

Research Report from the National Institute for Environmental Studies, Japan, No.114, 1988.

国立公害研究所研究報告 第114号

# 水界生態系に及ぼす有害汚染物質の影響評価に関する研究

Studies on the Assessment of the Hazard of Chemical Substances to Aquatic Ecosystems

昭和60/61年度 特別研究報告

Progress Report in 1985/1986

環境庁 国立公害研究所

THE NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES

特別研究「水界生態系に及ぼす有害汚染物質の影響評価に関する研究」

(期間 昭和60～63年度)

本研究報告 (研究期間 昭和60/61年度)

特別研究責任者：菅原 淳

特別研究幹事：安野正之・畠山成久

報告書編集担当：佐竹 潔

## 序

農業等による水環境の汚染は有機塩素系殺虫剤や影響の強い有機リン系殺虫剤が使用されていた時期に比べ改善されたとはいえ、有機塩素系除草剤はむしろ使用量が増加しており、これらを含む有害化学物質が河川や湖などに流入している。それらの水界生態系に及ぼす影響についての研究は、現在極めて重要な課題の一つである。環境汚染の可能性をもつ化学物質の種類は増加し、それらの自然生態系に対する影響を評価することは容易ではない。

このような背景の下で、国立公害研究所では、従来成果の上に立って、昭和60年度から「水界生態系に及ぼす有害汚染物質の影響評価に関する研究」を特別研究として実施した。本報告は主として、昭和60、61年度の結果を中心としてまとめたものである。問題の性質から実験室の規模での実験から、フィールドの研究にわたる、広汎なアプローチを必要としている。本報告書には汚染物質として殺虫剤あるいは除草剤に関するもの10篇、重金属汚染に関するもの9篇、その他1篇が掲載されている。これらの中には直接環境影響評価に結び付くものや、また生態系影響の機序に関するものが含まれており、何らかのお役に立つことができることを期待する。

昭和63年3月

国立公害研究所

所長 江上信雄

## ま え が き

有害汚染物質の水界生態系へ及ぼす影響評価に関しては、生態系へ侵入した汚染物質が分解され、あるいは生物濃縮される過程を究明し、どのような存在状態で、どれだけの濃度で残存するか、二次的毒性物質の生成はないかなどを把握すると同時に、これら汚染物質が生態系を構成する様々の生物相に及ぼす影響を調べ、物質循環やエネルギー移動などの系の機能面や、各構成生物種間の相互関係への影響を含めて評価を行うことが基本姿勢である。OECD環境委員会においても、化学物質の生態系に及ぼす影響を重視し、その緊急性に鑑み、生態毒性試験法が検討され、数種の試験法のガイドラインが採択されているが、この内容は個々の生態系構成生物への影響判定の域を出ず、系全体としての影響評価法としては不十分である。前特別研究「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」において、有害汚染物質の水界生態系での挙動、各種構成生物相への影響に関して、かなりのデータが蓄積され、構成生物種間の相互作用による量的変化を明らかにする手法も開発されてきた。本研究においては、これらの得られた成果を踏まえて、自然環境に近い人工河川、大型水槽、隔離水界系を用い、有害汚染物質の影響を評価する研究を進めている。また、系の影響を代表して示すような指標生物種を複数種選び、生物種間の相互作用を重視しつつ、影響評価を行っている。また、これと並行して、野外で実際に生じた汚染物質の生態系への影響解析も行っている。本報告は、これまでに得られた成果を一度整理し、新たな研究方向と手法の妥当性を確認し今後の研究の進展の基盤とするためにまとめたものである。

昭和63年3月

国立公害研究所 生物環境部

部 長 菅原 淳

## 目 次

I. 研究の目的と成果の概要	1
安野正之	
II. 報 文	
1. 小型隔離水界の植物及び動物プランクトン群集に対する炭酸ガスによる かく乱実験	11
安野正之・花里孝幸・高村典子	
2. 小型隔離水界による除草剤二種の生態影響の研究	25
安野正之・花里孝幸・宮下 衛・高村典子	
3. 屋外水槽に形成された動物プランクトン群集に対するカーバメイト系殺虫剤, カルバリル, の影響 1. 夏期における実験	39
花里孝幸・安野正之	
4. 屋外水槽に形成された動物プランクトン群集に対するカーバメイト系殺虫剤, カルバリル, の影響 2. 冬期における実験	49
花里孝幸・安野正之	
5. ワムシ ( <i>Brachionus urceolaris</i> ), ミジンコ ( <i>Moina macrocopa</i> ) 及びユスリカ ( <i>Polypedilum nubifer</i> ) の増殖に及ぼす水中及び食物中の除草剤の影響	59
畠山成久	
6. 恋瀬川水系における殺虫剤, 除草剤及び殺菌剤の残留量	73
岩熊敏夫・白石寛明・野原精一・高村健二	
7. 恋瀬川支流における底生生物群集の変動と残留農薬の影響	85
岩熊敏夫・高村健二・野原精一	
8. 農薬散布水田のユスリカ羽化に影響する要因	101
高村健二・安野正之	
9. 河口域における農薬の動態とハスへの残留性	111
野原精一・土谷岳令・岩熊敏夫・白石寛明	
10. アカヒレ・ヌカエビによる東北地方及び関東地方の河川水の毒性評価	125
狩谷貞二・大内絹子	
11. 標準試験生物としてのメダカ	137
宮下 衛・江上信雄	
12. 重金属汚染河川(秋田県小坂川及び米代川)における底生動物群集	147
佐竹 潔・畠山成久・安野正之	
13. 四国の吉野川・仁淀川水系の重金属汚染河川における付着藻類群集	159
福嶋 悟・畠山成久・宮下 衛・佐竹 潔・安野正之	
14. 重金属汚染河川(間沢川)に優占する3種のユスリカとコカゲロウ ( <i>Baetis thermicus</i> ) 個体群の周年変動	177
畠山成久・菅谷芳雄・横山宣雄	
15. 重金属汚染河川(梯川水系)における底生生物相の回復過程に関して	193
畠山成久・福嶋 悟・佐竹 潔	

16. 銅鉦山廃水の流入する梯川のユスリカ群集 .....	207
菅谷芳雄・畠山成久・安野正之	
17. 銅鉦山廃水の流入する南近畿3河川のユスリカ群集 .....	213
菅谷芳雄・畠山成久・宮下 衛・安野正之	
18. 河川性付着藻類の重金属耐性の違いについて - 光合成活性に及ぼす銅, カドミウム, 亜鉛の影響- .....	223
高村典子・笠井文絵・渡辺 信	
19. 付着ケイ藻 <i>Achnanthes minutissima</i> の銅耐性機構について .....	233
渡辺 信・竹内裕一・高村典子	
20. 環境中に存在する低濃度のカドミウムに対する魚類の耐性機構 .....	245
鈴木和夫・畠山成久	

CONTENTS

I. Outline and Significance of the Studies ..... 1  
M. YASUNO

II. Papers

1. Ecological Consequences of Plankton Community after the Interference  
by Carbon Dioxide in a Small Floating Enclosure ..... 11  
M. YASUNO, T. HANAZATO and N. TAKAMURA

2. Use of a Small Enclosure in Studying Ecological Effects of Two Kinds  
of Herbicides ..... 25  
M. YASUNO, T. HANAZATO, M. MIYASHITA and N. TAKAMURA

3. Effects of a Carbamate Insecticide, Carbaryl, on the Zooplankton  
Communities in Ponds 1. Experiment in the Summer ..... 39  
T. HANAZATO and M. YASUNO

4. Effects of a Carbamate Insecticide, Carbaryl, on the Zooplankton  
Communities in Ponds 2. Experiment in the Cold Season ..... 49  
T. HANAZATO and M. YASUNO

5. Effects of Herbicides on Reproduction of Brachionus urceolaris (Rotatoria),  
Moina macrocopa (Cladocera), and Polypedilum nubifer (Chironomidae) ..... 59  
S. HATAKEYAMA

6. Pesticide Residues in Water and Sediment of the River Koise and its  
Tributaries ..... 73  
T. IWAKUMA, R. SHIRAIISHI, S. NOHARA and K. TAKAMURA

7. Dynamics of Benthic Communities in Tributaries of the River Koise  
in Relation to Residual Pesticides ..... 85  
T. IWAKUMA, K. TAKAMURA and S. NOHARA

8. Factors Affecting Emerging Chironomids from Pesticide-treated  
Rice Fields ..... 101  
K. TAKAMURA and M. YASUNO

9. Pesticide Residues in Water and a Rotus near the River Mouth  
in a Bay of Lake Kasumigaura ..... 111  
S. NOHARA, T. TSUCHIYA, T. IWAKUMA and H. SHIRAIISHI

10. Evaluation of Low-level Toxicity of River Waters in the Tohoku and Kanto  
Districts ..... 125  
T. KARIYA and K. OUCHI

11. Medaka, as a Standard Test Fish ..... 137  
M. MIYASHITA and N. EGAMI

12. Macroinvertebrate Communities in the Heavy Metal Polluted Rivers  
Kosaka and Yoneshiro of the Tohoku District ..... 147  
K. N. SATAKE, S. HATAKEYAMA and M. YASUNO

13. Attached Algal Flora in the Heavy Metal Polluted Rivers Yoshino and Niyodo of the Shikoku District .....	159
S. FUKUSHIMA, S. HATAKEYAMA, M. MIYASHITA, K. N. SATAKE and M. YASUNO	
14. Population Dynamics of Three Species of Chironomids and a Mayfly ( <i>Baetis thermicus</i> ) Dominant in the Mazawa River Highly Polluted with Heavy Metals .....	177
S. HATAKEYAMA, Y. SUGAYA and N. YOKOYAMA	
15. On the Recovery Process of Flora and Fauna in the Heavy Metal Polluted River Kakehashi in the Hokuriku District .....	193
S. HATAKEYAMA, S. FUKUSHIMA and K. N. SATAKE	
16. Chironomid Community in the River Kakehashi Polluted with Heavy Metals in Ishikawa Prefecture, Japan .....	207
Y. SUGAYA, S. HATAKEYAMA and M. YASUNO	
17. Chironomid Community in Three Rivers Polluted with Heavy Metals in the Southern Kinki District, Japan .....	213
Y. SUGAYA, S. HATAKEYAMA, M. MIYASHITA and M. YASUNO	
18. Differences in the Tolerant Level of Benthic Algae to Heavy Metal - The Effects of Cu, Cd, and Zn on the Photosynthesis - .....	223
N. TAKAMURA, F. KASAI and M. M. WATANABE	
19. Copper Tolerance of Benthic Diatom <i>Achnanthes minutissima</i> .....	233
M. M. WATANABE, Y. TAKEUCHI and N. TAKAMURA	
20. Tolerance Mechanism of the Fish to Environmental Cadmium .....	245
K. T. SUZUKI and S. HATAKEYAMA	



## 研究の目的と成果の概要

安野正之

### Outline and Significance of the Studies

Masayuki YASUNO

#### Abstract

A quite large number of chemicals have been commonly used today. Some of them are potentially harmful and may enter aquatic ecosystems and damage them. Today, it is more needed to obtain scientifically significant survey data on the behaviour of chemicals in ecosystems and on the corresponding changes in flora and fauna. Although it is aware of the importance of assessment of ecological effects of chemicals, an appropriate assessment system has not been established. The present study therefore has planned to develop an evaluation system of the effects of harmful chemical substances on ecosystems.

The present report includes the studies of the effects of heavy metals or pesticides on the attached algae and invertebrates in rivers. The tolerant species to heavy metals listed could be used to monitor the level of the pollution. Laboratory experiments proved that the attached algae collected from rivers polluted with heavy metals maintained their photosynthetic activity in the presence of heavy metals. We found some aquatic insects, for example, Baetis thermicus accumulate Cd and Zn in great extent specifically. The tolerance mechanisms of a diatom, Achnanthes minutissima, a mayfly, B. thermicus and a fish, Carassius auratus langsdorfii to heavy metals had been studied.

A new analytical method of pesticide concentrations was developed. With this method, pesticide residues in rivers were surveyed in relation to benthic communities. Various insecticides, herbicides, and fungicides were detected during early summer to autumn, which might have reduced the abundance of aquatic insects and also the photosynthetic activity of attached algae.

Several types of micro- or mesocosms were developed to evaluate the effects of pesticides on the aquatic ecosystems. Small concrete ponds and small-sized bags made of polyethylene film were proved to be useful for the purpose. Continuous monitoring of pH and dissolved oxygen in the enclosures showed the functional changes of the ecosystems after pesticide application.

## 1 研究の目的

今日、かつては自然界に存在しなかった数多くの合成化学物質が開発され、何らかの形で環境中に、放出・拡散されている。身近の例では殺虫剤、除草剤、界面活性剤（洗剤）などは大量に使用され、その多くは最終的に水界へ流入している。また、難分解性化学物質、有害重金属などは水中の濃度が低くとも長く環境中に滞留し食物連鎖などを経て生物体中に蓄積されて行く。水界生態系に及ぼすこれらの有害汚染物質の影響評価に関しては近年特に関心が持たれ、その必要性が認識されている。ところで、個々の水生生物種に及ぼす有害汚染物質の影響は急性及び慢性毒性試験などにより数多く調べられているが、生態系への影響は、環境と生物、あるいは生物間の相互関係に基づくものであり上記の試験からのみでは予測し得ない。

現在は特定の生物種を用いる、いわゆる単一種生物試験で生態影響を評価しようとしているが、実際の生態系を代表できないことはいうまでもない。つまり選ばれた生物種は、その属する生態系の最も壊れやすい部分を代表するものとして選ばれたとは限らず、むしろ、実験生物として標準的な扱いができるから選ばれたにすぎない。また、化学物質の種類によって生物の感受性も異なることも自然生態系に対する影響を評価し得ない理由である。端的には複数種による試験が考慮されるべきであり、次の段階として生態系を特色付ける各栄養段階を含む系をもって影響評価を行うことが期待されている。

有害汚染物質の生態系影響評価は野外で実際に生じた場合にも行う必要がある。そのためには環境中に放出された有害汚染物質の挙動と生物相への影響の調査研究も十分に成されてきたとは言えず、本研究で扱う重要な課題である。

## 2 成果の概要

### 2.1 有害汚染物質の水界生態系に及ぼす影響とその回復力の予測手法開発に関する研究

水界生態系影響の予測手法として野外条件に近い隔離水界における実験が重ねられてきた。問題は水界の形状、規模、系の維持、有害汚染物質のインパクトの評価法などである。その目的で自然により近い大型の隔離水界（5×5×4 m）を諏訪湖に設置し、殺虫剤のテメフォスを投入し薬剤の挙動と生態系の変化を追跡した。また屋外の大型水槽（5.1×4.1×1.5 m）に霞ヶ浦の底泥を基とする実験生態系を作成しこの系に対するカーバメイト系殺虫剤（カルバリル）の影響を、夏、冬、春の実験から調べた。これらの実験から生態系構成生物間での影響の受け方の違いが明確にされる一方、それが他の生物種に二次的影響を及ぼす過程が明らかにされつつある。また後者の実験から生態影響は季節によって大きく異なることが示された。一方、試験法の簡易化のため小規模の隔離水界の検討が行われた。小型（1×1×1.6 m, 1×1×3 m）のポリエチレンバッグに池内の生態系を移し、主として系内の環境要因と構成生物種の変動の関係を検討した。有害汚染物質として、除草剤（オキサジアゾン、ベンチオカーブ）による実験を行い比較的低濃度でも実験生態系に影響を与えることが分かった。

マツクイムシ防除のため殺虫剤（カルバリル、フェニトロチオン）が空中散布された山地において、それが溪流の生物相に及ぼす影響を調査した。コカゲロウ（*Baetis* spp.）の流下などで薬剤の影響を示す結果を得たが、水生昆虫の生物相の変化や藻類量の変化などから更に検討がなされている。

有害汚染物質によって破壊された河川における水生昆虫の回復過程が、主として他の場所から飛来してきた成虫による産卵によるのか、それとも影響がなかったかそれが少なかった区からの水生昆虫の流下、遡上などによるのかを明らかにする実験を行った。人工河川を用い、流下による回復過程（藻類量、水生昆虫密度）が顕著であることを明らかにした。

## 2. 2 有害汚染物質の水界生態系に及ぼす複合影響に関する研究

水田を始め農用地には多くの種類の殺虫剤、除草剤、殺菌剤などが散布され水生生物に対する影響は大きいものと考えられている。水界中の薬剤の濃度と生物調査からその生態影響を評価することは重要である。そのため残留殺虫剤、除草剤、殺菌剤の簡易測定法の検討を行い、ODSカラムを用い従来の方法よりも短時間で良好な回収率を得る濃縮法を開発した。

この分析法により霞ヶ浦流入河川と湖内で、水、底質、水生生物の残留量を調べた。オキサジアゾン、シメトリン、モリネート（除草剤）、IBP、イソプロチオラン（殺菌剤）等の水に対する溶解度の高い薬剤が多く検出された。また水稲病害虫防除のため空中散布される殺虫剤・殺菌剤の生物相に及ぼす影響を河川や用水池などで調べ、フェンチオン、エディフェンフォス、フェニトロチオン、フサライド等の散布が底生生物群集への一次影響と二次影響を引き起こすことが示された。

胎生メダカ（グッピー）の稚魚を用い2種類の農薬の複合影響の効果を検討した。試験法は魚をあらかじめ低濃度の薬剤に曝露することが、別種の薬剤に対する感受性にどの程度影響するかをこの薬剤に対する半数致死濃度（ $LC_{50}$ 値）の変化から判定した。低濃度の有機リン系殺虫剤の前処理はグッピー稚魚のカーバメイト系殺虫剤に対する感受性を高める傾向が示された。

凍結濃縮した試料水を用い、淡水熱帯魚（アカヒレ）と甲殻類（ヌカエビ）を実験生物とした高感度の急性毒性法を開発した。この方法で関東地方と東北地方の河川の濃縮毒性を調査した。

## 2. 3 有害汚染物質の水界生態系に及ぼす毒性発現機構に関する研究

有害汚染物質による生態影響を解析する上で代表的動物プランクトンであるワムシとミジンコの関係は重要である。そのため除草剤に対する感受性の種間差、食物連鎖による影響の有無を検討した。実験生態系に投入した有機リン系殺虫剤や除草剤に対する感受性はミジンコの方が高かったが、薬剤によってはワムシの増殖を阻害する一方、ミジンコに対する影響は少なかった。食物連鎖モデルではCNPがワムシ、ミジンコの増殖を阻害し餌（クロレラ）を介しての感受性は水の場合とは逆にワムシの方が高かった。

有害汚染物質の多くは底質に移行するためそれを餌とする底生生物に対する影響を検討した。乾燥酵母に CNP を決まった量含有させ、これを餌としてふ化直後からユスリカ (*Polypedilum nubifer*) を飼育し生長、羽化、産卵等に及ぼす影響とその時の餌中の CNP 濃度などを明らかにした。

胎性メダカ (グッピー) の成長及び産仔に及ぼす Zn 及び CNP の影響を検討した。CNP は数日間の短期暴露でも慢性的影響を及ぼすことを報告したが、雌雄別の暴露実験により産仔に関してはほとんど雌だけの影響によることを明らかにした。

魚類の重金属耐性機構に関して Cd 低濃度長期暴露により重金属結合タンパク (メタロチオネイン) の誘導・特性を明らかにした。

コカゲロウの *Baetis thermicus* の重金属耐性機構を解明するためにコカゲロウ中の重金属の存在形態と体内分布を調べた。全身を磨砕、超遠心して得られた可溶性分画中の Cd, Cu, Zn 等の元素が生体成分間にどのように分布しているかを調べた。Cd と Cu はそれぞれ結合成分 (低分子タンパク質) を誘導し、それに結合しているが、Zn は安定度定数の高い錯体を形成していないと推定された。また *B. thermicus* は非耐性種とは異なり Cd 暴露により重金属結合タンパクを誘導することや、Cu は消化官の外壁に隣接した組織に高度に蓄積分布していることなどを明らかにした。

#### 2. 4 有害汚染物質に対する指標生物の検索に関する研究

重金属汚染の指標種として知られる付着ケイ藻 *Achnanthes minutissima* の重金属 (Cu) 耐性の機構が検討された。Cu の毒性はイオン状態で存在する場合にのみ依存すること、本種が他の藻類よりも Cu に対する感受性が低いことなどが増殖の半阻害値の比較から実験室内でも初めて明らかにされた。本種に対する Cu は細胞内には極めて少なくほとんど細胞表面に付着して存在した。このことは、*A. minutissima* の重金属耐性機構と関係があると考えられる。

コカゲロウはその中に重金属耐性種である *Baetis thermicus* を含み、特に Cd と Zn を高濃度で蓄積することを重金属汚染河川などで明らかにしてきた。また水中の Cu 濃度が高いとカゲロウの Cd 濃度が低減していることが野外調査から示されたが室内実験からも高濃度の Cu がカゲロウの Cd 蓄積を抑制する実験結果が得られた。

国内各地の重金属汚染河川の調査から汚染地区及びその周辺の非汚染地区の水生昆虫の優占種を検討した。*B. thermicus*, *Cheumatopsyche brevilineata*, *Antocha* sp., *Hydropsyche orientalis* などは両区で優占性が極めて高かった。片方の区にのみ優占する種についてもそれぞれ知見が得られている。

付着藻類についてはさらに金属種 (Cu, Zn, Cd など), pH などとの関係からもその指標性が引き続き調査・検討を続けている。また、ユスリカ類の指標性についてもこれまで、主に東北地方の重金属汚染河川を対象として検討してきたが、新たに西日本各地の河川について調査し、比較・

検討を進めた。

### 3 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 8 研究室、22 名の研究員及び客員研究員、共同研究員多数の協力を得て研究が推進されている。

#### [研究課題]

1. 有害汚染物質の水界生態系に及ぼす影響とその回復力の予測手法開発に関する研究
2. 有害汚染物質の水界生態系に及ぼす複合影響に関する研究
3. 有害汚染物質の水界生態系に及ぼす毒性発現機構に関する研究
4. 有害汚染物質に対する指標生物の検索に関する研究

この四つのサブテーマは図1のように関連し、有害汚染物質の生態影響試験法の確立と水界生態系に及ぼす当該物質の影響を評価する手法の開発を最終目的としている。

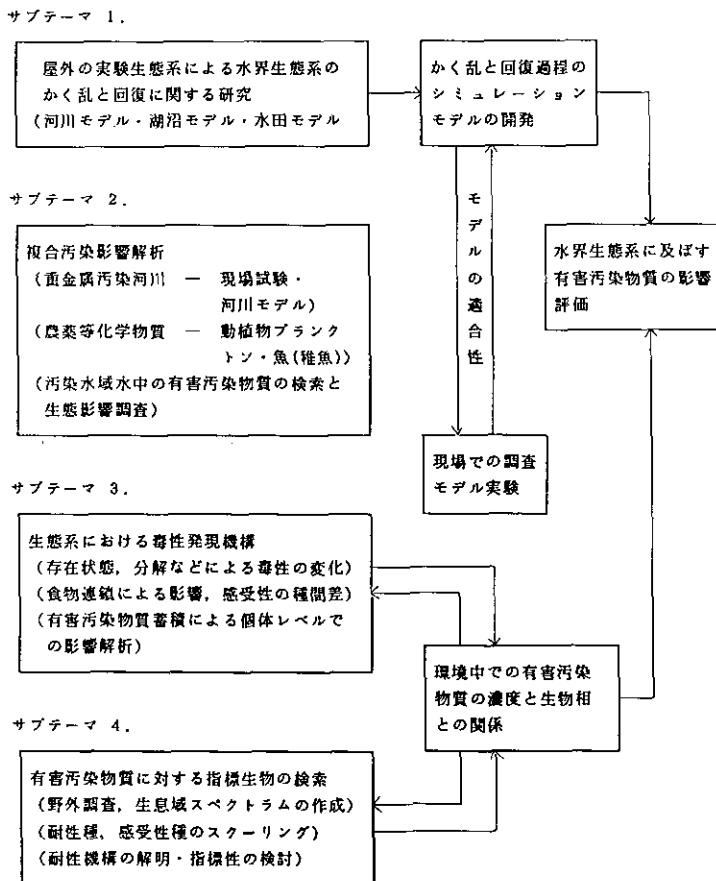


図1 水界生態系に及ぼす有害汚染物質の影響評価に関する研究

[研究担当者]

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・野原精一・上野隆平・多田 満

生理生化学研究室

竹内裕一

計測技術部

水質計測研究室

大槻 晃・白石寛明

水質土壤環境部

海洋環境研究室

渡辺 信

土壤環境計画研究室

袴田共之

環境保健部

人間生態研究室

鈴木和夫・青木康展

技術部

生物施設管理室

菅谷芳雄・笠井文絵

客員研究員 60, 61 年度

青山莞爾 東邦大学理学部

上村 清 富山医科薬科大学

瀬戸昌之 東京農工大学農学部

津田修治 残留農薬研究所

福嶋 悟 横浜市公害研究所

藤井宏一 筑波大学生物科学系

横山宣雄 山形大学理学部

井上 勲 筑波大学生物科学系

狩谷貞二 麻生短期大学

原 慶明 筑波大学生物科学系

大内絹子 東北大学農学部

塩見正衛 農林水産省草地試験場

難波利幸 専修大学商学部

鷲見 和 聖マリアンナ医大

矢島毅彦 東邦大学薬学部

小林悦子 金沢医科大学

## 4 発表一覧

## A. 印刷発表

- Hanazato, T. and Yasuno, M. (1987): Effects of a carbamate insecticide, carbaryl, on the summer phyto- and zooplankton communities in ponds. *Environ. Pollut.*, 48, 145-159.
- Hatakeyama, S. and M. Yasuno (1987): Chronic effects of Cd on the reproduction of the guppy (*Poecilia reticulata*) through Cd-accumulated midge larvae (*Chironomus yoshimatusi*). *Ecotoxicol. Environ. Safety.*, 14 (in press).
- Hatakeyama, S. (1987): Chronic effects of Cd on the reproduction of *Polypedilum nubifer* (Chironomidae) through water and food. *Environ. Pollut.*, 48 (in press).
- Satake, K. N. and M. Yasuno (1987): The effects of diflubenzuron on invertebrates and fishes in a river. *Jpn. J. Sanit. Zool.*, 38, 303-316.
- Shiraishi, H., F. Pula, A. Otsuki and T. Iwakuma (1987): Behaviour of pesticides in Lake Kasumigaura, Japan. *Sci. Total Environ.* (in press).
- Sumi, Y., T. Suzuki, M. Yamamura, S. Hatakeyama, Y. Sugaya and K. T. Suzuki (1984): Histochemical staining of cadmium taken up by midge larva, *Chironomus yoshimatusi* (Diptera, Chironomidae). *Comp. Biochem. Physiol.*, 79A, 353-357.
- Sunaga, H., E. Kobayashi, N. Shimojo and K. T. Suzuki (1987): Detection of sulfur-containing compounds in control and cadmium-exposed rat organs by high-performance liquid chromatography-vacuum-ultraviolet inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry (HPLC-ICP). *Anal. Biochem.*, 160, 160-168.
- Sunaga, H. and Suzuki, K. T. (1987): Sequestration of environmental and injected cadmium by two major isoforms of basal copper, zinc-metallothionein in gibel liver. *Eisei Kagaku.* (in press.)
- Suzuki, K. T., H. Sunaga, E. Kobayashi and S. Hatakeyama (1987): Environmental and injected cadmium are sequestered by two major isoforms of basal copper, zinc-metallothionein in gibel (*Carassius auratus langsdorfi*) liver. *Comp. Biochem. Physiol.*, 87C, 87-93.
- 鈴木和夫 (1987): 金属結合蛋白質の検索と生物学的役割. *トキシコロジーフォーラム*, 10, 338-347.
- Suzuki, K. T., H. Sunaga, E. Kobayashi and Y. Mitane (1987): Altered distribution of serum zinc, sulfur and proteins in rats with injection of cadmium. In: *Toxicology of Metals: Clinical and Experimental Research*, Brown, S. S. and Y. Kodama (eds.), Ellis Horwood, 123-124.
- Suzuki, K. T., H. Sunaga, E. Kobayashi and N. Sugihira (1987): High-performance liquid chromatography-inductively coupled plasma profiles of cadmium, zinc, sulphur and other elements in rat liver supernatants after cadmium injection. *J. Chromatogr.* 400, 233-240
- Takamura, K. and Yasuno, M. (1986): Effects of pesticide application on chironomid larvae and ostracods in rice fields. *Appl. Entomol. Zool.* 21, 370-376.

- 安野正之 (1985): 非標的生物への農薬の影響—実験的研究. 第18回農薬科学シンポジウム記録, 81-92.
- Yasuno, M. and B. A. Whitton (1986): Biological monitoring for aquatic pollution. In: Biological Monitoring of the State of the Environment: Bioindicators. Salaki, J. (ed.), IRS Press, 57-66.
- Yasuno, M., T. Hanazato, T. Iwakuma, K. Takamura, R. Ueno and N. Takamura (1987): Effects of permethrin on an enclosure ecosystem in a pond. *Hydrobiologia* (in press).
- Yasuno, M. and Fukushima, S. (1987): Attached algal flora in the rivers receiving effluent from copper mines. *Acta Biol. Hungarica* 38, 141-153.

## B. 口頭発表

- 福島 悟・畠山成久・佐竹 潔・宮下 衛・安野正之: 重金属汚染と河川(南紀数河川)生物相との関係について—藻類相への影響. 日本陸水学会第51回大会, 清水 (61.10)
- 花里孝幸・安野正之: 屋外モデル生態系におけるプランクトン群集に対するNAC(カーバメイト系殺虫剤)の影響. 日本生態学会第33回大会, 京都 (61.4)
- 花里孝幸・安野正之: 屋外水槽に形成された動物プランクトン群集に対するNAC(カーバメイト系殺虫剤)とフサカの影響. 日本陸水学会第52回大会, 札幌 (62.10)
- 畠山成久・佐竹 潔・宮下 衛: 重金属汚染と河川(南紀数河川)生物相との関係について—環境及び底生生物相への影響. 日本陸水学会第51回大会, 清水 (61.10)
- 畠山成久・佐竹 潔・安野正之: コカゲロウ(*Baetis*)による重金属汚染の指標性について. 日本陸水学会第51回大会, 清水 (61.10)
- Hatakeyama, S., M. Yasuno and K. Satake: *Baetis* (Ephemeroptera) as an efficient heavy metal accumulator in the rivers. 4th IUBS International Symposium on Bio-monitoring of the State of the Environment, Tokyo (Nov. 1987)
- 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: 捕食者(フサカ)密度の制御とエアレーションが水生生物に及ぼす影響についての隔離水界実験. 日本生態学会第33回大会, 京都 (61.4)
- 岩熊敏夫・高村健二・野原精一: 恋瀬川支流における夏期の底生動物と水質との関係について. 日本陸水学会第51回大会, 清水 (61.10)
- 岩熊敏夫・野原精一・上野隆平: 恋瀬川水系における殺虫剤・除草剤・殺菌剤の濃度変動と底生生物群集への影響. 日本陸水学会第52回大会, 札幌 (62.10)
- 野原精一: ヒシ群落内外の水質の違いについて. 日本生態学会第33回大会, 京都 (61.4)
- 野原精一・岩熊敏夫・高村健二: 恋瀬川支流における夏期の水質, 生物現存量変動と自浄作用について. 日本陸水学会第51回大会, 清水 (61.10)
- 野原精一・土谷岳令: 野生化したハスの分布と現存量の季節的変化. 日本生態学会第34回大会, 沖縄 (62.4)
- 坂本 充・安野正之・岩熊敏夫・花里孝幸・青山莞爾・渡辺泰徳・沖野外輝夫・林 秀剛・加藤憲二・安田 香: 諏訪湖におけるメソコスム実験(1986): アオコ優占期におけるテメホス(殺虫剤)投入の生態系攪乱効果. 日本生態学会第34回大会, 沖縄 (62.4)
- 佐竹 潔・安野正之: 人工水路におけるPOMの生産量と底生生物の現存量の関係. 日本陸水学会第51回大会, 清水 (61.10)
- 菅谷芳雄・畠山成久・佐竹 潔・宮下 衛: 重金属汚染と河川(南紀数河川)生物相との関係



- について—ユスリカ相への影響。日本陸水学会第51回大会，清水（61.10）
- 須長宏行・鈴木和夫： フナ肝臓中に常在する2種類の銅，亜鉛—チオネインによる環境中および注射したカドミウムの捕捉。第13回環境汚染物質とそのトキシコロジーシンポジウム，金沢（61.10）
- 鈴木和夫・須長宏行： 重金属汚染河川に生息するコカゲロウ中の重金属の化学形態。第57回衛生学総会，東京（62.4）
- 高村健二・花里孝幸： $^{13}\text{C}$ を用いた水生細菌のグルコース取り込み活性の測定—殺虫剤の水生細菌への影響。日本陸水学会第52回大会，札幌（62.10）
- 高村典子・笠井文絵・渡辺 信： 数種の藻類に対する重金属の違いについて（光合成活性に及ぼす影響）。日本陸水学会第52回大会，札幌（62.10）
- 渡辺 信・竹内裕一・高村典子： 付着珪藻 *Achnanthes minutissima* の重金属耐性機構について。日本陸水学会第52回大会，札幌（62.10）
- Watanabe, M. M., Y. Takeuchi and N. Takamura: Copper resistance of the freshwater diatom, *Achnanthes minutissima*. 4th IUBS International Symposium on Bio-monitoring of the State of the Environment, Tokyo (Nov. 1987)
- 安野正之・高村典子・花里孝幸： 実験池における隔離水界栄養塩添加実験。日本生態学会第33回大会，京都（61.4）
- 安野正之・花里孝幸・岩熊敏夫・安田郁子・林 秀剛・平林公男・森 正幸・市川忠夫・寺沢恭子： 諏訪湖におけるメソコスム実験（1986）： ドライアイス投入による生態系攪乱。日本生態学会第34回大会，沖縄（61.4）
- Yasuno, M. : Indicators of heavy metal pollution in rivers receiving mine effluent. IUBS Int. Symp. Biol. Monit. State Environ, Cairo (Nov. 1986)
- Yasuno, M., T. Hanazato, T. Iwakuma, K. Takamura and R. Ueno: Effects of permethrin on an enclosure ecosystem in a pond. 23rd Congr. Int. Assoc. Theor. Appl. Limnol., Hamilton (Feb. 1987)

C. 「水域における生物指標の問題点と将来」シンポジウム報告 (国立公害研究所, 61.12)

福嶋 悟 (横浜市公害研究所) :

重金属汚染河川に形成される付着藻類群集 ..... 1-15

渡辺 信・竹内裕一・高村典子 (国立公害研究所) :

付着ケイ藻 *Achnanthes minutissima* の重金属耐性 - 銅 (Cu) について 17-21

渡辺仁治<sup>1</sup>・浅井一視<sup>2</sup>・伯耆晶子<sup>1</sup> (1 奈良女子大学理学部・2 大阪医科大) :

環境指標生物としての珪藻群集 ..... 23-32

安野正之 (国立公害研究所) :

環境汚染指標昆虫としてのユスリカ ..... 33-39

小林紀雄 (旭技研) :

環境指標昆虫としてのコカゲロウ ..... 41-60

小田泰史 (熊本県衛生公害研究所) :

環境指標生物としての水生昆虫群集 ..... 61-67

岩熊敏夫・白石寛明・高村健二・野原精一・上野隆平 (国立公害研究所) :

生物指標修正因子としての殺虫剤・除草剤 ..... 69-75

相崎守弘 (国立公害研究所) :

環境指標としての微生物 ..... 77-81

佐藤正光 (愛知県公害調査センター) :

BOD法の問題点 ..... 83-86

森田昌敏<sup>1</sup>・岡本研作<sup>1</sup>・植弘崇嗣<sup>1</sup>・柴田康行<sup>1</sup>・尾崎邦雄<sup>2</sup>・酒井 浄<sup>2</sup> (1 国立公害

研究所・2 新潟県公害研究所) : 二枚貝における環境汚染物質の蓄積 87-90

畠山成久 (国立公害研究所) :

水生昆虫コカゲロウにおける重金属の蓄積 ..... 91-99

佐竹研一 (国立公害研究所) :

水生苔類における重金属の蓄積 - 水銀の蓄積 - ..... 101-106

日高秀夫 (愛媛大学農学部) :

環境汚染物質の魚類行動への影響 ..... 107-110

荒井真一 (環境庁環境保健部) :

生物の蓄積性による環境監視 (生物モニタリング調査の概要) ..... 111-117

梶原成元 (環境庁水質保全局) :

水生生物による簡易水質調査法 ..... 119-122

安野正之 (国立公害研究所) :

河川の水質を評価する生物指標の最近の動向 ..... 123-133

## 小型隔離水界の植物及び動物プランクトン群集 に対する炭酸ガスによるかく乱実験

安野正之<sup>1</sup>・花里孝幸<sup>1</sup>・高村典子<sup>1</sup>

### Ecological Consequences of Plankton Community after the Interference by Carbon Dioxide in a Small Floating Enclosure

Masayuki YASUNO<sup>1</sup>, Takayuki HANAZATO<sup>1</sup> and Noriko TAKAMURA<sup>1</sup>

#### Abstract

Biological interactions often caused the secondary effects in the ecosystems when exposed to hazardous substances. To study the interaction between trophic levels or within a trophic level in ecosystems, removal of zooplankton in an enclosure was attempted by placing dry ice. The amount of dry ice was 6g l<sup>-1</sup> in the first experiment and 4g l<sup>-1</sup> in the second. The enclosures made of polyethylene film were 1m in diameter and 1.6m in depth. A total of four enclosures was floated in a pond and filled up with pond water, two of which were treated with dry ice and another two served as control. Inorganic carbon increased in the enclosures treated with dry ice and lowered pH. This lowered pH seemed to damage directly the structure and functions of phytoplankton community. All the zooplankton species were eliminated with this treatment also. As consequence, some algal species such as *Scenedesmus* which was a stranger in this pond bloomed in the treated enclosures toward the end of the experiment. In the second experiment, the enclosure was simultaneously aerated by an air compressor when treated with dry ice. No reduction of pH occurred, nevertheless the changes in the flora were observed in the treated enclosures in which zooplankton was eliminated.

#### 要 旨

有害汚染物質などが自然生態系を汚染したとき、しばしば予期しない影響を生物相に見いだすことがある。このような影響は二次影響と呼ばれ生物の相互作用によることが知られている。この研究では、ポリエチレンフィルムで作った小型の隔離水界内の植物プランクトンと動物プランクトンの間の相互作用を明らかにするためにドライアイス投入した。第一回実験では無機炭酸が増加し pH も低下したため、植物プランクトン群集もドライアイス処理の影響を直接受けて、その種類組成は変

---

1. 国立公害研究所 生物環境部 〒305 茨城県つくば市小野川16番2  
Environmental Biology Division, the National Institute for Environmental Studies,  
16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

化し、光合成活性も低下した。第二回実験ではコンプレサーでバブリングを行って無機炭酸を追い出した結果 pH の低下を見なかった。それにもかかわらず、藻類組成は変動し、実験を行った池には見なれない藻類が処理した隔離水界で繁茂した。おそらくドライアイスによって動物プランクトンが消滅した結果摂食圧に弱い種類が表に出てきたと考えられる。

## 1 はじめに

有害汚染物質の生態系影響を調べる目的で、我々はこれまで各種のマイクロコスムを作り試験を行ってきた(長谷川・安野, 1984; 宮下・安野, 1984; 岩熊ら, 1986; Yasuno, 1985; 安野, 1985; 安野ら, 1986a, b)。最近この種の研究は特に目新しいものでなくなり(Huckabee, 1985), 試験法として実用化されるのも遠いことではないと思われる。これまでマイクロコスムを開発する際に注意してきたことは、(1)試験結果の再現性、(2)高感受性(一つの生物種による試験よりも感受性が高いか?)、(3)系の安定性、(4)系の持続性、(5)系の生物の多様性、(6)系自体の再現性等についてであった。実際にマイクロコスムを作る場合に生物を植え付けるか、自然の生物群集を使うかでかなり性格を規定することになる。後者の場合湖沼や池に隔離水界を設置して実験を行ってきた。その大きさは 100m<sup>2</sup>を越えるものもあるが、小さくてすむものならば小さいもののほうが扱いやすい。既に直径 1 m, 深さ 4 m の隔離水界の有効性について報告した。本報告では直径 1 m, 深さ 1.5 m ないし 3.5 m の浮遊型の隔離水界の有効性について検討を行う。この浮遊型の隔離水界(バック)は最も容易に作ることができ、数多くの繰り返し実験が可能である。

これまでの実験で明らかになりつつある重要な事実はでき上がった生態系は生物相互作用の結果を示していて、有害汚染物質の混入は正常な系をゆがめる場合もあるが、むしろ潜在的な本来の生物群集を示す場合もあるということである(Yasunoら, 1987)。したがって、この研究においては有害汚染物質を使用せずに隔離水界の生物群集を操作することによってこの隔離水界の生物群集の特性を明らかにすることを試みた。

この研究では動物プランクトンの摂食圧を減らしたとき、植物プランクトンの群集組成や機能にどのような変化が現れるかを調べることで両者の関係を明らかにしようとするものである。動物プランクトンを制御する手段として、ドライアイスを用いた。ドライアイスによる動物プランクトンの制御は Schoenberg & Carlson (1864)によって使われており、殺虫剤と違って残留することがないし、また違った効果が期待された。

## 2 方法

この実験で用いた隔離水界は厚さ 0.05mm のポリエチレンのフィルムの袋状で図 1 に示すように、発泡スチロールの浮きに固定されて実験池に浮かべた。大きさは径 1 m, 深さ 1.6 m であった。池の水をポンプで汲み上げてこの隔離水界に入れた。この実験池は富栄養化が進んでおり、

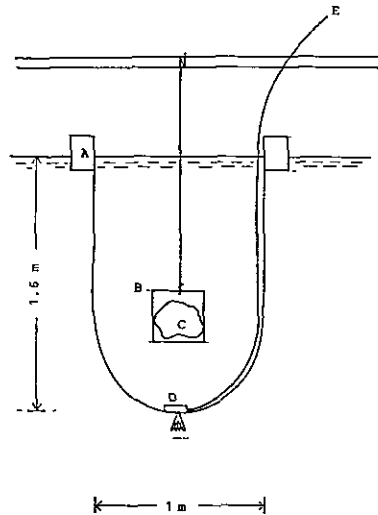


図1 小型隔離水界の模式図

A:浮き, B:ステンレスかご, C:ドライアイス, D:エアストーン, E:コンプレサー

動物及び植物プランクトンは十分取り込まれた。計四つの隔離水界を設置し、二つはドライアイスで処理を行い、二つは対照とした。ドライアイス投入量は実験室における5 l ビーカーによる予備実験で決定した。第一回実験では  $6 \text{ g l}^{-1}$ 、第二回実験では  $4 \text{ g l}^{-1}$  の割合でステンレスの金網かごに入れて隔離水界に吊した。第一回実験ではエアレーションを行わなかったが、第二回実験では水界内にドライアイスからの無機炭酸が残らないように、実験開始と同時にコンプレサーをも用いて次の日の朝まで約  $100 \text{ ml s}^{-1}$  の割合で空気を注入した。第一回実験は 1985年5月13日から22日間、第二回実験は 1985年10月28日から22日間続けられた。

隔離水界の pH, 溶存酸素は水深 1 m のところで電極 (Yokokawa PH 51, YSI 54A) でそれぞれ測定した。無機炭酸は全有機炭素分析器 (Beckman 915-B) で測った。採水はチュウブサンプラーで行い、植物プランクトンはそのうち 100 ml をヨードで固定して種組成の検索に当て、光合成活性を調べるためには別に 100 ml を酸素ビンにとって現場で  $^{13}\text{C}$  を取り込ませ、後で  $\text{CO}_2$  同位対比分析計 (ANELBA TE-150) で計測を行った。クロロフィル a 量の測定は UNESCO/SCOR 法によった。動物プランクトンはチュウブサンプラーで採った水を NXXX25 のネットでこして集めホルマリンで固定した。

### 3 結果

#### 3.1 第一回実験

##### 3.1.1 環境要因の変化

溶存酸素はドライアイス処理前の  $7.3 \text{ mg l}^{-1}$  から  $3.2 \text{ mg l}^{-1}$  まで減少したが、直ちに回復に

向かい7日後には元に戻り、20日後には処理水界のほうが無処理あるいは池よりも高い値を示した。pHはドライアイス処理により7.8から5.2に低下し、元に回復するまで14日を要した(図2)。無機溶存炭素量は10倍以上に増加した後徐々に減少したが、20日後でもまだかなり残った。水温はこの実験期間19.1°Cから21.9°Cの間において安定していた。

### 3. 1. 2 動物プランクトンの変動

対照の二つの水界では池の優占種である *Daphnia rosea*, *Acanthodiatomus pacificus*, *Tropocyclops plasinus* が優勢し続けた。ただし *Daphnia rosea* とワムシは隔離することで当初個体数の減少が認められたが、後回復した。*Tropocyclops* にとっては隔離したことはなんら不利に働いていないようであった(図3)。*Chaoborus* については変動が大きいため明確なことはいえないが、*Ceratium* は池における数の上昇と比較すれば明らかに隔離することで減少したということができる。ドライアイス処理は動物プランクトンを壊滅させ22日間の実験期間中回復がみられなかった。

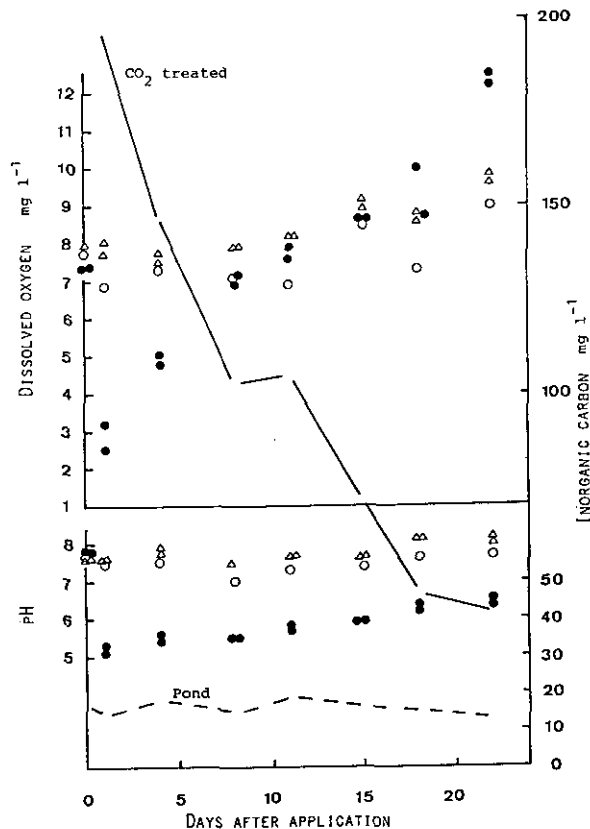


図2 隔離水界内のpH, 溶存酸素, 無機炭酸  
 黒丸:ドライアイス処理, 白三角:対照, 白丸:池, 折れ線:無機炭酸

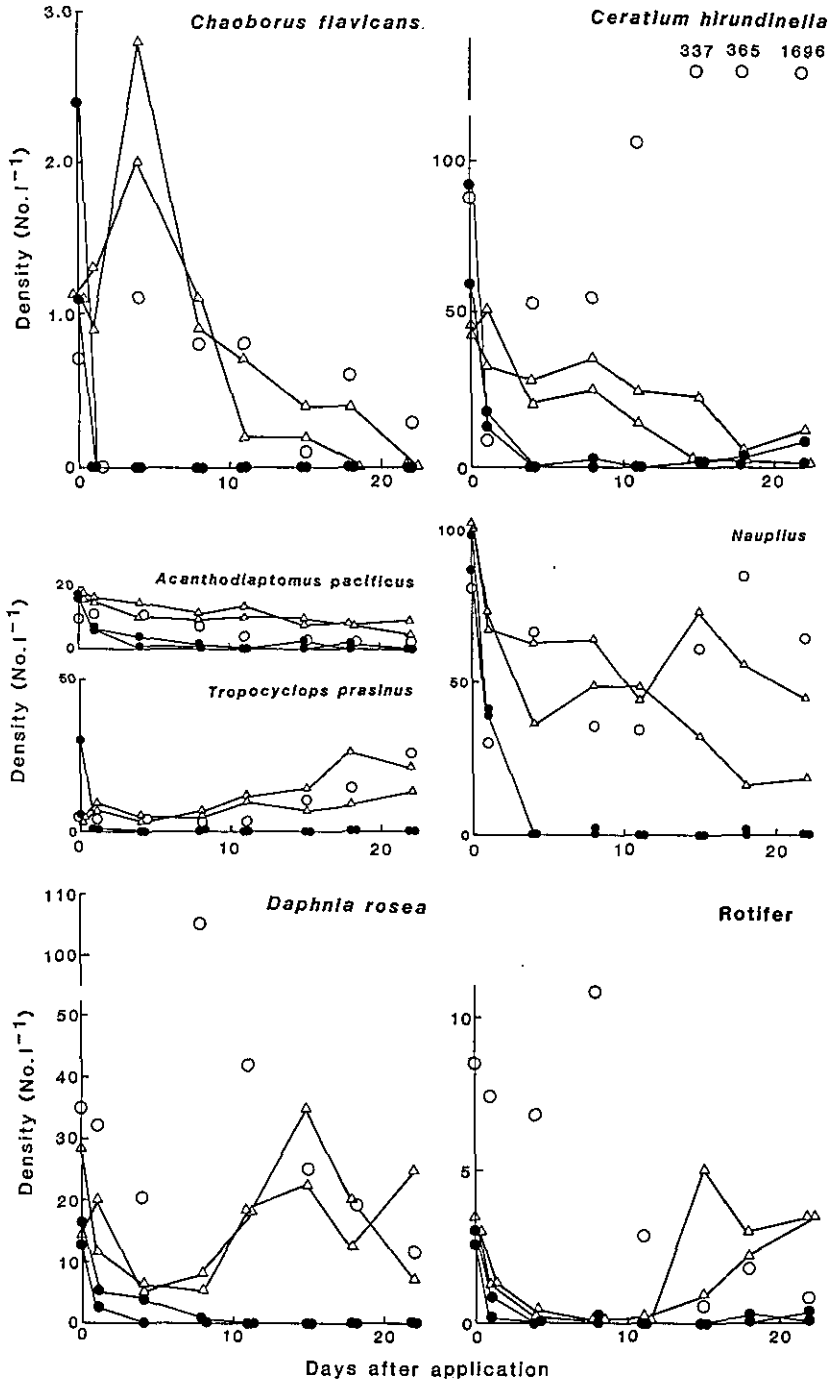


図3 動物プランクトンの変動  
 黒丸：ドライアイス処理，白三角：対照，白丸：池

### 3. 1. 3 植物プランクトン群集の組成の変化

pH の低下が著しいためその直接的影響があったと思われる(図4)。ドライアイス処理水界において *Sphaerocystis* が一時的に増加した。また実験後半には *Scenedesmus* などが動物プランクトンのいない処理水界のみに高密度で出現した。一方動物プランクトンのいる対照の水界には *Nitzschia* sp. が出現した。実験を行った池の優占種は後半 *Ochromonas* spp. に変化した。この種は隔離水界のいずれからも出現しなかった。

### 3. 1. 4 植物プランクトンの生物量と活性の変化

ドライアイス処理の影響は生物量における減少として認められる(図5)。ドライアイス処理によって植物プランクトンはほとんど消滅し、クロロフィル a 量としてわずかしか検出できない。その間光合成活性も極めて低く、ドライアイスが動物プランクトンに対する以上に植物プランクトンに影響したことを示している。処理17日後、急激にクロロフィル a 量及び光合成活性も高まった。これは *Scenedesmus* sp. などの急な増加と一致している。池の植物プランクトン現存量は実験期間中あまり大きく変動しなかったが、対照の水界では次第に減少する傾向がみられた。20日後には *Ulothrix* が処理水界に増えたためプランクトンの活性はまた落ちてしまった。ドライアイス処理は植物プランクトンの呼吸も低下させた。対照の水界においても池に比べると呼吸は低めであった。

## 3. 2 第二回実験

### 3. 2. 1 環境要因の変化

空気の注入によってドライアイスから溶け込んだ無機炭酸を隔離水界から追い出すことに成功した。pH はほとんど低下せず、むしろ池よりもやや高い値を示した。すなわち、池では 7.6 から 8.0 の間にあったが、隔離水界では 8 を越えた。この実験の開始時には 15°C であった水温は終了時には 8.5°C に下がった。

### 3. 2. 2 植物プランクトンにおける変化

クロロフィル a 量にみられる限り、処理水界と無処理水界の間に現存量に差を見ることができ(図6)。したがって多少の影響はあったかもしれない。しかし第一回実験のように植物プランクトンがほとんど消えてしまうようなことはなかった。8日後にはむしろ処理水界のほうが高い現存量を示したことは注目すべきことである。その後クロロフィル a 量は減少するが、水温の急激な低下のためと思われる。

ドライアイス処理の植物プランクトン群集の組成に対する影響を図7に示す。隔離水界の優占植物プランクトンは *Melosira granulata* であった。ドライアイス処理はこの種になんら悪影響を与えなかった。緑藻の *Ankistrodesmus* は影響を受けなければならず、対照の水界に比べ



Species	Date	Pond	Enclosure			
			1*	2*	3	4
Sphaerocystis	13 May	291	681			582
	14	58	620		0	0
	17	116	699	233	58	116
	24	58	19	87	0	0
	28	232	0	0	0	0
	31	0	0	0	0	0
	4 June	0	0	0	0	233
Schroederia	13 May	94	40	-	-	101
	14	25	21	15	135	76
	17	18	0	0	0	0
	24	48	0	0	0	0
	28	259	3	7	7	18
	31	4	15	55	0	0
	4 June	0	0	0	0	0
Ochromonas	13 May	0	0	0	0	3
	14	0	0	0	0	18
	17	11	0	0	0	0
	24	0	0	0	0	0
	28	29	0	0	3	0
	31	91	7	0	0	0
	4 June	164	0	0	0	0
Nitzschia	13 May	0	0	0	0	0
	14	0	0	0	0	0
	17	0	0	0	98	76
	24	0	1	0	36	109
	28	0	0	0	120	91
	31	0	0	0	40	62
	4 June	0	0	0	0	0
Scenedesmus	13 May	0	0	0	0	0
	14	0	0	0	0	0
	17	0	7	0	44	0
	24	0	0	0	0	0
	28	0	0	29	0	14
	31	7	135	164	0	0
	4 June	7			15	0
Scotiellopsis?	13 May	0	0	0	0	0
	14	0	0	0	0	0
	17	0	0	0	0	0
	24	0	0	0	0	0
	28	0	0	87	0	0
	31	0	139		0	0
	4 June	0	524	131	0	0
Dictyosphaerium	13 May	0	0	0	0	0
	14	0	0	0	0	0
	17	0	0	0	0	0
	24	0	0	0	0	0
	28	0	5	0	0	0
	31	0	229		0	0
	4 June	0	473	575	0	0

図4 植物プランクトン群集の組成の変化  
 水界1, 2:ドライアイス処理, 水界3, 4:対照, 塗りつぶし部分:1000>細胞  $mL^{-1}$

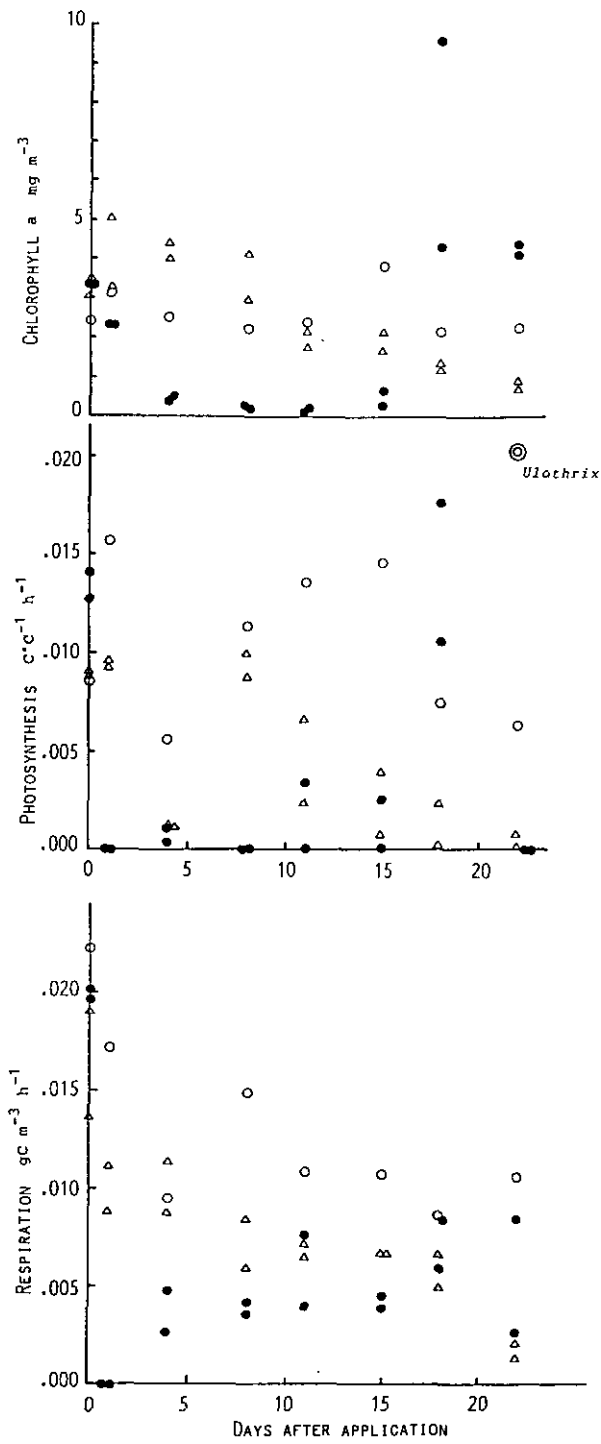


図5 植物プランクトンの現存量(クロロフィル a), 光合成活性, 呼吸の変化  
 黒丸: ドライアイス処理, 白三角: 対照, 白丸: 池

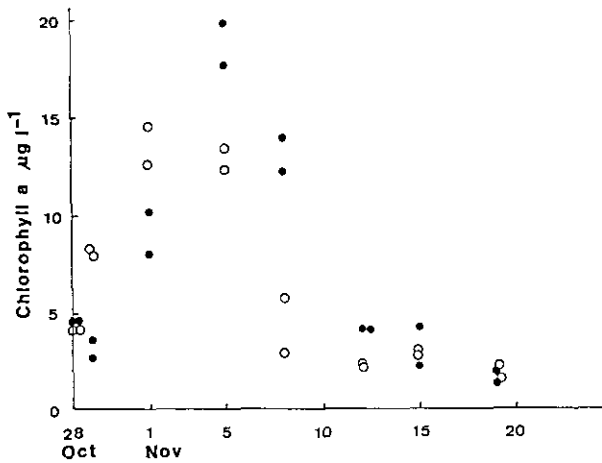


図6 クロロフィル a 量の変化  
黒丸：ドライアイス処理、白丸：対照

むしろ増加した。一方 *Cyclotella* 2種は実験前にはほとんど出現していなかったが、ドライアイス処理水界で増加した。ドライアイス処理の影響を強く受けたのはペン毛藻類の *Ochromonas* sp. と *Mallomonas akrokomos* で、対照の水界では見られるのに処理水界からほぼ消滅した。

### 3. 2. 3 動物プランクトンの変動

ドライアイス処理は *Daphnia rosea*, *Acanthodiatomus pacificus*, *Tropocyclops prasinus*, 及びその幼生, nauplius に大きな影響を与えた(図8)。*D. rosea* と *A. pacificus* は 実験終了時まで再び出現することがなかった。nauplius は実験後半にやや回復するのが認められた。ワムシ類では *Polyarthra* sp. は消滅したが, *Keratella cochlearis* は影響を受けたものの実験後半に回復した。*Ceratium hirundinella* はドライアイス処理で消滅した。対照の水界においても *Tropocyclops* を例外としてどの種類も 10日過ぎに衰退した。既に述べたように低温の影響で植物プランクトンの現存量が減少したことがここにも大きく影響していると考えられる。

## 4 考察

ドライアイス処理は水中の無機炭酸を増加させ、はからずとも酸性化の実験を行ったことになった。しかし pH は 5.2 までしか下がらなかったため、酸性化そのものは動物プランクトンに対して直接影響を与えたとは考えられない。動物プランクトンももちろん種類によって違いがあるが、実験的にはクリティカルな値は 4.6 ぐらいのところであり (Parent & Cheetham, 1980), 酸性化した湖沼では *Daphnia* の仲間は pH が 5 を切ると影響を受けることが報告されている (Sprules, 1975)。したがって動物プランクトンは当初もくろんだようにドライアイスからの炭酸ガスによって窒息死したと考えることができる。植物プランクトンは pH が 5 近くまで低下し

Species	Date	Enclosure			
		1	2	3	4
<i>Melosira granulata</i>	29 Oct	**	***	*	***
	1 Nov	***	***	***	***
	5	***	***	***	***
	8	*	**	***	**
	12	**	**	**	***
	15	***	**	**	***
	19	**	**	**	***
	22	*	**	**	**
<i>Cyclotella sp. A</i>	29 Oct				
	1 Nov	**	**		
	5	***		***	*
	8	****	*	****	
	12	**	*	****	
	15	*	*	***	*
	19		*		*
	22				*
<i>Cyclotella sp. B</i>	29 Oct		**		
	1 Nov	**			*
	5	***	**	***	**
	8	***		**	
<i>Ankistrodesmus sp.</i>	29 Oct	**	**	**	**
	1 Nov	***	**	***	**
	5	***	***	****	
	8	*		**	
<i>Ochromonas sp.</i>	29 Oct	*	***		*
	1 Nov		**		**
	5		**		**
	8		**		**
	12		**		**
	15		**		**
	19		**		***
	22	**	**		**
<i>Mallomonas akrokomos</i>	29 Oct		*	*	*
	1 Nov		***		***
	5		**		***
	8				

図7 植物プランクトン群集の組成の変化

水界1, 3:ドライアイス処理, 水界2, 4:対照

\*:10-99細胞 ml<sup>-1</sup>, \*\*:100-999 ml<sup>-1</sup>, \*\*\*:1000-9999細胞 ml<sup>-1</sup>,  
\*\*\*\*:>10000細胞 ml<sup>-1</sup>

たことで影響を受けた。しかし実験後半には pH は7 近くまで戻ったこともあるが、動物プランクトンの出現していない水界においてのみ現れる種があって、しかもそれらが高密度に達したことは、これらが動物プランクトンの摂食圧に弱くこの池の通常の条件では優占種になれないことを示している。我々の実験結果は Schoenberg & Carlson (1984) のドライアイスによる動物プランクトン群集の制御実験の結果と良く一致している。彼らの実験でも pH は5 近くまで低下し生物量も減少した。しかし一週間ないし二週間で回復した。また植物プランクトンの組成の変化も同じように起こり、動物プランクトンの選択的摂食のためであるとしている。第二回実験は空気の注入で pH の低下を防いだが、同じような結果を得ることができた。動物プランクトンの消滅した水界に出現した種類は第一回実験とは異なっていたが、餌としては好的と考えられる種類であった。このように間接的影響を受けて異常に増殖したり、あるいは減少したりする変化を二次的影響と呼んでいるが(Hurlbert, 1975), 有害汚染物質の生態系影響の特色の一つであり、単

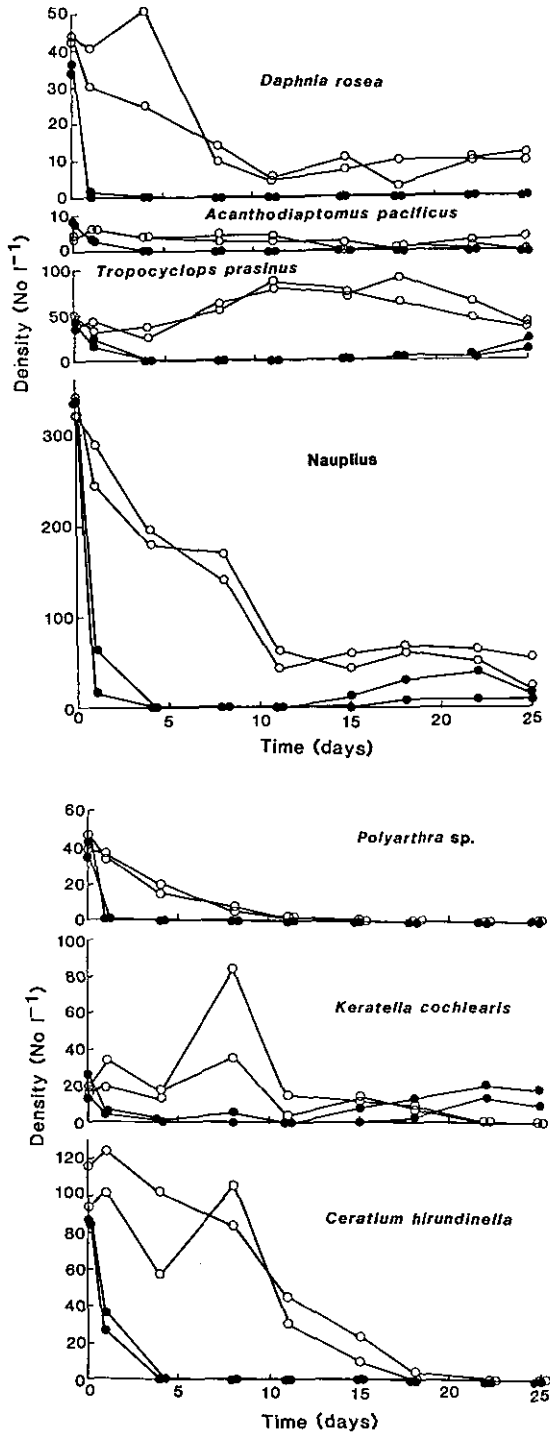


図8 動物プランクトンの変貌  
 黒丸：ドライアイス処理, 白丸：対照

一種による影響試験では決して予測のできないものである。さらにこのことは自然界における生物の異常増殖が有害物質の汚染である可能性を示唆するものである。

ここで用いた小型隔離水界は極めて容易に作る事ができる。実験を行う池が必要であるが、比較的小さい池にもかなり多くの隔離水界を設置でき、繰り返しのある生態影響試験を行う事ができる。この実験では繰り返しは二つにすぎなかったが、それぞれ良く一致していた。もちろん池によって、また時期によって動物及び植物プランクトン群集の組成は違うであろう。しかしこれだけ多くの種を含み、しかも相互に関係しあっている生態系を対象とした試験から得られる情報は単一種による試験からは決して得る事ができない。

第二回実験は丁度水温の急激に下がる時期に行ったため、隔離水界内の生物群集は比較的早く衰退したが、第一回実験では植物プランクトンの現存量が次第に低下していったが、動物プランクトンは衰退せず、この小型隔離水界でも少なくとも20日間は系を維持できることを示した。

#### 引用文献

- 長谷川淳一・安野正之 (1984): モデル生態系における動物プランクトン群集に対する殺虫剤の影響. 国立公害研究所研究報告, 第62号, 29-36.
- Huckabee, J.W. (1985): Evaluation of tests to predict chemical injury to ecosystems: Microcosms. In: Methods for estimating risk of chemical injury: Human and non-human biota and ecosystems. Vouk, V.B. et al. (eds.) SCOPE 26, John Wiley & Sons Chishester, 637-674.
- Hurlbert, S.H. (1975): Secondary effects of pesticides on aquatic ecosystems. Residue Rev., 57, 81-148.
- 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 (1986): 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. 国立公害研究所研究報告, 第99号, 91-106.
- 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, 29-36.
- Parent, S. and R.D. Cheetham (1980): Effects of acid precipitation on *Daphnia magna*. Bull. Environm. Contam. Toxicol., 25, 298-304.
- Schoenberg, S.A. and R.E. Carlson (1984): Direct and indirect effects of zooplankton grazing on phytoplankton in a hypereutrophic lake. Oikos, 42, 291-302.
- Sprules, W.G. (1975): Midsummer crustacean zooplankton communities in acid-stressed lakes. J. Fish. Res. Board Can., 32, 389-395.
- 安野正之 (1985): 非標的生物への農業の影響 — 実験的研究. 第18回農業科学シンポジウム記録, 81-92.
- Yasuno, M. (1985): Hazard assessment of toxic substances using model aquatic ecosystems. In: Biological monitoring of the state of the environment. Indian Natl. Sci. Acad., New Dehli, 56-73.

安野正之・花里孝幸・宮下 衛 (1986): 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. 国立公害研究所研究報告, 第99号, 107-118.

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.

Yasuno, M., T. Hanazato, T. Iwakuma, K. Takamura, R. Ueno and N. Takamura (1988): Effects of permethrin on phytoplankton and zooplankton in an enclosure ecosystem in a pond. *Hydrobiologia* (in press).

## 小型隔離水界による除草剤二種の生態影響の研究

安野正之<sup>1</sup>・花里孝幸<sup>1</sup>・宮下 衛<sup>1</sup>・高村典子<sup>1</sup>

### Use of Small Enclosure in Studying Ecological Effects of Two Kinds of Herbicides

Masayuki YASUNO<sup>1</sup>, Takayuki HANAZATO<sup>1</sup>, Mamoru MIYASHITA<sup>1</sup>  
and Noriko TAKAMURA<sup>1</sup>

#### Abstract

To study the effects of herbicides, oxadiazon and thiobencarb, both chemicals were applied to small floating enclosures made of polyethylene film, containing 1.6 - 2.4 m<sup>3</sup> of pond water, to be 0.1ppm and 1.0ppm, respectively. Thiobencarb 1ppm was not harmful to phytoplankton, while oxadiazon 0.1ppm impaired them. The dominant species, Dinobryon disappeared after the application of oxadiazon. Zooplankton was injured with 1ppm of either chemical. The continuous monitoring of dissolved oxygen, pH and water temperature in the enclosures could be used for the evaluation of ecological effects of the chemicals.

#### 要 旨

ポリエチレンのフィルムで作った浮遊型の小型隔離水界（バック）にオキサジアゾン、チオベンカーブをそれぞれ 0.1と 1 ppm の濃度になるように投入し、植物及び動物プランクトンへの影響を調べた。植物プランクトンはチオベンカーブ 1 ppmでもほとんど影響を受けないが、オキサジアゾンでは 0.1ppmで大きな傷害を受けた。動物プランクトンはどちらの除草剤でも 1 ppmで消滅し、0.1ppmでは種による反応の違いが見られた。生物の種類を調べなくても生態系の機能の変化を測ることで化学物質の生態影響を評価する目的で、溶存酸素、pH、水温の連続計測を行った。また蛍光光度計による植物プランクトン量の推定も同時に行った。いずれもここで試験した除草剤の場合は影響評価に用いることができることが分かった。

#### 1 はじめに

除草剤は水田にかなり大量に使用されることから、魚や底生動物への比較的影響の少ないものに限定されてはいるが、それでもプランクトンへの影響がないとは言いきれない。もともと植物の成長抑制を目的としているので、植物プランクトンへの影響は当然予期される。その結果として、植物プランクトンを摂食する動物プランクトンへの影響も起こり得るであろう。クロールニ

---

1. 国立公害研究所 生物環境部 〒305 茨城県つくば市小野川16番2  
Environmental Biology Division, the National Institute for Environmental Studies,  
16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.



トルフェンの動物及び植物プランクトンへの影響は比較的低い濃度でそれぞれ直接に作用していた(安野ら, 1986)。除草剤を河川や池の雑草の除去にも使われている。その場合の生態影響については Brooker & Edwards (1973), Humburyら (1981) などの研究がある。どちらの場合も間接的影響として枯死した植物の分解に起因する溶存酸素の欠乏が動物に影響することを報告している。

生態系影響あるいは生態影響を調べる目的で隔離水界を用いる試みは最近かなり行われるようになった (Giesy, 1980; Huckabee, 1985)。我々は円筒型のポリエチレンフィルムとステンレススチールの枠から成る隔離水界を開発した(安野ら, 1986a, b; 岩熊ら, 1986)。本報告では設置が容易で、繰り返し多くとれるさらに小型の隔離水界を開発し、自然生態系による環境汚染物質の生態影響試験の実用化を検討した。

ここで用いた除草剤はオキサジアゾンとティオベンカーブで、ミジンコに対する 48h-LC<sub>50</sub> 値は 0.13ppm と 0.73ppm (菊池, 未発表)と、除草剤としては動物プランクトンに対する毒性は比較的高いことから、この生態影響試験においては動物プランクトンへの直接的影響と間接的影響の両者を検討しなければならない。

## 2 方法

厚さ 0.05mm のポリエチレンのフィルムのバック(径 1m, 深さ 3.5m)を発泡スチロールのフロートに固定し、国立公害研究所の実験池に浮かせた。バックにはポンプで池の水を第一回実験では 2.2m<sup>3</sup>ないし 2.4m<sup>3</sup>, 第二回実験では 1.6m<sup>3</sup>から 1.7m<sup>3</sup>入れた。実験池は富栄養化が進んでおり透明度はこのとき 1.6m であった。後で述べるようにプランクトンを池の水と共にバックに移したわけである。実験は 1986年 6月と、10月にそれぞれ約 40日間行った。第一回実験はオキサジアゾン 12% 乳化剤のみを用いて 1, 5, 10 ppm の 3段階の濃度で行った。第二回実験はオキサジアゾン, ティオベンカーブのそれぞれを 0.1, 1 ppm の 2濃度で、繰り返しはコントロールも含めて二つずつ計 10個のバックで行った。水温はコントロールバックの表層(50cm)と底(3.5m)で、サーミスターを用いて測定。溶存酸素, pH は電極(L.G. Nester 8500, DKK 6400)をコントロール及び処理したバックの一方の水面下 1m に設置し、連続測定を行った。植物プランクトン量の相対値として、蛍光光度計(Aminco)で相対値として測ったものを用いた。プランクトンの採取はチューブサンプラーで行い、動物プランクトンは NXXX25 のプランクトンネットでこして集め、植物プランクトンはそのままルゴール液で固定した後、Utermohl chamber で計数した。

植物プランクトンの光合成活性に対するオキサジアゾンの阻害濃度について、第一回実験に先立って池の水を使って実験室で調べた。容器は 100ml の溶存酸素フラン瓶を用い、アルコールで希釈したオキサジアゾンを 20μl 加えることで、0.001, 0.01, 0.1, 1 ppm の濃度段階を用意した。コントロールもアルコールのみ 20μl 添加した。これらをそれぞれ 1, 2, 4, 8時間, 25℃, 約 400μE の光条件下に放置した後、<sup>13</sup>C を滴下し、一時間後、藻類による <sup>13</sup>C の取り込み

量を質量分析計で測定した。

除草剤の水中の残存濃度は各バックから初めは3日おき後半は約1週間おきに採水したものをガスクロマトグラフィー (ECD あるいは NPD) で分析した。

実験終了時にバックの底のたい積物を柄付き網で3回すくいとり、その中の底生動物を調べた。

### 3 結果

#### 3.1 オキサジアゾンの藻類に対する影響試験

溶存酸素フラン瓶に藻類を長時間入れておくことだけで、活性は低下する。この実験でも8時間経過すると、コントロールの光合成活性の低下が認められた。光合成活性は 0.001, 0.01 ppm まではコントロールと変わらず、またほぼ同じ傾向を示した。0.1 ppm は1時間の暴露ではコントロールと差がないが、2時間以上では明らかな活性の低下がみられる。1 ppm の場合は1時間暴露で、既に差が認められる (図1)。

#### 3.2 除草剤の残留性

処理したバックの中の除草剤の濃度について第二回の実験期間中モニターした結果を図2に示す。初期濃度はどちらの薬剤も 1000 ppb のはずであったが、両者にかなり違いがみられる。しかし初めの20日間における減少率はティオベンカーブの方が高く、オキサジアゾンの減少率は比

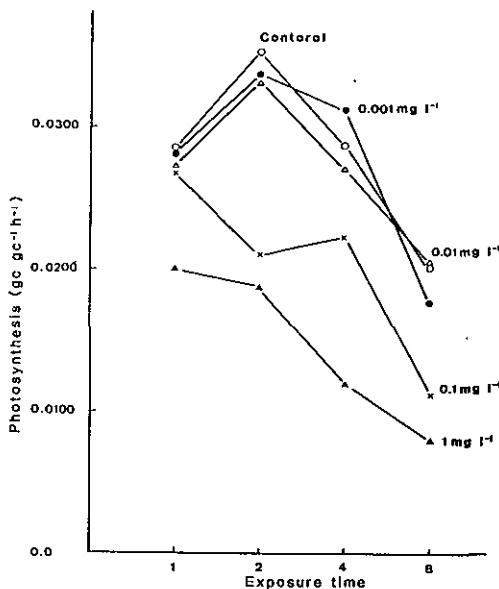


図1 実験室条件下での植物プランクトンの光合成活性に対するオキサジアゾンの抑制効果

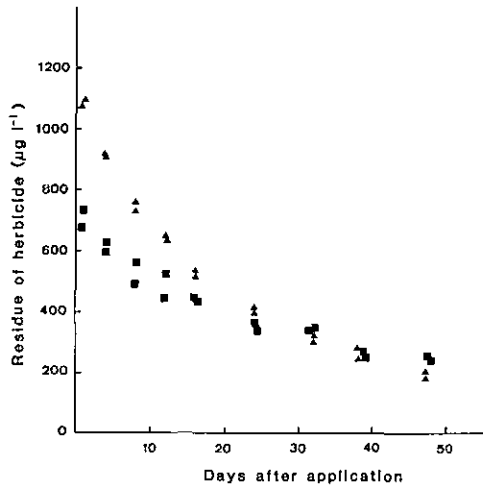


図2 隔離水界水中のオキサジアゾン(四角)及びティオベンカーブ(三角)残存量

較的低かった。そのころ、おおよそ半分の濃度になるが、それ以降の減少はどちらの薬剤も緩やかであった。40日を経ても処理濃度の20%以上が水中に残存していた。この減少率のパターンは100 ppbの場合もほぼ同じであった。

### 3. 3 植物プランクトン量, 溶存酸素量, pH の変化

#### 3. 3. 1 第一回実験

オキサジアゾンのどの濃度も植物プランクトンに対して強く作用し、蛍光光度計による相対値は急激に減少した。40日の実験期間中ほとんど回復せずに終わった(図3)。コントロールのバックの植物プランクトンも20日すぎから減少したことが相対蛍光値からうかがうことができる。

溶存酸素量の変化はコントロールの場合蛍光光度計の測定値と比較的傾向は似ているが、処理したバックでは処理濃度による違いが認められる(図4)。1 ppm 処理では約半分まで減少したが、10 ppm 処理では無酸素にまで達した。減少の傾向は28日続き、その後回復に向かった。

#### 3. 3. 2 第二回実験

コントロールにおける蛍光相対値は10日目当たりには減少しはじめ、その後低い値にとどまった(図5)。オキサジアゾンの0.1 ppmの場合は、一時的にコントロールより高くなったがその後減少した。オキサジアゾン1 ppmの場合は薬剤投入直後から影響が表れ、蛍光相対値は極めて低い値にとどまった。ティオベンカーブの場合はかなり違った結果を示した。最初の10日間はコントロールとほとんど同じレベルにあり、その後急激な減少があるがすぐ回復しそれ以降はむしろコントロールよりも高い値を保った。ティオベンカーブの場合、濃度による違いが示されなかった。

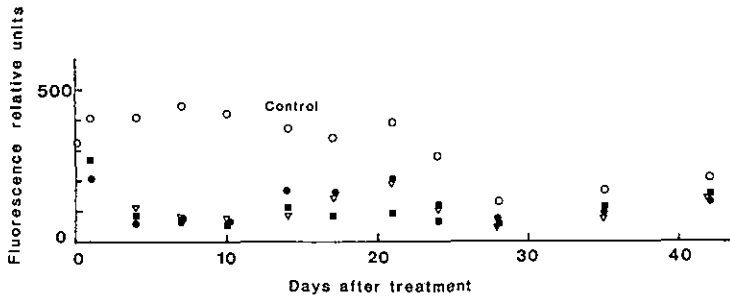


図3 第一回実験におけるオキサジアゾン処理後の隔離水界中の蛍光光度相対値  
 . 白丸：コントロール, 黒丸：1 ppm, 白三角：5 ppm, 黒四角：10ppm

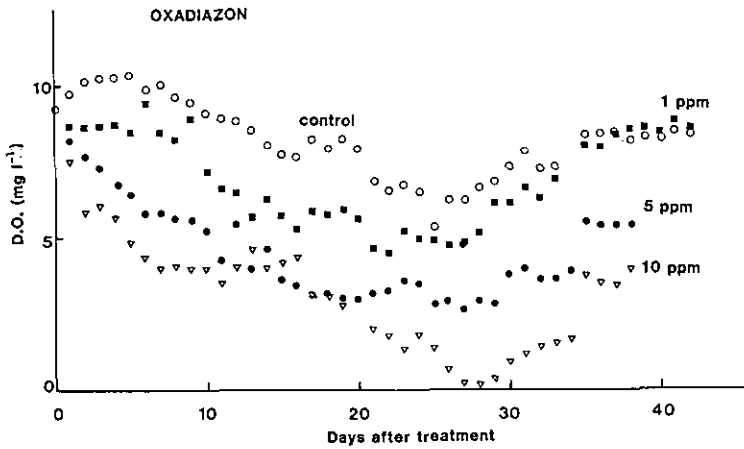


図4 第一回実験におけるオキサジアゾン処理後の隔離水界中の溶存酸素の変化

溶存酸素はコントロールにおいてはやや下がりぎみではあるがほぼ一定であった(図6)。オキサジアゾン1 ppmでは溶存酸素の減少は甚だしく10日過ぎに最低値を示しその後徐々に回復した。オキサジアゾン0.1 ppmにおいても当初コントロールよりも低い値を示したが、回復が比較的早かった。ティオベンカーブ1 ppmの場合、溶存酸素の減少の始まりはやや遅く、15日頃かなり低い値になるが、回復も早かった。この一時的減少は蛍光相対値の変化とほぼ一致している。実験の後半においては、蛍光値はどの場合も低下しており、溶存酸素の変化と一致していない。

pHの日変動はかなり顕著で、最も低い午前6時から次第に上昇して午後4時頃のピークからまた下がるという周期を繰り返している(図7)。

ティオベンカーブ1 ppm処理バック内のpHの日周期性はコントロールと同じであり、光合成機能は正常に近かったと考えられる。一方オキサジアゾン1 ppm処理バックではpHは7.23からほとんど変化せず、全く周期性を示さなかった。すなわち、この生態系の機能を低下させてしまったと考えられる。

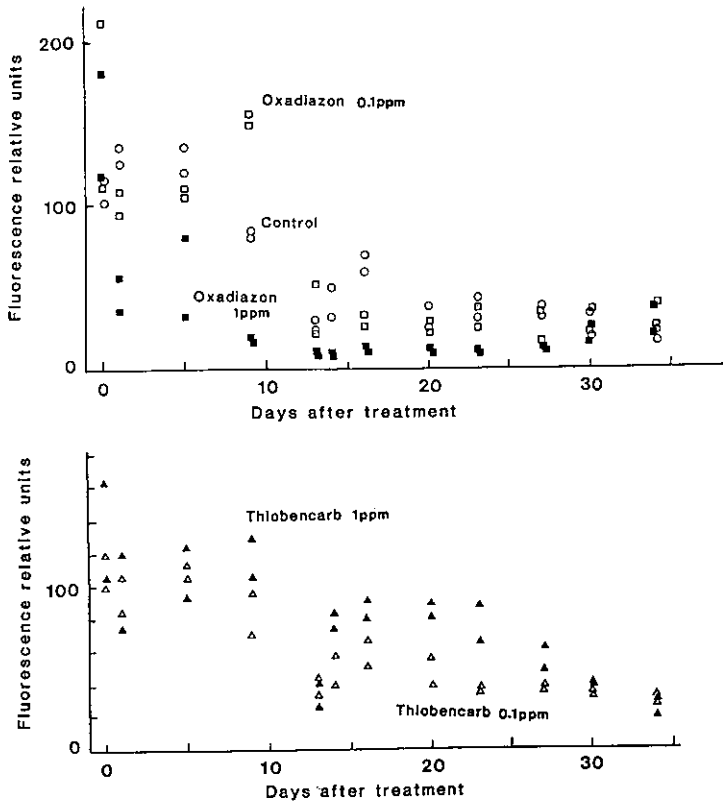


図5 第二回実験におけるオキサジアゾン、ティオベンカーブの処理後の隔離水界中の蛍光光度相対値の変化

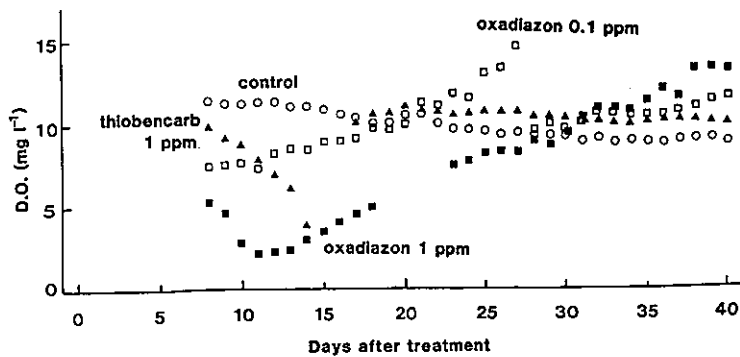


図6 第二回実験における除草剤処理後の隔離水界中の溶存酸素の変化

薬剤投入後の pH の変化を図8に示す。オキサジアゾンは 0.1ppmでも 1ppmでも pH は同じように低下した。0.1ppmにおいては処理後 20日目当たりから回復しはじめたが、1ppmではほとんど

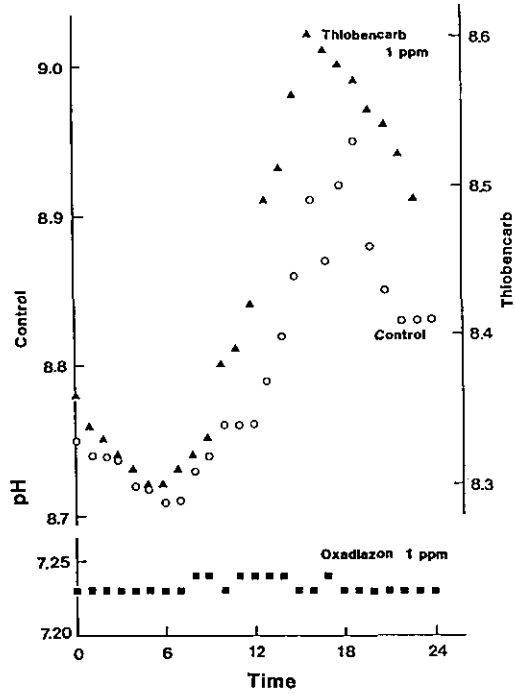


図7 除草剤処理後の隔離水界のpHの日周変動

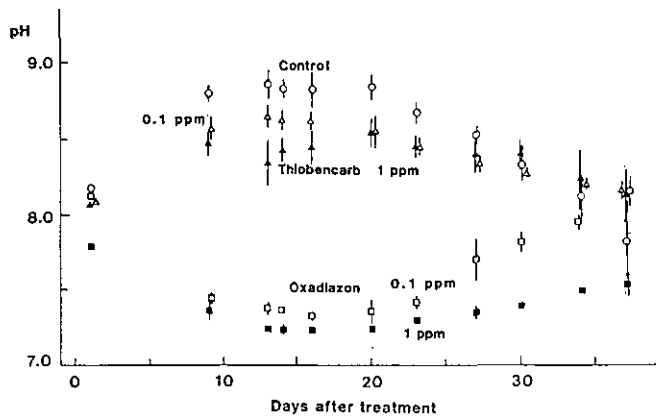


図8 除草剤処理後の隔離水界のpHの変動

ど戻らなかった。図中の線はその日の最大値と最小値を示している。オキサジアゾンの場合、既に記したように両者にあまり差がない。ティオベンカーブの場合は、コントロールにおける値をわずかに下回るが、コントロールと同じように実験開始後 pH は上昇した。濃度による差はやや見られるが顕著でない。一日の最大値と最小値の差もコントロールとほぼ同じであった。

### 3. 4 植物プランクトンの組成の変化

この池の種類数は極めて少なく、単純な植物プランクトン組成であった。第二回実験の際の組成の変化を表1に示す。コントロールにおいては Dinobryon, Flagellate(1), Ceratium などが優占し、Trachelomonas, Scenedesmusも少数ながら実験期間中出現した。ただし実験の後半には Flagellate, を除いて数の減少がみられた。オキサジアゾン処理により上記の優占種はほとんど消滅した。最も多かった Dinobryon, Flagellate(1) はオキサジアゾンの濃度に関係なく消滅し、Ceratium も急減した。代わりに Flagellate(2) と Navicula が少数ながら出現した。後者はオキサジアゾン処理バックにのみ出現したことは特記される。

ティオベンカーブによる処理の場合、優占種の Dinobryon, Ceratium は全く影響を受けなかった。11月18日(32日後)には高低どちらの濃度でも Ceratium は少なかったが、コントロールでも同じく減少しており、薬剤のせいとは考えられない。Flagellate(1) のみ処理の影響を受けて減少したようである。Trachelomonas は優占種ではないが、どちらの薬剤の影響も受けなかった。

### 3. 5 動物プランクトンへの影響

この実験池の優占種は Daphnia rosea, Tropocyclops prasinus で、ワムシは Keratella chochlearis がほとんどであった。コントロールの一方のバックで Cladocera が増えた(図9)。それ以外のプランクトンはコントロールバックで顕著な増減を示さなかった。植物プランクトンと違って、どの種類もオキサジアゾン、及びティオベンカーブの1ppmで消滅し実験期間中出現できなかったことは注目に値する。Cladocera はそれぞれの薬剤の0.1ppmでも影響を受けるようであるが、20日目あたりで回復がみられる。Rotifera は0.1ppmでは変化しないか、あるいは逆に増加した。Acanthodiatomus pacificus の場合は、どちらの薬剤処理の低濃度でも処理の影響はあるものの、後で回復した。この結果は Cladocera の場合とよく似ている。Tropocyclops はオキサジアゾン0.1ppmではコントロールに比してむしろ増加の傾向を示した。ティオベンカーブ0.1ppmは Tropocyclops に影響を与えたようである。しかし Nauplii の場合はティオベンカーブ0.1ppmでもあまり影響を受けなかった。オキサジアゾン0.1ppmは Nauplii に対してもむしろ個体数増加をもたらした。

### 3. 6 底生動物

この浮遊型隔離水界で底生動物への影響は本来検討できるはずではなかったが、たい積物の中の底生動物を調べたところ大変興味ある結果を得た(表2)。この表に示した数値は相対値で絶対数はこれよりもはるかに多いので、密度は大変高いと考えられる。コントロールでは二つのバックにばらつきはあるものの、Chaoborus flavicans, Chironomus flaviplumus, Psectrocladius sp. の3種が生息していた。しかしどちらの除草剤も Psectrocladius sp. の生息を許していな

表1 オキサジアゾンあるいはティオベンカーブで処理した隔離水界における植物プランクトン群集組成の変化

No marks: 0, - :  $1 \times 10^6$ , 1 \* :  $10-20 \times 10^6$ , 2 \* :  $20-40 \times 10^6$ , 3 \* :  $40-60 \times 10^6$ , 4 \* :  $60-80 \times 10^6$ , 5 \* :  $80-100 \times 10^6$ , 6 \* :  $100 \times 10^6$

Date	Control			
	10/15	10/24	11/04	11/18
Algae				
Dinophyceae				
<u>Ceratium hyrundinella</u>	***	***	***	*
Euglenophyceae				
<u>Trachelomonas</u> sp.	**	*	*	*
Chrysophyceae				
<u>Dinobryon</u> sp.	***	***	***	**
Flagellate 1.	***	***	***	***
Flagellate 2.	*			
Flagellate 3.	*	*		
Cyanobacteria				
<u>Anabaena</u> sp.				
Bacillariophyceae				
<u>Melosira</u> sp.	*			
<u>Navicula</u> sp.				
<u>Cyclotella</u> sp.				
Chlorophyceae				
<u>Scenedesmus</u> spp.	***	**	*	*
<u>Dictiosphaerium</u> sp.				
<u>Chlamydomonas</u> sp.				
<u>Crucigenia</u> sp.				
<u>Tetrastrum</u> sp.	*			
Protozoa				
<u>Vorticella</u> sp.				
Ciliata 1.				
Ciliata 2.				
Ciliata 3.				



表1 (つづき)

Date	Oxadiazon-0.1ppm				Oxadiazon-1ppm			
	10/15	10/24	11/04	11/18	10/15	10/24	11/04	11/18
Algae								
Dinophyceae								
<u>Ceratium hyrundinella</u>	***	**	*		***	*		
Euglenophyceae								
<u>Trachelomonas</u> sp.	*	*	*		*	*		*
Chrysophyceae								
<u>Dinobryon</u> sp.	***				***			
Flagellate 1.	***		*	*	***			*
Flagellate 2.			*	-		**	*	-
Flagellate 3.				-	*			*
Cyanobacteria								
<u>Anabaena</u> sp.			-		-			
Bacillariophyceae								
<u>Melosira</u> sp.				-	-			
<u>Navicula</u> sp.		-		*				**
<u>Cyclotella</u> sp.			*		-			
Chlorophyceae								
<u>Scenedesmus</u> spp.	*				*	*		
<u>Dictiosphaerium</u> sp.				*				
<u>Chlamydomonas</u> sp.				-				*
<u>Crucigenia</u> sp.				-	-			
<u>Tetrastrum</u> sp.				-	*	*		
Protozoa								
<u>Vorticella</u> sp.							-	
Ciliata 1.		*	-				-	-
Ciliata 2.		-	-				-	
Ciliata 3.			*					*

い。Psectrocladius sp. はこれらの除草剤に極めて高い感受性を持っていると考えられる。Chaoborus と Chironomus は二つの薬剤に対して違った反応を示している。すなわち、Chaoborus はオキサジアゾンの1ppmでは生存できず、ティオベンカーブでは影響を受けるけれども

表1 (つづき)

Date	Thiobencarb-0.1ppm				Thiobencarb-1ppm			
	10/15	10/24	11/04	11/18	10/15	10/24	11/04	11/18
Algae								
Dinophyceae								
<u>Ceratium hyrundinella</u>	**	***	*	*	***	***	***	*
Euglenophyceae								
<u>Trachelomonas</u> sp.	*	*	*	-	**	*	*	-
Chrysophyceae								
<u>Dinobryon</u> sp.	***	***	***	***	***	***	***	***
Flagellate 1.	***	*	*	**	***		*	*
Flagellate 2.			*	-			*	*
Flagellate 3.				*		-	*	*
Cyanobacteria								
<u>Anabaena</u> sp.		-	-	-	*	-		
Bacillariophyceae								
<u>Melosira</u> sp.	*		-			*		*
<u>Navicula</u> sp.								
<u>Cyclotella</u> sp.	*							
Chlorophyceae								
<u>Scenedesmus</u> spp.	*	*	*		*			
<u>Dictiosphaerium</u> sp.	*							
<u>Chlamydomonas</u> sp.								
<u>Crucigenia</u> sp.								
<u>Tetrastrum</u> sp.	*				*			
Protozoa								
<u>Vorticella</u> sp.				-			*	-
Ciliata 1.		*		-		*		
Ciliata 2.								
Ciliata 3.			*					-

なんとか生き残るものもいた。一方 Chironomus flaviplumus のほうはオキサジアゾンでは逆に増加し、強い耐性を示したが、ティオベンカーブ 1 ppm では出現せず、この薬には弱いことを示した。

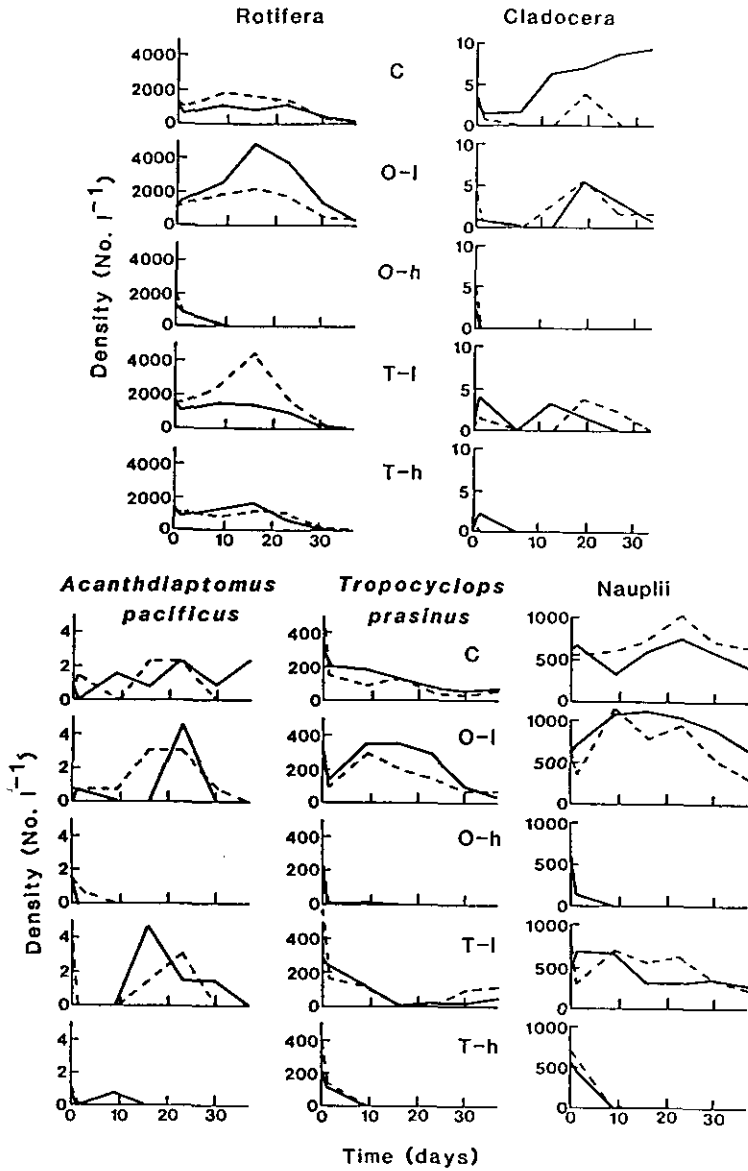


図9 除草剤処理後の動物プランクトンの変動

C: コントロール,

O-1: オキサジアゾン0.1ppm, O-h: オキサジアゾン1ppm, T-1: ティオベンカーブ0.1ppm, T-h: ティオベンカーブ1ppm

#### 4 考察

オキサジアゾンの動物プランクトンへの毒性については既知の 0.13ppm (24h-LC<sub>50</sub>; 菊池, 未発表) からすれば, 1ppmは確かに高い濃度ですべての種類が消滅したことは当然である。実験室条件と野外の条件の違いを考慮して選んだ第一回実験の 1, 5, 10 ppm という濃度では動物プラ

表2 第二回実験の終了時に採取した各隔離水界の底の堆積物中の底生動物

Enclosures		<u>Chaoborus</u> <u>flavicans</u>	<u>Chironomus</u> <u>flavipulmus</u>	<u>Psectrocladius</u> sp.
Control	-1	108	798	108
"	-2	444	108	78
Oxadiazon 0.1ppm	-1	144	888	0
"	-2	450	780	0
Oxadiazon 1.0ppm	-1	0	930	0
"	-2	0	2256	0
Thiobencarb 0.1ppm-1		86	702	0
"	-2	60	576	0
Thiobencarb 1.0ppm-1		21	0	0
"	-2	20	0	10

ンクトンの回復を期待することは無理であった。この除草剤の光合成活性の抑制が 0.1ppm から見られたことは、野外の隔離水界に投入したとき、0.1ppmで十分植物プランクトンに影響した事実とよく一致していた。結論として、オキサジアゾン 1 ppmでは植物プランクトンも動物プランクトンも大変大きな影響を受け、少なくとも 40日は回復できない。1 ppmの処理濃度は 40日後でも、0.2ppm 残存していたことからこの結果は当然かもしれない。しかし 0.1ppmでは植物プランクトンは影響を受けるが、動物プランクトンは影響を受ける種類と、受けない種類があり、回復も認められた。処理によってむしろ増加する種類があるが、餌として好的な植物プランクトン相への転換が起こるどころか、全体に減少したことから説明が困難である。

一方、ティオベンカーブは 1 ppmでも植物プランクトンにあまり著しい影響を与えなかった。ところが動物プランクトンには回復できない影響を与えた。おそらくここで用いた除草剤の作用機作の違いが反映していると思われる。補足的なデータではあったが、底生動物への影響が種によって全く違うこと、Psectrocladius はミジンコなどよりはるかに感受性が高いらしいという結果は大変興味深い。

この実験では計器によるモニタリングを行った。蛍光光度計による方法は連続モニターではなかったが、それも可能である。この方法によってもオキサジアゾンとティオベンカーブの植物プランクトンに対する影響の差が認められた。

溶存酸素のモニターは蛍光によるよりも顕著な差がみられたが、蛍光相対値と違って、生きて

いる植物プランクトンにより生産される酸素量よりも、枯死し分解するプランクトン量に大きく作用されたと思われる。したがって、25日から30日後にはどの隔離水界も差がなくなった。これに比べると pH は隔離水界内の植物プランクトン群集の活性をよく表示していたと思われる。プランクトンの細胞数の変化と pH の値の変化はよく一致している。このことは計器の連続モニターによる環境影響評価の可能性を示唆している。特に明記すべきことは、生態あるいは生態系影響を評価する場合に生物の種類を同定する手間とその難しさがあるが、計器によるモニターはその難しさを経ないで行えることにある。

この研究では前報告（安野ら，1986a,b；岩熊ら，1986）で用いたよりもさらに小型の隔離水界を用いたが、この大きさでも十分目的を達することが分かった。実験の継続期間は40日であったが、11月に入ってから水温の低下が急（14℃から10℃）でプランクトン全体の活性が落ちたことから、有効な実験期間は25日位であった。ここで用いた浮遊型の隔離水界は底泥打ち込み型と違って底泥の効果を評価することはできない。しかしコストもわずかで多数設置できるので、繰り返し実験が可能であり、結果の信頼性を増すことができた。生物群集、あるいは生態系への化学物質の影響試験はこれにより現実的なものへより近づいたと言えよう。

#### 引用文献

- 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.
- Giesy, J. P. (ed.) (1980): *Microcosms in Ecological Research*. DOE Symposium Series 52. US Department of Energy, Springfield., 936p.
- Hanbury, R. G., K. J. Murphy and J. W. Eaton (1981): The ecological effects of 2-methylthiotriazine herbicides used for aquatic weed control innavigable canals. II. Effects on macroinvertebrate fauna, and general discussion. *Arch. Hydrobiol.*, 91, 408-426.
- Huckabee, J. W. (1985): Evaluation of tests to predict chemical injury to ecosystems: Microcosms. In Vouk et al. (eds.), *Methods for estimating risk of chemical injury; Human and non-human biota and ecosystems*. SCOPE 26-SGOMSEC 2, John Wiley & Sons, Chichester, 637-674.
- 岩熊敏夫・安野正之・花里孝幸・高村健一・宮下 衛・高村典子・上野隆平 (1986): 実験生態系としての隔離水界法の検討；エアレイションと捕食者密度制御の効果。国立公害研究所研究報告，第99号，91-105。
- 安野正之・花里孝幸・宮下 衛 (1986): 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。国立公害研究所研究報告，第99号，107-118。
- 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，119-131。
- 安野正之・花里孝幸・高村典子 (1988): 小型隔離水界の植物及び動物プランクトン群集に対する炭酸ガスによるかく乱実験。国立公害研究所研究報告，第114号，11-23。

## 屋外水槽に形成された動物プランクトン群集に対する カーバメイト系殺虫剤、カルバリル、の影響

### 1. 夏期における実験

花里孝幸<sup>1</sup>・安野正之<sup>1</sup>

## Effects of a Carbamate Insecticide, Carbaryl, on the Zooplankton Communities in Ponds

### 1. Experiment in the Summer

Takayuki HANAZATO<sup>1</sup> and Masayuki YASUNO<sup>1</sup>

#### Abstract

A carbamate insecticide, carbaryl (1-naphthyl-N-methylcarbamate), was applied to concrete ponds and the effects on the zooplankton communities were studied. In a control pond, Cladocera declined following the increase in the density of inedible algae after a cladoceran peak. Once the density of Cladocera became low, Chaoborus larvae suppressed the increase of Cladocera and consequently supported the rotifer dominance in the zooplankton community by their selective predation on cladocerans. In a treated pond, the plankton community and its succession were similar to those in the control pond until the chemical application. 1 ppm of carbaryl killed all zooplankton and Chaoborus larvae. Cladocera reappeared soon and increased rapidly due to the absence of Chaoborus larvae. Consequently, rotifer populations were suppressed. Thus, the chemical application altered the dominance of rotifers to that of cladocerans. The same phenomenon was observed again after the 2nd chemical application 12 days after.

#### 要旨

カーバメイト系殺虫剤、カルバリル、を夏に設置したコンクリート水槽に投与し、そこでの動物プランクトン群集に対する影響を調べた。対照区では、始めに増えた枝角類の現存量が摂食しにくい藻類 (inedible algae) の増加に伴い減少し、いったん低くなった現存量はフサカ幼虫の捕食によって実験終了時まで低く抑えられた。その結果、ワムシ類優占の水界が形成された。処理区では、対照区と同様に一度増えた枝角類が減少したが、その時にカルバリルを 1 ppm となるように投与した。

- 
1. 国立公害研究所 生物環境部 〒305 茨城県つくば市小野川16番2  
Environmental Biology Division, the National Institute for Environmental Studies,  
16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1 ppmのカルバリルは枝角類、ワムシ類、さらにフサカ幼虫のすべてを死滅させた。薬剤投与後、枝角類の捕食者フサカが除去されたために枝角類が急速に増加した。その結果ワムシ類の現存量は比較的強く抑えられた。すなわち、コンクリート水槽に対するカルバリルの投与は、ワムシ類優占の水界を枝角類優占の水界に変えたことになる。

## 1 はじめに

森林や農耕地などで使われた殺虫剤は直接または間接に様々な水界に入る。それは非標的生物にも影響を与えているはずであり、その影響を評価することは重要な研究課題である。いろいろな生物個々に対する殺虫剤の急性毒性は実験室内で調べられてきた。しかし、水中の生物群集に対する影響についての研究は少ない (Hurlbertら, 1972; Hughesら, 1980; Layら, 1984a, b; 安野ら, 1986; Yasunoら, 1988)。そこで本実験では、水中のプランクトン群集に対するカーバメイト系殺虫剤、カルバリル、の影響を調べることを目的とした。カルバリル (1-ナフチル-N-メチルカーバメイト) は日本では水田や果樹園、森林などで害虫駆除に用いられているが、その生物群集に対する影響に関する研究はほとんどない。ここでは屋外に設置されたコンクリート水槽を用い、そこに形成されたプランクトン群集にカルバリルを投与して影響を調べた。

## 2 方法

実験では二つのコンクリート水槽(4.1m×5.1m×1.5m)を用いた。実験を始める前に、それまでの実験の影響を避けるためにポリエチレンフィルムで水槽を裏打ちした。1985年7月23日、水槽内にプランクトン群集を形成させるために霞ヶ浦の底泥 80kg を各々の水槽に投入し地下水を注入して水深 1.3m の池を作った。一つの水槽 (Pond A) を対照とし、もう一方の水槽 (Pond B) に8月16日(実験を始めてから24日目)と8月28日(同36日目)の2回、カルバリルを1 mg l<sup>-1</sup> (1 ppm) となるように投与した。実験は 52日目(9月13日)まで続けた。

クロロフィル<sub>a</sub>量の測定、及び動植物プランクトンの採集のために、水槽の水を週2~4回の頻度でアクリルチューブを用いて採水した。クロロフィル<sub>a</sub>量は UNESCO/SCORE 法(UNESCO, 1966)に従って測定し、植物プランクトンは試水をルゴール液で固定して、顕微鏡下で計数した。フサカ幼虫を含む動物プランクトンは採水した水槽の水をプランクトンネット (メッシュサイズ 40 μm) でろ過して集め、シュガーホルマリン (Haney & Hall, 1973) で固定後計数した。動物プランクトンのサンプルは一回に4本採り、計数後、平均値と95%信頼限界を算出した。サンプリング時には環境要因(水温, pH, 溶存酸素)も測定した。

優占した枝角類動物プランクトンの *Moina micrura* と *Ceriodaphnia rigaudi* については個体数の計数だけでなく抱卵数も計数し、Paloheimo (1974) に従って個体群の瞬間増殖率 (b) を算

出した。この計算では胚の発育期間のデータを必要とするが、*Moina* については Hanazato & Yasuno (1985) の式を使って実験時の水温から推定した。また *Ceriodaphnia* については Kwik & Carter (1975) の *Ceriodaphnia quadrangula* の式を用いた。さらに *Moina* と *Ceriodaphnia* の瞬間個体群成長率( $r$ )を Hall (1964) に従って算出し、 $b$  と  $r$  の差を個体群の瞬間死亡率( $d$ )とした。

### 3 結果

水槽内には水温躍層はできず、表層と底層の水温差は  $1^{\circ}\text{C}$  以下であった。実験期間中の水温はおよそ  $28^{\circ}\text{C}$  から  $30^{\circ}\text{C}$  の間で変動した(図1)。クロロフィル $a$ 量は40日目までは二つの水槽でほとんど差はなく、実験開始後3日目に  $50\text{mg m}^{-3}$  に増加したが、その後34日目まで  $4\sim 25\text{mg m}^{-3}$  で変動した(図1)。40日目を過ぎてクロロフィルが急上昇し、水槽間の差が大きくなった。pH と溶存酸素はそれぞれおよそ  $9\sim 10$ ,  $7\sim 12\text{mg l}^{-1}$  で変動し、クロロフィルの変動によって変化したが、水槽間では差が見られなかった。

甲殻類動物プランクトンでは枝角類が優占した。枝角類の現存量の変動を図2に示す。Pond A では10日目から20日目に *Moina micrura* が  $100\text{ inds l}^{-1}$  以上の高い密度を維持し、その後優占種は *Ceriodaphnia rigaudi* に替わったが、現存量は低く、 $20\text{ inds l}^{-1}$  を越えなかった。Pond B では *M. micrura* は20日目に現存量のピークに達した後薬剤投与で死滅したが、再び現れ、 $150\text{ inds l}^{-1}$  を越える現存量に達した。2回目の薬剤投与で再び死滅した後、*C. rigaudi* が *Moina* に替わって現存量を増やした。かい脚類の現存量は低く、ノープリウス幼生を含めても  $10\text{ inds l}^{-1}$  を越えることはほとんどなかった。

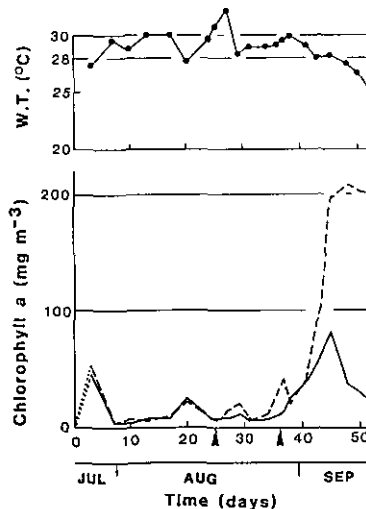


図1 コンクリート水槽における水温(W. T.)とクロロフィル $a$ 量の変動  
実線は Pond A(対照区)を、破線は Pond B(処理区)を示し、くさび記号は薬剤を  
投与した日を示す。



図3に *M. micrura* と *C. rigaudi* 個体群の瞬間増殖率(b)と瞬間死亡率(d)を現存量の変動とともに示す。Pond Aでは、*Moina* の現存量が増えているときに b が高く、その後次第に減少した。一方、d は b とは逆に次第に上昇した。*Moina* の後に優占した *Ceriodaphnia* は、現存量は低く維持されたが b の値は比較的高く、その結果 d も比較的高い値が続いた。このことは、*Ceriodaphnia* は増殖が盛んであったが、死亡率が高く個体群を大きくできなかったことを示している。Pond Bでは *Moina* と *Ceriodaphnia* の現存量のピークが繰り返し見られたが、どちらの種でもピークの始めに b が高く次第に減少し、それとは逆に d が徐々に増加し薬剤投与時に最大となるという変動パターンが見られた。

二つの水槽におけるワムシ類の現存量の変動を図4に示す。Pond Aではワムシ類全体の現存量は30日目まではおよそ1000 inds  $l^{-1}$ であったが、その後徐々に増え、45日目以降は4000~5000 inds  $l^{-1}$ に達した。優占種は *Hexarthra mira*, *Polyarthra trigla*, *H. mira* と変化し、最後に *Brachionus angularis* の現存量が高くなった。Pond Bでは1000~2000 inds  $l^{-1}$ あった密度が薬剤投与で減少し、その後回復し始めたが1000 inds  $l^{-1}$ 程度にしか増えなかった。2回目の薬剤投与でも同様の変動を示した。種組成の変化は薬剤が投与されるまでは Pond Aと似ていたが、その後は *H. mira* が現存量の多くを占めた。

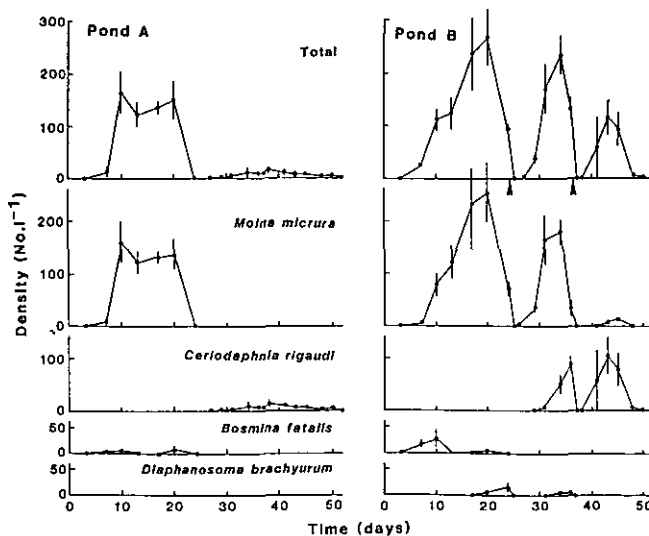


図2 枝角類主要種の変動  
縦棒は95%信頼限界を示す。

植物プランクトンの変動を図5に示す。植物プランクトン群集の組成や現存量は動物プランクトン群集のそれらとの間に強い相互作用があるものと考えられる。そこで植物プランクトンを動物プランクトンにとって食い安いと思われるグループ (Edible algae) とそうでないグループ (Inedible algae) に分けて各々のグループの変動を調べた。ラン藻類を含まない 40  $\mu m$  以下の

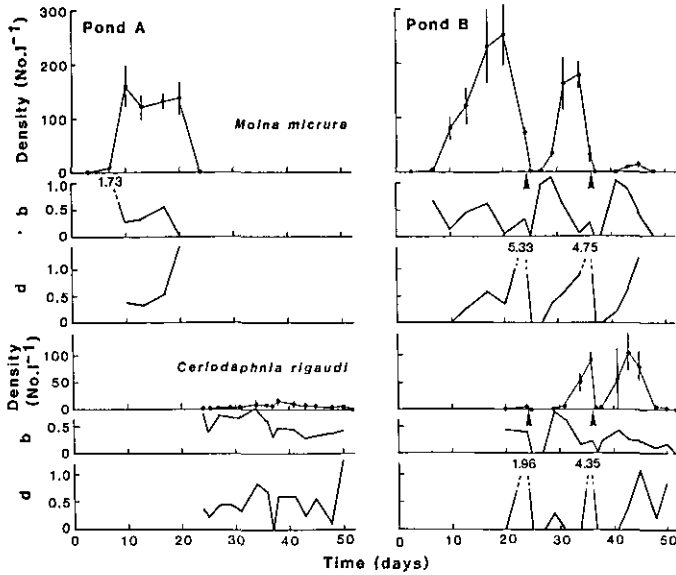


図3 枝角類優種個体群の密度，瞬間増殖率(b)，瞬間死亡率(d)の変動  
縦棒は95%信頼限界を示す。

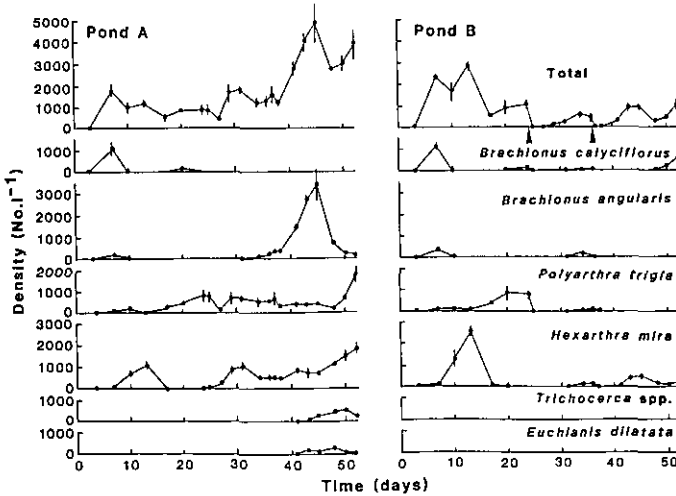


図4 ワムシ類主要の変動  
縦棒は95%信頼限界を示す。

サイズの藻類を前者にして，ラン藻類と 40  $\mu\text{m}$  以上の藻類を後者とした。Edible algae での優占種は *Scenedesmus* spp. で Inedible algae では *Melosira glauviata* と *Anabaena* spp. であった。植物プランクトン群集の種組成や現存量に対する薬剤投与の影響は明らかではなかったが，枝角類の現存量が高くなったときに Inedible algae の *Melosira* が増えるという顕著な現象が観察され，動物プランクトン群集の変動が植物プランクトン群集の種組成に影響を与えたことがわかった。

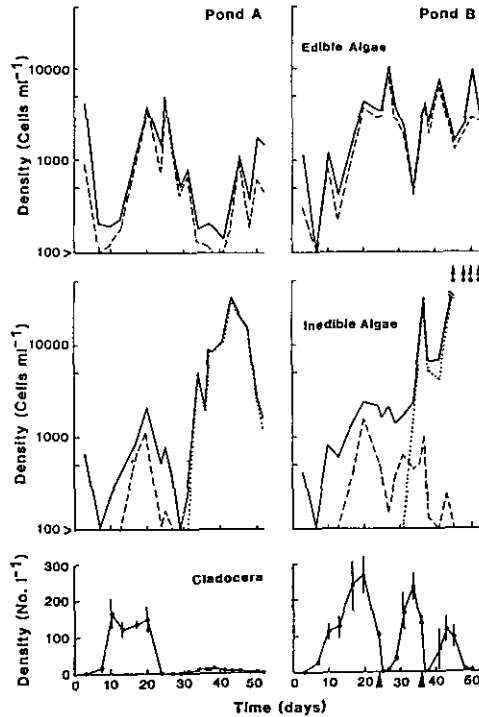


図5 “Edible algae”, “Inedible algae”, 及び枝角類全体の現存量の変動  
 “Edible algae” 中の破線は *Scenedesmus* を示し, “Inedible algae” 中の破線は  
*Melosira* を, 点線は *Anabaena* を示す. 縦棒は95%信頼限界を示す.

フサカ幼虫がどちらの水槽にも実験開始後7日目に現れた(図6)。Pond Aでは、フサカ幼虫の密度は実験期間を通しておよそ  $1 \text{ inds } l^{-1}$  であった。Pond Bでは薬剤投与ですべてのフサカ幼虫が死滅し、その後10日目に2令と3令の出現が観察された。2回目の薬剤投与では、投与後2日目に1令が見られ5日目には4令が観察された。この水槽では、薬剤投与後はフサカの密度はおよそ  $0.2 \text{ inds } l^{-1}$  に留まっていた。

#### 4 考察

Bluzat & Seuge (1979)と Woodward & Mauck (1980) は等脚類の *Gammarus* のカルバリルに対する半数致死濃度(LC<sub>50</sub>)を 0.007~0.48 ppmとした。Bailey & Liu (1980) はカルバリルに対する半数効果濃度(EC<sub>50</sub>)を *Gammarus* で 0.040 ppm 枝角類の *Daphnia* で 0.0064 ppm と報告している。したがって、*Daphnia* の LC<sub>50</sub> は *Gammarus* のそれよりも低いはずである。これらの結果は 1 ppmのカルバリルはこれらの動物を殺すのに十分であることを示しており、実際、本実験ではカルバリル投与によって枝角類はすべて死滅した。ワムシ類に対するカルバリルの毒性試験の報告はない。しかし本実験の結果、1 ppmのカルバリルはワムシ類に対しても高い毒性があるこ

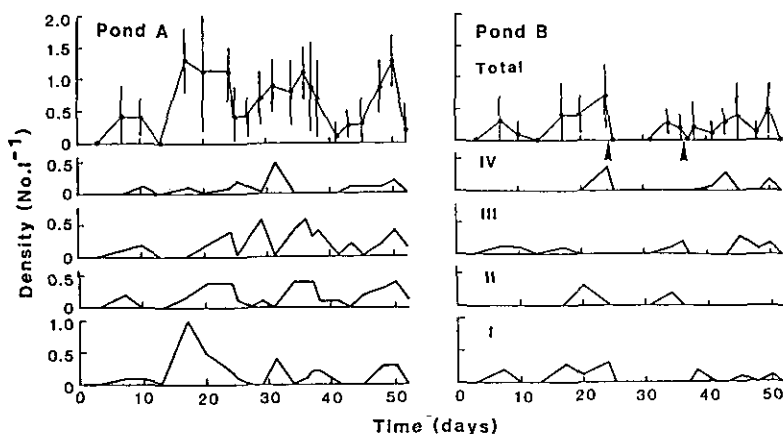


図6 フサカ幼虫の全体と各令の変動  
縦棒は95%信頼限界を示す。

がわかった。このように本実験に使われたカルバリルは動物プランクトン全体に対して高い毒性を持っていたが、薬剤投与後2日目には枝角類が現れており、動物プランクトンの回復は早かった。これは水槽においてカルバリルの分解が早かったことを示唆している。

Maly & Ruber (1983) は室内実験で 1 ppmのカルバリルが数種類の藻類の増殖を抑えることを示した。しかし、本実験では薬剤投与後に植物プランクトンの現存量や種組成に顕著な変化は見られなかったため、1 ppmのカルバリルは植物プランクトン群集に直接的な影響は与えなかったものと考えられた。枝角類は水界生態系における主要なる過摂食者であり、植物プランクトンの現存量や種組成に影響を与える。水界に薬剤が投与されたときに枝角類が消滅して、植物プランクトンの現存量が増加することが観察されている (Hurlbertら, 1972; Layら, 1984a, b; Hughesら, 1980; 安野ら, 1986)。本実験では薬剤投与後に枝角類を含むすべての動物プランクトンが死滅したが、クロロフィル<sub>a</sub>量の顕著な増加は見られなかった。しかしながら、薬剤投与後の枝角類現存量の変化に伴って植物プランクトンの種組成の変化が観察された。すなわち、枝角類の増加が“inedible algae”の *Melosira* を増加させた。動物プランクトン群集組成の変化が植物プランクトン群集組成の変化を引き起こすことは他にも報告がある (Schoenberg & Carlson, 1984; Bergquistら, 1985)。

フサカはしばしば動物プランクトンの重要な捕食者となる (Dodson, 1972; Kajak & Rybak, 1979)。特に3令と4令は枝角類を選食することが知られている (Fedorenko, 1975; Lewis, 1977; Kajak & Rybak, 1979)。本実験では、薬剤投与後まず枝角類が回復し、フサカの密度が増加してきた頃に枝角類の現存量が減少した。しかしこの枝角類の減少はフサカの捕食の結果とは考えにくい。フサカは夏に一日当たり体重の 106.4%の餌を食べるという報告がある (Kajak & Rybak, 1979)。本実験で薬剤投与後に枝角類が回復し現存量がピークに達した時、フサカの生物量は枝角類のその 5% を越えなかった。したがって、このときの枝角類群集に対するフサカの捕食

圧はあまり高くなかったと考えられる。枝角類の現存量が減少したとき、枝角類の瞬間増殖率 (b) の低下が見られた。その原因として餌条件の悪化が考えられる。枝角類が増えたときに "Inedible algae" の Melosira が増えた。"Inedible algae" は枝角類の摂食活動を阻害するといわれており (Gliwicz, 1977; Gliwicz & Siedlar, 1980), この Melosira の増加が枝角類にとっての餌条件を悪化させ、枝角類の現存量を低下させたものと考えた。一方 Pond A において、Moina が減少した後に優占した Ceriodaphnia の場合、瞬間増殖率が比較的高かったにもかかわらず現存量の増加が見られなかった。ここではフサカの捕食が Ceriodaphnia の現存量を低く抑えたものと考えられる。すなわち、フサカの存在下で、いったん枝角類の現存量が低下するとフサカの捕食によって枝角類の現存量は低く抑えられるが、フサカが増える前に枝角類が高い現存量に達してしまえば、フサカの捕食はその現存量を低下させる程大きな影響は与えないといえる。Pond B では、薬剤投与によりフサカが死滅したために、枝角類が再び高い密度に達することができたと思われる。

枝角類は競争においてワムシ類より優位にある (Neill, 1984; Gilbert & Stemberger, 1985)。本実験におけるワムシ類の現存量は枝角類に制御されていたように思われる。Pond A では Moina が消失した後に枝角類 (ここでは Ceriodaphnia) の現存量が低く抑えられたので、ワムシ類が比較的高い現存量を保った。一方、Pond B では薬剤投与後に再び枝角類の現存量が高くなったので、ワムシ類の現存量は比較的 low に抑えられた。すなわち、Pond A ではフサカが枝角類を選食することによってワムシ類優占の水界を形成し、Pond B では薬剤投与が捕食者フサカを除去し、枝角類優占の水界を導いたといえる。

これまでいくつかの論文で、池や隔離水界への殺虫剤や除草剤の投与が枝角類優占の動物プランクトン群集をワムシ類優占の群集へと変化させたことが報告されている (Hurlbertら, 1972; Papst & Boyer, 1980; Kawshikら, 1985; 安野ら, 1986)。すなわち、薬剤投与で枝角類が死滅し、それが回復する前にワムシ類が増殖しワムシ類優占の群集が形成されるという訳である。本実験では薬剤投与がワムシ類優占の群集を枝角類優占の群集に変え、これまでの報告と大きく異なった結果を得た。本実験で薬剤投与後、枝角類の回復前にワムシ類の回復が見られなかった原因として、本実験で用いたカルバリルが他の報告のあった薬剤よりもワムシ類に対する毒性が強くワムシ類の回復を遅らせたこと、本実験期間中の水温が高く (これまで報告のあった実験はおよそ 20~25°C 以下で行われた) 枝角類の回復速度が非常に高かったことが考えられる。

#### 引用文献

- Bailey, H.C. and D.H.W. Liu (1980): Lumbriculus variegatus, a benthic oligochaeta, as a bioassay organism. In: Aquatic toxicology., American society for testing and materials. Philadelphia. 205-215.
- Bergquist, A.M., S.R. Carpenter and J.C. Latino (1985): Shifts in phytoplankton size

- structure and community composition during grazing by contrasting zooplankton assemblages. *Limnol. Oceanogr.*, 30, 1037-1045.
- Bluzat, R. and J. Seuge (1979): Effects de trois insecticides (lindane, fenthion et carbaryl): toxicite algae sur quatre especes d'invertebres limniques; toxicite chronique chez le mollusque pulmone *Lymnea*. *Environ. Pollut.*, 18, 51-70.
- Dodson, S.I. (1972): Mortality in a population of *Daphnia rosea*. *Ecology*, 53, 1011-1023.
- Fedorenko, A.Y. (1975): Feeding characteristics and predation impact of *Chaoborus* (Diptera, Chaoboridae) larvae in a small lake. *Limnol. Oceanogr.*, 20, 250-258.
- Gilbert, J.J. and R.S. Stemberger (1985): Control of *Keratella* populations by interference competition from *Daphnia*. *Limnol. Oceanogr.*, 30, 180-188.
- Gliwicz, Z.M. (1977): Food size selection and seasonal succession of filter feeding zooplankton in an eutrophic lake. *Ekol. Pol.*, 25, 179-225.
- Gliwicz, Z.M. and E. Siedlar (1980): Food size limitation and algae interfering with food collection in *Daphnia*. *Arch. hydrobiol.*, 88, 155-177.
- Hall, D.J. (1964): An experimental approach to the dynamics of a natural population of *Daphnia galeata mendotae*. *Ecology*, 45, 94-112.
- 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, 185-191.
- Haney, J.F. and D.J. Hall (1973): Sugar-coated *Daphnia*: a preservation technique for Cladocera. *Limnol. Oceanogr.*, 18, 331-333.
- Hughes, D.N., M.G. Boyer, M.H. Papst and C.D. Fowle (1980): Persistence of three organophosphorus insecticides in artificial ponds and some biological implications. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 9, 269-279.
- Hurlbert, S.H., M.S. Mulla and H.R. Willson (1972): Effects of an organophosphorus insecticide on the phytoplankton, zooplankton, and insect populations of freshwater ponds. *Ecol. Monogr.*, 42, 269-299.
- Kajak, Z. and J. Rybak (1979): The feeding of *Chaoborus flavicans* Meigen (Diptera, Chaoboridae) and its predation on lake zooplankton. *Int. Revue ges. Hydrobiol.*, 64, 361-378.
- Kawshik, N.K., G.L. Stephenson, K.R. Solomon and K.E. Day (1985): Impact of permethrin on zooplankton communities in limnocorals. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 42, 77-85.
- Kwik, J.K. and J.C.H. Carter (1975): Population dynamics of limnetic Cladocera in a beaver pond. *J. Fish. Res. Board Can.*, 32, 341-346.
- Lay, J.P., W. Schauerte and W. Klein (1984a): Effects of trichloroethylene on the population dynamics of phyto- and zooplankton in compartments of a natural pond. *Environ. Pollut. Ser. A.*, 33, 75-91.
- Lay, J.P., W. Schauerte, W. Klein and F. Korte (1984b): Influence of tetrachloroethylene on the biota of aquatic systems: toxicity to phyto- and zooplankton species in compartments of a natural pond. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 13,

135-142.

- Lewis, W.M. Jr. (1977): Feeding selectivity of a tropical Chaoborus population. *Freshwat. Biol.*, 7, 311-325.
- Maly, M. and E. Ruber (1983): Effects of pesticides on pure and mixed species cultures of salt marsh pool algae. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 30, 464-472.
- Neill, W.E. (1984): Regulation of rotifer densities by crustacean zooplankton in an oligotrophic montane lake in British Columbia. *Oecologia*, 61, 175-181.
- Paloheimo, J.E. (1974): Calculation of instantaneous birth rate. *Limnol. Oceanogr.*, 19, 692-694.
- Papst, M.H. and M.G. Boyer (1980): Effects of two organophosphorus insecticides on the chlorophyll a and pheopigment concentrations of standing ponds. *Hydrobiologia*, 69, 245-250.
- Schoenberg, A.A. and R.E. Carlson (1984): Direct and indirect effects of zooplankton grazing on phytoplankton in a hypereutrophic lake. *Oikos*, 42, 291-302.
- UNESCO (1966): Determination of photosynthetic pigments in seawater. UNESCO, Paris.
- Woodward, D.F. and W.L. Mauck (1980): Toxicity of five forest insecticides to cutthroat trout and two species of aquatic invertebrates. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 25, 846-853.
- 安野正之・花里孝幸・宮下 衛 (1986): 隔離水界によるクロルニトロフェン及びテメフオ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.
- Yasuno, M., T. Hanazato, T. Iwakuma, K. Takamura, R. Ueno and N. Takamura (1988): Effects of permethrin on phytoplankton and zooplankton in an enclosure ecosystem in a pond. *Hydrobiologia*, (in press).

屋外水槽に形成された動物プランクトン群集に対する  
カーバメイト系殺虫剤、カルバリル、の影響  
2. 冬期における実験

花里孝幸<sup>1</sup>・安野正之<sup>1</sup>

**Effects of a Carbamate Insecticide, Carbaryl,  
on the Zooplankton Communities in Ponds**

**2. Experiment in the Cold Season**

Takayuki HANAZATO<sup>1</sup> and Masayuki YASUNO<sup>1</sup>

Abstract

To study the effects of a carbamate insecticide, carbaryl (1-naphthyl-N-methyl-carbamate), on the zooplankton communities, experiments were carried out in two concrete ponds from October 1985 to April 1986. The water temperature, which was 15°C at the start of the experiment, declined to 4°C in December. It remained to be as low as 4°C till early March and began to rise. The chemical was applied at a dose of 1ppm to one of the ponds after a month of the pre-treatment period, when the water temperature was 10°C. In this treated pond, all the zooplankters were killed by the chemical. Several days after the treatment, nauplii of *Cyclops vicinus* reappeared and increased gradually. However, the populations of Cladocera and rotifera never recovered until April, when the water temperature exceeded 10°C. In another pond served as a control, Cladocera and rotifera built up a large population in November, and kept it until early February. Thereafter, they decreased but never disappeared. The recovery of the cladoceran and rotiferan population in the control pond was observed in March, which was apparently earlier than in the treated pond. The earlier recovery in the control pond might be ascribed to the existence of the surviving individuals through the winter, which may reproduce more efficiently. While, in the treated pond, the population might restarted from the ephippium lying in the bottom mud. The hatch of the ephippium probably required higher temperature than the reproduction of the surviving individuals.

---

1. 国立公害研究所 生物環境部 〒305 茨城県つくば市小野川16番2  
Environmental Biology Division, the National Institute for Environmental Studies,  
16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.



## 要 旨

冬期におけるカーバメイト系殺虫剤、カルバリル、の動物プランクトン群集に対する影響を調べるため、1985年10月から1986年4月まで2基のコンクリート水槽を用いて実験を行った。水温は実験開始時に15℃あったのが徐々に低下し、12月には4℃になった。この低い水温は3月初旬まで続いた後上昇し始めた。実験開始後1か月目の水温が10℃になったときに、一つの水槽に薬剤を1ppmになるように投与した。この水槽ではすべての動物プランクトンが死滅し、数日後 *Cyclops vicinus* のノープリウス幼生が現れ徐々に個体数を増した。しかし、枝角類とワムシ類の回復は非常に遅れ、水温が10℃を越えた4月になって初めて増殖し始めた。対照としたもう一方の水槽では、枝角類とワムシ類が11月に増え、高い密度を2月初旬まで維持した後減少したが、決して消滅はしなかった。その個体群の回復は3月に始まり、これは処理区より明らかに早かった。対照区の早い回復は冬の間生き残った個体からの産仔によると考えられる。処理区での回復は底泥中に存在した耐久卵のふ化によって始まったものと思われるが、耐久卵がふ化するには冬の間生き残った個体が産仔を始めるよりも高い水温を必要としたことが推測される。

### 1 はじめに

これまで水界の動物プランクトン群集に対する殺虫剤や除草剤の影響について少ないながら調べられてきた (Hurlbertら, 1972; Hughesら, 1980; Layら, 1984a, b; 安野ら, 1986; Yasunoら, 1988)。そこでは薬剤の種類や濃度を変え、薬剤投与の直接影響とその後のプランクトン群集の回復過程を観察した。花里・安野(1988)は屋外に設置されたコンクリート水槽を用い、そこに形成された夏の動物プランクトン群集に対するカーバメイト系殺虫剤、カルバリル(1-ナフチル-N-メチルカーバメイト)の影響を調べた。ここでは動物プランクトン群集の回復過程でそれまでの報告とは大きく異なる結果を得、それには実験時の高い水温が一因していたものと推察した。すなわち、水温が異なると薬剤投与後の動物プランクトン群集の回復過程が異なるものと思われる。そこで本実験では、薬剤投与後の動物プランクトン群集の回復過程に対する温度の影響を評価するために、前実験時と温度の異なる秋から冬にかけて、屋外のコンクリート水槽に形成された動物プランクトン群集にカルバリルを投与し、その影響を調べた。

### 2 方 法

実験では二つのコンクリート水槽(4.1m×5.1m×1.5m)を用いた。実験を始める前に、それまでの実験の影響を避けるためにポリエチレンフィルムで水槽を裏打ちした。1985年10月18日、水槽内にプランクトン群集を形成させるために、霞ヶ浦の底泥80kgを各々の水槽に投入し地下水を注入して水深1.3mの池を作った。一つの水槽(Pond A)を対照とし、もう一方の水槽(Pond B)に11月18日(実験を開始してから31日目)にカルバリルを $1\text{ mg l}^{-1}$ (1ppm)となるように投与した。実験は1986年4月28日(実験開始後192日目)まで続けた。

クロロフィルa量、及び動物プランクトンの採集のために、水槽の水を週1~3回の頻度でア

クリルチューブを用いて採水した。クロロフィルa量はUNESCO/SCOR法(UNESCO, 1966)に従って測定した。動物プランクトンは採水した水槽の水をプランクトンネット(メッシュサイズ40 $\mu\text{m}$ )でこして集め、シュガーホルマリンで固定後計数した。動物プランクトンのサンプルは一回に4本採り、計数後、平均値と95%信頼限界を算出した。サンプリング時には環境要因(水温、溶存酸素、pH)も測定した。

### 3 結果

実験開始時、水温はおおよそ15°Cであったが、25日目頃に下がり始め、63日目には4°Cにまで低下した(図1)。おおよそ4°Cの水温は122日目まで維持され、その後徐々に上昇し、実験終了時には18°Cにまで達した。クロロフィルa量はどちらの水槽も実験開始後5日目から急速に上昇し、10日目には77 $\text{mg l}^{-1}$ に達した(図1)。この頃後述するようにワムシ類が急速に増殖し、それに伴いクロロフィルa量は激減した。その後対照区では実験終了時までおおよそ5 $\text{mg l}^{-1}$ に維持されたが、処理区では薬剤投与後16 $\text{mg l}^{-1}$ にまでクロロフィルa量が増え、その後漸減して55日目頃には対照区とほとんど差がなくなった。溶存酸素とpHは、実験開始後クロロフィルa量の急上昇とともに上昇し、溶存酸素は15~16 ppmに、pHはおおよそ9.5に達した(図1)。その後徐

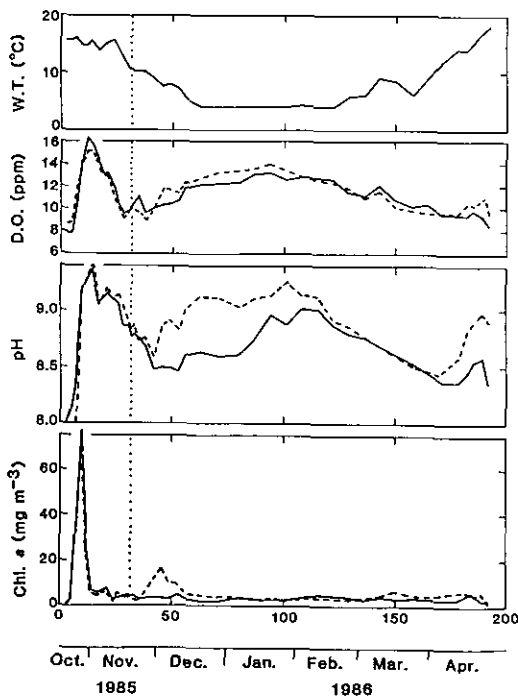


図1 コンクリート水槽における水温(W. T.), 溶存酸素(D. O.), pH, クロロフィルa量の変化  
実線は対照区(Pond A)を、破線は処理区(Pond B)を示し、縦の点線は薬剤を投与した日を示す。

々に低下し、40日目頃から実験終了時まで溶存酸素はおよそ9~14ppm, pHは8.5~9の間で変化した。処理区において、薬剤投与後のクロロフィルa量の増加に伴って、40日目頃に溶存酸素とpHが対照区よりも高くなった。対照区よりも処理区で溶存酸素とpHが高いという傾向は110日目頃まで続いた。

枝角類動物プランクトンの変動を図2, 3に示す。枝角類では *Daphnia ambigua*, *Bosmina*

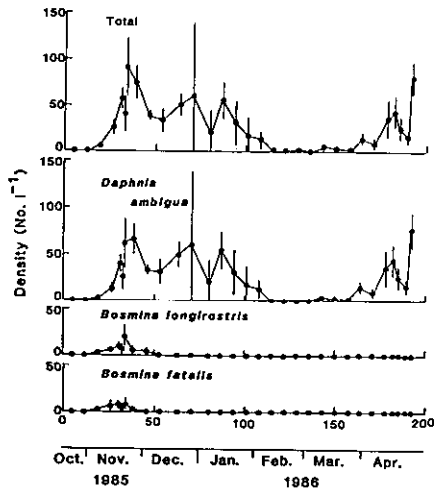


図2 Pond Aにおける枝角類の変動  
縦線は95%信頼限界を示す。

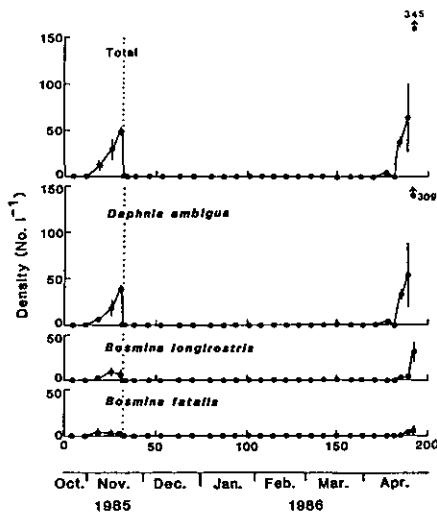


図3 Pond Bにおける枝角類の変動  
縦の実線は95%信頼限界を、点線は薬剤投与日を示す。

*longirostris*, *Bosmina fatalis* が出現した。対照区では *Bosmina* はどちらの種も33日目に密度が最大となったが、その値は  $20 \text{ inds } l^{-1}$  以下と低かった(図2)。最も優占したのは *Daphnia ambigua* で、31日目に  $62 \text{ inds } l^{-1}$  の現存量のピークを示し、その後100日目まで  $20 \sim 50 \text{ inds } l^{-1}$  の密度を維持した。2月の中旬から3月の初旬(115日目~136日目)に現存量は極めて低くなり、 $1 \text{ inds } l^{-1}$  以下という密度が続いた。3月中旬からわずかずつ密度は増していき、4月になって急に増加して実験終了時には  $76 \text{ inds } l^{-1}$  にまで回復した。一方、処理区では *Daphnia* の密度が  $40 \text{ inds } l^{-1}$  に達したときにカルバリルが投与され、投与後枝角類は全て死滅した(図3)。その後160日目を過ぎた3月末まで全く回復が見られなかった。4月中旬になって急速に個体群が回復し、実験終了時には *Daphnia* が  $300 \text{ inds } l^{-1}$  以上、*B. longirostris* が  $30 \text{ inds } l^{-1}$  を越える密度に達した。

ワムシ類はどちらの水槽でも始めに *Brachionus calyciflorus* が出現し、その後 *Polyarthra* sp., *Brachionus angularis*, *Keratella quadrata* が増加した(図4, 5)。対照区では *Polyarthra* がおよそ  $700 \text{ inds } l^{-1}$  にまで密度を増やして優占したが、2月下旬には減少し、優占種はおよそ  $50 \text{ inds } l^{-1}$  の密度を維持した *Keratella cochlearis* へと移った。そして3月下旬から *Conochilus*, *Synchaeta*, *Polyarthra* が増加して、ワムシ類全体の密度も約  $1000 \text{ inds } l^{-1}$  にまで回復した(図4)。処理区では薬剤投与後すべてのワムシ類が減少し、1週間以内にほとんど姿が見られなくなった。ワムシ類の回復は3月下旬になってようやく見られ、*Polyarthra*

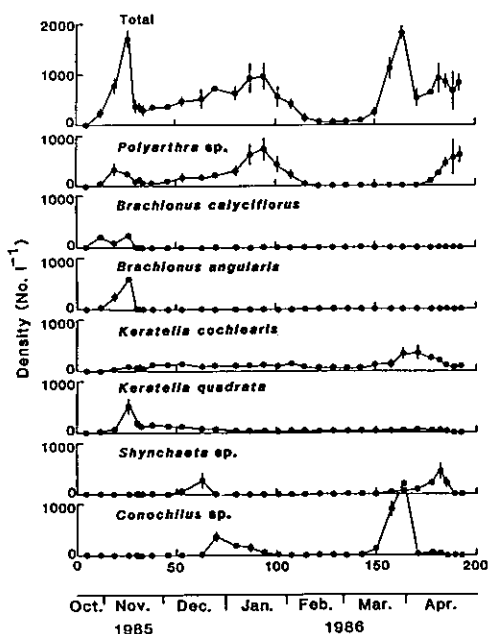


図4 Pond Aにおけるワムシ類の変動  
縦線は95%信頼限界を示す。

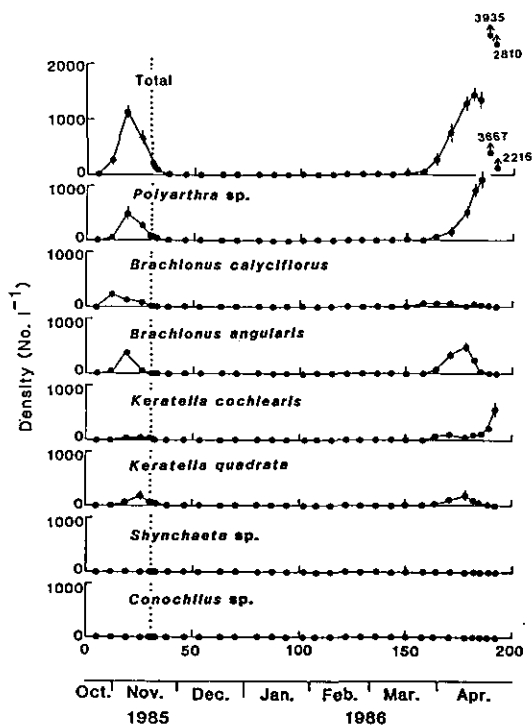


図5 Pond Bにおけるワムシ類の変動  
縦の実線は95%信頼限界を、点線は薬剤投与日を示す。

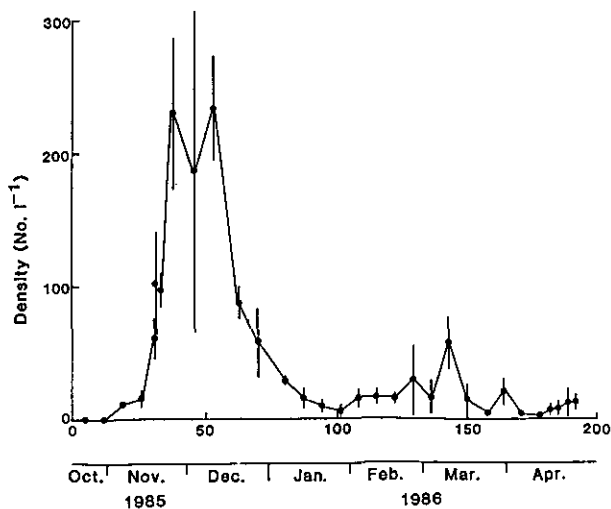


図6 Pond Aにおけるかいあし類の変動  
縦線は95%信頼限界を示す。

が著しく増加した (図 5)。

かいあし類はほとんどが *Cyclops vicinus* のノープリウス幼生で、対照区では 50日目頃におよそ 200 inds  $l^{-1}$  の現存量のピークを示し、その後実験終了時まで 20 inds  $l^{-1}$  の密度を保った (図 6)。処理区では薬剤投与によって消滅したがすぐに回復が見られ、徐々に個体数を増して実験終了時には 100 inds  $l^{-1}$  を越えた (図 7)。

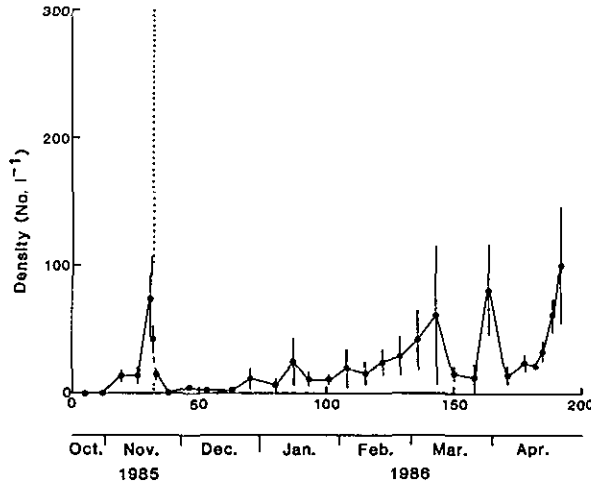


図 7 Pond B におけるかいあし類の変動  
縦の実線は95%信頼限界を、点線は薬剤投与日を示す。

#### 4 考 察

水槽に投与された 1 ppm のカルバリルは枝角類、ワムシ類、かいあし類のすべての動物プランクトンを死滅させた。この結果は1985年夏に行われた実験の結果 (花里・安野, 1988) と一致する。しかしながら、夏の実験では薬剤投与後すぐに枝角類とワムシ類の回復が見られたが、本実験では枝角類とワムシ類の回復は薬剤投与後 100日以上も過ぎた春になるまで全く見られなかった。水槽内のカルバリルの残留濃度は測らなかったが、薬剤投与後 1 か月目に枝角類の *Moina micrura* を用いて水槽内の水の毒性試験を行った結果、水中における毒性は全く検出できなかった。したがって、薬剤投与後の回復の遅れはカルバリルが水中に長く残留したためとは考えられない。また水中にはフサカ幼虫がいたが、水温が低く、動物プランクトンに対するフサカの捕食圧は非常に小さかったものと思われる。薬剤によっていったん消滅した動物プランクトン個体群の回復は、耐久卵から新たにふ化した個体の増殖から始まる。実験開始時に約 15°C あった水温は薬剤投与時には 10°C に下がり、その後も 12月下旬に 4°C になるまで徐々に低下した。この低い水温が耐久卵のふ化を抑制し、水温が 10°C を越えた 3月下旬から 4月まで回復を遅らせたものと思われる。このことは、耐久卵はおよそ 10°C 以下の水温ではふ化しないこと、そのために水温が 10°C 以下の時に薬剤投与により動物プランクトンの個体群が消滅すると、その個体群は水温が

10°Cを越える時まで回復できないということを示している。一方、枝角類やワムシ類とは対照的に、かいあし類の *Cyclops vicinus* のノープリウス幼生は、薬剤投与によってほとんど姿を消した後再び個体数を増やし始めた。*Cyclops vicinus* は霞ヶ浦において毎年冬に優占する (Hanazato & Yasuno, 1988)。この種は低い水温に適応しているものと思われる。

2月になると対照区 (Pond A) でも枝角類とワムシ類の個体群密度が著しく低くなった。この頃は水温が最低の4°Cになって50日程たったときで、低い水温が長く続くと増殖が抑制され、個体数が減少してくるものと思われる。しかし、完全には個体群が消滅することはなく、ワムシ類は3月中旬、枝角類も3月下旬には回復し始め、この回復時期は処理区 (Pond B) のそれ (3月下旬から4月中旬) よりも早かった。対照区における回復は、生き残った個体からの増殖によるものと思われ、これが耐久卵からのふ化によった処理区よりも回復時期が早かった理由と思われる。

対照区におけるかいあし類は、150日目頃に現存量のピークを示した後、枝角類やワムシ類が減少した2月よりも早く12月には減少し、その後は比較的低い密度を保った。また、処理区では3月や4月に個体数の増加が見られたが、対照区では見られなかった。かいあし類で優占していたのは *Cyclops vicinus* で、この種は前述のように低い水温に適応していると思われるため、この変動は水温の変化では説明できない。対照区では2月頃の一時期を除いて処理区よりも枝角類やワムシ類の現存量が高く、かいあし類の現存量の大半を占めたノープリウス幼生が枝角類やワムシ類と競争関係にあり、その競争者により個体数を抑制されていたものと推察される。

#### 引用文献

- 花里孝幸・安野正之 (1988): 屋外水槽に形成された動物プランクトン群集に対するカーバメイト系殺虫剤, カルバリル, の影響. 1. 夏期における実験. 国立公害研究所研究報告, 第114号, 39-48.
- Hanazato, T. and M. Yasuno (1988): Impact of predation of *Neomysis intermedia* on a zooplankton community in Lake Kasumigaura. Verh. Internat. Ver. Limnol., (in press).
- Hughes, D.H., M.G. Boyer, M.H. Papst and C.D. Fowle (1980): Persistence of three organophosphorus insecticides in artificial ponds and some biological implications. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 9, 269-279.
- Hurlbert, S.H., M.S. Mulla and H.R. Willson (1972): Effects of an organophosphorus insecticide on the phytoplankton, zooplankton, and insect populations of freshwater ponds. Ecol. Monogr., 42, 269-299.
- Lay, J.P., W. Schauerte and W. Klein (1984a): Effects of trichloroethylene on the population dynamics of phyto- and zooplankton in compartments of a natural pond. Environ. Pollut. Ser. A, 33, 75-91.
- Lay, J.P., W. Schauerte, W. Klein and F. Korte (1984b): Influence of tetrachloro-

ethylene on the biota of aquatic systems: toxicity to phyto- and zooplankton species in compartments of a natural pond. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 13, 135-142.

UNESCO (1966): Determination of photosynthetic pigments in seawater. UNESCO, Paris.

安野正之・花里孝幸・宮下 衛 (1986): 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. 国立公害研究所研究報告, 第99号, 107-118.

Yasuno, M., T. Hanazato, T. Iwakuma, K. Takamura, R. Ueno and N. Takamura (1988): Effects of permethrin on phytoplankton and zooplankton in an enclosure ecosystem in a pond. Hydrobiologia, (in press).



ワムシ (*Brachionus urceolaris*), ミジンコ (*Moina macrocopa*)  
及びユスリカ (*Polypedilum nubifer*) の増殖に及ぼす  
水中及び食物中の除草剤の影響

畠山成久<sup>1</sup>

Effects of Herbicides on Reproduction of  
*Brachionus urceolaris* (Rotatoria), *Moina macrocopa* (Cladocera),  
and *Polypedilum nubifer* (Chironomidae)

Shigehisa HATAKEYAMA<sup>1</sup>

Abstract

Effects of herbicides, Chlornitrofen (CNP), Thiobencarb, Oxadiazon, Simetryne, and Butachlor, on the reproduction of *Brachionus urceolaris* (Rotatoria), *Moina macrocopa* (Cladocera) were investigated. The 50% reproductive impairment concentrations (RIC<sub>50</sub>) of CNP, Thiobencarb, and Oxadiazon to *B. urceolaris* were 0.056, 0.30, and 0.79 ppm, respectively. While, the RIC<sub>50</sub> values of CNP, Oxadiazon and Thiobencarb to *M. macrocopa* were 0.067, 0.17 and 1.9 ppm, respectively. The effects of Simetryne and Butachlor on the reproduction of both species were comparatively low.

In the preliminary test using the five kinds of herbicides, only CNP showed the effects on the reproduction of *M. macrocopa* through food (*Chlorella* sp.). The values of RIC<sub>50</sub> of CNP in the food to *B. urceolaris* and *M. macrocopa* were ca. 160 and 1000  $\mu\text{g g}^{-1}$  (wet wt.), respectively.

Effects of CNP on the reproduction of *Polypedilum nubifer* (Chironomidae) were examined in flowthrough aquaria from the egg stage. No significant effects of CNP on the reproduction were observed at 30 and 60 ppb, though it delayed the emergence. However, the emergence rate, oviposition rate, and hatchability of produced eggs decreased to 20, 52, 43% of the control at 90 ppb, respectively. When the midge larvae had been fed the CNP-contaminated food (550  $\mu\text{g g}^{-1}$  wet wt.) these values decreased to 39, 31, and 27% of the control, respectively.

要 旨

ワムシ (*Brachionus urceolaris*) とミジンコ (*Moina macrocopa*) の増殖等に及ぼす5種の除草剤; CNP (Chlornitrophen), Thiobencarb, Oxadiazon, Simetryn, Butachlor の影響を室内実験により検討した。ワムシの増殖に対しては, CNP,

1. 国立公害研究所 生物研究所 〒305 茨城県つくば市小野川16番2  
Environmental Biology Division, the National Institute for Environmental Studies,  
16-2 Onogawa, Ibaraki 305, Japan.

Thiobencarb, Oxadiazon, Simetryn の順で影響が強く、産仔数を対照の半数に減少させる濃度はそれぞれ 0.056, 0.30, 0.79, 1.78 ppm と計算された。一方、ミジンコの産仔に及ぼす影響は CNP, Oxadiazon, Thiobencarb の順で強くその数を対照の半数に減少させる濃度はおよそ 0.066, 0.17, 1.9 ppm であった。他の除草剤の影響は両種に対して低かった。食物(クロレラ)中の除草剤の影響は実験条件下では CNP においてのみ見られ、ワムシ、ミジンコの産仔数を対照の 50% に減少させる餌中の CNP 濃度はおよそ 160 と 1000  $\mu\text{g g}^{-1}$  (wet wt.) であった。

ユスリカ(*Polypedilum nubifer*) のふ化から羽化、産卵に至るまでに及ぼす CNP の影響を流水式水槽により調べた。60ppb では羽化が対照よりも数日遅れたが羽化率、産卵率等に明らかな影響は認められなかった。90ppb では羽化率、産卵率、授精率が対照のおよそ 20, 52, 43% にそれぞれ減少した。ユスリカの餌(乾燥酵母と Tetramin-L) に CNP を含有させ餌を介した影響を検討した。餌中の CNP 濃度が 150  $\mu\text{g g}^{-1}$  (wet wt.) では羽化率、産卵率等への影響はわずかであったが、550  $\mu\text{g g}^{-1}$  では羽化時期の遅れの外に羽化率、産卵率、授精率が対照のそれぞれ 39, 31, 27% に減少した。

## 1 はじめに

各種の除草剤が春から夏にかけ大量に使用され、その一部は田畑周辺の河川や湖沼に流入する。除草剤が水生生物に及ぼす影響に関しては、魚類については急性毒性試験のみならずその生物濃縮や生体影響など比較的多くの試験研究がなされてきている (Kanazawa & Tomizawa, 1978; Callら, 1983; Berry, 1984; 畠山, 1986 b)。しかし、除草剤が動物プランクトンや底生生物に及ぼす慢性影響を調べた報告は極めて少ない。今回の報告は除草剤が動物プランクトンとしてワムシ及びミジンコ、底生生物としてはユスリカの繁殖(産仔、産卵等)に及ぼす影響を室内実験で調べた結果である。ワムシとミジンコは動物プランクトン群集の主要な構成要員を成し、魚や大型甲殻類などのふ化直後からその後の生長段階における餌として極めて重要な生物である。またワムシとミジンコの相互関係は食性は類似しているが、後者が餌の取り合いなどで優位にあり、前者の密度に影響を及ぼしている。そのため除草剤の生態影響を予測・評価するためにも両者の個々の薬剤に対する感受性の違いを明らかにしておく必要がある。

ユスリカに関しては、近年その水界生態系での機能のみならず汚染され水環境の指標生物としても種々取り上げられている。しかし、急性毒性試験は別として(佐藤・安野, 1979)、ユスリカに対して卵の段階から羽化、産卵等に及ぼす除草剤の影響を調べた試験は見られない。本報告では、除草剤の生態系における影響を総合的に検討するため水中に溶存する薬剤の影響のみならず、食物に含まれた薬剤により受ける影響もモデル実験により検討した。除草剤は近年国内では比較的多く使用されてきた、または現在使用されている 5 種類を用いて試験を行った。

## 2 方法

### 2.1 実験材料

ワムシ (*Brachionus urceolaris*) とミジンコ (*Moina macrocopa*)；飼育水として水道水（上水）を脱塩素した水（以下、飼育水）を用いた。餌としてクロレラ (*Chlorella* sp.) を培養し、培養液を遠心操作（5000 rpm, 20 min 3回）により人工軟水に置換し、かつクロレラを濃縮（約 $10^9$  cells  $ml^{-1}$ ）したものを冷蔵庫に保存して用いた。ワムシ、ミジンコを恒温室（ $23 \pm 1$  °C）内で継代飼育し、随時実験に用いた。ユスリカ (*Polypedilum nubifer*) を乾燥酵母 (Ebios) を主要な餌として継代飼育し、その卵塊を実験に使用した。

### 2.2 試験方法

#### 2.2.1 ワムシ、ミジンコの増殖に及ぼす水中の除草剤の影響

5種の除草剤 Chlornitrophen (CNP), Oxadiazon, Thiobencarb, Simetryne, Butachlor がワムシ (*B. urceolaris*) 及びミジンコ (*M. macrocopa*) の増殖に及ぼす影響を以下の方法で調べた。

**ワムシ；** 生長が進み尾端に卵を2個付着した段階のワムシを1個体ずつシャーレ（φ, 32 mm）に入れた。シャーレには4 ml の飼育水と一定量（初期濃度、約 $1 \times 10^7$  cells  $ml^{-1}$ ）のクロレラを餌として添加し、 $23 \pm 1$  °Cの恒温室に配置した。予備試験の結果から試験濃度は CNP; 0.025 ~ 0.2 ppm, Oxadiazon, Simetryn, Butachlor; 0.25 ~ 2 ppm, Thiobencarb; 0.125 ~ 1 ppm の範囲で各々5濃度を用いた。各濃度はそれぞれの薬剤の純品をエタノールに溶かして原液（4000 ~ 10000 ppm）としたものから調整した。暴露開始 2, 3, 4, 6日後に新たな試験水と餌（クロレラ）が入ったシャーレに増殖したワムシを極細のガラス管で移しながら計数した。1濃度当たり、4個の繰り返しで試験を行った。実験は暴露開始後6日間で終了とした。

**ミジンコ；** 上記の除草剤がタマミジンコの産仔に及ぼす影響を以下の方法で調べた。試験水はワムシと共通のものを使用した。200 ml のガラスビーカーに試験水を入れた後、生後  $36 \pm 12$  h のミジンコを5個体ずつ入れた。暴露2日後から毎日、新たな試験水を入れたビーカーにこれらのミジンコを駒込ピペットで移した。古いビーカーに残ったミジンコの仔供を数え除草剤がミジンコの増殖に及ぼす影響を評価した。産仔は暴露3日後から始まり、その後すべての個体が死亡するまで（14日間）試験を続けた。

5種の除草剤の中で、CNPの影響が最も強かったため、以下の方法でワムシ、ミジンコ共単独で1世代暴露し、増殖に及ぼす影響を比較した。

**ワムシ；** シャーレ（φ, 27 mm）に幼若ワムシ（生後、6時間以内）1個体を入れ、2日ごとに新たな試験水（CNP, 餌は上記と同様）を入れたシャーレにワムシを移した。観察は毎日行い、仔数（1 ~ 5）を数えた後除去した。暴露濃度は 10, 20, 40, 70, 100 ppb で、1濃度当たり10個体を用いた。実験はすべての個体が死亡するまで（20日間）継続した。

ミジンコ； 100 ml ビーカーに生後 24時間以内のミジンコを1個体ずつ入れ、ワムシと同一の濃度で、1濃度当たり12個体で試験を行った。

### 2. 2. 2 ワムシ、ミジンコの増殖に及ぼす餌中の除草剤の影響

除草剤が食物連鎖によりミジンコの産仔に及ぼす影響を予備的に検討するため、クロレラ（約  $10^9 \times \text{cells ml}^{-1}$ ）を 2 ppm（400 ml）の5種類（上記）の除草剤でそれぞれ 20 h 処理し、その後遠心操作（6000 rpm, 20 min 3回）により細胞外の除草剤を洗浄し餌とした。生後 24 h 以内のミジンコを個別に 100 ml のビーカーに入れ、除草剤処理クロレラで 10日間飼育しその間の産仔数を調べた。薬剤当たり 5個体のミジンコを使用した。5種の除草剤の中で CNP の毒性のみが高かったため、以下の方法で餌中の CNP がワムシ、ミジンコに対する影響を更に検討した。

人工軟水に溶かしたクロレラ（380 mg wet wt./2 L）をそれぞれ 0.2, 0.5, 1, 1.5, 2 ppm の CNP に 24 h 暴露した。このようなクロレラを遠心操作（6000 rpm, 20 min）により人工軟水で3回洗浄して濃縮（約  $1 \times 10^9 \text{ cells ml}^{-1}$ ）後、冷蔵庫に保存し実験に供した。クロレラのカNP濃度は処理濃度に従って増加した（図3）。

ワムシ； 飼育水（4 ml）の入ったシャーレ（φ, 27 mm）に卵を1～3個抱えたワムシを入れ、それらの卵からふ化した1個体の幼若ワムシを用いて実験を行った。1濃度当たり5個体を用い、実験7日間後の増殖数からその影響を評価した。観察は毎日行い、親から遊離した仔を除去し数を記した。飼育水と CNP 処理クロレラは1日おきに新たなものに交換した。

ミジンコ； 飼育水 20 ml の入ったガラスビーカーに生後  $12 \pm 12$  h のタマミジンコを1個体ずつ入れ、上記とほぼ同様にして CNP 処理クロレラがミジンコの産仔に及ぼす影響を調べた。

### 2. 2. 3 ユスリカ (*P. nubifer*) の羽化、産卵に及ぼす水中及び餌中の CNP の影響

水中の CNP の影響； *P. nubifer* (Sasa & Sublette, 1980) の卵（卵塊）の段階から、CNP に暴露し羽化、産卵等に及ぼす影響を検討した。流水式試験水槽（ $27 \times 46 \times 11 \text{ cm}^3$ ,  $230 \text{ ml min}^{-1}$ ）に産卵用のケージを設置し所定の濃度の CNP で調整した地下水（ $22 \pm 1^\circ\text{C}$ ）を掛け流した。CNP濃度は予備試験の結果から 30, 60, 90 ppb とし、1濃度当たり2水槽で試験を行った。1水槽に産卵後 24 h 以内の卵塊を2個（1卵塊の卵数：500個前後）ずつ入れ、餌として 0.8g の乾燥酵母 (Ebios) と 0.08g のテトラミン (Tetra Min L) を用い、底質としてガラスビーズ（φ：約 200 micron）を約 0.5cm の厚さで入れた。実験7日後からは 18日後までは1日おきに同量の餌を与えた。通常、対照では最初の羽化が実験 15日後から始まりその後およそ 20日間続いた。その間、毎日さなぎの脱皮殻を採集し実顕微鏡で尾端の構造を観察して雌雄を区別し、雌雄の羽化数として記録した。卵塊も毎日採取し、翌日の発生の有無からその授精率を得た。

ユスリカの餌 (Ebios; 2g, Tetra Min 0.2g) をそれぞれ 1, 3, 10 ppm の CNP (人工軟水、

400 ml) で 24 h 処理し CNP を含有させた。これらを遠心操作 (5000 rpm, 20 min) により、地下水で 3 回洗浄し、これを餌としてユスリカの羽化、産卵に及ぼす餌を通した CNP の影響を検討した。餌以外の実験条件は上記の方法と同一である。

### 3 結果

#### 3.1 ワムシ (*B. urceolaris*), ミジンコ (*M. macrocopa*) の増殖に及ぼす水中の除草剤の影響

ワムシ； 対照では 1 個体の 幼若ワムシ (未産, 暴露開始時 2 個抱卵) が 6 日後には 170 ± 74 (n=4) 個体まで増殖した。5 種の除草剤に暴露した場合の増殖数を表 1 に示した。ワムシの増殖に対する影響は CNP, Thiobencarb, Oxadiazon の順に強く Simetryne の影響は比較的なかった。Butachlor は最も影響が少なく 2 ppm まで濃度に従った影響は認められず、3 ppm で増殖の減少が見られた。濃度に対する増殖数の減少の回帰式から増殖数が対照の値の 50% を示す濃度は CNP, Thiobencarb, Oxadiazon, Simetryne でそれぞれ 0.056, 0.79, 0.30, 1.78 ppm と計算された。CNP 0.2 ppm では暴露 2 日後でも生長や卵の形成が全く認められず、半数は瀕死状態を示した。しかし、これらを浄水に戻した後は回復に向かい実験 6 日後にはわずかながら増殖した。

ミジンコ； 対照では 5 個体のミジンコの総産仔数は 290 となり、1 個体の平均産仔数は 58 個体となった。図 1 は、それぞれの除草剤に暴露した場合の平均産仔数を示すが、CNP, Oxadi-

表 1 ワムシ (*Brachionus urceolaris*) の増殖に及ぼす除草剤の影響

Concs. (ppm)	CNP	Oxadiazon	Thiobencarb	Simethorin	Butachlor
Control	170 ± 72				
0.025	98 ± 47**				
0.05	44 ± 14**				
0.10	52 ± 23**				
0.125			86 ± 31		
0.15	8 ± 5**				
0.20	(7 ± 6)**				
0.25		147 ± 54	73 ± 2**	155 ± 72	116 ± 18
0.50		95 ± 15	36 ± 26**	159 ± 85	240 ± 47
0.75			20 ± 14**		
1.0		37 ± 11**	12 ± 7**	121 ± 19	139 ± 41
1.5		9 ± 5**		92 ± 16	
2.0		9 ± 6**		78 ± 60	190 ± 71
3.0					93 ± 33

Mean ± S. D., (n=4), \*, p < 0.05 \*\*\*, p < 0.01 (ANOVA)

azon の順でその影響は強かった。Thiobencarb の影響は比較的弱く、Simetryne と Butachlor では産仔数に及ぼす影響は 2 ppm 又は 3 ppm まで認められなかった。産仔数を半減させる濃度は CNP, Oxadiazon, Thiobencarb でおよそ 0.066, 0.17, 1.9 ppm であった。

ワムシ、ミジンコをそれぞれ単独で CNP に 1 世代暴露した場合の増殖に及ぼした影響を表 2 に示した。ワムシの生存期間は対照で最大 20 日間を示し、半数個体の生存期間は対照 ~40ppb 処理で 14 日前後とほとんど差がなかったが、70 と 100ppb ではそれぞれ 11, 12 日に短縮した。増殖数に 40ppb までは有意な差は認められなかったが、70ppb から対照の 50% 近くに減少した ( $p < 0.05$ , ANOVA)。増殖数を 50% に減少させる濃度は 94.2ppb と計算された。ミジンコの産仔数は対照で平均 112 個体であったが、10ppb 暴露から約半数に減少した。10, 20ppb 処理区では実験初期 (暴露, ~4 日後) の死亡率が比較的高く、10~40ppb で総産仔数に濃度に従った影響は認められなかった。70, 100ppb では生存期間への影響は少なかったが、大部分の個体は産仔を行わずそれぞれ 2, 1 個体のみが 1 回ずつ産仔した。産仔数を 50% に減少させる濃度は 28.5ppb を示し、これはワムシの場合の約 30% の値であった。

### 3. 2 ワムシ (*B. urceolaris*), ミジンコ (*M. macrocopa*) の増殖に及ぼす餌中の CNP の影響

除草剤で処理したクロレラを餌としたミジンコの平均産仔数を表 3 に示した。対照よりも明らかに産仔数が減少したのは CNP の場合のみであった。この実験ではクロレラ中の除草剤の濃度を測定しなかったが、CNP の場合は下記のデータからおおよそ  $2500 \mu\text{g g}^{-1}$  (wet wt.) 程度と推定される。他の 4 種の除草剤でも同一濃度で処理したので、クロレラ中の濃度は高かったものと考えられる。

CNP に 24 h 暴露したクロレラは CNP の処理濃度 (0.2~2 ppm) に比例しておおよそ  $2800 \mu\text{g g}^{-1}$  (wet wt.) まで増加した (図 2)。このときのクロレラ中の CNP の回収率は 0.2 から 2 ppm まで処理濃度順にそれぞれ 4.5, 7.5, 15.3, 21.6, 22.2% に留まり、一方溶液中のそれは 1% 以下であることから大半の CNP はクロレラ処理の過程で化学構造が変化したものと考えら

表 2 ワムシ (*B. urceolaris*) 及びミジンコ (*M. macrocopa*) の産仔に及ぼす CNP (*Chlornitrophen*) の影響

CNP (ppb)	<i>B. urceolaris</i>	<i>M. macrocopa</i>
Control	24.4 ± 4.5 (8)	112.2 ± 56.7 (12)
10	24.3 ± 3.3 (8)	50.2 ± 50.6** (12)
20	18.2 ± 5.1 (9)	50.4 ± 42.2** (12)
40	19.6 ± 3.0 (9)	56.7 ± 29.1** (12)
70	14.8 ± 5.5** (8)	1.8 ± 4.2** (12)
100	11.9 ± 3.7** (8)	1.2 ± 3.9** (12)
	Mean ± S.D., (n)	** , $p < 0.01$ (ANOVA)

表3 除草剤(2 ppm)で20hr 処理したクロレラ(*Chlorella*)を餌としたミジンコ(*M. macrocopa*)の産仔数

Herbicides	No. of offsprings
Control	50.2 ± 9.5
CNP	12.3 ± 2.2
Oxadiazon	68.0 ± 9.7
Benthiocarb	58.6 ± 21.6
Symetryne	49.6 ± 28.3
Butachlor	54.8 ± 23.7

Mean ± S.D (n=5)

れた。一方、CNP 処理濃度を1 ppm としクロレラを3日間暴露した場合、クロレラの CNP 濃度は3日後まで図3のように増加したが、クロレラは3日後には緑色から黄褐色に変色し死亡または活性の低下をきたした。24 h CNP 処理しクロレラを遠心操作により、細胞外の CNP を洗浄し、人工軟水(2 L)に再浮遊させたクロレラの CNP濃度を破線(図3)で示すが1日後でおよそ25%に減少したがそれ以後は翌日もほぼ同じ濃度を保った。

ワムシ；上記の濃度(図2)で CNP を含有させたクロレラを餌とした場合のワムシの産仔に及ぼす影響を図4に示した。対照ではふ化直後のワムシがふ化後2~3日後から産仔を始め、実験期間中(6日間)に  $11.8 \pm 4.5$  (n=5) 個体の仔供を産出した。一方、CNP 含有クロレラで飼育したワムシの産仔数は、餌の CNP 濃度に従って減少し、図2と図4から産仔数を対照の50%に減少させるクロレラの CNP 濃度はおよそ  $160 \mu\text{g g}^{-1}$  (wet wt.) と見なされた。

1 ppm 以上の CNP で処理したクロレラは図2から  $900 \mu\text{g g}^{-1}$  以上の CNP を含有していたが、これを餌としたワムシは1 ppm 処理クロレラの場合のみやや生長したが卵の発育が抑制され、それ以上の濃度ではほとんど生長せず実験4~6日後に全個体死亡した。

ミジンコ；同様のクロレラを用いてミジンコの産仔に及ぼす影響を調べた結果も図4に示した。クロレラ中の CNP 濃度に従って産仔数が減少したが、1 ppm 処理クロレラでも産仔が有り、1.5 と 2 ppm 処理クロレラでも前者では10個体中7個体、後者では4個体が1回ずつではあるが産仔した。ただし、そのときの産仔数は1~10個と少なく、その体のサイズも小さかった。産仔数を対照の50%に減少させるクロレラ中の CNP濃度は約  $1000 \mu\text{g g}^{-1}$  と計算され、水中に添加した場合は異なりワムシよりも明らかに影響が少なかった。

### 3.3 ユスリカ(*P. nubifer*)の羽化、産卵等に及ぼす CNP の影響

水中の CNP の影響；卵の段階から流水式試験水槽内で CNP に暴露したユスリカの雌雄ごとの羽化数(2水槽の平均)を図5に示した。実験に使用した卵は、暴露開始1~2日後にふ化したが、ふ化率はどの水槽でも98%以上を示しふ化に対する CNP の影響は見られなかった。羽

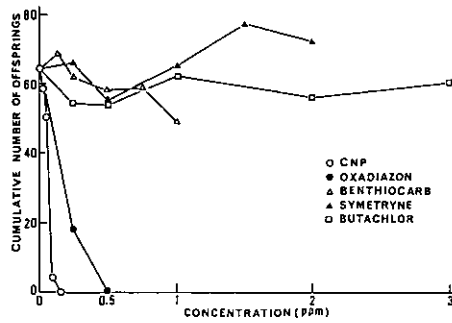


図1 ミジンコ (*Moina macrocopa*) の産仔数に及ぼす除草剤の影響

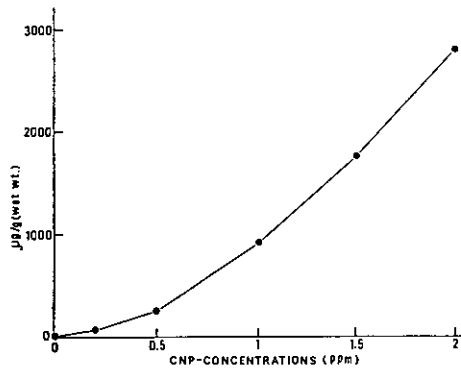


図2 除草剤(CNP, 0.2~2 ppm)で24h 処理したクロレラの CNP の濃度 (µg/g wet wt.)

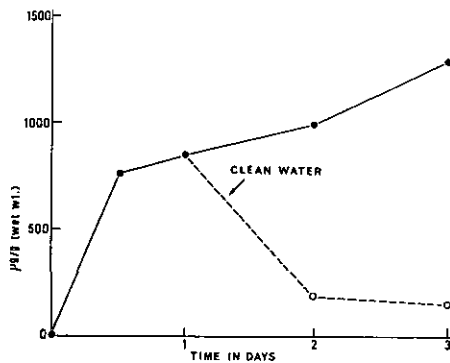


図3 1 ppm の CNP に3日間暴露したクロレラの CNP 濃度, 及び浄水中での CNP 濃度の減少速度



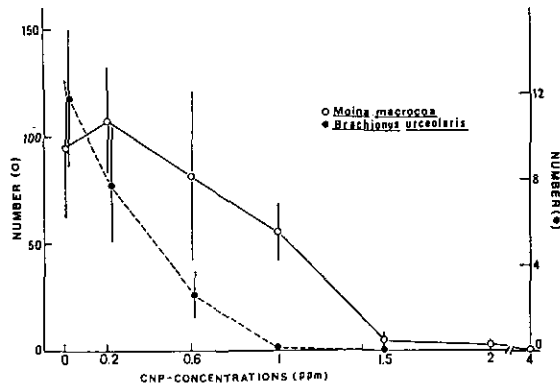


図4 ワムシ (*B. urceolaris*) 及びミジンコ (*M. macrocopa*) の産仔に及ぼす餌(クロレラ)中の CNP の影響  
クロレラ中の CNP 濃度は図2に示す

化は対照では実験後ほぼ 16日から始まった。雄は CNP 処理の有無やその濃度にかかわらず雌よりも約 2日早く羽化が始まり、その後実験 40日目までに羽化は終了した。CNPの処理により、羽化のピーク時が 30, 90 ppb で対照から数日遅れ、羽化数も図5のように減少した。表4に各水槽ごとの総羽化数、総産卵数、産卵された卵の授精率などを示した。実験に用いた水槽ごとの総産卵数 ( $967 \pm 104$ ,  $n=8$  水槽) で総羽化数を除した値を羽化率、雌の成虫の総数で産出された総卵塊数を除した値を産卵率とした。60 ppb までは羽化率、産卵率、授精率に CNP の明らかな阻害効果は認められなかった。しかし、90 ppb では羽化率、産卵率、授精率の平均値が対照の値(平均値)のそれぞれ 19.9, 52.3, 及び 43.1%に減少した。

餌中の CNP の影響; 図6は実験に用いた餌中の CNP 濃度と浄水中での餌からの CNP の減少を示している。餌は CNP に親和性を示し、餌中の CNP 濃度は6時間処理ではほぼ平衡に達した。実験に用いた 24 h 処理した餌の CNP 濃度は対照, 1, 3, 10 ppm でそれぞれ N.D., 60, 150,  $550 \mu\text{g g}^{-1}$  (wet wt.) を示した。CNP 処理した餌を浄水に移した後の CNP 濃度を図6の破線に示すが、濃度の減少はわずかであった。この実験の場合もふ化率には影響が認められなかった。CNP 濃度が 150 と  $550 \mu\text{g g}^{-1}$  の餌により、図5に見られたと同様に羽化のピーク時がそれぞれ約1日と5日遅れた。餌中の CNP 濃度が  $150 \mu\text{g g}^{-1}$  のときは羽化率と産卵率にやや減少の傾向が見られた。餌中の CNP 濃度が  $555 \mu\text{g g}^{-1}$  の場合は更に影響が進み、羽化率、産卵率、授精率が平均値で、それぞれ対照の 39.1% ( $p < 0.05$ , ANOVA), 30.9% ( $p < 0.05$ ) 及び 28.6%に減少した(表5)。

#### 4 考察

モデル生態系(長谷川・安野, 1984)や実験生態系(Hanazato & Yasuno, 1987)及び隔離水

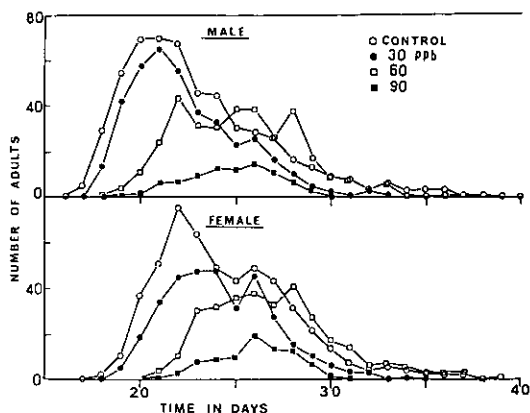


図5 卵の段階から除草剤(CNP)に暴露したユスリカ (*Polypedilum nubifer*) の雌雄ごとの羽化数(2水槽の平均値)  
1水槽(流水式)に2卵塊を入れた

表4 流水式試験水槽の中で卵の段階からCNPに暴露したユスリカ (*P. nubifer*) の羽化率、産卵率、授精率等の減少

水中濃度	a) 羽化数	b) 羽化率	c) 雄	d) 雌	e) 雌雄比	f) 総卵数	g) 産卵率	h) 授精率
対照 - 1	535	0.57	264	271	0.97	109	0.40	0.74
- 2	783	0.74	401	382	1.05	177	0.46	0.49
30 ppb - 1	499	0.50	267	232	1.15	52	0.22	0.69
- 2	412	0.44	215	197	1.09	95	0.48	0.74
60 ppb - 1	267	0.31	147	120	1.23	44	0.37	0.71
- 2	534	0.65	262	272	0.96	109	0.40	0.88
90 ppb - 1	99	0.12	50	49	1.02	11	0.23	0.36
- 2	107	0.14	53	54	0.98	12	0.22	0.17

$$b = a / (\text{使用卵数}); \quad e = c / d; \quad g = f / d \quad (f, \text{長卵塊})$$

界(安野ら, 1986)などの系に殺虫剤や除草剤を作用させた場合, ミジンコなど多くの生物種が減少する中でワムシが反対に増加する現象がしばしば観察されている。ワムシとミジンコは餌を競合し, 後者が前者に対し餌の取り合いなどで優位にあるとされている。したがって, 上記の現象は薬剤の1次的影響によりミジンコの密度が減少し, それまでミジンコにより抑制されていたワムシの密度が増加したためと考えられている。これらの理由から化学物質の生態影響を予測・評価するためにそれぞれの薬剤に対する感受性の種間差が重視されている。今回の報告では, 除草剤は国内で比較的多く使用されてきた5種類に限られたが, ワムシとミジンコでは除草剤の種類によりその感受性に大きな差があることが示された。ある特定の化学物質の生態影響を評価するためには, 少なくともその系を構成するの主要な生物種に対しては, その化学物質の影響の差異を明らかにすることは重要と考えられる。

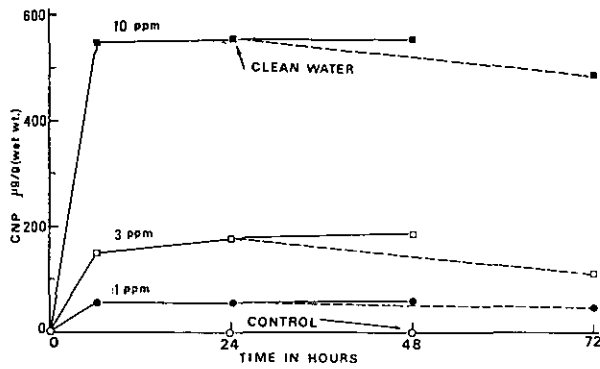


図6 CNP 処理したユスリカの餌(乾燥酵母 Ebios, Tetra Min L)中の CNP 濃度 ( $\mu\text{g/g wet wt.}$ ), 及び浄水中での CNP 濃度の減少

表5 ユスリカ (*P. nubifer*) の羽化率, 産卵率, 授精率等に及ぼす餌(図6)中の CNP の影響

試験は流水式水槽に2卵塊を入れて始めた。

処理濃度	a) 羽化数	b) 羽化率	c) 雄	d) 雌	e) 雌雄比	f) 総卵数	g) 産卵率	h) 授精率
対照 - 1	616	0.52	370	246	1.50	85	0.35	0.74
- 2	760	0.58	392	368	1.07	169	0.46	0.59
1 ppm - 1	647	0.54	321	326	0.98	80	0.25	0.38
- 2	651	0.56	339	312	1.09	116	0.37	0.75
3 ppm - 1	634	0.46	366	268	1.37	57	0.21	0.81
- 2	430	0.33	230	200	1.15	42	0.21	0.57
10 ppm - 1	138	0.13	53	85	0.62	9	0.11	0.22
- 2	351	0.30	172	179	0.96	25	0.14	0.16

$b = a / (\text{使用卵数})$ ;  $e = c / d$ ;  $g = f / d$  (f, 長卵塊)

水中の除草剤は動物プランクトンがその餌としている藻類等に吸着又は蓄積するものと考えられた。そのため5種類の除草剤を用いミジンコの産仔に及ぼす餌(クロレラ)を通した影響を調べたが, CNP 以外はその影響は少ないように考えられた。ワムシとミジンコの産仔に及ぼす CNP の影響はこれを水中に添加した場合には, 実験の方法により差異があったが両種間で同等か, あるいは個別で一代暴露した場合のようにミジンコの方が感受性が高かった。一方, 両者の餌として用いたクロレラに CNP を含有させた場合は逆にワムシの方が CNP に対す感受性が明らかに高かった。モデル実験により食物連鎖による重金属 (Cd, Cu) の影響を種々の水生生物に関して検討した結果でも, 餌中の重金属濃度がかなり高いレベルでもその影響は容易には起こり難かった (Hatakeyama & Yasuno, 1982; 畠山, 1984; 畠山, 1986a; Hatakeyama & Yasuno, 1987; Hatakeyama, 1987)。しかし, 淡水ヒドラのように餌を介すことによりその影響が著しく高まる生物種があることが報告されている (畠山ら, 1979)。

ユスリカは様々な水環境に生息できる種が豊富に存在し、生態系での役割の他にも指標生物としても、近年その重要性が着目されてきている。しかし、従来医学的にも農学的にも害虫でなかったためあまり注意を引かず、プランクトンや魚類に比べ化学物質の影響試験や試験法の検討もそれほど行われてこなかった。実験に用いた、ヤモンユスリカ (*P. nubifer*) は比較的狭い空間でも交尾産卵するためユスリカの慢性影響試験用の実験生物として適当と考えられた (畠山, 1983; Hatakeyama, 1987)。今回の試験の過程で、卵のふ化から始まり、幼虫の羽化、交尾、産卵等のどの段階で薬剤の影響が最も著しく現れるかを明らかにできる。水中の CNP (90 ppb) に暴露した場合で見ると、影響は羽化時期の遅れ、羽化率、産卵率、授精率にそれぞれ見られたが羽化率の減少 (対照の 20%) が最も大きかった。餌中の化学物質の影響を調べようとする場合、微量であるにしても化学物質が餌から溶出するのを防ぐことは難しい。今回の試験で 1 回給餌分の餌中の CNP 量は最高濃度の場合でもおよそ  $120 \mu\text{g}$  ( $550 \times 2.2 \text{ g wt.}$ ) である。給餌間隔は 2 日なので仮にその間に餌中の CNP が全部水中に溶出したとしても、その間に試験水槽内を流れた水 ( $230 \text{ ml min}^{-1}$ ) は 662 L (水槽内水の交換率、約 90 回/d) となり水中の CNP 濃度は 0.18 ppb にしかならない。実際は、餌からの CNP 流出は極めてわずかなため (図 6) 水中の CNP 濃度は更にずっと低いはずである。したがって、CNP 処理の餌による影響はほとんど餌中の CNP によってもたらされと考えられる。餌中の CNP 濃度が  $550 \mu\text{g g}^{-1}$  では、羽化率、産卵率、授精率とも大差なく対照の値のそれぞれ約 39, 31, 及び 29% に減少した。授精率の減少の原因として、薬剤による成虫の生殖機能や活性の低下と羽化数の減少により雌雄の接触の機会の減少が考えられる。一方、重金属 (Cd) の影響試験では羽化率の減少が顕著で成虫の数がかなり減少した場合でも産卵率、授精率への影響は少なかった (畠山, 1986a; Hatakeyama, 1987)。したがって、雌雄の接触機会の減少のみでは授精率の低下を説明しきれないように考えられる。餌 (イトミミズ) を介した CNP の影響は胎性メダカ (グッピー) の生長と産仔に付いても調べられたが (畠山, 1986 b), 今回の実験に用いた餌 (クロレラ, 乾燥酵母) 中の濃度より低目の濃度で今回用いた水生生物よりも、産仔数において同等以上の影響を受けた。

#### 謝 辞

ユスリカの慢性影響試験においては三戸正衛氏 (当時川上農場勤務) には多大なる協力を戴き、またユスリカ餌中の CNP 濃度の分析は本研究所計測技術部の白石寛明氏によるものである。ここに深甚なる感謝の意を表します。

#### 引用文献

- Berry, C. R., Jr. (1984): Toxicity of the herbicides diquat and endothal to goldfish. Environ. Pollut., 34, 251-258.
- Call, D. J., L. T. Brooke, Kent, R. J. and M. L. Knuth (1983): Toxicity, bioconcentration,

- and metabolism of the herbicide propanil (3',4'-dichloropropionilide) in freshwater fish. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 12, 175-182.
- Hanazato, T. and M. Yasuno (1987): Effects of carbamate insecticide, carbaryl, on the summer phyto- and zooplankton communities in ponds. Environ. Pollut., 48, 145-159.
- 長谷川淳一・安野正之 (1984): モデル生態系における動物プランクトン群集に対する殺虫剤の影響. 国立公害研究所研究報告, 第62号, 29-35.
- 畠山成久・安野正之・宮下 衛 (1979): ミジンコ- ヒドラ食物連鎖系における重金属の影響解析. 水質汚濁研究, 2, 163-172.
- 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.
- 畠山成久 (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 (文部省), 環境指標生物としてのユスリカ. B182-R12-17, 65-74.
- 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.
- 畠山成久 (1986 a): 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. 国立公害研究所研究報告, 第99号, 175-189.
- 畠山成久 (1986 b): 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ルフェンの影響. 国立公害研究所研究報告, 第99号, 191-203.
- Hatakeyama, S. and M. Yasuno (1987): Chronic effects of Cd on the reproduction of the guppy (Poecilia reticulata) through Cd-accumulated midge larvae (Chironomus yoshimatui). Ecotoxicol. Environ. Safety, 14, 191-207.
- Hatakeyama, S. (1987): Chronic effects of Cd on reproduction of Polypedilum nubifer (Chironomidae). Environ. Pollut., 48, 249-261.
- Kanazawa, J. and C. Tomizawa (1978): Intake and excretion of 2,4,6-Trichlorophenyl-4'-Nitrophenyl Ether by topmouth gudgeon, Pseudorasbora parva. Arch. Environm. Contam. Toxicol., 7, 397-407.
- Sasa, M. and J. E. Sublette (1980): Synonymy, Distribution, and morphological notes on Polypedilum (s. s.) nubifer (Skue) (Diptera: Chironomidae). Jap. J. Sanit. Zool., 31, 93-102.
- 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.
- 安野正之・花里孝幸・宮下 衛 (1986): 隔離水界によるクロル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.

## 恋瀬川水系における殺虫剤、除草剤 及び殺菌剤の残留量

岩熊敏夫<sup>1</sup>・白石寛明<sup>2</sup>・野原精一<sup>1</sup>・高村健二<sup>1</sup>

### Pesticide Residues in Water and Sediment of the River Koise and its Tributaries

Toshio IWAKUMA<sup>1</sup>, Hiroaki SHIRAIISHI<sup>2</sup>, Seiichi NOHARA<sup>1</sup>  
and Kenzi TAKAMURA<sup>1</sup>

#### Abstract

Pesticide residues in waters and sediments were surveyed in the River Koise and its tributaries weekly during May-September 1985. Insecticide, BPMC and herbicides, benthocarb, simetryne, butachlor, CNP, were detected mainly before the rainy season, i. e., May-early June. Herbicide, molinate was detected mainly during the rainy season of mid June-early July, and fungicides, IBP and isoprothiolane after the rainy season. The flux of IBP was largest in the tributary during the investigation period, followed in order by BPMC and benthocarb. The fluxes of pesticides in the tributary were compared with the amounts of respective pesticides sold during 1985 to estimate loss rates in runoff from the paddy fields. The rates increased in the order: CNP < butachlor < benthocarb < simetryne < IBP < oxadiazone < isoprothiolane < BPMC. Seasonal changes of the residues were similar in water and sediment. CNP, oxadiazone, benthocarb, isoprothiolane, and butachlor seemed to be more persistent in the stream sediment than simetryne, IBP, and BPMC.

#### 要 旨

恋瀬川とその支流で、殺虫剤、除草剤、殺菌剤の残留量の季節変動を調査した。水中濃度のピークは短いが使用時期に応じて種々の薬剤が検出され、中流域より下流域で幅の広いピークを示した。殺虫剤の BPMC や除草剤のベンチオカーブ、シメトリン、ブタクロール及び CNP 等は主に梅雨前の5月～6月上旬に検出された。除草剤のモリネートは6月中旬～7月上旬の梅雨の期間に、殺菌剤の IBP とインプロチオランは梅雨明け後に主に検出された。これらの薬剤の流下量と出荷量を比

1. 国立公害研究所 生物環境部 〒305 茨城県つくば市小野川16番2  
Environmental Biology Division, the National Institute for Environmental Studies,  
Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
2. 国立公害研究所 計測技術部 〒305 茨城県つくば市小野川16番2  
Chemistry and Physics Division, the National Institute for Environmental Studies,  
Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

較した結果、水田からの流出率は、ブタクロール、CNP < IBP、シメトリン、ベンチオカーブ < BPMC、インプロチオラン、オキサジアゾンの順に高くなると推定された。河川底質中の薬剤残留量は水中の残留量変動と類似の変動を示した。CNP、オキサジアゾン、ベンチオカーブ、インプロチオラン、ブタクロールはシメトリン、IBP 及び BPMC に比べ底質への残留性が高いと考えられた。CNP は河川底質に吸着され湖への流入量は少なく、一方インプロチオランやオキサジアゾンは水に対する溶解度が高くかつ分解しにくいいため湖への流入量は比較的大きいと考えられた。

## 1 はじめに

雑草や病害虫防除に施用される除草剤、殺菌剤、除虫剤は水系に流入し水界生態系に影響を及ぼす。畑地から流出する薬剤の水中残留濃度は、薬剤の施用量と表面流出量との関係(Wauchope, 1978)、又は施用量と濃度との相関についての実験的研究(Leonardら, 1979)からある程度推定することが可能である。また水田用薬剤についても流出量の実験的研究がなされているが(中村, 1982)、多種に渡る薬剤の野外での挙動を知るためには、様々な地域や河川でのモニターが行われ、データが集積されて実態が把握されていく必要がある。農業排水路や河川における水田用農業の実際の残留濃度がいくつかの水系で測定されてきている(Suzukiら, 1977, 1978; 堀・中路, 1982; 飯塚・岩撫, 1982; 半川, 1985; 丸, 1985)。これらの研究では同時に生物相の調査が行われていないため、水生生物に及ぼす影響については不明のことが多い。したがって本研究は、野外における殺虫剤、除草剤、殺菌剤等の水界生態系へ及ぼす影響を調べることを目的として行われた。本報告では霞ヶ浦流入河川である恋瀬川水系におけるこれら薬剤の残留量について、特に上流部農耕地を流れる支流の富栄養小河川における水質、水中及び底質中の農薬量の調査を中心に報告する。霞ヶ浦内の残留量、及び底生生物群集への影響については別に報告される(Shiraishiら, 1988; 岩熊ら, 1988)。

## 2 調査地点及び方法

調査は霞ヶ浦流入河川の一つである恋瀬川水系で行った(図1)。地点は筑波山麓を源とする大作沢(St. 3)と寺山沢(St. 5)、この2河川が合流した川又川(St. 4, 6)及び恋瀬川下流(St. 7)である。川幅は St. 3~7 の順に、2.2 m, 5.6 m, 3.0 m, 5.5 m 及び 12 m であった。底質は St. 3 で丸石が河床の 85%を覆い、St. 4 では丸石が 32%、St. 5 では丸石が 30%を覆っていた。残りは中央粒径約 1.0 mm の粗砂に覆われていた。下流の St. 6 及び St. 7 では丸石は少なく、ほとんどが粗砂であった。

1985年5月から9月までの間、週1回調査を行った。水温、pH、電気伝導度はサーミスタ温度計及び電極(横河 YEW SC51 及び YEW PH51)で測定した。流量は流れの横断方向に8~12分割した点で、60%水深の速度をプロペラ流速計(東邦電探製)で測定し、区分断面積を乗じて求めた。

水中及び底質中の残留農薬分析は、白石(未発表)に従った。水中の残留量分析用試料調整は、

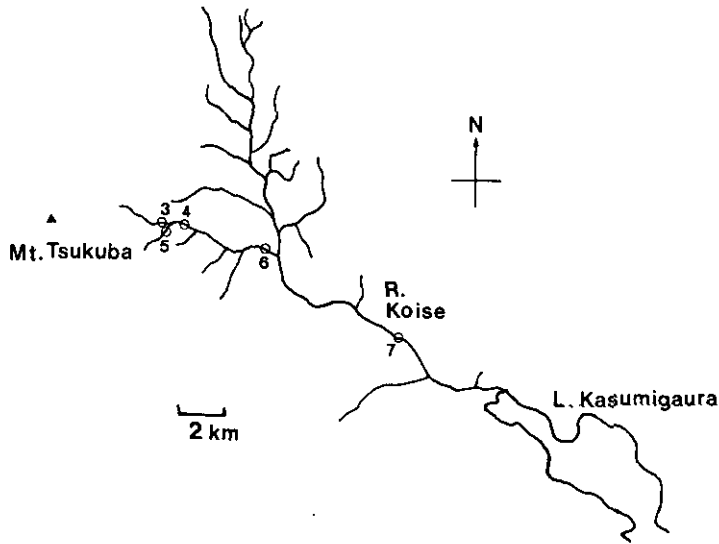


図1 調査地点

まず試水を予め 450°C で 3 時間加熱処理をしたガラスファイバーろ紙 (Whatman, GF/C) で吸引ろ過した。得られたろ液約 250 ml をテフロンチューブに接続した ODS カラム (Bond Elute C18) に、アスピレーターにより約 10 ml min<sup>-1</sup> の速度で吸引しながら、残留農薬をカラムに吸着させた。カラムを 10 ml 遠沈管に入れ 3,000 rpm で 20 分間遠心脱水後、別の遠沈管に移しアセトン 0.5 ml を加えて 1,000 rpm で 20 分間遠心した。このアセトンを加えて遠心する回収操作を 2 回繰り返しアセトン溶液を 1 ml に調整した。底質中の残留量分析用試料調整は、約 1 kg の表層底質をスコップで採取し凍結乾燥した後 2 mm 以下の分画約 3 g を 10 ml 遠沈管に入れ、アセトン 10 ml を加えて水で冷却しながら超音波により 30 分間抽出し、3000 rpm で 20 分間冷却遠心して上清を回収した。この抽出操作を 3 回繰り返し、窒素ガスでアセトン溶液を 2 ml に揮発濃縮し、蒸留水で 100 倍に希釈後、水中残留量試料調整と同じ手順で残留農薬のアセトン溶液を得た。残留農薬の分析には NPD-GC 及び ECD-GC (ヒューレットパッカード HP-5890A) とオートインジェクター (HP-7673A) を用いた。カラムにはヒューズドシリカキャピラリーカラム (SPB-5, 0.25 μm; 内径 0.32mm, 長さ 30m) を用い、昇温温度は 50°C から 300°C に設定した。キャリアーガス流量は毎分 54 ml であった。検出器温度は NPD では 250°C, ECD では 220°C であった。各薬剤濃度が 10 ppb になるように調整した水試料 500 ml からのこの方法による回収率は、BPMC で 125%, フェニトロチオンで 91%, フェンチオンで 85%, ダイアジノンで 43%, モリネートで 72%, ベンチオカーブで 88%, オキサジアゾンで 88%, IBP で 99%, である。本報告書ではこれらの回収率に基づく補正は行っていない。

底質の灼熱減量は、試料を磁性ろつぽに取り、105°C で乾燥後の重量と 550°C で 3 時間加熱後



の重量との差から求めた。

### 3 結果

#### 3.1 環境要因

1985年5～9月の間の各地点における水温、電気伝導度、pH、流量及び日降水量の変動を図2に示す。測定は午前9時から12時の間に行われた。大作沢よりも寺山沢の方が水温が高くかつ流量も大きかった。平均水温は、梅雨入り前(5月9日～6月13日)、梅雨期(6月14日～7月9日)、梅雨明け後(7月10日～9月4日)について St. 3 ではそれぞれ 17.2, 15.5, 20.6℃, St. 4 でそれぞれ 20.1, 17.0, 22.7℃と、梅雨期には低下した。梅雨中の流量は St. 3 で 30,000 m<sup>3</sup> d<sup>-1</sup>, St. 4 で 89,000 m<sup>3</sup> d<sup>-1</sup>まで増加した。電気伝導度は 65～110(St. 3, 単位 μS cm<sup>-1</sup>, 以下同じ), 110～175(St. 4), 115～165(St. 5), 125～190(St. 6), 145～180(St. 7)の間を示し、流量と逆の変動を示した。

#### 3.2 殺虫剤, 除草剤, 殺菌剤

表1にこの流域で検出される主な殺虫剤, 除草剤, 殺菌剤を示す。フェニトロチオンと CNP 以外は水によく溶ける。フェニトロチオン, フェンチオン, EDDP は7～8月に空中散布される。

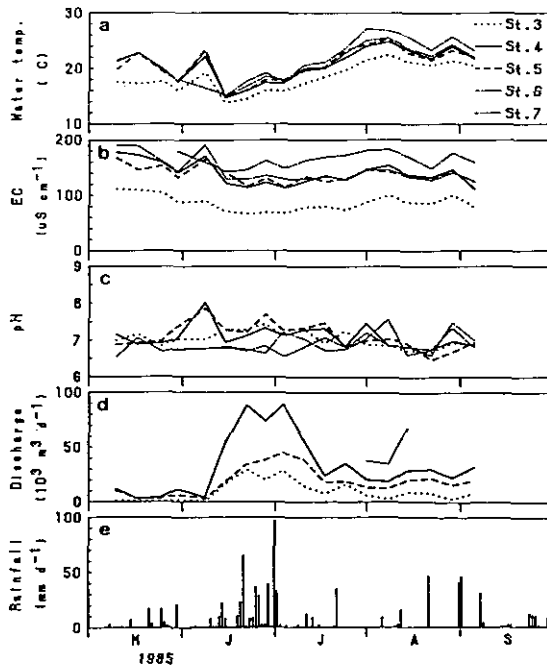


図2 水温(a), 電気伝導率(b), pH(c), 流量(d)及び日降水量(e)の変動  
日降水量は水戸地方気象台(1985)による。

表1 水系から検出された主な殺虫剤、除草剤、殺菌剤

薬剤名	一般名または商品名	溶解度 <sup>1</sup> (ppm)
殺虫剤		
フェニトロチオン	MEP, スミチオン	不溶
フェンチオン	MPP	55
BPMC	バッサ	660
ダイアジノン		40
除草剤		
ベンチオカーブ	サターン	30
モリネート		900
ブタクロール	マーシエット	20
シメトリン		450
オキサジアゾン	ロンスター	0.7
CNP	MO	不溶
殺菌剤		
IBP	キタジン	400
EDDP	ヒノザン	5
イソプロチオラン	フジワン	50

1 福永 (1976)

### 3.3 殺虫剤濃度の変動

有機リン系のダイアジノン、フェンチオン、フェニトロチオン及びカーバメート系のBPMCが比較的頻りに検出された。図3にBPMC、ダイアジノン及びフェンチオンの水中残留濃度の変動を示す。いずれも5月末から6月初旬に最大値を示し以後減衰した。下流部の地点ではピーク幅が広くなり、7～8月にも低濃度ながら検出された。最も濃度の高かったのはBPMCで、5月末に濃度が最大となりSt.3, 4, 5, 6, 7でそれぞれ15.6, 30.0, 36.1, 17.6, 6.0ppbであった。フェンチオンの濃度変動パターンもBPMCに類似しており、最大濃度はSt.3で6.6ppbであった。8月初めにはSt.7でのフェンチオン濃度が約0.5ppbに上昇していたが、この集水域での空中散布の影響と考えられた。ダイアジノンの最大濃度はSt.5で4.9ppbであった。これらの殺虫剤のピーク濃度はSt.3又はSt.5で高かった。

### 3.4 除草剤濃度の変動

図4にモリネート、シメトリン、ベンチオカーブ、オキサジアゾンの水中残留濃度の変動を示す。いずれも田植後の5～6月に濃度が高くなった。上流部(St.3, 5)に比べて下流部(St.4, 6, 7)ではピーク幅が広くなり、8月まで検出された。この傾向は殺虫剤の変動パターンに似

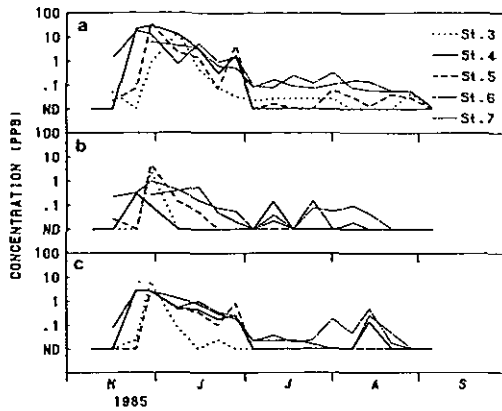


図3 殺虫剤の水中残留濃度の変動  
a: BPMC, b: ダイアジノン, c: フェンチオン

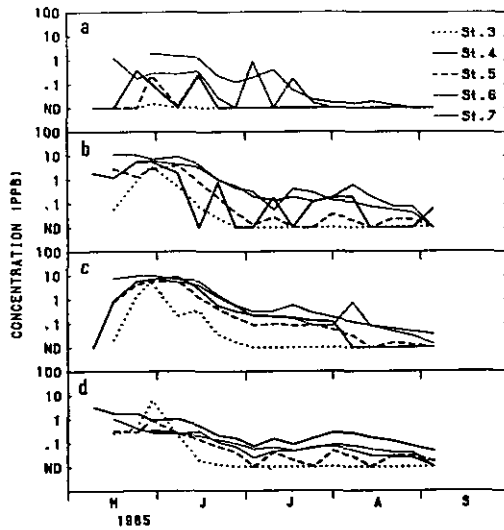


図4 除草剤の水中残留濃度の変動  
a: モリネート, b: シメトリン, c: ベンチオカーブ, d: オキサジアゾン

ていたが、除草剤ではオキサジアゾンやシメトリンのように5月初旬から濃度の高い点が異なっていた。最大濃度はモリネートでは下流部の St. 7 で 1.8 ppb, シメトリンでは St. 6 で 11.3 ppb, ベンチオカーブでは同じく St. 6 で 10.2 ppb 及びオキサジアゾンでは中流部の St. 3 で 6.3 ppb であった。

### 3. 5 殺菌剤の濃度変動

図5に殺菌剤のIBPの水中残留濃度の変動を示す。殺菌剤は病害対策に用いられ、散布時期

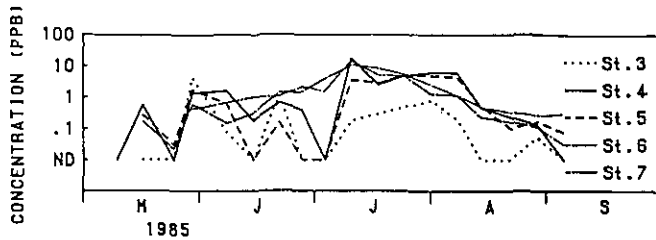


図5 殺菌剤 IBP の水中残留濃度の変動

が夏期であるため、水中残留濃度の変動パターンは殺虫剤や除草剤と異なり、7～8月にかけて濃度が上昇した。IBP のピークは下流部では幅が広く、殺虫剤や除草剤と同傾向であった。最大濃度は St. 3, 4, 5, 6, 7 でそれぞれ 4.3, 17.5, 5.0, 10.7, 15.0 ppb で中下流で高かった。

### 3. 6 水中と底質中の残留濃度の変動

図6に St. 4 における殺虫剤、除草剤、殺菌剤の水中と底質中の残留濃度を比較した。底質は粗砂で灼熱減量は季節変動が小さく 1.0～1.1%であった。底質中の残留量の変動はおおむね水中の残留量によく似た変動を示した。殺菌剤のイソプロチオランと IBP は7～8月に水中残留量の増加とともに底質残留量も増加した。除草剤では水中及び底質中とも5～6月に濃度増加が観察されたが、8月に水中濃度が減少しても、底質中の残留量の減少は緩やかであった。CNP やブタクロールは水中の残留量が検出限界以下となっても、底質から検出されていたし、ベンチオカーブも似た傾向を示し、8月にも検出された。

図7に各種薬剤の水中と底質中の残留量の相関を示した。回帰直線が底質残留量の軸に近いほど底質中に残留しやすいといえる。したがって、底質への残留性は、CNP > オキサジアゾン～ベンチオカーブ～イソプロチオラン > シメトリン～IBP となった。BPMC とブタクロールについては傾向が明りょうでなかったが、図6の季節変動と図7の散布図からは、残留性はブタクロール > BPMC と考えられた。

## 4 考察

### 4. 1 殺虫剤、除草剤、殺菌剤の流出量と施用量との関係

この河川中流域 (St. 3～5) では梅雨期の流量増加が大きいため (図2)、梅雨期をはさんで5月～6月上旬、6月中旬～7月上旬及び7月中旬～9月の3期に分けることができる。表2に St. 4 における3期別の各薬剤の流下量を示す。水田での薬剤施用後の水中残留濃度や空中散布後の河川水中の残留濃度は指数的に減少することが知られているので (渡辺ら, 1985; 岩熊ら未発表)、薬剤の残留量は指数補間により、また流量は線形補間により毎日の残留量と流量を求め、流下量を推定した。流下量の高い薬剤は、IBP (6.9 kg), BPMC (4.9 kg), ベンチオカーブ (3.0

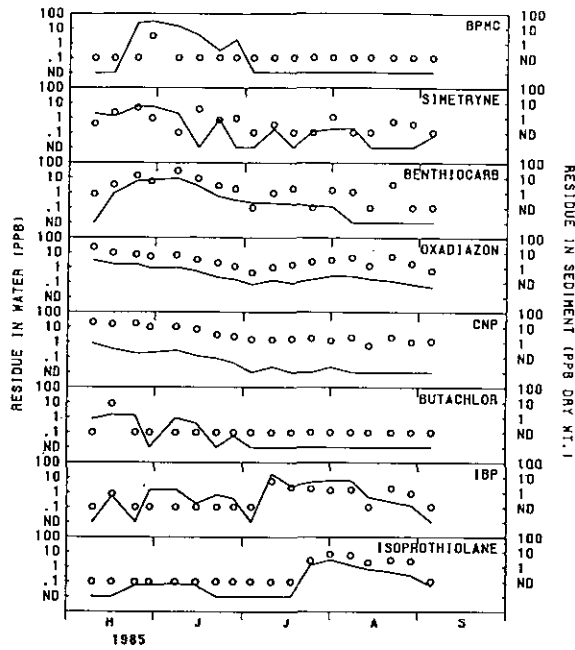


図6 St. 4における各種薬剤の水中及び底質中の残留濃度の変動  
 —：水中残留濃度，○：底質中残留濃度

kg) となった。BPMC, ベンチオカーブ, シメトリン, ブタクロール, CNP 等, 多くは梅雨前に流下量が高かった。梅雨期にはモリネートの流下量が増加し, 梅雨明け後には殺菌剤の IBP とイソプロチオランの流下量が上昇した。

恋瀬川上流域での1985年の農業出荷量から求めた殺虫剤, 除草剤及び殺菌剤の原体別出荷量は以下のとおりであった。殺虫剤では BPMC (1,269 kg), 除草剤ではベンチオカーブ (1,109 kg), オキサジアゾン (87 kg), シメトリン (250 kg), ブタクロール (445 kg), CNP (1,065 kg)及び殺菌剤では IBP (1,269 kg), イソプロチオラン (52 kg)。この量がこの集水域での使用量そのものを示すわけではなく, また他の販売経路があるためこの量以上が出荷されているであろうが, 使用量の大きな指標となるものと考えられる。

この出荷量と表2の St. 4 からの流下量と比較することにより水田から河川への流出率が推定できる。ここでは流下量/出荷量を水田からの流出係数として表すこととし, 最も高い BPMC の値が1となるように係数を基準化した。流出係数の高い順に, BPMC (1.0) > イソプロチオラン (0.9) > オキサジアゾン (0.5) > IBP (0.24) > シメトリン (0.14) > ベンチオカーブ (0.12) > ブタクロール (0.03) > CNP (0.01) となった。

渡辺ら (1984, 1985) はモデル水田からの除草剤の流出総量の施用量に対する比率 (流出率) はモリネート (23~27%) ~ シメトリン (22~26%) > ベンチオカーブ (12~14%) >> CNP (1.3~

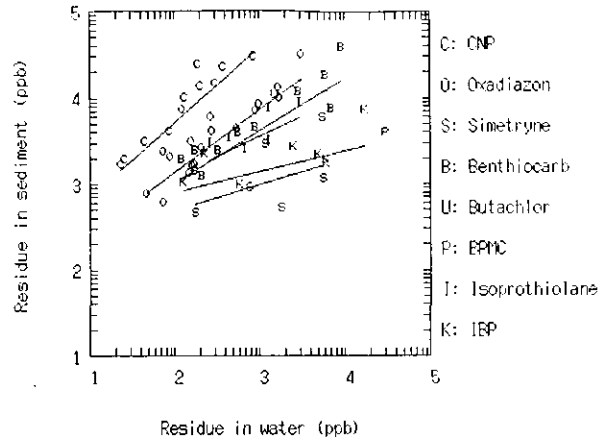


図7 各種薬剤の水中及び底質中の残留濃度の相関  
 底質の灼熱減量は1.0~1.1%。回帰式及び相関係数は以下のとおり。  
 CNP  $\log Y=2.00+0.861 \log X$  (n=10; r=0.96)  
 オキサジアゾン  $\log Y=1.68+0.725 \log X$  (n=18; r=0.88)  
 シメトリン  $\log Y=2.08+0.306 \log X$  (n=7; r=0.48)  
 ベンチオカーブ  $\log Y=1.79+0.609 \log X$  (n=10; r=0.92)  
 イソプロチオラン  $\log Y=2.17+0.426 \log X$  (n=6; r=0.76)  
 IBP  $\log Y=2.43+0.239 \log X$  (n=8; r=0.68)

表2 梅雨前、梅雨期、梅雨明け後の3期におけるSt. 4から流下した殺虫剤、除草剤及び殺菌剤の原体量(kg)

Pesticide	Period			Total
	9 May- 13 Jun.	14 Jun. - 10 Jul.	11 Jul. - 4 Sep.	
<b>Insecticides</b>				
BPMC	3.73	1.12	0.00	4.85
Diazinon	0.00	0.02	0.00	0.02
<b>Herbicides</b>				
Benthiocarb	1.74	1.19	0.01	3.04
Oxadiazone	0.43	0.39	0.23	1.05
Simetryne	0.67	0.11	0.07	0.85
Butachlor	0.33	0.03	0.00	0.36
CNP	0.10	0.09	0.00	0.20
Molinate	0.01	0.02	0.00	0.03
<b>Fungicides</b>				
IBP	0.21	1.63	5.07	6.91
Isoprothiolane	0.02	0.00	1.04	1.06

1.6%)であることを報告している。自然河川への流出量はこれより低くなるが順位は同様で、シメトリン (1.4~2.4%) ~ ベンチオカーブ (1.7~1.9%) >> CNP (0.11~0.22%) (飯塚・岩掘, 1982) あるいはシメトリン (11.6%) > ベンチオカーブ (3.1%) > モリネート (2.6%) >> CNP (0.2%) (中村, 1982) となっている。これらの報告は恋瀬川水系のシメトリン, ベンチオカーブ及び CNP の流出係数の順位に一致しているが, 本研究からはさらに BPMC, イソプロチオラン及びオキサジアゾンが流出係数の高いことが明らかにされた。

BPMC, IBP 及びシメトリンは水田から比較的流出しやすくかつ底質に残留しにくいことが示された。これらの薬剤はいずれも水に対する溶解度が 400 ppm 以上と非常に高い (表1)。Kenaga & Gowering (1980) は水に対する溶解度, オクタノール-水分配係数, 有機物との結合度の間には相互に高い相関があり溶解度が低いほど生物濃縮係数が低くなることを示した。シメトリンは春から秋にかけて霞ヶ浦の湖水中から検出されているが水生大型植物への残留性は低い (野原ら, 1987)。モリネートも溶解度が高いことから底質への残留性も低いと考えられる。

オキサジアゾンとイソプロチオランは流出率が比較的高いにもかかわらず河川底質への残留性が CNP に次いで高かった。オキサジアゾンの残留性は実験系でも確かめられている (Yamato & Suzuki, 1980)。オキサジアゾンは難分解性で (Imanakaら, 1985), 児島湖や霞ヶ浦から周年検出されている (Imanakaら, 1985; Shiraishiら, 1988)。ベンチオカーブもオキサジアゾンに挙動が類似していた。ベンチオカーブは流出しやすく (Suzukiら, 1977), 霞ヶ浦の湖水から最大 2.15 ppb の濃度で検出されるが比較的早く消失する (Shiraishi, 1988)。

CNP は流出係数が低く底質への残留性が高かった。この除草剤は水には溶けにくく (表1), 底質や生物への残留性が高いことが報告されている (Suzukiら, 1978; 山岸ら, 1979; 大崎・中村, 1983)。霞ヶ浦流入河川の桜川下流部における CNP の最大残留濃度は1985年に 0.05 ppb であった (Ono & Nakanisi, 1987)。また1986年6月には, 高浜入の恋瀬川下流部では CNP の水中残留濃度が 0.04 ppb であったが湖水からは検出されなかった (Shiraishiら, 1988)。水田から流出した CNP は河川内で底質で吸着され又は分解され, 湖にはほとんど流入しないものと考えられる。

## 謝 辞

八郷町農業協組には農業出荷量調査にご協力戴いた。記して謝意を表します。

## 引 用 文 献

- 福永一夫 (1976): 農業ハンドブック. 日本植物防疫協会, 504 p.  
半川義行 (1985): 田面水および河川水におけるモリネートの消長. 日本農業学会誌, 10, 107-112.  
堀 克也・中路正紹 (1982): 熊本県内水圏における農業汚染. 生態化学, 5(2), 3-13.

- 飯塚宏栄・岩撫才次郎 (1982): 水田除草剤の河川水への流出. 用水と排水, 24, 629-635.
- Imanaka, M., S. Hino, K. Matsunaga and T. Ishida (1985): Oxadiazon residues in surface water and crucian carps (*Carassius cuvieri*) of Lake Kojima. J. Pesticide Sci., 10, 125-134.
- 岩熊敏夫・高村健二・野原精一 (1988): 恋瀬川支流における底生生物群集の変動と残留農薬の影響. 国立公害研究所研究報告, 第114号, 85-100.
- Kenaga, E. E. and C. A. I. Goring (1980): Relationship between water solubility, soil sorption, octanol-water partitioning, and concentration of chemicals in biota. In: Aquatic Toxicology, Proc. 3rd Ann. Symp. Aquat. Toxicol., Eaton, J. G., P.R. Parrish and A. C. Hendricks (eds.), American Society for Testing and Materials, 78-115.
- Leonard, R. A., G. W. Langdale and W. G. Fleming (1979): Herbicide runoff from upland Piedmont watersheds - Data and implications for modeling pesticide transport. J. Environ. Qual., 8, 223-229.
- 丸 論 (1985): 千葉県内河川の農薬モニタリング. 生態化学, 8(3), 3-10.
- 水戸地方気象台 (1985): 茨城県気象月報. 昭和60年5~9月. 水戸地方気象台.
- 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.
- 野原精一・土谷岳令・岩熊敏夫・白石寛明 (1987): 河口域における農薬濃度と水生植物への残留性について. 国立公害研究所研究報告, 第113号.
- 大崎靖彦・中村又善 (1983): 環境における農薬に関する研究 (第1報) 有明海産魚貝類, 海水, 底質への除草剤 NIP, CNP, クロメトキシニルの残留. 全国公害研会誌, 8, 29-34.
- Ono, H. and J. Nakanisi (1987): Herbicide, CNP contamination in the Lake Kasumigaura basin. Water Res., 21, 669-675.
- Shiraishi, H., F. Pula, A. Otsuki and T. Iwakuma (1987): Behaviour of pesticides in Lake Kasumigaura, Japan. Sci. Total Environ. (in press).
- Suzuki, M., Y. Yamato and T. Akiyama (1977): Occurrence and determination of a herbicide benthocarb in rivers and agricultural drainages. Water Res., 11, 275-279.
- Suzuki, M., Y. Yamato and T. Akiyama (1978): Fate of herbicide CNP in rivers and agricultural drainages. Water Res., 12, 777-781.
- Wauchope, R. D. (1978): The pesticide content of surface water draining from agricultural fields. J. Environ. Qual., 4, 459-472.
- 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) benzene (CNP) の東京湾産アサリ, 底質, 海水中での残留濃度の推移. 東京都立衛生研究所研究年報, 30, 127-132.
- 渡辺貞夫・渡辺重信・伊藤和敏 (1984): モデル水田における除草剤(CNP, molinate, simetryne) の水系への流出と土壌中での消長. 日本農薬学会誌, 9, 33-38.
- 渡辺貞夫・渡辺重信・伊藤和敏 (1985): モデル水田における除草剤クロメトキシニルおよびベンチオカーブの水系への流出と土壌中での消長. 日本農薬学会誌, 10, 529-533.
- Yamato, Y. and M. Suzuki (1980): Occurrence of herbicide oxadiazon in surface waters and tap water. Water Res., 14, 1435-1438.



## 恋瀬川支流における底生生物群集の変動と 残留農薬の影響

岩熊敏夫<sup>1</sup>・高村健二<sup>1</sup>・野原精一<sup>1</sup>

### Dynamics of Benthic Communities in Tributaries of the River Koise in Relation to Residual Pesticides

Toshio IWAKUMA<sup>1</sup>, Kenzi TAKAMURA<sup>1</sup> and Seiichi NOHARA<sup>1</sup>

#### Abstract

The population dynamics of zoobenthos and the amount of attached algae were studied in small streams receiving runoff from paddy fields. Dominant zoobenthos were chironomids (*Cricotopus bicinctus*, *Rheocricotopus chalybeatus*, *Polypedilum cultellatum* and *Chironomus yoshimatsui*), mayflies (*Baetis sahoensis* and *B. thermicus*) and caddisflies (*Cheumatopsyche brevilineata* and *Hydropsyche orientalis*). Residual insecticides and herbicides in the water were relatively high in concentration during May-June and seemed to lower the density of *Baetis*. Densities of chironomids and oligochaetes as well as chlorophyll *a* amount in attached materials seemed to be indifferent of residual pesticide concentrations in water. Both *C. bicinctus* and *R. chalybeatus* had generation time of ca. 3 weeks during the summer. These two chironomids and *Baetis* recolonized quickly and their densities increased soon after the end of the rainy season of mid June-early July. Emerging biomasses of chironomids were estimated from weekly pupal biomass as 0.6-1.8 g dry weight  $m^{-2}$  per 4 months. The daily emerging biomass was highest during the period after the rainy season.

#### 要 旨

恋瀬川支流の農耕地を流れる小河川で、底生動物と付着藻類の変動とそれを支配する要因を調べた。底生動物相はユスリカ類、コカゲロウ類及びシマトビケラ類であった。梅雨前の5月から6月初めにかけての期間は各種の殺虫剤や除草剤が残留しており、コカゲロウの密度を低下させていた。ユスリカ類とイトミミズ類の密度及び付着クロロフィル *a* 量は薬剤の残留濃度とは関係がなかった。優占する小型のユスリカの *Cricotopus bicinctus* と *Rheocricotopus chalybeatus* は夏期の世代時間が約3週間と短く、梅雨明け後ただちに個体数を回復した。またコカゲロウも梅雨明け後に個体数が増加した。さなぎの現存量から推定したユスリカ羽化量は4か月間で0.6~1.8 g 乾重  $m^{-2}$  であった。日羽化量は梅雨明け後の期間で最も高かった。

1. 国立公害研究所 生物環境部 〒305 茨城県つくば市小野川16番2

Environmental Biology Division, the National Institute for Environmental Studies,  
16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

## 1 はじめに

殺虫剤、除草剤などが水界生態系に及ぼす影響については池や小河川で単一の薬剤による影響の研究が成されてきている (Hurlbert, 1975; Muirhead-Thomson, 1987)。このうち殺虫剤に関しては、衛生害虫防除の目的で散布された薬剤の、非標的生物への影響評価が研究の中心となっていた (Wallaceら, 1973; Muirhead-Thomson, 1987)。殺虫剤や昆虫成長抑制物質による人工河川や野外河川の底生動物の除去ないしは底生動物相の破壊実験は、底生動物が河川生態系の構造決定に重要な役割を果たしていることを明らかにした (Eidtら, 1984; Yasunoら, 1985; 猪口・佐竹, 1986; Satake & Yasuno, 1987)。これらの実験では比較的高濃度の薬剤が短期間暴露されその生態系影響が調べられた。また除草剤に関しては水草除去を目的として池や航路に施用された場合の生物影響が研究されている (Mauckら, 1976; Hamburyら, 1981; Gunkel, 1984)。しかしながら、CNP が底生動物に影響を及ぼすことが確認されているもの (安野ら, 1986)、大量に使用されている水田用各種除草剤の生態系影響については多くが未知のままである。

春から夏にかけて、河川の中下流域、河口域の河川水からは、水田用の各種殺虫剤、除草剤、殺菌剤がそれぞれの散布時期に応じて検出されている (丸, 1985; Shiraishiら, 1988)。野外では実験系と異なり、低濃度ではあるが複数の薬剤が同時に存在することが普通である。しかしながらその生態系影響の研究はまだ少ない。本報告では、農耕地を流れる恋瀬川支流の富栄養小河川を調査地点として、底生生物群集の変動に及ぼす残留殺虫剤、除草剤及び殺菌剤の影響について検討する。この水系での殺虫剤、除草剤及び殺菌剤の残留量については別に報告される (岩熊ら, 1988)。

## 2 調査地点及び方法

調査は霞ヶ浦流入河川の恋瀬川支流で行った。調査地点は筑波山麓を源とする大作沢 (St. 3)、寺山沢 (St. 5) 及びこの2河川が合流した川又川 (St. 4) である (岩熊ら, 1988, 図1参照)。これらの地点はいずれも水田地帯を流れているが、St. 3 の上流部は山地で農地はほとんどない。表1に地点の概要を示す。1985年5月から9月までの間、週1回調査を行った。水温、pH はサーミスタ温度計及び電極 (横河 YEW PH51) で測定した。流量は流れの横断方向に 8~12分割した点で、60%水深の速度をプロベラ流速計 (東邦電探製) で測定し、区分断面積を乗じて求めた。

付着クロロフィルa量 ( $c$ ,  $\text{mg m}^{-2}$ ) は、現場から外径 5~10 cm の小石を数個持ち帰り、金属ブラシで付着物をこすり落として蒸留水に懸濁させ ( $v_1$ ,  $l$ )、そのうちの一部 ( $v_2$ ,  $l$ ) をガラスファイバーろ紙 (Whatman GF/C) に集め、メタノールに2日間漬けて色素を抽出し、分光光度計により吸光度を測定し、石の投影面積当たりとして次式で計算した。

$$c = 13.4 v_s v_1 (A_{664} - A_{750}) / (v_2 d s)$$

ただし  $v_s$  は溶媒量 ( $l$ )、 $A_i$  は波長  $i$  nm での吸光度、 $d$  はセル長 (cm)、 $s$  は小石の投影面

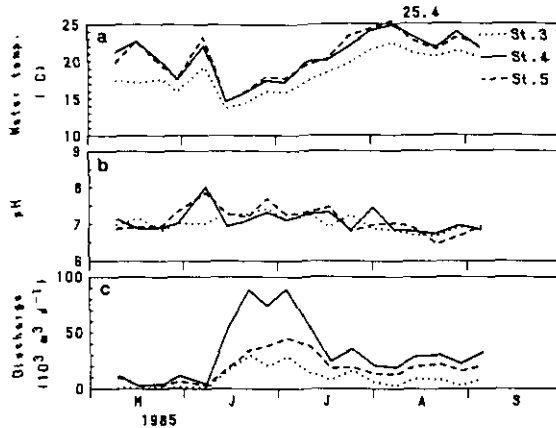


図1 水温、pH及び流量の変動

積である。このcを河床の面積当たりの値に換算するには、河床の一定面積内に占めるすべての小石の投影面積の和の割合(f)を乗じればよい。f値はSt. 3、St. 4及びSt. 5でそれぞれ0.85、0.32及び0.30であった(表1)。

底生動物は25cm×25cm×40cmの筒型サンプラーにより採集した。サンプラーは、水の流れに対して前面には目合0.5mmのナイロンネット、後面には袋状に目合0.2mmのナイロンネット及び側面にはキャンバス布がそれぞれ張られている。各地点で3サンプルずつ採取し、うち二つの定量サンプルはホルマリンで固定した後室内で底生動物を拾い出した。ユスリカのさなぎはWiederholm(1986)に従い、Sasa(1978, 1981)を参考に属に分類し湿重を測定した。湿重に0.19を乗じて乾重を推定した(岩熊ら, 1984)。残りの定性サンプルは固定せずに持ち帰り、15°C、14L10Dの条件下で2週間通気し、羽化した成虫を回収した。ユスリカ成虫はSasa(1978, 1981)及びPinder(1978)に従い同定した。またトビケラ幼虫は谷田(1985)に従い、コカゲロウは小林(1987)に従って同定した。

### 3 結果

#### 3.1 環境要因と水質の変動

図1に1985年5～9月の間の各地点での水温、pH及び流量の変動を示す。測定は午前9時から12時の間に行われた。水温は14°Cから25°Cの間を変動し、St. 3ではSt. 4、St. 5より1.5～5.0°C低かったがSt. 4とSt. 5の差は小さかった。pHは期間中6.5から8.1の間を変動した。6月中旬から7月上旬の梅雨期と8月後半の台風の後には降水量が多く流量が増加した。6月21日から7月3日にかけて最大流量(括弧内は平均流速)を示し、St. 3で30,000 m<sup>3</sup> d<sup>-1</sup> (0.64 m s<sup>-1</sup>)、St. 4で89,000 m<sup>3</sup> d<sup>-1</sup> (0.77 m s<sup>-1</sup>)、St. 5で45,000 m<sup>3</sup> d<sup>-1</sup> (0.61 m s<sup>-1</sup>)であった。これに対し梅雨前には、各地点でそれぞれ500～1,900 m<sup>3</sup> d<sup>-1</sup> (0.04～0.14 m s<sup>-1</sup>)、2,600～11,800 m<sup>3</sup> d<sup>-1</sup> (0.08～0.24 m s<sup>-1</sup>)及び2,700～9,800 m<sup>3</sup> d<sup>-1</sup> (0.08～0.29 m s<sup>-1</sup>)で

表1 調査地点の底質

Station	Stream name	Width (m)	Maximum depth(m)	Altitude(m)	Slope (m km <sup>-1</sup> )	Grain size composition (% coverage in parenthesis)
3	Daisakuzawa	2.2	0.2	29	16	cobbles(85%)+coarse sand(15%)
4	Kawamatagawa	5.6	0.3	29	9	cobbles(32%)+coarse sand(68%)
5	Terayamazawa	3.0	0.3	24	7	cobbles(30%)+coarse sand(70%)

あった。

### 3. 2 底生動物特にユスリカの種組成

底生動物はいずれの地点でも、ユスリカ類が優占した。表2に、7月から9月に採集した幼虫の室内飼育により羽化したユスリカ成虫の種組成と回収された個体数を示す。合計で16種が回収されたが、出現頻度の高い種は個体数の多い順に、*Rheocricotopus chalybeatus* > ツヤユスリカ属の一種 (*Cricotopus bicinctus*) > *Polypedilum cultellatum* > ナカヒビツヤユスリカ (*Cricotopus triannulatus*) > *Paratrichocladius tamaater* > セスジユスリカ (*Chironomus yoshimatsui*) となった。*R. chalybeatus*, *C. bicinctus* 及び *P. cultellatum* の3種は St. 3 ~ 5 のいずれの地点でも個体数が多かった。また *C. triannulatus* は St. 4 で、*P. tamaater* は St. 5 で個体数が多く他の地点では少なかった。*Chironomus yoshimatsui* 成虫は St. 3 と St. 5 で回収され St. 4 からは回収されず、ヒシモンユスリカ (*C. samoensis*) は St. 3 からしか成虫が回収されなかった。この2種の *Chironomus* 属幼虫は腹部第7節の側のうの有無により識別可能であるが(Sasa, 1978), 2種の幼虫はいずれの地点からも回収されており、どの地点でも生息しているものと考えられる。ユスリカ類の出現種数は St. 3 で最も多く15種, St. 4 で *Chironomus* 属の2種を含めて10種, St. 5 で *C. samoensis* を含めて8種であった。

ユスリカ類以外の主な底生動物は、コカゲロウ類のシロハラコカゲロウ (*Baetis thermicus*) とサホコカゲロウ (*B. sahoensis*), トビケラ類のコガタシマトビケラ (*Cheumatopsyche brevis-lineata*), ウルマーシマトビケラ (*Hydropsyche orientalis*) 及びニンギョウトビケラ (*Goera japonica*), ミズムシ (*Asellus hilgendorffii*), イシビル属のヒル (*Erpobdella octoculata*) 及びイトミミズ類で、これらはいずれの地点からも出現した。

### 3. 3 付着クロロフィル量とユスリカ類の変動

定量サンプル中のさなぎの多くは *Cricotopus* 属(主に *C. bicinctus* 及び *C. triannulatus*) であった。すなわち St. 4 で採集されたユスリカのさなぎ 660個体内、*Cricotopus* 属が 493 (75%), *Rheocricotopus* 属が 73 (11%), *Paratrichocladius* 属が 4, *Polypedilum* 属が 8, *Chironomus* 属が 2 個体であった。

表2 室内飼育で得られたユスリカ成虫  
 幼虫の採取日は1985年7月17日 (St. 3, 5のみ), 7月24日 (St. 4のみ), 8月7日,  
 13日, 28日及び9月4日

Species	Body length <sup>1</sup> (mm)	Number of adults recovered <sup>2</sup>		
		St. 3	St. 4	St. 5
Tanypodinae				
<i>Thienemannimyia</i> sp.	3.5	2/ 2	0/ 1	0/ 1
<i>Tanypodinae</i> sp.	(3.6)	1/ 0	0/ 1	
Orthocladinae				
<i>Cricotopus bicinctus</i>	2.6	9/ 7	5/ 5	10/10
<i>Cricotopus triannulatus</i>	2.6	0/ 1	8/ 7	1/ 4
<i>Cricotopus</i> sp.	1.6	1/ 1		
<i>Brillia japonica</i>	3.0	1/ 2		
<i>Paratrichocladus tawaater</i>	2.6	2/ 1	2/ 1	5/ 3
<i>Paratrichocladus rufiventris</i>	3.0	1/ 0		
<i>Rheocricotopus chalybeatus</i>	2.3	8/13	11/17	17/28
<i>Orthocladus</i> sp.	(2.5)		0/ 1	
Chironominae				
<i>Chironomus yoshimatsui</i>	5.0	3/ 2		4/ 4
<i>Chironomus samoensis</i>	4.8	1/ 1		
<i>Polypedilum cultellatum</i>	3.5	9/ 8	5/ 6	3/ 9
<i>Polypedilum</i> sp.	(1.7)	0/ 1		
<i>Chironominae</i> sp.	(1.5)	0/ 1		
<i>Tanytarsus</i> sp.	(1.4)	0/ 1		

1 Body length of male (or female in parenthesis).

2 Number of adults is expressed as male/female.

図2に付着クロロフィルa量の変動を, 図3に *Chironomus* 属を除く小型ユスリカ類の幼虫とさなぎの密度変動を示す。これらの幼虫とさなぎのほとんどは *Cricotopus bicinctus*, *C. triannulatus* 及び *Rheocricotopus chalybeatus* であると考えられる。6月中旬から7月初旬の梅雨期には流量が増加したため(図1c), 底生生物のほとんどが洗い流され, 付着のクロロフィルa量と中型のユスリカ以外の底生動物密度が低下した(図2, 3)。梅雨明け後の付着クロロフィルa量と小型のユスリカ幼虫密度の増加は速く約1週間でピークに達した。以後, 約3週間おきに幼虫とさなぎの密度がピークを示し, 成虫の羽化産卵により, ユスリカ類の回復が速やかに行われることを示唆していた。St. 3では小型ユスリカ幼虫密度は2回目のピークで梅雨前の密度に回復し, 3回目のピークでは  $20,000 \text{ m}^{-2}$  まで増加し, St. 4では2回目のピークで  $20,000 \text{ m}^{-2}$  に増加した。St. 5では1回目のピークで梅雨前の密度の  $10,000 \text{ m}^{-2}$  まで回復したがそれ以後の密度は St. 3, 4に比べて低かった。

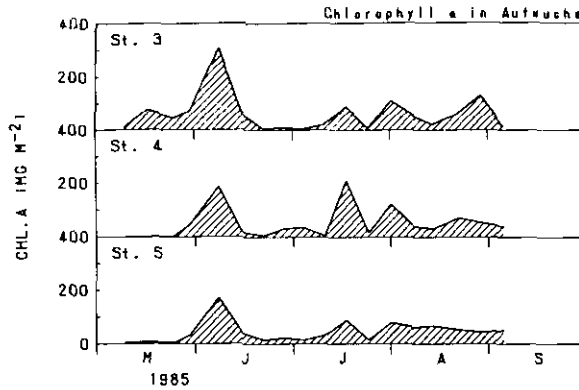


図2 付着クロロフィル a 量の変動

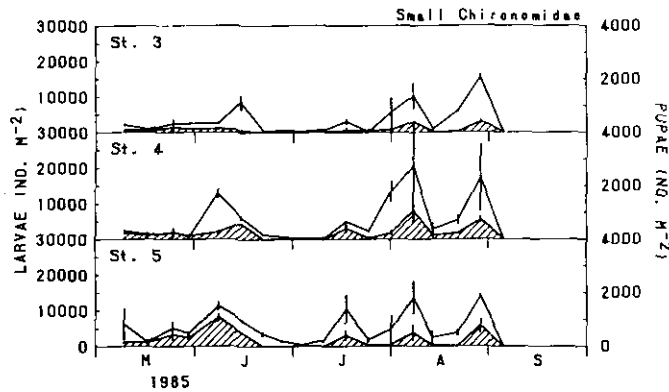


図3 小型種 (*Chironomus* 属以外) のユスリカ密度の変動  
 実線：幼虫密度，斜線部：さなぎ密度。

付着のクロロフィル a 量は梅雨明け後 1 回目のピークではユスリカのピークに一致したが、2 回目と 3 回目のピークはユスリカより 1 週間早くなる傾向がみられた。梅雨明け後の付着クロロフィル a 量は St. 3 で  $6 \sim 110 \text{ mg Chl. a m}^{-2}$ 、St. 4 では  $5 \sim 60 \text{ mg Chl. a m}^{-2}$ 、St. 5 では  $5 \sim 30 \text{ mg Chl. a m}^{-2}$  であった。

図 4 に中型のユスリカすなわち *Chironomus yoshimatsui* と *C. samoensis* の幼虫とさなぎの密度の変動を示す。この 2 種は梅雨の間も生息し、降雨による流速の増加の影響が少ないものと考えられた。*C. yoshimatsui* は *C. samoensis* より密度が高く、St. 5 で最も高密度であった。各地点における *C. yoshimatsui* 幼虫の最大密度は St. 3 で  $40 \text{ m}^{-2}$ 、St. 4 で  $330 \text{ m}^{-2}$  及び St. 5 で  $1,230 \text{ m}^{-2}$  であり、*C. samoensis* のそれは St. 3 で  $220 \text{ m}^{-2}$ 、St. 4 で  $490 \text{ m}^{-2}$  及び St. 5 で  $400 \text{ m}^{-2}$  であった。*C. samoensis* は梅雨直前に幼虫密度が最大となり以後は低下した。一方 *C. yoshimatsui* は梅雨明け後の 7～8 月に幼虫密度が最大となった。この傾向は 3 地点とも同じであった。さなぎ、または胸節の融合したさなぎ直前の幼虫の出現する間隔は *C. yoshimatsui* で 4～5 週間、*C. samoensis* ではこれより長く 5～6 週間であった。

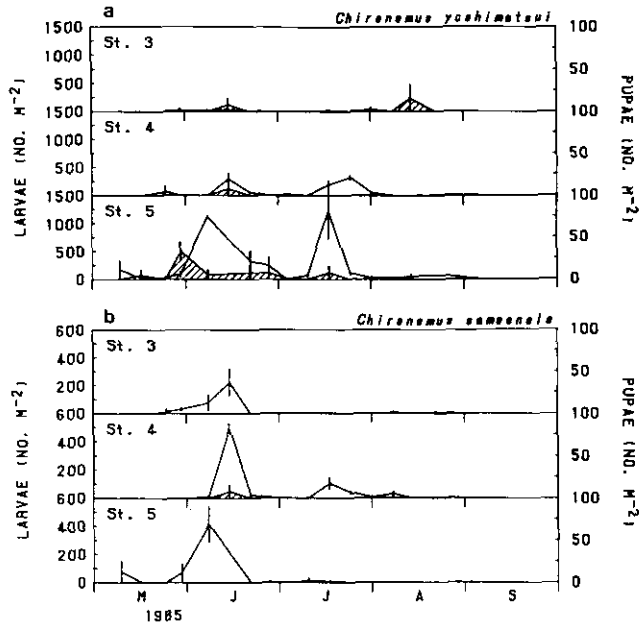


図4 *Chironomus samoensis* (a)及び*C. yoshimatsui* (b)密度の変動  
 実線：幼虫密度，斜線部：さなぎ密度。

この河川 (St. 3～5)では流量の変化が大きいため梅雨期をはさんで5月～6月上旬，6月中旬～7月上旬及び7月中旬～9月の3期に分けることができる。表3に平均水温，平均流速，平均付着クロロフィルa量及びさなぎの現存量から推定したユスリカのような(蛹)化量を，梅雨をはさんだ3期に分けて示した。さなぎの期間は1日と仮定した。*Cricotopus bicinctus*と*Rheocricotopus chalybeatus*で代表される小型のユスリカは，梅雨の期間中のよう化量がいずれの地点でも低かった。夏期の4か月の間に小型のユスリカのような化量は，St. 3，4及び5でそれぞれ， $0.9 \text{ g m}^{-2}$ ， $2.6 \text{ g m}^{-2}$ 及び $2.3 \text{ g m}^{-2}$ であった。成虫の体重がさなぎの70%であると仮定すると，羽化量はそれぞれ， $0.6 \text{ g m}^{-2}$ ， $1.8 \text{ g m}^{-2}$ 及び $1.6 \text{ g m}^{-2}$ であると推定された。

### 3. 4 コカゲロウ類，シマトビケラ類，貧毛類及びヒルの変動

図5にコカゲロウ類の*Baetis thermicus*と*B. sahoensis*の幼虫密度の変動を示す。コカゲロウ類は梅雨入り前及び梅雨中は密度が低く，梅雨明け後の7～8月に個体数が増加した。*B. thermicus*は梅雨明け後すぐの7月に個体数が増加し，St. 4では $300 \text{ m}^{-2}$ ，St. 5では $1,400 \text{ m}^{-2}$ となった。*B. sahoensis*は梅雨明け後徐々に増加し8月に密度が最大となり，St. 4では $500 \text{ m}^{-2}$ ，St. 5では $1,200 \text{ m}^{-2}$ となった。図5の密度変動は，この2種の間になんらかの競争関係があることを示唆している。コカゲロウの密度が高い時は付着クロロフィルa量が高い時に一致する傾向がみられたが，小型のユスリカ類と付着クロロフィルa量との関係ほど明りょうではなかった。

表3 1985年の梅雨前、梅雨期及び梅雨期以後の平均水温、平均流量、平均付着クロロフィル a 量及びユスリカよう化量

	Period			
	9 May- 13 Jun. (36 d)	14 Jun.- 9 Jul. (26 d)	10 Jul.- 4 Sep. (56 d)	9 May- 4 Sep. (118 d)
St. 3				
Water temperature (°C)	17.2	15.5	20.6	
Mean velocity (m s <sup>-1</sup> )	0.12	0.62	0.39	
Chlorophyll a (mg m <sup>-2</sup> )	108	16	62	
Pupated biomass (g m <sup>-2</sup> )				
small chironomids <sup>1</sup>	0.24	0.03	0.65	0.92
Chironomus <sup>2</sup>	0.02	0	0.05	0.07
St. 4				
Water temperature (°C)	20.1	17.0	22.7	
Mean velocity (m s <sup>-1</sup> )	0.18	0.68	0.51	
Chlorophyll a (mg m <sup>-2</sup> )	51	23	72	
Pupated biomass (g m <sup>-2</sup> )				
Small chironomids	0.89	0.01	1.67	2.57
Chironomus	0.04	0	0	0.04
St. 5				
Water temperature (°C)	20.1	17.3	22.8	
Mean velocity (m s <sup>-1</sup> )	0.16	0.58	0.46	
Chlorophyll a (mg m <sup>-2</sup> )	48	22	56	
Pupated biomass (g m <sup>-2</sup> )				
Small chironomids	1.24	0.02	1.07	2.33
Chironomus	0.16	0.05	0.02	0.23

- 1 Body length < 4 mm, mainly Cricotopus bicinctus and Rheocricotopus chalybeatus  
 2 Body length ≥ 4 mm, Chironomus yoshimatsui and C. samoensis

図6にシマトビケラ類幼虫の密度変動を示す。Cheumatopsyche brevilineata 及び Hydropsyche orientalis とも St. 3 で最も密度が高かった。梅雨の期間中に各地点で密度が低下し、梅雨明け後に個体数が増加したが、その回復速度はユスリカと同程度に速かった。

図7に貧毛類とヒル (Eriopodella octoculata) の密度変動を示す。これらは他の時期に比べて梅雨の期間中に特に密度が低下するという傾向はみられなかった。



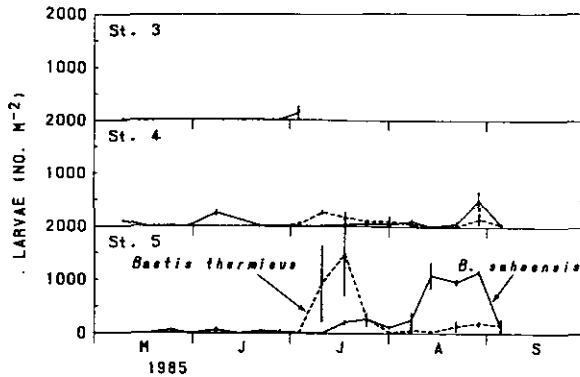


図5 コカゲロウ類幼虫密度の変動  
 実線: *Baetis sahoensis*, 破線: *B. thermoicus*

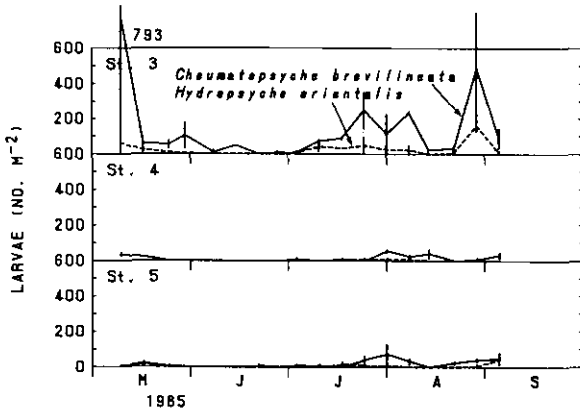


図6 シマトビケラ類幼虫密度の変動  
 a: *Cheumatopsyche brevilineata*, b: *Hydropsyche orientalis*

### 3. 5 底生生物の変動と農薬残留量との関係

調査を行った河川は農耕地を流れており、夏期には各種の殺虫剤、除草剤、殺菌剤が検出されている(岩熊ら, 1988)。ただしSt. 3の上流域からはほとんど検出されていない(Shiraishiら, 1988)。殺虫剤と除草剤は田植後の5~6月にピークを示し、8月には濃度は低くなる一方、殺菌剤は7~8月に幅の広いピークを示す。主な殺虫剤は、ピーク濃度の順に、BPMC(カーバメイト系) > フェンチオン(有機リン系) > ダイアジノン(有機リン系) > フェニトロチオン(有機リン系)、除草剤はベンチオカーブ(カーバメイト系) > シメトリン(トリアジン系) > オキサジアゾン(ダイアジン系) > モリネート(チオカーバメイト系)、殺菌剤はIBP(有機リン系) > イソプロチオラン(ジチオラン系)である(岩熊ら, 1988)。

図8に各底生動物の密度及び付着クロロフィルa量と主な農薬の残留量との関係を示す。すでに示したように、梅雨期の6月14日から7月3日までの間には、増水による底生生物の密度低下があったと考えられるので、この期間のデータは省いてある。小型のユスリカ(主に *Cricotopus*

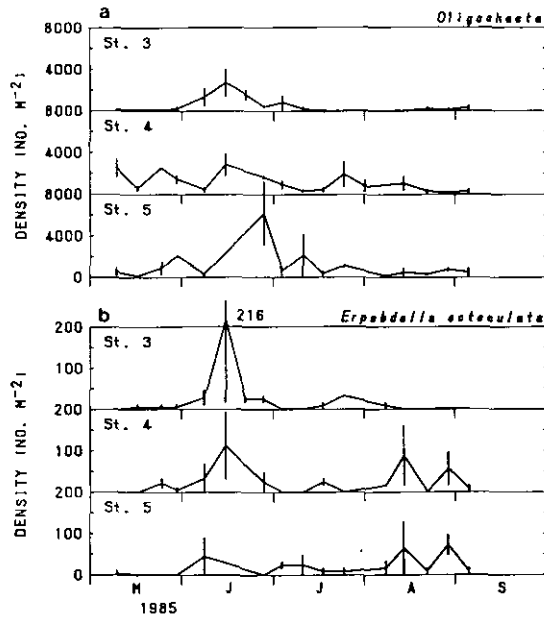


図7 貧毛類(a)及びヒル(*Erpobdella octoculata*) (b)密度の変動

と *Rheocricotopus*), 中型のユスリカ (*Chironomus yoshimatsui* と *C. samoensis*), イトミミズ類及びヒル類 (*Erpobdella octoculata*) の密度は殺虫剤, 除草剤, 殺菌剤のいずれにも影響を受けていないと考えられた。コカゲロウ類の *Baetis samoensis* と *B. thermicus* は残留殺虫剤と除草剤により密度が減少する傾向が示された。 *B. samoensis* では, ベンチオカーブやオキサジアゾン等の除草剤濃度が 3~4 ppb を越えると, 薬剤濃度が低いときに観察された最大個体群密度の 1/10 以下の密度となった。また殺虫剤の BPMC とフェンチオンについても 1~3 ppb を越えると 1/10 以下に密度が低下しているようであった。これらの除草剤と殺虫剤は同時期に濃度が高いため, 複合した影響であると考えられる。殺菌剤濃度は *B. samoensis* の密度変動とは無関係のようであった。 *B. thermicus* でも類似の傾向がみられたが *B. samoensis* ほど明らかではなかった。シマトビケラ類の *Cheumatopsyche brevilineata* は BPMC 濃度に影響を受けている傾向がみられたが, 他の殺虫剤による影響は不明りようであった。また除草剤と殺菌剤濃度とは無関係のようであった。附着クロロフィル a 量は除草剤, 殺菌剤により影響を受けていないと判断された。

#### 4 考察

底生動物の殺虫剤に対する感受性については幾つかの組み合わせについて行われている。 *Baetis rhodani* は有機リン系殺虫剤(テメフォス, クロルピリフォス), 有機塩素系殺虫剤及びピレスロイド系殺虫剤のいずれにも感受性が高い (Muirhead-Thomson, 1971, 1978, 1987)。シマトビケラ科は *Baetis* より感受性は低い, 属により殺虫剤に対する感受性が異なり, メトキシク

ロール（有機リン系殺虫剤）には *Hydropsyche* より *Cheumatopsyche* の方が感受性が高い（Muirhead-Thomson, 1987）。溪流への有機リン系殺虫剤投入実験では、底生動物のうち *Baetis* は最も低濃度で流下をする（Yasunoら, 1981, 1982）。恋瀬川支流で観察された *Baetis* の密度低下は、この流下による消失と考えられる。本調査地点の下流域でも殺虫剤や除草剤は St. 3～5 と同レベルの濃度で存在しているため（岩熊ら, 1988）、流下する *Baetis* は定着できずいずれは死亡していくものと考えられる。

ユスリカも種により薬剤により感受性が異なり、*Chironomus yoshimatsui* はフェニトロチオンの  $EC_{50}$  が 4 ppm であるがフェンチオンでは  $EC_{50}$  が 0.1 ppm と感受性が高い（佐藤・安野, 1979）。恋瀬川支流ではフェンチオンの最大濃度は 6 ppb であったため（図 8）、*C. yoshimatsui* には影響を及ぼしていなかったであろう。*Cricotopus bicinctus* は有機汚濁、六価クロム、ヒ素及び重金属等に耐性のあることが知られている（Surber, 1959; Rosenberg ら, 1977b）。恋瀬川水系でも、この種は最も農業の影響の少ない種であると考えられた。コカゲロウ類は農業に感受性が高かったが（図 8）、一方で *Baetis thermicus* は重金属に耐性のあることが明らかにされており（Hatakeyama ら, 1988）、同一の種における汚染物質への耐性の違いは興味深い。

ベンチオカーブ、オキサジアゾン、IBP 等水田に用いられている除草剤及び殺菌剤に対する河川底生動物の感受性については明らかにされてきてはいなかった。本調査の結果から *Baetis* が水田用除草剤に対しても感受性が高く、殺菌剤に対しては感受性の低いことが示唆された。シマトビケラ類は水田用除草剤に対して感受性は高くないようであった。これらの底生動物の各種薬剤に対する感受性及び生態影響については今後実験的に解明される必要があろう。野外では殺虫剤、除草剤、殺菌剤は単独ではなく複数が混合して検出される。個々には比較的低濃度でもそれらが組み合わさったときの複合影響に関する研究が重要である。

8 月には、ユスリカ幼虫の個体数がピークになると付着クロロフィル a 量が減少し始めていた（図 2）。この時期には大雨はなく、流量の増加による付着藻類の洗い流しはないため、ユスリカ幼虫の摂食が付着藻類の減少をもたらしていたと考えられる。梅雨明け後の付着クロロフィル a 量は St. 3 で  $6 \sim 110 \text{ mg Chl. a m}^{-2}$ 、St. 4 では  $5 \sim 60 \text{ mg Chl. a m}^{-2}$ 、St. 5 では  $5 \sim 30 \text{ mg Chl. a m}^{-2}$  であった。また付着クロロフィル a 量の最大増加速度は、St. 3 では約  $14 \text{ mg Chl. a m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ 、St. 4 では約  $30 \text{ mg Chl. a m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ 、St. 5 では約  $9 \text{ mg Chl. a m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  で、そのときのユスリカ密度はそれぞれ、 $240 \sim 5,000 \text{ m}^{-2}$ 、 $460 \sim 5,300 \text{ m}^{-2}$ 、 $2,000 \sim 4,800 \text{ m}^{-2}$  であった。ユスリカの密度が摂食圧の違いとなり、付着藻類の回復速度と最大現存量の差に反映していることが示唆された。実験水路では比較的高濃度の殺虫剤を用いて藻類食の底生動物を除去すると付着藻類の現存量が増加することが示されている（Yasunoら, 1985; 安野・佐竹, 1986）。恋瀬川支流ではコカゲロウもユスリカと同様の個体数変動を示していたことから（図 5）、この摂食も付着藻類の減少にかかわっていたと考えられる。

一般に昆虫の羽化のピーク間隔は必ずしも世代時間に対応しないが、降雨等の洗い流しの後の

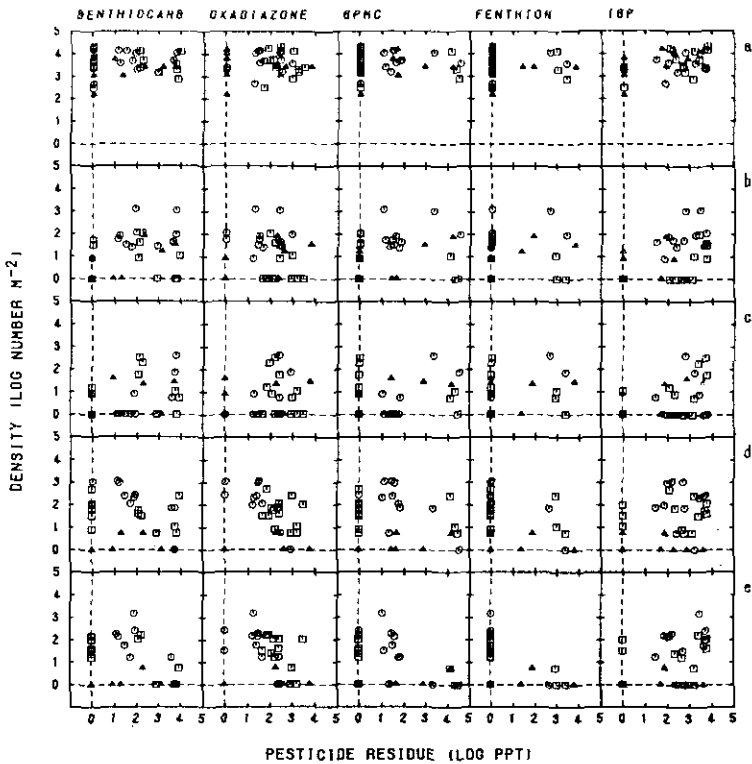


図8 底生動物密度及び付着クロロフィル a 量と河川水中の主要な殺虫剤、除草剤及び殺菌剤残留濃度との関係

梅雨期のデータは除外してある。鉛直の破線は各薬剤の検出限界以下の濃度を示し、水平の破線は底生生物の密度0を示す。底生生物は上段から順に、

- a: 小型種のエスリカ, b: *Chironomus yoshimatsu*, c: *C. samoensis*, d: *Baetis sahoensis*, e: *B. thermicus*, f: *Cheumatopsyche brevilineata*, g: *Hydropsyche orientalis*, h: イトミミズ, i: *Erythroptera octoculata*, j: 付着クロロフィル a 量

△: St. 3, □: St. 4, ○: St. 5

エスリカ定着集団はコーホートであると考えられる。梅雨明け後には St. 3～5 のいずれの地点でも、3週間ごとに *Cricotopus* や *Rheocricotopus* 等の小型のエスリカのさなぎ個体数のピークが観察され、羽化間隔が3週間であることを示していた(図3)。*C. bicinctus* は多化性で LeSage & Harrison (1980) は羽化のピークから年5世代であることを推定した。彼らによると夏期(水温8～27℃)の世代時間は約4週間である。一方 Rosenbergら(1977a)は異なる世代が重複するため、本種の世代時間は羽化のピーク間隔よりも長く4～6週間(水温15～20℃)であるとした。同じ属の *C. sylvestris* の飼育実験によると発育は水温に依存し22℃と29℃では世代時間は19日と短い(Menzie, 1981)。恋瀬川支流では梅雨明け後の水温が20～25℃、平均23℃(St. 4, 5, 表3)と比較的高いため他の報告よりも *C. bicinctus* の世代時間が短く、3週間で発育を完了するとしてもよさそうである。*Rheocricotopus chalybeatus* については他の研究との比較ができないが、さなぎのピーク間隔からは、世代時間は同じく約3週間であると考え

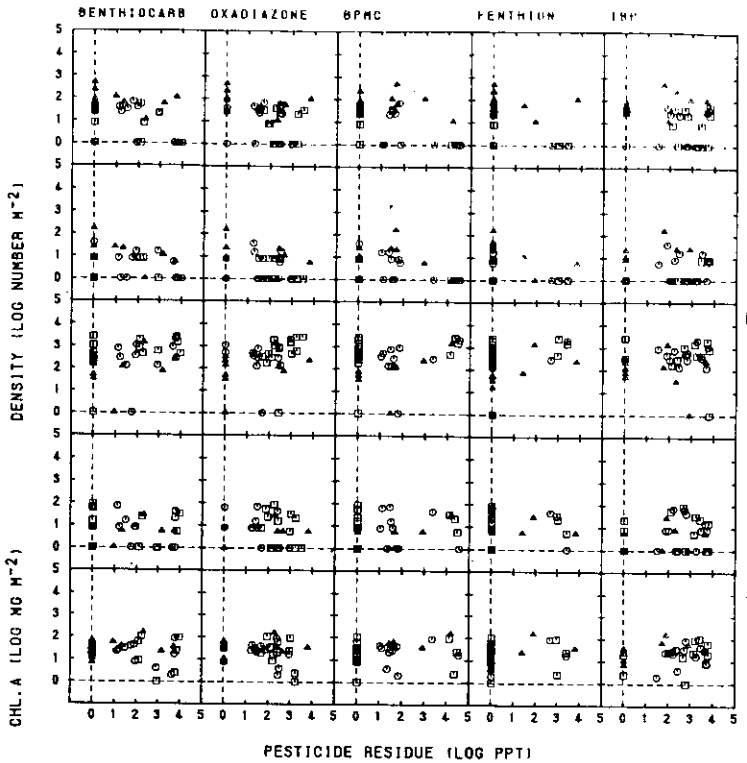


図8 (つづき)

られる。

*Chironomus yoshimatsui* は野外の河川では年に5世代以上を過ごす(代田, 1975; 大野, 1981)。世代時間は平均水温20℃で31~34日, 平均水温25℃で22~25日である(代田, 1975)。*C. sa-moensis* も25℃の飼育条件では*C. yoshimatsui*と同様に成長速度が速い(Kawai & Konishi, 1986)。恋瀬川支流におけるこの2種の推定羽化間隔の4~5週間は世代時間に対応していると考えられる。

畠山ら(1988)は間沢川に生息する*Baetis thermicus*の夏期の世代時間が約3か月であると推定した(水温は18℃前後)。水路では*B. rhodani*の夏期の世代時間は約3か月である(水温12~14℃, Weltonら, 1982)。梅雨明け後の恋瀬川支流においては,*Baetis thermicus*は小型のユスリカに匹敵する速度で密度が増加していたが(図5), 上流からの流下による定着とも考えられる。*B. sahoensis*の世代時間についてはこれまでに明らかにされていないが, 恋瀬川支流での観察からは世代時間が短い可能性があり, 今後の検討を必要とする。

シマトビケラ類の*Hydropsyche*属や*Cheumatopsyche*属は年1~3世代で, 夏期の世代時間はユスリカに比べて長く2か月以上である(谷田, 1980; Statzner, 1981)。したがって本研究では成長が速く世代時間の短いユスリカと, そしてコカゲロウが, 降雨及び農薬の流入によるかく乱からの回復過程での主要な底生動物となっていた。汚染物質の流入により, そこに本来存在

するはずの生物は個体数が減少ないしは絶滅している可能性があり、その代わりにユスリカやコカゲロウのような汚染に強いが、弱くても回復速度の速い種が分布するのであろう。

恋瀬川支流からは夏期の4か月の間に  $0.6 \text{ g m}^{-2}$  (St. 3)~ $1.8 \text{ g m}^{-2}$  (St. 4, 5) のユスリカ成虫が羽化していると推定された。デトリタス食性のユスリカの成虫羽化量に2~5の係数、平均値としては2.8を乗じると、幼虫の生産量が推定できる(岩熊, 1986)。この河川からは4か月の間のユスリカ幼虫生産量は  $2 \sim 5 \text{ g m}^{-2}$  と推定され、ユスリカが物質循環の上でも重要な役割を果たしていることが示唆された。

## 謝 辞

旭技研小林紀雄氏及び大阪府立大学谷田一三博士にはコカゲロウ類及びトビケラ類の分類でご教示いただいた。斎藤ヒロ子氏には底生動物の拾い出しを手伝っていただいた。記して感謝いたします。

## 引 用 文 献

- Eidt, D. C., A. J. Sosiak and V. N. Mallet (1984): Partitioning and short-term persistence of fenitrothion in New Brunswick (Canada) headwater streams. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 13, 43-52.
- Gunkel, G. (1984): Untersuchungen zur okotoxikologischen Wirkung eines Herbizids in einem aquatischen Modellökosystem. II. Nahrungskettenprobleme und Schadstoffbianzierung. Arch. Hydrobiol. Suppl., 69, 130-168.
- Hambury, R. G., K. J. Murphy and J. W. Eaton (1981): The ecological effects of 2-methylthiotriazine herbicides used for aquatic weed control in navigable canals. II. Effects on macroinvertebrate fauna, and general discussion. Arch. Hydrobiol., 91, 408-426.
- Hatakeyama, S., M. Yasuno and K. Satake (1988): Baetis (Ephemeroptera) as an efficient heavy metal accumulator in rivers. Proc. 4th IUBS Internat. Symp. Biomonit. State Environ. (in press).
- 畠山成久・菅谷芳雄・横山宣雄 (1988): 重金属汚染河川(間沢川)に優占する3種のユスリカとコカゲロウ(Baetis thermicus) 個体群の周年変動. 国立公害研究所研究報告, 第114号, 177-191.
- Hurlbert, S. H. (1975): Secondary effects of pesticides on aquatic ecosystems. Residue Rev., 57, 81-148.
- 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動物群集への影響, 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.
- 岩熊敏夫 (1986): 陸水における二次生産, 特に底生動物の生産と富栄養化の関係について. 日本生態学会誌, 36, 169-187.
- 岩熊敏夫・安野正之・菅谷芳雄 (1984): 霞ヶ浦における底生動物の分布と二次生産及びユスリカの湖内物質移動における役割について. 国立公害研究所研究報告, 第51号, 103-140.

- 岩熊敏夫・白石寛明・野原精一・高村健二 (1988): 恋瀬川水系における殺虫剤, 除草剤及び殺菌剤の残留量. 国立公害研究所研究報告, 第114号, 73-83.
- Kawai, K. and K. Konishi (1986): Fundamental studies on chironomid allergy. I. Culture methods of some Japanese chironomids (Chironomidae, Diptera). Jpn. J. Sanit. Zool., 37, 47-57.
- 小林紀雄 (1987): 環境指標昆虫としてのコカゲロウ. 「水域における生物指標の問題点と将来」シンポジウム報告, 国立公害研究所, 41-60.
- LeSage, L. and A. D. Harrison (1980): The biology of Cricotopus (Chironomidae: Orthocladiinae) in an algal-enriched stream: Part I. Normal biology. Arch. Hydrobiol. Suppl., 57, 375-418.
- 丸 論 (1985): 千葉県内河川の農薬モニタリング. 生態化学, 8(3), 3-10.
- Mauck, W. L., F. L. Mayer, Jr. and D. Holz (1976): Simazine residue dynamics in small ponds. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 16, 1-8.
- Menzie, C. A. (1981): Production ecology of Cricotopus sylvestris (Fabricius) (Diptera: Chironomidae) in a shallow estuarine cove. Limnol. Oceanogr., 26, 467-481.
- Muirhead-Thomson, R. C. (1971): Pesticides and Freshwater Fauna. Academic Press, London-New York, 248p.
- Muirhead-Thomson, R. C. (1978): Relative susceptibility of stream macroinvertebrates to temephos and chlorpyrifos, determined in laboratory continuous-flow systems. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 7, 129-137.
- Muirhead-Thomson, R. C. (1987): Pesticide Impact on Stream Fauna. Cambridge University Press, Cambridge-New York-Melbourne, 275p.
- 大野正彦 (1981): 東京都内におけるユスリカの生態. I. 善福寺川に生息するセスジユスリカの年間世代数の算定. 日本生態学会誌, 31, 155-159.
- Pinder, L. C. V. (1978): A Key to Adult Males of British Chironomidae. Vols. 1 and 2. Freshwater Biological Association, Ferry House, 169+112p.
- Rosenberg, D. M., A. P. Wiens and O. A. Saether (1977a): Life histories of Cricotopus (Cricotopus) bicinctus and C. (C.) mackenziensis (Diptera: Chironomidae) in the Fort Simpson area, Northwest Territories. J. Fish. Res. Board Can., 34, 247-253.
- Rosenberg, D. M., A. P. Wiens and O. A. Saether (1977b): Responses to crude oil contamination by Cricotopus (C.) bicinctus and C. (C.) mackenziensis (Diptera: Chironomidae) in the Fort Simpson area, Northwest Territories. J. Fish. Res. Board Can., 34, 254-261.
- 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., 3, 1-63.
- Sasa, M. (1981): Studies on chironomid midges of the Tama River. Part 3. Species of the subfamily Orthocladiinae recorded at the summer survey and their distribution in relation to the pollution with sewage waters. Res. Rep. Natl. Inst. Environ. Stud., 29, 1-77.
- Satake, K.N. and M. Yasuno (1987): The effects of diflubenzuron on invertebrates and fishes in a river. Jpn. J. Sanit. Zool., 38, 303-316.

- 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.
- Shiraishi, H., F. Pula, A. Otsuki and T. Iwakuma (1988): Behaviour of pesticides in Lake Kasumigaura, Japan. Sci. Total Environ. (in press).
- 代田昭彦 (1975): アカムシの研究. 恒星社厚生閣, 東京, 148p.
- Statzner, B. (1981): A progress report on Hydropsychidae from the Ivory Coast: characteristics for the specific identification of larvae and population dynamics of four abundant species. In: Proc. 3rd Internat. Symp. Trichoptera, Moretti, G. P. (ed.), Dr W. Junk Publ., The Hague, 329-335.
- Surber, E. W. (1959): *Cricotopus bicinctus*, a midgefly resistant to electroplanting wastes. Trans. Am. Fish. Soc., 88, 111-116.
- 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係について. 陸水学雑誌, 41, 95-111.
- 谷田一三 (1985): 毛翅目 (トビケラ目) Trichoptera. 川合禎次(編), 日本産水生昆虫検索図説, 東海大学出版会, 167-215.
- Wallace, R. R., A. S. West, A. E. R. Downe and H. B. N. Hynes (1973): The effects of experimental blackfly (Diptera: Simuliidae) larviciding with Abate, Dursban and Methoxychlor on stream invertebrates. Can. Entomol., 105, 817-831.
- Wiederholm, T. (ed.) (1986): Chironomidae of the Holarctic Region. Keys and Diagnoses. Part 2 - Pupae. Entomol. Scand. Suppl., 28, 482p.
- Welton, J. S., M. Ladle and J.A.B. Bass (1982): Growth and production of five species of Ephemeroptera larvae from an experimental recirculation stream. Freshwater Biol., 12, 103-122.
- 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.
- 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.
- Yasuno, M., Y. Sugaya and T. Iwakuma (1985): Effects of insecticides on the benthic community in a model stream. Environ. Poll., Ser. A, 38, 31-43.
- 安野正之・花里孝幸・宮下衛 (1986): 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. 国立公害研究所研究報告, 第99号, 107-118.



## 農薬散布水田のユスリカ羽化に影響する要因

高村健二<sup>1</sup>・安野正之<sup>1</sup>

### Factors Affecting Emerging Chironomids from Pesticide-Treated Rice Fields

Kenzi TAKAMURA<sup>1</sup> and Masayuki YASUNO<sup>1</sup>

#### Abstract

Abundance and species composition of emerging chironomids were investigated in three plots of rice fields where different pesticide applications were adopted; no pesticide, herbicide only, and insecticide + herbicide + fungicide. A total emergence during the 3 months period was highest in the no pesticide plot ( $1.66 \times 10^4$  midges  $m^{-2}$ ). Species diversity was highest in the herbicide plot, and second highest in the no pesticide plot. Tanytarsus oyamai was most abundant in all the plots and formed at least one-third of the total emergence in every plot. Polypedilum nubifer and Chironomus kiiensis were the second and third abundant species in the no pesticide and herbicide plots. Two Tanypodinae species, Ablabesmyia monilis and Procladius sagittalis, and Cricotopus sylvestris emerged numerously in the insecticide + herbicide + fungicide plot and the herbicide plot, respectively. These differences in the emerging chironomids may have resulted from primarily the different responses to the pesticide toxicity among the chironomids, however the indirect effects of pesticides, such as the reduction in the numbers of predators or of the competitors could not be ignored.

#### 要 旨

殺虫剤・除草剤・殺菌剤散布田、除草剤散布田、無農薬田でユスリカ成虫の羽化数とその種組成を調査した。約3か月の実験期間中の総羽化数は無農薬田で最も多く  $1.66 \times 10^4$  midges  $m^{-2}$ 、他の2田は  $1 \times 10^4$  midges  $m^{-2}$  前後であった。種多様度は除草剤散布田で最も高く、次に無農薬田で高かった。いずれの水田でも Tanytarsus oyamai が最も多く総羽化数の少なくとも 1/3以上を占めていたが、次に多い種は水田によって異なり殺虫剤・除草剤・殺菌剤散布田ではカユスリカ亜科の2種 (Ablabesmyia monilis, Procladius sagittalis) が、除草剤散布田では Cricotopus sylvestris が多く羽化することが特徴的であった。また殺虫剤・除草

---

1. 国立公害研究所生物環境部 〒305 茨城県つくば市小野川16番2  
Environmental Biology Division, the National Institute for Environmental Studies,  
16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

剤・殺菌剤散布田以外では Polypedilum nubifer・Chironomus kiiensis が多く羽化した。これらの水田におけるユスリカ成虫の羽化数・種組成の相違は農薬に対する感受性の種による違いだけでなく、農薬による捕食者や競争者の減少にも由来していると考えられる。

### 1 はじめに

水田には稲の生育に応じて様々な農薬が散布されているが、これらの農薬は水田中の水生動物にも影響を与えることが知られている (Ishibashiら, 1983; Lim, 1980; Lim & Wong, 1986; Raghu & MacRae, 1967; 高久ら, 1979; Takamura & Yasuno, 1986; Washinoら, 1972)。ユスリカの幼虫については、農薬散布後個体数が増加することが知られており、この増加は散布により捕食者が減少し捕食圧が低下したことによると推察されている (Steelmanら, 1975; Takamura & Yasuno, 1986)。ところで殺虫剤への暴露に対してユスリカ幼虫の種間で感受性に差があることがはっきりしており (佐藤・安野, 1979; Yasunoら, 1982)、水田のユスリカ群集においても農薬散布の影響は種によって異なることが考えられる。本報告では散布農薬を変えた水田間で羽化するユスリカ成虫の種組成を調査した結果を述べて、ユスリカ種間での影響の相違、また相互の関係について論じる。

### 2 方法

調査は前報 (高村・安野, 1986) に述べたのと同じ水田で同じ時期に行った。水田 A が無散布田、水田 B が除草剤散布田、水田 C が除草剤・殺虫剤・殺菌剤散布田である。湛水は水田 A・B で 5 月 25 日、水田 C で 6 月 1 日から始まり、8 月下旬まで続いた。なお水田 C では 7 月 31 日から 8 月 10 日まで中干しが行われた。

羽化するユスリカ成虫の採集には、口径 17 cm の水面設置型羽化トラップを用いた。この羽化トラップは網目 200  $\mu$  の三角錐型の網とそれを支える金属製の枠からなっている (図 1)。金属製支柱下部は水田底土に突き刺して開口部がちょうど水面に接するように固定した。回収時には発泡ウレタン製円盤 (厚さ 1 cm) で口をふさいでトラップごと抜き取り、中の虫を殺虫剤を噴霧して殺した後取り出した。

羽化トラップは 1 水田に 4 個設置し、ほぼ 2 日に 1 回の頻度で採集した。採集した標本は 70% エチルアルコールに保存し、顕微鏡を用いて同定・計数した。

### 3 結果

ユスリカ総羽化数の変化を図 2 に示した。水田 A では二山型の変化であった。5 月末の湛水後羽化数が増加し 6 月 17・19 日に約 800 midges  $m^{-2} d^{-1}$  に達した。その後減少し、7 月下旬に再び増加するまでは低い羽化数であった。後半は 8 月 3 日に前半と同じ水準の羽化数が認められて、その後減少した。水田 B ではやははっきりしないが、やはり二山型の変化を示した。6 月に水田

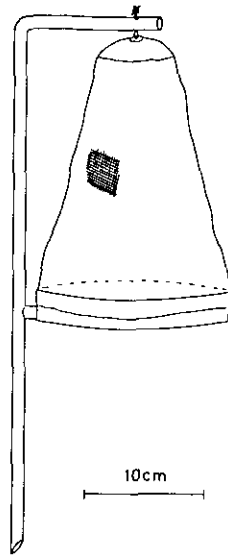


図1 水面設置型羽化トラップ

Aと同じ時期に高い羽化数に達し、その後減少するが7月後半にいくらか回復した。水田Cでは一山型の変化を示し、他の水田とは違って7月中に  $500 \text{ midges m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  を越す高い羽化数を示した。

これらの水田から採集されたユスリカの種は前報（高村・安野，1986）で報告したが、そのうち比較的多く出現した6種について図2に羽化数の変化を示した。*Tanytarsus oyamai* は実験期間前半に多く羽化する傾向を示した。水田Aでは6月中に約  $890 \text{ midges m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  に達する高い羽化数を示し、前半の総ユスリカ羽化数のほとんどを占めていた。水田Bでも同じ時期に約  $340 \text{ midges m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  にまで達した。一方水田Cでは7月に多く羽化し約  $480 \text{ midges m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  に達して、この水田の羽化数のほとんどを占めていた。*Chironomus kiiensis* は水田Aで7月後半から8月前半にかけて羽化し、8月初めに約  $240 \text{ midges m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  に達した。水田Bでは1か月早く6月後半から7月前半に多いときで約  $150 \text{ midges m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  羽化した。水田Cではほとんど羽化しなかった。

*Polypedilum nubifer* は主として実験期間後半に羽化した。A・B 両水田とも7月後半から羽化数が増え始めるが、水田Aでは急激に増加して8月3日に  $460 \text{ midges m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  に達するのに対して水田Bでは  $100 \text{ midges m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  以下の低羽化数で推移する。水田Cではほとんど羽化しなかった。

*Cricotopus sylvestris* は水田Bで数多く羽化した。その羽化は実験期間前半に集中し、6月17日には約  $140 \text{ midges m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  に達した。水田Cでは7月中頃に羽化が多く7月17日には約  $340 \text{ midges m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  に達した。ほぼ同じ時期に水田Bでも若干の羽化が認められた。

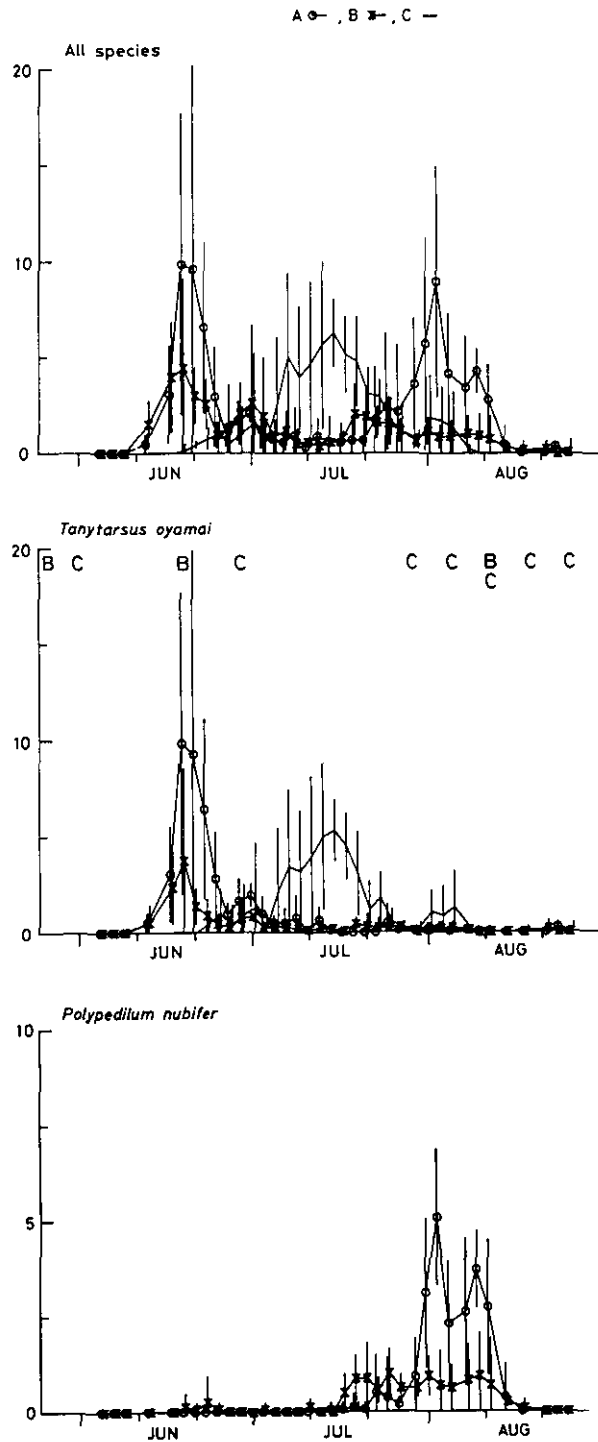


図2 実験水田におけるユスリカ全体及び主要種の成虫羽化数の季節変動  
 縦棒は95%信頼区間を表す。 *T. oyamai* の図の上部に水田 B, C の農薬散布時期を示す。

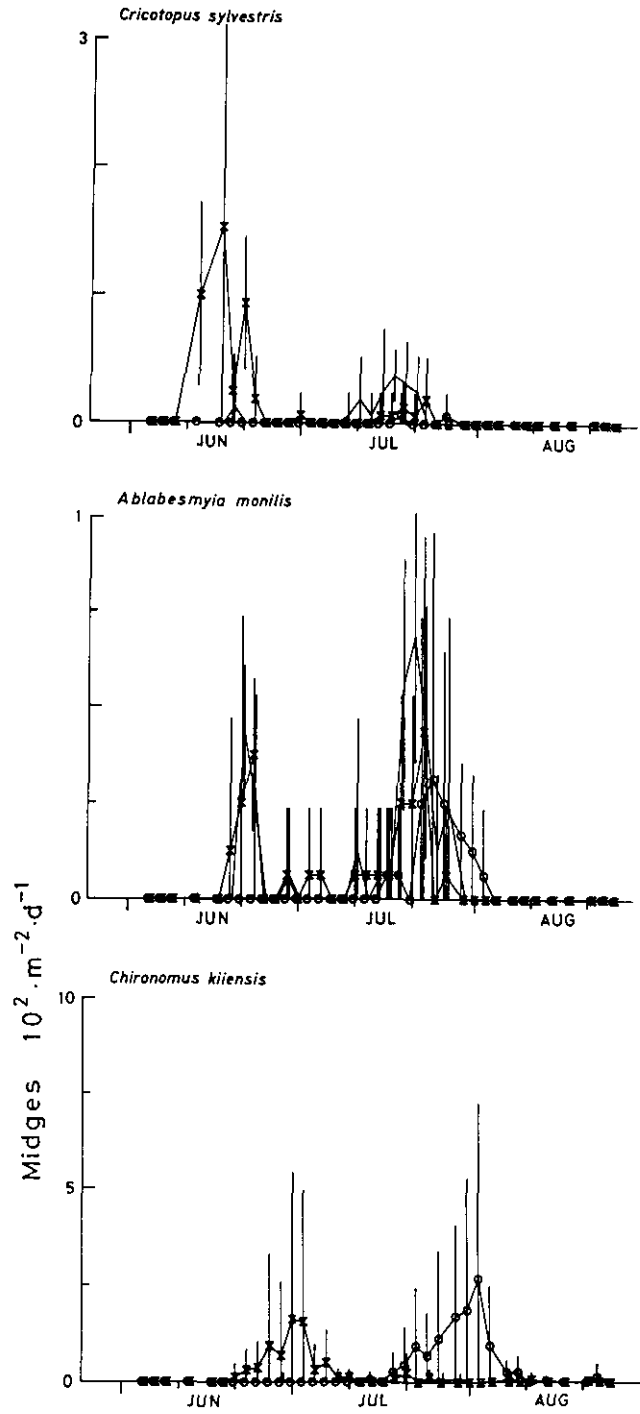


図2 (つづき)

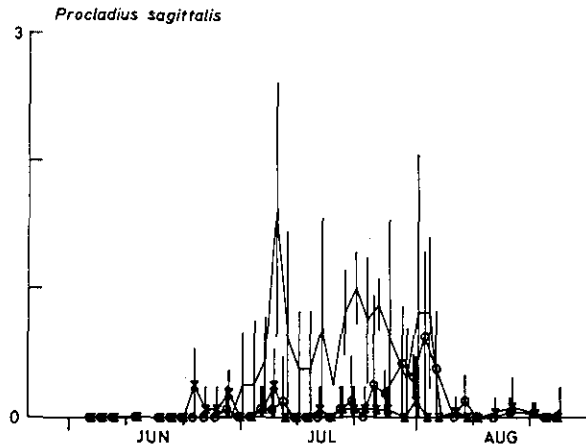


図2 (つづき)

*Ablabesmyia monilis* は6月末から7月初めにかけて水田B・Cで、7月後半に水田A・B・Cで多く羽化した。7月後半の方が羽化数が多く、最も多い水田Cでは  $62 \text{ midges m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  に達した。

*Procladius sagittalis* は水田Cで数多く羽化した。その羽化期間は比較的長く7月初めから8月初めまで続いた。1日当たりの羽化数は最大で7月7日に約  $150 \text{ midges m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  に達した。水田Aでは7月末から8月初めに水田Cと同じくらい羽化が多かった。水田Bでは散発的な羽化が6月末から8月末まで認められた。

以上の各種の羽化数について各々の農薬散布の前後において比較しても統計的に有意な羽化数の変化は認められなかった(図2)。

1日当たりの羽化数を総計したユスリカ各種の実験期間中総羽化数を図3に示した。総ユスリカ羽化数は  $1.66 \times 10^4 \text{ midges m}^{-2}$  と水田Aが最も多く、次に水田C、水田Bの順に多くこの2水田では総羽化数は  $1 \times 10^4 \text{ midges m}^{-2}$  前後であった。*I. oyamai* はいずれの水田でも一番多く、水田Aで49%、Bで35%、Cで72%を占めた。2・3番目に多い種は水田A・Bでは *P. nubifer* と *C. kiiensis* であったが、水田Cでは *P. sagittalis* と *A. monilis* であった。水田Bでは4番目に多い *C. sylvestris* も総羽化数の14%と比較的多かった。羽化数の種別組成から多様性指数シャノン関数を算出すると水田Aで1.37、Bで1.77、Cで0.88と羽化ユスリカの種組成は水田Bが最も多様で、水田Cが最も貧弱であった。

主要6種のうち水田間で羽化数の増減時期が比較的一致したのは *A. monilis* のみで、農薬散布の水田BあるいはCで羽化数が増減したり羽化時期が変化した種がほとんどであった。散布田で羽化数の減少したのは *I. oyamai*・*P. nubifer*・*C. kiiensis*、逆に増加したのは *C. sylvestris*・*A. monilis*・*P. sagittalis* であった。羽化期は水田Cの *I. oyamai* で水田Aよりも約1か月遅く、また水田Bの *C. kiiensis* で水田Aよりも約1か月早くなった。

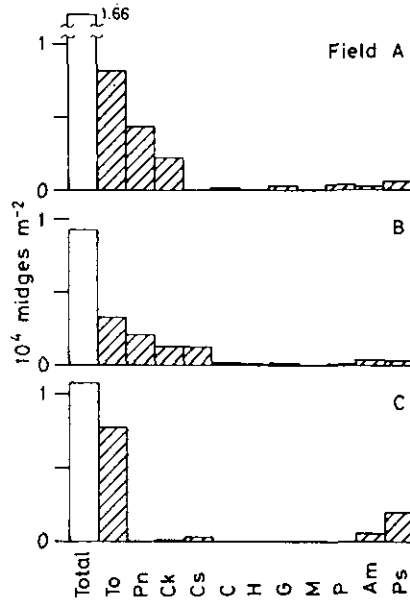


図3 実験水田におけるユスリカ全体及び各種の実験期間中成虫羽化数  
 To, *T. oyamai*; Pn, *P. nubifer*; Ck, *C. kiiensis*; Cs, *C. sylvestris*; C, *Cryptochironomus* sp.  
 ; H, *Harnischia* sp. G, *Glyptotendipes tokunagai*; M, *Microchironomus* sp.; P, *Psectrocladius*  
*sp.*; Am, *Ablabesmyia monilis*; Ps, *Procladius sagittalis*

#### 4 議 論

今回の実験でのユスリカ主要6種のうち、カユスリカ亜科の *A. monilis* と *P. sagittalis* とは幼虫期に肉食性と思なされるので、他の藻食ないしはデトライタス食の種とは農業散布の影響の仕方が異なると考えられる。まず水田には他にも肉食性の水生昆虫が出現しており、これらの種との競争が考えられる。それに加えてユスリカ科幼虫一般が肉食性昆虫の餌となる (Bay, 1974; Benke, 1978; Pritchard, 1964)。Benke(1978)の実験では池の岸近くでヤゴを除去するとカユスリカ亜科幼虫の増加が著しい。本実験の各水田でのヤゴ生息密度は水田Aで最も高く、水田Bではおよそ半減し、水田Cではほとんど出現しない (高村・安野, 1986)。水田Cでカユスリカ亜科の2種が増えるのは、農業散布によるヤゴの減少が有利に働いているものと考えられる。また佐藤・安野 (1979) が5種のユスリカを用いて9種類の殺虫剤に対する感受性試験を行った結果によれば *Procladius* は概して感受性が低く、農業散布は *P. sagittalis* に有利であったと考えられる。

他の主要4種はカユスリカ亜科の幼虫及びそれ以外の肉食性水生昆虫の両方から捕食を受ける。水田Bでは水田Aと比べて *C. sylvestris* を除いた他の3種は減少している。水田Cでは *T. oyama* だけが多く羽化する。この全般的な減少傾向には散布農業の毒性が貢献していると考えられるが、なかでも *P. nubifer* は概して殺虫剤に対する幼虫の感受性が高い (佐藤・安野, 1979) ので、その減少には農業散布の直接的影響が大きいであろう。水田Cでは増加したカユスリカ亜

科2種の捕食による抑制も効いていると考えられるが、一方水田 B・Cを通じたヤゴの減少に対応しているのは水田Bの *C. sylvestris* の増加だけである。しかしこの種の増加は食性の似た種間の競争の変化が効いているのではないかと考えられる。水田Bでは他の水田と比べて *I. oyamai* の羽化数が半分以下で、また比較的多く羽化した種が *P. nubifer*・*C. kiiensis*・*C. sylvestris* の3種に増えたために3水田中で最も多様度が高くなった。この水田では *C. kiiensis* の羽化時期が水田Aに比べて1か月早くなり、また *C. sylvestris* が *I. oyamai* と同じ時期に多く羽化したことから考えて、*I. oyamai* の減少によってこの種と競争する他の種が相対的あるいは絶対数の上でも増加することができたと考えられる。水田Cでは *I. oyamai* が水田Bよりむしろ増加しているが、カユスリカ亜科2種の捕食あるいは増加した散布農薬の毒性が他の競争種により強く働いた可能性が考えられる。

#### 謝 辞

ユスリカ成虫の同定に貴重な助言を下された富山医科薬科大学の佐々 学博士、技術部の菅谷芳雄氏に感謝の意を表する。

#### 引 用 文 献

- Bay, E. C. (1974): Predator-prey relationships among aquatic insects. *Ann. Rev. Entomol.*, 19, 441-453.
- Benke, A. C. (1978): Interactions among coexisting predators - a field experiment with dragonfly larvae. *J. Anim. Ecol.*, 47, 335-350.
- Ishibashi, N., E. Kondo and S. Ito (1983): Effects of application of certain herbicides on soil nematodes and aquatic invertebrates in rice paddy fields in Japan. *Crop Protection*, 2, 289-304.
- Lim, R. P. (1980): Population changes of some aquatic invertebrates in ricefields. *Tropical Ecology & Development*, 971-980.
- Lim, R. P. and M. C. Wong (1986): The effect of pesticides on the population dynamics and production of *Stenocypris major* Baird (Ostracoda) in ricefields. *Arch. Hydrobiol.*, 106, 421-427.
- Pritchard, G. (1964): The prey of dragonfly larvae (Odonata : Anisoptera) in ponds in Alberta. *Can. J. Zool.*, 42, 785-800.
- 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.
- 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.
- Steelman C. D., J. E. Farlow, T. P. Breaud and P. E. Schilling (1975): Effects of growth regulators on *Psorophora columbiae* (Dyar and Knab) and non-target aquatic insect species in rice fields. *Mosquito News*, 35, 67-76.



- 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.
- 高村健二・安野正之 (1986): 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. 国立公害研究所研究報告, 第99号, 81-90.
- Takamura, K. and M. Yasuno (1986): Effects of pesticide application on chironomid larvae and ostracods in rice fields. *Appl. Entomol. Zool.*, 21, 370-376.
- Washino, R. K., W. Ahmed, J. D. Linn and K. G. Whitesell (1972): Rice field mosquito control studies with low volume Dursban sprays in Colusa County, California. IV. Effects upon aquatic nontarget organisms. *Mosquito News*, 32, 531-537.
- 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.

## 河口域における農薬の動態とハスへの残留性

野原精一<sup>1</sup>・土谷岳令<sup>2</sup>・岩熊敏夫<sup>1</sup>・白石寛明<sup>3</sup>

### Pesticide Residues in Water and a Rotus near the River Mouth in a Bay of Lake Kasumigaura

Seiichi NOHARA<sup>1</sup>, Takayoshi TSUCHIYA<sup>2</sup>, Toshio IWAKUMA<sup>1</sup>  
and Hiroaki SHIRAIISHI<sup>3</sup>

#### Abstract

Pesticide residues in water and a rotus, *Nelumbo nucifera*, were investigated near the river mouth of Edosakiiri Bay of Lake Kasumigaura from May to December in 1986. ODS colum (C-18) was used for the cleanup of the contaminants and for the concentration of the pesticides. Pesticides residues were analyzed by NPD gas chromatography. The maximum concentration of BPMC, diazinon, IBP and simetryne in water were 1.6ppb, 1.1ppb, 24ppb, and 2.4ppb, respectively. We detected half the maximum concentration of simetryne for one month, and that of diazinon for two months. The concentrations of both IBP and simetryne decreased from the river mouth to the outlet of the bay in early summer, whereas they were nearly the same at all the stations in summer and autumn. Residual pesticides did not seem to change the leaf biomass of rotus. The seasonal changes of the simetryne concentration in rotus were related to those in water. Simetryne residue was heighest in lamina among organs, though its bioconcentration factor was low as 6.0 in June, even when simetryne concentration in water was the maximum. Simetryne was not detected in underground organs.

#### 要旨

霞ヶ浦流入河川である小野川の河口域で1986年5月から12月に水質及び水生植物ハスの現存量調査をした。ODSカラム(C-18)で液固抽出及び精製をしてNPDガスクロマトグラフィーによる水及びハスの残留農薬を分析した。BPMC, ダイア

1. 国立公害研究所 生物環境部 〒305 茨城県つくば市小野川16番2  
Environmental Biology Division, the National Institute for Environmental Studies,  
16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
2. 昭和60,61年度 国立公害研究所客員研究員(筑波大学生物科学系 〒305 茨城県つくば市天久保1-1)  
Visiting Fellow of the National Institute for Environmental Studies. Present  
Address: Institute of Biological Sciences, University of Tsukuba, Tsukuba, Ibaraki  
305, Japan.
3. 国立公害研究所 計測技術部 〒305 茨城県つくば市小野川16番2  
Chemistry and Physics Division, the National Institute for Environmental Studies,  
16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

ジノン, 1BP, シメトリンが水中からそれぞれ最高で 1.6, 1.1, 24, 2.4 ppb 検出された。シメトリンのピークの半値幅の期間は1か月で, ダイアジノンは2か月であった。初夏に 1BP とシメトリンは川のより上流の方が高いが, 夏から秋にはほぼ同じ濃度になった。野生化したハスについて方形区内の葉のマーキングを行った。葉群の動態からは農薬の影響は認められなかった。また溶脱した農薬がハスのどの器官への残留するか調べた。植物体内のシメトリン濃度変化は水中の濃度変化とよく対応し, 水中濃度の最大値の頃に当たる6月に葉身の濃縮係数は低く 6.0 であった。未展開の葉身や葉柄よりも葉身の残留量が高く, 地下部には検出されなかった。

## 1 はじめに

平野の河川水は農業用として繰り返し利用され, 最終的には河口域を通過して湖に流れ込む。浅い湖の河口域によく発達した水草帯には 集水域で使われた様々な農薬が流れ込んでいる (鈴木, 1982; 丸, 1985)。多くの除草剤は水生植物である水田雑草駆除に用いられ, 湖の自然植生である水草帯構成種に影響を与えていることが予測される (Wade & Edwards, 1980)。水生植物は昆虫, 魚, 水鳥の餌となっており, DDT などの残留性の高い農薬について生物濃縮の多くの研究がなされている (上杉ら, 1973)。最近は残留性の比較的低い多種の農薬が使われてきて, 農薬のモニター研究は多い (飯塚・岩撫, 1982; 中村, 1982; 御厨・宮原, 1983; 丸, 1985)。しかし, 実際の生態系での多種の農薬の挙動についての解析的研究や水生植物の自然植生への影響についての研究 (Wade & Edwards, 1980) は十分成されてはいない。

そこで河口域での農薬濃度変化を週一度の間隔で測定して, 薬剤の種類による濃度変動の違いを明らかにすることとした。また溶脱した農薬が除草対象外の自然の水生植物へ与える影響と残留性, 特に器官による違いについて調べた。

## 2 調査地点及び方法

調査は霞ヶ浦流入河川である小野川の河口域 (図1) で 1986年5月から12月に行った。E1 からE5 は月一度, E1 と E3 では 週一度水質調査を行い採水して, 200 ml をガラスフィルター (Whatman GF/C) でろ過後, アセトンで洗浄した瓶 (アイボーイ, ポリプロピレン製) で  $-20^{\circ}\text{C}$  凍結保存した。サンプルは融解後再びろ過して, ODS カラムによる固液抽出及び精製後, キャピラリー NPD-GC (ヒューレットパッカード HP-5890A) を用い農薬の分析を行った (図2: 白石, 未発表)。ガラス瓶保存, アイボーイ保存, 採水直後抽出の違いは 10% 以下であり, 検出限界は 0.02 ppb であった。クロロフィル a 量は 100%メタノール抽出法, DO は YSI MODEL 57 DOメーター, pH は横河 YEW PH51, 電気伝導度は横河 YEW SC51 を用いて水深 50 cm で測定した。

E1 では野生化したハス (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) について  $2\text{ m}^2$  永久方形区 3 か所で葉のマーキングを行い (週一回) 農薬の影響を調べた。葉面積は相対成長法によって葉身の長さ

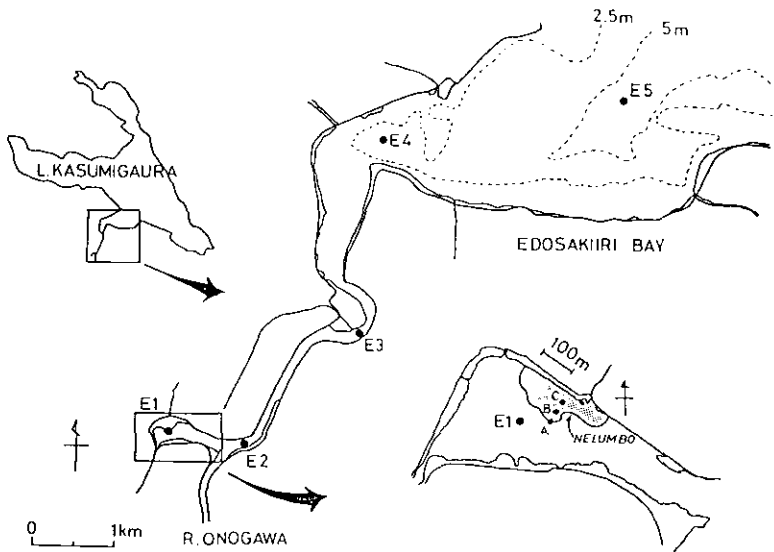


図1 調査地

から推定し、地上部現存量は、葉身の長さから葉身の乾重を求め、葉柄の長さから葉柄の乾重を推定し求めた。植物への残留性は月一度方形区内の地上部地下部すべて刈り取り、凍結乾燥して各器官ごとに粉碎したサンプルを図3の方法で残留農薬を分析し求めた。検出限界は4 ppt (乾重)であった。

### 3 結果

#### 3.1 環境要因

水位変動と雨量を図4に表した。霞ヶ浦の水位は雨量  $50 \text{ mm d}^{-1}$  以下のときには Y.P. (Yedogawa Peil) +1.0 m前後で安定していた。各地点の平均水深は E1 (0.8 m), E2 (2.2 m), E3 (1.6 m), E4 (2.7 m), E5 (4.6 m)であった。8月初めの台風10号の大雨で水位が降雨後3日後に最大に達し約1 m増加した。そのためハスはほとんど水没し、地上部現存量をほとんど失う大きなダメージを受けた。

図5には調査地 E1 と E3 の水中のクロロフィル a 量, 溶存酸素, pH, 電気伝導度の季節変化を示した。クロロフィルは5~7月半ばと10月以降 E1 と E3 であまり変わらず  $80 \mu\text{g l}^{-1}$  以下であったが, 7~9月に E1 で  $100 \mu\text{g l}^{-1}$  を越えるピークが3度ありそのうち2度 E3 では E1 よりずっと低かった。溶存酸素はほぼ  $5 \text{ mg l}^{-1}$  以上で変動が大きく, 9月以前は E1 と E3 は異なっていることが多いが, 9月半ば以降には同じような変動をした。pH においても9月以前は E1 の方が E3 より低い傾向を示していたが, 9月半ば以後はほぼ同じとなった。電気伝導度はほぼ  $0.2$  から  $0.35 \mu\text{S cm}^{-1}$  でいつも E1 の方が高い傾向にあった。

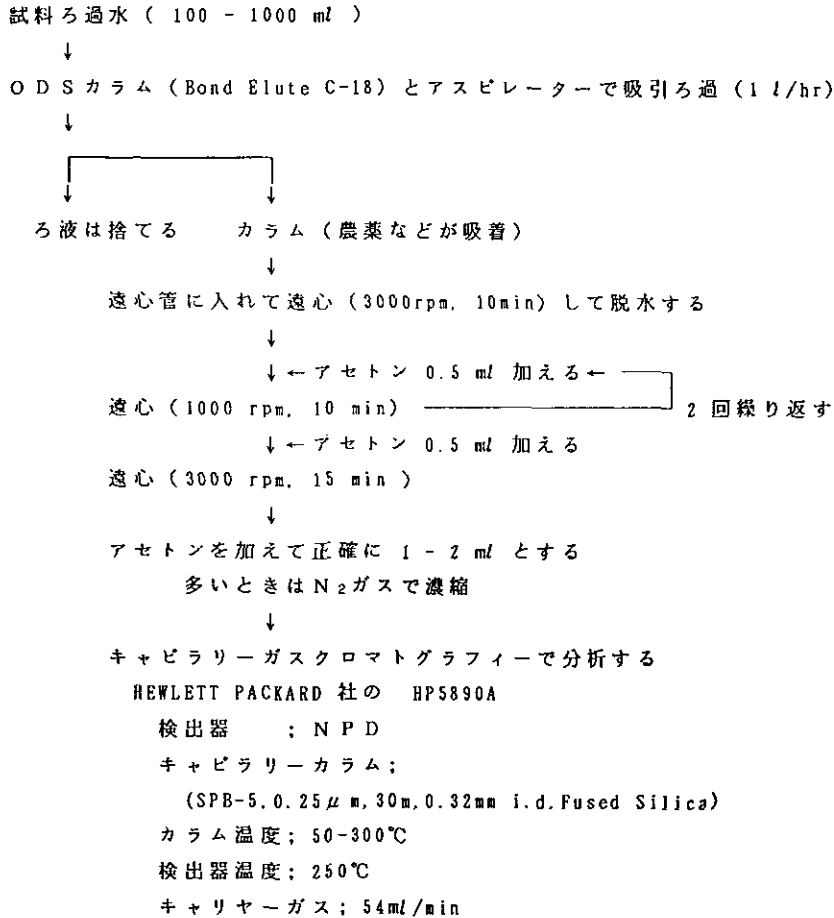


図2 水の残留農薬分析法

### 3. 2 水中の農薬濃度の季節変化

図6には水中の農薬濃度の季節変化を示した。今回の分析法のNPD検出器で検出可能な農薬ではシメトリン、IBP、BPMC、ダイアジノン、モリネート、フェニトロチオン、ベンチオカーブ、フェンチオン、ブタクロール、EDDP(エジフェンホス)であるが、前の4種以外ではフェニトロチオン、ベンチオカーブ、EDDPがこん跡程度検出された他にはほとんど検出されなかった。図の波線は霞ヶ浦の流入河川恋瀬川河口域である高浜入の月1度の1986年調査データを比較のために示した(Shiraishiら, 1987)。

シメトリン(除草剤)は5月にE1で徐々に増加しはじめ5月終わりには1ppbを越え2ppb前後が約1か月続いた。8月には4月のレベルに戻ったが、11月にまたピークが現れた。一方E3では5月末に急激に増加して、山が二つでき1ppb程度でE1に比べやや低かった。E3での濃

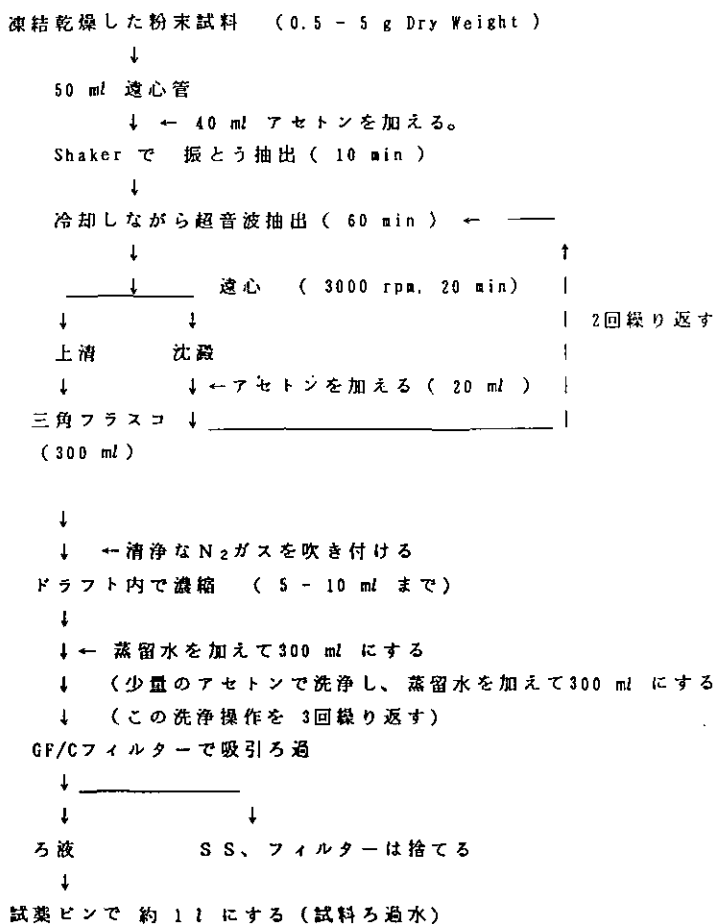


図3 植物体の残留農薬分析法

度減少はほぼ E1 と同じであったが、11月以後にシメトリンは検出されなかった。ピークの半値幅の期間は E1, E3 とともに約 1 か月であった。

IBP (殺菌剤) は E3 で 6 月にまず検出され 5 ppb までになった後ゆっくりと減少し、12 月には検出できなくなった。E1 での変化は同様に高濃度の期間は比較的短いですがピークは 20 ppb を越え、11 月まで検出された。ピークの半値幅の期間は E1 で 2 日、E3 で約 20 日で他の検出農薬より比較的短かった。

BPMC (殺虫剤) は E1 と E3 とともに 5 月末と 6 月末に 1~1.6 ppb のピークがあった。E1 は 7 月半ばまでになくなったが、再び 9, 10 月に検出され、その後なくなった。E3 では 8 月まで 0.2 ppb ありその後も 0.1 ppb 程度 12 月まで検出された。ピークの半値幅の期間は E1 で 1 か月、E3 で半月であった。

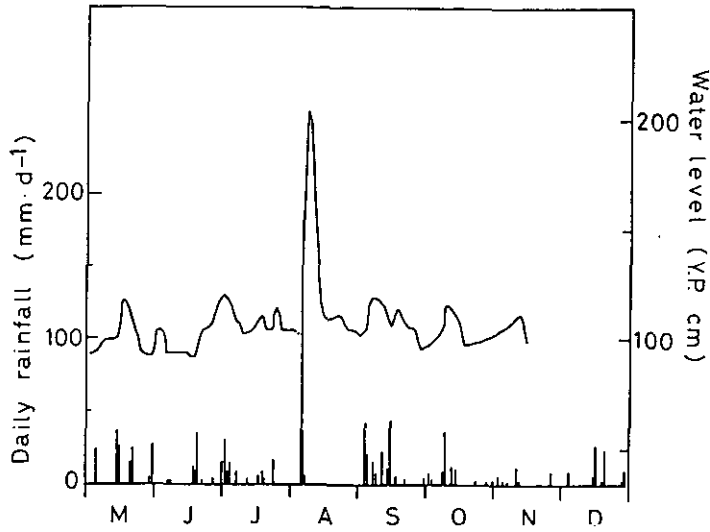


図4 水位変動と雨量

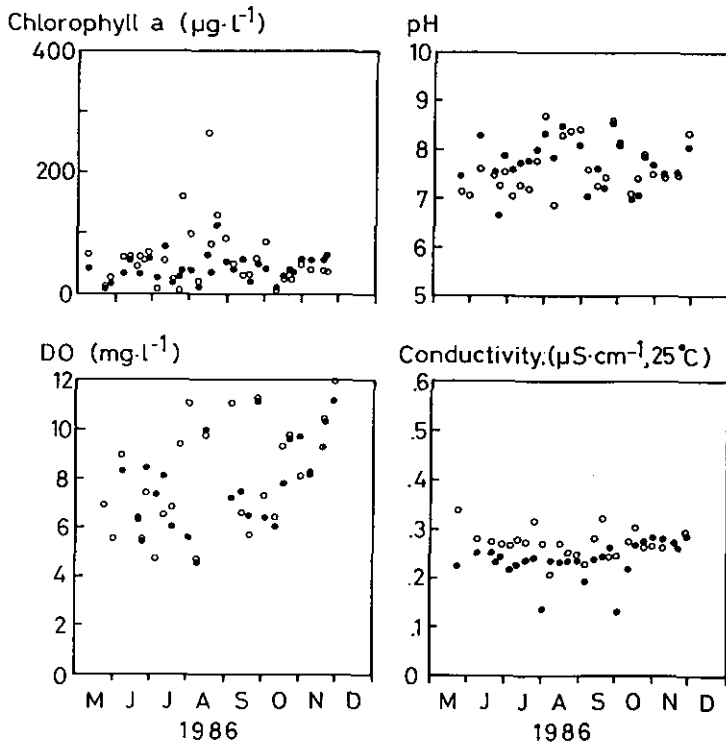


図5 水中のクロロフィル a 量, 溶存酸素, pH, 電気伝導度の季節変化 (○), E1 : (●), E3

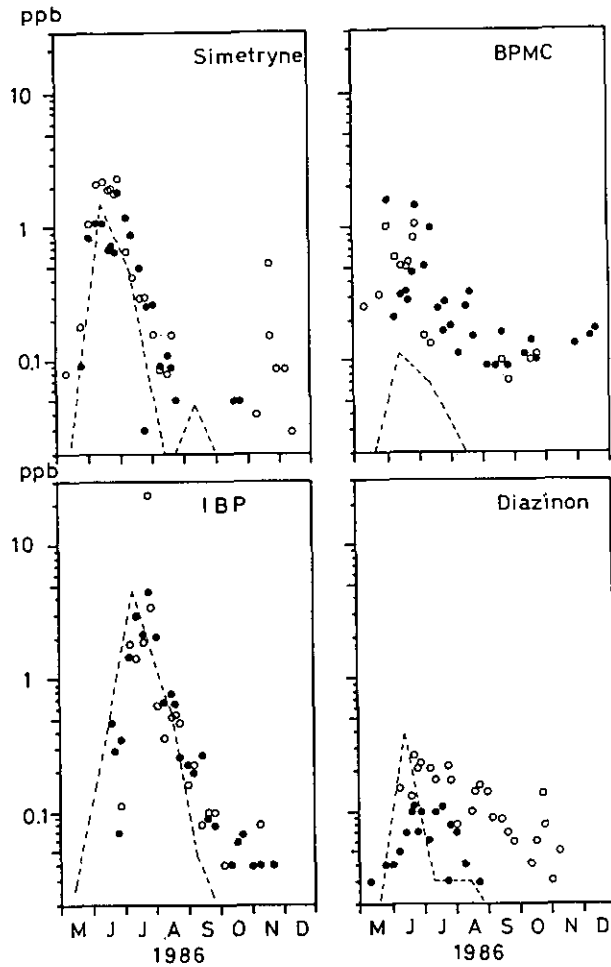


図6 水中の農薬濃度の季節変化  
(○), E1 ; (●), E3 ; (-----), 高浜入

ダイアジノン（殺虫剤）は E1 において6月末に最大の 0.26 ppb から 11月初めに 0.03 ppb まで減少し、6～7月、8月末、10月末の3回小さなピークがあった。一方 E3 では濃度は低く一山型の変化をした。6～7月に最大の 0.1 ppb となり9月には検出されなくなった。大きなピークの半値幅の期間は E1, E3 ともに約2か月であった。

図7には水中の農薬濃度（IBP, シメトリン）の地点による違いと季節変化を示した。4, 5, 6月には E2, E4, E5 では測定していない。シメトリンは水がよく流れている E2, E3 で特に低くなっていた。IBP は7月23日の調査では上流の E1 で最も高く、河口に近いほど濃度は低下した。8月にはどの地点も同じ濃度となり、9月以降下流の方が高い傾向を示した。



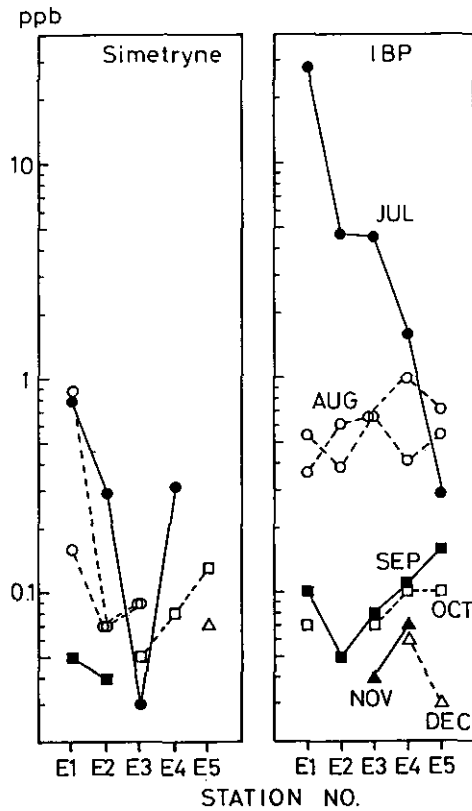


図7 各地点の水中農薬濃度の季節変化

### 3. 3 水生植物の残留農薬と影響

図8にはE1における水中シメトリン濃度と植物体中のシメトリン濃度の季節変化を示した。植物体中の濃度変化は1か月後まで測定されていたが、水中の変化によく似ていた。残留量は葉柄よりも葉身の方が高く、葉身でも未展開の葉より展開してより今の進んだ葉のほうが高かった。根、地下茎、蓮根にはほとんど検出されなかった。

図9にはE1におけるハスの葉面積と地上部現存量の季節変化を表した。最大葉面積指数は $1.3 \text{ m}^2 \text{ m}^{-2}$ 、地上部最大現存量は $130 \text{ gDW m}^{-2}$ となり岸側で高かった(方形区C)。浮葉の寿命は約20日であった。1m程の増水で葉が1週間水没した8月に現存量は急激に減少した。そのかく乱以前の6月下旬から7月に、浮葉の多い沖側の方形区(A, B)では現存量増加が頭打ちとなっていた。増水後にC区はもとの半分、B区ではもとどおりに回復したが、A区では群落が消滅した。

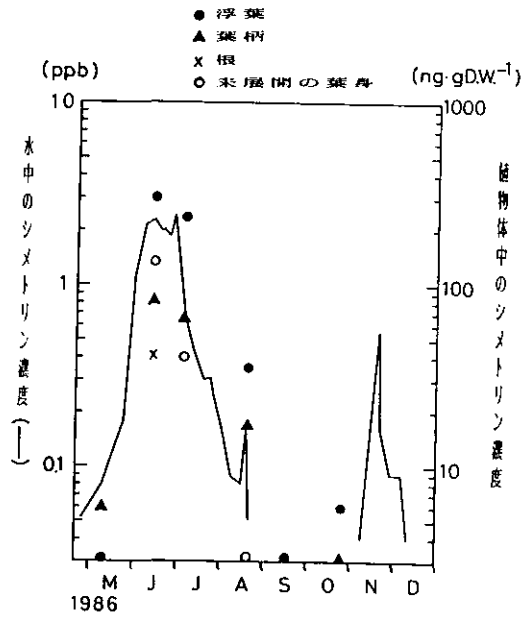


図8 E1における水中シメトリン濃度と植物体中のシメトリン濃度の季節変化

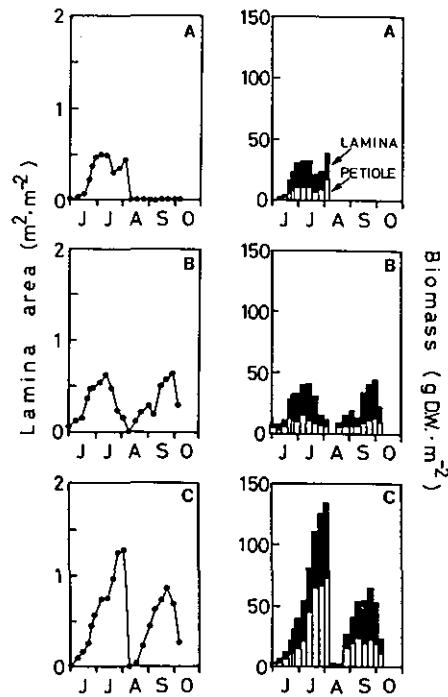


図9 E1におけるハスの葉面積と地上部現存量の季節変化

#### 4 考察

##### 4.1 茨城県の'85年農業使用状況

農業要覧(日本植物防疫協会, 1986)のデータから計算すると1985年の茨城県への農業出荷量(原体)は次のようであった。

シメトリン(除草剤)の出荷量 30.3 t のうち, シメトリン・ベンチオカーブ粒剤で 21%, シメトリン・モリネート・MCPB 粒剤で 35%, シメトリン・ベンチオカーブ・MCPB 粒剤で 21% 出荷されている。シメトリンはほとんど混合して使われている。

IBP(殺菌剤) 98.3 t のうち 92%に当たる量が IBP 粒剤で出荷され, ほかは乳剤や粉剤でいずれも IBP だけである。BPMC(殺虫剤) 43.5 t のうち 53%に当たる 23 t が BPMC・フェニチオン粒剤として出荷された。BPMC と混合されるのはそのほかマラソンとフェニトロチオンがある。ダイアジノン(殺虫剤) 38.8 t 出荷されたうち, 73%にあたる 28.2 t がダイアジノン粒剤であり, エチルメトン(6%)や IBP(8%)とも混合されている。

検出可能な薬剤で実際には検出されなかったそのほかの農業での茨城県への出荷('85原体量)は, フェニトロチオン(37.4 t), フェニチオン(70.1 t), ベンチオカーブ(84.5 t), モリネート(58.8 t), ブタクロール(42.4 t), EDDP(18.5 t)であった。

##### 4.2 調査地の土地利用状況

小野川本流, 乙戸川, 桂川, 沼里川からなる小野川は, 海老瀬(1984)によれば霞ヶ浦への同日流入量  $22.68 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$  の 5.6%を占める流入量第5位, 霞ヶ浦流域面積  $1224.8 \text{ km}^2$  の 13%に当たる流域面積第3位の主要な川である。茨城県委託調査(1982)によれば小野川流域面積  $157.56 \text{ km}^2$  のうち ハス田(1%), 水田(19%), 畑地(32%), 林地草地(29%), 市街地他(17%), 水面(2%)で構成されていて, 霞ヶ浦流域の中では水田の比率がやや小さい。

##### 4.3 除草剤の動態

流域の田畑でまかれた農業は溶脱, 吸着, 分解の過程を経て河口域に達し, 上流とは濃度や残留農業組成が変化していた。シメトリンは田植後7~30日にベンチオカーブ, モリネートと混合した薬剤が使用され, 中, 下流では検出されている(岩熊ら, 1988)が, シメトリン以外は小野川河口域ではほとんど検出されなかった。これはシメトリンが水溶解度が比較的大きく(450 ppm), 持続性が長い(分解しにくい)。それに対し, ベンチオカーブは水溶解度が比較的小さく(30ppm)吸着しやすく持続性が短い(Ishikawaraら, 1977)。またモリネートは水溶解度が比較的大きく(1000 ppm)半減期が短く14日程度(香月ら, 1983)である。渡辺ら(1984)は掛け流し式のモデル水田で除草剤の消長を調べ, モリネートの半減期は5~20日(従来の報告40~160日)流出総量は施用量の23~27%あり, シメトリンの半減期は5~20日(従来の報告は18~62日)流出総量は施用量の22~26%であると報告している。このことから野外での挙動は

水田が掛け流ししているかどうかで水田での半減期が変わってくるのがわかる。混合剤のうちシメトリンだけ検出されたことは、水溶解度と底質などへの吸着性、生物や光などによる分解特性、掛け流ししている水田の割合などの原因の他に、川での流下挙動が明らかにされねばならない。Wauchope (1978) は農地からの表流水の農薬含量について除草剤の流出率は5%に達し水に対する溶解度 10 ppm 以上の農薬では表流水の液相を通して流出すると総説で述べている。シメトリンのような水に溶けやすく分解しにくい農薬は河口域にいつまでも高濃度で存在しやすい。

水田では、まいた直後に高くピーク濃度は 106ppb (中村, 1982) や 360ppb (渡辺ら, 1984) で、まく時期が田植後であるから水田に近い川では田植後の2週間目にピーク濃度の約 15 ppb (中村, 1982) や 2~3 ppb (飯塚・岩撫, 1982) になり1か月ほどで少なくなるが (岩熊ら, 1988), 河口域では田植後1か月目頃にピーク濃度の 2 ppb になり、高濃度の期間が2か月程続くことが明らかになった (図6)。高浜入でも同様であった (図6波線; Shiraisiら, 1987)。霞ヶ浦湖心ではピークの時期はさらに遅れ (約3か月後) で濃度 0.2 ppb と低い検出される期間が延びた (Shiraisiら, 1987)。

#### 4. 4 除草剤が水生植物へ与える影響と残留性

シメトリンは光合成阻害によってイネ科雑草、一年生広葉雑草、藻類、ウキクサに効果がある (香月ら, 1983)。茨城県で多く使われたシメトリン剤の中でマメット SM 粒剤の使用法では水深 5 cm の水田でシメトリンは 3 ppm となる。河口域では 2 ppb であるから 1/1500 の濃度になっていた。ハスのマーキング調査で、6月末頃に A 区と B 区に葉の現存量増加が見られなかった。このことは岸側の C 区では増加していることから直接的なシメトリンの阻害効果とは考えにくい。他の農薬との相乗効果も考えられるから、低濃度 (1~10 ppb) での生物種別、薬剤別の生理的な阻害効果の裏付けが必要であろう。

シメトリンのハス植物体による濃縮を計算すると次のようになる。シメトリンの水中濃度 (ピーク時 2 ppb) が6月に約 20日間続いた。6月の植物体乾重当たりのシメトリン濃度は葉身、未展開葉身、葉柄でそれぞれ 301, 133, 82 ppb であり、生重当たりではそれぞれ 39, 13, 6.6 ppb であった。浮葉の比重  $0.30 \text{ g cm}^{-3}$  であるから空隙を除いた植物体積当たりの濃度は葉身、未展開葉身でそれぞれ 12, 4.0 ppb と計算され、水中濃度に対する濃縮係数は 6.0 と 2.0 と推定された。文献では、農業排水路の水中に平均 5.5 ppb のシメトリンがある時、沈水植物ヒルムシロの濃度は 30 ppb (中村, 1982) で濃縮係数 5.5 になり、今回の調査とほぼ同じ値になった。

Westら (1979) は沈水植物3種の除草剤 Fluridone に対する濃縮係数 (0~50) は低いとしている。Birmingham と Colman (1983) は除草剤 Diquat に対するマツモの吸収容量を 1300 ppm (乾重当たり) と報告し、Ramsay と Fry (1976) はカナダモで 600 ppm のパラコートを吸収すると述べている。Andersonら (1980) は浮漂性水生が固着性水生植物より 2~3 倍高い平衡濃度 400~600 ppm ( $0.4\sim0.6 \text{ mg g}^{-1}$  乾重) の除草剤 MSMA を吸収したと発表している。農薬の種

類や水生植物の種が異なるが今回の調査結果は低い方に当たる。

ハスの浮葉の寿命は短く約 20日であったことや 葉と未展開葉の差があまり大きくなく吸収速度は小さいことなどからハスによるシメトリンの濃縮率はおよそ 1 桁と考えられた。抽水葉や地下茎にはほとんど検出されなかったことから、水と接する面からの吸収のみで濃縮され、葉から根への移行性は小さいであろう。

水環境中に農薬が検出されないベンチオカーブやモリネートも今回の調査で葉や葉柄から 40～170 ppb (乾重当たり) 検出された。水からの生物濃縮か底質からの吸収が考えられ、水中の濃度モニターだけでは見落とす可能性がある。

#### 4. 5 殺菌剤の動態

有機リン剤の IBP は水面施用剤であり、水溶解度が大きく (400 ppm) 水溶液中で安定である (福永, 1976; 香月, 1983)。中河川で最高 8.5～89 ppb, 雨水からも検出された (堀・中路, 1982)。ほとんどが IBP だけ含まれる粒剤で使われ、使用時期は夏のイモチ病発生時から出穂 7～20日とされる。高浜入 (図 6 波線), E1 や E3 でも同じ頃検出された。図 7 のように 7 月の上流が高い濃度勾配は 8 月にはどこも同じになり、希釈, 吸着や分解の結果 9 月には 8 月の数 10% になった。

同じ有機リン剤の EDDP は水溶解度は小さく (5 ppm), 茎葉散布され、フェンチオンと混合で空中散布に使用される。水中の半減期は IBP の 80日に対し EDDP は 2.5日と短く (上杉ら, 1973), IBP に比べ EDDP の出荷量は少なく 1/5 程であった (日本植物防疫協会, 1986)。少ない使用量と小さな溶解度や分解の速さのため EDDP はほとんど検出されなかったと考えられた。

小野川水系の旧谷田部町と茎崎町でヘリコプターによる農薬散布が 7 月中旬に行われたが、カスガマイシン, フラサイド, バリダマイシンは測定項目にしていない。旧谷田部町ではさらに 8 月中旬にフェンチオンと EDDP を空中散布しているが、両者とも小野川河口域では検出されなかった。

#### 4. 6 殺虫剤の動態

E3 におけるシメトリン, E1 における BPMC にはピークが二つあって、まく時期や川の支流の状態を反映していると考えられる。シメトリンは田植後 10～30日のほぼ同じ頃にまかれるが、殺虫剤の BPMC は田植後 10～20日から収穫前 14日までの長い期間地上に散布され、一部空中散布や畑作にも使われる。そのため広い流域 (小野川本流, 乙戸川, 桂川, 沼里川流域) の水が E3 に流れ込み、狭い流域 (沼里川流域) を持つ E1 に比べ長く (0.1 ppb 程度) 検出されたと考えられる。

ダイアジノン (殺虫剤) は主に粒剤として播種前から移植時まで、イネ, 野菜, 果樹に地上及び灌水散布される。周年を通じ検出頻度が高く (岩田, 1980), 農業排水路で最高 19.4～23 ppb,

中河川で 1.9~10.2 ppb 測定されている (堀・中路, 1982)。水に溶けにくく (40 ppm), 高温で揮散し分解速度も速くよく研究されている (上杉ら, 1973)。上流で検出されてもすぐ下流では検出できない (岩熊ら, 1988) ことから吸着, 揮散が起こりやすいと考えられた。また分解が速い有機リン剤のなかでも土壌からほとんど消失する時間が比較的長い (約80日) こと (上杉ら, 1973) から底質に吸着したダイアジノンが少しずつ溶出し分解されるため, 溶出直後の位置 (支流河口) にある E1 で比較的濃度が高く, 低濃度であるがいつまでも検出されたと考えられた。

#### 4.7 今後の課題

河口域の農薬濃度は流入河川の形態, 流量のほか土地利用形態, 使用薬剤量と散布時期などによって変化する。より一層の解析には濃度のモニターだけではなくこれら野外環境を知ることが必要である。また, モデル水系による吸着, 揮散, 分解, 溶脱といった農薬消長の実験的な研究が欠かせないと考えられる。Murphyら (1981) はトリアジン系除草剤の処理2年の間に運河の沈水植物の現存量が対照区の量に戻っていることを報告している。長年の農薬暴露によって弱い水生植物は消滅してきているから, ストレスに耐えて生き残っている現在の水生植物群落への影響は生理的影響から見る事が重要になってくる。

水草帯での農薬の挙動は水, 懸濁態, 底質, 付着物, 水生植物すべてを考慮して調査する必要がある。同じ場所における調査で種による違いや生理的機能の異なる器官による違いから生物濃縮をさらに明らかにしていくことが重要である。それらが明らかにされた上で, 水中濃度の積算の効果が予測されるから葉の寿命が短い水生植物への残留性が, 一時的な採水による分析では検出できない高濃度で短期的な農薬流出の測定の指標として役立つ可能性が考えられる。

#### 引用文献

- Anderson, A. C., A. A. Abdelghani and D. McDonell (1980): Screening of four vascular aquatic plants for uptake of monosodium methanearsonate (MSMA). *Sci. Total Environ.*, 16, 95-98.
- Birmingham, B. C. and B. Colman (1983): Potential phytotoxicity of diquat accumulated by aquatic plants and sediments. *Water Air Soil Pollut.*, 19, 123-131.
- 海老瀬潜一 (1984): 霞ヶ浦流入河川による総流入負荷量の評価. 国立公害研究所研究報告, 第50号, 41-58.
- 堀 克也・中路正紹 (1982): 熊本県内水圏における農薬汚染. *生態化学*, 5(2), 3-13.
- 福永一夫 (1976): 農薬ハンドブック. 日本植物防疫協会, 東京, 504p.
- 茨城県委託, 地域開発コンサルタント (1982): 汚濁負荷削減計画策定調査報告書. 茨城県.
- 飯塚宏栄・岩撫才次郎 (1982): 水田除草剤の河川水への流出. *用水と排水*, 24(6), 13-19.
- Ishikawa, K., Y. Nakamura, Y. Niki and S. Kuwatshuka (1977): Photodegradation of Benthiocarb Herbicide. *J. Pesticide Sci.*, 2, 17-25.

- 岩熊敏夫・白石寛明・野原精一・高村健二(1988) : 恋瀬川水系における殺虫剤, 除草剤及び殺菌剤の残留量. 国立公害研究所研究報告, 第114号, 73-83.
- 岩田治郎(1980) : 農業の海産魚類に及ぼす影響. 生態化学, 2(4), 3-10.
- 香月繁孝・飯塚慶久・後藤宗玄(1983) : 農業便覧 第6版. 農山漁村文化協会, 東京, 766p.
- 丸 論 (1985) : 千葉県内の農業モニタリング. 生態化学, 8(3), 3-10.
- 御厨初子・宮原和夫(1983) : 佐賀県における水田地帯のクリーク水の農業による汚染. 生態化学, 6(2), 23-33.
- Murphy, K. J., R. G. Hanbury and J. W. Eaton (1981) : The ecological effects of 2-methylthio-triazine herbicides used for aquatic weed control in navigable canals. I. Effects on aquatic flora and water chemistry. Arch. Hydrobiol., 91(3), 294-331.
- 中村幸二(1982) : 水田周辺における除草剤の消長. 植物防疫, 36(6), 9-14.
- 日本植物防疫協会(1986) : 農業要覧 1986. 東京, 636p.
- Ramsay, A. J. and J. C. Fry (1976) : Response of epiphytic bacteria to the treatment of two aquatic macrophytes with the herbicide paraquat. Water Res., 10, 453-459.
- Shiraishi, H., F. Pula, A. Otsuki and T. Iwakuma (1987) : Behaviour of pesticides in Lake Kasumigaura, Japan. Sci. Total Environ. (in press).
- 鈴木 学(1982) : 北九州地方河川の農業汚染の実態. 生態化学, 4(4), 3-10.
- 上杉康彦・塚野 豊・松中昭一・見里朝正・宮本順之(1973) : 農業の環境における分解. 化学総説, 2, 57-120.
- Wade, P. M. and R. W. Edwards (1980) : The effect of channel maintenance on the aquatic macrophytes of the drainage channels of the Monmouthshire Levels, South Wales, 1840-1976. Aquat. Bot., 8, 307-322.
- 渡辺貞夫・渡辺重信・伊藤和敏(1984) : モデル水田における除草剤(CNP, molimate, simetryne)の水系への流出と土壤中での消長. 日本農業学会誌, 9, 33-38.
- Wauchope, R. D. (1978) : The pesticide content of surface water draining from agricultural fields - a review. J. Environ. Qual., 7(4), 459-472.
- West, S. D., E. W. Day, Jr. and R. O. Burger (1979) : Dissipation of the experimental aquatic herbicide fluridone from lakes and ponds. J. Agric. Food. Chem., 27(5), 1067-1072.

アカヒレ・ヌカエビによる東北地方及び  
関東地方の河川水の毒性評価  
狩谷貞二<sup>1</sup>・大内絹子<sup>2</sup>

Evaluation of Low-level Toxicity of River Waters  
in the Tohoku and Kanto Districts

Teiji KARIYA<sup>1</sup> and Kinuko OUCHI<sup>2</sup>

Abstract

Conventional water analyses often fail to identify the cause of accidental fish-kill in rivers. To detect small amount of toxicants in water, we developed a new bioassay method. The water in samples was removed by freezing to concentrate toxicants and media containing different levels of these toxicants were served for bioassay. We used two test organisms having specific sensitivity to different toxicants. They were a strain of the white cloud mountain fish (*Tanichtys albonubes*) and a freshwater shrimp (*Paratya compressa improvisa*). The levels of toxicity of the concentrated water of samples was expressed as 48h-LC<sub>50</sub> of these organisms. The LC<sub>50</sub> values of water samples from rivers varied along the watercourse, reflecting the effluents from respective suspecting toxicant sources. The River Abukuma was a good example showing the evidence of the influx of the toxicants from the sewage in urban area. The contamination of pesticides to rivers could be easily detected using the above two kinds of organisms for bioassay, since *P. c. improvisa* was specifically susceptible to pesticides.

要 旨

水中に含まれている微量毒性の検出のために開発された“濃縮毒性試験法”を用いて東北地方及び関東地方の河川水の毒性評価を行った。毒性レベルは、アカヒレ、ヌカエビの48時間半数致死濃度で表現した。採集された試水の48h-LC<sub>50</sub>値は、それぞれの予期された汚染源からの毒物混入の影響を反映し、水域の流下に伴って変化し、ごく低レベルの毒性も、水の総合毒性としてとらえることができた。鶴見川より採集された試水には、高レベルの毒性が検出され、魚類、甲殻類の生息には、

1. 昭和61年度 国立公害研究所客員研究員 (麻生東北短期大学 〒021 岩手県一関市下大月町6)  
Visiting Fellow of the National Institute for Environmental Studies. Present address: Aso Junior College, Shimo-otsukicho 6, Ichinoseki, Iwate 021, Japan.
2. 昭和61年度 国立公害研究所共同研究員 (東北大学農学部 〒980 宮城県仙台市堤通)  
Research Collaborator of the National Institute for Environmental Studies. Present address: Faculty of Agriculture, Tsutsumidori, Sendai, Miyagi 980, Japan.



危険な条件であることが示された。殺虫剤の混入については、上述の試験生物を用いた試験により、容易に検出可能であることが示された。何故なら、ヌカエビが特異的に、殺虫剤に対して鋭敏なためである。また、水田に散布された殺虫剤はエビ類に対してダメージを与えている可能性が示唆された。

## 1 はじめに

これまで、生物試験法に関する多くの研究がなされてきたが、試験生物や試験手法は、各々の研究者によって異なり、系統的に確立されていない(Speharら, 1980)。そのため、それぞれのデータは同一レベルで比較、検討することが困難である。例えば、Ruffierら(1981)は、アンモニアの急性毒性値に関する多くのデータがあっても、相互に比較することができないとして、独自の推定法により、アンモニアの毒性値を見積もっている。しかし、下水処理場水に含まれているアンモニア濃度と死亡率の関係より推定するため、下水処理場の原水で死亡が見られない場合には適用できない。

これまでの手法では、河川の原水で毒性が発現しなければ水中に含まれている毒性の評価は不可能であった。しかし、水中の溶質を変化させることなく濃縮することにより、毒性の発現レベルが測定可能になる。濃縮手法としては凍結濃縮法を用いた。これは分析化学の分野において常温以上で不安定な溶質を低温で濃縮し精製することを目的に Shapiro (1961) と Baker (1967a, 1967b, 1969, 1970) によって開発されてきた。しかしこの手法では、溶質のすべてが濃縮されること、また溶質濃度が高くなると回収率が悪くなるという性格を持っているために、広く実用化されるには至らなかった。狩谷ら (1980) は、凍結濃縮法の持つ特性に着目し、全溶質を濃縮できること、高濃度に濃縮する必要がなく回収率のよい範囲内で利用する方法として取り入れ、凍結濃縮法で調製した濃縮液を用いての生物試験を実施し、障害の発現するレベルを測定する手法を開発した。これにより、希薄な物質の混入濃度を定量化したことになり、試水の総合的な毒性を具体的に表現したことになる。これを濃縮毒性試験法と呼んでいる。一般に自然水域中には、家庭排水や工業廃水等が、様々に混入しているのが普通である。それらは、希釈され、あるいは、自浄作用を受けることによって、魚類の生息条件を保っていると考えられ、その中に含まれる潜在的な毒性はこの手法によって初めてとらえることが可能になる。

ここでは試験生物として系統的に繁殖されたアカヒレ、ヌカエビを用い、再現性の高い、新しい生物試験法を確立してゆくとともに、関東地方の河川水について、濃縮毒性試験法を適用することにより、自然水域中の毒性レベルを評価し、魚類や甲殻類の生息環境条件の判断基準についても考究することを目的として研究を進めた。

## 2 方法及び材料

### 2.1 凍結濃縮法

試水の濃縮は、溶質を変性させることなく、実施されなければならないので、低温で操作する

凍結濃縮法を用いた。試水適量を2 l ナス型フラスコに採り、約-15°Cにセットされた冷媒中に、ロータリーエバポレーターでゆっくり回転させる。時間の経過とともに、純水は、フラスコ内壁に結氷し、溶質は濃縮されていく。濃縮液が50~70 mlに達したときに、フラスコの回転を止め、メスシリンダーに、濃縮液を移す。フラスコに少量の蒸留水を注ぎ、氷の表面を洗浄し、濃縮液に合わせる。この操作を5回繰り返す。洗浄液を合わせた後、蒸留水を注ぎ、100 mlとする。試水1000 mlを用いれば、10倍に濃縮したことになる。濃縮の度合は、対数四分法により、1.8倍(180%)、3.2倍(320%)、5.6倍(560%)、18倍(1800%)とした。濃縮操作を施さない原水は100%液と表示した。

## 2. 2 生物試験

濃縮液は100 mlに調節されるので、試験生物は小型でなければならない。また、感受性がよく、闘争性もなく、四季を問わず試験サイズの生物が供給可能であることが望まれる。これらの条件を満たす魚類として、広東原産の熱帯魚・アカヒレ(*Tanichthys albonubes*)の稚魚(生後約2か月、体重0.05 g)を選択した。実験室内の水槽にて継代繁殖したアカヒレを試験魚として供した。伝統的に用いられてきた試験魚としては、キンギョ、コイ、サンフィッシュ等が挙げられるが(APHA・AWWA・WPCF, 1976)、これらは四季を通じて同一サイズの生物を入手することが難しい。また、メダカやグッピーは入手しやすいが、組織学的に検証する際に必要である組織切片を作成しにくいという難点をもっている。アカヒレは脱灰操作を経ずに体組織切片の作成が可能である(狩谷, 1980)。

殺虫剤に対する $LC_{50}$ が、アカヒレの $LC_{50}$ に比べて著しく低いヌカエビ(*Paratya compressa improvisa*)は甲殻類を代表する試験生物として用いた。ヌカエビは北日本の淡水域に生息する小型のエビであるが、スジエビ等にみられるような共食いが全くない。ヌカエビも室内水槽にて繁殖し、生後2か月の稚エビ(体重0.05 g)を試験に供した。これらの試験生物は試験水100 mlに7匹ずつ投入し、アカヒレは25°C、ヌカエビは20°Cにて48時間の飼育観察を行い、Doudoroffら(1951)の方法により $LC_{50}$ を求めた。例えば10倍濃縮液が $LC_{50}$ に相当する場合は、濃縮毒性値1000%と表示した。水産用水基準(日本水産資源保護協会, 1965)では、各毒物の48時間 $LC_{50}$ に安全率1/10をかけた値を基準値と定めている。そこで濃縮毒性値に水産用水基準の設定基準を対応させると、濃縮毒性値1000%以上であればその基準を満たしていることになる。

## 3 結果及び考察

### 3. 1 東北地方の農業地域河川水の濃縮毒性試験

農業散布期について、農業用水路、水田及び農業用水の流入がみられる河川より採取した水の濃縮毒性値を測定した。図1に宮城県多賀城市内の水田地帯の概略図と採取地点を示した。図2はこれらの地点で採取された水の濃縮毒性値である。除草剤散布期(5月15日)には、水田内の

St. 1 の濃縮毒性値が、アカヒレで 1200% であるのに対し、ヌカエビのそれは 300% で、アカヒレの毒性の 4 倍の強さであった。用水路の St. 2, St. 3 は、アカヒレ、ヌカエビ共に、濃縮毒性値が 1000% 以上で、除草剤の直接的影響はなく、むしろ多量の水で希釈されている可能性が強い。周辺の農業用水の流入河川である St. 4 (名古屋川)・St. 5 (砂押川) では、アカヒレの濃縮毒性値が 1800% 以上に対し、ヌカエビの場合は 710% と 900% であり、アカヒレよりやや毒性が強かった。砂押川下流の St. 6 は市街地に位置し、アカヒレもヌカエビも 600% 前後の濃縮毒性値であった。ここは多量の生活排水の流入がある地点であり、そのために濃縮毒性値が、やや低くなっているものと判断された。

殺虫剤 (バイジッド, 6月19日) 散布期は, St. 1 (水田内) はアカヒレの濃縮毒性値 1500% に対し, ヌカエビのそれは 15% で, 原水で死亡がおき, 希釈しなければ生存できないほどに毒性が強かった。農業用水路, 名古屋川, 砂押川の下流部まで, いずれの地点においても, ヌカエビに対する毒性は著しく強く, 100% 前後の濃縮毒性値であった。これに対し, アカヒレのそれは, St. 2 の 700% を除けば, すべて 1000% 以上であり, 毒性は低かった。このように, アカヒレとヌカエビの感受性の差は, 殺虫剤の混入に対して, 明確に回答することが分かった。殺虫剤の散布が, 指定期日に市内全域にわたって, 一斉に実施されたことも, 上述の現象を助長したと考えられ, 除草剤散布期には影響の及んでいなかった St. 6 まで, 殺虫剤混入の影響が現れたことを示している。

### 3. 2 関東地方諸河川の濃縮毒性試験

図 3 から図 7 は昭和 60 年 4 月から 12 月にかけて関東地方の河川水について, 濃縮毒性試験を行った結果である。これまでに調べられた濃縮毒性値の例を挙げると相模川のアユ漁場で, 750%, ニジマス養魚場で 420%, 魚類の生息が認められない河川では 200% 以下という値が知られてお

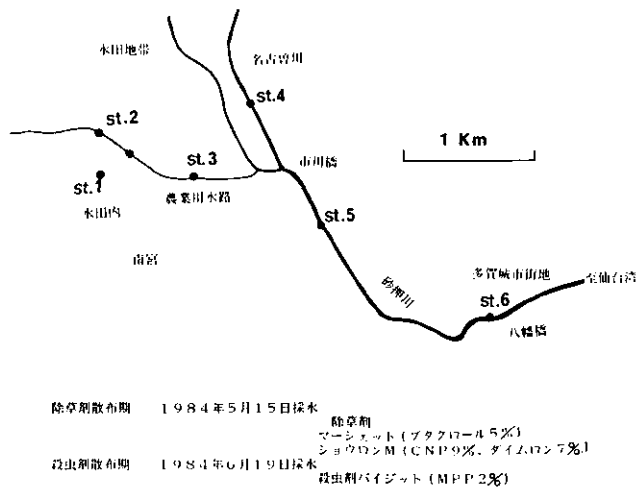


図 1 農業地帯水域の濃縮毒性試験の採水地点及び採水日

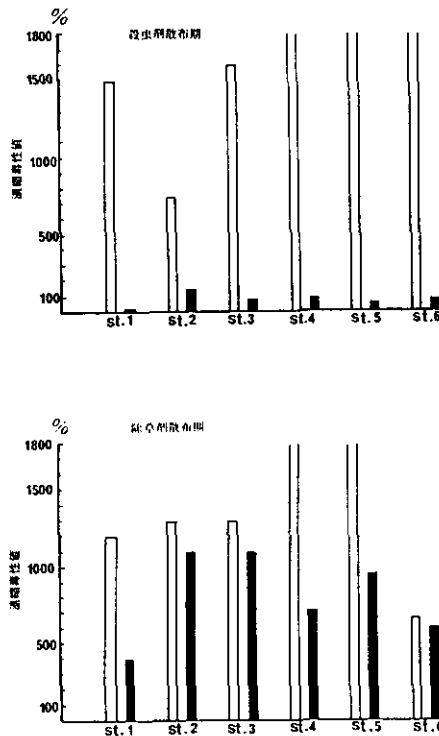


図2 アカヒレとヌカエビを用いた農業地帯水域の濃縮毒性値  
□:アカヒレ, ■:ヌカエビ

り、魚類の生息条件としては、濃縮毒性値約 400%以上を基準に考えている（狩谷ら、未発表）。

図3は久慈川（7月6日）の結果である。久慈川は良好なアユ漁場として知られており、上流から下流域まで、アカヒレ、ヌカエビ共に 1000%以上の濃縮毒性値であった。

図4は都市型河川の代表例としての、東京都内の河川の濃縮毒性値である。表1は同時に測定した COD, BOD, アンモニア濃度等について示している。善福寺川、妙正寺川、神田川の上流部ではアカヒレ、ヌカエビ共に、濃縮毒性値が 1000%以上で、魚類生息環境条件としては十分であった。石神井川の下流（松橋）と神田川下流（面影橋）では強い毒性が認められた。神田川の面影橋付近には下落合下水処理場があり、BOD が 25.03 ppm, NH<sub>4</sub>-N も 9.22 ppm と高く、処理場水の放流によるものと判断された。古川は 1000%以上で問題がなかった。目黒川（中里橋）では、アカヒレの濃縮毒性値 750%に対し、ヌカエビのそれが 37%で、ヌカエビに対する著しい毒性が検出された。

東京都内の河川は、一部を除き、全体的には、魚類の生息条件を満たしていると推定された。

図5は茨城県の土浦市周辺河川水（8月9日）と水戸市周辺河川水（11月12日）の結果である。園部川、恋瀬川、花室川についての濃縮毒性は、アカヒレ、ヌカエビ共に 700%以上で、農薬類

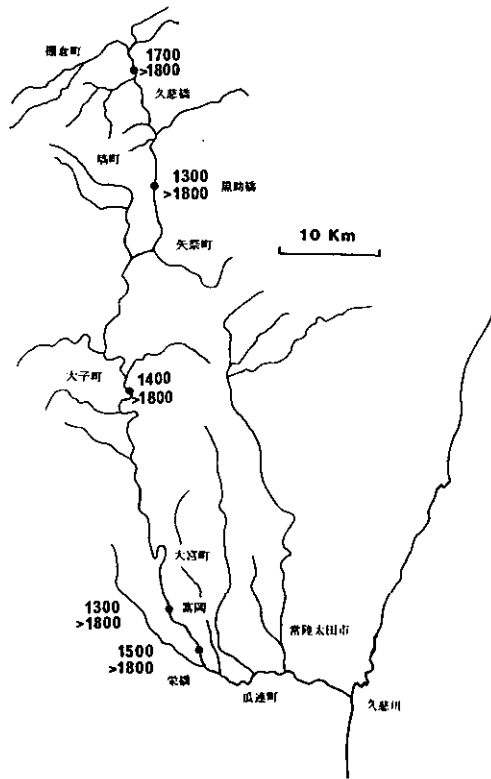


図3 久慈川の河川水の濃縮毒性値(%)  
1985年7月8日採水(上段:アカヒレ, 下段:スカエビ)

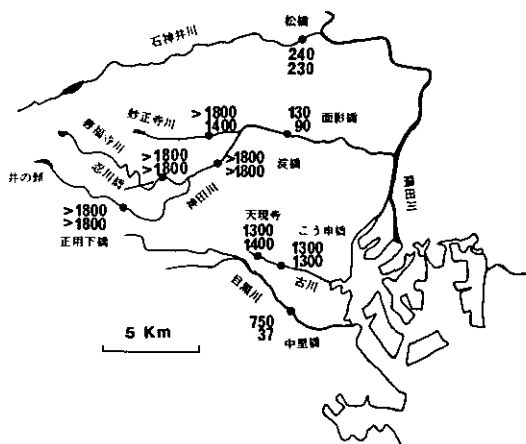


図4 東京都内の河川水の濃縮毒性値(%)  
1985年5月3日採水(上段:アカヒレ, 下段:スカエビ)

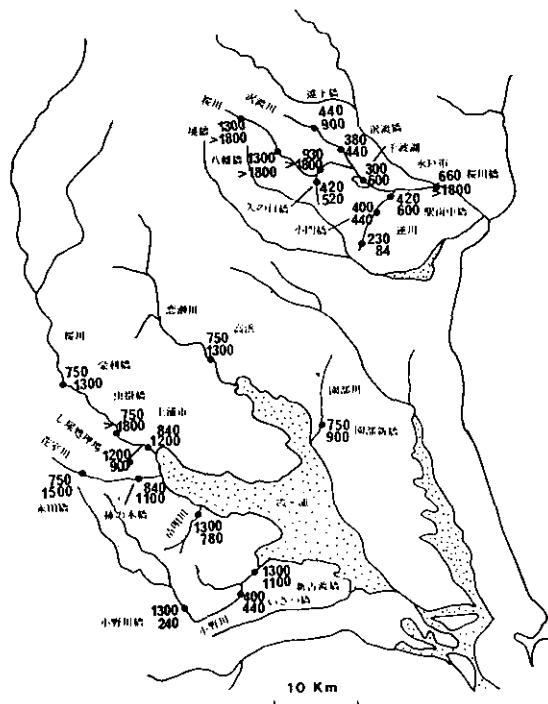


図5 水戸市及び土浦市周辺河川水の濃縮毒性値(%)  
上段：アカヒレ、下段：ヌカエビ

表1 東京都内河川水の濃縮毒性値と水質分析結果(1985年5月3日)

河川	採水時刻	水温 (°C)	pH	アカヒレ LC50(%)	ヌカエビ LC50(%)	COD (ppm)	BOD (ppm)	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (ppm)
石神井川(松橋)	11:35	21.1	7.95	240	230	7.59	6.36	1.79
目黒川(中里橋)	14:00	26.4	7.45	750	37	5.68	4.90	1.30
古川(こう申橋)	14:30	24.2	7.72	1300	1300	5.72	3.74	0.21
古川(天現寺)	14:45	22.4	8.58	1300	1400	4.49	3.47	0.14
妙正寺川(美仲橋)	17:20	20.2	8.90	>1800	1400	3.36	3.43	0.08
善福寺川(忍川橋)	16:15	20.4	7.98	>1800	>1800	2.22	2.46	0.10
神田川(淀橋)	15:30	23.5	10.18	>1800	>1800	4.68	3.65	0.12
神田川(正用下橋)	16:30	22.4	7.30	>1800	>1800	4.78	4.23	0.10
神田川(面影橋)	18:10	18.9	7.38	130	90	15.56	25.03	9.22

の影響はみられなかった。小野川では上流の小野川橋付近では、ヌカエビに強い毒性がみられ、農業類の混入があったものと推定された。中流部（いさつ橋）では、アカヒレとヌカエビの濃縮毒性の差はなくなり、400%を示し、アカヒレにはむしろ毒性が強くなった。BODの分析結果では、上流部 1.55 ppm であったのが中流部で 4.32 ppm に増加しており、生活排水流入のためと考えられた。更に下流の新古渡橋付近では、アカヒレもヌカエビも、濃縮毒性値は 1000%以上、BODも 0.01 ppm に回復していた。水戸市周辺の桜川、沢渡川、逆川の結果では、逆川の最上流部が最も悪く、濃縮毒性値はアカヒレ 230%、ヌカエビ 84%で、魚類の生息条件としては危険な状態である。この水源は、団地排水であり、BODも 13.49 ppm と高く、この排水中の物質による毒性と推定された。その他の地点では 400%以上の値を示していることから、魚類の生息には問題がないと判断された。

図6は多摩川と鶴見川（12月2～4日）の結果である。多摩川の上流部では本流も支流である平井川、浅川も濃縮毒性値は 1800% 以上であった。中流部ではアカヒレに対して、若干、毒性が強まっている傾向がみられ、更に下流の丸子橋付近で悪くなるが、400%以上なので、現在の状況下では問題はない。

鶴見川の場合には、最上流部（春日町）だけが、魚類生息条件を保持し、それ以外の地点はすべて毒性が強く、濃縮毒性値は 200%前後と魚類生息は難しいと判断された。BODも 8～10 ppm と高く、工場街からの排水や家庭排水等が、多量に流入しているための毒性と判断された。

図7は鬼怒川、利根川、荒川の濃縮毒性値を示している。鬼怒川（4月15日）は上流から中流部まで、アカヒレ、ヌカエビともに濃縮毒性値は 1000%以上でよく、下館市の下流で 750%を示し、やや、毒性の強化が認められたものの、利根川合流前には 1000%以上に回復していた。

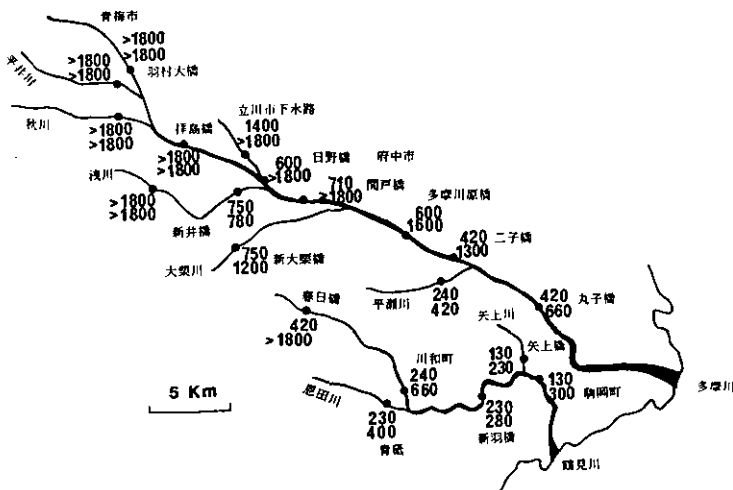


図6 多摩川、鶴見川の河川水の濃縮毒性値(%)  
1985年12月2～4日採水(上段：アカヒレ、下段：ヌカエビ)

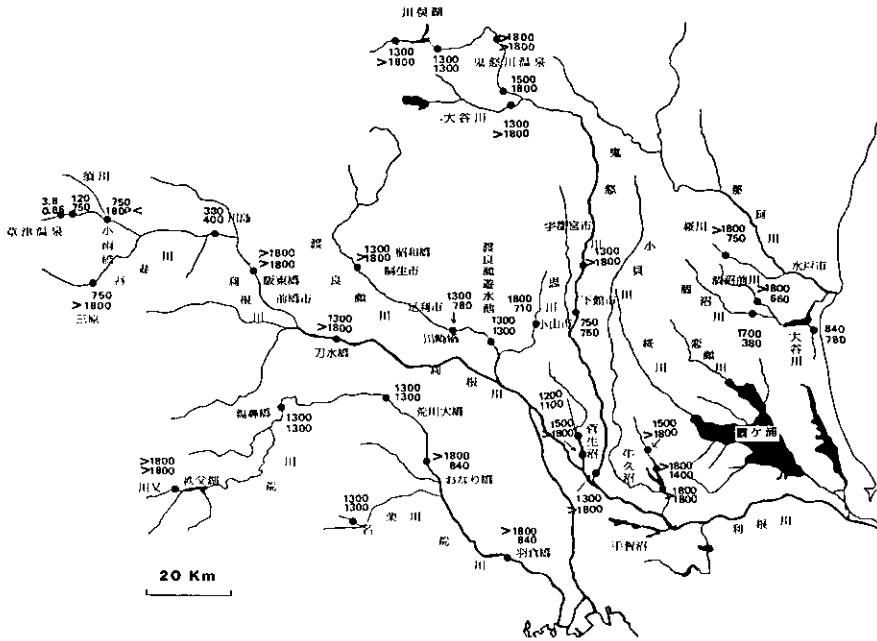


図7 関東地方諸河川水の濃縮毒性値(%)  
 上段：アカヒレ，下段：スカエビ

これらはアユの好漁場である。

荒川（7月9日）では、上流から下流まで、アカヒレの濃縮毒性値は 1000%以上であり、スカエビのそれは、中流域以下でやや悪くなり 800%を示した。この原因については、今回はこの解明をすることはできなかった。

利根川の（6月7日）最上流部（草津温泉）では、アカヒレ、スカエビ共に強い毒性が確認され、原水で死亡するほどであった。これは酸性水のためであり、pH 2.18 であった。温泉下の中和剤注入場の下流では、pH 6.12 に回復しているが、スカエビの濃縮毒性値は 750%と毒性が消失しているのに対し、アカヒレの場合は 120%で、毒性は消失していないことになる。これは、pH 6.12 では毒性が消失しない物質の存在を考えなければならず、今後の課題の一つである。須川合流後は、アカヒレに対する毒性も解消した。川島町に入って、アカヒレ、スカエビの濃縮毒性値が 330%、400%とやや毒性が強くなったが、ここでは BOD 3.19 ppm, NH<sub>4</sub>-N 6.50 ppm と高いことから、下水処理浄水の放流があったのではないかと推定された。それより下流の阪東橋、刀水橋（前橋市）付近では、いずれも 1000%以上に回復していることが分かった。

図8は、今回調査が行われた関東地方の河川の濃縮毒性値(アカヒレ)と河川の水質汚濁指標である BOD をプロットしたものである。

BOD が 10 ppm 以上の河川では、濃縮毒性値が確実に 400%以下を示し、毒性が高くなる傾向はみられるものの、それ以下の河川では様々な値を示しており、一定の相関は見いだせない。例



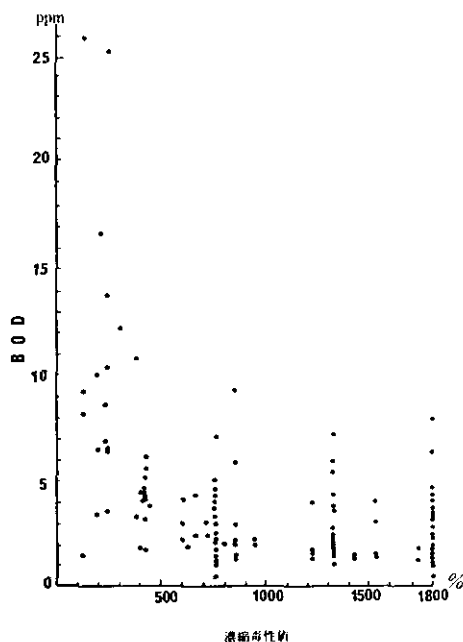


図8 関東地方河川水の濃縮毒性値(アカヒレ)とBODの関係

えば、BOD が 2 ppm 以下であれば“水質汚濁にかかわる環境基準”では A 類型の河川に属し、一般的には清浄な河川として判断される。しかし、LC<sub>50</sub> が 100% (原水で半数死亡)のように高い毒性を示すこともある。すなわち、河川の水質汚濁指標である BOD は、魚類の生息環境条件の適否の判断基準としては適用できないことを示唆している。

#### 4 おわりに

アカヒレ、ヌカエビの各種薬剤に対する感受性の差は、水中に含まれている毒性の解析過程において有効に利用できるものであり、特に、農薬類の混入については、容易に検出することができる。実際に農業地帯の河川水の濃縮毒性試験では、投入された農薬類の水域に及ぼす影響の範囲を把握できた。

また、濃縮毒性試験は試水の溶質全体を濃縮するものであり、水の総合的な毒性レベルを測定していると見なすことができる。自然河川でどの程度の濃縮毒性値を示すかを知るために、関東地方の各河川を対象に測定を行ったが、久慈川、鬼怒川、利根川、荒川等の大きい河川ではアカヒレ、ヌカエビ共に750%以上の値であって、魚類、エビ類の生息に十分な水質が維持されていた。

土浦周辺、水戸市内のように河川流量に対して住宅の密度が次第に高くなると、毒性値は魚類生息可能毒性値 400%に向かって低下していく。水戸市内の逆川では最上流に団地排水があって更に毒性値は低下し、魚類生息が不可能となる。下水道が完備してくると東京都内河川の善福寺

川、妙生寺川、神田川、石神井川、古川、目黒川のように毒性は低下し、魚類生息の可能な条件となる。しかし、神田川下流のように下落下水道処理場排水が流入すると、水戸市内逆川と同様に魚類の生息が危うくなる。鶴見川と多摩川とは南北に平行して走る大小の河川であるが、小さく流程の短い鶴見川は最上流を除いてほとんど全川にわたって魚類生息に危うい毒性値を持ち、多摩川は上中流では魚類生息に極めて良い毒性値であるが、下流域では負荷が大きくなっている様相が見える。これらの結果は良く負荷毒性と希釈のバランスを示すように思われる。

このように、アカヒレ、ヌカエビの濃縮毒性試験を実施することにより、農薬類の混入はもとより、様々な汚染物質が混入しているような場合にも、総合毒性として具体的な値で検出してゆくことが可能である。更に、濃縮毒性値は、魚類、甲殻類の生息環境条件の診断基準としても適用し得ることが示された。

#### 引用文献

- American Public Health Assoc., American Water Works Assoc. and Water Pollut. Control Fed. (1976): Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 14th ed. Am. Public Health Assoc., Washington DC, 1193p.
- Baker, R.A. (1967a): Trace organic contaminant concentration by freezing. I. Low inorganic aqueous solutions. *Water Res.*, 1, 61-77.
- Baker, R.A. (1967b): Trace organic contaminant concentration by freezing. II. Inorganic aqueous solutions. *Water Res.*, 1, 97-113.
- Baker, R.A. (1969): Trace organic contaminant concentration by freezing. III. Ice washing. *Water Res.*, 3, 717-730.
- Baker, R.A. (1970): Trace organic contaminant concentration by freezing. IV. Ionic effects. *Water Res.*, 4, 559-573
- Dondroff, P., B. G. Anderson, G. E. Burdick, P. S. Galtsoos, W. B. Hart, R. Patrick, E. R. Strong, E. W. Surber and W. M. van Hornet (1951): Bioassay methods for the evaluation of acute toxicity of industrial wastes to fish. *Sewage Ind. Wastes.*, 23, 1380-1397.
- 狩谷貞二 (1980): へい死事故原因調査法。水質汚濁調査指針, 日本水産資源保護協会編, 恒星社厚生閣, 東京, 451-514.
- 日本水産資源保護協会 (編) (1965): 水産用水基準. 日本水産資源保護協会, 72p.
- Ruffier, P.J., W. C. Boyle and J. Kleinschmidt (1981): Short-term acute bioassay to evaluate ammonia toxicity and effluent standards. *J. Water Pollut. Control Fed.*, 53, 367-377.
- Shapiro, J. (1961): Freezing-out, a safe technique for concentration of dilute solutions. *Science*, 133, 2063-2064.
- Spehar, R. L., R. W. Carlson, A. E. Lemeke, D. I. Mount, Q. H. Pickering and V. M. Snarski (1980): Effects of pollution on freshwater fish. *J. Water Pollut. Control Fed.*, 52, 1703-1768.

## 標準試験生物としてのメダカ

宮下 衛<sup>1</sup>・江上信雄<sup>2</sup>

### Medaka, as a Standard Test Fish

Mamoru MIYASHITA<sup>1</sup> and Nobuo EGAMI<sup>2</sup>

#### Abstract

Susceptibility of the Medaka, *Oryzias latipes*, to pesticides and heavy metals was evaluated. Fry of three inbred strains, H04C, H05 and HB12C, used in the present study were selected and colonized at National Institute of Radiological Sciences. There was a significant difference in susceptibility among three strains of fry exposed to chemicals. The H04C strain was more sensitive to Cu, BHC than the H05 and HB12C strains. In case of chlornitrofen and isoprothiolan, the H05 strain was more sensitive than the H04C strain. On the other hand, fecundity and hatchability of the H05 strain were higher than those of the H04 and HB12C strains. These results suggest the H05 strain is recommended for the assessment of the toxicity of chemicals.

#### 要 旨

実験動物化を目的として作出された近交系メダカが放射線医学総合研究所から譲り受けたのを機会に、ヒメダカ2系統 (H04C, H05) 及び野生型メダカ1系統 (HB12C) の3系統のメダカの農薬及び重金属に対する感受性を調べた。H04C系のヒメダカは、銅やBHCに対しては高い感受性を示すが、一方、クロルニトロフェンやイソプロチオランに対する感受性は、H05系よりも低い。試験魚として要求される飼育のしやすさ、産仔率、ふ化率等は、H05系が優れていた。これらの結果より、H05系の近交系ヒメダカが有害汚染物質の影響評価に最適と結論された。

#### 1 はじめに

ヒメダカは、農業取締法に基づく「魚類に対する毒性試験法」(農林省農政局長通達, 1965), JISの「工場排水試験方法」(JIS K-0102, 1986), 「魚介類の体内における化学物質の濃縮度試

---

1. 国立公害研究所 生物環境部 〒305 茨城県つくば市小野川16番2

Environmental Biology Division, the National Institute for Environmental Studies,  
16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

2. 国立公害研究所 所長 〒305 茨城県つくば市小野川16番2

Director, the National Institute for Environmental Studies, 16-2 Onogawa, Tsukuba,  
Ibaraki 305, Japan.

験」(化学物質審査規制法, 1974)及び OECD テストガイドライン (OECD, 1984)の供試魚として用いられている。しかし、使用する系統の規定には至っていない。一方、メダカの実験動物としての遺伝的な純系化を目的として、近交系メダカの作出が1974年から放射線医学総合研究所(以下、放医研とする)で行われている(田口, 1980, 1981; Hyodo-Taguchi & Egami, 1985)。1986年5月に5系統の近交系メダカを放医研より譲り受けた。これを機会に、水生生物による有害汚染物質の影響評価を目的として、試験魚の供給方法の開発、試験に適したメダカの系統の選択、さらに重金属・農薬に対する感受性の系統間の比較を行った。ここにその結果の一部を報告する。

## 2 供試魚及び飼育方法について

### 2.1 供試魚について

放射線医学研究所 田口泰子博士より譲り受けた H04C:F34, H05:F38, HB12C:F38 の3系統の近交系メダカ *Oryzias latipes* を数代、集団で飼育・繁殖させて供試した。したがって、供試魚の性質が当初とは異なる可能性がある。当研究所における近交系メダカを放医研の近交系メダカと区別するために、今後 H04C を H04C-M, H05 を H05-M, HB12C を HB12C-M と称することにする。

### 2.2 飼育・採卵方法について

毒性試験を行うためには、一度に大量の卵や日齢のそろった魚が必要とされる。したがって、効率的な飼育が要求される。親メダカの飼育及び採卵方法を以下に示す。

(1) あらかじめ暴気した水道水を約 7.5 l 入れたガラス製水槽(縦30cm, 横17cm, 高さ15cm)に雌雄5個体ずつ計10個体の親のメダカを入れて飼育する。この際、水草は入れない。エアストーンで通気する。(2) 水槽内に産み落とされた卵は、排せつ物、餌の食べ残しと一緒にサイフォンでネットに受ける。(3) もとの水位まで水を補給する。毎日、1/3~1/4の水が交換されることになる。

親のメダカには、餌としてミジンコ及びユスリカの幼虫を与える。イトミミズは、メダカの卵に絡んでしまうので、餌としては不適である。毎日、水槽内のかなりの水が交換されるが、水が汚れてくると受精率が低下するので、ほぼ1週間おきに水槽の水を全量交換する。

### 2.3 卵のふ化方法について

(1) ネットに受けた卵は、水ですすぎながら手でもみ解す。この際、未受精卵は、つぶされ、受精卵のみが得られる。(2) 人工軟水(硬度 25ppm, pH は約7)約 350mlを入れたスチロール製の容器(直径15cm, 高さ6cm)に受精卵を移す。残りのごみをピペットで取り除く。(3) 毎日、水カビの生えた卵を取り除き、新しく水を入れた容器に移す。(4) ふ化したメダカの稚魚

は、速やかに人工軟水を入れた水槽に移す。通気はしない。また、餌も与えない。

#### 2. 4 産卵率・ふ化率について

このようにして明16時間、暗8時間の恒温室 ( $23 \pm 1^\circ\text{C}$ ) において飼育したときの各系統のメダカの産卵・受精率及びふ化率を約2週間連続して調べた結果を表1に示した。H05-M系、H04C-M系のヒメダカについてみると卵の受精率及びふ化率にはほとんど差が認められなかった。しかし、雌1個体・1日当たりの産卵数は、H05-M系の方が多い。一方、HB12C-Mは、産卵数、受精率、ふ化率のいずれにおいてもH05-M系及びH04C-M系よりも劣っていた。したがって、雌1個体・1日当たりのふ化数は、H05-M系が最大となる。

雌のメダカが1腹当たりの産卵数をみると、H05-M系は  $20.1 \pm 5.4$  ( $n=77$ )、H04C-M系は  $15.5 \pm 5.9$  ( $n=37$ )、HB12C-M系は  $14.4 \pm 4.3$  ( $n=28$ ) であった。これをもとに各系統のメダカの産卵間隔を求めると、H05-M系は約2日ごとに、H04C-M系及びHB12C-M系は約4日ごとになる。

水温23、27及び30°Cで飼育した卵のふ化に要する時間について図1に示した。H05-M系のふ化ピークに達する日は、23°Cでは9日目、27°Cでは7日目、30°Cでは5日目と2日間ずつ短かくなっていた。なお、いずれの水温においても、最初の個体がふ化するまでの時間及びふ化のピーク日は、H05-M系が最短であった。ふ化のピーク日とその前後の計3日間の全体に占める割合はH04C-M系では92% (23°C) ~ 96% (27°C)、H05-M系では84% (23°C) ~ 96% (27, 30°C)、HB12C-M系では74% (23°C) ~ 76% (27°C)となっており、飼育水温の上昇とともにふ化も集中することが認められた。

表1 3系統の近交系メダカの産卵数、受精・ふ化率及び1腹当たりの卵数について(平均±標準偏差)

Strain	H05-M	H04C-M	HB12C-M
No. of females	56	90	73
Observation period (days)	16	16	16
No. of eggs·female <sup>-1</sup> ·day <sup>-1</sup>	11.2 ± 3.4	3.9 ± 1.7	3.4 ± 1.7
No. of fertilized eggs ·female <sup>-1</sup> ·day <sup>-1</sup>	9.0 ± 3.1	3.0 ± 1.4	1.5 ± 0.9
No. of hatched eggs ·female <sup>-1</sup> ·day <sup>-1</sup>	6.4 ± 2.8	2.0 ± 0.9	0.4 ± 0.3
Fertility (%)	78.6 ± 8.7	77.9 ± 12.0	14.4 ± 18.0
Hatchability (%)	56.4 ± 13.0	53.3 ± 14.6	10.8 ± 5.9
No. of eggs·brood <sup>-1</sup>	20.1 ± 5.4 (n=77)	15.5 ± 5.9 (n=37)	14.4 ± 4.3 (n=28)

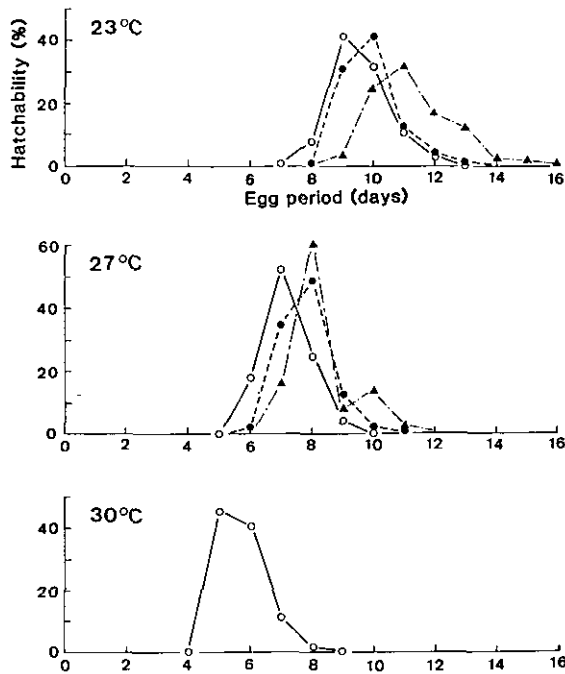


図1 3系統の近交系メダカのみ化に要する日数と水温との関係  
 (○:HO5-M系, ●:HO4C-M系, ▲:HB12C-M系)

### 3 農薬・重金属に対する感受性について

#### 3.1 試験方法

試験は人工軟水をガラスビーカーに 200ml, 供試魚10尾ずつを入れ 23±1°C, 12時間明期の恒温室にて行った。試験は公比 1.1 倍の等比級数による希釈段階で行い, 1 濃度につき 30~60 個体を用いた。ふ化後の稚魚には一切餌は与えなかった。また, 試験中の給餌, 試験水の交換, 通気は行わなかった。供試魚の生死は, 実体顕微鏡で心臓の鼓動の有無を調べ判定した。なお, 半数致死濃度 (LC<sub>50</sub>) 及び薬量-死亡率回帰直線はプロビット法 (Finney, 1971) により求めた。

#### 3.2 稚魚のみ化後の日齢と感受性との関係

ふ化直後の稚魚の薬剤に対する感受性は日齢とともに変化する事が報告されている (広瀬・安野, 1977; 宮下, 1988a, 1988b)。したがって, 急性毒性試験には, 感受性変化の少ない時期 (日齢) の稚魚を用いる必要がある。HO5-M 系及び HO4C-M 系ヒメダカのみ化後の日齢とクロロニトロフェン及びカドミウムに対する感受性との関係について図2に示した。いずれの薬剤・系統のヒメダカにおいても, 感受性は稚魚の日齢とともに高まる傾向を示す。ふ化4時間後と96時間以降の稚魚の感受性を比較すると4~5倍の差が見られる。しかし, LC<sub>50</sub>値の変動の最も少ない時間帯はふ化後48~72時間であった。この結果より, 急性毒性試験を行うための材料

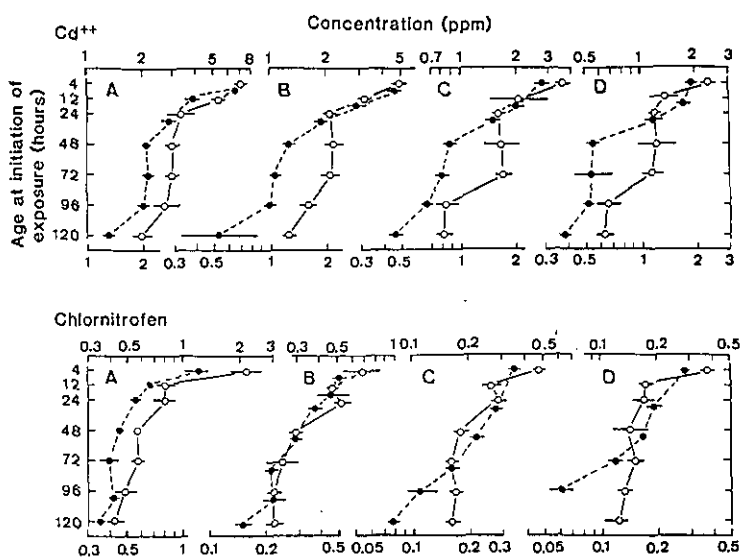


図2 2系統のヒメダカのふ化後の日齢とカドミウム及びクロルニトロフェンに対する感受性との関係

(○:HO5-M系, ●:HO4C-M系)

A: 24hr-LC<sub>50</sub>, B: 48hr-LC<sub>50</sub>, C: 72hr-LC<sub>50</sub>, D: 96hr-LC<sub>50</sub>, 範囲は95%信頼限界

としてはふ化後 48~72 時間の稚魚を用いることにした。HO4C-M 系のふ化後 48及び 72時間目の稚魚のクロルニトロフェンに対する感受性をを比較すると、72及び 96時間の LC<sub>50</sub>値に有意な差が認められた。HO5-M 系では、24~96 のいずれの時間においてもこのような差は認められない。したがって、日齢のずれにより生ずる感受性の変動は HO5-M 系のヒメダカを用いることで避けられる。

### 3. 3 系統間の農業・重金属に対する感受性の違い

3 系統の近交系メダカの代表的な農業・重金属に対する感受性について図 3 に示した。24~96 のいずれの時間においても系統間で感受性に差のある薬剤としては銅、差のない薬剤としてはフェニトロチオンがあげられる。イソプロチオランやカドミウムの場合は、48時間目から系統間の感受性差が認められる。また、BHC の場合、48時間目を境に HO5-M 系と HO4C-M 系との間には、の感受性の逆転がみられる。系統と感受性との関係についてみると、HB12C-M 系はカドミウムに対して、HO5-M 系はイソプロチオランに対して、HO4-C 系は銅に対して最も高い感受性を示した。すなわち、どの薬剤に対しても高い感受性を示す系統のメダカのないことを認めた。

### 3. 4 卵のふ化までの飼育水温と感受性との関係

飼育及び試験時間の短縮は毒性試験には不可欠である。そのひとつとして、卵期間の短縮があ

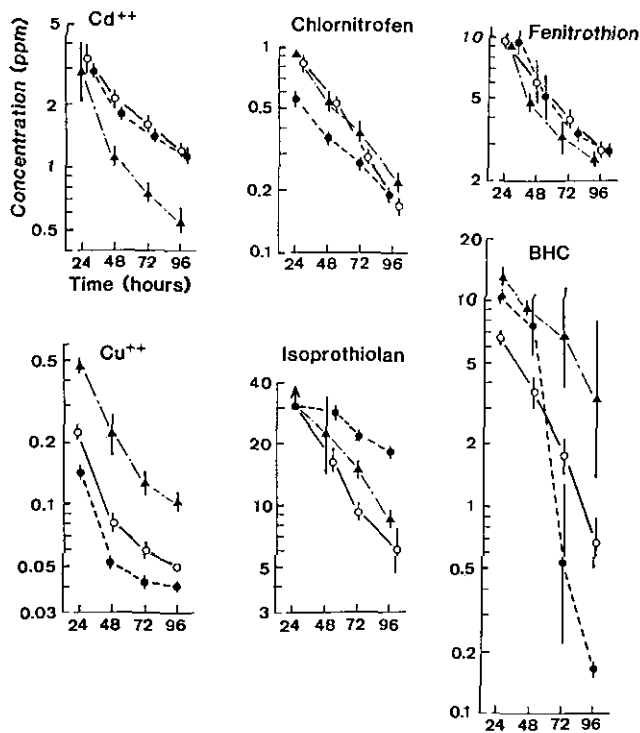


図3 3系統の近交系メダカの重金属及び農業に対する感受性  
 (○:HO5-M系, ●:HO4C-M系, ▲:HB12C-M系)  
 範囲は95%信頼限界

げられる。図1に示されるように卵を高温に保つとふ化に要する時間はかなり短縮される。水温 23, 27 及び 30°Cでふ化させた稚魚を速やかに水温 23°Cの容器にいったん移して飼育し、48時間後クロルニトロフェンに対する感受性を調べた結果を図4に示した。24~96時間 LC<sub>50</sub>値のいずれにおいても感受性に差はほとんど認められなかった。このことは、試験の都合に合わせて卵のふ化日を前後させたり、一気にふ化させることで効率的な供試魚の供給の可能性を示唆するものである。

#### 4. 考察

一般に、動物実験にはあらかじめ系統や性質のわかっている動物が用いられる。農業取締法、JIS、化学物質審査規制法に基づく急性毒性試験の供試魚としてヒメダカは用いられている。しかし、マウスやラットのような試験に用いるための標準的な品種・系統のヒメダカの規定はなかった。したがって、ヒメダカによる急性毒性試験の研究・報告を調べてみると、使用したヒメダカの入手先を明記したものは極めて少ない。本研究に用いたHO4C, HO5の近交系ヒメダカは、放医研の池で繁殖させていた集団のなかから任意に選んだ雌雄の子孫の兄妹交配により作出された(田口, 1980, 1981)。その結果、近交系の間で遺伝的性質(田口, 1980), UVや放射線



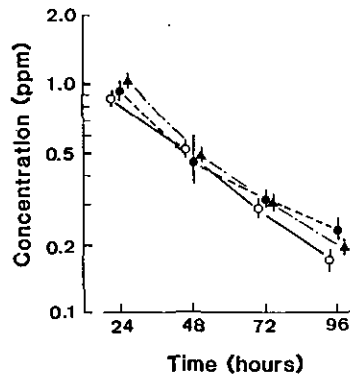


図4 HO5-M系のふ卵水温とクロロニトロフェンに対する感受性との関係  
 (○: 23°C, ●: 27°C, ▲: 30°C)  
 範囲は95%信頼限界

(Hyodo-Taguchi, 1983; Hyodo-Taguchi & Egami, 1985), 発癌性物質 (Hyodo-Taguchi & Egami, 1985), さらに農薬や重金属に対する感受性に違いが現れた。これを別の観点から見ると, 同一集団にあったメダカの親をある時から別々にして飼育し続けると, それぞれが全く遺伝的性質を異にするメダカになり得ることを証明したとも言える。現在市販されているヒメダカが, 各地で長い間交流もなく飼育されているすと, それぞれが異なる感受性のヒメダカとして分化していることが予想される。試験者により試験データが異なり, 比較できない恐れもある。したがって, 試験データ間の比較を容易にし, 再現性と精度を保証するためにはどうしても標準的な試験魚を決める必要がある。このようななかにおいて, 魚類としてはメダカがはじめて放医研において, 化学物質の毒性や耐性を調べるための試験魚として実験動物化された。

本研究は, 当研究所に譲り受けた実験動物化された5系統の近交系メダカの中から有害汚染物質の影響評価に適した系統を選び出すことを目的とした。毒性試験魚としての選択基準として, ① 感受性が高いこと, ② 繁殖性が優れていること, ③ 飼育が容易であることがあげられる。このような観点に基づき, H04C-M 及び H05-M の2系統の近交系ヒメダカを試験魚の有力候補として, 野生型メダカの近交系 HB12C-M を対照として選び実験を行った。まず, ① の感受性についてみると, どの薬剤に対してもいつも高い感受性を示す系統のメダカはなかった。しかし, H05-M 系のふ化 48~72 時間後の稚魚を試験に用いると安定した成績が得られた。② の繁殖性からみると, 受精・ふ化率では差はないが, H05-M 系は H04C-M 系よりも1腹当たりの産卵数が多く, また産卵間隔も短い点で繁殖性の優れた系統であることを確認した。③ の飼育管理面では, H05-M系は H04C-M 系, HB12C-M 系とは全く性質が逆で, ひとが近づいても大きな音を立てても驚かずまた, ひとに慣れやすく, 極めて飼育しやすいヒメダカでもある。これらの結果より H05-M 系の近交系ヒメダカを急性毒性試験の標準試験魚とした。なお, 各系統の UV や放射線や変異原性物質 (Hyodo-Taguchi & Egami, 1985) に対する感受性がこれまで調べられ, UV に対し

ては H04C 系 (Hyodo-Taguchi, 1983) が、発癌物質に対しては H04C 系 (Hyodo-Taguchi, 1983) 及び H04C 系と HB32C 系のハイブリッド (Hyodo-Taguchi & Matsudaira, 1987) が高い感受性を示すことが報告されている。

次に、急性毒性試験に用いるヒメダカのサイズ (成長段階) についてみると、OECD のテストガイドライン (OECD, 1984) では  $2.0 \pm 1.0$  cm, 化学物質審査規制法に基づく試験法では体重 0.15~0.5g の成魚を用いると規定している。しかし、ヒメダカのカドミウムに対する感受性は季節や雌雄により異なること (春日, 1980), さらに、ヒメダカの成長に伴いフェニトロチオンや DDT に対する感受性が変動すること (Takimotoら, 1984) が報告されている。餌を変えてニジマスを飼育すると感受性にも差の表れることが報告されている (Mehrle, 1974)。すなわち、供試魚の成長段階、季節や雌雄、飼育条件など様々な要因により魚の感受性は変動する。したがって、供試魚のサイズを揃えたところで必ずしも試験データの精度及び再現性は保証されない。しかし、これらの問題はふ化後間もないヒメダカの稚魚を用いることで解消されよう。また、ふ化直後の稚魚を毒性試験に用いることは、試験の精度や再現性のみならず、飼育や試験のためのスペース及び薬剤の使用量を減らせるという利点もある。魚類の実験動物化を目的として、これまで当研究所においてグッピー (広瀬・安野, 1979; 宮下, 1984a, 1984b, 1988a) やモツゴ (宮下, 1988b) の稚魚による毒性試験方法を開発した。

魚類の卵・稚魚期は、毒物に対する感受性が最も高く、毒物の最大許容濃度を求める上でも最も期間と考えられており (McKim, 1977; Macek & Sleight, 1977), このような観点からの受精卵から幼若期にかけて化学物質に暴露させる発生段階毒性試験もテストガイドライン (EPA, 1982; 環境庁, 1984) に採用されている。したがって、H05-M 系の近交系ヒメダカを毒性試験の標準魚とするにあたり、慢性毒性、蓄積性、行動に対する影響、成長に伴う感受性の変化等、今後に残された課題もあるが、稚魚による急性毒性試験を標準化することは有意義であると考えらる。

#### 謝 辞

本研究にあたり近交系メダカを快くお譲り下された放射線医学研究所 田口泰子博士に厚くお礼申し上げます。さらに、メダカの飼育、実験にご協力いただいた塚本幸子、中山由光、河辺聖、吉原 豊、鈴木和子、古谷君江の諸氏に深謝致します。

#### 引 用 文 献

- EPA (1982): Environmental effects test guidelines. EPA 560/6-82-002, PB 82-232992.  
Finney, D. J. (1971): Probit analysis (3rd edition). Cambridge University Press, Cambridge.  
広瀬吉則・安野正之 (1979): グッピー稚魚による数種の殺虫剤の毒性試験について. 衛生動物, 30(2), 167-171.

- Hyodo-Taguchi, Y. (1983): Effects of UV irradiation on embryonic development of different inbred strains of the fish *Oryzias latipes*. J. Radiat. Res., 24, 221-228.
- Hyodo-Taguchi, Y. and N. Egami (1985): Establishment of inbred strains of the Medaka *Oryzias latipes* and the usefulness of the strains for biomedical research. Zool. Sci., 2, 305-316.
- Hyodo-Taguchi, Y. and H. Matsudaira (1987): Higher susceptibility to N-methyl-N-nitrosoguanidine-induced tumorigenesis in an interstrain hybrid of the fish, *Oryzias latipes* (Medaka). Jpn. J. Cancer Res. (Gann), 78, 487-493.
- JIS (1986): 魚類による急性毒性試験。工場排水試験方法, JIS-K 0102.
- 化学物質審査規制法 (1974): 新規化学物質に係る試験の方法について。昭和49年7月13日環保業第5号, 葉発第615号, 49基局第392号。
- 春日清一 (1980): メダカにおけるカドミウム急性毒性の雌雄差。日本水産学会誌, 46(9), 1073-1076.
- 環境庁 (1984): OECDテストガイドライン—生態影響試験—。環境庁環境保健調査室 (東京)。
- Macek, K. J. and Sleight, B. H., III (1977): Utility of toxicity tests with embryos and fry of fish in evaluating hazard associated with the chronic toxicity of chemicals to fishes. ASTM STP, 634, 137-146.
- McKim, J. M. (1977): Evaluation of test with early life stages of fish for predicting long-term toxicology. J. Fish. Res. Board Can., 34, 1148-1154.
- Mehrle, P. M. (1974): Nutritional effects on chlordane toxicity in rainbow trout. Bull. Environm. Contam. Toxicol., 12(5), 513-517.
- 宮下 衛 (1984a): 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.
- 宮下 衛 (1984b): 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.
- 宮下 衛 (1988a): グッピーの稚魚による急性毒性試験法について。日本公衆衛生雑誌(投稿中)。
- 宮下 衛 (1988b): モツゴの稚魚による農薬・重金属の感受性試験。日本公衆衛生雑誌(投稿中)。
- 農林省農政局長通達 (1965): 魚類に対する毒性試験法。昭和40年11月25日農政局長通達B第2735号。
- OECD (1984): OECD guideline for testing of chemicals. OECD, Paris.
- 田口 泰子 (1980): メダカの近交系の作出。動物学雑誌, 89, 283-301.
- 田口 泰子 (1981): 魚類の遺伝的純化。実験動物としての魚類—基礎実験法と毒性試験—, 江上 信雄 (編), ソフトサイエンス社, 東京。
- Takimoto, Y., S. Hagino, H. Yamada and J. Miyamoto (1984): The acute toxicity of fenitrothion to killifish (*Oryzias latipes*) at twelve different stages of its life history. J. Pesticide Sci., 9, 463-470.

## 重金属汚染河川(秋田県小坂川及び米代川) における底生動物群集

佐竹 潔<sup>1</sup>・畠山成久<sup>1</sup>・安野正之<sup>1</sup>

### Macroinvertebrate Communities in the Heavy Metal Polluted Rivers Kosaka and Yoneshiro of the Tohoku District

Kiyoshi N. SATAKE<sup>1</sup>, Sigehisa HATAKEYAMA<sup>1</sup> and Masayuki YASUNO<sup>1</sup>

#### Abstract

Macroinvertebrate communities in relation to the physico-chemical factors were studied in the Rivers Kosaka, Ohyu and Yoneshiro of the Tohoku District, in April and October, 1983. Heavy metal concentrations in water went up just below the discharging point from each mine drainage. Various kinds of macroinvertebrates were found in upstream unpolluted region. While, only limited species of macroinvertebrates were found in the polluted region. Namely, Cheumatopsyche brevilineata, Antocha sp., Drunella bifurcata and Bezzia sp. appeared in April, and Baetis thermicus, Baetis sahoensis, Cheumatopsyche brevilineata, Hydropsyche orientalis, Antocha sp. and chironomids did in October in the polluted region. Species composition of macroinvertebrates in the lower reaches of the confluence of the Rivers Kosaka and Yoneshiro was almost the same as in the upstream unpolluted region of the latter.

#### 要 約

鉱山廃水の流入している秋田県小坂川とその下流の米代川において、底生動物群集及び河川水中の重金属の濃度を1983年4月と10月に調べた。さらに1983年10月には、附着藻類中の重金属の含有量をも調べた。重金属の濃度は鉱山廃水が流入している地点の下流で高かった。上流部の非汚染地区では多種のカゲロウ類・トビケラ類・カワゲラ類等が出現していた。汚染地区においては底生動物の種類数・密度の減少が認められたが、下流へ行くにつれ、種類数・密度はやや増加する傾向が認められた。米代川本流においては、小坂川との合流地点の上流と下流では、底生動物群集に大きな違いがみられず、その密度は合流地点より下流で増加していた。汚染地区に出現した種としては、4月にはウスバヒメガガンボ・コガタシマトビケラ・フタマタマダラカゲロウ・ヌカカが、10月にはコカゲロウ類・コガタシマトビケラ・ウルマーシマトビケラ・ウスバヒメガガンボ・ユスリカ類等が見られた。

- 
1. 国立公害研究所 生物環境部 〒305 茨城県つくば市小野川16番2  
Environmental Biology Division, the National Institute for Environmental Studies,  
16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

## 1 はじめに

鉱山廃水が河川の底生動物群集に与える影響については各地で調査がなされてきた (Armitage, 1980; Brown, 1977; 御勢, 1960; Letterman & Mitsch, 1978; Moon & Lucostic, 1979; Winnerら, 1980)。これまでに著者らも秋田県の小坂川流域において秋に上流の非汚染地区から汚染地区までの調査を行い, 重金属汚染地区に特徴的な種が生息していること等を明らかにした (安野・畠山, 1984; 菅谷ら, 1986)。鉱山廃水が河川の底生動物群集へ与える影響は, 汚染地区から下流へ行くに従い, あるいは季節により異なると考えられるので, 今回さらに下流に地点を増やし, 春と秋との2回の調査を行った。

## 2 調査方法

### 2. 1 調査地点の概要

1983年の春(4月)と秋(10月)に小坂川及び米代川水系の12地点において調査を行った(図1)。対照となる調査地点として小坂川支流の St. A5, S0, 大湯川の St. O1, 米代川の St. Y1 を選んだ。鉱山廃水が流入している調査地点として, 小坂川支流相内川の St. B0, Z1 及び小坂川

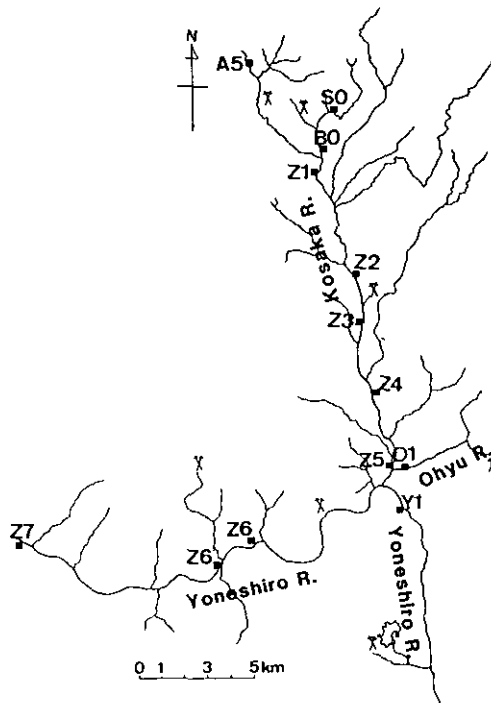


図1 調査地点の概要

A5, S0, B0, Z1, Z2, Z3, Z4, Z5, Z6, Z7, O1, Y1は調査地点。

の St. Z2, Z3, Z4, Z5 を選んだ。St. B0 には相内鉱山からの廃水が, St. Z1 にはそれに加えて古遠部鉱山の廃水が流入している。St. Z2 にはこれらの地点を流れる相内川と小坂川との合流点の下流である。St. Z3 の上流には小坂鉱山があり, その廃水が流入している。また, St. Z5 には毛馬内からの生活排水が入っている。St. Z6, Z7 は, 小坂川が大湯川と合流しさらに米代川へ流入する地点より下流である。

## 2. 2 調査方法

### 2. 2. 1 環境要因

各地点において調査時に, 水温・pH・電気伝導度 (EC) を測定し, 水深・川幅・流速を測定した。水温は棒状温度計で測定し, pH の測定にはポータブルの pHメーター (YEW, PH51), 電気伝導度の測定にはポータブルの電導度計 (TOA, CM-1K) を用いた。河川水を 250 ml のポリエチレン容器に採集し, 直ちに有害金属測定用硝酸 4 ml を加え, 原子吸光光度計 (HITACHI, 180-80; SHIMADZU, AA640-12) あるいは ICP (JARREL, ASH 975) を用いて, 各種金属の濃度を測定した。

### 2. 2. 2 石面付着物

石面付着物は各地点 5~8 サンプルずつ直径 20 cm前後の石より歯ブラシではぎ取った。このサンプルをグラスファイバーフィルターでろ過して 90 %アセトン中でホモジェナイズし, クロロフィル a量を UNESCO/SCORE 法 (UNESCO, 1966) により求めた。秋の調査時には, 石面付着物中の重金属含有量を畠山・福嶋 (1984) の方法に従って測定した。

### 2. 2. 3 底生動物

底生動物は 0.1m<sup>2</sup> のサーバーネット (メッシュ, NGG40) を用い, 早瀬あるいは平瀬において各地点 4 サンプルずつ採集した。各サンプルは 4 %ホルマリンで固定し, 底生動物をピンセットで拾い出した。これらの底生動物は, 科・属・種に分け, 計数した。底生動物の同定は, コカゲロウ類は小林 (1987) に, シマトビケラ属は Tanida (1986, 1987) に, その他の水生昆虫は河合 (1985) に従った。ユスリカ類はここでは分類せず一括して取り扱った。ユスリカ類の種類を分けた結果については別に報告されている (菅谷ら, 1986)。

## 3 結果

### 3. 1 環境要因

春の調査時には, 水温は 7.4~10.3°Cの範囲であった。pH は源流部の St. A5 において最も低く 6.0, 下流に行くに従い上昇して St. Z7 では 8.1 であった。電気伝導度は St. A5 で最低で 28  $\mu$ S cm<sup>-1</sup>, 汚染の著しい St. B0 で最高になり 220  $\mu$ S cm<sup>-1</sup>であった (表 1)。秋の調査時には, 水温が春よりやや高くて 9.5~13.8°C, pH は 6.5~7.3 と安定していた。電気伝導度は St. A5

表1 小坂川・米代川・大湯川の調査地点における環境要因(1983年4月)

	Station											
	A5	S0	B0	Z1	Z2	Z3	Z4	Z5	O1	Y1	Z6	Z7
Water Temperature (°C)	7.4	9.0	10.3	8.7	9.3	9.7	7.8	8.0	8.3	9.4	9.5	8.8
pH	6.0	6.5	6.9	6.7	7.0	6.9	6.8	6.8	7.2	7.3	7.5	8.1
Electric Conductivity ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ )	28	36	220	160	120	180	160	160	52	49	66	63
Metal Concentrations in Water												
Cadmium (ppb)	N.D.	0.6	1.7	1.7	1.7	2.0	0.7	1.7	N.D.	0.6	0.6	N.D.
Copper (ppb)	N.D.	N.D.	81.0	28.3	16.3	30.1	20.2	20.1	16.1	7.0	12.9	12.4
Zinc (ppb)	3.5	71.7	394	233	59.5	119	82.5	89.6	20.4	22.6	33.7	32.2
Chlorophyll a ( $\text{mg m}^{-2}$ )	25.2	112.3	31.3	13.8	7.7	14.1	24.3	39.7	15.7	21.0	8.7	16.6

表2 小坂川・米代川・大湯川の調査地点における環境要因(1983年10月)

	Station											
	A5	S0	B0	Z1	Z2	Z3	Z4	Z5	O1	Y1	Z6	Z7
Water Temperature (°C)	10.1	11.0	11.0	9.5	13.8	12.7	11.0	11.4	10.5	11.9	11.5	11.9
pH	6.5	6.7	6.4	6.8	6.9	6.9	7.0	7.1	7.3	7.2	7.2	7.2
Electric Conductivity ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ )	33	52	280	190	230	380	320	290	61	40	130	120
Metal Concentrations in Water												
Cadmium (ppb)	0.1	0.1	1.4	0.9	0.2	10.0	5.7	4.8	0.05	0.8	1.3	1.3
Copper (ppb)	0.3	0	34.9	13.2	13.9	34.7	25.3	19.0	6.9	4.0	40.0	15.0
Zinc (ppb)	5.0	7.1	286	140	35.0	183	55.9	127	21.0	50.0	77.5	55.7
Metal Contents in Attached Algae												
Cadmium ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	7.56	2.64	40.5	2.22	0.19	17.9	9.77	11.3	0.58	8.74	10.3	7.00
Copper ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	53	0	4060	708	267	2340	1610	1360	195	237	849	354
Zinc ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	140	271	11800	721	436	1860	1380	1430	240	1240	895	839
Chlorophyll a ( $\text{mg m}^{-2}$ )	25.7	6.3	78.6	4.8	7.4	20.0	24.9	60.8	87.6	74.7	50.5	70.4

で最も低くて  $33 \mu\text{S cm}^{-1}$ , St. Z3では  $380 \mu\text{S cm}^{-1}$ と最も高かった(表2)。春には、河川水中の Cu, Zn, Cd の濃度の値は最高でそれぞれ 81, 394, 2 ppb であった。源流部の St. A5 で Cu, Zn, Cd の濃度が最も低かった。相内川上流の St. S0では、Zn の濃度がやや高かったが、Cd, Cu は低濃度であった。St. B0では Cu, Zn がそれぞれ 81, 374 ppb とかなり高濃度で検出されたが、St. Z1, Z2と下流に行くに従い低濃度になった。小坂鉾山の下流の St. Z3では、再び Cu, Zn, Cd の濃度がそれぞれ 30, 119, 2 ppb と高くなった。St. Z4, Z5 においては、重金属の濃度はほぼ等しく、St. Z3の約  $2/3$ の値を示した。大湯川・米代川との合流地点より下流の St. Z6, Z7 では、

重金属の濃度はさらに低下した。秋には河川水中の Cu, Zn, Cd の濃度は最高でそれぞれ 40, 285, 10 ppb であった。上流の St. A5, S0 の 2 地点では、これらの重金属は非常に低い濃度であった。春と同様に St. B0, Z3 で Cu, Zn がかなり高濃度で検出され、Cd も St. Z3 で 10 ppb と高濃度であった。St. Z6 で Cu が 40 ppb, St. Z5 で Zn が 127 ppb とやや高い濃度で検出されたが、St. Z6, Z7 と下流に行くに従い Cu, Zn, Cd の濃度は低くなった。

### 3. 2 石面付着物

石面付着物の内容はほとんどが付着藻類と考えられた。春にはクロロフィル a 量は上流の非汚染地区の St. S0 での  $112.3 \text{ mg m}^{-2}$  を除くと、 $7.7 \sim 39.7 \text{ mg m}^{-2}$  であった。秋にはクロロフィル a 量は  $4.8 \sim 87.6 \text{ mg m}^{-2}$  で春における値とほぼ同じ範囲にあった。一般に下流部の St. Z5, Z6, Z7, O1, Y1 で比較的高かった。しかし必ずしも重金属含有量とクロロフィル a 量の間にある一定の関係は認められなかった。一方、石面付着物中の重金属含有量は河川水中の重金属濃度の高い St. B0, Z3 で高く、いずれの金属も下流に行くに従い低濃度になった。

### 3. 3 底生動物

#### 3. 3. 1 春の調査結果 (表 3)

非汚染地区の St. A5, S0 では多種のカゲロウ類 (Ephemeroptera)・カワゲラ類 (Plecoptera)・トビケラ類 (Tricoptera) 等が出現していた。St. S0 では、種類数が 35.0 と最も高く底生動物全体の密度も  $2470 \text{ m}^{-2}$  と高かった。源流部の St. A5 では種類数・密度ともに St. S0 よりやや低かった。一方、汚染の激しい St. B0, Z3 では、カゲロウ類・カワゲラ類の種類数・密度の減少が著しかった。種類数は、St. B0 より下流の St. Z1 においても少なかったが、さらに下流の St. Z2 ではやや増加するきざしがみられた。大湯川 (St. O1) と、米代川 (St. Y1, Z6, Z7) では種類数は 17 前後で、密度が  $2670 \sim 5000 \text{ m}^{-2}$  であった (表 3)。

汚染地区 (St. B0) に特徴的だった種はヤマナカナガレトビケラ (*Rhyacophila yamanakensis*)・ヌカカの 1 種 (*Bezzia* sp.) であった。また、汚染地区を含む上流部から下流部まで分布していた種類は、フタマタマダラカゲロウ (*Drunella bifurcata*)・コガタシマトビケラ (*Cheumatopsyche brevilineata*)・ヒメドROMシ類 (*Elmidae* spp.)・ウスバヒメガガンボ (*Antocha* sp.) であった。この調査時には通常汚染に強いとされているウルマーシマトビケラ (*Hydropsyche orientalis*)・シロハラコカゲロウ (*Baetis thermicus*)・ユスリカ類の密度は最も汚染の強い St. B0 では低かった。上流部から下流部まで分布しているが汚染地区には生息しない種としては、オオクママダラカゲロウ (*Cincticostella okumai*)・アカマダラカゲロウ (*Serratella rufa*)・ミヤマタニガワカゲロウ (*Cinygma* sp.)・エルモンヒラタカゲロウ (*Epeorus latifolium*)・フタスジミドリカワゲラモドキ (*Isoperla nipponica*) があげられよう。また、ヤマトビケラ (*Glossosoma* sp.) は上流部から中流に分布しているが、汚染地区では全く見られなかった。



表3 小坂川・米代川・大湯川の調査地点における底生動物の種組成と密度  
(1983年4月) 密度は1m<sup>2</sup>当たり

	Station											
	A5	S0	B0	Z1	Z2	Z3	Z4	Z5	O1	Y1	Z6	Z7
<b>Ephemeroptera</b>												
<i>Ephemera japonica</i>	-	30	3	-	3	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. strigata</i>	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-
<i>Potamanthus kamonis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
<i>Paraleptophlebia chocolata</i>	90	27	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-
<i>Cincticostella nigra</i>	3	73	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. okumai</i>	3	40	-	-	-	-	-	-	-	43	28	3
<i>C. tshernovae</i>	-	33	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-
<i>Drunella basalis</i>	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-	3	-
<i>D. bifurcata</i>	-	473	13	173	250	128	1057	63	763	1570	218	168
<i>D. kohnoae</i>	-	10	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>D. trispina</i>	-	93	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Ephemerella denticula</i>	15	90	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Serratella rufa</i>	-	76	-	3	-	-	13	-	53	483	435	1015
<i>Torleya japonica</i>	-	23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Caenis</i> sp.	-	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Baetis thermicus</i>	18	50	5	133	70	8	576	23	65	148	20	35
<i>B. sahoensis</i>	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-	5
<i>B. yoshinensis</i>	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudocloeon japonicum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	15	3	-	-
<i>Ameletus</i> sp.	5	13	-	-	-	-	-	3	-	-	3	3
<i>Cinygma</i> sp.	10	-	-	-	220	15	93	40	155	-	245	145
<i>Epeorus aesculus</i>	-	-	3	-	-	-	13	-	8	28	-	-
<i>E. ikanonis</i>	28	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. latifolium</i>	3	23	-	5	23	13	93	20	3	228	233	100
<i>E. uenoi</i>	-	-	-	-	-	-	10	-	-	-	-	-
<i>Rhithrogena japonica</i>	-	-	-	3	-	-	8	-	3	98	10	3
<i>R.</i> sp.	-	-	-	-	33	-	-	-	45	-	-	-
<b>Plecoptera</b>												
<i>Scoupra longa</i>	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Amphinemura</i> sp.	-	80	-	3	3	-	-	-	3	8	8	3
<i>Nemoura</i> sp.	-	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Protonemura</i> sp.	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Taeniopterygidae spp.	13	70	-	-	5	3	3	-	-	-	-	-
<i>Isoperla aizuwana</i>	-	3	-	-	-	-	10	-	-	-	3	10
<i>I. asakawae</i>	-	-	-	-	13	5	-	-	-	-	3	-
<i>I. nipponica</i>	-	12	-	-	8	5	12	-	15	23	38	15
<i>I.</i> sp.	-	7	-	-	-	-	-	-	3	3	-	-
<i>Ostrovus mitsukonis</i>	-	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Stavsolus</i> sp.A	-	-	-	3	8	5	-	-	-	15	28	8
<i>S.</i> sp.B	-	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Tadamus kohnonis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	5	-
Perlodinae sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	3
<i>Acroneuria joukllii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-
<i>Calineuria stigmatica</i> Complex	173	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Caroperla pacifica</i>	3	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Kamimuria quadrata</i>	-	-	3	-	5	-	-	-	-	-	-	-
<i>Neoperla</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-
<i>Oyamia lugburis</i>	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Paragnetina</i> sp.	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Chloroperlidae spp.	-	30	3	3	8	-	7	-	45	8	18	15
<b>Megaloptera</b>												
<i>Parachauliodes continentalis</i>	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Protohermes grandis</i>	-	7	5	-	-	-	13	-	-	-	-	-
<b>Trichoptera</b>												
<i>Apsilochorema sutshanum</i>	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Rhyacophila brevicephala</i>	25	3	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>R. impar</i>	3	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>R. kawamurai</i>	-	7	5	-	-	-	-	-	-	7	-	-
<i>R. kisoensis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-
<i>R. nigrocephala</i>	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>R. towadensis</i>	30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>R. tranquilla</i>	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-
<i>R. yamanakensis</i>	-	-	15	-	3	3	-	-	5	-	-	-
<i>R.</i> sp.RC	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-	3	-
<i>R.</i> sp.RD	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>R.</i> sp.RE	-	-	-	-	-	-	-	-	8	-	-	-

表3 (つづき)

	Station											
	A5	S0	B0	Z1	Z2	Z3	Z4	Z5	O1	Y1	Z6	Z7
Trichoptera												
<i>Glossosoma</i> sp.	-	13	-	3	13	-	10	-	5	-	-	-
<i>Plectrocnemia</i> sp.PA	13	-	-	8	-	-	3	-	-	-	-	-
<i>Stenopsyche mamorata</i>	-	33	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-
<i>Cheumatopsyche brevilineata</i>	-	47	28	118	73	115	223	387	773	578	1080	2008
<i>Hydropsyche albicephala</i> (?)	-	27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>H. gifuana</i> (?)	-	-	5	-	-	-	-	3	45	-	3	3
<i>H. orientalis</i>	3	173	5	33	10	8	83	17	133	18	120	55
<i>H. setensis</i>	-	-	-	-	-	3	-	-	100	-	-	-
<i>Parapsyche maculata</i>	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Brachycentrus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	5	-	3	-
<i>Micrasema</i> sp.	118	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Geora japonica</i>	-	7	-	-	-	-	3	-	23	-	-	-
<i>Georodes</i> sp.	-	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
Lepidoptera												
<i>Nymphula</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-
<i>Prapopynx</i> sp.	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-
Coleoptera												
Elmidae spp.	193	550	8	10	13	10	340	80	118	3	18	30
Diptera												
<i>Tipula</i> sp.TC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-
<i>T.</i> sp.	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Antocha</i> sp.	55	120	80	10	60	43	87	997	528	65	128	750
<i>Dicranota</i> sp.	3	-	3	-	3	-	-	-	3	3	-	-
<i>Erioptera</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-
<i>Hexatoma</i> ( <i>Eriocera</i> ) sp.EB	20	23	5	5	-	-	-	-	-	-	-	5
<i>Limnophila</i> sp.	3	3	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Limonia</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	3	-
Psychodidae sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-
<i>Bezzia</i> sp.	-	-	70	-	-	5	-	3	-	-	-	5
Simuliidae spp.	15	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Chironomidae spp.	20	27	8	5	5	8	503	947	243	233	10	588
<i>Atherix ibis</i>	-	10	8	-	3	-	3	7	-	-	3	-
<i>Suragina caeruleascens</i>	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Chelifera</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-
<i>Clinocera</i> ( <i>Hydrodromia</i> ) sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	18	-	-	-
<i>Hemerodromia</i> sp.	8	-	-	-	-	-	3	-	3	-	-	-
<i>Wiedemannia</i> sp.	-	-	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Amphipoda												
<i>Sternomoera</i> sp.	44	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Isopoda												
<i>Asellus hilgendorffii</i>	-	-	-	3	3	-	33	200	-	-	3	3
Hirudinea												
<i>Erpobdella lineata</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-
Turbellaria												
<i>Dugesia japonica</i>	90	23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
Oligochaeta												
	-	-	-	-	-	38	3	23	10	3	3	8
Number of taxa	17.3	35.0	11.0	9.0	14.5	9.3	18.7	12.7	20.0	15.3	17.3	17.5
Densities for total taxa (m <sup>-2</sup> )	980	2470	290	520	830	420	3220	2670	3200	3570	2670	5000

これら以外の種では、モンカワゲラ (*Caroperla stigmatica*)・ナミトビロカゲロウ (*Paraleptophlebia chocolata*)・数種のナガレトビケラ・マルツツトビケラ (*Micrasema* sp.) が源流部の St. A5 で、ユビオナシカワゲラ (*Amphinemura* sp.)・ミジカオカワゲラ (*Taeniopterygidae* sp.)・マダラカゲロウ類等が上流部の St. S0 で特徴的に出現していた。また、この2地点では、クロヒメガガンボ (*Eriocera* sp. EB)・ブユ類・ヒメドロムシ類も見られた。

St. B0, Z5 ではカワゲラ類はほとんど見られず、その間の調査地点 (St. Z2~Z5) でもミドリカ

ワゲラ属 (*isoperla*) の数種等が低密度で見られるにすぎない。ヒメドロムシ類とミズムシ (*Ase-llus hilgendorffii*) が St. Z4, Z5 でやや高い密度で出現しているのが注目された。

米代川本流に入ると、アミメカワゲラモドキ (*Stavsolus* sp. A)・ミドリカワゲラ類 (*Chloroperlidae* spp.) 等が低密度ではあるが出現するようになり、またコガタシマトビケラの密度は極めて高くトビケラ類の密度の 90% 以上を占め続けた。

### 3. 3. 2 秋の調査結果 (表 4)

St. A5, S0 では春の調査時と同様に多種のカゲロウ類・カワゲラ類・トビケラ類等が出現していた。種類数はそれぞれ 28.0, 33.7 と高く、密度も春より高い値であった。一方、最も重金属の水中濃度が高かった St. B0, Z3 のうち、St. Z3 では、トビケラ類・カワゲラ類の種類数・密度が著しく低く、底生動物全体の種類数・密度が最も低かった。ところが、St. B0 では、それほど大きな影響は認められず密度は  $5050 \text{ m}^{-2}$  とむしろ上流の地点よりも高い値であった。St. B0 のすぐ下流の St. Z1 においては、トビケラ類・カワゲラ類・双翅目の種類数・密度の減少が著しかった。さらに下流へ St. Z4~Z7 と行くに従い種類数・密度は増加する傾向がみられ、特に、St. Z7 では密度が  $22950 \text{ m}^{-2}$  と非常に高かった。

カゲロウ類で見ると、St. A5 においてオオクマダラカゲロウ、シロハラコカゲロウ、エルモンヒラタカゲロウ等が得られていた。St. S0 では、これらの3種に加えてナミトビロカゲロウ、アカマダラカゲロウ等が比較的高密度で出現していた。St. B0 では、コカゲロウ類が高い密度でみられた。St. Z1 はコカゲロウ類に加え、オオクマダラカゲロウ・エルモンヒラタカゲロウなども出現していた。さらに下流の St. Z2 では、これらの種に加えてヒメヒラタカゲロウ属 (*Rhithrogena* spp.)・フタバコカゲロウ属 (*Pseudocloeon* spp.) が見られた。St. Z3, Z4, Z5 においては、コカゲロウ類とフタバコカゲロウ属以外の種はほとんど見られなかった。St. Z6, Z7 では、アカマダラカゲロウ・コカゲロウ類・エルモンヒラタカゲロウ・フタバコカゲロウ・オオクマダラカゲロウがやや高密度で出現していた。

カワゲラ類では、St. A5 においてはユビオナシカワゲラ (*Protonemura* sp.), St. S0 においてはユビオナシカワゲラ・アミメカワゲラモドキ (*S.* sp. B)・クロヒゲカミムラカワゲラ (*Kami-muria quadrata*) 等、それぞれ 9.7 種が得られた。St. B0 の種組成は St. S0 と良く似ていたが密度は低かった。St. Z1 及びその下流の調査地点では、カワゲラ類はほとんど見られなかった。

トビケラ類では、St. A5 でトワダナガレトビケラ・マルツツトビケラ等が得られた。St. S0 ではウルマーシマトビケラ・マルツツトビケラ・ヤマトビケラ等の多種のトビケラが得られた。St. B0 ではコガタシマトビケラ・ウルマーシマトビケラ・ナガレトビケラ類が見られた。St. B0, Z1, Z2 ではヤマトビケラが出現してきたが、シマトビケラ類・ナガレトビケラ類は減少した。St. Z3 ではトビケラ類はほとんど得られなかった。トビケラ類は St. Z4 から出現するようになり、St. Z5~Z7 ではシマトビケラ類が高密度で出現していた。

表4 小坂川・米代川・大湯川の調査地点における底生動物の種組成と密度  
(1983年10月) 密度は1m<sup>2</sup>当たり

	Station											
	A5	S0	B0	Z1	Z2	Z3	Z4	Z5	O1	Y1	Z6	Z7
<b>Ephemeroptera</b>												
<i>Ephemera japonica</i>	-	40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. strigata</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-
<i>Potamanthus kamonis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-
<i>Paraleptophlebia chocolata</i>	10	130	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Cincticostella okumai</i>	170	350	5	94	70	3	-	5	113	193	20	70
<i>Drunella basalis</i>	-	20	-	3	8	-	-	-	-	5	5	3
<i>Serratella rufa</i>	8	153	5	8	33	-	-	40	295	2630	2508	5585
<i>S. setigera</i>	-	3	3	5	8	-	-	3	88	3	5	8
<i>Torleya japonica</i>	-	3	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-
<i>Baetis thermicus</i>	95	285	1240	1650	560	165	573	78	225	83	115	355
<i>B. sahoensis</i>	-	-	665	28	73	30	13	3	20	145	10	73
<i>B. yoshinensis</i>	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B. sp.D</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	3	3
<i>B. sp.E</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-
<i>B. sp.F</i>	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudocloeon japonicum</i>	-	-	-	-	100	15	20	-	-	-	3	3
<i>P. sp.</i>	3	-	-	-	33	5	-	10	5	78	38	153
<i>Ameletus sp.</i>	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8	-
<i>Cinygma sp.</i>	13	103	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Ecdyonurus kibunensis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	10	-	-	3
<i>Epeorus aesculus</i>	5	-	-	5	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. latifolium</i>	33	470	-	33	3	-	20	33	270	338	370	398
<i>E. uenoi</i>	-	-	-	3	-	-	-	-	5	-	3	38
<i>Rhithrogena japonica</i>	-	-	-	-	23	-	-	-	3	20	-	-
<i>R. sp.</i>	-	-	-	-	20	-	-	3	5	-	-	-
<b>Odonata</b>												
<i>Davidius fujiana</i>	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Davidius nanus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
<b>Plecoptera</b>												
<i>Scoupra longa</i>	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Amphinemura sp.</i>	8	127	13	-	-	-	-	-	-	3	-	5
<i>Protonemura sp.</i>	88	20	-	3	-	-	-	-	-	-	3	-
Capniidae sp.	18	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-
<i>Pseudomegarcys japonica</i>	10	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Stavsolus sp.A</i>	-	-	-	-	23	3	-	3	25	10	3	3
<i>S. sp.B</i>	13	67	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Calineuria stigmatica</i> Complex	58	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Caroperia pacifica</i>	-	23	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Kamimuria quadrata</i>	28	90	15	5	25	-	8	-	-	-	-	-
Chloroperlidae spp.	8	76	10	-	-	-	-	-	8	-	-	-
<b>Hemiptera</b>												
<i>Aphelocheirus vittatus</i>	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-
<b>Megaloptera</b>												
<i>Protohermes grandis</i>	-	30	35	3	3	-	3	5	5	-	5	10
<b>Trichoptera</b>												
<i>Rhyacophila brevicephala</i>	3	37	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>R. kawamurai</i>	8	20	15	-	3	-	-	-	-	-	-	-
<i>R. towadensis</i>	105	7	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>R. tranquilla</i>	-	13	55	3	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>R. yamanakensis</i>	-	7	13	8	-	-	3	-	3	-	-	-
<i>Glossosoma sp.</i>	-	107	-	53	40	-	5	-	-	-	-	-
<i>Palaeagapetus sp.</i>	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Dolophilodes sp.</i>	38	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Plectrocnemia sp.PA</i>	3	3	13	8	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Stenopsyche mamorata</i>	-	67	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-

(次ページにつづく)

鞘翅目では、ヒメドロムシ類が上流部の St. A5, S0 でやや高密度であった。

双翅目では、ウスバヒメガガンボ・ユスリカ類が上流から下流部まで幅広く分布していた。クロヒメガガンボとブユ類が St. A5, S0 で出現しており、ナガレアブ (*Atherix ibis*) が St. S0~

表4 (つづき)

	Station											
	A5	S0	B0	Z1	Z2	Z3	Z4	Z5	O1	Y1	Z6	Z7
Trichoptera												
<i>Cheumatopsyche brevilineata</i>	13	3	728	333	130	8	475	1453	2690	2988	6815	11883
<i>Diplectrona</i> sp.DB	15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Hydropsyche albicephala</i> (?)	5	83	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>H. gifuana</i> (?)	-	-	-	10	-	-	-	5	18	-	20	-
<i>H. orientalis</i>	3	1053	548	395	70	10	218	368	68	150	875	2263
<i>H. setensis</i>	-	-	-	18	3	-	8	45	228	8	5	3
<i>H.</i> sp.HE	-	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Mystacides</i> sp.	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-
<i>Micrasema</i> sp.	98	157	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Limnacentropus insolitus</i>	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Geora japonica</i>	-	40	-	-	3	-	3	-	8	-	-	3
Georinae sp.	-	17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Georodes</i> sp.	18	3	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-
Coleoptera												
<i>Hydrocylus</i> sp.	-	-	3	-	-	-	-	3	-	-	-	-
<i>Eubrianax granicollis</i>	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. pellucidus</i>	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Elmidae spp.	263	207	5	5	20	3	15	18	40	-	5	13
<i>Ectopria</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
Helodidae sp.	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Diptera												
<i>Tipula</i> sp.	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Antocha</i> sp.	115	187	258	18	135	10	93	2268	790	458	1765	1305
<i>Dicranota</i> sp.	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Erioptera</i> sp.	-	-	-	3	-	-	-	3	-	-	-	-
<i>Hexatoma (Eriocera)</i> sp.EB	10	37	3	-	5	-	-	-	8	-	-	-
<i>Pedicia</i> sp.	5	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pericoma</i> sp.	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Psycoda</i> sp.	-	-	-	-	-	5	-	-	-	-	-	-
<i>Bezzia</i> sp.	-	3	35	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Simuliidae spp.	38	27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Chironomidae spp.	175	720	1318	13	125	510	585	373	1085	428	45	325
<i>Tabanus</i> sp.	-	17	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Atherix ibis</i>	-	50	35	3	23	5	60	25	10	-	5	-
<i>Suragina caerulescens</i>	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-
Dolichopodidae sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
<i>Clinocera (Hydrodromia)</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	10	3	-	-
<i>Hemerodromia</i> sp.	-	-	-	-	-	3	-	3	-	-	-	3
Amphipoda												
<i>Sternomoera</i> sp.	548	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Isopoda												
<i>Asellus hilgendorffii</i>	-	-	-	-	-	-	13	30	-	-	3	5
Arachnida												
Hydrachnellae sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-
Hirudinea												
<i>Erpobdella lineata</i>	-	-	-	-	3	-	-	-	-	3	-	-
Turbellaria												
<i>Dugesia japonica</i>	68	50	3	-	-	-	3	3	-	15	85	430
Oligochaeta	40	3	-	5	-	20	3	-	118	5	-	5
Number of taxa	28.0	33.7	19.0	16.0	20.5	9.0	12.3	14.0	19.8	16.0	15.5	17.8
Densities for total taxa (m <sup>-2</sup> )	2190	4940	5050	2720	1600	790	2120	4770	6040	7600	12770	22950

Z6に見られた。双翅目の各種も St.Z1 と St.Z3 での密度の減少が著しかった。ただし St.Z3 におけるユスリカ類は例外であった。

その他では、端脚類の1種 (*Sternomoera* sp.) が St.A5 で高い密度で得られ、ミズムシが4月と同様に St.Z4, Z5 で見られた。

#### 4 考察

鉱山廃水あるいは重金属により汚染された河川の底生動物群集の特徴としては、ユスリカ類・コカゲロウ等が優占するという報告が多い。例えば、Winnerら (1980) は、重金属で汚染された河川ではユスリカ類が優占し、やや汚染された部分ではユスリカ類とトビケラ類が優占し、カゲロウ類は汚染の少ない部分にのみ見られたとしている。また、Yasunoら (1985) は山形の重金属汚染河川で、また安野・畠山 (1984) は小坂川の最も汚染された部分でユスリカ類が極めて高い密度で出現したことを報告している。御勢 (1960) は鉱山の廃水が流入する河川ではコカゲロウとヘビトンボが見られたのみであるとしている。Scullion と Edwards (1980) は、鉱山の影響を受けている河川では、コカゲロウ (*Baetis rhodani*)・ヌカカ (*Bezzia* sp.)・オドリバエ (*Cheelifera flavella*)、鞘翅目の1種 (*Limius volkmari*) 等が見られた事を報告している。シマトビケラ (*Hydropsyche* sp.) が優占したという報告もある (Letterman & Mitsch, 1978)。このように、ユスリカ類など特定の種が汚染地区で高密度で出現するのは、これらの種が鉱山廃水による汚染に耐えることができるが他の競争相手や捕食者となる種が生息できないためであると考えられる。今回の10月の調査の時にも同様の現象が認められており、コカゲロウ類・シマトビケラ類・双翅目の数種が汚染地区で高い密度で出現していた。ところが、春の調査時にはユスリカ類及びコカゲロウ類は最も汚染された2地点では極めて低い密度 ( $10 \text{ m}^{-2}$ 以下) であった。これらは汚染の激しい St. Z3の上流ないしはすぐ下流ではかなり出現しているので季節的なものと考ええることは困難であり、何か別の未知の要因を考えねばならない。

一方、フタマタマダラカゲロウが汚染地区及び非汚染地区で出現していた。マダラカゲロウ類が鉱山廃水の流入している河川で優占種として認められたことはこれまで報告がなく初めてである。他の種類では、コガタシマトビケラ・ヌカカ (*Bezzia* sp.)・ウスバヒメガガンボがやや高い密度で出現していた。

また、春には顕著でなかったが、秋の調査では重金属汚染の著しい St. B0で本来感受性が高いと考えられるカワゲラ類などがかなり見られた。しかしこれは上流部にも多数生息しており、流下して偶発的に採集されたものと考えられた。

#### 謝 辞

横浜市公害研究所の福嶋 悟氏には調査の際にご協力して頂いた。ICPによる重金属の測定は国立公害研究所計測技術部分析室の西川雅高氏によるものである。底生動物・付着藻類のサンプル処理には関真左美氏・齊藤洋子氏のアシストがあった。本研究に御協力いただいた各氏にここに深謝致します。

引用文献

- Armitage, P. D. (1980): The effects of mine drainage and organic enrichment in the River Nent System, Northern Pennies. *Hydrobiol.*, 74, 119-128.
- Brown, B. E. (1977): Effects of mine drainage on the River Hayle, Cornwall. A) Factors affecting concentrations of copper, zinc and iron in water, sediments and dominant invertebrate fauna. *Hydrobiol.*, 52, 221-233.
- 御勢久右衛門 (1960): 奈良県立里, 川股両鉱山及び和歌山県飯盛鉱山の廃水の河川生物に及ぼす影響. *日本生態学会誌*, 10, 38-45.
- 畠山成久・福嶋 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.
- 畠山成久・佐竹 潔・福島 悟 (1986): 重金属汚染河川の生物相 I. エルモンヒラタカゲロウの生息密度及びココゲロウ中の重金属濃度. 国立公害研究所研究報告, 第99号, 15-33.
- 川合禎次 編 (1985): 日本産水生昆虫検索図説, 東海大学出版会, 東京, 409p.
- 小林紀男 (1987): 環境汚染指標としてのココゲロウ. 水域における生物指標の問題点と将来, 「水界生態系における生物指標の問題点と将来」, 安野正之・岩熊敏夫 編, 41-60.
- Letterman, R. D. and W. J. Mitsch (1978): Impact of mine drainage on a mountain stream in Pennsylvania. *Environ. Pollut.*, 17, 53-73.
- Merritt, R. W. and K. W. Cummins (eds.) (1984): An Introduction to the Aquatic Insects of North America, 2nd ed., Kendall/Hunt Publ. Comp., Dubuque, Iowa, 722p.
- Moon, T. C. and C. M. Lucostic (1979): Effects of acid mine drainage on a southern Pennsylvania stream. *Water, Air and Soil Pollut.*, 11, 377-390.
- 菅谷芳雄・安野正之・畠山成久 (1986): 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. 国立公害研究所研究報告, 第99号, 49-58.
- Tanida, K. (1986): A revision of Japanese species of the genus *Hydropsyche* (Trichoptera, Hydropsychidae) II. *Koncyû*, Tokyo, 54, 624-633.
- Tanida, K. (1987): A revision of Japanese species of the genus *Hydropsyche* (Trichoptera, Hydropsychidae) III. *Koncyû*, Tokyo, 54, 624-633.
- UNESCO (1966): Determination of photosynthetic pigments in seawater. UNESCO, Paris.
- Wiederholm, T. (1984): Responses of aquatic insects to environmental pollution. In: The Ecology of Aquatic Insects., Resh, V. H. and D. M. Rosenberg (eds.), Praeger Publ., New York, 508-557.
- Winner, R. M., 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.
- 安野正之・畠山成久 (1984): 小坂川における重金属汚染を指標とする生物相. 国立公害研究所研究報告, 第62号, 7-17.
- 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.

## 四国の吉野川・仁淀川水系の重金属汚染河川 における付着藻類群集

福嶋 悟<sup>1</sup>・畠山成久<sup>2</sup>・宮下 衛<sup>2</sup>・  
佐竹 潔<sup>2</sup>・安野正之<sup>2</sup>

### Attached Algal Flora in the Heavy Metal Polluted Rivers Yoshino and Niyodo of the Shikoku District

Satoshi FUKUSHIMA<sup>1</sup>, Shigehisa HATAKEYAMA<sup>2</sup>, Mamoru MIYASHITA<sup>2</sup>,  
Kiyoshi, N. SATAKE<sup>2</sup> and Masayuki YASUNO<sup>2</sup>

#### Abstract

Effects of heavy metal pollution on attached algal flora were investigated in four regions of the Rivers Yoshino and Niyodo in the Shikoku district, which were receiving the effluents from the abandoned copper mines. The pH was 7.0~8.0 at almost all stations. The highest copper (Cu) and Zinc (Zn) concentrations were recorded at a sampling site of the Asatani River; 197 to 2460  $\mu\text{g l}^{-1}$  for Cu and 117 to 1170  $\mu\text{g l}^{-1}$  for Zn. A linear relationship was found between Cu and Zn concentrations in river water ( $\text{Zn} = 0.481 \times \text{Cu} + 35.86$ ,  $R = 0.893$ ,  $n = 63$ ).

A total of 63 algal samples was collected from the 34 sampling sites in March 1985, March and August 1986. The mean algal density was  $126 \pm 129 \times 10^3$  cells  $\text{mm}^{-2}$  ( $n = 60$ ) at the sites below 200  $\mu\text{g Cu l}^{-1}$ , while the density decreased to  $0.53 \pm 0.32 \times 10^3$  cells  $\text{mm}^{-2}$  at the sites beyond the concentration. The number of species and diversity of attached algal flora decreased with the increase of Cu concentrations.

Chamaesiphon minutus, Homoeothrix janthina, Achnanthes minutissima and Stigeoclonium tenue were observed at the sites of wide range Cu concentration beyond 100  $\mu\text{g l}^{-1}$ . The range of Cu concentrations at the sites where these species were found most frequently were as follows: A. minutissima and S. tenue; 10~50  $\mu\text{g l}^{-1}$ , C. minutus; below 50  $\mu\text{g l}^{-1}$ , and H. janthina; below 10  $\mu\text{g l}^{-1}$ , respectively.

1. 昭和56~62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丁目2番地15号)

Visiting fellow of the National Institute for Environmental Studies. Present Address: Yokohama City Institute for Environmental Research, 1-2-15 Takigashira, Isogo-ku, Yokohama 235, Japan.

2. 国立公害研究所 生物環境部 〒305 茨城県つくば市小野川16番2

Environmental Biology Division, the National Institute for Environmental Studies, 16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.



The *A. minutissima* rate in the total diatoms reached almost 100% at the Cu concentrations beyond  $20 \mu\text{g l}^{-1}$ . Only *A. minutissima* was found at the site where Cu and Zn concentrations were highest through the three times field investigations.

## 要 旨

四国地方の吉野川と仁淀川水系のそれぞれ2地域で、休廃止銅鉱山から流出する重金属が付着藻類群集に及ぼす影響を1985年3月に調査し、1986年3月と8月にはその内の2地域で再調査を行った。河川水のpHはほとんどの地点で7.0~8.8の値を示した。全調査地点(34地点)のうちで河川水中の銅及び亜鉛濃度の最高値は、それぞれ2460及び1170  $\mu\text{g l}^{-1}$ を示し河川水の流下に伴ってそれらの濃度は減少した。水中の銅と亜鉛濃度は正比例の関係を示した( $Zn = 0.481 \times Cu + 35.86$ ,  $R = 0.893$ ,  $n = 63$ )。藻類現存量は、銅濃度が200  $\mu\text{g l}^{-1}$ より高いところでは極めて少なく、それより低い濃度範囲では増加したが変動が大きかった。

付着藻類群集の種類数と多様性指数は、銅濃度の増加に伴って減少する傾向が認められた。銅濃度が低い地点から100  $\mu\text{g l}^{-1}$ 以上の広い範囲まで分布し重金属に高い耐性を示した種は *Chamaesiphon minutus*, *Homoeothrix janthina*, *Achnanthes minutissima*, *Stigeoclonium tenue* などである。これらのうちで、*Achnanthes minutissima* と *Stigeoclonium tenue* は銅濃度が10~50  $\mu\text{g l}^{-1}$ の地点に比較的多く分布したのに対して、*Homoeothrix janthina* と *Chamaesiphon minutus* は10  $\mu\text{g l}^{-1}$ 以下の低濃度と50  $\mu\text{g l}^{-1}$ 以下のより広い濃度範囲とに多く分布していた。*Achnanthes minutissima* が全ケイ藻類に占める割合は、銅濃度が10  $\mu\text{g l}^{-1}$ 以下では低かったが、20  $\mu\text{g l}^{-1}$ 以上ではほとんどの地点で100%となった。またこの種が代表種となった地点の銅濃度の平均値は115  $\mu\text{g l}^{-1}$ で、全藻類種の中で最も高い平均値を示した。

## 1 はじめに

重金属汚染が付着藻類群集へ及ぼす影響については、主として鉱山排水の流入する河川で調べられてきた。これらの河川の多くは銅、亜鉛、鉄、鉛等の重金属による複合的な汚染を受けている。このような河川に生育する付着藻類群集は単純な構造となり、ケイ藻類では *Achnanthes minutissima* が多く出現することが報告されている(井出ら, 1966; 福島, 1967; 墨田・渡辺, 1973; 渡辺・墨田, 1976; 渡辺ら, 1977; 安野・畠山, 1984)。また、重金属汚染河川における周年調査でも *Phormidium luridum*, *Chamaesiphon minutus* そして *Hydrurus foetidus* などの藻類種に比べて *Achnanthes minutissima* が群集を代表することが極めて多い傾向が認められている(福岡ら, 1986)。

諸外国の調査結果でも、銅若しくは銅と他の重金属に汚染された中性から弱アルカリ性水域では、国内の調査例と同様に *Achnanthes minutissima* が特徴種として出現している。それに対して亜鉛汚染の場合、同様のpH域では特徴種となるものではなく、群集を構成する種類は多い傾向が認められている(福岡, 1987)。また、培養藻類に対する毒性試験の結果でも銅は亜鉛よりも

藻類に対して毒性が高いとする報告が多い (Bartlettら, 1974; Hargreaves & Whitton, 1976; Fisher & Froud, 1980; Fisher, 1981; Starodubら, 1987)。今回調査した四国の重金属汚染河川でも、銅、亜鉛、鉄等の複合的な重金属汚染を受けていたため、野外調査の結果を単一の重金属に限ってその影響を評価することは本来難しい。例えば藻類に対する銅と亜鉛の毒性は相加的であるとする報告もある (Petersen, 1982)。

今回調査した重金属汚染河川では多くの地点で銅と亜鉛の濃度は同じレベルにあり、両者の藻類に対する毒性の差から藻類群集に対する影響は銅の方が亜鉛よりも高いものと考えられた。そのため今回の報告では、四国地区の重金属汚染河川における付着藻類群集の構造を明らかにするとともに、重金属汚染区の代表種の出現状況と河川水中の銅濃度の関係等について検討した。

## 2 調査地点

調査は吉野川水系の銅山川とその支流である上小川、馬立川 (愛媛県)、早朝浦ダムに流入する朝谷川、下川川 (高知県)、そして仁淀川水系の長者川と中津川 (高知県) の4地域で行った。各河川の調査地点はその上流域に休廃止銅鉱山 (表1) がある所を選び、その近辺の支流や鉱山の上流を対照河川とした。銅山川地域と中津川地域の調査は 1985年3月に、朝谷川地域と長者川地域では 1985年3月、1986年3月と8月に計3回調査を行った。各地域に設定した調査地点は、銅山川とその支流に銅山川 St. 0~10 の11地点、朝谷川と下川川に朝谷川 St. 1~10 の10地点、長者川に St. 1~7 の7地点、中津川に St. 1~5 の5地点で、合計33地点である (図1)。汚染域に設定した地点のなかで、鉱山に近接している地点は、銅山川 St. 2, St. 5, 朝谷川 St. 1, St. 2, St. 9, 長者川 St. 1, St. 2 などである。また中津川については調査結果に示すように、河川水中の重金属濃度や電気伝導度の地点間の差は少なく鉱山跡を特定できなかった。対照地点として銅山川 St. 1, St. 7, 朝谷川 St. 5, St. 7, 長者川 St. 4, 中津川 St. 2 を設定した。

表1 各河川の流域にあった鉱山の休廃止時期

地域	河川	鉱山の休廃止年月
銅山川	上小川	佐々連鉱山 1979年11月
	馬立川	新宮鉱山 1978年5月
朝谷川	朝谷川	白滝鉱山・白滝坑 1972年8月
	下川川	白滝鉱山・下川坑 1972年8月
長者川	長者川	長者鉱山 1963年5月
中津川	中津川	名野川鉱山 1958年10月

休止後に廃止された場合は休止年月を示した

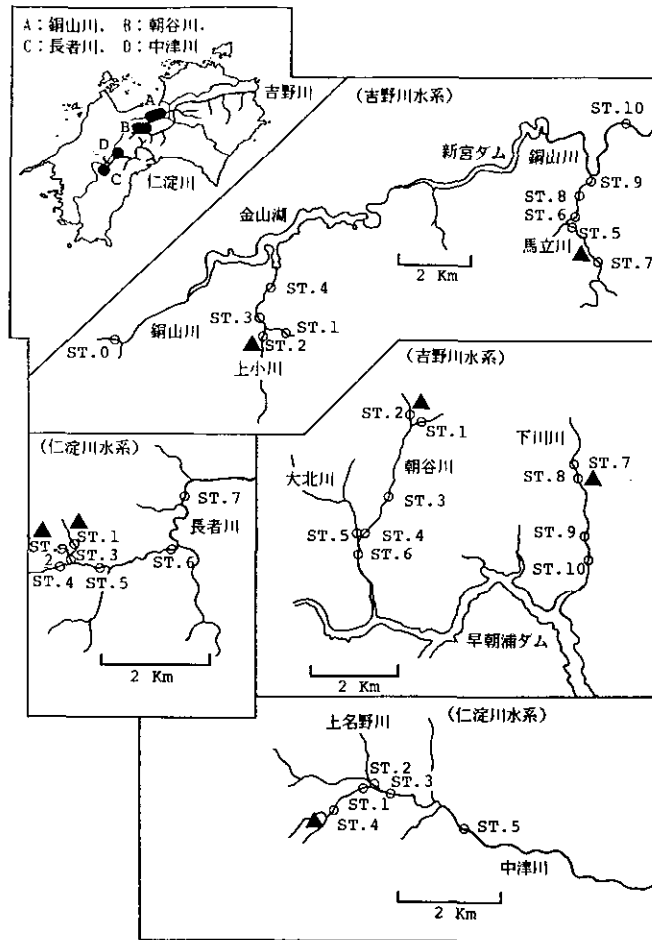


図1 銅山川(愛媛県), 朝谷川, 長者川, 中津川(ともに高知県)の各地域における調査地点

○は調査地点を, ▲は休廃止鉱山の位置を示す。

### 3 調査方法

瀬の部分の河床から礫を3~4個取り, それぞれ5×5 cm<sup>2</sup>の面積の附着物をナイロンブラシでこすり落とし, 藻類サンプルとして採取した。これらをまとめてホルマリン約5%容量を加えて保存した。藻類サンプルの沈殿物をその約20倍量に蒸留水で調整し検鏡サンプルとした。検鏡サンプルの0.05 mlを1mm網目界線入り大型スライドグラスに取り, 24×32 mm<sup>2</sup>カバーガラスを載せ, 総合倍率600倍で最大1000細胞まで同定計数した。計数は細胞内に原形質が充てんされているもののみを対象とし, 細胞区分の不明りょうな糸状体を形成するラン藻類は, 1糸状体を1細胞として行った。

藻類現存量は1mm<sup>2</sup>当たりの細胞数で表し, 1mm<sup>2</sup>に1000細胞以上出現した種を代表種とした。また多様性指数は  $- \sum ni \cdot N^{-1} \cdot \log_2(ni \cdot N^{-1})$  の式 (Shannon Index) で算出した。

環境要因のうち、pHは携帯用pH計（横川北辰電気 PH51型）で、電気伝導度は携帯用電導度計（東亜電波 CM-1K型）で測定した。重金属測定用の河川水は、あらかじめ硝酸で洗浄した 250 ml のポリエチレンビンに採取し、数%の重金属測定用硝酸を加えて保存した。重金属濃度の測定は原子吸光光度計（日立 180-80型、島津AA-640-12型）、又は発光分光光度計（Jarrel Ash 975型）を用いて行った。

4 結果

4.1 環境要因

各調査地点で測定されたpH、電気伝導度、銅、亜鉛濃度を表2に示した。ほとんどの地点でpHは7.0~8.8の範囲にあったが、朝谷川 St. 2と下川川 St. 7では例外的に6.7や6.1と

表2 銅山川(愛媛県)、朝谷川、長者川、中津川(ともに高知県)地域の各調査地点で測定された河川水のpH、電気伝導度、銅と亜鉛濃度(μg l<sup>-1</sup>)

地域	地点	時期	pH	EC	Cu	Zn	地域	地点	時期	pH	EC	Cu	Zn
銅山川	ST.0	1	7.5	38	2.2	3.3	長者川	ST.1	1	8.3	160	21.8	89.5
	ST.1	1	7.7	50	0.7	2.7		2	8.4	110	21.9	59.7	
	ST.2	1	7.5	95	89.4	72.1		3	8.4	190	13.4	18.2	
	ST.3	1	7.6	45	39.1	20.2		ST.2	1	7.8	140	94.9	338
	ST.4	1	7.6	51	21.2	18.8			2	8.1	120	38.6	133
	ST.5	1	7.7	57	18.4	19.4			3	7.8	180	182	589
	ST.6	1	7.6	69	3.3	2.0		ST.3	1	8.1	160	31.5	127
	ST.7	1	7.7	50	0.6	6.0			2	8.2	140	23.3	62.1
	ST.8	1	7.8	68	18.5	11.3		3	8.2	190	36.1	122	
	ST.9	1	7.8	70	15.6	10.7		ST.4	1	7.8	51	0.8	2.2
ST.10	1	8.1	83	10.1	5.4	2	8.1		49	3.6	ND		
						3	7.6		69	0.4	ND		
朝谷川	ST.1	1	7.8	38	63.7	52.8	ST.5	1	8.0	120	12.5	45.6	
		2	7.5	28	17.7	33.9		2	8.3	100	12.2	29.9	
		3	7.0	49	19.1	25.2		3	8.4	140	12.3	31.4	
	ST.2	1	6.7	240	703	346	ST.6	1	8.0	110	5.9	16.2	
		2	7.4	110	197	117		2	8.5	100	7.1	4.2	
		3	6.7	600	2460	1170		3	8.5	130	4.9	1.4	
	ST.3	1	7.3	130	181	166	ST.7	1	8.0	85	3.1	8.1	
		2	7.7	83	62.0	74.9		2	8.4	92	4.5	1.0	
		3	7.0	330	145	260		3	8.8	130	4.8	0.5	
	ST.4	1	7.5	94	98.9	125	中津川	ST.1	1	8.0	76	3.1	2.7
2		7.7	96	39.1	63.7	ST.2		1	7.8	53	3.4	2.1	
3		7.1	260	39.1	125	ST.3		1	7.7	56	3.3	4.7	
ST.5	1	7.7	37	3.4	7.3	ST.4	1	8.0	81	4.5	8.8		
	2	7.7	43	3.6	7.7	ST.5	1	7.9	62	3.2	3.3		
	3	7.3	70	5.1	5.6								
ST.6	1	7.8	48	21.2	26.1								
	2		57	13.7	22.9								
	3	7.4	120	13.2	28.3								
ST.7	1	6.1	27	ND	5.6								
	2		27	1.1	5.1								
	3	7.6	40	2.5	0.5								
ST.8	1	7.5	46	6.3	23.8								
ST.9	1	7.4	53	59.6	34.9								
	2		44	8.8	12.3								
	3	7.4	94	31.2	25.9								
ST.10	1	7.4	50	37.8	28.4								

時期 1:1985年3月

2:1986年3月

3:1986年8月

EC: μS · cm<sup>-1</sup>

Cu · Zn: μg · l<sup>-1</sup>

7以下の値を示す場合があった。電気伝導度は対照河川の調査地点では  $40 \sim 70 \mu S cm^{-1}$  の値を示したが、休廃止鉱山に近接した地点やその下流では大部分の地点で 100 前後から最高値の  $600 \mu S cm^{-1}$  までの高い値を示し、河川水中の重金属汚染を反映していた。

河川水中の銅濃度は対照地点では  $5 \mu g l^{-1}$  以下なのに対し、休廃止鉱山下流域の河川では例外的に高かった朝谷川 St. 2 の  $200 \sim 2460 \mu g l^{-1}$  を除いても、ほとんどの地点で  $10 \sim 180 \mu g l^{-1}$  の高い値を示した。各河川の休廃止鉱山下流における銅濃度は上小川、馬立川、朝谷川、下川川、長者川で上流から下流にかけそれぞれ  $89 \sim 21$ 、 $18 \sim 10$ 、 $1120 \sim 59$  (3回調査の平均)、 $33$  (3回の平均)  $\sim 38 \mu g l^{-1}$  を示し、河川間では朝谷川の銅濃度が高めであった。中津川では調査時に鉱山跡を特定できなかったが、河川水中の銅濃度も  $3.1 \sim 4.5 \mu g l^{-1}$  と全調査地点で低かった。亜鉛も銅と同様に休廃止鉱山に近接した地点で最も高い濃度を示し、河川水の流下に伴ってその濃度は減少の傾向を示した。河川水的全調査サンプルにおける銅と亜鉛の濃度の関係を図2に示したが、両者間には正比例の関係が認められた ( $Zn = Cu \times 0.481 + 35.87$ ,  $R = 0.892$ ,  $n = 63$ )。この関係式によると銅濃度が  $70 \mu g l^{-1}$  以下では亜鉛の濃度の方が高いが、それ以上の濃度では銅の濃度が亜鉛よりも高くなる傾向を示していた。

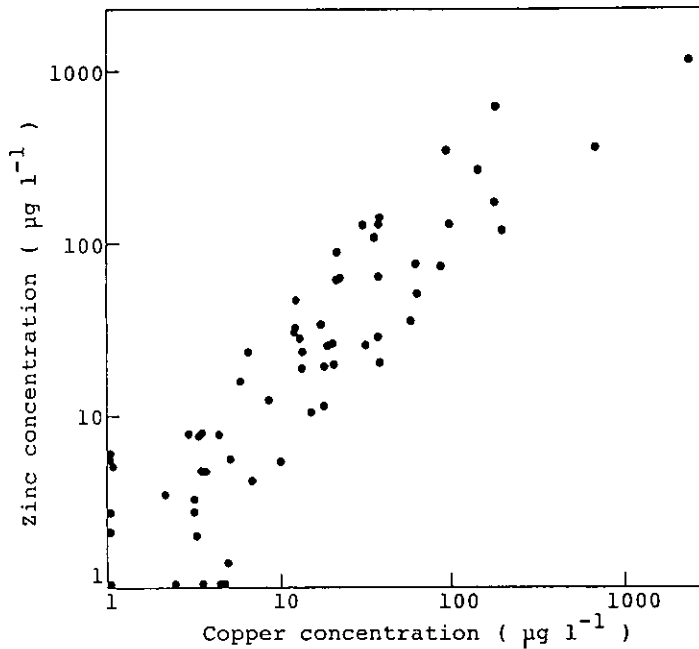


図2 河川水の銅と亜鉛濃度の関係

4.2 河川水中の銅濃度と藻類群集構造との関係

銅山川、朝谷川、長者川、中津川の各調査地域から採取された付着藻類はそれぞれ延べ 42, 34, 63, 43 種類となり、その内ケイ藻類の種類がそれぞれ 26, 18, 46, 37種類と過半数を占めた。全調査地点から採取された全サンプルを用い、藻類群集の種類数と銅濃度の関係を見ると付着藻類の種類数は銅濃度の増加に伴い指数関数的に減少した(図3)。銅濃度が  $200 \mu\text{g l}^{-1}$  付近のところまでは4種以上が検出されているが、それ以上の濃度で検出された種は *Achnanthes minutissima* 若しくはそれと *Phormidium* sp. 1 のみである。多様性指数も銅濃度の増加に伴って減少した(図4)。銅濃度が  $10 \mu\text{g l}^{-1}$  以下ではほとんどの地点で多様性指数は2~4の間であったが、 $10 \mu\text{g l}^{-1}$  以上ではほとんどの地点で2以下を示した。しかし、銅濃度が  $100 \sim 200 \mu\text{g l}^{-1}$  などでは種類数の減少傾向とは一致しないところもある。これは、特定の重金属耐性種が藻類群集に占める割合が極端に大きくはなっていないことによる。藻類群集を構成する種類数、多様性指数を地域別にみると、銅、亜鉛濃度の高い地点がなかった中津川で高い傾向が認められた。また同様な傾向が他の地域の対照地点及び重金属濃度が低い汚染域でも認められた。

現存量が  $1000 \text{ cells mm}^{-2}$  以上を示した藻類(以下、代表種)は全調査地点の延べ 63サンプルの中で 49種類あった。これらのうち最も頻繁に出現したのは *Chamaesiphon minutus* で、63サンプルのうち 55 サンプルで代表種として検出された。これに次いで *Achnanthes minutissima*, *Homoeothrix janthina*, *Chamaesiphon polymorphus*, *Diatoma hiemale* v. *mesodon*, *Achnanthes japonica*, *Cymbella ventricosa* などがそれぞれ 42, 33, 23, 23, 21, 20 サンプルでそれぞれ代表種として検出された。

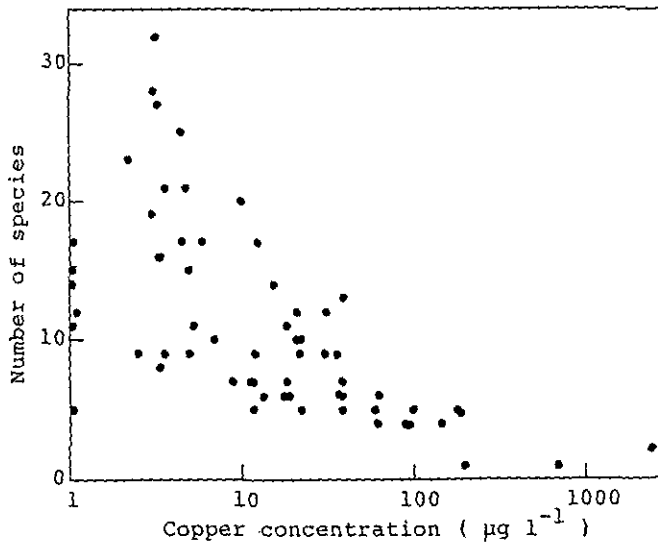


図3 河川水の銅濃度と付着藻類の種類数との関係

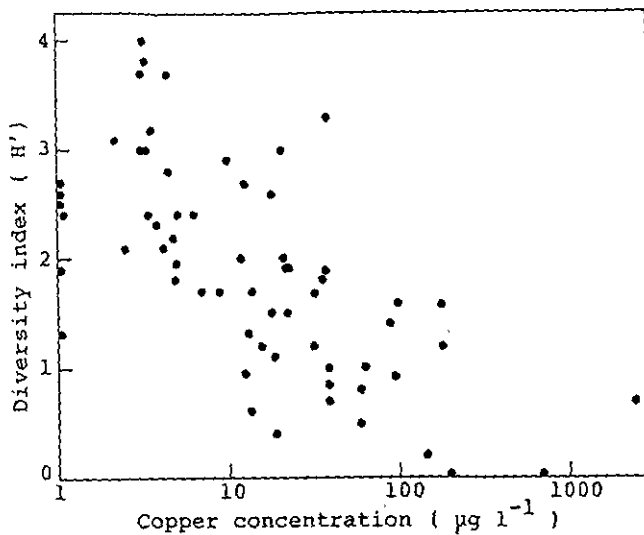


図4 河川水の銅濃度と付着藻類の多様性指数との関係

各地点の各サンプルで上位3位以内の出現頻度を示した種と、各調査地域から得られた半数以上のサンプルで代表種になった種のうち、1サンプルのみで上位3位以内となった種を除いた各種の現存量とともに全藻類現存量、全出現種類数、多様性指数を、地域別に表3から表6に示した。それらの藻類種は各調査地域で10~14種で、そのうち *Chamaesiphon minutus*, *Homoeothrix janthina*, *Achnanthes japonica*, *Achnanthes minutissima*, *Cymbella ventricosa*, *Diatoma hiemale* v. *mesodon* の6種は全調査地域に共通していた。これらのうち *Diatoma hiemale* v. *mesodon* は水温が低いときに多く出現する冷水性種で(小林, 1964), 本調査でも3月の2回の調査時にのみ検出された。また, *Ceratoneis arcus* v. *hattoriana* も表5に示されるように3月にのみ検出されたが、この種も他の調査例(小林, 1964)で春期に多く見られていると同様な出現傾向を示した。各地域とも汚染区では表に示された種類数は全出現種類数に比べてかなり少ない。しかし、これらの種の現存量の合計は、多くの地点で全藻類現存量の80%以上を占め、ほぼ100%近くを占める地点もかなり認められた。これは、表に記したような特定種が藻類群集を構成する割合が極めて大きいことを示している。一方、対照河川や最下流地点の重金属濃度が減少した地点の一部(長者川 St. 4, St. 7, 中津川 St. 5)では表にあげていない種の現存量が比較的多く、特定種が全藻類に占める割合が80%以下となっていた。

全調査地点の全サンプルの藻類現存量 ( $\text{cells mm}^{-2}$ )と銅濃度の関係を図5に示した。銅濃度が約  $200 \mu\text{g l}^{-1}$  までは藻類現存量と銅濃度に明らかな関係は認められず現存量のばらつきが大きく、藻類現存量は銅濃度が  $10 \mu\text{g l}^{-1}$  以下のところと比べるとむしろ  $10\sim 40 \mu\text{g l}^{-1}$  のところで  $4 \times 10^5 \text{ cells mm}^{-2}$  以上と極端に多くなっている地点があった。しかし、銅濃度が  $200 \mu\text{g l}^{-1}$  より高い地点では藻類現存量は極端に減少し、 $1000 \text{ cells mm}^{-2}$  以下となっていた。

表3 銅山川地域の付着藻類群集構造(1985年3月)

種 類	ST.0	ST.1	ST.2	ST.3	ST.4	ST.5	ST.6	ST.7	ST.8	ST.9	ST.10
Cyanophyta											
<i>Chamaesiphon minutus</i>	23	38	35	7	68	3	21	32	100	323	47
<i>Chamaesiphon polymorphus</i>	5	5		5	37			48	67	30	9
<i>Homoeothrix janthina</i>	+	16			11	6	1	49	1	23	9
<i>Phormidium</i> sp.1				6	8						
Bacillariophyta											
<i>Achnanthes japonica</i>	38	+		1	30	42	+	+			11
<i>Achnanthes minutissima</i>	2	4	12	5	24	8			+	2	
<i>Ceratoneis arcus</i> v. <i>vaucheriae</i>		3		6	16	7	2	9		+	22
<i>Cymbella ventricosa</i>	3			5	2	10	8	4		+	4
<i>Diatoma hiemale</i> v. <i>mesodon</i>	9	4		4	3	+			+	+	
<i>Gomphonema tetrastigmatum</i>	1	18					2	50	+	4	24
<i>Nitzschia dissipata</i>	+						1				86
<i>Nitzschia fonticola</i>	+						2	5		2	62
<i>Nitzschia frustulum</i> v. <i>perpusilla</i>							+	6	+	+	178
<i>Nitzschia romana</i>		+					12	3		+	2
全藻類現存量	110	92	55	49	224	88	61	210	169	399	497
表に示した種の現存量*	80	97	85	80	89	87	83	98	100	97	91
全出現種類数	23	17	4	13	12	11	16	15	7	14	20
多様性指数	3.1	2.5	1.4	3.3	3.0	2.6	3.0	2.7	1.1	1.2	2.9

藻類現存量:  $\times 1000 \cdot \text{mm}^{-2}$ , +:  $1000 \cdot \text{mm}^{-2}$ 以下,

\*: 表に示した種の現存量は全現存量の百分率で示した



表4 中津川地域の付着藻類群集構造(1985年3月)

種 類	ST.1	ST.2	ST.3	ST.4	ST.5
Cyanophyta					
<i>Chamaesiphon minutus</i>	5	+	2	2	5
<i>Homoeothrix janthina</i>	+		2	7	3
<i>Phormidium</i> sp.3	11		7	22	3
Bacillariophyta					
<i>Achnanthes japonica</i>	8		4	6	1
<i>Achnanthes minutissima</i>	18	17	20	2	2
<i>Ceratoneis arcus</i> v. <i>vaucheriae</i>	13	5	5	1	4
<i>Cymbella ventricosa</i>	1	4	11	+	6
<i>Diatoma hiemale</i> v. <i>mesodon</i>	24	+	3	4	5
<i>Gomphonema clevei</i>	1	4	1	4	+
<i>Nitzschia dissipata</i>			2	+	6
<i>Nitzschia fonticola</i>	1	8	16		2
<i>Nitzschia romana</i>	1	1	18		6
全藻類現存量	89	50	109	52	72
表に示した種の現存量*	93	80	83	94	60
全出現種類数	19	16	27	17	32
多様性指数	3.0	3.0	3.8	2.8	4.0

藻類現存量:  $\times 1000 \cdot \text{mm}^{-2}$ , +:  $1000 \cdot \text{mm}^{-2}$ 以下、

\*: 表に示した種の現存量は全現存量の百分率で示した

#### 4.3 河川水中の銅濃度と代表的藻類種分布との関係

河川水中の銅濃度を  $10 \mu\text{g l}^{-1}$ 以下,  $10 \sim 50 \mu\text{g l}^{-1}$ ,  $50 \sim 100 \mu\text{g l}^{-1}$ そして  $100 \mu\text{g l}^{-1}$ 以上の4段階に分け, 各濃度段階における代表種の全サンプルにおける出現回数を図6に示した。全濃度段階に分布し, そのうち  $10 \sim 50 \mu\text{g l}^{-1}$ の銅濃度の地点で多く検出されたのは *Achnanthes minutissima* と *Stigeoclonium tenue* である。これら2種と分布範囲が重なる *Homoeothrix janthina* は  $10 \mu\text{g l}^{-1}$ 以下のところで, *Chamaesiphon minutus* は  $10 \mu\text{g l}^{-1}$ 以下と  $10 \sim 50 \mu\text{g l}^{-1}$ のところで同程度に多く検出された。ここにあげたの4種はいずれも広い濃度範囲に分布していた。また, それらに次いで銅の広い濃度範囲に分布するのは *Chamaesiphon polymorphus*, *Phormidium* sp.1, *Ceratoneis arcus* v. *hattoriana*, *Diatoma hiemale* v. *mesodon* の4種である。*Phormidium* sp.1は他の3種とは異なり,  $10 \mu\text{g l}^{-1}$ 以上の濃度段階から検出され,  $10 \sim 50 \mu\text{g l}^{-1}$ のところで多く検出された。他の3種はともに  $10 \mu\text{g l}^{-1}$ 以下のところで最も多く検出される傾向があった。

$10 \mu\text{g l}^{-1}$ 以下と  $10 \sim 50 \mu\text{g l}^{-1}$ の2濃度段階のみに分布する種は図に示した13種である。そのうち *Phormidium luridum* と *Synedra rumpens* は  $10 \sim 50 \mu\text{g l}^{-1}$ のところで, 他の11種は  $10 \mu\text{g l}^{-1}$ 以下のところで多く検出された。このような比較的低い銅の濃度範囲に分布する種の多くはケイ藻類であった。

代表種が検出された地点の平均銅濃度と標準偏差を図7に示した。*Achnanthes minutissima* が代表種となった地点の銅濃度の平均値は最も高く  $115 \mu\text{g l}^{-1}$ であった。本種と同様に高い銅濃度範囲まで広く分布している種, そして *Phormidium* sp.1のように低い濃度には分布しない

表5 朝谷川地域の付着藻類群集構造

種 類	ST.1			ST.2			ST.3			ST.4			ST.5			ST.6			ST.7			ST.8	ST.9			ST.10			
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	1	2	3	1			
Cyanophyta																													
<i>Chamaesiphon nimetus</i>	2	46	20				2	2	5	19	2	21	28	55	4	25	13	60	2	3	4	4				7	13	21	11
<i>Chamaesiphon polymorphus</i>										9				13	+	5	11		3	11						84	123	9	34
<i>Homoeothrix janthina</i>							1			3			62	23	13			8	2	2	9	3	7						11
<i>Oscillatoria</i> sp.2		+											43		+					13	+								
<i>Phormidium luridum</i>								+			2	+														13		+	
<i>Phormidium</i> sp.1	4	+	2						2	12	165																		+
Bacillariophyta																													
<i>Achnanthes japonica</i>													11	78	1					2	21	7	5						
<i>Achnanthes minutissima</i>	148	39	459	+	+	+	91	70	232	56	243	535				46	63	34								61	10	18	
<i>Ceratoneis arcus</i> v. <i>hattoriana</i>													44	1		5				2	+		1			+			
<i>Cymbella ventricosa</i>													+	+	+					5	+		2				+		
<i>Diatoma hiemale</i> v. <i>mesodon</i>													3	1		6	4			+	+		+			1	3		+
<i>Synedra rumpens</i>															9	4	+	+					+				5		+
Chlorophyta																													
<i>Stigeoclonium tenue</i>	31	10	2				64	11	+	102	24	5						+											
全藻類現存量	187	97	485	0.1	0.6	0.9	158	83	239	189	284	727	193	181	30	92	100	101	30	51	15	20				92	218	41	75
表に示した種の現存量*	99	99	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	99	95	95	100	99	95	97	90	93	98	100	100	99	100	100	99	100
全出現種類数	6	6	6	1	1	2	5	4	4	5	6	5	8	9	15	10	7	7	11	12	9	11	5	7	9	6	6	6	6
多様性指数	1.0	1.5	0.4	0	0	0.7	1.2	0.8	0.2	1.6	0.8	1.0	2.3	2.1	2.4	2.0	1.7	1.3	2.6	2.4	2.1	2.4	0.5	1.7	1.7	1.9	1.9	1.9	1.9

1:1985年3月、2:1986年3月、3:1986年8月、藻類現存量:×1000・mm<sup>-2</sup>、+:1000・mm<sup>-2</sup>以下、  
\*:表に示した種の現存量は全現存量の百分率で示した

表6 長者川地域の付着藻類群集構造

種 類	ST.1			ST.2			ST.3			ST.4			ST.5			ST.6			ST.7			
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	
Cyanophyta																						
<i>Chamaesiphon minutus</i>	54	9	+	10	5	6	3	13	38	10	46	2	10	60	8		40	32		5	12	
<i>Chamaesiphon polymorphus</i>										3	2	+	2					43		3		
<i>Homoeothrix janthina</i>	12	2						4		+	25	+	+	3	+		2	4	6	4	4	
<i>Oscillatoria</i> sp.1	1								2		30		+		+		+	1	6			
<i>Phormidium</i> sp.1			+	1	+	13									+						+	
<i>Rivularia</i> sp.									32							30						
Bacillariophyta																						
<i>Achnanthes japonica</i>											7		+				112	42		11	8	+
<i>Achnanthes minutissima</i>	61	37	18	48	45	20	44	30	134				4	15	+	4	+	+	+			
<i>Cymbella ventricosa</i>	4	1					+	+		+	3		1			20			4	6	+	
<i>Diatoma hiemale</i> v. <i>mesodon</i>	11	14			+		3	1		+	36		6	35		24	7		+	+		
全藻類現存量	146	68	20	60	51	40	53	48	222	16	189	3	26	122	39	174	95	90	43	39	21	
表に示した種の現存量*	98	93	96	98	99	98	95	100	93	88	78	93	91	93	100	92	97	89	65	68	78	
全出現種類数	10	9	6	4	7	5	12	5	9	14	21	5	17	9	5	17	10	9	28	25	21	
多様性指数	1.9	1.9	0.6	0.9	0.7	1.6	1.2	1.5	1.8	1.9	3.2	1.3	2.7	2.0	0.9	1.9	1.7	1.8	3.7	3.7	2.2	

1:1985年3月, 2:1986年3月, 3:1986年8月, 藻類現存量:  $\times 1000 \cdot \text{mm}^{-2}$ , +:  $1000 \cdot \text{mm}^{-2}$  以下,

\*:表に示した種の現存量は全現存量の百分率で示した

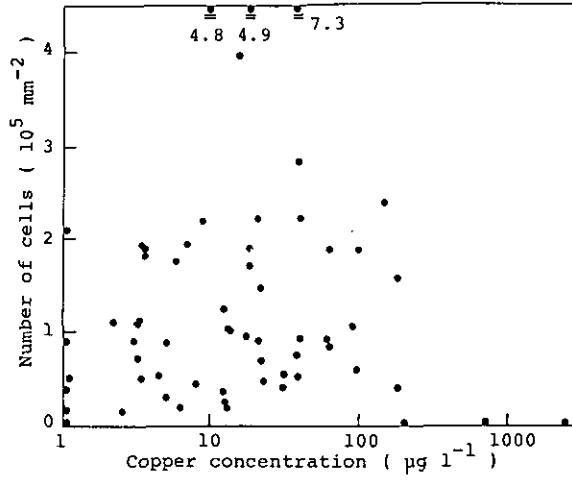


図5 河流水の銅濃度と付着藻類の現存量との関係

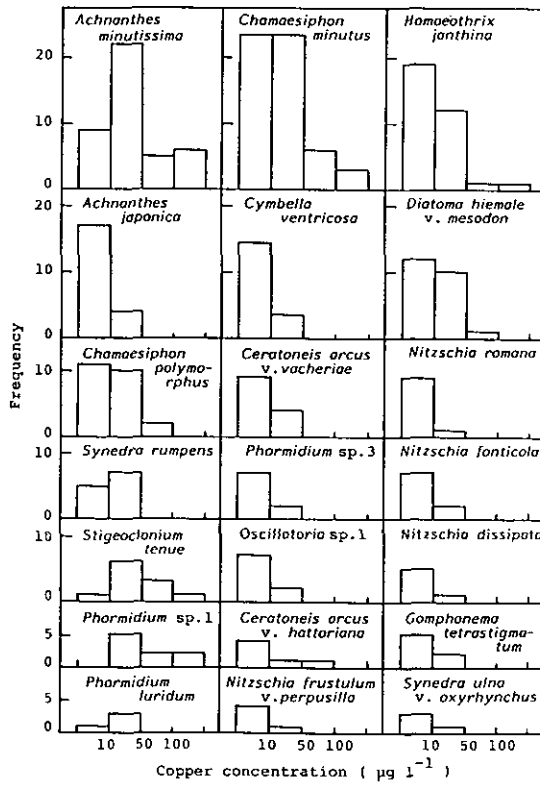


図6 銅の各濃度段階(10以下, 10~50, 50~100, 100  $\mu\text{g l}^{-1}$  以上)における代表種の検出地点数

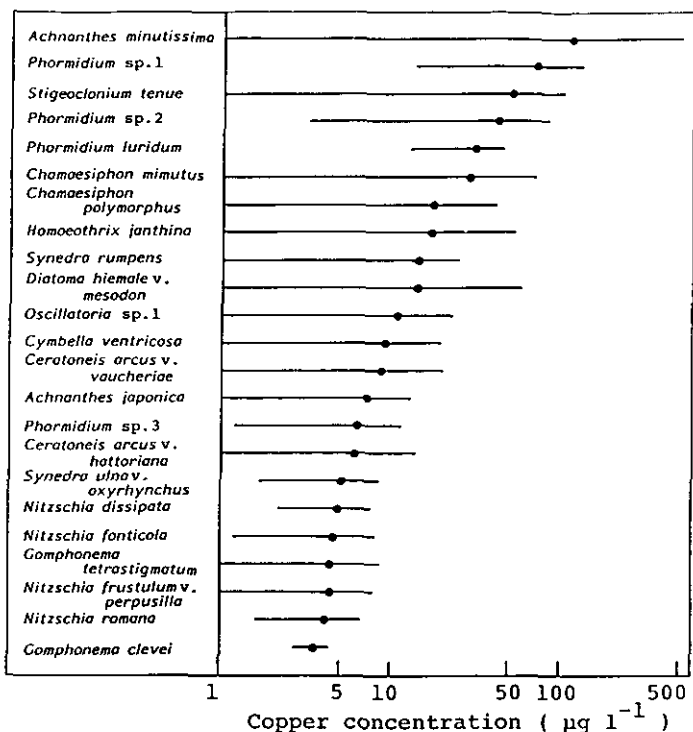


図7 付着藻類の代表種が検出された地点における河川水の銅濃度の平均値と標準偏差

種が検出された地点の銅濃度の平均値も高かった。また、*Achnanthes minutissima* 以外では *Phormidium luridum*, *Chamaesiphon minutus*, *Chamaesiphon polymorphus*, *Homoeothrix janthina* などは本調査のみならず従来の重金属汚染河川調査でもしばしば代表種と認められたが(福嶋, 1987), これらの種が代表種として検出された地点の銅濃度の平均値はそれぞれ 30.8, 28.7, 17.6, 17.2  $\mu\text{g l}^{-1}$  と他の多くの種の場合よりも比較的高い値を示した。

重金属耐性種である *Achnanthes minutissima* が全ケイ藻類に占める割合と河川水中の銅濃度の関係を図8に示した。その割合は水中の銅濃度が  $10 \mu\text{g l}^{-1}$  以下の地点では極めて低くかったが、 $10 \sim 20 \mu\text{g l}^{-1}$  の間で急激に高くなり、 $20 \mu\text{g l}^{-1}$  以上ではほとんどのところで 100% を示した。一方、銅濃度がおよそ  $10 \sim 20 \mu\text{g l}^{-1}$  の間では *Achnanthes minutissima* の割合が多く地点で 10~80% 前後と上記の中間的な割合を示した。本種が全ケイ藻に占める割合 (Y, %) と水中の銅濃度 (X,  $\mu\text{g l}^{-1}$ ) の回帰式 ( $Y = 0.00998 + 0.697 \times 1.344^{-X}$ ,  $X < 70$ ,  $n = 49$ ) によると銅濃度が  $14.38 \mu\text{g l}^{-1}$  でその割合は 50% となった。銅濃度が  $10 \sim 20 \mu\text{g l}^{-1}$  付近では *Achnanthes minutissima* の外に、*Cymbella ventricosa*, *Diatoma hiemale* v. *mesodon* そして *Synedra rumpens* などの出現率も高い傾向がみられた。

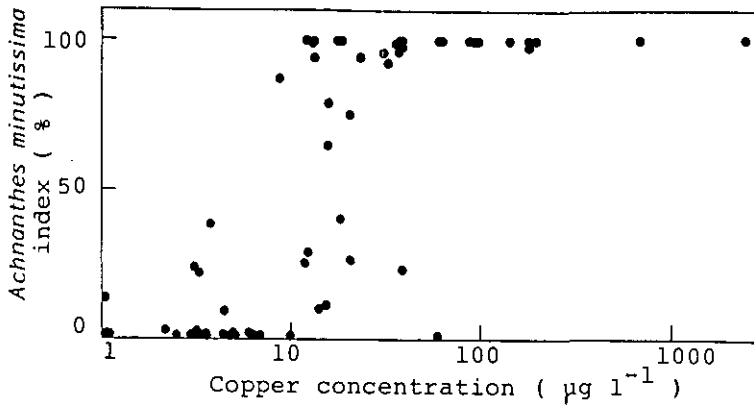


図8 河川水の銅濃度と *Achnanthes minutissima* がケイ藻類に占める割合との関係

## 5 考察

特定の重金属が河川の生物相及ぼす影響については、休廃止鉱山の下流の河川のように複合的に汚染された環境ではそれを評価することは困難な場合が多い。しかし、今回の調査では河川水中の銅と亜鉛濃度は、汚染地点では共に高い濃度を示したがほとんどの地点で同じレベルにあった。また、銅濃度が高い地点では銅濃度の方が亜鉛よりもむしろ高い傾向を示した。一方、藻類に及ぼす銅の影響は前述したように亜鉛に比べて大きいことがいくつかの調査や室内実験、屋外のモデル実験により明らかにされている。そのため、この報告では藻類群集の変化や重金属耐性種の出現に関して、調査結果を水中の銅濃度との関連から検討してみた。

藻類現存量はそれを摂食する底生動物の影響を強く受ける (Mason & Bryant, 1975; Hunter, 1980; 川原ら, 印刷中)。そのため、河川や水路の底生動物群集の現存量が殺虫剤の影響によって減少することにより、付着藻類群集の現存量は急激に増加する (Yasunoら, 1982; 安野ら, 1984; 佐竹・安野, 1986; 安野・佐竹, 1986)。このような変化は被食圧の影響の大きさを示している。しかし、藻類現存量は他の環境要因の変化によっても影響も受ける。本調査では、銅濃度が低いところの藻類現存量はむしろ比較的低いレベルに抑えられていた。それに対して銅濃度が10~40  $\mu\text{g l}^{-1}$ の地点のいくつかでは、藻類現存量がむしろ極めて高くなっていた。これは水生昆虫にかかわる被食圧の低下もその原因の一つとして考えられる。この被食圧の低下の原因としては重金属汚染による底生動物現存量の減少及びユスリカやコカゲロウの一種 *Baetis thermicus* などの特定の重金属耐性種の同調的な羽化などが考えられる。本調査では同時に底生動物相の調査を行っているのでその調査結果などにより上記の原因を更に検討する必要がある。

銅イオン濃度が5  $\mu\text{M}$  (約 318  $\mu\text{g l}^{-1}$ ) 以上になると、*Achnanthes minutissima* の最大増殖量は著しく減退することが培養試験により明らかにされている (渡辺ら, 1987)。この結果は、本調査の朝谷川 St. 2 におけるように平均銅濃度が 1120  $\mu\text{g l}^{-1}$  と極めて高く、*Achnanthes*

*minutissima* が代表種となるところでの藻類現存量の減少は、銅の直接的影響により藻類が増殖阻害を受けていることを示唆している。山形県・満沢川でも *Achnanthes minutissima* が代表種の一つとなっているが、pH6.0、銅、亜鉛濃度がそれぞれ  $1070 \mu\text{g l}^{-1}$  と  $2300 \mu\text{g l}^{-1}$  のところでは藻類は検出されなかった（福嶋，1987）。また、そこで採集されたユスリカの生息密度はたいへん低く、それらは種組成から対照地区から流下したものと推測されている（菅谷ら，1986）。そこで藻類が検出されなかったのも被食圧によるものではなく、本調査の強汚染区で考察されたように重金属の増殖阻害に起因すると考えられる。

銅、亜鉛等の濃度が高い複合的な汚染を受ける pH6 以上のところでは、*Achnanthes minutissima* の重金属耐性が最も大きく、*Phormidium luridum*、*Chamaesiphon minutus*、*Chamaesiphon polymorphus*、*Homoeothrix janthina* の順に小さくなるのが推定されている（福嶋，1987）。これと同様な傾向が梯川でもみられている（畠山ら，1988）。本調査でも、これらの種が代表種となる地点の銅濃度の平均値を大きい順に並べると、上記の順位と一致し、推定されたこれらの種の重金属耐性の大きさとそれらの順位を裏付ける結果となっている。

*Phormidium* spp. と *Stigeoclonium tenue* が代表種となった地点の銅濃度の平均値も大きい。*Stigeoclonium tenue* は亜鉛に対する耐性があり（Harding & Whitton, 1976）、亜鉛若しくは亜鉛と銅等で汚染された河川における生育が認められている（Say, 1978; Foster, 1982; 福嶋, 1987）。本調査では本種が亜鉛より銅濃度が高いところでも代表種になることが認められている。このような結果は *Stigeoclonium tenue* の銅に対する耐性も大きいことを示している。

重金属汚染域における *Achnanthes minutissima* の全ケイ藻類に占める割合について検討された例はいくつかある。小坂川では、高い重金属濃度を反映した電気伝導度が  $150 \mu\text{S cm}^{-1}$  付近の地点で本種の優占が始まっている（安野・畠山，1984）。梯川でも銅濃度が  $20 \mu\text{g l}^{-1}$  以上で全ケイ藻に占める本種の割合が高いことが認められている（畠山ら，1988）。一方、間沢川では銅、亜鉛、カドミウムの年間平均濃度はそれぞれ  $67.4 \pm 32.4$ 、 $1140 \pm 500$ 、 $7.63 \pm 3.10 \mu\text{g l}^{-1}$  と極めて高いが本種の全ケイ藻類に占める割合は、年間を通してほぼ 100% 若しくはそれに近い割合を示した。（福嶋ら，1986）。更に、小坂川と梯川の例では *Achnanthes minutissima* がケイ藻類に占める割合が低いところと、高いところの両極端の場合が多かった。

*Achnanthes minutissima* 以外のケイ藻類の重金属耐性が小さいことは、汚染域におけるケイ藻類に本種が占める割合が極めて大きいことに示されている。また、銅濃度の増加に伴う藻類群集全体の多様性指数の減少に比べて、小坂川で見られたようにケイ藻群集の多様性の低下が著しいことも *Achnanthes minutissima* 以外のケイ藻類の耐性の低さを示唆するものである。

本調査では代表種として多くのケイ藻類が検出されている。しかし、それらが代表種となった地点の銅濃度の平均値はいずれも比較的低かった。しかしこれらのうち *Cymbella ventricosa*、*Diatoma hiemale* v. *mesodon*、*Synedra rumpens* の全ケイ藻類に占める割合が *Achnanthes minutissima* と同程度若しくは大きくなるのが汚染域でしばしば認められている。特に

*Synedra rumpens* と *Diatoma hiemale* v. *mesodon* が代表種となった地点の銅濃度の平均値は *Homoeothrix janthina* のそれに次ぐものであった。このような結果は、*Achnanthes minutissima* ケイ藻類の重金属耐性の検討が、低濃度汚染の影響を評価する上で必要なことを示している。

藻類群集の季節的变化は、冷水性種が多くなる冬季に顕著に認められる。重金属汚染を受けている間沢川でも、水温が 0.5~2.0°C の冬季に冷水性種の *Hydrurus foetidus* が多く出現していた (福島ら, 1986)。本調査が実施されたのは 3 月と 8 月だけであるが、3 月にのみ *Ceratoneis arcus* v. *Rattoriana* と冷水性種の *Diatoma hiemale* v. *mesodon* が多くの地点で出現し、代表種となった。これらのことは、重金属汚染河川においても出現する種に季節的な変化があるため、藻類を重金属汚染の指標生物として適用する場合それらの出現の周年変化を十分把握しておく必要があることを示している。

#### 謝 辞

高知県公害センターの堀内泰男主任研究員には現地調査の一部に御同行いただいた。また高知県立盲学校の前校長、平野武男氏には現地調査等に当たり多大な御協力をいただいた。発光分光法による重金属の測定は国立公害研究所計測技術部分析室の西川雅高氏によるものである。本研究に御協力いただいた各氏に改めてここに深謝致します。

#### 引 用 文 献

- Bartlett, L., W. Rabe and W. H. Funk (1974): Effects of copper, zinc and cadmium on *Selenastrum capricornatum*. *Water Res.*, 8, 179-185.
- Fisher, N. S. (1981): On the selection for heavy metal tolerance in diatoms from the Derwent Estuary, Tasmania. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.*, 32, 555-561.
- Fisher, N. S. and D. Frood (1980): Heavy metals and marine diatoms: Influence of dissolved organic compound of toxicity and selection for metal tolerance among four species. *Mar. Biol.*, 59, 85-93.
- Foster, P. L. (1982): Metal resistances of Chlorophyta from rivers polluted by heavy metals. *Freshwater Biol.*, 12, 41-61.
- 福嶋 博 (1967): 鉍山廃水および有機性廃水が河川の底生藻類におよぼす影響。特定研究、鉍工業廃水の河川生物に及ぼす影響ならびに鉍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.
- 福嶋 悟 (1987): 重金属汚染河川に形成される付着藻類群集。「水域における生物指標の問題点と将来」シンポジウム報告, 安野正之・岩熊敏夫編, 国立公害研究所, 茨城, 1-15.
- 福嶋 悟・畠山成久・安野正之・横山宣雄 (1986): 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。国立公害研究所研究報告, 第99号, 35-47.
- Hargreaves, J. W. and B. A. Whitton (1976): Effect on tolerance of *Horimidium rivulare* to zinc and copper. *Oecologia (Berl.)*, 26, 235-243.
- Harding, J. P. C. and B. A. Whitton (1976): Resistance to zinc of *Stigeoclonium tenue* in the field and laboratory. *Br. Phycol. J.*, 11, 417-426.



- 畠山成久・福嶋 悟・佐竹 潔 (1988) : 重金属汚染河川 (梯川水系) における底生生物相の回復過程に関して. 国立公害研究所研究報告, 第114号, 193-206.
- Hunter, R. D. (1980) : Effects of grazing on the quantity and quality of freshwater Aufwuchs. *Hydrobiologia*, 69, 251-259.
- 井出喜雄・福島 博・森田良美 (1966) : 渡良瀬川の陸水学的研究, とくに鉍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.
- 川原 浩・福嶋 悟・武藤敦彦・岡田光正 (1988) : 小水路維持用水としての下水処理水の評価 (2) 野火止用水の付着藻類と底生動物. 水質汚濁研究, (印刷中).
- 小林 弘 (1964) : 荒川産ケイ藻類 (2). 秩父自然科学博物館研究報告, 12, 65-77, 図版7-17.
- Mason, C. F. and R. J. Bryant (1975) : Periphyton production and grazing by chironomids in Alderfen Broad, Norfolk. *Freshwater Biol.*, 5, 271-277.
- Petersen, P. (1982) : Influence of copper and zinc on the growth of a freshwater alga, *Scenedesmus quadricauda* : The significance of chemical speciation. *Environ. Sci. Technol.*, 16, 443-447.
- 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, 61-69.
- Say, P. J. (1978) : The Riou-mort a tributary to the River Lot polluted by heavy metals part 1, Preliminary observation on the chemistry and benthic algae. *Ann. Limnol.*, 14, 113-132.
- Starodub, M. E., P. T. S. Wong, C. L. Mayfield and Y. K. Chau (1987) : Influence of complexation and pH on individual and combined heavy metal toxicity to a freshwater green alga. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 44, 1173-1180.
- 菅谷芳雄・安野正之・畠山成久 (1986) : 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. 国立公害研究所研究報告, 第99号, 49-59.
- 墨田迪彰・渡辺仁治 (1973) : 郷谷川・梯川の鉍毒汚染に関する陸水生物学的研究. 能登臨海実験所年報, 13, 85-94.
- 渡辺 信・竹内祐一・高村典子 (1987) : 付着ケイ藻 *Achnanthes minutissima* の重金属耐性 - 銅 (Cu) について. 「水域における生物指標の問題点と将来」シンポジウム報告, 安野正之・岩熊敏夫編, 国立公害研究所, 茨城, 17-21.
- 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.
- 渡辺仁治・墨田迪彰・大柳実喜子・岩切末枝保 (1977) : 鉍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.
- Yasuno, M., S. Fukushima, J. Hasegawa, F. Shioyama and S. Hatakeyama (1982) : Changes in the fauna and flora after application of temphos to a stream on Mt. Tsukuba. *Hydrobiologia*, 89, 205-214.
- 安野正之・畠山成久 (1984) : 小坂川における重金属汚染を指標とする生物相. 国立公害研究所研究報告, 第62号, 7-17.
- 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.
- 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.

## 重金属汚染河川(間沢川)に優占する3種のユスリカと コカゲロウ (*Baetis thermicus*) 個体群の周年変動

島山成久<sup>1</sup>・菅谷芳雄<sup>2</sup>・横山宣雄<sup>3</sup>

### Population Dynamics of Three Species of Chironomids and a Mayfly (*Baetis thermicus*) Dominant in the Mazawa River Highly Polluted with Heavy Metals

Shigehisa HATAKEYAMA<sup>1</sup>, Yoshio SUGAYA<sup>2</sup> and Nobuo YOKOYAMA<sup>3</sup>

#### Abstract

Population dynamics of dominant species in the heavy metal polluted Mazawa River were investigated throughout a year by weekly sampling, from May 1983 to April 1984. Mean concentrations of Zinc, Cu and Cd were  $1140 \pm 500$ ,  $67 \pm 31$  and  $7.6 \pm 3.1 \mu\text{g l}^{-1}$ , respectively ( $n=46$ ). The pH was between 6.5 and 7.0. Chironomids were exclusively composed of the three dominant species, *Eukiefferiella* sp.A, *Orthocladius* sp.A and *Orthocladius* sp.B. The percentage of the three dominant species of total chironomids was  $93 \pm 6$  ( $n=46$ ) throughout the investigation period. Instar development of the chironomids almost ceased in December and January. *Eukiefferiella* sp.A started to develop to 3rd and 4th instar larvae from mid-February and late March, respectively, and emerged mainly in spring and summer. *Orthocladius* sp.A began to develop to 4th instar in early February, and emerged in spring and summer. *Orthocladius* sp.B, on the other hand, stayed within 2nd instar in the spring and emerged mainly in the summer.

*Baetis thermicus* (Ephemeroptera) was another dominant species other than chironomids, although the density was low in May and June. At least six cohorts were identified from June to February. It was considered from

1. 国立公害研究所 生物環境部 〒305 茨城県つくば市小野川16番2  
Environmental Biology Division, the National Institute for Environmental Studies,  
16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
2. 国立公害研究所 技術部 〒305 茨城県つくば市小野川16番2  
Engineering Division, the National Institute for Environmental Studies. 16-2  
Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
3. 昭和56~63年度 国立公害研究所客員研究員 (山形大学理学部 〒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.

the growth curves of six cohorts that *B. thermicus* is bivoltine, although several cohorts emerged a year in the Mazawa River. Chironomids and *B. thermicus* showed a high or the maximum density in the summer, although these species compete for food and habitat each other.

## 要 旨

重金属汚染河川に優占する3種のユスリカとコカゲロウの一種 *Baetis thermicus* 個体群の周年変動を1983年5月から翌年の4月まで週1回の資料採取により調査した。調査地点の亜鉛、銅、カドミウムの平均濃度はそれぞれ  $1140 \pm 500$ ,  $67 \pm 32$ ,  $7.6 \pm 3.1 \mu\text{g l}^{-1}$  ( $n=46$ )であった。pHは、通常6.5と7.0の間であった。ユスリカはほとんど *Eukiefferiella* sp.A, *Orthocladus* sp.A, 及び *Orthocladus* sp.B によって占められ、これら3種ユスリカが全ユスリカに占める割合は年間を通じて  $93 \pm 6\%$  ( $n=46$ )であった。12月と1月には齡組成に変化は認められずこの間の生長は低いものと考られる。*Eukiefferiella* sp.A はそれぞれ2月中旬、3月下旬から3齡、4齡に生育が始まった。4齡の組成から判断してこの種は主として、春と夏に羽化することが示された。*Orthocladus* sp.A は2月初旬から4齡になりだし、主に春と夏に羽化した。その一方、*Orthocladus* sp.B は春までは2齡に留まり主に夏に羽化した。

ユスリカ以外ではコカゲロウの1種 *B. thermicus* が優占したが、5月と6月の密度は低かった。6月から翌年の2月にかけて少なくとも6個の集団が認められた。各々の集団の生長曲線の解析から *B. thermicus* は年2世代であり、調査地点における各集団の羽化時期の算定と次の世代に継続すべき集団間の関係が検討された。ユスリカと *B. thermicus* は生息場所と餌(主として付着藻)を競合するが、両者とも夏期に最大密度または高密度を示した。ユスリカを重金属汚染の指標生物として用いる場合、その調査時期が重要であることを指摘した。

## 1 はじめに

従来の重金属汚染河川の調査から、高汚染地区ではユスリカが高密度で生息することが報告されているが、それらユスリカの種に関する検討は全くと言っていい程なされていなかった。この本報告書がかかわる特別研究の一環として、重金属が河川の生物相に及ぼす影響を調査・研究する過程で、重金属の高汚染区ではほとんど常にユスリカが優占することから、重金属汚染の指標種としてユスリカの検討がなされてきた。それらの結果の一部は、山形県の数河川と小坂町地区(秋田県)の数河川における調査結果として既に Yasunoら(1985)や菅谷ら(1986)により報告されている。その中で、*Eukiefferiella* sp.A, *Orthocladus* sp.A など重金属高汚染区にのみ際だって優占するユスリカが数種類明らかにされた。一方、非汚染区では数十種類のユスリカが記録されたが、常に著しく優占する種は認められなかった。Winnerら(1980)も重金属汚染河川のユスリカ相を調べているが、重金属汚染区に優占する種は、非汚染区にも優占するなど重金属汚染区にのみ特異的に生息するユスリカを特定できなかった。

上記の我々の調査で明らかにされた重金属耐性ユスリカは、有機汚染が進行した湖や河川など

で通常見られる赤色のユスリカ（オオユスリカ、アカムシユスリカ、ヨシマツユスリカなど）に比べずっと小型で、体色も黒褐色など目立たないものが多い。そのため、若齢（1～2 齢）の個体はサンプルの採取に時間を要する上、若齢時には種の確認が極めて困難である。そのため、ユスリカ幼虫は、少なくとも3 齢以上、できれば4 齢のユスリカ幼虫を採集する必要がある。このような理由からも、ユスリカを重金属汚染の指標生物種として取り扱おうとする場合、その生活史を調べておくことは有用であった。今回調査の対象として用いた間沢川は、その流域に存在する数箇所の廃止銅鉱山跡から流出する水中に含まれる銅や亜鉛等の重金属により著しく汚染されていた。そこに生息できる水生昆虫の種類は極めて限られ、優占種としては、上記のユスリカを始めとする数種のユスリカとコカゲロウの一種 *Baetis thermicus* のみであった。他に、トビケラとヘビトンボがわずかに採集されるがそれ以外は、年間を通してほとんど採集されていない。また付着藻類の種類数も極めて限られたものであった（福島ら、1986）。

*B. thermicus* (Ueno, 1931) も重金属耐性種として明らかにされているが、国内におけるこの種の分布は広く（小林, 1987; 畠山, 1987）非汚染河川においても優占することが多い。しかしこの種的生活史については、春から秋にかけしばしば羽化するのが見られているがその世代数など必ずしも明らかではなかった。今回の調査地点では、コカゲロウとしては通年 *B. thermicus* のみが採取され種の同定の困難な若齢個体もデータとして使用できるため、この種の個体群の周年変動を解析するのに好適な場所と考えられた。

## 2 調査地点及び方法

### 2.1 調査地点

調査地点を間沢川の寒河江川（最上川の支流）合流点から約2 km 上流に定めた。間沢川の全長は約9 kmで、調査定点の川幅は約5 m、平均水深は約24 cm、流量は通常約  $0.6 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$  程度と推定された。川床は10～20 cm 前後の石礫からなり、重金属汚染以外は水生昆虫の生息に適した環境であった。定点の上流には古い銅の鉱山跡が何箇所もあり（図1）、それらから流出する廃水が重金属汚染の原因となっていた。

### 2.2 調査方法

上記の定点で、1983年5月から1984年5月まで冬季間（10日ごと）を除き週1回の調査を行った。毎回の調査は午前11時から午後1時の間に行った。環境要因として気温、水温、pH、電気伝導度、流速、水深（定点）を測定した。河川水は250 ml のポリエチレン容器に採水し、4 ml の硝酸（重金属分析用）を添加した。

底生生物のサンプルは採取面積  $20 \times 20 \text{ cm}^2$  のサンプラー（メッシュサイズ  $94 \mu\text{m}$ ）で、2個採取した。これらをそれぞれ250 ml のポリエチレン容器に入れ、約5%のホルマリンを添加した。ユスリカは実体顕微鏡下で1 齢幼虫まで採取し、70%エタノールに再保存した。優占種であ

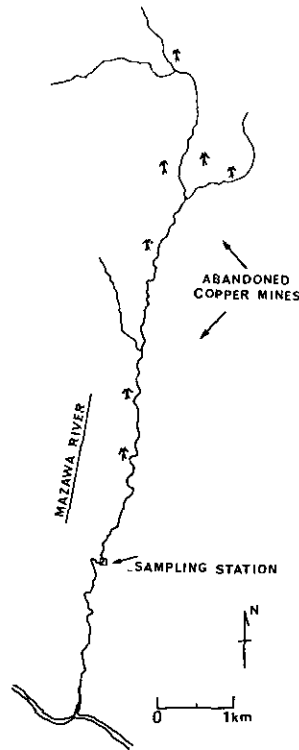


図1 問沢川における調査定点と廃止銅鉱山の位置  
□：通年調査定点間、↑廃止銅山

る *Eukieferiella* sp.A と 2 種の *Orthocladius* (*Orthocladius* sp.A と *Orthocladius* sp.B は類似し、実体顕微鏡下では識別不可) はそれぞれ頭幅により齢期を定めた。*Orthocladius* sp.A と *Orthocladius* sp.B や 他のユスリカの種類のためユスリカ幼虫の頭部を 20% NaOH でおよそ 24 時間処理し酢酸で中和後、スライドガラス上に腹側を上にして置き、ガムクロラルによりカバーガラス下に封入した。これらの分類は主として Wiederholm (1983) に従った。

コカゲロウ (*Baetis thermicus*) も実体顕微鏡下ですべて拾い出し、70%エタノールに再固定した。その後、各週のサンプルに付き各々頭幅のヒストグラムを 50  $\mu$ m 間隔で作成した。ヒストグラム上で明らかな集団のピークを正規確率紙を用いた Cassie (1954) の方法で解析し、これを基に各集団の生長曲線を得た。

河川水の重金属濃度はゼーマン原子吸光装置 (日立 180-80 型) 又は ICP (Jarrel Ash 975) により分析した。ICP の分析値は他元素による相互干渉値を補正して用いた。

### 3 結果

#### 3.1 環境要因

調査定点の環境要因の周年変化を図 2 に示した。河川水の電気伝導度は各種の重金属が溶存し

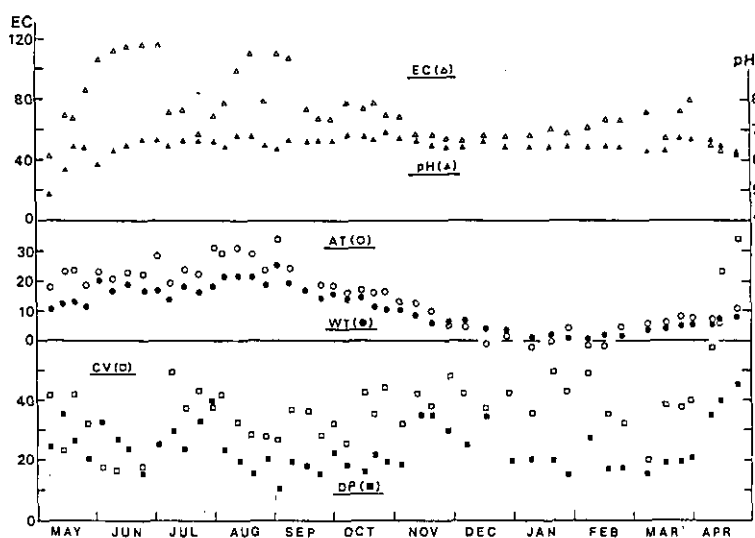


図2 間沢川定点における環境要因の周年変動

△：電気伝導度 ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ ), ▲：pH, ○：気温 ( $^{\circ}\text{C}$ ), ●：水温 ( $^{\circ}\text{C}$ ), ■：水深 (定点, cm), □：流速 (定点,  $\text{cm sec}^{-1}$ )

ているためおよそ  $80 \mu\text{S cm}^{-1}$  前後とかなり高い値を示した。pH は5月に低かったがそれ以外の月では 6.5~7.0 の範囲にあり、冬季の値は夏期~秋期の値よりもやや低い値を示した。水温は5月の  $10^{\circ}\text{C}$  から夏期には  $20^{\circ}\text{C}$ 、秋期には  $15^{\circ}\text{C}$  前後を保ち 11月からは  $10^{\circ}\text{C}$  以下になり 1~2月には  $0^{\circ}\text{C}$  付近にまで低下した。観測定点の水深はほとんど 15~25 cm の間にあったが、降雨後はまれに 30~40 cm になった。また雪解水により4月初旬から5月中旬まで増水し流速も著しく高まった。

濃度とその毒性から、間沢川における水生昆虫の生息を最も制限していると考えられる亜鉛 (Zn)、銅 (Cu)、カドミウム (Cd) 濃度の年間変動値を図3に示した。3元素とも春期に夏期の2倍程高い値を示したがその後は比較的一定の値を示した。亜鉛と銅の濃度は夏期よりも、冬季の値が高めの傾向にあった。Zn, Cu, Cd の年間平均濃度は各々  $1142 \pm 502$ ,  $67.4 \pm 32.1$ ,  $7.63 \pm 3.10 \mu\text{g l}^{-1}$  ( $n=46$ ) であった。それ以外の金属濃度 (ICP 分析値) も Al, Fe, Mn の平均濃度がそれぞれ 0.52, 0.46,  $0.18 \text{ mg l}^{-1}$  などと高い値を示していた (表1)。

### 3.2 ユスリカ

ユスリカ幼虫密度の周年変化を3種の優占種とそれ以外の種 (表2) に区別して図4に示した (2サンプルの平均値)。年間を通して、3種が全ユスリカに占める割合は  $93 \pm 6\%$  と高い値を示した。これら優占種の密度及び年齢組成変化を図5に示した。ただし、*Orthocladius* sp.A と *Orthocladius* sp.B は、外見から区別できなかつたので一緒にしてある。*Eukiefferiella* sp.A

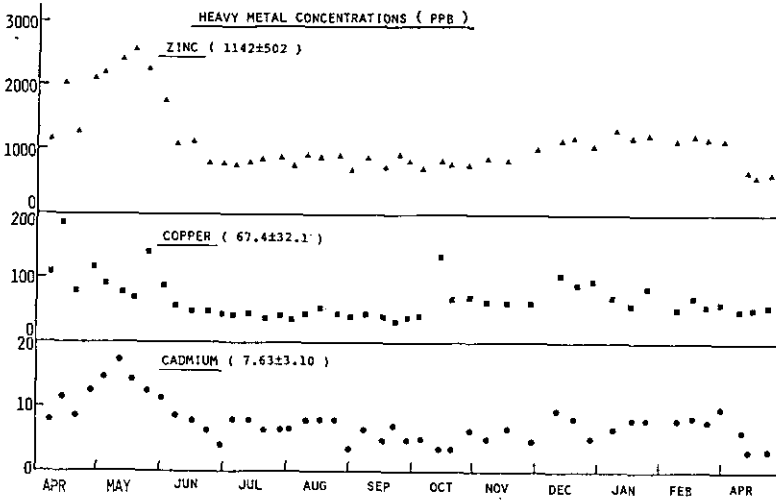


図3 間沢川定点における重金属濃度(Zn, Cu, Cd)の周年変動  
 ▲: Zn, ■: Cu, ●: Cd(ppb)

表1 間沢川定点における7元素の周年平均濃度( $\mu\text{g l}^{-1}$ ), (Mean  $\pm$  SD, n=46)

Element	Concentration
Al	0.52 $\pm$ 0.55
Fe	0.46 $\pm$ 0.41
Mn	0.18 $\pm$ 0.08
Mg	3.99 $\pm$ 0.89
Ca	4.33 $\pm$ 1.13
Na	4.87 $\pm$ 0.80
P	0.05 $\pm$ 0.03
Mean $\pm$ SD. (n=46)	

は5月にはほとんど4齢を示し、この間にその年の一回目の羽化が起こったものと考えられる。6月から11月下旬にかけて、若齢(1~2齢)、3齢、4齢からなる個体群の年齢組成と密度の大きな変化が4回あり、この間に数世代の羽化が繰り返されたものと見なされる。11月下旬からはほとんど若齢となり、3齢は存在するが4齢は10月下旬まで羽化しきったためほとんど見られなくなった。年齢組成は12月から1月までほとんど変化しなかったが、2月からは3齢への、また3月下旬からは4齢への生長がそれぞれ始まることがわかった(図5)。

2種の *Orthocladius* も10月下旬に4齢が消失し、その後冬期間に若齢組成が増加するなど *Eukiefferiella* sp.A に類似しているが2月からの年齢組成の変動は異なった。口器及びその周辺の構造から *Orthocladius* sp.A と *Orthocladius* sp.B を区別した密度変化を図6に示した。なお若齢では口器のプレパラート作成は困難なため、両種の区別は3齢と4齢に限られた。それによると *Orthocladius* sp.A は2月初旬から4齢に生長が始まり、8月まで3齢と4齢の

表2 間沢川定点における優占種以外のエスリカ密度 (Number m<sup>-2</sup>, 週ごとのサンプルによる月間平均密度)の周年変動

Genus	Month											
	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4
Larvae												
<i>Eukiefferiella</i>	-	17	12	32	92	32	5	-	25	8	45	29
<i>Polypedilum</i>	193	90	32	-	23	9	-	43	-	-	-	8
<i>Conchapelopia</i>	48	9	8	75	23	3	5	14	13	4	-	-
<i>Kenosmittia</i>	16	13	20	43	35	3	-	28	-	-	-	-
<i>Thienemanniella</i>	48	-	12	21	23	-	-	-	-	-	-	-
<i>Hydrobaenus</i>	96	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Diamesinae	-	-	-	11	-	-	-	-	-	-	-	-
Unidentified	-	-	-	43	12	-	-	28	-	47	30	8
Pupae												
<i>Eukiefferiella</i>	-	13	4	85	23	3	-	-	-	-	-	-
<i>Polypedilum</i>	-	9	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Conchapelopia</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

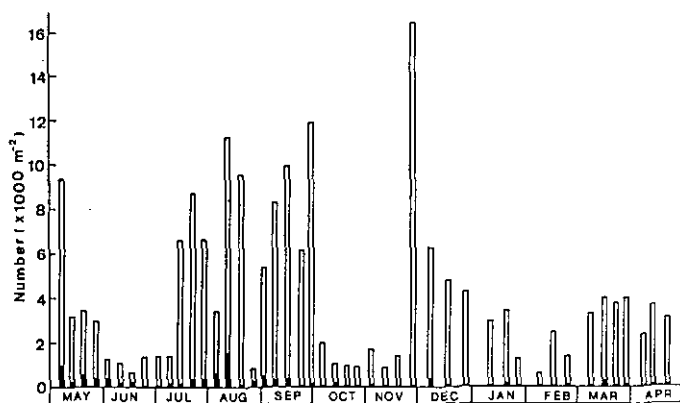


図4 間沢川定点におけるエスリカ密度の周年変動  
 □ : 3種の優占種, ■ : それ以外の種

割合に変動が見られるものの4齢は8月中旬まで存在した。しかし、その後翌年の1月中旬まで3齢以上の個体はサンプルの中に見られなくなった。一方、*Orthocladius* sp.Bは5月まで2齢以下に留まっていた。4齢は7月初旬から見られ出し、7月と8月に高い密度を示し、10月下旬まで存在した。

### 3.3 コカゲロウ (*Baetis thermicus*)

コカゲロウ幼虫の生息密度の周年変化を図7に示した。5月と6月におけるこの種の密度は著しく低かったが、それ以後は変動はあるにしても500~3300 m<sup>-2</sup>の密度を保った。これはエスリカに比べると比較的低い密度であるが、その他の水生昆虫(表3)と比較すると年間を通じて極



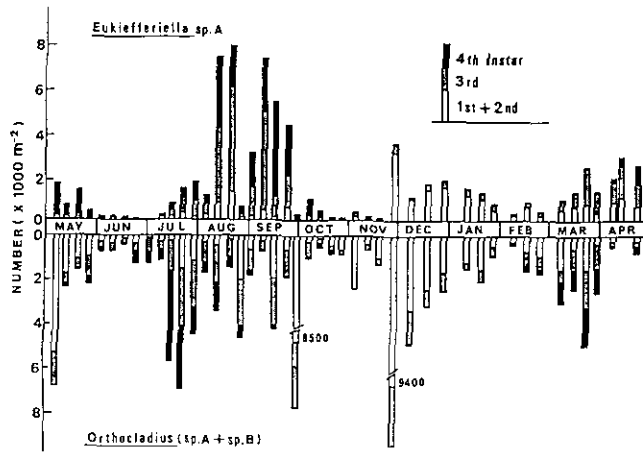


図5 間沢川定点における3種の優占種のユスリカの齢組成による密度(number  $m^{-2}$ )の周年変動  
(上段: *Eukiefferiella* sp. A, 下段: *Orthocladus* sp. A + *O.* sp. B)

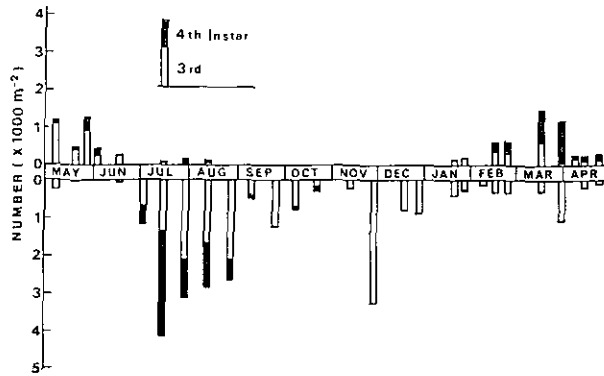


図6 間沢川定点における *Orthocladus* sp. A (上段) と *O.* sp. B (下段) の3齢と4齢幼虫密度(number  $m^{-2}$ )の周年変動

めて高い密度である。それぞれのサンプルについて頭幅のヒストグラムを得た。多くのサンプルで明りょうな正規分布を示す集団が認められ、これらの中央値を Cassie (1954) の方法により求めた(図8, 矢印)。また個体数の少ない集団では目測により中央値を推定した。これらを基に各集団の頭幅による生長曲線を実測値に最も適合する回帰式から求めた(図9)。7月から翌年の2月にかけて、A~Fの6個の集団を区別することができた。これらの各集団の相互関係は後に考察のところで検討されるように、集団AとBの卵がそれぞれ集団EとFに連なるものと考えられた。また集団Cの羽化時期は生長曲線を成熟幼虫の頭幅(約500  $\mu m$ )まで外挿し、11月初旬と算定された。カゲロウの頭幅と体長の関係の回帰式を8, 9, 11月の集団から164個体を取って求めた;  $L = 54.1 + 4.9 \times W$ ,  $R = 0.89$  (L; 体調, W; 頭幅,  $\mu m$ )。生長曲線の回帰式(表4)

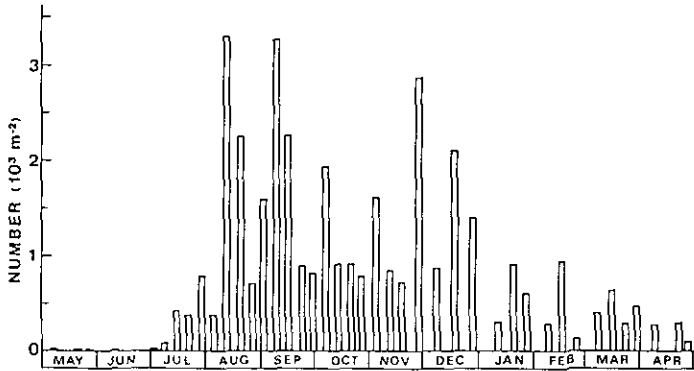


図7 間沢川定点におけるコカゲロウの1種 *Baetis thermicus* 生息密度 (number m<sup>-2</sup>) の周年変動 (2 サンプルの平均値による)

表3 間沢川定点における優占種以外の水生昆虫密度 (Number m<sup>-2</sup>, 週ごとのサンプルによる月間平均密度) の周年変動

Species	Month											
	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4
<i>Ephemerella bifurcata</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8.3
<i>Ephemera orientalis</i>	-	-	-	-	-	-	-	4.2	-	-	-	-
<i>Nemoura</i> sp.	-	-	-	-	-	3.1	-	-	4.2	-	-	-
<i>Capnia</i> sp.	-	-	-	-	-	-	3.1	-	-	-	-	-
<i>Alloniscus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	4.2	-	-	-
<i>Polycentropus</i> sp.	9.4	3.1	10.0	-	5.0	3.1	3.1	12.5	4.2	-	-	4.2
<i>Rhyacophila articulata</i>	-	-	2.5	-	-	3.1	-	-	-	-	3.1	-
<i>Hydropsyche orientalis</i>	-	-	-	9.4	2.5	31.3	9.4	16.7	-	-	-	-
Odonata	-	-	-	-	-	-	-	-	4.2	-	-	-
<i>Protohermes grandis</i>	-	3.1	2.5	-	2.5	-	-	-	-	-	-	-
<i>Antocha</i> sp.	3.1	-	-	-	-	-	6.3	-	-	-	-	-
<i>Atherix</i> sp.	-	6.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Asellus hirsutior</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3.1	-
<i>Dugesia japonica</i>	-	-	2.5	-	-	-	-	4.2	-	-	-	8.3

から、6 個の集団の三つの生長段階における生長速度を得た。夏期における生長速度はおよそ 3 %程度であり (表 5)、これらはヨーロッパのコカゲロウ (別種) で報告されている値 (Humpesch, 1979; Welton, 1982) と近いものである。

### 3.4 非優占種

3 種の優占種以外のユスリカ (属まで同定) の密度を、週ごとのサンプルから月間の平均値として表 2 に示した。*Polypedilum* sp. の密度が 6 月と 12 月に比較的高い値を示したがその最大値でも 190 m<sup>-2</sup> と前記の優占種の最大密度に比べると著しく低かった。ユスリカと *B. ther-*

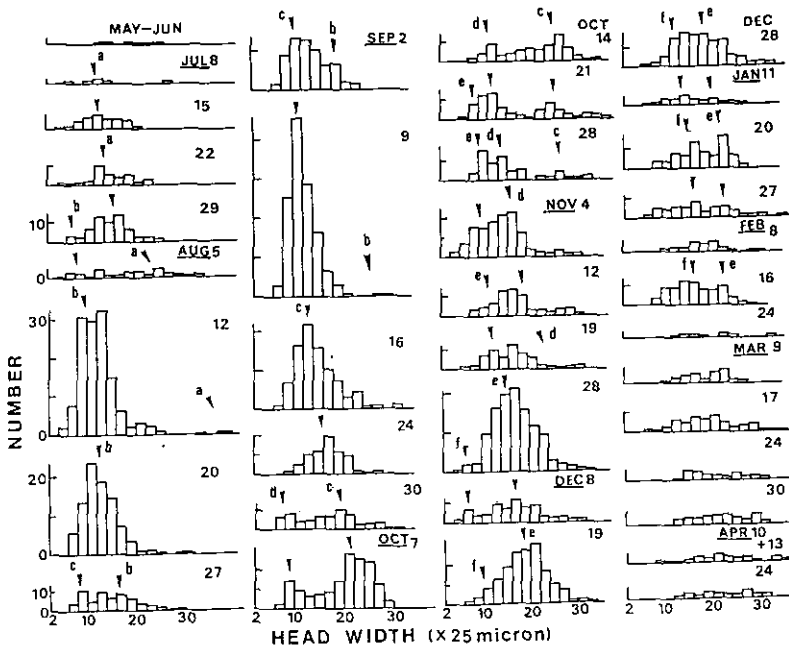


図8 間沢川定点における *Baetis thermicus* の頭幅のヒストグラム  
(横軸：頭幅×25micron, 縦軸：個体数)

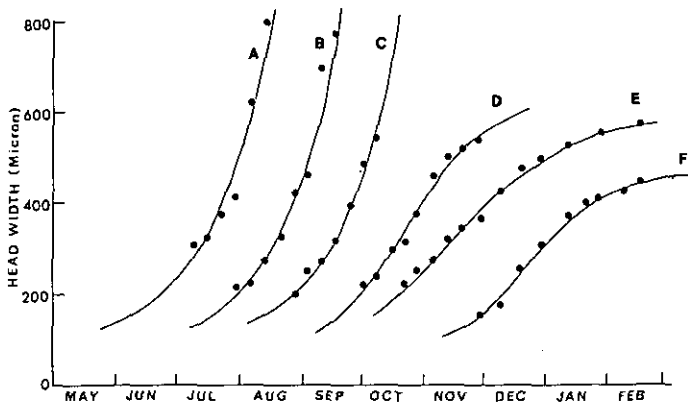


図9 間沢川定点における *B. thermicus* の6個の集団(A~F)の生長曲線  
縦軸, 頭幅(micron), B. L.(体長)=54.1+4.9×H. W(頭幅)( $r=0.89$ )

*micus* 以外の水生昆虫も月間の平均密度として表3に示した。年間を通して比較的頻りに採取されたのはイワトビケラ的一种 (*Polycentropus* sp.) であったがその生息密度は, *B. thermicus* に比べ低かった。トビケラ的一种 *Hydropsyche orientalis* も8月から12月にかけて見られたがその密度は低く, 生長段階は若齢期のものが多かった。これらの捕食者としてはヘビトンボ

表4 間沢川定点におけるコカゲロウ *B. thermicus* の6個の集団の生長曲線

Cohort	Growth curve of head width (micron)
A	$Y = 1/(5.103E-05 + 0.0542 x (1.035)^{-x}) + 84$
B	$Y = 1/(5.907E-05 + 0.2252 x (1.037)^{-x}) + 84$
C	$Y = 1/(1.019E-05 + 0.5984 x (1.036)^{-x}) + 84$
D	$Y = 1/(0.001819 + 15.55 x (1.053)^{-x}) + 84$
E	$Y = 1/(0.001964 + 3.241 x (1.037)^{-x}) + 84$
F	$Y = 1/(0.002652 + 913 x (1.055)^{-x}) + 84$

Y: Head width (micron), x: day from May 1st

表5 間沢川定点におけるコカゲロウ *B. thermicus* の6個の集団の三つの生長段階における生長速度(% d<sup>-1</sup>)

Stage Head width (micron)	Cohort					
	A	B	C	D	E	F
200	2.00	2.12	2.05	2.38	1.64	2.17
400	2.70	2.85	2.83	1.77	1.11	0.70
600	2.92	3.08	3.06	0.28	n. c	n. c

(*Protohermes grandis*) が6~9月に採集されたがそれらの密度もやはり低いものであった。

#### 4 考察

河川水中の Zn, Cu の濃度は5月に著しく高い濃度を示した。間沢川は4月から5月にかけて雪解水による増水が起こった。降雨による増水後にも、鉾山下流域の河川水中の重金属濃度が高まることが知られている。例えば、Brown (1977) によると河川水の増減に伴って水中の Cu, Zn, Fe などの金属濃度が増減した。間沢川では6月以降は重金属濃度が比較的安定したが、それでも河川水中の Zn と Cu 濃度は 1000, または  $50 \mu\text{g l}^{-1}$  前後と水生昆虫の生息にとっては極めて有害なレベルを保った。一方、調査期間中の間沢川の pH は 6.5~7.0 を保った。また、上流には人家や農耕地が少なくこの山地溪流では水生昆虫の生息に影響する程の有機汚染はほとんど考えられなかった。そのため、間沢川定点における底生生物の極端な種数の減少は重金属汚染によってもたらされ、またそこに安定して優占していた3種のユスリカとコカゲロウの一種 *B. thermicus* は代表的な重金属耐性種として見なすことができる。

ユスリカ; 間沢川定点では年間を通して、3種の優占種が全ユスリカに占める割合は  $93 \pm 6\%$  と高いものであった。一方、重金属非汚染河川 (山形県や秋田県) では1地点で数十種のユスリカが記録され、かつ間沢川におけるように特定の種に極端に偏っていなかった。また、これらの中には上記の3種の重金属耐性種ほとんど含まれていなかった。Winnerら (1980) は重金属汚染河川の最汚染区で15種類のユスリカを記録しているが、これらは非汚染区にも生息し重金属汚

染区にのみ特徴的なユスリカを見いださなかった。

重金属汚染河川の強汚染区にはほとんど例外なくユスリカが優占するが、今回の3種の重金属耐性種以外にも別種の耐性種がいることも十分考えられるので、現在東北地方のみならず数地区の河川（菅谷ら、1988 など）でユスリカの調査を行っている。この場合、前述したようにユスリカは3齢以上、できれば4齢の幼虫を採集することが種の同定にとって望ましく、このためには河川に生息する重金属耐性種である小型のユスリカの生活史を知っておくことが重要と考えられた。このようなユスリカは年数世代を有することが十分予測されたため、四季または月ごとの資料採取では個体群の周年変動を解析するには不十分と考えられ、冬季以外は週1回の資料採取を行った。水温が0℃付近にまで低下した12月～1月は3種のユスリカの生長は低下し、齢組成の変化はわずかであり4齢への発育は起こらなかった。しかし、*Orthocladius* sp. A は水温が2℃前後の2月中旬から4齢に発育を始めた。一方、*Orthocladius* sp. B が4齢に発育を始めたのはずっと遅れて、水温が15℃前後の6月下旬からであった。限られた重金属耐性種の中で、類似した *Orthocladius* 属の2種でその発育時期を著しく異にしているのは興味を持たれる。*Orthocladius* sp. A の3～4齢は8月下旬から翌年の1月まで、夏から秋期の間ユスリカの発育に適した水温にあったにもかかわらず、サンプルの中に見いだされなかった。この間、この種は卵の状態で長期間存在するのか、あるいはアカムシユスリカで報告されているように（Iwakuma & Yasuno, 1983）、幼虫の段階で休眠状態を経るのかは2齢以下の種の区別が困難で現在のところ不明である。*Eukiefferiella* sp. A は水温が5℃付近に達した3月中旬から4齢に発育を始め、5月中はほとんどが完熟終齢幼虫だったので、この間にその年の1回目の羽化が集中的に起こったものと考えられる。

6月には優占種である3種のユスリカの密度は、この間水温が18℃前後であったが、他の月と比べ低かった。その原因として考えられる環境要因の一つは、5月から6月にかけて重金属濃度が高かったことが着目される。それは前記のように、この間の雪解水による増水の過程に起因するものと考えられる。ユスリカは若齢時に重金属に対する感受性が3～4齢時よりも著しく高いことが報告されている（Gauss, 1985; Powlessland, 1986）。それは、*Polypedilum nubifer* に対する Cd の感受性の変化によっても明らかにされた（Hatakeyama, 1987）。4月から5月にかけて産出された卵塊からなる若齢幼虫が5月の重金属濃度のピークに暴露されその死亡率が増加したことは、そのときの Zn や Cu の濃度の高まりと両者の金属の毒性から予想されるところである。

コカゲロウ (*B. thermicus*): この種は種の同定が必ずしも厳密に行われなかった場合も多いと考えられるが、国内の重金属汚染河川の調査例から重金属汚染区に優占することで知られてきた。一方、この種は比較的早い流速を好み国内では非汚染河川にも広く分布しその優占度も比較的高いことが報告されている。今回の調査からこの種は間沢川では6月から翌年の2月にかけて、六つの集団の区別ができた（図9）。最初の集団 A の生長曲線を羽化期のサイズ（体長：7.5 mm

前後、頭幅：約 1.5 mm) まで外挿すると、集団 A は 9 月初旬に羽化が起こると算定できた。羽化後、数日以内に産卵が起こるが、その卵はそのときの水温とこれまでの報告 (Elliott, 1972; Elliott, 1978; Humpesch, 1980) から 10 日前後でふ化するものと考えられる。この点に関し、Elliott & Humpesch (1983) によれば、*B. rhodani* (*B. thermicus* も *rhodani* グループに所属、Muller-Liebenau, 1969, 小林, 私信) の 50% の卵がふ化するのに 20, 10, 5°C でそれぞれ 10, 26, 66 日要するとされる。一方、集団 E の生長曲線をふ化直後の幼虫の頭幅 (他種の値から、100  $\mu$ m 前後と推定) まで外挿すると 9 月初～中旬となり集団 A の卵のふ化時期とはほぼ一致することから、集団 E は集団 A の卵から発生したのと考えられる。同様にして集団 B の羽化算定時期 (10 月初旬) と集団 F の頭幅が 100  $\mu$ m 時 (10 月下旬) 及びその間の水温における卵のふ化期間 (10 < ~ < 26 d) から集団 F は、集団 B の卵から発生したのと考えられた。集団 C の羽化時期は生長曲線から 11 月初旬と算定され、それ以後の水温はすぐ 5°C 以下に降下するためこれらの卵のふ化は遅れるが、翌年の最も早い集団 (図 9, A) に連なると考えられる。以下越冬集団 (D, E, F) が翌年の春から初夏にかけ羽化、産卵しその順序通り集団 (B, C, D) に連なるとすると、コカゲロウは各集団の生長曲線の相互関係から年 2 世代であり、間沢川では集団 A, E, C, A と B, F, D, B の順で世代を繰り返す 2 系統のグループが、それぞれ時期を A~C 間のように 2 か月程ずらして 2 組ずつ存在していたと推測される。各集団の生長曲線の相互関係から 集団 D~F は翌年の春から夏にかけ羽化するものと見なされるが、調査地点においてこの間の成熟幼虫の数が極めて少なく羽化時期等の解析ができなかった。年 2 世代のこの種が複数の集団に分かれることはすべて同調して生長した場合に過密に陥るのを防止したり、重金属濃度の高まりなど環境変化に対して種の存続を計る上では有効な過程である。

ユスリカとコカゲロウは生息場所 (石面) と主要な餌 (付着藻類) を競合するにもかかわらず、両者とも夏期に最大密度あるいは高い密度を示した。夏期には水温が 20°C 前後と高めであり、重金属濃度は低めに安定している上、捕食者 (ヘビトンボ、カワゲラなど) の密度も極めて低いため両者とも高い密度になったのと考えられる。

Winnerら (1980) によれば、重金属汚染河川 (主に銅) でユスリカに次ぐ優占種はトビケラであると報告している。今回の調査地点でも確かに、2~3 種類のトビケラが比較的しばしば採取されたが、今回の調査ではそれ以上にコカゲロウの一種 *B. thermicus* が著しく優占していた。この種は、国内の重金属汚染河川ではユスリカに次ぐ優占種として、これまでもしばしば報告されているが、更に畠山 (1986, 1987) によりこの種の重金属濃度は特にカドミウム、亜鉛においてトビケラやカワゲラよりもかなり高いことが示された。多くの水生昆虫の中で、何故この種だけがしかも高い重金属濃度を保持しつつ重金属耐性を示すのかに付いては、重金属汚染の指標生物としてのコカゲロウの特性を生理学的にも明らかにするため、現在その耐性機構についても検討が加えられつつある。

## 謝 辞

間沢川における環境測定・生物資料採集に年間を通して協力頂いた山形大学理学部生物学教室(当時)の小松吉友, 加藤真理両氏に深謝の意を表します。同時に, ユスリカサンプルのプレパラート作成等を担当して頂いた斉藤洋子氏に感謝の表します。計測技術部の西川雅高氏には ICP により河川水の重金属濃度を分析して頂いたことを記して感謝致します。

## 引 用 文 献

- Brown, B. E. (1977): Effect of mine draining on the River Hayle, Cornwall. A) Factors affecting concentrations of copper, zinc and iron in water, sediment and dominant invertebrate fauna. *Hydrobiologia*, 52, 221-233.
- Cassie, R. M. (1954): Some use of probability paper in the analysis of size frequency distribution. *Aust. J. Marine & Freshwater Res.*, 5, 513-522.
- Elliott, J. M. (1972): Effect of temperature on the time of hatching in Baetis rhodani (Ephemeroptera: Baetidae). *Oecologia*, 9, 47-51.
- Elliott, J. M. (1978): Effect of temperature on the hatching time of eggs of Ephemera ignita (Poda) (Ephemeroptera: Ephemerellidae). *Freshwater Biol.*, 8, 51-58.
- Elliott, J. M. and U. H. Humpesch (1983): A key to the adults of the British Ephemeroptera. *Freshwater Biological Association, Scientific Publication No. 47*, 85-87.
- 福嶋 悟 (1986): 重金属汚染河川の生物相の解析 II 附着藻類群落の周年変化. 国立公害研究所研究報告, 第99号, 35-47.
- Gauss, J. D., Wood, P. E., Winner, R. W. and Skillings, J. H. (1985): Acute toxicity of copper to three life stages of Chironomus tentans as affected by water hardness-alkalinity. *Environ. Pollut., Ser. A.*, 37, 149-157.
- 畠山成久 (1986): 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. 国立公害研究所研究報告, 第99号, 15-33.
- 畠山成久 (1987): 水生昆虫コカゲロウにおける重金属の蓄積. 「水域における生物指標の問題点と将来」シンポジウム報告, 安野正之・岩熊敏夫編, 国立公害研究所, 茨城, 91-99.
- Hatakeyama, S. (1987): Chronic effects of Cd on reproduction of Polypedilum nubifer (Chironomidae) through water and food. *Environ. Pollut.*, 46 (in press).
- Humpesch, U. H. (1979): Life cycles and growth rates of Baetis spp. (Ephemeroptera: Baetidae) in the laboratory and in two stony streams in Austria. *Freshwater Biology*, 9, 467-479.
- Humpesch, U. H. (1980): Effect of temperature on the hatching time of eggs of five Ecdyonurus spp. (Ephemeroptera) from Austrian streams and English streams, river and lakes. *Anim. Ecol.*, 49, 317-333.
- Iwakuma, T and M. Yasuno (1983): Fate of the univoltine chironomid, Tokunagayusurika akamusi (Diptera: Chironomidae), at emergence in Lake Kasumigaura, Jpn. *Arch. Hydrobiol.*, 99, 37-59.
- 小林紀雄 (1987): 環境指標昆虫としてのコカゲロウ. 「水域における生物指標の問題点と将来」シンポジウム報告, 安野正之・岩熊敏夫編, 国立公害研究所, 茨城, 41-60.

- Muller-Liebenau, I. (1969): Revision der europäischen Arten der Gattung, *Baetis* Leach, 1815 (Insecta, Ephemeroptera). *Gewasser und Abwasser* 48/49: 5-214.
- Powlessland, C. and J. George (1986): Acute and chronic toxicity of nickel to larvae of *Chironomus riparis* (Meigen). *Environ. Pollut., Ser. A.*, 42, 47-64.
- 菅谷芳雄・安野正之・畠山成久 (1986): 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. 国立公害研究所研究報告, 第99号, 49-59.
- 菅谷芳雄・畠山成久・安野正之 (1988): 銅鉍山廃水の流入する梯川のユスリカ群集. 国立公害研究所研究報告, 第114号, 207-212.
- 菅谷芳雄・畠山成久・安野正之 (1988): 銅鉍山廃水の流入する南近畿3河川のユスリカ群集. 国立公害研究所研究報告, 第114号, 213-222.
- Ueno, M. (1931): Einige neue Ephemeropteren und Plecopteren aus Mittel-Japan. *Annot. Zool. Jpn.*, 13, 91-104.
- Welton, J. S., M. Ladle and Bass, A. B. (1982): Growth and production of five species of Ephemeroptera larvae from an experimental recirculating stream. *Freshwater Biol.*, 12, 103-122.
- Wiederholm, T. (1983): The larvae of Chironomidae (Diptera) of the Holarctic region - Key to subfamilies. In: *Chironomidae of the Holarctic region (Part 1. Larvae)*. Wiederholm, T. (ed.), Suppl No. 19, *Entomologica Scandinavica*, P. 11-15.
- 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. Sci.*, 37, 647-655.
- Yasuno, M., S. Hatakeyama and Y. Sugaya (1985): Characteristic distribution of chironomids in the rivers polluted with heavy metals. *Verh. Internat. Limnol.*, 22, 2371-2377.



重金属汚染河川(梯川水系)における  
底生生物相の回復過程に関して

畠山成久<sup>1</sup>・福嶋 悟<sup>2</sup>・佐竹 潔<sup>1</sup>

On the Recovery Process of Flora and Fauna  
in the Heavy Metal Polluted River,  
the Kakehashi River in the Hokuriku District

Shigehisa HATAKEYAMA<sup>1</sup>, Satoshi FUKUSHIMA<sup>2</sup> Kiyoshi N. SATAKE<sup>1</sup>

Abstract

The copper mine at the upper reach of the Kakehashi river in the Hokuriku district was closed in 1971. Watanabe *et al.* (1977) investigated flora and fauna in the Kakehashi River system from 1970 to 1975. We investigated the flora and fauna at the same sampling stations, which were selected by Watanabe *et al.*, on 7 and 8 June 1984 to clear the recovery process of those in heavy metal polluted river system. Effects of heavy metals on the algal flora were still recognized as the reduction of algal species number and proliferation of *Achnanthes minutissima*, a representative heavy metal-tolerant species of diatom. However, a blue green alga *Homoeothrix janthina*, which was absent in 1975 although a common species in Japanese rivers, was found in the stations where heavy metal concentrations were lower than the upper reaches.

Effects of heavy metals were also found on the macrobenthos fauna, although increase in the number of species occurred at stations in the lower reaches of the highly polluted regions. Chironomids and *Baetis thermicus* (Ephemeroptera), a representative heavy metal-tolerant species, were exclusively dominant in the highly polluted regions with Cu and Zn.

The continuation of the heavy metal pollutions was also clearly shown by the heavy metal concentrations of the attached substances (mainly composed of attached algae) and larvae of Ephemeroptera (*Baetis* spp. and *Epeorus latifolium*).

1. 国立公害研究所 生物環境部 〒305 茨城県つくば市小野川16番2  
Environmental Biology Division, the National Institute for Environmental Studies,  
16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
2. 昭和56~62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.

## 要 旨

この河川の上流にはかつて銅鉱山があり 1971年に閉山された。渡辺ら (1977) はその前後の生物相の変化を 1970年から 1975年にかけて調べ、'75年までの時点で付着藻相を始めとし生物相に回復の傾向があることを報告した。今回の報告は重金属汚染河川における生物相の回復過程を比較的長期間にわたって調べる目的で渡辺らの調査から9年を経た 1984年に同一地点で生物相及び環境・生物体中の重金属濃度の調査を行ったものである。水中の重金属分析値は '75年の値と比べ鉱山に近い上流区では低かったが中流区では大きな差異はなかった。付着藻類では以前には記録されてなかったラン藻の *Homoeothrix janthina* が重金属濃度が減少する中流区から採取された。しかし、全般に種数はいまだ極めて少なく、特に珪藻は上流区では 100%、中流区でもおよそ 80%が重金属耐性種である *Achnantes minutissima* によって占められていた。

水生昆虫も上流の強汚染区から中流区まで、その近辺の非汚染河川と比べ種数も少なく、そのほとんどがユスリカ (種に関しては菅谷ら, 1988) または重金属耐性種として知られるコカゲロウの一種 *Baetis thermicus* によって占められていた。しかし、9年以前の調査時に比較すると中流域ではカゲロウの種数などかなりの増加が見られた。重金属の汚染が継続していることは、生物相のみならず石面付着物 (藻類を主成分とする) や水生昆虫 (カゲロウ) の重金属濃度からも明りようであった。

## 1 はじめに

重金属が河川の生物相に如何なる影響を及ぼすかについては、従来から主として鉱山 (休廃止鉱山を含む) の下流域に位置する重金属汚染河川において調査・研究がなされてきた (御所, 1959, 1961; 渡辺ら, 1973)。国内の鉱山は現在ほとんど休廃止されているが、その下流域の河川は坑内水や長年蓄積された鉱滓などから流出する重金属により操業停止後も重金属汚染が継続している状態が各地の河川で見られる。重金属汚染河川の生物相は種数の減少とそれに伴う重金属耐性種の繁殖など通常の河川とは異なった状態にある。今回の調査は、重金属汚染河川における生物相の回復過程を比較的長期の間隔 (5~10年) で検討するため梯川 (石川県) を選んで行ったものである。これまでも、鉱山の操業停止や公害防止工事後の重金属汚染河川において生物相の回復を調べた報告が見られるが (渡辺・原田, 1976; 井出・荒井, 1978; 井出・小島, 1978; 石崎, 1981)、これらは底生動物に関してのみであった。一方、今回の調査河川である郷谷川・梯川水系においては 1971年12月に 90年間にわたる銅鉱山の操業が停止されたと言う (渡辺ら, 1977)。操業中は鉱山下流の 16km に及ぶ河川に底生動物がほとんど生息していなかった (御所, 1961)。その後、梯川の生物相に関しては1970年から1975年にかけて墨田・渡辺 (1973) あるいは渡辺・墨田 (1976)、渡辺ら (1977) により鉱山の操業停止の前年から停止後の4年目にかけて藻類、底生動物に関する調査結果が報告されている。それらによると、閉山後の水質の改善に伴って藻類などの底生生物相に回復に向かう傾向が認められたが、1975年の段階では正常な河川

と比較すれば、鉱山下流の約 10km の区間における河川生物相は重金属の影響を顕著にとどめていた。

今回の調査は渡辺らの調査（1975年7月）からほぼ9年を経過した1984年6月に渡辺らの調査地点と同一地点（渡辺・墨田，1976の調査図に基づく）において生物相の調査を行い、1975年以降の生物相の回復状態を検討したものである。

## 2 調査地点と調査方法

### 2.1 調査地点

渡辺・墨田ら（1977）の報告に見られる St. 1～St. 8 以外に廃止鉱山直下と下流域など図1に見られるように新たな3地点（St. CO, St. O, St. 9）を加えた。調査は1984年6月7～8日に行った。

### 2.2 調査方法

河川水；各々の調査地点において気温，河川水の水温，pH（ガラス電極），電気伝導度，平均的水深，流速等を測定した。重金属分析のため 250 ml のポリエチレン容器（酸洗浄）に採水し約4%の硝酸（重金属分析用）を添加した。同時に 0.45 micron のフィルターを通した 50ml の河川水をポリエチレン容器に採取し，上記と同様の割合の硝酸を添加した。これらの河川水の重金属濃度を原子吸光装置（Simazu 640-40, Hitachi 180-80）又は ICP-OES（Jarrel Ash975）で分析した。

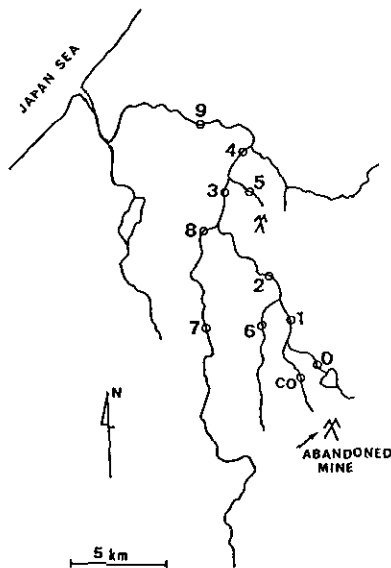


図1 梯川・郷谷川における調査地点

付着藻類；河床から3～4個の礫（長径 25cm 前後）を取り，各々から  $5 \times 5 \text{ cm}^2$  の面積の付着藻をナイロンブラシでこすり落とし，これをまとめて 100ml のポリエチレン容器に収容し，約 5% のホルマリン加えて保存した。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約 20倍量に蒸留水で調整して検鏡サンプルとした。検鏡サンプルの 0.05ml を界線入り大型スライドグラスに取りカバーグラス ( $24 \times 32 \text{ mm}^2$ ) を載せ，総合倍率 600 倍で約 600～1000個体を同定計数した。計数は細胞内に原形質が充てんされている生細胞のみを対象とした。ただし細胞区分の不明りょうな糸状体を形成するラン藻は，1糸状体を1個体として数えた。付着藻類の現存量を群集  $1 \text{ mm}^2$  当たりの細胞個体数として表した。

底生動物；各地点でサーバーネット ( $32 \times 33 \text{ cm}^2$ ) により4個のサンプルを得た。各々のサンプルをビニール袋に入れ，適量のホルマリンを添加して保存した。後日，これらのサンプルを水洗し実体顕微鏡下で底生動物をすべて拾い出し，70%エタノールに再保存し分類・計数に供した。

ユスリカ；各地点でユスリカ用サンプラー ( $20 \times 20 \text{ cm}^2$ ， $94 \mu$ メッシュ) により4個のサンプルを得た。各々のサンプルをサンプラー末端の 100 ml ポリエチレン容器に収容した後，上記と同様に保存，拾い出し，再保存を行い分類・計数に供した（菅谷ら，1988）。

石面付着物及びカゲロウの重金属濃度；数個の石から石面付着物をナイロンぶらしでこすり落としポリエチレン容器 (250 ml) に収容し，水冷して研究室に持ち帰った。このサンプルを円錐型のガラス容器 (250 ml) に移し約 30 秒放置し微細な砂粒などを沈殿させて除去した後，ネット ( $50 \mu$ メッシュ) でろ過し微細なゴミやユスリカなどの水生昆虫を除去した。その後，遠心操作により石面付着物を 0.1 mM EDTA で3回洗い (5000 rpm, 20 min)，ガラス容器に移し  $1.0 \text{ }^\circ\text{C}$  で2日間乾燥させた。水生昆虫の重金属濃度としてコカゲロウ (*Baetis* spp.) またはエルモンヒラタカゲロウ (*Epeorus latifolium*) を採取した。これらを各々の現場でステンレス製の小さいカゴに入れ，0.1 mM の EDTA で十分すすぎ洗いした後，ステンレス製ピンセットを用い酸で洗浄したガラス容器に入れた後水冷して研究室に持ち帰り， $100 \text{ }^\circ\text{C}$  で乾燥させた。これらのサンプルをホットプレート上で硝酸と過塩素酸（重金属分析用）で分解した後 Milli-Q 水で希釈し原子吸光装置 (Sima-zu 640-40, Hitachi 180-80) または ICP-OES (Jarrel Ash 975) で重金属濃度を分析した。

### 3 調査結果

#### 3.1 環境要因

調査時の水温は調査地点による差以外にも天候や時間などにより異なるが  $22 \sim 24 \text{ }^\circ\text{C}$  を示し

た。河川水の pH は 6.2~6.7 の弱酸性を示した。電気伝導度は強汚染区の 420 から対照区の  $55 \mu S cm^{-1}$  まで徐々に減少した (表1)。河川水中の7種類の金属濃度を表2に示した。水生生物に最も影響が強いと考えられる銅 (以下, Cu) の濃度は St. 0 においては  $530 \mu g l^{-1}$  と著しく高く, その下流の St. 1 や St. 2 においても 248 あるいは  $64 \mu g l^{-1}$  と水生生物の生息には極めて制限的な濃度レベルであった。支流に当たる St. 5 の濃度もその上流に廃止鉱山があるため  $193 \mu g l^{-1}$  と高いレベルにあった。一方, 対照河川 (St. 6~St. 8) における Cu の濃度は  $6 \mu g l^{-1}$  程度と通常の河川に比較するとやや高いレベルにあったが汚染区よりはずっと低い値を示した。亜鉛 (Zn) の濃度も St. 0 における約  $1000 \mu g l^{-1}$  から St. 3 の  $200 \mu g l^{-1}$  と対照区の  $7\sim 10 \mu g l^{-1}$  に比較すると高い範囲にあった。カドミウムは St. 1 で  $2.3 \mu g l^{-1}$  を示したが下流になるに従って次第に減少した。フィルター ( $0.45 \mu$ ) でろ過した河川水の Cu, Zn 濃度はろ過以前のそれぞれ 65~99, 93~100%の範囲にあった。その他の金属では St. 5 で鉄が  $825 \mu g l^{-1}$ , St. 0 と St. 1 ではマンガンがそれぞれ 630 と  $237 \mu g l^{-1}$  などと高いレベルにあった。St. 9 はすべての支流が合流した最下流地点であるが Zn, Fe, Mn などの濃度は対照区 (St. 6~St. 8) の平均値の 1.5~2 倍程高い値を示した。St. 0~St. 2 におけるカルシウム (Ca) の濃度は  $21\sim 46 mg l^{-1}$  と著しく高いがこれは St. 0 の上流で石灰による中和処理が行われているためと考えられる。

### 3.2 付着藻類

すべての調査地点で採取された藻類は, ラン藻類7種, 黄色ペン毛藻類1種, ケイ藻類 21種, 及び緑藻類3種の合計 32 種類であった (表3)。各地点の種数は汚染区 (St. 2) の2種から非汚染区 (St. 6) の 18種の間であった。これらの内, ラン藻の *Chamaesiphon minutus*, *Homoeothrix janthina*, ケイ藻の *Achnanthes minutissima* が比較的広く分布し, それぞれ 9, 6, 7 地点から採取された。強汚染区の St. C0, St. 0, St. 1, St. 2 における藻類は数種と少ない上に, ケイ藻は St. C0 における *Surirella linearis* を例外としすべて重金属耐性種として

表1 各調査地点における環境要因

Station	Date	Time	Weather	AT	WT (°C)	pH	EC ( $\mu S cm^{-1}$ )
ST. C0	6/7	12:00~	Fine	28.1	21.0	6.2	160
ST. 0	6/7	10:20~	Fine	26.5	20.1	6.4	750
ST. 1	6/7	11:30~	Fine	27.2	20.5	6.4	380
ST. 2	6/7	15:30~	Fine	29.0	24.6	6.6	250
ST. 3	6/8	9:20~	Rain	22.5	21.5	6.7	150
ST. 4	6/8	11:55~	Cloudy	25.0	22.2	6.7	130
ST. 5	6/8	11:00~	Cloudy	23.5	20.8	6.6	120
ST. 6	6/7	14:30~	Fine	28.3	23.2	6.7	58
ST. 7	6/7	17:00~	Fine	27.0	23.0	6.7	65
ST. 8	6/8	16:30~	Cloudy	22.0	20.0	6.6	75
ST. 9	6/8	14:30~	Cloudy	22.0	19.0	6.5	55

表2 各調査地点における河川水中の金属濃度 ( $\mu\text{g l}^{-1}$ )

STATION	Concentration (ppb)						
	Cd	Cu	Zn	Fe	Mn	Ca	Mg
ST. CO	0.6	185	601	42	86	9868	5218
ST. 0	6.0	529	1024	91	629	21157	22313
ST. 1	2.3	248	618	81	237	46137	10704
ST. 2	n. d	64	181	121	69	22397	5395
ST. 3	1.7	20	202	159	48	10999	3234
ST. 4	1.1	18	96	187	31	8312	2504
ST. 5	2.8	193	295	825	149	7908	2753
ST. 6	n. d	6	10	57	6	3589	1115
ST. 7	n. d	6	8	69	5	3932	1269
ST. 8	1.2	6	7	97	11	4608	1388
ST. 9	0.6	6	12	117	17	4477	1170

知られる *A. minutissima* からなり、その密度も高かった。それとは全く対照的に非汚区の St. 6～8 では *A. minutissima* は採取されず種数も最大 18 種が認められた。ケイ藻全種の全細胞数に占める *A. minutissima* の割合は St. 1～St. 5 で各々 100, 100, 78, 86, 及び 98% と強汚染区では著しく高い値を示した (表4)。

強汚染区で特徴的な種として St. 1 と St. 5 ではラン藻類の *Ocellatoria* sp. 2 と *Phormidium luridum* が、St. 1 ではさらに黄色ベン毛藻の一種 *Ochromonas* sp. が優占種であった。一方、*Homoeothrix janthina* は非汚染区における密度が高く、かつ重金属汚染の低減した St. 3 以下の下流でも採取された。このように強汚染地区では *A. minutissima*, *P. luridum*, *O.* sp. 2 が、非汚染区と重金属汚染が減少した区では *C. minutus* と *H. janthina* が優占種となっている傾向が認められた。藻類の現存量は概して、ラン藻類が高かったが黄色ベン毛藻の *O.* sp. とケイ藻の *A. minutissima* も重金属汚染区では高いものとなった。

### 3.3 底生動物

重金属強汚染区 St. CO, St. 0, St. 1, St. 2 及び St. 5 の種数 (ただし、ユスリカを1種類として取り扱っている) はそれぞれ、3, 8, 1, 12 及び5種類であった。一方、非汚染区の St. 6, St. 7, St. 8 及び汚染区の下流に当たる St. 9 の種類数は各々 47, 38, 34 及び 25 種類であった (表5)。St. 3 では種類数は 29 種と生物相はかなり回復しているがカゲロウの各種の密度分布に偏りが見られ、15 種の内 *B. thermicus* (55%), *Ecdyonurus kibunensis* (19%), *Isonychia japonica* (13%) など全体で 90% 近くを占めていた。この地点 (St. 3) は多様性指数 (Shannon Index) としても 2.86 と汚染区の 0.11～0.83 よりも高い値を示したが、非汚染区での 3.31～3.86 と比べては低い値であった。コカゲロウの一種 *B. thermicus* は重金属耐性種として知られるが、St. 0, St. 2 におけるコカゲロウはほとんどこの種で占められ、全種に占める割合も 84% 及び 82% と高かった。一方、非汚染区ではコカゲロウは最大 6 種

表3 各々の調査地点において出現した藻類種とその密度 (number mm<sup>-2</sup>)

Species	STATION							
	ST. CO	ST. 0	ST. 1	ST. 2	ST. 3	ST. 4	ST. 5	ST. 6
ラン藻類								
<i>Chamaesiphon minutus</i>	-	6512	-	535	20130	15580	791	18990
<i>Chamaesiphon polymorphum</i>	-	-	-	-	16225	41990	-	2970
<i>Homoeothrix janthina</i>	-	-	-	-	495	9975	-	42750
<i>Oscillatoria</i> sp. A	-	-	-	-	55	-	-	90
<i>Oscillatoria</i> sp. B	1843	704	91001	-	-	-	4181	-
<i>Phormidium luridum</i>	16296	-	60367	-	-	-	16724	-
<i>Phormidium</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-
黄色ペン毛藻類								
<i>Ochromonas</i> sp.	-	-	52258	-	-	-	-	630
珪藻類								
<i>Achnanthes japonica</i>	-	-	-	-	-	-	-	900
<i>Achnanthes lanceolata</i>	-	-	-	-	-	-	-	90
<i>Achnanthes minutissima</i>	1649	68992	96407	55	1925	1140	11865	-
<i>Cocconeis placentula</i> v.	-	-	-	-	-	-	-	90
<i>Cymbella sinuata</i>	-	-	-	-	-	-	-	180
<i>Cymbella tumida</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Cymbella turgidula</i> v.	-	-	-	-	-	-	-	450
<i>Cymbella ventricosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	270
<i>Gomphonema parvulum</i>	-	-	-	-	-	-	-	270
<i>Gomphonema separatipunctatum</i>	-	-	-	-	55	-	-	-
<i>Melosira varians</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Navicula cryptocephala</i>	-	-	-	-	-	-	-	90
<i>Navicula gregaria</i>	-	-	-	-	-	-	-	90
<i>Navicula radiosa</i> v. <i>tenella</i>	-	-	-	-	-	-	-	90
<i>Navicula viridula</i> f. <i>capitata</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Nitzschia palea</i>	-	-	-	-	385	190	-	90
<i>Nitzschia romana</i>	-	-	-	-	-	-	-	90
<i>Surirella angusta</i>	-	-	-	-	55	-	3	-
<i>Surirella linearis</i>	97	-	-	-	55	-	-	-
<i>Synedra pulcella</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Synedra ulna</i>	-	-	-	-	-	-	-	180
緑藻類								
<i>Chlorococcum</i> sp.	-	-	-	-	-	665	-	-
<i>Coleochaete</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Scenedesmus</i> sp.	-	-	-	-	110	-	-	-

まで認められ、*B. thermicus* の密度は比較的高いとはいえ全種に占める割合は 19~29%と汚染区に比較し、それほど高い値ではなかった。

トビケラ類では St. 3 において 1975年に2種記録されたものに3種が加わりやはり回復の傾向が認められたものの、非汚染区の11種と比べてはいまだ少なくそれらの密度も低目であった。双翅目でも75年当時の調査結果と類似の傾向を示し、強汚染区ではユスリカが際だった優占種として生息し、St. 3 では次いで *Anthoca* sp. が多いのも同様であった。

水生昆虫全体を見ても、以前の調査時に記録されなかったが今回の調査で比較的高い密度で採集された種は St. 3 における7種類のカゲロウのみで、他の地点では種数が増加したとしてもそ

表4 ケイ藻全種の全細胞数に占める *Achnanthes minutissima* の割合(%)  
1971~75年は渡辺ら(1977)の調査結果による。

ST	Jul 1971	Aug 1972	Mar 1973	Jul 1973	Jan 1975	Jul 1975	Jun 1984
1	72	93	96	85	100	100	100
2	93	80	89	91	95	88	100
3	90	83	80	69	89	69	78
4	80	81	59	45	70	68	86
5	90	87	83	72	92	9	98
6	-	4	<3	<6	11	0	0
8	-	<3	5	3	0	2	0

1971~1975: 渡辺ら(1977)による

これらの生息密度はいずれも小さかった。

### 3.4 重金属濃度

付着藻を主成分とする石面付着物中のクロロフィル a の量は St. 2 で  $0.4 \text{ mg m}^{-2}$  と異常に低かった他は  $16 \sim 120 \text{ mg m}^{-2}$  の範囲にあった(表6)。石面付着物(乾重)の灼熱減量は St. C0, St. 2, St. 9 で  $17 \sim 28\%$  と比較的低い値を示したが、他の地点では  $36 \sim 60\%$  の範囲にあった(表6)。これら石面付着物の Cd, Cu, Zn 濃度を表6に示した。いずれの金属も汚染区の濃度は非汚染区の濃度と比較し著しく高い値を示した。

水生昆虫として、コカゲロウ(汚染区では *B. thermicus*) とエルモンヒラタカゲロウ(*Epeo-orus latifolium*) の重金属濃度を分析した(表7)。コカゲロウの Cd, Cu, Zn 濃度で比較して見ると汚染区の値は非汚染区のいずれも数倍~数十倍を示した。一方、Fe と Mn は汚染区と非汚染区の間で明らかな差異は認められなかった。水中の Cu, Zn 濃度では St. 9 と非汚染区間ではほとんど差が認められなかったが(表2)、カゲロウでは St. 9 の値が非汚染区のそれぞれ 4.8 と 5.6 倍高い値を示した上流からの汚染を反映していた。

## 4 考察

今回の調査は渡辺ら(1977)の1975年までの梯川調査から9年を経た1984年6月にその間における河川生物相の回復状況を検討するために行ったものである。調査に当たり、河川水中の重金属濃度が以前よりも減少している場合には生物相の回復が予想されるところであるが、もし河川水中の重金属濃度が以前と比較し減少していなかった場合には生物相の状況が1975年当時と同様であるかどうかにも関心が持たれた。そのため今回の調査結果を、渡辺・墨田(1976)、渡辺ら(1977)の報告における1975年7月(調査時期が今回とほぼ同じ)の調査結果と比較検討して見た。河川水中の Cu 濃度は1975年8月の濃度(水中の重金属濃度のみ8月)に対して今



表5 各調査地点における底生生物の種類と密度 (Number mm<sup>-2</sup>) 及びそれらの多様性指数 (Shannon Index), 4個のサブネットサンプルの平均値

Species of macrobenthos	STATION										
	C0	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>Ephemeroptera</b>											
<u>Baetiella japonica</u>	-	-	-	-	3	-	-	135	-	3	13
<u>Pseudocloeon</u> sp.	-	-	-	-	3	10	-	68	25	8	3
<u>Baetis chcoratus</u>	-	-	-	-	-	-	-	-	8	-	-
<u>Baetis thermicus</u>	-	93	-	1673	788	888	20	2005	360	1523	1198
<u>Baetis yoshinensis</u>	-	-	-	-	-	-	-	98	3	-	3
<u>Baetis</u> sp. E	-	-	-	-	-	-	-	10	10	-	-
<u>Baetis</u> sp. J	-	-	-	-	45	-	-	358	265	258	150
<u>Baetis</u> sp. M	-	-	-	-	5	3	-	-	3	-	-
<u>Isonychia japonica</u>	-	-	-	-	190	-	-	543	70	373	-
<u>Ecdyonurus kibunensis</u>	-	-	-	3	270	-	-	1063	220	668	-
<u>Ecdyonurus yoshidae</u>	-	-	-	-	-	-	-	-	8	13	-
<u>Epeorus curvatus</u>	-	-	-	-	-	-	-	18	-	-	8
<u>Epeorus ikanonis</u>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
<u>Epeorus latifolium</u>	-	-	-	-	8	5	-	118	70	103	-
<u>Epeorus uenoi</u>	-	-	-	-	-	-	-	15	-	-	-
<u>Rhithrogena japonica</u>	-	-	-	-	-	-	-	25	-	5	-
<u>Rhithrogena</u> sp.	-	-	-	-	-	-	-	3	-	18	3
<u>Paraleptophlebia chocolata</u>	-	-	-	-	10	-	-	48	-	53	-
<u>Potamanthus kamonis</u>	-	-	-	-	5	-	-	-	10	8	-
<u>Ephemerella japonica</u>	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-
<u>Cincticostella nigra</u>	-	-	-	-	-	-	-	5	-	-	-
<u>Drunella cryptomeria</u>	-	3	-	3	25	-	-	993	125	250	10
<u>Drunella trispina</u>	-	-	-	-	-	-	-	3	8	-	-
<u>Drunella</u> sp.	-	-	-	-	-	-	-	35	8	5	-
<u>Ephemerella imanishi</u>	-	-	-	-	3	-	-	-	10	100	3
<u>Serratella rufa</u>	-	-	-	-	13	-	-	93	73	138	3
<u>Serratella setigera</u>	-	-	-	-	63	5	-	425	80	535	23
<u>Torleya japonica</u>	-	-	-	-	-	-	-	3	3	-	-
<u>Caenis</u> sp.	-	-	-	-	8	-	-	15	5	-	-
<b>Plecoptera</b>											
<u>Nemoura</u> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
<u>Protonemura</u> sp.	-	-	-	-	-	-	-	60	-	-	-
<u>Isoperla asakawae</u>	-	-	-	-	-	-	-	10	10	-	-
<u>Isoperla debilis</u>	-	-	-	-	-	-	-	13	-	-	-
<u>Caroperla pacifica</u>	-	-	-	-	-	-	-	-	3	3	-
<u>Kamimuria quadrata</u>	-	-	-	-	-	-	-	15	-	-	-
<u>Kamimuria tibialis</u>	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-
<u>Neoperla</u> sp.	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-
<b>Megaroptera</b>											
<u>Protohermes grandis</u>	-	-	-	5	5	5	-	3	8	3	3
<b>Trichoptera</b>											
<u>Rhyacophila brevicephaia</u>	-	-	-	-	3	-	-	18	13	-	3
<u>Rhyacophila impar</u>	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<u>Rhyacophila nigrocephala</u>	-	-	-	-	-	-	-	23	43	8	-
<u>Rhyacophila yamanakensis</u>	-	3	-	-	-	-	-	-	5	-	-
<u>Rhyacophila</u> sp. (Pupae)	-	-	-	-	-	10	-	-	-	-	-

(次ページにつづく)

表5 (つづき)

<u>Glossosoma</u> sp.	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	10
<u>Dolophilodes</u> sp.	-	-	-	-	8	-	-	28	-	55	-
<u>Stenopsyche marmorata</u>	-	-	-	-	3	-	-	3	3	25	-
<u>Stenopsyche sauteri</u>	-	-	-	-	-	-	-	-	5	-	-
<u>Psychomyia</u> sp. PB	-	-	-	-	-	-	-	-	5	3	-
<u>Polycentropus</u> sp.	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<u>Polycentropus</u> sp. PB	-	-	-	3	-	-	-	18	-	-	-
<u>Cheumatopsyche brevilleata</u>	-	-	-	-	8	-	-	20	8	40	10
<u>Hydropsyche gifuana</u>	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-
<u>Hydropsyche orientalis</u>	-	-	-	5	18	-	-	53	-	100	-
Coleoptera											
<u>Hydrocyclus</u> sp.	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<u>Mataeopsephus japonicus</u>	-	-	-	-	-	-	-	-	8	3	-
Elmidae gen. spp.	-	-	-	5	5	3	-	20	8	13	13
Diptera											
<u>Antocha</u> sp.	-	3	-	-	70	13	3	50	63	5	-
<u>Dicranota</u> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-
<u>Hexatoma (Eriocera)</u> sp.	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-
Simuliidae gen. spp.	-	-	-	-	3	3	-	178	-	20	8
<u>Psychoda</u> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
Psychodinae gen. sp.	-	-	-	5	-	-	-	-	-	-	-
<u>Bezzia</u> sp.	-	-	-	5	-	9	35	-	-	-	-
Chironomidae gen. spp.	198	3	20	333	603	115	1050	655	273	910	470
<u>Suragina kodamai</u>	-	3	-	-	3	13	-	8	28	10	-
<u>Wiedemannia</u> sp.	3	-	-	3	-	-	15	-	3	-	-
Dolichopodidae gen. sp.	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-
Tricladida											
<u>Dugesia japonica</u>	-	-	-	-	3	13	-	8	23	13	33
Archioligochaeta											
gen. sp.	-	-	-	-	475	-	-	18	33	15	3
Isopoda											
<u>Asellus hilgendorffii</u>	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-
Amphipoda											
<u>Rivulogammarus nipponensis</u>	-	-	3	-	-	-	-	75	-	-	-
Decapoda											
<u>Geothelphusa dehaanii</u>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Number of species	3	8	1	12	29	16	5	47	38	34	25
Diversity Index	0.19	1.07	-	0.83	2.86	1.16	0.45	3.58	3.86	3.31	1.81

回の調査時の値は高汚染区の St. 1 と St. 5 でその値が 46%あるいは 30%の値を示したがそれ以外の地点ではほとんど同じかむしろやや高い値を示した。亜鉛の濃度は St. 1, St. 2 及び St. 5 で 1975年当時の値の 76, 33 及び 18%を示したが, St. 3 では約 2.7倍, St. 4 でも 1.2倍とむしろやや高い値を示した。

渡辺ら (1977) によると国内の河川におけるラン藻の代表的種である H. janthina は 1975年までの時点では St. 1 から St. 5 までは全く出現していなかった。しかし今回の調査では H. janthina が非汚染区の密度と比較するとわずかではあるが St. 3 と、これよりも更に増加して St. 4 でも採集された。このことは重金属濃度が上流よりも減少しているこの区間に、この種が

表6 各調査地点における石面付着物(藻類を主成分とする)の重金属とクロロフィル a 及び灼熱減量

ST	Cd	Cu	Zn	Chl. a (mg m <sup>-2</sup> )	Chl. a/A. S (%)	Ignition loss (%)
C0	3.8	11580	2527	88 ± 12	0.06	17.3
0	7.3	16210	5045	91 ± 31	0.32	38.2
1	18.7	32910	10620	82 ± 24	0.21	43.6
2	1.4	2680	1199	0.4 ± 0.1	0.16	24.1
3	8.4	1074	1525	123 ± 3	0.20	58.1
4	0.2	612	645	14 ± 2	0.20	59.7
5	22.2	13020	5633	74 ± 19	0.08	36.0
6	n. d	36	77	28 ± 5	0.15	46.8
7	0.4	86	141	39 ± 13	0.14	55.0
8	n. d	36	104	20 ± 7	0.15	45.7
9	n. d	88	188	16 ± 3	0.08	28.1

(A. S, 石面付着物)

表7 調査地点における水生昆虫(カゲロウ)の重金属濃度(μg g<sup>-1</sup> dry wt)

ST	Aquatic insect	Cd	Cu	Zn	Fe	Mn
ST.2	<i>Baetis thernicus</i>	28.0	857	3460	881	77
ST.3	<i>Baetis</i> spp.	70.7	288	3400	576	324
ST.4	<i>Baetis</i> spp.	40.6	234	2406	639	289
	<i>E. latiforium</i>	12.6	232	1308	1518	386
ST.6	<i>E. latiforium</i>	2.1	60	383	956	106
ST.7	<i>E. latiforium</i>	2.8	28	184	1728	468
ST.8	<i>Baetis</i> spp.	4.3	34	237	1114	275
	<i>E. latiforium</i>	4.0	41	246	608	247
ST.9	<i>Baetis</i> spp.	24.9	163	1330	931	265
	<i>E. latiforium</i>	19.0	108	1314	1311	246
	Plecoptera	2.7	65	256	218	79

E.: *Epeorus*

徐々にではあるが定着しつつあることを示唆していた。しかし重金属が流入する方の河川は上流から下流の St. 9 まで非汚染区の地点と比較すると種数の減少のみならず重金属耐性種の存在の面からみても重金属の影響がまだ存続していた。ケイ藻の *A. minutissima* は Cu や他の重金属で汚染された中性～弱酸性の河川で最も特徴的な重金属耐性藻類である。この種は St. 1 と St. 2 で100%であり (3%以下希少種を除外), St. 3 と St. 4 においても全ケイ藻のそれぞれ 78%と 86%を占めていた。表4に 1971～75年の渡辺ら (1977) の調査における *A. minutissima* の全ケイ藻に占める割合 (%) と我々の調査時の値を示した。これらの値を比較する限り 1984年の時点ではケイ藻の生物相にはほとんど回復が認められなかった。全ケイ藻に占める *A. minutissima* の割合は河川水中の Cu 濃度が 20 μg l<sup>-1</sup> 前後から急に 50%以上に増加しその値が 50%前後の値は今回や小坂川 (安野・畠山, 1984) の調査例のようにほとんど見られない。このことはケイ藻においては *A. minutissima* 以外には重金属耐性が高く、かつ広い環境適応性

を有する種が極めて限られていることを示している。

全ケイ藻の 3%以上を占めるケイ藻の種数を渡辺ら (1977) の調査結果と比較した (表 8)。種数においても汚染区では '71年当時から我々の調査の '84年まで数種と低いレベルに留まり、St. 4 と St. 5 などでは以前の種数よりもむしろ少ない結果が得られた。

底生生物に関して、今回の調査結果と渡辺らの '75年の調査結果 (渡辺ら, 1977)を全種数、多様性指数、優占種などにおいて比較した (表 9)。強汚染区の St. 1 と St. 5 では種数は相変わらず少なくそのほとんどはユスリカ (種類については菅谷ら, 1988) であった。一方、St. 2 ~ St. 4 の種数は '75年 7月の数倍を示した。特に St. 3 では '75年の 7種に対し 29種が記録され、多様性指数もそれを反映して 0.84 から 2.86 と高くなっており、生物相が回復過程にあることが示唆された。しかし、St. 3 と St. 4 の種数、多様性指数はいまだ St. 6, St. 7 よりもかなり低く、優占種が全底生動物に占める割合はユスリカとコカゲロウのみで全体の個体数の 55%と 93%を占めていた。強汚染区に生息するコカゲロウは総て重金属耐性種である *B. thermicus* からなるが非汚染区では最大 6 種のコカゲロウが記録され (表 5), St. 3 と St. 4 はその中間にあった。これらの調査結果から St. 2 から下流では生物相の回復過程が認められるものの、非汚染区 (St. 6 ~ St. 8) の生物相と比較すれば、いまだに重金属の影響をかなり残しているものであった。

石面付着物 (付着藻を主とする) や水生昆虫の濃度も明らかに重金属汚染の存続を示していた。これらの分析値は、常に変動が予測される水中の金属濃度を 1 回限り分析して得た値よりもその地点の平均的汚染状況を比較的良く反映することが期待され、さらに重金属汚染の生態影響を総合的に解析する上でも必要である。例えば強汚染区 (St. 1, St. 5) の石面付着物の Cu, Zn 濃度は  $5600 \sim 3300 \mu\text{g g}^{-1}$  (dry wt.) と著しく高く、このような付着物を摂食する水生昆虫にとっては極めて有害なレベルであることが予測された。これらの濃度は St. 2 と St. 3 においても、およそ  $1100 \sim 2700 \mu\text{g g}^{-1}$  (dry wt.) のレベルにありこれを摂食する水生昆虫に慢性的影響を及ぼし得る濃度であることがモデル水路を用いた実験結果 (島山・福嶋, 1984; 島山

表 8 各調査地点において全ケイ藻の 3%以上出現した珪藻の種類数  
1971~75年は渡辺ら (1977) による

ST	Jul 1971	Aug 1972	Mar 1973	Jul 1973	Jan 1975	Jul 1975	Jun 1984
1	2	2	1	3	1	1	1
2	1	2	2	2	1	2	1
3	2	3	3	3	2	2	2
4	2	2	3	9	5	3	2
5	2	2	3	3	1	7	3
6	-	10	9	11	11	6	13
8	-	7	11	11	11	12	9

1971~1975: 渡辺ら (1977) による

表9 各調査地点における底生生物の種類、多様性指数及び3位までの優占種が全種に占める割合(%)  
1975年のデータは渡辺ら(1977)による

	STATION						
	1	2	3	4	5	6	7
Number of species							
July '75	2	4	7	9	3	26	20
June '84	1	12	29	16	5	47	38
Diversity index							
July '75	0.09	0.38	0.84	1.65	-	2.39	2.24
June '84	-	0.83	2.86	1.16	0.45	3.58	3.86
Dominant species (%)							
July '75	Chi(98)	Chi(90)	Bae(59)	Bae(64)	Chi(-)	A.b(34)	A.b(30)
	H.s(2)	Bae(9)	A.b(25)	Chi(13)	-	E.k(10)	Bae(21)
	-	H.s(1)	Chi(9)	H.o(12)	-	E.l(9)	H.o(8)
June '84	Chi(100)	Bae(82)	Bae(32)	Bae(82)	Chi(94)	Bae(34)	Bae(34)
	-	Chi(16)	Chi(23)	Chi(11)	B.s(3)	E.k(14)	Chi(14)
	-	- (<1)	E.k(10)	- (<1)	Bae(2)	D.c(13)	E.k(12)

Chi: Chironomidae, Bae: Baetis spp., H.s: Hydrobaeminae sp., E.k: Ecdyonurus kibunensis, H.o: Hydropsyche orientalis, A.b: Anthoca bifida, E.p: Epeorus latifolium, D.c: Drunella cryptomeria

ら、1986; 畠山、1986) からも十分考えられた。

石面付着物中のクロロフィルはChl. aとしておよそ20~120mg m<sup>-2</sup>の範囲にあったが、St. 2においてのみ0.4 mg m<sup>-2</sup>と例外的に低い値を示した。調査時にはこの地点ではコカゲロウの羽化時の脱皮殻が水面や石面上におびただしく見られ、大量の成虫の羽化が起こった直後であったことを示していた。またコカゲロウ(B. thermicus)の幼虫自体の密度も高かったことから、調査時の直前にコカゲロウ幼虫の摂食が過剰に働きこの地点の藻類量を著しく減少させたものと考えられる。

引用文献

御所久右衛門(1961): 岐阜県神岡, 石川県尾小屋, 宮城県細倉鉱山の廃水の河川生物に及ぼす影響. 日本生態学会誌, 3, 111-117.  
 畠山成久・福嶋 悟(1984): 重金属のカゲロウ(Epeorus latifolium)に対する影響解析. 国立公害研究所報告, 第62号, 73-98.  
 畠山成久(1986): 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. 国立公害研究所研究報告, 第99号, 191-203.  
 畠山成久・佐竹 潔・福嶋 悟(1986): 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. 国立公害研究所研究報告, 第99号, 15-33.  
 石崎修三(1981): 長崎県内河川の底生動物相(8) 公害防止工事後の対馬佐須川の底生動物相. 日本陸水学会誌, 44, 263-268.

- 井出嘉雄・荒井徹夫 (1978): 渡良瀬川の底生動物相に見られる経年変化について—とくに鉾山  
廃水が河川におよぼす影響について—, 用水と廃水, 20, 37-50.
- 井出嘉雄・小島 力 (1978): 河川水質汚濁回復の研究, 特に渡良瀬川の鉾毒水回復力の研究,  
用水と廃水, 20, 65-73.
- 菅谷芳雄・畠山成久・安野正之(1988): 銅鉾山廃水の流入する梯川のユスリカ群集, 国立公害研  
究所研究報告, 第114号,
- 菅谷芳雄・畠山成久・宮下 衛・安野正之(1988): 銅鉾山廃水の流入する南近畿3河川のユスリ  
カ群集, 国立公害研究所研究報告, 第114号,
- 墨田迪彰・渡辺仁治 (1973): 郷谷川・梯川の鉾毒汚染に関する陸水生物学的研究, 能登臨海実  
験所年報, 13, 85-94.
- 渡辺仁治・墨田迪彰 (1976): 梯川水系の河床付着物による重金属の濃縮と生物相, 日本水処理  
生物学会誌, 12, 65-72.
- 渡辺仁治・墨田迪彰・大柳美喜子・岩切未枝保 (1977): 鉾山閉山後における梯川水系の生物相  
の変化と河床付着物・生物による重金属の濃縮, 淡水生物, 20, 44-56.
- 渡辺 直・原田三郎 (1976): 鉾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  
県公害研究所研究報告, 8, 20-25.
- 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.

## 銅鉱山廃水の流入する梯川のユスリカ群集

菅谷芳雄<sup>1</sup>・島山成久<sup>2</sup>・安野正之<sup>2</sup>

### Chironomid Community in the River Kakehashi Polluted with Heavy Metals in Ishikawa Prefecture, Japan

Yoshio SUGAYA<sup>1</sup>, Shigehisa HATAKEYAMA<sup>2</sup> and Masayuki YASUNO<sup>2</sup>

#### Abstract

Zoobenthos were collected in a river polluted with heavy-metals in June, 1984. Forty-five chironomid species belonging to four subfamilies and 36 genera were distinguished. A species of Procladius and four species of Chironomini were collected only at polluted sites. In general, number of species decreased according to the increase in the copper concentration. The density of chironomids reached 52,906 individuals·m<sup>-2</sup> at a polluted site where copper concentration was about 200 μg l<sup>-1</sup>. Cricotopus sp. and Paratrichocladius sp.A showed the highest density at this site, however they were also found in the lower reaches with lesser Cu concentrations.

#### 要 旨

重金属で汚染されていることが知られている石川県梯川の底生生物、特にユスリカ科の幼虫について1984年6月に調査を行った。各調査地点で採取したサンプルから合計4亜科・36属・45種が幼虫形態で識別できた。対照として設定した3地点にのみ出現した種類は15種でその内約半数の7種は Tanytarsini族 に属するものであった。各汚染地点に出現したユスリカ幼虫の種類数は水中重金属濃度が高い地点ほど少くなる傾向にあったが、反面汚染地点にのみ見られた種がユスリカ族の種を含め6種あった。生息密度は最も非常に重金属濃度が高い地点では極めて低いものの、水中銅濃度が約200μg l<sup>-1</sup>と高い地点で計53,000m<sup>-2</sup>と極めて高い値を記録した。銅濃度 20 から 200 μg l<sup>-1</sup>の地点では Cricotopus sp. 及び Paratrichocladius sp.A の2種が優占していた。

1. 国立公害研究所 技術部 〒305 茨城県つくば市小野川16番2  
Engineering Division, the National Institute for Environmental Studies, 16-2  
Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
2. 国立公害研究所 生物環境部 〒305 茨城県つくば市小野川16番2  
Environmental Biology Division, the National Institute for Environmental Studies,  
16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

## 1 はじめに

重金属汚染河川の底生動物相ではユスリカ類が優占し、しばしば数種が大変高い密度で生息している (Yasunoら, 1985 ; 菅谷ら, 1986, 1987)。重金属の汚染源である鉱山の操業停止後の底生動物群集がどのような過程をたどって回復するかについての研究はあるが (井出・小島, 1978; 渡辺・原田, 1976 ; 高山ら, 1987), 必ずしもユスリカ類に焦点を当てては行われていない。本研究は高山ら (1987) の調査 (1984年6月) において採取されたユスリカ標本を使って行われた。したがって, 調査地点・環境要因等はすべて本報告書に掲載した別の報告を参照されたい。

## 2 方法

調査地点 (図1) 及びユスリカの採集方法は高山ら (1987) にあるとおりであり, 標本の作成方法は菅谷ら (1986, 1987) に従った。

## 3 結果

### 3. 1 出現したユスリカ科昆虫の種類

各地点で採取したユスリカ幼虫はエリユスリカ亜科 15属 24種, ユスリカ亜科 15属 15種, マムスリカ亜科 4属 4種, ヤマユスリカ亜科 2属 2種, 合計4亜科 36属 45種に分類された。その内, 対照区のみ出现过したものは 15種でいずれも出現地点数・生息密度とも低いものばかりであったが, 本調査で出現したユスリカ亜科, Tanytarsini 族 7属 7種中 6属 6種が対照区でのみ見られたのが特徴的であった。汚染区のみ出现过した種は 6種でありこれらも出現頻度は極めて低くたかだか数個体であった。しかも 1~2 地点で捕えられただけであった。それらは Pro

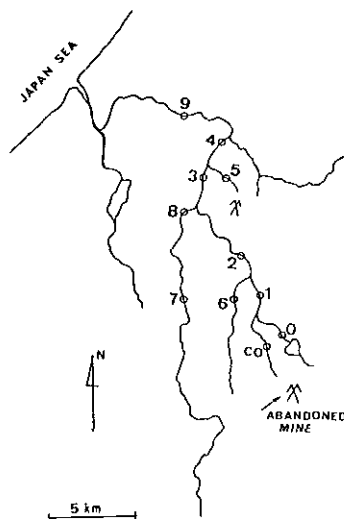


図1 梯川・郷谷川における調査地点



cladius, Chironomus, Paracladopelma, Parachironomus, Paralauterborniella 属に属しておりいずれも山地性溪流には比較的まれな属であった。汚染区にも対照区にも出現した種は残りの24種であった。この内、出現地点数も多く確実に両区にまたがって生息していた種は Conchapelopia sp., Acamptocladus sp., Cricotopus sp., Eukiefferiella sp. A, E. sp. B, E. sp. D, Hydrobaenus sp., Orthocladus sp. A, O. sp. B, Paratrichocladus sp. A, 及び Polypedilum sp. の11種であり、他の種はまれ出現した種であった(表1)。

最も水中重金属濃度の高かった St.1では個体数は少ないが Orthocladus sp. A, Eukiefferiella sp. A が優占していた。両種とも山形県間沢川(Yasunoら, 1985; 菅谷ら, 1986)の汚染区で優占していた種と区別できない幼虫形態を持っていたが同一種であるかは成虫形態を比較しなければ分からない。また、非汚染区にもこの両種に非常に良く似たユスリカ幼虫が出現しており幼虫形態では区別が困難なため表1では同種として扱っているが汚染区に出現した種とは別種であると考えられる。ただしこれもさらに詳細に形態の比較を行う必要がある。

### 3. 2 種類数

各地点の種類数は、汚染区で5~19種、対照区 21~28であった。汚染区で最も水中重金属濃度の高かった St.0 では5種類、St.1 が9種類、次いで濃度の高い St.5 で8種類、以下水中重金属の濃度に反比例して種類数が増加した。ただし、St.4 は汚染区としては重金属濃度は低いものの12種類と若干少ない種類しか出現しなかった(表1)。

### 3. 3 ユスリカ幼虫の生息密度と種組成

生息密度は汚染区、対照区とも地点により大きく変動していた。最も汚染の著しい St.0 の生息密度は  $106\text{m}^{-2}$  で対照区の最も生息密度の低い地点と比べても約 1/20 と大変低かった。また St.0 に次いで重金属濃度が高かった St.1 の生息密度は St.0 の10倍ほどとなっていたが対照区に比べれば低いものであった。一方、これら2地点より重金属濃度は低い、それでもCu濃度で約  $200\mu\text{g l}^{-1}$ である St.5 では平均約  $53,000\text{m}^{-2}$ の生息密度で今回調査した地点では最高であった。さらに、この地点で採取した4個のサンプルの内1個からは  $20\times 20\text{cm}^2$ で約 5,000個体の幼虫が採取されており部分的には極めて高密度でユスリカ幼虫が生息していた事になる。この値は都市河川等における Chironomus yoshimatsui のそれ以上のもので、さらに山地の河川での値としては極めて異常である。また、種組成は Cricotopus sp. が全体の65%を、Paratrichocladus sp. が26%とこの2種で全体の90%以上を占めた。さらに表1中、若齢のため分類できなかった個体がかかりの数に登っているがそれはこの2種は系統的にも近縁であり若齢ではほとんど区別できないために生じたものである。したがってこの2種の占める割合はさらに高いものと思われる。この St.5 は St.1 とともにユスリカ以外の水生昆虫の生息密度が極端に低い地点であり、St.1の方がわずかにではあるが重金属濃度が高くユスリカ生息密度は低かった。St.

表1 梯川のユスリカ幼虫生息密度と種類数(1984年6月)

Sampling site	St.0	St.1	St.2	St.3	St.4	St.5	St.6	St.7	St.8	St.9
Cu concentration ( $\mu\text{g l}^{-1}$ )	529	248	64	20	18	193	6.4	6.4	6.3	6.4
Total No. of Larvae per $\text{m}^2$	106	1,181	6,256	5,563	1,875	52,906	3,194	1,850	9,413	5,600
Number of species	5	9	12	17	11	8	21	28	24	19
(1) <i>Conchapelopia</i> sp.	-	-	375	313	383	638	50	56	613	56
(2) <i>Procladius</i> sp.	-	-	6	-	-	-	-	-	-	-
(3) <i>Pentaneura</i> sp.	-	-	-	-	-	-	6	6	-	-
(4) genus A sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	63	-
(5) <i>Diamesa</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	13	-	-
(6) <i>Pothastia</i> sp.	-	-	6	13	-	-	6	6	-	-
(7) <i>Acamptocladus</i> sp.	-	-	-	225	94	-	100	81	725	182
(8) <i>Brillia</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	38	-
(9) <i>Cricotopus</i> sp.	-	231	694	944	150	21,188	994	25	363	1,144
(10) <i>Corynoneura</i> sp.	-	-	-	19	-	-	144	81	75	6
(11) <i>Eukiefferiella</i> sp. A	-	-	6	212	75	-	1,006	450	100	2,200
(12) <i>Eukiefferiella</i> sp. B	31	75	31	-	-	25	-	363	-	-
(13) <i>Eukiefferiella</i> sp. C	-	-	-	-	-	-	-	13	-	-
(14) <i>Eukiefferiella</i> sp. D	19	306	363	50	-	-	25	6	388	56
(15) <i>Eukiefferiella</i> sp. E	-	6	-	-	-	-	6	113	438	70
(16) <i>Heleniella</i> sp.	-	6	-	19	-	-	-	6	-	31
(17) <i>Hydrobaenus</i> sp.	6	-	6	44	-	-	38	150	550	25
(18) <i>Orthocladus</i> sp. A	38	94	13	275	25	494	44	44	63	269
(19) <i>Orthocladus</i> sp. B	-	-	-	200	19	-	156	38	100	375
(20) <i>Orthocladus</i> sp. C	-	-	-	-	-	-	38	31	-	388
(21) <i>Orthocladus</i> sp. D	-	-	-	-	6	-	-	6	-	350
(22) <i>Orthocladus</i> sp. E	-	-	-	-	-	-	-	6	-	-
(23) <i>Paracaldius</i> sp.	-	-	-	-	44	-	-	-	63	-
(24) <i>Paratrichocladus</i> sp. A	-	193	4,688	2,531	275	8,550	169	100	2,113	144
(25) <i>Paratrichocladus</i> sp. B	-	-	-	-	-	-	81	6	-	6
(26) <i>Parorthocladus</i> sp.	-	-	-	38	-	-	-	6	63	-
(27) <i>Rheocricotopus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	38	-
(28) <i>Synorthocladus</i> sp.	-	-	-	-	13	-	-	-	38	-
(29) <i>Thienemanniella</i> sp.	-	-	-	19	-	-	81	25	38	-
(30) genus B sp.	-	-	-	-	-	-	19	-	-	-
(31) <i>Chironomus</i> sp.	-	6	31	-	-	-	-	-	-	-
(32) <i>Microtendipes</i> sp.	-	-	-	19	-	-	44	50	463	13
(33) <i>Paracladopelma</i> sp.	-	-	-	19	-	-	-	-	-	-
(34) <i>Parachironomus</i> sp.	-	-	-	-	6	-	-	-	-	-
(35) <i>Paralauterborniella</i> sp.	-	-	19	-	-	-	-	-	-	-
(36) <i>Polypedilum</i> sp.	6	69	-	38	-	494	6	38	438	88
(37) genus C sp.	-	-	-	-	-	494	-	-	-	-
(38) genus D sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6
(39) <i>Cladotanytarsus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	38	-
(40) <i>Micropsectra</i> sp.	-	-	-	-	-	494	-	-	38	-
(41) <i>Neozavrelia</i> sp.	-	-	-	-	-	-	6	6	-	19
(42) <i>Paratanytarsus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	68	-
(43) <i>Rheotanytarsus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	13	-	-
(44) <i>Tanytarsus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	25	38	-
(45) genus E sp.	-	-	-	-	-	-	6	-	-	-
Others*	-	181	-	456	175	20,506	331	6	438	194

\* These are young larvae, belonging either *Cricotopus* sp. or *Paratrichocladus* sp. A

5 で 2 種のユスリカだけが異常繁殖したのは他の水生昆虫が貧弱でありしかも重金属濃度がある数値より低いという特殊な環境によるものであると推察される。他の St. 4 を除く三つの汚染地点は生息密度は  $5,563 \sim 6,256 \text{ m}^{-2}$  で大差なかったが、St. 4 では  $1,875 \text{ m}^{-2}$  であった。

どの汚染地点にも出現し、かつ常に密度の高かった種は Paratrichocladius sp. A と Cricotopus sp. であった。この 2 種の各地点での相対的な出現頻度は、St. 1 でそれぞれ 20%、16%、St. 2 で 11%、75%、St. 3 で 17%、45%、St. 4 で 16%、15%、St. 5 は前述のとおり、及び St. 9 で 20%、3% であった。St. 9 では Eukiefferiella sp. A が 39% と多かった。一方、対照 3 地点では St. 8 で Paratrichocladius sp. A が全体の 22% を占め高い生息密度であった外は目立って多い種ではなかった。

#### 4 考 察

畠山ら (1987) によれば梯川の水中重金属濃度の経年変化は一部の強度に汚染された地点においては減少しているものの全体としてはあまり変化していず依然高い。しかしながら他の重金属汚染河川に比べれば (Yasunoら, 1985 ; 菅谷ら, 1986, 1987) ユスリカ類の出現種類数は決して少ないものではなく、またユスリカ以外の水生昆虫相も汚染河川としては比較的豊富である。ユスリカ類についてはこの河川を対象とした以前の研究はないので比較検討できないが他の水生昆虫が種類数が増加していることからユスリカ相もなんらかの変化があったと推測される。この点では対照区ではユスリカ亜科の Tanytarsini 族 が比較的多いのは調査した季節が初夏であり当然といえる。しかしながらユスリカ族の数種が汚染区にのみ出現していたことはこの水系の特徴であるだけに生物群集の回復過程に特異的な種であるとすれば、これらの種が演ずる役割について注目したい。

かなり汚染の強い地点でユスリカ類がたいへん高い密度で生息していた点は他の重金属汚染河川と同様であり、多くの汚染地点で優占した種は Cricotopus sp. と Paratrichocladius sp. A であった。Eukiefferiella sp. A 及び Orthocladius sp. A は東北地方の重金属汚染河川に特徴的な種と指摘されている種であるが、本調査でも同一種と考えられる種が出現していたが優占種とはならなかった。この優占種の違いのは地理的要因、汚染の程度の違い、調査した季節の違い又はその複合と考えられるものの今回のような単独の調査では判然としなかった。

#### 引 用 文 献

- 井出嘉雄・小島 力 (1978): 河川水質汚濁回復の研究、特に渡良瀬川の鉍毒水回復力の研究、用水と廃水, 20, 65-73.  
 畠山成久・福島 悟・佐竹 潔 (1988): 重金属汚染河川 (梯川水系) における底生生物相の回復過程に関して、国立公害研究所研究報告, 第114号, 193-206  
 菅谷芳雄・安野正之・畠山成久 (1986): 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. 国立公害研究所研究報告 第99号, 49-58.

菅谷芳雄・畠山成久・安野正之(1988): 銅鉾山廃水の流入する南近畿3河川のユスリカ群集. 国立公害研究所研究報告, 第114号, 213-222.

渡辺直・原田三郎(1976): 鉾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. 兵庫県公害研究所研究報告, 8, 20-25.

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.

## 銅鉍山廃水の流入する南近畿3河川のユスリカ群集

菅谷芳雄<sup>1</sup>・畠山成久<sup>2</sup>・宮下 衛<sup>2</sup>・安野正之<sup>2</sup>

### Chironomid Community in Three Rivers Polluted with Heavy Metals in the Southern Kinki District, Japan

Yoshio SUGAYA<sup>1</sup>, Shigehisa HATAKEYAMA<sup>2</sup>, Mamoru MIYASHITA<sup>2</sup>  
and Masayuki YASUNO<sup>2</sup>

#### Abstract

Collections of chironomid larvae were made at 17 sites in three rivers polluted with heavy metals. From 15 sites, a total of 33 species belonging to four subfamilies and 23 genera was collected. No chironomids nor other aquatic insects inhabited at the most heavily polluted sites. Five chironomid species were collected only at polluted sites. The numbers of species in the non-polluted region, average 15.2 spp. of five collection sites, were always larger than that in the polluted region, average 4.8 spp. of 12 collection sites. However, the density of chironomids in the polluted region tended to become extraordinarily high; the maximum 17,863 individuals  $m^{-2}$  was observed in the Kitayama River. The species predominating in the polluted region were Cricotopus sp., Eukiefferiella sp. A, Orthocladius sp. B, and Polypedilum sp.

#### 要 旨

和歌山県・三重県にある三つの銅廃止鉍山地域の河川で合計 17 地点を設定して底生動物相の調査を1984年3月に行い、ユスリカ群集に及ぼす重金属の影響を調べた。調査した地点中2地点ではユスリカ類を含め底生動物が全く生息していなかったが他の15地点から合計4亜科23属33種のユスリカ科昆虫の生息が確認された。その内対照地点でのみ見られたのは16種類、汚染地点にのみ生息していたのは5種類であり残りは共通して見られた。ユスリカ群集に対する重金属汚染の影響はまず出現種類数の減少をきたし、対照地点が9~19種類であるのに対し汚染地点ではその多くが4~5種類の出現にとどまった。ユスリカ生息密度では汚染地点に著し

1. 国立公害研究所 技術部 〒305 茨城県つくば市小野川16番2  
Engineering Division, the National Institute for Environmental Studies, 16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
2. 国立公害研究所 生物環境部 〒305 茨城県つくば市小野川16番2  
Environmental Biology Division, the National Institute for Environmental Studies, 16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

く低い地点と最高  $17,863 \text{ m}^{-2}$  と対照地点の10倍程度の密度が観察された地点があった。汚染地点で生息密度の高い種は *Cricotopus* sp., *Eukiefferiella* sp. A, *Orthocladus* sp. B, 及び *Polypedilum* sp. であった。*Eukiefferiella* sp. A は汚染地点だけにしか生息せず重金属汚染に特異的な種であると判断された。

## 1 はじめに

重金属汚染河川の底生生物相は著しく汚染され底生動物が全く生息できない地点を除けば、ほとんどの場合ユスリカ科幼虫が優占する。そのような場合、出現するユスリカの種は重金属汚染地域に特有の種であることが多く、またその生息密度は極端に高くなる (Spragueら, 1965; Winnerら, 1980)。筆者らは東北地方の主に銅廃止鉱山周辺の河川で底生生物相の調査を行い、重金属汚染に特徴的な数種のユスリカを確認した (Yasunoら, 1985; 菅谷ら, 1986)。ここでは南近畿にある銅廃止鉱山を汚染源とする三つの地域の重金属汚染河川について1984年3月に行った調査結果を報告する。

## 2 方法

### 2.1 調査河川及び調査地点

調査は和歌山県紀那智勝浦町を流れる那智川流域・熊野川上流の三重県と奈良県の県境を流れる北山川及びその支流である三重県紀和町板屋川・及び同じく熊野川支流の楊枝川の互いに隣接する三つの地域で行った。那智川流域には妙法鉱山、板屋川流域には紀州鉱山、また楊枝川にも鉱山があった。いずれも現在は既に廃止されている銅鉱山である。調査地点はそれぞれの流域に①那智川 (M-1~M-6), ②北山川 (K-1~K-6) 及び ③楊枝川 (Y-1~Y-5) の合計 17地点を設定した (図1)。

①妙法鉱山のある那智川は那智山に発し、那智大滝を経て那智湾に注ぐ全長 10km 程の河川である。河口より 3.4, 3.6 km 上流に西から流れ込む支流 (それぞれ支流 A, 支流 B とする) がありそれぞれの流域には銅鉱山廃坑、鉱業所跡、採掘した鉱滓を処理した沈殿池等がある。調査地点はこの2本の支流と本流に計6地点設定した。支流 A には合流点から 1.0km 上流にある廃坑の直下に地点 M-1, 合流点から 100m に地点 M-3, 支流 B の合流点から 1.1km 上流に地点 M-2, 支流 A と本流との合流点より 0.5km 上流の那智川に地点 M-4, M-4 より 0.6km 下流で支流 B の直上に地点 M-5, さらに合流点より下 0.3km 離れて地点 M-6 を設定した。

②紀州鉱山のある板屋川は熊野川の上流に当たる北山川に流れ込む全長 8.5km の河川である。板屋川のが北山川に流入する地点より 2.0km 上流に紀州鉱業所および殿池がありここから板屋川に汚染水が流入しておりこの一帯に鉱山が散在している。調査地点は板屋川に4地点、北山川に2地点の計6地点を設けた。板屋川には合流地点より 61.7km 上流に地点 K-1, 紀州鉱業所の排水が流入する地点直上の板屋川に地点 K-2 を、K-2 の下流 0.6km に地点 K-3, 北山川との合流点より 0.2km 上流を地点 K-4 とした。北山川には板屋川の流入点よりも 0.5km 上流に地点

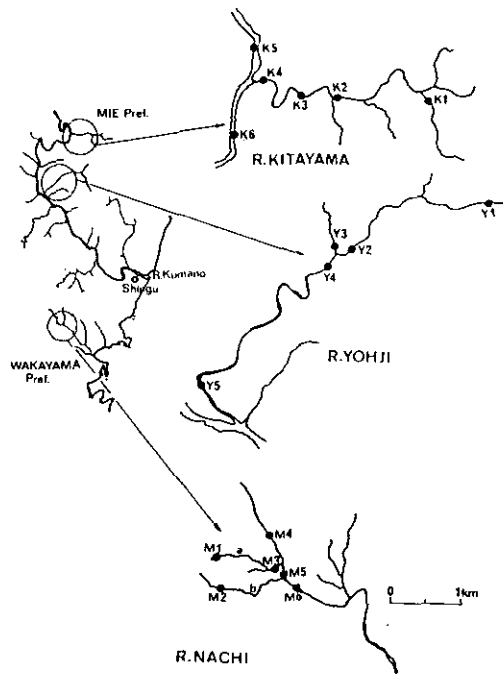


図1 調査地点

K-5, 下流 1.0km に地点 K-6 を設けた。

③北山川と新宮川が合流し熊野川となっているが合流点より下流 3.8km で熊野川に流入する全長 10.3km の河川が楊枝川である。楊枝川の合流点より 4.1km 上流に銅廃止鉾山がありその廃水が支流を通して注いでいる。この地域に計5地点を設定した。合流点より上流 6.7km に地点 Y-1 を、同じく 4.3km つまり鉾山排水入る点よりわずかに上流に地点 Y-2, 鉾山がある小さな支流に地点 Y-3, この支流が合流後 0.2km 程降った楊枝川に地点 Y-4, 及びさらに下流で熊野川から 0.8km 上流に地点 Y-5 を設定した。

## 2. 2 調査方法

ユスリカ幼虫の採集方法や後処理の方法は菅谷ら(1986)に従った。ただしユスリカ幼虫が高密度で出現した地点では拾い出した幼虫の一部を検鏡した。ユスリカの属の検索は幼虫形態を基に Wiederholm (1983)に従って行い、属以下については可能な限り分類した。環境要因として水温(横河サーミスタ温度計), pH(横河ガラス隔膜電極 pH メーター), 電気伝導度(東亜電波工業製携帯用電導度計 CM-1K), 及び流速を現場で測定した。河川水の重金属濃度は表流水を 250ml ポリエチレン製容器に入れて持ち帰りフレームレス原子吸光度計で定量した。

### 3 結果

#### 3.1 環境要因

①那智川では、地点 M-1, M-2 及び下流の M-3 の各地点は表流水の pH が著しく低く、鉱山廃水があまり希釈されていない地点である。重金属濃度もこの3地点特に高く、Cu 濃度はそれぞれ 380.6, 178.6, 379.1  $\mu\text{g l}^{-1}$  であった。地点 M-1 と M-3 は同じ支流の上下に設けたが Cu 濃度はほとんど同じであった。これらの地点の水温は他の地点に対して高いという点で共通していた。本流に入った後の地点である M-5 及び M-6 においては Cu 濃度、電気伝導度は対照地点である M-4 に比してかなり高く、鉱山廃水の影響が強く残っていた。

②北山川では、紀州鉱業所からの廃水が流入する地点 K-3 及び下流の K-4 の電気伝導度が高く、pH 値もそれぞれ 6.1, 6.2 と対照地点より低かった。水中重金属濃度は他の河川の汚染地点に比べれば低いものの対照地点とは明らかな差があった。地点 K-2 は紀州鉱業所からの廃水が直に流入する地点より上流に位置するが、さらに上流の支流からの汚染水のため重金属濃度は対照地点より高かった。対照地点として設定した地点 K-1, -5 及び北山川に流入した直後の地点 K-6 の水温、pH、電気伝導度値は互いによく一致しておりそれぞれ 7.2°C、ほぼ 7.2 及び 28  $\mu\text{S cm}^{-1}$  であり、水質分析結果では鉱山廃水の影響は本流に入ると同時に認められなくなった。

③楊枝川では対照地点として設定した地点 Y-1 以外の全地点で鉱山廃水の影響が確認された。最も汚染の著しかったのは地点 Y-3 であり、Cd, Cu, Zn の濃度はそれぞれ順に 4.1, 588, 997  $\mu\text{g l}^{-1}$  であった。地点 Y-3 を設けた支流が楊枝川本流に合流する地点の下流側に位置する地点 Y-4 及び Y-5 では Cu 濃度は地点 Y-3 のそれぞれ 1/9 及び 1/16 であり、ここで廃水が急激に希釈されているものと考えられる。しかしながら Cd と Zn 濃度は Cu 濃度と異なるパターンを示し Y-5 地点でわずかに増加した。このことから Y-3 より下流にも汚染源が存在が示唆された。なお、地点 Y-2 はこれら地点より上流に位置しているが重金属濃度はわずかではあるが対照地点より高かった(表 1)。

#### 3.2 出現したユスリカ科昆虫の種類

##### 3.2.1 種類・種数と汚染との関係

調査した 17地点の内、地点 M-1, M-2 以外の 15地点でユスリカの生息が確認された。幼虫での検索の結果出現したのはモンユスリカ亜科 2属 3種、ヤマユスリカ亜科 2属 2種、エリユスリカ亜科 14属 22種、ユスリカ亜科 5属 6種の合計 33種類であった。対照地点及び極めてわずかな汚染が確認されただけの地点ではユスリカ種数は 9~19種、一方汚染地点では 4~5種類で出現しただけであった(表 2, 3, 4)。

出現した 33種の内、対照地点及び汚染の程度のきわめて低い地点だけに出現した種は 16種類であった。それらの内出現頻度が比較的多かったのは *Nilotanytus* sp., *Orthocladius* sp. D, *Paraccladius* sp., *Neozavrelia* sp., *Eukiefferiella* sp. D 及び *Tanytarsus* sp. A であった。ま



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 ( $\mu S cm^{-1}$ )	流速 ( $m s^{-1}$ )	水中重金属濃度 ( $\mu g l^{-1}$ )		
						Cd	Cu	Zn
那智川	M-1	16.1	3.68	540	0.78	0.05	380.6	79.8
	M-2	9.7	5.38	48	0.35	-	178.6	7.1
	M-3	12.8	5.16	450	0.40	0.28	379.1	58.3
	M-4	9.5	6.76	40	0.63	-	7.2	0.9
	M-5	9.8	6.63	120	0.53	-	20.2	3.0
	M-6	9.7	6.86	120	0.30	-	19.2	7.1
北山川	K-1	7.2	7.21	28	0.50	-	3.4	3.9
	K-2	8.1	6.56	56	0.59	0.05	-	15.0
	K-3	8.9	6.10	105	0.49	0.32	25.6	59.5
	K-4	9.1	6.19	120	0.49	0.05	18.1	84.7
	K-5	7.2	7.15	28	1.35	0.03	0.9	2.9
	K-6	7.2	7.19	28	1.40	0.01	1.0	1.9
楊枝川	Y-1	6.3	6.78	20	0.41	0.12	1.3	0.9
	Y-2	6.7	7.02	52	0.51	0.29	25.4	82.9
	Y-3	8.9	4.47	145	0.20	4.14	588	996.9
	Y-4	7.0	6.37	62	1.02	0.48	64.5	143.9
	Y-5	7.8	6.26	70	0.56	0.61	36.4	160.0

た汚染地点にだけ出現し対照地点には生息していない種は5種類でその主なものは *Eukiefferiella* sp.A, *Thienemanniella* sp. 及び *Microtendipes* sp.であった。対照地点、汚染地点両方に出現する種は9種類で主なものは *Conchapelopia* sp.A, *Acamptocladus* sp., *Cricotopus* sp., *Eukiefferiella* sp.C, *Hydrobaenus* sp.A, *Orthocladus* sp.B, 及び *Polypedilum* sp.であり、これらの種類の生息密度は汚染地点で高かった。

汚染地点に広く分布していた *Orthocladus* 属, *Eukiefferiella* 属の種(タイプ)は幼虫の形態では他の重金属汚染河川のものと同様しているが詳細については検討中である。

### 3. 2. 2 ユスリカ幼虫の生息密度

#### ①那智川

地点 M-1 及び M-3 にはユスリカを含め底生生物は捕獲されなかった。地点 M-2 では *Polypedilum* sp.と *Eukiefferiella* sp.A が見られたが生息密度は低くかった。対照地点 M-4 ではユスリカ類の密度は高くなかった。地点 M-5 及び M-6 は互いに似た環境であり出現した種は共に5種、その内4種までが一致していた(表2)。両地点とも *Eukiefferiella* sp.A が優占しそれぞれ全体の72%、56%を占めた。

#### ②北山川

地点 K-1 では対照として設けた地点であり水質面では汚染は認められなかったがユスリカ類

表2 那智川のユスリカ幼虫の生息密度(1984年3月)

	調 査 地 点					
	M-1	M-2	M-3	M-4	M-5	M-6
(1) <i>Conchapelopia</i> sp. A	-	36	-	567	160	1,468
(2) <i>Conchapelopia</i> sp. B	-	-	-	-	-	-
(3) <i>Nilotanypus</i> sp.	-	-	-	47	-	-
[DIAMESINAE]						
(4) <i>Diamesa</i> sp.	-	-	-	-	-	-
(5) <i>Potthastia</i> sp.	-	-	-	-	-	-
[ORTHOCLADINAE]						
(6) <i>Acamptocladius</i> sp.	-	-	-	283	-	-
(7) <i>Chaetocladius</i> sp.	-	-	-	-	-	-
(8) <i>Corynoneura</i> sp.	-	-	-	47	-	-
(9) <i>Cricotopus</i> sp.	-	-	-	47	-	210
(10) <i>Eukiefferiella</i> sp. A	-	541	-	47	2,636	2,516
(11) <i>Eukiefferiella</i> sp. C	-	-	-	94	-	-
(12) <i>Eukiefferiella</i> sp. D	-	-	-	94	-	-
(13) <i>Eukiefferiella</i> sp. E	-	-	-	-	-	-
(14) <i>Eukiefferiella</i> sp. F	-	72	-	-	-	-
(15) <i>Euryhapsis</i> sp.	-	-	-	-	-	-
(16) <i>Hydrobaenus</i> sp. A	-	216	-	-	719	52
(17) <i>Hydrobaenus</i> sp. B	-	-	-	47	-	-
(18) <i>Nanocladius</i> sp.	-	-	-	-	80	-
(19) <i>Orthocladius</i> sp. A	-	-	-	-	-	-
(20) <i>Orthocladius</i> sp. B	-	-	-	-	-	-
(21) <i>Orthocladius</i> sp. C	-	-	-	-	-	-
(22) <i>Orthocladius</i> sp. D	-	-	-	472	-	-
(23) <i>Paratrichocladius</i> sp.	-	-	-	47	-	-
(24) (near) <i>Paracladius</i> sp.	-	-	-	47	-	-
(25) <i>Parorthocladius</i> sp.	-	-	-	47	-	-
(26) <i>Rheocricotopus</i> sp.	-	-	-	47	-	-
(27) <i>Thienemanniella</i> sp.	-	-	-	-	-	-
[CHIRONOMINAE-CHIRONOMINI]						
(28) <i>Microtendipes</i> sp.	-	-	-	-	-	-
(29) <i>Polypedilum</i> sp.	-	469	-	47	80	52
[CHIRONOMINAE-TANYTARSINI]						
(30) <i>Neozavrelia</i> sp.	-	-	-	-	-	-
(31) <i>Paratanytarsus</i> sp.	-	-	-	-	-	-
(32) <i>Tanytarsus</i> sp. A	-	-	-	142	-	-
(33) <i>Tanytarsus</i> sp. B	-	-	-	-	-	-
DENSITY(No. lnds/m <sup>2</sup> )	-	1,298	-	2,267	3,675	4,456
No. of species	-	5	-	16	5	5

全体の生息密度が高く、しかも汚染地点で多い *Paratrichocladius* sp. が約 3,000 m<sup>-2</sup> と全体の 40% を占めた。地点 K-2 は鉱山廃水が流入する地点のすぐ上流に位置し重金属濃度は低くかつ水性昆虫も豊富な割にユスリカの生息密度が大変高かった。ただしユスリカ用サンプル4個の中で個体数が大きくバラツキ、ユスリカの分布が一樣でなく不均一であることが示唆された。一方、ユスリカ群集の種組成は汚染区に多い種と非汚染区に頻出する種が混在していた。生息密度

の点では *Orthocladius* sp. B, *Conchapelopia* sp. A などの他の汚染区に多い種が優占していたが、対照区でのみ出現した *Neozavrelia* sp. なども見られた。つまりこの地点は、上流側の支流から流れ込んでいる汚染水の影響を部分的に受けているのか、もしくは影響は一様であったがそれがまだ部分的に残っており、したがってある部分ではほぼ回復して対照地点と同様の種が生息しており、他の部分では汚染水の影響がまだ残っているため他の汚染区で出現している種が高い密度で生息しているものと考えられる。地点 K-3 では *Orthocladius* sp. A, *Hydrobaenus* sp. A, *Eukiefferiella* sp. A が多く、他は多くなかった。地点 K-4 は水中重金属濃度は地点 K-3 と同程度であり、ユスリカ以外の水生昆虫が見られない代わりにユスリカ類が異常に高い密度で生息していた。出現した種は地点 K-3 とよく似ていたが種組成はより単純で *Orthocladius* sp. B が全体の 32%, *Cricotopus* sp. が 18% を占めたほか *Eukiefferiella* sp. A, *Hydrobaenus* sp. A 及び *Polypedilum* sp. がそれぞれ 10% 程度出現した (表 3)。

地点 K-5, K-6 は北山川本流に設けた地点で前者が本流上流の対照地点であり後者は汚染廃水合流後の地点である。水質分析の結果では両地点に明らかな差は見いだせなかったがユスリカ生息密度、種類数とも地点 K-6 は少なく地点 K-5 の半分であった。種組成では汚染地点に多い種と対照地点に頻出した種がそれぞれの地点で出現した。地点 K-5 では対照地点に多く見られた *Orthocladius* sp. C が全体の 46% を占めた。

### ③ 楊枝川

調査した汚染地点 (Y-2~Y-5) ユスリカ生息密度は何れも低くまた出現種数は4地点合計で9種それぞれは4~5種類であった。汚染地点に共通して出現したのは *Eukiefferiella* sp. A 及び *Polypedilum* sp. の2種であった。また対照地点として設定した地点 Y-1 では非汚染地点に出現する種を中心に9種が採取された (表 4)。

## 4 考察

重金属汚染河川では底生動物のユスリカ類が優占し生息密度は大変高い (Winner ら, 1980 ; Yasuno ら, 1985 ; 菅谷ら, 1986)。重金属汚染の底生動物群集に対する影響の特徴の一つはユスリカ以外の水生昆虫の生息密度・種が極端に減少することである。当然ユスリカ類の中にもこれら水生昆虫同様汚染の影響で生息できなくなる種があり、これに相当する種が対照地点でのみ見られた16種でありその主なものが *Nilotanytus* sp., *Orthocladius* sp. D, *Paracladius* sp., *Neozavrelia* sp., *Eukiefferiella* sp. D, 及び *Tanytarsus* sp. A であった。したがって種類数は重金属汚染によって急激に減少する事が容易に推測され、今回の調査でも対照地点が9~19種類のユスリカが生息していたのに対し、汚染地点では4~12種類で出現種類数が重金属汚染の一つの指標になることが明らかになった。また汚染の程度が甚しい場合はすべての種が生息できなくなるであろうがその限界の重金属濃度は今回の調査からは明らかにできなかった。

表3 北山川のユスリカ幼虫の生息密度(1984年3月)

	調査地点					
	K-1	K-2	K-3	K-4	K-5	K-6
[TANYPODINAE]						
(1) <i>Conchapelopia</i> sp. A	-	2,408	141	940	70	-
(2) <i>Conchapelopia</i> sp. B	830	-	-	-	-	-
(3) <i>Nilotanypus</i> sp.	227	-	-	-	-	-
[DIAMESINAE]						
(4) <i>Diamesa</i> sp.	-	-	-	-	47	-
(5) <i>Potthastia</i> sp.	-	-	-	-	-	184
[ORTHOCLADIINAE]						
(6) <i>Acanptocladius</i> sp.	31	116	13	-	47	-
(7) <i>Chaetocladius</i> sp.	-	-	-	-	-	-
(8) <i>Corynoneura</i> sp.	-	-	-	-	-	-
(9) <i>Cricotopus</i> sp.	258	613	350	3,290	47	-
(10) <i>Eukiefferiella</i> sp. A	-	-	895	1,880	23	-
(11) <i>Eukiefferiella</i> sp. C	123	1,142	49	705	70	-
(12) <i>Eukiefferiella</i> sp. D	172	357	-	-	47	92
(13) <i>Eukiefferiella</i> sp. E	-	-	-	-	-	-
(14) <i>Eukiefferiella</i> sp. F	-	-	-	-	-	-
(15) <i>Euryhopsis</i> sp.	-	35	-	-	-	-
(16) <i>Hydrobaenus</i> sp. A	-	1,530	981	1,645	23	-
(17) <i>Hydrobaenus</i> sp. B	-	-	-	-	-	-
(18) <i>Nanocladius</i> sp.	-	-	-	-	-	-
(19) <i>Orthocladius</i> sp. A	31	494	30	-	-	-
(20) <i>Orthocladius</i> sp. B	246	3,045	3,383	5,641	-	46
(21) <i>Orthocladius</i> sp. C	272	-	15	-	748	184
(22) <i>Orthocladius</i> sp. D	410	-	-	-	-	184
(23) <i>Paratrichocladius</i> sp.	2,914	1,749	110	-	117	46
(24) (near) <i>Paracladius</i> sp.	98	385	-	-	-	-
(25) <i>Parorthocladius</i> sp.	-	88	-	-	-	-
(26) <i>Rheocricotopus</i> sp.	57	146	-	-	-	-
(27) <i>Thienemanniella</i> sp.	-	223	28	235	-	-
[CHIRONOMINAE-CHIRONOMINI]						
(28) <i>Microtendipes</i> sp.	-	146	-	235	-	-
(29) <i>Polypedilum</i> sp.	-	347	41	1,410	47	-
[CHIRONOMINAE-TANYTARSINI]						
(30) <i>Neozavrelia</i> sp.	778	728	-	-	23	-
(31) <i>Paratanytarsus</i> sp.	-	-	-	-	-	-
(32) <i>Tanytarsus</i> sp. A	-	861	-	-	-	-
(33) <i>Tanytarsus</i> sp. B	-	281	-	-	-	-
DENSITY(No. Inds/m <sup>2</sup> )	7,240	15,206	6,494	17,863	1,613	875
No. of species	14	19	12	9	12	6

次の重金属汚染の影響の特徴は消えた水生昆虫のハビタートに残った生物が侵入し結果的にユスリカ類の生息密度の増加をもたらす点である。今回の調査では地点 K-2 で 15,206 m<sup>-2</sup>, 地点 K-4 で 17,863 m<sup>-2</sup> と対照地点よりもはるかに高い密度でユスリカが生息していた。今回の調査で異常に高い密度を記録したのはこの2地点だけであったが傾向として汚染地点の生息密度は非

表4 楊枝川のエスリカ幼虫の生息密度(1984年3月)

	調査地点				
	Y-1	Y-2	Y-3	Y-4	Y-5
(1) <i>Conchapelopia</i> sp. A	108	-	-	-	-
(2) <i>Conchapelopia</i> sp. B	162	-	-	-	-
(3) <i>Nilotanypus</i> sp.	108	-	-	-	-
[DIAMESINAE]					
(4) <i>Diamesa</i> sp.	-	-	-	-	-
(5) <i>Potthastia</i> sp.	-	-	-	-	-
[ORTHOCLADIINAE]					
(6) <i>Acamptocladius</i> sp.	-	-	-	-	-
(7) <i>Chaetocladius</i> sp.	54	-	-	-	-
(8) <i>Corynoneura</i> sp.	108	-	17	-	-
(9) <i>Cricotopus</i> sp.	270	83	-	-	-
(10) <i>Eukiefferiella</i> sp. A	-	417	17	44	1,008
(11) <i>Eukiefferiella</i> sp. C	-	-	17	11	-
(12) <i>Eukiefferiella</i> sp. D	162	-	-	-	-
(13) <i>Eukiefferiella</i> sp. E	54	-	-	-	-
(14) <i>Eukiefferiella</i> sp. F	-	-	-	-	-
(15) <i>Euryhapsis</i> sp.	-	-	-	-	-
(16) <i>Hydrobaenus</i> sp. A	-	750	-	22	-
(17) <i>Hydrobaenus</i> sp. B	-	-	-	-	-
(18) <i>Nanocladius</i> sp.	-	-	-	-	-
(19) <i>Orthocladius</i> sp. A	-	-	-	-	-
(20) <i>Orthocladius</i> sp. B	-	-	-	-	168
(21) <i>Orthocladius</i> sp. C	-	-	-	-	-
(22) <i>Orthocladius</i> sp. D	-	-	-	-	-
(23) <i>Paratrichocladius</i> sp.	-	-	-	-	56
(24) (near) <i>Paracladius</i> sp.	-	-	-	-	-
(25) <i>Parorthocladius</i> sp.	-	-	-	-	-
(26) <i>Rheocricotopus</i> sp.	-	-	-	-	-
(27) <i>Thienemanniella</i> sp.	-	-	-	-	-
[CHIRONOMINAE-CHIRONOMINI]					
(28) <i>Microtendipes</i> sp.	-	-	-	-	-
(29) <i>Polypedilum</i> sp.	54	1,750	100	55	168
[CHIRONOMINAE-TANYTARSINI]					
(30) <i>Neozavrelia</i> sp.	-	-	-	-	-
(31) <i>Paratanytarsus</i> sp.	-	162	-	-	-
(32) <i>Tanytarsus</i> sp. A	-	-	-	-	-
(33) <i>Tanytarsus</i> sp. B	-	-	-	-	-
DENSITY(No. Inds/m <sup>2</sup> )	1,080	3,162	150	133	1,400
No. of species	15	4	4	4	4

常に低いかその水系に設定した対照地点より数倍高いものであった。これに寄与したエスリカ種は汚染地点及び対照地点の両方に出現した合計9種の内、汚染地点で生息密度または相対的出現頻度が増加した *Conchapelopia* sp. A, *Cricotopus* sp., *Hydrobaenus* sp. A, *Orthocladius* sp. B, 及び *Polypedilum* sp. であり特に *Cricotopus* sp., *Orthocladius* sp. B, 及び *Polypedilum* sp. は汚染地点でしばしば高い生息密度を記録している。

さらに重金属汚染の影響で生息できなくなった種が占めていたニッチェに入り込む種が考えられる。Yasunoら(1985), 菅谷ら(1986)が東北地方で重金属汚染地点に特異的に出現する種としてあげた数種のユスリカがこれに相当する。本調査では汚染地点にのみ出現した種は5種類あり, この内 *Eukiefferiella* sp. A が調査した汚染地点3か所で優占していた。この種が東北地方で見いだされた種と同じであるかは検討を要するが幼虫形態では差がなく同一種である可能性が高い。詳しくは成虫を捕えて比較する必要がある。少なくとも今回の調査からも重金属汚染に特異的な種が確認されたことになる。

今回調査した地点で激しく汚染された地点は pH が 3.68~5.18 と弱酸性という点で一致していた。Roback(1957) は pH 4~5 以下の河川から合計 12種のユスリカを捕えているが生息密度については触れていない。したがって pH が低いという理由だけでユスリカが生存できないとは考え難い。

ユスリカ科昆虫の分類は通常雄成虫で行われてきており一部の種を除けば幼虫形態で種を決定することは困難である。そのためユスリカ幼虫を飼育し羽化させ種名を決定することが提唱され (Pinder, 1978) ているが, 現段階では属レベルまでの検索が可能となっているだけである。したがって重金属汚染河川のユスリカについて種レベルまで同定している研究は少なく Winner ら (1980) 以外に見られない。また, 種の決定には至っていないが幼虫形態から種または種グループの判別を行って研究には Yasunoら(1985), 菅谷ら(1986) がある。本報告でも同じ属に分類されながら汚染地点に多い種と反対に非汚染地点にのみ出現する種の存在が確認されており, 種レベルまでの同定が決定的に必要であることが示唆された。

#### 引用文献

- Pinder, L. C. V. (1978): A key to adult males of British Chironomidae. *Freshwater Biol. Assoc. Sci. Publ.* No. 37, 1, 169p.
- Roback, S. S. (1957): The immature tendipedids of the Philadelphia area (Diptera: Tendipedidae). *Monographs of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia.* No. 9, 152p.
- 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.
- 菅谷芳雄・安野正之・畠山成久(1986): 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。国立公害研究所研究報告, 第99号, 49-58.
- Wiederholm, T. (ed.) (1983): Chironomidae of the Holarctic region. Keys and diagnosis Part. I Larevae. *Ent. Scand. Suppl.*, No. 19, 457p.
- Winner, R. M., 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.
- 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.

河川性付着藻類の重金属耐性の違いについて  
—光合成活性に及ぼす銅、カドミウム、亜鉛の影響—

高村典子<sup>1</sup>・笠井文絵<sup>2</sup>・渡辺 信<sup>3</sup>

Differences in the Tolerant Level of Benthic Algae to Heavy Metal

—The Effects of Cu, Cd, and Zn on the Photosynthesis—

Noriko TAKAMURA<sup>1</sup>, Fumie KASAI<sup>2</sup> and Makoto M. WATANABE<sup>3</sup>

Abstract

Thirty isolates, comprising 25 species of benthic algae, were obtained from the River Miyata running the copper mining region of Hitachi, and from several unpolluted rivers in the adjacent area. All isolates were tested for photosynthetic activity when exposed to Cu, Cd, and Zn. The isolates of diatoms and green algae from the polluted sites were resistant to Cu which was present in their habitats. These isolates excluding *Stigeoclonium aestivale* and *Surirella angustata* were also resistant to Cd and Zn. However, all isolates of blue-green algae were intolerant in terms of photosynthetic activity, although they were collected from polluted sites. Tolerant mechanisms of such blue-green algae remained unknown. Among the isolates collected from unpolluted sites, *Chlorobion braunii* was tolerant to all metals, and *Klebsormidium klebsii*, *Surirella ovata* var. *pinnata*, *Pinnularia substomatophora*, and *P. brevicostata* were tolerant to Cd, and *Spirogyra* sp. was tolerant to Zn.

要 旨

主に銅により汚染されている河川日立市宮田川及びその周辺の非汚染河川から単離培養した河川性付着藻類 25種 30クローンについて、その光合成活性に及ぼす銅、カドミウム、亜鉛の影響を調べた。汚染地区から単離したケイ藻と緑藻については

1. 国立公害研究所 生物環境部 〒305 茨城県つくば市小野川16番2  
Environmental Biology Division, the National Institute for Environmental Studies,  
16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
2. 国立公害研究所 技術部 〒305 茨城県つくば市小野川16番2  
Engineering Division, the National Institute for Environmental Studies, 16-2  
Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
3. 国立公害研究所 水質土壌環境部 〒305 茨城県つくば市小野川16番2  
Water and Soil Environment Division, the National Institute for Environmental  
Studies, 16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

すべて、銅への抵抗性があった。これらの種はカドミウムや亜鉛にも強い傾向があったが、*Stigeoclonium aestivale* と *Surirella angustata* は、銅以外の金属には弱かった。しかし、ラン藻類は汚染地区から採取したにもかかわらず、すべての金属に弱かった。ラン藻類の耐性機構については今後の検討課題である。非汚染地区から単離した種でも緑藻の *Chlorobion braunii* はすべての金属に強く、*Klebsormidium klebsii*, *Surirella ovata* var. *pinnata*, *Pinnularia substomatophora*, *P. brevicostata* はカドミウムのみ強く、*Spirogyra* sp. は亜鉛にのみ強かった。

## 1 はじめに

河川の着生藻類の重金属に対する指標性の研究は、主にこれまで鉱山排水の流入する重金属汚染河川での調査によりなされてきた（福島，1987）。これらの河川では非汚染河川に比べ着生藻類の種多様性が低くなり、種類組成も変化することが知られているが、その種構成はまちまちである。出現する藻類種のうちケイ藻の *Achnanthes minutissima*、ラン藻類の *Phormidium luridum* など共通に出現する頻度が高い種類もいくつかあるが、そうでない種も多い。野外では、1)重金属の濃度が異なる、2)数種の重金属が混在しその割合が異なる、3)pH、窒素、リン、水温、光環境など重金属以外に藻類の成長を規定する要因が異なる、4)生物間での相互作用が場により異なる、などが複合的に作用するためと考えられる。また、重金属汚染河川に優占する藻類種は非汚染河川でも優占するし、藻類種の生態学的知見も乏しいので、野外での藻類組成とそれを取り巻く生物を含めた環境の測定を基にした解析だけから藻類種を重金属の指標として一般化するのは難しい。

重金属の生物への毒性はその化学形態で大きく異なることが知られているが、化学形態別に重金属の定量を自然の河川水で行うことが困難である現時点で、ある重金属に対してどの種がどの程度強いかという比較は、野外調査からは明らかにならない。また、重金属汚染河川に優占する「耐性」種の形質が遺伝的に決められたものなのか、あるいは場に適応した結果なのか、これらの知見を得ることは種の指標性を議論する上で不可欠であろう。我々は、これらの点を明らかにする目的で重金属汚染河川の調査と平行して、さまざまな汚染河川から単離培養した藻類種の成長に及ぼす重金属の阻害濃度を調べている。

本報告では、主に重金属汚染河川日立市宮田川とその周辺地域から単離した付着藻類 25種 30クローンの単藻株について光合成速度に及ぼす銅、カドミウム、及び亜鉛の影響について調べた。

## 2 方法

### 2.1 藻の分離培養

藻は重金属汚染河川日立市宮田川、西茨城郡七会村高取川及び周辺の非汚染河川から採取した。藻の懸濁液を CSi 寒天平板培地に塗布し、20℃ 5000 lx で約1か月培養した。形成されたコロニーをキャピラリーを用いて実体顕微鏡下で分離した。ケイ藻は CSi 培地、緑藻は C 培地、ラ



ン藻類は MA 又は CB 培地 (渡辺・笠井; 1985) のそれぞれに分離し 20°C 2000 lx で培養した。これらが増殖した後、各株の少量を CSI 寒天平板培地に分離することによりクローン化を行い、単藻株とした。*Stigeoclonium*, *Spirogyra* など比較的大きい種類は、天然サンプルからピベット洗浄法で直接液体培地に分離した。

## 2. 2 藻の同定

緑藻及びラン藻は、光学顕微鏡による形態観察に基づき、ラン藻は Geitler (1932)、緑藻クロロコクム目は Komarek & Fott (1983)、オオヒゲマワリ目は Ettl (1976)、糸状及び分岐状緑藻は Ramanathan (1964)、Printz (1964)、Islam (1863)、Hazan (1902) によって同定した。ケイ藻は酸処理を行った後、光顕及び走査型電顕写真を撮影し、Patrick & Reimer (1966, 1975)、Hustedt (1932)、Germain (1981) によって同定した。

## 2. 3 重金属添加による光合成速度の測定

実験に用いた単藻株は、20°C 5000 lx CSI 培地 (表 1) で培養し、指数的に増殖中のものを使用した。単藻株は、遠沈又はろ過によりミリポアメンブランフィルター (3  $\mu\text{m}$  or 5  $\mu\text{m}$ ) 上に集め、ろ過滅菌した試験培地 (表 1) で洗った後、少量の試験培地に浮遊させた。一方、ろ過滅菌した試験培地は 100 ml の BOD 瓶に入れ各濃度の重金属を添加した後、先に用意した試験株を一定量ずつ添加し、20°C で 24 時間<sup>1)</sup> 暗条件においた。その後、 $\text{NaH}^{13}\text{CO}_3$  (90.0 atom%) を 250  $\mu\text{g}$  加え、20°C の温度設定をした恒温水槽に入れ、300W のタングステンランプ 4 基で光照射を 1~4 時間行った。BOD 瓶は直径 40 cm の透明アクリル板に取り付け、光源方向を軸として 10 rpm で回転させた。照射光量は 300~400  $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$  に設定した。光照射終了後、BOD 瓶は直ちに氷を入れた暗箱に移し、藻は GF/C フィルター上にろ過した。フィルターは乾燥させた後、質量分析計 (日電アネルバ、TE150) で藻の  $^{13}\text{C}$  と  $^{12}\text{C}$  量を測定した。培地中の無機炭素量は全炭素量分析計 (O. I. Corporation Model 700) で測定した。藻の炭素の取り込み量  $P(\text{h}^{-1})$  は次式により計算した (Hamaら; 1983)。

$$P = (a_2 - a_0) / t / (a_1 - a_0) \quad (1)$$

ただし、 $t$  は照射時間 (hour)、 $a_0$  は培地 ( $\text{NaH}^{13}\text{CO}_3$  を加える前) 中の  $^{13}\text{C} / (^{12}\text{C} + ^{13}\text{C})$  比、 $a_1$  は光照射開始時の溶存無機炭素中の  $^{13}\text{C} / (^{12}\text{C} + ^{13}\text{C})$  比、 $a_2$  は光照射後の藻の炭素中の  $^{13}\text{C} / (^{12}\text{C} + ^{13}\text{C})$  比である。光合成量は重金属を添加しなかった時の光合成量を 100 とした相対値で表した。

銅は  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、カドミウムは  $\text{CdCl}_2 \cdot 5/2\text{H}_2\text{O}$ 、亜鉛は  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  の形で添加した。銅は 0

<sup>1)</sup> あらかじめ 0, 1, 2, 4, 8, 24, 48, 72 時間暗条件においた予備実験の結果、8, 24, 48 時間は安定した値となったため、24 時間に統一した。

表1 培地の組成

	CSI培地	*試験培地
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	635.2 μM	635.2 μM
KNO <sub>3</sub>	989.0 μM	989.0 μM
β-Na <sub>2</sub> glycerophosphate xH <sub>2</sub> O	170.0 μM	-
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	162.3 μM	162.3 μM
Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub> ·9H <sub>2</sub> O	351.9 μM	(176.0 μM)
Thiamine	29.0 nM	-
Biotine	0.4 nM	-
Vitamine B <sub>12</sub>	0.07 nM	0.007 nM
FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O	2.175 μM	0.218 μM
MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	545.7 nM	-
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	229.5 nM	-
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	50.4 nM	-
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	31.0 nM	-
Na <sub>2</sub> EDTA·2H <sub>2</sub> O	8.059 μM	-
HEPES	2.1 mM	2.1 mM
pH	7.0	7.0

\*Na<sub>2</sub>SiO<sub>3</sub>·9H<sub>2</sub>Oはケイ藻に限って使用した。

~20 μM, カドミウムは0~1000 μM, 亜鉛は0~1500 μMの範囲で試験培地中に添加したが, 試験培地中の銅の化学形態は Cu<sup>2+</sup> が全銅の 40.34%, CuOH<sup>+</sup> が 40.34%, CuOH<sub>2</sub> が 19.31%である。カドミウムの化学形態は Cd<sup>2+</sup> が 100%, 亜鉛は Zn<sup>2+</sup> が 99.99%である。

### 3 結果

今回試験を行った 25種 30クローンのリストと藻の採取場所, 及び光合成速度の半阻害濃度は表2に示した。宮田川の St.1, 2, 3 は汚染地点で河川水中の全銅の濃度が1~3 μM, 全カドミウムの濃度が0.09 μM以下, 全亜鉛の濃度が3~10 μM(畠山; 私信), 高取川も汚染地点で河川水中の全銅の濃度が3~16 μM, 全カドミウムの濃度が0.05 μM以下, 全亜鉛の濃度が1~25 μM(畠山; 私信), 小坂川も汚染地点で河川水中の全銅が0.3~1.6 μM, カドミウムが0.1 μM以下, 全亜鉛が3 μM程度(安野・畠山; 1984, 畠山ら; 1986)である。他(宮田川 St.0, 筑波山, 尾瀬)は非汚染地区である。

図1はケイ藻(10種 12クローン)の光合成速度に及ぼす銅, カドミウム, 及び亜鉛の影響を示した。銅については, 非汚染地区から単離した7種の光合成速度の半阻害濃度が, 0.06~0.58 μMなのに比べ, 汚染地区から単離した *Achnanthes minutissima* のそれは15.7 μM, *Surirella angustata* のそれは20 μM以上と高く, 汚染地区のケイ藻が銅に対して耐性があることが明らかになった。亜鉛に対しても銅と同じ傾向を示したが, 銅に対するほどクリアでなく, 汚染地区から単離した *Surirella angustata* と非汚染地区から単離した *Synedra* sp. の半阻害濃度は203~212 μMと, あまり違いがない種もあった。カドミウムに対しては, *Pinnularia* 2種が強く, 次いで *Achnanthes minutissima* と *Surirella ovata* var. *pinnata* が残りの種に比べ強かった。

表2 単離した藻類種と採取地点及び銅、カドミウム、亜鉛に対する光合成速度の半阻害濃度( $\mu\text{M}$ )

	Cu	Cd	Zn
Cyanophyceae			
1. <i>Chamaesiphon subglobosus</i> Lemmermann (Miyata R. St.2)	0.75	76.7	85.0
2. <i>Phormidium ramosum</i> Boye-Pet (Takatori R.)	1.57	7.5	55.6
3. <i>P. foveolarum</i> Gom. (Miyata R. St.2)	0.46	32.2	85.3
Bacillariophyceae			
4. <i>Achnanthes minutissima</i> Kutz. (Kosaka R.)	>20	201.3	401.7
5. <i>A. minutissima</i> Kutz. (Miyata R. St.1)	15.7	311.0	504.1
6. <i>A. minutissima</i> Kutz. (Miyata R. St.2)	>20	274.4	1145.8
7. <i>A. minutissima</i> Kutz. (Miyata R. St.3)	>20	141.9	513.2
8. <i>Surirella angustata</i> Kutz. (Miyata R. St.3)	6.0	55.1	212.5
9. <i>A. lanceolata</i> var. <i>lanceolata</i> Breb. ex Kutz. (Miyata R. St.0)	0.27	38.1	40.0
10. <i>Gomphonema angustatum</i> var. <i>obtusatum</i> (Kutz.) Grun. (Mt. Tsukuba)	0.31	12.7	50.9
11. <i>Neidium bisulcatum</i> var. <i>baicalense</i> (Skv. & Meyer) Reim. (Miyata R. St.0)	0.06	58.9	35.0
12. <i>Pinnularia substomatophora</i> Hust.(Oze)	0.17	>2000	65.4
13. <i>P. brevicostata</i> Cl.(Miyata R. St.0)	0.15	>2000	144.1
14. <i>S. ovata</i> var. <i>pinnata</i> W. Smith (Miyata R. St.0)	0.31	290.9	49.9
15. <i>Synedra</i> sp. (Miyata R. St.0)	0.58	28.3	203.4
Chlorophyceae			
16. <i>Chlorella vulgaris</i> Beij. (Miyata R. St.2)	>20	222.4	510.5
17. <i>C. vulgaris</i> Beij.(Miyata R. St.3)	>20	339.2	513.5
18. <i>Chlamydomonas pulvinata</i> Vischer (Miyata R. St.3)	>20	>2000	>1500
19. <i>Franceia amphitricha</i> (?) (Lagerh.) Hegew. (Miyata R. St.3)	>20	>2000	>1500
20. <i>Scenedesmus acutus</i> Meyen (Miyata R. St.3)	>20	331.5	>1500
21. <i>S. acutus</i> Meyen (Miyata R. St.1)	8.17	358.0	>1500
22. <i>Oocystis lacustris</i> Chod. (Miyata R. St.2)	>20	973.9	>1500
23. <i>Chlorolobion braunii</i> (Nag.) Kom. (Miyata R. St.0)	15.2	>2000	331.9
24. <i>Klebsormidium subtile</i> (Kutz.) Heering (Miyata R. St.1)	>20	1474.6	>1500
25. <i>Ulothrix variabilis</i> (Kutz.) Kutz. (Takatori R.)	>20	593.7	>1500
26. <i>Uronema confervicolum</i> Lagerheim (Miyata R. St.2)	>20	148.0	>1500
27. <i>Stigeoclonium aestivale</i> (Hazen) Collins (Miyata R. St.3)	19.51	66.7	207.6
28. Chaetophoraceae ( <i>Gongrosira</i> ?)(Miyata R. St.1)	>20	1322.3	511.7
29. <i>Spirogyra</i> sp. (Mt. Tsukuba)	0.20	86.6	>1500
30. <i>Klebsormidium klebsii</i> G.M. Smith (Mt. Tukuba)	0.84	368.8	181.2

図2に緑藻のクロロコックム目及びオオヒゲマワリ目(6種8クローン)の結果を示した。これらはすべて3種の重金属に対して耐性を示した。特に *Chlamydomonas pulvinata* は重金属を添加した方が光合成速度はあがるので、好重金属性と呼べるかもしれない。

図3にその他の糸状性緑藻(7種)の試験結果を示す。銅については、ケイ藻と同様に単離した地点の環境をよく反映して汚染地区から取った種は強く、非汚染地区から単離した種の半阻害濃度は、0.20~0.84  $\mu\text{M}$  と低かった。亜鉛に対しては、クロロコックム目ほどではないが比較的強い傾向があった。しかし、汚染地区から単離した *Stigeoclonium aestivale*、非汚染地区から単離した *Klebsormidium klebsii* の半阻害濃度は 208, 181  $\mu\text{M}$  と低めであった。カドミウムに

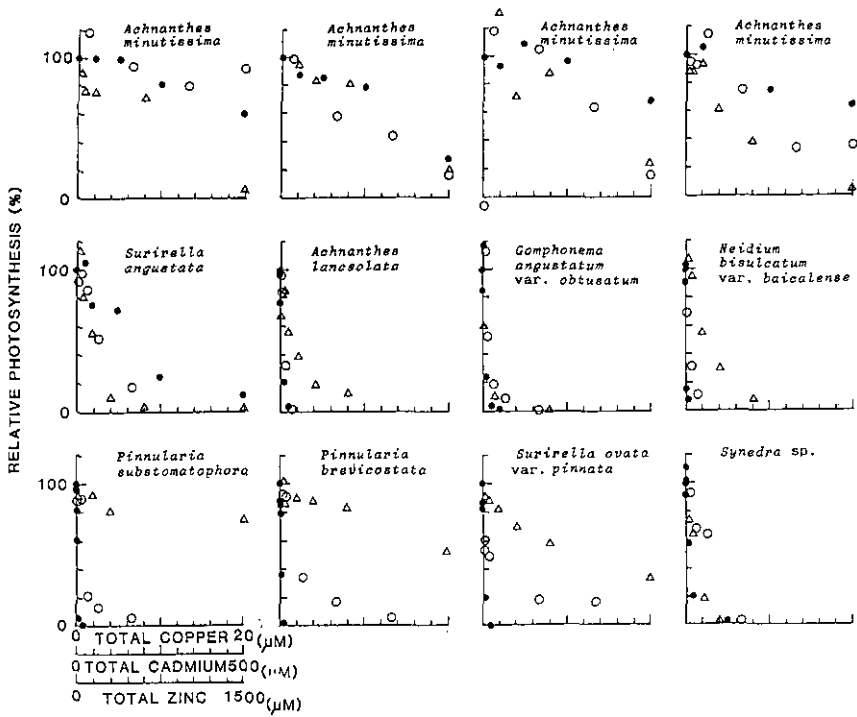


図1 ケイ藻の光合成速度に及ぼす銅、カドミウム、亜鉛の影響

● : Cu, △ : Cd, ○ : Zn

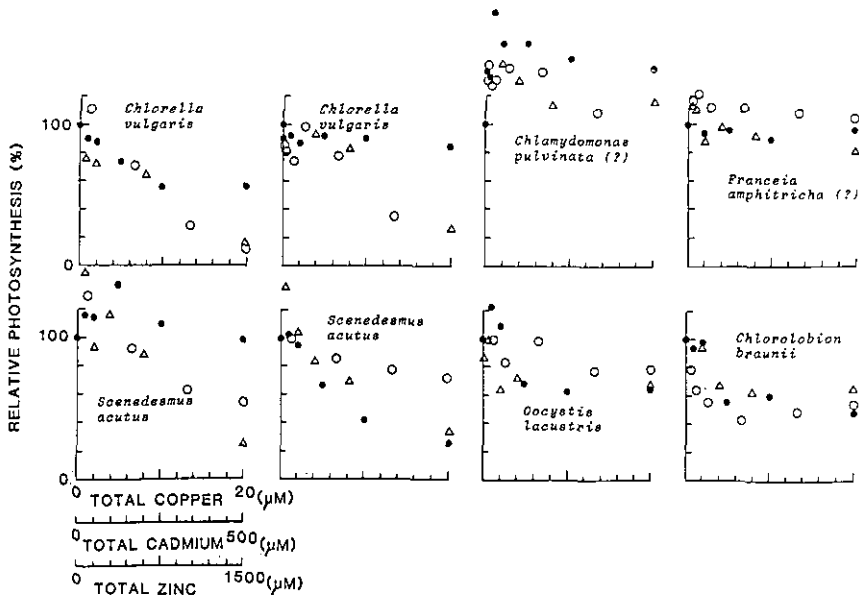


図2 緑藻(Chlorococcales and Volvocales)の光合成速度に及ぼす銅、カドミウム、亜鉛の影響

● : Cu, △ : Cd, ○ : Zn

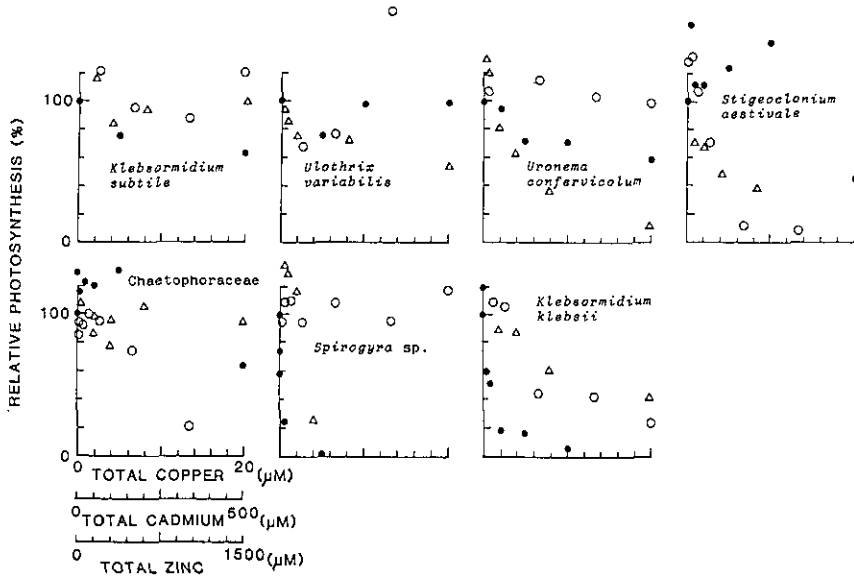


図3 緑藻(Chlorococcales and Volvocales)の光合成速度に及ぼす銅, カドミウム, 亜鉛の影響

● : Cu, △ : Cd, ○ : Zn

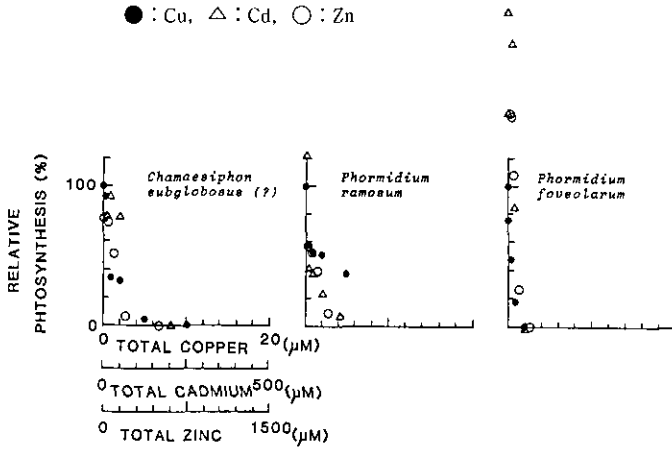


図4 ラン藻の光合成速度に及ぼす銅, カドミウム, 亜鉛の影響

● : Cu, △ : Cd, ○ : Zn

対しては *Spirogyra* sp. を除いてどの種も強い傾向を示したと言える。

図4は汚染地区から単離したラン藻3種の結果を示す。いずれの種も汚染地区から単離したにもかかわらず銅, カドミウム, 亜鉛のいずれにも弱かった。

#### 4 考察

個々の重金属の藻類への阻害濃度の決定は、生長速度か光合成速度の測定により行われており銅では  $1 \sim 2 \mu\text{g l}^{-1}$  から  $10 \text{ mg l}^{-1}$ , カドミウムでは  $60 \mu\text{g l}^{-1}$  から  $20 \text{ mg l}^{-1}$ , 亜鉛では  $2.4 \text{ mg l}^{-1}$  から  $20 \text{ mg l}^{-1}$  という値が報告されている (Raiら; 1981)。これらの試験はほとんど

生理実験の材料として確立された単藻株 (*Scenedesmus* や *Chlorella* が多い) が natural population を用いたものである。阻害濃度は試験方法、特に培地の組成により大きく異なるので今回のデータをこれらと単純に比較することはできないが、今回の銅と亜鉛の阻害濃度はだいたいこの範囲に入っていた。しかしカドミウムは1ケタ大きな値であった。

本試験方法は、1)重金属と complex をつくるキレート剤や重金属と沈澱をおこすリン酸塩などを培地にいれなくてすむ、2)短時間の試験のため添加した重金属の濃度が変わらない、3)重金属と complex を作る藻類の体外代謝産物の影響を考えなくてよい、さらに、4)多くの藻の試験をするのに簡便である、など多くの利点がある。しかし、本研究で用いたものと同じ株で小坂から単離した *Achnanthes minutissima* の生長速度に及ぼす銅の半阻害濃度は  $2.96 \mu\text{M}$  で(渡辺ら; 1987) 本研究での値より1ケタ低い値であった。今回のような重金属の24時間暴露という試験方法は、何日間かの生長速度でみていく方法に比べ感度がおちるのかもしれない。また、銅については *Ankistrodesmus falcatus* で Photosystem-II が阻害される (Shioiら; 1978) という報告があるが、カドミウム、亜鉛については光合成経路を阻害するという報告はなく、光合成速度の低下は二次的に起こり感度がおちるのかもしれない。しかし、Davies & Sleep (1979) は海域の植物プランクトンについて亜鉛を添加して約1日後に、 $20\sim 30 \mu\text{g l}^{-1}$  という低濃度で炭素の取り込みが半分以下になった、と報告している。

Foster (1982) は銅、鉛、亜鉛の旧鉱山地域の河川から87種 200クローンの緑藻の重金属に対する試験を行い、いずれも生息場所にある金属への抵抗性があったと結論した。今回の研究結果からも緑藻とケイ藻については同様の結論を得た。しかし、ラン藻類3種は汚染地区から採取したにもかかわらずいずれも弱かった。培養によって重金属に対する耐性が野外で生育していた状態と異なってしまったのであろうが、藻自身の遺伝形質が変わったとは考えにくい。*Microcystis* などは培養により群体を作らなくなることがよく知られており、付着性のラン藻類についても細胞を囲む粘性物質が培養することでなくなることは容易に考えられる。これらのラン藻類のように藻自身に存する遺伝的な形質によらない重金属への耐性機構も自然の河川では存在するのかもしれない。一方、Foster (1982) は緑藻の中でゼラチン質をもつ *Chlamydomonas* や *Gloeococcus* は重金属に対して強いと述べており、細胞が分泌するこれらの物質の一つの耐性機構が存在する可能性は高いと言える。

汚染地区から単離した銅耐性種はカドミウムや亜鉛にも強い傾向はあった。非汚染地区から単離したにもかかわらず3種の金属に強かった *Chlorolobion braunii*、カドミウムにのみ強い *Klebsormidium klebsii*、*Surirella ovata* var. *pinnata*、*Pinnularia substomatophora*、*P. brevicostata*、亜鉛にのみ強い *Spirogyra* sp. など、重金属への耐性の機能を遺伝的に備えていたものもあった。今後はもっと多くの種についての知見を得るとともに、重金属環境の異なった生育場所から採取した同一種の試験なども進め、種ごとの比較、適応の程度なども明らかにしていく予定である。

## 謝 辞

藻類種の同定に関しては国立科学博物館渡辺真之博士に御教授頂いた。培地の重金属の化学形態、及びその測定方法に関しては国立公害研究所 計測技術部 野尻幸宏博士と河合崇欣博士に御教授頂いた。また、計測技術部柴田恵子氏には、ケイ藻の走査電子顕微鏡写真を撮影して頂いた。これらの方々に記して感謝の意を表します。

## 引用文献

- Davis, A. G., J. A. Sleep (1979): Photosynthesis in some British coastal waters may be inhibited by zinc pollution. *Nature*, 277, 292-293.
- Ettl, H. (1976): Die Gattung *Chlamydomonas* Ehrenberg. *Beih. Nova Hedw.*, 49, 1-1122.
- Foster, P. L. (1982): Metal resistances of Chlorophyta from rivers polluted by heavy metals. *Freshwater Biol.*, 12, 41-61.
- 福嶋 悟 (1987): 重金属汚染河川に形成される付着藻類群落。水域における生物指標の問題点と将来。安野正之・岩熊敏夫編, 「水界生態系に及ぼす有害汚染物質汚染物質の影響評価に関する研究」シンポジウム報告, 1-15.
- Geitler, L. (1932): Cyanophyceae. In *Kryptogamenflora von Deutschland, Osterreich und der Schweiz*, vol. 14, L. Rabenhorst (ed.), Akademische Verlagsgesellschaft, Leipzig, 1056p.
- Germain, H. (1981): Flore des Diatomees societe Nouvelle des Editions Boubee, Paris, 441p.
- Hama, T., T. Miyazaki, Y. Ogawa, T. Iwakuma, M. Takahashi, A. Otsuki and S. Ichimura (1983): Measurement of photosynthetic production of marine phytoplankton population by using a stable  $^{13}\text{C}$  isotope. *Mar. Biol.*, 73, 31-36.
- Hazen, T. E. (1902): The Ulothricaceae and Chaetophoraceae of the United States. *Mem. Torrey Bot. Club*, 11, 135-250.
- 畠山成久・佐竹 潔・福島 悟 (1986): 重金属汚染河川の生物相 1. 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。国立公害研究所研究報告, 第99号, 15-33.
- Hustedt, F. (1930): Bacillariophyta. In: *Die Susswasser-Flora mitteleuropas* vol. 10, A. Pascher (ed.), Verlag von Gustav Fischer, Jena, 466p.
- Islam, A. K. M. N. (1963): Revision of the genus *Stigeoclonium*. *Beih. Nova Hedw.*, 10, J. Cramer, Weinheim, 1-164p.
- Komarek, J. and B. Fott (1983): Chlorophyceae (Grünalgen) Ordnung: Chlorococcales. In *Das Phytoplankton des Susswassers*, vol. 7, (Huber-Pestalozzi, G. Ed.) Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart, 1-1044p.
- Patrick, R. and C. W. Reimer (1966): The Diatoms of the United States exclusive of Alaska and Hawaii. Vol. 1, Fragilariaceae, Eunotiaceae, Achnantheaceae, Naviculaceae. *Monogr. Acad. Nat. Sci. Phila.* 13, 688p.
- Patrick, R. and C. W. Reimer (1975): The Diatoms of the United States exclusive of Alaska and Hawaii. Vol. 2, Part. 1. Entomoneidaceae, Cymbellaceae, Gomphonemaceae, Epithemiaceae. *Monogr. Acad. Nat. Sci. Phila.* 13, 213p.

- Printz, H. (1964): Die Chaetophorales der Binnengewässer. *Hydrobiol.*, 24, 1-376.
- Ramanathan, K. R. (1964): Ulotricales. Indian Council of Agricultural Research, New Dehli. 188p.
- Rai, L. C., J. P. Gaur and H. D. Kumar (1981): Phycology and heavy-metal pollution. *Biol. Rev.*, 56, 99-151.
- Shioi, Y., H. Tamai and T. Sasa (1978): Inhibition of photosystem II in the green alga Ankistrodesmus falcatus by copper. *Phycologia Plantarum*, 44, 434-438.
- 渡辺 信・笠井文絵 (1985): 国立公害研究所微生物保存株リスト, 第一版, 微細藻類, 114p.
- 渡辺 信・竹内裕一・高村典子 (1988): Achnanthes minutissima に対する銅の耐性機構について. 国立公害研究所研究報告, 第114号, 233-243.
- 安野正之・畠山成久 (1984): 小坂川における重金属汚染を指標とする生物相. 国立公害研究所研究報告, 第62号, 7-17.



## 附着ケイ藻 *Achnanthes minutissima* の 銅耐性機構について

渡辺 信<sup>1</sup>・竹内裕一<sup>2</sup>・高村典子<sup>2</sup>

### Copper Tolerance of Benthic Diatom *Achnanthes minutissima*

Makoto M. WATANABE<sup>1</sup>, Yuichi TAKEUCHI<sup>2</sup> and Noriko TAKAMURA<sup>2</sup>

#### Abstract

Copper tolerance mechanisms of *Achnanthes minutissima* were examined using axenic culture. Chemical forms of copper in the medium that cause growth inhibition of *A. minutissima* were revealed to be  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{CuOH}^+$ ,  $\text{Cu}_2(\text{OH})_2^{2+}$  and  $\text{CuCl}^+$ . The relationship between the growth rate ( $\mu$ ) and the total concentration (T-Cu) of these copper species was obtained as follows:

$$\mu = \mu_{\min} + \frac{\mu_{\max} - \mu_{\min}}{1 + k [\text{T-Cu}]^2}$$

where  $\mu_{\max}$ =maximum growth rate;  $\mu_{\min}$ =minimum growth rate;  $k=0.114 \times 10^{12}$  mole<sup>-2</sup> l<sup>2</sup>. The concentration of T-Cu causing 50% inhibition of growth of *A. minutissima* was 2.96  $\mu\text{M}$ . Most of copper added remained in the ambient medium or was absorbed to the frustules and the cell walls. The content of intracellular copper was very low and a part of it bound to proteins having higher molecular weight than that of metallothionein. The amounts of organic acids secreted by *A. minutissima* increased with increasing concentration of copper added. The organic acids may perhaps form complexes with intracellular copper and transport it outside the cell or, more probably, form complexes with extracellular copper in the medium. From the results, tolerance mechanisms of *A. minutissima* to high concentration of copper were supposed to be 1)exclusion, 2)intracellular detoxification, 3)extrusion, and 4)extracellular detoxification of copper.

#### 要 旨

附着ケイ藻 *Achnanthes minutissima* の増殖阻害因子として作用する銅種は、少なくとも  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{CuOH}^+$ 、 $\text{Cu}_2(\text{OH})_2^{2+}$ 及び  $\text{CuCl}^+$ の4種であることがわかった。本種

1. 国立公害研究所 水質土壌環境部 〒茨城県つくば市小野川16番2  
Water and Soil Environment Division, the National Institute for Environmental Studies, 16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
2. 国立公害研究所 生物環境部 〒茨城県つくば市小野川16番2  
Environmental Biology Division, the National Institute for Environmental Studies, 16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

の増殖速度 ( $\mu$ ) と、これら 4 種の銅の濃度の総和 [T-Cu] との関係は、次式の飽和型モデル式で表すことが出来た。

$$\mu = \mu_{\min} + \frac{\mu_{\max} - \mu_{\min}}{1 + k [T-Cu]^2}$$

ここで、 $\mu_{\max}$  は最大増殖速度、 $\mu_{\min}$  は増殖速度の最低値、 $k$  は  $0.114 \times 10^{12} \text{ mol}^{-2} \text{ l}^2$  である。本種の増殖の半阻害を示す Cu の濃度は  $2.96 \mu\text{M}$  であった。本種を高濃度の Cu で培養したとき、ほとんどの Cu は外液中に存在するか、あるいは殻や細胞壁に付着しており、細胞内 Cu は極少量であった。細胞内 Cu の一部はメタロチオネインより高分子のタンパク質と結合していた。また、細胞より体外代謝産物として分泌される有機酸の濃度は添加された銅濃度の増加と対応して増加することから、有機酸の一部は細胞内で Cu と結合し、細胞外へ Cu を排せつする、または分泌された有機酸は外液の Cu と結合し、無毒化する可能性が考えられた。以上のことから、*A. minutissima* の銅耐性機構には、1) 排除 (exclusion), 2) 細胞内無毒化 (intracellular detoxification), 3) 排せつ (extrusion), 及び 4) 細胞外無毒化 (extracellular detoxification) の四つの機構が関与していると考えられる。

## 1 はじめに

附着ケイ藻 *Achnanthes minutissima* は重金属汚染河川に出現する最も代表的な藻類種であり、重金属汚染の指標種とされている。しかし、本種の重金属耐性機構についての研究は全くなされてない。本報告では、秋田県小坂川の重金属汚染水域より、採取された試料から分離培養された本種の無菌クローン株を用いて行った銅耐性実験結果を報告し、本種がどのような存在状態の銅にどの程度の耐性度をもっているのか、及びその耐性機構はいかなるものかを考察する。

## 2 材料と方法

材料：1983年4月に秋田県小坂川より採取した試料より分離された *Achnanthes minutissima* の無菌クローン株 NIES-71 を使用した。

培養条件：すべての実験は、温度  $20^\circ\text{C}$ 、昼光色蛍光灯を使って、 $150 \mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  及び 12時間明期 12時間暗期の光条件で行われた。また、培養容器として、すべて、テフロン製三角フラスコが用いられた。

培地：本実験に使用された基本培地は、淡水産ケイ藻の培地 CSI 培地より PIV メタル (EDTA が  $3 \mu\text{M}$  入っている) を除き、チアミンの濃度を 1/10、グリセロリン酸を  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  に変え、 $\text{PO}_4\text{-P}$  濃度を  $1 \mu\text{M}$  (1/166) に減らしたものである (表 1)。銅耐性実験では、 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  がこの基本培地に添加されるが、この培地中での銅の存在状態を理論的に考察すると、主要な銅種は表 2 のようになる。各々の銅種の割合は各陰イオンとの stability constant から計算された。この場合、銅とビタミン、炭酸イオン、硝酸イオン、及び硫酸イオンとの錯体も形成されるが、それらの各量は極微量であるので、無視された。

表1 培地の組成

試 薬	CSi 培地	基本培地
硝酸カルシウム・4水塩	635.2 $\mu$ M	635.2 $\mu$ M
硝酸カリウム	989.0 $\mu$ M	989.0 $\mu$ M
$\beta$ -グリセロリン酸ナトリウム	170.0 $\mu$ M	
リン酸第一ナトリウム・2水塩		1.0 $\mu$ M
硫酸マグネシウム・7水塩	162.3 $\mu$ M	162.3 $\mu$ M
メタケイ酸ナトリウム・9水塩	351.9 $\mu$ M	351.9 $\mu$ M
チアミン・塩酸塩	29.0 nM	2.9 nM
ビオチン	0.4 nM	0.4 nM
ビタミン B <sub>12</sub>	0.07 nM	0.07 nM
PIV メタル	0.3 ml	
HEPES	2.1 mM	2.1 mM

表2 基本培地に  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  を添加した場合の培地の各種銅の理論的存在割合

銅種	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8
$\text{Cu}^{2+}$	76.4%	78.5%	83.2%	32.0%
$\text{CuOH}^+$	0.2%	1.7%	16.6%	64.0%
$\text{Cu}_2(\text{OH})_2^{2+}$	t	t	0.2%	4.0%
$\text{CuCl}^+$	23.4%	19.8%	0	0

t: 極微量

耐性実験: 100 ml のテフロン製三角フラスコの各々に 50 ml の培地を入れ、オートクレーブ滅菌したのち、あらかじめろ過滅菌 ( $0.22\mu\text{m}$  ミリポアフィルター) された  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  を 0.1, 2.5, 5, 7.5, 10, 15  $\mu\text{M}$  の7段階の濃度となるように無菌的に添加した。また、 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  と  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  がモル比で 1:1 となるよう十分混合された Cu-EDTA 溶液を作り、前述した操作と同様にして、7段階の濃度の培地を作成した。*A. minutissima* の前培養は、100 ml の CSi 培地が入った 200 ml のテフロン製三角フラスコで2週間行い、これら前培養された細胞を、遠心分離 (2,000 g, 2 min) し、上清液を捨て、滅菌蒸留水を添加し、懸濁し、再び遠心分離して、上清液を捨てるという操作を3回繰り返し、残存する CSi 培養液成分及び *A. minutissima* より分泌された体外代謝産物を完全に除去した。その後、*A. minutissima* を約  $2 \times 10^4$  cells  $\text{ml}^{-1}$  となるように、前述した7段階の濃度の  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  あるいは Cu-EDTA が入った培地に添加した。添加後、4日目に培養試料を採取し、細胞数を測定した。比増殖速度 ( $\mu$ ) は次式で求めた。

$$\mu = (\log N_4 - \log N_0) / 4 \quad (1)$$

ここで、 $N_4$ は四日目の細胞数、 $N_0$ は初期細胞数である。細胞数は改良型ノイバウエル式血球計算盤を使って求めた。 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ が入った培地での耐性実験は、pHを5、6、7及び8と変化させて行い、Cu-EDTAでの耐性実験はpH7でのみ行われた。

培養試料中での銅の分布：実験の操作手順を図1に示す。 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ が各々7  $\mu\text{M}$ 、22  $\mu\text{M}$ 添加された培地で、3週間培養した *A. minutissima* 細胞を遠心分離 (2,000 g, 30 min) であつめ、上清液中の銅の量を測定した (図1-(1))。残った細胞ペレットに0.1 mMのEDTAを添加し、懸濁し、遠心分離 (2,000 g, 20 min) を行い、上清液を採取した。同様の操作を5回繰り返して、採取されたすべての上清液中の銅の量を測定した (図1-(2))。残った細胞ペレットを凍結したのち、5 mMのメルカプトエタノールを含む50 mMのK-リン酸緩衝液 (pH 7.0) を加え、1分間の超音波処理を3回行ったのち、遠心分離 (2,000 g, 20 min) し、ペレット部分の銅量を測定した (図1-(3))。さらに上清液を10,000 gで20分、100,000 gで60分遠心分離し、各々のペレット中の銅量及び100,000 gでの上清液の一部について銅量を測定した (図1-(4)、(5))。残りの100,000 g上清液はBio Gel P-30を使ってゲルろ過分画を行い、各分画中の銅量

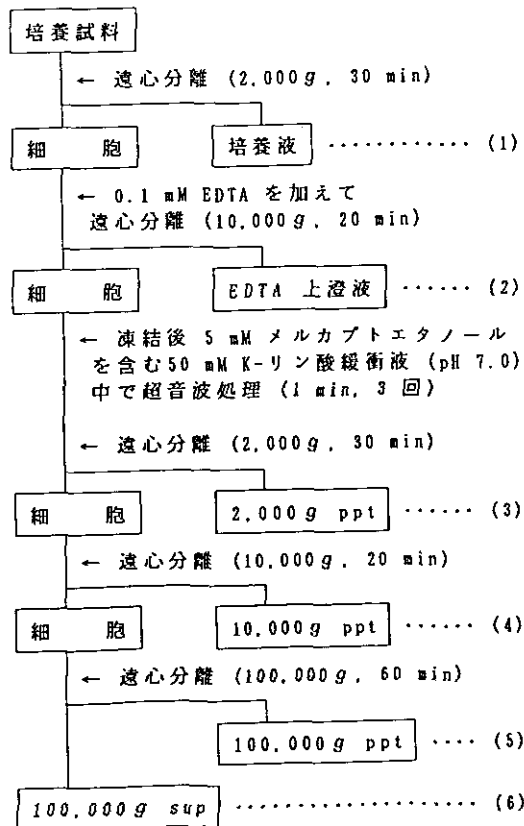


図1 培養試料中の銅分布解析手法の概略

及びタンパク質量を測定した (図1-(6))。銅の測定は原子吸光装置を使って行い、タンパク質量は 280 nm における吸光度で測定した。

体外代謝産物として分泌された糖及び有機酸の測定：上記実験と同様に  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  が各 7  $\mu\text{M}$ , 22  $\mu\text{M}$  入った培地で *A. minutissima* を3週間培養したのち、遠心分離 (2,000 g, 20min) を行い、上清液中の有機酸及び糖の量を以下のように測定した。培地を濃縮後、1 M 塩酸を加え pH を 1 以下とし、Dowex-50w 陽イオン交換樹脂 (H+型) のカラム (内径 1 cm, 長さ 5 cm) に流し、培地中の陽イオンを除去した。樹脂を水で洗い、溶出した画分を濃縮し、その一部をとり有機酸画分とした。有機酸は Gotowら (1985) の方法に従い、高速液体クロマトグラフィーを用いた有機酸分析計 (JASCO Tritor SR-2, 日本分光) により分析した。残りの画分に、1 M アンモニア水を加え、pH を 11 以上に調節し、Dowex-1 陰イオン交換樹脂 (酢酸型) のカラム (内径 1 cm, 長さ 5 cm) に流した。樹脂を水で洗い、溶出した画分を濃縮し、糖画分とした。糖画分に内部標準として、Phenyl- $\beta$ -Glc を加え、凍結乾燥後、TMS 化剤 (TMSI-C, ガスクロ工業) を加え、70  $^{\circ}\text{C}$  で 20 分間加熱し、TMS 化を行い、ガスクロマトグラフィーにより分析した。

### 3 結果

#### 3.1 *A. minutissima* の増殖に及ぼす銅の影響

図2はキレート剤 EDTA の銅の毒性に及ぼす影響を調べた結果を示したものである。Cu-EDTA を添加した場合は 0 ~ 15  $\mu\text{M}$  まで全く増殖阻害がみられなかったのに対し、 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  のみを濃度変化させた場合は、銅濃度に応じて増殖速度が減退した。このことから、*A. minutissima* の増殖阻害因子として作用する銅としては、イオン化された状態のものや、無機物と錯体を形成しているものが考えられる。

図3は pH 5, 6, 7, 8 各々において、 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  の各濃度での *A. minutissima* の増殖速度を  $\text{Cu}^{2+}$  濃度に対してプロットしたものである。pH 5 ~ 7 においては、 $\text{Cu}^{2+}$  の *A. minutissima*

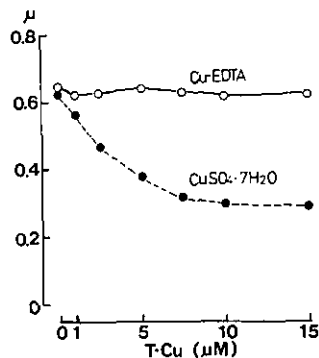


図2 EDTA の銅の毒性に及ぼす影響  
 $\mu$  : 増殖速度, T-Cu : 全銅濃度

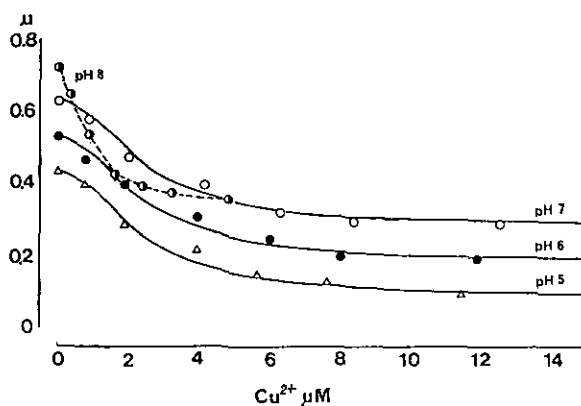


図3 増殖速度( $\mu$ )の $\text{Cu}^{2+}$ 依存性  
 実線及び破線は(2)式より、各々 $k=0.174 \times 10^{12} \text{ mol}^{-2} \text{ l}^2$  (pH 5, 6, 7)及び  
 $k=1.562 \times 10^{12} \text{ mol}^{-2} \text{ l}^2$  (pH 8)を用いて計算された。

の増殖に及ぼす影響は次式のような飽和型のモデル式で示すことができた。

$$\mu = \mu_{\min} + \frac{\mu_{\max} - \mu_{\min}}{1 + k [\text{Cu}^{2+}]^2} \quad (2)$$

ここで  $\mu$  は増殖速度、 $\mu_{\min}$  は増殖速度の最低値、 $\mu_{\max}$  は最大増殖速度、 $k$  は  $0.174 \times 10^{12} \text{ mole}^{-2} \text{ l}^2$ 、 $[\text{Cu}^{2+}]$  は  $\text{Cu}^{2+}$  の濃度 ( $\text{mole l}^{-1}$ ) である。この式より、増殖の半阻害、すなわち  $\mu = (\mu_{\max} + \mu_{\min})/2$  を与える  $\text{Cu}^{2+}$  は  $2.40 \mu\text{M}$  と計算される。しかし、pH8.0 で観察された  $\mu$  に及ぼす  $\text{Cu}^{2+}$  の影響は、基本的には類似のモデル式で示されるものの、 $k$  値は  $1.562 \times 10^{12} \text{ mole}^{-2} \text{ l}^2$  と一ケタ高く、半阻害濃度も  $0.8 \mu\text{M}$  と計算された。

図4は、pH 5, 6, 7, 及び8の各 pH において、与えられた  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  濃度 (T-Cu) に対して、*A. minutissima* の増殖速度をプロットしたものである。表2に示したように、pH 5, 6の T-Cu は、ほとんど  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{CuOH}^+$  及び  $\text{CuCl}^+$  よりなり、pH 7, 8の T-Cu は、 $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{CuOH}^+$  及び  $\text{Cu}_2(\text{OH})_2^{2+}$  よりなる。T-Cu の *A. minutissima* の増殖に及ぼす影響は、基本的には  $\text{Cu}^{2+}$  の場合と同様の飽和型モデル式で示され、pH 5 ~ 8 すべてにおいて、全く同じモデル式で説明することができた。

$$\mu = \mu_{\min} + \frac{\mu_{\max} - \mu_{\min}}{1 + k [\text{T-Cu}]^2} \quad (3)$$

ここで、 $k$  は  $0.114 \times 10^{12} \text{ mole}^{-2} \text{ l}^2$  と pH 5 ~ 7 の  $\text{Cu}^{2+}$  の場合よりやや小さく、増殖の半阻害濃度は  $2.96 \mu\text{M}$  と計算された。

### 3. 2 培養試料中の銅の分布

表3に培養試料中の銅の分布を示す。7  $\mu\text{M-Cu}$  の培養系では、96.7%の銅が培養液中に存在しており、細胞壁や殻に付着しているとみられる  $\text{Cu}$  (EDTA 洗浄及び 2.000 g ppt) はわずか

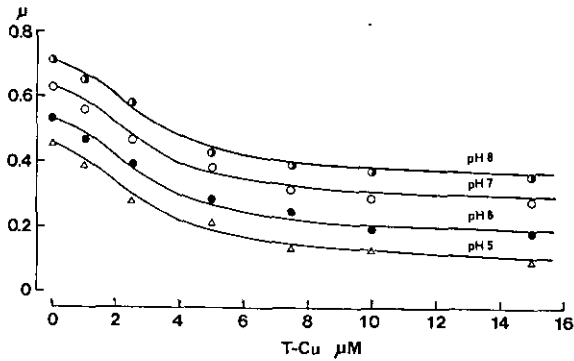


図4 増殖速度( $\mu$ )の  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{CuOH}^+$  及び  $\text{Cu}_2(\text{OH})_2^{2+}$  あるいは  $\text{CuCl}^+$  の全銅濃度(T-Cu)依存性  
 実線は(3)式より、 $k=0.114 \times 10^{12} \text{ mole}^{-2} l^2$  を用いて計算された。

表3 培養試験中の銅の分布

	7 $\mu\text{M}$ -Cu	22 $\mu\text{M}$ -Cu
細胞数 (cells ml <sup>-1</sup> )	$10 \times 10^5$	$6.8 \times 10^5$
銅の分布 ( $\mu\text{M}$ )		
培養液中	6.77 (96.7%)	13.46 (61.2%)
EDTA洗浄液中	0.18 (2.6%)	8.01 (36.4%)
2,000 g ppt	0.013 (0.18%)	0.23 (1.0%)
10,000 g ppt	0.012 (0.15%)	0.06 (0.3%)
100,000 g ppt	0.02 (0.30%)	0.17 (0.8%)
100,000 g sup	0.005 (0.07%)	0.07 (0.3%)

2.8%にすぎず、細胞膜や細胞内小器官の破片の分画中(10,000~100,000 g ppt)に存在するCuは0.45%、細胞内可溶性成分として存在するCuは0.07%にすぎない。すなわち、細胞内Cuとみなされるものは、約0.5%で37nM(=0.037 fmol cell<sup>-1</sup>)と極めて少なかった。一方、22  $\mu\text{M}$ -Cu培養系では、培養液中に存在する銅は61.2%と減り、殻や細胞壁に付着している銅は37.4%と増加し、さらに細胞内銅の総計は1.4%と比率ではさほど増えていないように見えるが、量は0.3  $\mu\text{M}$ (=0.441 fmol cell<sup>-1</sup>)と、7  $\mu\text{M}$ -Cuでの培養系と比べ、約10倍強の濃度に増加していた。

図5.6は7  $\mu\text{M}$ 及び22  $\mu\text{M}$ -Cuの培養試料の100,000 g sup中の銅、すなわち、可溶性銅成分がタンパク質と結合状態にあるか否かを調べたものである。ともに、フラクション10と30付近にCuのピークをもつが、10のピークはタンパク質のピークと対応しているのに対し、30付近のピークはタンパク質のピークとは対応していなかった。

表4 *Achnanthes minutissima* より培養液中に分泌された糖類と有機酸

代謝産物	7 $\mu$ M-Cu	22 $\mu$ M-Cu
Carbohydrates		
Polymers	2.1 pg/cell	2.1 pg/cell
Uronic acid	18.3%	19.5%
Fucose	20.3%	20.2%
Xylose	17.6%	18.9%
Mannose	15.5%	16.1%
Galactose	9.6%	10.0%
Glucose	18.7%	15.2%
Monomer		
Glucose	0.25 pg/cell	0.17 pg/cell
Organic acids	0.117 pg/cell	0.42 pg/cell
Malic acid	0.05 pg/cell	0.12 pg/cell
Glyceric acid	0.007 pg/cell	0.06 pg/cell
Fumalic acid	0.06 pg/cell	0.24 pg/cell

### 3. 3 体外代謝産物としての糖及び有機酸

表4に7  $\mu$ M-Cu, 22  $\mu$ M-Cuの培養系で, *A. minutissima* より培養液中に分泌された糖と有機酸を分析した結果を示す。細胞当たりの糖の量は7  $\mu$ M-Cuと22  $\mu$ M-Cuの培養系でほとんど差はないが, 有機酸濃度は22  $\mu$ M-Cu培養系で7  $\mu$ M-Cu培養系より約4倍増加していた。

### 4 考 察

藻類の増殖に阻害を及ぼすCuの種は,  $\text{Cu}^{2+}$ であることが多くの研究者によって主張されている (cf. Stokes, 1983)。確かに図2に示したように EDTA と完全に錯体を形成したCuは全く *A. minutissima* に毒性を示さなかった。しかし,  $\text{Cu}^{2+}$ のみを阻害因子とした時, 図3で示したように pH8での結果のみが, 他の pH での結果から大きく異なり, 半阻害濃度が低くなったこと, すなわち  $\text{Cu}^{2+}$ の毒性が強くなったことを説明することはできない。Petersonら(1984)はCuの毒性は  $\text{H}^+$ との競合が少なくなるために pHが高くなるにつれ強くなることを主張しているが, この説は  $\text{Cu}^{2+}$ の *A. minutissima* の増殖阻害が pH5, 6, 7で全く変化しないため, 今回の結果に当てはめることはできない。最近, Andrewら(1977), Howarth & Sprague(1977), Magnusonら(1979), 及び Chakoumakosら(1979)により *Daphnia magna*, *Salmo clarko* 及び *S. gaidneri*



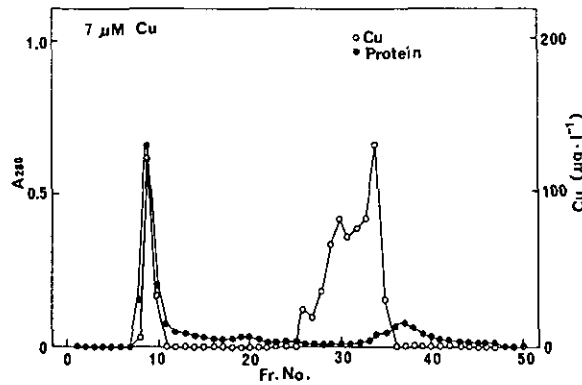


図5 7 μM-Cu 培養細胞内の可溶性銅成分とタンパク質の分画

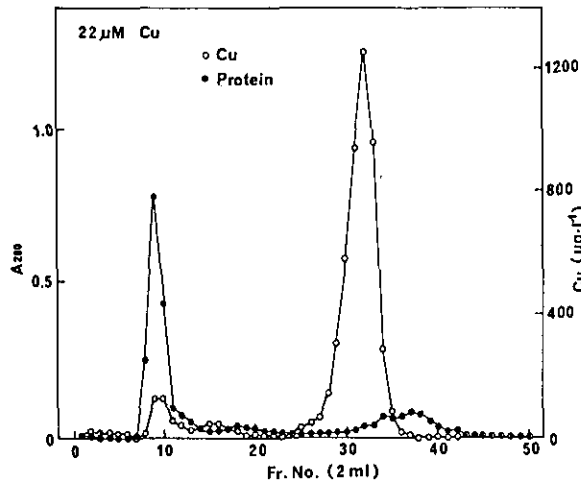


図6 22 μM-Cu 培養細胞内の可溶性銅成分とタンパク質の分画

には  $\text{Cu}^{2+}$  のみが毒性として作用するのではなく、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{CuOH}^+$  及び  $\text{Cu}_2(\text{OH})_2^{2+}$  の総量が毒性として作用することを報告している。図4に示したように、*A. minutissima* の増殖速度を  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{CuOH}^+$ 、及び  $\text{Cu}_2(\text{OH})_2^{2+}$  あるいは  $\text{CuCl}^+$  の総和である T-Cu に対してプロットした場合に、全 pH で全く同様の Cu の阻害作用が得られた。この場合、これら4種の Cu は各々、各 pH で濃度が若干異なっているにもかかわらず、毒性は全く同じ強さで作用していることから、*A. minutissima* の増殖の阻害因子として作用する Cu は、少なくとも4種の銅、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{CuOH}^+$ 、 $\text{Cu}_2(\text{OH})_2^{2+}$ 、 $\text{CuCl}^+$  であると思われる。また、Cu の毒性が pH に依存しているとの報告も多いが (cf. Petersonら, 1984), *A. minutissima* においては、pH は Cu の毒性になんらの影響も及ぼさないことが判明した。

高濃度の Cu で生育させた *A. minutissima* の培養では、Cu のほとんどは外液中に存在する

もの及び殻や細胞壁に付着しているものであった。しかし、わずかではあるが細胞内に浸透している Cu もあり、添加する Cu 量を  $7\mu\text{M}$  より  $22\mu\text{M}$  に増加させると、細胞内の Cu 量は 10 倍強に増加した。この細胞内の Cu の一部は、図 5, 6 に示したようにタンパク質と結合しており、このタンパク質はフラクシオン・ナンバーから判断すると、メタロチオネインより高分子のものであると判断される。細胞内 Cu の多くはこのタンパク質と結合していないが、体外代謝産物として有機酸が分泌され、その量が添加した Cu 量と対応していることから考えると、これら有機酸がタンパク質と結合していない Cu と錯体を形成し、体外に放出している可能性は十分考えられる。さらに、体外に放出された有機酸は、外液の Cu とも錯体を形成し、無毒化することも考えられる。

以上のことから、*A. minutissima* の Cu 耐性機構には、図 7 に示すように、1) 殻及び細胞壁での Cu の捕獲-排除 (exclusion) の機構、2) 細胞内 Cu のタンパク質や有機酸との錯体形成-細胞内無毒化機構、3) Cu と有機酸の錯体の体外への分泌-排せつ (extrusion) の機構、及び 4) 体外へ分泌された有機酸等の体外代謝産物と外液中の Cu との錯体形成-細胞外無毒化機構の四つの機構があると考えられる。

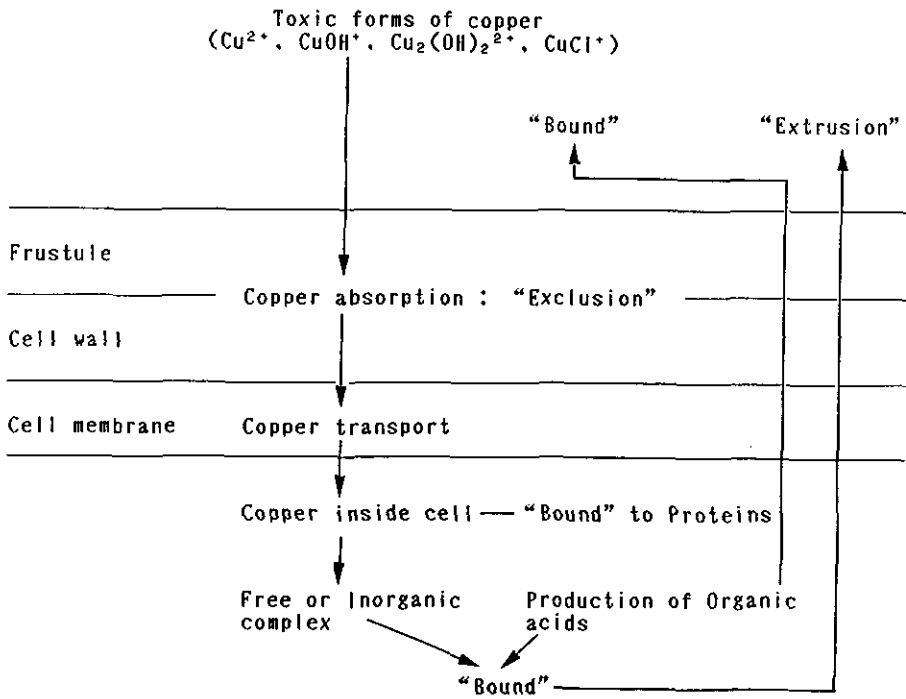


図 7 *A. minutissima* の銅耐性機構

謝 辞

本研究を遂行するに当たり、銅の錯形成に関してご指導下さった高松武次郎博士、稲葉一穂博士（国立公害研究所・水質土壌環境部）及び野尻幸宏博士（同・計測技術部）に感謝します。

引 用 文 献

- Andrew, R.W., K.E. Biesinger and G.E. Glass (1977): Effects of inorganic complexing on the toxicity of copper to *Daphnia magna*. *Water Res.*, 11, 309-315
- Chakoumakos, C., R.C. Russo and R.V. Thurston (1979): Toxicity of copper to cutthroat trout (*Salmo clarki*) under different conditions of alkalinity, pH, and hardness. *Environ. Sci. Tech.*, 13, 213-219.
- Gotow, K., K. Tanaka, N. Kondo, K. Kobayashi and K. Syono (1985): Light activation of NADH-malate dehydrogenase in guard cell protoplasts from *Vicia faba* L. *Plant Physiol.*, 79, 829-832.
- 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.
- Magnuson, V.R., D.K. Harris, M.S. Sun and D.K. Taylor (1979): Relationship of metal-ligand species to aquatic toxicity. In: *Chemical modeling in aqueous systems*. E.A. Jenne (ed.), American Chemical Society, ACS symposium series, 93, 635-656.
- Peterson, H.G., F.P. Healey and R. Wagemann (1984): Metal toxicity to algae: A highly pH dependent phenomenon. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 41, 974-979.
- Stokes, P.M. (1983): Responses of freshwater algae to metals. In: *Progress in Phycological Research*, Vol 2. F.E. Round and D.J. Chapman (eds.), Elsevier, 87-111.

## 環境中に存在する低濃度のカドミウムに 対する魚類の耐性機構

鈴木和夫<sup>1</sup>・島山成久<sup>2</sup>

### Tolerance Mechanism of the Fish to Environmental Cadmium

Kazuo T. SUZUKI<sup>1</sup> and Shigehisa HATAKEYAMA<sup>2</sup>

#### Abstract

Mechanisms for the tolerance of the fish to a low level of cadmium in the aquatic environment were studied by exposing gibel (*Carassius auratus langsdorffii*; body weight, 21-32 g) to cadmium at a concentration of  $10 \mu\text{g Cd l}^{-1}$  in a 80 l flow-through aquarium ( $80 \text{ l}, 0.7 \text{ l min}^{-1}$ ) for 39 weeks. Gibels resided in flowing underground water without cadmium were used as control. The livers were homogenized in two volumes of 0.1M Tris/HCl buffer (pH 7.4, 0.25M glucose) in an atmosphere of nitrogen gas. The supernatants (170,000 g for 60 min) were subjected to HPLC-ICP analyses (high performance liquid chromatography-inductively coupled argon plasma-atomic emission spectrometry). Cadmium accumulated in the livers of gibel by exposure to  $10 \mu\text{g Cd l}^{-1}$  for 37 weeks was shown to be sequestered by the two major isoforms of copper, zinc-metallothionein (Cu, Zn-MT) as Cd, Cu, Zn-MT. However, the relative ratio of the three metals in the metallothionein induced by exposure to the low level of aquatic cadmium was different from that induced by an intraperitoneal injection of cadmium.

Cadmium present at a low level in the aquatic environment was concluded to be sequestered by the two major isoforms of metallothionein in the liver of the fish.

#### 要 旨

河川等の水環境中に存在する低濃度のカドミウムに対して、魚類がどのような機構で耐性を示すか検討した。地下水に塩化カドミウムを添加し、 $10 \mu\text{g l}^{-1}$  のカドミウムを含む流水式水槽 ( $80 \text{ l}, 0.7 \text{ l min}^{-1}$ ) 中でギンブナ (*Carassius auratus langsdorffii*; 体重 21~32g) を 39週間飼育した。対照としてカドミウムを含まな

1. 国立公害研究所 環境保健部 〒305 茨城県つくば市小野川16番2  
Environmental Health Sciences Division, the National Institute for Environmental Studies, 16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
2. 国立公害研究所 生物環境部 〒305 茨城県つくば市小野川16番2  
Environmental Biology Division, the National Institute for Environmental Studies, 16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

い地下水中で同様に飼育したギンブナを用いた。ギンブナの肝臓を窒素気流下、2倍量の0.1M トリス塩酸緩衝液 (pH 7.4, 0.25M グルコース含有) 中でホモジナイズし、超遠心上清 (170,000 g, 60min) を得た。ゲルろ過カラムで分離した上清中のカドミウム、亜鉛、銅、硫黄の分布を、発光分光法で分析する HPLC-ICP 法により、メタロチオネインを同定した。対照の肝臓中に存在する銅、亜鉛-メタロチオネイン (Cu, Zn-MT) と同じ性質を有するカドミウム、銅、亜鉛-メタロチオネイン (Cd, Cu, Zn-MT) が、 $10 \mu\text{g l}^{-1}$  のカドミウムを含む流水中で飼育したギンブナに蓄積していることが明らかとなった。カドミウムを注射して誘導したメタロチオネインとは結合している3種類の金属比は異なっていた。環境中に存在する低濃度のカドミウムもギンブナの肝臓ではメタロチオネインとして捕そくされ、毒性が軽減されていることが明らかになった。

## 1 はじめに

生物が重金属に耐性を示すことは良く知られており、この耐性がどのような機構によるものか明らかにし、重金属の毒性から生物を防御するために役立てようとする試みがなされている。魚類は水界生態系に生息する生物の中では、食物連鎖の面でも、系統発生の観点からも高位に存する生物であり、かつ人間にとっては経済面からも重要である。これまでに、特に経済的に重要なマスやサケに対する重金属の影響が多く、研究者によって報告されてきた。

カドミウム、銅、亜鉛などの重金属に対して、魚類がどのような機構で耐性を示すかという観点からなされた報告は、いずれも低分子量の金属結合タンパク質との関連で検討されている。重金属を暴露したサカナやその対照として用いたサカナの肝臓中に存在するカドミウム、銅及び亜鉛を結合している低分子量の金属結合タンパク質がメタロチオネインであるとする報告が多数ある (Bonham & Gedamu, 1984; Kitoら, 1982; Leyら, 1983; McCarterら, 1982; Noël-Lambotら, 1978; Overnell & Coombs, 1979; Rochら, 1982; Takeda & Shimizu, 1982; 山村・鈴木, 1983)。一方、この低分子量の金属結合タンパク質がメタロチオネインでないとする報告もある (Pierson, 1985a, b; Ridlingtonら, 1981; Thomasら, 1983a, b)。

メタロチオネインの生物学的役割として多数の仮説が出されているが、以下に示す二つの説が現在、最も有力である (Kägi & Vallee, 1960)。一つは、有害な重金属の毒性を軽減するために生物体内に誘導合成され、有害な金属をメタロチオネインという安定な錯体として捕そくすることによって生体を防御するという説である。他の一つは、亜鉛と銅の生理的な濃度を調節するために誘導合成され、運搬や制御といった役割を担っているとする説である。環境中に存在する低濃度のカドミウムがサカナの体内に蓄積するとき、メタロチオネインとは異なった低分子量のタンパク質を誘導し結合しているとする報告 (Pierson, 1985a, b; Ridlingtonら, 1981; Thomasら, 1983a, b) は、生体防御機構及びメタロチオネインの生物学的役割の両面から興味を持たれる。

魚類のメタロチオネインに関しては、ギンブナに塩化カドミウムを腹腔内投与したとき誘導されるカドミウム、銅、亜鉛-結合タンパク質がメタロチオネインであることを既に示した (山村・鈴

木, 1983)。また,  $10 \mu\text{g Cd l}^{-1}$  という環境中の濃度に近い低濃度のカドミウムを含む流水中で 39 週間飼育したギンブナの肝臓中に存在するカドミウムも SW カラム上, メタロチオネインの 2 種類のイソ体に結合していることも報告した (山村ら, 1986)。

本報告ではギンブナの肝臓中に存在するカドミウム, 銅及び亜鉛の結合タンパク質を, 以下の 3 種類の結合タンパク質間で比較し, それらがメタロチオネインであるかどうか明らかにすることを目的とした。3 種類の結合タンパク質の内の一つは, 無処理のギンブナの肝臓中に存在する銅と亜鉛を結合した金属結合タンパク質 (Cu, Zn-binding protein) であり, 他の 2 種類はカドミウムを腹腔内投与して誘導されるカドミウム, 銅, 亜鉛-結合タンパク質 (Cd, Cu, Zn-binding protein) と, 低濃度のカドミウムを含む流水中で飼育したとき誘導されるカドミウム, 銅, 亜鉛-結合タンパク質である。メタロチオネインの分離法としては, 肝臓の上清を 3 種類のカラムと溶出条件下で溶出させる方法をとった。それらは i) SW カラムをアルカリ性条件下で用い, メタロチオネインを 1 度にイソタンパク質にまで分離する方法, ii) カラムと基質間における金属の相互作用が少ないことが明らかにされているカラムであるアサヒパック GS カラムを中性条件下で溶出する方法, 並びに iii) 陰イオン交換カラムを用いてメタロチオネインを完全に各イソタンパク質にまで分離する方法, の 3 種類である。用いた 3 種類のカラムの溶出液を直接, 発光分光器 (ICP) に導き, 溶出液中の多種類の金属濃度を同時に測定する HPLC-ICP 法 (Sunagaら, 1987) によって, 上清中の硫黄を含めた元素の分布を明らかにする方法をとった。本報告は HPLC-ICP 法が金属結合タンパク質, 特にメタロチオネインのように硫黄含量の高い金属結合タンパク質の分離同定に極めて有力な手段であることをも示した。

## 2 実験方法

### 2. 1 低濃度カドミウムへのギンブナの暴露

ギンブナ (*Carassius auratus langsdorfii*; 体重, 21~32g) を 80l の流水式水槽中で飼育し,  $10 \mu\text{g Cd l}^{-1}$  のカドミウムを含む地下水を  $0.7 \text{ l min}^{-1}$  の流量で供給し, 39 週間飼育した。市販の個型の餌を毎日自由摂取させた。地下水の水温, pH と硬度 (炭酸カルシウムとして) はそれぞれ,  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ , 8 前後と 80 前後であった。カドミウムを含まない地下水を供給した対照群 (5 匹) と暴露群 (7 匹) の飼育条件は, 供給した地下水に塩化カドミウムを添加しなかったか, 添加したかの違いだけである。

### 2. 2 ギンブナへの塩化カドミウムの腹腔内投与

ギンブナ (体重, 28~66 g) に, 蒸留水に溶解した塩化カドミウムを  $0.35 \text{ mg Cd/kg}$  体重の用量で 4 日間, 続いて  $0.65 \text{ mg Cd/kg}$  体重の用量で 4 日間, 合計 8 日間連続投与した。無処理群 (5 匹) とカドミウム投与群 (5 匹) は, 後者へのカドミウム投与終了後 1 日を経た時点でと殺した。

### 2. 3 ギンブナの肝臓上清の調製

4群の肝臓を各群ごとにまとめ、 $-80^{\circ}\text{C}$ で使用時まで保存した。肝臓を2倍量の0.1M トリス塩酸緩衝液中(pH 7.4, 0.25M グルコース含有, 使用直前に窒素ガスを吹き込むことにより溶存酸素を除去)で、ガラス-テフロン製のホモジェナイザーを用い、冷却下、窒素気流下でホモジェナイズした。超遠心(170,000g, 60分間)上清を窒素気流下、 $-80^{\circ}\text{C}$ で保存した。

### 2. 4 メタロチオネインの分離同定

各上清(0.1 ml)をSW カラム(TSKgel G3000SW, 7.5×600 mm; 7.5×75 mm のガードカラム付; 東ソー), 又はアサヒバック GS-520 カラム(7.6×500 mm, 旭化成工業)に添加した。イオン交換クロマトグラフィは、SW 又は GS カラムでゲルろ過して得たメタロチオネイン分画を直接、陰イオン交換カラム(TSKgel DEAE-3SW, 7.5×75 mm, 東ソー)に導くカラムスイッチング法(Suzukiら, 1984)によった。各カラムの溶出条件は各図の脚注に示した。

カラムの溶出液をICP(セイコー電子)のネプライザーチューブに直接導くHPLC-ICP法(Sunagaら, 1987)により、カドミウム, 銅, 亜鉛, 鉄, リン及び硫黄濃度を同時に測定した(Suzukiら, 1986)。ICP データは2秒ごとに30分間(各元素につき, 900ポイント/30min)とり、フロッピーディスクに保存した。ディスクのデータを自家製プログラムを用い(PC-9801, NEC), XYプロッター(FP 5301R, グラフテック)で描かせた。

## 3 結果と考察

上清中のメタロチオネインを一度にイソ体まで分離できる条件下で分離し(Suzuki, 1980)溶出液中のタンパク質濃度を254及び280 nmの吸収とICP データにより分析した(Sunagaら, 1987)結果を以下に示す。

図1は低濃度のカドミウムを含む流水中で39週間飼育したギンブナの肝臓上清中のHPLC-ICP分布図を対照群のものとともに示した図である。対照群ではカドミウムは検出されなかったが、暴露群(図1B)では2個の大きなピークとして観察され、その2個のピークは銅, 亜鉛, 硫黄及び図には示さなかったが254 nmの吸収を伴っていた。これら2個の内、速く溶出されるイソ体(MT-II)(Suzuki, 1980)は遅く溶出されるイソ体(MT-I)よりも、いずれの群でも小さかった。このことはMT-Iの方がギンブナの肝臓中では主たるイソ体であることを示している。これら2個のピークの直前に溶出されている(17.4分)小さな銅, 亜鉛-又はカドミウム, 銅, 亜鉛を結合したピークは熱的に安定( $70^{\circ}\text{C}$ , 10分間処理)であり、メタロチオネインの2量体と推定される(Suzuki & Yamamura, 1980)。また21.8分の銅のピークはメタロチオネインが銅で酸化されたピーク(Suzuki & Maitani, 1981)である可能性が高い。

以下に示すピークは確定されたものではないが次のように同定した。硫黄; 21.3分と22.6分(酸化型と還元型グルタチオン), 25.5分(シスチン), 26.5分(システイン), 26.8分(タウ

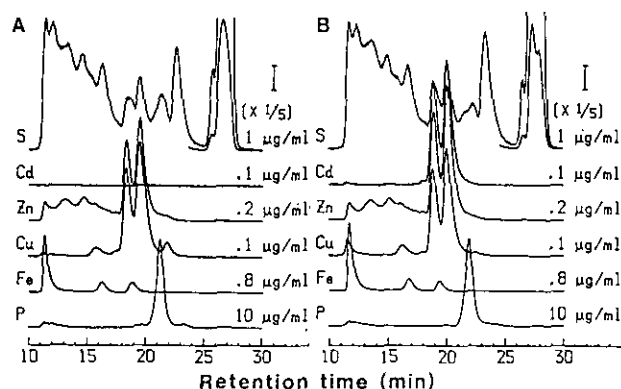


図1 環境中のカドミウムに暴露したギンブナの肝臓上清のSW カラムによるHPLC-ICP 分布図

ギンブナを地下水(A)又はカドミウムを $10 \mu\text{g Cd l}^{-1}$ 含む地下水(B)中で39週間飼育した。肝臓を2倍量の0.1M トリス塩酸緩衝液(pH7.4, 0.25M グルコース含有)中でホモジェナイズし、ホモジェネートを、170,000gで60分間超遠心した。上清0.1mlをSW カラムに添加し、カラムを10mM トリス塩酸緩衝液(pH8.0, 0.1%  $\text{NaN}_3$ 含有)で $1.0 \text{ ml min}^{-1}$ の流速で溶出した。元素の検出レベルを図中に縦のバーで示した(Suzukiら, 1987)。

リン)。鉄；11.2分(フェリチン), 16.2分(ヘモグロビン)。

測定時によって保持時間にずれが生ずることがあるが、ここで示した保持時間は図1Bと2Bのものを標準として採用した。

図2はカドミウムを腹腔内投与して得た肝臓上清とその対照群の上清を、SW カラムを用いて分析した結果である。図1と類似した分布図が得られたが、いくつかの点で相違点がみられる。図2AではMT-I(19.3分)の銅と亜鉛のピークが幅広くなっており、図2ではメタロチオネイン中の銅と亜鉛に比したカドミウムの比率が図1に比べて高くなっている。また、メタロチオネイン分画中の3種の金属は、図1と2の双方において、カドミウム暴露群の方が鋭くなっている。SW カラム上でみられた4種の試料間の違いをまとめると以下のようなになる。対照群のMT-Iのピークはカドミウム投与群より幅広くなる。これはカドミウムを含まないメタロチオネインの方が酸化されやすいためであると推定された。メタロチオネイン中の銅と亜鉛に対するカドミウムの相対比がカドミウムを注射したときの方が低くなっている。これは共存金属(銅と亜鉛)の比率が臓器のメタロチオネイン合成能が限界に近くなると低くなるという観察(Suzuki, 1982)で説明できる。

金属との相互作用の少ないアサヒバック GS-520 カラムで分離分析した結果を図3と4に示す。このカラムの条件下ではメタロチオネインはイソ体には分離できない。また、SW カラムに比べて溶出順などに違いもみられる。

メタロチオネインをカラムスイッチング法(Suzukiら, 1984)による、陰イオン交換クロマト



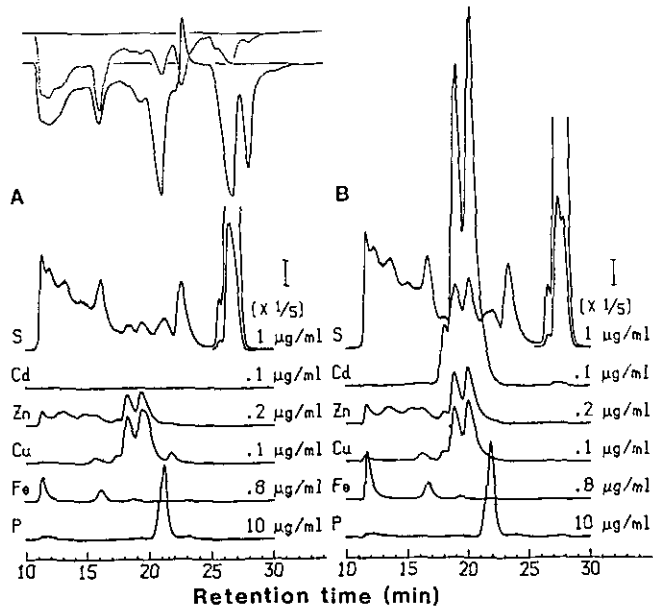


図2 カドミウムを腹腔内投与したキンブナの肝臓上清のSW カラムによる HPLC-ICP 分布図

キンブナに塩化カドミウムを0.35mg Cd/kg 体重の用量で4日間、同じく0.65mg Cd/kg 体重の用量で4日間、合計8日間連続的に腹腔内投与した。無処理のキンブナを対照群とした(A)。HPLC-ICP分析を図1の脚注と同様に行った。254と280nmの吸光度分布は対照群についてのみ示した(Suzukiら, 1987)。

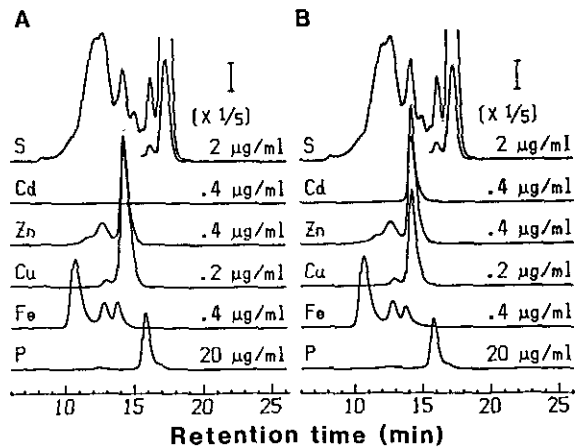


図3 環境中のカドミウムに暴露したキンブナの肝臓上清のアサヒバックカラムによる HPLC-ICP 分布図

対照群(A)とカドミウム暴露群(B)の肝臓上清をアサヒバックカラムに添加し、カラムを10mM トリス塩酸緩衝液(pH7.4, 0.9% NaCl, 0.05% NaN<sub>3</sub>含有)で1.0ml min<sup>-1</sup>の流速で溶出した(Suzukiら, 1987)。

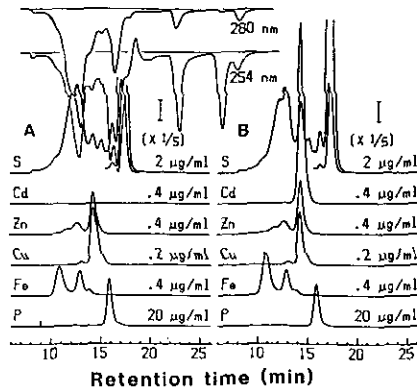


図4 カドミウム腹腔内投与したギンブナの肝臓上清のアサヒパックカラムによる HPLC-ICP 分布図  
 対照群(A)とカドミウム暴露群(B)の肝臓上清をアサヒパックカラムを用いて、図3の脚注に示した条件で分析した。254と280nmの吸光度の分布は対照群の図にのみ示した(Suzukiら, 1987)。

グラフィを行った。本方法では、オンラインで分離を行うため、分析過程における試料の酸化などの問題点がなく、かつ要求される試料量も少量で十分である。一方、欠点として、使用時にカラム圧が上昇し、特にゲルろ過カラムを損傷する可能性がある。GS カラムは SW カラムより耐圧性が高いことから、GS カラムと DEAE カラム間のカラムスイッチング法を行った。

図5はカラムスイッチング法を用いたときのゲルろ過カラムの溶出条件である。ゲルろ過カラムからの溶出液をイオン交換カラムに直接添加するため、図1と2の条件とは変えてある。本条件下の 11.2分と 14.2分間の溶出液をイオン交換カラムに添加した。なお、本条件下でも MT-IIの方が MT-Iよりも先に溶出される。カラムスイッチング法では全メタロチオネイン分画がイオン交換カラムに添加されないときには、イオン交換カラムでみたイソ体の比率は誤ったものとなる。

図6と7にはカラムスイッチング法による分析結果を示した。MT-Iは 14.7分にカドミウム、銅、亜鉛-又は銅、亜鉛-結合し、硫黄を伴った大きなピークとして観察された。しかし、MT-IIのピークはいずれの図でも、図1から予想されるよりもずっと小さなピークとなった。これは、カラムスイッチングのタイミングがずれたことにより、全メタロチオネイン分画がイオン交換カラムに添加されなかったためと推定される。

MT-Iの周辺の銅のピークは、対照群(図6Aと7A)の方がカドミウム暴露群(図6Bと7B)よりも大きい。このことにより、SWカラムの結果を示した図1と2はよく説明される。

SWカラムと DEAEカラム間で、カラムスイッチングを行った結果を図8に示す。この条件の方が、ゲルろ過カラムでメタロチオネインのみを分離しやすく、図8にみられるように、メタロチオネインに関するより選択的な結果が得られている。

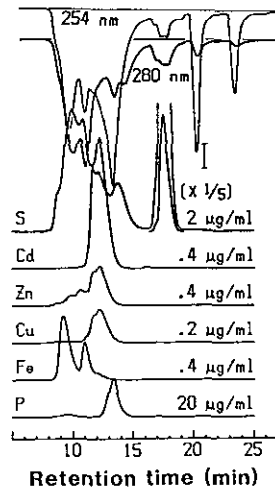


図5 カラムスイッチング法に用いた条件下におけるアサヒバックカラム上のHPLC-ICP分布図  
 カドミウムを注射したギンブナの肝臓上清をアサヒバックカラムに添加し、カラムを20mM トリス塩酸緩衝液 (pH8.6) で $1.0\text{ ml min}^{-1}$ の流速で溶出した。11.2～14.2分間の溶出液を陰イオン交換カラムに添加した(Suzukiら, 1987)。

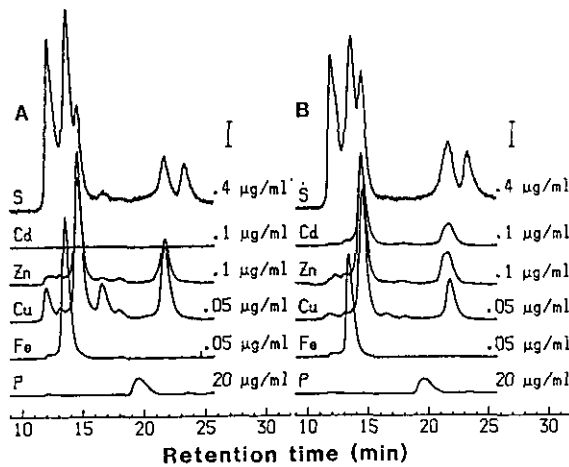


図6 環境中のカドミウムに暴露したギンブナの肝臓上清中のメタロチオネイン分画のHPLC-ICP分布図  
 対照群(A)とカドミウム暴露群(B)の肝臓上清を図5の脚注の条件下、アサヒバックカラムで分離し、メタロチオネイン分画をカラムスイッチング法で陰イオン交換カラムに添加した。陰イオン交換カラムをpH7.2のトリス塩酸を2から50mMまでの濃度こう配で、 $1.0\text{ ml min}^{-1}$ の流速により溶出した。電導度は図7のように連続的にモニターしたが、図6には省略した。溶出液をICPで分析した(Suzukiら, 1987)。

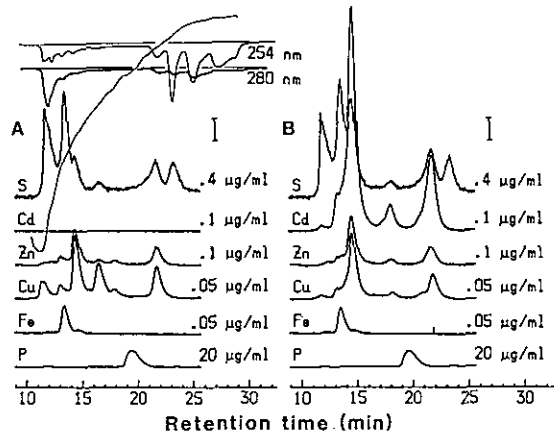


図7 カドミウムを腹腔内投与したギンブナの肝臓上清のメタロチオネイン分画のHPLC-ICP分布図  
 対照群(A)とカドミウム暴露群(B)の肝臓上清を図6と同様に分析した。溶出液の電導度を連続的にモニターした結果をA図に示した(Suzukiら, 1987)。

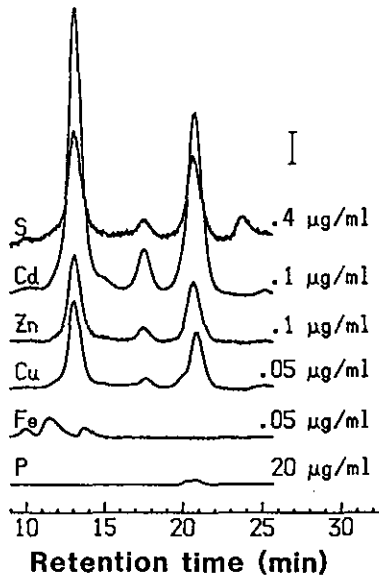


図8 カドミウムを腹腔内投与したギンブナの肝臓上清をSWカラムで分離した後、陰イオン交換カラムで分析したHPLC-ICP分布図  
 図2Bに相当する肝臓上清をカラムスイッチング法で分析した。図1の条件でSWカラム上で分離した。メタロチオネイン分画(図2Bの16.6分から20.6分)を陰イオン交換カラムに導入し、図6の条件で溶出した(Suzukiら, 1987)。

4種類の試料を、3種類のカラム条件で分離し、メタロチオネインに関連したデータ（カドミウム、銅、亜鉛、硫黄、254と280 nmの吸収）をすべて同時に測定するという今回の方法は、未知のメタロチオネインあるいは金属結合タンパク質の特徴付けには極めて有用であることがわかった。今回の分離分析結果から、環境中に存在する低濃度のカドミウムも、腹腔内に注射したカドミウムも共に、ギンブナの肝臓中では主としてメタロチオネインの2種類のイソ体に結合していることが明らかとなった。無処理のギンブナの肝臓中に存在する銅と亜鉛を含んだメタロチオネインと、上記のカドミウムを含んだメタロチオネインは同一のメタロチオネインと推定される。

#### 謝 辞

本実験に用いたギンブナの肝臓の内、低濃度のカドミウムを含む水で飼育したギンブナに由来するものは山村 充博士の御厚意によるものである。また、本研究は須長宏之君との共同研究によるものである（Suzukiら、1987）。

#### 引 用 文 献

- Bonham, K. and L. Gedamu (1984): Induction of metallothionein and metallothionein mRNA in rainbow-trout liver following cadmium treatment. *Biosci. Rep.*, 4, 633-642.
- Kägi, J.H.R. and B.L. Vallee (1960): Metallothionein: a cadmium and zinc-containing protein from equine renal cortex. *J. Biol. Chem.*, 235, 3460-3465.
- 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.
- Ley, H.L. III, 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.
- McCarter, J.A., A.T. Matheson, M. Roch, R.W. Olafson and J.T. Buckley (1982): Chronic exposure of coho salmon to sublethal concentrations of copper-II. Distribution of copper between high- and low-molecular-weight proteins in liver cytosol and the possible role of metallothionein in detoxification. *Comp. Biochem. Physiol.*, 72C, 21-26.
- Noël-Lambot, F., Ch. 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.
- 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.
- Pierson, K.B. (1985a): Isolation and partial characterization of a non-thionein, zinc-binding protein from the liver of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Comp. Bio-*

- chem. Physiol., 70B, 93-104.
- Pierson, K.B. (1985b): Occurrence and synthesis of a non-thionein, zinc-binding protein in the rainbow trout (Salmo gairdneri). Comp. Biochem. Physiol., 81C, 71-75.
- Ridlington, J.W., D.C. Chapman, D.E. Goerge and P.D. Whanger (1981): Metallothionein and Cu-chelatin: characterization of metal-binding proteins from tissues of four marine animals. Comp. Biochem. Physiol., 70B, 93-104.
- Roch, M., J.A. McCarter, A.T. Matheson, M.J.R. Clark and R.W. Olafson (1982): Hepatic metallothionein in rainbow trout (Salmo gairdneri) as an indicator of metal pollution in the Campbell river system. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 39, 1596-1601.
- Sunaga, H., E. Kobayashi, N. Shimojo and K.T. Suzuki (1987): Detection of sulfur containing compounds in control and cadmium-exposed rat organs by high performance liquid chromatography-vacuum-ultraviolet inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry (HPLC-ICP). Anal. Biochem., 160, 160-168.
- Suzuki, K.T. (1980): Direct connection of high speed liquid chromatograph (equipped with gel permeation column) to atomic absorption spectrophotometer for metalloprotein analysis: metallothionein. Anal. Biochem., 102, 31-34.
- Suzuki, K.T. (1982): Induction and degradation of metallothionein and its relation to the toxicity of cadmium. In: Biological Roles of Metallothionein. Foulkes E.C. (ed.), Elsevier/North-Holland, New York, 215-235.
- Suzuki, K.T., E. Kobayashi, H. Sunaga and N. Shimojo (1986): Total sulfur concentrations in tissues of control and cadmium-exposed rats by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry. Anal. Lett., 19, 863-873.
- Suzuki, K.T. and T. Maitani (1981): Metal dependent properties of metallothionein: replacement in vitro of zinc-thionein with copper. Biochem. J., 199, 289-295.
- Suzuki, K.T., H. Sunaga, E. Kobayashi and S. Hatakeyama (1987): Environmental and injected cadmium are sequestered by two major isoforms of basal copper, zinc-metallothionein in gibel (Carassius auratus langsdorfii) liver. Comp. Biochem. Physiol., 87C, 87-93.
- Suzuki, K.T., H. Sunaga and T. Yajima (1984): Separation of metallothionein into isoforms by column-switching on gel permeation and ion exchange columns with high performance liquid chromatography-atomic absorption spectrophotometry. J. Chromatogr., 303, 131-136.
- Suzuki, K.T. and M. Yamamura (1980): Isolation and characterization of metallothionein dimers. Biochem. Pharmacol., 29, 689-692.
- 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.
- Thomas, D.G., Cryer, A., J.F. de L.G. Solbe and J. Kay (1983a): A comparison of the accumulation and protein binding of environmental cadmium in the gills, kidney and liver of rainbow trout (Salmo gairdneri, Richardson). Comp. Biochem. Physiol., 76C, 241-246.

- Thomas, D.G., J.F. de L.G. Solbe, J. Kay and A. Cryer (1983b): Environmental cadmium is not sequestered by metallothionein in rainbow trout. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 110, 584-592.
- 山村 充・畠山成久・鈴木和夫 (1986): カドミウムの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. 国立公害研究所研究報告, 第99号, 205-214.
- 山村 充・鈴木和夫 (1983): フナ肝臓に誘導されるメタロチオネインの性質. *衛生化学*, 29, 100-104.

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 スモッグチャンパーによる炭化水素-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 スモッグチャンパーによる炭化水素-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イ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」の調整、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AGP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度との関係について  
—第4報 南澁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」の調整、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 土壌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 本流に発生するユス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-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、重金属等の土壌生態系に及ぼす影響と浄化に関する研究—昭和53~55年度 特別研究総合報告。(1983)
- 第46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、重金属等の土壌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パ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 汚泥の土壌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、生態学的研究)
- ※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 A study on the behavior of monoterpens 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)
- ※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)  
(日本の湖沼のユスリカの研究)
- 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/M S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—昭和59年度 特別研究報告。(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 汚泥の土壌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 汚泥の土壌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)
- 第100号 バックグラウンド地域における環境汚染物質の長期モニタリング手法の研究—特定汚染選択的検出法及び高感度分析技術の開発—昭和58~60年度 特別研究報告。(1986)
- 第101号 複合ガス状大気汚染物質の生体影響に関する実験的研究—昭和57~60年度 特別研究報告。(1986)
- 第102号 地球規模大気質変動に関する予備的研究。(1986)

- 第103号 環境調和型技術としての電気自動車の評価に関する基礎的研究。(1987)
- 第104号 Studies on chironomid midges in lakes of the Akan National Park.(1987)  
(北海道阿寒国立公園の湖におけるユスリカ相の研究)
- 第105号 畑地土壌における水分と諸元素の動態。(1987)
- ※第106号 筑波研究学園都市における景観評価と景観体験に関する研究。(1987)
- 第107号 遠隔計測による環境動態の評価手法の開発に関する研究 —昭和59～60年度 特別研究報告。(1987)
- ※第108号 植物の大気環境浄化機能に関する研究 —昭和57～60年度 特別研究総合報告。(1987)
- 第109号 地域環境評価のための環境情報システムに関する研究。(1987)
- 第110号 海域における赤潮発生のモデル化に関する研究 —昭和59～60年度 特別研究総合報告。(1987)
- 第111号 Application of X-Ray Photoelectron Spectroscopy to the Study of Silicate Minerals.(1987)  
(ケイ酸塩鉱物研究へのX線光電子分光法の応用)
- 第112号 光化学汚染大気中における有機エアロゾルに関する研究 —有機エアロゾルの生成と挙動に関する研究 —昭和58～61年度 特別研究報告。(1988)
- 第113号 光化学汚染大気中における有機エアロゾルに関する研究 —昭和58～61年度 特別研究総合報告。(1988)
- 第114号 水界生態系に及ぼす有害汚染物質の影響評価に関する研究 —昭和60～61年度 特別研究総合報告。(1988)

※ 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(Deptera, Chironomidae). (1978)
- No. 4\* Smog chamber studies 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(Deptera). (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 1979.(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 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.
- ※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—with special reference to heavy metals—.(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 crustacia 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 studied by the evacuable smog chamber—Atmospheric photooxidation mechanisms of selected organic compounds —Research report in 1980-1982,Part 1.(1984)
- No. 60 \* Studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides-sulfur oxides system—Formation mechanisms of photochemical aerosol—Research report in 1980-1982,Part 2.(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 1981-1983.(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,

Part 4.(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 formation.(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 in 1982-1983.(1985)
- No. 81 \* A studies 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 systems 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 and papers(Part 1)in 1983-1984.(1986)
- No. 94 \* Studies on the environmental effects of the application of sewage sludge to soil(II)—Research report and papers(Part 2)in 1983-1984.(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)
- No.100 \* Studies on the methods for long-term monitoring of environmental pollutants in



the background regions—Development of highly sensitive and selective analytical methods for measurement of pollutants in the background regions—Progress report in 1983-1985.(1986)

- No.101\* Experimental studies on the effects of gaseous air pollutants in combination on animals.(1986)
- No.102\* A review on studies of the global scale air quality perturbation.(1986)
- No.103\* Technological assessment of electric vehicle from the environmental protection viewpoint.(1987)
- No.104 Studies on chironomid midges in lakes of the Akan National Park.(1987)  
Part I .Distribution of chironomid larvae in Lake Akan, Lake Panke and Lake Kussyaro.  
Part II .Chironomid midges collected on the shore of lakes in the Akan National Park, Hokkaido(Diptera, Chironomidae)
- No.105\* Formulation of the dynamic behavior of water and solutes leaching through the field soil.(1987)
- ※No.106\* Appraised landscape and thier environmental value in Tsukuba Science City.(1987)
- No.107\* Studies on remote sensing for spatial and temporal analysis of environment—Research report in 1984-1985.(1987)
- ※No.108\* Studies on the role of vegetation as a sink of air pollutants—Final report in 1982-1985.(1987)
- No.109\* Studies on environmental information system for regional environmental evaluation.(1987)
- No.110\* Modeling of Red Tide Blooms in the Coastal Sea — Final report in 1984-1985.(1987)
- No.111 Application of X-Ray Photoelectron Spectroscopy to the Study of Silicate Minerals.(1987)
- No.112\* Study on the Organic Aerosols in the Photochemically Polluted Air — Studies on Formation and Behavior of Organic Aerosols — Research report in 1983-1986.(1988)
- No.113\* Studies on the Organic Aerosols in the Photochemically Polluted Air — Final Report in 1983-1986.(1988)
- No.114\* Studies on the Assessment of the Hazard of Chemical Substances to Aquatic Ecosystems — Progress Report in 1985-1986.(1988)

\* in Japanese

※ out of stock

[昭和62年11月30日受領]

**RESEARCH REPORT FROM  
THE NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES, JAPAN**

No. 114

**国立公害研究所研究報告 第114号**  
(R-114-'88)

---

昭和63年3月31日発行

発行 環境庁 国立公害研究所

〒305 茨城県つくば市小野川16番2

---

印刷 株式会社 イセブ

〒305 茨城県つくば市天久保2-11-20

**Published by the National Institute for Environmental Studies  
16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan  
March 1988**