

ピコプランクトン計数法の検討

吉澤一家

Basic Study of the Observation Method for Picoplankton

Kazuya YOSHIZAWA

近年これまで観察されてこなかった、ピコプランクトンと呼ばれる、大きさが0.2~2μm程度の微小植物プランクトンによって引き起こされる、湖沼水質の変化が見られるようになってきた。琵琶湖においては1989年7月にピコプランクトンが増殖し、透明度の低下が観察され、1991年にはこれによる湖水の黒褐色化が見られた¹⁻⁵⁾。また富士五湖を構成する湖沼の一つである精進湖においては、1999年10月に湖水の赤色化が観察され、藍藻綱のピコプランクトンである *Synecococcus* sp. の異常増殖が原因であると推定された^{6,7)}。

ピコプランクトンの観察については落射蛍光顕微鏡を用い、B励起あるいはG励起下で観察する方法が用いられているが⁸⁻¹⁰⁾、ピコプランクトンが発する自家蛍光は退色するのが早く、特にアルデヒド類で固定された試料は調製後速やかに観察するのが望ましいとされている⁸⁾。しかし自家蛍光が経時的にどのように変化するのは明らかにされていない。そこで自家蛍光の経時変化を観察し、退色がピコプランクトン計数に与える影響について検討を試みたので報告する。

調査方法

検討に用いた試料は、2001年12月6日に富士五湖を構成する本栖湖の湖心部0~5mで採取した湖水を用いた。試料を保冷して持ち帰った後、生試料および2%グルタルアルデヒドで固定した試料それぞれについて、黒色メンブランフィルター(0.45μm, ミリポア HBP0025)でろ過し、10mg・ml⁻¹ FITC 染色後、落射蛍光顕微鏡(オリンパス VANOX-T)にてG励起条件(励起フィルター BP545, 吸収フィルター O590)下で橙色~赤色を呈する細胞を観察し、形態別に計数される個体数の経日変化を観察した。

結果と考察

本栖湖の試料中には、明暗2種の橙色で球状のピコプランクトンが観察された。観察用プレパラート作成時、1日後、3日後、9日後、30日後、93日後に計数された個体数を図1-1~4に示した。グラフ上段から

Method-1: 生試料

Method-2: 生試料+FITC 染色

Method-3: グルタルアルデヒド固定試料

Method-4: グルタルアルデヒド固定試料+FITC 染色の各処理後ろ過した試料の観察結果である。それぞれの計数平均値(n=6)は12.6×10³ cells・ml⁻¹ (SD=1.7), 12.7×10³ cells・ml⁻¹ (SD=1.7), 12.5×10³ cells・ml⁻¹ (SD=0.6), 13.2×10³ cells・ml⁻¹ (SD=2.4)という結果であり、平均値の差の検定(t検定)を行った結果を表1に示した。この表から危険率5%で、各処理方法の間で有意の差が見られないと判断された。これにより鞭毛藻類の鞭毛染色などに用いられるFITC処理や、グルタルアルデヒド固定はピコプランクトン計数に影響を与えないことが確認された。

また各グラフの経時変化を見ると図1-2, 1-4に示したFITC処理をした試料は類似した変化を示したが、それ以外の試料でも計数された個体数に大きな変化が見られなかった。したがってプレパラート作成後、1ヶ月~3ヶ月程度は安定して観察できるものと考えられた。

表1 t検定による平均値の差の検定

	Method-1	Method-2	Method-3	Method-4
Method-1	*	○	○	○
Method-2		*	○	○
Method-3			*	○
Method-4				*

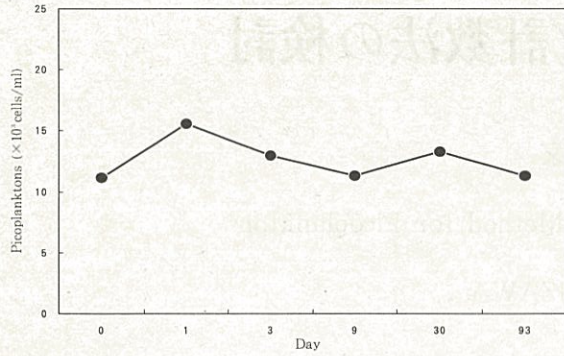


図 1-1 Method-1 によるピコプランクトン個体数観察結果

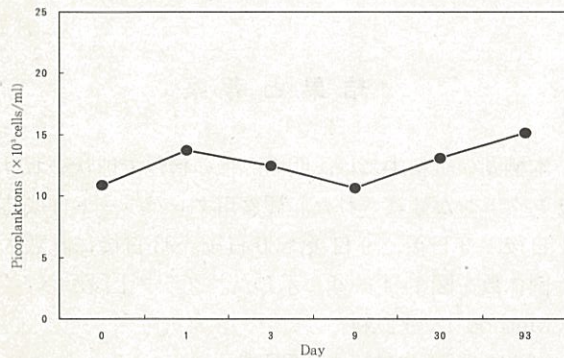


図 1-2 Method-2 によるピコプランクトン個体数観察結果

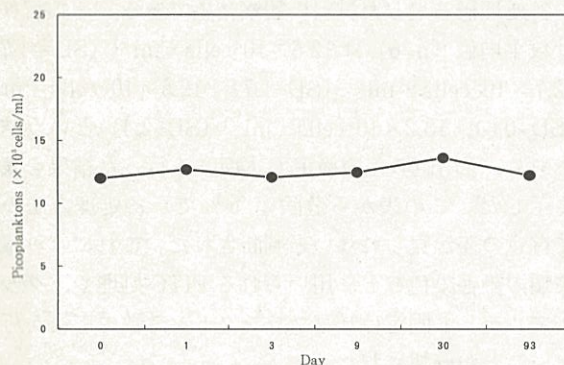


図 1-3 Method-3 によるピコプランクトン個体数観察結果

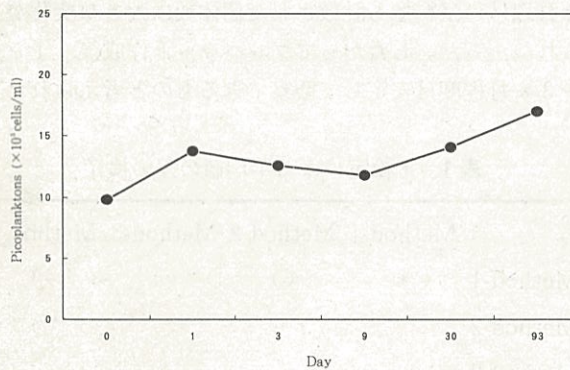


図 1-4 Method-4 によるピコプランクトン個体数観察結果

ま と め

落射蛍光顕微鏡を用いたピコプランクトンの個体数計数に対して、湖水試料の前処理あるいは自家蛍光の経時変化が与える影響を調べるために、本栖湖の湖水を用いて検討を行った。その結果次の諸点が明らかとなった。

- 1) グルタルアルデヒド固定、FITC 染色等の前処理はピコプランクトン個体数の計数には有意の影響を及ぼさないことが確認された。
- 2) 計数用プレパラートの自家蛍光は、作成後 1 ヶ月～3 ヶ月間は観察に影響を与えるほど退色せず、この期間はピコプランクトン個体数の計数が可能と考えられた。

参 考 文 献

- 1) 一瀬 論ら：滋賀県衛環セ所報, 26, 138～147 (1991)
- 2) 山中 直ら：滋賀県衛環セ所報, 26, 148～155 (1991)
- 3) 山中 直ら：滋賀県衛環セ所報, 27, 25～32 (1993)
- 4) 若林徹哉ら：滋賀県衛環セ所報, 29, 95～100 (1994)
- 5) 中村寿子, 北山 稔, 保尊とし子：用水と廃水, 39, 1032～1037 (1997)
- 6) 吉澤一家, 有泉和紀：日本陸水学会甲信越支部会報, 26～27 (2000)
- 7) 吉澤一家, 有泉和紀：山梨衛公研年報, 44, 58～61 (2000)
- 8) 中村寿子：水道協会雑誌, 57(7), 21～32 (1988)
- 9) 中村寿子：水道協会雑誌, 61(12), 34～40 (1992)
- 10) 一柳淳一ら：水環境学会誌, 20, 29～35 (1997)