

# 温帯沿岸域相模湾における植物プランクトンのサイズ組成と光吸収係数の特徴

矢野光一<sup>1)\*</sup>、下出信次<sup>2)</sup>、Victor S. Kuwahara<sup>1)</sup>

1) 創価大学大学院理工学研究科 〒192-5877 東京都八王子市丹木町 1-236

2) 横浜国立大学大学院環境情報研究院附属臨海環境センター 〒259-0202 神奈川県足柄下郡真鶴町岩 61

## Characterization of the phytoplankton size composition and light absorption coefficient in the temperate coastal waters of Sagami Bay

Koichi Yano<sup>1)\*</sup>, Shinji Shimode<sup>2)</sup> and Victor S. Kuwahara<sup>1)</sup>

1) *Graduate School of Science and Engineering, Soka University, 1-236 Tangi-machi, Hachioji, Tokyo 192-8577, Japan*

2) *Manazuru Marine Center for Environmental Research and Education, Graduate School of Environment and Information Sciences, Yokohama National University, 61 Iwa, Manazuru, Kanagawa 259-0202, Japan*

\* *Corresponding author: koichiyano@soka.gr.jp*

2023 年 5 月 1 日受付, 2023 年 5 月 22 日受理

**Abstract** Phytoplankton constitute the base of the aquatic food web and are the primary driver of biogeochemical processes such as the export of carbon to the deep ocean. Knowledge of the distributions, compositions, and biomass of the phytoplankton community are essential to understand biogeochemical cycles. Phytoplankton can be enumerated by microscopy, but this requires extensive time for sample preparation and counting, especially if statistically valid counts of the less abundant phytoplankton classes are required. Further, smaller picoplankton can be difficult to identify since they lack taxonomically external morphological features. Thus, the accessory pigment-based model has been used to estimate phytoplankton communities based on their size classes: micro- (M;  $> 20 \mu\text{m}$ ), nano- (N;  $2\text{--}20 \mu\text{m}$ ) and pico-phytoplankton (P;  $< 2 \mu\text{m}$ ). Light absorption by phytoplankton has a direct influence on the optical properties of seawater, and there is a growing effort to develop approaches to identify the spatial and temporal variability of the phytoplankton community from satellites. However, estimating the phytoplankton community in optically complex coastal waters from satellites is still a challenging problem because phytoplankton are only one of multiple optically significant constituents of seawater. Also, there are limitations of wavelength that satellites can measure, and overlapping signature pigment of each phytoplankton community. In order to improve the estimation of phytoplankton communities, it is necessary to understand the light absorption coefficient of phytoplankton,  $a_{\text{ph}}(\lambda)$  associated with the varying community structure. The objective of this study was to characterize the

variability of phytoplankton size classes and their light absorption coefficients in the temperate coastal waters of Sagami Bay. The specific objectives were (1) to classify phytoplankton communities based on cell size, (2) to investigate co-variability of  $a_{ph}(\lambda)$  spectra according to the classification. The present study conducted in situ observations from April 2016 to September 2022 at Station M (St. M: 35° 09' 45" N, 139° 10' 00" E) in the temporal coastal waters of Sagami Bay, Japan. Water samples for pigments and light absorption properties of phytoplankton were collected from surface water with a bucket, and measured by high-performance liquid chromatography and spectrophotometry, respectively. Phytoplankton size class composition was estimated based on pigment concentrations. The results showed that the three groups (Group M, N, P) generated according to the phytoplankton size composition were significantly different ( $R = 0.646$ ,  $p < 0.001$ ). Also, the most dominant group throughout the study period was microplankton ( $n = 110$ ). The  $a_{ph}(\lambda)$  spectra showed peaks around 438 nm and 465 nm in the blue band and 674 nm in the red band. Using three wavelengths peaks, although the  $a_{ph}(\lambda)$  of group M was significantly higher than that of group N, Group P was not significantly different from other groups. This study suggests that the  $a_{ph}(\lambda)$  spectrum in the temperate coastal waters of Sagami Bay is significantly co-varying with the variability of phytoplankton size composition. The results suggest that analyzing the difference in  $a_{ph}(\lambda)$  spectra ratios and performing derivative analysis, coupled with analysis of phytoplankton size distribution and pigment composition should improve our ability to characterize phytoplankton spatio-temporal distribution from space.

**Keywords:** optical properties, pigments, remote sensing, size fraction

## 1. はじめに

植物プランクトンは海洋の一次生産者として食物網の基盤を形成しており、その光合成生産量は地球上全体の50%を占めている (Falkowski et al. 2004, Dutkiewicz et al. 2019)。植物プランクトン群集は、グループに応じて、生物地球科学的循環における主要な役割を果たす。例えば、珪藻類はシリカ、円石藻はカルシウム、藍藻類は窒素の循環に寄与する (Brownlee & Taylor 2002, Nair et al. 2008, Roy et al. 2011)。したがって、植物プランクトンのバイオマス量や群集組成の時空間的な変動を調査し明らかにすることは、全球的な物質循環の理解につながり、気候変動に関連した地球環境の未来を予測する上でも必須となる。従来、植物プランクトン群集の観察には顕微鏡が用いられてきたが、分類

群の識別と同定には専門的な知識と多くの時間を必要とする。そのため、植物プランクトンの細胞サイズに着目し、補助色素を測定することによって、それらのサイズ組成を推定する方法が確立された (Uitz et al. 2006)。この時、細胞直径が2  $\mu\text{m}$  以下のピコプランクトン、細胞直径が2 ~ 20  $\mu\text{m}$  のナノプランクトン、および細胞直径が20  $\mu\text{m}$  以上のマイクロプランクトンの3つに分けられる。

人工衛星などによるリモートセンシングは、広い範囲を高頻度で観測する有用な手法である。人工衛星が感知する海洋からの反射光は植物プランクトンの群集構造の違いによって変化するが、感知できる波長の数には限りがあるため群集の推定には課題が残る。また、植物プランクトンの主要色素であるクロロフィル *a* (Chl *a*) と比較して、群集によって特徴的な補助色素は濃度が低いため、光学的な感知が難しい。さらに、その補助色

素同士も吸収・反射する波長に重なりがあるため、それぞれを区別するのが困難である (Aguirre-gomez et al. 2001, Bricaud et al. 2004)。そこで、既存の衛星プロダクトとして、群集構造の特徴を光学的に表している植物プランクトンの光吸収係数  $a_{ph}(\lambda)$  を使用し、植物プランクトンの細胞サイズに従って、その組成やバイオマスを推定するモデルが開発された (Roy et al. 2013, Wang et al. 2015, Zhang et al. 2015)。しかし、これらのモデルが沿岸域などの局所的な海域に適用できるかについては未だ検証が行われていない。局所的な沿岸域などにおいて、人工衛星による群集のサイズ組成推定を向上させるためには、植物プランクトンのサイズ組成の違いが  $a_{ph}(\lambda)$  に表れるかどうかを検証する必要があると指摘されている (Reynolds & Stramski 2019)。そこで本

研究の目的を、相模湾沿岸域において、植物プランクトンのサイズ組成、およびその光吸収係数の変動性を特徴づけることとし、具体的には (1) 細胞サイズ別に植物プランクトン群集を分類化し、(2) その分類と植物プランクトン光吸収係数スペクトルの共変動性を調査した。

## 2. 材料と方法

調査は、横浜国立大学の実習船「たちばな」によって、2016 年 5 月から 2022 年 9 月の期間に、相模湾真鶴半島沖 St. M (St. M: 35° 09' 45" N, 139° 10' 00" E) で行われた (Fig. 1)。表層から採水を行い、植物プランクトンの色素および光吸収係数を測定した。

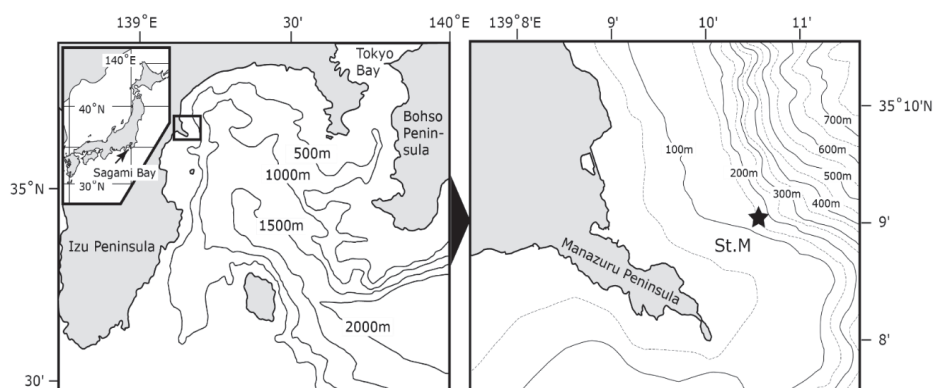


Fig. 1. Map of Pacific western boundary coastal region of Japan, bathymetry and sampling station (St. M) in the temperate waters of Sagami Bay.

### 2.1. 色素分析

海水試料 (500—2000 mL) を GF/F フィルター (25 mm, Whatman) を用いて濾過し、懸濁粒子を捕集した。2016 年 5 月から 2018 年 2 月までの試料は、Suzuki et al. (2015) にもとづいて N, N-ジメチルホルムアミド (DMF) で色素を抽出し、C<sub>8</sub> カラム (Agilent Technologies) を用いた液体クロマトグラフィー (Nexera X2 SR system, Shimadzu) で分析した。2018 年 3 月から 2019 年 3 月までの試料では色素を DMF で抽出し、Head & Horne (1993) に従って液体クロマトグラフィー (168 Diode Array Detector, Beckman Coulter) で分析した。

2019 年 4 月から 2022 年 9 月までの試料は、Zepata et al. (2000) にもとづいてメタノールで抽出後、C<sub>8</sub> カラム (GL Science) を用いた液体クロマトグラフィーで分析した (Photodiode array UV-Vis detector SPD-M10A, Shimadzu)。

### 2.2. 光吸収係数

海水試料を孔径 0.7  $\mu\text{m}$  のガラス繊維濾紙 (GF/F 25 mm, Whatman) で濾過し、懸濁粒子を捕集した。光吸収係数を、波長域 300 ~ 700 nm、分解能 1 nm で、T-method により分光光度計を用いて測定した。

(Cleveland & Weidemann 1993, Stramski et al. 2015, IOCCG 2018)。得られた光吸収係数を、植物プランクトンによるものと非生物粒子によるものとに分割するため、次亜塩素酸ナトリウムで色素抽出を行った後、同様の測定を行った。

### 2.3. 色素によるサイズ分画

マイクロ (> 20  $\mu\text{m}$ )、ナノ (2–20  $\mu\text{m}$ )、ピコプランクトン (< 2  $\mu\text{m}$ ) のサイズ組成を、式 (1) ~ (3) を用いて、補助色素濃度から推定した (Uitz et al. 2006)。用いた補助色素は以下の 7 種である：Fucoxanthin (Fuco)、Peridinin (Peri)、Alloxanthin (Allox)、19'-butanoyloxyfucoxanthin (19'-But)、19'-hexanoyloxyfucoxanthin (19'-Hex)、Zeaxanthin (Zeax)、Chlorophyll *b* (Chl *b*)。

$$f_{\text{micro}} = (1.41 \times \text{Fuco} + 1.41 \times \text{Peri}) / \Sigma DP \quad (1)$$

$$f_{\text{micro}} = (0.60 \times \text{Allox} + 0.35 \times 19'\text{-But} + 1.27 \times 19'\text{-Hex}) / \Sigma DP \quad (2)$$

$$f_{\text{micro}} = (0.86 \times \text{Zeax} + 1.01 \times \text{Chl } b) / \Sigma DP \quad (3)$$

ここで  $\Sigma DP$  は係数を乗じられた補助色素濃度の総和を示す。

$$\Sigma DP = 1.41 \times \text{Fuco} + 1.41 \times \text{Peri} + 0.60 \times \text{Allox} + 0.35 \times 19'\text{-But} + 1.27 \times 19'\text{-Hex} + 0.86 \times \text{Zeax} + 1.01 \times \text{Chl } b \quad (4)$$

### 2.4. 統計解析

式 (1) ~ (3) において  $f$  はサンプルにおける植物プランクトンの相対的なサイズ組成を示すため、最大の  $f$  を示す植物プランクトンサイズをそのサンプルにおいて優占的であるとみなした。これにより、全 133 サンプルは、マイクロプランクトンが優占するグループ M ( $n = 110$ )、ナノプランクトンが優占するグループ N ( $n = 17$ )、ピコプランクトンが優占するグループ P ( $n = 6$ ) に分けられた。

植物プランクトンのサイズ組成から、各サンプルの類似度を、ユークリッド距離による非計量多次元尺度法 (NMDS) から求め、これを ANOSIM 検定にかけた。これらの計算には PRIMER-E (version 7) を用いた (Clarke & Gorley 2015)。サイズグループ間におけ

る植物プランクトン光吸収係数の統計的差異は、Steel-Dwass 多重比較検定により調べた (有意水準は  $p < 0.05$ ) (Underwood 1997)。

## 3. 結果

### 3.1. サイズ組成

グループ M においてマイクロプランクトンは組成の  $73.3 \pm 17.6\%$  ( $39.3\% \sim 100\%$ ) を占め、ナノプランクトンおよびピコプランクトンは、それぞれ  $15.9 \pm 12.8\%$  ( $0\% \sim 43.9\%$ ) と  $10.8 \pm 9.3\%$  ( $0\% \sim 35.0\%$ ) であった (Fig. 2)。グループ N においてナノプランクトンは組成の  $49.2 \pm 6.5\%$  ( $36.9\% \sim 61.6\%$ ) を占め、マイクロプランクトンとピコプランクトンは、それぞれ  $34.2 \pm 5.2\%$  ( $28.2\% \sim 45.8\%$ ) と  $16.6 \pm 8.8\%$  ( $3.2\% \sim 33.4\%$ ) であった。グループ P におけるピコプランクトンの組成割合は  $44.5 \pm 5.7\%$  ( $37.4\% \sim 55.8\%$ ) で、マイクロプランクトンとナノプランクトンは、それぞれ  $32.1 \pm 3.4\%$  ( $25.9\% \sim 35.4\%$ ) と  $23.5 \pm 6.7\%$  ( $37.5\% \sim 55.8\%$ ) であった。また、各グループにおける Chl *a* 濃度の平均値はグループ M ( $2.18 \pm 2.66 \mu\text{g L}^{-1}$ ) が最も高く、グループ N ( $1.37 \pm 1.33 \mu\text{g L}^{-1}$ ) とグループ P ( $0.90 \pm 0.42 \mu\text{g L}^{-1}$ ) がこれに次いだ。

NMDS および ANOSIM 検定では、グループ M、N、P における植物プランクトンのサイズ組成はそれぞれ有意に異なった ( $R = 0.646$ ,  $p < 0.001$ ) (Fig. 2)。

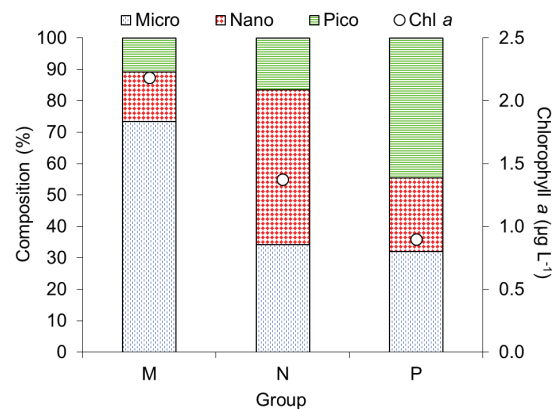


Fig. 2. Average of phytoplankton size class composition and Chl *a* concentration ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) based on the size classification. The number of total samples are 133; (M)  $n = 110$ , (N)  $n = 17$ , (P)  $n = 6$ .



### 3.2. 光吸収係数

植物プランクトンの光吸収係数  $a_{ph}(\lambda)$  スペクトルは、短波長側の 438 nm と 465 nm、長波長側の 674 nm を中心にピークを示した。グループ M のスペクトルは比較的高く、グループ P とグループ N がこれに次いだ (Fig. 4)。

この  $a_{ph}(\lambda)$  スペクトルの 3 ピークにおいて、グループ M ではグループ N より有意に高かったが (Fig. 5)、グループ P は他のグループと比較して有意な差は認められなかった。

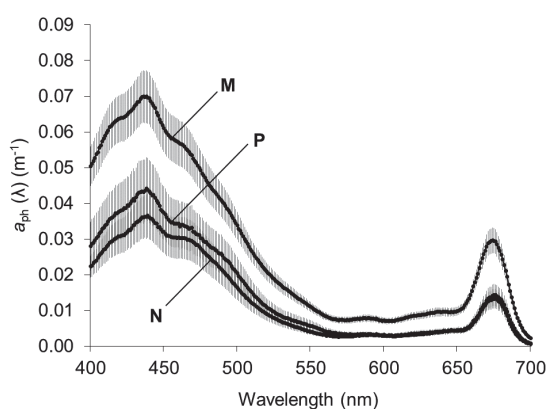


Fig. 4. Mean spectra of the light absorption coefficient of phytoplankton [ $a_{ph}(\lambda)$ ] for each phytoplankton size-based group (Group M, N, P). Error bars shows the standard error of the mean ( $=SD/\sqrt{n}$ ). The number of total samples are 127; (M)  $n = 104$ , (N)  $n = 17$ , (P)  $n = 6$ .

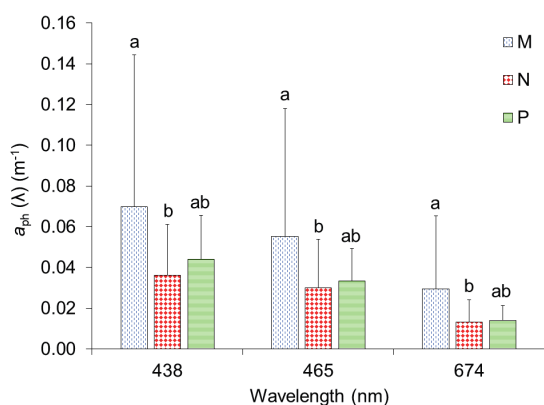


Fig. 5. Average of the light absorption coefficient of phytoplankton [ $a_{ph}(\lambda)$ ] at 438 nm, 465 nm, and 674 nm. Error bars show the standard deviations. Different letters of the top the bars indicate statistically significant differences at  $p < 0.05$  among the groups (Steel-Dwass). The number of total samples are 127; (M)  $n = 104$ , (N)  $n = 17$ , (P)  $n = 6$ .

### 4. 考察

優占している植物プランクトンサイズに応じて生成された 3 つのグループを比較すると、Chl  $a$  濃度はグループ M、N、P の順に高かった。 (Fig. 2)。またこれら分類群のグループ間における植物プランクトンの組成は有意に異なった (Fig. 3)。本海域における植物プランクトン群集構造を細胞サイズで表す場合、その組成には少なくとも以下 3 つの特徴的なパターンがあると考えられる：Chl  $a$  濃度が比較的高く、マイクロプランクトンが優占するグループ M；Chl  $a$  濃度は他 2 グループの中間で、ナノプランクトンが優占するグループ N；Chl  $a$  濃度が比較的低く、ピコプランクトンが優占するグループ P。一般的に、Chl  $a$  濃度が低い外洋域などでは円石藻や無殻渦鞭毛藻などの細胞サイズが小さいナノプランクトンやピコプランクトンが卓越する一方、Chl  $a$  濃度が高い沿岸域などでは珪藻や渦鞭毛藻などのマイクロプランクトンが優占することが知られている (Malone 1980)。また、世界規模の海洋観測データを用いて植物プランクトンのサイズ構造を推定するモデルを開発した先行研究でも、細胞サイズの小さな植物プランクトンが、Chl  $a$  濃度が低い ( $< 1.0 \mu\text{g L}^{-1}$ ) 環境下において優占的であることが報告されている (Brewin et al. 2010)。本研究においても、Chl  $a$  濃度が低いほど、より小さな植物プランクトン群集が優占的であったことが示されており、上記の先行研究と同様の傾向といえる。

植物プランクトンの光吸収特性を理解することは、一次生産や群集構造を推定する生物光学モデルを構築するにあたり重要である。群集構造の変化に伴う植物プランクトン光吸収係数のスペクトル形状の変化は、色素や細胞サイズの違いから生じており、群集構造を識別し推定するための基礎となる。本研究では、植物プランクトンの光吸収係数を測定し、細胞サイズの違いに従って生成されたグループに分類することにより、相模湾沿岸域における群集とその吸収係数を特徴づけた。植物プランクトン光吸収係数スペクトルは、短波長側の 438 nm と 465 nm、長波長側の 674 nm でピークを示しており、

これはカロテノイドおよび Chl *a* による吸収に起因すると考えられる (Alcântara et al. 2016) (Fig. 4)。

本研究では、相模湾沿岸域の植物プランクトン群集におけるサイズ組成の違いが、 $a_{ph}(\lambda)$  スペクトルに有意な差として表された (Fig. 5)。しかし、グループ P においては、 $a_{ph}(\lambda)$  では他のグループと識別できなかった。この場合、水の吸収を加えた吸収係数のスペクトルや後方散乱係数に関するデータを現場調査から取得し、それらの大きさを加味することで識別できる可能性がある (Reynolds & Stramski 2019)。また、波長間における吸収係数の比の算出や、本研究のようにハイパースペクトルデータが利用可能である場合は  $a_{ph}(\lambda)$  スペクトルを微分することにより、その特徴を強調することができる。と期待される (Torrecilla et al. 2011, Uitz et al. 2015)。本研究で扱ったサンプルの多くはマイクロプランクトンが優占しており、ナノプランクトンやピコプランクトンが優占したサンプルは全体の 17% であった。植物プランクトンのサイズ組成が反映された吸収係数の特徴を明確にするためには、上記に述べたような比の計算やスペクトルの微分解析が今後必要であると考えられる。

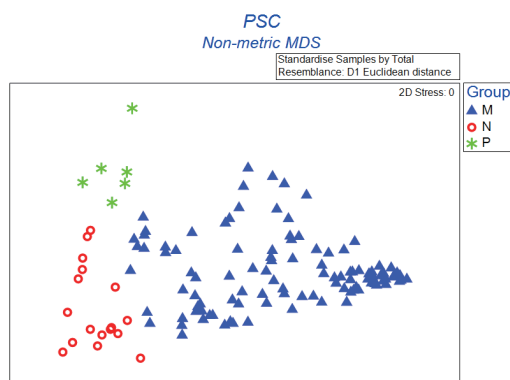


Fig. 3. The non-multidimensional scaling (NMDS) plot of the phytoplankton size class at the surface of Sagami Bay, Japan. The plot (M, N, and P) shows the classification based on size composition. Analysis of similarities (ANOSIM) test indicates significantly difference in each cluster M, N, P ( $p < 0.001$ ). The number of total samples are 133; (M)  $n = 110$ , (N)  $n = 17$ , (P)  $n = 6$ .

## 5. おわりに

本研究は、温帯沿岸域に位置する相模湾において、植物プランクトンのサイズ組成、およびその光吸収係数の変動性を特徴づけることを目的として、細胞サイズ別に植物プランクトン群集を分類し、その分類に従って植物プランクトン光吸収係数スペクトルの共変動性を調べた。マイクロプランクトンとナノプランクトンが優占的なグループでは、植物プランクトン光吸収係数のスペクトルの大きさに差異が確認された。植物プランクトンサイズ組成をその吸収係数から明確に識別するために、今後は波長間における吸収係数比の計算や微分解析を行うことで、サイズによる分類群のスペクトル特性を強調化し、比較する必要がある。

## 謝辞

本研究は宇宙航空開発研究機構 (JAXA) 地球観測研究センター (EORC) 第2回地球観測研究公募< ER2GCF312 >、第3回地球観測研究公募< ER3GCF308 >、および笹川科学研究助成< 2022-4107 >による助成を受け実施された。試料採集では、木村倫代船長を始めとする横浜国立大学臨海環境センターの皆様にご協力頂いた。色素分析に際し、東京大学の高橋一生教授と片山智代博士にご指導賜った。この場を借りて厚く御礼申し上げる。

## 引用文献

- Aguirre-gomez R, Week AR, Boxall SR (2001) The identification of phytoplankton pigments from absorption spectra. *Int J Remote Sens* 22: 315–338.
- Alcântara E, Watanabe F, Rodrigues T, Bernardo N (2016) An investigation into the phytoplankton package effect on the chlorophyll-a specific absorption coefficient in Barra Bonita reservoir, Brazil. *Remote Sens Lett* 7: 761–770.
- Brewin RJW, Sathyendranath S, Hirata T, Lavender SJ, Barciela RM, Hardman-Mountford NJ (2010) A three-component model of phytoplankton size class for the

- Atlantic Ocean. *Ecol Modell* 221: 1472–1483.
- Bricaud A, Claustre H, Ras J, Oubelkheir K (2004) Natural variability of phytoplanktonic absorption in oceanic waters : Influence of the size structure of algal populations. *J Geophys Res* 109: 1–12.
- Brownlee C, Taylor AR (2002) “Algal calcification and silification.” *Encyclopedia of Life Science*. Macmillan, London, UK, pp. 1–6.
- Clarke KR, Gorley RN (2015) *PRIMER v.7: User Manual/Tutorial*. PRIMER-E, Plymouth.
- Cleveland JS, Weidemann AD (1993) Quantifying absorption by aquatic particles: A multiple scattering correction for glass-fiber filters. *Limnol Oceanogr* 38: 1321–1327.
- Dutkiewicz S, Hickman AE, Jahn O, Henson S, Beaulieu C, Monier E (2019) Ocean colour signature of climate change. *Nat Commun* 10: 578.
- Falkowski PG, Katz ME, Knoll AH, Quigg A, Raven JA, Schofield O, Taylor FJR (2004) The evolution of modern eukaryotic phytoplankton. *Science* 305: 354–360.
- Head EJH, Horne EPW (1993) Pigment transformation and vertical flux in an area of convergence in the North Atlantic. *Deep Sea Res Part II Top Stud Oceanogr* 40: 329–346.
- IOCCG Protocol Series (2018) “Absorption Coefficient.” *Inherent Optical Property Measurements and Protocols* (eds Neeley AR, Mannino A) IOCCG Ocean Optics and Biogeochemistry Protocols for Satellite Ocean Colour Sensor Validation, Vol 1.0, Dartmouth.
- Malone TC (1980) “Algal size.” *The Physiological Ecology of Phytoplankton* (ed Morris I). Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK, pp. 433–463.
- Nair A, Sathyendranath S, Platt T, Morales J, Stuart V, Forget MH, Devred E, Bouman H (2008) Remote sensing of phytoplankton functional types. *Remote Sens Environ* 112: 3366–3375.
- Reynolds R.A, Stramski D (2019) Optical characterization of marine phytoplankton assemblages within surface waters of the western Arctic Ocean. *Limnol Oceanogr* 64: 2478–2496.
- Roy S, Llewellyn CA, Egeland ES, Johnsen G (2011) “Characterization, Chemotaxonomy and Applications in Oceanography.” *Phytoplankton Pigments* (eds Roy S, Llewellyn CA, Egeland ES, Johnsen G). Cambridge Univ Press, Cambridge, UK, pp.12–15.
- Roy S, Sathyendranath S, Bouman H, Platt T (2013) The global distribution of phytoplankton size spectrum and size classes from their light-absorption spectra derived from satellite data. *Remote Sens Environ* 139: 185–197.
- Stramski D, Reynolds RA, Kaczmarek S, Uitz J, Zheng G (2015) Correction of pathlength amplification in the filter-pad technique for measurements of particulate absorption coefficient in the visible spectral region. *Appl Opt* 54: 6763–6782.
- Suzuki K, Kamimura A, Hooker SB (2015) Rapid and highly sensitive analysis of chlorophylls and carotenoids from marine phytoplankton using ultra-high performance liquid chromatography (UHPLC) with the first derivative spectrum chromatogram (FDSC) technique. *Mar Chem* 176: 96–109.
- Torrecilla E, Stramski D, Reynolds RA, Millán-Núñez E, Píera J (2011) Cluster analysis of hyperspectral optical data for discriminating phytoplankton pigment assemblages in the open ocean. *Remote Sens Environ* 115: 2578–2593.
- Uitz J, Claustre H, Morel A, Hooker SB (2006) Vertical distribution of phytoplankton communities in open ocean: An assessment based on surface chlorophyll. *J Geophys Res* 111: C08005.
- Uitz J, Stramski D, Reynolds RA, Dubranna J. (2015). Assessing phytoplankton community composition from hyperspectral measurements of phytoplankton

- absorption coefficient and remote-sensing reflectance in open-ocean environments. *Remote Sens Environ* 171: 58–74.
- Underwood AJ (1997) “More analysis of variance” *Experiments in ecology*. Cambridge University Press, UK, pp. 198–242.
- Wang S, Ishizaka J, Hirawake T, Watanabe Y, Zhu Y, Hayashi M, Yoo S (2015) Remote estimation of phytoplankton size fractions using the spectral shape of light absorption. *Opt Express* 23: 10301–10318.
- Zapata M, Rodriguez F, Garrido JL (2000) Separation of chlorophylls and carotenoids from marine phytoplankton: a new HPLC method using a reversed phase C<sub>8</sub> column and pyridine-containing mobile phases. *Mar Ecol Prog Ser* 195: 29–45.
- Zhang X, Huot Y, Bricaud A, Sosik HM (2015) Inversion of spectral absorption coefficients to infer phytoplankton size classes, chlorophyll concentration, and detrital matter. *Appl Opt* 84: 5805–5816.