

函館湾七重浜における植物プランクトン群集の時系列変動と  
画像イメージングによるモニタリングの実証 (仮)  
(修士論文中間発表)

【背景・目的】

植物プランクトンは、海洋の基礎生産を担う重要な生物である。植物プランクトンの環境変化に対する応答は種ごとに異なるため、その種組成は環境変化の指標と考えられている。函館湾は、久根別川および大野川などから河川水が流入し、栄養塩の供給により富栄養化が懸念されている。また、年間を通して高温・高塩分の津軽暖流水が流入し、秋から冬にかけては、時折、沿岸親潮が流入する海域である。これまで当該海域の植物プランクトンに関連する知見としては、2015年に発生した有害有毒渦鞭毛藻類 *Karenia mikimotoi* の赤潮漁業被害がある。また、2020年9月から2022年8月まで2年間における顕微鏡を用いた高頻度観測によって、植物プランクトン群集の季節変化および *K. mikimotoi* 発生のメカニズムと長期化が報告されている。しかし、2023年から温暖傾向が観測されているが、それによる植物プランクトン群集への影響は未だ報告されていない。一方で、継続したモニタリングは多大な労力が必要であるため、観測の効率化が求められる。近年、マイクロプランクトン群集の種組成を調査する手法として、FlowCamなどの画像解析測器がある。FlowCamは植物プランクトン試料の分析時間を大幅に短縮し、膨大なデータを蓄積でき、顕微鏡を用いた調査では難しい高頻度のサンプリングや多くの試料の分析を可能にするため、モニタリングに適していると考えられている。デメリットとして、FlowCamでは属レベルでの同定が限界であるため、植物プランクトン群集の変化を捉えることが出来ない可能性が危惧される。

以上のことから、本研究は2020年9月から温暖傾向後の2024年6月にかけて、函館湾における植物プランクトン群集の季節変化を高頻度観測で明らかにし、環境変化が植物プランクトン群集へ与える影響を評価することを目的とした。また、FlowCamを用いたモニタリングや観測頻度を考慮した観測の効率化と妥当性について考察した。

【材料と方法】

2020年9月3日から2024年6月25日にかけて、七重浜第3防砂堤において週1回の頻度で計191回調査を行った。植物プランクトン試料は、海表面からプラスチックバケツによって1L採水した。採水試料は、グルタルアルデヒド(終濃度1%)にて固定し、暗所で保管した。別途、クロロフィル *a* 濃度、栄養塩濃度および光合成活性測定用の海水を採取し、同時に水温、塩分濁度および光合成光量子束密度 (photosynthetic photon flux density: PPFD) を測定した。調査地周辺における気象データ(日平均気温、日合計降水量、日平均風速および最多風向、日照時間、日合計全天日射量)を、気象庁ホームページより入手した。陸上実験室にて、クロロフィル *a* 濃度を測定し、オートアナライザーを用いて、硝酸塩、亜硝酸塩、アンモニウム塩、リン酸塩およびケイ酸塩濃度を測定した。光合成活性は、PAM (Pulse Amplitude Modulation) 蛍光光度計を用いて、光化学系IIの最大量子収率 (Fv/Fm) を算出した。植物プランクトン固定試料1Lについて、静沈濃縮を行い、最終的に約20mLにし、倒立顕微鏡を用いて細胞の種同定、計数を行った。計数は、1試料につき300細胞以上を目安に行った。データ解析では、Bray-Curtis similarity indexを用いたクラスター解析を行

い、得られた群集の特徴種を特定するために SIMPER 解析および IndVal を算出した。各群集間で水理環境に差があるか否かについては、Max-t test により検定した。さらに、環境要因と植物プランクトン群集との関係を明らかにするため、DistLM (distance based liner modeling) および冗長性分析 (dbRDA: redundancy analysis) を行った。

七重浜モニタリングにおける観測デザインの妥当性の検討のために、以下の 2 つの解析を行った。一つ目は、顕微鏡観察と FlowCam 測定に互換性があるかの検討のために、同一試料に対する FlowCam と顕微鏡による試料分析と、植物プランクトン組成の比較である。上述のモニタリングデータによるクラスター解析の結果、分けられた 8 群集において 1 群集につき 1 試料を選び、FlowCam で分析を行った。FlowCam によって得られた画像のうち非細胞画像と重複画像を削除し、珪藻類、渦鞭毛藻類、ユーグレナ藻類は属レベルで、繊毛虫類は少毛類と有錘類に分類した。FlowCam により計測した各試料の体積 (mL) から細胞密度 (cells mL<sup>-1</sup>) を求めた。得られた同一試料に対する FlowCam と顕微鏡による植物プランクトン組成をまとめ、クラスター解析を行い、Shade plot を作成した。二つ目の検討事項として、毎週のサンプリングを月 1 回に減らした場合に、植物プランクトン群集の季節変動がどのように見えるのかを試した。取得済みの顕微鏡観察データから、各月の最初のデータのみを抽出し、クラスター解析を行った。

#### 【結果】

珪藻類は、調査期間中において、おおよそ  $10\text{--}1.0\times 10^3$  cells mL<sup>-1</sup> の範囲で出現していた。また、春から夏にかけて鞭毛藻類、繊毛虫類およびユーグレナ藻類の増加がみられた。クラスター解析の結果、8 つのグループ (*Biddulphia*, Summer, *Leptocylindrus*, Spring, *Karenia*, Winter, General, Eugrenoids) に区分できた。*Karenia* 群集は 2021 年 8 月下旬から 2022 年 1 月および 2022 年 9 月初旬と 10 月初旬に出現し、*Karenia mikimotoi* および *Scrippsiella* spp. が特徴種であったが、2022 年 10 月以降には見られなかった。Winter 群集は冬季に出現し、*Thalassiosira nordenskioldii* および *Thalassiosira gravida* が特徴種であったが、2023 年から 2024 年の冬には出現しなかった。*Biddulphia* 群集は 2024 年 3 月下旬から 4 月上旬に出現し、珪藻類の *Biddulphia pulchella* が優占していた。DistLM により、水温、塩分、リン酸塩濃度、気温、日平均風速の東西成分および全天日射量が植物プランクトン群集と有意な関係があり、これら 5 つの変数で群集変化の 18.3% が説明され、特に水温の寄与が最も大きかった。

顕微鏡観察と FlowCam で得られた総細胞密度を比較したところ、両手法間で細胞密度が比較的一致していた。また、各群集組成を比較したところ、細胞密度が検出限界に近い場合は両手法間での細胞密度の差が大きくなり、細胞密度が高くなるにつれて両方法間での細胞密度の差が小さくなった。顕微鏡観察と FlowCam による細胞密度に基づくクラスター解析の結果、*Karenia* 群集を除いて、同じ試料であっても、手法が異なると別の群集として区分されることが示された。月 1 度の試料でクラスター解析を行ったところ A-E の 5 つの群集に分けることができた。この解析により区分された群集は週ごとの試料を用いた群集とは異なる結果となった。

今後は、*Karenia* 群集および Winter 群集の消失と *Biddulphia* 群集の出現理由、顕微鏡と FlowCam の観察結果の違い、FlowCam を用いた調査や採水頻度の妥当性についての考察を行う予定である。

森本恭世