

信州大学審査学位論文

Reconstruction of environmental changes by sedimentary photosynthetic
pigments in Lake Suwa

諏訪湖堆積物中の光合成色素を用いた環境変遷の推定

2014年9月

渡邊 琴文

Reconstruction of environmental changes by sedimentary photosynthetic pigments in Lake Suwa

Kotomi Watanabe

Abstract

人為的影響による湖の富栄養化と周辺環境の変化は湖内の環境を大きく変化させ、湖水の環境変化に最も敏感な反応を示す植物プランクトンの現存量や組成を大きく変える可能性がある。

諏訪湖は日本で最も古くから様々な研究者によって湖沼生態系と人間活動に関して多くの研究がなされている湖の一つであり、一番古くは 1906 年からの田中阿歌麿による透明度の記録に始まり、現在に至るまで約 100 年間に及ぶ研究の歴史を持つ。従って、諏訪湖周辺は日本の近代化に伴う富栄養化の経過をたどるのに好都合な湖である。しかしながら、諏訪湖で本格的な水質調査が始まったのは 1977 年からであり、それ以前の十分な水質データはない。また、諏訪湖では高度経済成長期が始まる 1960 年代初めから富栄養化が急速に進行し、1969–1977 年に過栄養湖状態となり、藍藻類のブルームによる水質の汚染が問題となったが、富栄養化の始まりについての詳細は明らかにされておらず、また、藍藻類以外の植物プランクトンの組成についての記録も非常に乏しい。

そこで諏訪湖湖心の堆積物 (長さ 296 cm の Core990426 と長さ 79 cm の Core030801) 中の含水率、見かけ密度、全有機炭素 (TOC)、全窒素 (TN)、光合成色素、多環芳香族炭化水素

perylene (Core990426 のみ) を測定し、堆積物に残された記録を解析することにより、植物プランクトンの現存量と組成変化への富栄養化の影響を検証した。

Core990426 において見かけ密度の 2 つの極大 (深度 15-19 cm、深度 42-50 cm) を洪水層と認定し、これらの洪水層の年代から $1.1 - 1.4 \text{ cm year}^{-1}$ の定常的な平均堆積速度を算出した。

さらに perylene と C/N を洪水層の指標として用いることで、深度 105-110 cm の堆積物層も洪水層と認定した。算出した平均堆積速度から、年代推定を行うと長層の Core990426 にお

いてその最深部は AD1647 年となった。光合成色素濃度は、コア最深部から表層にかけて顕著な濃度変化を示した (全 chlorophyll *a* 濃度; $0.66 \sim 23.9 \mu\text{g g}^{-1}$)。特に、1960 年前半から 1970

年代に光合成色素濃度が増加し、この年代に起きた藍藻類の異常増殖は、藍藻類由来 carotenoid の zeaxanthin 濃度変化によって再現され ($3.02 \sim 21.1 \mu\text{g g}^{-1}$)、1970 年付近で最大値

$54.7 \mu\text{g g}^{-1}$ に達した。この zeaxanthin の濃度変化から諏訪湖における藍藻類の優占が 1930 年付近から始まったことが示唆された。TOC と TN の相関は、強い正の相関 ($R^2=0.77$) を

示し、外因性物質が多く流入する洪水層データでは相関が弱くなった ($R^2=0.39$)。この有意な相関は TOC と TN が内部生産において生じた同一起源であることを示している。また、

全 xanthophylls 対 TOC または TN、全 chlorophylls 対 TOC または TN 間の相関係数は深度 100 cm を境に大きく変化した。0 - 100 cm においては富栄養化前後 (1960 年付近) でデータ間

に違いが見られ、この差異は TOC に占める内部生産のうちの植物プランクトンによる一次生産量の変化と富栄養化の影響を顕著に示した。同様の変化は光合成色素、見かけ密度、

TOC、TN 含有量でも認められ、この年代付近を境に湖内の植物プランクトンの現存量が増加し始めたことを示した。

Core030801 においても藍藻類由来 carotenoid の zeaxanthin 濃度は 1960 年から 1973 年に顕著に増加した ($9.53\sim 76.7 \text{ nmol g}^{-1}$)。一方で、珪藻と渦鞭毛藻類に由来する fucoxanthin、diadinoxanthin、diatoxanthin の濃度はこの期間中にわずかな増加を示した (それぞれ $1.64\sim 4.90$ 、 $1.86\sim 3.54$ 、 $4.00\sim 3.26 \text{ nmol g}^{-1}$)。1949 年以降、湖の植物プランクトン優占種はラン藻類であったが、珪藻類を示す fucoxanthin において全藻類 carotenoids と比を取ると 1981 年以降に段階的な増加がみられ、有機物流入と栄養塩濃度が植物プランクトン組成に変化をもたらしたことが示唆された。1977 年以降の水柱の chlorophyll *a* 濃度と堆積物中の TCh-*a* 濃度から水柱データの存在しない 1977 年以前の水柱の chlorophyll *a* 濃度の変動パターンを予測した。水柱の chlorophyll 変動傾向と堆積物中の全 chlorophylls は一致度が高く、湖水の水質データが存在しない 1977 年以前の水柱 chlorophyll *a* の変動を再現することができた。

また、歴史的記録に基づく気候変動の影響に関し、冬季平均気温と光合成色素の濃度変化を比較すると、長期的な気温変化によって諏訪湖の植物プランクトン組成が変化する傾向が光合成色素濃度の変化から顕著に示された。

本研究において、諏訪湖の堆積物中の光合成色素濃度から、過去の 350 年間に渡る湖内の植物プランクトンの現存量や組成変化を再現し、人為的な富栄養化の始まりと湖の環境変化を明らかにすることができた。

Reconstruction of environmental changes by sedimentary photosynthetic pigments in Lake Suwa

Contents

Chapter 1	General introduction	1
1.1	Photosynthetic pigments as biomarkers for assessment of aquatic environmental change	2
1.1.1	Photosynthetic pigments originating in algae	2
1.1.2	Sediment as records for historical changes in aquatic environment	10
1.2	Thermal Ice Ridge	12
1.3	Ultraviolet radiation	13
1.4	Ultraviolet radiation screening mechanisms	15
1.5	The relationship of photoprotection and photosynthetic pigments on planktons	18
Chapter 2	Historical change of phytoplankton assemblage in a eutrophic lake in Japan as determined by analysis of photosynthetic pigments in a lakebed sediment core past 100 years	20
2.1	The object of this study	21
2.2	Materials and methods	22
2.2.1	Study area	22
2.2.2	Sediment core	24
2.2.3	Analysis of photosynthetic pigments	24
2.3	Results	25
2.3.1	Chlorophyll <i>a</i> in the sediment core	25
2.3.2	Algal carotenoids in the sediment core	25
2.4	Discussion	29
2.4.1	Effect of floods	29
2.4.2	Change in algal composition	29
2.4.3	Reconstruction of phytoplankton biomass in the past water column	30
2.4.3.1	Vertical distribution of the carotenoids/TAC ratio	30
2.4.3.2	Predict phytoplankton biomass in the past water column	34

Chapter 3	Environment changes deduced from variability in the pigments of sediment in Lake Suwa, central Japan past 300 years	39
3.1	The object of this study	40
3.2	Materials and methods	43
3.2.1	Study area	43
3.2.2	Sediment core	43
3.2.3	Analysis of photosynthetic pigments	44
3.3	Results	45
3.3.1	Vertical distributions of the water content, apparent density, total organic carbon, total nitrogen and C/N in lake sediment cores	45
3.3.2	Vertical distribution of carotenoids in the sediment core	48
3.4	Discussion	53
3.4.1	Sedimentation rate and age determination of core sediment	53
3.4.2	Change in phytoplankton biomass and composition	56
3.4.3	Changes in dominant genera among cyanobacteria	58
3.4.4	Paleobiomass estimates and change in lake trophic classification	59
3.4.5	The relation between thermal ice ridge (Omiwatari) and paleobiomass changes	66
Chapter 4	Photosynthetic pigments in plankton and bacteria in Shirakoma Pond	70
4.1	The object of this study	71
4.2	Materials and methods	73
4.2.1	Study area	73
4.2.2	Sample collection	73
4.2.2.1	Water sample	73
4.2.2.2	Plankton sample	75
4.2.2.3	Bacteria sample	75
4.2.2.4	Flagellate sample	76
4.2.2.5	Isolation of bacteria from gut of <i>A. pacificus</i>	77
4.2.3	Analysis of pigments	77
4.2.3.1	Analysis of carotenoids	77
4.2.3.2	Analysis of melanin	78
4.2.4	Analysis of mycosporine-like amino acids (MAAs)	80

4.3	Results	81
4.3.1	EC, DO, pH, Temp, Transparency, SS, chlorophyll and CFU in lake water	81
4.3.2	Zooplankton	89
4.3.3	Red snow phenomenon and isolation of phytoplankton in Shirakoma pond	93
4.3.4	Isolation of bacteria with carotenoids in the pond	98
4.4	Discussion	104
4.4.1	The vertical distribution of phytoplankton, bacteria, heterotrophic nanoflagellate, autotrophic nanoflagellate and zooplanktons in water column	104
4.4.2	The characteristic phytoplankton in Shirakoma Pond	105
4.4.3	The seasonal variability of zooplankton abundance	106
4.4.4	The seasonal variability of carotenoids, melanin and mycosporine-like amino acids in zooplankton	107
4.4.5	Isolation of the characteristic bacteria in Shirakoma Pond	108
4.4.6	Estimate of zooplankton feed by photosynthetic pigments and UV-screening compounds	109
Chapter 5	General discussion	112
5.1	Reconstruction of environmental changes by sedimentary photosynthetic pigments in Lake Suwa	113
5.2	Dominant paleobiomass deduced from the average temperature in winter in Suwa	113
5.3	Potentiality for carotenoids and UV-screening compounds as indicator of relation between zooplankton and past UV-exposure environment	119
	Acknowledgments	120
	References	121

List of Figures

Figure 1.	Structure of chlorophylls.	3
Figure 2.	Structures of algal chlorophyll derivatives.	6
Figure 3.	Typical transformation processes of chlorophyll pigments.	7
Figure 4.	Structure of algal carotenoids.	9
Figure 5.	Structure of some of the principal mycosporine-like amino acids (MAAs) found in nature. Lambda max is the ultraviolet absorption maximum.	16
Figure 6.	Map of Lake Suwa and the sampling site of sediment core.	23
Figure 7.	Vertical distribution of apparent density (a), chlorophyll <i>a</i> (b), pheophytin <i>a</i> (c), pyropheophytin <i>a</i> (d) concentration in Lake Suwa sediment. (e) shows the extended figure of vertical distribution of chlorophyll <i>a</i> concentration at 10 to 70 cm depth of bottom sediment.	26
Figure 8.	Vertical distributions of β -carotene (a), zeaxanthin (b), fucoxanthin (c), diadinoxanthin (d), diatoxanthin (e) and TACs (f) concentrations in Lake Suwa sediment. Annotations : β -carotene; all phytoplankton, zeaxanthin; Cyanobacteria, fucoxanthin; Diatom, diadinoxanthin and diatoxanthin; Diatom and dinoflagellates. Abbreviations: TACs; sum of total algal carotenoids (β -carotene, fucoxanthin, diatoxanthin, diadinoxanthin, zeaxanthin). * ; flood layers.	27
Figure 9.	Vertical distribution of zeaxanthin (a), fucoxanthin(b), diadinoxanthin(c), diatoxanthin(d)/TACs (Total carotenoids) ratio in Lake Suwa sediment. Annotations: zeaxanthin; Cyanobacteria, fucoxanthin; Diatom, diadinoxanthin and diatoxanthin; Diatom and dinoflagellate, Abbreviations: TACs; sum of total algal carotenoids (β -carotene, fucoxanthin, diatoxanthin, diadinoxanthin, zeaxanthin).	31
Figure 10.	Comparison of COD (mg L^{-1}) in water column (a), chlorophyll <i>a</i> (Chl <i>a</i>)	

concentration ($\mu\text{g cm}^{-2}$) in water column (b) and TCh-*a* concentration ($\mu\text{g cm}^{-2}$) in Lake Suwa sediment (c). Black diamond shows COD, black circle shows Chl *a* concentration in water column and gray circle shows TCh-*a* concentration in sediment core. TCh-*a* shows sum of chlorophyll *a* and degradation products (pheophytin *a* and pyropheophytin *a*). Open diamond shows the predict value of Chl *a* in water column. 35

Figure 11. Relationship between total chlorophyll *a* (TCh-*a*; sum of chlorophyll *a* and degradation products (pheophytin *a* and pyropheophytin *a*) in water column and in sediment core ($\mu\text{g cm}^{-2} \text{ year}^{-1}$). There is a positive relationship between in water column and in sediment. 37

Figure 12. Vertical profiles of the water content (WC), apparent density (AP), total organic carbon (TOC), total nitrogen (TN), C/N ratio and perylene in lake sediment core. The perylene has an origin such as in terrestrial or other biota. Gray bars show flood impact layers. 46

Figure 13. Typical chromatogram of an extract of Lake Suwa sediment. Extract from a sample collected at 10-cm is shown. 47

Figure 14. Stratigraphic profiles of chlorophyll and β -carotene concentration in Lake Suwa sediment, as well as total nitrogen (TN) and total phosphorus (TP) in the lake water and population in the Suwa area. These pigments represent the relative total algal biomass. The area in black shows the absolute concentrations of each pigment, and the areas in gray (in A-E) show the concentration at each fold magnification. Annotations: The core was analyzed at 1-cm intervals from 0 to 150-cm and 3-cm intervals from 150 to 296-cm. Flood impact layers (15 to 19-cm, 42 to 50-cm and 105 to 110-cm) were excluded. 49

Figure 15. Stratigraphic profiles of carotenoid concentrations in Lake Suwa sediment. The

area in black shows the absolute concentrations of each carotenoid, and the areas in gray (in A-G) show the carotenoid concentration at each fold magnification. Annotations: zeaxanthin, canthaxanthin; Cyanobacteria, *cis*-diatoxanthin; Diatom and Dinoflagellates, alloxanthin; Cryptophyta, astaxanthin, pheophytin *b* and pyropheophytin *b*; Green algae. The core was analyzed at 1-cm intervals from 0 to 150-cm and 3-cm 150 to 296-cm. Flood impact layers (15 to 19-cm, 42 to 50-cm and 105 to 110-cm) were excluded. 51

Figure 16. Relative concentration of carotenoids in Lake Suwa sediment. 60

Figure 17. Correlation between total chlorophyll *a* (sum of chlorophyll *a*, pheophytin *a*, and pyropheophytin *a*) and (A) autochthonous total organic carbon (TOC) and (B) autochthonous total nitrogen (TN), and between total xanthophyll (sum of zeaxanthin, canthaxanthin, echinenone, *cis*-diatoxanthin, alloxanthin and astaxanthin) and (C) autochthonous TOC and (D) autochthonous TN. 62

Figure 18. Correlation between autochthonous total organic carbon (TOC) and total chlorophyll *a* (sum of chlorophyll *a*, pheophytin *a*, and pyropheophytin *a*), and total xanthophyll (sum of zeaxanthin, canthaxanthin, echinenone, *cis*-diatoxanthin, alloxanthin and astaxanthin). (A) and (E); Phase-I (1999-1960, 0 to 50-cm), (B) and (F); Phase-II (1960-1920, 51 to 90-cm), (C) and (G); Phase-III (1920-1842, 91 to 150-cm), (D) and (H); Phase-IV (1838-1647, 153 to 296-cm). 63

Figure 19. Relationship between pigment concentrations in water column and in sediment: solid line; estimated total chlorophyll *a* (TCh-*a*; sum of chlorophyll *a*, pheophytin *a* and pyropheophytin *a*) concentration, open circle; observed chlorophyll *a* concentration in water column and gray diamond; TCh-*a* concentration in sediment. A used the equation $(E-Chl-a_{water} = 37.6*$

	TCh- $a_{\text{sediment}} + 1.51$), where E-Chl- a_{water} ($\text{g m}^{-2} \text{ year}^{-1}$) is the estimated concentration of chlorophyll a in the water column, TCh- a_{sediment} is the concentration ($\text{g m}^{-2} \text{ year}^{-1}$) of total chlorophyll a in sediment), and B used the following equation; E-Chl- $a_{\text{water}} = 56.3 * \text{TCh-}a_{\text{sediment}}$ (see text for details).	65
Figure 20.	Thermal ice ridge and crop yield in Suwa (Ref.: Lake Suwa historical materials vol. 17).	67
Figure 21.	The relation between appearance of thermal ice ridge and photosynthetic pigments concentration. Annotations: (A) zeaxanthin, (B) canthaxanthin, (C) <i>cis</i> -diatoxanthin, (D) alloxanthin and (E) pheophytin a	68
Figure 22.	Map of Shirakoma Pond and sampling point (St. 1).	74
Figure 23.	The seasonal variability of EC (A), pH (B), Temperature (C), DO (D), Transparency (E) and SS (F) in Shirakoma pond in 2008.	83
Figure 24.	The seasonal variability of EC (A), pH (B), Temperature (C), DO (D) and Transparency (E) in Shirakoma pond in 2009.	84
Figure 25.	The seasonal variability of chlorophyll a concentration and CFU in Shirakoma pond in 2008.	86
Figure 26.	The seasonal variability of chlorophyll a concentration in Shirakoma pond in 2009.	87
Figure 27.	The vertical distribution of SS and chlorophyll a concentration in Shirakoma pond on September 18, 2008.	88
Figure 28.	The vertical distribution of bacteria (DAPI) (A), hepatotrophic, autotrophic flagellate (B) and zooplankton (C) in Shirakoma pond on September 18, 2008.	90
Figure 29.	The seasonal variability of <i>Acanthodiatomus pacificus</i> and <i>Daphnia longispina</i> population in Shirakoma pond in 2008.	91

Figure 30.	The seasonal variability of <i>Acanthodiptomus pacificus</i> , <i>Daphnia longispina</i> and nauplius population in Shirakoma pond in 2009.	92
Figure 31.	The seasonal variability of carotenoids in <i>A. pacificus</i> (A), melanin in <i>D. longispina</i> (B) and mycosporine-like amino acids (MAAs) in <i>A. pacificus</i> (C) in Shirakoma pond in 2008.	94
Figure 32.	The photograph of snow algae in Shirakoma Pond on May 4, 2008 (A) and May 10, 2008 (B).	95
Figure 33.	The microgram (A) and chromatogram (B) of snow algae in Shirakoma Pond on May 4, 2008.	96
Figure 34.	The microgram of phytoplankton in Shirakoma Pond on September 9, 2008.	97
Figure 35.	The photographs of bacteria in the pond water on May 11, 2008. Annotations: (A) 1m depth (undiluted solution), (B) 1m depth (decuple dilution), (C) 6m depth (undiluted solution) and (D) 6m depth (decuple dilution).	99
Figure 36.	The microphotogram of green color bacteria (SG) in 6m depth in Shirakoma Pond. ·	100
Figure 37.	The phylogenetic tree of isolation bacteria in Shirakoma Pond. Phylogenetic analysis of 16S rDNA sequences based on neighbor-joining method indicating the taxonomic position of the isolated strains. Bootstrap values (%) are indicated at the branches from 1,000 replications. The scale bar below the phylogenetic tree indicates 0.02 nucleotide substitution per 100 nucleotides.	103
Figure 38.	Schematic diagram of photoprotection on zooplankton and zooplankton food in Shirakoma pond.	111
Figure 39.	The average temperature in winter in Suwa (Mikami and Ishiguro 1998).	115
Figure 40.	The changes of carotenoids concentration in the sediment and the climate. Annotation: (a) the cold interval, (b) the sub-cold interval, (c) the warm interval transition and (d) the warm interval.	117

List of Tables

Table 1.	Photosynthetic pigments of algae.	4
Table 2.	Photo chemical properties of photosynthetic pigments.	5
Table 3.	Analytical high-performance liquid chromatography (HPLC) gradient protocol for carotenoids separation. Eluent A: Methanol : ammonium acetate; 85 : 15 (v : v); eluent B: methanol; eluent C: acetone. Flow rate: 1.5 mL min ⁻¹	79
Table 4.	Analytical high-performance liquid chromatography (HPLC) gradient protocol for mycosporine-like amino acids (MAAs) separation. Eluent A: 0.2% TFA + ammonium hydroxide (pH 3.15); eluent B: 0.2% TFA + ammonium hydroxide (pH 2.20): methanol: acetonitrile; 80 : 10 : 10 (v : v : v). Temperature 35°C. Flow rate: 1.0 mL min ⁻¹ .by Carreto et al. (2005).	82
Table 5.	Isolation of bacteria with carotenoids in the pond.	101
Table 6.	List of mean carotenoids concentration (µg g ⁻¹) for each sediment core depth and changes in the lake trophic classification.	114

Chapter 1

General introduction

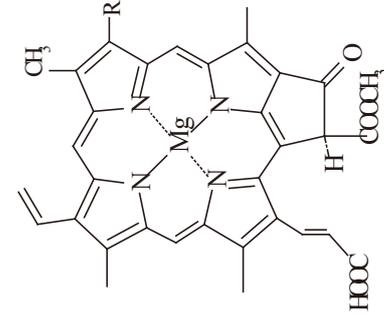
1.1 Photosynthetic pigments as biomarker for assessment of aquatic environmental change

1.1.1 Photosynthetic pigments originating in algae

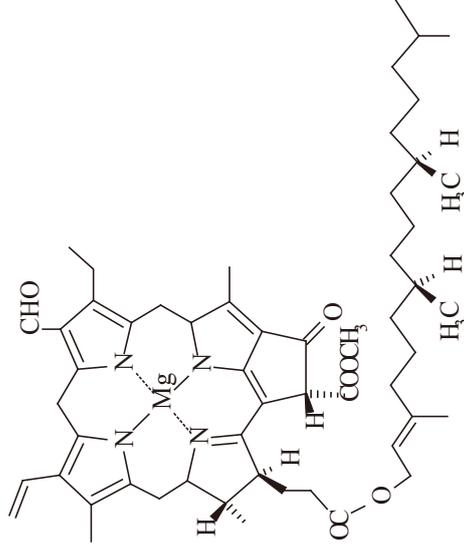
光合成の主色素である chlorophyll *a* は全ての植物プランクトンに存在するのに対して補助色素は藻類の種によって特徴的であり、chlorophyll *b* は緑藻など、chlorophyll *c* は珪藻などに特有である (Fig. 1, Jeffrey 1997) (Tables 1, 2, Weber and Wettern 1980, Rowan 1989)。

Chlorophyll *a* (*b*) は、4つのテトラピロール環が環状に結合したポルフィン環構造をしており、中心に Mg^{2+} が配位している (Fig. 1, 竹内 2003)。また、chlorophyll にはいくつかの分解物が存在する (Fig. 2)。Fig. 3 に chlorophyll *a* (*b*) の分解過程を示す (Jeffrey 1997, Matile et al. 1999)。Chlorophyll *a* (*b*) の分解には、脱 Mg^{2+} 、脱 phytol、脱 methoxycarboxe 基があり、藻体の老化、崩壊によって Mg^{2+} が脱離し、 $2H^+$ に置換されると pheophytin *a* (*b*) に構造が変化する。また、動物プランクトンの捕食作用により、pheophytin *a* (*b*) の phytol が脱 phytol、または chlorophyllide *a* (*b*) の Mg^{2+} が脱離すると pheophorbide *a* (*b*) に構造が変化する (石渡・山本 2004)。さらに、pheophorbide *a* (*b*) の methoxycarboxe 基が脱離されると pyropheophorbide *a* (*b*) methyl ester に変化する (Shioi et al. 1996)。また、pheophytin *a* (*b*) の methoxycarboxe 基が脱離されると pyropheophytin *a* (*b*) に変化する (Pennington et al. 1964)。Pyropheophytin *a* (*b*) が動物プランクトンによる捕食作用を受けるとその一部は脱 phytol 化とともに、様々なステロール基と再エステル化によって Steryl chlorin esters of

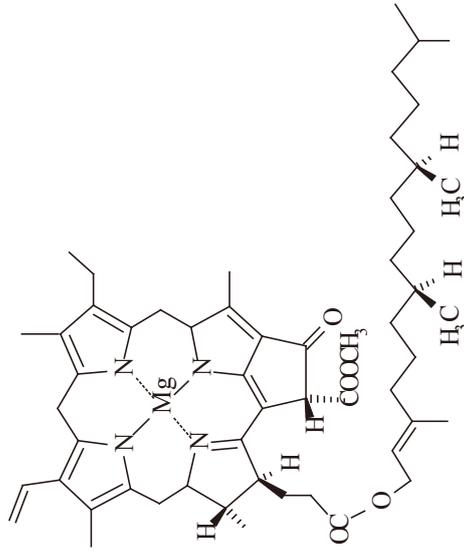
R: $\text{CH}_2\text{-CH}_3$ (chlorophyll *c1*)
R: CH=CH_2 (chlorophyll *c2*)



Chlorophyll *c*



Chlorophyll *b*



Chlorophyll *a*

Fig.1 Structures of chlorophylls.

Table 1 Photosynthetic pigments of algae.

Algal groups	Photopigments																							
	Chlorophyll <i>a</i>	div-Chl <i>a</i>	Chlorophyll <i>b</i>	div-Chl <i>b</i>	Chlorophyll <i>c1c2</i>	Chlorophyll <i>c1c3</i>	Alloxanthin	Antheraxanthin	β -carotene	Canthaxanthin	Diadinoxanthin	Diatoxanthin	Echinenone	but-Fucoxanthin	Fucoxanthin	hex-fucoxanthin	Lutein	Myxoxanthophyll	Neoxanthin	Peridinin	Violaxanthin	Zeaxanthin	Phycobilins	
Chlorophytes	++		++					+	++								++		++			+		
Chrysophytes	++				++	++			+		++			++										
Cryptophytes	++				++	++	++		++														++	++
Cyanobacteria (pelagic)	++							++	++	++												++	++	++
Cyanobacteria (benthic)	++							++	++	++			++						++				++	++
Diatoms	++				++	++			+		++	+			++									
Dinoflagellates	++				++	++			+		++	+								++				
Euglenophytes	++		++					+	++		++	+												
Eustigmatophytes	++								++													++		
Prymnesiophytes	++				++	++			+		++	+		++	++	++								
Pelagophytes	++				++	++			++		++	+		++	++	++								
Prasinophyte	++		++						++								++					++		
Prochlorophytes		++		++					++														++	
Raphidophytes	++				++	++			++		++	+												

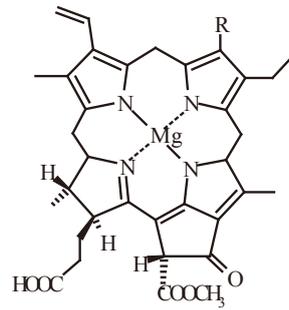
++ : common pigment in high concentration per cell

+ : pigment present in low concentration per cell

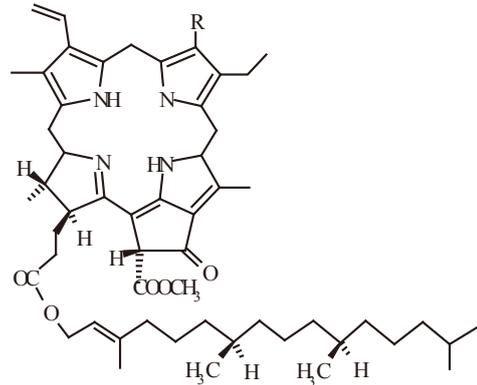
Table 2 Physico chemical properties of photosynthetic pigment:

Pigments	molecular weight	molecular formula
Chlorophyll <i>a</i>	893.51	$C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$
β -carotene	536.87	$C_{40}H_{56}$
Fucoxanthin	659.00	$C_{41}H_{58}O_4$
Zeaxanthin	569.00	$C_{40}H_{56}O_2$
Cathaxanthin	564.84	$C_{40}H_{52}O_2$
Echinenone	550.86	$C_{40}H_{54}O$
Diatoxanthin	566.86	$C_{40}H_{54}O_2$
Diadinoxanthin	582.85	$C_{40}H_{54}O_3$
Alloxanthin	564.84	$C_{40}H_{52}O_2$
Astaxanthin	593.82	$C_{40}H_{52}O_4$

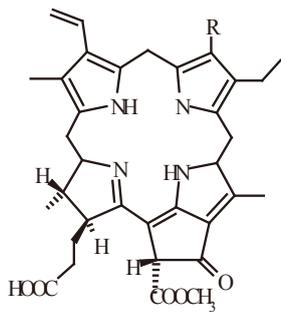
R: CH₃ (chlorophyll *a*)
R: CHO (chlorophyll *b*)



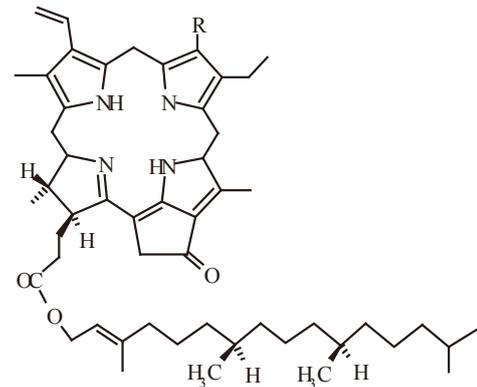
Chlorophyllide *a(b)*



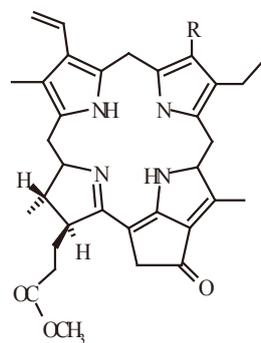
Pheophytin *a(b)*



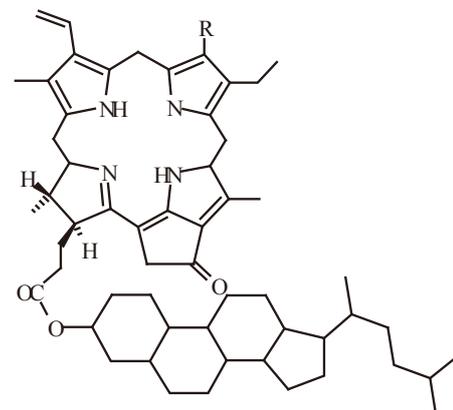
Pheophorbide *a(b)*



Pyropheophytin *a(b)*



Pyropheophorbide *a(b)* methyl ester



Steryl chlorin esters(SCEs)-*a(b)*

Fig.2 Structures of algal chlorophyll derivatives.

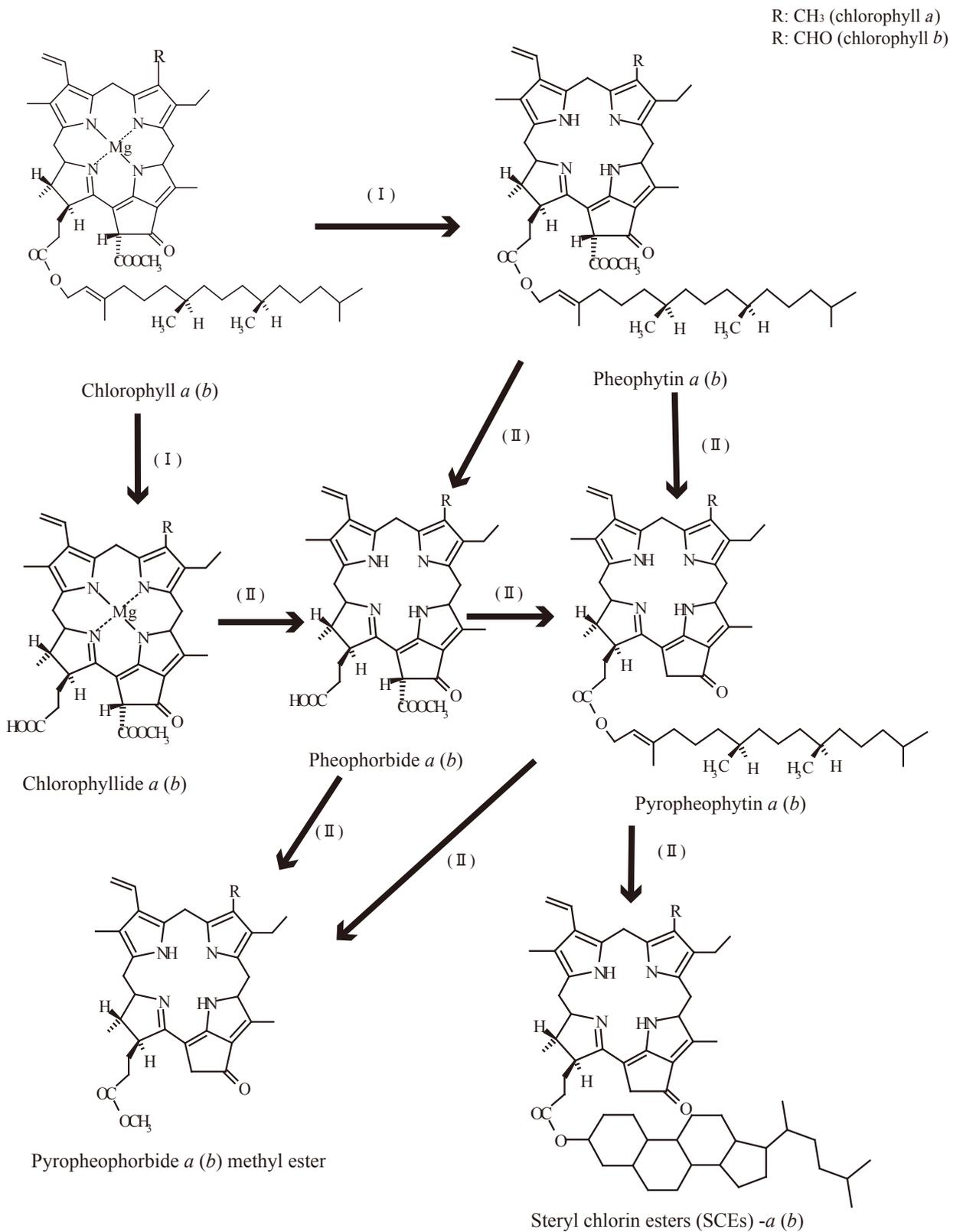


Fig.3. Typical transformation processes of chlorophyll pigments in aquatic environments. The first step of processes mainly occurs in living algae and death body (I). Other steps mainly occur through grazing by zooplankton (II).

pyropheophorbide *a* (*b*) (SCEs-*a* (*b*)) に変化する (King and Repet a 1991, Prowse and Maxwell 1991, Talbot et al. 1999, Soma et al. 2001)。

Carotenoid はより多種類が存在し、ある藻類種を特異的に示すものがある (Hooks et al. 1988)。β-carotene はほとんどの藻類と高等植物に含まれているが、fucoxanthin は珪藻、alloxanthin はクリプト藻、diatoxanthin は珪藻と渦鞭毛藻、lutein は緑藻と高等植物、zeaxanthin は藍藻、α-carotene はクリプト藻と紅藻に特徴的な色素として知られている (Itoh et al. 2003) (Fig. 4)。よって、これらの特徴的な色素を分析することでこれらの藻類を綱レベルまで分類することができる (Hooks et al. 1988)。

Astaxanthin は、carotenoid 類の xanthophyll に属し、長鎖の共役二重結合と両末端の β-イオノン環がケト基とヒドロキシル基にて置換された化学構造を有する赤橙色の天然色素である (Kuhn et al. 1938)。Astaxanthin は自然界に広く分布し、エビ、カニ、サケ、イクラなど水産物に多く含まれる色素である。通常、生体内では astaxanthin 脂肪酸エステル体として存在し、甲殻類などでは蛋白質と結合した astaxanthin 蛋白 (ovoverdin :オボルビン、crustacyanin : クラスタシアニン) としても存在することが明らかになってきた (Czeczuga et al. 2005)。近年 astaxanthin は、その強力な抗酸化作用で注目されるようになり (高市ら 2006)、藻類、酵母、細菌などの微小生物は自然界における有害な太陽光からこの強力な抗酸化作用によって自らを防御していると考えられている (Goodwin 1980)。Astaxanthin を含む微生物を捕食する魚類、甲殻類は食物連鎖を経て、astaxanthin を摂取でき、食物連鎖で上

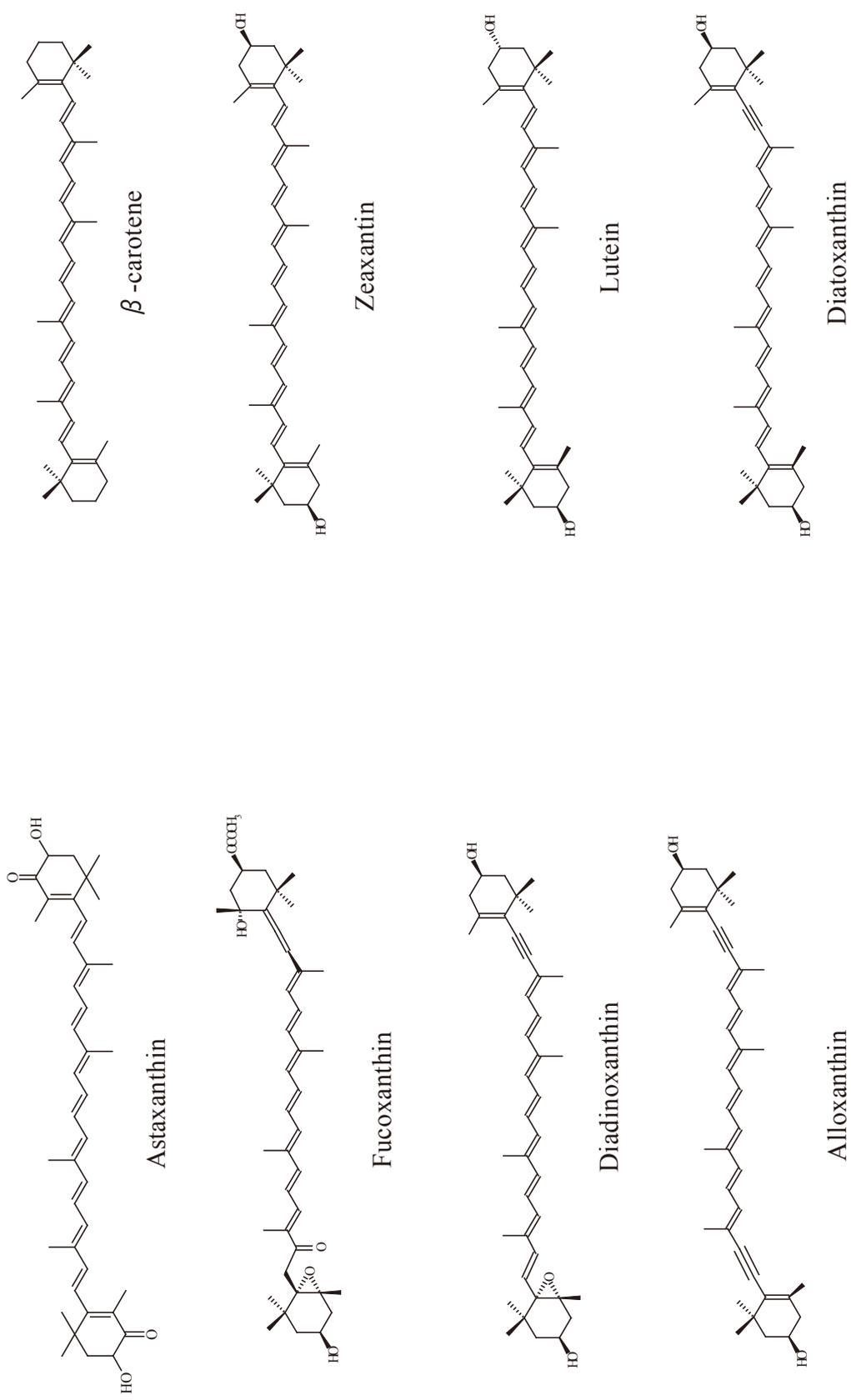


Fig.4 Structures of algal carotenoids.

位に位置する生物においても astaxanthin の強光やストレスからの防衛作用を利用していると考えられている (Krinsky 1979)。

1.1.2 Sediment as records for historical changes in aquatic environment

陸域における人間活動による、産業排水や生活排水が流入河川を通じて湖沼内に流入し、その中に含まれる栄養分によって植物プランクトンのブルームが引き起こされる例が世界中の水域で報告されている (Paerl 1988, Potts and Whitton 2000, Havens et al. 2001)。植物プランクトンは、湖の一次生産者として湖内生態系の重要な地位を占めており、湖水の化学的变化に最も敏感な指標として利用されている (Persall 1932)。植物プランクトンは湖内に流入した栄養塩を吸収利用し、現存量を増加させる。その後、遺骸となって湖底に沈降し堆積する。湖沼における有機堆積物の大部分を湖内植物プランクトンが占めることが知られている (Yacobi and Ostrovsky 2012)。そのため、湖沼が人間活動の様々な影響を受けた場合、その湖沼堆積物には富栄養化の経時的な変化が植物プランクトンの遺骸や植物プランクトン由来の有機物として記録されることになる (Edmondson 1974)。

湖沼堆積物には、湖内と集水域の両方において光栄養生物によって生産された carotenoids、chlorophylls、光防御化合物、他の脂溶性色素等の様々な化合物が保存されている (Leavitt and Hodgson 2001)。よって、堆積物中に保存されている生物化学的な指標を分析することで、それらが堆積した当時の湖内と集水域環境の情報を解読することが出来る (Smol and

Cumming 2000)。堆積物に保存された光合成色素の分析によって、過去の光独立栄養生物群集と一次生産量を再現することができ、栄養流入や捕食圧の変化、酸性化のような要因による光独立栄養生物群集の変化を過去に遡って解析することができる (Leavitt and Hodgson 2001)。つまり、堆積物中の色素は湖の歴史における詳細な情報を含んだ貴重なレコードであると考えられている (Watt et al. 1975, Zuling 1981, Engström et al. 1985, Swain 1985, Sanger 1988)。

水柱中で生産された色素の大部分は、堆積物へ移行する前に分解を受ける。この分解速度は色素ごとに異なるために、堆積物中の色素組成は水中の光栄養生物群集を定量的に反映しているわけではない (Hurley and Armstrong 1990)。水環境中において、色素は化学的、光化学的・生物学的な過程によって分解する。色素の分解は、通常、非常に早くまた、大規模に起こる (>95% of all compounds; half-life of days)。これらの分解は化学的または微生物が関与した酸化 (Leavitt and Carpenter 1990a, Louda et al. 1998)、無脊椎動物による捕食 (McElroy-Etheridge and McManus 1999, Descy et al. 1999, Poister et al. 1999)、バクテリアによる分解 (Leavitt and Carpenter 1990b)、老化による細胞溶解と酵素代謝 (Louda et al. 1998) に主に起因している。それら過程が複雑に相互作用し、その結果として表層堆積物中の色素組成と量が決定する (Cuddington and Leavitt 1999)。一方、水柱から堆積物表面に到達した場合、堆積物中における色素の分解速度は、特に無酸素状態では急速ではない (Tett 1982, Hurley and Armstrong 1990, Yacobi et al. 1991) が、光や泥中に生息する無脊椎動物の存在にも依存す

る (Leavitt and Carpenter 1989)。藻類、光栄養バクテリア、高等植物由来の色素は、元の由来生物の全ての形態的構造が失われていても長期間保存されている (Brown 1969)。特に、ある種の carotenoid は堆積物中で保存性がよいためにごく僅かしか分解せず、この数種の carotenoid を藻類ごとの湖内での消長とその環境変動との関係を示す指標として利用することは、非常に有用である。例えば、藻類由来の carotenoids が 56000 年前の海洋堆積物中から変化しないまま検出されている (Watts and Maxwell 1977)。Hovsgol 湖はさらに古く、数十万年前の湖沼堆積物中から carotenoids が検出されている (Tani et al. 2009)。

1.2 Thermal Ice Ridge

諏訪湖では厳冬期の結氷後に湖水が線状に盛り上がる鞍状隆起現象が認められ、これを「御神渡り」と呼んでいる (藤原 1949, 長野地方気象台 1995)。この現象は昼夜の寒暖差の大きい内陸部の湖で起こり、湖が全面結氷した後、夜間の厳寒時に氷が収縮して割れ目が生じ、その後、気温上昇によって氷が膨張し、割れ目の両側の氷が衝突して盛り上がることで形成される (石黒 2001)。

御神渡りは諏訪大社の上社 (諏訪市) の男神が下社 (下諏訪町) の女神の下へ向かう道と言い伝えられてきた。最初に出現した南北方向に走る御神渡りを「一の御渡り」、その数日後、同方向に出現したものを「二の御渡り」、東岸からできて一の御渡り、二の御渡りに直交するものを「佐久 (佐久新海) の御渡り」と呼び、この3筋の御神渡りを検分しその年の

作物の出来高を予想する御渡り拝観の神事が行われてきた。

御神渡りのでき方は年ごとに異なり、厳冬時には諏訪湖が全面結氷する期日及び御神渡りが発生する期日も平年の冬と比較して早くなる傾向にある。暖冬時には結氷期日、御神渡り期日ともに遅くなり、冬季（12、1、2月）の平均気温が累年平均値より 0.8℃以上高くなると結氷しても御神渡りはほぼ出現しない。さらには冬季の平均気温が累年平均値より 1.6℃以上高くなると湖は結氷せず、これを諏訪湖では「明海」と呼んでいる（長野地方気象台 1995）。

御神渡りの伝承は古くは平安時代の京都の文人たちの間にも広く知られ、発生日時や場所を記録したものは 1397 年が初めてとされている（長野地方気象台 1995）。室町時代の 1443 年以降からは現在までほぼ欠けることなく連続した記録が保存されており、世界でも希なこの長期記録は重要な気象復元資料として注目されている（石黒 2001）。

1.3 Ultraviolet radiation

紫外線（UV : ultraviolet）は、便宜上、①真空 UV、②UV-C、③UV-B、④UV-A の 4 つの主要な領域に分けられる。真空 UV は、200nm 未満の波長の放射線で、UV-C は、200–280nm の波長帯の放射線である。真空 UV と UV-C は大気圏外の太陽光スペクトルの主要な部分である（Nicolet 1989）が、それらは大気でのレイリー散乱とオゾンによる吸収のため、地球表面には到達していない。地球表面に到達する紫外線は UV-B（280-320 nm）と UV-A

(320-400 nm) である。オゾン層は Hartley 帯 (200-300nm) と呼ばれる強い吸収帯と Huggins 帯 (300-360nm) と呼ばれる弱い吸収帯を有しており、UV-B の大部分は、オゾン層によって減衰される。地表上への放射スペクトルにおいて UV-B が 0.1% を占め、UV-A が 6%、可視光 (光合成有効放射; Photosynthetically Active Radiation, PAR, 400-700 nm) が 50% を占めている。このように、地表レベルにおける太陽光由来の放射強度は相対的に低いが、UV は単位光量子当たりのエネルギーが高いため、結果として生物に与える光ダメージの主原因となる (Frederik et al. 1989)。

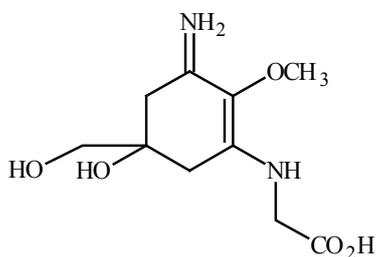
UV は、多くの生物体において DNA ダメージを与える (Harm 1980, Karentz et al. 1991a, Karentz et al. 1991b)。また、微生物 (Smith et al. 1980, 1992, Häder and Worrest 1991, Cullen and Neale 1994, Prezelin et al. 1994, Vincent and Roy 1993) 及び高等植物 (Tevini and Teramura 1989, Tevini 1993) における光合成活性やニトロゲナーゼ活性を抑制する (Sinha et al. 1996)。また、シアノバクテリアにおける異質細胞形成の抑制 (Sinha et al. 1996)、微生物における運動性の減少 (Donkor et al. 1993a, b, Donkor and Häder 1995) を引き起こすことも知られている。

1.4 Ultraviolet radiation screening mechanisms

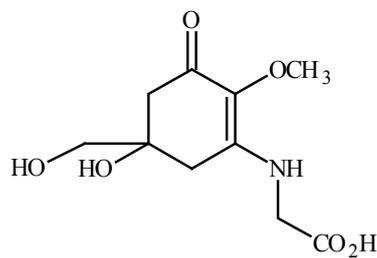
生物が有している UV による潜在的ダメージに対処する方法は、①回避、②防御、③修復 (光活性化、除去修復、複製後修復、蛋白質と脂質のデノボ合成など) に大きく分けられる (Cockell and Knowland 1999)。

生物体が走光性によって UV を避けることを回避と呼び、生物体は日中に UV-B 強度勾配に応じて移動することで UV への曝露を制限していると考えられている (Bebout and Garcia-Pichel 1995)。

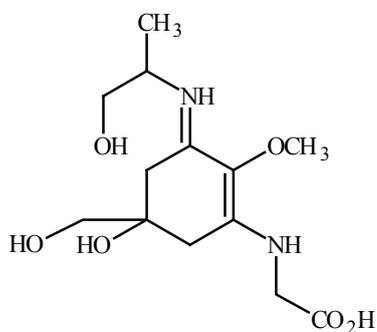
生物体は carotenoid による活性酸素種の除去 (Krinsky 1979)、特異的な UV 遮蔽化合物の合成を行うことによって UV ダメージに対して防御を行っている (Cockell and Knowland 1999)。多くの微生物体 (microorganisms) は天然の UV 遮蔽化合物として mycosporine-like amino acids (MAAs) (Fig. 5) を生産する。この物質は、シクロヘキサノン (cyclohexenone) またはシクロヘキセミン (cycloheximine) 核構造を有し、UV を吸収する (Cockell and Knowland 1999)。Fig. 5 は自然界中の確認されている主な MAAs を示している。シクロヘキサノン核構造を持つ mycosporine-glycine は 310nm で吸収極大を持っている。シクロヘキサノン核構



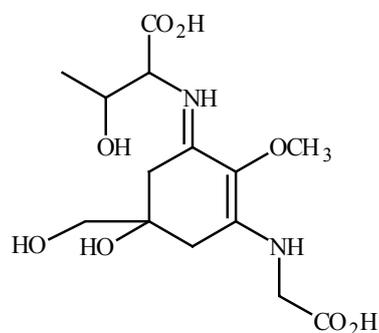
Palythine (lamda max = 320 nm)



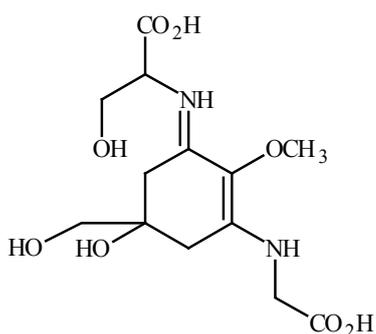
Micosporine-glycine (lamda max = 310 nm)



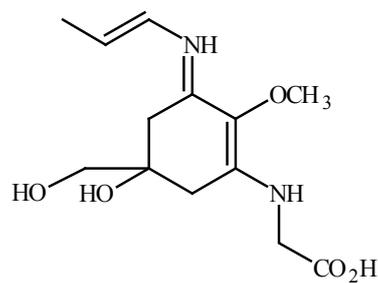
Palythanol (lamda max = 332 nm)



Porphyra (lamda max = 334 nm)



Shinorine (lamda max = 334 nm)



Palythene (lamda max = 360 nm)

Fig. 5 Structures of some of the principal micosporine-like amino acids (MAAs) found in nature. Lamda max for each compound represents wavelength at the ultraviolet absorption maximum.

造に比べ窒素をより多く含むシクロヘキサミン核構造をもつ palythine は、320nm で吸収極大を持つ。置換基が異なると最大吸収波長は変化する。大部分の UV-B 遮蔽 MAAs はシクロヘキサノン構造を持つのに対して、UV-A 遮蔽 MAAs はシクロヘキサミン核構造を持っている。後者は、非結合窒素電子によって UV-A 範囲に吸収を持つと考えられている。このような様々な MAA を合成することによって、生物体は UV-A と UV-B を広く遮蔽することができかもしれない。しかしながら、多くの動物プランクトンは、体内で新たに MAAs を合成するために必要なシキミ酸合成回路が欠落している (Karentz 2001, Shick and Dunlap 2002) ため、餌から MAAs の獲得を行わなければならない (Moeller et al. 2005)。また、有機不純物を含む水柱の物理的基質変化は UV 防御に有効であると考えられており、溶存有機物 (DOM) は、淡水中の UV 透過率を減少させる主要な要素の一つである (Booth and Morrow 1997)。

損傷の修復は重要な反応の一つであり、特に最も感受性が高い生物学的標的の一つである DNA が損傷した場合の修復反応は重要である (Jagger 1985)。DNA の光修復は、UV-B によって DNA 中に発生したチミン二量体を、青色光/UV-A によって活性化される光回復酵素が除去する過程で起こり、多くの生物体において重要な反応の一つである (Sutherland 1981)。

光修復を利用しない修復反応 (DNA 除去反応または暗修復) もまた有効な修復過程として多くの生物体において発達している (Hanawalt et al. 1979)。しかしながら、それらメカニズムは 100%有効ではなく、単細胞生物の場合は、偶然の単一点突然変異が致死に至る可能性もある (Cockell and Knowland 1999)。

1.5 The relationship of photoprotection and photosynthetic pigments on planktons

Carotenoids は、遊離酸素基を除去することにより、UV と高強度可視光の両方のダメージから間接的な保護作用を示すことが明らかにされている (Krinsky 1979, Demmig-Adams and Adams 1992)。光保護作用を示す carotenoid の産生は、多くの場合に UV 誘導性であることがわかってきた。Ehling-Sculz et al. (1997) は、*Nostoc commune* 外膜中の carotenoids (echinenone and myxoxanthophyll) の濃度が UV-B (1Wm^{-2}) に 5 時間曝露後、対照区と比較して約 40-50%まで増加したと報告している。Carotenoids は UV 帯よりも PAR 帯に主要な吸収スペクトルを有するが、最高 $2000\mu\text{g g}^{-1}$ dry mass の高い濃度で合成されているため (Cerdeira-Olmedo et al. 1996)、生体内における carotenoids の UV 遮蔽効果は十分高いと考えられる。場合によっては、既知の細胞内の MAAs 濃度よりも高くなり (Karentz et al. 1991b)、MAAs と同様に UV 遮蔽に有効に働くことが予測される。

Carotenoids が効果的な UV 遮蔽を行うとすれば、受動的な UV 遮蔽に関与する carotenoids の性質は非常に興味深い研究課題である。しかしながら、生物圏において見られる UV 遮蔽

化合物の範囲と特性の理解は、まだ初歩段階であり、UV 遮蔽における carotenoids の役割については未だ仮説的である (Cockell and Knowland 1999)。従って、UV に対する carotenoids の役割に関してはこの分野の研究は十分とはいえない。また、MAAs と同様に、動物プランクトンは carotenoids を体内で合成することができないため、餌から獲得する必要がある (Moeller et al. 2005)。1.1 で述べたように、藻類はそれぞれ特異的な光合成補助色素を持っており、この光合成色素をツールとして動物プランクトンの餌起源を確かめるバイオマーカーとして用いることができると考えられる。

Chapter 2

Historical change of phytoplankton assemblage in a eutrophic lake in Japan as determined by analysis of photosynthetic pigments in a lakebed sediment core past 100 years

2.1 The object of this study

諏訪湖は、1890年頃からの製糸産業に始まる周辺都市の産業の発達とそれに伴う人口増加が起こった歴史を持ち、人間活動の影響を強く受けてきた湖である。湖沼生態系と人間活動に関する多くの研究がなされており、一番古くは1906年からの田中阿歌麿による透明度の記録にまで遡ることが出来る。それ以来、現在に至るまで約100年間に及ぶ湖沼学研究所の歴史を有するため、富栄養化の経過に関するデータも多く残っている。しかしながら、諏訪湖で本格的な水質調査が始まったのは1977年からであり、それ以前の詳細な水質データは存在しない。諏訪湖においては、すでに1960年代始めには富栄養化が極度に進行していたと考えられているが、実際的な富栄養化の始まりの時期についてのデータは残されていない。また、1969–1977年に過栄養湖状態となり、藍藻類のブルームによる水質の汚染が問題となったが、この時代の藍藻類以外の植物プランクトンの組成についての記録も非常に乏しい。

堆積物中に保存された光合成色素である chlorophylls、carotenoids の分析から過去の湖環境を解読する研究がなされてきており、過去の植物プランクトン現存量の推定が試みられている。Griffiths (1978) は、イギリスの Lake District 内にある Esthwaite Water にて柱状堆積物中の carotenoid の分布から湖沼の富栄養化の始まりを明らかにしている。これらの研究から、堆積物中の光合成色素分析によって長期間に渡る植物プランクトン群集組成変化のモニタリングすることができると考えられる。諏訪湖では堆積物中の光合成色素に関して研

究された例はまだない。そこで本研究では、諏訪湖から採集した全長 79 cm の堆積物柱状試料中の光合成色素から過去の藻類の組成の変化と富栄養化の変遷を解明することを目的とした。

2.2 Materials and methods

2.2.1 Study area

日本の中部地域に位置する諏訪湖 (Fig. 6) は、海拔標高 759m、最大水深 6.3m、平均水深 4.1m、表面積 13.3 km²、体積 6×10^7 m³ の淡水の富栄養湖である (Okino and Kato 1987)。この湖は上川、砥川をはじめとする 26 の流入河川と 512 km² の肥沃な集水域 (表面積の 40 倍) を持つ。流出河川は天竜川のみである。集水域の年間降水量の約 75 % が流入河川を経由して湖内に流入し、その後、天竜川へと流出する。湖水の滞留時間は日水流出量を基に算出すると平均で約 40 日間である。しかしながら、渇水時には約 120 日間と長時間の滞留時間を有する一方、豪雨や長雨の際には短時間 (約 3 日) で湖水が入れ替わり、滞留時間に非常に幅がある。水位は釜口水門で人為的に調整されているが、水深が浅く、豪雨の際には肥沃な集水域からの多量の水量が一瞬で流入するため、洪水の影響を受けやすい。大部分の流入水は NO₃-N や PO₄-P のような栄養塩を豊富に含んでいる。諏訪湖は流入水と浅水環境の影響で長期間に渡って典型的な富栄養湖となっている (Sakamoto et al. 1975)。

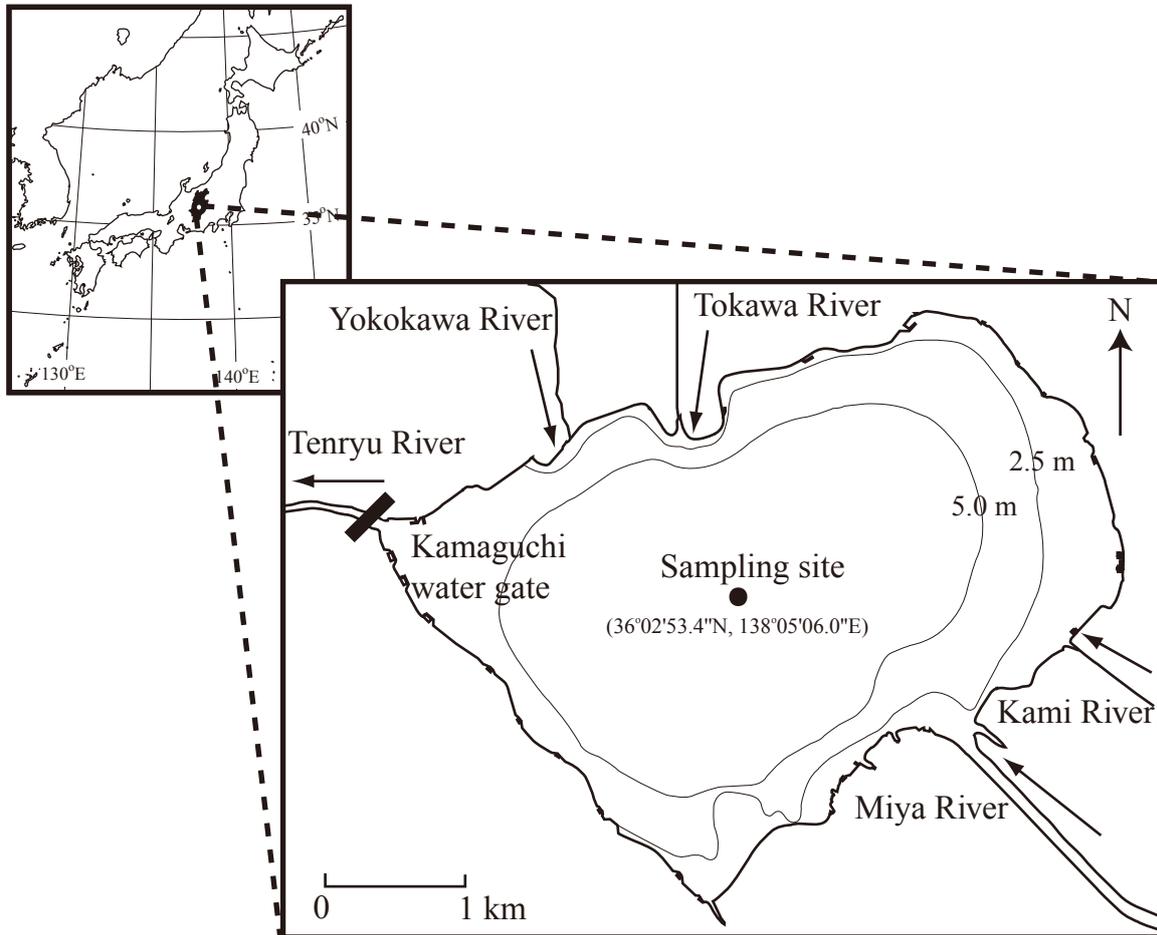


Fig.6 Map of Lake Suwa and the sampling site of sediment core.

2.2.2 Sediment core

2003年8月1日、諏訪湖の湖心付近(北緯36度02分53.4秒、東経138度05分06.0秒)でダイバーによる押し込み式採泥法により、湖底泥表層から79cmの柱状試料を採取した(Fig. 6)。採取した柱状試料は実験室に持ち帰り、直ちに半裁した。半裁した柱状試料は切断面の特徴を記載した後、遮光を行いながら、表層より1cm間隔で分割を行い、凍結乾燥を行った。凍結乾燥後の試料は、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)分析に用いた。

2.2.3 Analysis of photosynthetic pigments

HPLCによる光合成色素の分析はSoma et al. (1993)とItoh (2003)を一部改変して行った。HPLCは、送液ユニット(LC-10ATVP, Shimadzu, Kyoto, Japan)と分光蛍光検出器(RF-10AXL, Shimadzu, Kyoto, Japan)、クロマトパック(C-R8A, Shimadzu, Kyoto, Japan)、SPD-10A (Shimadzu, Kyoto, Japan)から構成された装置を使用し、カラムはCOSMOSIL 5C18-AR (4.6×150mm, Nacalai, Japan)を使用した。

分析試料における色素の同定と定量は、chlorophyll *a* (Sigma Chemical Co. USA)、 β -carotene (Wako Pure Chemical Industries, Japan)の標準物質の保持時間(retention time)との比較及び、UVスペクトル解析によって行った。

凍結乾燥した諏訪湖底泥柱状試料0.1gを電子天秤で秤量し、遠心管に入れてacetone 5mL (90%、HPLC grade)を添加したのちに、15分間超音波抽出を行った。抽出後、遠心分離を行い、上澄み液を採取し、分光光度計によるchlorophyll *a*分析とHPLC分析に用いた。移

動相に A (アセトニトリル: 0.5% トリエチルアミン水溶液: MeOH [63:7:30 v/v/v])、B (酢酸エチル) を使用し、初期状態を A 100%、25 分後に B 100%になるように直線的に溶離液比を変化させ、30 分間後まで B 100%を維持した。流速は 1.0 mL min^{-1} とした。また分光蛍光検出器 (RF-10AXL, Shimadzu, Kyoto, Japan) の励起波長を 440nm、検出波長を 660nm とした。これらの波長は chlorophyll *a* におけるそれぞれの最大ピーク波長の近傍である。SPD-10A (Shimadzu, Kyoto, Japan) の検出波長は 440nm、SPD-M10A (Shimadzu, Kyoto, Japan) は 200–600nm に設定した。

2.3 Results

2.3.1 Chlorophyll *a* in the sediment core

Chlorophyll *a* とその分解物の堆積物中 profile 結果を Fig. 7 に示した。深度 22-26cm、深度 40-48cm、59-62cm に色素濃度の減少が見られた。Chlorophyll *a* は表層より 8cm までの分解が大きく、堆積深度が増すにつれて、chlorophyll *a* の分解物である pheophytin *a* に置き換わっていく傾向が観察された (Fig. 7b, c)。深度 32cm で pheophytin *a* は $20.5 \text{ nmol g}^{-1} \text{ dry weight}$ が含まれており、chlorophyll *a*, pyropheophytin *a* を合わせると $44.8 \text{ nmol g}^{-1} \text{ dry weight}$ であった。

2.3.2 Algal carotenoids in the sediment core

Fig. 8 は carotenoids の鉛直分布を示している。全藻類に含まれる β -carotene (Fig. 8a)、藍藻に特有の zeaxanthin (Fig. 8b)、珪藻に特有の fucoxanthin (Fig. 8c)、珪藻と渦鞭毛藻類に特

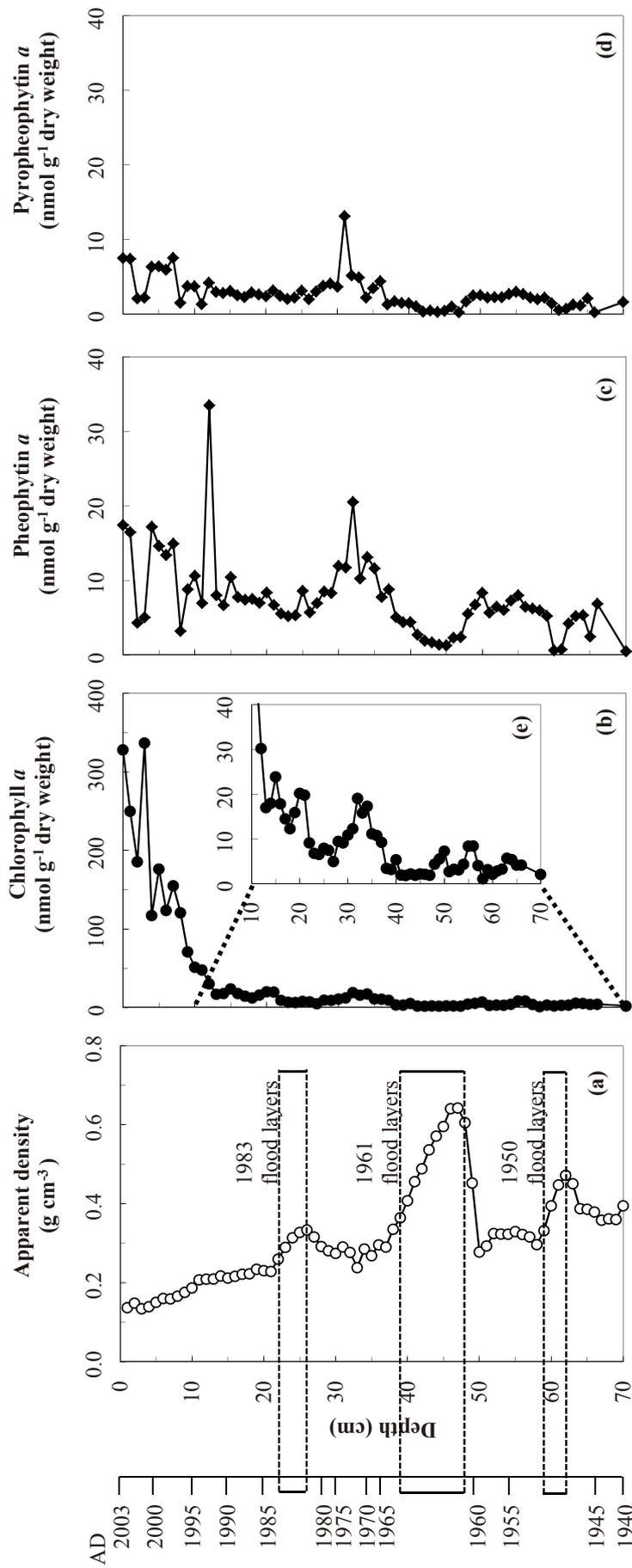


Fig. 7 Vertical distribution of apparent density (a), chlorophyll *a* (b), pheophytin *a* (c), pyropheophytin *a* (d) concentration in Lake Suwa sediment. (e) shows the extended figure of vertical distribution of chlorophyll *a* concentration at 10 to 70 cm depth of bottom sediment.

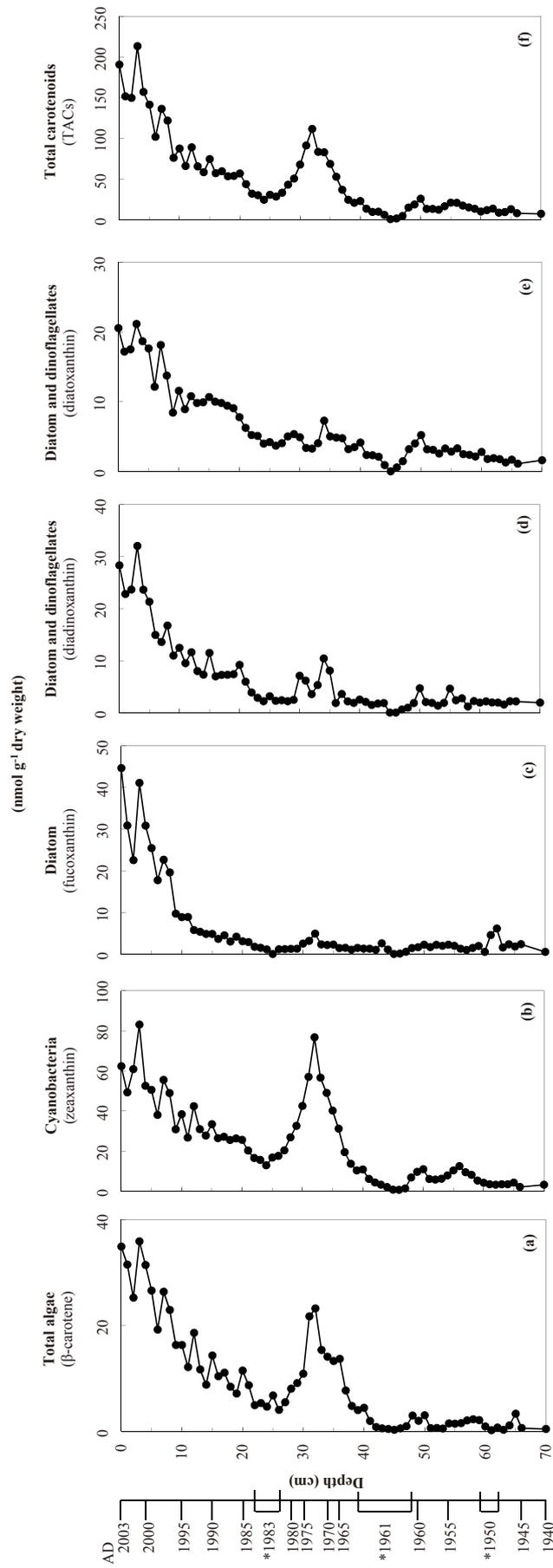


Fig. 8 Vertical distributions of β-carotene (a), zeaxanthin (b), fucosanthin (c), diadinoxanthin (d), diatoxanthin (e) and TACs (f) concentrations in Lake Suwa sediment. Annotations: β-carotene; all phytoplankton, zeaxanthin; Cyanobacteria, fucosanthin; Diatom, diadinoxanthin and diatoxanthin; Diatom and dinoflagellates. Abbreviations: TACs; sum of total algal carotenoids (β-carotene, fucosanthin, diadinoxanthin, zeaxanthin). *; flood layers.

有の diadinoxanthin、diatoxanthin (Fig. 8d, e) を特徴的な色素として検出した。また、これら検出された carotenoids を合計して TACs (Total Algal Carotenoids) とした (Fig. 8f)。Fig. 8 (a) において、最表層の β -carotene 濃度は $34.9 \text{ nmol g}^{-1} \text{ dry weight}$ を示した。その後、深度 19cm まで段階的に減少し、 $5.47\text{-}35.9 \text{ nmol g}^{-1} \text{ dry weight}$ の濃度で推移した。堆積深度 66cm の層においても $0.62 \text{ nmol g}^{-1} \text{ dry weight}$ の濃度が検出された。

Fig. 8 (b) において、最表層の zeaxanthin 濃度は $62.2 \text{ nmol g}^{-1} \text{ dry weight}$ を示した。堆積深度 3cm で最大値 $83.0 \text{ nmol g}^{-1} \text{ dry weight}$ を示し、その後深度 14cm まで段階的に減少した。Zeaxanthin は深度 59cm から 53cm にかけて増加傾向が見られ、一旦減少したが再び 41cm から 32cm まで段階的に増加して $76.7 \text{ nmol g}^{-1} \text{ dry weight}$ に達し、24cm にかけて減少する傾向を示した。Fig. 8 (c) において、fucoxanthin は最表層で $44.7 \text{ nmol g}^{-1} \text{ dry weight}$ を示した。他の carotenoids と同様に深度 10cm 付近まで段階的に減少する傾向にあり、その後ほぼ一定の値で推移し、平均して $2.75 \text{ nmol g}^{-1} \text{ dry weight}$ であった。また、diadinoxanthin は最表層で $28.3 \text{ nmol g}^{-1} \text{ dry weight}$ を示し、深度 10cm 付近まで段階的に減少した (Fig. 8d)。30、34cm にそれぞれ 7.09 、 $10.4 \text{ nmol g}^{-1} \text{ dry weight}$ のピークを示した。Diatoxanthin (Fig. 8e) は、最表層で $20.6 \text{ nmol g}^{-1} \text{ dry weight}$ を示し、他の carotenoids と同様、深度 10cm 付近まで段階的に減少してその後一定の濃度で推移した (平均 $5.28 \text{ nmol g}^{-1} \text{ dry weight}$)。また、深度 34cm に濃度ピークが観察された。最表層の堆積物中の TACs は $191 \text{ nmol g}^{-1} \text{ dry weight}$ であり、濃度の増減パターンは zeaxanthin の鉛直分布と同様の傾向を示した。

2.4 Discussion

2.4.1 Effect of floods

諏訪湖は 1950 年 6 月 11 日 (降水量 282mm)、1961 年 6 月 28 日 (降水量 368mm)、1983 年 9 月 28 日 (降水量 216mm) に大きな洪水が起こっており、この洪水による影響が堆積物にも記録されている。大規模な洪水時には多量の土砂が短時間の内に流入・堆積し、岩石・鉱物などの無機物質粒子による希釈効果が起こる (Kumon and Ikenaka 2004)。この希釈効果は、全ての色素の鉛直分布において観察された (Fig. 7 and 8)。

また、見かけ密度のピークは、珪藻殻が少なく、鉱物、岩石の粒子が多いこと、および、炭素や窒素の含有量は少ないが C/N 比が高いという特徴を示す (Fig. 7A)。これらは高密度層が通常の堆積物よりも粗粒であり、陸上に起源を持つ物質を多く含んでいることを示している。これらの特徴は、通常とは異なった洪水のような強い営力によって湖心部付近まで運び込まれたことを示唆している。見かけ密度と光合成色素の鉛直分布はほぼ逆傾向を示すことで一致し、洪水による希釈効果は、本研究で分析した光合成色素の濃度にも顕著に表れていた。

2.4.2 Change in algal composition

β -carotene においては 32cm、36cm に顕著な濃度上昇が見られ、この時期において植物プランクトンの現存量が増加していたことが明らかとなった。32cm の濃度ピークは、藍藻類

を示す zeaxanthin、珪藻類を示す fucoxanthin でも観察された。この層の zeaxanthin は $76.7 \text{ nmol g}^{-1} \text{ dry weight}$ 、fucoxanthin は $4.90 \text{ nmol g}^{-1} \text{ dry weight}$ であり、32cm の植物プランクトン現存量増加には藍藻類が最も寄与していることが示された。また、珪藻類と渦鞭毛藻類を示す diatoxanthin, diadinoxanthin は、他の carotenoids の鉛直分布パターンとは異なる傾向を示した。これら carotenoids は 36cm に顕著な濃度の増加が見られ、この時期に、珪藻類及び渦鞭毛藻類の現存量が増加していたことが示された。

2.4.3 Reconstruction of phytoplankton biomass in the past water column

2.4.3.1 Vertical distribution of the carotenoids/TAC ratio

また、全藻類に対する各藻類の寄与度を示すものとして、Fig. 9 に各 carotenoids と TACs (Total Algal Carotenoids) の比を示した。この図は、 $^{210}\text{Pb}_{\text{excess}}$, ^{137}Cs による年代測定の結果と見かけ比重、洪水による堆積年代推定を元に堆積深度と年代を対応させ、年代軸と植物プランクトン組成の変化を表している。また、この図では洪水層を除いている。

Zeaxanthin は 1957 年から段階的に濃度が増加し、1970 年代に濃度のピークを示した。これは Fig. 8 (b) と同様に、1970 年代に藍藻類の現存量が最大に達し、その後現代に向けて減少しているパターンが顕著に示されている。この 1970 年代には zeaxanthin 以外の carotenoids でも濃度の増加が見られるが (Fig. 8)、植物プランクトン全体に対して最も寄与度が大きい藻類は藍藻類であったことが読み取れる (Fig. 9)。諏訪湖の夏季に形成されるアオコの主な藍藻類は *Microcystis aeruginosa* と *M. viridis* であり、その細胞数は 1948 年には全植物プラン

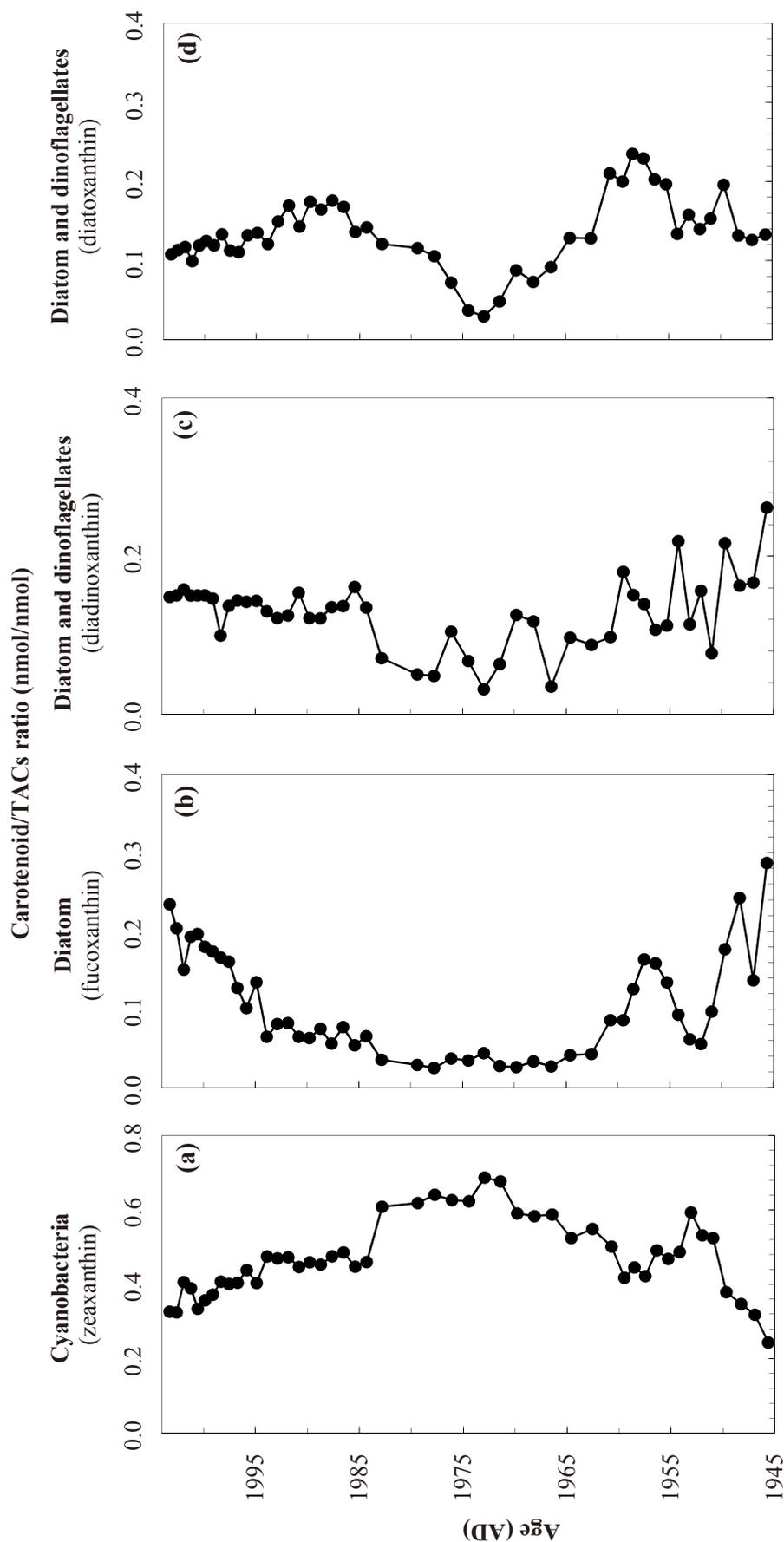


Fig. 9 Vertical distribution of zeaxanthin (a), fucoxanthin (b), diadinoxanthin (c), diatoxanthin (d)/TACs (Total carotenoids) ratio in Lake Suwa sediment. Annotations: zeaxanthin; Cyanobacteria; fucoxanthin; Diatom, diadinoxanthin and diatoxanthin; Diatom and dinoflagellate, Abbreviations: TACs; sum of total algal carotenoids (β -carotene, fucoxanthin, diadinoxanthin, diatoxanthin, zeaxanthin).

クトン数の 60%を占めていたが、1970 年から 1977 までは 99%の優占であった。その後、1986 年には 65%まで減少したが (Okino 1990)、1990 年代に入ると再び 90%を上回るようになったことが報告されている (Park et al. 1993a, 1998a)。また、諏訪湖水中の植物プランクトン種組成は 1948 年から大きくその組成が変化していることが報告されており、諏訪湖の夏季表層にみられる植物プランクトン群集は 1911 年では珪藻類 *Aulacoseira* 属が優占していたが、1948 年以降藍藻類 *Microcystis* 属に変化したと報告されている (Kurasawa and Okino 1983)。従って、諏訪湖の富栄養化していた年代の 1969–1977 年の優占種は、*Microcystis* 属であり、この年代における藍藻類を示す zeaxanthin もまた他の色素と比較して高い濃度を示した。霞ヶ浦において、zeaxanthin は泥質中で保存性が良いことが報告されている (Soma et al. 1995)。一方で、湖水試料と堆積物試料において、zeaxanthin の濃度が著しく異なるという結果がバイカル湖で報告されている (Soma et al. 1996)。一般的に、複雑な官能基と構造をもつ化合物は、より単純な化合物よりも急速に分解する (Leavitt and Carpenter 1990a, 1990b, Hurley and Armstrong 1990, Steenbergen et al. 1994)。例えば、構造内に 5, 6-epoxide を持つ fucoxanthin のようないくつかの carotenoids は様々な水生環境の堆積物中において、他の carotenoids よりも保存性が良くないとされている (Repeta and Gagosian 1987, Millie et al. 1993, Leavitt and Findlav 1994)。しかしながら、元となる個体群の老化と分解に対する反応性の違いや、細胞の生来の生化学的特徴、または種による生息域選好の違い、無脊椎動物による餌選択性や他の生態学的要因における違いがあるため、色素損失率においてかなりの

ばらつきも起こる (Leavitt and Carpenter 1989)。

堆積物中の zeaxanthin 量の増加はこのような報告からも藍藻類に寄与していることが支持される。また、諏訪湖では 1936 年より流出地点の釜口水門で人為的に水位が調整されている。これによって、表層水中に集積しやすいシアノバクテリアは、約 50-58% が諏訪湖の流出河川である天竜川へ流出していたことも考えられる。よって堆積物中の zeaxanthin から予測される藍藻類の現存量は実際よりも過小評価されていることが示唆される。しかしながら、表面放流による損失量を考慮しても、藍藻類による増殖影響と富栄養化の変遷を顕著に示していることが読み取れた。

長野県では、諏訪湖の富栄養化問題を受けて水質改善への施策として様々な取り組みを行い、その一環として 1979 年 10 月には諏訪湖流域下水道の一部を供用開始し、以後下水道の普及率の増加によって水質は回復傾向に向かったが、1986 年頃から現在までは横ばい状態が続いている。

この傾向は藍藻類以外での藻類寄与を見ると顕著である (Fig. 9)。下水道の供用によって zeaxanthin 量は減少したが、ある程度の量は保っており、変わって珪藻類や渦鞭毛藻類に寄与する carotenoids が下水道供用前よりも増加している。このことは、諏訪湖内に流入する有機物量、窒素濃度が関係していると考えられる。Fukushima et al. (2005) によれば、諏訪湖水中の COD, TN 濃度は改善されているにも関わらず、底質の有機物、窒素濃度は増加している。底質中の TP 濃度は、流入量と湖水 TP 濃度の低下に伴って減少しており、諏訪

湖の水質改善がはっきりと見られるのは diversion による負荷削減率が極めて高いのに加えて、堆積速度が大きく、底質に蓄えられた有機物と栄養塩が湖水に戻りにくいからであるということが推定されている。従って、諏訪湖の堆積物中の有機物、窒素濃度の増加は、湖内に流入する有機物量の減少によって脱窒に必要な量の有機物が得られていない可能性が示唆され、この現象が結果として植物プランクトンの種組成変化に大きく影響していることが考えられる。

2.4.3.2 Predict phytoplankton biomass in the past water column

信州大学山地水環境教育研究センターによる諏訪湖のモニタリングデータと堆積物中の TCh-*a* 濃度を比較すると、堆積物中の TCh-*a* は水柱の COD, Chl *a* の分布と同様のパターンを示すことが明らかとなった (Fig. 10)。

Fig. 10 (c) は、Brugam (1978) の方法に従って算出した諏訪湖の一年間の藻類の積算量を示している。TCh-*a* は chlorophyll *a* とその分解物である pheophytin *a*, pyropheophytin *a* を合計したものである。また、 $^{210}\text{Pb}_{\text{excess}}$, ^{137}Cs による年代測定の結果と見かけ比重、洪水による堆積年代推定を元に堆積深度と年代を対応させ、洪水層を除いて示してある。また、表層部を除いて示している。2003 年の堆積物中では TCh-*a* の濃度は $37.2\mu\text{g cm}^{-2}$ であった。その後、1993 年まで段階的に減少し、1992 年からほぼ一定となった。1992 年以降の濃度は $2.47 - 14.6\mu\text{g cm}^{-2}$ の範囲で推移し、平均して $6.41\mu\text{g cm}^{-2}$ であった。

TCh-*a* と carotenoids の鉛直分布を比較すると、TCh-*a* と carotenoids はともに深度増加に伴

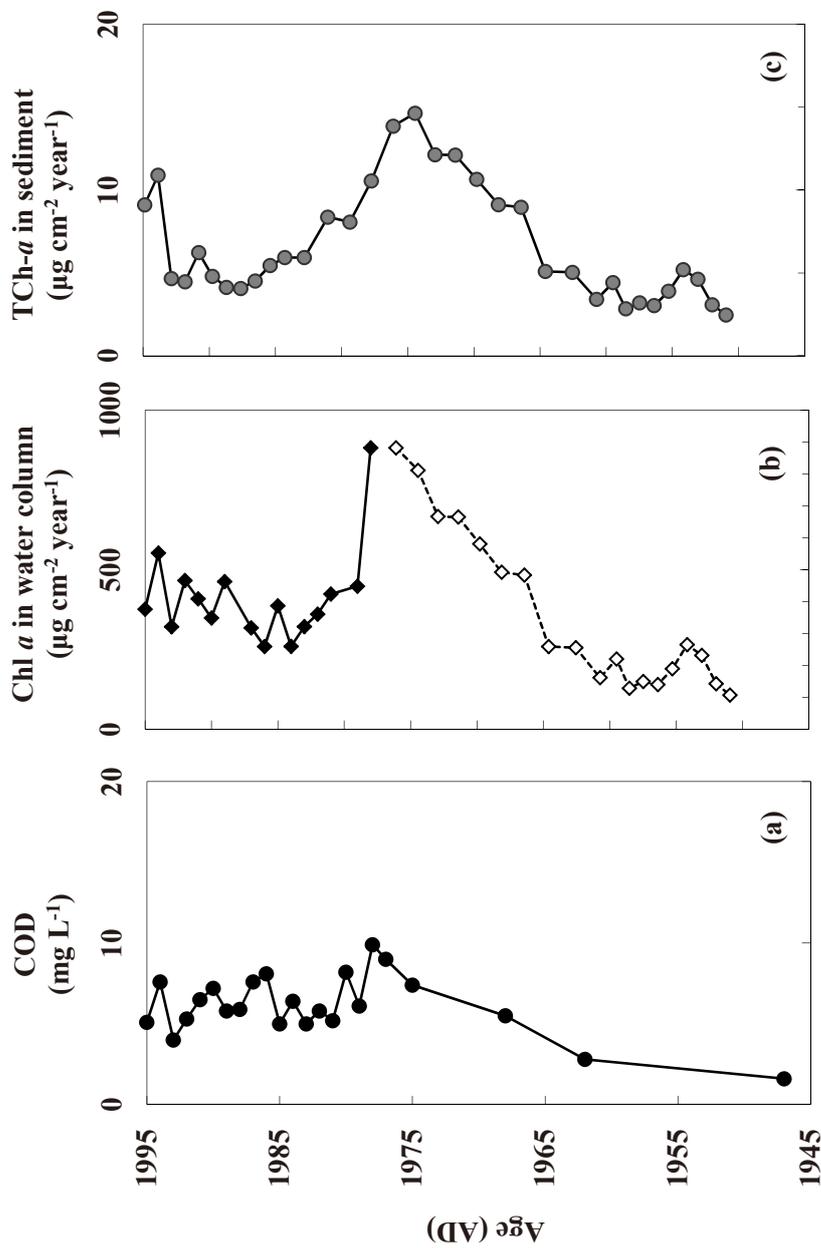


Fig. 10 Comparison of COD (mg L⁻¹) in water column (a), chlorophyll *a* (Chl *a*) concentration (µg cm⁻²) in water column (b) and TCh-*a* concentration (µg cm⁻²) in Lake Suwa sediment (c). Black diamond shows COD, black circle shows Chl *a* concentration in water column and gray circle shows TCh-*a* concentration in sediment core. TCh-*a* shows sum of chlorophyll *a* and degradation products (pheophytin *a* and pyropheophytin *a*). Open diamond shows the predict value of Chl *a* in water column.

って減少し、ほぼ同様のパターンを示した。諏訪湖が最も富栄養化していた 1969–1977 年に TCh-*a* と carotenoids も段階的に増加し、1973 年でピークを示し、その後減少した。また、表層部では TCh-*a* 濃度が高かったにも関わらず、深度が増すにつれ carotenoids 濃度が TCh-*a* 濃度を上回った。これは、carotenoids が深度増加に伴う分解が少なく、より安定していることを示している。植物プランクトン中の carotenoid 含有量は 0.1 重量% (Scheuer 1978) または 0.25-2.0% (Young and Britton 1993) と報告されており、藻類中の chlorophyll 含有量は 3.3-6.6 重量% (Lewin 1962) と推定されている。諏訪湖堆積物中の TCh-*a* と TACs の相関係数は $r^2 = 0.80$ であった。Carotenoids と同様に堆積物中の TCh-*a* は諏訪湖の富栄養化への移行と下水道供用による水質改善の傾向を顕著に示していた。

諏訪湖は多くの研究が行われている湖であるが、湖水の調査を本格的に開始したのは 1977 年以降であり、それ以前の水柱の植物プランクトンに関するデータがない。しかしながら、言い換えれば 1977 年からは chlorophyll 等の様々なデータが存在し、それらは非常に貴重で重要な意味を持つ。そこで本研究では、データが存在する 1977 年以降の水柱の積算 Chl *a* 量と堆積物中の TCh-*a* 量から、モニタリングが行われていない 1977 年以前の水柱の Chl *a* 量推測値を算出することができると考えた。水柱の積算 Chl *a* 量と堆積物中の TCh-*a* 量から、関係式 ($y = 37.6x + 151$; y : estimated value of Chl *a* in water column, x : concentration of TCh *a* in sediment, $r^2 = 0.55$, $n = 16$) (Fig. 11) を求め、過去の水柱の推測値の鉛直分布パターンを復元した (Fig. 10b)。堆積物中の光合成色素濃度から過去の植物プランクトン現存量を再現した

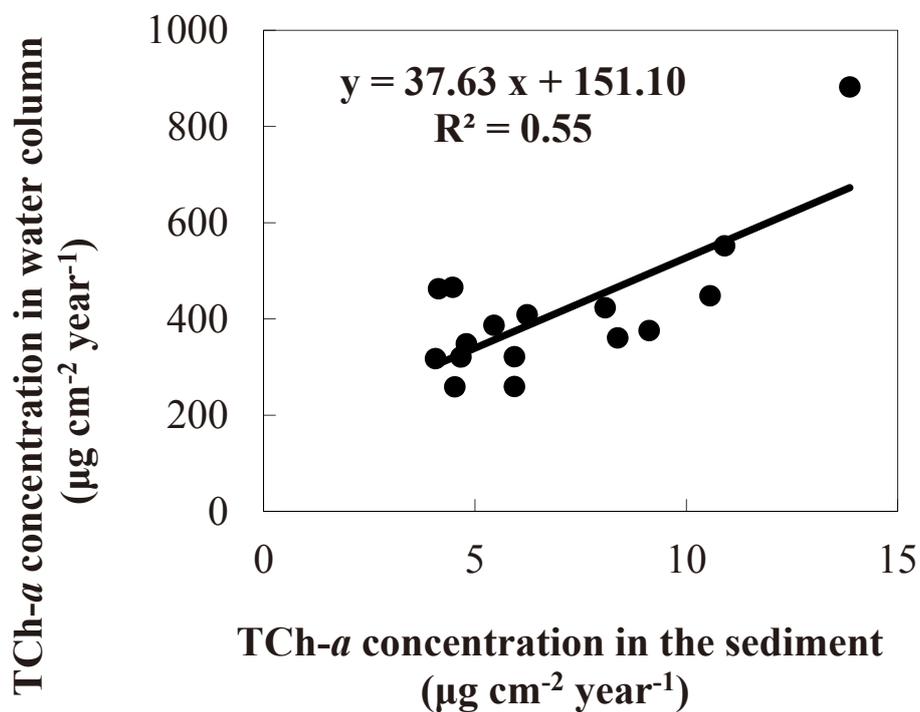


Fig. 11 Relationship between total chlorophyll *a* (TCh-*a* ; sum of chlorophyll *a* and degradation products (pheophytin *a* and pyropheophytin *a*) in water column and in sediment core (µg cm⁻² year⁻¹). There is a positive relationship between in water column and in sediment.

論文は多く存在する (e.g. Zülling 1989, Tani et al. 2002, Itoh et al. 2003, Fietz et al. 2007)。しかしながら、実際の水柱の chlorophyll データと堆積物中の光合成色素の比較によって植物プランクトン現存量の推定を行った論文は著者の知る限りではなく、おそらく本論文が初めてであると考えられる。諏訪湖は水深が浅く単純で偏平な湖底地形を有する湖であるために風などによる堆積物の巻き上がり影響を受けやすく、表層部での堆積物が不安定なため、本論文で得られた関係式は、堆積物が比較的安定し始める深度 10cm 以深で用いなければならぬという欠点もある。しかし、分解や巻き上がり等を考慮しても光合成色素はよく保存されており、水柱の Chl *a* と堆積物中の TCh *a* 間の相関係数も高い値を示しているため、有用性は高いと考えられる。また、先にも述べたように水柱の実測値と堆積物中の光合成色素濃度から再現を行った点で陸水学的に重要なデータとなる可能性が示唆される。

Acknowledgments

本研究を進めるにあたり、多くのご指導と温かいご支援をいただきました朴虎東教授に深く感謝いたします。諏訪湖柱状堆積物コア採取へのご指導及び含水率、見かけ密度、C/Nデータをご提供いただきました公文富士夫教授にお礼申し上げます。また光合成色素分析及び論文執筆にあたり、静岡県立大学の谷幸則准教授にはひとかたならぬご指導をいただき、大変お世話になりました。心より感謝申し上げます。過去の諏訪湖水中データをご提供いただきました花里孝幸教授、宮原裕一准教授、山地水環境教育研究センターの皆様には本当にお世話になりました。ありがとうございました。

白駒池の調査へのご協力及び多くのご助言をいただきました滋賀県立大学伴修平教授に感謝申し上げます。また、毎月の試料採取に協力してくださいました環境毒性学研究室の皆様を重ねてお礼申し上げます。信州大学医学部附属病院の皆様には、バクテリアの同定に際してご指導をいただきました。バクテリア保存に関して冷凍庫をお貸しいただいた國頭恭准教授に厚くお礼申し上げます。

学位論文審査に際し、審査委員として公文富士夫教授、戸田任重教授、國頭恭准教授、静岡県立大学 谷幸則教授には多くの貴重な助言をいただきました。深く感謝申し上げます。

その他多くの面でお世話になった物質循環学科の皆さん、卒業生の方々に深く感謝します。また、学会活動を通じて多くのご意見、ご助言をくださりました先生方、研究を通じて出会った全ての方々に感謝申し上げます。

最後に、自分の思う道を進むことに対して温かく見守り、最大の支援をしてくれた両親、家族に深く感謝致します。

References

- Adhikari DP, Kumon F (2001) Climatic changes during the past 1300 years as deduced from the sediments of Lake Nakatsuna, central Japan. *Limnol* 2; 157-168
- Aizenshtat Z (1973) Perylene and its geochemical significance. *Geochim et Cosmochim Acta* 37; 559–567
- Andersen RJ, Luu HA, Chen DZX, Holmes CFB, Kent ML, Blanc ML, ‘Max’ Taylor FJR, Williams DE (1993) Chemical and biological evidence links microcystins to salmon ‘netpen liver disease’. *Toxicon* 31; 1315-1323
- Bebout BM, Garcia-Pichel F (1995) UV-B induced vertical migrations of cyanobacteria in a microbial mat. *Applied and Environmental Microbiology* 61; 4215-4222
- Bennion H (1994) A diatom-phosphorus transfer for shallow, eutrophic ponds in southeast England. *Hydrobiol.* 275/276; 392-410
- Billings WH (1981) Water-associated human illness in northeast Pennsylvania and its suspected association with blue-green algae blooms. In: Carmichael WW (ed) *The Water Environment: Algal Toxins and Health*. Plenum Press, New York, pp 243-255
- Brown FS, Baedeker MJ, Nissenbaum A, Kaplan IR (1972) Early diagenesis in a reducing fjord. Saanich Inlet, British Columbia. III. Changes in organic constituents of sediment. *Geochim Cosmochim Acta* 36; 1185-1203
- Brown SR (1969) Paleolimnological evidence from fossil pigments. *Mitt. Internat. Ver. Limnol.* 17; 95–103
- Carreto JI, Carignan MO, Montoya NG (2005) A high-resolution reverse-phase liquid chromatography method for the analysis of mycosporine-like amino acids (MAAs) in marine organisms. *Marine Biology* 146; 237-252

- Cerda-Olmedo E, Martin-Rojas V, Cubero B (1996) Causes of cell death following ultraviolet B and C exposures and the role of carotenes. *Photochemistry and Photobiology* 64; 547-551
- Cockell CS, Knowland J (1999) Ultraviolet radiation screening compounds. *Biol. Rev.* 74; 311-345
- Codd GA, Bell SG, Kaya K, Ward CJ, Beattie KA, Metcalf JS (1999) Cyanobacterial toxins, exposure routes and human health. *Eur J Phycol* 34; 405-415
- Cuddington K, Leavitt PR (1999) An individual-based model of pigment flux in lakes: Implications for organic biogeochemistry and paleoecology. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 56; 1964-1977
- Cullen JC, Neale PJ (1994) Ultraviolet radiation, ozone depletion, and marine photosynthesis. *Photosynthesis Research* 39; 303-320
- Czeczuga B, Czeczuga-Semeniuk E, Semeniuk A (2005) Carotenoids and Carotenoproteins in *Asellus aquaticus* L. (Crustacea: Isopoda). *Folia Biologica* (53) 109-114
- Demmig-Adams B, Adams WW (1992) Photoprotection and other responses of plants to high light stress. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 43; 599-626
- Descy JP, Frost TM, Hurley JP (1999) Assessment of grazing by the freshwater copepod *Diatpomus minutus* using carotenoid pigments: a Caution. *J. Plankton Res.* 21; 127-145
- Donkor VA, Amewowor DHA, Häder DP (1993a) Effects of tropical solar radiation on the motility of filamentous cyanobacteria. *FEMS Microbiology and Ecology* 12; 143-148
- Donkor VA, Amewowor DHAK, Häder DP (1993b) Effects of tropical solar radiation on the velocity and photophobic behavior of filamentous gliding cyanobacteria. *Acta Protozoologica* 32; 67-72
- Donkor VA, Häder DP (1995) Protective strategies of several cyanobacteria against solar radiation. *Journal of Plant Physiology* 145; 750-755
- Edmondson WT (1974) The sedimentary record of the eutrophication of Lake Washington. *Proc Nat Acad Sci USA* 71 (12); 5093-5095

- Ehling-Shulz M, Bilger W, Scherer S (1997) UV-B induced synthesis of photoprotective pigments and extracellular polysaccharides in the terrestrial cyanobacterium *Nostoc commune*. *Journal of Bacteriology* 179; 1940-1945
- Engström DR, Swain EB, Kingstön JC (1985) A palaeolimnological record of human disturbance from Harvey's Lake, Vermont: geochemistry, pigments and diatoms. *Freshw. Biol.* 15; 261–288
- Frederik JE, Snell HE, Haywood EK (1989) Solar ultraviolet radiation at the earth's surface. *Photochem Photobiol* 50; 443-450
- Fukushima T, Kawamura S, Onda Y, Imai A, Matsushige K (2005) Long-term changes in profile of sediments and nutrient budget in Lakes Kasumigaura and Suwa. *J. Jpn. Soc. Water Environ.* 28; 313–319
- 藤原咲平 (1949) 太陽黒点の傾向から見た異常狭窄の懸念. *気象集誌* 14; 350-55
- 藤原咲平、荒川秀俊 (1954) 諏訪湖結氷期日並びに御神渡り結氷期日表. *研究時報* 6; 127-137
- Goodwin TW (1980) *The Biochemistry of Carotenoids*, 2nd ed Vol. 1 Plants. Chapman and Hall, London
- Goodwin TW (1986) Metabolism, nutrition and function of carotenoids. *Ann Rev Nutr* 6; 273-297
- Griffiths M (1978) Specific blue-green algal carotenoids in sediments of Esthwaite water. *Limnol. Oceanogr.* 23; 777–784
- Griffiths M, Edmonton WT (1975) Burial of oscillaxanthin in the sediment of Lake Washington. *Limnol. Oceanogr.* 20; 945-952
- Grung M, Liaaen-Jensen S, Metzger P (1996) Algal carotenoids. 53. Secondary carotenoids of algae. 4. Secondary carotenoids in the green alga *Botryococcus braunii*, race L, new strain. *Biochemical systematics and ecology* 22 (1) ; 25-29

- Gupta LP, Kawahata H (2006) Downcore diagenetic changes in organic matter and implications for paleoproductivity estimates. *Global and Planetary Change* 53; 122-136
- Hairton NG (1979) Adaptive significance of color polymorphism in 2 species of diatomus (Copepoda). *Limnol Oceanogr* 24; 15-37
- Hanawalt PG, Cooper PK, Ganesan AK, Smith CA (1979) DNA repair in bacteria and mammalian cells. *Annual Review of Biochemistry* 48; 783-836
- Hansson L, Hylander S, Sommaruga R (2007) Escape from UV threats in zooplankton: A cocktail of behavior and protective pigmentation. *Ecology* 88; 1932-1939
- Häder DP, Worrest RC (1991) Effects of enhanced solar ultraviolet radiation on aquatic ecosystems. *Photochemistry and Photobiology* 53; 717-725
- Harm W (1980) *Biological Effects of Ultraviolet Radiation*. IUPAB Biophysics Series I. Cambridge University Press, Cambridge
- Havens KE, Fukushima T, Xie P, Iwakuma T, James RT, Takamura N, Hanazato T, Yamamoto T (2001) Nutrient dynamics and the eutrophication of shallow lakes Kasumigaura (Japan), Donghu (PR China), and Okeechobee (USA). *Environ Pollut* 111; 262-272
- 林浩士 (2000) 白駒池におけるミズダニの生活史. 信州大学理学部物質循環学科. 卒業論文
- Hebert PDN, Emery CJ (1990) The adaptive significance of cuticular pigmentation in daphnia. *Funct Ecol* 4; 703-710
- Hessen DO (1985) The relation between bacterial carbon and dissolved organic humic compounds in oligotrophic lakes. *FEMS Microbiol Ecol* 31; 215-223
- Hessen DO (1994) Daphnia responses to UV-light. *Ergeb Limnol* 43; 185-195
- Hessen DO, Færøvig PJ (2001) The photoprotective role of humus-DOC for *Selenastrum* and *Daphnia*. *Plant Ecol* 154; 261-273

- Hobæk A, Wolf HG (1991) Ecological genetics of Norwegian *Daphnia*. II. Distribution of *Daphnia longispina* in relation to short-wave radiation and water colour. *Hydrobiologia* 225; 229-243
- 帆苺 信 (2000) *Daphnia* 自由遊泳個体群の冬期における動態と春の個体群形成に果たす役割. 信州大学大学院工学系研究科. 修士論文
- Hooks CE, Bidigare RR, Keller MD, Guillard RRL (1988) Coccid eukaryotic marine ultraplankters with four different HPLC pigment signatures. *J Phycol* 24; 571-580
- Hurley JP, Armstrong DE (1990) Fluxes and transformations of aquatic pigments in Lake Mendota, Wisconsin. *Limnol. Oceanogr.* 35; 384-398
- Ikenaka Y, Eun H, Watanabe E, Kumon F, Miyabara Y (2005) Estimation of sources and inflow of dioxins and polycyclic aromatic hydrocarbons from the sediment core of Lake Suwa, Japan. *Environ Pollut* 138; 529-537
- Ishiwatari and Hanya (1975) Organic geochemistry of a 200-meter core sample from Lake Biwa, II. *Proc Jpn Acad* 51; 436-441
- 石渡良志, 山本正伸 (2004) 地球化学講座 4, 有機地球化学, 培風館, pp.110-112, pp.184-186
- Itoh N, Hanari N (2010) Possible precursor of perylene in sediments of Lake Biwa elucidated by stable carbon isotope composition. *Geochem J* 43; 161-166
- Itoh N, Tani Y, Soma M (2003) Sedimentary photosynthetic pigment of algae and phototrophic bacteria in Lake Hamana, Japan; temporal changes of anoxia in its five basins. *Limnol.* 4; 139-148
- 石黒直子 (2001) 諏訪湖の御神渡り記録に関する気候復元資料としての均質性. *地理学評論* 74A-7; 415-423
- Jagger J (1985) *Solar-UV actions on living cells*. Praeger Scientific, New York
- Jeffery SW (1997) Structural relationships between algal chlorophylls. In *Phytoplankton pigments in*

- oceanography, pp556-571
- Jeffrey SW, Vesik M (1997) Introduction to marine phytoplankton and their pigment signatures. In: Jeffrey SW, Mantoura RFC, Wright SW (eds) *Phytoplankton pigments in oceanography*. UNESCO, Paris, pp37-84
- Jeffrey SW, Vesik M (1997) Introduction to marine phytoplankton and their pigment signatures. In: Jeffrey SW, Mantoura RFC, Wright SW (eds) *Phytoplankton Pigments in Oceanography. Guidelines to Modern Methods*. Unesco Publishing, Paris, pp 37-84
- Johansson JÅ (1983) Seasonal development of bacterio-plankton in two forest lakes in central Sweden. *Hydrobiologia* 101; 71–88
- Juhl AR, Ohman MD, Goericke R (1996) Astaxanthin in *Calanus pacificus*: Assessment of pigment-based measures of omnivory. *Limnol. Oceanogr.* 41 (6); 1198-1207
- 門田定美 (1971) 高山湖沼における主要甲殻類プランクトンの生態に関する研究. 陸水学雑誌 32; 47-83
- Kanai Y, Inouchi Y, Katayama H, Saito Y (1995) Estimation of sedimentation rate at the lake Suwa in Nagano Prefecture determined by Pb-210 and Cs-137 radio activities. *Bull Geol Surv Jpn*, 46; 225-238 (in Japanese)
- Karentz D (2001) Chemical defenses of marine organisms against solar radiation exposure: UV-absorbing mycosporine-like amino acids and scytonemin, In J McClintock and W Baker [eds.], *Marine chemical ecology*, pp 481–520
- Karentz D, Cleaver JE, Mitchell DL (1991a) Cell survival characteristics and molecular responses of Antarctic phytoplankton to ultraviolet-B radiation. *Journal of Phycology* 27; 326-341
- Karentz D, McEuen FS, Land MC, Dunlap WC (1991b) Survey of mycosporine-like amino acids in Antarctic marine organisms: potential protection from ultraviolet exposure. *Marine Biology* 108; 157-166

- King LL, Repeta DJ (1991) Novel pyropheophorbide steryl chlorin esters in Black Sea sediments. *Geochim Cosmochim Ac* 55; 2067-2074
- Kitahara Y (1992) The Ministry of Construction. Suwako, pp 39-42
- 清澤宏之 (2005) 安定同位体比を用いた腐植栄養湖の食物網解析. 信州大学理学部物質循環学科. 卒業論文
- Kleppel GS, Willbanks L, Pieper RE (1985) Diel variation in body carotenoid content and feeding activity in marine zooplankton assemblages. *J. Plankton Res.* 7; 569-580
- Krinsky NI (1979) Carotenoid protection against oxidation. *Pure and Applied Chemistry* 51; 649-660
- Kuhn R, Soerensen NA (1938) The coloring matters of the lobster (*Astacus gammarus L.*). *Z. Angew. Chem.* 51, 465-466
- Kumon F, Tawara T, Yamamoto M (2004) Sediment age and sedimentation rate in Lake Kizaki, central Japan. *Res. Res. Edu. Cent. Inlandw. Environ. Shinshu Univ.* 3; 77-84 (in Japanese)
- Kurasawa H (1970) Seasonal variation and horizontal distribution of plankton in Lake Suwa. *Proc Rep Lake Suwa* 2; 41-64 (in Japanese)
- Kurasawa H (1971) Seasonal variation of plankton in Lake Suwa. I. Quantitative and qualitative comparison on major species. *Proc Rep Lake Suwa* 3; 41-54 (in Japanese)
- Kurasawa H, Okino T (1983) Temporal change of eutrophication and biocenoses in Lake Suwa. *Bull. Environ. Conserv. Shinshu Univ.* 5; 1-15 (in Japanese)
- Lamb HH (1977) *Climate: Present Past and Future*, Methuen and Co., London; pp835
- Leavitt PR (1993) A review of factors that regulate carotenoid and chlorophyll deposition and fossil pigment abundance. *J. Paleolimnol.* 9; 109-127
- Leavitt PR, Carpenter SR (1990a) Aphotic pigment degradation in the hypolimnion: Implications for

- sedimentation studies and paleolimnology. *Limnol. Oceanogr.* 35; 520–534
- Leavitt PR, Carpenter SR (1990b) Regulation of pigment sedimentation by herbivory and photo-oxidation. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 47; 1166–1176
- Leavitt PR, Carpenter SR, Kitchell JF (1989) Whole-lake experiments: The annual record of fossil pigments and zooplankton. *Limnol. Oceanogr.* 34; 700–717
- Leavitt PR, Findlay DL (1994) Comparison of fossil pigments with 20 years of phytoplankton data from eutrophic Lake 227, Experimental Lake Area, Ontario. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 51; 2286-2299
- Leavitt PR, Hodgson DC (2001) Sedimentary pigments. In: Smol JP, John H, Birks B, Last WM (eds) *Tracking Environmental Change Using Lake Sediments. Vol. 3: Terrestrial, Algal, and Siliceous Indicators.* Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp 295-326
- Leavitt PR, Hodgson DC (2001) *Tracking Environmental Change Using Lake Sediments. Volume 3: Terrestrial, Algal, and Siliceous Indicators.* Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands
- Łotocka M, Styczyńska-Jurewicz E (2001) Astaxanthin, canthaxanthin and astaxanthin esters in the copepod *Acartia bifilosa* (Copepoda, Calanoida) during ontogenetic development. *Oceanologia* 43 (4); 487-497
- Louda JW, Li J, Liu L, Winfree MN, Baker EW (1998) Chlorophyll *a* degradation during cellular senescence and death. *Org. Geochem.* 29; 1233–1251
- Matile P, Hörtensteiner S, Thomas H (1999) Chlorophyll Degradation. *Ann Rev Plant Phys Plant Mol Biol* 50; 67-95
- McElroy-Etheridge SL, McManus GB (1999) Food type and concentration affect chlorophyll and carotenoid destruction during copepod feeding. *Limnol. Oceanogr.* 44; 2005–2011

- 三上岳彦、石黒直子 (1998) 諏訪湖結氷記録からみた過去 550 年間の気候変動. 気象研究ノ
ート 191; 73-83
- Moeller RE, Gilroy S, Williamson CE, Grad G, Sommaruga R (2005) Dietary acquisition of
photoprotective compounds (mycosporine-like amino acids, carotenoids) and acclimation
to ultraviolet radiation in a freshwater copepod. *Limnol. Oceanogr.* 50 (2); 427-439
- Moran MA, Hodson RE (1990) Bacterial production on humic and nonhumic components of
dissolved organic carbon. *Limnol Oceanogr* 35; 1744–1756
- Morris DP, Zagarese H, Williamson CE, Balseiro EG, Hargreaves BR, Modenutti B, Moeller R,
Queimalinos C (1995) The attenuation of solar UV radiation in lakes and the role of
dissolved organic carbon. *Limnol. Oceanogr.* 40; 1381–1391
- Nagano Prefecture Suwa Building Office (1998) Lake Suwa-Flood control history-. pp.90-115 (in
Japanese)
- 長野地方気象台 (1995) 諏訪の気象: 諏訪測候所 50 年誌.
- Nicelet M (1989) Solar spectral irradiances with their diversity between 120 and 900 nm, *Planet.*
Space Sci. 37; 1249
- 岡本直樹 (1998) 湖沼沿岸域における水生昆虫の分布とトンボ幼虫を中心とした食物網の
解析. 信州大学理学部生物学科. 卒業論文
- Okaya City (1973) Okaya City History. Okaya City Office, Okaya City (in Japanese)
- Okino T (1990) Present study of lake environment in Shinshu, Water management and monitoring of
Lake Suwa. *Jpn. J. Limnol.* 51; 17–22
- Okino T, Kato K (1987) Lake Suwa — Eutrophication and its partial recent recovery. *GeoJ* 14; 373–
375
- Orr WL, Grady JR (1967) Perylene in basin sediments off southern California. *Geochim. et*
Cosmochim. Acta 31; 1201–1209

- Paerl HW (1988) Nuisance phytoplankton blooms in coastal estuarine, and inland waters. *Limnol Oceanogr* 33:823–847
- Park HD (2009) Marked decline of cyanobacteria blooms and changes of species composition in Lake Suwa. *J Wat Environ* 32; 229-231 (in Japanese)
- Paul VJ (2008) Global warming and cyanobacterial harmful algal blooms. In: Hundnell HK (ed) *Cyanobacterial harmful algal blooms*. Springer Science + Business Media LLC, New York, pp239-257
- Pearsall WH (1932) Phytoplankton in the English Lakes II. The composition of the phytoplankton in relation to dissolved substances. *J Ecol* 20; 241-262
- Pennington FC, Strain HH, Svec WA, Katz JJ (1964) Preparation and Properties of Pyrochlorophyll *a*, Methyl Pyrochlorophyllide *a*, Pyropheophytin *a*, and Methyl Pyropheophorbide *a* Derived from Chlorophyll by Decarbomethoxylation. *J Am Chem Soc* 86 (7); 1418-1426
- Perin S, Lean DRS (2004) The effects of ultraviolet-B radiation on freshwater ecosystems of the Arctic: influence from stratospheric ozone depletion and climate change. *Environ Rev* 12; 1-70
- Pitois S, Jackson MH, Wood BJB (2000) Problems associated with the presence of cyanobacteria in recreational and drinking waters. *Int J Environ Health Res* 10; 203-218
- Poister D, Armstrong DE, Hurley JP (1999) Influences of grazing on temporal patterns of algal pigments in suspended and sedimenting algae in a north temperate lake. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 56; 60–69
- Potts M, Whitton BA (2000) *The biology and ecology of cyanobacteria*. Blackwell Scientific, Oxford
- Pouria S, de Andrade A, Barbosa J, Cavalcanti RL, Barreto VTS, Ward CJ, Preiser W, Poon GK,

- Neild GH, Codd GA (1998) Fatal microcystin intoxication in haemodialysis unit in Caruaru, Brazil. *The Lancet* 352; 21-26
- Prezelin BB, Boucher NP, Schofield O (1994) Evaluation of field studies of UV-B radiation effects on Antarctic marine primary productivity. In *Stratospheric Ozone Depletion / UV-B Radiation in the Biosphere*. Springer-Verlag, New York
- Prowse WG, Maxwell JR (1991) High molecular weight chlorins in a lacustrine shale. *Org Geochem* 17; 877-886
- Rao AR, Sarada R, Baskaran V, Ravishankar GA (2006) Antioxidant activity of *Botryococcus braunii* extract elucidated in vitro models. *J Agric Food Chem.* 54 (13); 4593-4599
- Rautio M, Bonilla S, Vincent WF (2009) UV photoprotectants in arctic zooplankton. *Aquat Biol* 7; 93-105
- Rautio M, Korhola A (2002) UV-induced pigmentation in subarctic *Daphnia*. *Limnol Oceanogr* 47; 295-299
- Rautio M, Korhola A, Zellmer ID (2003) Vertical distribution of *Daphnia longispina* in shallow subarctic pond: Does the interaction of ultraviolet radiation and *Chaoborus* predation explain th pattern? *Polar Biol* 26; 659-665
- Rowan KS (1989) *Photosynthetic pigments of algae*. Cambridge University Press, Cambridge
- 齋藤豊 (2001) 白駒池における溶存態有機物の分解特性と環境要因. 信州大学大学院工学系研究科. 修士論文
- Sakamoto M (1966) Primary production by phytoplankton community in some Japanese lakes and its dependency on lakes depth. *Arc. Hydrobiol.* 62; 1-28
- Sakamoto M, Kurasawa H, Okino T (1975) Productivity and nutrient metabolism of communities in Lake Suwa. In: Mori S, Yamamoto G (eds), *JIBP Synthesis Productivity of Tokyo Press*, Vol. 10, pp 107-151

- Salonen K, Kankaala P, Tulonen T, Hammar T, James M, Metsälä TR, Arvola L (1992) Planktonic food chains of a highly humic lake. *Hydrobiologia* 229; 143-157
- Salonen K., Kononen K, Arvola L (1983) Respiration of plankton in two small, polyhumic lakes. *Hydrobiologia* 101; 65–70
- Sampei Y, Matsumoto E (2001) C/N ratios in a sediment core from Nakaumi lagoon, southwest Japan —usefulness as an organic source indicator—. *Geochem J* 35; 189-205
- Sanger JE (1988) Fossil pigment in paleoecology and paleolimnology. *Palaeogeogr. palaeoclimatol. palaeoecol.* 62; 343–359
- Schindler DW (1978) Factors regulating phytoplankton production and standing crop in the world's freshwaters. *Limnol. Oceanogr.* 23; 478-486
- Shick JM, Dunlap WC (2002) Mycosporine-like amino acids and related gadusols: Biosynthesis, accumulation, and UV-protective functions in aquatic organisms. *Annu. Rev. Physiol.* 64; 223–262
- Shimosuwa Town (1963) Shimosuwa Town History. Shimosuwa Town Office, Koyo-Shobou, Kyoto City (in Japanese)
- Shioi Y, Watanabe K, Takamiya K (1996) Enzymatic conversion of pheophorbide *a* to the precursor of pyropheophorbide *a* in leaves of *Chenopodium album*. *Plant Cell Physiol* 37(8); 1143-1149
- Sigee DC (2005) Biodiversity and dynamic interactions of microorganisms in the aquatic environment. In *Freshwater Microbiology*, John Wiley & Sons Ltd, pp. 168-176
- Silliman JE, Meyers PA, Eadie BJ and Klump JV (2001) A hypothesis for the origin of perylene based on its low abundance in sediments of Green Bay, Wisconsin. *Chem Geol* 177; 309-322

- Sinha RP, Singh N, Kumar A, Kumar HD, Häder M, Häder DP (1996) Effects of UV irradiation on certain physiological and biochemical processes in cyanobacteria. *Journal of Photochemistry and Photobiology* 32; 107-113
- Skulberg OM, Codd GA, Carmichael WW (1984) Toxic blue-green algal blooms in Europe: A growing problem. *Ambio* 13; 244-247
- Smith RC, Baker KS, Holm-Hansen O, Olsen R (1980) Photoinhibition of photosynthesis in natural waters. *Photochemistry and Photobiology* 31; 585-592
- Smith RC, Prezelin B, Baker KS, Bidigare RR, Boucher NP, Coley T, Karentz D, MacIntyre S, Matlick HA, Menzies D, Ondrusek M, Wan Z, Waters KJ (1992) Ozone depletion: ultraviolet radiation and phytoplankton biology in Antarctic waters. *Science* 255; 952-959
- Smol JP (1992) Paleolimnology: An important tool for effective ecosystem management. *J. Aquat. Ecosyst. Health* 1; 49-58
- Smol JP, Cumming BF (2000) Tracking long-term changes in climate using algal indicators in lake sediments. *J. Phycology* 36; 986–1011
- Soma Y, Imaizumi T, Yagi K, Kasuga S (1993) Estimation of algal succession in lake water using HPLC analysis of pigments. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 50; 1142–1146
- Soma Y, Tanaka A, Soma M (1995) Composition and vertical profiles of photosynthetic pigment in the sediment of Lake Kasumigaura. *J. Geochem.* 29; 107–113
- Soma Y, Tanaka A, Soma M, Kawai T (1996) Photosynthetic pigments and perylene in the sediments of southern basin of Lake Baikal. *Org Geochem* 24; 553–561
- Soma Y, Tanaka A, Soma M, Kawai T (2001) 2.8 million years of phytoplankton history in Lake Baikal recorded by the residual photosynthetic pigments in its sediment core. *Geochem J* 35; 377-383
- Sommaruga R (2001) The role of solar UV radiation in the ecology of alpine lakes. *J Photochem*

- Biol B: Biol 62; 355-42
- Sturm M, Matter A (1978) Turbidites and varves in Lake Brienz (Switzerland): Deposition of clastic detritus by density currents. In: Matter A, Tucker ME (eds), Modern and Ancient Lake Sediments. Blackwell, pp 147-168
- Sutherland (1981) Photoreactivation. Bioscience 31; 439-444
- Suwa City (1976) Suwa City History. Suwa City Office, Suwa City (in Japanese)
- Suwa Hydrobiological Station (1997) Rep. Suwa Hydrobiol. St. 10
- Swain EB (1985) Measurement and interpretation of sedimentary pigments. Freshw. Biol. 15; 53-75
- 高市真一, 三室守, 富田純史 (2006) カロテノイド-その多様性と生理活性-. 裳華房
- 竹内均 (2003) 地球環境調査計測事典, 第3巻, 沿岸域編, フジ・テクノシステム, pp.941-944
- Talbot HM, Head RN, Harris RP, and Maxwell JR (1999) Distribution and stability of steryl chlorin esters in copepod faecal pellets from diatom grazing. Org Geochem 30; 1163-1174
- Tani Y, Kurihara K, Nara F, Itoh N, Soma M, Soma Y, Tanaka A, Yoneda M, Hirota M, Shibata Y (2002) Temporal changes in the phytoplankton community of the southern basin of Lake Baikal over the last 24,000 years recorded by photosynthetic pigments in a sediment core. Org. Geochem. 33; 1621-1634
- Tani Y, Matsumoto G, Soma M, Soma Y, Hashimoto S, Kawai T (2009) Photosynthetic pigments in sediment core HDP-04 from Lake Hovsgol, Mongolia and their implication for changes in algal productivity and lake environment for the last 1 Ma. Quat Int 205; 74-83
- Tett P (1982) The Loch Eil project: Planktonic pigments in sediments from Loch Eil and the Firth of Lorne. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 56; 111-114
- Tevini M (1993) UV-B Radiation and Ozone Depletion. Effects on Humans, Animals, Plants, Micro-organisms and Materials. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida

- Tevini M, Teramura AH (1989) UV-B effects on terrestrial plants. *Photochemistry and Photobiology* 50; 479-487
- Toukairin A (1995) Characteristics of Thermal Ice Ridges (OMIWATARI) in lake Kussharo in 1994. *Proceedings of the Tenth International Symposium on Okhotsk Sea and Sea Ice.* 10; 342-347
- Tranvik L (1989) Bacterioplankton growth, grazing mortality and quantitative relationship to primary production in a humic and a clearwater lake. *J Plankton Res.* 11; 985–1000
- Venkatesan MI (1988) Occurrence and possible sources of perylene in marine sediments - a review *Mar Chem* 25; 1-27
- Vincent WF, Roy S (1993) Solar ultraviolet-B radiation and aquatic primary production: damage, protection and recovery. *Environmental Reviews* 1; 1-12
- Vollenweider RA (1976) Advances in defining critical loading levels for phosphorus in lake eutrophication. *Mem. Ital. Idrobiol.* 33; 53-83
- 渡邊琴文 (2007) 湖沼における動物プランクトンの食物網解析及び紫外線に対する適応戦略への指標としての光合成色素. 信州大学大学院工学系研究科. 修士論文
- Watts, CD, Maxwell JR (1977) Carotenoid diagenesis in a marine sediment. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 41; 493-497
- Watts CD, Maxwell JR, Kjosén H (1975) The potential of carotenoids as environmental indicators. *Proc. International Meet. Org. Geochem.* pp 391–413
- Weber A, Wettern M (1980) Some remarks on the usefulness of algal carotenoids as chemotaxonomic markers. In: Czygan FC (ed) *Pigments in plants.* Fisher Stuttgart, pp 104–116
- Wetzel RY (2001) *Limnology*, third ed. Academic Press, Diego
- Wiedner C, Nixdorf B (1998) Success of chrysophytes, cryptophytes and dinoflagellates over

- blue-greens (cyanobacteria) during an extreme winter (1995/96) in eutrophic shallow lakes. *Deorerevelopments in Hydrobiology* (129): 229-235
- Wolfe AP, Baron JS, Cornett RJ (2001) Anthropogenic nitrogen deposition induces rapid change in alpine lakes of the Colorado Front Range (USA). *J. Paleolimnol.* 25; 1-7
- Yacobi YZ, Mantoura RFC, Llewellyn CA (1991) The distribution of chlorophylls and carotenoids and their breakdown products in Lake Kinneret (Israel) sediments. *Freshw. Biol.* 26; 1-10
- Yacobi YZ, Ostrovsky I (2012) Sedimentation of phytoplankton: role of ambient conditions and life strategies of algae. *Hydrobiologia* 698; 111-120
- 矢挽哲也, 中津川誠 (1995) カビ臭による水質障害について-既往知見のレビュー-. 北海道開発土木研究所月報 615; 33-43
- 吉田政隆 (1998) 白駒池における甲殻類プランクトンの分布と季節変動. 信州大学理学部生物学科. 卒業論文
- 吉田政隆 (2001) 腐植栄養湖白駒池における甲殻類プランクトンの分布と個体群動態. 信州大学大学院工学系研究科. 修士論文
- Zellmer ID (1998) The effects of natural UVA and UVB on subarctic *Daphnia pulex* in its natural habitat. *Hydrobiologia* 379; 55-62
- Zülling H (1981) On the use of carotenoid stratigraphy in lake sediments for detecting past developments of phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.* 26; 970-976