

現地型計測機器による付着藻類現存量測定と その有効性に関する考察

DISCUSSION ON QUANTIFICATION OF BIOMASS OF ATTACHED ALGAE
WITH SUBMERSIBLE FLUORESCENCE PROBE IN SITU CONDITION

田代 喬¹・檀上直也²・辻本哲郎³

Takashi TASHIRO, Naoya DANJO and Tetsuro TSUJIMOTO

¹正会員 博(工) 名古屋大学大学院助教 工学研究科社会基盤工学専攻
(〒464-8603 名古屋市千種区不老町)

²学生会員 名古屋大学大学院博士(前期)課程学生 工学研究科社会基盤工学専攻

³フェロー 工博 名古屋大学大学院教授 工学研究科社会基盤工学専攻

Attached algae feed consumers such as fish and benthic invertebrates, and hence play a role of primary production in streams and rivers. Therefore, quantification of attached algae would be useful for monitoring and management of the ecosystem. Standard method for the quantification conducted in vivo requires much time and cost (sample handling and transport to the laboratory and extraction into ethanol/acetone with spectrofluorometry, or examination under microscope) in conventional studies. Because these processes are sensitive and need specific experiences and skills, the simple method for the quantification of attached algal community is strongly demanded.

The present study introduces the submersible fluorescence probe "Bentho-Fluor" which can independently measure chlorophyll *a* of diatom, chlorophyta and cyanobacteria of attached algal community in situ condition. By comparing the measurements with fluorescence probe and the cell densities of dominant species in algal community, we could find availability of using the Bentho-Fluor in monitoring of river ecosystem.

Key Words : attached algae, community structure, submersible fluorescence probe, Chlorophyll *a*, Non-metric Multi-Dimensional Scaling

1. はじめに

付着藻類は河川における一次生産の主要な部分を担い、底生動物・魚類といった高次消費者に利用されるなど、河川生態系における食物連鎖、ひいては物質循環において重要な役割を果たしている¹⁾。付着藻類の増殖・減衰は、生育場の物理・化学環境ばかりか、水温、日照時間などの季節的な変化に大きく依存し、その背景には草原から森林に至る陸上植生の遷移に近似した群落組成の変化が存在することが知られている²⁾。そのため、付着藻類を追跡することは生態系をモニタリングする上で有用であり、その消長を記述することは生態系管理を行っていく上でも重要な課題となっている。

魚類や底生動物と同様に付着藻類においても、生物種に特有の生態があるため、物理・化学環境との関係を議論するには、優占種を意識した群集構造(群落組成)の理解がある程度必要であるはずだが、付着藻類の種の同定には高度な専門知識が必要であることもあって、多くの

工学者や理論生態学者はこれを単純化して扱っており、系統的に理解されてきたとは言い難い。すなわち、これまでに付着藻類の消長を題材とした数理的研究は少なくないが、単に現存量の推移を記述する³⁾か、糸状体を呈するか否かなどの形態的特性によって分類した生物群の種間(群間?)競争を扱う^{4) 5)}に留まっていた。

本研究はこうした現状を踏まえ、群落組成を考慮した付着藻類現存量の簡易計測の可能性を探索したものである。具体には、冬季の天竜川下流域において流下によって組成の変化する付着藻群落を題材として、新たに開発された現地型計測機器「ベントフロー」(bbe Moldaenke GmbH社製Bentho-Fluor)により即時計測された結果と従来の付着藻類の同定・計数による分析結果を合わせることで、新たに開発された現地型計測機器の有効性を検証する。ベントフローは、これまで植物プランクトンの計測に用いられてきた技術^{6) 7)}を付着藻に適用し、藍藻類、珪藻類、緑藻類のそれぞれに特有な色素波形に置き換えてクロロフィル量に換算し、各分類群の現存量を表示可能にした機器である。

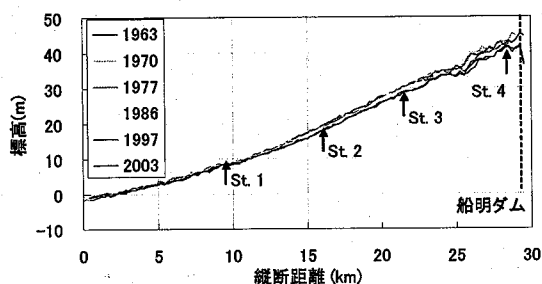


図-1 天竜川下流域における縦断面図 (平均河床高)

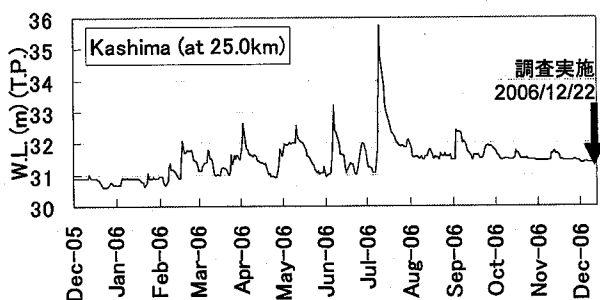


図-2 調査地点における過去1年間の位況図

2. 材料と方法

(1) 現地調査

調査対象とした天竜川は、佐久間ダムを象徴とする利水・発電のために大規模開発が行われてきた河川である。図-1に示す下流域の河床縦断面図からも分かるように、最下流に位置する船明ダム(河口から約29km地点)より下流の扇状地では、1970~80年代には河床低下傾向にあったが、近年は比較的安定している。現在、ほぼ一般的な河床勾配、河床材料を有し同一セグメントと考えられる本区間から感潮域を除き、流程に沿った早瀬(9.0km, 16.6km, 21.8km, 28.4km地点)を調査地点として選定した(図-1参照)。調査は2006年12月22日に行ったが、最近1年間の位況図(図-2参照)によれば、過去数ヶ月大きな出水が無く、安定した流況下を対象としている。

各地点では多項目水質計(YSI / Nanotech(株)製556MPS)により、水温、電気伝導度、溶存酸素濃度、pH、酸化還元電位を計測した。流芯付近において、5個の大礫(64~256mm)を試料として下流方向よりランダムに選定し、これを中心とする25cm×25cm枠内における表層の底質組成について、粒径クラス((1)巨礫:>256mm, (2)大礫:64~256mm, (3)中礫:16~64mm, (4)小礫:2~16mm, (5)砂・泥:<2mm)とその割合を目視

判読した。試料直上流では、水深、流速(60%水深、(株)ケネック製電磁流速計VE-10)を計測した。大礫試料はそのサイズ(長・中・短軸径)を計測後、それぞれの表面にコドラート(5cm×5cm)を設置しベントフローにより計測後、ブラシで採取したものを持ち帰って分取し、強熱減量、クロロフィル量、同定および細胞数計数の3種の付着藻群落の分析に供した。なお本報では、付着藻の分析結果のうち、種ごとの細胞数を用いてベントフローによる群落組成の再現性について論じる。

(2) 解析方法

付着藻群落の構成に関わる影響要因を考察するため、各調査地点の物理環境と群落組成の比較を行った。

物理環境については調査時の計測因子(水深、流速、底質、礫径および形状)の比較により行い、地点間の計測因子の差について検定した。多群データを比較する統計手法に基づき、因子ごとの正規性、地点間の等分散性が確認された場合には一元配置分散分析を、それ以外についてはクラスカル・ウォリス検定を実施し、有意な差が検出された場合には多重比較検定を行った。

群落組成については、ベントフローにより計測された緑藻、藍藻、珪藻ごとのクロロフィル量($N=5$)を対象として物理環境の検定と同様に行った。種ごとの細胞数密度の分析結果($N=3$)については、細胞数密度を変数変換(変数の4乗根)の上、similarity indexに基づく多次元尺度構成法NMDS(Non-metric Multi-Dimensional Scaling, Primer Ver.6.1.6[®])による)を実施した。本手法により、地点間の群落組成の類似度が比較可能となる。

3. 結果と考察

調査時点における各地点間の水質はほぼ同様で、水温9.7~10.2℃、電気伝導度0.14 mS/cm、溶存酸素濃度11.6~12.3 mg/l、pH 7.7~8.1、酸化還元電位40.7~60.0mVであった。表-1には、各調査地点において計測した物理環境因子を示す。ここで、底質レベル(1~5)は前述の粒径クラスとその割合に基づいた重み付き平均値であり、数値が大きいほど相対的に小さな材料に占められることを表す。水深、流速、底質レベルでは地点間に有意差が検出されたため、多重比較検定(Tukey-Kramer test)を実施したところ、表中の添字を記した2地点間での有意な差が検出された。これより、調査地点の物理環境は最

表-1 各調査地点における物理環境因子($N=5$)の計測結果(平均±標準偏差で表記)
(ただし、英大文字: $P<0.01$, 英小文字: $P<0.05$, Tukey-Kramer testによる)

	水深 (cm)	流速 (cm/s)	底質レベル	礫平均径 (cm)	礫形状係数
St. 1	40.4±2.1 ^{ABC}	121.6±4.7 ^{DEF}	3.2±0.3 ^{bcH}	8.9±0.6	0.5±0.1
St. 2	28.2±2.0 ^A	87.1±10.4 ^{DaG}	2.7±0.2 ^{bd}	10.0±1.4	0.5±0.1
St. 3	27.2±3.7 ^B	71.5±9.6 ^{Ea}	2.7±0.1 ^c	10.6±1.5	0.4±0.1
St. 4	30.4±5.5 ^C	64.3±7.6 ^{FG}	2.3±0.3 ^{Hd}	10.4±1.3	0.6±0.2

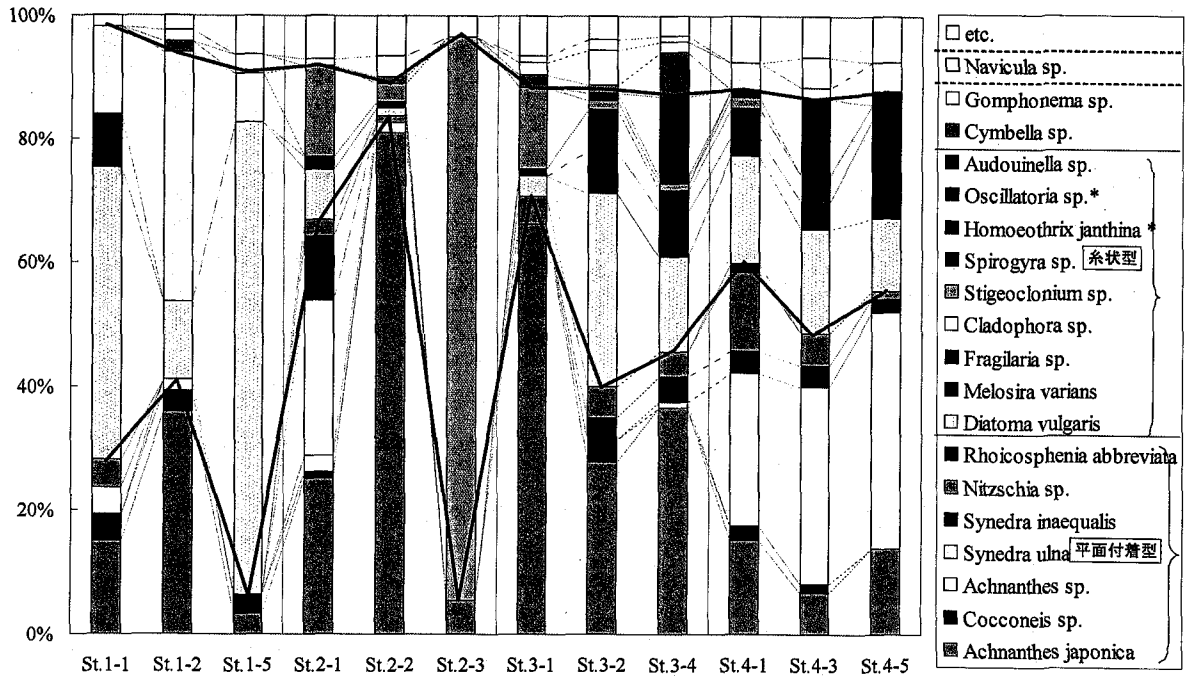


図-3 各調査地点で確認された付着藻群落中の優占種の割合 (細胞数/mm²により作成)

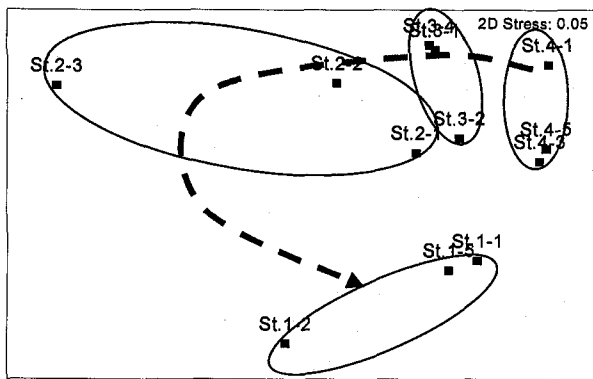


図-4 NMDSによる付着藻群落の組成解析 (N=3. 破線矢印は流下方向に沿った変化)

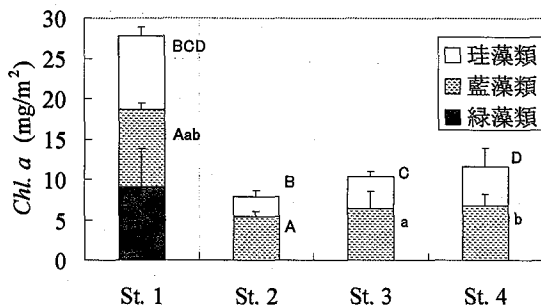


図-5 ベントフローによるクロロフィルa量 (N=5) (英大文字: P<0.01, 英小文字: P<0.05, Tukey-Kramer test)

下流のSt. 1で水深, 流速, 底質が大きく, それ以外の地点ではSt. 2で流速がやや大きい, 藻類を計測した礫試料はほぼ同様のサイズ, 形状であることが確認された。

図-3には, 細胞数 (cells/mm²) から見た各地点における主要な出現種の占有率をまとめた。全調査地点を通じ, *Diatoma vulgaris*, *Achnanthes japonica*, *Stigeoclonium* sp.,

*Synedra ulna*の珪藻4種, *Cladophora* sp.の緑藻1種の計5種によっておおよその群落が構成されていた。これらはごく一般に見られる種であって, *Diatoma vulgaris* は群体をつくり, *Stigeoclonium* sp.と*Cladophora* sp.については糸状体をつくるのが知られている⁹⁾。このような「生活型」の違いによる分類は, 付着様式の観察に関する既往の研究によって進展させられてきた¹⁰⁻¹²⁾。本研究では, 田中・渡辺¹³⁾および白鳥¹⁴⁾が提案する生活型類型を参考に, 基物に水平に付着する「平面付着型」, 垂直方向に伸びる「糸状・帯状型」に二分した (図-2中に記載)。なお, 本調査地では多くなかったが, この他にも基物表面を滑走して移動する「滑走型」, 多糖類の柄を分泌し付着する「柄付着型」, 文字通りの「浮遊型」などが存在する¹⁴⁾。調査区間 (St. 1-4) では, 前述したように, 直上流に船明ダム (29.0km地点) が位置するが, 物理環境・水質はほぼ同様で横断工作物も存在しない。付着藻群落においても出現種およびその細胞数に顕著な差は無く, 平面付着型の*Achnanthes japonica*はいずれの調査地点においても高い占有率で出現していた。ただし, 下流に向かうにつれて, St. 2で*Stigeoclonium* sp., St. 1では*Cladophora* sp. (カワシオグサ) が優占するなど糸状型藻類が卓越する傾向があるように思われた。こうした群落組成の変化を可視化するために, 確認種と各細胞数 (mm²) を変数とする群集解析 (NMDS) を実施したところ, 図-4のような結果を得た。図中の楕円は同一地点を表しており, 流下による変化は破線の矢印により表される。本結果により, 優占種の変化だけでは考察しえなかった付着藻群落の変化が明示されたものと思われる。

図-5には, ベントフローによって計測された各分類群におけるクロロフィルa量を示す。St. 1では, 唯一緑藻

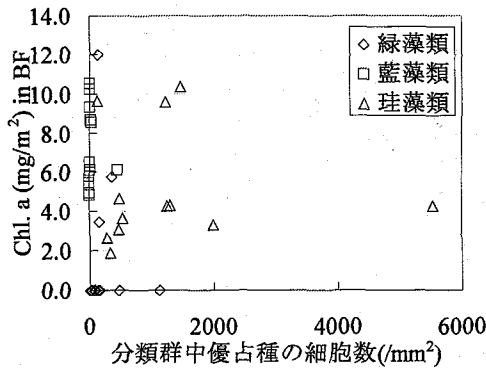


図-6 優占種の細胞数密度とベントフロー計測値の関係

類が検出され、珪藻類、藍藻類について計測値が大きく、他の調査地点とはやや異なる群落組成を有していた。図-3の出現種割合と合わせて考えるに、St. 1における緑藻類のクロロフィルa量が*Cladophora* sp.によって受け持たれていると想像される。その他、St. 1~4においては、特に珪藻類の計測値が異なる傾向が見受けられ、流下による群落組成の変化を示唆する結果が得られた。以上から、ベントフローによる計測は、付着藻の群落組成の変化を適切に記述できているかどうか判断できなかったが、相対的な差異の検出は可能であると考えられた。本機器の特性上、試料採取などによる攪乱を最小限に抑えながら短期間で大量のデータ取得が可能であることから、従来の分析と組み合わせれば、付着藻群落の簡易な定量化に貢献できるものと思われた。

最後に、ベントフローによる群落組成計測の妥当性を検証するため、各分類群の優占種の細胞数密度とそれに対応するクロロフィルa量を比較する(図-6参照)。緑藻類では*Cladophora* sp.以外に対しては反応しない一方で、藍藻類では非常に微小な細胞数にもかかわらず、過大評価されることが多かった。珪藻類では、優占種の細胞数密度と良好な相関関係を呈するが、種類による傾向が異なっていた。一般に、藻類は細胞ひとつあたりの大きさが種によって異なることを鑑みれば、詳細な群落組成の観測には不向きであるかも知れない。

4. おわりに

ベントフローを用いたクロロフィルa量の計測は、種ごとの細胞数組成と総体的には同様の傾向を示し、付着藻群落の組成変化の一面を記述できた。ただし、室内分析(クロロフィルa量や強熱減量)との相対関係は未検討のため、今後はこれらを含めて系統的に進めたい。河川性の付着藻群落に対する適用事例は少ないが、今後、事例の積み重ねにより、付着藻群落の現況に即した技術が発展すれば、実効性が高まるものと期待される。

本研究を進めるに当たり、国土交通省浜松河川国道事務所には河床高データを提供いただいた。(独) 土木研

究所自然共生研究センター 皆川朋子博士には付着藻群落を考察する上で有用な助言を戴いた。謝意を表す。

参考文献

- 1) Allan, J.D.: *Stream Ecology: Structure and Function of Running Waters*, Chapman and Hall, New York, USA, 388 p, 1995.
- 2) Stevenson R.J., Bothwell M.L. and Lowe R.L.: *Algal Ecology: Freshwater Benthic Ecosystems*, Academic Press. San Diego, USA, 753 p, 1996.
- 3) 田代喬・辻本哲郎: 低攪乱礫床における付着藻類剥離効果の評価とそれに基づく繁茂動態モデルの構築, 水工学論文集, 第48巻, pp.1537-1542, 2004.
- 4) Duong, H. S.・浅枝隆・田中規夫・谷本勝利: 種間の競争を考慮した付着性藻類群集の変動解析, 土木学会論文集, 第677巻, II-55号, pp.151-161, 2001.
- 5) 戸田祐嗣・赤松良久・池田駿介: 単細胞・群体型付着藻類と糸状型付着藻類の増殖競争モデルの開発, 河川技術論文集, Vol. 9, pp.481-486, 2003.
- 6) Beutler, M., Wiltshire, K.H., Meyer, B., Moldaenke, C., Lürling, C., Meyerhöfer, M., Hansen, U.P. and Dau, H.: A fluorometric method for the differentiation of algal populations *in vivo* and *in situ*, *Photosynthesis Research*, Vol.72, pp.39-53, 2002.
- 7) Gregor, J. and Maršálek, B.: Freshwater phytoplankton quantification by chlorophyll a: a comparative study of *in vitro*, *in vivo* and *in situ* method, *Water Research*, Vol.38, pp.517-522, 2004.
- 8) Clarke, K.R. and Gorley, R.N.: *PRIMER v6: User Manual/Tutorial*, Primer-E Ltd., Plymouth, UK, 190p, 2006.
- 9) 山岸高旺編著: 淡水藻類入門: 淡水藻類の形質・種類・観察と研究, 内田老鶴圃, 東京, 646p, 1999.
- 10) Hudon, C. and Bourget, E.: Initial colonization of artificial substrate; Community development and structure studied by scanning electron microscopy, *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, Vol.38, pp.1371-1384, 1981.
- 11) Hoagland, K.D., Roemer, S.C. and Rosowki, J.R.: Colonization and community structure of two periphyton assemblages, with emphasis on the diatoms (Bacillariophyceae), *American Journal of Botany*, Vol.69, pp.188-213, 1982.
- 12) Kusakabe, A.: Ecological study on epiphytic algae in Lake Biwa, *Lake Biwa Study Monographs* by Lake Biwa Research Institute, Vol.4, pp.1-61, 1988
- 13) 田中志穂子・渡辺仁治: 日本の清浄河川における代表的付着藻類群集*Homoeothrix janthina* - *Achnanthe japonica*群集の形成過程, 藻類, Vol.38, pp.167-177, 1990.
- 14) 白鳥実・上月康則・倉田健悟・長谷田真千・小藤美樹・村上仁士: 徳島県勝浦川におけるダム下流の珪藻群集の特徴とその形成過程, 環境工学研究論文集, 第40巻, pp.117-126, 2003.

(2007.4.5受付)