

植物プランクトンの形態に基づく種類別生物量の簡易推定法

誌名	日本プランクトン学会報
ISSN	03878961
著者	宮井, 博 松崎, 加奈恵 小川, 数也 杉原, 拓郎
巻/号	35巻2号
掲載ページ	p. 121-126
発行年月	1988年12月

植物プランクトンの形態に基づく 種類別生物量の簡易推定法¹⁾

宮井 博^{2),3)}・松崎加奈恵²⁾・小川数也²⁾・杉原拓郎⁴⁾

(千代田デイムス・アンド・ムーア²⁾・東京電力³⁾・東京電力⁴⁾技術研究所⁴⁾)

A Simple Method for the Estimation of Phytoplankton Biomass Based on Cell Morphology

HIROSHI MIYAI^{2),3)}, KANAE MATSUZAKI²⁾, KAZUNARI OGAWA²⁾
AND TAKUO SUGIHARA⁴⁾

*Chiyoda-Dames & Moore Co., Ltd. 5-38-3 Kamata, Ohta-ku, Tokyo 144²⁾ and
Tokyo Electric Power Co., Inc., 2-4-1 Nishi-Tsutsujigaoka, Chofu-shi, Tokyo 182³⁾*

Abstract

A simple and less time consuming method compared to the existing ones, based upon cell morphology is proposed for the estimation of phytoplankton biomass. Phytoplankton cells occurring in natural waters were classified into six types by morphological differences; elliptic cylinder, elliptic cone, spindle, partial spindle, ellipsoid and rectangular parallelepiped. Volume of each type was obtained geometrically. The thickness of cell was assumed to be 3/5 of the minor axis according to photographs of various phytoplankton cells taken with a scanning electron microscope and literature information. A good estimation of volume by the present method was confirmed experimentally using model cells made with clay. The cellular volume was then converted to organic carbon using the STRATHMANN's equations.

Actual phytoplankton biomass was estimated five times in a year using the present method in coastal water at Hirono, Fukushima Prefecture. The biomass ranged from 5 to 250 mgC·m⁻³ and correlated strongly with the chlorophyll *a* concentration, measured for the same samples. The ratio of phytoplankton carbon to chlorophyll *a* ranged from 7 to 70 with an average of 23.4.

水域における植物プランクトンの生物量の測定は、様々な研究目的に必要である。従来では、主として植物プランクトン群集全体を一括して扱うクロロフィル色素量、あるいは種によるサイズの差を無視した細胞数による測定が行われてきた。近年、植物プランクトン生物量を種類別に把握する必要が高まり、細胞容積に基づいた生物量推定の方法が工夫された (MULLIN et al. 1966, STRATHMANN 1967)。

細胞容積の推定方法として、KOVALA & LARRANCE (1966) は細胞の形態を17種類に分類し、それぞれ容積を求める計算式を提示した。しかしながら、これら計算式のいくつかは部分形態の集合としてとらえられているため複雑なものが多く、細胞各部の計測および容積の計算に多大の労力が必要となり、作業能率が極めて悪く、実用性が低い。そこでわれわれは、細胞容積を容易に推定する方法を工夫した。

方 法

1. 植物プランクトンの細胞容積の簡易測定法

植物プランクトンの形態は単純なものから複雑なものまで様々であるが、その立体形態はほとんど扁平である。

¹⁾ 1988年11月11日受理 (Accepted 11 November 1988)

³⁾ 現在: ㈱日興リサーチセンター (Present address: Nikko Research Center, 3-1-1 Marunouchi, Chiyoda-ku, Tokyo 100)

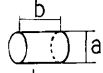
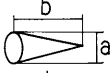
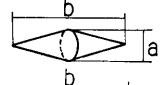
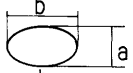
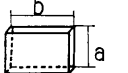
Cell type	Model cell shape	Equation used for cell volume estimation
A	elliptic cylinder	 $V = \frac{3}{20} \pi a^2 b$
B	elliptic cone	
C	spindle	 $V = \frac{1}{20} \pi a^2 b$
C'	partial spindle	
D	ellipsoid	 $V = \frac{1}{10} \pi a^2 b$
E	rectangular parallelepiped	 $V = \frac{3}{5} a^2 b$

Fig. 1. Model cell shapes and equations for cell volume estimation.

そこで、例えば、側面観が楕円形の植物プランクトンの容積の算出には、長径 (a) と短径 (b) の他に厚さ (c) を測定しなければならない。厚さは、顕微鏡下で微動焦準装置を利用して求めることができるが、実際の作業は熟練を必要とし、作業能率も低い。本研究では、出現種の走査電子顕微鏡写真と既存資料(赤潮研究会・分類班1979~1984, 山路 1980) を検討し、植物プランクトン細胞の厚さ (c) が短径 (b) の約 3/5 になる ($c = \frac{3}{5}b$) ことを見出した。この関係を利用すれば、長径と短径から細胞容積を推定することができる。また、細胞形態は6種類の単純な幾何学立体に近似した (Fig. 1)。楕円筒型 (A) には、*Chaetoceros* 属、*Coscinodiscus* 属、*Thalassiosira* 属、*Leptocylindrus* 属等、楕円錐型 (B) には *Asterionella* 属、紡錘型 (C) には *Nitzschia* 属、*Rhizosolenia* 属等、扁紡錘型 (C') には *Ceratium furca*、*C. fusus* を考えた。鞭毛藻類はほとんどが楕円型 (D) で、*Eucampia zoodiacus* は短型 (E) で近似できるものとした。

2. 植物プランクトンの生物量推定

細胞容積 ($V, \mu\text{m}^3$) からの細胞炭素量 ($C, \text{pg} \cdot \text{cell}^{-1}$) の推定には次の STRATHMANN (1967) の式を用いた。

珪藻の場合、

$$\text{Log } C = -0.422 + 0.758 \text{ Log } V$$

その他の植物プランクトンの場合、

$$\text{Log } C = -0.460 + 0.866 \text{ Log } V$$

植物プランクトンの種類別生物量は、細胞数に、上式により求めた1細胞当りの炭素量を乗ずることによって求めることができる。さらに、これら種類別生物量を積算することによって植物プランクトン群集全体の生物量 (BM) を炭素量で表わすことができる。すなわち、

$$\begin{aligned} \text{BM} &= \sum_{i=1}^m N_i \cdot C_i \\ &= N_1 \cdot C_1 + N_2 \cdot C_2 + \dots + N_m \cdot C_m \end{aligned}$$

ここで N_i は i 番目の種類の細胞数、 C_i は、 i 番目の種類の1細胞当りの炭素量である。

3. 天然の植物プランクトン試料の採取と処理

試料は、福島県双葉郡東京電力広野火力発電所港湾施設内の2測点（測点 a: 中央よりやや湾口寄り，測点 b: 中央よりやや湾奥寄り，いずれも水深 9 m で港湾の最大水深に相当）で採取した。試水は，0.5, 2.0, 5.0 m の 3 層から 10 l バンドン型採水器で採取後，検鏡用は直ちにホルマリン固定し（最終ホルマリン濃度 5%），クロロフィル *a* 定量用は 200~500 ml を吸引濾過後，濾紙（グラスファイバー・フィルター）をシリカゲルで乾燥させながら冷暗所に保存し，研究室に持ち帰り蛍光法（海洋観測指針 1970）で分析した。

TABLE 1. COMPARISON OF VOLUMES OF CELL MODELS MEASURED WITH THOSE CALCULATED FROM THE METHODS OF KOVALA & LARRANCE (1966) AND THIS STUDY.

Cell model	Model No.	Measured volume (cm ³)	Calculated volume (cm ³)	
			KOVALA & LARRANCE (1966)	This study
<i>Asterionella</i>	1	9.0	6.7	8.3
	2	9.5	9.1	8.3
	3	6.0	5.9	6.9
<i>Biddulphia</i>	1	27.0	20.9	25.6
	2	26.0	23.0	26.5
	3	16.0	12.8	13.7
<i>Chaetoceros</i>	1	20.0	18.9	28.3
	2	10.5	9.0	14.7
	3	8.8	8.4	11.0
Dinoflagellate type II	1	15.8	13.7	14.1
	2	12.0	9.7	10.3
	3	10.8	12.8	8.8

TABLE 2. BIOMASS ESTIMATION FOR DOMINANT SPECIES OF PHYTOPLANKTON COLLECTED FROM THE SURFACE (0.5 m) AT STN. A NEAR TOKYO ELECTRIC POWER STATION AT HIRONO, FUKUSHIMA PREF. IN MAY 1983.

Dominant species	Cell type	Cell volume (μm ³)	Cell carbon* (pgC·cell ⁻¹)	Cell number (cells·l ⁻¹)	Biomass (mgC·m ⁻³)
<i>Asterionella glacialis</i>	B	640	51	49200	2.5
<i>Chaetoceros</i> sp.	A	600	48	106600	5.1
<i>Coscinodiscus</i> sp.	A	2500	140	8200	1.1
<i>Leptocylindrus danicus</i>	A	3300	180	8300	1.5
<i>L. minimum</i>	A	180	19	16400	0.3
<i>Navicula salinarum</i>	C	1200	82	8200	0.7
<i>Nitzschia longissima</i>	C	260	26	156000	4.1
<i>Nitzschia</i> sp.	C	70	9	57400	0.5
<i>Rhizosolenia</i> sp.	B	5500	260	353000	91.8
<i>Skeletonema costatum</i>	A	250	25	1246000	31.2
<i>Stephanopyxis palmeriana</i>	A	1100	76	980000	74.5
<i>Thalassiosira decipiens</i>	A	300	29	16400	0.5
<i>Dictyocha fibula</i>	D	1400	180	8200	1.5
<i>Peridinium</i> sp.	D	2600	310	41200	12.8
<i>Prorocentrum micans</i>	D	720	100	98000	9.8
TOTAL	—	—	—	3153100	237.9

* Calculated from the STRATHMANN's (1967) equations.

ホルマリン固定試料は、メスシリンダー (50 または 100 ml) 内で一昼夜静置し、植物プランクトンを10~25倍に濃縮し、格子線入りスライドガラス上に滴下して細胞数を計数した。植物プランクトン細胞は細胞計数板上でポアソン分布していることがカイ2乗 (χ^2) 検定法で確認された ($\alpha=0.05$, VENRICK 1978)。特に優占種の計数誤差を20%以内にするため、それぞれの種類について100~200細胞を計数した。

結 果

1. 植物プランクトンの細胞容積

KOVALA & LARRANCE (1966) が分類した17形態のうち、計算式が複雑な *Asterionella* 型, *Biddulphia* 型, *Chaetoceros* 型, 渦鞭毛藻Ⅱ型を取り上げ、図鑑および走査電子顕微鏡写真を基に実物の1,000~2,000倍の粘土模型を製作した。この細胞模型の長・短軸, 厚さ, その他必要な細胞部位を測定し, KOVALA & LARRANCE (1966)の式及び本研究で提案した簡易式を用いて, それぞれ細胞容積を算出した。一方, 模型の容積はメスシリンダー内に沈下させた際の水位上昇から求めた。

Table 1 は, 細胞模型の容積の算出結果を示したものである。簡易式から得られた容積は, 模型の実測容積に比べて *Chaetoceros* 型では若干高くなったが, その他では実測値に近い値が得られた。一方, KOVALA &

TABLE 3. BIOMASS OF PHYTOPLANKTON AT STNS. A AND B NEAR TOKYO
ELECTRIC POWER STATION AT HIRONO, FUKUSHIMA PREF.

Date	Sampling station	Depth (m)	Chl <i>a</i> (mg·m ⁻³)	Carbon* (mg·m ⁻³)	Carbon/chl <i>a</i> (mgC·mg chl <i>a</i> ⁻¹)
25 May 1982	a	0.5	2.27	17.6	7.8
		2.0	2.45	20.3	8.3
		5.0	2.78	47.1	16.9
	b	0.5	1.92	33.8	17.6
		2.0	1.86	35.0	18.8
		5.0	1.56	24.1	15.4
10 August	a	0.5	3.41	122.6	36.0
		2.0	2.31	46.1	20.0
		5.0	1.90	37.3	19.6
	b	0.5	4.56	152.8	33.5
		2.0	4.42	168.1	38.0
		5.0	1.49	52.1	35.0
17 November	a	0.5	0.98	15.9	16.2
		2.0	1.00	8.7	8.7
		5.0	0.73	8.3	11.4
	b	0.5	0.86	21.4	24.9
		2.0	0.76	5.6	7.4
		5.0	0.80	5.8	7.3
15 February 1983	a	0.5	0.78	22.2	28.5
		2.0	0.73	20.7	28.4
		5.0	0.90	22.2	24.7
	b	0.5	0.37	25.4	68.6
		2.0	0.35	10.5	30.0
		5.0	0.41	14.1	34.4
18 May	a	0.5	10.47	237.9	22.7
		2.0	2.40	71.1	29.6
		5.0	5.09	117.0	23.0

* Calculated from the STRATHMANN's (1967) equations.

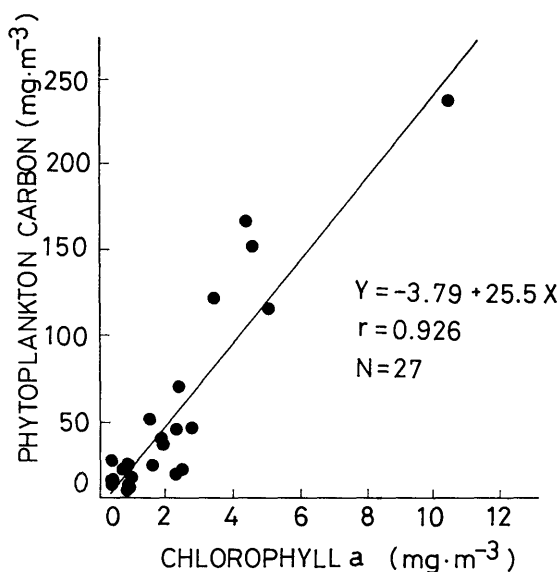


Fig. 2. Relationship between phytoplankton carbon and chlorophyll *a* concentrations. Data taken from Table 3.

LARRANCE (1966) の式で求めた容積は、模型の実測値と比べると全般的に低いことがわかる。模型の実測容積と各々の式から求めた容積の統計的有意差は、カイ 2 乗 (χ^2) 検定の結果、いずれも有意水準 5% で認められなかった。このことは、簡易式で細胞容積を求めることが十分可能なことを示している。

2. 植物プランクトンの生物量

Table 2 は、1983 年 5 月の測点 a (0.5 m 層) の試水について、優占植物プランクトン各種の細胞型、細胞容積、細胞炭素量、細胞数および生物量を示したものである。細胞数では *Skeletonema costatum* が $1,246,000 \text{ cells} \cdot \text{l}^{-1}$ で最も多く、全細胞数の約 40% を占めた。しかし、細胞容積は $250 \mu\text{m}^3$ で比較的小さいため、細胞炭素量は $25 \text{ pg C} \cdot \text{cell}^{-1}$ と計算され、その結果、生物量は $31.2 \text{ mgC} \cdot \text{m}^{-3}$ となり、全生物量の 13% にしかなかった。一方、*Rhizosolenia* sp. の細胞数は $353,000 \text{ cells} \cdot \text{l}^{-1}$ で全細胞の 11% にすぎなかったが、細胞容積は $5,500 \mu\text{m}^3$ で最も大きかったため、細胞炭素量も $260 \text{ pgC} \cdot \text{cell}^{-1}$ となり、その結果、生物量は $91.8 \text{ mgC} \cdot \text{m}^{-3}$ に達し、全生物量の約 40% を占め最大であった。

3. 植物プランクトン炭素量とクロロフィル *a* 量の比較

Table 3 は、調査時ごとの植物プランクトン生物量を炭素量とクロロフィル *a* 量で表わした結果である。クロロフィル *a* 量は、 $0.35 \sim 10.47 \text{ mg chl } a \cdot \text{m}^{-3}$ の範囲で変動し、春季に高く秋季から冬季に低い、また、1982 年 8 月と 1983 年 5 月には表層付近で高くなる傾向が観察された。一方、炭素量は $5.6 \sim 237.9 \text{ mgC} \cdot \text{m}^{-3}$ の範囲で変動し、クロロフィル *a* 量と同様の季節変化と鉛直分布が観察された。細胞炭素量とクロロフィル *a* 量の間には高い正の相関が得られ(有意水準 1% で有意) (Fig. 2)、当該海域の平均の細胞炭素量とクロロフィル *a* 量の比は 23.4 となった。

考 察

自然の植物プランクトン群集を構成する多くの種類の優占種別生物量の把握の重要性が高まり、一つとして検鏡法の工夫が進められている。その際、細胞容積を基準とした推定法が評価されており、そのための方法が検討されてきた (MULLIN et al. 1966, KOVALA & LARRANCE 1966, STRATHMANN 1967)。実用化に当っては推定の正確さとともに、作業能率の良さも重要である。本研究ではこの両点に着目して、細胞容積を推定するた

めの簡易式を工夫した。モデル細胞を利用した推定結果は、既に提案されている複雑な推定方法と有意差がなかったばかりでなく、実測したモデル細胞の容積との差も極めて小さいという好結果を得た (Table 1)。したがって、本簡易推定法が実際の役に立つものと判断された。

本簡易推定法で今後改良しなければならない点の一つは、全種を通じて細胞の扁平率を一定の値、短径の 3/5 としていることである。これは *Chaetoceros* 型の模型細胞の容積を、実際よりも高くしている原因の一つとも考えられる。この問題については今後、より正確に実測をする方法の開発が必要である。

また本研究では、細胞容積から細胞炭素量に換算するのに STRATHMANN (1967) の式を用いた。この式は現在のところ海洋において微細あるいは小型植物プランクトンの生物量の推定に広く用いられている (FURUYA & MARUMO 1983, ISHIZAKA et al. 1983)。その他、超微細植物プランクトン (TAKAHASHI et al. 1985) や淡水産植物プランクトン (MIYAI & TAKAHASHI 1981) についても適用されている。細胞炭素量をより高精度で推定するためには、細胞容積の測定ばかりでなく STRATHMANN (1967) の推定式についても検討を加える必要がある。

本研究で推定した植物プランクトンの炭素量とクロロフィル *a* 量の比 (mgC/mg chl *a*) は、季節、測点、水深で 7~70 の変動幅を示したが、当該水域の平均値として 23.4 が得られた。培養植物プランクトンの炭素量とクロロフィル *a* 量の比は、培養条件や種類の違いにより 19~97 の変動幅を示すものの、平均では 48 が得られており (PARSONS et al. 1961)、本研究の結果に比べてやや高い。これには、細胞容積と炭素推定からもたらされた誤差の可能性と、さらには本研究で計数用試料を固定する際に用いられたホルマリンによる無殻プランクトンの細胞破壊や微小植物プランクトンの計数洩れなどによる可能性も否定できない。

謝 辞

本稿をまとめるに当たり、懇切な御指導ならびに御校閲をいただいた東京大学理学部高橋正征博士に感謝する。信州大学繊維学部中本信忠博士にはプランクトンの計数技術について御助言をいただいた。併せて感謝の意を表す。

引用文献

- 赤潮研究会・分類班, 1979-1984. 赤潮生物シート, Nos. 1-180. 水産庁, 180 pp.
- FURUYA, K. & R. MARUMO, 1983. Size distribution of phytoplankton in the western Pacific Ocean and adjacent waters in summer. *Bull. Plankton Soc. Japan*, **30**: 21-32.
- ISHIZAKA, J., M. TAKAHASHI & S. ICHIMURA, 1983. Evaluation of coastal upwelling effects on phytoplankton growth by simulated culture experiments. *Mar. Biol.*, **76**: 271-278.
- 海洋観測指針, 1970. 気象庁編. 日本海洋学会, 東京, 427 pp.
- KOVALA, P.E. & J.D. LARRANCE, 1966. Computation of phytoplankton cell numbers, cell volume, cell surface, and plasma volume per liter from microscopical counts. Department of Oceanography, University of Washington, Special Report No. **38**, 21 pp.
- MIYAI, H. & M. TAKAHASHI, 1981. Phytoplankton population dynamics in outdoor microcosms under various nutrient supply. *Verh. int. Verein. Limnol.*, **21**: 282-287.
- MULLIN, M.M., P.R. SLOAN & R.W. EPPLEY, 1966. Relationship between carbon content, cell volume and area in phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.*, **11**: 307-311.
- PARSONS, T.R., K. STEPHENS & J.D.H. STRICKLAND, 1961. On the chemical composition of eleven species of marine phytoplankters. *J. Fish. Res. Bd Can.*, **18**: 1001-1016.
- STRATHMANN, R.R., 1967. Estimating the organic carbon content of phytoplankton from cell volume or plasma volume. *Limnol. Oceanogr.*, **12**: 411-418.
- TAKAHASHI, M., K. KIKUCHI & Y. HARA, 1985. The importance of picocyanobacteria biomass (unicellular blue green algae) in the phytoplankton population of the coastal waters off Japan. *Mar. Biol.*, **89**: 63-69.
- VENRICK, E.L., 1978. The implication of subsampling, pp. 75-87. In *Phytoplankton Manual* (ed. SOURNIA, A.). UNESCO, Paris.
- 山路 勇, 1980. 日本海洋プランクトン図鑑(第3版). 保育社, 東京, 537 pp.