

携帯式蛍光光度計を用いた付着藻類の 現存量測定による造成干潟の環境調査

FIELD EXPERIMENT OF CHLOROPHYLL-a IN SITU QUANTIFICATION FOR BENTHIC ALGAE USING PORTABLE FLUOROMETER

高尾敏幸¹・北野倫生²・山本秀一³・小田秀夫⁴・岡田知也⁵

Toshiyuki TAKAO, Michio KITANO, Hidekazu YAMAMOTO

Hideo ODA and Tomonari OKADA

¹正会員 工修 株式会社 エコー 沿岸デザイン本部 (〒110-0014 東京都台東区北上野2-6-4)

²正会員 博(工) 株式会社 エコー 沿岸デザイン本部

³正会員 博(生物資源工学) 株式会社 エコー 沿岸デザイン本部

⁴理博 日本海洋株式会社 環境調査・機器事業部 (〒114-0005 東京都北区栄町9-2)

⁵正会員 工博 国土技術政策総合研究所 沿岸海洋研究部 (〒239-0826 神奈川県横須賀市長瀬3-1-1)

Field experiments to estimate chlorophyll *a* of benthic algae habited at tidal flat were carried out by using portable fluorometer in the period from February to September, 2005. Chlorophyll *a* values obtained by fluorometer with *in vivo* analysis and by chemical analysis of DMF reagent indicate approximately in linear. The fluorometer method was introduced to measure a distribution of benthic algae quantity in some different conditions. For example, the survey results indicated that quantity of benthic algae was related to the habited ground elevation. It is ensured by the field test that this portable fluorometer enables much easily to evaluate a distribution of benthic algae.

Key Words : Chlorophyll *a*, Benthic algae, Tidal flat, Field Experiment, Ecosystem

1. はじめに

干潟は生物による生産性が高く、魚介類の産卵の場や幼稚仔魚の生育場となっているだけでなく、多様な生態系が構成されていることから水質浄化機能なども有し、沿岸河口域における物質循環の重要な場となっている¹⁾。この中でも特に光量に恵まれた底面上に生育する微細な付着藻類の生産量が様々な機能の基礎となっているものと考えられる。したがって、干潟の基礎生産者の現存量を調査することは干潟の各種機能のポテンシャルを評価する上できわめて重要である。

これまで、干潟の基礎生産者の現存量は、試料採取と分析により行われており、代表することのできる点としての値で評価してきたのが現状であった。

各地で沿岸域の環境再生として干潟造成が行われてい

る中、干潟造成後のモニタリング調査がその評価に重要な位置を占めている。干潟造成後の初期段階においては、干潟地形は安定する方向へ変化するため²⁾、従来型の点としての評価で、面的な代表性を捉えることに難点があった。

これらに対応するには、現場でより多くの点で現存量を測定することが求められる。本研究では、短時間で広域かつ詳細な計測が可能な携帯式蛍光光度計を用い、付着藻類の現存量の分布形態を定量的に調査する手法について現地調査に基づいた検討を行った。

対象とした干潟は、図-1に示す東京湾の葛西海浜公園と船橋海浜公園および大阪湾の阪南2区における造成干潟である。葛西海浜公園は、荒川河口部と江戸川河口部に挟まれた場所に位置し、1989年に開園した人工干潟である。船橋海浜公園は、三番瀬干潟奥部に位置し、春から初夏にかけて潮干狩りで有名な干潟である。阪南2区

における造成干潟は、大阪湾東部に位置し、2004年に造成された干潟である。この造成干潟では、干潟地形の安定化および生物定着の促進を目的として、各種の実験区が設けられ、干潟地形のモニタリングをはじめとする各種調査が行われている³⁾。

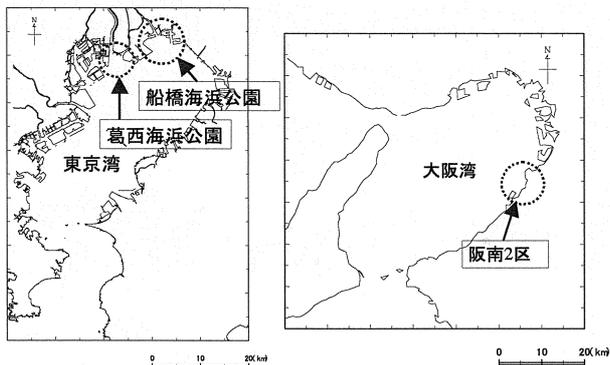


図-1 調査地点図

2. 現地観測

(1) 測定機器

本調査で用いた蛍光光度計は、パルス変調(5kHz)を用いたクロロフィル励起蛍光測定法に基づく多波長励起蛍光光度計(Bentho-Fluor; ドイツBbe社製)である。対象をそのまま非破壊的に測定できること、海水中のプランクトンの光合成活性をそのまま測定できることなど、野外での測定に適している長所がある。測定は、光化学系(PS II)アンテナ色素に対して、5波長LED (450nm, $3\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$; 525nm, $7\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$; 570nm, $3\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$; 590nm, $6\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$; 610nm, $3\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$) の励起光源によるターゲット藻類のアンテナ色素タイプからの蛍光強度(685nm)により、藻類群集を分別・定量を可能とするシステムである⁴⁾。

測定方法は、写真-1に示す光ファイバー(コード)と先端アダプターにより、干潟などの表面に存在する藻類群集に5波長の励起光を 1.5cm^2 の照射面に当て、放出される蛍光強度によって、藻類群集を分別・定量するものである。測定限界は、クロロフィル-aに対して $0.01\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、また、分別・定量(珪藻類、緑藻類、藍藻)が可能な測定範囲は、 $0.1\sim 3.0\mu\text{g}/\text{cm}^2$ である。

この測定方法の特徴として、 1.5cm^2 の基質表面を日中の1日あたり200検体程度測定することが可能であり、短時間に多くの測定データを取得することが可能である(写真-2)。

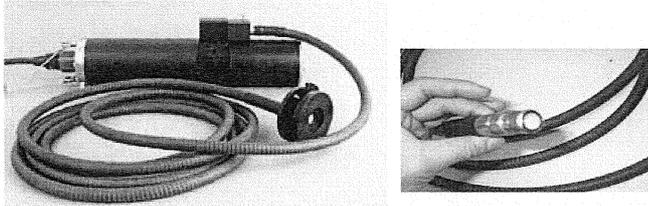


写真-1 測定機器

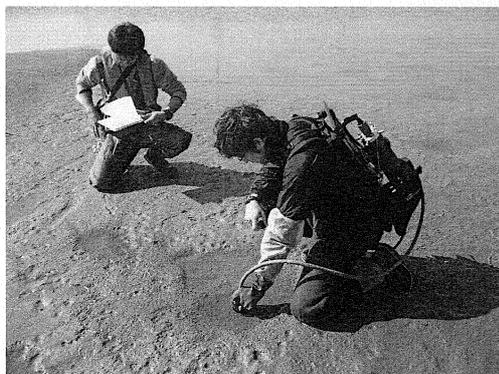


写真-2 測定状況

(2) 現地観測

2005年5月に東京湾の葛西海浜公園西なぎさと船橋海浜公園において、2005年2月、2005年3月、2005年9月の3季に大阪湾の阪南2区における造成干潟においてそれぞれ以下に記す干潟の付着藻類に関する現地観測を実施した。

a) 分析値との比較

東京湾の葛西海浜公園と船橋海浜公園の砂干潟で、従来のDMF法による基質中のクロロフィル-aの含有量($\mu\text{g}/\text{g-dry}$)と、Bentho-Fluorの励起波長の照射イメージによって定量されるクロロフィル-a ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)の関係を比較することを目的とした観測を実施した。

観測は、Bentho-Fluorの測定およびDMFによる抽出を現場にて実施し、DMF試料については、24時間冷暗所にて保存抽出後、比色定量した。また、Bentho-Fluorの測定結果とDMF法の分析結果を直接的に比較するため、Bentho-Fluorの測定部分(照射面の 1.5cm^2)を、3から4mm厚で採取したものを栓付き試験管に取り、速やかにDMF (10mlまたは20ml) を添加し、冷暗所に保存した。これらの抽出色素は、24時間内に比色法により各波長を測定し、計算によりクロロフィル-aを算出した。

b) クロロフィル-aの平面分布特性

クロロフィル-aの平面的な分布特性と、測定回数と測定値との収束関係について検討するため、2005年3月に阪南2区における造成干潟で、目視において表面状況がほぼ均一である干潟底面に1m枠のコードラートを冠水している地点と干出している地点の2箇所に設置した。コードラート内で、0.2m間隔ごとに16点の測定を行った。

c) クロロフィル-aの底質中での分布特性

深さ方向におけるクロロフィル-aの分布特性を把握するため、2005年3月に阪南2区における造成干潟の3地点で直径5cmの塩ビ管を干潟面に差し込んで干潟泥を柱状採取した。各地点で2つの試料を採取し、底泥表面のクロロフィル-aを測定した後、厚さ1cmごとに試料をコアから押し出して切断し、深さ5cmまでの6層のクロロフィル-aの測定を行った。

d) クロロフィル-aの分布と地盤高の関係

2005年3月に阪南2区における造成干潟で、干潟の岸沖

方向に間縄を用いて測線を設定し、4m毎にクロロフィル-aとレベル測量による地盤高の測定を行った。測定は、間縄を中心とした両側約30cmの点を含む計3点で実施し、1地点における測定値とした。

e) クロロフィル-aの日変化

同一日に同じ地点で2回以上の測定を行うことで、干潟底面のクロロフィル-aの時間変化を調べた。2005年3月調査では、2箇所午後1時から午後1時半と午後4時から午後4時半の2回に同一地点で測定した。2005年9月調査では、2箇所午前9時から9時半、午前11時半前後、午後1時半前後の3回いずれも同一地点で測定を行った。いずれの測定時も干潟は干出条件にあった。

f) クロロフィル-aの季節変化

2005年2月、3月、9月に阪南2区における造成干潟で実施した測定値のうち、干潟底面の測定値のみを選び、種組成について整理を行った。

g) クロロフィル-aの部材別特性

2005年9月の阪南2区における造成干潟において、干潟底面だけでなく、竹・杭・転石といった部材ごとのクロロフィル-aを計測し、その違いについて調べた。

3. 観測結果

(1) 分析値との比較

図-2にBenthoflourによる測定値($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)と従来法の値(DMF抽出法: $\mu\text{g}/\text{g-dry}$)を示す。Benthoflour測定値は、表面を照射して得られる値であり、一方DMF抽出法は、厚さ(3~4mm)の試料中の値である。Benthoflour測定値とDMF抽出法の値の相関係数は、全地点で $r=0.812$ となり、船橋海浜公園で $r=0.826$ 、葛西人工干潟で $r=0.995$ を示し、正の比例関係が得られた。このことから、Benthoflourによる非破壊測定法は、砂質干潟の底面上において、クロロフィル-aの測定に有効であることが推測された。また、本測定器による鉛直方向の数mm単位の精度での観測の可能性を示した。

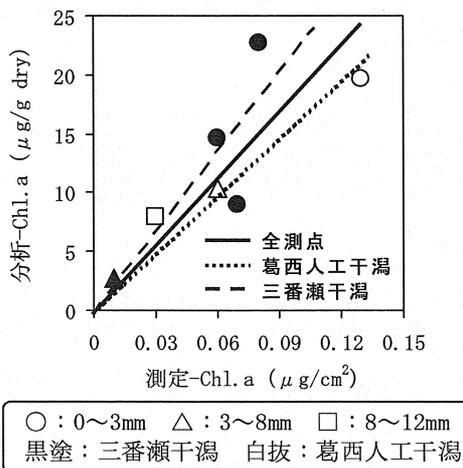


図-2 DMF分析値とベントフローラ測定値の比較結果

(2) クロロフィル-aの平面分布特性

干潟底面上に設置した方形枠測定の結果を図-3に示した。枠1は、平均値 $0.10\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、標準偏差 $0.043\mu\text{g}/\text{cm}^2$ であった。枠2は、平均値 $0.07\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、標準偏差 $0.019\mu\text{g}/\text{cm}^2$ であった。このように、目視ではほぼ均一な底質性状で、測定地点の間隔が0.2mであったにもかかわらず、現存量の分布にばらつきがみられた。また、干出していた枠2に比べて冠水していた枠1のばらつきが大きかったことから、干潟水中では表面のクロロフィル-aのばらつきが干出底面に比べて大きいことが推測できた。

このように分布にばらつきがみられるクロロフィル-aが何回程度の測定で収束するかを調べた。16個の測定値からランダムに抽出した複数の測定値の平均値を求め、その測定値が16回の測定値の平均値±標準偏差の範囲(枠1では $0.054 \sim 0.140\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、枠2では $0.049 \sim 0.087\mu\text{g}/\text{cm}^2$ の範囲)に入る回数を抽出し、その割合について調べた結果を図-4に示した。抽出した測定値の数を横軸に、16回の測定値の平均値±標準偏差の範囲に入る割合を縦軸に示す。測定回数1回では枠1、枠2ともに、16点の観測値の標準偏差に入る割合は約75%であった。測定回数3回では、93~96%に、測定回数5回では、約100%が含まれていた。このことから、 1m^2 の範囲内において妥当なデータを得るためには、その範囲内においてできれば5回、最低でも3点の測定を行い、その平均値を地点を代表する値とすることが望ましいと考えられる。

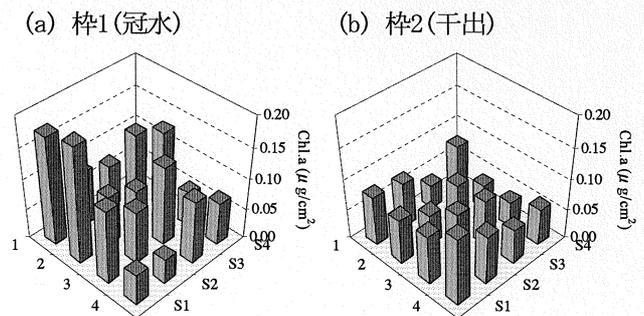


図-3 方形枠測定の結果

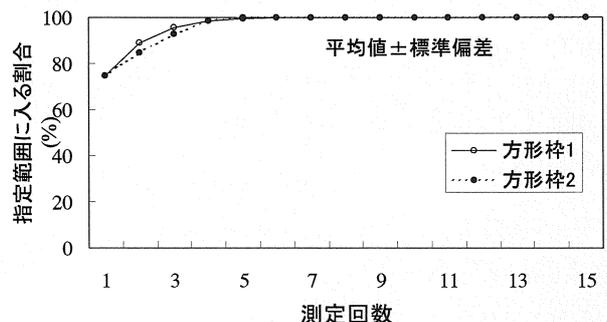


図-4 測定回数毎の平均値±標準偏差に入る割合

(3) クロロフィル-aの底質中での分布特性

2005年3月に阪南2区における造成干潟の3地点で採取した底質コアサンプルの表層から深さ5cmまでの1cm間隔の測定の結果を図-5に示した。値は、各地点2個の試料の平均値と最大値・最小値を示す。現存量は、Sta.Jでは深さ2cmまで測定されたものの、他の2地点では表層のみで測定された。

また、図-2に示した2005年5月に東京湾の葛西海浜公園と船橋海浜公園で分析値との比較のために実施した厚さ3から4mm間隔の測定の結果を図-6に示した。葛西海浜公園においては、深さ8mmにおいてもクロロフィル-aが測定された。この結果についても、表層からの鉛直分布は、表層で最も高い値を示していた。

これらの結果から、現存量は、表層で高く、深くなるにつれて減少する分布をしている様子が測定された。このことから、表面の測定のみで面的なクロロフィル-aが把握できる可能性を示唆した。

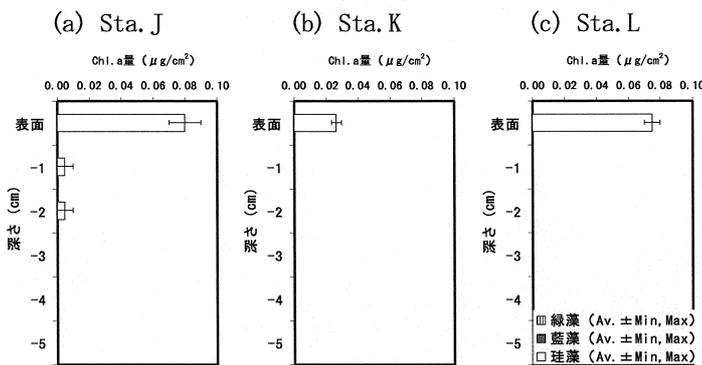


図-5 深さ方向のクロロフィル-aの変化 (阪南2区)

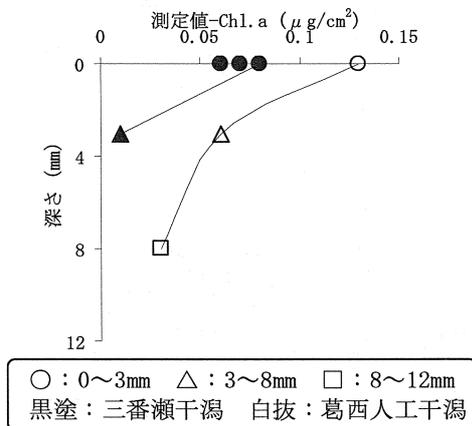


図-6 深さ方向のクロロフィル-aの変化 (葛西海浜公園, 船橋海浜公園)

(4) クロロフィル-aの分布と地盤高の関係

2005年3月に阪南2区における造成干潟で実施した干潟底面上に設置した測線上のクロロフィル-aの測定結果と同時に測定した地盤高を図-7に示した。クロロフィル-a

の値は、同一地点の3回の測定の平均値と標準偏差を示す。また、図-8に2005年2月, 3月, 9月に阪南2区における造成干潟の観測で得られたクロロフィル-aと地盤高との関係を示す。測定できる水深は、先端アダプターまでのコードの長さによる制限があるため、D.L.+0.5m以上の地盤高での測定結果を示す。

D.L.+105cm (M.W.L.+10cm)よりも低い地盤高で出現する傾向にあった(図-8)。図-7の岸沖方向の分布と比較すると、平均潮位 (D.L.+95cm)よりも低く、海底勾配の小さい領域で現存量は高い傾向にあった。このことから、地盤高と海底勾配が現存量を変化させる環境要因になることが示唆された。

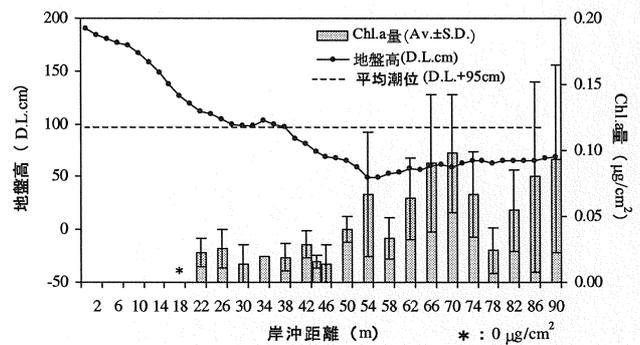


図-7 岸沖方向のクロロフィル-aと地盤高

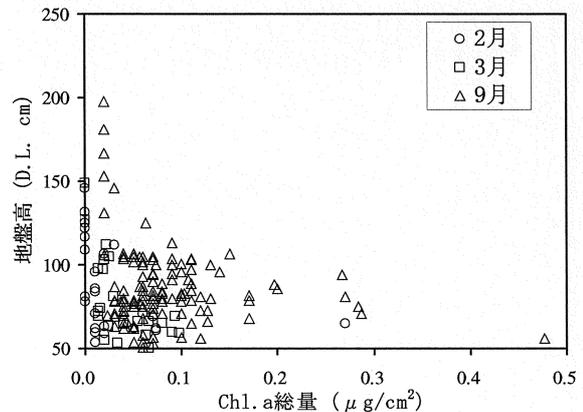


図-8 干潟底面上のクロロフィル-aと地盤高

(5) クロロフィル-aの日変化

2005年3月と2005年9月に阪南2区における造成干潟で実施した同一地点でのクロロフィル-aの日変化の2回以上の測定結果について、3月の結果を図-9に、9月の結果を図-10に示した。図のクロロフィル-aは、それぞれ近接する3点で算出した平均値と標準偏差で示した。

3月の測定の1回目は、午後1時から1時半の間、2回目は、午後4時から4時半の間であった。地点2の1回目と2回目の値には大きな差がみられたものの、地点1は、1回目と2回目は、ほぼ同じ値であった。

9月の測定の1回目は、午前9時から9時半、2回目は、午前11時半前後、3回目は、午後1時半前後であった。地

点3は、1回目から2回目にかけて増加し2回目から3回目にかけて減少しているものの、明瞭な変化を確認することができなかった。地点4についても、1回目から3回目にかけてわずかに増加しているものの、明瞭な変化を確認することができなかった。

干潟の付着藻類の基礎生産は、底生生物の餌となる十分な量があるといわれている⁵⁾。このため、既往の知見を踏まえ、日変動を把握するためには、今回のような3回の測定では明瞭な変化を観測することは難しく、測定回数を留意する必要がある。

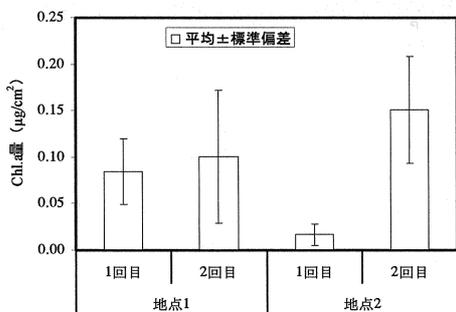


図-9 クロロフィル-aの時間変化(2005年3月)

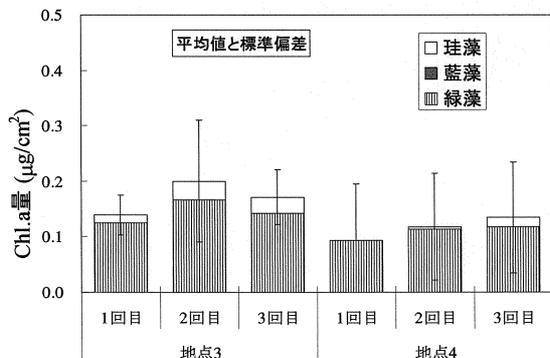


図-10 クロロフィル-aの時間変化(2005年9月)

(6) クロロフィル-aの季節変化

2005年2月、3月、9月に阪南2区における造成干潟で実施した測定結果のうち、干潟底面上で測定されたクロロフィル-aの測定値を整理し、種組成の季節変化を調べた(図-11)。その結果、2月および3月は、そのほとんどが珪藻であった。それに対し、9月はそのほとんどが緑藻で構成されていた。このことから、付着藻類の種組成には、季節変化があり、本測定器はこの変化を簡易に計測することができた。

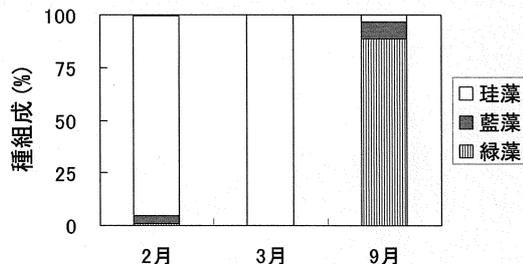


図-11 クロロフィル-aの種組成の季節変化

(7) クロロフィル-aの部材別特性

2005年9月に阪南2区における造成干潟で実施した干潟底面上と岩・石・竹といった基質表面の現存量とその標準偏差を図-12に示した。母数は、干潟底面がN=96、基質表面がN=49であった。どちらも基質表面の現存量が干潟底面よりも高い傾向にあった。

本測定器は、表面のクロロフィル-aを対象にするもので、干潟底面の地中に生息する付着藻類を直接測定することはできない。このため、干潟底面の付着藻類は実際には深さ方向で積分しなければ、基質表面のクロロフィル-aと同レベルの比較はできない。図-6に示したクロロフィル-aの鉛直分布等をもとに、値を補正する必要がある。

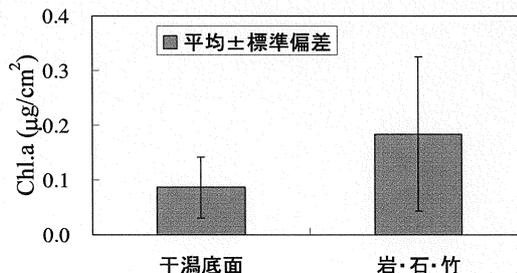


図-12 干潟表面と基質(岩・石・竹)のクロロフィル-a

4. おわりに

以上の携帯式蛍光光度計を用いた付着藻類のクロロフィル-aの観測結果をまとめると、次のようになる。

分析値との比較：携帯式蛍光光度計によるクロロフィル-aの測定値と鉛直方向に3~4mmで採取した底質試料のDMF抽出によるクロロフィル-aの分析値を比較すると、比較的高い一次相関を示した。Benthoflourによる非破壊測定法は、砂質干潟の底面上の、クロロフィル-a測定に有効である。また、本測定器による鉛直方向の数mm単位の精度での観測の可能性を示した。この結果から、本調査で使用した携帯式蛍光光度計は、干潟のクロロフィル-aの測定に有効と考える。

留意事項として、測定値と分析値の一次式の勾配は、干潟毎にわずかに異なる可能性があげられる。干潟相互の定量的な比較を行うためには、干潟毎に測定値と分析値を比較して、一次式を求める必要があり、今後の課題である。

クロロフィル-aの平面的分布特性：Bentho-Fluorは短時間に多くの測定データを取得することができるため、平面的なクロロフィル-aの測定は、可能となる。留意事項として、干潟の付着藻類の平面分布は、ばらつきが大きいので、1回の測定では、地点を代表させる値とはいえず、できれば5回、最低でも3回の測定を行い、その平均値をもって地点を代表する値とする必要がある。

クロロフィル-aの底質での分布特性：底質を3~4mmもしくは1cm単位でスライスして干潟底面のクロロフィル-aを計測した、東京湾と大阪湾の干潟での観測結果は、クロロフィル-aは表面で最も多く、深くなるにつれて減少し、深さ2cm以上になるとほぼ測定されなかった。このように、Bentho-Fluorを用いることで深さ方向に数mm単位間隔での測定も可能となる。また、その結果から、現存量は、表層で高く、深くなるにつれて減少する分布をしている様子を示していたことから、表面の測定のみで面的なクロロフィル-aが把握できることが示唆された。

クロロフィル-aの分布と地盤高との関係：測線に沿ったクロロフィル-aの測定結果から、平均潮位(D.L.+95cm)よりも低い地盤高で比較的高く測定される傾向があり、傾斜面よりも海底勾配のほとんどない平坦地で高い傾向がみられた。このように、Bentho-Fluorを用いることで、測線に沿ったクロロフィル-aの分布を容易に測定することが可能になる。留意事項として、底質付着藻類の分布は、地盤高や地形(海底勾配)に関係していることを念頭に入れて測定する必要がある。

クロロフィル-aの日変化：今回の観測では、測定回数が2または3回であったため、クロロフィル-aの明瞭な日変化が得られなかった。よって、留意事項は、日変化を把握するためには、測定時間間隔を短くとり、同時刻の測定点数を多くとるなどの対処が必要で、今後の課題である。また、日変化の把握を対象としない場合も、測定にあたっては、測定時刻を明記することが重要で、正確を期する場合には、数地点で日変化調査を行い調査時刻による補正を行うなど、日変化への対処が今後の課題にあげられる。

クロロフィル-aの季節変化：阪南2区における造成干潟で行った2月、3月、9月の測定結果から、2月と3月は珪藻類が主であったが、9月は緑藻類が主であった。この

ように、Bentho-Fluorを用いることで、付着藻類のクロロフィル-aだけでなく、付着藻類の種組成の季節変化も把握できる。

クロロフィル-aの部材別特性：干潟底面のクロロフィル-aと岩・石・竹といった基質表面のクロロフィル-aを比較すると、基質表面の方が高い傾向にあった。本測定器は表面を測定の対象とするため、干潟底面の地中に生息するクロロフィル-aは含まれていない点に留意しなければならない。このため、両者を同等に比較するためには、深さ方向に積分を行うなどの処理が必要と考えられ、今後の課題である。

以上より、短時間で広域かつ詳細な計測が可能な携帯式蛍光光度計を用いた付着藻類の現存量測定手法は、造成干潟等の機能を評価する際のモニタリング調査手法として有効であり、従来の調査手法に加えて本手法を適用することで、より多くの知見が得られることが期待される。

5. 謝辞

本研究の一部は、都市臨海部に干潟を取り戻すプロジェクト(国土技術政策総合研究所)の阪南2区干潟創造実験として実施された。阪南2区造成干潟への立ち入り・調査実施に関しては、大阪府港湾局から許可をいただいた。関係各位にお礼申し上げます。

参考文献

- 1) 国土交通省港湾局監修/海の自然再生ワーキンググループ：海の自然再生ハンドブック(第2巻干潟編)，2003。
- 2) 古川恵太・藤野智亮・三好英一・桑江朝比呂・野村宗弘・萩本幸将・細川恭史：干潟の地形変化に関する現地観測—盤洲干潟と西浦造成干潟—，港湾技研資料，No.965，2000。
- 3) 古川恵太・岡田知也・東島義郎・橋本浩一：阪南2区における造成干潟実験—都市臨海部に干潟を取り戻すプロジェクト—，海洋開発論文集，Vol.21，pp.659-664，2005。
- 4) M.Beutler, K.H.Wiltshire, B.Meyer, C.Moldaenke, C.Luring, M.Meyerhofer, U.P.Hansen and H.Dau : A fluorometric method for the differentiation of algal populations *in vivo* and *in situ*. *Photosynthesis Research*, 72, pp.39-53, 2002.
- 5) 門谷茂：特集 瀬戸内海の現状と干潟域における物質循環，海洋と生物 129, Vol.22, No.4, pp.323-331, 2000。