

N-5 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

○北村友一^{1*}・鈴木 穰²

¹ (独) 土木研究所水環境研究グループ (〒305-8516 つくば市南原1-6)

² (独) 土木研究所材料地盤研究グループ (〒305-8516 つくば市南原1-6)

* E-mail: kitamura@pwri.go.jp

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¹⁾。しかし、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その計数が可能かどうかを調査した。

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、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 ± 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、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 μm 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 霞ヶ浦の採水地点

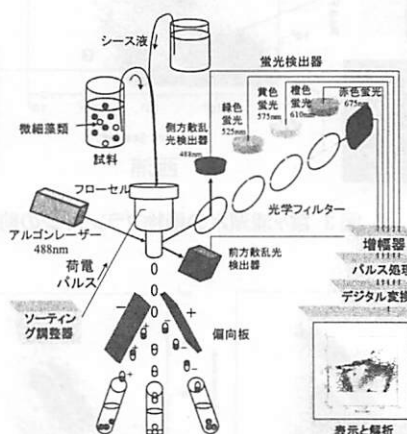


図 2 フローサイトメトリーの概要

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グルーピング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の場合、細胞の大きさに関する情報とクロロフィル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 (A,B,C,D,E,F,G) を分取し、微分干渉とG励起での蛍光 (顕微鏡下では赤色蛍光で観察される) 顕微鏡観察の結果も合わせて掲載した。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。Aの集団はアウラコセイラ、ハリ珪藻などの大型のケイ藻、B集団は、タルケイソウ、マルケイソウ、円形の緑藻、Cは約10 μ mの微細ラン藻、Dは糸状ラン藻であるオシラトリア、Eはピコ植物プランクトン、F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はデブリやデブリに取り込まれたピコ植物プランクトンが観察された。各集団の顕微鏡観察から、植物プランクトンを種類毎に完全にグループ化できていなかったが、フローサイトメトリーは、湖水中の植物プランクトン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5, 8, 11, H21年2月の西浦と北浦湖水中の植物プランクトンを図3と同様に前方散乱と赤色蛍光強

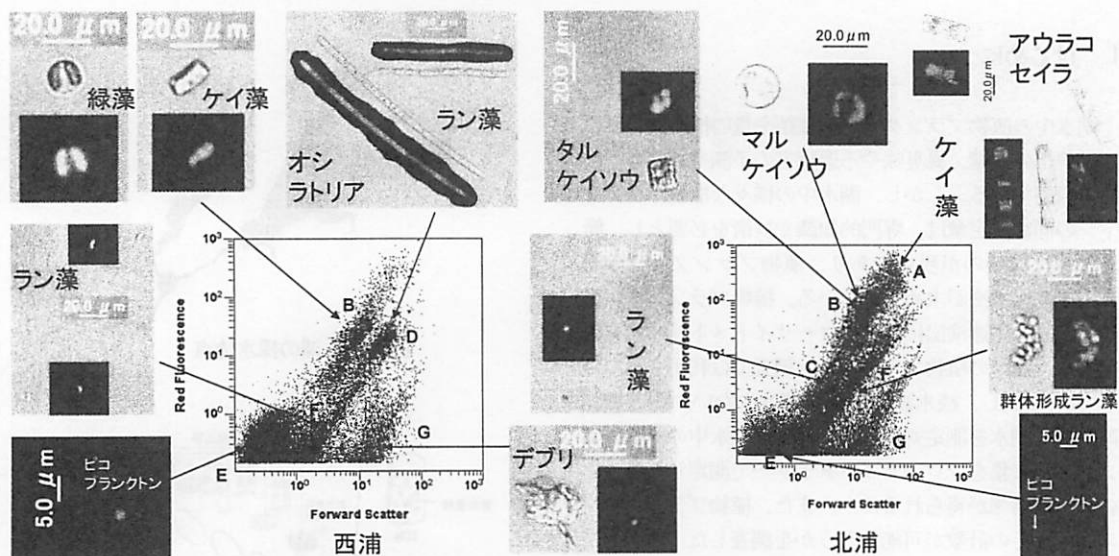


図3 震ヶ浦湖水中の植物プランクトンの前方散乱強度と赤色蛍光強度の関係と各集団の顕微鏡観察像

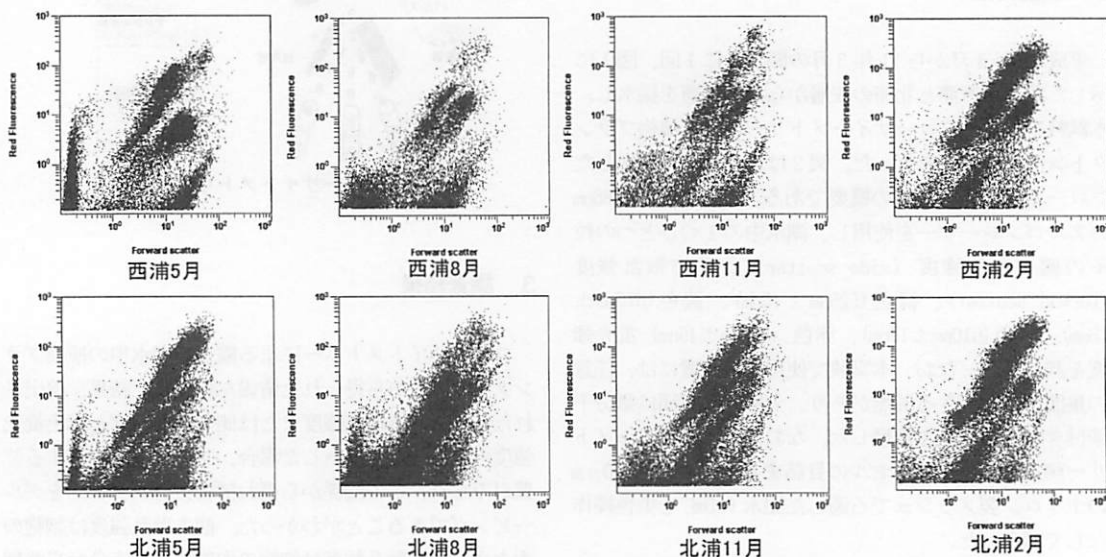


図4 フローサイトメトリーによるH20年5,8,11,H21年2月の震ヶ浦湖水中の植物プランクトン群集の測定結果

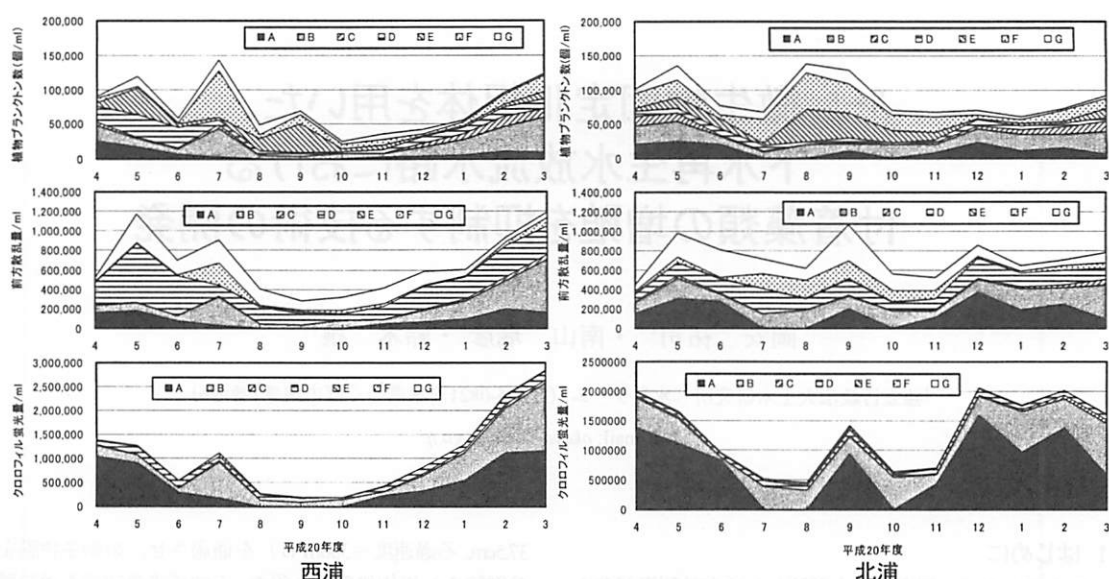


図5 霞ヶ浦湖水の植物プランクトン個数、クロロフィル蛍光量、前方散乱量の経月変化
A:ケイ藻、B:ケイ珪藻緑藻、C:微細ラン藻、D:糸状ラン藻、E:ピコプランクトン、F:群体形成ラン藻、G:デブリ

度の関係でプロットしたものである。図4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いることがわかり、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。

図5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。個数でみると、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。西浦では7月、北浦では、8、9月に群体を形成する微細ラン藻が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。

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により植物プランクトン群集を測定した結果、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、植物プランクトンは概ねグルーピングでき、それぞれの集団の計数や蛍光量が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大きさ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った。

参考文献

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

4. おわりに