

B105 琵琶湖における微小生物の簡易測定法の検討について

一瀬 諭, 若林 徹哉, 藤原 直樹, 野村 深 (滋賀県立衛生環境センター)

山中 直 (滋賀県下水道計画課)

はじめに

海洋や湖沼において微小な植物プランクトンが広範囲に、かつ高密度で分布していることが1970年代のはじめから報告されていた。琵琶湖においては、1989年7月に植物プランクトン数(10 μ m以上)が少ないにもかかわらず、透明度の低下、クロロフィル濃度の増加等が起こり、落射蛍光顕微鏡で観察した結果、光合成色素を有する大きさが1 μ m程度の微小な藍藻(以下「ピコプランクトン」という)の異常増殖であることが確認された。この生物が水中生態系の一次生産を考える上で大きな役割をはたしていると考えられた。

そこで我々は、まず基礎的なピコプランクトンの計数方法等を確立する事から研究を開始した。なお、この研究は、平成4~8年度に環境庁水質保全局の委託を受けて行った研究成果の一部を取りまとめたものである。

実験には、主にコン製ワナット生物顕微鏡と落射蛍光装置EPDA2を使用した。検討には、励起光の主要波長が495nm、励起フィルタがEX450~490、マイクロイクミラはDM510、吸収フィルタはBA520のB励起(B2)および励起光の主要波長546nm、励起フィルタがEX510~560、マイクロイクミラはDM580、吸収フィルタはBA590のG励起を用いた。

結果および考察

ピコプランクトン計数法は、試料をろ過し、ろ紙上の細胞を落射蛍光顕微鏡によって計数するという従来から用いられてきた方法(以下「ろ過法」という)と、今回、短時間に計数ができる方法として考案した換鏡プレート(ヒクシメテック社製:UR-157)を用いた方法(以下「プレート法」という)について比較検討を行った。

ろ過法について、様々な条件下でピコプランクトンの計数を試みた。琵琶湖水を用いて検討した結果、フィルタ孔径が0.2~0.6 μ mの場合に安定した値が得られ、1~20mlのろ過量でその水量にかかわらずほぼ一定の値となった。次に、フィルタ上に捕捉されたピコプランクトンの分布状況については顕微鏡一視野中に10細胞以上存在する試料であれば、偏った分布は認められなかった。また、吸引圧力についての検討では、50mmHgより弱い力で吸引する必要がある

と考えられた。

次に、励起フィルタの種類について検討した結果では、G励起条件下で強い輝橙色を示すタイプ(PEタイプ:フィコリスリンを主に含有)と深赤色を示すタイプ(PCタイプ:フィコシアニンを主に含有)とに分けられたが、B励起条件下では両者の区別が難しく、明確に区別できるG励起のほうが良好な結果が得られた。B励起とG励起を用いてピコプランクトンの計数誤差の検討を行った結果、その変動係数は両励起共に10%以下であったが、輝度が強いG励起のほうがやや変動係数が小さく、比較的安定してピコプランクトンが計数できることが確認された。

プレート法は、換鏡プレートの間隙に試料を取り込ませ、このプレートを落射蛍光顕微鏡で各窓中のピコプランクトン細胞数を、倍率100~400倍で、累計で200~400細胞数になるまで計数する方法である。

励起波長についての検討結果は、B励起よりG励起を用いた方が計数が容易であり良い結果が得られた。

プレート法(G励起)による測定は、ろ過法による測定値より約20%程度高くなる傾向が認められたが、測定値の変動係数は両法とも10%以下であり、概ね同等に計数が可能であった。プレート法の長所としては次のことが考えられた。

- ① 1検体当りのコストが低い。
- ② 真空ポンプやろ過器等の設備が不要である。
- ③ 計数のための前処理が不要であり、サンプルリック後、直ぐ計数が可能である。
- ④ 計数の処理時間が10⁴細胞数/ml以上のピコプランクトン細胞密度が予測できる場合には、ろ過法に比べ約1/5以下に短縮できる。

一方、ろ過法の長所としては細胞密度が少ない水域でも、試水のろ過量を調節することにより測定が可能であることが挙げられた。

以上のような理由から、多くの検体数を短時間で処理しなければならない場合や、ピコプランクトンが多く分布する湖沼などでは、プレート法が非常に有効であると考えられた。