

アオコ発生時における現場型蛍光法による クロロフィル濃度測定の問題点

中山大介¹・大塚泰介²・瀬戸浩二³・山口啓子⁴

Problems of vertical profile of chlorophyll concentration measured by *in vivo* method under water-bloom condition

Daisuke Nakayama¹, Taisuke Ohtsuka², Koji Seto³ and Keiko Yamaguchi⁴

Abstract : Vertical profiles of chlorophyll concentration, salinity, water temperature, illuminance and phytoplankton species composition in Lake Shinji were surveyed in November 11 1999. The chlorophyll concentration determined by spectral absorption method was the highest at surface. Determined by *in vivo* method, in contrast, the concentration at the surface was less than that in the lower water column. Probably *in vivo* method was not able to detect the high concentration of *Microcystis* sp. at the thin surface layer. Relatively high chlorophyll concentration determined by *in vivo* method in the lower water column was possibly caused by low phytoplankton activity.

Key words : chlorophyll concentration, *in vivo* method, Lake Shinji, vertical profile, water-bloom

はじめに

湖の生態系において食物連鎖の底辺にあたるものは、植物プランクトンなどによる光合成すなわち一次生産である。一次生産量は、湖の環境保全を考える上で非常に重要な情報であり、とりわけ漁業生産および水質汚濁と密接な関係がある。したがって、湖全体の一次生産量が推定されれば、漁業および環境保全への有効な利用が期待され、将来的には湖の環境情報のデータベース化とそれに対応した水質予測モデルの構築に役立つ。

本研究で調査地とした宍道湖は、島根県東部に位置し、日本全国の湖沼の中で漁獲量が1番多い(國

井ほか, 1993)。これは宍道湖が生産性の高い汽水湖であるためである(大谷, 1997)。現在、クロロフィル *a* 濃度の測定が建設省出雲工事事務所、島根県内水面水産試験場、島根県衛生公害研究所などによって定期的に行われている。しかし、同湖における一次生産量の推定は、ほとんど行われていない(國井 1996)。

湖全体の一次生産量を推定するためには、まず植物プランクトンの空間分布を同時に把握する必要がある。中海・宍道湖では、衛星や航空機を使ったリモートセンシングにより、湖全体のクロロフィル *a* 濃度分布を同時に、かつ広域的に推定する技術が検討されている(作野ほか, 1999 a)。この方法に

¹ 元島根大学大学院理学研究科 Former ; Department of Geoscience, Shimane University, Matsue, Shimane 690-8504, Japan

² 島根大学汽水域研究センター Research Center for Coastal Lagoon Environments, Shimane University, Matsue, Shimane 690-8504, Japan

³ 島根大学総合理工学部地球資源環境学科 Department of Geoscience, Shimane University, Matsue, Shimane 690-8504, Japan
e-mail ; seto@riko.shimane-u.ac.jp

⁴ 島根大学生物資源科学部 Faculty of Life and Environmental Science, Shimane University, Matsue, Shimane 690-8504, Japan

は、植物プランクトンの水平分布を完全に同時に把握できるという利点がある。しかし湖沼におけるリモートセンシングでは表層の情報しか検出できない可能性が高く(作野ほか, 1999 b), 水柱の植物プランクトンの総量を議論する場合には表層クロロフィル *a* 濃度データだけでは不十分である。

植物プランクトンの鉛直分布を知るために有効な手段の1つとして、植物プランクトンの蛍光特性を利用した現場型 (*in situ*) の蛍光法によるクロロフィル濃度の測定がある。現場型蛍光法には、細胞懸濁 (*in vivo*) のまま測定が可能であること、採水作業が不要であり迅速に行えること、数 cm 間隔のデータを取得できるといった利点がある。ただし、この方法による測定値の信頼度は低く、大きな誤差を含んだ近似値であるため、あらかじめ吸光光度法を併用して検量線を作成する必要がある(海洋観測指針, 1990)。中山ほか(1999)は、現場蛍光法によって測定された宍道湖・中海の表層クロロフィル *a* 濃度が、吸光光度法による表層クロロフィル *a* 濃度と高い相関を示したことを報告した。しかしこの研究では、鉛直分布については現場蛍光法と吸光光度法の比較がなされておらず、また測定値に影響を及ぼすであろう植物プランクトンの種組成との関係が論じられていない。特にアオコ発生時には、クロロフィル *a* 濃度の鉛直分布に偏りが生じやすいため、鉛直分布を知ることが重要になる。

そこで筆者らは、アオコが発生した時期の宍道湖において現場型蛍光法によってクロロフィル *a* 濃度の鉛直分布を測定し、吸光光度法による結果と比較するとともに、植物プランクトンの現存量および種組成との対応を検討することにした。

方 法

観測は1999年11月11日に宍道湖湖心(35°27'N, 132°58'E)で行った(図1)。この日の天候は曇り、無風で湖面は穏やかな状態であった。

現場では透明度、水質(クロロフィル濃度、水温、塩分、照度)の測定、および湖水の採水を行った。透明度の測定にはセッキ板(30 cm)を使用し、クロロフィル、水温、塩分、照度の測定には水中投下式鉛直クロロフィル測定装置(ACL 1151-DK: アレック電子製)を使用した(図2)。測定方法は中山ほか(1999)に従った。また、3 l のバンドン採水器(離合社製)を用いて、水深0 m から5 m まで1 m 間隔で採水し、クロロフィルの定量と、植物プランクト

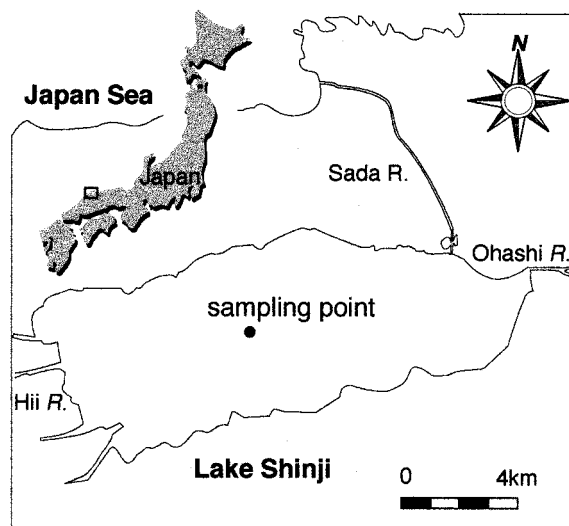


図1 調査地点

Fig. 1 Map showing sampling point

ンの同定・計数に用いた。

試料水をガラス繊維フィルター(Whatman, GF/F)で1 l ろ過し、アセトンで抽出した後、UNESCO法およびLorenzen法でクロロフィル濃度を定量した。植物プランクトンの同定・計測は以下の方法で

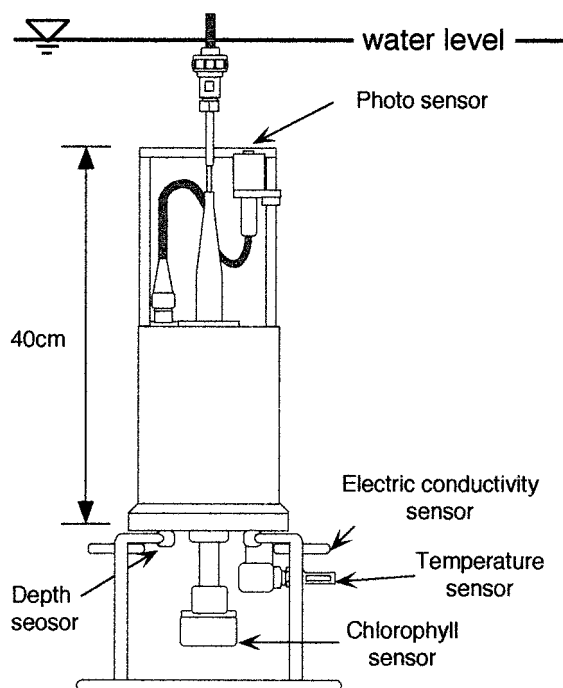


図2 現場型センサーの外観

Fig. 2 Appearance of vertical chlorophyll-a measurement apparatus ACL 1151-DK

行った。試料水 100 ml をグルタルアルデヒドで固定し、1 週間静置した後、上澄み液を捨てて 2 ml の濃縮試料とした。濃縮試料をピペットマンで $5\mu\text{l}$ とり、スライドガラス上に滴下して、 $18\text{mm}\times 18\text{mm}$ のカバーガラスをかけてプレパラートとした。この際、試料がカバーガラスの外にはみ出していない事を確認した。プレパラートを、接眼グリットを備えた顕微鏡下で 400 倍で検鏡した。カバーガラス上に 2 mm 間隔で 81 個の格子点を設定し、それぞれの格子点を視野の中心として、接眼グリット内に細胞の中心がある藻類の細胞を同定・計測した。同様の計数を、プレパラートを代えて 4 回繰り返した。各種の細胞数に 1 細胞あたりの体積を乗じて細胞の体積を算出した。*Microcystis* sp. については、直径 $5\mu\text{m}$ の球形とした(大塚, 2000)。*Cyclotella* spp. については、20 細胞の直径と帯面の高さを測定し、その平均値をもとに円柱近似によって体積を算出した。ほかの種については宍道湖・中海水系の藻類研究会(1996)の記述に従い、球体または垂球形体近似によって体積を算出した。

結果および考察

(1) 現場蛍光法の水質結果

水中投下式鉛直クロロフィル測定装置によって得られた水質分布の観測結果を図 3 に示す。照度については 0 m の入射光を 100% とした相対照度で示した。現場蛍光法によるクロロフィル *a* 濃度(以下、 $\text{Chl-}a_{\text{in vivo}}$ 濃度)は、5 m まで水深と共に増加する分布を示した。このような分布は、宍道湖で多く観察されてきた(中山ほか, 1999)。ただし、湖底付近(5 m 以深)の $\text{Chl-}a_{\text{in vivo}}$ 濃度には、ばらつきが見られた。

塩分は、0 m から 4.7 m まで 4.5 psu と、均一な分布を示した。その下層の分布は段階的に増加しており、湖底直上の塩分は 13.4 psu であった。水温は、0 m から 4.7 m まで $14.6\sim 14.9^\circ\text{C}$ の範囲でほぼ均一な分布を示した。それ以下では水深と共に高温になり、湖底直上の水温は 17.9°C であった。また、水深 3.1 m で相対照度が 1% になった。したがって水深 3.1 m 付近が、植物プランクトンの呼吸と光合成が等しくなる補償深度であったと考えられる(有賀, 1973)。

(2) クロロフィル分析結果

水深別に採水したの UNESCO 法で求めたクロロ

フィル濃度(以下、クロロフィル *a* 濃度を $\text{Chl-}a_U$ 濃度、クロロフィル *b* 濃度を $\text{Chl-}b$ 濃度、クロロフィル *c* 濃度を $\text{Chl-}c$ 濃度、各クロロフィル濃度の合計を $\text{Chl-}U_{\text{total}}$ 濃度と略す)と、Lorenzen 法で求めたクロロフィル濃度(クロロフィル *a* 濃度を $\text{Chl-}a_L$ 濃度、フェオフィチン濃度を Pheao. 濃度、 $\text{Chl-}a_L$ 濃度、Pheao. 濃度の合計を、 $\text{Chl-}L_{\text{total}}$ 濃度と略す。)を表 1 に示す。 $\text{Chl-}U_{\text{total}}$ 濃度、 $\text{Chl-}a_U$ 濃度は 0 m で最大で、相対的に表層より下層のほうが低い値を示した。 $\text{Chl-}b$ 濃度、 $\text{Chl-}c$ 濃度は 0 m で低く、2 m に 1 つのピークを形成するが、水柱全体としてみると水深が大きいほど高い値を示す傾向が見られた。また、 $\text{Chl-}L_{\text{total}}$ 濃度、 $\text{Chl-}a_L$ 濃度は 0 m で最大で、水深の増加とともに濃度が低くなっていった。Pheao. 濃度は、わずかではあるが水深が大きいほど高い値を示す傾向が見られた。

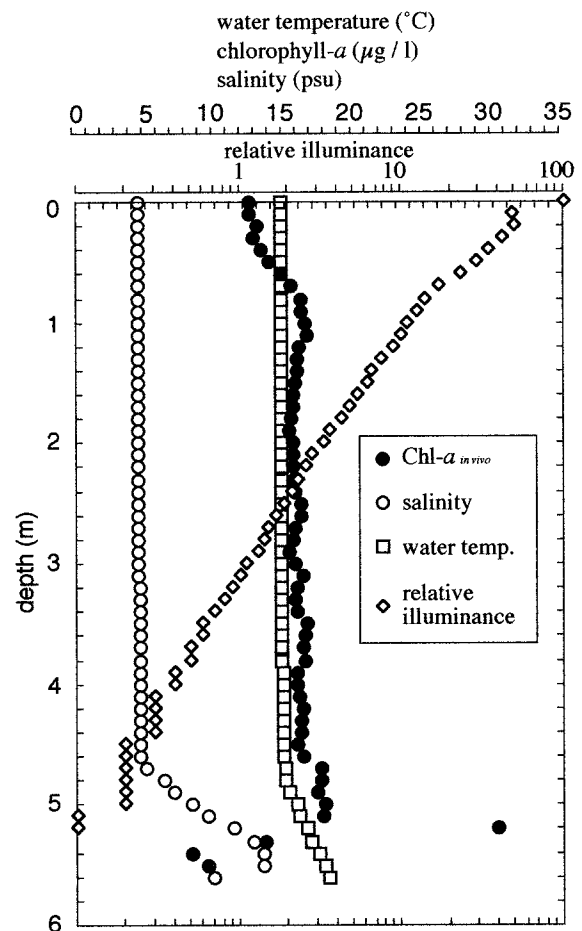


図3 クロロフィル濃度、塩分、水温、照度の鉛直分布

Fig.3 Vertical profiles of chlorophyll concentration ($\mu\text{g/l}$), salinity (psu), water temperature and relative illuminance

表1 宍道湖における吸光光度法によって算出した鉛直クロロフィル濃度分布。

Table 1 Vertical distribution of chlorophyll concentration used spectral absorption at the center of Lake Shinji.

depth	UNESCO							Lorenzen	
	Chl- <i>a</i> <i>in vivo</i> µg/l	Chl- <i>a</i> <i>U</i> µg/l	Chl- <i>b</i> µg/l	Chl- <i>c</i> µg/l	Chl- <i>U</i> total µg/l	Chl- <i>a</i> <i>L</i> µg/l	Pheo. µg/l	Chl- <i>L</i> total µg/l	
0	12.4	14.3	0.4	1.5	16.1	12.8	2.1	15.0	
1	16.4	13.6	1.6	5.5	20.8	11.9	2.9	14.8	
2	15.6	10.2	0.1	1.4	11.7	9.0	2.1	11.1	
3	15.9	9.7	0.3	2.6	12.7	8.6	2.4	11.0	
4	17.9	7.9	0.4	3.4	11.7	6.3	2.8	9.2	

(3) 植物プランクトンの種組成

植物プランクトンの種組成を表2に示す。植物プランクトンの種組成の特徴は、0 mにおける藍藻類が39.68 mm³/ℓと全体の94%を占めていたことである。特にアオコの構成種であった*Microcystis* sp.が全体の93%の割合で優占していた。また、1 mでは*Microcystis* sp.の独占的な優占はなくなり、珪藻類、緑藻類(広義)の出現する割合が多くなった。1 m以下では、種の割合に変化が少なく、分類群ごとの割合の平均は、藍藻類が60%、珪藻類が27%、緑藻類が10%であった。珪藻類の*Cyclotella* spp.は、宍道湖における優占種であり、緑藻類の*Dictyosphaerium ehrenbergianum*も、たびたび宍道湖で見られる(大谷, 1997)。なお、通常、宍道湖でアオコを形成する種は、*Microcystis aeruginosa*であるとされてきた(大谷, 1997)が、今回みられた*Microcystis* sp.は、典型的な*M. aeruginosa*とは形態が異なっていた。このことについては大塚(2000)で詳しく議論されている。

(4) 現場蛍光法および吸光光度法のChl.濃度分布

現場蛍光法および吸光光度法で求めた各Chl.濃度の鉛直分布を図4に示す。Chl-*U* total濃度、Chl-*a* *U*濃度、Chl-*L* total濃度、Chl-*a* *L*濃度の分布は、ともにChl-*a* *in vivo*濃度のそれと異なった。その要因として、1)測定時における問題、2)光合成と照度の関係、の2つが考えられる。

1)測定時の問題：今回用いた測定装置の深度センサーとクロロフィルセンサーの位置の違いが、測定結果に影響したと思われる。図2で示した装置は深度センサーよりも約20 cm下部にクロロフィルセンサーが設置されている。従って水深0 mの測定値は実際には水深約20 cmのものであった可能性が高い。一方、肉眼観察でアオコは、ごく表層にマッ

表2 宍道湖における植物プランクトンの鉛直分布
Table 2 Vertical distribution of phytoplankton at the center of Lake Shinji

Taxa	0m	1m	2m	3m	4m
Cyanophyceae					
<i>Microcystis</i> sp.	39.29	3.22	3.74	3.56	3.45
<i>Woronichinia</i> sp.	0.30	0.44	0.31	0.29	0.61
Others	0.09	0.11	0.06	0.38	0.25
Bacillariophyceae					
<i>Cyclotella</i> spp.	2.01	1.97	1.75	1.75	1.81
Others	0.00	0.00	0.06	0.06	0.06
Chlorophyceae					
<i>Dictyosphaerium ehrenbergianum</i>	0.44	0.93	0.42	0.70	0.42
Others	0.19	0.04	0.25	0.16	0.07
Others	0.01	0.14	0.00	0.22	0.34
total	42.33	6.85	6.59	7.12	7.01

ト状のコロニーを形成していた。したがってセンサーを投入した際に、ごく表層にあった実際のピークを、クロロフィルセンサーが検知できず、0 mの測定が正確に行えなかった可能性がある。

2)光合成と照度の関係：今回の測定ではクロロフィルセンサーから発せられた400~480 nmの光は、光合成色素によって吸収され、植物プランクトンの蛍光をもたらす。しかし、生きた植物プランクトンが発する蛍光の強度は、必ずしも含有されるChl-*a*濃度に比例しない。植物プランクトンの活性が低いほど光合成色素が吸収した光エネルギーのうち、蛍光として放出される割合が増大する(石丸, 1990)。今回、Chl-*a* *L*濃度とPheo.濃度の割合をみるとPheo.濃度の割合が下層で高くなっていた。このことから下層の植物プランクトンの光合成活性は弱かったと思われる。その結果、本来存在していたChl-*a*濃度に相当する蛍光強度よりも全体的に蛍光強度が大きくなり、センサーに過大に受光される結果となると考えられる。

以上の結果からアオコの発生時における現場蛍光法の場合、Chl-*a* *in vivo*濃度の鉛直分布は、表層で過小に、下層で過大に測定される可能性がある。ただしChl-*c*濃度がChl-*a* *in vivo*濃度と類似的になることはChl-*c*を多く含む珪藻が通常優占する宍道湖においてこの現場法が有効な手段である事を示唆する。

今後は、さらに現場法のChl-*a*濃度と吸光光度法のChl-*a*濃度とを比較・検討することで、植物プランクトンによる一次生産量の推定を行っていき

謝辞

この調査を行うのに島根大学汽水域研究センター

所有の「ルピア」を使用させて頂いた。また、クロロフィル濃度の測定には島根大学汽水域研究センター中海分室の機器を使用させて頂いた。水中投下式クロロフィル測定装置は平成9年度文部省科学研究補助金（基礎基盤（B）（2）「中海・本庄工区の生物多様性と生態系調査，課題番号09480112）」により購入したものである。関係各位に深くお礼申し上げます。

引用文献

有賀祐勝 (1973) 水界植物群落の物質生産Ⅱ. 生態学講座 8:7
 石丸 隆 (1990) 沿岸環境調査マニュアルⅡ (水質・微生物編), 日本海洋学会編. 恒星社厚生閣. p.57-61.
 大塚泰介 (2000) 宍道湖産 *Microcystis* sp. の形態観察.

LAGUNA (汽水域研究), 7:81-83
 気象庁編 (1990) 海洋観測指針. p.263.
 國井秀伸・高安克己・橋谷博・中村幹雄・中尾繁 (1993) 汽水湖生態系の特性と日本における研究の現状. 日本生態学会誌, 43:195-209
 國井秀伸 (1996) 宍道湖湖心における水深別クロロフィル量と光合成速度の季節変化 (予報). LAGUNA (汽水域研究), 3:97-101.
 中山大介・作野裕司・松永恒雄・高安克己・國井秀伸 (1999) 宍道湖・中海の鉛直クロロフィル a 濃度分布特性. LAGUNA (汽水域研究), 6:217-222.
 大谷修司 (1997) 宍道湖・中海水系の植物プランクトンの種類組成と経年変化. 沿岸海洋研究, 35:35-47.
 作野裕司・松永恒雄・中山大介・六川修一・高安克己・國井秀伸・中村幹雄・山室真澄 (1999 a) SPOT/HRV データによるアオコ発生時の宍道湖

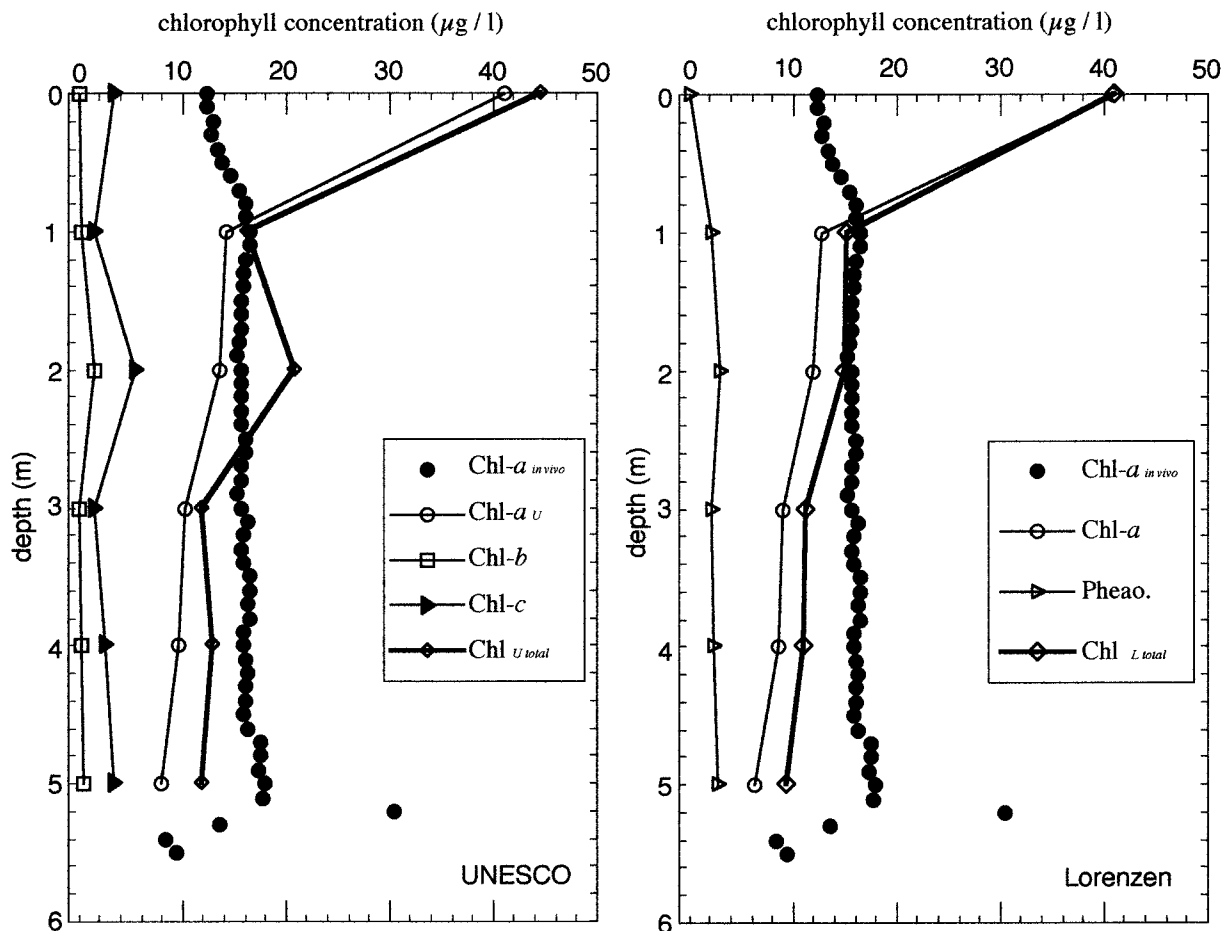


図4 現場型蛍光法と吸光光度法によって得られたクロロフィル濃度の比較

Fig.4 Comparison between vertical profiles of chlorophyll concentration measured by *in vivo* method and spectral absorption

- 表層クロロフィル a 濃度分布の推定. 日本リモートセンシング学会誌, 19 (2) : 20-36.
- 作野裕司・中山大介・松永恒雄・高安克己・六川修一・中村幹雄・國井秀伸 (1999 b) 衛星リモートセンシングによる中海・宍道湖の水質濃度マッピング (その 2) - 1998 年 3 月の調査. LAGUNA (汽水水域研究), 6 : 205-216.
- 宍道湖・中海の研究会 (1996) 宍道湖・中海水系の藻類, 高浜印刷, 松江.