

学位論文の概要

水田施用農薬の水系への流出評価と流出削減技術に関する研究

沼辺 明博

環境動態学専攻

農薬は生理活性の高い化学物質であり、農作物を病虫害や雑草の被害から守り、安定した収穫と品質の向上を目的として、農地などの開放系に直接施用されることから、環境汚染を引き起こす可能性の高い化学物質である。特に、水田は水系と密接に繋がっていることから、水田に施用された農薬が施用直後から高濃度で検出された例が数多く報告されている。

本研究は、販売農薬の地域特性と調査流域への水田農薬施用量の推定法について検討し、水田施用農薬の河川流出調査を茨城県恋瀬川、北海道石狩川水系牛朱別川、同千歳川の3流域で行い、その調査結果をもとに水田施用農薬の流出評価を試みた。また、水田に施用された除草剤の田面水中の濃度変動を調べ、水田からの農薬流出量の削減方法について実証的な検討を行なった。本論文は7章から構成されており、以下にその概要を示す。

第1章 序論

本章では、農耕における病虫害や雑草防除の変遷を振り返り、第二次大戦後における農薬使用量の増大、それに伴う人や漁業への被害、その後の法規制の強化など、本研究の背景を整理し研究の目的について記述した。

人類が農耕を始めて以来、人々は病虫害や雑草に絶えず悩まされ、様々な防除法を編み出し試みてきた。第二次大戦を前後して、欧米を中心に様々な農薬の開発が進められ、日本においても、農薬の種類と施用量が急速に拡大し、水産被害が多発した。そ

のため、農薬取締法を改正し規制を強化するとともに、原因解明を目的とした水質調査が精力的に行われた。しかし、水質調査の多くは水中濃度の把握にとどまり、環境中での動態を定量的に解析した報告は極めて少なかった。その要因として、流出評価に不可欠である河川の流量変動や調査地域における農薬施用量の正確な把握が困難であるためと考えられた。また、水田からの農薬流出量を低減させる実証的な方策についての報告も見られない。本研究では、流出解析に不可欠である、流域への農薬施用量の推定方法について検討するとともに、農薬流出量を定量的に評価し、水田の水管理法の改善による流出量の低減策について検討することを目的とした。

第2章 販売農薬の地域特性と施用量評価

本章では、北海道農業と施用農薬の特徴を整理し、茨城県7農協と北海道4農協の販売農薬調査をもとに、調査流域における農薬施用量の推定法について記述した。

これまで、農薬施用量の推定には都道府県別出荷量を集計した農薬要覧が広く用いられてきた。しかし、北海道内4農協における調査結果から、農薬要覧から得られる出荷農薬と農協からの販売農薬は大きく異なっており、作付け状況の類似した近接した農協であっても販売農薬に違いが見られた。さらに、茨城県内7農協における調査から、同一農協内であっても支所毎に異なった農薬が販売されていた(表1)。このことは、調査流域への農薬施用量を農薬要覧から推定すると大きな誤差の生じることを示

表1 除草剤 CNP とメフェナセットの販売量の比較 (比販売量: g ha⁻¹)

	茨城	TC農協	NH農協	AM農協		TY農協			YS農協									
				全所	支所 AM-3	全所	支所 TY-1	支所 TY-2	支所 TY-3	全所	支所 YS-1	支所 YS-2	支所 YS-3	支所 YS-4	支所 YS-5	支所 YS-6	支所 YS-7	支所 YS-8
CNP	244	60	7	5	0	30	11	73	11	146	93	71	50	374	204	31	113	234
農薬名 Pre	104	69	255	2	12	22	22	36	19	39	32	29	43	24	77	24	34	34
Prz	126	121	123	73	108	132	160	81	150	451	474	421	400	326	252	460	496	672
Mfn	402	292	236	333	486	499	426	517	557	541	716	522	534	436	645	614	431	436
Esp	142	277	341	104	180	83	0	263	0	315	230	129	304	336	159	240	545	544

表2 標準施用面積率 (R) の比較

県農協	191					AM農協				196			
	茨城	IS農協	SK農協	TC農協	NH農協	AM農協				北道	TD農協	NP農協	NG農協
R	1.12	0.36	0.45	0.73	0.93	0.51				1.31	0.86	1.07	1.06
農協所						AM農協							
R						AM-1	AM-2	AM-3	AM-4				
						0.38	0.46	0.81	0.55				
農協	YS農協												
	1.19												
農協所	YS-1	YS-2	YS-3	YS-4	YS-5	YS-6	YS-7	YS-8					
	1.24	1.11	1.19	1.18	1.15	1.12	1.24	1.27					

しており、次善の方法として農協から販売量が有効であり、可能であれば支所別あるいは流域別の販売量を把握することが望ましい。

近年、農協の農薬販売シェアが全国的に低下傾向にあるため、同一水田に重複施用の少ない初期除草剤と一発処理除草剤に着目し、農協からの販売量を単位面積当たりの標準施用量で除して個々の農薬の標準施用面積を求め、その総和と各農協管内の水稲作付面積の比(標準施用面積率: R)を指標に農協の販売シェアを評価した。すなわち、 $R \approx 1$ の地域では農協の販売量で施用量の推定が可能と考えられる。

$$A_i = S_i / P_i \quad R = \sum A_i / A_r$$

(S_i : 除草剤 i の販売量、 P_i : 除草剤 i の標準施用量、 A_r : 水稲作付面積)

その結果、 R の値が0.8~1.2と農協のシェアが高いと推定される地域がある一方で、0.5以下の低い地域のあることが明らかになった(表2)。

第3章 水田施用農薬の流出特性

本章では、茨城県恋瀬川(1991年: 図1(a))、北海道石狩川水系牛朱別川(1995年)および千歳川(1997~99年: 図1(b))の3流域における農薬の流出実態について記述した。

茨城県(図2) 恋瀬川流域では、移植は4月末から5月初旬のゴールデンウィークに集中して行われる。除草剤の検出は移植直後から始まり、移植1~2週間後に濃度ピークが見られた。流出負荷量は降雨により増加し、除草剤は施用最盛期の一降雨(5/15~16: 29mm)で全調査期間の約2割が流出した(小桜川末流: KS-4)。一方、殺虫剤は除草剤より約10日遅れてピークが認められ、同じ一降雨による流出割合は施用最盛期前であったことから1割以下と少なかった。また、高濃度流出期の降雨増水で懸濁態のメフェナセットとMPPが検出されたが懸濁態の流出割合は小さかった。

以上のように、農薬の流出は施用期の降雨により高負荷を与えたことから、農薬の施用時期と降雨を考慮した調査の必要性が示された。さらに、本流域では第二種兼業農家が多いため農作業はおもに土・日に行われ、河川の農薬濃度は週の前半に高く、週末に低下する傾向が見られた。このような地域では農作業が集中する時期を考慮した調査は必要である。

北海道 北海道では、移植は5月中旬から始まり5月末にほぼ終了する。移植前に施用された初期除草

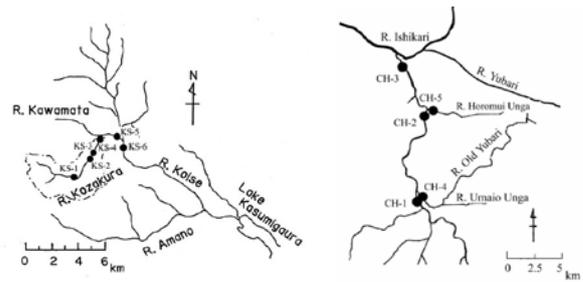


図1 恋瀬川及び千歳川流域における調査地点

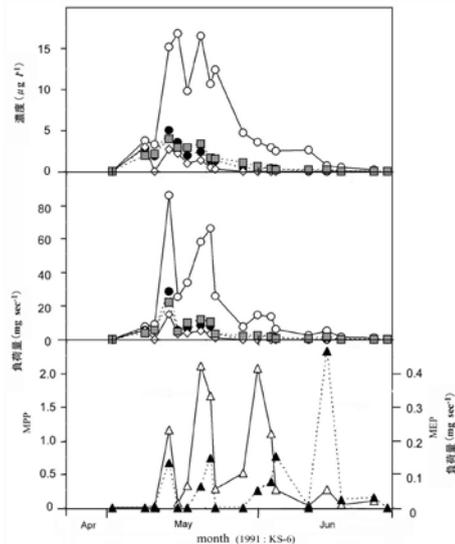


図2 恋瀬川流域における農薬の流出変動

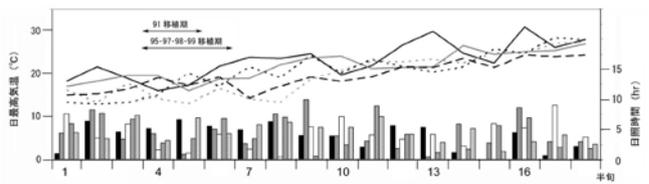


図3 水稲移植期前後の気象の比較 (91年: 4月第3~7月第2半旬, 95,97,98,99年: 5月第5~7月第6半旬)

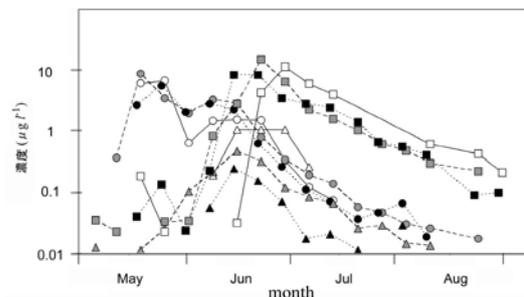


図4 千歳川流域(CH-5)における除草剤流出時期の比較

剤は移植期に高濃度で検出され、移植後に施用された初期剤および一発剤は、恋瀬川流域より約1週間遅く、移植2~3週間後に、中期剤はさらに1~2週間後に濃度ピークが見られた。しかし、1997年の千歳川流域(CH-5地点)で見られるように、移植後に施用された除草剤の濃度ピークが数週間遅れて検出される年もあり、移植後の天候不順で生育が遅れると、除草剤の施用を遅らせる農家の多いことが示唆された(図3、4)。

殺虫剤と殺菌剤は6月末~7月上旬から検出が始まり、ピークは茎葉散布が行われる7月末以降に見られた。

本調査結果から、農薬は防除基準に示された施用時期を反映して検出されたが、気象と生育状況に大きく影響されることが明らかになった。したがって、これらを考慮したモニタリングの実施が必要である。

なお、恋瀬川流域でメフェナセット(規制値: $9 \mu\text{g l}^{-1}$)が、牛朱別川流域でモリネート($5 \mu\text{g l}^{-1}$)が、千歳川流域でモリネートとエスプロカルブ($10 \mu\text{g l}^{-1}$)が一時的に規制値を超えて検出された。

第4章 農薬流出量の定量評価

本章では、農協の販売量で施用量の推定が可能であった恋瀬川流域6地点と千歳川流域2地点において、14除草剤、3殺虫剤、4殺菌剤の流出率を推定した。

流出率は1991年恋瀬川流域 KS-1のピラゾキシフェン0%から1997年千歳川流域 CH-5のシメトリン44%の範囲にあり、全21農薬の流出率 R_p と水溶解度 Sp の関係から次の回帰式が得られた。水面施用農薬はおもにこの回帰線の上方に、その他の農薬は下方に分布した。

$$\log(R_p) = 0.327 \log(Sp) + 0.202$$

(相関係数: $r = 0.500$)

この結果に関してt分布検定を行ったところ、千歳川流域で移植前に施用された初期剤のプレチラクロールとピリブチカルブおよび一発剤ダイムロンが75%有意水準の信頼区間をはずれて高い流出率を示し、恋瀬川流域のMEPは逆に低い流出率であった(図5)。千歳川流域瀬は、移植直前に田面水のほぼ全量が排出されたことから初期剤では流出率が高くなり、一方、恋瀬川流域のMEPは他の農薬と異なり、降雨後のみ検出されたことから、周辺の樹園地から流出と考えられた。ダイムロンは他の農薬と異なった挙動を示すものと考えられる。これらの4

農薬を除き、水面施用農薬とその他の農薬に分けて相関を求め、次の2式を得た。

水面施用農薬:

$$\log(R_p) = 0.258 \log(Sp) + 0.567 \quad (r = 0.749)$$
 その他の農薬:

$$\log(R_p) = 0.392 \log(Sp) - 0.328 \quad (r = 0.899)$$

なお、水面に施用された農薬の流出率は、過去の報告より高い傾向を示し、丸がライシメーターを用いたかけ流し試験から得られた流出率に近い値であった。

第5章 田面水中の除草剤濃度変化から見た止水期間の検討

本章では、実際に稲作が行われている農家の水田を用い、移植前後に施用された8除草剤の田面水中の濃度推移について記述した。

農薬を水面施用した水田は、施用後3~5日間は湛水状態(20~60 mm)を保ち、この間、落水・かけ流しは行わないように指示されており、そうすることにより高濃度流出は抑えられるとされていた。

田面水中の除草剤の濃度は方対数グラフ上で直線的に減少し(図6)、次式で示された。

$$C_p = C_{p0} \cdot \exp(-kt)$$

(C_p : t日後の濃度、 C_{p0} : 初期濃度、 k : 減少速度定数)

本式から求めた半減期は、一発剤プレチラクロール、エスプロカルブの1.2日から中期剤シメトリンの4.9日の範囲にあり、施用後3~5日の止水期間で

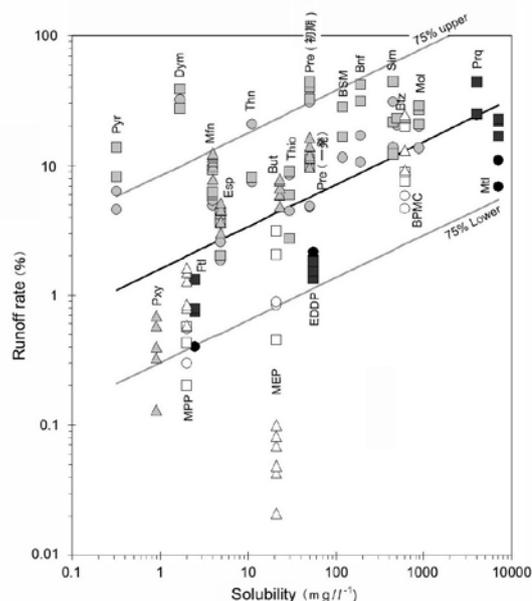
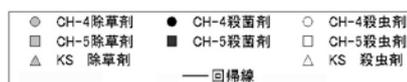


図5 農薬の流出率と水溶解度の関係



は田面水の濃度低下は不十分であり、少なくとも一週間の止水期間を必要とすることが示された。また、第4章で得られた流出率は4日後の残存率に近く、施用後、日にちを置かずに田面水が流出している可能性が示唆された。

その後、同様の調査結果が報告され、湛水状態で施用される農薬の使用上の注意は、「散布後7日間は落水・かけ流しは行わない」ように変更されている。

第6章 かけ流し灌漑水田からの農薬排出量の削減

本章では、かけ流しによる水田からの流出量の削減法について、中期除草剤モリネートとシメトリンを用いて行った二つの検討結果について記述した。水口併設排水口法 湛水状態の水田に灌漑水を補給すると、田面水は水尻側に押水されて水口近傍の農薬濃度が低下することに着目し、水尻排水口を閉じ、水口から4mの位置に新たに排水口を設けた。

除草剤施用後、灌漑水を231m³ ha⁻¹補給し、水口併設排水口から56 m³ ha⁻¹が排出された。本実験において、給水中に水口併設排水口から流出したモリネートとシメトリンの正味の流出量はそれぞれ0.114、0.035 g ha⁻¹と見積もられ、水尻からの推定流出量(5.48、1.44 g ha⁻¹)に対して98%が削減された(表3)。ただし、給水の停止後は、田面水の押し戻し等により農薬の流出量が増加することから、直ちに排水口を閉じる必要がある。また、降雨流出には対応できない。

調整水田法 水田排水を、休耕田(調整水田)を通過させて排出することにより、調整水田での吸着、分解、貯留等の効果を期待する方法である。

実験期間中(88時間)、調整水田に1,900m³ ha⁻¹の排水が流入し、1,570m³ ha⁻¹が流出した。本実験に

よる調整水田でのモリネートとシメトリンの流出削減率は、それぞれ46、60%と計算された。調整水田田面水への残存量は、全削減量の15、10%に過ぎず、削減された農薬の85、90%が調整水田の土壌への吸着、あるいは調整水田での分解により除去されたものと推測された(表4)。本方法は、調整水田の面積及び湛水深を調整することにより、より高い削減効果が期待でき、降雨流出にも有効と考えられる。

第7章 総括

本章では、本研究の結果について総括し、各章毎にまとめて記述した。

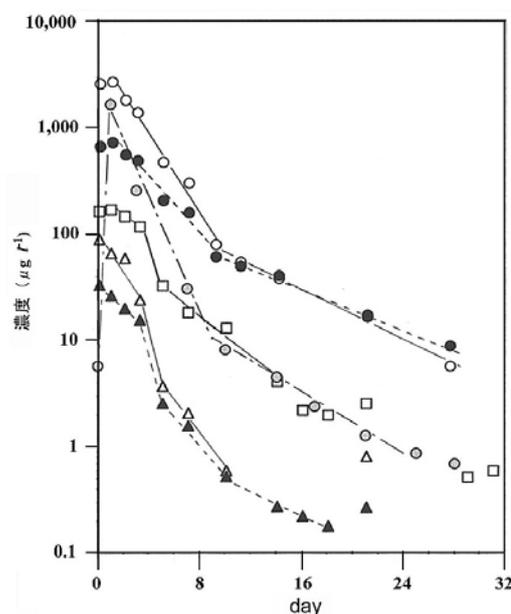


図6 田面水中のおもな除草剤の濃度変化

□Pre(97.5:B) △T-Pyr(97.5:B) ▲S-Pyr(97.5:B)
○Mol(99.6:C) ●Sim(99.6:C) ○Esp(97.6:A)

表3 水口併設排水口による農薬流出量の削減効果

	水量 (m ³ ha ⁻¹)	(g ha ⁻¹)	
		Mol	Sim
施量 (a)		2,340	439
流量 (b)	1,900	477	83.0
流量 (c)	1,570	257	32.8
調整田面残量	540	32.2	5.04
施用剤の流量率 (b/a; %)		20.4	18.9
調整剤の流量率 (c/a; %)		11.0	7.5
削減 (%)		(46.1)	(60.5)

(a), (b), (c): 農薬換算

表4 調整水田による農薬流出量の削減効果

	水量 (m ³ ha ⁻¹)	(g ha ⁻¹)	
		Mol	Sim
施量 (a)		2,340	439
流量 (b)	1,900	477	83.0
流量 (c)	1,570	257	32.8
調整田面残量	540	32.2	5.04
施用剤の流量率 (b/a; %)		20.4	18.9
調整剤の流量率 (c/a; %)		11.0	7.5
削減 (%)		(46.1)	(60.5)

(a), (b), (c): 農薬換算

宍道湖におけるリンの収支に関する研究

神谷 宏

環境動態学専攻

要 旨

浅い汽水湖である宍道湖においてリンの収支計算を試みた。そのためには正確なリンの流入負荷量と堆積物からの回帰量を明らかにする必要がある。そこで、宍道湖集水域の75%を占める斐伊川で毎日採水を行い、国土交通省の河川流量とあわせてL-Q式を作成した。また、堆積物からのリンの回帰量やその化学形態を明らかにするため、現場における蓄積速度の測定やコアを用いた室内実験によるリンの溶出速度の測定を行った。さらに河川流量と塩分の保存式を用いて、大橋川からの逆流量を計算し、各流量と月ごとに行われている定期調査の結果を用いて1993年度から2002年度までの10年間の宍道湖におけるリンの収支計算を行った。その結果、10年間の平均で宍道湖へは流域(大橋川を含む)から年間131tonのリンが流入し、湖底に沈降するものは65ton、湖底から溶出するものは44tonで、流入するリンの16%が湖底に堆積している結果となった。

宍道湖への流入負荷量の長期的変化

宍道湖流域では水質保全のために様々な施策がとられており、その進行状況は宍道湖水質保全計画により確認されている。しかし、計画通り実行された施策によって実際に宍道湖への負荷量がどのようになったかの検証は行われていない。筆者らは宍道湖に流入する水量の75%を占める斐伊川で、1983-1984年にまたぐ1年間に、日曜日を除く毎日採水を行い負荷量を実測した(調査1)。この調査から18年後の2001-2002年にまたぐ1年間に同様な調査を行った(調査2)。これら2回の調査結果を比較することにより、実際の負荷量がどう変化したのかを把握した。また、宍道湖水質保全計画で計算された各年度の発生負荷量と実測による負荷量を比較することにより、計算による負荷が妥当なものであるのかの検証を行った。

調査1で得られた年間負荷量はTNが857トン、TPが96トンであった。調査2から得られたL-Q式は、

TNが、

$$\text{Log } L = -3.87 + 1.39 \log F \quad (r = 0.98)$$

TPが、

$$\text{Log } L = -5.60 + 1.69 \log F \quad (r = 0.90)$$

であった。ここで、 $L = (\text{kg s}^{-1})$ 、 $F = (\text{m}^3 \text{s}^{-1})$ である。この式から得られた年間負荷量は、TNが922トン、TPが62トンで、調査1の結果と比較すると、TNが上昇、TPが減少という結果となった。図1に2回の調査結果と各年度の発生負荷量の比較を示す。参考に各年度の斐伊川流量を示している。TPについては2回の調査結果と各年度の発生負荷量の減少傾向が一致しており、斐伊川のTP負荷量は減少したと考えられた。一方TNについては発生負荷量が減少しているものの2回の調査結果は増加したことを示している。TNのみが増加した理由としては、降水中のTN濃度の上昇が考えられた。その原因としては、中国大陸における化石燃料の使用量の増加に伴う窒素化合物の増加が影響していると思われ、いわゆる越境汚染が発生しているためと考えられた。

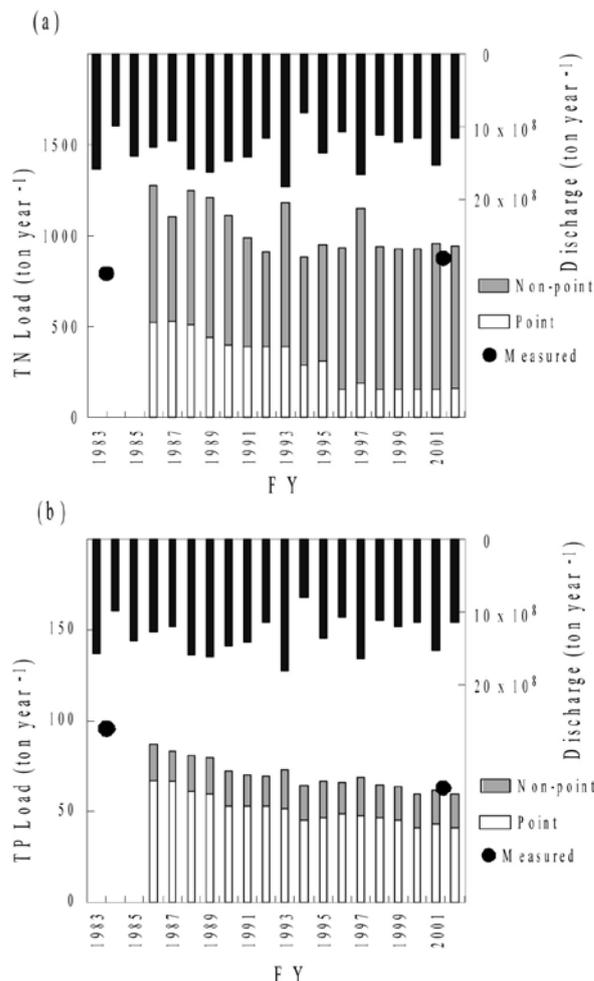


図1 実測負荷量と発生負荷量の年変化

夏季の宍道湖の底層水に蓄積する栄養塩の起源

堆積物からの栄養塩の溶出フラックスの測定には、間隙水の鉛直濃度測定と拡散係数から計算する間接的方法と、直接的方法とがある。直接法には大きく分けて現場堆積物を用いた室内実験法とチャンバーを用いた現場測定法がある。また、同時に両方の方法で堆積物からの溶出フラックスを測定し、それぞれの結果について比較したものもある。これら2つの方法はいずれも堆積物及びその上層を覆っている直上水を容器を用いて隔離し、一定時間毎に容器内の水の栄養塩濃度を測定してその変化を堆積物からの溶出フラックスとして算出するものである。しかし、容器内の水中には植物プランクトンや細菌を含む懸濁物が存在し、その活動によっても栄養塩濃度は変化すると考えられるが、その影響については現場測定法では考慮されていない。また、室内実験法では採取時のそのままの堆積物と直上水とで実験を行ったもの、採取時の直上水を実験室で除き、同時に現場で採水した底層水に交換してから実験を行ったもの、堆積物を覆っている水をろ過した現場底層水に交換した後実験を行ったものなどがあるが、いずれも水中における溶存もしくは懸濁有機物からの栄養塩の分解無機化についての考察は行われていない。そこで、塩分成層が形成された宍道湖の底層水中に蓄積する栄養塩の供給源として堆積物からの溶出と水中での分解無機化の双方を対象とし、宍道湖底層における栄養塩の蓄積状況の観測を行うと共に、室内実験による堆積物からの溶出速度の測定、並びに湖水のみの系での栄養塩の分解無機化速度の測定を同時に行うことによりどちらがより大きく寄与しているのかの解明を行った。

野外調査は1994年8月6、8、15、25、29に行った。栄養塩の蓄積速度を計算するために、アクリルパイプを船上から堆積物へ差し込む方法で採取し分析を行った。それぞれの期間において、宍道湖底層水中に蓄積するSRP及びNH₄-Nを堆積物からの寄与と仮定した場合の溶出速度はそれぞれ7.2~30.3 mg m⁻² day⁻²、17.2~64.3 mg m⁻² day⁻¹であった。一方、室内実験装置の実験結果ではSRP及びNH₄-Nの堆積物からの溶出速度はそれぞれ2.7~23 mg m⁻² day⁻¹、2.1~8.5 mg m⁻² day⁻¹であった。野外調査結果と室内実験結果を比較した場合、SRPに関してはおおむね同程度の速度であったが、NH₄-Nに関しては室内実験の方がかなり低い速度となった。

湖水のみの系での栄養塩の分解無機化速度の測定は好気及び嫌気条件で行い、0、24、48、72時間後の栄養塩濃度を測定した。実験期間中、実験系の温度はおおむね29.5~30.0℃の範囲であった。分析し

た栄養塩のうち、NH₄-Nは嫌気、好気条件ともに培養開始から24時間後までは濃度がわずかに減少したが、48時間後から74時間後の間に急速に増加した。またSRPも培養開始から24時間後までは濃度が若干減少したが、48時間後から72時間後に濃度が増加した。また嫌気条件の方が好気条件よりもやや高い濃度を示した。分解実験に用いた宍道湖表層水のTP、TNはそれぞれ76 µg l⁻¹、400 µg l⁻¹であったが、72時間の培養でSRPが7 µg l⁻¹、NH₄-Nが50 µg l⁻¹増加した。リンに関してはTPの9%が、窒素に関してはTNの13%が無機化した計算になる。8月6日の宍道湖の懸濁物質濃度は上層(表層)のPN、PPがそれぞれ176、28 µg l⁻¹で、下層(湖底から70cm)がそれぞれ239、34 µg l⁻¹であり、両項目とも下層のほうが若干高めであった。宍道湖下層においても有機態の窒素、リンの無機化は起きており、また、宍道湖下層は貧酸素化しているため分解層であると考えられる。PN及びPPが下層の方が若干多かったことから、底層における無機化の速度は表層水を用いた今回の分解実験結果よりも大きいことは十分予想される。一方、8月6日から8日の48時間で現場堆積物直上でのSRPの濃度は165 µg l⁻¹から320 µg l⁻¹に、NH₄-Nでは900 µg l⁻¹から1000 µg l⁻¹にそれぞれ155 µg l⁻¹、100 µg l⁻¹増加した。以上より、宍道湖底層水中でのSRP、NH₄-Nの濃度の増加、それぞれ155 µg l⁻¹、100 µg l⁻¹に関して、SRPは室内実験のフラックスで充足説明できるが、NH₄-Nは堆積物からの拡散・溶出によるフラックスでは不十分で、これ以外に底層水中での有機物の分解に伴う窒素の無機化による供給があると考えられた。宍道湖の底層水中におけるNH₄-Nの蓄積に関しては少なくともSRPに見られたような拡散・溶出による堆積物からの溶出の割合は小さいと考えられる。よって、宍道湖の底層に蓄積する栄養塩のうち、SRPについてはそのほとんどが堆積物からの溶出によってもたらされたものであるが、レッドフィールド比が示すように、植物プランクトンの分解・無機化によって窒素はリンに比較すると多く水中へ放出されるので、NH₄-Nについては、沈降して間もない新生堆積物の分解・無機化(堆積後1日程度で溶出するもの)や懸濁物や溶存物の無機化によって底層水中に蓄積している割合が大きいといえる。

堆積物からのDOPとSRPの溶出

間隙水中のSRPは拡散輸送によって堆積物表面方向へ移動するが、その際堆積物表面が酸化されていけば、鉄(III)の水和酸化物に吸着される。堆積

物からのSRPの溶出に影響する因子については、堆積物内部における反応や吸着過程のほかに、堆積物直上水の溶存酸素(DO)濃度や水温、堆積物直上水の流動等との関係が指摘されている。貧酸素条件下での溶出速度とDO濃度との関係については手賀沼での実験及びそれから求めた理論式や宍道湖での報告等があり、それらの結果から、貧酸素下におけるSRPの溶出速度とDO濃度との間には1次式の関係が見出されている。貧酸素条件下でSRPの溶出速度とDO濃度との間に1次式の関係が成立するのは、SRPの吸着相手である鉄イオンの酸化還元反応が貧酸素下において1次式の関係が成立するためであると考えられている。また、マンガンイオンがSRPの溶出に関与している可能性も指摘されている。更に、堆積物直上水の流動によってSRPの溶出速度が増加することも指摘されている。

SRPの溶出に関する研究は以上のように進んできているが、堆積物からのリンの回帰による内部負荷を把握するためにはSRP以外のリンも含めて考える必要がある。堆積物の間隙水中にはSRP以外にDOPの存在量も大きく、湖水中でもDOPの存在割合は大きい。SRPの溶出が堆積物からの拡散輸送であれば、DOPも同様に溶出している可能性がある。そこで、

- 1) 堆積物からDOPの形態で溶出するリンが存在するか。
- 2) 直上水のDO濃度が低下した場合、堆積物表面で鉄等の金属酸化物に吸着していたSRPの溶出フラックスが増大するか。
- 3) DOPの形態で溶出した場合、水中でその後どのようなようになるのか。

について実験を行った。その結果、以下のことが明らかとなった。

- ① 堆積物からのSRP及びDOPの溶出フラックスが存在する。
- ② DOP溶出フラックスには堆積物表層での有機物の分解に伴って溶出するもの及び堆積物間隙水中に存在するDOPが拡散輸送されるものに分けられる。
- ③ 堆積物表層での有機物の分解に伴って溶出するDOP溶出フラックスは実験初期において

高い。

- ④ 湖水が好気的な期間に堆積物の内部から表面へ輸送されて、鉄(Ⅲ)の酸化水和物(hydrous ferric oxide : HFO)等に吸着されていたSRPが湖水の嫌気化に伴って溶出する可能性がある。

湖水に対する堆積物からのリンの負荷は、現在、貧酸素化に伴うSRPの溶出のみが取扱われており、しかも溶出過程は堆積物内部からの拡散輸送によるものとして議論されている。しかし、堆積物表面での有機物の分解に伴うDOPの放出や、間隙水中に存在するDOPの拡散輸送による水中への負荷が存在し、また、湖水の好気的な期間に堆積物の内部から拡散してきた後堆積物表層で吸着されているSRPが、湖水の嫌気化に伴って急激に溶出することを考慮する必要があることが明らかとなった。

宍道湖におけるリン収支

日本のような緯度にある湖沼の中で比較的水深の浅い湖沼では、主に夏季に泥温の上昇により堆積物からのリンの溶出が増加する。リンの溶出速度は前述のように様々な方法で測定されているが、実際の環境では条件が複雑に絡み合っており、年間のリン溶出フラックスを一部しか評価できない。特に宍道湖においては、中海からの高塩分水の流入に伴って急速に発達する塩分成層によって引き起こされる溶存酸素の枯渇によりリンの溶出は加速される。そのため、堆積物からの年間のリン溶出フラックスを推定することは困難である。

日本の湖沼では富栄養化対策が四半世紀以上行われているが、特に重点的に対策が進められている11湖沼の中でも、湖水の全リン濃度が減少したのは2湖沼だけである。このことから堆積物からのリンの供給量を正確に見積もることは、対策の重点をどこに置くかを定める上でも重要になってくる。そこで、宍道湖と、物理環境の異なる隣接した2つの汽水域において、淡水の流入量、湖水の塩化物イオンの変化量、湖水中のリン濃度の変化及び湖に流入するリンの負荷量を用いて、月毎のリンの堆積物からの溶出量や各水域の年間のリン収支についての計算を試みた。

宍道湖への中海からの月間平均流入量は1993年1月から2002年12月までの10年間の平均値で約 $0.42 \times 10^8 \text{ m}^3$ であった。宍道湖への月平均淡水流入量 $1.45 \times 10^8 \text{ m}^3$ の29%に相当した。下流からの流入量を考慮した3つの水域における1993年から2002年まで

の10年間のリンの流入量、流出量及び沈降量の計算を行った。リンの流入量に対するリンの沈降量の割合は、宍道湖で16%、中海で-8%、本庄水域で3%であった。1994年8月6日から8月29日まで、宍道湖湖心において成層内部でのSRPの濃度変化から計算した堆積物からの溶出速度は $14.8 \text{ mg m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ であった。この期間中は常に塩分成層が観測され、成層下部は貧酸素状態が継続したことが確認されている。一方、今回計算したほとんど同時期(1994年8月1日から9月1日)のリンの溶出速度は $10.2 \text{ mg m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ で、同程度の結果が得られたと考えられた。

水温とTPの見かけの溶出速度の関係を図2に示す。ばらつきはあるが、水温が高くなるほど溶出速度は大きくなる傾向が見られた。しかし中海については赤潮の発生・終息に伴う大きな溶出・沈降が比較的低温時に観測された。計算を行った10年間の10月の溶出速度を黒丸で示す。宍道湖及び本庄水域においては比較的高水温にもかかわらず、ほとんどが負の値、つまりTPが沈降していた。一方、中海では10月のデータのほとんどが正の値となり、宍道湖及び本庄水域とは反対にTPの溶出が卓越している結果となった。宍道湖及び本庄水域で10月に水温が高いにもかかわらず沈降が卓越するのはおそらく湖底にDOが供給されたためと考えられた。しかし、中海では下層のDOが低いままで、そのため溶出が卓越したのと考えられた。宍道湖の10月のデータのうち黒の矢印で示したのは1993年10月のデータであるが正の値であった。この年は8月に湖容量に匹敵するほどの大きな出水があり、この影響を受け9、10月とも塩分成層が消滅せず、成層下部は貧酸素素であった。このため、1993年の10月は宍道湖では十分にDOが堆積物へ供給されず、TPが溶出したと考えられた。なお、中海の結果で白抜き矢印で示したデータは1997年10月のものである。この年は9月に赤潮が発生し10月には消滅したために現存量が大きく減少し、その結果大きな沈降速度が得られたと考えられた。

結 論

TPに関しては、流入負荷量を実測し、原単位法で積算された発生負荷量を比較することによって、原単位法での積算がおおむね妥当な数値であることが分かった。TNに関しては、実測負荷量と原単位法で積算された発生負荷量に矛盾があり、この原因は流域外からの越境汚染である可能性が高いことが分かった。堆積物からの内部負荷についての知見が得られた。宍道湖におけるリンの収支が明らかとなった。環境省は全国の湖沼の水質改善が進まない

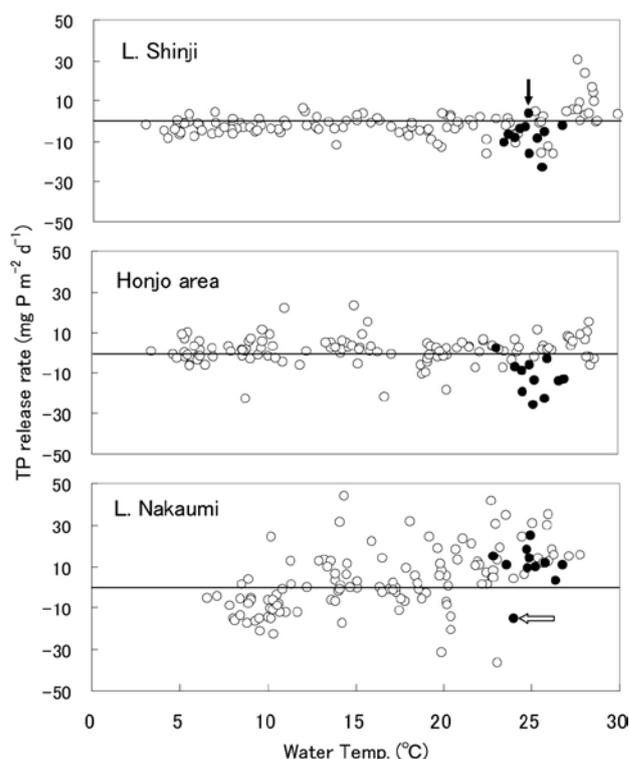


図2 3つの水域における溶出速度と水温の関係

ため、2002年度～2004年度にかけて、水質が改善されない理由と要因を検討する「湖沼水質保全対策・総合レビュー検討調査」(レビュー調査)を実施した。レビュー調査の結論は、『発生源対策が精力的に実施されてきたにもかかわらず、多くの湖沼で水質が改善されない最大の理由は、対策効果と湖沼水質の関係を定量的に評価するために必要な最低限の科学的知見と適正なデータが不足しているためである』であった。本研究ではこの指摘に対してわずかではあるが科学的根拠が提示できた。特に発生負荷量に関しては、積算はされているものの今まで検証を行った例はない。また、湖の栄養塩の収支を明らかにした例もなかった。収支が解明できれば今後どのような負荷削減対策を取ればいいのか、最も効果的に施策を展開していくのかの方向性が明確となる。

サイズ分画した植物プランクトンの増殖に対するリン制限に関する研究 -琵琶湖とバイカル湖を比較して-

紀平 征希

環境動態学専攻

1. はじめに

琵琶湖は面積が669km²、最大水深が104mを有する日本で最も大きな湖である。また、その大きさや地形の複雑さなどから多様な生物相を持つ湖でもある。そして琵琶湖の長い歴史において、琵琶湖の生物は環境に適応し、進化し続け、琵琶湖独自の生態系を築きあげてきた。しかしながら、ここ数十年の間で、我々人間活動により琵琶湖が窮地に陥りつつある。今日に至るまで、琵琶湖は私たちに様々なことを問いかけてきた。

その最たる原因は人間活動に伴う富栄養化である。人間活動による窒素やリンの湖沼や海洋への負荷は富栄養化を導き、赤潮やアオコといった植物プランクトンの大増殖によるブルームを引き起こす。そして、このような現象は我々人間活動に竹筥返しをもたらし、また水圏生態系の構造や機能にも影響をもたらす。このように、富栄養化に伴う生態系構造や機能の変化について理解することは琵琶湖環境の修復・保全を考える上でも重要なことである。

水圏生態系において、植物プランクトン群集のサイズ構造は沈降、食物網、微生物ループなどの物質循環に大きく関与している。それゆえ、水圏生態系における植物プランクトンがどのような生理状態でどのように分布変動しているのかをサイズ別にみることは重要となる。

従来、琵琶湖における植物プランクトンの増殖はリンによって制限されると評価されてきた。そのほとんどは溶存無機窒素と溶存無機リンの比(DIN:DIP比)や懸濁態炭素と懸濁態リンの比(PC:PP比)などの生元素比から評価したものであり、植物プランクトンの増殖速度を直接的に見る栄養塩添加培養実験などによる評価の報告は少ない。

このようにリン制限の評価は、方法によって対象となるものが異なるため、結果も違ったものになる可能性がある。そのためリン制限の各方法の相互比較が必要である。また、これまでの琵琶湖でのリン制限評価は植物プランクトン群集全体としての評価がほとんどである。それゆえ、植物プランクトンのサイズによって評価が異なることも考えられる。

バイカル湖はロシア・シベリア南東部に位置する世界一の水深をもった貧栄養湖である。しかしながら、近年は集水域の開発などに伴い、河口域では富

栄養化が深刻な問題となっている。長い年月が経って、沖帯に影響を及ぼす可能性も考えられ、長期的な富栄養化過程での植物プランクトンの動態を把握するのに適したフィールドであると考えられる。このような貧栄養湖であるバイカル湖と中栄養湖である琵琶湖を比較することは、比較湖沼学の点からも重要だと考えられる。また比較することにより、貧栄養から富栄養への進行過程に伴う、植物プランクトン群集のサイズ構造の生理学的・生態学的な位置付けが明らかになり、水界における富栄養化の進行を予測するのに役立つことが期待される。

そこで本研究では、まず琵琶湖において、植物プランクトン群集の時空間変動をサイズ別(0.7-2.7 μmと>2.7 μm)に明らかにした。次に、サイズ分画した琵琶湖の植物プランクトン群集を用いて、数種類の方法によりリン制限の評価について比較した。そしてロシアのバイカル湖において植物プランクトン群集のサイズ構造とそのリンの栄養状態について調べ、琵琶湖の結果と比較した。

2. 琵琶湖におけるサイズ分画した植物プランクトン現存量の時空間分布変動

琵琶湖におけるサイズ別植物プランクトン群集の時空間分布変動について、北湖最深部付近の地点で季節的に調べた。加えて、琵琶湖全域57地点において広域の水平分布を調べた。クロロフィルa(Chl a)のサイズ分画はガラス繊維ろ紙を用いて、0.7-2.7 μm画分と>2.7 μm画分に分画した。

有光層または表面水において、DIN濃度は夏季に低くなり、冬季に高くなった。一方、DIP濃度は低く、季節変動はみられなかった。サイズ分画した植物プランクトン現存量の季節変化において、0.7-2.7 μm画分は5月と夏季にピークが見られた。一方、>2.7 μm画分は夏季に大きく減少し、そのため全植物プランクトンに占める0.7-2.7 μm画分の植物プランクトンの寄与が夏季に高くなった(図1)。

琵琶湖全域において、0.7-2.7 μm画分はほぼ均一に分布していた。一方、>2.7 μm画分は北湖の北部で低かった。そのため全植物プランクトンに占める0.7-2.7 μm画分のChlaの割合は北湖の北部で高くなった(図2)。

以上のことから、栄養塩濃度が減少する夏季や、

南湖に比べて貧栄養な北湖では、群集全体に占める0.7-2.7 μm 画分の植物プランクトン寄与が高まり、植物プランクトンのサイズ構造は湖の栄養状態によって影響をうけることが示唆された。

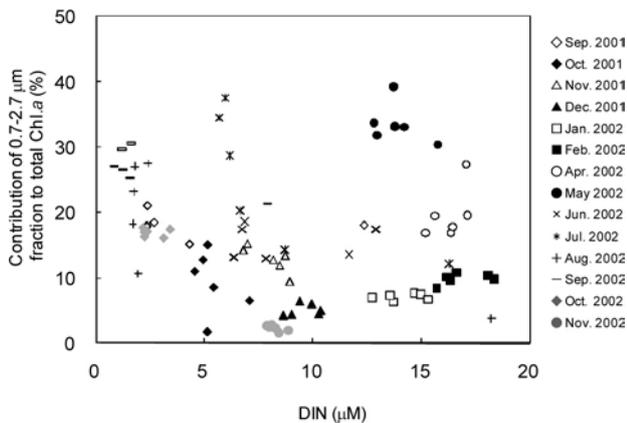


図1. 琵琶湖北湖最深部付近の深度15 m 以浅におけるDIN濃度と全植物プランクトンに占める0.7-2.7 μm 画分のChl.aの割合の関係



図2. 琵琶湖全域における全植物プランクトンに占める0.7-2.7 μm 画分のChl.aの割合の水平分布

3. 琵琶湖におけるサイズ分画した植物プランクトンのリン制限評価

サイズ分画した植物プランクトン群集のリン制限を評価するために、植物プランクトンを <2.7 μm 、5-63 μm 、63-200 μm に分画し、それらのPC:PP比、アルカリホスファターゼ活性と懸濁態リンの比

(APA:PP比)を測定し、栄養塩添加培養実験も行った。また、Surplus P (過剰リン) についてもサイズ分画し (0.7-2.7 μm 画分と >2.7 μm 画分) 測定した。

栄養塩添加培養実験について、4つの栄養塩添加処理区を設けた。つまり、栄養塩無添加 (Control)、窒素添加 (+N)、リン添加 (+P)、窒素+リン添加 (+NP) である。添加物は窒素源として硝酸カリウム (KNO_3) と塩化アンモニウム (NH_4Cl)、リン源としてリン酸二水素カリウム (KH_2PO_4) を用いた。それぞれの栄養塩添加区に最終添加濃度が20 μM ($\text{KNO}_3\text{-N}$: 10 μM + $\text{NH}_4\text{Cl-N}$: 10 μM)、2 μM ($\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-P}$: 2 μM) となるように添加した。これらの試料は野外水槽で24時間培養した。そして、培養前後のChl.aから植物プランクトンの増殖速度を算出した。

Surplus P (過剰リン) は、試料をろ過したろ紙試料を純水中に入れ、100°Cで1時間煮沸させ熱抽出した。その熱抽出した上澄み液のDIPを過剰リンとした。環境水中のリン酸が枯渇すると、植物プランクトンはこの過剰リンをリン酸に分解し、それを代謝や成長に使うことが知られている。

リン制限の評価として、DIN:DIP比は16以上 (Redfield 1958)、PC:PP比 (モル比) は129以上、APA:PP比は0.03 $\text{nmol-P } \mu\text{g PP}^{-1} \text{ min}^{-1}$ 以上 (Healey and Hendzel 1979, 1980) でリン制限と評価した。また、栄養塩添加培養実験では、Controlに比べてリン添加区で有意な増殖が見られたものをリン制限とした。

サイズ分画した植物プランクトンの生理状態は、リン制限と判断される期間が長かった。リン制限を評価する方法の比較において、DIN:DIP比、PC:PP比、APA:PP比はほぼ一致した。栄養塩添加培養実験では、サイズにより異なる応答が見られた (表1)。具体的には、夏季の小型の植物プランクトンではリン制限であるのに対し、大型の植物プランクトンではリン制限ではないと評価された。また、過剰リンとPCの比は、0.7-2.7 μm 画分よりも >2.7 μm 画分で高かった。つまり、夏季の大型植物プランクトンは細胞内の過剰リンを使って増殖をまかっている

ことが考えられる。このことは、栄養塩添加培養実験での評価は他の方法では現れない評価を明示していると考えられる。

表1. 各種方法によるリン制限評価。P はリン制限, - はリン制限ではないを示す。

		Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Dec
DIN:DIP		P	P	P	P	P	P	P	P
PC:PP	0.7-2.7 μm	P	P	P	P	P	P	P	P
	5-63 μm	P	P	P	P	P	P	P	P
APA:PP	63-200 μm	P	P	P	P	P	P	P	P
	0.7-2.7 μm	P	P	P	P	P	P	P	-
Enrich growth rate	5-63 μm	-	P	P	P	P	P	P	-
	63-200 μm	P	P	P	P	P	P	P	-
Enrich growth rate	0.7-2.7 μm	-	P	P	P	P	P	-	-
	5-63 μm	P	P	P	P	P	-	-	-
	63-200 μm	P	P	P	P	-	-	-	-

4. バイカル湖におけるサイズ分画した植物プランクトンの空間的分布とその栄養状態

バイカル湖広域 15 地点と富栄養化が進行しているバルグジン湾河口域から沖帯へかけての 6 地点 (M1 ~ M6) において (図 3)、サイズ分画した植物プランクトン (0.7-2.7 μm と $>2.7 \mu\text{m}$) の空間分布ならびにそれらの PC : PP 比からリン制限について評価した。またバイカル湖最深部付近 (地点 10) の表面水を用い、リン添加培養実験を行った。

バイカル湖における DIN 濃度は琵琶湖に比べて低かった。また DIP 濃度は、琵琶湖とほぼ同様であったが、バルグジン川河口では他の地点に比べて約 5 倍高く、河川からのリン流入の影響がみられた。バイカル湖の表面水において全植物プランクトンに占める 0.7-2.7 μm 画分の Chl. a の割合は平均 35% であり、なかには 50% を超える地点もあった (図 4)。この割合は琵琶湖に比べて高かった。一方、バルグジン湾河口の富栄養化した地点 (M1) においては、 $>2.7 \mu\text{m}$ 画分の寄与がほとんどを占めていた。さらに、河口から沖へ、つまり貧栄養になるにつれて、全植物プランクトンに占める 0.7-2.7 μm 画分の Chl. a の割合は増加した。PC:PP 比から植物プランクトン群集の栄養状態は、Healey and Hendzel (1979, 1980) の指標より、0.7-2.7 μm 画分ではリン制限を受けておらず、 $>2.7 \mu\text{m}$ 画分では中程度のリン制限を受けていることが示唆された (図 5)。バイカル湖における両画分の PC : PP 比は琵琶湖の PC : PP 比に比べて低かった。リン添加培養実験において、両画分ともリン制限と判断することはできなかつ

た。これらのことから、植物プランクトン群集のリン制限の程度を琵琶湖と比較した場合、バイカル湖ではリン制限が琵琶湖に比べて緩やかであると判断された。

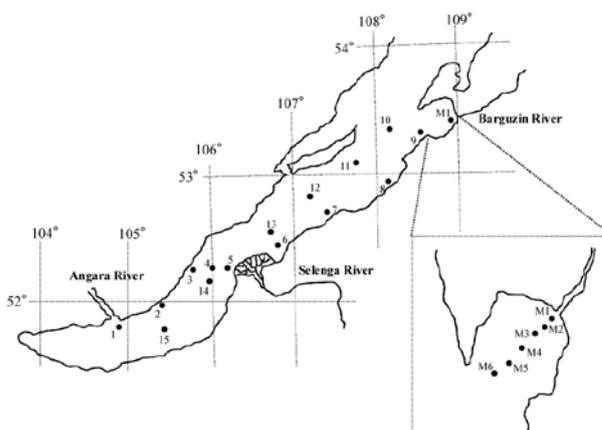


図3. バイカル湖における採水地点

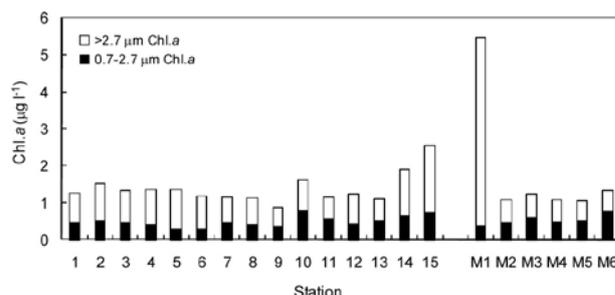


図4. バイカル湖におけるサイズ分画した Chl. a の水平分布

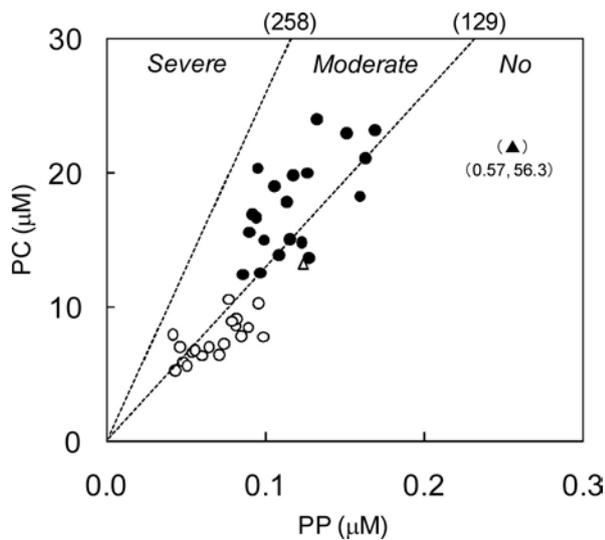


図5. バイカル湖表面水における $>2.7\mu\text{m}$ 画分と $0.7\text{--}2.7\mu\text{m}$ 画分の植物プランクトンのPCとPPの関係。○は地点M1を除く地点の $0.7\text{--}2.7\mu\text{m}$ 画分、●は地点M1を除く地点の $>2.7\mu\text{m}$ 画分、△は地点M1の $0.7\text{--}2.7\mu\text{m}$ 画分、▲は地点M1の $>2.7\mu\text{m}$ 画分を示す。破線は厳しいリン制限 (Severe)、中程度のリン制限 (Moderate)、リン制限ではない (No) の範囲を示す。129、258は Healey and Hendzel (1979, 1980) によるリン制限の指標値を表す。

5. まとめ

植物プランクトンのサイズ構造において、琵琶湖での季節変化や水平分布、バイカル湖のバルゲジン湾河口から沖帯にかけての水平分布、琵琶湖とバイカル湖の比較の結果から、湖の栄養状態が植物プランクトン群集のサイズ構造に影響を与える要因の一つであることが明らかになった。また、植物プランクトン群集のリン制限の程度を比較した場合、バイカル湖に比べて琵琶湖の方で、リン制限が厳しいと判断された。

各方法によるリン制限評価の比較において、栄養塩添加培養実験で他の方法と異なる結果が得られたことは、従来、よく用いられている DIN:DIP 比や PC:PP 比では現れない評価を明示している可能性がある。また、栄養塩の枯渇した時期における栄養塩添加培養実験での大型と小型植物プランクトンのリン制限評価の相違について、栄養塩の摂取能よりも貯蔵能のほうが増殖には有利なことが示唆された。それゆえ今後、リン制限を単に生元素の現存量やその比によってのみ判断するのではなく、複数の方法による評価を総合して判断する必要がある。

物質フローを組み込んだ地域産業連関表の作成と分析 —滋賀県を事例として—

吉田 徹

環境計画学専攻

研究の背景と意義

経済政策はこれまで全国規模で行われてきたが、今後は地域レベルでの経済政策が重要である。それは近年の経済状況から明確であるように、経済のグローバル化が地域経済の弱体化を招き、経済活動が本来の目的である人々の暮らしを改善することにつながる傾向が生まれているからである。そして環境政策がこれまでの規制中心の政策から経済的手法を利用する政策へと転換しつつある中、政策実施効果の予測および評価を行うことが重要である。したがって、地域マテリアル・フローを整備することは、持続可能な地域社会を展望し、そのための政策を実施するにあたって避けて通れないと考えられる。

研究の目的

地域統計データに基づき、滋賀県において地域マテリアル・フローを把握するデータベースの構築を行なう。

マテリアル・フロー・データベース(以下 MFDB)で対象とするマテリアルのフローは基本的に全ての産業部門を通過する全ての有価物および無価物をマテリアルとして扱う。具体的には、各産業部門の生産物量と生産部門から排出される二酸化炭素、水質汚濁負荷および性質別廃棄物であり、それらのマテリアルを産業部門間、産業部門と廃棄物処理部門(下水道部門も含む)間、最終消費部門と廃棄物処理部門間、地域内と地域外間の物量フローとしての MFDB の構築を行うこととした。

MFDB の構造

本研究で扱う MFDB の枠組みを図1-1に示す。物量表示と貨幣表示の両方の存在する行列およびベクトルは産業部門の中間投入行列 $[X_{ij}]$ 、最終需要ベクトル X^F_i 、副産物の投入行列 $[Y_{mj}]$ と産出行列 $[U_{mj}]$ である。それ以外の行列とベクトルおよびスカラー量は物量表示のみである。

廃棄物の中間処理はやや複雑になっている。中間処理部門は産業部門から排出

された行列 $[W_{ij}]$ の産業廃棄物 (i 部門からの i 種類の産業廃棄物) とベクトル $[WF_i]$ の一般廃棄物を処理部門に持ち込み、そのうち行列 $[T_{ik}]$ の廃棄物 (k 処理部門で i 種類の廃棄物を処理) とし、中間処理し、それらをベクトル Z_n の再生財 (n 種類の再生財) と L 量の減量化とベクトル D_k の最終処分量 (k 種類の処理から生じる処分量) に転換する。また、ベクトル Z_n の再生財はふたたび産業部門に行列 $[Z_{nj}]$ (n 種類の再生財が j 部門へ) 投入される。

環境からの資源の抽出は行列 $[S_{hj}]$ (h 種類の自然資源が j 部門に投入される) であり、最終需要部門では環境からの資源抽出は存在しないと仮定した。実際には魚釣りなどを通じての直接的な資源利用が存在するがほとんど無視できる規模であるとして考察外においた。

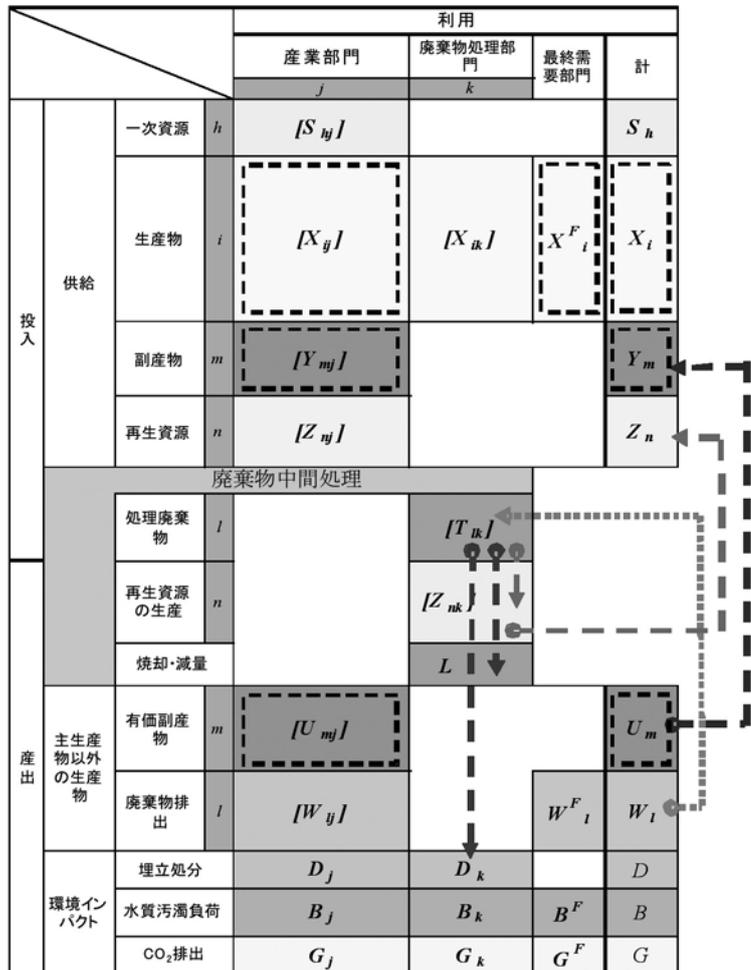


図1-1 環境分析用産業連関表の構成

経済から環境への廃棄物の排出による環境へのインパクトの大きさは、 $D=D_i+D_k$ 固形廃棄物の最終処分、 $B=B_i+B_k+B^f$ 水質汚濁負荷(窒素、りん、およびCOD/BOD 指標で表示)および $G=G_i+G_h+G^f$ 大気への二酸化炭素排出量で評価することにした。

地域産業連関表から物量表示産業連関表の作成

わが国では国、都道府県、大都市で5年ごとに作成されている。したがって、この産業連関表を利用して産業間のマテリアル・フローを推計するとともに、

作成したマテリアル・フロー表(物量表示)ともの産業連関表(貨幣表示)とが互いにリンクできるようにデータを整備した。そのことによってデータの利用可能性は格段に高くなる。産業部門は産業連関表の統合小分類を用いて推計した。部門数は1995年表で186部門、2000年表で188部門となっている。さらに、廃棄物処理部門は下水道部門、一般廃棄物処理部門、および処理方法によって区分した産業廃棄物部門として集計した。

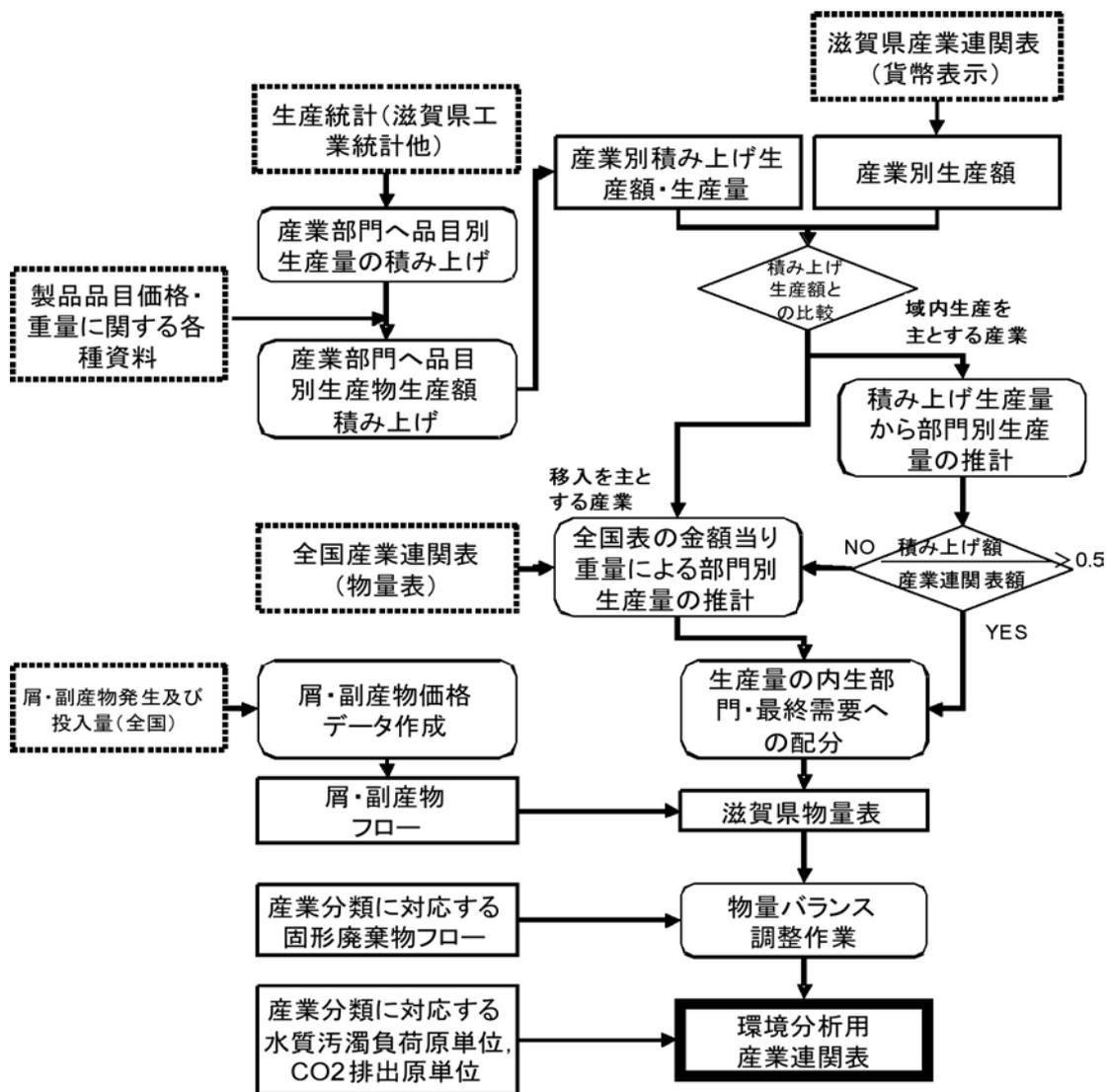


図 1-2 データ作成の手順

物量表示産業連関表の作成

その全体フロー図を図1-2に示す。

結果及び考察

図1-3にマテリアル・フローとして全体の概観を図示した。

図1-3が示すことは、1995年から2000年のわずか5年間で滋賀県のマテリアル・フローが大きく変化してきているということである。全体として、マテリアル・フロー量が減少してきている。生産に投入された採掘・生長量と移輸入量の合計値は1995年の30,467千トンに比べ2000年は28,344千トン、また産業からの生産量も1995年の44,629千トンから2000

年の37,619千トンと減少している。しかし滋賀県内総生産額は1995年の11兆2,507億円から2000年の11兆5,841億円へ3.0%の増加となっており脱物質型経済への移行が進行していることがわかる。産業廃棄物に関して廃棄物搬出量は1995年の1,214千トンに比べ2000年は1,474千トンと増えているが、廃棄物処理の進展により埋立最終処分量が減少(1995年の413千トンから2000年の373千トン)し、再資源化利用量が増加している。

なお、産業の二酸化炭素排出量は減少しているが、それはセメント工場の休止が1工場あったのでそれ

を反映しているが、その部門以外ではむしろ排出量が増加しているのが実態であり、二酸化炭素排出削減の難しさが現れている。

ちなみに、水質汚濁負荷についても5年間で半減している。産業廃棄物や水質汚濁負荷については滋賀県の産業は環境負荷を劇的に削減している。それは構造的変化ともいえるものであり、図7-1からもわかるが、二酸化炭素の排出削減については他の環境負荷にくらべ削減が進んでいないのが現状である。

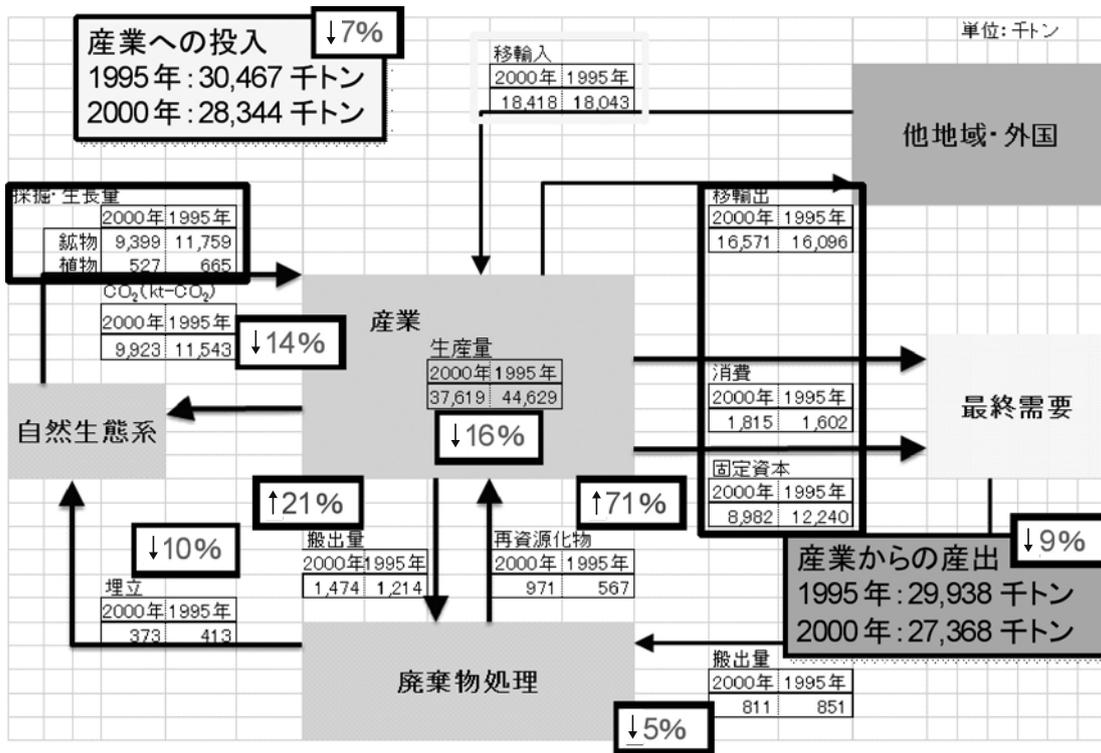


図1-3 マテリアルバランス全体(1995年, 2000年)

新資源植物開発における植物組織培養法の適用 -ユリとヨシを例として-

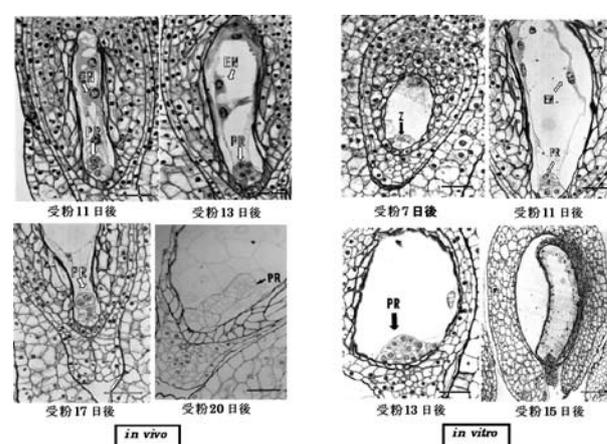
池田 紀子

環境動態学専攻

地球環境の保全という目的から植物資源の利用が注目されている。本研究では、開発価値が大きいと思われる資源植物のなかから、炭素源として食用等の用途が可能であると考えられるユリ属植物とバイオマスとしての利用だけではなく、水圏の富栄養化防止等の環境保全に有用とされるヨシに注目した。これらの植物は有望な遺伝資源であるが、交雑不和合性や高次倍数性による不稔などの問題があり、今後の遺伝的改良には植物培養技術の導入が必須である。ユリについては、食用ユリの普及を目的とした胚珠培養法、ヨシについては遺伝的改良のためのカルス誘導法と植物体再生について基礎的研究を行った。

ユリ属植物の球根は、タンパク質がバレイショやカンショの2倍以上含まれ、炭水化物も豊富であるため、貴重な食用やデンプン原料の資源として、今後、利用拡大を試みる価値の大きい作物である。ユリ属植物は、これまで観賞用としては種間交雑による品種改良が盛んに行われ、多様な花色や花形を持つ多くの品種が育成されてきた(Arzaite-Fernández et al. 1996)。しかしながら、食用としては、コオニユリと思われる種が食されているが、既存の遺伝資源からの系統分離による品種がほとんどであり、種間交雑による品種改良はほとんど行われていない(三木 1983)。ユリを食用として普及するためには、種間交雑により、現在用いられている品種に耐病性等の新規遺伝子を導入することが不可欠である。しかしながら、ユリ属植物の遠縁種間交雑では、交雑不和合性により受精前と後に障害が生じることが予想されるため、それらを克服する必要がある(Lester and Kang 1998)。受精前障害を克服するためには、花柱切断受粉(浅野・明道 1977b)、サイトカニン処理(Emsweller et al. 1960)、花柱への温湯処理(Matsubara 1981)などの方法が試みられ、種子の獲得に成功した例も報告されている。一方、受精後障害を克服するためには、胚珠培養(Niimi et al. 1995)や胚培養(Okazaki et al. 1994)を行う必要があるが、雑種胚は、受精後、非常に早い段階で胚と胚乳の発育アンバランスが生じ、崩壊すると考えられているため、接合子段階で救出することが望ましい。これまで、ユリにおいて接合子段階のよう

な未熟な胚珠の培養については報告されていないため、接合子段階で摘出した胚珠の培養システムを確立することができれば、非常に早い段階で胚の崩壊が起こる組合せの雑種を作出することが可能となる。そこで、本研究では、受精後障害に焦点をあて、和合の組合せの中でも開花時期がほぼ同時期であるため交雑しやすく、繁殖が旺盛で耐病性が強いアジアティックハイブリッド‘コネチカットキング’×‘エンチャントメント’をモデルとして用い、受精直後と思われる受粉3、5、10日後の胚珠の培養を行い、胚の生長に必要な培地条件の検討を行った。受精直後の胚珠は子房から摘出し培養することが非常に困難であり、胎座組織は受精をした未熟な胚珠に刺激を与える役割を持つと考えられているので、胎座付きの状態での培養を行った。また、*in vivo*における胚珠の発達を観察するために、受粉7、9、11、13、15、17および20日後に子房を採取し、胚珠を傷つけないように摘出しFAAで固定した。一方、*in vitro*培養における胚珠の発達を観察するために、受粉5日後に採取した子房から摘出した胎座付き胚珠を、6%ショ糖、0.2%ジェランガムを含んだ1/2B5培地で培養し、置床7、9、11、13および15日後に培養物を取り出してFAAで固定した。これらの材料の胚発達を組織学的観察により比較したところ、*in vitro*培養における胚と胚乳の発達は、*in vivo*における発達よりも遅く、前胚の形態も*in vivo*の発達とは異なり基部細胞(胚柄組織)と先端細胞に分化していなかった(第1図)。



第1図 ‘コネチカットキング’×‘エンチャントメント’の*in vivo*と*in vitro*における胚珠の縦断切片 EN: 胚乳核, PR: 前胚, Bar=100 μm

第1表 胎座つき胚珠培養による‘コネチカットキング’×‘エンチャントメント’の胚発達と実生の獲得における培地とシヨ糖濃度の影響

培地	シヨ糖濃度 (%)	培養開始日								
		3 DAP			5 DAP			10 DAP		
		胚珠数	胚を含む胚珠数	発芽数	胚珠数	胚を含む胚珠数	発芽数	胚珠数	胚を含む胚珠数	発芽数
1/2B5	3	154	12 (8.0 b ²⁾)	2 (15.0 a)	241	72 (29.8 ab)	10 (13.5 a)	207	56 (27.2 a)	4 (5.5 b)
	6	223	18 (8.2 b)	2 (12.5 a)	236	67 (28.5 ab)	4 (4.4 ab)	258	74 (28.7 a)	17 (20.1 a)
	9	298	80 (26.9 a)	2 (3.0 a)	275	105 (38.2 a)	7 (5.7 ab)	242	74 (30.7 a)	9 (10.5 ab)
	12	236	14 (5.8 b)	2 (13.3 a)	200	50 (25.0 b)	1 (1.7 b)	255	75 (29.2 a)	2 (2.7 b)
B5	6	218	3 (1.4 b)	1 (10.0 a)	245	75 (30.6 ab)	8 (9.5 ab)	232	64 (27.5 a)	3 (4.1 b)
	9	235	0 (0 b)	0 (0 a)	225	50 (22.2 b)	5 (7.3 ab)	250	67 (26.5 a)	9 (10.4 ab)

培養14週間後のデータ。それぞれの処理は15~30個の胚珠を10反復行った結果である。()の数値は%の平均を示す。

²⁾ 異なるアルファベットは、ダンカンの多重検定法 ($\alpha=0.05$)により有意差があることを示している。

DAP=Day after pollination

受粉3、5日後に摘出した胚珠の発達は、B5培地よりもB5培地の濃度を1/2に希釈した1/2B5培地で促進され、シヨ糖濃度は9%が最も適していた。一方、受粉10日後に摘出した胚珠の発達は培地やシヨ糖濃度にあまり影響されなかった。結果的に、接合子段階の未熟な胚珠は培地成分に対する感受性が高いということが明らかになった(第1表)。

受精胚の発達はin vivo とin vitro において、発達様式や分化の仕方が異なっていたものの、受精後まもない未熟な胚珠は、最初に9%のシヨ糖を含んでいる1/2B5培地に培養し、その後、胚珠から発達した胚を摘出し3~6%のシヨ糖を含んでいる1/2B5に培養することが有効であることが明らかになった(第2表)。

本研究において受粉3日後という未熟な胚珠の培養に成功したことは、ユリ属植物内でかなり遠縁の種間でも交雑実生が獲得可能なことを示している。したがって、従来から胚珠や胚培養技術を用いた育種が試みられていない食用ユリについて種間交雑育種を試みる場合においては、本方法を適用すれば遠縁種からの耐病性の付与だけではなく、多様な形質の導入が可能となり、資源植物としてのユリの重要性がより広まるものと考えられる。

第2表 ‘コネチカットキング’×‘エンチャントメント’の胎座つき胚珠培養 6週間後の胚珠および胚培養による実生の獲得

外植片の種類	シヨ糖濃度(%)	外植片数	実生数	実生率(%)
胚珠	3	25	5	20 ± 6.3
	9	25	0	0
合計		50	5	10 ± 4.5
胚	3	25	18	72 ± 10
	9	25	15	64 ± 12
合計		50	33	68 ± 7.4

9%シヨ糖を含む1/2B5培地に14週間培養した受粉5日後に摘出した胎座つき胚珠は、

胚珠と胚に分離されそれぞれ3および9%シヨ糖を含む1/2B5培地に置床された。

それぞれの処理は5個の外植片を5反復行った結果である。

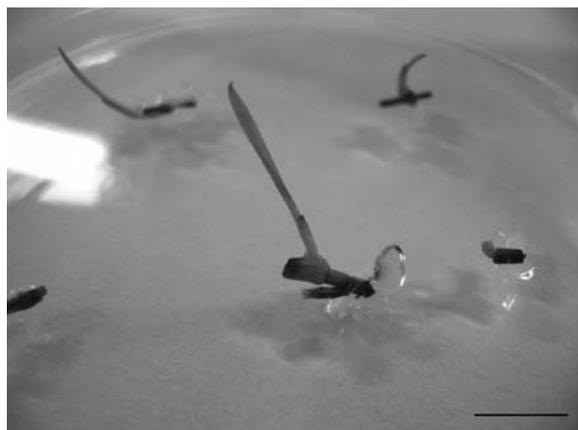
²⁾は平均%±SEを示す。

ヨシは亜寒帯から熱帯まで世界各国に広く分布するイネ科の多年草であり、古くから建材や家具として用いられてきた(西川 2002)。近年では、石油代替エネルギーとして植物バイオマス変換技術が開発され(小林 2008)、ヨシのような既存作物と競合しないバイオマスが大きなイネ科の永年性植物が注目されている。また、ヨシは富栄養化物質や重金属の吸収・蓄積能があることから水質改善機能を有するためにファイトレメディエーションに利用可能な有力な植物としても注目されている。

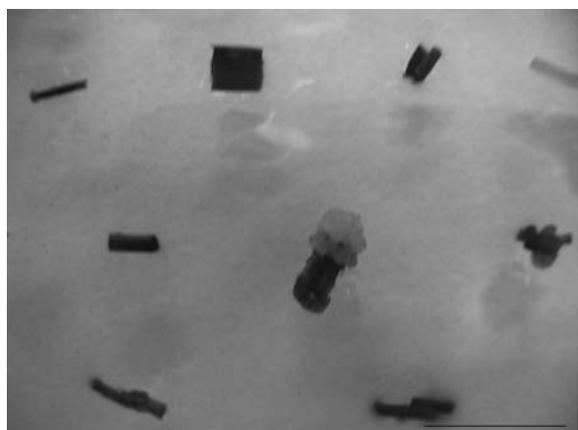
ヨシは主に栄養繁殖により生育地を拡大するが、種子繁殖も行うことができる。しかしながら、ヨシは高次倍数性のため種子繁殖能力が著しく低く、交雑による有用形質の育成は困難である。ヨシを育種に利用するためには、ソマクローナル変異や組換えDNA技術を用いて有用系統の育成を行う必要があるが、そのためには栄養体からの効率のよいカルス誘導法を確立する必要がある。しかし、ヨシの細胞・組織培養について、これまでの成功例の多くは未熟胚や種子を用いて培養細胞系を得たものであり(Sangwan and Gorenflot 1975, Straub et al. 1988, 森ら 1999, Lauzer et al. 2000, Wei Wang and Zhang 2002)、得られた再分化植物は既存の遺伝子型が組換えられたものであり、もとの優秀な形質が変化している可能性が高い。既存のすぐれた形質を利用するためには、葉および根等の遺伝的に均一な細胞からなる組織・器官からの培養細胞と再分化の系を確立する必要がある。そこで、本研究では、生理、形態的特性が明らかになっているいくつかの系統の稈から得られたシュートを用いて、カルス誘導の条件を検討し、さらに、カルス誘導が良好であった系統に関して植物体再生と順化の条件を検討した。最後に、得られた再分化当代の変異について考察を加えた。

材料としてTWL,T という北海道当縁川流域採取した系統、湖北1、湖北5という滋賀県湖北町尾上地

区付近の湖岸から採取した系統、W6、W8という滋賀県守山市の湖岸から採取した系統を用いた。ヨシの稈や根茎は通気組織が発達して中空であるため材料の滅菌処理が困難である。予備実験において、薬品による滅菌処理時に外植片が大きなダメージを受けた。このようなダメージを回避しカルス誘導率を高めるために、まず、稈の節間分裂組織から腋芽や不定芽を発生させ(第2図)、その後、それらの*in vitro* 培養により得られたシュートからカルスを誘導した(第3図)。



第2図 ヨシのシュート外植片からのシュート形成
Bar = 0.5cm



第3図 湖北5のシュートから誘導されたカルス
Bar = 0.5cm

シュート形成培地を用いて稈を培養したところ、供試した全6系統において、‘TWL1’、‘W6’ および‘W8’はシュートを形成しやすいことが明らかになった。

一方、カルス誘導培地を用いて、シュートからカルスを誘導したところ、供試した4系統のうち、‘湖北5’はカルスを誘導・増殖しやすいという現象が認められた。これらのことから、ヨシにおいて、稈の節や節間からのシュートの形成とカルスの増殖について系統間で差異が認められ、遺伝子型によるカルス誘導の難易に関する変異が明らかになった。

ヨシのシュートからカルスを誘導するために、合成オーキシンである2,4-D と PIC の効果を比較したところ、2,4-Dの方がカルスの誘導に適していることが明らかになった。また、カルスが最も増殖した‘湖北5’を用いて再分化に及ぼすカルス培養培地と再分化培地の影響を調べたところ、2,4-Dを添加した培地でそのまま継代したカルスの方が、2,4-DからPICを添加した培地に継代したカルスよりも再分化率が高くなるということが明らかになった(第3表)。結果的に、ヨシのシュートからのカルス誘導-再分化系には2,4-Dを添加した培地でカルスを誘導・維持し、そのカルスを再分化培地であるホルモンフリーのMS培地に移植することが効率的であることが示唆された。

また、シュート外植片から得られたカルスを再分化培地に移植した時に、突然変異育種において突然変異誘発効果を示す指標となっているアルビノが認められ、ソマクローナル変異が起こっていることが明らかになった(第4表)。

引用文献

- 浅野義人・明道 博 (1977b) 園学雑46: 267-273.
- Arzate - Fernández, A. M., T. Nakazaki and T. Tanisaka (1996) Plant Breed. 115: 167-171.
- Emsweller, S. L., and J. Uhring (1958) Proc. 15th Inter. Hort. Cong. 2: 360-367.
- 小林 真 (2008) 作物研究53: 91-96.
- Lauzer, D., S. Dallaire and G. Vincent (2000) Plant Cell Tiss. Organ Cult. 60: 229-234.
- Lester, R. N. and J. H. Kang. (1998) Ann. Bot. 82: 445-453.
- Matsubara S. (1981) Euphytica. 30: 97-103.
- 三木英一 (1983) 農業技術普及協会、北海道、20-23。
- 森 真理・伊吹直美・北村治滋・宮村弘明・渡辺健三・長谷川博 (1999) 育種学研究 1 (別冊1): 211.
- Niimi, Y., M. Nakano and M. Goto (1995) Plant Tiss. Cult. Lett. 12: 317-319.
- 西川嘉廣 (2002) サンライズ出版、彦根、1-242.
- Okazaki, K., Y. Asano and K. Oosawa (1994) Breed. Sci. 44: 59-64.
- Sangwan, R.S. and R. Gorenflot (1975) Z. Pflanzenphysiol. 75: 256-269.
- Straub, P. F., D. M. Decker and J.L. Gallagher (1988) Plant Cell Tiss. Organ Cult. 15: 73-78.
- Wei Wang, S. C. and C. Zhang (2002) In Vitro Cell. Develop. Biol. 38: 325-329.

第3表 湖北5のカルスからの再分化に対する培地の影響
(再分化培地に移植後4週間目のデータ3回反復)

実験区	カルス誘導培地			再分化培地	培養した カルス数(個)	シュートを形成した カルス数と形成率(%)	発根したカルス数(個) と発根率(%)
	2,4-D(mg/l)	PIC(mg/l)	BA(mg/l)				
A ¹⁾	1		0.1	MSF	29	24 (84.6 ^{ab5)})	25 (86.9 ^{d)})
	1		0.1	N6F	26	10 (38.4 ^{a)})	1 (5.1 ^{a)})
A ²⁾	1		0.1	MSF	28	27 (96.4 ^{b)})	27 (95.2 ^{d)})
	1		0.1	N6F	28	13 (45.8 ^{ab)})	0 (0 ^{a)})
B ³⁾		1		MSF	27	13 (49.4 ^{ab)})	18 (66.7 ^{c)})
		1		N6F	28	11 (40.1 ^{a)})	7 (25.5 ^{ab)})
C ⁴⁾		1	0.1	MSF	28	22 (76.7 ^{ab)})	25 (88.1 ^{cd)})
		1	0.1	N6F	31	16 (47.2 ^{ab)})	11 (34.1 ^{b)})

- 1) 2,4-D 1mg/lとBA0.1mg/lを含むMS培地で9ヶ月間継代培養したカルス。パラフィルムでシール
- 2) 2,4-D 1mg/lとBA0.1mg/lを含むMS培地で9ヶ月間継代培養したカルス。紙テープでシール
- 3) 2,4-D 1mg/lとBA0.1mg/lを含むMS培地で7ヶ月間継代培養した後、PIC1mg/lを含むMS培地で2ヶ月間継代培養したカルス。パラフィルムでシール
- 4) 2,4-D 1mg/lとBA0.1mg/lを含むMS培地で7ヶ月間継代培養した後、PIC1mg/lとBA0.1mg/lを含むMS培地で2ヶ月間継代培養したカルス。パラフィルムでシール
- 5) チューキーの検定法 ($\alpha=0.01$)による

第4表 様々な植物生長調節物質で誘導した湖北5からのアルビノ発生率(%)

実験区	カルス誘導培地			再分化 培地	培養した カルス数(個)	再分化個体 が得られた カルス数(個)	アルビノ 発生数(個) と発生率(%)
	2,4-D(mg/l)	PIC(mg/l)	BA(mg/l)				
A ¹⁾	1		0.1	MSF	29	24	7 (29.2)
	1		0.1	N6F	26	10	0 (0.0)
A ²⁾	1		0.1	MSF	28	27	9 (33.3)
	1		0.1	N6F	28	13	0 (0.0)
B ³⁾		1		MSF	27	13	1 (7.7)
		1		N6F	28	11	1 (9.1)
C ⁴⁾		1	0.1	MSF	28	22	6 (27.3)
		1	0.1	N6F	31	16	3 (18.8)

再分化培地に移植後4週間目のデータ、3反復

- 1) 2,4-D 1mg/lとBA0.1mg/lを含むMS培地で9ヶ月間継代培養したカルス。パラフィルムでシール
- 2) 2,4-D 1mg/lとBA0.1mg/lを含むMS培地で9ヶ月間継代培養したカルス。紙テープでシール
- 3) 2,4-D 1mg/lとBA0.1mg/lを含むMS培地で7ヶ月間継代培養した後、PIC1mg/lを含むMS培地で2ヶ月間継代培養したカルス。パラフィルムでシール
- 4) 2,4-D 1mg/lとBA0.1mg/lを含むMS培地で7ヶ月間継代培養した後、PIC1mg/lとBA0.1mg/lを含むMS培地で2ヶ月間継代培養したカルス。パラフィルムでシール

網羅的遺伝子発現解析を用いた白色腐朽菌のリグニン分解酵素生産制御機構に関する研究

南 正彦

環境動態学専攻

木質バイオマス利用に向けた白色腐朽菌のリグニン分解能力解明のため、本研究は分解機構制御に関する因子の検索を目的として行った。本論文の概要は以下のとおりである。

1. 緒言

木質は地球上に存在するバイオマスの中で最も多くの割合を占め、適切な森林管理の下に持続的利用が可能な資源である。木質バイオマスの利用においては、エネルギー・化学原料の生産を目的として木質中のセルロースおよびヘミセルロースの酵素糖化・発酵が試みられている。しかし、これらは難分解性のリグニンに被覆されており、リグニンの除去には化学薬品と高温での処理が必要となっている。処理に必要なエネルギーや発生する有害物質を考慮した場合に環境への負荷が大きいことから、より省エネルギーで有害物質を伴わない方法の開発が求められている。

自然界においてリグニンは白色腐朽菌と称される一群の担子菌により完全に無機化される。リグニン分解機構の詳細については未解明の点が多いが、白色腐朽菌が生産するリグニンペルオキシダーゼ (LiP) とマンガンペルオキシダーゼ (MnP) 等のリグニン分解酵素と呼ばれる酸化酵素群が分解機構の鍵となっていると考えられている。白色腐朽菌のリグニン分解酵素やその遺伝子はリグニン分解機構と同様に二次代謝的に発現すること、その発現機構が十分解明されていないことから、酵素の大量生産が難しい。また、リグニン分解酵素遺伝子を酵母やコウジカビなどで異種発現させた報告はいくつか存在するが、産業として利用可能な効率には達していないことから、白色腐朽菌独自の経路が酵素生産に必要であると考えられている。

本研究では白色腐朽菌のモデル生物として認知されている *Phanerochaete chrysosporium* における LiP と MnP の生産に関与する遺伝子群の検索を目的として、Long Serial Analysis of Gene Expression (LongSAGE) を用いたトランスクリプトーム解析を行った。

2. 結果と考察

1) リグニン分解酵素活性および菌体重量の経時変化

P. chrysosporium RP78株の完全合成培地におけるリグニン分解酵素の生産様式を調べるため、LiP および MnP 活性を測定した (Fig. 1)。培養初期には MnP と LiP の活性は検出できなかった。これらの酵素活性は菌体重量がピークに達する直前から現れ始め、遅れてピークを迎えた。細胞内の cAMP を制御することが知られているアトロピンの添加により、MnP と LiP の活性は有意に抑制された。また、アトロピンは菌体重量には影響しないことが明らかとなり、アトロピンによる MnP と LiP の発現抑制の作用機構が菌体生育の抑制による二次的な影響によるものではないことが示された。

2) LongSAGE ライブラリーの作成

酵素活性測定の結果から、培養3日目の菌体をリグニン分解酵素生産開始時条件、培養2日目の菌体を酵素生産開始前条件とした。また、アトロピン添加条件の培養では、無添加条件で活性が現れた期間に活性が抑制され、乾燥重量は無添加条件と差は見られなかったことから、アトロピンを添加した培養3日目の菌体を酵素生産抑制条件として LongSAGE ライブラリー作成に供した。それぞれのライブラリーで1万を超える遺伝子断片 (タグ) の塩基配列を決定した。

3) 培養2日目から3日目に発現量が変動する遺伝子群

リグニン分解酵素活性が現れ始める培養2日目から3日目に酵素生産に関与する遺伝子の多くが変動していると考えられる。そこで、Audic と Claverie の方法により遺伝子発現変化について有意差検定を行い、転写物量が変動する遺伝子を LongSAGE ライブラリーの比較によりリスト化した。多くの遺伝子の発現量が変動しており、MnP の主要アイソザイム遺伝子である *mnp3* (Protein ID 878)、*mnp2* (Protein ID 3589)、LiP の主要アイソザイムである *liph8* (Protein ID 8895) は4倍以上転写物量が増加していた。その他にもリグニン分解酵素の生産開始前後で発現量が変動している多くの遺伝子が検出された。

4) 3つの LongSAGE ライブラリーの比較による重要遺伝子の検出

培養2日目と培養3日目の比較では、リグニン分解酵素生産だけではなく、菌糸生育状態も異なるために、リグニン分解酵素生産に関連がないが菌糸生育に関与する遺伝子も同時に検出する可能性がある。そこで、より正確にリグニン分解酵素生産の制御に関与する候補遺伝子を検出するため、アトロピン添加による酵素発現抑制状態における培養3日目の菌体由来のライブラリーを作成し、3つのライブラリーを組み合わせてリグニン分解酵素生産に特異的に関与する遺伝子の検出を試みた。

Audic と Claverie の方法によりライブラリー間の発現変化の有意差検定を行った結果、培養3日目のリグニン分解酵素発現条件ライブラリーと比較して p 値が0.05以下かつ2倍以上発現量が変化した遺伝子は595個であった。この595個の遺伝子について非階層的クラスター分析を行い、類似の発現様式を持つ11のグループに分類した(Fig. 2)。クラスター5、6および8は培養2日目およびアトロピン添加条件ライブラリーでは発現量が少なく、3日目ライブラリーで特異的に発現量が増加していた。クラスター5、6および8に属する168遺伝子が MnP および LiP 遺伝子と平行に発現しており、リグニン分解酵素生産に特異的に関与する、あるいはリグニン分解酵素生産制御に関与する可能性が示された。また、今回検出された全ての MnP、LiP 遺伝子群はこれらのクラスターにすべて含まれていた。595個の遺伝子については JGI の KOG (EuKaryotic Orthologous Groups) class データを用いて発現パターンごとに機能の大まかな分類を行った(Fig. 3)。

5) 遺伝子のアノテーション

クラスター5、6および8に含まれる合計168の遺伝子断片は酵素生産開始時である培養3日目に特異的な発現を示し、酵素生産やアトロピンによる抑制の機構について重要なもの、リグニン分解機構の発現調節に関与する因子が含まれる可能性があることからその機能は重要であると考えられる。そこでこの三つのクラスターについてアノテーションを行った結果、140の遺伝子断片が138の推定 CDS (Coding Sequence) にアノテートされた。複数の遺伝子断片が一つの遺伝子に割り当てられた場合があったが、これは RNA バリエーションが生じた結果だと考えられる。残りの28の遺伝子断片は全ゲノムデータを使用してもアノテートすることができなかった。これは、ポリ A 鎖を持つノンコード RNA の存在、または

JGI により推定されていない遺伝子の存在を示している。138の Protein ID のうち、80についてタンパク質の機能が JGI の Gene Ontology (GO) name アノテーションデータにより予測された。

前述の80の予想タンパク質中58は酵素遺伝子であり、4つのリグニン分解酵素遺伝子に加えて、3つのシトクロム P450の遺伝子が含まれていた。リグニン分解機構においては、シトクロム P450は、細胞内に取り込まれた低分子のリグニン誘導体を分解する役割を担っていると考えられている。また、上記58遺伝子の中にリピッドペルオキシドキシメーションシステム(脂質過酸化系)に関与する可能性がある脂質代謝遺伝子が複数確認された。リピッドペルオキシドキシメーションシステムはリグニン分解機構において重要と考えられている。これらの遺伝子の発現はリグニン分解酵素遺伝子とその他のリグニン分解関連遺伝子との同時調節を示唆しており、興味深い。

上記58の酵素遺伝子にはグルタレドキシシン、グルタチオントランスフェラーゼおよびグルタチオン S-トランスフェラーゼを含む多くの生体異物分解遺伝子が含まれていた。リグニン分解酵素は種々の化学ストレスや活性酸素種により誘導されることが知られていること、上述の生体異物分解遺伝子はストレス応答遺伝子としてもよく知られていることから、これらの生体異物分解遺伝子がリグニン分解に関与する可能性も考えられる。

クラスター5、6および8に含まれるシグナル伝達関連因子として、PKC 経路に関与するホスホリパーゼ D およびプロテインキナーゼ C (PKC) 基質が含まれていた。ホスホリパーゼ D はホスファチジルコリンをコリンとホスファチジン酸(PA)へ分解し、通常 PA はジアシルグリセロール(DAG)に速やかに分解されることが知られている。この DAG が PKC を活性化させると推定されている。また、Ca²⁺応答性のシグナル伝達経路因子として、カルモジュリンやカルシウム-カルモジュリン-応答性アデニル酸シクラーゼが検出された。これらと cAMP 合成との関連については興味深く、今後の解析が待たれる。

3. 総合考察

現在までのところ、*P. chrysosporium* は全ゲノムデータが公的に利用できる唯一の白色腐朽菌である。すなわち、トランスクリプトーム解析やプロテオーム解析などの網羅的発現解析、いわゆるポストゲノム解析が可能な唯一の白色腐朽菌である。これまで他の研究グループにより、マイクロアレイ解析、セクレトーム解析、プロテオーム解析など全ゲ

ノム情報を利用したポストゲノム解析が報告されてきた。しかしながら、それらの解析のほとんどは特定の基質やストレスに対する応答遺伝子の検索に焦点を当てたものであり、リグニン分解酵素の生産制御に関するポストゲノム解析はほとんど行われていなかった。その理由として、基本的にこれらの網羅的解析は比較分析であり、リグニン分解酵素生産についての対照区の設定が困難であることが挙げられる。培地に木質を含んだ条件で高発現している分泌酵素遺伝子の検索を目的とした網羅的発現解析も行われているが、対照実験の設定がないために全遺伝子発現量からみて発現量の割合が多い遺伝子を検出するにとどまっている。そのため、転写因子、シグナル伝達経路因子など、全遺伝子発現量と比較すると発現量が少ないが、白色腐朽菌によるリグニン分解酵素の高生産系の開発やリグニン分解の制御機構の解明に重要な遺伝子の検出はほとんど行われていない。

本研究では、培養系を人為的に調節できる完全合成培地を用いた人工培養系におけるリグニン分解酵素制御に焦点を絞り、複数の対照実験を設定した。具体的には、酵素生産開始前の菌体と、細胞内cAMP濃度を制御することでリグニン分解酵素の生産を制御するといわれているアトロピンを添加した菌体から得られたサンプルの両者を対照区として

用いた。複数の対照区を比較することで、リグニン分解酵素制御に関わる遺伝子をより正確に検出することを可能とした。

本研究により、cAMP経路をはじめPKC経路で働くと思われる遺伝子など、シグナル伝達に与与する可能性のある遺伝子の発現量がリグニン分解酵素生産時に特異的に増加することが明らかとなった。これらの知見はリグニン分解酵素の生産制御にはcAMP濃度やCa²⁺シグナリング経路、PKC経路が密接に関与することを示唆している。また、リピッドペルオキシレーションシステムに関与する可能性のある脂質代謝遺伝子、生体異物分解遺伝子およびストレス応答遺伝子も誘導されていることが明らかとなったことから、これらの代謝系がリグニン分解酵素の生産制御に密接に関連していることも示唆された。

本研究の結果は白色腐朽菌におけるリグニン分解酵素生産の制御機構解明へのステップとして重要な新しい基礎的な知見を提供するとともに、従来よりも高効率なリグニン分解酵素生産菌株の育種への大きな足掛りとなり、環境負荷が大きい現行の方法に代わるリグニン分解工程の開発、エネルギーや化学原料としての木質バイオマスの効率的な有効利用に寄与すると考えられる。

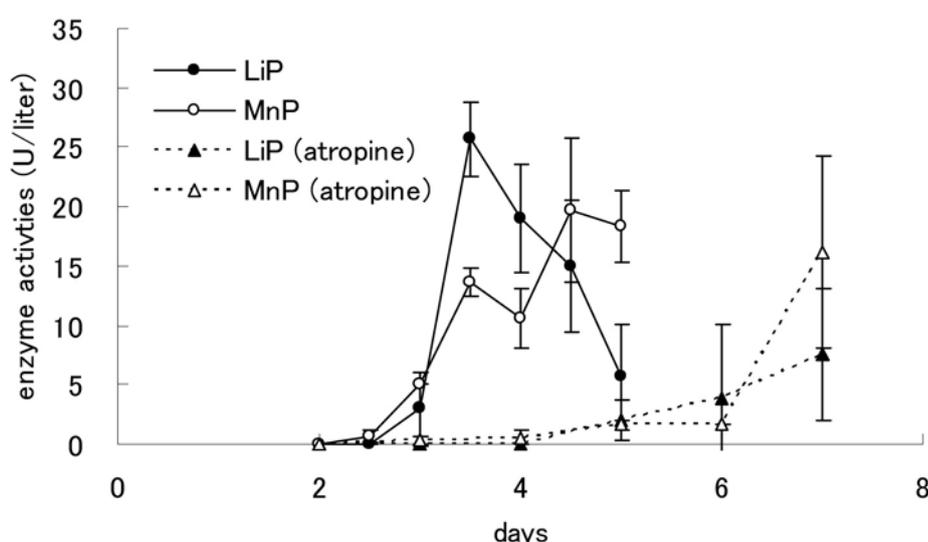


Fig. 1. Enzyme activities of *P. chrysosporium*. Atropine was supplemented to a final concentration of 10 mM after 48 h of incubation. Extracellular enzyme activities were assayed as described in the text. Each value is the mean \pm SD (n = 4).

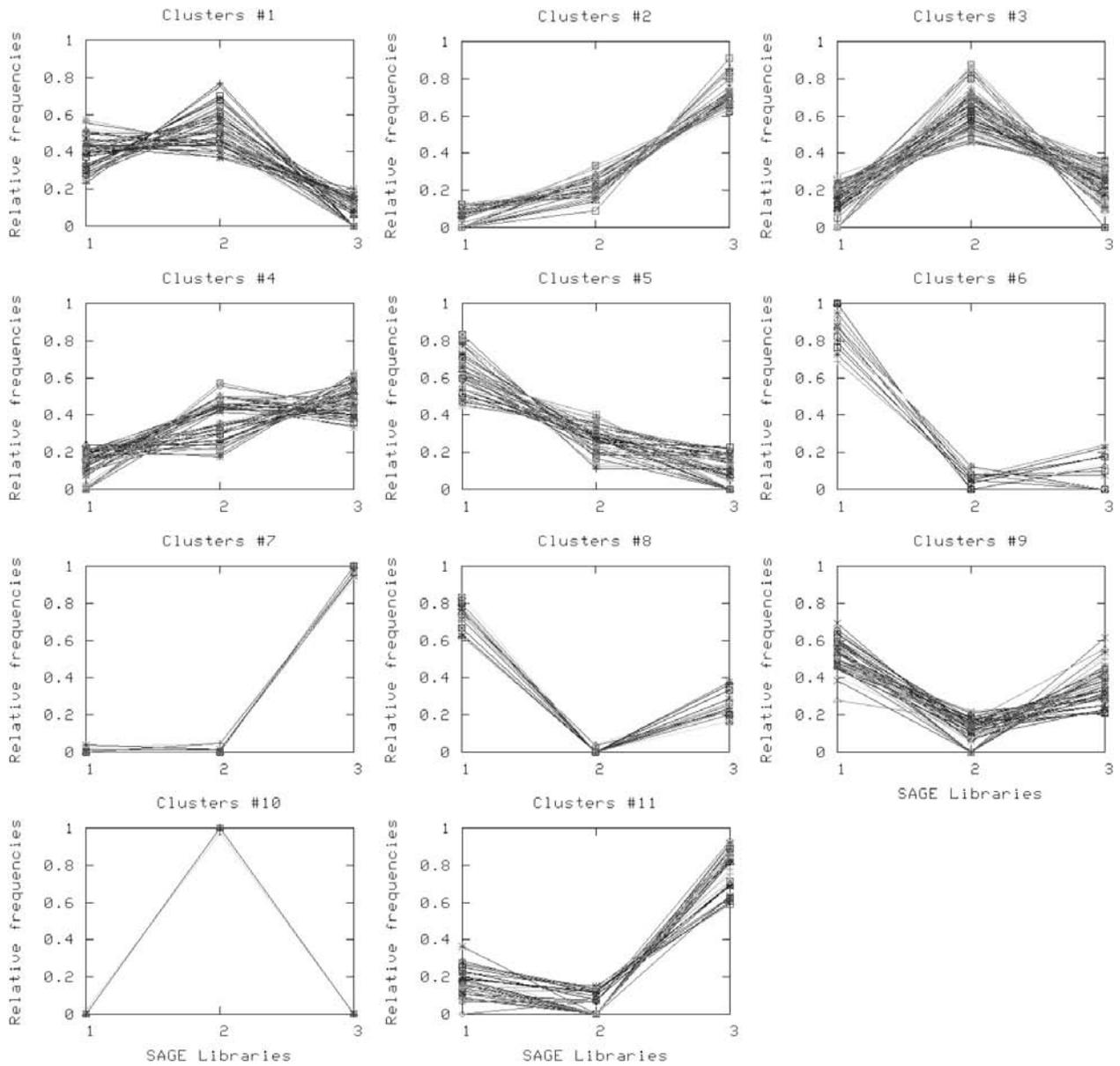


Fig. 2. Graphs of clustering results.

The 595 genes whose expression were that vary significantly ($p \leq 0.05$) changed in our experiment were divided into 11 clusters. Each of colored line corresponds to the frequency of each of SAGE tag. The x-axis represents LongSAGE libraries, 1; day3, 2; day2, 3; atropine. The y-axis represents the expression level scaled as fraction.

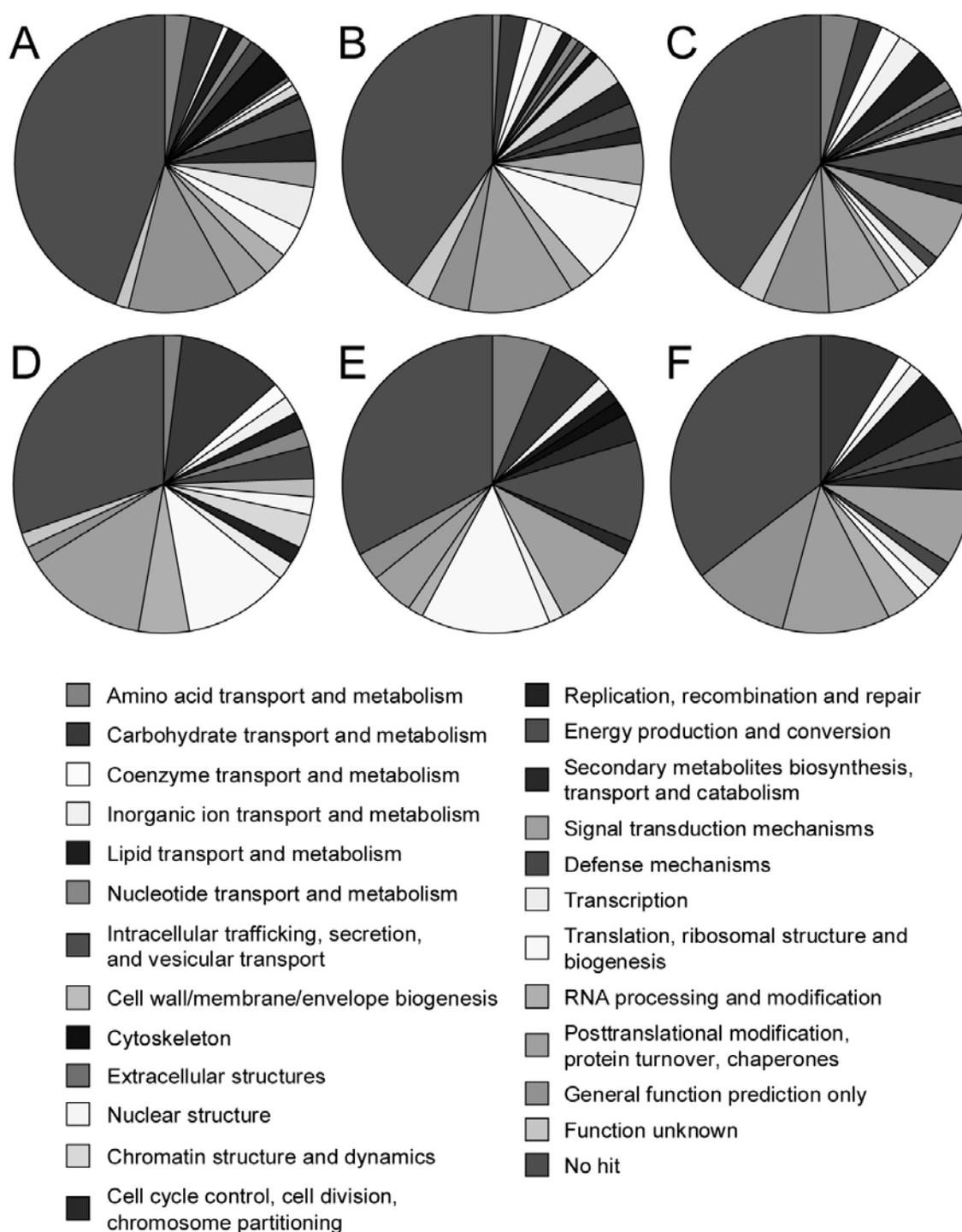


Fig. 3. Distribution of annotated genes in each expression pattern. Genes contained in each cluster were annotated with KOG class. Clusters showing similar expression pattern were integrated into one graph. A, Cluster 5, 6 & 8; B, cluster 3 & 10; C, cluster 2, 7 & 11; D, cluster 1; E, cluster 4; F, cluster 9.

京都における墓地空間の変容と 都市周縁空間の環境整備手法に関する研究

高橋 俊也

環境計画学専攻

序章

本研究は、京都における墓地空間(墓地とその周辺環境)を対象とし、墓地空間に代表される歴史的な都市周縁空間(都心部に対しその周縁部の周縁部の空間)の特性について考察した上で、その近代以降の具体的な変遷を明らかにすることで、空間変容の特性を考察することを目的とする。ケーススタディとして、古代葬送地周辺の「鳥辺野」・「蓮台野」・「化野」の3地区を取り上げ、地図の分析と臨地調査をもとに、近代以降の変遷および現況を明らかにして、空間変容の特性を考察する。さらに、現代の都市空間における墓地空間の意義について考察を行い、今後の墓地空間に留意したときの都市周縁空間の環境整備手法に関する指針を得ることを目的としている。

第1章 都市と墓地空間

1 他界観と墓地空間

日本の他界観の特性として、霊魂が赴きその再生が繰り返されることで永遠が志向される場所と考えられること、神が棲む場所でありかつ他界という概念によって対象化された自然環境の一部と考えられること、が挙げられる。そして、神が棲む場所でありかつ他界である自然環境によって現世である生活空間が取り巻かれている、という観念が特徴的である。また、日本の他界観は、天上・地下・海上・山中などに他界を想定する民間信仰における他界観を基層にもっており、さらに仏教的世界観により意味づけされている。

以上のような日本特有の他界観は、現世と他界とが一对をなし対比関係にあるという世界観にもとづく空間構造を持っている。すなわち、現世と他界の境界には、両者を繋ぐための機能を担う特異な場所として意識される空間が存在することで、その構成が保たれている。具体的には、現世と他界の境界に墓地が立地し、他界と現世とを行き来する神や人間の往来があり、葬送・祭祀の儀礼が執り行われる。こうした他界と現世を繋ぐ非日常的な機能を担う両者の境界の空間が墓地空間である。

2 社会制度と墓地空間

飛鳥時代から平安時代にかけて、「薄葬令」および

「喪葬令」など主に中国に倣って葬制が定められていた。江戸時代には幕府により寺壇制度が整備され、墓地をはじめ都市民の葬送と寺院との結びつきは必須となる。明治時代以降は、国家による墓地・埋葬行政がはじまり都市の墓地は公衆衛生および都市計画の観点から重視されるようになる。墓地に関する法律が整備され、都市部における墓地の新設は禁止され、都市郊外に欧米風の公園墓地の整備が推進される。

3 日本の都市と墓地空間

歴史的に日本の都市の墓地空間を見ると、中世までは主に山や海など自然環境と都市との間の広い領域に立地していた。火葬または土葬が行われ、古代には火葬墓や古墳が設けられ、中世になると死者供養のための塔が設けられる。一般庶民の墓は古代、中世を通して土坑中に埋められるなど簡易なものであった。自然環境と都市部の間の境界領域が墓地空間として機能し、自然環境が他界として強く意識されていたのである。近世には、城下町など都市部の境界付近に寺院や火葬場などの施設を伴いながら墓地が形成された。火葬が行われ、墓は主に寺院境内に密集して設けられ、石造の墓標が建立される。墓地空間は都市部の境界に形成され、生活空間の境界が強く意識されるようになる。一方、近代には、都心部への人口集中による市街地の拡大に伴い、墓地は都心部から離れた都市郊外に移転または新設されるようになる。墓地空間は生活空間から独立して比較的遠くに形成されることで、生活空間の境界は不明瞭になり、都心部と都市周縁部の墓地空間との対比関係は以前と比べて稀薄になってきている。

第2章 京都の墓地空間の形成

1 平安時代～戦国時代の京都の墓地空間

平安京においては、周辺における山々や河川などの自然環境は、神の宿る神聖な空間かつ他界として意識されていた。また、天皇を中心とする律令体制下の政祭一致の観点から、京域が神聖かつ清浄であるのに対して京域外は不浄であるとされていた。そうした空間観念として、風水や道教の中国の世界観、他界観、祭政一致の思想など様々の異なった理念が複合していることが指摘される。

そうした空間観念に基づいて、平安京の周縁部には葬送地としての機能が想定される空闲地が設けられ、葬送地そして墓地は主に京域の外から山麓部にかけて立地した。すなわち、神々の空間であり他界である周辺の山々と生活空間である平安京との境界領域は広く墓地空間として意識されてきた。そこは、「野」と呼ばれ、緩傾斜地により山と都市とを連続する空間であり、川や谷を有するなど市中にはない独特な地形を有している空間である。居住や耕作に不適な場所であり、かつ生活空間と他界や聖域として意識されてきた山との双方の交流を可能にする特別な機能を有し、異界との接点として認識されていた重要な場が墓地空間である。墓地空間は、葬送の他にも市中にはない特別な機能を担い、天皇・貴族の

居住を中心とする日常的な生活空間に対して、質の異なる多様な機能が複合する両義的な空間であった。

2 安土桃山時代～江戸時代の京都の墓地空間

豊臣秀吉の都市改造によって京都は城下町へと変容する。「お土居」により「洛中」と「洛外」が明確に区別されることになった。墓地は、寺町など洛中の寺院の密集する地区、洛外の「お土居」の周辺一帯、および葬送地周辺に立地する。一部は「お土居」内に取り込まれ、葬送地周辺の墓地は寺院により区画されるが、依然として近世京都の周縁部は墓地空間として機能し続ける。墓地は、高密居住地区の境界、または都市の境界の「お土居」の周辺に集中し、「洛中」

の生活空間との境界が強く意識される。一方、「洛外」の墓地空間では、寺社を核とした名所が形成され、年中行事として「送り火」が一大イベントとして定着するなど、都市民によって新たに特別な行為の行われる空間となるが、引き続き墓地空間は生活空間と他界としての自然環境との境界という空間特性を保持してきた。

このように、近代以前の京都の墓地空間は、平安京の成立以来、都市周縁の墓地空間は生活空間と他界としての自然環境との境界という特性を持ち、居住を中心とする日常的な生活空間に対し、葬送を中心とした多様な非日常的行為を許容する空間として機能し、両者は強い対比関係を保っていた。

第3章 京都の墓地空間の変容

1 京都の近代化と墓地空間

明治初年以降、都市における墓地のあり方については、墓地・埋葬施策により都市計画および公衆衛生の観点が重視されるようになる。都市周縁部には戦没者供養墓地や公営の墓地および火葬場が新設される。市街地の開発が推進される一方、都市周縁部においては、歴史的地区およびその周辺の自然を含めた景観の保全が図られる。しかし、墓地周辺の景観についてはなんの施策も行われない。

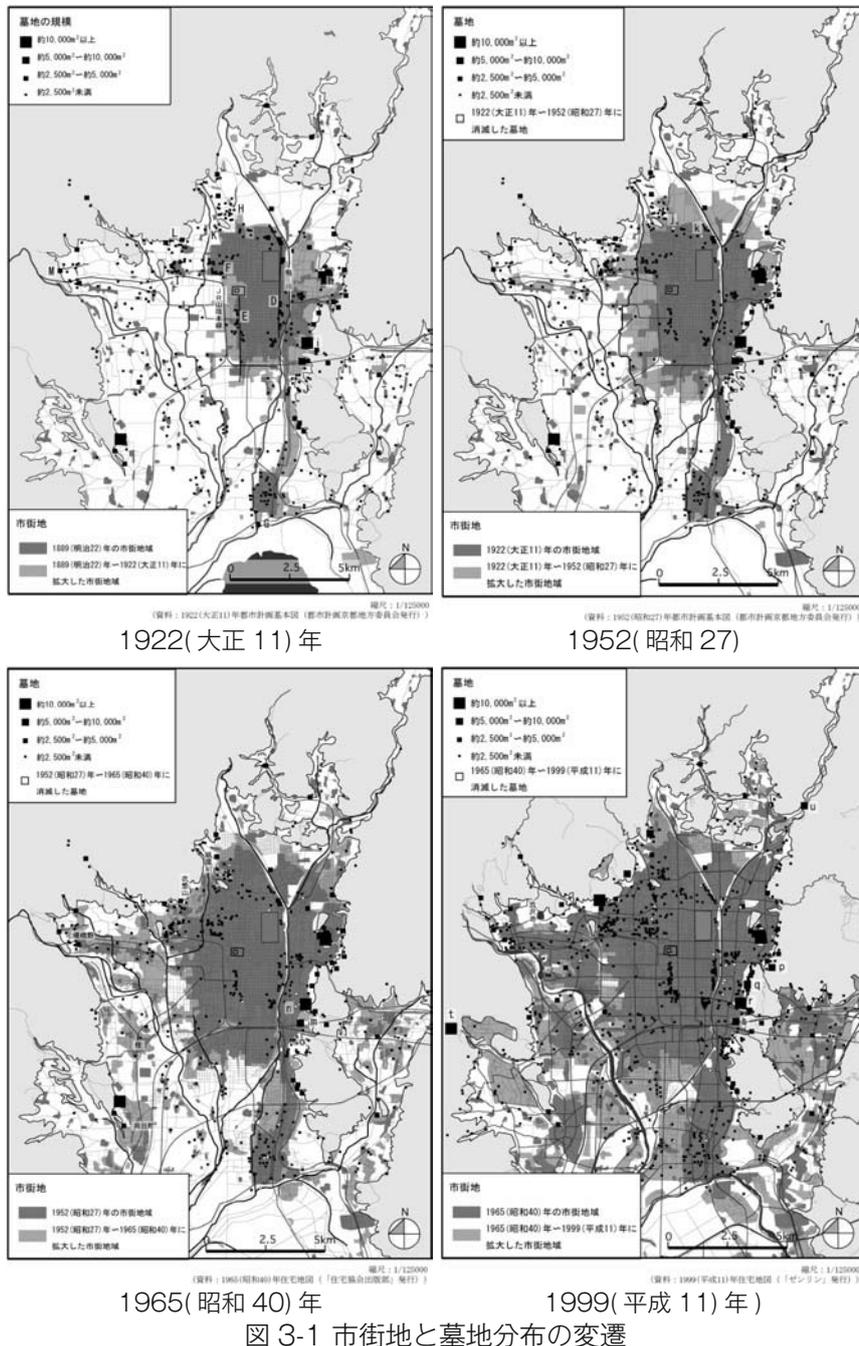


図 3-1 市街地と墓地分布の変遷

2 市街地と墓地分布の変遷(図3-1)

1922(大正11)年には、墓地は、都心部においては、近世に建立された寺院の境内にあり、都心部の境界付近に立地するものが多かった。一方、都市周縁部では、都心部を取り囲む三方の山々までにかけて広く墓地が分布しており、都市周縁部は、引き続いて墓地空間として機能していた。墓地は、山地や丘陵、森林など人手のつけられていない自然の中にあるか、それと隣接して立地していた。すなわち、都心部では寺院墓地がその外縁に帯状に立地することで、墓地が都心部の居住地区の境界を示すという空間構成となっている。一方、都市周縁部では、墓地とその周辺環境一帯がかつての葬送地周辺としての特有の空間特性を持つ墓地空間となっている。近代以前は、都心部と、都市周縁部の墓地空間という明確な空間構成が保持されており、都心部の生活空間と都市周縁部の墓地空間の対比関係は比較的強かった。

1922(大正11)年以降、現在まで、京都盆地の平地部全域が市街化する。一方、墓地は、1965(昭和40)年までその分布も規模もほとんど変化していない。しかし、それ以降1999(平成11)年まで、山地および平地の境界付近での墓地の拡張、および山地部における墓地開発が行われる。現在までに、都市周縁部の墓地空間において、墓地の周辺環境は森林や竹林など自然から工場、住宅地などの市街地へと劇的に変貌し、かつての墓地空間特有の特性が大きく変化した。このように、市街地の拡大によって、都心部の居住地区の境界を示すという墓地の空間特性は変化し、都心部とその周縁の墓地空間という空間構成が変化して、両者の対比関係が崩れた。

3 現在の市街地と墓地

現在の墓地は、都心部では、主に街区の内部に寺院に付属して立地し街路に対して閉鎖的である。一方、都市周縁部では、大部分の墓地が街区内に取り込まれる場合、街路から直接アプローチできる場合などがあり、都心部と比べて大きく異なり多様である。住居が密集すると予測される地区において、墓地の位置づけを不明瞭にしたまま墓地周辺の開発が進んできたと考えられる。

第4章 「鳥辺野」の変容

1 「鳥辺野」の領域

「鳥辺野」は、大規模な葬送地、数多くの社寺仏閣、自然を楽しむ名所などが立地し、墓地空間を特徴づける空間が数多く存在してきたことが分かる。古代において「野」と呼ばれた領域のうちでも代表的な場所であったと考えられる。

2 「鳥辺野」の変化と現在(図4-1)

「鳥辺野」の空間は高度経済成長期前の1953(昭和28)年を転換点として、大きく変化している。1953(昭和28)年以前は主要街路の幹線道路化に代表されるような、街路・街区などの基本的骨格が形成された時期であり物理的な変化が主に起こった。一方、1953(昭和28)年以後は、生活空間の質にまで及ぶ変化が起こった。中庭型空地の消失、新たに設置されることなくなった聖祠、駐車場による居住空間の分断、観光客最優先の場所となった社寺仏閣、地形を無視した大規模宅地造成などはこのことを強く物語っている。1955(昭和30)年を挟む、二つの大きな変化を経て、信仰空間など非日常的空間を数多く包含していた「鳥辺野」は、市街地の拡張、スプロールが進行する、他の都市でも一般的に見られるような郊外へと性質を変えつつある。

現在の「鳥辺野」特有の評価すべき空間的特質として、質の違う街路・街区が混在する複雑な独特の街路・街区形状を有すること、崖などの特異な地形的特質を持つ空地が宅地内に残存すること、これらが重層することで変化に富む風景が現出していること、などが挙げられる。特に、地形的要因により残存する空地を、家屋が囲いこむことで中庭的な空地となっている例は、平地に立地する都心部では見られない現象であり、手つかずの空間を周辺に伴うという意味では、原型となる風景と連続する特質を保っている事象として重要と考える。

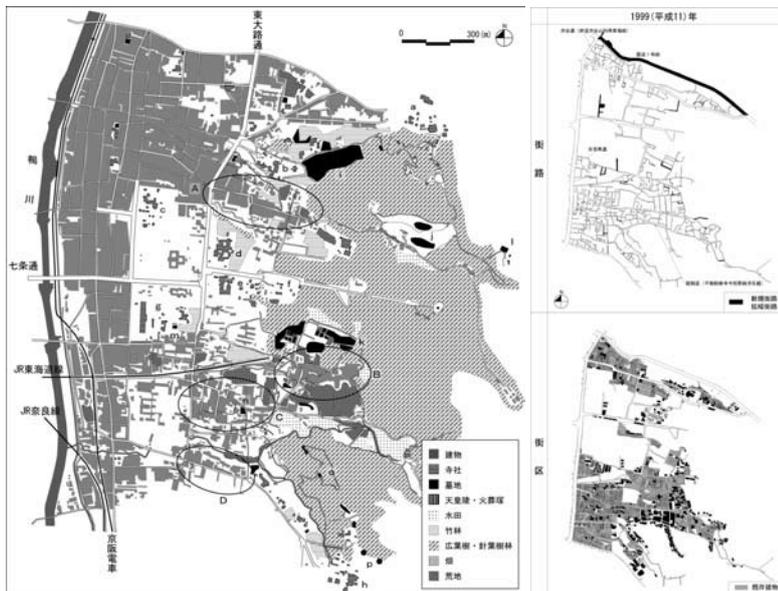


図 4-1 「鳥辺野」の変化 (左から 1922(大正 11)年、1999(平成 11)年)

第5章 「蓮台野」の変容

1 「蓮台野」という領域

歴史的には、古代葬送地の一つであり、葬送地に関連する施設、葬送に関連する人々の居住地として機能した空間である。特に「蓮台野」に特徴的なのが、そこを流れる紙屋川であり、古代には天皇に関連する施設が立地し祭事が行われる神聖な場所であり、近世以降は「お土居」とともに「洛中」と「洛外」を分ける境界として機能していたことが分かる。

2「蓮台野」の変化と現在(図5-1)

市街化以前の特性として、紙屋川と「お土居」により物理的に都心部と都市周縁部とが截然と分けられていたこと、それらによってできる谷間や隆起や左大文字山による斜面など特異な地形を有したこと、墓地など祭祀・葬送施設が地区全体に広く分布し山地の森林と連続するが、人手のつけられていない荒地など空地に囲まれながら立地し、多様な行為を許容する空間が諸施設を取り巻いていたこと、が挙げられる。地区の変容は二段階に分けられる。1935(昭和10)年までに当地区の広い範囲で開発が進む。幹線道路およびその周辺一帯の直線街路敷設による広範囲の土地開発、および河川流域の整備により、凹凸の激しい特異な地形が平坦地へと変化し、市中と市外との境界が曖昧になった。同時期までに整備された街路・街区などの基本的基盤は以後の空間の質を強く規定する。以後、ゆっくりと街区内空地が立て詰まり、大学や複合娯楽施設など非常に規

模の大きな施設の建設が進む。こうして、現在まで住居が密集し、所々に大規模施設が点在し、市街地の一部へと変化している。

現在の「蓮台野」は、山裾の傾斜地や河川などが織り成す特異な地形上に、近世京都の高密居住地区の一部や村落をはじめ開発時期や開発速度が異なる地区が重層して、それぞれ異なる街路体系や街区構造や住居の配置特性を形成している。これらの異質な空間が市街地として連続することで不連続な境界を生み出し、劇的な場面展開を生む意外性のある空間を形成しており、現在の「蓮台野」特有の空間として評価できる。

第6章 「化野」の変容

1 「化野」という領域

歴史的には、平安京の中心部から遠く離れた場所に位置し、葬送地が形成されるとともに、古代に景勝地として天皇の離宮が営まれたのをはじめとして、以降天皇・貴族や歌人、聖人などによる別荘地として発展してきた空間である。市中から遠く離れた隠棲地かつ死者の眠る地である一つの独立した空間として意識されていたと考えられる。

2「化野」の変化と現在(図6-1)

市街化以前の空間特性として、耕作地や竹林など居住領域と背後の丘陵との境界付近に墓地や寺社など葬送・祭祀施設が立地し竹林など空地により居住地と明確に分け隔てられ葬送・祭祀空間として機能

していたこと、居住領域の空間では二つの性格の異なる居住地区が形成されており竹林が居住地と耕作地との緩衝地帯の役割を果たしていたこと、両者がそれぞれ独立しつつ共存し比較的強い相対関係を保持していたこと、などが挙げられる。その後、主に1953(昭和28)年以降、市街地の当地区への拡大により、葬送・祭祀施設周辺では、背後の丘陵との境界領域における空地の消失、居住地とを分け隔てていた竹林などの空地の消失、背後の丘陵への居住領域の拡大などの変化が起こる。居住領域では、1922(大正11)年までの街路体系の基本的骨格をそれぞれ踏襲しつつも、竹林や耕作地などの一体的土地利用の区分が細分化されるなどの変化が起こっている。こうした具体的な変化により、かつての小倉山の自然環境と居住領域の境界、居住領域内の二つの居住地区と周辺の耕作地との境界、二つの居住地区の境界など、性質の異なる空間の境界が不明確になってきてい

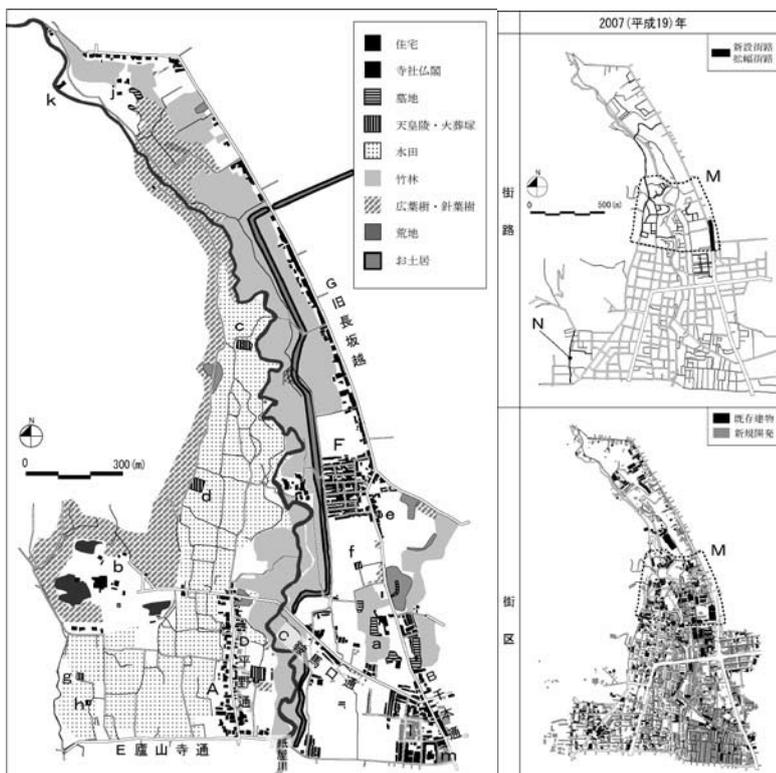


図 5-1 「蓮台野」の変化(左から1922(大正11)年、2007(平成19)年)

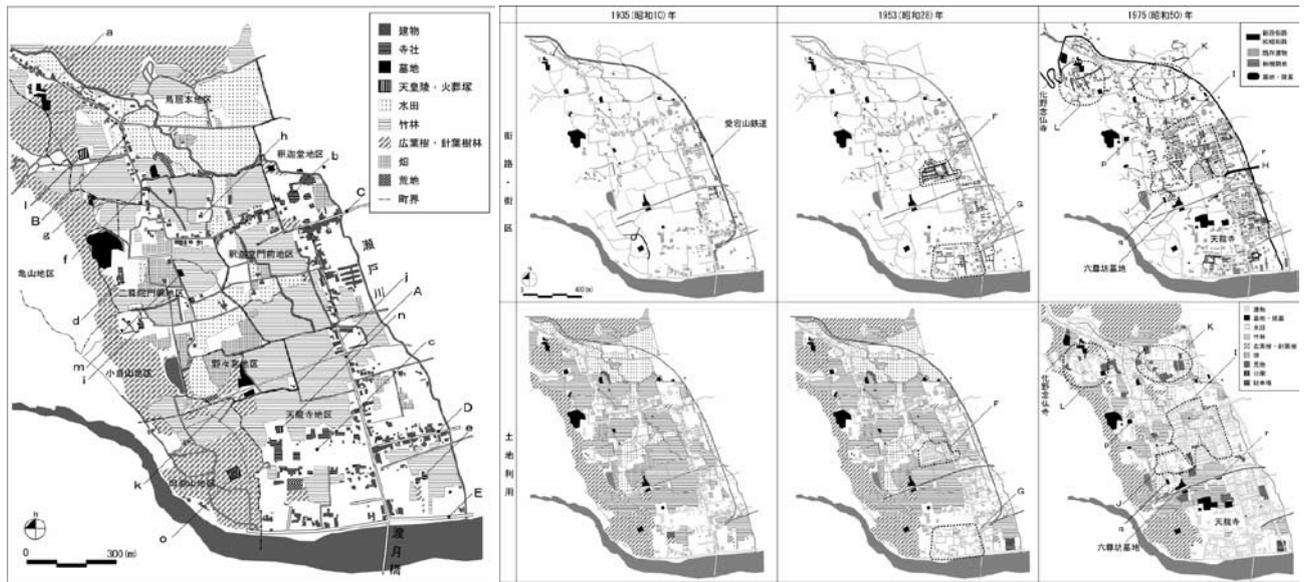


図 6-1 「化野」の変化 (左から、1922(大正 11)年、1975(昭和 50)年までの街路・街区と土地利用の変遷)

る。また、居住領域を主とした日常的な生活空間と非日常的な葬送・祭祀空間の各変化により両者の対比関係が崩れてきている。

現在の「化野」の居住領域は、特徴の異なる三つの居住地区からなっており、1922(大正11)年までの街路・街区の基本的骨格をそれぞれ踏襲して異なる空間を保持している。特に山麓部では、街路に閉鎖的で不整形の街路に沿って塀が続く居住地が形成されている。また、商業施設、山荘、耕作地、緑地、墓地などの諸施設・土地利用が混在し、街区内に立地する緑地は、人々の手が施されずに残った空地として独特の雰囲気を持しつつ「化野」独特の景観を形成していることは評価すべき点である。

結章

以上、本論文が明らかにした知見をまとめると、次のようである。

- ①京都の都市周縁部には、市街化以前には、墓地などの葬送・祭祀施設が数多く分布し、傾斜地に沿って豊かな自然に取り囲まれる形で墓地空間が形成されていた。
- ②墓地空間では、周辺の山々との境界、都心部と都市周縁部との境界、墓地と居住地区との境界など、位相の異なる境界が幾重にも織り重なっていた。
- ③都市周縁部の墓地の立地は、歴史的に大きく変化することはないが、明治以降の市街化の過程で、傾

斜地などの特異な地形や墓地周辺の豊かな自然が失われ、境界としての特性は失われ、墓地空間は居住空間や商業空間へと変容してきた。すなわち、

- ④近代以前の京都は、都心部の生活空間に対して都市周縁部の墓地空間という対比関係を保持していたが、墓地空間の変容によって、その対比関係は崩れてきた。しかし、なおかつ、

- ⑤現在の都市周縁部は、都心部とは大きく異なっており、様々な空間領域が織り成すモザイク状の独特の市街地空間を形成している。

以上の知見を踏まえ、墓地空間の意義に留意したときの今後の京都の都市周縁空間の環境整備にあたって、以下の具体的な指針を得ることができる。

- ①都心部と都市周縁部との空間の境界を十分に意識できるように、両者の境界領域において、緑地帯など緩衝地帯を設ける。
- ②都市周縁部に特有のかつての墓地空間としての特性を保持するため、墓地周辺の市街地開発を規制して、自然環境を保全する。
- ③自然との境界を十分に意識できるように、周辺の山地と居住地区との境界領域において、墓地の開発を許可して、公園など緑地を確保する。
- ④都心部には見られない特異な空間とするため、現在までに形成されたモザイク状の市街地空間を保持して、傾斜地など地形を重視した市街地整備をする。

我が国におけるヨシの生態遺伝学的研究

野見山 誉

環境動態学専攻

緒言

近年、環境問題のひとつとして生物多様性の保全がクローズアップされている。生物多様性には、生態系の多様性や種の多様性など様々な側面があるが、種内の遺伝的多様性も生物多様性のひとつであり、ある種が本来持つ遺伝的多様性を正確に評価し、集団間の遺伝的分化を考慮した保全活動あるいは復元活動を実施することが、生物多様性保全の観点からも重要である。

本論文では、世界中に広く分布しているヨシ (*Phragmites australis* (Cav.) Trin.ex Steud.) を水辺環境における生物多様性保全のためのモデル植物として取り上げることにより、種内の遺伝的多様性だけでなく、人間活動が自然環境に与える影響を考慮した生物多様性保全のあり方について提言することを目的として、以下の3章からなる研究を実施した。

第1章 北海道十勝平野南部当縁川流域および生花苗川流域におけるヨシの遺伝的多様性と河川の影響

河川流域に生息する植物の遺伝的多様性を考える上で、植物の分布と河川に関連を調べるのが重要である。第1章においては、北海道十勝地方南部当縁川流域及び生花苗川流域(図1)をフィールドとして、自然状態におけるヨシ群落の遺伝学的解析を行うとともに、地形学的見地からの知見をいかし、河川の流れがヨシの分布に及ぼす影響を検討した。さらに、人為改変が自然生態系に与える影響の評価指標としてヨシの遺伝的分化が適用できるのか検討した。

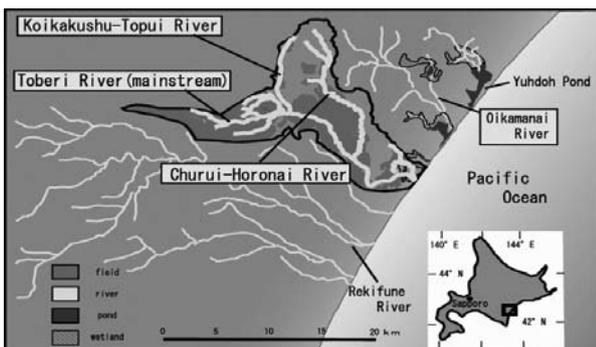


図1 北海道十勝地方南部当縁川流域及び生花苗川流域

両河川流域に自生するヨシ集団をくまなく探し地図上にプロットしたところ、ヨシは林間の湿地、農地脇の水路沿い、道路脇の乾燥地、さらには泥炭地など、多様な環境下に生育していることが分かった。さらに、各集団からランダムにサンプリングした試料を用いてアイソザイム分析を実施した結果、集団レベルにおいて高い遺伝的多様性を有していることが明らかとなった。これまで、北アメリカ大陸沿岸や中国の黄河流域といった広域におけるヨシの遺伝的多様性が高いことを示した研究はいくつか報告されているが、今回のように約150 km²という比較的狭い流域でこれほど高い遺伝的多様性を示した例は本研究がはじめてである。

当縁川および生花苗川は明治以降の人為改変の影響が地形学的に明瞭に現れるという点において、世界でも数少ないフィールドの一つである。当縁川流域においては、上流のヨシ集団と下流のヨシ集団あるいは個体においてのみ特異的に見られる泳動パターンがPGI-2遺伝子座で認められた(図2)ことから、これらの集団はもともと同一であり、上流のヨシ集団が下流に流されたことが示唆された。この結果は、河川が植物の分布にとっての通路として機能していることを示している。

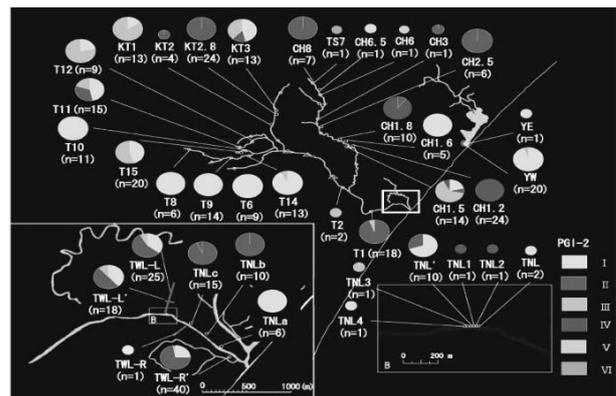


図2 当縁川流域でみられたPGI-2遺伝子座のアイソザイムパターン

第2章 日本各地に自生するヨシの遺伝的多様性

わが国において、ヨシは全国的に分布していることから、その遺伝的多様性を考える上で、よりマクロな視点での調査を実施する必要がある。北海道(当縁川流域、生花苗川流域及び石狩川流域)、北陸

(佐瀨)、関東(荒川流域)、東海(富士川及び浜名湖)、関西(琵琶湖周辺)の各地域から採取したヨシのアイゾタイム分析を行い、遺伝的多様性のパラメータ (Pp: 多型の遺伝子座の割合、Ap: 遺伝子座あたりの対立遺伝子数、及びHep: ヘテロ接合度)を比較した。

その結果、当縁川流域が最も遺伝的多様性のパラメータが大きくなった(表1)。さらに、調査した範囲においてわが国で見られる泳動パターンのほぼ全てが同流域で見出された。この事実は、わが国において、一地方の河川流域レベルで国レベルに匹敵する遺伝的多様性を保持していることを示している。また、アメリカ合衆国及び中国においてこれまでに報告された例と比べても同等以上の遺伝的多様性を保持していることが明らかとなった。このことは、第1章において明らかにしたように、わが国の河川のような多様な環境が、ヨシの流域レベルでの遺伝的多様性に影響を与えた結果であると思われる。

表1 わが国の各地域から採取したヨシ集団の遺伝的多様性

Population	Percentage of polymorphic loci (Pp)	Allele per locus (Ap)	Heterozygosity (Hep)
Hokkaido			
Mean	61.2	2.0	0.285
Among Population	66.7	2.2	0.320
Kanto			
Mean	27.8	1.4	0.145
Among Population	55.6	1.8	0.260
Hokuriku			
Mean	44.4	1.7	0.215
Among Population	44.4	1.7	0.220
Tokai			
Mean	51.9	1.8	0.230
Among Population	55.6	2.0	0.270
Lake Biwa			
Mean	46.3	1.7	0.220
Among Population	55.6	1.8	0.290
Total	66.7	2.2	0.33

第3章 生育環境の異なる地域から採取したヨシの環境適応性

ヨシの遺伝的多様性を保全するため、失われた集団を効果的かつ効率的に復元する上で、ヨシの遺伝的多様性を評価するだけではなく、遺伝的に決定される生育特性の多様性を明らかにしておく必要がある。そこで、本章では環境条件、ことに水分条件の異なる環境に生育していたヨシ系統を材料として、①水田(湿潤条件)及び畑地(乾燥条件)に移植した際の生育特性、②移植直後からの乾燥ストレスが生育

に与える影響の系統間差異、③移植後、一定期間が経過した後の乾燥ストレスが生育に与える影響の系統間差異を調査し、水辺環境復元のための基礎資料とすることを目的とした。

移植直後に乾燥ストレス処理を実施した結果、乾燥ストレス耐性の程度は用いた系統が生育していた場所の水環境条件を反映しており、集団間で遺伝的に分化していることが明らかとなった。このことは、第1章及び第2章で明らかにしたように、多様な環境が存在するわが国の地理的条件において、ヨシが高い遺伝的多様性を獲得し、それぞれの地域の生育環境に適応した結果として、遺伝的に分化したことを示している。

また、湿潤条件で育成した苗に植栽1ヵ月後から乾燥ストレスを与えたところ、系統間で各形質の有意差が認められなかった(表2)。このことは、定着(植栽)直後の水環境に対して遺伝的変異が存在することを示している。すなわち、植栽後一定期間は乾燥状態にしないなどの注意を払うことで、すべてのヨシの系統に関して効率的なヨシ群落の育成を可能とすることを示しており、ヨシ原の復元にとって、重要な知見が得られた。

表2 由来の異なる系統を移植後1ヵ月後から乾燥処理をした場合の各形質の分散分析表が国の各地域から採取したヨシ集団の遺伝的多様性

Traits	Strain (4)	Water (1)	Strain × Water (4)
Total Plant Length			
Jun	2.5 ns	2.7 ns	0.2 ns
July	4.2 *	0.01 ns	2.0 ns
August	0.8 ns	23.9 **	0.8 ns
The Number of Shoots			
Jun	7.8 **	3.2 ns	0.3 ns
July	6.2 **	0.3 ns	2.5 ns
August	2.9 ns	17.4 **	0.5 ns
The Number of Leaves			
Jun	2.6 ns	1.1 ns	0.1 ns
July	7.5 **	0.2 ns	2.2 ns
August	3.3 *	29.1 *	0.5 ns
Below Ground Biomass			
	2.1 ns	42.3 **	2.5 ns
Diameter of Internode			
	30.6 **	10.9 **	2.3 ns

ns, not significant.

*P < 0.05; **P < 0.01.

The df of the experiment is given in parentheses.

総括

本研究で得られた結果から、ヨシの遺伝的多様性をモデルとして水辺環境における生物多様性保全の

あり方を考える。地形の変化に富んでいる河川流域の場においてアイソザイムマーカーにより高い遺伝的多様性を示すことが第1章で明らかになったが、それぞれの集団は生育する環境に適応し、遺伝的に分化していることが、形態形質の面から確かめられた。したがって、単にヨシの群落を復元できれば良いという発想ではなく、河川流域全体の遺伝的多様性を考慮した保全活動が重要であると考えられる。河川流域が植物の分布にとって影響を与えているということは他の植物種においても報告されており、本研究で明らかになった事実は、ヨシだけに限らずわが国の河川流域等の水辺環境を分布域とする植物種に一般化できるものと考えられる。

また、本研究の結果から、農地開発や河川の流路変更等の人為的な影響がヨシの分布に大きな影響を与えていることが、上流と下流の特定の集団で一致するアイソザイムマーカーが存在することから明らかとなった。人為的な影響が植物の分布に影響を及ぼすかについては、チェコのLabe川やアメリカ合衆国のCharles川における研究例などがあるが、本研究のように人為的な影響が今まさに地形学的な側面からも観測されている場所で行った研究はなく、人間活動が植物の分布に対して与えた影響をダイレクトに示すことができた点において、本研究の結果は画期的なものである。しかも、人間活動が直接実施された箇所だけでなく、流域という通路を通してそれ以外の自然生態系に対しても多大な影響を与えている事実は、今後の開発等の事業においては、その場所の影響だけでなく流域全体の生態系に与えるリスクをあらかじめ評価する必要性を示している。

ヨシは、水辺環境において様々な生物のすみかとして機能しており、水辺の生物多様性を育てているといっても過言ではない。現在、各地で水辺環境の復元が実施されているが、遺伝的多様性や集団間の遺伝的分化を様々な尺度で考慮したうえで復元を実施している例はほとんど皆無であるのが現状である。保全活動の最小単位としては、進化的重要単位 (ESU; Evolutionary Significant Unit) が提唱されており、保全遺伝学ではしばしばこの概念が利用されているが、実際の復元に活かされている例はほとんどない。ESUは共通の進化の歴史を持つ一連の集団内において、個々の集団それぞれが識別可能となるような単位と定義されるが、実際の括り方には複数の考え方が存在している。本研究では、アイソザイムと形態形質という限られた指標と農地開発を主とする人間活動についてしか検討していないが、当縁川流域や生花苗川流域においてみられたように、ヨシは河川流域の多様な環境に適応し遺伝的に分化していることやヨシの分布拡大戦略にとって河川が通路の役割を果たしており、人為改変の影響も河川を通して拡大していたことが明らかになった。

以上のことから、わが国のような急峻かつ多様な河川環境を生育地とする水辺の植物種の保全を考えるうえでは、少なくとも1流域単位を1つのESUとして考慮し、保全活動を実施する必要がある。今後は、より多型性のあるSSRや、遺伝的分化をより明確に示す可能性が高いオルガネラDNAを指標とした研究を実施し、水辺の植物にとってのESUを決定することが、わが国の水辺環境の生物多様性保全に向けての第一歩となるであろう。