ISSN 2424-1083

季刊 全国環境研究会誌

JOURNAL OF ENVIRONMENTAL LABORATORIES ASSOCIATION

Vol.47 No.4 2022 (通巻 165 号)

目 次

【巻頭言】

地域に開かれた研究所を目指して 藤田 直久 / 1

【特集／環境DNAを用いた環境調査の現状と展望】

マクロ生物調査のための環境DNA分析

— 一種の検出と定量およびその他の応用における可能性と課題—

..... 深谷 肇一 / 2

神奈川県における環境DNA調査の導入経緯とその活用について

..... 長谷部勇太 / 9

【報 文】

山陽新幹線N700系列車内の音色及び列車内の低周波音

..... 木崎 利・近藤博文 / 16

中国山西省農用地土壌における銅、クロム、鉛、砒素、ニッケル、カドミウムの植物移行特性

..... 石山 高・王 効挙・細野繁雄・

謝 英荷・程 紅艶・洪 堅平 / 20

長野市における2020年夏季のPM_{2.5}成分調査結果—西之島噴煙及び花火の影響事例—

..... 中込和徳・町田 哲・掛川英男 / 27

横浜市内の池におけるヌカエビおよびカワリヌマエビ属の生息状況

..... 玉城大己・本山直人・潮田健太郎・七里浩志・

川村顕子・中里亜利咲・浦垣直子・小島 淳 / 32

酸性河川のヨシ原におけるリター分解に関する土壌細菌叢の解析

..... 中村和徳 / 38

【環境省ニュース】

令和5年度の環境研究総合推進費公募について

..... 環境省大臣官房総合政策課環境研究技術室 / 43

C O N T E N T S

Tone Color of Sanyo Shinkansen N700 Series cars and low-frequency sounds in the trains	Toru KIZAKI, Hirofumi KONDO	/ 16
Analysis of plant-transfer properties of copper, chromium, lead, arsenic, nickel and cadmium from soil at agricultural land in Shanxi Province, China	Takashi ISHIYAMA, Kokyo OH, Shigeo HOSONO, Yinghe XIE, Hongyan CHENG, Jianping HONG	/ 20
Results of the monitoring of PM _{2.5} components at Nagano City in summer 2020 : The events influenced by the Nishinoshima volcanic smoke and fireworks	Kazunori NAKAGOMI, Satoshi MACHIDA, Hideo KAKEGAWA	/ 27
Habitat of <i>Paratya compressa improvisa</i> and <i>Neocaridina</i> sp. in the pond in Yokohama City	Daiki TAMASHIRO, Naoto MOTOYAMA, Kentarou USHIODA, Hiroshi SHICHIRI, Akiko KAWAMURA, Arisa NAKAZATO, Naoko URAGAKI, Makoto KOJIMA	/ 32
Soil microbial community structure involved in common reed decomposition in floodplain of acidic river	Kazunori NAKAMURA	/ 38

◆巻頭言◆

地域に開かれた研究所を目指して

京都府保健環境研究所長 藤田 直久

令和3年度及び4年度において、全国環境研協議会東海・近畿・北陸支部の支部長を仰せつかっております京都府保健環境研究所の藤田と申します。先ず、平素より支部の運営にご協力頂いておりますことに深く感謝申し上げます。

私は京都府立医科大学に35年間在籍し、うち約30年は大学附属病院全体の「感染症対策」を担っておりましたが、とりわけ、最後の1年間は新型コロナウイルスによる患者治療・感染対策を中心に取り組んできました。

昨年4月の着任以降は保健所や府内市町村と連携し、施設におけるクラスター発生予防、拡大防止に向けた助言・指導に当たっているところです。

さて、当所は平成23年9月の知事と京都市長とのトップ会談を契機に、府市の2つの研究所を共同整備する検討を開始し、基本設計、実施設計、工事着手を経て、令和元年8月に地下1階、地上3階、延べ床面積9,775m²から成る新研究所を竣工しました。同9月～11月には府市研究所が新施設に移転、次の基本方針を基に運営していくことに京都市と合意し、同12月には開設記念式典を開催いたしました。

- ① 検査機器等の共同利用
- ② 健康危機管理事案への対応力強化
- ③ 地域に開かれた研究所を目指すこと

いよいよ新年度から新研究所で新たなスタートを切ろうと言う矢先、新型コロナウイルスの第一波に見舞われて大きな軌道修正を余儀なくされました。

これまで行政検査や事件・事案に柔軟に対応しながらも、府内における新型コロナウイルス検査に所を挙げて取り組むと共に、感染経路や変異状況を把握するためのゲノム解析にも注力してきました。勿論、数多くの思うに任せることができない残念な事例もありましたが、幾つかのプラス面もありました。

ひとつは、危機管理意識の向上です。検査拠点としての様な状況下にあっても割り当てられた役割、BCPをこなすため、決して感染を持ち込むことなく、厳格な健康管理のもとで検査体制を維持しようとする危機管理意識が格段に向上したと考えています。

次に、新技術の共有・応用です。例えば、この間、新

型コロナ検査に必要な分析機器を順次配備、技術を導入・利用し、その成果を保健所などの現場に還元していますが、その一部は内閣官房で採択された実証事業「下水と地上の多様なデータを活用した流行予測モデル構築」の精度向上に活用しています。また、本府では感染対策の一環として私を含む当所職員も参画する専門サポートチームが室内環境改善のため、換気量を測定することにより適切な換気方法を高齢者施設や医療機関に伝える取り組みを行っています。引き続き、培った新技術を環境分野を含む全所で共有・応用し、所全体のレベルアップを図っていく所存です。

コロナ禍の3年間で新しい生活様式の定着や働き方の多様化、デジタル化の急速な進展など、社会・経済情勢は大きく変化しました。私共も社会の流れに乗り遅れることなく、ピンチをチャンスと捉え、また、平成9年に地球温暖化防止京都会議（COP3）において「京都議定書」を採択した環境先進地「京都」としての矜恃を持って、これまで縮小・休止してきた技術職員を対象とした研修や各種調査研究に徐々に軸足を移す予定です。

現代の環境の課題は、かつてのように地域の問題に留まらず、複雑化、広域化し、一研究所、一自治体で対処できることには限りがあります。全国環境研協議会という歴史ある各自自治体の研究所間のネットワークを引き続き最大限に活用させていただき、また、国立環境研究所はもとより、地域住民の皆様や企業、大学とも緊密に連携して、得られた成果を地域にフィードバックすることにより、より良い環境づくりに努めてまいります。

何卒、これまで以上のご協力を賜りますようよろしくお願いいたします。

＜特集＞環境DNAを用いた環境調査の現状と展望

マクロ生物調査のための環境DNA分析

—種の検出と定量およびその他の応用における可能性と課題—

深谷 肇一

(国立環境研究所 生物多様性領域)

1. はじめに

水や土壌、空気などの環境中から抽出されるDNAのことを環境DNAと呼ぶ¹⁾。その実態は、様々な生物に由来する、多様な状態で存在するDNAが混ざったものである。環境中に生息する微生物そのものや、マクロ生物の体から環境中に遊離した組織の一部や細胞など、または細胞から遊離した状態で存在するDNA分子などが含まれる。環境DNA分析は、こうした環境DNAを集めて分析することで、生物の分布や遺伝情報、生理状態などの手がかりを得るための手法である。環境DNA分析はもともと、環境中の微生物や、安定環境下で長期保存された古生物のDNAを対象に行われていたが、近年は現生のマクロ生物への応用が大きく発展した。フランスのウシガエル個体群を対象に環境DNA分析の適用可能性を示した研究²⁾が発表されて以降、魚類や哺乳類、昆虫などの無脊椎動物、植物などを含む幅広い分類群に環境DNA分析が応用されている³⁻⁴⁾。マクロ生物の環境DNA分析は、対象種の目視や捕獲などによって行われてきた従来の生物調査に比べて、簡便で感度の高い、また生態系への影響が少ない新たな調査方法として、その利用が急速に拡大している。ここでは、現生のマクロ生物を対象とした、主に水域での環境DNA分析の応用に焦点を当て、その現状と課題を述べる。環境DNA分析の技術的な詳細については他の解説やマニュアルなど(例えば文献 5-6)を参照してほしい。

2. 環境DNA分析の手順とアプローチ

環境DNA分析を行うためには、まず水などの環境試料を収集し、試料に含まれるDNAを抽出して分析用のサンプルを生成する必要がある。手順の詳細は試料の種類などによって異なるが、例えば河川水を対象とする場合は、1L程度の水をフィルターでろ過した後、フィルターからDNAを抽出して精製する。こうして得られるサンプルの中には、河川水に含まれていた環境DNAが濃縮され、純度が高められた状態で存在するため、遺伝子実験によるDNA分析に供することができる。

サンプル中のDNAの分析方法として、PCRを用いて短いDNA配列を増幅するアプローチが広く用いられている。増幅の標的となるDNA配列はミトコンドリアDNAや葉緑体DNAの特定の遺伝子領域(例えばミトコンドリアの場合は、COIやcytb, 12S rRNAなど)に含まれる100~400bp程度であることが多いが、核DNAの配列を標的とする場合もある。PCRを用いた環境DNAの分析手法は、単一の種のDNA配列のみを増幅して検出する種特異的手法と、多数の種のDNA配列を同時に増幅してその配列を決定する網羅的手法の2つに大別される。

種特異的手法では、対象種のDNA配列のみを選択的に増幅するように設計された種特異的プライマーを用いてPCRを行うことで、サンプルに含まれる対象種のDNA配列を検出する。リアルタイムPCRやデジタルPCRなどの定量性の高いPCR法が利用されることが多く、しばしば対象種のDNA配列の濃度(単位試料体積当たりの配列コピー数など)が定量的に計測される。

網羅的手法では、対象の分類群のDNA配列をまとめて増幅するように設計されたユニバーサルプライマーを用いてPCRを行う。増幅されたDNAの配列を次世代シーケンサーを用いて決定し、データベースに登録された既知の種のDNA配列と照合することで、DNA配列がサンプルに含まれる種を特定する。環境DNAとして存在する特定の遺伝子領域のDNA配列(DNAバーコード)を一度に多数読み取ることから、このアプローチは環境DNAメタバーコーディングと呼ばれている⁷⁾。ただしこの方法では、データベースに配列が登録されていないなどの理由により、検出されたDNA配列を種に割り当てられない場合も生じうる。

2つの手法は一般に、目的などに応じて使い分けられる。種特異的手法は、簡便かつ迅速な分析手順によって対象種のDNAを感度良く検出・定量でき、少数の種に着目した個体群レベルの研究やモニタリングに適している。一方、網羅的手法は、少ない労力で生息種の一覧を作成でき、群集レベルの研究やモニタリングに適している。

3. 環境DNA分析の応用

3.1 種の分布と多様性の評価

環境DNA分析は、周辺環境における種の生息(在・不在)を確認する目的で広く利用されている。環境DNA分析は種を高い感度で検出できることから、特に個体密度の低い種の調査において従来手法より有効である。この特徴は希少種の生息地の把握や外来生物の分布拡大の監視などにおいて重要であり、生物多様性保全や生態系管理の取り組みを効率化できる⁸⁻⁹⁾。また環境DNA分析は、生息環境へのアクセスが困難であるなどの理由により発見や観察が難しい種の調査においても高い効果を発揮し、研究の進んでいない種の生態の解明にも役立つと考えられる¹⁰⁻¹¹⁾。さらに環境DNA分析は、野外で求められる作業が簡便で広域・多地点での調査も比較的容易に実施できることから、種の分布評価や生物多様性モニタリングの規模や密度を向上できる。

環境DNA分析によって示唆される種の分布や多様性は、一般に、捕獲などの従来手法による調査の結果と大きくは矛盾しないと考えられ(例えば文献12))、環境DNA分析による種検出の有効性や妥当性は現在では広く受け入れられている。しかし、環境DNA分析では、種の生息について誤った認識につながる可能性のある検出誤差が生じうることには注意が必要である。種の検出誤差には、生息する種(の環境DNA)が検出されない偽陰性と、生息しない種(の環境DNA)が検出される偽陽性がある。偽陰性と偽陽性は環境DNA分析の様々な段階で生じる可能性がある¹³⁻¹⁴⁾。例えば、野外での試料収集の段階では、DNA濃度の不均一性が原因で偽陰性が生じることや、上流からのDNAの輸送や生活排水などによるDNAの流入が原因で偽陽性が生じることなどが考えられる。遺伝子実験の段階では、サンプルにPCR阻害物質が含まれることが原因で偽陰性が生じることや、サンプル処理の過程におけるコンタミネーションが原因で偽陽性が生じることなどが考えられる。次世代シーケンサーによる配列決定を行う網羅的手法では、PCR増幅効率の種間不均一性や、シーケンスエラー、不十分なシーケンス深度、塩基配列データベースの不完全性などが検出誤差の要因となりうる。

検出誤差は必ずしも環境DNA分析に固有の問題ではないが、対象種の生息を直接確認しない環境DNA分析では、検出誤差の発生を最小限に抑えることに加えて、データに誤差が含まれる可能性を考慮して注意深く結果を解釈することが重要である。検出誤差の発生を最小化するための取り組みとして、環境DNA分析の手順やバイオインフォマティクス解析の高度化と最適化が進められている¹⁵⁻¹⁶⁾。検出誤差を含むデータから種の分布を確実に評価するための方法として、検出誤差を考慮した統計解析手法が提案されている¹⁷⁻¹⁸⁾。

3.2 種の個体群サイズの評価

種の個体数や個体密度、または生物量(これらは種個体群の異なる特性であるが、以下ではまとめて個体群サイズと呼ぶ)の評価に環境DNA分析を利用する試みも進められている。種特異的手法を用いた研究では、環境DNAの濃度と種の個体群サイズの間には正の相関関係が広く見出されており¹⁹⁻²⁰⁾、環境DNAの濃度は周辺環境に生息する種の個体群サイズを大まかには反映するものと考えられる。しかし、この相関関係は、制御された実験環境に比べて、自然環境ではより不明瞭である¹⁹⁾。これは、環境DNAの放出や分解、輸送の過程が野外では様々に異なり、環境DNA濃度と個体群サイズの関係がより複雑であるためと考えられる¹⁹⁻²⁰⁾。そのため、自然環境で種の個体群サイズを確実に評価するためには、環境DNAの濃度を規定する要因として、水の流れ、種の空間分布や体サイズ分布、温度などの環境因子の影響を(それが重要な場合には)明示的に考慮したサンプリングと解析を行う必要がある²¹⁾。これらの要因を考慮せず、計測された環境DNA濃度を単純に個体群サイズの指標とみなすと、誤った結論に至る可能性がある。

一部の先行研究では、種特異的手法によって定量された環境DNA濃度から魚類の個体群サイズが推定されている。文献22)は、個体群サイズと環境DNA濃度の相関関係(ただし体サイズの違いによる個体のDNA放出率の不均一性を考慮したもの)に基づき、カナダにある12 haほどの広さの湖に生息するカワマス(*Salvelinus fontinalis*)の個体数を3,286匹、その全体の生物量を143kgとそれぞれ推定した。文献23)は、水の流れ、DNAの個体当たり放出率、分解率などを考慮した統計モデルを用いて、舞鶴湾に生息するマアジ(*Trachurus japonicus*)の個体数を2,230万匹と推定した。これらの応用では、環境DNA濃度のデータに加えて、体サイズ分布や、対象水域における水の流れ、放出率、分解率などに関する情報が推定のために追加で取得されている。少なくとも現在のところ、個体群サイズの絶対的な定量を目的とした用途では、環境DNA分析は従来の資源評価手法と比較して必ずしも性能や利便性が高いわけではない。

網羅的手法では、次世代シーケンサーで読み取られた種ごとのDNA配列の数(リード数と呼ばれる)がデータとして得られる。リード数は環境DNA分子の濃度を定量するものではない。また、ユニバーサルプライマーによるPCRの増幅効率は一般に種によって異なるため、各種のリード数の多寡をもって種の個体群サイズの大小を比較できるとも限らない。しかし経験的には、種の配列のリード数は群集における種の相対個体群サイズと相関することが多いようである²⁰⁾。また、最近では網羅的手法におい

てもDNA配列の濃度を定量可能な新しい技術がいくつか提案されている²⁴⁻²⁵⁾。こうした技術は同時に多数の種の環境DNAを定量できるため、種の個体群サイズを評価するための効果的で新しいアプローチとなるかもしれない。しかし、上で述べたように、環境DNAの濃度計測に基づき種の個体群サイズを確実に推定するためには、野外における様々な生物的・非生物的要因を考慮することが重要であり、これは多くの種が関係する場合には一層難しい問題となることが予想される。網羅的手法による種の個体群サイズの評価は今後の課題である。

4. 関連する技術発展と応用の広がり

4.1 水以外の環境試料の分析

水環境中の堆積物からは、水中の環境DNAの一部が沈降したものと考えられるDNAが検出される。堆積物中の環境DNAは、水中の環境DNAに比べて高濃度で存在し、また分解が制限されることで長期間に渡り検出可能な状態で残存する²⁶⁻²⁷⁾。堆積物コアの環境DNA分析では、異なる年代の試料を連続的に分析することで過去の個体群動態や生物相の変化を復元できる。例えば、別府湾の海底堆積物コアを分析した研究では、カタクチイワシ (*Engraulis japonicus*)、マイワシ (*Sardinops melanostictus*)、マアジの各種について、過去300年間におよび資源量の変化が推定されている²⁸⁾。古生物学の研究では、極地で収集された湖底堆積物コアの環境DNA分析により、過去数万年におよぶ生態系の変化が推測されている²⁹⁾。

空気中の環境DNAを分析した研究では、脊椎動物³⁰⁻³¹⁾、昆虫³²⁾、植物³³⁾などが検出されている。現在のところ空気中の環境DNAを分析した事例は限られているが、今後、手法の最適化が進むことで陸域での環境DNA分析の活用が広がるかもしれない。花や葉の食痕に付着した節足動物の環境DNAを分析することで、送粉や植食など、植物と昆虫の相互作用の手がかりが得られる³⁴⁻³⁵⁾。

4.2 遺伝的多様性の評価

環境DNA分析で種内の遺伝的変異を検出することもできる。例えば、日本のコイ (*Cyprinus carpio*) の個体群では、在来集団とユーラシア大陸産外来集団それぞれの遺伝子型の存在比を定量する手法が開発され、外来集団の侵入状況の広域評価や集団ごとの季節移動パターンの解明に利用されている³⁶⁻³⁷⁾。また、次世代シーケンサーを用いた集団のハプロタイプ多様性の評価も行われている³⁸⁻⁴⁰⁾。正確な評価のためにはPCRエラーやシーケンスエラーにより生じる偽陽性ハプロタイプを除去することが重要であるが、陽性対照の設定、デノイジング手法の適用、分子バーコードの利用など、いくつかの対処法が提案さ

れている^{38,41-42)}。解決すべき技術的課題も多いが⁴³⁻⁴⁴⁾、組織サンプルの取得を必要としない簡便さは環境DNA分析の大きな利点と考えられる。将来的に、系統地理学研究や野生生物集団の遺伝的多様性モニタリングなどにおいて環境DNA分析が活用されるかもしれない。

4.3 環境RNA分析

マクロ生物の体からは、DNA分子に加えて、メッセンジャーRNAなどのRNA分子も周辺環境に放出されていると考えられる⁴⁵⁾。環境DNAと同様に、環境中に遊離したRNA分子(環境RNA)を対象とした分析も行うことができる。死んだ個体から放出される可能性があるDNAとは対照的に、RNAは代謝活性の高い生きた個体からのみ放出され、また環境中では速やかに分解されると考えられる。そのため、環境RNA分析を用いることで、環境DNA分析よりも種の検出を正確に行えるようになることが期待される⁴⁵⁾。河川における魚類のメタバーコーディングの事例では、調査地に生息しないはずの海水魚や汽水魚の検出が、環境RNA分析を用いることで効果的に抑制されることが示されている⁴⁶⁾。また、環境RNAは周辺環境に生息する個体の遺伝子発現に関する情報を与えることから、環境試料に基づき生物の代謝や生理を非侵襲的に評価する新しい手法の開発も期待される^{45,47-48)}。環境DNAと環境RNAを総称して環境核酸と呼ぶ。

4.4 環境DNA分析を活用した生態系モニタリング

環境DNA分析の簡便さや感度の高さは、大きな費用や労力が必要な、広域または長期の生態系モニタリングの可能性を大きく広げている。日本では環境DNA分析を用いた生物多様性観測ネットワークであるANEMONEが組織され、研究者だけでなく企業や市民ボランティアも参加して全国規模での観測が行われている⁴⁹⁾。専門家でなくとも比較的容易にサンプリングを行えることは環境DNA分析の大きな利点である。ANEMONEではこの利点を活かして非常に多くの地点(文献49)によれば、2022年10月時点で1000地点以上)での観測を実現している。収集されたデータはオープンデータとして公開されており、生態系保全や自然教育などへの活用が期待される。国土交通省では、全国で行われている河川・ダム生物調査(河川水辺の国勢調査)における環境DNAメタバーコーディングの適用可能性が検討されている⁵⁰⁾。今後、国や自治体による生態系モニタリングにおいても環境DNA分析の活用が進み、従来の生物調査手法による評価を補うことが期待される。また、環境DNAの収集や分析を遠隔・自動で行うための機器の開発が進められており⁵¹⁻⁵²⁾、環境DNA分析による自動化された生態系モニタリングも近い将来に実現するかも

しれない。

5. 今後の課題

現生のマクロ生物を対象とした近年の環境DNA分析の発展は目覚ましく、生態系の研究やモニタリングのための有望な手法の1つとなっている。しかし、環境DNA分析は依然として発展途上の技術であり、その応用の可能性を最大限に引き出すためには一層の研究や基盤整備が不可欠である。最後に、今後のさらなる取り組みが望まれる3つの課題を強調する。

第一に、自然環境下での環境DNAの動態について基礎的な理解を深めることが重要である。具体的には、環境DNAの生成や分解、輸送、状態について、関連する要因やメカニズムを明らかにすることが求められる⁵³⁻⁵⁴。環境DNAの性質や振る舞いがよく分からないために、環境DNA分析の結果の解釈に大きな不確実性が残ることは少なくない。環境DNAそのものに対する基礎知識は、環境DNA分析の結果を背景にある生態学的過程と適切に関連付け、信頼性の高い生物多様性評価を実現する上で不可欠である。環境DNAの性質を深く理解することはまた、環境DNA分析の新しい応用にもつながるだろう。しかし、関連する研究事例は比較的少ないのが現状である⁵⁴。

第二に、環境DNAの動態や、環境DNA分析に固有の誤差要因などを考慮した、環境DNA分析のためのデータ解析手法の開発が求められる^{14,55}。例えば、環境DNAの濃度分布に水の流れが強く影響する河川や海では、種の分布や個体群サイズを評価するためにDNAの輸送過程を組み込んだ解析が必要になるかもしれない^{23,56}。種の分布や多様性の評価において偽陰性や偽陽性の影響が無視できない場合には、環境DNA分析の異なる段階で生じる検出誤差を説明する統計モデルが必要だろう¹⁷⁻¹⁸。こうしたモデルは、種を効率的に検出できる研究デザインの特定にも役立てられる¹⁸。また、環境DNA分析と従来の調査手法の欠点を互いに補うために、両者のデータを組み合わせる解析することも有効だろう。これら2種類のデータを組み合わせた解析は、複数の異なるデータセットを同時にモデル化する枠組みを用いることで効果的に実現できる可能性がある⁹。

最後に、環境DNA分析の基盤となる配列データの充実化が必要である。塩基配列データベースに登録された配列データの豊富さは、地域や分類群、バーコード領域によって大きく異なり⁵⁷、配列データの登録が限られた地域や分類群では環境DNA分析の可能性を十分に活かさない可能性がある。例えば、次世代シーケンサーで決定された環境DNAの配列を既知のDNA配列と照合する環境DNAメタバーコーディングでは、既知の配列情報の利用可能性

が結果に大きく影響する。実際、日本の水生昆虫では、公共のデータベースにおけるバーコード配列データの不足によって、環境DNAメタバーコーディングの性能が著しく制限されている⁵⁸。また、環境RNA分析では、マクロ生物のメッセンジャーRNA配列やトランスクリプトームデータが不足していることが、手法の開発と応用における重大な制約となっている⁴⁷。生態系モニタリングなどで環境DNA分析を活用するためには、適用を目指す地域や分類群ごとに配列データの不足を戦略的に解消していくことが重要だろう。

6. 引用文献

- 1) Taberlet P, Coissac E, Hajibabaei M, Rieseberg L. H : Environmental DNA. *Molecular Ecology*, **21**, 1789-1793, 2012
- 2) Ficetola G. F, Miaud C, Pompanon F, Taberlet P : Species detection using environmental DNA from water samples. *Biology Letters*, **4**, 423-425, 2008
- 3) Bohmann K, Evans A, Gilbert M. T. P, Carvalho G. R, Creer S, Knapp M, Yu D. W, de Bruyn M : Environmental DNA for wildlife biology and biodiversity monitoring. *Trends in Ecology and Evolution*, **29**, 358-367, 2014
- 4) Thomsen P. F, Willerslev E : Environmental DNA—an emerging tool in conservation for monitoring past and present biodiversity. *Biological Conservation*, **183**, 4-18, 2015
- 5) 土居秀幸, 近藤倫生 : 環境DNA—生態系の真の姿を読み解く—, p. 300, 共立出版, 東京, 2021
- 6) Minamoto T, Miya M, Sado T, Seino S, Doi H, Kondoh M, Nakamura K, Takahara T, Yamamoto S, Yamanaka H, Araki H, Iwasaki W, Kasai A, Masuda R, Uchii K : An illustrated manual for environmental DNA research : water sampling guidelines and experimental protocols. *Environmental DNA*, **3**, 8-13, 2021
- 7) Miya M : Environmental DNA metabarcoding : a novel method for biodiversity monitoring of marine fish communities. *Annual Review of Marine Science*, **14**, 161-185, 2022
- 8) Mizumoto H, Mitsuzuka T, Araki H : An environmental DNA survey on distribution of an endangered salmonid species, *Parahucho perryi*, in Hokkaido, Japan. *Frontiers in Ecology and Evolution*, **8**, 569425, 2020
- 9) Keller A. G, Grason E. W, McDonald P. S, Ramón-Laca A, Kelly R. P : Tracking an invasion front with

- environmental DNA. *Ecological Applications*, **32**, e2561, 2022
- 10) Wada T, Doi H, Togaki D, Kaida R, Nagano M, Katano I, Suzuki M, Ohtani T, Mitsuhashi H: Exploring a legendary giant squid: an environmental DNA approach. *Marine Biology*, **167**, 160, 2020
- 11) Fujiwara Y, Tsuchida S, Kawato M, Masuda K, Sakaguchi S. O, Sado T, Miya M, Yoshida T: Detection of the largest deep-sea-endemic teleost fish at depths of over 2,000 m through a combination of eDNA metabarcoding and baited camera observations. *Frontiers in Marine Science*, **9**, 945758, 2022
- 12) Nakagawa H, Yamamoto S, Sato Y, Sado T, Minamoto T, Miya M: Comparing local- and regional-scale estimations of the diversity of stream fish using eDNA metabarcoding and conventional observation methods. *Freshwater Biology*, **63**, 569-580, 2018
- 13) Zhan A, MacIsaac H. J.: Rare biosphere exploration using high-throughput sequencing: research progress and perspectives. *Conservation Genetics*, **16**, 513-522, 2015
- 14) Burian A, Mauvisseau Q, Bulling M, Domisch S, Qian S, Sweet M: Improving the reliability of eDNA data interpretation. *Molecular Ecology Resources*, **21**, 1422-1433, 2021
- 15) Tsuji S, Takahara T, Doi H, Shibata N, Yamanaka H: The detection of aquatic macroorganisms using environmental DNA analysis—a review of methods for collection, extraction, and detection. *Environmental DNA*, **1**, 99-108, 2019
- 16) Mathon L, Valentini A, Guérin P.-E, Normandeau E, Noel C, Lionnet C, Boulanger E, Thuiller W, Bernatchez L, Mouillot D, Dejean T, Manel S: Benchmarking bioinformatic tools for fast and accurate eDNA metabarcoding species identification. *Molecular Ecology Resources*, **21**, 2565-2579, 2021
- 17) Guillera-Arroita G, Lahoz-Monfort J. J., van Rooyen A. R., Weeks A. R., Tingley R.: Dealing with false-positive and false-negative errors about species occurrence at multiple levels. *Methods in Ecology and Evolution*, **8**, 1081-1091, 2017
- 18) Fukaya K, Kondo N. I., Matsuzaki S.-I. S., Kadoya T: Multispecies site occupancy modelling and study design for spatially replicated environmental DNA metabarcoding. *Methods in Ecology and Evolution*, **13**, 183-193, 2022
- 19) Yates M. C., Fraser D. J., Derry A. M.: Meta-analysis supports further refinement of eDNA for monitoring aquatic species-specific abundance in nature. *Environmental DNA*, **1**, 5-13, 2019
- 20) Rourke M. L., Fowler A. M., Hughes J. M., Broadhurst M. K., DiBattista J. D., Fielder S., Wilkes Walburn J., Furlan E. M.: Environmental DNA (eDNA) as a tool for assessing fish biomass: a review of approaches and future considerations for resource surveys. *Environmental DNA*, **4**, 9-33, 2022
- 21) Yates M. C., Cristescu M. E., Derry A. M.: Integrating physiology and environmental dynamics to operationalize environmental DNA (eDNA) as a means to monitor freshwater macro-organism abundance. *Molecular Ecology*, **30**, 6531-6550, 2021
- 22) Yates M. C., Glaser D. M., Post J. R., Cristescu M. E., Fraser D. J., Derry A. M.: The relationship between eDNA particle concentration and organism abundance in nature is strengthened by allometric scaling. *Molecular Ecology*, **30**, 3068-3082, 2021
- 23) Fukaya K, Murakami H, Yoon S, Minami K, Osada Y, Yamamoto S, Masuda R, Kasai A, Miyashita K, Minamoto T, Kondoh M: Estimating fish population abundance by integrating quantitative data on environmental DNA and hydrodynamic modelling. *Molecular Ecology*, **30**, 3057-3067, 2021
- 24) Hoshino T, Inagaki F: Application of stochastic labeling with random-sequence barcodes for simultaneous quantification and sequencing of environmental 16S rRNA genes. *PLoS ONE*, **12**, e0169431, 2017
- 25) Ushio M, Murakami H, Masuda R, Sado T, Miya M, Sakurai S, Yamanaka H, Minamoto T, Kondoh M: Quantitative monitoring of multispecies fish environmental DNA using high-throughput sequencing. *Metabarcoding and Metagenomics*, **2**, e23297, 2018
- 26) Turner C. R., Uy K. L., Everhart R. C.: Fish environmental DNA is more concentrated in aquatic sediments than surface water. *Biological Conservation*, **183**, 93-102, 2015
- 27) Sakata M. K., Yamamoto S., Gotoh R. O., Miya M., Yamanaka H., Minamoto T.: Sedimentary eDNA provides different information on timescale and fish species composition compared with aqueous eDNA. *Environmental DNA*, **2**, 505-518, 2020
- 28) Kuwae M, Tamai H, Doi H, Sakata M. K., Minamoto T, Suzuki Y: Sedimentary DNA tracks decadal-centennial changes in fish abundance. *Communications Biology*,

- 3, 558, 2020
- 29) Wang Y, Pedersen M.W, Alsos I.G, De Sanctis B, Racimo F, Prohaska A, Coissac E, Owens H.L, Merkel M.K.F, Fernandez-Guerra A, Rouillard A, Lammers Y, Alberti A, Denoëud F, Money D, Ruter A.H, McColl H, Larsen N.K, Cherezova A.A, Edwards M.E, Fedorov G.B, Haile J, Orlando L, Vinner L, Korneliusson T.S, Beilman D.W, Bjørk A.A, Cao J, Dockter C, Esdale J, Gusarova G, Kjeldsen K.K, Mangerud J, Rasic J.T, Skadhauge B, Svendsen J.I, Tikhonov A, Wincker P, Xing Y, Zhang Y, Froese D.G, Rahbek C, Nogues Bravo D, Holden P.B, Edwards N.R, Durbin R, Meltzer D.J, Kjær K.H, Möller P, Willerslev E : Late Quaternary dynamics of Arctic biota from ancient environmental genomics. *Nature*, **600**, 86–92, 2021
- 30) Clare E.L, Economou C.K, Bennett F.J, Dyer C.E, Adams K, McRobie B, Drinkwater R, Littlefair J.E : Measuring biodiversity from DNA in the air. *Current Biology*, **32**, 693–700, 2022
- 31) Lynggaard C, Bertelsen M.F, Jensen C.V, Johnson M.S, Frøslev T.G, Olsen M.T, Bohmann K : Airborne environmental DNA for terrestrial vertebrate community monitoring. *Current Biology*, **32**, 701–707, 2022
- 32) Roger F, Ghanavi H.R, Danielsson N, Wahlberg N, Löndahl J, Pettersson L.B, Andersson G.K.S, Boke Olén N, Clough Y : Airborne environmental DNA metabarcoding for the monitoring of terrestrial insects—a proof of concept from the field. *Environmental DNA*, **4**, 790–807, 2022
- 33) Johnson M.D, Fokar M, Cox R.D, Barnes M.A : Airborne environmental DNA metabarcoding detects more diversity, with less sampling effort, than a traditional plant community survey. *BMC Ecology and Evolution*, **21**, 218, 2021
- 34) Thomsen P.F, Sigsgaard E.E : Environmental DNA metabarcoding of wild flowers reveals diverse communities of terrestrial arthropods. *Ecology and Evolution*, **9**, 1665–1679, 2019
- 35) Kudoh A, Minamoto T, Yamamoto S : Detection of herbivory : eDNA detection from feeding marks on leaves. *Environmental DNA*, **2**, 627–634, 2020
- 36) Uchii K, Doi H, Minamoto T : A novel environmental DNA approach to quantify the cryptic invasion of non-native genotypes. *Molecular Ecology Resources*, **16**, 415–422, 2016
- 37) Uchii K, Doi H, Yamanaka H, Minamoto T : Distinct seasonal migration patterns of Japanese native and non-native genotypes of common carp estimated by environmental DNA. *Ecology and Evolution*, **7**, 8515–8522, 2017
- 38) Parsons K.M, Everett M, Dahlheim M, Park L : Water, water everywhere : environmental DNA can unlock population structure in elusive marine species. *Royal Society Open Science*, **5**, 180537, 2018
- 39) Sigsgaard E.E, Nielsen I.B, Bach S.S, Lorenzen E.D, Robinson D.P, Knudsen S.W, Pedersen M.W, Jaidah M.A, Orlando L, Willerslev E, Möller P.R, Thomsen P.F : Population characteristics of a large whale shark aggregation inferred from seawater environmental DNA. *Nature Ecology and Evolution*, **1**, 4, 2016
- 40) Tsuji S, Maruyama A, Miya M, Ushio M, Sato H, Minamoto T, Yamanaka H : Environmental DNA analysis shows high potential as a tool for estimating intraspecific genetic diversity in a wild fish population. *Molecular Ecology Resources*, **20**, 1248–1258, 2020
- 41) Tsuji S, Miya M, Ushio M, Sato H, Minamoto T, Yamanaka H : Evaluating intraspecific genetic diversity using environmental DNA and denoising approach : a case study using tank water. *Environmental DNA*, **2**, 42–52, 2020
- 42) Yoshitake K, Fujiwara A, Matsuura A, Sekino M, Yasuie M, Nakamura Y, Nakamichi R, Kodama M, Takahama Y, Takasuka A, Asakawa S, Nishikiori K, Kobayashi T, Watabe S : Estimation of tuna population by the improved analytical pipeline of unique molecular identifier-assisted HaCeD-Seq (haplotype count from eDNA). *Scientific Reports*, **11**, 7031, 2021
- 43) Adams C.I.M, Knapp M, Gemmill N.J, Jeunen G.-J, Bunce M, Lamare M.D, Taylor H.R : Beyond biodiversity : can environmental DNA (eDNA) cut it as a population genetics tool?. *Genes*, **10**, 192, 2019
- 44) Sigsgaard E.E, Jensen M.R, Winkelmann I.E, Möller P.R, Hansen M.M, Thomsen P.F : Population-level inferences from environmental DNA—current status and future perspectives. *Evolutionary Applications*, **13**, 245–262, 2020
- 45) Cristescu M.E : Can environmental RNA revolutionize biodiversity science?. *Trends in Ecology and Evolution*, **34**, 694–697, 2019
- 46) Miyata K, Inoue Y, Amano Y, Nishioka T, Yamane M, Kawaguchi T, Morita O, Honda H : Fish environmental

- RNA enables precise ecological surveys with high positive predictivity. *Ecological Indicators*, **128**, 107796, 2021
- 47) Tsuru K, Ikeda S, Hirohara T, Shimada Y, Minamoto T, Yamanaka H: Messenger RNA typing of environmental RNA (eRNA): a case study on zebrafish tank water with perspectives for the future development of eRNA analysis on aquatic vertebrates. *Environmental DNA*, **3**, 14–21, 2021
- 48) Yates M. C, Derry A. M, Cristescu M. E.: Environmental RNA: a revolution in ecological resolution?. *Trends in Ecology and Evolution*, **36**, 601–609, 2021
- 49) ANEMONE: ANEMONE, <https://anemone.bio/> (2022. 11. 22アクセス)
- 50) 北川哲郎, 村岡敬子, 山田拓也, 中村圭吾: 河川水辺の国勢調査(魚類)における環境DNAメタバーコーディング解析の試行事例分析. 河川技術論文集, **26**, 319–324, 2020
- 51) Yamahara K. M, Preston C. M, Birch J, Walz K, Marin III R, Jensen S, Pargett D, Roman B, Ussler III W, Zhang Y, Ryan J, Hobson B, Kieft B, Raanan B, Goodwin K. D, Chavez F. P, Scholin C: In situ autonomous acquisition and preservation of marine environmental DNA using an autonomous underwater vehicle. *Frontiers in Marine Science*, **6**, 373, 2019
- 52) Hansen B. K, Jacobsen M. W, Middelboe A. L, Preston C. M, Marin III R, Bekkevold D, Knudsen S. W, Møller P. R, Nielsen E. E: Remote, autonomous real-time monitoring of environmental DNA from commercial fish. *Scientific Reports*, **10**, 13272, 2020
- 53) Barnes M. A, Turner C. R: The ecology of environmental DNA and implications for conservation genetics. *Conservation Genetics*, **17**, 1–17, 2016
- 54) Jo T, Takao K, Minamoto T: Linking the state of environmental DNA to its application for biomonitoring and stock assessment: targeting mitochondrial/nuclear genes, and different DNA fragment lengths and particle sizes. *Environmental DNA*, **4**, 271–283, 2022
- 55) Harrison J. B, Sunday J. M, Rogers S. M: Predicting the fate of eDNA in the environment and implications for studying biodiversity. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **286**, 20191409, 2019
- 56) Carraro L, Hartikainen H, Jokela J, Bertuzzo E, Rinaldo A: Estimating species distribution and abundance in river networks using environmental DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **115**, 11724–11729, 2018
- 57) Weigand H, Beermann A. J, Čiampor F, Costa F. O, Csabai Z, Duarte S, Geiger M. F, Grabowski M, Rimet F, Rulik B, Strand M, Szucsich N, Weigand A. M, Willassen E, Wyler S. A, Bouchez A, Borja A, Čiamporová-Zaťovičová Z, Ferreira S, Dijkstra K. -D. B, Eisendle U, Freyhof J, Gadawski P, Graf W, Haegerbaeumer A, van der Hoorn B. B, Japoshvili B, Keresztes L, Keskin E, Leese F, Macher J. N, Mamos T, Paz G, Pešić V, Pfannkuchen D. M, Pfannkuchen M. A, Price B. W, Rinkevich B, Teixeira M. A. L, Várбірó G, Ekrem T: DNA barcode reference libraries for the monitoring of aquatic biota in Europe: gap-analysis and recommendations for future work. *The Science of the Total Environment*, **678**, 499–524, 2019
- 58) Miyata K, Inoue Y, Amano Y, Nishioka T, Nagaike T, Kawaguchi T, Morita O, Yamane M, Honda H: Comparative environmental RNA and DNA metabarcoding analysis of river algae and arthropods for ecological surveys and water quality assessment. *Scientific Reports*, **12**, 19828, 2022

＜特集＞環境DNAを用いた環境調査の現状と展望

神奈川県における環境DNA調査の導入経緯とその活用について

長谷部 勇太

(神奈川県環境科学センター)

1. はじめに

神奈川県環境科学センターは公害が社会問題となっていた1968年（昭和43年）に設置された「公害センター」を前身としており、1991年（平成3年）に平塚市四之宮に庁舎を新設移転し、現在の「環境科学センター」としてスタートした。

当センターと生物調査との関係は長く、古くは1968年（昭和43年）から県内の主要な河川を対象に水生生物（底生動物、付着藻類、水草等）の調査を実施しており^{1,2)}、生物相から見た河川環境の評価を行ってきた。

その後も定期的に魚類調査³⁾や底生動物調査⁴⁾を実施しており、現在では県民の水源となっている相模川及び酒匂川において良質な水を安定的に確保するための総合的な取組である水源環境の保全に関する事業（以下「水源事業」という）に基づく、両河川の生物調査（以下「河川モニタリング」という）を実施している。

河川モニタリングは両河川における水質や生物に関する基礎的な情報を収集するとともに、水源事業の実施が河川に与える影響を評価することを目的としており、大きく2種類の調査を実施している。

一つ目は生物調査の専門家に委託し、両河川を広域的に実施する調査（以下「専門家調査」という）、二つ目は生きものに興味がある県民の方々に協力いただき実施する調査（以下「県民調査」という）である。専門家調査は2008年に相模川、2009年に酒匂川で開始し、以降5年に1回実施しており、県民調査は毎年実施している。

本稿では、まず当センターが環境DNA調査を導入することとなった経緯を紹介し、次に過去に実施してきた環境DNAに関する試行的な調査、さらには現在進めている全国環境研協議会Ⅱ型実施共同研究の紹介、最後に、当センターが考える環境DNA調査の展望と課題について述べる。

2. 環境DNA調査導入の経緯

河川モニタリングは主に水質と生物の調査を実施しており、生物調査については捕獲調査を中心に実施している。

調査頻度・地点数については、それぞれの河川に上流から下流まで40の調査地点を設定し、水質調査については月1回、生物調査については年2回（概ね夏季と冬季）の頻度で調査を行っている。

なお、生物調査のうちサンショウウオ類については対象となる種の生息域が源流域に限定されていることから、別途源流域を中心に25の調査地点を設定し、年1回の調査としている。

河川モニタリングにおける生物調査が抱える一つの課題としては、調査頻度の少なさによる事業評価の精度の低さが挙げられる。本来であれば、水質の変化よりも生物相の変化の方がより多くの要因に影響されており、その変化と水源事業の関係を評価するにはより高頻度での調査が必要と考えられるが、生物調査は水質調査に比べ委託費用が高く、当センターでの専門家調査でも予算等の関係から5年に1度、年2回の頻度にとどまっている。

そのような中、2018年度の生態学会大会でのシンポジウム等で新たな生物調査手法である環境DNA調査が紹介され、その特徴の一つである調査の簡易性に着目し、河川モニタリングに導入することで評価精度の向上につながるのではないかと考え、導入に向けた検討を開始することとした。

そこで、導入に向けた最初の取組として、環境DNA調査と捕獲調査を同時に実施することで、従来から実施していた捕獲調査の代替や補完的な調査として活用可能なか検討を行うこととした。

3. 環境DNA調査導入に向けた試行調査

3.1 サンショウウオ類調査

最初にサンショウウオ類調査に関する試行調査について紹介する。水源事業でのサンショウウオ類調査の対象種は、丹沢山地に生息するハコネサンショウウオとヒガシヒダサンショウウオであるが、いずれも源流域に生息しており、深い淵など調査が難しい場所も多く、捕獲調査では確認できていない可能性もあることが課題となっていた。環境DNA調査はこのような河川の構造に影響を受

けずに調査が可能のため、捕獲調査と同等以上の結果が得られるのであれば、従来の捕獲調査を代替できる可能性がある。

試行調査内容としては捕獲調査との同時調査による結果の比較、DNAの流下距離検討及び時刻・季節によるDNA濃度の変動に関する検討を実施した。

この内容の詳細は既報に譲り^{5,6)}、ここでは結果の概要のみの紹介に留めることとする。

結果としては、表1、表2のとおり8月に実施した捕獲調査の際に同時に実施した環境DNA調査では結果が一致する地点が多いものの、捕獲調査では確認されたが、環境DNAは検出できなかった地点も存在した。DNAの流下距離検討において、ハコネサンショウウオの幼体15匹をかごに入れ、河川内に設置し、直下で採水した場合でもDNAが不検出であったことと併せて考えると、不検出となったのは捕獲調査を実施した8月に河川にいるサンショウウオは幼体であり、体の大きさが小さく、代謝等に伴い外部に放出するDNAの量が非常に少ないことが原因と考えられた。

一方で、時刻・季節によるDNA濃度の変動に関する検討を実施した結果からは時刻による濃度変化は少なく、季節による変動は非常に大きいことが明らかとなった。この調査では6月というハコネサンショウウオの繁殖期にあたる時期に調査を実施したことで、8月の調査時に比べ、10倍以上の高濃度のDNAが検出された。繁殖期には河川に成体が戻ってきており、繁殖等に伴い活動が活発化していると想定されることから、放出されるDNAの量が多くなったものと考えられた。これらの試行調査の結果から適切な調査時期を設定し、西丹沢地域におけるサンショウ

ウオ類の分布把握調査を実施した⁷⁾。

3.2 魚類調査

3.2.1 捕獲調査確認種に対する検出率

次に魚類調査に関する試行調査について紹介する。魚類については2015年に千葉博物館の宮氏が魚類のユニバーサルプライマーであるMiFishプライマーを開発しており⁸⁾、この試行調査においてもMiFishプライマーを使用している。

MiFishプライマーは非常に検出率が高く、美ら海水族館の水槽での実験では水槽に生息する種の90%~100%が検出されており⁸⁾、環境DNA学会発行の環境DNA調査・分析マニュアル⁹⁾や環境省発行の「DNA分析技術を用いた淡水魚類調査手法の手引き」¹⁰⁾においても代表的な魚類の網羅解析手法として紹介されている。

2018年度に相模川で39地点、2019年度に酒匂川で39地点の専門家調査を実施しており、その捕獲調査の際に採水も実施し、環境DNAサンプルを作成し、MiFishプライマーによる魚類網羅解析を実施した。

結果については両河川とも同様の傾向がみられたため、両河川のデータを図1のとおりまとめた。捕獲調査で確認された個体数が多いほど、環境DNAで検出できる確率は高まり、6個体以上捕獲された場合は、ほぼ100%の確率で環境DNAが検出でき、捕獲個体数が1だった場合でも90%に近い検出率となった。捕獲調査で確認されたものの不検出となった種の中にはアユやスナヤツメ類といったMiFishプライマー配列との一致率が低い種も確認された。プライマーとのミスマッチが種の検出に悪影響を与えることは上述の「DNA分析技術を用いた淡

表1 相模川水系の捕獲調査と環境DNA調査の結果比較

調査地点	種名	ヒガシヒダサンショウウオ			ハコネサンショウウオ					
		捕獲調査(調査年)	環境DNA		捕獲調査(調査年)	環境DNA				
	水系名	2008	2013	2018	(copies/ml)	2008	2013	2018	(copies/ml)	
地点番号	St.1	沢井川	-	-	-	-	-	-	-	
	St.2	底沢	-	-	-	-	-	-	-	
	St.3	神ノ川A沢	-	-	2	-	7	5	2	0.05
	St.4	神ノ川B沢	2	-	-	-	8	5	1	0.38
	St.5	神ノ川C沢	-	-	-	-	-	-	-	-
	St.6	神ノ川D沢	-	-	-	-	6	8	-	0.26
	St.7	神ノ川E沢	-	-	-	-	-	-	-	-
	St.8	道志川A沢	-	-	-	-	-	1	-	検出
	St.9	道志川B沢	-	-	-	-	2	1	1	1.51
	St.10	早戸川A沢	1	-	-	-	6	34	5	0.16
	St.11	早戸川B沢	-	7	-	-	6	32	34	検出
	St.12	早戸川C沢	1	-	-	-	-	-	-	-
	St.13	早戸川D沢	-	-	-	-	9	3	2	検出
	St.14	早戸川E沢	-	-	-	-	-	3	1	検出
	St.15	早戸川F沢	-	-	-	-	2	-	-	0.09
	St.16	早戸川G沢	-	-	-	-	-	-	-	-
	St.17	早戸川H沢	-	-	-	-	-	-	-	-
	St.18	布川A沢	-	-	-	-	-	-	4	-
	St.19	布川B沢	-	-	-	-	-	-	-	-
	St.20	布川C沢	-	-	-	-	-	-	-	-
	St.21	布川D沢	-	-	-	-	3	5	3	0.08
	St.22	布川E沢	1	-	-	-	5	1	5	-
	St.23	布川F沢	-	-	-	-	5	4	1	0.09
	St.24	布川G沢	-	-	-	-	1	-	-	-
	St.25	谷太郎川	-	-	-	-	-	4	1	検出
	確認地点数	4地点	1地点	1地点	0地点	13地点	13地点	12地点	13地点	

注1) 捕獲調査の数字は個体数
 注2) 環境DNAの分析は地点毎に4反復で行い、4回の平均値を記載。
 注3) 定量下限値は0.05copies/ml(1copy/2μL)。4回のうち1回でもDNAが検出されたものうち、平均値が定量下限値未満の場合は「検出」とした。
 注4) 環境DNAの確認地点数については、「検出」も含めた。
 注5) 表中の「-」は未検出及び未確認を示す。
 注6) 表中の網掛け部分は調査未実施を示す。

表2 酒匂川の捕獲調査と環境DNA調査の結果比較

調査地点	種名	ヒガシヒダサンショウウオ			ハコネサンショウウオ						
		捕獲調査(調査年)	環境DNA		捕獲調査(調査年)	環境DNA					
	水系名	2009	2014	2019	(copies/mL)	2009	2014	2019	(copies/mL)		
地点番号	St.1	白石沢A沢	-	-	-	-	31	21	43	検出	
	St.2	用木沢	-	-	-	-	-	1	20	0.82	
	St.3	東沢A沢	3	5	12	-	-	3	2	0.30	
	St.4	東沢B沢	2	6	2	-	-	-	2	-	
	St.5	東沢C沢	-	-	-	-	-	30	30	23	検出
	St.6	西沢	-	-	-	-	-	-	-	-	
	St.7	大滝沢	-	-	-	-	-	-	-	-	
	St.8	玄倉川A沢	-	-	-	-	-	20	23	-	
	St.9	玄倉川B沢	-	-	-	-	-	34	48	-	
	St.10	玄倉川C沢	-	-	-	-	-	-	-	-	
	St.11	玄倉川D沢	-	-	-	-	-	5	2	-	
	St.12	玄倉川E沢	-	-	-	-	-	17	26	-	
	St.13	玄倉川F沢	-	-	-	-	-	-	-	-	
	St.14	大瀬沢A沢	-	-	-	-	-	-	-	-	
	St.15	大瀬沢B沢	-	-	-	-	-	-	-	-	
	St.16	金山沢	-	-	-	-	-	-	-	-	
	St.17	水の木沢	-	-	-	-	-	-	-	-	
	St.18	大又沢A沢	-	-	-	-	-	12	13	2	0.06
	St.19	大又沢B沢	-	-	-	-	-	-	-	-	
	St.20	大又沢C沢	-	-	-	-	-	-	-	-	
	St.21	へいソ沢	-	-	-	-	-	-	-	-	
	St.22	香沢	-	-	-	-	-	-	-	1	検出
	St.23	鵜沢	-	-	-	-	-	-	-	-	
	St.24	櫛沢	-	-	-	-	-	-	-	-	
	St.25	榎ヶ沢	-	-	-	-	-	-	-	-	検出
	確認地点数	2地点	2地点	2地点	0地点	7地点	9地点	7地点	7地点		

注1) 捕獲調査の数字は個体数
 注2) 環境DNAの分析は地点毎に4反復で行い、4回の平均値を記載。
 注3) 定量下限値は0.05copies/ml(1copy/2μL)。4回のうち1回でもDNAが検出されたものうち、平均値が定量下限値未満の場合は「検出」とした。
 注4) 環境DNAの確認地点数については、「検出」も含めた。
 注5) 表中の「-」は未検出及び未確認を示す。
 注6) 表中の網掛け部分は調査未実施を示す。

水魚類調査手法の手引き」でも言及されており、スナヤツメ類用のプライマーを混合することで当該種の検出率が改善することが示されている¹⁰⁾。

当センターでも、酒匂川における調査の際にはスナヤツメ類用のプライマーを混合して用いており、相模川では検出できなかったスナヤツメ類北方種の環境DNAを検出することができている。

アユについては、両河川において放流も実施されており、商業的にも重要な魚種であることから、今回の試行調査では実施していないがアユ用のプライマーを混合することで検出率向上が期待できる。

3.2.2 環境DNA検出種のリード数比率の比較

環境DNA調査結果を以下の4つのグループに分け、それぞれのグループに属する種が、調査地点においてどのようなリード数比率となるか検討を行った。なお、ここで地点*i*における種*a*のリード数比率*a_i*(%)は、以下の式であらわされる。

$$a_i(\%) = \frac{a_i}{A_i}$$

a_i = 地点*i*における種*a*のリード数

A_i = 地点*i*における総リード数

a) グループ1

当該地点の同時期の捕獲調査において確認された種

b) グループ2

グループ1に該当しない種のうち、過去に当該地点で実施した調査で確認されている種

図1 両河川における捕獲個体数と環境DNA検出率

c) グループ3

グループ1, 2に該当しない種のうち、当該地点の環境と生息環境が異なるため、コンタミネーションと考えられる種

d) グループ4

グループ1から3までに該当しない種

グループ毎のリード数比率を箱ヒゲ図にまとめたのが図2である。グループ1はリード数比率が高くなる傾向があり、Tukey-Kramer法による検定の結果でもグループ1のリード数比率の平均はグループ2, グループ3及びグループ4よりも有意 ($p < 0.01$) に高かった。

種網羅解析においては、グループ3に属するようなコンタミネーション由来や排水由来と思われるデータが一定程度入ってきてしまうことがあり、それらを取り除き、グループ1に属するデータを最大化することが調査地点における生物相の評価精度向上につながる。

そういった点からはグループ1のリード数比率が他のグループに比べて有意に高い点を活用し、リード数比率が一定程度低いデータについては一律に有効データとして扱わないという処理手法は、作業が簡単でありつつ、精度の高い調査データを得られるという点で有効な手法であると考えられ、過去の報告でも同様のデータ処理が行われている事例がある¹¹⁾。

一方で、プライマーとのミスマッチが認められる種(アユ等)、緩流部に生息する種(ナマズ、カムルチー等)はリード数比率が低く出る傾向があるため、一部の

図2 グループ毎のリード数比率の比較

図3 C01後半領域プライマーの分類群別リード数

図4 C01前半領域プライマーの分類群別リード数

種については上記の点を考慮して、リード数比率の基準値を設定する必要がある。

3.3 底生動物調査

最後に底生動物に関する試行調査について紹介する。底生動物については魚類と異なり、少なくとも試行調査を実施した時点では国内において標準とされるようなユニバーサルプライマーは開発されておらず、種の同定の際に使用するDNAデータベースについても十分に整備されているとは言えない状況であった。

そこで2019年度は酒匂川10地点で採水したサンプルを用いて、対象とする領域が異なる複数のプライマーの性能試験を実施した。使用したプライマーはそれぞれ①ミトコンドリアDNAC01の658塩基対の後半領域¹²⁾、②前半領域¹³⁾、③ミトコンドリアDNAの16SrRNA領域¹⁴⁾及び④核DNA

の18SrRNA領域¹⁵⁾を対象としたものとした。

それぞれのプライマーの分析結果を分類群別のリード数割合で整理した結果を次に示す。

①C01後半領域のプライマーの結果は図3のとおり、非常に多くの種の環境DNAを増幅し、珪藻類や緑藻類の配列等の割合が多く、赤い点線で囲った底生動物の配列は全体の約1割強であった。

C01前半領域のプライマーの結果は図4のとおり、データベースにヒットしない配列が全体の4分の3を占め、底生動物の配列は全体の1割に満たなかった。

16SrRNA領域のプライマーの結果は図5のとおり、カゲロウ目の配列が全体の9割近くになるなど、底生動物の配列割合は高かったものの、総じて増幅が悪く、解析の過程で多くの配列が除去され、他のプライマーに比べ得ら

図5 16SrRNA領域プライマーの分類群別リード数

図6 18SrRNA領域プライマーの分類群別リード数

図7 2019年度試行プライマーと2020年度試行プライマーの配列数比較

れた配列が5%にも満たない結果となった。

18SrDNA領域のプライマーの結果は図6のとおり、様々な分類群の環境DNAが検出され、底生動物の配列が非常に少なく、全体の配列の5%に満たない結果となった。

サンプルには様々な生物から放出された環境DNAあるいは微生物などの場合は生物自身が含まれており、特異性の低いプライマーを用いると対象とする生物種以外の環境DNAにより分析結果が水増しされてしまうことが報告されている¹⁶⁾。

この問題を解決するためには底生動物に特異的なプライマーを用いることが必要となる。そのため2019年度の結果を受け、2020年度の試行調査では酒匂川20地点で採水したサンプルを用いて、真菌、藻類及びバクテリア等の非標的分類群のDNA増幅を抑えるプライマー¹⁷⁾（以下「2020年度新規プライマー」）を用いて、検証を行った。

その結果を図7に示す。ここで、「生リード」とは次世代シーケンサーから出力された配列数、「カット後リード」は精度の低い配列などを除去した後の配列数及び「集計対象リード」は底生動物に分類される種の配列数数を

示している。左側のグラフが2020年度新規プライマーの結果で、右側のグラフが2019年度に試したプライマーのうち、最も底生動物の配列割合が多かった①C01領域後半のプライマーの結果である。

2020年度新規プライマーは底生動物の配列数の割合が非常に多くなっており、非対象分類群のDNAの増幅を抑えていることが確認できた。

次に同時に実施した捕獲調査結果と比較した結果を図8に示す。ここでは底生動物の中で、多くの割合を占める水生昆虫類のうち代表的な分類群であるカゲロウ目、カワゲラ目、トビケラ目、トンボ目及びハエ目の結果を示している。最も検出率が良かったのはハエ目であり、特にユスリカ科の仲間が非常に多く検出された。一方で、その他の4つの分類群では捕獲調査で確認された種の環境DNA調査での検出率が悪く、より検出率の高いプライマーを探索することが、この試行調査終了時点での課題となった。

4. 底生動物調査手法の標準化を目指して

上記の試行調査を経て、課題の残った底生動物については、2022年度現在においても手法開発に取り組んでいる。その目標は誰が調査しても精度の高い結果を得られるような標準化された手法の開発である。

底生動物には水生昆虫類、貝類及び甲殻類等様々な生物群が含まれるが、その多くを占めるのは昆虫類に属する種であることから、現在のところ水生昆虫類を対象にして標準化を進めている。

標準化のためには大きく2つの取組が重要と考えている。一つ目が調査・分析工程の標準化、二つ目がDNAデータベースの充実である。

調査・分析工程の標準化については、現場での採水方法、採水量及び複製の数、ろ過・抽出工程におけるフィルターの選択、磁気ビーズ式又はカラム式の選択及び抽

図8 分類群別の捕獲調査結果との比較

出時のバッファーの量、分析工程における1stPCRの複製数、サイクル数及びプライマーの選択等、検討すべき事項は多岐にわたっている。試行調査の結果からはプライマーとしては16SrRNA領域に設計された昆虫用のユニバーサルプライマーであるMtInsects-16S¹⁸⁾を中心にいくつかのプライマーを組み合わせることが適切と考えている。また、検討を進める中でMiFishプライマーのように2段階PCRのプロトコルでは増幅バイアスの影響を強く受けること等、新たな問題も明らかとなってきている。

DNAデータベースは、次世代シーケンサーで得られた配列と照合することにより種の同定を行うために必ず必要となるものである。現在のところMtInsects-16Sが対象としている領域についてはDDBJ等のDNAデータベースへの登録種数が少なく、手法標準化のためにはDNAデータベース整備についても同時に進めなければならない。そこで山梨大学と協力し、CO1領域658塩基対の後半部分とMtInsects-16Sの対象領域についてDNAデータベースの整備を進めている。

DNAデータベースの基となる生体サンプルの収集については2022年度より開始したII型実施共同研究「複数プライマーを用いた環境DNA底生動物調査手法の開発」により全国の地方環境研究所に協力いただいている。ハエ目等のように非常に数が多く、同定についても専門性が必要な分類群については、上記の研究だけでは十分な種数を確保できないと想定されるため、多くの分類の専門家からの協力を得られるかが鍵になるのではないかと考えている。

最後に、手法の標準化については既にある程度確立されてきており、今後は標準化された手法により得られたデータをいかに活用するかが重要となってくる。底生動物については古くから水環境を評価する指標生物として用いられてきており¹⁹⁾、環境DNA調査についても調査データを積み重ねることで環境指標として活用できるものと期待される。

更に近年では生物多様性保護の重要性が高まってきており、水環境における生物多様性の評価においても昆虫相の把握は重要な要素となりうるものと考えられる。

環境DNA調査は2008年にウシガエルの環境DNAを検出して以来様々な技術開発が進み、現時点においても様々な生物群を簡単に調査することが可能となってきている。今後も更なる技術開発が進み、世界的な課題である生物多様性の保全に資する技術となることを期待して、本稿を締めたいと思う。

5. 引用文献

- 1) 神奈川県：相模川の藻類植生と水質汚濁，1971
- 2) 神奈川県：藻類植生・底生動物と水質汚濁（第7報），

- 1978
- 3) 神奈川県：神奈川県内の魚類，
<https://www.pref.kanagawa.jp/docs/b4f/kankyougakank/suiseisiryu.html>（2022.11.11アクセス）
- 4) 神奈川県：神奈川県内河川の底生動物，2005
- 5) 長谷部勇太，白子智康：サンショウウオ類の分布調査における捕獲調査と環境DNA調査の比較. 全国環境研究会誌，**44**，62-68，2019
- 6) 長谷部勇太，白子智康：サンショウウオ類分布調査における環境DNA活用のための基礎的検討. 全国環境研究会誌，**45**，38-44，2020
- 7) 中山駿一，長谷部勇太：環境DNAを用いた丹沢山地におけるサンショウウオの分布調査手法の開発. 神奈川県環境科学センター研究報告 No. 45，2022（現在投稿中）
- 8) Miya M, Sato Y, Fukunaga T, Sado T, Poulsen J. Y., Sato K, Minamoto T, Yamamoto S, Yamanaka H, Araki H, Kondoh M, Iwasaki W : MiFish, a set of universal PCR primers for metabarcoding environmental DNA from fishes : detection of more than 230 subtropical marine species. *R Soc Open Sci*, **2** : 150088, 2015
- 9) Minamoto T, Miya M, Sado T, Seino S, Doi H, Kondoh M, Nakamura K, Takahara T, Yamamoto S, Yamanaka H, Araki H, Iwasaki W, Kasai A, Masuda R, Uchii K : An illustrated manual for environmental DNA research : water sampling guidelines and experimental protocols. *Environmental DNA*, **3**, 8-13, 2021
- 10) 環境省自然環境局生物多様性センター，
https://www.biodic.go.jp/edna/edna_top.html
（2022.11.11アクセス）
- 11) Ahn H, Kume M, Terashima Y, Feng Y, Kameyama S, Miya M, Yamashita Y, Kasai A : Evaluation of fish biodiversity in estuaries using environmental DNA metabarcoding. *PLoS ONE*, **15**, e0231127, 2020
- 12) Leray M, Yang J. Y., Meyer C. P., Mills S. C., Agudelo N, Ranwez V, Joel T. B, Machida J. R : A new versatile primer set targeting a short fragment of the mitochondrial COI region for metabarcoding metazoan diversity : application for characterizing coral reef fish gut contents. *Front. Zool*, **10**, 34, 2013
- 13) Vamos E, Elbrecht V, Leese F : Short COI markers for freshwater macroinvertebrate metabarcoding. *Metabarcoding and Metagenomics*, **1**, e14625, 2017
- 14) Kambhampati S, Smith P. T : PCR primers for the amplification of four insect mitochondrial gene

- fragments. *Insect Mol. Biol*, **4**, 233–236, 1995
- 15) Fonseca V. G, Carvalho G. R, Sung W, Johnson H. F, Power D. M, Neill S. P, Packer M, Blaxter L. M, Lamshead P. J. D, Thomas K. W, Creer S : Second-generation environmental sequencing unmasks marine metazoan biodiversity. *Nat Commun*, **1**, 98, 2010
- 16) Hajibabaei M, Porter T. M, Robinson C. V, Baird D. J, Shokralla S, Wright M. T. G : Watered-down biodiversity? A comparison of metabarcoding results from DNA extracted from matched water and bulk tissue biomonitoring samples. *PLoS One*, **14**, e0225409, 2019
- 17) Leese F, Sander M, Buchner D, Elbrecht V, Haase P, Zizka V. M. A : Improved freshwater macroinvertebrate detection from environmental DNA through minimized nontarget amplification. *Environmental DNA*, **3**, pp. 261–276, 2021
- 18) Takenaka M, Yano K, Suzuki T, Tojo K : Development of novel PCR primer sets for DNA metabarcoding of aquatic insects, and the discovery of some cryptic species. *bioRxiv*, 2021
- 19) 津田松苗, 森下郁子 : 生物による水質調査法, 山海堂, 1974

<報文>

山陽新幹線N700系列車内の音色及び列車内の低周波音*

木崎 利**・近藤 博文***

キーワード ①音色の目安 ②山陽新幹線 ③鉄道車内騒音 ④周波数分析 ⑤低周波音

要 旨

全国環境研協議会騒音小委員会の「音色の目安」作成調査で使われた評価方法を利用して、山陽新幹線で運行されているN700系車両の列車の客室内の音色（車内騒音の周波数構成）を新大阪駅と広島駅間で調査した。以前に調査した東海道新幹線のN700系車両の列車の客室内の音色との比較も交えて検討したところ、岡山駅より東側の新大阪駅－岡山駅間での音色は東海道新幹線と似ていたが、西側の岡山駅－広島駅間での音色は低周波側が全般的に5～10dB高くなる音色であった。その理由として山陽新幹線は東海道新幹線より高速で運転できるよう設計されるとともに、岡山駅以西はスラブ軌道が多用されており、速度差及びスラブ軌道による影響が示唆されたが特定には至らなかった。パンタグラフ直下付近における音色は、同じ車両の他の位置の座席や、パンタグラフのない車両より40Hzから63Hzの音圧レベルが高くなる音色であり、山陽新幹線においても東海道新幹線と同様の傾向であった。また今回の調査結果や以前の在来線や東海道新幹線の調査結果を用いて低周波音の評価を行ったところ、新幹線・在来線とも環境省の定める「低周波音の心身に係る苦情に関する参照値」を上回っていた。

1. はじめに

2021年7月、新型コロナウイルスの影響を受けて、1年遅れて東京で2回目の夏季オリンピックが開催された。前回東京オリンピック開会式の10日前、1964年10月1日に東海道新幹線は開業している。山陽新幹線は東海道新幹線を西に延伸する形で1972年に岡山駅まで、次いで1975年に博多駅まで開業し、現在まで東海道新幹線と一体となって運行されている。

山陽新幹線は東海道新幹線と異なり、将来の高速化に備えて曲線区間の半径が大きくとられている他、岡山駅以西の高架橋とトンネル区間では、従来のバラスト軌道に代えてスラブ軌道が採用されている^{1), 2)}。

全国環境研協議会騒音小委員会（以下「騒音小委員会」と記す。）が2009年に作成した「騒音の目安」は、騒音レベルに関する情報をわかりやすくまとめており、環境省等の行政機関をはじめとして幅広く活用されている。さらに2020年に環境騒音の周波数特性に着目した「音色の目安」が騒音小委員会によりとりまとめられ、今後より高度な騒音苦情対応に活用されることが期待されている³⁾。この調査に当所も参画し、その結果を活用して東海道新幹線のN700系車両の列車内の音色について

解析を行い報告したところである⁴⁾。

本報は、東海道新幹線と同様の調査を山陽新幹線の大阪駅－広島駅で行い、東海道新幹線との比較も交えて解析を行ったものである。また、在来線列車も含めて、列車内の音色の低周波音について考察したので、あわせて報告する。

2. 調査方法

2.1 測定装置

データ収集は、リオン株式会社製普通騒音計NL-22に同社製周波数分析カードRX-22を装填して行った。測定項目は1/3オクターブバンドごとのZ特性等価音圧レベル及び各バンドの等価音圧レベル合成値（以下「AP」と記す）並びにA特性等価騒音レベル（以下「AP (A)」と記す）とした。

2.2 測定方法等

2.2.1 収集方法

データの収集方法は、以前の在来線や東海道新幹線の調査と同様で^{4), 5)}、以下のとおりである。収集は10分間の連続測定とし窓側の座席に着席して収集した。騒音計

*Tone Color of Sanyo Shinkansen N700 Series cars and low-frequency sounds in the trains

**Toru KIZAKI (京都府保健環境研究所 (現京都府南丹保健所)) Kyoto Prefectural Institute of Public Health and Environment (currently Kyoto Prefectural Nantan Public Health Center)

***Hirofumi KONDO (京都府保健環境研究所 (現京都府山城南保健所)) Kyoto Prefectural Institute of Public Health and Environment (currently Kyoto Prefectural Yamashiro Minami Public Health Center)

のマイクロホンには防風スクリーンを装着し、マイクロホン高さが床から1m前後となるよう先端が三脚状になった一脚に騒音計を固定した。騒音計は、電源投入直後と電源を切る直前に騒音計の校正機能で校正を行った。また概ね1ヶ月毎に音響校正器を用いて指示値を点検した。

収集にあたっては、複数回の収集でも同じ区間で収集できるように、駅の発車又は通過をもって収集を開始するようにした。

2.2.2 収集期間等

表1に本調査や本報で検討する調査で収集した区間を示す。山陽新幹線（W1～W5）は2021年11月から2022年1月の間に収集し、東海道新幹線等（C1, S1, S2及びT）は2017年7月から2020年12月の間に収集した。各区間の

表1 収集区間一覧

区間名	線区名	列車の走行区間	トンネル走行時間	スラブ軌道の有無
W1	山陽新幹線	新大阪－新神戸	約4分	無
W2		西明石－相生	約30秒	無
W3		相生－岡山	約5分	無
W4		岡山－福山	約4分	有
W5		福山－東広島 または新倉敷－広島	約6分	有
C1	東海道新幹線	小田原－新富士	約6分	無
S1	山陰本線	二条－亀岡	約4分	有
S2		亀岡－園部	なし	無
T	嵯峨野観光線	トロッコ嵐山 －トロッコ保津峡 またはトロッコ保津峡 －トロッコ嵐山	約3分	無

所要時間は10分以上であり、収集開始は発車または通過であるが、収集終了は区間により到着または通過の区間もあれば数分後に到着又は通過する区間もあった。

2.2.3 収集対象、区分等

新幹線に関しては東京駅－博多駅間で運行されているN700系車両16両編成の列車を対象とし、新大阪駅以西で運行される8両編成の列車や2020年7月から運行開始したN700S車両の列車は対象外とした。N700系車両は一部設計変更されたN700Aと呼ばれる後期型と、それ以前の初期型があるが、新幹線鉄道騒音測定・評価マニュアル（環境省、平成27年10月）では両者を区別していないので本報でも区別しなかった。

特記しない限り新幹線、在来線とも全て走行動力（モーター）のある車両に乗り、パンタグラフの有無、座

席位置（客室中央部または客室出入口ドアから2～3列目の席）を区分して収集した。

トンネル区間やスラブ軌道区間は音色に影響を与える可能性が考えられたため、トンネル区間の走行時間を計測した。スラブ軌道は車窓から目視で確認したが、目視確認できないトンネル区間が含まれる場合は、収集中に走行する複数のトンネルでない区間でスラブ軌道と判別できた区間について「スラブ軌道あり」として扱った。

周波数を横軸にとり、1/3オクターブバンド中心周波数ごとの音圧レベルを算術平均した値をプロットしたグラフを「音色」として解析・評価を行った。

3. 結果と考察

3.1 収集結果

各区間の収集件数を表2に示した。例えば新大阪から広島まで乗車し5区間で収集した場合は5件としている。なお収集中の降雨の有無で音色を比較したところ差違は見られなかったため、降雨による区別はしなかった。

博多方面行き（以下「西行」という。）列車と東京方面行き（以下「東行」という。）列車で収集した。表1のW1～W5の5区間について表2のA～Cの位置それぞれで西行列車と東行列車の音色を比較したところ大差なかったため、西行列車と東行列車は区別しないこととした。

表2 山陽新幹線区間の収集件数一覧

位置名	パンタグラフ	車両内の座席位置	件数
A	無 (2号車など)	中央部	22
B		端部(博多側)	11
C		端部(東京側)	14
D	有 (5号車)	中央部	9
E		端部(博多側)	14
F		端部(東京側)	14

N700系車両の16編成の列車では5号車と12号車にパンタグラフが設置されている。5号車をパンタグラフのある車両に、2, 3及び13号車をパンタグラフのない車両に選択した。

3.2 走行区間による比較

図1に山陽新幹線の5区間の音色と東海道新幹線でトンネル区間走行時間が長かった小田原駅－新富士駅間で収集した音色を示した。6区間とも、基本的には周波数が1オクターブ高くなるごとに音圧レベルが6dB下がる右下がりの直線状で、50Hzから250Hzと500Hzから4kHz付近で数dB高くなる音色であった。新大阪駅から相生駅までの2区間（W1とW2）の音色は東海道新幹線の音色と類似していたが、岡山駅以西の2区間（W4とW5）の音色はW1及びW2区間の音色に比べ10kHzより低周波側が全般的に5～

図1 区間毎の音色の比較

10dB高くなる音色であった。またW3区間はその中間的な音色であり、走行区間が異なっても音色がほとんど変化しない東海道新幹線と若干異なる傾向が見られた。

鉄道車両の車内騒音の騒音源は車輪がレールの上を転がる際に生じる「転動音」や台車の振動が車体に伝わり床板や内装から室内に放射される「固体伝搬音」と、車外に放出された車輪の転がりやモーターやギアから生じる音、あるいはパンタグラフや車両連結部の隙間が風を切ることで生じる音が車体や窓を含む内装を透過して車内に侵入する「空気伝搬音」に大別される⁶⁾。

東北・上越新幹線の開業にあたって開発された200系車両の車内での測定では、バラストによる吸音効果の無いスラブ軌道では騒音レベルがバラスト軌道より4~5dB高く、トンネル区間ではさらに高かったことが報告されている⁷⁾。一方、近年の新幹線車両では床からの固体伝搬音の寄与が大きいとされている⁶⁾。これは東海道新幹線での調査でトンネル区間の多寡で音色の変化が小さかったことと一致する。

表3 東海道・山陽新幹線のスラブ軌道の割合等

区間	東海道新幹線	山陽新幹線	
		岡山駅 以東	岡山駅 以西
延長 (km)	516	164	398
スラブ軌道 (%)	0	5	69
所要時間 (分)	153	45	102
停車駅数	4	1	3
表定速度 (km/h)	202 (233)	219 (246)	234 (274)

転動音は列車速度の2~3乗で増加するとされている⁸⁾。表3に東海道・山陽新幹線のスラブ軌道の割合の他、文献⁹⁾に示されていた区間延長や市販の時刻表から読み取った所要時間、区間延長を所要時間で除して求めた表

定速度等を示す。表定速度のカッコ書きは、途中停車駅を全て通過したと仮定して求めた無停車運転の推計値である。無停車運転の推計は次のとおりとした。新神戸駅ー岡山駅間や岡山駅ー広島駅間の列車の途中停車駅の有無と所要時間の比較から、1駅停車で所要時間が5分増えると考えられた。そこで実際の所要時間から停車駅数に5を乗じた時間(単位:分)を減じた時間で表定速度を求めて無停車推計値とした。なお、所要時間の読み取りは、東海道新幹線は2020年3月改正の時刻表、山陽新幹線は2021年3月改正の時刻表で行った。

表定速度は、実際の値、無停車推計値とも東海道新幹線が最も遅く、山陽新幹線(岡山駅以東)、山陽新幹線(岡山駅以西)の順で早く、岡山駅以西の山陽新幹線は東海道新幹線の約1.2倍であった。

以上のことから、東海道新幹線と山陽新幹線における相違の原因として、速度差とスラブ軌道とバラスト軌道との違い等が相乗的に音色に影響した可能性が考えられた。しかし10dB前後の差がある周波数帯もあり、他の要因の影響も考えられた。

3.3 客室内の座席位置とパンタグラフの影響

車両中央部と東京側及び博多側それぞれの端部の座席

図2 座席位置による音色の比較

における音色を比較した結果を図2に示す。5号車のパンタグラフは車両の東京側の15～18番の座席付近の屋根上にあるので東京側端部席（Fの席）がパンタグラフ直下席となる。

パンタグラフのない車両では、岡山駅以东・以西とも座席位置による音色の変化は小さかった。パンタグラフのある車両では、パンタグラフと逆側の端部席（Dの席）の音色はパンタグラフのない車両の音色とほぼ同じであった。パンタグラフ下の端部席（Fの席）では、東海道新幹線と同様にDの席の音色と比較して40Hzから63Hzの音圧レベルが10dB近く高くなる音色であった。車両中央部（Eの席）はDとFの中間的な音色であった。車内の音色は車両床下に設置されている走行動力のモーターやインバーター等から生じる音が複雑に影響していると考えられるが、パンタグラフ下の座席ではパンタグラフの影響を受けている可能性が示唆された。

3.4 低周波音の状況

図3 列車内の音色と低周波音の参照値の比較

環境省発行のパンフレット「よくわかる低周波音」（2019年3月，環境省）でも低周波音の発生している場所の例としてバス車内，列車内，航空機の室内，船室内があげられている。

図3に以前に調査した音色も含め数種類の列車内の音色を，「低周波音による心身に係る苦情に関する参照値」とともに示した。

いずれの音色も参照値を大きく上回っていた。列車利用にあたっては低周波音の影響に留意する必要があるものと考えられた。

4. 引用文献

- 1) 佐藤嘉晃：山陽新幹線における軌道，コンクリート・ジャーナル，**8**，（10），60-65，1970
- 2) 渡邊偕年：東北・上越新幹線におけるスラブ軌道の適用に伴う問題点とその解決．土木学会論文集，**385**，126-133，1987
- 3) 小山佑介，城裕樹，町田哲，石橋雅之，佐々木裕也，菊地英男：「音色の目安」作成調査結果について．全国環境研会誌，**45**，27-32，2020
- 4) 木崎利：東海道新幹線N700系車内の音色．全国環境研会誌，**46**，18-21，2021
- 5) 木崎利，藤江康弘：京都府における一般環境及び鉄道車両内の音の周波数分析調査について．京都府保健環境研究所年報，**65**，21-26，2021
- 6) 山本克也：鉄道車両の車内騒音の低減方法．騒音制御，**31**，（5），368-373，2007
- 7) 森藤良夫：新幹線車上騒音．騒音制御，**7**，（5），9-14，1983
- 8) 長倉清：新幹線鉄道の騒音問題．日本音響学会誌，**60**，（5），284-289，2004
- 9) 渡邊偕年：新幹線の技術的發展と展望．日本機械学会誌，**88**，（804），46-52，1985

<報 文>

中国山西省農用地土壌における銅、クロム、鉛、
砒素、ニッケル、カドミウムの植物移行特性*

石山 高**・王 効挙**・細野繁雄**・謝 英荷***・程 紅艷***・洪 堅平***

キーワード ①土壌汚染 ②農用地 ③重金属類 ④植物吸収 ⑤中国

要 旨

中国山西省北部の農用地において、重金属類（銅、クロム、鉛、砒素、ニッケル、カドミウム）を対象とした土壌汚染調査を行うと共に、重金属類の植物移行性について解析した。本農用地では、灌漑用水由来と推察される高い濃度の銅とクロムが検出された。農用地土壌はアルカリ性を示したことから（土壌溶出液のpH：7.7～8.2）、重金属類濃度が高かった区画でも銅とクロムの溶出濃度は低い傾向にあった。一方、砒素の溶出率は高く、砒素の土壌含有量は10mg/kg程度であるにもかかわらず、全ての区画で0.01mg/L以上の溶出が認められた。植物中の金属含有量を部位別（根、茎、葉、実など）に分析した結果、本農用地では砒素は植物内に吸収されやすく、可食部を含む地上部へも移行しやすいことが分かった。一方、クロムや鉛は植物内に吸収されにくいばかりでなく、地上部への移行性も低いことが判明した。

1. はじめに

近年、中国では急速な経済発展に伴い、様々な環境汚染が顕在化し始めている。特に、都市郊外の農業地域では、有害重金属類を含む鉱山廃水、工場排水や生活排水などで汚染された灌漑用水に起因する農用地土壌汚染が大きな環境問題となっている^{1, 2)}。中国全土を対象に実施された土壌汚染状況調査（2005～2013年）では、全土壌試料の約16%、農用地で採取した土壌試料の約19%で主に重金属類による土壌環境基準超過が確認されている^{1, 2)}。様々な文献を調査したところ、中国から日本への生鮮・冷凍野菜の輸出量は年々増加する傾向にあり、現在では日本における生鮮・冷凍野菜の最大輸入相手国は中国となっている^{3, 4)}。したがって、中国農用地における土壌汚染の状況を詳細に調査・分析し、そこで栽培している植物への有害重金属類の移行性を解析することは、土壌から植物へと移行しやすい重金属類を予測・把握するのに役立つばかりでなく、食の安全性を確保する上でも非常に重要である。

中国における農用地土壌汚染の事例としては、水田土壌でのカドミウム汚染が数多く報告されている⁵⁻¹⁰⁾。これらの汚染はカドミウムを含む灌漑用水を水田利用することで発生し、玄米中からは高濃度のカドミウムが検出さ

れている。また、水田以外の耕作地においても、カドミウム、鉛、砒素、ニッケルや銅などによる土壌汚染が報告されている^{1, 11-14)}。中国における農用地土壌汚染は、鉱山地帯と農用地が隣接している地域（湖南省、貴州省、広東省など）で多数発生しており、鉱山廃水を含む酸性の灌漑用水を農用地に引き込むことで水田や畑の土壌pHが低下した結果（pH：4～6）、米、大豆、レタス、ナスなど様々な農作物から中国食品規格¹⁵⁾を上回るカドミウム、鉛や砒素などが検出されている。

農用地において土壌汚染が発生した場合、重金属類は土壌から間隙水へと溶出した後、根から吸収され、茎、葉、実、花などの各部位へ移行する。したがって、植物への金属移行性を把握するには、植物中の金属含有量を部位別に分析すると共に、土壌からの金属溶出特性を明確にすることが重要である。

本研究では、中国山西省北部の農用地を試験圃場として選定し、この農用地で有害重金属類による土壌汚染を調査した。本農用地では過去に土壌汚染調査を実施しており、その際には灌漑用水由来と推察された銅とクロムによる汚染が表層土壌（0～20cm）で確認されている¹⁶⁾。本研究では、銅とクロムの他に中国国内での汚染事例が多いカドミウム、鉛、砒素、ニッケルを分析項目に追加

*Analysis of plant-transfer properties of copper, chromium, lead, arsenic, nickel and cadmium from soil at agricultural land in Shanxi Province, China

**Takashi ISHIYAMA, Kokyo OH, Shigeo HOSONO (埼玉県環境科学国際センター) Center for Environmental Science in Saitama

***Yinghe XIE, Hongyan CHENG, Jianping HONG (山西農業大学資源環境学院) College of Resources and Environment, Shanxi Agricultural University

して再度汚染調査を行った。また、本農用地で栽培していた植物（トウモロコシ、コウリヤン、マリーゴールド、大豆、ヒマワリ）中の部位別（根、茎、葉、実、花など）金属含有量を分析することにより、土壌から植物への金属移行性について解析を試みることにした。

2. 実験方法

2.1 装置及び試薬

土壌溶出液のpHと電気伝導度（EC）測定には、東亜DKK（株）製のpH計（HM-50G）とEC計（CM-30G）を使用した。土壌溶出液中の濁度測定には、Lutron Electronic Enterprise製の濁度計TU-2016を使用した。重金属類の濃度測定には（株）パーキンエルマージャパン製の誘導結合プラズマ質量分析装置（ICP/MS）ELAN6100DRCを使用し、ロジウムを用いる内標準法を採用した。

水にはオルガノ（株）製のPURELAB Ultraで精製した超純水を用いた。硝酸には、和光純薬製の有害金属測定用を使用した。その他の試薬は全て特級品とし、精製せずにそのまま用いた。カドミウム、鉛、ニッケル、銅、クロムの定量では、市販のICP分析用多元素混合標準液W-VI（和光純薬製Cd, Pb, Ni, Cu, Cr : 100mg/L）を2%硝酸で100倍希釈したものをICP/MSで使用する検量線作成用の標準原液として調製した。また、砒素の定量では、市販の砒素標準液（和光純薬製As : 1000mg/L）を2%硝酸で1000倍希釈したものをICP/MSで使用する検量線作成用の標準原液として調製した。内標準物質として用いるロジウムの標準原液は、市販のロジウム標準液（和光純薬製 Rh : 1000mg/L）を2%硝酸で1000倍希釈して調製した。

2.2 土壌試料の採取地点と調製方法

本研究では、中国山西省北部の農用地を試験圃場（敷地面積：4×64m=256m²）として選定した。試験圃場は4×4mを1区画とし、全16区画に区分した（図1）。土壌試料は、植物根が届く表層部分（0~20cm）から採取した。採取地点は、各区画の中心点の他、上下左右の4地点とし、5地点均等混合で代表試料を調製した（図1）。土壌試料は根や葉などのゴミを取り除き、風乾後、目開き0.15mmの篩にかけた。この土壌試料を使用して、全含有量試験、溶出量試験を実施した。土壌試料は現地で採取し、日本国内に持ち込んでから各種分析を行った。

2.3 土壌全含有量分析と土壌溶出量分析

土壌全含有量分析は、底質調査方法¹⁷⁾に基づく湿式分解法を採用した。カドミウム、鉛、銅とニッケルの分析では、パイレックス製のコニカルビーカー（50mL）に土壌試料0.5gを採取し、塩酸と硝酸の混合酸で加熱分解し、過塩素酸処理と濾過操作（濾紙：5B使用）を行った後、

希硝酸溶液で50mLに定容した。砒素の分析では、土壌試料0.5gを硝酸と硫酸の混合酸で加熱分解したものに過塩素酸を加え、硫酸と過塩素酸による白煙処理と濾過操作を行った後、水で50mLに定容した。クロムの含有量分析では、酸抽出法（調製方法はカドミウム、鉛、銅とニッケルにおける方法と同じ）を採用した。上述のように調製した溶液1mLをプラスチック製の15mL遠沈管に分取し、硝酸0.2mLとロジウム標準原液0.2mLを添加した後、水で10mLに希釈したものをICP/MS分析に用いた。

土壌溶出量分析は、土壌汚染対策法で規定されている土壌溶出量調査に係る測定方法¹⁸⁾に準じて行った。ただし、操作の簡便性の観点から、本研究では土壌試料量は2g、水溶媒量は20mLに設定した。土壌からの金属溶出特性を解析するため、土壌溶出液のpHとECを測定した。また、検出された溶出濃度が土壌コロイドなどの濁質由来であるかどうかを識別するため、土壌溶出液の濁度も測定した。土壌溶出液10mLをプラスチック製の15mL遠沈管に分取し、これに硝酸0.2mLとロジウム標準原液0.2mLを添加したものを分析に用いた。

2.4 植物試料の分析方法

本試験圃場では、中国北部で一般的に生産されているトウモロコシ（イネ科）、コウリヤン（イネ科）、大豆（豆科）、ヒマワリ（キク科）を栽培した。また、観賞用植物であるマリーゴールド（キク科）も栽培した。各区画と栽培植物との関係を表1に示す。各植物は、土壌試料を採取した後に栽培を開始した。栽培植物は区画ごとに収穫し、植物に付着した土壌を取り除き、風乾後、根、茎、葉、実、花など部位別に細かく粉砕した（表1）。

植物試料は、前報¹⁶⁾と同様に「中国農産品重金属測定法」に準拠し、硝酸と過塩素酸による加熱分解により調製した。粉砕した植物試料約0.5gをコニカルビーカー（100mL）に量り取り、硝酸8mLと過塩素酸2mLを加えて

図1 試験圃場と試験区画（白丸は土壌採取地点）

表1 栽培植物と栽培区画

栽培植物	栽培区画	植物部位			
トウモロコシ	1, 7, 12, 15	根	茎	葉	実
コウリヤン	2, 8, 13				花
マリーゴールド	3, 6, 16				実
大豆	4, 9, 11				種
ヒマワリ	5, 10, 14				

一昼夜放置した。ホットプレート上で加熱しながら、窒素酸化物が発生しなくなるまで硝酸を添加した。過塩素酸による白煙処理後、50mLメスフラスコに移して水で標線まで希釈した。この溶液10mLを15mL遠沈管に分取し、硝酸0.2mLとロジウム標準原液0.2mLを添加した試料溶液をICP/MS分析に使用した。

3. 結果と考察

3.1 土壌分析結果と重金属類の溶出特性解析

本研究では区画ごとに土壌分析を実施し、平面方向及び深さ方向における汚染状況を把握した。土壌中重金属類の全含有量分析結果を表2に示す。前回の土壌汚染調査¹⁶⁾と同様、本農用地では銅とクロムによる汚染が認められた。銅とクロムによる土壌汚染は灌漑用水路に隣接する区画1で著しかったことから、灌漑用水由来であると推察された。銅とクロムの土壌含有量は灌漑用水から離れるほど減少する傾向を示したが、区画16でも100mg/kgを上回る銅とクロムが表層土壌から検出された。一方、鉛、砒素、カドミウムとニッケルの土壌含有量は、全ての区画でバックグラウンドレベルであり¹⁹⁾、本農用地では鉛、砒素、カドミウムとニッケルによる土壌汚染は認められなかった。

土壌溶出量試験の結果を表3に示す。濃度レベルは低いものの、カドミウム以外の全ての金属において土壌からの溶出が認められた。土壌溶出液のpHは7.7~8.2とアルカリ性を示し、土壌溶出液のECは9.0~16.8mS/mであった。また、多くの土壌溶出液中には土壌コロイド由来の濁質成分の混入が認められた。土壌溶出液に土壌コロイドが混入した場合、濁質由来の金属が検出される場合がある²⁰⁾。そこで、土壌コロイドによる影響を除去する目的から、表層土壌から調製した土壌溶出液を更に限外濾過(分子量分画10000)した濾液を用いて、各金属の溶出濃度を測定した。その結果、鉛とクロムの溶出濃度は全区画で定量下限値未満となり、溶出液中の鉛とクロムは全て濁質由来であることが判明した(表3)。一方、銅と砒素は限外濾過後の濾液からも検出されたことから、一部はイオン形態で土壌から溶出していることが明らかとなった(表3)。特に、砒素の溶出率は高く、表層土壌中の砒素含有量は10mg/kg程度であるにもかかわらず、日本の土壌溶出量基準(0.01mg/L)を上回る濃度が全ての区画の表層土壌で検出された。砒素のようなオキソアニオンは、土壌pHが7を超えると溶出濃度が増加する傾向にある²¹⁾。中国山西省北部のような乾燥地域の表層土壌は、土壌間隙水の蒸散に伴うアルカリ塩類の集積により一般的にアルカリ性を示すことから²²⁾、本農用地では砒素の溶出濃度が高かったものと考えられる。銅も全ての区画で溶出が認められたが、銅の溶出率は砒素に比べて低く、

汚染が著しかった区画1においても銅イオンの溶出濃度は0.06mg/L程度であった(表3)。また、ニッケルの溶出も全ての区画で認められたが、その濃度はμg/L程度と微量であった。本農用地の土壌はアルカリ性を示したことから、汚染が著しかった区画においても銅やクロムの溶出濃度は低かったものと考えられる。

3.2 植物分析結果

区画1で栽培した植物からは、高濃度の銅やクロムは検出されなかった(表4(a), (b))。植物は、土壌から間隙水中へ溶出した金属を優先的に根から吸収すると考えられる。高濃度の汚染が認められた区画1における銅やクロムの溶出濃度は、その他の区画における溶出濃度と大きな差はなかったことから(表3)、区画1で栽培した植物

表2 土壌中重金属類含有量

区画 No.	土壌全含有量 (mg/kg)					
	As	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb
1	15	0.8	360	520	46	48
2	13	0.6	280	340	38	37
3	12	0.4	200	210	29	27
4	12	0.4	180	200	29	27
5	11	0.3	150	180	25	24
6	14	0.4	170	180	27	23
7	12	0.3	180	190	28	25
8	11	0.2	160	160	27	25
9	10	0.3	160	160	27	23
10	12	0.2	150	140	27	24
11	12	0.3	100	130	25	22
12	12	0.3	120	140	25	22
13	11	0.2	100	140	25	23
14	11	0.2	98	100	24	20
15	11	0.2	110	120	25	19
16	11	0.2	110	130	25	20

表3 土壌溶出量試験結果

区画No.	土壌溶出液			溶出濃度 (mg/L)					
	pH	EC (mS/m)	濁度 (NTU)	As	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb
1	7.9	16.0	4.7	0.010	0.001	0.005	0.068	0.016	0.001
				0.005	<0.001	<0.001	0.037	0.001	<0.001
2	8.1	15.9	4.3	0.012	<0.001	0.005	0.062	0.006	0.001
				0.006	<0.001	<0.001	0.031	<0.001	<0.001
3	8.2	10.4	7.2	0.014	<0.001	0.006	0.052	0.002	0.002
				0.008	<0.001	<0.001	0.040	<0.001	<0.001
4	8.2	11.7	4.7	0.015	<0.001	0.005	0.051	0.002	0.001
				0.010	<0.001	<0.001	0.037	<0.001	<0.001
5	8.2	11.4	8.3	0.014	<0.001	0.005	0.054	0.002	0.001
				0.009	<0.001	<0.001	0.032	<0.001	<0.001
6	7.7	12.1	16.6	0.015	<0.001	0.005	0.054	0.003	0.002
				0.008	<0.001	<0.001	0.028	<0.001	<0.001
7	8.0	16.8	22.2	0.014	<0.001	0.005	0.044	0.003	0.004
				0.010	<0.001	<0.001	0.028	0.001	<0.001
8	8.0	13.0	14.0	0.013	<0.001	0.005	0.036	0.002	0.002
				0.009	<0.001	<0.001	0.031	0.001	<0.001
9	7.9	11.9	12.8	0.013	<0.001	0.005	0.049	0.002	0.002
				0.009	<0.001	<0.001	0.033	<0.001	<0.001
10	8.1	9.4	18.8	0.014	<0.001	0.005	0.040	0.002	0.003
				0.009	<0.001	<0.001	0.030	<0.001	<0.001
11	8.1	10.6	13.2	0.011	<0.001	0.002	0.028	0.002	0.002
				0.009	<0.001	<0.001	0.026	<0.001	<0.001
12	8.2	12.2	11.2	0.012	<0.001	0.003	0.022	0.002	0.001
				0.008	<0.001	<0.001	0.022	<0.001	<0.001
13	8.1	13.6	12.8	0.012	<0.001	0.003	0.021	0.002	0.001
				0.009	<0.001	<0.001	0.018	0.001	<0.001
14	8.2	12.1	10.4	0.012	<0.001	0.002	0.020	0.002	0.001
				0.010	<0.001	<0.001	0.018	<0.001	<0.001
15	8.2	10.2	14.9	0.013	<0.001	0.002	0.033	0.002	0.002
				0.008	<0.001	<0.001	0.023	<0.001	<0.001
16	7.7	9.0	8.7	0.010	<0.001	0.002	0.021	0.002	0.006
				0.008	<0.001	<0.001	0.020	<0.001	<0.001

下段：限外濾過後の溶出濃度

から高濃度の銅やクロムは検出されなかった可能性が考えられる。植物中の金属含有量を部位別に整理したところ、金属種によって部位別の移行性が大きく異なることが判明した。例えば、クロムと鉛の含有量は根で高く、茎、葉、実、花などの地上部よりも根に蓄積される傾向が認められた(表4(b), (c))。特に、鉛は植物の種類にかかわらず実や花から全く検出されなかった。一方、砒素は全ての植物において地上部の各部位から根と同程度の含有量が検出されたことから、根から吸収された後に効率的に地上部へ移行することが分かった(表4(d))。根内部の細胞壁は陽イオン交換能を有すると報告されているが²³⁾、砒素は陰イオン類であるため根内部の陽イオン交換基に捕捉されず、効率的に地上部へと移行した可能性が考えられる。中国山西省北部のような内陸部の乾燥地域では、砒素は土壌から溶出しやすいばかりでなく、可食部を含む地上部へと移行する可能性が高いため、農用地土壌汚染では特に注意を要する物質であることが本調査結果から明らかとなった。ニッケルは植物間で地上部への移行特性が大きく異なっており、トウモロコシやコウリヤンでは主として根に蓄積される傾向が認められたが、マリーゴールド、ヒマワリや大豆では地上部の各部位からも根と同程度の含有量が検出された(表4(e))。この結果は、ヒマワリや大豆では可食部にニッケルが蓄積されやすいことを示唆している。カドミウムは含有量が少ないものの、トウモロコシ、コウリヤンや大豆よりもマリーゴールドやヒマワリに移行しやすいことが推察された(表4(f))。銅は植物種によらず根に蓄積される傾向にあったが、その傾向は鉛やクロムと比較して低いことから、砒素ほどではないものの鉛やクロムよりも地上部へ移行しやすいことが推察された。

3.3 重金属類の植物移行特性解析

重金属類の植物移行性を互いに比較するため、細野らの研究を参考に表層土壌中と植物体中の金属含有量の比を算出した¹⁶⁾。具体的には、土壌からの溶出率が高いと推察される砒素を対象として、土壌中での各金属と砒素との含有量比(Cu/As, Cr/As, Pb/As, Ni/As)と全部位を対象とした植物体中における各金属と砒素の含有量比(Cu/As, Cr/As, Pb/As, Ni/As)を算出し、両含有量比を比較することで砒素に対する各金属の植物移行性を評価した。両含有量比を調べた結果、クロム、鉛、ニッケルと砒素の含有量比は、植物の種類にかかわらず土壌中の含有量比よりも植物中の含有量比のほうが低値を示す傾向が認められた(表5(b)~(d))。この結果は、本農用地土壌中のクロム、鉛、ニッケルは砒素よりも植物移行性が低いことを示唆している。特に、クロムと鉛の植物移行性は砒素に比べて低く、植物体中での含有量比は土

表4 植物部位別中重金属類含有量 (mg/dry-kg)

(a) Cu					(b) Cr						
栽培植物	区画 No.	根	茎	葉	実花種	栽培植物	区画 No.	根	茎	葉	実花種
トウモロコシ	1	85.7	10.3	27.4	5.6	トウモロコシ	1	24.5	1.0	3.0	0.9
	7	75.8	8.6	16.8	4.5		7	41.2	0.8	1.9	1.0
	12	45.7	8.8	19.8	3.2		12	12.2	0.7	1.8	0.5
コウリヤン	2	30.5	6.7	17.7	3.6	コウリヤン	2	9.1	0.4	5.0	0.3
	8	56.0	3.2	9.6	3.8		8	24.5	0.7	1.6	0.7
	13	29.6	5.0	8.8	3.4		13	11.2	0.6	1.0	0.4
マリーゴールド	3	61.1	7.4	32.9	18.6	マリーゴールド	3	7.1	0.7	13.8	1.0
	6	47.5	8.0	23.0	17.8		6	7.9	0.9	6.6	0.6
	16	16.4	7.4	13.7	19.1		16	2.4	0.6	2.3	0.5
大豆	4	28.5	5.2	7.5	15.8	大豆	4	5.6	0.8	1.6	0.9
	9	30.4	6.6	10.0	16.5		9	5.8	0.6	2.6	1.1
	11	22.6	5.8	7.2	17.1		11	6.3	0.7	1.5	1.3
ヒマワリ	5	72.4	6.3	16.4	27.8	ヒマワリ	5	15.4	0.7	1.4	2.3
	10	60.1	7.2	20.9	29.9		10	18.6	1.0	2.1	2.4
	14	18.0	12.8	28.1	31.2		14	3.4	0.5	2.8	4.3

(c) Pb					(d) As						
栽培植物	区画 No.	根	茎	葉	実花種	栽培植物	区画 No.	根	茎	葉	実花種
トウモロコシ	1	3.3	<0.1	0.4	<0.1	トウモロコシ	1	3.4	3.6	4.6	4.9
	7	6.2	<0.1	0.4	<0.1		7	5.6	2.7	0.7	3.9
	12	2.1	0.2	0.4	<0.1		12	3.2	3.6	4.0	2.8
コウリヤン	2	1.7	<0.1	0.1	<0.1	コウリヤン	2	1.5	1.9	2.8	0.2
	8	4.2	<0.1	0.4	<0.1		8	4.2	1.4	2.6	0.6
	13	2.1	<0.1	0.3	<0.1		13	1.8	1.4	2.8	2.1
マリーゴールド	3	1.5	0.9	0.5	<0.1	マリーゴールド	3	1.4	3.4	4.5	0.5
	6	2.0	0.8	0.4	<0.1		6	3.8	0.7	5.3	1.8
	16	1.0	0.8	0.3	<0.1		16	2.4	2.2	2.6	0.4
大豆	4	1.9	0.1	0.2	<0.1	大豆	4	2.3	4.1	2.9	4.5
	9	2.0	0.1	0.3	<0.1		9	4.4	2.8	4.2	2.7
	11	0.9	0.1	0.2	<0.1		11	1.5	2.4	2.6	1.6
ヒマワリ	5	2.6	<0.1	0.2	<0.1	ヒマワリ	5	3.2	0.7	2.3	0.5
	10	1.7	<0.1	0.3	<0.1		10	2.3	0.5	1.0	1.7
	14	0.9	0.7	0.4	<0.1		14	1.3	3.1	3.5	1.5

(e) Ni					(f) Cd						
栽培植物	区画 No.	根	茎	葉	実花種	栽培植物	区画 No.	根	茎	葉	実花種
トウモロコシ	1	3.3	<0.1	1.1	<0.1	トウモロコシ	1	0.8	<0.1	<0.1	<0.1
	7	6.8	<0.1	1.0	<0.1		7	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
	12	2.6	<0.1	0.9	<0.1		12	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
コウリヤン	2	2.1	<0.1	0.9	<0.1	コウリヤン	2	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
	8	4.1	<0.1	1.1	<0.1		8	0.4	<0.1	<0.1	<0.1
	13	2.4	<0.1	1.1	<0.1		13	1.0	<0.1	<0.1	<0.1
マリーゴールド	3	1.5	2.1	4.2	3.1	マリーゴールド	3	1.8	0.8	2.0	<0.1
	6	1.7	0.8	2.8	3.0		6	1.6	0.9	1.5	<0.1
	16	1.0	0.7	2.7	3.0		16	1.1	0.6	1.3	<0.1
大豆	4	1.1	0.9	1.2	2.8	大豆	4	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
	9	1.0	<0.1	1.8	3.4		9	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
	11	1.1	0.8	1.4	3.4		11	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
ヒマワリ	5	3.4	<0.1	1.8	3.0	ヒマワリ	5	<0.1	<0.1	0.7	0.5
	10	2.4	<0.1	2.0	2.3		10	<0.1	<0.1	<0.1	0.5
	14	1.6	0.6	4.4	2.5		14	<0.1	<0.1	0.7	0.8

壤中での含有量比の25%以下となった(表5(b), (c))。一方、植物体中のCu/Asは、多くの植物において土壌中のCu/Asよりも低値を示したが、その減少率はクロム、鉛やニッケルほど高くはなかった(表5(a))。また、ヒマワリ中のCu/Asは土壌中のCu/Asと概ね一致したことから、本農用地で銅と砒素はヒマワリに対して同程度の移行性を示すことが推察された。銅はイオンとしての溶出が認められたが、クロムや鉛の溶出は濁質由来であり、ニッケルの溶出濃度は微量であった(表3)。各金属における

溶出特性の違いが、植物への移行性に影響した可能性が考えられる。アルカリ性土壤である本農用地では、砒素は土壤からイオンの形態で溶出しやすいため(表3)、砒素の植物移行性は他の金属よりも高かったものと考えられる。本調査結果から、植物への金属移行性は土壤からの溶出特性と密接に関連していることが推察された。

植物試料を全部位と地上部に分け、それぞれの植物体中の金属含有量比を比較し、各金属の地上部への移行性を解析した。クロムと鉛では、地上部の部位における金属含有量比は全部位を対象とした場合の金属含有量比に比べて低値を示す傾向が認められた(表5(b), (c))。この結果は、クロムや鉛は砒素よりも植物に吸収されにくいばかりでなく、吸収された後も地上部へ移行しにくい傾向にあることを示唆している。一方、ニッケルの地上部への移行特性は植物間で異なっており、マリーゴールド、大豆、ヒマワリ中での金属含有量比は、全部位と地上部で概ね一致したことから(表5(d))、これらの植物に吸収されたニッケルは砒素と同様に効率よく地上部へ移行するものと考えられる。銅もニッケルと同様に、マリーゴールド、大豆やヒマワリで地上部への移行性が若干高い傾向が認められた(表5(a))。

表5 土壤及び植物中の砒素と各重金属の含有量比

(a) Cu/As					(b) Cr/As				
栽培植物	区画 No.	土壤	植物全体	植物地上部	栽培植物	区画 No.	土壤	植物全体	植物地上部
トウモロコシ	1	34.67	7.82	3.30	トウモロコシ	1	24.00	1.78	0.37
	7	26.15	8.19	4.10		7	21.54	3.48	0.51
	12	17.50	5.70	3.06		12	16.67	1.12	0.29
	15	16.67	9.53	4.18		15	15.00	2.68	0.37
コウリヤン	2	16.36	9.14	5.71	コウリヤン	2	13.64	2.31	1.16
	8	12.86	8.25	3.61		8	12.14	3.13	0.65
	13	15.83	7.31	3.74		13	15.00	2.06	0.43
マリーゴールド	3	14.55	12.24	7.01	マリーゴールド	3	14.55	2.31	1.85
	6	16.00	8.30	6.26		6	16.00	1.38	1.04
	16	11.67	7.45	7.73		16	12.50	0.76	0.65
大豆	4	10.83	4.13	2.48	大豆	4	8.33	0.64	0.29
	9	11.67	4.50	3.41		9	10.00	0.72	0.44
	11	12.73	6.51	4.56		11	9.09	1.21	0.53
ヒマワリ	5	9.09	18.34	14.43	ヒマワリ	5	8.91	2.96	1.26
	10	10.91	21.47	18.13		10	10.00	4.38	1.72
	14	11.82	9.59	8.90		14	10.00	1.17	0.94

(c) Pb/As					(d) Ni/As				
栽培植物	区画 No.	土壤	植物全体	植物地上部	栽培植物	区画 No.	土壤	植物全体	植物地上部
トウモロコシ	1	3.20	0.22	0.03	トウモロコシ	1	3.07	0.27	0.08
	7	2.85	0.51	0.05		7	2.92	0.60	0.14
	12	2.25	0.20	0.06		12	2.42	0.26	0.09
	15	2.25	0.35	0.04		15	2.42	0.40	0.12
コウリヤン	2	2.18	0.28	0.02	コウリヤン	2	2.27	0.47	0.18
	8	1.64	0.52	0.09		8	1.93	0.59	0.24
	13	2.08	0.38	0.07		13	2.33	0.55	0.24
マリーゴールド	3	2.27	0.30	0.17	マリーゴールド	3	2.45	1.11	1.12
	6	2.30	0.28	0.15		6	2.70	0.72	0.85
	16	2.00	0.28	0.21		16	2.25	0.97	1.23
大豆	4	1.83	0.16	0.03	大豆	4	2.08	0.43	0.43
	9	1.83	0.17	0.04		9	2.08	0.44	0.54
	11	2.09	0.15	0.05		11	2.27	0.83	0.85
ヒマワリ	5	1.82	0.42	0.06	ヒマワリ	5	2.18	1.22	1.37
	10	1.73	0.36	0.09		10	2.27	1.22	1.34
	14	1.82	0.21	0.14		14	2.27	0.97	0.93

鉄は植物が光合成を行うための必須元素であり、植物は様々な機能を用いて土壤から可溶化した鉄を根から吸収している²³⁻²⁵)。土壤に含まれている金属の一部は鉄酸化物に吸着あるいは含有した状態で存在しているため、植物が鉄を吸収する際にこれらの金属も一緒に取り込まれている可能性が考えられる。そこで、部位ごとに植物体中の鉄含有量と金属含有量の相関性を解析し、金属の植物移行性に関与する化学的因子について検討した。その結果、クロムと鉛については、鉄との間に非常に良好な相関関係が認められた(図2(a), (b))。このことは、クロムと鉛は植物が鉄を吸収する際、鉄と共に副次的に植物内に取り込まれた可能性を示唆している。クロムと鉛の植物移行性は、植物の鉄吸収特性と密接に関連していることが推察された。一方、砒素、カドミウム、ニッケルや銅は、クロムや鉛に比べて鉄との相関性が低い傾向にあった(図2(c)~(f))。これらの結果は、砒素、カドミウム、ニッケルや銅は、鉄と共に植物内に移行するばかりでなく、これとは異なるメカニズムでも植物内に取り込まれている可能性を示している。砒素、ニッケルや銅の一部は水に溶出する形態(水溶出態)で土壤に含まれていることから、植物が水溶出態を吸収することで鉄との相関性が低下した可能性が考えられる。

図2 植物中の各重金属類と鉄との相関関係

4. まとめ

本研究では、中国山西省北部の農用地を対象として、重金属類（銅、クロム、鉛、砒素、ニッケル、カドミウム）による汚染状況を把握すると共に、そこで栽培していた植物（トウモロコシ、コウリヤン、マリーゴールド、大豆、ヒマワリ）に含まれる金属含有量を測定した。植物中の金属含有量を部位別（根、茎、葉、実など）に測定することで、金属の植物移行性について解析した。分析の結果、金属の植物移行性は土壌からの溶出特性や土壌中での存在形態など様々な因子の影響を受けることが判明した。特に、アルカリ土壌が広く分布する中国山西省北部地域では、砒素は植物に吸収されやすく、根から吸収された砒素は地上部へと移行しやすいことが分かった。本地域における農用地土壌では、砒素は特に注意を要する汚染物質である可能性が示唆された。

5. 引用文献

- 1) Zhao F.-J., Ma Y., Zhu Y.-G., Tang Z., McGrath S.P. : Soil contamination in China : Current status and mitigation strategies. *Environmental Science & Technology*, **49**, 750-759, 2015
- 2) Teng Y., Wu J., Lu S., Wang Y., Jiao X., Song L. : Soil and soil environmental quality monitoring in China : A review. *Environmental International*, **69**, 177-199, 2014
- 3) 藤野信之 : 野菜輸入の動向と課題. *農林金融*, **60**, 2-14, 2007
- 4) 小林茂典 : 野菜の輸入動向と輸入野菜流通の特徴. *農林水産研究所レビュー*, **1**, 67-79, 2001
- 5) Hu Y., Cheng H., Tao S. : The challenges and solutions for cadmium-contaminated rice in China : A critical review. *Environmental International*, **92-93**, 515-532, 2016
- 6) Wang M., Chen W., Peng C. : Risk assessment of Cd polluted paddy soils in the industrial and township areas in Hunan, *Southern China*. *Chemosphere*, **144**, 346-351, 2016
- 7) Williams P. N., Lei M., Sun G., Zhu Y.-G. : Occurrence and partitioning of cadmium, arsenic and lead in mine impacted paddy rice : Hunan, China. *Environmental Science & Technology*, **43**, 637-642, 2009
- 8) Bi X., Zhou S., Pan, X. : Soil security is alarming in China's main grain producing areas. *Environmental Science & Technology*, **47**, 7593-7594, 2013
- 9) Li W. C., Ouyang Y., Ye Z. H. : Accumulation of mercury and cadmium in rice from paddy soil near a mercury mine. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **33**, 2438-2447, 2014
- 10) Du Y., Hu X.-F., Wu X.-H., Shu Y., Jiang Y., Yan X.-J. : Affects of mining activities on Cd pollution to the paddy soils and rice grain in Hunan province, Central South China. *Environmental Monitoring and Assessment*, **185**, 9843-9856, 2013
- 11) Zhou H., Zeng M., Zhou X., Liao B., Lei M., Zhong Q.-Y., Zeng H., Liu J. : Assessment of heavy metal contamination and bioaccumulation in soybean plants from mining and smelting areas of Southern Hunan province, China. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **32**, 2719-2727, 2013
- 12) Yang Q.-W., Li H., Long F.-Y. : Heavy metals of vegetables and soils of vegetable bases in Chongqing, Southwest China. *Environmental Monitoring and Assessment*, **130**, 271-279, 2007
- 13) Lin C., Lu W., Wu Y., Lin C. : Agricultural soils irrigated with acidic mine water : acidity, heavy metals, and crop contamination. *Australian Journal of Soil Research*, **43**, 819-826, 2006
- 14) Zhou M., Liao B., Shu W., Yang B., Lan C. : Pollution assessment and potential sources of heavy metals in agricultural soils around four Pb/Zn mines of Shaoguan City, China. *Soil and Sediment Contamination*, **24**, 76-89, 2015
- 15) 特定非営利活動法人国際生命科学研究機構 : 中国における食品規格の概要. http://www.ilsijapan.org/ILSIJapan/COM/W2015/11_China.pdf
- 16) 細野繁雄, 王効拳, 石山高, 謝英荷, 程紅艷, 洪堅平 : 汚染農用地土壌における農作物を用いたファイトレメディエーションの評価ー中国山西省における現地適用試験ー. *全国環境研会誌*, **41**, 10-14, 2016
- 17) 環境省 水・大気環境局 : 底質調査方法, pp. 114-144, pp. 166-172, pp. 178-189, pp. 203-207, 2012
- 18) 環境省 : 土壌溶出量調査に係る測定方法 付表. <http://www.env.go.jp/kijun/dt1-1.html>
- 19) Pan L.-B., Ma J., Wang X.-L., Hou H. : Heavy metals in soils from a typical country in Shanxi Province, China : Levels, sources and spatial distribution. *Chemosphere*, **148**, 248-254, 2016
- 20) 石山高, 八戸昭一, 佐坂公規, 長森正尚, 高橋基之 : 埼玉県における鉛汚染土壌調査事例と鉛溶出量に影響を及ぼす因子. *環境化学*, **17**, 59-68, 2007

- 21) 石山高, 八戸昭一, 濱元栄起, 白石英孝, 細野繁雄, 河村清史: 土壤中重金属類の溶出特性解析とそれに基づく土壤汚染の類型化. 埼玉県環境科学国際センター報, **15**, 126-131, 2015
- 22) 松井健, 岡崎正規: 環境土壤学—人間の環境としての土壤学—, pp. 196-206, 朝倉書店, 東京, 1993
- 23) 稲葉尚子, 竹中千里: 根圏における重金属汚染土壤の浄化 (I) ファイトレメディエーション. 根の研究, **9**, 69-73, 2000
- 24) 大脇良成: 高等植物の鉄獲得機構: Strategy-I 植物における鉄の可溶化・還元・吸収とその制御. 日本土壤肥料学会誌, **73**, 555-563, 2002
- 25) 馬建鋒: 根における金属キレート物質の分泌機能. 根の研究, **7**, 105-108, 1998

<報文>

長野市における2020年夏季のPM_{2.5}成分調査結果*

—西之島噴煙及び花火の影響事例—

中込和徳**・町田 哲**・掛川英男**

キーワード ①火山噴煙 ②打上花火 ③硫酸イオン ④イオンバランス ⑤Sr

要 旨

2020年夏季に長野市で観測された西之島噴煙及び花火の影響事例について、PM_{2.5}成分組成の特徴を解析した。その結果、西之島噴煙によるPM_{2.5}高濃度日のうち、8月6日を除く8月4, 5, 8, 9日はPM_{2.5}中SO₄²⁻含有率が40%以上と高く、陽イオンに対して陰イオンが過剰であったことから、西之島噴煙の影響をより強く受けたとことが示唆された。一方8月6日については、SO₄²⁻濃度と比較して炭素成分濃度の上昇も大きく、西之島噴煙の影響に比較して他の要因の影響をより強く受けたものと考えられた。また、花火影響の特有成分であるK⁺ (K), Mg²⁺, Ba, Sr, Cu濃度が8月1日及び9日に顕著に上昇し、両日とも調査地点付近で実施された打上花火の影響を受けたものと考えられた。濃度上昇率が特に高かったSr及びBaは10～25倍に、その他K⁺ (K), Mg²⁺, Cuは5～10倍に上昇した。

1. はじめに

微小粒子状物質 (PM_{2.5}) については、健康影響が懸念されることから2009年に環境基準が制定され、全国的に監視体制が整備されてきた。その監視には環境基準達成状況把握のための質量濃度の監視に加えて、効果的な削減対策検討等に資するための成分組成の監視がある¹⁾。

本県におけるPM_{2.5}成分組成の監視については、長野市内の一般環境大気測定局である環境保全研究所局 (以下、環保研局) において、2012年度以降、春夏秋冬の四季に、1日単位で14日間の調査を実施してきた。このような中2020年度の夏季調査において、小笠原諸島西之島の噴煙によるPM_{2.5}高濃度事例²⁾や花火の影響事例など、特徴的な事例が観測された。そこで、今後同様の事例が発生した際の参考とするため、これらの事例におけるPM_{2.5}成分組成の特徴について解析した結果、若干の知見が得られたので報告する。

2. 調査方法

2.1 調査地点及び期間

調査地点である環保研局 (図1, 36.64° N, 138.18° E, 標高360m) は、長野市街地の南西部に位置し、周辺は住居地域であるが1km以内には食品工場が点在し、東約300mと北約600mには幹線道路が走っている。調査は、通常の

図1 調査地点

調査期間である2020年7月23日から8月5日までの14日間に、8月6日から10日までの5日間を追加し、合計19日間実施した。このうち解析には西之島噴煙や花火の影響がみられた7月31日から8月10日までの11日間のデータを用いた。

2.2 試料採取及び分析

試料は原則午前10時から24時間の1日単位で、石英繊維ろ紙及びPTFEろ紙の2種類のろ紙に併行採取し、分析まで

*Results of the monitoring of PM_{2.5} components at Nagano City in summer 2020 : The events influenced by the Nishinoshima volcanic smoke and fireworks

**Kazunori NAKAGOMI, Satoshi MACHIDA, Hideo KAKEGAWA (長野県環境保全研究所) Nagano Environmental Conservation Research Institute

の間-20℃以下で冷凍保管した。質量濃度はPTFEろ紙を室温21.5±1.5℃、相対湿度35±5%の条件下で秤量した値から算出した。水溶性イオン成分は石英繊維ろ紙の1/4片を純水10mLで15分間超音波抽出し、フィルタろ過後イオンクロマトグラフで8成分(Cl⁻, NO₃⁻, SO₄²⁻, Na⁺, NH₄⁺, K⁺, Mg²⁺, Ca²⁺)を定量した。有機炭素成分(OC)及び元素状炭素成分(EC)は石英繊維ろ紙の1cm四方片を熱分離・光学補正法の炭素分析装置(IMPROVEプロトコル, 反射光補正)で定量した。無機元素成分はPTFEろ紙の1/2片をマイクロ波分解装置で酸分解し、分解液をPTFEビーカーにて酸除去後0.3mol/L硝酸により15mLに定容し、誘導結合プラズマ質量分析装置で31成分(Na, Al, K, Ca, Sc, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Rb, Sr, Mo, Cd, Sb, Cs, Ba, La, Ce, Sm, Hf, Ta, W, Pb, Th)を定量した。なお、試料採取日は採取開始日とし、測定値が検出下限値未満の場合は、検出下限値の1/2の値を解析に用いた。また試料採取及び分析の詳細は大気中微小粒子状物質(PM_{2.5})成分測定マニュアル³⁾及び環境大気常時監視マニュアル第6版⁴⁾に沿った。

3. 結果及び考察

3.1 西之島噴煙の影響

3.1.1 PM_{2.5}濃度と成分組成

図2に期間中のPM_{2.5}濃度の経日変化を示した。ここで「成分」は成分調査においてPTFEろ紙の秤量値から算出した値であり、以下の解析ではこの値をPM_{2.5}濃度として用いた。一方「連続」は自動連続測定機による1時間値を成分調査に合わせて午前10時から24時間平均した値であり、参考として示した。「成分」に比べて「連続」が約1µg/m³高い値を示したものの両者の変動はよく一致しており、ともに8月4, 5, 6日及び8, 9日に概ね25µg/m³以上に上昇し、8月5日には日平均値の環境基準値である35µg/m³を超過した。このPM_{2.5}濃度上昇については、既報²⁾において、西之島の噴煙が主な原因であると推定されている。

図3に期間平均のPM_{2.5}成分組成(w/w%)を示した。最大の成分はSO₄²⁻(38%)であり、NH₄⁺(13%)と合わせてPM_{2.5}濃度の半分以上を占めた。SO₄²⁻に次いで多い成分はOC(22%)であり、EC(4%)と合わせて1/4以上を占めた。これら4成分で全体の約8割を占めた。なお、図中の「Other Ion」はSO₄²⁻及びNH₄⁺を除く水溶性イオン成分の合計、「Metal」はNa, K及びCaを除く無機元素成分の合計、「Other」はその他成分の合計である。

図4にPM_{2.5}成分組成の経日変化を示した。SO₄²⁻及びNH₄⁺濃度はPM_{2.5}高濃度日(8月4, 5, 6, 8, 9日)に上昇していた。OC及びEC濃度についても、PM_{2.5}高濃度日に上昇がみられたが、8, 9日のOC濃度の上昇は不明瞭であった。このPM_{2.5}主要成分濃度等の経日変化の様子をより詳細に

図2 PM_{2.5}濃度の経日変化
(図中の矢印はPM_{2.5}高濃度期間を示す)

図3 PM_{2.5}の成分組成(7月31日から8月10日の平均)

図4 PM_{2.5}成分組成の経日変化
(図中の矢印はPM_{2.5}高濃度期間を示す)

見るため、図5にPM_{2.5}濃度及び主要成分濃度の非高濃度日(7/31~8/3, 8/7, 8/10)平均値に対する比の経日変化を、SO₄²⁻含有率の経日変化と合わせて示した。PM_{2.5}濃度は、4~6日は2~3倍に、8, 9日は2倍強に上昇していた。これに対してSO₄²⁻濃度は、4, 5日は4倍前後に、8, 9日は3倍強に、PM_{2.5}濃度に比較して大きく上昇していたが、6

日は約2.8倍であり、PM_{2.5}濃度と同程度の上昇率であった。一方、炭素成分（OCとECの合計）については、4～6日は2倍前後と弱いながらも上昇が見られたが、8、9日は1.4倍前後であり、濃度上昇は顕著でなかった。このようなPM_{2.5}主要成分の濃度変動に伴い、PM_{2.5}中SO₄²⁻含有率は8月4、5、8、9日には40%以上に上昇した。大気中粒子状物質が火山噴煙の影響を受けた場合、SO₄²⁻濃度が特に顕著に上昇することが既往研究^{6),7)}により報告されている。このため8月4、5、8、9日のPM_{2.5}濃度上昇については、西之島噴煙が主な原因であることが成分組成からも示唆された。一方8月6日については、SO₄²⁻濃度の上昇に比較して炭素成分濃度の上昇も大きく、SO₄²⁻含有率は33%と顕著な上昇を示さなかった。このため、8月6日のPM_{2.5}濃度上昇は西之島噴煙の影響に比較して他の要因の影響をより強く受けたことによるものと考えられた。

3.1.2 水溶性イオン成分の組成とバランス

図6にPM_{2.5}中陰イオン及び陽イオンの当量濃度並びに陰イオン当量濃度合計と陽イオン当量濃度合計の比の経日変化を示した。陰イオンの大半はSO₄²⁻であり、いずれの日も陰イオン全体の98%以上を占めた。陽イオンは8月1日を除くとNH₄⁺が大半であり、いずれの日も陽イオン全体の92%以上を占めた。なお8月1日については環保研局近傍で実施された打上花火の影響を受けたものと考えられ、詳細については3.2節で、あらためて議論する。

陰イオン当量濃度合計と陽イオン当量濃度合計は概ねバランスしていたが、PM_{2.5}濃度が高くSO₄²⁻含有率が高かった8月4、5、8、9日については、陽イオンに対して陰イオンが過剰であった。これに伴い、その他の日（7/31～8/3、8/6～7、8/10）の両者の比は、概ね0.95から1.05（1±0.05）の範囲に入っていたのに対して、8月4、5、8、9日は比が概ね1.1以上の大きな値を示し、8月5日には1.2を超えた。火山噴煙起源の高濃度SO₄²⁻については、地表付近から排出されたアンモニアガスで完全には中和されずに、観測地点に硫酸ミスト（H₂SO₄または(NH₄)HSO₄）として到達し、イオンバランスが陰イオン（SO₄²⁻）過剰となる事例が報告されている^{6),7)}。このため8月4、5、8、9日については、西之島噴煙の影響をより強く受けたことがイオンバランスからも示唆された。一方8月6日については、PM_{2.5}濃度は高かったが陽イオンに対する陰イオンの比は1.04と概ねバランスしていた。

3.2 花火の影響

花火に用いられる火薬の原料には、可燃剤、酸化剤、及び効果剤として、花火特有の様々な化学物質が使われている^{8),9)}。このため、PM_{2.5}などの大気中粒子状物質が花火の影響を受けた場合、その火薬に含まれる花火特有の

図5 PM_{2.5}主要成分の非高濃度日平均値に対する比及びSO₄²⁻含有率の経日変化

図6 PM_{2.5}中陰イオン及び陽イオンの当量濃度並びに陰イオン当量濃度合計と陽イオン当量濃度合計の比の経日変化

図7 花火特有成分濃度の非花火影響日平均値に対する比の経日変化

元素濃度が上昇すると考えられる。このような花火の影響を受けたPM_{2.5}等の成分観測において、顕著な濃度上昇を示す花火特有の元素としては、K, Mg, Ba, Sr, Cu等が報告されている^{10, 11)}。

図7に、上述の花火特有成分であるK⁺ (K) , Mg²⁺, Ba, Sr, Cu濃度の、非花火影響日平均値 (7/31, 8/2~8, 8/10の平均値) に対する比の経日変化を示した。8月1日及び9日に特異的に濃度上昇がみられたが、両日とも環保研局付近において打上花火が行われていたため¹²⁾、その影響を受けたものと考えられた。濃度上昇率が特に高かったのはSr及びBaであり、8月1日はSr, Baともに非花火影響日の約25倍、8月9日はSrが約10倍、Baが約15倍であった。その他K⁺ (K) , Mg²⁺, Cuについては、8月1日は10倍前後、8月9日は5倍前後であった。なお、花火特有成分以外の成分で、8月1日及び9日に非花火影響日平均値の2倍以上となったのは、8月1日のCr, Fe, Co, Ni, As, Pbのみであった。

山本ら¹⁰⁾は、奈良盆地内の2地点で採取したPM_{2.5}試料への打上花火の影響について検討し、2地点のうち一方が花火の影響を受け、他方が影響を受けなかった事例について花火特有成分の上昇率を評価しており、花火の影響を受けた地点のSr, Ba, K⁺, Mg²⁺濃度が、影響を受けなかった地点の、それぞれ45, 10, 11, 4.3倍に上昇したことを報告している。成分によって詳細は異なるが、本報の結果は山本らの上昇率と同程度であった。

また山本ら¹⁰⁾は、花火の影響が最も大きかったSrについて、Srが土壌中に多く含まれる成分であることに着目し、同じく土壌含有元素であるTiに対するSrの散布図において、Sr濃度が比較的高濃度(山本らの例では2.3ng/m³以上)、かつSr/Ti比が0.5以上である場合、花火の影響を受けた可能性が高いことを示した。本報の結果においても、図8に示したように、花火の影響を受けたと考えられる8月1日並びに9日の試料は、それぞれ、Sr濃度及びSr/Ti比が、21ng/m³及び10、並びに7.7ng/m³及び1.5であり、山本らのSr/Ti比を用いた判定方法により花火影響日と判定された。

図6に示したように、花火の影響を受けた8月1日及び9日の水溶性イオン成分組成については、両日ともに花火特有成分であるK⁺及びMg²⁺が非花火影響日に比べて多いのが特徴であった。全体のイオンバランスは、8月1日は概ねバランスしていたが、8月9日は陽イオンに対して陰イオンが過剰であった。これは3.1.2節で述べたように西之島噴煙の影響を受けたことが原因であると考えられた。いずれにしても、両日の陰イオンは、ほぼ全てSO₄²⁻であったことから、花火起源の陽イオンであるK⁺及びMg²⁺の対イオンはSO₄²⁻であり、硫酸塩として大気中に存在していたものと考えられた。観測されたK⁺及びMg²⁺の全量が、硫

図8 Ti濃度に対するSr濃度の散布図
(7/31~8/10, 点線はSr/Ti比=0.5の線を、
破線はSr=2.3ng/m³の線を表す)

酸塩として花火から排出されたものと仮定して、8月1日及び9日の花火起源のSO₄²⁻濃度の最大値を見積もると、それぞれ、0.77μg/m³ (16neq/m³) 及び0.49μg/m³ (10neq/m³) と見積もられた。両日におけるSO₄²⁻濃度に占める花火起源分の割合は、それぞれ最大で約31%及び4%であり、PM_{2.5}濃度が8.8μg/m³と比較的低かった8月1日については、ある程度影響した可能性が示唆されたが、西ノ島噴煙の影響によりPM_{2.5}濃度が26.3μg/m³と高濃度になった8月9日については、花火の影響は小さかったと考えられた。

4. まとめ

長野市における2020年度夏季の西之島噴煙及び花火の影響事例について、PM_{2.5}成分組成の特徴を解析し、以下の知見を得た。

- ・西之島噴煙によるPM_{2.5}高濃度日(8月4, 5, 6, 8, 9日)のうち、8月6日を除く8月4, 5, 8, 9日については、PM_{2.5}中SO₄²⁻含有率が40%以上に上昇し、陽イオンに対する陰イオンの合計当量濃度の比が1.1以上と、陰イオン(SO₄²⁻)が過剰であったことから、西之島噴煙の影響をより強く受けたことが示唆された。
- ・一方8月6日については、SO₄²⁻濃度と比較して炭素成分濃度の上昇が大きく、SO₄²⁻含有率は33%と顕著な上昇を示さず、陽イオンに対する陰イオンの合計当量濃度の比は1.04と概ねバランスしていた。このため、8月6日のPM_{2.5}濃度上昇は、西之島噴煙の影響に比較して他の要因の影響をより強く受けたことによるものと考えられた。

- ・ 8月1日及び9日に花火特有成分であるK⁺ (K) , Mg²⁺, Ba, Sr, Cu濃度が顕著に上昇し, 両日ともに環境研局付近で実施された打上花火の影響を受けたと考えられた。非花火影響日に対する濃度上昇率が特に高かったSr及びBaは10~25倍に, その他K⁺ (K) , Mg²⁺, Cuは5~10倍に上昇した。
- ・ 本報のデータに対して, 山本ら¹⁰⁾のSr/Ti比を用いた花火影響日の判定方法を適用した結果, 8月1日及び9日の両日ともに花火影響日と判定された。水溶性イオン成分組成は, 両日ともにK⁺及びMg²⁺が非花火影響日より多く, これらは硫酸塩として大気中に存在していたものと考えられた。

5. 引用文献

- 1) 環境省: 「大気汚染防止法第22条の規定に基づく大気汚染の状況の常時監視に関する事務の処理基準について」の一部改正について(平成22年3月31日付環水大発第100331001号・環水大自発第100331002号), http://www.env.go.jp/air/osen/law22_kijun.html (2022.9.28アクセス)
- 2) 中込和徳, 町田哲, 掛川英男: 2020年8月上旬のPM_{2.5}広域高濃度事象における長野県内の汚染状況. 全国環境研会誌, **46**, 56-61, 2021
- 3) 環境省: 大気中微小粒子状物質 (PM_{2.5}) 成分測定マニュアル, <http://www.env.go.jp/air/osen/pm/ca/manual.html> (2022.9.28アクセス)
- 4) 環境省: 環境大気常時監視マニュアル第6版, http://www.env.go.jp/air/osen/manual_6th/index.html (2022.9.28アクセス)
- 5) Stein A.F., Draxler R.R., Rolph G.D., Stunder B.J.B., Cohen M.D., Ngan F.: NOAA's HYSPLIT atmospheric transport and dispersion modeling system. *Bull. Amer. Meteor. Soc.*, **96**, 2059-2077, 2015
- 6) Satsumabayashi H., Kawamura M., Katsuno T., Futaki K., Murano K., Carmichael G.R., Kajino M., Horiguchi M., Ueda H.: Effects of Miyake volcanic effluents on airborne particles and precipitation in central Japan. *J. Geophys. Res.*, **109**, D19202, 2004
- 7) 鹿角孝男, 川村實, 薩摩林光, 西沢宏, 村野健太郎: 長野県北部で観測された三宅島の火山ガスにより生成した高濃度硫酸エアロゾル. 大気環境学会誌, **37**, 75-80, 2002
- 8) 松永猛裕: 花火の燃焼. 日本燃焼学会誌, **50**, 100-106, 2008
- 9) 松永猛裕: 花火の原理・安全・データベース. 日本燃焼学会誌, **60**, 173-180, 2018
- 10) 山本真緒, 浦西克維, 菊谷有希, 菅田誠治: レセプターモデルを用いたPM_{2.5}への打上花火イベントの影響事例評価. 大気環境学会誌, **56**, 43-56, 2021
- 11) Vecchi R., Bernardoni V., Cricchio D., D'Alessandro A., Fermo P., Lucarelli F., Nava S., Piazzalunga A., Valli G.: The impact of fireworks on airborne particles. *Atmos. Environ.*, **42**, 1121-1132, 2008
- 12) ALL NAGANO PROJECT: 疫病退散花火の打ち上げ., <http://all-nagano-project.com/news/%E7%96%AB%E7%97%85%E9%80%80%E6%95%A3%E8%8A%B1%E7%81%AB%E3%81%AE%E6%89%93%E3%81%A1%E4%B8%8A%E3%81%92%E3%80%82/> (2022.9.28アクセス)

<報文>

横浜市内の池におけるヌカエビおよびカワリヌマエビ属の生息状況*

玉城大己**・本山直人**・潮田健太郎**・七里浩志**・川村顕子**・中里亜利咲**・浦垣直子**・
小島 淳**

キーワード ①池 ②ヌカエビ ③カワリヌマエビ属 ④外来種

要 旨

横浜市内を流れる河川において減少傾向にある在来種ヌカエビと生息域の拡大を続けている外来種カワリヌマエビ属について、市内の池47地点を対象に生息状況を確認した。ヌカエビは47地点中16地点、カワリヌマエビ属は47地点中33地点で確認された。カワリヌマエビ属は、1994年から1997年にかけて、80地点を対象に行われた池の生物調査では確認されなかったが、今回の調査により市内の多くの池で確認され、生息域を拡大していることが分かった。カワリヌマエビ属は雨水調整池など人が容易に立ち入れない地点でも確認されており、河川と池が接続している場合は、河川から池に侵入する可能性がある。ヌカエビは、カワリヌマエビ属の池への侵入によって個体数を減らし、将来的にカワリヌマエビ属に置き換わると考えられる。

1. はじめに

在来種ヌカエビ *Paratya compressa improvisa* と外来種カワリヌマエビ属 *Neocaridina* sp. (図1) はどちらもヌカエビ科の体長30mm程度の個体で、淡水産の種であり、雑食性で主に付着藻類やデトリタスを食すといった共通の特徴を持つ¹⁾。そのため、両種は競合し、カワリヌマエビ属の侵入・生息域の拡大によりヌカエビの生息を脅かしている²⁻⁴⁾。本来、カワリヌマエビ属は西日本や中国、韓国に自然分布しているが⁵⁾、釣り餌やペットとして海外から日本に侵入し、定着していると考えられており⁶⁾、日本各地でその存在が確認されている^{5, 7, 8)}。

横浜市内を流れる河川において、カワリヌマエビ属は1999年に福嶋⁹⁾により入江川で初めて確認された。それ以降は、2005年に境川水系¹⁰⁾、2008年に鶴見川水系と帷子川水系¹¹⁾、2011年に宮川水系¹²⁾、そして2018年には大岡川水系¹³⁾と、それぞれ独立している水系で確認され生息域を拡大し続けている¹⁴⁾。一方で、カワリヌマエビ属は、1994年から1997年にかけて80地点の池を対象に行われた魚類・甲殻類(十脚目)調査¹⁵⁾(以下、80地点調査とする。)で確認された地点はなかった。池においてカワリヌマエビ属が初めて確認されたのは、2001年に樋口ら¹⁶⁾による白幡池の調査時である。

河川状況を鑑みると、横浜市内の池においてもカワリヌマエビ属の生息域の拡大が懸念される。しかし、池の生物調査は80地点調査以降、市内全域を対象とした調査は実施されておらず、池における生物分布の現況は不明な点が多い。そこで、横浜市環境科学研究所では2017年から横浜市内の池において魚類・甲殻類(十脚目)を対象とした生物調査を実施している。ここでは、ヌカエビとカワリヌマエビ属に焦点を置き、2017年から2019年の調査結果¹⁷⁻¹⁹⁾を引用し、2020年と2021年の調査結果を合わせ、各水系に接続している池における生息状況の確認および80地点調査時からの変化を報告する。

図1 在来種ヌカエビ(左)
および外来種カワリヌマエビ属(右)

*Habitat of *Paratya compressa improvisa* and *Neocaridina* sp. in the pond in Yokohama City

**Daiki TAMASHIRO, Naoto MOTOYAMA, Kentarou USHIODA, Hiroshi SHICHIRI, Akiko KAWAMURA, Arisa NAKAZATO, Naoko URAGAKI, Makoto KOJIMA (横浜市環境科学研究所) Yokohama Environmental Science Research Institute

2. 調査方法

2020年と2021年の調査結果に、2017年から2019年の調査結果¹⁷⁻¹⁹⁾と合わせた計47地点（うち80地点調査¹⁵⁾の対象は37地点）を対象とし、ヌカエビとカワリヌマエビ属の生息状況を確認した。

池と接続している水系の確認は「横浜市行政地図提供システム」のだいちゃんマップ（公共下水道台帳図）から確認した。水系別の地点数は、鶴見川が12地点、帷子川が10地点、境川が16地点、大岡川が1地点、宮川が2地点であった。接続水系なしとした地点は、河川への接続

が確認できずかつ下水処理場へと直接水が流れる合流区域にある池、または海に直接接続している池とし、6地点であった。

生物の採集はタモ網（D型フレームネット、目合一目6mm）を用いて、3～4名で約30分間行った。採集の範囲は、胴長を履いた状態で池の中を動ける深さまでとした。この調査は魚類やヌカエビとカワリヌマエビ属以外の甲殻類（十脚目）も対象として行っており、投網（目合一目20mm）やかご罟（大きさ50×50×100cm）にて採集された個体の数も計上した。

表1 調査地点名等およびヌカエビとカワリヌマエビ属の確認個体数※1

地点	調査地点名※2	水系	支川	調査日	ヌカエビ	カワリヌマエビ属
t1	せせらぎ公園池	鶴見川	早濶川	2017/6/5	0	46
t2	もえぎ野公園池	鶴見川	なし	2017/6/12	0	4
t3	大場第一2号雨水調整池	鶴見川	大場川	2017/8/9	0	213
t4	二ツ池東（駒岡池）	鶴見川	なし	2017/8/23	0	0
t5	二ツ池西（獅子ヶ谷池）	鶴見川	なし	2017/8/24	0	1
t6	桜台公園	鶴見川	しらとり川	2021/5/24	0	15
t7	藤が丘公園	鶴見川	なし	2021/6/15	0	0
t8	鴨池公園	鶴見川	早濶川	2021/6/17	0	0
t9	玄海田公園	鶴見川	岩川	2021/6/25	0	0
t10	寺家大池	鶴見川	寺家川	2021/6/29	0	97
t11	北八朔公園	鶴見川	なし	2021/7/5	0	5
t12	寒池雨水調整池	鶴見川	不明	2021/10/26	0	130
k1	新井町公園池	帷子川	新井川	2018/5/28	3	6
k2	柏遊水池	帷子川	二俣川	2018/6/14	0	42
k3	希望ヶ丘水の森公園池	帷子川	二俣川	2018/6/25	0	0
k4	若葉台雨水調整池	帷子川	なし	2018/7/11	16	0
k5	児童遊園地	帷子川	今井川	2018/7/19	20	58
k6	帷子川親水緑道	帷子川	なし	2018/7/31	0	90
k7	田原橋公園池	帷子川	なし	2018/7/31	0	149
k8	こども自然公園大池	帷子川	二俣川	2018/8/6	0	97
k9	こども自然公園中池	帷子川	二俣川	2018/8/10	42	2
k10	こども自然公園はす池	帷子川	二俣川	2018/8/10	52	90
s1	ミズキの谷	境川	いたち川	2017/6/22	189	0
s2	水鳥の池1	境川	いたち川	2017/6/29	38	0
s3	水鳥の池3	境川	いたち川	2017/6/29	314	0
s4	小雀公園伊賀のため池	境川	関谷川	2018/8/27	0	114
s5	小雀公園ヨシ原の池	境川	関谷川	2018/8/27	0	168
s6	舞岡公園さくらなみ池	境川	舞岡川	2018/9/12	22	113
s7	舞岡公園宮田池	境川	舞岡川	2018/9/12	202	32
s8	瀬上池	境川	いたち川	2018/12/9	1	589
s9	大船台雨水調整池	境川	いたち川	2019/9/27	373	65
s10	桂台第二雨水調整池	境川	いたち川	2019/9/27	0	83
s11	飯島わんわん池公園	境川	柏尾川	2020/7/9	41	101
s12	宇田川遊水地	境川	宇田川	2020/7/31	0	116
s13	弘法池公園	境川	宇田川	2020/7/31	0	16
s14	領家A雨水調整池	境川	阿久和川	2020/8/6	0	98
s15	宮沢遊水地	境川	和泉川	2020/9/8	0	113
s16	谷矢部池公園	境川	柏尾川	2020/10/2	30	75
o1	坪呑公園自然生態園	大岡川	不明	2019/6/26	214	0
m1	みずの谷	宮川	なし	2019/10/18	232	231
m2	IIの沢遊水池	宮川	なし	2019/10/18	0	190
1	白幡池	接続水系なし		2017/7/26	0	0
2	能見堂緑地不動池	接続水系なし		2019/6/14	0	0
3	久良岐公園大池	接続水系なし		2019/10/15	0	26
4	篠原池	接続水系なし		2021/7/13	0	10
5	獅子ヶ谷新池	接続水系なし		2021/9/21	0	0
6	下谷広場	接続水系なし		2021/9/21	0	0

※1 2017年から2019年までのデータは環境科学研究所報第43, 44, 45号の結果¹⁷⁻¹⁹⁾を引用した。

※2 下線部は80地点調査にて調査していない地点を示す。

図2 横浜市内の池および河川におけるヌカエビとカワリヌマエビ属の分布

2018年、2019年に行われた河川調査の結果¹³⁾および表1に記載されている地点を示す。図中の地点番号において英字の大文字が河川、小文字が池、英字がないものは接続水系なしの調査地点を示す。

3. 結果と考察

調査地点、接続している水系等、ヌカエビとカワリヌマエビ属の確認個体数を表1に、横浜市内の池および河川におけるヌカエビとカワリヌマエビ属の分布を図2に示す。池47地点のうち、ヌカエビは16地点、カワリヌマエビ属は33地点で確認された。また、ヌカエビのみが確認されたのは5地点、カワリヌマエビ属のみが確認されたのは22地点、ヌカエビとカワリヌマエビ属の両種が確認されたのは11地点、両種とも確認されなかったのは9地点であった。

3.1 ヌカエビの生息状況

2018年から2019年に行われた河川調査¹³⁾では、ヌカエビは帷子川水系の本川(K1)、境川水系の支川である舞岡川(S7)およびいたち川(S11)、大岡川水系の本川(01, 01-1, 02, 03)、宮川(M3)と主に河川の上流域で確認された。また、河川調査にてヌカエビが確認されている地点の近くに接続しているk4, s1, s2, s3, s6, s7の地点においてもヌカエビが確認された。これらの地点の池は、ヌカエビが池と河川を移動できる環境にあると思われる、河川の最上流域に位置することから、河川におけるヌカエビの供給源としての役割を果たしていると考えられる。s1, s2, s3の地点は80地点調査でもヌカエビが確認されており、継続して定着していることとなる。

今回の調査では、鶴見川水系に接続している池においてヌカエビが確認できた地点はなかったが、2019年の河川調査では、過去に確認されていなかったT5-2の地点でヌカエビが確認された¹³⁾。2016年に片山ら³⁾による調査で都筑中央公園内杉山神社の池でヌカエビが確認されている。この池は鶴見川水系の早瀬川に接続していることから、池から流下した個体がT5-2の地点で確認された可能性がある。またヌカエビは、過去に確認されていなかったS10の地点において、2019年の河川調査時に確認された¹³⁾。境川水系の支川である柏尾川に接続しているs11とs16の地点ではヌカエビが確認されていることから、T5-2の地点と同様に、池から流下した個体がS10の地点で確認された可能性がある。

ヌカエビは、80地点調査では鶴見川、境川および大岡川の上流域にある池12地点で確認されていたが¹⁵⁾、今回の調査では47地点中16地点で確認された。河川調査では、ヌカエビの確認地点数は年々減少傾向にあるが¹³⁾、今回の池の調査では、80地点調査の結果よりも確認された地点の割合が大きく、約20年の間に確認地点数が増えた結果となった。80地点調査では確認されなかった地点の多くは公園にある池であった。公園にある池は人が池に接触しやすく、生物が人為的に移入しやすい環境であると考えられるが、場所によってはヌカエビが河川から池ま

で遡上した可能性もある。

3.2 カワリヌマエビ属の生息状況

2018年から2019年に行われた河川調査¹³⁾では、カワリヌマエビ属は水系に関係なく、主に感潮域を除く幅広い範囲で確認された。カワリヌマエビ属は1994年から1997年にかけて行われた80地点調査¹⁵⁾では確認されなかったが、今回の調査により、市内の多くの池で確認され、約20年の間で生息域を拡大していることが分かった。

横浜市の河川調査では、カワリヌマエビ属が感潮域で確認された例は、2019年に鶴見川水系のT5での1例のみであった^{10-13, 21)}。また、鶴見川の感潮域に接続している池2地点(t4, t5)において、カワリヌマエビ属はt4の地点では確認されず、t5の地点は1個体のみの確認であった。この二つの池は2010年²²⁾、2014年²³⁾に生物調査が実施されているが、いずれの年もカワリヌマエビ属は確認されていない。以上から、感潮域に接続している池はカワリヌマエビ属が遡上しにくい可能性がある。ヌカエビとカワリヌマエビ属の両種が確認されない地点は、接続水系なしとした池は6地点中4地点(67%)であり、河川に接続している池では41地点中5地点(12%)であった。接続水系なしとした池の割合が大きいの、河川からの侵入経路がないためであると考えられる。

カワリヌマエビ属は、2005年に境川水系の支川である柏尾川にあるS10の地点で初めて確認されてから¹⁰⁾、2008年にはS4, S7, S11の地点で¹¹⁾、2011年にはS1, S3-4, S8, S9の地点で新たに確認され¹²⁾、約6年をかけて市内の境川水系のほぼ全域まで生息域を拡大させた。カワリヌマエビ属は境川水系と同様にほかの水系においても、2008年に鶴見川水系の支川である恩田川のT8の地点¹¹⁾、帷子川水系の本川のK4-3の地点¹¹⁾で確認されてから、数年で水系のほぼ全域まで生息域が拡大した¹³⁾。これは、河川へ直接的にまたは池に人為的に移入されたカワリヌマエビ属が流下し、各水系で広まったためと考えられる。また、カワリヌマエビ属は片山ら³⁾により公園の高さ3mの垂直の滝を遡上している様子や長谷川ら⁴⁾により高低差が数十cm程度ある排水口を遡上している様子が確認されている。さらには、丹羽ら²⁰⁾により堰堤の下流側に放流したカワリヌマエビ属を水面から垂直に28cm上方にある堰堤で再捕獲したとの報告がある。その遡上能力の高さから、池と河川が接続している場合は、カワリヌマエビ属が河川から池に侵入すると推察できる。

今回の調査により池で確認されたカワリヌマエビ属は、人為的に池に放流された可能性も考えられる。しかし、雨水調整池など基本的に人が立ち入れない場所においても確認されたことから、カワリヌマエビ属は、河川から池まで遡上し、定着している可能性が高い。

3.3 ヌカエビとカワリヌマエビ属の関係

ヌカエビとカワリヌマエビ属の両種が存在する場合、河川や水路ではヌカエビとカワリヌマエビ属がお互いに負の影響を与え、ため池ではヌカエビが一方向的に負の影響を受けるとの報告がある⁴⁾。実際に宮川水系では2011年にM3の地点でカワリヌマエビ属の侵入が確認できてから、同地点で確認されているヌカエビの個体数が減少傾向にあることが分かっている^{2, 13, 21)}。また、80地点調査ではヌカエビが確認されたt10の地点においても、今回の調査ではヌカエビが確認されずカワリヌマエビ属に置き換わっていたことが確認された。80地点調査ではt10の地点の近くにあるむじな池や居谷戸池、寺家新池にてヌカエビが確認されていたが¹⁵⁾、現在はt10の地点と同様にカワリヌマエビ属と置き替わっている可能性がある。さらに、80地点調査にてヌカエビのみが確認されていたs8の地点において、今回の調査ではカワリヌマエビ属が589個体に対しヌカエビが1個体しか確認できず、カワリヌマエビ属にほぼ置き換わっている状態であった。

2018年、2019年の河川調査では、帷子川水系の本川の上流域(K1, K2)や境川水系のいたち川の上流域(S11, S11-1)までカワリヌマエビ属の存在が確認されており、それぞれの水系と接続しているk4, s1, s2, s3の地点の池も今後はt10の地点と同様にカワリヌマエビ属に置き換わることが考えられる。また、池の一部は消失していたり、水が存在していなかったりと環境が変化しており、80地点調査にてヌカエビが確認されていたひょうたん池¹⁵⁾も消失していた。現状、横浜市内でヌカエビのみが確認できる地点は限られており、カワリヌマエビ属が侵入し、ヌカエビがこれ以上減少するのを抑えるために対策を講じる必要がある。

4. まとめ

80地点調査にて行われた池を主に対象としヌカエビおよびカワリヌマエビ属の生息状況の調査を行った結果、以下のことが分かった。

- ・カワリヌマエビ属は、1994年から1997年にかけて行われた80地点を対象とした池の生物調査では確認されなかったが、今回の調査により市内の多くの池で確認され、生息域を拡大していることが分かった。
- ・カワリヌマエビ属は雨水調整池など人が容易に立ち入れない地点でも確認されており、河川と池が接続している場合は、河川から池に侵入する可能性がある。
- ・ヌカエビは、カワリヌマエビ属の池への侵入によって個体数を減らし、将来的にカワリヌマエビ属に置き換わると考えられる。

5. 引用文献

- 1) 川井唯史, 中田和義: エビ・カニ・ザリガニ淡水甲殻類の保全と生物学, pp. 40-53, 生物研究社, 東京, 2012
- 2) 渾川直子, 七里浩志, 川田攻, 堀美智子, 市川竜也, 村岡麻衣子: 宮川源流域の在来種ヌカエビと外来種カワリヌマエビ属の生息について. 横浜市環境科学研究所報, **42**, 39-45, 2018
- 3) 片山敦, 佐藤僚介, 吉川朋子: 東日本鶴見川水系におけるカワリヌマエビ属とヌカエビの急激な分布の変化. 自然環境科学研究, **30**, 5-12, 2017
- 4) 長谷川政智, 池田実, 藤本泰文: 宮城県に侵入した淡水エビ: カワリヌマエビ属 *Neocaridina* spp. の分布拡大とヌカエビ *Paratya compressa improvisa* への影響. 伊豆沼・内沼研究報告, **9**, 47-56, 2015
- 5) 国立環境研究所: 侵入生物データベース カワリヌマエビ属, <https://www.nies.go.jp/biodiversity/invasive/DB/detail/70520.html> (2022. 10. 26アクセス)
- 6) 丹羽信彰: 外来輸入エビ, カワリヌマエビ属エビ (*Neocaridina* Spp.) および *Palaeomonidae* Spp. の輸入実態と圏内の流通ルート. *CANCER*, **19**, 75-80, 2010
- 7) 金澤光: 埼玉県に侵入した外来甲殻類ヌマエビ科カワリヌマエビ属の現状について. 埼玉県環境科学国際センター報, **15**, 152-156, 2015
- 8) 永井大翔, 今井秀行: 沖縄島から初記録された侵略的外来淡水エビのカワリヌマエビ類. 日本生物地理学会会報, **76**, 51-57, 2021
- 9) 福嶋悟: 下水処理水によるせせらぎの再生と生物, 第27回環境・公害研究合同発表会, 2003
- 10) 横浜市環境科学研究所: 横浜の川と海の生物 (第11報・河川編), pp. 110-116, 2006
- 11) 横浜市環境科学研究所: 横浜の川と海の生物 (第12報・河川編), pp. 35-49, 2009
- 12) 横浜市環境科学研究所: 横浜の川と海の生物 (第13報・河川編), pp. 36-58, 2012
- 13) 横浜市環境科学研究所: 横浜の川と海の生物 (第15報・河川編), pp. 71-97, 2020
- 14) 本山直人, 玉城大己, 川田攻, 小島淳, 市川竜也: 横浜市の河川における生物指標による水質評価及び外来種の動向. 全国環境研会誌, **47**, (2), 15-20, 2022
- 15) 樋口文夫, 水尾寛己, 福嶋悟, 前川渡, 阿久津卓, 梅田孝: 横浜市内の池における水環境と魚類相, 甲殻類 (十脚目) 相の調査報告. 横浜市環境科学研究所報, **26**, 22-37, 2002

- 16) 樋口文夫, 福嶋悟, 水尾寛己, 倉林輝世: 池改修による魚類・甲殻類(十脚目)相の変化に関する研究. 横浜市環境科学研究所報, **26**, 38-46, 2002
- 17) 市川竜也, 七里浩志, 渾川直子, 堀美智子, 潮田健太郎, 川村顕子, 浦垣直子, 紺野繁幸: 横浜市内の池における魚類・甲殻類(十脚目)相の調査結果. 横浜市環境科学研究所報, **43**, 45-57, 2019
- 18) 市川竜也, 七里浩志, 本山直人, 堀美智子, 潮田健太郎, 川村顕子, 川田攻, 中里亜利咲: 横浜市内の池における魚類・甲殻類(十脚目)相の調査結果(第2報). 横浜市環境科学研究所報, **44**, 33-48, 2020
- 19) 本山直人, 市川竜也, 七里浩志, 浦垣直子, 潮田健太郎, 中里亜利咲, 小島淳: 横浜市内の池における魚類・甲殻類(十脚目)相の調査結果(第3報). 横浜市環境科学研究所報, **45**, 37-49, 2021
- 20) 丹羽信彰, 横山達也: トリパンプルーおよびトリパンレッド標識法によるミナミヌマエビの遡上生態の観察. 水産増殖, **45**, (4), 437-443, 1997
- 21) 横浜市環境科学研究所: 横浜の川と海の生物(第14報・河川編), pp. 54-93, 2016
- 22) 横浜市環境創造局: ニツ池生物生息環境調査委託報告書, pp. 68-75, 2011
- 23) 七里浩志, 市川竜也, 渾川直子, 堀美智子, 村岡麻衣子, 岩崎美佳, 本田昌幸: 横浜市内止水域における外来種侵入状況について~2池における魚類、エビ・カニ類の変遷~, 第39回環境研究合同発表会講演要旨集, 2015

<報文>

酸性河川のヨシ原における リター分解に関する土壌細菌叢の解析*

中村 和徳**

キーワード ①酸性河川 ②ヨシ原 ③細菌叢 ④リター分解 ⑤アンプリコンシーケンス解析

要 旨

河岸に発達する植生帯は、陸域から水域への移行帯であり、独自の多様な生態系を構成する重要な地域である。本研究では有機物の無機化や窒素形態変換等を駆動する土壌細菌に着目し、酸性河川の氾濫原におけるヨシの分解に関わる細菌群集構造を周辺土壌と比較解析し、特徴づけを行った。その結果、特徴的な酸性河川の細菌叢、さらにヨシの分解に関与する細菌叢が周辺土壌とは異なることを明らかとすることができた。両者の細菌群集構造の違いは新鮮な有機物の分解に主に関与する細菌が土壌環境とは異なっており、それは酸性環境の影響を受けることを示唆するものと考えられた。

1. はじめに

日本の河岸や湖岸にはヨシが至る所に群生している。この河岸に発達する植生帯は、陸域から水域への移行帯であり、独自の多様な生態系を構成する重要な地域である。これらのヨシ原は水質浄化性能を有していることが期待される¹⁾。水生植物を利用した水質浄化システムは流入河川の水質を改善するのに最も役に立つ方法であるかもしれない。例えば、ヨシを利用した水質浄化システムが秋田県に位置する八郎湖の流入負荷削減のために利用されている²⁾。また、この植生帯は高い生産性を有することや、周期的に起きる河川の増水によって冠水し河川流路とつながることなどから、重要な有機物源となっている可能性が指摘されている³⁾。

本研究では猪苗代湖の主要な流入河川である長瀬川と合流する酸川を対象とした。猪苗代湖は磐梯山の麓に位置し、日本で4番目の広さを有する。猪苗代湖は安達太良山に起源を持つ酸性の温泉水や鉱山廃水の流入を原因とする酸性湖沼である。そのために湖心の表層におけるpHは1995年まで約5を示していたが、その後徐々に上昇し、2009年には6.8に達した^{4, 5)}。このpHの上昇は主に硫酸イオン濃度の減少に起因すると考えられている⁶⁾。pHの上昇と共に、COD等の猪苗代湖の水質は悪化した⁷⁾。猪苗代湖の主要な流入河川は長瀬川である⁸⁾。猪苗代湖の効果的な水環境保全を構築するためには、長瀬川の河川環境を十分に理解することが重要である。

猪苗代湖最大の流入河川である長瀬川は強酸性である酸川と合流した後、pHが大きく低下する(2019年の酸川のpHの年平均は3.1^{9, 10)}。火山性無機酸性河川は、火山起源の硫酸や塩酸を豊富に含んでいる。このように火山性無機酸性河川は、自然災害の原因や観光資源となる火山に関連しているため、陸水学上の重要な研究対象である。酸性河川では中性河川とは異なる生物種が卓越するとされている。例えば、長瀬川の酸性水域では中性水域では出現しなかった34種の水生無脊椎動物が報告されている¹¹⁾。しかしながら、長瀬川あるいは酸川の生態系についての知見は乏しく、構成する生物相の成立過程や生活の研究が不足している。枯死したヨシの分解は根圏土壌における土壌生物の生物間相互作用を通して発現されると考えられている¹²⁾、長瀬川及び酸川の河川環境において土壌生物を調査した研究は知られていない。

そこで、本研究では有機物の無機化や窒素形態変換等を駆動する土壌細菌に着目し、酸性河川の氾濫原に設置したリターバック内のヨシの群集構造を周辺土壌と比較解析し、特徴づけを行った。

2. 材料及び方法

2.1 調査地

最大の流量を持つ猪苗代湖の流入河川は長瀬川である⁸⁾。長瀬川は桧原湖に端を発し、猪苗代町の広大な水田地帯を流れて流れるが、途中で酸川が合流する。長瀬

*Soil microbial community structure involved in common reed decomposition in floodplain of acidic river

**Kazunori NAKAMURA (福島県環境創造センター) Fukushima Prefectural Centre for Environmental Creation

川の支流の一つである酸川は極めて酸性な水質を有するために、酸川と合流した長瀬川のpHは酸性を呈する。本研究の調査は2か所のヨシ原で実施した。酸川のヨシ原と対照として酸川と合流する前の長瀬川のヨシ原である。図1に調査地の位置を示す。

調査地が位置する猪苗代町の2020年の気候は月平均気温0.5~24.4℃、年降水量1193.5mmであった。また、2019年12月~2020年2月の冬期間は平年よりも極めて降雪量の少ない年であった。

図1 調査地の位置

: A, 調査地 (酸川) ; B, 調査地 (長瀬川)

図2 調査地の様子

: A, 調査地 (酸川) ; B, 調査地 (長瀬川)

2.2 ヨシ分解試験

2019年の11月に各調査地から枯死したヨシを採取し、実験室内で十分に風乾させた。葉を取り除き、約10cmに切断したヨシの茎を作成した縦20cm×横20cm、2000μmの目の大きさのナイロンメッシュの袋 (以下、リターバッグ) に同量 (20本) 入れた。2019年12月にヨシ採取地の

表面にリターバッグを等間隔で並べ、PP製の杭で固定した。設置したリターバッグを2020年9月に回収し、リターバッグの表面に付着した落葉や土をそっと取り除いた後にリターバッグ内容物を分析に供した。

リターバッグの回収と同時にリターバッグの周囲に100mLのステンレス試料円筒 (直径0.05m、高さ0.051m) を置き、土壤試料を採取した。

2.3 細菌群集構造解析

リターバッグ内のヨシと比較対象として周辺土壤を実験に供した (3反復)。なお、供試試料は採取後すみやかに冷蔵し、その後DNA抽出まで凍結保存した。DNA抽出キットISOIL Large for Beads ver.2 (株式会社ニッポンジーン) を用いてリターバッグ内のヨシと土壤試料から全DNAの抽出を行った。土壤試料はオプションプロトコル②に従い、10gの土壤からDNAを抽出した。抽出したDNAは、300μL TEにて溶出した。植物体試料は凍結した状態で袋の上から揉みこみ断片化させた後、混合し、均一化させた。試料は、破砕ビーズと試料の容積比が1:1~2程度となるようにチューブに分取した。抽出は標準プロトコルに準じて行い、300μL TEにて溶出した。

抽出したDNA試料を鋳型として、1回目のPCRを16S rRNA 遺伝子領域を対象に実施した。増幅に用いたプライマーは、植物由来のDNAの増幅が生じにくい799F/1193R¹³⁾ を用いた。PCR酵素は、植物由来のPCR阻害物質 (ポリフェノール類や多糖類など) に耐性を有するKAPA3G Plant (Kapa Biosystems, Inc.) を用いた。PCR産物の精製にはMonoFaS DNA精製キット (ジールサイエンス株式会社) を用いた。

精製した1回目のPCR産物を鋳型として、次世代シーケンシングに必要なアダプター配列、および試料判別のためのバーコード配列を含むIndex kitプライマー (Nextera XT Index Kit, イルミナ株式会社) を使用し、2回目のPCRを行った。酵素はKAPA HiFi HS ReadyMix (Kapa Biosystems, Inc.) を用いた。PCR反応条件はイルミナ社の公式プロトコルに準じた。インデックス配列を付与させたPCR産物は、NucleoMag NGS Clean-up size select (MACHEREY-NAGEL GmbH & CO. KG) により精製した。本精製キットは、サイズ分画が可能であるため、増幅長である500bp付近の回収量が最大となるようにPCR産物溶液量に対し0.9倍量の精製試薬を混合させた。精製後にAgilent 4200TapeStation (アジレント・テクノロジー株式会社) を用いて対象遺伝子の増幅 (鎖長, 非特異的な増幅の有無) を確認した結果、全試料において非特異的な増幅は見られなかった。調整後のライブラリで、次世代シーケンス解析装置MiSeq (イルミナ株式会社) にてMiSeq Reagent Kit v3 (600cycle) を用いたペアエン

ドシーケンス (300bp×2) を行った。

次世代シーケンシングにより取得された遺伝子配列データはQIIME2 (Version2020.6) を用いて次のとおりに解析した: 解読配列からプライマー配列を除去, Quality Scoreが低下する後半解読配列の除去, QIIME2のプラグインソフトDADA2によりエラー配列と判断された配列の除去, フォワード配列およびリバース配列のマージ, キメラ配列の除去, 既存データベースとの比較による検出配列の分類群の決定, 不適切配列の除去, レアファクションカーブの作成, Unifrac距離 (unweighted, weighted Unifrac) によりβ多様性解析の実施及び主座標分析 (PCoA) による図示, そして相同性検索プログラムNCBI blast+ (2.10.0+) を用いて各OTU配列の最近縁種の特定を行った。

3. 結果及び考察

リターバック内のヨシは, 時間が経過するとともに断片化し, Ono et al.¹⁴⁾の報告と同様に全炭素の減少が起

こり, 分解が進んだことが確認された。

次世代シーケンス解析により1検体あたり平均20万リードの解読データを得ることができた。レアファクションカーブの結果から, 試料内に存在し得る細菌種を網羅的に解読できていることが示された。植物由来のDNAが増幅しにくいプライマーセット799F/1193Rの使用で植物由来のDNAはほぼ検出されなかった (最大で0.07%)。Pavlovska et al.によると上位の分類群レベルは試料の保存条件 (冷蔵条件を含む) に大きく影響を受けないと報告されている¹⁵⁾。従って, 以下の議論では主要な分類群と菌叢全体のみを対象とした。

細菌網レベルでの菌叢結果を図3に示す。検出割合1%以上の細菌網に着目してグラフ化し, それ以外の細菌網についてはOthersとして一つにまとめた。リターバック内のヨシと土壌試料ともに非常に多様な細菌が検出されたが, 各河川で特徴的な細菌種が検出された。γ-Proteobacteriaとα-Proteobacteriaはいずれの試料でも共通して優占する細菌群であった。

図3 細菌網レベルでの菌叢結果

図4 主座標分析結果 (A, Unweighted unifrac ; B, weighed unifrac)

●, ヨシ (酸川) ; ●, ヨシ (長瀬川) ; ▲, 土壌 (酸川) ; ▲, 土壌 (長瀬川) .

*Acidobacteria*は酸川と長瀬川のどちらの土壌でも優占する細菌群であり、リターバッグ内のヨシでは構成割合が小さくなった。酸川の土壌は、長瀬川の土壌と比べて*Acidimicrobia*の構成割合が高まり、その内*Aquihabitans daechungensis*に最も近縁の細菌の存在割合が高かった。最近縁の*A. daechungensis*は貯水池から分離された至適pH7.0の細菌であるが、検出された遺伝子配列との相同性は低かった¹⁶⁾。従って、本研究で検出された遺伝子配列は新規の細菌の存在を示唆するものであり、他の*Acidimicrobiales*と同様な酸性環境下に適応した細菌の可能性が示唆される。

一方で、長瀬川の土壌では δ -*Proteobacteria*と*Bacteroidia*の存在比が高く、これはリターバッグ内のヨシでも同様であった。リターバッグ内のヨシでは*Acidobacteria*の存在比が減少する一方で、*Actionobacteria*の存在比が高い傾向であった。特に酸川のリターバックで顕著であった。

これらの構成割合を反映して、細菌叢は酸川と長瀬川、或いはリターバッグ内のヨシと周辺土壌で異なる様相を持つことが明らかとなった(図4)。リターバックの目の大きさは2000 μ mであり、リターバック内と周辺土壌の環境に影響を与える土壌動物の行動制限は類似したものと考えられる。従って、両者の細菌群集構造の違いは新鮮な有機物の分解に主に関与する細菌が土壌環境とは異なっており、それは酸性環境の影響を受けることを示唆するものと考えられた。

本研究から河川環境によりリターの分解に関与する細菌叢が異なることが示された。しかし、Hietz¹⁷⁾が報告しているように本研究はヨシの分解初期の結果と考えられる。河岸に発達する植生帯は、陸域から水域への

移行帯であり、独自の多様な生態系を構成する重要な地域である。また、この植生帯は高い生産性を有し、周期的に起きる河川の増水によって河川流路とつながることなどから、河川や湖沼の重要な有機物源となっている可能性が指摘されている¹⁸⁾。そのために、より長期的な視点での研究を行うことがリターの分解の仕組みを明らかにするためには必要である。

4. 謝辞

本研究の試料採取において、多くのご協力を賜った阿部正仁氏、吾妻和泉氏、及び遠藤正二氏、アンプリコンシーケンス解析においてご協力を賜った中外テクノス株式会社斎藤弥生氏、近藤貴志氏、及び高橋唯氏に謝意を表します。また、実験計画や原稿執筆において、貴重なご助言を賜った福島県環境創造センターの職員の皆様に謝意を表します。

本研究の一部は、公益財団法人河川財団の河川基金助成事業の支援を受けて実施しました。ここに記して謝意を表します。

5. 引用文献

- 1) 保光義丈, 竹野健次, 渡部晃久, 新川英典, 佐々木健: 瀬野川水系熊野川における天然ヨシ原川床の水質浄化能力. 環境技術, **36**, (8), 53-58, 2007
- 2) Hayashi N, Ozaki Y, Sakai F: Role of aquatic animals for water purification on aquatic plant purification system. *Japanese Journal of Water Treatment and Biology*, **47**, (3), 119-129, 2011
- 3) Minshall G. W, Cummins K. W, Peterson R. C, Cushing C. E, Bruns D. A, Sedell J. R, Vannote R. L: Developments

- in stream ecosystem theory. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **42**, 1045-1055, 1985
- 4) 福島県：平成7年度福島県水質年報, 1996
- 5) 福島県：平成21年度福島県水質年報, 2011
- 6) 菊池宗光, 佐藤政寿：猪苗代湖における水質の中性化について. 全国環境研会誌, **35**, 33-38, 2010
- 7) 福島県環境創造センター：平成28年度猪苗代湖調査研究事業等報告書,
<https://www.fukushima-kankyosozo.jp/inawashiro-chousa.html> (2022. 12. 12アクセス)
- 8) 福島県環境センター：平成21年度猪苗代湖水質モニタリング調査事業等報告書,
<https://www.fukushima-kankyosozo.jp/inawashiro-chousa.html> (2022. 12. 12アクセス)
- 9) 福島県：平成30年度福島県水質年報, 2020
- 10) 福島県：令和元年度福島県水質年報, 2021
- 11) 塘忠顕, 横山拓未：長瀬川の表碁梯地域の流域における底生動物相. 福島大学地域創造, **31**, (2), 55-74, 2022
- 12) Nakamura K, Yano T, Suyama Y, Nishimura O, Nakano K: Macrofauna in a full scale vertical flow constructed wetland during vegetative growth stage. *Japanese Journal of Water Treatment and Biology*, **52**, (3), 45-54, 2016
- 13) Beckers B, Beeck M. O. De, Thijs S, Truyens S, Weyens N, Boerjan W, Vangronsveld J: Performance of 16S rDNA primer pairs in the study of rhizosphere and endosphere bacterial microbiomes in metabarcoding studies. *Frontiers in Microbiology*, **7**, 650, 2016
- 14) Ono K, Hirai K, Morita S, Ohse K, Hiradate S : Organic carbon accumulation processes on a forest floor during an early humification stage in a temperate deciduous forest in Japan: Evaluations of chemical compositional changes by ¹³C NMR and their decomposition rates from litterbag experiment. *Geoderma*, **151**, 351-356, 2009
- 15) Pavlovska M, Prekrasna I, Parnikoza I, Dykyi E.: Soil sample preservation strategy affects the microbial community structure. *Microbes and Environments*, **36**, ME20134, 2021
- 16) Jin L, Huy H, Kim K. K, Lee H. -G, Kim H. -S, Ahn C. -Y, Oh H. -M: *Aquihabitans daechungensis* gen. nov., sp. nov., an actinobacterium isolated from reservoir water. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **63**, 2970-2974, 2013
- 17) Hietz P: Decomposition and nutrient dynamics of reed (*Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud.) litter in Lake Neusiedl, Austria. *Aquatic Botany*, **43**, 211-230, 1992
- 18) 佐々木晶子：氾濫原河畔植生に由来する有機物の生産・分解・流出過程. 日本生態学会誌, **61**, 53-61, 2011

<環境省ニュース>

令和5年度の環境研究総合推進費公募について

環境省大臣官房総合政策課環境研究技術室

環境研究総合推進費（以下「推進費」という。）は、環境省が必要とする研究テーマ（行政ニーズ）を提示し、独立行政法人環境再生保全機構（以下「機構」という。）が新規課題の公募及び審査、資金配分等を行う環境政策貢献型の競争的研究資金であり、例年9月から10月にかけて1か月ほどの期間、新規課題の公募を行っています。本年度は「令和5年度新規課題公募」（採択された場合、令和5年4月から研究開始となる課題の公募。以下「今回の公募」という。）が令和4年9月16日～10月21日に実施されました。現在機構において審査が進められています。

本稿では、今回の公募のトピックス及び行政ニーズについて紹介いたします。

1. 今回の公募のトピックス

1) 環境問題対応型研究

これまで環境問題対応型研究の公募区分では、研究開発費支援規模は間接経費、消費税を含む年間上限額は4,000万円以内でしたが、自然科学分野から人文・社会科学分野まで多様な分野からの研究提案、若手研究者からの研究提案等、より多くの研究提案に機会を提供するため、研究する分野の特性、研究計画の規模・範囲等を踏まえて研究開発費の支援規模が全ての研究期間において年間2,000万円以内で実施する課題の応募枠（メディアムファンディング枠）が昨年度に引き続き設けられました。

2) 革新型研究開発（若手枠）

革新型研究開発（若手枠）は、研究代表者及び研究担者の全てが「令和5年4月1日時点で40歳未満であること」、または「令和5年4月1日時点で博士の学位取得後8年未満であること」を要件とする、新規性・独創性・革新性に重点を置いた若手研究者向けの募集枠です。今回の公募より、人文・社会科学分野を含む多様な分野の若手研究者の育成支援及び活躍促進を一層図るため、従来の年間支援規模600万円以内の申請枠に加え、年間支援規模

300万円以内の申請枠が新たに設置されました。

参考：推進費 令和5年度新規課題公募要領（令和4年秋の公募）

https://www.erca.go.jp/suishinhi/koubo/pdf/r05_shinki_koubo.pdf

※ 前述のとおり、令和5年度新規課題公募の受付は既に終了しています。

次回の公募（令和6年度新規課題公募）の開始時期は令和5年9月末を予定しています。引き続き地方環境研究所からも積極的に応募いただきますよう、ご検討の程、よろしく願いいたします。

2. 今回の公募の行政ニーズ

環境政策貢献型の競争的研究資金である推進費においては、研究課題の募集にあたり、環境省が設定する行政ニーズに沿った研究開発の推進を求めています。

今回の公募では、統合領域で16件、気候変動領域で2件、資源循環領域で6件、自然共生領域で10件、安全確保領域で15件の合計49件の行政ニーズが提示されました。これらの中には、地方公共団体から提案いただいたものが含まれており、その具体例を以下の表において紹介します。

今後、次回の公募における行政ニーズに対するご提案を各都道府県及び政令指定都市等の環境担当部局長宛てに依頼する予定です。多くのご提案をお待ちしておりますので、ご検討の程、よろしく願いいたします。

---地方公共団体からの提案に関する行政ニーズ---

資源循環領域	No. 3-6
行政ニーズテーマ名	産業廃棄物に由来して排出されるPOPs等のリスク評価及び低減手法の開発
研究開発の背景・必要性	ストックホルム条約において指定されるPOPsは、国内規制により供給は制限されている一方で、規制前の供給製品に含まれるPOPsは既に過去に排出され、また継続した排出が見込まれることから、それらの影響を適切に把握し、環境排出の低減を図る必要がある。既往研究（3K163005, SII-3, 3-1901, 3-1904, 3-2102等）を踏まえつつ、含有する製品や廃棄物の種類に関する知見が十分でないPOPsについてその種類を特定するとともに、過去に最終処分場に埋め立てられた廃棄物から排出されるPOPsに関して広く実態を把握し、その上で、新たに特定されたPOPs含有製品・廃棄物の適正な処理方法や、処分場における浸出水の管理・対処方法に関する調査研究を実施する必要がある。
環境省が求める研究開発の成果（科学的知見）	今後排出されるPOPsを含有する製品や廃棄物であって適正処理の対象とすべきものの種類を特定した上で、新たに特定されたその種類や性状等に対して、既往研究に照らして知見が十分でないものについてはその分解等の処理方法を調査研究する。また、最終処分場の浸出水について、同様に知見が不十分なPOPsについては、汎用性の高い分析方法を構築した上で、排出実態を広く把握し、将来的な推計等も行う。さらに、埋立地内での易溶出条件の検討や、浸出動態の解析等を行うことにより、将来的な排出量等の把握・評価手法の開発、排出量低減に資する浸出水の対処・管理等技術の有効性検証を行う。
研究開発成果の活用方法	製品や廃棄物の種類を特定し、その適正処理方法を調査研究した成果については、環境省におけるPOPs廃棄物への対処に関する政策検討に用いられた上で、必要に応じて策定されるマニュアル等の内容に活用される。分析手法の構築等については、地方環境研究所と連携して汎用性を担保することで、全国的な実態把握に資するとともに、地方の行政・環境研究所の分析・調査技術力の底上げも期待できる。排出による影響の推計や浸出水の対処・管理技術の有効性検証は、最終処分場管理者への指導や住民不安の払拭の材料として活用することが期待できる。

自然共生領域	No. 4-4
行政ニーズテーマ名	市街地出没に対応できる新たな野生鳥獣管理技術の開発
研究開発の背景・必要性	近年クマ類やイノシシ等の鳥獣が市街地へ出没する事案が増加傾向にあり、交通事故や人身被害、感染症リスクなど、住民に深刻な影響をもたらす危険が高まっている。しかし、出没時には対処療法的な対応が求められることが多く、かつ、安全に捕獲する方法がない状況にあり、出没鳥獣の逃走時の二次的被害の発生、捜索による行政コストも大きい。そのため、市街地周辺の環境を分析して出没リスクを検証し、出没時には鳥獣を追跡して山林等に安全に追い払うとともに、追い払いが困難な場合に鳥獣を安全に捕獲可能な技術を開発することが必要である。
環境省が求める研究開発の成果（科学的知見）	UAV等により周辺環境や鳥獣の痕跡などを把握し、出没記録、植生、地形等を解析することで、出没ルート及び出没リスクを分析・予測するシステムを構築する。また、人体への影響も考慮しながら、鳥獣に対して追い払い効果を有する音や光、振動などを検証する。これらを統合した機材について、種や生態・行動特性を踏まえながら、ICTやAI等を活用して自動追尾や誘導的な追い払いが可能となる技術を開発する。加えて、鳥獣を電気ショックや誘導式捕獲機材等により遠隔で安全に捕獲できる技術を開発する。これらにより、出没予測、出没時の追い払いと忌避、追い払い困難時の安全な捕獲という、市街地出没の各フェーズに総合的かつ段階的に対応可能な鳥獣管理技術を確立する。
研究開発成果の活用方法	本研究結果により、事前の出没予測、出没時の追い払い及び忌避、追い払いできない場合の安全な捕獲という、市街地出没の各フェーズに総合的かつ段階的に対応できる野生鳥獣管理技術を確立する。このことにより、出没件数の低減、出没した場合の安全な捕獲が可能となる。また、これまで市町村職員、警察、猟友会会員等、非常に多数の人員に依存していた出没時対応時のコストも自動追尾や誘導的な追い払い等の技術を開発することにより大きく削減することが可能になり、行政における負担軽減にも貢献することが可能となる。

<p>安全確保領域</p>	<p>No. 5-13</p>
<p>行政ニーズテーマ名</p>	<p>瀬戸内海の貧栄養化対策として栄養塩類の挙動把握と効果的な栄養塩類供給方策の検討について</p>
<p>研究開発の背景・必要性</p>	<p>令和3年6月に瀬戸内海環境保全特別措置法が改正され、府県が策定した栄養塩管理計画に基づく海域への栄養塩類供給が可能となった。計画に掲げる水質目標値の設定や効果的な栄養塩類供給方策の検討には、海域での栄養塩類の挙動を把握することが必要である。また、今後、人口減少等により陸域からの栄養塩類供給量の大幅な増加が見込めないため、海域への施肥や海底耕うん等の取組が試みられており、その効果検証も急務となっている。 (関係URL) EICピックアップNo.281 2021年瀬戸内海環境保全特別措置法改正 https://www.eic.or.jp/library/pickup/281/</p>
<p>環境省が求める研究開発の成果(科学的知見)</p>	<p>陸域から供給された栄養塩類の挙動は、生態系を通じた有機態への変化及び無機態への分解、海底へ沈殿、潮流による拡散等、非常に複雑である。正確な栄養塩類メカニズムを把握するには、①栄養塩類濃度低下の一因と考えられる生物が利用しにくい難分解性有機物の増加要因、②これまで長期にわたり海域へ供給された栄養塩類が海域に与える影響(ヒステリシス現象)の解明等が必要である。貧栄養である瀬戸内海の栄養塩類メカニズムの解明により、難分解性有機物の生成を抑制し、分解を促進する栄養塩類濃度等の設定や効果的な栄養塩類供給方法の確立が期待される。</p>
<p>研究開発成果の活用方法</p>	<p>瀬戸内海の沿岸府県では、人口減少等により栄養塩類供給量の大幅な増加が見込めない中、下水処理場での季節別運転に加えて、海域に直接肥料を投入する施肥や海底耕うん等、様々な栄養塩類供給方策が試みられている。海域への供給された栄養塩類メカニズムを正確に把握することは、効率的な栄養塩類の供給方策の検討を可能とするとともに、余剰な供給による海域の水質悪化を防止できる。また、府県知事が栄養塩類管理計画を策定する際、水質目標値や栄養塩類増加措置の内容を決定する上で重要な科学的根拠となり、豊かで美しい瀬戸内海の再生・推進に大きく寄与するものである。</p>

参考：(別添資料1) 令和5年度新規課題に対する行政要請研究テーマ(行政ニーズ)について(令和4年秋の公募) https://www.erca.go.jp/suishinhi/koubo/pdf/r05_shinki_kouboshiryo_1.pdf

<支部だより>

九州支部

令和3年度九州支部の活動状況について報告します。
(支部事務局：北九州市保健環境研究所)

1. 令和3年度全国環境研協議会九州支部総会 (担当機関：大分県衛生環境研究センター)

- (1) 期日：新型コロナウイルス感染症予防のため、
書面開催
- (2) 議事
 - ①令和2年度事業報告並びに収支決算報告について
 - ②令和3年度事業計画並びに収支予算(案)について
- (3) 報告
 - ①各県市提出議題・照会事項
 - ・環境部門におけるデータの信頼性維持や情報管理について
 - ②支部長表彰
 - 調査・研究等の業務の推進に長年功績のあった被表彰者の決定について報告しました。
 - ・志水 信弘 氏
(福岡県保健環境研究所 水質課 専門研究員)
 - ・岩崎 綾 氏
(沖縄県衛生環境研究所 環境科学班 主任研究員)
 - ③次期役員等の選任について
 - ・令和4年度役員等の選任
 - 令和4年度の支部役員を選任の他、支部総会等の九州支部関係の会議開催担当機関について確認しました(令和4年度九州支部総会担当機関は、宮崎県衛生環境研究所)。

2. 第47回九州衛生環境技術協議会 (担当機関：佐賀県環境センター)

- (1) 期日：令和3年10月7日(木)～8日(金)
新型コロナウイルス感染症予防のため、書面およびweb開催。
- (2) 分科会
 - ・大気分科会 照会事項 11題
 - ・水質分科会 照会事項 17題
 - ・生物分科会 照会事項 3題
 - ・衛生化学分科会 照会事項 10題
 - ・細菌分科会 照会事項 2題
 - ・ウイルス分科会 照会事項 6題
- (3) 令和2年度会務報告

3. 令和3年度環境測定分析統一精度管理九州ブ ック会議 (担当機関：大分県衛生環境研究センター)

- (1) 期日：令和3年9月29日(水)(web開催)
- (2) 議事
 - ①環境測定分析における留意点及び精度管理について
 - ・模擬排水試料(一般項目等)
中里 哲也 氏
(国立研究開発法人産業技術総合研究所 環境創生研究部門)
 - ・模擬水質試料(農薬)
山本 貴士 氏
(国立研究開発法人国立環境研究所 資源循環領域試験評価・適正管理研究室)
 - ・模擬大気試料(無機元素)
越川 昌美 氏
(国立研究開発法人国立環境研究所 地域環境研究センター)
- (3) 次期開催機関挨拶
(令和4年度担当機関は、佐賀県環境センター)

編集後記

新型コロナウイルス感染症については、各種規制の緩和によりイベント活動等が徐々に賑わいを見せてつありますが、引き続き慎重に感染症対策を継続しつつ、様々な活動ができればと思います。

さて、環境創造センターでは10月に「コミュタンサイエンストーク」を3年ぶりに開催しました。コミュタンサイエンストーク（以下「サイエンストーク」）は当センターで取り組んでいる研究内容を、テーマごとに研究員が小学生をはじめとする参加者に直接分かりやすく伝えるとともに、研究員との親近感を深め、研究成果が身近な実生活に関係があるものと知っていただく機会として開催しているものです。サイエンストークで説明する職員は、福島県、連携して研究を行う日本原子力研究開発機構及び国立環境研究所の研究員たちです。

「ごみのゆくえ」「どうやって生きている？ミニテラリウムで考える地衣類とコケ類の生態」「ミミズのおなか」「身のまわりの放射線をはかる～話題の放射線測定装置～」 「川の水に“とけている”放射性物質」「鉱物をいろいろな“光”でみてみよう！」の6テーマを3回にわけて実施しました。各テーマでは参加者が装置に触れたり、実際のサンプルを観察したり、研究員にその場で質問したりして交流を図りました。特に子どもたちには好評で大変喜んでもらいました。時にはワークショップを交えながら、大人も子どもも普段関わることのない研究員たちとの話を楽しんでいました。

コミュタンサイエンストークの様子
（ミニテラリウムで考える地衣類とコケ類の生態）

現在、コミュタン福島は展示内容の更新のため来年3月まで休館中ですが、リニューアルオープン後には様々なイベントを予定しておりますので、たくさんの方々のご来館をお待ち申し上げます。

最後になりましたが、巻頭言を執筆していただいた横浜市環境科学研究所長様、特集記事を執筆していただいた国立環境研究所の深谷様、神奈川県環境科学センターの長谷部様、報文5編を投稿していただいた皆様、「環境省ニュース」を執筆していただいた環境省環境研究技術室様、「支部だより」を執筆していただいた北九州市保健環境研究所様、お忙しいところご協力をいただきありがとうございます。全国各支部会員の皆様におかれましては、今後とも会誌への積極的な投稿についてご協力をお願いいたします。

（福島県環境創造センター）

令和4年度

全国環境研協議会広報部会

< 部 会 長 > 福島県環境創造センター所長
< 広報部会担当理事 > 山形県環境科学センター所長

季刊 全国環境研会誌 Vol.47 No.4(通巻165号)

Journal of Environmental Laboratories Association

2022年12月26日発行

発行 全国環境研協議会

編集 全国環境研会誌 編集委員会