methods.

Domain	Location	Period	Nitrate+nitrite(nM)	Phosphate (nM)	Analytical method	References
Western North Atlantic	26~32°N 64~70°W	Mar 1998	3~7	<5	Chemiluminescence MAGIC	Wu <i>et al.</i> 2000 Cavender-Bares <i>et al.</i> 2001
Central North Atlantic	10~30°N 30~40°W	Oct~Nov 2005	1~15	1~10	LWCC	Moore <i>et al.</i> 2009
Eastern South Atlantic	10~30°S 10~25°W	Oct~Nov 2005	2~15	100~300	LWCC	Moore <i>et al.</i> 2009
Eastern Mediterranean	33°N 32°E	May 2002	<10	<4	LWCC	Krom <i>et al.</i> 2005
Western North Pacific	15~30°N 140~170°E	Dec 2004~ May 2005 Aug~Sep 2005	<5	<10	LWCC	Hashihama <i>et al.</i> 2009
Off Hawaii	22.75°N 158.00°W	Monthly intervals 1988~1997	<20(Av.3)	8~200 (Av.60)	Chemiluminescence MAGIC	Karl <i>et al.</i> 2001
Central North Pacific	15~30°N 170°E~155°W	Aug~Sep 2005	<5	10~150	LWCC	Hashihama <i>et al.</i> 2009
Western South Pacific	10~30°S 150~170°W	Jan~Mar 2005	3~10	20~200	LWCC	Hashihama <i>et al.</i> 2009 Hashihama <i>et al.</i> 2010
Eastern South Pacific	10~30°S 90~130°W	Oct~Dec 2004	<10	>120	Sensitive AutoAnalyzer II MAGIC	Moutin <i>et al.</i> 2008 Raimbault <i>et al.</i> 2008

## 6. 亜熱帯海域表層の栄養塩類分布に基づく海洋区系

高感度栄養塩類分析法の現場観測への導入により、亜熱帯海域表層における硝酸塩+亜硝酸塩およびリン酸塩の分布に関する知見は近年飛躍的に増えつつある。先駆的に観測データが蓄積されてきたハワイ沖やバミューダ沖をはじめ、地中海、太平洋および大西洋の南北亜熱帯域においても観測データが発表されている (Table 1)。これらを概観すると、どの海域においても硝酸塩+亜硝酸塩濃度は 20 nM 以下と枯渇レベルであるのに対して、リン酸塩濃度は海域間で大きく異なることがわかる。リン酸塩の測定法には MAGIC 法と LWCC 法が用いられているが、比較検討実験の結果、両法から得られたリン

酸塩濃度に有意な差はないことが報告されている (Li and Hansell, 2008)。ハワイ沖以外の海域では密な時系列データが得られておらず、季節変化や経年変化を詳細に明らかにするには今後さらに観測データを増やしていく必要があるが、これまでに明らかになったリン酸塩の分布には興味深い地理的傾向がある。

西部および中部北大西洋、東部地中海、西部北太平洋では、一貫してリン酸塩濃度が 10 nM 以下と枯渇している (Table 1)。Jickells *et al.* (2005) が発表した全球における年平均ダスト降下量分布によると、亜熱帯海域のうち北大西洋、地中海、西部北太平洋はダスト降下の顕著な領域であり、リン酸塩の枯渇とよく一致している。また、北大西洋および西部北太平洋では他の海域に比べて窒素固定活性が比較的高い傾向にあり (Sohm *et al.*, 2011; Luo *et al.*, 2012)、ダスト降下、窒素固定、リン

酸塩枯渇のカップリングが普遍的である可能性を示している。一方、リン酸塩濃度が一貫して 100 nM 以上存在する東部南大西洋および東部南太平洋では、ダスト降下が乏しく、窒素固定活性が著しく低いため、リンが効率良く利用されずリン酸塩が余っていると推察される (Sohm *et al.*, 2011)。また、当該海域に存在する貧酸素域での脱窒の影響もあり、リン酸塩余剰の状態が維持されているとも考えられる (Gruber and Sarmiento, 1997; Deutsch *et al.*, 2007)。ハワイ沖を含む中部北太平洋や西部南太平洋は、リン酸塩濃度が 8~200 nM と大きく変動しており、濃度的に上述のリン酸塩枯渇域とリン酸塩余剰域との間に位置する領域となっている。ハワイ沖では散発的に窒素固定生物のブルームが認められており (Dore *et al.*, 2008)、西部南太平洋では 5 節で述べたように島周辺において *Trichodesmium* のブルームに伴うリン酸塩濃度の局所的低下が認められている (Hashihama *et al.*, 2010) 他、ホットスポット的に高い窒素固定活性も観測されている (Shiozaki *et al.*, 2010)。これらの海域は、バックグラウンド的にリン酸塩は余剰であるが、何らかのきっかけによって (例えば、島からの鉄供給) 窒素固定生物が増殖した際には一時的にリン酸塩濃度が低下するような領域であると考えられる。

## 7. リン酸塩枯渇下における DOP のリン源としての重要性

高感度栄養塩類分析によって得られた亜熱帯海域表層の硝酸塩+亜硝酸塩：リン酸塩の濃度比をみると、どの海域においても明らかにレッドフィールド比 (N:P=16) を大きく下回っており、一次生産における窒素不足が推察される。このような窒素栄養塩類が枯渇した領域では窒素固定が有利になるが、窒素栄養塩類に加えてリン酸塩が枯渇した領域では窒素固定生物がリンストレスを受けた結果として一次生産がリン律速になる可能性もある (Sañude-Wilhelmy *et al.*, 2001; Mills *et al.*, 2004)。事実、東部地中海では極度なリン不足のため窒素固定活性および一次生産が著しく低いことが報告されている (Ibello *et al.*, 2010; Krom *et al.*, 2010)。

亜熱帯海域表層における DOP 濃度は 0.1~0.3  $\mu\text{M}$  程

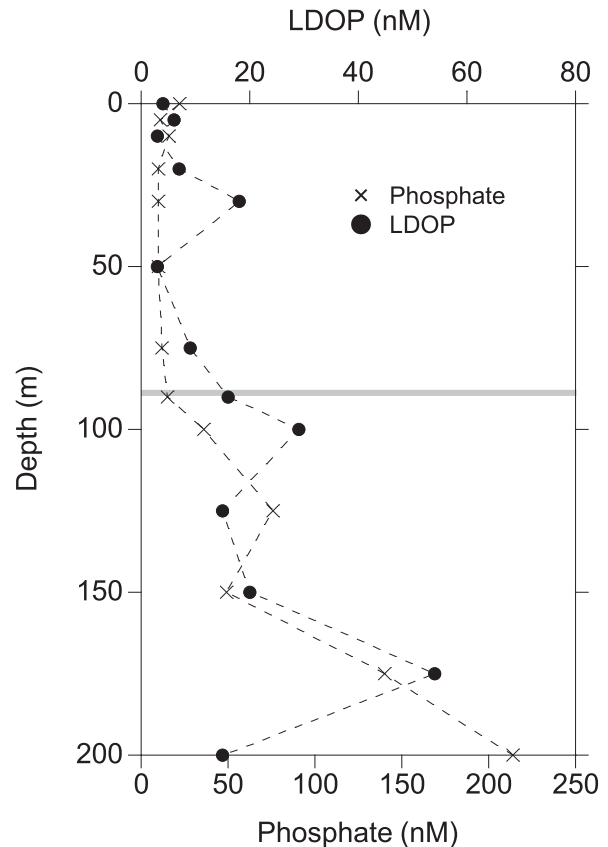


Fig. 11. Vertical distributions of LDOP and phosphate in the upper 200 m of water column at a station of 30°N and 137°E in the western North Pacific. The gray line denotes the deep chlorophyll maximum layer. (after Hashihama *et al.*, 2013)

度であり、リン酸塩のようにナノモルレベルで枯渇するような事例はこれまで報告されていない (Karl and Björkman, 2002; Suzumura and Ingall, 2004; Mather *et al.*, 2008; Moore *et al.*, 2009)。リン酸塩枯渇下では、リン酸塩の代替として DOP が一次生産に利用されることが指摘されている (Sañude-Wilhelmy, 2006)。DOP の中でもアルカリフォスファターゼ (AP) によって加水分解される易分解性 DOP (labile DOP, 以後 LDOP) は、主にリン酸モノエステルから成り、一次生産におけるリン源として重要な役割を担っていると考えられる (Cembella *et al.*, 1982; Hoppe, 2003)。海水中の LDOP 濃度の測定には、市販の AP を試水に添加して加水分解により生じたリン酸塩をモリブデンブルー法で定量する

手法が古くから用いられている (Strickland and Parsons, 1972; Feuillade and Dorioz, 1992)。しかしながら、この手法では亜熱帯海域における LDOP 濃度は検出限界以下 ( $<0.02 \mu\text{M}$ ) となってしまうため、その濃度分布や動態についてはほとんど明らかにされていなかった (Moutin *et al.*, 2008)。

そこで、筆者らは通常の LDOP 測定法に LWCC 法を応用して LDOP の高感度分析法を確立し、実際に現場海域において LDOP の濃度分布を調査した (Hashihama *et al.*, 2013)。「淡青丸」KT-10-13 (2010 年 7 月) および KT-10-19 (2010 年 9 月) 次航海に乗船し、西部北太平洋および東シナ海においてニスキン採水器を取り付けた CTD+クロロフィル蛍光観測システムによる水深 200 m までの鉛直観測を実施した。観測海域における LDOP 濃度は、検出限界以下 ( $<3 \text{ nM}$ ) から 243 nM の範囲で変動しており、リン酸塩 (5~374 nM) と同様な空間変動を示した。鉛直分布に着目すると、Fig. 11 に一例を示したように、LDOP 濃度はリン酸塩が枯渇した亜表層クロロフィル極大層以浅で低く、リン酸塩濃度が急激に上昇した亜表層クロロフィル極大層以深において上昇する傾向が認められた。リン酸塩が枯渇した亜表層クロロフィル極大層以浅では、それ以深に比べて顕著に高い AP 活性が認められ、リン酸塩枯渇下において LDOP が積極的に利用されていることが示唆された (Suzumura *et al.*, 2012)。また、東京海洋大学の「神鷹丸」航海 (2011 年 1 月) において、酵素標識蛍光 (enzyme-labelled fluorescence) 法、略称 ELF 法、を用いて西部北太平洋表層の植物プランクトン群集のリンストレスを単細胞レベルで評価した (Girault *et al.*, 2013)。その結果、リン酸塩濃度が 10 nM 以下の領域において珪藻が顕著な AP 活性を示すことが明らかとなった。以上の結果から、リン酸塩枯渇域において DOP が一次生産を支えるリン源として重要な役割を果たしていることが示唆された。

## 8. おわりに

高感度栄養塩類分析法を導入した近年の研究により、亜熱帯海域は、均一で希薄な従来のイメージとは異なり、表層栄養塩類がダイナミックに変化する場であり、スケー

ルの異なる複数の海洋区系から構成される統合領域であることが明らかになってきた。亜熱帯海域表層における栄養塩類の濃度変動は、水柱安定度、エアロゾル沈着、窒素固定、一次生産、溶存有機物動態などのプロセスと密接に連動しており、数 nM の違いは全く性質の異なる生物地球化学的循環にリンクすると推察される。今後は、表層における水平分布だけでなく、鉛直分布や時系列変動も視野に入れて、亜熱帯海域における栄養塩類動態を時空間的に捉え、その変動要因について一つ一つ明らかにしていくことが重要になると考えられる。また、高感度栄養塩類分析法を用いた多くの研究は、硝酸塩+亜硝酸塩やリン酸塩に着目してきたが、近年筆者らは LWCC を組み込んだケイ酸の高感度分析法を確立した (Hashihama and Kanda, 2010)。ケイ酸は珪藻の増殖に必須の栄養塩類である。亜熱帯海域では、珪藻は現存量や一次生産においてマイナーな植物プランクトングループであるが、新生産および移出生産への寄与は極めて大きいことが指摘されている (Goldman, 1993; Scharek *et al.*, 1999; Brzezinski *et al.*, 2011)。高感度栄養塩類分析法を駆使して窒素、リン、ケイ素の動態を総合的に明らかにすることにより、亜熱帯海域の生物地球化学的循環像は今後さらに鮮明になることが期待される。

## 謝 辞

このたび名誉ある日本海洋学会岡田賞を頂き、大変光栄に思っております。本賞に推薦して下さった学会員の皆様と選考委員の先生方に深く感謝いたします。また、研究を遂行するにあたり、多くの方々からご支援を頂きました。東京海洋大学の神田穰太先生には、高感度栄養塩類分析のノウハウをご指導頂いた他、大学での教育研究に関して日々多くのご助言を頂いております。博士後期課程の指導教官であった東京大学の古谷研先生には、研究に取り組む姿勢、観測実験のデザイン、データ解析、論文執筆など研究者に必要な不可欠な要素について総合的にご指導頂きました。博士前期課程の指導教官であった東京水産大学 (現東京海洋大学) の石丸隆先生には、観測船の乗り方、船上での観測作業のノウハウ、植物プランクトン群集の解析について多くのご指導を頂きました。学部 4 年の指導教官であった姫路工業大学 (現兵庫県立

大学)の菓子野康浩先生には、HPLCによる植物プランクトン色素分析をご指導頂いた他、研究の楽しみ方について教えて頂きました。この他にも、所属研究室の先生方、同僚、学生の皆様、共同研究者の皆様、船長、航海士、乗組員の皆様からは多くのご協力を頂きました。この場をお借りして御礼申しあげます。最後に、研究者という道を選んだ私を何も言わずに後押ししてくれた家族に心から感謝します。

## References

- Brzezinski, M. A., J. W. Krause, M. J. Church, D. M. Karl, B. Li, J. L. Jones, and B. Updyke (2011): The annual silica cycle of the North Pacific subtropical gyre. *Deep-Sea Res. I*, **58**, 988–1001.
- Campbell, L., E. J. Carpenter, J. P. Montoya, A. B. Kustka, and D. G. Capone (2005): Picophytoplankton community structure within and outside a *Trichodesmium* bloom in the southwestern Pacific Ocean. *Vie et Milieu*, **55**, 185–195.
- Cavender-Bares, K. K., D. M. Karl, and S. W. Chisholm (2001): Nutrient gradients in the western North Atlantic Ocean: Relationship to microbial community structure and comparison to patterns in the Pacific Ocean. *Deep-Sea Res. I*, **48**, 2373–2395.
- Cembella, A. D., N. J. Antia, and P. J. Harrison (1982): The utilization of inorganic and organic phosphorus compounds as nutrients by eukaryotic microalgae: a multidisciplinary perspective: Part I. *Crit. Rev. Microbiol.*, **10**, 317–391.
- Deutsch, C., J. L. Sarmiento, D. M. Sigman, N. Gruber, and J. P. Dunne (2007): Spatial coupling of nitrogen inputs and losses in the ocean. *Nature*, **445**, 163–167.
- Dore, J. E., R. M. Letelier, M. J. Church, R. Lukas, and D. M. Karl (2008): Summer phytoplankton blooms in the oligotrophic North Pacific Subtropical Gyre: Historical perspective and recent observations. *Prog. Oceanogr.*, **76**, 2–38.
- Duce, R. A., J. LaRoche, K. Altieri, K. R. Arrigo, A. R. Baker, D. G. Capone, S. Cornell, F. Dentener, J. Galloway, R. S. Ganeshram, R. J. Geider, T. Jickells, M. M. Kuypers, R. Langlois, P. S. Liss, S. M. Liu, J. J. Middelburg, C. M. Moore, S. Nickovic, A. Oschlies, T. Pedersen, J. Prospero, R. Schlitzer, S. Seitzinger, L. L. Sorensen, M. Uematsu, O. Ulloa, M. Voss, B. Ward, and L. Zamora (2008): Impacts of atmospheric anthropogenic nitrogen on the open ocean. *Science*, **320**, 893–897.
- Feuillade, M., and J. M. Dorioz (1992): Enzymatic release of phosphate in sediments of various origins. *Wat. Res.*, **26**, 1195–1201.
- Field, C. B., M. J. Behrenfeld, J. T. Randerson, and P. Falkowski (1998): Primary production of the biosphere: integrating terrestrial and oceanic components. *Science*, **281**, 237–240.
- Furuya, K., M. Hayashi, Y. Yabushita, and A. Ishikawa (2003): Phytoplankton dynamics in the East China Sea in spring and summer as revealed by HPLC-derived pigment signatures. *Deep-Sea Res. II*, **50**, 367–387.
- Garside, C. (1982): A chemiluminescent technique for the determination of nanomolar concentrations of nitrate and nitrite in seawater. *Mar. Chem.*, **11**, 159–167.
- Girault, M., H. Arakawa, and F. Hashihama (2012): Phosphorus stress of microphytoplankton community in the western subtropical North Pacific. *J. Plank. Res.*, **35**, 146–157.
- Goldman, J. C. (1993): Potential role of large oceanic diatoms in new primary production. *Deep-Sea Res. I*, **40**, 159–168.
- Gruber, N., and J. L. Sarmiento (1997): Global patterns of marine nitrogen fixation and denitrification. *Global Biogeochem. Cycles*, **11**, 235–266.
- Hansen, H. P., and F. Koroleff (1999): Determination of nutrients, p.159–228. In *Methods of Seawater Analysis, 3rd ed.*, edited by K. Grasshoff, K. Kremling, and M. Ehrhardt, Wiley, Weinheim.
- Hashihama, F., and J. Kanda (2010): Automated colorimetric determination of trace silicic acid in seawater by gas-segmented continuous flow analysis with a liquid waveguide capillary cell. *La mer*, **47**, 119–127.
- Hashihama, F., N. Horimoto, J. Kanda, K. Furuya, T. Ishimaru, and T. Saino (2008a): Temporal variation in phytoplankton composition related to water mass properties in the central part of Sagami Bay. *J. Oceanogr.*, **64**, 23–37.
- Hashihama, F., T. Hirawake, S. Kudoh, J. Kanda, K. Furuya, Y. Yamaguchi, and T. Ishimaru (2008b): Size fraction and class composition of phytoplankton in the Antarctic marginal ice zone along the 140°E meridian during February–March 2003. *Polar Sci.*, **2**, 109–120.
- Hashihama, F., K. Furuya, S. Kitajima, S. Takeda, T. Takemura, and J. Kanda (2009): Macro-scale exhaustion of surface phosphate by dinitrogen fixation in the western North Pacific. *Geophys. Res. Lett.*, **36**, L03610, doi: 10.1029/2008GL036866.
- Hashihama, F., M. Sato, S. Takeda, J. Kanda, and K. Furuya (2010): Mesoscale decrease of surface phosphate and associated phytoplankton dynamics in the vicinity of the subtropical South Pacific islands. *Deep-Sea Res. I*, **57**, 338–350.
- Hashihama, F., S. Kinouchi, S. Suwa, M. Suzumura, and J. Kanda (2013): Sensitive determination of enzymatically labile dissolved organic phosphorus and its vertical profiles in the oligotrophic western North Pacific and East China Sea. *J. Oceanogr.*, **69**, 357–367.
- Hoppe, H.-G. (2003): Phosphatase activity in the sea. *Hydrobiologia*, **493**, 187–200.
- Ibello, V., C. Cantoni, S. Cozzi, and G. Civitarese (2010): First basin-wide experimental results on N<sub>2</sub> fixation in the open Mediterranean Sea. *Geophys. Res. Lett.*, **37**, L03608, doi:10.1029/2009.gi041635.
- Jickells, T. D., Z. S. An, K. K. Andersen, A. R. Baker, G. Bergametti, N. Brooks, J. J. Cao, P. W. Boyd, R. A. Duce, K. A. Hunter, H. Kawahata, N. Kubilay, J. laRoche, P. S. Liss, N. Mahowald, J. M. Prospero, A. J. Ridgwell, I. Tegen, and R. Torres (2005): Global iron concentrations between desert dust, ocean biogeochemistry, and climate. *Science*, **308**, 67–71.
- Karl, D. M. (2002): Nutrient dynamics in the deep blue sea. *TRENDS Microbiol.*, **10**, 410–418.
- Karl, D. M., and K. M. Björkman (2002): Dynamics of DOP, p.249–366. In *Biogeochemistry of Marine Dissolved Organic Matter*, edited by D. A. Hansell and C. A. Carlson, Academic Press, San

- Diego.
- Karl, D. M., and G. Tien (1992): MAGIC: A sensitive and precise method for measuring dissolved phosphorus in aquatic environments. *Limnol. Oceanogr.*, **37**, 105–116.
- Karl, D. M., K. M. Björkman, J. E. Dore, L. Fujieki, D. V. Hebel, T. Houlihan, R. M. Letelier, and L. M. Tupas (2001): Ecological nitrogen-to-phosphorus stoichiometry at station ALOHA. *Deep-Sea Res. II*, **48**, 1529–1566.
- Kitajima, S., K. Furuya, F. Hashihama, S. Takeda, and J. Kanda (2009): Latitudinal distribution of diazotrophs and their nitrogen fixation in the tropical and subtropical western North Pacific. *Limnol. Oceanogr.*, **54**, 537–547.
- Kodama, T., K. Furuya, F. Hashihama, S. Takeda, and J. Kanda (2011): Occurrence of rain-origin nitrate patches at the nutrient-depleted surface in the East China Sea and the Philippine Sea during summer. *J. Geophys. Res.*, **116**, C08003, doi: 10.1029/2010JC006814.
- Krom, M. D., E. M. S. Woodward, B. Herut, N. Kress, P. Carbo, R. F. C. Mantoura, G. Spyres, T. F. Thingstad, P. Wassmann, C. Wexels-Riser, V. Kitidis, C. S. Law, and G. Zodiatis (2005): Nutrient cycling in the south east Levantine basin of the eastern Mediterranean: Results from a phosphorus starved system. *Deep-Sea Res. II*, **52**, 2879–2896.
- Krom, M. D., K. C. Emeis, and P. Van Cappellen (2010): Why is the Eastern Mediterranean phosphorus limited? *Prog. Oceanogr.*, **85**, 236–244.
- Li, Q. P., and D. A. Hansell (2008): Intercomparison and coupling of magnesium-induced co-precipitation and long-path liquid-waveguide capillary cell techniques for trace analysis of phosphate in seawater. *Anal. Chim. Acta.*, **611**, 68–72.
- Luo, Y.-W., S. C. Doney, L. A. Anderson, M. Benavides, I. Berman-Frank, A. Bode, S. Bonnet, K. H. Boström, D. Böttjer, D. G. Capone, E. J. Carpenter, Y. L. Chen, M. J. Church, J. E. Dore, L. I. Falcón, A. Fernández, R. A. Foster, K. Furuya, F. Gómez, K. Gundersen, A. M. Hynes, D. M. Karl, S. Kitajima, R. J. Langlois, J. LaRoche, R. M. Letelier, E. Marañón, D. J. McGillicuddy Jr., P. H. Moisanter, C. M. Moore, B. Mourão-Carballido, M. R. Mulholland, J. A. Needoba, K. M. Orcutt, A. J. Poulton, E. Rahav, P. Raimbault, A. P. Rees, L. Riemann, T. Shiozaki, A. Subramaniam, T. Tyrrell, K. A. Turk-Kubo, M. Varela, T. A. Villareal, E. A. Webb, A. E. White, J. Wu, and J. P. Zehr (2012): Database of diazotrophs in global ocean: abundance, biomass and nitrogen fixation rates. *Earth Syst. Sci. Data*, **4**, 47–73.
- Marie, D., F. Partensky, D. Vaulot, and S. Brussaard (1999): Enumeration of phytoplankton, bacteria, and viruses in marine samples, p. 11.11.1–11.11.15. In *Current Protocols in Cytometry Supplement 10*, edited by J. P. Robinson, Z. Darzynkiewicz, P. N. Dean, A. Orfao, P. S. Rabinovitch, C. C. Stewart, H. J. Tanke, L. L. Wheelless, and L. G. Dressier, Wiley, New York.
- Mather, R. L., S. E. Reynolds, G. A. Wolff, R. G. Williams, S. Torres-Valdes, E. M. S. Woodward, A. Landolfi, X. Pan, R. Sanders, and E. P. Achterberg (2008): Phosphorus cycling in the North and South Atlantic Ocean subtropical gyres. *Nat. Geosci.*, **1**, 439–443.
- Mills, M. M., C. Ridame, M. Davey, L. LaRoche, and R. J. Geider (2004): Iron and phosphorus co-limit nitrogen fixation in the eastern tropical North Atlantic. *Nature*, **429**, 292–294.
- Moore, C. M., M. M. Mills, E. P. Achterberg, R. J. Geider, J. LaRoche, M. I. Lucas, E. L. McDonagh, X. Pan, A. J. Poulton, M. J. A. Rijkenberg, D. J. Suggett, S. J. Ussher, and E. M. S. Woodward (2009): Large-scale distribution of Atlantic nitrogen fixation controlled by iron availability. *Nat. Geosci.*, **2**, 867–871.
- Moutin, T., D. M. Karl, S. Duhamel, P. Rimmelin, P. Raimbault, B. A. S. V. Mooy, and H. Claustre (2008): Phosphate availability and the ultimate control of new nitrogen input by nitrogen fixation in the tropical Pacific Ocean. *Biogeosciences*, **5**, 95–109.
- Murphy, J., and J. P. Riley (1962): A modified single solution method for determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acta.*, **27**, 31–36.
- Oudot, C., and Y. Montel (1988): A high sensitivity method for the determination of nanomolar concentrations of nitrate and nitrite in seawater with a Technicon AutoAnalyzer. *Mar. Chem.*, **24**, 239–252.
- Raimbault, P., N. Garcia, and F. Cerutti (2008): Distribution of inorganic and organic nutrients in the South Pacific Ocean - evidence for long-term accumulation of organic matter in nitrogen-depleted waters. *Biogeosciences*, **5**, 281–298.
- Sañudo-Wilhelmy, S. A. (2006): A phosphate alternative. *Nature*, **439**, 25–26.
- Sañudo-Wilhelmy, S. A., A. B. Kustka, C. J. Gobler, D. A. Hutchins, M. Yang, K. Lwiza, J. Burns, D. G. Capone, J. A. Raven, and E. J. Carpenter (2001): Phosphorus limitation of nitrogen fixation by *Trichodesmium* in the central Atlantic Ocean. *Nature*, **411**, 66–69.
- Sarmiento, J. L., and N. Gruber (2006): Organic matter production, p.102–172. In *Ocean Biogeochemical Dynamics*, Princeton University Press, Princeton.
- Sato, M., F. Hashihama, S. Kitajima, S. Takeda, and K. Furuya (2010): Distribution of nano-sized *Cyanobacteria* in the western and central Pacific Ocean. *Aquat. Microb. Ecol.*, **59**, 273–282.
- Scharek, R., M. Latasa, D. M. Karl, and R. R. Bidigare (1999): Temporal variations in diatom abundance and downward vertical flux in the oligotrophic North Pacific gyre. *Deep-Sea Res. I*, **46**, 1051–1075.
- Shiozaki, T., K. Furuya, T. Kodama, S. Kitajima, S. Takeda, T. Takemura, and J. Kanda (2010): New estimation of N<sub>2</sub> fixation in the western and central Pacific Ocean and its marginal seas. *Global Biogeochem. Cycles*, **24**, GB1015, doi: 10.1029/2009GB003620.
- Sohm, J. A., E. A. Webb, and D. G. Capone (2011): Emerging patterns of marine nitrogen fixation. *Nat. Rev. Microbiol.*, **9**, 499–508.
- Strickland, J. D. H., and T. R. Parsons (1972): *A Practical Handbook of Seawater Analysis, 2nd ed.* Bull. Fish. Res. Board Can., Ottawa, 310 pp.
- Suzumura, M., and E. D. Ingall (2004): Distribution and dynamics of various forms of phosphorus in seawater: insights from field observations in the Pacific Ocean and a laboratory experiment. *Deep-Sea Res. I*, **51**, 1113–1130.
- Suzumura, M., F. Hashihama, N. Yamada, and S. Kinouchi (2012): Dissolved phosphorus pools and alkaline phosphatase activity in the euphotic zone of the western North Pacific Ocean. *Front. Microbiol.*, **3**, 99, doi: 10.3389/fmicb.2012.00099.
- Sverdrup, H. U. (1955): The place of physical oceanography in

- oceanographic research. *J. Mar. Res.*, **14**, 287–294.
- Takemura, T., H. Okamoto, Y. Maruyama, A. Numaguti, A. Higurashi, and T. Nakajima (2000): Global three-dimensional simulation of aerosol optical thickness distribution of various origins. *J. Geophys. Res.*, **105**, 17853–17873.
- Utermöhl, H. (1958): Zur Vervollkommung der quantitativen Phytolankton-Methodik. *Mitt. Int. Ver. Limnol.*, **9**, 1–39.
- Whitledge, T. B., S. C. Malloy, C. J. Patton, and C. D. Wirick (1981): *Automated Nutrient Analysis in Seawater*. Brookhaven National Laboratory, New York, 216 pp.
- Wu, J., W. Sunda, E. A. Boyle, and D. M. Karl (2000): Phosphate depletion in the western North Atlantic Ocean. *Science*, **289**, 759–761.
- Zapata, M., F. Rodríguez, and J. L. Garrido (2000): Separation of chlorophylls and carotenoids from marine phytoplankton: a new HPLC method using a reversed phase C<sub>8</sub> column and pyridine-containing mobile phases. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **195**, 29–45.
- Zhang, J. Z. (2000): Shipboard automated determination of trace concentrations of nitrite and nitrate in oligotrophic water by gas-segmented continuous flow analysis with a liquid waveguide capillary flow cell. *Deep-Sea Res. I*, **47**, 1157–1171.
- Zhang, J. Z., and J. Chi (2002): Automated analysis of nanomolar concentrations of phosphate in natural waters with liquid waveguide. *Environ. Sci. Technol.*, **36**, 1048–1053.



# A biogeochemical study in surface waters of the subtropical ocean using a highly-sensitive method for measuring nanomolar nutrients

Fuminori Hashihama<sup>†</sup>

## Abstract

To understand nutrient biogeochemistry in vast oligotrophic subtropical ocean, surface distributions of nanomolar nutrients were investigated in extensive regions of the Pacific Ocean using a highly-sensitive method with a long-path liquid-waveguide spectrophotometry. Nitrate+nitrite concentrations were consistently depleted in most of the study area ( $<10$  nM). In contrast, phosphate concentrations varied from the detection limit (3 nM) to 300 nM over the study area. Despite the prominence of excess phosphate in most of the regions, an almost complete depletion of phosphate ( $<10$  nM) was observed at a horizontal scale of  $>2,000$  km in the western North Pacific. Phosphate depletions were also observed at a horizontal scale of  $<100$  km in the vicinity of the South Pacific islands. These depletions were ascribed to phytoplankton utilization of phosphate, and active dinitrogen fixation, as enhanced by iron supply, likely contributed to the utilization. Furthermore, characterization of dissolved organic phosphorus (DOP) and its distribution pattern were investigated in the western North Pacific and the East China Sea using the highly-sensitive method with an enzymatic procedure. In the phosphate-depleted waters where alkaline phosphatase (AP) activity was remarkably high, AP-labile fraction of total DOP was depleted ( $<10$  nM) compared with that in the phosphate-replete waters. This implies that ambient labile DOP is actively hydrolyzed under phosphate-depleted conditions and utilized by microorganisms as an alternative of phosphate.

**Key words:** subtropical Pacific Ocean, liquid waveguide capillary cell,  
nanomolar nutrients, dinitrogen fixation, dissolved organic phosphorus

(Corresponding author's e-mail address: f-hashi@kaiyodai.ac.jp)

(Received 10 June 2013; accepted 5 July 2013)

(Copyright by the Oceanographic Society of Japan, 2013)

---

<sup>†</sup> Department of Ocean Sciences, Tokyo University of Marine Science and Technology,  
4-5-7 Konan, Minato, Tokyo 108-8477, Japan