

河北潟から流下した懸濁物質の感潮域における拡散・沈降過程

*永坂正夫（金沢星稜大・人間科学）
高野典礼（石川高専・環境都市工学）
右形聡志（東洋設計・基盤整備部）

1. はじめに

北陸地方最大の汽水湖であった河北潟は、1963年に始まった国営干拓事業により潟の大部分が干拓地となり、流出河川の大野川には防潮水門が建設され淡水湖となった。汚濁対策が進められたにもかかわらず、水質は著しい富栄養状態にある。現在の河北潟のセッキ透明度は年間0.4-0.7m程度であるが、しかしその濁りは植物プランクトン量ではなく、泥などの微細な無機態懸濁物質によって規定されていることを2013年に明らかにした。

塩水が遡上する河川感潮域においては、懸濁物質の沈降が促進するが、汽水湖だったかつての河北潟では河川感潮域同様に微細な懸濁物質の沈降が促されており、淡水湖に変わった現在の潟の濁度上昇にはこの沈降作用が失われたことの影響が大きいものと考えている。この検証のため、防潮水門から流れ出た湖水が流出河川である大野川の感潮域を流下する過程で、懸濁物質をどのように拡散・沈降させてゆくか現地調査による確認をおこなった。

2. 方法

河北潟の防潮水門から金沢港まで通じる大野川において、水門を起点に500mごとにSt.1からSt.10までの調査定点を設けた。各調査地点ではpH、水温、EC、DO、光量子、濁度(NTU)、塩分濃度の各項目について鉛直方向1mごとに河床まで測定を繰り返した。表層水(0cm)と河床から0.5-1m以内の二層から採水をおこない、Chl-a量、全リン量、全窒素量、TOC量、GF-Cガラスフィルターで捕捉される懸濁物質(1μm以上)を測定した。

調査日は平成26年8月26日、9月22日、10月21日、11月18日の計4日間であり、いずれも10:00-14:00の時間帯に調査を実施した。

3. 結果と考察

潮位差の小さい大野川ではもっぱら河川流量が塩水遡上を支配している。8月26日は前日、当日共に日降水量50mmを超える降雨があり、雨天時の典型

的な濁度の分布状況が確認できた。河川水に押し流されて海水は金沢港直前のSt.9の河床付近までしか遡上しない。河川水中の濁度(NTU)は全体に高く、表層水の濁度は水門直下(St.1)で18NTUであったが、流下するに従って40NTU(St.9)と上昇した。

9月22日は前日、当日とも快晴であり、晴天時の典型的な濁度の分布状況を確認することができた。塩水は防潮水門直下のSt.1まで遡上しており、その濃度はNaCl換算値で1.78%に達していた(図1)。濁度は雨天時と比べて全体に低いものの、水門直下のSt.1の河床直上で25NTUと最も高い状態にあった(図2)。また、表層水の濁度は流下するに従って低下した。

現在の河北潟から流出する高濁度の湖水は、流下するに従って、その懸濁物質を河床の塩水層に沈降させている。防潮水門が無ければ、塩水はより上流側まで遡上し、河北潟の湖底付近に広く塩水層が広がる。今後、懸濁物質の組成、粒径調査を進め、経時的に連続測定することで湖水の濁度低下に及ぼす塩水遡上の影響を子細に調べる予定である。

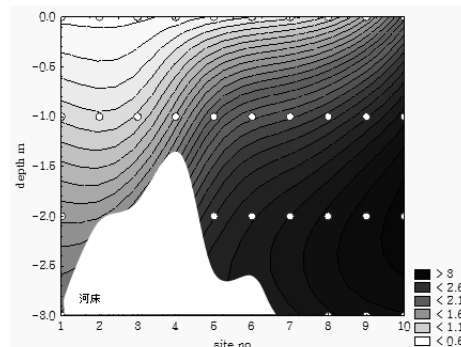


図1 9月22日の塩水遡上状況 (NaCl%換算値)

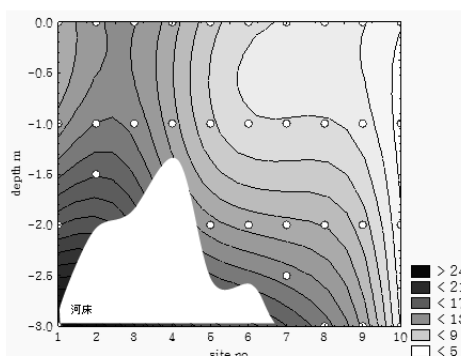


図2 9月22日の濁度 (NTU) 分布状況

*山口啓子（島根大・生資）、篠原 隆佑（島根大・院・生資）

1. はじめに

サルボウガイ (*Scapharca kagoshimensis*、地域名：赤貝) は、内湾泥底に生息する二枚貝で、かつて中海はその主要な産地であったが、干拓・淡水化事業に伴い 1970 年代を最後に漁獲されなくなった。中海淡水化と本庄水域の干拓中止が決定して以降、サルボウガイは「中海再生のシンボル」として復活が期待されている。島根県や地元漁協の努力により昨シーズンには 5 t 程度の漁獲を得たが、現在は限定された場所での垂下養殖に限られている。今後、サルボウガイを水産資源として水域を有効利用するためには、湖底の環境や水域の特性を把握した上で適切な保護・保全や漁場管理が必要となる。これまで中海におけるサルボウガイの生息適地選定手法については、鈴木ら（鈴木 2011MS）が 2008—2010 年に行ったサルボウガイの分布・環境調査および飼育実験から HSI モデルを考案し、生息適地の判定の可能性を示した。本研究では、本庄水域の干拓堤防開削から 5 年を経過したことから、中海および本庄水域の環境モニタリングとあわせて、貝桁によりサルボウガイの生息の現状を調査し、本庄開削前後の結果と比較することで、開削の影響を検討した。

2. 材料と方法

中海および本庄水域の定点において、2014 年の湖底環境が悪化する 8 月下旬に、底質および水質環境調査を行った。調査項目として、底質の有機物濃度・酸揮発性硫化物濃度 (AVS)・粒度・間隙水の硫化水素濃度・L*値および水質 (塩分・水温・DO) を測定した。サルボウガイの分布調査は、貝桁を用いて、2014 年 10 月—11 月初旬におこなった。同様の調査は 2008-2010 年におこなっており、この結果を元に HSI モデルの SI スコアとして、サルボウガイの生息可能性について数値化した。これをもとに本庄水域の干拓堤防開削の効果について検討した。

3. 結果及び考察

2014 年夏期の底質の調査結果では、中海本湖の状況は 2008 年—2010 年の調査と同様であった。一方、本庄水域では、底質の AVS・硫化水素濃度や L*値など、還元的状態を示す指標となる値が低下している地点が、堤防開削部付近で見られた。サルボウガイの分布調査結果から、中海にある母貝生息域については、2008 年—2010 年の調査で殻長 40mm 以上の 3 齢以上の個体が多く採集されたのに対し、2014 年は採集個体数が非常に少なく、殻長も 20—30mm 程度の 2 齢と思われる個体のみであった。一方、本庄水域では開削前の 2008 年・開削直後の 2010 年調査時にはサルボウガイは採集されなかったが、2014 年は開削部に近い地点で数個体が採集された。殻長は 40mm 前後 (3 齢以上) または 10mm 度 (当歳) で、2 齢と考えられる個体はみられなかった。底質・水質のデータから 2014 年のサルボウガイ HSI の分布を求めたところ、本庄水域内の特に堤防開削部近傍に HSI スコアの高い部分がみられ、この場所にサルボウガイの生息が見られた。このことから、われわれの作成したサルボウガイの HSI モデルの生息適地判定の精度が高いことが示された。一方、個別に環境とサルボウ分布の関係についてみると、本庄水域では生息可能と予想される HSI スコアの地点においてかならずしもサルボウガイがみられなかった。本庄水域では、現時点のサルボウガイの分布は開削部のごく近辺のみに限定されており、加入のない年もあることがわかった。別途行われた浮遊幼生調査および採苗試験の結果、中海母貝が産卵したサルボウガイの幼生は本庄水域にも流れ込むことが示されていることから、本庄水域内では年により稚貝が着底出来ない、あるいは着底後に死亡するものと推察された。

P-32

Web 公開不希望

アナンデールヨコエビの定量化に関する研究

*石川可奈子, 永田貴丸, 井上栄壮 (琵琶環研), 向井徹, 飯田浩二 (北大・水産)

1. はじめに

近年、琵琶湖北湖深底部で貧酸素水塊の生じる頻度が高まっている。2012年8～9月に水深90m湖盆において急激な酸素低下と、固有種のアナンデールヨコエビ (*Jesogammarus annandalei*) の大量死亡個体が発見された(焦ほか 2015)。そこで、深底部の底生生物の生息数および行動異常のモニタリング、さらに低酸素化が生態系に及ぼす影響を調査している。アナンデールヨコエビ (以下ヨコエビ) は、琵琶湖の生態系において重要な生物群であり、過去にも研究報告がある (e.g. Narita 1976, Ishikawa et al. 2004, Ishikawa & Urabe 2005)。最近では水中ロボットの映像を用いて個体群密度だけでなく繁殖行動等の生態情報も把握が可能になってきた (石川・熊谷 2014)。

ヨコエビの成熟個体は、日中湖底に留まり、夜間に水温躍層下部まで上昇する日周鉛直移動を行うことが知られている (Trevorrow & Tanaka 1997)。この鉛直移動は、日中ピワマス等の魚類からの捕食を免れ、夜間にプランクトンを捕食するためと言われているが (Ishikawa & Urabe 2002)、湖内の鉛直的な物質移動および循環という観点からも重要であり、ヨコエビの行動把握は、個体群の保全とともに生態系の変化を知る上で1つの指標になると期待されている。本研究では、簡便かつ広範囲でヨコエビの鉛直分布の経時変化を捉える新たな方法を探るため、計量魚群探知機のエコーグラムを用いて個体群密度の算出を試みた。また、その結果と従来のプランクトンネットによる鉛直分布の結果を比較した。

2. 材料と方法

2012年7月23日の夜間 (20～22時) と7月24日の昼間 (9～11時) に、琵琶湖北湖今津沖水深90mにおいて、計量魚群探知機 KFC-3000 (70kHz, 120kHz; カイジョーソニック社製) を用いて音響データの収録、Echoview 5.4 (SonarData社製) による Sv 算出を行った。同時に、北原式定量プランク

トンネット (メッシュサイズ 100 μ m, 直径 24cm) を用いて水深 10m 毎にヨコエビを採取した。検体はシュガーホルマリンで固定して持ち帰り、体長計測および密度算出を行った。水温の鉛直分布は、多項目水質計 (F-probe 西オーストラリア大学製) を用いて測定した。

3. 結果・考察

7月23日の夜間の水温は表層で 27.8°C、湖底直上 1m (水深 89m) で 7.3°C であり、水温躍層は水深 10m (23.6°C) ～水深 17m (14.1°C) の範囲にみられた。ヨコエビの鉛直分布の限界水温 12°C

(Ishikawa & Urabe 2005) は水深 20m であった。この時のヨコエビの平均体長 0.99cm、TS-100dB を用いて、周波数 120kHz における 5 分間の音響データから個体群密度を算出すると、水深 20～85m での平均は 17.2 ind/m³ で、水深 20～30m に 64.7 ind/m³ のピークが見られた。一方、プランクトンネットによる個体群密度は、水深 20～85m で平均 15.7 ind/m³ であり、水深 30～40m と水深 50～60m にそれぞれ 47.5 ind/m³, 32.5 ind/m³ のピークが見られた。

7月24日の昼間の水温は表層 27.0°C、湖底直上 1m (水深 89m) で 7.3°C であり、水温躍層は水深 10m (25.0°C) ～水深 20m (11.1°C) の範囲にみられた。計量魚群探知機による個体群密度は、水深 20～85m で平均 2.1 ind/m³ であり、水深 80～85m に 7.9 ind/m³ のピークが見られ、夜間深水層に分布していたヨコエビは湖底付近に移動したことが確認された。一方、プランクトンネットにより推定した個体群密度は、水深 20～85m での平均は 0.4 ind/m³ で、水深 60～70m のみに 2.5 ind/m³ がみられた。

結論として、計量魚群探知機・プランクトンネットの両方法において鉛直移動は確認できた。夜間水中で遊泳する時の個体群密度を比較すると、ネットを用いた場合は、魚探の 91% であった。この結果から、計量魚群探知機を用いた方法によるヨコエビの成熟個体の定量化・動態把握の可能性が示唆された。

影響を受けているか？：2014年琵琶湖北湖での検証

*石川俊之，青谷早希，穴田雄大（滋賀大学・教育）

1. はじめに

沖帯生態系において植物プランクトンは主要な一次生産者である。その分布は二次生産者である動物プランクトンや魚類の分布や行動にも影響を与えると考えられる。

植物プランクトンの鉛直分布は、光、栄養塩濃度、植物プランクトン自身の沈降、動物からの捕食などの要因に複合的な影響をうける。さらに水温躍層の存在がこれらの要因をとおして間接的な影響を持つと考えられる。

近年湖沼観測で一般的に使われるようになったクロロフィル蛍光強度の鉛直プロファイラーを用いることで、容易に植物プランクトンの鉛直分布を推定できるようになった。この鉛直プロファイラーによって得られる鉛直分布からは、ごく浅い水深での蛍光強度の減少が高い頻度で観察される。しかし、この減少がおこる原因について十分検討せずに強光阻害の可能性を指摘している例が散見される。

そこで、本研究では浅い水深と蛍光強度のピークにあたる水深の2層から採水した試料を用いて光合成実験を行い、強光阻害が起きたか検討を行うとともに、植物プランクトンの分類群やサイズ組成との関連性を検討した。

2. 材料と方法

調査は2014年5月から11月まで1か月ごとに実施した。調査地点は琵琶湖北湖の野洲川河口沖の水深約40mの場所である。調査地点では、鉛直水質プロファイラー（ACL220-PKD アレック電子）を用いて、水温、光子密度、クロロフィル蛍光強度を測定した。また、バンドーン型採水器を用いて水深0.5mとクロロフィル蛍光強度のピークが見られた水深の2層から採水し、明暗瓶法による光合成実験試料、サイズ分画（20 μ m, 200 μ m）後のクロロフィル濃度の測定試料、検鏡用試料を得た。

明暗瓶法による光合成実験は、湖水試料採集の翌

日に、瀬田川にある滋賀大学の栈橋において実施した。300mLのBOD瓶に詰めた湖水を採集地点と同じ相対光量になるように調整した水深につるした。さらに、0.5mと蛍光強度のピーク試料の水深を入れ替えた移設実験区を設けた。実験は日の出後3時間から日没前3時間実施した。光合成量はウインクラ一法による酸素量の変化で求めた。また、クロロフィル濃度はGF/Cフィルターろ過試料をUNESCO法による分光光度計での吸光度測定によって求めた。

3. 結果

調査期間中、8月を除いた6回の観測で鉛直プロファイラーによるクロロフィル蛍光強度の分布に表面近傍での低下がみられた。しかし、クロロフィル濃度を抽出試料で測定したところ、蛍光強度のピークと0.5mのクロロフィル濃度はほとんど変わらない、もしくは0.5mのほうが高い観測日もあった。

光合成実験の結果、強光阻害が起きていたと考えるケース（表面の試料を深い水深に移設し光合成量が増加した、深い水深の試料を浅い水深に移設し光合成量が減少した）は、5月、10月、11月の3回の観測であった。これらの月はクロロフィルcの割合が高く珪藻類、渦鞭毛藻類、黄金色藻類が多かった可能性が考えられる。さらに、20 μ m以下の分画のクロロフィルの割合が高く、小型の藻類が多かったと考えられる。

4. 考察

本研究では表層近くでの蛍光強度の低下には、複数の可能性があることを確認できた。（1）実際に強光阻害が起きている。（2）強光阻害は起きていない。（3）そもそもクロロフィル濃度は低下していない。

本研究では（1）のケースは小型のクロロフィルcを持つ植物プランクトンが相対的に多い場合であることが確認できた。（2）は成層が強く栄養塩の分布の影響を検討する必要があるだろう。（3）のケースは現時点ではメカニズムは不明である。

*土居秀幸（兵庫県立大院・シミュレーション），内井喜美子（大阪大谷大・薬），高原輝彦（島根大・生物資源），松橋彩衣子（兵庫県立大院・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

水域環境において、生物分布や生物量推定には、目視で数える、採捕を行うなど、多大な労力と時間をかけて調査を行う必要がある。その問題を解決する手法として、我々の研究グループでは、環境 DNA による生物分布・生物量評価手法を提案している。これまで、環境 DNA を測定することで生物分布や生物量が明らかになることを発表してきた。特に、生物量は環境 DNA の量と相関があることがわかってきており、環境 DNA 量から生物量を推定できると考えられる。

これまではリアルタイム PCR 装置を用いて環境 DNA を解析してきたが、近年では、次世代（第3世代）PCR と呼ばれるデジタル PCR 法が実用化され、研究に用いられつつある。デジタル PCR 法とは、DNA サンプルを油膜で区切られた粒（ドロップレット）に小分けして分析する手法である。約2万個の2 pL のドロップレットの中でDNAをPCRで増幅させて、そのドロップレットごとのDNAの有無を解析している。小分けされたドロップレットにある1-数コピーのDNAを、個別に増幅させて定量することから、リアルタイム PCR よりも高精度でDNA量を定量でき、さらにPCR阻害に強いと考えられている。

本研究では、2つの実験を行った。実験1として、デジタルPCRとリアルタイムPCRにおける環境DNAを用いた生物量の定量の検出精度について、メソコズム実験からのサンプルを用いて検討した。さらに、実験2として、ため池に生息するブルーギルの環境DNAの在・不在について、デジタルPCRとリアルタイムPCRでの検出感度の違いについて検討した。

2. 材料と方法

実験1) デジタルPCRとリアルタイムPCRを用いて、環境DNA量から魚の個体数を推定する手法

を開発するために、メソコズムによる操作実験を行った。約450Lのメソコズム12基において、それぞれ、0-85個体のコイを飼育して、その水から環境DNAを収集して解析した。その解析結果から、コイの環境DNA量とその個体数・生物量の関係について検討した。

実験2) 実験には、Takahara et al. (2013) で用いた、ため池70個から採集した環境DNAサンプルを用いた。ブルーギルの環境DNAがリアルタイムPCRで検出された池とされていない池を計25個選び、それらの池のサンプルについて、デジタルPCRを用いてブルーギルのDNAを再測定した。

3. 結果と考察

実験1) コイの環境DNAと個体数・生物量について、リアルタイムPCR、デジタルPCR共に高い精度で解析できた。しかし、低濃度の環境DNAにおいて、デジタルPCRでより高精度に分析できることがわかった。測定の際につきについても、低濃度の環境DNAにおいて、デジタルPCRで小さいことがわかった。このことから、環境DNAの定量ではデジタルPCRが優れていることがわかった。

実験2) ため池のブルーギルの環境DNAについて、デジタルPCRを用いた測定ではリアルタイムPCRよりも検出感度が高いことがわかった。これはデジタルPCRが、検出感度が高くさらにPCR阻害に強いためと考えられた。また、リアルタイムPCRでは、PCR試薬（マスターミックス）の違いでも検出感度が変わることが明らかとなった。

実験1) Hideyuki Doi, Kimiko Uchii, Teruhiko Takahara, Saeko Matsushashi, Hiroki Yamanaka, and Toshifumi Minamoto (2015) Use of droplet digital PCR for estimation of fish abundance and biomass in environmental DNA surveys. PLOS ONE 10: e0122763

実験2) Hideyuki Doi, Teruhiko Takahara, Toshifumi Minamoto, Saeko Matsushashi, Kimiko Uchii, and Hiroki Yamanaka (2015) Droplet digital polymerase chain reaction (PCR) outperforms real-time PCR in the detection of environmental DNA from an invasive fish species. Environmental Science & Technology 49:5601-5608

CL500-11 の生態学的研究

*岡崎友輔（京大・生態研），程木義邦（京大・生態研）
田中敦（国環研），中野伸一（京大・生態研）

1. はじめに

本発表では、琵琶湖の有酸素深水層で優占が見つかった細菌系統”CL500-11”に関する研究を紹介する。CL500-11 は、16S rRNA 遺伝子配列に基づく分子系統樹上では 97%以上の相同性を示す「種」に相当する難培養の系統である。この細菌が属する *Chloroflexi* 門は、湖沼の浮遊細菌の優占系統としては門レベルで前例がなく、本研究が初めての報告である。さらに CL500-11 はこれまでに得られている近縁の単離株に共通する、「嫌気・好温・糸状細胞」という性質をいずれも欠いている。これらの系統的な特殊性から、CL500-11 は何らかの特異な生理的性質を有し、生態系内で重要な役割を果たしている可能性が高いと考えられる。

2. 材料と方法

琵琶湖沖において 21 ヶ月間にわたり、表層から底層にかけての 5 水深で採水を行った。サンプルに含まれる CL500-11 細菌を CARD-FISH(Catalyzed reporter deposition fluorescent *in situ* hybridization)法により特異的に染色し、蛍光顕微鏡下で計数することにより現存量を決定した。

また、琵琶湖以外の湖沼における CL500-11 の存在を検証するため、有酸素深水層を有する国内の複数湖沼において成層期に鉛直方向の採水を行い、同様に CL500-11 の現存量を決定した。

さらに調査が難しい海外の湖沼については、塩基配列データベース（Genbank および Sequence Read Archive）の検索を行い、これまでに CL500-11 の塩基配列が報告された環境を整理した。



図 1 : CL500-11 の顕微鏡写真（スケールは 1 μm）

3. 結果

CARD-FISH 染色の結果、CL500-11 は平均的な浮遊細菌よりも大型（長さ 1-2 μm）のコマ状桿菌の形態を示した（図 1）。現存量の推移をみると、成層の成立以降、深水層で増加し、成層期末期に全細菌の約 15%を占めるまで増加するが、鉛直混合が始まると現存量は減少に転じ再び検出限界以下となる、というサイクルを示すことが明らかとなった。また、その細胞の大きさから、細胞体積比では細菌群集全体の約 30%を占めることが明らかとなり、

CL500-11 が琵琶湖の物質循環および生態系において量的に重要な存在であることが明らかとなった。

琵琶湖以外の湖では、これまでに調査を行った摩周湖・中禅寺湖・本栖湖・西湖のいずれの湖沼においても、深層で CL500-11 が検出され、最大で 14.4%と琵琶湖同等の現存量が確認された。

データベースの検索では、CL500-11 の塩基配列は、世界中の有酸素深水層を有する湖沼で見つかり、多くが有酸素深水層または鉛直混合期に報告されていることが明らかとなった。

4. 考察

CL500-11 はこれまでの研究であまり注目されてこなかった「有酸素深水層」を特異的なニッチとする細菌であり、世界中の湖沼に広く分布していると考えられる。深水層の低水温環境にも関わらず、ダイナミックな現存量変動を示すことから、大型湖沼の物質循環において重要な役割を果たしていると考えられるが、現在のところ、本系統の生理的な特性は明らかになっていない。

本系統は通常の方法では単離が困難な難培養細菌である。今後の研究では培養非依存なアプローチで CL500-11 の全ゲノム決定を行い、代謝活性を明らかにする予定である。

Carbon, nitrogen and phosphorus stoichiometry of freshwater zooplankton during algal blooms and non-bloom period in eutrophic reservoir

* Jin Mei-yan, Chang Kwang-Hyeon, Oh Jong-min (Kyung Hee Univ.)
 Nam Gui-Sook (Korea Rural Community Corporation)

1. Introduction

In aquatic food web, zooplankton plays a key role in connecting primary producers and higher trophic level animals, and thus, is an important component in the nutrient cycle. Eutrophication introduces excessive amount of nitrogen and phosphorus into aquatic ecosystem, and causes algal bloom especially during summer. Considering the seasonal dynamics of nutrients, not only from the viewpoint of water quality but also based on biological and ecological points of view, is necessary to understand the nutrient cycle and consequent ecosystem structure and function of eutrophicated ecosystems.

It has been suggested that there is large differences in P content between some freshwater zooplankton species. Herbivorous cladocerans, especially *Daphnia*, had a high P content and low N:P ratio, while copepods had lower P content and higher N:P ratios. Zooplankton with different body C:N:P ratios can be expected to differ in their relative rate of recycling of C, N and P. Stoichiometry has long been used in ecological studies, and it predicts that differences in carbon: nitrogen: phosphorus (C:N:P) elemental ratios between zooplankton and their food should influence the relative role of zooplankton as a sink or source of N and P.

In the present study, we analyzed carbon (C), nitrogen (N) and phosphorus (P) elements stoichiometry of dominant zooplankton species in eutrophic reservoir, and its spatial and temporal dynamics were estimated to provide basic data linking to functions of main zooplankton groups in different conditions particularly in bloom period and non-bloom period.

2. Material and Methods

Field samples of zooplankton were taken from two sites (inlet and open area of eutrophic reservoir), by vertical (100- μ m mesh size) net hauls at monthly intervals throughout the non-bloom and algal blooms period from September 2014 to September 2015. Live plankton collected from the reservoir was brought to the laboratory, and immediately frozen (-20°C).

Before analysis, frozen animals were directly sorted by species level under a dissecting microscope. Dry weights of the samples were measured after 48h freeze-dry process (-40°C). Carbon and nitrogen contents were measured using Carlo-Erba CHN 1106 elemental analyzer. Phosphorus contents were analyzed according to ascorbic acid method using HUMAS spectrophotometer HS3300.

3. Results & Discussion

Zooplankton species (mainly *Chydorus* in September and *Daphnia galeata* thereafter) showed a significant correlation among C, N and P contents. The N and C of zooplankton positively correlated, while the P and C, P and N contents negatively correlated. The C, N, P contents (% of dry weight) of zooplankton species did not show clear seasonality. The N:P ratio had a seasonal fluctuation with higher N:P ratio during algal bloom in September and sharp decrease thereafter (Fig. 1). It has been suggested that nutrient elements ratio of zooplankton is related to seasonal variation of zooplankton species, food type and nutrient concentrations in the environment. We analyzed the relationship between observed nutrient contents and their ratio of dominant zooplankton species in the reservoir, and related environmental factors.

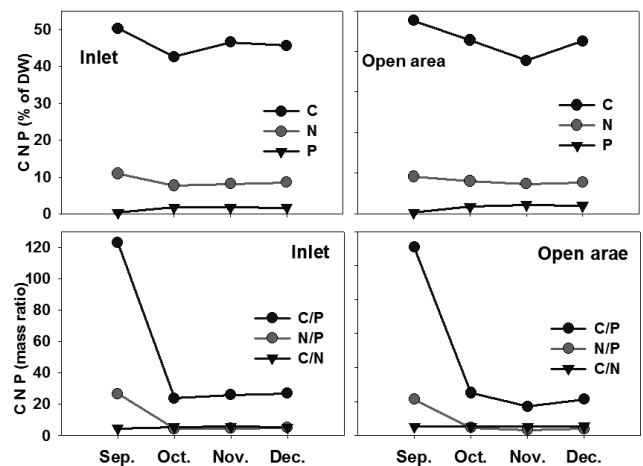


Figure 1. Seasonal variation of C,N,P ratios in zooplankton (cladocerans) collected from the eutrophic reservoir

* Seo Dong-Il, Chang Kwang-Hyeon (Kyung Hee Univ.)

Nam Gui-Sook, Lee Eui Haeng (Korea Rural Community Corporation)

1. Introduction

There are about 18,000 reservoirs in Korea. Most reservoirs are agricultural reservoirs and multilateral plans for prevention and management have been made as occurrence of algal bloom is gradually intensified due to severe eutrophication. Biomanipulation can be considered to be an eco-friendly method for the controlling of algal bloom in reservoirs by applying the biological interaction among fish, zooplankton and phytoplankton, so called food web cascade. Traditional biomanipulation is a method reducing algal biomass through inducing the dominance of large zooplankton such as daphnia by removing zooplanktivorous fish using piscivorous fish introduction.

The present study considered a method of increasing the efficiency of biomanipulation through employing a sustainable control method such as the continuous culture and release of a large amount of herbivorous zooplankton, continuous introduction of piscivorous fish, and the removal of fish, with the conventional theoretical background of biomanipulation. To maintain the piscivorous fish biomass and support the local residents' income, piscivorous fish as well as other zooplanktivorous fish were caught regularly and sold to local markets.

In the present study, we introduce the application of biomanipulation with sustainable management including continuous zooplankton grazer release, and summarize the effects of biomanipulation on water quality and algal bloom occurrence in agricultural reservoir.

2. Material and Methods

Chodae reservoir which was selected as biomanipulation application site, is an agricultural reservoir having storage capacity of 1 million ton, and the average depth is 2.5m. An annual average of Chl. a concentration of the reservoir is approximately 100 mg/m³, and heavy algal bloom occurs every year during

summer. To apply biomanipulation, massive culture facility (two 20-ton culture tanks and six 10-ton culture tanks) was installed in May 2013. Cladoceran grazers including *Daphnia similoides*, *Daphnia galeata* and *Simocephalus vetulus* have been cultured using natural food assemblages collected from the reservoir, and increased grazers were released to the reservoir with one-week interval from May to October since 2013.

To reduce zooplanktivorous fish, 50,000 individuals of piscivorous catfish juveniles were introduced to the reservoir in June 2013. From 2015, direct fish removal by casting net and fixed shore net during was carried out during spring.

During biomanipulation application, we monitored population dynamics of grazers in massive culture facility, and water quality and plankton community of the reservoir were also monitored.

3. Results & Discussion

Since the massive culture system was operated in 2013, the population density of cladoceran grazers in the culture tanks were increased, and maintaining more than 100 individuals/L of grazers was possible. Species composition of cladoceran grazers was different according to the culture tanks as well as seasons. The dominant species were *D. galeata* and *S. vetulus*. However, during summer when water temperature increased, their population densities were decreased.

Released catfish juveniles gradually grew up and the carbon and nitrogen stable isotope values of catfish collected from the reservoir in 2014, indicated they are top predator and play an important role to control zooplanktivores of the reservoir.

With regard to the quality of water in the reservoir, when annual transparency was compared, it was verified that the transparency sharply increased from an average of 20 to 40 cm, after the application of biomanipulation.

アンバランスな食物網構造の湖沼生態系の解明： 佐鳴湖のプランクトン食物網の不思議

*中野伸一（京大・生態研），谷幸則（静岡県大・環境科学研），
高巢裕之（東大・大気海洋研），岸本結，藤永承平（京大・生態研）

1. はじめに

夏季の静岡県・佐鳴湖では、ピコ植物プランクトンの *Synechococcus* 属が圧倒的に優占する。我々は、これまでにピコ植物プランクトンと摂食者である鞭毛虫との食物連鎖（微生物ループ）について研究を行った（Takasu et al., pers. comn.）。しかし、これら微生物以外にどのようなプランクトンが生息しているか、ほとんど情報が無かった。我々は、植物プランクトンや動物プランクトンのおおまかな組成を知ろうと、2012年8月31日に、試みに本湖の試水 100 リットルほどについてプランクトンネットを引き、プランクトンの濃縮サンプルを採った。ところが、大変奇妙なことに、得られたサンプルには植物プランクトンも動物プランクトンもほとんど得られなかった。静岡県は、2005年から2007年にかけて、近隣の関係研究機関の協力の下、本湖の生態系について詳細な調査を行った（静岡県産業部，2008）。その結果、動物プランクトンでは *Sinocalanus* 属や *Pseudodiaptomus* 属が優占的であるが、その個体密度は概して低かった（澤本，2008）。植物プランクトンでは、*Synechococcus* 属が圧倒的に優占である（谷ら，2008）が、堆積物コアの分析からは *Thalassiosira*, *Puncticulata* などの海産珪藻類の属や、*Cyclotella*, *Aulacoseira*, *Gomphonema* などの淡水産珪藻類の属が検出された（谷ら，2008）。

著者らは、浅くて富栄養化が著しい点で佐鳴湖と共通する中国・太湖において、溶存有機物動態の研究を行っている。この研究でも、試みにプランクトンネットを引き、プランクトンの濃縮サンプルを採った。その結果、太湖では、植物プランクトンは *Microcystis* 属が圧倒的に優占していたが、動物プランクトンはほとんど採取されなかった。

湖沼の中には、湖水中に多くのデトリタスが存在し、濁度の高いものがある。ハンガリーのバラトン湖は、大量のデトリタスで湖水が濁っているが、このデトリタスは動物プランクトンの餌資源として重要であろうと指摘されている（Toth and Zankai 1985, Zankai and Ponyi 1986）。このような結果は、沿岸海洋でも報告が有り（Vincent et al. 1996, Yoshino et al. 2012）、国際的に広く受け入れられている事実であろう。佐鳴湖と太湖が、バラトン湖と共通して有している特性は、浅い水体であり、デトリタスが多く濁度が高い点である。しかし、先述の通り、佐

鳴湖と太湖には動物プランクトンの現存量が極めて低いことを考えると、これら湖沼のデトリタスが動物プランクトンの餌資源として機能しているとは思えない。

本研究では、佐鳴湖や太湖でなぜ動物プランクトンが少ないのか？、食物網の構造そのものが他の湖沼と異なるのか？を明らかにすることを目的とした。なお、我々の研究チームは、これまでに佐鳴湖の動物プランクトンの現存量を測定していなかったことから、今回の発表では動物プランクトン現存量の測定結果と、本湖の *Synechococcus* をめぐる微生物ループについて報告する。

2. 材料と方法

2014年9月6日と2015年2月7日に、静岡県・佐鳴湖の表層水 50 リットルを採取し、20 ミクロンおよび 70 ミクロンのプランクトンネットで試水を濃縮した。得られたサンプルは、酸性ルゴール液を用いて固定し、実験室内でさらに濃縮し、光学顕微鏡を用いて濃縮サンプル中の動物プランクトン個体数を計数した。

参考のため、ピコ植物プランクトンに対する原生生物による摂食について、希釈法を用いて測定した。

3. 結果と考察

夏季の佐鳴湖では *Synechococcus* 属が優占していた ($1-2 \times 10^6$ cells ml⁻¹) が、冬季には渦鞭毛藻類の *Katodinium* 属が優占した。後者は、動物プランクトンの餌資源として機能し得るサイズと形態であった。一方、動物プランクトン個体密度は、夏季・冬季ともに低く、とくに冬季は甲殻類、ワムシともに全く検出できなかった。夏季は、ワムシが 54 ind. L⁻¹であったが、カイアシ類はノープリウスも含めて 1.5 ind. L⁻¹であった。

佐鳴湖では、生産された *Synechococcus* の 53–175% がおそらく鞭毛虫による摂食で死滅した。この食物連鎖は、日中は活発に機能していたが、夜間はほとんど機能していないと示唆された。

本湖の食物連鎖を通じた物質循環は、主として微生物ループにより駆動されており、植物プランクトンから動物プランクトンへの生食連鎖は、たとえ冬季で動物プランクトンにとって摂餌し易い餌が存在していても、あまり機能していないと思われる。

*佐野真吾・吉崎真司（東京都市大学・環境情報）

1. はじめに

止水性水生昆虫は、近年日本全国で減少しており、環境省の第4次レッドリスト(2012)では新たに50種類以上が絶滅危惧種に追加された。また、日本の生物多様性総合評価(2012)や生物多様性国家戦略(2012-2020)では、止水性水生昆虫の生息地である溜池や水田など止水域生態系の保全の必要性が指摘されている。

本研究では横浜市における止水性水生昆虫相の特徴に注目した。止水性水生昆虫類の一種であるゲンゴロウ類において、全国各県のレッドデータブックを比較した事例がある(西原ほか, 2006)。ここでは神奈川県におけるゲンゴロウ類の掲載種数は上位であり、また絶滅種数はトップであるとされている。上記の事例より、ゲンゴロウ類と類似した環境に生息するその他の止水性水生昆虫も神奈川県において危機的状況であることが考えられる。神奈川県における止水性水生昆虫の現状は神奈川県レッドデータブック(2006)や神奈川昆虫誌(2004)などで報告されているが、横浜市における記述は極めて少なく、詳細な調査がされてこなかった。また、県東部に位置する横浜市は、県西部と比較して早くから開発されており、県西部以上に危機的状況である可能性が示唆される。よって本研究では、横浜市における止水性水生昆虫の保全を検討する前段階として、止水性水生昆虫相の特徴を明らかにすることを目的とした。

2. 材料と方法

対象種は水生甲虫類および水生半翅類とし、調査地ごとに種名を記録した。調査地は、横浜市内にある公園の池、調整池、ビオトープ、湿地、水溜り、水田を含む止水域230ヵ所とした。採集には幅40cm、柄長60cm、網地の目開き0.55×0.75mmのD型フレームのタモ網を用いた。調査期間は5月から8月とした。230ヵ所で記録したデータは、種と確認地点の類似性および各調査地点の多様度により止水性水生昆虫相の特徴を表した。種と確認地点における類似性においてはTWINSPAN法を用いた解析をお

こなった。また、各調査地点の多様度は、Shannon指数Hによる多様度指数を用いて0から4.5までの数値で表した。

3. 結果

本調査では54種の止水性水生昆虫が確認された。環境省レッドリスト(2012)および神奈川県レッドデータブック(2006)において絶滅危惧種および準絶滅危惧種の判定を受けている種は、環境省(2012)では7種、神奈川県(2006)では15種が確認された。種と確認地点の類似性を検討した結果、横浜市内における止水性水生昆虫の分布は平野部の水田、緑地に隣接した水辺、海に隣接した水辺、比較的面積の広い池の4グループの環境に分けられ、さらに平野部の水田および緑地に隣接した水辺の中で、河川に隣接した水田、緑地に隣接した水田、河川や緑地と隣接していない水田の3グループの周辺環境が関係する傾向がみられた。また、230ヵ所の調査地点で多様度指数Hが3.5以上の数値となった地点は7ヵ所あり、うち6ヵ所は緑地に囲まれた水辺であることが明らかになった。

4. 考察

種と確認地点の類似性においては、隣接する環境によって生物相の特徴がみられたため、今後は隣接する河川、緑地、海岸、人工物等、周辺環境の種類や距離を調査する予定である。また、調査地点における多様度においては、緑地に囲まれた水辺の多様度指数が高かった要因の一つとして流水性の種や暗い水辺を好む種など特殊な環境を好むとされる種が確認されたことが考えられる。これは緑地に囲まれた水辺が、小川や樹林と隣接している場合が多く多様な環境が生じることや隣接した環境からの影響を受けやすいためだと考えられるが、これらの種以外に緑地に囲まれた環境のみで確認された種もあるため、今後確認地点の水深や植生、水際の状態、面積など、確認地点内における環境要因を調べる必要がある。

ミドリムシ藻綱 *Euglena gracilis* 回収方法の検討

*鳥原健太（龍谷大院・理工），岸本直之（龍谷大・理工）
野田寿一郎（LOCH ENERGY, Ltd）

1. はじめに

近年、地球温暖化や資源枯渇が世界中で問題となっており、これらを解決するために再生可能エネルギーが注目を浴びている。本研究では、バイオマスエネルギーの一種である下水汚泥の嫌気性消化に着目し、廃水で培養した微細藻類と下水汚泥の混合嫌気性消化により、メタンガスを回収するという新たなプロセスを着想した。

微細藻類回収法は、現在までに遠心分離、ろ過、凝集及び浮選など（Grima *et al.*, 2003; Poelman *et al.*, 1997; 鈴木ら, 2002）が報告されているが、これらは多くの維持管理費が必要となってくると考えられる。そこで本研究では、ミドリムシ藻綱 *Euglena gracilis* (NIES-49)を用い、低コストで微細藻類回収を行うことができる、不織布及び汚泥焼却炉等廃熱の使用を想定した新たな回収方法を検討する。

2. 方法

不織布を用いたろ別回収

1.5×0.4 cm の断面を有する矩形水路を鉛直に設置し、幅 1.5cm、厚さ 0.4 cm の不織布（目付 350g/m²）を水路内に固定した。設置した不織布の長さは、5.0, 10.0, 15.0 cm の三段階に変化させた。この不織布に定常相にある *E. gracilis* 培養液 200 mL を、マグネチックスターラーで *E. gracilis* が沈殿しないように攪拌しながら、流量 100 mL/h で 60 分間不織布の始端に滴下し、*E. gracilis* を捕捉させた。設定時間ごとに不織布通過液中の *E. gracilis* 細胞密度を計測し、不織布通過前後の細胞密度差から、回収率を求め、経過時間と不織布の長さが *E. gracilis* の回収率へ及ぼす影響を検討した。

加温処理による沈殿回収

15 mL 遠沈管に定常相にある *E. gracilis* 培養液を 10 mL 加え、80℃のウォーターバスで液温が設定温度（35℃、40℃）になるまで加温した。その後 35℃、40℃のウォーターバス内で 0～120 分静置した。取

り出す際に攪拌し、一時間静置後、その上澄み液 8 mL 中の細胞密度を計測し、加温沈殿処理前後の細胞密度の差からそれぞれの回収率を求めた。

3. 結果及び考察

長さの異なる不織布で 60 分間 *E. gracilis* 培養液を通水させた結果、開始 5 分ではどの長さでも回収率 70%以上であったが、その後、回収率は経時的に低下した。不織布体積当たりの通水量と回収率の関係を図 1 に示す。その結果、回収率は不織布体積当り通水量に依存していることが明らかとなり、最終的に約 30%に漸近した。

次に、35℃、40℃に加温し、0～120 分静置した結果を図 2 に示す。その結果、加温開始 10 分までは 35℃と比較して 40℃の条件で回収率が約 10%高いが、30 分以上加温を行うと有意な差は見られなかった。最終的に、35℃で 60 分間以上、もしくは 40℃で 10 分間以上の加温により 70%程度の回収率が達成できると考えられた。

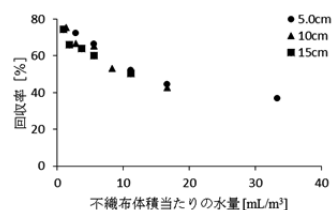


図 1. 不織布体積当たりの水量と回収率の関係

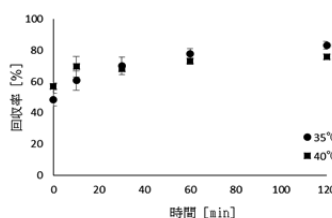


図 2. 各温度における回収率の経時変化

参考文献

Grima E.M., *et al.*, (2003) *Biotechnol. Adv.* **20**, 491-515
Poelman E., *et al.*, (1997) *Conserv. Recycl.* **19**, 1-10
鈴木祥広ら (2002) *水環境学会誌* **25**(5), 297-302

* 相子伸之・矢吹芳教（(地独) 大阪府立環境農林水産総合研究所）、
大塚宜寿・田中仁志（埼玉県環境科学国際センター）

1. はじめに

環境省は、個々の化学物質の濃度ではなく、生物への毒性影響を通して水環境への影響を総じて評価する手法として WET（Whole Effluent Toxicity）法の導入を検討している。標準的な WET 法では、魚類、甲殻類および藻類を試験生物として用いる。しかし、ある種の殺虫剤など、昆虫に対して低濃度で影響を及ぼす一部の物質に対する毒性は、過小評価されることが考えられる。

そこで、水生昆虫への生態影響評価手法の提案として、河川に人工的な定着基盤を設置し、そこに定着する水生昆虫の種類の変化を観察し、評価する手法の構築を試みた。

2. 材料と方法

大和川水系石川の支流の上流部の溪流において、上流側から A、B、および C の 3 地点に水生昆虫の定着基盤として、半丁ブロック（以下、ブロック；縦×横×高さ＝19 cm×19 cm×11 cm、水平方向に楕円柱状の空洞がある）を設置した。それぞれの地点の河床（砂）の上に、1～数 m 間隔に 3 つのブロックを設置した。それぞれブロックは、空洞が流れ方向と直角になるように設置した。さらに、3 地点の水質調査も同時に行った。平成 27 年 3 月 4 日にブロックを設置し、4 月 23 日と 5 月 13 日に取り出して水生昆虫を採取した。定着した水生昆虫を目視で確認しながら、渓流水でプラスチックバット上に流し入れた。それぞれの地点毎に設置した 3 つのブロックは、同じプラスチックバットに流し入れて 1 つとした。プラスチックバットから落葉・落枝などを除去したのちに水生昆虫を捕集し、速やかに実験室に持ち帰った。この水生昆虫を実体顕微鏡下で同定して、組成を定性的に調べた。また、上流側の地点 A では、礫河床（以下、河床という）を攪乱して流れ出た水生昆虫を捕集し、河床に生息する水生昆虫の組成を調べた。

3. 結果と考察

4 月には、河床ではヒラタカゲロウ科 1 種が優占しており、その他にモンカゲロウ科、シマトビケラ科など昆虫が 1 種ずつ確認された。ブロックでも河床と同種のヒラタカゲロウ科 1 種が優占しており、その他にも河床と同種のモンカゲロウ科とシマトビケラ科の水生昆虫が 1 種ずつ確認された。

5 月には、河床ではマダラカゲロウ科 2 種が優占しており、その他に 4 月に確認されたモンカゲロウ科、シマトビケラ科など昆虫が 1 種ずつ確認された。ブロックでも河床と同種のマダラカゲロウ科 2 種が優占しており、その他にも河床と同種のモンカゲロウ科の水生昆虫が 1 種確認された。河床とブロックでは優占する水生昆虫の組成が概ね一致しており、礫間に生息する水生昆虫の人工的な定着基盤として、ブロックが利用できると考えられた。

ブロックに定着した水生昆虫を地点毎に比較すると、地点 A と地点 B とでは種組成が類似しているのに対し、地点 C では地点 A あるいは地点 B と異なっていた。これらの地点の電気伝導度の 3 月～5 月の平均値は、A、B、および C でそれぞれ 12.7 mS/m、13.5 mS/m および 24.2 mS/m と地点 C で高く、水質の違いにより種組成が変化した可能性が示された。

表 1 ブロックに定着した水生昆虫

水生昆虫	地点A		地点B		地点C	
	河床	ブロック	ブロック	ブロック	ブロック	ブロック
	4月	5月	4月	5月	4月	5月
マダラカゲロウ科		○	○	○	○	
a			○			
b			○			
c			○			
ヒラタカゲロウ科	○		○		○	○
a			○			
b			○			
モンカゲロウ科	○	○	○	○	○	
トビロカゲロウ科			○			
コカゲロウ科			○		○	○
a					○	○
b					○	○
c			○			
d						
e						
f						
フタオカゲロウ科					○	
a					○	
シマトビケラ科	○	○	○	○	○	○
a			○			
カワゲラ科			○			
a						
ヘビトンボ科	○					
a						
サナエトンボ科	○		○			
a						
b						

謝辞 本研究は JSPS 科研費 26550090 の助成を受けたものです。

流域スケールからのアプローチ

*奥田 昇¹・岩田智也²・林 拓矢³・村上 綾⁴・陀安一郎¹・石川尚人⁵・岡野淳一⁴・富樫博幸⁶・中野伸一⁴
酒井陽一郎⁴・U. Song⁷・尾坂兼一⁸・Cid, A.P.⁹

¹地球研、²山梨大・院総合研究、³山梨大・工、⁴京大・生態研、⁵海洋研究開発機構

⁶水研センター・東北区、⁷済州大・自然科学、⁸滋賀県大・環境科学、⁹大阪大学・国際交流

1. はじめに

リンは生物に利用可能な形態での存在量が希少であるため、流域生態系の物質循環を支配する律速因子となりうる。この生態化学量論的特性により、集水域の人間活動に伴って排出されるリンは、富栄養化や生物多様性低下など深刻な環境問題をしばしば引き起こす。本研究は、河川生態系において「栄養バランスの不均衡」をもたらす流域圏の人間活動を特定するとともに、河床微生物群集に及ぼす影響を評価することを目的とした。さらに、河川生態系のリン循環パターンを流域スケールで可視化する栄養螺旋モデルを用いて、藻類群集により駆動されるリン循環機能の評価を試みた。

2. 材料と方法

琵琶湖水系最大流域面積を誇る野洲川集水域を調査対象として土地利用形態の異なる1次から5次河川に59観測定点を設置し、全リン・全窒素濃度、流量、水深、川幅、流速、水温、日平均光合成有効放射を計測した。空間参照型回帰モデル SPARROW (Smith et al. 1997) を改良した栄養螺旋モデルにこれらの観測データおよび標高、河川次数、各種土地利用データを組み込むことによって、流域生態系全体のリン原子のスパイラルメトリクス (U : 取込み速度、 v_f : 鉛直移動速度、 S_w : 平均流下距離) を推定した。

さらに、上記観測定点の内、30地点において、河床礫付着藻類を定量採集し、クロロフィル a 、 b 、 c の濃度を測定した。クロロフィル a 、 b 、 c は、それぞれ藻類群集全体、緑藻類、珪藻類のバイオマスの指標として用いた。藻類群集が河川生態系のリン循環機能に及ぼす影響を評価するために、リンのスパイラルメトリクスを目的変数、各種藻類バイオマスおよびそれらに基づいた多様度指数を説明変数と

した回帰分析を行った。

3. 結果

野洲川の河川水全リン濃度は、市街地や農地の土地利用割合が高い集水域で高い値を示した。栄養螺旋モデルに基づいて、市街地と農地からの面源リン負荷量 ($\text{mol}/\text{km}^2 \cdot \text{day}$) は、それぞれ 1.34 と 0.26 と推定された。栄養バランス (全窒素/全リン濃度) は、藻類群集組成に影響を及ぼし、とりわけ、緑藻バイオマスを規定する有意な環境要因とみなされた。

リンの取り込み速度 U は、森林河川で低く、市街地・農地河川で高かった。また、栄養塩除去効率の指標となる v_f も市街地・農地河川で高い値を示した。一方、リンの栄養螺旋長 (リン1分子が代謝回転するのに要する平均流下距離) と定義される S_w は、下流河川ほど長くなり、河川本流の下流域に負荷されたリンの多くは生物に取り込まれることなく琵琶湖に流入することが明らかとなった。他方、流域末端の小河川では、栄養螺旋長が相対的に短く、リン循環機能が高いと結論された。リンの取込み速度は、緑藻バイオマスと高い相関を示し、河床微生物によってリン循環が促進されていることが示唆された。

4. 考察

野洲川流域では、市街地や農地から排出されるリンが河川生態系の栄養バランスの不均衡をもたらす駆動因となりうる結論づけられた。緑藻類は、リンへの応答性が高く、流域の土地利用改変による栄養バランスの不均衡が藻類群集組成やバイオマスの空間変異をもたらすと推察された。本研究により、集水域の人間活動が河床微生物群集の改変を介して、河川生態系の栄養循環機能に影響を及ぼすメカニズムを因果論的に解明することができた。

カブトミジンコとオオミジンコの比較

*河鎮龍（富山県立大学 工学部環境工学科），
加茂将史（産業技術総合研究所 安全科学研究部門）
坂本正樹（富山県立大学 工学部環境工学科）

1. はじめに

金属は水質の違い（pH、水硬度など）により形態を変え、水生生物に与える毒性も変化する事が知らされている。一般に、水生生物に急性毒性影響を及ぼす金属は無機態として存在するものであり、有機物と錯形成したものは影響しないと考えられている。現状、日本では全溶存態濃度を基にした評価がなされているが、金属スペシエーション（金属種の分別）を行わずに実際の生態影響を推定することは困難である。

水質データから水生生物への金属毒性の影響を予測する手法としてBLM（Biotic Ligand Model）が開発されている。BLMは、Biotic ligand（水生生物のエラにある）における陽イオン（Caなど）の取り込みを溶存態の無機金属が阻害するという急性毒性のメカニズムを記述したモデルである。ミジンコ種では、毒性試験の標準試験生物（オオミジンコやニセネコゼミジンコ）のBLMがあるが、日本の環境水と硬度等の水質が大きく異なる欧米で開発されたものであるため、それを援用しただけでは日本の陸水環境に特有の生態リスクを適切に把握できない。

我々は、オオミジンコへの金属毒性をリファレンスとしながら、日本に広く分布するカブトミジンコのBLMを日本の水環境を想定して開発することを目標として研究を進めている。本発表では、硬度（Ca、Mg）とpHの変化と銅の毒性の関係について、ミジンコ急性遊泳阻害試験の結果をもとに議論する。

2. 材料と方法

ミジンコ急性遊泳阻害試験にはオオミジンコとカブトミジンコのそれぞれ単一のクローンを用いた。試験物質としてCuSO₄を超純水に溶かしたものを使用した。硬度の違いによる銅の毒性への影響を明らかにするために、Ca（0.01-4.12 mM）とMgの濃度（0.01-2.56 mM）およびpH（6.5-7.9）が異なる

条件下で試験を行った。試験水中のCu、DOC、DICと陽イオン（Ca、Mg、Na、K、H等）の濃度を基に化学平衡モデルからCu²⁺と他の陽イオンのactivityを推定し、48-h LC₅₀（半数致死濃度）と陽イオンの関係を調べた。

3. 結果と考察

銅に対する感受性は同じ水質条件ではカブトミジンコがオオミジンコより高かった。カブトミジンコに対するCu²⁺の48-h LC₅₀はCa²⁺濃度（activity）の違いにより、14.45 nM-123.10 nMの範囲で変化した。Mg²⁺の影響はCa²⁺ほど強くなかったが、48-h LC₅₀が19.10 nM-41.21 nMの範囲で変化した。pHは溶存態Cu中のCu²⁺の割合には強く影響したが、H⁺はCu²⁺の毒性に対してほとんど影響しなかった。

Biotic ligandに対するCu²⁺やCa²⁺、Mg²⁺、H⁺などの陽イオンの親和性は一定であると考えられている。Cu²⁺の濃度が一定なら、これらのイオン濃度が高いとBiotic ligandに吸着する銅の量は相対的に小さくなり、結果として48-h LC₅₀が高くなる。本研究の結果から、カブトミジンコに対するCu²⁺毒性に対してCa²⁺がMg²⁺より強く影響し、H⁺はほとんど影響しないことがわかった。これらの結果は標準試験生物であるオオミジンコとは異なる（Ca²⁺よりMg²⁺が強く影響）。また、魚類ではH⁺が金属の毒性に強く影響することが知られているが、ミジンコ類ではH⁺がほとんど影響しないことがわかっている。

水圏生態系に対する化学物質のリスク評価の中で、甲殻類の代表として最もよく用いられているオオミジンコは低硬度域には存在していない。そのため、硬度の低い日本の水環境を対象とする金属毒性評価には適していない。また、本研究の結果から、オオミジンコのBLMで用いられている陽イオンのパラメータをそのままカブトミジンコに適用することはできないことが明らかになった。

1. はじめに

水圏での生態系の変動や水質の変動を明らかにするためには水圏中での物質循環, 特に有機物の循環を明らかにすることが重要となる。細菌群集は水圏内で, 被捕食者, あるいは有機物から無機物に分解する分解者であり, さらに無機物から有機物を合成する再生産者でもあることから, 有機物の循環において細菌群集は非常に重要な役割を果たしているといえる。しかし, 細菌群集はそれぞれの生育環境によって有機物の取り込み活性が変化する可能性があるため, 常に同じ状態で自らの役割を果たしているとは限らない。また, 培養系を用いた実験でも同様なことが起きる可能性がある。

そこで本研究では, 猪苗代湖水から分離され, 培養された保存菌株 9 種を用いて細菌単体の有機物取り込み活性を測定し, 当研究室でこれまでに報告されている基質最大取り込み速度(V_{max})と基質親和性(K_s)に対して取り込み活性の変動が起きているかどうか検討を行った。また, これらの変動レベルに対して, 湖沼の細菌群集を対象にした有機物利用に関するモデル化のために適用できるか検討した。さらに, 猪苗代湖内の細菌群集に変化が起きているかどうかについて検討した。

2. 材料と方法

滅菌済み 1/10 C 培地 100 ml が入った三角フラスコに, 波長 600 nm で濁度が 1.0 以上になるように菌株を懸濁させた生理食塩水を 0.10 ml 又は 1.0 ml を加えた。 ^{13}C でラベルしたグルコース又は酢酸ナトリウムを終濃度がそれぞれ 1-200 $\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$, 10-2000 $\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ の間で 7 段階になるよう加え, その後 20°C の暗所で 8 時間培養した。培養後, ろ過量 20 ml で Whatman-GF/F グラスフ

ァイバーフィルター(ポアサイズ 0.7 μm)を使用して吸引ろ過し, 60 °C に設定した乾燥器でフィルターサンプルを 3 時間乾燥させた。その後, サンプルより無機炭素除去を行い, セルに詰め, $^{13}\text{CO}_2$ アナライザー(日本分光 EX-130S)を使用し, 菌株中の ^{13}C -グルコース又は ^{13}C -酢酸ナトリウムの取り込み量を測定した。また, 本研究に使用している細菌が現在の猪苗代湖にも生育しているかについての確認のため, 変性剤濃度勾配ゲル電気泳動法(DGGE 法)を用いた。

3. 結果と考察

2011 年に測定された値と比べ, グルコース取り込みに関する取り込み活性は, 9 種の細菌群のうち, *Novosphingobium* sp., *Sphingomonas* sp., *Microbacterium* sp., *Deinococcus gobiensis* の 4 種が大きくなっていった(V_{max} 値が上がり, K_s 値が下がる状態)。また, グルコース添加系には取り込み活性が小さくなった種は存在しなかった。その一方で, 酢酸ナトリウム取り込みに関する取り込み活性は, 2011 年の値と比較し, 大きくなった種は I-110425-P-A(未同定)の 1 種のみであり, 活性が小さくなった種も認められた。また, 細菌はより多くのエネルギーを合成できるクエン酸回路に適応するため, 酢酸よりもグルコースを優先的に利用しようとし, 酢酸よりもグルコースの取り込み活性の方が大きくなるように変化した可能性が考えられた。取り込み活性の値が変化した理由は, 長期間に渡る継代培養を続けることにより, 細菌群が取り込んだ基質をできる限り早く有効利用できるように適応したためと考えられた。同様なことは湖沼などの自然環境内でも起きることが予想され, 水圏内での細菌群集による有機物の利用についてモデル化する際にも考慮する必要がある。

* 東海林洵(山形大学大学院理工学研究科), 日野修次(山形大・理)

1. はじめに

細菌群集による溶存態有機物(DOM)の利用は、微生物ループにおける炭素循環の出発点であり、高次の炭素循環に link するうえで重要な役割を果たしている。細菌群集が DOM を利用する際、その DOM により順応できる細菌群が選択的に利用していくと考えられるため、河川からの流入などに伴い増加した有機物の種類によって細菌群集としての適応性も異なると考えられる。本研究の対象である山形県南陽市にある白竜湖は田畑からの農業排水の流入が多い富栄養湖である。このような湖における細菌群集のさまざまな有機物に対する適応性を明らかにすることは富栄養湖の物質循環を考えるうえで重要である。本研究では、白竜湖の細菌群集を対象とし、さまざまな有機物が流入したと仮定した場合に、有機物の種類によって細菌群集の成長および細菌群集構造にどのような影響があるのかを明らかにすることを目的とした。

2. 実験方法

2014年4月~11月までの8回と2015年4月~7月までの4回、白竜湖の表層水を採水し、2014年はポアサイズ 3.0 μm のニトロセルロースフィルターでろ過し、ろ液に終濃度 1.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ になるように有機物(グルコース, 酢酸ナトリウム, Gly, Ala, Phe, His, Glu)を一種類ずつ添加した。何も添加していないろ液を control とし、それぞれの試料を 20°C, 暗所で培養した。試料は 24 h ごとに波長 600 nm での濁度を分光光度計(Nakamura 21DV)により測定し成長度を確認した。また培養前と培養後には DAPI 染色による落射式蛍光顕微鏡を用いた細菌数計数を行い、全菌数の比較を行った。さらに、添加した有機物が培養後に細菌によって利用された場合の溶存態有機炭素(DOC)の減少度を TOC-V(shimadzu)を用いて測定した。細菌群集の構造については、培養前と培養後の試料を 0.2 μm のヌクレポアフィルターでろ過し、フィルター上の細菌群集の DNA を抽出し、変性剤濃度勾配ゲル電気泳動(DGGE)法を用いて解析した。

2015年は2.0 μm のヌクレポアフィルターで湖水をろ過したろ液に有機物(グルコース, 酢酸ナトリウム, Ala, Glu)を一種類ずつ 1.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ なるように、栄養塩としてリン酸塩(KH_2PO_4)を 2.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ となるように添加した。また、有機物のみ添加した試料と有機物とリン酸塩を同時に添加した試料を同様に培養し、培養後の全菌数や DOC の減少度について比較した。

3. 結果・考察

濁度の変化により作成した増殖曲線から得られた比増殖速度定数の値や細菌数計数の結果より、白竜湖の細菌群集は常に酢酸ナトリウムと Glu に高い適応性をもつことがわかった。また細菌数計数の結果より、培養後に全菌数がより多く増加していることが明らかになった有機物の種類が測定ごとに異なっていた。これらのことから白竜湖の細菌群集の成長・分裂には添加した有機物の種類によって大きな差があることがわかり、これは有機物ごとに特に利用しやすい細菌群が異なっているためだと考えられた。

DGGE 法によって細菌群集の構造変化より、白竜湖の細菌群集には多様な種が存在し培養系ごとにバンドパターンが異なることが確認できた。また添加した有機物によって培養前と培養後のバンドパターンが変化していたことから、新たに濃いバンドパターンとして出現した細菌群が添加された有機物をよく利用し、成長・分裂していたと考えられた。

本実験で添加したのは炭素源としての有機物のみであった。白竜湖は栄養塩が豊富な湖であるが、植物プランクトンや細菌が利用できる形態の栄養塩の割合は少ないことが推定された(鈴木, 2014)。今後は有機物の添加と同時にリン酸塩を添加し、有機物と同時に細菌によって利用出来る栄養塩が流入したと仮定し培養実験を行い、それらの栄養塩の添加が有機物を利用しての細菌の成長・分裂に変化を起こすのか確認し、その結果についても報告する予定である。

環境変動に対する適応

* 倉本純弥 (山形大学大学院・理工学研究科), 日野修次 (山形大・理)

1. はじめに

水圏環境の変動による生態系の崩壊は、人間にとって悪影響を及ぼす場合がある。特に、食物連鎖の底辺である微生物群集は環境変動の影響を受けやすく、そこから上位の生物群へ影響が伝播していくと考えられる。そのため、予測する環境変動に対する微生物群集の変化を明らかにし、環境変動へ対処するためのデータを蓄積する必要がある。研究対象とした猪苗代湖では近年、酸川からの流入負荷量の減少により pH が中性化し、アルミニウムイオン濃度の低下も報告されている(菊池 2008)。一方で、再び酸川からのアルミニウムイオン流入負荷量が増えた場合などの環境変動に伴い、微生物群集にどのような影響があるのかを検討する必要がある。

本研究では、細菌群集に対する pH, アルミニウムイオンの影響を測定するため、猪苗代湖、流入河川の長瀬川から分離されたアルミニウムに耐性のある 3 種の菌株の比増殖速度、 ^{13}C 安定同位体法による基質取込み活性を測定した。そして、細菌に取込まれた、あるいは付着していると考えられるアルミニウムイオンを直接確認するため、アルミニウム染色により画像解析をした。

2. 材料と方法

猪苗代湖、長瀬川より渡辺(2012)によって分離された *Sphingopyxis* sp., *Kokuria* sp., *Janthinobacterium* sp. の 3 種を使用した。培地には 1/10 C 培地を用い、pH を 4~7, 硫酸アルミニウムを 0.5~200 $\mu\text{mol/L}$ とした。比増殖速度、基質取込み活性の測定には、グルコース、酢酸ナトリウムを用い、それぞれ 0.01, 1 mmol/L となるように添加した。比増殖速度 μ を求めるためのバッチ培養実験では、調整した培地を試験管に 10 ml ずつ分注し、菌体の懸濁液を初期細菌数 2.6×10^3 cell/mL となるように加え 20°C にて培養、濁度を分光光度計(Nakamura 21DV)で測定した。 ^{13}C 安定同位体法によるグルコースと酢酸ナトリウムを用いた基質取込み実験では、調整した培地に懸濁液を初期細菌数 2.6×10^6 cell/mL となるように添加し

8 時間培養、Whatman GF/F フィルター(pore size 0.7 μm)でろ過後、日本分光 $^{13}\text{CO}_2$ アナライザー EX-130S を用いて測定した。アルミニウム染色は、調整した培地に懸濁液を初期細菌数 2.6×10^6 cell/mL となるように添加し 8 時間培養、Nuclepore filter(pore size 0.2 μm)でろ過後、フィルター上の試料に対して 0.25 $\mu\text{mol/L}$ としたルモガリオンを含む 0.02 mol/L, pH 4 酢酸バッファーを 2 mL 添加し、70°C, 1 時間加熱した。後に DAPI を 50 μL 加え Nuclepore filter で再度ろ過し、共焦点レーザー蛍光顕微鏡(Nikon ECLIPSE Ti, C2⁺システム)を用いて測定した。励起波長: 蛍光波長は、DAPI 408 nm : 461 nm, ルモガリオン 488 nm : 576 nm とした。

3. 結果と考察

グルコースを基質とした系では、pH が低い場合に比増殖速度、取込み活性ともに小さくなることが分かった。しかし、アルミニウムイオン濃度が高い場合では、阻害効果だけでなく促進効果も見られた。酢酸ナトリウムを基質とした系では、pH 4~5 では増殖しなかったのにもかかわらず基質取込みは行われていたことが分かった。これは、酢酸イオンから得られるエネルギーはグルコースより少ないため、増殖のための基質としては使われずに細菌内の恒常性を維持するために使われているのではないかと考えられた。アルミニウム染色では、細菌透過画像、DAPI, ルモガリオン蛍光が重なって見られたことから、細胞内や膜表面にアルミニウムが存在することが分かった。このことから、膜表面に存在するアルミニウムは膜タンパク質を覆うため取込みに対して影響を及ぼし、内部に侵入したアルミニウムイオンは代謝系に対して阻害または、排出によるエネルギーロスにより増殖を抑制していると考えられる。今後は、現在の猪苗代湖細菌群集構造に対して、①分離菌株の存在の確認、②酸耐性、アルミニウム耐性の有無の確認、③今回の環境変動予想との比較を行う予定である。

Nanoparticle impacts on rice field ecosystem : microcosm assessment of manufactured titanium and silver-nanoparticle toxicity on zooplankton community

* Go Soon-Mi, Chang Kwang-Hyeon, Yeo Min-Kyeong (Kyung Hee Univ.)

1. Introduction

Recently, various types of nanomaterial are used, and consequently, high amount of used nanomaterials are introduced into the environments. It is likely that introduced nanomaterials affect not only humans but also the ecosystems through direct and indirect ways. Especially, there are increasing concerns for their potential environmental risks in aquatic ecosystems.

Zooplankton community plays an important role as the intermediate trophic level in biological cycle, at the same time, zooplankton community is sensitive to environmental stresses. In particular, the sensitivity to environmental stresses is different for each species of zooplankton which plays different role in aquatic food web. Therefore, it is necessary to analyze how the whole zooplankton community responds to nanomaterials. In the present study, we analyzed the response of zooplankton community to manufactured titanium and silver-nanoparticles especially focusing on paddy field.

2. Material and Methods

As a model paddy field ecosystem, we made small-scale microcosm containing paddy field sediments and plant species as well as typical paddy field zooplankton community created by resting eggs included in the sediment. Microcosm was set up based on the method designed by Yeo and Nam (2013). The microcosms were installed in Greenhouse to create more stable environment (Fig. 1).

The used nanoparticles were the silver-nano citrate, silver-nano PVP, AgNO₃, and nano TiO₂ generally utilized in agriculture and used in products including toothpastes and cosmetics. The exposure conditions for the nanomaterials consisted of 1-session total amount exposure (60ppb) and 3-session distributed exposure (20ppb x 3).

We analyzed the population densities and the species composition of zooplankton in each microcosms (before exposure, and 7 and 14 days after exposure). The changes of the population densities of dominant species were estimated by ANOVA test using software R (ver. 3.0.2) and the species composition affected by nanomaterials was analyzed using PRC (Principal Response Curves) developed to evaluate the

communities changes in microcosm.

3. Results & Discussion

Dominant zooplankton species were rotifers, and epiphytic rotifers, *Monostyla sp.* and *Euchlanis dilatata* emerged as dominant species. Especially a larger species, *Euchlanis dilatata*, showed a high population density in the control group, but in the groups treated with nanomaterials, its population was seriously decreased. The species composition of the zooplankton community changed in accordance with the nanomaterials exposure, and showed apparent trend indicating the nanomaterials impacts. For the comparison according to the exposure method of nanomaterials, the change of species composition was more apparent in 3-session distributed exposure.

From the present experiment, it has been suggested that epiphytic rotifer, *Euchlanis dilatata* population receives more apparent effects by nanomaterials than other planktonic rotifers.

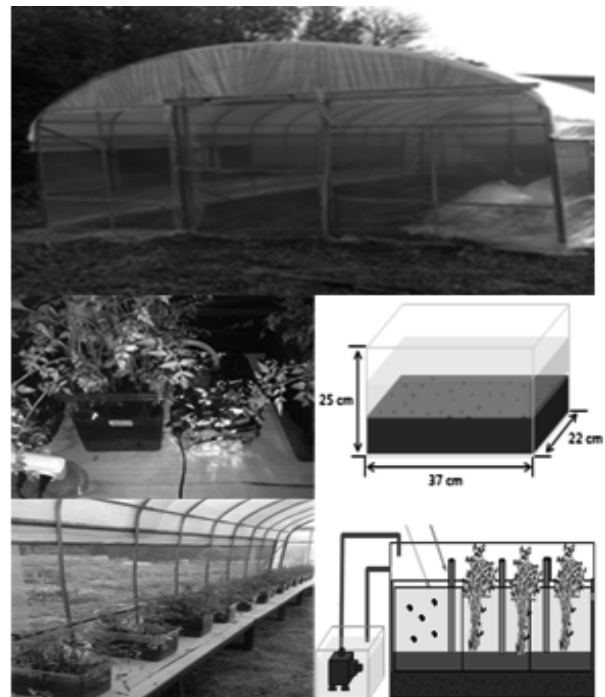


Fig.1 Design of microcosm in greenhouse

P-50

Web 公開不希望

* 荒居博之 (筑波大学・生命環境), 尾山洋一 (阿寒湖畔エコミュージアムセンター)
松下文経, 福島武彦 (筑波大学・生命環境)

1. はじめに

リモートセンシングは広域を定期的に観測できる利点から、アオコ観測のための手法が 1970 年代から研究されてきた。特に 1999 年 12 月から運用されている Terra/MODIS 衛星 (観測幅 2330 km, 分解能 250 m~1 km) は、回帰日数が 1 日と短いため、高頻度のモニタリングに適している。しかし MODIS 画像から求まる藻類指標として Floating Algal Index (FAI) があるが、アオコと抽水・浮葉植物の区別がつかないため、一部湖沼への適用が困難であった。これに対し、Oyama et al. (2015) は植物の水分含量の指標である Normalized Difference Water Index (NDWI) を利用することで、アオコと抽水・浮葉植物を分類する手法を提案した。本研究ではこの新しい手法を用い、モニタリングデータが不足しているアジアの湖沼・水源地を対象に、2000 年以降毎年のアオコ発生状況を定量化し、季節・経年変化の評価を試みた。

2. 材料と方法

2.1 対象地域

メコン川下流域に位置する湖沼として、アジア最大の湖である Tonle Sap 湖 (面積 2500~17500 km², 最大水深 12 m) と、Nong Han 湖及び Ubolratana, Lam Pao, Nam Ngum, Sirinthorn 各貯水池 (面積 130~410 km², 最大水深 3~26 m) を対象とした。

2.2 衛星画像の解析

MODIS 衛星画像 (MOD02 プロダクト) を NASA の Web サイト (<https://ladsweb.nascom.nasa.gov/>) から取得し、6S コード (Vermote et al., 1997) を用いて Rayleigh 散乱の影響を補正した。季節変化の解析には 2001 年と 2011 年の毎月の画像を、経年変化の解析には 2000 年~2014 年の 4 月の画像を使用した。

Landsat 衛星画像から湖沼のアオコと抽水・浮葉植物を分離抽出する手法 (Oyama et al., 2015) を MODIS 衛星画像用に改良し、この手法を対象地域に適用した。手順を以下に記す。まず FAI の閾値 0.035 により、湖水とそれ以外を分離した。次に、NDWI が 0 以上のピクセルをアオコと判別した。FAI 及び

NDWI の式はそれぞれ

$$FAI = R_{NIR} - (R_{red} + (R_{SWIR} - R_{red}) (\lambda_{NIR} - \lambda_{red}) / (\lambda_{SWIR} - \lambda_{red})) \quad (式 1)$$

$$NDWI = (R_{green} - R_{SWIR}) / (R_{green} + R_{SWIR}) \quad (式 2)$$

である。ここで R_{NIR} , R_{red} , R_{SWIR} , R_{green} は MODIS センサーのそれぞれ近赤外, 赤, 中間赤外, 緑バンドの反射率であり, λ_{NIR} , λ_{red} , λ_{SWIR} はそれぞれのセンサーバンドの中間波長の値である。

3. 結果と考察

Tonle Sap 湖を対象とした季節変化解析の結果、2001 年にはアオコはほぼみられなかったが、2011 年には 4 月~7 月にアオコが確認された。この時期は乾季末~雨季初めにあたり、流域からの栄養塩流入による寄与が示唆された。2000 年~2014 年にかけて、4 月にアオコが湖面に占める割合は 1~29% の範囲にあった。2001 年と 2011 年の例を図 1 に示す。ほとんどの場合、アオコは湖の北側に出現していた。ただし、Tonle Sap 湖のような濁度の極めて高い湖沼において本手法を適用した例はないため、今後は他のアオコ検出手法 (例えば Matthews et al. (2012) の MERIS 画像を用いた方法等) を実施し、本結果を検証する必要がある。一方、Tonle Sap 湖以外の湖沼・水源地については現在解析中である。



図 1. MODIS 画像から求めた Tonle Sap 湖のアオコ分布 (左: 2001 年 4 月 9 日, 右: 2011 年 4 月 14 日)

参考文献

- Matthews et al. (2012) Remote Sens. Environ. 124:637-652.
Oyama et al. (2015) Remote Sens. Environ. 157:35-47.
Vermote et al. (1997) IEEE Trans. Geo. Remote Sens. 35:675-686.

*川村志満子, 福島武彦 (筑波大学大学院・生命環境科学)

1. はじめに

日本の湖沼における生活環境項目の達成率は、依然として低い状況にある（中央環境審議会水環境部会, 2013）。複雑に変化する社会情勢のなかで、湖沼への環境意識や環境配慮行動を啓発するためには、地域の人びとの湖沼への関心を保持する必要がある。本研究は、地域住民が持つ湖沼の水資源と水環境への関心を調査し、分析結果から水環境の改善、保全方法を考察することを目的とする。

2. 材料と方法

調査は Web によるアンケートを用いて、2014 年 11 月に行った。研究対象湖沼は、霞ヶ浦（茨城県）、諏訪湖（長野県）、琵琶湖（滋賀県）の 3 湖沼である。対象は、湖の周辺に住む 20 代～60 代の男女各 40 名、3 湖沼合計 1,200 名とし、以下の条件にあてはまる人を事前調査で選んだ。条件は、1) 2012 年～2014 年の間に 3 湖沼へ行った。2)湖沼の環境問題に関心を持つ。3)水環境に関するキーワード（水質汚濁・富栄養化など 10 個）を 3 つ以上知っている。である。

設問 25 問は、目的により、「湖沼の身近さ」、「湖沼を含む環境への関心」、「湖沼への評価・改善意欲」に分類した。特に、関心は「一般環境への関心」と「湖沼環境への関心」に分け、回答はすべて複数回答とした。関心が高ければ回答数も多くなると考え、これらの回答数の和を「関心量」と定義して定量化した。このようにして、関心量と質的項目とをあわせて 3 湖沼の比較解析を行い、湖沼への関心の地域的相違点とそれに影響を与える要素を分析した。

3. 結果と考察

関心量を集計し、関心量の範囲でまとめた結果を図 1 に示す。関心量の平均は、どの湖も 22 か 23 であった。湖に行く目的、水利用の認識、湖へのニーズ、湖沼環境の将来予測に関する設問で、最も多かった回答を表 1 に示す。湖沼への訪問頻度の平均は、霞ヶ浦では約 888 日、諏訪湖約 508 日、琵琶湖約 635

日であった。また、地球温暖化など一般環境への関心と湖沼環境への関心の間、この 2 つと水環境の知識の間、湖沼環境への関心と湖沼へ行く頻度の間（図 2）に有意差がみられた。

本研究の解析から、3 つの湖では回答内容に湖沼間差が見られた。これらの湖沼間差の発生要因には、各湖沼の水利用と水環境の違いが示唆された。また、有意差がみられた項目間には関係があると考えられ、これらから、例えば、一般環境への関心の変化とともに湖沼への環境への関心が増加する可能性や、湖沼の訪問頻度と湖沼環境への関心の相互作用が示唆された。

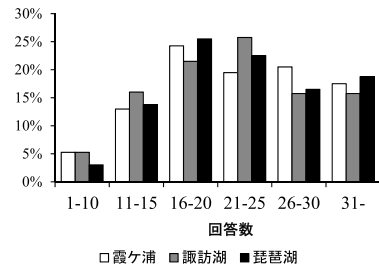


図 1 回答数（関心量）範囲別回答人数割合
表 1 湖に行く目的、水利用の認識、湖へのニーズ、湖沼環境の将来予測で多かった回答

湖 沼	湖に行く目的	水利用の認識	湖へのニーズ	湖沼環境の将来予測
霞ヶ浦	周辺の散策	生活水源	水場の癒し効果	変わらない
諏訪湖	周辺の催事	観光・レジャー	美しい景観	どちらかといえば良くなる
琵琶湖	景色を見る	生活水源	水場の癒し効果	どちらかといえば悪くなる

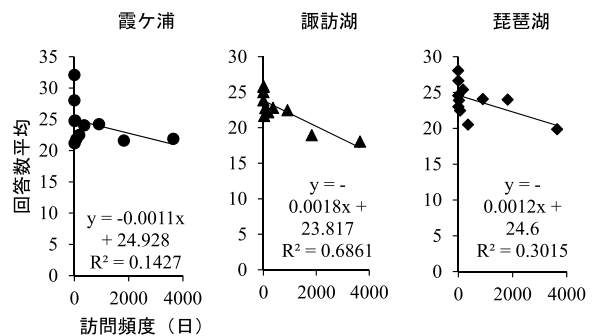


図 2 回答数（関心量）と湖沼の訪問頻度の相関
参考文献：中央環境審議会水環境部会（第 34 回）議事要旨(2013)

*齋藤圭 (法政大・院), 小寺浩二 (法政大・地理)
前立英明 (法政大・地理), 濱侃 (千葉大・院)

1. はじめに

塩湖の水質特性及び蒸発濃縮による物質循環の解明は、乾燥地域や南極等、極地環境下という地理的制約を受けて、議論があまり行われてこなかった。しかし、極限下での物質反応過程は淡水湖と比較研究をする上で非常に重要であると言える。

研究対象地域であるイシククル湖では、湖の縮小問題や氷河との関係、地球温暖化の指標として現在は注目されている。(Romanovsky,2013 など)しかし、これらの問題を解決するには、陸水学的な研究として、湖の水温構造、密度構造に伴う物質循環機構を理解しなければならない。そこで、本研究ではイシククル湖を対象に塩湖と集水域の関係性について考察を行った。

2. 研究方法・地域概要

気温、水温、EC、pH を現地観測し、持ち帰ったサンプルから、TOC の測定、イオンクロマトグラフィーを使用した主要溶存成分の分析を行い、考察した。調査地点は 42 地点で、河川は 31 地点、湖は 9 地点、地下水は東部にて 2 地点でそれぞれ行った。現地調査は 2012 年～2014 年夏季にかけて 3 回行っている。

イシククル湖は、長さ 182km、幅 60km、面積 6,236 km²、周囲 688km、最大深度 668m、標高 1,606m の塩湖である。水質は Na-Cl-SO₄(Mg)型を示す。乾燥地帯ではあるが、ヒマラヤ・アルプス造山帯に囲まれているため、水量の豊富な地域である。

3. 結果・考察

一般的に河川は Ca-HCO₃型で、その中でも湖北と湖南では、流路長が短く、溶存物質のイオン濃度が低い。一方、湖東と湖西ではイオン濃度が高く、流域特性の違いによる地質の影響の差異が認められた。SO₄²⁻の溶存量は、河川では Na⁺と Cl⁻より卓越していたが、イシククル湖では、この二つのイオンより下回っており、湖の蒸発濃縮の影響がはっきりと表れていた。河川水の起源は、融雪水と氷河の融氷水が大部分を占めるが、イシククル湖集水域での NDSI 解析の結果から、イシククル湖最大の流入河川は融雪水による影響が大きいと考えられる。

世界各地の塩湖の水質組成と比較すると、イシククル湖の水質組成は Na-Cl-SO₄(Mg)型であり、比較的溶存している塩類のバランスが良い。これは、集水域河川や地下水を通じて、炭酸が集水域から多く供給されているためであると考えられる。また、湖南部では火成岩系の地質が多くみられ、SO₄²⁻の供給が多いのも原因の一つであると考えられる。Ca²⁺と HCO₃⁻に関しては、CaCO₃と CaSO₄として析出していることが示唆された。これらの溶解度積を調べてみると、過飽和状態であったが、天然水であることを考慮すれば、妥当であると考えられるが、より一層の検証が必要である。

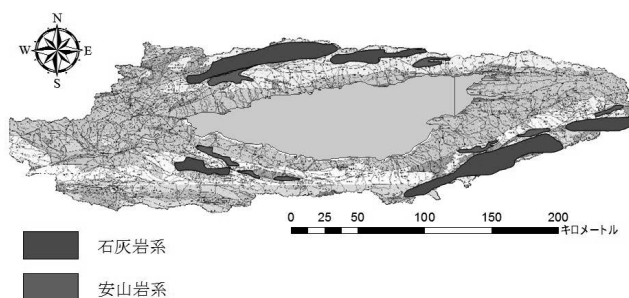


図1 イシククル湖及び集水域の地質図

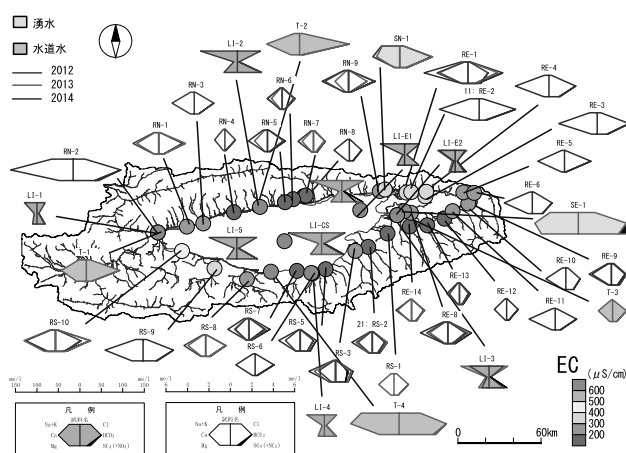


図2 イシククル湖及び集水域の水質空間分布

4. おわりに

イシククル湖は新鮮な河川水が塩湖へ流入し続ける特性がある。今後は、その新鮮な河川水が蒸発するまでの過程について研究しようと考えている。

*池上文香, 浅見和希, 阿部日向子 (法政大・学)
齋藤圭 (法政大・院), 小寺浩二 (法政大・地理)

1. はじめに

陸水域の水質組成は地質や周辺の環境との関係を持つことが予想され、さらに島嶼の場合はその地理的な理由から海塩の影響を受けることも大いに考えられる(後藤ほか 1989)。そこで、本研究では長崎県の五島列島を研究対象とし、それぞれの島の水質の特性を比較しながら水環境の現状を明らかにして課題を探る。

2. 対象地域

五島列島は九州の最西端に位置し、北東側から南西側に 80km に渡って構成され、総人口は約 7 万人、総面積は 420. 87 km² である。ほぼ全域が西海国立公園に指定される程の自然景観を有する。地質については主に五島層群と呼ばれる新第三紀中新世に堆積した砂岩、泥岩及び安山岩質凝灰岩などで構成され、一部玄武岩質の地層も見られる。

3. 研究方法

宇久島、小値賀島、中通島、若松島、奈留島、久賀島、福江島を対象にして 2014 年 5 月、2014 年 8 月、2015 年 3 月の 3 回の現地水文観測を行った。現地では気温、水温、電気伝導度(EC)、pH、R-pH を計測した。それに加えて持ち帰った試料により全有機炭素(TOC)の測定とイオンクロマトグラフィーを使用して主要溶存成分の分析を行った。

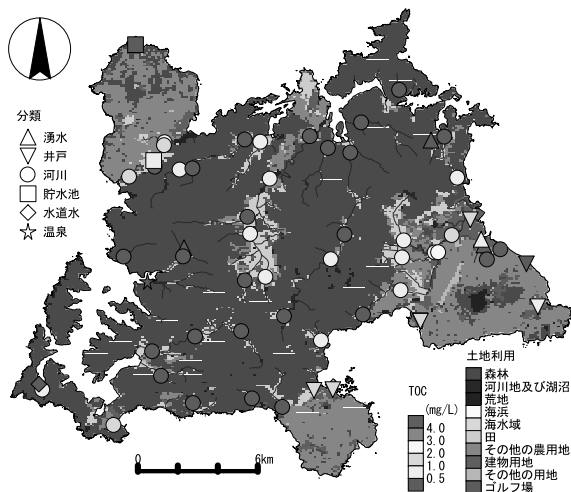


図1 TOCと土地利用(福江島)

4. 結果・考察

いずれの島においても恒常河川が多く流量は豊富であった。水質組成は全体的に Na-Cl の割合が大きく、キーダイヤグラムでは右側にプロットされており、島嶼という環境からみて海や降水による風送塩の影響を強く受けているものとわかる。流域に玄武岩地質をもつ河川では Ca-HCO₃型を示した。また、流域の土地利用で田畑や宅地が大きい割合を占める河川では EC の値が 300 μS/cm を越え、それ以外の土地利用の流域の地点より値が 100 μS/cm 以上高いという結果が得られた。それらの地域では TOC の値もその他の土地利用の流域より比較的高く、人為的な影響を受けていることが示唆された。

5. おわりに

今後は現在のデータをもとに、小流域単位での考察を行い、より詳細な水質と地質や土地利用といった流域環境の関係性を見出すとともに五島列島における水環境の総合的な把握を目指す。

参考文献

後藤隼次, 野間泰二(1989): 徳之島の河川水質組成と海塩の影響について, 地質調査月報, 40(11), 625-633.

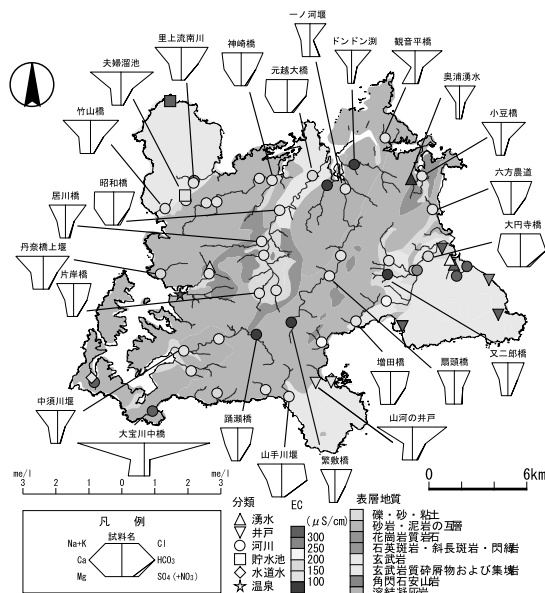


図2 シュティブダイヤグラム(福江島)

*浅見和希 (法政大・学), 小寺浩二 (法政大・地理), 齋藤 圭 (法政大・院)

1. はじめに

日本には数多くの湖沼が存在しているが、その中には標高 2,500m 以上の森林限界を越えた場所に存在する、いわゆる高山湖沼がある。この高山湖沼は地球環境変化の影響をより受けやすいとされ、川上(1993)の調査では、乗鞍岳山頂付近の高山湖沼で酸性雨の影響とみられる pH の低下が報告されている。高山湖沼が高山における生態系を形成する場であるとともに、貴重な研究フィールドでもあり、さらに酸性雨をはじめとした地球環境の変化を捉える意味で、高山湖沼の研究を行うことは重要である。

そこで、法政大学では、改めて、2013 年から高山湖沼の水環境の研究に取り組み始めている。ここでは 2013 年および 2014 年の夏季に実施した高山湖沼の調査の結果を報告する。

2. 材料と方法

御嶽山は 2013 年 8 月 15・16 日と 2014 年 8 月 15 日および 30 日、乗鞍岳は 2014 年 8 月 13 日、白山は 2014 年 8 月 14 日、木曽駒ヶ岳は 2014 年 8 月 24 日にそれぞれ調査を実施。現地では測器を用いて観測を行い、調査項目は AT、WT、EC、pH、RpH である。また、採水してサンプルを持ち帰り、研究室にて TOC の分析とイオンクロマトグラフィーを用いた主要溶存成分の分析を行っている。また一部の湖沼で水温の鉛直プロファイルを得た。

3. 結果

水温は基本的に 10°C前後で、気温の上昇に伴い水温も上昇している。しかし、雪渓が残存あるいは融雪水が流れ込む湖沼では 4°C前後の水温であった。

pH の値はいずれの高山湖沼も 5.0 前後の酸性の値だが、木曽駒ヶ岳の湖沼では 6.0 を越え比較的高い。また、御嶽山では北側の湖沼と比べ南側の一ノ池、二ノ池で特に値が低くなっていた。

EC は、ほとんどの高山湖沼で 10 μ S/cm よりも小さい値であったが、御嶽山の南側の湖沼は 20 μ S/cm 以上と値が若干大きくなっていた。

4. 考察

乗鞍岳の湖沼の pH は、川上(1993, 1994)の調査時よりさらに低い結果となり、湖沼の酸性化が進んでいることが明らかとなった。また、御嶽山の南側の一ノ池、二ノ池で硫酸イオンの濃度が高いことから、御嶽山頂の南北での湖沼の pH、EC の差は、火山ガスの影響によるものと考えられる。

参考文献

川上智規 (1993) : 乗鞍岳湖沼群の水質に対する降雨の影響,環境工学研究論文集, 30, 73-80.
 川上智規 (1994) : 乗鞍岳湖沼群における酸の供給と消費機構,環境工学研究論文集, 31, 81-89.

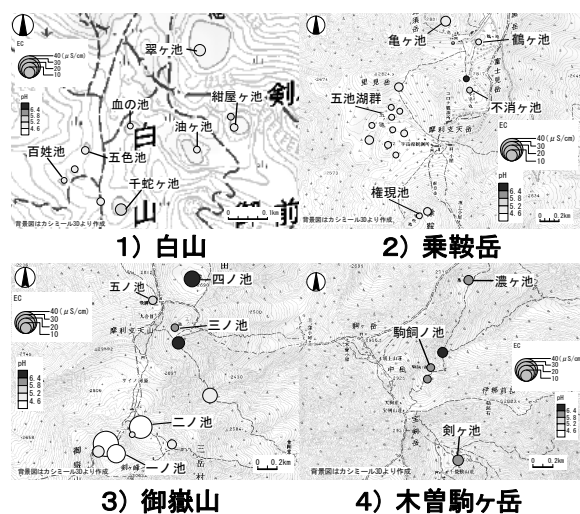


図1 各山の高山湖沼

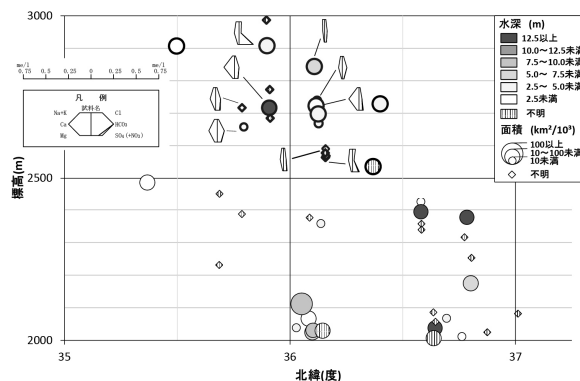


図2 高山湖沼の標高と水質組成

播磨灘と流入河川における溶存有機物・栄養塩類の動態とクロロフィル a の分布

* 鈴木智代 (岡山理科大・理学)・内山千沙 (兵庫県立大・環境人間)・相馬理央 (兵庫県立大・環境人間)・千賀有希子 (東邦大・理学)・早川和秀 (滋賀県琵琶湖環境科学研究センター)・藤井智康 (奈良教育大・理科教育)・杉山裕子 (岡山理科大・理学)・片野泉 (兵庫県立大・環境人間)・熊谷哲 (兵庫県立大・環境人間)

1. はじめに

瀬戸内海では富栄養化と赤潮による貧酸素化の改善のため、周辺都市で水質調査や排水規制を行ってきた。規制により瀬戸内海の水質は改善されたが、1990年代後半から栄養塩不足によるノリの色落ち、漁獲量の減少といった問題が発生するようになった。瀬戸内海の沿岸生態系の変化は、陸域や外洋からの負荷による物質動態との関わりが報告されている。特に播磨灘は島が多く閉鎖性の高い海域で、流入河川周辺に里山や都市部・工業地帯が存在し陸域からの負荷が大きい海域である。さらに沿岸域の生物生産には、陸域を起源とする栄養塩や溶存有機物の大部分を占める腐植物質が関与しており、流入河川周辺の人間活動や環境の変化によって沿岸域の生態系が変化する可能性がある。

本研究では、主要流入河川である揖保川・市川・加古川と播磨灘における栄養塩類・溶存有機物の動態を明らかにし、栄養塩類とクロロフィル a との関係から、播磨灘における栄養塩負荷量と沿岸生態系への影響を評価することを目的とする。

2. 材料と方法

調査・採水は2014年9月・12月、2015年5月に揖保川・市川・加古川の各中流・下流で、播磨灘においては計13地点で行った。採取したサンプルは実験室に持ち帰り、その日のうちにろ過し分析まで冷暗所にて保存した。

水試料中の各栄養塩濃度、有機態窒素濃度、有機態リン濃度は滋賀県琵琶湖環境科学研究センターにて、Bran+Lubbe社製オートアナライザ(QuAAtro)で測定した。溶存有機炭素濃度(DOC)は島津製作所製の全有機体炭素計(TOC-5000A)で、Chl.a濃度は島津製作所製紫外可視分光光度計(UVmini-1240)で、三次元蛍光スペクトルは堀場製作所製の蛍光分光光度計(Aqualog)で測定した。

3. 結果

2014年9月、12月のサンプルを測定した結果、NH₄-N濃度は0.008–0.192 mg/L、NO₂-N濃度は0.003–

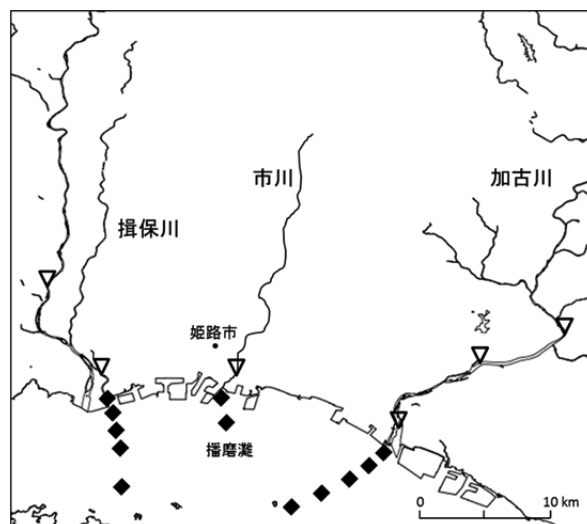


図1：播磨灘と流入河川における試料採取地点。それぞれの試料採取地点は、河川水を▽、海水を◆で示す。

0.051 mg/L、NO₃-N濃度は0.005–0.257 mg/L、PO₄-P濃度は0.005–0.278 mg/L、SiO₂-Si濃度は0.02–7.14 mg/Lの値を示した。有機体窒素濃度、有機体リン濃度に関しては測定中である。2014年9月と12月の河川水のDOC濃度は0.8–2.6 mgC/L、海水は1.1–2.7 mgC/Lの値を示した。Chl.a濃度は河川水で1.7–13.9 μg/L、海水で1.4–11.3 μg/Lの値を示した。三次元蛍光スペクトル測定の結果、腐植様物質ピーク(励起波長 Ex./ 蛍光波長 Em.: 288–318 / 393–439 nm)とタンパク質様ピーク(Ex./Em.: 270–282 / 331–347 nm)が得られた。

4. 考察

2014年9月と12月の揖保川と加古川の沖合において、各栄養塩濃度とChl.a濃度との間に相関が得られた。揖保川沖では栄養塩濃度の減少とともにChl.a濃度が増加し、加古川沖では逆の関係であった。特に揖保川沖のPO₄-P濃度、NO₃-N濃度との間に強い相関が得られ、これらの栄養塩類と一時生産との強い関係性が示唆された。有機態窒素、有機態リンの動態に関しても、一時生産との関係性が強い可能性がある。発表では、これらのデータを組み合わせた考察について詳細に議論する。

水質に及ぼす気象の影響

*猪又智裕, 福島武彦 (筑波大院・生命環境)
吉澤一家, 長谷川裕弥 (山梨衛生環境研究所)

1. はじめに

2013年6月に富士山麓が世界文化遺産に登録され、より世界から注目されるスポットとなった。そのため、水資源・生物資源や観光資源などの観点からその保全の重要性が増している。また、近年の地球温暖化により富士五湖の水質にも影響が出ていることが懸念されている。

そこで、①三湖（西湖・精進湖・本栖湖）の長期水質傾向、②三湖の水質変化に及ぼす気象の影響とその影響の三湖間の違い、の2つに着目して研究を行った。今回、富士五湖の中で西湖・精進湖・本栖湖に焦点を絞ったのは、近接するにもかかわらず、水深、滞留時間等で違いがあり水質の差が大きいため、気象条件の影響の仕方にも違いがあることが予想されるためである。

2. 方法

40年（1973～2012年）の月一回の表層水質データ、気象庁河口湖観測所の気象データ（気温、降水量）を用いて、以下の各解析を行った。

[1]上記のデータから各水質・気象項目ごとに年平均値を求め、経年変化傾向を見た。変化傾向を分類するためにレジミット解析、平均値の差の検定を用いて、3つの型（線形型、非線形型、突発型）に分類した。

また、各水質・気象項目ごとの相関関係を調べた。

[2]水質項目への短期的な気象の影響を評価するために、式①で求めた短期変動値と式②と式③で求めたそれぞれ実効雨量と積算気温から、水質測定日の何日前からの雨、気温が水質に影響するかを調べた。

測定値＝全体の平均値＋（年平均値－全体の平均値）＋（各月の平均値－全体の平均値）＋短期変動値式①

$$R_t = r_t + \sum_{i=1}^n a_i \cdot r_{t-i} \quad a_i = 0.5^i / T \quad \text{式②}$$

R_t は測定日tの実効雨量、 r_t は測定日tの日雨量、 a_i は減少係数、Tは半減期、iは日数を表す。なお $a_i < 0.01$ は打ち切った $n=2,4,7,13,20,27,33,40$ とした。

n日前までの積算気温＝（測定日1日前日平均気温の平年値との差）＋・・・＋（測定日n日前日平均気温の平年値との差）式③

$n=1,2,3,4,5,10,15,20,25,30$ とした。

3. 結果、考察

型分けの結果、主に線形型が気温と水温、非線形型が透明度、EC、pH、DO、COD、TN、突発型がTP、SS、chl-a、降水量、水位となった。

季節ごとに三湖水温の経年変化を見ると、秋と冬は上昇傾向にあったが、春は減少傾向となり、解析手法に疑問が生じた。そこで各月の水温実測値を月の真ん中の15日の値となるようにモデルを用いて補正した。これにより、春の水温は40年間で補正前には $0.4 \sim 1.0^\circ\text{C}$ 減少傾向にあったのが、補正後には $0.6 \sim 1.3^\circ\text{C}$ 上昇傾向となった。また秋の水温は40年間で補正前には $4.0 \sim 4.7^\circ\text{C}$ 上昇傾向にあったのが、補正後には $1.3 \sim 2.0^\circ\text{C}$ 上昇傾向となった。

本栖湖は14～20m程度の透明度を有する湖である。しかし1990年代透明度が10～12m程度に下がった。ちょうど同時期、TN濃度が上昇した。本栖湖には流域からの負荷源が多くないことから、この上昇は大気中の窒素酸化物の負荷の影響ではないかと推測された。そこで大気中の窒素酸化物濃度の経年変化を見てみると、同時期に濃度が高くなっていった。以上のことから本栖湖の透明度は大気中の窒素酸化物の影響を受けていることが推測された。

短期的な水質項目への雨の影響を見たところ主に透明度とECに影響がみられた。三湖とも雨の影響で透明度が下がる結果となり、本栖湖では40日程度前に降った雨の影響が残っている結果となった。透明度を下げた原因として無機懸濁物の流入が考えられた。また、三湖とも雨の影響でECが下がる結果となった。これは雨のECのほうが三湖のECより値が低いことによっておこる希釈効果だと考えられた。

短期的な水質項目への気温の影響は主に水温に表れた。三湖で違いが生じ、西湖で20日、精進湖で5日、本栖湖で30日前からの気温の影響が水温に影響しているという結果となった。この差は滞留時間や平均深度などの影響が考えられた。

行動と河川内分布

* 武村達也 (龍谷大学大学院・理), 豊福晋作 (龍谷大学大学院・理)

遊磨正秀 (龍谷大学・理)

1. はじめに

近年, 生態系保全を目的とした魚の住みやすい川づくり事業や多自然型工法等が実施されるようになり, 魚類の生態と河川の関係を知るための研究が進められている. 今回調査の対象としたオイカワ (*Zacco platypus*) は日本の多くの河川に生息する魚種で, 基本生態や産卵生態, 遊泳能力, 水理特性との関係など, 様々報告されている.

一般的に魚類は休息, 摂餌, 産卵, 攻撃などの異なる行動を示すが, これら行動によって環境選好性が変化すると考えられている. オイカワを用いた室内実験においても休息と摂餌で異なる環境選好性をもつと報告された. しかしながら, これら行動に着目した野外の河川における研究報告は乏しい.

そこで本研究では, モニタリング手法を用いて休息と摂餌行動をとるオイカワを対象とし, 実河川において行動による環境利用の違いと河川内分布を明らかにすることを目的とした.

2. 材料と方法

本研究は, 琵琶湖流入河川である日野川の支流, 佐久良川の直線 50m を調査区間とした. 調査は 2013 年 10 月 29, 30 日の 10~16 時に行った.

調査区間の下流側から上流にむけて潜水目視, もしくは水上からの目視で対象魚の全長・個体数・行動・遊泳層と河川内の位置を記録した. 全長は 5 段階に分け, 目測によって計測した.

調査区間の下流から上流に 5m ごとに, 横断方向へ右岸から 1m, 以降 2m 間隔で左岸まで測定点を設け水深(cm), 表層流速(cm/sec)を測定した. 解析に用いる観測点での値は Quantum GIS ver.1.7.1 により, 測定値を基にデータ補間し数値を抽出した.

解析にはピアソンのカイ二乗検定, フィッシャーの直接確立検定, スチューデントの t 検定を用いた.

個体群の分布様式を解析するため, 調査域を水際線と横断測量線に沿って四角セルに分割した後, 10 m²あたりの個体数としてセル単位に換算し, 森下の

I_0 指数を計算した.

3. 結果

サイズ区分間で遊泳層利用が異なるか調べた結果, 有意な差が得られた(休息: $P<0.05$, 摂餌: $P<0.05$). また 1~30, 31~50, 51mm~ の 3 群にデータをまとめ同様に解析した結果, 有意な差が得られた(休息: $P<0.01$, 摂餌: $P<0.01$)ため, 以降の解析では全長を 1~30mm(小型), 31~50mm(中型), 51mm~(大型)の 3 群に区分し扱うこととした.

行動間で遊泳層利用が異なるか調べた結果, どのサイズ区分においても行動間で利用している遊泳層の個体数に有意な差が得られた($P<0.05$). すなわち, どのサイズにおいても行動によって主に利用する遊泳層が異なることがわかった.

河川内の分布様式を調べるため森下の I_0 指数を計算した結果, 全てのサイズ区分において集中分布を示し(小型: $I_0=7.17$, 中型: $I_0=6.71$, 大型: $I_0=10.3$), 岸寄りの場所に集中分布していることがわかった.

4. 考察

今回の結果から, 休息個体と摂餌個体では利用する遊泳層に違いがあること, またそれらはサイズによっても異なること, 岸寄りに集中分布することが示された.

既存研究において, 休息時に遮蔽因子のウェイトが最も大きいと報告されている. 調査地の左岸には陸生植物が豊富で, 広い範囲に植生カバー存在した. これが遮蔽条件として有用であるならば, 左岸付近は休息場となることが考えられ, 森下の I_0 指数より岸寄りに集中分布していたことから示唆される. また, 摂餌行動に関して, オイカワはサイズ依存による支配階級の存在が示唆されている. 一般的に表層付近は餌供給が多い場所とされているが, 本研究では小型・中型個体は表・底層どちらも利用しており, より大きい個体である中型個体による小型個体への影響は認められなかった.

淡水生態系で優占する細菌： LD12 系統の琵琶湖における季節変動

* 藤永承平（京都大学・生態研）、中野伸一（京都大学・生態研）

1. はじめに

細菌は有機物の分解と無機化を通して、水域生態系の物質循環を駆動している。細菌は多様な系統群で群集を構成し、系統群ごとに分解できる有機物に違いがあることが示唆されてきた。分子生物学の発展以降、細菌の生態系での機能を明らかにするために、細菌の群集組成が研究されてきた。研究の結果、細菌の群集組成が多様であること、環境により群集組成が異なることが分かってきたが、群集組成から細菌の生態系における機能を推定するまでには未だ至っていない。この原因の一つは、群集を構成する個々の細菌の生理特性に関する知見が欠けていることによる。

海洋では SAR11 と呼ばれる細菌の系統群がときに細菌群集の 30% を占めることがあり、この細菌は世界で最も優占する細菌の一つである。淡水生態系にはこの SAR11 の姉妹系統群(SAR11 IIIb)に分類される LD12 と呼ばれる系統群が存在する。LD12 は欧米の貧栄養から富栄養湖にわたる多くの湖の有光表層水で発見されており、その存在量は細菌群集の 20% から 40% を占めることもある。また、LD12 は湖沼の表層だけでなく、湖の深水層や河口域でも存在量が多くなることがあり、淡水生態系でも優占する細菌の系統群の一つと考えられている。スイスの湖で季節変動を追った研究では水温と存在量に正の相関が確認されており、LD12 は日本のような温帯域で優占する可能性が示唆されている。

そこで、本研究では温帯域の淡水生態系での LD12 の分布と生理特性を推定するために河口から湖にかけての表層と、湖内の鉛直方向から採水を行い、LD12 の存在量と環境要因を測定した。

2. 材料と方法

淡水生態系の表層での LD12 の分布を調べるために野洲川から琵琶湖にかけて、河川、河口、及び湖内の水深が 5 m, 30 m となる地点の表層から採水し

た。また湖内の鉛直方向の LD12 の分布を調べるために琵琶湖の水深が 30m の地点で、水深 2m、15m、25m の層から採水した。調査は 2014 年 5 月から 2015 年 6 月にかけて月に一度行った。LD12 の存在量を定量化するために、Catalyzed reporter deposition fluorescence *in situ* hybridization (CARD-FISH) を行った。環境要因は水温、pH に加えて、比色法により溶存態窒素 (DTN)、溶存態リン (DTP) を、燃焼酸化法により溶存態有機炭素 (DOC) を測定した。

3. 結果

琵琶湖の LD12 を染色するために CARD-FISH の条件検討を行った。従来手法 (Salcher et al. 2011) を少し変更し、Achromopeptidase 処理を 20 分に短縮し、プローブを LD12-115 (Neuenschwander et al. 2015) へ変更し、ホルムアミド濃度を 50%、37 度でハイブリダイズすることが最適の条件であることが分かった。この手法を用いると 2015 年 6 月の琵琶湖の表層では LD12 は全細菌の 10~15% を占めることが明らかとなった。本発表ではこの手法を用いて、LD12 の河口から沖帯にかけての、及び湖内の鉛直方向での分布を明らかにする。また LD12 の存在量と環境要因の相関関係から本系統群の生理特性を議論する予定である。

参考文献

- Salcher MM, Pernthaler J, Posch T (2011) Seasonal bloom dynamics and ecophysiology of the freshwater sister clade of SAR11 bacteria “that rule the waves”(LD12). *The ISME Journal* 5:1242–1
- Neuenschwander SM, Salcher MM, Pernthaler J (2015) Fluorescence *in situ* hybridization and sequential catalyzed reporter deposition (2C-FISH) for the flow cytometric sorting of freshwater ultramicrobacteria. *Frontiers in Microbiology* 6

