

渓流水量と溶存成分濃度の関係を利用した、 間伐に伴う土壌中成分の鉛直分布変化の推定

* 小島永裕¹⁾, 長井正博²⁾, 兵頭恒太²⁾, 片山幸士²⁾

¹⁾滋賀県琵琶湖環境科学研究センター,

²⁾人間環境大学人間環境学部

はじめに

渓流水中の成分濃度は、森林系外からの流入、系内での生物地球化学的過程、水文学的過程などのいくつかの過程が複合的に作用して決まっている。渓流水の水質形成機構を解明するために、我々は渓流水中の溶存成分濃度に対する渓流水量と温度の影響について検討してきた¹⁾。

生物地球化学的な作用を解明する上で、樹木の生長や伐採に伴う渓流水中成分の濃度変化を把握することは重要である。2012年の発表²⁾では、渓流水の主要溶存成分の濃度について、間伐前後の濃度変化に対する水文学的要因と生物地球化学的要因の寄与の程度を検討した。

今回は、渓流水量と渓流水中の溶存成分濃度の関係から、土壌水中の溶存成分、特にNO₃濃度の鉛直分布が、間伐によってどのように変化するかを推定した。

調査方法

調査地は滋賀県野洲市大篠原にある集水面積 20.0 ha の森林で、日野川支流光善寺川の最上流部に位置し、花崗岩質で、スギ、ヒノキの人工林を主体とする。2003年に量水堰を設置し、渓流水量を自動計測している。

水質分析用に渓流水を2004年9月から2010年10月にかけて毎週、量水堰の上流約10 mにおいて採取した。孔径0.4 μmのニュクリポアフィルター(Whatman製)でろ過して得たる液中のNO₃を、イオンクロマトグラフを用いて測定した。

間伐は2008年1月25日から4月20日に実施し、本数率で約10%の造林木を伐採した。

結果

間伐前の3年間において渓流水量(mm/week)の対数値log Q₀は0.17~2.41の範囲で変動し、平均値は0.85であった。また、間伐後1年目のlog Q₁および2年目のlog Q₂の範囲はそれぞれ0.28~1.87, 0.24~1.82で、平均値はそれぞれ1.05, 0.93であった。間伐後1年目、2年目ともに間伐前に比べて降水量が大きかったため、渓流水量が大きくなったと考えられた²⁾。

間伐前3年間のNO₃濃度(μmol/L)の対数値log C₀とlog Q₀の間には次の関係が成立した。

$$\log C_0 = 0.185 \times \log Q_0 + 1.47 \quad (1)$$

間伐後1年目と2年目では次の関係が成り立った。

$$\log C_1 = 0.231 \times \log Q_1 + 1.53 \quad (2)$$

$$\log C_2 = 0.207 \times \log Q_2 + 1.50 \quad (3)$$

式(1)と(2)と(3)はほぼ1点(log Q = -1.30 ± 0.05, log C = 1.23 ± 0.01)で交わった。この値は、観測期間中のlog Qおよびlog Cの最小値よりも小さい値であった。

また、間伐前3年間のlog Q₀の平均値において、間伐前3年間のlog C₀ = 1.63, 間伐後1年目のlog C₁ = 1.73, 間伐後2年目のlog C₂ = 1.68が得られた。

考察

以上のことから、土壌水中NO₃濃度の鉛直分布と間伐による変化を次のように推定した。

まず、間伐前後ともにlog Cとlog Qの間に正の相関があったことから、渓流水中のNO₃濃度が深い層の土壌水と浅い層の土壌水の混合によって決まっていると仮定すると、土壌水中のNO₃濃度は浅い層の方が深い層よりも高くなっていて、このため、降水時に浅い層の寄与が大きくなると、渓流水中のNO₃濃度が高くなると考えられる。

また、間伐前後でのlog Cとlog Qの3つの関係式がほぼ1点で交わり、このときのlog Qが非常に小さかったことから、このlog Qのときのlog Cは土壌の深い層でのNO₃濃度に近く、この層のNO₃濃度は間伐によって変化しなかったことがわかる。

さらに、間伐前のlog Q₀の平均値におけるlog Cの値が間伐後に高くなったことから、間伐後に土壌の浅い層のNO₃濃度が高くなり、その結果、渓流水中のNO₃濃度が高くなったと考えられる。log Q₀の平均値におけるlog Cの値から、間伐後1年目の方が2年目よりも土壌の浅い層のNO₃濃度が高いことも推定できる。

引用文献

- 1) 小島永裕ほか(2009) 渓流水中の溶存成分濃度に対する水量および温度の影響, 第120回日本森林学会大会要旨集, D24
- 2) 小島永裕ほか(2012) 間伐による渓流水質変化に対する水文学的および生物地球化学的要因の寄与, 日本陸水学会第77回大会要旨集, p86

1. はじめに

近年、河川での微量化学物質汚染の研究は有機フッ素化合物や医薬品等に集中した観があるが、水田からの農薬流出は続いており、大きく減少したわけではなく、生態系にとっては依然脅威である。我々は、これまで高頻度調査を中心に淀川やその支川での農薬流出特性を明らかにしてきた。今回は、流域規模や流域内の水田面積の増減により水田に施用された農薬の流出傾向について解析を行った。図-1 に調査対象の河川位置図、表-1 に調査流域ごとの流域特性を示す。

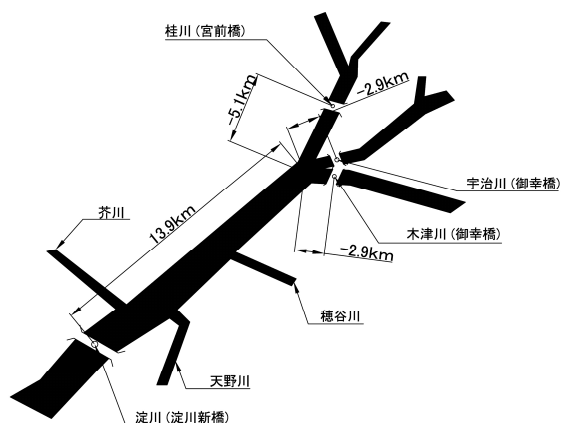


図-1 調査地点位置関係図

表-1 調査流域ごとの流域特性

調査河川	流域面積 (km ²)	水田面積 (km ²)	水田面積/流域面積
淀川(淀川新橋)	7377	411.9	0.056
桂川(宮前橋)	1100	33.1	0.030
宇治川(御幸橋)	4355	301.8	0.069
琵琶湖を含む			
宇治川(御幸橋)	591	14.7	0.025
琵琶湖を含まない			
木津川(御幸橋)	1596	70.7	0.044
穂谷川	14.4	1.0	0.069
天野川	51.3	2.1	0.041
芥川	52.0	1.7	0.033

2. 調査概要

淀川流域の河川を対象に、2001年から2012年までの間で、農薬流出についての調査を実施した。3日に1度もしくは6日に1度、7日に1度の高頻度調査により、淀川流域内の水田で散布された農薬の流出特性を明らかにする。調査河川や調査頻度、調査期間を表-2に示す。農薬の流出調査は、農薬が散布される時期に合わせた調査が必要と考えて、4月下旬から10月上旬までを重点的に調査し、流出状況の経年変化傾向の検討を行った。流量データは国土交通省から提供を受けた。

表-2 調査河川ごとの調査期間と頻度、回数

調査河川	調査期間	頻度	回数
淀川(淀川新橋)	2001/5/9-9/9	3日に1度	42回
	2004/5/6-9/15	3日に1度	45回
	2005/4/21-9/24	3日に1度	53回
	2011/4/26-12/10	6日に1度	39回
桂川・宇治川・木津川	2007/4/14-12/15	7日に1度	36回
	2008/4/25-10/1	3日に1度	54回
	2011/4/23-11/22	3日に1度	72回
	2012/4/21-11/20	3日に1度	72回
穂谷川・天野川・芥川	2005/5/7-9/25	3日に1度	48回

3. 調査結果

大規模流域河川の農薬調査を行って、流量のほか、流域面積や流域内の水田面積により農薬の流出負荷量がどのように推定できるかを解析した。得られた結果より、流域面積あるいは水田面積による流量と主要な農薬負荷量の回帰式と相関係数を表-3に示す。結果より、回帰式の指数から流域面積よりも水田面積の増減に伴い、農薬の流出負荷量の変化も大きくなることが示唆された。したがって、農薬の流出負荷量に影響を与えている項目は、流域面積もさることながら水田面積の変化が大きな要因となりうるということが明らかとなった。

表-3 流量と主要農薬の回帰式と相関係数

項目	流域面積		水田面積	
	回帰式	R	回帰式	R
流量	$0.067 \times X^{1.285}$	0.98	$4.527 \times X^{1.339}$	0.96
プロモプチド	$0.019 \times X^{1.205}$	0.83	$0.968 \times X^{1.259}$	0.81
シメトリン	$3.0 \times 10^{-7} \times X^{1.205}$	0.96	$0.002 \times X^{2.397}$	0.94
ピロキロン	$0.009 \times X^{1.285}$	0.89	$0.457 \times X^{1.405}$	0.91

4. まとめ

長期間にわたる同一流域の調査により、農薬流出負荷量は、流量のほか流域面積と水田面積に大きく影響されていることが明らかとなった。解析結果より、中小規模流域河川から大規模流域河川までが含まれているため、淀川流域内の河川から農薬がどの程度流出しているかを推定できると考える。

引用文献

- 1) EBISE,S, & KAWAMURA.H J.WET, Vol.12, (2014), No.3, pp.309-322
- 2) 須戸幹, 河川整備基金助成事業(2011)
- 3) 川村裕紀, 海老瀬潜一, 土木学会 G 論文集, Vol.68, (2012), No.7, III_775-III_785
- 4) 海老瀬潜一, 川村裕紀, 水環境学会誌, Vol.29, (2006), No.11, pp.705-713

*渡邊未来¹, 三浦真吾^{1,2}, 仁科一哉¹, 高松武次郎¹, 高津文人¹,
今井章雄¹, 越川昌美¹, 林誠二¹ (¹国環研, ²武揚堂)

1. はじめに

窒素飽和とは、水源となる森林が窒素過剰状態に陥り、溪流への NO₃⁻流出量が増大する問題である。関東地域の森林では、既に渓流水の NO₃⁻濃度が高く、窒素飽和が顕在化している。窒素飽和森林において、渓流水の NO₃⁻濃度は、地形や森林植生などの影響を受けて、空間的や季節的に変動すると予想される。日本では、森林面積の4割が針葉樹人工林であることから、森林管理による窒素飽和の緩和を考える上で、集水域における針葉樹林の占有面積率(=針葉樹林率)が、渓流水中 NO₃⁻濃度に影響しているかを調べることは重要と考えられる。

そこで本研究では、1980年代から窒素飽和状態が持続している茨城県筑波山の森林域を対象に、渓流水中 NO₃⁻濃度を測定し、集水域の針葉樹林率および地形特性との関係を調べた。

2. 方法

筑波山の源流域に位置する40集水域で、2007年8月から季節ごとに計4回、平水時の渓流水を採取して NO₃⁻濃度を測定した。さらに、針葉樹林率が異なる隣接した5集水域では、2007年9月から3年間、月1回の頻度で平水時の NO₃⁻濃度を測定した。

各集水域の針葉樹林率は、高空間分解能衛星である Quickbird の撮影画像を解析して求めた。2010年5月21日撮影の画像から、40集水域を切り抜き、Near IR バンドを用いた教師なしのクラスター分類により、針葉樹林と広葉樹林を分類して針葉樹林率を算出した。また、各集水域の地形特性は、国土地理院の10mメッシュのDEMを地理解析ソフト ArcGIS で解析し、集水域面積、平均標高、平均傾斜角、南向き斜面の占有面積率を求めた。

3. 結果と考察

筑波山の40集水域における渓流水中 NO₃⁻濃度は

1.7 ± 0.6 mgN L⁻¹であり、全国平均値(0.4 ± 0.4 mgN L⁻¹)の約4倍であった¹⁾。また、31集水域の NO₃⁻濃度は、窒素飽和の目安の1つとされる1.0 mgN L⁻¹を超えており²⁾、筑波山では広範囲の森林で窒素飽和が起きていることが確認できた。

渓流水の NO₃⁻濃度は、集水域間で大きく異なっていたが、平均傾斜角と有意な正の相関があった(r = 0.404, p < 0.01, n = 40)。しかし、針葉樹林率および他の地形因子とは関係性が見られなかった。この結果は、渓流水中 NO₃⁻濃度の空間変動には傾斜角が強く影響していることを示しており、急峻な集水域では、NO₃⁻生成量が多いことや、水の滞留時間が短いために NO₃⁻消費量が少ないことが考えられる。

地形特性が類似した5集水域の渓流水質を比較した結果、NO₃⁻濃度は針葉樹林率が比較的高い2集水域で高かった(図1)。針葉樹林率が低い3集水域では、渓流水中 NO₃⁻濃度が低かったことから、NO₃⁻流出が抑えられている可能性がある。さらに、1集水域では夏季に渓流水中 NO₃⁻濃度が低下する季節変化も見られた。したがって、渓流水中 NO₃⁻濃度の空間変動や季節変動には、針葉樹林率も付加的に影響していると考えられる。

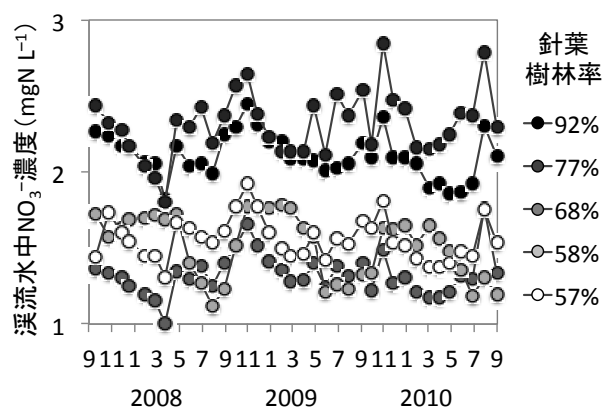


図1. 5集水域における渓流水中 NO₃⁻濃度の変動

【引用文献】¹⁾ 木平ら (2006): 日本水文学会誌, 36: 145-149.

²⁾ Gundersen et al. (2006): *Environ. Rev.*, 14: 1-57.

窒素飽和状態にある筑波山における渓流水中Ca濃度の長期比較

*越川昌美¹, 渡邊未来¹, 錦織達啓¹, 渡邊圭司², 高松武次郎¹, 中野孝教³, 林誠二¹¹ 国立環境研究所, ² 埼玉県環境科学国際センター, ³ 総合地球環境学研究所)

1. はじめに

茨城県筑波山は、水源となる森林が窒素過剰状態に陥り、高濃度のNO₃⁻が森林生態系から溪流に流出する(窒素飽和している)状態が1980年代後半から25年以上持続している地域である(渡邊ら, 2011)。NO₃⁻の流亡は植物の栄養であるCaの流亡を伴うため、養分不足により森林衰退が生じることも懸念される。そこで、本研究では窒素飽和状態が長期間持続している筑波山森林試験地において、2010年代前半の渓流水中Ca濃度が1980年代と比べ、どの程度変化しているかを明らかにするため、降水および渓流水のCa濃度を観測し、約25年間の変化を比較した。また、集水域内13地点の渓流水中Ca濃度を比較し、Caの供給源や流出機構について考察した。

2. 方法

筑波山森林試験地は、筑波山の南東斜面に位置し、面積は67.5haである。集水域の地質は花崗岩と変成岩から成り、植生はスギとヒノキの人工林が75%を占める。

集水域出口(T地点)では、流出水量の連続観測と降雨流出時の水質調査を年4回行い、L-Q式を作成してCaの年間流出量を求め、これを年間流出水量で除してCa濃度の年平均値を算出した。林外雨のCa濃度は、バルク式採雨器で採取した雨水を毎月回収し、Caの濃度と雨量から年間流入量を求め、これを年間降水量で除して年平均値を算出した。

また、集水域内13地点において、平水時の渓流水中Ca濃度を2週間に1回の頻度で測定し(n=25)、平水時の平均値を算出した。

今回の調査期間は2010年5月から2011年4月の1年間とした。得られたデータを、同じ地点で1985年4月から1986年3月に観測した年平均値(平田・村岡, 1991, n=22)、および1984年10月から1985年9月に観

測した平水時平均値(平田私信, n=19)と比較した。

さらに、特徴的な3地点において、2011年9月6日(平水時)に採取した渓流水のSrの安定同位体比(Caのトレーサーとして有効)を分析し、渓流水中Caの供給源を解析した(詳細はKoshikawa et al., 2012参照)。

3. 結果と考察

T地点渓流水のCa濃度は、年平均値(1.64倍)も平水時平均値(1.68倍)も、今回が1980年代より高くなっていた。一方、林外雨のCa濃度は、1980年代の0.64倍に低下していた。林外雨のCa濃度が低下しても渓流水のCa濃度が上昇した一因として、渓流水中のNO₃⁻濃度が上昇しているため(渡邊ら, 2011)、陰イオンであるNO₃⁻が、陽イオンであるCa²⁺を伴って流出している可能性が考えられる。

集水域内の他の12地点の溪流でも、Ca濃度は1980年代より高くなっていた。最もCa濃度が高いのは、1980年代も今回も、A6地点であった。

そこで、A6地点、およびA6地点と同様に集水域地質が花崗岩であって、今回のCa濃度がA6地点の69%と54%であるA5地点とA3地点の3地点を選び、渓流水のSr同位体比を分析した。その結果を、SrおよびCaの供給源と考えられる降水・花崗岩・火山灰(約3万年前に赤城山の噴火に伴って筑波山地域に降下した火山灰)のSr同位体比と比較し、渓流水中Srの起源(Caの起源も同様と考えられる)を解析したところ、火山灰由来Srの寄与がA6地点で50%、A5地点で22%、A3地点で1%未満であった。A6地点では集水域土壌がSrおよびCaの供給能が高い火山灰を多く含むため、渓流水中のSrおよびCaの濃度が高いと考えられた。

【文献】渡邊ら(2011)日本陸水学会第76回大会講演要旨集, 195; 平田・村岡(1991)水工学論文集, 35, 105-110; Koshikawa et al. (2012) ASLO aquatic science meeting

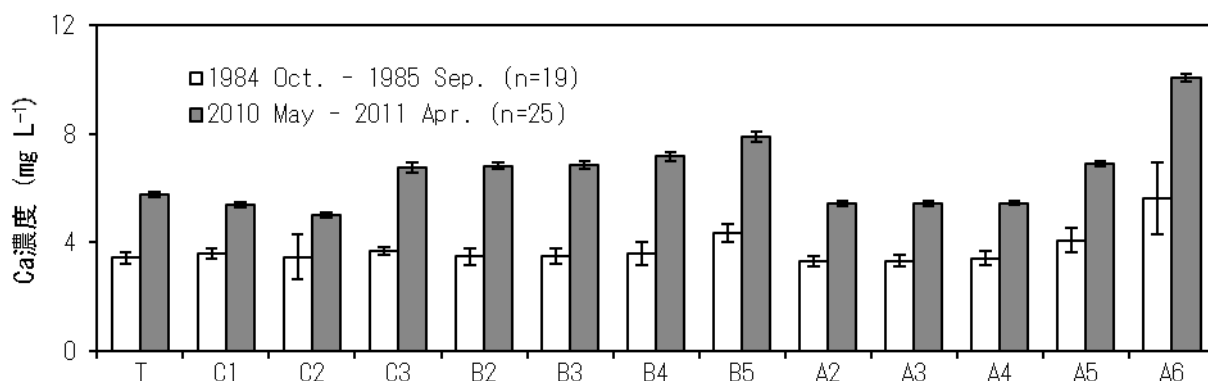


図 筑波山森林試験地の13地点における渓流水中Ca濃度(平水時平均値)の1980年代後半と2010年代前半の比較

*金田治彦¹⁾, 荻原香大¹⁾²⁾, 渡邊未来³⁾, 柏矢倉大介¹⁾⁴⁾, 菅沼好一⁵⁾⁶⁾, 三浦真吾³⁾
大森牧子¹⁾, 林誠二³⁾ 1) 栃木県保健環境センター, 2) (現 栃木県西環境森林事務所), 3) 国立環境研究所, 4) (現 栃木県県土整備部都市整備課), 5) 栃木県林業センター, 6) (現 栃木県東環境森林事務所)

1. はじめに

栃木県は、総面積の55%を森林が占めており、その45%が人工林である。近年、関東地域の森林では、生態系が窒素過剰状態に陥る窒素飽和現象が顕在化しており、渓流水の硝酸イオン (NO_3^-) 濃度が高いことが報告されている¹⁾。その原因の1つとして窒素化合物を含む都市大気の流れが指摘される一方¹⁾、適切な森林施業が窒素飽和を緩和する可能性も指摘されている²⁾。しかし栃木県では、これらに関する研究例が少なく、その実態については分かっていない。そこで本研究では、森林の窒素飽和が生じていると考えられる栃木県鹿沼地域において、森林施業が渓流水の NO_3^- 濃度に与える影響を調べるため、間伐履歴の異なる2つの人工林集水域を対象に、森林環境調査として樹木、下層植生、リター層、表層土壌を調査し、結果を両集水域で比較した。

2. 調査方法

栃木県中西部に位置する鹿沼地域から、間伐が不十分な集水域H、間伐が十分に行われている集水域Lを選定し、2011年10月から1年間、集水域出口で平水時の渓流水中 NO_3^- 濃度を月1回測定した。また、森林環境を調査するため、各集水域に4地点の調査区を設けた。樹木成長量は、1年間の胸高断面積の増加量と立木密度の積とした。さらに、各地点に 1m^2 の調査プロットを設け、2012年9月に下層植生、リター層、表層土壌を採取した。下層植生とリター層は、重量とN含有量を測定し、単位面積あたりのN存在量を求めた。表層土壌は、N含有量と NO_3^- 含有量を測定し、さらに室温で1週間培養して、 NO_3^- 含有量の増加量から NO_3^- 生成能を簡易的に求めた。

3. 結果

集水域Hと集水域Lにおける調査結果を表1に示す。渓流水中 NO_3^- 濃度の平均値は、HがLの約2倍であった。立木密度は、Hでは近年の間伐により 3000本 ha^{-1} から 940本 ha^{-1} になっており、Lでは 710本 ha^{-1} になっていた。樹木成長量はHがLの約2倍であった。下層植生のN存在量は、両集水域で同程度であったが、Hでは重量が少なくN含有量が高かった。リター層のN存在量は、主に重量の違いを反映してHがLの約2倍であった。表

層土壌については、N含有量は両集水域で同程度であったが、 NO_3^- 含有量と NO_3^- 生成能はHが高い傾向にあった。

表1 渓流水と森林環境の調査結果

測定項目		集水域H	集水域L
渓流水の NO_3^- 濃度 (mgN L^{-1})		1.5	0.8
樹木	林齢 (集水域平均)	53	46
	立木密度 (本 ha^{-1})	940	710
	生長量 ($\text{m}^2\text{ha}^{-1}\text{yr}^{-1}$)	0.96	0.51
下層植生	種類・相対照度	少・暗	多・明
	重量 (g m^{-2})	59	73
	N含有量 ($\text{mgN g}^{-1}\text{-dry}$)	51	36
	N存在量 (kgN ha^{-1})	29	26
リター層	重量 (g m^{-2})	430	150
	N含有量 ($\text{mgN g}^{-1}\text{-dry}$)	17	15
	N存在量 (kgN ha^{-1})	200	86
表層土壌	N含有量 ($\text{mgN g}^{-1}\text{-dry}$)	8.7	9.3
	NO_3^- 含有量 ($\text{mgN g}^{-1}\text{-dry}$)	7.8	6.6
	NO_3^- 生成能 ($\text{mgN kg}^{-1}\text{-dry day}^{-1}$)	2.2	1.5

4. 考察

集水域Hでは、立木密度が高く、リター層のN存在量が多いことから、リターによる土壌への有機体Nの供給量が多いと考えられる。さらに、表層土壌の NO_3^- 生成能が高いため、供給された有機体Nの無機化と硝化が速やかに進んでいると考えられる。土壌中で生成された NO_3^- は、下層植生と樹木によって消費されるものの、消費しきれなかった NO_3^- が渓流水へ流出していると考えられる。これに対し、集水域Lでは、適度な間伐により、土壌への有機体Nの供給量と、土壌中の NO_3^- 生成能が抑えられているため、 NO_3^- 流出も少なくなっていると考えられる。したがって、渓流水への NO_3^- 流出は、林床への有機体Nの供給と蓄積、それに続く無機化と硝化が大きな要因となっていることが考えられ、間伐などの森林施業によって、これらをコントロールできる可能性が示唆された。

引用文献: ¹⁾伊藤ら (2004, 日林誌), ²⁾徳地ら (2011, 水利科学)

1. はじめに

南西から北東へと細長い日本列島は偏西風帯に属し、海陸風・山谷風のような局地風の影響も受けて、風向・降水量・気温等に差が見られる。特に円錐形状の孤立峰の周囲では、それらの方位分布が顕著に現れるので、気象学的かつ水文学的に注目されるフィールドである。中国大陸方面からの大気汚染物質長距離輸送による酸性沈着物や海塩影響が見られ易い東シナ海や日本海寄りでは、高山等を放射状に流下する溪流群が多く存在すれば、溪流の水質方位分布の卓越風との関係を統計解析により検討できる。

2. 調査山系

標高 1500m を超えて冬季に冠雪する円錐形状孤立峰で、放射状流下溪流群が多数存在する岩木山(1625m)・鳥海山(2230m)・大山(1729m)と、高山群が円錐形状を成す屋久島で、同年の秋季・春季融雪期・夏季の連続3回調査をして、溪流の水質方位分布特性の比較検討を行った。

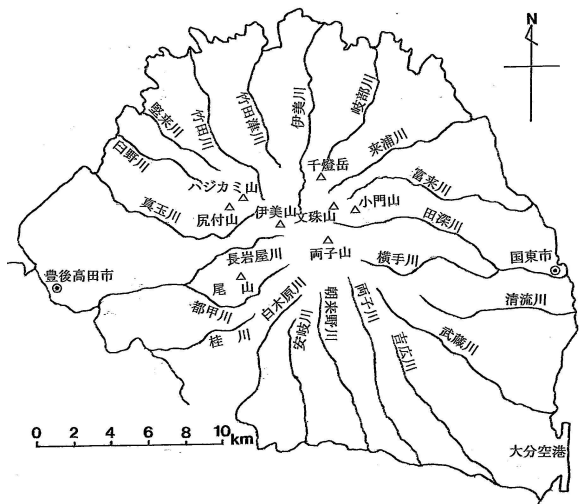


図-1 国東半島(両子山系)の調査溪流

さらに、放射状溪流群が存在する低い山系として図-1に示す両子山系(721m, 大分県国東半島)、経ヶ岳(1076m, 佐賀・長崎県境多良山系)及び円形島の

隠岐島後(大満寺山 608m, 島根県)の放射状流下溪流群の調査を実施した。また、利尻岳(1719m, 利尻島)や阿蘇山(1592m)も踏査したが、常時流水のある溪流群数が少なく、羊蹄山(1893m)のみ湧水・渓流水調査を行った。羊蹄山の山頂には富士山と同様に大きなお釜が存在し、他とは違う山体形状の特徴がある。

3. 調査結果

2011年10月9日に羊蹄山の東山麓から反時計回りに周回して13ヶ所で渓流水・湧水・湖水を採取した。方位によっては湧水のみ存在し、渓流水が存在しなかった。湧水や湖水は滞留時間が渓流水と比べて大きいため、各種のイオン濃度が全般的に高く、渓流水との方位別の直接的な比較は困難であった。

2013年8月23~24日に大分県国東半島の両子山系の21の溪流の水質調査を行い、4方位分布で比較検討した。国東半島は西側を除いて他は海に面しているが、Cl⁻濃度が西側で高く、SO₄²⁻濃度も西側で高く、北九州東部でも偏西風の影響が考えられる。

表-1 国東半島(両子山)溪流水質方位分布

方位	河川	高度 (m)	EC (mS/m)	Alkalinity (meq/l)	TOC (mg/l)	Cl ⁻ (mg/l)	NO ₃ ⁻ -N (mg/l)	SO ₄ ²⁻ (mg/l)
北	5	105	14.6	<u>0.609</u>	<u>1.07</u>	6.05	<u>0.960</u>	8.82
東	5	200	12.4	0.625	0.99	4.98	0.581	9.23
南	6	272	12.0	0.654	<u>0.94</u>	<u>4.43</u>	<u>0.457</u>	<u>4.92</u>
西	6	133	<u>16.1</u>	<u>0.779</u>	0.95	<u>6.91</u>	0.825	<u>14.66</u>

方位	河川	距離 (km)	NH ₄ ⁺ -N (mg/l)	Na ⁺ (mg/l)	K ⁺ (mg/l)	Mg ²⁺ (mg/l)	Ca ²⁺ (mg/l)	Na ⁺ /Cl ⁻
北	5	5.8	-	8.60	1.86	2.80	12.58	2.22
東	5	4.3	-	7.80	<u>1.73</u>	2.62	<u>11.22</u>	2.44
南	6	4.8	-	<u>7.04</u>	2.26	<u>2.58</u>	12.06	<u>2.48</u>
西	6	6.0	-	<u>9.50</u>	<u>3.08</u>	<u>3.29</u>	<u>15.54</u>	2.12

4. まとめ

周辺低地や海面から突き出した山系で、放射状配置で流下し、流水が常時存在する溪流群が多数ある場合は、気象・水文要因による沈着物や海塩の水質影響を捉え得る限られた貴重なケースであった。

引用文献：海老瀬(2013)環境科学会誌 26(4)。海老瀬(2014)水質流出解析(技報堂出版)。

※鮎川和泰¹, 北渕浩之², 吉田明史², 田辺雅博³, 横田久里子¹, 永淵修²

(1 環境システム(株), 2 滋賀県大 環境, 3 日科機バイオス(株), 4 豊橋技科大)

「はじめに」

演者らは2013年、屋久島一湊川における溶存有機物(CDOM)の連続観測とDN、及びDOCの挙動に良い相関が得られることを報告した(2012年大津大会 鮎川ら)。平水時のTNが 0.1mgL^{-1} と低い一湊川において、ヤクシマカワゴロモの栄養塩取得方法を検討するためにCDOMの連続観測を行った結果、降雨のパターンによりいくつかの特徴が見られた。本年度は、CDOMの挙動と共に初期降雨を素早く検知し、採水できるシステムを開発し、降雨後水位増加前、かつ河川濁度増加前の採水を行い、降雨時の窒素挙動と併せて検討した。

「実験機材と方法」

自動採水 ISCO6712(1L24本採水 水質計連動)2台
 CDOM 米国TurnerDesign社 Cyclops-7
 水質計 米国Hach社 HYDROLAB Datasonde5x
 濁度計 カナダFTS社 DTS-12
 水位 ドイツOTT社 Orphes-mini Data Logger
 初期降雨採水のISCO-6712型に転倒ます式雨量計を連動させ、3日以上雨量を検知しなかった後の時間雨量1mm降雨をトリガーにし、30分間隔で4回連続採水した。また2台目の採水器は、FTS-12濁度計が15NTUを上回ったときに1時間おき採水した。

「結果」

屋久島一湊川流域における2014年5月の降雨は7回と比較的少なく、平水時の採水が行えた(Fig.1)5月20日の降雨は1時間程度2mm程度の降雨であり、その時のCDOM及び濁度の挙動を示す(Fig.2)。平水時、時間雨量1mm以上の降雨が3日以上認められない後の初期降雨を採水した結果、平水時と比べてTNが増加していた。

2013年はほぼ毎日降雨が継続し、そのときのCDOMは、濁度ピークより2時間程度速い増加を示したが、本年度のように降雨が少ないときは、濁度及びCDOMの挙動はほぼ同じであった。また、降雨前(5月18日)および降雨後(5月21日)の懸濁態窒素に対し、初期降雨時採水の懸濁態窒素は高い濃度を示した(Table,1)。

「考察」

2013年の報告と比べて、2014年の降雨時CDOM挙動は違っており、本年度においても降雨が継続する6月の結果とも併せて比較検討する予定である。

また、降雨時の懸濁態窒素は高い値を示しており、浮遊砂等懸濁態をトラップできる形状を持つカワゴロモにこの懸濁態窒素が寄与しているものと示唆された。

一湊川における連続観測と採水は継続して行っており、降水量別に、水位、流速と併せて検討することで、さらに詳細な結果を報告することができると思われる。

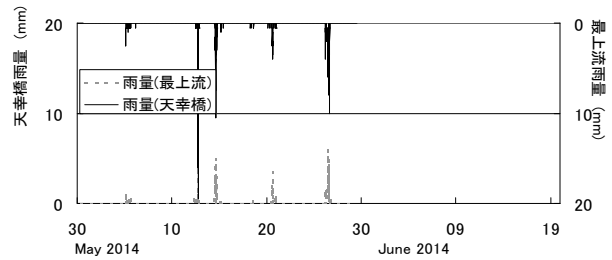


Fig.1 最上流及び直上付近の降水量 2014年5月6月

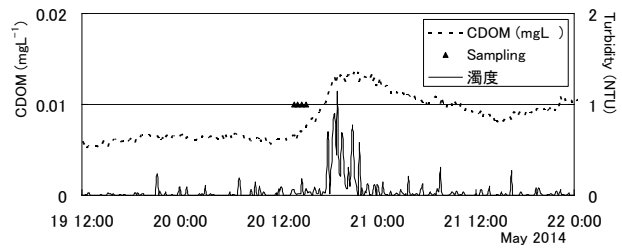


Fig.2 5日間降雨が認められなかった後のわずかな降雨時CDOM及び濁度の挙動

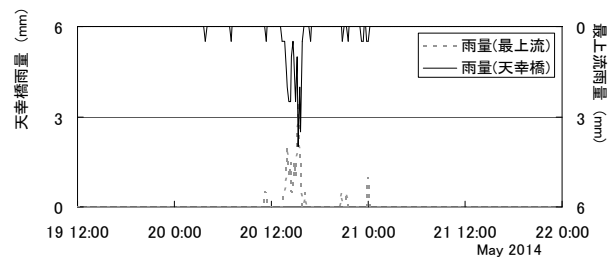


Fig.3 考察期間内の降水量挙動

Sampling Date	18-May	20-May	21-May
TN (mgL^{-1})	0.116	0.322	0.158
DN (mgL^{-1})	0.103	0.110	0.149

Table,1 考察期間中のTN, DN (2014年5月)

*中野 伸一（京大生態研），朴虎東（信州大理）

我が国では、高度経済成長期以降に多くの環境問題が起こった。湖沼では富栄養化が深刻化し、多くの湖ではアオコが発生した。アオコは、シアノバクテリアが大量に増殖したものである。シアノバクテリアの中には、大発生すると景観を損ね、悪臭を放ち、さらに悪いことには人体にも有害な毒を生産することもある。淡水で大発生するシアノバクテリアは、多くの場合はミクロキスティスであるが、湖沼によってはアナベナやシネココッカスなども大発生することもある。また、海洋ではリングビアなどのシアノバクテリアが大発生する。これらのため、いわゆる「アオコ問題」は、シアノバクテリア全般について言及すべきものと考えられる。

我が国ではこれまでに多くの研究者が、シアノバクテリアの系統地理分布・発生機構の解明やシアノバクテリア大増殖の防除対策の研究を進め、また近年ではシアノバクテリアから有用物質を取り出す研究も進められている。すなわち、現在の我が国では、シアノバクテリアについて多様で奥深い研究がなされるようになり、日本の淡水・海水におけるシアノバクテリア研究は 1980 年代から現在まで、世界でトップクラスのレベルにある。また、シアノバクテリアの大発生は、世界各地で普遍的に見られる環境問題であり、大発生に伴う経済的損失や産業構造の変化、さらには周辺住民の生活との関わりなどの、人文・社会科学の研究も行われている。

しかし、研究が多様化かつ深化した結果、シアノバクテリア研究の専門化・細分化が進み、お互いの間の横方向でのつながりは希薄となっている。例えば、分類関係は藻類学会、生態関係は陸水学会、防除対策等は水環境学会など、細分化された研究テーマはそれぞれに主な発表の場を違えている。各々の専門に限られた情報交換の中では、新しい研究のアイデアや技術の更新が得られにくく、我が国のシアノバクテリア研究のさらなる発展に少なからず影響があることは否定できない。さらには、シアノバクテリア研究の専門化・細分化は、一般社会にも負の作用を及ぼしている。例えば、湖沼にアオコが発生してしまった場合にどうするか？については、短・中・長期的対応において様々な専門家のアドバイスを必要とする。が、すでに細分化され分散しているアオコ研究者の中から適当な研究者を見つけ出し、彼らから体系的なアドバイスを集めることは難しいのが現状である。

水圏生態系においてシアノバクテリアが引き起こす環境問題の解決、さらにはシアノバクテリアを有用転換する技術について、我が国が世界のリーダーシップを取れる研究を展開し、さらにこれによって

人類の福祉・健康に貢献するために、シアノバクテリアを同じ土俵の上で多様な学術的アプローチから議論するプラットフォームを構築することが、喫緊の課題である。

近年、超学際（transdisciplinary）研究と称される研究手法が注目されている。シアノバクテリア問題は、社会の様々な階層のステークホルダーが関わる問題であり、研究者側でも多様な分野からの研究者の協力が必要となる。今般、シアノバクテリアの研究で、「統合ラン藻学」と称した新学術領域を提案する。ここで「ラン藻」とは、淡水および海水の浮遊性あるいは付着性のシアノバクテリアの古い呼び名である。我が国ではこの呼称が定着しているため、本提案では「ラン藻」を使うこととする。我々は、「統合ラン藻学」を新たに確立し、研究者側の学際性を担保することによって研究者間の横のつながりを強化し、新たな研究のアイデア発掘と技術革新を効率良く進めながらシアノバクテリアに関わる研究全般の発展を図りたい。「統合ラン藻学」では、さまざまな環境要因に対するアオコの生理生態学的反応を解明し、これら環境要因の複合効果に対するアオコの生理生態学的応答モデルを構築する。これにより、世界各地でおこるさまざまな水の華に効率良く対応し、さらにはアオコによる有用物質の効率良い生産のための、学術的基盤を確立する。

*尾山洋一, 松下文経, 神谷航一, 福島武彦 (筑波大)

1. はじめに

国内湖沼におけるアオコの異常発生は、過去の水質汚染の深刻な時期を境に減少しつつあるものの、近年になって再発した事例が多く報告されており、依然として水質管理上の問題の一つとなっている。例えば霞ヶ浦では、2011年に約16年ぶりにアオコの再発が認められて以来、毎夏にアオコが見られるようになった。

アオコを観測する手法としては、顕微鏡による直接観察法や、クロロフィル a・フィコシアニン濃度の分析といった化学的手法が一般的であるが、アオコの空間的な分布の観測にはリモートセンシング手法が有効である。リモートセンシングによるアオコ観測は1980年代から行われており、近年の衛星センサーの発展に伴い、その観測精度や利便性は向上し続けている。

本発表では、リモートセンシングによるアオコ観測方法について紹介し、アオコ観測上での課題である(1)アオコと水生植物との区別、および(2)アオコの量の観測、についての研究結果を報告する。

2. 材料と方法

2-1 現地調査

現地においてアオコの集積状態と色素(クロロフィル a・フィコシアニン)濃度、および反射スペクトルの調査を行った。調査はアオコが大量発生した2012年8月3日に霞ヶ浦の土浦港で行った。約20地点の集積状態の異なる場所において、採水および見た目アオコ指標(福島・相崎, 1995)によるアオコレベルの分類を行った。同時に、FieldSpec FRを用いて可視-中間赤外域(400-2500 nm)の反射スペクトルを測定した。採取した水試料は色素分析に使用した。また、アオコ調査の前日に印旛沼と手賀沼において水生植物(ヒシ・ハス・アサザ・ヨシ)の反射スペクトルを測定した。

2-2 衛星画像

本研究ではLandsat画像とMODIS画像の2種類の衛星画像を使用した。Landsat画像の特徴は低い空間解像度(30 m)と長い観測期間(1984年-現在)である。このため、中規模の湖沼において、過去30年間のアオコ変化を観測することが可能である。しかしながら観測周期は16日と長いため、高頻度での観測には不向きである。一方、MODIS画像の特徴は観測周期が1日(午前と午後の二回)と短いため、アオコの日変化を観測することが可能である。しかしながら、空間解像度が最低でも250 mと粗いため、大規模な湖沼以外には不向きである。

2-3 アオコ検出指標

衛星画像からアオコを検出するための指標として、本研究ではFloating Algal Index (FAI; Hu, 2009)を使

用した。FAIは赤(Red)・近赤外(NIR)・中間赤外(SWIR)の3つの衛星バンドの反射率を基に、下記の式によって計算することができる。

$$FAI = \frac{R(NIR) - (R(Red) + (R(SWIR) - R(Red))) \times (\lambda_{NIR} - \lambda_{Red})}{(\lambda_{SWIR} - \lambda_{Red})}$$

ここで、R(Red)、R(NIR)、R(SWIR)はそれぞれ赤、近赤外、中間赤外バンドの反射率である。また、 λ_{Red} 、 λ_{NIR} 、 λ_{SWIR} はそれぞれ赤、近赤外、中間赤外バンドの中間波長であり、Landsat/ETM+の場合はそれぞれ660、835、1650 nmである。

3. 結果と考察

アオコと水生植物(抽水・浮葉植物)との区別に有効な波長帯を抽出するため、現地で測定した反射スペクトルの特徴を比較した。その結果、可視域・近赤外域では両者に違いは見られなかったが、中間赤外域では有意に異なっており、アオコの反射率は水生植物と比較して全体的に低い傾向を示した。これは、中間赤外の波長帯が、水による吸収の影響を強く受けることに起因している。従って、中間赤外の情報が組み込まれた指標が両者の区別に有効であることが分かった。中間赤外と近赤外の波長を用いた正規化水指数(Normalized Difference Water Index: NDWI)を、アオコまたは水生植物が優占する6湖沼のLandsat画像に適用した結果、両者を高精度に区別することができた。

一方、見た目アオコ指標をアオコ量の観測に適用する前段階として、アオコレベルとクロロフィル a およびフィコシアニン濃度との関係性を調べた。その結果、アオコレベル0~2では有意な差が無かったが、アオコレベル2~6の間では有意な違いが確認できた。現地の反射スペクトル測定によって得られたFAIの値も同様の傾向を示したことから、衛星画像によるアオコ量の観測は、アオコレベル3以上であれば可能であることが明らかとなった。各アオコレベルに分類するためのFAIの閾値を設定し、霞ヶ浦と八郎湖のLandsat画像に閾値を適用した結果、Landsat画像から推定したアオコレベルは現地で実測したアオコレベルと一致していた。

アオコと水生植物の区別手法、および見た目アオコ指標によるアオコ量の観測手法を組み合わせることにより、リモートセンシングによるアオコ観測の精度や実用性の向上が見込まれる。今後はより多くの衛星センサーへの本手法の適用性を検証し、アオコ定期監視手法の確立を目指したい。

4. 参考文献

福島・相崎(1995)アオコ指標検討会資料。環境省。Hu(2009). Remote Sensing of Environment.

* 宮下英明 (京都大学・地球環境), 大久保智司 (埼玉大学・理工),
神川龍馬 (京都大学・地球環境)

1. はじめに

シアノバクテリアは酸素発生源型光合成をおこなう原核生物である。植物分類のうえでは既に2000種以上が報告されており、ひときは多様な生物群である。光生物学分野においては、光合成研究に加え、光捕獲、補色順化、光センシングなど各種研究に重要な役割を果たしている。シアノバクテリアには少なくとも7種のクロロフィル(以降Chlと略記)(Chl *a*, DVChl *a*, Chl *b*, DVChl *b*, Chl *d*, Chl *f*, MgDVP)が光合成のアンテナあるいは反応中心色素として用いられており、他の生物群には類を見ないChlの多様化が見られる。本発表では、Chl *d*およびChl *f*の生態学的意義に関する研究結果からChlの多様化について考察する。

2. 琵琶湖における *Acaryochloris* sp. の時間的・空間的分布と遺伝的多様性

Acaryochloris 属シアノバクテリアはChl *d*を主要色素としてもつ単細胞のシアノバクテリアである。Kashiyama ら(2008)によって琵琶湖の底泥表層に、対Chl *a*比で約1%弱のChl *d*が存在していることが報告された。そこで琵琶湖において*Acaryochloris*属シアノバクテリアの分離を試みたところ、それまで塩環境からの分離・検出しか報告されていなかった*Acaryochloris*属シアノバクテリアの淡水株の分離に成功した。さらにReal-time PCR法を用いて、琵琶湖湖水中の*Acaryochloris*属シアノバクテリアの時間的・空間的分布を明らかにした。その結果、1年間を通じて*Acaryochloris*属シアノバクテリアが検出されること、藻類全体の鉛直分布とは異なり温度躍層上方と深層に異なる複数のピークが検出されること、温度躍層以深には遠赤色光が全く存在せず青緑光～緑色光が優勢することがわかった。

これらの結果から、これまでChl *d*が遠赤光の吸収・利用に有利であると考えられていたことに加え、微弱な青緑光～緑色光条件下においても有利に働く可能性が示された。また、琵琶湖の*Acaryochloris*

が異なる光環境に適応した生態型に種内分化している可能性が示された。

3. 自己遮蔽条件下における Chl *f* の誘導

Chl *f*は、シャーク湾(オーストラリア)のストロマトライト表層から分離されたシアノバクテリアがもつChlとして2010年に報告された(Chen ら)。それとほぼ同時期に我々も琵琶湖沿岸の微生物マットからシアノバクテリア KC1 株を分離した。KC1株は、700-750nm 付近の遠赤色光を単一光源として培養した際にChl *a*に加えChl *f*を生産し遠赤色光を吸収し生育(生残)することができる。

Chl *f*生産の生態学的意義解明の一環として、Chl *f*の誘導条件を明らかにするため、Chl *f*を含まないKC1株細胞をBG11寒天培地に混釈して疑似微生物マットを作成し、白熱灯の光を12h明/12h暗周期で照射し(マット表面で40 $\mu\text{mol photons} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$)、22°Cで4週間培養した。マットの深さ1mm間隔で透過・散乱光スペクトルを測定するとともに、各深度の色素組成分析を行ったところ、光合成有光放射(PAR)が表層の15%程度になり遠赤色光が優先する中層付近においてChl *f*が誘導されていた。一方、マット表層付近や、PARが表層の1%程度の弱光になる下層ではChl *f*の誘導が見られなかった。この結果は天然の微生物マットのChl *f*分布調査結果と一致した。

これらの結果から、Chl *f*が自己遮蔽によるPARの欠乏および遠赤色光の優先によって誘導されることがわかった。Chl *f*誘導は、マット形成シアノバクテリアにとって不可避な自己遮蔽への適応機構として進化してきたものと考えられる。

4. 考察

シアノバクテリアにおけるChlの多様化は、ニッチの光環境と極めて深い関係にあり、Chl合成の試行錯誤と自然選択によって成し遂げられたミラクルな進化であると考えられる。

1. はじめに

鉄は食物連鎖の根底を担う藻類が窒素固定や光合成を行う際に不可欠な金属として認識されている。様々な水環境中で鉄濃度と藻類の増殖・代謝には密接な関連があり、例えば、陸域からの鉄の供給が少ない海洋や沿岸域において、鉄は海洋性藻類の生長制限栄養素となっている。また、湖沼などの淡水では、鉄制限が藍藻毒の生産を刺激することが明らかとなってきた。このように、鉄に対する藻類の応答が認識されつつある中、藻類による鉄利用形態やそれに関わる鉄の動態について知識を集積していくことは、今後の問題解決や自然生態系の有効利用に繋がる。本研究はアオコや毒素生成の代表種である、淡水性藍藻類 *Microcystis aeruginosa* について鉄摂取機構を反応化学の視点から調べることを目的とした。海洋・沿岸域藻類を対象とした既往研究から、鉄摂取には水中での還元が重要であることが示されている。このうち光還元に着目し、様々な実験条件下で放射性同位体元素 ^{55}Fe の摂取速度を測定することで、リガンドの種類と光還元が鉄摂取に及ぼす影響を評価した。

2. 実験方法

Microcystis aeruginosa PCC7806 株をマイクロ波滅菌した Fraquil*培地で、温度 27°C、光強度 $90 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、14:10hr サイクルの明暗条件で培養した。培地は、pH 8、鉄濃度 $0.1 \mu\text{M}$ 、EDTA 濃度 $26 \mu\text{M}$ に調整し、その他の栄養塩は既往の文献値と同様とした。対数増殖期後期に細胞を $0.65 \mu\text{m}$ メンブレンフィルター上に回収して以降の鉄摂取実験に用いた。鉄とリガンドを添加していない Fraquil*無菌培地を新たに用意し、フィルター上に回収した細胞を再浮遊させた。ここに、EDTA もしくはフルボ酸(SRFA)と錯形成させた ^{55}Fe を添加した。明・暗条件で 2 時間攪拌培養した後、細胞をフィルター上に回収し、さらに EDTA/シュウ酸溶液と重炭酸バッファーにより、細胞表面に付着した ^{55}Fe を洗い流した。その後、フィルター上の放射線量を測定することで、細胞内鉄量を算出した。また、鉄摂取試験と同様の条件下において、第一鉄キレート(Ferrozine)を添加することで鉄還元実験を行い、鉄の還元速度の定量を行った。光源として、蛍光灯と疑似太陽光を使用した。

3. 結果と考察

EDTA をリガンドとして使用した場合、光照射により鉄摂取速度が 100 倍以上増加した (図 1)。EDTA 系において、波長の異なる光照射条件下で ^{55}Fe 摂取速度と Fe(II)還元速度を測定した結果、500 nm 以下の光で照射したときのみ還元速度と摂取速度に大きな影響を及ぼしていたことから、鉄摂取は光還元により増加することが示された。一方で、フルボ酸をリガンドとして用いた場合、暗条件で既に鉄摂取速度が高く、蛍光灯や疑似太陽光による照射は鉄摂取に特に大きな影響を及ぼさなかった (図 1)。これは、暗条件で鉄還元が相当量生じていることに起因していた (図 2)。暗条件における還元は、他のモデルリガンドでは見られなかった。以上の結果は、藻類による鉄摂取はリガンド種と光還元により影響を受けることを示している。

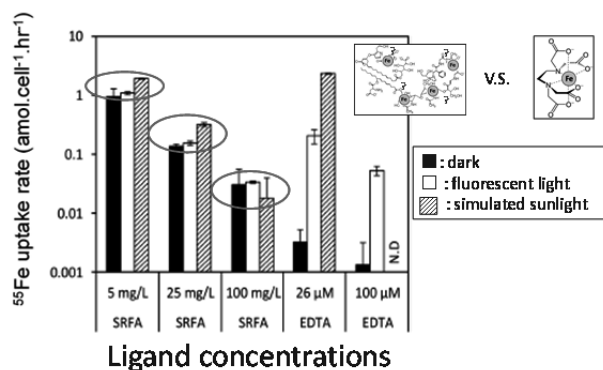


図 1. ^{55}Fe 摂取に及ぼすリガンド種と光の影響

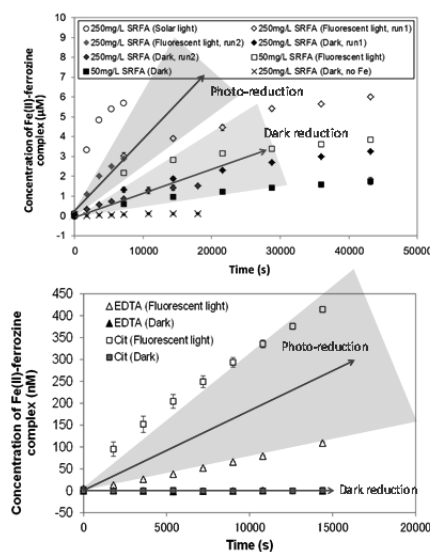


図 2. フルボ酸とモデルリガンド系での鉄還元実験結果

* 小山時隆 (京都大・理)、北川徳明 (京都大・理)、浅野宏幸 (京都大・理)

1. はじめに

シアノバクテリアは淡水、海水、陸上など様々な環境に分布している。一方で、太陽からの光をエネルギー源として光合成をするため、昼夜の環境変動下で増殖する点では一致している。そのため、シアノバクテリアは概日時計を細胞内にもつことで、昼夜の環境変動へ効率的に応答していると考えられている。シアノバクテリアの概日時計は *kaiA*, *kaiB*, *kaiC* と呼ばれる 3 個の時計遺伝子がコードする時計タンパク質によって構成される Kai タンパク質時計をその中枢機構としている。シアノバクテリアの概日リズムに関する主な研究成果は淡水性の *Synechococcus elongatus* PCC 7942 株で得られたものだが、これまでに様々なシアノバクテリアのゲノム配列が決定された結果、ほとんどのシアノバクテリアが上記の時計遺伝子セットをもっていることが分かってきた。しかし、外洋に広く分布する *Prochlorococcus* 類は *kaiA* をもっていない。また、*Prochlorococcus* 類と外洋性の *Synechococcus* 類は、Kai タンパク質時計の時間情報を転写の概日リズムに伝達する主要因子をコードする遺伝子の一部を欠損している。これらのシアノバクテリアは、環境変動が少ない外洋に生息しており、その適応とリンクして時計関連遺伝子の一部を失ったと考えられている。本発表では、KaiB タンパク質 (100 アミノ酸残基程度の保存性の高い配列をもつ) に注目して、一部の時計因子が欠失する過程で生じた (残された) 時計因子の配列変化がタンパク質分子機能に与える影響を詳細に評価し、シアノバクテリアで時計システムの多様性が生じたシナリオについて推論する。

2. 材料と方法

外洋性および淡水性のシアノバクテリアの *kaiB* 遺伝子や変異型 *kaiB* 遺伝子を *Synechococcus elongatus* PCC 7942 株 (概日リズム発光レポーター遺伝子が導入済み) に導入し、生物発光を発光モニタリング装置で連続的に観測した。

3. 結果

様々なシアノバクテリアの *kaiB* 遺伝子および配列多様性に基いて導入した変異 *kaiB* 遺伝子が概日リズムに与える影響を評価した結果、多様化した KaiB 配列の個々のアミノ酸置換 (多様) 部位について、時計の発振機能に寄与する配列変化と概日時計下流の遺伝子発現制御機能に寄与する配列変化とに分類できることが分かった。

4. 考察

Prochlorococcus 類や外洋性の *Synechococcus* 類では、概日時計の下流の遺伝子発現制御システムが単純化していることがゲノム配列から予想されている。この単純化を実現する時計因子の配列変化が KaiB に起こされたことが示唆された。KaiB は配列の保存性の高い因子であり、現存のシアノバクテリアの配列の多様性を元に、配列進化を推定できる可能性がある。KaiB の機能的な変化を実証したことで、時計システム多様化の過程を検証することも可能になってきた。また、真核藻類に共生しているシアノバクテリアの中にも一部の時計遺伝子を欠損しているものがあり、これらを含めて、残された時計因子の配列変化を解析することで、生息環境とリンクした概日時計システム進化の理解が深まると期待される。

1A13

Web 公開不希望

1 A14

* 原田健一、Beata Bober、有井鈴江（名城大院総術・薬）、
富田浩嗣（愛知衛研）、辻 清美（神奈川衛研）

1. はじめに

現在、富栄養化などにより湖沼生態系においてラン藻類が大量発生するアオコという現象が生起しており、浄水施設のろ過障害、カビ臭物質の産生、有毒化合物の産生による人間、家畜、野生動物への死亡を含む被害などの環境問題が引き起こされている。これらを解決する方法として、本研究では湖沼生態系におけるラン藻類の制御法の確立を最終目的に置き、その一環として湖沼生態系におけるラン藻類の生活環の解明を試みている。生活環とは、生物がどのように生まれ、育ち、繁殖し、いかに次の個体を生み出すかの過程である。演者らは、ラン藻におけるこれらの過程が何らかの有機化合物によって調節されており、その消長を制御することによりラン藻類制御法の確立が可能と考察した。

2. 材料と方法

ラン藻: *Microcystis aeruginosa* NIES-102, 298, 843。
ラン藻の培養: 主に MA および CB 培地を用いて、以下の条件で培養した。28 μmol/m²s 光連続照射下、25°C、80 rpm で振とう培養した。
VOC 分析: 通常の GC/MS および SPME GC/MS により分析を行った。
定点観察: 毎週一度神奈川県の相模湖および津久井湖で藻類の観察を行っている。

3. 結果と考察

最近、ラン藻自身から産生され、湖沼のラン藻が消滅する際にしばしば観察される青色化現象の原因物質である β-cyclocitral がラン藻の生活環に関与している可能性が指摘されている。β-Cyclocitral は、β-carotene が細胞膜に存在する carotenoid cleavage dioxygenase (CCD) により酸化的に分解され、生成する揮発性化合物 (VOC) であり、通常細胞内では生成せず、ラン藻細胞の破壊の際に CCD の活性化により生成され、細胞外に放出されると考えられている。また、β-cyclocitral はラン藻の中でもアオコの主原因である *Microcystis* 属のみが産生していることも興味深い。何故、*Microcystis* 属ラン藻は自らをも死滅させるような化合物を産生する必要があるのだろうか。演者らは、β-cyclocitral の産生は

Microcystis 属自身の個体数を制御することにより自己の生存を可能にする、すなわちクオラムセンシングの一環の可能性があり、*Microcystis* 属の生活環に関与すると考察している。

一方、β-cyclocitral の検出過程で、*Microcystis* 属由来の VOC として 2-および 3-methyl-1-butanol が検出された。これらの化合物は酵母においても産生が確認されており、アミノ酸代謝の中間産物である 2-keto-acid から 2-keto-acid decarboxylase (KDC) と alcohol dehydrogenase (ADH) により産生され、酵母における窒素源飢餓時の情報伝達物質であることが知られている。演者らはラン藻の培養実験において、培養後期つまり栄養状態の乏しい時期にこれらの産生を確認しており、栄養状態の低下など生存の厳しい時期に産生・放出されることで生活環境悪化の情報伝達物質として働き、最終的に休眠などに移行させると考えている。

一方、湖沼生態系では *Microcystis* 属ラン藻および上述の化合物群が関与すると考えられる現象が生起しており、これらが *Microcystis* 属ラン藻の生活環解明の手がかりとなると考えている。演者らはここ 10 数年来神奈川県津久井湖や相模湖において、各種藻類の季節変化や諸現象（溶藻、青色化、突然消滅現象、休眠、形態変化）の観察を実施している。これらの諸現象において上述した VOC を検出するとともに極めて特徴的なラン藻類の形態学的変化も観察している。

従来の生態学を含めた環境問題の扱いは、現象論に終始して、残念ながらその本質に接近できず、ケースバイケースの解答がなされてきたと認識している。このような状況を解決する方法論の一つは、固定できる何かを座標軸にすることであり、ここでは有機化合物を中心に据えた化学生態学的アプローチを試みている。

関連文献

Harada et al., *Microbes Environ.*, **27**, 525-528 (2012), *J. Chromatogr. A*, **1217**, 6122-6125 (2010), *J. Chem. Ecol.* **35**, 1295-1301 (2009), *J. Health Sci.*, **55**, 578-585 (2009), *Chemosphere*, **71**, 1531-1538 (2008).

*朴虎東（信州大・理）

湖沼生態系におけるアオコ産生毒素 microcystin（以下 MC と略す）は、強い肝臓毒性を持ち、さまざまな水生生物や家畜などへの被害を及ぼす。MC は魚介類などの水生生物の肝臓・中腸線に蓄積する。中でも軟体動物腹足綱では MC 蓄積のみならず細胞内での MC による毒性影響が明らかにされた。腹足綱は魚類や鳥類など高次消費者の餌となる。また国や地域によっては直接人間の食用とされることもある。したがって、食物連鎖による高次消費者への毒素移行を防ぎ、また水産資源としての価値を損なわないためにも、腹足綱において MC の取り込みを防ぎ、蓄積量を抑えることが重要である。

生物を用いた MC の分解・除去方法はバクテリア、原生動物やワムシなどを利用する方法が研究されている。MC は構造的に非常に安定な物質であり、物理・化学的には分解されにくい物質である。しかし、1992 年から 1994 年までの諏訪湖における MC の挙動から、ほとんどの MC は藻体中に存在しており、水中に溶存する MC 量は藻体中の含有量に比べて微量（数 $\mu\text{g L}^{-1}$ 以下）であることが確認された。また、溶存態の MC 濃度は、アオコブルームの崩壊期においても微量に保たれていた。

これらの結果は、湖水中において何らかの MC 分解機構が働いている可能性を示唆している。我々はバクテリアによる MC の分解に注目し、諏訪湖から単離、同定したバクテリア 16 株を用いて MC の分解能力の有無について確認を行った。その結果、14 株の MC 分解率は 20 日間で最大約 20%であったのに対し、新属新種であることが明らかとなった Y2 株は $20\mu\text{g mL}^{-1}$ の MC を 6 日間ですべて分解した。この実験から、次のような MC 分解機構が湖沼では存在すると考えられる。

つまり、湖沼において発生した *Microcystis* によって生産された MC は、細胞の自己分解、またはバクテリアによる溶藻作用により湖水中に溶出した後、Y2 株を含むある種のバクテリア群集によって速やかに分解されると考えられる。

諏訪湖におけるアオコ毒素の季節変動と経年変化の研究結果からは、MC 濃度値の上限と下限の範囲について検討ができる。また、湖水中の MC のほとんどが *Microcystis* の細胞内に存在し、溶存態の MC は微量であることが明らかになった。これはバクテリア群集による分解機構の存在によって説明できる。諏訪湖底泥中に含まれる MC の存在の有無については、これまでのところ確認されていない。しかしながら、底泥に MC が吸着されることが室内実験から確認されている。

二枚貝がアオコ毒素を蓄積・濃縮するという事実は、貝以外の水生生物への蓄積と生物濃縮の可能性についても今後の研究課題として注目する必要があることを示している。また、我々はアオコ毒素を特異的に分解する細菌を諏訪湖から単離している。これらの菌を用いて MC 分解細菌の動態を明らかにし、MC 分解機構を詳細に解明するができれば、水源地におけるアオコ毒素の処理に用いられる分解・除去方法にその知見を応用することが期待される。

表 1. バクテリアによるアオコ毒素 microcystin の分解速度 (Dziga *et al.*, 2013 より改変)

属・種	株情報	MC分解酵素	分解率 ($\text{mg L}^{-1} \text{ day}^{-1}$)	引用文献
<i>Spingomonas</i> sp.	ACM-3962(AF401173)	mirA	12.1	Bourner <i>et al.</i> , 1996
<i>Spingosinicella microcystinivorans</i>	Y2(AF401174) MDB2(AB219940) MDB3(AB219941)	mirA	5.4-13	Park <i>et al.</i> , 2001 Maruyama <i>et al.</i> , 2006
<i>Spingopyxis</i> sp.	LH21(DQ112242)	mirA	0.002	Ho <i>et al.</i> , 2007
do.	TT25(JQ398614)	mirA	0.06	Ho <i>et al.</i> , 2012
do.	USTB-05(EF607053)	mirA	101	Wang <i>et al.</i> , 2010 Zhang <i>et al.</i> , 2010 Yan <i>et al.</i> , 2012
<i>Bacillus</i> sp.	AMR1-03(GU294753)	mirA	2	Alamri, 2010
<i>Stenotrophomonas</i> sp.	EMS(FJ12028)	mirA	1.2	Chen <i>et al.</i> , 2010
<i>Novospingobium</i> sp.	THN1(HQ664117)	mirA	2.55	Jiang <i>et al.</i> , 2011
<i>Pseudomonasa aeruginosa</i>	-	-	2.4	Takenaka & Watanabe, 1997
<i>Ralstonia solanacearum</i>	-	-	29.5-50.5	Zhang <i>et al.</i> , 2011
<i>Paucibacter toxinivorans</i>	-	-	0.096-0.384	Rapala <i>et al.</i> , 2005
<i>Burkholderia</i> sp.	DQ459360	-	0.05	Lemes <i>et al.</i> , 2008
<i>Methylobacillus</i> sp.	J10(FJ418599)	-	4.9-6.3	Hu <i>et al.</i> , 2009
<i>Trichaptum abietinum</i>	1302BG	-	0.08	Jia <i>et al.</i> , 2012

* 沖野龍文 (北海道大学・地球環境)

Andrea Roxanne J. Anas (名城大学・薬)

1. はじめに

ラン藻がつくる2次代謝産物の研究は、毒素を中心に進められる一方で、有用物質に関する研究も盛んである。特に、淡水産ラン藻では酵素阻害活性を有する化合物が多数報告されている。化合物を単離して構造決定する手法から、LC/MSを用いて迅速に分析する手法が広まっている。また、生合成酵素の研究も進んでいる。それらを併せて、酵素遺伝子とLC/MS分析により網羅的に解析する研究も増えてきた。一方、海洋ラン藻由来の化合物であるdolastatin 10の類縁体と抗体CD30の複合体であるadcetrisがホジキンリンパ腫と未分化大細胞リンパ腫に対する抗がん剤として2011年に米国で認可された。ラン藻の2次代謝産物の構造多様性をもとに医薬品の創製および生態的意義の解析を目的とする我々の探索研究を紹介する。

2. 材料と方法

淡水産ラン藻 *Anabaena compacta* (NIES-835)の培養藻体からトロンビン阻害活性を指標に、主に逆相HPLCで活性物質を精製した。得られた活性物質の構造を2次元NMR、MS、加水分解物のMarfey法により解析した。また、トロンビンに加えてカテプシンBに対する阻害活性も蛍光基質を用いて測定した。さらに、MM-GBSA法によりドッキングス

タディを行った。

3. 結果

得られた活性物質は、複数のピークが相互変換するため、その構造決定および解釈には苦勞したが、最終的に既知物質のspumigin Aとともに新規物質が得られspumigin Jと命名した。それぞれトロンビンに対するIC₅₀が2.1、4.9 μMで、カテプシンBに対するIC₅₀が0.2、0.7 μMであった。両物質に含まれる4-メチルプロリンの立体配置の決定には苦勞したが、ドッキングスタディの結果、この立体配置が活性にも大きく影響すると推定された。特に、spumigin Aの2S体がトロンビンに対し強い阻害活性を示すと考えられた。

4. 考察

上記研究を超えて今後の研究方針を考えると、ケミカルバイオロジーが進歩してきた現在において、2次代謝産物の探索研究をどのように進めるべきか、ラン藻の構造多様性をどのように生かすのか考えなければならない。標的分子を探索する手法がそろってきた今こそ、フォワードケミカルジェネテクスに重点をおき、一方でラン藻の化合物ライブラリーを構築することで創薬研究にも生態学研究にも貢献することが臨まれる。

*岸本直之（龍谷大・理工），山本千尋（龍谷大院・理工）
鈴木恵（日本分析化学専門学校），一瀬諭（滋賀県琵琶湖科研セ）

1. はじめに

近年、琵琶湖において植物プランクトン群集構造が変化しており、大型植物プランクトンの減少と細胞容積 $100 \mu\text{m}^3/\text{cell}$ 未満の小型植物プランクトンの増加が報告されている。その結果として、1980年代に $269 \mu\text{m}^3/\text{cell}$ であった植物プランクトンの平均細胞容積が 2000年代には $56 \mu\text{m}^3/\text{cell}$ まで低下した（Kishimoto et al., 2013）。一般に小型植物プランクトンは大型の植物プランクトンより比増殖速度が大きく、比生産速度も大きい（Kagami and Urabe, 2001; Mei et al., 2009）。よって、琵琶湖において植物プランクトンによる一次生産構造が変化している可能性が示唆される。

本研究では、琵琶湖における植物プランクトン計数データに基づいて水柱純生産量を推定するとともに、水柱純生産への各植物プランクトン種の寄与を検討した。

2. 材料と方法

植物プランクトンによる水柱純生産量は岸本ら（2012）の方法に従って評価した。すなわち、滋賀県が観測した琵琶湖今津沖中央（17B）地点の植物プランクトン観測データ、水質データおよび彦根気象台の日射量データから、水深毎の水温・光合成有効放射・植物プランクトン種毎の細胞数を推定し、培養実験によって求めた光合成速度・呼吸速度の細胞容積・水温・光合成有効放射依存性の式に代入することで、各々の水深で種毎の純生産量を算出した。得られた純生産量を水深方向に積分することで種毎の水柱純生産量を求め、種毎の水柱純生産量を総計することで全水柱純生産量を求めた。

3. 結果

図1に年平均水柱純生産量の経時変化を示す。琵琶湖ではクロロフィルa濃度が過去30年の間に半減したにもかかわらず、全水柱純生産量は増加傾向を示し、2000年以降は1980年代前半の約3倍程度の値でほぼ横ばいに推移した。植物プランクトンをその細胞容積により、ネットプランクトン（ 4000

$\mu\text{m}^3/\text{cell}$ 以上）、大型ナノプランクトン（ $100\sim 4000 \mu\text{m}^3/\text{cell}$ ）、小型ナノプランクトン（ $100 \mu\text{m}^3/\text{cell}$ 未満）に分類したところ、全水柱純生産量の増加は主として小型ナノプランクトンに起因していることが明らかとなった。琵琶湖では32種の小型ナノプランクトンが観測され、そのうち15種がシアノバクテリアであった（Kishimoto et al., 2013）。しかし、小型ナノプランクトンによる水柱純生産のうちシアノバクテリアの純生産量は94%以上を占めており、近年の全水柱純生産量の過半数に達することが明らかとなった。小型シアノバクテリアは群体性のものが多く、動物プランクトン等の餌資源としては不適當であると考えられる。よって、今後、水系生態系における小型シアノバクテリアの役割を明らかにし、水系生態系に及ぼす影響を評価していくことが健全な水系生態系の維持のために重要であると考えられる。

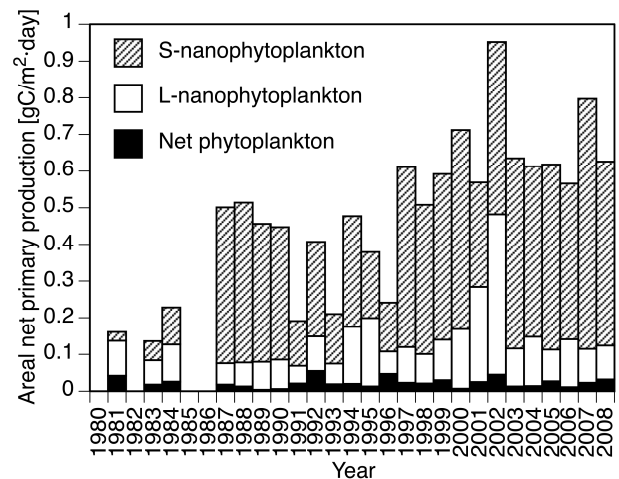


図1. 琵琶湖今津沖中央（17B）における年平均水柱純生産量の経時変化

引用文献

- Kagami and Urabe (2001) *Limnology*, 2, 111-117.
岸本ら（2012）日本陸水学会第77回大会講演要旨集, 109.
Kishimoto et al. (2013) *Limnology*, 14, 117-128.
Mei et al. (2009) *J. Theor. Biol.*, 259, 582-5

環境にやさしい有毒アオコの発生抑制技法の探求

*今井一郎・宮下洋平・小島千里・扇 航平（北大院・水産）・
城戸 祐・木原一樹・晏 栄軍（京大院・農）

1. はじめに

世界各地で湖沼の富栄養化が進み、有害有毒藍藻類のブルーム（アオコ）が頻繁に発生している。アオコは湖水を毒化させ、水生生物へ悪影響を与え、景観を損なう等様々な問題を起こしており、有効な対策が必要となっている。アオコ対策としては、直接的除去や薬品投与による殺滅等の方法があるが、環境に配慮された有効な手段は未確立である。ところで、アオコ原因藻類を殺滅する殺藻細菌や増殖阻害細菌が、湖沼水中に生息する事が報じられている。近年は、新たにヨシ茎表面のバイオフィーム（BF）や、水草の表面に高密度の殺藻細菌が発見された。因みに沿岸海域の生態系では、海藻やアマモの表面に有害有毒プランクトンに対し強力な殺藻活性を示す細菌が高密度に付着生息しており、有害有毒赤潮の発生予防への活用が期待されている。本稿ではヨシや水草の BF の殺藻細菌が、アオコの発生防除に有効である可能性を報告する。そして、持続可能な環境に優しい水資源の確保と健全な湖沼生態系の保全について、水草やヨシの活用を軸に考える。

2. 材料と方法

北海道渡島大沼国定公園の湖沼群を主対象に、山水内湖と蓴菜沼で水草およびヨシの採集を行った。水草は 2012 年 5～10 月に毎月 1 回、ヒシとタヌキモ、フサモを採集した。またヨシは、2013 年 5～10 月に月 1 回採集した。各水草試料に滅菌蒸留水を加え、600 回強振することにより表面バイオフィームを剥離し、適宜希釈後 $ST10^{-1}$ 寒天培地に塗抹して細菌コロニーを形成させ分離した。ヨシは滅菌した歯ブラシを用いて茎の表面に付着している BF を剥離し、滅菌蒸留水で懸濁したものを BF 懸濁試料とした。CT 培地で培養した *M. aeruginosa* (Ma17 株) を約 1.0×10^5 cells mL⁻¹ で 48 ウェルプレートに 0.8 mL ずつ分注し、分離培養した細菌のコロニーを滅菌爪楊枝で掻き取り各ウェルの *M. aeruginosa* に

接種した。温度 25°C、光強度 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{sec}^{-1}$ 、明暗周期 14hL:10hD の条件下で 2 週間培養した後、倒立顕微鏡を用いて殺藻と増殖阻害を確認し、*M. aeruginosa* に対する殺藻細菌を検出・計数した。また、ヨシ帯の湖水を天然のアオコに添加し *M. aeruginosa* への効果を検討した。

3. 結果と考察

内湖で採集したヒシの葉から 7 月と 8 月に殺藻細菌が確認され、その密度はそれぞれ 2.5×10^6 、 3.5×10^6 CFU g⁻¹ wet weight、水中葉では 8 月に 7.8×10^7 CFU g⁻¹ wet weight で検出された。蓴菜沼のヒシの葉では 7～9 月に殺藻細菌が認められ、密度は 10^5 - 10^6 CFU g⁻¹ wet weight で推移した。また水中葉の殺藻細菌は 7 月と 8 月に各々 1.5×10^6 、 4.1×10^6 CFU g⁻¹ wet weight で確認された。タヌキモからは殺藻細菌は検出されず、フサモで殺藻細菌が 7 月に 1 度検出された (2.5×10^6 CFU g⁻¹ wet weight)。このようにヒシの表面には、殺藻細菌数が多い傾向が見出された。

ヨシ茎の BF 中には殺藻細菌と増殖阻害細菌が、 10^6 CFU g⁻¹ wet weight のオーダーの密度で高頻度に検出された。また、ヨシ帯の湖水中からは 10^2 ～ 10^3 CFU mL⁻¹ のオーダーの密度で検出・計数されており、ヨシ帯の細菌がアオコの増殖に阻害的である事が確認された。

ヨシ帯の水を接種した実験において、アオコ (*M. aeruginosa*) は群体の小型化と共に細胞数が減少し、3 週間目には開始時の 2～28%にまで減少した。一方対象区（未接種）では、増殖が認められた。

以上から、ヨシ茎やヒシには殺藻細菌や増殖阻害細菌が表面のバイオフィーム中に特異的に多く付着生息することが判明した。これらの細菌の放出を通じて、有毒なアオコの発生制御（特に予防）がなされ、環境に優しいアオコの発生予防策として、水草やヨシ帯の回復と創生が挙げられ、今後さらにデータを積み重ねて可能性を裏付ける必要がある。

2A01

牛久沼の水質について

*小日向寿夫, 吉尾卓広, 桑名美恵子, 相崎守弘 (茨城県霞ヶ浦環境科学センター)

1. はじめに

牛久沼の平均滞留日数は17日と非常に短いものの、富栄養化が進行している。茨城県は平成14年から水質保全計画を策定して、各種対策を実施してきたが、環境基準は達成していない。しかし、牛久沼は一年を通してリン制限環境にあると考えられ(星ら 2012)、リンの制御により水質が改善されることが期待される。そこで、本研究ではリンの物質収支をとることで、リンの挙動について検討した。

2. 材料と方法

物質収支の算定には、流入負荷量、流出負荷量、湖内蓄積量、内部負荷量を用いた。各項目の算出には、湖内及び流入、流出河川(図1)で2007年～2013年度に概ね月1回の頻度で実施した、全リン濃度(TP)及び溶存酸素濃度、河川流量、水深の水質モニタリング調査結果を用いた。なお、流出負荷量及び湖内蓄積量の算出には、湖内の調査地点に対応したボックス湖面積及び湖容量(水質保全計画の策定時に算出)を用いた。

流入負荷量及び流出負荷量は、河川毎にTPに流入量又は流出量(流量×調査間の時間)を乗じて求めた。なお、流出地点では水門操作が行われていることから、流出量は調査地点ごとに調査間の湖内の水深の変化量とボックス湖面積を乗じたものを合算して、これから流入量を除算して求めた。湖内蓄積量は、調査間のTPの総量(水深の変化から求めた湖容量×TP)の差分から求めた。内部負荷量は、湖内のTPの現存量の変化量(ΔL)から、TPの流入負荷量と流出負荷量の差分(ΔR)を除算して求めた。なお、標準偏差が 3σ を超える値は除去した。

3. 結果及び考察

経年変動(年度平均値)を見ると、 ΔL は概ね正の値で、 ΔR は概ね負の値であった。このことは、湖外への持ち出し量が多いにもかかわらず、湖内に蓄積されていることを示しており、内部負荷があることが推測される。そこで、内部負荷量を見ると、

いずれの年度も正の値を示した。

内部負荷の供給源としては、①嫌気条件下での底泥からの溶出、②底泥の有機物の分解が考えられる。①については、牛久沼は平均水深1mと浅く、下層の溶存酸素濃度は4mg/Lを下回することはほぼないので、嫌気条件になりにくいと考えられる。②については、牛久沼の底泥はヘドロ状で、有機物に富んでおり(湯沢 2005)、有機物の分解によりリンが供給されやすい状況にあると考えられる。有機物に富む理由としては、流れの緩やかになる谷田川や西谷田川の河口付近に、夏季にハスを主体とする水生植物が繁茂しており、枯死後、湖底に堆積していることが原因の一つとして考えられる。

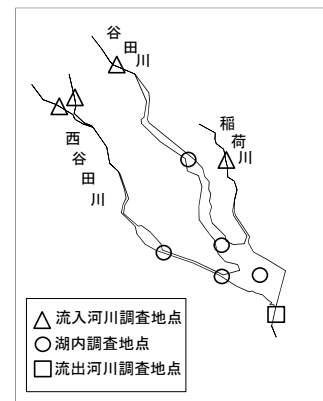


図1. 水質モニタリング調査地点

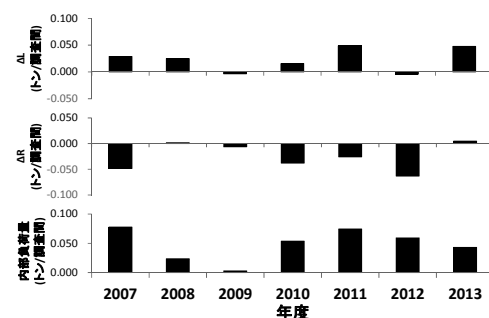


図2. TPの内部負荷量等の経年変動

4. 参考文献

星ら(2012) 第46回日本水環境学会講演集,431.
湯沢(2005) 霞ヶ浦環境科学センター年報,1,134-14.

2A02 人工湖水・河川水調製法の創案とその特性評価

* 杉山雅人, 呉詩勤, 望月陽人, 細田耕, 堀智孝 (京大院・人間環境)

1. はじめに 実在の湖水や河川水の化学組成を正確に反映した実験試水が簡便に作成できるなら、化学に限らず物理、生物その他の領域においても、陸水学の研究に大いに役立つことは論を俟たない。それらの実験試水を用いることで、仮説を検証するためのモデル実験を容易に組み立てられるからである。しかし、こうした人工湖水・河川水の作成は、これまで個々の研究で試験的に行われたことはあるが、一般的な方法について報告されたことはない。一方、海洋学の分野では古くから人工海水の作成法が議論され、さまざまな分野でモデル実験に用いられてきた。例えば、1940年には既に Lyman and Fleming が主要成分のみによる人工海水ではあるがその作成方法を報告している (J. Mar. Res., 3, 134-146 (1940))。本研究では人工湖水・河川水の有用性に着目し、その一般的調製法について検討するとともに、作成した人工湖水・河川水の特性評価を行った。

2. 方法 溶存化学成分を濃度に基づいて次のように分類した。水中に 20 □mol/L または 1 mg/L 以上含まれているものを主要成分、1-20 □mol/l または 0.1-1 mg/L 含まれているものを少量成分、これら未満のものを微量成分、 PO_4^{3-} 、 NO_3^- 、 SiO_2 を栄養成分と分類した。①主要成分のみ、②主要成分と栄養成分、③主要成分と栄養成分および少量成分、をそれぞれ含む人工湖水・河川水の調製法を検討した。人工湖水・河川水の調製に用いる試薬は全て特級のものとした。 SiO_2 の標準溶液は次のようにして調製した。二酸化ケイ素を炭酸ナトリウムとともに加熱融解したのち、純水に溶かして 2 mmol/l の SiO_2 溶液 1 リットルを作った。これに DOWEX イオン交換樹脂

50WX8 を 20 g 加えて Na イオンを除いた。モリブデン青法によって、この溶液中のケイ酸濃度を測定し、 SiO_2 標準溶液の正確な濃度を決定した。 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ および MgO は完全には水に溶けず溶液が懸濁しているので、 CO_2 ガスを通じて全てを溶解させた。

3. 結果と考察 世界各地における湖水・河川水について、それらに含まれる主要成分の報告値に基づき、人工湖水・河川水作成の観点から、湖水・河川水を大きく 6 種類に分類した。□この分類のフローチャートを図 1 に示す。これらの分類に基づいて、人工湖水・河川水の主要成分調製のための試薬を、 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 、 $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 MgO 、 $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 NaHCO_3 、 Na_2SO_4 、 NaCl 、 KHCO_3 、 KCl として、これらの混合方法を考案した。その結果、例えば、図 1 の Type 1 の人工湖水・河川水では人工湖水・河川水中の試薬濃度 (例えば $[\text{CaCl}_2]_a$) は実在湖水・河川水中の濃度 (例えば $[\text{Cl}^-]_n$) を用いて次のように表わされる。

- i) $[\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]_a = [\text{Cl}^-]_n / 2$
- ii) $[\text{Ca}(\text{OH})_2]_a = [\text{Ca}^{2+}]_n - [\text{Cl}^-]_n / 2$
- iii) $[\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}]_a = [\text{SO}_4^{2-}]_n$
- iv) $[\text{MgO}]_a = [\text{Mg}^{2+}]_n - [\text{SO}_4^{2-}]_n$
- v) $[\text{NaHCO}_3]_a = [\text{Na}^+]_n$
- vi) $[\text{KHCO}_3]_a = [\text{K}^+]_n$

すなわち、これが、Type 1 の湖水・河川水についての主要成分に関する人工水の一般的調製法となる。

次に少量成分・微量成分・栄養成分は基本的には、ナトリウム塩、あるいは硝酸塩で加えることとした。この方法で全湖水・河川水の人工水を作成することが可能となった。

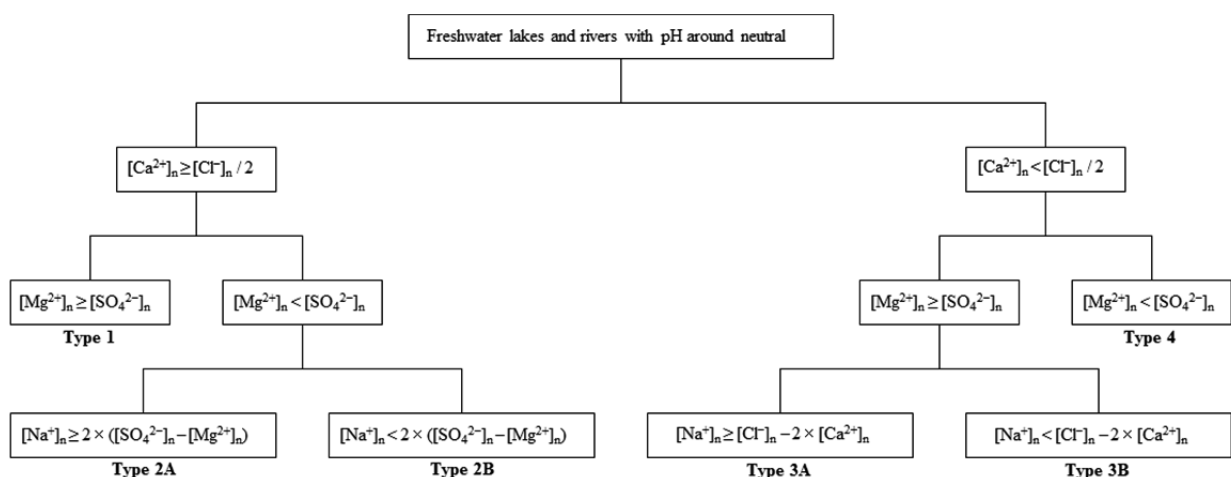


図1 湖水・河川水の分類

1. はじめに

温暖化に原因する湖沼深層水の変化には、熱収支による湖水の混合過程の変化と共に、それらの生物代謝への影響が、大きく関与していると考えられる。演者は、第 78 回大会において、温暖化に原因する強風の増加が霞ヶ浦の湖水混合状態の変化をもたらし、底層の代謝活動を活発化させて、アオコの発生要因となる可能性について報告した。今大会では、温暖化に原因する生産層の底部から深層上部にかけての水温上昇が、酸素消費代謝活動に影響し、深層の酸素量低下促進に働いている可能性についての検討結果を、複数湖沼の連続観測結果解析を基に報告する。検討に用いた資料は、滋賀県、長野県、山梨県の公共用水域水質測定結果、信州大学山地水環境教育研究センター研究報告である。

2. 深層酸素減少への富栄養化と温暖化の影響

春の全層循環期と夏の成層期における深層中の溶存酸素量の差引 (hypolimnetic oxygen deficit) は、生産層から沈降する有機物の生物学的分解に伴う深層の酸素消費を反映している。この理解から、1 次生産活動と栄養度との関連について多くの研究がすすめられ、深層酸素不足量は、1 次生産と富栄養化度を大きく反映している (Yoshimura 1938; Cornett & Rigler, 1980)。演者は、琵琶湖における深層水の貧酸素化過程研究の一環として、成層期における深層の溶存酸素消費速度を、各層溶存酸素量の経月変化より計算し、表層の富栄養化度の指標である全 N、全 P 量、代謝速度支配要因である水温との関係を検討した (Sakamoto, 2009)。1960-1980 年にかけては、全循環期から夏期にかけて、湖水の全 P、NO₃ 量、一次生産量の増加に伴い、深層の酸素消費速度が増加し、底層酸素量が低くなることから、富栄養化に伴う一次生産活動の活発化が、深層の貧酸素化に関与していることが示される。

1985 年以後も、大きな変動を伴いながら高い値を維

持する深層水の酸素消費は、生産の全 P、NO₃ 量増加と関連していることから、一次生産の関与も考えられる。しかし、生産層底部から深層上部にかけての中層の夏期水温上昇があることから、中層の水温上昇が、微生物活動を活発化し、酸素消費の増加をもたらしている可能性が大きいと判断される。琵琶湖で見られた夏期中層の水温上昇と、それに伴う溶存酸素消費増加は、木崎湖、富士五湖など、他の成層湖沼でも見られており、深層の貧酸素化や、還元代謝成立に関与していると判断される。中層水の温暖化が、一次生産や微生物代謝に及ぼす影響については、先に報告した夏期の湖水温と NO₃ 量の密接な関係 (Sakamoto, 2011) を含めて、今後、集中的検討が必要であると判断される。

参考文献

- Yoshimura, S. (1938) Sci. Rep. Tokyo Bunrika Daigaku, Section C. No. 8, 63-277
- Cornett, R. J & F. H. Rigler (1980) Limnol. Oceanogr. 25, 672-679.
- Sakamoto, M. (2011) Aquatic Ecosystem Health and Management, 124; 214-218
- Sakamoto, M (2013) (eds. C. R. Goldman, M. Kumagai, R. D. Roberts) Climatic Change and Global Warming of Inland Waters, Wiley-Blackwell, 95-110.
- 滋賀県 (1980-2009)。環境白書、資料編。
- 長野県生活環境部 (1989-2009)。水質測定結果。
- 山梨県 (1999-2009) 富士五湖水質補足測定結果。
- 山本雅道、戸田任重、林秀剛 (2004) 信州大学山地水環境教育研究センター研究報告 3. 85-121.
- 山本雅道、宮原裕一 (2010) 信州大学山地水環境教育研究センター研究報告 7. 103-134.

*早川和秀, 岡本高弘, 五十嵐恵子, 古角恵美, 廣瀬佳則, 一瀬諭, 田中稔(琵琶湖環研), 津田久美子(草津市), 清水芳久, 日下部武敏, 三崎健太郎(京大流域圏研), 中野伸一(京大生態研), 藤嶽暢英(神戸大農学), 山田悦, 布施泰朗(京都工繊大環セ), 田中仁志(埼玉環国セ), 杉山裕子(兵庫県立大環境人間), 丸尾雅啓(滋賀県立大環境)

1. はじめに

琵琶湖では、1984年以降、経年的にBODが低下してCODが増加する乖離現象が続いている。一方で、集水域からの有機汚濁負荷は年々削減され、栄養塩の負荷削減によりクロロフィルaでみる藻類現存量は低下してきた。水質保全対策によって、陸域からの流入負荷は点源を中心に大幅に減少し、湖内のCODの増加を抑制する効果はあったが、湖沼水質保全計画の予測では、これ以上、陸域での新たな対策をとってもCODを減少させることは困難であることが明らかになってきた。また、これまでの研究により、琵琶湖の有機物の多くは難分解性有機物であり、その難分解性有機物の9割は溶存性であること、フルボ酸を代表として難分解性有機物の生物影響評価を行った結果、現状の濃度では急性毒性はないことがわかってきた。それでは、これ以上、CODを削減する意味はどこにあるだろうか。

CODは有機汚濁の指標として汚濁負荷の削減に大きな役割を果たしてきた。しかし、有機物の総量を表すものでない上、低濃度であるほど、測定精度やデータの加算性に問題があることが指摘されている。また、CODが酸素消費ポテンシャル、水の清澄さ等を表すとされてきたが、難分解性成分が多い現状では支持されない。COD環境基準値の一部には将来的に達成しえない値である可能性など、CODをこのまま指標として使うことには課題がある。

そこで我々は、新たな有機物の管理指標に関して、有機物指標の意味や将来の琵琶湖に必要とされる指標について検討を行ったので報告する。

2. 材料と方法

本研究では、過去からのCODに関わる指標のレビューを行った。また、有識者を招いた琵琶湖の有機物管理に関する検討会を開催して検討を重ねた。

3. 結果

CODが水域の水質指標に採用されたことは、古

くは水の衛生管理のための検査項目である過マンガン酸カリウム消費量までさかのぼることができるが、環境基準とともにCODが実際に導入されたのは、水質汚濁防止法においてであった。CODが採用された経緯を踏まえ、その上で必要とされる有機汚濁の指標について整理すると、以下の4つに集約された。(1)利水条件を満たすものであること、(2)有機物量を示すものであること、(3)汚濁の原因を考察しうるものであること、(4)水の清らかさの程度を示すものであること(津田ら2014)。

さらに、琵琶湖の有機物管理に関する検討会で、有機物指標について以下のことがまとめられた。

- ・琵琶湖は多目的利用の湖であることから、各利水の要求に応じた基準値の設定を行うことが適当であり、有機汚濁はこれまでどおり環境基準を設けて監視を行うべきである。

- ・人為的排水監視、水道取水監視、面源を含む流入負荷量の把握、内部生産量等の湖内負荷量把握、これらの物質収支に基づく水質保全計画策定や評価、生態系保全における炭素循環など、様々な場面で有機物の質によらない定量を求められるため、有機物総量の指標としてTOCを導入すべきである。

- ・滋賀県で策定している琵琶湖総合保全整備計画の第2期の計画では、将来の目標像として、「琵琶湖の水はあたかも手ですくって飲めるよう」(良好な水質)と各季節に固有種の魚などがにぎわう様子(生物のにぎわい)が掲げられている。将来の管理目標としてこれらを見定めたとき、良好な水質と生物のにぎわいは、必ずしも両立しないので、そのバランスをとることも、今後の水質管理の重要な点である。

その他や詳細については講演にて報告する。

[謝辞] 本研究の一部は科研費 24510044 の助成を受けた。

[文献] 津田ら(2014) 用水と廃水 56(3), 59-72.

2A05

Web 公開不希望

*時枝隆之、谷口雄哉、葛西真由子、伊波はるな（気大校）、中山典子（東大大気海洋研）

はじめに

富栄養化した湖沼では高い生物生産の結果、高いCOD（化学的酸素要求量）値としてみられるような還元性物質濃度が高く、そのため、大量のメタンが生産されていることが予想される。本講演では、富栄養化湖沼がメタンガス放出により気候へ与える影響とメタン放出量を左右する要因を評価するため、千葉県手賀沼の湖水におけるメタンの収支の見積もりを行った。

方法

内に20地点の観測点を設け、全点における水中メタン濃度観測と、3点における水中メタン酸化除去量評価のためのインキュベーション実験を実施した。本講演では2013年の4月と10月の2つ時期の結果について報告を行う。

湖水中の溶存酸素は、湖底付近まで十分存在しているため湖内でのメタン生産は限定的と考えられる。

手賀沼湖水へのメタンの供給源と湖水からのメタンの除去源は、

(供給)

- ・湖底堆積物からの供給
- ・河川からの流入

(除去)

- ・湖面での気体交換により放出
- ・河川からの流出
- ・湖内での酸化消失

と考えてよいであろう。さらにメタンは湖底から気泡として大気に直接放出されている(ebullition)が、本講演では収支見積もりには加えない。

湖底堆積物から供給されるメタン量以外について観測から見積もり、定常状態を仮定した箱モデルを適することで、手賀沼におけるメタン収支の見積もりを行った。

結果と考察

湖内表面水メタン濃度は、2つの時期のすべての

地点で大気メタン濃度に対して過飽和状態にあり、手賀沼が大気メタンの供給源となっていた。両時期の1ヶ月間に放出されるメタン量は0.024 gC/m²（4月）と0.027 gC/m²（10月）と計算された。この値は、Bastviken et al.(2011)が見積もった25度から54度の緯度帯での気体交換による湖沼からの平均メタン放出量0.12 gC/m²の5分の1である。

水中でメタンが酸化されることは、大気での温室効果への影響としてはきわめて重要である。両時期の1ヶ月間に水中で酸化され消失するメタン量は、15×10³gC（4月）と51×10³gC（10月）と見積もられ、4月に比べて10月に水中で多くのメタンが酸化除去されていると見積もられた。

これら値に河川での流入出を考慮することで見積もられる湖底から湖水へのメタン供給量は、133×10³gC（4月）と195×10³gC（10月）となる。

Utsumi et al.(1998)は、霞ヶ浦水中では74%のメタンが水中で酸化されると見積もっているが、本研究でメタン酸化が多かった10月であっても25%に過ぎず、湖底から供給されたのと同程度のメタンが大気へと放出されているようである。

表 手賀沼におけるメタン収支
値は沼全体での積算値(10³gC/month)

	4月	10月
(供給)		
河川から	19.4±5.0	13.1±4.0
湖底から	133.1±38.0	195.4±50.1
(除去)		
河川へ	4.1±0.4	9.1±2.3
大気へ	133.0±36.3	148.7±47.3
酸化・消失	15.4±10.0	50.7±15.9

References:

- ・ Bastviken et al. *Science*, **311** (2011)
- ・ Utsumi et al. *Limnol. Oceanogr.*, **43** (1998)

*高野敬志, 内野栄治 (北海道立衛生研究所)

1. はじめに

非火山性温泉には、泥炭層に滞留して腐植質が溶解し、茶褐色を帯びた温泉がある。このような温泉は、視覚的に特異であることもあり、北海道では、他の温泉と区別化して商品価値を高めようとした活動がある。しかしながら、腐植質は療養泉の泉質や効能には無関係な項目であり、入浴時のヒトへの影響は明らかではなく、温泉水中に含まれる腐植質の化学的な特徴も不明瞭である。

腐植質は、鉍泉分析法指針（環境省，2014）により分析法が定められており、塩酸酸性で生じた沈殿を重量法で測定することとなっている。北海道東部2ヶ所に産する温泉（A温泉およびB温泉）は、双方とも茶褐色を帯び、視覚的には似た温泉で、有機炭素濃度が高いが、指針の分析法による腐植質の値は大きく異なっていた。

本報告では、この2つの温泉水について、含有する有機炭素の質の違いを明らかにし、腐植質濃度の違いが何に由来するか明らかにすることを目的とした。

2. 材料および方法

温泉水の外観は、試料を Whatman GF/F フィルターでろ過した後、色度および濁度をそれぞれ、色度計および濁度計で測定した。有機炭素濃度は、試料を同フィルターでろ過し、塩酸酸性にして無機炭素を除いた後、島津 TOC-V CSH により測定した。腐植質は、鉍泉分析法指針に準じて分析を行った。

塩酸酸性により生じた沈殿物に相当する有機炭素の分子サイズ分布は、ガラスフィルターで濾過した温泉水と酸性沈殿物（水洗なし）除去後の温泉水について、遠心式限外濾過フィルター（アミコン ultra（3k 10k, 30k, 50k および 100k）、ミリポア）を用いて調べた。その分画した試料毎に、有機炭素濃度

を求め、濾過水と沈殿物除去後の温泉水の濃度の差から、分子サイズ別の有機炭素濃度を算出した。

3. 結果および考察

A 温泉の泉質は含硫黄－ナトリウム－塩化物温泉で液性は弱アルカリ性低張性低温泉、B 温泉はアルカリ性単純温泉でアルカリ性低張性高温泉であった。両温泉とも地下 1200 m から動力によって揚湯している。

A 温泉は腐植質の分析時、塩酸酸性により沈殿が生じるものの、蒸留水で沈殿を洗った際、沈殿物がフィルターを通り抜け、フィルター上に残らなかったため、指針の分析法による腐植質は 0 mg l^{-1} であった。色度および濁度は、176 および 2.07 で有機炭素濃度は 41.5 mg l^{-1} であった。B 温泉は腐植質濃度が 16.7 mg l^{-1} と高く、色度および濁度は 184 および 0.14、有機炭素濃度は 14.1 mg l^{-1} であった。

限外濾過による分画後の酸性沈殿物に相当する有機炭素について、A 温泉では、<3k の分画に有機炭素が最も多く含まれ、全体の 84% を占めていた。一方、B 温泉では、10k-30k の分画に有機炭素が最も多く含まれ、次いで 50k-100k の分画に多く含まれており、それぞれ全体の 47% および 35% を占めていた。

A 温泉は、やや濁度は高いが色度は B 温泉と近い値であり、視覚的には似ていた。また、B 温泉よりも有機炭素濃度が約 3 倍程度高いが、指針の分析法では腐植質は検出しなかった。これは、腐植質分析の際、塩酸沈殿に相当する有機炭素の分子サイズが小さいことと、塩酸沈殿物が加水されると細分化することに由来して、指針の分析法では、含有する分子サイズの小さいフミン酸などの酸性成分を腐植質として検出できなかったと考える。

*源利文（神戸大・院発達），福岡有紗（神戸大・院発達）
高原輝彦（広島大・院総科），兵庫県立農業高校生物部

1. はじめに

カワバタモロコ (*Hemigrammocypripis rasborella*) は環境省のレッドリストで絶滅危惧 IB 類 (EN) に指定され、兵庫県版レッドデータブックおよび神戸版レッドデータ 2010 のいずれにおいても A ランク (緊急の保全対策、嚴重な保全対策の必要な種) にリストされているコイ科の淡水魚である。ため池等の生息適地の減少や、オオクチバス・ブルーギルなどの外来種の侵入によって生息地が減っていると考えられる。日本一ため池の多い兵庫県でも生息が確認されているのは約 30 箇所であるとされ、絶滅が危惧される希少種である。

近年、環境水サンプル中に含まれる DNA (環境 DNA) を用いた生物分布の推定法に関する研究が進んでいる。環境 DNA 手法によって、魚類・両生類をはじめとして、様々な分類群に属する動物の生息情報を得ることが可能であることが報告されている。本講演では希少種であるカワバタモロコの分布調査に本手法を応用した結果について報告する。

2. 材料と方法

第一にカワバタモロコの検出のための種特異的プライマーを設計した。カワバタモロコおよびその近縁種の DNA シーケンス情報をデータベースから入手し、Primer Express 3.0 を用いて作成したプライマー及びプローブ群から、カワバタモロコに特異的なものを選択した。

次に、作成したプライマー及びプローブが確かにカワバタモロコを検出できることを確認するため、カワバタモロコの生息する神戸大学内のビオトープ、カワバタモロコの生息が確認されている池 7 面および、生息しないと考えられている池 4 面の水サンプルを用いて、カワバタモロコ DNA の検出を試みた。採水は神戸市内において 2014 年 1 月に実施し、採水サンプルをグラスフィルターで濾過し、フ

ィルター上の残渣から環境 DNA を抽出した。抽出した DNA を鋳型として、リアルタイム PCR 法によってカワバタモロコの DNA を検出した。

最後に、この検出系を用いて、兵庫県下のカワバタモロコの生息に関する情報の無いため池 83 面において採水を行った。2013 年 10 月から 2014 年 1 月にかけて兵庫県宝塚市の 13 面、三田市の 14 面、神戸市北区の 18 面、小野市の 16 面、三木市の 10 面、加東市の 12 面のため池で採水し、上述の方法でカワバタモロコの DNA 検出を試みた。

2. 結果と考察

カワバタモロコの生息が確認されているビオトープの水 6 サンプル全てからカワバタモロコの DNA が検出された。また、生息が確認されているため池 7 面および、生息しないと考えられているため池 4 面の水サンプルからはその在不在情報と一致する結果が得られた。このことから、我々の開発したカワバタモロコの検出系はカワバタモロコの生息状況を把握するためのツールとして有用であることが示唆された。

この検出系を用いてカワバタモロコの在不在が不明のため池 83 面で DNA の検出を試みた結果、7 面の水サンプルからカワバタモロコの DNA が検出された。兵庫県下で 30 箇所しか生息地が知られていないカワバタモロコであるが、今回 DNA が検出された 7 面のため池はいずれもこれまでに知られていなかった生息箇所である。このことは、兵庫県下に未知のカワバタモロコ生息地が多数存在することを示唆している。また、この結果は環境 DNA 手法によって、希少種の新たな生息情報を得られる可能性があることを示している。

今後は環境 DNA の検出された池における捕獲調査等によって、カワバタモロコが確かに生息することを確認する予定である。

*内井喜美子（大阪大谷大・薬），土居秀幸（広島大・サステナセンター）
源利文（神戸大・発達），山中裕樹（龍谷大・理工）

1. はじめに

水中には、そこに生息する生物に由来する DNA 断片が浮遊しており、環境 DNA と呼ばれる。近年、環境 DNA の情報を利用し、生物の分布を評価しようとする手法が急速に発展しつつある。この手法は、特定生物の在／不在の判定に有効であることが示されており¹⁾、特に、外来種の侵入判定に多く適用されている²⁾³⁾。環境 DNA 手法は、捕獲作業なしに外来種の侵入を迅速に検出できるだけでなく、DNA 情報を利用することから、見た目では区別のつきにくい隠蔽種の侵入把握にとりわけ力を発揮すると考えられる。

そこで本研究では、日本全国の湖沼・河川に広く分布するユーラシア大陸原産の外来系統コイ (*Cyprinus carpio*)⁴⁾ をモデルとし、遺伝的に非常に近縁な同種内外来種の侵入度合いを定量的に評価する手法を開発した。さらに、開発した手法を野外へと適用することにより、地域個体群における同種内外来種の侵入度合いの迅速把握を試みた。

2. 材料と方法

既知のミトコンドリア DNA の D-loop 領域の全ハプロタイプの塩基配列情報に基づき、外来系統コイと在来系統コイを判別する一塩基多型 (SNP) を探索した。両系統について SNP 部分を RNA とする DNA-RNA-DNA プローブを設計し、それぞれを異なる蛍光物質で標識した。これら2種のプローブ、同一プライマーセット、そして RNA 分解酵素を含んだリアルタイム PCR (Cycleave PCR) を行い、2種のターゲットを同時検出することにより、外来系統と在来系統の DNA 比を定量する手法を確立した。次に、外来系統コイと在来系統コイのバイオマス比に変化を与えた水槽実験を行った。飼育水から抽出した環境 DNA における外来：在来 DNA 比を Cycleave PCR 法を用いて定量し、定量した DNA 比から実際のバイオマス比を正しく推定できるかどうか検証した。さらに、開発した手法を野外へと適

用した。西日本各地の湖沼・河川の水より抽出した環境 DNA 中における外来：在来 DNA 比を定量することにより、各水域の野生コイ個体群における外来系統コイの侵入度合いを推定した。

3. 結果と考察

Cycleave PCR 法により、鋳型 DNA 濃度に関わらず、外来系統または在来系統どちらかの DNA が 6%程度存在すれば、外来：在来 DNA 比を定量できることが分かった。水槽実験において、Cycleave PCR 法により定量した外来：在来 DNA 比は、実際の外来：在来バイオマス比と強い正の相関を示した ($y = 0.82x + 0.13$, $R^2 = 0.94$, $P < 0.01$)。したがって、Cycleave 法を環境 DNA に適用することにより、野外における外来：在来バイオマス比を推定できると考えられた。本手法を用い、西日本各地の湖沼・河川より採取した環境 DNA 中における外来：在来 DNA 比を定量したところ、調査したほとんどの水域において、コイ由来 DNA のうちの 70%以上を外来系統の DNA が占めることが明らかとなった。このことより、少なくとも今回調査を行った水域では、外来系統コイの侵入が相当程度進行していることが強く示唆された。

本研究で開発した環境 DNA 手法は、自然水域における同種内外来種や近縁外来種の侵入度合いを迅速に把握するための有用なツールとなると考えられる。

参考文献

- 1) Minamoto *et al.* 2012. *Limnology* 13:193-197
- 2) Takahara *et al.* 2013. *PLOS ONE* 8: e56584
- 3) Jerde *et al.* 2011. *Conserv Lett* 4: 150-157
- 4) Mabuchi *et al.* 2008. *Mol Ecol* 17: 796-809

2A10

Web 公開不希望

霞ヶ浦におけるアオコ発生時の *Microcystis aeruginosa* の挙動について

*富岡典子, 今井章雄, 小松一弘, 高津文人, 篠原隆一郎 (国立環境研究所), 佐藤貴之 ((財)地球・人間環境フォーラム)

1. はじめに

多くの富栄養湖沼において、突発的に発生し、景観、水質等に多くの影響を与える *Microcystis aeruginosa* によるアオコの発生予測は防止策及び対策を実施する上で重要な課題である。しかしながら、富栄養湖であっても、天候（日射量、水温及び降雨等）、底泥からの栄養塩の溶出状況等は日々刻々変化し、対策が必要なほどのアオコが発生するかどうかを数日前に予測することは困難である。

アオコの発生を予測するには、現場環境における *M. aeruginosa* の増加率、上下移動及び風や水塊の移動に伴う菌体の輸送を考慮する必要がある。本研究においては、現場における増加率と環境因子の関連と輸送の影響を明らかにすることを目的として、河川の影響を受けやすい防波堤外と、比較的水の出入りが少なく、風による影響を受けにくいと考えられる、防波堤内における増殖期の *M. aeruginosa* の挙動を rRNA 遺伝子(rDNA) 量とその Tm 値、並びに rRNA/rDNA により解析した。

2. 材料と方法

霞ヶ浦小野川入左岸に位置する国立環境研究所臨湖実験施設付属の船着き場（北緯 36°00'05"、東経 140°22'22"）の防波堤内外において、2013 年 6 月 9 日～8/10 まで表層及び深さ方向に採水を行い、湖水中の藻体等を GF/F ガラス繊維ろ紙を用いて回収した。回収した藻体等から Extrap Soil DNA Kit Plus ver.2(日鉄住金環境)を用いて DNA を抽出した。RNA の抽出は抽出時にチューブあたり 0.1mg の RNA を添加し、FastRNA Pro Blue Kit(MP Biomedicals)を用いて行った。得られた DNA 及び RNA 抽出液中の *M. aeruginosa* rDNA 及び rRNA 濃度及び Tm 値を LightCycler 480(ロシュ)を用いて測定した。プライマーは Micro233f (5'-CTA ATGGCCTGRAGAAGA GC-3')及び Cyano342r (5'-GCTGCCTCCCGTAGGA GT-3')を用いた。採水日の水温、溶存酸素及び pH を HYDROLAB MS5(ハイドロラボ)、光の減衰率を

LI-192SR(Li-Cor.)を用いて測定した。

3. 結果

防波堤外表層水における *M. aeruginosa* rDNA 濃度は測定開始から、終了まで基本的にはなだらかに増加し、8 月 10 日には 2.75×10^6 rDNA copies ml⁻¹ に達した(図 1)。期間中に比増加率が 0.4(day⁻¹)を超える日が 4 回観察され、特に 8 月 9 日～8 月 10 日の比増加率は 2.1 (day⁻¹)と算出された。一方、7 月 4 日～16 日までは減少傾向を示した。Tm 値の変化はクローンの変化を反映していると考えられるが、7 月 30 日までは、rDNA 濃度の変化があるときに上下する傾向が認められ、7 月 30 日以降は大きく変化した。

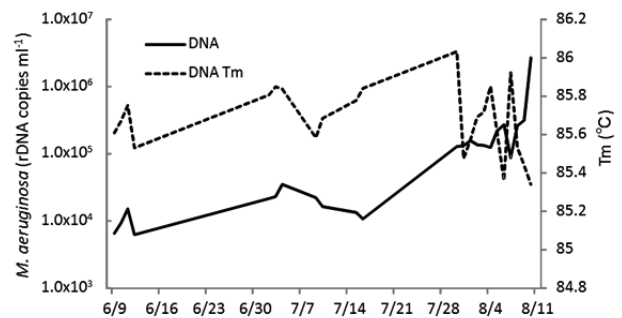


図 1. 防波堤外表層水午前 8 時～10 時の *M. aeruginosa* rDNA 濃度及び Tm 値の経時変化

4. 考察

小野川入り左岸の表層水においては 6 月から緩やかに *M. aeruginosa* の濃度が増加し、8 月に入って、アオコ濃度に達することが明らかとなった。また、rDNA 濃度の変化に伴って、Tm 値が変化していることから、特定のクローンが増殖することにより、優占クローンが変化している可能性が示された。一方、7 月 30 日以降の Tm 値の大きな変動、及びアオコ濃度に達する 8 月 9 日～8 月 10 日の通常の増殖速度よりも速い rDNA 濃度の増加は、増殖のみでは説明が困難であり、上流もしくは下方からの移入の影響を受けていると考えられた。これらのことから、アオコ現象に達する時期を特定するためには、移動についても詳細に解明する必要があることが示唆された。

2A12

Web 公開不希望

- ベトナム・メコンデルタ地域の事例 -

* 飯泉佳子 (国際農研)、近藤始彦 (農研機構作物研究所)
渡辺武 (国際農研)

1. はじめに

ベトナム・メコンデルタは世界有数の穀倉地帯である。インドに次ぐ世界第2位のコメ輸出量を誇るベトナムにおいて、メコンデルタは主要なコメの生産地となっている。同地域では、水稻は2期作または3期作で栽培されるが、雨期作の単収は乾期作に比べて有意に低く、雨期に硫化水素によるイネの生育障害が発生している可能性が指摘されている。メコンデルタにおける水稻収量の安定化と増加は、世界の食料生産を考える上で重要である。

本研究では、非酸性硫酸塩土壌地域であるにも関わらず、田面水中に硫酸イオンが高濃度で存在する地域を対象に、田面水、地下水、灌漑水の水質と地下水位の変動を測定し、特性を評価するとともに、イネの根の状態を調査した。

2. 試料と方法

クアロンデルタ稲研究所 (CLLRI) 内の圃場を調査地とした。ベトナム・メコンデルタでは、5月～10月が雨期にあたり、CLLRIのあるカントー市周辺では、雨期作は4月下旬～8月中旬、乾期作は11月下旬～2月下旬に栽培される。

2012年4月と7月に、現地調査を実施した。さらに、2013年の12月からは試験圃場を設営し、継続的に観測を行っている。2012年4月には田面水、地下水、2mの土壌コア試料2本を採取した。水試料は現場でpH、EC、水温を測定し、実験室内で無機陰イオン濃度を定量した。土壌試料は、現地で過酸化水素水を用いた酸性硫酸塩土壌の判定試験を行ったほか、10cmごとにスライスして実験室に持ち帰り、含水比、pH(H₂O)、EC(H₂O)、水溶性陰イオン濃度、硫黄安定同位体比 ($\delta^{34}\text{S}$) を測定した。同年7月の調査ではイネの生育障害について観察を行った。2013年からは、試験圃場 (計9区画、1区画の大きさは縦12m・横5m) を設営し、地下水、田面水、灌漑水、土壌間隙水の水質と地下水位を定

期的に観測している。水質の測定項目は2012年度の調査とほぼ同様である。

3. 結果と考察

土壌調査において、水田の畦畔上面より1.5m以深 (水田の耕土表面からはおよそ1.2m～1.3m以深) にパイライトを多く含む層の存在が確認された。土壌中の水溶性硫酸イオン濃度と土壌EC (1:5) の間には高い正の相関関係があった ($r=0.998$) (図1)。土壌pH (1:2.5) は表層付近で4.5と低く、深さ2mで6.8程度であった。

乾期作における試験圃場の地下水位は、収穫前に低下した。収穫作業のために田面水を落水したことで、降水量が少ないことに起因すると思われる。また、地下水位の低下とともに、土壌間隙水中のpH値が低下した。これは、環境中の硫黄が酸化されて硫酸イオンが生成されたためと推察される。

収穫の直前に、乾期作と雨期作の水稻の根を掘り取って比較すると、雨期作では明らかに根の表面に硫化鉄が黒く沈着していた。硫化鉄を生成する硫化水素は、好気性の生物にとって有毒な物質である。本圃場でも土壌の還元障害による生育・登熟抑制が発生している可能性が示唆される。発表では、他の分析結果などを交えて議論する。

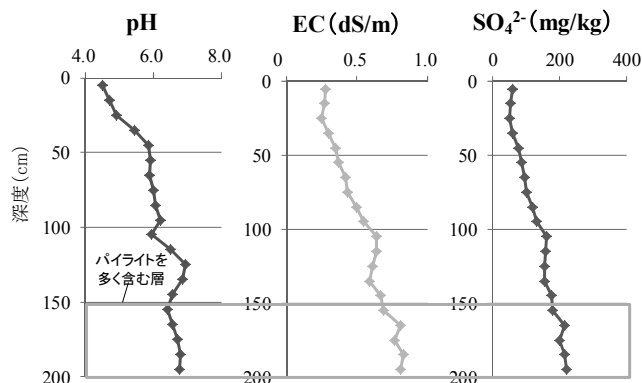


図1 土壌柱状試料の分析結果

2A14

Web 公開不希望

1. Introduction

Aquatic plants play a crucial role in aquatic ecosystem as they involve in a wide spectrum of ecological functions. However, aquatic plants are persistently challenged by a vast array of abiotic factors such as water movements, substrate characters, nutrient availability, light penetration, UV radiation, temperature and heavy metals. Among them, toxic heavy metals have been identified as one of the main abiotic stress that adversely affects the plant growth and physiology as a result of associated oxidative stress. Even though much attention has been paid on cesium (Cs) exposure on flora and fauna, oxidative stress in charophytes in response to former stress is largely unknown. Therefore the objective of present study was to evaluate the growth, stress response and the capacity of cesium uptake of carophyte; *Nitella* after being exposed to water born cesium.

2. Material and method

Stress response of *Nitella* were studied after being exposed to four concentrations of Cs; i.e. 0 (control), 0.001, 0.01 and 0.1 ppm. Each treatment with three replicates were randomly allocated into 12 (4x3) glass beakers (1L) containing a layer of commercial sand and 1% Hoagland's nutrient solution in a complete randomize design. Six similar size apical tips (~3 cm) of *Nitella* were planted in each beaker and the experiment lasted for 30 days. At the end of the experiment, shoot length, Cs content and plant stress were compared. Plant Cs content was measured using atomic absorption spectrometer. Activity of catalase (CAT), ascorbic peroxidase (APX), concentration of hydrogen peroxide (H₂O₂) and chlorophyll fluorescence (F_v/F_m) were measured for plant stress.

3. Results and Discussion

Cs exposure significantly suppressed growth of *Nitella*. The longest shoot was found in control

treatment ($p < 0.05$) while the shoot length of plants exposed to 0.001 ppm was statistically similar to that of control. However, plants grown in high concentration of Cs showed the poorest growth indicating their shoot elongation was negatively affected by the elevated levels of Cs. Concentration of Cs in plants exposed to 0, 0.001, 0.01 and 0.1 ppm were 0.04 ± 0.01 , 0.24 ± 0.09 , 0.31 ± 0.20 and 0.24 ± 0.02 $\mu\text{g mg}^{-1}$ DW respectively. Figure 1 shows the Cs induce oxidative stress in *Nitella*.

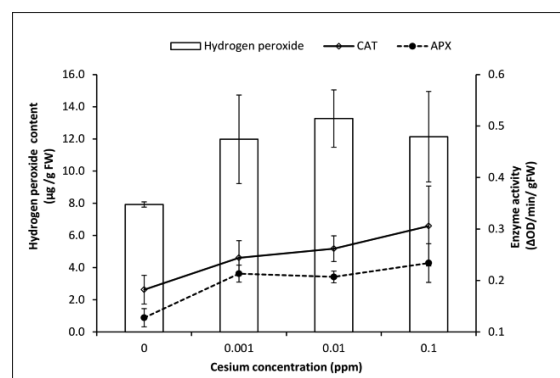


Figure1: Cesium induced stress response of *Nitella*

There was an increasing trend in H₂O₂ accumulation with parallel to increased Cs concentration and plants exposed to Cs contained significantly high concentration of H₂O₂ ($p < 0.05$) compared to plants grown in control condition. On the other hand, both CAT and APX activities significantly ($p < 0.05$) increased when plants exposed to elevated levels of Cs. Moreover, significantly ($p < 0.05$) low F_v/F_m values (<0.80) were observed for Cs stressed plants.

Findings of the present study revealed that Cs exposure suppressed the growth and induce the oxidative stress in charophytes; *Nitella*. However, accumulation of Cs even under stress condition indicated their potential to use as an agent for cesium phycoremediation.

The combined effects of diverse redox level and ammonium nitrogen concentration on some physiological parameters of *Myrophyllum spicatum*.

Mahfuza Parveen¹, Takashi Asaeda², Md H. Rashid²

²Department of Environmental Science, Saitama University, Japan

¹Graduate School of Science and Engineering, Saitama University, Japan

1. Introduction

Low redox potential and high $\text{NH}_4\text{-N}$ concentrations are common phenomenon for water-logged soil and eutrophic lakes. In order to investigate the physiological response in increased ammonium concentration and low redox states of submerged macrophyte *Myrophyllum spicatum*, four different $\text{NH}_4\text{-N}$ concentrations (2.5 to 40ppm) under four different redox states were treated and used (Control +300 to +350 mV, Oxidic +350 to +400 mV, reduced +5 to -30 mV and highly reduced -180 to -230 mV).

2. Methodology

Plant and soil samples were collected from Moto-Arakawa River and Arakawa River, Japan. Each microcosm (MC) was contained a 6 L ($15.7 \times 15.7 \times 24.5 \text{ cm}^3$) glass vessel which was hermetically sealed with an air-tight lid. MCs were filled with 600 g of air-dried soil and deionized water in 1:5 ratios. Glucose was used as a carbon source to produce reduced and highly reduced condition, while atmospheric air bubbling was used to prepare oxidic condition. Four plants were planted in each microcosm at 22nd day after taking the initial shoot length, root length and weight. After 14 days, at the end of the experiment, plants were collected for physical and chemical analysis.

3. Results

Plant exposed to reduced and highly reduced water conditions with high $\text{NH}_4\text{-N}$ showed brown black discoloration of plant leaves. Shoot growth rate (SGR), total chlorophyll and Fv/Fm value of *M. spicatum* drastically reduced during the reduced and highly reduced condition and has significant affect ($P < 0.001$)

among conditions. Higher $\text{NH}_4\text{-N}$ concentrations even accelerated these effects. However, 5ppm $\text{NH}_4\text{-N}$ yielded highest SGR, total Chl. and Fv/Fm irrespective of redox potential ($P < 0.001$). In 40ppm $\text{NH}_4\text{-N}$ treated highly reduced condition plant's growth stopped and almost died, because of the long exposure in condition.

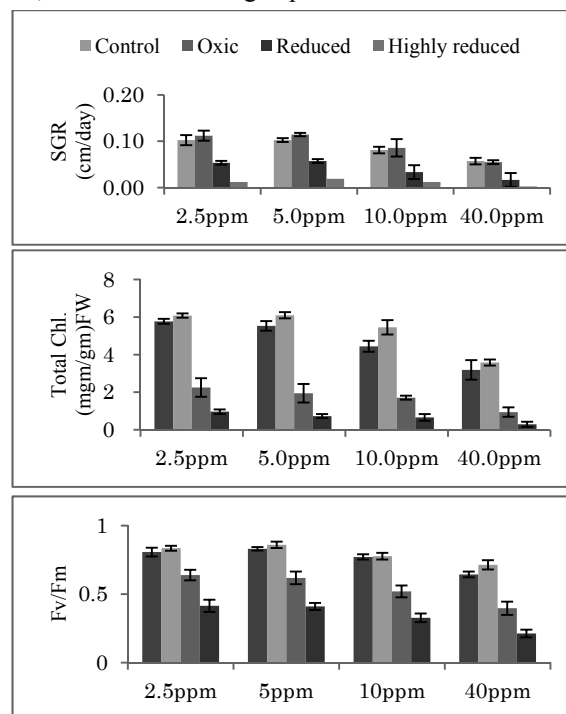


Fig.1 SGR, Total Chl. and Fv/Fm values of *M. spicatum* under diverse redox potential and $\text{NH}_4\text{-N}$ concentrations (mean \pm SD)

4. Conclusion

The present study revealed that after 14 days exposure to the condition, the combination of low redox state and high $\text{NH}_4\text{-N}$ concentration has stronger physiological impact on *M. spicatum* than the two factors acting alone. This two factors influenced the distribution and abundance of *M. spicatum*, which is poorly tolerant to low E_H .

Role of Arbuscular mycorrhizal fungi on growth and nutrient content of *P. japonica* growing on river bank soil

Animesh Sarkar^{1,2}, Takashi Asaeda¹, Qingyue Wang¹ and Md H. Rashid¹

¹Dept of Environmental Science, Saitama University, Japan

²Dept of Food Engineering and Tea Technology, Shahjalal University of Science and Technology, Bangladesh

1. Introduction

The effects of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on the growth and nutrient concentration of *Phragmites japonica* were evaluated which was grown in the soil collected from early succession area of Arakawa River bank, Kumagaya, Saitama Prefecture, Japan. Therefore, the present study was planned with objective: i) to determine whether abundances of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) change as floodplain river bank vegetation development by increasing growth and nutrient concentration of *P. japonica*.

2. Materials and Methods

The experiment was conducted in the form of pot cultures of *Phragmites japonica* in a greenhouse at Saitama University, Japan. 20g serakinkon powder/kg soil was evenly mixed with soil before using in a pot which was composed of 50 *Gigaspora margarita* spores per gram powder. Considering the type of mycorrhizal inoculation, four treatments were taken, viz. (1) normal soil (NS), (2) normal soil inoculated by AM fungi (NS+AM), (3) sterilized soil inoculated by AM fungi (AM), and (4) sterilized soil without AM fungi inoculation (SS). Rhizomes with three nodes (~2 cm) were used as propagating materials. Plants were harvested at 110 days after transplanting at their senescence stage and dry mass were recorded. The extent of AM colonization, total nitrogen (TN) and total phosphorus (TP) concentrations of plant tissues were determined.

3. Results

The average colonization level of *P. japonica* was 24-33 % in different treatments (Fig.1) whereas in sterilized soil (AM fungi absent), no colonization was found. AM fungi showed the significant effect on dry mass production of *P. japonica* plant. NS+ AM treatment showed significant difference in comparison with other treatments in all cases and the trend of total dry mass production was NS+AM > SS+AM ≥ NS > SS (Fig. 2). Increases in plant P content were greater when the colonization level was more pronounced, and this relationship was significant across all trials (Fig.3). P concentration in plants (roots, stems, and leaves) was the

highest in AM fungi inoculated with natural soil treatment; however it was the lowest in sterilized soil (absent of AM fungi) treatment. When AM fungi applied with sterilized soil, P concentration was statistically similar to natural soil (Fig.3).

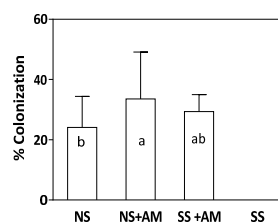


Fig.1 AMF colonization levels in *P. japonica*.

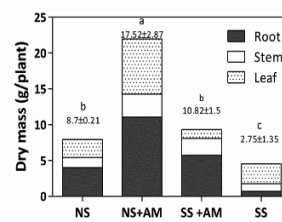


Fig.2 Dry mass production of *P. japonica*.

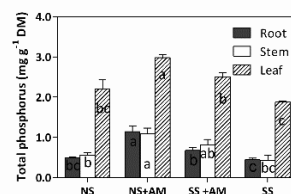


Fig.3 TP conc. of plant in different treatments.

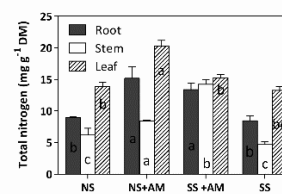


Fig.4 TN conc. of plant in different treatments.

TN concentration in plants varied with the colonization level of AM fungi. Nitrogen and P concentration in the roots, stems, and leaves of the plant was at its maximum in NS+AM treatment. Minimum N concentration was shown in sterilized soil. (Fig.4).

4. Conclusion

If the AM colonization was high then the growth and nutrient absorption capacity was also high for *P. japonica*. All root samples of *P. japonica* in AM treatments were colonized by AM fungi both in collected soil and sterilized soil. Dry mass (DM) production was the highest in AM fungi with natural soil treatment where AM colonization level was also high and the lowest DM production was showed in sterilized soil (where AM fungi was absent). So, it can be concluded that AMF have potential effect on vegetative growth and nutrient assimilation of *P. japonica*.