SR-4-'90

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60~63年度 FY 1985~1988



THE NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES

環境庁 国立公害研究所

Report of Special Research from the National Institute for Environmental Studies, Japan 国立公害研究所特別研究報告

SR-4-'90

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60~63年度 FY 1985~1988

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)

特別研究責任者:菅原 淳 生物環境部部長

特別研究幹事:安野正之・畠山成久

報告書編集担当:花里孝幸

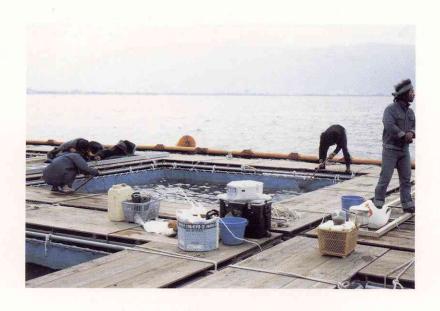


写真1 大型隔離水界 (縦 5 m,横 5 m,深さ 4 m)



写真 2 小型隔離水界-円筒型 (直径 1 m, 深さ 4 m)



写真3 小型隔離水界-バッグ型(直径1m,深さ2~3m)

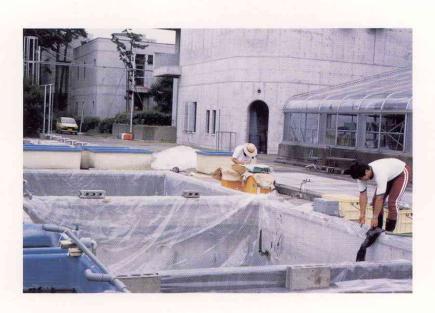


写真 4 陸上型隔離水界 (大型コンクリート水槽:縦4.1m, 横5.1m, 深さ1.5m:実験準備)

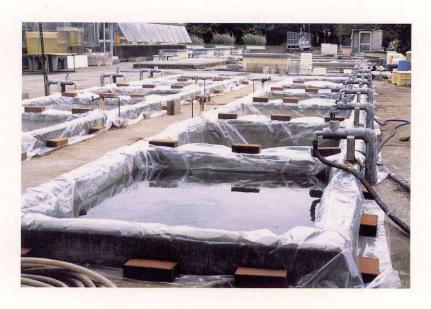


写真 5 陸上型隔離水界 (小型コンクリート水槽:縦1.5m, 横 2 m, 深さ0.5m)



写真 6 人工水路 (幅25cm, 長さ160m)

昭和60年度から4年間をかけて特別研究「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」が行われた。この中では有害汚染物質の生態系影響を野外で実地に調査をし、また、自然に近い生態系を実験的に作り、その影響の解析を行った。さらに汚染地域に優占する生物種の耐性機構の解明も試みた。既に本特別研究の前期2年間の成果については、中間報告を「国立公害研究所研究報告第114号」として出版しており、本報告は、その後の成果を含め、その全体をとりまとめたものである。

農薬などによる水環境の汚染が社会問題となってから久しい。その間,毒性が強い有機塩素系殺虫剤や残留性の高い有機リン系殺虫剤の使用が規制されるなどして,汚染状況は改善されてきた。しかしながら,農薬の種類は変わったが,その使用量は依然として多く,河川や湖沼の生態系に影響を与えている。また重金属汚染についても,その原因となる鉱山の多くは休止,又は廃止されているが,そこから流出する水にはかなりの重金属が含まれており,それが河川に流入している。そこでこれらの有害汚染物質が水界生態系に与える影響を評価することが重要なテーマとなった。

河川や湖沼には様々な生物が生息し、それらは有機的な関係を保って"生態系"を作っている。この中で一部の生物が有害汚染物質の毒性影響を直接に受けて減少すると、それと関係のある別の生物に影響を与え、さらにその影響が他の生物へと波及する。これらの影響を評価するためには、これまで行われてきた個々の生物を用いた毒性試験だけでははなはだ不十分であり、生態系を念頭に置いた実験及び解析が必要不可欠であることが本研究で示された。

なお、本研究を進める上で、客員研究員、共同研究員をはじめ多くの方々のご協力やご助言を 頂いた。これらの方々に深く感謝の意を表したい。

有害汚染物質の種類はますます多様化し、それらが水界生態系に与える影響の評価は今後も重要な研究課題として残っている。当研究所では引き続きこの分野の研究を進める必要があるものと考えている。今後,なお一層の御批判,御指導をお寄せ頂ければ幸いである。

平成2年3月

国立公害研究所

所長不破敬一郎

目 次

1 研究の目的と経緯
1.1 はじめに
1.2 研究の目標と達成度
2 研究の成果と概要
2. 1 重金属汚染
2.1.1 重金属汚染と河川の藻類相 5
2.1.2 藻類種の重金属耐性と耐性機構
2.1.3 重金属汚染と河川の水生昆虫相14
2.1.4 水生昆虫の重金属耐性機構20
2. 2 農薬汚染27
2.2.1 農薬の複合汚染影響27
(1) 農薬分析法の確立28
(2)河川・湖沼における農薬の動態29
(3)農薬の生態系影響35
2.2.2 屋外の実験生態系を用いた農薬の影響解析42
(1) 隔離水界を用いた湖沼生態系影響解析43
(2)人工水路を用いた河川生態系影響解析
[資料]
I 研究の組織と研究課題の構成
1 研究の組織
2 研究課題と担当者
II 研究成果発表一覧 ····································
1 誌上発表
2 口頭発表
3 本特別研究にかかわる刊行物

1 研究の目的と経緯

1.1 はじめに

化学物質の環境への影響評価は本来生態系全体に対してどのような影響を与えているかを評価 すべきであるが、現在は評価法が確立していないことからなんらの評価も行われていない。かつ て有機リン系殺虫剤を多量に使用していた頃に比べると、トンボも蛍も帰ってきたといわれる。 しかし本当に生物の種類は元に戻っているのだろうか? 現在も形は変わっても、そしてより低 毒性といわれる農薬が散布されているが、その種類の多さ、散布域の広大なこと、そしてそれら バイオサイド以外の化学物質の環境中への放出を考えると、ますます生態系影響評価の必要性が 望まれている。

生態系における問題は,

- 1) 汚染物質の質と量とかく乱の程度について
- 2) かく乱された生物相がどのような過程で回復するのか、また果して回復能力があるのか?
- 3) 生態系が生物相互の関係において成り立っていることから、その一部の破壊が系の構造の どこまで影響が及ぶのか?
- 4) 環境中での汚染物質の挙動と共に生物の食物連鎖などを通しての生物濃縮とその毒性
- 5) 汚染物質によるストレスを受けている生態系は特に変わった生物相を形成していてすぐ識別できるものか?

などである。

これらの問題に答えるには大規模の野外試験が必要である。あるいは現実に汚染されている地域を研究対象としなければならない。大規模野外試験に代わる評価方法の開発はこの研究の目的の一つであった。

1.2 研究の目標と達成度

生態系影響試験は室内の小型の水槽によるものから湖そのものをあるいは河川の一部を対象とするものまで大変幅が広い。これも本来段階を踏むべきものである。すなわち、できれば自然環境のもとでの複数の生物種、しかも栄養段階の異なる生物を含む系での試験を経て、その後実際に野外でのモニターを行いその化学物質についての環境汚染のリスクについての判断を行うべきである。そのためサブテーマ(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において比較的容易に複数の生物種を含む生態系を試験用に開発しなければならない。本研究では5×5×4mの大型の隔離水界も用いたが、小型の隔離水界の開発に力を注いだ。池沼に設置するバッグ型と陸上のコンクリート水槽はこの要望に応えることが明らかにされ、それぞれ実用に供することができる。繰り返しを多く取れることからその結果の信頼性

の問題も解決され、また濃度段階も多く取れることから、化学物質の濃度と生態系影響の程度の 関係も解析可能である。かく乱を受けた後の生態系の長期間に渡る回復過程については今後の課題である。また隔離水界は化学物質の挙動の研究についても自然界で研究するよりも容易である と思われるが、これも今後の研究課題として残された。

重金属汚染の多くも複数種の重金属が含まれているが、本研究におけるサブテーマ(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は主として農薬に関してである。農薬は目 的によっては2種以上の化合物を混合して用いることも普通である。例えば病気を媒介するウン カと病原菌の両者を防除する目的で殺虫剤と殺菌剤を混合したり、より広いスペクトラムをとる 目的で複数種の除草剤を混ぜたりする。また同時でなくても各種の農薬が連続して用いられるこ とが多い。その影響は生物相の貧弱化を招くことが野外の調査結果により明らかにされた。その 因果関係は一部解明されたが、問題が複雑なため今後更に研究が必要である。実験室における複 合汚染影響の研究も魚類、ミジンコを用いて進められた。

本研究の当初においては重金属汚染河川の調査に重点が置かれていた。調査は 20 河川以上で全国に及んで行われた。汚染重金属の種類によってそれぞれ特異的な生物相を期待したが,ほとんどの河川が多種類の金属で汚染されており,それぞれの重金属汚染に対する特徴的な生物種の構成については一部を除いて解明することが困難であった。その多くが銅鉱山であることから,銅の濃度が高いのが普通であった。いずれにせよ銅濃度に対応する特異的な生物相を明らかにできた。さらに生物に対して作用する場合の金属の存在状態,あるいは生物の重金属取り込みにおける重金属間の干渉作用などが問題となった。また特異的な生物相あるいは生物種がなぜそのような環境で生活できるのかという疑問に対してある程度答を見いだしたことはこの研究の大きな成果である。これらの研究は当初に立てたサブテーマの(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,及び(4)有害汚染物質に対する指標生物の検索に関する研究の成果として取り上げることができる。

2 研究の成果と概要

2. 1 重金属汚染

重金属が河川の生物相に及ぼす影響を研究するため、国内各地の休廃止鉱山(一部操業中)に 近接する河川で藻類と底生動物の調査を行った。国内にはおよそ6,000 か所の休廃止鉱山がある とされるが(環境白書,1975)調査地点には比較的規模が大きい鉱山、又は幾つかの鉱山が集合 した地域を選んだ。鉱山から流出する重金属は河川に流入しその濃度は次第に希釈される。また, 流入地点の上流や支流に重金属汚染のない対照地点を選び、異なる重金属濃度間における生物相

表1 重金属の生態影響調査を行った河川(対照河川を含む)と調査時期及び主要な重金属

	調査地区	調査河川	重金属	調査年月
1)	札幌市豊羽鉱山	白井川,支流	Zn, Cu	'87. 7
2)	北海道イトムカ鉱山	無加川	Нg	'87.10
3)	秋田県小坂町	小坂川,支流	Cu, Zn	79.10; 80.10; 81.10;
		大湯川,米代川	Cu, Zn	'82, 4; '83, 4; '84, 10
4)	岩手県田老町	長内川,支流	Cu, Zn	'82. 3 ;'84. 3
5)	山形県	間沢川,水沢川	Cu, Zn	'81.5;'83~'84(週1回)
		6)吉野川,7)満沢川	Cu, Zn	'81. 5 ;'83. 6
8)	茨城県日立市	宮田川	Cu, Zn	'87.2;'88.1 (月1回)
9)	茨城県高取鉱山	塩小川,藤井川,支流	Cu, Zn	'84.12;'88.12
10)	栃木県足尾町	渡良瀬川, 庚申川, 支流	Cu, Zn	'80, 7; '85.11; '89.3
11)	埼玉県大滝村	中津川,神流川	Cu, Zn	'82.7
12)	静岡県伊豆	持越川,狩野川,		'86. 2
		土肥山川		'86. 2
13)	岐阜県神岡鉱山	高原川,支流	Zn, Cu	'88.10
14)	石川県小松市	郷谷川,大杉谷川,梯川	Cu, Zn	'84. 6
15)	和歌山県妙法鉱山	那智川,支流	Cu, Zn	'83.12;'84.3
16)	三重県紀州鉱山	板屋川,北山川	Cu, Zn	'83.12;'84.3
	,	17)楊子川,支流	Cu, Zn	'83.12;'84.3
18)	奈良県大和水銀	芳野川,宇陀川,支流	Hg	'87.3
19)	兵庫県生野鉱山	市川	Cu, Zn	'80. 3
20)	愛媛県佐々連鉱山	銅 山川,上小川,馬立川	Cu, Zn	'85. 3
21)	高知県白滝鉱山	朝日谷川,下川	Cu, Zn	'85. 3 ;'86. 3 ;'86. 8
22)	黒滝 他	長者川,中津川	Cu, Zn	'85. 3 ; '86. 3 ; '86. 8
23)	鹿児島県錫山鉱山	万之瀬川	Zn	'85. 2
	助代~南州鉱山	堀川 他		'85. 2
24)	長崎県対馬	佐須川	Zn	'81.7 ;'83.3
25)	沖縄県屋嘉比島	小川,湿地	Cu, Zn	'88. 3

を比較した。操業当時 (1950 年代) は河川水中の銅や亜鉛濃度が数 ppm もあり,選鉱スライムの川床への沈着などで鉱山の下流数 km には生物が生息しないと報告された数河川も調査の対象とした。表 1 と図 1 に調査した河川と調査時期を示す。調査地点のほとんどは銅と亜鉛の両者によって汚染されていた。全調査地点における河川水中の銅と亜鉛濃度の相関をとると(図 2),概して銅が亜鉛よりも低い傾向にあるが,両者の濃度には高い正の相関のあることが分かる。水生生物に対する毒性は銅の方が亜鉛よりも何倍も高いため,ほとんどの調査地点の重金属影響は銅が主体である。亜鉛のみの生態影響を検討するため,銅の影響が認められない程低く(~ 5 ppb),かつ亜鉛の濃度が高い地点(白井川,高原川支流,佐須川,万之瀬川)についても調査した。

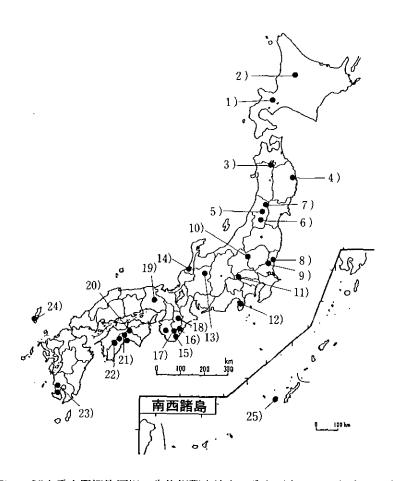


図1 国内重金属汚染河川の生物相調査地点の分布 (表1の地点番号と対応)

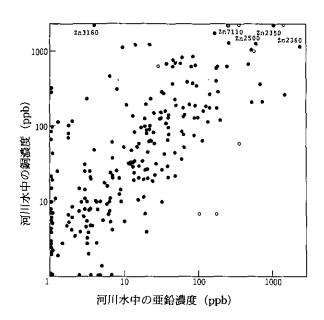


図 2 全調査地点における,河川水中の銅と亜鉛濃度の関係 (白丸は pH 6 以下の地点)

2.1.1 重金属汚染と河川の藻類相

(A) 重金属汚染河川における藻類の群集構造

重金属汚染河川では重金属に耐性のない種は生育できなくなるため、藻類の群集(異種の生物の集まり)を構成する種類数は減少する。銅濃度と藻類の種類数との関係をみると、濃度が高くなるのに伴い種類数は指数関数的に減少する傾向が認められる(図3)。また、同様な関係が群集の多様性との間にも認められ、銅濃度が高い地点では群集は耐性種の占める割合が大きくなり偏った構造になる傾向が示されている。藻類現存量(この報告では、単位面積当たりの細胞数)に影響を及ぼす要因として、一般的には降雨等による流量変化、群集自体の遷移、底生動物による摂食などが挙げられる。重金属汚染河川でもこのような要因の影響により藻類現存量の変動は大きい。しかし、藻類を摂食する水生動物が生息し得ないような高い銅濃度(~1,000 ppb)の地点では藻類の現存量が極めて少なかったり、あるいは藻類の生育が全く認められない地点があり、これらは藻類の増殖が銅によって阻害を受けている結果と考えられる。

重金属汚染を受けている河川で優占種として広く分布していたのはラン藻の2種及びケイ藻の1種である。そのうちケイ藻のAchnanthes minutissima は、最も高い銅濃度の地点(24,600 ppb)でも出現した(図4)。また緑藻(Stigeoclonium tenue)、黄色ベン毛藻(Hydrurus foetidus、Phormidium spp.)ラン藻(Oscillatoria spp., Chamaesiphon minutus) 2種は銅濃度が低い地

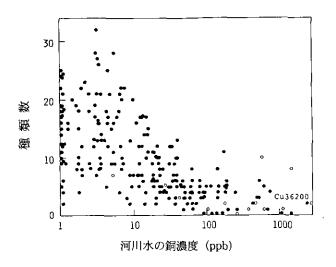


図3 河川水中の銅濃度と付着藻類の種類数との関係(白丸はpH6以下の地点)

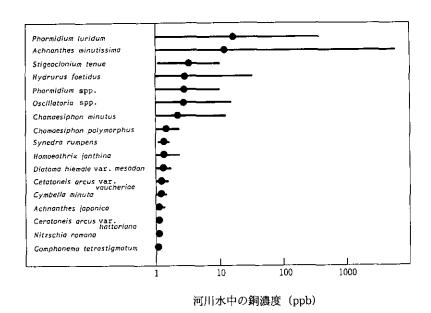


図4 重金属汚染河川における藻類の優占種と採取地点の河川水中の銅濃度 (平均値±S.D.) の関係

点から高い地点の広範囲において出現する傾向があり、これらの種が出現した河川水中の平均銅 濃度も高い値を示した。

非汚染河川では藻類群集に占めるケイ藻類の種類が多く、現存量も多くなる傾向が認められる。しかし、強く汚染された河川のケイ藻としては A. minutissima のみが出現する。この種は非汚染河川でもみられるが、銅濃度が 5 ppb 以下の場合には出現頻度は低かった。しかし、銅の濃度が 5 \sim 10 ppb ではこの種のケイ藻現存量に占める割合は増加をはじめ、 $10\sim20$ ppb の間でその割合は急激に増加し、銅濃度が 20 ppb 以上の汚染地点ではケイ藻群集のほとんど又は全てが A. minutissima によって占められる傾向が認められた(図 5)。

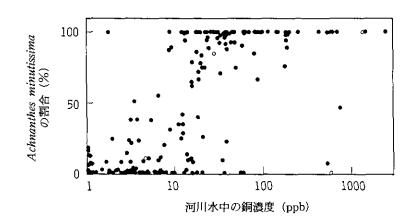


図5 河川水中の銅濃度と全ケイ藻種に占める重金属耐性種 Achnanthes minutissima の割合 (%)

亜鉛濃度が 100~数 100 ppb と高いが銅濃度が 5 ppb 以下と低い地点では、銅の濃度が高い地点でのような特徴的な優占種は見られず、それぞれの調査地点で異なる藻類が優占種になる傾向が認められた。しかし、亜鉛濃度が約 3,200 ppb と著しく高い地点では、銅の濃度が 5 ppb 以下であったが黄色ベン毛藻の H. foetidus、ケイ藻の A. minutissima そして緑藻の Hormidium sp. が優占種となり、銅の濃度が高い地点における傾向と類似していた。

重金属に汚染されている酸性の水域では中性あるいは弱アルカリ性の水域とは異なり Hormidium sp. のような緑藻類が優占種になることが多く、ラン藻類では Phormidium sp. が優占種になることが多かった。

(B) 優占種の地域特性

銅濃度の平均値が高かった地点で優占していた種のうち、冷水性種である黄色ベン毛藻類のH. foetidus は暖候期($4\sim9$ 月)には北日本に分布するのに対して、寒候期にはほぼ全国に分布が広

がり、季節的に分布する地域が異なっている。しかし、ケイ藻類の A. minutissima、ラン藻類の P. luridum e E. minutus などは全国的に分布し、季節的にも分布が異なることはなかった。銅 濃度の平均値が 10 ppb 前後あるいはそれ以下の地点で優占したケイ藻類は低水温に適応性の大きい種類である。これらの種にも季節的な分布の相違がみられる。また、地域的に分布が限られていた種として緑藻の Stigeoclonium tenue が挙げられる。本種が重金属汚染河川で優占種として出現したのは本調査では四国地方のみであったが、我が国における本種の分布は広く、今後の調査により汚染域における分布も広がる可能性がある。

(C) 藻類群集の周年変化

国内を広く調査し重金属汚染と生物相の関係を一般化しようとすると,1地点当たりの調査回 数は1回から多くても数回(予備調査を含む)に限られる。したがって,重金属汚染河川におけ る生物相が季節的にいかに変化するかを明らかにする目的で,山形県の間沢川において周年調査 (週ごと)を行った。河川水中の銅と亜鉛の平均濃度は 67.4±32.1 と 1,140±500 ppb であった。 間沢川では雪解け水が多く流入する春期には藻類群集はほとんど発達しなかった。それ以外の時 期にはラン藻では *P. luridum が* 6 ~ 7 月にかけ優占して出現し(51 サンプル中 41 回), *C. minutu*s は7月~翌年の3月まで変動はするもののある程度の現存量を保ちつつ出現した(44回)。ほかに は2種のラン藻が出現(10と8回)したが出現時期が限られたり散発的であった。ケイ藻では全 サンプルで合計 14 種類が記録された。その内 A. minutissima が最も多く 46 回出現し、次いで Surirella ovataが 16回出現したが、他の12種は年間を通しても1~3回しか出現しなかった。 A. minutissima の現存量は大きく変化したが現存量の極端に低い春期とごく一部の時期を除き全 ケイ藻の 100%又はそれに近い割合で常に優占した。S. ovata の現存量は 10 月末にわずかに高まっ たが、春先から 12 月にかけ低い現存量を維持した。黄色ベン毛藻類の H. foetidus は 28 回出現し たが, 6~10 月には全く出現せず,水温の低い 11~ 5 月にのみ多く出現し,現存量のピークは 1~ 2月の厳寒期にあった。優占種間の関係では,A. minutissima の現存量が減少するときは,他の 3種の優占種のいずれかの現存量が多く,春先以外は全ての種類の現存量がそろって極端に減少 することはなかった。このように重金属汚染河川においても,周年的には限られた種組成間で藻 類群集の変化が認められた。変化を生じさせる主な要因としては重金属濃度(春先増大),水温, 流量などの変動,水生昆虫(この場合ユスリカとコカゲロウ)による摂食などが挙げられる。

(D) 非汚染河川と汚染河川との藻類群集の入れ換え実験

河川水中の重金属濃度は時として、一時的にせよ急激に変化するが藻類群集がそれに対していかに反応して変化するかを現場実験により検討した。非汚染河川と重金属汚染河川(間沢川)に生育した藻類群集を礫ごとトレイに配置し、それぞれ別の河川に置き換えた。実験期間中の非汚染河川の銅と亜鉛濃度はそれぞれ N.D.(検出限界以下)~2.2, 5.6~8.9 ppb, 汚染河川のそれは、

70~146, 1,770~2,570 ppb であった。非汚染河川の藻類群集を汚染河川に移した場合当初 16 種あった藻類は,7日後に 13 種,15日後には 9 種に減少した。実験期間中に間沢川で増加した A. minutissima と P. luridum は置き換えた礫の上でも増加したが,両種よりも耐性が低いとみなされる H. janthina は 7日後には全く消失し,C. minutus と H. foetidus は 15日後ではわずかにしか見られなくなったが,Ochoromonas sp. は 15日後においても元の半分程度の現存量が認められた。このように藻類相はわずかの期間でも各々の種の耐性にもとづき大きく変化した。一方,非汚染河川に移した礫では,種数は当初の 3 種から 7日後に 8 種,15日後には 15 種に増加した。耐性種である A. minutissima と P. luridum は非汚染河川でも 7日後までは増加したが,15日後ではかえって著しく減少した。これは,15日後には 15 種に増加した藻類との種簡競争により,これら 2 種の耐性種の増殖が抑制されたためと考えられた。これらの変化は非耐性種が汚染河川で急速に消失した場合に比較し緩漫な変化であった。

2.1.2 藻類種の重金属耐性と耐性機構

(A) 銅に対する藻類種間の耐性の比較

重金属に汚染された水域では藻類の多様性が減り、藻類組成が単純になることが野外調査によっ て明らかにされている。こうした重金属汚染地区で優占する種は,①本質的に種特有の耐性を備 えているのか,②それとも重金属汚染の環境に長年さらされた結果として耐性を獲得してきたの か、③重金属耐性の性質は遺伝的に安定なのか不安定なのか、④これらの性質はすべての藻類に 共通しているのか、ラン藻、ケイ藻、緑藻など分類学的グループにより違うのかなどを明らかに するための研究を行った。各地の重金属汚染河川又は,非汚染河川に生育している底生藻類を単 離培養し 118 の藻類株を得た。野外から採集して単離培養し, 6 か月以内に藻類の光合成速度に 及ぼす銅の影響を調べた。生育場所の水中の銅濃度と光合成活性に及ぼす銅の半阻害濃度との間 にはラン藻、ケイ藻、緑藻、車軸藻のいずれにおいても対数値で正の直線的相関が認められた。 すなわち,ケイ藻,ラン藻,緑藻など藻類の分類群内での銅耐性の程度は,おおよそ生育場所の 銅の濃度に依存しており,汚染地区の藻は非汚染地区の藻より耐性があるといえる。しかし,分 類群間で比較すると,ケイ藻と車軸藻に比べ緑藻は全体に銅に対し強い傾向,ラン藻は極めて弱 い傾向を示した。つまり,緑藻の仲間は非汚染地区から単離した藻でも他の分類群の藻類に比べ 耐性があり,反対にラン藻の仲間は汚染地区から単離した藻でも光合成活性の阻害試験では,他 の分類群の藻より低い耐性を示した。ラン藻の中には汚染地区で優占している種類であるにもか かわらず,銅による光合成活性の半阻害濃度が生育場所の銅の濃度を下まわるものが幾つか認め られた。このことはラン藻の銅耐性が河川から採取後、急速に低下したことを示唆しその機構に ついて後に検討した。

さらに、同一種であっても生育場所の銅濃度により、銅耐性が異なっていることが、ケイ藻の Achnanthes minutissima, A. linearis, Nitzschia palea, Synedra rumpens や車軸藻の Klebsor $midium\ klebsii\ r$ で示された(図 6)。同一種であっても汚染地区に生育している分離株と非汚染地区に生育している株では、銅耐性に関しておそらく遺伝的にも全く異なっていると考えられる。 一方、緑藻のクロロコッカム目の Chlorella vulgaris と Scenedusmus acutus では、そういった傾向は希薄で、本質的に銅耐性を備えているのではないかと考えられた。

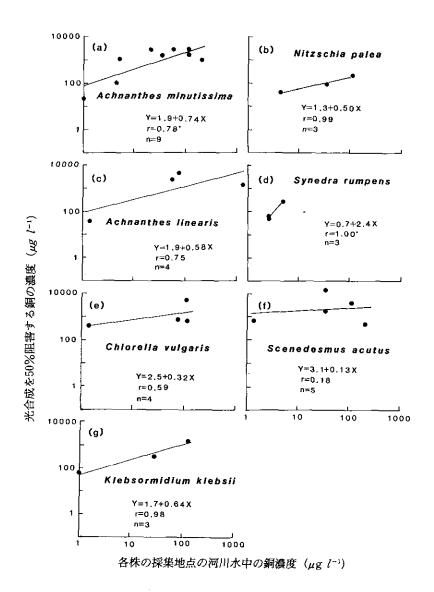


図 6 同一種間での藻類生育地点の河川水銅濃度と光合成活性の半阻害濃度との 関係

(B) 銅に対するラン藻の特異性

単離した藻の継代培養は銅を含まない培地を用いている。銅耐性の性質は遺伝的に安定なのか不安定なのかを明らかにするため、単離後 $1.5\sim2.0$ 年後に、幾つかの分離株について銅が光合成活性に及ぼす影響を再び試験した。結果は表 2 に示すようにケイ藻や緑藻の耐性がほとんど変化しなかったのに比べ、ラン藻の半阻害濃度は Phormidium foveolarum で 52 から 20 ppb に、P. ramosum で 286 から 46 ppb に、P. uncinatum で 262 から 22 (平均値、n=2) ppb に、Phormidium sp. (olivascens?) は 170 から 33 (平均値、n=2) ppb へと明らかに低くなり、より低レベルの銅で阻害を受けることが明らかになった。したがって、ケイ藻や緑藻などの真核藻では銅耐性は遺伝的にある程度安定した形質であるが、ラン藻に関しては継代培養を繰り返すうちに銅に対する耐性を失うことが明らかになった。

一方, 藻の増殖に及ぼす銅の影響を調べるため, 通常の CSi 培地に銅を 635 又は 1,270 ppb 添加して培養を試みたところ, 真核藻では光合成の半阻害濃度が低い分離株については 1,270 ppb で

表 2 重金属汚染河川から単離培養した藻類株の光合成速度に及ぼす銅の 半阻害濃度 (ppb) と銅前処理 (635ppb, 10~20日) 株の半阻害濃度

	採集後 6 か月 以内に試験	採集後1年半へ 2年に試験	・ 採集後1年半〜2年 に銅前処理した株						
ラン藻綱									
Chamaesiphon subglobosus	48		$104 \pm 23 \ (n = 3)$						
Phormidium foveolarum	29		$224 \pm 7 \ (n = 3)$						
P. foveolarum	52	20	27 $(n=2)$						
P. jenkelianum	19		71 $(n=2)$						
P. molle	22		$87 \pm 16 \ (n = 3)$						
P. ramosum	100		229						
P. ramosum	286	45	140 $(n=2)$						
P. uncinatum	262	22 (n=2)	148 $(n=2)$						
Phormidium sp.	170	33 (n=2)	(n=2)						
ケイ藻綱									
Nitzschia palea	212	280 (n=2)	314 (n=2)						
緑藻綱									
Chlorella vulgaris	411		623 (n=2)						
C. saccharophila	1,270	983	1,147						
Chlorolobion braunii	966		1,253 (n=2)						
車軸藻綱									
Cosmarium sublateriundatum	253	385	429						
Stichococcus bacillaris	788	815	844 (n=2)						
Pleurastrophyceae		•							
Microthamnion kutzingianum	475		476 (n = 2)						

(測定回数 n 付きは、平均値)

はほとんど増殖が認められなかった。しかし、一部のラン藻(主に汚染地区から採取したもの)では光合成の半阻害濃度が低いにもかかわらず増殖が認められた。そこで、銅を 635 ppb 添加して培養した藻について、光合成活性の半阻害の試験を行った。表 2 に示すように、ケイ藻や緑藻では 1.2~1.5 倍程度半阻害濃度の高まるものがあったが、銅の処理前後の藻類株では大きな差はなかった。しかし、ラン藻では P. foveolarum、P. uncinatum、Phormidium sp. などの分離株が示すように、光合成活性の半阻害濃度の値が 10 倍近く増加し銅の前処理をした株で銅耐性が著しく増加することが分かった(表 2)。細菌では重金属の耐性に関与する遺伝子がプラスミドにコードされていることが知られている。また、ラン藻にプラスミドが存在することも最近明らかになってきた。したがって、ラン藻でもプラスミドが銅耐性を支配している可能性が高いことが示唆されたが、確認には今後の研究を要する。

(C) ケイ藻 Achnanthes minutissima の耐性機構

付着ケイ藻 Achnanthes minutissima は重金属汚染河川に出現するもっと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いない。秋田県小坂川の重金属汚染河川から、採取された本種の無菌分離株を用いて行った銅耐性実験を行い、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について調べた。

本種を Cu-EDTA を添加した培地で培養した場合は $0\sim15~\mu M$ まで全く増殖阻害がみられなかったのに対し、 $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ を添加した場合は添加した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、無機物との錯体を形成しているものが考えられた。この問題を更に明らかにするために、pH を変動させて銅の影響を調べたところ、pH 5、6、7、8 各々において、 Cu^2+O 各濃度に対して本種の増殖速度をプロットした場合に Cu^2+O 増殖速度に及ぼす影響は、次式のような飽和型のモデル式で示すことができた。

$$\mu = \mu_{\min} + (\mu_{\max} - \mu_{\min})/(1 + k[Cu^{2+}]^2)$$

ここで μ は増殖速度, μ_{min} は増殖速度の最低値, μ_{max} は最大増殖速度,k は pH 5,6,7 で 0.174×10^{12} mol $^{-2}l^2$,pH 8 で 1.562×10^{12} mol $^{-2}l^2$,[Cu $^{2+}$] は Cu $^{2+}$ の濃度(mol $^{l-1}$)である。この式により,増殖の半阻害を与える Cu $^{2+}$ の濃度は pH 5,6,7 で $2.40~\mu$ M,pH 8 で $0.8~\mu$ M と計算された。このように,Cu $^{2+}$ のみを阻害因子とした時,pH 8 での結果のみが,他の pH での結果から大きく異なってくることに関して従来の知見からは説明することはできない。次に,各 pH で Cu $^{2+}$,CuOH $^{+}$,Cu 2 (OH) $^{2+}$,CuCl $^{+}$ を総合した T $^{-}$ Cu に対して増殖速度をプロットした場合には,T $^{-}$ Cu の増殖速度に及ぼす影響は,基本的には 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。

 $\mu = \mu_{min} + (\mu_{max} - \mu_{min})/(1 + k[T - Cu]^2)$

ここで、k は $0.114 \times 10^{12} \text{mol}^{-2} l^2$ 、増殖の半阻害濃度は $2.96~\mu\text{M}$ と計算された。この場合、これら 4 種の銅は各々、各 pH で濃度が異なっていたにもかかわらず、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、作用する銅は少なくとも 4 種、 Cu^{2+} 、 CuOH^+ 、 $\text{Cu}_2(\text{OH})^{2+}$ 、 CuCl^+ であると結論された。

 $A.\ minutissima$ の銅耐性機構を把握するために、 7μ M と 22μ M の銅を添加した培地で本種を培養した系での銅の分布を調べたところ、 7μ M の銅の培養系では添加した銅の 96.7%が培養液中に残っており、細胞壁や殼に付着している銅はわずかに 2.8%、細胞内の銅は 0.5%であった。また、 22μ M の銅の培養系では、培養液中に残る銅は 61.2%と減り、細胞壁や殼に付着する銅は 37.4%と増加し、さらに細胞内銅は 1.4%とわずかに増加した。細胞内銅の絶対量を比較すると、 7μ M と 22μ M の培養系で、各々0.037 fmol cell- 1 及び 0.441 fmol cell- 1 と、約 10 倍強異なっていた。細胞内銅がどのような状態で存在しているか明らかにするために、Sephadex G-75 と銅イオン、無機態の銅及び低分子の有機物と弱い錯体を形成している銅をトラップするカラムである Asahipak GS-520T のカラムを使って細胞内銅の状態を調べた。Sephadex G-75 では、銅の存在を示す 2 つのピークが確認され、1 つのピークは小さく、タンパクと結合していることが示唆されたが、他のピークは大きいがタンパクと結合はしていないことが示唆された。Asahipak GS-520T では、唯一の銅のピークが確認され、それはメタロチオネインより高分子のタンパクと結合していることが判明した。しかしその量は、細胞内全銅量の 1/10 でしかなかった。以上の結果より、細胞内銅のほとんどは、遊離した状態あるいは低分子の有機物と弱い錯体を形成しており、わずかに 10%程度がタンパクと結合して、無毒化されていると結論された。

タンパクと結合していない銅がどのような状態で無毒化されているかまだ不明ではあるが、銅と錯体を形成すると思われる有機酸の細胞外排出量を調べたところ、細胞内銅の10倍以上の量で排出されていることが判明したことから、このような有機酸が銅と結合し、細胞外へ銅を放出しているのではないかと考えられた。

以上の結果から、A. minutissima の銅耐性機構には、図7に示すように、1) 殼及び細胞壁での銅の捕獲(排除-Exclusion の機構)、2) 細胞内銅のタンパク質との錯体形成(細胞内無毒化機構)、及び3)銅と有機酸の錯体形成による細胞外への放出(排せつ-Extrusion の機構)の3つの機構があると考えられた。

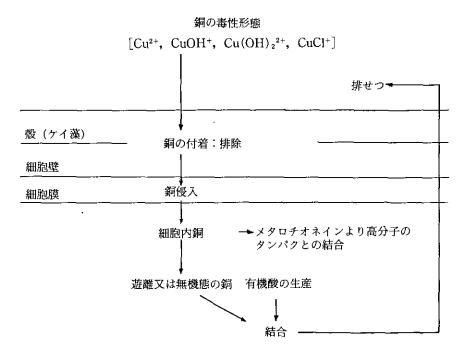


図7 ケイ藻 Achnanthes minutissima の銅耐性機構(模式図)

2.1.3 重金属汚染と河川の水生昆虫相

(A) 銅と亜鉛濃度と種数の関係

全調査地点 (111 地点) の河川水中の銅濃度と水生昆虫の種類数の関係を図 8 に示す。水中の銅濃度が 10 ppb 以下の地点では水生昆虫の種類は約 30 種から 60 数種の範囲にあり、その組成も特定の種類に極端に偏ることがなく多様性に富んでいた。図 8 の種数は、幼虫による種の同定がカワゲラ類、双翅類などにおいては困難、又は不可能な種が多く属レベルにとどめているものを含む。特にユスリカはここでは 1 種として扱っているが、非汚染地区では数十種類を含み、高汚染地区では特定の数種に減少する(後述)。したがって、これらの点を加算すると図 8 の種数の差はさらに拡大する。銅濃度が 20 ppb、又は 40 ppb 以上では種数は大部分の地点で 20、または 10 種類以下に減少した(図 8)。さらに種組成は、表 3 に見られるような特定の重金属耐性種に著しく偏ったものに変化している。銅の影響は生息密度にも顕著に認められ、20 ppb 以下ではほとんどの地点で 1,000~12,000(全種の総個体数・m⁻²)の範囲にあったが銅濃度がそれ以上では 4,000以下から極端な場合は無生息までの減少が認められた。

亜鉛濃度と種数の関係は銅のように明りょうではなく,銅の場合とは異なり 100 ppb 以上の地点でも 10 種類以上の値を示す地点の方が多かった(図 8)。亜鉛と種数の関係で種数が 10 以下の地点もあるが,それはその地点の銅濃度がいずれも 20 ppb 以上であることから銅の影響によるものと考えられる。

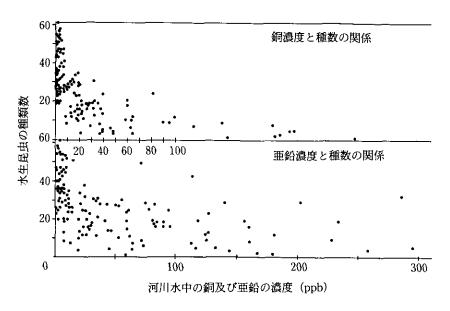


図8 河川水中の銅(上段)及び亜鉛(下段)濃度と水生昆虫の種類数との関係

(B) 重金属(主として銅) 汚染河川の優占種

重金属汚染地点(Cu>10 ppb, 延べ111 地点)における優占順位($1\sim6$)ごとの出現回数を表 3 に示した。優占順位は,密度(個体数/単位面積)にもとづくものである。サーバーネット $(30\times30~{\rm cm})$ により 1 地点当たり $3\sim4$ 回川床からサンプルを得,底生生物は実体顕微鏡下ですべて回収した。優占順位を 6 位までに限ったのは,銅濃度が 10 ppb 以上の全地点の平均でも優占順位 6 位までの優占種でだけで全個体数の $94\pm7\%$ を占め(表 3),銅濃度が増加するに従って種数は更に減少する一方で, $1\sim$ 数種で 100% を占めるようになるからである。また銅濃度の低い地点では種数が増え,7 位以下の順位に重なりが目立つようになった。以下,表 3 に基づきそれぞれの目(カゲロウ,カワゲラ,トビケラ等)ごとに重金属汚染地点での優占種について記す。

a) カゲロウ目

非汚染地点ではカゲロウ類は通常一地点で 20 種前後が採集された。しかし重金属汚染区ではほとんどのカゲロウは生息ができなくなって姿を消す。 そのなかでシロハラコカゲロウはカゲロウ類のみならず、ユスリカの特定種を除いては水生昆虫全体でも圧倒的に重金属汚染地点に出現し、111 の調査地点中 58 地点で 1~3 位の優占順位で生息していた(表 3)。この種が採取された地点の最も高い銅濃度は梯川における 630 ppb であった。シロハラコカゲロウ以外ではサホコカゲロウ、フタマタマグラカゲロウなどが低い頻度ながら高い優占順位で採取された。 ただし、 フタマタマグラカゲロウの 1~2 位における出現は、すべて小坂川の 1983 年 4 月調査 (雪解け水で増水) によるもので、この種の高い重金属耐性の有無については更に検討を要する。 ヒラタカゲロウの仲間は従来では、重金属に耐性がないとする知見もあった。 しかし、エルモンヒラタカゲロウを始

表 3 重金属汚染地点 (Cu>10ppb, 延べ111地点) における優占種 ($1\sim6$ 位) の順位ごとの出現回数と各順位までの個体数合計が全個体に占める割合 (%, 平均 \pm S. D.)

Name of species (種名)	1	2	3	4	5	6
Ephemeroptera (カゲロウ目)						
Pseudocloeon sp. (フタバコカゲロウ)	_	-	2	2	1	1
Baetiella japonica (フタバコカゲロウ)		_	_	1	2	3
Baetis sahoensis (サホコカゲロウ)		2	3	3	_	_
Baetis thermicus (シロハラコカゲロウ)	$\frac{2}{28}$	$\overline{24}$	6	3	5	6
Cinygmula spp. (ミヤマタミガワカゲロウ)		2	-	1	2	1
Epeorus aesculus (キイロヒラタカゲロウ)	_	2	1	3	_	_
Ecdyonurus kibunensis (キブネタニガワカゲロウ)	_	1	-	1	_	_
Epeorus latifolium (エルモンヒラタカゲロウ)		_	1	1	6	6
Rhithrogera sp. (ヒメヒラタカゲロウ)	_	_	_	î	_	2
Cincticostella okumai (オオクママダラカゲロウ)	_	_	2	1	_	-
Drunella bifurcata (フタマタマダラカゲロウ)	5	3	_	_	3	2
Serratella rufa (アカマダラカゲロウ)	-	2	1	1	1	1
Megaroptera (広翅目)		-	•	_	•	•
Protohermes grandis (ヘビトンボ)	-	1	1	2	3	_
Plecoptera (カワゲラ目)		•	1	2	v	
Amphinemura spp. (フサオナシカワゲラ)	_	1	1	2	1	_
Nemoura spp. (オナシカワゲラ)	_	6	10	5	3	2
Protonemura spp. (ユビオナシカワゲラ)	1	2	1	2	2	_
Leuctridae (ハラジロオナシカワゲラ)	_	3	1	-	_	_
Chloroperlidae (ミドリカワゲラ)	_	-	1	1	2	1
Kamimuria tibialis (カミムラカワゲラ)	_	_	1	_	2	_
Trichoptera (トピケラ目)			1		2	
Plectrocnemia sp. (イワトビケラ)	_	2	4	1	3	_
	_	6	5	12	9	2
Hydropsyche orentalis (ウルマーシマトピケラ) Hydropsyche setensis (ナカハラシマトピケラ)		-	J -	-	-	2
Cheumatopsyche brevilineata (コガタシマトビケラ)	9	5	14	1	2	2
Rhyacophila kawamurae (カワムラナガレトピケラ)	<i>3</i>	-	1	2	_	4
Rhyacophila impar (タシタナガレトビケラ)	1	1	1	_	1	-
Rhyacophila brevicephala(ヒロアタマナガレトビケラ)	_	-	1	_	2	1
Rhyacophila sp. RK	_		_	_	2	1
• •	_		_	-	3	_
Glossosoma sp. (ヤマトビケラ)	_	_	_	_	3	_
Coleoptera (鞘翅目)	_	,		9		
Dytiscidae (ゲンゴロウ)	1	1	_	2	-	3
Elmidae (ヒメドロムシ)	1	~	_	4	3	3
Diptera (双翅目)		-	- 1 1	7		0
Antocha spp. (ウスバヒメガガンボ)	4	5	11	7	4	9 3
Hexatoma (Eriocera) spp. (クロヒメガガンボ)		1	1	1		
Simuliidae (プユ)	1	1	- 11	2	1	1
Chironomidae (ユスリカ)	58	21	11	6	2	2
Bezzia spp. (ヌカカ)	0	5	-	1	4	1
Athericidae (ナガレアブ)	1	5	2	3	3	1
Empididae (オドリバエ)			2	2	3	1
順位積算占有率(%)*1	65 ± 24	81 ± 17	87 ± 13	90 ± 10	92+ 8	3 94± 7
各順位までの地点数	111	100	97	83	82	62

^{*);}各順位までの優占種の合計が全個体数に占める割合

めとするヒラタカゲロウの数種は銅濃度が 20 ppb 前後以下の汚染河川に 2~3以下の優占順位で しばしば採取されることから、水生昆虫の仲間では比較的耐性を有する種であると考えられる。

b) 広翅目

ヘビトンボが優占順位2~5位で低い頻度ながら採取されている。しかし、この種は他の報告 書でも重金属汚染区での優占種として、記載されることが多い。本種は水生昆虫のなかでは大型 で、肉食種であるため、密度による優占順位では低レベルにとどまったものと考えられる。

c) カワゲラ目

カワゲラ類ではオナシカワゲラを始めとし、オナシカワゲラの仲間の3種類が汚染地区に最も しばしば出現した(表3)。これらの種はそれほど高い生息密度にはならないが、重金属濃度が高 い地点でユスリカやシロハラコカゲロウに次ぐものとして、各地の汚染河川から採取された。ミ ドリカワゲラ、カミムラカワゲラも少ない頻度ながら優占順位3位以下で採取され、カワゲラの 仲間では比較的耐性を有する種かもしれない。

d) トピケラ目

トビケラ類ではコガタシマトビケラ、ウルマーシマトビケラ、ミヤマイワトビケラ(未同定)が重金属汚染地点に高い頻度で採取される。ミヤマイワトビケラは1985年以前は属名がPolycentropus とされていたが、現在はPlectrocnemiaとなり、以前の調査報告と比較する場合注意を要する。ウルマーシマトビケラとコガタシマトビケラはユスリカやシロハラコカゲロウとは異なり、銅濃度が10~数10 ppbと比較的低い地点に特に優占することが多かった。ほかではナガレトビケラ(Rhyacophila)の仲間の数種が低い頻度ながら、汚染地点でしばしば採取された。この仲間は国外の報告書にも耐性種として記載がある。この属は多くの種を有しているため、さらに耐性種の整理・検討を要する(表3以外にも、低い順位に未同定種がある)。

e) 鞘翅目

鞘翅類にも多くの種があるが、重金属汚染区ではゲンゴロウの幼虫とヒメドロムシが最も高い 頻度で採集されたが、その他の種類は今回調査した重金属汚染河川では6位内の優占種として採 取されなかった。

f) 双翅目

ユスリカの特定種(複数)は水生昆虫全体から見ても重金属に最も耐性を有し、ほかの水生昆虫がほとんど生息し得ない銅濃度が 1,000 ppb 以上の地点でも採取された (表 4)。銅の水中濃度が $10\sim20$ ppb と汚染の程度が低いため、ユスリカの優占性が低い全調査地点を含めてもユスリカは 111 地点中 79 地点で優占順位 1 位又は 2 位であった。これまでの国内調査では、ユスリカの重金属耐性種については全くといっていい程検討がなされず、国外の報告もまれであった。ユスリカ (幼虫)の種の同定は、多くの時間を要するため、77 地点に優占した種を整理した。ただし、現段階ではサンプルが幼虫のみしか採集されていないことなどから種名を決定するまでには至っていない。水中の銅濃度が $5\sim10$ 、 $10\sim100$ 、及び 100 ppb 以上の 3 段階に分け、各地点で生息密

表 4 重金属汚染河川に優占する主要なユスリカ

銅濃度 (ppb)	第1優占種 種 名 (地点数)		第 2 優 占種 種 名 (地点	第 3 優占種 種 名 (地点数)		
5~10	Paratrichocladius sp.	(5)	Cricotopus sp. A	(2)	Eukiefferiella sp. B	(1)
5~10	Eukiefferiella sp. A	(4)	Orthocladius sp. D	(2)	Orthocladius sp. B	(1)
(18地点)	Orthocladius sp. B	(3)	Orthocladius sp. B	(2)	Acamptocladius sp.	(1)
(10起点)	Orthocladius sp. A	(3)	な	<u>ځ</u>	な	ど
	Orhocladius sp. B	(9)	Paratrichocladius sp.	(7)	Cricotopus sp.	(5)
10~100	Eukiefferiella sp. A	(8)	Orthocaldius sp. A	(6)	Conchapelopia sp.	(4)
10.~100	Orthocladius sp. A	(6)	Eukiefferiella sp.A	(5)	Eukiefferiella sp. A	(3)
(33地点)	Paratrichocladius sp.	(3)	Cricotopus sp. A	(3)	Polypedilum sp.	(2)
(30%以	Conchapelopia sp.	(2)	Hydrobaenus sp.	(3)	Orthocladius sp. A	(2)
	Polypedilum sp.	(2)	など		な	<u>پ</u>
100~	Polypedilum sp.	(3)	Polypedilum sp.	(2)	Eukiefferiella sp. B	(3)
100~	Cricotopus bicinctus	(1)	Paratrichocladius sp.	(2)	Paratrichocladius sp.	(2)
(11地点)	Orthocaldius sp. A	(1)	Hydrobaenus sp.	(1)	Conchapelopia sp.	(1)
(1146円)	Eukiefferiella sp. A	(1)	な	بخ	な	``عع

度の高かった順に3位までの種をまとめた(表4)。

非汚染地点ではユスリカは 20 種から多い場合で約 40 種のユスリカが出現し、特定の種だけが極端に多くなることは少ない。しかし、銅濃度が $5\sim10$ ppb の地点では、種数減少への影響は少ないが Paratrichocladius sp. や Cricotopus sp. をはじめとして、表 4 に示すような特定な優占種の出現が目立ちはじめた。銅濃度が $10\sim100$ ppb 未満の地点では種数の減少が顕著になり Eukiefferiella sp. A,Orthocladius sp. A,Orthocladius sp. B の 3 種の内の $1\sim3$ 種の生息密度がとび抜けて高くなり、次いで表 4 に示す特定の数種が優占種となった。銅濃度が 100 ppb 以上の地点ではPolypedilum sp. が銅の高汚染区に優占したが、この種類の密度は比較的低かった。一方,Eukiefferiella sp. A,Orthocladius sp. A が優占した地点ではこれらの種類の密度は非常に高く,Cricotopus sp. をはじめとする $10\sim100$ ppb の濃度範囲で優占した数種もしばしば高い密度で出現した。最も汚染されていた地点 (pH 2.1 の池、銅 8,500、亜鉛 980 ppb) には Polypedilum 属の 1 種(新種の可能性が高い)だけが生息していた(表 4 に示さず)。表 4 に掲げられた種は、非汚染区では採集されていないか、たとえ採集されても極くまれであった。おそらく重金属汚染区以外では、極端に生息密度が低いか、生息場所が限られているものと思われる。

重金属耐性ユスリカの季節的消長を周年調査した山形県間沢川の汚染区では Orthocladius sp. A が冬から春までは優占しているが、それ以後は全く採集されなくなる。これと入れ替わるように Orthocladius sp. B が初夏から増えはじめ、秋まで優占する。一方、Eukiefferiella sp. A にはこのような変動はなく年間を通して出現した。また茨城県宮田川では夏のほんの一時期 Cricotopus bicinctus が出現し異常に高い密度になった。これと対照的に Polypedilum sp. は常にある程度の密度を維持するが極端に高密度にならなかった。したがって、重金属汚染河川においても通常の河川で知られているように、ユスリカ類の種類組成と密度は季節的にかなり変動していると思わ

れる。

ユスリカ類に次いではウスバヒメガガンボ類がかなりの頻度で重金属汚染区で採取された。ウスバヒメガガンボは国内では成虫により 15 種が記載されているが,幼虫との対応で種の決定がなされていないため、ウスバヒメガガンボの耐性種について単独種なのか複数種によるものかは現在分かっていない。ナガレアブ(科)の幼虫も重金属汚染河川から優占種として、高い頻度で採取された。日本では 3 属 7 種が知られているが、現段階ではまだ種の決定を試みていない。肉食種としては、オドリバエの幼虫が銅の汚染が強い河川で低い密度ながらしばしば出現している。

(C) 亜鉛の水生昆虫生物相に及ぼす影響

銅濃度が 5 ppb 以下で、亜鉛濃度が 100 ppb 以上の河川として佐須川、白井川、高原川支流、万之瀬川(表 1)を調査したが、この条件の地点はわずか 8 地点と少なく、水中の亜鉛濃度は高原川支流の 1 地点を除き 100~300 ppb の範囲にあった。ほとんどの地点で種類数の減少が認められたが、銅の同じ濃度範囲による影響のように顕著でなかった。しかし、優占種は圧倒的にユスリカとシロハラコカゲロウで銅の場合と同様であった。少ない調査地点ながらほかには、オナシカワゲラ、ウスバヒメガガンボ、ミヤマイワトビケラ、ヒラタドロムシ、エルモンヒラタカゲロウ、ブユなどが比較的多く採集されたが、これらはやはり銅の汚染地点においても優占種として記録された(表 3)。高原川の支流の 1 調査地点では、銅濃度が 4 ppb と低いが亜鉛濃度が 3,160 ppb と全調査地点を通しても最高の値を示した。この地点でサーバーネット(0.1 m⁻²)により 3 回サンプルを得たが、ユスリカ、シロハラコカゲロウ、オナシカワゲラ、ブユのわずか 4 種が採集された。個体数の合計はそれぞれ 87、19、1、1 個体とかなり少な目で、亜鉛の影響は種数のみならず生息密度にも及んでいたものと考えられた。

(D) 水生昆虫以外の動物相

重金属汚染河川に出現した底生動物はほとんどが水生昆虫の幼虫であったので、今回の調査結果は水生昆虫に限ってまとめられた。水生昆虫以外ではプラナリア、イトミミズがしばしば採集されたが、両者とも水生昆虫の耐性種のように高密度になることはなく、また重金属濃度の高い河川では、付近の非汚染河川からは採取されるが、採取されない場合が多かった。そのほかでは、サワガニ、ミズムシ、ヨコエビ、ヒルなどが見られたが重金属汚染河川から採取されることは極めてまれでその密度も低かった。今回は魚類の生息調査は行っていないが、銅濃度が数 10 ppb 以上の地点では、魚の生息をみたことはなかった。魚は重金属に対して忌避行動を起こすことが知られている。その上、重金属によって魚の餌となるべき水生昆虫がほとんど消失することが魚類の生息環境を極めて悪化しているものと考えられる。

2.1.4 水生昆虫の重金属耐性機構

代表的重金属耐性種であるシロハラコカゲロウ (Baetis thermicus) は重金属汚染のない通常の河川でも生息しているごくありふれた水生昆虫の1種である。コカゲロウの特定種は海外の調査でも重金属汚染区に際だって優占することが報告されている(オーストラリア; Baetis baddamsae,ヨーロッパ; B. rhodani)。数多くの水生昆虫の中で,ユスリカの特定種に次いでなぜコカゲロウの特定種だけが重金属に著しい耐性を示すかを検討した。重金属汚染河川から採取したシロハラコカゲロウ中の重金属濃度は他の水生昆虫(コガタシマトビケラなど)と比較しても決して低くはなく,カドミウムと亜鉛に関してはむしろ数倍から10倍程度高い値を示した。したがって,重金属耐性機構としては重金属が体内に侵入するのを防止するものではないと考えられる。

ぼ乳類を始めとするせきつい動物では有害重金属の無毒化の機構が詳細に研究されている。すなわち、せきつい動物が重金属(カドミウム、水銀、銅、亜鉛など)に暴露されると、肝臓や腎臓などにメタロチオネインと呼ばれる重金属結合タンパク質が誘導合成され、このタンパクと重金属が強固に結合することにより、重金属が生体の機能分子と反応できなくなり無毒化される。そこで、耐性機構を解明するために、①シロハラコカゲロウの重金属結合タンパクの誘導能、②重金属汚染河川から採取したシロハラコカゲロウ体内における重金属結合タンパクの有無や性質と重金属(カドミウム、銅、亜鉛)の体内での存在状態、③シロハラコカゲロウ体内での重金属の存在部位(組織化学的方法による)などの面から検討した。

(A) シロハラコカゲロウの重金属結合タンパクの誘導合成

重金属によって汚染されていない河川から3種類のコカゲロウ(シロハラコカゲロウ, サホコカゲロウ, ヨシノコカゲロウ)の幼虫を採取し、人工河川の中で10 ppbのカドミウムに10 日間連続暴露した。サホコカゲロウはシロハラコカゲロウ程ではないがカゲロウの中では比較的耐性を有する種であり(表3)、ヨシノコカゲロウは全くの非耐性種である。重金属結合タンパクの誘導合成を調べた結果シロハラコカゲロウのみに暴露5日後からカドミウム結合タンパクの顕著な合成が認められ、その量は暴露後10日にかけ更に増大した。しかし、サホコカゲロウではごく微かに誘導が認められるのみであり、ヨシノコカゲロウでは全く認められなかった。人工河川中で3種のコカゲロウは全てカドミウムを蓄積する一方、体内の銅濃度が減少するという共通した対応がみられた。しかし、亜鉛については、シロハラコカゲロウのみではカドミウムの蓄積と共に亜鉛濃度も高くなったが、他の2種では逆に低下した。これらの結果は、耐性種はカドミウムを蓄積するとき亜鉛も同時に蓄積し、しかも重金属結合タンパク質を誘導することによって、カドミウムの毒性を軽減していることを示している。このカドミウム単独暴露の実験結果はせきつい動物などで広く認められている耐性機構と同様である。

(B) 重金属汚染河川に生息するシロハラコカゲロウ体内の重金属の存在状態

重金属によって高度に汚染された河川(山形県,間沢川)からシロハラコカゲロウを大量に採取した。シロハラコカゲロウは図 9 (a)に示すような形態をしており,体長 1 cm 近くまでに成長した後羽化する。周年調査(1983~)の結果から間沢川の河川水中の銅,カドミウム,亜鉛の平均濃度は 67±31,7.6±3.1,1.140±500 ppb であった。また,ここに生息する水生昆虫は極端に限られ,ほとんどがユスリカとシロハラコカゲロウで占められていた。対照として湧水由来の非汚染河川から採取したシロハラコカゲロウを用いた。間沢川で採取したコカゲロウの銅,亜鉛,カドミウムの濃度は対照河川のコカゲロウのそれぞれ 18,15,13 倍の高い値を示した。これら 3 種の重金属がコカゲロウの体内でどの様な存在状態で蓄積しているかを調べるため,コカゲロウを緩衝液中ですりつぶし,可溶性分画(細胞内にあって,緩衝液中に抽出される部分)を高速液体クロマトグラフィーを用いて分子量の大きさによって分離した。金属の検出・分析は,カラムからの溶出液を直接発光分光分析器に導入する液クロ-発光分光法によった。この分析法により銅,亜鉛,カドミウムなどの重金属が,コカゲロウ体内の可溶性分画でどのような分布あるいは存在状態にあるかを同時に分析することができる。

ほ乳類などのメタロチオネインは可溶性分画に抽出され、分子量約7,000の亜鉛、銅、カドミウムを結合しているタンパク質として特徴付けられている。間沢川から採取したコカゲロウの可溶性分画中の銅、亜鉛、カドミウムの濃度は、対照のコカゲロウのそれぞれ26、7、52 倍という高い値を示した。液クロ-発光分光分析の結果、銅とカドミウムはメタロチオネインと類似した挙動を示すタンパク質に結合しているが、亜鉛は特定のタンパクに結合せず、非特異的に分布していた。銅とカドミウムは、シロハラコカゲロウの体内に誘導されたメタロチオネインに類似したタンパク質に結合していることがわかったが、さらに詳しく調べてみると銅とカドミウムでは、それぞれ性質の異なった種類のタンパク質に結合していることを示唆する結果が得られた。このことは、せきつい動物のメタロチオネインでは同一分子上に銅、カドミウム、亜鉛がそれぞれ共存して結合していることと異なっていた。

そこで、異なる重金属汚染レベルにある河川(栃木県、渡瀬川)からシロハラコカゲロウを採取し、この点をさらに確かめた。渡瀬川から採取したコカゲロウの銅、亜鉛、カドミウムの濃度は対照群に比べ、それぞれ2.9 倍、2.5 倍、12.6 倍であり、絶対値では間沢川のサンプル(上記)よりはかなり低いが、各々の河川の銅とカドミウム間の相対値ではカドミウムの濃度が高い。渡瀬川より採集したコカゲロウ中に蓄積している重金属の存在状態を詳細に検討した結果、銅とカドミウムは同じ種類の重金属結合タンパクに結合していたが、メタロチオネインとは全く異なり、銅とカドミウムは同一分子上に共存せず別々の分子に分かれて結合し、銅はカドミウムの5 倍も結合していることが明らかにされた(予想外のこの特性により、間沢川のサンプルでは銅とカドミウムではそれぞれ異なった性質の重金属結合タンパク質として挙動しているように観察された)。

(C) 重金属の存在部位

間沢川で採集したシロハラコカゲロウの組織切片を作製し、銅、亜鉛、鉄などの分布を組織化学的に調べた結果を図9に示す。ジチゾン法で亜鉛を染色した写真(図9(b))から、亜鉛が消化管上皮と脂肪体に多量に分布していることが分かる。銅を染色した写真(図9(c))は、銅が消化管上皮に存在し、しかもそれは上皮細胞の内腔側に特に濃縮して分布していることを示している。亜鉛が消化管上皮全体に分布しているのに対し、銅は内腔側に限局しており脂肪体にも分布していなかった。カドミウムの存在量は亜鉛や銅よりも低く、組織化学的方法による染色によって検出することはできなかった。黄血塩で染色した鉄の分布を図9(d)に示す。青色に発色している鉄が消化管内容物に分布している様子が分かる。

(D) ユスリカの重金属耐性機構

重金属汚染河川に生息するユスリカは、生きたままでは種類の確認ができないうえ、生化学的分析に供する程の大量採取は困難である。そのため、当研究室で飼育していたユスリカの一種、セスジユスリカ (Chironomus yoshimatsui)を用いて、ユスリカの重金属耐性機構について検討した。この種は都市下水などによく生息しているユスリカであり、重金属の急性毒性に対しては極めて高い耐性を示す。セスジユスリカ (以下、ユスリカ)を、実験室内でカドミウムを含む水で飼育すると暴露濃度に従って、高い濃度のカドミウムが体内に蓄積した。

ユスリカへのカドミウムの蓄積過程と蓄積したカドミウムの存在形態の変化を調べた結果、ユスリカ体内ではカドミウムは脂肪体に大量に蓄積していた。しかし、メタロチオネインあるいはそれに類似したタンパク質の誘導は遅く、急性の暴露を受けたときの耐性機構としてはメタロチオネインが関与しない機構が存在することが示唆された。地球上の生物種としては昆虫が一番多く50%以上を占めているにもかかわらず、重金属などに対する耐性機構はほとんど研究されていない。そこで、ユスリカにおける耐性機構と比較するため、さらにカイコやハエの幼虫を用いてカドミウムの蓄積過程や存在形態の比較を行った。これら3種の昆虫間では、カドミウムを捕そくするために昆虫体内に誘導されるタンパク質の性質が全く異なっていた。ユスリカ体内ではカドミウムの大部分は非特異的にタンパクに結合し、存在部位は脂肪体と消化管であったが、ハエでは90%以上のカドミウムが消化管に蓄積し、5種のイソタンパクからなるカドミウム結合タンパクに結合していた。また、カイコでもカドミウムは主として消化管に存在したが、高分子量のカドミウム結合タンパクに結合しており、3種類の昆虫の間ではカドミウムを結合して無毒化するためのタンパク質が全く異なっていた。



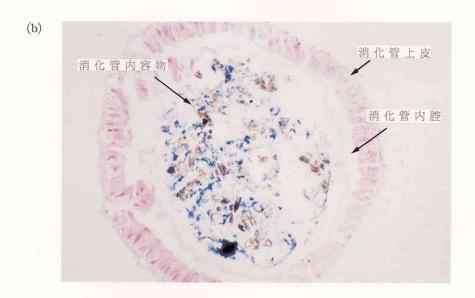
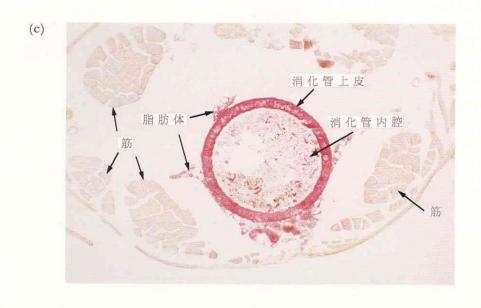


図9 重金属耐性種シロハラコカゲロウ(a),体内での亜鉛(b),銅(c),鉄(d)の組織化学的方法によって明らかにした体内分布



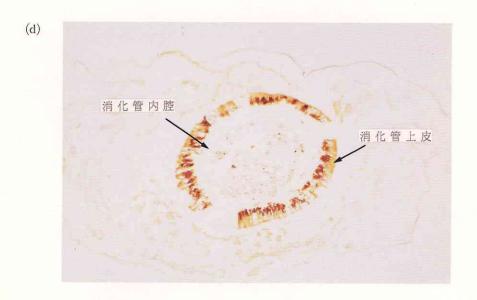


図 9 (つづき)

(E) 水生昆虫の重金属耐性機構のまとめ

シロハラコカゲロウの重金属に対する耐性機構として、ユスリカなど他の昆虫で得られた知見 も含めて整理した。銅,亜鉛,そして恐らくカドミウムも,消化管上皮細胞に主として蓄積する ことが分かった。しかし、これら3種の重金属の上皮細胞間における分布は異なっていた。すな わち、カドミウムと銅には同じ種類の結合タンパク質を誘導するが、それぞれ別々のタンパクに 結合することによって毒性を軽減しているとみなされる。このことはこれら2種類の重金属の組 織学的分布が異なることにも反映されていた。高等動物の消化管上皮は短期間にはく離して新陳 代謝し汚染物質の吸収を制限している。シロハラコカゲロウでは銅が消化管上皮の内腔側に限局 していたが、ここに捕そくされた銅は上皮がはく離することにより、体外に排出される機構があ ることが類推される。亜鉛もシロハラコカゲロウ体内に高濃度で蓄積するが,亜鉛に対する結合 タンパク質は誘導されておらず,その耐性機構は現段階では明らかでない。これは,ユスリカに おいて脂肪体にカドミウムが蓄積されているにもかかわらず、結合タンパク質の誘導が遅く、そ の耐性機構を説明できなかった例と類似している。亜鉛とカドミウムの毒性軽減には、消化管上 皮細胞のみでなく脂肪体の役割も重要であることが示唆されたが、その機構は昆虫独自のもので ある可能性がある。図 10 にシロハラコカゲロウの重金属の存在部位を模式的に示した。水生昆虫 の重金属耐性種に対して、その耐性機構に関する研究報告はこれまでにほとんどなく、今回の成 果は野外における調査結果を機構面から説明した例として学問的に意義も深い。

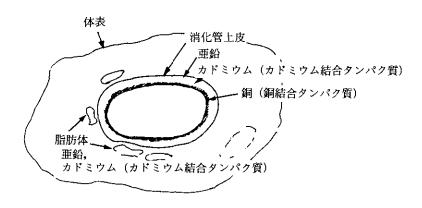


図10 シロハラコカゲロウ体内での銅、亜鉛、カドミウムの分布の関係(模式図)

2.2 農薬汚染

2.2.1 農薬の複合汚染影響

農薬により多くの種類の生物が影響を受け、種類やその数が減少したといわれだしてすでに久 しい。農薬は、種類が以前とはかなり変化しているとはいえ、その使用量は依然として大きい。 農薬は農作物に対する病原菌、雑草、害虫を防除するために開発された薬剤ではあるが、そのか なりの部分は河川や湖沼に流入する。これら薬剤は水界生態系になんらかの影響を及ぼしていると考えられ、その影響を評価することが重要な課題となった。

この研究課題では、河川、河口、湖沼などの環境中における農薬の動態を明らかにすることから開始した。水環境中での残留農薬の変動についてはこれまでも報告が多々なされているが、その生態影響を平行して調べた調査・研究はほとんどなかった。本研究では河川における農薬散布前後の生物調査により、これらの点を明らかにすることを目的とした。

(1) 農薬分析法の確立

多種の薬剤が同時に混入する試料について,多試料を迅速に濃縮し分析する方法を開発した(図11)。濃縮方法は,試水をガラスフィイバーろ紙でろ過し,ろ液200~500 mlを ODS カラムに毎

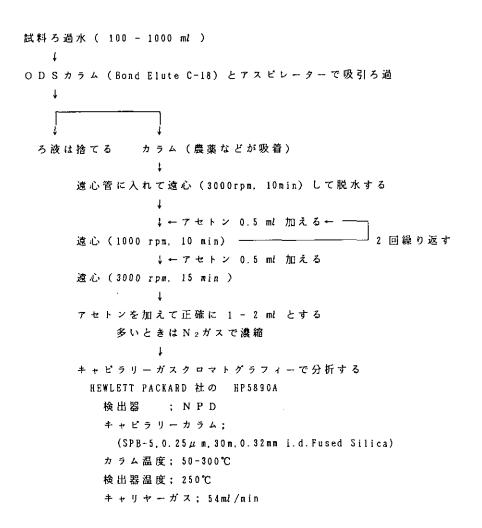


図11 水中の農薬の濃縮法

分約 10 ml で吸引しながら吸着させ、遠心脱水後吸着した農薬をアセトンに抽出させるもので、従来の、溶媒抽出後にロータリーエバポレーターを用いて農薬を濃縮、カラムクロマトグラフィーでクリーンアップする方法に比べると、1/10~1/20 の時間で済み、また場所をとらない等の利点がある。分析にはオートインジェクターとヒューズドシリカキャピラリーカラムを装着した FPD 又は ECD ガスクロマトグラフ装置を用いている(図 12)。この方法での回収率は殺虫剤のフェニトロチオンで 96%、フェンチオンで 93%である。検出限界は水試料で 0.01 ppb、底質試料で 0.5 ppb 乾重であった。

(2) 河川・湖沼における農薬の動態

(A) 春期から秋期にかけての河川への農薬流入パターンと濃度

霞ヶ浦流入河川の一つである恋瀬川水系で 1985, 1986 年に殺虫剤, 除草剤, 殺菌剤の残留量の季節変動を調査した。河川水からは使用時期に応じて種々の薬剤が検出され, 中流域よりも下流域で幅の広いピークを示した。有機リン系殺虫剤のダイアジノン, 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 (バッサ) が比較的頻繁に検出され, 梅雨前の 5 月末~ 6 月初旬に最大値を示した。最大値は中流部で高く, 下流部の地点ではピーク幅が広くなった。中流部

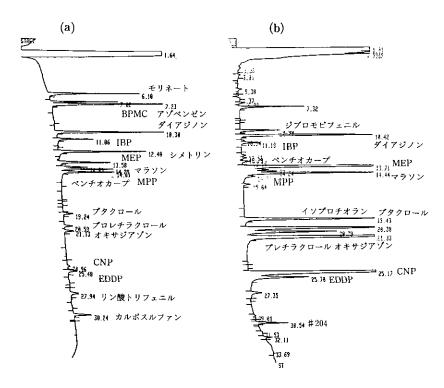


図12 多種混合標準試料のクロマトグラム (a) FPD 検出器,(b) ECD 検出器

の最大濃度は、BPMC が 36 ppb、フェンチオンが 7 ppb、ダイアジノンが 5 ppb であった。除草剤のシメトリン、チオベンカーブ、オキサジアゾンは、いずれも田植後の 5~6 月に濃度が高くなった。中流部に比べて下流部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。ま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、イソプロチオランは梅雨明け後に主に検出された。最大濃度はモリネートでは下流部で 2 ppb、シメトリンは中流部で 11 ppb、チオベンカーブは中流部で 10 ppb 及びオキサジアゾンは中流部で 6 ppb であった。殺菌剤は病害対策に用いられ、散布時期が夏期であるため、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 (キタジンP)のピークは下流部では幅が広くなり、殺虫剤や除草剤と傾向は同じであった。最大濃度は 17 ppb であった。中流部で底質(小石混じりの砂)中の残留量の変動も同時に調査した。底質中のイソプロチオランと IBP(両方とも殺菌剤)の残留量は、7~8 月の水中濃度の上昇と減少に連動して変動した。除草剤の CNP (クロルニトロフェン) は 5 月に水中、底質中とも最大値を示した後減少したが、底質中の減少は緩やかで底質に残留しやすいことを示唆していた。

これらの薬剤の流下量と出荷量を比較した結果、水田からの流出率は、CNP、ブタクロールくIBP、シメトリン、チオベンカーブ <BPMC、イソプロチオラン、オキサジアゾンの順に高くなることが示された。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。底質への残留性は、CNP>オキサジアゾン、チオベンカーブ、イソプロチオラン>シメトリン、IBP、BPMCの順であることが示された。したがってシメトリン、IBP、BPMC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いえる。イソ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ことがすでに報告されており、湖への流入量は比較的大きいと考えられた。1986年6月には、恋瀬川から霞ヶ浦高浜入にかけて流下方向に地点を選び農薬濃度を調査した。除草剤の CNP・モリネート・シメトリン、殺菌剤の IBP は河川の流下方向に増加し河口部で最大となるが、湾内から湖心に向かって減少した。CNPは河口部で 0.04 ppb であったが湖水からは検出されなかった。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。

(B) 空中散布時の農薬流入パターンと濃度

水稲病害虫防除の目的で空中散布された殺虫剤と殺菌剤の、河川や用水池での消長を調べた。 1986 年 8 月につくば周辺で空中散布された殺虫剤と殺菌剤は、地域により異なるが、主にフェンチオン+EDDP(エジフェンフォス)の組み合わせかフェニトロチオン+フサライドの組み合わせであった。散布後の水中の濃度は 10~20 ppb となったが以後指数的に減少した。河川水中の半減期は短く、0.5~0.7 日であった。河川水中の半減期がどの地点でもほぼ同じ値であることが注目される。殺虫剤濃度は1週間で散布直後の1%以下に低下した。調査地点の底質は小石混じりの

砂であったが、粒径 2 mm 以下の分画について残留量を調べたところ、その変動は水中の濃度変動に類似していた。3 日間にわたって異なる支流で空中散布された河川の本流では、幅の広いピークを示したが、その後の本流での減衰は速く、半減期 0.7 日で、他の河川の地点における単一の流入の場合と同じであった(図 13)。最大濃度はフェニトロチオンで 19 ppb、フェンチオンで 14 ppb、BPMC で 30 ppb であった。有機リン系殺虫剤のフェニトロチオンとフェンチオンの濃度が短期間ではあるが通常の濃度よりも高くなることが明らかにされた。用水池におけるフェンチオン濃度の半減期は約 1 日で、降水による希釈よりもはるかに速い速度で濃度が減少していた。

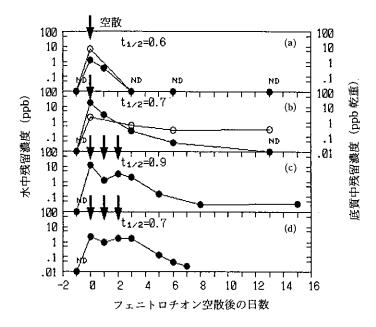


図13 霞ヶ浦流入河川におけるフェニトロチオン空散前後の残留量

- ●:河川水中の濃度,〇:底質中の濃度
- (a) 支流 1, (b) 支流 2, (c) 本流, (d) 本流下流地点

(C) 河口域における農薬の動態とハスへの残留性

自然生態系での多種の農薬の挙動についての解析的研究や河口域における水生植物への影響についての研究は十分なされてはいなかった。そこで河口域での農薬濃度変化を週1度の頻度で測定して、薬剤の種類別の濃度変動の違いを調べた。また流出した農薬が、対象外の自然の水生植物へ与える影響と、器官別の残留性について調べた。

調査は霞ヶ浦流入河川である小野川の河口域で 1986 年に行った。各調査地点 (平均水深) は上流から E 1 (0.8 m), E 2 (2.2 m), E 3 (1.6 m), E 4 (2.7 m), E 5 (4.6 m) であった。 E 2, E 4, E 5 は $7 \sim 12$ 月に月 1 度, E 1 と E 3 では $5 \sim 12$ 月に週 1 度採水した。カラムによ

る抽出精製する簡易法を採用し、キャピラリーガスクロマトグラフィーを用い農薬の分析を行った。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, チオベンカーブ, フェンチオン, ブタクロール, EDDP であるが, 前の4種以外ではフェニトロチオン, チオベンカーブ, EDDP がこん跡程度検出されたほかにはほとんど検出されなかった。

E1に固定方形区を設定し野生化したハス (Nelumbo nucifera Gaertn.) について葉の寿命と 農薬の影響を調べた。月1度方形区内の地上部地下部の各器官ごとに残留農薬を分析した。

図 14 には IBP,シメトリン濃度の地点による変化を示した。6~7月に散布された殺菌剤の IBP は調査時に上流ほど高い濃度こう配が形成された。8月以降地点による違いはなくなり、濃度も低くなった。シメトリンは中流域で低く、流入する河川支流の散布状況が異なるためと考えられた。

図 15 には水中の農薬濃度の季節変化を示した。霞ヶ浦に流入する河川の恋瀬川の河口域(高浜入)の同年のデータを比較のために示した(破線)。E1でシメトリン(除草剤)は5月から徐々に増加し5月末に2ppb前後が約1か月続いた。11月にまたピークが現れ、E1の上流で局所的

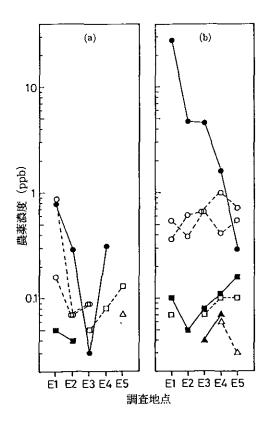


図14 各地点でのシメトリン, IBP の水中濃度 (a) シメトリン, (b) IBP, ●:7月,○:8月,■:9月,□:10月,▲:11月, △:12月

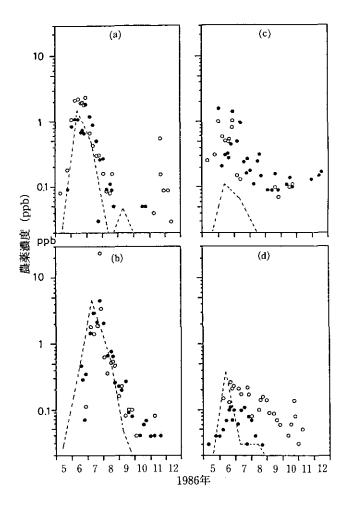


図15 水中の農薬濃度の季節変化 ○: E 1, ●: E 3, ·····:高浜入 (a) シメトリン, (b) IBP, (c) BPMC, (d) ダイアジノン

に使用されたものと考えられる。一方、E3でも同様に増加して、1ppb 程度が多くE1に比べやや低く、11 月以後には検出されなかった。0.1ppb 以上の期間はE1、E3でそれぞれ 2.8、2.5か月であった。

BPMC (殺虫剤) は E 1 E 3 共に 5 月末 E 6 月末に E 1 E 1.6 ppb のピークがあった。 E 1 は 7 月半ばまでになくなったが,再び 9,10 月に検出された。 E 3 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。 0.1 ppb 以上の期間は E 1 E 2.3 か月, E 3 E 3.2 か月であった。 E 4 E 7 E 7 E 8 月末, E 9 E 7 E 8 回小さなピークがあった。 E 7 E 8 E 8 で 0.2 ppb な始めとして, 8 月末, E 9 回小さなピークがあった。 E 9 では濃度は低く 6 E 7 月に最大の 0.1 ppb になり一山型の変化をした。 0.1 ppb 以上の期間は E 1 E 2.5 か月, E 3 E 0.5 か月であった。 使用

後長期間に渡って土壌に吸着した分のダイアジノンが浸出するため、溶出直後の位置(支流河口)で比較的濃度が高く、いつまでも検出された可能性がある。

IBP (殺菌剤) はE 3 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た。E 1 での変化は同様に高濃度の期間は比較的短いがピークは 20 ppb を越えた。0.1 ppb 以上の期間はE 1 で 0.9 か月、E 3 で 1.1 か月でほかの検出農薬より比較的短かった。

シメトリン、IBP、BPMC、ダイアジノンは使用量、安定性、水溶解度のいずれかが大きいため に河口域で検出されたものと考えられ、現在の状況では低濃度であるが残留する期間が1か月近 く続くことが明らかになった。

図16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。シメトリン以外は微量であり常には検出されなかった。植物体中の濃度変化は、水中の変化に遅れてよく似た変化をした。葉柄よりも水と接する面積の割合の高い葉身の方が残留量が高かった。未展開の葉より展開して齢の進んだ葉のほうが水と長く接しているため濃度は高かった。根、地下茎、蓮根にはほとんど検出されなかった。シメトリンは水に比較的溶けやすく、主に水経由による濃縮と考えられる。

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

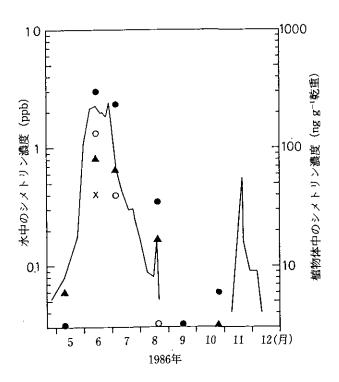


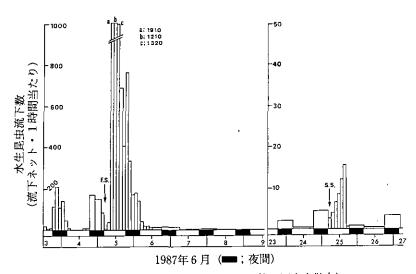
図16 E1における水中シメトリン濃度と植物体中のシメトリン濃度の季節変化 ——:水中シメトリン濃度, ●:浮葉, ▲:葉柄, ○:未展開の葉身,×:根

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、未展開葉身でそれぞれ 301,133 ppb であり、生重当たりでそれぞれ 39,13 ppb であった。空げき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。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と考えられた。農業排水路の水中に平均 5.5 ppb のシメトリンがあるとき、沈水植物ヒルムシロの濃度は 30 ppb で濃縮係数 5.5 になるという報告があり、今回の調査とほぼ同じ値である。浮葉の寿命は季節を通じて約 17 日であった。寿命は残留農薬の濃度が高いときにも変わらず、10 ppb 以下では影響は認められなかった。ハスの浮葉の寿命が本来短いことや吸収速度が小さいことなどからハスによるシメトリンの濃縮率は 10 以下と考えられた。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によって濃縮され、葉から根への移行性は小さいと考えられた。

(3) 農薬の生態系影響

(A) 松くい虫防除の殺虫剤空中散布が水生生物相に及ぼす影響

山地渓流には多くの種類の水生昆虫が生息し、通常は化学物質による影響を被る機会は少ない。 松くい虫防除のため殺虫剤 (フェニトロチオン,NAC) が空中散布される山地の渓流において, 薬剤が底生生物に及ぼす影響を調べた。薬剤は6月初旬と下旬に2回散布されそれぞれ調査地点 の水中のフェニトロチオン濃度はおよそ 20 ppb まで急速に高まりその 3 時間後には 50%の濃度に 減少した。NAC (カーバメイト系殺虫剤) の濃度は最高でも 1.2 ppb と比較的低かった。一般に 水生昆虫の多くの種は夜間に流下することが知られているが(図17,散布前),殺虫剤散布前は全 流下サンプル中 25 種類の底生生物が見られたが, 散布後は 24 時間のサンプルでも 45 種類の底生 生物が流下していた。散布前ほとんど流下せず、散布後特に流下を受けたものとしてはユミモン ヒラタカゲロウを始めとするヒラタカゲロウの仲間の 4 種類であり,これらは体の損傷が顕著で あった。また近縁の水生昆虫でも生息環境,生息密度,薬剤に対する感受性などにより流下のパ ターンが異なり,短時間で流下が終わるものと(ヨシノコカゲロウなど),薬剤散布 24 時間後ま で流下が続くもの(シロハラコカゲロウなど)まであった。殺虫剤は自然の流下ではあまり流下 しない弱令の水生昆虫 (コカゲロウ類) を特に大量に流下させた (図 18)。殺虫剤により多くの水 生昆虫が流下したため,その後の夜間の正常な流下パターンが消失した(図 17)。このような流下 の結果は調査地点の上流における現存量調査にも反映され,多くの種で生息密度が減少した。 2 回目の空散では、水中の殺虫剤濃度は同じ濃度に増加したが、水生昆虫の流下はほとんど起こら なかった。これは1回目の散布による生息密度の減少によるところが大きいものと考えられる。 しかし,薬剤散布の3か月後,1年後の生物調査ではカゲロウや散布時に流下の影響が少なかっ たトビケラ類などかなり回復していた。調査地点の上流には10年にわたり殺虫剤の散布が繰り返 されてきたが、調査地点の約2km 上流には薬剤の非散布地帯がありカゲロウなどのよく流下する 種の回復源になっているものと考えられる。しかし、カワゲラなど通常流下の少ない生物種の回復は遅れるらしく調査地点ではカワゲラの種類は1種類(3か月後、1年後)と少なく、その生息密度も低かった。



(F. S.; 第1回空中散布, S. S.; 第2回空中散布)

図17 殺虫剤 (フェニトロチオン・NAC) の空中散布による, 渓流の水生昆虫の流 下数の変動

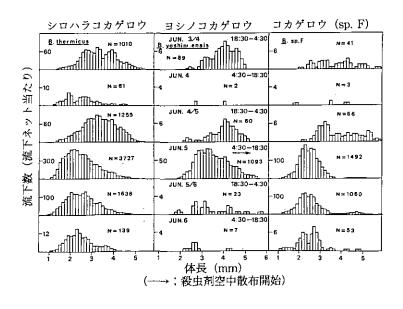


図18 自然流下及び殺虫剤による流下におけるコカゲロウ3種の体長組成の変化

(B) 水田への空中散布による農薬の短期暴露の河川生態系影響

調査した河川は山ろくの水田地帯を流れる。8月に水田対象に空中散布された有機リン系殺虫剤と殺菌剤は河川に流入し、河川水中のフェニトロチオンの濃度は最大約19 ppb を記録した。河川水中の薬剤の濃度の半減期は約0.5日と上記の渓流の場合(3時間)よりもかなり長かった。

空中散布後,底生動物は 3 日間低密度が続き,ユスリカでは 1,000 個体 m^{-2} , コカゲロウでは 300 個体 m^{-2} となった。その後ユスリカは急速に個体数が増加し、 3 日間(散布後 6 日目)で 10,000 個体 m^{-2} となった。コカゲロウは徐々に増加し、10 日間(散布後 13 日目)で、1,400 個体 m^{-2} となった。シマトビケラ類の密度の回復は遅かった。殺虫剤の散布後に付着藻類量の急激な増加がみられ、クロロフィル濃度は散布直後の 8.4 mg m^{-2} から 6 日後には 48.7 mg m^{-2} にまで増加した。特に直後の増加速度は 7.6 mg m^{-2} d^{-1} で炭素量にすると 0.4 g m^{-2} d^{-1} と高く、これは付着藻類を摂食するユスリカの密度が低く抑えられていたためであろうと考えられた。これまでに実験水路では、ppm レベルの高濃度の殺虫剤処理により底生動物を一次的に除去すると付着藻類が急激に増加することが報告されているが、野外の河川でも、これより低い薬剤濃度で同様な現象が起きていることが確認された。

(C) 水田から流出した農薬の低濃度長期暴露の河川生態系影響

中下流域河川における農薬の長期的な生態影響評価は、他の汚染物質の影響などもあって単純 でないために、これまであまり調査研究がなされていない分野であった。

農耕地を流れる河川中流部の支流で,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。ユスリカではツヤユ スリカの仲間(Cricotopus bicinctus)と Rheocricotopus chalybeatus 等の小型のユスリカが優占 し、6月中旬~7月上旬の梅雨の期間中は流量が増加したため低密度となったが、それ以外の時 期は密度が高かった。梅雨明け後には約3週間ごとに幼虫とさなぎの密度のピークが見られ成虫 の羽化・産卵による個体数回復が速やかに行われることが示された(図 19)。 梅雨前の 5 ~ 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いたがこのユスリカには影響していなかっ たと考えられる。一方コカゲロウの密度は梅雨前にも低下していた(図 20)。10 ppb 以下の低濃度 ではあったものの,殺虫剤のフェンチオンと除草剤のオキサジアゾンはコカゲロウの流下に影響 していたものと思われた。各種の殺虫剤・除草剤の濃度の低下する7月末~8月には中流部でコ カゲロウ類の密度が上昇した。このうちシロハラコカゲロウの個体数増加は1~2週間でみられ た。農薬の流入しない上流部の地点にはこのシロハラコカゲロウが多数生息していることと,そ の世代時間が約3か月と長いことが報告されていることから、中流部での幼虫の個体数増加は流 下幼虫の再定着によるものと考えられた。もう一種のサホコカゲロウ (Baetis sahoensis) は殺虫 剤・除草剤の濃度が低下してから1か月遅れて個体数が増加した。上流部にはこのサホコカゲロ ウは生息していないため,幼虫は飛来成虫が産みつけた卵に由来するものと考えられた(図20)。

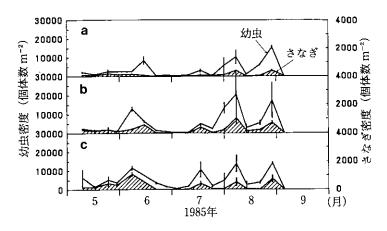


図19 小型のユスリカ密度の変動 (a) 支流 1, (b) 支流 1 と 2 の合流点, (c) 支流 2

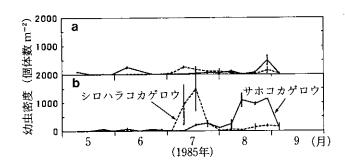


図20 コカゲロウ類(シロハラコカゲロウ Baetis thermicus とサホコカゲロウ Baetis sahoensis) の密度の変動
(a) 支流 2, (b) 支流 2 の上流地点

残留農薬濃度と底生動物密度との相関を調べた結果から、殺虫剤のフェンチオン濃度が 1 ppb, 除草剤のオキサジアゾン濃度が 3~4 ppb を越えると両種のコカゲロウとも生息密度が 1/10 以下に低下することが示され、それは主に薬剤の影響による流下に起因すると考えられた。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 (図 21)。優占する小型のユスリカは夏期の世代時間が約 3 週間と短く、降水によるかく乱後も直ちに個体数を回復できた。

(D) 高感受性生物による河川水の潜在的生態毒性の評価

水田を対象として、かなり広範囲に殺虫剤と殺菌剤が空中散布されその一部が付近の河川に流入する。研究所周辺の3つの小河川で水を定期的(散布直後は毎日)に採水し、農薬に感受性が

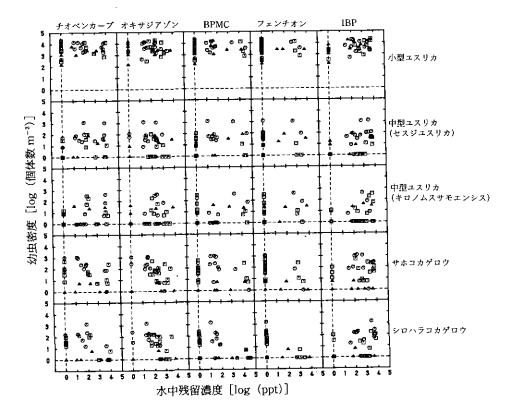


図21 河川水中の農薬濃度と底生動物密度の関係 梅雨期のデータは除外してある。鉛直の破線は各薬剤の検出限界以下の濃度を示し、 水平の破線は底生動物密度 0 を示す。 △:支流 1, ○:支流 2, □:支流 1 と 2 の合流点

高いヌカエビ($Paratya\ compressa\ improvisa$)に対して生物検定試験(4 日間)を行った。農薬 (殺虫剤,殺菌剤)の空中散布時期の河川水の流量はかなり多いにもかかわらず,散布後にエビの 死亡率は散布日又は翌日に急速に増加し(4 日後,100%),その後 $2\sim3$ 週間後にかけしだいに 認められなくなった(図 22)。エビの死亡は 9 月初旬~翌年の 3 月までは例外的な場合を除き全く といっていい程起こらなかった。

農薬散布後のエビの死亡率の増大は、水中農薬の分析結果でほとんど説明できるが、まれに分析された 11 種類の農薬のみでは説明が困難、あるいは複合影響を示唆する死亡が認められた。エビの死亡を確実にもたらした薬剤は、数 ppb 以上の濃度に達した殺虫剤のフェンチオンとフェニトロチオンであり、これらの濃度が低い日はダイアジノン (河川C)、BPMC (河川A)、IBP (3河川)、EDDP (河川B, C)、フサライド (河川C) などの濃度が高く、上記の2種の殺虫剤とこれら薬剤による複合影響の河能性が高い。河川Cの下流地点では8月8日に1日の暴露で100%のエビが死亡した。この日は、上記の薬剤濃度は低かったので原因物質をさらに検討した結果、高

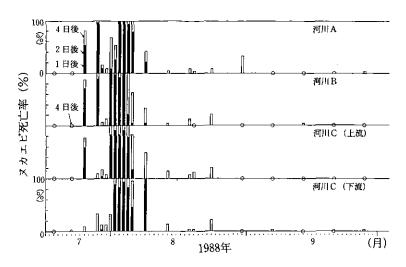


図22 殺虫剤・殺菌剤の空中散布後における河川水のエビに対する毒性の変動

濃度のダコニール(殺菌剤)が検出された。この薬剤の魚毒性ランク(C類)が高いことから, エビ死亡の原因物質となった可能性がきわめて高い。このように,高感受性水生生物による生物 試験の結果は分析上の目標を明らかにし通常の分析では見逃しやすい水中の未知の毒性物質を検 索する上でも有効である。また今回の生物試験により,河川水の水生生物に対する毒性の周年的 変動を一面的ではあるが明らかにすることができる。このような試験結果は,農薬による生態影響の調査結果を解釈する上でも有用なデータとなり得る。

(E) 水田生熊系影響

水田の湛水中には藻類や水生昆虫を初めとして種々の水生生物が生息している。施肥された水田水中の高栄養条件下で藻類が活発に光合成を行い,その一次生産物をユスリカ幼虫やカイミジンコが食う,それらの動物をヤゴなどが食うという食物連鎖に基づいた群集が存在している。さて一方では水田には稲の生育に応じて殺虫剤・除草剤・殺菌剤といったさまざまな農薬が散布される。これらの農薬の中には水生生物に対する毒性のかなり強いものもあるので,当然ながら水中の生物群集は影響を受ける。ここでは一般の水田と同じく殺虫剤・除草剤・殺菌剤を散布する水田,除草剤しか散布しない水田,農薬をいっさい散布しない水田の3種類の水田を実験的に設けた場合のそこでのユスリカ幼虫に対する影響に焦点を当てて紹介をする。

図23は3面の水田のユスリカ幼虫個体数変化を示している。一目見てわかるように農薬を数多く散布している水田ほど個体数の変化が激しい。無農薬田ではなだらかな二山形の変化を示すが、除草剤散布水田では前の山の増減がより大きくなり、逆に後ろの山は平たんになる。殺虫剤・除草剤・殺菌剤散布田では前の山の増減が更に大きくなっている。

水田間のこのような違いはユスリカ幼虫を捕食するトンボ目幼虫、いわゆるヤゴの個体数の違

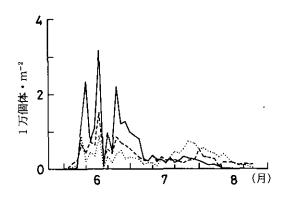


図23 水田のユスリカ幼虫個体数 ——:殺虫剤・除草剤・殺菌剤散布田, ---: 除草剤散布田,: 無農薬田

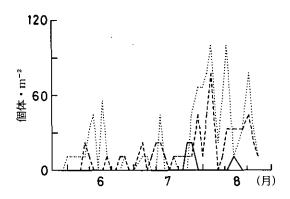


図24 水田のトンボ目幼虫個体数 ---:殺虫剤・除草剤・殺菌剤散布田,---:除草剤散布田,……:無農薬田

いと主として結び付いている。図 24 はヤゴの個体数変化を示している。ユスリカ幼虫とは逆に無 農薬田がもっとも個体数が多い。つまりユスリカ幼虫を食べるヤゴが多い水田ではユスリカ幼虫 の個体数変化が抑えられる。農薬が散布されるとヤゴが減少し、ユスリカ幼虫に対する抑えが効 かなくなると考えられる。

ところでユスリカ幼虫はやがて水の外へと羽化するが、図 25 はその羽化数変化を示している。この図からユスリカ幼虫個体数の増加が緩やかな無農薬田でユスリカ羽化数が最も多いことが分かる。逆に殺虫剤・除草剤・殺菌剤散布田では幼虫は数多くいるにもかかわらずそれが羽化する確率が低く、特に 6 月上中旬に存在する幼虫はごくわずかしか羽化していないと考えられる。なぜそうなるかといえば一つには農薬の毒性によって発育途中で死亡することが考えられる。二つにはヤゴによって食われることが減ってユスリカ幼虫が増えすぎて、ユスリカ自体の密度効果によって死亡が増えることが考えられる。

最後にまとめると、除草剤の散布だけでもユスリカ幼虫個体数は大きな影響を受ける。その上

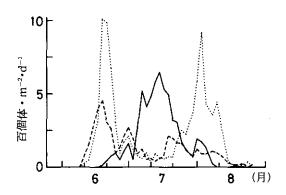


図25 水田からのユスリカ羽化数 ---: 殺虫剤・除草剤・殺菌剤散布田, ---: 除草剤散布田,: 無農薬田

更に殺虫剤・殺菌剤散布が加わると、影響は一層顕著になる。そしてその場合の影響は農薬の直接の毒作用によるものよりも、ユスリカを食べるヤゴの減少を通じた二次的なものが大きいと考えられる。

2.2.2 屋外の実験生態系を用いた農薬の影響解析

有害汚染物質の水生生物への影響評価は①単一の生物種を代表として行う段階から②進化の段階の異なる生物数種を組み合わせた場合(その場合でも試験は個々に行われる),③個体群,あるいは群集を対象とする場合までかなり相違がある。現在はまだ①の段階に留まっている。その次の段階として④生態系影響を考慮せねばならない。この段階が進むほど手間と時間がかかることから,リスクの高い化学物質のみについて場合によっては④の段階まで試験を行うが,そうでないと予想される物質については①ないし②の段階で十分であるという考えが普通である。これは常識的には一見正しいように思える。しかし十分な裏付けがあるわけでない。一方④段階の試験の必要性が各国でいわれてきている。

- ④ の生態系影響試験法については次のような問題があった。
- ・果して生態系影響としてそれより低次の試験とは違う結果、あるいは特徴があるのか?
- ・試験結果の再現性があるのか?
- ・どこでも扱えるか?
- ・コストが高くなるのではないか?
- この特別研究における隔離水界及び人工水路を用いた実験はこれらの問題に答えるべく行われた。 隔離水界はあくまでも自然生態系を取り込むかたちのものであるので,
 - ・隔離水界はどれだけの大きさを必要とするか?
 - ・生物相の変化をどこまで(時間として)調べるべきか?
 - ・隔離水界としての人為的影響を防げるか? などの問題を抱えている。

人工水路は多くの場合水を循環する方法がとられているが、その場合に出現する生物種数は河川に生息する種ではなく池に出現する種であることが多く、自然に近い河川生態系を実験用に再現するためには掛け流し方式であることが不可避である。問題は良好な水質、一定以上の流速を確保できるかによって出現生物相が限定されることである。

(1) 隔離水界を用いた湖沼生態系影響解析

(A) 大型隔離水界 (5×5×4 m)

本来湖全体を実験に用いることが望ましいが、それに代わるものとして大型の隔離水界が使われている。外国では一辺が10mを越えるものも作られたが、対照となるものは作られていない。 5×5×4m は浅い湖、諏訪湖に設置された。隔離水界をとりまく作業台、波よけのフェンスなどを含めるとかなり大掛かりのものになる。8月にこの隔離水界の2つに殺虫剤のテメホスの乳化剤を0.5 ppm になるように投入した。比較対照は他の3つの隔離水界を当てた。処理は動物プランクトンの全てを消失させた。ミジンコ類は45日経ても全く回復せず、ケンミジンコ類もそれに近かった。唯一ワムシ類が20日以内に回復したが、種類の交替も起こった。極めて重要なことは、実験開始時に既にアオコが優占していたが、処理区では消失し、ボルボクスの優占する系ができあがったことである。植物プランクトンの光合成活性は低下していた。これらの結果は回復過程の解析を行うには2か月程度では不十分であることを示している。

生態系のかく乱後の基本的な回復過程は次のようなものである。

生態系かく乱→種類の減少、個体数の減少、生理活性の低下、個体数の回復 →種の入れ替え→種組成の回復

この過程で生起する現象の機構については後で述べるように更に詳細な研究が必要である。

(B) 小型隔離水界一円筒型(1×4m)

小型の円筒型の水界を底泥ごと隔離するためにソリッドの円筒を用いる場合、中の水をかくは んしないと酸欠状態になる。それを避けるために枠組みをステンレスで作り、円筒の部分はポリ エチレンフィルムとした。フィルムは波で動くことから、内部の物理的特性はかなり自然に近い 状態を保つことができる。この場合エアレーションを行ったものと行わないものを比較すると、 むしろ行わない方は自然と同じような温度及び酸素の成層ができていた。またエアレーションそ のものが植物プランクトンの種組成に変化をもたらした。

この隔離水界を用いて試験した薬剤は除草剤の CNP, 殺虫剤のテメフォス, ペルメスリンであった。このような自然条件下の実験ではその結果は実験の時期、期間等に大きく左右される。前者は 11 月に実験を開始したために水温の低下するのが早く, 薬物の分解も途中から遅くなった。生物の活性も低下するため回復も遅くなり,約70 日の実験期間内では生態系の回復はすべての系で

みることができなかった。

要約すると

- CNP 1ppm 1) すべての動物プランクトンを抑制……回復しない(除草剤であるが動物に も毒性が高い)
 - 2) クロロフィル量も低下(植物プランクトンも抑制)
 - 3) 植物プランクトンの種組成の入れ替え (CNP に耐性のある種へ)
 - 0.5ppm 1) ミジンコ、ケンミジンコを20日ほど抑制……その後回復
 - 2) カメノコウワムシが対照的な増減を示す。(CNP に耐性, ミジンコとの競争関係)
 - 3) クロロフィル量の一時的増加(動物プランクトンの減少に伴う)
 - 4) 植物プランクトンの種組成の入れ替え。
 - 5) 底生動物も影響を受ける。
- テメフォス 1) ミジンコ消失,ケンミジンコは次第に回復(感受性に種間差)
 - 1ppm 2) カメノコウワムシの一時的増加は見られない(耐性種でない)
 - 3) クロロフィル量増加(動物プランクトンの減少に対応)
 - 4) 特殊な植物プランクトン相に代わる(動物プランクトン相との関係?)
- ペルメスリン 1) 容易に分解,残留性なし。
 - 2) 0.75, 1.5, 10 ppm の 3 段階で影響を受ける種類の範囲は当然のことなが ら異なる。
 - 3) 消失する種類に応じて増加する種類がでる(選択的捕食,競争関係の存在 の示唆)

(C) 小型隔離水界-バッグ型 (1×2~3m)

上記円筒型も小型ではあるが長さは6mあり、底泥に打ち込む作業に労力を要する。さらに簡易化するために浮遊型の小型の隔離水界を開発した。直径1mの筒状のポリエチレンを適当な長さに切り、発泡スチロールの浮きに付け、底を縛って閉じる。池の水をポンプで入れてでき上りである。当研究所では深さ4mの実験用の池にこれを複数個並べて実験を行っている。その利点は①繰り返しを多数とることができる、②多大の費用を必要としない、③設置が容易なことである。一方問題となる点は①時期によって、池によって異なった生物群集で実験することになり普遍性があるかどうか、②底泥を含まないことによる不自然さ、③それとの関連で栄養塩の回帰の問題、④小型であることからくる壁の影響などである。①については色々異なる条件の池で実験してみる必要がある。②については生物群集が回復するために必要な休眠卵などの供給源としても重要かも知れない。③はむしろ研究の場を提供することになろう。④については確かに付着藻類による栄養塩の取り込みを考慮すると、この方法の限界である。

では実際にどのような結果が得られたか?

試験した化学物質は除草剤のオキサジアゾンとチオベンカーブの2種類である。どちらもミジンコに対する毒性は除草剤としては高い(LC50値で0.13 ppm, 0.73 ppm)。前者は光合成阻害,後者は炭水化物合成に関与していると考えられている。そのことは植物プランクトンへの影響の差として現われて,前者の処理では植物プランクトンがほとんど消滅したのに対し後者の処理では影響は極めてわずかであった(表5)。実験期間は40日であったが,この期間では植物プランクトンの組成の回復は認められない。これは処理濃度0.1 ppm,1 ppm のどちらでも変わりなかった。動物プランクトンの場合は濃度による違いが認められる。どちらの薬剤も1 ppm では動物プランクトンは消滅し、1 か月余りの期間には全く回復しない。0.1 ppm 処理では2種の薬剤の間に相違がみられ、植物プランクトンと違って、チオベンカーブの方が動物プランクトンの種によってはより強い影響を与えた(図26)。この実験では対照と、それぞれの薬剤で低濃度、高濃度の処理それぞれ2つの繰り返しで実験を行った。繰り返しはほとんどの場合かなり一致した結果を示した。この実験も10~11 月にかけて行われ、水温の低下による生物活性の低下が長期に実験を継続するうえでの限界を示した。したがってこの種の野外における実験は4~10 月が実施可能期間である。しかし40 日の実験においても極めて興味ある結果を得ることができることを示した。

(D) 陸上型隔離水界

これまで述べてきた隔離水界は池や湖がないと作ることができないという欠点がある。そこで、近くに池や湖がなくても実験的に自然に近い水界生態系を作ることを目的とし、水槽を用いた実験方法を開発してきた。我々が実験に用いたのは、当初魚の飼育用に作られた屋外のコンクリート水槽で、大型(縦4.1 m 横5.1 m 深さ1.5 m)と小型(縦1.5 m 横2 m 深さ0.7 m)の2種類の水槽を使用した。コンクリート水槽を実験のために用意するのはかなり費用がかかり、あまり現実的ではないかも知れない。市販のFRP 水槽など用いれば低コストで類似の実験が可能である。ただし、この水槽を地面の上に置いておくと、日中太陽に照らされて水温がかなり上昇することがある。それを避けるためには水槽を地中に埋めるのがいいだろう。ここでは屋外コンクリート水槽を用いた実験方法と実験結果について報告する。この実験では試験する薬剤をカーバメイト系殺虫剤のNAC(カルバリル)に限り、薬剤の投与方法や投与時期、生態系の構成種等を変えて、動物プランクトン群集を中心にその影響を解析した。

a) 実験方法

6回の実験を様々な季節に行った。前実験の影響をなくすために、実験ごとに水槽の内側をポリエチレンフィルムで裏打ちした。実験開始時には、霞ヶ浦から採取した底泥(休眠状態の動植物プランクトンを含む)を、大型水槽には $80 \, \mathrm{kg}$ 、小型水槽には $5 \, \mathrm{kg}$ 投入し、地下水を大型水槽には深さ $1.5 \, \mathrm{m}$ まで(水量 $27.2 \, \mathrm{t}$)、小型水槽には $0.5 \, \mathrm{m}$ まで(水量 $1.5 \, \mathrm{t}$)満たした。水槽内には底泥由来の動植物プランクトンが増え、霞ヶ浦に似たプランクトン群集が形成された(図27)。

表 5 オキサジアゾンあるいはチ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無印: 0, $-:1 \times 10^6$, $1*:10-20 \times 10^6$, $2*:20-40 \times 10^6$, $3*:40-60 \times 10^6$, $4*:60-80 \times 10^6$, $5*:80-100 \times 10^6$, $6*:100 \times 10^6$ cells/ml

		Cor	trol		Th	iobenca	rb-0.1p	pm	Th	iobenca	ırb-1 p	pm	0:	kadiazo	n-0.1pp	m	O	xadiazo	n-1 pp	m
Data	10/15	10/24	11/04	11/18	10/15	10/24	11/04	11/18	10/15	10/24	11/04	11/18	10/15	10/24	11/04	11/18	10/15	10/24	11/04	11/1
Algae					-															
Dinophyceae																				
Ceratium hyrundinella	***	***	***	*	**	***	*	*	*** *	*** **	***	*	*** *	**	*		***	*		
Euglenophyceae																				
Trachelomonas sp.	**	*	*	*	*	*	*	_	**	*	*	_	*	*	*		*	*		*
Chrysophyceae																				
Dinobryon sp.	***	***	***	**	***	***	***	***	***	***	***	***	***				***			
Flagellate 1.	***	***	***	***	***	*	*	**	***		*	*	***		*	*	***			*
Flagellate 2.	*	*	•				*	_			*	*	•		*	_		**	*	_
Flagellate 3.	*	*						*		_	*	*				_	*			*
Cyanobacteria																				
Anabaena sp.						_	_	_	*	_					_		_			
Bacillariophyceae																				
Melosira sp.	*				*		_			*		*				_	_			
Navicula sp.														-		*				**
Cyclotella sp.					*										*		_			
Chlorophyceae																				
Scenedesmus spp.	***	**	*	*	*	*	*		*				*				*	*		
Dictiosphaerium sp.					*											*				
Chlamydomonas sp.																_				*
Crucigenia sp.																	-			
Tetrastrum sp.	*				*				*							_	*	*		
Protozoa																				
Vorticella sp.							_				*								_	
Ciliata 1.						*	_			*				*	_				_	_
Ciliata 2.														-	_				_	
Ciliata 3.							*					_			*					*

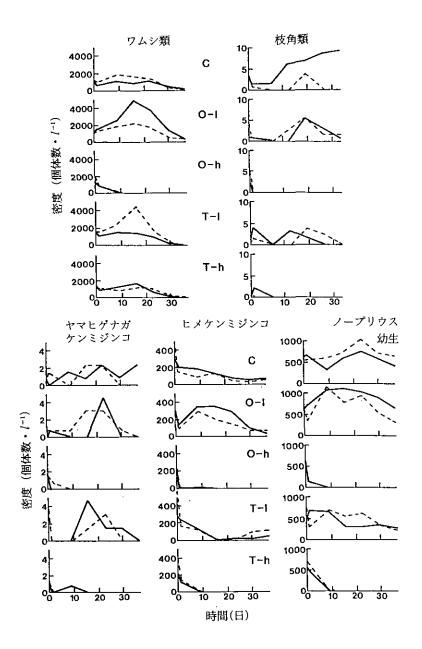


図26 除草剤処理後の動物プランクトンの変動 c:対照,0-1:オキサジアゾン0.1ppm,0-h:オキサジアゾン 1 ppm, T-1: チオベンカーブ0.1ppm, T-h:チオベンカーブ1 ppm 各処理に2つの隔離水界(2つの繰り返し)を用意した。実線と破線は各々の隔離 水界内の変動を示す。

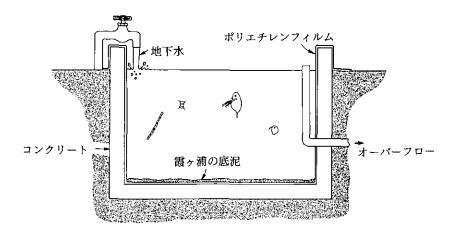


図27 屋外コンクリート水槽を用いた実験方法(模式図)

この方法によるプランクトン群集の再現性はかなり良く,生態系影響試験を行うための実験系と しては有効な方法と考えられた。

b) 大型水槽

夏に実験を行ったときには、フサカ(双翅目昆虫)の幼虫が水槽内に現れた。この幼虫は動物プランクトンとして水中に浮遊し、ミジンコ(枝角類)を捕食する。その結果ミジンコが減少し、ミジンコとの競争によって抑えられていたワムシ類が増えた。この水槽に NAC を 1 ppm になるように投与すると、フサカ幼虫を含むほとんど全ての動物プランクトンが死滅した。この薬剤の分解は非常に速く、すぐにミジンコが現れ、捕食者フサカ幼虫が回復しないうちに急増した。その結果、ワムシ類の現存量は比較的低く抑えられた。すなわち、薬剤投与をしないと、フサカ幼虫が捕食によってミジンコを抑え、ワムシ類優占の水界ができる。NAC の投与はこの捕食者の増殖を抑え、ミジンコの速やかな回復を許し、ミジンコ優占の水界を作ることになった。

同じ実験を春に行った。この実験においてもフサカ幼虫が水槽内で増えた。夏と同様に1ppmのNAC 投与はほとんど全ての動物プランクトンを死滅させたが、その後の回復過程は大きく異なった。投与後、薬剤は速やかに分解したが、ミジンコの顕著な回復がみられなかった。これは捕食者フサカ幼虫の回復がミジンコに比べて早く、ミジンコの回復を抑えたためによる。夏にはミジンコの回復速度がフサカ幼虫のそれを上回っていたが、水温が低い春にはその関係が逆転した。

秋から春まで (11~4月) 実験生態系を作り、水温が 10° Cを下った晩秋に 1 ppm の NAC を投与した。薬剤は他の季節での実験同様、ほとんど全ての動物プランクトンを殺した。投与した薬剤は 1 か月以内には分解してなくなったが、ミジンコとワムシの回復は水温が再び 10° Cを越える春になるまで見られなかった。薬剤処理を行わなかった水槽では、大型のミジンコ (Daphnia) が冬の間中生存し、春にも競争関係で上位にあるこのミジンコが他のミジンコやワムシの出現を抑え、著しく優占した。薬剤処理の結果冬の間ミジンコやワムシのいなかった水槽では、春になる

といろいろなミジンコやワムシが出現して、種数の多い動物プランクトン群集が作られた。このことはすなわち、水温が低い晩秋から冬に、水界生態系に薬剤が流入して動物プランクトン群集が壊されると、たとえその薬剤がすぐに分解して毒性がなくなっても、その影響は翌年の春の動物プランクトン群集の種組成にまで及ぶことを示している。

この現象は小型水槽を用いて追試を行い、確認された。

c)小型水槽

大型水槽を用いた春の実験で、薬剤投与後の回復過程に捕食者のフサカ幼虫が重要な役割を果 していることが示された。この結果を確認するために、小型水槽を用い、フサカ幼虫の密度をコ ントロールした実験を春に行った。

12 基の水槽の半分の6基をネットで覆い、フサカ成虫による水槽への産卵を妨げ、フサカ幼虫密度の低い水界を作った。残りの6基の水槽はネットで覆わず開放して、フサカの移入を許し、更に週3回フサカの卵塊を投入して、フサカ幼虫密度の高い水界を作った。この実験ではNACを0.5 ppm と 0.1 ppm の 2 段階の濃度で投与した。0.5 ppm の NAC は一部のワムシを除いてほとんどの動物プランクトンの現存量を大きく減少させ、開放水槽では、大型水槽を用いた春の実験と同様に、薬剤投与後にフサカが早く回復し、ミジンコの回復は見られなかった。フサカ幼虫がいるとミジンコの回復が妨げられることが、この実験で明らかにされた。また、ネット遮へいで薬剤を投与しない水槽では、大型のマギレミジンコが実験期間中優占したのに対し、ネット遮へいで薬剤を投与した水槽ではニセゾウミジンコとスカシタマミジンコが優占した。薬剤投与はミジンコの種組成を変えたことになる。これにはミジンコ同士の競争関係、増殖速度の違いなどが影響している。またここでは2段階の殺虫剤濃度を使ったことから、これまでの1ppm 投与の実験データも加え、いろいろな動物プランクトン種のNACに対する耐性の違いが分かった。ワシムが最も高い耐性を持つ傾向があり、逆にミジンコの耐性が最も低かった。さらに、ワムシの仲間でも種により耐性に違いのあることが分かった。

水槽に地下水を満たし実験を開始すると、いろいろな動物プランクトン種が順番に増え、ある決まった遷移(succession)が見られる。この遷移上の異なった時期に NAC 0.5 ppm を投与し、その影響を調べた。実験では 10 基の小型水槽を用い、全ての水槽をネットで覆い、フサカの移入を妨げた。 2 基の水槽は無処理で対照とし、 2 基は実験開始後 13 日目に NAC 0.5 ppm を投与した。さらに 2 基は 20 日目に、また別の 2 基は 27 日目に同様の薬剤処理を行った。残りの 2 基は 13、20、27 日目にそれぞれ 0.5 ppm の NAC を投与した。すなわち全部で 3 回の薬剤処理を行った。 0.5 ppm のカルバリルはミジンコをほとんど死滅させたが、ワムシのコシボソカメノコウワムシには個体数の多少の減少を引き起こした程度で、大きな影響を与えなかった。コシボソカメノコウワムシの増殖時期に薬剤投与を行ったときには(13 日目と 3 回投与した場合)、薬剤によってワムシの競争者のミジンコが姿を消したために、このワムシは更に個体数を増やした。一方、コシボソカメノコウワムシの減衰時期に薬剤が投入されたときには (20 日目と 27 日目)、ミジン

コがいなくなってもワムシは増えなかった。即ち、同じ薬剤処理を行っても、そのときの動物プランクトン個体群の盛衰の状態が異なると、その後の回復過程が異なることが示された。

水界生態系では、動物プランクトン群集を見て分かるように、いろいろな生物が、食う-食われる関係、餌を介した競争関係などの生物間相互作用で、複雑に関係を保っている。これまでの実験で、薬剤投与後の生態系の回復過程において、これらの相互作用が重要な役割を果していることが分かってきた。さらに、その相互作用が温度に大きく依存しており、季節が変わると同じ薬剤処理を行ってもその後の回復過程が異なることが示された。

水槽内では動物プランクトン群集の種組成の明りょうな遷移が見られた。例えばフサカ幼虫がいなければ、実験開始後まずワムシが優占し、その後決ってミジンコがワムシを抑えて優占する。これは動物プランクトン間の競争の結果と思われるが、このような遷移は大型水槽よりも小型水槽で顕著に見られた。実際の湖ではこのような遷移はより不明りょうであることを考えると、水界の容量が小さいほど、動物プランクトン間の種互作用が強く働くように思われる。実験的に水界を作るときには、この点を考慮に入れる必要がある。

(2) 人工水路を用いた河川生態系影響解析

2本の屋外かけ流し水路を国立公害研究所の敷地内に設置した。それぞれの長さは160 m(上流 部80 m+下流部80 m)で幅は25 cm あり、低部に玉砂利を敷き、こう配2%で地下水を掛け流しにした。流量は0.47 l s⁻¹で流速は約12 cm s⁻¹であった。水路には自然にいろいろな生物が侵入し、かなり安定した群集が作られていたものと考えられる。底生動物はユスリカ類・サホコカゲロウ・コガタシマトビケラ・オドリバエ・サカマキガイが生息していた。付着藻類ではケイ藻・糸状の緑藻・糸状のラン藻が見られ、藻類以外では蘇苔類が出現した。

幼若ホルモン類似物質(メトプレン)とキチン合成阻害剤(ディフルベンズロン)をそれぞれ 1 ppm, 10 ppm: 30 分間投入した。殺虫剤と違って底生動物の破局的な流下を引き起こさなかった。ディフルベンズロン処理区では薬剤散布後 20 日過ぎまで死亡しているユスリカの幼虫・さなぎがみられ,その他の底生動物の密度も減少しているのが認められた。しかしメトプレンはサホコカゲロウに影響を与えないことからむしろ高い密度に達し,付着薬の現存量を減少させるに至った。昆虫幼若ホルモン類似物質(ピリプロキシフェン)の 0.1 ppm: 10 分間処理はほとんど影響を与えなかったが, 0.5 ppm: 10 分間処理では薬剤散布から 2 ~ 8 日後にユスリカ類の蛹が羽化できず流れる現象が認められた。カーバメイト系殺虫剤(カルボスルファン)の 0.05 ppm: 10 分間処理でも底生動物に大きな影響をもたらさなかった。

底生動物が減少あるいは消失した後の付着藻類の増加、その後の底生動物の定着・回復に伴って付着藻類の減少が認められた。このような付着藻類の増減を底生動物の摂食圧の変化としてとらえることができた。

[資 料]

I 研究の組織と研究課題の構成

1 研究の組織

[A 研究担当者]

生物環境部 部 長

、菅原 淳(特別研究責任者)

水生生物生態研究室 安野正之(研究幹事)・畠山成久(研究幹事)・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(現在:北海道東海大学)

計測技術部

水質計測研究室 大槻 晃 (現在:東京水産大学)・白石寛明

水質土壌環境部

海洋環境研究室

渡辺 信

土壌環境研究室

袴田共之 (現在:農業環境技術研究所)

環境保健部

人間生態研究室

鈴木和夫・青木康展・平野靖史郎

技 術 部

生物施設管理室

菅谷芳雄・笠井文絵

[B 客員研究員]

青山莞爾	(東邦大学理学部)	(昭和60~61年度)
上村 清	(富山医科薬科大学)	(昭和60~63年度)
瀬戸昌之	(東京農工大学農学部)	(昭和60~61年度)
津田修治	(残留農薬研究所)	(昭和60~63年度)
福嶋 悟	(横浜市公害研究所)	(昭和60~63年度)
藤井宏一	(筑波大学生物科学系)	(昭和61~63年度)
横山宣雄	(山形大学理学部)	(昭和60~63年度)
井上 勲	(筑波大学生物科学系)	(昭和60~63年度)
符谷貞二	(麻生短期大学)	(昭和60~61年度)
原 慶明	(筑波大学生物科学系)	(昭和60~63年度)
塩見正衛	(農林水産省草地試験場)	(昭和60~63年度)
難波利幸	(専修大学商学部)	(昭和60~63年度)
鷲見 和	(聖マリアンナ医大)	(昭和60~63年度)
矢島毅彦	(東邦大学薬学部)	(昭和60~63年度)

小林悦子 (金沢医科大学)

(昭和60~63年度)

[C 共同研究員]

大内絹子

(東北大学農学部)

(昭和60~63年度)

松原健司

(東邦大学理学部)

(昭和60年度)

謝 平 (筑波大学生物科学系)

(昭和61~63年度)

2 研究課題と担当者(*客員研究員, **共同研究員)

(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 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・ 岩熊敏夫・高村健二・野原精一・上野隆平・多田 満・袴田共之・菅谷芳雄

(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 岩熊敏夫・高村健二・野原精一・上野隆平・宮下 衛・畠山成久・安野正之・ 花里孝幸・大槻 晃・白石寛明・狩谷貞二*・大内絹子**

- (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 鈴木和夫・青木康展・平野靖史郎・渡辺 信・畠山成久・宮下 衛・高村典子・ 竹内裕一・白石寛明・笠井文絵・鷲見 和*
- (4) 有害汚染物質に対する指標生物の検索に関する研究 渡辺 信・畠山成久・佐竹 潔・宮下 衛・高村典子・安野正之・竹内裕一・ 菅谷芳雄・笠井文絵・福嶋 悟*

II 研究成果発表一覧

1 誌上発表

発 表 者	題目	掲載誌	巻 (号)	ページ	刊年
Y. Aoki, S. Hatakeyama, N. Kobayashi, Y. Sumi, T. Suzuki, K. T. Suzuki	Comparison of cadmium-binding protein induction among mayfly larvae of heavy metal resistant (Baetis thermicus) and susceptible species (B. yoshinensis and B. sahoensis)	Comp. Biochem. Physiol.	93 C	345-347	1989
坂本 充・沖野外輝夫・ 呉 寿完・河畑智史・ 青山莞爾・渡辺泰徳・ 高橋和志・林 秀剛・ 加藤憲二・安野正之・ 岩熊敏夫・花里孝幸・ 安田 香	アオコ優先期におけるテメホス(殺 虫剤) 投入の生態系攪乱効果	文部省特定研究「メ ソコスムによる水域 生物相互作用系の実 験的解析」研究成果 報告替		58-81	1988
K. N. Satake, M. Yasuno	The effects of diflubenzuron on invertebrates and fishes in a river	Jpn. J. Sanit. Zool.	38(4)	303-316	1987
H. Shiraishi, F. Pula A. Otsuki, T. Iwakuma	Behavior of pesticides in Lake Kasumigaura, Japan	Sci. Total Environ.	72	29-42	1988
K. T. Suzuki	Quantification and characteriza- tion of metallothioneins in tis- sues of lower vertebrates and invertebrates	Metallothionein (J. H. R. Kägi & Y. Kojima eds., Birk- häuser Verlag)		265-272	1987
鈴木和夫	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	1987
K. T. Suzuki, H. Sunaga, E. Kobayashi, S. Hatakeyama	Environmental and injected cad- mium are sequestered by two major isoforms of basal cop- per, zinc-metallothionein in gibel liver	Physiol.	87C	87-93	1987
K. T. Suzuki, H. Sunaga, Y. Aoki, S. Hatakeyama, Y. Sugaya, Y. Sumi, T. Suzuki	Binding of cadmium and copper in the mayfly <i>Baetis thermicus</i> larvae that inhabit a river polluted with heavy metals	Physiol.	91C	487-492	1988

					ı -
発 表 者 ———————————————————————————————————	題目	掲 載 誌 	卷 (号)	ページ	刊年
K. T. Suzuki, H. Sunaga, S. Hatakeyama, Y. Sumi, T. Suzuki	Differential binding of cadmium and copper to the same protein in a heavy metal tolerant species of mayfly (Baetis thermicus) larvae.	Comp. Biochem. Physiol.	in press		1989
H. Sunaga, K. T. Suzuki	Sequestration of environmental and injected cadmium by two major isoforms of basal cop- per, zinc-metallothionein in gibel liver	Eisei Kagaku	33	p.27	1987
Y. Sumi, T. Suzuki, K. T. Suzuki	Autoradiographic demonstra- tion of cadmium not bound to metallothionein using ¹⁴ C- labeled thiazolylazo-naphth- ol.	Histochemistry	87	327-329	1987
K. Takamura, M. Yasuno	Effects of pesticide application on chironomid larvae and ostracods in rice fields	Appl. Entomol. Zool.	21	370-376	1986
N. Takamura, F. Kasai, M. M. Watanabe	Effects of Cu, Cd and Zn on photosynthesis of freshwater benthic algae.	J. Appl. Phycol.	1	39-52	1989
S. Hatakeyama	Chronic effects of Cd on reproduction of <i>Polypedilum</i> nubifer (Chironomidae) through water and food	Environ. Pollut.	48(4)	249-261	1987
S. Hatakeyama, M. Yasuno	Chronic effects of Cd on the reproduction of the guppy (Poecilia reticulata) through Cd-accumulated midge larvae (Chironomus yoshimatsui)	Ecotoxicol. Environ. Safety	14	191-207	1987
畠山成久	動物プランクトン,底生生物に対す る有害汚染物質の影響評価法	水質汚濁研究	11(11)	8-12	1988
S. Hatakeyama, M. Yasuno, K. Satake	Baetis (Ephemeroptera) as an efficient heavy metal accumulator in rivers receiving effluents from abandoned mines	Biol. Monit. of Environ. Pollut. (Tokai Univ. Press., 291p)		237-246	1988

発 表 者	題目	掲 載 誌	巻 (号)	ページ	刊年
S. Hatakeyama	Chronic effects of Cu on reproduction of polypedilum nubifer (Chironomidae) through water and food	Ecotoxicol. Envi- ron. Safety	16(1)	1-10	1988
S. Hatakeyama	Effect of a herbicide, chlornitrophen (2, 4, 6-trichlorophenyl ether), on the growth and reproduction of the guppy (<i>Poecilia reticulata</i>) through water and food	Aquat Toxicol.	15	181-196	1989
S. Hatakeyama	Effect of copper and zinc on the growth and emergence of <i>Epeorus latifolium</i> (Ephemeroptera) in an indoor model stream	Hydrobiologia	174	17-27	1989
S. Hatakeyama, Y. Sugaya	A freshwater shrimp (Paratya compressa improvisa) as a sensitive test organism to pesticides	Environ. Pollut.	59	325-336	1989
S. Hatakeyama, H. Shiraishi, N. Kobayashi	Effects of aerial spraying of insecticides on non-target macrobenthos in a mountain stream	Ecotoxicol. Envi- ron. Safety	in press		1990
T. Hanazato, M. Yasuno	Effects of a carbamate insecticide, carbaryl, on the summer phyto-and zooplankton communities in ponds	Environ. Pollut.	48	145-159	1987
T. Hanazato, M. Yasuno	Effects of carbaryl on the spring zooplankton communities in ponds	Environ. Pollut.	56	1-10	1989
T. Hanazato, M. Yasuno	Effect of temperature in laboratory studies on growth of Chaoborus flavicans (Diptera: Chaoboridae)	Arch. Hydrobiol.	114	497-504	1989
T. Hanazato, T. Iwakuma, M. Yasuno, M. Sakamoto	Effects of temephos on zooplan- kton communities in enclo- sures in a shallow eutrophic lake	Environ. Pollut.	59	305-314	1989

発 表 者	題 目	掲載誌	巻 (号)	ページ	刊年
T. Hanazato, M. Yasuno	Influence of overwintering Da- phnia on spring zooplankton communities: An experimen- tal study	Ecol. Res.	4	323-338	1989
T. Hanazato, M. Yasuno	Influence of time of application of an insecticide on recovery patterns of a zooplankton community in experimental ponds	Arch. Environ. Contam. Toxicol.	19	77-84	1990
T. Hanazato, M. Yasuno	Influence of <i>Chaoborus</i> density on effects of an insecticide on zooplankton communities in ponds	Hydrobiologia	in press		1990
安野正之	河川モデルによる生態系攪乱の研 究	水質汚濁研究	8	623-630	1985
M. Yasuno	Hazard assessment of toxic substances using model aquatic ecosystems	Biological Monitoring of the State of the Environment (Indian Natl. Sci. Acad., 285p.)		56-73	1985
M. Yasuno, S. Hatakeyama, Y. Sugaya	Characteristic distribution of chironomids in the rivers polluted with heavy metals	Verh. Int. Verein. Limol.	22	2371-2377	1985
M. Yasuno, Y. Sugaya, T. Iwakuma	Effects of insecticides on benthic community in a model stream	Environ, Pollut. (Ser. A)	38	31-43	1985
安野正之	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 ポジウム報告集		81-92	1986
M. Yasuno, B. A. Whitton	Biological monitoring for aquatic pollution	Biological Monitoring of the State of the Environment: Bioindicators (J. Salanki ed., IRL Press, 73p.)		57-66	1986
M: Yasuno, S. Fukushima	Attached algal flora in the rivers receiving effluent from copper mines	Acta Biologica Hungarica	38	141-153	1987

発 表 者	題目	掲載 誌	巻(号)	ページ	刊年
安野正之	水圏生態系に対する毒性影響の評価 一評価法の現状と今後の方向-	水質汚濁研究	11(11)	670-675	1988
M. Yasuno, T. Hanazato, T. Iwakuma, K. Takamura, R. Ueno, N. Takamura	Effects of permethrin on phyto- plakton and zooplankton in an enclosure ecosystem in a pond	Hydrobiologia	159	247-258	1988
M. Yasuno, B. A. Whitton		Biol. Monit. of Environ. Pollut. (Tokai Univ. Press. 291p.)			1988
安野正之・岩熊敏夫	有害化学物質による環境汚染と生 態系影響	環境情報科学	18(2)	25-31	1989
M. M. Watanabe, Y. Takeuchi, N. Takamura	Cu tolerance of a freshwater benthic diatom, Achnanthes minutissima	Biol. Monit, Environ. Pollut, (M. Yasuno & B. A. Whitton. eds., Tokai Univ. Press, 291p.)		171-177	1988

2 口頭発表

発 表 者	題目	学会等名	開催都市名	年 月
青木康展・畠山成久・ 鷲見 和・鈴木卓朗・ 鈴木和夫	感受性の異なるコカゲロウ種間におけるカド ミウム結合タンパク質誘導能の比較	日本薬学会第108年会	広 島	63.4
Y. Aoki, H. Sunaga, S. Hatakeyama, K. T. Suzuki	Heavy metal resistant mayfly (Baetis thermicus) larvae: induction and characterization of metal-binding protein.	Pacitichem'89	Honolulu	1.12
猪口真美・福嶋 悟・ 安野正之・佐竹 潔	殺虫剤投入後の付着藻類相の多様性の変化	日本陸水学会第50回 大会	大津	60.10
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	第33回日本生態学会 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・白石寛明・ 高村健二・野原精一	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
岩熊敏夫・安野正之・ 菅谷芳雄	富栄養湖沼指標生物としてのアカムシユスリ カとオオユスリカ	日本陸水学会第52回 大会	札幌	62.10
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・菅谷芳雄 安野正之	Paratrichocladius 属幼虫 2 種の分類及び 生態	日本陸水学会第50回 大会	大津	60.10
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
佐竹 潔・安野正之	河川底生動物群集に及ぼす S 31183及び Carbosulfan の影響	第41回日本衛生動物 学会大会	宇都宮	1.4
菅谷芳雄・佐竹 潔・ 安野正之	梯川のユスリカ相におよぼす重金属の影響	日本陸水学会第50回 大会	大 津	60.10
菅谷芳雄・島山成久・ 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

発 表 者	題 目	学会等名	開催都市名	年月
菅谷芳雄・畠山成久・ 安野正之	重金属汚染河川におけるユスリカの季節消長	日本陸水学会第53回 大会	松山	63.10
K. T. Suzuki	Quantification and characterization of metallothioneins in tissues of lower vertebrates and invertebrates	2nd Int. Meet. Metallothionein and other low molecular weight metalbinding proteins	Zürich (Switz.)	60.8
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回日本衛生学会 総会	東京	62.4
須長宏行・鈴木和夫	フナ肝臓中に常任する2種類の銅, 亜鉛ーチ オネインによる環境中および注射したカド ミウムの捕捉ー	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
Y. Sumi, N. H. Masuda, M. K. Hara, T. Suzuki, S. Hatakeyama, K. T. Suzuki	Staining of metals in the mayfly larvae (Baetis spp.) that inhabited in a river polluted with heavy metals		岡山	62.11
高村健二・安野正之	水田ユスリカ群集の組成とその変動	日本生態学会第32回 大会	広島	60.3
高村健二・花里孝幸	13C を用いた水生細菌のグルコース取り込み 活性の測定	日本陸水学会第52回 大会	札 幌	62.10
高村健二・花里孝幸	グルコース利用水生細菌に対する殺虫剤 (NAC) の影響	第35回日本生態学会	仙台	63.4
高村健二	循環水路を用いた平地型河川生物群集の研 究ーLAS 添加実験ー	日本陸水学会第53回 大会	松山	63.10
高村典子・安野正之	電ヶ浦高浜入りの水の華発生時における植物プランクトンの生産, 沈降と分解	第34回日本生態学会 大会	沖縄	62.4
髙村典子・笠井文絵・ 渡辺 信	数種の藻類に対する重金属耐性の違いにつ いて	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	河川性付着藻類の光合成活性に及ぼす重金 属耐性の違いについて	日本藻類学会第12回 大会	津	63.3
N. Takamura, F. Kasai, M. M. Watanabe	Differences in the tolerant levels of benthic algae to heavy metal	3rd. Int. Phycol. Congr.	Mel- bourne	63.8

発 表 者	題目	学会等名	開催都市名	年月
高村典子・笠井文絵・ 渡辺 信	河川性付着藻類の銅耐性の違いについて	日本陸水学会第53回 大会	松山	63.10
N. Takamura, F. Kasai, M. M. Watanabe	Unique response of cyanophyceae to cop- per	5th international symposium on mi- crobial ecology	Kyoto	1.8
N. Takamura, F. Kasai, M. M. Watanabe	Accumulation of Cu, Cd and Zn by freshwater benthic algae	5th international symposium on mi- crobial ecology	Kyoto	1.8
高村典子・笠井文絵・ 渡辺 信	鋼に対する藍藻類と他の真核藻類とレスポン スの違い	日本陸水学会第54回 大会	東京	1.10
高村典子・畠山成久・ 菅谷芳雄・安野正之	重金属汚染河川の藻類の生産構造一特に日 立市宮田川の藻類群集について	日本陸水学会第54回 大会	東京	1.10
野原精一	ヒシ群落内外の水質の違いについて	第34回日本生態学会 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変化	第34回日本生態学会 大会	沖縄	62.4
畠山成久	エルモンヒラタカゲロウの生息密度と Cu, Zn 濃度の関係について	日本陸水学会第50回 大会	大 津	60.10
畠山成久・佐竹 潔・ 福嶋 悟	梯川の生物相に及ぼす重金属の影響	日本陸水学会第50回 大会	大津	60.10
畠山成久・佐竹 潔・ 宮下 衛・福嶋 悟	重金属汚染と河川(南紀・数河川)生物相と の関係について一環境及び底生生物相	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・福嶋 悟	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
S. Hatakeyama, M. Yasuno, K. Satake	Baetis (Ephemeroptera) as an efficient heavy metal accumulator in the rivers	4th IUBS Interna- tional Symposium on Biomonitoring of the State of the Environment	Tokyo	62.11
畠山成久・安野正之・ 宮下 衛・佐竹 潔・ 菅谷芳雄・福嶋 悟	河川の重金属汚染と底生動物相の関係について	日本陸水学会第53回 大会	松山	63.10

発 表 者	題	学会等名	開催都市名	年月
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(カーパメント系殺虫剤) の影響	第33回日本生態学会 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(カーパメント系殺虫剤) とフサカの影響	日本陸水学会第52回 大会	札幌	62.10
花里孝幸・安野正之	フサカの成長速度に対する温度の影響	第35回日本生態学会	仙台	63.4
花里孝幸・安野正之	屋外水槽における動物プランクトン群集に対 する異なったタイミングで投与した殺虫剤 の影響	日本陸水学会第53回 大会	松山	63.10
花里孝幸・安野正之	Daphnia 越冬個体群が春の動物プランクト ン群集構造に与える影響の解析	日本陸水学会第54回 大会	東京	1.10
福嶋 悟・畠山成久・ 安野正之・横山宣雄	重金属汚染河川 (山形県・間沢川) における 付着藻類の周年変化	日本陸水学会第50回 大会	大準	60.10
福嶋 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 関係について一藁類相への影響	日本陸水学会第51回大会	清水	61.10
M. Yasuno	Advances of biomonitoring in hydrobiology	Int Union Biol. Sci. 22nd. Gen. Assem.	Budapest (Hung.)	60.9
安野正之	非標的生物への農薬の影響	第18回農業科学シン ポジウム	富山	60.10
安野正之・花里孝幸・ 高村典子	野外における動物プランクトンの CO₂による 制御実験	日本陸水学会第50回 大会	大津	60.10
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	第33回日本生態学会 大会	京都	61.4
M. Yasuno	Indicators of heavy metal Pollution in rivers receiving mine effluent	Int. Symp. Work- shop Biol. Monit. State Environ.	Cairo (Egypt)	61.11
M. Yasuno, T. Hanazato, T. Iwakuma, K. Takamura, R. Ueno, N. Takamura	Effects of permethrin on an enclosure ecosystem in a pond	23rd Congr. Int. Assoc. Limnol.	Hamilton (N. Z.)	62.2

発 表 者	題目	学 会 等 名	開催都市名	年月
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	第34回日本生態学会	沖 縄	62.4
安野正之・花里孝幸・ 高村典子・宮下 衛	隔離水界による栄養段階間の相互作用の研 究	第35回日本生態学会	仙台	63. 4
渡辺 信・竹内裕一・ 髙村典子	付着珪藻 Achnanthes minutissima 重金属 耐性一銅イオンについて一	日本藻類学会第11回 大会	京都	62.3
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
M. M. Watanabe, Y. Takeuchi, N. Takamura	Copper resistance of the fresh water diatom, Achnanthes minutissima	IUBS Int. Symp. Biomonitoring of the State of the Environ.	Tokyo	62.11
M. M. Watanabe	Copper tolerance of a benthic diatom, Achnanthes minutissima	3rd Int. Phycol. Congr.	Mel- bourne	63.8

3 本特別研究にかかわる刊行物

国立公**書研究所研究報告** 第114号、(1988) 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 特別研究報告

発 表 者 —	題	ページ	
安野正之	研究の目的と成果の概要	1-10	
安野正之・花里孝幸・高村典子	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	11-23	
安野正之・花里孝幸・宮下 衛・ 高村典子	小型隔離水界による除草剤二種の生態影響の研究	25-38	
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	39-48	
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	49-57	
畠山成久	ワムシ (Brachionus urceolaris), ミジンコ (Moina macrocopa) 及びユスリカ (Polypedilum nublfer) の増殖に及ぼす水中及び 食物中の除草剤の影響	59-71	
岩熊敏夫・白石寛明・野原精一・ 高村健二	恋瀬川系における殺虫剤,除草剤及び殺菌剤の残留量	73-83	
岩熊敏夫・高村健二・野原精一	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	85-100	
高村健二・安野正之	 農薬散布水田のユスリカ羽化に影響する要因	101-109	
野原精一・土谷岳令・岩熊敏夫・ 白石寛明	河口域における農薬の動態とハスへの残留性	111-124	
狩谷貞二・大内絹子	 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	125-135	
宮下衛・江上信雄	標準試験生物としてのメダカ	137-145	
佐竹 潔・畠山成久・安野正之	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	147-158	
福嶋 悟・畠山成久・宮下 衛・ 佐竹 潔・安野正之	 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 	159-176	
畠山成久・菅谷芳雄・横山宣雄	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		
畠山成久・福嶋 悟・佐竹 潔	重金属汚染河川(梯川水系)における底生生物相の回復課程に関して	193-206	
菅谷芳雄・畠山成久・安野正之	銅鉱山廃水の流入する梯川のユスリカ群集		

発 表 者	題 目	ページ
菅谷芳雄・畠山成久・宮下 衛・ 安野正之	銅鉱山廃水の流入する南近畿 3 河川のユスリカ群集	213-222
高村典子・笠井文絵・渡辺 信	河川性付着藻類の重金属耐性の違いについて一光合成活性に及ぼす 銅、カドミウム、亜鉛の影響―	223-232
渡辺 信・竹内裕一・髙村典子	付着ケイ藻 Achnanthes minutissima の銅耐性機構について	233-243
鈴木和夫・畠山成久	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	245-256

「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 (1986)

発 表 者	題目	ページ
福嶋悟	重金属汚染河川に形成される付着藻類群落	1-15
渡辺 信・竹内裕一・高村典子	付着珪藻 Achnanthes mineutissima の重金属耐性	17-21
渡辺仁治・浅井一視・伯 章子	環境指標生物としての珪藻群集	23-32
安野正之	環境汚染指標昆虫としてのユスリカ	33-39
小林紀雄	環境指標昆虫としてのコカゲロウ	41-60
小田泰史	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	生物指標修生因子としての殺虫剤、除草剤	69-75
相崎守弘	環境指標としての微生物	77-81
佐藤正光	BOD 法の問題点	83-86
森田昌敏・岡本研作・植弘崇嗣・ 柴田康行・尾崎邦雄・酒井 浄	 二枚貝における環境汚染物質の蓄積 	87-90
畠山成久	 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	水生苔類における重金属の蓄積一水銀の蓄積一	101-106
日髙秀夫	環境汚染物質の魚類行動への影響	107-110
荒井真一	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	水生生物による簡易水質調査法について	119-122
安野正之	河川の水質を評価する生物指標の最近の動向	123-133

	昭和 63 年度	編集委員	会
委員長	後藤典弘	委 員	笹 野 泰 弘
副委員長	相 馬 光 之	n	相 崎 守 弘
"	三 浦 卓	"	小 林 隆 弘
委 員	海 野 英 明	"	太田庸起子
n	宇都宮 陽二朗	"	古 川 昭 雄
n	田村正行	"	大 政 謙 次
n	藤井敏博	事 務 局	古田早苗

REPORT OF SPECIAL RESEARCH FROM THE NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES, JAPAN

国立公害研究所特別研究報告 SR-4-'90

平成2年3月30日発行

編 集 国立公害研究所 編集委員会 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 ニッセイエブロ株式会社 〒 305 茨城県つくば市吾妻 3 -13-11

Published by the National Institute for Environmental Studies Onogawa 16-2, Tsukuba, Ibaraki 305 Japan March 1990