

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簡易・迅速測定

北村友一* 鈴木 穰**

1. はじめに

湖水中の植物プランクトンの種類や量の把握は、湖の富栄養化の指標、異臭味やろ過障害の予測および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。海洋の微細植物プランクトン群集の簡易調査には、フローサイトメトリーが有効であり利用されることも多いが、淡水湖での適用例は少ない。そこで、霞ヶ浦の湖水を測定対象とし、霞ヶ浦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同定や定量が可能かどうかを調査した。本研究はプランクトン専門技術者とは限らない湖沼管理者の植物プランクトン測定の一助となることを目指し実施したものである。

2. 調査方法

平成20年4月から21年3月の間、月に1回、図-1に示した霞ヶ浦西浦と北浦の表層から湖水表層を採水し、本試料を用い、フローサイトメトリーによる植物プランクトン群集の測定を行った。図-2は、本調査で使用したフローサイトメトリーの概要である。レーザーは488nmのアルゴンレーザーを使用し、湖水中の1つひとつの粒子の側方散乱強度 (side scatter)、前方散乱強度 (forward scatter)、緑色 (525nm $\pm$ 15nm)、黄色 (575nm $\pm$ 15nm)、橙色 (610nm $\pm$ 15nm)、赤色 (675nm $\pm$ 15nm)のそれぞれの蛍光強度を測定した。さらに、本装置には、指定した光強度を有する粒子を含む液滴に荷電を与えることにより、当該粒子集団を分取できる機能があり、分取した集団は微分干渉付き蛍光顕微鏡で観察した。なお、フローサイトメトリー測定では、フローセルの目詰まりを防ぐ

ため50 μ mのナイロン製メッシュでろ過した湖水0.5mLを染色操作なしで測定した。



図-1 西浦と北浦の採水地点

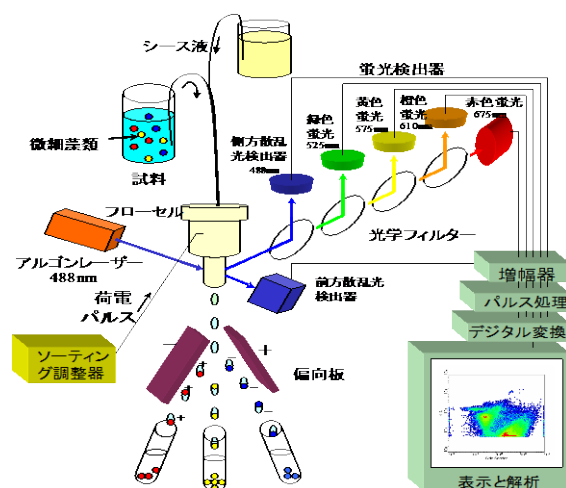


図-2 フローサイトメトリーの概要

3. 調査結果

フローサイトメトリーによる霞ヶ浦湖水中の植物プランクトン測定から得られた情報を整理した結果、検出された粒子を前方散乱強度または側方散乱強度と赤色蛍光強度の関係でプロットした場合、プロットの集中する位置がみられ、この関係から植物プランクトンは概ね分類できることがわかった。前方散乱強度は細胞の大きさ、側方散乱強度は細胞の内部構造、赤色蛍光強度は、細胞内に含有するクロロフィルなどの色素に関する情報を反映する。湖水中の植物プランクトン群集の測定は、細胞の大きさに関する情報とクロロフィル

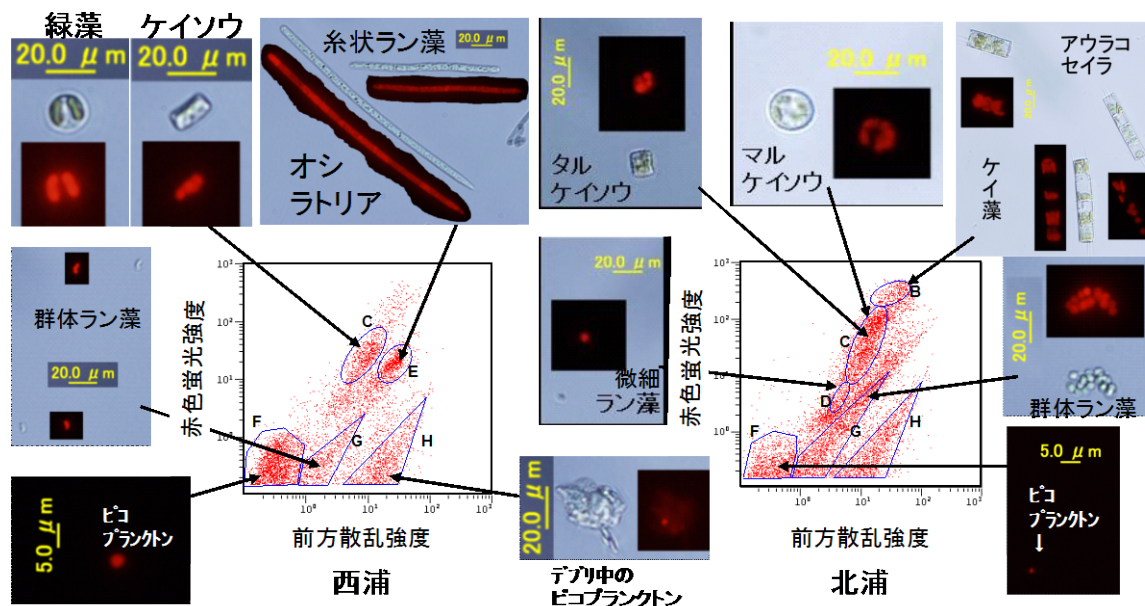


図-3 震ヶ浦湖水の植物プランクトンの前方散乱強度と赤色蛍光強度の関係および各集団の顕微鏡観察像

蛍光強度が重要と考えられることから、前方散乱強度と赤色蛍光強度の関係で解析することとした。

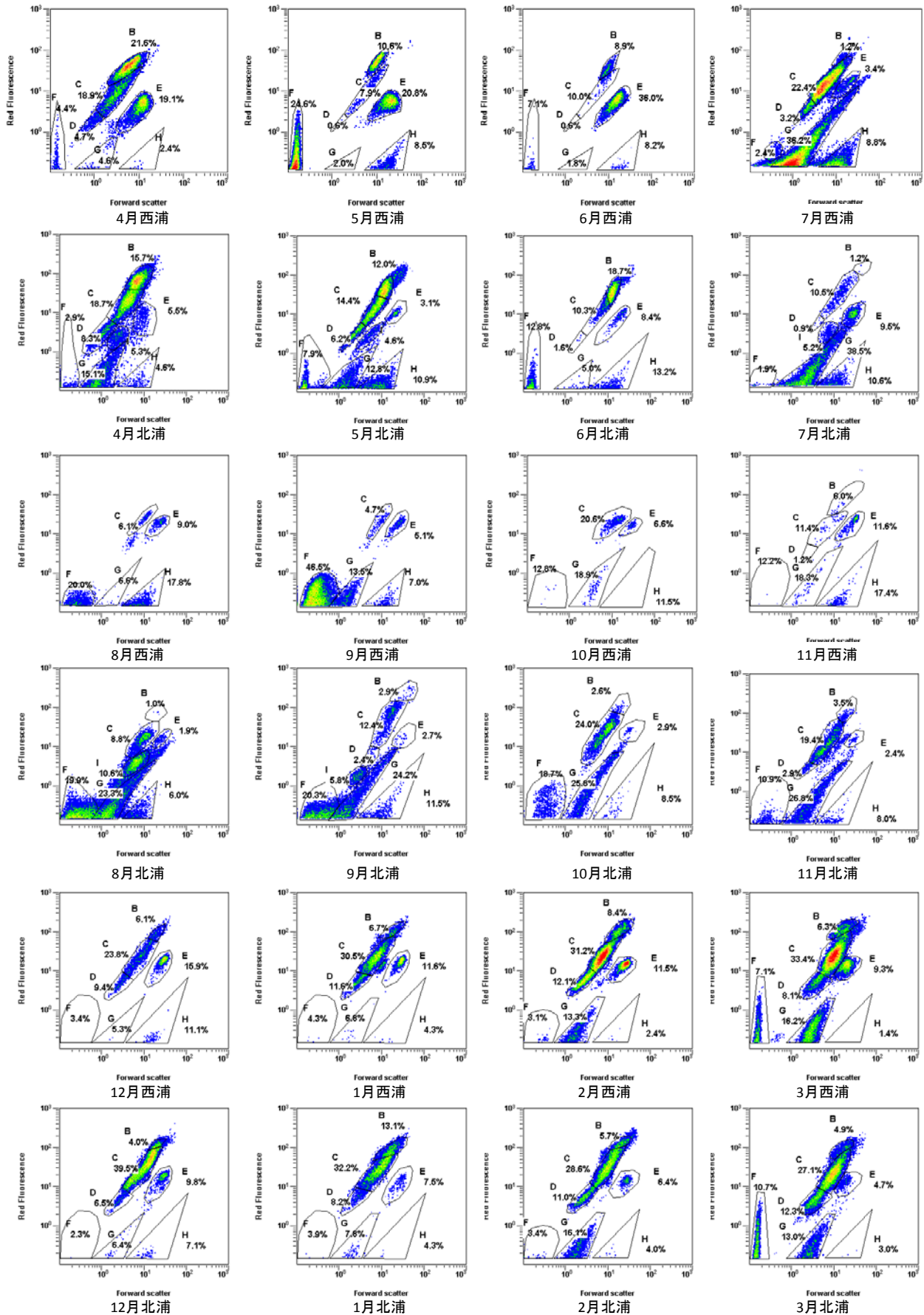
図-3は、H20年9月の西浦と北浦湖水中の植物プランクトンのフローサイトメトリーでの測定結果を前方散乱強度と赤色蛍光強度の関係でドットプロットしたものである。プロットが集中している主な集団（B,C,D,E,F,G,H）を分取し、微分干渉と蛍光顕微鏡観察の結果も併せて掲載した。なお、顕微鏡写真は、多く観察された種類のみを掲載している。Bの集団はアウラコセイラ、ハリ珪藻などの大型のケイ藻、C集団は、タルケイソウ、マルケイソウ、円形の緑藻、Dは約10μmの微細ラン藻、Eは糸状ラン藻であるオシラトリア、Fはピコプランクトン（2μm以下の植物プランクトンの総称）、Gは群体を形成した微細ラン藻が多く含まれる集団であった。Hはデブリ（ゴミ）やデブリに取り込まれたピコプランクトンが観察された。各集団の顕微鏡観察から、植物プランクトンは完全には種類毎に分類できていなかったが、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の簡易同定は可能であった。また、1検体の測定に要する時間は5分程度であることから、フローサイトメトリーは湖水中の植物プランクトン群集のスクリーニングに十分利用できるものと考えられた。

図-4は、H20年4月からH21年3月までの西浦と北浦湖水中の植物プランクトン数を前方散乱と赤色蛍光強度の関係で密度プロットしたものである。

なお、本図は密度の高い位置をより明瞭にするためスムージング処理を行っている。図より季節および西浦と北浦でプロットパターンが異なっており、フローサイトメトリーは、季節や湖水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と思われる。

図-5上段は、図-3と同様の分類から西浦と北浦の各領域毎の植物プランクトン数の経月変化を図示したものである。湖水中の植物プランクトンの中には群体を形成しているものもあり、フローサイトメトリーによる測定では、群体を1細胞と計数し、細胞数を過小計数する可能性がある。植物プランクトンの大きさやクロロフィルベースについての情報も必要であると考えられたことから、図-5中段、下段には各領域の前方散乱量およびクロロフィル蛍光量の関係も示した。

植物プランクトンを個数ベースでみると、西浦では、夏季にケイ藻や糸状性ラン藻が減少する傾向がみられ、ピコプランクトンや微細ラン藻の割合が多くなることがわかった。群体形成微細ラン藻は、西浦では7月、北浦では、8、9月に多くなることがわかった。大きさ（前方散乱量）ベースでみると糸状ラン藻の割合が増加し、ピコプランクトンや群体形成ラン藻の割合が低下した。クロロフィル量ベースでみるとケイ藻の割合が著しく増加することがわかり、ケイ藻は大きさあたりのクロロフィルの強さが、他の植物プランクトンに比べて強く測定されることがわかった。



図・4 フローサイトメトリーによる霞ヶ浦湖水中の植物プランクトン群集の測定結果(■少←→■多)

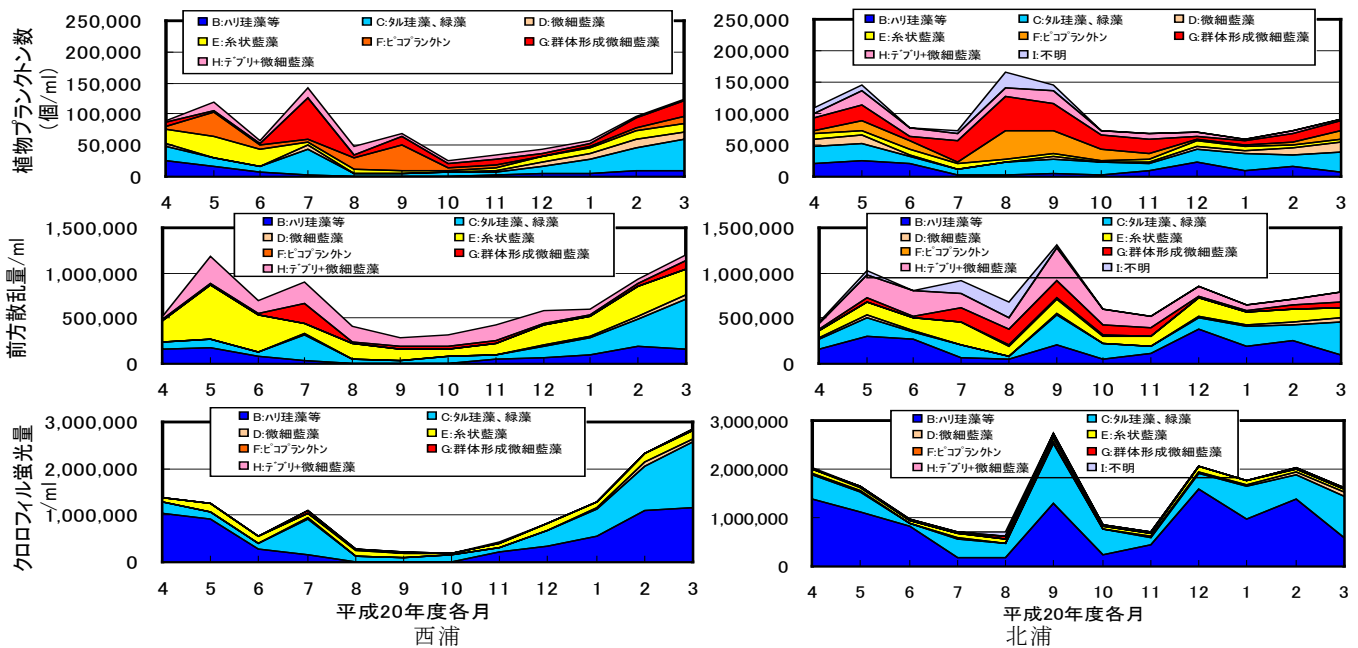


図-5 霞ヶ浦湖水の植物プランクトン個数、前方散乱量、クロロフィル蛍光量の経月変化

以上のような、一年を通しての糸状ラン藻の増殖、春冬季のケイ藻の増殖、北浦での夏季（8、9月）の群体微細ラン藻の増殖は、霞ヶ浦管理者などによって実施されている植物プランクトン調査結果とも概ね合致し、本手法による測定は簡易に植物プランクトンの状況を把握できることを示している。

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、霞ヶ浦湖水を測定試料としてフローサイトメトリーの適用性を検討した。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は、植物プランクトンの大きさを反映する前方散乱強度と細胞内に含有するクロロフィルなどの色素を反映する赤色蛍光強度の関係から、植物プランクトンを概ね分類でき、それぞれの集団の定量や蛍光量が簡易かつ迅速に測定できることがわかった。
- 2) フローサイトメトリーによる西浦と北浦湖水の毎月の測定結果から、季節や湖水間の植物プランクトン群集の違いは、プロットパターンの違いとして表現できることがわかった。
- 3) フローサイトメトリーによる霞ヶ浦の植物プランクトンの個数ベースの結果から、西浦では

夏季にケイ藻やオシロトリア数が減少する傾向がみられ、西浦では7月、北浦では、8、9月に群体形成ラン藻数が多くなることがわかった。

- 4) 湖水中の植物プランクトンを個数、大きさ（前方散乱量）、クロロフィルベースで比較すると、大きさベースでは糸状ラン藻の割合が増加し、ピコプランクトンや群体形成ラン藻の割合が低下した。クロロフィルベースでみるとケイ藻の割合が増加することがわかった。
- 5) フローサイトメトリーにより得られた植物プランクトン群集の状況は、霞ヶ浦管理者などによって実施されている植物プランクトン調査結果と概ね合致していた。今後は、様々な湖沼やダム湖などを測定対象とし、本測定法の適用範囲を広げるとともに、湖水水質との関係も明らかにしていきたいと考えている。

北村友一*



独立行政法人土木研究所
つくば中央研究所水環境
研究グループ水質チーム
主任研究員
Tomokazu KITAMURA

鈴木 穰**



独立行政法人土木研究所
つくば中央研究所材料地
盤研究グループ長
Yutaka SUZUKI