

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 1 日現在

機関番号：12614

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22710006

研究課題名（和文）リン酸塩枯渇海域における易分解性溶存有機態リンの動態に関する研究

研究課題名（英文）Study on dynamics of labile dissolved organic phosphorus in phosphate-depleted marine environments

研究代表者

橋濱 史典（HASHIHAMA FUMINORI）

東京海洋大学・海洋科学部・助教

研究者番号：80535807

研究成果の概要（和文）：リン酸塩枯渇の顕著な西部北太平洋亜熱帯海域を対象フィールドとし、当該海域の有機物生産を支えるリン源としての易分解性溶存有機態リン（LDOP）の重要性を評価した。現場海域において、新たに開発した高感度分析法を導入した観測を実施し、LDOPをはじめとする各形態のリンの空間分布を明らかにした。観測海域全域を通してLDOPはリン酸塩と同様な挙動を示しており、リン源として重要であることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：A potential importance of labile dissolved organic phosphorus (LDOP) as a P source for microorganisms was evaluated in the phosphate-depleted waters of the western subtropical North Pacific. Application of highly sensitive colorimetric analysis enabled to detect horizontal distributions of LDOP and other P forms. Distribution pattern of LDOP was similar to that of phosphate, suggesting that LDOP is important as the P source.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,100,000	630,000	2,730,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：環境学・環境動態解析

キーワード：化学海洋

1. 研究開始当初の背景

リンは、生体内において重要な働きを担う化合物中に存在しており、炭素、窒素などと同様に生物にとって必須の元素である。水圏環境においては、主として溶存無機態のリン酸塩が植物プランクトンに同化され、粒状有機物に組み込まれる。粒状有機物は従属栄養生物の代謝により、分解・無機化され、リンは再利用されて循環する。溶存有機態リン（DOP）は、この循環過程において粒状有機物が

らの滲出や排出により生産されるもので、その組成は大きくリン酸モノエステル（C-O-P結合を持つ）とホスホン酸（C-P結合を持つ）に分かれる。前者は後者に比べて結合が弱く、アルカリフォスファターゼ（AP）によって容易に分解され、植物プランクトンやバクテリアに利用されることが知られている（Hoppe, 2003）。本研究では、実験操作上、海水試料にAPを添加した際に加水分解されるDOPを易分解性溶存有機態リン（LDOP）と定義する

(Strickland and Parsons, 1972)。

亜熱帯海域は、地球の表面積の約半分を占める領域であり、全球規模での二酸化炭素収支およびそれに関連する気候変動を考える上で極めて重要な海域である。これまでの亜熱帯海域における炭酸系の研究では、表層の全炭酸濃度が夏季に低く、冬季に高くなる季節変動を示し、夏季の全炭酸低下は主に植物プランクトンによる正味の有機物生産に起因することが指摘されている (e.g. Bates et al., 1996; Ishii et al., 2001)。正味の有機物生産があるとすれば、それに見合うだけの正味の栄養塩同化があり、栄養塩類の濃度低下が起こるか、それを補償する系外からの供給があるはずである。しかしながら、亜熱帯海域表層における硝酸塩やリン酸塩の濃度は常法ではほとんどが検出限界以下で年間を通して枯渇しているため、有機物生産を支える栄養塩供給プロセスについては不明な点が多い。近年、溶存窒素ガスを同化する窒素固定についての研究が盛んに行われており、亜熱帯海域において高い窒素固定活性が報告されるようになってきた (e.g. Kitajima et al., 2009)。一方、リンについては窒素固定のような系外からの供給はなく、大部分が閉じた系内で再生すると考えられる (Karl, 2002)。この場合、生物的に同化可能なリンの濃度低下があるはずである。

研究代表者は太平洋の亜熱帯海域においてリン酸塩の高感度分析法を用いた観測をはじめて行い、全域におけるリン酸塩濃度が検出限界 (3 nM) から 300 nM の範囲で変動する中で、西部北太平洋では水平距離 2000 km 以上の領域で検出限界付近の濃度まで枯渇していることを見出した (Hashihama et al., 2009)。西部北太平洋ではリン酸塩濃度が極めて低いレベルまで低下しているため、正味の有機物生産に見合う LDOP 同化の可能性が考えられる。これまで西部北太平洋を含む亜熱帯海域で計測された表層の DOP 濃度は、>100 nM であり、リン酸塩のように枯渇する事例は認められていない (Abell et al., 2000; Suzumura and Ingall, 2004)。このことから DOP は重要なリン源となり得る可能性が示唆されるが、生物的に利用しやすい LDOP の濃度分布やそれらと DOP や粒状リン (PP) との存在比についてはほとんどわかっていないのが現状である。

2. 研究の目的

亜熱帯海域における LDOP 濃度は、常法では検出限界 (20 nM) 以下であり (Moutin et al., 2008)、ナノモルレベルでの濃度変動はこれまで全く明らかにされていない。西部北太平洋亜熱帯域のような

リン酸塩枯渇域において、LDOP が有機物生産を支える重要なリン源である可能性を実証するためには、高感度分析を導入した現場観測によって LDOP をはじめとしたリン酸塩、DOP、PP の濃度分布を調べ、それらの時空間変動を明らかにすることがカギとなる。本研究では、海水中の各種リン濃度を高感度で計測するための吸光光度分析法を開発し、その手法を用いて現場観測を実施して LDOP をはじめとする各形態のリンの動態を解析する。これにより、リン酸塩枯渇海域における正味の有機物生産を支えるリン供給源について明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 高感度分析に関する検討

一般に、海水中のリン酸塩濃度はモリブデンブルー法 (Murphy and Riley, 1962) を用いて測定される。LDOP、DOP、PP についてはそれぞれ前処理を行いリン酸塩に分解後、モリブデンブルー法で測定される。本研究では、高感度化をはかるために検出部に 1 m の長光路キャピラリーセルを組み込んだ連続フロー型吸光光度分析装置を作製し、モリブデンブルー法に適用した。

LDOP 濃度は、試料に大腸菌由来の AP を添加して LDOP をリン酸塩に分解後、LDOP+リン酸塩濃度を測定し、その濃度から AP 非添加試料のリン酸塩濃度を差し引いて求める (Strickland and Parsons, 1972)。この手法を高感度分析に適用する際に、AP 中のリン酸塩のコンタミが濃度決定に影響を及ぼす可能性が考えられたため、AP 中のリン酸塩含有量について調べた。また、AP 添加後の試料中において微生物がリン酸塩を消費する可能性が考えられたため、アザイドを用いた生物活性阻害および過による生物除去が有効かどうかを検討した。AP による加水分解効率を調べるために、各種リン化合物を用いた分解実験も行った。

DOP 濃度は、ろ液試料にペルオキシ二硫酸カリウム溶液を添加して高压加熱分解処理を行いリン酸塩に分解後、DOP+リン酸塩濃度を測定し、その濃度からリン酸塩濃度を差し引くことで求める (Hansen and Koroleff, 1999)。ペルオキシ二硫酸カリウム溶液自体および分解処理によって生じる遊離塩素がリン酸塩の高感度分析に及ぼす影響を把握するため、それぞれの吸光度と純水ブランクの吸光度とを比較した。分解処理による回収率についても各種リン化合物を用いて調べた。

PP 濃度は、ろ過で得られるフィルター試料にペルオキシ二硫酸カリウム溶液を添加し、高压加熱分解処理した後、リン酸塩濃度を測定して求める (Suzumura, 2008)。DOP の検討実験と同様に、ペルオキシ二硫酸カリウム溶

液の高感度分析に及ぼす影響を検討し、各種リン化合物を用いた回収率に関する実験を行った。

(2) 西部北太平洋亜熱帯域における観測

観測は、海洋研究開発機構「淡青丸」によるKT-10-13およびKT-10-19次航海、東京海洋大学「神鷹丸」による第83次航海において行った。KT-10-13次航海では、2010年7月に紀伊半島沖の137°E線上を34°Nから30°Nまで南下する間の4測点で実施した。KT-10-19次航海では、2010年9月に南西諸島周辺の129°E、30°Nおよび127°E、28°Nの2測点で行った。第83次航海では、2011年1月に西部北太平洋亜熱帯外洋域の141°E線上を29°Nから13°Nまで南下する間の計8測点において行った。いずれの測点においても、CTD+ニスキン採水器を用いた水深200 mまでの鉛直観測を行い、LDOP、リン酸塩、DOP、PPの試料を得た。各形態のリンの濃度は、各項目について前処理した後、高感度分析装置を用いて測定した。なお、2009年10月にも「神鷹丸」による第79次航海が実施され、伊豆・小笠原周辺海域の141°E線上を34°Nから30°Nまで南下する間の計4測点において上記と同様の観測を行った。この航海は研究期間外に実施されたものであるが、得られた観測結果は、LDOPの分布を明らかにする上で非常に有用であったため、本研究成果に組み込んだ。

4. 研究成果

(1) 高感度分析法の確立

連続フロー型吸光度分析装置に長光路キャピラリーセルを組み込むことにより、リン酸塩の高感度分析が可能となった。ブランクおよび標準溶液のマトリックスには、マグネシウム共沈法 (Karl and Tien, 1992) によりリン酸塩を沈殿除去した海水が最も適していた。この分析システムの検出限界は3 nMであった。

LDOP分析に関する検討実験では、まず、AP中にリン酸塩が10~17 nM含まれることが明らかとなった。このため、毎回AP中のリン酸塩含有量を調べてLDOP濃度を補正する必要があると結論された。また、アザイド添加および無添加試料のLDOP濃度を比較したところ、添加試料に比べて無添加試料の濃度が有意に低くなった。これは無添加試料において生物がリン酸塩を消費したことを示唆している。一方、ろ過の有無によるLDOP濃度の違いを調べた結果、両者に有意な差は認められなかった。おそらく、ろ過に用いたフィルター (孔径0.7および0.2 μm) では、バクテリアなどの微生物を完全に除去することができず、ろ過の有無に限らずリン酸塩が消費されていたと考えられる。従って、AP添加後の試料中のリン酸塩濃度の変化を抑

えるためには、アザイド添加が有効であると結論された。APによる加水分解効率に関する実験では、リン酸モノエステルの化合物はATPとフィチン酸を除いてほぼ完全に分解された。ホスホン酸およびポリリン酸の化合物はほとんど分解されなかった。

DOP分析の検討については、ペルオキシ二硫酸カリウム溶液の添加により、吸光度がわずかに上昇することがわかった。これにより、ペルオキシ二硫酸カリウム溶液自体の吸光度をブランク吸光度に含める必要があると結論された。また、遊離塩素の吸光度に及ぼす影響についても明らかとなった。高压加熱分解後の3%NaCl溶液と純水の吸光度を比較したところ、3%NaCl溶液において有意に高い吸光度が認められた。実際の海水には3%NaCl溶液と同程度の塩素が含まれているため、海水試料からも高压加熱分解後に遊離塩素が生じると考えられる。マグネシウム共沈法により作成したリン酸塩フリー海水はDOPを含むため、DOP分析のブランクおよび標準溶液のマトリックスには、3%NaCl溶液を用いることが適当だと結論された。高压加熱分解処理によるリン化合物の回収率は、リン酸モノエステル、ホスホン酸、ポリリン酸の大部分についてほぼ100%を示した。ただし、2-アミノエチルホスホン酸のみ、~60%と低い回収率であった。この化合物が海洋にどの程度存在するかは十分に明らかにされていないが、本分析法ではDOP濃度を過小評価する可能性がある。今後は、添加するペルオキシ二硫酸カリウム溶液をより高濃度にするなどして、回収率を高める必要があると考えられる。

PP分析の検討では、フィルター自体は吸光度に影響を及ぼすことはなかったが、ペルオキシ二硫酸カリウム溶液自体が吸光度を上昇させた。DOP分析の場合と同様に、ペルオキシ二硫酸カリウム溶液自体の吸光度をブランク吸光度に含めることが必須となった。高压加熱分解処理によるリン化合物の回収率は、リン酸モノエステル、ホスホン酸、ポリリン酸についてほぼ100%を示した。

(2) 各形態のリンの分布

① 表面分布

全域における表層のリン酸塩濃度は、4~38 nMで変動した (図1)。この濃度分布と海洋学的な地理区分 (Tomczak and Godfrey, 1994) に基づき、便宜上4つの領域に区分けした。17~25°Nの測点は亜熱帯循環の中央部に位置し、4~8 nMと他の測点に比べて極めて低かった。この領域を亜熱帯循環域とした。亜熱帯循環域以南の13°Nの測点では、38 nMと高濃度であった。この測点は、Hashihama et al. (2009) で報告されたリン酸塩濃度が上昇する15°N以南の北赤道海流域に含まれる。

135°Eより東側の27~34°Nの測点では4~29 nMと比較的大きな変動幅を示した。これらの測点は異なる時期に観測されており、大きな変動幅の原因は主として下層からのリン酸塩供給量の季節的な違いによるものと推察される。この領域は地理的に黒潮の流路に一致するため、黒潮周辺域とした。南西諸島近傍の2測点では17, 25 nMと高濃度であり、この領域は南西諸島周辺域とした。

表層のLDOP濃度は<3~79 nMで変動した(図2)。亜熱帯循環域では23°Nの測点以外では<3~7 nMであり、リン酸塩と同様にどの領域よりも低濃度であった。北赤道海流域におけるLDOP濃度は比較的高く、16 nMであった。黒潮周辺域では141°E, 34°Nの測点で79 nMと高濃度であり、それ以外では4~20 nMであった。南西諸島周辺域では13, 15 nMと比較的高濃度であった。全域を通してリン酸塩濃度の高い測点ではLDOP濃度も高く、リン酸塩濃度の低い測点ではLDOP濃度も低い傾向があった。

表層のDOPおよびPP濃度は46~185 nMおよび6~35 nMの範囲でそれぞれ変動した。DOPおよびPPについては、海域における明瞭な濃度差は認められなかった。

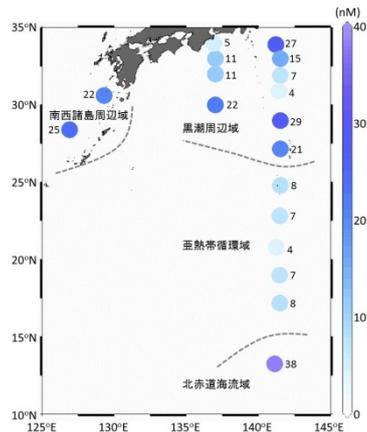


図1. リン酸塩濃度の表面分布.

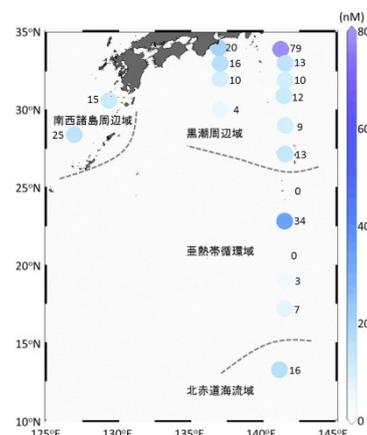


図2. LDOP濃度の表面分布.

② 鉛直分布

LDOP濃度は大部分の測点において表層混合層内では一様に低く、混合層以深で上昇する鉛直分布を示した(例、図3)。リン酸塩については、LDOPと似た鉛直分布型が認められた。一方、DOPは鉛直的に均一もしくは混合層以深で低下する傾向を示した。PPについては混合層内で高く、それ以深で低下する鉛直分布型を示した。LDOPはリン酸塩と同様な鉛直分布を示す一方、粒状リンの鉛直分布とは対称的であることから、リン酸塩と同様に生物に利用されていることが推察された。

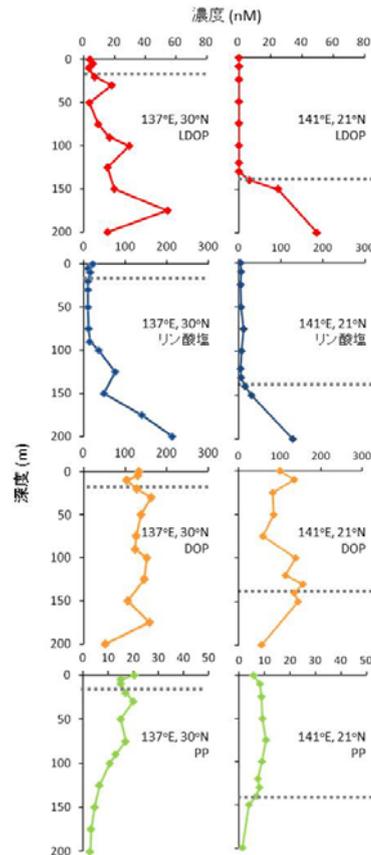


図3. 黒潮周辺域(左)および亜熱帯循環域(右)における各形態のリンの鉛直分布。破線は混合層深度。

③ LDOP/DOP

全測点、全採水層を対象として、リン酸塩濃度とDOP濃度に占めるLDOP濃度の割合の関係をみると、リン酸塩濃度が概ね20 nM以下に低下している領域においてLDOP/DOPが顕著に低くなっていた(図4)。Mather et al. (2008)は、大西洋亜熱帯域におけるAP活性が、リン酸塩が低濃度の領域で高く、リン酸塩が高濃度の領域で低くなることを報告した。また、Suzumura et al. (2012)は、KT-10-13次航海の本研究と同一の測点においてリン酸塩が20 nM以下になるとAP活性が顕著に高くなることを報告した。これらのことを考慮すると、本研究海域においてもリン酸塩が20 nM以下の領域では、AP活性が

顕著に高く、LDOP が加水分解され、生じたリン酸塩は生物によって積極的に利用されていたと解釈される。以上より、LDOP はリン酸塩枯渇域における有機物生産を支えるリン源として重要であることが示唆された。

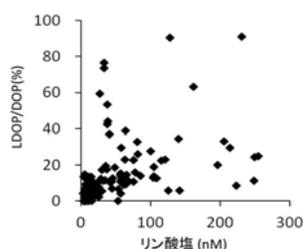


図 4. リン酸塩濃度と LDOP/DOP の関係.

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 4 件)

- ① M. Suzumura, F. Hashihama, N. Yamada, S. Kinouchi, 2012, Dissolved phosphorus pools and alkaline phosphatase activity in the euphotic zone of the western North Pacific Ocean, *Frontiers in Microbiology* 3, doi:10.3389/fmicb.2012.00099, 査読有
- ② T. Kodama, K. Furuya, F. Hashihama, S. Takeda, 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, *Journal of Geophysical Research* 116, doi:10.1029/2010JC006814, 査読有
- ③ F. Hashihama, H. Umeda, C. Hamada, S. Kudoh, T. Hirawake, K. Satoh, M. Fukuchi, Y. Kashino, 2010, Light acclimation states of phytoplankton in the Southern Ocean, determined using photosynthetic pigment distribution, *Marine Biology* 157, 2263-2278, doi:10.1007/s00227-010-1494-5, 査読有
- ④ M. Sato, F. Hashihama, S. Kitajima, S. Takeda, K. Furuya, 2010, Distribution of nano-sized cyanobacteria in the Pacific Ocean, *Aquatic Microbial Ecology* 59, 273-282, doi:10.3354/ame01397, 査読有

[学会発表] (計 5 件)

- ① 橋濱史典、木内新子、神田穰太、貧栄養海域における栄養塩動態と易分解性DOPの役割、東京大学大気海洋研究所共同利用研究集会、2011年10月3日、東京大学 (東京都)
- ② 木内新子、橋濱史典、神田穰太、西部北太平洋亜熱帯海域における易分解性DOPの空間分布、日本海洋学会、2011年9月27日、九州大学 (福岡県)
- ③ 橋濱史典、木内新子、神田穰太、貧栄養

海域におけるリン動態解析—高感度分析によるアプローチ、日仏海洋学会、2011年6月18日、日仏会館 (東京都)

- ④ 鈴木亘、橋濱史典、神田穰太、湿式酸化法を用いた溶存全窒素測定における塩化物および臭化物イオンの影響、日本海洋学会、2011年3月14日、東日本大震災のため講演要旨集での発表となった
- ⑤ 児玉武稔、古谷研、橋濱史典、神田穰太、太平洋熱帯・亜熱帯海域表層におけるアンモニウム塩の広域分布、日本海洋学会、2011年3月14日、東日本大震災のため講演要旨集での発表となった

6. 研究組織

(1) 研究代表者

橋濱 史典 (HASHIHAMA FUMINORI)
東京海洋大学・海洋科学部・助教
研究者番号：80535807

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：