

高速フラッシュ蛍光光度法を用いた 光合成活性と基礎生産のリアルタイム計測

Real-time measurement of photosynthetic activity and
primary productivity by fast repetition rate fluorometry

風間 健宏^{1,2*}・早川 和秀³・霜鳥 孝一^{1,2}・今井 章雄¹・小松 一弘²
Takehiro KAZAMA^{1,2*}, Kazuhide HAYAKAWA³, Koichi SHIMOTORI^{1,2}, Akio IMAI¹ and Kazuhiro KOMATSU²

¹ 国立環境研究所 琵琶湖分室

² 国立環境研究所 地域環境研究センター

³ 滋賀県琵琶湖環境科学研究センター

¹ Lake Biwa Branch Office, National Institute for Environmental Studies

² Center for Regional Environmental Research, National Institute for Environmental Studies

³ Lake Biwa Environmental Research Institute

摘 要

総一次生産 (GPP) は水圏生態系の重要な指標である。しかし、従来の測定法は、培養の時間や手間、ボトル効果など問題点も多い。高速フラッシュ蛍光光度法 (FRRf) は、励起光を用いて光化学系 II のパラメーター群をリアルタイムに取得し、電子伝達速度から GPP を推定する手法である。FRRf を用いた GPP 推定の現状課題として、

(1) 自然光と FRRf の励起光の波長の違いを考慮したスペクトル補正の必要、(2) 植物プランクトンの吸収ピークと励起光の波長の違い、(3) 光化学系 II 反応中心の密度推定、(4) 炭素当たり電子要求量 (ϕ_{eC}) の変動が挙げられる。このうち (2) については、フィコビリンを対象とした 530 nm と 624 nm の励起波長を搭載する FRR 蛍光光度計により、富栄養な水域で見られるラン藻ブルームにおいても、測定が可能である。淡水における使用例はまだ少ないが、知見の蓄積と ϕ_{eC} のモデル化を進めることで、より広く詳細な GPP 測定が可能となるだろう。

キーワード：FRRf, 光合成, 植物プランクトン, 炭素当たり電子要求量, ラン藻

Key words: FRRf, photosynthesis, phytoplankton,
electron requirement for carbon fixation, cyanobacteria

1. はじめに

植物プランクトン、あるいは水中の藻類は、水圏生態系において重要な一次生産者である (Falkowski and Raven, 2007)。植物プランクトンの GPP (Gross primary productivity, 総一次生産力) は、NPP (Net primary productivity, 純一次生産力) と呼吸の和によって表される。GPP の変動は食物連鎖の長さや、物質循環、高次栄養段階の生物量に影響を与える (例えば Falkowski *et al.*, 1998; Oksanen *et al.*, 1981; Pauly and Christensen, 1995)。したがって、水圏生態系に対する人的影響や、気候変動の影響を評価する際には、植物プランクトンの GPP は重要な指標である。

GPP を測定するための手法として、同位体の同化速度を元に算出する方法や、酸素発生速度から推定する方法が用いられている (表 1)。炭素同位体を用

いる方法では、炭素同位体 (¹³C, ¹⁴C) をトレーサーとして用いる。¹⁴C 法は非常に感度が高い反面、放射性同位体であるため、現在の日本では、野外使用が法律で厳しく制限されている。一方、¹³C は安定同位体であり、感度は ¹⁴C にやや劣るものの、我が国では野外実験におけるトレーサーとして広く用いられている。いずれの場合でも、同化した炭素同位体は呼吸等によって損失する可能性があり、その損失割合は種や培養時間によって大きく異なる (Halsey *et al.*, 2013; Pei and Laws, 2013)。培養時間が長くなるほど損失が大きくなり、結果は NPP に近くなると考えられる (Kromkamp *et al.*, 2017)。ただし、1 時間程度の培養でも損失が大きいケースがあり (Marra, 2007; Williams *et al.*, 1996)、結果の解釈には十分注意が必要である。明暗ビン法は、植物プランクトンを明条件と暗条件で同時に培養し、O₂ 生産量 (または消費量) から純生産と呼吸速度を求め、GPP を計

受付：2020 年 9 月 24 日、受理：2020 年 10 月 27 日

* 〒520-0022 滋賀県大津市柳ヶ崎 5-34, E-mail: kazama.takehiro@nies.go.jp

算する。明暗ビン法の歴史は古く、1927年にはすでに海洋で用いられた記録がある(Gaarder and Gran, 1927)。呼吸速度と NPP を同時に求めることが出来る点は、明暗ビン法の優れた利点である。ただし、明条件下と暗条件下の呼吸速度は必ずしも一致せず(Harris and Lott, 1973)、GPP を過小評価してしまう傾向にある(Regaudie-de-Gioux *et al.*, 2014)。¹⁸O 法は、酸素安定同位体 ¹⁸O をトレーサーとして用いる方法である。明暗ビン法のように呼吸速度を求める必要はないが、メーラー反応や光呼吸が盛んな場合、GPP を過大評価してしまう(Hendricks *et al.*, 2004; Laws *et al.*, 2000)。

これらの手法に共通する問題として、測定に当たって相当の労力が発生する点が挙げられる。野外環境下における1日当たりのGPPを培養結果から推定するためには、水中の光強度が時刻や深度によって異なることを考慮する必要がある。水塊がよく上下混合されている場合は、代表的な層で得られた試料について、光強度に対する生産の応答曲線(光—光合成曲線)を描くのが一般的だが、そのためには、1地点につき複数本のビンを用意し、それぞれ異なる光条件で培養しなければならない。普通、現場にビンを吊るすなどして2~24時間培養するが、現場で出来ない場合は、培養中の光や温度条件を管理・調節できる培養器を用いる。現在は、さらに、ボトルに詰めることで生じる種々のボトル効果は、測定値に無視できない影響を与える。たとえばCarpenter and Liverly(1980)は、藻類が壁面に付着することにより、増殖速度が上昇することを報告している。

これらの課題解決に当たって、培養を必要としな

い現場測定法の必要性が高まっている(橋本・才野, 2004)。アクティブ蛍光法は、植物プランクトン群集の光合成系のパラメーター群から、現場のGPPをリアルタイムに推定が可能な手法である(鈴木ほか2002)。アクティブ蛍光法にはPAM(Pulse amplitude modulation, パルス変調)やFRRf(Fast repetition rate fluorometer, 高速フラッシュ蛍光光度法)があり、近年ではFRRfが特に有力な方法として注目されている。FRRfは主に海洋学の分野で発展しているが、湖沼ではまだ運用例が少ない。本稿ではFRRfの基本原理について紹介し、次いで、現状の課題と対応策及び将来の発展性について述べる。

2. FRRf を用いた GPP 推定の基本原理

植物プランクトンはChl-*a*(クロロフィル *a*)などのアンテナ色素で光を捕集する。アンテナ色素は、光を受けとることによって励起され、受け取った光エネルギーをRCII(PSII 反応中心)に伝達する(図1)。

RCIIで水の分解により生じた電子は、まず電子受容体であるプラストキノン Q_A, Q_B の順に渡される。Q_B は電子を2つ受け取ると、ストロマ(チラコイド膜外側)からプロトン(H⁺)を2つ受け取ってプラストキノール(PQH₂)となり、PSIIを離れてチラコイド膜中を移動する。PQH₂はシトクロム b₆/f 複合体に電子を渡すと(酸化されると)、結合していたプロトンをルーメン(膜内側)へ放出してPSIIへ戻る。電子はb₆/fからプラストシアニン(PC)またはシトクロム c₆を経て光化学系I(PSI)に伝達され、PSIにおいてNADP⁺からNADPHを作る。一方、水の分

表1 植物プランクトンの一次生産力(GPP)測定手法.

方法	長所	短所	引用文献
¹⁴ C 法	簡便, 高感度	放射性物質, 培養スペース, 培養時間, ボトル効果, GPP or NPP ?	(Nielsen, 1952)
¹³ C 法	簡便, 安定同位体	培養スペース, 培養時間, ボトル効果, GPP or NPP ?	(Hama <i>et al.</i> , 1983; Slawyk <i>et al.</i> , 1977)
明暗ビン法	呼吸量+純生産を測定, 測定誤差少ない	明呼吸≠暗呼吸, O ₂ 発生≠CO ₂ 固定, 培養スペース, 培養時間, ボトル効果	(Carpenter, 1965)
¹⁸ O 法	安定同位体, 高感度	O ₂ 発生≠CO ₂ 固定, 培養スペース, 培養時間, ボトル効果	(Bender and Grande, 1987)

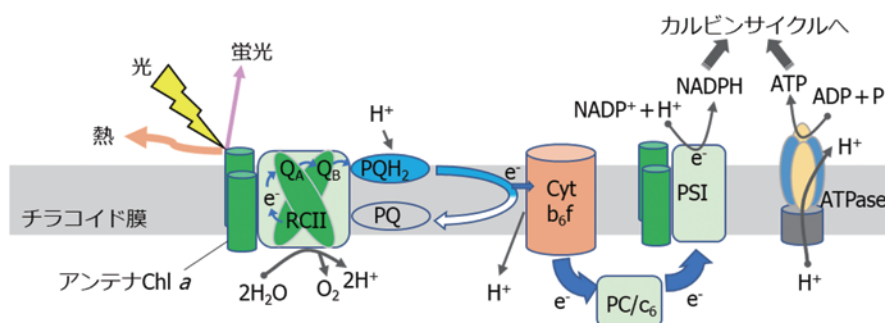


図1 光合成における電子伝達の模式図.

解と PQH₂ による運搬で得られたプロトンを用いて、ATP 合成酵素 (ATPase) が ATP を合成する。これら一連の反応で得られた NADPH と ATP を用いて、カルビンサイクルが駆動される。カルビンサイクルでは、まず Rubisco (リブローズビスリン酸カルボキシラーゼ / オキシゲナーゼ) の触媒によって RuBP (リブローズビスリン酸) と CO₂ が結合し、PGA (ホスホグリセリン酸) が生成される。PGA は先の反応で得られた NADPH の還元力と ATP によってトリオースリン酸となり、一部は ATP のエネルギー

を使って RuBP に再生され、残りは糖やデンプンの合成に使われる。

光を受容した際、植物プランクトンは全ての光エネルギーを電子に変換できるわけではなく、数%が蛍光として、数十%が熱として放出される (Falkowski *et al.*, 2017)。PSII の蛍光は、波長 680 nm 付近にピークを持つ赤色光である。FRRf や PAM 法といったアクティブ蛍光法では、アンテナ Chl-*a* をターゲットとする 450 nm 前後の励起光により、発生した蛍光の強さや時間変化を測定する。Chelsea 社の FastOcean (図 2) は、明チャンバーと暗チャンバーの 2 つを用いて、明条件と暗条件のパラメーターを同時に計測することを可能とした屋外型 FRRf 蛍光光度計である。暗条件のパラメーターは、光合成活性を示す F_v/F_m (表 2) を測るだけでなく、のちに示す GPP の計算において重要な F_0 (暗黒下の最小蛍光強度) を得るために必要である。

FastOcean により測定した例を図 3 に示す。FRRf では、飽和過程と緩和過程の 2 つに分けた高速励起フラッシュによって、いくつかの光化学系 II に関するパラメーターを測定することができる。飽和過程は 2 μ s ごとに 100 回程度の励起光フラッシュから構成される。これは、 Q_A^- が再酸化される (次の電子を受け取れる状態になる) までにかかる時間が、160~600 μ s であることを利用している (図 3 左側) (Falkowski *et al.*, 1986; Kolber *et al.*, 1988)。すなわち、再酸化より短い時間スケールで、強い励起光を連続照射することで、試料中の RCII 全てが飽和する過程をトレースする。この方法では RCII が一度しか電子を放出しないことから、シングルターンオー

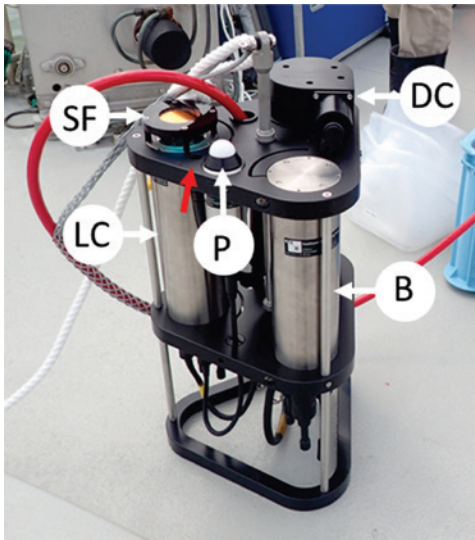


図 2 FastOcean (Chelsea 社) の構造。
LC, 明チャンバー; DC, 暗チャンバー; B, バッテリー; P, 光量子センサー; SF, ノイズ低減のためのショートパスフィルター。赤矢印は DC への水の吸入口を示す。制御は赤いケーブルを通して専用ソフトウェアにより行う。

表 2 FRRf で得られる光合成に関するパラメーター。プライムが付くパラメーターは光環境下で得られたことを示す。

パラメーター	定義	単位
C	閉じている RCII の割合	
F'	$C > 0$ のとき、シングルターンオーバーにおける 0 回目のフラッシュ時の蛍光強度	
F_b	ベースライン蛍光	
$F_0(')$	最小 PSII 蛍光強度 (光環境下)	
F_{0c}	ベースライン補正後の $F_0 (= F_0 - F_b)$	
$F_v(')$	$F_m(') - F_0(')$	
$F_m(')$	最大 PSII 蛍光強度 (光環境下)	
$F_{mc}(')$	ベースライン補正後の F_m (光環境下) ($= F_m - F_b$)	
F_v/F_m	暗黒下における最大量子収率	
F_q'	$F_m' - F'$	
F_q'/F_m'	光環境下における最大量子収率	
JV_f	FRRf による水塊当たり ETR _{PSII} 推定値	$\mu\text{mol e}^- \text{m}^{-3} \text{s}^{-1}$
NPQ_{NSV}	Stern-Volmer 係数による非光化学消光。熱放散の大きさを示す指標 ($= F_0'/F_0'$)	
q_f, q_L, qP	RCII の接続がダイマーモデル、レイクモデル及び分割パッケージモデルに従う場合の光化学消光 ($= 1 - C$)	
[RCII]	PSII 反応中心の密度	nmol m^{-3}
R_{PE}	試料特異的なパッケージ効果補正係数	
$\sigma_{\text{PSII}}(')$	PSII の光吸収断面積 (光環境下)	nm^2

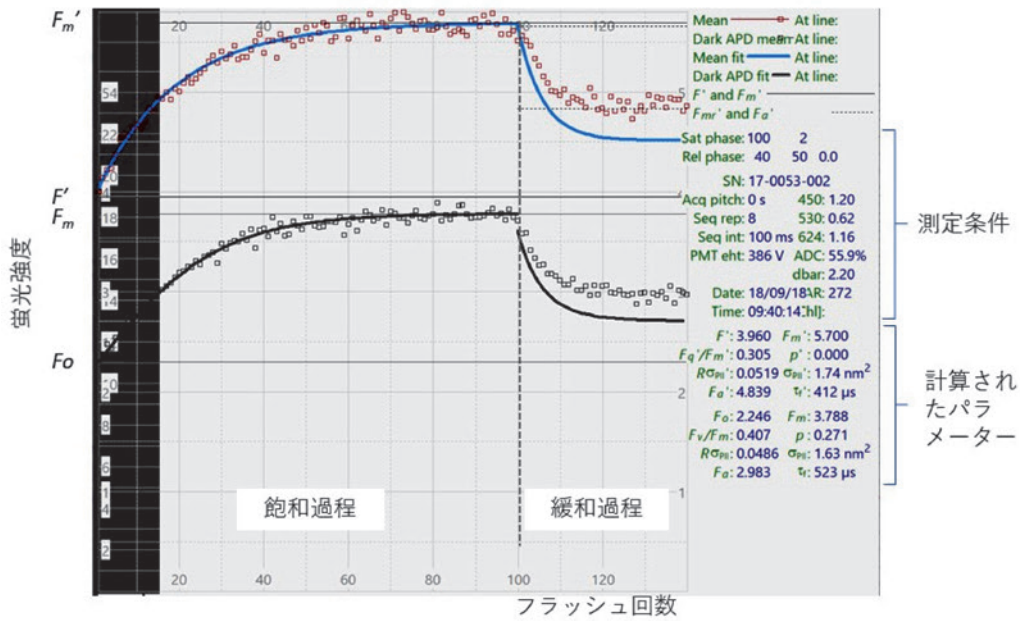


図3 明条件・暗条件における、フラッシュ回数に対するクロロフィル蛍光強度。

垂直の点線の左側が飽和過程、右側が緩和過程。また明条件と暗条件の各プロットに対し、回帰曲線がそれぞれ青と黒で示されている。緩和過程の回帰曲線は、励起光の影響を除いて計算されている。(FastOceanにて測定)

バーと呼ばれる。飽和過程では、 F_v や F_m など、PAM測定と似た蛍光強度のパラメーターを得ることができる(表2)。しかしFRRfのより画期的な点は、50 μsごとに40回程度の励起光フラッシュからなる緩和過程である(図3右側)。緩和過程では、 τ_{ES} (閉じたRCIIにQBが結合し再び開くまでの時間)を推定することができ、光合成の状態をより正確に把握すると同時に、ETR_{PSII}(PSIIの電子伝達速度)をより簡単に推定することが可能となっている。

FRRfで得られるパラメーターの一覧を表2に示す。なお、いくつかのパラメーターはPAM法などと同じ標記ではあるが、FRRfではPSIIについてのみ測定している点に留意する必要がある。PAM法については園池(2009)及び彦坂(2016)が詳しい。

上述で得られるパラメーター群を元に、水塊当たりのPSII電子伝達速度(JV_f , μmol e⁻ m⁻³ s⁻¹)を求めることができる(Oxborough *et al.*, 2012)。

$$JV_f = \sigma'_{PSII} \cdot [RCII] \cdot (1 - C) \cdot E \quad (i)$$

ここで、Eは太陽光または人工光源のPAR(photosynthetically active radiation, 400~700 nmの可視光)強度であり、光量子束密度(μmol photons nm⁻² s⁻¹)であらわす。 σ'_{PSII} は光吸収断面積、Cは閉じているRCIIの割合、[RCII]はRCIIの密度(nmol m⁻³)である。(1-C)の算出については、分割パッケージモデル、レイクモデル及び部分接続モデル(ダイマーモデル)という3つの異なる考え方に基づく計算方法が存在する(Oxborough *et al.*, 2012)。各モデルの違いは、閉じているRCIIが励起エネルギーを受け取った場合、隣り合う開いたRCIIへと励起

エネルギーを渡すことができるかどうか、もしできるとするならば、どのくらい出来るかどうか、である。よく用いられる分割パッケージモデルは、RCII間のエネルギーの受け渡しが無い(接続が無い)と仮定するモデルであり、これに従う場合の(1-C)は、光化学消光のパラメーターとしてよく知られるqP(表2)に等しく、 $(F_m' - F') / (F_m' - F_o')$ として求めることができる(Kolber and Falkowski, 1993)。レイクモデルでは、全てのRCII間に接続があるとするモデルであり、qPの代わりに $pL = F_o'(F_m' - F') / F'(F_m' - F_o')$ が用いられる(Oxborough *et al.*, 2012)。部分接続モデルは、分割パッケージモデルとレイクモデルの中間的な考え方で、一部のRCII間だけに接続があるとするモデルであり、 $qJ = (F' - F_o') / \{(1 - \rho)(F_m' - F_o') + \rho(F' - F_o)\}$ (ただしρは接続パラメーター)で与えられる(Oxborough *et al.*, 2012)。FastPro8では、どのモデルでも計算が可能である。RCIIの密度は、経験的にはChl-a 1 mol当たり0.002 mol, ラン藻が多い場所では0.0029 molが用いられるが、光や栄養塩環境により左右される(Kolber and Falkowski, 1993)。もしRCIIを実験的に求める場合は、Chl-a当たりの酸素発生速度を求める(3.3参照)。また式(i)はRCIIベースの計算であるが、Chl-aベースの計算方法もいくつか提案されている(Kolber and Falkowski, 1993; Melrose *et al.*, 2006; Smyth *et al.*, 2004)。これらの場合も基本的な考え方は同じで、環境中の光量子束密度、光吸収断面積、水塊当たりのPSIIの密度及び酸化状態にあるRCIIの割合を、パラメーターとして考慮する。

しかし、RCIIを測定する場合でも、Chl-aベースで計算する場合でも、Chl-a濃度を別に求めるため

に、試料をフィルターろ過して測定する作業が必要となる。そこで Oxborough *et al.* (2012) は、理論的に RCII と F_o/σ_{PSII} (PSII の最小蛍光強度 / 光吸収断面積) が比例関係にあることを示し、以下のような計算から求める方法を提案している。

$$[RCII] = K_R/E_{FRRf} \times F_o/\sigma_{PSII} \times 10^{-9} \quad (ii)$$

ここで K_R は機器に特有の定数 ($\text{photons m}^{-3} \text{s}^{-1}$), E_{FRRf} は励起光の光子量子量 ($\text{photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) であり、FastOcean のデフォルトでは $K_R/E_{FRRf} = 11,800 \text{ m}^{-1}$ が用いられる。最近、 K_R/E_{FRRf} は種や栄養塩状態によって大きく異なることが明らかになっている (Boatman *et al.*, 2019)。これについては、3.3 で述べる。また F_o , σ_{PSII} はそれぞれ暗条件における最小 PSII 蛍光及び光吸収断面積であり、FastOcean では暗チャンパー内で測定される (図 2)。

単位時間当たり、単位水塊当たりの CO_2 固定速度は $J_V/\phi_{e,c}$ (水塊当たりの PSII 電子伝達速度 / 炭素当たり電子要求量) から計算することが出来る。 $\phi_{e,c}$ は、1 分子の CO_2 固定に必要な電子の数を表す。したがって、群集の $\phi_{e,c}$, J_V の鉛直プロファイル及び時間ごとの光子束密度の鉛直プロファイルを得ることが出来れば、最終的に炭素ベースで面積当たり GPP ($\text{g C m}^{-2} \text{d}^{-1}$) を計算することが可能となる。

3. GPP 推定法の現状課題

上述のように、FRRf はリアルタイム GPP 推定を行うことのできる優れた手法であるが、野外における運用には、まだいくつかの課題がある。本稿では、(1) 自然光と励起光の波長の違い、(2) 吸収ピークと励起光の波長の違い、(3) RCII 密度推定及び (4) $\phi_{e,c}$ の変動について述べる。

3.1 自然光と励起光の波長の違い

FRRf は、青色励起光を用いて生産速度を推定するが、自然界では青色以外の光も多く降り注いでいる。水中では、光は粒子や溶存有機物の吸収・散乱により減衰するが、その吸収波長や吸収量は、懸濁粒子や CDOM (Colored dissolved organic matter, 有色溶存態有機物) の種類と濃度に依存する (Belzile *et al.*, 2004)。一般に、600~700 nm のオレンジ~赤色の光は、水そのものの散乱・吸収によって減衰し (Pope and Fry, 1997), 300~500 nm の紫外線~青色光は、懸濁粒子や CDOM の散乱・吸収によって減衰する (Belzile *et al.*, 2002)。結果として、懸濁粒子や CDOM の少ない水域では、水中の光は青色に、植物プランクトンが多い水域では、光は緑色になる (Belzile *et al.*, 2002; Kirk, 2011)。光の各波長が届く深度は異なり、植物プランクトンの光吸収特性は、場所や深度によって異なる (Tilzer *et al.*, 1994)。外洋における FRRf 研究では、励起波長と自然光が似た

波長構成であったため、この違いはあまり問題にはならなかった (Kolber and Falkowski, 1993)。しかし沿岸や湖など、粒子や CDOM が多い水域で観測する場合や、人工光源で培養した場合などでは、FRRf の励起光と、植物プランクトンの生育環境にある背景光の波長構成の違いを考慮に入れる必要がある (Markager and Vincent, 2001; Suggett *et al.*, 2006)。

波長の違いを補正するためには、励起光の各波長の光強度、自然界または人工光源の各波長の光強度及び植物プランクトンの光吸収スペクトルから、SCF (Spectral Correction Factor, スペクトル補正係数) を計算する必要がある (Schuback *et al.*, 2015, 2017; Zhu *et al.*, 2017)。励起光の各波長の光強度と自然界の各波長の光強度は、分光放射照度計を用いて測定することができる。しかし、現場の植物プランクトン群集の光吸収スペクトルを測定するためには、現場試料のフィルターろ過と吸光度測定が必要となる (Stramski *et al.*, 2015; 平譯ほか, 2001)。すなわち FRRf を行った各地点・各層における採水及び研究室内の作業を伴うことから、リアルタイム測定という FRRf の利便性が損なわれてしまう。

外洋における測定の場合は、先行研究の SCF を用いることもあるが (Lawrenz *et al.*, 2013; Zhu *et al.*, 2019), あくまで同じモデルの FRR 蛍光光度計を使う場合に限られる。いくつかの水域では、Chl-*a* 濃度から植物プランクトン群集の光吸収スペクトルを計算する換算式がある (たとえば Bricaud *et al.*, 1995)。群集のもつアンテナ色素が同じならば、これらの換算式を用いて SCF を計算する方法もある (Kazama *et al.*, 2020)。しかし地域特有のさまざまな植物プランクトン群集について、正確な吸収スペクトルを把握しておくためにも、水域内のさまざまな地点・季節であらかじめ測定しておくことが望ましい。

3.2 吸収ピークと励起光の波長の違い

Prochlorococcus を除くすべての植物プランクトンは Chl-*a* をもつが、集光に使われるアンテナ色素は Chl-*a* 以外にも Chl-*b*, Chl-*c* などさまざまであり、グループごとに異なる。たとえばラン藻 (シアノバクテリア) は、フィコビルリタンパクをアンテナ色素として利用しているため、吸収ピークは 500~570 nm の緑色や、630 nm 付近のオレンジ色にある (Wojtasiewicz and Stoń-Egiert, 2016)。ラン藻のブルームは、 ETR_{PSII} や GPP の推定に大きな誤差を与えるが (Raateoja *et al.*, 2004; Suggett *et al.*, 2001; Zhu *et al.*, 2017), これは、ラン藻の光吸収スペクトルにおけるピーク波長と、青色励起光の波長が一致しないことが原因である。例えば Raateoja *et al.* (2004) は、2 種の糸状ラン藻類 *Nodularia spumigena* と *Aphanizomenon* sp. の吸収ピークが 630 nm 付近にあり、Chl-*a* 用の 470 nm 励起光では、 F_o や F_v/F_m を正しく測定できないことを報告している。また小松ら (2015) が霞ヶ浦の 3 地点において、青色励起光

(450 nm)による FRRf 測定と、¹³C 測定による GPP の同時測定を 1 年間行ったところ、ラン藻ブルーム期において、FRRf は GPP を過小評価してしまう傾向にあったことを報告している。富栄養な淡水生態系においては、ラン藻ブルームが多く見られることから、淡水湖沼における FRRf 測定では、ラン藻の吸収スペクトルを考慮した励起波長を用いなければならない。

最近の FRR 蛍光光度計は、ラン藻のアンテナ色素を対象とした多波長励起光を採用しているタイプもある。例えば Soliense 社のペンチトップ型 FRRf は、5 種類の励起光(445, 470, 505, 530 及び 590 nm)を搭載しており、貧栄養な海域に多く出現する *Synechococcus* や *Prochlorococcus* といった小型ラン藻類の吸収ピークに対応している (Alberte *et al.*, 1984; Moore *et al.*, 1995)。同様に、Photon System Instrument 社の FFL-40 では、457 nm と 593 nm の励起波長を採用している。Houliez *et al.* (2017) は、ラン藻が優占するバルト海において、FFL-40 による光合成活性測定を行い、593 nm の励起光が有効であることを示した。一方、筆者らが使用している FastOcean は、450 nm と 530 nm に加え、フィコシアニンの吸収ピークにより近い 624 nm の励起光を採用している。琵琶湖南湖における夏季の *Anabaena* ブルーム期間中において、FastOcean と明暗ビン法による酸素発生量からそれぞれ ETR_{PSII} を推定すると、青色励起波長のみでは ETR_{PSII} を過小評価する傾向にあったが、624 nm 励起光を用いることにより、酸素発生速度から計算した ETR_{PSII} により近い結果となった (Kazama *et al.*, 2020)。淡水ではその他、クリプト藻もまた、フィコビリタンパクを集光色素として利用する (Toole and Allnut, 2003)。多波長励起 FRRf による淡水での測定例はまだ琵琶湖の例のみであり、さまざまな湖沼の植物プランクトン群集において GPP を正しく推定できるか、さらに検証を積み重ねる必要がある。

3.3 RCII の密度推定

式(ii)で示した [RCII] の推定式について、Boatman *et al.* (2019) は、 K_R/E_{FRRf} が種や栄養塩状態によって大きく異なることを示した。Boatman *et al.* は、 K_R の補正には検出波長 680 nm 及び 730 nm において F_v を測定する必要があること、[RCII] 及び JV_f の正確な算出には、PSII 以外から発せられる蛍光 (F_b ; ベースライン蛍光) について補正する必要があると述べている。 F_b は $F_m - \{F_v/(F_v/F_{mc})\}$ で求められ、培養株では $F_v/F_{mc} = 0.5 \sim 0.52$ であった。ここで、 F_{mc} はベースライン補正済みの最大蛍光強度である。Boatman *et al.* は、これらの補正を考慮した新しいアルゴリズムを提案している。

$$JV_f = [K_R/E_{FRRf}]^{TS} * R_{PE} * (F_{mc} * F_{Oc}) / (F_{mc} - F_{Oc}) * (F_q'/F_{mc}') * E \quad (iii)$$

ここで、 $[K_R/E_{FRRf}]^{TS}$ は機器に特有の F_{Oc} はベースライン補正済みの F_o である。この JV_f の式は Oxborough *et al.* (2012) の Absorption アルゴリズムを改良した形となっている。

[RCII] を O_2 発生量から求める場合には、酸素電極を取りつけたガラスチャンバーに高濃度 (1~5 mg Chl-*a*/L) の試料を満たし、100 μ s 程度のフラッシュを 1 秒間に 10~50 回照射する。 O_2 1 mol の発生には 4 つの RCII が電子を発生させる必要があるため、フラッシュの強さとフラッシュ当たりの O_2 発生量から、RCII と Chl-*a* の比を計算することが出来る (Sugget *et al.* 2003)。Hansatech 社から販売されている Oxygraph+system は、CTG 社の卓上型 FRRf, Act2 システムと連動させることが出来るので、ETR と酸素発生量を同時に測定することが可能である。

3.4 $\phi_{e,c}$ の変動

ETR_{PSII} から炭素固定速度に換算するためには、群集の $\phi_{e,c}$ (炭素当たり電子要求量) を求める必要がある。初期の FRRf 研究を含め、 O_2 発生量に基づく GPP 推定の研究では、 $\phi_{e,c}$ を 4~6 mol e⁻ mol CO₂⁻¹ として計算する場合が多かった。これは、理論的な $\phi_{e,c}$ の最低値が 4 であり、光合成商 (O_2 発生量 / CO₂ 固定量) が経験的に 1~1.5 の値をとるためである (Laws, 1991)。しかし FRRf と炭素固定速度との比較研究が充実してくると、野外群集の $\phi_{e,c}$ は、水域や季節によって大きく変動することが分かってきた。表 3 は、FRRf と従来法の比較から求められた $\phi_{e,c}$ の例を示している。驚くべきことに、海域間で比較した場合、 $\phi_{e,c}$ は 1.0 から 66.5 まで非常に広い値を取り、湖や内湾のような限られた水域内においても、3 倍以上の変動があった。理論値である 4 を下回る例もいくつか報告されているが、これらはラン藻の優占による ETR の過小評価や、ETR 計算における RCII 密度の見積りエラーなどが原因と考えられている (Lawrenz *et al.*, 2013)。ちなみに、培養株を用いた室内実験の場合は、種によって異なるものの、おおむね 5~25 の範囲である (Suggett *et al.*, 2009)。

では、野外植物プランクトン群集の $\phi_{e,c}$ はどのように決まっているのだろうか? 表 3 を見ると、内湾よりも外洋で、比較的高い値が見られる。 $\phi_{e,c}$ が高くなる要因としてまず挙げられるのは、光ストレスである。外洋は内湾・沿岸よりも透明度が高く、植物プランクトンが受ける光エネルギーが過剰になりやすい。過剰な光エネルギーは、PSII の光損傷や活性酸素の発生等を引き起こす (高橋, 2013)。PSII の修復や、活性酸素の除去過程で電子を消費するため、光エネルギーが過剰になるにつれて、CO₂ 固定に使われる電子が相対的に少なくなり、 $\phi_{e,c}$ は上昇する (Hughes *et al.*, 2018)。

PSII の修復や活性酸素の除去過程には、メーラー反応やサイクリック電子伝達反応 (Cyclic electron flow)

表3 FRRf と従来法の比較から求められたさまざまな水域における $\phi_{e,c}$ ($\text{mol e}^- \text{ mol CO}_2^{-1}$) の例.

調査水域	調査期間	比較方法	$\phi_{e,c}$	参考文献
湖				
イギリス湖水地方	2003年2~4月	TCO ₂ 収支	4.0~12.0	(Suggett <i>et al.</i> , 2006)
アイセル湖	2004年6~9月	¹⁴ C	14.7~38.6	(Kromkamp <i>et al.</i> , 2008)
琵琶湖	2018年7月~2019年5月	¹³ C	1.1~31.0	(Kazama <i>et al.</i> 2020)
内湾・沿岸				
マサチューセッツ湾	2000年2~11月	¹⁴ C	8.2~50.2	(Lawrenz <i>et al.</i> , 2013; Melrose <i>et al.</i> , 2006)
フィンランド湾	2000年4~11月	¹⁴ C	2.3~10.1	(Raateoja <i>et al.</i> , 2004)
有明海	2008年5, 11月, 2009年11月, 2010年5月	¹³ C	1.2~26.6	(Zhu <i>et al.</i> , 2016)
オーストラリア沿岸	2014年12月~2015年2月	¹⁴ C	2.8~19.5	(Hughes <i>et al.</i> , 2018)
外洋・複数海域				
熱帯大西洋	2004年9~10月	¹⁴ C	1.3~28.2	(Lawrenz <i>et al.</i> , 2013; Moore <i>et al.</i> , 2006)
東シナ海・対馬海峡	2007~2014年の7・8月	¹³ C	1.0~66.5	(Zhu <i>et al.</i> , 2017)
南大洋	2015年7~8月, 2015年12月~2016年2月	¹³ C	6.9~60.2	(Ryan-Keogh <i>et al.</i> , 2018)

が含まれるが、これらをまとめて AEF (Alternative electron flow, 代替的電子伝達経路) と呼び、CO₂ 固定に使われる電子の流れ (LEF, Linear electron flow) と区別している (Cardol *et al.*, 2011; Miyake, 2010; 久保ら, 2009)。AEF による電子の消費は、PSII のサイクリック電子伝達反応を除けば、PSII より下流で起こる。そのため、光が増加するにつれて、AEF に流れる電子の割合が多くなると、 $\phi_{e,c}$ は上昇すると考えられる。AEF を直接測ることは困難であるが、過剰な光エネルギーを放出するための熱放散の強さ ($\text{NPQ}_{\text{NSV}} = F_o'/F_v'$, 表2) を測定することで、AEF に流れる電子の相対量を知ることが出来る (Falkowski and Raven, 2007; Nawrocki *et al.*, 2015; Saroussi *et al.*, 2016)。実際、野外植物プランクトン群集における $\phi_{e,c}$ と NPQ_{NSV} の間には、高い相関関係があることが報告されている (Ryan-Keogh *et al.*, 2018; Schuback *et al.*, 2015, 2017; Wei *et al.*, 2019; Zhu *et al.*, 2016)。

では沿岸と外洋における $\phi_{e,c}$ の差は、光だけで説明できるのだろうか? 野外群集の $\phi_{e,c}$ の変動要因に関する研究は近年さかんに行われており、光だけでなく、水温、栄養塩、植物プランクトンの群集構造など、複数の環境・生物的要因が複雑に関係していることが示唆されている (Hughes *et al.*, 2018; Lawrenz *et al.*, 2013; Robinson *et al.*, 2014; Ryan-Keogh *et al.*, 2018)。たとえば Lawrenz *et al.* (2013) は複数の海域からなる 14 のデータセットをあわせ、環境条件によって海域をグループ分けし、水温、塩分、透明度、消散係数、Chl-*a*、NO₃ 及び PO₄ 濃度を説明変数、 $\phi_{e,c}$ を目的変数とする重回帰モデル解析を行った。その結果、 $\phi_{e,c}$ を説明する最良モデルはグループごとに異なっており、透明度や消散係数などの光

環境は必ずしも全てのグループで重要ではないこと、いくつかのグループでは温度、NO₃、PO₄、Chl-*a* 濃度が重要であることが示された。さらに、全データセットに対する最良モデルには、水温、NO₃ 及び PO₄ が含まれたが、透明度と消散係数は含まれなかった。また Hughes *et al.* (2018) は、オーストラリア沿岸の植物プランクトン群集を用いて、 $\phi_{e,c}$ が窒素添加によって有意に低下することを示した。すなわち $\phi_{e,c}$ の決定要因として、外洋では主に光ストレスが注目されているが (Schuback *et al.*, 2015, 2017; Wei *et al.*, 2019; Zhu *et al.*, 2016)、実際には調査場所や比較するスケールによって支配的要因が異なる可能性が高い。一方、湖沼における $\phi_{e,c}$ の決定要因については、海洋ほど明らかでないものの、やはり光ストレス以外の要因が重要である、との結果が得られている。Kazama *et al.* (2020) は、琵琶湖の 4 地点において 1 年間、FRRf と ¹³C 法の比較を行い、 $\phi_{e,c}$ を目的変数、環境・生物要因を説明変数とした GLM (一般化線形モデル, Generalized Linear Model) を行った。その結果、最良モデルには光と NPQ_{NSV} が含まれず、水温が最も重要であることが示唆された。水温が $\phi_{e,c}$ に影響するメカニズムは、まだよく分かっていないが、おそらく CO₂ 溶解度の低下、Rubisco の CO₂ 親和性の低下、及び CO₂ 濃縮機構 (CCM, CO₂ concentrating mechanisms) の発現による ATP 及び NADPH の消費、などが原因ではないかと考えられる (Giordano *et al.*, 2005)。

4. 今後の展望

本稿 3.2 で取り上げた課題については、FastOcean

のようなフィコシアニンなどのアンテナ色素に対応したモデルの登場により、ラン藻やクリプト藻の優占する湖沼においても、今後は徐々に知見が蓄積されていくものと期待される。また3.4で取り上げた課題については、 $\phi_{e,c}$ を決定する環境・生物要因の特定が重要である。Lawrenz *et al.*(2013)のメタデータ解析は、世界の海洋の $\phi_{e,c}$ 変動要因が、海域や生物地理的なグループによって大きく異なるという可能性を示した一方、種組成など生物的要因は解析に含まれなかった。今後は $\phi_{e,c}$ と物理要因だけでなく、種組成などの生物的要因を同時に観測していく必要がある。さらに淡水における $\phi_{e,c}$ の測定例はまだ少ないため、今後は多波長励起FRRfを用いて、さまざまな湖沼で知見を積み重ねる必要があるだろう。将来的に、 $\phi_{e,c}$ の一般モデルを開発するためには、まず地域的な $\phi_{e,c}$ と環境・生物要因の関係を明らかにしていくと同時に、理論に基づいたモデルの構築も進めていく必要がある(Oxborough *et al.*, 2012)。少なくとも、頑健な地域的なモデルを得ることが出来れば、従来法よりも簡単に、広く詳細なGPP測定が可能となる。本稿ではGPPの推定について述べたが、気候変動や人的要因による炭素循環への影響を明らかにするためには、純一次生産量(NPP)も測定していく必要がある。今後は、NPPに換算するための $\phi_{e,c(NPP)}$ モデルに対する需要も高まっていくものと思われる。

謝 辞

本稿は地方創生共同研究「健全な水環境保全のための水質・底質環境に関する研究」及び環境研究総合推進費「琵琶湖における有機物収支の把握に関する研究」(5-1607)の支援を受けた研究をもとに執筆されました。

引用文献

Alberte, R. S., Wood, A. M., Kursar, T. A. and Guillard, R. R. L. (1984) Novel phycoerythrins in marine *Synechococcus* spp.: characterization and evolutionary and ecological implications. *Plant Physiology*, 75(3), 732-739. <https://doi.org/10.1104/pp.75.3.732>

Belzile, C., Vincent, W. F., Howard-Williams, C., Hawes, I., James, M. R., Kumagai, M. and Roesler, C. S. (2004) Relationships between spectral optical properties and optically active substances in a clear oligotrophic lake. *Water Resources Research*, 40(12). <https://doi.org/10.1029/2004WR003090>

Belzile, C., Vincent, W. F. and Kumagai, M. (2002) Contribution of absorption and scattering to the attenuation of UV and photosynthetically available

radiation in Lake Biwa. *Limnology and Oceanography*, 47(1), 95-107. <https://doi.org/10.4319/lo.2002.47.1.0095>

Bender, M. L. and Grande, K. D. (1987) Production, respiration, and the isotope geochemistry of O_2 in the upper water column. *Global Biogeochemical Cycles*, 1(1), 49-59. <https://doi.org/10.1029/GB001i001p00049>

Boatman, T. G., Geider, R. J. and Oxborough, K. (2019) Improving the accuracy of single turnover active fluorometry (STAF) for the estimation of phytoplankton primary productivity (phytoPP). *Frontiers in Marine Science*, 6. <https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00319>

Bricaud, A., Babin, M., Morel, A. and Claustre, H. (1995) Variability in the chlorophyll-specific absorption coefficients of natural phytoplankton: Analysis and parameterization. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 100(C7), 13321-13332. <https://doi.org/10.1029/95JC00463>

Cardol, P., Forti, G. and Finazzi, G. (2011) Regulation of electron transport in microalgae. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1807(8), 912-918. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2010.12.004>

Carpenter, E. J. and Lively, J. S. (1980) Review of estimates of algal growth using ^{14}C tracer techniques. In: Falkowski, P. G. (ed.) *Primary Productivity in the Sea*, 161-178. Springer US, Boston, MA. https://doi.org/10.1007/978-1-4684-3890-1_9

Carpenter, J. H. (1965) The Chesapeake Bay Institute technique for the winkler dissolved oxygen method. *Limnology and Oceanography*, 10(1), 141-143. <https://doi.org/10.4319/lo.1965.10.1.0141>

Falkowski, P. G., Barber, R. T. and Smetacek, V. (1998) Biogeochemical controls and feedbacks on ocean primary production. *Science*, 281(5374), 200. <https://doi.org/10.1126/science.281.5374.200>

Falkowski, P. G., Lin, H. and Gorbunov, M. Y. (2017) What limits photosynthetic energy conversion efficiency in nature? Lessons from the oceans. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 372(1730), 20160376. <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0376>

Falkowski, P. G. and Raven, J. A. (2007) *Aquatic Photosynthesis, 2nd Edition*, Princeton University Press, New Jersey. <http://site.ebrary.com/id/10789806>(2020年8月31日確認)

Falkowski, P. G., Wyman, K., Ley, A. C. and Mauzerall, D. C. (1986) Relationship of steady-state photosynthesis to fluorescence in eucaryotic algae. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)* :

- Bioenergetics*, 849(2), 183–192. [https://doi.org/10.1016/0005-2728\(86\)90024-1](https://doi.org/10.1016/0005-2728(86)90024-1)
- Gaarder, T. and Gran, H. H. (1927) Investigation of the production of plankton in the Oslo Fjord. *Rapports et Procès-Verbaux Des Réunions. Conseil Permanent International Pour L'exploration de La Mer*, 42, 1–48.
- Giordano, M., Beardall, J. and Raven, J. A. (2005) CO₂ concentrating mechanisms in algae: mechanisms, environmental modulation, and evolution. *Annual Review of Plant Biology*, 56(1), 99–131. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.56.032604.144052>
- Halsey, K. H., O'Malley, R. T., Graff, J. R., Milligan, A. J. and Behrenfeld, M. J. (2013) A common partitioning strategy for photosynthetic products in evolutionarily distinct phytoplankton species. *New Phytologist*, 198(4), 1030–1038. <https://doi.org/10.1111/nph.12209>
- Hama, T., Miyazaki, T., Ogawa, Y., Iwakuma, T., Takahashi, M., Otsuki, A. and Ichimura, S. (1983) Measurement of photosynthetic production of a marine phytoplankton population using a stable ¹³C isotope. *Marine Biology*, 73(1), 31–36. <https://doi.org/10.1007/BF00396282>
- Harris, G. P. and Lott, J. N. A. (1973) Light intensity and photosynthetic rates in phytoplankton. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 30(12), 1771–1778. <https://doi.org/10.1139/f73-286>
- 橋本慎治・才野敏郎(2004) 海洋における基礎生産測定法とその問題点. *海の研究*, 13(4), 357–370. <https://doi.org/10.5928/kaiyou.13.357>
- Hendricks, M. B., Bender, M. L. and Barnett, B. A. (2004) Net and gross O₂ production in the southern ocean from measurements of biological O₂ saturation and its triple isotope composition. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 51(11), 1541–1561. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2004.06.006>
- 彦坂幸毅(2016) 植物の光合成・物質生産の測定とモデリング, 共立出版, 東京.
- 平譯 享・鈴木光次・岸野元彰・古谷 研・田口 哲・齋藤誠一・才野敏郎・松本和彦・播本孝史・佐々木宏明・藤木徹一・古原慎一・柏俊行(2001) QFT 法及び現場型水中分光吸光度計による植物プランクトンの光吸収スペクトル測定プロトコル. *海の研究*, 10(6), 471–484. <https://doi.org/10.5928/kaiyou.10.471>
- Houliiez, E., Simis, S., Nenonen, S., Ylöstalo, P. and Seppälä, J. (2017) Basin-scale spatio-temporal variability and control of phytoplankton photosynthesis in the Baltic Sea: The first multiwavelength fast repetition rate fluorescence study operated on a ship-of-opportunity. *Journal of Marine Systems*, 169, 40–51. <https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2017.01.007>
- Hughes, D. J., Campbell, D., Doblin, M. A., Kromkamp, J., Lawrenz, E., Moore, C. M., Oxborough, K., Prasil, O., Ralph, P., Alvarez, M. and Suggett, D. (2018) Roadmaps and detours: active chlorophyll-a assessments of primary productivity across marine and freshwater systems. *Environmental Science and Technology*. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b03488>
- Hughes, D. J., Varkey, D., Doblin, M. A., Ingleton, T., McInnes, A., Ralph, P. J., Dongen-Vogels, V. van and Suggett, D. J. (2018) Impact of nitrogen availability upon the electron requirement for carbon fixation in Australian coastal phytoplankton communities. *Limnology and Oceanography*, 63(5), 1891–1910. <https://doi.org/10.1002/lno.10814>
- Kazama, T., Hayakawa, K., Kuwahara, V. S., Shimotori, K., Imai, A. and Komatsu, K. (2020) Development of photosynthetic carbon fixation model using multi-excitation wavelength fast repetition rate fluorometry in Lake Biwa. *BioRxiv*, 2020.08.10.244012. <https://doi.org/10.1101/2020.08.10.244012>
- Kirk, J. T. O. (2011) *Light and Photosynthesis in Aquatic Ecosystems*, 3rd ed, Cambridge University Press, Cambridge, UK, New York.
- Kolber, Z. and Falkowski, P. G. (1993) Use of active fluorescence to estimate phytoplankton photosynthesis in situ. *Limnology and Oceanography*, 38(8), 1646–1665. <https://doi.org/10.4319/lo.1993.38.8.1646>
- Kolber, Z., Zehr, J. and Falkowski, P. (1988) Effects of growth irradiance and nitrogen limitation on photosynthetic energy conversion in photosystem II. *Plant Physiology*, 88(3), 923–929. <https://doi.org/10.1104/pp.88.3.923>
- 小松一弘・今井章雄・富岡典子・高村典子・中川恵・佐藤貴之・霜鳥孝一・高津文人・篠原隆一郎(2015) FRRF (Fast Repetition Rate Fluorometry) 法による一次生産速度測定手法の検討. *土木学会論文集 G(環境)*, 71(7), III_309-III_314. https://doi.org/10.2208/jscejer.71.III_309
- Kromkamp, J., Capuzzo, E. and Philippart, C. J. M. (2017) Measuring phytoplankton primary production: review of existing methodologies and suggestions for a common approach (EcApRHA 3.2/2017). <http://www.vliz.be/imisdocs/publications/89/304289.pdf>(2020年8月31日確認)
- Kromkamp, J. C., Dijkman, N. A., Peene, J., Simis, S. G. H. and Gons, H. J. (2008) Estimating phytoplankton primary production in Lake IJsselmeer (The Netherlands) using variable fluorescence (PAM-

- FRRF) and C-uptake techniques. *European Journal of Phycology*, 43(4), 327–344. <https://doi.org/10.1080/09670260802080895>
- 久保智史・杉本敏男・三宅親弘(2009) 光合成電子伝達反応におけるオルタナティブ・エレクトロン・フロー(The Water-Water Cycle および Cyclic Electron Flow around PSI)を整理してみる：クロロフィル蛍光パラメーターの統一的理解を通して. *光合成研究*, 19(2), 66–74. <https://photosyn.jp/journal/sections/kaiho55-4.pdf>(Accessed 8. 31. 2020)
- Lawrenz, E., Silsbe, G., Capuzzo, E., Ylöstalo, P., Forster, R. M., Simis, S. G. H., Prášil, O., Kromkamp, J. C., Hickman, A. E., Moore, C. M., Forget, M.-H., Geider, R. J. and Suggett, D. J. (2013) Predicting the electron requirement for carbon fixation in seas and oceans. *PLoS ONE*, 8(3), e58137. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0058137>
- Laws, E. A. (1991) Photosynthetic quotients, new production and net community production in the open ocean. *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers*, 38(1), 143–167. [https://doi.org/10.1016/0198-0149\(91\)90059-0](https://doi.org/10.1016/0198-0149(91)90059-0)
- Laws, E. A., Landry, M. R., Barber, R. T., Campbell, L., Dickson, M.-L. and Marra, J. (2000) Carbon cycling in primary production bottle incubations: inferences from grazing experiments and photosynthetic studies using ^{14}C and ^{18}O in the Arabian Sea. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 47(7), 1339–1352. [https://doi.org/10.1016/S0967-0645\(99\)00146-0](https://doi.org/10.1016/S0967-0645(99)00146-0)
- Markager, S. and Vincent, W. F. (2001) Light absorption by phytoplankton: development of a matching parameter for algal photosynthesis under different spectral regimes. *Journal of Plankton Research*, 23(12), 1373–1384. <https://doi.org/10.1093/plankt/23.12.1373>
- Marra, J. (2007) Approaches to the Measurement of Plankton Production. In; Williams, P. J. le B., Thomas, D. N., and Reynolds, C. S. (eds.), *Phytoplankton Productivity*, 78–108. John Wiley & Sons, Ltd., Oxford, UK. <https://doi.org/10.1002/9780470995204.ch4>
- Melrose, D. C., Oviatt, C. A., O'Reilly, J. E. and Berman, M. S. (2006) Comparisons of fast repetition rate fluorescence estimated primary production and ^{14}C uptake by phytoplankton. *Marine Ecology Progress Series*, 311, 37–46. <https://doi.org/10.3354/meps311037>
- Miyake, C. (2010) Alternative electron flows (water-water cycle and cyclic electron flow around PSI) in photosynthesis: molecular mechanisms and physiological functions. *Plant and Cell Physiology*, 51(12), 1951–1963. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcq173>
- Moore, C. M., Suggett, D. J., Hickman, A. E., Kim, Y.-N., Tweddle, J. F., Sharples, J., Geider, R. J. and Holligan, P. M. (2006) Phytoplankton photoacclimation and photoadaptation in response to environmental gradients in a shelf sea. *Limnology and Oceanography*, 51(2), 936–949. <https://doi.org/10.4319/lo.2006.51.2.0936>
- Moore, L. R., Goericke, R. and Chisholm, S. W. (1995) Comparative physiology of *Synechococcus* and *Prochlorococcus*: influence of light and temperature on growth, pigments, fluorescence and absorptive properties. *Marine Ecology Progress Series*, 116(1/3), 259–275. <https://doi.org/10.3354/meps116259>
- Nawrocki, W. J., Tourasse, N. J., Taly, A., Rappaport, F. and Wollman, F.-A. (2015) The plastid terminal oxidase: its elusive function points to multiple contributions to plastid physiology. *Annual Review of Plant Biology*, 66(1), 49–74. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-043014-114744>
- Nielsen, E. S. (1952) The use of radio-active carbon (C^{14}) for measuring organic production in the sea. *ICES Journal of Marine Science*, 18(2), 117–140. <https://doi.org/10.1093/icesjms/18.2.117>
- Oksanen, L., Fretwell, S. D., Arruda, J. and Niemela, P. (1981) Exploitation ecosystems in gradients of primary productivity. *American Naturalist*, 118(2), 240–261. <https://doi.org/10.1086/283817>
- Oxborough, K., Moore, C. M., Suggett, D. J., Lawson, T., Hoi, G. C. and Geider, R. J. (2012) Direct estimation of functional PSII reaction center concentration and PSII electron flux on a volume basis: a new approach to the analysis of Fast Repetition Rate fluorometry (FRRf) data. *Limnology and Oceanography: Methods*, 10(3), 142–154. <https://doi.org/10.4319/lom.2012.10.142>
- Pauly, D. and Christensen, V. (1995) Primary production required to sustain global fisheries. *Nature*, 374, 255. <https://doi.org/10.1038/374255a0>
- Pei, S. and Laws, E. A. (2013) Does the ^{14}C method estimate net photosynthesis? Implications from batch and continuous culture studies of marine phytoplankton. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 82, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2013.07.011>
- Pope, R. M. and Fry, E. S. (1997) Absorption spectrum (380–700 nm) of pure water, II. Integrating cavity measurements. *Applied Optics*, 36(33), 8710–8723. <https://doi.org/10.1364/AO.36.008710>
- Raateoja, M., Seppälä, J. and Kuosa, H. (2004) Bio-optical modelling of primary production in the SW

- Finnish coastal zone, Baltic Sea: fast repetition rate fluorometry in Case 2 waters. *Marine Ecology Progress Series*, 267, 9–26. <https://doi.org/10.3354/meps267009>
- Raateoja, M., Seppälä, J. and Ylöstalo, P. (2004) Fast repetition rate fluorometry is not applicable to studies of filamentous cyanobacteria from the Baltic Sea. *Limnology and Oceanography*, 49(4), 1006–1012. <https://doi.org/10.4319/lo.2004.49.4.1006>
- Regaudie-de-Gioux, A., Lasternas, S., Agustí, S. and Duarte, C. M. (2014) Comparing marine primary production estimates through different methods and development of conversion equations. *Frontiers in Marine Science*, 1, 19. <https://doi.org/10.3389/fmars.2014.00019>
- Robinson, C., Suggett, D. J., Cherukuru, N., Ralph, P. J. and Doblin, M. A. (2014) Performance of fast repetition rate fluorometry based estimates of primary productivity in coastal waters. *Journal of Marine Systems*, 139, 299–310. <https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2014.07.016>
- Ryan-Keogh, T. J., Thomalla, S. J., Little, H. and Melanson, J.-R. (2018) Seasonal regulation of the coupling between photosynthetic electron transport and carbon fixation in the Southern Ocean. *Limnology and Oceanography*, 63(5), 1856–1876. <https://doi.org/10.1002/lno.10812>
- Saroussi, S. I., Wittkopp, T. M. and Grossman, A. R. (2016) The type II NADPH dehydrogenase facilitates cyclic electron flow, energy-dependent quenching, and chlororespiratory metabolism during acclimation of *Chlamydomonas reinhardtii* to nitrogen deprivation. *Plant Physiology*, 170(4), 1975. <https://doi.org/10.1104/pp.15.02014>
- Schuback, N., Hoppe, C. J. M., Tremblay, J.-É., Maldonado, M. T. and Tortell, P. D. (2017) Primary productivity and the coupling of photosynthetic electron transport and carbon fixation in the Arctic Ocean. *Limnology and Oceanography*, 62(3), 898–921. <https://doi.org/10.1002/lno.10475>
- Schuback, N., Schallenberg, C., Duckham, C., Maldonado, M. T. and Tortell, P. D. (2015) Interacting effects of light and iron availability on the coupling of photosynthetic electron transport and CO₂-assimilation in marine phytoplankton. *PLOS ONE*, 10(7), e0133235. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133235>
- Slawy, G., Collos, Y. and Auclair, J.-C. (1977) The use of the ¹³C and ¹⁵N isotopes for the simultaneous measurement of carbon and nitrogen turnover rates in marine phytoplankton. *Limnology and Oceanography*, 22(5), 925–932. <https://doi.org/10.4319/lo.1977.22.5.0925>
- Smyth, T. J., Pemberton, K. L., Aiken, J. and Geider, R. J. (2004) A methodology to determine primary production and phytoplankton photosynthetic parameters from Fast Repetition Rate Fluorometry. *Journal of Plankton Research*, 26(11), 1337–1350. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbh124>
- 園池公毅 (2009) クロロフィル蛍光と吸収による光合成測定. 低温科学, 67, 507–524. <http://hdl.handle.net/2115/65618> (2020年8月31日確認)
- Stramski, D., Reynolds, R. A., Kaczmarek, S., Uitz, J. and Zheng, G. (2015) Correction of pathlength amplification in the filter-pad technique for measurements of particulate absorption coefficient in the visible spectral region. *Applied Optics*, 54(22), 6763–6782. <https://doi.org/10.1364/AO.54.006763>
- Suggett, D. J., Kraay, G., Holligan, P., Davey, M., Aiken, J. and Geider, R. J. (2001) Assessment of photosynthesis in a spring cyanobacterial bloom by use of a fast repetition rate fluorometer. *Limnology and Oceanography*, 46(4), 802–810. <https://doi.org/10.4319/lo.2001.46.4.0802>
- Suggett, D. J., Maberly, S. C. and Geider, R. J. (2006) Gross photosynthesis and lake community metabolism during the spring phytoplankton bloom. *Limnology and Oceanography*, 51(5), 2064–2076. <https://doi.org/10.4319/lo.2006.51.5.2064>
- Suggett, D. J., MacIntyre, H., Kana, T. and Geider, R. J. (2009) Comparing electron transport with gas exchange: parameterising exchange rates between alternative photosynthetic currencies for eukaryotic phytoplankton. *Aquatic Microbial Ecology*, 56, 147–162. <https://doi.org/10.3354/ame01303>
- Suggett, D. J., Moore, C. M., Marañón, E., Omachi, C., Varela, R. A., Aiken, J. and Holligan, P. M. (2006) Photosynthetic electron turnover in the tropical and subtropical Atlantic Ocean. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 53(14), 1573–1592. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2006.05.014>
- Suggett, D. J., Oxborough, K., Baker, N. R., MacIntyre, H. L., Kana, T. M. and Geider, R. J. (2003) Fast repetition rate and pulse amplitude modulation chlorophyll a fluorescence measurements for assessment of photosynthetic electron transport in marine phytoplankton. *European Journal of Phycology*, 38(4), 371–384. <https://doi.org/10.1080/09670260310001612655>
- 鈴木光次・吉川尚・古谷研 (2002) クロロフィル蛍光による植物プランクトンの光合成活性の測定. 日本プランクトン学会報, 49(1), 27–36.
- 高橋俊一 (2013) 過剰な光エネルギーで起こる光阻

害とその防御について(解説特集 光阻害). 光合成研究, 23(2), 57-63. <https://photosyn.jp/journal/sections/kaiho67-4.pdf>(2020年8月31日確認)

Tilzer, M. M., Gieskes, W. W., Heusel, R. and Fenton, N. (1994) The impact of phytoplankton on spectral water transparency in the Southern Ocean: implications for primary productivity. *Polar Biology*, 14(2). <https://doi.org/10.1007/BF00234975>

Toole, C. M. and Allnut, F. C. T. (2003) Red, cryptomonad and glaucocystophyte algal phycobiliproteins. In: Larkum, A. W. D., Douglas, S. E. and Raven, J. A. (eds.), *Photosynthesis in Algae*, 305-334. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-007-1038-2_14

Wei, Y., Zhao, X., Sun, J. and Liu, H. (2019) Fast repetition rate fluorometry (FRRF) derived phytoplankton primary productivity in the Bay of Bengal. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01164>

Williams, P. J. le B., Robinson, C., Sondergaard, M., Jespersen, A.-M., Bentley, T. L., Lefevre, D., Richardson, K. and Riemann, B. (1996) Algal ^{14}C and total carbon metabolisms, 2. Experimental observations with the diatom *Skeletonema costatum*. *Journal of Plankton Research*, 18(10), 1961-1974. <https://doi.org/10.1093/plankt/18.10.1961>

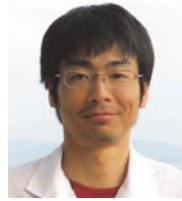
Wojtasiewicz, B. and Stoń-Egiert, J. (2016) Bio-optical characterization of selected cyanobacteria strains present in marine and freshwater ecosystems. *Journal of Applied Phycology*, 28(4), 2299-2314. <https://doi.org/10.1007/s10811-015-0774-3>

Zhu, Y., Ishizaka, J., Tripathy, S. C., Wang, S., Mino, Y., Matsuno, T. and Suggett, D. J. (2016) Variation of the photosynthetic electron transfer rate and electron requirement for daily net carbon fixation in Ariake Bay, Japan. *Journal of Oceanography*, 72(5), 761-776. <https://doi.org/10.1007/s10872-016-0370-4>

Zhu, Y., Ishizaka, J., Tripathy, S., Wang, S., Sukigara, C., Goes, J., Matsuno, T. and Suggett, D. J. (2017) Relationship between light, community composition and the electron requirement for carbon fixation in natural phytoplankton. *Marine Ecology Progress Series*, 580, 83-100. <https://doi.org/10.3354/meps12310>

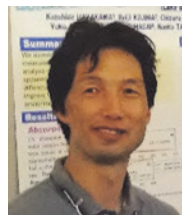
Zhu, Y., Suggett, D. J., Liu, C., He, J., Lin, L., Le, F., Ishizaka, J., Goes, J. and Hao, Q. (2019) Primary Productivity Dynamics in the Summer Arctic Ocean Confirms Broad Regulation of the Electron Requirement for Carbon Fixation by Light-Phytoplankton Community Interaction. *Frontiers in Marine Science*, 6. <https://doi.org/10.3389/fmars>

2019.00275



風間 健宏 / Takehiro KAZAMA

潮間帯の動物プランクトン研究からスタートし、沿岸の有絨織毛虫の系統と生態で学位を取得。その後、陸水分野に移行し、北米湖沼における野外光操作実験に従事。現在は琵琶湖で大型緑藻が増加した原因について解明するため、FRRFを用いた光合成活性と一次生産の研究を進めている。またヨシ帯のミジンコ動態や、ミジンコ付着藻類にも興味を持っている。福島県出身。東北大学大学院生命科学科修了(博士)。



早川 和秀 / Kazuhide HAYAKAWA

滋賀県琵琶湖環境科学研究センター総合解析部門 部門長兼総括研究員。名古屋大学大学院 理学研究科大気圏科学専攻修了, 博士(理学)。水圏の有機物動態や循環が専門。地球化学的アプローチによる海洋や湖沼の有機物動態に取り組んできた。現職場の配属から琵琶湖の水質管理の問題に従事。湖は社会を映す鏡であることを日々実感している。モンゴルや中国での湖沼水質の調査経験もあり、大きな湖沼での水質形成に興味がある。



霜鳥 孝一 / Koichi SHIMOTORI

国立研究開発法人 国立環境研究所 琵琶湖分室 研究員。2013年 国立環境研究所 地域環境研究センター 特別研究員, 2017年から現職。琵琶湖分室の研究テーマ「健全な水環境保全のための水質・湖底環境に関する研究」において有機物収支、底泥環境の評価と底泥溶出に関する研究を担当。



今井 章雄 / Akio IMAI

国立研究開発法人 国立環境研究所 琵琶湖分室 分室長。1988年米国テキサス大学オースチン校 大学院博士課程修了, Ph.D.(Civil Engineering)。同年 国立公害研究所入所, 2014年 国立環境研究所・地域環境研究センター長, 2017年から現職。1995年から現在まで、水環境における溶存有機物(DOM)の特性・起源・影響に関する研究を実施。化学的分画, トリハロメタン生成能, 鉄の存在形態, アオコ増殖への影響, ^{14}C 年代測定, 底泥溶出, 分子サイズ分布, 藻類一次生産速度, 細菌に次生産速度, など。DOMは一見地味だが、多岐に渡り水環境に大きな影響を及ぼしている。興味は尽きない。2005年 生態学琵琶湖賞受賞。



小松 一弘 / Kazuhiro KOMATSU

水道水源における溶存有機物の特性評価と浄水場での処理特性に関する研究で学位を取得。国立環境研究所では、一般的な自然湖沼や河川を対象としてその水質に関する研究を進めてきた。現在ではこれまでの成果を応用して、有機物がもたらす微細藻類の成長促進作用を解明するべく奮闘している。また湧水がもたらす生態系サービスの定量的評価についても興味を持っている。兵庫県出身。東京大学大学院工学系研究科修了(博士)。