

## 〈研究発表〉

### フローサイトメトリーによる琵琶湖の微細植物プランクトン群集の測定

北村 友一, 南山 瑞彦

(独) 土木研究所水環境研究グループ水質チーム (〒305-8516 つくば市南原 1-6, E-mail: kitamura@pwri.go.jp)

#### 概要

フローサイトメトリーによる琵琶湖の植物プランクトン群集の測定を試みた。その結果、湖水中の植物プランクトン群集の分類と定量は、赤色蛍光強度と橙色蛍光強度の関係から可能となることがわかった。本法により、琵琶湖湖水の植物プランクトン群集の季節および水深別の変化を調査したところ、ピコ植物プランクトン数は夏季に表層付近で増加することがわかった。大きさを反映する前方散乱量とクロロフィルを反映する赤色蛍光量でみると、ピコプランクトンの割合は顕著に低下することがわかった。また、フローサイトメトリーは河川水の植物プランクトンの増殖能力の測定にも適用可能であった。

キーワード: フローサイトメトリー, 植物プランクトン群集, 琵琶湖, 植物プランクトン増殖ポテンシャル

#### 1. はじめに

湖水中の植物プランクトンの種類や量のモニタリングは、湖の富栄養化の指標、異臭味やろ過障害の予測や対策のためにも重要である。しかし、湖水中の様々な植物プランクトンの同定や定量は、専門的知識や技術を必要とし、簡易に行えないのが現状であり、植物プランクトンの簡易・迅速検出法が求められている。植物プランクトン群集の簡易・迅速検出には、フローサイトメトリーが有効であり、海洋の植物プランクトン調査では利用されている<sup>1)</sup>。しかし、淡水湖での適用例は少ない。そこで、琵琶湖湖水を測定対象とし、琵琶湖湖水中の植物プランクトン群集をフローサイトメトリーで測定した際、どのような情報が得られるのか、また、植物プランクトンの分類やその計数が可能かどうかを調査した。また、湖内での植物プランクトンの種類や量の予測には、流入河川水の植物プランクトン増殖能力を測定することも重要である。そこで、フローサイトメトリーによる琵琶湖流入河川水の植物プランクトン増殖能力の測定も試みた。

#### 2. 調査方法

##### 2.1 フローサイトメトリーによる湖水中の植物プランクトン群集の測定

湖水は、平成 21 年 5 月から 22 年 3 月の間、月に 1 回、Fig.1 に示した琵琶湖北湖（安曇川沖中央）の水深 0.5m, 5m, 10m, 20m, 50m, 約 60m（底面上 1.5m）と南湖（大宮川沖中央）の水深 0.5m から採水した。湖水は、フローセルの目詰まりを防ぐため 50 μm のナイロン製

メッシュを通し、通過液 0.5ml を分散処理を行わずフローサイトメトリーで測定した。Fig.2 は、本調査で使用したフローサイトメーターの概要である。レーザーは 488nm のアルゴンレーザーを使用し、測定試料中の 1 つひとつの粒子の側方散乱強度、前方散乱強度、緑色 (525nm ± 15nm)、黄色 (575nm ± 15nm)、橙色 (610nm ± 15nm)、赤色 (675nm ± 15nm) 蛍光強度を測定した。なお、本実験で使用した装置には、任意の集団を分取できる機能があり、一部の植物プランクトン群集は、分取し微分干渉付き蛍光顕微鏡で観察した。

##### 2.2 フローサイトメトリーによる琵琶湖流入河川水の植物プランクトン増殖能力の測定



Fig.1: 琵琶湖および河川水の採水地点

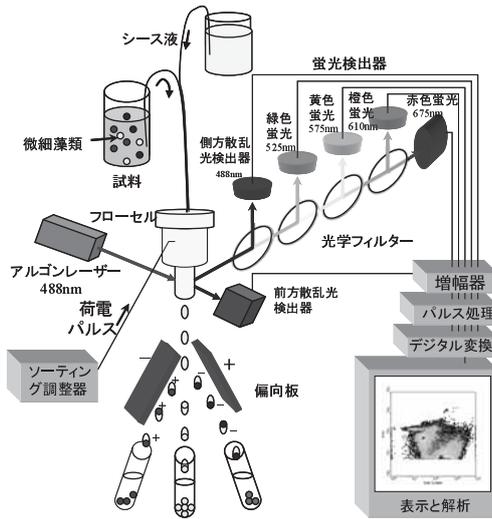


Fig.2: フローサイトメトリーの概要

植物プランクトン増殖能力を測定した河川水は Fig.1 に示した 6 河川である。河川水は H22 年 2 月に採水し、GF/B でろ過し培養開始まで冷蔵した。ろ過試料は容量 900ml の L 字型藻類培養フラスコに 400ml 入れ、翌月 3 月採水した北湖湖水を 1% 加え、明/暗周期 18/6 時間、照度 10000Lux、24℃恒温室で振倒培養を行った。培養開始直前と培養 14 日目に、フローサイトメトリーによる植物プランクトンの測定を行った。フローサイトメトリー測定試料は、超音波処理により植物プランクトンを分散したものと、超音波処理していないものとした。超音波処理したものはより正確に細胞数が計数でき、超音波処理していないものは、培養フラスコ内の植物プランクトンが群体を形成しているかなどを測定できると考えたためである。

### 3. 調査結果

#### 3.1 フローサイトメトリーによる湖水中の植物プランクトン群集の測定

植物プランクトンのフローサイトメトリーによる測定で得られた、各検出器の測定結果を整理したところ、検出された植物プランクトンを橙色と赤色蛍光強度の関係でプロットした場合、プロットが集中する位置がみられ、この関係から概ね植物プランクトンを分類できることがわかった。

Fig.3 は、H22 年 3 月の北湖水深 0.5m から採水した湖水中の植物プランクトンを橙色と赤色蛍光強度でプロットしたものである。さらに、プロットが集中している主な集団 (B, C, D, F) を分取し、微分干渉と G 励起での蛍光（顕鏡下では赤色蛍光で観察される）顕微鏡観察像も合わせて掲載した。B, C, D, F 集団の植物プランクトンの同定はできていないが、B の集団は、橙色蛍光色素の含有量が少ない直径 10 $\mu$ m 程度の球形の植物プランクトン、C の集団は橙色蛍光色素の含有量が

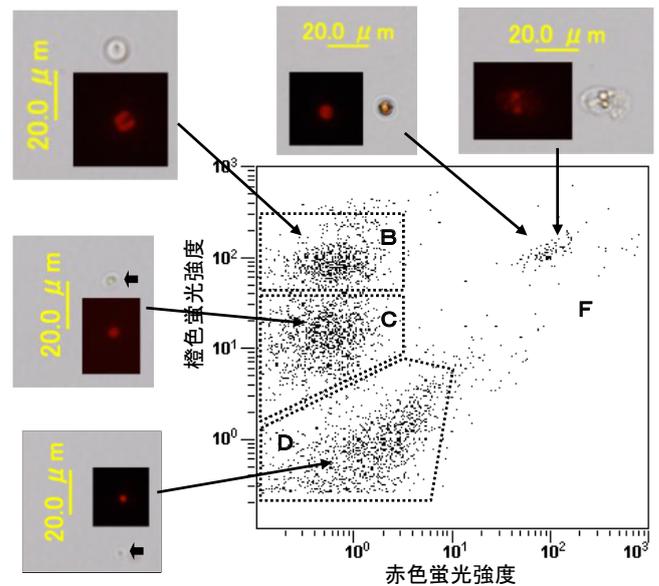


Fig.3: 琵琶湖の植物プランクトン群集の赤色蛍光強度と橙色蛍光強度の関係（採水場所北湖水深 0.5m、採水時期 H22 年 3 月）

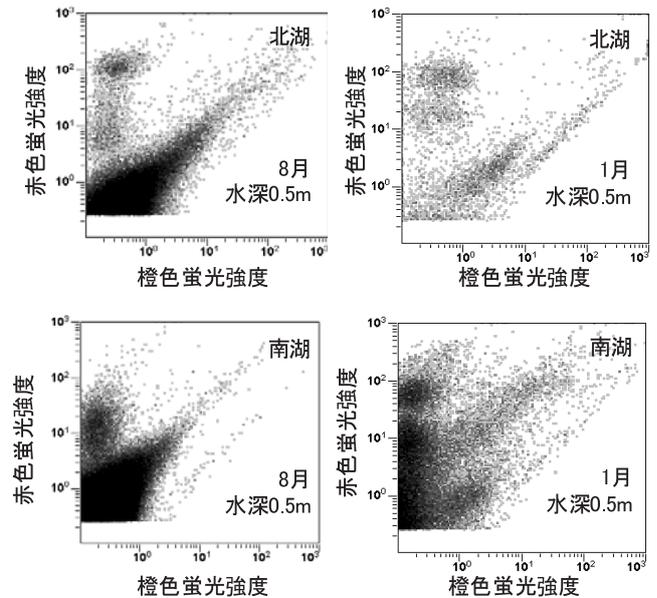


Fig.4: フローサイトメトリーによる H21 年 8 月、H22 年 1 月の北湖と南湖の植物プランクトン群集の測定結果

少ない直径 5 $\mu$ m の球形の植物プランクトン、D は 2 $\mu$ m 以下のピコ植物プランクトン、F の集団は検出された植物プランクトンのうち B, C, D 以外のものであり、主に橙色蛍光色素を多く含む植物プランクトンとなる。

Fig.4 は、H21 年 8 月、H22 年 1 月の北湖と南湖の水深 0.5m の湖水中の植物プランクトンを Fig.3 と同様にプロットしたものである。夏季には D のピコ植物プランクトンが多くなるなど、季節および北湖と南湖でプロットパターンが異なることがわかった。フローサイトメトリーは、季節や湖間の植物プランクトン群集の違いの判別にも利用できることがわかった。

フローサイトメトリーによる植物プランクトンの測

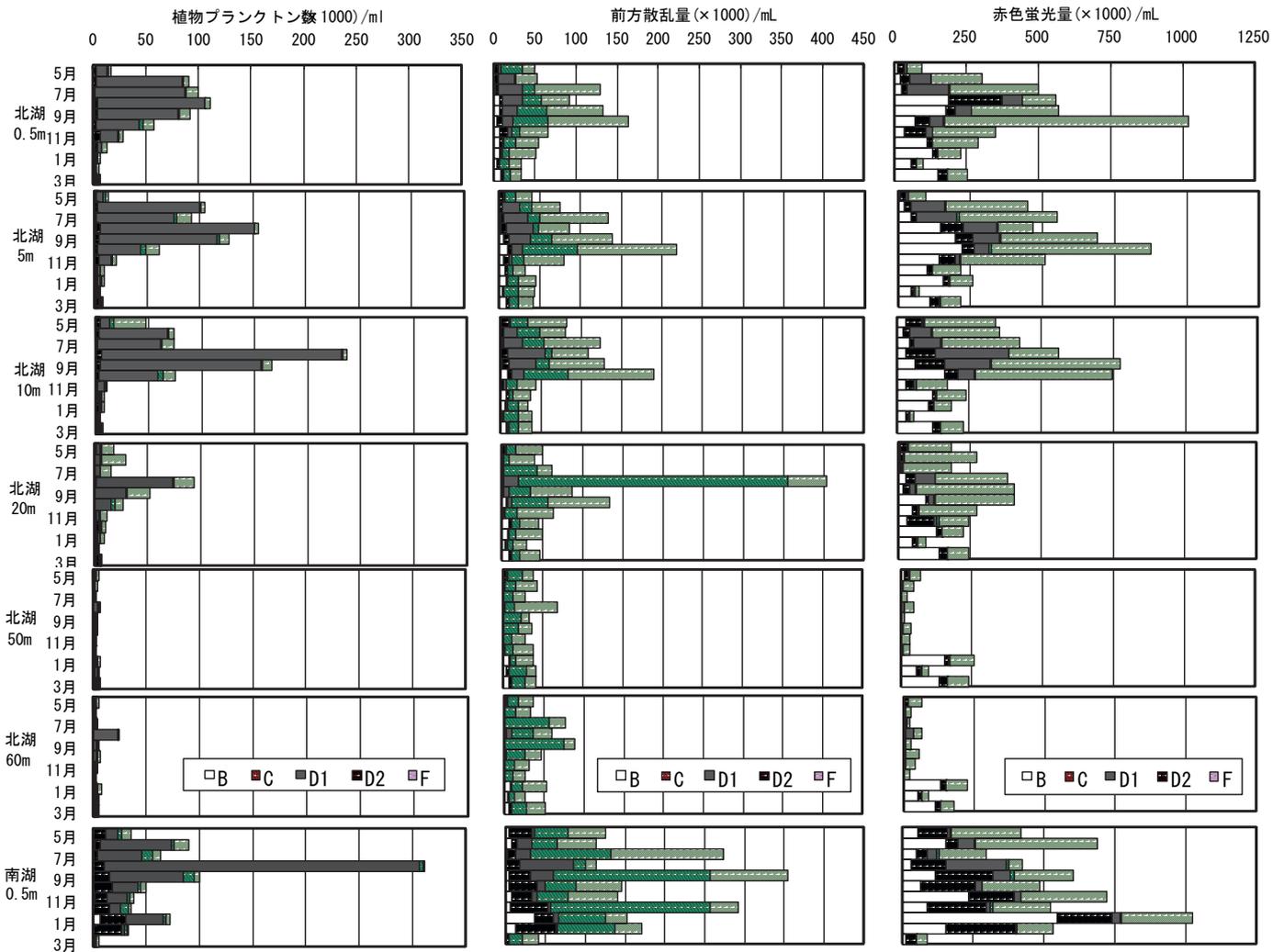


Fig.5: 琵琶湖北湖の水深方向別および南湖の植物プランクトン数、前方散乱量、クロロフィル量の経月変化

定では、細胞数、その細胞1つひとつについて細胞の大きさを反映する前方散乱強度およびクロロフィルを反映する赤色蛍光強度を同時に得ることができる。Fig.5は、Fig.3と同様の分類で北湖水深0.5m, 5m, 10m, 20m, 50m, 60m, 南湖水深0.5mのB, C, D, F領域の植物プランクトン数、前方散乱量、クロロフィル量で図示したものである。D領域の植物プランクトンは、さらに前方散乱強度の違いで分離できたため、前方散乱強度の低いものをD1高いものをD2とし整理した。D1がピコ植物プランクトンを反映し、D2は、デブリまたはデブリに取り込まれたピコプランクトンであると考えられる。Fig.5の植物プランクトン数でみると、北湖では8月に、水深10mで植物プランクトン数が最も多くなった。各植物プランクトンの構成割合でみるとD1領域のピコ植物プランクトンの割合が多いことがわかる。ピコ植物プランクトンは、南湖でも8月の水深0.5mで増加していた。前方散乱量(大きさ)でみると、全植物プランクトンに占めるピコ植物プランクトンの構成割合が顕著に低下することがわかった。北湖では8月の水深20mで、D2領域の前方散乱量が大きくなっていた。D2の植物プランクトン数や赤色蛍光

量は低いことから、湖水中のデブリを検出した可能性があった。赤色蛍光量(クロロフィル)でみると、10月の北湖水深0.5mで大きくなる傾向がみられた。この時期は、細胞数は少ないが、F領域で蛍光強度の強い植物プランクトンが検出されていた。蛍光強度の強いBやF領域の植物プランクトンは、細胞あたりのクロロフィルの強度が、ピコ植物プランクトンより強く測定されることがわかった。

### 3.2 フローサイトメトリーによる琵琶湖流入河川水の植物プランクトン増殖能力の測定

Fig.6は、植物プランクトン培養14日目の河川水を超音波処理なしでフローサイトメトリーにより測定した結果である。河川によってプロットのパターンが異なっていることがわかる。安曇川は1集団、姉川は2集団グルーピングできる。白鳥川、日野川、野洲川、葉山川は、1集団から右斜め上にプロットが伸びるパターンが得られた。群体を形成している植物プランクトンの測定では、右斜め上にプロットが伸びるパターンが得られることから、本パターンを示した河川水では群体形成植物プランクトンが増殖している可能性がある。

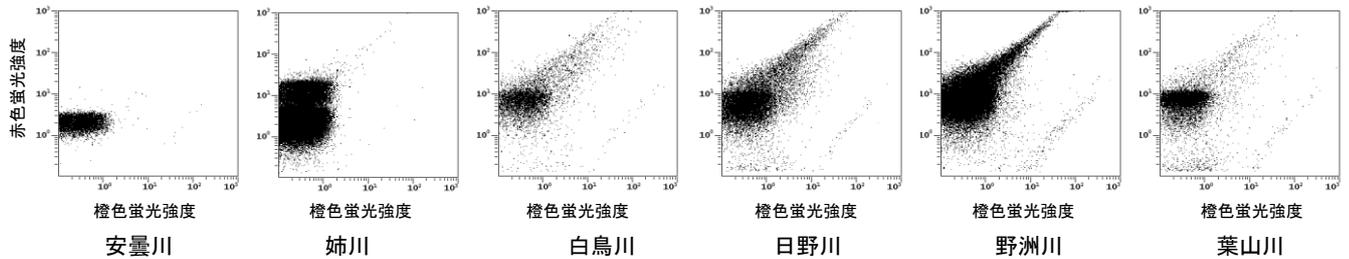


Fig. 6 琵琶湖植物プランクトンを14日間培養した各河川水のフローサイトメリーによる測定結果（超音波処理なし）

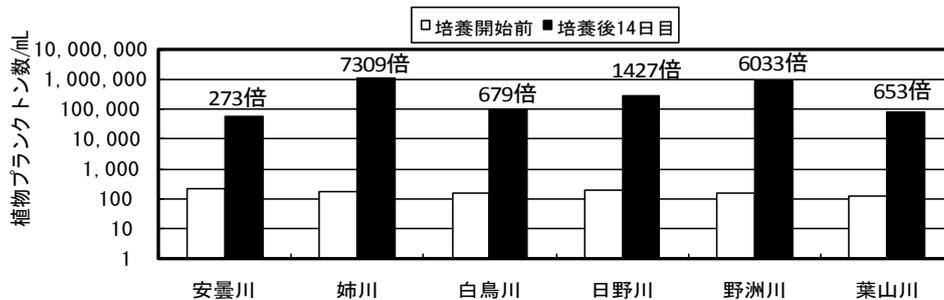


Fig.7: 培養開始前と培養後14日目の植物プランクトン数の結果(超音波処理あり)

群体を形成している植物プランクトン数をより正確に計数するには、超音波処理で細胞を分散させた後、測定することが有効である。Fig.7は、培養開始前と培養後14日目の河川水中の植物プランクトンを超音波処理し測定した結果である。姉川で最も植物プランクトンが増殖しており、姉川の植物プランクトン増殖能力が高いことがわかった。フローサイトメトリーによる植物プランクトンの増殖能力の測定では、様々な種類の植物プランクトンが混在する培養系において、各河川によってどの植物プランクトンの増殖能力が高いかを評価することが可能となる。本法は、湖内での植物プランクトンの優先種の予測に応用できるものと考えられた。

#### 4. おわりに

湖水中の植物プランクトンの簡易・迅速検出を目指し、琵琶湖湖水とその流入河川水を測定試料とし、フローサイトメトリーの適用性を調査した。本研究で得られた成果は以下のとおりである。

- 1) フローサイトメトリーによる琵琶湖の植物プランクトン群集は、各植物プランクトンの含有色素の違い、すなわち、赤色蛍光強度と橙色蛍光強度の関係から、分類と定量が可能であった。
- 2) フローサイトメトリーによる琵琶湖の植物プランクトン数ベースの結果から、夏季に北湖では水深10m付近でピコ植物プランクトンが増加することがわかった。

- 3) 湖水中の植物プランクトンを前方散乱量(大きさを反映)や赤色蛍光量(クロロフィルを反映)ベースでみるピコプランクトンの割合は顕著に低下した。
- 4) 琵琶湖流入河川水に琵琶湖湖水を植種・培養し、増殖した植物プランクトンをフローサイトメトリーで測定した結果、姉川で植物プランクトン増殖能力が高い結果が得られた。また、河川によって増加する植物プランクトンが異なることがわかった。

#### 参考文献

- 1) D. Marie et al. (1997) Applied and Environmental Microbiology, 63(1), 186-193

#### 謝辞

琵琶湖湖水の採水は、琵琶湖河川事務所の協力を得て実施された。ここに記して深く感謝の意を表す。