

# ダム貯水池による水質変化の類型化と下流生物への影響評価法に関する研究

研究予算：運営費交付金（一般勘定）

研究期間：平 19～平 21

担当チーム：河川生態チーム

研究担当者：三輪 準二、村岡 敬子、  
中西 哲、小林 草平

## 【要旨】

ダムの下流域では、ダム放流操作に起因して水温・SS などの水質が変化し、これによって魚類等の生物が影響を受けていると考えられる。本研究ではダム下流域の生物を効果的に保全していくために、全国のダムおよび下流域を対象に貯水池の形態、水文データ、ダム放流操作条件などと水質データを結びつけた分析を行い、水質の変化や影響範囲などについて系統化した整理を行った。また、濁りや水温の変化によって生物が受ける影響を定量的に評価する方法を開発した。

全国のダムについて流入水と放流水で水質を比較した結果、年間平均値では特に pH、全窒素濃度、全リン濃度、SS 濃度では変化が小さいダムがほとんどであった。月ごと値では、水温は 4-6 月に放流水で低くなるダム、10-12 月に高くなるダムが増え、4℃以上の違いが生じるダムもみられた。秋から冬は放流水で全窒素や全リンが高いダムが増え、春は放流水で全リンが低いダムが増える傾向がみられた。SS 濃度は冬から春は放流水で低いダムが増え、夏から秋は放流水で高いダムが増える傾向がみられた。流入水の無機態リン濃度と貯水湖内でのクロロフィル量には明瞭な正の関係があり、ダムで全窒素や全リンが変化する一因になっている可能性が示唆された。全国のダムの底生動物データを集計すると、ダム下流は上流に比べて全底生動物数に違いはないものの分類群数が少なかった。ダム下流では急流や礫間空隙を好む分類群（一般に上流に分布し冷水を好む傾向にある）が少ない一方、淀みや安定基質、砂泥を好む分類群（下流に分布する傾向にある）が多かった。

また、濁りの影響では、懸濁物質中の粒子がエラに付着する機構を実験的に明らかにし、エラの二次鰓弁の間隔により規定される特定幅の粒径を持つ懸濁物質の濃度を用いることにより、高濃度の濁りによる魚の斃死状況を定量的に把握できることを示した。また、RNA の発現量を用いることにより、低濃度の濁りや水温変化に対するアユの反応を客観的に評価できる手法を開発した。

キーワード：ダム貯水池、水生生物、水温、濁水、RNA

## 1. はじめに

ダムの下流域では、ダムの放流操作やダム湖での物質動態に起因して水温・SS などの水質が変化し、底生動物や魚類等の水生生物に影響を与えていると考えられる<sup>1)</sup>。ダム下流域の生態系の効果的な保全を考えていく上で、どのような水質項目がどの程度変わりうるかなど水質変化特性を把握してダムの影響評価をする必要がある。本研究では、全国のダムの流入と放水の水質データを収集・整理し、国内におけるダムによる水質変化の一般的な傾向を明らかにするとともに、河川食物網の一端を担う水生昆虫に対する水質の影響について検討を行った。

また、河川における濁りの発生は、そこに生息する魚類等に直接・間接的に影響を与え、その濃度が著しく高いときには、懸濁粒子による鰓の閉塞が生

じ、死に至る影響を与える場合がある。しかしながら、高濃度の濁りにおける魚類の生存状態は、魚種やその成長段階だけでなく、懸濁物質の種類によっても異なるため、実験結果に一般性をもたせ、実河川において濁りの影響を予測することは困難であった。本研究では懸濁物質の粒度組成に着目し、濁りに暴露されたアユの鰓への付着物と濁りの粒度組成を元に鰓に付着しやすい粒度分布の目安を推定するとともに、懸濁物質が鰓に付着するシステムをモデル化した。また、これまで客観的な評価が困難であった低濃度の濁りや水温変化の影響について、RNA の発現量を利用し定量的に把握する手法を開発した。

## 2. ダムによる水質変化とダム下流の水生昆虫群集の特徴

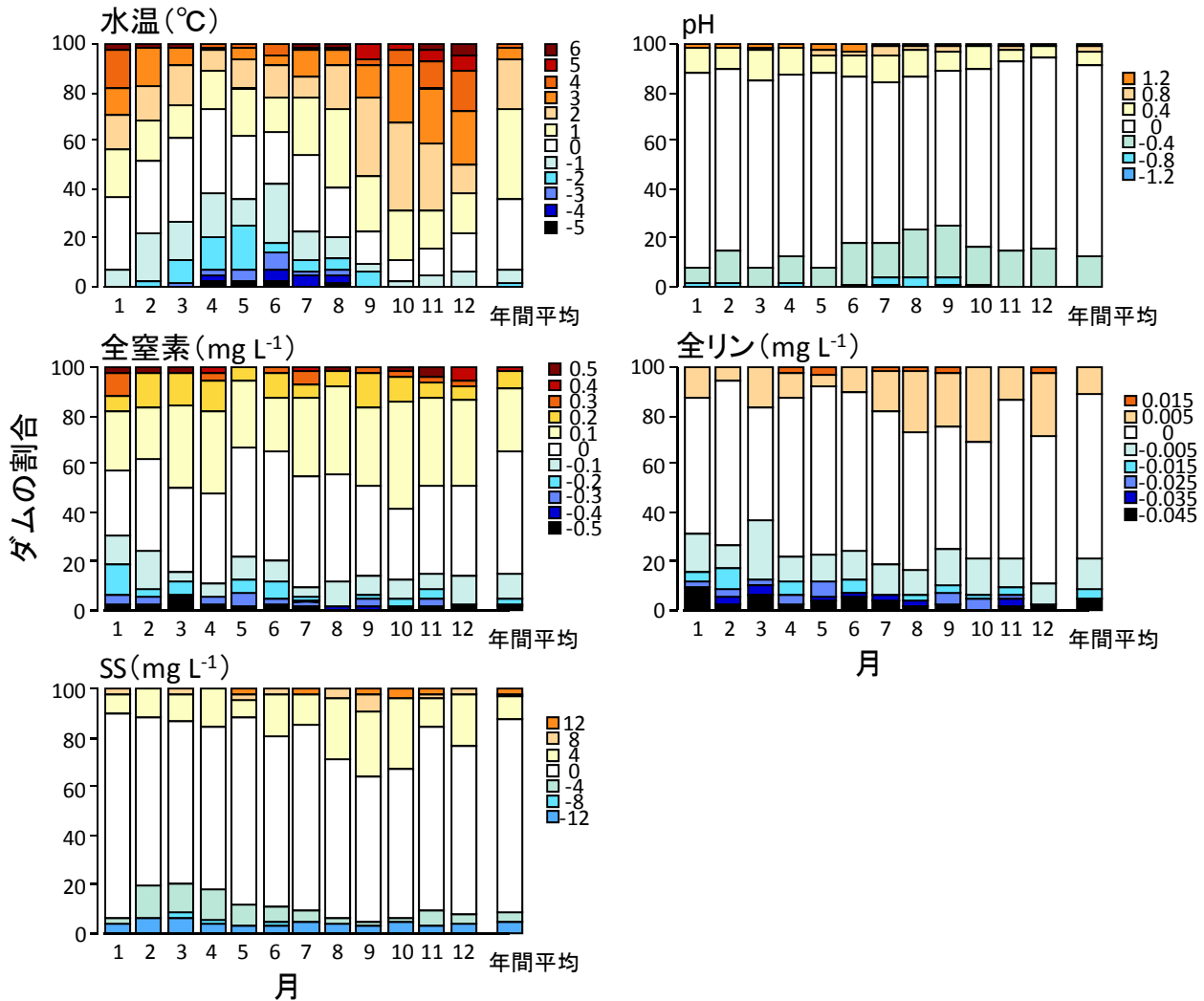


図 2-1 ダムの流入水と放流水による水温 (°C)、pH、全窒素濃度 (mg L<sup>-1</sup>)、全リン濃度 (mg L<sup>-1</sup>)、SS 濃度 (mg L<sup>-1</sup>) の違いの全国的な傾向 (各月と年間平均で水質にどの程度の違いがあるかを全ダムの百分率で示す)。

## 2. 1 調査方法

全国の国土交通省直轄や水資源開発機構管轄のダムについて、流入水と放流水の水温・水質データ (水温、pH、SS、全窒素、無機態窒素、全リン、無機態リン) を収集した。また、全国河川水辺の国勢調査 (ダム湖版) の 2・3 巡目の調査 (平成 8 年から平成 17 年) において、ダムの流入河川とダム下流について底生動物定量 (コドラート) 調査が行われているダムについて、水生昆虫の出現種や個体数のデータを収集した。

## 2. 2 結果と考察

### 2. 2. 1 ダム流入水と放流水の違い

流入水と放流水の両方の水質を観測しデータが収集できたのは全国で合計 97 ダム (北海道 12、東北 14、関東 15、北陸 5、中部 10、関西 10、中国 8、四国 8、九州 8、沖縄 7) であった。全体で 1975 年か

ら 1999 年の各月の観測データがあったが、ダムごとに各観測項目において調査年や月によるデータの欠如が相当あり、流入水と放流水の両方の水質データが揃っている年月が限られているダムが少なくなかった。同月で流入水と放流水の水質が比較可能なデータのみ用いて、流入水と放流水の水質の全国的な傾向があるかを調べた。

水温は年間平均では、流入水より放流水でほとんど違いがないか放流水で 1、2°C 程度高いダムが 90% 以上を占めたが、季節によって流入水と放流水の違いの度合いや方向は変化していた (図 2-1)。すなわち、晩冬から初夏にかけて、特に 4、5、6 月において、放流水で水温が低くなるダムが 40% 近くみられ、なかには 4°C 以上低いダムもいくつかみられた一方、秋から冬にかけて、特に 9、10、11、12 月において、放流水で高くなるダムが 80% 近くみられ、4°C 以上

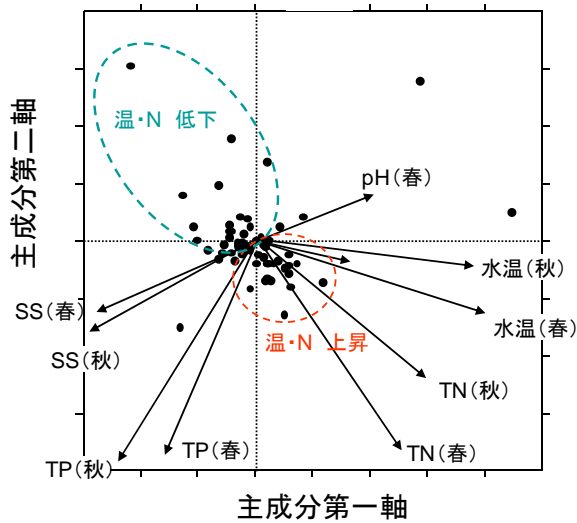


図 2-2 ダムによる水質変化の主成分分析。

高いダムも 10-20%みられた。一般には、春から秋にかけて、貯水池表層では流入水より水温が上がり、深層において流入水より下がると考えられている<sup>1)</sup>。本結果はこの傾向とは少しずれた温度変化であった。各ダムにおいて流入水と放流水の季節変化を比較すると、放流水は流入水に対して、冬季の水温の低下や夏季の水温の上昇が 1 ヶ月前後遅れて進む形を示すダムがみられた。一年を通じて流入水に対して放流水の方が暖かいダムもいくつか見られた。

流入水と放流水による pH の違いは小さく、季節を通して ±0.2 以下のダムが 60-80%を占めた (図 2-1)。pH が 0.2-0.6 下がるダムは、晩夏から初冬にかけて増加し全体の 10-20%になった。ダム湖で植物プランクトンによる一次生産が卓越するとダム表面水で pH が以上に高まることもありえるが、むしろやや下がるダムの方が多かったのは、ある程度の深さの水が放流されているためかもしれない。また、酸性である流入水がダムで中和されて放流水の pH が 1-2 高まるダムもみられた。

全窒素濃度は、年間平均では流入水と放流水で変化が  $0.1\text{mgL}^{-1}$  以下のダムが 90%近くを占めた。ただし、中には季節を通して放流水で  $0.5-1\text{mgL}^{-1}$  程度下がるダムや  $0.3-0.6\text{mgL}^{-1}$  程度上がるダムがみられた。また、月ごとに見ると多くの月で、40-50%のダムが放流水で  $0.1\text{mgL}^{-1}$  以上増加していた。全リン濃度は、年間平均では流入水と放流水で変化が  $0.005\text{mgL}^{-1}$  以下のダムが 90%以上であった。中には年間を通して  $0.02-0.1\text{mgL}^{-1}$  下がるダムもみられた。月ごとにみると 1-5 月には全リン濃度が下がるダムの割合が増え、

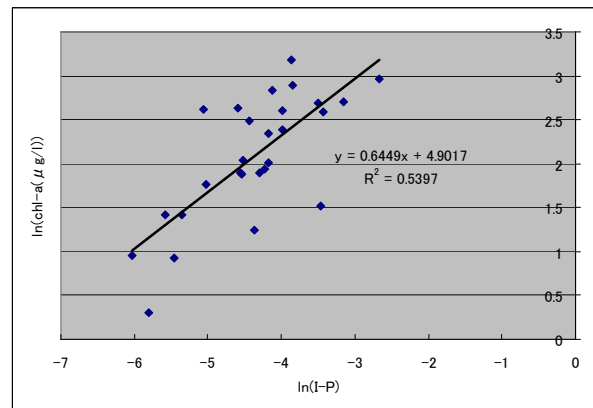
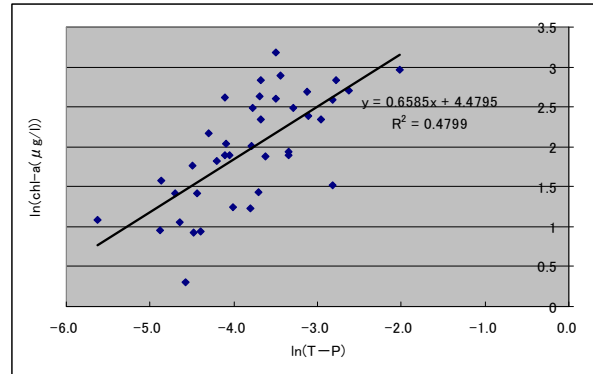


図 2-3 全リン (上図) または無機態リン (下図) と貯水池クロロフィル a 量の関係

$0.02\text{mgL}^{-1}$  以上下がるダムが 10%近くみられた。ダムにおいては、流入水の懸濁性有機物の沈降、底質からの栄養塩類の溶出、貯水池におけるプランクトン生産による栄養塩の吸収、懸濁態有機物の増加など、水質を変化させる様々なプロセスが考えられる<sup>1)</sup>。ダムによるこれらの増減の傾向はダムごとにより詳しく見ていく必要がある。

SS 濃度は、年間平均では流入水と放流水で変化が  $2\text{mgL}^{-1}$  以下のダムが 80%以上を占めた。月ごとにみると、2-4 月は放流水で濃度が下がるダムの割合が増え、8-10 月は放流水で濃度が上がるダムの割合が増えた。夏から秋にかけての放流水での濃度の上昇は、出水によって濁水がダムに流れ込み、濁りが長期に渡って維持される現象<sup>1)</sup>を示しているかもしれない。

水質項目ごとに変化の大きいダムは異なる傾向にあり、水質項目間で変化の大きさや方向性に明瞭な関係は見られなかった。各水質項目の春 (4 月、5 月、6 月) と秋 (10 月、11 月、12 月) の変化量を要因とする主成分分析を行ったところ、第一主成分と第二主成分で全体の 53%のばらつきが説明されるにとどまった (図 2-2)。第一主成分と相関が高いのは

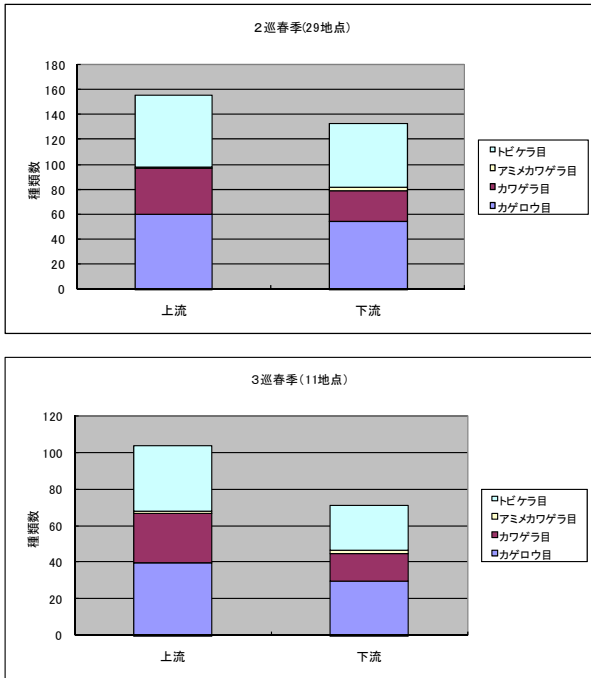


図2-4 ダム上流と下流における出現分類群数(上:2巡目春、下:3巡目春の例)

水温(相関係数0.76-0.81)で第二主成分と相関が高いのは全窒素(0.49-0.75)と全リン(0.76-0.77)であった。ダムは大まかに、ダムにより水温と全窒素が低下または水温と全窒素が上昇する方向に分かれた(図2-2)。これらのことを踏まえ、各水質項目において変化の度合いの大きいダムとダム緒元の関係について理解を深めるため今後さらに検討を進めていく。

### 2. 2. 2 ダム流入水とダム湖におけるプランクトン生産

先述のように、ダムによる水質変化の1プロセスとしてダム湖におけるプランクトン生産が考えられる。一般に、栄養塩濃度が高いほど、また水の滞留時間が長いほど、ダム貯水池では植物プランクトンの異常発生が起りやすい<sup>2)</sup>。異常発生まで行かずとも流入水の栄養塩濃度が貯水池のプランクトン生産に影響している可能性があるため、全国的な傾向があるか検討した。ダム湖表層のクロロフィルa量(プランクトン生産の指標)の観測データのある37ダムについて、流入水水質とクロロフィルa量の関係をみたところ、クロロフィルa量は、流入水の全窒素、全リン、無機態窒素、無機態リンのいずれとも正の相関が見られ、その関係性は窒素よりもリン、全物質より無機態において強かった(図2-3)。このことは、全国のダムの傾向として、ダムの流入水に含まれる無機態の栄養塩がプランクトン生産の制限

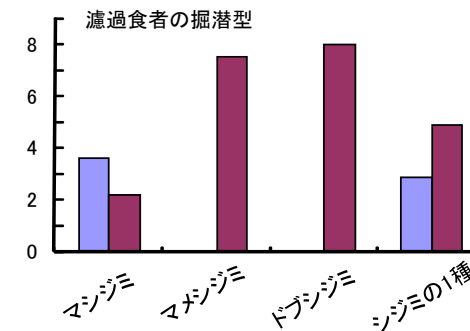
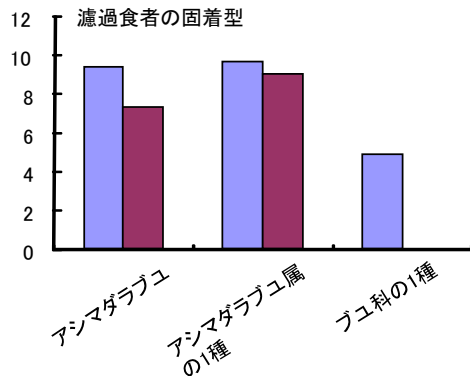
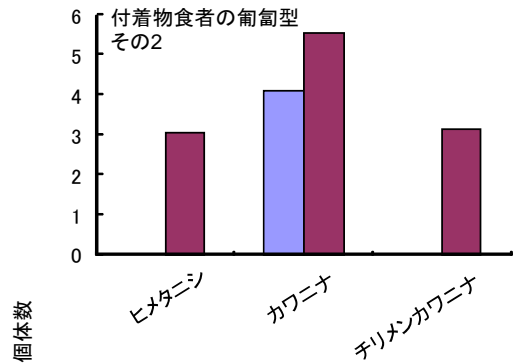
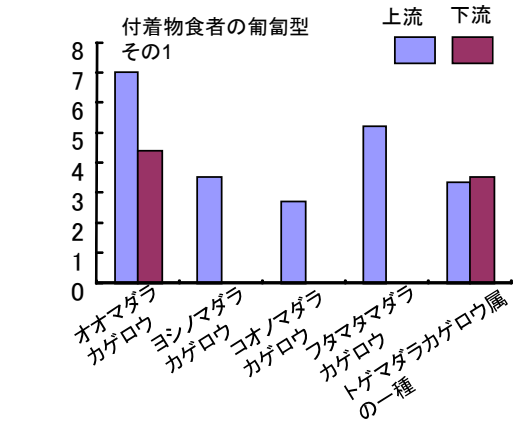


図2-5 生活型ごとにみたダム上流と下流による個体数の違いの例。

要素の1つとなっていることを示唆するものである。

### 2. 2. 3 ダム下流の水生昆虫群集の特徴

河川水辺の国勢調査(ダム湖版)から57ダムについて底生動物定量調査データ(2と3巡目)を収集

		分かれたダム番号																
		0																
		1																
		第1区分 25.39.49.57.63																
		第2区分 9.31.35.47.51.53.55.59.71.7																
		第3区分																
		第4区分 45.81																
		第5区分																
		第6区分 23.27																
		区分なし 41.43.75.79																
地点数	ダム上	1	2	2	1	4	3	1	2	1	0	1	2	3	0	0	0	0
	ダム下	0	1	0	0	0	1	0	1	2	1	4	2	0	2	1	3	4
種2				1														
種3			4	1				2										
種4					9													
種5				1														
種6		4																
種7				3														
種8					6													
種9						2												
種92			1		3		2		5		2							
種93						1	5	3	5		4					6		
種94							5		4		1							
種95						3					5				6	5		
種96					3													
種97							5			4	3							
種98		5				4				6	6							
種99							1											
種232																	3	
種233							2	3										
種234										5					6		6	
種235										4	3				5		3	
種236													2	1			4	
種237																	3	
種238																	3	
種239									2		5						5	

図 2-6 TWINSpan によるダム上流と下流で底生動物群集が大きく異なるダムの特定（早く区分されるほど違いが大きいことを示す）。

した。基本的には各ダムにおいて春、夏、秋において調査がされているが、同一時期のダム上流とダム下流のデータが収集できたのは 28 ダムのみで、さらにこれらの中でも全季節のデータが揃っているダムはわずかであった。ダム上流と下流の比較は同一時期のデータのみ用いた。

出現した分類群数について、対象とした全ダムの合計において、いずれの時期においても、ダム上流よりダム下流で少なかった（ダム下流はダム上流の 68-97%）（図 2-4）。水生昆虫の中では特に冷水を好む種類が多く含まれるカワゲラ目でこの傾向が強かった（52-80%）。一方、採取された個体数にはダム上流とダム下流の間に明瞭な違いはみられなかった。したがって、ダム下流で分類群数が少ないのは、採取された個体数が少なかったからではない。

摂食機能群（付着物食者、堆積物食者、濾過食者、捕食者等）に区分して生息数の比較を行ったが、ダム上流に比べてダム下流で明瞭に生息数が低い摂食機能群はみられなかった。しかし、各摂食機能群を構成する分類群や生活型が異なり、付着物食者ではダム上流ではアミカ科、ヒラタカゲロウ科、コカゲロウ科、マダラカゲロウ科など急流や河床の空隙を住処とする分類群が多いのに対して、ダム下流ではカワニナ科、ウスバガガンボ科、ヒラタドロムシ科など淀んだ環境や安定基質を好む分類群が多かった（図 2-5）。また、濾過食者や捕食者においても、ダ

ム上流ではブユ科、アミメカワゲラ科、カワゲラ科など急流や河床の空隙を住処に必要とする分類群が多いのに対して、ダム下流ではシジミ科、コオニヤンマ、オジロサナエ、カワニナなど砂泥に掘潜する分類群や淀んだ環境を好む分類群が多かった。このことから、底生動物の観点からは、ダム下流ではダム上流に比べて速い流れが少なく淀んだ環境が多く、河床には底生動物にとっての空隙が少ない一方で砂泥の堆積が多いことがまず考えられる。また、ヒラタカゲロウ、マダラカゲロウ、カワゲラなど急流を好む底生動物は冷水を好むものが多く、一方でシジミやカワニナなど淀んだ環境を好む底生動物はより下流で水温の高い場所に分布しているものが多いことから、ダムによる水温変化が影響している可能性も考えられる。加えて、ダム下流では一部の造網性トビケラ（濾過食者）が多いことから、ダムでのプランクトン生産によって水中の餌量が増加している可能性もある。

以上は全国のダムを通しての傾向であるが、ダムによって下流底生動物への影響の度合いや方向性は異なることが考えられる。本報で収集したデータではこれらを深く分析することはできないが、今後こうした分析が進展することを期待し、どのダムにおいて生物への影響が強く現れているか、またダム上下流の底生動物の違いと対応して変化しているダム水質の検討を最後に行った。

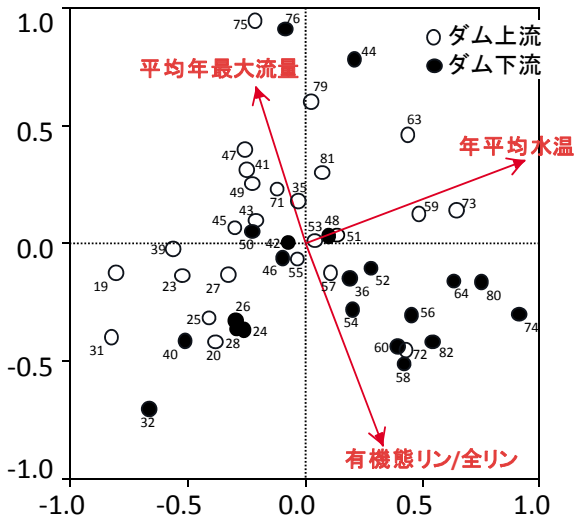


図 2-7 ダム上下流の底生動物群集の違いに対応する環境要因を検討する CCA 分析 (○は地点を表し、群集組成が異なる地点ほど距離が離れ、その群集の違いに関係している環境要因を→で表す)。

ダムの上流で底生動物群集が大きく異なるダムを特定するため、TWINSPAN による群集の区分を 23 ダムの上下流について行った。この分析においてダム上流と下流の類似性が低いダムほど、底生動物がダムの影響を強く受けていると考えた。その結果、底生動物への影響が特に強いダム (NO25、NO39、NO49、NO57、NO63) と弱いダム (NO43、NO79、NO75、NO41) がいくつか抽出された (図 2-6)。これらは底生動物群集の観点からみたものであり、今後これらのダムの環境要因の共通点と相違点を明らかにすることで、ダムが下流の底生動物に与える影響の要因を絞ることが可能である。

また、23 ダムの上下流の底生動物群集の変動に対して関係している環境要因について検討を行うため、流量の各変数、年平均水温、窒素とリンに関する各水質変数を説明変数とした底生動物群集の正準対応分析 (CCA) を行った。この分析は底生動物群集の変異のうち、環境要因で説明される部分だけを抽出することになる。したがって、地点による底生動物群集の変異の大きな部分が見逃される可能性はあるが、多数ある環境要因のなかから最も群集に関係する要因を見極めるのには適している。ダム上流と下流の群集 (図 2-7 における奇数番号と偶数番号) は CCA 第二軸に沿って (縦軸方向に) 分かれた。例えば、63 と 64 や、79 と 80 は同ダムの上下流であるが図の上と下にプロットが分かれている (75 と 76 のように例外的に近い場合もある)。この CCA 第二軸

に対応していた環境要因は、年最大流量 (MYMX) と有機物リン・全リン比 (OP/TP) であった。これらの要因が 23 ダムを通して全般的に上下流で異なり、他の要因はそうではなかったことを示している。したがって、これらの環境要因を今後特に注目していく必要がある。また、群集はおおよそ CCA 第一軸に沿って地整別に分かれ (番号が小さいのが東北地整のダム、大きくなるほど南の地整に属する)、この変動に関連していたのは年平均水温であった。このことは、底生動物群集は緯度による変異もあり、緯度により変化している環境要因は年平均水温であったことを示している。同時に、ダム上下流の群集の違いは、緯度による群集の違いとは方向性が異なるが違いの程度は同等レベルであったことを示している。また、前項の解析からダム上下流による水温の違いが特に考えられたが、CCA 解析ではこれ以外の要因 (年最大流量など) が群集に強く影響している可能性も示している。

### 3. 高濃度の濁りによるアユの斃死に関する研究

#### 3. 1 実験方法

本研究では水の影響を受けやすいとされているアユを実験対象魚とし、7 種の懸濁物質を用いた暴露実験 (実験 I)、実験 I の結果を踏まえて選定した 3 種類の懸濁物質による暴露実験 (実験 II) を行い、曝露した濁水とエラに付着した懸濁物質の粒度組成を分析した。

実験装置は、図 3-1 に示す塩ビ製の不透明水槽と底部に固定された 3 台の小型水中ポンプで構成され、実験水中の懸濁物質が水中ポンプから吐出される流れにより攪拌される構造となっている。

実験 I に供したアユは、鬼怒川系の養殖アユで、全長  $194.8 \pm 11.8 \text{ mm}$  (平均±標準偏差、以下同様)、体重  $64.0 \pm 12.8 \text{ g}$ 、 $n=89$  であった。実験 II に供したアユは、飼育段階において濁りを経験していない那

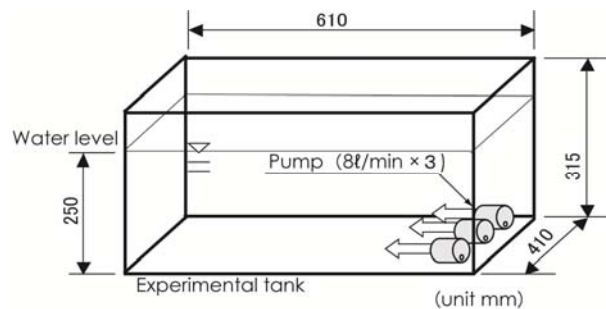


図 3-1 曝露実験水槽

珂川産のアユで、全長は  $139.6 \pm 12.1\text{mm}$ 、体重は  $23.64 \pm 6.15\text{g}$ 、 $n=217$  であった。実験 I では産地の異なる 6 種の陶土(懸濁物質 A,B,C,F,G,H)、1 種類の陶石(懸濁物質 E) およびケイソウ土(Diato)を暴露実験の懸濁物質として使用した。これら懸濁物質の選定にあたっては、予備実験を行い、投入により実験水の pH が著しく変化しないこと、本実験の範囲で生存状況を左右させるような懸濁物質からの有害物質の溶出が無いことをあらかじめ確認している。実験 II では、実験 I の結果から、生存時間の短い懸濁物質 A、生存時間の長い懸濁物質 G、さらに懸濁物質 A の上澄みである懸濁物質 A' の 3 種を用いた。

実験水槽には各 10 尾のアユを投入し、暴露中は、目視および定期的に水槽内に手を入れて、死亡個体の有無を確認した。死亡個体は、速やかに水槽から取り出し、死亡時刻を記録すると共に、実験室内にてエラ蓋を取り除き鰓弁表面の写真撮影を行った。さらに、実験 II では写真撮影後、エラの摘出を行った。摘出したエラは実験室に持ち帰り、5%KOH および 34.5% $\text{H}_2\text{O}_2$  による溶解処理を行いエラ全体への付着物を抽出した。

実験終了後、実験水槽の中層部の濁水を採水し、実際の SS を求めた。粒度分布の分析は実験 I、II 共に、島津 SALD-3000 および JISA1204 土の粒度試験方法(Test method for particle size distribution of soils) によった。

懸濁物質によりアユが受ける影響を初期状況を比較するために、実験 I では、水槽内の個体(10 尾)の  $\underline{N}\%$  ( $\underline{N}/10$  尾) が死亡した時間を  $\underline{N}\%$  生存時間とし、これを用いた。

### 3. 2 結果と考察

高濃度の濁水に曝されたアユの暴露時間と生存率の関係は、シグモイド曲線(sigmoid curve)を描き、

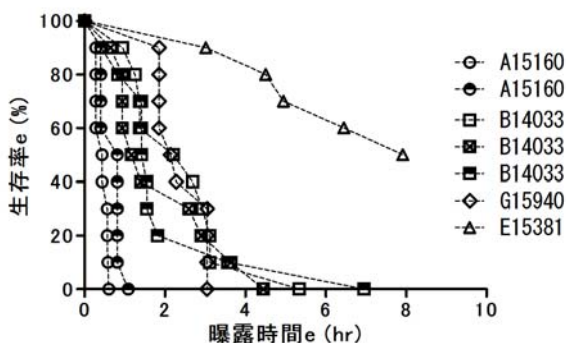


図 3-2 曝露経過時間と生存率の関係 (実験 I)

凡例の頭文字は懸濁物質、数字は濃度 (mg/L) を示す

同じ懸濁物質の場合 SS が高いほど、同じ生存率を示す時間は短くなる。また、同程度の SS であっても懸濁物質の違いによって、生存率-曝露時間の関係は一致しない(図 3-2、実験 I)。実験 I における 90% 生存時間と SS (実測値) の関係を図 3-3 に示す。ケイソウ土を除く懸濁物質では、同じ懸濁物質の生存時間と SS の関係は負の関係があるとともに、生存状況のばらつきは SS が小さいほど大きい。また、SS が高くなるにつれ 90% 生存時間の変化は小さくなり、懸濁物質にもよるが、SS:10,000-15000(mg/l) 付近でほとんど変化しなくなる限界があることが推定される。また、懸濁物質によって 90% 生存時間を与える SS も異なり、本実験の範囲では、懸濁物質の種類が  $A > B > G \geq E$  の順で影響が大きいことが推察された。

図 3-4 は実験 II 懸濁物質 G における、暴露時間とエラ付着物質量の関係を示す。生存個体ではエラ付着物の総量はほぼ一定であるのに対し、死亡個体では死亡までの経過時間(暴露された時間)が長いほど付着物の量が多くなる傾向を示した。懸濁物質 A においても同様の傾向が見られ、各々の生存および

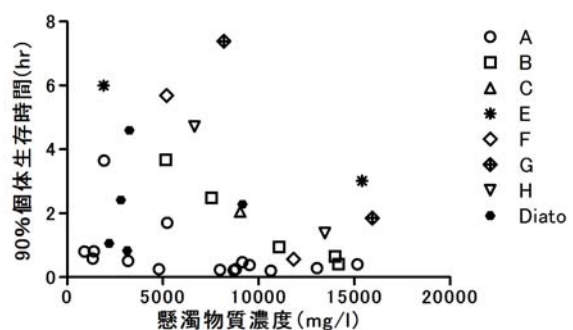


図 3-3 90%生存率と SS、曝露時間 (実験 I)

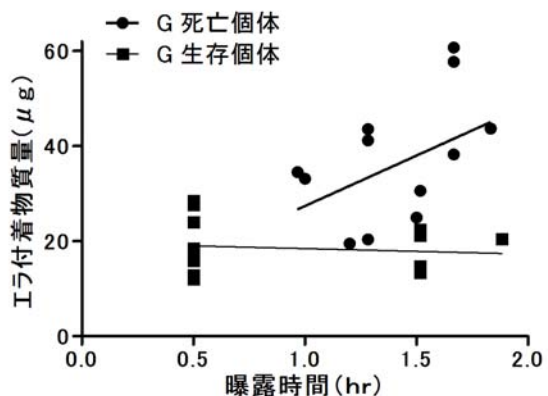
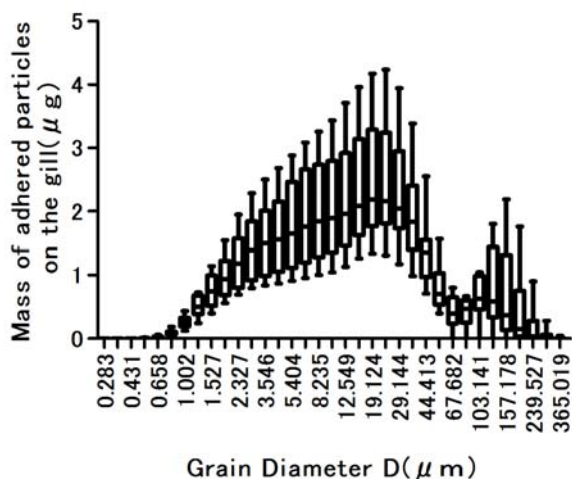
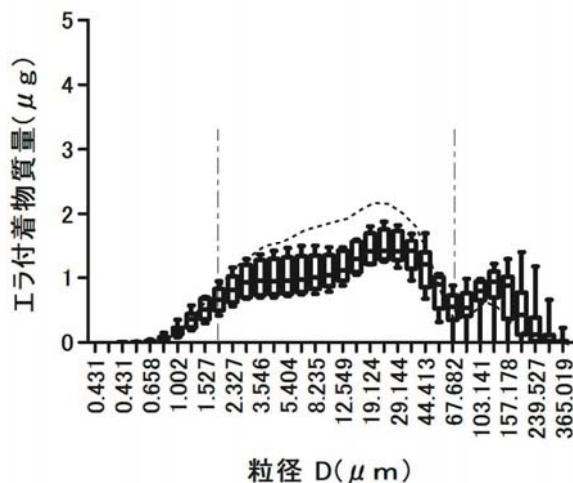


図 3-4 曝露経過時間とエラ付着物質量の関係 (実験 II・懸濁物質 G)



(a) 死亡個体



(b) 生存個体

図 3-5 粒径区分別エラ附着物量(実験Ⅱ、懸濁物質 G)

図(b)の破線は図(a)の中央値を、破線は粒径 1.885~67.682 μm の範囲を示す。

死亡データの線形回帰の勾配には有意な差が認められた(懸濁物質 A;  $t=0.047$ , G;  $t=0.048$ )。これらの結果より、高濃度の濁水に曝されたアユのエラへの懸濁物質の付着は、①一定量の懸濁物質が付着するものの、生存中はその状態を維持している段階(段階①)、②個体が死亡する前後の短時間に生じる懸濁物質の付着する段階(段階②)の、少なくとも2つの段階があると推定された。また、段階②では濁水に長時間曝されることで、エラに粒子が付着しやすい状況となることが考えられる。

懸濁物質の粒度組成の違いによるエラ附着物の粒度組成を比較するために、一定の粒径範囲毎に濁水中の含有率に対するエラ附着物中の含有率の比  $IPG(D_i)$  を式(1)により求め、粒子径別のエラへの付着のしやすさの指標とした。

$$IPG(D_i) = \frac{P_{Gill}(D_i)}{P_{Ss}(D_i)} - 1 \quad \dots(1)$$

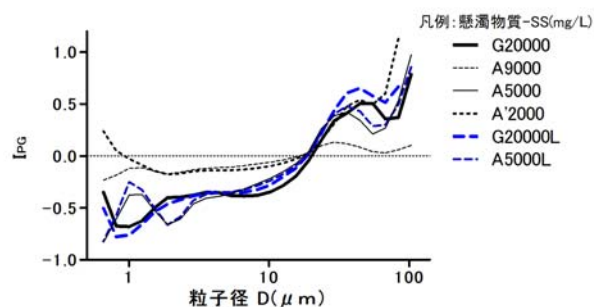
ここに、

$IPG(D_i)$ : 粒子径  $D_i$  から  $D(i-1)$  の粒径の懸濁物質のエラへの付着しやすさを表す指標。

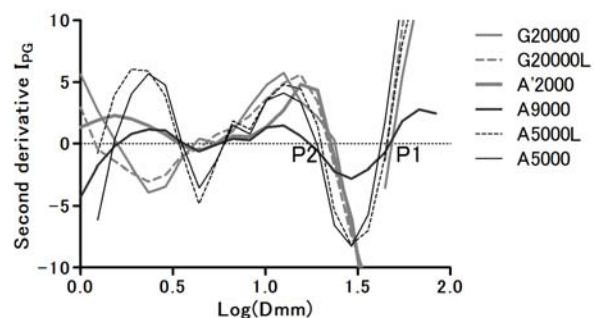
$P_{Gill}(D_i)$ : エラ附着物中の、粒子径  $D_i$  から  $D(i-1)$  の粒径を持つ物質がエラ附着物総量に占める割合(%)。

$P_{Ss}(D_i)$ : 懸濁物質中に含まれる粒子径  $D_i$  から  $D(i-1)$  の物質の割合(%)

懸濁物質 G における死亡個体、生存個体それぞれのエラ全体への附着物の粒径区分別質量のばらつきを図 3-5 に表す (a:死亡個体、b:生存個体)。幅広い粒径の範囲で双方のエラに相当量の懸濁物質の付着



(a) 粒子径~ $I_{PG}$



粒子径の対数値~ $I_{PG}$ の二次導関数

図 3-6  $I_{PG}$ の粒径区分別比較(実験Ⅱ)

凡例の頭文字は懸濁物質、数字は SS (mg/L)、末尾の L は生存個体のエラ附着物の値であることを示す。縦軸は  $I_{PG}$  の二次導関数値、横軸は粒径の対数値を示し、P1~P2 の範囲の粒子がエラに付着しやすい。

が確認できる。双方の中央値を比較すると、67 μm 以上の粒子の付着量は、生存個体・死亡個体でほぼ同程度であるのに対し、2.32-67.682 μm の粒子は、生存個体の付着量は死亡個体付着量の 2/3 以下となった。



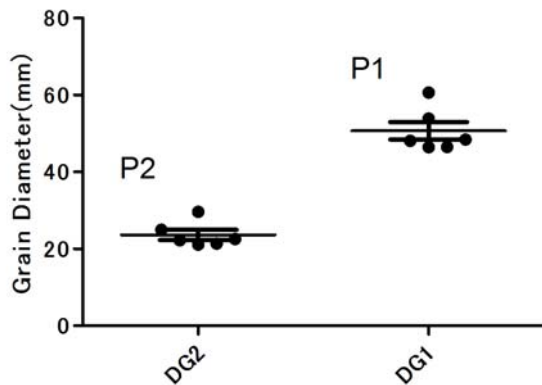


図 3-7 エラに付着しやすい粒子径幅

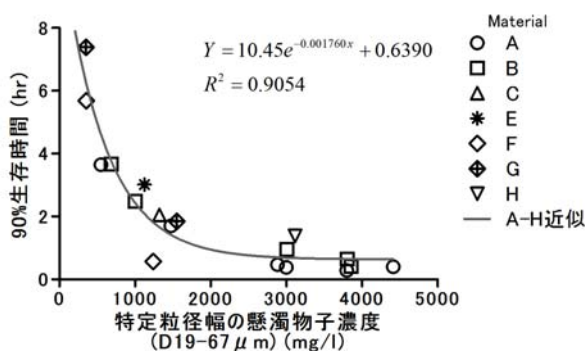


図 3-8 特定幅を持つ粒子の濃度と生存時間の関係

同ケースの  $I_{PG}$  を比較すると、死亡個体、生存個体共にその中央値は  $D=12-19 \mu m$  を境に粒径が大きくなるほど  $I_{PG}$  が大きくなり、生存・死亡に関係なくこれより大きな粒子が濁水中の含有率と比較して、エラ上に存在割合が高い結果となった。

実験条件別に  $I_{PG}$  の中央値を求め、粒径  $D$  の対数値の二次導関数を求めた (図 3-6)。図中で二次導関数の値が 0 を示す値のうち、 $P_1$ 、 $P_2$  の 2 点はケースによらず概ね一致している。この両点の間は、 $I_{PG}$  が急激に大きくなる範囲、すなわち生存状況によらず、エラに付着しやすい粒径の範囲を示すもので、粒径に換算すると、 $P_1$  の粒子径  $D_{G1}=50.69 \pm 5.59 \mu m$ 、 $P_2$  の粒子径  $D_{G2}=23.65 \pm 3.245 \mu m$ 、最大幅で  $21-61 \mu m$  となった (図 3-7)。

懸濁物質で懸濁物質濃度と生存状況の関係が懸濁物質の種類によって異なるのは、懸濁物質中に含まれるこの領域の粒子の量に起因すると考え、この領域の粒子の含有率で生存状況を比較した (図 3-8)。ここに、懸濁物質濃度の補正值 (SS 補正值) として粒径  $19.124-67.682 \mu m$  の粒子の濃度を用いたのは、粒度分布の測定間隔にあわせてためである。SS の実

測値を用いた 90% 生存時間は懸濁物質によってバラツキが大きかったのに対し (図 3-3)、SS 補正值を用いた、実験 I、II の 90% 個体生存時間 (10% 個体死亡時間) との関係は懸濁物質によらず、高い精度で一致した ( $R^2=0.905$ )。高濃度の濁水は、河岸崩壊や災害時だけでなく、流水型ダムなどにおける洪水終期やダム排砂システムの運用時にも発生する可能性がある。高濃度の濁水の初期の影響を、エラに付着しやすい特定幅の粒径をもつ粒子の含有率を用いることにより、精度よく推定することにより、施設運用による影響を予測し、必要な対策をあらかじめ講じることが可能となる。

#### 4. 低レベルの環境変化の影響に関する調査

##### 4. 1 実験方法

本研究では、低レベルの環境変化の影響を調査するために、分子生物学的手法の応用を試みた。外部からの刺激に対する個体の影響を調べるために、コルチゾールや乳酸値が一般的に用いられる。これらのたんぱく質では、刺激に対する順応など時間的な変化や数分程度の刺激に対する反応を検出することが困難であった。近年、分子生物学の分野においては、幅広いストレスに対して HSP70 というたんぱく質が発現することが知られている。このたんぱく質もしくは、これを生成するために細胞内に発現する HSP70 由来の RNA を定量することにより、実験室レベルで生物のストレスを定量化する研究が進められており、既に医学分野などで実用化されつつある。本研究では、アユの脳内に発生する HSP70 由来の RNA を用いて、低レベルの刺激に対するアユの反応を検出する手法を開発した。

暴露実験は、図 4-1 に示す FRP 水槽 8 槽を用いた。各水槽には、事前に種苗生産時から暴露実験に供するまでの飼育環境下において濁水を経験していない

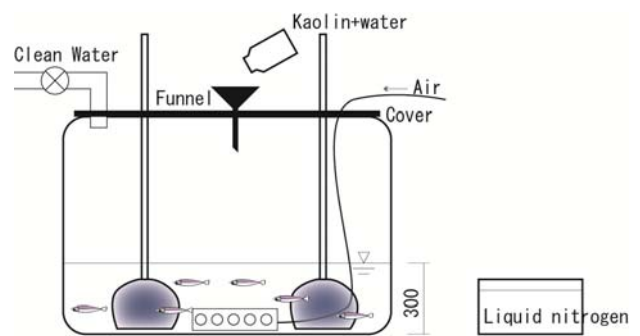


図 4-1 実験装置

アユ(栃木県那珂川の継代飼育アユ)100尾を移設し、馴養を行った。少量の水で溶かした所定量の懸濁物質(カオリン・コントロール区においては清水のみ)を蓋につけたじょうごから投入した後、所定の時間の経過後、水槽内にあらかじめ入れておいた網でアユを採捕し、直ちに液体窒素にて凍結した。採捕行動によるストレスを除外するため、アユの繰り返し採捕および次の暴露実験への転用は行わなかった。また、曝露時間は、予備検討により、コントロールのばらつきが小さくなる30分に設定した。

実験室内においてアユの脳を取り出し、RNA抽出キット(PROMEGA社製SV Total RNA Isolation System)を用いて脳内のRNAを抽出した。抽出したRNAを前処理下の地、リアルタイムPCR装置による定量解析をおこなった。定量解析にあたっては、細胞内において常に一定量発現するRNAであるGAPDHmRNAもあわせて定量し、これに対するHSP70mRNAの比“Stress reaction level”をもって、ストレス応答のレベルを評価した。定量反応に用いるためのプライマーは国立遺伝学研究所が運営するデータベース(DNA Data Bank of Japan)の配列情報を元に、GAPDH用プライマーは土木研究所で、HSP70用プライマーはTakara Bio Co.が受託設計した。実験値HSP70/GAPDH比の

解析に先立ち、Smirnov-Grubbs検定により、2.5%水準で外れ値を削除した。

#### 4.2 結果と考察

30分経過後のコントロールに対するストレス反応レベルを図4-2に示す。これらの値を比較すると、SSが5および20mg/Lにおいては、コントロールとの間に平均値に優位な差が得られなかった(片側t検定,  $P=0.0954, 0.2986$ )が、SSが100mg/Lのケースでは平均値の増加が優位に認められた( $P=0.0489$ )。また、いずれのSSにおいても分散には優位な差が認められた(F検定, SS=5, 20, 100の順に  $p=0.0002, 0.0057, 0.0004$ )。それぞれのケースにおけるデータの分布をみると、コントロールの範囲と同レベルの結果を示す個体がSS=20mg/Lのケースにおいても多く観察できており、20mg/Lの濁水に対しては、ストレス反応を起こす個体と起こさない個体が混在しているといえる。さらに、分散の比較においては、すべての解析を通して懸濁物質の有無による優位な差が得られたことから、本分析手法により5mg/L程度の低い濃度であっても、ストレス応答の有無を検出できると考えられる。

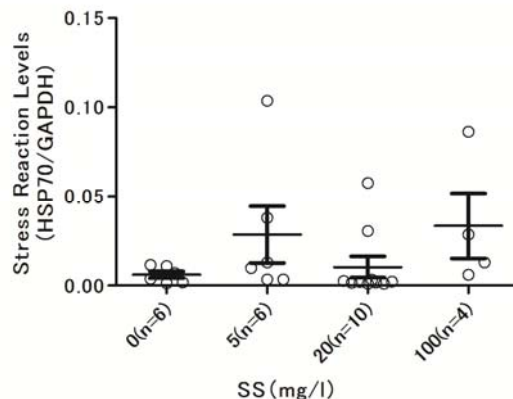


図4-2 SS濃度と30分経過後のストレス応答レベル

本手法により、ストレスに敏感といわれる鮎が、5mg/L程度の低い濃度の刺激に対して反応しているのか否かを客観的に評価することが可能となった。

ここで対象としたHSP70は水温変化に対しても反応することが他の水生生物でも確認されており、同様の手法を用いて水温変化や化学物質などさまざまな刺激に対する反応を調査できる可能性がある一方で、HSP70との関係が未解明な刺激や、複数のストレス応答反応が起こっている可能性がある場合には、本手法だけでは不十分な場合も考えられる。そこで、GAPDHを用いて全RNA発現量を比較する方法を試みた。図4-3は、水温上昇によるアユの脳内のストレス反応を全RNAの発現量と連動する値：変動指数(=RNA濃度/GAPDH濃度)を用いて表したものであるが、水温上昇前にくらべ、30分後の指数の平均値は優位に高い結果を得た(片側t検定,  $P=0.0377$ )。

今回開発した実験手法を用いることにより、低濃度の濁りだけでなく、水温の変化や水質の悪化など、

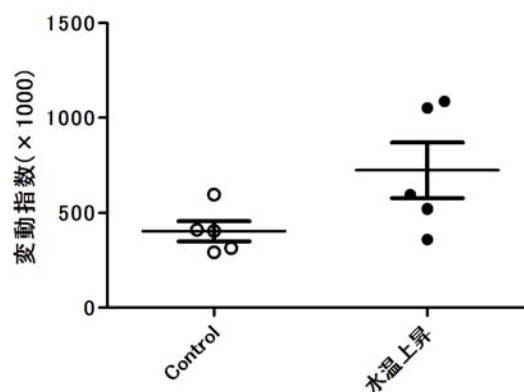


図4-3 水温上昇に対するストレス反応

30分かけて水温を18℃から25℃まで上昇させた場合の変動指数(GAPDHに対するRNA発現量)で表した。Controlは実験開始前。

さまざまな刺激に対する魚類の応答を定量的に把握が可能となり、異なるインパクト間の反応の違いの比較や、成長段階等異なる条件間の比較などにも応用できると考えられる。このような比較データの積み重ねにより、将来的には複雑な要因が絡み合っている実現場において、効果的な影響低減策を客観的に示すことが可能となると考えられる。

## 参考文献

- 1) 池淵周一(編著) : ダムと環境の科学 I ダム下流生態系、京都大学出版会、京都、2009
- 2) RA Vollenweider, : Concept of nutrient load as a basis for the external control of the eutrophication process in lakes and reservoirs. *Zeitschrift für Wasser- und Abwasser- Forschung* 12: 46-56, 1979
- 3) 馬場義彦・川那公士・半田岳志・岩田仲弘・難波憲二: 懸濁物質が魚類の生理・生態に及ぼす影響-スクメタイトに対するひらめの生存実験、*日本水産学会誌* 72(3)、pp408-413、2006.
- 4) C.P.Newcombe and D.D.MacDonald : Effects of Suspended Sediments on Aquatic Ecosystems: *North American Journal of Fisheries Management* 11:72-82, 1991
- 5) G.Merl : Some Environmental Aspects of Flushing: *International Workshop and Symposium on Reservoir Sedimentation Management*. pp195-202, 2000
- 6) 川那公士・半田岳志・馬場義彦・岩田仲弘・植松一眞・難波憲二 : 懸濁物質が魚類の生理・生態に及ぼす影響-ヒラメの呼吸に及ぼすスクメタイトの影響、*日本水産学会誌* 74(3)、375-379、2008
- 7) 木下篤彦・水山高久・藤田正治・澤田豊明・吉濱守 : ヒル谷における人為的排砂のイワナへのインパクト、*河川技術に関する論文集* 7、pp363-368. 2001
- 8) 木下篤彦・藤田正治・水山高久・澤田豊明 : イワナによる濁度の影響評価法、平成 14 年度砂防学会研究発表会概要集、pp236-237、2002
- 9) 村岡敬子・角哲也 : 高濃度の濁りがアユに与える影響について、*土木学会関東支部年次学術講演概要集*、pp1048-1049、1998
- 10) Muraoka Keiko and Ozawa takashi : Effects of Suspended Sediments on Japanese Fish、*International Symposium on Fishway and Toropical River Eco-hydraulics*、pp 225-262、2001
- 11) Randal G. Lake and Scott G. Hinch : Acute effects of suspended sediment angularity on juvenile coho salmon.

*Can. J. Fish Aquat. Sci.* 56, pp862-867, 1999

12) Staub.E : Effects of Sediment Flushing on Fish and Invertebrates in Swiss Alpine River: *International Workshop and Symposium on Reservoir Sedimentation Management*. pp 185-194, 2000

13) 水産庁 : 漁業公害調査報告書(ダム等河川工作物設置による漁業への影響調査)、pp.59-84、1986

