

東郷池におけるピコプランクトンの 増殖特性に関する研究

【水環境室】

奥田益算

A Study of the Growth Characteristics of Phototrophic Picoplankton in Lake Togo

Masukazu OKUDA

Abstract

We investigated phototrophic picoplankton to examine its influence on the water quality of Lake Togo. Using Algal Growth Tests (based on isolated lake picoplankton), we studied its growth characteristics in varying salinities and at various temperatures.

As a result, we observed that:

- 1) Picoplankton was measured at 10^7 - 10^8 cells/L year-round in Lake Togo and many picoplankton tended to appear in the period between summer to autumn.
- 2) The percentage of picoplankton contained in Lake Togo's water content (Total-COD) was about 10%, which was less than our assumption.
- 3) A 0-50% concentration of sea water was the optimal salinity, and a temperature of 25-30 °C was the optimal temperature for picoplankton growth.

1 はじめに

鳥取県中部の東郷池では、流域下水道整備等の種々の施策を講じているにも関わらず水質浄化の顕著な効果がみられていないのが現状で、環境基準である COD は、近年も 4.6~5.2mg/L でほぼ横這いで推移している。

このような湖沼の有機汚濁を考えるために重要な要素として植物プランクトンの増殖による内部生産が挙げられる。東郷池では、植物プランクトン総量の指標であるクロロフィル (Chl-a) は比較的高く、それによる COD 等の水質への寄与が相当程度あると考えていたが、実際に湖水を顕微鏡にて植物プランクトン観察・計数すると思ったより各種植物プランクトンの細胞数が少ないという異相関の傾向が見受けられた。

そこで、東郷池における植物プランクトンの細胞数と Chl-a 値との異相関の原因の一つとして、ピコプランクトンの存在があるのではないかと考えた。このピコプランクトンは、0.2~2 μ m 程度の大きさと一般的に定義されており、現状までの顕微鏡観察では、観察困難として今まで見過ごしてきたものである。なお、ピコプランクトンは、淡水域~海域等の一般水環境中に出現が確認されており、植物プランクトンによ

る 1 次生産の大部分を占める場合もあるとも報告されている。¹⁾ また、琵琶湖で 1989 年にはピコプランクトン異常増殖により透明度の低下等の影響も確認されている。²⁾
³⁾

そこで本調査は、今まで注目してこなかった東郷池におけるピコプランクトンの環境調査及びそのピコプランクトンの増殖特性、水質汚濁への影響等の把握を目的とした。

2 調査方法など

1) 東郷池のプランクトン及び水質の定期調査
(1) 調査対象

2007~08 年度 (平成 19~20 年度) の月 1 回の東郷池常時監視調査時に東郷湖中央部にて採取した湖水について、以下の (2) 及び (3) の試験を実施した。

(2) プランクトン観察

東郷池のプランクトン消長状況を把握するために、以下の方法にてプランクトン調査を実施した。^{1) 2)}

固定処理、濃縮方法

採取した湖水にグルタルアルデヒドを最終濃度が 1% になるよう添加し、次の a) b) の 2 種の方法で濃縮してプランクトン顕微鏡観察用の試料とした。

a) プランクトン全量濃縮

湖水の一定量を孔径 0.45 μm のメンブレンフィルタで濾過し、フィルタ上の捕集物を少量の水を用いてスパーテルでこそぎ落として採取後、アルデヒドを加え、アルデヒド最終濃度が 1% となるように一定量の水で定容してプランクトン濃縮試料を得た。

b) 5 μm フィルタ分画による極小プランクトンの選択濃縮

あらかじめ孔径 5 μm のヌクレポアフィルタで濾過した湖水濾液を a) の方法を用いて濃縮し、5 μm 以上のプランクトンを含む懸濁物を排除したプランクトン濃縮試料を得た。

プランクトンの顕微鏡観察

a) 使用顕微鏡

観察に用いた顕微鏡は、B 励起、G 励起、UV 励起蛍光を観察できるフィルタを有した落射蛍光システム付きの生物顕微鏡（オリンパス製 BX51）で行った。

b) プランクトン計数方法

顕微鏡下でのセルカウント等で用いるトーマの血球計算盤（1mm \times 1mm \times 0.1mm、計算室容量 0.1 μL ）もしくは、バクテリア計数盤（1mm \times 1mm \times 0.02mm、計算室容量 0.02 μL ）を用いて、計算室内のプランクトンを同定・計数して、プランクトン濃縮試料の濃縮率から湖水中のプランクトン計数結果を算出した。また、ピコプランクトンに関しては、顕微鏡の蛍光システムを用いてクロロフィル色素等の自家蛍光を有するものを見分けて計数した。

(3) 水質調査

プランクトンによる水質への寄与の程度を把握するために、同時に採取した湖水について、COD、濾過態-COD（：GF/C フィルタにて濾過、以下 D-COD）、Chl-a（UNESCO 法、GF/C にて捕集後アセトン抽出液による分光光度分析）を実施した。

なお、プランクトンのサイズ分画別の Chl-a 濃度を把握するために、孔径 12 μm 、5 μm のヌクレポアフィルタによる分画捕集を施し、通過した捕集成分（捕集は GF/C）の Chl-a 分析を行った。

2) ピコプランクトンの増殖特性試験

(1) ピコプランクトンの単藻分離

湖水中から極小プランクトンの単藻分離をするには、通常多く用いられているマイ

クロピペット法（顕微鏡視野下でのピペットによる物理的分離・培養）では困難である。そこで、次に示すフィルタによる物理的分画及び増殖培地の意図的選択による淘汰的培養を試みた。

06 年 10 月に採取した東郷池湖水を孔径 4 μm のガラスフィルタで濾過し、その濾液に藍藻類の培養に良く用いられる MA 培地、M11 培地、CT 培地を作成するための栄養塩等試薬を添加した。これにより濾液ベース（極小プランクトンはフィルタを通過するため、濾液内に見かけ上植種されていることになる。）の異なる増殖培地を作成した。この培地 150ml を 300ml 三角フラスコに分注し、30、2000Lxs、50 回転/min の攪拌器付き培養機内で 2 週間培養し、極小プランクトンの選択的培養を試みた。

(2) 耐塩分増殖特性試験

(1) にて得られた単藻プランクトンの耐塩分増殖特性を調べるために、人工海水（日本製薬株式会社製、ダイゴ人工海水 SP）を用いて塩分濃度の異なる増殖培地（海水濃度：0~100%、10% 刻み、CT 培地と同様の栄養塩類を全てに同濃度添加）を作成した。

その培地を 300ml 三角フラスコに 150ml を分注した後、単藻プランクトンを植種し、(1) と同様の培養温度、照度、攪拌速度にて培養して、それぞれの増殖の程度を Chl-a の増加量で評価した。なお、Chl-a 濃度の分析は、UNESCO 法にある GF による濃縮方法を参考に、培養液の遠心分離によるプランクトン濃縮（遠心分離後の溶媒抽出は同様）に換えて実施した。

(3) 温度増殖特性試験

(2) と同様に、単藻プランクトンの水温による増殖特性を調べるために培養温度のみの異なる培養条件系（2000Lxs、50 回転/min、増殖培地：CT 培地）を設計し、それぞれの温度による増殖の程度を (2) と同様の Chl-a 分析により評価した。

3 調査結果及び考察

1) 調査期間中の水質変化及び出現プランクトンについて

(1) 調査期間中の水質変化について

07 年 6 月 ~ 08 年 3 月までの COD、懸濁態 COD（以下、P-COD：COD から D-COD を減じた数値）及びヌクレポアフィルタによるサ

イズ分画別（12 μm 以上、12～5 μm、5 μm 以下）の Chl-a の推移は図 1 のとおりであった。この期間における各数値の平均は、COD:4.51mg/L、P-COD:1.67mg/L、P-COD/COD の割合：36%であった。COD と P-COD の期間推移はほぼ同調しており、COD の約 20～40%程度が P-COD で占められている傾向にあると考えられる。

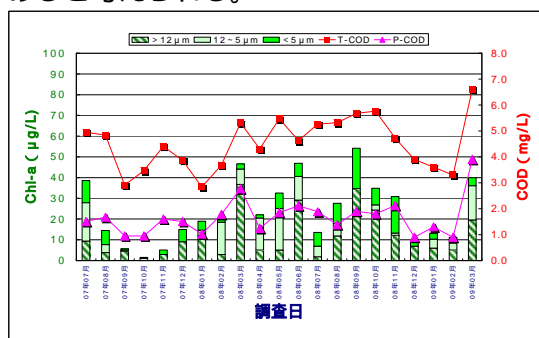


図1 COD、p-COD サイズ分画別 Chl-a の推移

一方、全 Chl-a は、COD 及び P-COD とはあまり同調していない。これは、懸濁態の COD である P-COD に占める植物プランクトン存在量が季節や採水時毎に大きく異なることが考えられ、植物プランクトン有機物量に対する Chl-a 量（おそらく、プランクトン種類毎に異なり、C:Chl-a 比は、サイズ小ほど低い傾向にある⁴⁾）の比率や底質巻き上げや流域からの流入による懸濁態で構成される有機物の P-COD への寄与が影響していることが示唆される。

また、全 Chl-a 中のサイズ分画別 Chl-a を見ていくと、>12 μm、12 - 5 μm、<5 μm の 3 区分の分画が占める割合（調査期間中平均値）は、およそ 50%、25%、25%程度である。また、この調査期間全体で見ると全 Chl-a 中の<5 μm 分画 Chl-a の割合は、およそ 20～40%程度で推移していた。つまり、（分画 Chl-a 量のみで植物プランクトンの総量について論じるのは少々危険であるが、）全植物プランクトンの 20～40%程度が 5 μm 以下の極小プランクトンで構成されていることが示唆される。

(2) 調査期間中のプランクトン出現種について

07 年～08 年の調査期間中のピコプランクトン及び優占ナノプランクトンの結果を表 1 に、このピコプランクトンの出現数と(1)で前述した 5 μm 以下のプランクトン

分画 Chl-a の推移を図 2 に示す。

この調査期間中においては、珪藻類に分類される *Cyclotella*、*Chaetoceros*、*Melosira* 等が頻出・優占していた。この傾向は、本調査以前も同様であり東郷池で優占するナノプランクトンはこれらの珪藻類が通常である。一方、ピコプランクトンは、年間を通じて $10^7 \sim 10^8$ cells/L のオーダーで出現し、特に夏～秋にかけての出現数がその他季節と比べ比較的高い傾向にあった。

また、図 2 より、ピコプランクトン出現数と 5 μm 以下のプランクトン分画 Chl-a の推移は、調査期間中ほぼ同調の傾向を示しているため、これらピコプランクトンと東郷池の 5 μm 分画 Chl-a とは、ほぼ同義として考えても良さそうである。

表1 ピコプランクトンと優占ナノプランクトンの推移

調査日	ピコプランクトン出現数 (cells/L)	優占ナノプランクトン	
		属名	(cells/L)
07年04月09日	-	<i>Cyclotella</i>	9.8E+05
07年05月07日	-	<i>Cyclotella</i>	1.5E+06
07年06月04日	-	Unknown	3.7E+06
07年07月09日	3.4E+08	<i>Cyclotella</i>	1.3E+06
07年08月06日	6.6E+08	<i>Cyclotella</i>	1.1E+06
07年09月03日	4.1E+07	Unknown	1.5E+07
07年10月09日	3.2E+07	<i>Cyclotella</i>	1.0E+06
07年11月05日	6.3E+07	<i>Cyclotella</i>	9.8E+05
07年12月03日	2.9E+07	<i>Chaetoceros</i>	3.2E+06
08年01月07日	8.5E+07	<i>Melosira</i>	1.3E+06
08年02月04日	1.1E+08	<i>Chaetoceros</i>	2.4E+06
08年03月03日	8.5E+07	<i>Aphanocapsa</i>	5.6E+07
08年04月07日	1.8E+08	<i>Melosira</i>	4.6E+06
08年05月07日	4.3E+08	<i>Cyclotella</i>	4.0E+06
08年06月02日	4.1E+08	<i>Melosira</i>	3.0E+06
08年07月22日	4.3E+08	<i>Cyclotella</i>	1.5E+06
08年08月04日	2.3E+08	<i>Chaetoceros</i>	3.3E+06
08年09月01日	7.3E+08	<i>Coccolithus</i>	7.2E+06
08年10月06日	1.1E+08	<i>Chaetoceros</i>	5.1E+06
08年11月04日	4.0E+08	<i>Chaetoceros</i>	2.3E+06
08年12月01日	1.2E+08	<i>Chaetoceros</i>	1.7E+06
09年01月20日	2.4E+08	<i>Cyclotella</i>	4.2E+05
09年02月02日	1.4E+08	<i>Cyclotella</i>	3.6E+05
09年03月17日	7.0E+07	<i>Cyclotella</i>	3.0E+08

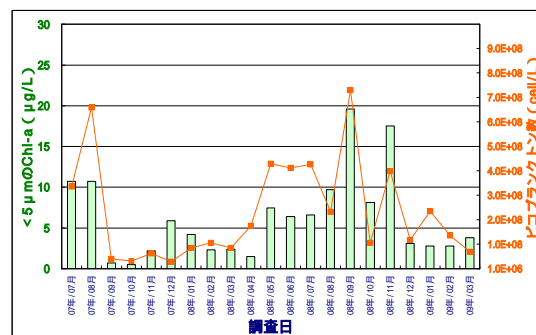


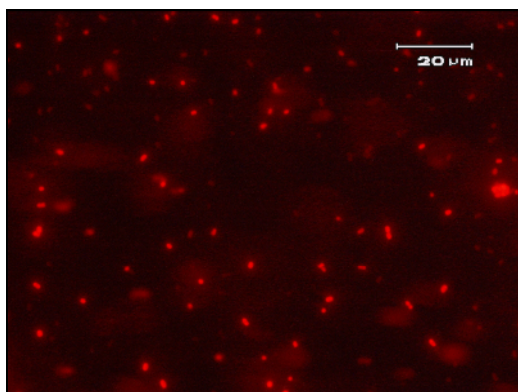
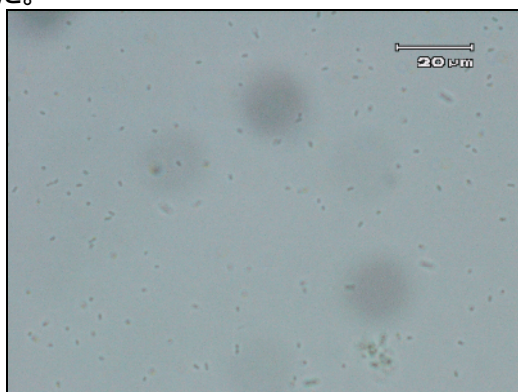
図2 <5 μm 分画 Chl-a とピコプランクトン計数結果

2) 単藻分離したピコプランクトンの増殖特性結果について

(1) ピコプランクトンの単藻分離

前述した培地選択による淘汰的培養法による MA 培地、M11 培地下の培養では、多種のプランクトンやバクテリア等の同時繁殖が見られ、ピコプランクトンの単藻分離はできなかった。一方、CT 培地による培養では、図3、図4に示すプランクトンの優占培養が確認された。そこで、この培養により得られたプランクトンについて、CT 培地による継代培養を3～4回継続して実施したところ、このピコプランクトンの単藻分離に成功することができた。

このピコプランクトンは、原核細胞で直径 1.5～2 μm でほぼ球形～楕円の形態を有しており、蛍光顕微鏡でのG励起観察では、鮮やかに赤く発光して見える。これらの情報及び文献により *Synechococcus* 属に属する藍藻ピコプランクトン種であると同定した。 1) 3) 5)



単藻分離したピコプランクトンの顕微鏡写真

図3(上): 生物顕微鏡(1000倍)

図4(下): 蛍光顕微鏡(図3と同視野)

(2) 耐塩分増殖特性試験

(1) のピコプランクトンの耐塩分増殖特性把握試験における海水濃度(0～100%)毎の Chl-a 増加量の経時変化は、図5のとおりであった。

海水濃度 0～50%における Chl-a 増加速度及び増加量は、ほぼ同程度で培養7日目位まではほぼ対数増殖していることがうかがえる。一方、海水濃度が60%を超えて100%になる従って増加速度、増殖量ともに低くなる傾向があるが、海水濃度100%でも十分増殖可能であることが分かる。

ここで、東郷池の塩分濃度は、通常、海水の約10～20%程度であるため、東郷池は、このピコプランクトンの好適塩分濃度の範囲内であることが示唆される。

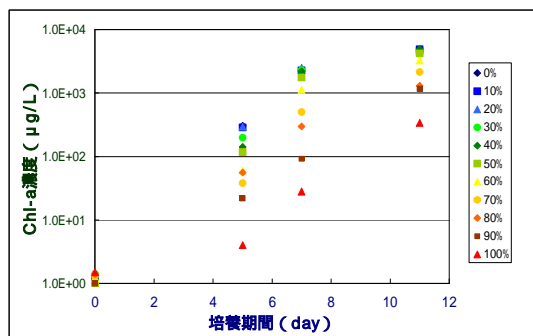


図5 耐塩分増殖特性把握試験結果

(3) 温度増殖特性試験

(1) のピコプランクトンの温度増殖特性把握試験における水温(15, 20, 25, 30)毎の Chl-a 増加量の経時変化は、図6のとおりであった。培養温度 25、30 における Chl-a 増加速度及び増加量は、ほぼ同程度で4つの培養条件中で最大の値となった。一方、培養温度が20、15と低下するに従い、増加速度及び増加量は低下し、培養温度15(培養期間4日)における培養速度及び増加量は、30の約1/3にまで低下している。ここで、東郷池の水温は、1年間を通して約5～30で推移し、20～30になる期間は、5月～10月程度であることから、湖水温だけで考えると、この初夏～秋にかけての季節が、ピコプランクトンの好適な増殖期間であると見て取れる。

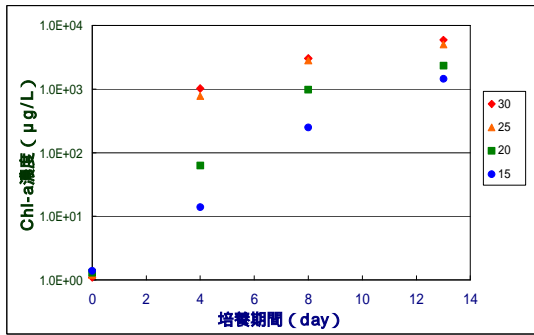


図6 温度増殖特性把握試験結果

4 まとめ

1) ピコプランクトンの水質への寄与について

東郷池のピコプランクトンは、調査期間中において年間を通じて $10^7 \sim 10^8$ cells/L のオーダーで出現し、夏～秋にかけて多く出現する傾向にあった。Chl-a を湖水の植物プランクトンの総量として扱えば、フィルタ分画の Chl-a 分析結果より、全植物プランクトンの約 20～40% 程度をピコプランクトンが占めていることが示唆される。

一方、ピコプランクトンの水質 (COD) への寄与度を考えると、全 COD に占める P-COD の割合は期間平均 40% 程度であった。そのため、P-COD の 20～40% がピコプランクトンで占められていると大きく見積もってもピコプランクトンの全 COD に占める割合は 10% 程度の値であり、COD への寄与度はそれほど高くないとして支障はないと考えられる。

反対に溶存態の D-COD が全 COD の半分以上を占めることは、注目すべき事項であり、湖沼の水質汚濁の解消を考える上で、これらの実態把握や削減等をもっと検討していく必要があると考えられる。

また、当初で疑問視していた各種植物プランクトン細胞数と Chl-a 値との異相関については、単純に観察された全プランクトンの細胞数と全 Chl-a を比較していたことが原因で間違った見解をしてしまったと考えている。つまり、(本報ではデータ検証までは至っていないが) この異相関の原因としては、観察される植物プランクトン種ごとの細胞の大きさがそれぞれ異なること、植物プランクトン種により細胞体積当たり Chl-a 比率が多少異なってくることなどが列挙される。

2) ピコプランクトンの増殖特性について

東郷池から単藻分離したピコプランクトン株を用いて、塩分と水温による増殖特性把握試験を行った。その結果、塩分については、海水濃度 0～50% で好適増殖を示すが、海水濃度 100% でも増殖可能な種であること、水温については、25～30 度で好適増殖を示し、水温が 20、15 と低下するに従い増殖能が低下していくことが分かった。

これを東郷池の水環境に当てはめて考えると、東郷池塩分については、このプランクトンの好適増殖の範囲であり、水温については、25 を超える初夏～秋が好適増殖期であるということになる。これらは、フィールドでの調査結果とほぼ同調する結果であった。

3) 湖内生態系への影響及び関連について

本報では、ピコプランクトンの水質への寄与度を重点的に考えたが、この植物プランクトンが湖内環境全体で占める役割・影響については不明な点が多いのが現状である。つまり、湖内食物網におけるピコプランクトン捕食者の実態把握やその他植物プランクトン増殖に与える種間競争の影響等の把握も踏まえた水環境の調査・解析が必要で、それを軸にして水質への影響や水環境への寄与を考えることが望まれる。

よって今後は、ピコプランクトン等の植物プランクトンだけに注目するのではなく、植物プランクトンを摂餌するとされている鞭毛虫、繊毛虫などの 1 次消費者⁴⁾ や、それより高次となる魚類などの 2 次消費者、湖内の水草帯等の水環境等の関係性の把握も網羅する幅広い研究・解析を実施していくことが望まれるだろう。

5 参考文献

- 1) 一柳淳一他：水源貯水池における植物ピコプランクトンの出現実態、水環境学会誌第 20 号第 1 号 29-35 (1997)
- 2) 一瀬論他：琵琶湖におけるピコプランクトンの異常増殖 (1) (2)、滋賀県立衛生環境センター所報 26 号 138-155 (1991)
- 3) 若林徹哉他：琵琶湖におけるピコプランクトン - 1991～1993、滋賀県立衛生環境センター所報 29 号 95-100 (1994)
- 4) 古谷研：微生物植物網におけるピコ・

ナノ植物プランクトン、日本プランクトン学会報 46 号 60-66 (1999)

5) 山岸高旺: 淡水藻類-淡水産藻類属総覧、内田老鶴圃