

## 第1節 自然科学的立場からのモニタリング

## 4. マクロ視点より—琵琶湖集水域—

## 4.4 水草の炭素安定同位体比による河川環境評価 —琵琶湖一周調査および琵琶湖一周委託調査から—

高津文人<sup>1)※1)</sup>、陀安一郎<sup>1)</sup>、由水千景<sup>1)※1)</sup>、井桁明丈<sup>2)</sup>、  
中野孝教<sup>2)</sup>、和田英太郎<sup>2)※2)</sup>、竹門康弘<sup>3)</sup>、永田俊<sup>1)</sup>

1) 京都大学生態学研究センター、2) 総合地球環境学研究所、3) 京都大学防災研究所水資源研究センター

※1) (現所属) 独立行政法人科学技術振興機構、※2) (現所属) 海洋研究開発機構地球環境フロンティア研究センター

## 1. はじめに

水草は種の同定が肉眼で可能であり、現場採集も容易であることから、陸水環境の評価の上でも重要な生物群の一つである。しかしながら、河川のような流水環境では、その出現種や出現場所が限られることから、その利用は限られたものであった。水草は付着藻類などに比べて寿命が長く、より長時間の積算された河川環境を反映するばかりでなく、同定が容易で付着藻類のように純粋な植物分画を集めるのが難しいということもない。そういう意味で、水草は河川の同位体組成の記録媒体として優れた特質を持っている。本研究では、集水域面積、集水域の土地利用様式や人口密度に関して大きく異なる22の琵琶湖流入河川で計12種類の水草を採集できたことから、それらを対象に、炭素安定同位体比の解析を行ない、その環境指標性についての考察を行った。水草の炭素安定同位体比( $\delta^{13}\text{C}$ )は炭酸固定基質である溶存無機炭素の $\delta^{13}\text{C}$ および炭酸固定する際の同位体分別の大きさによって決定される<sup>1, 2)</sup>。本研究では水草と溶存無機炭素(DIC)の $\delta^{13}\text{C}$ の差からみかけの同位体分別の大きさ( $\Delta\delta^{13}\text{C}$ )を見積もることで、 $\Delta\delta^{13}\text{C}$ と生息場所周辺の流速との関係を議論する。今回は、コカナダモやオオカナダモなど河川環境でも比較的容易に採集される水草を中心に解析を行い、河川のどういった環境評価に資するかについての検討を行った。

## 2. 採集と分析

採集、分析された沈水性の水草はコカナダモ(*Elodea nuttallii*)、オオカナダモ(*Egeria densa*)、エビモ(*Potamogeton crispus*)、ホザキノフサモ(*Potamogeton crispus*)、ヤナギモ(*Potamogeton oxyphyllus*)、ミズハコベ(*Callitriches palustris*)、

ナガエミクリ(*Sparganium japonicum*)、セキシヨウモ(*Vallisneria asiatica*)、ササバモ(*Potamogeton malaianus*)の9種類、およびオオフサモ(*Myriophyllum aquaticum*)とオグラコウホネ(*Nuphar oguraense*)の水中葉の計11種類で、採集河川は人口集密地帯の湖南、湖東を流れる10河川と水田や森林が卓越した湖北、湖西の12河川の合計22河川からである。採集は琵琶湖に流入する河口より数100mから1.5km程度上流の固定調査サイト周辺で行った(図1)。今回分析された水草は2003年の8、9月および2005年の2月と5月に採集されたものである。採集された水草は同定後、冷凍保存され、同位体分析の前に洗浄、乾燥、粉碎され、固体粉末の状態で、京都大学生態学研究センターの質量分析計(CF/IRMS; EA1108, Fisons Co., Italy; delta S, Finnigan Co., Germany)にセット、燃焼、ガス化後、質量分析計により $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ が分析された。分析精度は $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ ともに±0.2%以下であった。 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ の定義式に関しては4.2「富栄養化に伴う河川食物網構造の変化」を参照されたい。

DICの $\delta^{13}\text{C}$ はHeガスにより30mlのガラスバイアル瓶に3mlのHeadspaceをつくり、気相に拡散してきた炭酸ガスの $\delta^{13}\text{C}$ をGC/C/IRMSで分析することで、液相と気相が平衡状態にあると仮定した上で(平衡法)算出した。測定方法の詳細については宮島ら<sup>3)</sup>を参照のこと。測定精度は±0.2%以下であった。

流速は流心部に近い水深30cmで電磁流速計(AEM1-D, Alec electronics Co., Japan)による測定を行った。5秒平均を5回反復測定おこなった平均値をその河川の流速とした。



図1 調査は各河川の琵琶湖流入点の少し上流の白丸（全22箇所）で囲った場所でおこなった。琵琶湖集水域全体は灰色の点線で囲った地域である。琵琶湖集水域内の宅地の集中した地域は灰色の点で示した。

### 3. 結果と考察

水草の $\delta^{13}\text{C}$ は河川間および種間で有意に異なつた（表1）。同一河川内でも種内、種間変異により、5‰から15‰という大きな変動を示すことが明らかとなった。それに対し、DICの $\delta^{13}\text{C}$ は採集時期、河川間の違いは認められるものの、-13‰から-8.0‰と狭い範囲で安定していた（図2）。このことから、沈水性水草の $\delta^{13}\text{C}$ は炭酸固定基質であるDICの $\delta^{13}\text{C}$ によって決定されているのではなく（図3）、主として炭酸固定する際の同位体分別の大きさ ( $\Delta\delta^{13}\text{C}$ ;  $\delta^{13}\text{C}_{\text{水草}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ ) の違いによって大きく変動していることが明らかとなった。この同位体分別の大きさ  $\Delta\delta^{13}\text{C}$ （通常マイナスの値）が低下する要因としては、1) 水草体表面のboundary layerの厚さが減少する、2) 光条件や栄養状態が悪くなり水草の光合成活性が減少する、3) 炭酸固定基質が重炭酸から $\text{CO}_2(\text{aq})$ へと変化

表1 水草の炭素安定同位体比への影響因子（一元配置分散分析の結果）

	水草 $\delta^{13}\text{C}$ (‰)		
	自由度	F値	p
採集時期	2	50.96	< 0.0001
採集河川	21	17.13	< 0.0001
水草の種類	12	5.96	< 0.0001

する、4) 葉内でのDICの拡散抵抗が減少する、といった複数の要因が考えられる。中でも図3のように、 $\Delta\delta^{13}\text{C}$ が同種内でも河川間で15‰以上も変動したことから、要因4) のように種内で大きく変化しないような現象が主要因とは考えにくい。また、要因3) によって説明できるのは  $\text{CO}_2(\text{aq}) \leftrightarrow \text{HCO}_3^-$  の平衡時の重炭酸と $\text{CO}_2(\text{aq})$ の $\delta^{13}\text{C}$ の差すなわち、8.0‰ (at 25°C) までである。以上の理由から、要因1) と要因2) が水草の $\delta^{13}\text{C}$ の種内変異には大きく影響しているものと思われる。中でも、今回は要因1) の影響を抽出したいことから、要因2) の光や栄養状態といった環境は可能なかぎり揃えるようにした。そのため、藻類生産を通常律速している全溶存態リン濃度<sup>4)</sup>の著しく高い3河川（堺川、宇曽川、米川）を解析からはずした。光条件に関しては測定していないため、議論できないがどの河川の採集地点も開空度に著しい差は無い。以上の点を考慮して、水草の $\delta^{13}\text{C}$ を採集河川での流速に対してプロットしたのが、図4である。採集時に測定した流速の測定地点は各河川1ヶ所であったため、その場所から大きく外れたり、バックウォーターや障害物の影など測定流速と生息場所の流速が著しく異なると思われる試料に関する区別して示した。こうした試料を除外しない場合でも、流速と水草の $\delta^{13}\text{C}$ の間には  $r = -0.52$ ,  $p < 0.001$  の強い負の相関関係が見られる。流速データが生息場所の流速の参考になる試料に絞って、著しい富栄養化河川を除外した場合にはより強い負の相関 ( $r = -0.61$ ,  $p < 0.001$ ) が流速と水草の $\delta^{13}\text{C}$ の間に見られた。また、炭酸固定する際の同位体分別の大きさ ( $\Delta\delta^{13}\text{C}$ ;  $\delta^{13}\text{C}_{\text{水草}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ ) と流速との関係をみても同様に強い負の相関関係が見られた（図4）。以上のことから、流速の速い河川に生息する水草の $\delta^{13}\text{C}$ は低くなるという事実が明らかになってきた。これまででも、湖のような止水域の水生植物は流水の水生成物より $\delta^{13}\text{C}$ が高くなる現象は知られていた<sup>5)</sup>。また、実験的に流速をコントロールし

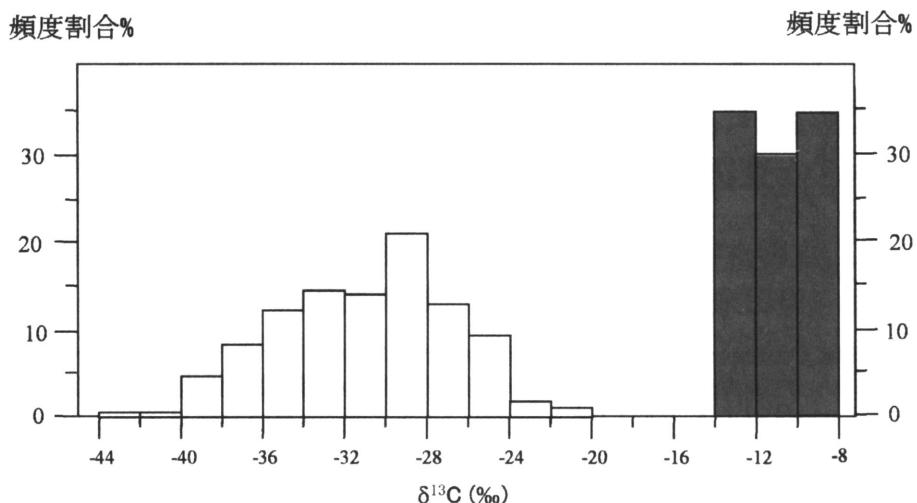


図2 採集された水草の炭素同位体比 ( $\delta^{13}\text{C}$ ) と同じ河川の溶存無機炭素 (DIC) の $\delta^{13}\text{C}$ の頻度分布を示した。灰色のバーは DIC のもので、白抜きのバーは水草の頻度分布である。水草の $\delta^{13}\text{C}$ の変動幅は光合成基質であるDICの変動幅より大きい。

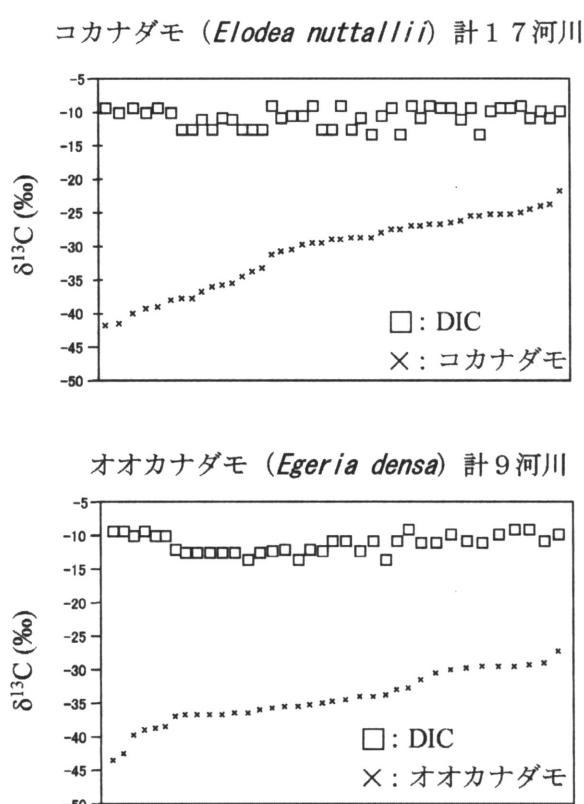


図3 コカナダモ (*Elodea nuttallii*) とオオカナダモ (*Egeria densa*) の $\delta^{13}\text{C}$ の低い個体から高い個体までを並べた。各個体の採取河川のDICの $\delta^{13}\text{C}$ も同時に示した。DICの $\delta^{13}\text{C}$ はこれら2種の水草の $\delta^{13}\text{C}$ の図の左から右への上昇パターンとはなんら相関せず、ほぼ一定の値をとることから、こうした水草の $\delta^{13}\text{C}$ は光合成基質であるDICの $\delta^{13}\text{C}$ によって規定されていないことが分かる。

た実験からも付着藻類の $\delta^{13}\text{C}$ は流速と有意な負の相関を示すことは報告されている<sup>6)</sup>。しかしながら、水草でそうした報告はほとんどなかった。流速と植物体の $\delta^{13}\text{C}$ の間に負の相関が生じるためには、boundary layerを濃度勾配に従って拡散してくる炭酸基質の供給速度が光合成速度を律速している状況が必要不可欠である。付着藻類のように光合成活性の高い植物にかぎらず、個体サイズの大きな維管束植物においてもboundary layerの厚さが光合成速度を律速している状況下にあるという点は新たな発見である。

以上の結果を踏まえて、水草の $\delta^{13}\text{C}$ 分析から解析可能な河川環境としては、水草の生息場所における流速をその生育期間を通して平均化した値として知ることができるという点が挙げられる。今回のデータセットからは、

$$\text{水草の } \delta^{13}\text{C} = -27.8 - 12.0 \times (\text{流速})^{0.5}$$

という式で近似できる。boundary layerの厚さは(流速)<sup>-0.5</sup>に比例することから<sup>7)</sup>、boundary layerを濃度勾配に従って拡散してくる炭酸基質の供給速度がboundary layerの厚さの逆数になるのであれば、水草の $\delta^{13}\text{C}$ が(流速)<sup>-0.5</sup>に比例して低下することは、Farquharら<sup>2)</sup>が提唱した植物の $\delta^{13}\text{C}$ の決定機構とも矛盾しない。この式を変換し、

$$\text{流速 (m/s)} = \{(\text{水草の } \delta^{13}\text{C} + 27.8) / 12.0\}^2$$

から、水草の生育期間を通して平均化された流速を推測することができる。通常、ある微小生息場所の平均流速を推測するには多時点、多地点の流

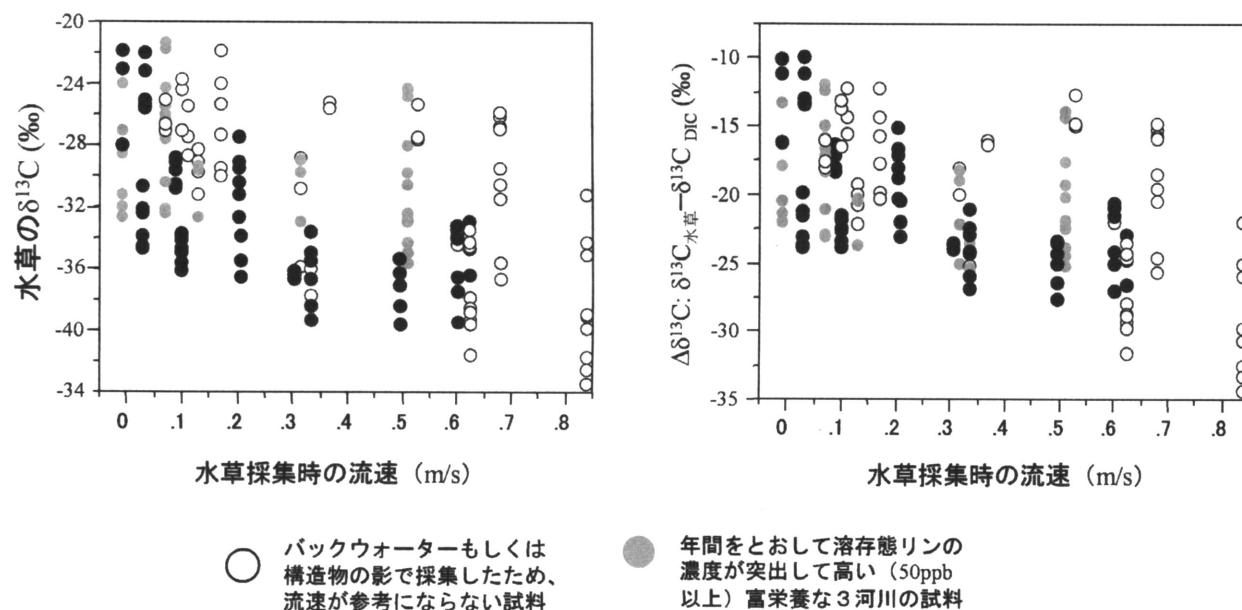


図4 左右の図はそれぞれ水草の $\delta^{13}\text{C}$ および光合成の際の同位体分別 $\Delta\delta^{13}\text{C}$ を水草採取時の流速に対してプロットした図である。富栄養化した河川の試料（灰色丸）および生息場所流速が不確かな個体（白抜き丸）を除いた黒丸塗りつぶしは有意な負の相関を示した。

速の実測データを必要とする。しかしながら、水草の $\delta^{13}\text{C}$ および $\Delta\delta^{13}\text{C}$ を利用することで、水草の生長期間中の水草の生息場所周辺の平均流速を見積もることが可能となる。もちろん、その水草が流下、定着して間もない個体の場合はそのかぎりではないが、河川環境を強く規定する流速の平均を測定し続けることは高価な測定機器を使用しなければ現在でも容易ではないことを考慮すれば、利用価値のある環境評価指標と言える。

#### 謝辞

本報告書を作成するにあたって、東京大学海洋研究所の宮島利宏氏から貴重な御意見を頂いた。また、本研究の一部は、独立行政法人科学技術振興機構戦略的創造研究推進事業「水の循環系モダリングと利用システム」の研究課題「各種安定同位体比に基づく流域生態系の健全性/持続可能性指標の構築」（研究代表者 京都大学生態学研究センター 永田俊）との連携のもとに実施した。

#### 引用文献

- 1) Goericke,R., Montoya J.P. & Fry B., Physiology of isotopic fractionation in algae and cyanobacteria. In: Lajtha, K. & Michener, R.H. [eds] Stable Isotopes in Ecology and Environmental Science. (1994) Blackwell Sci. Pub., London.
- 2) Farquhar G.D., Ehleringer J.R. & Hubick K.T., Carbon isotope discrimination and photosynthesis. Annual review of plant physiology and plant molecular biology. (1989) 40: 503-537.
- 3) Miyajima T., Yamada Y., Hanba Y.T., Yoshii K., Koitabashi T. & Wada E., Determining the stable isotope ratio of total dissolved organic carbon in lake water by GC/C/IRMS. Limnology and Oceanography. (1995) 40: 994-1000.
- 4) Elser,J.J., Marzolf E.R. & Goldman C.R., Phosphorus and nitrogen limitation of phytoplankton growth in the freshwaters of North America: a review and critique of experimental enrichments. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. (1990) 47: 1468-1477.
- 5) Keely J.E. & Sandquist D.R., Carbon: Freshwater plants. Plant Cell and Environment. (1992) 15: 1021-1035.
- 6) Trudeau V. & Rasmussen J.B., The effect of water velocity on stable carbon and nitrogen isotope signatures of periphyton. Limnology and Oceanography. (2003) 48: 2194-2199.
- 7) Silvester N.R. & Sleigh M.A., The forces on microorganisms at surfaces in flowing water. Freshwater Biology. (1985) 15: 433-448.