

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年6月8日現在

機関番号：12401

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21560533

研究課題名（和文）二次元蛍光測定法を用いた現地直接測定による河川一次生産性の評価

研究課題名（英文）EVALUATION OF PRIMARY PRODUCTIVITY IN STREAM BY TWO DIMENSIONAL FLUORESCENCE MEASUREMENT METHOD

研究代表者

藤野 毅（FUJINO TAKESHI）

埼玉大学・大学院理工学研究科・准教授

研究者番号：70282431

研究成果の概要（和文）：

藻類の光合成活性度を非破壊で調べる方法としてパルス変調蛍光法がある。本研究は、河川中の付着藻類の一次生産等の評価に適用することを試みた。平面二次元の測定が可能な Handy Fluor Cam を用いた。その結果、計測パラメーターである蛍光誘導のための測定光  $F_0$  の値は緑藻と糸状藻類の現存量と相関があり、閃光  $F_m$  は珪藻の現存量と相関が高かった。なお、現地で直接測定する場合、暗条件下で実施することや、藻類が十分繁茂しないと測定は困難である。

研究成果の概要（英文）：

Pulse Amplitude Modulation (PAM) method is used to evaluate photosynthesis activities for algae. In this study, estimation of primary productivity of stream bed periphyton was applied. Handy Fluor Cam was used to obtain horizontally two dimensional distributions. As a result, there is correlation between the minimum fluorescence yield  $F_0$  and the biomass for green algae and filamentous algae. There is relatively high correlation between the maximum fluorescence yield  $F_m$  and diatom. For direct measurement in field, the dark condition and enough amount of algal biomass are necessary.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：土木工学・水工学

キーワード：河川工学, 付着藻類動態

## 1. 研究開始当初の背景

河川の一次生産量は対象とする空間スケールによって大きく異なる。河床状態が複雑であることから、生物生産に関する定量値がどの程度代表性を持っているのかを的確に

評価することは困難である。一方、河川環境評価とその将来予測のために、付着藻類の現存量を予測するモデルが提案されており、それらは外部の物理環境条件を与え、主要な栄養塩である窒素やリンが律速要因となり、藻

類の生長過程を再現させるものである。ところが、その活用には多くのパラメータを各現場において校正しなければならず、また、藻類の光合成活性度を評価した例はない。さらには付着藻類群の大きさやそれをとりまくスケール、すなわちマイクロハビタットスケール(10<sup>-1</sup> m オーダー)の動態を明らかにすることが必要である。

## 2. 研究の目的

植生や藻類の光合成活性を非破壊で調べる方法として、クロロフィル a の励起蛍光を測定する Pulse Amplitude Modulation (PAM) 法がある。元来、これはその点で植物が受けている環境ストレスを評価するものであるが、その傾向強さは細胞内のクロロフィル a 量と関係があり、バイオマスの推定に生かせる可能性がある。本研究では、チェコ PSI 社の Handy Fluor Cam (製品名: FC 1000-H/GFP のカスタム改良) を用い、礫に付着した藻類群集の量子収率の測定を試みる。これにより、従来の PAM による点的な測定に留まらず、5cm 四方の面を捉える事ができるため、礫に付着した藻類のバイオマスの評価に適切であると予想されるため、その有効性を評価する。

## 3. 研究の方法

研究では、チェコ・PSI 社の Handy Fluor Cam (FC 1000-H/GFP, GFP 測定用をカスタム改良したもの) を用いた (写真 1)。これは、最大 16cm<sup>2</sup> の面積を捉えることができる。この測定には照射する位置と礫の位置との距離が量子収率の値に影響を与えることから、礫の湾曲した場所での結果を検証するため、既存の製品であるドイツ Waltz 社の Junior Pam を用いて比較・補正を行う。ここで量子収率の定義は  $(F_m - F_o) / F_m$  であり、 $F_o$  は、パルス変調された蛍光誘導のための測定光、 $F_m$  は、閃光であり、瞬間的に光化学系 II の電子受容体をすべて還元するための光である。この比の最大値は 1.0 であるが、そのうちいくつかは熱エネルギーへの散逸が起こっている。光合成活性が低くなると、その値は 0.6 程度となる。

対象とする礫のサンプルは、埼玉県内を流下する荒川の上・中流地点で、上流ではダムの上流、中流では栄養塩の負荷が高い寄居

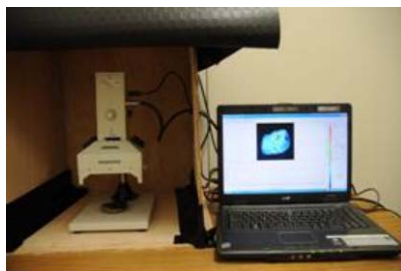


写真 1. 測定装置本体と制御 PC

と熊谷の 2 地点とした。特に、熊谷では糸状藻が繁茂しており、他は珪藻類が優占していた。各地点で表面積 50-100 cm<sup>2</sup> の礫を 10 個ずつ持ち帰り、これらを別々の水槽に入れて現場と同じ水温に調整し、昼夜を蛍光灯で制御したのち、夜間に測定した。実験は、1) 上流地点の珪藻を対象に、温度ストレス (15°C と 25°C)、および DOC (1mg/L と 7mg/L) の組み合わせの比較、2) 各地点の Chl-a 現存量と蛍光光度 ( $F_o$ ) との関係調べた。

## 4. 研究成果

Chl-a 現存量の評価として、繁茂する藻類のタイプが珪藻と緑藻 (糸状藻) で異なっていた。緑藻では、測定光  $F_o$  と一定の相関が得られたのに対し、珪藻では閃光  $F_m$  と一定の相関が得られた (図 1, 2)。付着藻類が珪藻の場合、全体の現存量は少ないが、実験で得られた範囲 5~80 mg/m<sup>2</sup> に対し、測定光  $F_o$  は珪藻から発せられる蛍光強度がより微弱となる。さらに、礫面全体を捉えようとして、機器の照射位置が礫から 5cm 程度離れているために、蛍光強度は弱くなる。その距離の補正は別途行なう必要がある。なお、閃光  $F_m$  では傾きが 0.6 以上の関係が得られていた。

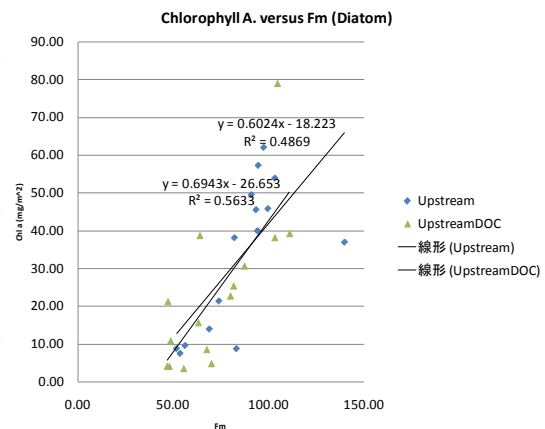


図 1. Chl-a 量と閃光  $F_m$  の関係 (珪藻の例)

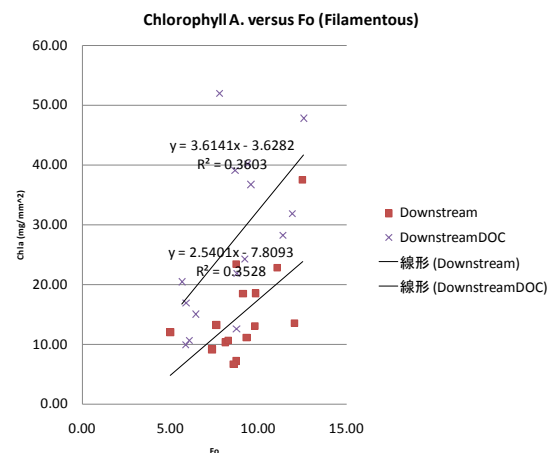


図 2. Chl-a 量と測定光  $F_o$  の関係 (緑藻の例)

いくつかの緑藻の場合、出現する時期は水温 20°C 以下の低い場合が多く、それ以上では温度のストレスを受けている。そこで、異なる水温および溶存有機物濃度の環境下で量子収率が変化するかどうかを調べた。まず、現存する chl-a 当たりの量子収率の最大値 (Qmax) はどれも 0.8 程度であったが、水温が高い場合は、日数の経過とともに量子収率が下がった。一方、低い場合は溶存有機物が高い場合、初期の状態を維持している。高い値を維持していることは、相対的に測定光 Fo の値が低いことと一致する。

次に、糸状藻類の場合は、測定光 Fo は chl-a 量と相関が得られた。礫に付着したバイオマス量としては珪藻より少ないものの、一部に密集して繁茂するために、多少離れた位置でも一定の蛍光強度を発して評価が可能である。しかし、溶存有機物濃度が高くなると、同じ chl-a 量に対して測定光を受けて発する蛍光強度は低くなった。

なお、河川において直接モニタリングする場合は、機器が流れないようにケースを設置し、これを暗条件下で行う必要がある(写真 2, 3)。また、センサー部までの距離が生じるため、測定は蛍光を感知できるだけの十分繁茂した場合に限られるなどの制約条件がある。

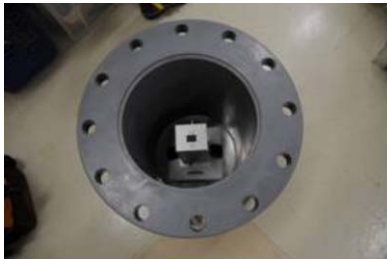


写真 2. 現地直接測定用ケース (底は透明アクリル)



写真 3. 現地での適用状況

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 8 件)

① 藤野 毅, ニンウィリ, 高橋陽一, 浅枝

隆, ダム直下におけるヒゲナガカワトビケラの生産量と試験湛水の影響, 土木学会論文集 B1(水工学), 査読有, 68(4), 2012,

I\_775-I\_780.  
<http://www.jsce.or.jp/collection/index.html>

② 高橋陽一, 藤野 毅, ニンウィリ, 浅枝隆, 出水時にダムに流入する粗粒状有機物量とその成分の季節特性, 土木学会論文集 B1(水工学), 査読有, 68(4), 2012, I\_1627-I\_1632.

<http://www.jsce.or.jp/collection/index.html>

③ Lokuhewage AUM and Fujino T, Two cyanobacterial strains can be distinguished from each other and other eukaryotic algae by spectral absorption method, Water Science & Technology, 査読有, 63(6), 2011, 1203-1210. DOI: 10.2166/wst.2011.359

④ Bibi MH, Ahmed F, Ishiga H, Asaeda T, Fujino T, Present environment of Dam Lake Sambe, southwestern Japan: a geochemical study of bottom sediments, Environmental Earth Sciences, 査読有, 60(3), 2010, 665-670. DOI: 10.1007/s12665-009-0205-3

⑤ Sultana M, Asaeda T, Azim ME, Fujino T, Morphological responses of a submerged macrophyte to epiphyton, Aquatic Ecology, 査読有, 44(1), 73-81. DOI: 10.1007/s10452-009-9291-2

⑥ 古里栄一, 藤野 毅, 浅枝 隆, 有田正光, 物理的処理によるアオコ対策の効果に関する基礎的実験, 水工学論文集, 査読有, 54, 2010, 1483-1488.  
<http://www.jsce.or.jp/collection/index.html>

⑦ Uchibori T, Fujino T, Asaeda T, Turbidity removal effect and surface charge shift for electrochemically treated retentate without coagulant addition, Water Science & Technology, 査読有, 61(1), 2010, 235-242. DOI: 10.2166/wst.2010.479

⑧ 藤野 毅, カヤディスラウィ, 高橋陽一, 浅枝 隆, ダム下流に出現する付着藻類群集に与える自然河川中の溶存有機態の影響について, 水工学論文集, 査読有, 53, 2009, 1135-1140.  
<http://www.jsce.or.jp/collection/index.html>

[学会発表] (計 7 件)

① Nyamsuren G, 藤野 毅, Hnin W, FDA 法による河川流か有機物に付着する微生物

細胞外活性酵素の分析, 日本陸水学会第75回大会, 2010年9月17日, 弘前大学

- ②Lokuhewage, AUM, Madjarova VD, Fujino T, Visualisation of biofilm formation during decomposition process by optical coherence tomography, YWPC 2010 Conference, IWA, 2010年7月5日, シドニー大学
- ③Limsakul A, Tabucanon MS, Fujino T et al, Upstream and downstream ecosystems of the Rajorabha Da, Thailand, Urban Biodiversity & Design NAGOYA2010, 2010年5月18日, ウィンク愛知
- ④Lokuhewage AUM, Fujino T, Influence of fulvic acids on the toxic effects of Cadmium and Zinc to Chlorella vulgaris due to photochemical modification, 第44回日本水環境学会年会, 2010年3月15日, 福岡大学
- ⑤藤野 毅, タブカノン アラン, ダム流下物が河床のリターに生成するバイオフィルムの発達に与える効果, 第44回日本水環境学会年会, 2010年3月15日, 福岡大学
- ⑥ Tabucanon A, Fujino T, Limsakul A, Effect of dissolved organic matter from leaf litter to photosynthesis activity of periphytic algae, 応用生態工学会第13埼玉大会, 2009年9月25日, 埼玉会館
- ⑦Tabucanon A, 藤野 毅, 仲本 準, 河川の礫付着藻類の蛍光測定と評価の検討, 日本陸水学会第74回大会, 2009年9月14日, 大分大学

[図書] (計2件)

- ① Takahashi Y, Asaeda T, Fujino T, Priyadarshana T, Bio-monitoring and assessment of ecological process of benthic invertebrate assemblages through pre and post trial-impoundment of reservoir, Bodø Graduate School of Business University of Nordland, Conditions for entrepreneurship in Sri Lanka: A Handbook, 2011, 369-400.
- ②Fujino T, Wityi N, Asaeda T, Yakahashi Y, Priyadarshana P, Coarse particulate organic matter exports and characteristics of fiber components during different flood events in the second order stream, Bodø Graduate School of Business University of Nordland, Conditions for entrepreneurship in Sri Lanka: A Handbook, 2011, 401-420.

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

○取得状況 (計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年月日:  
国内外の別:

[その他]

ホームページ等  
埼玉大学研究者総覧 SUCRA  
<http://sucra-rd.saitama-u.ac.jp/search/profile.do?lng=ja&id=HNcmHNyC>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

藤野 毅 (FUJINO TAKESHI)  
埼玉大学・大学院理工学研究科・准教授  
研究者番号: 70282431

(2) 研究分担者

無し ( )

研究者番号:

(3) 連携研究者

高橋 基之 (TAKAHASHI MOTOYUKI)  
埼玉県環境科学国際センター・水環境課・研究員  
研究者番号: 30415377