

# A 会場

## 要 旨

9 月 28 日 (月曜日)

午前 一般講演 2A 01 ~ 2A 12

午後 一般講演 (優秀講演賞審査対象)

2A 13 ~ 2A 28

9 月 29 日 (火曜日)

午前 一般講演 3A 01 ~ 3A 09



\*長谷川裕弥・吉澤一家（山梨衛環研）

### 1. はじめに

山中湖の北東部に位置している平野ワンドは水生植物の多い水域として知られている。この水域では、およそ5月から1月にかけて水生植物が湖岸に漂着している。漂着した水生植物は、枯死すると分解されて窒素やリンを溶出し、栄養塩の負荷源になると推察される。今回、平野ワンドで確認されている6種類の沈水植物（セキショウモ、クロモ、ホザキノフサモ、ホソバミズヒキモ、センニンモ、オオササエビモ）を枯死させたときの溶存態全窒素(DTN)及び溶存態全リン(DTP)、溶存態全有機炭素(DTOC)溶出量の経日変化の検討を行い、漂着した水生植物湿重量から平野ワンド内へのおおよその負荷量を推定したので報告する。

### 2. 調査の概要

2014年8月20、21日に図1に示す山中湖の平野ワンド（外周約1500m）で水生植物調査を実施した。平野ワンドでは、8種の沈水植物が確認され、特にホザキノフサモが大群落を形成していた（図1）。調査実施日に分布量の多かった6種の沈水植物を当所に持ち帰った。水道水で付着物をよく洗い落としした各沈水植物を200g湿重量用意し、蒸留水5Lに浸した。アルミホイルで光を遮断して2014年8月27日から室温で放置させた（水温27℃）。0、5、9、13、20、29、50、90日目に各試料水を100ml分取し、0.45μmニトロセルロースフィルターでろ過しDTN、DTP、DTOC溶出量を測定した。

### 3. 結果と考察

沈水植物6種のDTN、DTP、DTOC溶出量の経日変化について検討した結果、沈水植物種によって各溶出量が異なることが明らかになった（表1）。ホソバミズヒキモが窒素及び有機炭素を最も溶出し、ホザキノフサモがリンを最も溶出した。沈水植物種により異なったが、DTN及びDTP溶出量が最大値を示したのは、50日目又は90日目であった。90日以降は、ほぼ溶出量の変化がなかったため分解が終了したと考えられるが、90日以降の水温は、9～17℃であり分解が抑制されていた可能性も考えられた。DTOC溶出量が最大

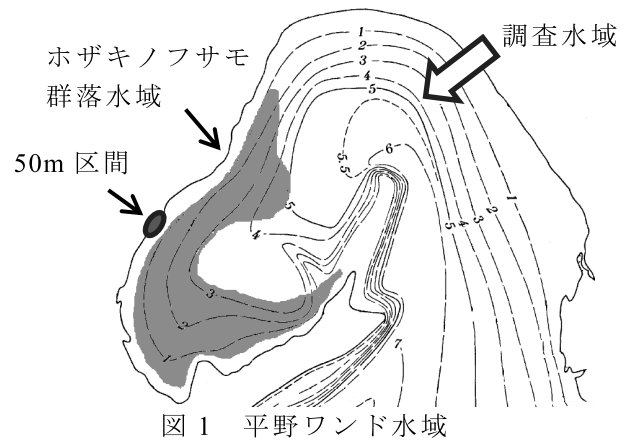


図1 平野ワンド水域

表1 100g湿重量あたりの最大溶出量(mg)

沈水植物種	DTN	DTP	DTOC
セキショウモ	14	0.65	14
クロモ	18	2.2	23
ホザキノフサモ	15	2.6	20
ホソバミズヒキモ	23	1.4	36
センニンモ	12	2.3	29
オオササエビモ	20	2.0	19

値を示したのは9日目又は13日目であり、その後は減少傾向を示した。

2010年4月～2011年1月までの平野ワンド（50m区間、図1）に漂着した水生植物総湿重量が118kgであったと吉澤ら<sup>1)</sup>は報告している。この時の優占種はホザキノフサモ（52%）、セキショウモ（36%）であった。2010年度に漂着した各水生植物湿重量と今回のDTN及びDTP、DTOC溶出量の結果（表1）より、平野ワンド内（50m区間）でのDTN及びDTP、DTOC負荷量を推定した。その結果、窒素が45kg、リンが5.3kg、有機炭素が56kgであった。以上より、湖岸に漂着した水生植物を回収することで、湖内へ還元される窒素・リン負荷を抑制できると推察された。

#### 参考文献

- 1) 吉澤一家ら：山梨県総合理工学研究機構 研究報告書，6，1-11（2011）

謝辞：水生植物調査にご協力下さった山中湖漁業協同組合、わかさぎ屋の皆様へ御礼申し上げます。

## TRANSEAU の春季の消長

\*野崎健太郎 (相山女学園大)

## 1. 研究の背景と目的

広義の車軸藻綱 (Zygnemataceae) に分類されるアオミドロ属 (*Spirogyra*) は、世界でおよそ 400 種、日本では 90 種が記載されている。アオミドロ属は、有性生殖の接合および接合胞子の形態によって分類されるが、その人為的誘発が難しいため、種名の決定が困難である。そのため、世界中に広く分布する分類群でありながら、種の生態学的な情報は極めて限られている。そこで本研究では、接合の人為的誘発によって種名が確定した *Spirogyra variformis* TRANSEAU の野外での動態を記載することを目的とした。

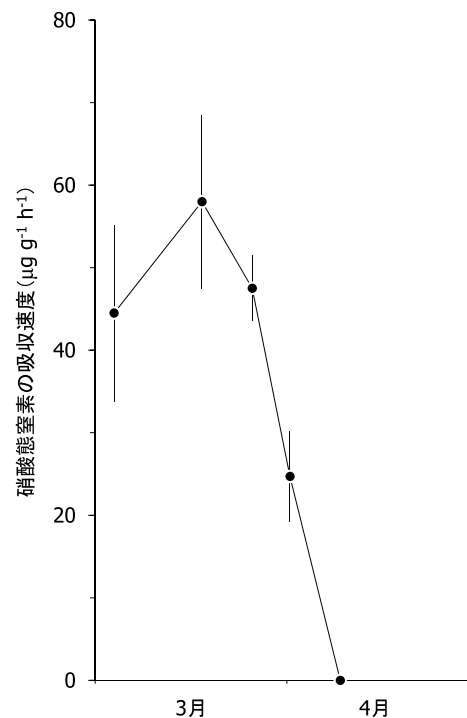
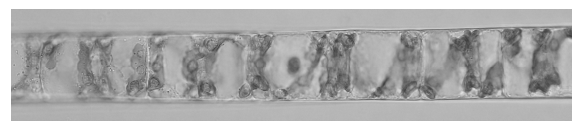
## 2. 調査地および方法

静岡県浜松市三ヶ日町尾奈の水田水路で行った (北緯 34 度 46 分 48 秒, 東経 137 度 32 分 23 秒)。本調査地では、早春から初夏にかけてアオミドロ属の群落が発達する。2014 年 3 月 26 日に採取したアオミドロは、蒸留水で良く洗浄した後、ろ過した現場水で満たしたガラスシャーレに入れ、15°C, 170 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (明暗 12 時間) で培養したところ、24 時間以内に接合を開始し、20~30 日で完熟した接合胞子が得られた。接合および胞子の形態観察から、*S. variformis* と同定した。現場の水環境は、水温 12°C (11 時), 電気伝導度 26.2 mS  $\text{m}^{-1}$ , pH 6.5, 溶存無機態窒素 1 mg  $\text{NL}^{-1}$ , リン酸態リン 0.004 mg $\text{PL}^{-1}$  であった (Nozaki, 2015)。

2015 年は 3 月 4 日~5 月 22 日の間に 7 回の調査を行った。群落の 3 箇所からアオミドロを採取し、顕微鏡観察、クロロフィル *a* 含量、接合誘発実験、硝酸態窒素吸収実験に用いた。接合誘発実験は、2014 年と同じ条件で行い、接合した細胞を経時的に計数し、割合で示した。硝酸態窒素吸収実験は、酸素びん (100 mL) にろ過した現場水を詰め、一定量の良く洗浄したアオミドロを入れる。そのまま 24 時間、接合誘発実験と同じ条件で培養し、硝酸態窒素の減少量をアオミドロの乾燥重量あたりで算出した。この実験は 3 連で行った。

## 3. 結果

アオミドロ群落は、3 月 18 日, 26 日に最も発達し、その殆どを *S. variformis* が占めていた。群落は 4 月 1 日, 4 月 9 日にかけて急激に衰退し、4 月 24 日, 5 月 22 日には完全に消滅した。3 月 4 日~4 月 1 日に採取した *S. variformis* は接合が誘発されたが、4 月 9 日の試料では、ほとんど接合しなくなり、硝酸態窒素の吸収も見られなくなった (図 1)。調査地の溶存無機態窒素濃度は、700  $\mu\text{g N L}^{-1}$  が最小であり、*S. variformis* の接合誘発や衰退の原因が窒素枯渇にあるとは考えられなかった。4 月 9 日の細胞は葉緑体が少なくなっており活性の低下を反映していた (図 2)。本研究の結果、*S. variformis* は、春期に増殖し、初夏に向かっ、接合胞子を形成しながら衰退するという生活史であることが示唆された。

図 1. *S. variformis* の硝酸態窒素吸収速度の変化。図 2. 4 月 9 日に採取された *S. variformis* の顕微鏡写真 (400 倍)。葉緑体が少なくなっている。

2A03

Web 公開不希望

珪藻類 *Chaetoceros* 属について

\* 石井健一郎 (京都大)・山口峰生・外丸裕司 (水研セ瀬水研)・神川龍馬 (京都大)・  
石川 輝 (三重大)・今井一郎 (北海道大)・宮下英明 (京都大)

珪藻類は海域の一次生産の約20%を受け持つとされ、中でも *Chaetoceros* 属は200種以上の現生種が存在するとされる重要な分類群である。また、一部の種は汽水域にも生息し、しばしば優占することが知られている。本属の栄養細胞は、刺毛 (setae) と呼ばれる針状の構造を上下の被殻両端から伸ばし、多くの種が梯子状に細胞を連鎖させる。これまで、多くの栄養細胞が形態種として記載されてきたが、それらの形態と遺伝情報を網羅的に解析した研究は少ない。また、本属には形態学的に種同定することが極めて困難な種が存在することから、現場海域の調査における種同定が困難な状況が続いている。

本属の中には、栄養細胞の増殖に不適な環境において、休眠孢子 (resting spore) と呼ばれる耐久性の細胞を形成する種が多く知られている。珪藻類休眠期細胞は、形態学的に“休眠孢子 (resting spore)”と“休眠細胞 (resting cell)”に大別される。栄養細胞被殻中に新たに被殻が形成され、栄養細胞と異なる形態をもつものを休眠孢子、栄養細胞被殻がそのまま休眠期細胞被殻として利用され、栄養細胞と形態が酷似するものを休眠細胞と呼称する。これまで本属に記載された休眠期細胞は全て休眠孢子に分類されている。この休眠期細胞は、増殖環境が好転すると再び増殖を開始する『種 (タネ)』の役割を果たすとされている。そのため、どのような種の休眠期細胞がどれほど海底に眠っているのか知ることは、各種の環境中での動態を知る上で極めて重要な情報になる。しかし、これまで海底堆積物中の多くの本属休眠孢子は、形態学情報の不足により種同定することが出来なかった。このような状況のもと、我々は日本沿岸において、全国から海底堆積遺物を集め、それらの中に存在する休眠期細胞を発芽・復活させ、新たな休眠期細胞を発見してきた。また、*Chaetoceros* 属に関しては、海底堆積物から各種の休眠孢子を単離し、これまで多くの種の培養に成功し

ている。また、得られた栄養細胞から分子情報を読み取り、栄養細胞と休眠孢子の形態と分子情報の統合を図っている。そのような中で、2015年3月17日鳥取県の湖山池 (こやまいけ) において、水サンプル中に *Chaetoceros* 属の栄養細胞とその休眠孢子が大量に観察された。鳥取県の湖山池は鳥取市の北部に位置し、「池」と呼ばれる湖沼の中では日本最大の広さである。その成因は、古代に砂丘などの発達により海と分離された海跡湖であるとされている。面積は6.88 km<sup>2</sup>、平均水深は2.8 m、最大水深は6.5 mであり、2011年までは塩分が0.35~1.75 pptと他の汽水湖と比較して際立って低い値を示す池であった。しかし、2012年に唯一海とつながる湖山川の水門が開放されたことにより池の塩分が上昇し、現在は概ね5~10 ppt前後の塩分で推移している。

今回湖山池で観察された *Chaetoceros* 属は、殻長が5~10 μmで、本属の中では際立って小さな細胞サイズであった。また、全ての細胞が単体で存在し、連鎖群体を形成している個体は全く観察されなかった。さらに、栄養細胞の被殻中に休眠孢子を包含するものが多く観察された。休眠孢子も栄養細胞と同様に5~10 μmで、光学顕微鏡での観察では被殻表面に特徴的な構造は確認されなかった。ただし、休眠孢子の後成殻が円錐状の形態を有することが本属休眠孢子的他の種には見られない形態であった。以上の形態的特徴から、本種は *Chaetoceros muelleri* と同定された。しかし、本種は細胞サイズが小さいことや形態的特徴が乏しいこともあり、これまで他種との混同や亜種の存在が指摘されるなど、種としての明確な規定が定まっていない。今回我々は、湖山池に出現した本種の栄養細胞及び休眠孢子的形態情報と、それらを発芽・培養した細胞の分子情報を明らかにし、他種との形態及び分子情報の比較検討を行ったので報告する。

## 2A05

\*土居俊平・立花道草・伴修平（滋賀県大）

## 1. はじめに

琵琶湖周辺には、現在も 23 の内湖が残存しているが、これらは琵琶湖に生息する水生生物の避難場所となっており、洪水などの自然災害が起こった場合あるいは栄養塩や汚染物質の負荷が増大した場合の緩衝地帯として機能すると考えられている。したがって、これら内湖は琵琶湖とその集水域の保全にきわめて重要な役割を担っていると言える。本研究では、現存する内湖のうち、柳平湖(草津市)、湖北野田沼(長浜市)、神上内湖(彦根市)、堅田内湖(大津市)、蓮池(米原市)、浜分沼(高島市)の 6 カ所の内湖を調査対象とした。本研究では、これら内湖における栄養塩バランスを明らかにするため、溶存態栄養塩濃度とセストン生元素比を測定し、湖沼間で比較した。

## 2. 材料と方法

調査は 2014 年 8 月、10 月、2015 年 2 月、5 月の計 4 回行った。各内湖ではそれぞれ流入点、流出点、湖内 2 点(st1, st2)の計 4 点において 3 ヶ月ずつ採水した。持ち帰った試水の一部は、メンブレンフィルター (Nuclepore, 0.2  $\mu\text{m}$ ) で濾過した後、溶存態無機栄養塩( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ )濃度をオートアナライザーで測定した。試水の一部は 450°C で 4 時間焼いたグラスファイバーフィルター(Whatman, GF/F)に捕集後、クロロフィル *a* 量、懸濁態窒素 (PN)、懸濁態炭素 (PC)、懸濁態リン (PP) をそれぞれ測定した。クロロフィル *a* 量は分光蛍光光度計、PN と PC は CHN コーダ (Yanaco, MT-5 型) を用いて測定し、PP は過塩素酸と硝酸にて酸化分解した後、モリブデンブルー法にて測定した。残りの試水は濾過せず、全リン (TP) 及び全窒素 (TN) の測定に用いた。

## 3. 結果と考察

調査時の水温は内湖間でほとんど差はなく、8 月に最も高く(平均 24°C)、2 月に最低であった(平均 9.8°C)。透明度はいずれの内湖でも 0.5~1.9 m と低い、特に 10 月に最も低かった。

湖内のクロロフィル *a* 量は流入、流出点ではほと

んど検出されず、湖内では 0.2~125.4  $\mu\text{g/L}$  の範囲にあった。神上沼で最も高く、柳平湖、湖北野田沼がこれに続き、蓮池と浜分沼はいずれの調査日にも 15  $\mu\text{g/L}$  以下と低い値だった。SS は 1.5~31.8  $\text{mg/L}$  の範囲であり、やはり神上沼で最も高い。また 5 月には、いずれの内湖においても流入点で SS が高くなる傾向が認められた。PO<sub>4</sub>-P の流入点での濃度は、神上沼で最も高く 0.9~1.9  $\mu\text{M}$  であり、柳平湖と湖北野田沼がこれに次いで高かった。NO<sub>3</sub>-N の流入点での濃度は、逆に神上沼で最も低く、浜分沼で最も高い。一方、TP は 0.3~5.6  $\mu\text{M}$  の範囲であり神上沼で最も高く、TN は 13.2~90.3  $\mu\text{M}$  の範囲であり、内湖による違いはあまりない。

セストン生元素比は湖内での栄養バランスを示す指標となる。PC:PN 比は 3.7~15.5 の範囲であり概ねレッドフィールド比に近かった。PN:PP 比と PC:PP 比は共に季節的に大きく変動する傾向を示したが、蓮池と神上沼ではいずれの季節もレッドフィールド比を大きく下回り、また他の内湖でも 5 月と 10 月にはこれを下回ったところが多かった。

濁度は SS と高い正の相関関係を示したが( $r=0.83$ )、SS とクロロフィル *a* 量との間にはそれほど高い相関関係は認められない( $r=0.67$ )。これを内湖毎にみると、柳平湖と蓮池で高く( $r>0.9$ )、浜分沼と堅田内湖では低い( $r=0.51$ )ことが分かった。

セストン生元素比からみると、蓮池と神上沼で周年に渡って、また、その他の内湖でも 5 月と 10 月には、それぞれリン供給が高い可能性が示唆された。一方、流入点での PO<sub>4</sub>-P 濃度は神上沼と柳平湖で周年に渡って高かったが、他の内湖で 5 月と 10 月に高い傾向はみられなかった。クロロフィル *a* 量からみると、植物プランクトン生物量は神上沼と柳平湖で高く、蓮池、堅田内湖、浜分沼で低い。これらは、PO<sub>4</sub>-P 負荷量に関連しているようだが、セストン生元素比から見たリン供給とは一致しておらず、蓮池の低い、そして湖北野田沼の高いそれぞれ植物プランクトン量がうまく説明できない。発表時には、動物プランクトン組成やバクテリア密度と栄養塩、藻類密度、セストン生元素比との関連について考察する予定である。

\* 古田世子・岡本高弘・藤原直樹・一瀬 諭 (滋賀琵琶湖研セ) 宮田直幸 (秋田県大)

### 1. はじめに

琵琶湖北湖今津沖中央地点の湖底では、2002年11月に初めてメタロゲニウム粒子が観測された。それ以降ほぼ毎年夏から冬にかけて溶存酸素濃度(DO)の低下に伴いメタロゲニウム粒子が観測されるようになった。

メタロゲニウム粒子は、底層部が貧酸素化する成層湖において出現することが広く知られており、その主要成分はマンガンを、DOの低下により湖底から溶出したマンガニオンをマンガン酸化細菌等の微生物が酸化することで生成する何本ものフィラメントを持つ微粒子である<sup>1,2)</sup>。

本研究では、2002～2013年度において今津沖中央地点水深約90mで発生したメタロゲニウム粒子数と表層部で発生した植物プランクトンバイオマスとの関係について解析を行いメタロゲニウム粒子の生成環境について知見を得たので報告する。

### 2. 調査方法

調査日：2002年4月～2014年3月  
(毎月第1・3週月曜日)

調査場所：琵琶湖北湖今津沖中央地点

採取方法：バンドーン採水器

### 3. 計数方法

植物プランクトンの同定計数は、試料水1mLをプランクトン計数板に注いで100倍または200倍で検鏡した<sup>3)</sup>。植物プランクトン種ごとに湖水試料1mL当たりの細胞数を計数した後、一瀬らにより報告された細胞容積値<sup>3)</sup>を用いて、植物プランクトンの総細胞容積を算出した。メタロゲニウム粒子数はMiyajimaや一瀬らの方法<sup>1,2)</sup>により計数を行った。

### 3. 結果

今津沖中央地点表層(0.5m)における植物プランクトンの総細胞容積と同地点水深約90mで発生したメタロゲニウム粒子数の経年変化をみると、メタロゲニウム粒子の発生は、表層の植物プランクトン総細胞容積が顕著に増加した2～3か月後に主に発生していることが確認された。そこで、植物プラン

クトン総細胞容積の年間累積値(年間24回計測)とメタロゲニウム粒子数の年間累積値(年間24回計測)を求め、これらの値に対して相関係数を求めたところ $r=0.69$  ( $p<0.05$ )とメタロゲニウム粒子数と植物プランクトンバイオマスには正の相関があることが明らかになった。さらに、発生した主なプランクトン種をみると13年間平均値で57%が緑藻であった。そこで、珪藻主体であった2009年度と2013年度の2か年を除き再度相関係数を求めると、 $r=0.9$  ( $p<0.05$ )と非常に高い相関関係にあることが判明した。

### 4. 考察

湖沼におけるメタロゲニウム粒子の発生については、DO低下やpHの影響を受けることが既に知られている。しかし、メタロゲニウム粒子の発生と植物プランクトンバイオマス(特に緑藻)との関係性について明らかにした報告は今までなく本研究により明らかとなった知見である。

今後は、実際に発生したメタロゲニウム粒子の存在状況について観察を行い実態把握に努めたい。

**謝辞** 本研究の一部は、科学研究費助成事業基盤研究(B)課題番号26281042により助成を受け実施した。ここに記して謝意を表す。

### 参考文献

- 1) Miyajima T. (1992): Production of Metallogenium-like particles by heterotrophic manganese-oxidizing bacteria collected from a lake. Archives of Microbiology, 158,100-106.
- 2) Furuta S. et al. (2015): Formation of filamentous Mn oxide particles by the alphaproteobacterium *Bosea* sp. strain BIWAKO-01. Geomicrobiology Journal (in press)
- 3) 一瀬諭ほか (1999): 琵琶湖における植物プランクトン優先種の経年変化と水質. 用水と廃水, 4, 582-591.



\*安野翔（仙台市）・迫裕樹・鹿野秀一（東北大）・芦澤 淳・藤本泰文・嶋田哲郎  
（伊豆沼財団）・菊地永祐（宮教大）

### 1. はじめに

近年の安定同位体比を用いた研究により、湖沼においてメタン酸化細菌を起点とするメタン食物連鎖の存在が明らかになってきた。嫌氣的な堆積物中で生成されるメタンは、植物等に比べて極端に低い炭素安定同位体比（ $-80\sim-50\%$ ）を示す。一部の消費者は、メタン酸化細菌を摂食することで、メタン起源の炭素を同化し、低い炭素安定同位体比（ $\delta^{13}\text{C}$  値）を示す。このようにメタン食物連鎖に支えられる消費者は、主にユスリカ科幼虫で報告されている。

演者らは、2007～2008年にかけて宮城県伊豆沼でオオユスリカ幼虫の  $\delta^{13}\text{C}$  値の季節変化を調査し、堆積物中のメタン濃度が高まる 8～9月に幼虫の  $\delta^{13}\text{C}$  値が最も低下することを明らかにした。しかしその後、伊豆沼のハス群落が急速に拡大し、現在では湖面の 60%以上を覆い、ハス群落内では貧酸素化が生じている。メタン食物連鎖は、溶存酸素濃度の影響も受けることから、メタン食物連鎖の挙動も変化している可能性がある。

本研究では、オオユスリカ幼虫の  $\delta^{13}\text{C}$  値の季節変動パターンをハス群落内外において調査した。

### 2. 材料と方法

宮城県北部に位置する伊豆沼（面積 3.7km<sup>2</sup>、最大水深 1.6m）の中央部において調査を行った。

ハス群落内外の地点において、溶存酸素濃度測定器（HACH 社製 HQ30d）を用いて表層から 20cm ごとに溶存酸素濃度を測定した。

2014年6月から2015年5月にかけて湖底堆積物をコアサンプラーにて採集した。表層から 0-1cm と 5-6cm の層からヘッドスペース法にてメタンを採取し、ガスクロマトグラフィーで堆積物の湿重量当たりの濃度を測定した。

安定同位体比測定用に、各地点で懸濁有機物（POM）、堆積物、オオユスリカ幼虫（10～20個体）を2014年8月～2015年5月にかけて採集した。オオユスリカ幼虫については、脱脂処理を行った。質量分析計（Finnigan MAT DELTA Plus）にて炭素安定同位体比を測定した。

### 3. 結果と考察

湖底直上の溶存酸素濃度は、夏季にハス群落内外ともに顕著な低下が見られた。特に2014年8月では、1mg/Lを下回っており、ハス群落拡大前（2007～2008年）よりも貧酸化が生じていた。

ハス群落内外いずれにおいても、2014年9月に最も高いメタン濃度を示した。群落内外でメタン濃度にあまり差は認められず、ハス群落拡大前に比べ顕著な増加は認められなかった。

オオユスリカ幼虫の  $\delta^{13}\text{C}$  値は、秋から翌春にかけて低い値を示し、ハス群落内外で同様の季節変動パターンを示した。2014年8月には、ハス群落外でのみ幼虫が採集され、 $\delta^{13}\text{C}$  値は $-35.0\sim-31.1\%$ であったが、10月から翌年3月にかけて極端に低い  $\delta^{13}\text{C}$  値（ $-60\sim-40\%$ ）の個体が多く確認されたが、5月には低い  $\delta^{13}\text{C}$  値を示す個体は確認されなくなった。これは、秋季にメタン酸化細菌を摂食した個体が、翌春までに低い  $\delta^{13}\text{C}$  値を保持し、4月後半頃に羽化したためと考えられる。

ハス群落拡大前は、メタン濃度が高まる夏季に幼虫の  $\delta^{13}\text{C}$  値が最も低下した。しかし、今回確認された変動パターンは、夏季に湖底が貧酸素化する2回循環湖のものと類似している。夏季に湖底が貧酸素化することでメタン食物連鎖はあまり寄与しなくなる。しかし、秋季に湖底に酸素が供給されると、メタン酸化細菌が活性化し、メタン食物連鎖の寄与が増加したためと考えられる。

## メトリクスの推定

小林勇太（横浜国立大学・環境情報），＊岩田智也（山梨大学・生命環境）

## 1. はじめに

河川を流下する栄養塩は、海洋へと輸送される間に河床に取込まれていく。そのため、水系網における栄養塩除去プロセスの解明が、沿岸域の富栄養化を阻止する上で重要である。下流への窒素やリンの輸送には、小河川における栄養塩代謝が重要であると考えられてきた。しかし、流量  $18\text{m}^3/\text{s}$  以上の河川で栄養塩除去速度を観測した例はない。そのため、大河川が水系網の栄養塩輸送に果たす役割が過小評価されてきた可能性がある。

本研究は、流量  $40\text{m}^3/\text{s}$  以上の富士川本流を対象に窒素とリンのスパイラルメトリクスを推定する。さらに、河川の局所環境要因がスパイラルメトリクスに及ぼす影響を評価し、大河川における栄養塩代謝のホットスポットを特定することを目的とする。

## 2. 方法

野外調査は、山梨県富士川水系で行った。まず、流量や河川地形の異なる 9 河川において  $\text{NaCl}$  と浮子を同時に投入し、河川水の表面流速 ( $V_s$ ) と水柱流速 ( $V_c$ ) の一般関係を明らかにした。

富士川本流の調査は、9~10 月に行った。ゴムボートで観測者自身が流下しながら  $V_s/V_c$  比を参考に水塊を追跡し、同時に採水と物理環境の計測を行った。流程に沿った栄養塩濃度 ( $\text{NO}_3$ ,  $\text{NH}_4$ ,  $\text{PO}_4$ ) の減衰から、栄養塩原子の取込み速度  $U$  ( $\text{mmol m}^{-2} \text{h}^{-1}$ )、鉛直移動速度  $v_f$  ( $\text{cm/h}$ ) および平均取込み距離  $S_w$  ( $\text{km}$ ) の 3 つのスパイラルメトリクスを推定した。また、河川の局所環境要因 (光合成有効放射、水深、流速、水温、栄養塩濃度、N/P 比) が  $U$  に及ぼす影響を一般化線形混合モデルにより解析した。

## 3. 結果と考察

支流の 9 河川で実施したトレーサー実験により、表面流速と水柱流速の比 ( $V_s/V_c$  比) は河川サイズや河川地形にかかわらず一定であることが明らかと

なった (平均 =  $1.49 \pm 0.035\text{SE}$ )。この関係式を大河川に適用し、水塊の追跡を行った。

富士川本流のスパイラルメトリクスを推定したところ、 $\text{NH}_4$  と  $\text{PO}_4$  の除去速度  $U$  が高いことが明らかとなった。先行研究の小中河川のデータと比較しても、 $\text{NH}_4$  で 4.8~6 倍、 $\text{PO}_4$  で 6.2~18 倍と高く、大河川が高い生態系機能を有していることが明らかとなった。しかし、河川水中の高い  $\text{NH}_4$  濃度を反映し、水柱からの除去効率を示す鉛直移動速度  $v_f$  は低下し、同じく河川中の濃度が高い  $\text{NO}_3$  では河床から水柱へのフラックスが生じていた。

栄養塩の取込み速度  $U$  と河川の環境要因との関係を一般化線形混合モデルで解析したところ、流速が強く影響することが明らかとなった。とくに、 $\text{NO}_3$  の取込み速度  $U$  は流速の遅い場所ほど早い傾向がみられた。淵やワンドなどの局所的な停滞水域に嫌気環境が発達し、脱窒による  $\text{NO}_3$  除去のホットスポットとなっている可能性がある。一方、 $\text{NH}_4$  や  $\text{PO}_4$  の取込み速度  $U$  は流速と正の相関を示し、流速の早い瀬で溶質と河床が効率よく接触し、栄養塩の利用効率が上がっていると考えられた。

## 4. まとめ

本研究により、富士川本流の  $\text{NH}_4$  と  $\text{PO}_4$  の取込み速度はこれまで報告されてきた小中河川の値より高いことが明らかとなった。このことは、下流への栄養塩輸送における大河川の機能的役割を再検討する必要があることを示している。また、河川を流下しながら高解像度にスパイラルメトリクスの空間パターンをとらえることで、流速の遅い局所環境における高い  $\text{NO}_3$  除去効率を明らかにすることができた。従来の研究手法のような粗い空間解像度での栄養塩代謝機能の推定では、見過ごされてきた事実である。河床の均一化や流路の単調化をもたらす河川改修は、大河川における栄養塩取り込みの局所的なホットスポットを喪失させる可能性がある。

2A09

Web 公開不希望

### 1. はじめに

平常時における河川流量の多寡は水域における一次生産速度の変化を介して、底生動物・魚類の餌資源、付着藻類の剥離に伴う河川水の自濁作用に影響を及ぼす可能性がある。しかし、流量の多寡に伴う有機物代謝の変化は、測定が難しいこと、流量の制御が難しいことから観測報告は稀である。本研究では、以上に鑑み、流量が異なる環境下における一次生産速度、有機物フラックス等を測定し、その要因を分析することにより、今後の河川流量管理に資する。

### 2. 材料と方法

実験は岐阜県各務原市にある（国開）土木研究所自然共生研究センター内の実験河川中流区間（上流より 300m～500m）を用いて行った。本区間の平均河床勾配はおよそ 1/800、河床幅は 2.5m であり、河床材料は砂礫より構成されている。実験期間は 2004 年 8 月 15 日～9 月 1 日で、実験期間中は実験河川の流量を 0.025 m<sup>3</sup>/s, 0.15 m<sup>3</sup>/s, 0.25 m<sup>3</sup>/s と段階的に上昇させ、各流量における有機物代謝等を測定した。各流量時において最初の 3 日間を養生期間とし、測定はその後の 4 日間で行った。各流量の実験期間は合計 1 週間である。測定項目は以下の通りである。なお、自動観測が可能な溶存酸素及び光量子密度については 1 週間継続して測定を行った。a)一次生産速度の測定、b)河床付着物調査、c)流下 POM 調査、d)堆積物調査、e)底生動物調、f)魚類調査、g)流速・水深等の物理環境、h)流下時間、i)光量子密度の連続観測。

### 3. 結果

ここでは、一次生産速度の測定結果を中心に結果を述べる。溶存酸素の連続観測値に 2 点法

を適用して得られた総生産速度を日総生産量 (G.P.) の 3 日間の平均値で比較した。流量が大きい程、日総生産量が上昇する傾向が見られた。また、流下有機物を見ると、FPOM, CPOM の双方において「流出量－流入量」は流量が増加するにしたがい増加する傾向が見られた。

### 4. 考察

流量の増加に伴う日総生産量の上昇が確認された。有機物フラックスの変化は、付着藻類の生長速度の増大に伴う単位時間あたりの剥離量の増加、流下有機物の「流出量－流入量」の上昇の結果として生じたものと推測された。日総生産量に影響を与える環境要因としては付着藻類の光合成活性、光量子密度、水温、栄養塩濃度、流速が挙げられる。この中で、光合成活性、光量子密度は主要因とは考えられなかった。また、水温については要因としての可能性を判断することができなかった。一方、流量の増加に伴う流速の増加は付着藻類に対する栄養塩類の供給速度を増加させ光合成速度を上昇させることが既往の研究から指摘されており、本実験においても、流量増加に伴う日総生産速度の上昇の主要因と考えられた。ただし、栄養塩濃度が高い場合には供給量が低流速で飽和に達し、それ以上の流速の増加は一次生産速度の上昇に寄与しないとの報告もある。この時期の実験河川の栄養塩濃度は有機物生産の観点から高いことが過去の調査結果から明らかになっている。今後、付着藻類の膜内の栄養塩の動態を加味し、流量の多寡に伴う影響をより詳細に分析する必要がある。

\* 吉田丈人（東京大）

### 1. はじめに

淡水生態系は、陸上や海の生態系に比較して、生物多様性の減少が特に激しい生態系であることが、Living Planet Index や面積当たりの絶滅危惧種数などの指標にもとづき指摘されている。その主な原因として、侵略的外来種、生息地の劣化、乱獲など過剰利用、富栄養化、過剰な水利用などがあり、これらの原因は複合的に作用している。

ミレニアム生態系評価（2005）などでも指摘されているように、生物多様性の減少や生態系の劣化は、さまざまな自然の恩恵（生態系サービス）の低下をもたらし、人類の福利に影響することが懸念されており、自然共生型社会の実現は国内外において重要な社会目標の1つとなっている。

自然共生型社会の実現に向けた我が国の政策の1つに、自然再生推進法に基づく「自然再生」がある。里山里海湖は、自然と人の歴史的な関わりが形成してきた文化的な景観であり、多様な生態系サービスの持続的な利用を実現するモデルともされる。しかし、近年の生物多様性の減少や生態系の劣化は、地域社会における里山里海湖の持続可能性に大きな課題となっている。多様な関係者による協働、科学的な知見に基づく順応的管理、自然環境学習の推進などが鍵となる自然再生は、地域における生態系管理に貢献することが期待されている。

本講演では、福井県三方五湖地域で進みつつある自然再生の取組を紹介するとともに、陸水学を含めた科学の役割について議論する。

### 2. 自然再生の現状

福井県三方五湖地域では、2009～2011年に実施された総合的な環境研究により、自然再生に関する多くの課題が明らかとなり、それらの解決に向けた取組みが、地域の多様な関係者による協働のもとで始まった。2011年5月には、自然再生協議会が設立され、翌2012年3月には、3テーマで20の個別目標からなる自然再生全体構想がまとめられた。自然再生のテーマとして、「多様な魚介類がすみ、水鳥が羽ばたく水辺の再生と保全」、「三方五湖の自然を活かした地域のにぎわい再生」、「生活の中で受け継がれてきた湖の文化の伝承」が掲げられたが、狭い意

味での自然の再生だけではなく、里山里海湖の社会-生態系を一体的に捉えた再生目標が設定された。2013年3月には、この全体目標にもとづく自然再生事業実施計画がまとめられ、現在はその計画に基づいた6部会が自然再生の取組を進めている。また、それぞれの部会には少なくとも1名の研究者が参加しており、地域の関係者と協力しながら自然再生を進めている。

### 3. 自然再生の課題

自然共生型社会の実現に向けた自然再生を進めていくにあたって、新たな脅威とも言える状況が懸念されている。その一つは気候変動である。最新の予測によれば、今世紀末にかけて日本でも温暖化が進み、年降水量は大きく変化しないものの、大雨の規模が大きくなることが予測されている（環境省2014）。気候変動は、自然生態系のみならず、社会-生態系にさまざまな影響をもたらすことが懸念される。また、日本の人口は今世紀末にかけて減少の一途をたどることが予測されており、特に地方においては減少傾向が著しく、里山里海湖における管理の担い手が不足することが懸念されている。さらには、さまざまな社会インフラが老朽化しつつあり、財政的な問題を抱える中で、インフラの更新は大きな課題となっている。そのような状況では、豊かな自然資本にもとづく生態系サービスの持続的な利用はますます重要になると予想されるが、一方で、自然再生が直面する課題は増えこそすれ減ることはないとも予想される。

### 4. 科学の役割

自然再生が科学的知見に基づくことの重要性は自然再生基本方針にも明記されているが、多様な関係者がもつ多様な価値がからむ自然再生の現場で求められる科学は、研究者だけで創りだせるものではないだろう。社会と科学が協働する中から科学の役割を見つけ出すとともに、地域知・伝統知と科学知が融合する中から課題を解決していく方法論自体が、科学のフロンティアとなっている。「場」を対象とする陸水学は、閉じこもらず、広がっていかねければ、現代社会の要請に応えることが難しくなっていると言えるだろう。

高村典子（国環研）

淡水域は地球上の表面積の 0.8% を占めるにすぎない (Dudgeon et al. 2006)。しかし、その小面積に極めて多くの数の生物種が生育・生息している。例えば、淡水の動物種は約 125,000 種が記載されているが、これは地球上の全記載動物種数の 9.5%、全脊椎動物種の 1/3 に相当する (Strayer and Dudgeon 2010)。また、Nelson (2006) によると記載魚類 32,500 種の 43% が淡水域で見られる種である。さらに、古代湖であるタンガニカ湖では 240 種の魚種の 216 種、マラウィ湖では 545 種のうちの 523 種、ビクトリア湖では 288 種のうちの 263 種が固有種である (Pitcher and Hart 1995)。このように淡水域は生物の種多様性が極めて豊かで固有種が卓越するという特徴を有する。これは、淡水生態系の地質学的・地理学的な成因とその特性に大きく依存している。湖沼などの止水域は陸で切り離された「島」であり、限られた小空間で独自の種分化が進んだと考えられる。河川も連続性があるとはいえず、流域ごとに源流から下流域といった一方向のヒエラルキー的な配置をしているため、生き物もそうしたネットワークの特徴に依存した分散をする。甲殻類（十脚目）、貝類、水生昆虫などの水生生物種は、こうした環境に適応してきたため移動・分散能力が低いという特徴があり、たとえ地理的な距離が近くとも異なる流域間での行き来は制限される。特に、河川の源流域はすべての水生生物種にとっては孤立性が高いハビタットである。さらに、河川生物の分布は、滝、川の勾配、合流パターンなど、その河川に特徴的な地形にも左右される。このように、淡水域ではたとえ同じ地域内であっても湖盆間や流域間で  $\beta$  多様性が高く、これが地域の種多様性に貢献している。淡水生態系の生物種のこうした特徴から、気候変動や人為的なインパクトに極めて脆弱であることが容易に推察される。

一方で、水は生命の源であり安定した良質の水の供給は人間の生活ならびに経済活動には不可欠である。水は地球上で偏在するという特質があり、不足しても過多になっても、災害をもたらすなど社会

に悪影響がある。そのため、地球上の淡水環境は、ダム建設、河川の直線化、堤防・護岸、移送水路や導水などにより、これまで大きく改変されてきた。現在、全球の河川システムは約 100 万箇所ものダムで分断化され、ダムは本来なら沿岸域へ到達する土砂の 25% をダム底にトラップし、河川水量の 50% 以上は灌漑用水などにより海に到達するまでに引き抜かれ、過度の水利用で乾季などに海まで水が到達しない河川が 25% ある。さらに、水質の悪化、水産有用種の過剰利用、外来種の侵入などが加わり、淡水生態系の健全性や生物多様性は、他の生態系に比べ著しく損なわれている (MEA 2005, Vörösmarty et al. 2010)。2014 年に公表された Living Planet Index (科学者と公的機関により過去 40 年以上にわたりモニタリングされてきた、脊椎動物 3,038 種以上、10,380 個体群を対象として、各個体群の個体数の変動を調査し、個体群変動の傾向を 1970 年の状態を基点として表したもの) では、陸域と海域が 39% 減に比べ淡水域は 76% 減という数値が示されている。このような現状を考えると、淡水域の利用と保全・保護のバランスをどのようにとるべきなのかは、今後の大きな課題である。そのためには、生物多様性や生態系の状況を評価するためのモニタリングや情報収集・整備を一元化し、それを政策や合意形成に使えるようにしていくことが必要となっている。

演者は、2011-2015 年環境省環境研究総合推進費戦略研究開発プロジェクト「アジア規模での生物多様性観測・評価・予測に関する総合研究」のサブテーマ「陸水生生態系における生物多様性損失の定量的評価に関する研究」や環境省モニタリングサイト 1000 の湖沼分科会など、生物多様性評価や生物多様性モニタリングに携わってきた。こうしたプログラムで明らかになった日本の淡水域の生物多様性評価やモニタリングの現状を簡単に紹介し、問題点や課題を述べる。

\*木村成子・山田剛史・伴 修平（滋賀県大）小山光彦・戸田龍樹（創価大）・石川可奈子（滋賀琵琶科研セ）

### 1. はじめに

近年、琵琶湖南湖において水草の大量繁茂による水質や景観の悪化、漁船の運航障害などが問題となっており、水草処理技術の開発は危急の課題である。現在、水草は刈り取りによって除去され、主に堆肥化されている。我々は、水草を有効活用するためにメタン発酵によるバイオガス化を推進している。しかしながら、メタン発酵消化液には高濃度の栄養塩が含まれており、その処理法が問題となる。微細藻類は、汚水からの高い栄養塩除去能力を有するとともに、それら自体が高機能性飼料としての利用価値を有する。そこで、本研究では、微細藻類を用いて水草を原料としたメタン発酵消化液から栄養塩を効率的に除去するための条件の検討を行った。

### 2. 材料と方法

2014年8月に琵琶湖南湖において、オオカナダモ、コカナダモ、センニンモおよびマツモを採取した。各水草と消化汚泥を混合し、37℃で14日間、メタン発酵処理を行った。琵琶湖の水草組成を反映した混合区（オオカナダモ：コカナダモ：センニンモ＝2：2：6で混合）も設けた。アンモニア耐性が高いとされる *Chlorella sorokiniana* を各消化液（オオカナダモ、コカナダモ、センニンモ、マツモ、混合区）を用いて培養し、最適培養条件の検討を行った。培養は、温度が25℃、光強度が110 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>、12時間明暗周期で行った。1日ごとに吸光度（680 nm）を測定し、増殖曲線を描いた。以下の4つの実験を行った。

- 1) 消化液に含まれる高濃度アンモニア態窒素が、藻類の増殖を阻害することが知られているため、10、25、50および100倍希釈した各消化液とC培地を用いて *C. sorokiniana* を培養し、増殖に最適な消化液希釈倍率を調べた。
- 2) 次に、希釈消化液に *C. sorokiniana* の増殖に必要な栄養塩が充分量含まれているのか、あるいは増殖阻害物質が含まれているのか調べるため、

C培地成分を加えた希釈消化液を用いて *C. sorokiniana* を培養した。

- 3) 希釈消化液中の不足成分を特定するため、C培地を構成する各成分を一つずつ除いて希釈消化液に加え、*C. sorokiniana* を培養した。
- 4) 最後に、希釈消化液、それにMgのみを添加した場合とC培地成分すべてを添加した場合で、*C. sorokiniana* を培養し、培養前後の栄養塩（PO<sub>4</sub>-P、NH<sub>4</sub>-N）濃度を測定した。

### 3. 結果と考察

- 1) 全ての消化液において、*C. sorokiniana* は10倍希釈消化液で最もよく増殖した。従って、以後の実験には10倍希釈消化液を用いた。しかし、10倍希釈消化液で培養した *C. sorokiniana* の最終収量は、C培地で培養した時のその1/2-1/15と低かった。
- 2) C培地成分添加希釈消化液を用いて培養した *C. sorokiniana* の最終収量は、非添加消化液を用いた場合より約2倍高く、希釈消化液中には微細藻類が増殖するための十分な栄養塩が含まれていないことが示唆された。
- 3) Mgを除いたC培地を加えた希釈消化液で培養した場合にのみ、*C. sorokiniana* の増殖は、C培地成分を加えない希釈消化液のみで培養した場合と同じであった。これは希釈消化液中に不足していた成分がMgであることを強く示唆した。
- 4) 希釈消化液のみで培養した場合、PO<sub>4</sub>-PとNH<sub>4</sub>-Nの除去率はいずれも50%に満たなかったが、Mgを添加した場合とC培地成分すべてを添加した場合では除去率はいずれも80%を上回った。

これらの実験結果によって、水草を原料としたメタン発酵消化液にMgのみを添加することによって、*C. sorokiniana* の最終収量と栄養塩除去率を最大化できることが明らかとなった。

\*小野隆行・岸本直之（龍谷大）・一瀬 諭・古田世子（滋賀琵琶湖科研セ）

### 1. はじめに

琵琶湖南湖では断続的に藍藻類の増加によるカビ臭問題が発生している。この問題の原因は主に糸状性藍藻によるもので、その中には *Phormidium tenue* (*Pseudanabaena* sp.) と同定されている糸状性藍藻<sup>1)</sup>が存在し1970年以降増殖がみられ、底質表面に付着する特性があることが分かっている。

そこで本研究では、*Phormidium tenue* の生活史における浮遊生活と付着生活の役割に着目し、底質近傍における *Phormidium tenue* の増殖挙動を把握するために、南湖湖底環境を模擬した低照度培養条件下で、液体及び寒天培地を用いて *Phormidium tenue* の増殖特性を評価した。

### 2. 材料と方法

琵琶湖水から分離した *Phormidium tenue* を M11 改変培地にて前培養し、培養液を作製した。今回の実験は琵琶湖南湖湖底環境を想定しているため、南湖平均水深 4m、透明度 2.2m とした時の光合成有効放射  $12 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  を基本とした。

本実験では光条件を変化させて液体培地 (M11 改変培地) と寒天培地 (MDM 培地) にて 3 連回分培養実験を行った。光強度 (光合成有効放射) は 6.5、12、18  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  の三段階で行った。液体培養は三角フラスコで、寒天培養はピオラモ細胞培養プレートにて培養実験を行った。

### 3. 結果

本研究では、設定した条件にて培養を行い、比増殖速度及び定常期における最大糸状体数を算出した。Fig. 1 に比増殖速度、Fig. 2 に定常期における最大糸状体数を示す。

液体培養での比増殖速度は寒天培養での比増殖速度より 1 桁程度大きかったが、明確な光強度依存性は認められなかった。一方、寒天培養では、光強度の低下に伴い増殖速度が低下した。最大糸状体数についても同様に、液体培養では光強度依存性が顕著ではなかったが、寒天培養では特に  $6.5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  の弱光条件において顕著な低下が認められた。

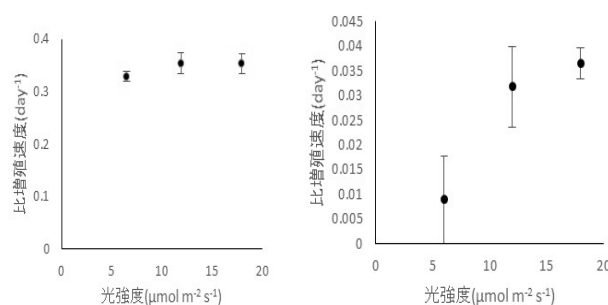


Fig. 1 液体培養(左)及び寒天培養(右)の比増殖速度

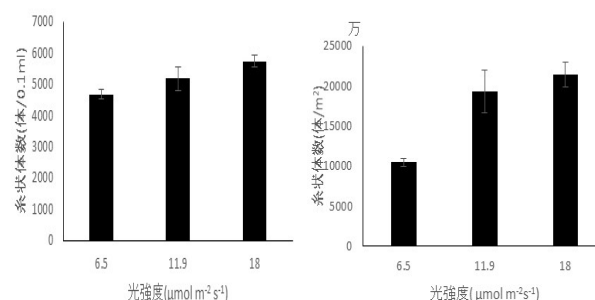


Fig. 2 液体培養(左)及び寒天培養(右)の定常期における最大糸状体数

### 4. 考察

前述のように、液体培養では光強度の値を変えても、比増殖速度や最大糸状体数に大きな変化は見られず、寒天培養では、弱光条件において、比増殖速度および最大糸状体数の顕著な低下が認められた。液体培養の方が寒天培養よりも高い比増殖速度を示したことも考え合わせると *Phormidium tenue* は、浅い湖沼の底層部において底質表面の付着状態よりも主として浮遊状態で増殖していることも考えられるため、これを明らかにするよう研究を進めていきたい。

#### 参考文献

- 1) 竹本那子ら (2012) 日本水処理生物学会誌 48(4), pp. 157-163 琵琶湖産の糸状カビ臭産生藍藻 *Phormidium tenue* の細胞内微細構造観察: 軟 X 線顕微鏡と透過型電子顕微鏡および低真空クライオ走査型電子顕微鏡を用いた比較観察



\*二木功子・朴 虎東・宮原裕一・花里孝幸（信州大）

### 1. はじめに

近年の諏訪湖は、各種の富栄養化防止対策が進展し、リン・窒素の外部負荷が減少している。その結果、湖内に発生する植物プランクトンの組成も変動し、藍藻は現存量の減少や種の変化が観察される。糸状緑藻の接合藻 *Mougeotia* 属は、諏訪湖で50年ぶりに出現し2011年8月から12月初旬まで優占した(二木ら, 2015)。2012年以降にも、春と秋に出現をしているが細胞数は少ない。植物プランクトン群集は異なった生活戦略を持ち、特定の種が優占することは稀である。*Mougeotia* 属の出現が報告されている湖沼は、頻りに攪拌される表層部である(Reynolds, 2002)。*Mougeotia* 属の出現がみられる2011年から2013年までの *Mougeotia* 属の消長に及ぼす環境要因を明らかにすることを目的とした。

### 2. 材料と方法

植物プランクトンの生物量は、2011年から2013年にかけて プランクトン計数チャンバー(離合社, 東京)を用いて、細胞数を光学顕微鏡(BX51, Olympus, 東京)で計数した。諏訪湖の観測データは、信州大学諏訪湖実験所報告(沖野ら, 1997及び山山水環境教育研究センター研究報告;花里ら, 2003;宮原ら 2007;2013)を使用した。降水量などの気象データは、気象庁の諏訪特別地域観測所において測定されたデータを用いた。データの統計解析は、クラスター分析(Origin Pro 9.0, Origin Lab., MA.)を用いた。

### 3. 結果と考察

#### 3.1. 諏訪湖の表層のリン酸態リン(RP)とNO<sub>3</sub>-N濃度の変化

諏訪湖の表層の溶存態リン(RP)濃度とNO<sub>3</sub>-N濃度の変化を1992年から2013年まで比較した。RP濃度は1992年9月に最高値(123~136 μg PO<sub>4</sub>-P L<sup>-1</sup>)を示したが、1999年から減少し2000年以降は年間を通して20μg L<sup>-1</sup>以下を示し、1992年9月の値と比較すると2011年9月では約1/20の濃度で10μg L<sup>-1</sup>以下に減少した。

*Mougeotia* sp. は低濃度のRP消費型競争種であることが報告されている(Sommer, 1987)。一方で表層のNO<sub>3</sub>-N濃度は、季節変化の大幅な増減が観測される。例えば2011年8月下旬(0m:124, 3m: 224, 5m: 440μg NO<sub>3</sub>-N L<sup>-1</sup>)と9月下旬(0m: 642, 3m:

654, 5m: 854μg NO<sub>3</sub>-N L<sup>-1</sup>)は表層で約3~5倍と上昇した。この期間に *Mougeotia* 属の細胞数も表層と同様に増加を示した。NO<sub>3</sub>-N濃度は *Mougeotia* 属の生物量の増加に伴い減少が観察された。

#### 3.2. 降水が *Mougeotia* 属の消長に及ぼす影響

2007年から2013年までの降水量を1月~12月の期間クラスター分析において比較すると、2011年の降水パターンは他の年とはクレードが異なった。4つの台風(7月19日, 8月9日, 9月5, 26日)に影響された降水が関与した諏訪湖では、①透明度の増加, ②pHの減少, ③水温の低下, ④5m以深まで光が確認された。データカーによる水温の連続観察では、8月~9月までに表層と深層(0, 3, 5m)の水温差が減少し温度成層は不安定であったことが観察された。

*Mougeotia* 属の8月の出現(水温24.7±0.4℃)は、湖水の攪拌や希釈の影響が考えられた。

一方で *Mougeotia* 属の生物量は、10月中旬の全循環後(水温15.7±1.2℃)さらに増加が確認された。

降水後の水温低下、水温成層の乱れ、NO<sub>3</sub>-N濃度の増加、RP濃度の減少は、藍藻の出現を抑えて、*Mougeotia* 属の増加に有利に働いた。

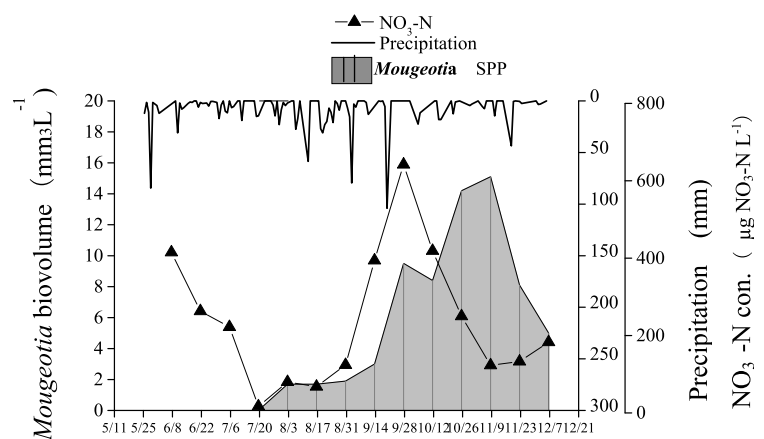


図1 諏訪湖における *Mougeotia* 属の消長と環境要因

\*中村剛也・朴 虎東・宮原裕一・花里孝幸 (信州大)

### 1. はじめに

中村ら(2010; 2013)は、湖の滞留時間が諏訪湖におけるアオコの発生に大きな影響を与えていることを示した。一般的に、滞留時間は集水域への降水量で変動する。しかし、積算降水量が同じ年であったとしても、降雨パターンは年によって様々であり、滞留時間の日変動も年によって変化する。そこで、本研究は、諏訪湖における滞留時間の変動が藍藻優占に与える影響を評価した。特に、アオコ形成種の藍藻が増殖する時の降雨イベントである梅雨の期間に着目して解析した。

### 2. 方法

本研究では、6月から10月の積算降水量がほぼ同じであり、降雨パターンとアオコの発生規模の異なる1998年と1999年、2006年を対象として(1998年: 1,004 mm; 1999年: 985 mm; 2006年: 1,006 mm)、滞留時間の日変動とアオコ形成種の藍藻現存量(*Microcystis* および *Aphanizomenon flos-aquae*)との関係を解析した。

梅雨の期間および降水量は気象庁の統計データを利用した。

### 3. 結果と考察

1998年と1999年、2006年の梅雨の期間は、それぞれ6月2日から8月2日、6月17日から7月23日、6月9日から7月30日であった。この期間、滞留時間が20日以下になる積算日数は1998年(6日間)、2006年(13日間)、1999年(17日間)の順で多くなった。梅雨後のアオコの発生規模は滞留時間20日以下になる積算日数が少なかった年程大きかった。

1999年と2006年を比較すると、1999年はアオコ形成種の藍藻が  $1.2 \text{ mm}^3 \text{ L}^{-1}$  という低い最大現存量であったが、2006年では  $10 \text{ mm}^3 \text{ L}^{-1}$  程度の小規模なアオコが発生した。この要因として、2006年はアオコ形成種の藍藻が梅雨後も  $1 \text{ mm}^3 \text{ L}^{-1}$  以上確認できたが、1999年では検出限界以下となったことが挙げられる。

以上のことから、梅雨における希釈の影響が1年のアオコの発生規模を制御すると考えられ、この時、ア

オコ形成種の藍藻が検出限界以下になる程に希釈されると、その年はアオコが発生しないことが示唆された。

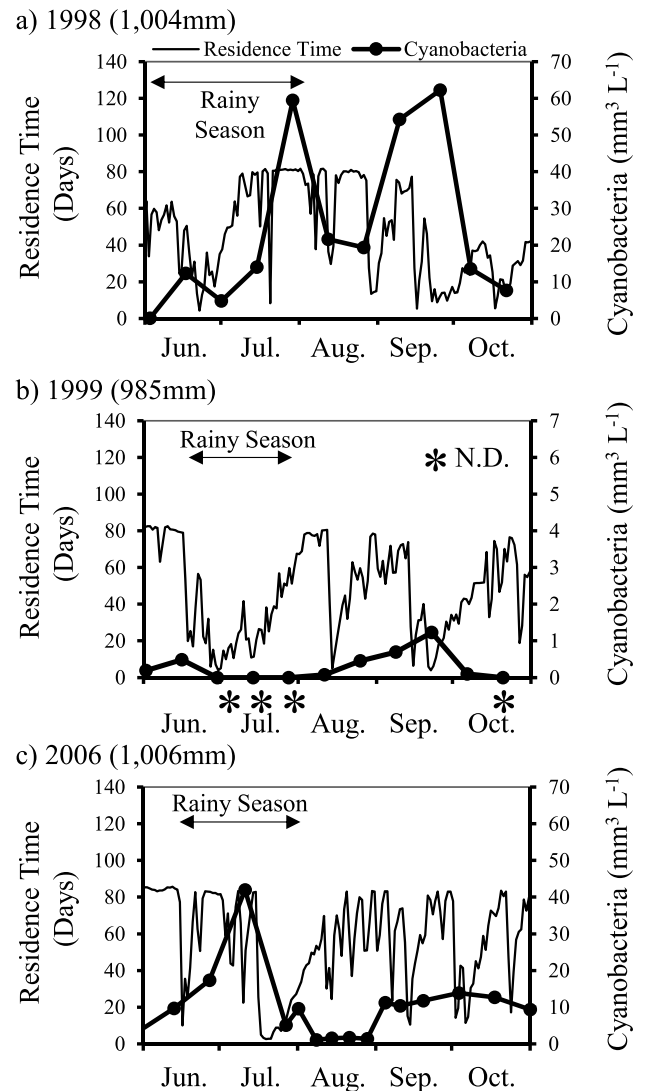


Fig.1 1998年および1999年、2006年における滞留時間とアオコ形成種の藍藻現存量との関係。各年の隣にあるカッコ内の数値：6月から10月の降水量。矢印の範囲：梅雨の期間。\*：検出限界以下。

### 文献

中村剛也ら(2010): 水環境学会誌, 33: 123-129.

中村剛也ら(2013): 日本水産学会誌 79: 851-862.

2A17

Web 公開不希望

\*小林淳希・宮下洋平・今井一郎 (北大院・水産)

## 1. はじめに

北海道渡島大沼では湖沼の富栄養化が進行し、有害毒藍藻類のブルーム (アオコ) が毎年発生している。アオコは湖水の異臭や毒化、水生生物への悪影響や景観の悪化等の問題を起こすため、早急な対策が必要である。アオコ対策としては、直接的な除去や薬品投与による殺藻除去等の方法があるが、コストや環境への影響が懸念され、有効な環境に優しい手法は確立していない。しかし近年、アオコ原因藻類を殺滅する殺藻細菌や増殖阻害細菌を活用した方法が提案されている。殺藻細菌は湖水中にも存在するが、水草ヒシなどの表面バイオフィルム (BF) に高密度に生息することが発見された。そのため、ヒシ BF 由来の殺藻細菌が周辺湖水中に供給され、アオコの発生制御 (特に予防) の働きをしている可能性がある。本研究では、北海道渡島大沼湖沼群において、ヒシが繁茂する地点と繁茂しない地点より細菌を分離し、ヒシ帯を活用したアオコの発生防除の可能性について検討を行った。

## 2. 材料と方法

湖水とヒシの採集は2014年5月から10月まで毎月、ヒシが繁茂する蓴菜沼と旧流山温泉調整池、及びヒシの繁茂が見られない渡島大沼の船着き場の3地点で行った。各地点のヒシ試料は葉と水中根に分けて実験に供した。試料に滅菌蒸留水を加え、600回強振して表面BFを剥離させBF懸濁液を作成した。BF懸濁液と湖水をそれぞれ適宜段階希釈し、 $ST10^{-1}$ 寒天培地に塗抹して従属栄養細菌にコロニーを形成させた。細菌を分離後、CT培地で培養した *M. aeruginosa* (Ma17株) を細胞密度約  $1.0 \times 10^5$  cells  $mL^{-1}$  となるように48区画のウェルプレートに0.8

$mL$  ずつ分注した。分離培養した細菌株を、滅菌爪楊枝を用いて各ウェルに接種し、温度  $25^{\circ}C$ 、光強度  $100 \mu mol photons m^{-2} s^{-1}$ 、明暗周期 14 hL: 10 hD の条件下で2週間の共培養を行った。その後、倒立顕微鏡で細菌による *M. aeruginosa* の殺藻と増殖阻害を判定し、殺藻細菌及び増殖阻害細菌の密度を算出した。

## 3. 結果と考察

蓴菜沼及び流山温泉調整池より採取したヒシBFより、部位に関わらず  $10^7$  CFU  $g^{-1}$  wet weight のオーダーの密度で殺藻細菌及び増殖阻害細菌の生息が確認された。湖水中の殺藻細菌は、船着き場では  $3.6 \times 10^2$  CFU  $mL^{-1}$ 、ヒシが繁茂している蓴菜沼及び流山温泉調整池では、それぞれ  $9.0 \times 10^2$  CFU  $mL^{-1}$ 、 $2.2 \times 10^4$  CFU  $mL^{-1}$  の密度であった。特に夏季に一面がヒシで覆われる流山温泉調整池では、船着き場と比較して約100倍の密度で殺藻細菌が検出された。ヒシが繁茂しない船着き場と比較して、繁茂する蓴菜沼と流山温泉調整池において、殺藻細菌が格段に高密度に検出された。また、ヒシ表面のBFから殺藻細菌が高密度に見出されたことから、本来ヒシの表面に付着生息していた殺藻細菌が湖水中に供給され、アオコの発生防除に寄与している可能性が改めて示された。これに関してはBF由来の細菌とヒシ帯の湖水中の細菌の遺伝子による同定・比較を行い、確認を行う予定である。本研究より、水草ヒシを活用したアオコの発生防除の可能性が示された。今後は他の水草も考慮し、「水生植物帯」が有するアオコの発生防除能に関して、多角的な視点から検討を行う予定である。

\*辻 智也（龍谷大院・理工），岸本直之（龍谷大・理工）

### 1. はじめに

滋賀県では琵琶湖の水質保全の為に多様な施策を実施しており，流域から排出される汚濁負荷量は減少している。しかし，有機物汚濁の指標であるCODは減少しておらず，湖内の一次生産の影響が示唆される。湖内の一次生産は水草や付着藻類などの湖内植物や植物プランクトンによるものである。現在南湖では沈水植物が大量に繁茂しており，これらが湖内水質に与える影響は無視できないと考えられるが，植物プランクトンの一次生産量に関しては知見が蓄積されつつある（KISHIMOTO *et al.*, 2015など）ものの，沈水植物の一次生産やそれと有機物汚濁，低酸化化との関係は明らかにされていない。効果的な水質保全施策を行うためには，各種施策の実施に対する湖内水質の応答を精度良く予測する必要があり，シミュレーションモデルの活用が有効であるが，現状の琵琶湖水質モデルは沈水植物がモデル化されていないこともあって南湖の水質分布をあまり再現できていない（佐藤ら，2011）。よって，沈水植物の一次生産に伴う水中への有機物負荷を把握する必要があると考えられる。そこで本研究では，湖底直上の溶存酸素濃度と現存量の相関が強いオオカナダモ（芳賀ら，2006）による有機物排出特性を評価した。

### 2. 方法

オオカナダモを容積 900mL の培養瓶に入れて約 1 ヶ月間（明 12h，暗 12h）培養し，2~4 日毎に水質 6 項目の測定を行った。温度を 10°C，20°C，30°C，光合成有効放射は全て  $14.9\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  に設定した。培地にはろ過した湖水を用いた。栄養塩制限実験ではろ過した湖水にリン酸二水素カリウム，硝酸カリウムを添加して濃度を調整した培地を用いた。水質測定時にオオカナダモのバイオマスを測定した。また，得られた実測値より培養瓶内の全有機炭素濃度の経時変化を以下のモデル式を用いて再現した。

$$V \frac{dC}{dt} = KM - kCV$$

ここで  $V$  : 培養瓶の容積 (L)， $C$  : 全有機炭素濃度 ( $\text{mg L}^{-1}$ )， $K$  : 有機物排出速度定数 ( $\text{mg g}^{-1}\text{day}^{-1}$ )， $M$  : オオカナダモのバイオマス (g)， $k$  : 水中細菌による有機物分解速度定数 ( $\text{day}^{-1}$ )， $t$  : 培養日数 (day) とした。このモデル式を積分し，カーブフィッティングして有機物排出速度定数  $K$  を算出した。本研究では有機物排出能力を比較するために各条件の有機物排出速度定数  $K$  を比較することとした。

### 3. 結果

各実験条件での有機物排出速度定数  $K$  を図 1，2 に示す。温度影響評価では 30°C のとき， $0.198\text{ mg g}^{-1}\text{day}^{-1}$  となった。10°C，20°C と比較したところ有意な差が得られた ( $p < 0.05$ )。リン制限実験では  $0.1\text{ mgP L}^{-1}$  のとき  $2.45\text{ mg g}^{-1}\text{L}^{-1}$  となり  $1.0\text{ mgP L}^{-1}$  と比較したところ有意な差が得られた ( $p < 0.05$ )。窒素制限実

験では濃度間に有意な差は得られなかった。

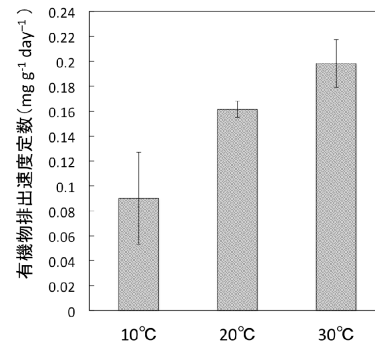


図 1. 各温度での有機物排出速度定数 (エラーバーは標準偏差)

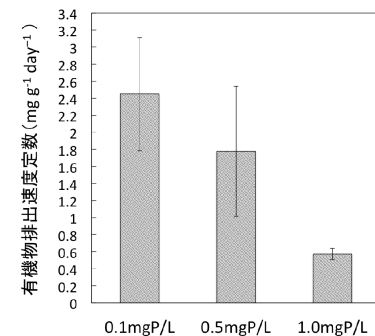


図 2. リン制限実験での有機物排出速度定数 (エラーバーは標準偏差)

### 4. 考察

図 1 より，温度が高くなるほど有機物排出速度は増加する結果となった。既存の水質シミュレーションによる夏季の有機物濃度が再現できていないのは沈水植物による有機物排出の影響をうけていることが示唆された。図 2 より，リン濃度が高いほど有機物排出速度は低下する結果となった。これはオオカナダモの生合成により一次生産有機物が藻体内で利用されたためと考えられた。本研究では底泥の栄養塩と季節による光強度の違いは考慮していない。湖内の沈水植物による有機物排出量を把握するためにはこれらのことも考慮した沈水植物の種ごとの有機物排出特性を評価する必要があると考えられる。

#### 参考文献

- Naoyuki.KIHMOTO *et al.* (2015) Does a Decrease in Chlorophyll *a* Concentration in Lake Biwa Mean a Decrease in Primary Productivity by Phytoplankton? *Journal of Water and Environment Technology*, Vol. 13, No.1, 2015
- 芳賀裕樹ら (2006) 琵琶湖南湖における固定直上の溶存酸素濃度と沈水植物群落現存量の関係について. *陸水学会誌*. 67 : 23-27
- 佐藤祐一ら (2011) 陸域-湖内流動-湖内生態系を結合した琵琶湖流域水物質循環モデルの構築とその検証. *水環境学会誌*. 34 (9) :125-141

\* 三角恭平・春日郁朗・栗栖太・古米弘明（東京大）

## 1. はじめに

湖沼内の溶存有機物（Dissolved Organic Matter: DOM）の動態を把握する上で、DOM→細菌→原生動物という炭素フローで示される「微生物ループ」が注目されている。湖沼 DOM の起源は多様であり、どのような起源からの DOM が微生物ループに流入しているのか、各起源の DOM に対する細菌群の応答に差異があるのかどうか、など不明な点が多い。そこで本研究では、流入河川由来、底泥由来、藍藻由来の3種のDOMに、印旛沼湖水中の微生物を植種し、各起源のDOMに反応して増殖する細菌群の特定を試みた。それらの結果と、実際の湖水中で増殖活性の高い細菌群とを比較し、印旛沼の微生物ループを駆動しているDOMの起源を推定した。

## 2. 材料と方法

2014年12月に千葉県印旛沼の表層水を採水した。湖水由来微生物の植種源として、孔径10 $\mu\text{m}$ のフィルターでろ過した湖水（湖水<sub>10</sub>）を用意し、さらに孔径0.2 $\mu\text{m}$ のフィルターでろ過、低温加熱滅菌（75 $^{\circ}\text{C}$ 、1時間）し無菌湖水を調製した。また、流入河川である鹿島川の河川水、印旛沼底泥溶出水、藍藻 *Microcystis aeruginosa* 培養液も、同様に無菌化処理した。無菌湖水（湖水DOM）、およびこれらの各起源のDOMに、湖水<sub>10</sub>を約1/10量添加し、19.0 $^{\circ}\text{C}$ で暗所培養した。各培養系における初期DOCは、4.2~5.3 mgC/Lであった。フローサイトメーターを用いて各系の全菌数を経時的に計測した。培養開始時の共通の植種源（湖水<sub>10</sub>）、全菌数の増加がほぼ最大に達した時点、全菌数が減少して安定した時点の試料を対象として、16S rRNA 遺伝子を標的としたアンプリコンシーケンシングにより、細菌群集構造を解析した。

## 3. 結果および考察

各培養系ともに、60~80時間後に全菌数が最大に達し、その後、減少して10<sup>6</sup> cells/mLオーダーで安定する傾向を示した。

図1に、共通の植種源である湖水<sub>10</sub>と、各系において全菌数が最大になった時点での目レベルでの細菌群集構造を比較して示した。湖水DOMを用い

た培養から、湖水中で増殖活性の高い細菌群は、Betaproteobacteria 綱の Burkholderiales 目に属する細菌群であった。河川水DOM、底泥DOMに対しては、培養前後で Betaproteobacteria 綱の Burkholderiales 目に属する細菌群の割合が湖水DOMと同様に増加したが、藍藻DOMに対しては Betaproteobacteria 綱の Methylophilales 目に属する細菌群の割合が増加するという差異が見られた。一方、湖水DOMと異なる起源のDOMの各系において、最大菌数になった時点の細菌群集構造の非類似度を比較すると、河川DOM（0.11）<底泥DOM（0.24）<藍藻DOM（0.43）であった。また、全菌数が減少して安定した時点の細菌群集構造も、湖水DOMと最も類似していたのは河川DOMの系であった。実際の湖水中における細菌群の動態と、河川DOMに対する細菌群の動態が極めて類似していたことから、採水時の印旛沼の微生物ループを駆動していたDOMの起源は、主に流入河川由来のDOMであると推測された。

## 4. まとめ

異なるDOMに対する湖沼細菌群の動態から、微生物ループを駆動するDOMの起源を評価することを試みた。その結果、2014年12月の印旛沼では、主に Burkholderiales 目の細菌群が高い増殖活性を有し、流入河川由来のDOMがそれらの増殖を主に支えていると推測された。

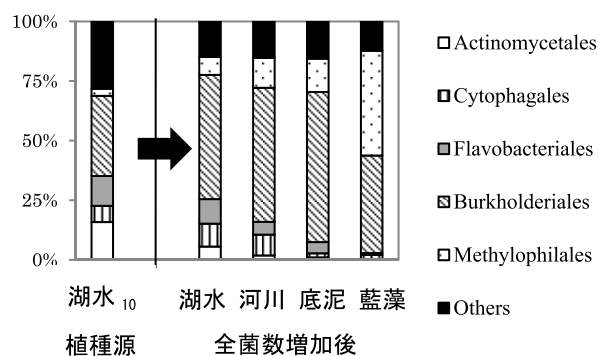


図1 植種源と全菌数増加後の細菌群集構造の比較

\*伊藤 和輝 (信州大学大学院 理工学系研究科)

花里 孝幸 (信州大学 山岳科学研究所)

### 1. はじめに

湖沼沿岸域に生育する水草によって湖沼の水質(水温,溶存酸素濃度,pH等)に空間的な多様性が生じており,多くの生物種の生息が可能となっていると考えられている.湖沼生態系において一次消費者にあたる枝角類は,魚や無脊椎捕食者といった高次消費者による捕食回避のために,日中は暗がりとなっている水草帯に分布し,夜間に開放水面に移動する,とする報告がある.湖沼生態系を形作る上で水草が大きな意味を持っていることが示唆される.

近年,長野県中部に位置する諏訪湖の沿岸域において浮葉植物であるヒシが繁茂するようになった.これらは漁船の運行障害や腐敗による悪臭といった点で問題視され,2014年より本格的な刈り取りが行われている.一方で動物プランクトン群集に与える影響については十分に検討されていない.そこで本研究ではヒシの刈り取りが行われる夏季の諏訪湖において動物プランクトンのハビタット選択を明らかにし,ヒシ刈り取りの影響を検証することを目的とした.

### 2. 材料と方法

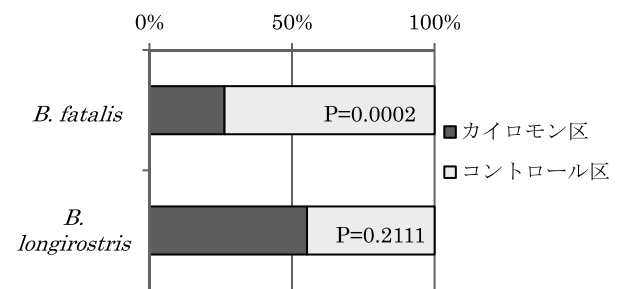
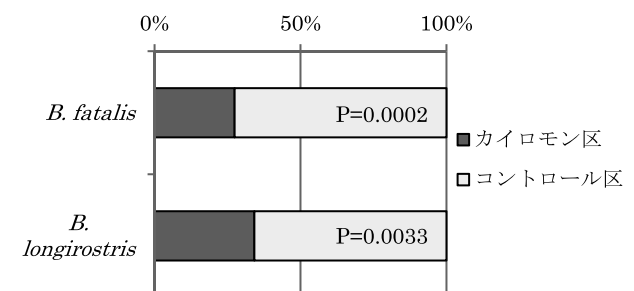
2014年7月17日の日中,夜間の計2回,諏訪湖にて調査を行なった.ヒシ帯と開放水面それぞれにおいて,環境項目の測定と動物プランクトンのサンプリングを行い,実験室において動物プランクトンの種毎の分布の違いを観察した.また,ヒシが放出する化学物質と,捕食者の匂い物質(カイロモン)に対する *Bosmina* 属の反応を確認するため,Y字管を用いた実験を行なった.ペリスタポンプを繋いだY字管の中央に *Bosmina* 属のミジンコ1個体を入れ,2種類の試水を等速(1.8mL/分)で送ることにより,ミジンコの選択的な移動を確認した.2種類の試水は,曝気水と,ケンミジンコ水・モツゴ水・ヒシ水のいずれかとした.20秒毎5分間ミジンコの分布を観察し,カイロモン区,コントロール区の中で,分布した区画名を記録し,結果を積算した.

### 3. 結果と考察

野外調査において,ヒシ帯には *B. longirostris*,開放水面には *B. fatalis* が昼夜を問わずそれぞれ多く分布していた.また,枝角類は開放水面の5種に対し,ヒシ帯において9種確認された.

Y字管の実験においては,ケンミジンコを用いた実験区において *B. fatalis* のカイロモン区の分布が有意に少ない結果となった(Fig. 1).また,ヒシを用いた実験区においては,*B. longirostris*, *B. fatalis* ともにカイロモン区の分布が有意に少ない結果となった(Fig. 2).

これらの結果より,*Bosmina* 属の2種はヒシの化学物質を忌避するが,*B. fatalis* がより顕著にケンミジンコを避けることにより,2種の棲み分けが起きている可能性が示唆された.ヒシ帯においてより多くの枝角類が確認されたことから,ヒシ帯の存在によって諏訪湖の生物多様性が高まっている可能性が示唆された.ヒシ帯に留まる種がヒシの化学物質によって何らかの影響を受けている可能性も検討していく必要がある.

Fig. 1 *Bosmina* 属の分布(ケンミジンコ水×曝気水)Fig. 2 *Bosmina* 属の分布(ヒシ水×曝気水)

## 淡水産カイアシ類における呼吸速度の温度関数に対する長期馴化の効果

\* 刈 鑫 (滋賀県大・環境), 伴 修平 (滋賀県大・環境)

### 1. はじめに

水生生物のような変温動物の代謝速度は水温上昇に伴って増加するが、同化効率や餌の供給量に大きく依存する。カイアシ類の生活史特性は水温に大きく影響され、その生理的応答は生息環境に応じて変化する。野外環境の変動に対してカイアシ類個体群がどのように応答しているのか評価するためには、長期馴化による効果を明らかにする必要がある。本研究では、琵琶湖産カイアシ類 *Eodiaptomus japonicus* の呼吸速度について、異なる2つの温度環境において馴化したときの温度関数を求め、温度に対する応答の温度馴化による影響を評価した。

### 2. 材料と方法

2014年7月から2015年5月に、琵琶湖北湖の定点より、プランクトンネットの鉛直曳にて、*E. japonicus* を採取し、ストックカルチャーを作成した。餌として、*Chlamydomonas reinhardtii* と *Cryptomonas tetraplyrenoidosa* を 1:1 の混合比で、密度が  $10^5$  cells  $ml^{-1}$  となるように与え、15と25°C、12L:12Dで飼育し馴化した。実験には、それぞれの水温のストックカルチャーにおいて2世代以上飼育した成体雄雌を用いた。それぞれ雌雄別に2から4個体ずつを飼育水が満たされた3-mLの酸素瓶に移し、暗黒条件下にて、6つの温度環境(8, 10, 15, 20, 25, 28°C)で、6から12時間インキュベートし、溶存酸素濃度(DO)を測定した。DOは非接触型高感度酸素計(Firesting O<sub>2</sub>, PyroScience)にて1分毎に測定し、DOの減少率から呼吸速度(R,  $\mu LO_2 \mu g DW^{-1} day^{-1}$ )を見積もった。なお、動物を入れない対照区についても測定し、バクテリアなどによる呼吸を差し引いた。実験終了後、実験個体はホルマリン保存し、体長を測定して乾重量(DW,  $\mu g$ )に換算した。

### 3. 結果

本種のRは水温上昇に伴って指数的に増加し、15

°Cで馴化したとき、8°Cと28°Cにおいて、雄ではそれぞれ0.04と0.27、雌では0.05と0.24  $\mu LO_2 \mu g DW^{-1} day^{-1}$ であった。温度関数としては、

$$R = 0.0164e^{0.0961T} \quad (r^2 = 0.97) \quad (\text{成体雄})$$

$$R = 0.0221e^{0.0857T} \quad (r^2 = 0.99) \quad (\text{成体雌})$$

であった。一方、25°Cで馴化したとき、温度関数は、

$$R = 0.0251e^{0.0809T} \quad (r^2 = 0.98) \quad (\text{成体雄})$$

$$R = 0.0154e^{0.0982T} \quad (r^2 = 0.97) \quad (\text{成体雌})$$

と表せた。一般線形化モデルは、Rの変動が水温に対してのみ有意であり( $df=5, x^2=33.838, P<0.001$ )、馴化温度と性別に対しては有意ではないことを示した( $df=1, x^2<0.001, P>0.05$ )。そこで、両方の馴化温度での実験結果をプールし、Rと水温および体重との関係を調べた。Rの変動は体重に強く依存しており( $df=29, x^2=1420.253, P<0.001$ )、それは高温においてより顕著であった。即ち、水温と体重の間には交互作用が認められた( $df=16, x^2=245.686, P<0.001$ )。

### 4. 考察

本種Rの温度関数に対する異なる温度馴化の効果は認められなかった。十分な馴化効果を得るのに2世代は短すぎるのかもしれないが、野外において同じ水温を経験する期間はせいぜい2-3ヶ月であり、これはほぼ1-2世代時間に等しい。従って、本実験によって得られた温度関数は野生個体群の呼吸速度を推定するのに充分頑強であるといえる。今後、幼生の呼吸速度を測定することによって、体重を考慮した温度関数の作成が可能であり、これを用いることによって、野外個体群の代謝速度を算出することが可能になると期待できる。



\*酒井陽一郎<sup>1</sup>, 小坂橋忠俊<sup>1</sup>, 柴田淳也<sup>2</sup>, 谷内茂雄<sup>1</sup>, 中野伸一<sup>1</sup>, 奥田昇<sup>3</sup>(<sup>1</sup>京大生態研, <sup>2</sup>広島大学, <sup>3</sup>総合地球研)

### 1. はじめに

淡水生態系では、生息地破壊や富栄養化、外来種の移入、地球温暖化といった人為的な要因により、生物多様性の低下が急速に進んでいる。特に、深い湖沼では、富栄養化と温暖化の影響によって、深水層の貧酸素化が進行すると懸念されており、貧酸素水塊が発生する規模や頻度の把握および生物群集に与える影響の評価は喫緊の課題である。しかしながら、大型湖沼の深水層生物群集の長期モニタリングデータはきわめて稀であり、富栄養化と温暖化が湖底の生物群集に与える相乗的な影響について十分な理解が進んでいない。

多くの固有種を有し、高い生物多様性を有する一回循環湖の琵琶湖においても、1980年代以降、湖底の貧酸素化が報告されている。また、2007年の暖冬時には、底生魚であるイサザの大量死が観測された。そこで、本研究では、京大生態学研究センターが長期に亘って定量採集したベントス標本のアーカイブデータおよび既存の物理・化学環境観測データベースを用いて、深水層のベントス群集とその多様性の変動要因について解析した。

### 2. 材料と方法

1965年~2011年に毎年、琵琶湖沖帯定点 (Ie-1: 北湖第二湖盆の水深約 75m 地点) において、マクロベントス群集を採集した。エクマン-バージ採泥器(15×15 cm)を用いて湖底泥を採集し、1000 μm メッシュネットでマクロベントス群集を篩い分けた。採集標本は 5%ホルマリンで固定し、顕微鏡下で形態種に基づいて同定した。ベントス多様性の指標として、分類群多様性 (出現分類群種数) と Shannon-Wiener の多様度指数を算出した。また、ベントス群集構造の時系列変化を検出するため、非計量多次元尺度法 (NMDS) を用いた。

ベントス群集構造に及ぼす生息環境の影響を評価するために、ベントス採集地点および滋賀県水産試験場が北湖第一湖盆水深 85m 地点で実施した湖底直上の酸素濃度・水温の定期定点観測データを利用した。これらの環境変数とベントス群集データを用いて冗長性解析(RDA)によりベントス群集の長期変動をもたらす環境要因の抽出を試みた。

### 3. 結果と考察

全調査期間を通じて、ビワオオウズムシ、アナンゲールヨコエビ、ビワカマカの3種の琵琶湖固有種を含む計 32 分類群が出現した。

ベントスの分類群多様性は、調査を開始した

1965年から現在まで漸増傾向を示した。一方、Shannon-Wiener の多様度指数は 1980年代の中盤に大きく減少し、その後、現在に至るまで 80年代以前の水準に回復した。各分類群の個体数の時系列変化を見ると、1985年以降、イトミミズの1種である *Tubifex* sp. が急増して優占した。また、2000年代以降に初めて出現する種も複数存在した。NMDS の解析結果から、1985年および 2002年にベントス群集構造の顕著な変化が検出され、種の置き代わりや加入により、ベントス群集構造はこの半世紀の間に顕著に変化したと結論付けられる。

1985年以降に優占したイトミミズの仲間 (*Tubifex* sp.) は、底層が貧酸素化しやすい中~富栄養湖に多く出現する。また、2000年以降に初めて出現した分類群の中には、より富栄養な湖で優占するヒメイトミミズ属の一種 (*Aurodrilus* sp.) や、貧酸素化しにくい底泥表層や湖底直上水中で生活する種が多く含まれていた。これらのことは、琵琶湖深水層のベントス群集は貧酸素耐性の高い種への交代や優占により、二度にわたって変化したことを示唆する。出現分類群数の年変異に減少傾向はみとめられないが、本研究により琵琶湖に元々生息していた貧栄養種ベントス種が富栄養種に置き換わっていることが明らかとなった。

本発表ではこれらの内容に加え、RDA を用いた深水層ベントス群集の変動要因解析の結果について、報告する。

\*相馬理央<sup>1</sup>,片野 泉<sup>1</sup>,源 利文<sup>2</sup>,高原輝彦<sup>3</sup>,土居秀幸<sup>4</sup>

(<sup>1</sup>兵庫県立大学 環境人間学部, <sup>2</sup>神戸大学大学院 人間発達環境学研究科,<sup>3</sup>島根大学 生物資源科学部,  
<sup>4</sup>兵庫県立大学大学院 シミュレーション学研究科)

## 1. はじめに

ため池などの水域では、生息する動物の排出物などに由来する DNA 断片（環境 DNA）が水中に存在している。環境 DNA 技術では、少量の水を採取し、水中に存在する DNA 情報を分析することで、DNA の有無から生物分布の推定を、DNA の量から生物量を推定することを目指している。

これにより、環境 DNA 技術は、従来の生物分布調査では困難だった、迅速な多地点の調査を可能とする手法として期待されている。

池干し時のため池では、通常時のため池では困難な、生物の在不在及び生物量の把握をこれまでの調査よりも正確に行うことができる。これにより、実際の生物量データと合わせて環境 DNA データを考察できると考えた。そこで本研究では、環境 DNA データが実際の生物量をどの程度反映するか、明らかにすることを目的とした。池干しが行われるため池において、コイと特定外来種であるブルーギルを対象に、環境 DNA 分析と生物の採捕調査を行い、ため池で検出される環境 DNA 量と生物量の関係について検証を行った。

## 2. 研究方法

調査は、姫路市・明石市・加古川市のため池 8 面にて、2014 年 9 月から 12 月にかけて行った。対象生物はコイとブルーギルの 2 種とし、池干し前に環境 DNA 採集を、池干し直後に生物の採捕調査を行った。

環境 DNA の採集は、池干しの約 1 週間前に実施した。ため池の沖帯 3 地点と岸帯 3 地点の計 6 地点からそれぞれ 1L 採水し、冷蔵して持ち帰った。水は実験室にてろ過（GF/F）、DNA 抽出（DNeasy blood and tissue kit）を行い、抽出 DNA を冷凍保存した。抽出 DNA のサンプルは、コイ、ブルーギルのミトコンドリア DNA チトク

ローム b 領域にそれぞれ特異的な PCR プライマーと TaqMan 蛍光プローブを用いて、リアルタイム PCR (StepOnePlus) にて DNA 量を定量した。生物の採捕調査は、水を抜いたため池に入り、タモ網や投網を用い、おおむね生物の姿が見えなくなるまで（努力限界まで）捕獲を行った。捕獲した生物はその場で同定し、種毎に匹数・重量を測定した。

以上の調査により得られたデータから、コイとブルーギルの 2 種について、環境 DNA 量と採捕調査で計測された生物量の比較を行った。

## 3. 結果・考察

採捕調査の結果、コイは 8 面中 7 面の池で、ブルーギルは 8 面中 3 面の池で生息が確認された。対象生物以外には、フナ類、オオクチバス、ウシガエル、ヌマムツ、ドンコ、アカミミガメなどが捕獲された。

生物量データと環境 DNA 量の比較の結果、コイでは、環境 DNA データは生物量のデータを比較的反映していることが示された。しかし採捕があるにも関わらず、環境 DNA が検出されない地点があり、サンプル水の中泥による検出の阻害など、原因について精査が必要である。

一方ブルーギルでは、採捕の有無と環境 DNA の検出/非検出は一致したが、環境 DNA 量と生物量との関係は明瞭にはみられなかった。ブルーギルは岸帯を生息域として好む習性がある。今回、岸帯で検出量が多いという結果は得られなかったが、同じため池内での環境 DNA 量のばらつきに注目すると、岸帯でばらつきが大きく、池の中での生息場所や行動範囲の特徴が、環境 DNA 量にも反映されることが示唆された。

# 溪流のリターパッチに生息する昆虫における面積 - 密度関係 (I) コカクツツトビケラ種群幼虫における パッチサイズ選択と密度効果

\*天野浩美, 加賀谷隆 (東大院・農学生命科学)

## 1. はじめに

生息場所パッチの面積と動物種の生息密度は、正の関係、負の関係、無関係（一定の関係）となる場合のそれぞれが知られており、主に、パッチの質、パッチへの移入に関わる個体の移動行動、種内競争などの密度効果が関与すると考えられている。

溪流の落葉破碎食者（シュレッター）は、落葉枝がパッチ状に堆積したリターパッチに生息し、リター分解に重要な役割を果たす。シュレッター種における面積 - 密度関係は、区域内のリターパッチの面積分布によりリター分解に差異を生じ得るため重要である。一方、種内競争などの密度効果により、パッチ内のシュレッター種の生息密度と、その種によるリター分解速度の関係は線形にならない可能性もある。しかし、溪流のシュレッター種において、面積 - 密度関係を生じ得るパッチサイズに関する選択性や、密度効果についての十分な検討はなされていない。

本研究は、溪流のシュレッターであるコカクツツトビケラ種群幼虫について、①面積 - 密度関係に関わる、歩行移動によるパッチサイズ選択と、生存、成長、発育に対する密度効果、②本種群によるリター分解に対する密度効果を明らかにすることを目的とする。本要旨では、現時点で得られている結果について報告する。

## 2. 材料と方法

**材料：**実験には、コカクツツトビケラ種群に属するコカクツツトビケラ、サトウカクツツトビケラ、フトヒゲカクツツトビケラ、カスガカクツツトビケラの 4～5 齢幼虫を用いた。本種群幼虫は、若齢期には砂粒を、4 齢期の途中からは落葉を巣材とする筒型の可携巣を持つ。

**パッチサイズ選択実験：**コカクツツトビケラ種群幼虫の歩行移動によるパッチサイズ選択を明らかにするため、室内実験を行った。コンディショニングしたケヤキの枯葉からなる、面積の異なるリターパッチを容器の四隅に配置し、各パッチに個体を導入し、2 時間間隔で 10 時間（短期実験）、または 24 時間間隔で 7 日間

（長期実験）、各パッチの個体数を記録した。パッチ面積が 50, 100, 150, 200 cm<sup>2</sup> または 50, 75, 100, 125 cm<sup>2</sup>、個体の初期配置が個体数一定または密度一定の、計 4 通りの条件を設定した。

**密度効果実験：**生息密度がコカクツツトビケラ種群幼虫の生存、成長、発育と、リター分解に及ぼす影響を検討するため、個体数一定でリター量を変えた処理と、リター量一定で個体数を変えた処理、計 10 処理を設定して、野外または室内において、4 週間の飼育実験を行った。各処理における密度は、野外における実際の密度よりも低レベルに、またパッチサイズ選択実験におけるパッチあたり平均密度を含む範囲に設定した。1 週間間隔で生死と蛹化の有無を記録し、実験終了時に個体の成長速度とリターの重量減少率を評価した。

## 3. 結果

**パッチサイズ選択実験：**短期実験においては、大面積のパッチを選択する傾向が認められ、面積 - 密度関係は、負または一定の初期条件から正の関係に変化したのちに相関が弱まった。長期実験においては、明瞭なパッチサイズ選択は認められなかった。

**密度効果実験：**高密度の処理ほど発育は遅い傾向が認められた。リター量一定で個体数を変えた処理間では、高密度の処理ほど生存率が低い傾向があった。

## 4. 考察

コカクツツトビケラ種群の終齢幼虫は、個体レベルでは大面積パッチほど高質のパッチと認識することが示された。これは、歩行探索・移入時におけるパッチサイズの認知、大パッチにおける好適性の高さや、面積に対する周囲長の小ささによる移出率の低さが関与している可能性がある。しかし、長期的にはパッチサイズに関する選択性は認められなかった。パッチ内の幼虫集団には負の密度効果が生じ得ることが示唆されたことから、個体間の干渉により正のパッチサイズ選択は打ち消され、明瞭な面積 - 密度関係は生じなかったと考えられる。

## 水生昆虫群集の遷移

\* 与世田信忠（大阪府大院・生環），谷田一三（大阪市立自然史博物館）  
平井規央（大阪府大院・生環），石井実（大阪府大院・生環）

## 1. はじめに

2011年秋に中国・四国地方を縦断した台風12号は紀伊半島を中心に豪雨とそれに伴う大規模な土砂災害をもたらしたことから、その被害は「紀伊半島大水害」（以下、大水害）と呼ばれ、土砂ダムが形成されるなど100年に一度の規模のものであった。このような河川環境の攪乱が水生昆虫群集に及ぼす影響については、津田・御勢（1964）が1959年の伊勢湾台風などの洪水後の川の瀬における群集の遷移について仮説を提唱している。しかし、この仮説の検証研究は少なく、淵の群集の遷移についてはまとまった知見はない。そこで本研究では、紀伊半島大水害からの水生昆虫群集の遷移過程を明らかにするために、大水害以前から調査を行っていた紀ノ川水系の上流域で継続的な調査を実施した。

## 2. 調査方法

調査は、紀ノ川水系の上流域の高見川と四郷川の各1地点（いずれも奈良県吉野郡東吉野村）において、2009年7月から10月、2011年8月から2013年10月におおよそ月に一度の頻度で実施した。この大水害では、各々の地点の上流部で一時的な河道閉塞が確認されたが、決壊して土石流となり下流に流された。特に、四郷川の上流では大規模な深層崩壊が確認された。調査では、各調査地点で任意に選んだ瀬と淵から3箇所ずつ、計6箇所ですーバーネット（25×25cm方形枠）を用いて、水生昆虫の定量採集を行った。各調査で得られた標本は、可能な限り種まで同定を行った。また、各々の科ごとにまとめてろ紙などで表面の水分を吸い取り0.1 mgまで湿重量を計測した。

## 3. 結果

2009年の瀬の水生昆虫群集は、両地点ともに造網

型または匍匐型と造網型の群集であった。それに対して、大水害直後の2013年10月には両地点ともに、匍匐型の群集となった。高見川では現存量が増加したのに対して、四郷川では大水害から数ヶ月間は現存量が増加しなかった。その後は、両地点ともに匍匐型と遊泳型の群集に移行したが、冬期は固着型の割合も高く、この生活型が優占する月もあった。その後、両地点ともに、2012年10月以降は現存量が増加するとともに造網型の割合も増加した。高見川では、造網型が優占する月もあった。

2009年の淵の水生昆虫群集は、匍匐型と掘潜型からなる群集であった。大水害直後の2013年10月には、両地点ともに2011年8月と比べて現存量は増加し、遊泳型の群集となった。その後は、遊泳型と匍匐型の群集へと移行し、高見川の群集では、2013年5月以降は掘潜型の割合も増加した。

## 4. 考察

攪乱後の川の瀬における群集の遷移仮説では、昆虫の全くいない状態ないしは優占種がいない状態から匍匐型が優占する群集となり、次に匍匐型と造網型の群集に移行し、最終的には造網型が優占する群集に移るとされる(津田・御勢, 1964)。しかし、本研究では、大水害後は匍匐型だけではなく、匍匐型・遊泳型あるいは固着型(冬期)の群集となり、最終的には、大水害前の造網型が優占する群集にもどった。大水害後は、高見川よりも四郷川で現存量などが大きく減少し、遷移の進行も遅かった。これは、四郷川の方の土砂流入量が多かったためと考えられる。また、瀬は淵よりも現存量などが大きく減少したが、遷移は早く進行した。これは、瀬では石礫に生息する種が多く、攪乱直後は土砂堆積により生息場所が減少したが、堆積した土砂が早く流されるためと考えられる。

## 日本列島の河川における最優占種 ヒゲナガカワトビケラ種内における遺伝的多様性

\* 齋藤梨絵 (信州大院・総合工学系)・加藤慎也 (信州大院・理工学系)  
・野崎隆夫 (神奈川県二宮市)・東城幸治 (信州大・理・生物)

### はじめに

ヒゲナガカワトビケラ *Stenopsyche marmorata* は大型のトビケラで、日本列島の河川における最優占底生生物に位置づけられることが多い。高い現存量が記録されるなど、河川生態系における重要な役割を担っている。河川水辺の国勢調査の全対象河川 (109 河川) から記録されていることも特筆に値する。加えて、信州では「ザザムシ (佃煮)」の主材料となるなど、人間生活にも深くかかわる種である。

本種は、日本列島内広域 (北海道・本州・四国・九州) および朝鮮半島・樺太・ロシア沿海州などに分布し、また水系内においても広い流程に分布する。すなわち、ヒゲナガカワトビケラは日本列島の河川において最も広域分布を成し遂げた成功者 (ハビタット・ジェネラリスト種) であるといえる。本研究では、このヒゲナガカワトビケラに着目し、広域分布を獲得するに至った種の系統進化的背景とその分布特性の究明を試みた。

日本列島広域、朝鮮半島・樺太およびロシア沿海州から採集したヒゲナガカワトビケラを対象に、mtDNA COI 領域 (636-bp) の遺伝子解析を行った。

### 結果・考察

mtDNA COI 領域における解析の結果、日本列島産ヒゲナガカワトビケラは遺伝的に分化した複数系統群 (5 系統 3 亜系統群) から構成されることが明らかとなった (図 1)。

クレード I は日本列島広域 (北海道・本州・四国・九州) から採集されたサンプルから構成され、広域から検出される優占ハプロタイプを有し、クレード内の遺伝的多様性は低い傾向が認められた。比較的近年に個体群拡大した系統であると考えられる。

また、糸魚川-静岡構造線 (糸静線) 付近を分布境界とし、これより南西地域から採集されたサンプルがクレード II を、北東地域から採集されたサンプルがクレード III を構成した。糸静線付近は、他の水生生物種群 (e. g., スナヤツメ、アカハライモリやチラカゲロウ) においても種内系統群の境界とな

ることが知られており、ヒゲナガカワトビケラにおいても同様の傾向が認められた。

クレード IV は、3 亜系統から構成され、各亜系統には地理的分布の傾向が認められた [ (IV-i), 南西日本; (IV-ii), 北海道・樺太; (IV-iii), 北東日本]。この、クレード IV を構成するヒゲナガカワトビケラは、河川上流域や渓流域から採集されたサンプルで優占される傾向があった。

クレード V は、ロシア沿海州と朝鮮半島から採集されたサンプルにより構成され、大陸と日本列島のヒゲナガカワトビケラ間では、遺伝的分化の傾向が認められた。

以上より、ヒゲナガカワトビケラ種内には遺伝的に分化した複数の系統が存在し、特に日本列島内のヒゲナガカワトビケラにおいては、複数の系統群が移入・定着をした歴史をもつ可能性が示唆された。「どこにでも」「たくさん」棲息するとされる最優占種・ヒゲナガカワトビケラには、隠された遺伝的多様性 (cryptic diversity) が包含されていることが明らかとなった。このような隠蔽的多様性を有することが、本種がハビタット・ジェネラリスト種たる所以であるのかもしれない。

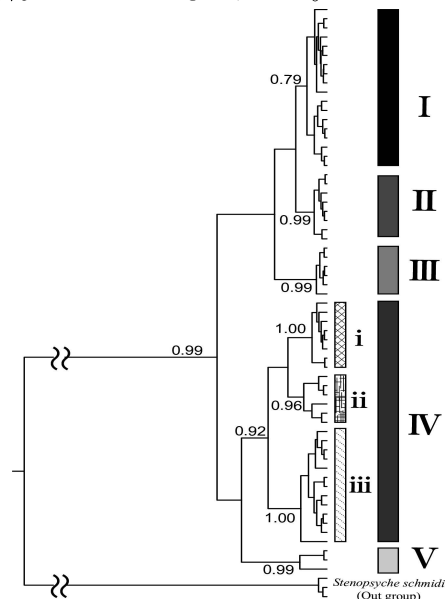


図 1. ヒゲナガカワトビケラにおける mtDNA COI 領域 (636-bp) の塩基配列に基づくベイズ樹

## 背景に応じた体色斑の可塑性を示すか？

\* 田村繁明, 加賀谷隆 (東大院・農学生命科学)

## 1. はじめに

演者らの研究によって、トゲマダラカゲロウ属の4種(オオマダラカゲロウ, ヨシノマダラカゲロウ, フタマタマダラカゲロウ, ミツトゲマダラカゲロウ)それぞれの幼虫において、暗色の河床ほど暗色な体色斑型の個体の優占度が大きく、明色の河床ほど明色な体色斑型の個体の優占度が大きいという対応関係が明らかにされている。このことは、本属の体色斑には適応的な隠蔽機能があることを強く示唆する。もしそうであるならば、河川昆虫は一般に河川間の遺伝子流動が大きいことを考慮すると、各種幼虫における河床の色特性に応じた体色斑変異を生じさせる機構として、遺伝的に固定された各体色斑型に対する自然選択だけでなく、体色斑自体が可塑的に変化する可能性も検討する必要がある。

本研究では、トゲマダラカゲロウ属幼虫について、背景色を操作した飼育実験を行い、背景に応じた体色斑の可塑性の有無とその程度を明らかにすることを目的とする。

## 2. 材料と方法

河床地質が花崗岩であり、比較的河床の色が明るい栃木県日光市の芹沢(鬼怒川水系男鹿川支流)において5月に採集したフタマタマダラカゲロウの幼虫を、明色処理と暗色処理で飼育した。

透明な容器(内寸約11×8×5 cm)に、白色の砂利

を敷き、白色の画用紙で側面を覆ったものを明色処理の飼育容器とした。暗色処理容器では、暗色の砂利を敷き、黒色の画用紙で覆った。最も明色な体色斑型である斑型と、それよりやや暗色な黒帯型を、それぞれ明色処理と暗色処理で10個体ずつ供試した(計40個体)。各幼虫の体背面をデジタルカメラで撮影後、幼虫を1個体ずつ導入し、エアレーションを施した15°C, 14L10Dの条件下で飼育した。餌としてコカゲロウ属幼虫を与えた。1~4日ごとに各個体について生死、脱皮殻の有無を記録し、約10日ごとに頭幅と翅芽長を計測するとともに体背面を撮影した。幼虫体背面の画像について色補正を行い、幼虫の頭部、胸部、腹部の背面から合わせて14部位の明度を計測した。

## 3. 結果

現時点までに得られている30%の個体について解析を行ったところ、斑型、黒帯型の両型とも、明色処理では明度が大きくなる変化を示し、暗色処理では明度の大きな変化を示さない傾向があった(図)。

講演では、全供試個体についての解析結果に基づき、トゲマダラカゲロウ属幼虫における体色斑の可塑性について考察する。

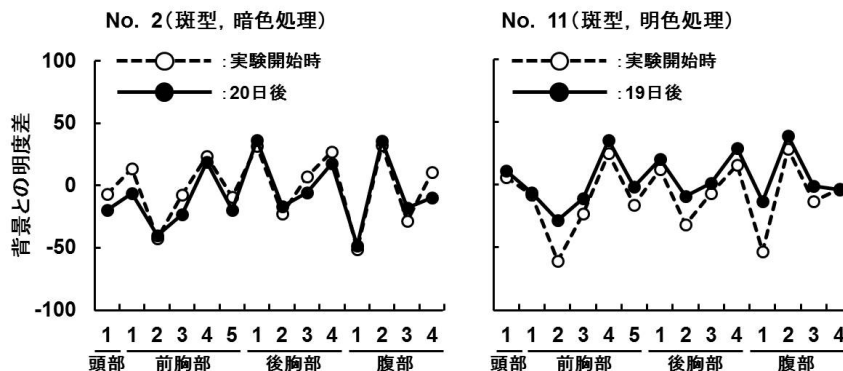


図. フタマタマダラカゲロウ幼虫の体背面各部位の相対明度(背景の明度を基準)とその時間変化の例.

\*片桐浩司（国立研究開発法人土木研究所・河川生態チーム）、  
池田茂（国立研究開発法人土木研究所・水環境研究グループ）、  
中西哲，傳田正利，萱場祐一（国立研究開発法人土木研究所・河川生態チーム）

## 1. はじめに

国内の河川では、近年、複合的な人為の影響に伴う河床低下により水域と陸域の比高差が拡大し、高水敷の乾燥化や樹林化が引き起こされてきた。河道内におけるこうした環境の変化は、ワンド、たまりの割合など氾濫原水域の質にも影響を及ぼすことが指摘されている。氾濫原水域を代表する植物群落のひとつである沈水植物群落は、近年全国的に減少の一途をたどり、特に河川では消滅の危機にある。しかし河道内における環境変化が、氾濫原水域の沈水植物群落の分布にいかなる影響を与えたかについてはわかっていない。以上を踏まえ、本研究では河道内のワンドやたまりの沈水植物群落を対象に、過去からの分布状況の変遷を把握するとともに、これらの成立条件について、分布箇所の横断形状や水深、流速などの環境因子との対応から明らかにすることを目的とした。

## 2. 材料と方法

研究対象地は、木曾川水系揖斐川の32～50kの区間とした。調査区間には河道内に大小さまざまなワンド、たまりやクリークが形成されている。このうち32～39kでは、平成12年から19年にかけて河積拡大のための高水敷掘削が行われた。掘削区間には、掘削後に新たに形成された凹状地に複数のたまりが形成されている。

平成9年、13年、19年、24年の河川水辺の国勢調査の植生図作成調査結果から、沈水植物群落の分布位置と面積を集計した。

10×10 m<sup>2</sup>以上の規模を持つ19箇所のたまり、4箇所のワンド、3箇所のクリークを対象として平成27年7月に現地調査を実施した。各調査地では種組成の均一なところに調査区を設置し、植物の被度(%), 水深、底質の代表粒径、泥厚、流速、pH、EC、DO、透視度を計測した。調査区の位置をGPSで記録した。過去の横断測線から、各調査地の横断形状の変化を

把握した。

## 3. 結果と考察

河川水辺の国勢調査の結果から、クロモ、ササバモなど従来の沈水植物群落の分布は最近20年間で大幅に減少したことが示された。最新の平成24年度の調査結果からは、従来の沈水植物群落の大部分がオオカナダモ、コカナダモなど外来種の群落へと遷移したことがわかった。

種組成データを用いたTWINSPANにより、26箇所の調査地は5つの群落タイプに区分された。植生がみられなかった7調査地は、いずれも本川から孤立して20年以上が経過した古いワンド・たまりか、流れの速いクリークであった。このうち古いワンド・たまりでは最近10年間で30-160cmの土砂が堆積していた。堆積傾向にあるこうした古いワンド・たまりに成立した植生は、オオフサモ群落のみであった。一方、在来種群落（ホザキノフサモ、ササバモ、クロモ）とオオカナダモ、コカナダモ群落の調査地では、10-200cm地盤高が低下した。在来種群落は、すべて平成15年以降に形成された新しいたまりに成立していた。オオカナダモ、コカナダモ群落は、新しいたまりのほか、流れのあるワンドやクリークにもみられた。増水時、本川にはオオカナダモなど大量の外来種の切れ藻が流れるため、本川と常時接続するワンドにはこれらが供給されていると考えられる。

揖斐川のようにオオカナダモ、コカナダモのような外来種の多い河川では、氾濫原植生の再生を目的にワンドを創出した場合、外来種の群落が成立する可能性がある。また従来の沈水植物群落を再生させるためにたまりは有効であるが、群落の成立後、増水時に冠水しない条件下ではたまりの陸化と水質悪化が進行するため、個体群を長期間維持することは困難であると考えられる。

## Responses of photosynthetic pigments and antioxidant enzymes to shocked heat stress in *Elodea nuttallii*

Hendadura Chandani Chalanika De Silva<sup>1</sup>, Takashi Asaeda<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Graduate School of Science and Engineering, Saitama University, Japan

<sup>2</sup>Department of Environmental Science, Saitama University, Japan

### Introduction

The escalating of temperature beyond a threshold level with in considerable time duration that sufficient to cause significant damage to entire plant structure is named as heat stress on plants. The effects of sudden and gradual increment of temperature in water cause physiological and bio-chemical changes in submerged Macrophytes which affect for the plant growth and photosynthetic performance. Specially, various bio-chemical processes which involving the different phytohormones and antioxidants play a vital role in plant stress physiology. Furthermore, the elevated levels of Reactive Oxygen Species (ROS) and Antioxidant enzymes which scavenge the ROS have been recorded for different stress conditions. The aim of the present study was to compare the effects of two heat shocks on *Elodea nuttallii* with relation to the photosynthetic pigments and Antioxidant enzymes.

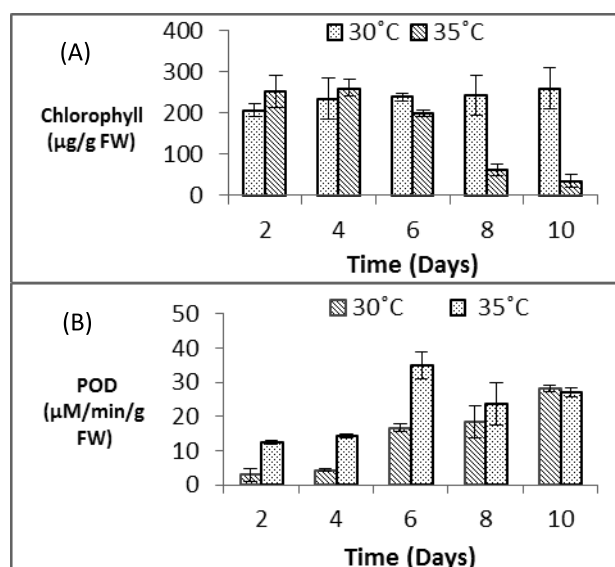
### Materials and Methods

Sudden and delayed effects on growth and photosynthetic pigments of *Elodea nuttallii* have been studied after applying the two sudden heat shocks as 30°C and 35°C to analyze the tolerability for the temperature stress. Two heat shocks were applied for plants by sudden introducing the plants from the room temperature to the set ups that have already prepared for respective water temperatures. Sudden effect has been tested during the short time duration (with in 48hrs) and delayed effect has been tested throughout the period of 10days with the interval of two days period. Variation of plant growth rates and three types of photosynthetic pigments including Chlorophyll-a, b and Total carotenoids have been investigated along with the chlorophyll florescence. Plant stress responses were assayed by analyzing Peroxidase (POD), Catalase (CAT) activities and concentration of Hydrogen Peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).

### Results and Discussion

There was significant ( $p < 0.005$ ) delayed effect on Chlorophyll content after sudden applying the 35°C heat shock. Under the heat shock of 30°C, Chlorophyll

content and Chlorophyll fluorescence showed a gradual increment though they showed sudden decline just after applying the heat shock. POD activity also shows the same trend as Chlorophyll. Under the 30°C heat shock, POD activity has gradually increased up to 6<sup>th</sup> day and then gradually declined. So, under 30°C, it has an ability to recover with the time as chlorophyll content was also increased. But, under the effect of 35°C heat shock, POD activity was gradually increased along with the decreasing of Chlorophyll content.



**Fig. 1** Total Chlorophyll and Peroxidase (POD) activity with the time after sudden exposing to the temperature shocks; 30°C (A) and 35°C (B) in *Elodea nuttallii*

The results suggest that *Elodea nuttallii* has an adequate tolerance to 30°C and plants were able to recover during the long term exposure period. When, they exposed to 35°C temperature they show comparatively lower thermo-tolerance and they were unable to recover during the experimental period. The findings of this study are particularly helpful for the understanding the interaction between submerged Macrophytes and environmental temperature with the seasonal variation of temperature. Also, it is important to identify the habitat preference of aquatic macrophytes along with the temperature gradient.



國井秀伸（島根大）

### 1. はじめに

宍道湖では、2009年秋に、水面にまで達した沈水植物（オオササエビモ、マツモ、ホザキノフサモ、エビモなど）のパッチが湖の南岸沿いに認められるようになり、1年後にはその分布域は一気に拡大した。また、松江の堀川でも2010年夏以降に一部でマツモが見られるようになり、翌年には10種を越える水草が、堀川のほぼ全域で繁茂し始めた。この突発的な沈水植物の出現と分布拡大は、いわゆる植物プランクトンの優占する「濁った系」から沈水植物の優占する「澄んだ系」へのレジームシフトの可能性が高いと考えられる。

宍道湖における透明度の測定やクロロフィルの定量調査は、これまで主に湖心など水深の深い場所で行われており、沈水植物の生育に適した水深の浅い沿岸帯を含めての広域的かつ継続的な測定・調査例はまれである。そこで、沖帯の湖心で測定されている透明度やクロロフィル量などと、水深の浅い沿岸帯のそれらに、どの程度の差があるのかについて知ることを目的とした調査を行い、いくつかの知見を得たのでここに報告する。

### 2. 調査地と方法

宍道湖の南岸と北岸にそれぞれ2本の測線（湖心を含む）を設け、水深2, 3, 4, 5mの地点で水質（水温、電導度、DO、塩分、濁度、ORP、光量子）と透

明度の月1回の頻度の測定を2012年5月に開始した（全17地点）。また、湖南岸の根尾地区において、2013年5月から沈水植物の生育していない水深4mと沈水植物の生育している水深2mの地点においても水質と透明度を月1回の頻度で測定し、さらに表層のクロロフィルを定量（UNESCO法）している。

### 3. 結果と考察

17地点での2012年5月から2015年7月までの全39回の透明度の測定結果のうち17回で地点間に1m以上の差が見られた（図1）。水深2mの4地点ではこの間に20回から23回着底し、期間中の透明度の最大値は2014年10月にNo.7で記録された3.5mであった（この間の湖心の透明度の平均値は1.68±0.38m）。

水草の繁茂する根尾地区に設けた2つの地点（水草群落の外にある水深約4mの梢庵1と水草群落内にある水深約2mの梢庵2）、並びに湖心での表層水のクロロフィルa量は、25回の測定中23回で水草群落内のクロロフィル量が水草群落外のそれよりも小さかった。この結果はヤマトシジミによる植物プランクトンの捕食の影響も考えられるが、植物プランクトンが湖の駆け上がり部分で生じていることを示唆しているのかも知れない。この点について、湖底の栄養塩濃度の測定を含めての継続調査が必要である。

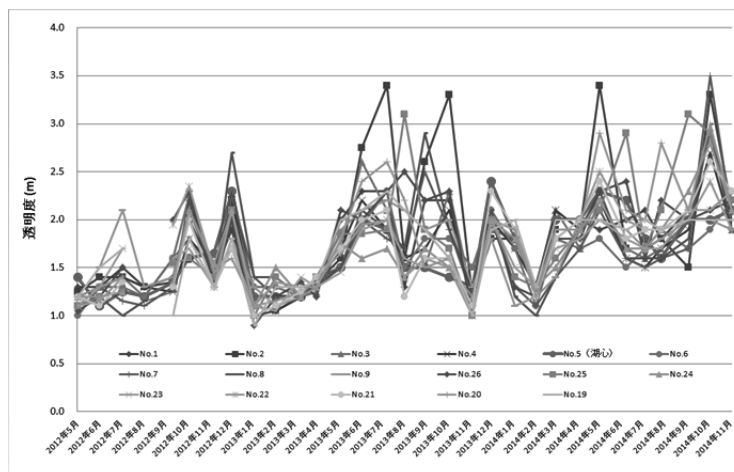


図1. 宍道湖における水深の異なる17地点での2012年5月から2015年7月までの期間における透明度の比較。

\*山中裕樹、櫻井翔（龍谷大・理工）

山本大輔、山本敏哉（豊田市矢作川研究所）

### 1. はじめに

サケマス類やアユなどの回遊魚は河川内で再生産を行うため、河川内の採餌場や産卵場への回遊ルートが適切に維持されていることが、正常な生活史の循環のために不可欠である。物質循環の観点からみると、海から川への魚類の遡上は、水の流れにまかせて河川上流から海へと一方向に水によって運ばれるという通常の物質の移動に逆らう反重力方向への物質の輸送経路として生態系にとって重要な機能を持つ。

回遊ルートの確保は魚類の保全と物質循環機能の保全のために必要である。しかし、実際に遡上開始時期や遡上量を調査したり、それによって魚類の移動にダム等の構造物がどう影響しているのかを明らかにしたりするには多大な労力が必要とされる。現在のところは、目視観察や採捕が主要な調査方法であり、必要な調査技術の高さや、労力の大きさから多地点での同時観測や、長期にわたる継続調査が困難である場合が多い。

本研究では海から川への回遊魚の遡上や河川内移動を簡便にモニタリングするために、魚類が環境水中に放出する環境 DNA の分析による調査手法の適用を試みた。環境 DNA 分析による生物の調査はこれまでに魚類をはじめ様々な水棲生物に適用されており、調査地では採水を行うだけであるという簡便さから、調査技術を問わない、そして多地点で空間解像度の高い調査が実施できる手法として注目されている。本研究では対象種をアユ (*Plecoglossus altivelis altivelis*) とし、調査対象地はアユの資源量調査が詳細に実施されている矢作川とした。

### 2. 材料と方法

矢作川の源流地点（長野県）から河口部（愛知県）まで、3–5km 間隔で 29 の採水地点を設定し、2014 年の 3 月から 2015 年の 3 月まで毎月の調査を実施した。各地点で河川水 2L を採取し、4–5 時間以内に濾過した。フィルターにはガラス繊維製の GF/F (GE ヘルスケア) を使用し、試料水を地点あたり

0.5–1L ずつ濾過した。氷冷輸送したフィルターから DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen) を使用して DNA を抽出し、100  $\mu$ L の DNA 試料を得た。

アユのミトコンドリア cytochrome *b* 領域を特異的に増幅できるプライマーセットと TaqMan プローブを使用して、リアルタイム PCR によって DNA コピー数を定量した。

### 3. 結果と考察

矢作川の環境水から、アユ由来の環境 DNA を増幅・定量することに成功した。例年、最も早い遡上例が確認される 2014 年 3 月にはいずれの地点からもアユ DNA は検出されなかったが、従来の採捕等による遡上モニタリングでアユの遡上が多く確認されるようになった 4 月以降、急激にアユ DNA が検出される地点の数が増加した。5 月には上流部の岐阜県内の地点にまで検出範囲が拡大した。これらのうち、中流部の愛知県豊田市より上流側（人工的な堰が多く建設されている区域）の地点では地元漁協によるアユの放流に由来する DNA が多く検出されていると考えられた。放流は各所で数百 kg 単位で実施されており、最も上流の検出地点では 300kg 程度の放流を環境 DNA で捉えることができた。

その後は 8 月まで検出地点数やその範囲は大きく変化しなかった。これはアユの多くが遡上を完了し、藻を食んで成長する期間を反映した結果と考えられる。9 月に入ると上流部のいくつかの地点で環境 DNA が検出されなくなり、翌年 2015 年の 2 月までにはほとんどすべての地点からアユ DNA は検出されなくなった。これはアユの繁殖行動に伴う降河と産卵後の死亡による減耗を反映していると考えられる。

矢作川は中流部であれば秒あたり 20t ほどの流量がある大規模な河川であるが、こうした規模の河川であっても 1L 未満の河川水から対象種の河川内移動が分析できることが示された。今後は分析感度や検出の範囲といった、手法の限界についての詳細な検討が必要になる。また、海から川、そして河川内での移動分散研究への更なる応用を目指したい。

\*内井喜美子 (大阪大谷大・薬)

土居秀幸 (兵庫県立大・シミュレーション)

山中裕樹 (龍谷大・理工)

源 利文 (神戸大・発達)

## 1. はじめに

水中には、そこに生息する生物に由来する DNA が存在しており、環境 DNA と呼ばれる。近年、環境 DNA の分析により、生物の分布を評価する手法が急速に発達しつつある。捕獲調査を行わなくとも、特定の生物の存在を高感度に検出できることから<sup>1)</sup>、外来種の侵入判定<sup>2)3)4)</sup>や、希少種の探索<sup>4)</sup>に広く適用されている。

環境 DNA 分析は、生物の在／不在の判定に DNA 情報を利用することから、見た目では区別がつかない遺伝子型や亜種の判定にとりわけ有効であると考えられる。日本のコイ (*Cyprinus carpio*) 個体群には、日本在来系統と、ユーラシア大陸原産の外来系統が存在している<sup>5)</sup>。両者の生態学的差異として、琵琶湖において、在来系統は沖合と湖岸を季節移動するが、外来系統は一年を通して湖岸に留まることが示唆されている<sup>6)</sup>。しかし、これは、在来系統と外来系統を見ただけで区別した古い漁獲データに基づく仮説である。そこで本研究では、環境 DNA 中における、在来遺伝子型と外来遺伝子型の頻度を定量する手法を用い、琵琶湖における在来系統と外来系統のコイの季節的な移動パターンの推定を行った。

## 2. 材料と方法

2013 年 4 月から 2014 年 8 月にかけて、琵琶湖につながる伊庭内湖の 3 地点より水を採取した。これらの水から抽出した環境 DNA を用い、下記の方法により、コイの在来伝子型：外来遺伝子型の DNA 比を定量した。

コイのミトコンドリア DNA の D-loop 領域において、在来遺伝子型と外来遺伝子型を区別する一塩基多型 (SNP) マーカーを選定し、SNP 部分を RNA とする DNA-RNA-DNA プローブを設計した。在来遺伝子型と外来遺伝子型のプローブは異なる蛍光

物質で標識した。これら 2 種のプローブと同一プライマーセットを用い、RNA 分解酵素を含んだリアルタイム PCR を行った。ターゲット DNA と完全にハイブリダイズしたプローブは、RNA 分解酵素によって分解され蛍光を発する。そこで、2 種のプローブの蛍光シグナル強度の違いにより、在来遺伝子型：外来遺伝子型の DNA 比を定量した。

## 3. 結果と考察

伊庭内湖における在来遺伝子型の割合は、11 月以降に減少し、4 月以降に増加する傾向が見られた。古川<sup>6)</sup>は、漁獲データより、在来系統は秋から冬には沖合に生息し、春期に産卵のため接岸すると推定しており、これは本研究の結果と良く一致した。つまり、在来系統は、秋から冬にかけて伊庭内湖から本湖へと移動し、春になると再び内湖へ移動することが示唆された。

水域環境中の DNA 分布の偏りや、環境条件による DNA 分解速度の違いといった要因により、環境 DNA 分析による生物量や個体数の推定はいまだに非常に困難である。しかし、本研究では、環境 DNA 中の同種内の遺伝子型の割合を定量することにより、環境 DNA 分析が、生物の移動パターンの推定に応用可能であることを明らかにした。今後、環境 DNA 分析が、生物の在／不在の判定だけでなく、その動態の解明にも活用されることが期待される。

## 参考文献

- 1) Minamoto *et al.* 2012. *Limnology* 13:193-197
- 2) Jerde *et al.* 2011. *Conserv Lett* 4: 150-157
- 3) Takahara *et al.* 2013. *PLOS ONE* 8: e56584
- 4) Fukumoto *et al.* 2015 *J Appl Ecol* 52: 358-365
- 5) Mabuchi *et al.* 2008 *Mol Ecol* 17: 796-809
- 6) 古川 1966 *滋賀水試研報* 19: 1-5

\*源 利文 (神戸大・発達), 高原輝彦 (島根大・生物資源)  
北吉匠文 (龍谷大・理工), 辻冨月 (龍谷大・理工)  
山中裕樹 (龍谷大・理工), 内井喜美子 (大阪大谷大・薬)  
土居秀幸 (兵庫県立大・シミュレーション)

## 1. はじめに

環境水中に存在する DNA 断片を総称して環境 DNA と呼ぶ。この環境 DNA を用いた大型生物の分布調査手法が近年急速に発展している (Minamoto *et al.*, 2012; 2015)。環境 DNA 解析の遺伝子マーカーとしては一般的にミトコンドリア上の遺伝子が用いられているが、これは細胞あたりのコピー数が核 DNA に比べて圧倒的に多く、検出上の利点があると考えられてきたためである。しかし、ミトコンドリア DNA は母系遺伝であることなど、遺伝子マーカーとして必ずしも最適ではない。環境 DNA の遺伝子マーカーとして核 DNA を用いることができれば、種内多型など、これまで以上に高い解像度の遺伝的データが得られることが期待される。そこで、本研究ではコイ (*Cyprinus carpio*) をモデルとして、核 rRNA 遺伝子の ITS1 領域をマーカーとした環境 DNA 検出法を開発し、その検出感度をミトコンドリアチトクローム *b* 遺伝子 (CytB) と比較した。

## 2. 材料と方法

環境水サンプルとしては、野外メソコスム、野外実験池、自然の湖の 3 種類のサンプルを用いた。これらのサンプルは過去の研究で採取したものであり、CytB のコピー数については、報告済みの論文から引用した (Takahara *et al.*, 2012; Doi *et al.*, 2015)。

コイの ITS1 領域を特異的に増幅、検出するプライマー及び TaqMan プローブを作成し、環境水サンプル中の環境 DNA コピー数を、リアルタイム PCR 法によって測定した。

さらに、両マーカーの検出感度の違いを明らかにするため、滋賀県の伊庭内湖で採水を行い、同一の水サンプルから水量を変えて DNA 抽出を行った場合のそれぞれのマーカーの遺伝子コピー数を測定した。

## 3. 結果と考察

コイの ITS1 領域を特異的に検出するプライマー及び TaqMan プローブのセットの特異性を確認するため、本研究の調査地に生息する近縁種であるニゴロブナ、ゲンゴロウブナ、ギンブナの DNA を鋳型として増幅を試みたが、環境水中に存在する程度の濃度 (10pg/サンプル) を鋳型とした場合にはいずれの種の DNA も増幅が見られず、本研究で開発した検出系の特異性が確認された。

メソコスム、実験池、自然湖沼サンプル中におけるコイの CytB と ITS1 のコピー数を測定、比較したところ、ITS1 の方が CytB に比べてコピー数が約 150-300 倍多かった。

また、伊庭内湖の水サンプルについて、コイの環境 DNA を検出・定量するために必要なサンプル水量は CytB が 100mL であったのに対し、ITS1 は 33mL であった。

これらの結果から、ITS1 は CytB よりも検出感度の高い環境 DNA マーカーであることが明らかになった。このことは、環境 DNA 手法に用いるためのサンプル量をこれまでより減らすことが可能であることを示している。また、核 DNA をマーカーとすることで、環境 DNA 手法ではこれまで得ることのできなかった解像度の高い遺伝的データを得ることが可能になると考えられる。今後はよりコピー数の少ないシングルコピー遺伝子の検出を試みる予定である。

## 4. 引用文献

- Minamoto *et al.* (2012) *Limnology*, 13 (2), 193-197.  
Minamoto *et al.* (2015) *Limnology* (電子版), DOI: 10.1007/s10201-015-0457-4.  
Takahara *et al.* (2012) *PLoS ONE*, 7 (4), e35868.  
Doi *et al.* (2015) *PLOS ONE*, 10 (3), e0122763.

## 日本におけるシグナルザリガニの侵入履歴

\*西川 潮（金沢大・環日セ），東 典子（北海道大・院・水産）  
Larson E（University of Illinois, Urbana），Abbott C（Fisheries and Oceans Canada），  
Olden J（University of Washington），高村健二，高村典子（国環研）

## 1. はじめに

水界生態系においては、生物種の侵入成功は高い導入圧（propagule pressure）と密接な関係があることが知られる。しかし、水生外来種の中には、創始者効果により遺伝的変異が低下しても、広範囲に分布拡大を遂げる種が存在する。

シグナルザリガニ（ウチダザリガニ，タンカイザリガニ；*Pacifastacus leniusculus*）は北米を原産とする冷水性のザリガニ種で，ヨーロッパ各地と日本に導入された世界的な侵入種である。日本には1926年から1930年にかけての計5回，優良水族移植の目的で導入された。これまでの著者らのマイクロサテライトDNA解析を用いた研究により，日本の陸水域に定着しているシグナルザリガニには3つの創始集団（北海道摩周湖，長野県明科，滋賀県淡海）があること，なかでも摩周湖集団がここ数十年の間に国内で急速に分布を拡大していることが示されている（Azuma et al. 2012, *Plankton Benthos Res.*）。

本研究では，ミトコンドリアDNA解析と形態解析の在来・侵入集団間比較に基づき，日本におけるシグナルザリガニの侵入履歴を明らかにし，その侵入成功要因について考察した。

## 2. 材料と方法

2006年から2010年にかけて採集した，原産地（北米）の50集団700個体および侵入地（日本）の20集団537個体のシグナルザリガニを対象として，既存のプライマーを用い，16SミトコンドリアDNAの部分塩基配列（437-440 bp）を決定した。Arlequinを用いて，各シグナルザリガニ集団の遺伝的多様性（ $N_h$ ,  $h$ ,  $\pi$ ）を算出した。

一般にザリガニ類では，鉗脚の大きさが個体間や種間の攻撃行動において優劣を決定することが示されている。本研究では，鉗脚の大きさがシグナルザリガニの侵入成功と密接な関係があることを仮

説とし，北米の23集団128個体，日本の17集団323個体のオスのシグナルザリガニの形態計測を通じて，各集団の平均鉗脚面積を求めた。

日本のシグナルザリガニ侵入集団の由来を推定するため，SAMOVA (Spatial Analysis of Molecular Variance) を用いて，北米のシグナルザリガニを地理グループに分け，侵入集団との間の遺伝的分化の大きさから，日本の侵入集団の由来を推定した。

## 3. 結果

SAMOVAより，北米のシグナルザリガニは6つの地理グループに分類された。日本のシグナルザリガニ侵入集団からは合計15のミトコンドリアDNAハプロタイプが確認され，これらは，北米で最も大きな地理グループの分布域内の複数産地に由来することが示された。また，日米におけるシグナルザリガニの遺伝的多様性の比較から，日本の侵入集団は北米集団と同程度の高い遺伝的多様性を示した。

日本におけるシグナルザリガニの侵入年代と，遺伝的多様性，鉗脚面積の関係の解析から，侵入年代と遺伝的多様性の間には負の相関が認められた一方で，侵入年代と鉗脚面積の間には正の相関が認められた。以上より，侵入の歴史が新しいシグナルザリガニ集団は創始者効果の影響を受けているが，これらの集団では，おそらく環境適応または自然選択により鉗脚の大きさが増大したものと考えられる。

## 4. 考察

日本のシグナルザリガニ侵入集団は，北米の複数産地に由来するため，遺伝的多様性が高いことが示された。日本では，特に侵入年代が古い集団における高い遺伝的多様性と，侵入年代が新しい集団における急速な環境適応または自然選択が，シグナルザリガニの侵入成功の鍵となっていると考えられる。

\*鹿野秀一（東北大・東北アジア），上坂宗憲，高木優也（東北大院・生命），  
嶋田哲郎，藤本泰文，芦澤淳（伊豆沼保全財団）

## 1. はじめに

ブルーギル (*Lepomis macrochirus*) は北米原産の外来魚で、原産地では同一の湖内で生息場所により食性と形態の多型が見られるという報告 (Ehlinger and Wilson 1988) がある。日本に導入された各地に広まったブルーギルのうち、琵琶湖では食性と形態の多型がみられ (Yonekura et al. 2002, Uchi et al. 2007)、競争種のいない長崎県川原大池では季節や齢によって利用する餌の種類が変わることが報告されている。

宮城県北部に位置する伊豆沼は、最深部が 1.6 m ほどの浅い湖で、最近 10 年ハス群落が拡大し、夏期には湖面の大部分が抽水葉や浮葉で覆われる。伊豆沼ではブルーギルは 2008 年以降確認されるようになり、在来魚への影響が懸念される。そこで本研究では、安定同位体比による解析と胃内容物の観察を行うことでブルーギルの食性の推定することを目的としている。

## 2. 材料と方法

宮城県北部に位置する伊豆沼においてブルーギルやその餌候補を採集した。ブルーギルのサンプルは、2010 年 12 月から 2014 年 5 月までの期間に電気ショッカーボートや定置網による駆除で採集されて魚を用いた。ブルーギルの各個体の体長を測定後、背側部の筋肉を切り出し、60℃で乾燥させた。電気ショッカーボートで採集された個体に関しては、ポイントフレーム法による胃内容物の観察も行った。ブルーギルの餌候補としてミジンコ類、カイアシ類、ユスリカ幼虫、付着藻類などを採集した。炭素・窒素安定同位体比分析のために、ブルーギルの筋肉と餌候補はクロロフォルム-メタノール処理をした後に質量分析機 (Delta-plus, Finnigan Mat 社) で安定同位体比を測定した。ブルーギルの餌を推定するために、R (Ver. 3.0.2) のパッケージ *siar* のベイズ推定によるミキシングモデル SIAR V4

(Stable Isotope Analysis in R) を用いた。

## 3. 結果と考察

判別可能な胃内容物うち多く観察された餌は、カイアシ類、付着性ユスリカ幼虫の順で、そのほかミジンコ類、藻類などの植物などであった。ブルーギルの餌を推定するのに用いたミキシングモデル SIAR の解析では、餌候補としてカイアシ類、付着性ユスリカ幼虫、ミジンコ類と付着藻類を用いた。これらの餌候補の窒素安定同位体比の値は季節的に大きくは変動しなかったが、炭素安定同位体比の値は春先に高い値を示し、その後値が低下し、8 月と 9 月に最も低い値を示し、冬にかけて値は上昇した。特に、カイアシ類とミジンコ類の炭素安定同位体比の値は他の餌候補より低かった。このように餌候補の炭素安定同位体比の値が季節変化することから、ブルーギルの採集月とその前 2 ヶ月の安定同位体比を餌候補の値とした。SIAR の解析の結果、5 月に採集したブルーギルは、主に付着性ユスリカとカイアシ類を餌としていたが、6 月になるとこれらに付着藻類も加わった。11 月、12 月と 3 月に採集されたブルーギルは、主に付着藻類を餌としていて、これに付着性ユスリカとカイアシ類が続いたが、ミジンコ類はあまり利用していないと推定できた。

胃内容物としては多く観察されなかった付着藻類が、安定同位体比による解析からは 6 月ごろから餌資源として増加し、夏期、秋期をすぎたブルーギルでは最も多く利用したと推定でき、これに加えて付着性ユスリカも餌として重要であった。伊豆沼は湖全体が浅いためハス群落が拡大し、ハスが付着藻類や付着性ユスリカの生息場所を提供し、その結果夏期には付着藻類や付着性ユスリカが増大し、伊豆沼のブルーギルは量的に豊富なこれらの餌を主に利用していると考えられる。

3A09

Web 公開不希望

