

国立公害研究所研究報告 第99号

Research Report from the National Institute for Environmental Studies, Japan, No. 99, 1986.

有害汚染物質による水界生態系のかく乱と
回復過程に関する研究

Effects of Toxic Substances on Aquatic Ecosystems

昭和56～59年度 特別研究総合報告

Final Report in 1981-1984

安野 正之 編

Edited by M. YASUNO

環境庁 国立公害研究所

THE NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES

国立公害研究所研究報告 第99号

有害汚染物質による水界生態系の
かく乱と回復過程に関する研究

正 誤 表

ページ	行	誤	正
16	27	Cd や Ca Cu や Zn	Cd や Zn Cu や Ca
17	5	表題 6)	表題 14)
18	1	表題 2)	表題 3)
18	5	エルモンヒと ラタカゲロウ	エルモンヒラタカゲロウ
18	10	水虫	水中
23	9	係中	係数中
29	19	Cd により	Ca により
29	25	Cd や Cu	Cd や Zn
30	図13	88.8 μ g · g	88.8 μ g/g
35	18	a observed	was observed
41	10	<i>A. minutissima</i> , <i>P.</i> <i>luridum</i> , <i>C.</i>	<i>A. minutissima</i> , <i>P.</i> <i>luridum</i> , <i>C.</i>
43	図6, 図7	優先種	優占種
45	29	重金属耐	重金属耐性
49	5	Sepecific	Specific
51	30	234 ppb	2,345 ppb
58	19	Lnset	Insect
61	12	speices	species
62	11	薬処	薬剤処
63	16	St.12	St. 11
66	30	<i>Ilyocoris</i> <i>exclamationis</i>	<i>Aphelocheirus</i> <i>vittatus</i>
68	27	1-(2.6	1-(2.6

ページ	行	誤	正
69	3	Pubiications	Publications
69	9	community,	community.
72	12	約5km	約11km
84	2	プロポクルス	プロポクスル
84	3	シメリトン	シメトリン
85	1	個体変化	個体数変化
91	16	bubbing	bubbling
143	英文 タイトル	Uptake of Periphyton	Uptake of Nutrients by Periphyton
143	7	arificial	artificial
	8	downstrem	downstream
	9	parmeters	parameters
151	16	caddysfly	caddisfly
154	表1の脚注	5以下一は採集	5以下、一は採集
156	図3タイトル	<i>brevilineate</i>	<i>brevilineata</i>
156	図3の脚注	●・●は	○・▲は
	}		
162	図9の脚注		
165	7	<i>Poecilia reticulata</i>	<i>Poecilia reticulata</i>
165	9	pray	prey
166	17	補食者	捕食者
166	25	<i>Barchionus calciflorus</i>	<i>Brachionus calyciflorus</i>
168	1~2	クロレラ (1.0×10^9 cells/mlを10ml)	クロレラ (1.0×10^9 cells/ml)を10ml
175	15	<i>C. dipterium</i>	<i>C. dipterum</i>
177	11	<i>ulceolaris</i>	<i>urceolaris</i>
181	表3	330	30
184	11	付着薄	付着藻

序

池溝、河川、湖沼、海洋など自然の水界には、細菌、単細胞の動植物から多細胞の大形動植物に至るまで、さまざまな形態・機能をもつ生物が生存している。それらはベントスとして水底にすむものや、プランクトンとして水中を浮遊するものがあり、また生活史の時期によって生活形態が変化するものも多い。これら生物間の相互関係は複雑で、いわゆる生態系を形成する。そして温度、光をはじめ多くの環境要因によって日周期、年周期的変化を繰り返すものもあり、水界生態系は実にダイナミックな存在である。

人間の活動はいろいろの形でこれらの生態系に影響を与え、そのはねかえりを人類は逆に受けている。特に各種の有害汚染物質の影響は重大であるから、これらの物質が水の中の生態系に与える影響については、枚挙できない程の研究が世界の各地で行われている。しかしながら、物質の種類やそれらの組み合わせや生態系の条件が多変であるから、この複雑な問題を体系的に研究することは極めて困難である。まして「生態系の攪乱と回復過程」を調べるといったダイナミックな取り上げ方に挑戦し成果をあげた例は少ないと思う。本報告書は、国立公害研究所の安野正之室長が中心となって、4年間行った野心的な総合研究の第2報である。その中味には一見関係の薄くみえる課題もあるが、生態系という捕え方と、個体レベル(メタロチオネインの形成など)から生態系レベルにわたる回復過程をにらんだユニークな発想のある総合的な研究といえよう。初期の目的を完全に達成したとはいえないとしても、数々の新しい知見を含んでいる。

これらの結果について、環境科学にたずさわる方々からの御意見をいただくとともに、成果が汚染物質の生態系に対する影響の評価や回復に少しでも役立てば幸いである。

昭和61年3月

国立公害研究所

所長 江上 信雄

まえがき

人間活動により自然界に放出された有害汚染物質の多くは、最終的に水界生態系に集積される。これらの有害汚染物質による水界生態系のかく乱と回復過程に関する研究が4年間精力的に行われ、その成果がまとめられた。

生態系への影響評価は、汚染地区の現地調査と、ピーカー、水槽レベルから隔離水界、人工河川までの、種々のモデル生態系への有害汚染物質の投与実験の両面から、しかも生態系構成生物相間の相互作用への影響も含めて行われた。

有害汚染物質としては、個々の生物種についての影響に関する知見の多い重金属、除草剤及び殺虫剤が選ばれ、藻類に影響を与えた場合、水生昆虫に影響を与えた場合、あるいは底生動物に影響を与えた場合の、他の構成生物相との相互関係を定量的に明らかにすることができた。また一方では期待された結果とは逆の、新しい知見も得られている。

食物連鎖による重金属の移行と濃縮過程、生物の重金属耐性のメカニズムの解明についても多くの新たな知見が得られている。

表面には現れない成果として、食物連鎖系やモデル生態系の実験に用いる生物種の純粋培養、飼育技術の開発が行われ、成功していることを付け加えておきたい。

4年という限られた期間で、個々の生物種ではなく、生態系としての影響を評価し予測しようとする目標に到達したとはいかないまでも、かなり近づいたと思われる。これらの成果を踏まえて更に研究を進め、目標に到達するよう努力して行く所存である。

終りにあたり、本研究を推進する上で、多くの大学関係者、国公立試験研究機関の方々に客員研究員として研究協力をお願いし、また適切な御指導、御助言を賜りました事を心より感謝いたします。

昭和61年3月

国立公害研究所 生物環境部

菅原 淳

目 次

I 研究の目的と成果の概要	
安野正之	1
II 報 文	
1 重金属汚染河川の生物相の解析 I	
エルモンヒラタカゲロウの生息密度及びコカゲロウ中の重金属濃度	15
畠山成久・佐竹 潔・福嶋 悟	
2 重金属汚染河川の生物相の解析 II	
付着藻類群落の周年変化	35
福嶋 悟・畠山成久・安野正之・横山宣雄	
3 重金属汚染河川の生物相の解析 III	
東北地方の汚染河川に特徴的なユスリカ相	49
菅谷芳雄・安野正之・畠山成久	
4 古川におけるディフルベンズロンの底生生物群集への影響 I	
水生昆虫群集及び魚類への影響	61
佐竹 潔・安野正之	
5 古川におけるディフルベンズロンの底生生物群集への影響 II	
付着藻類群集への影響	71
猪口眞美・佐竹 潔	
6 水田の底生生物, 特にユスリカとカイミジンコに対する農薬散布の影響	81
高村健二・安野正之	
7 実験生態系としての隔離水界法の検討	
エアレーションと捕食者密度制御の効果	91
岩熊敏夫・安野正之・花里孝幸・高村健二・宮下 衛・高村典子・上野隆平	
8 隔離水界によるクロルニトロフェン及びテメフォスの生態系影響実験	107
安野正之・花里孝幸・宮下 衛	
9 隔離水界によるペルメスリンの生態系影響実験	119
安野正之・花里孝幸・岩熊敏夫・高村健二・上野隆平・高村典子	

10	人工水路における底生動物と付着藻類との関係	133
	佐竹 潔・安野正之	
11	人工水路における一次生産と栄養塩の取り込みの関係	143
	市川秀夫・佐竹 潔・安野正之	
12	ディフルベンズロン及びメトプレンの底生生物群集への影響：人工水路による 実験的研究	151
	安野正之・佐竹 潔	
13	クロレラータマジンコの連続飼育系の開発	165
	宮下 衛・橋本京美・安野正之	
14	食物連鎖を通じた重金属 (Cd, Cu, Zn) のワムシ, カゲロウ及びユスリカに 対する影響の解析	175
	畠山成久	
15	グッピーの生長と産仔に及ぼす水中及び餌中のクロルニトロフェンの影響	191
	畠山成久	
16	カドミウム慢性暴露によるギンブナ中の生体必須金属への影響と メタロチオネインの誘導	205
	山村 充・畠山成久・鈴木和夫	
17	は虫類におけるメタロチオネインの誘導とその生化学的性質	215
	山村 充・鈴木和夫	
18	両生類に対する重金属の影響II 両生類に誘導されるメタロチオネインの特徴	227
	鈴木和夫	
19	ユスリカ, ニクバエ及びカイコ幼虫のカドミウムに対する耐性機構の違い	237
	鈴木和夫・青木康展・山村 充・鷺見 和・畠山成久	

CONTENTS

I	Outline of the Project	
	M. YASUNO	1
II	Research Reports	
1	Flora and fauna in heavy metal polluted rivers I Density of <i>Epeorus latifolium</i> (Ephemeroptera) and heavy metal concentrations of <i>Baetis</i> spp. (Ephemeroptera) relating to Cd, Cu and Zn concentrations.....	15
	S. HATAKEYAMA K. SATAKE and S. FUKUSHIMA	
2	Flora and fauna in heavy metal polluted rivers II Seasonal changes in attached algal flora in the River Mazawa	35
	S. FUKUSHIMA, S. HATAKEYAMA, M. YASUNO and N. YOKOYAMA	
3	Flora and fauna in heavy metal polluted rivers III Specific chironomid fauna in several rivers in Tohoku district, Japan	49
	Y. SUGAYA, M. YASUNO and S. HATAKEYAMA	
4	Impacts of diflubenzuron on zoobenthic and fish community in the Kokawa River	61
	K. SATAKE and M. YASUNO	
5	Impacts of diflubenzuron on periphyton community in the Kokawa River	71
	M. INOKUCHI and K. SATAKE	
6	Effects of pesticide applications on chironomids, ostracods and other benthic organisms in rice fields	81
	K. TAKAMURA and M. YASUNO	
7	Effects of mixing of the water column by bubbling and the artificial elevation of predator density on planktonic community in enclosures in a pond	91
	T. IWAKUMA, M. YASUNO, T. HANAZATO, K. TAKAMURA, M. MIYASHITA, N. TAKAMURA and R. UENO	
8	Effects of chlornitrofen and temephos on an enclosure ecosystem in a pond	107
	M. YASUNO, T. HANAZATO and M. MIYASHITA	

9	Effects of permethrin on an enclosure ecosystem in a pond	119
	M. YASUNO, T. HANAZATO, T. IWAKUMA, K. TAKAMURA, R. UENO and N. TAKAMURA	
10	Periphyton—grazer relationship in an artificial stream	133
	K. SATAKE and M. YASUNO	
11	Uptake of periphyton in relation to the primary production	143
	H. ICHIKAWA, K. SATAKE and M. YASUNO	
12	Effects of diflubenzuron and methoprene on an outdoor experimental stream community	151
	M. YASUNO and K. SATAKE	
13	Development of a continuous flow microecosystem	165
	M. MIYASHITA, K. HASHIMOTO and M. YASUNO	
14	Effects of heavy metals (Cd, Cu, Zn) on some aquatic organisms through the food chain	175
	S. HATAKEYAMA	
15	Effects of chlornitrofen on the growth and reproduction of the guppy, <i>Poecilia reticulata</i>	191
	S. HATAKEYAMA	
16	Effect of chronic cadmium exposure on essential metals and induction of metallothionein in the fish <i>Carassius auratus langsdorfi</i>	205
	M. YAMAMURA, S. HATAKEYAMA and K. T. SUZUKI	
17	Isolation and characterization of metallothionein induced Reptile	215
	M. YAMAMURA and K. T. SUZUKI	
18	Effects of heavy metals on Amphibia II Characteristic properties of metallothionein induced in Amphibia	227
	K. T. SUZUKI	
19	Difference in tolerance mechanism to cadmium among midge, fleshfly and silkworm larvae	237
	K. T. SUZUKI, Y. A OKI, M. YAMAMURA, Y. SUMI and S. HATAKEYAMA	

Abstract

The effects of heavy metals on the aquatic flora and fauna were assessed in the rivers receiving the effluent from abandoned mines in various districts in Japan. The species specific of benthic algae and insects to the heavy metal polluted rivers were identified.

The mechanisms of the tolerance to the heavy metals were also studied in details both in the field and laboratory.

The effects of insect growth regulators upon the algae and macrobenthos communities were studied in a river as well as in a outdoor artificial stream. The destruction of the fauna brought about rather higher density of dipteran larvae in rivers afterward. It was also found that herbicides and pesticides applied in a rice paddy field developed a specific fauna dominated with ostracods and chironomids.

Various types of model-ecosystems were developed and their usefulness for assessing the impact of hazardous chemicals were examined. Those include both lentic and lotic ecosystems. The effects of pesticides and herbicides on the ecosystem of enclosures set in a pond were actually studied.

The detailed studies on the bioaccumulation and the effects of heavy metals through food chains using various organisms in laboratory were reported. The effects of a herbicide or an insecticide on the reproduction of fish were also studied.

研究の目的と成果の概要

安野正之

1 研究の意義

生態系影響を評価するに当たってのクライテリアはその生態系が安定性を崩したかどうかによって考えられる。実際に安定性をどうやって測定するかがこの問題の鍵である。例えば生態系の構造上の変化が起こったか？ 生態系の機能上の変化が起こったか？ などであるが、それでは生態系の構造と機能とは何を指すのかは生態学を専門とする人以外には容易に理解できない。構造としてはまず第一に種組成の変化であるが、自然の生態系に出現するすべての種を同定し、その数量を測定することは大変困難であると同時に労力のかかるものである。したがって分類学によらない方法として、総重量、クロロフィル a 量、ATP量をもって構造のパラメーターとする方向がある。これらは機器により計量できるから特殊な知識を必要としない。しかし生物の種は生態系の中でそれぞれ生活の場をもっており、ある種の消滅は必ず他の種に影響を及ぼすものであることは概念的には想定されていたが、本研究で明らかにされるべき課題の一つであった。したがって種構成の変化はそれ自体重要な問題であるとともに非常に多くの情報量を持っているわけであるので、労力がかかることを理由にないがしろにできない。もちろん先に上げた量的なパラメーターも生態系影響を評価するときには欠かすことができないが、どこまで有用であるかを明らかにする必要がある。同じことは生態系の機能における変化をクライテリアとする場合にも言える。例えば植物プランクトン群集の光合成活性とか呼吸などであるが、汚染物質の取り込み率とか生物分解能などもこれに含まれる。このようなクライテリアに関して十分な基礎データを集めることは、どのような生態系を対象にするにしても役立つはずである。

本研究には二つの大きな目標があった。一つは有害汚染物質が生態系にどのように作用しているかを明らかにしようとする事、二つめは有害汚染物質の検索システムとして、モデル生態系が使えるかどうかの探索であった。どちらもすぐ結論の出る問題ではないが、将来を考えたときこのような研究が今後とも重要であることは間違いない。当面の問題としても、一歩退いたいわゆる“生態影響試験”を標準化していく上で、生態系影響を念頭に置いておく必要があるからである。

2 研究課題と研究組織

本特別研究は以下の四つのサブテーマからなり、本研究所の5研究室、17名及び客員研究員、

共同研究員多数の協力を得て研究が推進された。

研究課題

1. 有害汚染物質の自然生態系に及ぼす影響に関する研究
2. モデル生態系による生態系かく乱機構の実験的研究
3. 食物連鎖による有害汚染物質の生物濃縮と生物影響に関する研究
4. 有害汚染物質が水生生物に及ぼす影響の生理的研究

この四つのサブテーマは図1のように関連し、最終目標とする有害汚染物質の生態系への影響評価に資するためのものである。

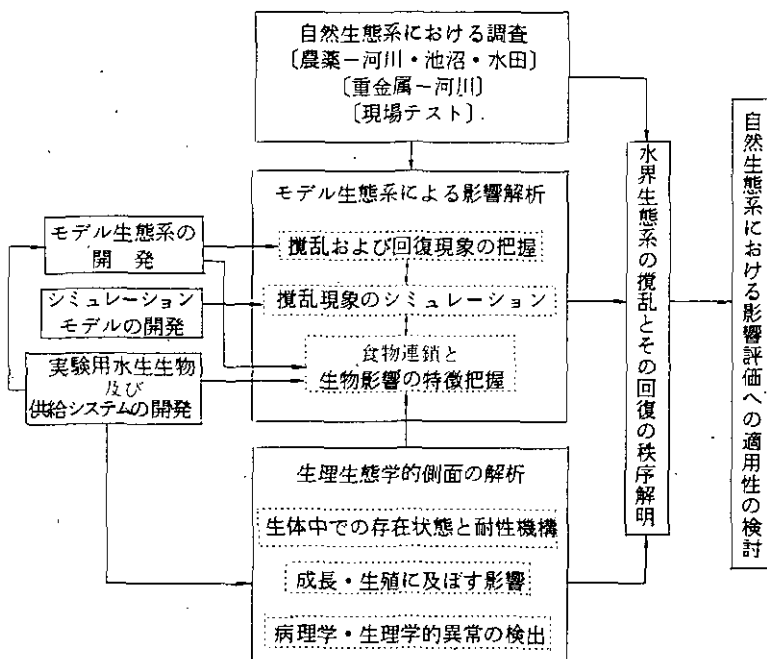


図1 有害汚染物質による水界生態系のかく乱と回復過程に関する研究

研究担当者 (所属・氏名)

生物環境部	菅原 淳
水生生物生態研究室	安野正之・畠山成久・春日清一・宮下 衛・高村典子・花里孝幸・佐竹 潔
生物環境管理研究室	岩熊敏夫・高村健二・上野隆平
環境生理部	
慢性影響研究室	鈴木和夫・山村 充
環境情報部	廣崎昭太

情報調査室	松本幸雄・袴田共之	
技術部		
生物施設管理室	菅谷芳雄	
客員研究員		
56～59年度	滝本道明	東邦大学理学部
56～59年度	田崎忠良	東邦大学理学部
56～59年度	矢島毅彦	東邦大学薬学部
56～59年度	佐藤良博	共立薬科大学生化学部
56～59年度	宇田川龍男	麻布大学環境保健学部
56～59年度	福岡秀雄	麻布大学獣医学部
56～59年度	鷺見 和	聖マリアンナ医科大学解剖学教室
56～59年度	横山宣雄	山形大学理学部
56～59年度	塩見正衛	農林水産省草地試験場
56～59年度	福嶋 悟	横浜市公害研究所水質部

3 成果の概要

サブテーマ1

休廃止鉱山を汚染源とする各地の重金属汚染河川を研究の場として、重金属濃度と生態影響の関係について種々の調査、研究がなされた。重金属の汚染により生物相の多様性が減少することはこれまでも分かっていたことであるが、この研究により、影響を受けた系の内容についても多く知見が得られた。重金属の強汚染区に高密度で生息するユスリカについては、これまで5種のユスリカが特定され、これらは重金属汚染の指標種となり得ることが指摘された。またコカゲロウは特定の耐性種を含むが、この種の分布は広く、かつ重金属濃度(特にカドミウムと亜鉛)が高いことから重金属汚染の指標種としての検討がなされた。

銅と亜鉛が水生昆虫に及ぼす影響についてはカゲロウの一種を用い、実験と野外調査の両面から検討された。重金属汚染区では水生昆虫は水中のみならず餌(付着藻類)中の銅または亜鉛により影響を受けることが示唆された。

重金属汚染の指標種としてケイ藻の *Achnanthes minutissima* が知られている。この種を含め、重金属耐性種個体群の周年変動が重金属汚染河川の定点における週1回の調査により明らかにされた。

河川の生態系に及ぼす殺虫剤の影響についても検討された。水生昆虫の一時的な消失後、回復は3週後から始まった。回復過程に生物種による特徴が認められ、双翅目の3種では薬剤投入前より高密度となった。一方、アブラハヤ、ウグイ等の魚類の生息に対する影響は見られなかった。殺虫剤投入後、付着藻類の現存量が増加した。この変化は底生動物の消長とよく対応し、水生昆

虫の摂食により藻類現存量が制限を受けていることを明確にした。処理後に特に増加したのは糸状の緑藻及びケイ藻の1種類ずつであった。どちらも糸状の藻類が増加したことは水生昆虫の摂食との関係から興味を持たれる。

水田の底生生物に対する農薬散布の影響が実験用水田を用いて検討された。農薬散布田におけるユスリカ幼虫、カイミジンコの増加は肉食性水生昆虫(トンボ及びゲンゴロウの幼虫)の減少によることが示された。また底生藻類、全菌数を含め水田生態系の変化が生物間の相互関係に従って明らかにされた。

サブテーマ2

有害汚染物質の水界生態系に及ぼす影響とその回復過程の機序を解明するため、実験室内のビーカー、水槽レベルのモデル生態系から当研究所内の実験池における4トンの隔離水界及び松林内に設けられた80メートルの人工水路まで、種々のモデル生態系が設置または開発され、以下のような成果が得られた。ビーカー、水槽レベルのモデル生態系及び人工水路の研究の一部は中間報告書に報告されている。

隔離水界では実験手法の検討及び捕食者密度の制御、エアレーションの有無の水生生物に及ぼす影響が調べられ、生態系のかく乱が動植物プランクトンの量や活性などの機能に明白な影響がない場合でも、個々の種、特に植物プランクトンの種構成が短期間で大きな影響を受けることが示された。この隔離水界に有機リン系とピレスロイド系の殺虫剤及び除草剤を投与し動植物プランクトン群集に対する影響が調べられた。これらの農薬の投与によりフサカ、ミジンコは消滅ないし著しく減少したが、ワムシ類の増加が認められた。またピレスロイド系殺虫剤の投与によりユスリカの一種 *Procladius* の増加がみられた。殺虫剤及び除草剤の投与による期待とはむしろ逆の増加は、それらの耐性や回復能力の大きさとともに生物相互の関係によって、生物群集の構造が決定されていることを示唆した。

人工水路では溪流生態系を構成する底生動物と付着藻類の遷移が調べられた。始めにケイ藻が現れその後ユスリカが入ってくる。安定状態では、付着藻類では糸状藻の *Stigioclonium*、底生動物では4種のユスリカが優占し、カゲロウ、トビケラなどがみられる。さらに、栄養塩の取り込みと群集レベルでの一次生産及び呼吸との関係についても検討された。硝酸塩及びリン酸塩が水路における主要な存在形態であり、両者は夜間には一定の速度で、昼間は光合成に対応する速度で、付着微生物群集に取り込まれることが明らかにされた。この人工水路においては作用機構の異なる2種の昆虫生長抑制物質ディフルベンズロン及びメトプレンの投入による底生生物群集への影響が調べられた。ディフルベンズロンの投入によりユスリカの著しい死亡がみられ、付着藻類の現存量が増加したことにより、底生動物の摂食圧が藻類群集の現存量に深く関与していることが示された。メトプレンの投入はサホカゲロウの密度を高め、ユスリカとコガタシマトビケラの密度を低下させた。餌と生息空間の競争相手の密度の低下がサホカゲロウに有利に働き、更に

ユスリカの再侵入も抑制されることが示された。

クロレラ、タマミジンコ、グッピーから成る流水式のモデル生態系の開発がされ、系を存続させるための条件の検討が行われた。栄養塩の連続的な添加はタマミジンコを2か月間生存させることを可能にした。またクロレラの添加はタマミジンコの平衡密度を高めるが、個体数の増減の振幅を増大させ、グッピーの導入はタマミジンコの増殖速度を抑制することなどが明らかにされた。

サブテーマ3

水界生態系においては被食者も、その捕食者も同一の汚染環境に生息する 경우가多く、両者とも重金属を生物濃縮する。そのため、捕食者は水中の重金属のみならず、食物連鎖を通じた重金属の蓄積を避けることはできない。ここでは被食者—捕食者の関係にある数種の水生生物を用いた食物連鎖モデルによりカドミウム、銅、亜鉛などの影響を検討した。藻類を摂食している水生生物は多い。そのため藻類に蓄積したカドミウムや銅の影響が検討されたが、藻類中の濃度が500 $\mu\text{g/g}$ (乾重当たり)前後の濃度ではそれを摂食するワムシ、カゲロウ(2種)、ユスリカ(2種)に明らかな影響が認められなかった。しかしその濃度が数千 $\mu\text{g/g}$ のレベルになると生長、羽化などに著しい影響が認められた。ユスリカの一種では藻類中の重金属濃度が高いときに、一時的に生長を抑制してその環境に耐える能力があることが示された。

重金属は最終的に底質に移行するとされる。そのため底質に生息し、それを摂食するユスリカへの影響が検討された。銅は餌(乾燥酵母)中の濃度が約1,400 $\mu\text{g/g}$ (乾重当たり)でユスリカ(*Polypedilum nubifer*)の羽化率を対照の約25%に減少させた。またカドミウムでもその影響が明らかにされた。

これまで行ったモデル実験によれば被食者に顕著な影響を及ぼす被食者中の重金属濃度は概して高いものであり、その影響も慢性的なものであった。しかし、重金属の強汚染区、例えば廃止鉱山下流の河川では付着藻類中の銅、亜鉛濃度が数千 $\mu\text{g/g}$ と高い。これらの濃度ではこれを摂食する水生昆虫への影響が起り得ることが室内実験及び野外調査の面から示された。

合成化学物質においても残留性が高く、その毒性が強い物質については食物連鎖による影響を検討する必要があると考えられた。胎生メダカ(グッピー)の餌として用いているイトミミズに除草剤を4段階の濃度で蓄積させ、これを1か月間グッピーに摂食させ生長・産仔に及ぼすイトミミズ中のCNP濃度、またその影響の程度が明らかにされた。またグッピーは食物連鎖によってもCNPを高濃度で蓄積し、卵巣中に蓄積したCNPは肝臓中のそれよりも減少しがたいことなどが明らかにされた。

サブテーマ4

水界生態系を構成する生物の重金属に対する耐性機構を二等動物から高等動物に至る幅広い動

物種を用いて検討した。

河川や湖沼の汚染に対する指標動物の一つとして注目されているユスリカについては、カドミウムの蓄積から排せつに至る過程を明らかにした。またユスリカ体内のカドミウムの存在形態と存在部位についても検討し、センチクバエやカイコなど他の昆虫と比べることにより特徴付けた。ユスリカではカドミウムの蓄積部位は主として消化管と脂肪体であり、カドミウム結合タンパク質を誘導してカドミウムを解毒しているが、カドミウム暴露初期においてはこの解毒機構が十分に働いているとは考えにくいことを示した。他の昆虫や動物とは違った解毒機構が存在する可能性が示唆された。

ミジンコも水界生態系の主要構成指標生物の一つであるが、カドミウムに対する抵抗性はユスリカよりもはるかに低い。しかし、この生物においてもカドミウム結合タンパク質が誘導され、解毒されていることが示された。

環形動物の一つであるミズは汚泥処理などに利用されており、重金属などに高い抵抗性を示すものがある。シマミズはカドミウムに対して極めて高い耐性を示すが、その機構については全く知られていなかった。カドミウムの蓄積に伴って多彩なカドミウム結合タンパク質が誘導されることを示し、それらの内の一つがメタロチオネインとしての特徴を備えていることを明らかにした。

魚類への影響を調べるため、フナを用いた短期及び長期のカドミウム暴露実験を行った。メタロチオネインの誘導と必須元素濃度への影響を主として調べ、それらを特徴付けた。

両生類は水界生態系では食物連鎖の高位を占める。しかし、両生類の微量元素や重金属代謝に関する報告は極めて少なかった。そこで主として無尾類の代表的種を用いて、両生類における重金属のメタロチオネインを中心とした動態を検討した。アフリカツメガエルが実験動物としては使用しやすいこと、並びに他の両生類に比べた生態上の特徴からくる相違点を明らかにした。また、ウシガエルの幼生も指標動物として優れていることを示した。

水界生物の内でも最も寿命が長く、蓄積性汚染物質の慢性影響を受けやすいと考えるカメについても検討を加えた。は虫類における微量元素やメタロチオネインの生成に関する初めての報告例となった。

重金属の生体影響を哺乳動物以外で検討した例は少ない。水界生態系を構成する代表的な生物として選んだ上記の諸動物に関しても、ほとんどの例において初めての報告であり、この分野での研究に大きな寄与ができた。

4 問題点及び今後の展望

有害汚染物質による【水界生態系のかく乱と回復過程に関する研究】というテーマで昭和56年度から59年度まで行われた研究の第二報が今回の報告書である。言うまでもなくこのような研究テーマでは、その取り扱う研究分野が非常に広く、また有害汚染物質の種類も数限りなく存在す

る。そのため、研究の分野、取り扱う有害汚染物質の種類も限られたものであった。

重金属汚染の生態影響としては、排水規制の強化などから大規模な汚染は国内ではなくなったかも知れない。しかし休廃止鉱山から流出する重金属汚染によって汚染された河川では生物相への影響を各地で確認した。このような河川を研究の場として、重金属による生態影響に関し多くの情報を得ることができた。今後の問題点として、重金属の存在状態と生態影響の関係、多種類の重金属の複合汚染の検討、一部は解明されつつあるが耐性種の耐性機構など多くの点が残されている。

水界生態系において、食物連鎖による有害汚染物質の生物濃縮やその結果としての生態影響は重要視されている割合には、その研究が少なかった。この報告では重金属、なかでもカドミウムや銅、亜鉛の食物連鎖による研究が、各種の水生生物を用いて検討された。しかしその種類数は自然の生態系の構成生物種に比較すると極めて限られたものであった。得られた結果が他の水生生物においてどの程度一般化できるかは今後検討されるべき問題であろう。また化学物質でも残留性が高く、その毒性が強いとされる物質では食物連鎖による影響を検討する必要がある。

重金属を結合するメタロチオネイン様タンパク質が水生生物でも生成されることが種々の生物で明らかにされた。このようなタンパク質が、重金属に耐性を有する水生生物種、または水生生物一般が重金属に暴露されたときにどのように関与しているかなどは今後検討される問題である。

モデル生態系または実験生態系はビーカーレベルから、屋外の80m規模の水路、隔離水界など種々のレベル、または規模で作成された。系のあるものでは、系そのものの作成、あるいは系の変動要因の解析に成果を得たが、有害汚染物質の影響は今後の検討すべき点として残された。屋外の河川モデルや、隔離水界などに形成された実験生態系では、実際に殺虫剤や除草剤が投入された。影響の過程で生物間の相互関係に基づく二次的変化などの知見が得られている。このような自然生態系に類似している実験系は、より多くの情報量が得られる。今後異なる性質の化学物質による実験生態系の構造及び機能の変化を研究することにより、化学物質による生態影響の機序が更に明らかにされ、影響の予測もある程度可能となるものと考えられる。

生態系を検討するに当たって生物濃縮は一つの重要な課題である。自然界において栄養段階の高次に位置する生物中での科学物質の濃縮及び代謝は個々の生物種について検討も可能であるが、食物連鎖を通して生物濃縮が増大するかどうかは別問題である。また生物濃縮については化学物質の側からは脂溶性との関連が言われているが、生物側からは生物種による相異が大きいことに注意すべきである。生物濃縮は現象の一過程にすぎないことを考えれば代謝、排せつの機構や生殖への影響の機構の解明は今後の重要な研究課題である。

生態系影響は本来環境中での有害汚染物質の存在状態あるいは挙動と無関係ではない。このような研究は一部野外での調査を組織的に行うことで推進できるが同時にモデル生態系も有用である。モデル生態系自体は汚染の検出システムの一つとして利用出来るかどうか課題であったが、

必ずしも鋭敏な検出システムができるとは考えにくくなっている。しかし有害汚染物質が引き起こす生態系内での変化の機序について明らかにする上では今後とも欠かすことができないであろう。本研究において既にいろいろな種類のモデル生態系が考案されてきたが、簡易型の汚染検出システムとしてではなく自然界での生態系影響を予測する方向で研究を展開していく必要があるであろう。

研究成果一覧

【印刷発表】

- 1) Hatakeyama, S. and M. Yasuno (1981) : The effects of cadmium-accumulated *Cholorella* on the reproduction of *Moina macrocopa* (Cladocera). *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 5(3), 341-350.
- 2) Hatakeyama, S. and M. Yasuno (1981) : Effects of cadmium on the periodicity parturition and brood size of *Moina macrocopa* (Cladocera). *Environ. Pollut. (Series A)*, 26(2), 111-120.
- 3) Hatakeyama, S. and M. Yasuno (1981) : A method for assessing chronic effects of toxic substances on the midge, *Paratanytarsus parthenogeneticus*. Effects of copper. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 10, 705-713.
- 4) Yasuno, M., S. Fukushima, F. Shioyama, J. Hasegawa and S. Kasuga (1981) : Recovery processes of benthic flora and fauna in a stream after discharge of slag containing cyanide. *Verh. Int. Ver. Limnol.*, 21, 1154-4464.
- 5) Yasuno, M., J. Okita, K. Saito, Y. Nakamura, S. Hatakeyama and S. Kasuga (1981) : Effects of fenitrothion on benthic fauna in small streams of Mt. Tsukuba, Japan. *Jpn. J. Ecol.*, 31, 237-245.
- 6) Yamamura, M., T. Mori and K. T. Suzuki (1981) : Metallothionein induced in the earthworm. *Experientia*, 37, 1187-1189.
- 7) Hatakeyama, S. and M. Yasuno (1982) : Accumulation and effects of cadmium on guppy (*Poecillia reticulata*) fed cadmium-dosed cladocera (*Moina macrocopa*). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 19, 159-166.
- 8) Yasuno, M., J. Hasegawa, T. Iwakuma, N. Imamura and Y. Sugaya (1982) : Effects of temephos on chironomid and plankton populations in eel culture ponds. *Jpn. J. Sanit. Zool.*, 33(3), 207-212.
- 9) Yasuno, M., S. Fukushima, J. Hasegawa, F. Shioyama and S. Hatakeyama. (1982) : Changes in the benthic fauna and flora after application of temephos to a stream on Mt.

- Tsukuba. *Hydrobiologia.*, **89**, 205-214.
- 10) Sasa, M. and M. Yasuno (1982) : Chironomids as biological indicators of environmental pollution. Researches related to the UNESCO's MAB programme in Japan, 1981-1982., 78-87.
 - 11) Yasuno, M., J. Okita and S. Hatakeyama (1982) : Effects of temephos on macrobenthos in a stream of Mt. Tsukuba. *Jpn. J. Ecol.*, **32**, 29-38.
 - 12) Hasegawa, J., M. Yasuno, K. Saito, Y. Nakamura, S. Hatakeyama and H. Sato (1982) : Impact of temephos and fenitrothion on aquatic invertebrates in a stream of Mt. Tsukuba. *Jpn. J. Sanit. Zool.*, **33**, 363-368.
 - 13) Shiyomi, M., S. Takahashi, T. Akiyama and T. Hakamata (1983) : A system model for short and long term prediction of grazing pasture productivity. *Bull. Natl. Grassl. Res. Inst.*, **26**, 17-29.
 - 14) 畠山成久 (1983) : ユスリカによる生物検定試験について. 文部省「環境科学」研究報告集 B 182-R 12-17, 65-74.
 - 15) 安野正之 (1983) : 生物指標としてのユスリカ. 文部省「環境科学」研究報告集 B182-R 12-17, 1-4.
 - 16) 安野正之 (1983) : 毒性物質による生態系の攪乱-水域生態系における二次影響. エコトキシコロジー (大井 玄・鈴木継美・井村伸正編, 篠原出版, 204p). 43-61.
 - 17) Suzuki, K. T., H. Akitomi, Y. Tanaka, R. Kawamura and M. Yamamura (1983) : Metallothionein induced in Amphibia. *Eisei Kagaku.*, **29**, s-51.
 - 18) Suzuki, K. T. and Y. Tanaka (1983) : Induction of metallothionein and effect on essential metals in cadmium-loaded frog, *Xenops laevis*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **74C**, 311-317.
 - 19) Suzuki, K. T. and Y. Tanaka and Kawamura (1983) : Properties of metallothionein induced by zinc, copper and cadmium-loaded frog, *Xenops laevis*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **75C**, 33-37.
 - 20) Suzuki, K. T. and H. Akitomi (1983) : Difference in relative isometallothionein ratio between adult and larva of cadmium in the frog, *Xenops laevis*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **75C**, 211-215.
 - 21) Yamamura, M., S. Hatakeyama and K. T. Suzuki (1983) : Cadmium uptake and induction of cadmium-binding protein in the waterflea, *Moina macrocopa*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **30**, 298-302.
 - 22) Yamamura M., K. T. Suzuki, S. Hatakeyama and K. Kubota (1983) : Tolerance to cadmium and cadmium-binding proteins induced in the midge larva, *Chironomus yoshimatsui* (Diptera, Chironomidae). *Comp. Biochem. Physiol.*, **75C**, 21-24.

- 23) 山村 充・鈴木和夫 (1983) : フナ肝臓中に誘導されるメタロチオネインの性質. 衛生化学, 29, 100-104.
- 24) Yamamura, M. and K. T. Suzuki (1983) : Induction and characterization of metallothionein in the liver and kidney of japanese quail. Comp. Biochem. Physiol., 77B, 101-106.
- 25) Yamamura, M. and K. T. Suzuki (1983) : Metallothionein induced in the frog *Xenopus laevis*. Experientia, 39, 1370-1373.
- 26) 安野正之・宮下 衛・菅谷芳雄 (1984) : 国立公害研究所実験池のユスリカ相・水野寿彦教授退官記念誌, 143-148.
- 27) Suzuki, K. T., Y. Aoki, M. Nishikawa, H. Masui and F. Matsubara (1984) : Effect of cadmium-feeding on tissue concentrations of elements in germ-free silkworm (*Bombyx mori*) larvae and distribution of cadmium in the alimentary canal. Comp. Biochem. Physiol., 79C, 249-253.
- 28) Suzuki, K. T. and R. Kawamura (1984) : Metallothionein present or induced in the three species of frogs *Bombina orientalis*, *Bufo bufo japonicus* and *Hyla arborea japonica*. Comp. Biochem. Physiol., 79C, 255-260.
- 29) Suzuki, K. T., M. Yamamura, S. Hatakeyama, Y. Aoki, H. Masui, F. Matsubara, Y. Sumi and T. Suzuki (1985) : Difference in tolerance mechanism to cadmium among three insect larvae (midge, fleshfly and silkworm). J. Pharmacodyn., 8, S-25.
- 30) Aoki, Y., K. T. Suzuki and K. Kubota (1984) : Accumulation of cadmium and induction of its binding protein in the digestive tract of fleshfly (*Sarcophaga peregrina*) larvae. Comp. Biochem. Physiol., 77C, 279-282.
- 31) Aoki, Y. and K. T. Suzuki (1984) : Excretion of cadmium and change in the relative ratio of iso-cadmium-binding proteins during metamorphosis of fleshfly (*Sarcophaga peregrina*). Comp. Biochem. Physiol., 78C, 315-317.
- 32) Yamamura M. and K. T. Suzuki (1984) : Isolation and characterization of metallothionein from the tortoise (*Clemmys mutica*). Comp. Biochem. Physiol., 76C, 63-69.
- 33) Sumi, Y., T. Suzuki, S. Hatakeyama, Y. Sugaya and K. T. Suzuki (1984) : Histochemical staining of cadmium taken up by the midage larva, *Chironomus yoshimatsui* (Diptera, Chironomidae). Comp. Biochem Physiol., 79A, 353-357.
- 34) Suzuki, K. T., H. Akitomi, Y. Ebihara and R. Kawamura (1984) : Metallothionein induced in Amphibia. II. Eisei Kagaku, 30, P-49.
- 35) Suzuki, K. T., H. Akitomi and R. Kawamura (1984) : Cadmium, copper and zinc-binding protein (metallothionein) in the liver of the water lizard *Triturus pyrrhogaster*. Toxicol. Lett., 21, 179-184.

- 36) Suzuki, K. T. and Y. Ebihara (1984) : Distribution of cadmium, copper and zinc in the liver of spot salamander, *Ambystoma maculatum* and their binding to metallaothionein. *Comp. Biochem. Physiol.*, **78C**, 35-38.
- 37) 安野正之 (1985) : 河川モデルによる生態系攪乱の研究. *水質汚濁研究*, **8**, 623-630.
- 38) Yasuno, M. (1985) : Hazard assessment of toxic substances using model aquatic ecosystem. *Biological Monitoring of the State of the Environment* (Indian Natl. Sci. Acad., 285 p). 56-73.
- 39) Hanazato, T. and M. Yasuno (1985) : Effect of temperature in the laboratory studies on growth, egg development and first parturition of five species of Cladocera. *Jpn. J. Limnol.*, **46**(3), 185-191.
- 40) Yasuno, M., S. Hatakeyama and Y. Sugaya (1985) : Characteristic distribution of chironomids in the river polluted with heavy metals. *Verh. Int. Verein. Limnol.*, **22**, 2371-2377.
- 41) Yasuno, M., Y. Sugaya and T. Iwakuma (1985) : Effects of insecticides on benthic community in a model stream. *Environ. Pollut. (Ser. A)*, **38**, 31-43.
- 42) Miyashita, M. and M. Yasuno (1984) : Growth and reproduction of *Asellus hilgendorffii* (Crustacea, Isopoda) under laboratory conditions. *Jpn. J. Limnol.*, **45**(3), 213-219.
- 43) Miyashita, M. (1984) : Effects of a short period exposure of fenitrothion on the reproduction of pregnant females of the guppy, *Poecilia reticulata*. *Jpn. J. Hygiene*, **39**(3), 647-650.
- 44) 宮下 衛(1984) : 殺虫剤によるグッピー稚魚の行動変化. *日本公衆衛生雑誌*, **31**(8), 363-366.

【口頭発表】

- 1) 袴田共之・松中照夫・小関純一 (1981) : 土壌～植物～動物系における養分動態のモデル化. 日本土壌肥料学会昭和56年度大会. (名古屋)
- 2) 島山成久・安野正之 (1981) : ユスリカ-グッピー食物連鎖系におけるカドミウムの生態濃縮とその影響. 第46回日本陸水学会. (東京)
- 3) 宮下 衛・安野正之 (1981) : カドミウム添加後のモデル生態系の変動パターン. 日本生態学会第28回大会. (札幌)
- 4) 宮下 衛 (1981) : グッピーの産仔に対する有機リン系殺虫剤フェニトロチオンの影響. 第40回日本公衆衛生学会総会. (名古屋)
- 5) 楠岡 泰・安野正之 (1981) : Amoeba の選択捕食性と付着藻類群集の構造変化について. 日本生態学会第28回大会. (札幌)
- 6) 長谷川淳一・安野正之 (1981) : 室内実験湖沼の動物プランクトン群集に対する殺虫剤の影響.

第46回日本陸水学会。(東京)

- 7) 山村 充・鈴木和夫・森 忠洋 (1981) : シマミミズ中に誘導される Cd 結合蛋白・日本薬学会第101年会。(熊本)
- 8) 山村 充・鈴木和夫・久保田憲太郎 (1981) : ユスリカ幼虫へのカドミウムの蓄積とその存在状態。第51回日本衛生学会総会。(札幌)
- 9) 山村 充・畠山成久・鈴木和夫 (1981) : ミジンコへの Cd の蓄積と Cd 結合蛋白。日本薬学会第102年会。(大阪)
- 10) 山村 充・田中康宣・鈴木和夫・久保田憲太郎 (1981) : 水生生物への重金属の影響。第52回日本衛生学会総会。(東京)
- 11) 畠山成久・安野正之・宮下 衛・佐竹 潔・福嶋 悟 (1982) : カゲロウ (*Etheorus latifolium*) の生長におよぼす重金属 (カドミウム, 銅) の影響。第47回日本陸水学会大会。(高松)
- 12) 宮下 衛・安野正之 (1982) : 実験池におけるフサカの生態。第47回日本陸水学会大会。(高松)
- 13) 安野正之・長谷川淳一 (1982) : ブユの生態と防除の研究(7) テメフォスと B. t. i. 剤の非目標種への影響の比較。日本衛生動物学会第34回大会。(帯広)
- 14) 長谷川淳一・安野正之 (1982) : ブユの生態と防除の研究(8) B. t. i. 剤のユスリカ幼虫に対する影響。日本衛生動物学会第34回大会。(帯広)
- 15) 鈴木和夫・秋富博之・田中康宣・河村涼子・山村 充・久保田憲太郎 (1983) : Cd を蓄積したラット肝中の Cd, Zn, と Cu 濃度におよぼす低蛋白飼料の影響 I。第53回日本衛生学会総会。(大阪)
- 16) 田中康宣・河村涼子・鈴木和夫・久保田憲太郎 (1982) : 水生生物への重金属の影響 I。アフリカツメガエルへの Cd の蓄積と必須金属への影響。第52回日本衛生学会総会。(東京)
- 17) 菅谷芳雄・三戸正衛 (1982) : ユスリカの大量飼育法について。日本衛生動物学会第34回大会。(帯広)
- 18) 袴田共之・廣崎昭太 (1983) : システムモデル用会話型コンピュータープログラム BGS II について。第30回日本生態学会。(松本)
- 19) 山村 充・鈴木和夫・久保田憲太郎 (1983) : カドミウム慢性暴露によるギンブナ中の生態必須金属への影響。第53回日本衛生学会総会。(大阪)
- 20) 青木康展・鈴木和夫 (1983) : センチクバエ幼虫への Cd の蓄積と Cd 結合蛋白の誘導。日本薬学会第103年回
- 21) 鈴木和夫・秋富博之・海老原佳之・河村涼子 (1983) : 両生類に誘導されるメタロチオネイン II。日本薬学会第10回環境汚染物質とそのトキシコロジーシンポジウム (東京)
- 22) 佐竹 潔・安野正之 (1983) : 溪流モデルにおける 1 次生産と 2 次生産との関係。第48回日本陸水学会大会。(松本)

- 23) 高村健二・安野正之 (1983) : 水田水生動物に対する農薬散布の影響, 第48回日本陸水学会大会, (松本)
- 24) 畠山成久・安野正之・福嶋 悟 (1983) : カゲロウ (*Etheorus latifolium*) の生長におよぼす亜鉛の影響, 第48回日本陸水学会大会, (松本)
- 25) 畠山成久・安野正之・菅谷芳雄・佐竹 潔・横山宣雄・福嶋悟 (1983) : 重金属汚染河川の生態影響調査 (山形県 3 河川) I: 環境および生物試料中の重金属濃度, 第48回日本陸水学会大会, (松本)
- 26) 安野正之・花里孝幸 (1983) : メソコスミスによる除草剤および殺虫剤の影響評価, 第48回日本陸水学会大会, (松本)
- 27) 福嶋 悟・安野正之・畠山成久・佐竹 潔・横山宣雄 (1983) : 重金属汚染河川の生態影響調査 (山形県 3 河川) II. 付着藻類相への影響, 第48回日本陸水学会大会, (松本)
- 28) 横山宣雄・安野正之・畠山成久・福嶋 悟 (1983) : 重金属汚染河川の生態影響調査 (山形県 3 河川) III. 水生昆虫への影響, 日本陸水学会第48回大会, (松本)
- 29) 菅谷芳雄・安野正之・畠山成久・佐竹 潔・横山宣雄・福嶋 悟 (1983) : 重金属汚染河川の生態影響調査 (山形県 3 河川) IV. ユスリカ相にみられる変化, 日本陸水学会第48回大会, (松本)
- 30) Hakamata, T., S. Hirosaki, Y. Sekine, Y. Suzuki and S. Kato (1984) : Interactive software roots, BGS-II and BGS-III for ecological simulation. 4th int. Conf. State of the Art Ecol. Modelling (Tsukuba).
- 31) 岩熊敏夫・柴田欣哉・宮下 衛・花里孝幸・安野正之 (1984) : 捕食者フサカにより支配される実験池生態系の構造と生産量について, 第49回日本陸水学会大会, (筑波)
- 32) 佐竹 潔・安野正之 (1984) : 実験水路によるメトプレン, ダイフルベンズロンの底生動物影響実験(2) 現存量, 日本衛生動物学会第36回大会, (広島)
- 33) 佐竹 潔・畠山成久・安野正之 (1984) : 重金属汚染河川 (秋田県小坂川, 米代川) における生態影響調査 (III) 底生動物相の変化, 第49回日本陸水学会大会, (筑波)
- 34) 高村健二・安野正之 (1984) : 水田水生生物に対する農薬散布の影響—底生動物個体数の変動—第28回日本応用動物昆虫学会大会, (宇都宮)
- 35) 畠山成久・福嶋 悟・安野正之 (1984) : 重金属汚染河川 (秋田県小坂川, 米代川) における生態影響調査 (I) 環境および生物試料中の重金属濃度, 日本陸水学会第49回大会, (筑波)
- 36) 畠山成久・菅谷芳雄・安野正之・横山宣雄 (1985) : 間沢川における重金属耐性種のユスリカおよびコカゲロウ個体群の周年変動, 第32回日本生態学会大会, (広島)
- 37) 花里孝幸・安野正之 (1984) : ミジンコ 5 種の生長速度に対する温度の影響, 第31回日本生態学会大会, (府中)
- 38) 安野正之・宮下 衛・菅谷芳雄 (1984) 国立公害研実験池のユスリカの季節変動と生産量,

- 第31回日本生態学会大会。(府中)
- 39) 安野正之・佐竹 潔 (1984) : 実験水路によるメトプレン, ダイフルベンズロンの底生動物影響実験(1) 流下. 第36回日本衛生動物学会大会。(広島)
- 40) 福嶋 悟・安野正之・畠山成久 (1984) : 重金属汚染河川 (秋田県小坂川, 米代川) における生態影響調査 (II) 付着藻類相への影響. 第49回日本陸水学会大会。(筑波)
- 41) Yasuno, M. (1984) : Hazard assessment of toxic substances using model aquatic ecosystems. Int. Symp. Biol. Monit. State Environ. (New Delhi)
- 42) 猪口眞美・安野正之・佐竹 潔 (1985) : プユの生態と防除の研究(30) IGR 投入後の付着藻類相の変化. 第37回日本衛生動物学会大会。(川崎)
- 43) 佐竹 潔・安野正之 (1985) : プユの生態と防除の研究(31) IGR 投入後の河川底生動物相の変化. 第37回日本衛生動物学会大会。(川崎)
- 44) 市川秀夫・佐竹 潔・安野正之 (1985) : 実験水路における1次生産と栄養塩の取り込みの関係. 第32回日本陸水学会大会。(広島)
- 45) 山村 充・鈴木和夫 (1984) : ミナミイシガメの肝臓に誘導されるメタロチオネインの性質. 日本薬学会第104年会。(仙台)
- 46) 鈴木和夫・山村 充・畠山成久・青木康展・増井博之・松原藤好・鷺見 和・鈴木卓朗 (1984) : 3種の昆虫(ユスリカ, センチクバエ, カイコ) 間のカドミウムに対する耐性機構の違い. 第2回金属に関する生体関連反応シンポジウム。(京都)
- 47) 佐竹 潔・菅谷芳雄・安野正之 (1985) : *Paratrichocladius* 属 (Diptera : Chironomidae) 幼虫2種の分類および生態. 第50回日本陸水学会大会。(大津)
- 48) 畠山成久 (1985) : エルモンヒラタカゲロウの生息密度と Cu, Zn 濃度の関係について. 第50回日本陸水学会大会。(大津)
- 49) 畠山成久・佐竹 潔・福嶋 悟 (1985) : 梯川の生物相におよぼす重金属の影響. 第50回日本陸水学会大会。(大津)
- 50) 福嶋 悟・畠山成久・安野正之・横山宣雄 (1985) : 重金属汚染河川 (山形県・間沢川) における付着藻類の周年変化. 第50回日本陸水学会大会。(大津)
- 51) 安野正之 (1985) : 非標的生物への農薬の影響. 第18回農業科学シンポジウム (富山)
- 52) 菅谷芳雄・佐竹 潔・安野正之 (1985) : 梯川のユスリカ相におよぼす重金属の影響. 第50回日本陸水学会大会。(大津)
- 53) 高村健二・安野正之 (1985) : 水田ユスリカ群集の組成とその変動. 第32回日本生態学会大会。(広島)
- 54) Yasuno, M. (1985) : Advances of biomonitoring in hydrobiology. Int. Union Biol. Sci. 22nd Gen. Assem. (Budapest : Hung.)

重金属汚染河川の生物相の解析 I
エルモンヒラタカゲロウの生息密度及びコカゲロウ中の重金属濃度

畠山成久¹・佐竹 潔¹・福島 悟²

Flora and Fauna in Heavy Metal Polluted Rivers I
Density of *Epeorus latifolium* (Ephemeroptera) and Heavy Metal
Concentrations of *Baetis* spp. (Ephemeroptera) Relating to
Cd, Cu and Zn Concentrations

Shigehisa HATAKEYAMA¹, Kiyoshi SATAKE¹ and Satoshi FUKUSHIMA²

Abstract

1) Heavy metal concentrations of attached-algae collected from the metal contaminated rivers were excessively high. Therefore, the effects of Cd, Cu and Zn accumulated in the attached-algae (diatoms) on the growth and emergence of mayfly *Epeorus latifolium* were examined using an indoor model stream. Meanwhile, the relationships between Cu and Zn concentrations of the attached algae and density of *E. latifolium* were examined based on the results obtained from the indoor streams. Mayfly might be adversely affected from the Cu and/or Zn through food (attached-algae) as well as from the ambient water.

2) Heavy metal concentrations of mayfly *Baetis* spp. were found to be very high, particularly with two metals Cd and Zn. The concentrations of Cd and Zn of the *Baetis* spp. were about 12 and 6 times higher, respectively than those of caddisfly (*Hydropsyche* spp.) in the Kosaka and Yoneshiro Rivers (Oct. 1984). While with Copper (Cu) concentrations, differences were not apparent between *Baetis* and *Hydropsyche*. Cadmium and Zn concentrations of *Baetis* increased in the downstream contrasting to the decrease in the Cd and Zn concentrations in the water of the Kosaka and Yoneshiro

-
1. 国立公害研究所 生物環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Environmental Biology Division, the National Institute for Environmental Studies. Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
 2. 昭和56年度～ 国立公害研究所客員研究員 (横浜市公害研究所 〒235 横浜市磯子区滝頭1-2-15)
Visiting Fellow of the National Institute for Environmental Studies. Present Address: Yokohama city, Institute for Environmental Research, Takigashira, Isogo-ku, Yokohama 235, Japan.

Rivers. Competitive interactions of Ca and/or Cu to the accumulation of Cd and Zn were discussed.

要 旨

1) 重金属汚染河川では石面付着藻中の Cu や Zn 濃度が著しく高いことから、それを摂食する水生昆虫に及ぼす影響を明らかにするため、エルモンヒラタカゲロウ (*E. latifolium*) を使用して検討した。藻類中の重金属のみの影響を調べるには実験が必要であり、これを室内のモデル河川で検討し、付着藻中の有害濃度レベルを Cu では $1,500\mu\text{g/g}$, Zn では $2,000\mu\text{g/g}$ (乾重) 以上と設定した。また水中の有害濃度レベルを Cu は 25ppb , Zn は 100ppb と設定した。実験条件と河川では重金属の存在状態は同一でないが、全濃度のみから比較する限りでは、カゲロウは水中のみならず付着藻(餌)中の Cu や Zn によっても影響を受けている可能性が高いことが示された。

また河川によっては付着藻中の Cu, 又は Zn が水中のそれよりも同等以上に影響していることを示唆する結果を得た。付着藻中の重金属濃度は水中の濃度に依存して変動しているため、水中又は付着藻中のみに片寄った影響は認められなかった。

2) コカゲロウ (*Baetis* spp.) の重金属濃度は高く、さらにこの属には重金属耐性種があって強汚染区まで分布が広いことから、重金属汚染の指標生物としての検討を行った。今回の報告は83年10月、84年10月に小坂川～米代川で調査した結果である。

コカゲロウの重金属濃度は特に Cd と Zn において著しく高かった。例えば同時に分析したシマトビケラ (*Hydropsyche* spp.) に対し、Cu では 11.8 ± 8.6 (7地点), Zn では 5.7 ± 1.8 (8地点) 倍の濃度を示した。Cu ではこのようなことはなく、両者に明らかな差は認められなかった。

83年10月の調査ではエルモンヒラタカゲロウとの比較を行った。この種もコカゲロウと同様重金属濃度が高かったが、強汚染区の密度は0か著しく低いいため広範囲の比較はできなかった。

一方、水中の Cd や Zn 濃度が下流に向かうに従って減少しつつある区間で、コカゲロウの Cd, Zn 濃度が増加する現象があることを明らかにした。しかしこの現象は Cu では顕著ではなかった。この現象の機構は明らかではないが、Cd や Ca の蓄積に対する Cu や Zn の拮抗的な影響が考察された。

1 はじめに

重金属汚染が河川の生物相に及ぼす影響を調べるため、鉦山下流域で河川の生物相の調査が国の内外で数多く行われてきた¹⁻⁶⁾。鉦山(休廃止を含む)による汚染は1種類の重金属と言うよりも、銅(Cu)、亜鉛(Zn)、カドミウム(Cd)、鉛(Pb)、鉄(Fe)などによる複合的な汚染である場合が多い。その中でも影響の強いと考えられる銅、亜鉛などについては、水中の濃度と生物相(種数などとして)の関係が検討されている。例えば、御勢⁷⁾によれば水中の Cu 濃度が 30ppb 以上では底生動物の種類が3種以下と階級分けされている。また Cu の影響は Zn よりもかなり強いものとされた。

一方、水生昆虫の多くがその餌として用いている付着藻中の重金属濃度が極めて高いことが報告されている(石面付着物として)⁸⁾。我々の調査¹⁰⁾でも Zn, Cu など高い値が測定されている。

重金属汚染河川の生態影響の機序を解析する上で、水中の重金属のみならず、これら餌中の重金属の影響が着目された。

食物連鎖の影響がより重要となるのは、水中の重金属濃度が低いときに、餌中の濃度が生物影響を及ぼす程高い場合である。藻類中の重金属が水生昆虫に及ぼす影響はモデル実験によってある程度評価可能である。その詳細について前報 (Cd, Cu)¹¹⁾に記し、Znの結果は表題6)の一部に記した。今回の報告ではモデル実験と野外調査の結果との相互関係から実際の河川での食物連鎖による水生昆虫に対する影響の有無、又はその程度を検討した。

生物体中の重金属濃度を測定することにより、その生物が生息する環境の汚染度を水中濃度の変動に対して平均値的なものとして知ることが試みられている。海の生物では例えばムラサキガイなどが汚染の指標生物としてあげられている。河川では栃本ら¹²⁾によりヒゲナガカワトビケラで重金属汚染の指標性が検討されている。

我々の調査結果からカゲロウ、その中でもコカゲロウ (*Baetis* spp.) 中の重金属濃度が高いことが着目された。またコカゲロウ(属)は *Baetis thermicus* のように重金属耐性種を有し、強汚染区から汚染のない区間まで広い範囲で試料を採取可能である。この報告の後半では主として小坂川で得られた結果に基づきコカゲロウの重金属汚染の指標性を検討した。

2 方法

2.1 重金属濃度の測定

1) 河川水；250mlのポリ容器に採水し、現場で4 mlのHNO₃ (重金属分析用) を添加したものをICP-OES (Jarrel Ash 975型) 又は原子吸光装置 (島津 AA-640-12型, 日立180-80型) で分析した。一部は0.45, 0.2 μ フィルター (ACRODISC) でろ過したものを同様に分析した。

2) 石面付着藻；流れがあり水深30cm前後の所から石を取り出し、ブラシで付着藻を採取した。ポリ容器に入れ冷却 (> 4 $^{\circ}$ C) して所内に運んだ。静置による沈殿、ネットによるろ過で不純物を除去した。遠心操作 (6000 r. p. m. 15min) により0.1mM EDTA (2回) と純水 (1回) で付着藻細胞外の重金属を除去し、乾重を得た (100 $^{\circ}$ C, 1日)。乾燥物を硝酸、過塩素酸で分解した後、純水で定容にしICP-OES 又は原子吸光装置で分析した。

3) 水生昆虫 (カゲロウ, トビケラなど)；水生昆虫は採集現場で分類し、サイズ、個体数をそろえて茶コシに取り、0.1mM EDTA ですすぎ洗った後、分解用のビンに移した。乾重を得た後、上と同様に重金属濃度を測定した。

2.2 水生昆虫の調査

廃止鉱山の上流、又は支流に対照となる非汚染区を得た。また下流にもいくつかの調査地点を設けた。一地点で4個のサバーネット (32 \times 32cm²) サンプルを得た。得られた生物種とそれぞれの個体数から Shannon の多様性指数を得た。ただしこの場合ユスリカを一種として取り扱って

る。ユスリカについては 表題 2) に記されている。エルモンヒラタカゲロウ (*E. latifolium*) の生息密度として 4 サンプルの平均値を用いた。

3 結 果

3.1 水中及び付着藻中の重金属 (Cu, Zn) 濃度とエルモンヒラタカゲロウの生息密度との関係

表 1 に河川モデルの実験¹¹⁾ で得られたエルモンヒとラタカゲロウの生長・羽化に及ぼす水中及び付着藻中の Cu と Zn の影響を示した。野外調査の結果、石面付着藻中の Cd 濃度は例えば図 8 のように 100 $\mu\text{g/g}$ (dry wt.) 以下であった。一方、河川モデルによる実験の結果このような濃度ではエルモンヒラタカゲロウの生長に明らかな影響が認められなかったので Cd の検討は今回の報告から除いた。表中、付着藻中の Cu, Zn 濃度は実験開始後から徐々に低下したため変動幅が大きくなっている。表から水虫の Cu, Zn はそれぞれ 25ppb, 100ppb のレベルでカゲロウの生長をほぼ停止させた。一方、藻類中の Zn 濃度は 2,000 $\mu\text{g/g}$ のレベルでカゲロウの生長に著しい影響を及ぼすことが分かった。また Cu では 1,500 $\mu\text{g/g}$ の濃度レベルでエルモンヒラタカゲロウに慢性的な影響が起り得ることが示された¹²⁾。

野外調査で得られた水中及び石面付着物(付着藻類を主成分とする)中の重金属濃度とエルモンヒラタカゲロウの生息密度を同時に示し、表 1 の実験データとの関係から野外における付着藻類(餌)中の重金属の影響を検討した。

図 2 は 83 年 10 月中旬に小坂川～米代川の調査で得られた結果である。調査地点の位置関係は図 1 に示した。A5, S0 は鉱山の上流に位置し汚染の少ない所、B0, Z3 などは鉱山のすぐ下流で汚染

表 1 エルモンヒラタカゲロウ (*Epeorus latifolium*) の成長, 羽化に及ぼす Cu, Zn の影響

暴露方法	濃 度	暴露期間	影 響	対照との比較
Cu-Water (ppb)	10	5 週	成長・羽化	±
	15, 20	8 週	成長速度	約, 50%
	25	8 週	成長	ほぼ停止
	30	3 週	死亡率	83%
Cu-Algae ($\mu\text{g/g}$ 乾重)	300~200	5 週	成長速度・羽化	±
	700~600	5 週	成長速度・羽化	僅少・70%
	1,400~1,000	5 週	成長速度・羽化	約, 50%
Zn-Water (ppb)	30	5 週	成長速度・羽化	<50%
	100	2 週, 5 週	成長・羽化	停止・0
	300	2 週, 5 週	成長・羽化	停止・0
Zn-Algae ($\mu\text{g/g}$ 乾重)	900±90	5 週	成長速度	約, 75%
	1,400±220	5 週	成長速度・羽化	約, 50%
	2,200±410	1 週・5 週	成長速度・死亡率	約 25%・100%
	3,300±870	2 週	成長	ほぼ停止

付着藻類中の Cu, Zn 濃度は実験期間中徐々に減少した。Zn は 5 週の平均±S. D. ($n=5$) (Zn-Algae は表題 の実験の前に行われた結果による。)

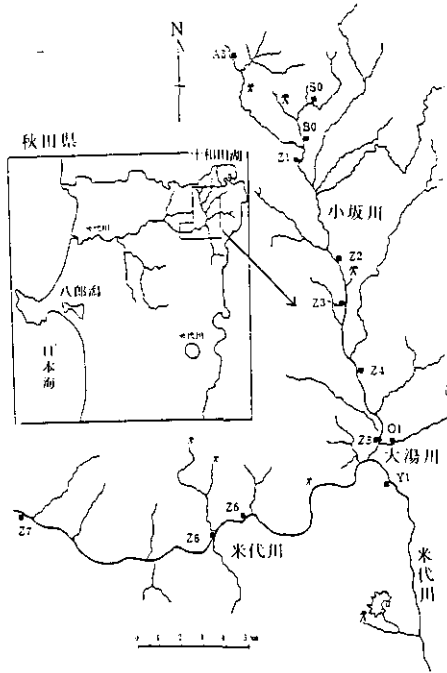


図1 小坂川～米代川の調査地点（83年，84年10月）

A 5, S 0は非汚染地点，B 0, Z 3は強汚染地点として選んだ。83年は下流側のZ 6，84年は上流側のZ 6で調査した。

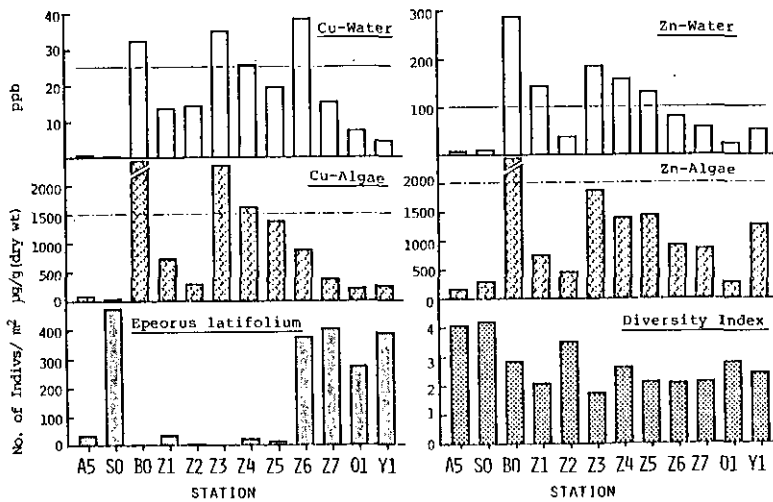


図2 小坂川～米代川（83年10月）の調査結果

水中と付着藻中のCu, Zn濃度及びカゲロウ (*E. latifolium*) の平均密度 ($n=4$)，底生動物の多様性指数 (Shannonの式による) を示す。多様性指数ではユスリカを1種とした。

の強い所である。Z3からZ7にから全体としては重金属濃度は下って行くが、83年10月のZ6地点(図1の左)では銅濃度に高い値が得られた。これはZ6のすぐ上流に支流が入っているがその支流の上流部に銅の廃止鉱山が記されており(図1)、このため採水地点のCu濃度が局部的に高かったものと考えている。

A5地点はCu, Znの濃度がいずれも低いが、エルモンヒラタカゲロウの生息密度は小さかった。これはこの地点の多様性指数が最大であり、かつ横エビなどが優先種であることから重金属汚染のためではなく、この地点の川幅が約1mと源流部に近い環境にあったためと考えられる。汚染の低いS0及び汚染の比較的低いZ7, O1, Y1のエルモンヒラタカゲロウの生息密度は約300~500個体/m²と高いものであった。これに対して汚染の強いB0, Z3ではエルモンヒラタカゲロウは採集されなかった。

またZ1, Z4, Z5などでは水中又は餌中のCu又はZn濃度がいずれかで実験で有害とされた濃度レベルを越えている。これらの地点ではエルモンヒラタカゲロウの生息密度は低かった。Z2とY1では前者で密度が著しく低いが、Y1よりも濃度が高いのは水中のCuだけであった。Z2の密度の低下の原因は水中のCuの影響が強かったものと考えられる。

図4には84年6月に行った梯川(かけはし川)の調査結果を示した。調査地点の位置関係は図3であり、St. 6, 7, 8は非汚染区、St. C0, 0, 1は廃止鉱山の下流に近い所、St. 5は支流における汚染地点である。St. C0, 0, 1, 2などのCu, Zn濃度は著しく高く、このような所ではユスリカあるいはやや濃度の下った所ではコカゲロウなどの重金属耐性種が優先していた。St. 3では水中のZn濃度が設定レベルを越え、水中のCu濃度がそれに接していた。またSt. 4ではCu, Znとも設定濃度であった。これらの地点ではエルモンヒラタカゲロウの密度は10m⁻²以下と低かった。一方、汚染の少ないSt. 6, 7, 8での密度は100前後と高く、多様性指数も他より高かった。St. 9はCu, Zn

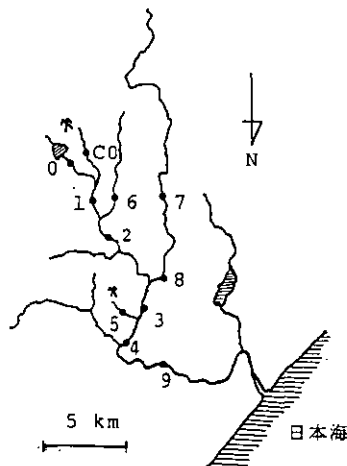


図3 梯川の調査地点地図 (84年6月)。

St. 0, C0, 1または5などは強汚染地区、6, 7, 8は別の支流の非汚染地点である。

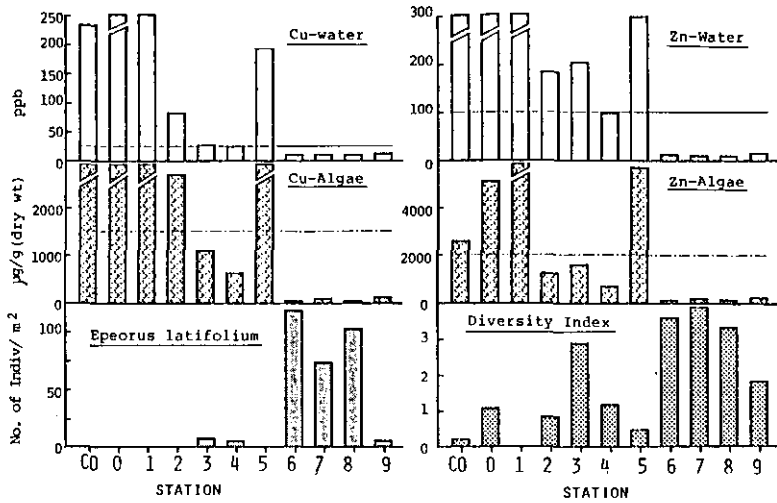


図4 梯川の調査結果 (84年6月)

水中と付着藻中の Cu, Zn 濃度, 及びカゲロウ (*E. latifolium*) の平均密度 ($n = 4$) と底生動物の多様性指数。

の汚染は低かったがエルモンヒラタカゲロウの密度は低い値が得られた。この地点は最下流部であったため有機汚染などの要因も考えられるが低密度の原因は明らかでない。

図5に廃止鉱山として、妙法 (M1~M6) 及び、紀州 (K1~K6) 鉱山の下部周辺で行った調査結果を示した。調査は84年3月中旬に行ったものである。妙法鉱山の M1, M2, M3 などでは水中又は付着藻中 (M2, M3) 中の Cu 濃度が高く、エルモンヒラタカゲロウは生息していない。M4では4要素の濃度が設定レベル以下であった。ここではカゲロウの密度は100個体/m²と比較的高かった。M5, M6では密度が0または3と低かったが、ここでは藻類中の Cu 濃度が設定レベルを越え、水中の Cu 濃度もそれに近かった。紀州鉱山の周辺調査では水中の Cu, Zn 及び藻類中の Cu 濃度などが設定レベルに近いものがあり、これらの影響が考えられる K3, K4ではカゲロウの密度が0であった。なお、この地点の優先種はユスリカであった。ST.5では4要素とも重金属濃度が低かったが、カゲロウの密度が低かった。この地点の環境は急流であり、ジェット観光船の往来があったことなど挙げられるが原因は明らかでない。この地点の多様性指数は比較的高く、優先種は2種のトビケラ (*Cheumatopsyche brevilineata*, *Hydropsyche orientalis*) であった。

図6は84年3月の楊枝川 (Y1~Y4), 83年3月の佐須川 (S1~S5) の調査結果を示したものである。楊枝川の St. Y1では4濃度とも低い値であり、エルモンヒラタカゲロウの密度は高い。水中及び藻類中の Cu, Zn 濃度が高い、下流の Y2, Y3, Y4ではエルモンヒラタカゲロウは採集されず、多様性指数も低い。

佐須川はこれまでの河川と異なり、銅の濃度が低い所である。S1は源流部であり、川床もほとんど岩場でエルモンヒラタカゲロウの密度はもともと低いものと考えられる。S4でカゲロウの密

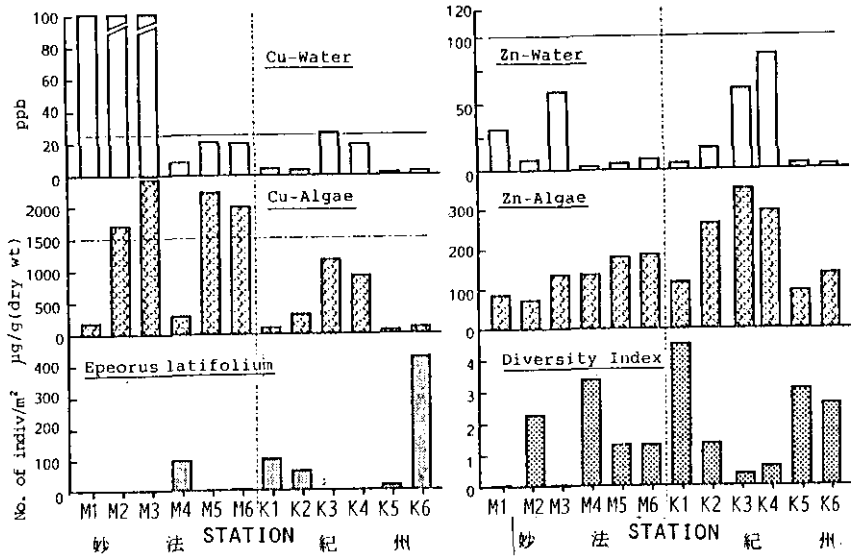


図5 妙法鉱山，紀州鉱山跡の下流域周辺の調査結果（84年3月）

水中及び付着藻中のCu, Zn及びカゲロウ(*E. latifolium*)の平均密度($n=4$)，底生動物の多様性指数を示す。

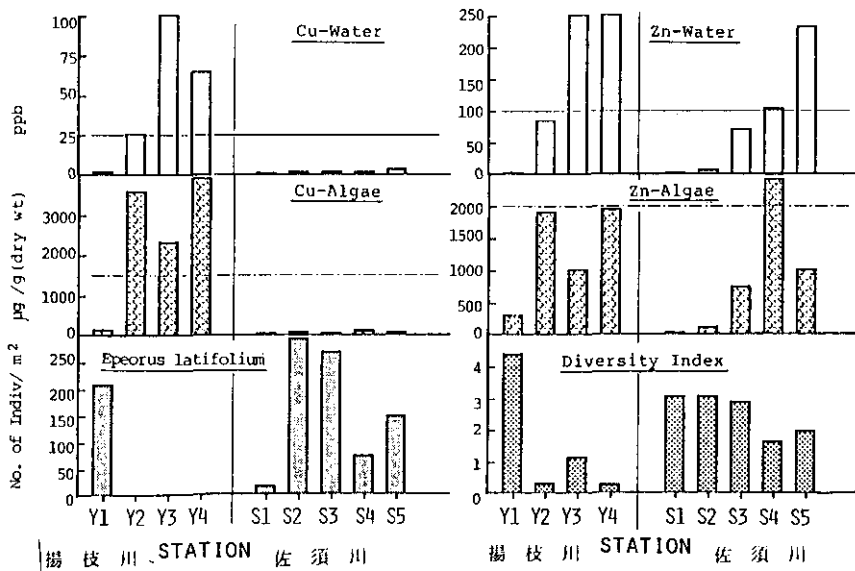


図6 揚枝川(84年3月)，佐須川の調査結果（83年3月）

水中及び付着藻のCu, Zn濃度及びカゲロウ(*E. latifolium*)の平均密度($n=4$)，底生動物の多様性指数を示す。

度が上下の地点に比べ低くなっているが、この地点では藻類中の Zn 濃度が設定レベルを越え、水中の Zn 濃度はそれに接していた。S5では水中の Zn 濃度は高いが、藻類中の Zn 濃度は前者よりも低い。これら両者の関係からのみ言くと S4は藻類中の Zn 濃度が水中の Zn よりも影響している地点と考えることが出来る。

表2は図2, 4, 5, 6のエルモンヒラタカゲロウの生息密度と水中及び付着藻中の Cu, Zn 濃度の重回帰分析の結果である。ただし合計44地点から、源流部の2地点(A5, S1), 最下流で有機汚染が考えられた地点(梯川 St.9), 4要素の濃度のうち、どれかがスケールを越え、カゲロウの密度が0の5地点, 計8地点を除いた。相関係数は高いものではなかったが、この分析の限りでは付着藻中の Cu が標準偏回帰係数中で最も低い値を示した。

表2 カゲロウの密度 (per 1m²) と水中及び付着藻中の Cu, Zn 濃度の重回帰分析 (N=36)

$$y = 746 - 0.700 \text{ Cu}(w) - 0.180 \text{ Cu}(a) - 0.149 \text{ Zn}(w) - 0.024 \text{ Zn}(a)$$

($r = 0.420$, 分散比 1.66)

標準偏回帰係数			
Cu (w)	Cu (a)	Zn (w)	Zn (a)
-0.109	-0.339	-0.034	-0.021

y: カゲロウの密度, Cu (w), Zn (w): 水中の Cu, Zn 濃度 (ppb)
Cu (a), Zn (a): 付着藻中の Cu, Zn 濃度 (μg/g 乾重)

3.2 水中の重金属 (Cd, Cu, Zn) 濃度とコカゲロウ (*Baetis* spp.) 中の重金属濃度との関係

図7は1980~2年間の小坂川調査(年に1~2回)における水生昆虫の重金属濃度を非汚染地区と汚染地点に大別して表したものである。一見してコカゲロウ (*Baetis* spp.) 中の Cd, Zn 濃度が他種(ヘビトンボ, トビケラ, カワゲラ, 他種のカゲロウ)よりも高目であることが分かった。そのため、83年, 84年の10月に調査地点毎に水中及びコカゲロウ中の重金属濃度を同時に測定しコカゲロウの重金属汚染の指標性を検討した。84年には対照としてシマトビケラ (*Hydropsyche* spp.) も同時に分析した。図8に83年10月調査時の水中, 付着藻, カゲロウ中の Cd 濃度, 図9にはコカゲロウ(下流部ではエルモンヒラタカゲロウも同時に分析)中の Cu, Zn 濃度を示した。水中, 付着藻中の Cu, Zn 濃度は既に示した図2中の値である。付着藻の Cd, Cu, Zn 濃度はほぼ水中の濃度に伴って増減している傾向が認められる。また銅ではカゲロウ中の濃度も水中の濃度をほぼ反映して変動している。一方 Cd と Zn は水中の濃度とカゲロウ中の濃度が必ずしも一致しない。Z3~Z7では水中の Cd, Zn 濃度が減少するのに反してカゲロウ中の濃度がむしろ増加していく傾向が示された(図8及び図2と図9)。

図10には84年10月調査時の水中の Cd, Cu, Zn 濃度 (Total, 0.45μ フィルターろ過), 及び硬度

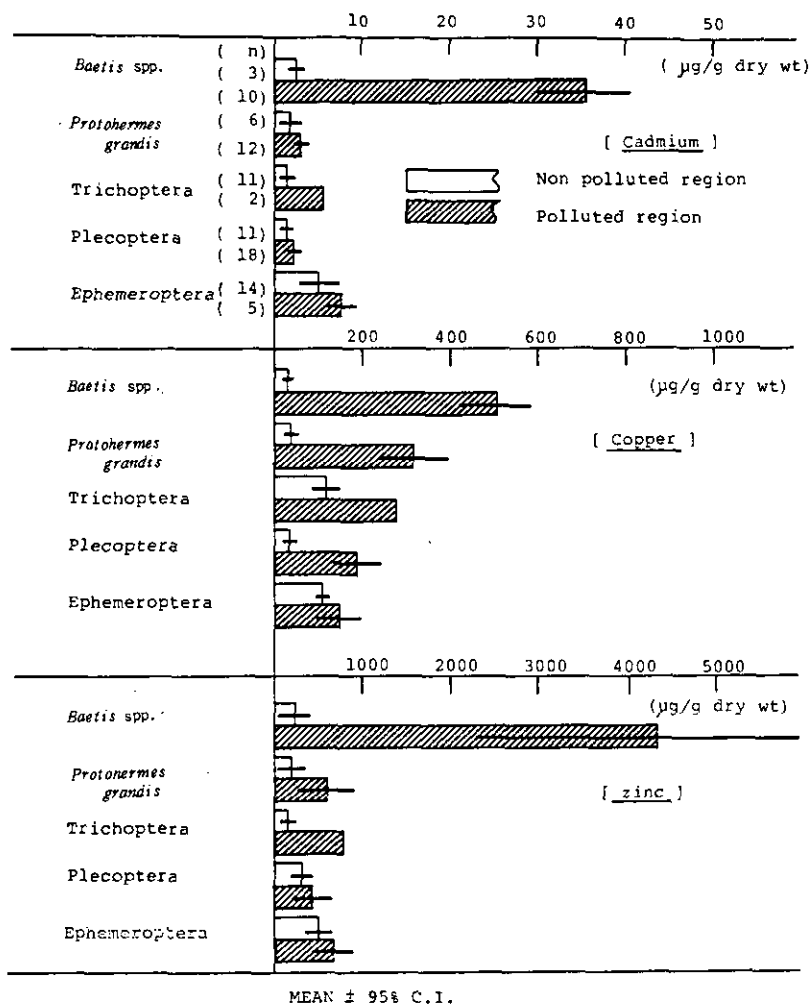


図7 小坂川の調査(1980~2年)における非汚染区及び汚染区における水生昆虫のCd, Cu, Zn濃度

()内はサンプル数

コカゲロウ(*Baetis* spp.), ヘビトンボ(*Protohermes grandis*), トビケラ(*Trichoptera*), カワゲラ(*Plecoptera*)及びコカゲロウ以外のカゲロウ(*Ephemeroptera*)の値を示す。

(Ca, Mg)を示した。また図11には同時に分析したコカゲロウ及びシマトビケラ(*Hydropsyche* spp.)のCd, Cu, Zn濃度を示した。調査地点は図1と同様であるが、Z6は前年のやや上流とした(図1, 支流が入る前)。B0, Z3で強い汚染が加わるほかは下流に向って水中のCd, Cu, Znの濃度は減少の傾向が認められた。カゲロウ中の重金属濃度は83年の調査結果と同様の傾向を示した。前年と同様、Z3~Z7で水中のCd, Zn濃度が減少するのに対して、カゲロウ中の濃度が増化する傾向が顕著であった。一方、B0~Z2のZnは水中の濃度の減少に伴ってカゲロウ中の濃度も減少している。

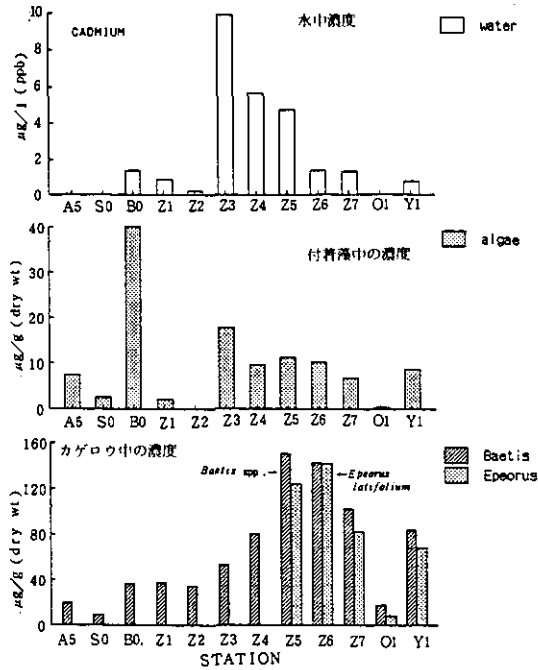


図8 小坂川～米代川の調査(83年10月)における水中, 付着藻及びコカゲロウ (*Baetis*), エルモンヒラタカゲロウ (*Epeorus*) の Cd 濃度

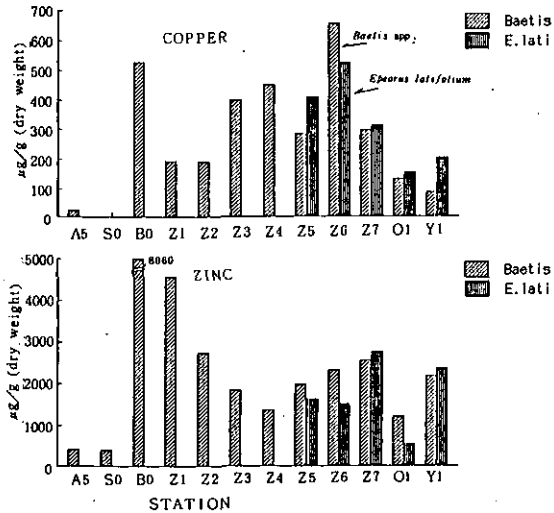


図9 小坂川～米代川(83年10月)調査におけるコカゲロウ (*Baetis*) 及びエルモンヒラタカゲロウ (*Epeorus*) 中の Cu, Zn 濃度

水中及び付着藻中の Cu, Zn 濃度は図2に示してある。

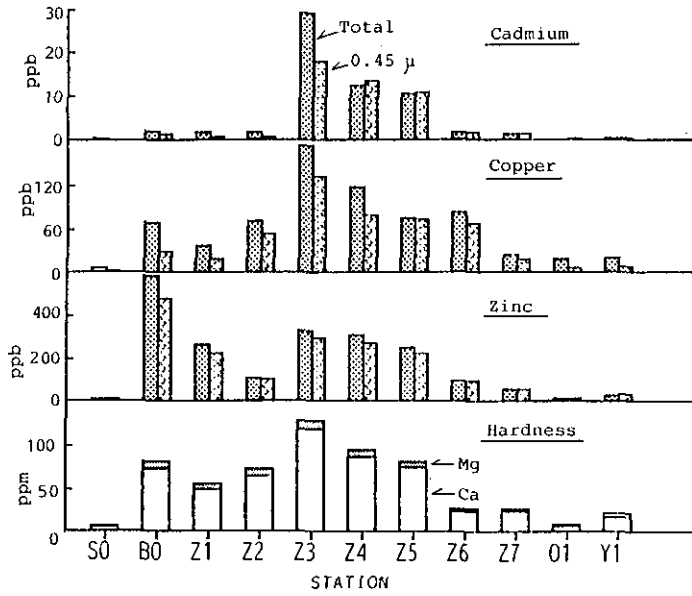


図10 小坂川～米代川(84年10月)調査における河川水のCd, Cu, Zn及びCa, Mgの濃度

Total 及び0.45 μ のフィルター(ACRODISC)でろ過したときの値を示す。

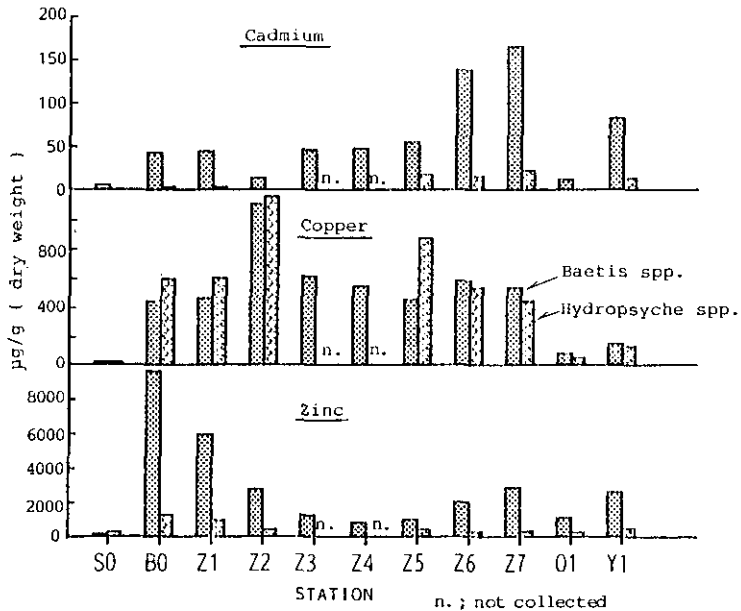


図11 小坂川～米代川(84年10月)調査におけるコカゲロウ (*Baetis* spp.) 及びシマトビケラ (*Hydropsyche* spp.) のCd, Cu, Zn濃度

シマトビケラはZ3, Z4では採集されなかった。

シマトビケラ中の Cd, Zn 濃度は予備的調査 (図7) から予測されたようにカゲロウよりも全地点において低い値を示した。しかし, Cu の値には地点によって異なり明らかな差異は認められなかった (図11)。シマトビケラの重金属濃度と水中濃度との関係は Zn の BO~Z2 で一致が認められるが, 他の地点では変動が少なかった。しかしコカゲロウのように水中濃度の減少に伴う顕著な増加は認められなかった。

水中の重金属濃度とカルシウム (Ca) 濃度は類似の変動パターンを示した。これは83年10月の調査でも同様であった。他に83年10月調査時の Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-} の濃度を示したが (図12), Cl^- , SO_4^{2-} の濃度は重金属や Ca と類似の変動パターンを示した。

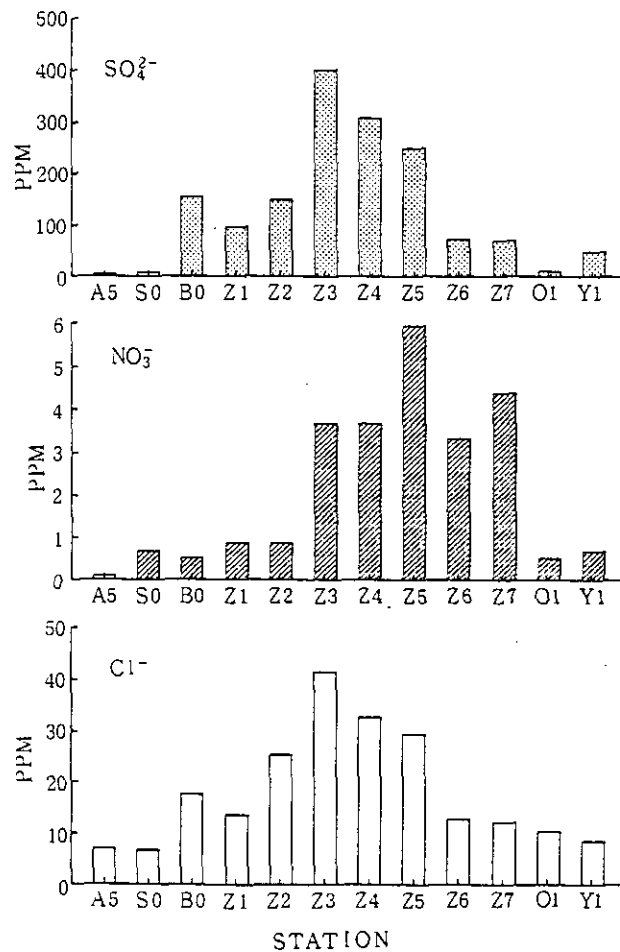


図12 小坂川～米代川 (83年10月) 調査における河川水中の SO_4^{2-} , NO_3^- , Cl^- の濃度

SO_4^{2-} , Cl^- の濃度は重金属濃度の変動と類似して変化した。

4 考 察

4.1 水中及び付着藻中の Cu, Zn 濃度とエルモンヒラタカゲロウの生息密度

いくつかの重金属汚染河川で得た調査結果を室内実験で得た Cu, Zn の有害濃度レベルを基準にして対比し、実際の河川における Cu, Zn の影響過程を検討した。

源流部 (図 2 の A5, 図 6 の S1) や下流部 (図 4 の St.9) などを除き、水中及び付着藻中の Cu, Zn 濃度が実験から得た設定濃度を越えたり、またはこれに近いレベルの地点ではエルモンヒラタカゲロウの生息密度が 0 又は小さくなっていることが示された。Cu, Zn の濃度に対するエルモンヒラタカゲロウの密度変化は多様性指数の増減よりもよく一致している地点が多かった。

小坂川—米代川, 梯川では Cu, Zn 両方の影響が強いことが示唆されたが、河川によってはどちらか一方の影響がより大きく作用していることが示唆された。例えば、佐須川では全体として Cu の濃度が低く、S4 では藻類中の Zn 濃度が高いことからその影響が予測された。また、妙法 (廃止鉱山) 近くの M5, M6 地点などでは Zn の濃度が比較的低い、付着藻類中の Cu 濃度が設定値を越え、水中の Cu もそれに近いなどである。水中の濃度レベルが低いときに、付着藻中の重金属濃度が設定濃度を大きく越えている地点はいままでの調査では見られない。またその逆の場合も少ないようである。これらから重金属汚染河川では、その程度を明確にするのは現在困難であるにしても、餌中の Cu, Zn などはそれを摂食するカゲロウに対して影響を及ぼしていることが、実験で得た設定濃度を基準にする限りにおいては示すことができた。しかし言うまでもなく、水中及び餌中の重金属はその存在状態によりその毒性が著しく変化するとされるため、室内実験及び野外試料の重金属の存在状態などが比較検討されなければならない。

重回帰分析の結果は 4 要素ともカゲロウの密度の減少に相関があったが、相関係数は高いものではなかった。標準偏回帰係数は付着藻中の Cu が最も低かったが、言うまでもなくこのような重回帰分析の結果のみからでは、付着藻中の Cu の影響が最も強いことにはならない。図 2 のように付着藻中の Cu 濃度は水中の濃度に平行して変動しているためである。

4.2 環境とコカゲロウの重金属濃度の関係

各種の水生昆虫について分析した予備的調査からコカゲロウ (*Baetis* spp.) の重金属濃度が高く、中でも Cd, Zn が著しく高いことが分かり、いくつかの河川で水中の濃度との関連を調べてきた。またコカゲロウ属はその中に *Baetis thermicus* のような重金属耐性種を含み、さらに小坂川の調査では *B. sahoensis* も耐性種とみなし得る程、強汚染区に数多く生息していた。そのため汚染区から非汚染区まで採取可能であり、広範囲の調査が可能である。

一方、シマトビケラとの比較においてコカゲロウの Cd, Zn の濃度は前者のそれぞれ、 11.8 ± 8.6 倍 ($H = 7$ 地点, トビケラの値が N. D 又は採取不可地点を除く), 5.7 ± 1.8 倍 ($N = 8$) と明らかに高いことが確認された。このような面からコカゲロウは重金属汚染河川の汚染を示す指標生物として有効と考えられる。一方、Cd や Zn で見られたように河川水中の金属濃度が減少する区間で、逆にコカゲロウ中の Cd, Zn 濃度が増加する場合があることが分かった。このような現象を明

らかにするための調査や実験は現存ほとんど行っていない。考えられる原因として大別して i) カゲロウ自体によるもの, ii) 水質 (pH, 硬度, 腐植酸など) に依存するもの; iii) 他の重金属との相互作用などがあげられる。

i) としてはまず, 水生昆虫の流下¹³⁻¹⁵⁾が挙げられる。しかし, 非汚染地のすぐ下流にある汚染区 (図 9, B0) のカゲロウの Cd, Zn 濃度が高いこと, もし流下のみから説明すると Cu も同様の現象があつてよいがそうではないことなどから流下による説明は難しい。さらに一般的には加齢による重金属濃度の増加が考えられる。たしかに1983年10月に Z6, Z7 で得られた試料では大き目のカゲロウ中の濃度は小さ目のものより高い傾向 (未発表) にあつた。しかし, 上記の現象を説明出来る程, Z3~Z7 区間でカゲロウのサイズに差は認められなかった。またヒゲナガカワトビケラでは体重の小さい方が重金属濃度がむしろ高いと報告¹²⁾されている例もある。

ii) に関連する水質としては pH, 電導度, 硬度 (Ca+Mg), 及び SO_4^{2-} , Cl^- , NO_3^- (この3項目は83年10月) が測定された。その中で Ca, SO_4^{2-} , Cl^- の濃度は重金属 (Cd, Cu, Zn) 濃度の増減パターンとよく一致して変動した。硬度 (Ca, Mg) による拮抗作用により, 重金属の取り込みが抑制され水生生物に対する重金属の毒性が緩和されることはよく知られており, それに関する報告も多¹⁶⁻¹⁸⁾い。田端¹⁹⁾によると Cd, Cu, Zn とともに硬度の増加に伴い, ミジンコに対するその毒性 (24 時間半数致死濃度) が同じ程度に減少した。今回の報告で重金属濃度の高い地点の硬度は100前後と高目なのに対し, 水中の Cd, Zn の濃度が減少しているがカゲロウ中の濃度が高い Z6, Z7 (図 10) などの硬度は40以下と軟水とされる近い値であつた。これらのことから, 硬度の主成分である Ca により水中及びカゲロウ中の Cd, Zn 濃度の不一致がもたらされた可能性は高いと考えられる。一方 SO_4^{2-} , Cl^- は Ca と同じ変動を示したが, これらの陰イオンは Ca と同様に Cd と腐植酸との相互作用に拮抗するとされる²⁰⁾。しかしこれがカゲロウの Cd や Zn の蓄積にどう影響しているかは今後の課題である。水中の重金属が腐植酸やキレート剤に結合した結果, 水生生物に対する毒性が軽減するという報告は多い。腐植酸に対する結合は Cu が Zn や Cd よりも強い²¹⁾。また, 河川水中では大半の Cu は腐植酸に結合しているが Cd や Zn は腐植酸に結合している割合は少ないという報告もある²²⁾。これらから下流部でカゲロウの Cd や Cu の濃度が増大している所で, Cu はそれ程でもないことは下流部で腐植酸が増え, Cu と結合することにより Cu の生物濃縮が, 抑制されたことも一つの原因と考えられる。

pH は汚染の強い B0~Z5 区間で6.4~7.1なのに対して, Z6 と Z7 では7.1, 7.2であり, Cd, Zn の水中及びカゲロウの濃度の不一致を説明できなかった。

iii) の重金属の相互関係に関しては, Cd, Cu, Zn 間では重金属結合タンパク (メタロチオネイン) に対する親和性が Cu では Cd や Zn よりも高いことが示されている²³⁾。水生生物にもメタロチオネインが合成されることがよく知られているが²⁴⁾, カゲロウ体内の重金属もその多くがメタロチオネインに結合していることが考えられる。一方, タマミジンコ (*Moina macrocopa*) で行った実験であるが, Cu はタマミジンコの Cd 蓄積を抑制し, Cd は反対にミジンコの Cu 濃度を増加さ

せた(図13, 未発表)。この結果を説明するものとして, CuによるCd蓄積の抑制は, ミジンコの重金属結合タンパク²⁵⁾に結合して蓄積したCdが親和性の差によりCuに置換することが考えられる。実際の河川でミジンコの実験で得られたようなCuによるCd蓄積の抑制が起こるとすれば, 上記の水中及びカゲロウ中のCd濃度の不一致を説明する要因となり得る。

国内にはおよそ6000箇所の休廃止鉱山があるとされる²⁶⁾。その大部分は小規模で山間部にあるが, その中で比較的規模の大きい鉱山の下流では生態影響が存続している。

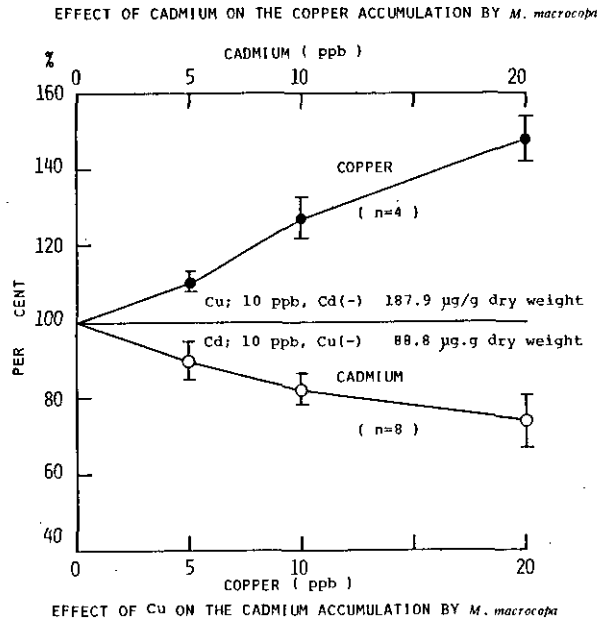


図13 タマミジンコ (*Moina macrocopa*) のCd蓄積に及ぼすCu, 及びCd蓄積に及ぼすCuの影響 (考察のための参考データ)

Cuの共存により, ミジンコのCd蓄積が抑制された。

今回の結果や山形県内の河川調査で水中の濃度が減少する下流域でコカゲロウ中のCdやZn濃度の高い区間があることが分かった。このことはカゲロウ採集地点の水の汚染を指標する上からは不適當であるが, その水系の上流, 例えば調査の困難な山間部の鉱山廃水による汚染を下流域で予測できるなどの可能性がある面では好都合である。そのためには上記の機構をある程度明らかにする必要があるものと考えられる。

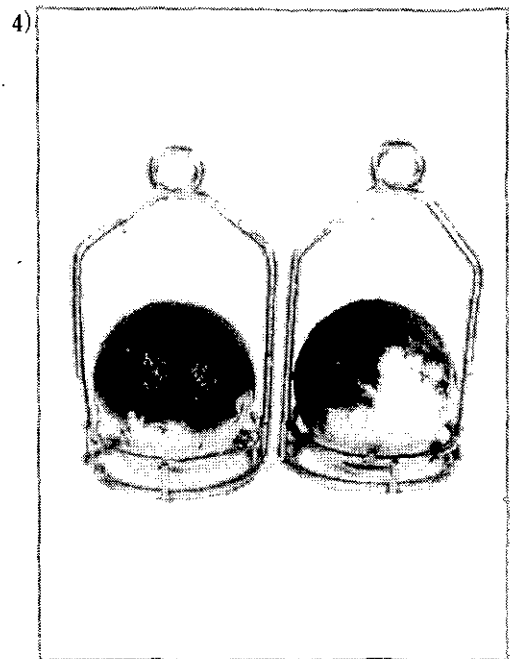
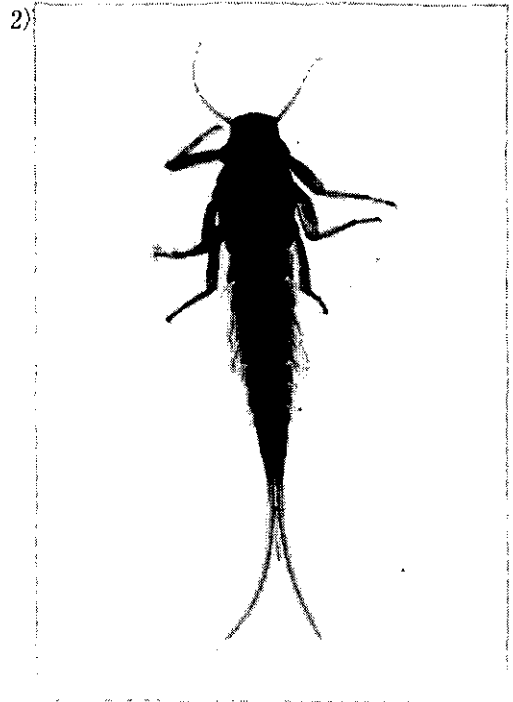
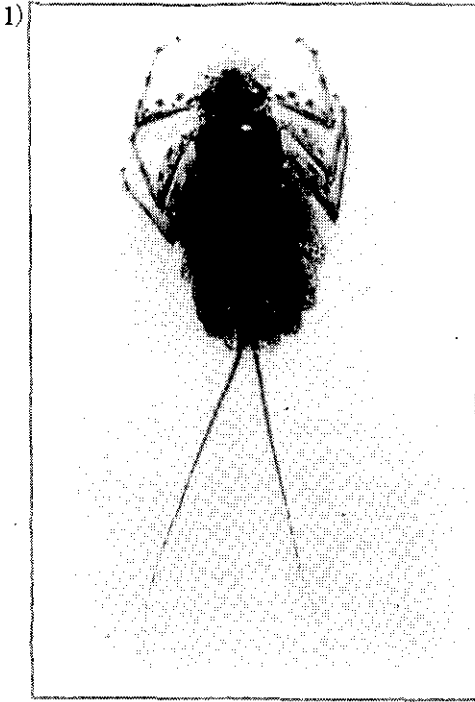
謝 辞

発光分光法 (ICP-OES) による金属濃度の測定は当研究所, 計測技術部の西川雅高氏によるものでありここに深謝致します。

引用文献

- 1) 御勢久右衛門 (1959) : 鉱山廃水の河川生物に対する影響調査のまとめ, 淡水生物, 7, 18-25.
- 2) 井出嘉雄・荒井徹夫 (1978) : 渡良瀬川の底生動物にみられる経年変化について, 用水と廃水, 20, 37-50.
- 3) 石崎修造・町田吉彦 (1980) : 長崎県内河川の底生動物相, (4)夏期の対馬佐須川と瀬川について, 陸水学雑誌, 41, 19-23.
- 4) Greenfield, J. P. and M. P. Ireland (1978) : A survey of the macrofauna of coal-waste polluted Lancashire fluvial system. Environ. Pollut., 16, 105-122.
- 5) Letterman, R. D. and W. J. Mitsch (1978) : Impact of mine drainage on a mountain stream in Pennsylvania. Environ. Pollut., 17, 53-73.
- 6) Winner, R. W., M. W. Boesel and M. P. Farrell (1980) : Insect community as an index of heavy-metal pollution in lotic ecosystems. Can. J. Fish Aquat. Sci., 37, 647-655.
- 7) Jeffree, R. B. and, N. J. Williams (1980) : Mining pollution and the diet of the purple-striped gudgeon *Mogurnda Richardson* (Eleotridae) in the Finnis river, Northern territory, Australia. Ecol. Monogr., 50, 457-485.
- 8) Peckarsky, B. L. and K. Z. Cook (1980) : Effect of Keystone mine effluent on colonization of stream benthos. Ent. Soc. Amer., 10, 864-871.
- 9) 渡辺仁治・墨田迪彰・大柳実喜子・岩切未枝保 (1977) : 鉱山閉山後における梯川水系の生物相の変化と川床付着物, 生物による重金属の濃縮, 淡水生物, 20, 44-56
- 10) 畠山成之・安野正之・菅谷芳雄・佐竹潔・横山宣雄・福島 悟 (1983) : 重金属河川の生態影響調査 (山形県 3 河川) I. 環境及び生物試料中の重金属濃度, 日本陸水学会・講演要旨集, p. 125.
- 11) 畠山成久・福島 悟 (1984) : 重金属のカゲロウ (*Epeorus latifolium*) に対する影響解析, 国立公害研究所研究報告, 第62号, 73-98.
- 12) 栃本 博・坤田裕子・菊地洋子・笹野英雄・中村 弘・松本昌雄 (1981) : 河川の重金属汚染指標としての水生昆虫, 東京衛研究所年報, 32, 296-303.
- 13) Pearson, W. D (1972) : Drift and production of two aquatic insects in a mountain stream. Ecol. Monogr., 42, 365-385.
- 14) Waters, T. F. (1965) : Production rate, population density, and drift of a stream invertebrate. Ecology., 595-604.
- 15) Allan, J. D. (1984) : The size composition of invertebrate drift in a Rocky Mountain stream. Oikos., 43, 68-76.
- 16) Kinkade, M. L. (1975) : The influence of hardness components (Ca and Mg) in water on the uptake and concentration of cadmium in a simulated freshwater ecosystem. Environ. Res., 10, 308-313.
- 17) Howarth, R. S. and J. B. Sprague (1978) : Copper lethality to rainbow trout in waters of various hardness and pH. Water Res., 12 455-462.
- 18) Chakoumakos, C. (1979) : Toxicity of copper to Cutthroat trout (*Salmo clarki*) under different conditions of alkalinity, pH, and hardness. Environ. Sci. Technol., 13, 213-219.
- 19) 田端健二 (1969) : 水産動物に及ぼす重金属の毒性とその緩和要因に関する研究-II, 重金属イオンの毒性に及ぼす水中の硬度成分の拮抗作用, 東海水産研究所研究報告, 58, 203-214.
- 20) Raspor, B. (1980) : Distribution and speciation of cadmium in natural waters. Cadmium in the environment. Part I : Ecological cycling. (Ed.) Nrigagu, J. O. John Wiley and Sons. 147-236.
- 21) 高松武次郎・草壁亮太郎・吉田富男 (1983) : 腐植酸含浸ろ紙を用いたペーパークロマトグラフィーによる金属-腐植酸相互作用の分析, 国立公害研究所研究報告, 第47号, 249-265.

- 22) 松永勝彦・五十嵐康二 (1982) : 重金属と有機錯体. 海洋科学, 14, 286-291.
- 23) Suzuki, K. T., K. Kubota and S. Takenaka (1977) : Copper in cadmium expoied rat kidney metallothionein. Chem. Pharm. Bull., 25, 2792-2794.
- 24) Roesijadi, G. (1981) : The significance of low molecular weight, metallothionein like proteins in marine invertebrates : current status. Mar. Environ. Res., 4, 167-179.
- 25) Yamamura, M., S. Hatakeyama and K. T. Suzuki (1983) : Cadmium uptake and induction of cadmium binding protein in the waterflea (*Moina macrocopa*). Bull. Environ. Contam. Toxicol., 30, 298-302.
- 26) 環境庁 (1975) : 環境白書. 481-482.



- 1) エルモンヒラタカゲロウ (*Epeorus latifolium*) (II-1 結果, 1))
- 2) コカゲロウ (*Baetis* sp.) (II-1 結果, 2))
- 3) 室内実験水路
- 4) 人工石(球型)上の付着藻とカゲロウによる食跡

重金属汚染河川の生物相の解析 II 付着藻類群落の周年変化

福嶋 悟¹・島山成久²・安野正之²・横山宣雄³

Flora and Fauna in Heavy Metal Polluted Rivers II Seasonal Changes in Attached Algal Flora in the River Mazawa

Satoshi FUKUSHIMA¹, Shigehisa HATAKEYAMA²,
Masayuki YASUNO² and Nobuo YOKOYAMA³

Abstract

Seasonal change in species composition of attached algae was investigated in a mountain stream polluted with heavy metals. Fifty one algal samples were collected from a station of the Mazawa River, polluted with heavy metals in effluent from abandoned mines, in Yamagata prefecture from May 1983 to June 1984 at intervals of 7 to 10 days.

Concentrations of Zinc, Copper and Cadmium were $1,140 \pm 500$, 67.4 ± 32.1 and $7.63 \pm 3.10 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ (mean \pm S. D, $n=46$), respectively. The concentrations of these metals were relatively high in May and June.

Total number of algal species collected during the investigation was 22. Fourteen diatom species were found, among which *Achnanthes minutissima* observed in 41 samples and was 95 to 100% of the total cell numbers. It was followed by *Surirella ovata* which appeared in 16 of 51 samples. Other diatoms were very rare.

Number of algal species found at one time ranged mostly 3 to 6. *Achnanthes minutissima* existed for the longest time. While, Cyanophyta *Phormidium luridium*

1. 昭和56年度～ 国立公害研究所客員研究員 (横浜市公害研究所 〒235 横浜市磯子区滝頭1-2-15)
Visiting Fellow of the National Institute for Environmental Studies. Present Address : Yokohama city Institute for Environmental Research, Takigashira, Isogo-ku, Yokohama 235, Japan.
2. 国立公害研究所 生物環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Environmental Biology Division, the National Institute for Environmental Studies. Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
3. 昭和56年度～ 国立公害研究所客員研究員 (山形大理学部 〒990 山形市小白川町1丁目4-12)
Visiting Fellow of the National Institute for Environmental Studies, Faculty of Sciences, Yamagata University, Koshirakawa, Yamagata 990, Japan.

increased in June to July and *Chamaesiphon minutus* in November. Then, Chrysophyta *Hydrurus foetidus*, known as a species adapted to low temperature, increased in January and February.

It was shown by a field experiment that the tolerance levels to heavy metals of *A. minutissima* and *P. luridum* were higher than those of *C. minutus* and *H. foetidus*, and Cyanophyta *Homeothrix janthina*, a dominant species in the non-polluted river near the Mazawa River, was a very sensitive species to heavy metals.

要 旨

廃止鉱山から流出する重金属によって汚染された山形県間沢川の定点において付着藻群落の種組成の周年変化を1983年5月から翌年の6月まで週1回、ただし冬期間は10日に1回の調査により調べた。

1) 河川水中の重金属濃度は5～6月に高い傾向を示した。一年間の亜鉛、銅及びカドミウムの平均濃度はそれぞれ $1,140 \pm 500$, 67.4 ± 32.1 , $7.63 \pm 3.10 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ (46サンプル)と高い値を示した。

2) 調査期間中に出現した付着藻は51回の調査で22種と極めて少なかった。その内14種がケイ藻で種ごとの出現回数は *Achnanthes minutissima* の41回, *Surirella ovata* の16回以外は1～3回と少なく、その現存量もわずかであった。*A. minutissima* の全ケイ藻中に占める割合は通年100%, またはそれに近い値を示した。

3) 1回の調査における出現種数は4種の場合が最も多く18回、次いで5種の10回、3種の9回、6種の7回で他は最大10種まで0～2回のみであった。

4) 重金属耐性種の *A. minutissima* が群落を代表する期間は最も長い、その間に、ラン藻の *Phormidium luridum* が6～7月、*Chamaesiphon minutus* が11月、冷水性の黄色鞭毛藻 *Hydrurus foetidus* が1～2月に増加した。付着藻の現存量は通年ほぼこの4種で占められるがラン藻の *Pleurocapsa fluviatilis*, *Phormidium* sp. がわずかで短期間ずつであるがこれに加わった。

5) 間沢川と非汚染河川の間で付着藻群落の入替え実験を行い、重金属耐性種及び感受性種などの検討を行った。*A. minutissima* と *P. luridum* が最も高い重金属耐性を示した。これに比較すると *C. minutus*, *Ochromonas* sp., *H. foetidus* などの耐性は前者程はなく、非汚染河川の *Homeothrix janthina* の耐性は最も低いことなどが示された。

1 はじめに

重金属に汚染された河川の付着藻類に及ぼす影響に関しては、これまで国の内外で数多くの調査がなされてきた¹⁻¹²⁾。付着藻類は川床の礫に付着しているため移動も少なく河川の重金属汚染やその影響を指標するものとして種数、多様性指数、重金属耐性種、感受性種、藻類中の重金属濃度など種々の面からの検討が可能である。例えばケイ藻の *A. minutissima* は重金属耐性種として知られ、重金属汚染河川ではしばしば全ケイ藻中の100%, またはそれに近い値を示し^{4,6)}、重金属汚染の指標種とされている。また最近では Whitton により¹³⁾ 淡水中の重金属に対する藻類の指標性についての総説が見られる。

ところで、重金属汚染による河川生態系への影響調査は通常は年1回から多くとも季節ごとの

年4回程度が行われることが多い。したがって、年1～2回の調査により、指標生物の有無または出現率から河川間の汚染の程度や、同一河川では経年的な汚染の推移が検討されたりしている。この場合、指標生物の出現率自体が周年、または季節的にどの程度変動するものなのか、またその変動要因は何かなどを調べておく必要があると考えられた。

重金属汚染環境下の藻類群落の周年変化については、これまで屋外水路を用い、銅についてなされた研究¹²⁾、湖沼における調査^{14,15)}があるが研究例は極めて少ない。そのため本研究では廃止された銅鉱山から流出する重金属によって汚染された河川の定点において、毎週1回の調査を1年間行った。調査項目は環境要因、付着藻類、底生動物であるが底生動物については今回の報告に含めていない。

この報告ではさらに、重金属汚染河川の付着藻の重金属耐性種及び群落構成種の変動要因を検討するため、上記の定点と、この近くにある非汚染河川との間で藻類群落を礫ごと置き換えその後の構成種の変化を調べた。

2 調査方法

2.1 調査地点

調査は山形県・間沢川の定点(図1)で1983年5月から翌年の6月まで週1回の間隔で行われた。ただし冬期間は10日ごと、84年の5月、6月は月2回の調査とした。間沢川は寒河江川の支流で

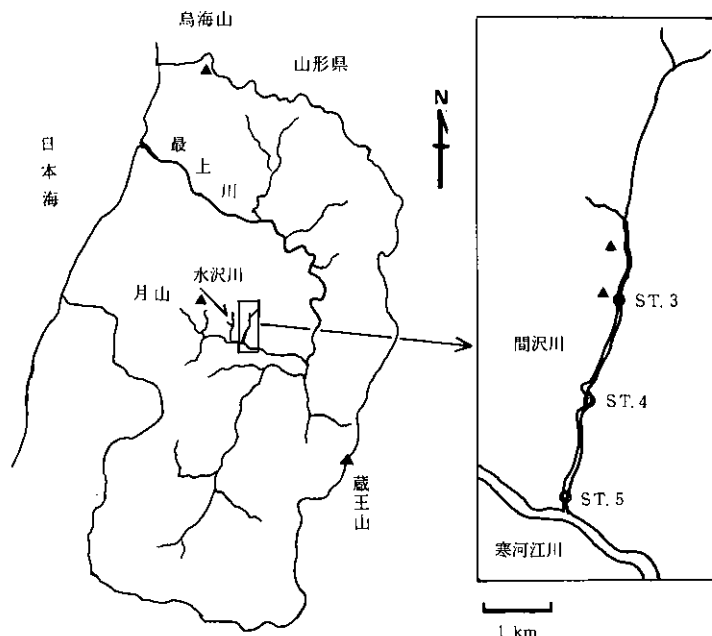


図1 間沢川の周年調査を行った定点は右図のSt.4である。

三角印に銅の廃止鉱山跡の位置を示す。

あり、調査定点は合流点から約 2 km 上流に位置する。定点の川幅は約 5 m、川床は礫からなる浅瀬であり、流量は流速、水深などから通常は $0.6\text{m}^3/\text{s}$ 程度とみなされた。

調査地点の数 km 上流には廃止された銅鉱山があり、それから流出する重金属により河川水は亜鉛、銅、カドミウムなどにより高度に汚染されていた。

2.2 調査方法

環境要因としては、正午前後 1 時間以内に気温、水温、pH、電導度、定地点の水深、流速などを測定した。重金属測定のための河川水は 250ml のポリエチレン容器に採取し現場で数%の硝酸(和光純品、重金属分析用)を添加したものを原子吸光装置(日立180-80型、島津 AA-640-12型)又は ICP-OES (Jarrel Ash 975型)で測定した。

付着藻類は河床から 4 個の礫を取り、それぞれ $5 \times 5 \text{ cm}^2$ の面積をナイロンブラシでこすり落して採取した。これらを一つにまとめて 1 サンプルとし、ホルマリン約 5 %容量を加えて保存した。藻類サンプルをメスシリンダーに移し、沈殿物量を測定し、その 20 倍量に蒸留水で調製した後、検鏡サンプルとした。

検鏡サンプルの 0.05ml を界線入りスライドグラスに取り、 $24 \times 32\text{mm}^2$ のカバーグラスを載せ、総合倍率600倍で、最大1,000個体を同定、計数した。この場合、細胞内に原形質が充てんされている細胞のみを計数の対象とした。細胞区分の不明りょうなラン藻類で糸状体を形成する種については、1 糸状体を 1 個体とした。付着藻群落の 1 mm^2 当たりの全細胞数により現存量を表した。

ケイ藻類の種の同定は、検鏡サンプルの一部を酸処理し、プレウラックスで封入した永久プレパラートを用いて行った。

2.3 藻類群落の入れ替え実験

付着藻群落を間沢川と非汚染河川の水沢川とで置き換え構成種の重金属耐性及び環境適応性を検討した。水沢川も寒河江川の支流であり、川の長さも間沢川と同程度で間沢川の西方、約 4 km に平行して位置する。

実験は1983年6月17日に始め、7日後、15日後に試料を採取した。方法としては、それぞれの河川で藻類の付着した直径約10cm位の礫を大型バットに並べ、他の河川の川底に設置した。環境要因の測定、藻類の採取、同定などは2.2と同様である。

3 結果

3.1 環境要因

間沢川定点における水温と pH の周年変化を図 2 に示した。調査開始時の 5 月の水温は $10 \sim 15^\circ\text{C}$ の間であったが、6 月から 9 月ではほとんどの調査時において $15 \sim 25^\circ\text{C}$ の間であった。その後気温とともに水温は低下し、1 ~ 2 月には $0.5 \sim 2.0^\circ\text{C}$ となった。3 月以降は水温は徐々に上昇する

が4月においても10℃以下を示した。

pHは調査開始時に最も低い5を示したがその後上昇し、6月下旬から10月末までは6.5近くを保った。11月からわずかに低下し冬期間は7~10月よりもやや低い傾向が認められた。その後3月中旬からやや上昇したが4月になると下降を示した。

1983年5月から翌年の4月までに測定された河川水中の亜鉛(Zn)、銅(Cu)、カドミウム(Cd)の濃度を図3に示した。ZnとCdでは6月にピークを持った高い値を示し、7月下旬にかけ濃度は低下した。Cuでも5~6月に著しく高い濃度が測定された。ZnとCuでは7月下旬から変動が少なくなりZnでは12月中旬、Cuでは10月末まで比較的低い値を示した。その後冬期間はやや高

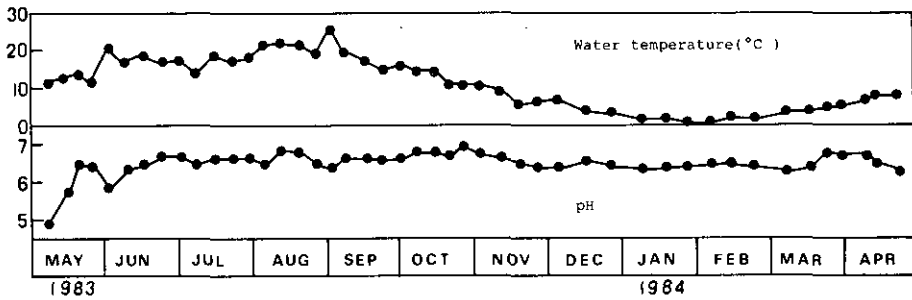


図2 間沢川定点(図1, St. 4)の水温と pH の周年変化

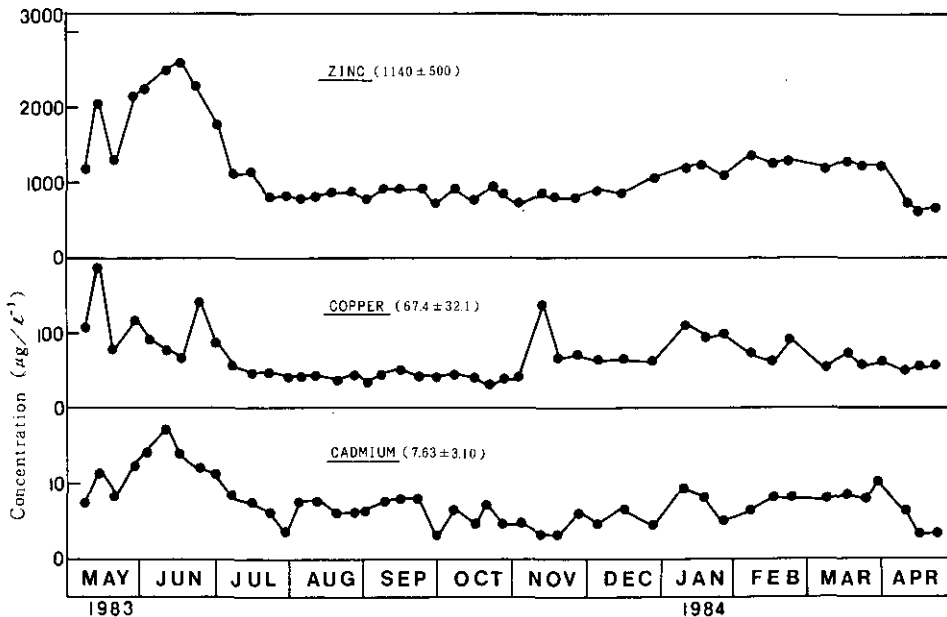


図3 間沢川定点(図1, St. 4)の亜鉛, 銅, カドミウム濃度 ($\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$) の周年変化
カッコ内は平均値 \pm S. D.

い値を示したが、Zn, Cd では4月になると濃度が低下した。最高濃度と最低濃度でZn, Cuで約3倍, Cdでは約2倍の変化があった。調査期間中のZn, Cu, Cdの平均濃度はそれぞれ $1,142 \pm 502$, 67.4 ± 32.1 , $7.63 \pm 3.10 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ ($n=46$) と非汚染河川に比較すると著しく高いものであった。

3.2 藻類群落の構造

1983年5月から84年6月の間に付着藻類を51回採取した。これらのサンプルから同定された全種の種名とその出現回数及びその現存量を表1に示した。調査期間中の全出現種は22種と著しく少なかった。

その中で出現回数が最も多かったのはケイ藻の *A. minutissima* の46回、ラン藻の *P. luridum* の44回、*C. minutus* の41回、黄色べん毛藻の *H. foetidus* の28回などであった。後に示すようにこれらの4種が群藻のほとんどを占めているが、他に *S. ovata*, *O. sp.*, *P. sp.*, *P. fluviatilis* などの出現回数も16~8回を示した。それ以外の14種の出現回数は1~3回と極めて少なかった。またこれらの種は現存量でも出現回数の多い種に比べると *Microspora sp.*を除き $100 \text{細胞} \cdot \text{mm}^{-2}$ 以下と低い値を示した。各調査時における群落を構成する種数と、多様性指数(Shannonの式による)を図4に示した。1回の調査で検出された種類は最小で0種(84年4月, 1回), 最大でも10種類

表1 間川定点(図1, St.4)の周年調査で出現した付着藻類の全種及びその出現回数と現存量(mean±S. D.)

	種名	出現回数	現存量 (細胞/mm ²)
Cyanophyta	<i>Chamaesiphon minutus</i>	41	2040±3520
	<i>Phormidium luridum</i>	44	1740±3800
	<i>Phormidium sp.</i>	10	275±371
	<i>Pleurocapsa fluviatilis</i>	8	880±1130
Chrysophyta	<i>Hydrurus foetidus</i>	28	2280±3740
	<i>Ochromonas sp.</i>	15	1010±1470
Euglenophyta	<i>Euglena sp.</i>	2	60
Bacillariophyta	<i>Achnanthes lanceolata</i>	3	9±3
	<i>Achnanthes minutissima</i>	46	6420±7610
	<i>Ceratoneis arcus v. hattoriana</i>	1	41
	<i>Ceratoneis arcus v. vaucheriae</i>	2	9
	<i>Cymbella sinuata</i>	3	38±5
	<i>Diatoma hiemale v. mesodon</i>	2	9
	<i>Eunotia sp.</i>	1	5
	<i>Fragilaria pinnata v. lancettula</i>	3	179±317
	<i>Gomphonema intricatum v. pumila</i>	3	104±38
	<i>Gomphonema parvulum</i>	2	21
	<i>Navicula radiosa</i>	1	46
	<i>Nitzschia paleacea</i>	1	1
	<i>Surirella angusta</i>	1	46
	<i>Surirella ovata</i>	16	49±93
Chlorophyta	<i>Microspora sp.</i>	1	368

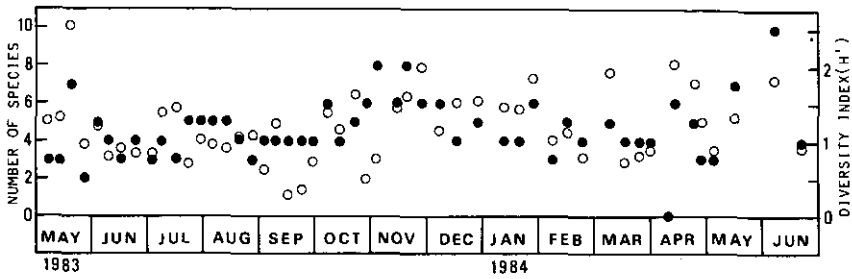


図4 間沢川定点(図1, St.4)の付着藻群落の種数(●)と多様性指数(○)
● NUMBER OF SPECIES, ○ DIVERSITY INDEX

(84年6月, 1回)と少なく, 年間を通しては3~6種の場合が多かった。多様性指数も0.5~1.5の場合が多く, 付着藻群落は年間を通し極めて単純な構造を示していた。

3.3 現存量の変化

付着藻群落の現存量の変化を図5に示した。河川の付着藻類の現存量は, 降雨や融雪による流量の増大等に大きな影響を受けることが明らかにされている^{16,17)}。そのため図5には間沢川定点の定位置における水深, 調査地点に近い山形県左沢気象観測所^{あてらざわ}で測定された日間降水量も同時に示した。付着藻の現存量は大きく変動したが, その値の多かった時期は6月末~7月初旬, 7月中旬~8月上旬, 10月下旬~11月中旬, 12月下旬~1月中旬などでそのときの値は20,000~30,000細胞・mm⁻²の範囲を示した。

前述の出現回数の多かった4種, *A. minutissima*, *P. luridum*, *C. minutus*, 及び *H. foetidus* を合計した現存量を同時に図5に示すと群落全体の現存量は年間を通してこれらの4種でほとんど占められていた。

現存量の変化の原因として降雨や雪解け時期の増水のみならず, pHや重金属濃度, 水生昆虫による摂食, 藻類自身の遷移など種々の要因が考えられるが図5の顕著な増減については後の考察とした。

3.4 群落構成種の周年変化

A. minutissima を始めとする代表的な4種の現存量及び全ケイ藻中に占める *A. minutissima* の割合(%)の周年変化を図6に示した。

A. minutissima の現存量は6月から増加し始め翌年の4月まで大きく変動を繰り返した。全ケイ藻に占める *A. minutissima* の割合は, ほとんどの調査時点で100%またはそれに近い値を示したが, 付着藻現存量が極端に低い2サンプルで50, または60%を, 次いで2月の1サンプルで85%を示した。*A. minutissima* 以外の代表的な3種の現存量が多くなる期間は短く, *P. luridum* が6~7月, *C. minutus* が11月, *H. foetidus* が1月と2月下旬に増加した。*H. foetidus* は冷水性

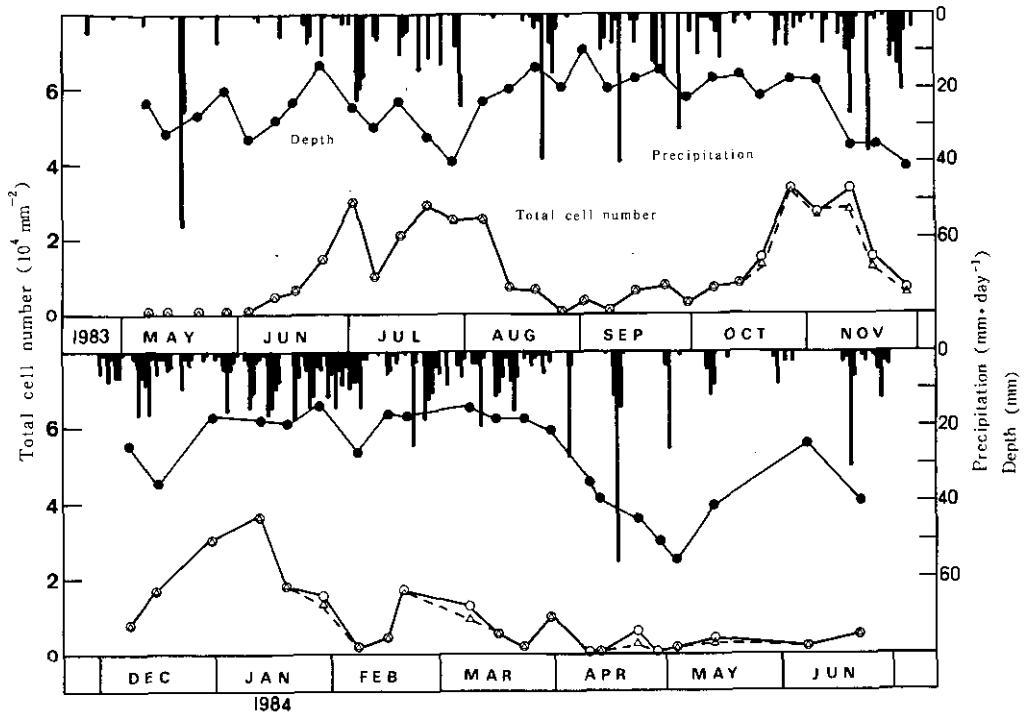


図5 間沢川定点(図1, St.4)の付着藻の現存量と日間降水量および水深(定点)の周年変化

(○)は現存量、(△)は主な優先種、*Achnanthes minutissima*, *Phormidium luridum*, *Chamaesiphon minutus*, *Hydrurus foetidus* 4種による現存量

種であるが¹⁸⁾, その現存量が増加した時期の水温は0.5~2.0℃と低かった。代表的な4種に次いで出現回数の多かった *S. ovata*, *O. sp.*, *Phormidium sp.*, 及び *P. fluviatilis* の現存量を図7に示した。*S. ovata* は5月から12月にかけて出現するが, 現存量は常に極めて少なかった。*O. sp.* は5月, 10~11月そして4~6月に出現し, 10~11月の現存量は最大で5300cells·mm⁻²を示した。*P. sp.* は10~12月そして翌年の5~6月に出現したが, 11月の最大値でも1500cells·mm⁻²以下と少なかった。*P. fluviatilis* は他の3種のように連続して出現することは少なく, 6, 7, 8, 11, 1及び3月に1回, 4月に2回採取され, 1月と3月の現存量は2,200と3,300cells·mm⁻²と比較的多かった。

3.5 非汚染河川との群落の入替え実験

図8は83年6月17日から間沢川と非汚染河川の水沢川とで付着藻群落を礫ごと置き替えたとき代表的な種の現存量の変化を示している。実験期間中水沢川の河川水中の亜鉛, 銅及びカドミウムの濃度はそれぞれ2.2, 5.6, 3.1μg·l⁻¹といずれも間沢川に比べ著しく低かった。また水沢川の水温は間沢川の測定値と比べ0.5~0.7℃とやや低い値を示した。

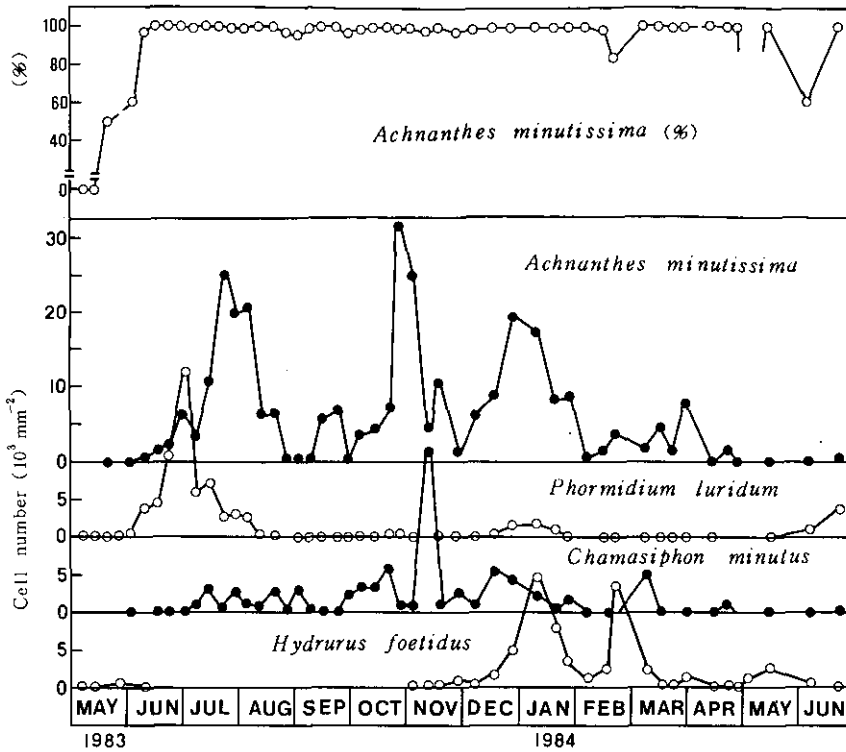


図6 間沢川定点(図1, St. 4)の4種の優先的付着藻現存量の周年変化及び全ケイ藻に占める *Achnanthes minutissima* の割合(%)

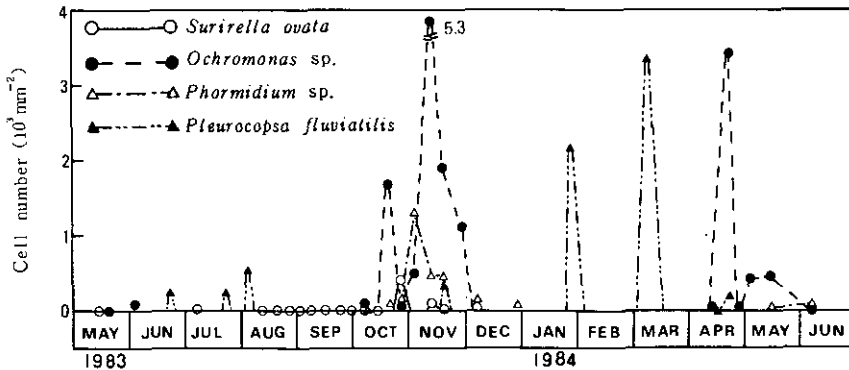


図7 間沢川定点(図1, St. 4)の優先種に次ぐ, 4種の付着藻の現存量の周年変化

実験期間中間沢川で増加する傾向が見られる *A. minutissima* と *P. luridum* は水沢川から間沢川に移した礫の表面でも増加した。一方, 間沢川から水沢川に移した群落では置換後7日目までは増加したが, その後急速に減少した。*C. minutus* と *H. foetidus* の水沢川における現存量は多

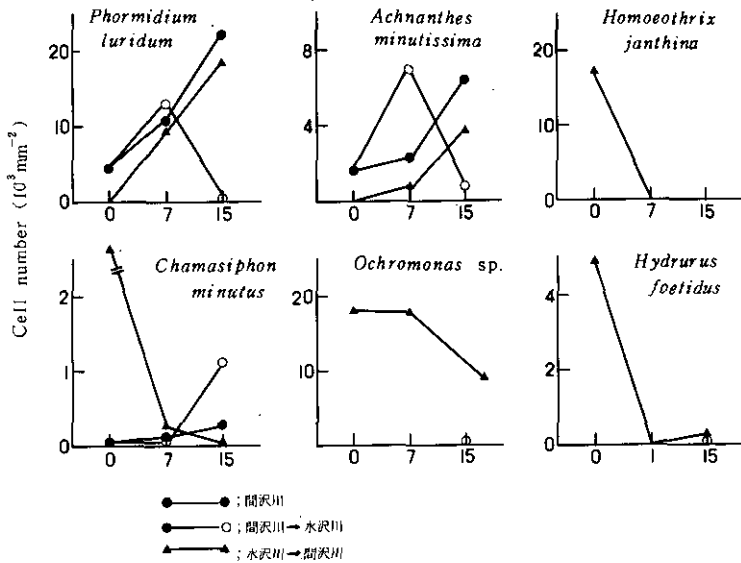


図8 付着藻の入れ替え実験による代表的な種の現存量の変化
水沢川は間沢川西方約4 kmの非汚染河川(図1)。

かったが、間沢川に移すことによりその量は急激に減少した。一方、間沢川から水沢川に移した *C. minutus* は7日から15日後にかけ現存量を急速に増加させた。*O. sp.*と *H. janthina* については、水沢川における現存量は同程度であったが間沢川に移された後は前者は7日後から減少したのに対し、後者は1週間以内に消滅した。

4 考察

河川における周年調査では例えばケイ藻類だけで90種¹⁹⁾又は、別の報告では203種の藻類が検出されたとある²⁰⁾。また山形県・吉野川の非汚染地区では5月における1回の調査だけで34種の藻類が検出されている(著者・未発表)。これらの値に比べ間沢川定点の周年調査を通した出現種は22種と極めて少ないものである。

一方、河川の付着藻類ははく離流下することが知られている^{21,22)}。今回の調査で出現回数が1~3回と少なく、またその現存量も極端に少なかった種(表1)が多かった。これらは本来そこに生育していたというよりも、上流から流下してきた藻類の可能性が高い。

付着藻類の現存量はほぼ4種の代表種から成り立っていたが周年的に大きく変動した。変動の要因としては、雪融水や降雨による流量¹⁶⁾と懸濁物質の増加¹⁷⁾による影響、水生昆虫による摂食²³⁻²⁵⁾、群落が極相に達した後のはく離^{26,27)}、重金属やpHの影響などが考えられる^{7,11,28,29)}。

5月の現存量は83年、84年とも著しく低かった。これは84年の4月の水深から見られるようにこの時期に雪融水による増水が続き、懸濁物質の影響で藻類の生育が阻害されたこと、さらにこ

の時期の銅の濃度が $100\sim 200\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ と著しく高かったこと、5月前半にpHが低く重金属の毒性が高まったことなどによるものと考えられる。7月初旬の現存量の減少はその直前に $20\text{mm}\cdot\text{d}^{-1}$ 以上の降雨が3日続き、増水による影響を受けた可能性が高い。8月初旬から10月中旬にかけて現存量は低いレベルにあった。この時期のユスリカ及びコカゲロウ(*Baetis thermicus*)の密度は高く、その生長も速かったこと³⁰⁾からこれらは水生昆虫の摂食による影響が強かったものと考えられる。また8月～9月には $30\sim 40\text{mm}/\text{d}$ の降雨が3回ありこの影響も関与していたものと思われる。冬期間の現存量の減少はこの間の水位が安定していること、ユスリカの生長がほとんど停止していること³⁰⁾などから付着藻の極相後にはく離したものと考えられる。*A. minutissima*は重金属汚染河川の代表的な耐性種として国内での報告は多い。秋田県・小坂川の調査では河川の汚染の指標としての電導度と本種が全ケイ藻に占める割合の関係が検討された⁶⁾。また諸外国でも重金属によって汚染された河川や湖沼で本種がしばしば出現するとされている^{8,10,12,31,32)}。一方この種は酸性で重金属濃度が著しく高い所では生育が阻害されるが、pHが中性に近く重金属濃度がやや低くなったところで優先することが、酸性の重金属汚染河川の調査などから知られている^{7,11,29)}。これらの報告はこの種は重金属汚染に対する指標性が極めて高いことを示している。本調査でも*A. minutissima*は現存量の変動はあるがケイ藻に占める割合はほとんどの時点で100又は100%に近いものであった。

*P. luridum*は重金属汚染の著しい河川で優先的に出現したことが報告されている^{3,34)}。*C. minutus*は非汚染河川で優先的に出現する^{23,31)}一方、*A. minutissima*が優先的に出現する重金属汚染河川でも見られている^{35,36)}。(文献、23, 34, 35では本種を*Chamaesiphon* sp.と示した)

また*H. foetidus*は冷水性種¹⁸⁾で水温が 0°C 近くで現存量が増加するとされる。本種や*S. ovata*は比較的近い濃度の重金属で汚染された河川で出現したとの報告がある^{8,36)}。しかし、*P. luridum*、*C. minutus*、*H. foetidus*などでは現存量の増加する期間が*A. minutissima*に比較し限られたものであった。これはこれら3種の生育に適した環境条件が*A. minutissima*よりも狭いことによると思われる。したがってこれら3種の出現またはその現存量を汚染の指標とするときは、その出現時期や水中の重金属濃度などにも考慮が必要であると考えられる。

付着藻群落の入れ換え実験において、水沢川の群落に間沢川の*A. minutissima*及び*P. luridum*が加わり、その現存量を増加させた。その一方、水沢川の*C. minutus*、*H. foetidus*は間沢川に移されることにより現存量は急速に減少した。この実験期間の重金属濃度は他より高目であったため生育が抑制されたためと考えられる。これらの結果は*A. minutissima*と*P. luridum*の重金属耐性を明らかに示している。*O. sp*も水沢川より間沢川に移され現存量が減少した。しかし、これらの減少した種でも重金属濃度が6月より低く、水温の低下により重金属の毒性の低下する時期には間沢川において現存量を増加させている。

間沢川の周年調査で一度も出現しなかった*H. janthina*は間沢川に移して7日目ですでに消滅してしまったのは、*C. minutus*、*O. sp.*、*H. foetidus*に比べ重金属に対する耐性が更に低かったた

めであろう。梯川の調査でもこの種は非汚染区のみ優先種として生育していた³⁹⁾。

A. minutissima と *P. luridum* が間沢川から水沢川に移した場合は、7日目までは増加したがその後現存量は急速に減少した。これはこの両種が非汚染河川の水沢川の環境でも生育する能力を有しているが、重金属に耐性のある少数種で構成されていた間沢川の群落に、水沢川で生育する多くの種が入り込むことにより種間競争の結果このような現象が起こったものと考えられる。

引用文献

- 1) 井出喜雄・福島 博・森田良美 (1966) : 渡良瀬川の陸水学的研究, とくに鉱山廃水が河川におよぼす影響について, 用水と廃水, 8, 842-856.
- 2) 福島 博 (1967) : 鉱山廃水および有機廃水が河川の底生藻類におよぼす影響, 特定研究, 鉱工業廃水の河川生物に及ぼす影響ならびに鉱工業廃水の生物学的処理の研究, 昭和41年度結果報告書, 7-10.
- 3) 渡辺仁治・墨田迪彰 (1976) : 梯川水系の川床付着物による重金属の濃縮と生物相, 日本水処理生物誌, 12, 65-72.
- 4) 渡辺仁治・墨田迪彰・大柳実喜子・岩切未枝保 (1977) : 鉱山閉出後における梯川水系の生物相の変化と川床付着物, 生物による重金属の濃縮, 淡水生物, 20, 44-56.
- 5) 京都府衛生公害研究所 (1978) : 休廃止鉱山からの流出水が河川に及ぼす影響について, 118p.
- 6) 安野正之・畠山成久 (1984) : 小坂川における重金属汚染を指標する生物相, 国立公害研究所研究報告, 第62号, 7-17.
- 7) Hancock, F. D. (1973) : Algal ecology of a stream polluted through gold mining on the Witwatersrand. *Hydrobiologia*, 43, 189-229.
- 8) Say, P. J. and B. A. Whitton (1979) : Changes in flora down a stream showing a zinc gradient. *Hydrobiologia*, 76, 255-262.
- 9) Whitton, B. A. and B. M. Diaz (1980) : Chemistry and plants of streams and rivers with elevated zinc, *Trace Subst. Environ. Health*, 14th., 457-463.
- 10) Moor, J. W. (1980) : Seasonal and species-dependent variability in the biological impact of mine wastes in a Alpine river. *Bull. environm. Contam. Toxicol.*, 25, 524-529.
- 11) Lampkin, A. J. III and M. R. Sommerfeld (1982) : Algal distribution in a small, intermittent stream receiving acid mine-drainage. *J. Phycol.*, 18, 196-199.
- 12) Leland, H. V. and J. L. Carter (1984) : Effects of copper on species composition of periphyton in a Sierra Nevada, California, stream *Freshwater Biol.*, 14, 281-296.
- 13) Whitton, B. A. (1984) : Algae as monitors of heavy metals. *In* : Algae as ecological indicators, Shubert, L. E. (ed), Academic Press, London, 257-280.
- 14) Moore, J. W., D. J. Sutherland and V. A. Beaubien (1979) : Algal and invertebrate communities in three subarctic lakes receiving mine wastes. *Water Res.*, 13, 1193-1202.
- 15) Haan, H. D., T. D. Boer and H. L. Hoogveld (1981) : Metal binding capacity in relation to hydrology and algal periodicity in Tjeukemeer, The Netherlands. *Arch. Hydrobiol.*, 92(1), 11-23.
- 16) Watanabe, T. (1974) : The primary productivity and epilithic algal communities of riffes in Yoshino-gawa River, Nara Prefecture. *Ann. Sci. Kanagawa Univ.*, 11, 107-120.
- 17) 渡辺仁治・上條裕規 (1974) : 九頭竜川水系の付着生物におよぼす濁りの影響. *日本陸水学誌*, 35(2), 73-81.
- 18) Squires L. E., S. R. Rushforth and C. J. Endsley (1973) : An ecological survey of the algae of

- Huntington Canyon, Utah. Brigham Young Univ. Sci. Bull. Biol. Ser., 18(2), 87p (Whitton, B. A. (1975) : Algae. In : River Ecology, Whitton, B. A. (ed.), Univ. of California Press. California, 81-105から引用)
- 19) Quinn, R. O. and M. J. Sullivan (1983) : Community structure dynamics of epilithic and epiphytic diatoms in a Mississippi stream. *J. Phycol.*, 19, 123-128.
 - 20) Wehr, J. D (1981) : Analysis of seasonal succession of attached algae in a mountain stream, the North Alouette River, British Columbia. *Can. J. Bot.*, 59, 1465-1474.
 - 21) 福島 博 (1971) : 河川の流下藻類について. 横浜市立大学論叢, 自然科学編, 22(1), 34-61.
 - 22) 福島悟・中村謙・高橋正和 (1976) : 日本産ブユ数種の幼虫の消化管より得たケイ藻類. *衛生動物*, 27, 373-380.
 - 23) Yasuno, M., S. Fukushima, J. Hasegawa, F. Shioyama and S. Hatakeyama (1982) : Changes in the fauna and flora after application of temephos to a stream on Mt. Tsukuba. *Hydrobiologia*, 89, 205-214.
 - 24) Mason, C. F. and R. J. Gryant (1975) : Periphyton production and grazing by chironomids in Alderfen Broad, Norfolk. *Freshwater Biol.*, 5, 271-277.
 - 25) 安野正之・菅谷芳雄・岩熊敏夫 (1984) : 野外水路による殺虫剤の生態系影響の実験的研究. 国立公害研究所研究報告, 第62号, 19-27.
 - 26) Aizaki, M (1978) : Seasonal changes in standing crop and production of periphyton in the Tamagawa Rivver. *Jpn. J. Ecol.*, 28, 123-124.
 - 27) 相崎守弘 (1980) : 富栄養化河川における付着生物群集の発達にともなう現存量および光合成量の変化. *日本陸水学誌*, 41(4), 225-234.
 - 28) Müller, P (1980) : effects of artificial acidification on the growth of periphyton. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 37, 355-363.
 - 29) Mcknight, D. M. and L. F. Gerald (1984) : The ecological effect of acid conditions and precipitation of hydrous metal oxides in a Rocky Mountain stream. *Hydrobiologia*, 119, 129-138.
 - 30) 畠山成久・菅谷芳雄・安野正之・横山宣雄 (1985) : 間沢川における重金属耐性種のユスリカおよびコカゲロウ. 第32回日本生態学会大会講演要旨集, 166.
 - 31) Moor, J. W (1981) : Epipellic algal communities in a eutrophic northern lake contaminated with mine wastes. *Water Res.*, 15, 99-105.
 - 32) Whitton, B. A., N. L. Gale and B. G. Wixson (1981) : Chemistry and plant ecology of zinc-rich wastes dominated by blue-green algae. *Hydrobiologia*, 83, 331-341.
 - 33) 畠山成久・佐竹 潔・福嶋 悟 (1985) : 梯川の生物相に及ぼす重金属の影響. 日本陸水学会第50回大会講演要旨集, 滋賀, 106.
 - 34) Yasuno, M., S. Fukushima, F. Shioyama, J. Hasegawa and S. Kasuga (1981) : Recovery processes of benthic flora and fauna in a stream after discharge of slag containing cyanide. *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, 21, 1154-1164.
 - 35) 福嶋 悟・安野正之・畠山成久・佐竹 潔・横山宣雄 (1983) : 重金属汚染河川の生態影響調査, 山形県3河川, II, 付着藻類相への影響. 日本陸水学会第48回大会講演要旨集, 126.
 - 36) 福嶋 悟・安野正之・畠山成久 (1984) : 重金属汚染河川の生態影響調査, 秋田県・小坂川, 米代川, II, 付着藻類相への影響. 日本陸水学会第49回大会講演要旨集, 77.

重金属汚染河川の生物相の解析 III
東北地方の汚染河川に特徴的なユスリカ相*

菅谷芳雄¹・安野正之²・畠山成久²

Flora and Fauna in Heavy Metal Polluted Rivers III
Sepecific Chironomid Fauna in Several Rivers in Touhoku District, Japan

Yoshio SUGAYA¹, Masayuki YASUNO² and Shigehisa HATAKEYAMA²

Abstract

The immature satages of chironomids were collected at 22 sites in 6 rivers in northern Japan where the effluent from copper mines had inflowed. A total of 95 species were distinguished from the larval specimens of which 5 were specific to the heavily polluted region : they were *Eukiefferilla* sp. A, *Orthocladius* sp. A, *Orthocladius* sp. KA, *Cricotopus* sp. A and *Paratrichocladius* sp. A. Since these species reached an extremely high density only in the polluted rivers, they might become a good biological indicator.

要 旨

東北地方の廃止鉱山からの重金属を含む排水が流れ込む6河川・22地点でユスリカ相を調べた。今回の調査地点で最も重金属濃度の高かった地点は背坂川 ST. 2 で水中重金属濃度はカドミウム15.9ppb, 銅265.1ppb, 亜鉛1306.0ppb に達した。この地点ではユスリカ類はほとんど生息していなかった。合計95種のユスリカが区別できた。対照地点と汚染地点では生息するユスリカの種・生息密度に大きな違いがあった。対照地点では種数は多いものの生息密度で傑出した種はなかった。一方、汚染地点ではいくつかの種が異常に高い密度で生息しており、その種は対照地点では見られないものであった。重金属汚染河川に特有でしかも高い生息密度となる5種のユスリカ種が見いだされ、重金属汚染のよい指標とな

*本報告の一部は既に印刷発表されている。

1. 国立公害研究所 技術部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Engineering Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
2. 国立公害研究所 生物環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Environmental Biology Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

ることがわかった。それらの種は *Eukiefferiella* sp. A, *Orthocladius* sp. A, *Orthocladius* sp. KA, *Cricotopus* sp. A 及び *Paratrichocladius* sp. A であった。

1 はじめに

河川の底生動物一般についてはよく研究されているが重金属で汚染された河川の底生生物相の調査は限られている²⁻⁷⁾。これらの報告のほとんどは汚染された河川では生息する生物種が減少するのに対しユスリカ幼虫が例外的に生息しているとしている。ところがユスリカに関してはいずれの報告も種レベルまでの同定を行っていないため、重金属汚染河川に特有の種が存在するのか、また出現したユスリカが一つの種なのかそれとも数種からなるのか等の疑問が残されたままであった。

東北地方は多くの銅鉱山があり、近年はそのほとんどが既に閉山しているものの所によっては現在も鉱山跡付近の河川は重金属で汚染されている。筆者等はこのような河川にユスリカ科昆虫が特異的に高密度で生息していることを見ている。そこで本研究はユスリカ科昆虫が重金属汚染の指標生物となりうるかに焦点を当てて行った。

2 方法

2.1 調査河川及び調査地点

本報告では山形県内を流れる最上川の支流3河川 ① 吉野川 ② 間沢川 ③ 背坂川及び秋田県小坂鉱山を流域とする河川 ④ 小坂川とその本流である ⑤ 米代川、米代川の他の支流である ⑥ 大湯川の調査結果について報告する。いずれの河川も銅鉱山に隣接しており、鉱山から流れ出る各種の重金属を含む排水が河川に流れ込んでいる。銅鉱山は調査したいずれの地域でも既に閉山しており、鉱山跡は公害防止のため埋設等の措置が施されているものの河川の重金属汚染は現在も問題になっている。なお小坂川においては精練工場が現在も稼働しており工場排水に伴って汚染は続いているとみられる。

① 吉野川は全長約27km でここに上流から下流に順次、St. 1 から St. 5 の地点を設定した。St. 1 と河川 2 は対照地点として設けた。付近には五つの廃止鉱山があり鉱山からの排水は、付近の雨水と一緒に一度溜池に蓄えられ、そこから St. 2 と St. 3 の間に流れ込んでいる。なお、この溜池は鉱山からの排水量の変動に伴い季節によって広さが変わるものの、その大きさは24m×14m 程度である。St. 3 と St. 4 間が5.3km, St. 4 と St. 5 間が7.8km である。② 間沢川は最上川の支流である寒河江川に流入する全長 8 km の短い河川である。ここに St. 3 から St. 5 の3地点を設け調査した。鉱山排水は St. 3 の直前で河川に流れ込んでいる。間沢川での今回の調査では対照地点は設定しなかった。各地点間の距離は St. 3 と St. 4 間が1.6km, さらに St. 4 と St. 5 までが2.7km である。③ 背坂川は全長 7 km ほどの河川である。上流の対照地点 St. 1 から St. 4 の4地点を調査した。上流部に廃止鉱山と鉱石の堆積場があり、St. 2 はこの堆積場の直下に位置し、そこから

1.6km 下流に St. 3 をさらに4.4km 下流に St. 4 を設けた。

④小坂川は全長20km程の河川である。流域には多数の鉱業施設(精練所, 廃止鉱山, 沈殿地, 貯泥池など)が点在している。調査地点では対照2地点を含めて合計12地点である。小坂川上流に当たる古遠部沢と相内鉱山の相内川の上流にそれぞれ対照地点 A5及び S0を, 相内川が古遠部沢と合流する手前の相内川に St.B0を設けた。鉱さいの沈殿地が近くに位置し滝沢と合流する地点に St. Z1, その下流小坂町の市街地に入手前に Z2を, 市街の下流部に Z3を設けた。以下小坂川が本流である米代川に合流するまでに Z4, Z5を設け, 合流手前の米代川に Y1, 合流後に St. Z6, Z7を米代川に設定した。また十和田湖方面から小坂川に注ぎ込む大湯川に O1を設定した。調査河川全域に鉱業施設が点在しているため, 対照地点を除く全地点とも汚染されている可能性がある。

2.2 調査方法

ユスリカ幼虫の定量採集は採集面積 $20 \times 20 \text{cm}^2$, ネットのオープニング 94μ のユスリカ採集用ネットを用いて1地点各4サンプル取った。各サンプルは現場で100ml 容器に入れ5%ホルマリンで固定し実験室に持ち帰った。その後, 実体顕微鏡下で全個体を拾い出し, 70%アルコールで保存した。

ユスリカ幼虫は原則として全個体を次のようにスライド標本とし検鏡した。まず, 20% KOH 溶液に24時間浸し筋肉組織を消化した後1度水洗いしさらに残った KOH を酢酸で中和する。スライドガラスの上にガムクロラル溶液を1滴落としそれにユスリカ幼虫を1個体ずつのせ, 幼虫の頭部と体部を柄付き針で切り放し頭部は腹側を上にしてカバーガラスをのせ1晩風乾した。ユスリカ科昆虫の属までの分類は Wiedersholm 編⁹⁾に従った。種以下の分類は可能な限り行い, 一部の種については現場で採取したユスリカ幼虫またはさなぎを生きのまま実験室に持ち帰り, 羽化させ, 得られた成虫を観察し決定した。

環境要因については水温(横河製サーミスタ温度計), pH(横河製ガラス隔膜電極 pH メーター), 電気伝導度(東亜電探製電気伝導度計)の測定は現場で行い, 河川水の重金属濃度は, 河川水を250 ml 容器入れ, 硝酸 2 ml を加え実験室に持ち帰った後, フレーム型及びフレンレス型原子吸光度測定装置で測定した。同試料は ICP(イオンプラズマ発光分光測定装置)でも測定し参考にした。

3 結果

3.1 河川水の重金属濃度

各調査地点で採取した河川水の重金属濃度を表1に示す。調査河川すべてが Cd, Cu, Pb 及び Zn で汚染されていた。Cd の最高濃度は背坂川 St. 2 の15.7ppb でこの地点では Cu, Zn 濃度についても今回の調査地点中最も高く, それぞれ1067ppb, 234ppb であった。これは同地点が鉱さい置場の直下であったためである。背坂川の各重金属濃度は下流に行くに従って濃度を減じているがその減少の割合は重金属種によって異っていた。このことは鉱さいその他からの重金属の浸出は St.

表1 各調査地点の環境要因

河川	地点	水温 (°C)	pH	電気伝導度 (μ S/cm)	Cd (μ g/l)	Cu (μ g/l)	Pb (μ g/l)	Zn (μ g/l)
吉野川	St. 1	17.7	6.6	42	N.D	3.5	2.9	24.7
	溜池*	18.0	2.2	2,600	25.7	8,498.0	377.0	983.0
	St. 3	16.5	5.7	80	0.1	33.0	2.5	18.0
	St. 4	16.3	6.4	100	5.8	45.4	37.3	638.6
	St. 5	16.0	6.8	90	3.3	11.2	8.4	185.6
間沢川	St. 3	12.0	6.1	90	7.0	57.8	9.8	798.5
	St. 4	13.0	6.2	99	5.7	48.4	4.2	690.5
	St. 5	13.0	6.4	100	4.0	37.1	15.3	687.8
脊坂川	St. 1	9.3	6.1	24	N.D	3.2	4.0	25.9
	St. 2	10.8	4.6	300	15.9	1,067.0	7.0	2,345.0
	St. 3	14.2	6.6	300	6.9	265.1	3.8	1,306.0
	St. 4	16.7	6.8	140	1.0	22.4	29.4	102.6
小坂川	A5	10.1	6.5	33	N.D	0.3		5.0
	S0	11.0	6.7	52	N.D	N.D		7.1
	B0	11.0	6.4	280	1.4	31.9		285.6
	Z1	9.5	6.8	190	0.9	13.2		140.0
	Z2	13.8	6.9	230	0.2	13.9		35.4
	Z3	12.7	6.9	380	10.0	34.7		183.1
	Z4	11.0	7.0	320	5.7	25.3		155.9
	Z5	11.4	7.1	290	4.8	19.0		127.5
米代川	Z6	11.5	7.2	130	1.4	40.0		77.5
	Z7	11.9	7.2	120	1.3	15.0		55.7
	Y1	11.9	7.2	93	0.8	4.0		50.3
大湯川	O1	10.5	7.3	61	N.D	6.9		21.0

吉野川、間沢川、脊坂川は、昭和57年5月の測定結果を示す。

小坂川周辺の河川；小坂川、米代川、大湯川は昭和58年10月の測定結果を示す。

2よりも下流側にも流れ込んでいるためと考えられる。吉野川では St. 4 で Cd 5.8ppb, Cu 45.4 ppb 及び Zn 638.6ppb と各重金属濃度とも最も高く、次いで上流の St. 3 が高かった。ここから St. 3 の上流の朱山鉱山を汚染源とするだけでなく St. 4 の上に大きな汚染源があることがわかった。朱山鉱山は現在は閉山しており排水はいったん人工の溜池（表1中*で示す）を通過し吉野川に入っている。この溜池の重金属濃度は著しく高く、水質も強酸性であった。この溜池からの水は全長1 km の小河川となって吉野川に入っている。間沢川では Pb を除く各重金属濃度はあまり変化せず St. 3 から St. 5 まで推移していた。これは他の河川が下流に行くに従って流域からの水を集めて結果として濃度が急速に減少するのに対し、この間沢川は水量の変化が少なく結果として St. 3 以降薄まることがないためと考えられる。また間沢川、背沢川の Pb 濃度が他の重金属濃度に傾向に反していずれも最下流調査地点で高くなっている原因は不詳であるが、鉱山排水以外の要因を考慮すべきである。

小坂川の Cd 濃度は B0 地点で小さなピークをなし以降 Z2 地点まで減少傾向にあり、Z3 地点で再び増加しこの流域での最高値 10.0ppb となった後、また下流に行くに従って漸減していた。Cu

濃度は B0地点と Z3地点でピークをなし、Z6で最高値の40.0ppb となった。なお Z6地点は鉱山廃水が流れ込む直下であるため局部的に高濃度となったと考えられる。Zn 濃度は Cd 濃度と同じように変化した。ただし最高値は B0地点の285.6ppb で Z3地点はこれに次ぐ183.1ppb であった。このような重金属濃度のプロフィールから汚染源は少なくとも 3箇所存在し、B0地点上流の相内鉱山からは相内川を通じて Zn 及び Cu を多く含む水が小坂川に流入し、さらに下流の Z2と Z3の間に小坂鉱山からの Cd を特に多く含む排水が小坂川に流れ込んでいて、Z6地点のすぐ上流で米代川に流れ込む支流を通して鉱山の Cu を多く含む排水が入っているものと考えられる。

3.2 ユスリカ科昆虫の種類

山形県の吉野川、間沢川、背坂川から合計60種のユスリカが確認された(表2)。また秋田県の小坂川、米代川、大湯川では合計63種であった(表3)。山形県の3河川と秋田県の3河川とは調査した季節が異なり、地域的に離れていたが合計28種が共通した種と判断された。

多くの種についてはサンプルサイズの制限があるため1ないし数個体しか採集されなかった。また採集された個体の齢は3齢以上がほとんどであり2齢以下のサイズの小さい若齢幼虫の割合は比較的少なかった。今回の調査では6河川より合計95種が確認された。亜科(族)別にみると、モンユスリカ亜科(TANYPODINAE)5種、ヤマユスリカ亜科(DIAMESINAE)5種、PRODIAMESINAE 亜科1種、エリユスリカ亜科(ORTHOCLADIINAE)60種、ユスリカ亜科のユスリカ族9種、及び同亜科 TANYTARSINI 族15種であった。いずれの河川でもエリユスリカ亜科が種数・個体数で優占していた。各河川・地点でみるとユスリカの個体数の極端に少なかった吉野川、St. 3、背坂川 St. 3 及び小坂川 Z1地点では種類数も少なかった。最も多くの種が生息していたのは背坂川の対照地点である St. 1 で36種が確認された。次いで小坂川の対照地点 St. S0の26種類であった。ところが吉野川に対照地点として設定した St. 1 では採集された個体数そのものが少なかったため種数は11種にとどまった。多少とも重金属の汚染が確認されている地点での種数はおよそ水中の重金属濃度に逆比例していた。例外は今回の調査点で最も汚染の激しい背坂川 St. 2 地点で、ここでは個体数は少ないものの10種確認された。後述のようにこの内ほとんどの種は対照地点でのみ出現している種であり、もともとこの地点に生息していたかどうか疑わしい種であった。おそらく調査時期が雪溶時期にあったため上流部から流下してきたものであると推測される。

3.3 ユスリカ幼虫の生息密度

吉野川では St. 1、St. 3 地点で生息密度が低いのに対し、St. 4 及び St. 5 地点では高い生息密度が観察された。生息密度の高い種は St. 4 では *Orthocladius* sp. A で2150個体/m²であるが、St. 5 では *Orthocladius* sp. A が1756個体/m²、*Cricotopus* sp. A がさらに高い3975個体/m²であり、St. 5 がこの河川では最も多くのユスリカ幼虫が生息していた。St. 3 地点の生息密度は169個体/m²とたいへん低いものであったが、その大部分は *Eukiefferiella* sp. A で163個体/m²であった。この

表2 1982年5月 山形県吉野川・間沢川・脊坂川ユスリカ幼虫の生息密度(個体数/m²)

種名	吉野川				間沢川			脊坂川			
	St. 1	St. 3	St. 4	St. 5	St. 3	St. 4	St. 5	St. 1	St. 2	St. 3	St. 4
1) <i>Conchapelopia</i> sp. A	75	-	25	56	-	-	-	38	13	-	-
2) <i>Conchapelopia</i> sp. B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6
3) <i>Conchapelopia</i> sp. C	-	-	-	-	-	-	-	150	19	-	-
4) <i>Conchapelopia</i> sp. D	-	-	-	-	-	-	-	69	19	-	-
5) <i>Nilotanyppus</i>	63	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6) <i>Diamesa</i> sp. A	-	-	-	-	19	25	19	-	-	-	-
7) <i>Diamesa</i> sp. B	-	-	-	-	69	119	-	-	-	-	-
8) <i>Diamesa</i> sp. C	-	-	-	-	6	31	-	-	-	-	-
9) <i>Diamesa</i> sp. D	-	-	-	-	-	38	44	-	-	-	-
10) <i>Prodiamesa</i> sp.	-	-	-	163	-	-	-	-	-	-	-
11) <i>Abiskomyia</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	6	-	-	-
12) <i>Acamptocladus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	13	-	-	-
13) <i>Chaetocladus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	6	-	-	-	-
14) <i>Corynoneura</i> sp.	6	-	6	-	-	-	-	313	6	-	-
15) <i>Cricotopus</i> sp. A	-	-	-	3975	19	25	-	-	-	-	4231
16) <i>Epicocladus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	6	-	-	-
17) <i>Eukiefferiella</i> sp. A	6	163	406	-	3044	5075	6788	-	-	31	19
18) <i>Eukiefferiella</i> sp. B	19	-	-	-	-	-	-	31	6	-	-
19) <i>Eukiefferiella</i> sp. C	-	-	-	-	-	-	-	406	31	-	6
20) <i>Eukiefferiella</i> sp. D	-	-	-	-	6	-	-	150	-	-	-
21) <i>Eukiefferiella</i> sp. E	-	-	-	-	-	-	-	50	-	-	-
22) <i>Eukiefferiella</i> sp. F	-	-	-	-	-	19	13	19	-	-	-
23) <i>Eukiefferiella</i> sp. G	-	-	-	-	-	-	-	44	-	-	-
24) <i>Heleniella</i> sp. A	-	-	-	-	-	-	-	69	-	-	-
25) <i>Heleniella</i> sp. B	-	-	-	-	-	-	-	13	-	-	-
26) <i>Hydrobaenus</i> sp. A	-	-	6	-	-	-	-	50	-	-	13
27) <i>Hydrobaenus</i> sp. B	75	-	-	-	6	13	-	213	25	-	6
28) <i>Hydrobaenus</i> sp. C	-	-	-	-	-	-	-	81	-	-	-
29) <i>Kenosmittia</i> sp.	-	-	13	6	-	-	6	125	-	-	19
30) <i>Orthocladus</i> sp. A	-	-	2150	1756	1219	1525	344	-	-	363	3231
31) <i>Orthocladus</i> sp. B	-	-	-	-	6	-	-	-	-	-	-
32) <i>Paraccladius</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	56	-	-	-
33) <i>Parakiefferiella</i> sp.	-	-	-	-	6	-	-	-	-	-	-
34) <i>Rheocricotopus</i> sp. A	-	-	-	69	-	-	-	-	-	-	-
35) <i>Rheocricotopus</i> sp. B	-	-	-	-	-	-	-	56	-	-	-
36) <i>Thienemanniella</i> sp. A	-	-	-	550	31	19	-	-	6	-	6
37) <i>Thienemanniella</i> sp. B	-	-	-	-	-	-	-	58	-	-	-
38) <i>Thienemanniella</i> sp. C	-	-	-	-	-	-	-	88	-	-	-
39) <i>Thienemanniella</i> sp. D	-	-	-	-	-	-	-	29	-	-	-
40) <i>Tokunagaia</i> sp.	-	-	-	-	6	-	-	-	-	-	-
41) Orthoclad. genus sp. 1	-	-	-	44	19	25	-	31	-	-	-
42) Orthoclad. genus sp. 2	-	-	6	-	-	-	-	-	13	-	25
43) Orthoclad. genus sp. 3	-	-	-	-	-	-	-	94	-	-	-
44) Orthoclad. genus sp. 4	-	-	-	-	-	-	-	131	-	-	-
45) Orthoclad. genus sp. 5	-	-	-	-	-	-	-	19	-	-	-
46) <i>Microtendipes</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	19	-	-	-
47) <i>Paralauterborniella</i> sp.	-	-	25	88	-	-	-	-	-	-	31
48) <i>Paracladopetma</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	6	-	-
49) <i>Polypedilum</i> sp. A	-	6	75	188	38	6	13	-	-	-	113
50) <i>Polypedilum</i> sp. B	-	-	-	188	-	-	-	-	-	-	-
51) <i>Lenziella</i> sp.	25	-	-	-	-	-	-	6	-	-	-
52) <i>Microspectra</i> sp.	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
53) <i>Neozavrelia</i> sp. A	-	-	-	13	-	-	-	-	-	-	-
54) <i>Neozavrelia</i> sp. B	-	-	-	-	-	-	-	13	-	-	-
55) <i>Rheotanytarsus</i> sp. A	38	-	-	-	-	-	-	19	-	-	-
56) <i>Tanytarsus</i> sp. A	-	-	-	-	-	-	-	19	-	-	-
57) <i>Tanytarsus</i> sp. B	-	-	-	-	-	-	-	19	-	-	-
58) <i>Tanytarsus</i> sp. C	-	-	-	-	-	-	-	106	-	-	-
59) <i>Tanytarsus</i> sp. D	6	-	-	-	-	-	-	6	-	-	-
60) <i>Tanytarsini</i> , genus sp.	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

表3 1983年10月 秋田県小坂川・米代川・大湯川ユスリカ幼虫の生息密度 (個体数/m²)

種名	地						点					
	S0	A5	B0	Z1	Z2	Z3	Z4	Z5	Z6	Z7	O1	Y1
1) <i>Conchapelopia</i> sp. A	38	138	42	56	50	13	31	56	213	175	75	113
2) <i>Conchapelopia</i> sp. B	63	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3) <i>Conchapelopia</i> sp. C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4) <i>Conchapelopia</i> sp. D	-	13	-	-	-	-	-	-	-	6	-	-
5) <i>Potthastia</i> sp.	-	-	-	-	25	-	19	19	-	-	-	31
6) <i>Acampiocladius</i> sp.	13	-	-	-	-	-	-	-	-	25	-	-
7) <i>Corynoneura</i> sp.	50	25	-	-	-	-	6	-	-	-	8	-
8) <i>Cricotopus</i> sp. A	13	-	50	31	6	31	31	44	25	6	-	31
9) <i>Cricotopus</i> sp. B	-	-	42	-	19	-	6	-	-	19	25	25
10) <i>Cricotopus</i> sp. C	25	-	-	-	6	-	13	-	6	-	42	25
11) <i>Diptocladus</i> sp.	-	-	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12) <i>Eukiefferiella</i> sp. B	100	-	33	25	81	19	56	19	6	6	58	13
13) <i>Eukiefferiella</i> sp. C	-	-	33	63	25	13	56	25	63	216	42	44
14) <i>Eukiefferiella</i> sp. C'	50	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15) <i>Eukiefferiella</i> sp. D	-	-	183	-	6	13	144	6	-	-	-	-
16) <i>Eukiefferiella</i> sp. A	-	-	17	-	-	6	25	25	6	-	-	-
17) <i>Eukiefferiella</i> sp. E	-	-	25	-	6	-	25	-	-	6	8	-
18) <i>Eukiefferiella</i> sp. F	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19) <i>Eukiefferiella</i> sp. G	113	-	-	-	-	-	-	6	-	6	42	-
20) <i>Eukiefferiella</i> sp. H	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21) <i>Eukiefferiella</i> sp. K	100	125	8	-	13	-	-	-	-	6	-	6
22) <i>Epicocladus</i> sp.	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23) <i>Euryhopsis</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	8	50
24) <i>Heleniella</i> sp. A	-	-	-	6	-	-	6	-	-	-	8	-
25) <i>Hydrobaenus</i> sp. A	-	38	-	-	-	-	-	-	6	6	8	-
26) <i>Hydrobaenus</i> sp. B	-	-	-	-	-	-	-	-	13	-	-	-
27) <i>Hydrobaenus</i> sp. C	-	-	-	-	6	-	6	-	-	-	-	-
28) <i>Orthocladus</i> sp. KA	-	-	1058	-	213	313	431	63	69	238	425	313
29) <i>Orthocladus</i> sp. KB	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6
30) <i>Orthocladus</i> sp. KC	-	-	17	-	6	56	181	-	25	50	33	19
31) <i>Orthocladus</i> sp. KD	-	-	-	-	25	13	25	-	6	13	8	25
32) <i>Orthocladus</i> sp. KE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	25	-	-
33) <i>Parachocladus</i> sp.	-	13	-	-	6	-	-	-	-	69	125	31
34) <i>Paracladius</i> sp.	-	-	-	-	-	-	25	-	-	-	-	-
35) <i>Paratrichocladus</i> sp. A	-	-	292	-	156	250	244	75	6	-	317	88
36) <i>Paratrichocladus</i> sp. A'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8	-
37) <i>Paratrichocladus</i> sp. B	13	-	42	-	25	13	25	13	-	-	-	13
38) <i>Paratrichocladus</i> sp. C	63	25	33	-	-	-	-	-	-	-	33	-
39) <i>Parorthocladus</i> sp. A	138	-	8	-	-	-	-	-	-	6	17	6
40) <i>Parorthocladus</i> sp. B	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
41) <i>Rheocricotopus</i> sp. A	13	-	-	-	-	-	-	-	6	-	-	-
42) <i>Thienemanniella</i> sp. A	163	25	8	6	6	-	13	-	13	31	8	6
43) <i>Thienemanniella</i> sp. F	-	-	-	-	-	-	-	6	-	-	-	6
44) <i>Thienemanniella</i> sp. G	63	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
45) <i>Synorthocladus</i> sp.	-	-	-	-	6	-	-	-	-	-	-	-
46) <i>Orthoclad. genus</i> sp. 1	-	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
47) <i>Orthoclad. genus</i> sp. 2	-	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
48) <i>Orthoclad. genus</i> sp. 3	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
49) <i>Demicyptochironomus</i> sp.	-	-	-	-	6	-	-	-	-	-	-	6
50) <i>Microtendipes</i> sp.	-	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13
51) <i>Polypedium</i> sp. A	-	13	-	-	6	6	-	13	63	100	25	63
52) <i>Chironomus</i> sp. A	-	13	-	-	-	25	-	-	-	-	8	-
53) <i>Chironomus</i> sp. B	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
54) <i>Chironomini genus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	6	-	-	-
55) <i>Cladotanytarsus</i> sp. A	13	-	-	-	-	-	-	-	-	13	-	-
56) <i>Cladotanytarsus</i> sp. B	-	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
57) <i>Rheotanytarsus</i> sp. A	100	188	-	-	-	-	-	-	6	-	-	-
58) <i>Rheotanytarsus</i> sp. B	25	63	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
59) <i>Rheotanytarsus</i> sp. C	-	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60) <i>Stempellinella</i> sp.	-	-	-	-	6	6	-	-	-	-	8	-
61) <i>Tanytarsus</i> sp. A	-	288	-	-	13	-	-	-	-	-	-	-
62) <i>Tanytarsus</i> sp. B	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
63) <i>Tanytarsus</i> sp. C	-	-	-	-	6	6	-	-	-	25	-	-

Eukiefferiella sp. A は St. 4 でも出現しており、St. 4 では406個体/m²であった。重金属汚染のある地点で出現している種であるが、下流の St. 5 では見られなかった。また St. 5 では *Thienemanniella* sp. A が550個体/m²とこの種としては高い生息密度であった。

間沢川では St. 3, St. 4, St. 5 の3地点とも重金属で汚染されており、吉野川でも出現した *Eukiefferiella* sp. A がそれぞれ3044, 5075, 6788個体/m²と下流にいくにしたがって高くなるもののいずれの地点でもその密度はたいへん高かった。一方、*Orthocladus* sp. A は *Eukiefferiella* sp. A とは反対に上流部の St. 3 及び St. 4 で高く調査地点としては下流にあたる St. 5 ではそれほど多くなかった。生息密度は St. 3 で1219個体/m², St. 4 1525個体/m²及び St. 5 344個体/m²であった。生息密度は低いものの *Diamesa* sp. A を含めこの属の4種、この河川でのみ出現した。その他の種もわずかではあるが生息していた。

背坂川 St. 1 は対照地点であり、最も多くの種が出現した地点であり、ユスリカ類合計の密度は低いものの際だって生息密度の高い種はなかった。汚染された地点にはたいへん多い種である *Eukiefferiella* sp. A, *Orthocladus* sp. A 及び *Cricotopus* sp. A などの種は全く生息していなかった。汚染地点の St. 2 及び St. 3 の生息密度はたいへん低かったが、下流の St. 4 では *Orthocladus* sp. A が3231個体/m², *Cricotopus* sp. A が4231個体/m²とこの地点の密度は種としては最高の密度であり、全体としても今回の一連の調査で最も高い密度であった。

小坂川及び小坂周辺の河川では上記3河川とかなり異なっていた。各種の生息密度をみると数千個体/m²を記録した種・地点はなく対照地点、汚染地点とも1000個体/m²程度であった。S0, A5地点は同じく対照河川であるが河川の形態が多少異なっており、そのため出現した種は必ずしも一致しないがユスリカ亜科特に TANYTARSINI 族が比較的多かった点で似ていた。同亜科では S0地点では *Rheotanytarsus* sp. A が、A 5地点では *Rheotanytarsus* sp. A 及び *Tanytarsus* sp. A が多かった。他の亜科については S0地点では *Thienemanniella* sp. A, *Parorthocladus* sp. A 及び *Eukiefferiella* に属する3種が、A 5地点では *Conchapelopia* sp. A が比較的多かった。対照地点の両地点とも傑出して多い種はなかった。S0, A5地点以外の地点は程度の多少はあるものの重金属による汚染が確認された地点である。対照地点では出現しないがこれらの地点に共通してしかも高い密度で生息していた種は、*Eukiefferiella* sp. C, *Eukiefferiella* sp. D, *Orthocladus* sp. KA, *Paratrachocladus* sp. A であった。*Eukiefferiella* sp. C は Z 7地点の216個体/m²が最も高く、密度は低い汚染河川全地点で出現していた。*Eukiefferiella* sp. D は特に汚染の程度のひどい地点でのみ出現した。B0地点では317個体/m², Z1地点では、144個体/m²であった。*Orthocladus* sp. KA は Z1地点を除く全汚染地点で出現し、B0地点では1058個体/m², Z4地点431個体/m², O1地点425個体/m²となっていたのをはじめほとんど全汚染地点で優占種となっていた。*Paratrachocladus* sp. A は *Orthocladus* sp. KA に次いで多く見られ、Z1地点、Z7地点にはいないものの O1地点では317個体/m²に達した。これら4種は対照地点では見られなかった種であるが、汚染に関係なく、*Conchapelopia* sp. A 及び *Polypedilum* sp. A のように全調査地点で出現した種もあった。特に *Conchapelopia*

pia sp. A はどの地点でもかなりの密度で生息しており、Z6地点では213個体/m²にも達した。

4 考 察

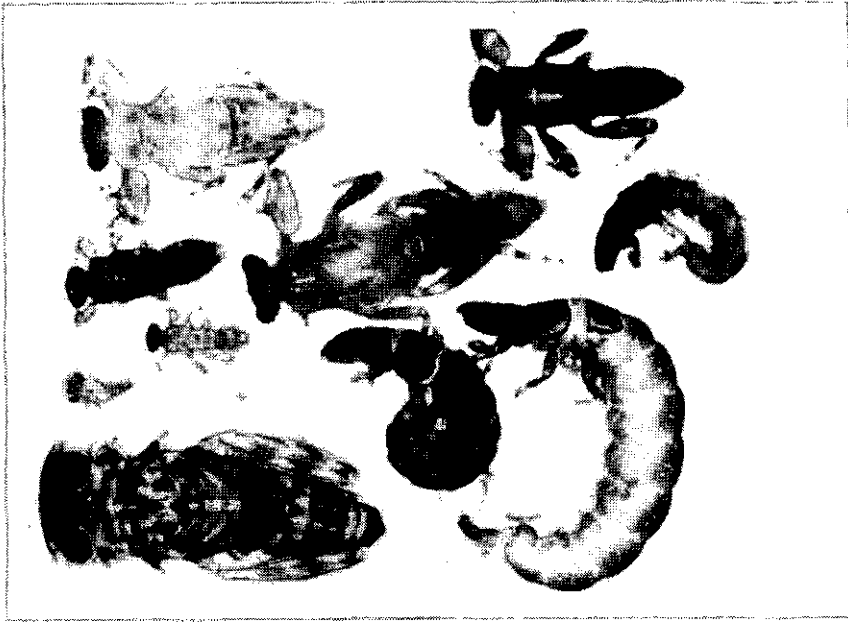
Winner ら⁹⁾は重金属汚染河川ではユスリカ類が優占するとしており、ユスリカも種のレベルまで同定した。この報告によると3 kmの間で57種のユスリカの生息を確認し、最も汚染のひどい地点でも15種を得ている。この15種は下流の汚染の少ない地点でも生息していたため採集された底生動物全体に占めるユスリカ類の割合をもって重金属汚染の指標とすることを提言しているにとどまり、ユスリカのある種をもって重金属汚染の指標に使用することはできないとした。ところが今回の調査・研究で明らかになったことは、ある種のユスリカは重金属の汚染地点に特異的に出現しており、そのユスリカ種は重金属汚染の指標としての十分使用にたえるものであることである。Winner 等の行った河川の水中銅濃度は今回我々の調査した河川と同程度であったが、亜鉛濃度は我々の調査河川の方がかなり高いこと、またさらに今回の調査河川ではカドミウムが検出されたことなどの違いがあった。これらの水中に存在している重金属の組成・濃度の違いがユスリカの分布の違いとなったと推測される。

この研究では山形県3河川からエリユスリカ亜科の3種、秋田県の小坂周辺の河川から同亜科の4種のが重金属汚染の指標として認められた。この報告の中ではこれら7種のユスリカは別種として扱っているが *Eukiefferiella* sp. A と *Eukiefferiella* sp. C 及び *Eukiefferiella* sp. D の間の変異、*Cricotopus* sp. A と *Paratrichocladus* sp. A との間の変異は微妙であり、より詳細な分類学的研究が必要である。*Orthocladus* sp. A と *Orthocladus* sp. KA とは明らかに別種である。しかしながら、間沢川でのユスリカの周年変化を見ると冬から春にかけては *Orthocladus* sp. A が優占しているが他の季節には *Orthocladus* 属の他の種が優先している(畠山、未発表)。この夏期に優占する *Orthocladus* sp. と *Orthocladus* sp. KA とはかなり類似しており今後の研究が必要である。いずれにしても重金属汚染河川に特異的な種であっても季節的な消長があると考えられ、今回の調査が山形県3河川が春に、秋田県小坂が秋に行っているため、その季節的な違いによる差も無視できないと思われる。

ユスリカ類がある程度の重金属汚染に対してはある程度は耐性があるものの、その程度には限界があった。今回の調査地点では背坂川 St. 2 がそれに当たり、この地点では上流からの流下してきた個体のみ採集されたただけであった。そして背坂川 St. 3 地点程度の重金属濃度ではある限られた *Orthocladus* sp. A 及び *Eukiefferiella* sp. A などの種のみ生息可能であると思われる。重金属汚染が進行するとユスリカ類の生息密度が増加する傾向が認められた。この理由は、河川の生物相が一時的に破壊され他の競争者及び捕食者がいなくなりユスリカ類が異常に増加する^{10,11)}現象と同じ理由であると考えられる。重金属汚染の影響は一時的なものでなく、比較的長期間続くものであるが、競争者及び捕食者の欠如がユスリカ類の増加の原因であろう。

引用文献

- 1) Yasuno, M., S. Hatakeyama and Y. Sugaya (1985) : Characteristic distribution of chironomids in the rivers polluted with heavy metals. Verh. Internat. Verein. Limnol., 22, 2371-2377.
- 2) 御勢久右衛門(1960) : 奈良県立里, 川股西鉦山および和歌山県飯盛鉦山の廃水の河川生物におよぼす影響. 日本生態学会誌, 10 (1), 38-45.
- 3) Sprague, J. B., P. F. Elson and R. L. Sounders (1965) : Sublethal copper-zinc pollution in a salmon river—a field and laboratory study. Adv. Water Poll. Res., 1, 61-82.
- 4) 渡辺 直・原田三郎 (1976) : 鉦山廃水流入河川市川における底生動物相の回復について, 兵庫公害研究所報告, 8, 20-25.
- 5) Nehring, R. B., R. Nisson and G. Minasian (1979) : Reliability of aquatic insects versus water samples as measures of aquatic lead pollution. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 22, 103-108.
- 6) Jefree, R. A. and N. J. Williams (1980) : Mining pollution and diet of the purple-striped gudgeon *Mogurnda mogurnda* RICHARDSON (Eleotridae) in the Finnis River, Northren Territory, Australia. Ecol. Monogr., 50, 457-485.
- 7) Peckrsky, B. L. and K. Z. Cool (1980) : Effect of keystone mine effluent on colonization of stream benthos. Entmol. Soc. Am., 10, 864-871.
- 8) Wiederholm, T. (ed) (1983) : Chironomidae of the Holarctic region. Keys and diagnosis Part I. Larvae. Ent.Scand. Suppl., No.19, 457p.
- 9) Winner, R. W., M. W. Boesel and M. P. Farrell (1980) : Insect community structure as an index of heavy-metal pollution in lotic ecosystems. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 37, 647-655.
- 10) Yasuno, M., S. Fukushima, F. Shioyama, J. Hasegawa and S. Kasuga (1981) : Recovery processes of benthic flora and fauna in a stream after discharge of slag containing cyanide. Verh. Internat. Verein. Limnol., 21, 1154-1164.
- 11) Yasuno, M., S. Fukushima, J. Hasegawa, F. Shioyama and S. Hatakeyama (1982) : Changes in the benthic fauna and flora after application of temephos to a stream on Mt. Tsukuba. Hydrobiologia, 89, 205-214.



非汚染地点に出現した水生昆虫



重金属汚染地点に出現した水生昆虫
左側 ユスリカ, 右側 コカゲロウ

古川におけるディフルベンズロンの底生生物群集への影響 I 水生昆虫群集及び魚類への影響

佐竹 潔¹・安野正之¹

Impacts of Diflubenzuron on Zoobenthic and Fish Community in the Kokawa River

Kiyoshi SATAKE¹ and Masayuki YASUNO¹

Abstract

Application of diflubenzuron at the concentration of 1.25 ppm for one hour did not affect the fish population in the Kokawa River; no mortality was noted among both adults and fry.

Aquatic insects were all received a serious impact from the chemical. The predominant species, *Hydropsyche orientalis* decreased markedly 2 weeks after and did not recover till the 4th week, when the observation ended. Ephemeroptera genus spp. also disappeared but *Baetis* spp. started to repopulate in the 3rd week and recovered in the 4th week. Dipterans showed also a remarkable increase in the density 3 weeks after application. Those species were *Antocha* sp., chironomids and simuliids which all have high potential in the increase with a short generation time and high fecundity. Therefore, continuous efforts to control simuliid larvae with this chemical will result in a simple fauna comprising of dipterans only.

要 旨

静岡県修善寺町古川及び年川においてブユ防除薬剤を用いた際の底生動物及び魚類に対する影響を調べた。昆虫成長阻害物質のディフルベンズロンの河川水中の濃度が1.25ppmになるように1時間にわたって投入した。その結果、底生動物の種数と密度が低下し、投入から2週間後には底生動物はほとんど見られなくなった。投入3週間後から回復が始まり、ブユ・ユスリカ・ガガンボ・コカゲロウが見られるようになった。特に双翅目の前3種は薬剤投入前より密度が高くなった。一方、アブラハヤ・ウグイ等の魚類の浮上は見られず、アブラハヤの成魚の肥満度に変化がみられなかった。また、アブラハヤの仔魚に対

1. 国立公害研究所 生物環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2

Environmental Biology Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

する影響も認められなかった。

1 はじめに

ブユの生息する水域への殺虫剤投入による幼虫駆除は他の多くの底生動物或は魚に影響を与える。ブユだけに効果があって他の生物には影響しない薬剤が望まれるが、昆虫成長阻害物質のディフルベンズロン(diflubenzuron; 1-(4-chlorophenyl)-3-(2,6-difluorobenzoyl)urea)が注目されている。というのは、環境中での分解が速く¹⁾、生態濃縮率も低い²⁾からである。作用機構はキチン質合成の阻害である³⁾ので、キチン質の外骨格を持つ節足動物にのみ影響を及ぼす。この薬剤は従来の殺虫剤と異なり、魚類に対する毒性が低い⁴⁾。しかし、河川にディフルベンズロンを投入した場合には、水生昆虫に対する影響だけでなく水生昆虫が減少することによる2次的な影響があると考えられるが、ディフルベンズロンの底生生物群集レベルの研究は数少ない^{5,6)}。

この研究では、ディフルベンズロンが河川の底生生物群集に与える影響を調べる目的で、薬処理区と対照区において底生動物及び魚類を薬剤投入から4週間にわたって調査した。

2 調査地点・方法

調査地点は伊豆半島にある狩野川の支流の古川及び年川で、山地間を流れる小河川である(図1)。水温は調査期間を通じて21.8~24.6℃とほぼ一定の値であった。流量は20~70m³・min⁻¹であった。1984年7月13日に古川の地点A・B・C・Dにディフルベンズロン(diflubenzuron 25%

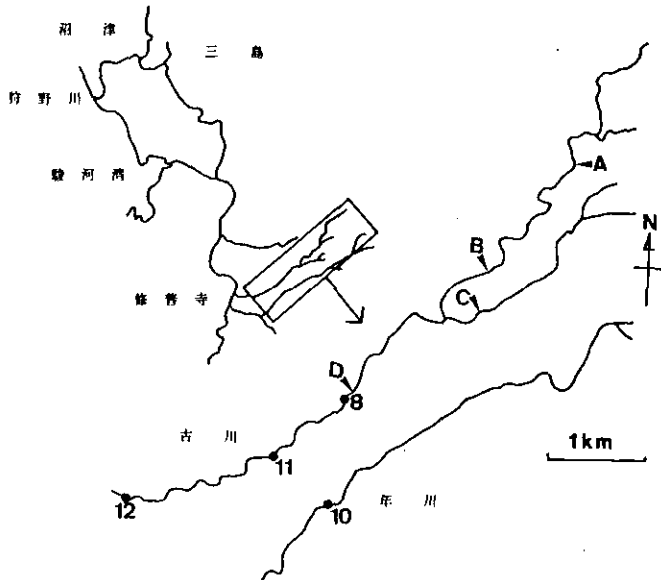


図1 調査地点の概要

A・B・C・Dは薬剤投入地点、8・10・11・12は調査地点。

WP)を河川水中の濃度が1.25ppmになるように1時間にわたって投入した。調査は薬剤投入前日及び1, 2, 3, 4週間後に行った。底生動物及び魚類を薬剤投入地点Dから下流のSt. 8, 11, 12と、対照として隣接する年川の1点St.10において採集した。底生動物の採集は0.1m²のサーバーネット(メッシュ NGG40)を用いて各地点4サンプルずつ早瀬で取った。5%ホルマリン固定後、標本は研究室で拾い出し、川合⁷⁾に基づいて同定を行い個体数を数えた。魚類の採集には2~3個のビンドウに魚類飼料とサナギ粉を混ぜて団子にしたものをいれて午前5時ごろに淵の底へ沈めて3~4時間後に回収した。さらに小型の網を用いて岸に近い流れのゆるい場所で仔稚魚を4回ずつ採集した。魚類は10%ホルマリンで固定後、宮地ら⁸⁾により同定し、成魚の標準体長を測定した。アブラハヤについては、薬剤投入前に採集した個体の体重と標準体長との関係(1)式⁹⁾を求めて、

$$W = aL^n \quad (1)$$

$$K_n = \frac{100 \cdot W}{aL^n} \quad (2)$$

肥満度(%)を(2)式より求めた。

3 結果

3.1 水生昆虫

ディフルベンズロン投入前日にはSt. 8及びSt.12の優占種はウルマーシマトビケラ(*Hydropsyche orientalis*)であり、次いでコカゲロウ(*Baetis*)を始めとする多種のカゲロウ類が出現していた。対照区のSt.10では、同じくウルマーシマトビケラが優占するが、アカマダラカゲロウ(*Ephemerella rufa*)が同数近く生息していた。その他のマダラカゲロウ(*Ephemerella*)及びヒラタカゲロウ(*Epeorus*)の多いのが特徴であった。種類も20前後で大きな違いはみられなかった。

薬剤投入1週間後、薬剤投入地点Dから50m下流のSt. 8においては種数投入前の24種から18種に減少したが、St.11においては変わらなかった。しかし2週間後には両地点において顕著な種数の減少が認められた。すなわち前者で4種、後者で10種に減った。3週間後には種数の増加が始まった。個体数においても優占種であるウルマーシマトビケラの減少が顕著な2週間後に最低となり、St. 8では投入前の約3%となった。3週間後には一部回復する種がみられたので、水生昆虫全体では個体数は増加した。ウルマーシマトビケラは0.1m²当たり100~281匹が投入2週間後には59~121匹に減り2週間後には3匹に、3週間後には0.5~2匹にまで減った。4週間後に至っても回復しなかった。他のトビケラについては個体数が多くなったが、3~4週間後に出現しなかったのは薬剤による影響と考えられる。

一方、双翅目は、3週間後にむしろ高い密度で出現していた。このことはSt. 8においてブユ(*Simuliidae*)、ウスバヒメガガンボ(*Antocha*)、ユスリカ(*Chironomidae*)に共通してみられた。

表1 ディフルベンズロン処理区(古川; St. 8)における底生動物の種組成
と個体数の変動
個体数は0.1m²のサーバーネット当たり

KOKAWA St. 8

	Pre-treatment	Post-treatment (weeks)			
		1	2	3	4
Water temperature	24.0	23.3	24.0	23.0	23.0
pH	7.5	8.2	9.0	8.4	7.5
Chlorophyll <i>a</i> (mg · m ⁻²)	54.8	145.9	216.9	40.2	35.7
Ephemeroptera					
<i>Ephemera</i> sp.		0.5			
<i>Paraleptophlebia</i> sp.	0.5				
<i>Ephemerella</i> (<i>Drunella</i>) <i>cryptomeria</i>	1	1.5			
<i>Ephemerella</i> (<i>Serratella</i>) <i>rufa</i>	16	1			
<i>Ephemerella</i> (<i>Serratella</i>) <i>setigera</i>	9.5	1			
<i>Baetis</i> spp.	50	0.5		12.5	84
<i>Pseudocloeon</i> sp.	20	1		2.5	10.5
<i>Isonychia japonica</i>	4.5	0.5			0.5
<i>Epeorus uenoi</i>	9.5	0.5			0.5
<i>Epeorus curvatulus</i>	10.5				2.5
<i>Epeorus latifolium</i>	18				2.5
<i>Rhithrogene japonica</i>	7.5				
<i>Ecdyonurus yoshidae</i>	6				1
Megaloptera					
<i>Parachauliodes japonicus</i>	3	1.5			0.5
Trichoptera					
<i>Rhyacophila brevicephala</i>		1.5			
<i>Rhyacophila</i> sp.	1				
<i>Glossosoma</i> sp.	3.5	0.5	0.5		
<i>Stenopsyche sauteri</i>	0.5				
<i>Diplectrona</i> sp.	1.5				
<i>Cheumatopsyche</i> sp.	7.5	2			
<i>Hydropsyche orientalis</i>	100.5	59	3	0.5	1.5
Coleoptera					
Elmidae					
<i>Eubrianax granicollis</i>	2	5.5		1	2
Diptera					
Simuliidae					
<i>Antocha</i> sp.	4			20	31
Tipulidae	2.5	1	0.5	67	61.5
Athericidae		0.5			
Chironomidae	14.5	7	0.5	89	71
Turbellaria					
Planariidae	0.5				0.5

4週間後でもその傾向は大きく変わらなかった。St.11においてはウスバヒメガガンボは更に増加した。双翅目と同様に回復が早かったのは、コカゲロウであり、3週間後には投入前と変わらない密度で出現していた。対照区においてはこの期間優占種の出現数に変化が認められなかった。薬剤処理区で増加した双翅目は低い密度のままであった(表1~3)。

表2 ディフルベンズロン処理区(古川; St. 11)における底生動物の種組成と個体数の変動

個体数は0.1m²のサーバーネット当たり

KOKAWA St. 11	Pre-treatment	Post-treatment (weeks)			
		1	2	3	4
Water temperature	24.3	24.6	24.5	23.5	24.0
pH	7.6	8.2	9.3	8.4	7.7
Chlorophyll <i>a</i> (mg · m ⁻²)	23.2	242.5	248.0	58.9	38.6
Ephemeroptera					
<i>Ephemera</i> sp.		0.5		0.5	
<i>Ephemerella</i> (<i>Drunella</i>) <i>cryptomeria</i>	1	0.5			
<i>Ephemerella</i> (<i>Serratella</i>) <i>rufa</i>	16	2			0.5
<i>Ephemerella</i> (<i>Serratella</i>) <i>setigera</i>	34	2		0.5	0.5
<i>Baetis</i> spp.	99			4	146.5
<i>Pseudocloeon</i> sp.	58				16
<i>Epeorus uenoi</i>	64				2.5
<i>Epeorus curvatulus</i>	15				
<i>Epeorus latifolium</i>	6				15
<i>Rhithrogene japonica</i>	6				
<i>Ecdyonurus yoshidae</i>	2				1
Megaloptera					
<i>Parachauliodes japonicus</i>		1			
<i>Protohermes grandis</i>			1		
Trichoptera					
<i>Rhyacophila</i> sp.			0.5		
<i>Glossosoma</i> sp.	1	1.5			
<i>Stenopsyche sauteri</i>		0.5			
<i>Psychomyia</i> sp.	1	1			
<i>Cheumatopsyche</i> sp.	6	34	0.5	1	
<i>Hydropsyche orientalis</i>	281	121.5	3.5	2	4
Lepidostomatidae			0.5		
Coleoptera					
Dryopidae		1		0.5	
Elmidae		3.5	4.5	6	4.5
Diptera					
Simuliidae	9			8	13
<i>Antocha</i> sp.		3.5	0.5	52	131
Tipulidae		1	1		
Chironomidae	6	4	0.5	111	61
Turbellaria					
Planariidae	1	1	2		1

3.2 魚類

実験期間中が浮上することはなかった。体長1 cm程度のアブラハヤの仔稚魚がどの薬剤処理区でも採集されたが、特に、St.12で多かった。ビンドウで採集した魚類は、アブラハヤ・ウグイの順に多かった。アブラハヤの成魚はどの薬剤処理区でも多数採集された。ウグイはSt.8で薬剤投

表3 対照区(年川; St. 10)における底生動物の種組成と個体数の変動
 個体数は0.1m²のサーバーネット当たり

TOSHIKAWA St. 10	Pre-treatment	Post-treatment (weeks)			
		1	2	3	4
Water temperature	22.5	21.8	21.8	22.0	22.2
pH	7.5	7.5	7.6	7.5	7.5
Chlorophyll <i>a</i> (mg · m ⁻²)	11.6	18.2	20.2	8.6	13.8
Ephemeroptera					
<i>Ephemera</i> sp.	1	3	1		2
<i>Paraleptophlebia</i> sp.		2	2	1	
<i>Ephemerella (Drunella) cryptomeria</i>	4	7	9	1	3
<i>Ephemerella (Torleya) japonica</i>		4	2	4	4
<i>Ephemerella (Serratella) rufa</i>	113	21	19	33	35
<i>Ephemerella (Serratella) setigera</i>	81	80	54	67	25
<i>Baetis</i> spp.	42	53	22	55	76
<i>Pseudocloeon</i> sp.					11
<i>Isonychia japonica</i>	4	2			7
<i>Epeorus uenoi</i>				1	5
<i>Epeorus curvatulus</i>	2			1	5
<i>Epeorus latifolium</i>	77	63	21	35	65
<i>Rhithrogene japonica</i>		16		1	5
<i>Ecdyonurus yoshidae</i>	29		5	2	24
Plecoptera					
Perlinae					1
Megaloptera					
<i>Protohermes grandis</i>	3		4		
Hemiptera					
<i>Ilyocoris exclamationis</i>					1
Trichoptera					
<i>Rhyacophila brevicephala</i>			1		
<i>Rhyacophila nigrocephala</i>		1	3	1	
<i>Rhyacophila</i> spp.		5	1	1	1
<i>Glossosoma</i> sp.	6	4	2	1	1
<i>Stenopsyche sauteri</i>	4	5	2		
<i>Psychomyia</i> sp.			5	1	2
<i>Cheumatopsyche</i> sp.	54	21	19	29	20
<i>Hydropsyche orientalis</i>	146	27	39	52	33
<i>Micrasema</i> sp.	2	4			
<i>Geora japonica</i>				1	
Lepidostomatidae					1
Coleoptera					
Elmidae	11	53	9	22	10
<i>Metaopsephenus japonicus</i>			2		
Diptera					
Ceratopogonidae			1		
Simuliidae					1
<i>Antocha</i> sp.	16	11	19	5	7
Tipulidae		11			
Chironomidae	22	16	4	21	10
Isopoda					
<i>Asellus</i> sp.	2			1	
Turbellaria					
Planariidae	5	1		1	

入1, 4週間後に多数採集されたが, その日以外の採集個体数は少なかった(表4)。アブラハヤの体重と体長との関係は薬剤投入前の St. 11において求めた。

$$W = 0.02158 \cdot L^{2.975} \quad (n=66)$$

アブラハヤの肥満度 (K_n) の変動を見ると, 薬剤投入前には, St.11では99.9であったが, その後109.1, 116.3, 115.6と肥満度の値はむしろやや上がる傾向がみられた(表5)。

表4 ディフルベンズロン処理区(古川; St. 8, 11, 12)及び対照区(年川; St. 10)における, アブラハヤ(*Phoxinus lagowski* f. *steindachneri*)及びウグイ(*Leuciscus hakonensis*)の採集個体数の変動

+++ : 非常に多い, ++ : 多い, + : やや多い, ± : 少ない, - : 採集できなかった。ns : 採集しなかった。

	Pre-treatment	Post-treatment (weeks)			
		1	2	3	4
<i>Phoxinus</i> (adults)					
St. 10	+	+	+	ns	±
St. 8	+	+	+	++	++
St. 11	++	++	+	+	++
St. 12	+	+	ns	+	+
<i>Leuciscus</i> (adults)					
St. 10	+	+	++	ns	++
St. 8	-	++	+	-	++
St. 11	±	±	±	-	±
St. 12	-	+	ns	±	+
<i>Phoxinus</i> (fry)					
St. 10	++	++	+	-	ns
St. 8	++	++	++	++	ns
St. 11	±	++	++	++	ns
St. 12	+++	+++	+++	+++	ns

表5 ディフルベンズロン処理区(古川; St. 11)及び対照区(年川; St. 10)におけるアブラハヤの肥満度の変動

肥満度は $K_n = 100 \cdot W / (0.02158 \cdot L^{2.975})$ より求めた。ただし W : 湿重(g), L : 標準体長(cm)。

	Pre-treatment		Post-treatment (weeks)		
			1	2	3
St. 10	Mean	105.9	94.0	107.2	-
	SD	6.9	4.4	10.1	
	N	15	9	6	
St. 11	Mean	99.9	109.1	116.3	115.6
	SD	6.3	9.2	9.0	6.3
	N	67	38	6	17

4 考 察

ディフルベンズロンの投入により水生昆虫類はかなり影響を受け、しかもそれにはほとんど例外がなかった。その結果、付着藻類の爆発的な増加がみられ、クロロフィル *a* 量にして $200\text{mg} \cdot \text{m}^{-2}$ を越える¹⁰⁾こととなった。底生動物の密度の低下に伴って、付着藻類が増加することは報告されている¹¹⁻¹³⁾が、これは底生動物の摂食圧により付着藻類の増加が加えられていたためである。この薬剤の影響はシマトビケラ類により長く残り、コカゲロウ類と双翅目のブユ・ウスバヒメガガンボ・ユスリカは比較的早く回復した。このことはシマトビケラ類が年に1～数世代である¹⁴⁾のたいして、後者が短期間で世代を回転しているためと考えられる。又後者が薬剤処理以前よりも高い密度に達することは他の種との競争が弱められたためと、一時的に増加した付着藻類が餌をより多く供給したための両方が考えられる。

ディフルベンズロンはこの濃度ではアブラハヤの成魚及び仔稚魚には浮上を起こさなかった。むしろ成魚の肥満度が薬剤処理区においてやや上がる傾向がみられたのは、アブラハヤは *Cloniophora* sp.などの付着藻類を専食したり、*Baetis* sp.などの水生昆虫を専食したり、かなり食性の幅が広い¹⁵⁾ので、薬剤投入2週間後に豊富に存在していた付着藻類を摂食できた為であると考えられる。昆虫成長阻害物質の SIR-8514 を投入した実験では、動物プランクトンの組成の変化に伴いカダヤシの食性に変化がみられている¹⁶⁾。他にもペルメスリンの散布後の底生動物相の減少とともにカワマス¹⁷⁾の食性が変わったことが報告されており、有害汚染物質が魚類に与える影響を調べる際には、魚類の調査だけでなく、その被食者（水生昆虫・付着藻類）との関係も検討する必要がある。

以上のように、河川生態系の破壊あるいはその後の回復過程においては、①底生動物の種間競争・②植食者（水生昆虫）と付着藻類との関係などの生物の相互作用が重要であり、それぞれ種の毒性試験から群集レベルの影響が正確には予測できないものと考えられた。

引 用 文 献

- 1) Ivie, G. W., D. L. Bull and J. A. Veech (1980) : Fate of diflubenzuron in the water. J. Agr. Fd. Chem., 28, 330-337.
- 2) Metcalf, R. L., Po-Yung Lu and S. Bowlus (1975) : Degradation and environmental fate of 1-(2,6-difluorbenzyoyl)-d(-4-chlorophenyl)urea. J. Agr. Fd Chem., 23, 359-364.
- 3) Post, L. C., B. J. DeJong and W. R. Vincent (1974) : 1-(2,6-disubstituted benzyol)-3-phenylurea insecticides : Inhibitors of chitin synthesis. Pest. Biochem. Physiol., 4, 473.
- 4) McKague, A. B. and R. B. Pridmore (1978) : Toxicity of Altosid and Dimilin to juvenile rainbow trout and coho salmon. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 20 : 167-169.
- 5) 安野正之・佐竹 潔 (1986) : ディフルベンズロン及びメトプレンの底生生物群集への影響。人工水路による実験的研究。国立公害研究所研究報告, 第99号, 151-163.
- 6) Hansen, S. R. and R. R. Garton (1982) : The effects of diflubenzuron on a complex laboratory stream community. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 11, 1-10.
- 7) 川合楨次 (1985) : 日本産水生昆虫検索図説, 東海大学出版会。

- 8) 宮地傳三郎・川那部浩哉・水野信彦 (1976) : 原色日本淡水魚類図鑑, 保育社.
- 9) Weatherley, A. H. and S. C. Rogers (1978) : Some aspects of age and growth. In : Ecology of Freshwater Fish Production. Blackwell Scientific Publications. London.
- 10) 猪口眞美・佐竹 潔 (1986) : 古川におけるディフルベンズロンの底生生物群集への影響II. 付着藻類群集への影響. 国立公害研究所研究報告, 第99号, 71-80.
- 11) 安野正之・菅谷芳雄・岩熊敏夫 (1984) : 屋外水路による殺虫剤の生態系影響の実験的研究. 国立公害研究所研究報告, 第62号, 19-27.
- 12) Yasuno, M., Y. Sugaya and T. Iwakuma (1985) : Effects of insecticides on the benthic community, Environ. Pollut., 38, 31-43.
- 13) Yasuno, M., S. Fukushima, J. Hasegawa, F. Shioyama and S. Hatakeyama (1982) : Changes in the benthic fauna and flora after application of temphos to a stream on Mt. Tsukuba. Hydrbiologia, 89, 205-214.
- 14) 谷田一三 (1980) : 貴船川におけるシマトビケラ属3種の生活史と分布, とくに生活環の変異と密度と幼虫の成長との関連について. 陸水学雑誌, 41, 95-111.
- 15) 板井隆彦 (1977) : 奈良県高見川のアブラハヤ属 (*Phoxinus*) 魚類の2型—その形態的生態的特徴について. 静岡女子大学紀要, 10, 201-220.
- 16) Colwell, A. E. and C. H. Schaeffer (1983) : Effects of an insect growth regulator on plankton and *Gambusia affinis*. Aquatic Toxicol., 4, 247-269.
- 17) Kingsbury, P. D. and D. P. Kreutzweiser (1980) : Dosage-effect studies on the impact of permethrin on trout streams. Forest Pest Management Institute Canadian Forestry Service Sault Ste. Marie, Ontario. Report FPM-X-31.

古川におけるディフルベンズロンの底生生物群集への影響 II 付着藻類群集への影響

猪口眞美¹・佐竹 潔²

Impacts of Diflubenzuron on Periphyton Community in the Kokawa River

Masami INOKUCHI¹ and Kiyoshi SATAKE²

Abstract

The changes in the algal community were studied in a river where diflubenzuron was applied at a dosage of 1.25ppm to control simuliid larvae. The increase in the algal biomass was observed in the treated region one week after following the decrease in the insect density. Consequently the value of pH in water increased. The species composition of attached algae also changed. In the upstream (St. 3), number of species increased in accordance with the increase of biomass. Those species which increased the biomass, however, had been present before treatment although the densities were low. Among them, a filamentous algae, *Cloniophora plumosa* increased enormously. While, the taxon was rich at St. 8 even before treatment and therefore did not increase any more. *Melosira varians* showed a marked increase but almost all species increased biomass also. No harmful effects of this chemical on algae were detected.

要 旨

薬剤投入後、付着藻類の現存量が増加した。この変化は底生動物の消長とよく対応しており、摂食圧によって藻類量が制限をうけていることが明らかになった。栄養塩濃度は投入前後で大きな変化はみられなかった。今回特に増加したのは *Cloniophora plumosa* と *Melosira varians* であった。また多様性指数は処理区で小さくなる傾向を示した。これら

-
1. 昭和60年度～ 国立公害研究所共同研究員 (日本工学院専門学校環境工学科 〒144 東京都大田区西蒲田 5-23-22)

Research Collaborator of the National Institute for Environmental Studies. Present Address: Department of Environmental Technology, Nippon Electric Engineering College, Nishikamata, Ohta-ku, Tokyo 144, Japan.

2. 国立公害研究所 生物環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Environmental Biology Division, the National Institute for Environmental Studies. Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

の結果から、薬剤の投入により藻類現存量が増加するだけでなく、その群落構造にも変化が引き起こされることが示唆された。

1 はじめに

水田や河川等に殺虫剤を投入した場合、標的生物以外の底生動物相に大きな変化が引き起こされるとともに、水界生態系のなかで生産者として重要な役割を担っている付着藻類が急激に増加することは過去に幾つかの報告がある¹⁻³⁾。しかしながらこれらの研究は付着藻類の変化としてクロロフィル量や細胞数を取り上げて論じたものがほとんどで、栄養塩濃度との関連、藻類相の種類組成、多様性の変化、群落構造の比較等について詳細な検討はされていない。本研究では、修善寺・古川においてディフルベンズロンを用いたブユ防除実験の際の付着藻類相の変化を上記の観点から解析を行ったので報告する。

2 研究場所及び方法

古川は伊豆半島の修善寺町を流れ、狩野川に注ぐ全長約5 kmの一級河川であり、川幅は上流部で約3 m、下流部で約10m、流量はそれぞれ約20 t・min⁻¹、約50 t・min⁻¹程度である。上流部は二つに分かれ、一方の最上流部には小さな部落があり、そこからの家庭廃水が一部流入している。他方の最上流部には競輪学校があり、流域にはこの施設から排出される污水处理施設がある。また、この污水处理場からの処理水が流入する地点により上流部には上水道の取水施設がある。

古川の流域はほとんど水田となっており、田植えの時期にはかんがい用水として利用されている。調査地点を図1に示す。対照区として薬剤投入地点の上流に1地点、他に古川とほぼ平行して流れる年川に1地点の合計2地点設けられた。今回解析を行ったのは、対照区2地点(St. 1', St. 10)と処理区2地点(St. 3, St. 10)であり、期間は1984年7月12日から8月9日までの6回の観察結果である。使用した薬剤は昆虫のキチン合成阻害剤として知られるディフルベンズロン25%水和剤である。薬剤は1984年7月13日、図1に示すA, B, C, Dの4地点で1分間流量に対して1.25 mg・l⁻¹になるようにして60分間連続投入された。当日の天候は晴れであった。また調査期間中晴天が続き、河川流量を大きく変動させる降雨はなかった。

河川の水温、pHは現場で測定し、水中の栄養塩の測定のためにサンプルをポリビンにつめ、冷却して研究室に持ち帰り直ちに分析に供した。分析はリン酸態リン、全リン、アンモニア態窒素、亜硝酸態窒素、硝酸態窒素及び全窒素の6項目について行われた。

付着藻類は、河床から取り出した礫の表面に5×5 cm²のゴム製クアドラートを当て赤エンピツで枠どりしたのち、ブラシで洗い落とした。枠の外側は定性用、内側を定量用とし、現場でホルマリン固定して持ち帰り、後に検鏡した。クロロフィルa量は同様の方法で枠内の藻類をとったのち、ホルマリン固定せずすみやかにグラスファイバーフィルターでろ過後、90%アセトン抽出

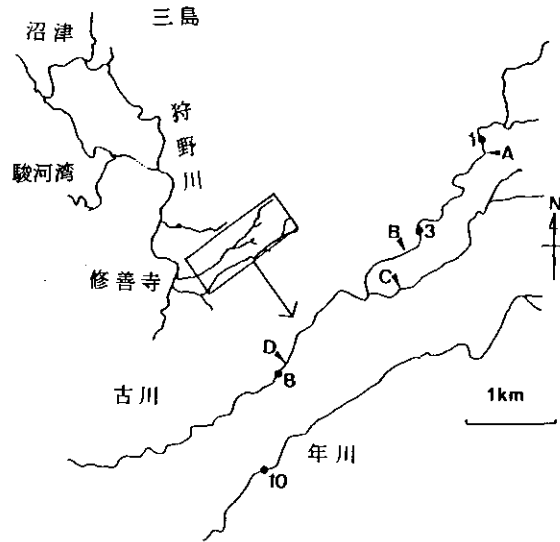


図1 古川調査地点図

図中の黒印はサンプリング地点、A、B、C、Dは殺中剤投入地点を示す。

法により定量した。

3 結果

3.1 環境要因

図2に調査期間中の環境要因の変化を示した。

調査期間中の水温は、約22.0~24.0℃の範囲であった。

pHは対照区の2地点では7.5とほとんど変化していないのに対し、処理区のSt.3では薬剤投入2週間後から、St.8では投入直後から増加しはじめた。特にSt.8での増加は著しく、2週間後に9.0と最大に達した。

リン酸態リンについてはSt.8でやや変動がみられたものの他の3地点では0.02mg・l⁻¹前後と安定していた。

アンモニア態窒素はSt.1'とSt.3とが同じような挙動をとり、7月27日には両地点とも濃度が高くなっていた。一方、St.8ではこの2地点とは逆に7月27日に0.018mg・l⁻¹と低くなっていた。

St.8における1981年11月~1984年3月にかけての8回の平均水質と本実験期間の平均を比較してみると(表1)、過去の平均を上回っているのはpHのみであり、同程度の濃度はリン酸態リン、亜硝酸態窒素の2項目であり、一方、下回っていたのは全リン、アンモニア態窒素、硝酸態窒素及び全窒素であった。これらの結果から、薬剤の投入によって栄養塩濃度の増減が引き起こされたとは考えにくい。

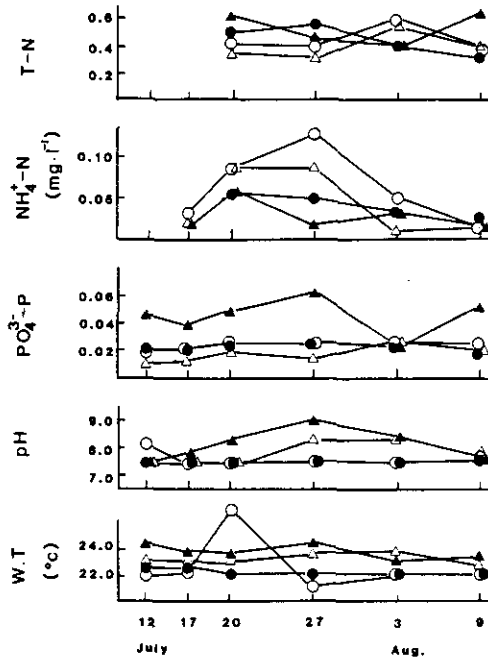


図2 各調査地点における環境要因の変化
 図中白抜き丸は St. 1, 黒丸は St. 10, 白抜き三角は St. 3, 黒三角は St. 8 を示す。横軸は調査日

表1 St. 8 における実験前の平均水質 (Nov. 1981-Mar. 1984) と実験期間における平均水質の比較
 (栄養塩濃度の単位は mg·l⁻¹)

	Nov. 1981—May. 1984 までの平均水質 (±SD)	本調査期間の 平均水質 (±SD)
pH	7.42 (0.08)	8.07 (0.59)
PO ₄ ³⁻ -P	0.041 (0.028)	0.044 (0.013)
T-P	0.106 (0.059)	0.056 (0.013)
NH ₄ ⁺ -N	0.036 (0.023)	0.026 (0.019)
NO ₂ -N	0.004 (0.004)	0.004 (0.002)
NO ₃ -N	0.506 (0.145)	0.243 (0.137)
T-N	0.952 (0.582)	0.517 (0.100)

3.2 現存量

現存量はクロロフィル a 量と湿容量によって測定された。結果を図 3, 4 に示す。図中の矢印は薬剤投入日を示している。クロロフィル a 量と湿容量の変化をみると、ともに無処理区と処理区に明りょうな差が表れていることがわかる。すなわち、対照区では、調査期間を通じ、現存量

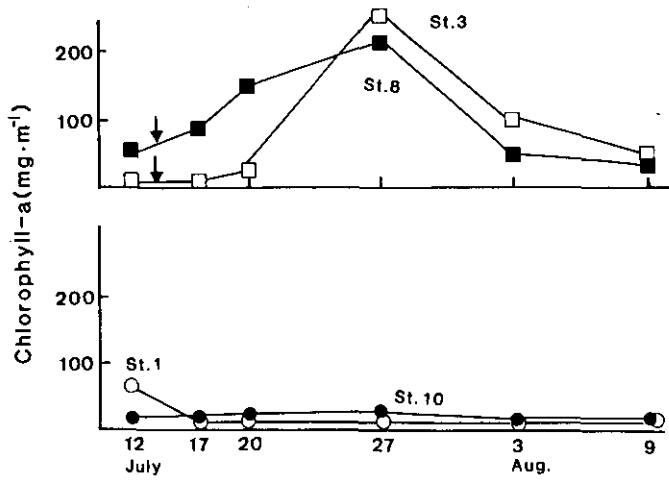


図3 現存量の変化(クロロフィルa)

図中の矢印は殺虫剤の投与を示す。

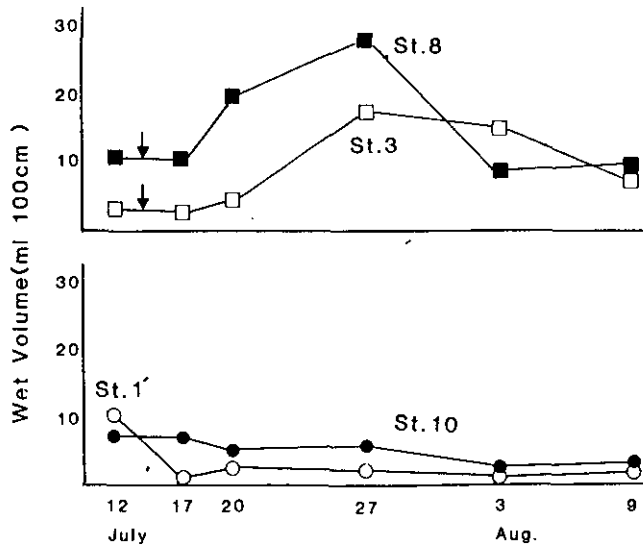


図4 現存量の変化(湿容量)

図中の矢印は殺虫剤の投入を示す。

の大きな変化はみられず、St. 1'で $10\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}$ 以下、St. 10で $10\sim 20\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}$ とほぼ安定した値を示しているのに対し、処理区のSt. 3では薬剤投入1週目より増加をはじめ、2週間後には、クロロフィルa量として $263\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}$ 、湿容量として $17.0\text{ml}\cdot 100\text{cm}^{-2}$ とピークに達した。しかし、3週間後にはクロロフィルa量は $97.9\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}$ とピーク時のほぼ1/3に減少した。一方、St. 8では薬剤投入4日目からクロロフィルa量の増加がはじまり、やはり2週間後にピークに達し、その

値は $217\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}$ であった。しかし、3週間後には St. 3 同様に $40.2\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}$ とピーク時の1/5に急激に減少していた。このとき同時に調査を行った底生動物の種類数の変化(図5)をみると、薬剤投入後減少をはじめ2週間後に最少となり、徐々に回復してゆく傾向がみられる。この増減傾向は、藻類の現存量の変化に対応していることがわかる。

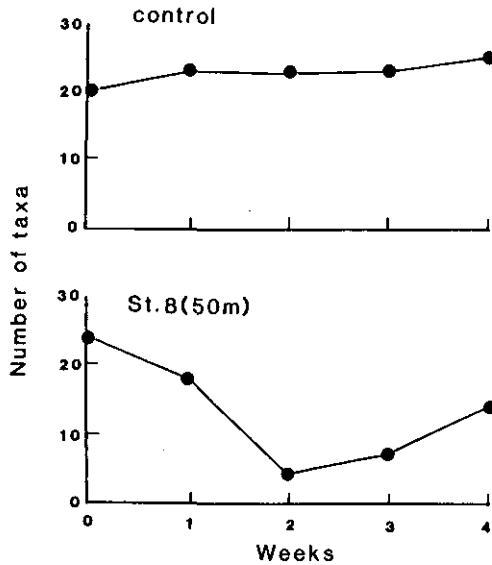


図5 底生動物の種類数の変化

3.3 細胞数と種類数

今回の調査期間中に見いだされた付着藻類はラン藻6種、ケイ藻64種、緑藻8種の合計29属78種であった。このうち6種類を選び、その変化を示したのが表2である。

この結果から、殺虫剤の投入によって、大きく細胞数が変動したもの、ほとんど変動していないもの、逆に減少したものなどのあることがわかる。この増減は、同一種であっても調査地点によって異なっているようである。

このうち、特におう盛な繁殖をしたのは、*Cloniophora plumosa*、と *Melosira varians* である。特に前者は St. 3 と St. 8 付近の数百 m にわたり河床いっぱい増殖し、異様な観を呈していた。ただし、表2をみると St. 8 の *Cloniophora* は殺虫剤投入後減少しているように見えるが、この地点では石礫の側面に繁殖していたため、今回のように石礫の表面上部の採集ではこれをカバーできなかったと思われる。

種類数の変化(図6)をみると、対照区の St. 1' では17→13→12→11→20→19となっており、St. 10では4種から徐々に増加してゆく傾向がみられた。一方、処理区の St. 3 では、薬剤投入1週間後に18種から31種へと急増していた。それに対し、St. 8 では調査期間を通じ、ほぼ30種前後と比

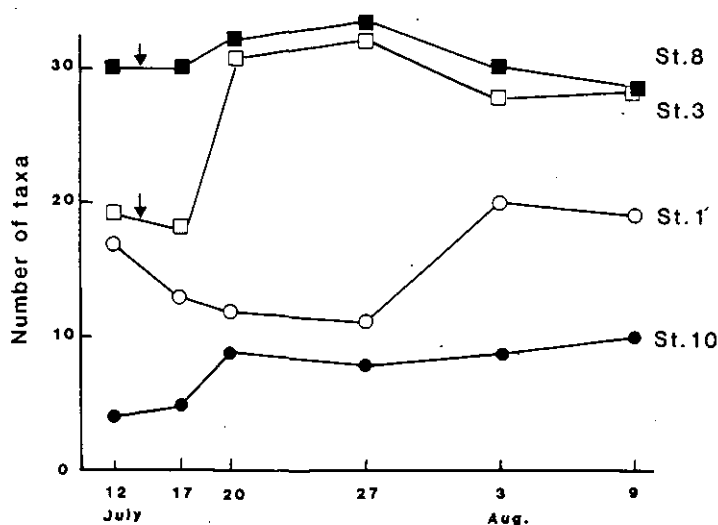


図6 付着藻類の種類数の変化

図中の矢印は殺虫剤の投入を示す。

表2 処理区と対照区の主な6種類の細胞数の変化

表中の数字は石表面1mm²当たりの細胞数を示す。

Species	St. No.	12. Jul.	17. Jul.	20. Jul.	27. Jul.	3. Aug.	9. Aug.
<i>Melosira varians</i>	1'	220	7	17	1	2	—
	10	—	—	—	—	—	—
	3	—	3	33	2900	3500	5700
	8	96	150	4000	13000	7000	1700
<i>Navicula cictaeformis</i>	1'	600	9	16	1	14	7
	10	—	—	5	3	3	—
	3	77	10	99	970	1400	940
	8	2300	1100	5600	6100	2900	1200
<i>Nav. viridula var. slesvicensis</i>	1'	64	—	—	1	4	—
	10	—	—	—	—	—	—
	3	120	15	99	66	38	23
	8	1600	1500	1600	650	58	170
<i>Nitzschia palea</i>	1'	1600	16	6	—	4	2
	10	—	—	—	3	—	—
	3	19	21	440	440	160	61
	8	1900	3900	3000	1500	650	290
<i>Homoeothrix janthina</i>	1'	590	—	—	—	5	46
	10	2400	8100	2300	5000	2400	1800
	3	—	—	260	—	—	—
	8	3800	2300	480	420	290	380
<i>Cloniophora plumosa</i>	1'	650	—	—	—	—	12
	10	—	—	—	—	—	—
	3	—	26	260	12000	22000	1900
	8	1400	840	380	380	380	310

較的安定しているようであった。

3.4 多様性指数と群落構造

シャノン・ウィバーの多様性指数の変化は図7に示されるように、対照区の St. 1' では調査期間を通じほぼ3前後であるのに対し、St. 10では0.1~0.7と極めて低い値であった。これは表2に示されるように、*Homoeothrix* の純群落が形成されていたためである。一方、処理区では St. 3 で1週間から2週間にかけて3.5から1.8へと減少していた。しかし、4週間後には2.2とやや増加した。St. 8も同様に1週間から2週間にかけて3.0から2.2へと減少しているが、4週間後には3.5と投入前のレベルに回復していた。

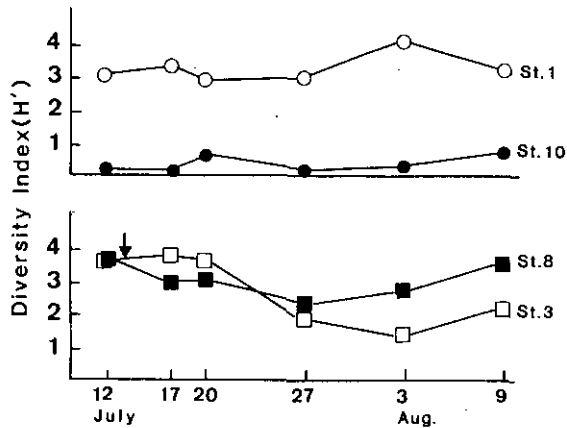


図7 多様性指数の変化(シャノン・ウィバーの指数)

图中的矢印は殺虫剤の投入を示す。

4 考察

薬剤(ディフルベンズロン)の散布に伴い、従来から指摘されているように付着藻類の現存量の増加をみた。その際、薬剤投入前後の環境要因はpHを除き、顕著な変化は認められなかった。pHが上昇した原因としては藻類の増加に伴う炭酸同化作用の結果、副次的に起こされたものと推定される。また栄養塩については薬剤投入直後に濃度が増加したとしても、流水で一過性であることから、これが直ちに藻類に利用されるとは考えにくく、今回の場合、藻類増殖の直接的な原因とはならないと思われる。

安野ら⁴⁾は屋外水路に殺虫剤を投与した際、ユスリカの現存量の変化が藻類量の変化とよく対応したことから、溪流の付着藻の現存量が水生昆虫に依存していると推察している。今回の結果も、付着藻類相の現存量の増減傾向と底生動物の消長とよく対応しており⁵⁾、底生動物相による摂食圧が藻類の現存量を左右していることは明らかであろう。

ピークに達した後の藻類相の現存量変化をみると急激に減少しているが、この原因の一つとして、上記の考察から底生動物相の回復を挙げることができる。しかしながら、今回観察した結果、急激に増加した藻類は当初あざやかな緑色を呈していたが、2週目から3週目にかけて、藻体の色が茶～茶褐色になり、この頃になると現存量も減少してゆく傾向がみられた。相崎^{6,7)}、小林⁸⁾は多摩川、その他の河川で藻類を含めた微生物相の季節変化を調査して、クロロフィル量がある量に達すると藻類ははく離すると述べており、現存量が減少する原因として、底生動物相の回復とともに藻類のはく離も考慮する必要があると考えられる。

生態系のかく乱後どんな藻類が増えるのかということについて、具体的に藻類種を特定している論文はあまり多くないが、Hynes⁹⁾は緑藻の *Cladophora*、Ide¹⁾はケイ藻類、Yasuno ら^{2,4)}はケイ藻類、緑藻の *Stigeoclonium* sp.などが増加したと述べている。本研究では緑藻の *Cloniophora plumosa* とケイ藻の *Melosira varians* が極めておう盛な繁殖をした。このうち *Cloniophora* の生態的な特徴は、広瀬・高島¹⁰⁾、深瀬¹¹⁾によれば、主に河川流底の石塊上に着生して、その最盛期は7月から9月に至る夏季であり、この時期には数十 m の広さにわたり、大群落を形成する、とされており、今回の調査時期、流況ともに符号する。したがって今回の実験水域の物理、化学的条件としては *Cloniophora* の生育に適していたのではないかと考えられる。

藻類の群落構造について Yasuno ら²⁾は山科川で有機リン系殺虫剤のアベイトを散布した結果、多様性が増加したことを報告している。しかし、今回は図7に示されるように、多様性の低下が認められた。これは *Cloniophora*, *Melosira* といった特定種が極端に増加したためであると考えられる。

これらのことから、薬剤投入により、現存量の増加のみならず、藻類相を単調化させる場合のあることが示唆された。しかし、殺虫剤投入の際の藻類相の遷移については更に検討する余地がある。

今後、生態系のかく乱について研究を進める際には、付着藻類の現存量の増減だけでなく群落構造の変遷にも着目するとともに、優占となる種類の生態的特徴、生理特性などにも検討を加える必要があるように思われる。

5 まとめ

修善寺・古川にキチン質合成阻害作用のある薬剤ディフルベンズロンを投入したところ、付着藻類の現存量が増加した。この変化は底生動物の消長とよく対応しており、摂食圧によって藻類量が制限を受けていることが明らかとなった。環境要因の変化をみると、殺虫剤投入後に pH は高くなる傾向をみせたものの、栄養塩濃度は投入前後で大きな変化はみられなかった。

今回特に増加したのは緑藻の *Cloniophora plumosa* とケイ藻の *Melosira varians* であった。多様性指数は処理区で小さくなる傾向を示した。これらの結果から、薬剤の投入によって藻類現存量の増加だけでなく、その群落構造にも変化が引き起こされることが示唆された。その際の藻類

相の遷移については今後の検討課題となった。

引用文献

- 1) Ide, F. P. (1967) : Effects of forest spraying with DDT on aquatic insects of salmon streams in New Brunswick. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **24**, 769-805.
- 2) Yasuno, M., S. Fukushima, J. Hasegawa, F. Shioyama, and S. Hatakeyama (1982) : Changes in the benthic fauna and flora after application of temephos to a stream on Mt. Tsukuba. *Hydrobiologia*, **89**, 205-214.
- 3) Yasuno, M., J. Okita and S. Hatakeyama, (1982) : Effects of temephos on macrobenthos in a stream of Mt. Tsukuba. *Jpn. J. Ecol.*, **32**, 29-38.
- 4) 安野正之・菅谷芳雄・岩熊敏夫 (1984) : 屋外水路による殺虫剤の生態系影響の実験的研究. 国立公害研究所研究報告, 第6号, 19-27.
- 5) 佐竹 潔・安野正之 (1986) : 古川におけるディフルベンズロンの底生生物群集への影響 I. 水生昆虫群集及び魚類への影響. 国立公害研究所研究報告, 第99号, 61-70
- 6) Aizaki, M. (1978) : Seasonal changes in standing crop and production of periphyton in the Tamagawa River. *Jpn. J. Ecol.*, **28**, 123-124.
- 7) 相崎守弘 (1980) : 富栄養河川における付着生物群集の発達にともなう現存量および光合成量の変化. *陸水学雑誌*, **41** (4), 225-234.
- 8) 小林節子 (1982) : 着生微生物の剥離による河川水質への影響. *水質汚濁研究*, **5** (6), 329-339.
- 9) Hynes, H. B. N. (1961) : The effective of sheep dip containing the insecticide BHC on the fauna of a small stream, including Simulium and its predators. *Ann. Trop. Med. Parasit.*, **5**, 192-196.
- 10) 広瀬弘幸・高島弘子 (1955) : 日本新産緑藻 *Cloniophora plumosa* について. *植物研究雑誌*, **30** (8), 9-13.
- 11) 深瀬 崧 (1956) : *Cloniophora plumosa* の生態について. *藻類*, **4** (2), 9-15.

水田の底生生物，特にユスリカとカイミジンコに対する農薬散布の影響

高村健二¹・安野正之¹

Effects of Pesticide Applications on Chironomids, Ostracods and Other Benthic Organisms in Rice Fields

Kenzi TAKAMURA¹ and Masayuki YASUNO¹

Abstract

Benthic organisms were surveyed in rice fields treated with pesticides differently during late May-August, 1983: no pesticide, herbicide only, and herbicide+insecticide+fungicide. Total count of benthic bacteria decreased from the order of 10^{10} cells \cdot m^{-1} to the order of 10^9 cells \cdot m^{-1} after the simultaneous application of insecticide and herbicide. Chironomids and ostracods appeared in large numbers. They increased markedly in the pesticide-treated fields. Larval populations of odonates and dytiscids which prey on chironomid larvae and ostracods, were depressed with pesticides. This result allowed the marked increase in the populations of chironomids and ostracods. However, chironomids and ostracods may have suppressed the increase of their numbers each other in some degree. Benthic algae decreased with applications of herbicide and did not increase markedly in the pesticide-treated fields. The latter cases could also be ascribed to heavy grazing by chironomids and ostracods.

要 旨

水田の底生生物に対する農薬散布の影響を1983年5月下旬から8月まで無農薬田，除草剤散布田，除草剤・殺虫剤・殺菌剤散布田の3水田で調査した。土壌中の全菌数は全水田で 10^{10} cells \cdot m^{-1} 台から 10^9 cells \cdot m^{-1} 台へと減少したが除草剤・殺虫剤混用が特にそれを促進した。底生藻類量は農薬散布田は無農薬田に比べて少なかった。底生動物はユスリカ幼虫とカイミジンコが優占し，農薬散布田でより多く増加した。トンボ目幼虫・ゲンゴロウ科幼虫は散布農薬が多い田ほど少なかった。肉食性水生昆虫の減少がユスリカ・カイミジンコの増加を許したのであろう。しかし農薬毒性の直接的影響あるいはユスリカ・カイミジンコ間の競争がその増加を制限する場合もあると考えられた。底生藻類が農薬散布田

1. 国立公害研究所 生物環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Environmental Biology Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi,
Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

で少ないのはユスリカ・カイミジンコの摂食と除草剤の毒性によると考えられた。

1 はじめに

水田には病虫害防除のために農薬が散布されているが、その農薬が水田水中の生物に影響を与えることは少数例ながら報告されている^{1,2)}。しかしながら水田には多様な水生生物が生息しており³⁻¹³⁾、これらの生物自体及び生物間の関係に対する影響はまだわかっていない部分が多い。本報告では散布農薬を変えた水田間で底生生物量の変化を比較調査した結果を述べて、農薬の生態的影響、特に間接的影響について検討する。

2 方法

調査は農林水産省農業環境技術研究所(当時農業技術研究所)のは場水田3面(A, B, C)で1983年5月末から8月にかけて行った。水田Aは農薬を散布しなかった。水田Bは除草剤を、水田Cは除草剤・殺虫剤・殺菌剤を散布した。個々の農薬の散布日を表1に示した。施肥条件は、水田A, Bは1aあたりN 0.56kg, P 0.24kg, K 0.46kgを含む無機肥料を、水田Cは1aあたりN 1 kg, P 0.44kg, K 0.84kgを含む無機肥料とそれに加えて80kgの堆肥(腐らせたイネワラにNを添加したもの)を施した。主な耕作作業の実施日も表1に示した。水中及び土壌中の農薬は散布後1日目か数日後に採集した水ないし土壌から抽出したものをガスクロマトグラフィー(ECDあるいはN-P FID)を用いて濃度分析した。水中の温度・pH・溶存酸素濃度及び土壌中の酸化還元電位は各調査日の午後9時から10時の間に測定した。これらの測定値は水田間で似通った変化を示した。水温は7月上旬の梅雨時を除いて徐々に上昇し、8月には33℃に達することがあった。pHは6月に8前後でその後徐々に減少し、8月には7近くになった。調査期間中に水中が酸欠になることはなく、表層土壌も酸化状態であった。底生動物・底生藻類・底生細菌は5月下旬から7月までには2日に1回、8月中は1週間に2、3回採集した。底生動物は水田土壌中に15cm角のアクリル筒を立ててその中の土壌とともに94 μ m目の網ですくいとった。この土壌から177 μ mの金属ふるい上で洗い出し、10%ホルマリンで固定後同定・計数した。

底生藻類は、表層1cmの土壌を採集して風乾した後、それから90%アセトン液でクロロフィルaを抽出してUNESCO¹⁴⁾の方法に従って定量した。底生細菌は、表層3cmの土壌を採集して超音波を用いて均質化した後、1万倍に無菌ろ過水で希釈したものをヌクレオポアフィルター(0.2 μ m)上をろ過して集めた。これをフィルターごと0.01%アクリジンオレンジ液で染色し、けい光顕微鏡下(B励起)で全菌数を計数した。

3 結果

3.1 底生細菌

全菌数の変化を図1に示した。いずれの水田でも5月下旬から6月上旬の調査初期には 10^{10} cells・

表1 実験水田での耕作経過と農薬散布時期

	水田A	水田B	水田C
5月25日	代かき	代かき	
6月1日	田植え	田植え	代かき
9日			オキサジアゾン ²
20日		ベンタゾン ²	田植え
29日			プロボクスル ¹
			ベンチオカーブ ²
			シメトリン ²
7月29日			フェニトロチオン ¹
			カスガマイシン ³
			有機ヒ素剤 ³
31日-8月10日			中干し
8月5日			フェニトロチオン ¹
			カスガマイシン ³
			有機ヒ素剤 ³
12日		ベンタゾン ²	カスガマイシン ³
			有機ヒ素剤 ³
			チウラム・ベノミル ³
19日			EPN ¹
			カスガマイシン ³
			有機ヒ素剤 ³
			チウラム・ベノミル ³
24日			落水
26日			フェニトロチオン ¹
			カスガマイシン ³
			有機ヒ素剤 ³
			チウラム・ベノミル ³
27日	落水	落水	

¹殺虫剤, ²除草剤, ³殺菌剤

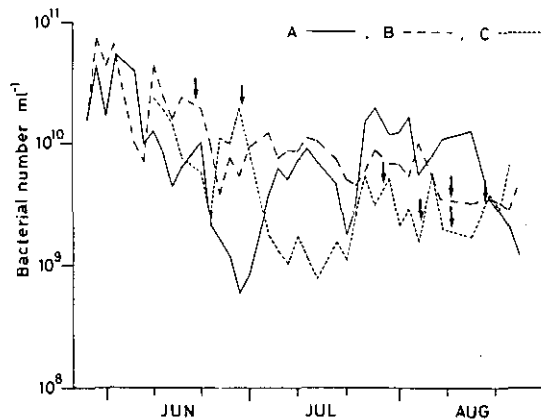


図1 実験水田土壌中の全菌数

矢印は農薬の散布時を示す。

ml^{-1} の水準にあるが、以後徐々に減少して7、8月にはほとんど $10^3 \text{cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ の水準となった。水田間で調査期間中一貫した違いは見られないが、6月29日の水田Cでのプロポクス・ベンチオカーブ・シメリトン散布後に1けた規模の減少が見られ、以後7月中旬まで水田Cでは水田A、Bより全菌数は1けたほど少なかった。

3.2 底生藻類

水田土壌中のクロロフィルa濃度の変化を図2に示した。5月下旬ないし6月上旬の田植え直後にはいずれの水田でも $15 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 以下だったクロロフィルa濃度は6月中に水田Bで $30 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ に達するほど増加したが、水田A、Cでは6月中に大きな変化は認められなかった。7月になると今度は水田A、Cで増加が認められたが、この増加は水田Aでは8月にも続き8月中旬には $60 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ を越えて水田B、Cよりもはるかに濃度が高くなった。

水田Bでの6月20日、8月12日のベンタゾン散布後にクロロフィルa濃度は顕著に減少した。また、代かき時にオキサジアゾンが散布された水田B、Cではそれぞれ $8.5 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 、 $4.7 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ と水田Aの $12.3 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ に比べて代かき直後のクロロフィルa濃度が低かった。これらの例は除草剤の底生藻類への毒性を示すものと考えられる。

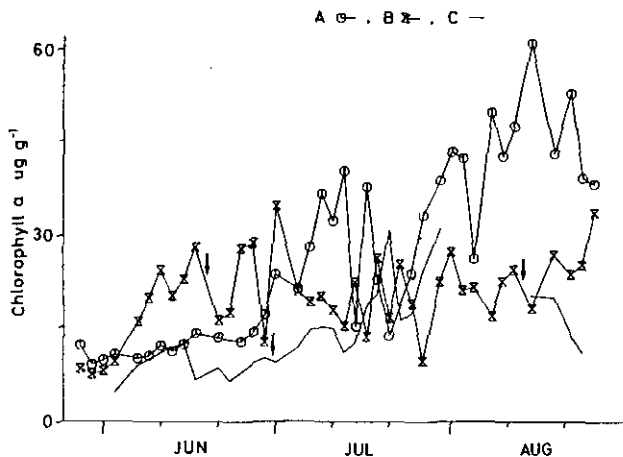


図2 実験水田土壌中のクロロフィルa濃度
矢印は除草剤の散布時を示す。

3.3 底生動物

3.3.1 ユスリカ・カイミジンコ

底生動物のうちユスリカ幼虫とカイミジンコの個体数が圧倒的に多かった。ユスリカは12種、カイミジンコは7種が出現した(表2)。

ユスリカ・カイミジンコのそれぞれの総個体数を図3に示した。水田Aでは6、7月中にユス

表2 実験水田に出現したユスリカとカイミジンコの種組成

Chironomidae	Cypridae (Ostracoda)
Chironominae	Cyprinae
<i>Chironomus kiiensis</i>	<i>Cyprretta</i> sp.
<i>Cryptochironomus</i> sp.	<i>Cyprinotus uenoi</i>
<i>Glyptotendipes tokunagai</i>	<i>Dolerocypris</i> sp.
<i>Harnischia</i> sp.	<i>Potamocypris</i> sp.
<i>Microchironomus</i> sp.	<i>Stenocypris</i> sp.
<i>Polypedilum nubifer</i>	Unidentified sp.
<i>Tanytarsus oyamai</i>	Ilyocyprinae
Orthocladinae	<i>Ilyocypris</i> sp.
<i>Cricotopus sylvestris</i>	
<i>Psectrocladius</i> sp.	
<i>Smittia</i> sp.	
Tanypodinae	
<i>Ablabesmyia monilis</i>	
<i>Procladius sagittalis</i>	

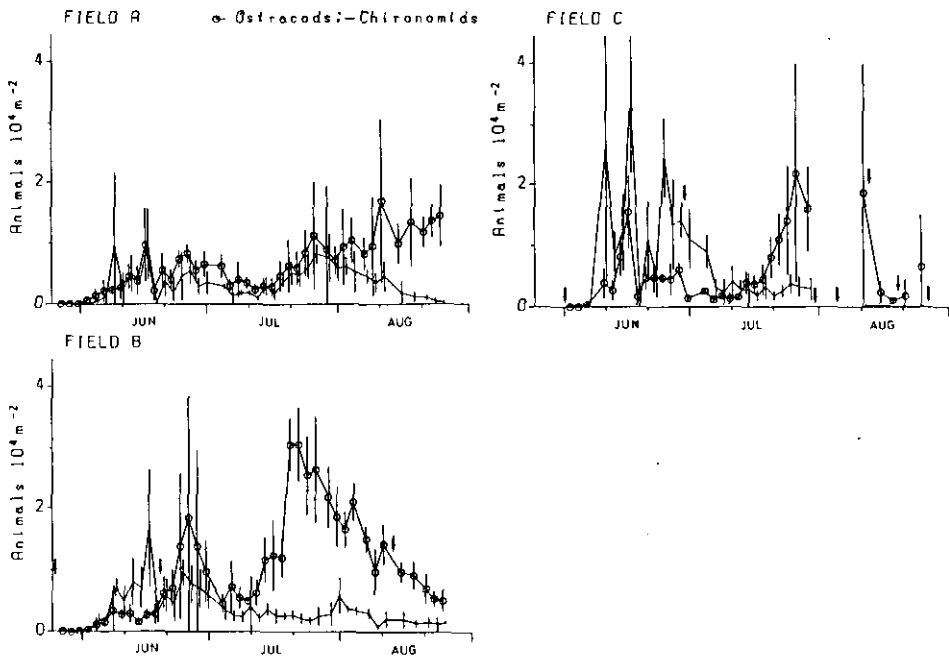


図3 実験水田におけるユスリカ・カイミジンコの個体数

矢印は農薬の散布時を示す。

リカ・カイミジンコはよく似た個体変化を示した。両者の個体数は6月中旬に10000 animals \cdot m⁻²に近くなり、その後7月上旬に向けて徐々に減少し、7月中旬からは再び増加に転じた。8月に

なると、両者で変化のしかたが異なり、カイミジンコは増加し続けて15000 animals・m⁻²前後になったのに対してユスリカは減少した。

水田 B, Cではユスリカ・カイミジンコともに水田 A より高密度に達した。ユスリカは6月中旬に水田 B で17000 animals・m⁻²、水田 C で35000 animals・m⁻²にまで増加したが、その後は7月に向かって減少し、両田とも水田 A のように再び増加することはなかった。カイミジンコは6月に水田 B で19000 animals・m⁻²、水田 C で16000 animals・m⁻²に達した。水田 C では6月中の平均個体数は水田 A と大差なかったが、変化の幅は水田 A より大きかった。7月上旬の個体数減少の後、カイミジンコは再び増加し、7月下旬には水田 B で31000 animals・m⁻²、水田 C で22000 animals・m⁻²の高密度に達した。

カイミジンコは水田 C の6月29日のプロポクスル・ベンチオカーブ・シメトリン散布後に有意に減少したが(図1)、これは散布農薬の毒性の直接的影響によるものと考えられる。それ以外にも水田 B の8月12日のペンタゾン、水田 C の8月19日のフェニトロチオン・カスガマイシン・有機ヒ素剤・チウラム・ペノミルの両散布時にカイミジンコが有意ではないが減少傾向を示した。ユスリカもやはり有意ではないが、水田 C で6月29日の後に減少した。これらの例もカイミジンコ・ユスリカに対する農薬毒性の直接的影響を示唆するものと考えられる。

3.3.2 肉食性水生昆虫

調査水田の主要な肉食性水生動物はトンボ目幼虫(アキアカネ *Sympetrum frequens*, シオカラトンボ *Orthetrum albistylum speciosum*, ウスバキトンボ *Pantala flavescens*, オオイトトンボ *Cercion sieboldii*) とゲンゴロウ科幼虫(チビゲンゴロウ *Bidessus japonicus*) であった。これらの肉食性水生昆虫は農薬散布田の方が個体数が少なかった。

トンボ目幼虫の個体数変化を図4に示した。水田 A, Bともに8月頃に個体数が多かったが、

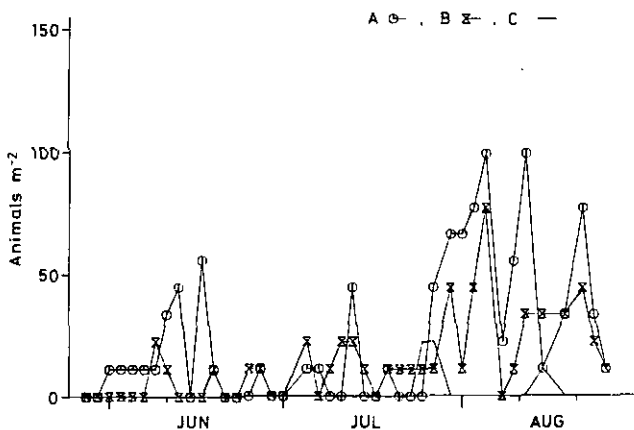


図4 実験水田におけるトンボ目幼虫の個体数

水田 A のそれは $100 \text{ animals} \cdot \text{m}^{-2}$ 前後に達したのに対して、水田 B ではほとんど $50 \text{ animals} \cdot \text{m}^{-2}$ 以下であった。また水田 A では 6 月にも $50 \text{ animals} \cdot \text{m}^{-2}$ を越える個体数増加が認められた。水田 C では 7 月下旬と 8 月中旬に少数個体が採集されたのみで、ほとんど出現しなかった。

チビゲンゴロウは水田 A と B で個体数に差はなかった。6 月中旬におよそ $20 \text{ animals} \cdot \text{m}^{-2}$ が見られたが、その後減少し 8 月にはほとんど採集されなかった。水田 C ではチビゲンゴロウはまれにしか採集されなかった。

3.4 ユスリカ・カイミジンコと底生藻類及び肉食性水生昆虫との関係

底生藻類はユスリカ・カイミジンコの少ないときに増加する傾向が認められた。ユスリカ・カイミジンコの個体数は 7 月上旬にいずれの水田でも減少するが、この時期に水田 A、C の底生藻類は増加した。その後ユスリカは水田 A で、カイミジンコはすべての水田で再び増加するが、水田 A のユスリカ・カイミジンコの増加は水田 B、C でのカイミジンコの増加に比べて比較的緩やかであった (図 3)。この時期に底生藻類は水田 A で最も多くなった。

一方、ユスリカ・カイミジンコは肉食性水生昆虫の比較的少ない農薬散布田で大きく増加した。ユスリカの個体数はトンボ目幼虫・ゲンゴロウ科幼虫の最も少ない水田 C で最も多くなった。カイミジンコは、むしろ水田 B でより大きく増加した。

4 考 察

ユスリカとカイミジンコは肉食性水生昆虫の減少した農薬散布田で大幅な個体数変化を示した。ユスリカとカイミジンコはトンボ目幼虫の主要な餌である¹⁵⁻¹⁷⁾。またユスリカ・カイミジンコはゲンゴロウ科幼虫によっても捕食される¹⁸⁾。止水域に隔離水界を設置してその中のトンボ目幼虫数を人為的に増加させた場合、ユスリカあるいはカイミジンコが減少したとの報告があり^{16,19)}、本調査でも水田 A ではトンボ目幼虫がユスリカ及びカイミジンコの個体数増加を抑制していたものと考えられる。ゲンゴロウ科幼虫の個体数を操作した例はないが、その食性からみて水田のユスリカ・カイミジンコの個体数増加の抑制に関与していたのではないかと考えられる。

しかしながらユスリカ・カイミジンコ個体数変化は肉食性水生昆虫による捕食の強弱だけで決まっているのではない。水田 C では捕食者が少なかったにもかかわらず水田 B ほどカイミジンコが増加しなかった。また水田 B、C では 7、8 月にユスリカが増加しなかった。これらの原因としては一つには農薬毒性の直接的な影響が考えられる。一方、調査水田に出現したユスリカは *Tanyptodinae* と *Cryptochironomus* を除いては底生藻類を主要な餌としており、またカイミジンコも底生藻類を食することから、もう一つの原因としてユスリカとカイミジンコ間の競争が考えられる。実際、水田 C ではカイミジンコの個体数が水田 A と変わらない 6 月にはユスリカが大幅に増加していた。また水田 B、C では 7 月から 8 月にかけてカイミジンコが大幅に増加していた。

底生藻類は水田 B、C で水田 A ほどには増加しなかった。Butler²⁰⁾ がまとめているように、藻

類の生長は幾種類かの除草剤によって阻害される。実際、除草剤散布後に底生藻類が減少しており、除草剤の毒性が水田 B, C の底生藻類量の抑制に効いていたと考えられる。一方では、ユスリカ・カイミジンコが少ないときに底生藻類が増加する傾向がうかがえた。Raghu & MacRae¹⁾も γ -BHC 散布によってカイミジンコが減少した後に水田の藻類が増加したことを報告している。本調査水田では農薬散布が、藻食者のさかんな摂食と除草剤の直接的阻害作用を通じて底生藻類増加の抑制に至ったと考えられる。

5 まとめ

1) 底生細菌の全菌数はいずれの水田でも 5 月下旬から 8 月にかけて 10^{10} cells \cdot ml⁻¹ 台から 10^9 cells \cdot ml⁻¹ 台へと減少した。水田 C では殺虫剤・除草剤混用後に水田 A, B より半月ほど早く減少した。

2) 底生藻類は農薬無散布田の水田 A で農薬散布田の水田 B, C より大幅に増加した。また除草剤の散布後に底生藻類が減少することが多かった。

3) 底生動物はユスリカとカイミジンコが圧倒的に多かった。その個体数は水田 B, C で水田 A より多くなり、かつ大幅に変化した。また農薬の散布後にユスリカ・カイミジンコが減少し、毒性の直接的影響が認められた。

4) 肉食性のトンボ目幼虫は水田 A で最も多く水田 C ではほとんど出現しなかった。やはり肉食性のチビゲンゴロウ幼虫は水田 A, B で多く水田 C ではほとんど出現しなかった。

5) ユスリカ・カイミジンコの個体数が少ないときに底生藻類が増える傾向が認められた。またユスリカ・カイミジンコの個体数変化は肉食性水生昆虫の少ない水田 B, C で大きかった。

6) ユスリカ・カイミジンコの個体数変化が水田 B, C で大きかったのは肉食者による捕食が弱かったためと考えられた。しかしながら農薬毒性の直接的影響やユスリカとカイミジンコとの間の競争が両者の個体数増加をある程度抑制していると考えられた。

7) 底生藻類が水田 B, C で水田 A ほど増加しなかったのは除草剤毒性の直接的影響や増加したユスリカ・カイミジンコの盛んな摂食によると考えられた。

謝 辞

桐谷圭治氏・宮井進氏を初めとする農林水産省農業環境技術研究所の方々にはほ場の使用許可等、調査の上で多くの便宜を与えて頂いた。ここに記して感謝の意を表する。

引 用 文 献

- 1) Raghu, K. and I. C. MacRae (1967): The effect of the gamma-isomer of benzene hexachloride upon the microflora of submerged rice soils. I. Effect upon algae. *Can. J. Microbiol.*, 13, 173-180.
- 2) 高久武雄・高橋正征・大槻 晃 (1979): 水田への有機リン系殺虫剤 (フェニトロチオン) の散布と微

- 小生物群集への影響. 陸水学雑誌, 40, 137-144.
- 3) 伴 幸成・桐谷圭治 (1980) : 水田の水生昆虫の季節的消長. 日本生態学会誌, 30, 393-400.
 - 4) Daryby, R. O. (1962) : Midges associated with California rice fields, with special reference to their ecology (Diptera : Chironomidae). *Hirgardia*, 32, 1-206.
 - 5) Fox, H. M. (1965) : Ostracod crustacea from ricefields in Italy. *Mem. Ist Ital. Idrobiol.*, 18, 205-214.
 - 6) Ghetti, P. F. (1973) : Dynamique des populations d'ostracodes de douze rizieres italiennes. *Notes d'ecologie. Ann. Stat. Biol. Besse-en-Chandesse*, 7, 273-294.
 - 7) Heckman, C. W. (1979) : Rice field ecology in northeastern Thailand. *Monographiae Biologicae* vol.34. Dr. W. Junk bv Pubiishers, The Hague-Boston-London, 228p.
 - 8) Ichimura, S. (1954) : Ecological studies on the plankton in paddy fields. I. Seasonal fluctuations in the standing crop and productivity of plankton. *Jpn. J. Bot.*, 14, 269-279.
 - 9) Ikeshoji, T. (1980) : Emergence of chironomid midges in four differently fertilized rice paddies. *Jpn. J. Sanit. Zool.*, 31, 201-208.
 - 10) Kikuchi, E., C. Furusaka and Y. Kurihara (1975) : Surveys of the fauna and flora in the water and soil of paddy fields. *Rept. Inst. Agr. Res. Tohoku Univ.*, 26, 25-35.
 - 11) 倉沢秀夫 (1956) : 水田における Plankton 及び Zoobenthos の組成並びに Standing Crop の季節変化 (I), 資源科学研究所彙報, 41-42, 86-98.
 - 12) 倉沢秀夫 (1957) : 水田における Plankton 及び Zoobenthos の組成並びに Standing Crop の季節変化 (II), 資源科学研究所彙報, 45, 73-84.
 - 13) Neale, J. W. (1977) : Ostracods from the rice-fields of Sri Lanka (Ceylon). *In* : *Aspects of Ecology and Zoogeography of Recent and Fossil Ostracods*, Loffler, H. and D. Danielopol, (eds.), Dr. W. Junk bv Publishers, The Hague-Boston-London, 271-283.
 - 14) UNESCO (1966) : Determination of photosynthetic pigments in seawater. *Monographs on Oceanographic Methodology* 1, UNESCO, Paris, 69p.
 - 15) Bay, E. C. (1974) : Predator-prey relationships among aquatic insects. *Ann. Rev. Entomol.*, 19, 441-453.
 - 16) Benke, A. C. (1978) : Interactions among coexisting predators-a field experiment with dragonfly larvae. *J. Anim. Ecol.*, 47, 335-350.
 - 17) Pritchard, G. (1964) : The prey of dragonfly larvae (Odonata : Anisoptera) in ponds in Northern Alberta. *Can. J. Zool.*, 42, 785-800.
 - 18) Veneski, R. and R. K. Washino (1970) : Ecological studies of *Hydrophilus triangularis* in the laboratory and in a rice field habitat, a preliminary report. *Proc. Pap. Ann. Conf. Calif. Mosquito Contr. Assoc.* 38th., 38, 95-97. (Bay, E. C. (1974) : Predator-prey relationships among aquatic insects. *Ann. Rev. Entomol.*, 19, 441-453.から引用)
 - 19) Morin, P. J. (1984) : The impact of fish exclusion on the abundance and species composition of larval odonates : results of short-term experiments in a North Carolina farm pond. *Ecology*, 65, 53-60.
 - 20) Butler, G. L. (1977) : Algae and pesticides. *Residue Reviews*, 66, 19-62.



実験水田

1区画(50m×10m)を板で区切った手前が水田A、向う側が水田B。白く見えるのは羽化トラップ。

実験生態系としての隔離水界法の検討
——エアレーションと捕食者密度制御の効果——

岩熊敏夫¹・安野正之¹・花里孝幸¹・高村健二¹
宮下 衛¹・高村典子¹・上野隆平¹

**Effects of Mixing of the Water Column by Bubbling
and the Artificial Elevation
of Predator Density
on Planktonic Community in Enclosures in a Pond**

Toshio IWAKUMA¹, Masayuki YASUNO¹
Takayuki HANAZATO¹, Kenzi TAKAMURA¹
Mamoru MIYASHITA¹, Noriko TAKAMURA¹ and Ryuhei UENO¹

Abstract

Four enclosures made of transparent polyethylene sheet (1 m in diameter, 4 m in depth), both end of which were open to sediment and to air, were set up in a eutrophic pond in the yard of National Institute for Environmental Studies in the summer in 1984. Water columns of two enclosures were mixed with continuous bubbling of air and these of the other two were left without mixing for 23d. Physicochemical and biological features together with primary productivity of water in the enclosures were monitored every 2-3 d to check their resemblance to natural ecosystems and the replicability in the structure and function of ecosystems in them.

Both enclosing and bubbling affected primary producers more clearly than other trophic levels. Enclosing of the water column caused the increase in density of chrysophyceae, the decrease in density of some diatoms and green algae, the decrease in net primary productivity, and the increase in community respiration. Bubbling of the water column caused the increase in density of diatoms and green algae, marked decrease in that of chrysophyceae, and the increase in net primary productivity.

Zooplankton seemed to be less sensitive to these treatments, although a slight

1. 国立公害研究所 生物環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Environmental Biology Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi,
Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

decrease in copepod density was observed in all enclosures as compared with pond toward the end of the experiment. Rotifers, *Brachionus* and *Keratella*, increased in density in the bubbled enclosures toward the end of experiment, which seemed to be the result of reduced predation pressure.

An invertebrate predator, *Chaoborus*, aggregated near the bottom surface by the bubbling. Addition of *Chaoborus* into the bubbled enclosure caused no effect on the ecosystem since the larvae moved towards the bottom and did not remain in the water column. Addition of *Chaoborus* into the enclosure without bubbling seemed to depress the density of rotifers.

Vertical profiles of water temperature, dissolved oxygen concentration, and pH were alike in the pond and in the enclosures without bubbling. Vertical profile of chlorophyll *a* concentration was rather uniform in all of the enclosures. Continuous bubbling caused uniform distribution of water temperature, pH, dissolved oxygen and chlorophyll *a* concentrations along the water column.

The present enclosed ecosystem resembled well with the natural one in the trophic levels of herbivores and carnivores when no mixing of water column was made. When the water column was mixed with bubbling, the enclosed ecosystem lost reality in all trophic levels but gained uniformity in vertical physicochemical features.

要 旨

生態園実験池に底泥を含む隔離水界を設置して、隔離水界の実験手法の検討及び捕食者密度の制御とエアレーションが水生生物に及ぼす影響を調べた。

池と比較すると、隔離水界内では植物プランクトンの種構成比の変化と純生産速度の低下がみられたが、クロロフィル *a* 量は水深方向及び経時的に安定していた。エアレーションは水界内の水質の均一化をもたらしたが、黄色鞭毛藻の減少、ケイ藻、緑藻の増加、ワムシ類の増加、フサカの底泥表層への集積など、群集構造に大きな変化をもたらした。また機能的には光合成速度の上昇がみられた。捕食者(フサカ)密度の人為的増加は動物プランクトンに多少の影響を与えるものの、系全体に与える影響は明らかでなかった。

生態系かく乱は、動植物プランクトンといった各栄養段階での量や活性への影響が明かでない場合でも、個々の種レベル—特に植物プランクトンの種構成に、短期間で大きな影響を及ぼすことが示された。

1 はじめに

自然の水界を囲い、自然に近い複雑な実験生態系を作成する手法は、海域及び湖沼における有害汚染物質の生態系影響の予測手法として、幾つかの研究がなされてきている^{1,2)}。これらの実験生態系の研究から、体積にして約 1 m³以上のものであれば魚類も含めた生態系を維持できることが経験的に示されている³⁾。

エアレーションなどのかく乱は、水深が直径に対して大きい隔離水界では、植物プランクトンの沈降を抑制し、自然の系をよく再現すると報告されている^{4,5)}。一方、直径が水深に対して十分大きい隔離水界では、風による混合だけで十分である⁶⁾。浅い湖の霞ヶ浦でも、水深2.2m 地点に設置した、開口部が2 m 四方及び5 m 四方の隔離水界では、人為的な混合を行わなくても動植物

プランクトンの量と組成は湖をよく再現していた⁷⁾。

1984年に国立公害研究所内にある実験池に、殺虫剤、除草剤などの汚染物質の生態系影響実験を行うために小型の隔離水界を設置した⁸⁾。この実験池は、霞ヶ浦と異なり夏期に水温躍層が形成される。本報告では、この小型の隔離水界（直径1 m、深さ4 m、容積3.1m³）について、その系としての安定性と自然の再現性の検討を行い、水の混合のためのエアレーションの有無による水界内生態系の違いを比較する。また生態系へのストレスの一つとして、隔離水界内の生態系の上位の捕食者密度を人為的に変えた場合の生態系影響を調べる。

2 実験池概要

隔離水界を設置した実験池は、1979年に国立公害研究所の構内に素掘りを行って地下水を湛水したものである。面積約2800m²、最大水深4 mのこの池は富栄養化しており、夏期には温度成層し、底層は無酸素となる。

1983にこの池の中央部で物理化学環境の測定と、生物現存量及び生産量の測定を行った。全リン及び全窒素（懸濁態窒素＋溶存態無機窒素）濃度はそれぞれ0.20mg・l⁻¹及び0.02～0.50mg・l⁻¹、クロロフィルa濃度は、3～30μg・l⁻¹であった。表1に1983年4月から11月までの季節別の生物現存量と生産速度を炭素量として示す。植物プランクトンの一次生産速度は、現場酸素法により求めた値を光合成商を1として炭素量に換算したが、夏期には1.7gC・m⁻²・d⁻¹を超える。動物プランクトンは *Daphnia rosea* と *Tropocyclops prasinus* が優占しその現存量は多く、植物プランクトンの約30%を超える。魚類は放流していないため、昆虫類のフサカ *Chaoborus flavicans* が最上位の捕食者となっている。フサカの現存量と生産量は非常に多く、食物連鎖を通してこの実験池の生産を大きく支配していると考えられる。底生動物は富栄養湖の指標種のアカムシユスリ

表1 実験池における生物現存量Bと生産量P(1983年)

	Apr. -May		Jun. -Sep.		Oct. -Nov.	
	B (gC m ⁻²)	P (gC m ⁻² d ⁻¹)	B (gC m ⁻²)	P (gC m ⁻² d ⁻¹)	B (gC m ⁻²)	P (gC m ⁻² d ⁻¹)
Primary producer						
Phytoplankton	1.7	0.93 ^a	4.4	1.73 ^a	3.1	1.23 ^a
Herbivore						
Zooplankton	1.2		1.2		1.5	
Carnivore						
<i>Chaoborus flavicans</i>	0.1	0.02	0.6	0.05	1.7	0.04
Detritivore						
Chironomidae	0.9		0.5		0.1	
Oligochaeta	0.3		0.2		0.4	

a Gross primary production

カ *Tokunagayusurika akamusi* とオオユスリカ *Chironomus plumosus* が出現する。この他、池の周囲にはガマやヨシ等の水草が繁茂しており、池全体ではこれらの一次生産者の有機物供給も考慮する必要がある。

3 方法

3.1 隔離水界の設置

1984年6月8日、実験池中央の水深4mの地点に、直径1m、高さ5mの円筒状の隔離水界を4基設置した。隔離水界の構造は安野ら⁹⁾に同じである。ステンレス枠に厚さ0.06mmの透明ポリエチレンシートを取り付けた隔離水界を、設置点まで水深約0.5m付近を水平にえい航し、設置点で鉛直に保持した後、約1m落下させて底泥中に打ち込み、水界を隔離した。

隔離の効果及びかくはんの効果調べるために、2基はそのまま放置し(Encls. 1, 2)、残りの2基には6月9日から、エアープンプ(ニッソー-M60、吐出圧 $0.4\text{kg}\cdot\text{cm}^{-2}$)を用いて底泥上約20cmの位置からエアーストーンを介して約 $30\text{ml}\cdot\text{s}^{-1}$ の空気を送り込んだ(Encls. 3, 4)。実験は7月2日までの23日間行った。

捕食者密度の変化が生態系の構造に及ぼす影響を調べるために、6月22日に池よりフサカの4令幼虫を集めてEncls. 3, 4に投入した。プランクトンネット(NXX25)の鉛直引きを30回行いフサカを集めたが、大型の動物プランクトン(*Daphnia*)が混入するために試料を0.85mmのメッシュを通し、ふるい上の試料を水に戻した後に、光を当てて動物プランクトンを底に追いやってフサカを分離した。これを17,000頭ずつEncl. 1及びEncl. 3に投入した。約 $22,000\text{m}^{-2}$ の密度増加に相当する。

3.2 採水及び環境要因測定

採水、及び環境要因測定は2~3日ごとに行った。水温、溶存酸素、pHはサーミスタまたは電極(Hydrolab 8000)により、水中光量は水中光量子計(Biospherical QSM-200)により、池内及び隔離水界内で水深0.5mごとに測定した。懸濁物質(SS)及びクロロフィル a 量は0.5、1.5、2.5及び3.5mから小型採水器(リゴー-B型、1.3l)で採水し、ガラスファイバーフィルター法またはUNESCO法により定量した。

これとは別に、内径30mm長さ4mの塩化ビニルパイプを用いて柱状採水を行い、動植物プランクトンの採取、純生産速度及び呼吸速度の測定にあてた。動物プランクトンは採水1回分を1サンプルとし、3サンプル採取し処理は花里・安野¹⁰⁾に従った。植物プランクトンの計数及び呼吸速度測定は高村ら¹¹⁾によった。純生産速度は試料採取後直ちに炭素13を用いて測定した¹¹⁾。光量は5段階、培養時間は1時間である。呼吸及び純生産の測定は23℃で行った。

内径75mm高さ170mmのガラスびんを毎回2個ずつ底泥直上につるして次の測定時に回収し、ビン内に捕獲されたフサカの個体数と令期を記録した後、各水界に戻した。付着藻類量を測るた

めに、隔離水界壁面と同じ材質のポリエチレンシート(100mm×5 m, 下部に重りを付けてある)を壁面にそわせてつるした。6月12日につるして7月8日に回収し、水面下の部分を全部、600mlの90%メタノールに2日間浸けて色素を抽出し、クロロフィル *a* 量を定量した。

4 結果

4.1 環境要因及び SS・クロロフィル *a* 濃度の変動

図1に池内及び隔離水界内の水温、溶存酸素及び pH の鉛直分布の経時変化を示す。池内の水温は晴天時には約7℃の成層がみられ、降雨時(6月13日, 23日, 27日, 29日)には成層は1℃未満になった。Encls. 1, 2は池の水温特性を良く再現していた。Encls. 3, 4の水温は通気のため鉛直方向に全く均一の分布を示した。隔離水界内の鉛直方向平均水温と比較すると、通気の有無で1℃以上異なることはなく、どちらかが高くなるという一定の傾向もみられなかった。

溶存酸素濃度の鉛直分布は水温のそれと非常によく似た傾向を示し、Encls. 1, 2では底層で無酸素状態が再現された。溶存酸素濃度の鉛直方向の平均値を比較すると、池<Encls. 1, 2<Encls. 3, 4の順に高くなった。通気により Encls. 3, 4中の溶存酸素濃度は飽和値のほぼ100%に保たれていた。したがって Encls. 3, 4内では溶存酸素の経時変化が水温のそれとは逆のパターンを示していた(図1 a, b)。

pH の鉛直分布は、Encls. 3, 4で6月25日以降に pH が上昇することを除いては、溶存酸素濃度の鉛直分布と良く似ており、光合成に関連していると考えられた。

池及び隔離水界内で、光の吸光係数 $k [= \ln I_1 - \ln I_2] / (Z_2 - Z_1)$ 、ただし I_i は深さ Z_i (m) における光量]には大きな違いがみられなかった。6月21日までの k (m^{-1}) は池及び Encls. 1~4でそれぞれ、1.00~1.22, 0.93~1.10, 0.92~1.04, 0.99~1.13, 0.91~1.14であった。6月23日以降は Encl. 3が相対的に高くなった。すなわち k は池及び Encls. 1~4でそれぞれ、1.09~1.14, 0.89~1.19, 0.90~1.14, 1.18~1.33, 0.95~1.18であった。

図2に池内及び隔離水界内の SS 濃度、クロロフィル *a* 濃度及び SS:クロロフィル *a* 比の鉛直分布の経時変化を示す。SS 濃度とクロロフィル *a* 濃度の鉛は良く似ており、両者とも池内では底層に集積する傾向がみられた。Encls. 1, 2ではクロロフィル *a* が表層で高くなることが1度あったがそのとき以外はむしろ鉛直方向に均一であったといえる。Encls. 3, 4ではほぼ全期間、鉛直方向に均一であった。クロロフィル *a* 濃度に関しては、Encls. 1, 2間の反復再現性が良いと考えられた(図2 a, b)。

SS:クロロフィル *a* 比は非藻体の量の指標であると考えられる。設置直後にはどの隔離水界でも800~1,000の値を示したが、その後は200~500の間を変動していた。Encls. 3, 4が Encls. 1, 2より高いという傾向はみられず、エアレーションによるかくはんが底泥を舞上がらせていたとは考えられなかった。ただし、Encl. 4では6月25日以降にクロロフィル *a* 濃度が減少し、SS:クロロフィル *a* 比が上昇していたが、その理由については不明である(図2 c)。

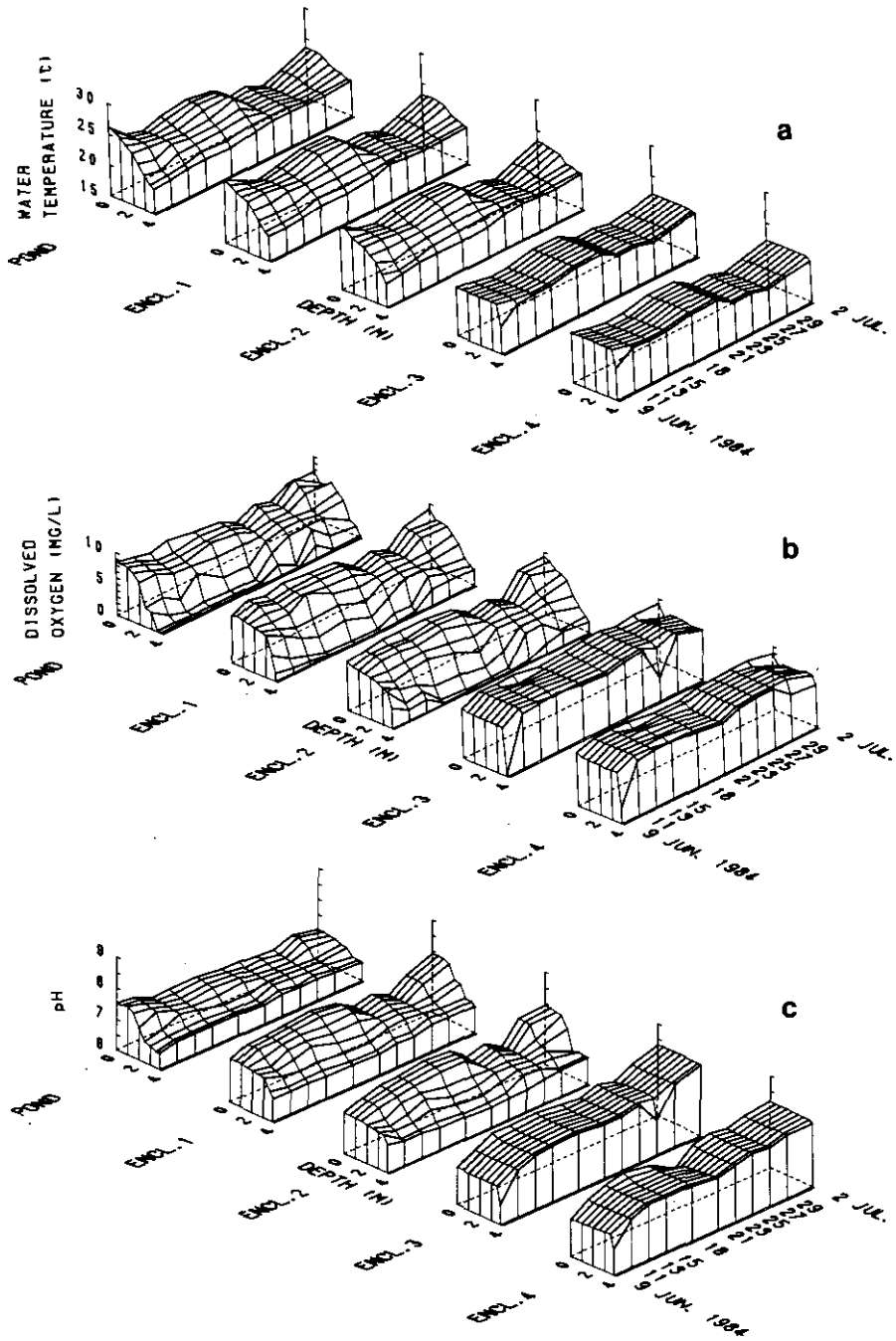


図1 実験池及び隔離水界内における環境要因の鉛直分布の経時変化

(a): 水温, (b): 溶存酸素, (c): pH

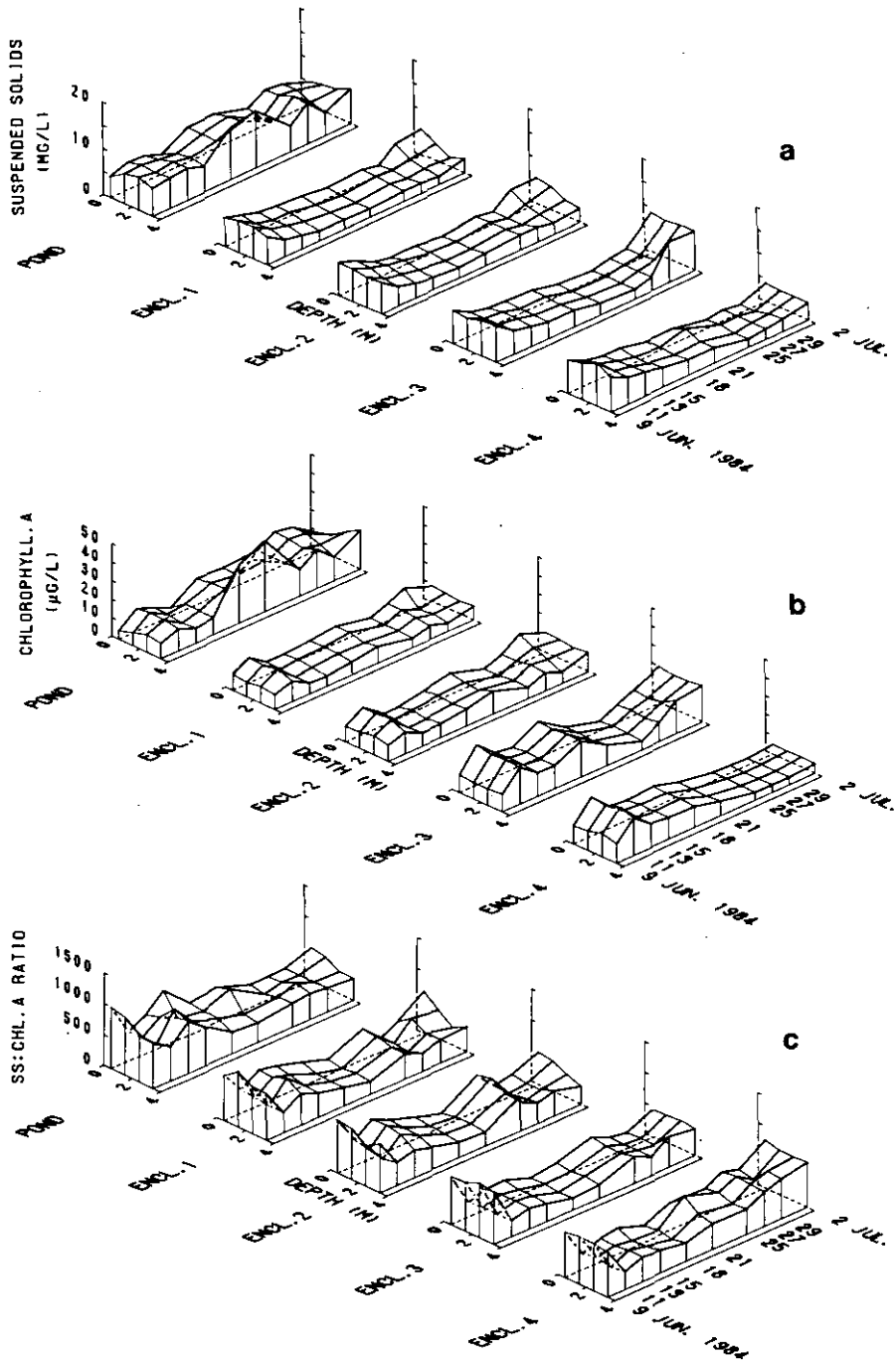


図2 実験池及び隔離水界内における懸濁物質及びクロロフィルa濃度の鉛直分布の経時変化

(a): 懸濁物質濃度, (b): クロロフィルa濃度 (Chl. a), (c): SS:Chl. a比

附着藻類量は7月8日に Encls. 1~4 でそれぞれ、 59 ± 11 , 46 ± 16 , 93 ± 10 , 97 ± 20 (単位は $\text{mg Chl. } a \cdot \text{m}^{-2}$, 平均値 ± 2 反復のレンジ)であった。エアレーションにより付着量が増加したといえる。隔離水界当たりのクロロフィル *a* 量にすると、Encls. 1~4 でそれぞれ、740mg, 580mg, 1,170mg, 1,220mg であった。一方、隔離水界当たりの水中のクロロフィル *a* 量は7月2日に Encls. 1~4 でそれぞれ、28mg, 38mg, 55mg, 13mg となり、実験後期には壁面の付着物が、隔離水界内の一次生産に相対的に重要であることを示唆していた。

4.2 隔離とエアレーションの植動プランクトンに対する影響

表2に池及び隔離水界内の植物プランクトン個体数の変動を示す。植物プランクトンは水界を隔離をすることにより影響を受ける種、エアレーションにより影響を受ける種がはっきりしていた。

池と比較して Encls. 1, 2 で減少した種は、ケイ藻の *Navicula* spp., *Nitzschia* spp., 緑藻の *Stichococcus bacillaris*, *Oocystis borgei*, 逆に増加した種はケイ藻の *Synedra acus*, 緑藻の *Gloeocystis gigas*, 黄色鞭毛藻の *Dinobryon divergens*, *Ochromonas* spp. であった。特に黄色鞭毛藻は、隔離水界のなかで安定して高い密度を維持していた。

表2 実験池及び隔離水界内の植物プランクトン個体数の変動

	Pond				Encl. 1				Encl. 2				Encl. 3				Encl. 4			
	13 Jun.	21 Jun.	25 Jun.	2 Jul.	13 Jun.	21 Jun.	25 Jun.	2 Jul.	13 Jun.	21 Jun.	25 Jun.	2 Jul.	13 Jun.	21 Jun.	25 Jun.	2 Jul.	13 Jun.	21 Jun.	25 Jun.	2 Jul.
Diatoms																				
<i>Gomphonema</i> sp.							+													
<i>Cyrosigma</i> sp.								*												
<i>Melosira granulata</i> var. <i>angustissima</i>	-	+	+		+	+			+	+	+		*	+	+	*	*	*	*	*
<i>Navicula</i> spp.	+	+	+	-																
<i>Nitzschia</i> spp.	+	+	+	-	+	+				+	-			+	+	+	+	+	*	+
<i>Synedra acus</i>	-				+	+	+			+			+	*	●		+	+	+	*
<i>Synedra</i> spp.							+						+	*	*		+	+		+
Green algae																				
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>																+				
<i>Coelastrum</i> sp.				+																
<i>Crucigenia tetrapedia</i>				+																
<i>Crucigenia lauterbornii</i>				+								+		+	+	+				*
<i>Dictyosphaerium pulchellum</i>									+				+							*
<i>Elakatothrix gelatinosa</i>	+				+	+				+			+	*	*	+		*	*	+
<i>Gloeocystis gigas</i>		+			+	+	*			+	+		●	*	*		+	*	*	*
<i>Gloetia turfosa</i>												+		+	+					*
<i>Oocystis borgei</i>	-	+	+	+	-	-								+	+		+	+	+	+
<i>Pediastrum duplex</i>	+				+					+										+
<i>Scenedesmus</i> spp.						+							+							+
<i>Schroederia setigera</i>	-	+	+	-	+	+			+	-	-						+	+	+	+
<i>Stichococcus bacillaris</i>		+	*	-																
Cryptophyceae																				
<i>Cryptomonas</i> spp.	+	+	+	*	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-		+	-	-
Chrysophyceae																				
<i>Dinobryon divergens</i>	+	+			●	*	*	*	*	*	*	*	*	+				*	+	
<i>Ochromonas</i> spp.	+	+			*	*	*	●	*	*	*	●	*					*		
Dinophyceae																				
<i>Ceratium hirudinella</i>																				
Euglenophyceae																				
<i>Euglena</i> spp.	-	+			-	+			-	-	+		-	-		+	-	-		+
<i>Lepocinclis</i> sp.	-	+	+		-	+			-	-	+		-	-			-	-		+
<i>Phacus</i> spp.	-	+	+		-	+			-	-	+		-	-			-	-		+
<i>Trachelomonas</i> spp.	*	*	*	+	+	*	*	+	+	*	*		+	+	+		+	+	+	+

個体数: ● > 1,000 > * > 100 > + > 10 > · > 1 (cells · ml⁻¹)

Encls. 1, 2と比較して、エアレーションを行った Encls. 3, 4で減少した種は、黄色鞭毛藻の *D. divergens*, *Ochromonas* spp. ミドリムシ藻の *Traceromonas* spp.で逆に *S. acus* 等ほとんどのケイ藻と *Crucigenia lauterbornii*, *Elakatothrix gelatinosa*, *G. gigas*, *Oocystis borgei* 等の緑藻は増加した。

図3にクロロフィル *a* 当たりの純生産速度と呼吸速度の変動を示す。純生産速度は隔離により減少しエアレーションにより増加した。9回の測定の平均値と変動(括弧内)は次の順に低くなった。単位は $\text{gC} \cdot \text{gChl. } a^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ である。池: 2.1 (1.1~2.7) > Encl.3: 1.7 (0.6~2.8), Encl. 4: 1.8 (0.7~2.6) > Encl. 1: 1.2 (0.6~2.0), Encl. 2: 1.1 (0.5~1.9)。隔離とエアレーションの処理により、純生産速度のばらつきは大きくなったが各処理間の平均値は近かった。

呼吸速度は隔離により増加した。10回の測定値と変動幅(括弧内)は次のとおりである。単位は $\text{gC} \cdot \text{gChl. } a^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ である。池: 0.8 (0.3~1.7), Encl. 1: 1.2 (0.6~2.0), Encl. 2:

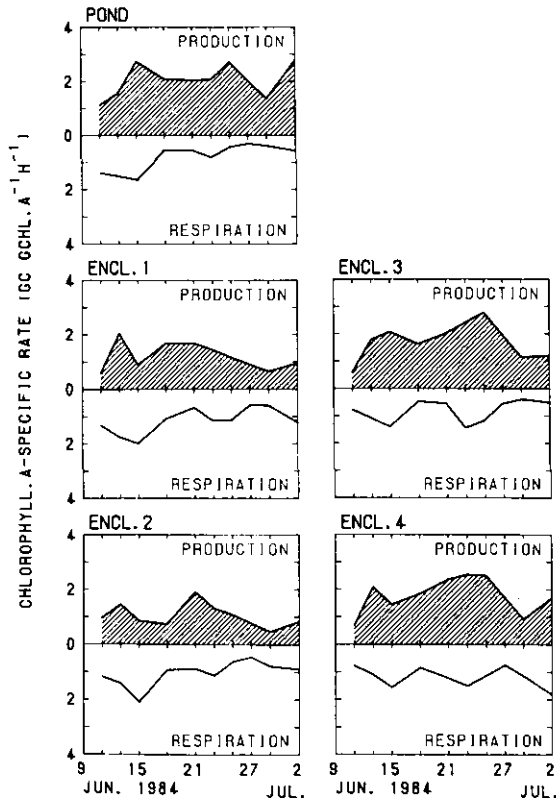


図3 実験池及び隔離水界内の植物プランクトンの純生産速度(各図上段)及び群集呼吸速度(各図下段)の経時変化

単位クロロフィル *a* 当たりの速度で示した。呼吸速度は呼吸商を1として酸素量より炭素量に換算した。

1.0 (0.4~2.1), Encl. 3 : 0.8 (0.4~1.4), Encl. 4 : 1.2 (0.7~1.8)。隔離をただけの Encls. 1, 2の傾向は良く似ていたが、エアレーション処理で Encl. 4の呼吸速度が増加した (図3)。

4.3 隔離とエアレーションの動物プランクトンに対する影響

表3に池及び隔離水界内の動物プランクトン個体数の変動を示す。動物プランクトンは植物プランクトンほどに顕著ではなかったものの、隔離とエアレーションの影響を受けた。

池と比較して、フサカを投入する前の6月21日までの間は、Encls 1, 2には顕著な違いがみられなかった。6月23日以降、池ではワムシ類の *Brachionus angularis*, *B. urceolaris*が増加したが Encl. 2では少なかった。

エアレーション処理の Encls. 3, 4ではワムシ類のうち6月21日までの間は *Keratella quadrata*が多く、6月23日以降はさらに *K. valga*, *B. angularis*, *B. urceolaris*が増加した。Encls 1, 2と比較して、Encls. 3, 4では、橈脚類の *Tropocyclops prasinus* 及びそのノープリウスは後半に減少する傾向がみられた。後述するようにエアレーションによりフサカが底層に移行したことも、この原因と考えられる。

4.4 隔離とエアレーションのフサカに対する影響

図4に水中及び底層のフサカの密度を示す。2~3日間つるした沈殿ビンにトラップされたフサカ数を底層の密度に換算した。動物プランクトン用の採水器を用いたため、図に示すフサカの水中密度の変動係数は約60%である。

池での水中密度は6月23日まで平均で $8,000\text{m}^{-2}$ (変動幅は $6,000\sim 13,000\text{m}^{-2}$)、それ以後は平均で $5,600\text{m}^{-2}$ ($5,000\sim 6,000\text{m}^{-2}$)に減少した。後期にはさなぎが出現し6月27日から7月2日まではほとんどが4令幼虫とさなぎで占められていたことから、羽化による減少と考えられる。6月21日より前にはさなぎが出現せず、この期間には産卵・ふ化による個体数の増加は起きていなかったと考えられる。一方、底層のフサカ密度は $100\sim 300\text{m}^{-2}$ と非常に低くほとんどの個体が水中を遊泳していた。

Encls. 1, 2では池と似た傾向を示したが底層に多く集まる傾向がみられた。フサカの密度を増加させる前の6月21日までは、Encl. 1の水中密度は平均で $6,600\text{m}^{-2}$ ($4,000\sim 14,000\text{m}^{-2}$)、底層密度は $1,200\text{m}^{-2}$ ($300\sim 2,500\text{m}^{-2}$)、Encl. 2の水中密度は $7,300\text{m}^{-2}$ ($2,000\sim 10,000\text{m}^{-2}$)、底層密度は $1,200\text{m}^{-2}$ ($500\sim 2,700\text{m}^{-2}$)であった。Encl. 3にフサカを投入すると、直後にはほとんどが水中を遊泳していたが時間とともに底層に集まり、4日後からは、 $4,000\sim 8,000$ 個体 m^{-2} が底層に集積した (図4)。

エアレーションはフサカに対して最も影響を与えた。Encls. 3, 4では実験開始直後は水中を遊泳する個体が多かったものの、その後はほとんどの個体が底層に集積した。

Encl. 3では、新たに投入したフサカは直ちに底層に移動し、水中からは回収されなかった (図

表3 実験池及び隔離水界内の動物プランクトン個体数の変動
矢印はフサカの投入を示す。

	Pond										
	9	11	13	15	18	21	23	25	29	2	
	Jun.						Jul.				
Rotifera											
<i>Polyarthra trigla</i>	★	★	★	★	★	+	★	★	★	★	
<i>Synchaeta</i> sp.	★	+	+	+	+	+	
<i>Keratella valga</i>			+	
<i>Keratella quadrata</i>	+	+	
<i>Brachionus angularis</i>			+	+	+	
<i>Brachionus urceolaris</i>			+	+	.	★	
<i>Hexarthra mira</i>	+	+	+	★	
<i>Trichocerca</i> spp.							.	+	.		
<i>Lepadella</i> sp.											
Cladocera											
<i>Daphnia rosea</i>	★	★	★	★	★	★	★	★	★	★	
Copepoda											
<i>Acanthodiaptomus pacificus</i>			+	.	.	
<i>Tropocyclops prasinus</i> (Nauplius)	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	

	Encl. 1					Encl. 2					
	9	11	13	15	18	21	23	25	29	2	
	Jun.						Jul.				
Rotifera											
<i>Polyarthra trigla</i>	★	★	★	★	+	★	★	+	★	★	
<i>Synchaeta</i> sp.	★	★	+	.	+	.	.	+	.	.	
<i>Keratella valga</i>			+	
<i>Keratella quadrata</i>	.	+	+	+	+	
<i>Brachionus angularis</i>	
<i>Brachionus urceolaris</i>	
<i>Hexarthra mira</i>	+	+	+	
<i>Trichocerca</i> spp.									.	+	
<i>Lepadella</i> sp.									.	+	
Cladocera											
<i>Daphnia rosea</i>	★	+	+	★	+	+	+	+	★	★	
Copepoda											
<i>Acanthodiaptomus pacificus</i>			.	.	+	
<i>Tropocyclops prasinus</i> (Nauplius)	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	

	Encl. 3					Encl. 4					
	9	11	13	15	18	21	23	25	29	2	
	Jun.						Jul.				
Rotifera											
<i>Polyarthra trigla</i>	★	★	★	★	+	+	+	+	★	+	
<i>Synchaeta</i> sp.	★	★	+	+	+	.	.	+	.	.	
<i>Keratella valga</i>			+	
<i>Keratella quadrata</i>	+	+	+	+	+	+	+	.	.	.	
<i>Brachionus angularis</i>	★	★	★	★	+	
<i>Brachionus urceolaris</i>	+	+	+	.	+	
<i>Hexarthra mira</i>	+	+	+	+	
<i>Trichocerca</i> spp.						
<i>Lepadella</i> sp.						
Cladocera											
<i>Daphnia rosea</i>	★	★	★	★	★	★	★	★	★	+	
Copepoda											
<i>Acanthodiaptomus pacificus</i>			+	
<i>Tropocyclops prasinus</i> (Nauplius)	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	

個体数：●>100,000>★>10,000>+>1,000>.>100 (m⁻³)

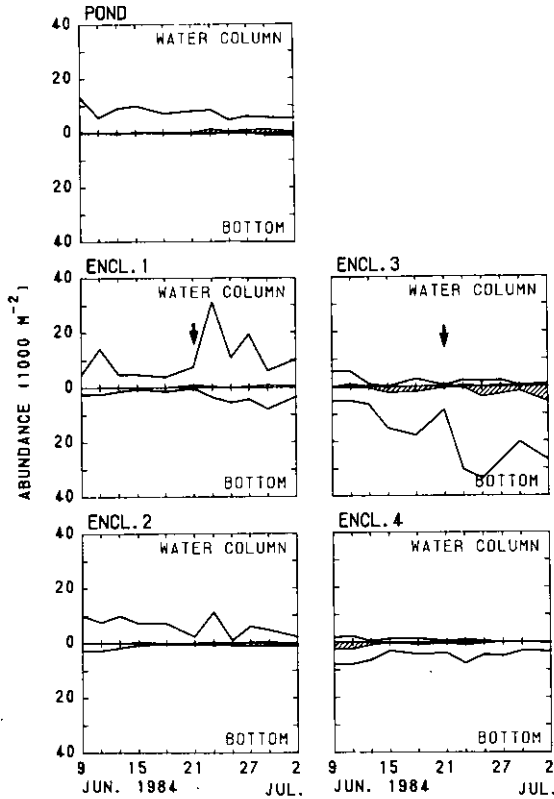


図4 実験池及び隔離水界内におけるフサカの個体数の経時変化

各図の上段は水中の個体数を、下段は沈殿ビン中に捕獲された個体数を示す。斜線部はさなぎを示す。

Encl. 1 及び Encl. 3 には 6 月 22 日にフサカを $22,000\text{m}^{-2}$ ずつ投入した (図中 ↓ で示す)。

4)。すなわち、フサカの密度を増加させる前の 6 月 21 日までの、Encl. 3 の水中密度は平均で $2,600\text{m}^{-2}$ ($0 \sim 5,600\text{m}^{-2}$)、底層密度は $11,300\text{m}^{-2}$ ($5,100 \sim 17,800\text{m}^{-2}$)、Encl. 4 の水中密度は $1,300\text{m}^{-2}$ ($500 \sim 2,400\text{m}^{-2}$)、底層密度は $5,100\text{m}^{-2}$ ($3,100 \sim 7,800\text{m}^{-2}$) であった。6 月 23 日以降は、フサカを投入した Encl. 3 の水中密度は平均で $1,500\text{m}^{-2}$ ($500 \sim 2,400\text{m}^{-2}$)、底層密度は $27,700\text{m}^{-2}$ ($20,300 \sim 33,700\text{m}^{-2}$)、Encl. 4 の水中密度は 300m^{-2} ($0 \sim 1,000\text{m}^{-2}$)、底層密度は $4,700\text{m}^{-2}$ ($2,900 \sim 7,600\text{m}^{-2}$) であった。

エアレーションのもう一つの影響として、底層に集積したフサカには池や Encls. 1, 2 に比べて常に高い割合でさなぎが含まれていたことが挙げられる(図 4 斜線部)。これが、光、水温、溶存酸素といった無機的な要因によるのか、個体密度の増加が生理的に作用したためなのかは不明である。

4.5 フサカの動物プランクトンに対する影響

フサカの投入により Encl. 1 では水中密度が $8,000\text{m}^{-2}$ から $20,000\sim 30,000\text{m}^{-2}$ に増加した (図 4)。ワムシ類の *Keratella valga*, *Hexarthra mira* は Encl. 2 では 6 月 23 日以降に密度が増加していたが Encl. 1 では低密度であったことから、この 2 種が影響を受けたと考えられる (表 3)。一方、ワムシ類の *Polyarthra trigla*, 枝角類の *Daphnia rosea* 及び橈脚類の *Tropocyclops pracinus* に対してはほとんど影響を及ぼしていなかったとみられる (表 3)。

Encl. 3 では投入したフサカは直ちに底層に移動してしまったため (図 4)、エアレーションの下でのフサカの影響を解析することはできなかった。季節的な変動として、6 月 21 日以降、ワムシ類の *Keratella valga*, *K. quadrata*, *Brachionus angularis*, *B. urceolaris* が, Encls. 3, 4 ではそれ以前に比べて約 2 けたの個体数増加を示していた (表 3)。Encls. 1, 2 では 6 月 21 日以前にも *K. quadrata* 等は出現していたことと (表 3), Encl. 2 と Encls. 3, 4 のフサカの密度が前者の約 $5,000\text{m}^{-2}$ に対して後 2 者の $300\sim 1,500\text{m}^{-2}$ と差があることから (図 4), これら 4 種のワムシ類はフサカの捕食を受けていた可能性がある。もちろん植物プランクトン組成の違い (表 2) によりワムシ類の餌条件が良好になったという可能性もある。

5 考 察

本研究で使用した隔離水界はこれまでに報告されている実験生態系のうちでは開口部の最も小さい部類に属する^{1,7,12)}。実験期間中 23 日間のクロロフィル *a* 量を、初期値に対する相対値でみると, Encls. 1 ~ 4 でそれぞれ、60~190%, 60~130%, 70~220%, 40~170% であった。これに対し、池では 100~360% であった。エアレーションをせずに隔離しただけの状態の Encls. 1, 2 で、一次生産者は 60% 以上の現存量を維持していたことになる。ただしエアレーションをした場合、Encl. 4 では現存量が初期の 40% に低下してしまった (図 2 a)。

水界の隔離は、動植物プランクトンの構造に影響した。すなわち植物プランクトンでは、ケイ藻と緑藻のある種の減少と他の種の増加、黄色鞭毛藻の増加、動物プランクトンでは、ワムシ類のある種の減少と他の種の増加である (表 2, 3)。ケイ藻や緑藻における種の入れ替わりには、隔離水界内では大きなサイズの藻類が沈降しやすい⁴⁾等の理由だけではなく動物プランクトンの摂食圧が関与していると考えられる。隔離水界内の系は食物連鎖網を形成し、水界の隔離に対しては、一次、二次のレベル内での種の置き換えが起り、グループとしての現存量及び機能量、すなわちクロロフィル *a* 量、純生産速度、群集呼吸速度には大きな変化を起さなかった (図 3)。このことは、隔離水界を実験生態系として利用する場合には、動植物プランクトンといった栄養段階での量や活性には明確な差がでない場合でも、個々の種レベル—特に植物プランクトンの種構成に差を検出することができることを示している。

連続的なエアレーションは水深方向の物理化学的特性を均一にした (図 1, 2)。この系を実験生態系として用いる場合には、測定、採水の省力化を計ることができ、また殺虫剤や除草剤等の

投入試験の際、均一なかくはんを行うことができるといった利点がある。しかし、完全な成層破壊という点ではむしろ強度の生態系のかく乱といえる。生態系の構造では、大型の捕食者（フサカ）の移動、植物プランクトンのうちの遊泳性の黄色鞭毛藻の極端な減少等をもたらした。この系は自然の生態系の再現を目指すのではなく、簡便な実験生態系としての利用を目指せば良い。物理特性とクロロフィル *a* 量に関しては、エアレーションを行わない Encl. 1 と Encl. 2 の間では反復再現性が良かったが、エアレーションを行った Encu. 3 と Encl. 4 の間では反復再現性は必ずしも良くなかったので、このについては今後さらに検討を要する。

水界の混合の点で難があるものの、物理環境を再現し、動植物プランクトン及び捕食者といったすべての栄養段階をある程度再現している点で、隔離水界ではエアレーションを行わずに実験生態系として使用することが良いと考えられる。

自ら遊泳力を持つ黄色鞭毛藻などは、止水では有利であっても殻が比較的丈夫でないためエアレーション等の物理的なかくはんには弱いとみられる。また、橈脚類の *Tropocyclops pracinus* とそのノープリウスは同じく物理的なかくはんにより密度が減少する傾向がみられた(表3)。海産橈脚類の *Acartia clausi* 同様、物理的なかくはんにより弱いものと考えられる¹³⁾。したがって、もし望むならば、エアレーションを間欠的にして⁵⁾、その間隔を調整することにより、本実験での Encls. 1, 2 と Encls. 3, 4 の中間の動植物プランクトン組成、すなわち実験池の組成にさらに近い状態を得ることができよう。

フサカ *Chaoborus flavicans* の密度上昇は $8,000\text{m}^{-2}$ ($2,000\text{m}^{-3}$) から $30,000\text{m}^{-2}$ ($7,500\text{m}^{-3}$) の範囲では動物プランクトンに対して顕著な影響を与えなかった。この原因の一つとして、加えたフサカには蛹化直前の個体が多く、動物プランクトンを多く摂食しなかったことが考えられる。

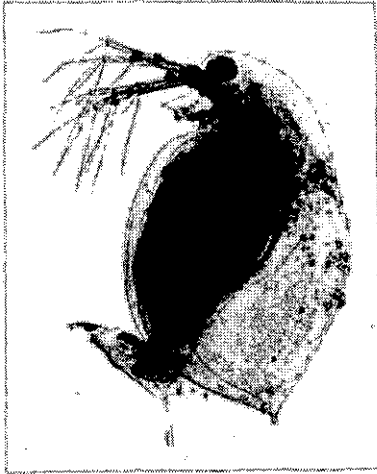
C. flavicans は動物プランクトンのうちの大型の *Daphnia* 等の枝角類だけでなく多くの動物プランクトンを捕食していることが明かにされている^{14,15)}。本実験からはフサカがワムシ類の *Brachionus* と *Keratella* を捕食している可能性が示された。一方、*Daphnia* を捕食しているかについては明らかでなかった。

食物連鎖網における捕食者の役割は、捕食者の除去によりその知見が得られることが多い^{16,17)}。おそらくより低密度のときにフサカの影響が顕著になるものと考えられる。安野ら⁸⁾は本実験と同じ隔離水界を用いて、殺虫剤のペルメスリン処理によりフサカと動物プランクトンを全滅させた後の回復過程を調べ、その場合、数は少ないが体のより大きな橈脚類の *Acanthodiptomus* をフサカが捕食している可能性を指摘している。生態園実験池のフサカの場合、捕食者（フサカ）と動物プランクトンの密度の組み合わせで餌となる種が変わっていくものと考えられる。

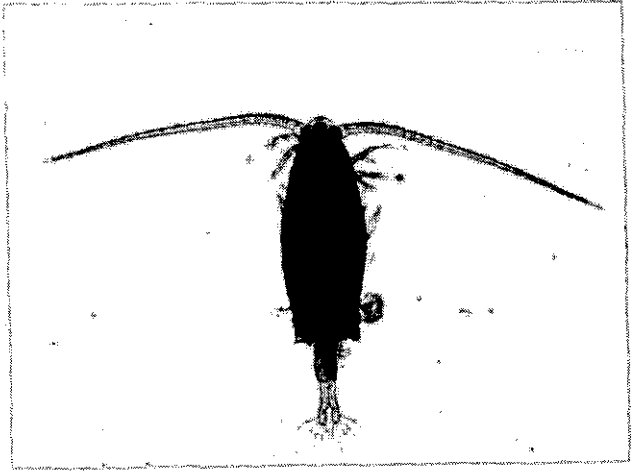
本研究で明らかになったいくつかの現象、すなわちかくはんによる黄色鞭毛藻の減少、フサカの底層への移行及び蛹化リズムの変化等の生物学的機構については興味ある課題で、今後の解明を待ちたい。

引用文献

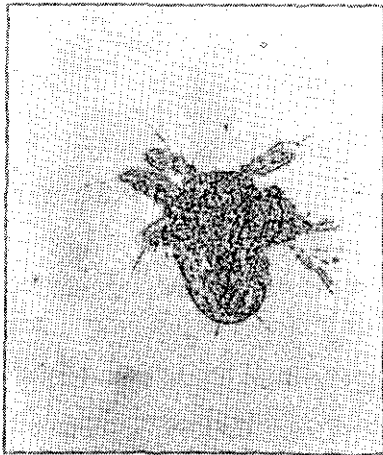
- 1) Grice, D. G. and M. R. Reeve (1982) : Introduction and description of experimental ecosystems. *In* : Marine Mesocosms. Biological and Chemical Research in Experimental Ecosystems., G. D. Grice and M. R. Reeve (eds.), Springer-Verlag, New York-Heidelberg-Berlin, 1-9.
- 2) Lundgren, A. (1985) : Model ecosystems as a tool in freshwater and marine research. *Arch. Hydrobiol. Suppl.* 70, 157-196.
- 3) Parsons, T. R. (1982) : The future of controlled ecosystem enclosure experiments. *In* : Marine Mesocosms. Biological and Chemical Research in Experimental Ecosystems., G. D. Grice and M. R. Reeve (eds.), Springer-Verlag, New York-Heidelberg-Berlin, 411-418.
- 4) Eppley, R. W., P. Koeller and G. T. Wallace Jr. (1978) : Stirring influences the phytoplankton species composition within enclosed columns of coastal sea. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 32, 219-239.
- 5) Sonntag, N. C. and T. R. Parsons (1979) : Mixing an enclosed, 1300m³ water column : effects on the planktonic food web. *J. Plankton Res.*, 1, 85-102.
- 6) Lack, T. J. and J. W. G. Lund (1974) : Observations and experiments on the phytoplankton of Blelham Tarn, English Lake District. I. The experimental tubes. *Freshwater Biol.*, 4, 399-415.
- 7) 国立公害研究所(1984) : 水界の隔離が生物及び水質に及ぼす影響, 霞ヶ浦高浜入における隔離水界を利用した富栄養化防止手法の実験研究. 国立公害研究所研究報告, 第52号, 3-43.
- 8) 安野正之・花里孝幸・岩熊敏夫・高村健二・上野隆平・高村典子 (1986) : 隔離水界によるペルメスリンの生態系影響実験. 国立公害研究所研究報告, 第99号, 119-132.
- 9) 安野正之・花里孝幸・宮下 衛 (1986) : 隔離水界によるクロロニトルフェン及びテメフォスの生態系影響実験. 国立公害研究所研究報告, 第99号, 107-118.
- 10) 花里孝幸・安野正之 (1984) : 霞ヶ浦における動物プランクトンの季節変動と生産 (1981-1982). 国立公害研究所研究報告, 第51号, 57-72.
- 11) 高村典子・岩熊敏夫・安野正之 (1984) : 霞ヶ浦の植物プランクトンの現存量と一次生産 (1981-1983) 及びラン藻の生産特性. 国立公害研究所研究報告, 第51号, 11-56.
- 12) 高橋正征 (1979) : 水質汚濁研究におけるマイクロコスムの利用. *水質汚濁研究*, 2, 12-19.
- 13) Perez, K. T., G. M. Morrison, N. F. Lackie, C. A. Oviatt, S. W. Nixon, B. A. Buckley and J. F. Heltsche (1977) : The importance of physical and biotic scaling to the experimental simulation of a coastal marine ecosystem. *Helgol. Wiss. Meeresunters.*, 30, 144-162.
- 14) Kajak, Z. and J. Rybak (1979) : The feeding of *Chaoborus flavicans* Meijen (Diptera, Chaobolidae) and its predation on lake zooplankton. *Int. Revue Ges. Hydrobiol.*, 64, 361-378.
- 15) Neill, W. M. (1981) : Impact of *Chaoborus* predation upon the structure and dynamics of a crustacean zooplankton community. *Oecologia*, 48, 164-177.
- 16) Hall, D. J., W. E. Cooper and E. E. Warner (1970) : An experimental approach to the production dynamics and structure of freshwater animal communities. *Limnol. Oceanogr.*, 15, 839-928.
- 17) Kajak, Z. (1972) : Analysis of the influence of fish on benthos by the method of enclosures. *In* : Productivity Problems of Freshwaters, Z. Kajak and A. Hillbricht-Ilkowska (eds.), Warszawa-Krakow, 781-793.



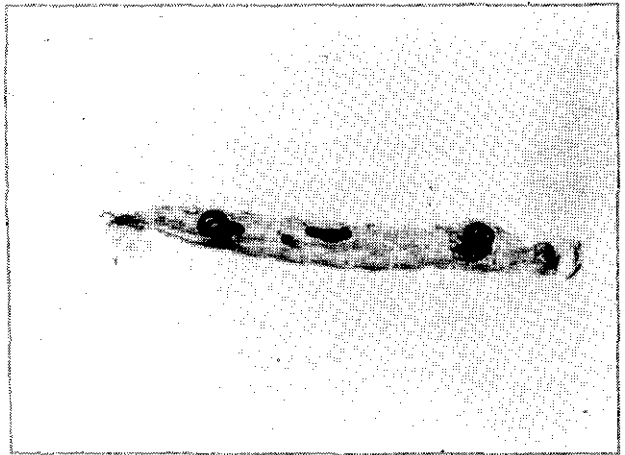
a: *Daphnia rosea* (枝角類)



b: *Acanthodiplomus pacificus* (橈脚類)



c: 橈脚類のノープリウス



d: フサカ幼虫 *Chaoborus* (昆虫類)

生態園実験池に出現する動物プランクトンとフサカ

隔離水界によるクロルニトロフェン及び テメフォスの生態系影響実験

安野正之¹・花里孝幸¹・宮下 衛¹

Effects of Chlornitrofen and Temephos on an Enclosure Ecosystem in a Pond

Masayuki YASUNO¹, Takayuki HANAZATO¹ and Mamoru MIYASHITA¹

Abstract

A herbicide, chlornitrofen was applied in enclosures placed in a pond and subsequent changes in the ecosystem in them were studied. For comparison, an organophosphorous insecticide, temephos was used also. The herbicide affected both phytoplankton and zooplankton at 0.2 ppm. Both the herbicide and insecticide caused the changes in the species composition of phytoplankton. However, no marked increase in the standing crop of phytoplankton could be found even in the enclosure where zooplankton decreased by temephos. The composition of zooplankton in the enclosures also changed after the treatments. Crustacean zooplankton which were susceptible to both chemicals decreased whereas rotifers increased. Zoobenthos were also damaged by the chemicals but a species of chironomids, *Procladius* sp. increased significantly in the enclosure treated with temephos.

要 旨

国立公害研究所内の実験池に設置した隔離水界に除草剤のクロルニトロフェン(0.2ppm, 1 ppm)と有機リン系殺虫剤のテメフォス(1 ppm)を投与し、生態系に与える影響を調べた。除草剤は0.2ppm濃度でも植物プランクトンと動物プランクトンの両者に影響を与えた。除草剤投与と殺虫剤投与のどちらも植物プランクトンの種組成の変化を引き起こしたが、動物プランクトンの現存量が減少した隔離水界においても植物プランクトンの現存量の著しい増加は見られなかった。動物プランクトンの種組成も薬の投与で変化した。すなわち、どちらの薬にも感受性の高い甲殻類動物プランクトンが減少し、逆にワムシ類が数を増した。底性動物も農薬投与で個体数が減少したものが多かったが、ユスリカの一、

1. 国立公害研究所 生物環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2

Environmental Biology Division, the National Institute for Environmental Studies. Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

Procladius sp. はテメフォス投与の隔離水界で有意に増加した。

1 はじめに

除草剤や殺虫剤は今や農業では必需品となっており、田や畑では頻繁に使われている。クロロニトロフェンはこの10数年日本の水田で広く使われている除草剤の一つである。この薬はほ乳動物や非標的生物には比較的安全であると考えられてきたが、水生生物生態系に対する影響はこれまで調べられていなかった。そこで本実験ではこの除草剤の生態系への影響を調べることを目的とした。また比較のために有機リン系殺虫剤のテメフォスも使用した。この殺虫剤はいろいろな水域で害虫を殺すのに用いられており、その生態系への影響は養鱉池において調べられている¹⁾。

2 方法

実験に際し、国立公害研究所の実験池に4基の隔離水界を設置した。隔離水界はステンレスの枠に円筒型の透明なポリエチレンフィルムを張ったもので、直径1 m、高さ5 mあり、枠ごと底泥に押し込み深さ3.8mの水柱と底泥を池から隔離して作られた(図1)。この際、池の水とともに池に生息する動植物プランクトンや底泥中の底生動物も隔離された。その実験では、植物プランクトンの沈降と底層での溶存酸素の低下を防ぐために、底層で曝気を行った。曝気はコンプレッサーを用い毎分1.2lの割合で空気を送り込んだ。そのため隔離水界内では水の循環が起これば表層の水温は池よりもやや低くなった。

1982年11月1日に実験を開始し、二つの隔離水界のそれぞれにクロロニトロフェンを水中の濃度が1 ppm, 0.2ppmになるように投与した(Encls. 1, 2)。また、残りの2基の隔離水界のうち一方にはテメフォスを1 ppmになるように投与し(Encl. 3)、もう一方は対照とした(Encl. 4)。

農薬の生物への影響は、植物プランクトン、動物プランクトン、バクテリア、底生動物について調べた。サンプリングは実験開始後最初の10日間は毎日、次の20日間は一日おきに、その後は一週間に一度行い、直径3 cm、長さ4 mのカラム採水器を用い、底層から表層までの水を柱状に採取した。その試水のうち100mlをルゴール液で固定し、植物プランクトンの計数用サンプルとし、残りはバクテリアの計数用、クロロフィル測定及び除草剤と殺虫剤の分析用に用いた。バクテリアの現存量の推定には寒天培地による希釈法を用い、クロロフィルa量はUNESCO/SCOR法²⁾に従って測定した。除草剤と殺虫剤の残留濃度の測定にはガスクロマトグラフィーを使用した。動物プランクトンは試水を各水界四本ずつ採水し、それぞれをNXX13のネットでろ過して集め、5%のホルマリンで固定後計数した。底生動物は実験終了時に、エクマンバージ採泥器を用い各水界と池の底泥を採取し、NGG54のネットで洗って集め、ホルマリン固定後分類、計数した。さらに水温、溶存酸素、pHはサンプリング時に測った。

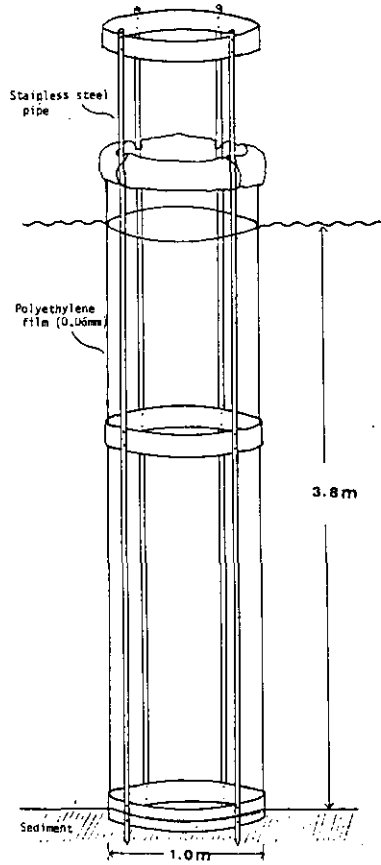


図1 隔離水界の構造

3 結果

3.1 環境要因

水温は11月にはおよそ15℃で大きな変動はなかったが、12月に入り6℃まで低下した。池では表層と底層の間では2～3℃の差があったが、隔離水界の中では曝気による水のかくはんのため水温差はなかった。底層の溶存酸素は池では7～10ppmであったが、隔離水界では曝気のため10～14ppmと高くなった。また、水温や溶存酸素には四つの隔離水界の間で差は認められなかった。pHは隔離水界の中で実験期間中およそ8で安定していた。水中の除草剤や殺虫剤は濃度が投与後指数関数的に減少し、実験開始後1か月で投与時の1/50から1/100になったが、2か月後の実験終了時にもまだ検出できる濃度で残存していた(図2)。

3.2 クロロフィル a

実験開始後直ぐに隔離水界間で透明度に明らかな違いが見られた。クロルニトロフェン 1 ppm

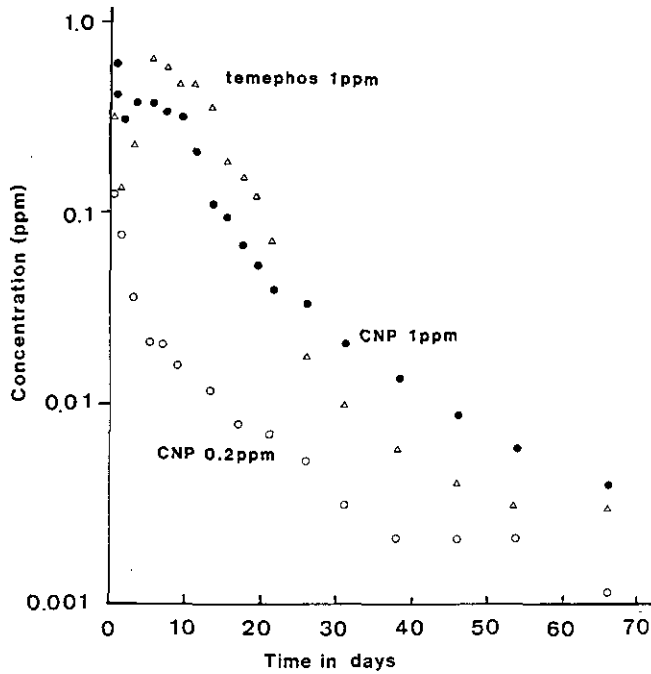


図2 隔離水界におけるクロルニトロフェンとテメフォスの濃度の変化

の隔離水界では透明度が上がったのに対し、テメフォス1 ppmではむしろ減少した。実験開始後1か月のクロルニトロフェン1 ppm, 0.2 ppm, テメフォス1 ppm, 対照の隔離水界でのセッキ板で測った透明度は、それぞれ3.5, 2.2, 2.3及び1.0 mであった。除草剤が直接植物プランクトン群集に影響を与えた結果と思われる。これはクロロフィルの結果からも伺われた(図3, 4, 5, 6)。クロロフィルa量はどの隔離水界でもいったん減少したが、最も大きな減少はクロルニトロフェン1 ppmで、次は同除草剤0.2 ppmで見られた。その後クロロフィルa量は増加したが、それはテメフォス1 ppmとクロルニトロフェン0.2 ppmで大きく、クロルニトロフェン1 ppmで小さかった。対照区のクロロフィルa量の変化は池と似たパターンを示し、11月に一度増加した後12月に減少した。

3.3 植物プランクトン

実験開始時に優占していた植物プランクトンは *Cryptomonas* と *Ochromonas* で、これらは2週間後には薬を投与した隔離水界では減少または消滅した(表1)。クロルニトロフェン1 ppmではその2種に入れ替わってラン藻類の一種が優占した。クロルニトロフェン0.2 ppmでもその種が出現したが、*Cryptomonas* と *Ochromonas* も共存していた。テメフォス投与の隔離水界では、*Nitzschia*, *Dactylococcopsis* や *Coccolidal Chlorophyceae* の種が優占種となり、*Cryptomonas* の現存量は減

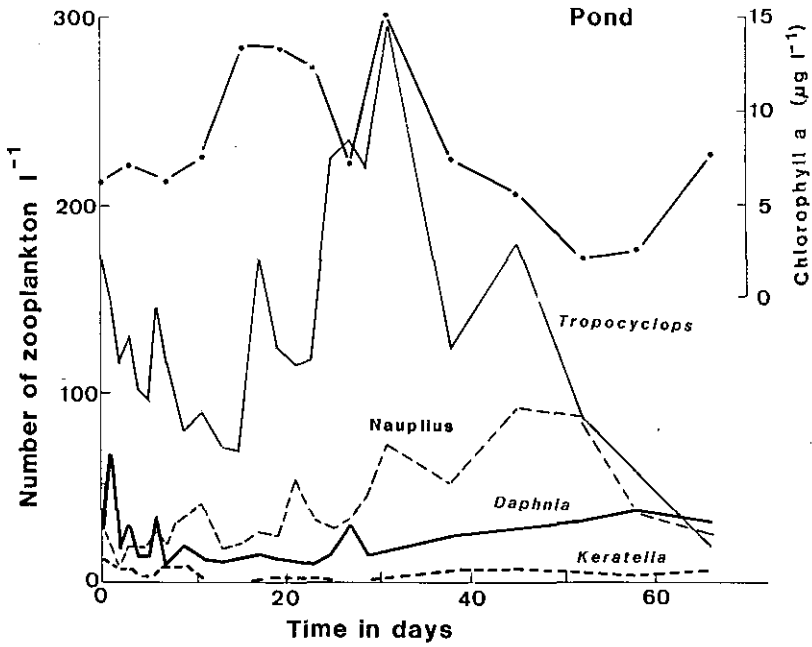


図3 池におけるクロロフィルa量と動物プランクトンの個体数の変動

太い実線—*Daphnia*；細い実線—*Tropocyclops*；太い破線—*Keratella*；細い破線—*Nauplius*；
点線—*Synchaeta*

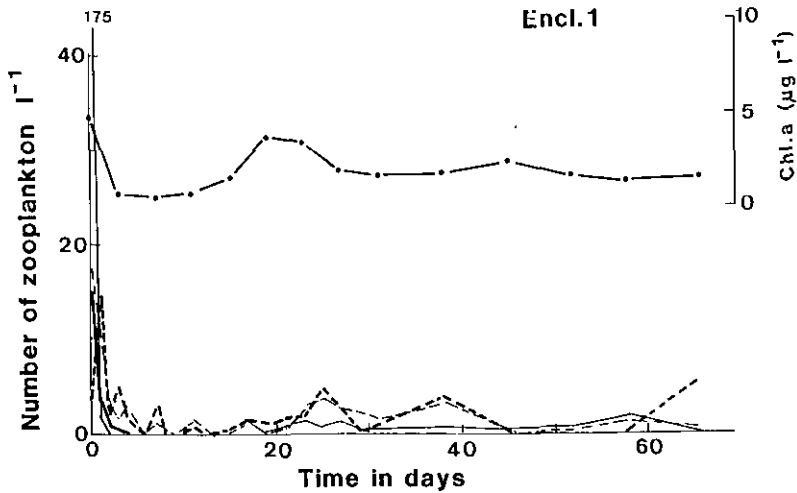


図4 Encl. 1におけるクロロフィルa量と動物プランクトンの個体数の変動

記号は図3と同じ

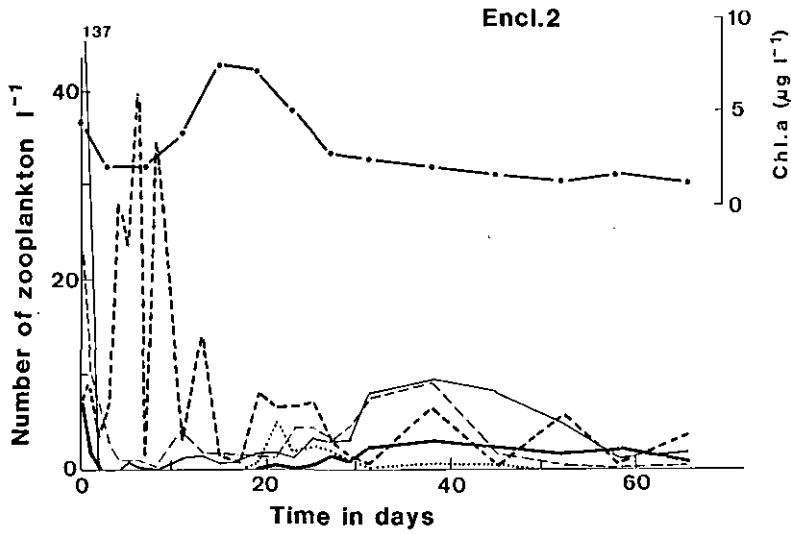


図5 Encl. 2におけるクロロフィル *a* 量と動物プランクトンの個体数の変動
記号は図3と同じ

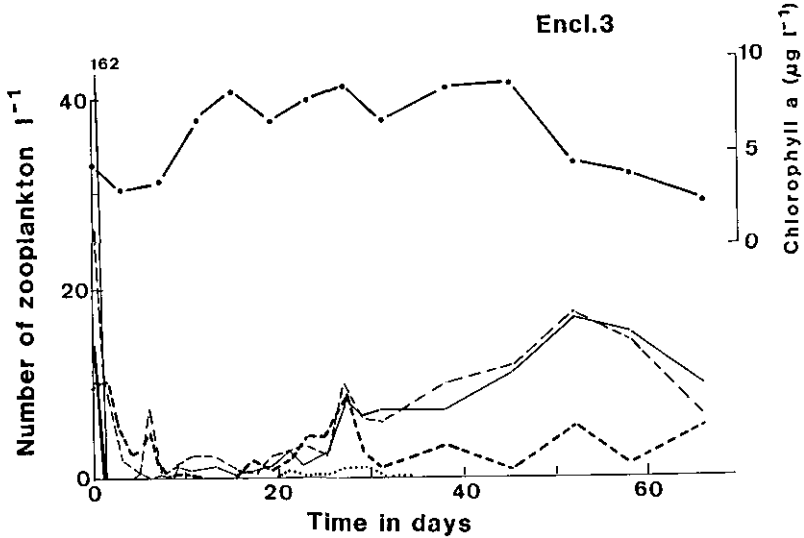


図6 Encl. 3におけるクロロフィル *a* 量と動物プランクトンの個体数の変動
記号は図3と同じ

少した。このうち *Dactylococopsis* は11月30日には1 ml 当たり1,230個体が増えたが、その後減少し優占しなくなり、その替わり *Nitzschia* が11月16, 30日にそれぞれ1 ml 当たり830, 1,520個体が増加した。これらの結果は除草剤が一部の藻類には抑制的に働くが、別の藻類には抑制的に

表1 隔離水界と池における植物プランクトン組成の変化

		Pond	Encl. 1	ENCL. 2	ENCL. 3
Cryptomonas	1 Nov.	**	**	**	**
	16	*		**	*
	30	**			*
	16 Dec.	*		*	*
	29	*			
Ochromonas	1 Nov.	**	**	**	**
	16	**	*	**	
	30	**		*	*
	16 Dec.	*		*	*
	29	*	*	**	
Chlamydomonas	1 Nov.				
	16			*	*
	30	*		*	*
	16 Dec.	*			*
	29	*		*	
Cryptophyceae	1 Nov.				
	16				
	30				
	16 Dec.				
	29	**			
Cyanophyceae	1 Nov.				
	16		**	**	
	30		**	**	
	16 Dec.		** *	**	
	29		**	**	
Synedra	1 Nov.				
	16				
	30		*		**
	16 Dec.		*	*	*
	29		*		*
Nitzschia	1 Nov.				
	16				*
	30				**
	16 Dec.				** *
	29				** *
Dactylo- coccopsis	1 Nov.				
	16				*
	30				** *
	16 Dec.				*
	29				*
Coccoidal Chlorophyceae	1 Nov.				
	16				
	30				**
	16 Dec.				**
	29				*
Chlorella	1 Nov.				
	16				
	30				
	16 Dec.				**
	29				**

働かないことを示している。またテメフォスの場合は、動物プランクトンを消滅させ、その結果2次的に植物プランクトン組成に影響を与えたものと思われる。

3.4 バクテリア

バクテリアの数は、クロロニトロフェン 1 ppm とテメフォス 1 ppm の隔離水界で薬の投与後およそ10倍に増加した(図7)。これはおそらく薬の溶剤や乳剤がバクテリアの炭素源となったためと思われる。しかしクロロニトロフェン0.2ppm ではバクテリアの増加は見られなかったが、これは有機炭素がバクテリアの増加に十分ではなかったためであろう。

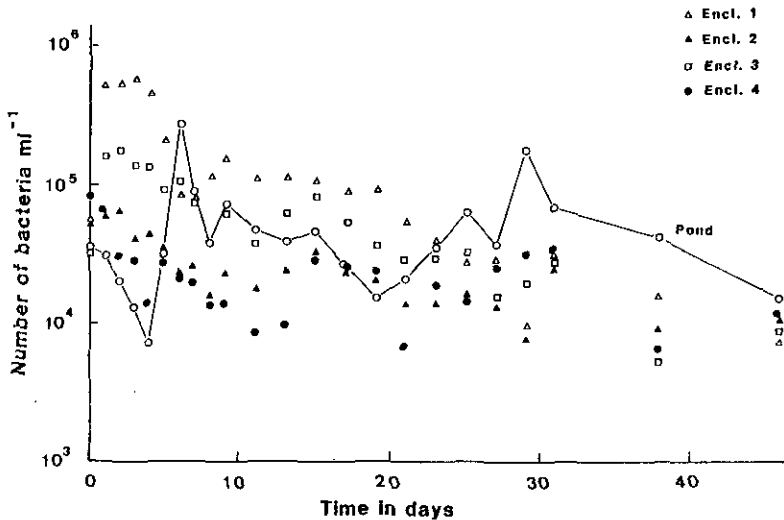


図7 隔離水界と池におけるバクテリア個体数の変動

3.5 動物プランクトン

実験池では甲かく類動物プランクトンが優占していた(図3)。隔離水界での農薬の投与前の *Daphnia pulex* の密度は、Encl. 4 の17.0 l^{-1} から Encl. 1 の36.5 l^{-1} の範囲にあり、*Tropocyclops prasinus* は Encl. 4 の322.2 l^{-1} から Encl. 1 の433.8 l^{-1} の範囲にあった。これら甲かく類動物プランクトンは薬を投与した隔離水界ではどこでも投与後すぐに死滅した(図4, 5, 6)。*D. pulex* はクロロニトロフェン0.2ppm では実験開始後20日目に再び出現したが、他の薬を投与した隔離水界では実験終了時まで回復しなかった。一方、*Tropocyclops* はどの隔離水界でも比較的早く回復したが、個体数は初期密度には達しなかった。例えば Encl. 3 では1 l 当たり162個体あった密度が死滅後約10日目に回復し始めたが、その後最大1 l 当たり18個体にまでしか増えなかった。Encl. 1 では薬の投与後、動物プランクトンは極わずかに出現しただけで60日目まで回復はみられなかった。Encl. 2 では薬投与で甲かく類動物プランクトンが減少した後、ワムシの *Keratella* の増加がみられた。その後甲かく類動物プランクトンが回復してきた20日目頃に、*Keratella* の個体数は減少した。この隔離水界では、*Keratella* の他にもワムシの *Synchaeta* が *Daphnia* の回復する直前に増加した。

3.6 底生動物

実験池に比較的多く生息する底生動物は、数種のユスリカ幼虫とヌカカ幼虫の一種であり、貧毛類は少なかった。また実験池に多いフサカ幼虫も底生動物のサンプルに入るが除外した。この時期最も優占していた種類は *Chironomus plumosus* と *Tokunagayusurika akamusi* で、それらの個体数密度はどちらも400個体・m⁻²を超えた。

隔離水界における除草剤の投与はこのユスリカ群集を破壊した(図8)。クロルニトロフェン1ppmでは最も優占していた2種はほとんどいなくなり、3番目の優占種 *Clinotanypus* sp.は全くみられなくなった。興味深いのは *Procladius* sp., *Tanytarsus* sp.とヌカカの一様で、除草剤投与後の個体数の減少はみられず、除草剤の影響は受けなかったように思われた。クロルニトロフェン0.2ppmでは優占種の個体数は減少したが、この種類も少数の個体は生存していた。テメフォスを投与した Encl. 3では全く異なった底生動物群集に変わった。ここではほとんどのユスリカ類とヌカカが減少又は消滅し、反対に *Procladius* sp.が増加した。この属の中の種はこの殺虫剤に対する感受性が低いことが知られているが^{11,12}、Encl. 3での個体数の増加は、殺虫剤により他の種との競争が取り除かれた結果であると思われた。

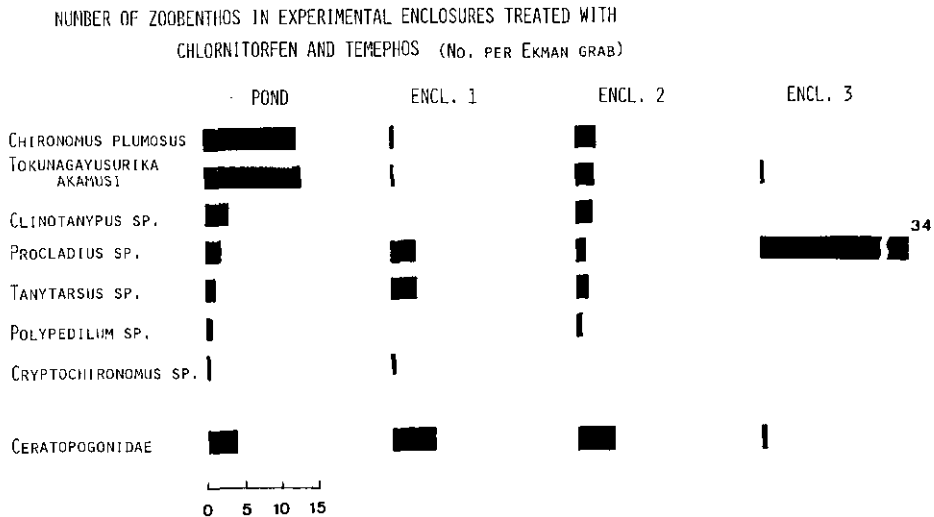


図8 隔離水界と池における底生動物の個体数、数は採泥器当たりの個体数

4 考察

除草剤や殺虫剤などの生態系に対する影響を調べるのに、Brooker & Edwards¹³は池に除草剤が散布されるときに観察した。しかし、自然の生態系でこのような仕事をするには利用できる池などの制限からむずかしい。そこでいろいろなモデル生態系がつくられてきた。隔離水界は動物プランクトン群集の研究に多く使われている⁶⁻⁹。使われている隔離水界の大きさは様々で、本

実験で用いられた隔離水界はそれらと比べると中型のものである。本実験では実験終了時まで対照の Encl. 4 と池との間で生物群集に大きな差がみられなかったので、実験期間中の2か月間はこの隔離水界で池の生態系を維持することができたものと思われる。

この実験に使われた池には魚がおらず、動物プランクトンの捕食者として重要なものはフサカ幼虫だけであった。しかしこのフサカ幼虫も、本実験期間中は冬期で水温が低く活動がかなり抑えられていたので、動物プランクトンに対する捕食圧は非常に小さかったものと思われる。

除草剤のクロルニトロフェン 1 ppm は動植物プランクトン群集さらには底生動物群集にまでかなり大きなダメージを与えた。しかしながら植物プランクトンのラン藻の一種や底生動物の *Procladius* sp. や *Tanytarsus* sp., ヌカカ的一种はこの薬に対して耐性を持っており、種によって薬に対する耐性が異なることがわかった。これに種間の競争が相まって、テメフォス投与の隔離水界の底生動物群集のように、薬の投与により全く異なった群集ができあがることは興味深い。

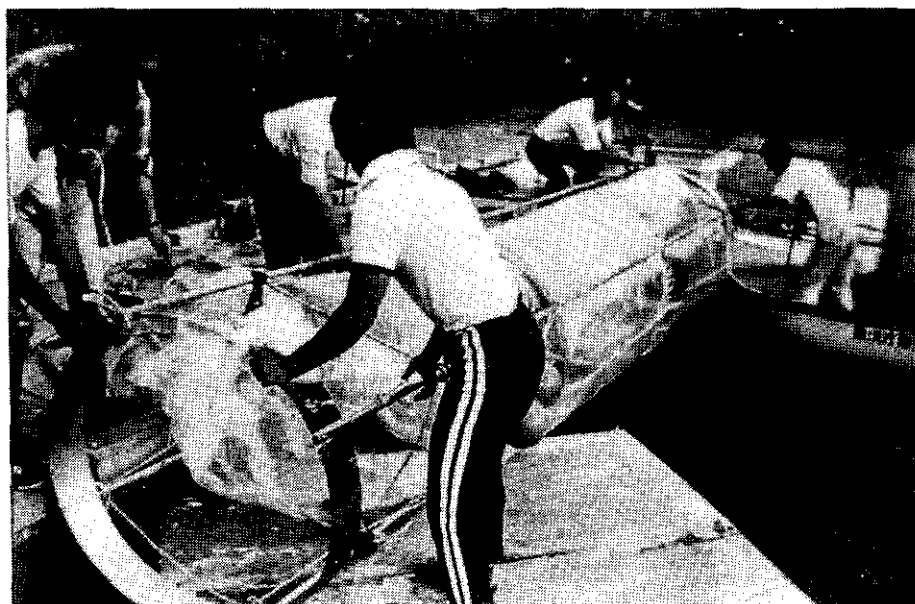
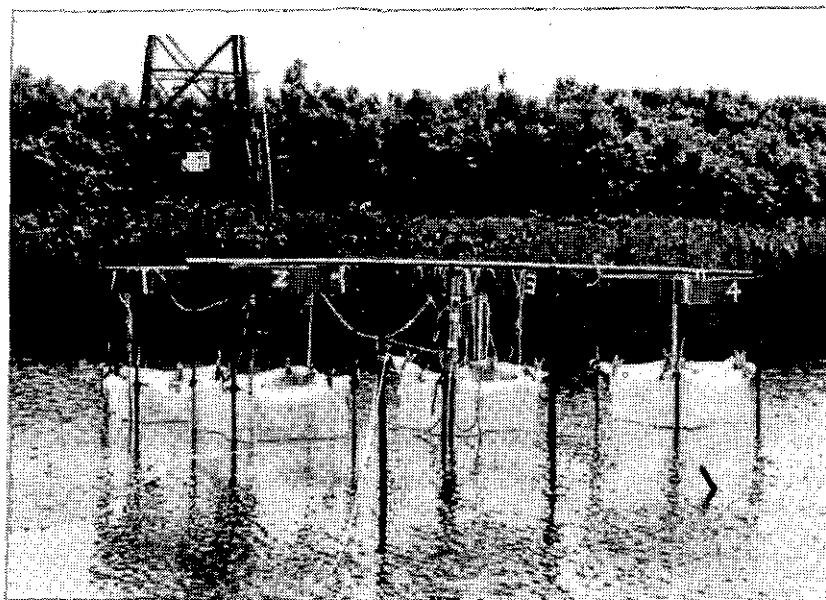
動物プランクトン群集はクロルニトロフェン 1 ppm では実験終了時までほとんど回復しなかった。これはクロルニトロフェンの分解が遅く、動物プランクトン個体群の増加を抑えるに十分な除草剤がまだ残存していたためと思われる。投与した薬の水界中での減少速度はクロルニトロフェン 1 ppm がテメフォス 1 ppm よりわずかに小さいがよく似ている(図2)。ところがテメフォスを投与した隔離水界(Encl. 3)では動物プランクトン群集の回復がみられた。殺虫剤のテメフォスよりも除草剤のクロルニトロフェンの方が動物プランクトンに対し毒性が強かったように思われる。さらに、クロルニトロフェンが直接藻類にも影響して、藻類量が減少したことも Encl. 1 での動物プランクトンの回復を遅らせた要因であろう。すなわち、ここではクロルニトロフェンが直接、間接に動物プランクトンの増殖を抑えたことになる。

クロルニトロフェン 0.2 ppm の隔離水界では、薬を投与した後、甲かく類動物プランクトンの減少したときに顕著なワムシの増加がみられた。これは甲かく類動物プランクトンとワムシ類の間で除草剤に対する感受性に違いがあったものと考えられるが、さらに両者の間に強い競争関係があり、優位の競争者である甲かく類動物プランクトンが除草剤によって減少したためにワムシが薬の投与前よりも増えたのであろう。これと似た現象は殺虫剤を投与した場合にも観察されている^{110,111}。このことは、動物プランクトンの群集構造の決定には、種間競争が重要な働きをしていることを示している。このように生態系における農薬の投与実験は、その生態系での種間相互作用を知る上でも有効な手段となる。

引用文献

- 1) Yasuno, M., J. Hasegawa, T. Iwakuma, N. Imamura and Y. Sugaya (1982) : Effects of temephos on chironomid and plankton populations in eel culture ponds. *Jpn. J. Sanit. Zool.*, 33, 207-212.
- 2) UNESCO/SCOR (1966) : Determination of Photosynthetic Pigments in Seawater. UNESCO, Paris, 69p.

- 3) 佐藤英毅・安野正之 (1979) : 数種ユスリカの殺虫剤感受性試験. 衛生動物, 30, 361-366.
- 4) Brooder, M. P. and R. W. Edwards (1974) : Effects of the herbicide paraquat on the ecology of a reservoir. III Fauna and general discussion. Freshwater Biol., 4, 311-355.
- 5) DeCosta, J., A. Janicki, G. Shellito and G. Wilcox (1983) : The effect of phosphorus additions in enclosures on the phytoplankton and zooplankton of an acid lake. Oikos, 40, 283-294.
- 6) Kerfoot, W. C. and W. R. DeMott (1980) : Foundations for evaluating community interactions : the use of enclosures to investigate coexistence of *Daphnia* and *Bosmina*. In : Kerfoot, W. C. (ed.), Evolution and Ecology of Zooplankton Communities, Univ. Press of New England.
- 7) Neill, W. E. and A. Peacock (1980) : Breaking the bottleneck : interactions of invertebrate predators and nutrients in oligotrophic lakes. In : Kerfoot, W. C. (ed.), Evolution and Ecology of Zooplankton Communities, Univ. Press of New England.
- 8) McCauley, E. and F. Briand (1979) : Zooplankton grazing and phytoplankton species richness : field tests of the predation hypothesis. Limnol. Oceanogr., 22, 243-252.
- 9) Smyly, W. J. P. (1976) : Some effects of enclosure on the zooplankton in a small lake. Freshwat. Biol., 6, 241-251.
- 10) Hurlbert, S. H., M. S. Mulla and H. R. Willson (1972) : Effects of an organo-phosphorus insecticide on the phytoplankton, zooplankton and insect populations of fresh water ponds. Ecol. Monogr., 42, 269-299.
- 11) Kaushik, N. K., G. L. Stephenson, K. R. Solomon and K. E. Day (1985) : Impact of permethrin on zooplankton communities in limnocorrals. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 42, 77-85.



実験池に設置した隔離水界(上)と設置風景(下)

隔離水界によるペルメスリンの生態系影響実験

安野正之¹・花里孝幸¹・岩熊敏夫¹
高村健二¹・上野隆平¹・高村典子¹

Effects of Permethrin on an Enclosure Ecosystem in a Pond

Masayuki YASUNO¹, Takayuki HANAZATO¹, Toshio IWAKUMA¹
Kenji TAKAMURA¹, Ryuhei UENO¹ and Noriko TAKAMURA¹

Abstract

Permethrin was applied into enclosures (1 m diameter and 3.5m deep) placed in a pond. The chemical disappeared from both water and sediment within a few days when applied at a dosage of 1.5ppb. However, *Daphnia rosea* and its predator, *Chaoborus flavicans* were seriously affected with this chemical and disappeared from the enclosure. *Acanthodiaptomus* increased in accordance with the decrease of *Chaoborus*, probably because of the absence of the predator. Two species of Cladocera which had not observed before the treatment in the pond established their populations after 10days when *Chaoborus* had not recovered. They might be suppressed by the populations of *Daphnia* and also *Chaoborus*. *Tropocyclops* declined its density when permethrin was applied at 10ppb. The increase in the number of rotifers occurred with this dosage, suggesting the close relationship between *Tropocyclops* and rotifers. The former seemed to be dominating over the latter in a normal condition. The algal abundance did not change with permethrin. The photosynthesis was not affected with 10ppb of the chemical. However, the species composition of algae differed between the treated and control enclosure.

要 旨

国立公害研究所内に設置した円筒型隔離水界(直径1 m, 深さ3.5m), に0.75ppbと1.5 ppbの濃度でペルメスリンを投与した。どちらも水中から数日のうちに消失するが、動物プランクトンに対してかなり影響を与えた。特に動物プランクトンの捕食者であるフサカとその被捕食者であるミジンコは1.5ppbではほぼ消滅する。しかしヤマトヒゲナガケンミジ

-
1. 国立公害研究所 生物環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Environmental Biology Division, the National Institute for Environmental Studies. Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

ンコのように逆に増加する種もある。10ppb で処理すると1.5ppb では減少しなかった *Tropocyclops* が影響を受けるが、このときにはワムシ類の増加が認められる。殺虫剤処理によって期待とはむしろ逆の増加は、それらの耐性や回復能力の大きさとともに、生物相互の関係によって生物群集構造が決定されていることを示唆するものである。一次生産者の藻類の現存量、またその光合成活性は10ppb でも影響を受けなかった。

1 はじめに

有害汚染物質の生態系に対する影響の研究は、自然の生態系を実験の場を使うことが限定されることから、コンクリートの野外水槽を使ったり¹⁾、池などに実際に薬剤が散布されるときに観察を行ったりしてきた^{2,3)}。もう一つの研究方法として水界の一部を囲って実験の場とする行き方がある。このような隔離水界に実際に重金属を投入し、生態系への影響の研究が行われた^{4,5)}。農薬等の生態系影響実験は限られていて、むしろそれら農薬の環境中での挙動が主問題であった⁶⁾。したがってこれまでの研究ではもっと扱いの容易なガラス瓶かガラス水槽で実験が行われ、隔離水界を用いるような実験は行われなかった。

ペルメスリンは合成ピレスロイドで、cis-と trans-の両者の混合物でハツカネズミに対する急性毒性は410mg/kg であるが、魚に対する毒性が高いことから農薬としては限られた場でしか用いられていない。しかし合成ピレスロイドの中で殺虫効果が高いことと、残効性の高いことから今後更に広く使用されると思われる。このことから本実験においてはペルメスリンの水界生態系への影響実験を隔離水界を用いて行った。

2 方法

実験は国立公害研究所内の実験池内に設置した前報と同じ構造の隔離水界⁷⁾を3基を用いた。すなわち直径1 m、深さ3.8mの円筒状で、底泥も一緒に外の水界から隔離してある(図1)。隔離には0.06mmの厚さのポリエチレンのフィルムを円筒型にしたものをステンレスの枠に付けて用いている。前報では通気を行ったが、本実験では行っていない。ペルメスリンの処理は第1回は1984年7月9日0.75ppb、1.5ppbの2段階で、残りの1基を対照とした。また隔離水界を設置した池も比較対照とした。第2回目の処理はペルメスリンの濃度を上げて7月23日に行った。すなわち0.75ppb処理を行った水界に10ppbのペルメスリンを注入した。1.5ppb処理水界は同じく1.5ppbで処理を行った。

動植物プランクトンのサンプリングは2日ないし3日ごとに、直径3 cmのチューブサンプラーで底泥直上までの水を採取し、前者はNXXX25のプランクトンネットでこして集め、後者は採水した後よく混ぜて100mlを瓶に取り標本とした。前者は各水界から4サンプルずつ取ってホルマリンで固定し、後者は1サンプルずつ取って沃度カリ溶液で固定した。植物プランクトンの生物量はクロロフィルa量を測定することによって、また光合成活性は¹⁴C法により実験室条件下で決定した。同じく呼吸量は酸素ビンを暗所に置いた後測定した。環境要因として水温、pH、溶存酸

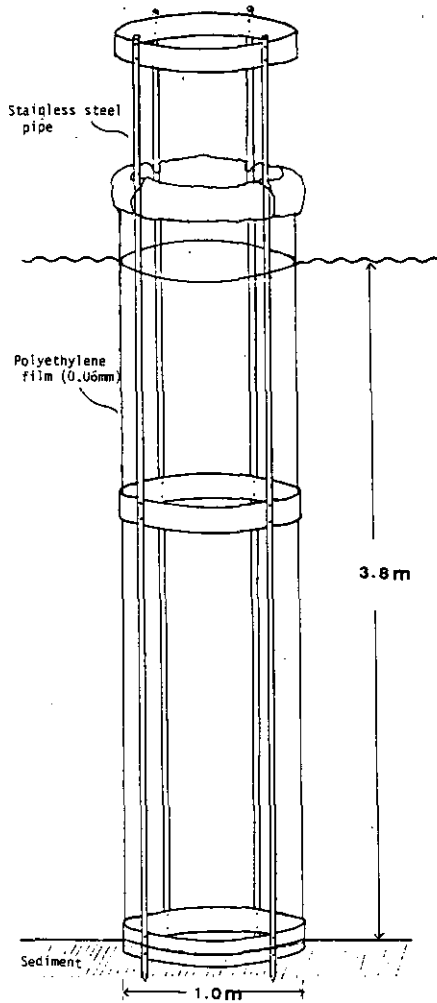


図1 隔離水界の概形

素は電極(Hydrolab)によって測定し、水中照度は水中光量子計(Biospherical QSP 200及びQSP 170)によって測定した。

沈殿量は直径7.5cmのガラス瓶を隔離水界の中央の下部につるし、2日ないし3日の間隔で採取し、乾燥重量を測った。

ペルメスリンの動植物プランクトンに対する直接の影響は実験室で予備的に行われ、フサカに対しては $24\text{h} \cdot \text{LC}_{50}$ は0.1ppb以下であること、一方植物プランクトンに対しては10ppbでも光合成活性に影響がないことが確認された。残留農薬は水についてはヘキサンで抽出後、カラムクロマトグラフィーで精製しガスクロマトグラフィーで定量した。底質については表層2 cmの泥からアセトンで抽出後、同様の操作によりヘキサン転溶後定量した。

3 結果

3.1 ベルメスリンの残留性

今回の分析では検出限界があまり低くないことから、第1回の処理の次の日に0.75ppb 処理水界からは0.04ppb、1.5ppb 処理水界から0.28ppb が検出されたが、5日目にはどちらからも検出できなかった。また底泥中からも検出されなかった。第2回目の処理後3日目のサンプルでは、10ppb 処理水界の水及び底質の両者からかなり検出された(表1)。いずれにせよ、この殺虫剤はプランクトンの現存量の多い池においては吸着沈降し、比較的早く分解消失するものと思われる。

表1 隔離水界に投与したベルメスリンの濃度とその残留性

Application :			Residue :	
#1 (9 July)			Next day	5th day
Encl. 4	0.75 ppb	into bottom	0.04 ppb	N. D.
Encl. 5	1.5 ppb	"	0.28	N. D.
Encl. 1	0			
#2 (23 July)				3rd day
Encl. 4	10.0 ppb	to surface	1.68 ppb	in water
Encl. 5	1.5 ppb	"	6 ppb	in sediment
Encl. 1	0			

3.2 環境要因の変動

実験は7月11日から8月13日まで行っており、その間に水温はかなり上昇した。特に実験をはじめた後の10日間に急上昇し30℃近くなった。水温の鉛直分布は7月11日にはほぼ同じであるが、8月には2.5m 付近から下方にかけてやや低くなる傾向がみられた。隔離水界内と池とでほとんど差が見られなかった(図2)。溶存酸素は7月においても下層部で少なくなっていたが、8月には池では無酸素になったにもかかわらず、隔離水界ではそれほど減少しなかった。このことは恐らく一次生産の差のためと思われる。両者で透明度に大きな違いが認められた(図3)。

3.3 動物プランクトン

3.3.1 フサカ

死亡したフサカは水面に浮くので薬剤投入後毎日拾い上げて計数した。第1回目の処理では0.75ppb の処理区の水界4では4,500個体、1.5ppb 処理区で9,460個体が回収された。これらはほとんど成熟幼虫で、m²当たりになると約12,000個体のフサカが生息していたことがわかった。動物プランクトンの鉛直引で得られた数から推定すると、処理前どちらの隔離水界も、また池も m²当たり約7,000であった。プランクトンネットの採集効率を考慮するとベルメスリンによる全数回収に

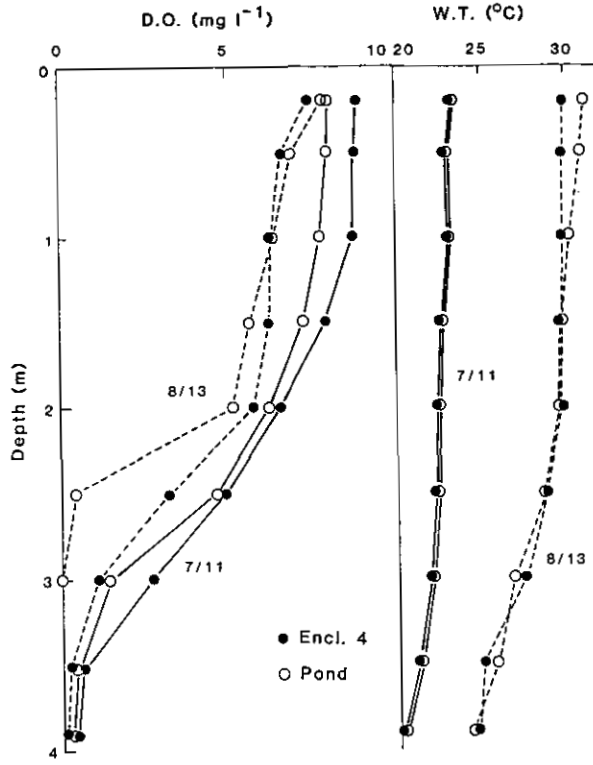


図2 隔離水界内及び外(池)の溶存酸素、水温の鉛直分布

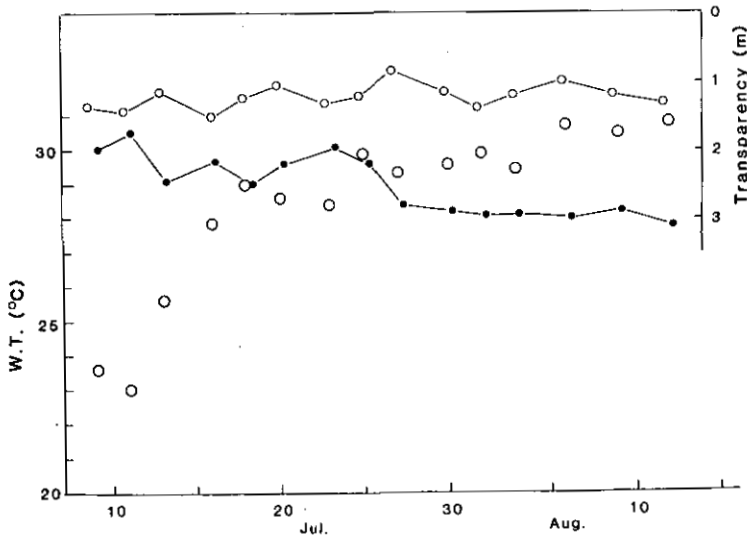


図3 実験期間の水温(白丸, 大)及び透明度
池(白丸, 小), 隔離水界1(黒丸)。

よって得られた数値は妥当なものと思われる。1.5ppbのペルメスリンはフサカをほとんど全滅させたが、0.75ppbではかなりの数が生き残った。そのことから7月23日に第2回目の処理を行った。回収個体数は10ppb(前回0.75ppb)処理で約6,600匹、1.5ppb処理で1,500匹であった。10ppb処理水界では8月6日までフサカは生息せず、8月9日に新たに産みつけられた卵からと思われる小さな個体が認められるようになった。1.5ppb処理水界ではやや生残した個体があった。図4はチューブサンプラーで採れたフサカの個体数を示している。対照の水界1と池は変動が大きいのが2から5の間にあったが、処理水界では低密度に抑えていた。しかし第1回目の処理では少数個体が見られ、第2回目の処理で約10日間非常に低密度に抑えられることができた。

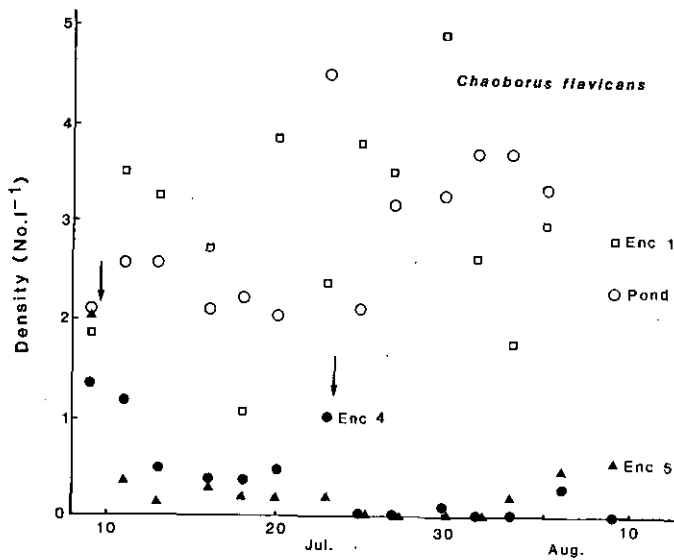


図4 フサカの個体数の変動

矢印はペルメスリン処理を示す。白抜き印は対照。

3.3.2 枝角類

この池のミジンコは *Daphnia rosea* が優占し動物プランクトン全体の中でも主要な地位を占めていた。ペルメスリン1.5ppbはこのミジンコをほぼ消滅させたが、0.75ppbでは10日目近くにはかなり回復した(図5)。第2回目の処理で10ppbでは実験終了時まで回復が見られなかったが、1.5ppbではわずかながら回復が認められた。またこの処理水界では、それまで見られなかった *Chydorus sphaericus* と *Moina micrura* の2種がかなり高密度で出現するようになった。対照の水界1や池では見られていない。両種の出現は捕食者のフサカの密度の抑制と生態的地位の近い *Daphnia rosea* の回復が遅れていたことが原因していよう。

3.3.3 かいあし類

ヤマトヒゲナガケンミジンコ (*Acanthodiptomus pacificus*) の場合は *Daphnia* と違ってペル

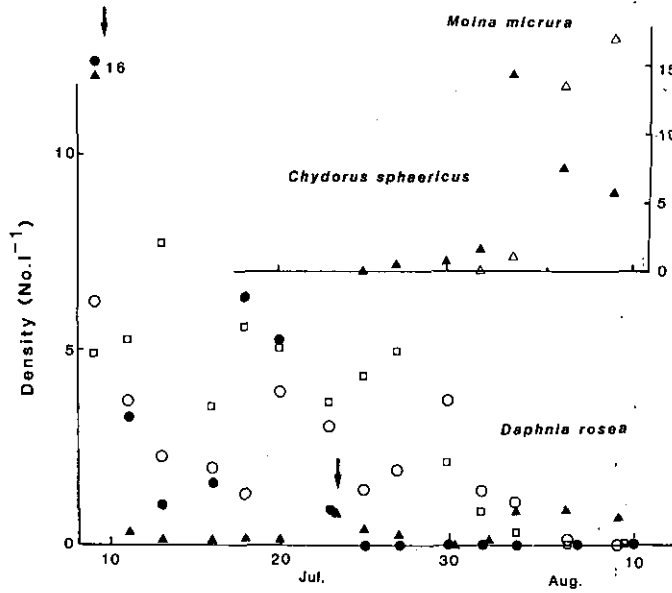


図5 ミジンコ類の数の変動

白抜き三角は水界5における *Moina micrura*。その他の印は図4と同じ。

メスリン処理で逆に増加した(図6)。対照の水界1や池では比較的低い密度のままであったが、第1回目の処理では0.75ppbではより早く、また1.5ppbでもやや遅れて密度が上昇した。第2回目の10ppbの濃度では死滅したようであるが、1.5ppbではまた増加する傾向が認められ、明らかに対照とは差があることが示された。これは殺虫剤がこのプランクトンにとって直接プラスの効

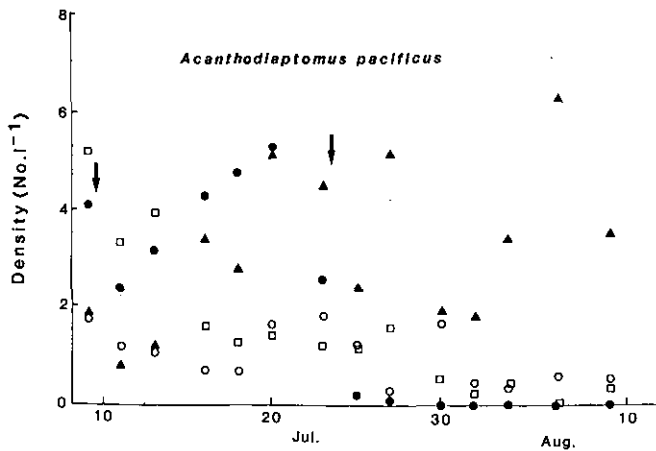


図6 ヤマトヒゲナガケンミジンコの数の変動

処理区で増加する。図中の印は図4と同じ。

果があったということではなく(直接的にはむしろマイナスである), 捕食者であるフサカを制御したことから間接的な結果として殺虫剤が有利に働いたと考えることができる。

Tropocyclops prasinus もこの実験池の主要な動物プランクトンであるが, 第1回目のベルメスリン投与によって0.75ppbでは対照よりむしろ高い密度に, 1.5ppb 処理水界は対照とほぼ同じ密度に保たれた(図7)。卵のうを持つ個体はベルメスリン投与の両方の水界の方が対照よりも高いことが認められるが(図7), 恐らくフサカの影響が除かれたためと考えられる。第2回目の投与により個体数は減少し, 対照, 特に水界1よりはるかに低い密度になった。卵のうを持つ個体は10ppb 処理水界でなく1.5ppb 処理水界で減少したがその原因は説明できない。

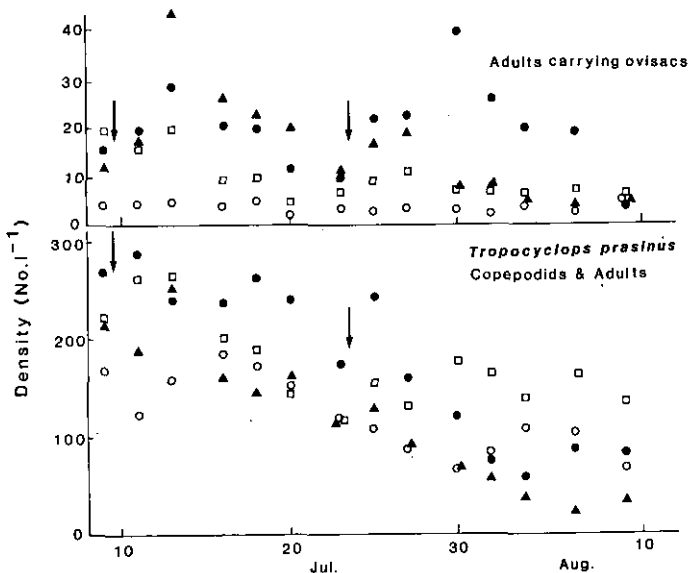


図7 *Tropocyclops prasinus* の変動
図中の印は図4と同じ。

3.3.4 ワムシ類

ワムシはこの実験池で優占することがほとんどない。第1回の処理では密度はほとんど変化しない。図8は *Keratella valga* と *Hexarthra mira* の2種の変動を示す。どちらも8月に入ると対照で密度が増加するが, 前者は1.5ppb 処理水界で対照より高い密度に達した。後者は処理水界ではほとんど増加しなかった。ベルメスリンがワムシに直接影響を与えているかどうか結論できないが, ここに示した2種の間で違う制御因子が働いていることが考えられる。

3.4 植物プランクトン

3.4.1 *Ceratium hirundinella*

この種は大型のべん毛藻で動物プランクトンのサンプル中で計数した。図9に示すようにペル

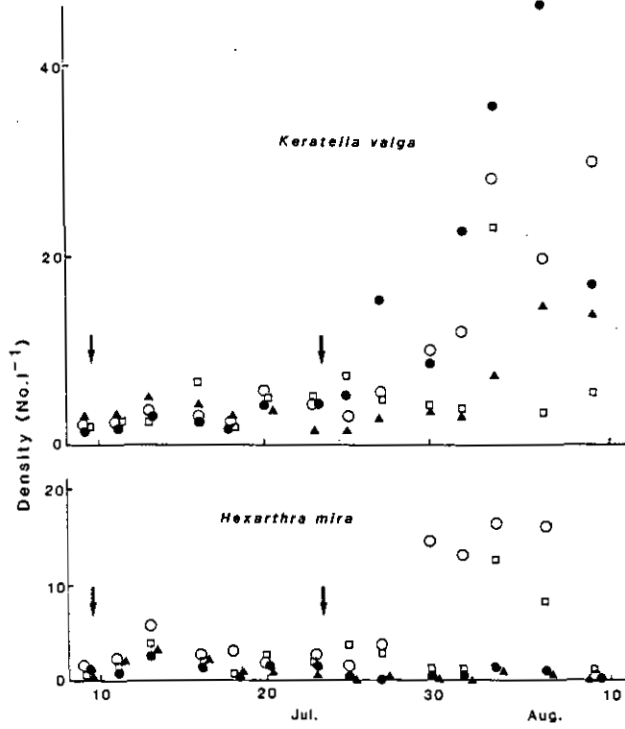


図8 ワムシの2種の数の変動
図中の印は図4と同じ。

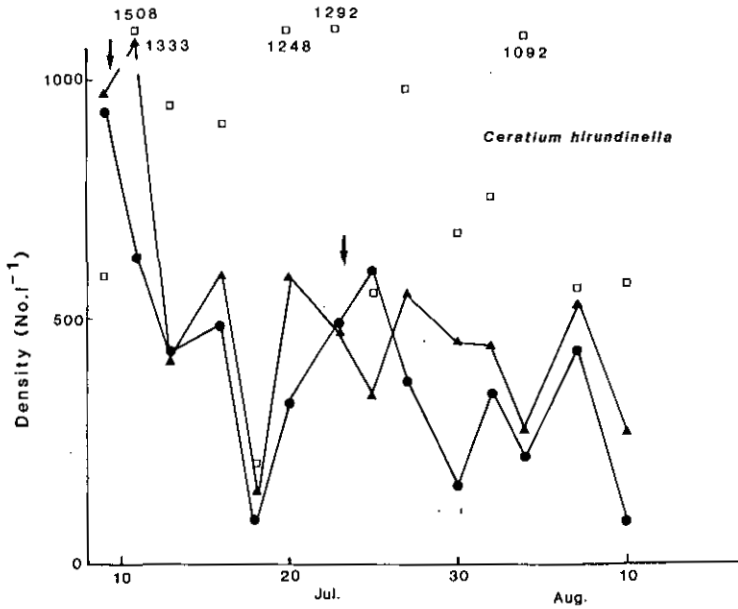


図9 *Ceratium hirundinella* の変動
図中の印は図4と同じ。

メスリンの処理水界では減少が見られること、二つの水界で同じような変動をすることが認められる。対照水界における密度もかなり変動するので結論することは難しいが、ペルメスリンの影響を直接受けている可能性がある。

3.4.2 種組成

おおよそ30種の植物プランクトンが出現していた。密度にして500細胞/mlのプランクトンを優占種とすると、それらは3種程にしぼることができる。表2はその優占種の変遷を示している。実験開始後しばらく対照とペルメスリン処理水界にあまり違いがみられない。*Oöcystis borgei*, *Crucigenia lauterbornii*, *Dinobryon divergens* が優占種であった。第2回の処理後対照の池と水界1では優占種が入れ換わったにもかかわらず、薬剤処理水界では優占種の入れ換えが起こらずそのままであった。7月30日は両処理区とも植物プランクトンの密度が低下し優占種が決定できなかった。対照水界での優占種の交代は水温の上昇、*Tropocyclops* の減少、ワムシの増加などに結びつけることができるかもしれない。しかし処理水界でも同じことが生起しているので、そこで優占種の交代が起きなかったことの説明ができない。

表2 池及び隔離水界中の植物プランクトンの優占種の遷移

	July	9	13	20	25	30
Pond		O	D	D	M	Dict
		M	T	T	S	
		C			N	
Enc. 1		C	C	D	T	T
		O	D		M	M S
Enc. 4		O↓	C	D↓	D	—
			D			
			O			
Enc. 5		O	C	D	D	—
		C	D			

O: *Oöcystis borgei*, M: *Monas*, C: *Crucigenia lauterbornii*, D: *Dinobryon divergens*,
 T: *Tracheromonas* spp., S: *Scenedesmus* spp.,
 N: *Nitzschia* spp., Dict: *Dictyosphaerium pulchellum*.

3.4.3 現存量と光合成活性

植物プランクトン現存量はクロロフィル量で測ったが実験期間を通じてあまり大きく変わることはなかった。対照の池は隔離水界よりもやや高い値を示す傾向にあった(図10)。隔離水界では対照と処理水界で差がみられず、動物プランクトンは殺虫剤で減少したとはいえ、代替の種類の出現などがあって必ずしも植物プランクトンに有利に働いたわけではないので当然の結果と思われる。

る。光合成活性は全体として水温の上昇した7月後半に減少する傾向がみられたが、ベルメスリンの影響であると示唆する変化は認めることができない(図11)。呼吸は第1回処理後対照より処理水界でやや低い値を示す傾向にあったが、殺虫剤の影響と考えることはできない。7月後半以降の光合成活性の低下に対して呼吸はむしろやや増加する傾向にあった。しかしそれは現存量には現れてこなかった。

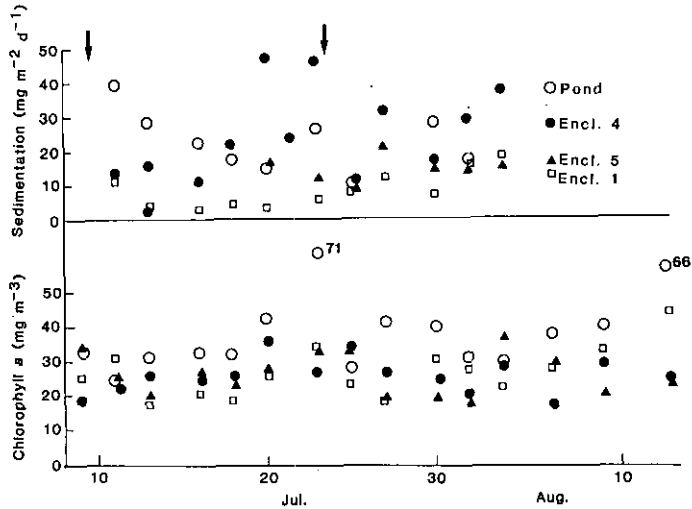


図10 沈殿量、及び水中のクロロフィル量の変動

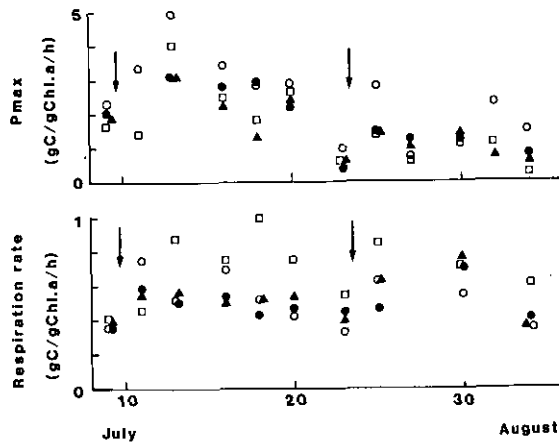


図11 植物プランクトンの光合成活性及び呼吸量の変動

4 考察

ペルメスリンが野外で使用されるようになる条件として、魚に対する影響が小さいことが上げられている。実際に室内で毒性試験を行うとかなり高い毒性を示す。しかしカナダで森林害虫に対して散布したとき、魚類への影響はほとんど検知できなかった⁸⁾。河川の水生昆虫に対してはかなり大きな影響を与えた。同じことは西アフリカにおけるブユ防除の試みの際にも見られている(未発表)。本実験において魚は含まれていないので対比することができないが、環境中での挙動については本実験とほぼ同様の実験も行われている⁹⁾。ペルメスリンは比較的早く水中から消失するが沈降する有機物にバウンドして底質に残る可能性が考えられる。したがって繰り返し散布されないかぎり、影響を受けた生物群集は比較的早く回復することが可能である。この物質も他の多くの殺虫剤と同じくミジンコ類に最も強く影響を与えた。しかしそれ以上にこの池の栄養段階の上位に位置するフサカに影響したことがフサカの被捕食者であるミジンコ、ヤマトヒゲナガケンミジンコなどの数の二次的变化を生起させ、更にはミジンコ類で、この池では通常見られない *Chydorus* などの出現は捕食者との関係と *Daphnia rosea* との競争関係の二重の相互作用が群集構造を決定していることを示唆した。本実験において隔離水界生態系に対するインパクトの強さはペルメスリンの異なった濃度によって与えられたが、それによって一次生産能などに変化はみられなかったが、一次生産者の構造に池とは違う結果を得た。いいかえれば隔離水界の対照は池と同じ種組成の変化をしたのにペルメスリン処理水界では変化がむしろ抑制されたことである。このことの機構については現在説明できないが、むしろ期待とは逆の結果であり、他の生物が関係しているであろうことは推測される。

生態系が受ける損傷の程度によって、それに続いて生起する変化は系の構成生物の相互関係を示唆するものであった。例えば、殺虫剤や除草剤の投与によって減少するのが普通であるが、増加する種類がいることである。除草剤によってはこの水界の優占種であって *Daphnia* も *Tropocyclops* も同時に死滅させ、*Keratella* などワムシを増加させたが⁷⁾、今回のペルメスリンにおいては *Tropocyclops* が減少するまでワムシの増加は認められず、両者の生態的地位がより近いことを示した。

引用文献

- 1) Hurlbert, S. H., M. S. Mulla and H. R. Willson (1972) : Effects of an organo-phosphorus insecticide on the phytoplankton, zooplankton and insect populations of fresh water ponds. Ecol. Monogr., 42, 269-299.
- 2) Brooker, M. P. and R. W. Edwards (1973) : Effects of herbicide paraquat on the ecology of reservoir. I. Botanical and chemical aspects. Freshwater Biol., 3, 158-175.
- 3) Yasuno, M., J. Hasegawa, T. Iwakuma, N. Imamura and Y. Sugaya (1982) : Effects of temephos on chironomid and plankton populations in eel culture ponds. Jpn. J. Sanit. Zool., 33, 207-212.
- 4) Gächter, R. and A. Mares (1979) : MELIMEX, an experimental heavy metal pollution study : Effects of increased heavy metal loads on phytoplankton communities, Schweiz. Z. Hydrol., 41, 228-246.

- 5) Takahashi, M., G. T. Wallace, F. A. Whitney and D. W. Menzel (1977) : Controlled ecosystem pollution experiment : Effect of mercury on enclosed water columns. I. Manipulation of experimental enclosures. *Mar. Sci. Comm.*, 3, 291-312.
- 6) Metcalf, R. L. (1977) : Model ecosystem approach to insecticide degradation : A critique. *In* : Mittler, T. E., C. N. Smith and V. H. Resh (*eds.*), *Annual Review of Entomology*. Vol.22, 241-261. Annual Reviews, Inc., Palo Alto, California.
- 7) 安野正之・花里孝幸・宮下 衛 (1985) : 隔離水界によるクロルニトロフェンとテメフォスの生態系影響実験. 国立公害研究所研究報告, 第99号, 107-118.
- 8) Kingsbury, P. D. and D. P. Kreuzweiser (1980) : Environmental impact assessment of a semi-operational permethrin application. Information report FPM-X-30, Forest Pest Management Institute, Sault Ste. Marie, Ontario.
- 9) Kaushik, N. K., G. L. Stephenson, K. R. Solomon and K. E. Day (1985) : Impact of permethrin on zooplankton communities in limnocorrals. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 42, 77-85.

人工水路における底生動物と付着藻類との関係

佐竹 潔¹・安野正之¹

Periphyton-grazer Relationship in an Artificial Stream

Kiyoshi SATAKE¹ and Masayuki YASUNO¹

Abstract

A succession of a lotic community was studied in outdoor artificial streams over a period of 81 days after starting the water inflow. Three stages were recognized in the succession. First, periphyton increased rapidly, because they were free from grazing pressure. Unicellular diatoms and colonial green algae developed initially, and filamentous green algae *Stigeoclonium* replaced them later. Second, chironomids appeared in the streams and reduced periphyton biomass to 60% of the previous level in a week. Among them *Paratrichocladius* was most efficient grazer. Third *Stigeoclonium* recovered gradually, though the density of chironomids did not decrease. This result was explained by the fact that *Paratrichocladius* did not feed on short filaments of *Stigeoclonium*.

要 旨

屋外人工水路の底生生物群集の一次遷移を81日間調べた。底生動物の種ごとの密度・現存量・食性及び、付着藻類の種組成・クロロフィル量・炭素量・窒素量、さらに上流と下流の無機炭酸濃度の差から群集純一次生産速度を求めた。その結果、①底生動物が出現する前の付着藻類の急激な増加、②底生動物の出現後の付着藻類の急激な減少、③底生動物が高密度の時の付着藻類の緩やかな増加、の三つの過程がみられた。①の付着藻類の急激な増加は底生動物による摂食圧がなかったため、②の付着藻類の急激な減少は底生動物により摂食されたため、③の付着藻類の緩やかな増加は、ユスリカが短く密に生えた糸状藻の *Stigeoclonium* sp. を摂食せず、ケイ藻の *Achnanthes lanceolata* を摂食していたためであると考えられた。

1. 国立公害研究所 生物環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Environmental Biology Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi,
Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1 はじめに

河川生態系において底生生物群集が有害汚染物質からどのように影響を受け、どのように回復して行くかは、近年研究されつつある¹⁻⁶⁾。例えば、底生動物相が有害汚染物質により破壊されたのちに付着藻類が増加すること、あるいはその後底生動物が回復してくると付着藻類が減少することが報告されているが^{1,3)}、これは底生動物の摂食圧が低くなると付着藻類が増加し、摂食圧が高くなると付着藻類が減少するためである。しかしその両者の関係は十分解明されていないので、量的・質的な面に着目して人工水路において調べた。人工水路は、①環境が安定しているので長期の研究ができる、②種数が少ないので系を解析しやすい、③人為的に系を操作できる、④水温・pHなどの環境要因を測定しやすい、⑤水収支が明らかなので炭素・窒素・リンなどの物質収支を求めやすい、等の点において自然の河川より優れている。

2 方法

人工水路は国立公害研究所内にあり、長さ80m、幅25cm、こう配2%で地下水を掛け流した。流量は $22.8 \text{ l} \cdot \text{min}^{-1}$ で、平均流速は $7 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ であった。水路には直径約4 cmの砂利を敷き詰め、1 m間隔に10 cm×10 cmの素焼のタイルを置いた。水路の上流部40 mは松林の中を通っており、下流部40mは林の外であった(図1)。1982年7月10日に水を流し始めてからの81日間を実験期間とした。

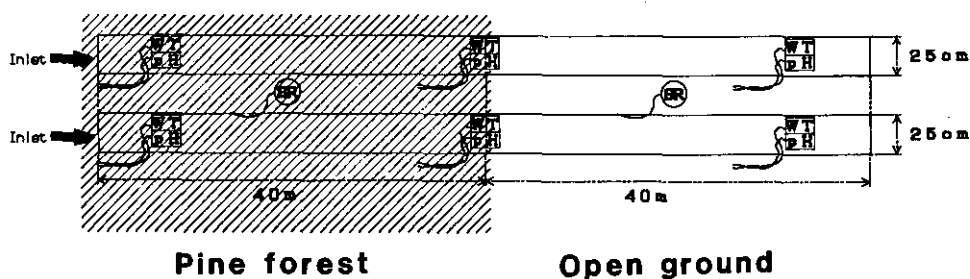


図1 人工水路の概要

斜線部は松林の中を示す。

底生動物と付着藻類のサンプリングは、水路の上流部と下流部において行い、水を流し始めて3日後から1週間間隔で、各々4個のタイルから採集した。底生動物はタイルから拾い出し、種ごとに分けたのちに、計数し湿重を測定し、さらに湿重に係数(0.1)をかけて炭素量に換算した。また、底生動物のサンプルの一部は、消化管内容を調べるために、解剖してスライドグラス標本とした。付着藻類は、スパーテルと歯ブラシを用いて、タイルからはがし、純水中に懸濁状態にし、良くかくはんしてサブサンプルに分けた。一部は付着藻類の種組成を決めるのに用い、残り

はグラスファイバーフィルター (Whatman GF/C) でろ過した後に現存量としての炭素量を求めるのに用いた。炭素量はサンプルを60℃で24時間乾燥させてから、CHN コーダー (柳本; MT-3) により測定した。

水路の流入点からほぼ流れが安定した5 m 地点, 松林の中と外の境目に当たる40m 地点, 水路の流出口の影響のない75m 地点の3 地点で水温 (宝工業; TXA-36, E311) ・pH (DKK; 6400) を測定した。松林の中の20m 地点と外の60m 地点で日射量 (LICOR; LI-190S) を測定した。これらのデータは2 分間隔でデータロガー (TEAC; DR-55) に記録し, 実験室においてマイクロコンピューター (NEC; PC9801F) で処理した。また, 5・40・75m 地点で1 週間おきに採水し, 栄養塩・炭酸アルカリニイティを測定した。PO₄-P・NO₃+NO₂-N・NH₄-N はオートアナライザー (Technicon; AutoAnalyzer II) を用いて求めた。炭酸アルカリニイティは自動滴定機 (平沼; COMTITE-7) を用いてpH 滴定により求めた。水温・pH・炭酸アルカリニイティから Stumm & Morgan の方法⁷⁾により無機炭酸の濃度を計算し, 各測定点における濃度の変化及び大気中とのガス交換から純一次生産速度を求めた^{8,9)}。

$$P - R = -\frac{dCt}{dt} + k_c ([H_2CO_3^*]_s - [H_2CO_3^*])$$

ただし, Ct: 全無機炭酸, k_c: 炭酸ガス再ばっ気係数,

$$[H_2CO_3^*] = [CO_2] + [H_2CO_3]$$

$$[H_2CO_3^*]_s: [H_2CO_3^*] \text{ の飽和濃度}$$

さらに, 付着藻類の現存量の経時変化からも藻類の増加速度を求め, 純一次生産速度と比較した。

3 結果

5 m 地点では水温が19℃, pH は7.9でほとんど一定であった。75m 地点でも実験期間を通じてそれほど変わらず, 水温は一日平均値で17.7~23.3℃, pH の日変動は7.9~9.2の範囲だった。また, 炭酸アルカリニイティは水路の上流・下流で変わらず1.98~2.03m eq・l⁻¹の範囲であった。栄養塩の濃度は流入地点で, PO₄-Pが0.28ppm, NO₃+NO₂-Nが0.45ppm と高い値であった。ただし NH₄-Nは検出されなかった。日射量は上流で0.5~8.3E・m⁻²・d⁻¹下流で2.7~42.9E・m⁻²・d⁻¹であった。

屋外人工水路に出現する生物の種類については表1に示した。実験期間を通じてユスリカの5種が底生動物のほとんどを占めた。この5種のユスリカは固着型の巣を作る種類で, 上流部と下流部で分布が多少異なっていた。下流部では *Paratrichocladius rufiventris* が最も多く, 次いで *Polypedilum ureshinoense* が多かった。上流部では, *Chiromonus flaviplumus*・*Paratrichocladius rufiventris* の2種が多く, *Paratanytarsus parthenogeneticus* が次に多かった。

表1 屋外人工水路に出現する生物

Zoobenthos
<i>Chironomus flaviplumus</i>
<i>Polypedilum ureshinoense</i>
<i>Paratanytarsus parthenogeneticus</i>
<i>Paratrichocladius rufiventris</i>
<i>P. tamaater</i>
<i>Cricotopus bicinctus</i>
<i>C. yatabensis</i>
<i>Thienemanniella majuscula</i>
<i>Baetis sahoensis</i>
<i>Cheumatopsyche brevilineata</i>
Periphyton
<i>Stigeoclonium</i> sp.
<i>Achnanthes lanceolata</i>
<i>Nitzschia palea</i>
<i>Tetraspora</i> sp.
<i>Scenedesmus</i> spp.
<i>Synedra</i> sp.
<i>Gomphonema</i> sp.
<i>Oscillatoria</i> sp.

Paratrichocladius rufiventris の消化管内容にはケイ藻が多くみられたが、時には糸状藻もみられた。*Polypedilum ureshinoense*, *Chironomus flaviplumus* の2種の消化管内容には付着藻類がみられたが、無機物の粒子もみられた。*Paratanytarsus parthenogeneticus*・*Thienemanniella majuscula* の消化管内容にも付着藻類がみられた。

水路に水を流し始めてからユスリカの現存量の変化を図2, 3に、付着藻類の現存量の変化を図4に示した。

ユスリカの現存量の変化と付着藻類の現存量の変化はよく対応していた。付着藻類は水路に水を流し始めてから11日目からみられ、その後32日目まで *Scenedesmus* spp., *Achnanthes lanceolata*, *Nitzschia palea* が優占していた。ユスリカの現存量が少ない39日目には藻類の現存量が急激に増加しており、緑藻の *Stigeoclonium* sp. が優占していた。この藻類の糸状体の長さは500 μ m から数mmに及びよく分枝していた。しかし、46日目にユスリカの現存量が増加すると、付着藻類量は下流部では急激に減少し、上流部でもほとんど増加しなかった。上流部では60日目まで減少する傾向がみられた。これらの付着藻類量の減少はユスリカの摂食圧によるものと考えられた。その後、ユスリカの現存量は高かったが、付着藻類量は再び増加し始めた。すなわち下流部では53日目、上流部では67日目から付着藻類が増加し続けた。このときに増加した付着藻類は *Stigeoclonium* sp. が優占していたが、100 μ m 前後の短い糸状体が匍匐部から密生していた。ユスリカの消

化管内容にはこの糸状藻はほとんど含まれておらず, *Achnanthes lanceolate* 等のケイ藻が中心であった。

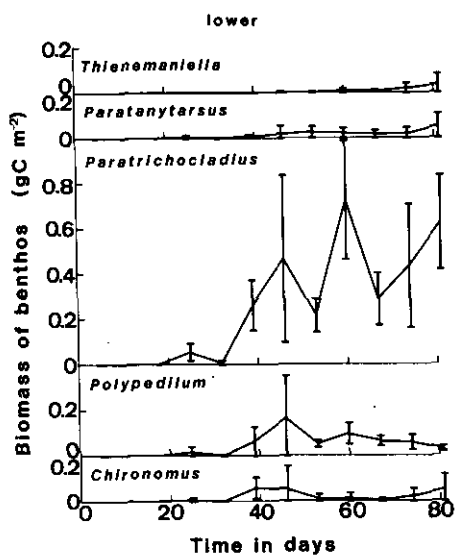


図2 下流部における底生動物の現存量の変動
 平均値±標準偏差を示す。

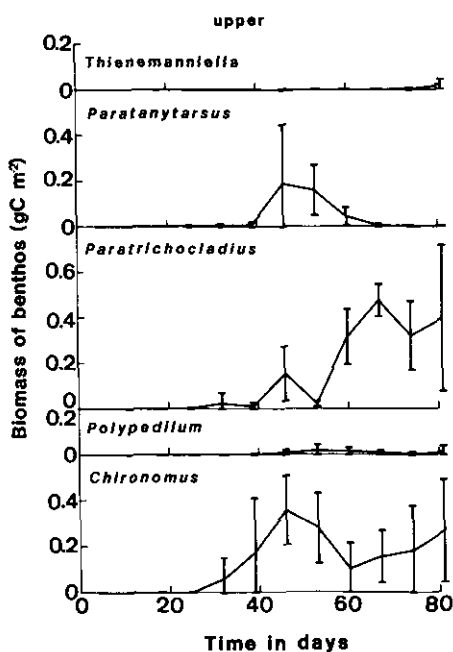


図3 上流部における底生動物の現存量の変動
 平均値±標準偏差を示す。

付着藻類の1週間当たりの純一次生産量は下流部では $0.56 \sim 9.4 \text{ gC} \cdot \text{m}^{-2}$ 、上流部では $0.82 \sim 7.4 \text{ gC} \cdot \text{m}^{-2}$ であった。付着藻類の現存量の変化から求めた藻類の増加速度は、底生動物が少なかった25日目の下流部と上流部でさらに32日目の上流部でも、純一次生産速度と良く一致していた。その後、下流部で60日目以降に比較的近い値であったのを除くと、純一次生産速度と藻類の増加速度との差は大きかった (図5)。

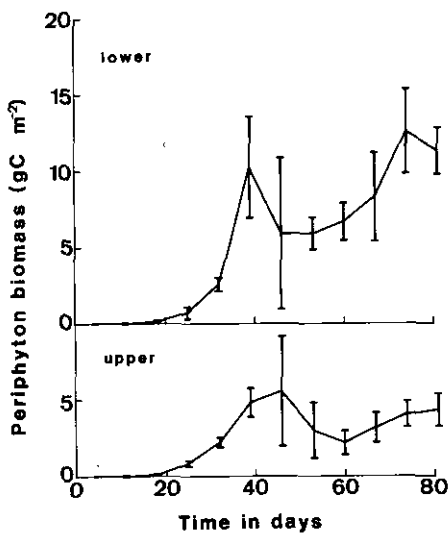


図4 下流部と上流部における付着藻類の現存量の変動
 平均値±標準偏差を示す。

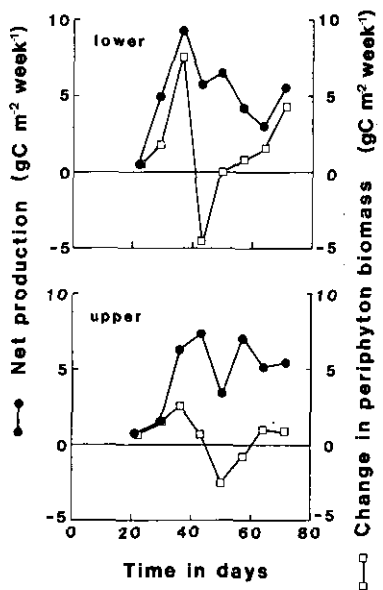


図5 下流部と上流部における付着藻類の増加速度と純一次生産速度の変化

4 考察

屋外人工水路の底生動物群集の初期の遷移の過程において出現したのは、有害汚染物質により系が破壊された後の回復過程においてパイオニアとなるユスリカであった。ユスリカは生活史が短いので遷移の初期過程において優占種になると考えられる。*Chiromonus flaviplumus* が初期に上流部で優占したが、その後 *Paratrichocladius rufiventris* に入れ替わった。Harrison¹⁰⁾も雨季にしか流れないアフリカの川で遷移の初期には *Chiromonus* spp.が淵でも瀬でも優占したことを報告している。

底生動物（エリユスリカ）が付着藻類の現存量に大きい影響を及ぼすことはスイスからも人工水路の実験より報告¹¹⁾されている、また、巻貝による摂食は一次生産には影響を及ぼさないが付着藻類の現存量を30%減らすという報告¹²⁾もある。McAuliffe¹³⁾によると、自然の河川においてヤマトビケラを除去すると付着藻類の現存量が対照の2～6倍になった。しかし、一次生産量のどれだけが底生動物の摂食により失われているかは明らかにされていない。

付着藻類の現存量の変化から求めた藻類の増加速度は純一次生産速度から付着藻類のはく離・分解、底生動物による摂食を差し引いた値であるので、純一次生産速度と藻類の増加速度の差ははく離・分解・摂食による一次生産速度の損失を示す。実験期間中を通じて藻類のはく離は観察されなかったため、藻類の分解を無視すると、純一次生産速度の差は底生動物による摂食速度に相当すると思われる。底生動物の現存量が低いときには藻類の増加速度と純一次生産速度がほぼ一致した。そこで、底生動物の現存量と、純一次生産速度と藻類の増加速度の差を最小二乗法により回帰したのが図6である。上流部では回帰式 ($y=9.03x+0.925$) は95%で有意であった。この回帰式の係数 $9.03 \text{ gC} \cdot \text{gC}^{-1} \cdot \text{week}^{-1}$ を一日当たりに換算すると $1.29 \text{ gC} \cdot \text{gC}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ になる。Cummins¹⁴⁾が報告している底生動物の体重当たりの摂食速度は最大で付着藻類食のトビケラ

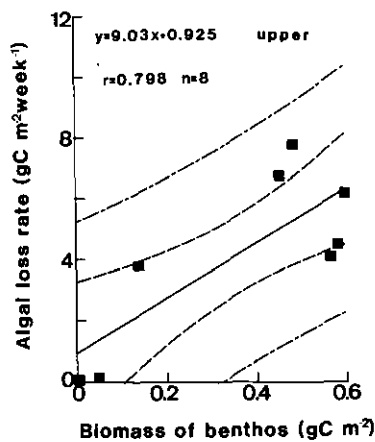


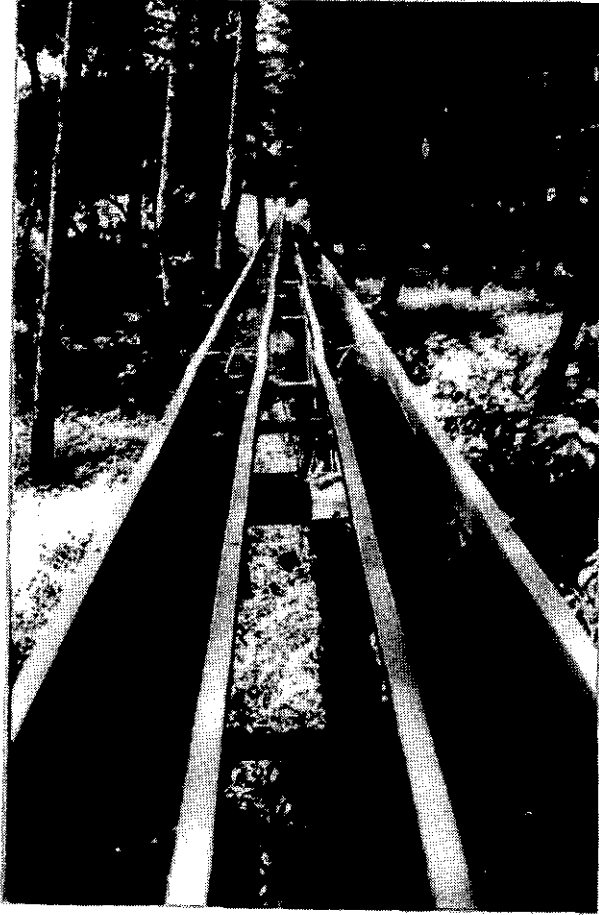
図6 上流部における底生動物と現存量と、純一次生産速度と藻類の増加速度の差との関係

の *Neophylax concinus* の $0.80\sim 1.60 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ であるから、本研究におけるユスリカを主体とする底生動物群集の体重当たりの摂食速度は高い値に属すると考えられる。

また、Yasuno³⁾らは薬剤処理した際の対照との差から *Thienemanniella majuscula* 優占の底生動物群集の摂食速度が $32\sim 35 \text{ mg Chl. } a \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ であるとしているが、これは炭素とクロロフィル *a* の比を50と仮定すると、 $1.6\sim 1.7 \text{ g C} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ になり、この実験における摂食速度の推定値の最大値 $10.5 \text{ gC} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{week}^{-1}$ ($= 1.5 \text{ gC} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$) とほぼ同じ値になる。この値は純一次生産速度の最大値 $9.4 \text{ gC} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{week}^{-1}$ よりも高いので、付着藻類の現存量が減少し、その後底生動物の現存量も減少し、両者のバランスがとれる。この屋外人工水路の生態系において生物群集が比較的単純であるため底生動物の現存量が付着藻類の現存量に直接的に影響を与えると思われる。

引用文献

- 1) Yasuno, M., S. Fukushima, J. Hasegawa, F. Shioyama and S. Hatakeyama (1982) : Changes in the benthic fauna and flora after application of temphos to a stream on Mt. Tsukuba. *Hydrobiologia*, **89**, 205-214.
- 2) 安野正之・菅谷芳雄・岩熊敏夫 (1984) : 屋外水路による殺虫剤の生態系影響の実験的研究。国立公害研究所研究報告, 第62号, 19-27.
- 3) Yasuno, M., Y. Sugaya and T. Iwakuma (1985) : Effects of insecticides on the benthic community in a model stream. *Environ. Pollut.*, **38** : 31-43.
- 4) 佐竹 潔・安野正之 (1986) : 古川におけるディフルベンズロンの底生生物群集への影響 I. 水生昆虫群集及び魚類への影響。国立公害研究所研究報告, 第99号, 61-70.
- 5) 猪口眞美・佐竹 潔 (1986) : 古川におけるディフルベンズロンの底生生物群集への影響 II. 付着藻類群集への影響。国立公害研究所研究報告, 第99号, 71-80.
- 6) 安野正之・佐竹 潔 (1986) : ディフルベンズロン及びメトプレンの底生生物群集への影響 : 人工水路による実験的研究。国立公害研究所研究報告, 第99号, 151-164.
- 7) Stumm, W. and J. J. Morgan (1981) : Dissolved carbon dioxide. *In* : *Aquatic Chemistry, an Introduction Emphasizing Chemical Equilibria in Natural Waters*. John Wiley & Sons, New York.
- 8) Odum, H. T. (1956) : Primary production in flowing waters. *Limnol. Oceanogr.*, **1**, 102-117.
- 9) Cohen, R. R. H. and M. R. Church (1981) : A method for studying primary productivity and photosynthesis in unenclosed batch cultures and field samples. *Arch. Hydrobiol.*, **91**, 231-241.
- 10) Harrison, A. D. (1966) : Recolonisation of a Rhodesian stream after drought. *Arch. Hydrobiol.*, **62**, 405-421.
- 11) Eichenberger, E. and A. Schlatter (1978) : Effect of herbivorous insects on the production of benthic algal vegetation in outdoor channels. *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, **20**, 806-1810.
- 12) Sumner, W. T. and C. D. McIntire (1982) : Grazer-periphyton interactions in laboratory streams. *Arch. Hydrobiol.*, **93**, 135-157.
- 13) McAuliffe, J. R. (1984) : Resource depression by a stream herbivore : Effects on distributions and abundances of other grazer. *Oikos*, **42**, 327-333.
- 14) Cummins, K. W. (1973) : Trophic relations of aquatic insects. *Ann. Rev. Entomol.*, **18**, 183-206.



人工水路，上流より下流をのぞむ
(II-10, 11, 12の実験に用いた)

人工水路における一次生産と栄養塩の取り込みの関係

市川秀夫¹・佐竹 潔²・安野正之²

Uptake of Periphyton in Relation to the Primary Production

Hideo ICHIKAWA¹, Kiyoshi SATAKE² and Masayuki YASUNO²

Abstract

The primary production, community respiration and uptake rates of nutrients were investigated in two outdoor artificial streams by observing the differences in the concentrations of oxygen, nitrate and phosphate between upstream and downstream. All of these parameters fluctuated diurnally. A significant linear regression was obtained between gross daily production and amount of chlorophyll-*a* per unit area.

Nitrogen and phosphorus in stream water, which were mostly nitrate and phosphate, were uptaken by the periphyton community at a constant rate at night but were corresponding to photosynthesis at daytime. Therefore, daily uptake of nitrogen and phosphorus and daily net production correlated each other. The mol ratio of carbon, nitrogen and phosphorus uptaken by periphyton community was C : N : P = 112 : 16 : 1 in an average, which was relatively constant over a period of 14 months.

要 旨

2本の屋外人工水路において、一次生産、群集呼吸及び栄養塩の取り込みを測定した。酸素、硝酸塩及びリン酸塩の上流一下流間の変化の、日中の変動は相互に関連していた。そして、1日当たりの総生産と単位面積当たりのクロロフィル a との間には、統計学的に有意な直線関係があった。

硝酸塩及びリン酸塩は、それぞれ窒素及びリンの水路水における主要な存在形態であった。両者は夜間には一定の速度で、昼間には光合成に対応する速度で、付着微生物群集に取り込まれていた。それ故、1日当たりに取り込まれる窒素及びリンと純生産もまた相互

1. 昭和56年度～ 国立公害研究所共同研究員 (東京農工大学農学部 〒183 東京都府中市幸町3-5-8)
Research Collaborator of the National Institute for Environmental Studies. Present Address : Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology, Fuchu, Tokyo 183, Japan.
2. 国立公害研究所 生物環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Environmental Biology Division, the National Institute for Environmental Studies. Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

に対応していた。上記に付け加えて、付着微生物群集に取り込まれる炭素、窒素及びリンのモル比の平均は、C : N : P = 112 : 16 : 1 であり、この値は14か月の期間を通じて比較的一定であった。

1 はじめに

一次生産の測定は、河川生態系のエネルギー動態や群集構造を知る上での基本であり、必要不可欠な要素であるため、Odum を始めとする多くの報告がある¹⁻¹²⁾。しかるに、我が国の河川のように浅く速い流れの場合、大気中への拡散という問題のため、開放系での測定は困難である。まして、一次生産と栄養塩の取り込みが同時に測定された例は、筆者らの知る限り非常にわずかである¹²⁾。そこで、筆者らは、実際の河川ではないが、モデル河川である野外人工水路において、一次生産と栄養塩の取り込みについて調べてみた。人工水路は、野外にあり、自然の光条件でありながら、水取支は完全に把握され、再曝気係数も実験的に測定できるという利点がある。これらの利点を生かして、開放系での一次生産と栄養塩の取り込みを定量することを目的として、以下の実験を行った。

2 方法

実験は国立公害研究所の敷地内に設置された野外人工水路にて行った。水路は、長さ80m、幅25cm、こう配2%の2本並列する直線状水路で、地下水を掛け流しにした。水路の底面には玉砂利を敷きつめた。流量は2本の水路とも約0.43l/s、平均流速は約8 cm/sであった。この水路の昆虫相は単純であり、コカゲロウ、コガタシマトビケラ及び数種のユスリカ等より成立っていた。水路の上流部は松林の中にあり、下流部は草地にある。

この水路において、1983年10月から1984年12月にかけて7回の24時間連続採水を行った。採水は両水路の5、40、75m 点の3箇所、1時間または2時間間隔で行った。採水は上流から行い、75m 点での採水はこの間の流達時間である約15分後になるようにした。得られた試水にいて、水温、溶存酸素、硝酸態窒素、リン酸態リン濃度等を測定した。光量は、両水路の中間の、20、60m 点に光量子センサーを設置し、測定した。また、付着藻類現存量の指標であるクロロフィル *a* 量は、両水路の20及び60m 点付近でそれぞれ4クアドラート(7×7 cm)の玉砂利をすべて取り出し、90%メチルアルコールで抽出し、定量した。

実験期間を通じて、水路への流入水の栄養塩濃度は硝酸態窒素が31μg atm/l 前後、リン酸態リンで8.5μg atm/l 前後ではほぼ一定であった。また、アンモニア態窒素及び亜硝酸態窒素濃度は両者とも検出限界値以下であった。よって、窒素及びリンの取り込みは、硝酸態窒素及びリン酸態リンの濃度差に流量を掛けて求めた。

また、水路の再曝気係数は、夜間に溶存酸素濃度を過飽和にする実験により、水温19℃で0.298という値が得られた。そこで、以下の一次生産推定は、この値を温度補正してOwens⁹⁾の方法を用

いて行った。

3 結果及び考察

測定結果の例として、1983年12月19日の1日の変動を図に示した(図1)。流入水の水質はリン酸態リンにわずかな日変動があるのみで、かなり安定していた。溶存酸素濃度は夜間でも流下に伴い増加していたが、飽和度では逆にわずかながら低下していた。一方、昼間は光量及び水温ともきれいに対応した変動を示した。75m点での飽和度の曲線は、ほぼその時点での5~75m間での光合成速度に対応しており、光合成が水温及び光量と密接な関係にあることが分かった。

栄養塩は夜間でも相当量取り込まれていたが、特に硝酸態窒素で明らかのように、光合成速度にきれいに対応して取り込み量が増大する傾向が認められた。この傾向は、毎回の測定で共通のものであった。これにより、栄養塩の取り込みは、光合成の行われない夜間ではほぼ一定の速度で、光合成の行われる昼間では、光合成速度にほぼ対応して行われることが明らかになった。また、ここでは6時のサンプルで明らかな取り込みの低下が認められるが、このような取り込みの低下は、ほぼ毎回の測定で、朝または夕方に観察された。この結果は、光合成の始めと終わりになんらかの代謝機構の変化に因り、取り込みが一時的に停止していることを示唆しており、興味深い結果であった。

12月19日の一次生産は、7回の測定の内ではやや高い方であった。それでもなおリン酸態リンは、流入水中に高濃度で含まれているため、取り込みによる濃度変化は顕著ではなかった。このような条件にあるため、生産の低いときには、リンの取り込み量は、信頼できる値が得られないこともあり、以下の考察ではそのような値を除いた。

7回の測定の内5回は、1983年10月から1984年1月に集中して行った。そこで、この間の一次生産及び栄養塩の取り込みの推移を図2に示した。11月初旬に、付着クロロフィルa量の急激な増加が観察されたが、これは主要な摂食者であるサホコカゲロウ (*Baetis sahoensis*) の羽化が起こった後、摂食圧が減少したためと考えられる。この間、藻類の組成も、*Achnanthes* 優占から、ラン藻の *Xenococcus* が多くなり、さらに *Stigeoclonium* と *Achnanthes* 優占へと、変化していた。そして、クロロフィルa量の増加に伴い純生産及び窒素、リンの取り込みがきれいに増加しているのが認められた。

図2の下に、純生産を $O_2 : C = 1 : 1$ として換算した炭素、及び窒素、リンの三者の取り込み量のモル比を示した。付着藻群集の生成初期においては、リンの取り込みの比が低い結果が現われている。しかしそれ以降は、三者の比がある範囲内に収まっている傾向が認められる。すなわち、藻類群集の生成途中からは、窒素及びリンは、純生産とほぼ一定の割合で取り込まれていることが分かる。

クロロフィルa量と総生産の関係は、図3に示したようにクロロフィルa量が1平方メートル当たり400mg以上と、ほぼ上限と考えられる値にまで達しながら、この範囲内で生産とクロロフ

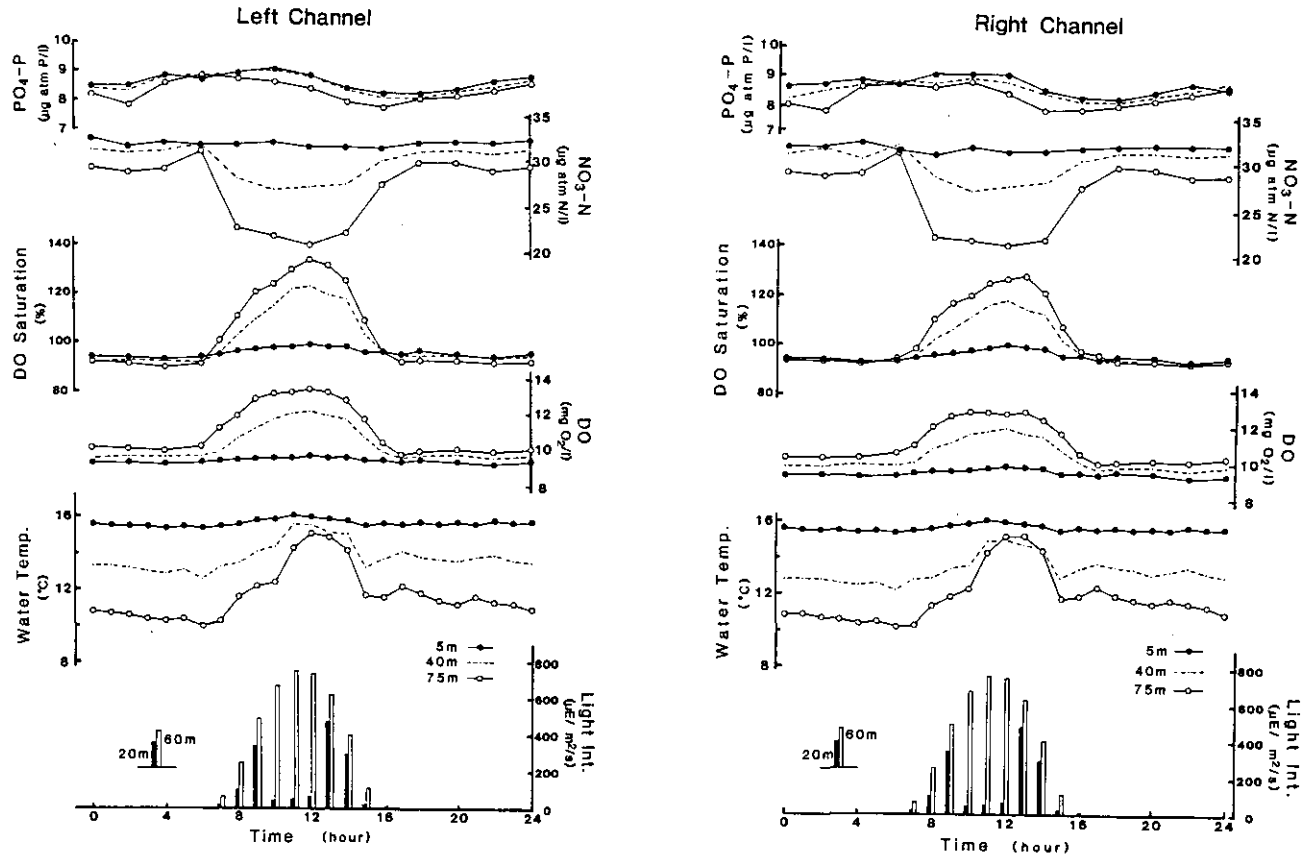


図1 1983年12月19日の各観測点における各成分の両水路における1日の変化

上よりリン酸態リン、硝酸態窒素、溶存酸素の飽和度、溶存酸素の濃度及び水温の、5m：(—●—), 40m(---○---),

75m(---○---)点での変化を示す。最下段は、20m(■)及び60m(□)点での光量を示す。

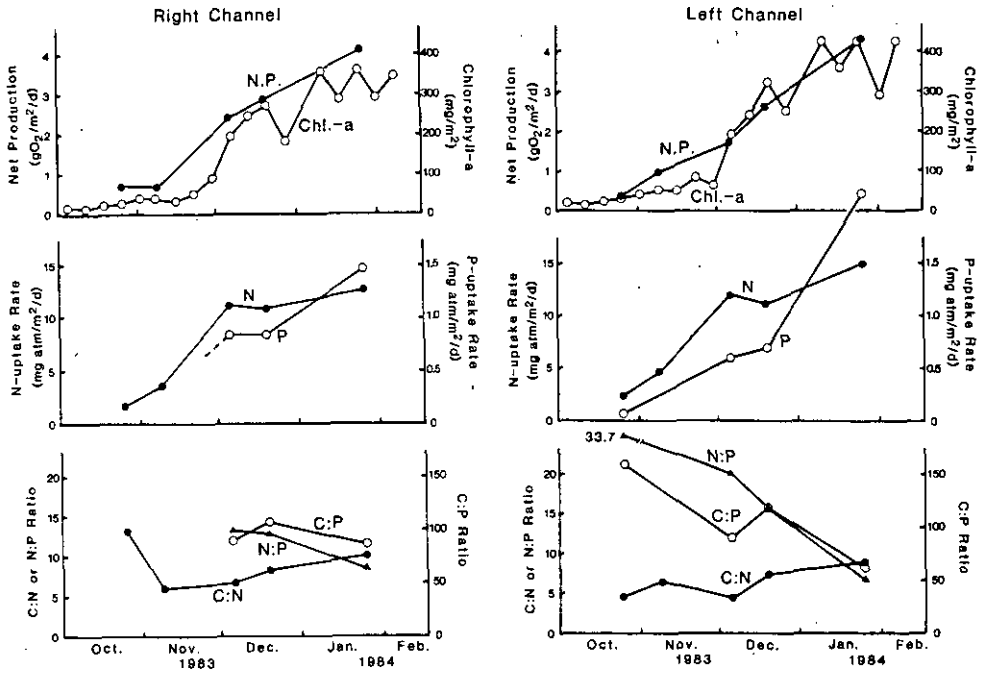


図2 1983年10月から1984年1月にかけての測定結果の両水路における推移
 上段は純生産とクロロフィルa量を、中段は窒素及びリンの取り込み速度を、下段は取り込まれた炭素、窒素及びリンのモル比を示す。

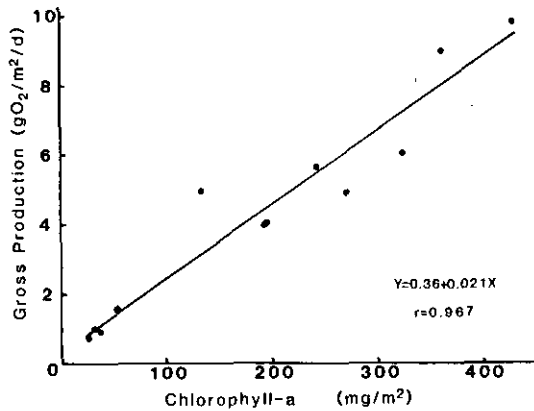


図3 クロロフィルa量と総生産の関係
 図中の式は、回帰直線及び相関係数を示す。

イル a 量は、良い直線性を示した。従来の報告では生産が頭打ちになるという例が多いが、今回の測定では、そのような傾向は見られなかった。また、クロロフィル a 量当たりの総生産も、13°C から16°Cの温度の範囲では、ほとんど一定であった。

以上より、付着微生物群集の生産性と炭素、窒素及びリンの取り込みの比の平均値を表1にまとめた。クロロフィル a 量当たりの総生産は25g O₂/d となり、種々の微生物群集の発達段階を含んだ平均値としては、かなり高い値であった。炭素、窒素及びリンの取り込みの比は、それぞれ表の値であった。今回は、残念ながら微生物群集を構成する生体のC, N, P比を測定しなかった。

表1 14か月の期間を通じての単位クロロフィル a 量当たりの総生産及び取り込まれた炭素、窒素、リン間のモル比の平均値及び標準偏差

	mean±S. D.	(n)
Pg/Chl. - a (g O ₂ /g/d)	25.0±5.5	(12)
C : N	7.78±2.22	(14)
C : P	112±36	(11)
N : P	15.9±6.9	(11)

そこで、その代用として、プランクトンモデルの比と今回の結果を比較してみると、プランクトンモデルのC : P比が106, N : P比が16であるから、表の値はその値に非常に近いと言える。これより、実際の生体の組成がモデル¹³⁾の比と大差無いと仮定すれば、炭素、窒素及びリンは、生体の組成と大差無く取り込まれていることになり、また、これを換言すれば、今回の測定結果は炭素、窒素及びリンの生体内での滞留時間がほぼ等しいということを示唆していたと言えるであろう。

引用文献

- 1) Odum, H. T. (1956) : Primary production in flowing waters. *Limnol. Oceanogr.*, 2, 102-112.
- 2) 相崎守弘 (1978) : 多摩川における付着性微生物群集の現存量と生産量の季節変化. *日本生態学会誌*, 28, 123-134.
- 3) 相崎守弘 (1980) : 富栄養河川における付着微生物群集の発達にともなう現存量および光合成量の変化. *陸水学雑誌*, 41, 225-234.
- 4) Naiman, R. J. (1983) : The annual pattern and spatial distribution of aquatic oxygen metabolism in boreal forest watersheds. *Ecol. Monogr.*, 53, 73-94.
- 5) Kevern, N. R. and R. C. Ball (1965) : Primary productivity and energy relationships in artificial streams. *Limnol. Oceanogr.*, 10, 74-87.
- 6) Edelman, W. and K. Wuhrmann (1978) : Energy balance of running water systems. *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, 20, 1800-1805.
- 7) Eichenberger, E. and A. Schlatter (1978) : Effect of herbivorous insects on the production of

- benthic algal vegetation in outdoor channels. *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, **20**, 1806-1810.
- 8) Stockner, J. G. and K. R. S. Shortreed (1978) : Enhancement of autotrophic production by nutrient addition in a coastal rainforest stream on Vancouver Island. *J. Fish. Res. Board Can.*, **35**, 28-34.
 - 9) Owens, M. (1974) : Measurements on non-isolated natural communities in running waters. *In* : A Manual on Methods for Measuring Primary Production in Aquatic Environments. Vollenweider, R. A. (ed.), IBP Handbook No.12, Blackwell Scientific, Oxford, 111-119.
 - 10) Bott, T. L., J. T. Brock, C.E. Cushing, S. V. Gregory, D. King and R. C. Petersen (1978) : A comparison of methods for measuring primary productivity and community respiration in streams. *Hydrobiologia*, **60**, 3-12.
 - 11) Kosinski, R. J. (1984) : A comparison of the accuracy and precision of several open-water oxygen productivity techniques. *Hydrobiologia*, **119**, 139-148.
 - 12) Triska, F. J., V. C. Kennedy, R. J. Avanzino and B. N. Reilly (1983) : Effect of simulated canopy cover on regulation of nitrate uptake and primary production by natural periphyton assemblages. *In* : Dynamics of Lotic Ecosystems, Fontaine, III, T. D. and S. M. Bartell (eds.), Ann Arbor Science, Michigan, 129-159.
 - 13) Fleming, R. H. (1940) : The composition of plankton and units for reporting population and production. *Proc. 6th Pacific. Sci. Calif.*, **3**, 533-540.

ディフルベンズロン及びメトプレンの底生生物群集への影響：
人工水路による実験的研究

安野正之¹・佐竹 潔¹

**Effects of Diflubenzuron and Methoprene
on an Outdoor Experimental Stream Community**

Masayuki YASUNO¹ and Kiyoshi SATAKE¹

Abstract

Benthic communities in outdoor model streams were exposed to 1 and 10ppm of diflubenzuron and the same concentrations of methoprene for 30 minutes respectively. The effects of these chemicals were assessed by daily examining the drift, emergence and mortality and weekly the density of macrobenthos for one month after treatment. Both chemicals did not provoke a significant drift of macrozoobenthos at the time of application but affected the emergence of caddisflies and some species of chironomids. Only diflubenzuron inhibited the emergence of mayflies. A high mortality of chironomid larvae was recorded in the stream treated with diflubenzuron, where mayfly nymphs and caddisfly larvae also decreased and consequently the biomass of attached algae increased. In the stream treated with methoprene, no remarkable mortality of benthos could be found. On the contrary, mayflies increased while chironomids and caddisflies disappeared.

要 旨

屋外人工水路においてディフルベンズロン及びメトプレンをそれぞれ30分間水量当たり1 ppmと10ppmとの2段階の濃度で投入し、底生生物群集に対する影響を調べた。底生動物の流下・羽化・死亡・密度の変化により薬剤の効果判定を行った。どちらの薬剤の場合も投入時における底生動物の流下がおきなかったが、コガタシマトビケラと数種のユスリカの羽化には影響があった。ディフルベンズロンだけがサホコカゲロウの羽化を阻害した。

1. 国立公害研究所 生物環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Environmental Biology Division, the National Institute for Environmental Studies. Yatabe-machi,
Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

ディフルベンズロン処理区においてユスリカの死亡率が高く、サホコカゲロウとコガタシマトビケラの密度も低かったので、付着藻類の現存量が増加した。メトプレン処理区では底生動物の死亡は認められず、サホコカゲロウの密度が高くなり、ユスリカとコガタシマトビケラの密度が低下した。

1 はじめに

昆虫生長抑制物質は殺虫剤と違って極めて種特異的で、ほ乳動物や魚類に対する毒性が低いことから、新しい型の安全な害虫防除剤として期待されている。本実験に用いたディフルベンズロンもメトプレンも害虫防除効果について多くの研究がなされ^{1,2)}、実用に供されている。節虫動物の多くも標的動物である害虫と同じく、これら薬剤によって生長が抑制される^{3,4)}。しかし影響の受け方は必ずしも一様でなく、節虫動物の種類によってかなり異なることが推測されるが、十分な研究がなされているとはいえない。また自然界に散布したときに生物群集や生態系にどのような影響を与えるかについてはほとんど研究がなされていない。Hansen と Garton⁵⁾は室内の人工水路を用いてディフルベンズロンの生物群集に及ぼす影響を研究した。本報告においてはメトプレンの影響も検討された。ここで用いた二つの薬剤は作用機構が違うことから、同時に同条件下で実験を行いその生態系影響を比較することは大変興味深い。

2 研究方法

研究は国立公害研究所内に設置された人工水路を用いた。この人工水路については前報^{6,7)}に説明があるが、その後多少改良され、水路の材質はグラスファイバーになり、上流部80m、下流部80mと延長された。上流部は前報とほぼ同じ条件で約半分まで松林の中を通り、残りは空地を通っている。下流部はまた松林の中を通っているが、こう配は上流部が2%であるのに比して、下流部は1%に満たない。しかしながら出現する生物種は上流部とあまり大きな違いはなかった。水路の幅は25cm、流量は毎秒約0.38lであった。実験は下流部80mを使った。図1に示すように3区に分けて第1区は対照とし、第2区は1ppmの濃度になるように薬剤を流し、第3区は10ppmになるようにした。二本の水路にそれぞれの薬剤を30分間流した。流下昆虫は各区の境界に設置したネットですべて捕獲した。水路全体の上流部からの流下昆虫及び抜け殻はNGG25のメッシュのネットを2重に設置して下流部へ流れ込まないようにした。流下昆虫及び抜け殻は処理当日は1時間ごとに、その後は毎日ネットを交換することで採取した。造巢性のユスリカについては水路に敷いてある礫を適当数持ち帰り、直ちに実体顕微鏡下で生死を判定した。幼虫、さなぎの密度の変化は7cm角の枠中の礫及びデトリタスをすべて取って、種を同定し数を数えた。付着藻の現存量は上記サンプルの礫をメチルアルコールに浸ませて-15℃の低温で一晩置いて抽出し分光光度計で測定した。

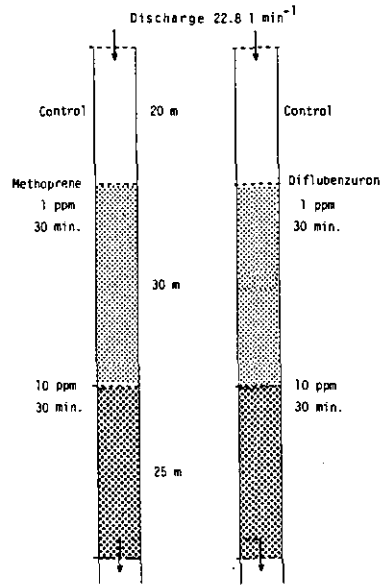


図1 人工水路及び薬剤処理の概要

3 結果

3.1 薬剤投入直後の底生動物の流下

流下幼虫数が対照に比して高かったのは両薬剤とも10ppmの場合だけで、しかも *Paratrichocladius rufiventris* と *Polypedilum ureshinoense* に関してだけであった(図2)。これらの種もほとんどの個体は流下しないで留まっており、殺虫剤の場合⁸⁾とは全く違っていた。

3.2 死亡率

ディフルベンズロンで処理した水路では2日後に12~13%の死亡率であった。この率は10日後には1 ppmで88.2%、10ppmで93.9%に達した(表1)。14日目には1 ppm区では若齢幼虫がみられ、個体群の回復がはじまったが、10ppm区ではまだであった。一方メトプレレン処理水路では死亡個体をほとんど見ることができなかった。しかし幼虫密度は次第に減少し14日目においては対照に比較すると有意の差があった。このようにディフルベンズロンはユスリカの *Paratrichocladius rufiventris* のキチン生成を阻害し死に至らしめているが、幼若ホルモンの類似化合物であるメトプレレンは幼虫を殺すことはなかった。

3.3 さなぎの抜け殻数の変動

3.3.1 ディフルベンズロン

この化学物質の1 ppm処理によりコガタシマトビケラ (*Cheumatopsyche brevilineata*) の幼虫

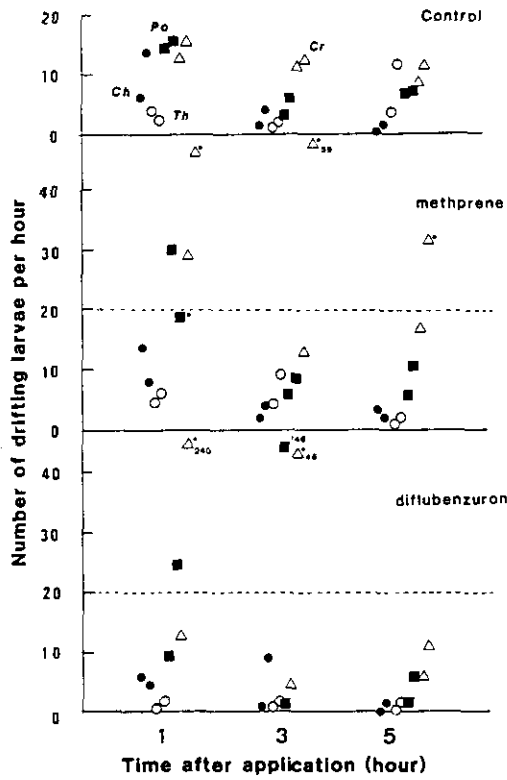


図2 薬剤投入直後の底生動物の流下

表1 薬剤処理前及び処理後の *Paratrichocladius rufiventris* の幼虫・さなぎの死亡率 () は採集個体数が5以下—は採集されなかった事を示す。

		Days after application							
		2	6	10	14	18	22	26	
control 1	larvae	1	0	0	0	0	0	(0)	15
	pupae	(0)	(0)	-	(0)	(0)	(0)	(0)	-
	total	1	0	0	0	0	0	0	15
control 2	larvae	0	-	0	0	0	0	0	0
	pupae	(0)	-	(0)	-	(0)	(0)	(0)	(0)
	total	0	-	0	0	0	0	0	0
diflubenzuron 1 ppm	larvae	13	26	83	18	4	0	0	
	pupae	(50)	86	(100)	(100)	0	-	(0)	
	total	12	46	88	24	3	0	0	
diflubenzuron 10 ppm	larvae	11	47	89	75	86	0	4	
	pupae	(50)	100	100	(100)	(100)	0	-	
	total	12	53	94	83	88	0	4	
methoprene 1 ppm	larvae	0	0	0	0	-	(0)	-	
	pupae	(0)	(0)	(50)	(0)	(0)	-	-	
	total	0	0	3	0	(0)	(0)	-	
methoprene 10 ppm	larvae	2	0	0	0	4	0	5	
	pupae	(33)	(20)	(0)	-	(33)	(0)	(0)	
	total	4	1	0	0	8	0	4	

が一日後多数流下した。さなぎの抜け殻の流下数は対照の約50%に低下した。10ppm 処理区では幼虫の流下もなかったが、実験の終了する30日後までさなぎの抜け殻もほとんど流下しなかった。恐らく巣の中で死亡したと考えられる (図 3 a)。

サホコカゲロウ (*Baetis sahoensis*) は処理後 7 日目にこの水路に出現しはじめ、対照からは多数羽化したが、1 ppm 処理区から少数、10ppm 処理区からは全く羽化しなかった (図 3 b)。

Chironomus flaviplumus は 3 日目以降 1 ppm 区、10ppm 区とも蛹の抜け殻は流下していない。3 日目までの羽化は処理前に蛹になっていたためと考えられる (図 4 a)。

Paratrichocladius rufiventris は 1 ppm 区では 24 日後には多数のさなぎの抜け殻が流下し回復が見られるが、10ppm 区では 32 日後にもまだ羽化する個体は現れなかった (図 4 b)。 *Thienemanniella majuscula* は 20 日後になって両濃度区で羽化が認められた (図 5 a)。 *Polypedilum ureshinoense* の成虫出現の抑制は 1 ppm で 24 日 10ppm で 32 日には消失していた (図 5 b)。

3.3.2 メトプレン

コガタシマトビケラは 10ppm では実験終了まで成虫は羽化していない。1 ppm の濃度ではほとんど影響がなかった (図 3 a)。サホコカゲロウに対してはメトプレンは全く影響を与えなかった。10ppm 区でさえ羽化数は対照区よりもむしろ多かった (図 3 b)。

ユスリカに対してはコガタシマトビケラに対する場合と似ていて 1 ppm ではあまり大きな影響を与えていないが、10ppm では蛹化はしても羽化は成功していない。ディフルベンズロンに比較するとユスリカのどの種もこの薬剤に対して多少耐性が高いと思われる (図 4 a)。

3.4 幼虫密度の変動

ディフルベンズロンで処理した水路はほとんどの底生動物の密度が一度減少したが、比較的早く回復し、むしろ実験開始前より高い密度に達した。回復は種によって多少差異があった。 *Paratrichocladius rufiventris* は 14 日目 (1 ppm) と 21 日目 (10ppm)、 *Polypedilum* はどちらも 21 日目、 *Chironomus* は 1 ppm 区では出現せず、10ppm 区で 21 日目に幼虫がかなり回復していた。コガタシマトビケラもサホコカゲロウも 10ppm のディフルベンズロン処理区には 32 日間には回復しなかった。後者は 1 ppm 区でも回復がみられなかった。一方メトプレン 1 ppm 処理区ではコカゲロウの密度はむしろ顕著な増加を示した (図 6 ~ 8)。

3.5 藻類現存量

この水路の底生動物のほとんどが付着藻を摂食していると考えられる。したがって底生動物の数の変動は付着藻の現存量に影響してゆくはずである。ディフルベンズロンは殺虫効果があったため底生動物の密度の急激な減少が起り、その結果として付着藻はクロロフィル *a* 量にして 400 mg・m⁻² に達する高い現存量を示した (図 9)。その程度は 1 ppm も 10ppm も同じであった。恐らく *Paratrichocladius rufiventris* が藻類の現存量に大きく影響していたと思われる。一方メトプレ

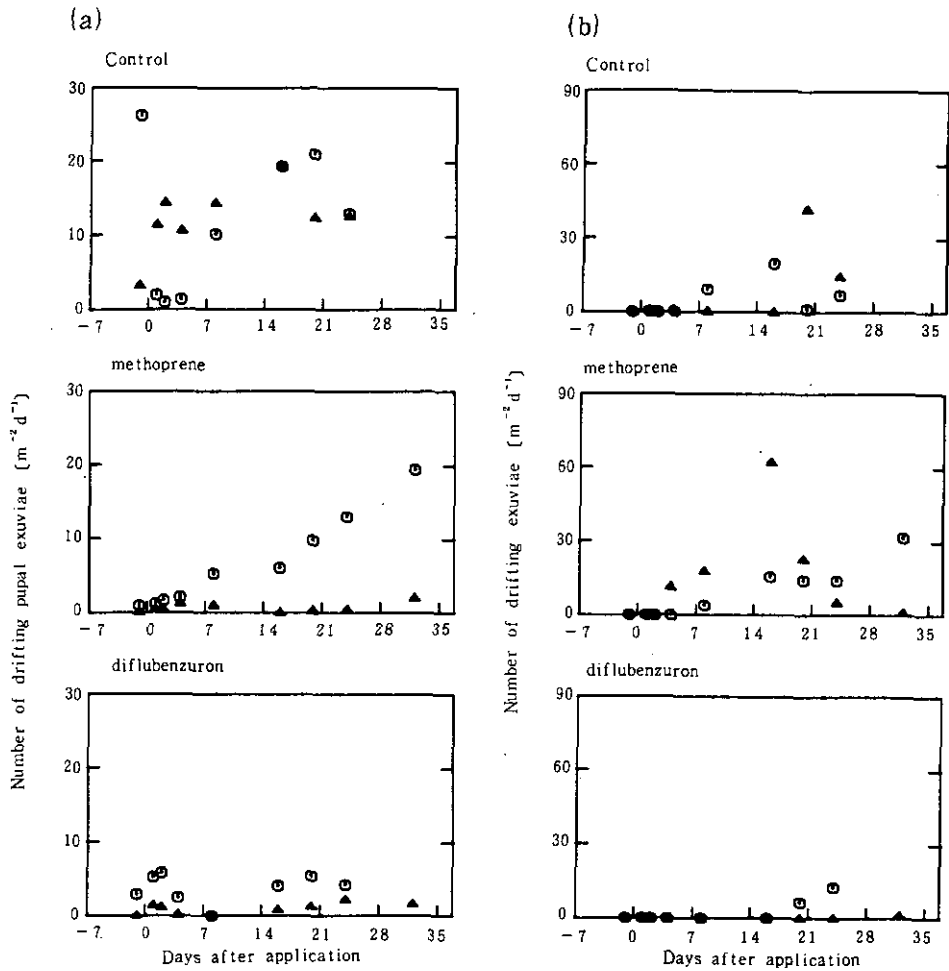


図3 薬剤投入前後のコガタシマトビケラ *Cheumatopsyche brevilineate* のさなぎの抜け殻(a)及びサホコカゲロウ *Baetis sahoensis* の羽化殻(b)の流下量の変動

●・●は薬剤処理区ではそれぞれ1 ppm 処理区・10ppm 処理区を示す。

ンの場合は藻類現存量の増加が認められない。死亡が急激に起こらないために、摂食活動が続いていたことと、ユスリカの密度の減少は付着藻を摂食するコカゲロウの増加によって置換されていることなどがディフルベンズロンとは違った結果をもたらしたと考えられる。

4 考察

ここで用いられた生長抑制物質に従来の殺虫剤のように直接殺虫剤効果がないので、その効果の判定を死亡個体を数えることで行うことができない。薬剤に曝された昆虫はディフルベンズロ

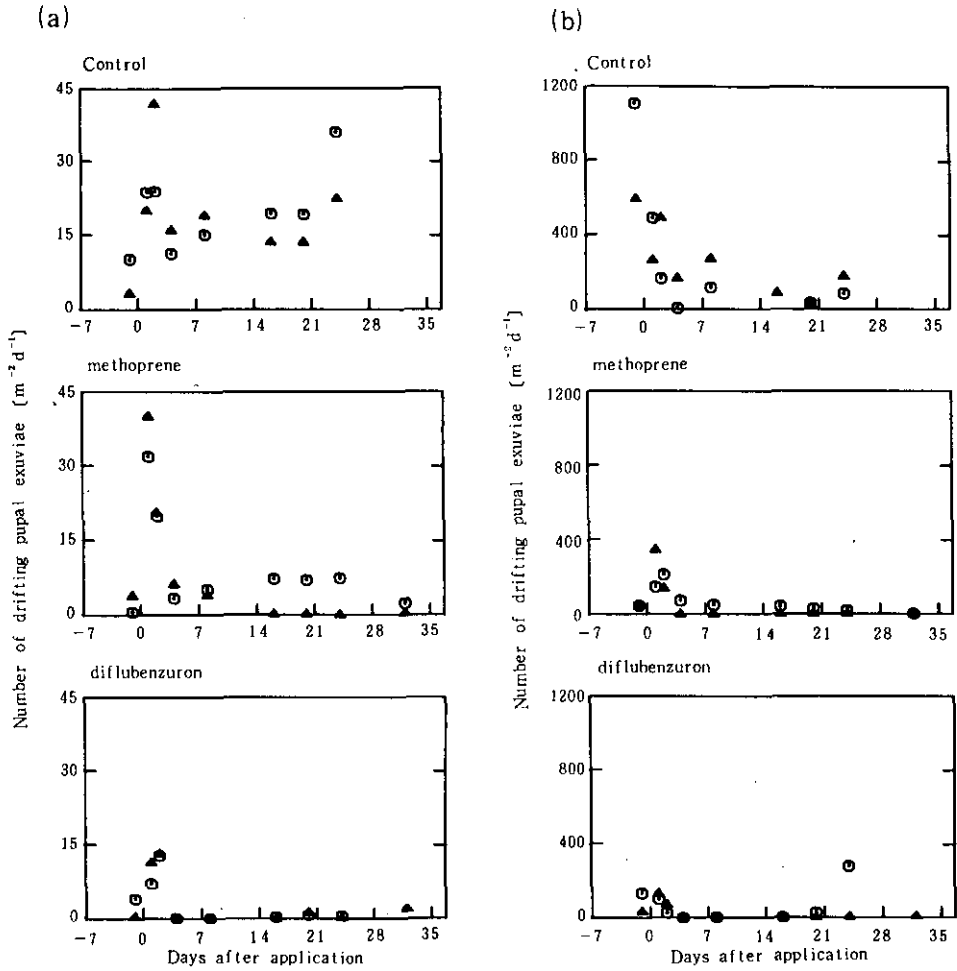


図4 薬剤投入前後の *Chironomus flaviplumus* (a) 及び *Paratrichocladius rufiventris* (b) のさなぎの抜け殻の流量の変動

●・●は薬剤処理区ではそれぞれ1 ppm 処理区・10ppm 処理区を示す。

ンの場合は脱皮が阻害され、メトプレンの場合は生長しても羽化できない。したがっていずれの場合も羽化数の減少の程度によってその効果を判定するわけである。今回本実験で用いたさなぎの抜け殻の流下を網で受ける方法は大変手間がかかるが確実である。これまで適当な方法がないとされてきたこれらの薬剤の影響評価方法についてこの方法が用いることができることを示した。また全長80mの屋外水路を3分割して用いることで、各区は20m ないし30m であったが比較的明確な結果が得られたことは、このような化学物質の生態系影響を調べる上で、屋外に設置した水路が大変有用であることを示している。

本実験で用いたディフルベンズロンあるいはそれに近いキチン生成阻害剤については多くの昆

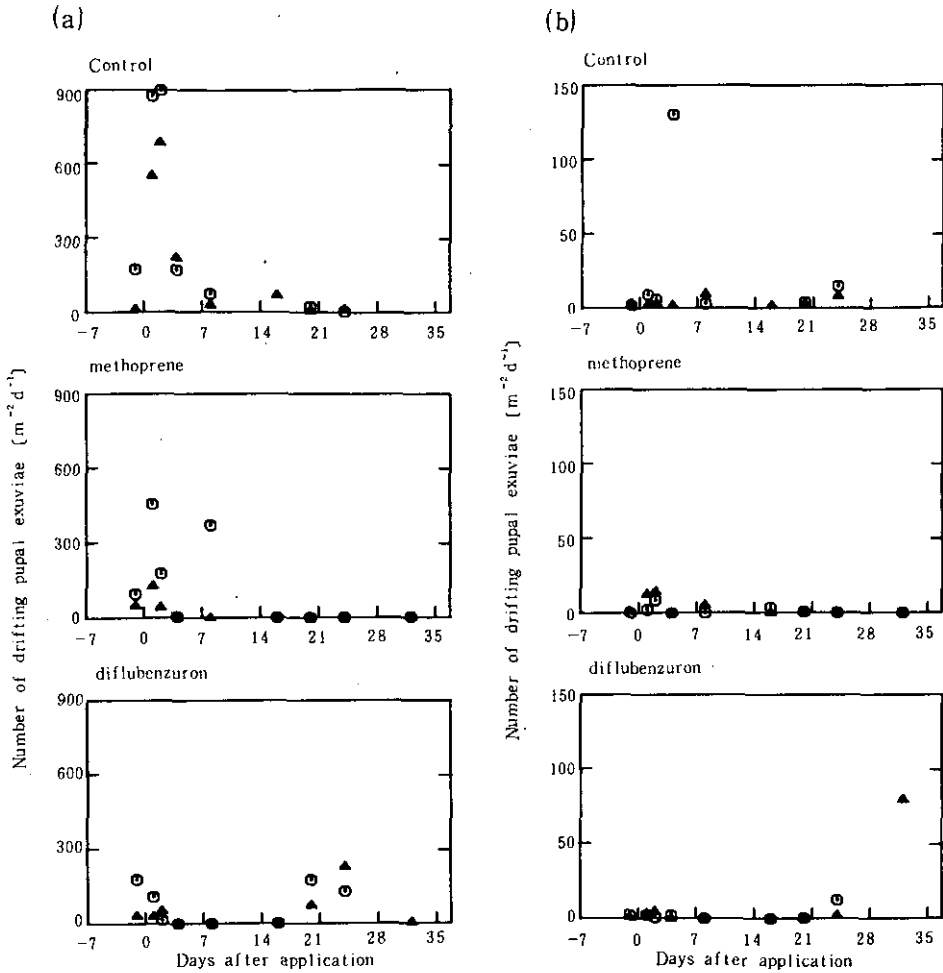


図 5 薬剤投入前後の *Thienemanniella majuscula* (a) 及び *Polypedilum ureski-noense* (b) のさなぎの抜け殻の流下量の変動

●・●は薬剤処理区ではそれぞれ1 ppm 処理区・10ppm 処理区を示す。

虫,特に双翅目に影響を与えることが知られている⁸⁻¹⁰。池に週1回7 ppbの濃度で処理したとき,池の辺に出現する多くの昆虫の幼虫に影響を与えた¹¹。Hansen & Garton¹²は実験水路を使って河川生物相に及ぼすディフルベンズロンの長期間にわたる連続注入の影響を調べた。多くの水生昆虫は減少するが,貧毛類は増加した。甲虫の仲間もまた貝類も増加する傾向がみられた。カゲロウは最初3か月程は密度の減少がみられない。この結果は本実験の結果と異なっている。濃度は本実験より低く50ppbである1/20が,連続注入であることからこのような結果が得られたものと考えられる。本実験における10ppmという高い濃度は通常使用されるよりはるかに高い濃度であるが,河川モデルである実験水路において30日間以上も水生昆虫の出現を抑制したことは河川

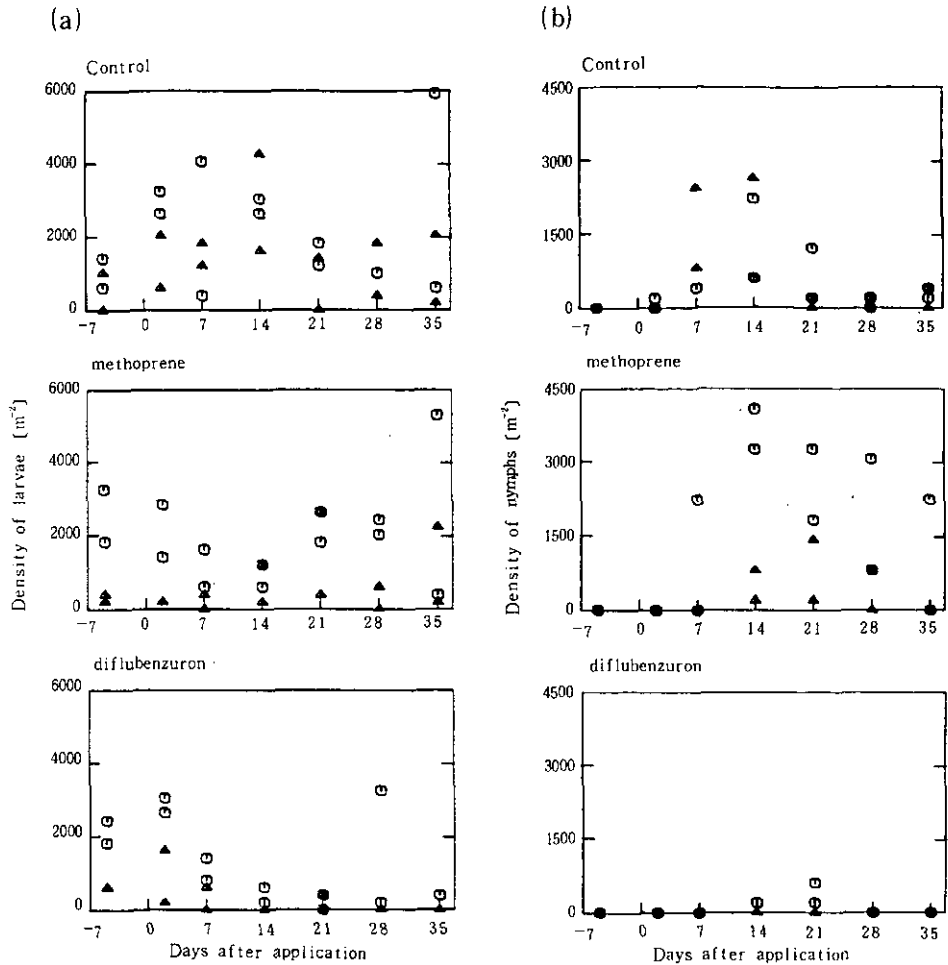


図6 薬剤投入前後のコガシマトビケラ *Cheumatopsyche brevilineata* (a) 及びサホコカゲロウ *Baetis sahoensis* (b) の幼虫密度の変動

上段より対照区・メトブレン処理区・ディフルベンズロン処理区 ●・●は薬剤処理区ではそれぞれ 1 ppm 処理区・10ppm 処理区を示す。

に残留して影響を与えたと考えられる。

本実験において5種のユスリが出現していたが、薬剤に対する反応は必ずしも同じではなかった。*Polypedilum ureshiroense* や *Thienemanniella majuscula* のようにディフルベンズロンで処理した水路で比較的早く回復するものと、*Chironomus flaviplumus* のように実験終了時まで回復しないもの、中間型として *Paratrichocladius rufiventris* はディフルベンズロン処理の 1 ppm 区では回復し 10ppm 区では回復しないなど種々であった。メトブレン処理水路の方はもっと複雑で、最初の2種はむしろ回復できないで終わった。*Paratrichocladius* も同じであった。しかしディフ

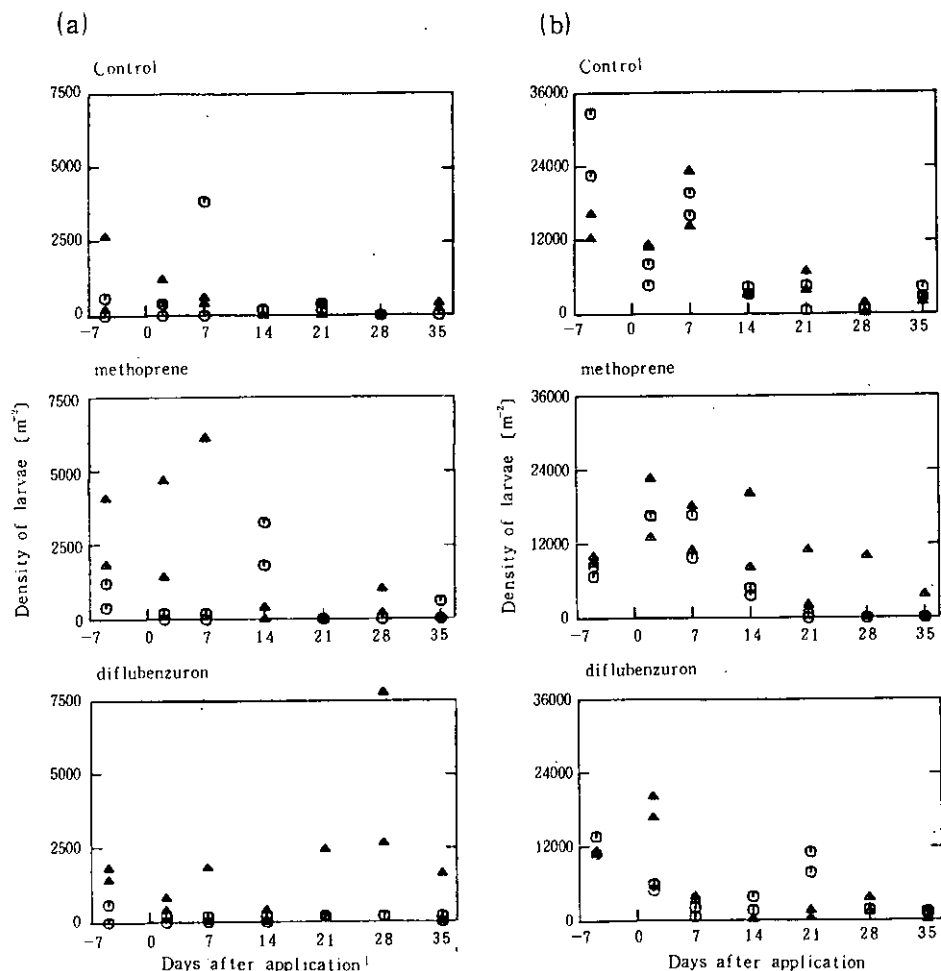


図7 薬剤投入前後の *Chironomus flaviplumus* (a) 及び *Paratrichocladius rufiventris* (b) の幼虫密度の変動

上段より対照区・メトプレン処理区・ディフルベンズロン処理区 ●・●は薬剤処理区ではそれぞれ 1 ppm 処理区・10ppm 処理区を示す。

ルベンズロンに弱かった *Chironomus flaviplumus* はむしろ 1 ppm メトプレン処理区では羽化し続けた。これらの結果はかならずしも生長阻害剤だけの影響だけでなく、生物相互の関係も関与していると思われる。すなわちディフルベンズロン処理区ではコカゲロウは 1 ppm 区でのみ回復が見られたがかなり抑制されていた。メトプレン処理区ではむしろ対照以上に増加した(1 ppm 10ppm 処理とも)。その結果は他の底生動物の消失が、この種の有利に働いたと考えることができる。いいかえると、餌と生息空間の競争相手のいなくなったために増加したということである。その結果としての高い生息密度は逆にユスリカの再侵入を抑制してしまったと考えられる。メト

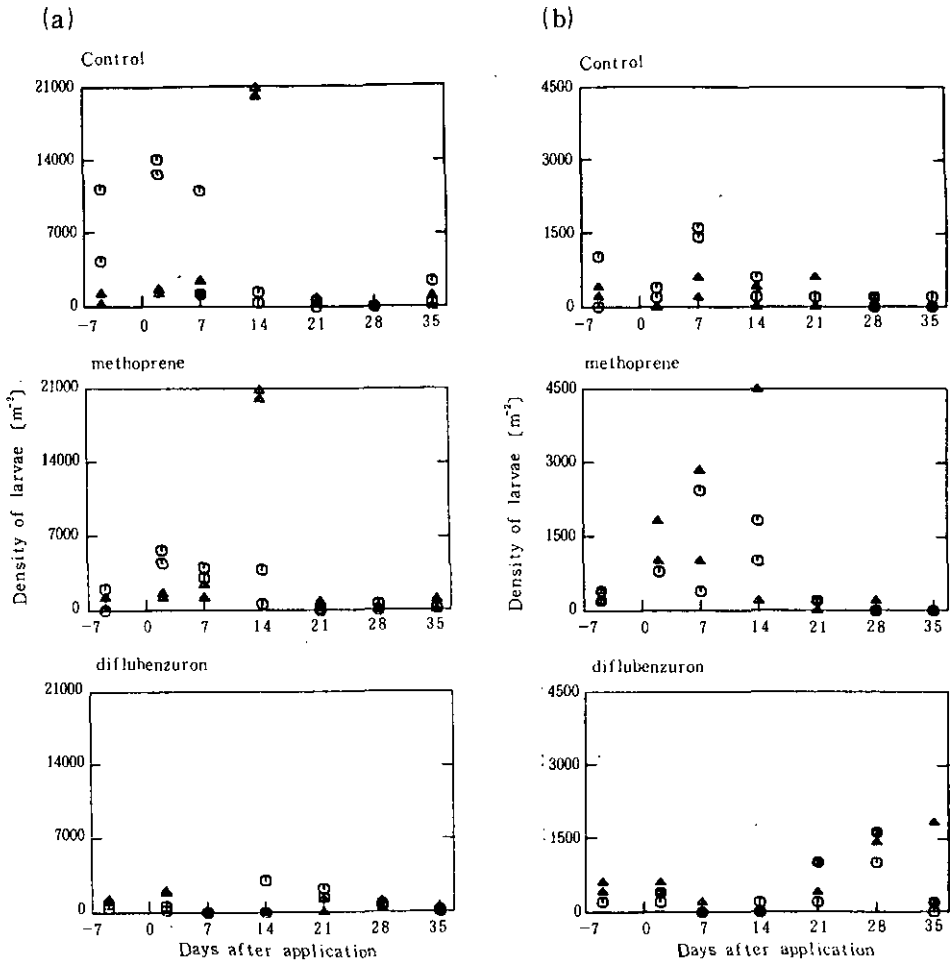


図8 薬剤投入前後の *Thienemanniella majuscula* (a) 及び *Polypedilum ureshinoense* の幼虫密度の変動

上段より対照区・メトプレン処理区・ディフルベンズロン処理区 ●・●は薬剤処理区ではそれぞれ 1 ppm 処理区・10ppm 処理区を示す。

プレンがカゲロウ類全般に影響を与えないのかどうかはこの結果からだけでは結論できないが、大変興味あることであり、今後確認のための研究が必要である。もしそうであれば、カゲロウ類は川の主要な構成種であることから、そして川の魚の主要な餌でもあることから、その保全の立場からは考慮すべき薬剤であるといえよう。シマトビケラ類は殺虫剤にも大体において耐性の高い種として知られているので、ここで得られた結論をそのまま他の種に当てはめることはできない。ここで用いたどちらの薬剤についても 1 ppm 区ではあまり影響を受けなかったが、自然の河川におけるディフルベンズロンを使用した時も同じような結果が得られている¹³⁾。この種とコカゲ

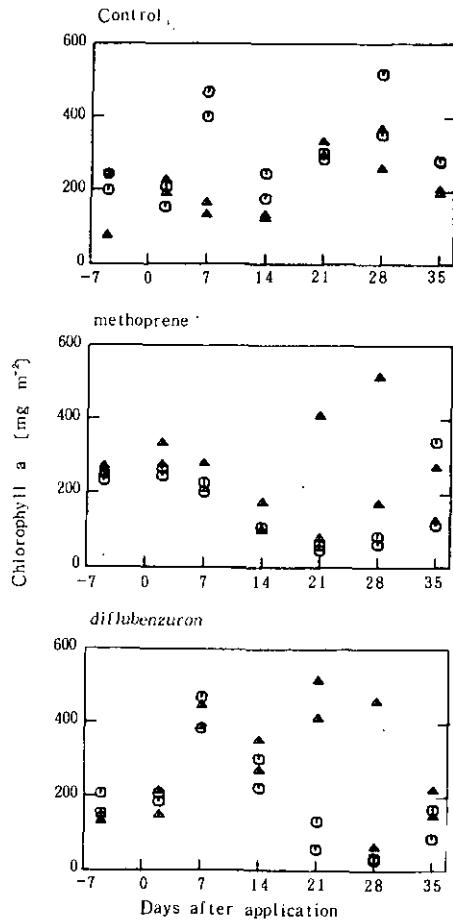


図9 薬剤投入前後の付着藻類の現存量の変動

上段より対照区・メトプレン処理区・ディフルベンズロン処理区●・●は薬剤処理区ではそれぞれ1 ppm 処理区・10ppm 処理区を示す。

ロウは生活型は異なっているので、ユスリカの場合のように競合することは考えられない。

コカゲロウの増加のあったメトプレン処理水路も多少クロロフィル*a*量の増加がみられるときがあるが、ディフルベンズロン処理においては処理後はかなり早く顕著な増加が認められ自然の河川に投与したときとほぼ同じ現象が認められた¹⁴⁾。この結果はこれまでの我々の研究¹⁵⁾と同じくいかに底生動物の摂食圧が藻類群集の現存量に深く関与しているかを示している。

引用文献

- 1) Mulla, M. S., H. A. Darwazeh and R. L. Norland (1974) : Insect growth regulators. Evaluation procedures and activity against mosquitoes. *J. Econ. Entomol.*, **67**, 329.
- 2) Makugue, A. B., R. B. Pridore and M. Wood (1978) : Effects of Altosid and Dimilin on blackflies (Diptera : Simuliidae) : laboratory and field tests. *Can. Entomol.*, **110**, 1103-1110.
- 3) Miura, T. and M. Takahashi (1975) : Effects of the IGR, TH 6040, on nontarget organisms when utilized as a mosquito control agent. *Mosq. News*, **35**, 154.
- 4) Colwell, A. E. and C. H. Schaeffer (1980) : Diets of *Ictalurus nebulosus* and *Pomoxis nigromaculatus* altered by diflubenzuron. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **37**, 632-639.
- 5) Hansen, S. R. and R. R. Garton (1982) : Ability of standard toxicity tests to predict the effects of the insecticide diflubenzuron on laboratory communities. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **39**, 1273-1288.
- 6) 安野正之・菅谷芳雄・岩熊敏夫 (1984) : 屋外水路による殺虫剤の生態系影響の実験的研究. 国立公害研究所研究報告, 第62号, 19-27.
- 7) Yasuno, M., Y. Sugaya and T. Iwakuma (1985) : Effects of insecticides on the benthic community in a model stream. *Environ. Pollut.*, **38**, 31-43.
- 8) Miura, T. and M. Takahashi (1979) : Effects of the insect growth regulator SIR 8514 on hatching of southern house mosquito eggs. *J. Econ. Entomol.*, **72**, 692-694.
- 9) Herald, F., J. L. Clarke and F. W. Knapp (1980) : Susceptibility of *Aedes aegypti* to pyrethroids compared with a new insect growth regulator. *Mosq. News*, **40**, 380-382.
- 10) Johnson, G. D. and M. S. Mulla (1982) : Suppression of nuisance aquatic midges with a urea insect growth regulator. *J. Econ. Entomol.*, **75**, 297-300.
- 11) Colwell, A. E. and C. H. Schaeffer (1983) : Effects of an insect growth regulator on plankton and *Gambusia affinis*. *Aquatic Toxicol.*, **4**, 247-269.
- 12) Hansen, S. R. and R. R. Garton (1982) : The effects of diflubenzuron on a complex laboratory stream community. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **11**, 1-10.
- 13) 佐竹 潔・安野正之 (1986) : 古川におけるディフルベンズロンの底生生物群集への影響 I. 水生昆虫群集及び魚類への影響. 国立公害研究所研究報告, 第99号, 61-70.
- 14) 猪口眞美・佐竹 潔 (1986) : 古川におけるディフルベンズロンの底生生物群集への影響 II. 付着藻類群集への影響. 国立公害研究所研究報告, 第99号, 71-80.
- 15) Yasuno, M., S. Fukushima, J. Hasegawa, F. Shioyama and S. Hatakeyama (1982) : Changes in the benthic fauna and flora after application of temphos to a stream on Mt. Tsukuba. *Hydrobiol.*, **89**, 205-214.

クロレラータマミジンコの連続飼育系の開発

宮下 衛¹・橋本京美²・安野正之¹

Development of a Continuous Flow Microecosystem

Mamoru MIYASHITA¹, Kyomi HASHIMOTO² and Masayuki YASUNO¹

Abstract

A continuous flow microecosystem consisted of bacteria, green-algae *Chlorella* sp. as a producer, water-flea *Moina macrocopa* as a grazer and guppy *Poecilia reticulata* was constructed and studied the responses of the ecosystems to addition of nutrient, pray or predator. Microecosystems were maintained in glass aquaria (315×185×244 mm) containing 10 liter of autoclaved tap water which was enriched with 35 ppm NO₃-N and 3.1 ppm PO₄-P. Culture medium was replenished continuously to each microecosystem with fresh one at the rate of 1 liter per day. The following five types of microecosystem were constructed, Type I : Continuous flow, *Chlorella*-Bacteria, Type II : Continuous flow, *Chlorella*-*Moina*-Bacteria, Type III : Closed, *Chlorella*-*Moina*-Bacteria, Type IV : Continuous flow, *Chlorella*-*Moina*-Bacteria, *Chlorella* was added every 2nd days, and Type V : Continuous flow, *Chlorella*-*Moina*-Bacteria-Guppy. Without grazer, chlorophyll-*a* amount in the ecosystem attained average 200 μg/l. In the presence of grazer, chlorophyll-*a* remained less than 10 μg/l. The continuation of the *Moina* population in Type II was 2 times longer than in Type III. Continuous addition of *Chlorella* in Type IV increased the equilibrium density of the *Moina* population, but did not prolong the length of the existence of the population. The problem of overgrazing by grazer which had often occurred could not be solved with the introduction of guppy.

-
1. 国立公害研究所 生物環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番 2
Environmental Biology Division, the National Institute for Environmental Studies. Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
 2. 昭和58年度 国立公害研究所共同研究員 (東邦大学理学生物学科 〒274 千葉県船橋市三山2-2-1)
Research Collaborator of the National Institute for Environmental Studies. Present Address : Department of Biology, Toho University, Funabashi 274, Japan.

要 旨

クロレラ、タマミジンコ、グッピーなどから成る5種類の流水式及び止水式のモデル生態系をつくり、これらの系を存続させるための条件の検討を行った。これらの系は10lのガラス水槽に1日当たり1lの割合で栄養塩類を添加した飼育水を連続的に加え、また、サイフォンを用いて水位を一定に保った。止水式の系ではタマミジンコは約1か月後死滅するが、流水式の系では、タマミジンコを2か月間生存させることが可能であった。餌としてのクロレラの定期的な添加はタマミジンコの平衡時の密度を高めたが個体数の増減の振幅を増大させ、グッピーの導入はタマミジンコの増殖速度を抑制した。クロレラを添加した系は50日間、グッピーの入った系は27日間継続した。

1 はじめに

水界の生態系の構造と機能を調べるためにモデル生態系がよく用いられる。前報¹⁾では、ビーカーレベルの閉鎖系モデル生態系を作成し構成者の変動、及び、カドミウムの影響について調べた。Bayer²⁾は、池の生物群集を小型の水槽に移してモデル生態系を作り物質代謝について調べた。Taub-Dollar³⁻⁵⁾は、栄養塩類を添加した培養液を作り、クロレラ・ミジンコのどちらにも適する飼育水の検討、及び流水式の飼育装置を作り栄養塩類の濃度と照度、水の交換率との関係を調べている。Cooke⁶⁾は、バクテリア、動・植物プランクトンから成るビーカーレベルのモデル生態系の機能と構造についての解析を行った。これらの閉鎖系のモデルでは、魚類などの高次の捕食者や多くの種類の構成者を入れることができないこと、栄養塩が回帰されにくいことなどによって長期間生態系として維持することが難しい。ここでは、クロレラ、タマミジンコ、グッピーなどから成る4種類の流水式のモデル生態系を作り、これらの系を長期間存続させるための条件の検討を行った。

2 流水式遠隔飼育装置の組み立て

2.1 材 料

当研究所で継代飼育されているクロレラ *Chlorella* sp., タマミジンコ *Moina macrocopa*, ツボワムシ *Barchionus californicus* 及びグッピー *Poecilia reticulata* を用いた。クロレラはMC培地⁷⁾で培養し、4,000rpm, 10分間の遠心分離を行い、人工軟水(硬度25ppm, pH7.2)で洗浄後、冷蔵庫に保存した。使用の直前にはさらに滅菌水で再洗浄を行った。

2.2 装置について

縦 315 mm, 横 185 mm, 高さ 244 mm のガラス水槽に微量ポンプ及びサイフォンを接続し、流水式連続飼育装置を作成した。水槽の上面は塩化ビニルでふたをした。5 lの三角フラスコに滅菌した飼育水を入れ、微量ポンプにより、1日1 lの割合で水槽に注入した。なお、水槽内の水量は10 lとし、水位はサイフォンにより一定に保たれるようにした。通気は25 ml/minで行った。この装置は23±1℃の恒温室内の30w 昼色蛍光灯を15本並べた照明装置の上に置かれた。水面上

の照度は7,500 lx, 12時間明暗期とした。

2.3 飼育水の検討

流水式連続飼育装置を用いてクロレラ, タマミジンコ及びツボワムシを長期間維持するための飼育水に加える窒素及びリンの濃度の検討を行った。窒素源としては NaNO_3 , リン源としては KH_2PO_4 を滅菌した上水に加えて飼育水とした。タマミジンコ及びツボワムシの生存・増殖に適する窒素の濃度は 5 ppm 以下。リンについては, タマミジンコでは 1.4mM 以下, ツボワムシでは 3.0mM で影響がみられなかった。さらに, 窒素及びリンの割合を変えて作成した飼育水でタマミジンコを飼育したところ窒素 3 mM とリン 5 mM を含む飼育水で生存率及び産仔率の低下がみられた。さらに, 流水式連続飼育装置を用いてクロレラの増殖と飼育水の関係を調べた(図 1, 2)。窒素 0.5mM, リン 0.3mM の飼育水でクロレラの増加量が最大であった。窒素及びリンの濃度がそれぞれ同一のときのクロレラの増加量を比べてみると, いずれの栄養塩も低い濃度の方が多くなっていた。このときの浮遊するクロレラはリンの濃度が高いときに多くなっており, 流出しやすいことが認められた。これらの結果から, 動・植物プランクトンの増殖への影響と植物プランクトンの水槽外への流失を考慮して窒素の濃度は 2.5mM (35ppm), リンのそれは 0.1mM (3.1ppm) とした。

3 それぞれの連続飼育系について

4 種類の流水式及び 1 種類の止水式の連続飼育系を作製し, タマミジンコ及び窒素, リンの濃度の変動を調べた。なお, 実験開始時のクロレラの濃度は $1.0 \times 10^6 \text{ cells/ml}$ とし, 生後 4 日目の

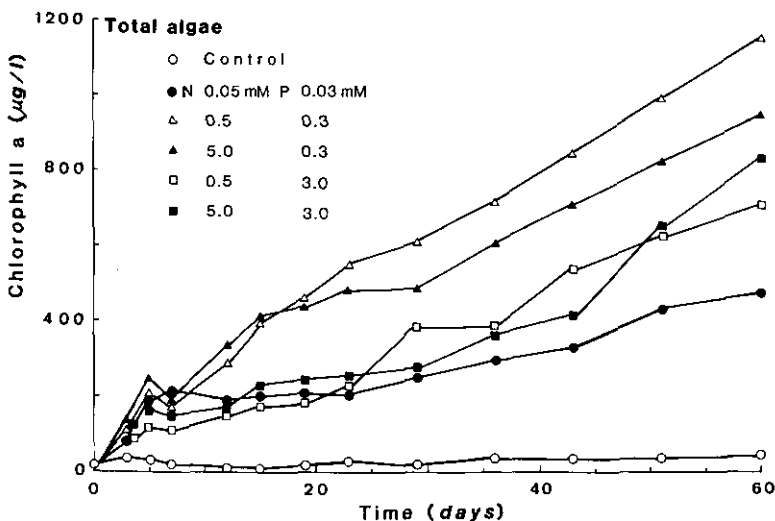


図 1 クロレラの連続培養における総クロロフィル a 量の変化

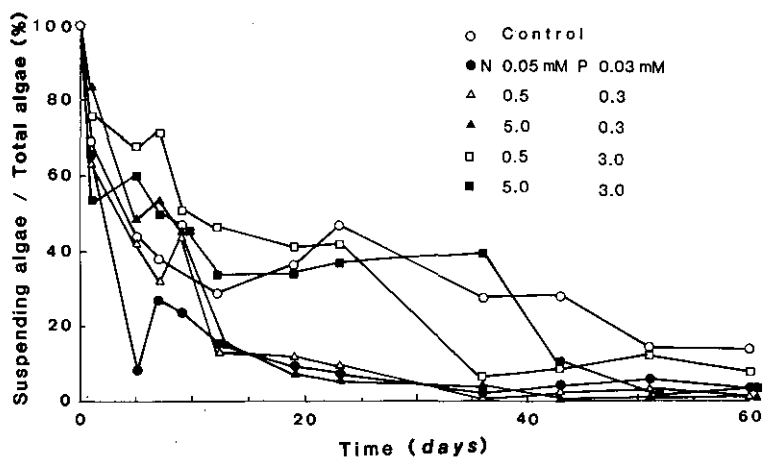


図2 クロレラの連続培養における浮遊クロロフィルa量の総クロロフィルa量に対する割合

タマジシンコ100匹を放した。4の系では1日ごとに、初めに入れた量に等しい量のクロレラ(1.0×10^9 cells/mlを10ml)ずつ添加した。5の系では体長2.5cm、体重150mgの雄のグッピーを円筒状の網籠(容積200ml、メッシュサイズ4mm×4mm)に入れ、水槽の中央につるした。

3.1 流水式クロレラ系(系1, 図3)

実験開始3日目まで総クロロフィルa量及び浮遊クロロフィルa量の減少がみられた。これは始めに入れ、まだ浮遊していたクロレラの系外への流失による。総クロロフィルa量のピークは $290 \mu\text{g/l}$ で、それ以上の増加はみられなかった。窒素の濃度は3日目に30ppmまで低下しその後変化はみられなかった。リンは10日目に1.5ppmまでに急激に低下したがその後徐々に回復した。

3.2 流水式クロレラ-タマジシンコ系(系2, 図4)

5日目にタマジシンコの増殖のピーク(580個体/l)がみられ、その後は100個体/l前後を維持していたが、40日目以降急激に減少した。浮遊クロロフィルa量は18日目に $1.2 \mu\text{g/l}$ まで減少したがタマジシンコの減少に伴いわずかな回復がみられた。なお、40日頃より *Oscillatoria* sp.が混入したために総クロロフィルa量が急激に増加した。*Oscillatoria*の増加にもかかわらずタマジシンコは生存し続けたが、56日目に実験を打ち切った。窒素の濃度は、終始約35ppmを維持していた。一方、リンは40日目までは3ppm前後であったが、*Oscillatoria*の増加に伴い、1.8ppmまで減少した。

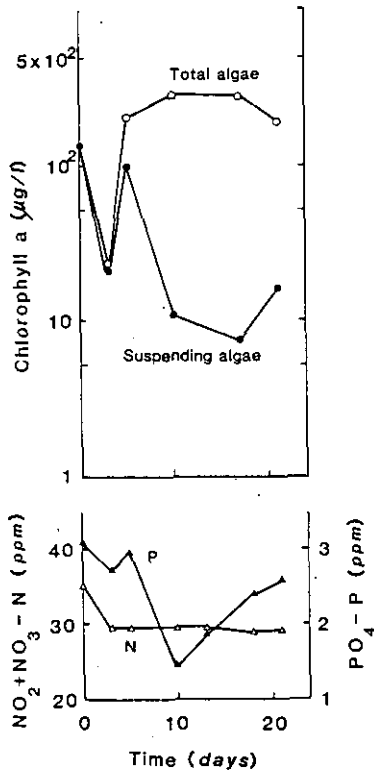


図3 流水式クロレラ系 (系1) におけるクロロフィルa量及び栄養塩類の変動

3.3 止水式クロレラ-タマジンコ系 (系3, 図5)

クロロフィルa量は3日目に460µg/lまで増加したがタマジンコの増殖に伴い急激に減少し17日目には7.6µg/lになったが、その後はほぼ一定を保った。タマジンコは6日目1,240個体/lと極めて高密度に成ったが、12日後には130個体/lまで減少し、33日目に死滅した。リンの濃度は2日目に1.25ppmまで減少したが、クロロフィルa量の減少に伴い12日目には3.1ppmまで回復した。その後わずかず減少する傾向にあった。一方、窒素は終始 35 ppm前後を維持していた。

3.4 クロレラを定期的に添加した流水式クロレラ-タマジンコ系 (系4, 図6)

タマジンコの密度が3日目の500個体/lから5日目の350個体/lに減少した時点からほぼ1日ごとにクロレラを添加し始めたところ再びタマジンコは増え始め10日目から5日間ほぼ約1,000個体/lを維持した。20及び39日目に3度目と4度目の密度のピークがみられ810及び1,000個体/lに増加したが、その後急激に減少し50日目に死滅した。定期的なクロレラの添加により浮遊クロロフィルa量は終始10µg/l以上に維持されていた。1日目にリンの濃度が2.3ppmまで減少したが、その後はほぼ3.0ppmを維持し、窒素の濃度の変動はほとんどみられなかった。

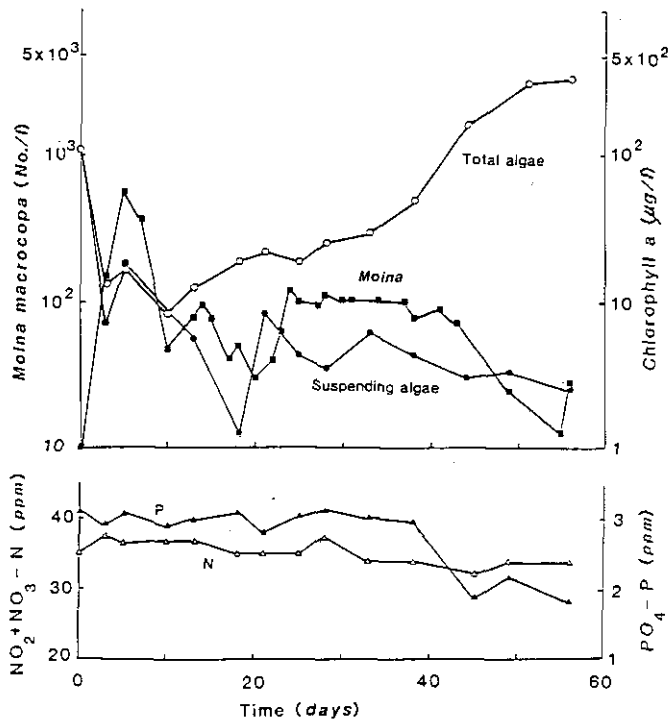


図4 流水式クロレラータマジンコ系(系2), クロロフィルa量及び栄養塩類の変動

3.5 流水式クロレラータマジンコグッピー系 (系5, 図7)

総クロロフィルa量のピークが5日目にみられ, その2日後にタマジンコの密度は1,050個体/l になった。この後総クロロフィルa量, 浮遊クロロフィルa量共に10µg/l以下となり, 浮遊クロロフィルa量は18日目には1µg/lまで低下した。一方, タマジンコは10日目頃から200~300個体/lを維持していたが, 20日目以降急激に減少し始め27日目に死滅した。リン及び窒素の濃度の変動はわずかであった。

4 考察

閉鎖系のモデル生態系では, 動物または植物プランクトンの一時的な増加の後に両者のバランスがくずれ, 系として成り立たなくなることが多い。特に, 小さな容器では植物プランクトンが食べ尽くされてしまうために, 動物プランクトンも死滅することがよくある。閉鎖系のモデル生態系を維持するために, 水槽に栄養塩類を添加し植物プランクトンの生産量を上げる試みもなされている。しかし, 栄養塩類の添加は植物プランクトンの増殖率を高めるが動物プランクトンを死滅させる可能性もある。両者の生存を可能にし, なおかつ系外への植物プランクトンの流失を抑える必要がある。富栄養湖は窒素の濃度が0.5~1.3ppm, リンは0.01~0.03ppmとされている⁹⁾。

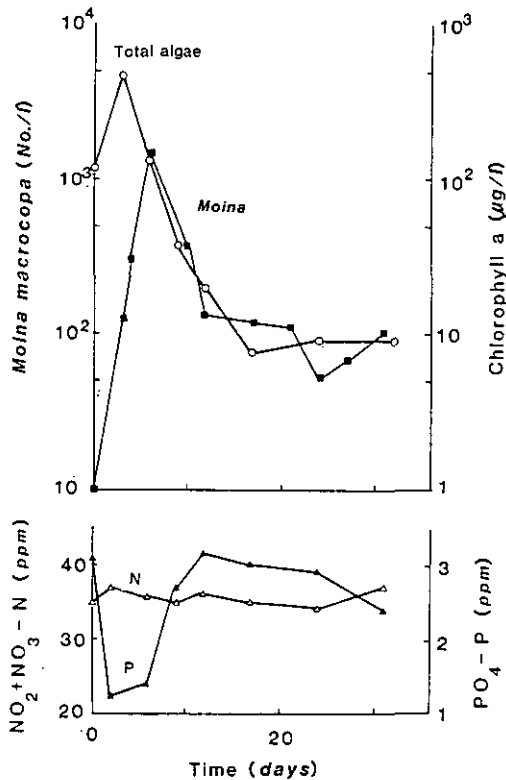


図5 止水式クロレラ-タマジンコ系 (系3) におけるタマジンコ、クロロフィル *a* 量及び栄養塩類の変動

霞ヶ浦では PO₄-P 0.002~0.09ppm, NH₄-N 0.03~0.63ppm, NO₂-N 0.002~0.46ppm, NO₃-N 0.002~2.7ppm である⁹⁾。富栄養湖と考えられる養鰻池では PO₄-P 1.0ppm 以下, NH₄-N 0.8 ppm 以下, NO₂-N 0.06ppm 以下, NO₃-N 0.04ppm 以下である¹⁰⁾。ここで用いた窒素及びリンの濃度は自然の湖沼に比べても非常に高いことになるが、植物プランクトンの生産量を高めるために必要であった。対照としての止水式クロレラ-タマジンコ系に比べて、流水式の系ではいずれも浮遊するクロレラの流失のために、1度目のタマジンコのピーク時の密度が低く抑えられていた。4を除く止水式、流水式のいずれの系でも始めの密度の大きな変動の後、100個体/l前後を維持した。このときのクロロフィル *a* 量も 10µg/l 以下で安定しており、ほぼ平衡状態にあったといえよう。栄養塩類の変化をみると、1のタマジンコの入らない流水式及び3の止水式の系ではクロレラの増殖に伴いリンの濃度の急激な減少がみられ、リンがクロレラに取り込まれたことを示している。その間窒素の濃度はほとんど変動しておらず、系内に十分存在していたと考えられる。一方、2、4、5の流水式の系ではタマジンコによりクロレラの増加が抑制されたために1、3の系にみられたような栄養塩類の低下は起きていない。

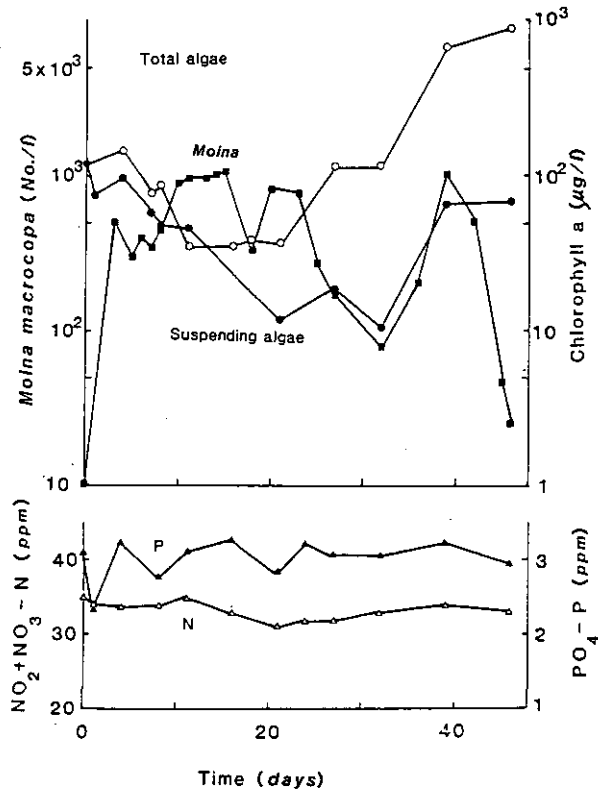


図6 クロレラを定期的に添加した流水式クロレラ-タマジンコ系(系4)におけるタマジンコ、クロロフィルa量及び栄養塩類の変動

2の流水式の系は3の止水式の系に比べてタマジンコをより長く生存させることができ、流水式の方が止水式の系よりもタマジンコの生存に有利である。餌の食べ尽くしによりタマジンコが死滅することを防ぐために、クロレラを系外から添加した4の系、及び、タマジンコの密度を抑制するためにグッピーを放した5の系では、2の系よりも長くタマジンコを生存させることができなかった。4の系では50日間で4回のタマジンコの増殖のピークがみられたが、増減の幅は徐々に大きくなり、4度目のピークの後、タマジンコは死滅した。クロレラの添加はタマジンコの密度を増加させたが、同時に水質の悪化をもたらし、タマジンコを高密度で維持することは不可能であった。タマジンコの補食者としてのグッピーの導入は、タマジンコの最初の密度のピークの時期を遅らせたが、低密度になったときには死滅する時期を早める働きをした。上記のいずれの系においても動物プランクトンはタマジンコの一種類である。一種類の系では他の動植物との相互関係のないことや環境の単純化などから、異常な増加や急激な減少がみられる¹¹⁾。動物プランクトンとしてタマジンコとツボワムシを入れた流水式の系を作りそれらの増減を調べたところ、タマジンコとツボワムシの増減は交互起こったが、2種の動物プ

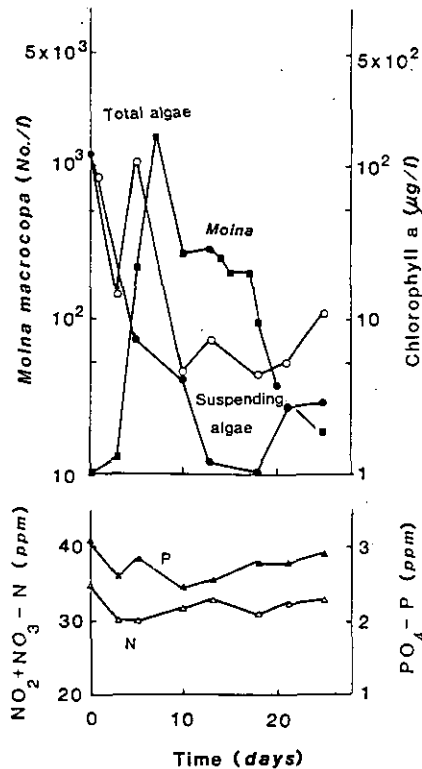


図7 流水式クロレラ-タマミジンコ-グッピー系(系5)におけるタマミジンコ、クロロフィルa量及び栄養塩類の変動

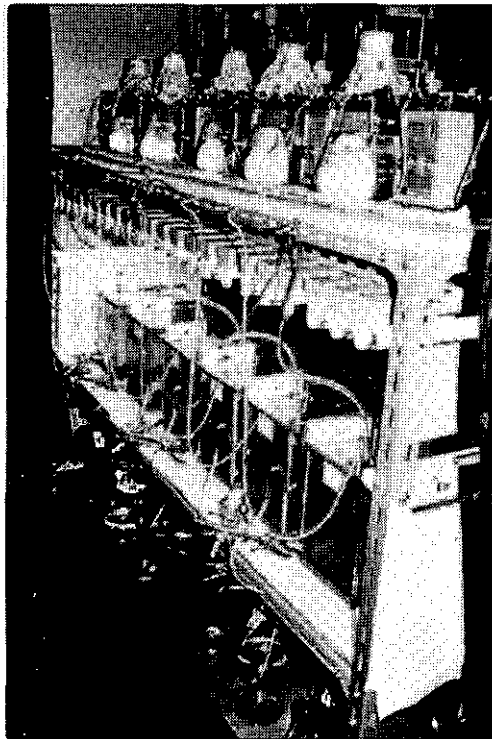
ランクトンによりクロレラは結局食べ尽くされてしまいすべてが死滅した。

以上のことから、小型の水槽により成るモデル生態系の構成者を長期間維持するためには、動物プランクトンが高密度にならないように適当な間引きを行い、低密度になり過ぎたら加える。動物プランクトンの餌としての植物プランクトンも低密度になったら添加する。動植物プランクトンの生存できるような水質に保てるよう水の適度の交換、並びに動植物プランクトンの保存プールとしての隠れる場所の設置等、様々な人為的な操作が必要と考えられる。

引用文献

- 1) 宮下 衛・安野正之(1984)：微小生態系の構造に対する有害汚染物質の影響評価。国立公害研究所研究報告，第62号，37-47。
- 2) Bayers, R. J. (1963)：The metabolism of twelve aquatic laboratory microecosystems. Ecol. Monogr., 33, 281-306.
- 3) Taub, F. B. and A. M. Dollar (1964)：A Chlorella-Daphnia food-chain study：The design of a

- comparative chemically culture medium. *Limnol. Oceanogr.*, 9, 61-74.
- 4) Taub, F. B. and A. M. Dollar (1968) : Improvement of a continuous culture apparatus for long-term use. *Appl. Microbiol.*, 16, 232-235.
 - 5) Taub, F. B. and A. M. Dollar (1973) : Continuous culture of an alga and its grazer. *Bull. Ecol. Res. Comm. (Stockholm)*, 17, 371-377.
 - 6) Cooke, G. D. (1967) : The pattern of autotrophic succession in laboratory microcosms. *Bioscience*, 17, 680-707.
 - 7) Watanabe, A. (1960) : List of algal strains in collection at the Institute of Applied Microbiology, University of Tokyo. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 54, 238-292.
 - 8) Sakamoto, M. (1966) : Production by phytoplankton community in some Japanese lakes and its dependence on lake depth. *Arch. Hydrobiol.*, 62, 1-28.
 - 9) 相崎守弘・大槻 晃・森下正彦・岩熊敏夫・手塚和彦 (1979) : 資料編：高浜入調査データ。国立公害研究所研究報告，第6号，377-390.
 - 10) 伊藤 隆 (1960) : 養鱉池の水変りに関する研究 XXI. *Fac. Fish. Mie Pref. Univ.*, 3, 680-707.
 - 11) Slobodkin, L. B. (1954) : Population dynamics in *Daphnia obtusa*. *Kulz. Ecol. Monogr.*, 24, 69-88.



クロレラ・タマミジンコの連続飼育系
(166頁 2.2 装置についてを参照)

食物連鎖を通じた重金属 (Cd, Cu, Zn) のワムシ、カゲロウ 及びユスリカに対する影響の解析

島山成久¹

Effects of Heavy Metals (Cd, Cu, Zn) on Some Aquatic Organisms through the Food Chain

Shigehisa HATAKEYAMA¹

Abstract

Effects of heavy metals (Cd, Cu, Zn) on the five species of aquatic organisms were studied using the following food-chains. 1) *Chlorella-Brachionus urceolaris* (Rotatoria), 2) *Golenkinia radiata* (green algae)-*Paratanytarsus parthenogeneticus* (midge larva), 3) *Golenkinia-Cloeon dipterum* (mayfly nymph), 4) Diatoms-*Epeorus latifolium* (mayfly nymph), 5) Dried yeast-*Polypedilum nubifer* (midge larva).

The concentrations of Cd accumulated in the algae (food) which did not affect the reproduction of *B. urceolaris* (number of offsprings), *P. parthenogeneticus* (number of eggs) and the growth of *C. dipterum* were 500, 650, and 650 μ g/g (dry weight), respectively. On the other hand, *P. parthenogeneticus* fed the Cd-accumulated algae at 2,200 μ g/g ceased the growth completely.

Growth and emergence of *E. latifolium* fed Zn-accumulated diatom decreased considerably at higher concentrations than 1,400 μ g Zn/g (dry weight).

Emergence rate of *P. nubifer* fed the food accumulated 1,400 μ g Cd/g or 1,500 μ g Cu/g (dry weight) decreased to 60% and 25% of the control respectively. However, no effects on the oviposition and fertilization rate were detected. Emergence did not occur from the aquarium fed the Cu-accumulated food (yeast) at 5,000 μ g Cu/g (dry weight).

Possibilities of the effects of heavy metals through food chains in the natural aquatic ecosystems were discussed.

1. 国立公害研究所 生物環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2.

Environmental Biology Division, the National Institute for Environmental Studies. Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

要 旨

被食者(餌) — 捕食者からなるモデル実験により5種の水生生物(ワムシ, カゲロウ2種, ユスリカ2種)に対する食物連鎖による重金属(Cd, Cu, Zn)の影響を検討した。またこれまで発表した結果などを含め, 水生生物に対する食物連鎖による重金属の影響の特徴について考察した。

今回の実験結果などから藻類に蓄積した重金属(Cd, Cu)がその捕食者に及ぼす影響は $500\mu\text{g/g}$ (乾重)前後の濃度では少ないことが分かった。しかしその濃度が数 $1,000\mu\text{g/g}$ のレベルになると著しい影響が生じた(Zn, *Epeorus latifolium*; Cd, *Paratanytarsus parthenogeneticus*)。

ユスリカ(*Polypedilum nubifer*)の羽化, 産卵等に及ぼす餌中のCd, Cu, Znの影響が検討され, Cuでは餌中の濃度が約 $1,400\mu\text{g/g}$ (乾重)で羽化率を対照の約25%に減少させた。またCdでもその影響が認められた。

これまで行ったモデル実験によれば捕食者に顕著な影響を及ぼす被食者中の重金属濃度は $1,000\mu\text{g/g}$ (乾重)以上の概して高いものであった。またその影響も魚では慢性的なものであった。しかし上記のような値は汚染された環境の付着藻や底質などでは測定され得る値である。一方, 食物連鎖による重金属の影響に感受性の高い生物もあることが示された。

1 はじめに

有害汚染物質による水界生態系への影響評価を行う目的で, 種々の水生生物に対する急性及び慢性毒性試験が国の内外で数限りなく行われてきた。この場合, 有害汚染物質は試験水に直接添加されるのが一般的である。また, 野外の調査では通常水中の有害汚染物質の濃度が測定され, 上記の毒性試験の結果との対比などから個々の水生生物あるいは水界生態系に及ぼす影響が予測されるであろう。

一方, DDTやメチル水銀などで明らかにされたように, 有害汚染物質は食物連鎖によっても生物濃縮することが知られている。特に水生生物は被食者もその捕食者も同一の汚染環境に生息することが多く, かつ各々の水生生物は水中の有害汚染物質を吸着又は体内に蓄積するため食物連鎖による有害汚染物質の蓄積を避けることはできない。

そのため, 食物連鎖による有害汚染物質の生物濃縮に関してはR・Iやモデル生態系を使用した実験などから多くのこと柄が明らかにされてきた¹⁾。その反面, 食物連鎖により生物濃縮した有害汚染物質の生物影響についての知見は, 水中の有害汚染物質による影響のそれと比較して極めて乏しい状態にある。

そのため筆者らは, 被食者—捕食者の関係が成り立つ種々の水生生物を用いたモデル実験により, 食物連鎖による重金属の生物濃縮とその生物影響に関して, カドミウム(Cd), 銅(Cu), 亜鉛(Zn)などについて種々検討し, その主な結果については本特研の中間報告書²⁾などに報告して来た。今回は, その後新たに行われた食物連鎖のモデル実験について報告し, これらと既に発表している主な結果などから水界生態系における食物連鎖による重金属の影響について検討した。

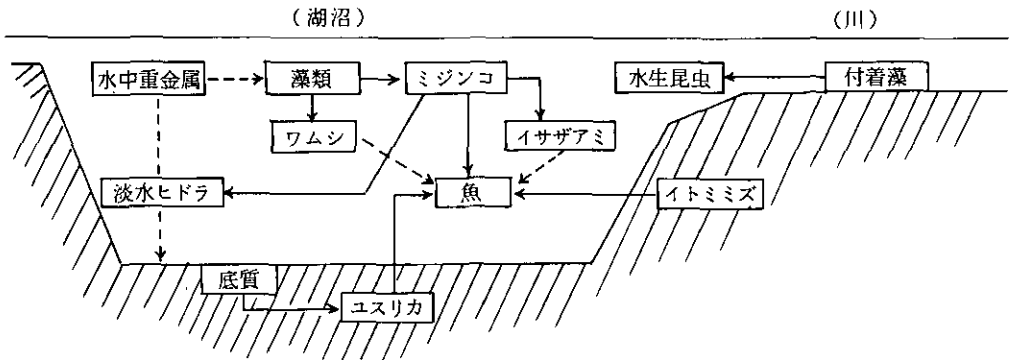
2 実験方法

これまで実験に用いた水生生物と食物連鎖モデル上の関係（被食者→捕食者）を図1に示した。図中、水生昆虫としてはカゲロウ (*Epeorus latifolium*, *Cloeon dipterium*), ユスリカ (*Paratanytarsus parthenogeneticus*), 藻類はクロレラ (*Chlorella* sp.), ゴレンキニア (*Golenkinia radiata*), 付着ケイ藻, そして魚はグッピー (*Poecilia reticulata*) である。

実験方法の概要は、被食者に相当する水生生物に3～5濃度段階で重金属を蓄積させ、これを清浄水で洗った後その捕食者に摂食させ、捕食者に及ぼす生長又は増殖への影響を測定する。

生物体中の重金属濃度は、0.1mM EDTA 溶液及び純水 (Milli-Q 水) で洗浄後、乾重を得、硝酸、過塩素酸で湿式分解後、純水で定容にし、原子吸光装置 (島津 AA-640-12型, 日立180-80型) により分析した。

図1 食物連鎖モデルに使用した水生生物と食物連鎖上の位置関係



2.1 クロレラ (*Chlorella* sp.) ——ワムシ (*Brachionus ulceolaris*) 系

クロレラの培養液³⁾ (2 l) に Cd (CdCl_2 として) をそれぞれ10, 100, 250, 500ppb ずつ添加してクロレラ (初期濃度 10^6 cells/ml) を14日間培養した。その後、人工軟水⁴⁾と遠心操作 (6,000r. p. m. 20min, 3回) により細胞外の Cd を除去し、クロレラを人工軟水中に濃縮 (3.8mg 乾重/ml) して実験に供した。

ワムシ (*B. ulceolaris*) はクロレラで継代培養しているものを使用した。実験には、親の段階から Cd に暴露し、その第1番目にふ化した仔を残し Cd の影響を調べた。小型シャーレ (内径27mm) の飼育水 (3 ml) 中にワムシ1個体を入れた後クロレラ (0.11mg·dry wt.) を餌とし、1濃度当たり12個体を用いた。

一方、水中の Cd の影響を見るため飼育水にそれぞれ5, 10, 20, 30, 40ppb の Cd を添加し上記と同様の条件で実験を行った。クロレラを含む試験水は2～3日ごとに新しいものと交換した。

2.2 緑藻(*Golenkinia radiata*) ——ユスリカ(*Paratanytarsus parthenogeneticus*)系

このユスリカは小型で単為生殖することから試験管(φ, 18mm)のような狭い空間でも羽化、産卵に至るまでの毒性試験が可能である。餌としては、緑藻の一種である *Golenkinia radiata* 又は *Chlorella* sp.に Cd を 4 ~ 5 濃度段階で蓄積させ、生長及び産卵数に及ぼす影響を調べた。実験の方法については概に報告されているが⁹⁾今回も餌中に Cd 又は Cu を蓄積した以外はほぼそれに従った。培養液中の重金属も 2.1 と同様にして除去した。重金属の濃度等は後述(3.2)する。

2.3 藻類——カゲロウ系

2.3.1 緑藻(*Chlorella, Golenkinia*) ——フタバカゲロウ(*Cloeon dipterum*)系

フタバカゲロウは止水性のカゲロウである。体長 3 mm 程度のカゲロウを屋外の大型水槽から採集し、1 個体ずつガラス瓶(φ35mm×75mm)に入れ、藻類中及び水中の Cd の影響を検討した。一濃度当たり12個体で実験を行い、生長及び羽化に至る影響を調べた。Cd, Cu を蓄積した藻類を含む水(40ml)は 3 日ごとに交換した。水中に重金属を添加した場合は 2 日ごとに試験水(餌を含む)を交換した。

2.3.2 付着ケイ藻——エルモンヒラタカゲロウ(*Epeorus latifolium*)系

人工環境室(室温15℃)に設置した人工水路により、カゲロウ(*E. latifolium*)の生長、羽化等に及ぼす水中、及び藻類中の Zn の影響を検討した。これらの実験方法は前回の報告書⁹⁾に記したとおりである。前回(Cd, Cu)と同様カゲロウは宇都宮市郊外の鬼怒川から採集した。

2.4 乾燥酵母——ヤモンユスリカ(*Polypedilum nubifer*)系

ヤモンユスリカ(*P. nubifer*)⁷⁾は当研究所アクアトロンで継代飼育しているものを使用した。

暴露は卵の段階から始め、その後の生長、羽化、産卵(数)など調べた。これと卵カイ数、ふ化率のデータと合わせ羽化率、産卵率、受精率などが求められた。この種(*P. nubifer*)は比較的狭い空間でも交尾産卵するため、一世代にわたるユスリカの毒性試験に好適な材料とみなされる。試験はすべて流水式(230ml/min)で行った。餌としては乾燥酵母とその10%量のテトラミン(稚魚用)、底質としてはガラスビーズを用い、交尾産卵用の場として0.3×0.5×0.7(高) m³のネットで仕切られた空間を用いた。Cd, Cu, Zn について餌中及び水中の影響を検討した。一濃度当たり 2 ~ 3 の水槽、合計12の水槽で試験を行った。水温はすべて23±1℃で実験を行った。実験法の一部と結果については既に報告された¹⁴⁾。

3 結果

3.1 クロレラ(*Chlorella* sp.)——ワムシ(*Brachionus urceolaris*)系における Cd の影響

ワムシ類は藻類を摂食し、自らは甲かく類や稚魚の餌となっている。そのため水産の面からも重要な位置を占めている。藻類は水中の重金属を高濃度で濃縮するため(濃縮係数数千~数万)

Cdを用い食連鎖による影響を検討した。表1にワムシの産仔数に及ぼす水中（上段）及び餌（クロレラ）中のCdの影響を示した。クロレラは最高約480 $\mu\text{g/g}$ （乾重）のCdを蓄積した。クロレラの取量は10ppbでは影響が認められなかったが、100, 250, 500ppbのCdを培養液に添加したときは対照のそれぞれ80%, 60%, 50%に減少した。

表1 ワムシ (*Brachionus urceolaris*) の産仔数に及ぼす
水中及び餌中のカドミウム (Cd) の影響

暴露の方法	Cdの濃度	産仔数 ^{b)} (Mean \pm S. D.)
水に添加 (ppb)	対照	12.5 \pm 3.9
	5	11.8 \pm 2.0
	10	11.0 \pm 2.3
	20	9.9 \pm 2.9
	40	9.3 \pm 2.2 ^{a)}
餌(クロレラ)に 蓄積 $\mu\text{g/g}$ (乾重)	N. D.	9.3 \pm 2.7
	19 (10) ^{a)}	9.9 \pm 1.5
	84 (100)	10.0 \pm 2.5
	235 (250)	8.6 \pm 2.4
	480 (500)	7.7 \pm 2.4

a) : 培養液中の Cd 濃度(ppb), *) P < 0.05

b) 仔は卵が母体から遊離して数時間以内にふ化した。

産仔数に有意な差が認められたのは(t-test)ワムシの飼育水に40ppbのCdを添加した場合のみであった。クロレラ中のCdはその濃度が480 $\mu\text{g/g}$ （乾重）の場合でもそれを摂食するワムシの産仔数に有意差は認められなかった。また産仔の開始時期、寿命(約7日)にも有意差は認められなかった。Cdを含む *Chlorella* の実験の場合、水中へのCdの溶出は免れ難いのでその濃度を測定した。実験3日後に試験水を遠心(12,000 r. p. m.)して上澄水のCdを分析した。対照, 10, 100, 250, 500ppb-*Chlorella* 試験水中のCd濃度はそれぞれN. D., 0.6, 1.2, 9.0, 20.2ppbであった。ワムシはミジンコよりも水中^{a)}及び餌中^{b)}のCdに対し感受性がかなり低いことが明らかになった。また現在検討している殺虫剤、除草剤に対してもワムシの感受性はミジンコよりも低いことが示されている(未発表)。

3.2 ゴレンキニア (*Golenkinia radiata*) —ユスリカ (*Paratanytarsus parthenogeneticus*) 系におけるCdの影響

培養液^{a)}中のCdの濃度及び12日間培養後のゴレンキニア (*G. radiata*) 中のCdの濃度を図2に示した。ゴレンキニア中のCd濃度は培養液中のCdに比例して増加した。このとき、培養液に添加したCdの約10%がゴレンキニア中に蓄積され、約87%が培養液中に残存し、あとの3%程度は器壁等に付着した。

ふ化直後のパラタニタルサスの幼虫をこのようなゴレンキニアを餌として餌育した。試験管に幼虫1個体ずつを入れ、羽化、産卵数を調べた。このユスリカは産卵されてから2日後にふ化し、約2週間後から羽化が始まる。今回の実験でも14日後から20日目にかけて大部分が羽化した。羽化の開始時期にCdによる遅れは認められなかった。表2に羽化した個体の翅長(生長)及び1卵カイ中の卵数を示した。このユスリカは羽化当日1卵カイ、翌日に小さい1卵カイを産する⁵⁾が表2は羽化当日のものである。餌中のCdによる卵数の減少は全く認められなかった。三つの濃度区ではむしろ交照区よりも卵数が多かった(表2)。その後、ゴレンキニア中のCd濃度を2,300 $\mu\text{g/g}$ (乾重)に高めた実験を行った。実験後24日目まで1齢のままで生長がほとんど抑制された(図3)。

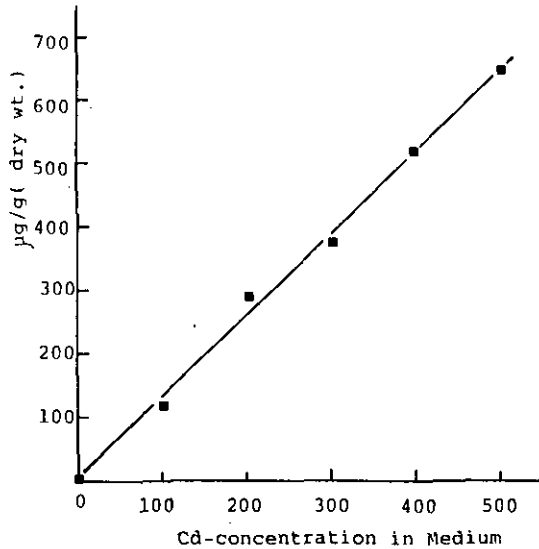


図2 培養液中のCd濃度(ppb)と12日間培養後の緑藻(*Golenkinia radiata*)中のCd濃度

表2 カドミウムを蓄積した緑藻ゴレンキニア *Golenkinia radiata* を摂食したユスリカ *Paratanytarsus parthenogeneticus* 成虫の生長及び産卵数

餌中のCd濃度 $\mu\text{g Cd/g}$ (乾重)	成虫の翅長 (mm)	一卵カイ中の 卵数
2.1 \pm 1.4 (3)	1.21 \pm 0.05 (12)	52.2 \pm 8.6 (12)
118.5 \pm 0.9 (3)	1.24 \pm 0.03 (12)	61.0 \pm 8.9*(14)
312.7 \pm 24.6 (3)	1.24 \pm 0.07 (13)	58.6 \pm 12.3 (14)
372.6 \pm 4.0 (3)	1.28 \pm 0.03 (10)	68.3 \pm 6.5*(12)
518.8 \pm 4.9 (3)	1.37 \pm 0.04 (14)	85.1 \pm 11.0*(15)
644.8 \pm 5.9 (3)	1.23 \pm 0.03 (11)	53.0 \pm 5.3 (15)

Mean \pm S. D. (n)

24日後に対照のゴレンキニアに移し変えると急速に生長が始まったが過半数はさなぎにならないで死亡した。その中で15個体中2個体が羽化して産卵した。

このような現象はCuに暴露した場合も認められた。このように、このユスリカはある種の汚染物質の濃度が高いとき、その生長が一代よりも長い期間抑制されたままで耐え、環境が改善されると再び生長が回復する能力を有することが示された。

成虫のサイズ(翅長)と卵数の相関は高いことが既に報告されている⁵⁾が、今回の結果でも同様に高い相関があった ($r=0.99$)。

一方、水中に添加したCdの影響を調べた(表3)。翅長、卵数に明らかな影響が認められたのは

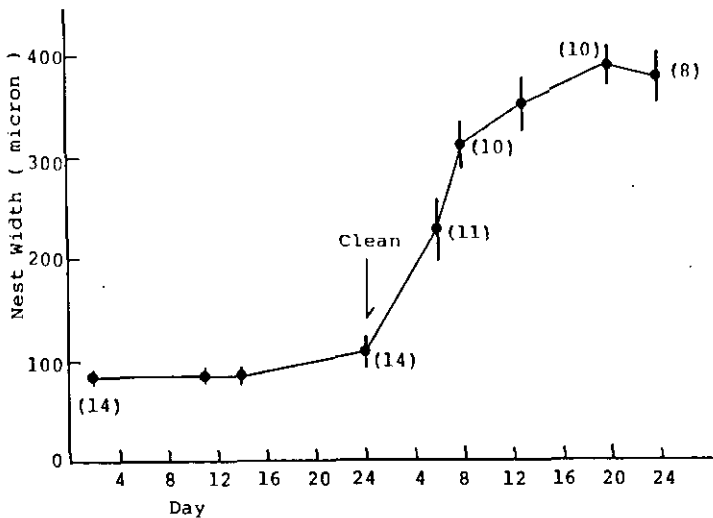


図3 高濃度のCdを蓄積(2,300 $\mu\text{g/g}$ 乾重)した緑藻(*Golenkinia radiata*)を給餌したユスリカ(*Paratanytarsus parthenogeneticus*)の生長抑制、及び清浄な環境に移した後の回復
生長は Nest の幅で表している。

表3 ユスリカ *Paratanytarsus parthenogeneticus* の生長(翅長)及び産卵数に及ぼす水中に添加したカドミウムの影響

Cdの濃度 (ppb) (水に添加)	成虫の翅長 (mm)	一卵カイ中の 卵数
N. D. (対照)	1.23 \pm 0.03 (7)	55.2 \pm 7.1 (11)
5	1.19 \pm 0.04 (9)	48.0 \pm 12.0 (8)
10	1.27 \pm 0.05 (11)	67.7 \pm 19.2 (13)
20	1.17 \pm 0.04 (9)	46.7 \pm 22.1 (9)
330	1.05 \pm 0.02 (7)	25.6 \pm 10.2 (9)
40	1.08 \pm 0.03 (10)	27.2 \pm 7.3 (10)

Mean \pm S. D. (n)

30, 40ppb で、産卵数が対照の約50%に減少した。またこれらの濃度では対照に比較して最初の羽化日が3日、実験に使用した個体の50%が羽化し日数が約5日遅れた。

3.3 藻類—カゲロウ系における食物連鎖による重金属の影響

3.3.1 緑藻 (*Chlorella* sp.又は *Golenkinia radiata*) —フタバカゲロウ (*Cloeon dipterum*) 系における Cd の影響

カゲロウ幼虫の多くは藻類を摂食し、河川生態系に占める役割は大きい。ここで用いたフタバカゲロウの幼虫は止水性のカゲロウとして知られ、小さい容器中でも生長が早いことからカゲロウの毒性試験に適しているものと考えた。

表4は緑藻にCdを蓄積させこれを体長 3.2 ± 0.1 mm (Mean \pm S. D. $n=72$) のフタバカゲロウの幼虫に摂食させた場合の生長及び羽化を示す。餌中のCdが $645 \mu\text{g/g}$ (乾重) の場合でも生長速度、羽化数に明らかな影響は認められなかった。

一方、飼育水にCdを添加した場合は100ppb、2週間暴露で過半数が死亡したが、30ppbでは生長に及ぼす影響に有意差は認められなかった ($p > 0.05$, t-test)。

表4 カドミウムを蓄積した緑藻ゴレンキニア *Golenkinia radiata* を摂食したフタバカゲロウ *Cloeon dipterum* の生長及び羽化

緑藻中の Cd 濃度 ($\mu\text{g/g}$ 乾重)	1 週後 (mm)	2 週後 (mm)	3 週後 (mm)	5 週後 蛹 羽化	
2	4.1 ± 0.4	5.2 ± 0.8	6.0 ± 0.8	8	4
119	4.0 ± 0.3	5.1 ± 0.5	6.4 ± 0.7	8	4
313	4.1 ± 0.8	5.2 ± 0.6	6.2 ± 0.9	8	4
373	4.0 ± 0.3	5.2 ± 0.5	6.4 ± 0.8	6	6
519	4.0 ± 0.3	5.3 ± 0.6	6.1 ± 0.8	6	6
645	3.9 ± 0.2	4.9 ± 0.4	6.0 ± 0.7	5	7

Mean \pm S. D. (N=12), 暴露開始時の体長 3.2 mm

3.3.2 付着藻 (ケイ藻) —エルモンヒラタカゲロウ (*Epeorus latifolium*) 系における亜鉛 (Zn) の影響

野外調査の結果から廃止鉱山下流の重金属汚染河川では石面付着藻中のZn濃度が極めて高いことが分かった。そのため人工水路を用いた実験により水生昆虫に及ぼす藻類(餌)中のZnの影響を検討した。方法等は前報⁹⁾のかけ流し式水路による。水路に発生したケイ藻の大部分は *Synedra rumpens* であったが、Zn濃度の高い区では *Navicula minima*, *Chlamydomonas* sp.も数10%、及び10%程度混じっていた。

表5は付着藻中のZn濃度とそれを摂食させたエルモンヒラタカゲロウ (*E. latifolium*) の生長速度を示す。実験開始時のカゲロウの体長は 4.5 ± 0.7 mm ($n=72$) であった。付着藻中のZn濃

表5 亜鉛を蓄積した付着藻(ケイ藻)を摂食したエルモンヒラタカゲロウの体長増加(% per week)及び7週後の生存数, 羽化数

実験は12個体のカゲロウを個別に試験した。

Zn-Accumulated Algae ($\mu\text{g/g}$ 乾重)	1 W	2 W	3 W	4 W	4 W to 7 W		
					Died	Larvae	Emerged
510 (対照)	18.6 \pm 5.3 (12)	18.3 \pm 5.1 (12)	23.2 \pm 10.1 (11)	14.5 \pm 8.1 (8)	3	1	8
600	22.1 \pm 4.3 (12)	24.4 \pm 8.1 (12)	22.5 \pm 3.9 (11)	18.8 \pm 9.8 (9)	4	1	7
770	17.4 \pm 5.2 (11)	19.9 \pm 7.1 (11)	18.6 \pm 8.8 (11)	12.7 \pm 3.7 (9)	3	3	6
930	18.4 \pm 3.8 (10)	20.8 \pm 4.7 (10)	16.3 \pm 6.7 (10)	17.8 \pm 7.3 (9)	6	1	5
1380	10.3 \pm 3.3** (8)	18.0 \pm 6.2 (7)	23.3 \pm 4.2 (6)	25.9 \pm 5.7 (5)	7	2	3
2170	10.8 \pm 2.3** (4)	0.5 \pm 0.9** (3)	9.7 \pm 7.1** (3)	20.4 \pm 9.8 (3)	9	3	0

Mean \pm S. D. (No. of Individuals) ** , P<0.01

Body length at time 0 : 4.53 \pm 0.69 mm (Mean \pm S. D., n=72)

Week : Weeks after start of Zinc-exposure

付着藻中の Zn 濃度は5週の平均値 (n=5)

表6 エルモンヒラタカゲロウ(*E. latifolium*)の生長及び羽化に及ぼす水中の亜鉛の影響

1週間ごとにおける体長の増加 (%) を示す。実験は12個体のカゲロウを個別に試験した。

Nominal Concentration	1 W	2 W	3 W	4 W	4 W to 6 W		
					Died	Larvae	Emerged
Control	19.5 \pm 7.8 (10)	20.2 \pm 3.9 (10)	14.4 \pm 5.4 (9)	10.6 \pm 6.2 (4)	3	0	9
3 ppb	19.6 \pm 4.5 (10)	19.2 \pm 2.5 (9)	14.9 \pm 6.1 (9)	14.3 \pm 1.7 (4)	4	0	8
10 ppb	16.7 \pm 2.9 (8)	15.2 \pm 5.4* (8)	11.3 \pm 8.8 (6)	7.0 \pm 5.2 (6)	8	1	3
30 ppb	18.8 \pm 5.0 (11)	15.3 \pm 9.3 (10)	9.9 \pm 7.1 (10)	3.2 \pm 8.2 (7)	9	1	2
100 ppb	7.2 \pm 3.7** (8)	1.0 \pm 5.5** (6)	-1.2 \pm 1.2** (3)	-3.8 (2)	12	0	0
300 ppb	4.6 \pm 4.3** (8)	0.6 \pm 2.2** (6)	-0.3 \pm 2.2** (4)	-3.9 (2)	12	0	0

Mean \pm S. D. (No. of individuals) * , P<0.05 ** , P<0.01

Body length at time 0 : 5.75 \pm 0.45 mm (n=72)

W : Weeks after start of Zinc-exposure

度が高い場合はカゲロウの生長は著しく遅れ、暴露一週後における生長は対照の約58%であった。4週後に対照の生長速度が低いのは成熟に近くなったためであり、Zn高濃度区の生長速度が高まったのは藻類中のZn濃度が徐々に減少したことと、生残した幼虫がほぼ若齢のままだったことによる。

対照、低濃度区では半数以上が羽化したが、高濃度区では実験初期の死亡が多く、7週後までに、最高濃度区では12個体中9個体が死亡し、3個体は幼虫のまま残った。

一方、水中に添加したZn (ZnSO₄)の影響を表6に示した。Znが100ppb、300ppbでは著しい影響が認められ、2週間後から生長がほとんど停止し、4週から6週にかけ全個体死亡した。一方、10ppb、30ppbのZnを添加した区では生長速度は徐々に低下し、また死亡率も高まった。また生長の遅れに伴って脱皮週期の遅れも認められた(表7)。

これらの結果と前報⁶⁾のCu、Cdの結果を野外調査の結果(水中及び付着簿中の重金属濃度及びエルモンヒラタカゲロウの生息密度)と合わせ、実際の河川における食物連鎖による重金属の影響を表題II-1で検討した。

表7 亜鉛に暴露したエルモンヒラタカゲロウ *E. latifolium* の脱皮周期

Nominal Concentration (ppb)	Molt Interval (Day)
Control	6.9±0.4 (n=10)
3	7.2±0.7 (n= 9)
10	8.2±2.5 (n= 8)
30	8.7±2.2 (n=10)
100	11.4±5.4 (n=11)
300	15.1±9.0 (n=10)

Mean±S. D. (no. of individuals)

3.4 乾燥酵母—ヤモンユスリカ (*Polypedilum nubifer*) 系におけるCd, Cu, Znの影響

図4にユスリカ (*P. nubifer*) の卵(3卵カイ、1卵カイは約600個の卵から成る)を水中に添加した10, 20, 40ppbのCdに暴露した場合の積算羽化数を示した。羽化は産卵後16日頃から始まった。蛹の脱皮殻、卵カイを毎日採集し、雌雄ごとの羽化数、産卵率、受精率を調べた。羽化率は実験により異なるが多くは60%前後である。この実験の羽化率は対照、10ppbでは76%であったが、40ppbでは30%に減少した。しかし産卵率(0.56~0.63)、受精率(0.91~0.92)に関しては処理区間で有意差は認められなかった。

一方、ユスリカの餌にCdを約18, 150, 1,500μg/g(乾重)蓄積させて同様の実験を行った結果では、150, 1,500μgCd/gの濃度で総羽化数が対照の約60%に減少したが、産卵率、受精率にはCdによる影響が認められなかった。

図5は水中及び餌中に添加したCu(CuSO₄)の影響を示す。水中に添加した場合、40ppbで羽化率は著しく減少し、産卵率は0となった。20ppb, 30ppbでも羽化率の減少が認められ、産卵率もやや減少した。

一方、餌中に添加したCuではCu濃度が1,400μg/g(乾重)では羽化率が対照の約25%に減少

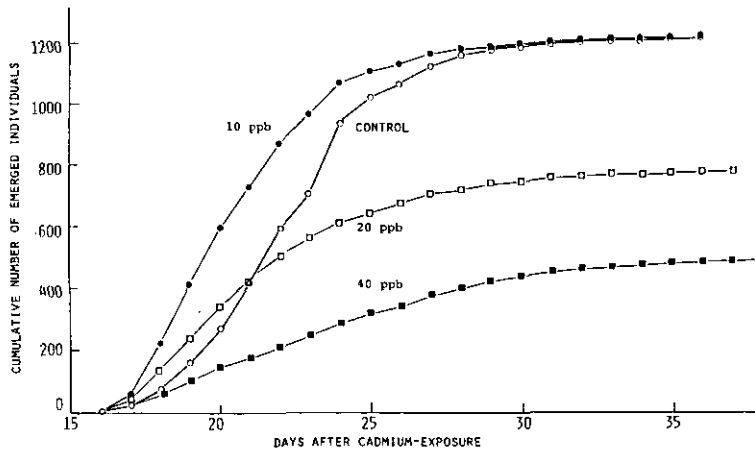


図4 カドミウム(Cd)に連続暴露(流水式による)したユスリカ(*Polydora nubifer*)の積算羽化数

実験は卵のときから暴露し、3卵カイを用いた(1卵カイは約600前後の卵から成る)。

COPPER EXPOSURE	EMERGENCE RATE		OVIPOSITION RATE		FERTILIZATION RATE	
	0	0.5	0	0.5	0	0.5
WATER (ppb)	CONTROL	~0.5	~0.5	~0.5	~0.5	~0.5
	10	~0.4	~0.4	~0.4	~0.4	~0.4
	20	~0.3	~0.3	~0.3	~0.3	~0.3
	30	~0.2	~0.2	~0.2	~0.2	~0.2
	40	~0.1	0	0	0	0
FOOD (μg/g dry wt)	CONTROL	~0.5	~0.5	~0.5	~0.5	~0.5
	30	~0.4	~0.4	~0.4	~0.4	~0.4
	190	~0.3	~0.3	~0.3	~0.3	~0.3
	1400	~0.2	~0.2	~0.2	~0.2	~0.2
	5000	~0.1	~0.1	~0.1	~0.1	~0.1

図5 ヤモンユスリカの羽化率(Emergence rate)、産卵率(Oviposition rate)、受精率(Fertilization rate)に及ぼす水中、及び餌(乾燥酵母)中のCuの影響

mean ± S. D (n = 3)

し、5,000 $\mu\text{g/g}$ の場合では 0 となった。産卵率、受精率に及ぼす影響はこの実験では対照区でも低目であり、明らかではなかった。

亜鉛 (Zn, ZnSO_4) は水中に添加した場合 50ppb, 100ppb で羽化率が対照のそれぞれ 50%, 20% に減少した。また産卵率に対する影響も認められ 100ppb では対照の約 40% に減少した (表 8)。

しかし餌中の Zn の影響は少なく、酵母中の Zn 濃度が約 30,000 $\mu\text{g/g}$ (乾重) の場合でも羽化、産卵がありその率はそれぞれ 0.15, 0.09 であった (表 9)。しかしこの実験時の羽化率、産卵率は対照の場合も低く、濃度に依存した影響は明らかにできなかった。

表 8 ヤモンユスリカ *Polypedelium nubifer* の羽化、産存等に及ぼす水中に添加した亜鉛の影響

Zn の添加濃度 (ppm)	ふ化率	羽化率	産卵率	受精率
0 (対照)	0.99 \pm 0.00	0.77 \pm 0.01	0.46 \pm 0.14	0.86 \pm 0.06
0.1	0.98 \pm 0.01	0.16 \pm 0.05	0.18 \pm 0.06	0.54 \pm 0.26
0.2	0.96 \pm 0.01	0.03 \pm 0.02	0.09 \pm 0.11	0.09 \pm 0.12
0.4	0.97 \pm 0.001	0.01 \pm 0.01	0	

Mean \pm S. D. (3 水槽の平均), 1 水槽当たり 2 卵カイを使用した。

表 9 亜鉛を含有する餌で飼育したヤモンユスリカ *Polypedelium nubifer* のふ化、羽化、産卵及び受精率

餌中の Zn 濃度 ($\mu\text{g/g}$ 乾重)	ふ化率	羽化率	産卵率	受精率
225 (対照)	0.99	0.17	0.08	0.91
5880	0.92	0.17	0.15	0.75
10650	0.87	0.17	0.23	0.89
30500	0.92	0.15	0.09	0.32

1 濃度当たり, 2 水槽の平均
(1 槽当たり 2 卵カイを使用した。)

4 考察

水界生態系において食物連鎖による有害汚染物質の影響が特に重要となるのは、水中の濃度が影響の低いレベルにあるときに、餌 (被食者) 中の濃度がそれを捕食する生物に影響を及ぼす場合である。

食物連鎖による影響が重要視されている割合にはその実験的検討が極めて少ないのは以下に記すような理由による点が多いものと思われる。水中の有害汚染物質の影響は急性毒性試験によ

り容易にその影響の上限が設定され慢性影響が行われる。一方、食物連鎖モデルでは被食者自身の耐性から被食者の重金属濃度を高めるのに限界があり、捕食者に対する影響は現れ難い。また、藻類や飼育法が比較的容易なミジンコなどを除き、被食者に相当する水生生物を安定に長期間供給することが困難であることなどにもよる。

藻類中に蓄積した Cd, Cu, Zn などがそれを摂食する水生生物に対する影響をワムシ、ミジンコ、ユスリカ、カゲロウなどで検討してきた。実験に使用した水生生物に及ぼす影響はクロレラに蓄積した Cd (340 $\mu\text{g/g}$) がタマミジンコの産仔等に影響を及ぼした場合⁹⁾を除き 700 $\mu\text{g/g}$ (乾重) 以下の濃度では明らかにできなかった。例えば、銅は貯水池の藻類の増殖を抑えるのに利用されるという。水中の Cu は短時間で藻類に蓄積される。そのため水中と藻類 (*Chlorella*) 中の Cu がミジンコ (*M. macrocopa*) の産仔数に及ぼす影響が試験された。水中の Cu は 35ppb で産仔数を対照の 50% に減少したが、藻類中の Cu は 390 $\mu\text{g/g}$ でも影響が認められなかった (未発表)。

しかし、カゲロウ (*E. latifolium*) の実験で明らかのように藻類中の Cu や Zn 濃度が 2,000~3,000 $\mu\text{g/g}$ (乾重) のレベルでは生長等に著しい影響を及ぼした。このような濃度は、我々の調査では、廃止鉱山下流の河川で常に測定されている値である。表題 II-1 で、水中及び石面付着藻中の重金属濃度とエルモンヒラタカゲロウ生息密度の関係から河川における水生昆虫に及ぼす食物連鎖による重金属の影響を検討し、食物連鎖による影響が示唆された。

動物プランクトン中の重金属がその捕食者に及ぼす影響としては、淡水ヒドラ¹⁰⁾、魚¹¹⁾ (グッピー)、イサザアミなどが用いられた。淡水ヒドラはその捕食量が魚などに比較して少なく、食物連鎖モデルによる重金属の影響解析に好適な材料と考えられた。またこの系では食物連鎖による Cd の影響が最も強く現れ、ミジンコ中の Cd が約 35 $\mu\text{g/g}$ (乾重) でもヒドラ (*Pelmatohydra robusta*) に致死的濃度であった。

一方、ミジンコグッピーの系¹¹⁾ではミジンコ中の Cd 濃度が約 70 $\mu\text{g/g}$ ではグッピーの生長に影響は認められず、170 $\mu\text{g/g}$ でも実験 (30日間) の前半に生長阻害が起こったが後半は回復した。グッピーがミジンコを通して摂食した Cd の全量に対して 30 日後に体内に蓄積した Cd は約 1.6% と少なかった。このため通常解説されているように栄養段階が高次になるに従っての生物濃縮は食物連鎖モデルによれば容易には起こらないことが分かった。水界生態系では食物連鎖による生物濃縮以外に水中からの生物濃縮が加算されることも上記のような差異が生じた原因と考えられる。

ユスリカは汚染された環境にも適応した種が生息し、底質の有機物を餌として湖の浄化の機能を果たし、魚の餌としてもその役割は大きい。また水中の重金属は拡散または、懸濁質や藻類などに吸着または蓄積して底質に移行するためその中に生息するユスリカへの影響を検討する必要があると考えられた。ユスリカ (*P. nubifer*) の羽化、産卵に影響を及ぼす餌中の Cu, Cd, Zn などの濃度は、1,000 $\mu\text{g/g}$ を越える概して高いものであった。

Wentzel 等によればメッキ工場の廃水で汚染された底質の Zn, Cd 濃度は極めて高く¹²⁾、ユスリ

カの羽化に影響があることを示した¹³⁾。

ユスリカ(*Chironomus yoshimatsui*)にCdを蓄積させ魚(グッピー)の生長、産仔等の影響を見た限り、用いた最高濃度(1,200 μ g/g乾重)でもその影響は慢性的なものであった²⁾。この系でもユスリカ中のCdのグッピーへの転移率は1%以下と極めて低いものであった。

今回の結果及びこれまで報告した結果などから、重金属の食物連鎖モデルによる影響を紹介してきた。得られた結果は自然界の食物連鎖系の複雑さに比べるとごく限られた系からなると言わざるを得ない。食物連鎖による影響は概して現れ難いが、被食者中の重金属濃度によっては著しい影響を及ぼすことが分かった。また淡水ヒドラのように食物連鎖による重金属の影響に感受性の高い生物があることが示された。

重金属によって汚染された環境による生態影響を総合的に評価するためには水中の重金属濃度のみならず、餌となっている有機質、生物体中の重金属濃度を知る必要があるものと考えられる。

引用文献

- 1) 山根 登編著(1978): 生物濃縮. 産業図書, 東京, 288p.
- 2) 島山成久(1984): グッピーの成長及び産仔に及ぼす食物連鎖によるカドミウムの影響. 国立公害研究所研究報告, 第62号, 99-120.
- 3) Watanabe, A. (1960): List of algal strains in collections at the Institute of Applied Microbiology, University of Tokyo. J. Gen. Appl. Microbiol., 6, 283-292.
- 4) Tabata, K. (1972): A proposed standard method for TLM bioassay using Hime-daka. J. Water Waste. (Japan), 14, 297-301.
- 5) Hatakeyama, S. and M. Yasuno (1981): A method for assessing chronic effects of toxic substances on the midge, *Paratanytarsus parthenogeneticus*. Effects of Copper. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 10, 705-713.
- 6) 島山成久・福島 悟(1984): 重金属のカゲロウ(*Epeorus latifolium*)に対する影響解析. 国立公害研究所研究報告, 第62号, 73-98.
- 7) 佐々 学(1983): Studies on chironomid midges of the Tama River. Res. Rep. Natl. Inst. Environ. Stud., 43, 19-20.
- 8) Hatakeyama, S. and M. Yasuno (1981): Effects of cadmium on the periodicity of parturition and brood size of *Moina macrocopa* (Cladocera). Environ. Pollut. (Ser. A), 26, 111-120.
- 9) Hatakeyama, S. and M. Yasuno (1981): The effects of cadmium-accumulated chlorella on the reproduction of *Moina macrocopa* (Cladocera). Ecotoxicol. Environ. Safety, 5, 341-350.
- 10) Hatakeyama, S., M. Yasuno and M. Miyashita (1979): Effects of heavy metals on the food-chain system of cladocera (*Moina macrocopa*) and hydra (*Pelmatohydra robusta*). Jpn. J. Water Pollut., 2, 163-172.
- 11) Hatakeyama, S. and R. Yasuno (1982): Accumulation and effects of cadmium on guppy (*Poecilia reticulata*) fed cadmium-dosed cladocera (*Moina macrocopa*). Bull. Environ. Contam. Toxicol., 29, 159-166.
- 12) Wentzel, R. and A. McIntosh (1977): Sediment contamination and benthic macroinvertebrate distribution in a metal impacted lake. Environ. Pollut., 14, 187-193.
- 13) Wentzel, R., A. McIntosh and W. P. McCafferty (1978): Emergence of the midge *Chironomus*

- tentans* when exposed to heavy metal contaminated sediment. *Hydrobiologia*, 57, 195-196.
- 14) 島山成久(1983) : ユスリカによる生物検定試験について. 環境科学研究報告集, B182-R12-17, 21-48.

グッピーの生長と産仔に及ぼす水中及び餌中のクロルニトロフェンの影響

畠山成久¹

Effects of Chlornitrofen on the growth and reproduction of the Guppy, *Poecilia reticulata*

Shigehisa HATAKEYAMA¹

Abstract

Effects of chlornitrofen (CNP), diphenyl ether herbicide, on the growth and reproduction of the guppy (*Poecilia reticulata*) were studied.

1) Thirty days old guppies were exposed to 1, 5, 25 and 125ppb CNP (prepared with a emulsifiable formulation) for 28 days respectively. CNP did not affect the reproduction of the guppy at 1 ppb. Cumulative number of fry decreased slightly at 5 ppb. However, those produced by the guppies exposed to 25 ppb decreased to 16% and 51% of the control at 1 st and 2 nd parturition respectively. Normal parturition ceased at 125ppb.

2) Guppies were exposed to 200ppb CNP (prepared with the formulation or 99% reference standard) for 1, 3, 5 and 7 days respectively. Cumulative number of fry decreased to 50% of the control in the guppies exposed for 1 day (formulation) and 3 days (reference standard), respectively. Effects of the formulation-CNP was much higher than the reference standard-CNP. However, CNP concentrations of the guppy did not differ significantly.

3) Guppies were exposed to CNP (reference standard) through a food chain model using Tubifex as a prey. Cumulative number of fry decreased gradually in accordance with CNP concentrations of the Tubifex. At maximum concentration (160 μ g/g wet weight), cumulative number of fry decreased to 23, 43 and 49% of the control at 1 st, 2 nd and 3 rd month, respectively. CNP accumulated in liver and female gonad of the guppy through Tubifex at high concentrations. Retention time of CNP accumulated in female gonad was long.

1. 国立公害研究所 生物環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Environmental Biology Division, the National Institute for Environmental Studies. Yatabe-machi,
Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

要 旨

胎生メダカであるグッピー (*Poecilia reticulata*) の生長と産仔に及ぼすクロルニトロフェン (ジフェニル系除草剤) の影響を水中及び餌 (イトミミズ) 中の場合から検討した。

1) 生後1か月のグッピーをクロルニトロフェン製剤 (クロルニトロフェン20%, 乳化剤, 有機溶剤80%) により調整した 1, 5, 25, 125 ppb のクロルニトロフェンに28日間暴露した。1 ppb では影響が認められなかったが, 5 ppb では産仔数がわずかに減少し, 25ppb では1回目, 及び2回目の産仔数が対照の16%, 51%に減少した。また125ppb では正常な産仔は起こらなかった。

2) 製剤または標準品(99%)により200ppbのクロルニトロフェンを調整し, 1, 3, 5 または7日間暴露しその後の産仔に及ぼす影響を調べた。製剤の場合は1日, 標準品では3日の暴露により, 積算産仔数が対照のそれぞれ50%に減少した。しかし同一条件で暴露した場合グッピーのクロルニトロフェン蓄積濃度に明らかな差は認められなかった。このことは, 製剤中の乳化剤, 有機溶剤または不純物などもその影響に関与しているためと考えられる。

3) グッピーの餌として用いているイトミミズにクロルニトロフェン(標準品による)を蓄積させ, これを3日ごとに1か月間, 生後1か月のグッピーに摂食させその後の産仔等に対する影響を調べた。

イトミミズ中のクロルニトロフェン濃度 (15, 81, 104, 189 μ g/g 湿重) に従いグッピーの生長, 産仔数に影響が見られた。最高濃度の場合, 1回目から3回目までの産仔数が, 対照のそれぞれ22, 43, 48%に減少した。またグッピーは餌からもクロルニトロフェンを高濃度に蓄積した。卵巣中にも高濃度で蓄積し, 排出速度は肝臓中のそれよりも遅かった。

1 はじめに

各種の除草剤が国内では主として水田の除草のため大量に使用されている。クロルニトロフェン製剤(ジフェニルエーテル系除草剤)は除草剤の中では残留性が高いものとして環境中及び生物体中の濃度が測定され多くの報告が見られる^{1,2)}。山岸らによれば, 東京湾の魚貝類にもクロルニトロフェンによる汚染が検出され³⁾, アサリなどでは一時高い値が報告されている⁴⁾。

筆者はこれまで重金属(Cd)が食物連鎖によりグッピー(胎生メダカ)の生長, 産仔に及ぼす影響を及ぼすかを食物連鎖モデルによる実験で検討してきた^{5,6)}。合成化学物質についてもその使用量が多く, 残留性がありかつその毒性が高い物質については食物連鎖による影響を調べることは重要と考えられた。

胎生メダカの1種であるグッピー(*Poecilia reticulata*)はその材料供給としての安定性, 周期的な産仔(1か月間隔)などから有害汚染物質の急性及び慢性影響試験に適した試験魚として黄色系のものを継代飼育し, これまで多くの実験に使用されてきた^{7,8)}。この報告はクロルニトロフェンがグッピーの生長, 産仔に及ぼすかをクロルニトロフェンを水中に添加した場合と食物連鎖モデルにより検討したものである。被食者としてはグッピーの餌として用いているイトミミズを使用した。

2 方法

実験1) クロルニトロフェン製剤, 28日間暴露

生後30日のグッピーの稚魚50個体ずつを60l水槽に入れ、クロルニトロフェン製剤(クロルニトロフェン20%, 乳化剤と有機溶剤80%)から調整した1, 5, 25, 125ppbのクロルニトロフェンに28日間暴露した。水(地下水, 40l)は毎日75%を新しいものに交換し、所定の濃度になるようにクロルニトロフェン製剤を添加した。暴露停止時に雌雄の体重を測定し、雌雄とも10個体ずつを40l水槽内の産仔カゴ⁷⁾に残し、以後の産仔等に及ぼす影響を調べた。産仔は生後約3か月後から開始する。水温はすべて 25 ± 1 ℃で実験した。実験期間中の餌はイトミミズを用いた。

実験2) 200ppbクロルニトロフェン(製剤による)短期暴露

実験1)と同様にして生後1ヶ月のグッピーを200ppbのクロルニトロフェンにそれぞれ1日, 3日, 5日間暴露して生長及び産仔に及ぼす影響を産仔開始後の3か月後まで調べた。

実験3) 200ppbクロルニトロフェン(標準品による)短期暴露

クロルニトロフェン標準品(99%)をエタノールに溶かし5,000ppmのクロルニトロフェンを得た。この原液を用い、(実験2)と同様にしてクロルニトロフェンがグッピーの生長と産仔に及ぼす影響を調べた。

製剤及び標準品で調整した同一濃度のクロルニトロフェンで産仔に及ぼす影響に差が認められたため、同一濃度で暴露した場合グッピーのクロルニトロフェンの蓄積量に差があるかどうかを検討した。

生物試料のクロルニトロフェンはアセトニトリルでホモジナイズ抽出、ろ過、蒸留水希釈後ヘキサランに転溶し、ECDガスクロマトグラフィーで分析した。単位はすべて $\mu\text{g/g}$ (湿重)で示している。

実験4) 食物連鎖によるクロルニトロフェン(標準品)の影響

グッピーの餌として用いているイトミミズを24時間、0.1, 0.5, 1, 3 ppmのクロルニトロフェンに暴露してこの物質を蓄積させ、その後流水で体表のクロルニトロフェンを洗い流した。実験にはクロルニトロフェン標準品を用いた。このような餌を、生後1か月のグッピー52匹に決まった量(後述)3日ごとに30日間給餌しその後の産仔等に及ぼす影響を調べた。

実験系から水中に溶出するクロルニトロフェンの影響をなくすため試験水槽は流水式(0.5l/min)とした。水の交換率は1日約18回となった。クロルニトロフェンを蓄積したイトミミズを給餌するとき、食べ残しがあった場合はそれを除去して重量を測定し、実際の摂食量を求めた。

3 結果

1) クロルニトロフェン製剤, 28日間暴露の影響

表1は28日間暴露終了時のグッピーの体重を示す。25ppbでは雌が対照の約71%に、125ppbでは雌雄とも対照のおよそ21%、38%と著しく生長が阻害された。

表2は産仔への影響を示す。5 ppb, 25ppbでは初回の産仔数が少なかったが2～3回目の産仔から回復する傾向が認められた。125ppbでは正常な産仔は全く起こらなかった。

2) 200ppb クロルニトロフェン(製剤による)短期暴露

表3は実験開始後30日目の体重を示す。1日暴露のものでは浄水に移し29日、7日暴露では23日後に相当する。7日暴露では15日後までに約85%が死亡した(図1)。5日暴露したものでも体重が雌雄でそれぞれ対照の28%、48%に減少した。

図2は暴露終了後12個体の雌による積算産仔数を示す。対照では産仔の周期も明りょうである。1日暴露でも産仔数が対照のおよそ50%に減少した。5日暴露では産仔が2か月以上遅れ、その数も著しく減少した。しかし、有機リン系殺虫剤におけるような早産⁷⁾の傾向は認められなかった。

3) 200ppb クロルニトロフェン(標準品による)の影響

図3はCNP暴露後の10個体の雌による積算産仔数を示す。200ppb 3日暴露で産仔数が対照のおよそ50%、7日または14日暴露でも産仔があり、製剤(実験2)の場合よりも影響が少なかった。そのため両者の場合でクロルニトロフェンの蓄積量が異なるかどうかを検討した。図4は生後2か月のグッピー(雄)を製剤及び純品で調整した200ppbのクロルニトロフェンに7日間暴露し、蓄積と排出速度を調べた結果である。標準品による蓄積がやや高目であるが実験期間を通じその差は少なかった。クロルニトロフェンの半減期は約8日となった。

表4は雌の暴露停止後4か月目の残留性を示している。この場合では肝臓、卵巣とも製剤による方がやや高目であった。表5は200ppbのクロルニトロフェン(標準品による)に3～14日間暴露したグッピー雄の暴露停止後3か月後における分析値を示す。7日間暴露では図4のレベルから約1/100に濃度が減少している。表6は雌の場合の肝臓中の濃度であり、7日暴露のもので21ppm

表1 クロルニトロフェン(製剤による)に28日間暴露したグッピーの生長(体重)に及ぼす影響

表中 CNP: クロルニトロフェン

CNP (ppb)	Body weight (mg)	
	Female	Male
Control	373±44	225±35
1 ppb	376±63	231±23
5 ppb	365±47	236±41
25 ppb	268±44	204±39
125 ppb	80±7	85±15

Mean±S. D. (n=20)

表2 生後1か月のグッピーをクロルニトロフェン(製剤による)に28日間暴露し、その後の産仔数に見られた影響
産仔は生後約3か月後から始まった。

Conc. of CNP (ppb)	Offspring	Parturition				
		1st	2nd	3rd	4th	5th
Control	Live fry	20.7	27.8	31.0	30.6	32.7
	Dead fry	0.1	0.2	0.7	0.2	1.1
	Eyed embryo	0.3	0.1	0.6	0	0.2
	Undeveloped embryo	2.2	0.8	0.1	0	0
1 ppb	Live fry	25.2	33.7	28.2	28.2	36.1
	Dead fry	0	0.3	0.4	0.1	1.2
	Eyed embryo	0	0.1	0.3	0.2	0.2
	Undeveloped embryo	3.3	0	0.1	0	0.1
5 ppb	Live fry	16.5	27.0	28.8	27.7	24.2
	Dead fry	0.2	0	0.2	0.2	0.6
	Eyed embryo	0.2	0	0.1	0	0.4
	Undeveloped embryo	4.6	0	1.8	1.4	1.6
25 ppb	Live fry	3.2	14.3	22.0	24.5	22.0
	Dead fry	0.1	0.1	0.2	0.5	0.9
	Eyed embryo	0.2	0	0	0.1	0.6
	Undeveloped embryo	6.8	0.6	1.4	1.9	0.9
125 ppb	Live fry	-	0	0	0	0
	Dead fry	-	0	0	0	0
	Eyed embryo	-	0	0	0	0
	Undeveloped embryo	-	5.5	6.3	6.3	7.3

Per female

表3 200ppbのクロルニトロフェン(製剤による)に1, 3, 5, 7日間暴露し、実験後30日におけるグッピー雌雄の体重

CNP 200 ppb	Body weight (mg)	
	Female	Male
Control	421±46 (n=26)	226±28 (n=29)
1 day	299±38 (n=29)	185±24 (n=25)
3 days	210±36 (n=37)	138±21 (n=18)
5 days	116±30 (n=19)	109±14 (n=15)
7 days	121±29 (n=4)	98±8 (n=3)

Mean±S. D.

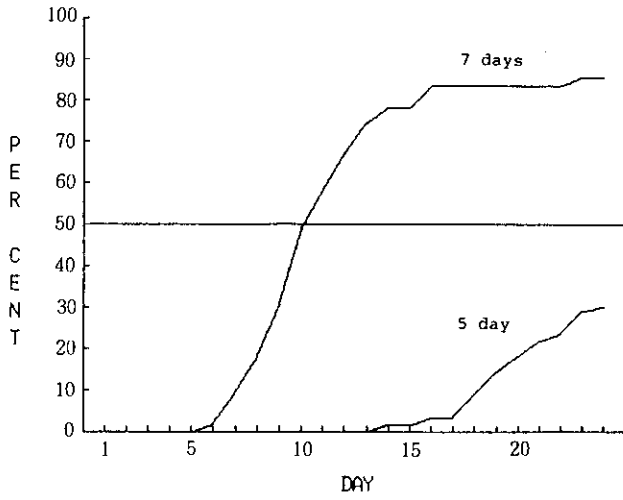


図1 200ppbのクロルニトロフェン(製剤により調整)に5日または7日間暴露したグッピーの暴露停止後の死亡率
 生後1か月のグッピー55個体を用いた実験による。

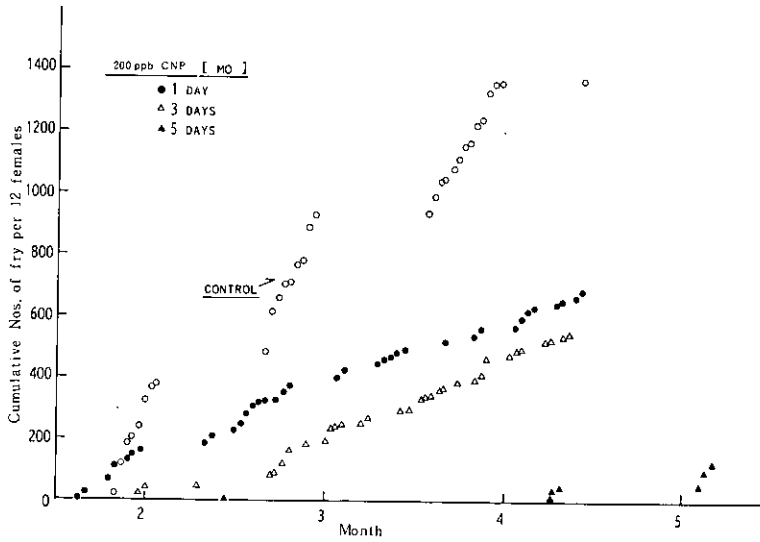


図2 200ppbのクロルニトロフェン(製剤により調整)に1, 3, 5日間暴露したグッピー(生後1か月)のその後の積算産仔数(雌12個体による)
 産仔は生後約3か月後から始まった。図中CNP;クロルニトロフェン。

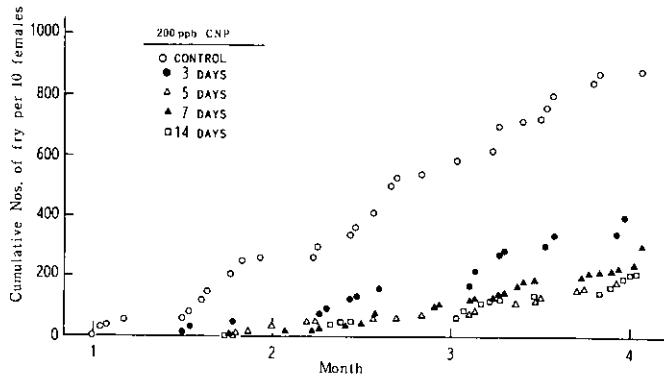


図3 200ppbのクロルニトロフェン(標準品99.9%による)に3, 5, 7, 14日間暴露したグッピー(生後1か月)の積算産仔数(雌10個体による)産仔は生後3か月から始まった。

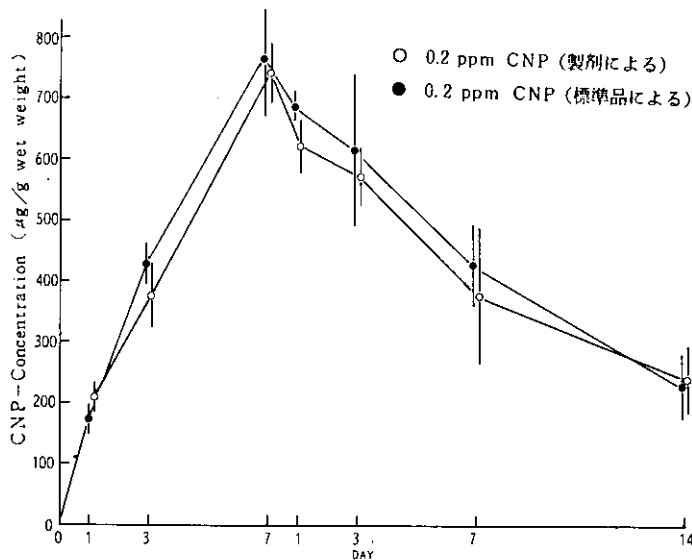


図4 製剤または標準品によって調整したクロルニトロフェンに7日間暴露または浄水に移して14日後までのグッピー雄のクロルニトロフェン濃度。図中CNP:クロルニトロフェン

と高い値を示した。

4) 食物連鎖モデルによるクロルニトロフェン(標準品)の影響

図5は0.1, 0.5, 1, 3 ppmのクロルニトロフェンに1日暴露したイトミミズのクロルニトロフェン分析値及びその後の浄水中での排出速度を示す。処理濃度にもよるが3日間で暴露直後の

表4 製剤または標準品による200ppbのクロルニトロフェンに1週間暴露し、暴露停止後4か月目におけるグッピー雌の体長、体重、及び肝臓、卵巣の重量と
その中のクロルニトロフェン濃度

Total-(L+G)は全体から肝臓及び卵巣を除去したもの。

表中CNP:クロルニトロフェン

CNP	Body length (mm)	Body weight (g, wet)	Liver (mg)	Gonad (mg)	CNP-Concs. (ppm, wet)		
					Liver	Gonad	Total-(L+G)
標準品-CNP	35.5±2.1	1.40±0.29	59.0±24.1	158±49	9.03	5.65	2.66
製剤-CNP	34.7±3.6	1.34±0.43	42.1±24.9	178±73	13.20	7.05	4.25

Mean±S. D. (n=5)

表5 200ppbのクロルニトロフェン(標準品による)に3, 5, 7, 14日間暴露し3か月後のグッピー雄のクロルニトロフェン濃度

表中CNP:クロルニトロフェン

	Body length (mm)	Body weight (mg)	CNP-Conc. (ppm wet wt.)
Control	24.5±0.6	378±44 (10)	<0.05
3 days	23.7±1.2	344±78 (10)	1.62
5 days	23.2±0.8	341±44 (9)	3.42
7 days	23.2±2.8	291±41 (8)	7.36
14 days	22.1±1.3	294±47 (10)	8.51

Mean±S. D. (n)

表6 200ppbのクロルニトロフェン(標準品による)に3, 5, 7, 14日間暴露し、3か月後のグッピー雌の肝臓中のクロルニトロフェン濃度

表中CNP:クロルニトロフェン-Total-Lは全体から肝臓を除去したもの。

0.2 ppm CNP	Body leng. (mm)	Body wt. (g)	Liver (mg)	CNP-Conc. (ppm Wet Wt.)	
				Liver	Total-L
Control	40.2±1.2	2.12±0.25	56.7±12.6 (7)	<0.05	<0.05
3 days	40.5±1.8	2.29±0.43	68.0±16.2 (5)	3.18	0.8
5 days	37.3±3.2	1.65±0.44	56.6±20.1 (8)	5.55	1.87
7 days	36.2±2.0	1.27±0.30	53.6±10.6 (10)	20.9	5.25
14 days	34.7±3.3	1.27±0.30	50.7±13.2 (6)	13.2	5.27

Mean±S. D. (n)

約33~57%の濃度に減少した。

これらのイトミミズを生後30日のグッピー(雌雄それぞれ26個体)に3日ごとに決まった量30日間給餌した。イトミミズの給餌積算量及び52個体のグッピーの摂食量の積算値を図6に示した。実験の後半から高濃度区で食べ残しが見られた。30日後の積算値は最高濃度区では対照の約85%

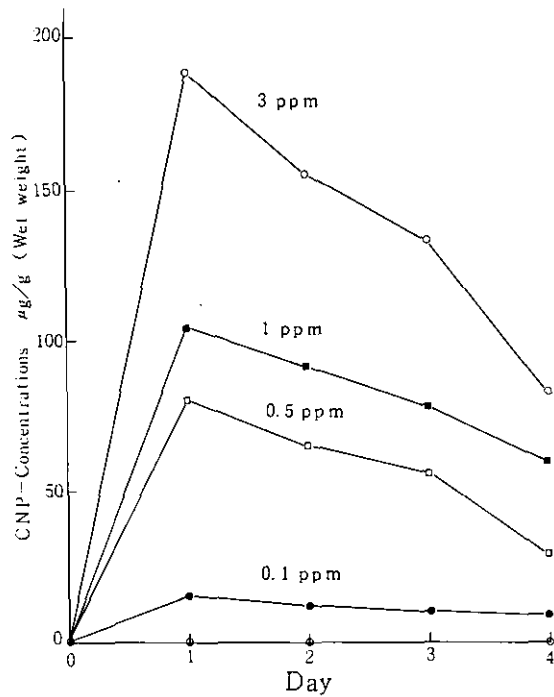


図5 0.1, 0.5, 1, 3 ppmのクロルニトロフェン(標準品による)で1日処理, 及び浄水(流水)に移して3日後までのイトミミズ(Tubifex)中のクロルニトロフェン濃度(µg/g湿重)

(図6)に減少した。これらのイトミミズを30日間摂食したグッピーの体重を図7に示した。雄では影響が認められなかったが、雌では濃度によって体重の減少が起こった。

表7にこれらのイトミミズを摂食したグッピーの産仔開始後3か月間の産仔数、早産数を1か月ごとの積算値で示した。産仔数に濃度に従った減少が起こった。最高濃度区では、1, 2, 3か月目における産仔数が対照のそれぞれ23, 40, 49%に減少した。しかし死産、早産の傾向は認められなかった。

表8はイトミミズを通してグッピーに蓄積したクロルニトロフェンの濃度である。グッピーは餌中の濃度によって高濃度のクロルニトロフェンを蓄積した。雌では肝臓及び卵巣中の濃度を測定した。卵巣にも高濃度のクロルニトロフェンが蓄積した。暴露停止10日から17日後に肝臓中の濃度は50%以下に減少するのに対して卵巣中の濃度の減少は少なかった。

4 考察

今回実験に用いたクロルニトロフェンの濃度は環境中の試料について数多く報告されている値^{1,2)}に比較すると著しく高い値である。実験1)から1 ppb, 28日間の暴露ではグッピーの産仔に影響

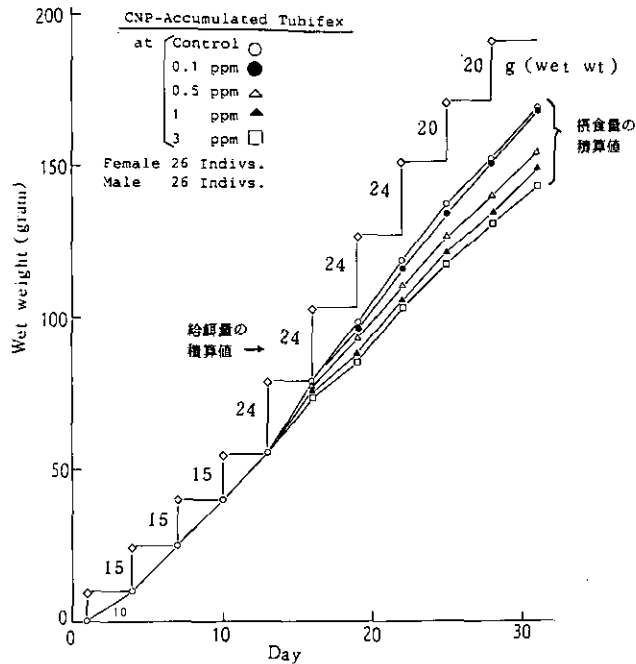


図6 生後1か月のグッピー（雌雄とも26個体）に3日ごとに1か月間給餌したクロルニトロフェン含有イトミミズの量と実際の摂食量積算値
 図中CNP：クロルニトロフェン

が認められず、影響は5 ppb から認められた。これらの結果から見れば、環境中のクロルニトロフェン濃度が5 ppb 前後で1か月以上続く場合はなさそうなので野外における慢性的影響の可能性は、グッピーの試験による限り少ないものと考えられる。

しかし除草剤は一時的にせよ散布直後からしばらくは高い濃度となる。例えば水田周辺では71 ppb の値が報告されている⁹⁾。そのため高濃度、短期間暴露の影響が検討された。製剤で調整した200ppb のクロルニトロフェンに1日暴露したグッピーの産仔数は対照の約50%に減少した。産仔は暴露停止後2か月位から始まったので、短期間の効果が長く残存したことになる。これらから感受性の高い水生生物では一時的にせよ高濃度のクロルニトロフェンに暴露された場合、その影響は大きいものと考えられる。

実験に使用した除草剤は20%のクロルニトロフェンと80%の有機溶剤及び乳化剤から成っていた。そのためこれらの化学物質の影響も無視できないと考えられたのでクロルニトロフェンの標準品を用いた同様の実験を行った。製剤と標準品で200ppb のクロルニトロフェンを調整したとき産仔に及ぼす影響は前者で大きかった。しかし両者の場合、クロルニトロフェン自体の蓄積量はほぼ同じ量であった。このことから製剤で影響が強くなったのは有機溶剤や乳化剤の効果も関与しているものと考えられた。またクロルニトロフェン製剤中には種々の不純物が含まれているとき

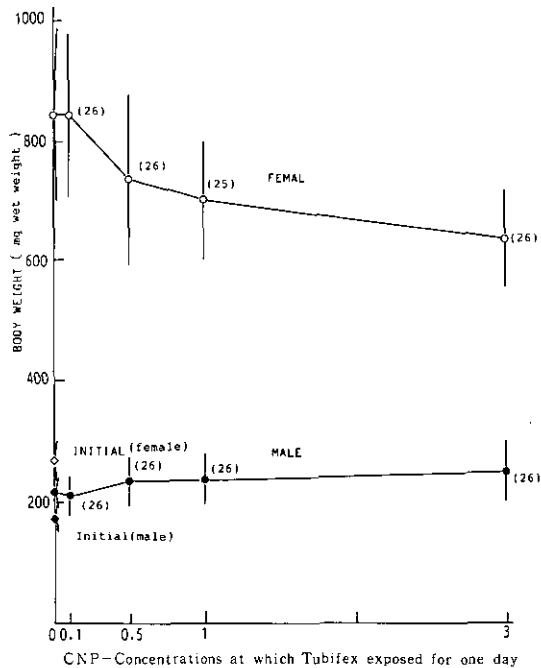


図7 クロルニトロフェンを含有したイトミミズを3日ごとに30日間給餌したグッピー（生後1か月から）の実験終了時の体重
イトミミズ中のクロルニトロフェン濃度は図5の1～4 Day

れる¹⁰⁾。一方、標準品(99%クロルニトロフェン)にも不純物が含有されているため、不純物による毒性の関与を比較することはその成分や毒性が不明なため評価がむずかしい。

野外の生物試料中のクロルニトロフェン濃度が高いことが報告されている。そのため食物連鎖モデルによりグッピーの生長、産仔に及ぼす影響が調べられた。餌中の濃度が $16\mu\text{g/g}$ (湿重)では影響は少なかったがグッピーの肝臓、卵巣にクロルニトロフェンが高濃度で蓄積した。特に卵巣中に蓄積した場合のその中に長く留まり、次世代への影響の可能性も着目された。

今回実験に用いた濃度に比すと、野外生物試料中のクロルニトロフェン濃度は低く食物連鎖による影響は魚では小さいものと推測される。一方、生物による感受性の違いもあるので、藻類中に蓄積した場合、それを摂食する動物プランクトンなどに対する影響なども調べる必要があると考えられ現在検討がなされている。

表7 クロルニトロフェンを蓄積したイトミミズ(Tubifex)を生後1か月後のグッピーに1か月間給餌した場合の産仔に及ぼす影響

産仔は生後約3か月後から始まった。表中CNP:クロルニトロフェン

イトミミズ中の CNP濃度 (μg/g wet)		1st month	2nd month	3rd month
<0.05 (対照)	Live fry	69.4	49.3	44.2
	Dead fry	0.5	0.5	0.3
	Eyed fry	1.4	0.5	0.5
	Undeveloped embryo	0	0.1	0.2
15 ^{a)} —9 ^{b)}	Live fry	53.0	46.2	39.7
	Dead fry	0.8	0.4	0.6
	Eyed embryo	0.7	0.8	0.3
	Undeveloped embryo	0	0.1	0
81 ^{a)} —27 ^{b)}	Live fry	25.4	27.2	31.5
	Dead fry	0.4	0.2	1.3
	Eyed embryo	0.5	0.5	1.4
	Undeveloped embryo	0	0	0
104 ^{a)} —59 ^{b)}	Live fry	23.9	25.7	25.4
	Dead fry	0.4	0.5	1.0
	Eyed embryo	0.1	0.2	0.3
	Undeveloped embryo	0.2	0	0
189 ^{a)} —82 ^{b)}	Live fry	15.6	19.8	21.5
	Dead fry	0.5	0.2	0.3
	Eyed embryo	0.5	0.7	0.3
	Undeveloped embryo	0.4	0.3	0

Numbers per female per month

a) 給餌直後の濃度, b) 給餌3日後の濃度 (図5による)

表8 クロルニトロフェンを蓄積したイトミミズ(Tubifex)を30日間摂食したグッピー雌雄のクロルニトロフェン濃度

10, 17, 38日はクロルニトロフェン含有イトミミズの給餌を停止してからの日数。
表中CNP:クロルニトロフェン

CNP concentrations of Tubifex (ppm, wet weight)	Male day			Liver		Female Gonad		Total-(L+G)	
	10	17	38	10	17	10	17	10	17
<0.05	<0.05		<0.05	0.2		<0.05		<0.05	
15 ^{a)} —9 ^{b)}	4.4	2.1	0.7	34.4	11.8	5.9	5.9	9.0	5.2
81—27	25.2	12.7	1.5	—	57.6	40.8	32.0	49.5	24.2
104—59	47.2	23.3	2.8	287.0	137.0	66.5	70.9	89.1	42.4
189—82	70.7	48.0	8.1	456.0	186.0	153.0	133.0	140.0	84.0

a) 給餌直後の濃度, b) 3日後の濃度 (3日後に餌を新たにした。)

引用文献

- 1) 山田忠男 (1985) : 水田除草剤の環境中における動態, 雑草研究, 30, 1-20.
- 2) 中南 元・石田紀郎・国松考男・鶴山 茂 (1985) : ジフェニル・エーテル系除草剤による琵琶湖・淀川水系, 筑波川及び有明海周辺等の水系の汚染, 生態化学, 8, 3-11.
- 3) 山岸達典・秋山和幸・金子誠二・堀井昭三・宮崎奉之・森田昌敏 (1979) : 1, 3, 5-Trichloro-2-(4-Nitrophenoxy) Benzen (CNP) による東京湾産魚貝類の汚染, 東京衛生研究所年報, 30, 127-132.
- 4) 山岸達典・秋山和幸・金子誠二・堀井昭三・宮崎奉之・森田昌敏 (1979) : 1, 3, 5-Trichloro-2-(4-Nitrophenoxy) Benzen の東京湾産アサリ, 底質, 海水中での残留濃度の推移, 東京衛生研究所年報, 30, 123-126.
- 5) Hatakeyama, S. and M. Yasuno (1982) : Accumulation and effects of cadmium on guppy (*Poecilia reticulata*) fed cadmium-dosed cladocera (*Moina macrocopa*). Bull. Environ. Contam. Toxicol., 29, 159-166.
- 6) 畠山成久 (1984) : グッピーの成長及び産仔に及ぼす食物連鎖によるカドミウムの影響. 国立公害研究所研究報告, 第62号, 99-120.
- 7) Yasuno, M., S. Hatakeyama and M. Miyashita (1980) : Effects on reproduction in the guppy (*Poecilia reticulata*) under chronic exposure to temephos and fenitrothion. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 25, 29-33.
- 8) 宮下 衛 (1984) : グッピーによる有害汚染物質の影響評価. 国立公害研究所研究報告, 第62号, 65-72.
- 9) 中村幸二 (1982) : 水田周辺における除草剤の消長. 植物防疫, 36, 251-256.
- 10) Yamagishi, T., T. Miyazaki, K. Akiyama, M. Morita, J. Nakagawa, S. Hori and S. Kaneko (1981) : Polychlorinated Dibenzo-p-Dioxins and Dibenzofurans in Commercial Diphenyl Ether Herbicides, and in Freshwater Fish collected from the application area. Chemosphere, 10, 1137-1144.

カドミウム慢性暴露によるギンブナ中の生体
必須金属への影響とメタロチオネインの誘導*

山村 充^{1,2}・畠山成久³・鈴木和夫⁴

Effect of Chronic Cadmium Exposure on Essential Metals and Induction
of Metallothionein in the Fish *Carassius auratus langsdorfi* *

Mitsuru YAMAMURA^{1,2}, Shigehisa HATAKEYAMA³ and Kazuo T. SUZUKI⁴

Abstract

Long-term exposure (for 9 months) to cadmium at a concentration of 10 μ g/l increased the concentrations of zinc in gills and liver, but decreased the concentrations of calcium and zinc in digestive tract of the fish *Carassius auratus langsdorfi*. The highest concentration of cadmium was found in the kidney without a significant change of essential metal concentrations.

Although a relatively high concentration of zinc, copper-binding protein was native-ly present in the liver of *Carassius auratus langsdorfi*, exposure to cadmium induced cadmium-binding protein without replacement of zinc bound to the native zinc, copper-binding protein with cadmium.

The cadmium-binding protein induced in the liver of the fish by cadmium loading was shown to be a mixture of two isoproteins. The two isoproteins were referred to

* 本論文の内容の一部は既に印刷発表したものである¹⁹⁾。

1. 国立公害研究所 環境生理部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Basic Medical Sciences Division, the National Institute for Environmental Studies. Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
2. 現在：環境庁環境保健部保健調査室 〒100 東京都千代田区霞が関1-2-2
Resent Address : Office of Health Studies, Department of Environmental Health, Environment Agency, 2-2, Kasumigaseki 1, Chiyoda, Tokyo 100, Japan.
3. 国立公害研究所 生物環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Environmental Biology Division, the National Institute for Environmental Studies. Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
4. 国立公害研究所 環境保健部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Environmental Health Sciences Division, the National Institute for Environmental Studies. Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

gibel metallothionein-I and-II (MT- I and-II) according to the order of elution from a DEAE Sephadex column. The molecular weight of the purified metallothioneins was estimated to be similar to that of mammalian metallothioneins by amino acid analyses. Metals bound to the proteins were mainly cadmium (around 90%), and zinc and copper were present as minor co-existing metals. The SH/metal ratios were 2.9 (MT- I) and 2.2 (MT-II). Amino acid analyses revealed characteristic amino acid compositions which were consistent with the metallothionein concepts; high cysteine content (36.8 and 38.2%) without aromatic amino acids. As relatively abundant amino acid residues in the gibel metallothioneins, lysine, serine and glycine (9.1-11.6%) were present other than cysteine residue. Both isoproteins contained a single methionine residue as in the case of mammalian metallothioneins.

要 旨

ギンブナを $10\mu\text{g}/\text{l}$ のCdに9か月間暴露すると、鰻、肝臓、消化管中のZnやCaの濃度にCd暴露の影響と考えられる変化が見られた。しかし、最もCd濃度が高かった腎臓では生体必須金属濃度に有意な変化は見られなかった。ギンブナの肝臓には高濃度のZn, Cu結合タンパク質が存在するが、肝臓に蓄積したCdはこれとは置換せず、新たにCd結合タンパク質を誘導して存在した。

Cdの投与によりギンブナの肝臓で誘導される低分子量(見かけの分子量=12,000)のCd結合タンパク質は2種類のイソタンパク質の混合物であった。これらのCd結合タンパク質は高いシステイン含量が高く(36.8%と38.2%)芳香族アミノ酸を含まないことから、メタロチオネインと同定された。システイン以外に多いアミノ酸としてはリジン、セリン及びグリシンが9.1-11.6%含まれていた。

1 はじめに

ほ乳動物の肝臓や腎臓に蓄積したカドミウム(Cd)は低分子量(分子量 約10,000)のタンパク質に結合して存在することが知られている¹⁾。このタンパク質は金属とシステインに富むことからメタロチオネインと呼ばれ、重金属をタンパク質中に結合してその毒性を抑えるため、重金属の解毒を行うタンパク質と考えられている¹⁾。一方、ほ乳動物の胎児や新生児の肝臓には亜鉛(Zn)と銅(Cu)を結合したメタロチオネイン(Zn, Cu-チオネイン)が高濃度に存在することから、メタロチオネインは生体必須金属であるZnやCuの一時的貯蔵の役割を果たしているとも考えられている²⁻⁸⁾。

ギンブナ(*Carassius auratus langsdorfi*)の肝臓にもZnとCuを結合した低分子量タンパク質が比較的高濃度に存在するが、このような生物を低濃度のCdに長期間暴露すると、Cdが生体必須金属であるZnやCuの代謝にどのような影響を与えるか知られていない。そこで、本研究はギンブナを $10\mu\text{g}/\text{l}$ の濃度のCdに9ヶ月間暴露して、Cd暴露が各臓器中の生体必須金属濃度に及ぼす影響を調べるとともに、各臓器におけるCdの存在形態についても検討することを目的とした。また、ギンブナ肝臓に誘導されるCd結合タンパク質を単離して、その性質を他の脊椎動物のメタロチオネインの性質と比較検討することをも意図した。

2 方法

ギンブナ(体重, 21-32g)を $10\mu\text{g/l}$ のCdを含む流水中に9か月間暴露した。暴露中止後ただちにギンブナを解剖して肝臓, 腎臓, 鰓と消化管を摘出し, 一部は混酸($\text{HNO}_3:\text{HClO}_4=5:1, \text{v/v}$)により湿式灰化し, 金属濃度を誘導結合プラズマ発光分光法により測定した。各臓器の残りを合せて, 3倍量の 0.1M Tris-HCl 緩衝液 (pH7.4, 0.25M グルコース含有)の中でホモジナイズした。金属の存在形態の分析には TSK gel G3000 SW カラムを用いた高速液クロマトグラフィー原子吸光法を用いた⁹⁾。

ギンブナ肝臓からCd結合タンパク質を単離するため, ギンブナ(体重, 50~70g)に CdCl_2 を合計で 7.8mg Cd/kg 体重, 連続投与した。最終投与の24時間後にフナを解剖して肝臓を摘出し, 集めた肝臓は5倍量の 0.1M Tris-HCl 緩衝液 (pH7.4, 0.25M グルコース含有)中で, 窒素気流下に氷冷しながらホモジナイズした。ホモジネートは 4°C で, $180,000\text{g}$, 60分間遠心して上清を得た。

肝上清 2ml をSephadex B-75 カラム($2.6\times 90\text{cm}$)に添加し, 10mM Tris-HCl 緩衝液 (pH8.6)を流して溶出した。溶出液は 5ml ずつ分画し, 各分画の金属濃度, 254 と 280nm の吸光度をそれぞれ原子吸光分光光度計 (AAS; 日立170-50A)と分光光度計 (日立220A)により測定した。残りの肝上清はSephadex G-75 カラム ($5\times 80\text{cm}$)に添加し, 10mM Tris-HCl 緩衝液 (pH8.6)により溶出した。溶出されたメタロチオネイン分画は限外ろ過(アミコン Diaflo メンブレン YM-5)により濃縮し, DEAE Sephadex A-25カラム ($1.6\times 20\text{cm}$)とDEAE トヨパール650M カラム ($1.6\times 20\text{cm}$)を用いて陰イオン交換クロマトグラフィーを行った。単離されたメタロチオネインは -20°C に窒素置換して保存し, 使用に当たってはSW カラムにより再精製を行った。

3 結果

Cdの長期間暴露ではCdの蓄積は腎臓が最も高く, 次に肝臓で, 鰓や消化管への蓄積は少なかった。腎臓ではCd暴露によりCu濃度が上昇したが, これは図1に示すようにメタロチオネインの誘導によるものであった。無処理のフナ肝中にもCu, Zn-チオネインが存在したが, 肝臓に蓄積したCdは単にこのZnと置換するのではなく, 新たにメタロチオネインを誘導して存在した。肝臓で見られたZnの有意な上昇はこのメタロチオネインの誘導によるものであった(表1)。鰓はCdを体内に取り込む主な器管と考えられるが, Ca暴露群では鰓中のZn濃度の増加が認められた。又, 消化管はCdの蓄積が最も低い器管であったが, Cd暴露群ではZn及びCd濃度の低下が見られた。しかし, このような鰓及び消化管中のZn及びCa濃度の変化が何によるかは明らかでない。

鰓及び消化管に蓄積したCdは主にメタロチオネインに結合して存在したが, これは無処理のものにも少量存在するZn, Cu-チオネイン中のZn含量が低下していることから, Zn, Cu-チオネイン中のZnとCdが置換した可能性が示唆された。

Cdを連続投与したギンブナ肝上清中のCdはSephadex G-75カラム上で主に低分子量のタンパ

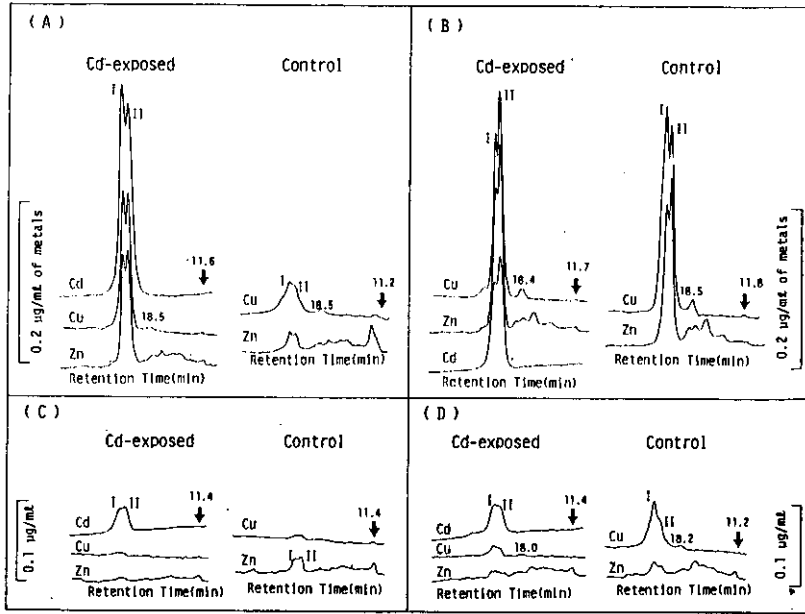


図1 Cdの低濃度長期間暴露によりギンブナの腎臓(A), 肝臓(B), 鰓(C), 消化管(D)に蓄積したCdの存在形態

10µg/lのCdに9か月間暴露したギンブナ及びそのコントロール系のホモジネート上清100µlをSWカラムに添加し, 50mM Tris-HCl緩衝液(pH8.0)を1.0ml/分の流速で流して溶出した。矢印はSWカラムの排除容積を示す。また, ギンブナのメタロチオネインのI型とII型はそれぞれ保持時間21.6と20.8分に溶出された。

表1 Cdの低濃度長期間暴露がギンブナの生体必須金属に及ぼす影響

	Tissues	Mg	Ca	Fe	Cu	Zn	Cd
Cd-exposed (n=7)	Digestive tract	37.4±1.8	18.9 ±2.0 ^c	3.45± 0.42	0.70±0.11	153 ±29 ^d	0.47±0.11
	Gills	—	—	6.52± 0.75	0.31±0.02	21.6 ±3.26 ^c	0.70±0.29
	Liver	28.2±4.3	3.92±0.87	61.6 ±15.6	6.06±1.49	9.42±0.79 ^c	3.82±0.53
	Kidney	32.2±4.0	18.8 ±3.0	16.1 ± 2.0	5.38±1.03 ^c	16.9 ±2.4	9.46±1.09
Control (n=5)	Digestive tract	39.4±1.0	27.4 ±4.4	3.94± 0.33	0.66±0.11	230 ± 64	nd ^b
	Gills	—	—	6.07± 0.63	0.29±0.02	15.9 ±2.8	nd
	Liver	28.3±2.3	3.17±0.55	61.2 ±10.4	6.03±0.80	7.76±0.41	nd
	Kidney	32.3±1.9	16.0 ±1.8	20.0 ± 5.1	2.68±0.57	15.7 ±1.3	nd

a : 各金属の濃度は mean±SD (µg/g 湿重量) として表した。b : nd, 検出感度以下, コントロール群に対し c : p<0.01で有意, d : p<0.05で有意

ク質 (Ve/Vo=1.8-2.2) に結合して存在した(図2)。このCd結合タンパク質はCdの他にZnとCuを少量含んでおり, また280nmに吸収を示した。

ゲルろ過により肝上清から分離したCd結合タンパク質のDEAE Sephadexカラム上での溶出パターンはギンブナのCd結合タンパク質が2種類のイソタンパク質の混合物であることを示している(図3)。この2種類のイソタンパク質は254nmに吸収を持ち, 280nmの吸収を示さないこと

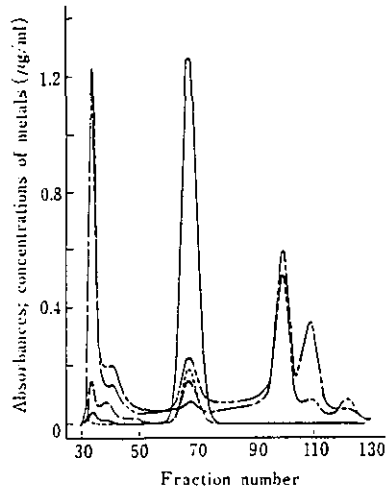


図2 Cdを投与したギンブナ肝上清のSephadex G-75カラムからの溶出パターン¹⁹⁾

Cdを投与したギンブナ肝上清2 mlをSephadex G-75カラム(2.6×90cm)に添加し、10mM Tris-HCl緩衝液(pH8.6)により溶出した。溶出液は5 mlずつ分画した。—— Cd, --- Zn, Cu, - - - 254nmの吸収, - - - 280nmの吸収。

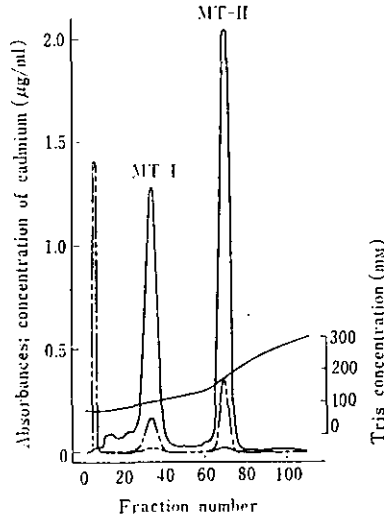


図3 ギンブナのメタロチオネインのDEAE Sephadex A-25カラムによる分析¹⁹⁾

Sephadex G-75カラムにより分離したギンブナのメタロチオネンをDEAE Sephadex A-25カラム(1.6×20cm)に添加し、Tris-HCl緩衝液(pH8.6)の濃度こう配(75-300mM)により溶出した。溶出液は3 mlずつ分画した。また、各分画におけるZnやCu濃度は低かったため、それらの金属の溶出パターンは除いた。—— Cd, ———— 254nmの吸収, - - - 280nmの吸収

からメタロチオネインと推定された。これら2種類のイソタンパク質は、これまでの命名法に従って陰イオン交換カラムから溶出される順に、メタロチオネインのI型、II型と呼ぶことにする(MT-I、MT-IIと省略する)。また、DEAE Sephadex カラムを通過する分画に280nmの吸収を持つタンパク質が溶出されており、Sephadex カラム上でギンプナのメタロチオネイン分画に存在した280nmの吸収はこのタンパク質に由来することが明らかとなった。

DEAE イオン交換クロマトグラフィーにより分けたメタロチオネインのI型とII型についてSWカラムによる分子量の測定を行った(図4)。ギンプナのメタロチオネインはI型、II型ともにチトクロームC(分子量=12,400)と同じ保持時間に溶出され、その見かけの分子量は12,000と推定された。

表2はギンプナのメタロチオネインの amino 酸組成を示している。メタロチオネインのI型は36.8%、またII型は38.2%のシステインを含んでいた。システインに次いで多いアミノ酸はI型がリジン(11.0%)、II型がセリン(11.0%)とグリシン(10.6%)であった。ほ乳動物のメタロチオネインでN末端に共通して存在するメチオニンもギンプナのメタロチオネインでも1残基ずつ含まれていたが、一方芳香族アミノ酸やヒスチジンはともに含まれていなかった。これらのアミノ酸分析の結果は、ほ乳動物のメタロチオネインの特徴と一致するものであった。ギンプナのメタロチオネインのI型とII型は互によく似たアミノ酸組成を示したが、I型に1残基含まれていたバリンがII型にはなく、代わりにロイシン1残基を含んでいた。

単離したメタロチオネインに結合している金属の約90%はCdで、ZnやCuは少量しか含まれて

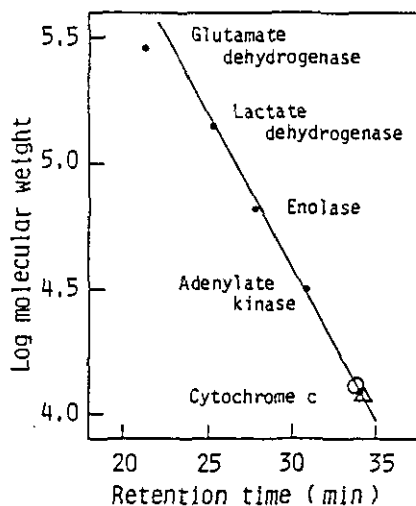


図4 SWカラムによるギンプナのメタロチオネインの分子量の測定¹⁹⁾

イオン交換クロマトグラフィーにより単離したギンプナのメタロチオネインはSWカラムに添加し、0.1Mリン酸緩衝液(pH7.0, 0.2M NaCl)を0.7ml/分の流速で流して溶出した。○: MT-I, △: MT-II。

いなかった(表3)。このメタロチオネインにおけるシステインと金属のモル比(SH/金属)はI型で2.9とは乳動物のメタロチオネインで報告されているSH/Cd(Zn)の比率3と一致していた。しかし、II型ではこの比率が2.2とI型よりも低くなっていた。

図5は単離されたギンブナのメタロチオネインの吸光スペクトルを示している。2種類のイソタンパク質は良く似たスペクトルを持っており、250nm付近のショルダーピークはCd-S結合に由来する荷電移動吸収帯と考えられた。またギンブナのメタロチオネインは芳香族アミノ酸を含まないため280nmの吸収を持たなかった。

表2 Cdを投与したギンブナの肝臓から単離されたメタロチオネインのアミノ酸組成^{a,19)}

Amino acid	Percent of total residues ($\frac{\text{Residues}}{\text{Molecule}}$)	
	MT-I	MT-II
Aspartic acid	8.4 (5) ^b	8.4 (5) ^c
Threonine	6.6 (4)	5.8 (4)
Serine	9.1 (5)	11.0 (7)
Glutamic acid	3.5 (2)	2.5 (2)
Glycine	9.7 (6)	10.6 (7)
Alanine	6.5 (4)	7.7 (5)
Valine	1.8 (1)	
Half-cystine	36.8 (21)	38.2 (24)
Methionine	2.3 (1)	1.9 (1)
Leucine		1.6 (1)
Phenylalanine		0.7 (0)
Lysine	11.6 (7)	9.1 (6)
Proline	3.8 (2)	2.5 (2)

a:メタロチオネインは6N HCl中110°Cで20時間加水分解した。システインとメチオニンとは過ギ酸酸化した後、加水分解して分析した。b:バリンを1残基として計算した。c:ロイシンを1残基として計算した。

表3 Cdを投与したギンブナの肝臓から単離されたメタロチオネインの金属組成とシステインと金属の比率¹⁹⁾

	Metal ratio (mol %)			$\frac{\text{SH}}{\text{Metal}}$
	Cd	Zn	Cu	
MT-I	89.4	4.9	5.7	2.9
MT-II	87.5	8.6	3.9	2.2

金属とシステインの濃度はICP-AESとアミノ酸分析により測定した。

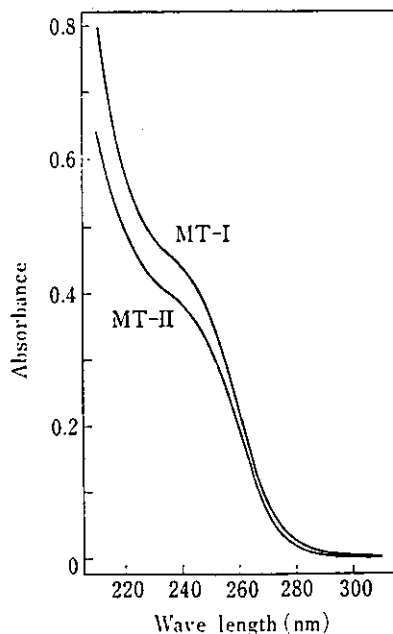


図5 ギンブナのメタロチオネインの吸光スペクトル¹⁹⁾

ギンブナのメタロチオネインの吸光スペクトルは10mM Tris-HCl緩衝液 (pH8.6) 中で測定した。溶液中のメタロチオネイン量はCdとして2.7 (MT-I) と2.4 μ g Cd/ml (MT-II) であった。

4 考 察

Cdを投与したギンブナの肝臓から分離されたCd結合タンパク質は見かけの分子量12,000を持つ、2種類のイソタンパク質の混合物であった。このCd結合タンパク質はシステイン含量が高く(36.8%と38.2%)、芳香族アミノ酸を欠いていることからメタロチオネインと同定された。アミノ酸分析の結果から推定されるギンブナのメタロチオネインの分子量は約6,000でほ乳動物のメタロチオネインの分子量と同じであった。

システインと金属の比率 (SH/金属) から計算するとギンブナのメタロチオネインのI型は7個の金属(90%がCd)を結合するのに対して、II型は11個の金属を結合することになる。しかし、I型とII型はよく似たアミノ酸組成をしており、金属組成にも違いないことから、両者の間に金属結合能の差があるとは考えにくい。ギンブナのメタロチオネインのII型が酸化され易かったことを考えると、II型は脱塩の段階で空気酸化を受けて、結合していた金属が一部除かれてしまったものと推測される。

魚のメタロチオネインはこれまでウナギ、ヒラメ、コイ、カツオ、ニジマスなどで単離され、イソタンパク質の数がヒラメ¹⁰⁾とニジマス¹¹⁾で1種類、ウナギ¹²⁾、コイ¹³⁾とカツオ¹⁴⁾で2種類と報告されている。ギンブナのメタロチオネインはコイと同じで2種類のイソタンパク質から成ってい

た。魚のメタロチオネインは鳥類^{15,16)}, は虫類¹⁷⁾及び両生類¹⁸⁾のメタロチオネインに広く存在するヒスチジンを含まず, 魚の種類が異なってもメタロチオネインのアミノ酸組成にあまり違いは見られなかった。

ほ乳動物の胎児や新生児の肝臓にもギンブナの場合と同様に高濃度の Zn, Cu-チオネインが存在するが, これに Cd を投与しても Cd はメタロチオネインに結合した Zn とは置換せず, 新たにメタロチオネインを誘導することが知られている。ギンブナを低濃度の Cd に暴露した場合でも, 肝臓中に蓄積した Cd は高濃度に存在するメタロチオネイン中の Zn とは置換せず, 新たに Cd-チオネインを誘導した(図 1 B)。このことは, ギンブナ肝臓中に存在するメタロチオネインは新たに蓄積する重金属の毒解タンパク質として機能しないことを意味するものと考えられる。

謝 辞

本研究に際し, 我々を暖かく励まして下さった環境生理部長 久保田憲太郎博士に深く感謝いたします。

引 用 文 献

- 1) Kagi, J. H. R. and M. Nordberg (eds.) (1979) : Metallothionein. Birkhauser Verlag, Basel.
- 2) Bell, J. U. (1979) : Native metallothionein levels in rat hepatic cytosol during perinatal development. Toxicol. Appl. Pharmacol., 50, 101-107.
- 3) Bell, J. U. (1979) : A renal-hepatic comparison of metallothionein in the sheep fetus. Toxicol. Lett., 4, 407-411.
- 4) Wong, K.-L. and C. D. Klaassen (1979) : Isolation and characterization of metallothionein which is highly concentrated in newborn rat liver. J. Biol. Chem., 254, 12399-12403.
- 5) Mason, R., A. Bakka, G. P. Samarawickrama and M. Webb (1981) : Metabolism of zinc and copper in the neonate : Accumulation and function of (Zn, Cu)-metallothionein in the liver of the newborn rat. Br. J. Nutr., 45, 375-389.
- 6) Bakka, A. and M. Webb (1981) : Metabolism of zinc and copper in the neonate : Changes in the concentrations and contents of thionein-bound Zn and Cu with age in the livers of the newborn of various mammalian species. Biochem. Pharmacol., 30, 721-725.
- 7) Piletz, J. E., R. D. Andersen, B. W. Birren and H. R. Herschman (1983) : Metallothionein synthesis in fetal, neonatal and maternal rat liver. Eur. J. Biochem. 131, 489-495.
- 8) Suzuki, K. T., Y. Ebihara, H. Akitomi, M. Nishikawa and R. Kawamura (1983) : Change in ratio of the two hepatic isometallothioneins with development from prenatal to neonatal rats. Comp. Biochem. Physiol., 76C, 33-38.
- 9) Suzuki, K. T. (1980) : Direct connection of high-speed liquid chromatograph (equipped with gel permeation column) to atomic absorption spectrophotometer for metalloprotein analysis : Metallothionein. Analyt. Biochem., 102, 31-34.
- 10) Overnell, J. and T. L. Coombs (1979) : Purification and properties of plaice metallothionein, a cadmium-bonding protein from the liver of the plaice (*Pleuronectes platessa*). Biochem. J., 183, 277-283.

- 11) Ley III, H. L., M. L. Failla and D. S. Cherry (1983) : Isolation and characterization of hepatic metallothionein from rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Comp. Biochem. Physiol.* **74B**, 507-513.
- 12) Noel-Lambot, F., Oh. Gerday and A. Disteche (1978) : Distribution of Cd, Zn and Cu in liver and gills of the eel *Anguilla anguilla* with special reference to metallothioneins. *Comp. Biochem. Physiol.*, **61C**, 177-187.
- 13) Kito, H., Y. Ose, V. Mizuhira, T. Sato, T. Ishikawa and T. Tazawa (1982) : Separation and purification of (Cd, Cu, Zn)-metallothionein in carp hepato-pancreas. *Comp. Biochem. Physiol.*, **73C**, 121-127.
- 14) Takeda, H. and C. Shimizu (1982) : Purification of metallothionein from the liver of skipjack and its properties. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, **48**, 717-723.
- 15) Weser, U., H. Rupp, F. Donay, F. Linnemann, W. Voelter, W. Voetsch and G. Jung (1973) : Characterization of Cd, Zn-thionein (metallothionein) isolated from rat and chicken liver. *Eur. J. Biochem.*, **39**, 127-140.
- 16) Yamamura, M. and K. T. Suzuki (1984) : Induction and characterization of metallothionein in the liver and kidney of Japanese quail. *Comp. Biochem. Physiol.*, **77B**, 101-106.
- 17) Yamamura, M. and K. T. Suzuki (1984) : Isolation and characterization of metallothionein from the tortoise *Clemmys mutica*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **79C**, 63-69.
- 18) Yamamura, M. and K. T. Suzuki (1983) : Metallothionein induced in the frog *Xenopus laevis*. *Experientia*, **39**, 1370-1373.
- 19) Yamamura, M. and K. T. Suzuki (1983) : Characterization of metallothionein induced in the fish *Carassius auratus langsdorfi*. *Eisei Kaiaku*, **29**, 100-104.

は虫類におけるメタロチオネインの誘導とその生化学的性質*

山村 充^{1,2}・鈴木和夫³

Isolation and Characterization of Metallothionein Induced in Reptile*

Mitsuru YAMAMURA^{1,2} and Kazuo T. SUZUKI³

Abstract

A relatively high concentration of metallothionein was present in the liver of the control adult tortoise *Clemmys mutica*. The administrations of cadmium and copper to the tortoise increased the metals in the liver with concomitant decrease of zinc, which was due to substitution of zinc in the native metallothionein with cadmium and copper. The *Clemmys* metallothionein was a mixture of three isoproteins which were abundant in half-cystine (34.2–34.6 mol %) and lysine (10.8–11.9 mol %), but lacked aromatic amino acids. One of the isoproteins, MT-I contained one residue of histidine, which was an identical feature with frog and avian metallothioneins.

要 旨

ミナミイシガメの肝臓には高濃度のZn-チオネインが存在した。ミナミイシガメにCdやCuを投与すると、肝臓中にCd又はCuが増加するのとは反対に、Zn濃度が低下した。肝臓におけるCd又はCuの増加とZnの減少は、生理的に存在する肝メタロチオネイン中のZnとCd又はCuが置換したことによるものであった。ミナミイシガメのメタロチオネインは3種類のイソタンパク質から成り、それらのタンパク質はシステイン（構成アミノ酸の

*本論文は既に印刷発表した内容をまとめたものである³⁾。

1. 国立公害研究所 環境生理部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Basic Medical Sciences Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
2. 現在：環境庁 環境保健部保健調査室 〒100 東京都千代田区霞が関1-2-2
Present Address: Office of Health Studies, Department of Environmental Health, Environment Agency, 2-2, Kasumigaseki 1, Chiyoda, Tokyo 100, Japan.
3. 国立公害研究所 環境保健部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Environmental Health Sciences Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

34.2~34.6%)とリジン(10.8~11.9%)に富んでいたが、芳香族アミノ酸は含んでいなかった。3種類のイソタンパク質の1つ(MT-I)はヒスチジンを1残基含んでおり、これはカエルやトリのメタロチオネインの特徴と一致するものであった。

1 はじめに

水生生物における重金属の毒性と蓄積した重金属の存在状態の関係を解明するため、これまで重金属に対して感受性の異なる水生生物について重金属の存在形態を明らかにしてきた¹⁻⁴⁾。本研究は、より高等な水生生物についても重金属の存在形態を解明する必要から、は虫類のカメを用いて、カドミウム(Cd)、亜鉛(Zn)及び銅(Cu)の投与が生体必須金属に及ぼす影響と、蓄積した重金属の存在形態を検討した。

カメは野性生物として日本にも広く分布しており、移動性が低いため水系の汚染の影響を長期間にわたって受けやすい動物と考えられる。イシガメの一種 *Clemmys mutica* は実験動物として入手も簡単で、飼育や輸送にも丈夫であることから本研究に使用した。

2 方法

ミナミイシガメの雄(体重、340-450g)と雌(体重、330-470g)に、5匹を一群として、Cd(0.7mg Cd/kg 体重)、Zn(4.2mg Zn/kg 体重)及びCu(1.4mg Cu/kg 体重)を後肢の皮下に3日間毎日投与した。最終投与の20時間後にカメを断頭して殺し、腹側の甲羅を切断して肝臓を摘出した。肝臓の一部は混酸(HNO₃:HClO₄=5:1, v/v)により湿式灰化して金属濃度の測定を行った。残りの肝臓の2gを4倍量の0.1M Tris-HCl緩衝液(pH7.4, 0.25M グルコース含有)中で、窒素気流下に氷冷しながら、ホモジナイズした。ホモジネートは180,000g, 60分間(4℃)遠心して上清を得た。上清中の金属濃度は湿式灰化の後、臓器の灰化サンプルとともに誘導結合プラズマ発光分光法(ICP-AES)により測定した。

ミナミイシガメの重金属結合タンパク質を単離してその性質を調べるため、12匹のカメ(雄7匹と雌5匹; 体重、470~680g)にCdを1日目0.7mg, 2日から7日目まで1.4mg Cd/kg 体重、毎日投与した。Cdの最終投与から20時間後にカメを解剖して肝臓を摘出し、集めた肝臓を4倍量(v/w)の0.1M Tris-HCl緩衝液(pH7.4, 0.25Mグルコース含有)中でホモジナイズした。ホモジネートは180,000g, 60分間遠心して上清を得た。

3 結果

ミナミイシガメの肝臓中の金属濃度を表1に示した。CdやCuをカメに投与すると肝臓中のCd又はCu濃度が増加したが、Znの投与では肝臓中のZn濃度は変化しなかった。CdやCuを投与したカメの肝臓中で、Cd又はCu濃度が上昇したのとは逆にZn濃度は低下した。肝臓中のZnの80%以上と肝臓中に増加したCd又はCuの95%以上がホモジネートの上清分画に抽出された(表2)。したがって、ミナミイシガメの肝臓におけるCd又はCuの増加とZnの減少が主に可溶性

表1 重金属を投与したミナミイシガメ肝臓中の金属濃度⁵⁾

	Mg	Ca	Fe	Mn	Zn	Cd	Cu
Control	162±9	46.3±9.8	2690±690	2.0±0.1	62.0±14.4	0.6±0.1	4.7±2.5
Cd (×3)	151±13	41.7±6.2	1620±1110	2.0±0.3	37.4±6.6	29.7±8.7	3.5±2.9
Cu (×3)	148±17	44.5±1.6	1550±359	2.0±0.2	27.9±3.0	0.5±0.1	47.9±9.0
Zn (×3)	159±11	42.1±2.5	2680±1620	2.4±0.4	60.1±16.9	0.7±0.3	5.3±1.4

雌のカメ(5匹/群)に Cd (0.7mg Cd/kg 体重), Zn (4.2mg Zn/kg 体重)及び Cu (1.4mg Cu/kg 体重)を3日間毎日皮下投与し、最終投与から20時間後に解剖した。各金属濃度は mean±SD (µg/g 湿重量)として表してある。

表2 重金属を投与したミナミイシガメの肝上清中の金属濃度⁵⁾

	Zn	Cu	Cd
Control	10.8±3.5	1.0±0.5	<0.1
Cd (×3)	6.5±1.4	0.6±0.4	6.0±1.1
Cu (×3)	5.2±0.8	9.4±1.7	<0.1
Zn (×3)	10.0±2.5	1.0±0.4	<0.1

表1の説明に示した方法で得たカメの肝臓を4倍量の0.1M Tris-HCl緩衝液中でホモジナイズし、180,000g, 60分遠心した。各金属濃度は mean±SD (µg/ml)として表してある。

分画中の金属濃度の変化に由来することが明らかとなった。雄の肝臓中の Zn 濃度(42.6±4.9µg/g 湿重量)は雌の肝臓中の Zn 濃度(62.0±14.4µg/g 湿重量)より低くなっていたが、Cd や Cu の投与により雌の場合と同じように Zn 濃度が雄の肝臓でも減少した。

図1は雌の肝上清を高速液クロマトグラフィーにより分析したときの SW カラム上における金属の溶出パターンである。コントロール肝上清の溶出パターンから、ミナミイシガメの肝臓には三つの Zn 結合タンパク質が存在することが明らかとなった(図1-A)。その Zn 結合タンパク質は SW カラム上で保持時間20.4分に溶出される大きなピークと、22.4分と23.6分の二つの小さなピークから成り、これらのタンパク質は Zn の他に少量の Cu を含んでいた。金属投与により肝上清に増加した Cd と Cu はコントロール上清中の Zn 結合タンパク質が SW カラム上で溶出されたのと同じ保持時間に溶出された(図1-B, C)。しかし、Zn 結合タンパク質の分画中に Cd や Cu が増加するのにもなって逆に Zn 量が減少していた。このことは、Cd や Cu をミナミイシガメに投与すると、その Cd や Cu が Zn 結合タンパク質中の Zn と交換して肝臓に取り込まれるものと考えられた。また、このことは肝臓に増加した Cd や Cu が Zn 結合タンパク質に結合する Zn と *in vivo* で置換したことを意味する。

Cd を連続投与した場合も肝臓中の Zn 濃度の減少が見られた。しかし、Cd を連続投与してもコントロール肝臓に存在するレベル以上に金属結合タンパク質は誘導されなかった。図2は Cd を連続投与したミナミイシガメの肝上清を Sephadex G-75カラムに添加したときのカラムからの溶出パターンを示している。SW カラム上で分離した3種類の Cd 結合タンパク質は、Sephadex G-75

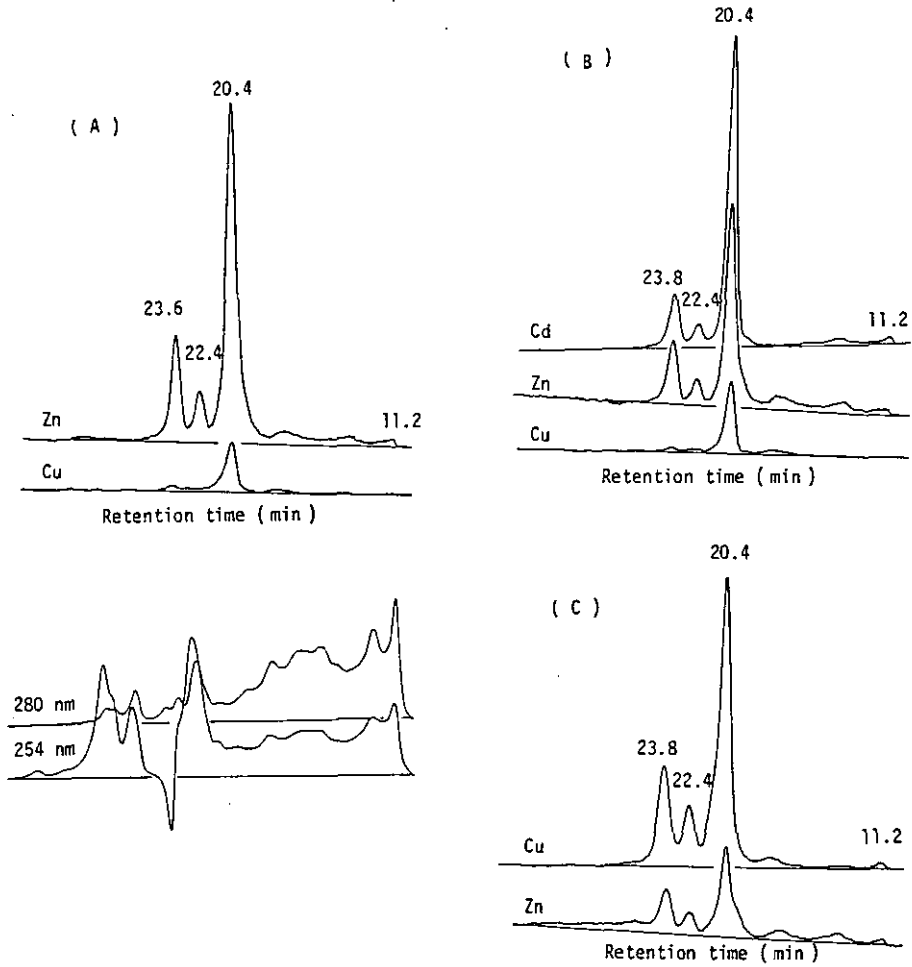


図1 重金属を投与したミナマイシガメの肝上清のSWカラムにおける溶出パターン⁵⁾

表2の説明に示した方法で得たミナマイシガメの肝上清100 μ lをSWカラムに添加し、50mM Tris-HCl緩衝液(pH8.0)で溶出した。保持時間11.2分のピークはカラムの排除容積に相当する。(A)コントロール；(B)Cd投与；(C)Cu投与

カラム上では低分子量タンパク質の分画($V_e/V_o=1.8-2.3$)に単一のピークとして溶出されたが、これは弱アルカリ性の緩衝液中ではSWカラムが陽イオン交換カラムの性質を持つためと考えられた⁶⁾。

Sephadexカラムにより分離したミナマイシガメのCd結合タンパク質をDEAEイオン交換カラムに添加して、Tris-HCl緩衝液(pH8.6)の1mMから200mMの濃度こう配により溶出した(図3)。Cd結合タンパク質はSWカラム上で溶出されるのとは逆の順序に3種類のイソタンパク質

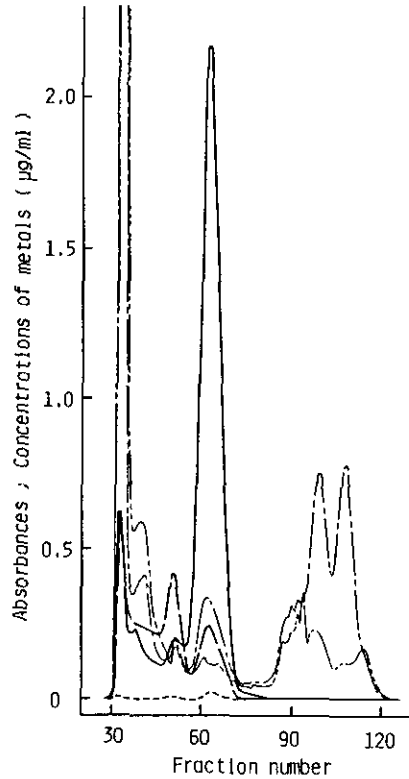


図2 Cdを蓄積したミナミシガメの肝上清のSephadex G-75カラム上での溶出パターン⁵⁾

Cdを合計で9.1mg Cd/kg 体重投与したミナミシガメの肝上清5 mlをSephadex G-75カラム(2.6×90cm)に添加し、10mM Tris-HCl緩衝液(pH8.6)により溶出した。溶出液は5 mlずつ分画し、金属濃度とUV吸収を測定した。—— Cd, - - - - Zn, Cu, - - - - 254nmの吸収, - - - - 280nmの吸収。

に分かれて溶出された。3種類のイソタンパク質はともに254nmの吸収を持っており、280nmの吸収を欠いていた。この254nmと280nmのu. v. 吸収の特徴から、これら3種類のイソタンパク質はメタロチオネインと推定された。以後、これら3種類のタンパク質は、ほ乳動物のメタロチオネインの場合と同様に、陰イオン交換カラムから溶出される順にメタロチオネインのI型、II型、III型(MT-I, MT-II, MT-IIIと省略する)と呼ぶことにする。MT-Iは1 mM Tris-HCl緩衝液(pH8.6)の条件でDEAEイオン交換カラムに保持されることなく溶出されたが、pH9.4ではカラムに保持された。DEAEイオン交換カラム上でTris-HCl緩衝液(pH8.6)の濃度こう配(1-200 mM)により分離した3種類のイソタンパク質は、Tris-HCl緩衝液のpHや濃度こう配を変えて再度イオン交換クロマトグラフィーを行った。MT-IIとMT-IIIはTris-HCl緩衝液(pH8.6)の1 mMから100mMと10mMから200mMの濃度こう配をそれぞれ用い、MT-IはpH9.4の10

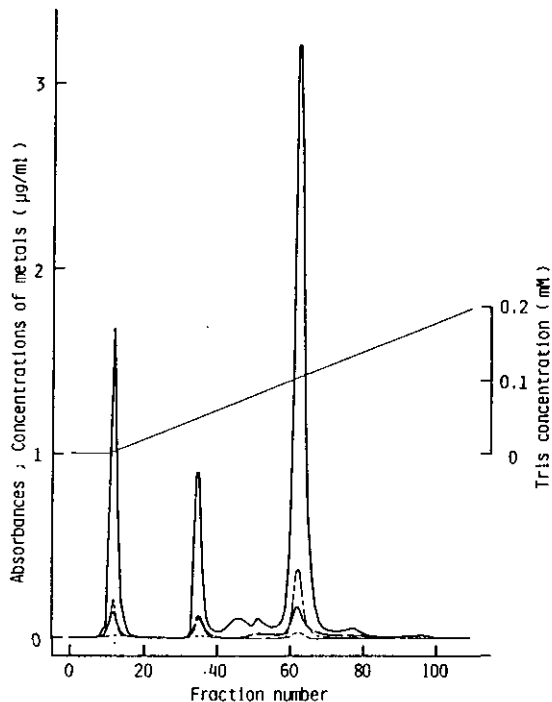


図3 ミナマイシガメのメタロチオネインの DEAE トヨパール650M カラム上における溶出パターン⁵⁾

ミナマイシガメのメタロチオネイン (25 μ g Cdを含む) を DEAE トヨパールカラム (1.6 \times 20cm) に添加し、カラムを pH8.6 の Tris-HCl 緩衝液の 1-200mM の濃度こう配により溶出した。溶出液は 3 ml ずつ分画した。—— Cd, - - - - - Zn, ———— 254nm の吸収, ———— 280 nm の吸収

mM から 150mM の濃度こう配を用いた。こうして単離したタンパク質の純度を、50mM Tris-HCl 緩衝液 (pH8.0) を流した SW カラムにより検討し、254nm と 280nm の吸収から単品と判断した。

単離した 3 種類のイソタンパク質は 0.1M リン酸緩衝液 (pH7.0, 0.2M NaCl) を流した SW カラムに添加して分子量の測定を行った (図 4)。MT-II と MT-III はチトクローム (分子量=12,400) と同じ保持時間に溶出されたが、MT-I はそれより遅れて溶出され、その保持時間から見かけ上の分子量は 8,000 と推定された。

アミノ酸分析の結果、ミナマイシガメの 3 種類のイソタンパク質はシステイン (34.2-34.6%) に富み、芳香族アミノ酸を欠いていることが明らかとなった (表 3)。システインに次いで多いアミノ酸はリジン (10.8-11.9%) で、これは各イソタンパク質で同じであった。しかし、ほ乳動物のメタロチオネインで約 13% 存在するセリンは MT-I と MT-II で 4.6% と 4.1% とかなり低くなっており、MT-III でも 7.2% しか含まれなかった。また、メチオニンは、ほ乳動物のメタロチオネ

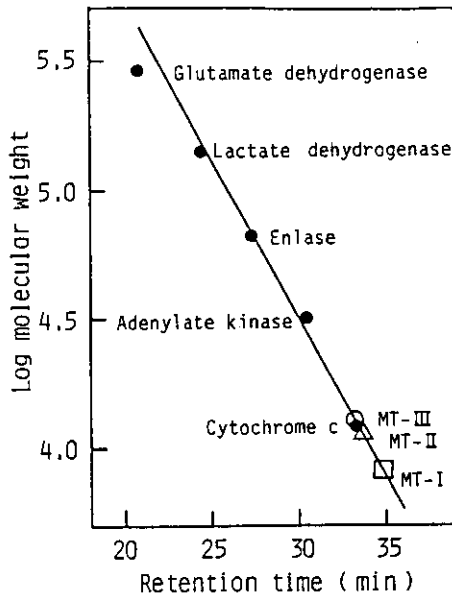


図4 ミナミイシガメのメタロチオネインの分子量の測定⁵⁾

ミナミイシガメのメタロチオネインをSWカラムに添加し、0.1Mリン酸緩衝液(pH7.0, 0.2M NaCl)を0.7ml/分の流速で流して溶出した。

表3 ミナミイシガメから単離された肝メタロチオネインのアミノ酸組成^{a,5)}

Amino acid	Percent of total residues ($\frac{\text{Residues}}{\text{Molecule}}$) ^b		
	MT-I	MT-II	MT-III
Aspartic acid	5.0 (2.9)	7.6 (4.8)	8.5 (5.0)
Threonine	6.9 (4.0)	6.2 (3.9)	4.3 (2.5)
Serine	4.6 (2.7)	4.1 (2.6)	7.2 (4.2)
Glutamic acid	5.0 (2.9)	4.6 (2.9)	5.4 (3.2)
Glycine	9.9 (5.8)	9.1 (5.7)	8.5 (5.0)
Alanine	6.6 (3.9)	4.8 (3.0)	8.4 (4.9)
Valine	1.1 (0.6)	0.9 (0.6)	3.1 (1.8)
Half-cystine	34.2(20.1)	34.6(21.6)	34.2(20.1)
Methionine	1.7 (1)	1.6 (1)	1.7 (1)
Isoleucine	2.4 (1.4)	2.3 (1.4)	—
Lysine	11.5 (6.7)	10.8 (6.7)	11.9 (7.0)
Histidine	1.6 (0.9)	—	—
Arginine	1.6 (0.9)	6.2 (3.9)	—
Proline	8.0 (4.7)	7.2 (4.5)	7.0 (4.1)

a システインとメチオニンは過ギ酸酸化の後、加水分解して分析した。

b メチオニンを1残基として計算した。

インと同様に、それぞれ1残基含まれていた。3種類のイソタンパク質のアミノ酸組成は全体として似ていたが、特徴的な違いも見られた。MT-Iはヒスチジンとアルギニンを各1残基ずつ含むのに対し、MT-IIはヒスチジンを持たず、アルギニン4残基を持ち、またMT-IIIはヒスチジンもアルギニンも含まなかった。MT-IはpH8.6でDEAEイオン交換カラムに保持されないが、pH9.4ではカラムに保持された。これはMT-Iが含むヒスチジン残基のイミダゾール基の解離定数がpK=9.2であることから、ヒスチジンのイミダゾール基の解離によるものと推定された。アミノ酸分析の結果から推定されるタンパク質の分子量は約6,000で、この分子量は3種類のイソタンパク質で変わりなかった。したがって、SWカラムによる分子量の測定で、MT-IがMT-IIやMT-IIIよりも遅れてSWカラムから溶出されたのはMT-IがMT-IIやMT-IIIよりもより正に荷電しているためと考えられた。

Cdを連続投与したミナミイシガメの肝臓から単離されたメタロチオネインは主にCd(結合金属の87.7-93.0%)を結合し、他にZn(6.1-7.6%)とCu(0.9-4.7%)を少量含んでいた(表4)。メタロチオネインの3種類のイソタンパク質におけるシステインと金属の比率(SH/金属)は2.8から2.9で、ほ乳動物のメタロチオネインと同じ値を持つことが示された。システインと金属の比率から計算すると、MT-IとMT-IIIは7個の金属、またMT-IIは7個から8個の金属を結合していると推定された。

表4 Cdを投与したミナミイシガメから単離された肝メタロチオネインの金属組成と、システインと金属の比率⁵⁾

	Metal ratio (mol %)			SH/metal
	Cd	Zn	Cu	
MT-I	91.8	6.8	1.4	2.9
MT-II	87.7	7.6	4.7	2.8
MT-III	93.0	6.1	0.9	2.9

金属とシステインの濃度はICP-AESとアミノ酸分析によりそれぞれ測定した。

メタロチオネインの3種類のイソタンパク質はほとんど同じ吸光スペクトルのパターンを示した(図5)。各イソタンパク質はCd-S結合の電荷移動吸収帯に由来する254nmのショルダーピークを持っており、芳香酸アミノ酸を含まないため280nmの吸収を持たなかった。

4 考 察

ミナミイシガメの肝臓には高濃度のZn結合タンパク質が存在し、肝上清中のZnは大部分この

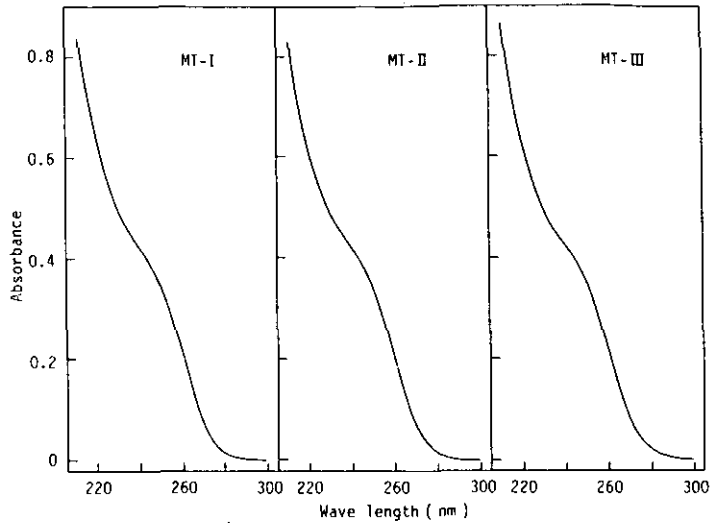


図5 ミナミイシガメのメタロチオネインの吸光スペクトル⁵⁾

3種類のイソタンパク質 MT-I, MT-II, MT-III (2.3, 2.5, 2.6 μ g/ml の Cd をそれぞれ含む) の吸光スペクトルは 10mM Tris-HCl 緩衝液 (pH8.6) 中で測定した。

タンパク質に結合した形で存在した (図 1 A)。したがって、ミナミイシガメの肝臓中に Zn 濃度が比較的高いのは、可溶性分画中に高濃度の Zn 結合タンパク質が存在するためと考えられた。また、雄よりも雌のカメで肝臓中の Zn 濃度が高くなっていることから、ミナミイシガメの肝臓に存在する Zn 結合タンパク質は一部性ホルモンの影響を受けている可能性が考えられた。

ミナミイシガメに Cd や Cu を投与すると、肝臓中に Cd または Cu が増加し、これと交換に Zn 濃度の減少が見られた。肝臓での Zn 濃度の低下は肝臓中に増加した Cd や Cu が新たな金属結合タンパク質の誘導を行わず、生理的に存在する Zn 結合タンパク質の Zn と特異的に置換したためであると考えられた (図 1-B, C)。

Cd を連続投与した場合も、de novo での生合成は見られず、単離した Cd 結合タンパク質は Zn 結合タンパク質の Zn と Cd が置換したものであった。単離したミナミイシガメの Cd 結合タンパク質は 3 種類のイソタンパク質から成り、それらは次の特徴からメタロチオネインと同定された；① 低分子量タンパク質 (分子量=約 6,000)、② 高いシステイン含量 (34.2-34.6%) と芳香族アミノ酸の欠如、③ 高い金属含量 (MT-I と MT-III が 7 個、MT-II は 7-8 個の金属を結合)。

脊椎動物の肝臓に Zn や Cu を結合したメタロチオネインが生理的に存在することが、ほ乳動物の胎児や新生児⁷⁻¹³⁾、成熟したウナギ¹⁴⁾、及び食用ガエル¹⁵⁾で報告されている。また、雌のラットの腎臓では週齢が高くなるにともなって Cu と Zn を含むメタロチオネインが増加することが知られている^{16,17)}、しかし、これらの動物では Cd の投与によりメタロチオネインの de novo 合成が起こり、ミナミイシガメの場合のような *in vivo* でのメタロチオネイン中の Zn と Cd の置換は見ら

れない。

ミナミイシガメのメタロチオネインは3種類のイソタンパク質から成り、ツメガエル⁴⁾やニワトリ¹⁸⁾の1種類、またギンブナ³⁾やウズラ¹⁹⁾の2種類と対比された。3種類のイソタンパク質のうちMT-Iはヒスチジンを1残基含んでおり、また既に報告されているトリ^{18,19)}やカエル⁴⁾のメタロチオネインにもヒスチジンを含むイソタンパク質が存在することから、ヒスチジンを含むメタロチオネインが両生類から鳥類まで広く分布していることが明らかになった。

謝 辞

本研究を実施するに当たり、激励された久保田憲太郎環境生理部長に感謝致します。

引 用 文 献

- 1) Yamamura, M., K. T. Suzuki, S. Hatakeyama and K. Kubota (1983) : Tolerance to cadmium and cadmium-binding proteins induced in the midge larva, *Chironomus yoshimatsui* (Diptera, Chironomidae). *Comp. Biochem. Physiol.*, **75C**, 21-24.
- 2) Yamamura, M., S. Hatakeyama and K. T. Suzuki (1983) : Cadmium uptake and induction of cadmium-binding protein in the waterflea, *Moina macrocopa*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **30**, 298-302.
- 3) Yamamura, M. and K. T. Suzuki (1983) : Characterization of metallothionein induced in the fish *Carassius auratus langsdorfi*. *Eisei Kagaku.*, **29**, 100-104.
- 4) Yamamura, M. and K. T. Suzuki (1983) : Metallothionein induced in the frog *Xenopus laevis*. *Experientia*, **39**, 1370-1373.
- 5) Yamamura, M. and K. T. Suzuki (1984) : Isolation and characterization of metallothionein from the tortoise *Clemmys mutica*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **79C**, 63-69.
- 6) Suzuki, K. T. (1980) : Direct connection of high-speed liquid chromatograph (equipped with gel permeation column) to atomic absorption spectrophotometer for metalloprotein analysis : Metallothionein. *Analyt. Biochem.*, **102**, 31-34.
- 7) Bell, J. U. (1979) : Native metallothionein levels in rat hepatic cytosol during perinatal development. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **50**, 101-107.
- 8) Bell, J. U. (1979) : A renal-hepatic comparison of metallothionein in the sheep fetus. *Toxicol. Lett.*, **4**, 407-411.
- 9) Wong, K.-L. and C. D. Klaassen (1979) : Isolation and characterization of metallothionein which is highly concentrated in newborn rat liver. *J. Biol. Chem.*, **254**, 12399-12403.
- 10) Mason, R., A. Bakka, G. P. Samarawickrama and M. Webb (1981) : Metabolism of zinc and copper in the neonate : Accumulation and function of (Zn, Cu)-metallothionein in the liver of the newborn rat. *Br. J. Nutr.*, **45**, 375-389.
- 11) Bakka, A. and M. Webb (1981) : Metabolism of zinc and copper in the neonate : Changes in the concentrations and contents of thionein-bound Zn and Cu with age in the livers of the newborn of various mammalian species. *Biochem. Pharmacol.*, **30**, 721-725.
- 12) Piletz, J. E., R. D. Andersen, B. W. Birren and H. R. Herschman (1983) : Metallothionein synthesis in fetal, neonatal and maternal rat liver. *Eur. J. Biochem.*, **131**, 489-495.

- 13) Suzuki, K. T., Y. Ebihara, H. Akitomi, M. Nishikawa and R. Kawamura (1983) : Change in ratio of the two hepatic isometallothioneins with development from prenatal to neonatal rats. *Comp. Biochem. Physiol.*, **76C**, 33-38.
- 14) Noël-Lambot, F., Ch. Gerday and A. Distèche (1978) : Distribution of Cd, Zn and Cu in liver and gills of the eel *Anguilla anguilla* with special reference to metallothioneins. *Comp. Biochem. Physiol.*, **61C**, 177-187.
- 15) Suzuki, K. T. and H. Akitomi (1983) : Difference in relative isometallothionein ratio between adult and larva of cadmium-loaded bullfrog *Rana catesbeiana*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **75C**, 211-215.
- 16) Bremner, I., R. B. Williams and B. W. Young (1981) : The effects of age, sex and zinc status on the accumulation of (copper, zinc)-metallothionein in rat kidneys. *J. Inorg. Biochem.*, **14**, 135-146.
- 17) Suzuki, K. T. and M. Yamamura (1981) : Native and induced rat kidney metallothioneins and their relation to cadmium toxicity. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **10**, 251-262.
- 18) Weser, U., H. Rupp, F. Donay, F. Linnemann, W. Voelter, W. Voetsch and G. Jung (1973) : Characterization of Cd, Zn-thionein (metallothionein) isolated from rat and chicken liver. *Eur. J. Biochem.*, **39**, 127-140.
- 19) Yamamura, M. and K. T. Suzuki (1984) : Induction and characterization of metallothionein in the liver and kidney of Japanese quail. *Comp. Biochem. Physiol.*, **77B**, 101-106.

両生類に対する重金属の影響 II
両生類に誘導されるメタロチオネインの特徴*

鈴木和夫¹

Effects of Heavy Metals on Amphibia II
Characteristic Properties of Metallothionein Induced in Amphibia*

Kazuo T. SUZUKI¹

Abstract

Ten species of amphibians were studied on the viewpoint of distribution and accumulation of heavy metals. Copper concentration was relatively high in the livers of amphibians and the copper was present as copper and zinc-containing metallothionein in the normal adults except for one species. The native metallothionein consisted of a single isoform including *Xenopus laevis* that was reported previously. Cadmium-containing metallothionein was induced in the livers of all amphibians examined and the induced metallothionein consisted of a single isoform except for *Rana catesbeiana*.

Xenopus laevis can be recommended as an amphibian to test the effect of heavy metals by its easy maintenance and availability. However, as the effect of heavy metals seems to be more profound through skin than through food chain, *X. laevis* was suggested to be affected more by the dissolved metals than the other frogs. The larva of *Rana catesbeiana* may be the most adequate larva to be studied on heavy metals owing to its availability and big liver size.

要 旨

10種類の両生類の肝臓あるいは腎臓中の金属濃度を調べた結果、一般的には肝臓中の銅濃度が高く、通常の成獣でも亜鉛と銅を含むメタロチオネインが存在することを明らかにした。また、これらのメタロチオネインにはイソタンパク質が1種類しか存在しなかった。

*本論文は既に印刷発表されている^{5-9,23)}。

1. 国立公害研究所 環境保健部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2

Environmental Health Sciences Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

カドミウムの投与によって、肝臓中にメタロチオネインが誘導され、カドミウムが捕捉されたが、このときのメタロチオネインもウシガエルを除いて1種類であった。両生類を用いて、重金属の影響を検討するときは、皮膚からの影響が大きいことを考慮する必要があるが、最も飼育しやすいアフリカツメガエルを用いるときは、一生水中生活をしているという点に特に留意する必要がある。幼生を用いるときは、肝臓の大きさや入手のしやすさの点でウシガエルの幼生が最も使用しやすかった。

1 はじめに

淡水の水界生態系を構成する動物を、食物連鎖という観点から見た場合、両生類は最も高位を占める動物と考えられる。しかし、両生類が水界生態系の汚染によってどのような影響を受けるかといった観点からの研究は少ない。環境汚染物質の内でも、重金属はこれまでも河川を始めとする水界を汚染する物質として注目されてきている。そこで、重金属が両生類にどのような影響を与えるか明らかにすることを目的とした実験を開始した。

両生類を実験動物として飼育するのは必ずしも容易でない。それは、一般的には陸と水の両環境が必要であることと、餌が問題となるためである。そのような中で、アフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)は、全生活期間にわたって水中で過ごすこと、並びに、餌は前肢を使って口にかき込むように食するために、必ずしも生き餌でなくてよいなど多くの利点があるため、最もよく利用されている。我々も、重金属の影響を調べるに当たって、まずこのアフリカツメガエルを用いた¹⁻⁴⁾。そして、アフリカツメガエルの重金属代謝における特性を、メタロチオネインを中心として明らかにした。

現存する両生類は無尾類、有尾類及び無足類の3種に大別されるが、種類や数の点では、いわゆるカエル(無尾類)が最も多い。アフリカツメガエルは無尾類の中では、系統発生的に最下位に近い位置を占めており、日本原産のカエルではない。そこで、日本国内に一般的にみられるカエルが、重金属代謝という観点から、実験動物として最も使用される可能性の高いアフリカツメガエルとどのような関係にあるのか明らかにすることを目的とした実験を計画した。また、有尾類についても2種類の動物について検討し、無尾類の動物と比較した。

2 実験方法

一連の実験に使用した動物は表1に示すように、無尾類で8種類、有尾類で2種類である。これら動物の入手法並びに飼育法はそれぞれ異なる。詳細については、表1の各動物に関する原報に記載されているため、ここでは簡単に記す。ウシガエルは跳躍力が大きく、飼育ケージに衝突して死亡することがあるため、他の動物の1/3の容器を用い、暗所で飼育したが、それ以外の動物は下記のような一般的な飼育法をとった。プラスチック製ケージ(30×35×18cm)に脱塩素水を2~3 cmの深さに入れ、レンガを陸地として入れた。また、餌はアフリカツメガエルは動物の肝臓、もしくは、イトミミズを与え、それ以外の動物にはミルウォームを主として与えた。ヒキガエル

表1 使用動物一欄

無尾類 (ヒキガエルとカエル類)		
Order Anura (the toads and frogs)		
無舌類		
Aglossa	<i>Xenopus</i>	<i>X. laevis</i> (アフリカツメガエル) ²⁻⁴⁾
後凹類		
Opisthocoela	<i>Bombina</i>	<i>B. orientalis</i> (スズガエル) ⁵⁾
前凹類	<i>Bufo</i>	<i>B. bufo japonicus</i> (ニホンヒキガエル) ⁵⁾
Procoela	<i>Hyla</i>	<i>H. arborea japonica</i> (ニホンアマガエル) ⁵⁾
重凹類		
Diplasiocoela	<i>Rana</i>	<i>R. catesbeiana</i> (ウシガエル) ⁶⁾ <i>R. japonica</i> (ニホンアマガエル) ⁷⁾ <i>R. nigromaculata</i> (トノサマガエル) ⁷⁾ <i>R. schlegelii</i> (シュレーゲルアオガエル) ⁷⁾
	<i>Rhacophorus</i>	
有尾類 (サンショウウオとイモリ)		
Order Caudata (the salamanders and newts)		
銜口類		
Ambystomatoidea	<i>Ambystoma</i>	<i>A. maculatum</i> (キボシサンショウウオ) ⁸⁾
イモリ類		
Salamandroidea	<i>Triturus</i>	<i>T. pyrrhogaster</i> (アカハライモリ) ⁹⁾

上付きの数字は引用文献の番号に相当する。

のように強制給餌法をとったものもある。

重金属の投与方法も動物種によって異なるため、詳細は原報に譲るが、一般的には蒸留水に金属塩化物を溶かし、筋肉内に注射したものを金属投与群とし、蒸留水投与群を対照群とした。

金属濃度は0.1~0.2gの臓器を1 mlの過塩素酸：硝酸混液(1:5, v/v)で湿式灰化し、灰化液を5 mlに希釈した後、発光分光法(ジャーレルアッシュ社製プラズマアトムコンプ 975)により分析した。

金属の存在状態の分析は、肝臓を3~5倍量の0.1M トリス塩酸緩衝液(pH7.4, 0.25M グルコース含有、使用前に窒素ガスを通気することによって溶存酸素を除去)中で、窒素気流下ホモジェナイズし、170,000g, 60分間超遠心して得た上清を用いて行った。上清0.1mlをSWカラム(東洋曹達製, 7.5×75mmのガードカラム付のTSKgel G3000SW, 7.5×600mm)に添加し、50mM トリス塩酸緩衝液(pH8.0, 0.1% NaN₃含有、使用前に減圧下脱気)を1.0ml/minの流速で溶出させた。溶出液の吸光度(254及び280nm)とカドミウム(Cd)などの金属濃度をオンラインで検出した¹⁰⁾。

3 結果

3.1 ウシガエルのメタロチオネイン⁶⁾

ウシガエルは表1に示したように、無尾類の中では系統発生的には高位を占めるカエルであり、日本各地の湖沼に広く分布している。また、ウシガエルの幼生(オタマジャクシ)は越冬するもの

もある。重金属の代謝研究などにおいて、最も重要な臓器の一つとして肝臓をあげることができるが、ウシガエルの幼生の肝臓は、他のカエル類の幼生と比べると例外的に大きい。そのため、幼生における重金属の存在状態をも、このウシガエルを用いれば検討できるという大きな利点がある。そこで、日本国内に生息する両生類として、まずウシガエルを検討した。

野外で捕獲したウシガエルの成獣と幼生中の主な元素濃度($\mu\text{g/g}$ 湿重量)と含量(μg /臓器重量)は表2に示したが、肝臓中の銅濃度が幼生と成獣では著しく異なっていた⁶⁾。また、これら動物にカドミウムを投与したときの元素濃度に与える影響についても、表2に示したように検討した。しかし、有意な変化を示した金属は投与したカドミウム以外には観察されなかった。

肝臓の可溶性分画に存在するカドミウム、亜鉛及び銅がどのようなタンパク質などの生体構成成分と結合しているか調べることを目的とした実験を行った結果を図1と2に示す。カドミウムを投与していない対照群の成獣と幼生の肝臓上清中の亜鉛と銅の分布は図1のようであって、成獣ウシガエルの肝臓上清中の亜鉛は高分子量領域に複雑な分布を示すが、銅は二つのピークしか観察されない。高分子量側のピークはスーパーオキシドディスムターゼに相当し、他はメタロチオネインに相当するが、それらはいずれも亜鉛をも結合したピークとなっている(図1-A)。一方、幼生ウシガエルの肝臓では成獣にみられたこれら2箇のピークはいずれも小さくなっているが、特に銅のピークがみられなくなっているものもある(図1-B)。

カドミウムを投与した成獣と幼生の肝臓中の3種類の金属の分布は図2のようであった。カドミウムは2箇の大きなピークとして観察されたが、その相対的な比率は成獣と幼生では逆になっていた。これら2箇のカドミウムのピークは成獣も幼生も亜鉛をも含んでいたが、銅については成獣についてのみ含まれていることが明らかとなった。カドミウム、亜鉛と銅またはカドミウムと亜鉛を含むこの2箇のピークはメタロチオネインであることが、カドミウムによる誘導、熱安定性などを含めて推定された。このメタロチオネインの存在と誘導は腎臓においても確認された⁶⁾。

3.2 スズガエル、ニホン本ヒキガエルとニホンアマガエル中の重金属とメタロチオネイン⁵⁾

無尾類の中では系統発生的に最も低位に属するアフリカツメガエルと、最も高位に属するウシガエルについて各種金属濃度とメタロチオネインを比較したところ、いくつかの共通点と相違点が見いだされた。そこで、これら2種類のカエルの中間的位置を占める3種類のカエル(表1)について検討した。スズガエルの銅濃度だけが、ヒキガエルやアマガエル、またアフリカツメガエルやウシガエルに比べて低いという結果が得られた⁵⁾。その結果を反映して、対照群のスズガエルにはメタロチオネインに相当する銅のピークがみられなかった。カドミウムを投与しても、スズガエルは銅を含んだメタロチオネインを誘導せず、例外的な挙動をとることが示された。ヒキガエルとアマガエルは、亜鉛や銅の濃度もアフリカツメガエルやウシガエルに近いものであった。一方、メタロチオネインのイソタンパク質の数という点では、3種のカエルは共に1種類であり、アフリカツメガエルとは本質的には類似しているものと考えられた⁵⁾。

表2 カドミウムを投与したウシガエルの成獣と幼生の肝臓と腎臓中の金属濃度と含量⁶⁾

		Body wt (g)	Liver wt (g)	Liver to body wt ratio (%)	Liver											
					Cd		Zn		Cu		Fe		Ca		Mg	
					A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Adults	Control	330	6.75	1.96	n.d.	n.d.	20.7	147	11.9	85.3	239	1520	34.8	242	172	1230
	(n=3)	(105)	(3.41)	(0.59)			(3.5)	(88)	(2.8)	(50.7)	(67)	(750)	(3.2)	(136)	(32)	(760)
	Cd	337	8.10	2.13	24.3	181	23.8	193	14.8	113	347	2880	44.1	351	198	1600
	(n=8)	(89)	(2.59)	0.31	(9.5)	(38)	(1.3)	(64)	(10.8)	(78)	(161)	(1600)	(6.0)	(91)	(13)	(470)
Larvae	Control	14.2	0.71	6.07			13.9	9.82	1.73	1.24	151	107	32.0	22.5	142	101
	(n=5)	(2.8)	(0.13)	(0.29)			(1.9)	(2.00)	(0.43)	(0.44)	(30)	(28)	(7.2)	(5.3)	(8)	(14)
	Cd	14.4	0.73	5.02	12.1	8.10	16.7	11.7	0.94	0.67	227	132	31.3	21.8	132	95.6
	(n=5)	(1.8)	(0.29)	(1.29)	(3.4)	(0.74)	(5.0)	(4.1)	(0.31)	(0.27)	(62)	(36)	(6.4)	(4.8)	(35)	(39.8)

		Kidney wt (g)	Kidney to body wt ratio (%)	Kidney											
				Cd		Zn		Cu		Fe		Ca		Mg	
				A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Adults	Control	1.25	0.364	n.d.	n.d.	17.6	21.7	1.65	1.97	63.8	75.8	55.7	68.9	122	151
		(0.63)	(0.068)			(0.6)	(10.3)	(0.22)	(0.72)	(24.9)	(37.0)	(8.0)	(35.2)	(5)	(73)
	Cd	1.08	0.290	21.8	22.5	17.7	18.9	1.75	1.85	39.0	43.4	106	114	127	137
		(0.19)	(0.032)	(6.7)	(3.0)	(1.5)	(2.9)	(0.28)	(0.23)	(17.4)	(23.8)	(70)	(77)	(10)	(22)

ウシガエルの成獣（雄性）と幼生にカドミウムを連続的に注射した（成獣には8日間に0.5mgを1回と1.0mg/kg体重を4回、幼生には6日間に0.5mg/kg体重のカドミウムイオンを4回）。対照群には蒸留水を注射した。最終投与1日後に屠殺し、金属濃度を測定した。値は平均±標準偏差で示した。Aはμg/g湿重量で示した濃度、Bはμg/臓器重量で示した含量を示す。またn.d.は値が低くすぎて金属濃度が検出限界以下であったことを示す。

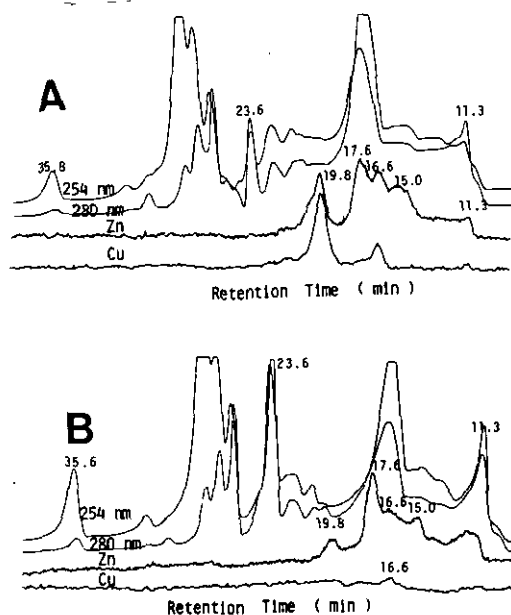


図1 ウシガエルの成獣(A)と幼生(B)の肝臓上清中の亜鉛と銅の分布図⁶⁾

対照群(カドミウムを投与していない群)のウシガエルの肝臓を3倍量の0.1M トリス塩酸緩衝液中でホモジェナイズし、170,000g で60分間超遠心して得た上清を試料とした。試料0.1ml を TSKgel G 3000 SW カラムに添加し、50mM トリス塩酸緩衝液を 1 ml/min の流速で流すことにより溶出させた。溶出液を直接、原子吸光分光光度計に導くことにより金属濃度を連続的に分析した¹⁰⁾。カラムの排除容量は11.3分、メタロチオネインは19.8分の亜鉛と銅 (A, 成獣) 及び19.8分の亜鉛 (B, 幼生) のピークに相当する。

3.3 ニホンアカガエル、トノサマガエルとシュレーゲルアオガエルのメタロチオネイン⁷⁾

これまでに調べた5種類のカエルの内、スズガエルは銅含量やその代謝という点で例外であった。また、メタロチオネインのイソタンパク質数という点では、ウシガエルのみがカドミウムによって誘導されたとき2種類になるという点で例外であった。これらの内、特に後者について検討するため、ウシガエルと同じ重凹類に属し、日本国内で一般的にみられるニホンアカガエル、トノサマガエルとシュレーゲルアオガエルについて同じく検討した。銅濃度が高いという一般性は同じくみられ、銅を含むメタロチオネインが対照群の肝臓中にも存在するという結果も共通したものであった⁷⁾。さらに、カドミウムを投与したとき誘導されるメタロチオネインも1種類だけであることも明らかとなった。これらの詳細なデータは原報に記載した⁷⁾。

3.4 有尾類のメタロチオネイン^{8,9)}

無尾類でみられた重金属及びメタロチオネインに関する特性が、有尾類を含めた両生類一般にあてはまる特性であるか否かを検討するため、2種類の有尾類について検討した(表1)。キボシ

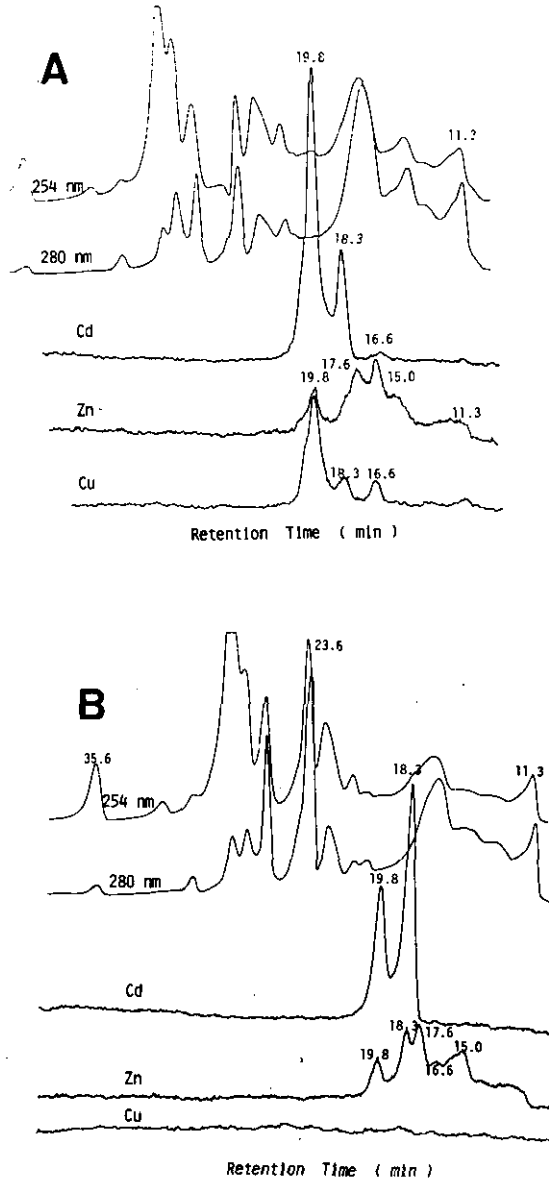


図2 カドミウムを投与したウシガエルの成獣(A)と幼生(B)の肝臓上清中のカドミウム、亜鉛と銅の分布図⁹⁾

カドミウムを成獣には0.5mg/kg体重を1回、1.0mg/kg体重を4回皮下に投与し、幼生には0.5mg/kg体重を4回に投与した後、と殺し、肝臓を得た。対照群(図1)と同じようにして肝臓上清中の金属の分布を調べた。19.8分のメタロチオネインのピークはカドミウム、亜鉛と銅を含んでおり、さらに18.3分にカドミウム、亜鉛と銅を含む新しいメタロチオネインのピークが観察される(A図)。幼生では19.8分と18.3分のピークは銅を含んでいない(B図)。成獣(A)と幼生(B)で19.8分と18.3分のピークの強度比が逆転している。

サンショウウオの肝臓中の銅含量が少し低かったが、対照群でも銅を含むメタロチオネインが存在し、カドミウム投与によっても1種類のメタロチオネインが誘導されるだけであるという、一般性が有尾類でも観察された^{8,9)}。肝臓上清中のカドミウム、亜鉛及び銅の分布という観点からは、キボシサンショウウオのヘムタンパク質で、これらの金属に対する親和性が異常に高いという特徴がみられた⁸⁾。

4 考察

水界生態系を構成する動物の中で、両生類は人間の目にもふれやすく、食物連鎖的にも発生学的にも高位を占める動物である。にもかかわらず、これまで両生類が指標生物として注目されなかったのは、魚類や昆虫類などに比べて飼育が必ずしも容易でないという理由によるものと思われる。前報¹⁾で、両生類の内では最も飼育しやすいアフリカツメガエルを用いた実験結果を報告した。水生せきつい動物である魚類¹¹⁻¹⁶⁾が近縁の関係にあると思われるが、それらについて報告されている結果と重金属の代謝という面では異なっているようであった。そこで、重金属の代謝という観点から両生類を特徴付けること、並びに日本国内でみられる両生類を位置付けることを目的として数種の代表的な両生類について検討を加えた。

重金属の存在状態という観点から検討された両生類は表1に示した10種類のみである。一般的特徴として、肝臓中の銅含量が高いということを指摘できる。この例外はスズガエルのみであった。そして、この銅はメタロチオネインに結合した銅によるものと推定された。ほ乳動物の胎児や新生児の肝臓中にメタロチオネイン濃度が高く、銅が亜鉛と共に結合されていることが報告されている¹⁷⁻²²⁾。個体発生は系統発生を繰り返すといわれている点からみると、両生類で一般的に観察された銅濃度と銅含有メタロチオネインに関する結果は興味深い。しかし、唯一検討することができたウシガエルの幼生では、逆に肝臓中の銅濃度が低く、亜鉛のみを含んだメタロチオネインが通常存在するという結果は、共通性がある現象であるかどうか確認することができなかった。

両生類の肝臓には、通常、銅と亜鉛を含むメタロチオネインが存在することが確認された。しかも、これらのメタロチオネインはほ乳幼動物などと違って、イソタンパク質の種類は1種類だけであった。例外ということで処理できるかもしれないが、ウシガエルにカドミウムを投与したとき、新たに、それまで存在しなかったイソメタロチオネインが誘導された。これは今までに報告がない新しい現象として検討の必要があるであろう。

表1に示した10種類の両生類の重金属に関するデータから、特定の両生類に関するデータを検討するときの基礎資料を直接または間接的に知ることができるようになった。また、両生類間の位置付けも可能となった。アフリカツメガエルで示した食物連鎖モデル実験の結果¹⁾は、他の両生類にも適応可能と思われる。したがって、両生類の場合は皮膚を通した重金属の影響がより大きいと考えられ、このことによって飼育時にみられる銅を含んだ金網などの影響を説明できるであ

ろう。

謝 辞

本研究は引用文献2～9に示した、特に卒論の学生の協力によってなされたことを記し、謝意を表す。また、久保田憲太郎環境生理部長の激励に感謝する。

引 用 文 献

- 1) 鈴木和夫・山村 充 (1984) : 両生類に対する重金属の影響 I アフリカツメガエルへの重金属の蓄積と存在状態並びに必須金属への影響。国立公害研究所研究報告, 第62号, 143-162.
- 2) Suzuki, K. T. and Y. Tanaka (1983) : Induction of metallothionein and effect on essential metals in cadmium-loaded frog, *Xenopus Laevis*. Comp. Biochem. Physiol., 74C, 311-317.
- 3) Suzuki, K. T., Y. Tanaka, and R. Kawamura (1983) : Properties of metallothionein induced by zinc, copper and cadmium in the frog, *Xenopus laevis*. Com. Biochem. Physiol., 75C, 33-37.
- 4) Yamamura, M. and K. T. Suzuki (1983) : Metallothionein induced in the frog *Xenopus laevis*. *Experientia*, 39, 1370-1373.
- 5) Suzuki, K. T. and R. Kawamura (1984) : Metallothionein present or induced in the three species of frogs *Bombina orientalis*, *Bufo bufo japonicus* and *Hyla arborea japonica*. Comp. Biochem. Physiol., 79C, 255-260.
- 6) Suzuki, K. T. and H. Akitomi (1983) : Difference in relative isometallothionein ratio between adult and larva of cadmium-loaded bullfrog *Rana catesbeiana*. Comp. Biochem. Physiol., 75C, 211-215.
- 7) Suzuki, K. T., N. Itoh, K. Ohta and H. Sunaga (1985) : Amphibian metallothionein. Induction in the frogs *Rana japonica*, *R. nigromaculata*, and *Rhacophorus schlegelii*. Comp. Biochem. Physiol. (in press.)
- 8) Suzuki, K. T. and Y. Ebihara (1984) : Distribution of cadmium, copper and zinc in the liver of spot salamander *Ambystoma maculatum* and their binding to metallothionein. Comp. Biochem. Physiol., 78C, 35-38.
- 9) Suzuki, K. T., H. Akitomi and R. Kawamura (1984) : Cadmium, copper and zinc-binding protein (metallothionein) in the liver of water lizard *Triturus pyrrhogaster*. *Toxicol. Lett.*, 21, 179-184.
- 10) Suzuki, K. T. (1980) : Direct connection of high speed liquid chromatograph (equipped with gel permeation column) to atomic absorption spectrophotometer for metalloprotein analysis : Metallothionein. *Analyt. Biochem.*, 102, 31-34.
- 11) Overnell, J. and T. L. Coombs (1979) : Purification and properties of plaice metallothionein, a cadmium-binding protein from the liver of the plaice (*Pleuronectes platessa*). *Biochem. J.*, 183, 277-283.
- 12) Ley III, H. L., M. L. Failla and D. S. Cherry (1983) : Isolation and characterization of hepatic metallothionein from rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Comp. Biochem. Physiol., 74B, 507-513.
- 13) Noel-Lambot, F., Oh. Gerday and A. Disteché (1978) : Distribution of Cd, Zn and Cu in liver and gills of the eel *Anguilla anguilla* with special reference to metallothionein. Comp. Biochem. Physiol., 61C, 177-187.
- 14) Kito, H., Y. Ose, V. Mizuhira, T. Sato, T. Ishikawa and T. Tazawa (1982) : Separation and purification of (Cd, Cu, Zn)-metallothionein in carp hepato-pancrea. Comp. Biochem. Physiol.,

73C, 121-127.

- 15) Takeda, H. and C. Shimizu (1982) : Purification of metallothionein from the liver of skipjack and its properties. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **48**, 717-723.
- 16) Yamamura, M. and K. T. Suzuki (1983) : Characterization of metallothionein induced in the fish *Carassius auratus langsdorfi*. *Eisei Kagaku*, **29**, 100-104.
- 17) Bell, J. U. (1979) : Native metallothionein levels in rat hepatic cytosol during perinatal development. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **50**, 101-107.
- 18) Bell, J. U. (1979) : A renal-hepatic comparison of metallothionein in the sheep fetus. *Toxicol. Lett.*, **4**, 407-411.
- 19) Wong, K.-L. and C. D. Klaassen (1979) : Isolation and characterization of metallothionein which is highly concentrated in newborn rat liver. *J. Biol. Chem.*, **254**, 12399-12403.
- 20) Mason, R., A. Bakka, G. P. Samarawickrama and M. Webb (1981) : Metabolism of zinc and copper in the neonate : Accumulation and function of (Zn, Cu)-metallothionein in the liver of the newborn rat. *Br. J. Nutr.*, **45**, 375-389.
- 21) Bakka, A. and M. Webb (1981) : Metabolism of zinc and copper in the neonate : Changes in the concentrations and contents of thionein-bound Zn and Cu with age in the livers of the newborn of various mammalian species. *Biochem. Pharmacol.*, **30**, 721-725.
- 22) Suzuki, K. T., Y. Ebihara, H. Akitomi, M. Nishikawa and R. Kawamura (1983) : Change in ratio of the two hepatic isometallothioneins with development from prenatal to neonatal rats. *Comp. Biochem. Physiol.*, **76C**, 33-38
- 23) Suzuki, K. T., H. Akitomi, Y. Ebihara and R. Kawamura (1984) : Metallothionein induced in Amphibia II. *Eisei Kagaku*, **30**, P-49.

ユスリカ、ニクバエ及びカイコ幼虫の
カドミウムに対する耐性機構の違い*

鈴木和夫¹・青木康展^{2,3}・山村 充^{2,4}・鷺見 和⁵・畠山成久⁶

**Difference in Tolerance Mechanism to Cadmium
among Midge, Fleshfly and Silkworm Larvae***

Kazuo T. SUZUKI¹, Yasunobu AOKI^{2,3}, Mitsuru YAMAMURA^{2,4},
Yawara SUMI⁵ and Shigehisa HATAKEYAMA⁶

Abstract

Midge larvae are known to be a dominant organism in the polluted aquatic environment and to show high tolerance to cadmium (Cd). The tolerance mechanism has

*本論文は既に発表されたものについてまとめたものである^{8-11,18)}。

1. 国立公害研究所 環境保健部 〒305茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Environmental Health Sciences Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
2. 国立公害研究所 環境生理部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Basic Medical Sciences Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
3. 現在: 国立公害研究所 環境保健部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Present Address: Environmental Health Sciences Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
4. 現在: 環境庁環境保健部保健調査室 〒100 東京都千代田区霞が関1-2-2
Present Address: Office of Health Studies, Department of Environmental Health, Environment Agency 2-2, Kasumigaseki 1, Chiyoda, Tokyo 100, Japan.
5. 昭和56~59年度 国立公害研究所客員研究員 (聖マリアンナ大学医科学第1解剖研究室 〒213 神奈川県川崎市高津区菅野2095)
Visiting Fellow of the National Institute for Environmental Studies.
Present Address: First Department of Anatomy, St. Marianna University School of Medicine, 2095 Sugano, Takatsu-ku, Kawasaki 213, Japan.
6. 国立公害研究所 生物環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Environmental Biology Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

been studied by determining the uptake and release processes of Cd and by analyzing the distribution of the metal among soluble proteins of the whole larvae. The midge larvae (*Chironomus yoshimatsui*) took up Cd rapidly in the Cd-containing water (10 $\mu\text{gCd/ml}$) and released the metal promptly in the control water. The Cd taken up or retained highly in the larvae was mostly bound non-selectively to high molecular weight proteins and only a small amount of the metal was bound to the induced low molecular weight protein. The distribution of Cd in the larval tissues was histochemically determined by staining with benzothiazolylazo- β -naphthol. The stain was found mainly in the digestive tract, integument and fat bodies.

The fleshfly (*Sarcophaga peregrina*) larva was examined to compare the tolerance mechanism to Cd with the midge larva. Approximately 90% of Cd accumulated in the larva was found in the digestive tract, the fat body and Malpighian tube being less effective in its accumulation. Cd in the digestive tract was mostly bound to an inducible Cd-binding protein and was a mixture of five iso-proteins having several properties characteristic of metallothionein. The excretion process of Cd in the larva during metamorphosis was also characterized.

The silkworm (*Bombyx mori*) larva was also examined to compare the tolerance mechanism to Cd with the midge and fleshfly larvae. Silkworm larvae were reared on an artificial diet containing Cd at concentrations of 8 and 80 $\mu\text{g/g}$ wet diet and the concentration of Cd in the alimentary canal, Malpighian tube, silk gland, fat body and other organs were determined together with other essential elements. Cd was mainly accumulated in the former two organs (up to 1100 and 470 $\mu\text{g/g}$ dry weight, respectively). The distribution of Cd in the supernatant fractions of the two highly accumulated organs were determined on an SW column. Cd was primarily bound to inducible high molecular weight Cd-binding proteins.

The three insect larvae were thus shown to be different in tolerance mechanism; uptake and release of Cd, distribution among organs and binding of Cd in the soluble protein fraction.

要 旨

ユスリカ幼虫は汚染された水環境の優先種として知られており、カドミウムに対しても高い耐性を示す。この耐性機構を検討するため、カドミウムの分布と存在形態を調べたところ、取り込まれたカドミウムの大部分は非特異的にタンパク質と結合していた。ユスリカの金属に対する耐性機構を他の昆虫と比較検討するため、センチニクバエとカイコを用いて調べた。センチニクバエでは90%以上のカドミウムが消化管に蓄積しており、誘導された5種のイソタンパク質からなるカドミウム結合タンパク質に結合していた。このカドミウムは変態に伴って選択的に排せつされた。カイコでもカドミウムは主として消化管に蓄積していたが、その存在状態は誘導された高分子量のカドミウム結合タンパク質であり、ユスリカやハエとは異なっていた。組織化学的に染色した結果、ユスリカではカドミウムは消化管と脂肪体に非特異的に結合していた。これらの結果は昆虫の種類により、カドミウムの耐性機構が大きく異なり共通の機構のみでは説明しきれないことがわかった。

1 はじめに

環境の悪化に伴って、その環境に生育できる動植物の種類は減少し、生態系としての多様性が失われる。水界生態系においても同じ現象が見られる。汚染が進んだ河川や湖沼でユスリカが大発生することがあるが、これはそれら水環境の悪化によって、汚染に強いユスリカが優先種となったことを意味している。また、生物が生息できない程、汚染されきった水環境が改善されてきたときにもユスリカが大発生することがある。これはその水環境が生物が生息できる程度にまで改善されてはきたが、まだ十分でないため汚染に強い生物種しか生息できない程度の改善であることを示している。水環境の汚染に強いユスリカはこのように生物指標の一つとなり得る。

ユスリカの中でも *Chironomus yoshimatsui* の幼虫は水環境の汚染に最も強い種類の一つとして知られている¹⁾。この *C. yoshimatsui* は重金属汚染に対しても強い抵抗性を示すため、その抵抗性がどのような機構によるのか検討することを意図した研究を開始した²⁾。重金属の一つとしてカドミウムを選び、*C. yoshimatsui* へのカドミウムの蓄積と排せつ過程、さらには体内においてどのような存在形態をとっているかという点について調べた結果、次のようなことが明らかとなった^{2,3)}。*C. yoshimatsui* をカドミウムを含む水の中で飼育すると、カドミウムを急速に蓄積するが、カドミウムを含まない水にもどすと、体内からのカドミウムの排せつも急速におこる。さらに、体内に蓄積されたカドミウムは、初期の内は大部分、体内に存在する高分子量タンパク質などに非特異的に結合している。しかし、カドミウムと結合する低分子量のタンパク質が時間の経過とともに増加してくる。

ほ乳動物などの高等動物も、カドミウムに対する抵抗性を獲得するが、これはメタロチオネンと呼ばれる低分子量のタンパク質を誘導し、このタンパク質がカドミウムと選択的に結合することによると説明されている⁴⁾。*C. yoshimatsui* に誘導されるカドミウムの結合タンパク質は、その誘導過程が遅く、かつこのタンパク質に結合されているカドミウムの相対的割合も低い。従って、*C. yoshimatsui* のカドミウムに対する抵抗性を説明するためには、このカドミウム結合タンパク質だけでは説明が難しいと思われる。

ユスリカは昆虫の1種であるが、昆虫の重金属に対する抵抗性とその機構については全くと言ってよい程研究されていない。トビケラ^{5,6)}やバツタ⁷⁾などにカドミウムが蓄積されるという報告があるのみであった。そこで、ユスリカにおいて見いだされた現象が、昆虫に共通なものであるかどうか、さらにユスリカ体内のどの器官にカドミウムが分布するのかといった観点から検討を進めることとした。

他種類の昆虫としては、実験動物化されているセンチニクバエ (*Sarcophaga peregrina*)^{8,9)} とカイコ (*Bomix mori*)¹⁰⁾ の幼虫を使用した。また、カドミウムのユスリカ体内における分布は、ベンゾチアゾイルアゾ- β -ナフトールによる組織化学的方法を試みた¹¹⁾。

2 実験方法

各項目の実験方法の詳細については、それぞれの原著に譲った⁸⁻¹¹⁾。

i) センチクバエの飼育とカドミウムの蓄積^{8,9)}

Ohtaki¹²⁾の方法に従って飼育し、ブタ肝臓またはカドミウムを添加したブタ肝臓ホモジェネートを飼餌した⁸⁾。と殺1日前より餌から離し、水と接触させた状態に保つことにより、消化管中の餌の排せつを促し、かつサナギになることを阻止した。

センチクバエ全体または、顕微鏡下で摘出した消化管などの組織は、0.1M トリス塩酸緩衝液 (pH7.4, 0.25M グルコース含有)中、窒素ガス気流下でテフロン-ガラス製のホモジェナイザーでホモジェナイズした。170,000g で60分間超遠心して得た上清を、カドミウム、亜鉛及び銅の分布を調べるための試料とした。また、各組織などのカドミウム濃度は、過塩素酸-硝酸(1/5, v/v) で湿式灰化した後、原子吸光法(AAS)で求めた。

上清中の金属の分布は、TSKgel G3000SW カラム(東洋曹達工業製, 7.5×600mm, 7.5×75mm のガードカラム付)を装備した高性能液体クロマトグラフ(HPLC)で分離した後、その溶出液を直接、アセチレン炎原子吸光分光器(AAS)で分析する HPLC-AAS 法によって求めた¹³⁾。

ii) カイコの飼育とカドミウムの蓄積¹⁰⁾

無菌的にカイコを飼育する方法については Matsubara ら¹⁴⁾の方法によった。

カイコの各組織中の元素濃度は発光分光法によった。湿式灰化法並びに各組織上清中のカドミウム、亜鉛と銅の分布の決定法(HPLC-AAS 法)についてはセンチクバエと同じ方法によった。

iii) ユスリカ中のカドミウムの組織化学的検出¹¹⁾

カドミウムを10 μ g Cd/ml で含む地下水中で2日間飼育したユスリカ幼虫を用いた⁹⁾。

ベンゾチアゾイルアゾ- β -ナフトールによる染色法については Sumi ら¹⁵⁻¹⁷⁾の方法によった。

3 結果

カドミウムを含む餌で飼育したセンチクバエ幼虫に蓄積したカドミウムは、表1に示すような臓器間分布を示した⁸⁾。約90%が消化管中に存在したが、これは消化管に残っていた餌によるものでないことは、サンプルの調製法から明らかである。マルピギー管への分布並びに濃度が消化管に次いで高く、脂肪体中の濃度は低いものであった。

センチクバエに蓄積したカドミウムがどのような化学形態をとっているか調べるため、HPLC-AAS 法による分析を行った。表1に示した全身並びに消化管の上清中のカドミウムは図1に示したような分布を示した⁸⁾。大部分のカドミウムは保持時間19.0, 23.6, 24.6, 26.2と28.0分に見られる、新たに誘導されたピークに結合していた。これら5箇のカドミウムを結合したピークは熱に対して安定であり、60 $^{\circ}$ C, 5分間の熱処理でも変性しなかった。また、これら5箇のピークに結合しているカドミウムは1価の銅により容易に置換された。また、これらカドミウム結合ピークの分子量は、ラットのメタロチオネインが10,000と算定される条件下で、8,000と算定された。

表1 カドミウムを投与したセンチクバエ中のカドミウムの分布⁸⁾

	Content ($\mu\text{g}/\text{larva}$)	Distribution (%)	Concentration ($\mu\text{g}/\text{g}$ wet tissue)
Whole body	$1.53 \pm 0.19^*$	100	$14.6 \pm 2.2^*$
Digestive tract	$1.37 \pm 0.49^*$	90	$301 \pm 81^*$
Fat body	0.009^+	0.6	0.1^+
Malpighian tube	0.036^+	2.3	9.0^+
Trachea	nd		
Brain	nd		
Cuticle	0.062^+	4.1	0.34^+

カドミウムを含むブタ肝臓ホモジネート ($100\mu\text{gCd}/\text{g}$) 中でセンチクバエ幼虫を3日間飼育し、1日間餌から離れた後、と殺した。

* 平均±標準偏差 ($n=5$)

+ 5匹分を集めて測定したときの1匹当たりの平均値

nd: 検出限界以下

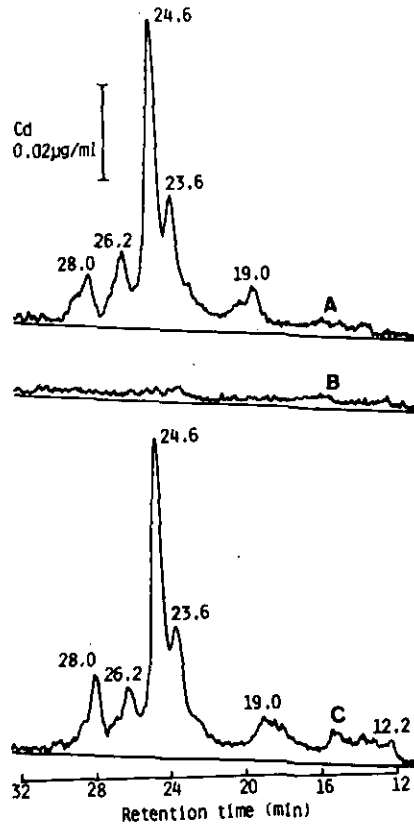


図1 カドミウムを投与したセンチクバエの消化管(A)と全身(C)、並びに対照群の消化管(B)上清中のカドミウムの分布⁸⁾

表1に示したセンチクバエの全身(C)と消化管(A)並びに対照群の消化管(B)上清(0.1ml)をSWカラムに添加し、HPLC-AAS法によって分析した。

センチニクバエの変態に伴って、蓄積されたカドミウムがどのように排せつまたは維持されるか検討した⁹⁾。またこのとき、亜鉛と銅も同時に測定し、有害金属と必須金属の間にどのような違いがみられるかという点も調べた。表2に示したように、幼生に蓄積したカドミウムの大部分は成虫の排せつ物として排せつされ、成虫中には約1/4が保持されていたのみであった。幼生から成虫に至る間にカドミウム投与群と対照群の間には亜鉛と銅の濃度はほとんど変化がなかった。これらの結果から、有害元素であるカドミウムだけが選択的に体外に排せつされていることが明らかとなった。

センチニクバエに蓄積されたカドミウムの存在形態が変態に伴ってどのように変化するかという点についても検討を加えた。図2に示したように幼虫からサナギ、そして成虫へと変態するにつれて、体内に残存するカドミウム量のみでなく、その結合タンパク質の相対量も大きく変化した。

カイコの幼虫にカドミウムを投与したときの各臓器中のカドミウム、亜鉛と銅濃度を、対照群と比べたときの結果を表3に示す¹⁰⁾。カドミウムは主として消化管に蓄積し、次いでマルピギー管中の濃度が高くなることがわかった。この結果はセンチニクバエの結果と同じであった。消化管にカドミウムが蓄積したのと連動して亜鉛濃度も増加したが、これはマルピギー管でも同様であった。

カイコの消化管上清に蓄積したカドミウムと亜鉛の存在形態をセンチニクバエと同じくHPLC-AAS法で調べた結果を図3に示す¹⁰⁾。カドミウムは大部分、カラムの排除容量近くに2箇のピークとなって溶出され、ユスリカ⁷⁾やセンチニクバエ^{8,9)}の結果とは大きな違いがあった。このカドミウムのピークは熱処理しても変化せず、熱に安定な成分であることが示された。また、2価の銅イオンを上清に添加するとこの高分子量のカドミウムピークは消失し、代わって銅のピークがあらわれた。さらに、対照群の上清にカドミウムを添加しても、この排除容量近くに溶出されるカドミウムピークは検出されなかった。これらの結果は、図3にみられる大きな2箇のカドミウムピークは、カイコ幼虫にカドミウムを投与することによって誘導される熱に安定で、かつ容易に銅と交換反応をしようするカドミウムの結合物質であることを示している。

ユスリカの体は小さく、各臓器に分けてカドミウムの分布とその存在形態を明らかにすることは難しい。そこで、カドミウムを蓄積させたユスリカ幼虫を組織化学的に分析することを試みた。カドミウムを選択的に染色する手段としてSumiらの開発したベンゾチアゾイルアゾ- β -ナフトールを用いた¹⁵⁻¹⁷⁾。その結果、ユスリカではカドミウムは消化管とともに、脂肪体にも広く分布していることが明らかとなった¹¹⁾。また、使用した染色試薬がメタロチオネインに結合したカドミウムのような、安定度定数の高い錯体に結合したカドミウムを染色しえないことから、ユスリカ幼虫のカドミウムは遊離のカドミウムに近い状態の存在状態をとっていることも示された¹¹⁾。

表2 センチクバエの変態に伴ったカドミウム、亜鉛と銅含量の変化⁹⁾

	Cd		Zn		Cu	
	Cd (%)	Cd	Control	Cd	Control	
Larvae	1.27±0.35(100)	2.23±0.35	2.31±0.34	0.187±0.15*	0.220±0.017	
Mucus from larvae	0.082±0.04(6)	0.260±0.410	0.146±0.133	nd	nd	
Puparium	0.054±0.017(4)	0.545±0.103	0.695±0.234	0.057±0.017	0.055±0.008	
Excreta from adults	0.673±0.182(53)	0.113±0.049**	0.217±0.056	nd	nd	
Adults	0.332±0.160(26)	1.33±0.05	1.47±0.16	0.149±0.027	0.172±0.021	

カドミウムを蓄積したセンチクバエ ($n=5$) と対照群 ($n=6$) を2匹を1サンプルとして分析し、1頭当たりの値の平均±標準偏差として示した。カドミウムは表1に示したと同じように3日間蓄積させた後の変化とした。有意差の検定は Student-*t* テストにより、対照群に比べた結果を * $0.05 > P$ 、** $0.01 > P$ として示した。

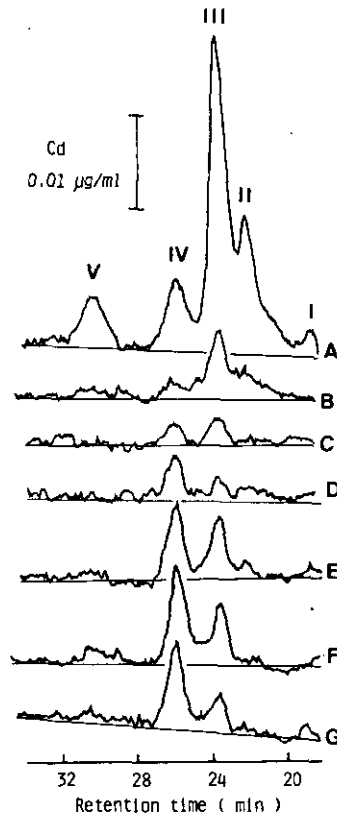


図2 センチクバエの変態に伴ったカドミウムの存在形態の変化⁹⁾

カドミウムを蓄積させたセンチクバエの3令幼虫(A)、4日令サナギ(B)、7日令サナギ(C)、1日令成虫(D)、3日令成虫(E)、7日令成虫(F)と13日令成虫(G)の上清中のカドミウムの分布を、図1と同じくHPLC-AAS法で分析した。

表3 カドミウム投与による無菌カイコ幼虫中のカドミウム、亜鉛と銅濃度への影響¹⁰⁾

		Cd	Zn	Cu
Silk gland	Cont.	nd	27.9±0.9	1.96±1.35
	Cd	0.661±0.105	29.0±3.4	2.20±0.98
Head	Cont.	nd	363±34	9.82±0.49
	Cd	10.5±1.9	369±35	14.4±5.2
Trachea	Cont.	nd	84.0±3.0	9.20±0.12
	Cd	4.36±0.25	128±36	4.48±0.69
Malpighian tubes	Cont.	nd	79.9±4.2	11.9±1.5
	Cd	470±10	137±9	9.39±0.15
Alimentary canal	Cont.	nd	383±73	18.5±4.3
	Cd	1100±106	1000±65	25.1±3.6
Sexual organs [†]	Cont.	nd	94.3	12.6
	Cd	4.39	104	12.3
Fat body	Cont.	nd	22.4±2.1	1.98±0.40
	Cd	3.48±0.17	23.8±0.9	2.75±1.60
Integument	Cont.	nd	51.8±1.9	9.36±1.48
	Cd	2.60±0.17	72.3±4.6	11.1±6.5

5令幼虫に 80 µgCd/g 飼料のカドミウムを含む人工飼料を5日間与え、最終投与1日後に解剖した。各臓器の乾燥重量当たりの金属濃度として示した(µg/g 乾重量)。対照群にはカドミウムを添加していない人工飼料を与えた。50~200匹のカイコの臓器を集め、それらを3回測定したときの平均±標準偏差として示した。ndは検出限界値以下であったことを示す。

4 考 察

ユスリカのカドミウムに対する耐性機構を明らかにするため、カドミウムの取り込みから排せつに至る過程、さらにはユスリカ体内における存在状態を検討した。得られた結果はこれまで他の動物で知られている現象とはかなり違うものであった。主な相違点は i) カドミウムの存在状態として、初期には非特異的に結合した状態が長く続き、カドミウムの結合タンパク質の誘導が遅いにもかかわらずユスリカが生存している^{2,3)}。ii) ほ乳動物の肝臓に当たる脂肪体への分布が組織化学的に観察されるが、それらは遊離の状態に近いまたは安定度定数の低い状態で結合している。また消化管への分布が最も高いが、そこでも同様な状態で存在している¹¹⁾。iii) 誘導されるカドミウムの結合タンパク質の分子量はほ乳動物のメタロチオネインよりも分子量が小さく、かつ4種類以上のイソタンパク質の混合物からなっている^{2,3)}、などを挙げる事ができる。

センチクバエではカドミウムは主として消化管に分布蓄積しており、そこではユスリカと同

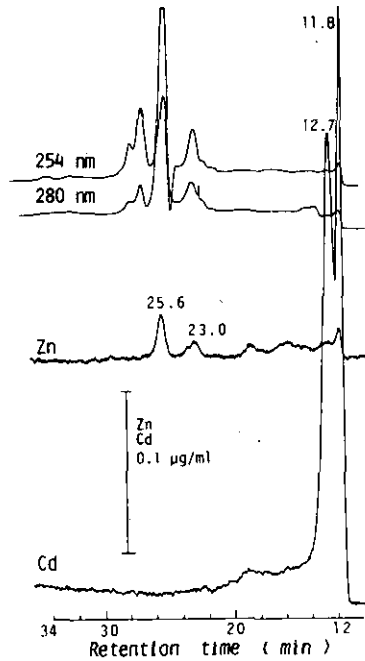


図3 カドミウムを投与したカイコの消化管上清中のカドミウムと亜鉛の分布¹⁰⁾

カドミウムを80 $\mu\text{gCd/g}$ 飼料含む人工飼料で5日間飼育した5令幼虫の消化管上清を図1と同様にHPLC-AAS法で分析した。

じような分子量並びにイソタンパク質数からなるカドミウムの結合タンパク質に結合していた。またその割合も高く、高分子量タンパク質に結合したカドミウム量も少なかった⁹⁾。蓄積臓器が消化管であり、脂肪体やマルピギー管など、ほ乳動物の肝臓や腎臓に当たる組織への蓄積が低いという違いはあるが、カドミウムの存在状態としては、ほ乳動物で知られているものと近いものであった。

一方、カイコでは消化管への分布蓄積が高いという点でニクバエやユスリカと近かったが、その存在状態は大きく異なっていた。すなわち、誘導されたカドミウム結合タンパク質の分子量が、これまで知られているものに比べ、はるかに大きいと推定された¹⁰⁾。

これらの結果から、昆虫一般について論ずるのは難しいが、以下のような現象が昆虫に特有な現象とみなされる可能性が高い。i) 消化管(栄養管)がカドミウムの蓄積や解毒に最も関与する器官であり、脂肪体の役割は小さい。ii) カドミウム結合タンパク質が誘導され、蓄積されたカドミウムを結合するが、種によって大きな違いがある。iii) 変態に伴ってカドミウムが選択的に排せつされる。

以上に示した共通性や相違点からユスリカのカドミウムに対する耐性機構に結論を与えることはできないが、メタロチオネイン類似のカドミウム結合タンパク質の誘導だけでは説明しきれな

い。これに対して、センチニクバエやカイコではカドミウム結合タンパク質の誘導とそのタンパク質への結合による解毒で大部分説明することも可能である。ユスリカが昆虫のなかでも特殊な解毒機構をもっているかどうか、ユスリカの非耐性種との比較も含めて検討する必要がある。

引用文献

- 1) Sasa, M. (1978) : A comparative study of adults and immature stages of nine Japanese species of the genus *Chironomus* (Diptera, Chironomidae). Res. Rep. Natl. Inst. Environ. Stud., No.3, 63 p.
- 2) 山村 充・畠山成久・鈴木和夫 (1984) : ユスリカ幼虫のカドミウムに対する耐性とカドミウム結合タンパク質の誘導. 国立公害研究所研究報告, 第62号, 121-127.
- 3) Yamamura, M., K.T. Suzuki, S. Hatakeyama and K. Kubota (1983) : Tolerance to cadmium and cadmium-binding proteins induced in the midge larva, *Chironomus yoshimatsui* (Diptera, Chironomidae). Comp. Biochem. Physiol., **75C**, 21-24.
- 4) Kägi, J. H. R. and M. Nordberg (eds.) (1979) : Metallothionein, Basel, Birkhäuser Verlag, 378 p.
- 5) Clubb, R. W., J. L. Lords and A. R. Gaufin (1975) : Isolation and characterization of a glycoprotein from the stonefly, *Pteronarcys californica*, which binds cadmium. J. Insect Physiol., **21**, 53-60.
- 6) Everard, L. B. and R. Swain (1983) : Isolation, characterization and induction of metallothionein in the stonefly *Eusthenia spectabilis* following exposure to cadmium. Comp. Biochem. Physiol., **75C**, 275-280.
- 7) Martoja, R., J. M. Bouquegneau and C. Verthe (1983) : Toxicological effects and storage of cadmium and mercury in an insect *Locusta migratoria* (Orthoptera). J. Invertebrate Pathol., **42**, 17-32.
- 8) Aoki, Y., K. T. Suzuki and K. Kubota (1984) : Accumulation of cadmium and induction of its binding protein in the digestive tract of fleshfly (*Sarcophaga peregrina*) larvae. Comp. Biochem. Physiol., **77C**, 279-282.
- 9) Aoki, Y. and K. T. Suzuki (1984) : Excretion of cadmium and change in the relative ratio of iso-cadmium-binding proteins during metamorphosis of fleshfly (*Sarcophaga peregrina*). Comp. Biochem. Physiol., **78C**, 315-317.
- 10) Suzuki, K. T., Y. Aoki, M. Nishikawa, H. Masui, and F. Matsubara (1984) : Effect of cadmium-feeding on tissue concentrations of elements in germ-free silkworm (*Bombyx mori*) larvae and distribution of cadmium in the alimentary canal. Comp. Biochem. Physiol., **79C**, 249-253.
- 11) Sumi, Y., T. Suzuki, M. Yamamura, S. Hatakeyama, Y. Sugaya and K. T. Suzuki (1984) : Histochemical staining of cadmium taken up by the midge larva, *Chironomus yoshimatsui* (Diptera, Chironomidae). Comp. Biochem. Physiol., **79A**, 353-357.
- 12) Ohtaki, T. (1966) : On the delayed pupation of the fleshfly, *Sarcophaga peregrina robineau-desvoidy*. Jap. J. med. Sci. Biol., **19**, 97-104.
- 13) Suzuki, K. T. (1980) : Direct connection of high speed liquid chromatograph (equipped with gel permeation column) to atomic absorption spectrophotometer for metalloprotein analysis : Metallothionein. Analyt. Biochem., **102**, 31-34.
- 14) Matsubara, F., M. Kato, K. Hayashiya, R. Kodama and Y. Hamamura (1967) : Aseptic rearing of silkworm with prepared food. J. Seric. Sci. Jpn., **36**, 39-45.

- 15) Sumi, Y. (1980) : Histochemical staining of cadmium with thiazolylazophenol derivatives. *Histochemistry*, 67, 1-6.
- 16) Sumi, Y., T. Muraki and T. Suzuki (1980) : Histochemical staining of cadmium with benzothiazolylazophenol derivatives. *Histochemistry*, 68, 231-236.
- 17) Sumi, Y., T. Muraki and T. Suzuki (1982) : Histochemical staining of cadmium with benzothiazolylazonaphthol derivatives. *Histochemistry*, 73, 481-486.
- 18) Suzuki, K. T., M. Yamamura, S. Hatakeyama, Y. Aoki, H. Masui, F. Matsubara, Y. Sumi and T. Suzuki (1985) : Difference in tolerance mechanism to cadmium among three insect larvae (midge, fleshfly and silkworm). *J. Pharm cobio. Dyn.*, 8, S-25.

国立公害研究所特別研究成果報告

- 第 1 号 陸水域の富栄養化に関する総合研究——霞ヶ浦を対象域として——昭和51年度。(1977)
第 2 号 陸上植物による大気汚染環境の評価と改善に関する基礎的研究——昭和51/52年度 研究報告。(1978)

(改 称)

国立公害研究所研究報告

- ※第 3 号 A comparative study of adults and immature stages of nine Japanese species of the genus *Chironomus* (Diptera, Chironomidae). (1978)
(日本産ユスリカ科 *Chironomus* 属 9 種の成虫, サナギ, 幼虫の形態の比較)
- 第 4 号 スモッグチャンバーによる炭化水素——窒素酸化物系光化学反応の研究——昭和52年度中間報告。(1978)
- 第 5 号 芳香族炭化水素——窒素酸化物系の光酸化反応機構と光酸化二次生成物の培養細胞に及ぼす影響に関する研究。——昭和51, 52年度 研究報告。(1978)
- 第 6 号 陸水域の富栄養化に関する総合研究(II)——霞ヶ浦を中心として——昭和53年度。(1979)
- ※第 7 号 A morphological study of adults and immature stages of 20 Japanese species of the family Chironomidae (Diptera). (1979)
(日本産ユスリカ科20種の成虫, サナギ, 幼虫の形態学的研究)
- ※第 8 号 大気汚染物質の単一および複合汚染の生体に対する影響に関する実験的研究——昭和52, 53年度 研究報告。(1979)
- 第 9 号 スモッグチャンバーによる炭化水素——窒素酸化物系光化学反応の研究——昭和53年度中間報告。(1979)
- 第 10 号 陸上植物による大気汚染環境の評価と改善に関する基礎的研究——昭和51~53年度 特別研究報告。(1979)
- ※第 11 号 Studies on the effects of air pollutants on plants and mechanisms of phytotoxicity. (1980)
(大気汚染物質の植物影響およびその植物毒性の機構に関する研究)
- 第 12 号 Multielement analysis studies by flame and inductively coupled plasma spectroscopy utilizing computer-controlled instrumentation. (1980)
(コンピュータ制御装置を利用したフレームおよび誘導結合プラズマ分光法による多元素同時分析)
- 第 13 号 Studies on chironomid midges of the Tama River. (1980)
Part 1. The distribution of chironomid species in a tributary in relation to the degree of pollution with sewage water.
Part 2. Description of 20 species of Chironominae recovered from a tributary.
(多摩川に発生するユスリカの研究
——第 1 報 その一支流に見出されたユスリカ各種の分布と下水による汚染度との関係——
——第 2 報 その一支流に見出されたChironominae 亜科の20種について——)
- 第 14 号 有機廃棄物, 合成有機化合物, 重金属等の土壌生態系に及ぼす影響と浄化に関する研究——昭和53, 54年度 特別研究報告。(1980)
- ※第 15 号 大気汚染物質の単一および複合汚染の生体に対する影響に関する実験的研究——昭和54年度 特別研究報告。(1980)

- 第 16 号 計測車レーザーレーダーによる大気汚染遠隔計測。(1980)
- ※第 17 号 流体の運動および輸送過程に及ぼす浮力効果——臨海地域の気象特性と大気拡散現象の研究——昭和53, 54年度 特別研究報告。(1980)
- 第 18 号 Preparation, analysis and certification of PEPPERBUSH standard reference material. (1980)
(環境標準試料「リョウブ」の調製, 分析および保証値)
- ※第 19 号 陸水域の富栄養化に関する総合研究 (III) ——霞ヶ浦 (西浦) の湖流——昭和53, 54年度。(1981)
- 第 20 号 陸水域の富栄養化に関する総合研究 (IV) ——霞ヶ浦流域の地形, 気象水文特性およびその湖水環境に及ぼす影響——昭和53, 54年度。(1981)
- 第 21 号 陸水域の富栄養化に関する総合研究 (V) ——霞ヶ浦流入河川の流出負荷量変化とその評価——昭和53, 54年度。(1981)
- 第 22 号 陸水域の富栄養化に関する総合研究 (VI) ——霞ヶ浦の生態系の構造と生物現存量——昭和53, 54年度。(1981)
- 第 23 号 陸水域の富栄養化に関する総合研究 (VII) ——湖沼の富栄養化状態指標に関する基礎的研究——昭和53, 54年度 (1981)
- 第 24 号 陸水域の富栄養化に関する総合研究 (VIII) ——富栄養化が湖利用に及ぼす影響の定量化に関する研究——昭和53, 54年度。(1981)
- 第 25 号 陸水域の富栄養化に関する総合研究 (IX) ——*Microcystis* (藍藻類) の増殖特性——昭和53, 54年度。(1981)
- 第 26 号 陸水域の富栄養化に関する総合研究 (X) ——藻類培養試験法による A G P の測定——昭和53, 54年度。(1981)
- 第 27 号 陸水域の富栄養化に関する総合研究 (XI) ——研究総括——昭和53, 54年度。(1981)
- 第 28 号 複合大気汚染の植物影響に関する研究——昭和54, 55年度 特別研究報告。(1981)
- 第 29 号 Studies on chironomid midges of the Tama River. (1981)
Part 3. Species of the subfamily Orthocladiinae recorded at the summer survey and their distribution in relation to the pollution with sewage waters.
Part 4. Chironomidae recorded at a winter survey.
(多摩川に発生するユスリカ類の研究
——第 3 報 夏期の調査で見出されたエリユスリカ亜科 Orthocladiinae 各種の記載と、その分布の下水汚染との関係について——
——第 4 報 南浅川の冬期の調査で見出された各種の分布と記載——)
- ※第 30 号 海域における富栄養化と赤潮の発生機構に関する基礎的研究——昭和54, 55年度 特別研究報告。(1982)
- 第 31 号 大気汚染物質の単一および複合汚染の生体に対する影響に関する実験的研究——昭和55年度 特別研究報告。(1981)
- 第 32 号 スモッグチャンバーによる炭化水素—窒素酸化物系光化学反応の研究——環境大気中における光化学二次汚染物質生成機構の研究 (フィールド研究 1) ——昭和54年度 特別研究中間報告。(1982)
- 第 33 号 臨海地域の気象特性と大気拡散現象の研究——大気運動と大気拡散過程のシミュレーション——昭和55年度 特別研究報告。(1982)
- ※第 34 号 環境汚染の遠隔計測・評価手法の開発に関する研究——昭和55年度 特別研究報告。(1982)
- 第 35 号 環境面よりみた地域交通体系の評価に関する総合解析研究。(1982)
- 第 36 号 環境試料による汚染の長期モニタリング手法に関する研究——昭和55, 56年度 特別研究報告。(1982)

- 第 37 号 環境施策のシステム分析支援技術の開発に関する研究。(1982)
- 第 38 号 Preparation, analysis and certification of POND SEDIMENT certified reference material. (1982)
(環境標準試料「池底質」の調製, 分析及び保証値)
- ※第 39 号 環境汚染の遠隔計測・評価手法の開発に関する研究——昭和56年度 特別研究報告。(1982)
- 第 40 号 大気汚染物質の単一及び複合汚染の生体に対する影響に関する実験的研究——昭和56年度 特別研究報告。(1983)
- ※第 41 号 土壤環境の計測と評価に関する統計学的研究。(1983)
- ※第 42 号 底泥の物性及び流送特性に関する実験的研究。(1983)
- ※第 43 号 Studies on chironomid midges of the Tama River. (1983)
Part 5. An observation on the distribution of Chironominae along the main stream in June with description of 15 new species.
Part 6. Description of species of the subfamily Orthocladiinae recovered from the main stream in the June survey.
Part 7. Additional species collected in winter from the main stream.
(多摩川に発生するユスリカ類の研究
——第 5 報 本流に発生するユリカ類の分布に関する 6 月の調査成績とユスリカ亜科に属する 15 新種等の記録——
——第 6 報 多摩本流より 6 月に採集されたエリユスリカ亜科の各種について——
——第 7 報 多摩本流より 3 月に採集されたユスリカ科の各種について——)
- 第 44 号 スモッグチャンバーによる炭化水素一窒素酸化物系光化学反応の研究——環境大気中における光化学二次汚染物質生成機構の研究(フィールド研究 2)——昭和54年度 特別研究 中間報告。(1983)
- 第 45 号 有機廃棄物, 合成有機化合物, 重金属等の土壤生態系に及ぼす影響と浄化に関する研究——昭和53~55年度 特別研究報告。(1983)
- 第 46 号 有機廃棄物, 合成有機化合物, 重金属等の土壤生態系に及ぼす影響と浄化に関する研究——昭和54, 55年度 特別研究報告 第 1 分冊。(1983)
- 第 47 号 有機廃棄物, 合成有機化合物, 重金属等の土壤生態系に及ぼす影響と浄化に関する研究——昭和54, 55年度 特別研究報告 第 2 分冊。(1983)
- ※第 48 号 水質観測点の適正配置に関するシステム解析。(1983)
- 第 49 号 環境汚染の遠隔計測・評価手法の開発に関する研究——昭和57年度 特別研究報告。(1984)
- ※第 50 号 陸水域の富栄養化防止に関する総合研究(I)——霞ヶ浦の流入負荷量の算定と評価——昭和55~57年度 特別研究報告。(1984)
- ※第 51 号 陸水域の富栄養化防止に関する総合研究(II)——霞ヶ浦の物質循環とそれを支配する因子——昭和55~57年度 特別研究報告。(1984)
- ※第 52 号 陸水域の富栄養化防止に関する総合研究(III)——霞ヶ浦高浜入における隔離水界を利用した富栄養化防止手法の研究——昭和55~57年度 特別研究報告。(1984)
- 第 53 号 陸水域の富栄養化防止に関する総合研究(IV)——霞ヶ浦の魚類及び甲かく類現存量の季節変化と富栄養化——昭和55~57年度 特別研究報告。(1984)
- 第 54 号 陸水域の富栄養化防止に関する総合研究(V)——霞ヶ浦の富栄養化現象のモデル化——昭和55~57年度 特別研究報告。(1984)
- 第 55 号 陸水域の富栄養化防止に関する総合研究(VI)——富栄養化防止対策——昭和55~57年度 特別研究報告。(1984)
- 第 56 号 陸水域の富栄養化防止に関する総合研究(VII)——湯ノ湖における富栄養化とその防止対策——昭和55~57年度 特別研究報告。(1984)

- ※第 57 号 陸水域の富栄養化防止に関する総合研究 (VIII) ——総括報告——昭和55～57年度 特別研究報告。(1984)
- 第 58 号 環境試料による汚染の長期的モニタリング手法に関する研究——昭和55～57年度 特別研究総合報告。(1984)
- 第 59 号 炭化水素—窒素酸化物—硫黄酸化物系光化学反応の研究——光化学スモッグチャンバーによるオゾン生成機構の研究——大気中における有機化合物の光酸化反応機構の研究——昭和55～57年度 特別研究報告 (第1分冊)。(1984)
- 第 60 号 炭化水素—窒素酸化物—硫黄酸化物系光化学反応の研究——光化学エアロゾル生成機構の研究——昭和55～57年度 特別研究報告 (第2分冊)。(1984)
- 第 61 号 炭化水素—窒素酸化物—硫黄酸化物系光化学反応の研究——環境大気中における光化学二次汚染物質生成機構の研究 (フィールド研究1) ——昭和55～57年度 特別研究報告 (第3分冊)。(1984)
- 第 62 号 有害汚染物質による水界生態系のかく乱と回復過程に関する研究——昭和56～58年度 特別研究中間報告。(1984)
- ※第 63 号 海域における富栄養化と赤潮の発生機構に関する基礎的研究——昭和56年度 特別研究報告。(1984)
- ※第 64 号 複合大気汚染の植物影響に関する研究——昭和54～56年度 特別研究総合報告。(1984)
- 第 65 号 Studies on effects of air pollutant mixtures on plants - Part 1. (1984)
(複合大気汚染の植物に及ぼす影響——第1分冊)
- ※第 66 号 Studies on effects of air pollutant mixtures on plants - Part 2. (1984)
(複合大気汚染の植物に及ぼす影響——第2分冊)
- 第 67 号 環境中の有害物質による人の慢性影響に関する基礎的研究——昭和54～56年度 特別研究総合報告。(1984)
- ※第 68 号 汚泥の土壤還元とその環境影響に関する研究——昭和56～57年度 特別研究総合報告。(1984)
- ※第 69 号 中禅寺湖の富栄養化現象に関する基礎的研究。(1984)
- 第 70 号 Studies on chironomid midges in lakes of the Nikko National Park. (1984)
Part I. Ecological studies on chironomids in lakes of the Nikko National Park.
Part II. Taxonomical and morphological studies on the chironomid species collected from lakes in the Nikko National Park.
(日光国立公園の湖沼のユスリカに関する研究
——第1部 日光国立公園の湖のユスリカの生態学的研究——
——第2部 日光国立公園の湖沼に生息するユスリカ類の分類学的、形態学的研究——)
- ※第 71 号 リモートセンシングによる残雪及び雪田植生の分布解析。(1984)
- 第 72 号 炭化水素—窒素酸化物—硫黄酸化物系光化学反応の研究 環境大気中における光化学二次汚染物質生成機構の研究 (フィールド研究2) ——昭和55～57年度 特別研究報告 (第4分冊)。(1985)
- ※第 73 号 炭化水素—窒素酸化物—硫黄酸化物系光化学反応の研究——昭和55～57年度 特別研究総合報告。(1985)
- ※第 74 号 都市域及びその周辺の自然環境に係る環境指標の開発に関する研究。環境指標——その考え方と作成方法——昭和59年度 特別研究報告。(1984)
- 第 75 号 Limnological and environmental studies of elements in the sediment of Lake Biwa. (1985)
(琵琶湖底泥中の元素に関する陸水学及び環境化学的研究)

- 第 76 号 Study on the behavior of monoterpenes in the atmosphere. (1985)
(大気中モノテルペンの挙動に関する研究)
- 第 77 号 環境汚染の遠隔計測・評価手法の開発に関する研究——昭和58年度 特別研究報告。(1985)
- 第 78 号 生活環境保全に果たす生活者の役割の解明。(1985)
- 第 79 号 Studies on the method for long term environmental monitoring —— Research report in 1980-1982. (1985)
(環境汚染による汚染の長期的モニタリング手法に関する研究)
- 第 80 号 海域における赤潮発生のモデル化に関する研究——昭和57/58年度 特別研究報告。(1985)
- 第 81 号 環境影響評価制度の政策効果に関する研究——地方公共団体の制度運用を中心として。(1985)
- 第 82 号 植物の大気環境浄化機能に関する研究——昭和57～58年度 特別研究報告。(1985)
- 第 83 号 Studies on chironomid midges of some lakes in Japan. (1985)
(日本の湖沼に発生するユスリカ類の研究)
- 第 84 号 重金属環境汚染による健康影響評価手法の開発に関する研究——昭和57～59年度 特別研究総合報告。(1985)
- 第 85 号 Studies on the rate constants of free radical reactions and related spectroscopic and thermochemical parameters. (1985)
(フリーラジカルの反応速度と分光学的及び熱力学的パラメーターに関する研究)
- 第 86 号 GC/MSスペクトルの検索システムに関する研究。(1986)
- 第 87 号 光化学二次汚染物質の分析とその細胞毒性に関する基礎的研究——昭和53～58年度 総合報告。(1986)
- 第 88 号 都市域及びその周辺の自然環境等に係る環境指標の開発に関する研究II. 環境指標——応用例とシステム。(1986)
- 第 89 号 Measuring the water quality of Lake Kasumigaura by LANDSAT remote sensing. (1986)
(LANDSAT リモートセンシングによる霞ヶ浦の水質計測)
- 第 90 号 ナショナルトラスト運動にみる自然保護運動にむけての住民意識と行動——知床国立公園内100平方メートル運動と天神崎市民地主運動への参加者の分析を中心として。(1986)
- 第 91 号 Economic analysis of man's utilization of environmental resources in aquatic environments and national park regions. (1986)
(人間による環境資源利用の経済分析——水環境と国立公園地域を対象にして)
- 第 92 号 アオコの増殖及び分解に関する研究。(1986)
- 第 93 号 汚泥の土壤還元とその環境影響に関する研究 (I) ——昭和58～59年度 特別研究総合報告 (第1分冊)。(1986)
- 第 94 号 汚泥の土壤還元とその環境影響に関する研究 (II) ——昭和58～59年度 特別研究総合報告 (第2分冊)。(1986)
- 第 95 号 自然浄化機能による水質改善に関する総合研究 (I) ——汚濁負荷の発生と流出・流達——昭和58～59年度 特別研究報告。(1986)
- 第 96 号 自然浄化機能による水質改善に関する総合研究 (II) ——水草帯・河口域・池沼の生態系構造と機能——昭和58～59年度 特別研究報告。(1986)
- 第 97 号 自然浄化機能による水質改善に関する総合研究 (III) ——水路及び土壌による水質の浄化——昭和58～59年度 特別研究報告。(1986)
- 第 98 号 自然浄化機能による水質改善に関する総合研究 (IV) ——自然浄化機能を活用した処理技術の開発と応用——昭和58～59年度 特別研究報告。(1986)
- 第 99 号 有害汚染物質による水界生態系のかく乱と回復過程に関する研究——昭和56～59年度 特別研究総合報告。(1986)

※印 残部なし

Report of Special Research Project the National Institute for Environmental Studies

- No. 1* Man activity and aquatic environment—with special references to Lake Kasumigaura —Progress report in 1976. (1977)
- No. 2* Studies on evaluation and amelioration of air pollution by plants —Progress report in 1976-1977. (1978)

[Starting with Report No. 3, the new title for NIES Reports was changed to:]

Research Report from the National Institute for Environmental Studies

- *No. 3 A comparative study of adults and immature stages of nine Japanese species of the genus *Chironomus* (Diptera, Chironomidae). (1978)
- No. 4* Smog chamber on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides system —Progress report in 1977. (1978)
- No. 5* Studies on the photooxidation products of the alkylbenzene-nitrogen oxides system, and on their effects on Cultured Cells —Research report in 1976-1977. (1978)
- No. 6* Man activity and aquatic environment—with special references to Lake Kasumigaura —Progress report in 1977-1978. (1979)
- *No. 7 A morphological study of adults and immature stages of 20 Japanese species of the family Chironomidae (Diptera). (1979)
- *No. 8* Studies on the biological effects of single and combined exposure of air pollutants —Research report in 1977-1978. (1979)
- No. 9* Smog chamber studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides system —Progress report in 1978. (1979)
- No. 10* Studies on evaluation and amelioration of air pollution by plants —Progress report in 1976-1978. (1979)
- *No. 11 Studies on the effects of air pollutants on plants and mechanisms of phytotoxicity. (1980)
- No. 12 Multielement analysis studies by flame and inductively coupled plasma spectroscopy utilizing computer-controlled instrumentation. (1980)
- No. 13 Studies on chironomid midges of the Tama River.(1980)
Part 1. The distribution of chironomid species in a tributary in relation to the degree of pollution with sewage water.
Part 2. Description of 20 species of Chironominae recovered from a tributary.
- No. 14* Studies on the effects of organic wastes on the soil ecosystem—Progress report in 1978-1979. (1980)
- *No. 15* Studies on the biological effects of single and combined exposure of air pollutants —Research report in 1977-1978. (1980)
- No. 16* Remote measurement of air pollution by a mobile laser radar. (1980)
- *No. 17* Influence of buoyancy on fluid motions and transport processes —Meteorological characteristics and atmospheric diffusion phenomena in the coastal region—Progress report in 1978-1979. (1980)
- No. 18 Preparation, analysis and certification of PEPPERBUSH standard reference material. (1980)

- ※ No. 19* Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas—Lake current of Kasumigaura (Nishiura)— 1978-1979. (1981)
- No. 20* Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas—Geomorphological and hydrometeorological characteristics of Kasumigaura watershed as related to the lake environment— 1978-1979. (1981)
- No. 21* Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas—Variation of pollutant load by influent rivers to Lake Kasumigaura— 1978-1979. (1981)
- No. 22* Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas—Structure of ecosystem and standing crops in Lake Kasumigaura— 1978-1979. (1981)
- No. 23* Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas—Applicability of trophic state indices for lakes — 1978-1979. (1981)
- No. 24* Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas—Quantitative analysis of eutrophication effects on main utilization of lake water resources— 1978-1979. (1981)
- No. 25* Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas—Growth characteristics of Blue-Green Algae, *Mycrocystis* — 1978-1979. (1981)
- No. 26* Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas—Determination of argal growth potential by algal assay procedure— 1978-1979. (1981)
- No. 27* Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas—Summary of researches — 1978-1979. (1981)
- No. 28* Studies on effects of air pollutant mixtures on plants—Progress report in 1979-1980. (1981)
- No. 29 Studies on chironomid midges of the Tama River. (1981)
Part 3. Species of the subfamily Orthoclaadiinae recorded at the summer survey and their distribution in relation to the pollution with sewage waters.
Part 4. Chironomidae recorded at a winter survey.
- ※ No. 30* Eutrophication and red tides in the coastal marine environment—Progress report in 1979-1980. (1982)
- No. 31* Studies on the biological effects of single and combined exposure of air pollutants —Research report in 1980. (1981)
- No. 32* Smog chamber studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides system —Progress report in 1979 —Research on the photochemical secondary pollutants formation mechanism in the environmental atmosphere (Part 1). (1982)
- No. 33* Meteorological characteristics and atmospheric diffusion phenomena in the coastal region—Simulation of atmospheric motions and diffusion processes —Progress report in 1980. (1982)
- ※ No. 34* The development and evaluation of remote measurement methods for environmental pollution—Research report in 1980. (1982)
- No. 35* Comprehensive evaluation of environmental impacts of road and traffic. (1982)
- No. 36* Studies on the method for long term environmental monitoring —Progress report in 1980-1981. (1982)
- No. 37* Study on supporting technology for systems analysis of environmental policy —The evaluation laboratory of Man-Environment Systems. (1982)
- No. 38 Preparation, analysis and certification of POND SEDIMENT certified reference material. (1982)

- ※ No. 39* The development and evaluation of remote measurement methods for environmental pollution—Research report in 1981. (1983)
- No. 40* Studies on the biological effects of single and combined exposure of air pollutants —Research report in 1981. (1983)
- ※ No. 41* Statistical studies on methods of measurement and evaluation of chemical condition of soil. (1983)
- ※ No. 42* Experimental studies on the physical properties of mud and the characteristics of mud transportation. (1983)
- ※ No. 43 Studies on chironomid midges of the Tama River. (1983)
 Part 5. An observation on the distribution of Chironominae along the main stream in June, with description of 15 new species.
 Part 6. Description of species of the subfamily Orthocladiinae recovered from the main stream in the June survey.
 Part 7. Additional species collected in winter from the main stream.
- No. 44* Smog chamber studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides system—Progress report in 1979 —Research on the photochemical secondary pollutants formation mechanism in the environmental atmosphere (Part 2). (1983)
- No. 45* Studies on the effect of organic wastes on the soil ecosystem —Outlines of special research project— 1978-1980. (1983)
- No. 46* Studies on the effect of organic wastes on the soil ecosystem —Research report in 1979-1980, Part 1. (1983)
- No. 47* Studies on the effect of organic wastes on the soil ecosystem —Research report in 1979-1980, Part 2 (1983)
- ※ No. 48* Study on optimal allocation of water quality monitoring points. (1983)
- No. 49* The development and evaluation of remote measurement method for environmental pollution —Research report in 1982. (1984)
- ※ No. 50* Comprehensive studies on the eutrophication control of freshwaters—Estimation of input loading of Lake Kasumigaura.— 1980-1982. (1984)
- ※ No. 51* Comprehensive studies on the eutrophication control of freshwaters—The function of the ecosystem and significance of sediment in nutrient cycle in Lake Kasumigaura. — 1980-1982.(1984)
- ※ No. 52* Comprehensive studies on the eutrophication control of freshwaters—Enclosure experiments for restoration of highly eutrophic shallow Lake Kasumigaura. — 1980-1982. (1984)
- No. 53* Comprehensive studies on the eutrophication control of freshwaters—Seasonal changes of the biomass of fishes and crustacea in Lake Kasumigaura. — 1980-1982. (1984)
- No. 54* Comprehensive studies on the eutrophication control of freshwaters—Modeling the eutrophication of Lake Kasumigaura. — 1980-1982.(1984)
- No. 55* Comprehensive studies on the eutrophication control of freshwaters—Measures for eutrophication control.— 1980-1982.(1984)
- No. 56* Comprehensive studies on the eutrophication control of freshwaters—Eutrophication in Lake Yunoko. — 1980-1982. (1984)
- ※ No. 57* Comprehensive studies on the eutrophication control of freshwaters—Summary of researches. — 1980-1982. (1984)

- No. 58* Studies on the method for long term environmental monitoring—Outlines of special research project in 1980-1982. (1984)
- No. 59* Studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides-sulfur oxides system —Photochemical ozone formation studies by the evacuable smog chamber —Atmospheric photooxidation mechanisms of selected organic compounds —Research report in 1980-1982, Part1. (1984)
- No. 60* Studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides-sulfur oxides system —Formation mechanisms of photochemical aerosol —Research report in 1980-1982, Part2. (1984)
- No. 61* Studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides-sulfur oxides system —Research on the photochemical secondary pollutants formation mechanism in the environmental atmosphere (Part 1) —Research report in 1980-1982, Part 3. (1984)
- No. 62* Effects of toxic substances on aquatic ecosystems —Progress report in 1980-1983. (1984)
- *No. 63* Eutrophication and red tides in the coastal marine environment —Progress report in 1981. (1984)
- *No. 64* Studies on effects of air pollutant mixtures on plants—Final report in 1979-1981. (1984)
- No. 65 Studies on effects of air pollutant mixtures on plants—Part 1. (1984)
- *No. 66 Studies on effects of air pollutant mixtures on plants—Part 2. (1984)
- No. 67* Studies on unfavourable effects on human body regarding to several toxic materials in the environment, using epidemiological and analytical techniques —Project research report in 1979-1981. (1984)
- *No. 68* Studies on the environmental effects of the application of sewage sludge to soil —Research report in 1981-1982. (1984)
- No. 69* Fundamental studies on the eutrophication of Lake Chuzenji—Basic research report. (1984)
- No. 70 Studies on chironomid midges in lakes of the Nikko National Park—Part I. Ecological studies on chironomids in lakes of the Nikko National Park. —Part II. Taxonomical and morphological studies on the chironomid species collected from lakes in the Nikko National Park. (1984)
- *No.71* Analysis on distributions of remnant snowpack and snow patch vegetation by remote sensing. (1984)
- No.72* Studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides-sulfur oxides-system—Research on the photochemical secondary pollutants formation mechanism in the environmental atmosphere. —Research report in 1980-1982. (1985)
- *No.73* Studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides-sulfur oxides-system—Final report in 1980-1982. (1985)
- *No.74* A comprehensive study on the development of indices system for urban and suburban environmental quality—Environmental indices-Basic notion and formulae (1984)
- No.75 Limnological and environmental studies of elements in the sediment of Lake Biwa. (1985)
- No.76 A Study on the behavior of monoterpenes in the atmosphere. (1985)
- No.77* The development and evaluation of remote measurement methods for environmental pollution Research Report in 1983 (1985)
- No.78* Study on residents' role in conserving the living environment. (1985)

- No.79 Studies on the method for long term environmental monitoring—Research report in 1980-1982. (1985)
- No.80* Modeling of red tide blooms in the coastal sea—Research report 1982-1983. (1985)
- No.81* A study on effects of implementing environmental impact assessment procedure—With particular reference to implementation by local governments. (1985)
- No.82* Studies on the role of vegetation as a sink of air pollutants —Research report in 1982-1983. (1985)
- No.83 Studies on chironomid midges of some lakes in Japan. (1985)
- No.84 A comprehensive study on the development of assessment techniques for health effects due to environmental heavy metal exposure —Final report in 1982-1984. (1985)
- No.85 Studies on the rate constants of free radical reactions and related spectroscopic and thermochemical parameters. (1985)
- No.86* A novel retrieval system for identifications of unknown mass spectra. (1986)
- No.87* Analysis of the photochemical secondary pollutants and their toxicity on cultured cells —Research report in 1978-1983. (1986)
- No.88* A comprehensive study on the development of indices system for urban and suburban environmental quality II—Environmental indices—Applications and systems. (1986)
- No.89 Measuring the water quality of Lake Kasumigaura by LANDSAT remote sensing. (1986)
- No.90* National trust movement in Japanese nature conservation —Trustworthy or illusion? (1986)
- No.91 Economic analysis of man's utilization of environmental resources in aquatic environments and national park regions. (1986)
- No.92* Studies on the growth and decomposition of water-bloom of *Microcystis*. (1986)
- No.93* Studies on the environmental effects of the application of sewage sludge to soil (I) —Research report in 1983-1984, Part 1 (Research Papers 1). (1986)
- No.94* Studies on the environmental effects of the application of sewage sludge to soil (II) —Research report in 1983-1984, Part 2 (Research Papers 2). (1986)
- No.95* Comprehensive studies on effective use of natural ecosystems for water quality management (I) —Drainage and flowing down of pollutant load —Research report in 1983-1984. (1986)
- No.96* Comprehensive studies on effective use of natural ecosystems for water quality management (II) —Structure and function of the ecosystems of littoral zone —Research report in 1983-1984. (1986)
- No.97* Comprehensive studies on effective use of natural ecosystems for water quality management (III) —Self-purification in stream and soil—Research report in 1983-1984. (1986)
- No. 98* Comprehensive studies on effective use of natural ecosystems for water quality management (IV) —Development and application of wastewater treatment technologies utilizing self-purification ability— Research report in 1983-1984. (1986)
- No. 99* Effects of toxic substances on aquatic ecosystems —Final report in 1981-1984. (1986)

* in Japanese

※ out of stock

(昭和60年11月26日受領)

RESEARCH REPORT FROM
THE NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES, JAPAN

No. 99

国立公害研究所研究報告 第99号

(R-99-'86)

昭和61年3月29日発行

発行 環境庁 国立公害研究所

〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2

印刷 フクダ工業株式会社

東京都中央区新川1丁目3番3号

Published by the National Institute for Environmental Studies

Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan

March 1986