図・本館

浮遊藻類から細菌類への有機物の流れ 一新手法による微生物ループの検証—

(研究課題番号 03640552)

平成4年度科学研究費補助金(一般研究C) 研究成果報告書

名古	屋大学図書
和B	82598

平成5年3月

研究代表者 濱 健 夫

(名古屋大学水圈科学研究所)

研究組織

平成3-4年度

研究代表者 濱 健夫 (名古屋大学水圏科学研究所・助手)

研究経費

平成3年度	1,800千円
平成4年度	600千円
計	2,400千円

研究発表

(1) 学会誌等発表

- Hama, T. (1991) Production and turnover rates of fatty acids in marine particulate matter through phytoplankton photosynthesis. Mar. Chem., 33, 213-227.
- Hama, T. (1992) Primary productivity and photosynthetic products around the Kuroshio warm-core ring. Deep-Sea Res., 39 Suppl.1, S279-S293.
- Hama, T., K. Matsunaga, N. Handa and M. Takahashi (1992) Fatty acid composition in photosynthetic products of natural phytoplankton population in Lake Biwa, Japan. J. Plankton Res., 14, 1055-1065.
- 4. Hama, T., J. Hama and N. Handa (1993) ¹³C tracer methodology in microbial ecology with special reference to primary production processes in aquatic environments. Adv. Microbial. Ecol., (in press)

(2) 口頭発表

- ケイ藻、Chaetocerosの成長速度と生産物組成について、1991年度日本海
 洋学会春季大会(東京)、1992年4月
- 海洋表層で生産される脂質の組成について、日本海洋学会創立50周年記 念大会(東京)、 1992年10月

- 3. 北太平洋亜熱帯および亜寒帯における有機物生産、1992年日本海洋学会春 季大会(東京)、1992年4月
- Change in the photosynthetic products around the regional upwelling area around the Izu Islands, Japan. Pacific Orcean Remotosensing Conngress (沖縄) 1992年8月
- 5. 北太平洋亜熱帯および亜寒帯における有機物生産、その2、1992年日本海洋 学会秋季大会(北海道)、1992年9月
- 6. 沿岸性中心型珪藻 Chaetoceros pseudocurvisetus の休眠細胞の生理生態
 学的特性、1993年度日本海洋学会春季大会(東京)、1993年4月(予定)
- 7. Production and turnover rates of phytoplankton fatty acids; results from 13C-GC-MS analysis. 84th American Oil Chemists' Society Annual Meeting (Anaheim, California), 1993年4月(予定)

はじめに

海洋・湖沼などの水界に生息する植物プランクトンを始め他の生物群、すな わち動物プランクトン、バクテリア、魚類などに有機物とエネルギーを供給し ているのは植物プランクトンの光合成による有機物生産である。従来、水界に 生息する生物群を通して行われる物質およびエネルギーの流れは、食べる一食 べられるの関係、すなわち補食食物連鎖が中心と考えられていた。この補食食 物連鎖は植物プランクトン、食植性の小型動物プランクトン、動食性大型動物 プランクトン、さらに魚類などにより構成されていると考えられている。 L かしながら、近年になり、海水・湖水に溶存する有機物(溶存態有機物)を仲 立ちとして、微小な植物プランクトン、鞭毛藻、鞭毛虫、バクテリア類などか らなる微生物ループの重要性が指摘され始めた(例えばAzam et al., 1983)。 この微生物ループへのエネルギー供給は、植物プランクトンから、何らかの過 程を通して放出された溶存態有機物が担っていると考えられている。その過程 の一つとして考えられているのは、植物プランクトンが光合成産物を細胞外に 出す排出と呼ばれる現象である。これまで、植物プランクトンの光合成速度を 測定する際に用いられていた放射性同位体(¹⁴C)法でも、濾紙を通過するよ うな溶存態有機物が生成されることが知られてきている。この細胞外への排出 量は、全光合成生産量の数%から数十%に達するという報告もあり、微生物ル ープへの有機物の供給源となっている可能性も高い。

この様な排出により生じた溶存態有機物が、バクテリアに速やかに利用され ており、両者の間の有機物のフラックスは大きいと考えられている。。これら の実験では、無機態の¹⁴Cを加えて微生物群衆を培養した後、植物プランクト ンとバクテリアとを分離して、それぞれの画分に含まれる放射能を測定する。 この際、植物プランクトンとバクテリアの分離するために、これまでの研究で は孔径の異なったフィルターを用いてきていた。細胞の大きい植物プランクト ンとバクテリアとをフィルターにより分離することは信頼性が高いと思われる が、近年報告されるように微小な植物プランクトンが優占しているような場合、 フィルターによる両生物群集の分離は不正確さを伴うものと考えられる。

近年、濱らは(Hama et al., 1987)¹³Cトレーサー法とガスクロマトグラフ

<4>

ー質量分析計(GC-MS)とを組み合わせることにより、個々の有機分子の 生産速度を見積もる方法を開発し、自然植物プランクトン群集に適用した。こ の際、バクテリアに固有とされるある種の脂肪酸類に着目すると、植物プラン クトンにより生産された有機物が、バクテリア細胞の生合成に用いられる速度 を見積もることのできる可能性がある。

本研究では、植物プランクトン(浮遊藻類)からバクテリア(細菌類)への 有機物のフラックスを見積もるために、

I GC-MSによる脂肪酸の¹³C同位体比見積の精度の検討

II 北太平洋亜寒帯及び亜熱帯における脂肪酸の生産

III バクテリア固有の脂肪酸への植物プランクトンからの有機炭素のフ ラックスの見積に関する検討

の3課題について検討を行った。

I GC-MSによる脂肪酸の¹³C同位体比見積の精度の検討

I-1 方法

GC-MSによる脂肪酸の¹³C同位体比の見積の精度の検討は、各種の¹³C 同位体比を持つよう調整したパルミチン酸(16:0)を用いた。パルミチン酸は、 BF₃-メタノールを用いて、常法に従いメチルエステルとした。パルミチン酸メ チルエステルはGC-MS (JEOL DX302)により、表 1に示す条件により分 析した。パルミチン酸の¹³C同位体比の算出は、ピークの頂点で得られたマス スペクトルから、Kouchi et al. (1981)にしたがって算出した。

Table 1Analytical condition of gas chromatograph-massspectrometry

GC columun	HR-SS-10, 0.25mm I.D. x 25 m (Shinwa Chemical Industry)
oven temperature	$120 - 230 ^{\circ}C$, $3^{\circ}C$ min ⁻¹
ionization mode	chemical ionization
reagent gas	isobutane
ionization potential	210 eV
ion source temperature	250 ℃
scan speed (m/z 200-500)	1 s
scan interval	1 s

I-2 結果と考察

GC-MSから得られたマススペクトルから算出した¹³C存在比を、標準物 質の希釈から期待される値と比較した(表 2)。同位体比が3 atom%以下の試 料については、測定値は、期待値よりもやや低い傾向があり、逆に3 atom%以 上の試料では測定値は期待値よりも若干高い傾向にあった。全体として、期待 値と測定値との差は0.02-0.07 atom%であり、期待値に対する相対誤差は 0.0079-0.023 %であった。また、同一試料について5回の分析を繰り返し行っ た際の分析誤差は、最大で2.26 %であった。

これらの結果は、GC-MSによる脂肪酸炭素の¹³C同位体比の算出方法が、 本研究で行うトレーサー実験に適用する際に、十分な精度を持つことを示して いる。

Expected	Measured			
	mean	standard deviation	(%)	n
1.92	1.86	0.0385	2.07	5
2.53	2.51	0.0494	1.97	5
3.00	3.07	0.0700	2.28	5
3.95	4.00	0.0383	0.98	5
4.89	4.93	0.0986	2.00	5

Table 2 ¹⁹C atom % of palmitic acid determined by GC-MS

.

.

.

II 北太平洋亜寒帯及び亜熱帯における脂肪酸の生産

II-1 方法

¹³Cをトレーサーとした植物プランクトンからバクテリアへの炭素フラック スに関する実験は、東京大学海洋研究所「白鳳丸」KH-91-3 時航海の際に西部 北太平洋亜寒帯(45°N,165°E; 測点A)及び亜熱帯(25°N,165°E; 測点B)において行った(図 1)。実験は、試水を採水した深度に培養瓶を吊 下する現場法により、早朝から翌日の早朝まで24時間継続した。実験終了後、 試水をガラス繊維濾紙(ワットマンGF/F)により濾過した。濾紙上の懸濁 粒子中の脂質はクロロホルムーメタノールで抽出した後、構成する脂肪酸をメ チルエステルとしてGC(島津GC-14A)およびGC-MS(JEOL DX-302)に より分析した。各脂肪酸の¹³C同位体比及び生産量は、それぞれ Kouchi (1981) および Hama et al., (1987)により算出した。また、全有機物の生産 量の測定及び算出は、Hama et al., (1983)によった。



Figure 1 Station locations of Stations A and B during the cruise of KH-91-3.

ⅠⅠ-2 結果と考察

1) クロロフィルの分布及び有機物生産量

亜寒帯の測点Aおよび亜熱帯の測点Bにおけるクロロフィルa、有機物生産 速度及び単位クロロフィルあたりの生産速度を図2に示す。測点Aでは、クロ ロフィルaは表面から30mまで均一に分布しており、0.7μg・1⁻¹程度であった。 30m以深では、クロロフィル量は急激に減少した。一方亜熱帯の測点Bでは、 表面から50mのクロロフィルaの濃度は0.05-0.085μg・1⁻¹と極めて低い一方で、 100m付近に亜表層のクロロフィル極大が認められた。

測点Aでの、単位体積あたりの有機物の生産量は、表面において最大値(10 μgC・1⁻¹・d⁻¹)を示し、深度の増加とともに減少した。また測点Bでは、10 ~30mにおいて最大値(3~4μgC・1⁻¹・d⁻¹)が認められた。亜表層クロロフ イル極大に対応した生産量の顕著な増加は認められなかった。また、単位クロ ロフィル aあたりの生産量は、亜熱帯海域の測点Bの表面付近で高く(60-80 μgC・μg chl.a⁻¹・d⁻¹)、亜寒帯海域の最大値の5倍程度に相当した。 これらの違いは、主として、両測点における水温、あるいは照度の違いを反映 しているものと考えられる。

2) 懸濁粒子の脂肪酸組成

両測点で得られた懸濁粒子中の脂肪酸のガスクロマトグラムを図3に示 す(両測点ともに、生産量の極大が認められた深度において得られたものを例 として示している)。亜熱帯海域の測点B(10m)では、16:0、18:0及び14:0の 飽和脂肪酸が主要な構成分であり、この3種類の脂肪酸で全脂肪酸の87%を占 めた(表3)。一方、亜寒帯海域の測点A(0m)では、不飽和脂肪酸が多く検 出された。特に炭素数18、20および22の多不飽和脂肪酸(18:2、18:3、18:4、1 8:5 20:5、22:6)の濃度が高く、全脂肪酸の44%を占めたのが特徴であった。 このため、懸濁粒子中の脂肪酸の全脂肪酸に対する不飽和脂肪酸の割合は、亜 寒帯海域で0.58と大きいのに対し、亜熱帯海域では0.13と顕著な違いが認めら れた。

<9>



Figure 2 Vertical profiles of the concentration of chl.a, production rate of organic carbon at Stations A and B.





	Station A	(Om)	Station B	(10m)
	(µgC 1 ⁻¹)	(%)	$(\mu g C \ 1^{-1})$	(%)
14:0	0.625	7.86	0.343	6.45
iso15:0	0.041	0.52	-	-
anteiso15:0	0.038	0.47	-	-
n-15:0	0.067	0.84	-	-
16:0	1.88	23.6	2.00	37.7
16:1	0.579	7.28	0.153	2.88
16:2			0.065	1.22
16:4	0.063	0.79	-	-
17:0	0.088	1.11	-	-
18:0	0.527	7.19	2.27	42.8
18:1(n-9)	0.384	4.83	0.147	2.77
18:1(n-7)	0.164	2.07	0.066	1.25
18:2	0.219	2.75	0.057	1.08
18:3	0.270	3.40	0.008	0.15
18:4	0.706	8.88	0.030	0.56
18:5	0.548	6.89	0.027	0.50
20:0	0.025	0.32	-	-
20:4	0.050	0.63	-	-
20:5	0.782	9.83	0.029	0.55
22:6	0.855	10.76	0.111	2.09
Total	7.954		5.31	
Saturated	3.33	41.89	4.62	86.94
Monounsaturated	1.13	14.18	0.367	6.90
Polyunsaturated	3.49	43.93	0.327	6.16

Table 3 Fatty acid composition in particulate matter at Stations A (Om) and B (10m)

3)脂肪酸の¹³C同位体比

各脂肪酸炭素の¹³C同位体比は、GC-MSにより見積もった。測点AのOm において得られたGC-MSによる分析例を図4に示す。各脂肪酸の疑似分子 イオンピークに対する同位体ピークの相対強度を、インキュベーションの前後 で比較すると、同位体ピークの相対強度がインキュベーションの結果増加して いた。これは、インキュベーション中に各脂肪酸の炭素骨格に¹³Cが取り込ま れたことを示している。また、脂肪酸の種類により、同位体ピークの相対強度 の増加の程度は異なっており、脂肪酸によってその炭素の非生産速度に違いの あることが示唆される。

同位体ピークの相対強度の変化から見積もった測点A、及びBにおける各脂肪酸の¹³C同位体比を表4に示す。なお、このGC-MSによる分析では、比較的高濃度の試料を必要とするため、同位体比の測定ができない脂肪酸類も存在した。インキュベーション実験後の脂肪酸の炭素同位体比は、脂肪酸の種類により大きく異なっており、測点Aでは、一般的に不飽和脂肪酸、特に多不飽和脂肪酸において、高い同位体比が算出された。

これらの脂肪酸の¹³C同位体比の相違は、植物プランクトンの光合成代謝に おける各脂肪酸の回転速度の違いとともに、個々の脂肪酸の起源の違いも反映 している。本研究で問題となるバクテリア固有とされる脂肪酸としては、isol 5:0、anteisol5:0、n15:0、18:1 (n-7) などが上げられるが、これらの脂肪酸 のうち測点Aでは、isol5:0、anteisol5:0および18:1 (n-7) について¹³C同 位体比を測定することができた。(測点Aにおけるanteisol5:0、測点Bにお けるisol5:0、anteisol5:0、n15:0、18:1 (n-7) については、懸濁粒子に含ま れる濃度が極めて低いため、¹³C同位体比の測定が不可能であった。このため、 北太平洋亜熱帯海域においては、パクテリア固有の脂肪酸の同位体比は、1. 19-1.33atom %と、植物プランクトンが主に構成していると思われる脂肪酸の 同位体比1.50-4.11atom%に比べ、非常に低いものであった。インキュペーショ ンをしない脂肪酸も炭素自然同位体比の1.1atom%程度の¹³Cを含むことを考え ると、バクテリア固有の脂肪酸への¹³Cの取り込みは、非常に低い速度である ことが示唆される。



Figure 4 Three dimentional mass chromatogram of C_{1B} fatty acid methyl esters. Sample was obtained from Station A (Om).

	Station A (Om)	Station B (10m)
14:0	2.26	3.27
iso15:0	1.19	-
anteiso15:0	-	-
n-15:0	1.24	-
16:0	2.72	1.68
16:1	2.64	2.24
16:2	-	-
L6:4	-	-
7:0	-	-
8:0	1.50	1.19
8:1(n-9)	3.44	2.92
8:1(n-7)	1.33	-
.8:2	3.08	-
8:3	4.11	-
.8:4	3.63	-
8:5	3.52	-
0:0	-	-
0:4	-	-
0:5	2.98	-
2:6	3.74	_

Table 4 ¹³C atom % of fatty acid in the incubated samples from Stations A (Om) and B (10m)

4) 脂肪酸の生産速度

各脂肪酸の生産速度をそれぞれの脂肪酸の¹³C同位体比と濃度とから算出した(Table 5)。亜寒帯及び亜熱帯の両測点で明らかになった生産物の脂肪酸 組成は、基本的には、懸濁粒子において認められた組成に類似していた。すな わち、亜寒帯では多不飽和脂肪酸の占める割合が多いのに対し、亜熱帯では飽 和脂肪酸が主要な構成分であった。この脂肪酸組成の違いは、主として両海域 における水温の差を反映していると考えられる。つまり水温の低い(表面水温 :4℃)亜寒帯海域では、植物プランクトンは融点の低い不飽和脂肪酸を多く 持つことにより、その原形質の流動性を保っているものと考えられる。

生産物における全脂肪酸の生産量に対する不飽和脂肪酸の割合は、亜寒帯及 び亜熱帯でそれぞれ、0.72及び0.23と、それぞれの懸濁粒子の脂肪酸組成より も不飽和脂肪酸の占める割合が多かった。これは、懸濁粒子を構成する非植物 プランクトン画分に、植物プランクトンよりも飽和脂肪酸に富んだ脂質が存在 することを示唆している。特に、18:0の脂肪酸は、懸濁粒子においては比較的 高い割合で含まれていたのに対し、生産物中ではその割合は懸濁粒子に比べ、 かなり小さい。この傾向は、両測点において共通に認められることであり、非 植物プランクトン画分に18:0が豊富に存在していることが示唆される。

バクテリア固有の脂肪酸の生産速度は、測点Aにおいてのみ見積もることが できた。バクテリア固有とされるiso15:0、n-15:0および18:1(n-7)の脂肪酸の 生産速度は0.003-0.029µgC 1⁻¹ d⁻¹と極めて少なく、全脂肪酸の生産量の2.2% を占めるのみであった。しかしながら、この生産速度の算出は、バクテリアが 利用する炭素の同位体比を、無機炭素の10atom%と仮定して行ったものである。 バクテリア固有の脂肪酸の¹³C同位体比の増加が、植物プランクトンが光合成 により生産した有機物に含まれる¹³Cをバクテリアが利用することのみによる 事実を考えると、バクテリアが生合成に利用している炭素の同位体比は、10at om%よりかなり低いものと予想される。このため、ここで得られているバクテ リア固有の脂肪酸の生産速度は、過小評価の可能性が大きい。この問題につい ては、III章において、議論する。

<16>

	Station A (Om)		Station B (10m)	
	$(\mu gC l^{-1} d^{-1})$	(%)	$(\mu gC \ l^{-1} \ d^{-1})$	(%)
14:0	0.088	5.1	0.086	28.23
iso15:0	0.003	0.2	-	-
anteiso15:0	-	-	-	-
n-15:0	0.005	0.3	_	-
16:0	0.368	21.4	0.129	42.35
16:1	0.108	6.3	0.026	8.57
16:2	-	-	-	-
16:4	-	-	-	-
17:0	-	-	-	-
18:0	0.027	1.57	0.019	6.17
18:1(n-9)	0.109	6.35	0.045	14.67
18:1(n-7)	0.029	1.69	-	-
18:2	0.053	3.09	-	-
18:3	0.099	5.76	-	-
18:4	0.217	12.63	-	-
18:5	0.162	9.43	-	-
20:0	-	-	-	-
20:4	-	-	-	-
20:5	0.178	10.36	-	-
22:6	0.274	15.95	-	-
Total	1.718		0.305	

Table 5 Fatty acid composition in photosynthetic products at Stations A (Om) and B (10m).

III バクテリア固有の脂肪酸への植物プランクトンからの有機炭素のフ ラックスの見積

Table 4および5 において示したように、北太平洋亜寒帯海域でのインキュ ベーション実験では、植物プランクトンの光合成により取り込まれた炭素が、 速やかかつ大量にバクテリアに取り込まれていることは示唆されなかった。 しかし、得られた結果を解釈する際に注意すべきことは、バクテリアが細胞を 構成する有機物の合成のために用いている炭素は、溶存する無機炭素ではなく、 植物プランクトンにより生産された有機物を用いていることである。つまり、 バクテリアが用いる炭素の同位体比は、無機炭素のもの(測点Aでは10atom% 程度)ではなく、植物プランクトンを構成している有機物の同位体比となる。 植物プランクトンの有機物を構成する有機物の同位体比は、個々の有機物によ り、またインキュベーションを開始してからの時間により変化しているため、 正確に見積もることは不可能である。ここでは、Table 4 に示した脂肪酸の同 位体比を参考に、仮に、植物プランクトンを構成する有機物の炭素同位体比を 2.5%と仮定してバクテリア固有の脂肪酸の生産量を見積もることとした。その 結果、iso15:0 n-15:0 および 18:18(n-7)の生産速度は、それぞれ、0.019、 0.032、0.186µgC l⁻¹ d⁻¹となる。これらの値は、Table 5に示す値の6.4倍の 値であり、またこれらバクテリア固有の脂肪酸の生産量の合計値は全体の脂肪 酸の生産量の12%を占めることになる。

しかし、ここで植物プランクトンの有機物の同位体比として仮定した2.5%に ついては、さらに検討する必要がある。Table 4 で示した値は、デトリタス・ 動物プランクトンなど非植物プランクトンの脂肪酸による「薄め効果」を受け た値であり、植物プランクトン有機物の¹³C同位体比は、ここで仮定した2.5% より高い可能性が強い。この場合、バクテリア固有の脂肪酸の生産速度は、2. 5%と仮定することにより得られた値よりも低いものとなる。このように、バク テリアが用いる有機物の炭素の同位対比は、フラックスの見積に関して直接に 影響を与える要因であり、今後十分に検討して行く必要がある。

一方、この溶存無機炭素の炭素同位体比と植物プランクトン有機物の同位体 比の差、トレーサーによる「染まり具合」の差は、¹³Cトレーサー法だけでは なく、放射性同位体¹⁴Cを用いた¹⁴Cトレーサー法についても共通している。

<18>

¹⁴Cトレーサー法を用いた同様の実験では、インキュベーション終了時に、植 物プランクトン画分に匹敵するほどの放射能がバクテリア画分に認められると いった現象も見いだされている。これは、植物プランクトンからバクテリアへ の炭素のフラックスが極めて速く、かつ極めて多量である場合にのみ生ずる現 象である。このような条件下で本研究で用いた方法を適用した場合には、バク テリア固有の脂肪酸の¹³C同位体比は、植物プランクトンの脂肪酸と同程度に 高くなると考えられる。このことから、今回の実験を行った北太平洋亜寒帯海 域では、植物プランクトンからバクテリアへ、有機物の大きいフラックスが生 じているとは考えにくい。また、これまで他の海域や湖沼で得られている実験 を含めても、植物プランクトンからバクテリアへの極めて速く、かつ多量の有 機物の流れを示す結果は得られていない。

本研究で行った方法により、植物プランクトンからバクテリアへの有機物フ ラックスを見積もる際のもう一つの問題点は、バクテリアの捕集効率である。 本研究では懸濁粒子を捕集するフィルターとしてワットマンGF/Fフィルターを 用い、バクテリア固有の脂肪酸についてもこのフィルターにより捕集された有 機物のみについて検討した。このフィルターは0.7μm以上の径の粒子を捕集す るとされている。このフィルターでのバクテリアの捕集効率は、約50%程度と されている。すなわち、この点から考えると、今回北太平洋亜寒帯海域で見積 もったバクテリア固有の脂肪酸の生産速度は、50%程度過小評価している可能 性がある。また、北太平洋亜熱帯海域の測点Bでは、バクテリア固有の脂肪酸 がほとんど認められたかったことは、亜寒帯海域と亜熱帯海域とでバクテリア のサイズに違いがあることを反映している可能性がある。これに関しては、今 後孔径のより小さいフィルターを用いて、バクテリアの捕集効率を上げる必要 性があるだろう。さらに、14Cトレーサー法を応用した研究においては、植物 プランクトンとバクテリアとを、異なった孔径のフィルターで濾別して分画し ているが、この分画の信頼性についても各画分の脂肪酸組成を測定することな どにより検討を加えることが可能であろう。

まとめ

本研究で¹³C-GC-MS法を適用する事により、植物プランクトンからバ クテリアへの有機物の流れを、分子種のレベルから明らかにできることが示唆 された。本研究で得られた結果は、現在まで一般的に受け入れられている「植 物プランクトンからバクテリアへの有機物の比較的大きいフラックス」という 考え方を、必ずしも支持するものではなっかった。植物プランクトンの光合成 による有機物生産(とその際の溶存有機物の排出)と、バクテリアの有機物の 取り込みと細胞の生合成とは、必ずしもベルトコンベアー的には結ばれていな いことが示唆された。すでに述べたように、インキュベーションの長さをはじ めとして、幾つかの検討事項は残されてはいるが、今回得られた結果からは両 者間の大きい有機物のフラックス(例えば¹⁴C法と分別濾過法により得られて いるような、植物プランクトンの光合成によりにより生産された有機物の数十 %が、24時間以内にバクテリアにより取り込まれて、バクテリアの生合成に 使われるなど)は示唆されそうにない。しかしながら、そのフラックスについ て定量的に議論するには、本研究の結果では不十分であり、今後のより詳細な 検討が必要である。

文献

- Hama, T., T. Miyazaki, Y. Ogawa, T. Iwakuma, M. Takahashi, A. Otsuki and S. Ichimura (1983) Measurement of photosynthetic production of a marine phytoplankton population using a stable ¹³C isotope. Mar. Biol., 73, 31.
- Hama, T., N. Handa and J. Hama (1987) Determination of amino acid production rate of a marine phytoplankton population with 13C and gas chromatography-mass spectrometry. Limnol. Oceanogr., 32, 1114.
- Kouchi, H. (1982) Direct analysis of ¹³C abundance in plant carbohydrates by gas chromatography-mass spectrometry. J. Chromatogr., 241, 305.

<20>