

◇◇◇海洋微生物生態学入門◇◇◇
Introduction to Marine Microbial Ecology

広島大学生物生産学部 浜崎恒二

1. 海洋微生物生態学の概要
 - 1-1. 微生物学とは
 - 1-2. 微生物学のはじまりと発展
 - 1-3. 近現代の微生物学
 - 1-4. 微生物生態学
 - 1-5. 海洋微生物生態学
 - 1-6. 微生物プランクトンー見えない主役ー

2. 細菌プランクトン
 - 2-1. 海洋細菌
 - 2-2. 溶存態有機物
 - 2-3. 生きているが培養できない？
 - 2-4. 培養できない菌の追跡

3. 光合成の起源と進化
 - 3-1. 光合成器官の構造
 - 3-2. 酸素発生型光合成の進化：地球化学的証拠
 - 3-3. 光合成生物の進化：生物学的証拠
 - 3-4. 光合成独立栄養生物の起源と系統
 - 3-5. 葉緑体に核がある？
 - 3-6. 原核緑藻は、緑色植物の起源か？

4. 海洋環境における光合成
 - 4-1. 植物プランクトンの分類
 - 4-2. 植物プランクトンの現存量
 - 4-3. 基礎生産量の測定
 - 4-4. クロロフィル法による基礎生産量の算出
 - 4-5. 植物プランクトンの培養と増殖
 - 4-6. 全海洋の基礎生産量の推定
 - 4-7. 人工衛星の利用
 - 4-8. 係留系の利用
 - 4-9. 海中測定機器
 - 4-10. プラットフォーム

5. 赤潮と HAB
 - 5-1. 有毒プランクトン研究
 - 5-2. 赤潮
 - 5-3. Harmful Algal Bloom (HAB)
 - 5-4. HAB の拡大
 - 5-5. 生態系への影響 毒によるボトムアップコントロール
 - 5-6. HAB とストランディング

参考図表

1. 海洋微生物生態学の概要

1-1. 微生物学とは

微生物学 (Microbiology) とは、単細胞もしくは単細胞群集として存在する非常に多様な微視的 生物 (微視的であるが、細胞ではないウイルスも含む) の学問である。微生物は地球上の生命の起 源であり、人を含む高等動物が、現在の地球で生きて行く上で、重要な役割を果たしている。自然 界には多様な微生物が共存し、小さいサイズと速い増殖によって、変化に富む環境に適応している。 人、動物、植物は、有機物の分解と主要元素の循環を通じて、こうした微生物群と緊密に結びつい ている。また、一部の微生物は、その病原性によって動植物の生命活動に大きな影響を与える。

現代の微生物学は、基礎的な生物科学と、応用生物科学の両方の側面を持っている。基礎的な生 物科学における微生物は、生命活動の本質を解き明かすためのもっとも扱いやすい研究材料であり、 同時にすぐれた研究道具を提供してくれる。また、研究室において簡単に増やすことができ、多細 胞生物と多くの共通機能をもつことから、高等生物の細胞機能を理解するための非常によいモデル ともなる。これまで、生命の化学的、生理学的基本現象に対する私たちの知識のほとんどは、微生 物の研究によってもたらされてきた。一方で、応用生物科学における微生物は、医療、農業、水産 業、工業といった実社会における重要な問題に関わっている。微生物は、人や動植物に多くの病気 を引き起こし、土壌の肥沃化や動物生産にも重要な役割を果たしている。また、抗生物質生産のよ うな、大型の工業生産プロセスや、遺伝子工学と工業微生物学を融合したバイオテクノロジー分野 にも応用される。最近では、物質循環、汚染物質除去、環境修復といった地球環境問題に関連した 分野において、微生物の機能を解明しこれを利用する方法が盛んに研究されている。

1-2. 微生物学のはじまりと発展

1600 年代の後半、顕微鏡の開発によって目に見えないほど小さな生物、微生物の存在が初めて 明らかにされた。1664 年には、Robert Hooke が菌類の形態を記述しているが、微生物の詳しい 観察を初めて報告したのは、オランダのアマチュア顕微鏡製作者であった Anthoni van Leeuwenhoek's である。1677 年、van Leeuwenhoek's は、自ら製作した顕微鏡を用いて、雨水、 井戸水、海水、雪解け水を観察し、その中に生息し分裂する「小動物群」 ("animalcula" which means little animals) について報告している。Leeuwenhoek's の顕微鏡は、現在のものに比べると、非 常に原始的なものであったが、その優れた操作技術によって原核微生物サイズまで観察し、1684 年には桿菌、球菌、連鎖球菌といった代表的な細菌の形態を識別し報告している。

Leeuwenhoek's 以後 200 年間、微生物の研究に大きな進展はなかったが、1800 年代後半 Louis Pasteur と Robert Koch の卓越した研究によって、微生物学は独立した新しい学問分野として確立 された。フランス人化学者 Louis Pasteur (1822-1895) は、有名な swan-neck flask (今日では

Pasteur flask と呼ばれている) を用いた実験によって、1800 年代の難問であった自然発生 (Spontaneous generation) の謎を解き明かした。Pasteur や当時の研究者が用いた滅菌 (Sterilization) 手法は、改良されながらその後の微生物学研究に引継がれて、科学としての微生物学の発展に大きく貢献した。滅菌操作によって細菌の発生を抑えるという Pasteur の考え方は、微生物学のみならず、缶詰製造や食品保存への応用を通して、食品科学にも大きな影響を与えた。その他にも Pasteur は、微生物学、医学分野において数々の輝かしい功績を残している。特に、炭素菌、鶏コレラ、狂犬病ワクチン開発によって、Koch と共に病気が微生物によって引き起こされるという考え方、病原菌説 (Germ theory of disease) の確立に大きな役割を果たした。

病原菌説を実験的に証明し概念化したのは、Robert Koch (1843-1910) である。Koch は、牛の病気であり時々人に感染する炭疽病 (Anthrax: 孢子形成細菌の一種である *Bacillus anthracis* によって引き起こされる) を対象にした実験によって、特定の病気が特定の微生物によって引き起こされることを証明した。さらに、一連の実験を通して、病気と微生物の因果関係を証明するために必要な基準 (コッホの原理 Koch's postulates) を次のように設定した。

1. 病原微生物は、常に病気の動物内に存在し、健康な個体には存在しない。
2. 病原微生物は、動物体から分離、純粋培養されなければならない。
3. 病原微生物の純粋培養を動物に摂取することによって、その病気に特徴的な症状が現れる。
4. その動物から初めのものと同じ病原微生物が、再度分離され、実験室で培養される。

コッホの原理は、その後の研究指針として用いられ、次々と重要な病原菌が明らかにされ、多くの伝染病の防止や治療方法の開発につながるようになった。Koch はまた、微生物を個体培地で培養し、コロニーを形成させることによって、これを単離、純粋培養する方法を開発した。1887 年 Richard Petri は、Koch の平板培地法を改良し、大きさの異なる 2 枚の皿 (Petri dishes) を重ね合わせて用いる優れた方法を発表した。Petri の基本的なアイデアは全く変わることなく、ガラスもしくはプラスチック製の Petri dishes として今日まで用いられている。結核 (Tuberculosis) の研究は、医学細菌学における Koch の最も輝かしい功績の一つである。当時結核は、死亡原因の 7 分の 1 を占めるほどの病気であった。Koch は、それまで観察すら困難であった原因微生物 (*Mycobacterium tuberculosis*) を新しい染色法を開発することによって、病気の動物の組織内に見いだし、血清培地を用いてその分離にも成功した。さらに、最終的に培養した微生物が結核を引き起こすことを証明し、結核の原因を完全に明らかにした。これらの研究成果と結核の診断に有用な物質 Tuberculin の調整によって、1905 年 Koch は、ノーベル医学生理学賞を受賞した。その他にも Koch は、コレラの原因菌 *Vibrio cholerae* を初めて分離、コレラの抑制に水の濾過が重要なことを見いだし、細菌の最初の顕微鏡写真を発表するなど、微生物学における数々の功績を残している。

1-3. 近現代の微生物学

20 世紀の微生物学は、応用微生物学 (Applied microbiology) と基礎微生物学 (Basic microbiology) の二つの方向へ発展した。応用的側面では、まず Koch の病原微生物研究によって始まった、医学微生物学 (Medical microbiology) の発展が挙げられる。また、20 世紀初頭には Beijerinck や Winogradsky らの研究によって土壌微生物の研究、土壌微生物学 (Soil microbiology) が発展してきた。こうした土壌微生物の研究によって、植物の生長や窒素、硫黄などの物質循環に微生物過程が重要な役割を果たしていることが明らかになり、農業微生物学 (Agricultural microbiology) あるいは一般微生物学 (General microbiology) の発展へとつながった。また、医学微生物学、土壌微生物学へと発展してきた環境中の微生物の研究は、湖、川、海といった水圏環境へもすだいに対象を広げ、特に水圏微生物学 (Aquatic microbiology) と呼ばれている。微生物を利用した排水処理や、安全な飲用水を供給するための殺菌処理なども水圏微生物学で取り扱われる。近年、さまざまな環境問題の顕在化によって、大気、水、土壌といった環境中における微生物の多様性や機能、相互作用を明らかにしようとする学問分野、微生物生態学 (Microbial ecology) が、微生物学の主要な一分野として発展しつつある。また、環境中の微生物に関する学問分野でも、特に環境中における微生物に関する知見をどのように人間社会に役立てるかという側面が重視される場合、環境微生物学 (Environmental microbiology) とも呼ばれる。

20 世紀には、微生物に関する基礎的な知見の蓄積が急速に進んだ。多くの新しい細菌種が発見され、細菌の分類体系 (Bacterial taxonomy) が形づくられた。また、細菌のさまざまな生理生化学的性状や細胞構造あるいはそうした形質の変化を研究する細菌生理学 (Bacterial physiology)、細菌生化学 (Bacterial biochemistry)、細菌細胞学 (Bacterial cytology)、細菌遺伝学 (Bacterial genetics) などが発展してきた。1960 年代には、核酸やタンパク質への理解の深まりと共に、分子生物学 (Molecular biology) が細菌の研究の重要な部分を占めるようになった。こうした細菌に関する基礎的な知見の蓄積によって、1970 年代までには外来 DNA を細菌細胞内に導入し、その複製や発現を制御できるようになり、バイオテクノロジー (Biotechnology) 分野が発展してきた。細菌の基礎的研究に端を発するバイオテクノロジーは、現在さまざまな分野に応用され、人間社会に貢献している。基礎的研究の発展と共に、応用的研究も発展するという良い例である。また、細菌の遺伝子配列の解読、比較によって、はじめて細菌の進化や系統を論じることができるようになってきた。現在では、微生物の全遺伝子 (Genome) の配列を解読することも比較的容易にできるようになった。すでに複数の微生物種の全遺伝子配列が解読され、さらに多くの種類の微生物の遺伝子配列が解読中である。微生物を含め生物の全遺伝子配列を解読し、そこに含まれる情報を明らかにし、これを利用してゆくこと (Genomics or genome science) は、21 世紀の自然科学における大きなチャレンジである。

1-4. 微生物生態学 (Microbial ecology)

微生物学の祖 Leeuwenhoek's が、17 世紀に自ら製作した顕微鏡を用いて観察したのは、雨水、井戸水、海水、雪解け水といった自然環境中の微生物であった。初期の微生物学の目的であり、現在も重要な目的の一つは、自然環境中における微生物の多様性や機能を明らかにすることである。自然環境中では、微生物の栄養源や生育環境は時空間的に大きく変動する。たとえば、酸素が良い例である。小さな土壌粒子の周辺や海水中の有機物粒子内では、その濃度はミリメートルあるいはそれ以下のスケールで変化する。微生物生態学では、こうした「微小環境 (Microenvironment)」に共存する多様な微生物の活性を明らかにし、生態系全体における微生物の役割を明らかにすることを目指している。そこでは、次の 2 点を大きな目標としている (1) 自然環境中における微生物の多様性と微生物群集内での相互作用を明らかにする。(2) 自然環境中における微生物の活性を測定し、生態系全体への影響を明らかにする。対象とする生態系によって、土壌微生物生態学 (Soil microbial ecology)、水圏微生物生態学 (Aquatic microbial ecology)、海洋微生物生態学 (Marine microbial ecology) などと呼ばれる。

自然生態系へのエネルギーは、光、有機炭素、還元無機物質といった形で供給される。光は光合成生物によって利用され新たな有機物質が生産される。有機物や還元無機物質は、化学合成生物によって利用される。生態系内における物質の移動によって、そこに含まれる炭素、窒素、硫黄、リン、鉄といった化学元素は、その酸化状態を変化させてゆく。このような元素の循環、「生物地球化学的循環 (Biogeochemical cycle)」は、地球生命系を維持している基本システムであり、生態系における微生物の役割を考える上での枠組みとなる概念である。これまで、こうした循環の諸過程に関わる様々な微生物が分離、培養され研究されてきた。しかし近年、実際の自然環境中に存在する微生物のうち、分離培養できるのはごく一部 (1%以下とされている) にすぎないことがわかってきた。従って、生物地球化学的循環に関わる多くの微生物が未発見のまま残されており、これら微生物の種組成を明らかにすることが重要な課題とされている。そうしたことから、現代の微生物生態学では、Koch 以来の微生物学の基本手法である分離培養を必要としない手法が重要となっている。1980 年代以降、分子生物学的手法を中心とした新しい解析手法によって、新しい微生物が発見され、これまでできなかった微生物群集の全体像を明らかにすることが可能となりつつある。さらに、最近ではゲノム科学 (Genomic science) の知識や技術を微生物生態学に応用する研究も始まっている。

1-5. 海洋微生物生態学 (Marine microbial ecology)

1800 年代後半、ドイツの衛生学の教授であった Bernhard Ficher は、Koch のレシピを改変した (牛肉のエキスを魚のエキスに変えた) 寒天培地を用いて、海洋における細菌数、分布、種類などを精力的に調べた。その結果、海洋環境中に普遍的に細菌が存在し、それまで陸上環境で知られ

ていたように、海洋でも有機物の分解者として重要であると結論している。ところが、寒天培地に生じるコロニー数によって細菌数を計数していた 1970 年代までは、海洋細菌の数は 1ml 当たりせいぜい数十～数百程度であると認識されていた。そのため、その分解者としての生態学的な寄与は小さく、細菌群集を考慮しなくても海洋の物質循環は説明できると考えられていた。

この認識は、1977 年 Hobbie らによる蛍光顕微鏡を用いた海洋細菌計数法の導入によって一変した。これは、核酸と特異的に結合する蛍光色素によって細菌を染色した後、フィルター上に濃縮して蛍光顕微鏡下で計数するという方法で、こうして計数された数は全菌数と呼ばれる。本法の導入によって、これまで海洋細菌を圧倒的に過小評価していたことが明らかとなった。その後、全菌のうち沿岸部では 2/3 程度、外洋でも 1/3 以上は、何らかの生物活性を持っている、つまり生きているらしいことがわかってきた。1980 年頃までには、様々な海域で海洋細菌の計数が行われた結果、自然海水中には世界中どこへいっても、 10^6 /ml 程度の細菌が存在することが明らかとなり、新しい海洋細菌の量と分布の概念が定着した。1980 年代に入るとスクリプス海洋研究所の Fuhrmann と Azam によって、DNA の前駆物質であるチミジンの取り込みを定量することによって、自然海水中の細菌群集の増殖速度を測定する方法が導入された。この方法は、非常に簡便かつ高感度であるため、現在も広く使われている。こうして、1980 年～1990 年代初頭にかけて海洋細菌の現存量と生産速度に関する知見が急速に蓄積され、その生物地球化学的循環に対する寄与が予想以上に大きいことがわかってきた。細菌の増殖に必要な有機物は、もとをたざせば植物プランクトンの光合成によって生産されたものである。多くの海域で、植物プランクトンの基礎生産速度と細菌群集の増殖速度の比較がなされた結果、多いところでは基礎生産の 30～50% に相当する有機物が細菌群集に消費されていることが明らかとなった。また、蛍光顕微鏡による直接観察は、従属栄養細菌だけでなく、光合成を行う原核生物である単細胞の藍藻類や細菌捕食性の原生動物の普遍的な存在と分布も明らかにした。その結果、植物プランクトン→動物プランクトン→魚といった古典的な捕食食物連鎖に加え、そこから漏れ出た溶存態有機物が、細菌群集によって取り込まれ、これを捕食する原生動物を通じて再び高次の食物連鎖に戻って行く過程を示す概念、「微生物ループ (Microbial loop)」または「微生物食物網 (Microbial food web)」が確立され、海洋微生物を介した物質の流れの重要性が認識されるようになった。また、1989 年には電子顕微鏡による観察によって、 10^6 – 10^8 /ml のウイルスの存在が明らかにされ、海洋微生物群の変動をコントロールする新たな要素として重要であるとされている。このように海洋微生物生態学は、1970～80 年代にかけて大きなパラダイムの転換があり、現在では海洋微生物 (ウイルス、細菌、藻類、原生動物) は海洋の生物過程を考える上で欠かせない要素となっている。

1-6. 微生物プランクトン —見えない主役—

Whitman らの推定によると、全地球上には、 4 – 6×10^{30} cells の原核微生物が存在し、そのほとん

どは海洋、土壌、地下表層に存在している。これは、炭素量に換算すると、 $3.5\text{--}5.5 \times 10^{17}$ g に相当し全植物の生物炭素量や大気中に二酸化炭素として存在する炭素量に匹敵する巨大なプールである。さらに、窒素やリンに換算すると、全植物の 10 倍に相当する地球上で最大の生物プールである。海洋に生息する原核微生物数は、そのうち 2% (1.2×10^{29} cells) 程度であるが、土壌や地下圏に比べて増殖速度が格段に速いため、生産速度で比較するとおよそ 9 割は海洋微生物によるものとなる。全原核微生物生産が 1.7×10^{30} cells/year 対し、海洋の従属栄養細菌による生産が 0.93×10^{30} cells/year、藍藻類による光合成生産が 0.71×10^{30} cells/year と推定されている。さらに、大部分の微生物生産 (1.5×10^{30} cells/year) は、光合成に必要な光が届く 200 m より浅い領域で行われているとされている。また、海洋表層の光合成による基礎生産は、地球生物圏における最大の炭素フラックスであり、そのほとんどは原核微生物である藍藻類と真核微生物である微細藻類によって行われている。従って、海洋の平均水深はおよそ 4000 m であるが、海洋表層のごく薄い部分での微生物群集の変動が、地球全体の生態系に大きな影響を及ぼすであろうことが容易に想像できる。こうした微生物群集の変動機構の解明を通して、地球化学的循環過程の理解や地球環境の変動予測に貢献することが、海洋微生物生態学の重要な目標の一つである。

2. 細菌プランクトン

2-1. 海洋細菌

一般に、自然海水中には世界中どこへいっても、 $10^6/\text{ml}$ 程度の細菌が存在し、そのほとんどは海水中に浮遊しているいわゆるプランクトンである。従って、海洋学における専門用語として、動物プランクトンと同様に、しばしば細菌プランクトン (bacterioplankton) という言い方が用いられる。また、「海洋細菌」は、必ずしも明確に定義された用語ではないが、一般的には「海洋に生息し、増殖にナトリウムを要求する」細菌群であると認識されている (MacLeod, 1965)。海洋細菌あるいは細菌プランクトンは海洋生態系においてどのような役割を果たしているのだろうか？これを明らかにするためには、海洋細菌の (1) 生物量 (2) 種類 (3) 活性 (4) これらの時空間的変動を明らかにする必要がある。

海洋細菌の群集全体の生物量や活性をモニターすることは、比較的容易にできる。生物量は、海水を採取した後、核酸と特異的に結合する蛍光色素によって細菌を染色し、フィルター上に濃縮して蛍光顕微鏡下で計数することによって求める方法が一般的である。単位海水当たりの細菌数をもとに、これに細菌当たりの炭素量として適当な換算係数を乗じて全体の生物量とする。また、画像解析などにより測定した細菌の大きさから体積を推定し、これを加味して生物量を求める場合もある。細菌群集全体の活性は、増殖速度や炭素生産量を指標として表されることが多い。具体的には、増殖速度の場合、ラジオアイソトープラベルした DNA の前駆物質チミジンの取り込み量を測定し、別に求めた換算係数を用いて細菌数に換算する。あるいは、炭素生産量を求めたい場合は、ラジオアイソトープラベルしたアミノ酸ロイシンのタンパク質への取込み量を測定し、これを炭素量に換算する。

一方、細菌の群集組成、つまり対象とする海域にどのような細菌種が存在するかを明らかにすること、多様な種類ごとの生物量や活性を明らかにすることは、容易ではない。海洋細菌の群集組成を知りたい場合、まず試料とする海水から核酸を抽出し、そこに生息する全細菌種を対象にその 16SrRNA 遺伝子を PCR 法によって増幅し、クローンライブラリーを作成する。こうして作成されたライブラリーに含まれる 16SrRNA 遺伝子を一つ一つ解析、その塩基配列を決定することにより、細菌の種類を同定してゆく。あるいは、PCR の増幅産物を特殊な電気泳動によって異なる種類ごとに分離し、多様性の変動解析や塩基配列決定による同定が行われる場合もある。さらに、特定の種類の細菌の生物量を把握したい場合最も良く利用されるのは、fluorescence *in situ* hybridization (FISH) 法である。細菌の 16SrRNA に特異的に結合するようにデザインされたオリゴヌクレオチド (プローブ) を使ってハイブリダイゼーションを行う。通常、蛍光色素と結合させたオリゴヌクレオチド (蛍光プローブ) が用いられ、検出したい細菌の rRNA にプローブが結合すると蛍光を発するため、蛍光顕微鏡下で目的の菌のみを計数することができる。最近では、海水中にラジオアイ

ソトープでラベルされたアミノ酸などを加えて一定時間培養した後、個々の細菌細胞への取り込みを検出するマイクロオートラジオグラフィーという手法を FISH 法と組み合わせて用いる方法が検討されている。これによって、どのような種類の細菌がどのような基質利用活性があるかを調べることができる。

2-2. 溶存態有機物 (Dissolved Organic Matter, DOM)

微生物ループを介しての物質変換は、海洋の物質循環を理解するための重要なプロセス一つである。海洋表層における栄養塩の再生、基礎生産有機物の変質や無機化、粒子の沈降フラックスといった、地球環境の制御に直接影響を及ぼすと考えられている諸過程の制御に、深く関わっていると考えられる。溶存態有機物→細菌→原生動物という微生物ループプロセスにおいて、微生物の群集組成や活性と同時に、これらが利用する溶存態有機物の量や質とその変動機構もまた重要な制御要因である。その、存在量、組成、回転時間、起源、分解過程のいずれについても正確な解答は得られておらず、重要な研究テーマの一つである。海洋学において、「溶存態有機物」は、孔径 $0.7\mu\text{m}$ のガラスファイバーフィルターを通過する有機物として定義されている。海水中に存在する有機物の 90% 以上は、溶存態の有機物として存在しており、これは地球上のアクティブな炭素プールの約 31% にも達する巨大なプールである。溶存態有機物は、実際には様々な組成と分子量をもった有機物の混合物である。細菌による分解のされやすさの程度に応じて、易分解性 (labile)、緩分解性 (semi-labile)、難分解性 (refractory) の三つに分けて論じられることが多い。これまでの研究で、アミノ酸、炭水化物、脂質、核酸などが含まれることがわかってきたが、化学的に同定できたのは有機物量の 20% 以下に過ぎず、残りは未同定のままである。また、分子量 1000 以上の高分子が全体の 30~50% を占めることや、5nm から $0.5\mu\text{m}$ 程度の非生物粒子 (コロイド有機物) が多量に含まれることが報告されている (Benner et al. 1991, Koike et al. 1990)。植物プランクトンは、光合成によって生産した有機物の 5~30% 程度を細胞外に排出することから、溶存態有機物、特に易分解性の低分子化合物の起源となっていると考えられている。高分子化合物やコロイド有機物については、原生動物の摂餌と消化活動による生成 (Nagata and Kirchman 1991)、バクテリアオファージによる溶菌過程における生成などが示唆されている (Shibata et al. 1998)。しかし、それぞれ生成要因の量的な関係についてはほとんど知見がなく、今後の研究課題である。

2-3. 生きていますが培養できない (Viable but Nonculturable, VNC)

1980 年代に入ると、蛍光顕微鏡による細菌プランクトンの直接計数法の普及によって、研究者の関心は「顕微鏡下で見えている細菌のうちどのくらいの割合が生きているのか？」という点に集まった。そして、培養に依存しない、いわゆる本当の意味での「生菌数」の計数方法がいくつか考案された。1979 年に東京大学海洋研究所の木暮によって考案された Direct Viable Count (DVC)

法では、試水に DNA gyrase の特異的阻害剤であるナリディキシ酸と適当な有機基質を加え一定時間培養する。この時、生物活性をもつ細菌は、基質を取り込みタンパク合成を行うが、DNA の合成が阻害されているため分裂できず、結果的に菌体が著しく伸張する。菌体が伸張したものを蛍光顕微鏡下で識別、計数すれば、全菌のうちタンパク合成能をもつ菌数が明らかとなる。

メリーランド大学の Colwell らのグループは、コレラ菌と大腸菌を自然海水中に摂取し、全菌数、生菌数、DVC 法による菌数の変化を経時的に調べた。その結果、コロニー形成を指標とする生菌数は急速に減少したが、蛍光顕微鏡を用いた直接計数法による全菌数は、ほとんど変化せず、DVC 法による菌数は、生菌数と全菌数の中間的な減少を示した。このことから、一部の菌は、コロニーを形成できなくなった、つまり分裂能を失ってしまったが、タンパク合成という生物活性を保ったまま残存していたと考えた (Xu et al. 1982)。この現象に対して、Viable but Nonculturable (VNC) という用語が提案された (Colwell et al. 1985)。最近、VNC を意味する日本語として「潜生菌」という用語が提案されている (木暮 1999)。例えば、東京湾において、細菌プランクトンの生菌数を調べると、 $10^3 \sim 10^4$ 程度であるのに対し、タンパク合成能を有する菌数は、これより一桁から二桁も多く検出される。つまり、細菌プランクトンのほとんどは潜生菌状態にあるとも言える。潜生菌には次の三つの生理状態があると考えられる。(1) 分裂可能な状態にあるが、我々がそれに必要な条件を知らないために、培養されてこないもの。(2) 一時的に分裂能を失っているが、適当な条件下で再び回復可能なもの。(3) 分裂能が回復しないもの、あるいは死滅過程の途中にあるもの。(1) の状態にあるものについては、今後培養技術の改良が進めば、Nonculturable ではなくなるはずである。また (3) については、厳密な意味では Viable とは言えない可能性もあり、潜生菌ではなく「潜“死”菌」と言った方がふさわしいかもしれない (木暮 1999)。従って、研究者によっては (2) の状態を特に VNC と定義する場合もある。

ごく最近になって、病原微生物学の分野において、細菌の VNC 状態がにわかに注目されるようになってきた (Barer et al. 1993, 那須 1997, 染谷・犬伏 1999, MEMIC Symposium 1999, Tokyo “Viable but Nonculturable Microorganism and Emerging Infectious Diseases”)。1996 年以降、腸管出血性大腸菌 O157:H7 による集団感染の事例が報告されるようになった。この菌は、1982 年にアメリカで初めて病原菌として報告されたが、以後 15 年くらいの間日本にまで分布を広げたとされる。1996 年 7 月に境市で発生した、O157 による集団感染では、原因食と疑われた野菜やその栽培施設から当該菌は分離されなかった。1997 年には、肺炎疾患を引き起こす可能性のあるレジオネラ菌が、家庭用の 24 時間風呂に存在する可能性が指摘された。また、最近コレラを発症した患者の中で、海外渡航歴がなく感染ルートが不明の症例があることが指摘されるようになっている。通常、病原菌の追跡は、培養法によって行われる。これは、培養によって微生物の性状や機能を明らかにして行くという古典的な微生物学の伝統に基づいている。そこには、もし病原菌が生存していれば、かならず培養できるという前提がある。しかし、病原菌が VNC 状態にあれば、

この前提は正しくないことになる。海洋における全菌数と生菌数の違いにあるように、自然環境中の細菌のほとんどは寒天培地上でコロニーを形成しない。従って、培養法による追跡調査にはおのずと限界があることになる。病原菌の VNC 状態において、最も問題となるのは、上で述べた (2) の状態である。つまり、VNC 状態から回復して病原性を発揮しうるのかという点である。Wai et al. (1996) は、VNC 状態のコレラ菌を 45℃ に 1 時間おくと、コロニー形成能が回復することを示している。同様の知見は、ピロリ菌 (*Helicobacter pylori*) についても得られている。こうした現象がどのような生理学的、分子生物学的機構によっておこるのかはほとんどわかっていない。今後、VNC 状態への移行とそこからの回復に関する具体的な機構の解明が必要である。

2-4. 培養できない菌の追跡

それでは、環境中に存在するが、培養できない菌をいったいどのようにして追跡すれば良いのだろうか？ 良く用いられるのは、目的とする菌に特異的に結合するマーカーを作成し、これを目印に環境中での挙動を直接追跡する方法である。マーカーには、細胞表面の抗原に結合する抗体や特定の塩基配列に相補的に結合するようにデザインし合成した DNA 断片 (DNA プローブ) が用いられる。また、脂肪酸やキノンといったグループ特異的な菌体成分を直接抽出し、これを指標に追跡する方法もある。木暮・池本 (1997) は、DVC 法と抗 O157 抗体を用いた蛍光抗体法を組み合わせ、東京近郊の河川水を調査し、いずれの河川からも $10^2 \sim 10^3$ /ml の O157 抗体に反応する菌を検出している。また、黒川ら (1997) は、ペロ毒素遺伝子および *E.col-Shigella* sp. に特異的な 16SrDNA 配列を指標に、大阪府の寝屋川における調査を行い、全菌数の約 1% の菌がペロ毒素遺伝子を持ち、その数倍の菌が *E.col-Shigella* sp. プローブと結合することを示している。培養に依存しない手法は、病原菌の追跡だけでなく、廃水処理系における微生物機能の解析にも有効である (平石 1999)。16SrDNA クローンライブラリー法、T-RFLP 法、キノンプロファイル法によって、廃水処理系において、未知の分類群の細菌が、活性汚泥の主要構成菌として存在している可能性が示されている。

同様の手法は、天然環境中に生息する細菌群集の多様性の解析にも広く利用されるようになってきている。1980 年くらいまでは、こうした研究は、まず細菌を分離、培養し、その一つづつについて性状を調べて行くという時間のかかる地道な仕事であり、しかもそうして明らかになる細菌群は、数としては全体の 1% にも満たないという宿命にあった。しかし、1980 年代~90 年代にかけて、PCR 法の発明と 16SrDNA データベースの急速な蓄積をはじめとする分子生物学的手法や GC-MS 等における微量分析技術の進展によって、研究の手法は大きく変化した。今や、培養に依存しない手法は、微生物生態学における基本手法となりつつある。天然環境中に生息する培養できない大部分の菌に対して、現在はまだ「どのような菌がどれくらいいるのか？」といういわゆる多様性解析が中心であるが、今後「どの菌が何をしているのか？」という機能解析に研究の焦点が移

って行くと思われる。最新の研究では、環境中から抽出した細菌群集の DNA を BAC、YAC といったベクターを用いて、40-100kb という巨大な断片をクローニングし、16SrRNA 遺伝子から種を特定すると同時に、同じ断片上の遺伝子解析を行い、培養できない種の機能解析が行われている。自然環境中に存在する多様なゲノムを包括的に解析しようとするこうしたアプローチは、Metagenomics（メタゲノム解析）と呼ばれている。こうした手法を使えば、培養できない細菌の遺伝子をかなりの程度まで解析することが可能であり、これまで知られていない全く新しい機能遺伝子の発見につながることを期待される。また、クローニングした遺伝子を適当な発現系に組み込み、抗生物質等の有用物質生産につながる遺伝子のスクリーニングも試みられ、創薬のための新しいアプローチとして注目される。すでに述べたように、培養法によって採取される細菌は自然環境中に生息する細菌群の1%以下にすぎない。したがって、これまで行われてきた培養法による有用物質生産細菌の探索では、実際の細菌群がもつ遺伝的多様性のごく一部しか探索できていないと考えられる。培養に依存しないメタゲノム解析的手法を用いれば、残りの99%の細菌がもつ機能を解析することが可能となり、探索できる遺伝的多様性は飛躍的に増加する。すでに、米国ではこうした思想に基づいて有用物質の探索を行う企業が出現し、今後の発展が期待されている。

3. 光合成の起源と進化

3-1. 光合成器官 Photosynthetic apparatus の構造

ほとんどの嫌気性光合成細菌、藍藻では、細胞質膜の内側の膜 (lamellae) で光化学反応、細胞の中心部で炭酸固定を行う。一方、真核生物は、葉緑体 chloroplast 内のリポタンパク膜 lipoprotein membrane で光化学反応、これを取りまく液相で炭酸固定を行う。

リポタンパク膜は、チラコド thylakoid (from the Greek *thylakos*, meaning “a sack”) と呼ばれ、タンパク質や他の機能分子が埋め込まれた厚さ 4 nm (10 Å) の脂質二重膜である。主な脂質成分は、monogalactosyldiacylglycerol (MGDG) と digalactosyldiacylglycerol (DGDG) であり、細胞内の他の膜を構成しているようなリン脂質ではない。チラコイド膜は、ちょうどピタパンのような袋状の構造を取り、その内部 intrathylakoid space はルーメン lumen と呼ばれる。二つの光化学反応に関与するタンパク質と色素、電子伝達系の主な構成成分、酸素発生と ATP 合成に関与する酵素群が、膜上に配置されている。また、チラコド膜は、主要な光捕集色素-タンパク複合体を含んでいるため、これを細胞から抽出すると特徴的な色調を示す。

チラコド膜周辺の液相は、ストロマ stroma と呼ばれる。そこに存在する可溶性タンパクは、膜の生化学反応により生じる還元力やエネルギーを使って有機物を合成する。また、DNA、r-、m-、tRNA、および葉緑体遺伝子の転写、翻訳に必要な酵素を含む。

葉緑体の内側の膜 inner envelope membrane には、多くの膜結合性タンパクが存在し、光合成に必要な基質や生産物の選択的な透過に関与している。外側の膜 outer envelope membrane には、ポーリン porin と呼ばれる膜結合性タンパクが存在し、CO₂、O₂、リン酸、ATP 等の 800Da 以下の物質を非選択的に透過している。

チラコイドの構造は、分類群によって異なっている。

3-2. 酸素発生型光合成の進化：地球化学的証拠 geochemical evidence

生体膜の進化については、はっきりしないが、酸素発生型光合成の起源については、地球化学的および分子生物学的証拠に基づいてたどることができる。二つの全く異なった分野の証拠によって推測されるのは、光合成と地球の海洋や大気の化学的性質が統合的に進化してきたということである。

原始地球大気は、僅かに還元的状態にあり酸素は存在しなかった。現在の大気は、21%の酸素を含み強い酸化状態にある。これらの酸素はすべて、原始海洋における光合成によって蓄積されたものである。酸素の生成と同時に二酸化炭素が除かれ、その大気中濃度は現在の 100 倍から 1/2 のレベルまで低下した。大気中に蓄積された酸素と除かれた二酸化炭素は、化学量論てきにはつり合っていない。その一つの理由として、堆積物中のウラニウムの分布に基づいた説明がなされている。

地球誕生時に火成岩中に生成した閃ウラン鉱 uraninite : UO_2 は、風化作用によって海洋中に運ばれる。嫌気的狀態ではそのまま海底に沈降、堆積してゆくが、海水中の酸素濃度が 1% (現在の濃度レベル) を越えると 6 価の狀態にまで酸化される。従って、堆積岩中のウラニウムの酸化狀態を調べることによって、酸素進化の時期を推定することができる。もし酸素の唯一の発生源が光合成であるとする、この方法によって酸素発生型光合成の始まりを 25~28 億年と特定することができる。鉄やマンガンなども同様な指標として用いることができる。2 価の鉄 Fe^{2+} は、比較的海水に良く溶けるが、これが酸化されて 3 価 Fe^{3+} になるとほとんど溶けなくなる。酸化狀態の鉄は、酸素や水酸基と結合しており、先カンブリア時代 Precambrian の海洋では、光合成生物が生成した酸素によって、莫大な量の 3 価の鉄イオンを含む無機化合物が数億年にわたって沈積したと推定されている。

地球化学的および地質学的証拠から導かれるもっともありそうなストーリーは以下のようなものである。光合成による酸素の生成は、まず沿岸域の比較的小さな浅い海域で起こった。そこには、現在の海洋の多くの熱帯域の大陸縁辺域で見られるような微生物マット群集が形成されていた。微生物マットによって生成した酸素の大部分は、無機元素の酸化によってその場で消費され、先カンブリア時代の海底に鉄とマンガンを含む堆積物の沈積をもたらした。この時期には、光合成によって合成された有機物は、従属栄養代謝によって再酸化されることはなくそのまま残り、一部の有機物は浅海域に沈積していったと考えられる。こうした沈積物が、長い時間を経て石油や天然ガスに変わっている。

一部の光合成生物もまた石灰質の殻として無機炭素を沈積させる。炭酸カルシウムは、ほとんど海水にとけないため、様々な海洋生物によって生成された石灰質の殻は、化石化しながら数億年にわたって沈積し、アルプスやアンデスからヒマラヤに至るまで主要な山岳地帯の石灰岩床となっている。

3-3. 光合成生物の進化：生物学的証拠 biological evidence

最初の光合成生物は、およそ 38 億年前に出現した嫌気性細菌である。これらの生物は、光エネルギーを利用して硫化水素 H_2S などから電子や水素イオンを取り出し、 CO_2 を還元して有機物を合成していた。嫌気的光合成過程は、おそらく地球上で最初に出現したエネルギー変換機構の一つである。現在までに、二つのタイプの嫌気的光合成反応が進化し存在している。一つは、ヘリオバクテリア *heliobacteria* と緑色硫黄細菌 *green sulfur bacteria* で、鉄-硫黄化合物を電子受容体としている (PS I 型)。もう一つは、紅色光合成細菌 *purple photosynthetic bacteria* と緑色非硫黄細菌 *green nonsulfur bacteria*, or *Chloroflexus* で、フェオフィチン *phaeophytin* とキノン *quinone* を電子受容体としている (PS II 型)。この二種類の反応はそれぞれ独立に進化してきたと考えられ、両方の反応系をもつ嫌気性光合成細菌は見つかっていない。

わずかな化石試料を証拠として、嫌気性光合成細菌の出現からおよそ 1~2 億年の後、酸素発生型光合成生物が出現したことが示唆されている。化石化した細胞の形態は、現存の藍藻類と非常によく似ていた。海洋の光合成生物によって、後期始生代 Archean から前期原生代 Proterozoic の大気に酸素が満たされ、嫌気性光合成細菌の生息場所はほとんど失われた。今から 17 億年前の中期原生代の化石試料として、現在の海藻類の祖先にあたる多細胞の光合成生物が見ついている。嫌気性光合成細菌と酸素発生型光合成生物の光合成器官のタンパク質の相同性から、光化学系 II photosystem II は、紅色光合成細菌の祖先に近縁の生物に由来し、光化学系 I photosystem I は、緑色硫黄細菌の祖先に近縁の生物に由来すると推測されている。

現在までに、12 門 phyla の藻類が進化し、水と光さえあれば地球上のあらゆる場所に生息している。真核生物は、少なくとも 20 億年前には出現したと思われる。約 7 億年前の化石試料によれば、現存の藻類に分類できる最初の真核藻類は、ウシケノリ Bangiaceae 科の紅藻と似ている。

3-4. 光合成独立栄養生物の起源と系統

生物の系統を明らかにする最も一般的な分子生物学的手法は、リボソーム RNA の塩基配列を比較することである。系統樹を作成するのによく用いられるのは、16SrRNA と 18SrRNA である。塩基の置換率をもとに進化的距離あるいは分岐年代を数学的に推定し、系統樹ないしはクレードグラム cladogram を作成する。真核生物の場合、葉緑体には 16SrRNA が、核には 18SrRNA が存在し、それぞれ独立に系統を論じることができる。

葉緑体やミトコンドリアといった細胞内小器官の起源は、細胞内共生説によって説明されている。共生説によれば、葉緑体の起源は、原始紅色光合成細菌と緑色硫黄細菌の遺伝子融合によって誕生した^①酸素発生型の藍藻類である。ミトコンドリアは、 α -プロテオバクテリア proteobacteria とされている。ミトコンドリアや葉緑体を欠く原始生物の食作用によって取り込まれた。実際に、ディプロモナスなどのアーケゾア Archazoa と呼ばれる生物群は、ミトコンドリアやゴルジ体を持っていない。現存の生物についても、共生現象はべつに珍しいことではなく、特に渦鞭毛藻ではよく知られている。^②

葉緑体の獲得は、原核生物の一次的な細胞内共生によってだけでなく、すでに葉緑体を獲得した真核生物がさらに細胞内に共生（二次共生）することによっても起こったと考えられている。二次共生を示唆する一つの証拠は、4 枚の葉緑体の膜とヌクレオモルフである。

葉緑体のゲノムサイズは、100~180kbp であり、藍藻類の 20 分の 1 程度である。細胞内共生が成立し、細胞内小器官として同化される過程で、藍藻類が本来持っていた遺伝子の多くは細胞核に転送されるか、重複する機能についてはそのまま失われてしまったと考えられている。しかし、最近の分子系統学的研究によれば、かならずしもそうではないことがわかってきた。例えば、グリセロアルデヒド 3 リン酸デヒドロゲナーゼ GAPDH 遺伝子について、細胞内共生の際にミトコンド

リアや葉緑体となった真正細菌によって持ち込まれた遺伝子タイプが、もともと存在した遺伝子タイプと置き換わっていることを示唆するデータが得られている。

(1) これまでの仮説では、嫌気性光合成細菌は、単独の光化学系 (PS I 型か PS II 型) しかもたず水分解ができないので、両者の融合もしくは遺伝子の水平移動によって藍藻類の光化学系が成立したとされている。しかし、最近の研究では、藍藻類はグラム陰性菌とグラム陽性菌が分岐する以前に出現していたことが示唆されており、一部の嫌気性光合成細菌 (ヘリオ細菌、緑色硫黄細菌、紅色光合成細菌) の光合成能は、藍藻型から退化したかもしくは新たな水平移動によって獲得したとも考えられている (Olsen et al. 1994)。一方、緑色非硫黄細菌 (PS II 型) は、藍藻類よりも古い時期に分岐したとされているので、もし新たに PS I 型の光合成細菌で古い系統のものが見つければ、光合成細菌起源融合説もありうるであろうし、未だはっきりとした結論には至っていない。

(2) 細胞内共生の例

ミドリゾウリムシ-クロレラ

シロアリ-鞭毛虫 *Myxotrichia paradoxa*-スピロヘータ-バクテリア

クリプトモナス-藍藻クロオコッカス (細胞壁消失)

サンゴ-渦鞭毛藻 *zooxantella*

ヒドラ-クロレラ

ウリクラゲ-紅色鞭毛藻

マメ科植物-根粒菌

ホヤ-プロクロロン (細胞外共生)

アメーバ *Pelomyxa palustris*-好気性バクテリア (ゴルジ体とミトコン代わり)

繊毛虫 *Mesodinium rubrum*-クリプト藻

渦鞭毛藻-珪藻、クリプト藻、プラシノ藻

藻類の核の分子系統は、単系統とはならない。つまり、現在の藻類は、光合成生物として単系統で進化してきたわけではなく、複数の系統群に分かれた真核生物の進化の途中で、それぞれの系統で独立に光合成能を獲得しながら進化してきたと考えることができる。一方で、16SrRNA による葉緑体の分子系統はほぼ単系統になることから、一回の一次共生と複数の二次共生による葉緑体の獲得機構が推測されている。

ハプト植物、緑色植物 *Chlorophyta*、クリプト植物、紅色植物 *Rhodophyta*、黄色植物 *Chromophyta*、渦鞭毛藻、ユーグレナ植物は、全て別々の系統に属する。さらに、真核生物では、同一の系統の中に、光合成生物と葉緑体を獲得しないまま進化してきた従属栄養生物が共存している。実際に、このような系統群がいくつか認識されている。

ユーグレナ *Euglenophyta* と眠り病の病原虫であるトリパノソーマを含むキネトプラスト類は、

単系統群であり、アーケゾアに次ぐ古い真核生物の仲間。渦鞭毛藻は、ゾウリムシ等の繊毛虫やマラリヤ原虫を含むアピコンプレクサ類と単系統を形成し、アルベオラータ Alveolata と呼ばれる。繊毛虫やアピコンプレクサ類は、アルベオール alveole と呼ばれる渦鞭毛藻のアンフィエスマに類似した細胞表面構造を持つ。黄色植物（不等毛植物 Heterokontophyta）は、褐藻、珪藻、ラフィド藻など多くの植物プランクトンを含む大系統群である。この生物群は、鞭毛虫のピコソエカ類、従来鞭毛菌類として分類されてきたラピリンチュラ類、サカゲツボカビ類、卵菌類と単系統を形成する。従来の植物、菌類、原生動物といった大分類群にまたがるこの一大系統群は、鞭毛表面の小毛が管状であるためストラメノパイル stramenopile (stramen 麦わら pilus 毛 from latin wards) と呼ばれる。

以上のような光合成生物の成り立ちを考えると、動物、植物といった違いがあまり明確でなく、中間的な性質をもつ生物群や現在でも進化の途上にあるように見える生物群が存在しても不思議ではない。クリプト藻に見られるヌクレオモルフや多くの共生生物と宿主の関係、渦鞭毛藻に見られる混合栄養 mixotrophy、ユーグレナ藻の浸透栄養 osmotrophy や摂食栄養 phagotrophy は、そうした一例である。陸上植物に比べ、水圏の植物いわゆる藻類は、光合成生物として非常に多様な生物を含み、その中には現在まで原始的な体制を残していると思われる生物群も多く存在する。従って、基本的な光合成機構は共通でも、細部に関してはかなり大きなバリエーションがあるはずである。共生説が正しいとすれば、細胞本体と光合成システムとの関係に大きなバリエーションが生ずる可能性がある。つまり、基本的な光合成機構は共通で、光合成を制御する機構、あるいは光合成生産物を利用する機構などに大きな違いがあるだろう。今後更に研究が進めば、これまでモデル生物として良く研究されている高等植物や緑藻類では全く考えられていなかったような分子生物学的あるいは生理学的機構が存在する可能性が大きいだろう。

3-5. 葉緑体に核がある？

クリプト藻 Cryptophyta、クロララクニオン藻 Chlorarachniophyta、ハプト藻 Haptophyta、不等毛植物 Heterokonta の葉緑体 chloroplast, or plastid は、4枚の膜⁽¹⁾で包まれている。これらの藻類は、二つの真核生物が融合した進化的キメラ evolutionary chimera 由来の生物群である。さらに、クリプト藻とクロララクニオン藻には、膜の間の葉緑体周縁基質 periplastidal matrix, or periplastidal compartment に、ヌクレオモルフ nucleomorph⁽²⁾と呼ばれる細胞器官が存在する (Cavalier-Smith 1987, Gibbs 1992) 。

(1) 内側の2枚は、葉緑体包膜 chloroplast envelope、外側の2枚は、葉緑体小胞体 chloroplast endoplasmic reticulum; CER と呼ばれる。クリプト藻や不等毛植物 CER の外側の膜は、核胞膜と連絡しているが、クロララクニオン藻では互いに連絡していない。また、CER の外膜は、宿主生物の細胞膜ないしは食胞の膜に由来し、内膜は、共生生物の細胞膜に由来すると考えられている。

このことから、Cavalier-Smith (1981, 1994, 1995) は、CER の外膜を葉緑体周縁小胞体 periplastidal endoplasmic reticulum、内膜を葉緑体周縁膜 periplastidal membrane と呼ぶことを提案し、さらに 2 段階共生によって成立した藻類群の分類について、クロミスタ界 Kingdom Chromista の創設を提唱した。

(2) 1974 年 Greenwood によってクリプト藻の葉緑体に存在することが報告された。2 重の包膜で囲まれ、核孔に似た穿孔がある。仁類似の塊状構造 fibrillogranular body には RNA が、基質部分には DNA が含まれている (Ludwig and Gibbs 1985)。真核性共生生物の核の痕跡と考えられ、共生起源説の有力な証拠とされている (つまり、共生進化の現在進行形である!)。クリプト藻のヌクレオモルフの 18SrRNA の塩基配列は、自身の核のそれよりも、紅藻 Rhodophyta の塩基配列に近い (Cavalier-Smith 1993, Douglas et al. 1991)。

3-6. 原核緑藻は、緑色植物の起源か?

1975 年 Lewin によって初めて記載された原核緑藻は、緑色植物と同様にクロロフィル *a/b* (正確にはディピニルクロロフィル *a/b*) を主な光合成色素として持つため、当初その葉緑体の起源生物ではないかと注目された。しかし、その後の分子系統解析によって、原核緑藻類の色素結合性光捕集タンパク遺伝子 *pcb* gene は、緑色植物だけでなく真核光合成生物の既知の光捕集タンパク遺伝子とほとんど相同性を示さず、藍藻類の光捕集タンパク遺伝子 *psb C* gene, *isi A* gene と近縁であることがわかった。また、16SrRNA、*rpo C1* (DNA-dependent RNA polymerase)、*rbcL* (Rubisco large subunit) といった遺伝子の塩基配列データからも同様の結果が得られている。また、これらの解析から原核緑藻類の 3 属 (*Prochlorococcus*, *Prochlorothrix*, *Prochloron*) は、それぞれ独自の系統で進化してきたと考えられている。原核緑藻類の *pcb* 遺伝子との相同性が示された藍藻類の *isi A* 遺伝子は、鉄欠乏条件下においてのみ発現する遺伝子である。*Isi A* 遺伝子によって発現するタンパク CP43' は、やはりクロロフィル *a* と結合し、*psb C* 遺伝子にコードされている PS II 反応中心タンパク CP43 と類似している。さらに、CP43' は緑藻類や高等植物で発見されている主な光捕集タンパク質 light-harvesting complex proteins LHCPs とは全く異なっている。以上のようなことから、現在までのところ原核緑藻類の系統と進化について次のように考えられている。

(1) クロロフィル *b* は、進化の過程において少なくとも 4 回独立に獲得された。つまり、原核緑藻類において 3 回、緑藻類において 1 回である。

(2) 原核緑藻類は、緑色植物の葉緑体の直接の起源生物ではない。

(3) 原核緑藻類の光捕集機構は、アーキアン紀、プロテロゾイック紀の海洋における鉄不足によって、藍藻類と共通の起源生物から進化した。

4. 海洋環境における光合成

4-1. 植物プランクトンの分類

植物プランクトンを含む藻類の分類体系は、それぞれの時代ごとに当時の知識を結集して最も妥当と考えられるものが作られてきた。現在は、(1) 核の有無、(2) 光合成色素と貯蔵物質、(3) 葉緑体、ミトコンドリア、鞭毛の微細構造、(4) 細胞壁、細胞被覆物質の構成成分、(5) 核酸の塩基配列による系統解析、これらの情報にもとづいておよそ 11 門 20 綱に分類されている。

日本沿岸海域における海洋植物プランクトンの分類学的研究は、1970 年代～1980 年代にかけて赤潮生物の研究を通じて精力的に行われてきた。現在、これらの研究成果をまとめた「日本の赤潮生物」(福代康夫他編、内田老鶴圃 1990) には、赤潮生物あるいは赤潮として出現する可能性のある種として 10 綱(藍藻、クリプト藻、渦鞭毛藻、珪藻、ラフィド藻、黄金色藻、ハプト藻、ユーグレナ藻、プラシノ藻、緑藻) 200 種の植物プランクトンが記載されている。以下に、海洋において出現頻度の高い分類群について概説する。

珪藻類：珪藻綱 (Bacillariophyceae, =Diatomophyceae) は、珪酸土の化石も合わせると総数 2 万数千種以上といわれ、藻類の中では最も種数が多い。全植物プランクトンの中で最も普遍的に出現する分類群で、単細胞として存在するだけでなく、群体として生活する種類も多い。海洋、陸水、汽水のいずれの水域にも出現し、特に海洋では最も現存量の多い分類群である。細胞は、細胞殻 (frustule) と呼ばれる固い珪酸質の殻で覆われており、珪素が細胞乾重量の 4~50% を占めている。箱形の細胞殻は、ペトリ皿のように上下が入れ子状になっている。細胞内には一個の核と一個ないしは複数の葉緑体を有する。通常、細胞の二分裂によって増えてゆくが、分裂が続くと細胞サイズが次第に小型化するので、あるところで増大孢子 (auxospore) を形成して再び大型のサイズに戻る。増殖に不適な期間は、休眠孢子 (resting spore) を形成する。沿岸域の海底土中には珪藻の休眠孢子が多く存在する。珪藻綱は、円心目 (Centrales) と羽状目 (Pennales) 二つの目に分類され、円心目の蓋殻の構造の中心は通常「点」、羽状目の蓋殻の構造の中心は通常「線」である。

渦鞭毛藻類：渦鞭毛藻綱 (Dinophyceae) は、広く海洋、陸水、汽水域に生息し、珪藻類に次いで発生量の多い分類群で、現在約 2000 種が知られている。大部分が運動性を有し、縦鞭毛と横鞭毛の二本の鞭毛によって遊泳する。多くは単独または連鎖群体を形成して浮遊するが、海藻表面や砂粒間隙にすむ底生性種や、共生、寄生性種も存在する。約 50% の種が、葉緑体を持ち光合成を行う独立栄養性種で、残り 50% が従属栄養性種であるが、前者でも珪藻や渦鞭毛藻を補食している細胞が観察されることがあり、このような混合栄養性種がかなり存在すると考えられている。細胞表面にセルロース質の殻を持つ有殻類と、殻を持たない無殻類がある。有殻類では殻の微細構造が重要な分類形質となっており、対する無殻類では細胞表面の縦横溝の位置や発達の程度が分類形質となっている。

通常のプランクトン採集では、単相世代で無性的二分裂によって増殖する栄養細胞が観察される。約 20 種類で有性生殖が観察されており、その生活史の一部で復相のシスト (cyst) と呼ばれる休眠接合子 (hypnozygote) を形成するものが数十種知られている。これらシストは、海底泥中で適当な期間休眠した後、環境変化に呼応して発芽し、浮遊性の栄養細胞となって増殖する。渦鞭毛藻類には、赤潮や貝類毒化を引き起こす種類が多く、これらの有害プランクトンの発生機構を解明する上で重要な項目の一つとして、海水中の栄養細胞だけでなく海底泥中のシストの分析や分布調査も合わせて行われることが多い。以下に代表的な有害種を挙げる。

Gymnodinium mikimotoi

三重県五ヶ所湾の真珠養殖場に異常発生した渦鞭毛藻の調査によって、1935 年に新種として記載された。無殻類。西日本を中心に広く分布し、夏期に赤潮を形成することが多いが、近年冬季の低水温期にも赤潮状態になることが知られ、しばしば魚介類の大量弊死を引き起こす。長崎県大村湾で 1965 年に赤潮を引き起こして記載された *Gymnodinium nagasakiense* は、本種の同物異名として扱われている。同じ属には、アメリカのフロリダ沿岸でしばしば大発生し、魚類の大量弊死を引き起こす *G. breve* やわが国はじめ世界各地に発生し、麻痺性貝毒による貝類の毒化を引き起こしている *G. catenatum* が含まれる。

Alexandrium tamarense

温帯を中心とした世界各地に広く分布し、麻痺性毒を生産する有毒プランクトンであるため、生理生態あるいは生産する毒に関して詳しい研究が行われている。有殻類。広島湾では 1992 年以降毎年春に多く発生するようになり、カキやアサリの毒化を引き起こしている。同属の *A. catenella*、*A. fundyense* も同じ麻痺性毒を生産する。

Heterocapsa circularisquama

高知県浦ノ内湾で 1988 年に赤潮として発生し、新種の渦鞭毛藻として記載された。有殻類。二枚貝だけを特異的に弊死させ、魚貝類には全く影響を及ぼさない。毒の本体は、細胞表面に存在するある種の蛋白質と考えられているが、未だ同定されていない。瀬戸内海を含む西日本沿岸域で発生し、毎年漁業被害をもたらしている。

ラフィド藻類：ラフィド藻綱 (Raphidophyceae) は、すべて単細胞で二等長もしくは不等長の二本の鞭毛をもって遊泳する。一本の鞭毛は前方にのばす羽型 (tinsel type) の遊泳鞭毛 (swimming flagellum) で、他の一本は後方にのばすむち型 (whiplash type) の曳航鞭毛 (trailing flagellum) である。体形は扁円形、紡錘形、倒卵形、球形など多様であるが、いずれも細胞壁、殻等の外皮構造がなく、体形は変形しやすい。葉緑体は黄褐色～黄緑色で、円盤状ないしは薄膜状を呈し、一細胞内に多数存在する。それらは細胞辺縁部 (外部原形質) に放射状、網目状など、規則的に配列する。光合成に関与する生理生化学的特徴や細胞の微細構造などによって、珪藻類、褐藻類などと近縁であるとして、不等毛植物門の一綱として扱われることが多い。

生殖は基本的には遊走細胞の無性的二分裂による。有性生殖については、日本およびインド産の *Chattonella marina* と *C. antiqua* でわずかに大きさの違う細胞どうして接合する異形接合 (anisogamy) の報告がある。また、この二種は無性的にシストを形成し休眠期をもつ。海洋、陸水、汽水に出現し、海産の種のほとんどは大量発生して赤潮を引き起こす。陸水の種も水の華を形成することがある。

Chattonella antiqua

植物プランクトンによる赤潮原因種の中で、*C. marina*, *G. mikimotoi* と共に最も漁業被害の大きい種の一つ。特に、養殖ハマチに大きな被害を与えている。*Chattonella* による弊死機構に関しては、藻細胞が放出する遊離脂肪酸や活性酸素が魚の鰓を損傷し、酸素運搬機能の低下と浸透圧調節の不全によって魚の窒息を引き起こすとされている。

4-2. 植物プランクトンの現存量

現存量 (standing crop) とは、ある時、ある一定面積内に存在する生物量 (biomass) である。それ自身は生産量ではないが、生産量あるいは生産力を測定する場合に重要な基礎となる量であり、物質生産の研究には不可欠のパラメーターである。その測定に一般的に用いられるのは、(1) 個体数の計測による方法と (2) 特定の生体成分を化学的手法によって定量する方法である。(1) の場合は、あらかじめ個体別あるいは種類別の体積、重量を求めておき、これに個体数を乗じて生体量 (biomass) とする。(2) の場合は、光合成色素量を測定する方法と他の有機物量 (炭素、窒素、蛋白質) を測定する方法に大別される。実際の海水中には、動物プランクトン、バクテリア、デトリタスといった植物プランクトン以外の懸濁態有機物が存在するため、後者の方法から植物プランクトンのみの現存量を推定することは難しい。従って、一般には光合成色素量特にクロロフィル *a* 量を測定し、そのままクロロフィル *a* 現存量として表すか、あるいはこれに一定の係数を乗じて、炭素量、窒素量として植物プランクトンの現存量を表すことが多い。クロロフィル *a* は、一定量の試水をガラス繊維フィルターで濾過した後、アセトンやジメチルホルムアミド (DMF) といった有機溶媒で抽出する。抽出されたクロロフィル量は、吸光法もしくは蛍光法によって測定される。

植物プランクトンの分類群ごとの現存量が知りたい場合には、顕微鏡下で個体数を計数するのが旧来からのやり方であった。しかし最近では、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を使って各分類群に特徴的な複数の光合成色素を定量し、色素の組成比から各分類群の現存量を推定する方法や、フローサイトメトリーによってプランクトンのサイズと光合成色素に由来する蛍光特性から分類、計数する方法も用いられるようになっている。

4-3. 基礎生産量の測定

生産量 (production) とは、一定時間中に一定地域内で生産される有機物の総量である。一定時

間の前後における有機物の増減を表す純生産 (net production) と区別して総生産 (gross production) という用語を使うこともある。光合成について言うと、ある時間内の光合成による炭素同化量は総光合成量 (gross photosynthesis)、そこから呼吸による損失を差し引いた値が純光合成量 (net photosynthesis) と呼ばれる。純光合成量は成長量 (growth) に相当し、時にはマイナスになることもある。湖沼や海洋における有機物生産の大部分は、大型藻類や植物プランクトンの光合成における炭酸同化作用によるものである。動物プランクトン、魚類などによる生産も、直接間接にこの有機物に依存しているため、藻類による有機物生産を特に基礎生産 (primary production) と呼んでいる。この基礎生産の研究は、地球表面付近における物質およびエネルギー循環を知ろうとする地球化学的な観点からもきわめて重要である。

植物プランクトンの光合成量を測定するのに広く用いられている方法は、溶存酸素法と ^{14}C 法である。前者は、一定時間後の酸素濃度の増加から光合成量を推定する方法で、同時に呼吸量も測定できるメリットがあるが、感度が低いため植物プランクトンが比較的多い海域でのみ有効な方法である。後者は、放射性同位元素でラベルした炭酸塩の取り込み量から光合成量を推定する。呼吸量が出ないが、感度が高く測定操作も容易であるため海洋の基礎生産の研究において最も良く用いられている方法である。しかし、日本においては野外での放射性同位元素の使用が厳しく制限されているため野外での基礎生産の測定にはほとんど使われることはない。最近では、放射性同位元素の代わりに安定同位元素 ^{13}C でラベルした炭酸塩を使った代替法が用いられている。

実際の海洋観測において基礎生産量を測定する場合、現場法 (*in situ* method)、疑似現場法 (simulated *in situ* method)、Sorokin 法、タンク法、クロロフィル法といった方法が考案されている。一般に、基礎生産量は光の日周サイクルを考慮して、1日 (24時間) あたりの生産量として求めることが多い。自然光のもとで測定を行う現場法や疑似現場法では、日出から正午あるいは正午から日没まで半日の吊り下げないしは船上の水槽内での光合成を行わせ、各深度で得られた値を2倍して1日当たりの生産量とする。一方、こうした野外での測定が困難な場合は、人工光照射下に一定時間において光合成を測定する (タンク法、クロロフィル法)。タンク法の場合は、表層、10%光深度、1%光深度から採水した試水を人工の飽和光下において、得られた光合成量と日長、有光層深度をもとに経験式から1日当たりの生産量を算出する。クロロフィル法では、植物プランクトンの光合成-光曲線、クロロフィルの鉛直分布、水中の相対照度、水面上照度の日変化の4つの資料を用いて1日当たりの生産量を算出する。

4-4. クロロフィル法による基礎生産の算出

採水した試水を人工光照射下で培養し、光合成-光曲線を作成する。以下の式は、光合成-光曲線を表す式の一例である。

$$P = P_m [1 - \exp(-AI/P_m)] \quad (\text{式 1})$$

$$\text{または、 } P=P_m I/(K+I) \quad (\text{式 2})$$

P : 光合成量、 P_m : 最大光合成量、A : 曲線の立ち上がり勾配

I : 光強度、K : $P=P_m/2$ となる光強度

まず、求めた光合成-光曲線の式に実際の太陽放射照度を代入し、得られた値に現場のクロロフィル量を乗じると、一日のうちある時点の光合成量が計算できる。太陽放射照度は一日のうちで変化するため、光合成量もそれにしたがって変化するはずである。そこで、各時刻の光合成量を積算して1日当たりの基礎生産量を求める。各深度での太陽放射の日周変化をもとに基礎生産量を求め、これを有光層内で積算すると、その水系での1日当たりの基礎生産量が算出される。太陽放射照度の日変化は、以下の式で表される。

$$E(t)=E_m \sin(\pi t/N) \quad (\text{式 3})$$

E(t) : 放射照度、 E_m : 正午の放射照度、t : 日出からの経過時間、N : 日長

推定に使用する実測データ

(1) 光合成-光曲線 $y=f(x)$ (式 1) または (式 2)

x : 光合成実験に使用した人工光源の光強度 I ($\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{sec}$)

y : 単位クロロフィル量当たりの光合成量 P ($\text{mgC}/\text{mgchl}a/\text{h}$)

(2) 現場のクロロフィル a 量 (mg/m^3)

(3) 正午の水面直下の放射照度 : $700\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{sec}$ 、日長 : 10 時間

(4) 鉛直消散係数 1.0 (透明度)

計算

(1) 正午の放射照度 E_m が水面直下 (100% 光深度) で $700\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{sec}$ の時、50% 光深度では 350、10% 光深度では 70、1% 光深度では $7\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{sec}$ であるから、日長が 10 時間とすると、各深度における太陽放射照度の日変化は、(式 3) より

$$\text{表層 } E(t)=700 \cdot \sin(\pi t/10)$$

$$50\% \text{ 光深度 } E(t)=350 \cdot \sin(\pi t/10)$$

$$10\% \text{ 光深度 } E(t)=70 \cdot \sin(\pi t/10)$$

$$1\% \text{ 光深度 } E(t)=7 \cdot \sin(\pi t/10)$$

(2) 光合成-光曲線の式に、(1) で求めた各時間、各深度における放射照度を代入し、これに現場のクロロフィル a 量を乗じて各時間、各深度における光合成量を求める。

(3) 得られた各深度における光合成量を日出から日没まで積算して、一日の光合成量とする。

(4) 水深 $z\text{m}$ の放射照度 $E(z)$ は、 $E(z)=E_0 \cdot \exp(-kz)$ (E_0 : 水面直下の放射照度、k : 鉛直消散係数) で表される。従って、鉛直消散係数 1.0 の水塊の 50% 光深度は、鉛直消散係数 $k=1.0$ 、 $E/E_0=0.5$ より 0.69m。同様に他の光深度を求める。各深度における一日の光合成量を有光層内 (100% ~ 1% 光深度) で積算して、求める水系の単位面積当たりの生産量とする。

4-5. 植物プランクトンの培養と増殖

最も一般的に用いられる培地は、自然海水又は人工海水に、硝酸塩、リン酸塩、珪酸塩（珪藻の場合）、微量の金属塩類、ビタミン類を添加したものである。使用に際しては、細菌やカビなどの微生物の混入を防ぐために、あらかじめオートクレーブ滅菌もしくは濾過滅菌を行う。増殖実験で通常使用される培養系は、バッチ培養と呼ばれ、一定容積の培養器（試験管やフラスコなど）の中に培地を入れ、その培地を交換することなく培養を行うという系である。バッチ培養における植物プランクトンの増殖曲線は、図に示すようにいくつかの段階に分けることができる。増殖実験においては、細胞増殖の誘導期から死滅期に至るまでの過程をきちんと把握することが基本である。一般に、増殖を評価する指標とするのは、対数増殖期の増殖速度と定常期（静止期）の細胞数（最大増殖量）である。対数増殖期における藻類の増殖は、以下のような式で表される。

$$N=N_0 \cdot e^{kt} \quad \text{または} \quad \ln(N/N_0)=kt$$

ここで、 N は藻体量、 t は時間、 k は増殖速度定数である。自然対数の代わりに常用対数を用い、 k の代わりにこれに $\log_{10} e=0.4343$ を乗じた値 ($k_g=0.4343k$) を用いることもある。増殖速度定数は、光の強さ、栄養条件などに依存し、また植物プランクトンの種によっても異なるため、培養条件の検討や異なる株の増殖能の比較などにおいて最も基本的な値となる。また、二分裂によって細胞が増殖する場合、 $N=2 N_0$ と k から求めた時間 t は、一回の分裂に要する時間（doubling time）に相当し、その逆数 $1/t$ は単位時間あたりの平均分裂回数を表す。

増殖曲線を作成するためには、培養中の藻体量を経時的に測定することが必要であるが、目的に応じて以下にあげるような様々な方法が用いられる。

乾燥重量：藻体を洗浄後、十分乾燥させて秤量する。

藻体容積：血液中の血球容積を求めるための遠心管（ヘマトクリット）を用いる。

藻体炭素、窒素の測定：元素分析計、マイクロケルダール法

細胞数の測定：血球計算盤、コールターカウンター、平板法、希釈法

光学的測定：比色法、比濁法、蛍光法、フローサイトメトリー

4-6. 全海洋の基礎生産量の推定

海洋における基礎生産量を把握しようとする研究は、生物圏における食糧生産の規模を把握しようとする関心から始まった。有機炭素の定量を初めて行ったドイツの有機化学者 Liebig(1862)は、地球表面が陸も海も全て $500\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ の牧草で覆われていると仮定して、年間の基礎生産速度を $63\sim 65\text{ Gt C}\cdot\text{yr}^{-1}$ と推定している。1965年～1974年に行われた国際生物事業計画（International Biological Program IBP）では、生物圏のすべての生物の餌として基礎生産速度の把握が注目された。この成果に基づいて、海洋の基礎生産速度として $22\text{ Gt C}\cdot\text{yr}^{-1}$ という値が報告された(Whittaker

and Likens 1975)。

1970年代に入ると、にわかに地球環境問題への注目が集まるようになった。とりわけ、ハワイのマウナロア山における二酸化炭素濃度の連続測定結果は、二酸化炭素濃度の上昇による地球温暖化が現実の問題であることを決定づけた (Keeling et al. 1989)。現状把握と問題解決のために、生物圏における炭素循環を正確に把握することが必要となった。ここで、基礎生産は地球上での炭素循環をコントロールする重要な機構として位置づけられるようになった。Moore and Bolin (1986/87) は、全球での炭素循環をまとめ、海洋の基礎生産速度を $30 \text{ Gt C}\cdot\text{yr}^{-1}$ と推定し陸域の30%弱としている。現在までの基礎生産速度の推定値は、今後の観測によっては数倍から数十倍に変わる可能性があり、1989年から始まった国際地球圏・生物圏計画 (International Geosphere and Biosphere Program, IGBP) によって正確な把握が急がれている。海洋の基礎生産速度の把握に関するこれまでの研究の経緯は、石坂 (1997) に詳しい。

海洋の基礎生産の推定にしばしば引用されてきたのは、Ryther (1969) と Koblentz-Mishke et al. (1970) の報告である。Ryther (1969) は、Sverdrup (1955) が湧昇域の分布から考えた基礎生産の分布図をもとにして、海洋を外洋、沿岸、湧昇域に分けてそれぞれの平均的生産速度を 50、100、 $300 \text{ gC}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{yr}^{-1}$ とし、 $20 \text{ Gt C}\cdot\text{yr}^{-1}$ の推定値を示した。Koblentz-Mishke et al. (1970) は、1960年代にとられた7,000点以上の実測データから基礎生産地図を作成し、 $23 \text{ Gt C}\cdot\text{yr}^{-1}$ を得た。同様に、Berger et al. (1987) は、1970年代以降の8,000点以上の実測データから $26.9 \text{ Gt C}\cdot\text{yr}^{-1}$ と推定している。Martin et al. (1987) は、基礎生産の測定のための培養において、ワイヤーや採水器から混入する重金属によって、炭酸の取り込みが抑えられ結果的に生産を過小評価していることを指摘した。さらに、重金属の混入を抑えたクリーンテクニックによる ^{14}C 法の値から、Ryther (1969) の1.4~2.6倍の値となると考え、全海洋の基礎生産量を $51 \text{ Gt C}\cdot\text{yr}^{-1}$ と推定している。その後、クリーンテクニックによる測定が世界的に進められており、近い将来クリーンテクニックによる実測値を用いた基礎生産量の推定値が得られると期待されている。

以上述べてきたような基礎生産量の推定値は、船舶を利用した観測によって得られたデータを基にしているため、基礎生産の時間的な変動は全く考慮されていない。また、空間的にも限られた地点のデータを利用するため、ある程度のバイアスがかかるのは避けられない。近年、こうした船舶観測の欠点を補う目的で、リモートセンシングや係留系 (moorings) の開発と利用が進められつつある。

4-7. 人工衛星の利用

1970年代後半から、人工衛星に搭載された海色センサーによって、クロロフィルの時空間的な変動を全球規模で把握することが可能となった。問題は、人工衛星観測によって得られる表層付近のクロロフィル濃度からどうやって水柱全体の基礎生産速度を推定するかである。クロロフィル濃

度と基礎生産速度との間には、正の相関があることから、最も単純には両者の間の海域ごとの経験式を用いて推定することができる。しかしながら、植物プランクトンの現存量の指標であるクロロフィル量は、基礎生産を積算した結果ではあるが、かならずしもある瞬間の増殖速度を反映する指標とはならない。従って、基礎生産の時間変動やそれに伴う炭素の動きを把握するためには、光や栄養塩といった光合成反応を制御するパラメータを含む推定アルゴリズムが必要と思われる。別の衛星観測によって、風、熱・蒸気フラックス、メソスケール循環といったデータを集め、光と栄養塩フラックスを推定し、基礎生産アルゴリズムに組み込んで行くことが期待される。現在、様々な基礎生産推定用のアルゴリズムが提案されているが、まだその精度は十分ではなく、今後改良が必要とされている。

人工衛星や航空機等による地球観測は、リモートセンシングと呼ばれる。リモートセンシング（以下リモセン）とは、地球表面から反射または放射される電磁波（光、熱、電波）を計測することで、離れたところから観測地点の定量的な情報を得る技術である。こうした衛星は、数十 km から数千 km の幅で観測を行い、地球周回軌道を 100 分程度で一周するため、数日で地球全体をカバーすることができる。1972 年に打ち上げられたランドサット 1 号によって衛星リモセンが本格化し、1994 年には全世界で気象衛星も含めると 22 個が打ち上げられており、2004 年までに 56 個打ち上げられることになっている。現在では、アメリカ、ロシア、フランス、日本、中国、インド、EC が独自のリモセン衛星を用いて地球環境の観測を行っている（村井 他 1995）。当初打ち上げられた衛星は、陸域のリモセン用にデザインされていたため、クロロフィル測定に重要な青色域の測定ができないなど海洋の観測には不向きであった。しかし、1982 年に打ち上げられたランドサット D に搭載された穀物生産観測用の Thematic Mapper センサーは、青、緑、赤、近赤外、赤外域の測定波長帯をもつため、海洋観測用にも十分利用できる。その他、海洋観測用にデザインされていないが、時折利用される衛星センサーとして、フランスの SPOT 衛星に搭載されている High Resolution Radiometer (HRV) やアメリカ海洋大気庁の TIROS-N 衛星に搭載されている Advanced Very High Resolution Radiometer (AVHRR) がある。海域のリモセン用として初めてデザインされたセンサーは、1978 年 10 月に NASA が打ち上げた Nimbus-7 衛星に搭載された海色センサー Coastal Zone Colour Scanner (CZCS) である。CZCS は、可視光域に 20nm の幅で 4 つの波長帯 (443、520、550、670) と、近赤外、赤外に測定域を持っていた。1986 年に機能を停止するまで 7 年間にわたって観測を続け、その結果全球規模での海色に関する情報が飛躍的に増大した (Kirk 1994)。Longhurst et al. (1995) は、CZCS のデータから推定した海域、季節毎のクロロフィル量、北大西洋で ^{14}C 法によって得られた 2000 近い光-光合成曲線、日射量から全海洋の基礎生産速度を推定し、 $45\sim 51 \text{ Gt C}\cdot\text{yr}^{-1}$ と見積もった。その後 2 番目の海色センサーは、1996 年 8 月に日本の宇宙開発事業団が打ち上げた ADEOS 衛星 (みどり) に搭載された Ocean Color and Temperature Scanner (OCTS) である。OCTS は、1998 年 6 月に停止するまで数日に一回の割

合で全球規模の測定を行ったため、短時間の変動を考慮した基礎生産の推定ができると期待されている。また、1998年8月には、アメリカの Sea-viewing-Wide-Field-of-view-Sensor (SeaWiFS) も観測を開始した。現在、両センサーの成果物の互換性の確保や機器校正、データ検証、フィールド調査等、日米双方で観測データの利用に関する検討が進められている（古谷 1999）。

4-8. 係留系 (Mooring) の利用

船舶観測の欠点を補う目的で利用が期待されているもう一つの方法は、様々な観測機器を長期間一定の海域に係留する係留系である。衛星リモセンのように、広範囲にわたる面的な情報は得られないが、時間的な変動を連続的に直接モニターできる利点がある。複数の海域に自動観測システムを搭載した係留系を設置すれば、衛星データの校正や標準化にも利用できる。衛星や航空機によるリモセンでは、植物プランクトンの鉛直的な分布を正確に把握することは難しいが、船舶観測や係留系ではそれが可能である。船舶観測と係留系の違いは、船舶観測ではせいぜい1時間から数週間のタイムスケールとなるのに対し、係留系では分単位の観測を数年にわたって行うことができる点である。1987年にアメリカの Office of Naval Research (ONR) が行った Biowatt 計画では、サルガッソー海の定点 (34°N, 70°W) に係留系を設置し、3ヶ月間の観測が3回にわたって行われた。2つの係留系のうち、一方 (multi-variable moored system, MVMS) には、流向流速、水温、濁度、透過率、蛍光、溶存酸素、光合成有効放射計が、他方 (bio-optical moored system, BOMS) には、水深、水温、下向き放射照度、上向き放射照度、傾斜計が搭載された。この観測によって、春の成層とそれに続く植物プランクトンのブルーム現象が捉えられた。このブルームは、2日間しか続かなかつたため、通常の船舶観測では見逃してしまうような現象である。もし、この時にとつた衛星データがあれば、このブルームの水平的な規模も把握できたはずである。

実際に係留系を設置できる期間は、生物付着の度合い依存し、大きな問題の一つとなっている。設置される海域の緯度や水深、生産性によっても異なるが、およそ3~6ヶ月であり、その都度メンテナンスが必要となる。観測期間をさらに延ばすために、新たな生物付着の防除方法が求められている。

4-9. 海中測定機器

係留系に植物プランクトンの現存量を把握する目的で搭載されるセンサーは、主にクロロフィルの直接蛍光 (*in vivo* fluorescence) を測定するタイプのものである。キセノンランプなどの人工的な光源を励起光として照射し蛍光を測定するものと、自然光 (太陽光) を励起光源として蛍光 (natural fluorescence) を測定するタイプのものである。前者のタイプを6ヶ月間係留した実験では、1分毎の観測によって植物プランクトンの現存量の変化と物理学的、生物学的要因を関連づける非常に良いデータが得られている (Stramska and Dickey 1992, Flagg et al. 1993)。後者の

タイプは、消費電力が非常に少ないため、より長期間の係留が可能であるが、夜間の観測ができないために日周変化を把握することができない。これらのセンサーによるクロロフィル測定は、直接蛍光とクロロフィル量が直線的な関係にあることを前提としている。この前提は、蛍光の量子収率が一定であれば成り立つが、残念ながら実際にはそうではない。光の放射照度レベルが高くなると、蛍光の量子収率は低下してしまう。この現象は、“non-photochemical” quenching（非光合成消光？）と呼ばれ、特に有光層上部における蛍光シグナルの日周変化の原因となる。こうした量子収率の低下がなぜ起こるのかははっきりとわかっていないが、キサントフィル系において熱による励起エネルギーの散逸が増加すること（Demming-Adams 1990）、光合成の反応中心が光化学的損傷を受けることなどが原因として考えられている。いずれにしても、こうしたセンサーを利用する場合は、2日ないしはそれ以上にわたって連続的なキャリブレーションを行い、直接蛍光とクロロフィル量の関係を正確に把握しておく必要がある。

直接蛍光は、植物プランクトンの光合成の測定にも利用できる。現在、“pump and probe”技術の基本とするアクティブ蛍光法（Falkowski et al. 1991）とパッシブ蛍光法（Kishino et al. 1985）が提案されている。これら二つの方法の基本原理は、光合成系における電子伝達と蛍光が、励起エネルギーを取り合う関係にあるという点であるが、現時点ではアクティブ蛍光法に期待が寄せられている。パッシブ蛍光法は、自然光下における蛍光の量子収率と光合成の量子収率の関係が一定であるという仮定に基づいているが、“non-photochemical” quenching や各量子収率の変動のために、特に有光層上部において信頼性のある光合成速度の推定を行うことが難しいからである。

他方、“pump and probe”法では、まず弱い光を照射（probe flash）して蛍光を測定する。続いて、強い光照射（pump flash）によって光合成系の反応中心に電子が流れない状態にしておき、再度 probe flash による蛍光を測定する。その間の蛍光強度の変化（variable fluorescence 可変蛍光）が、光合成系の反応中心の状態を表す定量的なパラメーターとなる。また、電子伝達系に電子が流れる前に、反応中心の光化学反応における飽和光強度の 10% 程度の Flash 光を繰り返し照射することによって、可変蛍光の飽和曲線が得られる。反応中心からの電子受容体の再酸化には約 150 μs かかるが、一回の Flash 光の照射時間は約 5 μs で、反応中心 PSII は 50 μs 以内に飽和する。この曲線から光化学反応における量子収率および光合成系 II の有効吸収断面積（effective absorption cross-section: σ_{PSII} ）といった光合成に関するパラメーターが推定できる（Falkowski and Raven 1997）。この方法は、“first repetition rate fluorescence, FRRF”法と呼ばれている。自然光下では、一部の反応中心はすでに光を受けた状態になっているため、その分だけ FRRF 法による飽和曲線が変化する。暗条件下で得られる曲線と比較することによって、自然光下での実際の光合成速度を推定することができる（Kolber and Falkowski 1993）。すでに、FRRF 法の原理にもとづいた測定器が市販されており、試水を培養することなく瞬時に現場の光合成速度を推定することができることから、今後基礎生産の推定における強力な手法となってくると思われる。

蛍光法による光合成速度推定において気を付けなければならない点は、得られる値が総光合成速度、あるいは総酸素発生速度に相当し、炭素固定速度ではないということである。蛍光法では、光化学反応にどのくらいの電子が流れるのかを見ているだけで、そのうち何割かが炭素の還元を利用され、残りは窒素、硫黄等の還元に戻されるはずである。また、当然のことながら呼吸による消費も考慮されない。しかし、こうした特性をうまく利用することによって、呼吸速度や新生産を推定できる可能性もある。蛍光法と同時に、 ^{14}C 法による光合成速度の測定を行い、両者の関係を表す回帰直線を求める。この直線の傾きは、光化学反応によって生じた電子のうち炭素固定に利用された割合、つまり光合成商に相当し、窒素の還元を利用された電子の割合を推定できる。従って、新生産の間接的な指標となる (Laws 1991)。また、直線の切片つまり、炭素固定がない時の光合成速度は、呼吸速度に相当する。

4-10. プラットフォーム

衛星や航空機、係留系は、様々な観測機器を搭載する土台としてプラットフォームと呼ばれる。リモセンのプラットフォームは、主に衛星と航空機であり。海上観測のプラットフォームは船舶や係留系である。観測の時空間スケールは、プラットフォームの特性に依存する。リモートセンシングは、広範囲にわたる面的な観測を、船舶や係留系は定点における詳しい観測をそれぞれ得意とする。海上において、もう少し面的な変動を把握するにはどうしたら良いだろうか？このような観測を可能にするプラットフォームとして、漂流系 (drifters)、船舶による曳航 (ship tow-yo)、自走式潜水艇 (autonomous underwater vehicle, AUV) などが検討されている。また、係留系や漂流系において、浮力を調節することによって、自動的に昇降しながら鉛直的なデータを得るシステムも考案されている (Marra et al. 1990)。実際には、それぞれの長所を生かしながら、複数のプラットフォームを相補的に利用して行くことになる。係留系や漂流系といった海上のプラットフォームで得られたデータは、記憶装置に記録しておきプラットフォームを回収した後に読み出して解析することが多いが、将来的にはリアルタイムでデータを受信し、各種測定装置の作動状況の確認や設定の変更を遠隔操作 (Telemetry) できるようになることが望ましい。

こうしたプラットフォームを利用した観測では、リモセンだけでなく海上観測においても、サンプリングを必要としない測定方法 (*in situ* measurement) が求められる。植物プランクトンの基礎生産に関わる *in situ* 計測では、上に述べてきたように光学的原理に基づいた手法が利用されている。また、個々の植物プランクトン細胞を分類、計数するために 1980 年代から利用されるようになったフローサイトメトリーについても、*in situ* 計測器の開発が進められている (Olson and Williams 1999, www.whoi.edu/science/B/Olsonlab/flowcyt.htm)。基礎生産が、クロロフィルを中心とする光化学反応によって行われていることを考えれば当然のことであるが、近年こうした光学的手法による生物過程の解析 (Bio-optics) が海洋学における重要な研究分野となりつつあ

る。今後 *in situ* 計測技術の開発と利用によって、光、流れ、水温、塩分、水深といった物理学的パラメータに加え、現存量、光合成といった生物学的パラメーターに関する情報が急速に蓄積され、それに伴って基礎生産量の推定精度も向上してくると考えられる。将来的には、基礎生産のメソスケールでのダイナミックな時空間変動を追跡するために、栄養塩等の化学的なパラメーターに関する *in situ* 計測技術も必要となってくるかもしれない。

5. 赤潮と HAB

5-1. 有毒プランクトン研究

植物プランクトンは、酸素発生型の光合成生物として現在の酸化的かつ安定的な地球環境の形成に大きな役割を果たしてきた。今日では、全地球の基礎生産の約 50%が植物プランクトンによるものであり、そのうちの 3%程度が生物ポンプ作用によって深層に移送され、千年単位での海洋の二酸化炭素吸収を促進している。また、海洋の食物連鎖における一次生産者として上位の生態系を支えている。つまり、自然環境における植物プランクトンの動態を把握することは、純粋に生物学的な意味を別にすると、次の二つの意味において重要である。一つは、地球環境特に炭素循環過程に及ぼすグローバルな影響を明らかにするという意味。もう一つは、ローカルな生態系における他の生物への影響や相互作用を明らかにするという意味である。両者の区別はそれほど厳密なものではないが、有毒プランクトン研究は、主に後者の視点に基づく研究と言える。

5-2. 赤潮 (red tides)

「赤潮 (red tides)」とは、極限られた種類 (通常は一種類) の植物プランクトンが、ある環境条件のもとで爆発的に増殖した状態を指す用語で、しばしば海面が赤褐色に色着くことからこのように呼ばれる。現在海産の植物プランクトンは、約 5000 種知られているが、比較的高密度に増殖し「赤潮」を形成するのは約 300 種と言われ、そのうちの約 40 種はある種の毒を生産する。日本沿岸海域における海洋植物プランクトンの分類学的研究は、1970 年代~1980 年代にかけて赤潮生物の研究を通じて精力的に行われてきた。現在、これらの研究成果をまとめた「日本の赤潮生物」(福代康夫他編、内田老鶴圃 1990) には、赤潮生物あるいは赤潮として出現する可能性のある種として 10 綱 (藍藻、クリプト藻、渦鞭毛藻、珪藻、ラフィド藻、黄金色藻、ハプト藻、ユーグレナ藻、プラシノ藻、緑藻) 200 種の植物プランクトンが記載されている。「赤潮」に関する最初の記述は、紀元前 1000 年聖書のなかに見られる。「_すべての川の水は、血の色に変わった。そして川の魚は死に絶え、川は悪臭を放ち、エジプト人はその水を飲むことができなかった」

5-3. Harmful algal bloom (HAB)

高密度に増殖した植物プランクトンは、貧酸素状態を招いたり、魚類の生理機能を低下させる、あるいは有毒種の場合は貝類等を毒化させるなど、高次捕食者に対して直接間接に悪影響を及ぼす。しかし、植物プランクトンの種類によっては、夜光虫のように「赤潮」状態になっても特に大きな漁業被害を及ぼさない場合もあるし、貝毒原因プランクトンのように海面が色づくほどの密度にならなくても貝類を毒化させる場合もある。そこで、最近では漁業活動や生態系に悪影響を及ぼす植物プランクトンまたは微細藻類を「有害藻類 (harmful algae)」、これらが高密度に増殖する現象を

「有害藻類ブルーム (harmful algal bloom : HAB)」と呼ぶことが多い。Bloom とは、一般的には「花」あるいは「花盛り」といった意味で、海洋学では、プランクトンが好適な自然環境下において急激に増殖する現象を指す用語として用いられる。1793 年、ジョージ・バンクーバー船長とクルーは、ブリティッシュコロンビアの現在 “Poison Cove” として知られている場所に上陸した。彼は、現地のインディアンたちの間で、海が光る時に貝を食べるのはタブーとされていたことを記している。一部の渦鞭毛藻は発光能を持つことから、海が光るのはそのブルームによるものと思われる。この記述が、渦鞭毛藻由来の毒による貝中毒の最初の記録の一つである。HAB は次の 3 つのタイプに大別される (Hallegraeff 1995)。

(1.) 基本的には無害であるが、閉鎖的な湾内において、希に高密度のブルームを形成し、酸素不足による魚や無脊椎動物の弊死を引き起こす。 *Gonyaulax polygramma*, *Noctiluca scintillans*, *Scrippsiella trochoidea*, *Trichodesmium erythraeum*

(2) 強力な毒素を産生し、その毒が食物連鎖を通じて人に摂取された場合には、以下のような様々な消化器系、神経系の疾患を引き起こす。

麻痺性貝中毒 Paralytic Shellfish Poisoning (PSP)

下痢性貝中毒 Diarrhetic Shellfish Poisoning (DSP)

記憶喪失性貝中毒 Amnesic Shellfish Poisoning (ASP)

シガテラ中毒 Ciguatera Fish Poisoning

神経性貝中毒 Neurotoxic Shellfish Poisoning (NSP)

藍藻毒中毒 Cyanobacterial Toxin Poisoning

(3) 人には無害であるが、鰓を詰まらせたり、ダメージを与えることによって魚や無脊椎動物には有害である。特に海面養殖場において大きな被害をもたらす。 *Chaetoceros convolutus*, *Gymnodinium mikimotoi*, *Chrysochromulina polylepis*, *Prymnesium parvum*, *P. patelliferum*, *Heterosigma carterae*, *Chattonella antiqua*

5-4. HAB の拡大

前述したように、「赤潮」あるいは有害藻類のブルーム “HAB” は、決して目新しいものではない。しかし、ここ 20 年程の間に、その頻度および発生海域ともに世界的規模で拡大しているのではないかと懸念されている (Smayda 1990)。こうした拡大傾向は、一部には科学的な知見の蓄積や調査分析技術の向上、あるいは沿岸部における魚介類養殖の拡大によって、これまで認識されていなかった現象が表面化したことによるとも考えられる。しかし、富栄養化、急激な気候変動、船のバラスト水や養殖貝の移植による有害種の移動といった、人為的な影響も無視できない。ある海域において、これまで存在しなかったか存在しても極めてマイナーであった種が、突然優占するようになった場合、その生態系はある種の攪乱を受けることになる。短期的には、魚介類の弊死によ

る漁業被害、あるいは貝の毒化による食品衛生上の問題が浮上する。中長期的には、食物連鎖を通じた毒の影響によって一部の高次捕食者の個体群の減少を招き、一時的な生物資源の減少につながる可能性がある。さらに長期的には、有害種に適応した生態系へと遷移して行くと考えられるが、それがどのようなものになるのか、果たして私たちにとって好ましいものであるのか全く予想がつかない。

瀬戸内海においては、COD 削減対策によって 1976 年をピークに赤潮発生件数は減少し、1994 年にはピーク時の 1/3 となったが、それでも年間 100 件程度の赤潮が発生している。特に、広島湾における *Alexandrium tamarense* や *Heterocapsa circularisquama* のような、新しい有害種の発生は、魚貝類への影響のみならず、この海域の生態系全体への影響が懸念される。こうした沿岸域における新しい有害種の発生の背景には、ダムや河川開発によるケイ酸塩や微量栄養元素供給量の減少、富栄養化による Si:N:P 比の変化などがあると考えられる。ライン川やミシシッピー川では、流域の都市開発が進み人為起源の窒素やリンの負荷量が増加したため、河口域の Si:N:P 比が変化し、植物プランクトン構成種が珪藻から非珪酸質の種へとシフトした (Admiraal et al. 1990, Turner and Rabalais 1994)。黒海においては、ドナウ川に建設されたダムの影響によって植物プランクトンの構成種が変化したことを示すデータが報告されている (Humborg et al. 1997)。ダム建設によって土壌からの栄養塩 (Si, N, P) の負荷量は減少するが、窒素とリンだけは人為起源で負荷されつづける。ドナウ川は、黒海への河川流入量の 70% を占めているが、1970~72 年にかけて 1000km 程上流に建設された “Iron Gates” によってその流入パターンが大きく変化した。年間のケイ酸塩の流入量は、ダム建設前の 80 万トンから 23~32 万トンへと減少した。一方で、河口域における無機態窒素濃度は、1960 年代から 80 年代にかけて、 $1.3\mu\text{M}$ から $7.9\mu\text{M}$ へと増加し、その結果 Si:N 比は 42 から 2.8 へと劇的に低下した。こうした栄養塩環境の変化によって、植物プランクトンのブルームの発生頻度および種数が増加した。特に、珪藻のブルーム発生頻度が 2.5 倍になったのに対し、非珪藻種の頻度は 6 倍となった。ケイ酸塩の減少は、ドナウ川の河口域のみならず黒海の中央部においても認められ、ダム建設の影響が予想以上に広範囲に及んでいることが示されている。

5-5. 生態系への影響 「毒」によるボトムアップコントロール

新たな有害種の増殖は、生態系にどのような影響を及ぼすのだろうか？ 漁業被害や食品衛生上の問題から、すぐに直接的な影響を受ける魚や食用貝類については、多くの知見が蓄積されてきているが、その他の海洋生物への中長期的な影響については十分には検討されていない。植物プランクトンを基礎生産者とする海洋の生態系を考えれば、HAB 特に有毒種が、多くの海洋生物に影響を及ぼしうるであろうことは想像に難くない。このような懸念は、決して架空のものではない。実際に、植物プランクトンの第一の捕食者である動物プランクトンは、毒を蓄積したり毒の影響で捕食

速度が低下することが実験的に確かめられている。また、植物プランクトンが生産する毒によって、人間以外の最上位の捕食者つまり海獣類や海鳥が弊死したと思われる事例がいくつか報告されている。ここで言ういわゆる「毒」とは人間にとって毒であるという意味である。人間にとって毒でかつ他の生物にとっても毒である場合もあれば、人間にとって毒でも他の生物にとっては毒でない場合もあり、当然毒の種類と生物によって影響の度合いは異なってくる。このような生物による感受性の違いは、生態系への影響を考える上で重要なポイントとなる。有毒プランクトンを捕食するある生物が、毒に対する感受性が低くこれを蓄積すると、さらに上位の捕食者が毒の影響に晒されることとなる。反対に、毒に対する感受性が高くすぐに死んでしまえば、上位の捕食者は毒を摂取することはないが、餌生物の減少によってやはり影響を受けることになる。植物プランクトンが、毒によってより上位の捕食者の個体群動態をコントロールしているという意味で、「毒」依存性ボトムアップコントロール (Toxin-dependent bottom-up control :TBUC) と言えるかもしれない。「毒」の影響は、浮遊生態系だけでなく、二枚貝のような底生性の濾過食者によって底生生態系にも及ぶと考えられる。今後、生態系を構成する様々な生物種が、植物プランクトン由来の毒によってどのような影響を受けるのか一つ一つ明らかにして行く必要がある。

5-6. HAB とストランディング

「ストランディング」とは、本来海にいるはずの鯨類（イルカ・クジラ）や、鰭脚類（アザラシ・オットセイ）あるいは、海牛類（ジュゴン）などが、生死を問わず海岸に打ち寄せられたり網に入ったり、湾や河口に入り込むできごとであり、日本でも年間 100 件ほどが報告されている（国立科博ストランディングデータベースより）。このストランディングに、有毒植物プランクトンが関与していると思われる事例がいくつか報告されている。

ザトウクジラ：1987 年の 11 月から 1988 年の 1 月にかけて、アメリカのマサチューセッツ州ケーブコッド湾で、14 頭のザトウクジラが死んだまま海岸に打ち寄せられた。ハクジラのストランディングは、それほど珍しいものではないが、このように集団で死亡した例はそれまで報告されていなかった。クジラの消化管から取り出したサバに加えて、同時期にケーブコッド湾周辺およびそこから南北に 80km 離れた地点で採捕されたサバを分析したところ、麻痺性貝毒の主要成分であるサキシトキシン (STX) が平均で 80 μ g/kg 検出された。一方、太平洋産のサバ (*Scomber japonicus*) からは、STX をはじめとする麻痺性貝毒成分は検出されなかった。また、死亡したクジラの肝臓からも麻痺性貝毒の存在を示す反応が検出されたが、今回の件とは関係のないストランディング死亡個体からは、そのような反応は何も検出されなかった。死亡時の状況、死体の状態、餌や組織の分析などの状況証拠から、このザトウクジラは、摂食したサバ (*Scomber scombers*) に含まれていた STX によって死亡したと結論づけられた (Geraci et al. 1989)。サバに含まれていた STX 濃度とサバの摂食量から、クジラが 1 日に摂取した STX は、体重 1kg 当たり 3.2 μ g と推定された。

人の最小致死量である 7~16 μ g/kg と比べると少ないようだが、クジラが何日にもわたって摂取をつづけた可能性、体の 30%は代謝活性の低い脂肪であること、潜水時には心臓と脳に血流が集中することなどを考慮すると、死亡してもおかしくない量であると推測される。また、仮に致死量に達していないとしても、継続的な摂取が何らかの生理的な悪影響を及ぼし、結果的に死につながったとも考えられる。

あらゆる状況証拠は、麻痺性貝毒成分がザトウクジラの大量死の原因となったことを示しているが、いくつかの疑問も残っている。まず、サバに含まれていた STX は、米国の北東部沿岸でしばしば貝の毒化を引き起こす有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium* に由来すると考えられる。*Alexandrium* を摂餌した動物プランクトンが麻痺性貝毒を蓄積することは、実験的に確かめられているので、これをさらにサバが摂餌することによって毒が蓄積された可能性が高い (Turner and Tester 1997)。実際に、1976 年カナダのファンディー湾において毒化した動物プランクトンの摂餌によってニシン (*Clupea harengus harengus*) が弊死したという事例が報告されている (White 1967)。しかし、ザトウクジラの大量死が起こった 11 月にこの地域で *Alexandrium* が見られることはなく、しかも 1987 年には貝の毒化も起こっていなかった。サバは、どこで毒を蓄積したのだろうか？考えられるのは、北部のセントローレンス湾で成育した個体群が、毒を蓄積したまま南下してきたという可能性だが、確かな証拠はない。さらに、サバはなぜ麻痺性貝毒によって死ぬことなくこれを蓄積することができたのか？、*Alexandrium* のブルームはしばしば発生しているにもかかわらず、1987 年以前あるいは以後なぜ同様なストランディングが観察されていないのか？といった疑問が残る。

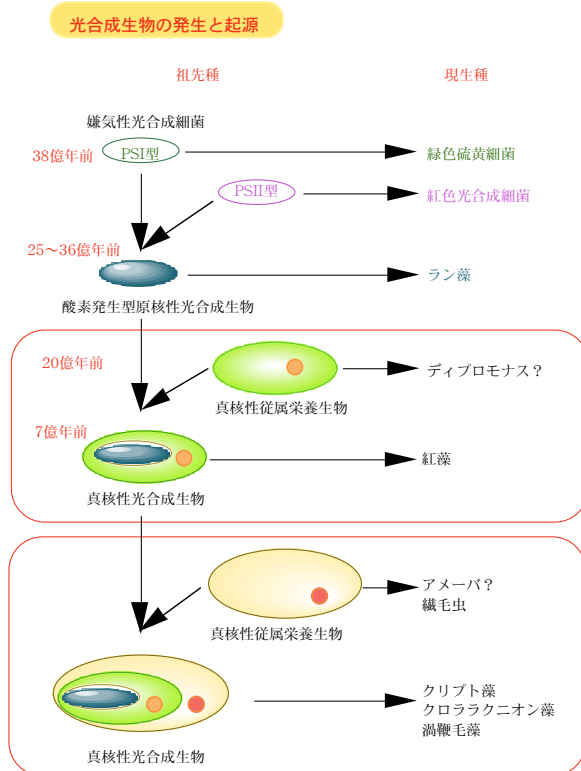
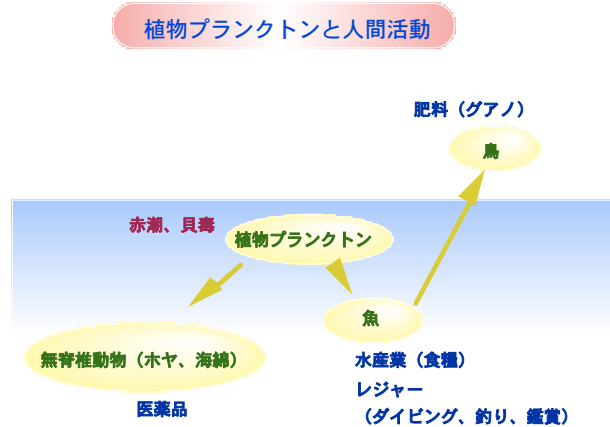
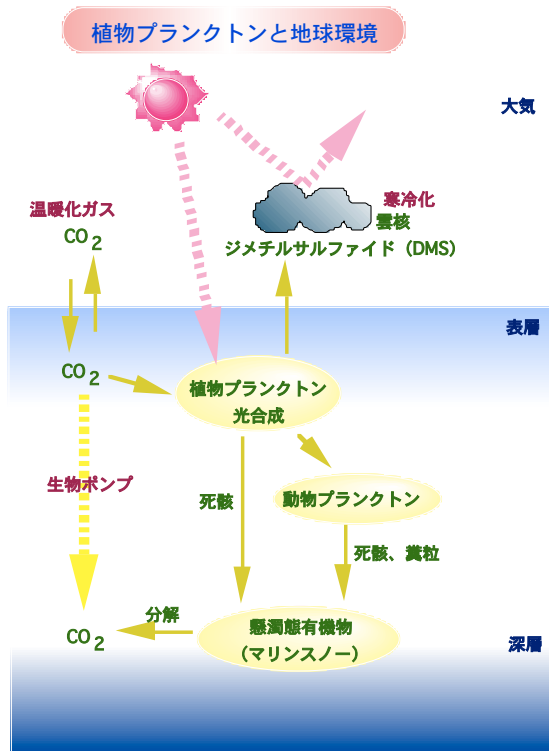
ハンドウイルカ：1987 年 1 月から 1988 年 2 月にかけて、ニュージャージーからフロリダにかけての大西洋岸で 740 頭を越えるハンドウイルカの大量死が発生した。ほとんどのイルカは、長期にわたって生理学的なストレスを受けたと見られる症状を呈していた。死亡した時期や地域、症状からは一次感染症によるとは考えにくく、PCB や DDT といった汚染物質の濃度も特に高いものではなかった。何らかの原因で生理学的な機能が低下し、日和見感染症によって死亡したと思われた。ザトウクジラの場合と同様に、サキシトキシンの関与が疑われたが、*Alexandrium* の分布域はるか北方に位置している。そこで原因と疑われたのは、フロリダの西海岸に分布し魚貝類の弊死をもたらす *Gymnodinium breve* という有毒渦鞭毛藻である。死亡 17 個体のうち 8 個体の肝臓から *G. breve* がつくるブレバトキシン様の物質が検出され、その胃内容物と周辺海域で穫られたニシン (*Brevoortia tyrannus*) からも検出された。全てのイルカの死を *G. breve* と結論づけるにはデータが不十分であるが、少なくとも一部の死には関与していると考えても良さそうである (Anerson and White 1992)。

マナティー：フロリダ半島は、絶滅が危惧されているマナティーの生息地である。そのマナティーの大量死に、*G. breve* のブルームが関与していると見られる事例が報告されている (Landsberg

and Steidinger 1998)。1996年の2月から4月にかけて、*G. breve*のブルームが発生し、同じ海域で149頭のフロリダマナティー (*Trichechus manatus latirostris*)の死亡が確認された。同様の現象は、1963年(7頭)と1982年(39頭)にも観察されている。いずれもブレベトキシシが大量死の原因と疑われているが、1982年のケースでは、マナティーの胃や腸から見つかった毒化したホヤ類の摂食が原因ではないかと考えられ、1996年のケースではブレベトキシシエアロゾルによる呼吸器系への直接的影響が示唆された。フロリダマナティーは、冬場は内陸部河川などの暖かい水域に集まり、春先に水温が上昇すると河口域に移動してくるようになる。*G. breve*の分布は、塩分濃度に大きく依存し、河口域に近い28‰以下の海域で高濃度のブルームになることはなく、春先にブルームになることも少ないため、マナティーは比較的被害を免れやすい生物である。従って過去20年間の記録を見ると、1946~47年と1953~54年にも*G. breve*の大規模なブルームが発生し、亀、イルカ、魚の大量死が見られたが、マナティーに影響はなかった。しかし、1996年の場合、強い西風と小雨の影響等いくつかの環境条件が重なって河口域の塩分濃度が上昇し、*G. breve*のブルームがマナティーの生息域に広がったことが、大量死を招いたと考えられている。

鳥：植物プランクトン由来の毒の影響を受けるのは、海洋生物だけではない。1991年9月、カリフォルニアのサンタクルスで、ブラウンペリカンと海鵜の大量死が起こった。この場合ストランディングとは呼ばないが、海洋食物連鎖の最上位生物が影響を受けるという意味では同じである。

参考図表



- ### 補助色素でみる藻類のタイプ分け
- Chlorophyll a / Chlorophyll b タイプ**
 - ユーグレナ藻
 - クロラクニオン藻
 - 緑色植物 (緑藻)
 - 原核緑藻
 - Chlorophyll a / Chlorophyll c タイプ**
 - 渦鞭毛藻
 - ハプト藻
 - 不等毛植物 (ラフィド藻、珪藻、褐藻、黄色色藻)
 - Chlorophyll a / Phycobilin タイプ**
 - 紅藻
 - クリプト藻
 - ラン藻

同じ起源を持つ光合成生物と従属栄養生物

ユーグレナ藻 キネトプラスト類 (トリパノソーマ)

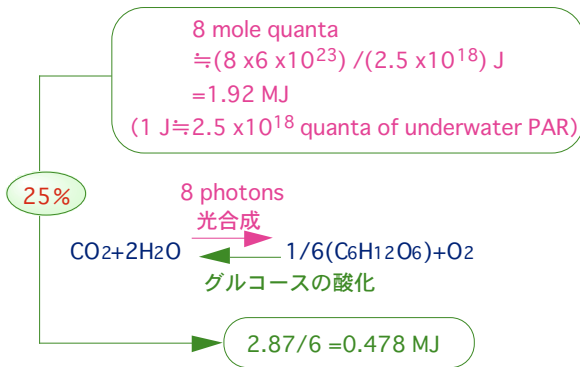
アルベオラータ

渦鞭毛藻 繊毛虫、アピコンプレクサ類 (マラリヤ原虫)

ストラメノバイル

不等毛植物 (褐藻、珪藻、ラフィド藻他)
鞭毛虫 (ピコソエカ類)、鞭毛菌類 (卵菌類)

吸収した光エネルギーの利用効率

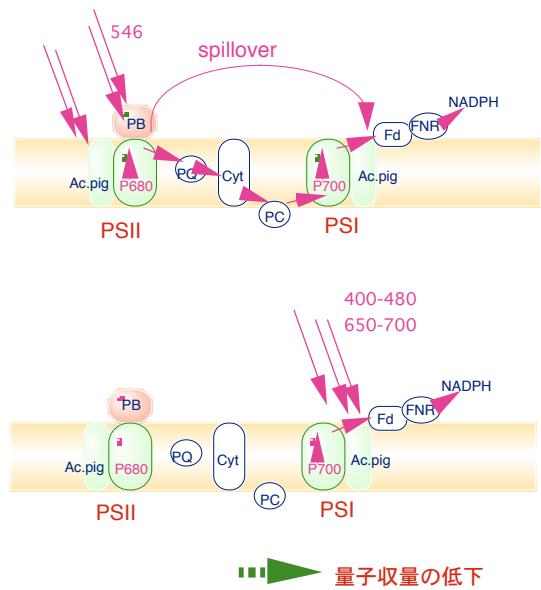


全利用効率

= PAR 吸収率 × 吸収したエネルギーの利用効率
 0.1 ~ 1.0%

波長別
 光合成作用スペクトル

光の波長と光化学系の駆動（紅藻）



光合成系にエネルギーを転移しないカロテノイド色素

アスタキサンチン Astaxanthin

Haematococcus lacustris (緑藻類) の細胞質
 天然の植物プランクトンにもわずかに含まれ、
 生物濃縮によって鮭、マスの赤い肉色となる。
 養殖魚の色上げ
 動物はカロテノイド系の色素を合成できない

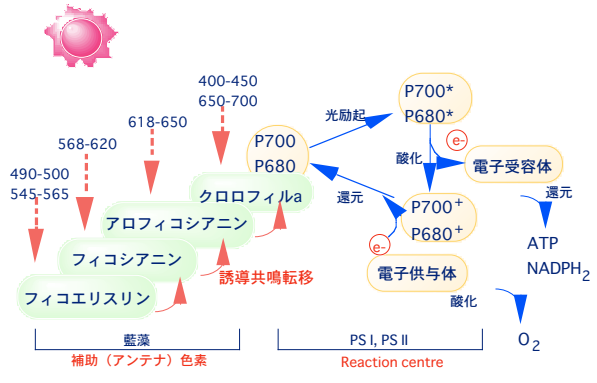
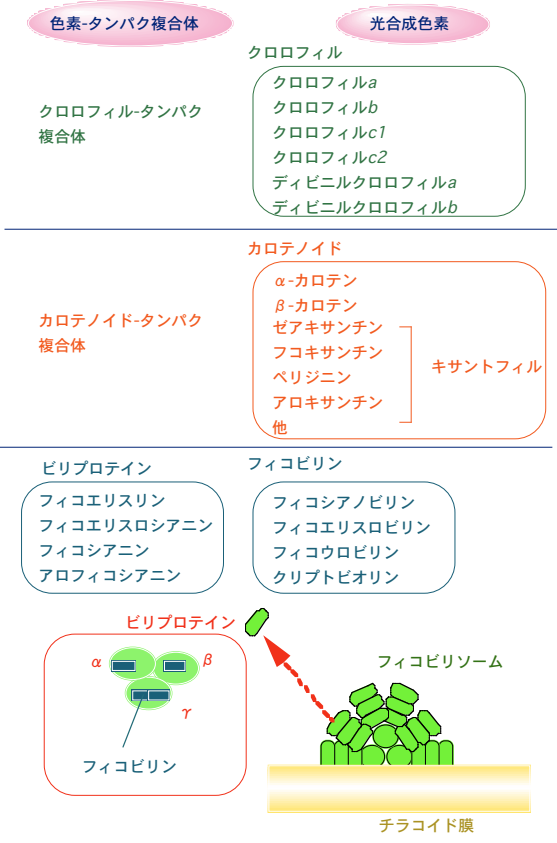
β-カロテン

Dunaliella bardawil (緑藻)
 ビタミンAの前駆体、食品添加物
 過剰な光に対する防御物質

ゼアキサンチン

藍藻、原核緑藻
Prochlorothrix hollandia ではペリプラズムに存在する
 過剰な光に対する防御物質

(ルテイン)



(* %nucleus
[! " proton
\$ " neutron

% &nuclide' (" %) & * + ! " , - # \$ % , . - / 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 : ; +

f M p q X) % &) r J s

$\begin{matrix} A \\ Z \end{matrix} X$

< = , mass number (A) = ! " , (Z) + # \$ " , (N)

> ? @ A B C D E 2 F G isotope ' ! " , (Z) H I J K % &

LM		> ? @	
Z=6		RST	> ? @NOPAQQ
⁹ C	¹⁰ C	¹¹ C	¹⁵ C
		0.127U	V20.4W
		XY	98.89
		XY	1.11
		5730Z	

[\] radioactivity ' ^ XY _ % & H [\ ` a [b J 8 c) % & 5 d e ; \$ <

[\ \$ > ? f M A g h i B C D E 2 F G radioisotope ' [\] a j k % &

XY > ? f M A I m C n 0 B C D E 2 F G stable isotope ' [\] a j o _ K X Y _ % &

w g 238U → 234U

[\ `) & *
t ` ` u v w x) (" %
y ` ` z { } | "
} ` - X ` ` z . / 0 1 2 | -
\$ % `

(\ `) = a r ?

(" % H U o ; , A , / U - disintegration per second:dps G

1 0 A Bq G = 1 dps

1 v 2 A Ci G = 3.7 x 10¹⁰ dps

光合成の測定

ラジオアイソトープ標識化合物: NaH¹⁴CO₃

現場法: 日出～正午

植物プランクトン

濾過

放射線量の測定

炭酸同化量 (mgC/l) = 水中の全炭酸量 (mgC/l) × $\frac{\text{濾紙上の}^{14}\text{C放射線量 (dpm)}}{\text{はじめに加えた}^{14}\text{C放射線量 (dpm)}}$

問題点

- ¹⁴Cの同化速度がより遅い(同位体効果) 5~6%
- 細胞外分泌 0.5~50%
- 呼吸 ~10%