

# 暗所保存海中の植物プランクトンの性状\*

## 変化と吸光曲線クズレ現象の解析

飯 塚 昭 二

Depression of activity of the phytoplankton preserved in dark condition and the abnormal types of spectral absorption curve as its result

Shoji IIZUKA

It has been guessed from literatures and the author's unpublished study that the absorption curves derived from natural sea water will change according to the differences of species composition of planktonic fauna and flora; of physiological activities of phytoplankton and, also of present quantity of the colored organic detritus suspending in original sea water. Then, in the present paper, when sea water was preserved in the dark, the changes of phytoplankton's features such as cell number, species composition and disappearance of chromatophores, etc. and the change of absorption spectra related to depression of phytoplankton's activity by the dark condition were observed by means of microscope and spectrophotometer, respectively, and the results were obtained as follows.

(1) The difference of phytoplankton's composition at the start of the observations influenced effectively on the subsequent change of phytoplankton's feature. *Chaetoceros* was tolerant against the dark condition, *Skeletonema* being not so.

(2) In the first seven days of observations, optical reaction of chromatophores against the dark condition was not yet so conspicuous but, in the next seven days, normal chromatophores disappeared and changed wholly to abnormal ones and the empty cell occurred in part, and after that it was gradually increased.

(3) The absorption spectra derived from the preserved sea water, changed gradually from normal form to abnormal one, and especially, the changes occurred continuously in the duration from five days to fourteen days, and were conspicuous on about the seventh day in most of the observations. After that the form of the spectra collapsed wholly.

(4) The absorbencies at each wave length decreased steadily according to the progress of days for the preservation, but the rate of decrease was conspicuous at shorter wave length as compared with longer one in each wave length, showing a regularity as following.

Decrease rate of the absorbency at  $400\text{m}\mu$  in wave length  $>$  Decrease rate at  $430\text{m}\mu \approx$  Decrease rate at  $480\text{m}\mu >$  Decrease rate at  $600\text{m}\mu >$  Decrease rate at  $665\text{m}\mu$

\* 本研究は一部文部省総合科学研究費（昭和37年代表者松平康雄）によった。

(5) As a matter of course, the ratio of absorbency at blue maximum to that at red maximum increased steadily according to the progress of days spent for preservation.

(6) Recoveries of concentrated and disappeared chromatophores in a cell, resulting in the dark preservation, were seen when the sea water was replaced in the light. Replacement of samples in the light after preservation for one month in the dark restored chromatophores to normal condition with the rate of 16% of the cells investigated.

From results described above, it became obvious that phytoplankton's reaction in the dark coincided well both in microscopic and spectrophotometric observations, and also that depression of phytoplankton's activities was well shown as changes of absorption spectra.

## 結 言

海水の吸光曲線は原海水に含まれるプランクトン組成・活力及び有色素デトリタスの存在により特長ある型を呈することは理論的に推察されるし、これに関する文献もある<sup>1)-6)</sup>。したがって吸光曲線型の解析は原海水のプランクトン性状判定の有効な手段となり得ると考える。本稿は植物プランクトンの生理の衰えが吸光曲線型の変化に及ぼす観察結果の報告で、暗所保存海水中の植物プランクトンの性状変化を顕微鏡的に又分光光度計的手段により観察した結果を取り括めたものである。

本文に入るに先だち、御指導を賜った長崎大学入江春彦教授、並びに器具使用の便宜を与えられた同学保田正人教授に、又実験に御協力された同学梶原武氏及び上田泰司\* 氏に深謝の意を表す。

## 方 法

佐世保湾・長崎湾の表層水を18ℓ着色瓶に採水し、いろいろな日数の間暗室内に保存後、前述の2種類の観察(観察I~VII及び観察VIII~XIV)に必要な量の試水各1ℓを採取した。吸光度はメンブランフィルター\*\*で試水を濾過したあと、残物を90%アセトンで約1昼夜抽出した上澄液を分光光度計で20m $\mu$ 間隔で測定し、吸光曲線を描いたが、主吸収帯では必要に応じて5m $\mu$ 間隔に、及び480, 510, 630, 645, 665m $\mu$ の各波長は測定した。クロロフィル量の算出はRICHARDS with THOMPSON<sup>7)</sup>によった。観察データはTable 1に示した。

Table 1. Material used for Observation.

Observation no.		Sample water			Duration of observation (day)
Microscope	Spectrophotometer	Sampling date	Sampling layer	Sampling region	
I	VIII	Apr., 12	Surface	Sasebo Bay	7
II	IX	Apr., 14	"	"	32
III	X	Apr., 21	"	"	14
IV	XI	May, 6	"	"	18
V	XII	May, 17	"	"	23
VI	XIII	May, 25	"	"	14
VII	XIV	Oct., 11	"	Nagasaki Bay	12

\* 現在放射線医学総合研究所勤務 \*\* Gruppe 1, 径40 $\mu$

観 察

(1) 顕微鏡的観察

佐世保湾崎辺域の表層水及び長崎港並に港外表層水を、それぞれ暗所保存し、当初及び保存過程における植物プランクトンの細胞数・種組成及び色素体の変化を調べた。

**観 察 I** : 暗所保存7日目の植物プランクトン組成は *Chaetoceros* 群を主としている (Table 2)。完全に退色した細胞も認めしたが、大部分は色素体が極度に収縮し小粒状化している (Fig. 1 参照)。 *Chaetoceros didymus*, *Ch. affinis*, *Ch. decipiens* の諸細胞にこの状態のものが多い。 *Ch. didymus* では耐久孢子及び増大孢子形成中とみられる細胞も認められた。

この他、緑色浮游泥が観察されたが、この種有機デトリタスからクロロフィル類似物質が抽出されるのでないかと推定している。

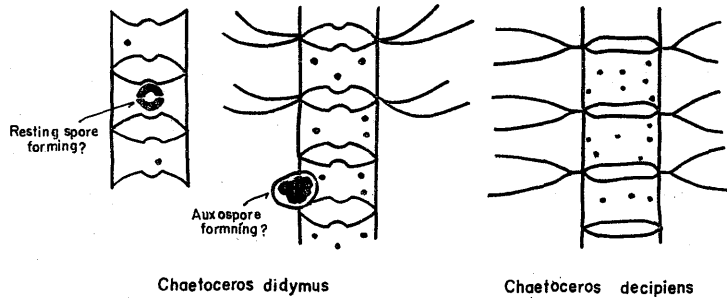


Fig. 1. Abnormally concentrated chromatophores of *Chaetoceros* preserved in the dark for 7 days.

**観 察 II** : 当初の植物プランクトン組成は下記の如くで、色素体は Fig. 2 に示した如く顕著である。

(当初の種組成)

<i>Chaetoceros</i> spp.	32,000	<i>Rhizosolenia alata</i>	500
<i>Ch. affinis</i>	12,000	<i>Rh. styliiformis</i>	500
<i>Ch. didymus</i>	7,000	<i>Nitzschia seriata</i>	2,000
<i>Ch. vanheurcki</i>	4,000	Other pennate diatoms	500
<i>Ch. constrictus</i>	4,000	<i>Gymnodinium</i> sp.	500
<i>Ch. curvisetus</i>	3,000	Total	66,000
<i>Ch. lacinosus</i>	2,000		cells/l
<i>Ch. pendulus</i>	500		

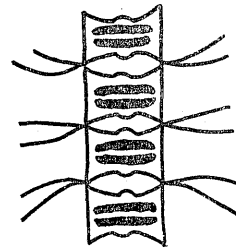
試水中有色素小粒塊がみられる。

32日間の暗所保存の結果、種組成は下記の如く変化し、すべての細胞から色素体は完全に消失した。

(32日後の種組成)

}	<i>Chaetoceros</i> spp.	19,000	
	<i>Ch. didymus</i>	6,000	
	<i>Ch. affinis</i>	5,000	
	<i>Nitzschia seriata</i>	500	
	Total	30,500	cells/l

この状態の細胞群の生死を判定するために色素体の回復力の有無を調べた。すなわち、試水を暗所より取り出し、北向の窓辺に10日間放置したところ、約16%の細胞で正常態の色素体の存在を認めた。ただし種組成は下記の如く変化し *Asterionella japonica* の新発現が目される。



*Chaetoceros didymus*

Fig. 2. Normal chromatophores of *Chaetoceros didymus*.

(明所復帰を施した後の種組成)

	(No. of empty cell)	(No. of chromatophore cell)
<i>Chaetoceros spp.</i>	18,000	3,500
<i>Asterionella japonica</i>	500	4,000
<i>Rhizosolenia alata</i>	1,000	0
Total	19,500	7,500

cells/l

観 察 III: 当初の *Chaetoceros* 89%からなる種組成は14日間の暗所保存で下記の如く変化した。

(当初の種組成)

<i>Skeletonema costatum</i>	2,000	<i>Nitzschia closterium</i>	500
<i>Chaetoceros didymus</i>	4,000	<i>N. delicatissima</i>	1,000
<i>Ch. affinis</i>	11,000	<i>Ceratium kofoidii</i>	500
<i>Ch. spp.</i>	25,000	<i>C. fusus</i>	500
<i>Rhizosolenia delicatula</i>	1,000	<i>C. furca</i>	500
<i>Thalassionema nitzschioides</i>	500	Total	46,000

cells/l

(但し1,500 cells/lの耐久孢子細胞を含む。)

(14日後の種組成)

	(A) *	(B) *	(C) *	(D) *
<i>Chaetoceros affinis</i>	0	18,000	22,000	0
<i>Ch. didymus</i>	0	15,000	500	0
<i>Ch. spp.</i>	0	11,000	10,000	2,500
<i>Rhizosolenia alata</i>	0	500	0	0
Total	0	44,500	32,500	2,500

cells/l

- \* (A) : Number of cell having normal chromatophore
- (B) : Number of cell having abnormal chromatophore
- (C) : Number of empty cell
- (D) : Number of cell with resting spore

以下の記述に於ても記号はこれに準ず。

暗所保存14日で色素体は著しく収縮退化するか、あるいは完全退色し、種組成は単純化する。ただし細胞数が当初より増加しているのは計数誤差と認むべきであろう。これを観察Ⅱと同様に明所再帰したところ、約78%の細胞で色素体の回復を認めた。特に *Skeletonema costatum*, *Chaetoceros didymus* で顕著である。 *Nitzschia seriata* は新しく発現したものと考える。

(明所復帰後の種組成)

	(A)	(C)	(D)
<i>Skeletonema costatum</i>	124	0	0
<i>Chaetoceros didymus</i>	151	24	322
Ch. <i>affinis</i>	3	53	0
Ch. <i>spp.</i>	31	36	6
<i>Nitzschia seriata</i>	100	0	0
<i>Pleurosigma sp.</i>	1	0	0
Other pennate diatoms	3	0	0
Total	413	113	328

(ただし数値は相対値)

観察Ⅳ：当初の種組成及び細胞数は、4日間の暗所保存で Table 2 に示した如く変化したが、 *Chaetoceros didymus*, *Ch. didymus* var. *anglica* 及び *Ch. affinis* の一部で色素体の収縮化を認めた以外、変化は認めない。しかし、9日間の暗所保存で色素体収縮は顕著で、約75%の細胞がこの状態となり、残りの約25%は完全退色細胞であった。暗所保存18日間で、約90%の細胞は完全退色し、細胞数も当初の15%程度まで減少した。

観察Ⅴ：当初の大略の種組成と細胞数は Table 2 に示した。

観察Ⅵ：当初の種組成及び細胞数は Table 2 の如くで、 *Skeletonema* が約90%をしめる。暗所保存3日目の変化はほとんどない。少数の細胞で色素体の収縮が認められるのみである。完全退色細胞は全体の約4%であるが当初からの斃死細胞でないかと考える。暗所保存7日目で、 *Skeletonema costatum* に色素体収縮の前兆が認められる。一方 *Chaetoceros* では前記諸観察と同様ほとんどの細胞が収縮をおこすか、あるいは退色傾向(薄緑色を呈す)を示す。完全退色細胞は全体の約20%である。又細胞数は当初の約20%に減少した。

観察Ⅶ—(1)：採水は長崎港内で行った。当初の種組成は *Skeletonema costatum* が全体の約80%をしめ、そのうち8%はすでに空白細胞で自然斃死と考える。

観察Ⅶ—(2)：採水は長崎湾部で行った。当初の種組成は *Skeletonema costatum* が全体の約50%、うち8%は空白細胞、又 *Asterionella japonica* は全体の約40%、うち1%が空白細胞であった。

以上の諸観察に於ける、各要素の変化は一覧表として Table 2 を準備した。

## (2) 分光光度計的観察

海水吸光曲線は原海水が正常な生活作用を営む植物プランクトンのみからなる場合、その吸光曲線の第1主吸収帯は大体430m $\mu$ に、第2主吸収帯は大体665m $\mu$ に、両者の吸光度比は2.6~2.8である(筆者未発表資料による)。この型は原海水にふくまれる植物プランクトンの生理状態の変化を反映した色素の状態と、有色素有機デトリタスの混在等によ

**Table 2.** Elemental changes of phytoplankton in the sea water preserved in the dark.

Obs. no.	Sample water	Phytoplankton			Chromatophore			
		No. of cell (cells/l)	Decrease rate (%)	Major species (%)	Normal (%)	Abnormal (%)	Empty cell (%)	Resting spore cell (%)
I	Preserved for 7 days in the dark	105,000		<i>Chaetoceros</i> (98)	100	0	0	0
II	At the start	66,250	100	<i>Chaetoceros</i> (95)	100	0	0	0
	Preserved for 32 days in the dark	31,500	48	<i>Chaetoceros</i> (98)	0	0	97	3
	Replaced for 10 days in the light after preservation for 32 days in the dark	27,650	42	{ <i>Chaetoceros</i> (79) <i>Asterionella</i> (17)	16	0	84	0
III	At the start	45,600	100	{ <i>Chaetoceros</i> (89) <i>Skeletonema</i> (3)	95	0	0	5
	Preserved for 14 days in the dark	80,400	179	<i>Chaetoceros</i> (99)	0	56	41	3
	Replaced for 10 days in the light after preservation for 14 days in the dark			{ <i>Chaetoceros</i> (73) <i>Skeletonema</i> (15) <i>Nitzschia</i> (12)	48	0	14	38
IV	At the start	843,000	100	{ <i>Skeletonema</i> (61) <i>Chaetoceros</i> (31) <i>Nitzschia</i> (6)	98	0	1	1
	Preserved for 4 days in the dark	402,000	48	{ <i>Chaetoceros</i> (50) <i>Skeletonema</i> (47) <i>Nitzschia</i> (3)		84	4	12
	Preserved for 9 days in the dark	163,350	19	{ <i>Chaetoceros</i> (64) <i>Skeletonema</i> (34)	0	75	25	0
	Preserved for 18 days in the dark	130,500	15	{ <i>Chaetoceros</i> (93) <i>Skeletonema</i> (3) <i>Nitzschia</i> (22)	0	7	93	0
V	At the start	1,750,500	100	{ <i>Skeletonema</i> (63) <i>Leptocylindrus</i> (19) <i>Chaetoceros</i> (14)	100	0	0	0
VI	At the start	1,435,500	100	{ <i>Skeletonema</i> (91) <i>Chaetoceros</i> (5) <i>Cerataulina</i> (2)	100	0	0	0
	Preserved for 3 days in the dark	1,732,500	121	{ <i>Skeletonema</i> (94) <i>Chaetoceros</i> (4)	96	0	4	0
	Preserved for 7 days in the dark	243,750	17	{ <i>Skeletonema</i> (84) <i>Chaetoceros</i> (13)	0	81	19	0
VII	At the start	360,500	100	{ <i>Skeletonema</i> (81) <i>Asterionella</i> (15)	93	0	7	0
	At the start	659,100	100	{ <i>Skeletonema</i> (49) <i>Asterionella</i> (42) <i>Chaetoceros</i> (5)	95	0	5	0

り変型する。変型は一般に原型をくづすかたちであられるので、これを吸光曲線のクズレ現象と呼んだ。クズレ現象を数値的に表現するために、第一主吸収帯の波長変化と、第一第二主吸収帯吸光度の比 ( $D_{\lambda_1}/D_{\lambda_2}$ , ただし  $D_{\lambda_1}$ ; 第一主吸収帯の吸光度,  $D_{\lambda_2}$ ; 第二主吸収帯の吸収度) の変化をとりあげ、この観察のため計47標本を取り扱った。

**観 察 VIII:** 吸光曲線は当初から、極端に異常型を呈したが、6日間の暗所保存でクズレの度合ははげしく、 $D_{665}$ はこの間に当初の約55%に減少し、 $D_{\lambda_1}/D_{\lambda_2}$ は6.5から9.4に増加した。当初から  $D_{\lambda_1}/D_{\lambda_2}$  が高い値をしめしたのは採水時の豪雨の影響のためと考える (Fig. 3)。

**観 察 IX:** 当初の吸光曲線は  $\lambda_1=430m\mu$ ,  $\lambda_2=665m\mu$ ,  $D_{\lambda_1}/D_{\lambda_2}=2.9$  で大体正常型に近いが、3日及び7日後に異常型を呈した。32日目には完全にクズれており吸光度は当初の約3% ( $D_{400}$ ) および0% ( $D_{665}$ ) である (Fig. 4)。

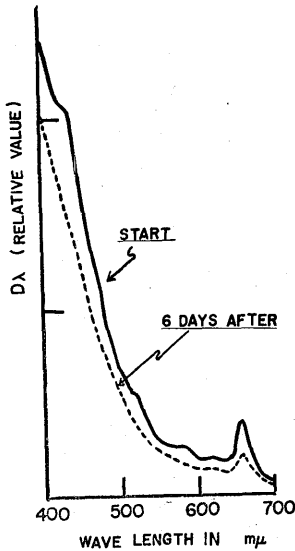


Fig. 3. Change in absorption of spectra 90% acetone extract of phytoplankton preserved in the dark. Obs. No. VIII

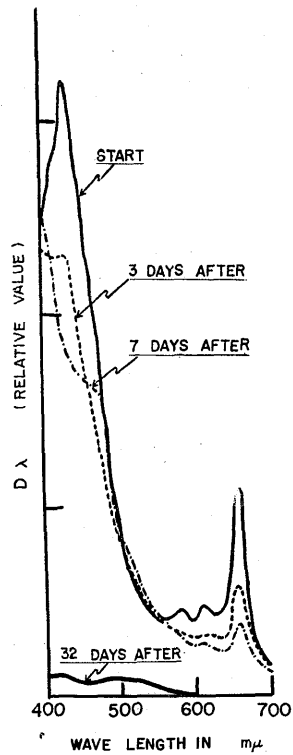


Fig. 4. Change in absorption spectra of 90% acetone extract of phytoplankton preserved in the dark. Obs. No. IX

**観 察 X:** 当初の吸光曲線は  $\lambda_1=430m\mu$ ,  $\lambda_2=665m\mu$  および  $D_{\lambda_1}/D_{\lambda_2}=3.5$  で正常型でない。2日目の吸光曲線は、各波長の吸光度が減少したこと以外に型のクズレはなかったが、4~6日目に  $\lambda_1=420m\mu$  に移動と共に第一主吸収帯の尖鋭度が鈍化した。9日目に  $\lambda_1=400m\mu$  に移動、吸光曲線はクズレの型となった (Fig. 5)。

**観 察 XI:** 当初の吸光曲線は  $\lambda_1=430m\mu$ ,  $\lambda_2=670m\mu$ ,  $D_{\lambda_1}/D_{\lambda_2}=3.1$  で大体正常型に近い。1日及び3日目の観察では型の変化は認められないが、6日目に  $\lambda_1=415m\mu$  に移動、且第一主吸収帯の鈍化が認められた。9日目、 $\lambda_1=400m\mu$  に移動、このあと13日及び18日目の観察では完全にクズれた。この間  $D_{665}$  は、

(Start) (1 day after) (3 days after) (6 days after) (9 days after) (13 days after)  
 100% → 62% → 57% → 29% → 18% → 13%

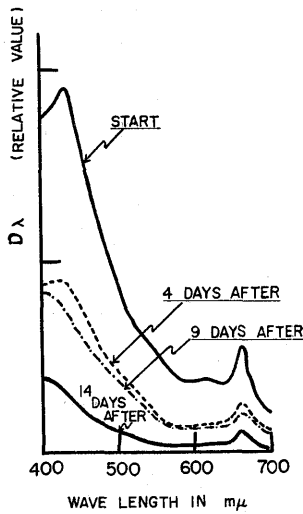


Fig. 5. Change in absorption spectra of 90% acetone extract of phytoplankton preserved in the dark. Obs. No. X

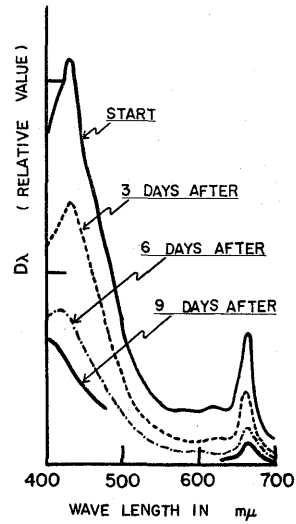


Fig. 6. Change in absorption spectra of 90% acetone extract of phytoplankton preserved in the dark. Obs. No. XI

と減じた(Fig. 6).

観 察 XII: 当初  $\lambda_1=430m\mu$ ,  $\lambda_2=665m\mu$ ,  $D\lambda_1/D\lambda_2=3.5$ で、比の値がやや高い。1日及び2日目の観察で、各吸光度の低下と  $D\lambda_1/D\lambda_2$  のやや増加を認めたが、型のクズレは認められない。5日目、 $\lambda_1=425m\mu$ に移動、第一主吸収帯の鈍化がおこり12日目  $\lambda_1=400m\mu$ に移動、クズレの型にはいつた。この後観察は23日後まで続けたが、観察の終期に  $D_{400}$  および  $D_{430}$  はそれぞれ当初の約10%および7%に低下した。 $\lambda_2$ は当初  $665m\mu$  から1日目に  $670m\mu$  に移動、その後観察の末期までこの波長に位置したが、こ

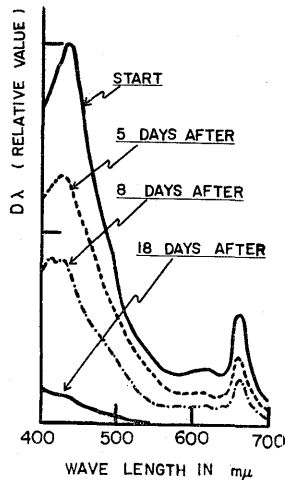


Fig. 7. Change in absorption spectra of 90% acetone extract of phytoplankton preserved in the dark. Obs. No. XII.

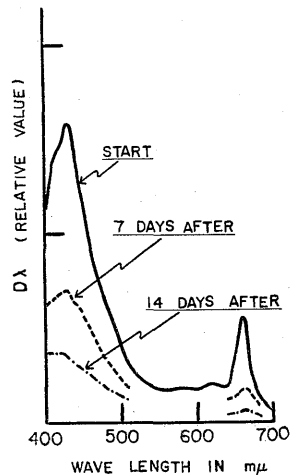


Fig. 8. Change in absorption spectra of 90% acetone extract of phytoplankton preserved in the dark. Obs. No. XIII.

の間の  $D\lambda_2$  の減少は、下記の如くである(Fig. 7).

(Start) (1days after) (2 day after) (5 days after) (8 days after) (12 days after) (18 days after)  
 100% → 77% → 66% → 60% → 41% → 47% → 2%



観 察 XIII: 当初  $\lambda_1=430\text{m}\mu$ ,  $\lambda_2=665\text{m}\mu$ ,  $D\lambda_1/D\lambda_2=3.0$  で大体正常型である。1日目で吸光度が増大したが, 原海水のプランクトン分布の不均一性によるものと考ええる。7日目  $\lambda_1=425\text{m}\mu$  に移動, 第一主吸収帯の鈍化がおこり, 14日目には  $\lambda_1=400\sim 420\text{m}\mu$  の間に移動を認め, その後完全なクズレがおこつたと考える (Fig. 8).

観 察 XIV-(1): 長崎港内採水の場合, 当初  $\lambda_1=435\text{m}\mu$ ,  $\lambda_2=665\text{m}\mu$ ,  $D\lambda_1/D\lambda_2=3.1$  で大体正常型である。1~3日目で  $\lambda_1=430\text{m}\mu$  に, 5日目で  $410\text{m}\mu$  に移動, 第一主吸収帯の鈍化が進行, この後12日目の観察で,  $\lambda_1=410\sim 420\text{m}\mu$  を認めた (Fig. 9).

観 察 XIV-(2): 長崎湾内採水の場合, 当初  $\lambda_1=435\text{m}\mu$ ,  $\lambda_2=665\text{m}\mu$ ,  $D\lambda_1/D\lambda_2=3.0$  で大体正常型である。1~3日目で  $\lambda_1=430\text{m}\mu$  に, 又5日目で  $410\text{m}\mu$  に移動した (Fig. 10).

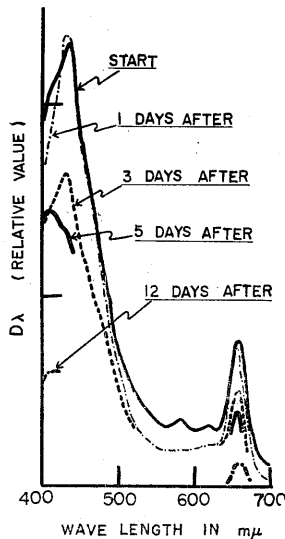


Fig. 9. Change in absorption spectra of 90% acetone extract of phytoplankton preserved in the dark. Obs. No. XIV-(1).

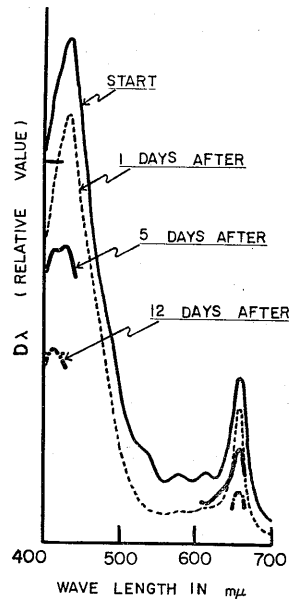


Fig. 10. Change in absorption spectra of 90% acetone extract of phytoplankton preserved in the dark. Obs. No. XIV-(2).

## 観 察 結 果 と 考 察

### (1) 植物プランクトンの組成変化と細胞数の減少

観 察 II の種組成は当初 *Chaetoceros* 95% から出発し, 観 察 末期 (32日目) でも *Chaetoceros* 約 98% で観 察 期間中 *Chaetoceros* の優位性はくづれなかつた, 観 察 III では当初 *Chaetoceros* 約 89%, 末期 (14日目) 約 99% に, 観 察 IV では当初 *Chaetoceros* 約 61%, 末期 (18日目) 約 93% に, 観 察 VI では当初 *Chaetoceros* 約 5%, 末期 約 13% といずれも暗所保存日数の増加と共に *Chaetoceros* の出現比は増加している。これに対し *Skeletonema* は観 察 IV で当初 約 61% が末期 (18日目) 約 3% に, 観 察 VI で当初 約 91% が末期に 約 84% (7日目) となり減少の傾向がある。これらを考えると, 暗室保存は原海水中の植物プランクトン組成を *Chaetoceros* の場合は増加に, 又 *Skeletonema* の場合は減少の方向にそれぞれ作用するようである。

一方細胞数は *Coscinodiscus* の様に一部瓶底に固着して強い攪拌にも浮きたたない状態

になるものもあると考えるが、大部は斃死後分解するためか細胞数は減少する。観察Ⅱでは32日目で当初の約48%に、観察Ⅳは18日目で約15%に、観察Ⅵは7日目で約17%に減少した（ただし観察Ⅲのように増加したものもある）。減少率は各観察でことなるが、当初の種組成で *Chaetoceros* 属が優占する場合は緩慢に（観察Ⅱ）、*Skeletonema* 属が優占する場合は急速である（観察Ⅵ）。

これらの事から、暗所保存海水では当初の植物プランクトンの当初の種組成が、保存中の組成変化、細胞数の減少率におよぼす効果は大であると云える。

暗所復帰実験の結果では（観察Ⅱ及びⅢ）*Skeletonema*, *Asterionella* を新しく発現させたことを考慮すると、*Skeletonema* 等（*Asterionella* を含む）は暗所保存に弱いが明所処理には適応的で、暗所条件には弱い種、又 *Chaetoceros* は強い種であると推測される。

## （2）細胞内色素体の退化現象

暗所保存は植物体を終局的に無色素状態とするが、その過程はまづ色素体の収縮にはじまる。色素体の収縮がおこる時期等は種類により異なることもあるが、結果は **Table 3** の如くなる。**Table 3** は色素状態を異にする3群について処理日数に応じた出現比（%）をし

**Table 3.** Occurrence percentage of each cell group in different stages of systrophe, in phytoplankton preserved in the dark.

Group	Preservation (day)	Start	3	4	7	9	14	18	32
	Normal cell		100	96	95	0	0	0	0
Cell in systrophe		0	0	0	81	75	58	10	0
Empty cell		0	4	5	19	25	42	90	100

めしたものである。これによれば、暗所保存7日で普通状態の色素体は消失し、すべて収縮粒状化し、一部には無色素体細胞が出現する等暗所保存が植物プランクトン色素体におよぼす効果はようやく顕著である。この傾向はその後経日的に進行するとともに収縮色素体は無色素体細胞へとすすみ、ついに14日目頃から両者のしめる割合は半々となり、この後無色素体細胞へと急速にすすむ。以上のことから暗所保存が植物プランクトン色素体に及ぼす効果は次の3段階に区分出来る。

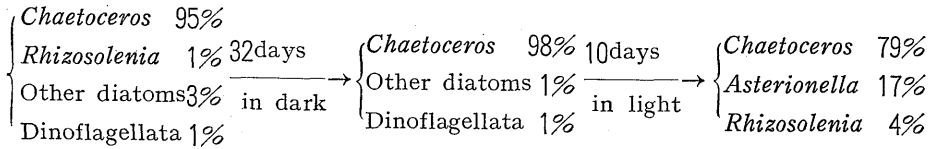
1. 暗所保存当初～7日目 *Chaetoceros* の一部細胞で色素体の収縮現象をおこすこともあるが、大部の細胞及び他の種類（*Skeletonema*）では顕著でない。
2. 暗所保存7日目～14日目 植物プランクトン色素体に及ぼす効果は顕著で、この期のはじめに正常色素体は退化消失し、すべて収縮粒状となる。又無色素体細胞の出現もようやくさかんとなる。
3. 暗所保存14日以後、収縮粒状色素体は無色素体細胞へと進行し、この期の20日目以後全細胞が無色素体となる。

## （3）明所復帰による色素体の回復と種組成の変化

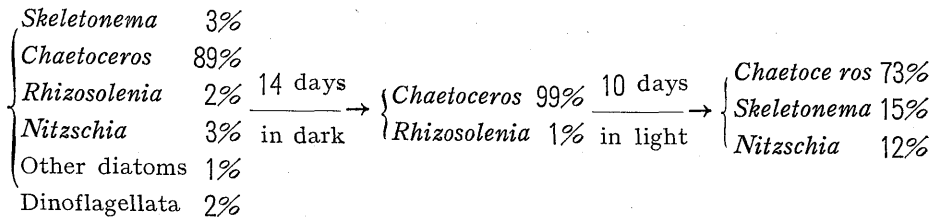
観察Ⅱ及びⅢでおこなった明所復帰実験は、それぞれ約16%、48%の正常色素体細胞の存在を明かにしたが、復帰当初前者で100%の無色素体細胞群から、後者で約56%の収縮色素

体及び約41%の無色素体細胞群から出発したことからみて、明所復帰は色素体を回復させるものと考え、特に *Chaetoceros* では少くとも1ヶ月間の暗所条件からでも回復出来る可能性を持つことが推測された。

一方両観察の当初から明所復帰の終りまでの組成の変化は下記の如くで、これは明所復(観察Ⅱ例より)



(観察Ⅲ例より)



婦が未発現種に発現の機会を与えたことと(例えば観察Ⅱの *Asterionella* の如く)、明所条件に対する種間の反応速度のちがいが(例えば観察Ⅲで *Skeletonema*, *Nitzschia* は *Chaetoceros* に対して反応がはやかったものとする)種組成の変化となってあらわれたものと推測した。これらは少い実験例であるが、暗所、明所の交互処理は未発現種の発現と種組成の変化を惹起せしめる有効な手段であると解釈した。

#### (4) 波長別吸光度 ( $D_\lambda$ ) の減衰

暗所保存の経日数によつて減衰する吸光度の変化を、吸光曲線型を規定する重要5波長(400, 430, 480, 600, 665 $m\mu$ )について知るため、まづ各波長毎に当初の吸光度を100%とし、減衰率を求めた。Fig. 11 はこれを図示したものである。

これから処理日数と減衰率の関係を求めると、

$$D_{400} : \log y = -0.0398x + 1.9899$$

$$D_{430} : \log y = -0.0438x + 1.9349$$

$$D_{480} : \log y = -0.0441x + 1.9574$$

$$D_{600} : \log y = -0.0497x + 1.9568$$

$$D_{665} : \log y = -0.0542x + 1.9354$$

(ただし、 $y$  は減衰率%,  $x$  は暗所保存日数である.)

で示される。さらにクズレ現象を解析するに必要な3波長(410, 420, 425 $m\mu$ )の減衰傾向は400 $m\mu$ と430 $m\mu$ の間にあるものと仮定して作図上から求め、計8波長の減衰直線を決定した。Fig. 12 はこれを図示したものである。

ここで、暗所保存がおよぼす各波長別の減衰傾向で次の諸点が明かになった。(1) 同一日数では長波長部の減衰率は短波長部より大である。すなわち、第二主吸収帯は第一主吸収帯よりはやく減衰する。(2) 相次ぐ2波長間でも同様のことが云えるが、430 $m\mu$ と480 $m\mu$ の間では減衰率にほとんど差がない。(3) 暗所保存7日目では大体各波長とも当初の吸光度のほぼ50%まで低下する。(4) 14日後にはほぼ25%以下となり21日目ではほぼ10%とな

る (Table 4参照).

(5)  $D\lambda_1/D\lambda_2$  の増加

前節の結論は、 $D\lambda_1$ の減衰率は $D\lambda_2$ の減衰率より小であることを明かにしたもので、両者の比は処理日数と共に当然増加することが推論される。又初期の増加率は小で末期ほど大となり、ついには $D\lambda_2$ が0に近似したとき $D\lambda_1/D\lambda_2$ の値は $\infty$ となる。これに近い状態は、観察にもとづけば処理後30日前後と見当がつくから、処理日数に応じた $D\lambda_1/D\lambda_2$ の増加は Fig. 13 で示した観察 XIII 及び XIV の傾向で増加するものとする。他の観察諸例では増加を認めても傾向はうかがえなかった。

論議 及び 結語

(1) 吸光曲線クズレ現象の解析

暗所保存海水の吸光度の減衰は(4)の結論から

$D_{400}$ の減衰率  $>$   $D_{430}$ の減衰率  $=$   $D_{480}$ の減衰率  $>$   $D_{600}$ の減衰率  $>$   $D_{665}$ の減衰率  
であることを明かにした。したがって、吸光

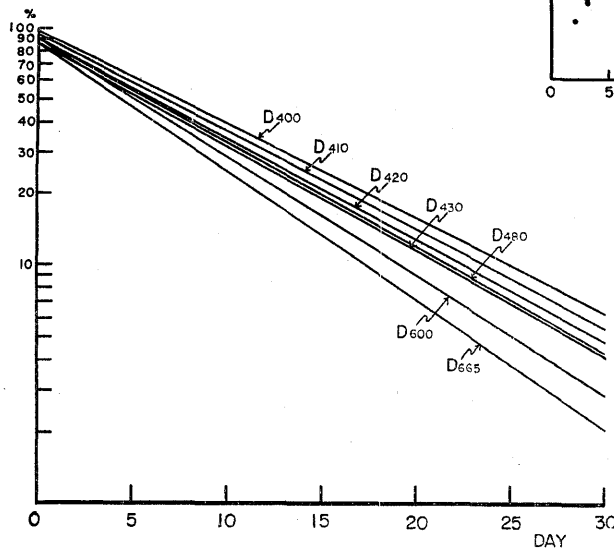


Fig. 12. Relations between the decrease rate (%) of absorbencies of main 8 wave lengths and the duration preserved in the dark.

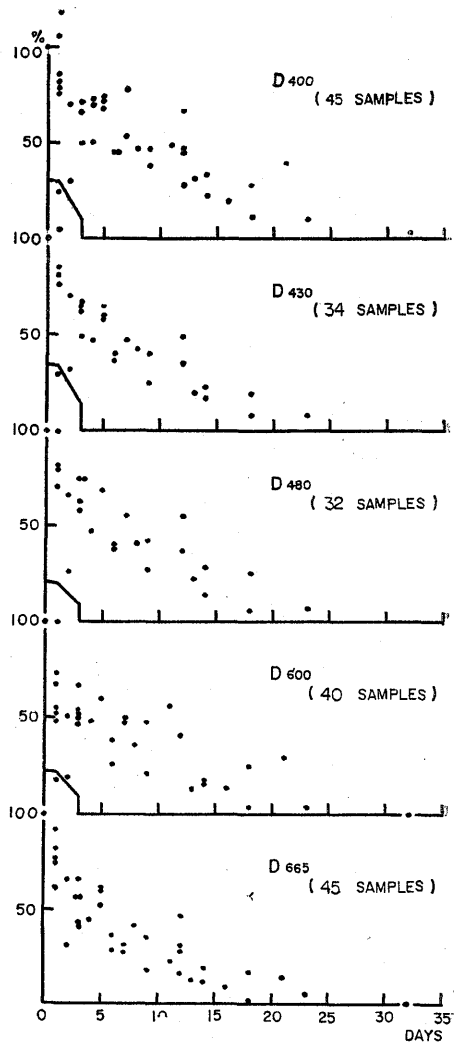


Fig. 11. Absorbencies of various wave lengths which decrease with the preservation in the dark.

曲線は当初の型をくづすことなく衰減することはおこり得ぬことで、減衰の過程において変型をとまなうことが推測される。事実変型は観察例の多くで下記の型でおこなわれることで一致している。

i) 第一主吸収帯は当初 430  $m\mu$  にあるが、処理の初期～中期で短波長部へ移動しはじめ、

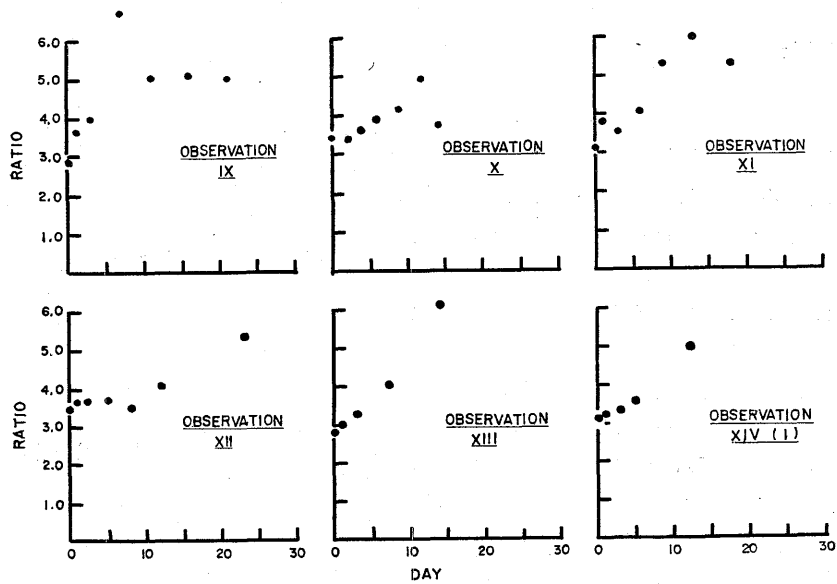


Fig. 13.  $D\lambda_1/\lambda_2$  value increasing with the duration preserved in the dark.

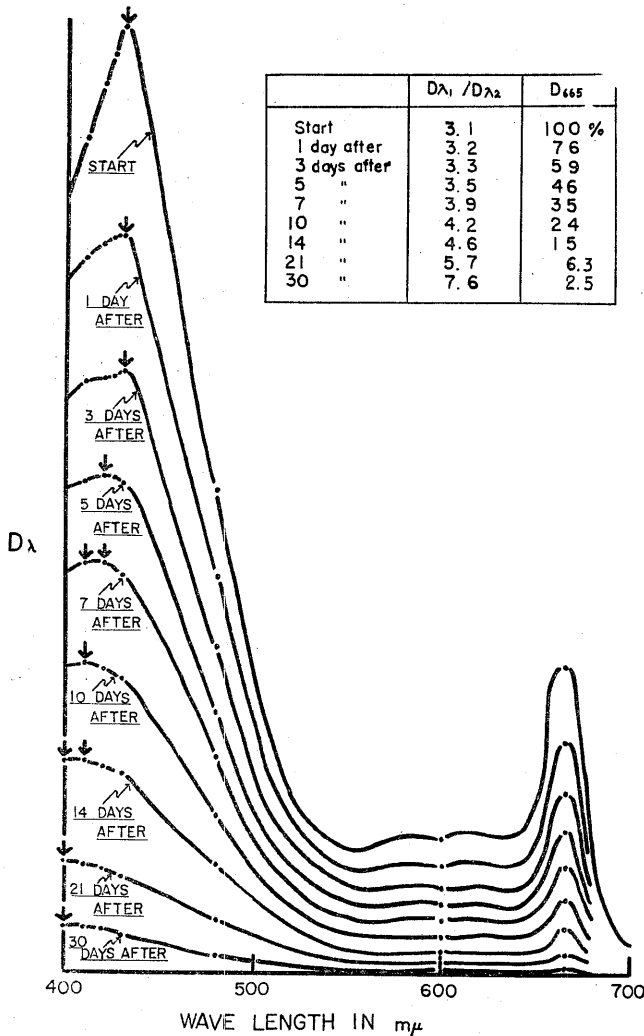
Table 4. Decrease rate (%) of each absorbency of 90% acetone extract of phytoplankton preserved in the dark.

Preservation (day)	Absorbency at each wave length in $m\mu$							
	$D_{400}$	$D_{410}$	$D_{420}$	$D_{435}$	$D_{450}$	$D_{460}$	$D_{600}$	$D_{650}$
0	98				86	91	91	86
1	89	86	82	80	78	82	80	76
2	81				70	74	72	67
3	74	71	67	65	63	67	64	59
4	68				57	60	57	52
5	62	59	56	54	52	54	51	46
6	56				47	49	45	40
7	51	49	46	44	42	44	40	36
8	47				38	40	36	31
9	43				35	36	32	28
10	39	37	34	33	31	32	29	25
11	36				28	29	26	22
12	33				26	27	23	19
13	30				23	24	20	17
14	27	25	23	22	21	22	18	15
15	25				19	20	16	13
16	23				17	18	14	11
17	21				15	16	13	10
18	19				14	14	11	9
19	17				12	13	10	8
20	15				11	12	8	7
21	14	13	11	11	10	11	9	6
∴								
30	6	5	5	4	4	4	3	2

ついに400m $\mu$ に固定する（ただし測定波長の下限を400m $\mu$ とする）。

ii) 第一主吸収帯の減衰より、第二主吸収帯の減衰の方がはよい。

第一主吸収帯が400m $\mu$ に固定したあと、事実上同域のピークは存在しなくなるので、当初の型に較べて著しく変型したことになる。したがって厳密にはこれ以後の状態をクズレ現象としたが、クズレ現象が(4)の結論に由来すると考えられるのでこの点を検討した。まづ仮定の吸光曲線を設定し、これに **Table 4** でしめした各波長毎の減衰率を乗じて得られる曲線の変型を観察した。当初の仮定曲線としては、全観察(ただし観察Ⅶを除く)の当初の波長毎に吸光度の平均値をもとに描かれる吸光曲線をあてた。得られた曲線は  $\lambda_1=430m\mu$ ,  $\lambda_2=665m\mu$ ,  $D\lambda_1/D\lambda_2=3.1$ で、自然海水の吸光曲線として大体正常型にちかい。この曲線でクズレの型を検討することは、本観察の平均的傾向をしることにもなる。この曲線のD $\lambda$ に **Table 4** の値を乗じて、暗所保存1日目・2日目・3日目……等の計算曲線を描いた (**Fig. 14**)。



**Fig. 14.** Schematic models showing the "Kuzure-phenomenon" (collapse) of absorption spectra.

これをみると、3日目に $\lambda_1$ は430m $\mu$ で当初と変わらないが変型の前兆が生じ、5日目には420m $\mu$ に且つピークは鈍化し、7日目には410~420m $\mu$ の間に、10日目には410m $\mu$ に14日目で400m $\mu$ に移動、事後この位置に固着クズレの状態に減衰した。一方D<sub>665</sub>は当初を100%とすると、4~5日目で約50%に、7日目に35%、14日目に15%まで減少し、 $D\lambda_1/D\lambda_2$ の値は当初3.1から最後に7.6まで増加した。すなわちこのように表現された変型の状況はクズレ現象をよく再現したが、吸光曲線のクズレは波長毎に吸光度の減衰率が異り、しかも各波長間の減衰傾向に規則性があることに由来すると考えた当初の考えが正しかったことを証明した。又この図から暗所処理下の曲線クズレの平均的傾向は次の様に説明される。すなわち、処理後5日目から14日目の間は正常型の吸光曲線がクズレの曲線に移行する期間であり、特に7日目前後は処理効果が顕著に発現する時期として注目される。

## (2) 暗所保存が植物プランクトンに与える影響と効果

暗所条件が植物プランクトンに与える影響は陸上植物と同様、視覚的には無色素体となってあらわれるが、顕微鏡的観察ではまづ色素体の収縮粒状化にはじまる。3日目でクロロフィル量は約60%に減少するが、色素体収縮はまだ認められず、与えた影響も明所復帰で容易に回復可能である(未観察)。しかし4日目から影響は $\lambda_1$ の移動と云う型であらわれはじめ、7日目以前に色素体の収縮現象の初期変化が起る(未観察)。7日目で色素体の収縮、無色素体細胞の出現(20%)  $\lambda_1=410\sim 420\text{m}\mu$ の移動、 $D\lambda_1/D\lambda_2$ の増加、クロロフィル量は35%まで減少というように及ぼす影響はようやく顕著である。この間海水中の $P_2O_5$ 量も増加する。 $P_2O_5$ 測定は極く限られた回数しか行っていないが(観察Ⅲ及びⅣ)暗所保存の翌日からその後の13日間で当初量の約87.5%増加し(観察Ⅲの場合)。又2日目の測定から7日間で33%、16日間で47%それぞれ増加した(観察Ⅳの場合)。このことは暗室保存の初期からすでに生物体の磷酸塩溶出があることを示したもので無色素体細胞の出現と関係があると考えられる。その後の影響は9日目で顕著となり、12日以後では質的变化にまで進行する。すなわち、細胞内では収縮色素体細胞約60%、無色素体細胞約40%と空白細胞がようやく50%に近くなり、吸光曲線はこれ以後クズレの状態に入り、クロロフィル量は当初の約20%まで低下する。この後影響は経日的に大となり植物プランクトン群落は凋落する。

一方この間生物体に及ぼした影響を色素体の回復状態から調べた明所復帰実験(観察Ⅱ、Ⅲ)から判断すると、より長期の暗所保存は短期の処理に較べて与えた影響は大であることがわかるが、1ヶ月程度の保存で約16%の色素体を回復させたことは、これ以上長期の保存でもこれ以下の回復率なら可能であろうと推察される。植物プランクトンが自然状態で遭遇する光線非透過層への運搬は、光線から遮断された時間の長短により植物プランクトンの生死を決定するであろう。

## 要 約

海水の吸光曲線は原海水に含まれるプランクトン組成・活力及び有機デトリタスの存在により特徴ある型を呈することが推論されるので、植物プランクトンの生理のおとろえが吸光曲線におよぼす影響を顕微鏡的及び分光光度計的手段により観察した。植物プランクトンの生理のおとろえは海水を暗室に保存することにより、含まれる植物プランクトンを完全に光から遮断して生ぜしめた。

各節の結論のうち主たるものは次の如くなる。

(1) 暗所保存海中の植物プランクトンは当初の種組成が、その後の組成変化、細胞数の減少率に影響し、*Chaetoceros* は暗所条件に強い方向、又 *Skeletonema* は弱い方向で組成の変北と細胞数の減少に作用する。

(2) 処理当初から7日目までは色素体の収縮現象はほとんどないが、7~14日の間で暗所条件が色素体に与える影響は大となり、この間に正常色素体は消失、収縮粒状化すると共に空白細胞数も増加する。その後空白細胞のしめる割合が増大する。

(3) 1ヶ月の暗所保存後に行った明所復帰処理は16%の細胞群に正常色素体えの回復の可能性を証明した。

(4) 各波長別吸光度の減衰率は長波長部ほど大で

$D_{400}$ の減衰率 $>D_{430}$ の減衰率 $\approx D_{480}$ の減衰率 $>D_{600}$ の減衰率 $>D_{665}$ の減衰率である。この規則性が吸光曲線のクズレ現象を規則あるものとす。吸光曲線は暗所保存後5日目~14日目の間に正常型からクズレの型え移行する。特に7日目前後は保存効果が顕著にあらわれる。

(5) 第一主吸収帯・第二主吸収帯の吸光度比  $D_{\lambda_1}/D_{\lambda_2}$  の値は保存後の経日的に増加する。

以上の諸結果から結論として、暗所保存が植物プランクトンに与える効果は顕微鏡的及び分光光度計的手段によっても処理1週間から2週間の間に顕著にあらわれることで一致した。又植物プランクトンの生理の衰えは吸光曲線の変型であらわれることも明かになった。

#### 参 考 文 献

- 1) BURT, W. V. (1955): Interpretation of spectrophotometer readings on Chesapeake Bay waters. *J. Mar. Res.*, 14 (1), 33-46.
- 2) ORR, W. L. and GRADY J. R. (1957): Determination of chlorophyll derivatives in marine sediments. *Deep-sea Res.*, 4 (4), 263-271.
- 3) YENTSCH, C. S. and J. H. RYTHER (1959): Absorption curves of acetone extracts of deep water particulate matter. *Deep-sea Res.*, 6 (1), 72-74.
- 4) YENTSCH, C. S. (1960): The influence of phytoplankton on the colour of sea-water. *Deep-sea Res.*, 7 (1), 1-9.
- 5) BURT, W. V. (1955): Distribution of suspended materials in Chesapeake Bay. *J. Mar. Res.*, 14 (1), 47-67.
- 6) IIZUKA, S. et al. (1960): Spectrophotometric investigation of the plankton pigments-I. Spectral absorption curves of absolute acetone extracts of natural plankton collections. *Bull. Fac. Fish. Nagasaki Univ.*, 9, 54-57.
- 7) RICHARDS, F. A. with THOMPSON, T. G. (1952): The estimation and characterization of plankton populations by pigment analyses II. A spectrophotometric method for the estimation of plankton pigments. *J. Mar. Res.*, 11(2), 156-172.