

クロロフィル蛍光を利用した基礎生産の推定*

藤木 徹一**・才野 敏郎†

Estimation of Phytoplankton Productivity Using Chlorophyll Fluorescence

Tetsuichi Fujiki and Toshiro Saino

植物プランクトンの生体内クロロフィル蛍光は、光合成の光化学反応と関係しているため、光合成速度（基礎生産力）の推定に利用されている。このクロロフィル蛍光を用いた方法では、ボトル培養を必要とせず、簡便かつ連続的に、基礎生産力を測定することが出来る。また、その測定機器をブイやフロートなどの海洋観測プラットフォームに搭載することで、長期間の基礎生産力の時系列観測も可能となる。本稿では、クロロフィル蛍光法の中でも、海洋現場で比較的多く利用されている自然蛍光法と高速フラッシュ励起蛍光法について紹介する。今後、これらの測定手法を多用することで、海洋での基礎生産力の時空間的変動をより詳細に明らかにすることが出来るであろう。

Variability in *in vivo* chlorophyll fluorescence is related to the efficiency of photochemical reaction in photosystem II, and hence can be used for estimating the photosynthetic rate (primary productivity). The chlorophyll fluorescence technique is useful because primary productivity can be conveniently and continuously estimated without the need for time-consuming bottle incubations. In addition, since the instrument for measuring chlorophyll fluorescence can be operated from platform systems such as buoys and floats, this technique enables the long-term measurement of primary productivity in the ocean. Here, we describe the theory underlying the natural fluorescence method and fast repetition rate fluorometry, which have frequently been used to estimate *in situ* primary productivity. The utilization of these methods is expected to facilitate significant progress in our understanding of the spatial and temporal variability in primary productivity in the ocean.

キーワード：蛍光・高速フラッシュ励起蛍光法・酸素発生・自然蛍光法・炭素固定

はじめに

海洋での物質循環を明らかにするためには、植物プランクトンの基礎生産力（光合成速度）を測定することが必要である。光合成反応では酸素が発生し、二酸化炭素が固定されるため、基礎生産力は、酸素発生速度または炭素固定速度として表される。これまで、これらの速度を測定するために、酸素明暗ビン法 (Williams *et al.*, 1983¹⁾) や炭素トレーサー法 (Steeman Nielsen, 1952²⁾) などのボトル培養法が広く利用されてきた。このボトル培養に基づく測定法では、係留による現場法や甲板上での擬似現場法を行うため、多くの労力と時間を要し、測定の頻度や間隔が制限される。この方法的制限が、海洋での基礎生産力の時空間的変動を明らかにする上で大きな障害となっている (高橋, 1999³⁾)。

この問題を解決する方法の1つとして、植物プランクトンの生体内クロロフィル蛍光（以下、クロロフィル蛍光と記述）を利用し、基礎生産力を推定する試みが行われてきた (Kiefer *et al.*, 1989⁴⁾; Hartig *et al.*, 1998⁵⁾; Kolber and Falkowski, 1993⁶⁾; Suggett *et al.*, 2001⁷⁾)。クロロフィル蛍光とは、光化学系IIの集光性クロロフィル *a* から放射される683 nm 付近を中心とした蛍光の通称で、植物プランクトンが吸収した光エネルギーに由来する。植物プランクトンの光吸収は、チラコイド膜内でタンパク質と複合体を形成した色素（クロロフィル、カロテノイド、フィコビルン）によって行われる。吸収した光エネルギーは、(a) 光合成に利用される（光化学反応）、(b) 熱として放散される、(c) 蛍光として放射される（クロロフィル蛍光）のいずれかに分配される。光化学反応に分配されたエネルギーは、電子伝達系を介し、光化学系Iに伝達され、最終的にカルビン回路で二酸化炭素の固定に利用される (Fig. 1)。これら (a)~(c) の3つのプロセスは競合していて、1つのプロセスの収率が増加すると、残り2つの収率が減少する。特に、この競合は、植物プランクトンの光化学反応の状態

* 2006年12月18日受領, 2007年5月9日受理

** 海洋研究開発機構 むつ研究所

† 名古屋大学地球水循環研究センター

連絡先: 藤木徹一, 海洋研究開発機構 むつ研究所

〒035-0022 青森県むつ市大字関根字北関根690番地

E-mail: tfujiki@jamstec.go.jp

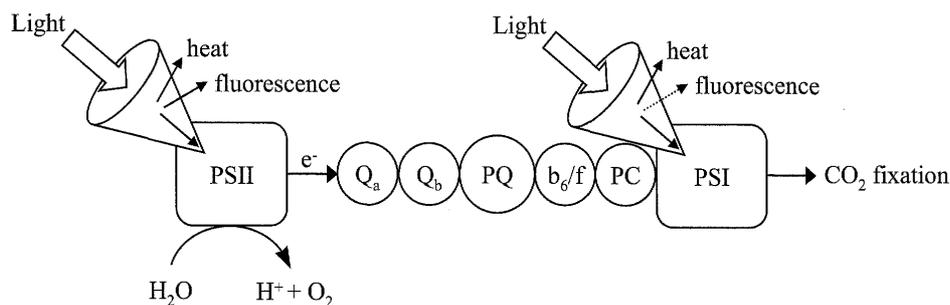


Fig. 1 Simplified diagram of photosystems. PS: photosystem, Q_a : the first electron acceptor, Q_b : the second electron acceptor, PQ: plastoquinone, b_6/f : cytochrome b_6/f , PC: plastocyanin.

に依存し、光化学反応の収率が高い時は、熱と蛍光になる収率が低下し、逆に、光化学反応の効率が低い時は、熱と蛍光として放出される収率が高まる。クロロフィル蛍光として放射される割合は、吸収した全光量の約1～2%とごく僅かだが (Maxwell and Johnson, 2000⁸), 測定器の進歩により、海中でも比較的容易に測定することが出来る。従って、クロロフィル蛍光を測定することで、光化学反応の収率を求め、基礎生産力を見積もることが可能となる。クロロフィル蛍光を利用した方法では、その測定にボトル培養を必要としないため、海洋現場での基礎生産力の鉛直かつ水平的な分布をより詳細に測定することが出来る。また、測定機器を、係留ブイや昇降フロートなどの海洋観測プラットフォームに搭載することで、連続的な時系列観測も可能となる。クロロフィル蛍光を利用した方法には、自然蛍光法⁴⁾、パルス変調法⁵⁾、ポンプ&プローブ法⁶⁾、高速フラッシュ励起蛍光法⁷⁾などがある。後者3つの方法は、その測定にキセノンランプや発光ダイオードなどの人工光源を利用するため、総称してアクティブ蛍光法と呼ばれている。アクティブ蛍光法の中でも、高速フラッシュ励起蛍光法は、より多くの光合成に関係したパラメーターを測定出来る。そこで、本稿では、海洋観測で比較的多く利用されている自然蛍光法と高速フラッシュ励起蛍光法について紹介する。

自然蛍光法 (NF 法)

自然蛍光とは、植物プランクトンが太陽光 (自然光) を吸収した時に放射される683 nm 付近を中心波長としたクロロフィル蛍光をいう。理論的には、太陽光に含まれる赤色光の大部分が浅い深度で水により吸収されるため、海中のこの波長付近の上向き輝度はほぼ自然蛍光とみなすことが出来る (Fig. 2)。1970年代に、Morel and Prieur (1977)⁹⁾が、海洋の垂表層での拡散反射スペクトルの測定から、Neville and Gower (1977)¹⁰⁾が、海面上

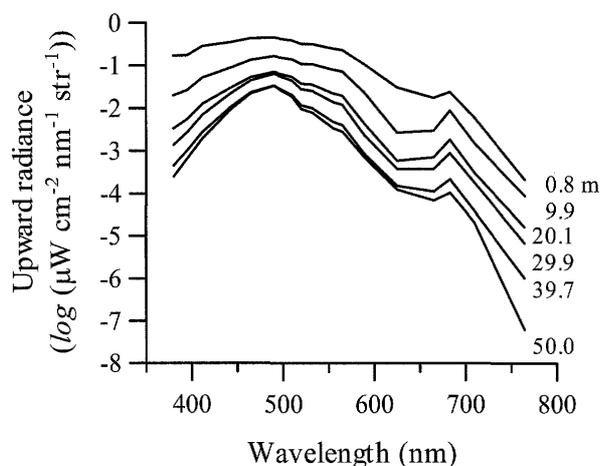


Fig. 2 Spectral distribution of upward radiance in Sagami Bay, measured with a profiling reflectance radiometer (PRR800, Biospherical Instruments Inc.).

の放射輝度の測定から、自然蛍光のシグナルを検出することに成功した。その後も、数多くの研究が行われ (Gordon, 1979¹¹⁾; Kattawar and Vastano, 1982¹²⁾; Kishino *et al.*, 1984¹³⁾等), 自然蛍光をより正確に測定するためには、海中での太陽光の後方散乱やラマン散乱, また, 溶存物質からの蛍光などを考慮することが必要であることが指摘された。そのような中, Kiefer *et al.* (1989)⁴⁾は, 自然蛍光から植物プランクトンの生物量 (クロロフィル *a* 濃度) や基礎生産力を推定する方法を考案した。ここでは, Kiefer *et al.* (1989)⁴⁾と Chamberlin *et al.* (1990)¹⁴⁾の理論を基に, 自然蛍光を利用した基礎生産力の推定法について説明する。

この方法では, 海中で放射輝度計によって測定される上向き輝度から, 自然蛍光フラックスを算出し, 光化学反応と蛍光の関係を利用することで, 基礎生産力を推定する。

水深 z m での自然蛍光フラックス $F_f(z)$ mol quanta $m^{-3} s^{-1}$ は, (1)式で表される。

$$F_f(z) = 4\pi \cdot [k_{PAR}(z) + a(z)] \cdot L_u(z) \quad (1)$$

ここで、 4π は幾何定数(str), $k_{PAR}(z)$ は波長400–700 nmの光合成有効放射 PAR の消散係数 (m^{-1}), $a(z)$ は水とそれに含まれる物質の全吸光係数 (m^{-1}), $L_u(z)$ は自然蛍光の上向き放射輝度 ($mol\ quanta\ m^{-2}\ s^{-1}\ str^{-1}$)である。また、 $a(z)$ は、自然蛍光の中心波長である683 nmにおける水とそれに含まれる物質の吸光係数の和 $a(683, z)m^{-1}$ に等しい。

$$a(683) = a_w(683) + a_p(683) + a_d(683) + a_y(683) \quad (2)$$

ここで、 $a_w(683)$, $a_p(683)$, $a_d(683)$, $a_y(683)$ はそれぞれ波長683 nmにおける水、植物プランクトン、懸濁物質、溶存有機物の吸光係数 (m^{-1})である。 $a_w(683)$ は、Smith and Baker (1981)¹⁵⁾によって測定された $0.46\ m^{-1}$ を用いる。 $a_y(683)$ は、 $a_w(683)$ の値に比べて極めて低いため、無視することが出来る。また、外洋域などクロロフィル a 濃度が低い海域 ($< 2\ mg\ m^{-3}$) では、 $k_{PAR}(z)$, $a_p(683)$, $a_d(683)$ の変動が小さいため、 $k_{PAR}(z) + a(z)$ を一定値 ($0.52\ m^{-1}$)として仮定することが出来る。しかし、クロロフィル a 濃度が高い沿岸域などでは、 $k_{PAR}(z)$, $a_p(683)$, $a_d(683)$ が大きく変動するため、これらのパラメーターを実測することが望ましい。 $k_{PAR}(z)$ は、(3)式で近似させて求めることが出来る。

$$E(z) = E(0) \cdot \exp(-k_{PAR} \cdot z) \quad (3)$$

ここで、 $E(z)$ と $E(0)$ はPARセンサーによって測定される水深 $z\ m$ と海面直下でのスカラー放射照度 ($mol\ quanta\ m^{-2}\ s^{-1}$)である。 $a_p(683)$ と $a_d(683)$ は、グラスファイバーフィルターを用いたQFT法 [quantitative filter technique] (Sosik, 1999¹⁶⁾)で測定出来る。

また、自然蛍光フラックス $F_f(z)$ は、植物プランクトンが吸収した光量子 $F_a(z)\ mol\ quanta\ m^{-3}\ s^{-1}$ と蛍光の量子収率 $\phi_f(z)\ mol\ quanta\ fluoresced\ (mol\ quanta\ absorbed)^{-1}$ の積として表される (式4)。

$$F_f(z) = F_a(z) \cdot \phi_f(z) \quad (4)$$

(4)式と同様に、NF法により求められる単位体積当たりの炭素固定速度 $P_c(z)\ mol\ C\ m^{-3}\ s^{-1}$ は、 $F_a(z)$ と光合成の量子収率 $\phi_c(z)\ mol\ C\ mol\ quanta^{-1}$ の積として表すことが出来る (式5)。

$$P_c(z) = F_a(z) \cdot \phi_c(z) \quad (5)$$

従って、(4)式を(5)式に代入すると、(6)式が得られる。

$$P_c(z) = \phi_c(z) / \phi_f(z) \cdot F_f(z) \quad (6)$$

ここで、 F_f は(1)式より求められるため、光合成と蛍光の量子収率の比 $\phi_c(z) / \phi_f(z)$ を与えることで、 $P_c(z)$ を得ることが出来る。 $\phi_c(z) / \phi_f(z)$ は、自然蛍光と同時に測定することが出来ないため、Chamberlin *et al.* (1990)¹⁴⁾は、南太平洋、サルガッソー海などでの観測データを基に、 $\phi_c(z) / \phi_f(z)$ を光の関数で表す経験式を導いた (式7)。

$$\phi_c(z) / \phi_f(z) = (\phi_c / \phi_f)_{\max} \cdot k_{cf} [k_{cf} + E(z)] \quad (7)$$

ここで、 $(\phi_c / \phi_f)_{\max}$ は光合成と蛍光の量子収率の比の最大値 [$= 2.3\ mol\ C\ (mol\ quanta)^{-1}$], k_{cf} は $\phi_c(z) / \phi_f(z)$ が $(\phi_c / \phi_f)_{\max}$ の半分の値になる時の照度 ($= 133\ \mu mol\ quanta\ m^{-2}\ s^{-1}$)である。従って、(7)式を(6)式に代入すると、(8)式が得られる。

$$P_c(z) = (\phi_c / \phi_f)_{\max} \cdot k_{cf} [k_{cf} + E(z)] \cdot F_f(z) \quad (8)$$

Chamberlin *et al.* (1990)¹⁴⁾は、この経験式を用いて測定された $P_c(z)$ と炭素トレサー法から測定された炭素固定速度との間に有意な相関関係があることを示した。その後、様々な海域 (湖沼も含め) で、NF法を用いた基礎生産力推定の試みが行われ、その有用性が実証された (Chamberlin and Marra, 1992¹⁷⁾; Lizotte and Priscu, 1994¹⁸⁾; Garcia-Mendoza and Maske, 1996¹⁹⁾; Westberry and Siegel, 2003²⁰⁾; Yoshikawa and Furuya, 2004²¹⁾)。これらの研究を通じて、 $\phi_c(z) / \phi_f(z)$ の変動が光だけでなく水温、栄養塩濃度、クロロフィル a 濃度などにも関係していることが明らかにされた。また、Garcia-Mendoza and Maske (1996)¹⁹⁾は、光化学反応で作られしたエネルギーの一部が、カルビン回路での炭素固定でなく、呼吸や硝酸還元などの別の代謝過程に利用されることが、 $\phi_c(z)$ と $\phi_f(z)$ の関係を複雑にする指摘している。従って、NF法では、 $\phi_c(z)$ と $\phi_f(z)$ をどのようにして求めるかが、より正確に基礎生産力を推定するための課題となっている。

高速フラッシュ励起蛍光法 (FRR法)

1990年代に米国のZ. Kolberらによって開発されたFRR法 (Kolber *et al.*, 1998²²⁾)は、植物プランクトンに閃光を連続照射することでKautsky効果 (Kautsky and Hirsh, 1931²³⁾)と呼ばれるクロロフィル蛍光の誘導現象を観測出来る (Fig. 3)。このクロロフィル蛍光の増減は、吸収した光エネルギーの中で光化学反応に利用される割合に関係し、特に、電子伝達系の酸化還元反応の状態に依存する (Fig. 1)。例えば、植物プランクトンを暗所に一定時間おき、閃光を照射すると、電子伝達系の第一電子受容体 Q_a が酸化状態 (電子を受け取ることが出来る)であるため、光化学反応が進行し、蛍光として

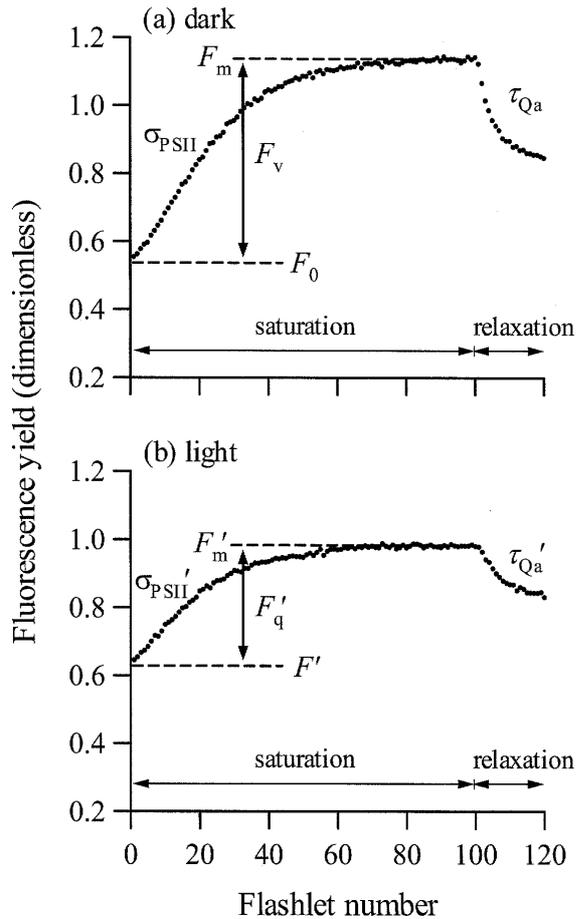


Fig. 3 Representative fluorescence transients in the dark (a) and under ambient light (b), measured with the FRR fluorometer (FAST^{tracka}, Chelsea Instruments Ltd.).

放射されるエネルギー量は少ない。しかし、さらに閃光を照射していくと、徐々に Q_a が還元状態（電子を受け取ることが出来ない）になるため、蛍光として放射されるエネルギー量が増加していく。実際の測定では、植物プランクトンを含む海水試料に、青色発光ダイオードによる閃光（閃光幅：約1 μ s, 強度：約30 $\text{mmol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ）を100 kHz程度で100発ほど連続照射し、放射される683 nm付近の蛍光収率（閃光の強さに対する蛍光の強さ）の変化を測定する（飽和過程）。この頻度で閃光を照射すると、 Q_a は再酸化されず、還元されたものの割合が次第に増すため、蛍光収率は徐々に増加する。なお、 Q_a の再酸化に要する時間は、およそ160–600 μ sである（Falkowski *et al.*, 1986²⁴；Kolber *et al.*, 1988²⁵）。 Q_a が完全に還元状態になり最大の蛍光収率が得られた後、同じ閃光を50–100 μ sの間隔で20発ほど連続照射し、 Q_a の再酸化による蛍光収率の減少を測定する（緩和過程）。この一連のプロセスを、植物プランクトンが太陽光を浴びた状態（明条件）と浴びていない状態（暗条件）で行い、各条件でのクロロフィル蛍光の誘導曲線

を測定することで、光化学系IIに関するパラメーターを求めることが出来る（Fig. 3）。ここで、明条件下の最大蛍光収率 F'_m が、暗条件下の最大蛍光収率 F_m に比べて低くなるのは、非光化学消光と呼ばれる熱放散反応の進行による蛍光収率の減少（Falkowski and Raven, 1997²⁶）が起きるためである。暗条件下で測定される光化学系IIの量子収率 F_v/F_m 、有効光吸収断面積 σ_{PSII} 、 Q_a の再酸化時定数 τ_{Qa} などは、植物プランクトンの潜在的な光合成能力を示す指標として広く利用されている（Boyd and Abraham, 2001²⁷；Suzuki *et al.*, 2002²⁸；Moore *et al.*, 2003²⁹）。また、これらのパラメーターを用いて、基礎生産力を推定することが出来る。ここでは、Suggett *et al.*（2003³⁰, 2005³¹）を基に、基礎生産力の推定法について説明する。

この方法では、暗・明条件下で測定される光化学系IIのパラメーターを用いて、電子伝達速度を見積もり、さらに電子伝達による酸素発生収率等を与えることで、基礎生産力を求める。

光化学系の反応中心では1光子の吸収で1電子が発生するため、照度 $E \text{ mol quanta m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ における光化学系IIの反応中心当たりの電子伝達速度 $ETR^{RCII} \text{ mol e}^{-} \text{ mol RCII}^{-1} \text{ s}^{-1}$ は、(9)式で表される。

$$ETR^{RCII} = E \cdot \sigma_{PSII}' \cdot F_q' / F_v' \quad (9)$$

ここで、 σ_{PSII}' は明条件で測定された光化学系IIの有効光吸収断面積（ $\text{\AA}^2 \text{ quanta}^{-1}$ ）、 F_q' / F_v' は明条件での光化学系IIの効率係数（dimensionless）で、式(10)で表される。

$$F_q' / F_v' = (F'_m - F') / (F'_m - F_0') \quad (10)$$

ここで、各パラメーターについては、Fig. 3を参照して頂きたい。明条件下での最小蛍光収率 F_0' は、式(11)を用いて求めることが出来る（Oxborough and Baker, 1997³²）。

$$F_0' = F_0 / [(F_v / F_m) + (F_0 / F_m')] \quad (11)$$

さらに、単位クロロフィル a 当たりの酸素発生速度 $P^b_{O_2} \text{ mol O}_2 (\text{mol Chl}a)^{-1} \text{ s}^{-1}$ は、式(12)で見積もることが出来る。

$$P^b_{O_2} = ETR^{RCII} \cdot 1/k \cdot n_{PSII} \quad (12)$$

ここで、 $1/k$ は光化学系IIの電子伝達による酸素発生の最大収率 [$=0.25 \text{ mol O}_2 (\text{mol e}^{-})^{-1}$]、 n_{PSII} は光化学系IIにおけるクロロフィル a 当たりの反応中心の数 [$\text{mol RCII} (\text{mol Chl}a)^{-1}$]で、海洋現場では容易に測定することが出来ないため、平均的な値 [$=0.002 \text{ mol RCII} (\text{mol Chl}a)^{-1}$]が用いられている（Kolber and Falkowski,

1993⁶⁾). しかし, 植物プランクトン培養株を用いた実験で, n_{PSII} が植物プランクトンの種類や生育環境によって変動することが示されており (Suggett *et al.*, 2004³³⁾), 海洋現場において n_{PSII} を測定する方法の確立が望まれる.

また, 酸素発生速度と炭素固定速度の比である光合成商 R mol O₂ (mol C)⁻¹ を与えることで, 炭素固定速度 P^b_c mol C (mol Chl *a*)⁻¹ s⁻¹ を推定することも可能である (13式).

$$P^b_c = P^b_{O_2} / R \quad (13)$$

ここで, R は 1–1.5 mol O₂ (mol C)⁻¹ が一般に用いられている (Suggett *et al.*, 2001⁷⁾; Moore *et al.*, 2003²⁹⁾; Raateoja *et al.*, 2004³⁴⁾).

これまで, FRR 法により求められる酸素発生速度や炭素固定速度を検証するため, 酸素明暗ビン法・酸素同位法 (Suggett *et al.*, 2003³⁰⁾; Sarma *et al.*, 2005³⁵⁾, 2006³⁶⁾) や炭素トレサー法 (Suggett *et al.*, 2001⁷⁾; Moore *et al.*, 2003²⁹⁾; Raateoja *et al.*, 2004³⁴⁾) との比較実験が行われてきた. これら比較実験の結果によると, FRR 法と酸素明暗ビン法・酸素同位法による酸素発生速度の比較の方が, FRR 法と炭素トレサー法による炭素固定速度の比較に比べ, 高い相関関係を示していた. この結果は, クロロフィル蛍光が, 機能的に光化学系 II における電荷電離と酸素発生に関連していることによる. NF 法でも指摘されるように (前述), 光化学系 II で作られたエネルギーの一部が, 呼吸や硝酸還元などの代謝過程に利用されることが, FRR 法においても炭素固定速度の推定に誤差を生じさせる. 従って, 炭素固定速度をより正確に見積もるためには, これらの代謝過程の影響を考慮することが必要である. 当面は, 電子伝達に基づく FRR 法の基礎生産力は, 酸素発生速度として表すことが適当だと考えられる.

おわりに

本シンポジウムで討論された沿岸海域は, 外洋域に比べ, 潮流や淡水の流入などにより海洋環境が大きく変化するため, 基礎生産力の変動も複雑となる. 従って, 海洋観測プラットフォームに測定機器を搭載できる NF 法や FRR 法は, 沿岸海域での基礎生産力の変動を明らかにするために, 特に有効な手法だと考えられる. 実際に, 沿岸海域で, NF 法や FRR 法を用いた基礎生産力のモニタリングが行われている. Yoshikawa and Furuya (2004)²¹⁾ は, 大槌湾中央部の定点に自然蛍光光度計を係留し, 数ヶ月間, 基礎生産力の連続観測に成功した. また, 才野 (2004)³⁷⁾ は, 高速フラッシュ励起蛍光光度計

を搭載した自動昇降計測システムを開発し, 相模湾中央部で基礎生産力の時系列鉛直プロファイルデータを取得することに成功した. 今後, さらに, このような試みが行われることで, 従来の測定法では検出が困難であったイベントの現象を含め, 海洋環境の変化に対する基礎生産力の変動を明らかにするプロセス研究が行えると期待される.

参考文献

- Williams, P. J. leB., K. R. Heinemann, J. Marra and D. A. Purdie (1983): Comparison of ¹⁴C and O₂ measurements of phytoplankton production in oligotrophic waters. *Nature*, **305**, 49–50.
- Steemann Nielsen, E. (1952): The use of radioactive carbon (¹⁴C) for measuring organic production in the sea. *Cons. Int. Expl. Mer.*, **18**, 117–140.
- 高橋正征 (1999): なぜ, 我々は一次生産に着目するのか? *月刊海洋*, **21**, 8–12.
- Kiefer, D. A. and W. S. Chamberlin (1989): Natural fluorescence of chlorophyll *a*: Relationship to photosynthesis and chlorophyll concentration in the western South Pacific gyre. *Limnol. Oceanogr.*, **34**, 868–881.
- Hartig, P., K. Wolfstein, S. Lippemeier and F. Colijn (1998): Photosynthetic activity of natural microphytobenthos populations measured by fluorescence (PAM) and ¹⁴C-tracer methods: a comparison. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **166**, 53–62.
- Kolber, Z. and P. G. Falkowski (1993): Use of active fluorescence to estimate phytoplankton photosynthesis *in situ*. *Limnol. Oceanogr.*, **38**, 1646–1665.
- Suggett, D., G. Kraay, P. Holligan, M. Davey, J. Aiken and R. Geider (2001): Assessment of photosynthesis in a spring cyanobacterial bloom by use of a fast repetition rate fluorometer. *Limnol. Oceanogr.*, **46**, 802–810.
- Maxwell, K. and G. N. Johnson (2000): Chlorophyll fluorescence - a practical guide. *J. Exp. Bot.*, **51**, 659–668.
- Morel, A. and L. Prieur (1977): Analysis of variations in ocean color. *Limnol. Oceanogr.*, **22**, 709–722.
- Neville, R. A. and J. F. R. Gower (1977): Passive remote sensing of phytoplankton via chlorophyll *a* fluorescence. *J. Geophys. Res.*, **82**, 3487–3493.
- Gordon, H. (1979): Diffuse reflectance of the ocean: the theory of its augmentation by chlorophyll *a* fluorescence at 685 nm. *Appl. Opt.*, **18**, 1161–1166.
- Kattawar, G. W. and J. C. Vastano (1982): Exact 1-D solution to the problem of chlorophyll fluorescence from the ocean. *Appl. Opt.*, **21**, 2489–2492.
- Kishino, M., S. Suginozono and N. Okami (1984): Estimation of quantum yield of chlorophyll *a* fluorescence from the upward irradiance spectrum in the sea. *La mer*, **22**, 233–240.
- Chamberlin, W. S., C. R. Booth, D. A. Kiefer, J. H. Morrow and R. C. Murphy (1990): Evidence for a simple relationship between natural fluorescence, photosynthesis and chlorophyll in the sea. *Deep-Sea Res.*, **37**, 951–973.
- Smith, R. C. and K. S. Baker (1981): Optical properties of the clearest natural waters (200–800 nm). *Appl. Opt.*, **20**, 177–184.
- Sosik, H. M. (1999): Storage of marine particulate samples for

- light-absorption measurements. *Limnol. Oceanogr.*, **44**, 1139–1141.
- 17) Chamberlin, S. and J. Marra (1992): Estimation of photosynthetic rate from measurements of natural fluorescence: analysis of the effects of light and temperature. *Deep-Sea Res.*, **39**, 1695–1706.
- 18) Lizotte, M. P. and J. C. Priscu (1994): Natural fluorescence and quantum yields in vertically stationary phytoplankton from perennially ice-covered lakes. *Limnol. Oceanogr.*, **39**, 1399–1410.
- 19) Garcia-Mendoza, E. and H. Maske (1996): The relationship of solar-stimulated natural fluorescence and primary productivity in Mexican Pacific waters. *Limnol. Oceanogr.*, **41**, 1697–1710.
- 20) Westberry, T. K. and D. A. Siegel (2003): Phytoplankton natural fluorescence variability in the Sargasso Sea. *Deep-Sea Res. I*, **50**, 417–434.
- 21) Yoshikawa, T. and K. Furuya (2004): Long-term monitoring of primary production in coastal waters by an improved natural fluorescence method. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **273**, 17–30.
- 22) Kolber, Z. S., O. Prášil and P. G. Falkowski (1998): Measurements of variable chlorophyll fluorescence using fast repetition rate techniques: defining methodology and experimental protocols. *Biochim. Biophys. Acta*, **1367**, 88–106.
- 23) Kautsky, H. and A. Hirsh (1931): Neue Versuche zur Kohlensäuerassimilation. *Naturwissenschaften*, **19**, 964.
- 24) Falkowski, P. G., K. Wyman, A. C. Ley and D. C. Mauzerall (1986): Relationship of steady-state photosynthesis to fluorescence in eucaryotic algae. *Biochim. Biophys. Acta*, **849**, 183–192.
- 25) Kolber, Z., J. Zehr and P. G. Falkowski (1988): Effects of growth irradiance and nitrogen limitation on photosynthetic energy conversion in photosystem II. *Plant Physiol.*, **88**, 923–929.
- 26) Falkowski, P. G. and J. A. Raven (1997): *Aquatic photosynthesis*. Blackwell Science, Massachusetts, 375pp.
- 27) Boyd, P. W. and E. R. Abraham (2001): Iron-mediated changes in phytoplankton photosynthetic competence during SOIREE. *Deep-Sea Res. II*, **48**, 2529–2550.
- 28) Suzuki, K., H. Liu, T. Saino, H. Obata, M. Takano, K. Okumura, Y. Sohrin and Y. Fujishima (2002): East-west gradients in the photosynthetic potential of phytoplankton and iron concentration in the subarctic Pacific Ocean during early summer. *Limnol. Oceanogr.*, **47**, 1581–1594.
- 29) Moore, C. M., D. Suggett, P. M. Holligan, J. Sharples, E. R. Abraham, M. I. Lucas, T. P. Rippeth, N. R. Fisher, J. H. Simpson and D. J. Hydes (2003): Physical controls on phytoplankton physiology and production at a shelf sea front: a fast repetition-rate fluorometer based field study. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **259**, 29–45.
- 30) Suggett, D. J., K. Oxborough, N. R. Baker, H. L. Macintyre, T. M. Kana and R. J. Geider (2003): Fast repetition rate and pulse amplitude modulation chlorophyll *a* fluorescence measurements for assessment of photosynthetic electron transport in marine phytoplankton. *Eur. J. Phycol.*, **38**, 371–384.
- 31) Suggett, D. J., C. M. Moore, K. Oxborough and R. J. Geider (2005): Fast repetition rate (FRR) chlorophyll *a* fluorescence induction measurements. Chelsea Technologies Group, Surrey, 49 pp.
- 32) Oxborough, K. and N. R. Baker (1997): Resolving chlorophyll *a* fluorescence images of photosynthetic efficiency into photochemical and non-photochemical components—calculation of qP and F_v'/F_m' without measuring F_o' . *Photosynth. Res.*, **54**, 135–142.
- 33) Suggett, D. J., H. L. MacIntyre and R. J. Geider (2004): Evaluation of biophysical and optical determinations of light absorption by photosystem II in phytoplankton. *Limnol. Oceanogr. Methods*, **2**, 316–332.
- 34) Raateoja, M. P., J. Seppälä and H. Kuosa (2004): Bio-optical modeling of primary production in the SW Finnish coastal zone, Baltic Sea: fast repetition rate fluorometry in Case 2 waters. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **267**, 9–26.
- 35) Sarma, V. V. S. S., O. Abe, S. Hashimoto, A. Hinuma and T. Saino (2005): Seasonal variations in triple oxygen isotopes and gross oxygen production in the Sagami Bay, central Japan. *Limnol. Oceanogr.*, **50**, 544–552.
- 36) Sarma, V. V. S. S., O. Abe, A. Hinuma and T. Saino (2006): Short-term variation of triple oxygen isotopes and gross oxygen production in the Sagami Bay, central Japan. *Limnol. Oceanogr.*, **51**, 1432–1442.
- 37) 才野敏郎 (2004): 衛星利用のための実時間海洋基礎生産計測システム. 科学技術振興機構戦略的創造研究推進事業 (CREST) 平成11年度採択研究課題研究終了報告書, 135pp.

質疑応答

問: n_{PSII} は, 種によって異なり, また環境によって変化するが, 高速フラッシュ励起蛍光法で基礎生産力を求める際, 一定値を使用することによる誤差はどのようなものか?

(東京海洋大, 石丸 隆)

答: n_{PSII} に誤差が含まれると, それと同等の誤差が基礎生産力の計算に伝播していく (本稿式12).

問: 高速フラッシュ励起蛍光法で, (1)明条件・暗条件はどうやって得るのか? (2) $30 \text{ mmol quanta m}^{-2}\text{s}^{-1}$ の閃光を与えて強光阻害は起こらないのか?

(九大応力研, 柳 哲雄)

答: (1)高速フラッシュ励起蛍光光度計では, 太陽光を浴びた状態で測定を行う明室と太陽光を遮断した状態で測定を行う暗室の2つの測定部をもつ. (2)マイクロ秒オーダーの閃光では, 強光阻害は起こらないと考えられている.

問: 基礎生産力を求めるためには, ある深度での1点係留ではなくプロファイリングしないと駄目なのではないか?

(九大応力研, 柳 哲雄)

答: 研究目的にもよるが, 水柱当たりの基礎生産力を求めるためには, プロファイリング測定を行うことが望ましい.