

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 30 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25340099

研究課題名(和文)流域単位での河川水の総毒性スペクトル変動の把握と基本水質項目との相関解析

研究課題名(英文)Variation of whole toxicity spectrum of riverwater samples collected in two different watershed areas and regression analysis between the toxicity and the selected basic water quality items

研究代表者

山本 裕史 (Yamamoto, Hiroshi)

徳島大学・大学院ソシオ・アーツ・アンド・サイエンス研究部・准教授

研究者番号：60380127

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：吉野川・高瀬橋で3年間毎月河川水を採取し、短期慢性毒性試験と海洋発光阻害試験、一般水質測定を実施した結果、のべ34試料中、藻類、ミジンコに対して毒性が検出されたのはそれぞれ4、6試料で、魚類は1試料、海洋発光阻害を引き起こす試料はなく、季節変動も明らかでなかった。また吉野川・淀川流域の7地点で毎年1回河川水を採取し、同様の試験を実施したところ、徳島市田宮川や淀川水系猪名川・利倉などでは毒性が検出された。主成分分析の結果、BOD、アンモニア等の生活排水等由来物質とミジンコや藻類への毒性との相関は低く、重回帰分析の結果と合わせて、一般水質項目以外の別の毒性原因物質の寄与が大きいと考えられる。

研究成果の概要(英文)：We collected water samples monthly at Takase Bridge of the Yoshino River and annually at total of seven sites in the Yoshino River and the Yodo River watershed area. The luminescence inhibition of oceanic photobacteria was measured in addition to the short-term chronic toxicity tests using fish, daphnia, and algae was conducted. We detected chronic toxicity for green algae and daphnia from four and six samples respectively among 34 monthly samples while fish and bacterial toxicity was found for only one sample and none. The chronic toxicity was detected for those samples collected at the Tamiya Creek, an urban creek in Tokushima City, and Tokura Bridge of the Ina River of the Yodo River watershed. As a result of principal component analysis and regression analysis, moderate regression was found between basic water quality items such as BOD, COD, and ammonia while daphnia and algal toxicity was found to be somewhat independent from these items.

研究分野：生態毒性学、環境化学、環境工学

キーワード：生態毒性 主成分分析 流域管理 年間変動 短期慢性毒性 海洋発光細菌 化学物質管理 一般水質項目

1. 研究開始当初の背景

(1) 国内では主に個々の汚染化学物質の濃度モニタリングをベースにして排水・環境水の有害物質の評価・管理が行われてきたが、莫大な化学物質数(未知・未規制の物質や、それらの複合的影響)を考えると生物応答(バイオアッセイ)を用いて総体として評価・管理する研究が必要である。しかし、それらの国内での研究例は急性試験が中心で、非常に限定的であった。

(2) そこで、研究代表者らは、水生生物3種の短期慢性毒性試験法を用いて、徳島県内の下水処理場放流水や一般事業所、生活排水が流れ込む都市河川ならびに全国一級河川の大まかなモニタリングを実施して、その傾向について明らかにするなど一定の成果をあげてきた。しかし、これまで水生生物3種の短期慢性毒性試験について流域管理を目的として通年で詳細なモニタリングを実施して詳細な毒性同定評価を実施したり、一般水質項目との詳細な相関について議論したりした研究は国内外でもほとんどなく、情報が不足していた。

2. 研究の目的

本研究では、吉野川流域ならびに淀川流域圏を対象に通年・経年的に水試料を採取し、発光バクテリア試験と水生生物3種の短期慢性毒性試験によって総毒性スペクトルを測定することを目的とした。また、合わせて一般水質項目の測定をおこない、その相関を解析することで、バイオアッセイを活用した流域単位での毒性物質評価・管理アプローチの可能性を探ることを目的とした。

3. 研究の方法

徳島県を流れる吉野川下流の環境基準点である高瀬橋(徳島県石井町)付近において、月に1回の試料採取をおこなった。また、ほかにも吉野川流域の環境基準点や補助地点である上流の大川橋(徳島県三好市)、中流の脇町潜水橋(徳島県美馬市)、下流の今切川河口堰(徳島県北島町)や田宮川蔵本公園前(徳島県徳島市)の4地点でも年に1回、合計3回の試料採取をおこなった。

淀川流域については、過去の調査において有害影響が検出された猪名川・利倉(大阪府豊中市)のほか、桂川・宮前橋(京都府京都市)、淀川・枚方大橋(大阪府枚方市)など4地点でも年に1回、合計3回の試料採取をおこなった。

各試料の採取時には、現地においてポータブル水質測定器(HORIBA D-51, HACH Qd-30A, TOADKK CM31P)を用いて、それぞれpH、溶存酸素(DO)、電気伝導度(EC)を測定した。また、実験室に持ち帰り、5日間の生物化学的酸素要求量(BOD)や過マンガン酸カリウムを用いた化学的酸素要求量(COD)、インドフェノールブルー法によるアンモニア性窒素、キレート滴定法による全硬度などの一般的な水質

測定をおこなった。

一方、総毒性としては、国立環境研究所・環境省から2013年に発表された「生物応答を用いた排水試験法(検討案)」に準じて、魚類(高次消費者)、甲殻類(一次消費者)、藻類(生産者)の3種を用いた短期慢性毒性試験を実施した。魚類胚・仔魚期短期毒性試験は、生後1~2時間のゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)の胚について、各濃度区あたり15~20個×4連用意し、孵化後5日目(8~9日間)の観察をおこない、孵化率および仔魚致死率を求めた。ミジンコ繁殖阻害試験は、生後24時間以内のニセネコゼミジンコ(*Ceriodaphnia dubia*)の仔虫を1濃度区あたり1頭×10連用意して、3腹目までの産仔数を調べた。藻類生長阻害試験は、ろ過滅菌後、単細胞緑藻の一種であるムレミカヅキモ(*Pseudokirchneriella subcapitata*)を用いて、1濃度区あたり3連の三角フラスコを用意し、対照区と比較した際の生長率の減少を調べた。短期慢性毒性試験以外にも、微生物(分解者)への影響を調べるために、Modern Water社製のMicrotox試験装置M500を用いて海洋発光細菌(*Vibrio fischeri*)による発光阻害試験も合わせて実施したほか、浜松ホトニクス社製高感度ルミノメータを用いた藻類遅延発光試験も実施して総毒性を調べた。これらの試験は、基本的には100%(もしくは95%ないし91%)の河川水での試験のほか、50%、25%などに希釈した水で試験を実施した。しかしながら、毒性影響の検出率が低く、十分な解析ができなかったことから、最終年度の一部の試料については、金属カチオン等はキレート樹脂カラム(ノビアスキレート樹脂)で、疎水性有機物等は固相抽出カートリッジ(Oasis HLB)で濃縮した後、必要に応じて中和をおこない、毒性試験を実施した。

結果の解析はMicrosoft ExcelのアドインソフトウェアであるExcel統計(社会情報サービス社製)を用いて多変量解析を実施した。多変量解析としては、基準化をおこなった後、地点ごと、季節ごと、毒性や水質などの項目ごとなどの観点から主成分分析のほか、要因分析、クラスター解析、重回帰分析を実施した。

4. 研究成果

(1) 月に1回の試料採取を実施した吉野川・高瀬橋の魚類、ミジンコ、藻類を用いた短期慢性毒性試験結果を図1に示す。なおここでTUはToxicity Unit(毒性単位)のことで、100%は無希釈河川水なので、EC_x(x%影響濃度)の逆数である100/EC_xを取ったものである。TUが1としてあるのは、最大濃度の100%(藻類は培地の関係上最大95%なのでTUは1.05が最小)でも影響が検出されなかったことを表す。

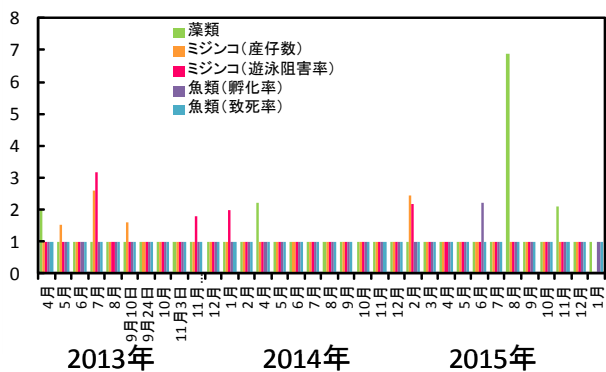


図1 吉野川高瀬橋のTU値

図1に示すように34試料のうち有害影響を示したのは、藻類で4試料、ミジンコで6試料、魚類で1試料にとどまった。有害影響が検出された時期については、特に顕著な傾向は見当たらなかった。また、海洋発光細菌発光阻害試験を実施したところ、全ての試料で発光阻害を検出することはできなかった。

この地点は、吉野川下流域（徳島市水道局の取水口付近）に位置するものの、四国山地を源流として非常に豊富な水量を誇る他、流域人口が比較的少なく工業地域もないことから、BODやCOD、アンモニア性窒素は比較的的低く、逆にDOは比較的高く、類型指定はAとなっていて、ほとんどの試料について十分に環境基準を満たしていた。

(2) 次に吉野川の上・中流域の大川橋、脇町潜水橋と、下流部の派流である今切川河口堰、徳島市内の都市河川で派流の新町川の支流の田宮川・蔵本公園前の4カ所で毎年1回採取した試料のバイオアッセイ結果を図2に示す。また、淀川流域圏の猪名川・利倉・桂川・宮前橋、淀川・枚方大橋の結果も合わせて図2に示す。

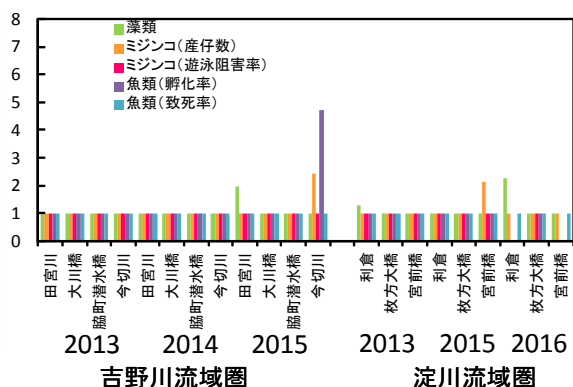


図2 吉野川・淀川流域圏で採取した試料のTU値

図2に示すように上流の大川橋や脇町潜水橋では毒性が検出されることはなかったものの、下流部の今切川や田宮川、淀川流域も猪名川・利倉や桂川・宮前橋で総毒性が検出された。これらの地点は、研究代表者らのこれまでの調査でも総毒性が検出されたこと

があり、それらの結果と矛盾しない。一方で、水質項目はAA類型の大川橋やA類型の脇町潜水橋のBOD、DOの値が良好であり、同様にA類型の宮前橋、B類型である枚方大橋もそれぞれ桂川や琵琶湖・宇治川からの大きな水量の影響で、同様に比較的良好であった。それに対して、下水処理水の影響を受けて工場・住宅の密集地域を流れる猪名川（D類型）や、徳島市近郊の住宅地を流れる田宮川の水質は良好とはいえず、今切川（C類型）については、河口堰での滞留の影響と流域人口の増加に伴い、水質は中程度であった。

(3) 吉野川高瀬橋や上流部では、比較的感度の高い短期慢性毒性試験であっても、総毒性の検出率は不十分であったため、最終年度の一部は濃縮試料についても同様の試験を実施した。その結果、高瀬橋の試料についても、金属カチオンの試料について緑藻や海洋発光細菌について2~10倍程度の濃縮倍率で総毒性を検出することができた。

(4) 毒性試験結果（魚類や海洋発光細菌は検出率が低く、解析不能であったため除外した）と水質項目について、主成分分析を実施した結果を図3に示す。図3に示すように主成分1が高い項目として、BOD、COD、アンモニア、硬度の4項目が挙げられ、逆に低い項目としてDOが挙げられる。これらのことから、主成分1は人為汚染を表す指標であることが示唆される。一方、主成分2はミジンコの有害性（産仔数や遊泳阻害率）の指標のみが高かった。藻類への毒性やpHは明らかな傾向はわからなかった。

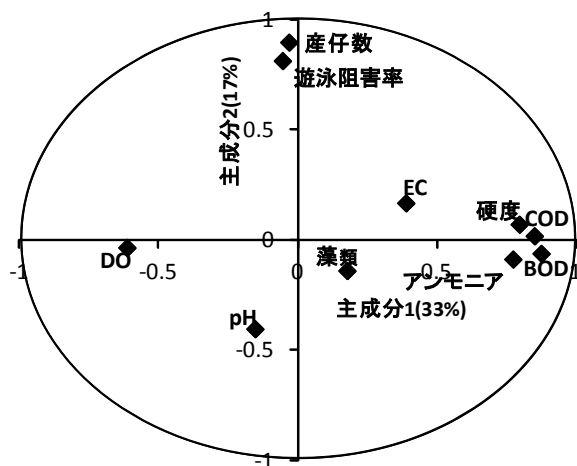


図3 水質項目・毒性値の主成分分析結果

以上のことから、主成分2はミジンコへの毒性影響を表す指標であり、本研究で測定した一般水質項目とは別の傾向を示すことが明らかになったほか、他の水質項目や化学物質（金属等）が影響を及ぼしている可能性が高いといえる。いずれにせよ、主成分1、2を合わせても寄与率は50%にすぎず、全体的な傾向を表すのは非常に難しく、さらなる項

目やデータの追加による解析が必要であるといえる。

なお、吉野川・高瀬橋の各採取月について、また地点ごとの主成分分析を実施したが、特に明らかな傾向は検出されなかった。また、キレート樹脂による濃縮試料の試験結果について同様の解析をおこなったところ、海洋発光細菌発光阻害試験や一般水質項目（アンモニア、BOD等）は主成分1（寄与率93%）が高く、濃縮試料の藻類生長阻害は主成分2が高いという結果になった。まだまだ試料数が少ないことから、今後より詳細な検討が必要であるといえる。

(5) 同様に、要因分析についても、各水質項目と総毒性の試験結果（主成分分析同様に、魚類と海洋発光細菌は除く）について実施した。その結果、主成分分析と同様に因子1はBOD、COD、アンモニアなどが高く、因子2はミジンコへの毒性が高くなった。ここで、因子1は生活排水由来の水質汚濁物質（有機物、栄養塩など）が、因子2についてはミジンコ毒性に直接影響すると考えられる他の因子が想定され、文献などを参考にすると農薬や金属などが候補であるが、本研究ではその点は不明である。

(6) 次に、吉野川流域・淀川流域の各地点の水質項目・毒性値について、ワード法を用いてクラスター間の距離を測定するクラスター解析をおこなった。その結果を図4に示す。

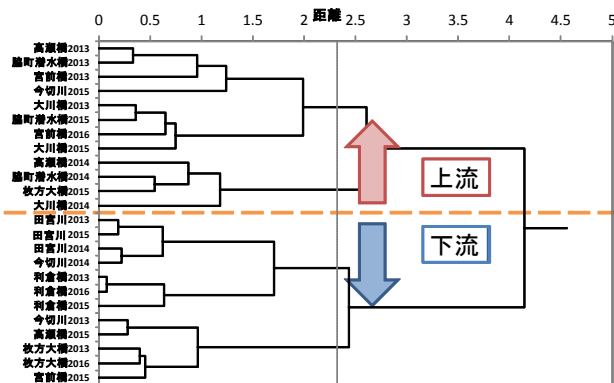


図4 各地点のクラスター解析結果

図4に示すように、大川橋や脇町潜水橋は上側に、田宮川や猪名川・利倉は下側に分けられるなど、概ね良好な水質の上流部と、比較的人為汚染の影響を受ける下流部に分けることができた。なお、中程度の枚方大橋や宮前橋などは採取した年によって結果が分かれた。

(7) 最後に、藻類、ミジンコ（産仔数、遊泳阻害）に対する毒性値を目的変数、各水質項目を説明変数として重回帰分析を実施した。その結果、 R^2 の値はいずれも0.1~0.2と低く、

定数項、各説明変数ともにP値は0.1を上回っていた。つまり、今回測定した水質項目では藻類やミジンコへの毒性は説明できず、主要な要因を明らかにする必要がある。

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）

〔学会発表〕（計8件）

- (1) 光山真子、円山萌、西家早紀、新岡知熙、鏑迫典久、田村生弥、山本裕史、多変量解析を用いた徳島・吉野川及び淀川水系で採取した河川水の生態毒性と一般水質項目との相関解析、第50回日本水環境学会年会、2016年3月16日、アスティとくしま（徳島県徳島市）
- (2) Hiroshi YAMAMOTO, Saki NISHIE, Moe ENYAMA, Mako MITSUYAMA, Norihiro SHINOKA, Ikumi TAMURA, and Norihisa TATARAZAKO, Multivariable analyses to find trends in spatial and temporal variations of toxicity and water quality parameters in two watershed areas in Japan, Yoshino River and Yodo River, Asian Core Program 5th Comprehensive Seminar, 2015年11月19日、京都大学（京都府京都市）
- (3) Hiroshi YAMAMOTO, Saki NISHIE, Moe ENYAMA, Mako MITSUYAMA, Ikumi TAMURA, Norihisa TATARAZAKO, Seasonal and spatial variations of ecotoxicity and basic water quality in two watershed areas in Japan: Multivariable analyses to find a trend, 2015年11月5日、SETAC North America 36th Annual Meeting, Salt Lake City, UT (USA)
- (4) 山本裕史、円山萌、光山真子、西家早紀、森田隼平、竹本航平、元家章太、田村生弥、鏑迫典久、河川水の短期慢性毒性と一般水質項目測定値との多変量解析、第24回環境化学討論会、2015年6月24日、札幌コンベンションセンター（北海道札幌市）
- (5) 円山萌、西家早紀、元家章太、鏑迫典久、田村生弥、勝又政和、山本裕史、吉野川および淀川流域河川の生態毒性と一般水質項目との多変量解析、第49回日本水環境学会年会、2015年3月16日、金沢大学（石川県金沢市）
- (6) Hiroshi YAMAMOTO, Saki NISHIE, Moe ENYAMA, Shota MOTOIE, Ikumi TAMURA, and Norihisa TATARAZAKO, Is there any significant correlation among basic water quality indexes and ecotoxicity of riverwater samples in Japan?, 2014年11月10日、SETAC North America 35th Annual Meeting, Vancouver (Canada)
- (7) 山本裕史、西家早紀、円山萌、森田隼平、竹本航平、鏑迫典久、河川水の一般水質

- 項目と生態毒性値の相関解析に関する予備的検討、第23回環境化学討論会、2014年5月14日、京都大学（京都府京都市）
- (8) 西家早紀、森田隼平、鑓迫典久、山本裕史、水生生物3種と発光バクテリアを用いた吉野川流域河川水の生態毒性の年間変動と基本水質項目との相関解析、第48回日本水環境学会年会、2014年3月17日、東北大学（宮城県仙台市）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山本 裕史 (YAMAMOTO, Hiroshi)
徳島大学・大学院ソシオ・アーツ・アンド・サイエンス研究部・准教授
研究者番号：60380127

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし

(4) 研究協力者

鑓迫 典久 (TATARAZAKO, Norihisa)
国立環境研究所環境リスク研究センター、環境リスク研究推進室・室長