

平成21年5月20日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2006～2008

課題番号：18510016

研究課題名（和文） 沿岸域でのピコ植物プランクトン現存量の動態観測

研究課題名（英文） Spatio-temporal variation of pico-phytoplankton in the coastal area

研究代表者

千賀 康弘（SENGA YASUHIRO）

東海大学・海洋学部・教授

研究者番号：10144437

研究成果の概要：

駿河湾奥部清水港内の長期採水調査より、植物プランクトン光合成色素を分析し、ピコプランクトンの大部分を占める藍藻が、増殖期である夏季には指標色素 Zeaxanthin の含有比率が減少し、一方、大型珪藻が増殖する春期には珪藻内の指標色素 Fucoxanthin の含有比率が増大する特徴を確認した。また、静岡県西部の汽水湖である佐鳴湖においても夏季に Zeaxanthin が増加し、微細藍藻 Synechococcus が急増することを確認した。これは夏季の水温が原因であると示唆された。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	2,900,000	0	2,900,000
2007年度	400,000	120,000	520,000
2008年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,800,000	270,000	4,070,000

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：生物海洋・ピコプランクトン

1. 研究開始当初の背景

沿岸域での生態系の動態を正確に把握するためには、低次生産を構成する植物プランクトンの種組成の空間変動およびその季節変動を抑えることが不可欠である。中でも大きさ $2\mu\text{m}$ 以下のピコ植物プランクトンは、測定が困難なことから報告例は少なく、その大部分は外洋域での観測例であり、沿岸域での動態の観測例はほとんどない。しかし、沿岸域でもピコ植物プランクトンの現存量が大きいことは予想され、その動態は、より大型の植物プランクトン、動物プランクトンま

で含んだ生態系全体に対して大きな影響を与える。

2. 研究の目的

本研究では対象海域を生産性の高い沿岸域にとり、低次生物生産系の中でのピコ植物プランクトンの寄与と動態を明らかにする。対象は外洋域での観測例が多い藍藻 Synechococcus、小型の真核植物プランクトン、および原始緑藻 Prochlorococcus とする。大型のナノ、マイクロプランクトンの種組成、物理、化学環境についても観測し、ピコ植物

プランクトンの変動との関連を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 駿河湾奥部清水港定期観測：

港内に10定点(図1)を設け、毎月1〜2回、水温・塩分(ACT20-D2,アレック電子)、流向・流速観測(ACM210-D,アレック電子)と、表層および底層での採水を行い、栄養塩分析、電子顕微鏡による植物プランクトン同定、高速液体クロマトグラフ(LaChrom Elite DAD 検出システム, 日立)による色素分析を継続し、ピコ植物プランクトンの季節変動を調べた。

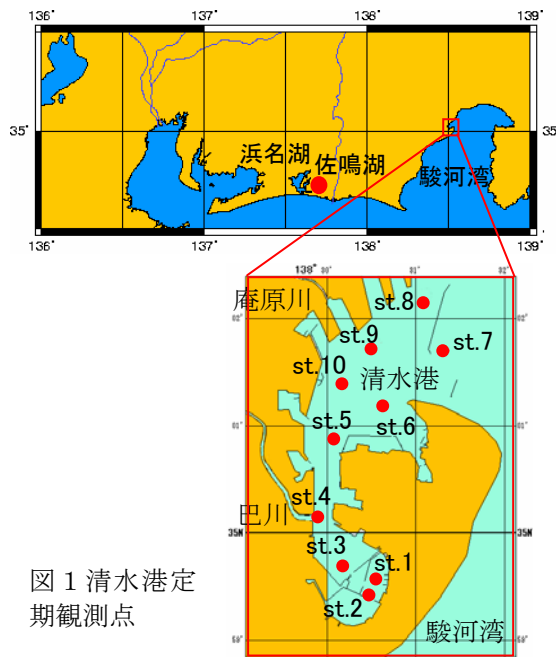


図1 清水港定期観測点

HPLC分析では、採水した試料1〜2LをGF/Fフィルタ(47mmφ)でろ過し、−30℃にて冷凍保存した。このフィルタを90%アセトン溶液10ccに24時間浸潤して色素を抽出し、4℃冷却機能付オートサンプラ(L2200)にセットして分析を行った。分析カラムにはODS-80Ts(15cm×4.6mm, 東ソー)を用い、カラム温度を55℃に設定した。移動層には2液(A液, メタノール:0.5M酢酸アンモニウム=80:20; B液, メタノール:アセトン=60:40)を用い、流量1.0mL/分にて低圧勾配混合展開を行った。色素標準にはChlorophyll-a(Chla), Chlorophyll-b(Chlb), βcaroten(βcar), Zeaxanthin(Zea), Fucoxanthin(Fuco), Peridinin(Peri), Diadinoxanthin(Ddx), 19Hexanoyloxyfucoxanthin(19HF), 19Butanoyloxyfucoxanthin(19BF)を用い、溶出時間と吸収波形から色素同定、440nmでのピーク面積から濃度定量を行った。

(2) 佐鳴湖での定期観測：

静岡県西部の汽水湖である佐鳴湖において毎月1回、表層水を採取し、(1)と同様の

手法により、電子顕微鏡による種の同定およびHPLCによる色素組成の解析より植物プランクトンの季節変化を観測した。この観測では同時に¹³C安定同位体を使った12時間現場培養法による基礎生産量の測定も実施しており、採水は培養を開始する直前(夜明け)に表層と底層で、培養終了時(昼)に表層で実施した。

(3) HPLC色素分析結果の解析：

清水港観測で得られた植物プランクトン色素組成の時空間分布に対し、非線形最適化手法に基づく多変量解析を行い、各観測点での種組成の変化と同時に、同一種内での色素組成の季節変化を推定し、その要因を解析した。

観測対象海域中に存在する植物プランクトンの種類をs種、これらが含有する全光合成色素をp種と仮定し、各観測日の試料数をd個とすると、HPLCによる色素分析結果は次のように表現できる。

$$\mathbf{A}(p, s) \cdot \mathbf{X}(s, d) = \mathbf{Y}(p, d) \quad (1)$$

\mathbf{A} はs種の標準植物プランクトンが持つp種の色素についての種-色素比率行列、 \mathbf{X} はd個の試料についてのs種の植物プランクトンの試料-種組成行列、 \mathbf{Y} はHPLC分析で得られた試料-色素量行列を表す。ここで行列 \mathbf{A} については同一観測日には一定値を取ると仮定して文献値から初期値を作成し、未知配列 \mathbf{X} とともに観測結果 \mathbf{Y} との自乗誤差和

$$\|\hat{\mathbf{A}}\mathbf{X} - \mathbf{Y}\|^2 \quad (2)$$

を最小化する解 \mathbf{A}, \mathbf{X} をExcel Solver機能を使って求めた。ただし各要素には全て非負拘束を加え、 \mathbf{A} の各要素に対しては色素含有率の変動幅を考慮して文献値より上限と下限を設定した。

ここでは全観測データの中から、2006年2月-2007年2月の1年間に20回実施したst.1-7の表層水についてのHPLC分析データを使用して解析を行った。種類の要素数sは全期間を通じた優占した5綱(珪藻綱, 藍藻綱, 渦鞭毛藻綱, 緑藻綱, ユーグレナ藻綱)を抽出し、色素要素数pは含有量の大きい7種色素(Chla, Peri, Fuco, Ddx, Zea, Chlb, βcar)を選択した。

4. 研究成果

(1) 清水港植物プランクトンの時空間変動

2006年2月〜2007年2月の1年間に20回実施したSt.1〜7の表層水についての顕微鏡観察による植物プランクトン綱種分布を図2に示す。珪藻綱は5, 8, 11, 2月とほぼ3ヶ月間隔で全観測点においてピークを示した。科については、Cheatoceros, Skeletonemaがどの時期も多いが、5月には大型のEucampiaが優占し、8月はNitzschia, 11月にはThalassionema, Rhizosoleniaが出現した。藍藻綱ではSynecococcus, Chroococcusが通年観察され、11-2月にはTrichodesmiumが出

現した。渦鞭毛藻綱は外洋に近い St. 7 において、珪藻綱が減少し始める時期に急激に増加した。7 月は Ceratiaceae のみが優占したが、6, 10 月の増殖期には複数種が出現した。緑藻綱とユーグレナ藻綱は珪藻綱と同時期に増殖した。

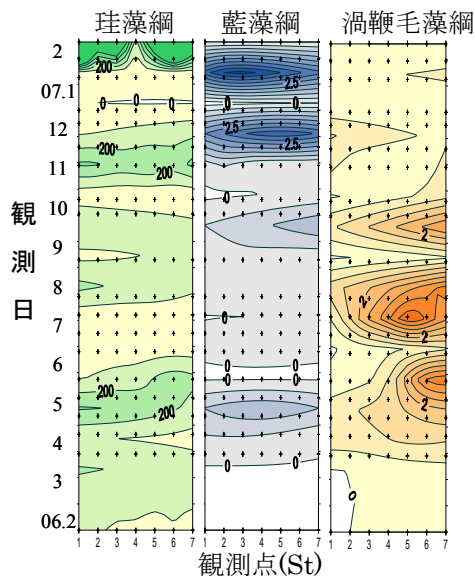


図 2 清水港での植物プランクトン顕微鏡計数結果

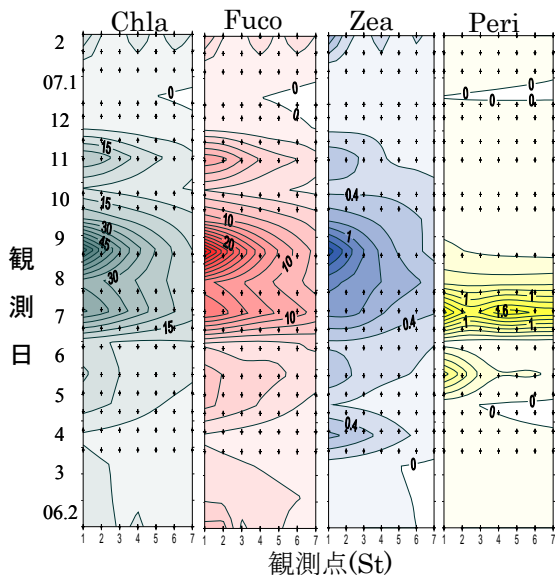


図 3 清水港での植物プランクトン色素 HPLC 分析結果

一方、HPLC 分析結果(図 3)では植物プランクトン全体の現存量を示す Chla は 7-9 月に特に港奥の St. 1-2 をピーク (最大 100ug/L) として増大している。珪藻綱の指標色素である Fuco は Chla と類似の時空間分布を示し、現存量の大部分が珪藻綱によるものであることが示唆された。藍藻の指標色素である Zea は 4, 9 月に増加しているが、顕微鏡観察で確認された 12-1 月にはほとんど現れてい

ない。渦鞭毛藻綱の指標色素である Peri は 5-6, 7 月に増加しているが、濃度の空間分布は顕微鏡観察の結果とは一致していない。このような HPLC 結果と顕微鏡観察結果との差異は、顕微鏡観察において細胞の大きさの評価がされていない事が主因と考えられ、顕微鏡観察だけでは種毎の現存量の把握ができないことがわかる。

(2) 佐鳴湖での植物プランクトン色素組成の変動

HPLC 分析による Chla 分析結果を図 4 に示す。夏季に増加し、冬季に減少する傾向が明らかである。培養開始時の表層濃度と比較すると、底層の濃度は-59%~+53%の範囲で大きな差を示す場合がある。さらに終了時の表層濃度は最大 146%、最小-60%の変動がある。これは湖水の主に潮汐による変動が原因と考えられる。

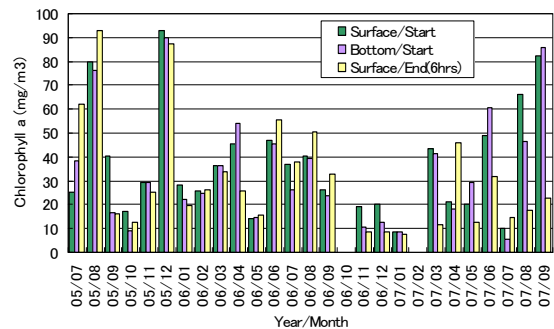


図 4 佐鳴湖での Chla(HPLC)分析結果

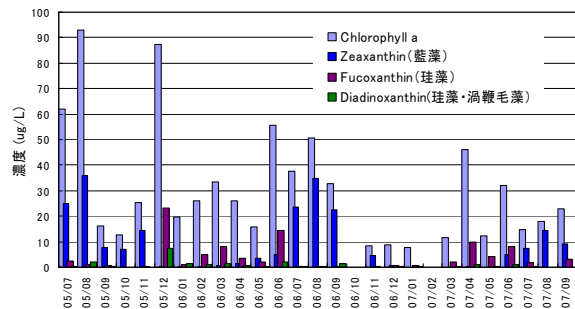


図 5 佐鳴湖での植物プランクトン色素 HPLC 分析結果

補助色素(図 5)では、Zea が夏季(7-9 月)に急激に増大し、最大値は Chla 濃度の 70% まで達している。一方、Fuco は春季(3-6 月)に増加している。また渦鞭毛藻・珪藻の指標色素である Ddx については全体的には Fuco と類似の増減を示しているが、Fuco が減少する 8-9 月にもまだ存在し、これは渦鞭毛藻の存在を示唆するものと考えられる。

電子顕微鏡による観察では夏季に高温適応する藍藻 *Synechococcus* が優占し、冬季には個体数は減少するが多種の珪藻が存在した。春(5, 6 月)には *Cyclotella* が急激に増加

し、この影響を受け *Nitzschia* や *Chaetocera* が減少している。この結果は HPLC による色素組成の季節変化と一致する。

(3) 清水港 HPLC 色素分析結果の非線形解析
 ①種組成分布：図6 清水港観測で得られた HPLC 結果に対して非線形解析により網組成を解析した結果の時空間分布を示す。この絶対値は各網が含有している Chla 量を表わしている。珪藻網と渦鞭毛藻網に関しては時空間分布が顕微鏡観察結果とよく一致している。しかし藍藻網は大きく異なり、珪藻網の分布と類似している。これは顕微鏡観察において珪藻網が増殖している際に、相対的に微小な藍藻網を計数できていないことに起因すると思われる。渦鞭毛藻網についても、顕微鏡観察結果では湾口部(st.7)に多く分布しているが、指標色素である Peri は湾奥部(st.1)に多く、これも珪藻網が増殖した時期に顕微鏡観察で過少に計数されたと考えられる。

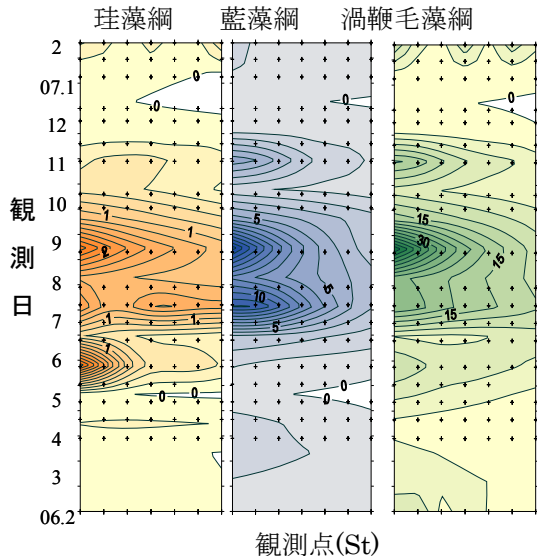


図6 清水港での植物プランクトン色素組成より解析した種組成の時空間分布

②同一種内色素組成の季節変化：図7は推定された種-色素比率行列 A の時系列から珪藻網が含有する Fuco と藍藻網が含有する Zea の変動を抜き出したものである。珪藻網の減少期である冬季には珪藻の Fuco 含有比率も減少し、増殖期である春先から夏にかけては、制限範囲の上限に近い0.6-0.76となっている。顕微鏡観察でも春先には *Cheateoceros* や *Eucampia* などの大型珪藻が多く観察された。7-9月には Fuco 含有比率は0.6程度となり、主に *Cheateoceros*, *Skeletonema*, *Nitzschia* が優占した。10,11月は *Cheateoceros* が単独で優占し、Fuco 含有比率は0.4-0.6となった。さらに2007年2月には *Skeletonema* が大增殖し、Fuco 含有比率は0.5となった。以上の結果より Fuco 含

有比率の変化は優占する珪藻種の変化に依存し、大型珪藻が出現する上昇すると考えられる。一方藍藻網の Zea 含有比率は *Chroococcace*, *Synechococcus*, *Trichodesmium* が観察された時に上限値に達し、細胞数が増大するときに減少している。これは増殖期では細胞分裂が盛んになり、色素の含有量が減少するためと考えられる。逆に細胞減少期には細胞中に色素を蓄積していると解釈できる。

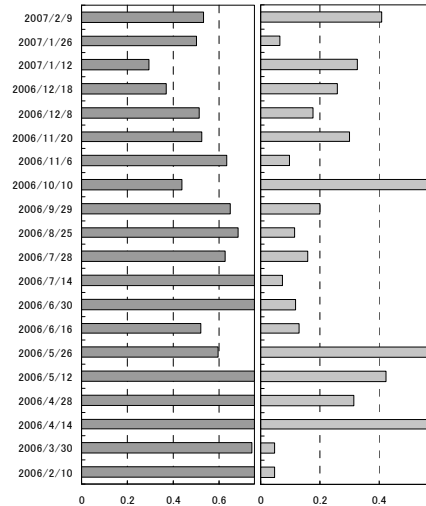


図7 清水港での植物プランクトン色素組成より解析した珪藻の含有する Fuco(左)と藍藻の含有する Zea(右)

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3件)

①小松千紘, 千賀康弘, 清水港における植物プランクトン色素組成の時系列観測に基づく網組成遷移の非線形解析, 海洋理工学会誌, Vol.15, No.1, 印刷中, (2009) 査読有

②堀内智啓, 和田章嗣, 千賀康弘, 秋葉龍郎, 植物プランクトン種組成測定のための生体励起蛍光スペクトルの特徴抽出, 海洋理工学会誌, Vol.14, No.1, 15-26, (2008) 査読有

③ R.K.Mishra, B.P.Shaw, B.K.Sahu, S. Mishra, Y.Senga, Seasonal appearance of Chlorophyceae phytoplankton bloom by river discharge off Paradeep at Orissa Coast in the Bay of Bengal, Environmental Monitoring and Assessment, 10.1007/s10661-008-0200-2, (2008) 査読有

[学会発表] (計 3件)

①小松千紘, 千賀康弘, 清水港植物プランクトン色素組成の時系列観測に基づく種組成遷移の非線形解析, 海洋理工学会平成20年度春季大会, 2008/05, 東京

②堀内智啓, 長澤泰宏, 千賀康弘, 秋葉龍郎,
群集組成推定可能な現場型多波長蛍光光度
計システムの開発, 海洋理工学会平成 20 年
度春季大会, 2008/5, 東京

③佐鳴湖堆積物中の色素組成鉛直分布特性,
占部春佳, 千賀康弘, 海洋理工学会平成 19 年
度春季大, 2007/5, 東京

6. 研究組織

(1) 研究代表者

千賀 康弘 (SENGA YASUHIRO)

東海大学・海洋学部・教授

研究者番号: 1 0 1 4 4 4 3 7

(2) 研究協力者

堀内 智啓 (HORIUCHI TOMOHIRO)

JFE アレック株式会社・係長