多波長励起蛍光光度計を用いた植物プランクトングループの推定

鹿児島大学　学生会員　黒木豊　正会員　小橋乃子　安達貴浩

1. はじめに　有害植物プランクトンの早期検出に対し、植物プランクトングループ推定のために開発された多波長励起蛍光光度計(JFE アドバンテック社製 Multi-Exciter 以降、MEX と呼ぶ)には多くの期待が寄せられている。その一方で、デフォルトの設定をそのまま用いても適切なデータが得られないことが報告されていることから、著者らは現場サンプル水から基準スペクトルを作成する手法を提案している。既に、湖沼における Chl-*a*-S・アオコ(藍藻)・DOC の推定に関して比較的良好な結果が得られているため、本研究では、既往の研究で検討していない沿岸海域での Chl-*a*-S ならびにミクロプランクトンの推定精度について検討を行った。また、2019 年のアオコ大増殖の早期検出に対する MEX の適用可能性について検討した。

2. 多波長励起蛍光光度計(MEX)による植物プランクトン組成の推定式　MEX は 9 つの異なる波長の光源で植物プランクトンを励起し、励起蛍光スペクトルを計測するものである。植物プランクトンは綱群毎に特徴的な光合成色素を持つため、励起蛍光スペクトルにもその結果が反映される。このため、励起蛍光スペクトルから植物プランクトンのグループを推定することが可能となる。具体的には、以下の式が用いられる。

$$FI_i = \sum_{j=1}^{n} S_{ij} C_j \quad (i=1\sim9) \qquad \text{ただし、} C_j \geqq 0$$

ここで、i：光源の番号、n：基準スペクトルの総数、S_{ij}：Chl.a で規格化した基準スペクトル、C_j：j 番目の植物プランクトングループの Chl-a 分画である。ちなみに基準スペクトル（S_{ij}）のデフォルトは、3 つの植物プランクトングループ（n=3：珪藻グループ、緑藻グループ、藍藻グループ）のみが与えられている。

3. 調査の概要　鹿児島湾北部海域と大鶴湖において、月 1 回程度の割合で以下の調査を実施した。**［タイプⅠ：基準スペクトル推定のための調査］**各成分の基準スペクトルを明らかにするため、それぞれの現場において採水したサンプル(未濾過)、目合 20 ㎛のプランクトンネットで濾過したサンプル、孔径 0.7 ㎛のガラス繊維濾紙で濾過したサンプルのFI_iを計測した。0.7 ㎛以下で検出される成分を CDOM 分画(=FI_{Ci})、20 ㎛と 0.7 ㎛の差を微小植物プランクトン分画(=FI_{Si})、さらに未濾過の計測結果 FI_i から $FI_{Ci} + FI_{Si}$ を差し引いたものをミクロ植物プランクトン分画(=FI_{Li})とした。なお、基準スペクトルは各観測日の Chl-a 極大層でのみ作成し、その他の水深にも適用した。**［タイプⅡ：検証のための調査］**鉛直方向の複数点で採水を行い、ミクロ植物プランクトンと微小植物プランクトンの Chl-a 濃度(以下、Chl-a-L、Chl-a-S)の分析を行った。また、MEX による蛍光強度スペクトルFI_iの鉛直分布を計測した。さらに、Chl-a が極大となる水深のサンプルに対し、検鏡によりミクロ植物プランクトンの種組成を計測し、これらを検証データに用いた。

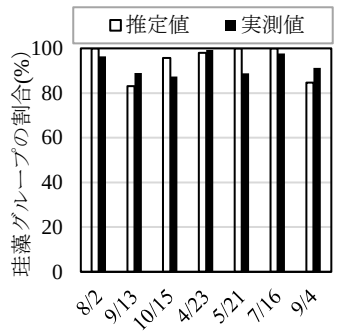

図-1 珪藻の実測値(細胞数の割合)と推定値(Chl-*a*) (2018~2019 年)

4. 沿岸海域(鹿児島湾北部海域)における植物プランクトングループの推定　(1)珪藻グループの推定　観測地点の植物プランクトン組成は、色素的には同一グループとなる珪藻、渦鞭毛藻、ハプト藻が優占することが多く、緑藻や目に見えるサイズの藍藻はほとんど出現しない。このため、検鏡調査で得られた珪藻グループの細胞数の割合と推定値(Chl-*a*)の比較を行ったところ、比較的良好な結果が得られた(図-1)。なお、ミクロサイズの植物プランクトンであっても細長い形状のものは Chl-*a*-S と混在し、適切な分離ができなかったため、ここではデフォルト 3 グループ+CDOM の 4 分画

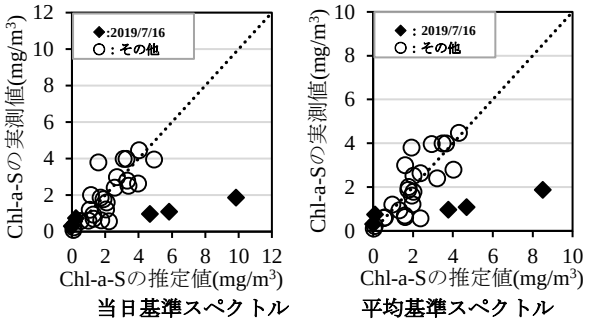

図-2　Chl-*a*-S の実測値と推定値の比較
(デフォルト 3 グループ、Chl-*a*-S、CDOM の 5 分画で推定)

の基準スペクトルで珪藻グループの推定を行った。

(2) Chl-*a*-S の推定　次に、デフォルト 3 グループ+Chl-*a*-S+CDOM の 5 分画の基準スペクトルを用いて、実測の Chl-*a*-S を推定した。2019 年 4 月から 9 月の結果を見ると(図-2)、値が大きく外れる 7/16 を除外すれば比較的良好に推定されていることが分かった。なお、図-2 左図は観測日の Chl-*a*-S 極大で作成した基準スペクトルを全水深に適用した結果であるのに対し、右図は全観測期間で平均した一つの基準スペクトルを用いて推定した結果となっている。図-2 の左図と右図を比較しても大きな相違は見られないことから、本観測地点の Chl-*a*-S 分画を構成する植物プランクトンの色素グループ組成は 4 月から 9 月にかけてそれ程変化しなかったものと推察される。次に再現性の悪かった 7/16 について検討した。タイプ I の調査結果から得られた同日の FI_{Li} および Chl-*a*-S(図-3 左図)とデフォルト 3 グループの基準スペクトルを見ると(図-3 右図)、FI_{Li} と Chl-*a*-S の基準スペクトルがほぼ同じ形状であった。サイズ分画した基準スペクトルを使用する本推定手法は、デフォルトの 3 グループ(珪藻、緑藻、藍藻)の基準スペクトルの組み合わせでミクロプランクトン分画(FI_{Li})を再現しようとするものである。ところが、7/16 においては再現すべき FI_{Li} と Chl-*a*-S の基準スペクトルの形状がほぼ一致していたため、FI_{Li} に相当する分画をデフォルト 3 グループではなく Chl-*a*-S として推定したと考えられる。なお、通常は FI_{Li} と Chl-*a*-S の基準スペクトルの形状に差があることが多い(図示省略)。

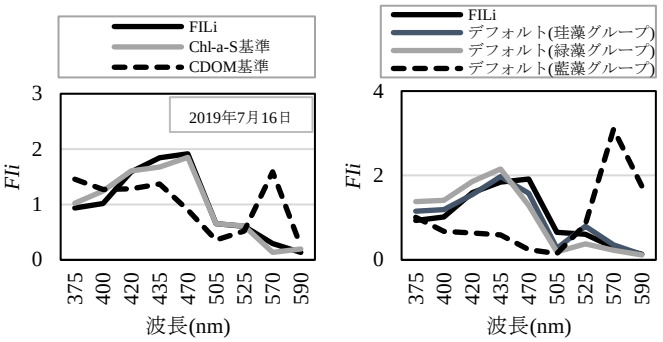

図-3　各平均値で規格化した基準スペクトルと FI_{Li}

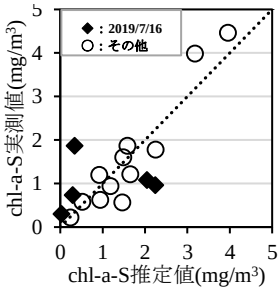

図-4 Chl-*a*-S の実測値と再推定値 (Chl-*a*-L,Chl-*a*-S,CDOM 分画の 3 分画で推定)

(3) Chl-*a*-L 分画の基準スペクトルを用いた推定　7/16 のように、デフォルト 3 グループよりも Chl-*a*-S の基準スペクトルの方が FI_{Li} の形状に類似している場合、大きな推定誤差を生じたが、Chl-*a* 極大における植物プランクトンのグループ組成が水深方向に大きく変わらない、つまり実測の FI_{Li} から作成した Chl-*a*-L 分画の基準スペクトルを他の水深にも適用できると仮定すれば、Chl-*a*-S の推定精度は上がる可能性がある。このため次に、Chl-*a*-L、Chl-*a*-S、CDOM の基準スペクトルを用いて実測の Chl-*a*-S を再推定したところ(図-4)、推定精度が改善されることが分かった。同様に、実測の Chl-*a*-L も比較的良好に推定できることが分かった(図示省略)。

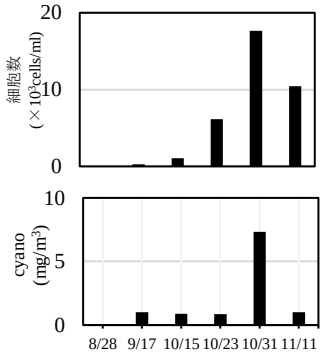

図-5 アオコ(藍藻グループ)の細胞数とアオコの推定値

5. ダム湖(大鶴湖)におけるアオコ(藍藻類)の検出　(1)アオコの早期検出　大鶴湖においてもデフォルト 3 グループに加え、現場で作成した Chl-*a*-S と CDOM の 5 分画の基準スペクトルを用いてアオコ（藍藻グループ）の推定を行った(図-5)。9/17 は目視でアオコは確認されておらず、また検鏡調査においても 1 群体のみと細胞密度は非常に低かったが、MEX ではアオコの存在を示す結果が得られている。今後更なる検証が必要であるが、本研究により発生初期のアオコの検出に MEX が活用できる可能性が示された。

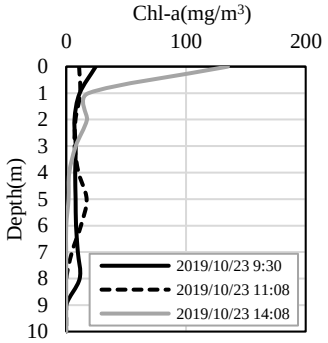

図-6 アオコ(藍藻グループ)の推定

(2)アオコの日周鉛直移動　次にアオコ発生時の大鶴湖において、数時間間隔で MEX の計測を行い、アオコの鉛直分布を推定した(図-6)。結果を見ると午前中には下層にあったアオコのピークが時間の経過とともに上昇しており、アオコが増殖・集積しながら鉛直移動する様子が観測できた。

6. 結論　本研究より沿岸海域においても MEX を用いて Chl-*a*-S 等の推定が可能であることが示された。また MEX の係留等によって、アオコを早期検出できる可能性が示唆された。