

# 蛍光測定法による河川付着藻類生産性評価の試みとダム河川環境保全への応用

藤野 毅 (理工学研究科・准教授)

## 1 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、クロロフィルの励起蛍光を測定する Pulse Amplitude Modulation(PAM)法が 1990 年代以降多く利用されている。これは、光ファイバーを葉緑体の表面に極力近づけて、いくつか照射強度の異なる光を与え、計算によってクロロフィルによる量子収率(当たった光のうち、どれだけを光化学反応に利用できたか)を導くものである。この値は、植物がなんらかのストレスを受けていることを示す指標として用いられており、光合成活性が健全な植物の場合は最大 0.8–0.83 と取るとされている。特に、毒性物質によるストレス評価に用いられている。

これを河川中の藻類に適用する場合は、対象とする礫を取り出し同様に扱うことができる。しかしながら、礫の表面に付着する藻類の分布や種類は一様ではないことや、点的な測定はそのセグメントの代表性を評価することは困難である。そこで、本件急では、元々自然に発生するバイアスを踏まえて、点で測定する PAM 法に代わり、原理は同じであるが、後に開発された 2 次元平面が捉えられる CAM による付着藻類の活性度の評価を試みた。特に、i) 平面的に捉える蛍光がバイオマスの指標となりうるのか、ii) 毒性以外の異なる水温や水質に対して、量子収率はどのように反応するかを調べた。

## 2 方法

測定に用いた機器は、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。これは、最大 16cm<sup>2</sup> の面積を捉えることができる。なお、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・補正を行った。量子収率の定義は、 $(F_m - F_0) / F_m$  であり、 $F_0$  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。

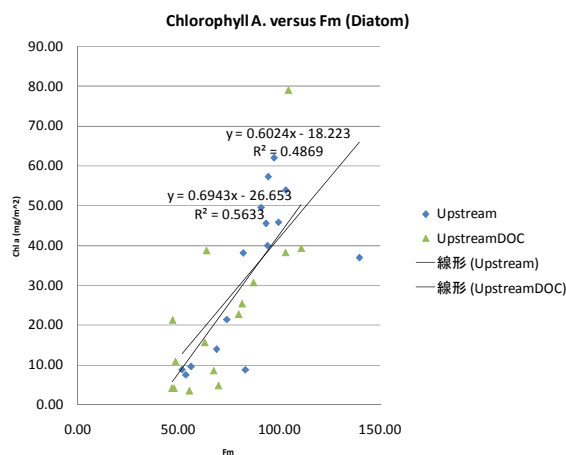
対象とする礫のサンプルは、埼玉県内を流下する荒川の上・中流地点で、上流ではダムの上下流(図表示: Upstream, Downstream)、中流では栄養塩の負荷が高い寄居(Musuem)と熊谷(Kumagaya)の 2 地点とした。特に、熊谷では糸状藻が繁茂しており、他は珪藻類が優占していた。各地点で表面積 50-100 cm<sup>2</sup> の礫を 10 個ずつ持ち帰り、これらを別々の水槽に入れて現場と同じ水温に調整し、昼夜を蛍光灯で制御したのち、夜間に測定した。実験は、1) 上流地点の珪藻を対象に、温度ストレス(15°C と 25°C)、および DOC(1mg/L と 7mg/L)の組み合わせの比較、2) 各地点の Chl-a 現存量と蛍光光度( $F_0$  値)との関係を調べた。

## 3 結果

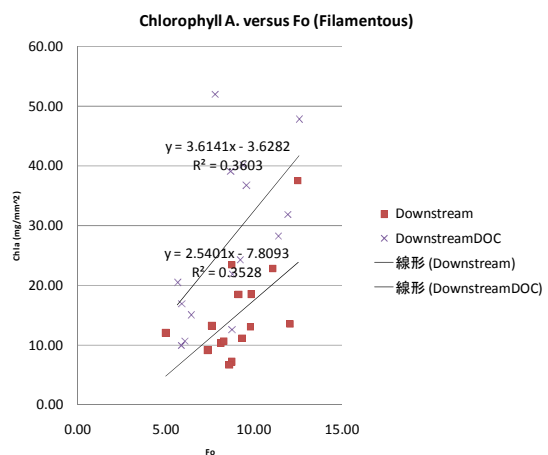
Chl-a 現存量の評価として、繁茂する藻類のタイプが珪藻と緑藻(糸状藻)で異なり、測定光  $F_0$  との相関が得られたのは緑藻であり(図 2)、珪藻では閃光  $F_m$  と一定の相関が得られた(図 1)。まず、礫の付着藻類としての珪藻の場合、元々の全バイオマス量は少ないことが予想されたが、単位面積に換算した値では 5~80mg/m<sup>2</sup> であり、十分な量であるものの、測定光  $F_0$  の段階では珪藻から発せられる蛍光強度がより微弱となった。これは、礫全体を感知しようとして照射位置と礫の距離が 5cm 程度以上離れてしまった影響が考えられる。従って、バイオマスの評価ができるほどの精度を持ち合わせていないことが考えられる。一方、閃光  $F_m$  では傾きが 0.6 以上の関係が得られている。これは、強いエネルギーを放った分だけ

センサーが感知したためである。さらに、溶存有機物濃度を高めた場合との差異は有意でなく、水質による違いを反映することは困難であった。次に、糸状藻類の場合、測定光 F0 の段階で chl-a 量との相関が得られている。これは、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、一部に密集して繁殖するために、多少離れた位置でも一定の蛍光強度を発していることが考えられる。さらに、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。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と考えられる。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 F0 の値が低かったことと一致する。

河川でモニタリングする指標は Chl-a 現存量のみであるが、それだけでは過去の状態を十分反映することにはならず、データが生かされないままであったが、このようなアプローチにより、流域の特性を把握することや環境の変化を予見することができると思う。但し、さらなるデータの積み重ねが必要である。



Upstream	: Pearson Correlation (r) = 0.698
	P level at 0.01 (Significant)
UpstreamDOC	: Pearson Correlation (r) = 0.751
	P level at 0.01 (Significant)



Downstream	: Pearson Correlation (r) = 0.594
	P level at 0.05 (marginal significant)
DownstreamDOC	: Pearson Correlation (r) = 0.600
	P level at 0.05 (marginal significant)

図1 クロロフィル a 量と閃光の関係(珪藻)

図2 クロロフィル a 量と測定光の関係(糸状藻)

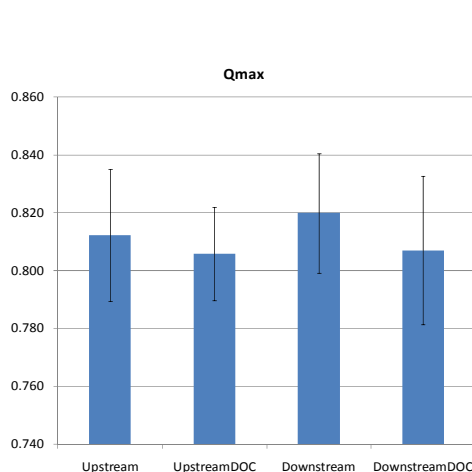


図3 クロロフィル量当たりに換算した量子収率

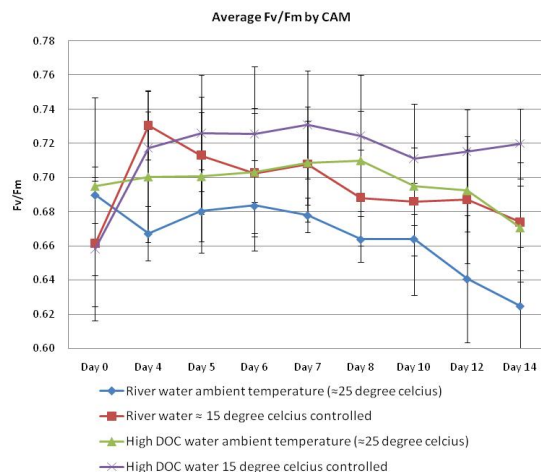


図4 異なる水温・水質に置かれた量子収率の変化