

D-1 東シナ海における長江経由の汚染・汚濁物質の動態と生態系影響に関する研究

(3) 長江河口域での汚染・汚濁物質の輸送循環機構解明に関する研究

① 海洋生態系を介した汚染・汚濁物質の輸送機構に関する研究

独立行政法人 国立環境研究所

流域圏環境管理研究プロジェクト	海域環境管理研究チーム	越川 海、牧 秀明、木幡邦男
	流域環境管理研究チーム	村上正吾
生物圏環境研究領域	系統・多様性研究室	広木幹也、河地正伸
水圏環境研究領域		渡辺正孝
		水環境質研究室 内山裕夫
	土壌環境研究室	高松武次郎、越川昌美

平成11年度～13年度合計予算額 23,191 千円

(うち、平成13年度予算額 7,250 千円)

〔要旨〕 長江河口から沖合における汚染・汚濁物質の輸送と生態系の把握を目的として、長江河口域における調査を実施した。河口では粒子態有機炭素濃度(POC)が高く、C/N比からみるとそのほとんどは陸上植物起源であると考えられた。河口で観測される高濃度の懸濁粒子(SS)が減少する東経122°30'付近(B2地点)から沖合に向かって、POCは大きく減少するが、SSに占めるPOCの割合は大きく増加し、かつC/N比が植物プランクトン由来の値に近づいた。そして、Chl. a濃度および植物プランクトン現存量も、B2地点付近で急激な増加を示した。植物プランクトン現存量は東経123°付近(C1地点)において最大となっていた。長江から供給された栄養塩は海水との混合によって希釈をうけていたが、C1地点では希釈以上の栄養塩減少が認められ、生物による摂取が活発であることが示された。C1地点では、粒子態のC・N・Pだけでなく、粒子態のCd・Pb・Znの濃度も増加し、プランクトンによる重金属の取り込みが示唆された。また、有光層深度は、河口～B2地点では1m未満であるのに対して、C1地点では10m以上になっていたことから、C1地点付近において光制限から解放され、その結果、植物プランクトンが増殖したと考えられた。植物プランクトンの種組成分析の結果、河口からB2地点にかけては淡水起源と考えられる羽状目珪藻や汽水性のクリプト藻、C1地点では沿岸性の珪藻 *Cheatocheros tenuissimus*、さらにC1地点よりも沖合のC3地点では外洋性の *Synechococcus* といったピコ植物プランクトンがそれぞれ優占しており、こうした植物プランクトンの優占種の相違と不連続性は、水塊が淡水・汽水・外洋水へと変化していく状態を生物学的に示すと同時に、植物プランクトンが、環境の変化に対応して、異なる生態的地位(niche)を有していることを示唆した。今回の観測結果は、長江から供給された栄養塩・重金属が沖合(東経123°付近)で生態系へ取り込まれること、河口域の生態系が環境の変化に応じて大きく異なることを示した。

〔キーワード〕 長江河口域、栄養塩、重金属、植物プランクトン、微生物

1. 序

経済発展の著しい長江流域からは大量の汚染物質が長江河口域及び東シナ海に流入しており、それらの海洋生態系への影響が危惧されている。本サブテーマの目的は、長江から負荷される様々な汚濁・汚染物質が長江河口域および東シナ海の海洋生態系に及ぶ影響を把握するとともに、それらの物質が生態系を介して輸送・伝達される機構を検討することである。ここでは、長江河口から沖合にかけての調査を行い、化学成分の分布と生物の現存量・多様性の変化について解析した結果を報告する。そのほか、室内実験による予備検討として、藻類・細菌群集構造の解析手法と藻類による有害化学物質取り込み速度の評価手法を検討した結果について簡単に述べる。

2. 研究方法

長江河口域において、河口（121° 36′ E、31° 23′ N）と沖合（123° 12′ E、31° 49′ N）を結ぶ測線を設定し（図 1）、2001 年 5 月 21 日～28 日に、中国海洋地質調査所の勘 407 号を用いて観測を実施した。

測線上に A1～C5 まで計 9 地点の観測ステーションを設けた（表 1）。B2 地点では 24 時間停泊し、潮汐の異なる時刻を選んで 3 時間おきに観測を行った。水温・塩分・濁度・Chl. a（Alec Chlorotech）および相対照度（Biospherical QSP）は、測器を水中に投下して、連続鉛直分布を現場で計測した。化学組成および生物組成は、表層（水深 0.5 m）・中層（各水深に応じて）、底層（海底直上 1 m 深）から 5 L ニスキン採水器を用いて採取した試料を、実験室に持ち帰って分析した。

化学組成として、栄養塩類（オートアナライザー）、粒子態有機炭素及び窒素（CHN アナライザー）、溶存有機炭素（高温触媒酸化法）、溶存無機炭素（滴定法）、溶存重金属（オキシニ樹脂濃縮-ICPMS・ICPAES）、懸濁態重金属（酸分解-ICPAES）の分析を行った。

生物組成として、植物プランクトンの種組成および現存量（フローサイトメータ及び顕微鏡観察）、色素組成（HPLC 法）、微生物群集組成（DGGE 法）・微生物現存量（蛍光顕微鏡観察）および微生物活性（ロイシン法）の分析を行った。

表 1 観測ステーション一覧

Sampling Date	Sampling Time	Station	North Latitude	East Longitude	Sea Depth [m]
2001/5/21	12:00	C5	31.49	123.12	37
2001/5/21	16:00	C4	31.39	123.06	27
2001/5/22	13:00	C3	31.29	123.00	36
2001/2/23	13:00	C1	31.10	122.47	44
2001/5/24	14:00	B3	31.00	122.40	23
2001/5/25	6:00	B2 (0 hr)	31.00	122.30	15
2001/5/25	9:00	B2 (3 hr)	31.00	122.30	15
2001/5/25	12:00	B2 (6 hr)	31.00	122.30	15
2001/5/25	15:00	B2 (9 hr)	31.00	122.30	15
2001/5/25	18:00	B2 (12 hr)	31.00	122.30	15
2001/5/25	21:00	B2 (15 hr)	31.00	122.30	15
2001/5/26	13:00	B1	31.02	122.15	13
2001/5/27	8:30	A2	31.05	122.01	8
2001/5/28	11:30	A1	31.23	121.36	17

3. 結果と考察

(1) 調査海域の水塊特性

本節では、水温・塩分・濁度の分布から、調査海域の水塊特性を考察し、長江起源の淡水および懸濁粒子が本海域に及ぼす影響を示す。

調査海域の海底地形は、川から東に向かって緩やかに深くなり、122° 30′ 付近を南北に走る水深 20 m の等深線を境に、その東側は急に深くなり、凹凸のある複雑な地形を示す¹⁾。A1～B2（水深 8 m ～ 15 m）は川と同程度の水深を示し、B3～C5（水深 23 m ～ 44 m）は川よりも水深が深く、山や谷のある地形を示した。

水温及び塩分の鉛直分布には急激な変化を示す躍層が認められ、高温・低塩分の長江起源水が、表層数 m の薄い層となって広がっていた（図 2）。

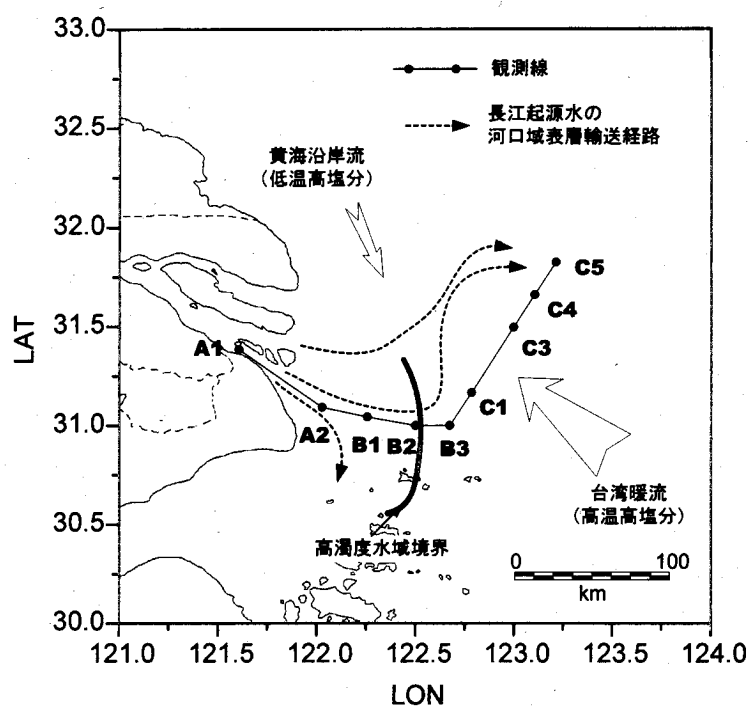


図1 調査海域

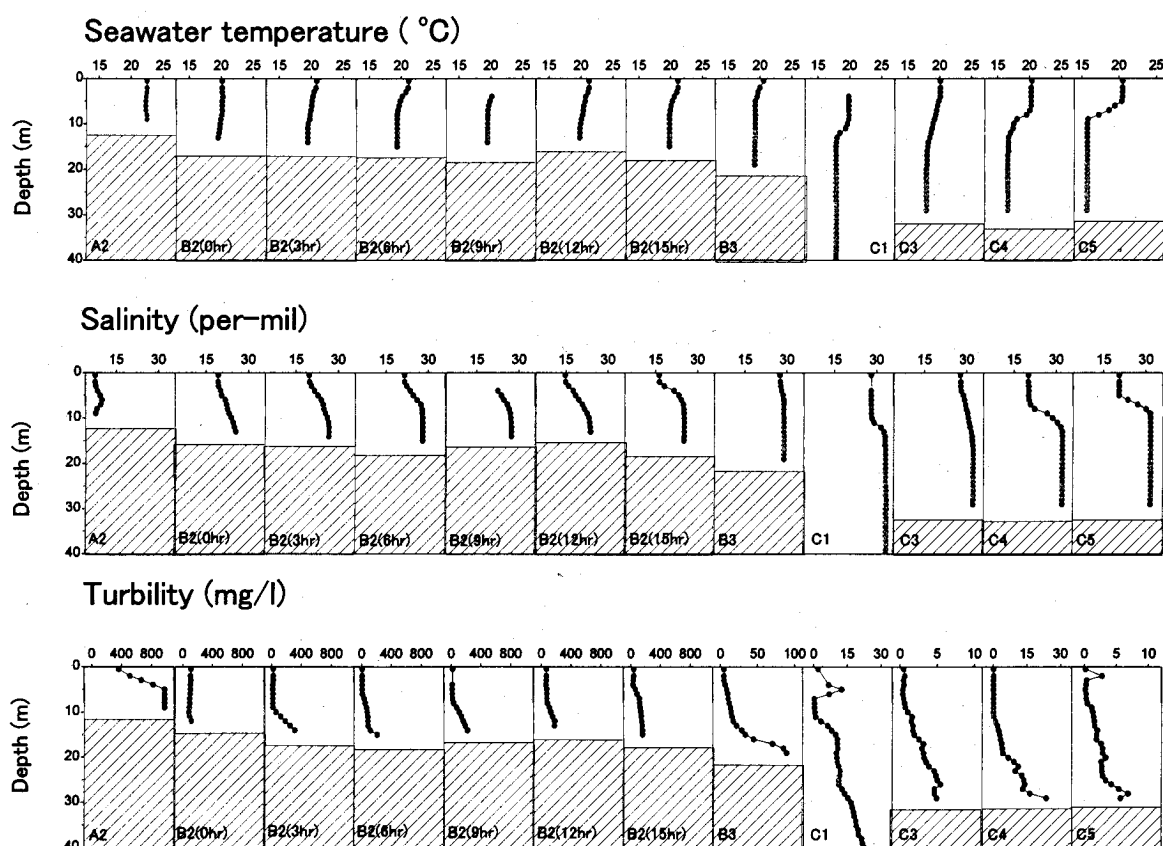


図2 水温・塩分・濁度の鉛直分布

表層では、長江の淡水が海水と次第に混合して、塩分が 0.4 per-mil から 28.2 per-mil まで増大し、それに伴って濁度が数 100 mg/L から 1 mg/L 以下まで減少した (図 3)。A1~B2 は塩分 20per-mil 以下・濁度 10mg/L 以上で長江起源の淡水および懸濁粒子の影響を強くうけていた。

B2~C5 の塩分躍層の下層では、3 つの水塊が混合していた (図 4)。水温-塩分プロットによると、C5, C4, C1 の躍層の下で低温・高塩分の黄海沿岸水と高温・高塩分の台湾暖流が混合し、C1, C3, B3, B2 の躍層の下で高温・高塩分の台湾暖流と高温・低塩分の長江起源水が混合していた。

表層では、河口から最も遠い C5 地点で、河口近くの B2 地点よりも低い塩分が観測されたが、低塩分の長江起源水ブルームが C1・C3 の北側に蛇行したためと推察される (図 1)。Beardsley et al. (1985) は、同様に蛇行した低塩分ブルームを観測し、C1 と C3 の間に存在する水深約 60m の深い谷に沿って台湾暖流が流れ込むためであると述べた。

濁度の鉛直分布は、塩分躍層から海底にかけて急な増大が認められた (図 2)。表層の塩分からわかるように、B2 (6 hr) が満潮時、B2 (0 hr) および B2 (12 hr) が干潮時の観測である。B2 (3 hr)・B2 (9 hr)・B2 (15 hr) は、満潮と干潮の間で潮の流れが速い時刻の観測であり、堆積物の再懸濁によって塩分躍層下層の濁度が高くなっている。あとで述べる C/N 比・バクテリア組成等は、塩分躍層の上層と下層で懸濁物の組成が異なること、塩分躍層下層は地点によらず似た組成を持つ陸起源の粒子が流れていることを示した。

(2) 化学成分

本節では、長江から供給された化学成分が海水と混合する際に、単純に希釈されるだけでなく化学反応または生物活動によって除去または放出される可能性に着目して、塩分に対する溶存成分濃度のプロットを希釈直線と比較した。さらに、沖合では、粒子態成分の大部分が海水中で生産された植物プランクトン起源の有機物であることに着目し、粒子中の有機炭素含量に対する粒子中の化学成分濃度のプロットを行うことによって、長江から供給された化学成分が海洋生態系に取り込まれる可能性を検討した。

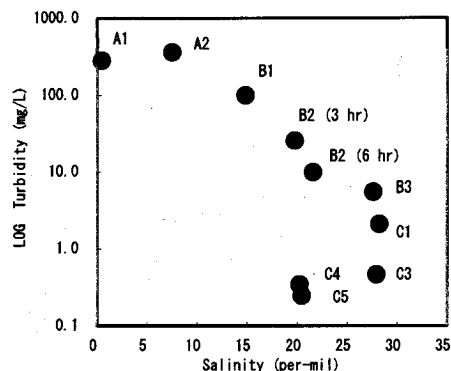


図3 水深0.5mにおける塩分と濁度

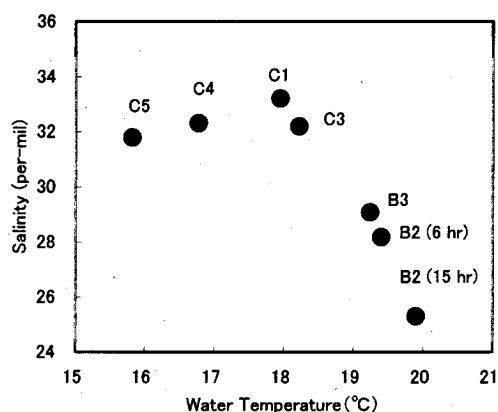


図4 水深 15 m における水温と塩分

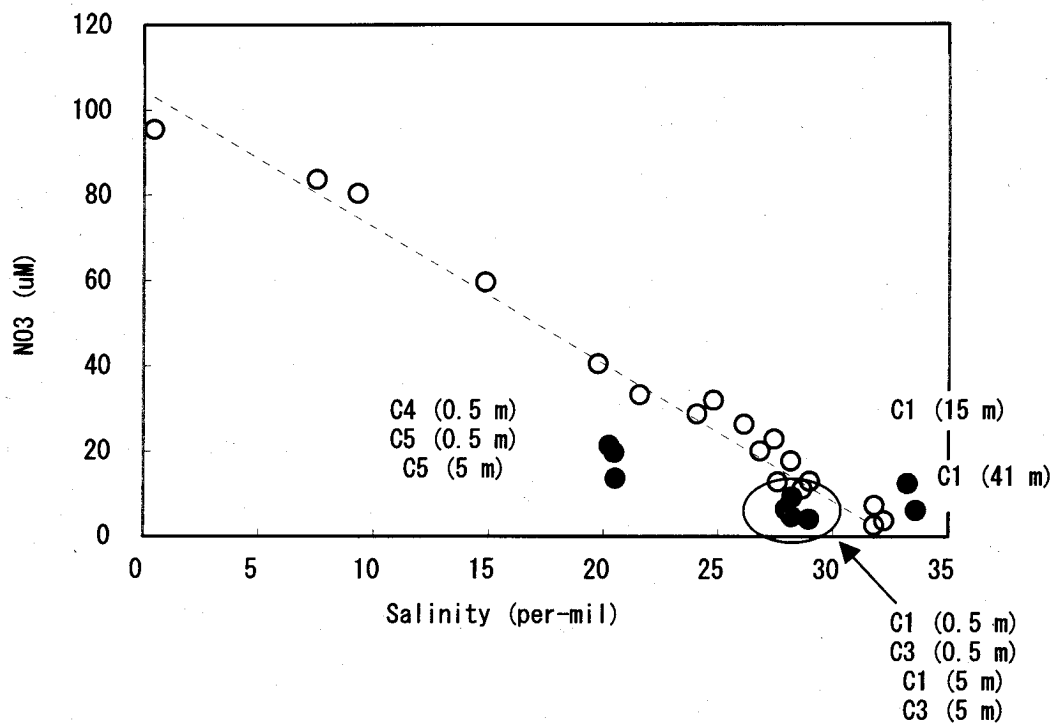


図5 硝酸態窒素濃度と塩分の関係
○は $y = -3x + 105$ ($R^2 = 0.97$) の相関を示した。

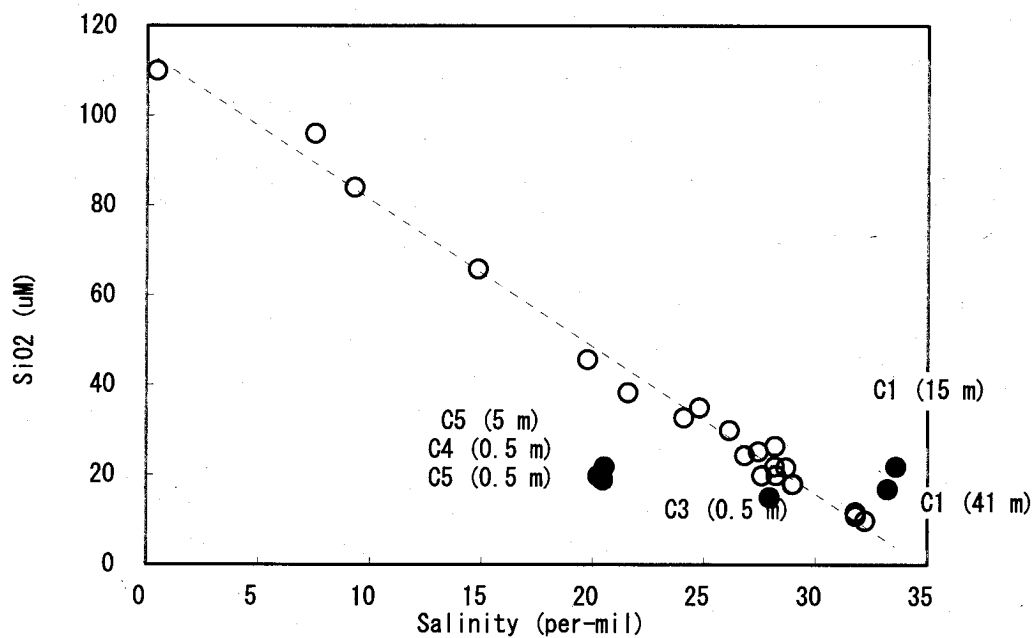


図6 ケイ酸濃度と塩分の関係
○は $y = -3x + 114$ ($R^2 = 0.99$) の相関を示した。

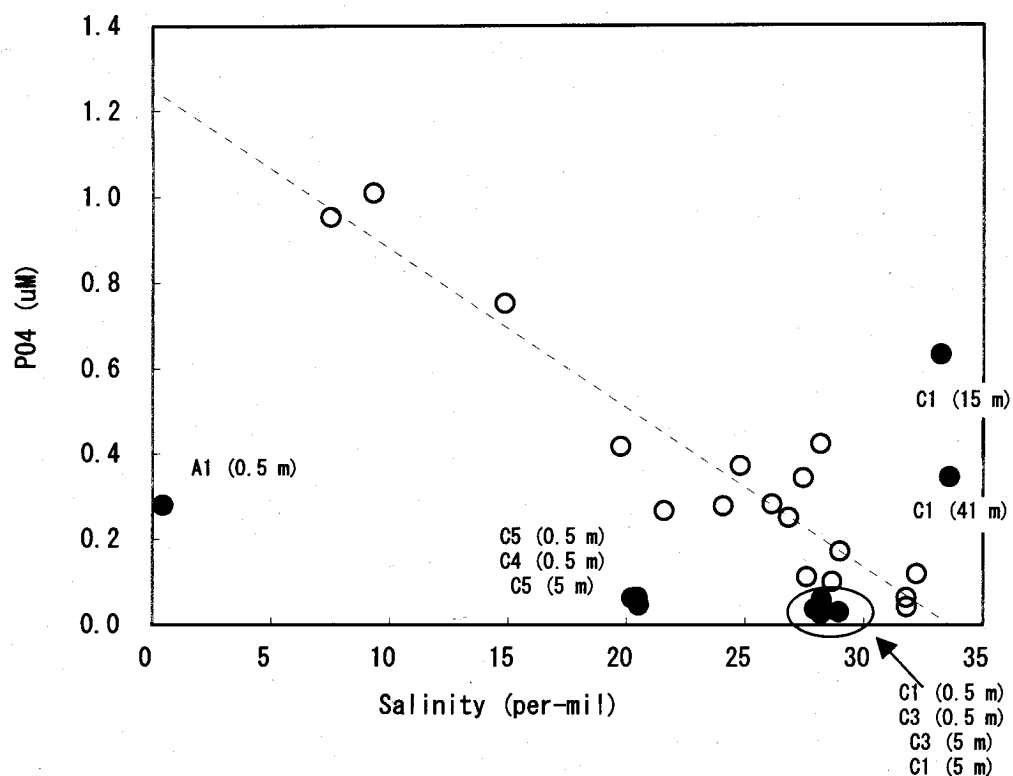


図7 リン酸濃度と塩分の関係

○は $y = -0.04x + 1.3$ ($R^2 = 0.89$) の相関を示した。

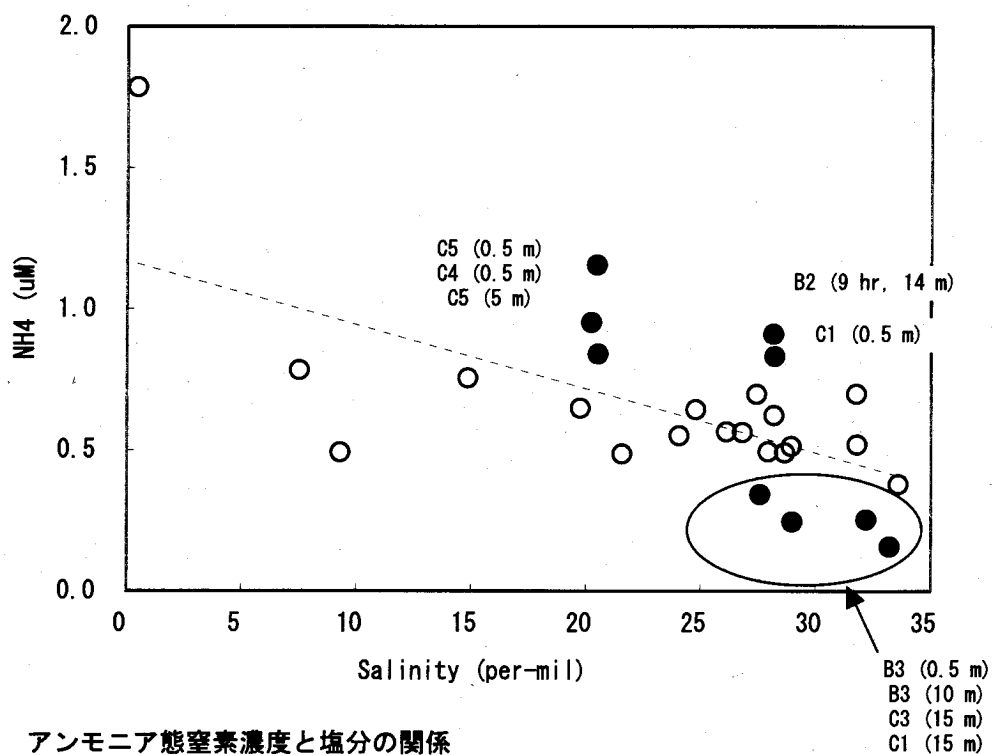


図8 アンモニア態窒素濃度と塩分の関係

○は $y = -0.02x + 1.2$ ($R^2 = 0.48$) の相関を示した。

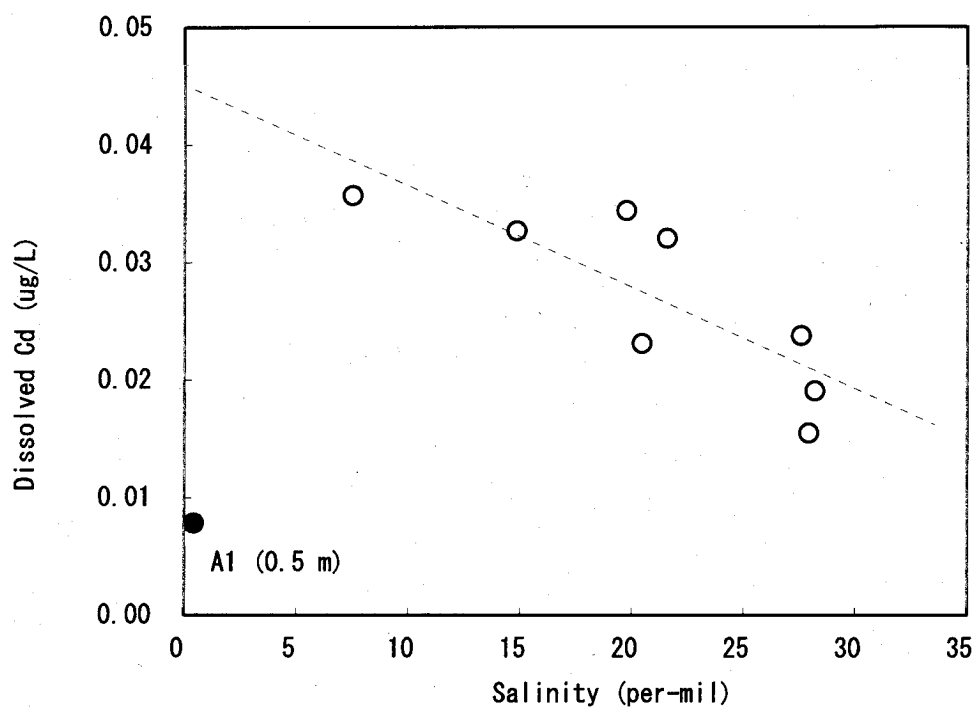


図9 溶存カドミウム濃度と塩分の関係
○は $y = -0.0009x + 0.045$ ($R^2 = 0.66$) の相関を示した。

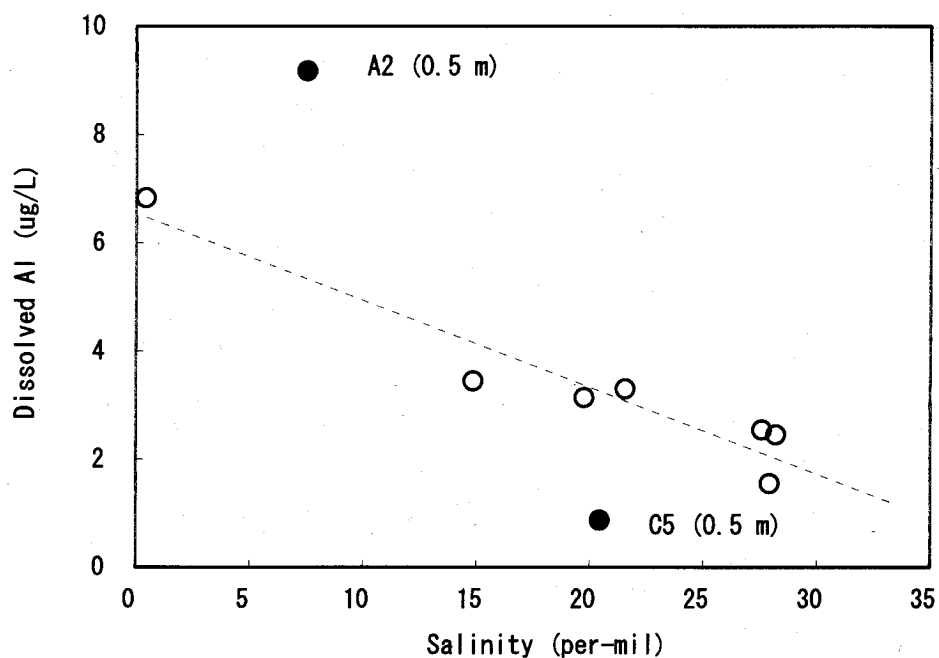


図10 溶存アルミニウム濃度と塩分の関係
○は $y = -0.16x + 6.6$ ($R^2 = 0.91$) の相関を示した。

①塩分の上昇に伴う栄養塩および溶存有機炭素の濃度変化

塩分躍層上層および塩分躍層下層で観測した栄養塩および溶存有機炭素の濃度を、塩分と比較した。

硝酸・ケイ酸・リン酸の濃度は、塩分の上昇とともに減少する傾向を示したが、一部の地点で希釈直線からはずれており、化学反応による放出や生物による摂取が示唆された。

NO_3 濃度は、A1 で最大値を示し、塩分の上昇に伴って希釈を受けて、 $(\text{NO}_3/\mu\text{M}) = -3 \cdot (\text{Salinity}) + 105$ ($R^2 = 0.97$) の希釈直線を示した (図 5)。C1-C5 の塩分躍層上層 (水深 5 m 以浅) は希釈直線よりも NO_3 濃度が低く、プランクトンにより消費されたと考えられる。C1 の塩分躍層下層 (水深 15 m, 41 m) は希釈直線よりも NO_3 濃度が高く、沈降粒子あるいは底泥の分解によって NO_3 が水中に供給されていると考えられる。 SiO_2 濃度も、 NO_3 と同様に、A1 で最大値を示し、塩分の上昇に伴って希釈を受けて、 $(\text{SiO}_2/\mu\text{M}) = -3 \cdot (\text{Salinity}) + 114$ ($R^2 = 0.99$) の希釈直線を示した (図 6)。C3-C5 の塩分躍層上層で希釈直線よりも低い濃度を示し、C1 の塩分躍層下層で希釈直線よりも高い濃度を示すのも同様であった。

PO_4 濃度は、A2 で最大値を示し、塩分 7.5 per-mil から塩分が上昇するにつれて希釈をうけて、 $(\text{PO}_4/\mu\text{M}) = -0.04 \cdot (\text{Salinity}) + 1.3$ ($R^2 = 0.89$) の希釈直線を示した (図 7)。A1 から A2 にかけて PO_4 濃度が 3.4 倍に上昇するのは、塩分が 16 倍に急上昇する際に、懸濁粒子表面から PO_4 が脱着したためと考えられる。C1-C5 の塩分躍層上層が希釈直線よりも低い濃度を示し、C1 の塩分躍層下層で希釈直線よりも高い濃度を示すのは、 NO_3 及び SiO_2 と同様であった。

アンモニア・亜硝酸・溶存有機炭素の濃度は、塩分の上昇とともにゆるやかに増加する傾向を示したが、一部の地点で単純混合直線からはずれており、生物活動に伴う放出が示唆された。

NH_4 濃度は、A1 で最大値を示し、塩分の上昇に伴って緩やかに減少して、 $(\text{NH}_4/\mu\text{M}) = -0.02 \cdot (\text{Salinity}) + 1.2$ ($R^2 = 0.48$) の混合直線を示した (図 8)。C1, C4, C5 の塩分躍層上層と B2 (9 hr) の底層では、混合直線よりも高濃度を示し、B3, C1, C3 の塩分躍層下層と B3 の表層で、混合直線よりも低濃度を示した。 NO_3 , SiO_2 , PO_4 の濃度が低下した C1・C4・C5 の塩分躍層上層で NH_4 濃度が上昇し、 NO_3 , SiO_2 , PO_4 の濃度が上昇した C1 の塩分躍層下層で NH_4 濃度が低下したのが特徴的である。

NO_2 濃度は、塩分の上昇に伴って緩やかに上昇し、C5 の 20 m で最大値を示した。DOC 濃度も NO_2 と同様に、塩分の上昇に伴って緩やかに上昇して、C5 の 20 m で最大値を示した。

②塩分の上昇に伴う溶存重金属の濃度変化

表層で観測した溶存重金属の濃度を、塩分と比較した。

溶存 Cd 濃度・溶存 Ni 濃度・溶存 Cu 濃度・溶存 Al 濃度・溶存 Fe 濃度は、塩分の上昇とともに減少する傾向を示したが、一部の地点で希釈直線からはずれており、化学反応による放出や生物による摂取が示唆された。

溶存 Cd 濃度は、 PO_4 と同様に、A2 で最大値を示し、塩分 7.5 per-mil から塩分が上昇するにつれて希釈をうけて、 $(\text{Cd}/\mu\text{g/L}) = -0.0009 \cdot (\text{Salinity}) + 0.045$ ($R^2 = 0.66$) の希釈直線を示した (図 9)。A1 から A2 にかけて Cd 濃度が 4.6 倍に上昇するのは、塩分が 16 倍に急上昇する際に、懸濁粒子表面から Cd が脱着したためと考えられる。溶存 Ni 濃度も Cd と同様に、A2 で最大値を示し、塩分 7.5 per-mil から塩分が上昇するにつれて希釈をうけて、 $(\text{Ni}/\mu\text{g/L}) = -0.006 \cdot$

(Salinity) + 0.4 ($R^2 = 0.92$) の希釈直線を示した。A1 から A2 にかけて溶存 Ni 濃度は 1.7 倍に上昇した。溶存 Cu 濃度は、A1 と A2 の濃度が同程度であり、塩分 7.5 per-mil から塩分が上昇するにつれて希釈をうけて、 $(\text{Cu}/\mu\text{g/L}) = -0.04 \cdot (\text{Salinity}) + 1.5$ ($R^2 = 0.97$) の希釈直線を示した。

溶存 Al の A1 及び B1-C3 における濃度は、塩分と負の相関を示して、 $(\text{Al}/\mu\text{g/L}) = -0.16 \cdot (\text{Salinity}) + 6.6$ ($R^2 = 0.91$) の希釈直線を示した (図 10)。溶存 Al 濃度は A1 で最大値、C5 で最小値を示した。溶存 Fe 濃度は、A2 における値が他の地点の 5 倍以上であり、A1 及び B1-C5 の値は、塩分と負の相関を示して、 $(\text{Fe}/\mu\text{g/L}) = -0.02 \cdot (\text{Salinity}) + 0.8$ ($R^2 = 0.79$) の希釈直線を示した。塩分 5 per-mil から 10per-mil 程度の低塩分の水域では、Al および Fe のコロイドが凝集して沈殿するために、溶存 Al 濃度や溶存 Fe 濃度が急に減少する例が報告されているが^{2), 3)}、今回の観測では、塩分 7.5 per-mil の A2 で溶存 Al 濃度や溶存 Fe 濃度が急に増加した。

溶存 Pb 濃度及び溶存 Zn 濃度は、塩分と正の相関を示し (順に $R = 0.75$, $R = 0.62$)、溶存 Mn 濃度は B1-C5 で塩分と正の相関を示した。

③粒子態有機炭素含量の増加に伴う懸濁粒子組成の変化

河口から沖合に向かって濁度が減少するのに伴って、粒子態有機炭素の水中濃度 (POC) は減少するが (図 11)、粒子中に占める有機炭素の割合 (PCC) は増加した (図 12)。有機炭素以外の粒子態成分もすべて、その水中濃度は濁度の低い沖合で減少する傾向を示したが、粒子中の濃度をみると、沖合で増加する成分と、減少する成分に区別された。

粒子態有機炭素含量は濁度 10mg/L の B2 地点を境に大きく変化し、濁度 10mg/L 以下における粒子態有機炭素含量の平均 (10.6%) は、濁度 10mg/L 以上における粒子態有機炭素含量の平均 (3.5%) の約 3 倍であった (図 12)。表層の濁度 10mg/L 以下の B3-C5 では、照度と Chl. a が高く一次生産が盛んであるため、海洋プランクトン由来の有機炭素が多いと考えられる (図 13)。

粒子態窒素濃度は粒子態有機炭素含量とよく相関したが、粒子態有機炭素含量 5% を境にして C/N 比が異なり、粒子態有機炭素含量 5% 以下の河口では C/N 比が高い陸上植物由来の有機物が多く、粒子態有機炭素含量 5% 以上の沖合では C/N 比が低い海洋プランクトン由来の有機物が多いことがわかる (図 14)。

一方、粒子態アルミニウム濃度は、粒子態有機炭素濃度と負の相関を示した (図 15)。これは、陸起源のアルミニウムがプランクトン起源の有機物の増加に伴って希釈をうけたためと考えられる。粒子態 Cu 濃度・粒子態 Fe 濃度・粒子態 Mn 濃度も同様に、粒子態有機炭素濃度と負の相関を示した。

粒子態リン濃度 (図 16) および粒子態 Cd 濃度 (図 17) は、粒子態有機炭素含量とよく相関し、粒子態有機炭素含量 5% 以上でリンおよびカドミウムが海洋プランクトン中にとりこまれていることがわかった。また、粒子態 Pb 濃度および粒子態 Zn 濃度は、粒子態有機炭素含量との明確な相関は示さなかったが、粒子態有機炭素含量が高い試料で高い値を示し、鉛および亜鉛が海洋プランクトン中にとりこまれている可能性を示した。

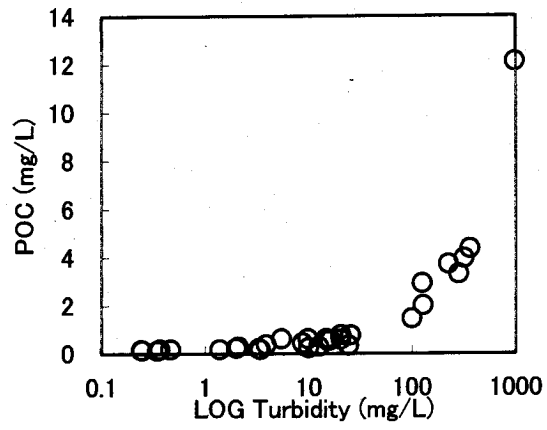


図11 粒子態有機炭素の水中濃度(POC)と濁度の関係

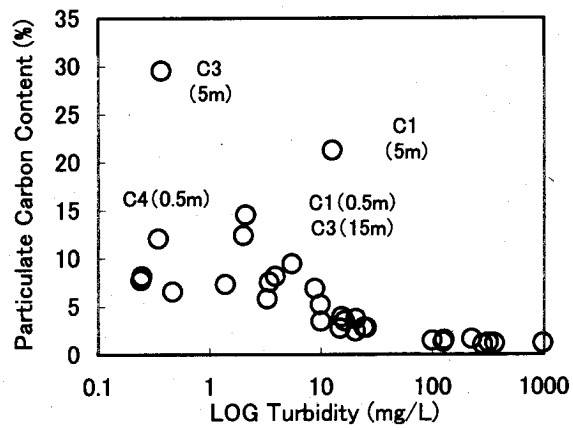


図12 粒子態有機炭素の粒子中濃度(PCC)と濁度の関係

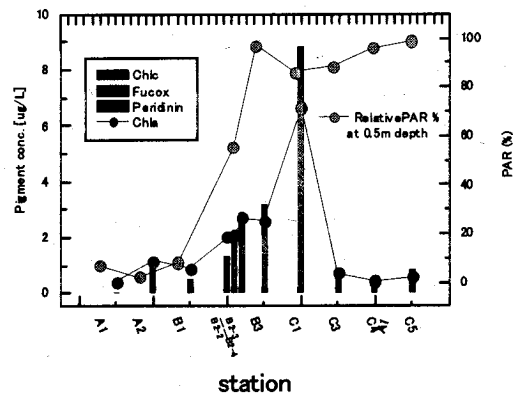


図13 各地点の色素組成と照度の変動

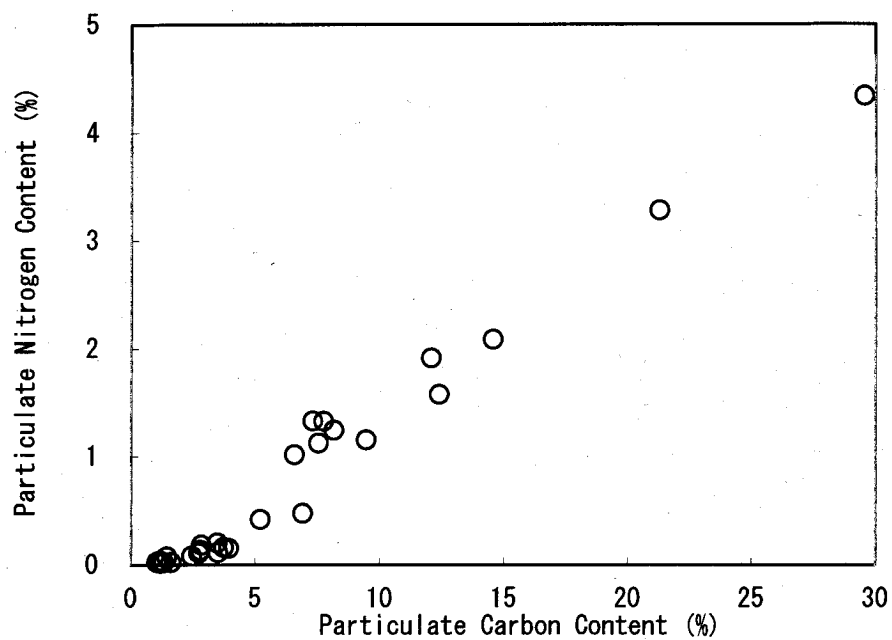


図14 粒子態窒素濃度と粒子態有機炭素含量の関係

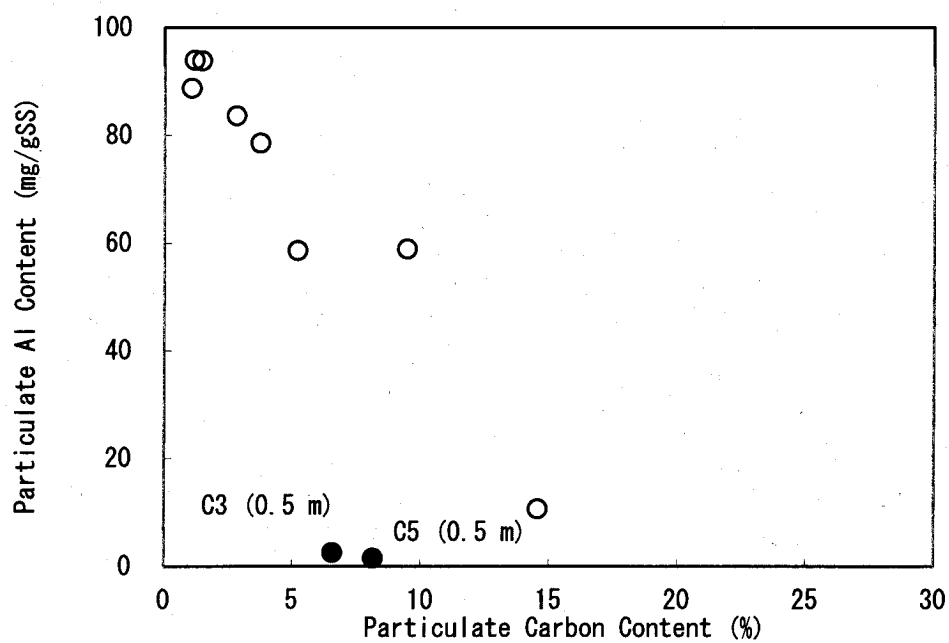


図15 粒子態アルミニウム濃度と粒子態有機炭素含量の関係

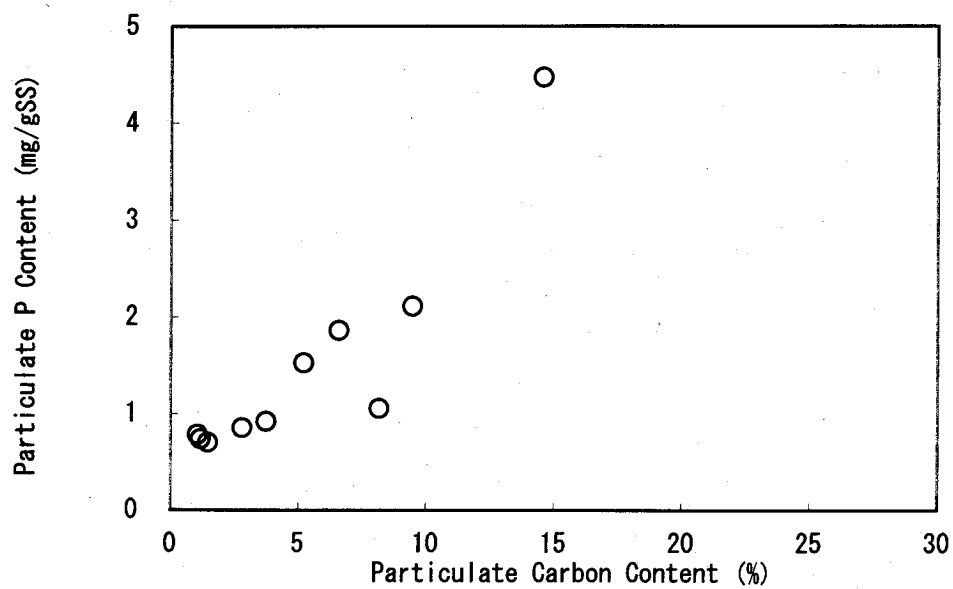


図16 粒子態リン濃度と粒子態有機炭素含量の関係

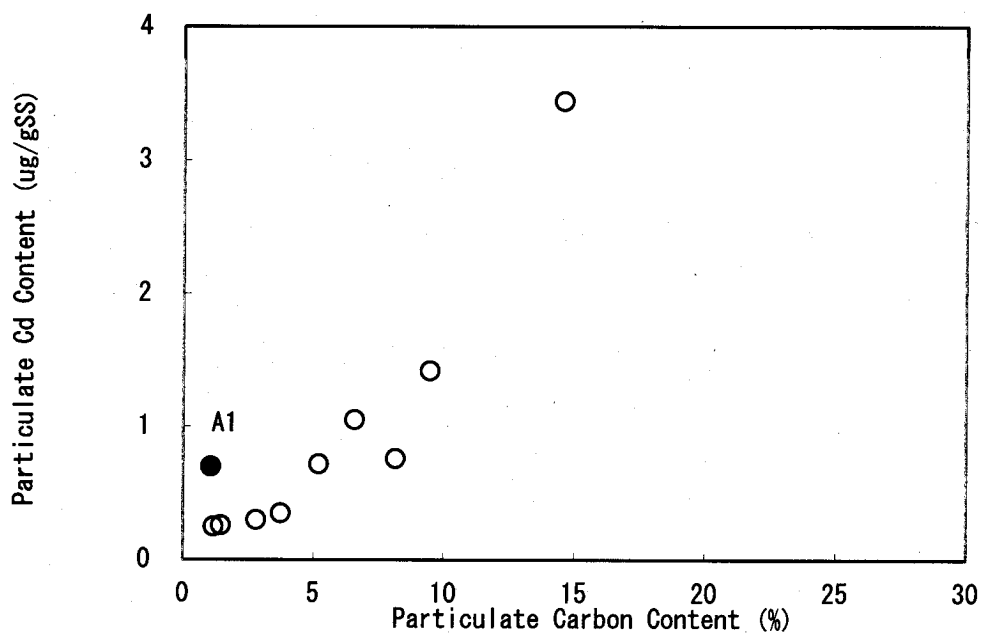


図17 粒子態カドミウム濃度と粒子態有機炭素含量の関係

(4) 生物

本節では、長江の河口から沖合にかけて観測された、植物プランクトンおよび細菌の現存量と多様性の変化を述べ、長江起源水の海洋生態系への影響を考察する。

①植物プランクトン現存量

表層海水中の植物プランクトンの現存量をクロロフィル a 量を指標として見ると、C1 で最も高く ($7 \mu\text{g/L}$)、B2、B3 ($2 \mu\text{g/L}$) がこれに次ぎ、A1-B1 および C3-C5 では低い値であった (図 13)。長江からの河川水が直接流入する A1-B1 では濁度が高く、光制限となって植物プランクトンの生産が抑えられている一方、外海に近い C3-C5 では栄養塩類 (特にリン酸、珪酸) が制限となって植物プランクトンの生産が抑えられていると考えられる。

②細菌現存量と生産性

全細菌数は、河口域の A1、A2 では 10^6 cells/ml 以上であったが、B1-C1 では $5 \times 10^5 \text{ cells/ml}$ 程度で推移し、C3-C5 では徐々に減少していた (図 18a)。一方、細菌生産性 (ロイシン法) は細菌数の変動とは逆に、A1 で最も低く、B1-C3 に向けて増加し、C5 では再び低下した (図 18b)。その結果、細菌の現存量をその生産性で除した値から細菌の比増殖速度が河口域の A1 で非常に低く、外海に向けて増大することが推察された。通常の海域では、細菌の比増殖速度は沿岸から外洋に向かうにつれ減少し、世代時間が長くなるが、長江河口域では、沿岸域に多くの細菌細胞が存在するものの、その多くは活性の低い状態であるのに対し、外海の細菌細胞は回転速度が早く、栄養の取りこみと放出 (あるいは動物プランクトンによる捕食) を効率よく行っていると予想される。C4、C5 において観測された NH_4 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 濃度の上昇は、この予想を支持するものである。また、通常の海域とは異なる要因の一つとして、本海域が汽水域から海水域へと塩分濃度が急激に変化する河口域という特殊な環境であるということが考えられる。

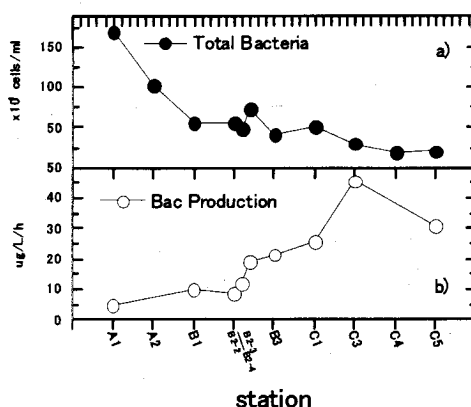


図 18 各地点の細菌現存量と生産性

③植物プランクトンおよび細菌群集の多様性

植物プランクトンの種組成を蛍光顕微鏡で直接観察した結果、珪藻類は A1-C1 まで広い範囲で優占していた ($>2000 \text{ cells/ml}$) が、C3-C5 では減少し ($<1000 \text{ cells/ml}$)、また、A1-B2 では羽状目が優占していたのに対し、C1 では *Chaetocheros tenuissimus* が優占するなど、地点間で種組成に差が見られた (図 19a)。また、*Synechococcus* は C1 および C3 で多く、特に C3 では表層のみならず中層 (約 15 m) でも多く認められたが、それ以外の地点 (A1-B3、C4、C5) では少なかった (図 19b)。FCM による測定でも同様の結果が得られ、A1-B1、C5 では *Synechococcus* 等の原核性植物プランクトンは検出されなかった。その他の藻類では、クリプト藻類が A2-B2 で検出された (図 19c)。また色素組成の分析から渦鞭毛藻類に特有のペリディニン色素が B2-C1 で検

出された (図 13)。一方、走査型電子顕微鏡を用いた観察では、B2-C1 から渦鞭毛藻の *Prorocentrum dentatum* が頻繁に検出され、特に C1 において *Chaetocheros tenuissimus* に次いで優占していた。1998 年 5 月に行われた同海域における調査結果では (Kawachi et al. 1999), 珪藻類の *Skeletonema costatum* と *Prorocentrum dentatum* の 2 種が、広範囲に優占しており、同海域における年および季節の違いによる優占種の変遷を今回の調査から確認することができた。

このような植物プランクトンの現存量と種組成の分布から、調査地点は特徴的な 4 つの海域に分けられた。即ち、1) 河川からの土砂および栄養塩類の供給があり、淡水起源と考えられる羽状目珪藻が優占し、汽水から沿岸にかけて広く分布するクリプト藻等の植物プランクトンが見られるが、濁度が高いため光制限となって植物プランクトン現存量は少ない海域 (A1-B2) ; 2) 栄養が豊富で生産性が高く、珪藻や渦鞭毛藻が見られる海域 (B3-C1) ; 3) 外洋性の *Synechococcus* が優占する海域 (C3) ; 4) 植物プランクトン現存量の少ない海域 (C4, C5)、の 4 つに大別された。このような種組成の相違に基づいた海域区分は、1998 年 5 月の調査でも示されており、これは同海域の起伏に富む海底地形に加え、揚子江、黄河、黒潮海流由来の海流が交差することで形成される複雑な水塊構造に起因すると考えられる。更に、外海に近い C4、C5 の植物プランクトン組成が C3 と異なったことは、次に述べる細菌群集の変動とも一致した。

各地点表層水の細菌群集構造を解析するために DGGE 電気泳動のバンドパターンを主成分分析法により分類したところ、3 つのグループに類型化され、第 1 のグループは A1、A2 の河口域 (図 20 左下隅)、第 2 のグループは B1、B2 で図 20 上側に位置するグループ、第 3 は B3、C1、C3 などの沿岸域表層で図 20 右下側に位置するグループである。B2 は満潮時 (6 hr) には第 3 の沿岸域表層グループと似たパターンを示した。また、C5 は再び A1、A2 の河口域と非常に近いパターン

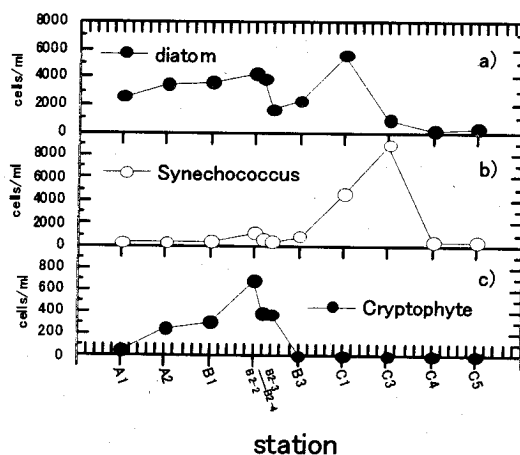


図 19 各地点の植物プランクトン現存量の変動

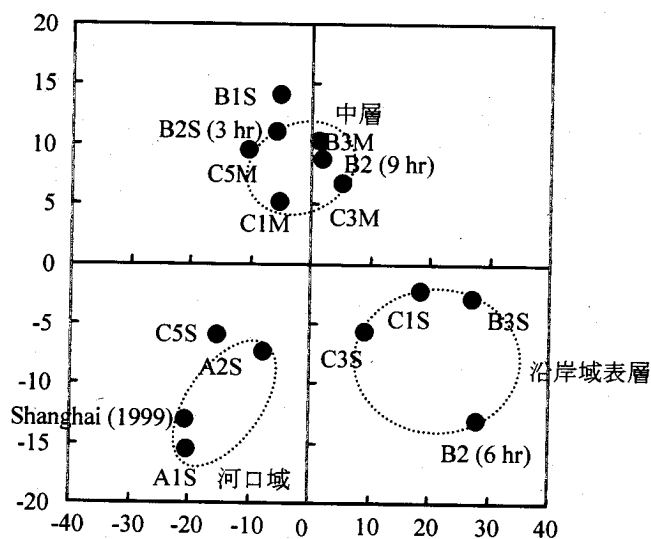


図 20. 東シナ海細菌群集構造の主成分分析

を示した。さらに、B3-C5 の中層水はいずれも第 2 のグループと近いパターンを示した。これらの細菌群集の変動から調査海域の水塊の動きを推測すると、B3-C5 では表層とは異なった水塊が中層に入り込んでいる事、B2 では潮流により中層水が表層付近まであがる場合があること、また、河口域表層の水塊が C5 付近に分流している可能性を示している。

4. 藻類・細菌群集構造の解析手法と藻類による有害化学物質取り込み速度の評価手法の検討
(1) 分子生物学的手法による細菌群集構造解析

長江河口域における微生物群集構造が環境の変化からうける影響を解析することを目的として、春季及び秋季の河口域海水について微生物群集の組成比較及び検討を行った。

沿岸側から沖に向かって並んだ C1 (31° 30' N、122° 30' E)、C3 (31° 10' N、123° 15' E)、C5 (31° 00' N、124° 00' E) の 3 点それぞれに於いて表層、中層、底層より採取した試料水を 0.2 μm 孔径のメンブレンフィルターで濾過し、フィルター上に捕集した菌体をビーズ法により破碎して細菌の全 DNA を抽出した。得られた DNA を鋳型として細菌の 16S rDNA の V3 領域を含む断片をポリメラーゼ連鎖 (PCR) 反応で増幅し、得られた PCR 産物を変性剤濃度勾配ゲル電気泳動 (DGGE) に供した。電気泳動終了後、ゲルバンドパターン (図 21) を画像解析システムに取り込み、主成分分析を行って細菌群集構造の変動を解析した (図 22)。

この結果、春季、秋季のいずれに於いてもほぼ同程度の多様性が見られた。また、各ステーションにおいて春秋を問わず、中層と底層では類似した細菌群集組成が認められたが、表層のそれは明らかに異なり、特に秋季の沖合ステーション C5 では顕著であった。さらに、ステーション間の類似性は河川水量の増大する春季では秋季よりも高かった。以上より、長江からの淡水が河口域の表層に拡散する事により、表層の微生物相は河川水の影響を強く受け

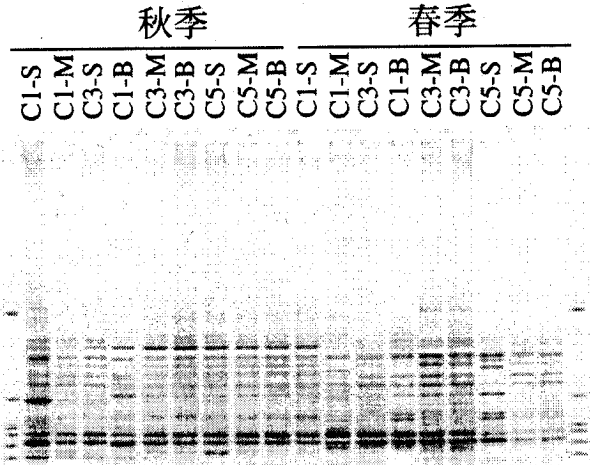


図 21 DGGE による細菌群集構造の季節変動
S, M, B はそれぞれ表層、中層、底層を示す。

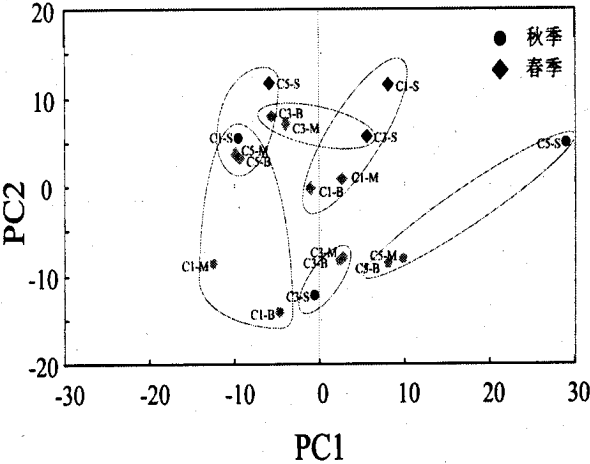


図 22 DGGE バンドパターンの主成分分析による
細菌群集構造の季節変動
黒いシンボルは表層、グレーのシンボルは底層を示す。

ることが明らかとなった。特に春季では、河川水がより広範囲に拡散することにより各ステーション間の類似性が高まると同時に、流入懸濁粒子による減光により珪藻ブルームが抑制された可能性も示唆された。細菌群集構造は環境の変化を鋭敏に反映することから、将来予想される長江から負荷された栄養塩などの汚濁物質・有害化学物質や重金属は長江河口域の表層に広がり、表層の微生物生態系に大きな影響を与えることが示唆され、今後の継続した調査および細菌群集組成の内容解明の重要性が示された。

(2) フローサイトメーターによるピコプランクトン群集組成の定量的評価

長江から流入する汚染・汚濁物質が長江河口域及び東シナ海における生態系に与える影響を評価するために、流域開発前のサンプルを採取し、現場で顕微鏡を用いてサンプルを直接観察するとともに、持ち帰ったサンプルをフローサイトメーターによりピコサイズ (1 μ m 前後) の植物プランクトン群集の組成と定量的調査を試みた。今回、長江河口域及び隔離生態実験区 (栄養塩及びオイル負荷の影響について調査) で採取したサンプル中の植物プランクトン群集を解析することで、以下の結果を得た。(1) 調査海域では、渦鞭毛藻の *Prorocentrum dentatum* が第一優占種、珪藻の *Skeletonema costatum* が第二優占種として確認された他、総計、10 綱 62 種の植物プランクトンが確認された。またピコサイズの原核性植物プランクトンの場合、場所によって現存量が大きく変化すること、そして最大で 16796 cells/ml という値 (外洋域の数値に匹敵) が得られた。(2) 栄養塩負荷隔離生態実験区 (添加した PO_4^{3-} の最終濃度は約 2 μ M) では、植物プランクトンの細胞数が 2 日目以降に急速に増加し、5 日目で最大に達した後、減少した。この時に増加した植物プランクトン群集の構成は、ナノサイズ (2-20 μ m) の代表として珪藻類、ピコサイズの場合 *Synechococcus* 等の藍藻類であることが、固定サンプルの観察・解析から推定された。最終的に、珪藻類が第一優占種として渦鞭毛藻に取って代わった。(3) オイル負荷隔離生態実験区 (添加した PO_4^{3-} の最終濃度は約 1 μ M、オイルは 1.6mg/l) では、渦鞭毛藻が顕著にオイルによる生育阻害を受けたのに対して、珪藻類は耐性を示すとともに増殖した。またピコサイズの *Synechococcus* 等の藍藻もオイルに対する耐性を示した。結果として、栄養塩負荷実験よりも渦鞭毛藻から珪藻へと急速に植物プランクトン群集が置き換わった。以上から、長江河口域の植物プランクトン群集は栄養塩やオイル等の負荷の影響を受け、急速にその群集構成を変貌させることが判明した。長江河口域は、海流の動きや長江流域の降雨に伴い、栄養塩や塩分等の環境要因が複雑に変化することが知られている。こうした多様な環境下に生息する植物プランクトン群集の構成を一つ一つ把握すること、すなわち環境要因と群集構成との対応付けを行うことは、将来の変化を予測する上で必須の調査と言える。今回の調査から、植物プランクトンの群集構造が環境の変化に敏感に反応することが示された。すなわち、こうした群集構造の解析結果は、長江河口域及び東シナ海の様々な環境変化を総合的に評価する上で有用な情報を提供するとともに、環境指標生物としての有用性が期待される。最後に、ピコサイズの植物プランクトンは一般に外洋の貧栄養海域でよく存在が知られているが、今回のフローサイトメーターを用いた調査から、長江河口域においても現存すること、そしてこの海域においても基礎生産者としての重要性が示唆された。

(3) プランクトン生態系による有害化学物質の取り込み速度の解析

近年の調査では長江河口域の海底堆積物や東シナ海の魚類等の高次栄養生物中に環境残留性汚染物質が比較的高い濃度で計測されている。一次生産の活発な長江河口域では、高次栄養生物への化学物質濃縮経路として藻類を起点とする濃縮経路が無視できない要素であると考えられる。しかし現場海域における汚染物質濃度は非常に低く、現場藻類の化学物質取り込み速度等を測定することは困難である。藻類による取り込み速度を推定するためには、高感度な放射性同位体トレーサ等を用いた室内実験系で速度定数等の知見を集めることが必要である。本研究では長江河口域でしばしば赤潮を形成する珪藻 (*Skeletonema costatum*) および渦鞭毛藻 (*Prorocentrum dentatum*) による ^{14}C -DDT の取り込み実験から、それら藻類の DDT 取り込み速度定数の差を比較した。

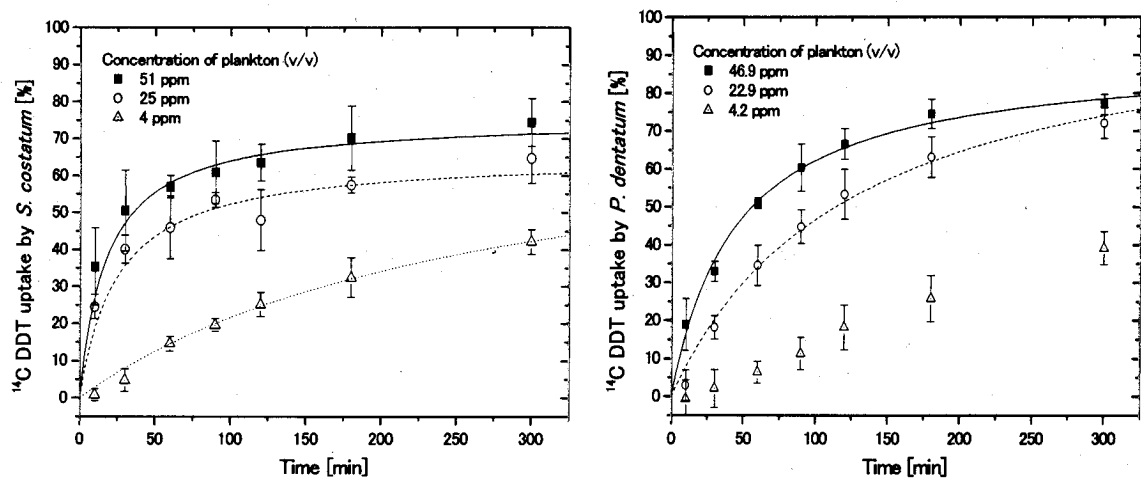


図 23 *S. costatum* (左) と *P. dentatum* (右) 培養系における DDT 取り込み率の経時変化

2種の藻類各々について、細胞濃度の異なる4つのフラスコ培養系(0 - 50 ppm)を調製し、 ^{14}C -DDTを約 $1\mu\text{g/L}$ 濃度で投与・培養した。投与(0分)から300分まで7回に分けて試水を採取し、遠心操作で藻類細胞と液相に分離させた。藻類細胞中および液相中の放射能を計測し、 ^{14}C -DDT の藻類・液相間の分配比を計算した。培養時間 t に対する藻類への取り込み率の変化をプロットし(図 23)、双曲線タイプのモデル式 ($\text{uptake}(\%) = a \cdot t / (b + t)$ 式 1; ただし a, b はフィッティング係数)にあてはめ、各々係数を得た(ただし藻類濃度 4.2ppm の *P. dentatum* 系を除く)。得られた係数を式1の微分式に代入し、各試料採取時における曲線の傾き(DDT の相対的な取り込み速度 $\%/\text{min}$)を求めた。さらに DDT 実濃度へ

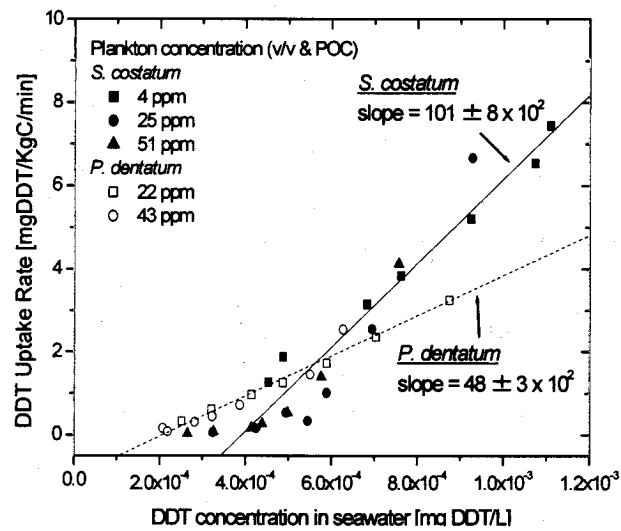


図 24 海水中 DDT 濃度に対する藻類 DDT 取り込み速度

の変換、各系の藻類有機炭素濃度による規格化を行い、単位藻類有機炭素濃度あたりの DDT 取り込み速度(mgDDT/KgC/min)を求めた。また各試料採取時における海水中の DDT 濃度(mgDDT/L)を求め、海水中 DDT 濃度に対する藻類の DDT 取り込み速度をプロットした(図 24)。取り込み速度は直線的にプロットされ、海水中 DDT 濃度に対して一次関数として表されることが示された。*S. costatum*と*P. dentatum*の取り込み速度定数(傾き)は 各々 $101 \pm 8 \times 10^3$ および $48 \pm 3 \times 10^3 \text{L/kgC/min}$ であり、*S. costatum*の方が約 2 倍大きい。以上の結果からは、プランクトン生態系への DDT 取り込み速度は *S. costatum*の優占する海域の方が *P. dentatum*の優占する海域よりも高い可能性が示唆される。ただし本実験で得た海水中濃度:取り込み速度の関係は原点を通過しておらず、実環境濃度域において同じ速度定数が成立しているとは必ずしも言えない。今後、実験上の誤差や解析方法を含め再検討する必要がある。また速度定数の違いをもたらす因子(細胞径・表面積等の幾何学的条件や脂質含量等の化学的性質)についても検討が必要だと考える。

5. 本研究により得られた成果

長江河口から沖合における汚染・汚濁物質の輸送と生態系の把握を目的として、長江河口域における調査を実施した。河口では粒子態有機炭素濃度(POC)が高く、C/N比からみるとそのほとんどは陸上植物起源であると考えられた。河口で観測される高濃度の懸濁粒子(SS)が減少する東経 $122^\circ 30'$ 付近(B2 地点)から沖合に向かって、POCは大きく減少するが、SSに占める POCの割合は大きく増加し、かつ C/N比が植物プランクトン由来の値に近づいた。そして、Chl. a 濃度および植物プランクトン現存量も、B2 地点付近で急激な増加を示した。植物プランクトン現存量は東経 123° 付近(C1 地点)において最大となっていた。長江から供給された栄養塩は海水との混合によって希釈をうけていたが、C1 地点では希釈以上の栄養塩減少が認められ、生物による摂取が活発であることが示された。C1 地点では、粒子態の C・N・P だけでなく、粒子態の Cd・Pb・Zn の濃度も増加し、プランクトンによる重金属の取り込みが示唆された。また、有光層深度は、河口~B2 地点では 1m 未満であるのに対して、C1 地点では 10m 以上になっていたことから、C1 地点付近において光制限から解放され、その結果、植物プランクトンが増殖したと考えられた。植物プランクトンの種組成分析の結果、河口から B2 地点にかけては淡水起源と考えられる羽状目珪藻や汽水性のクリプト藻、C1 地点では沿岸性の珪藻 *Cheatocheros tenuissimus*、さらに C1 地点よりも沖合の C3 地点では外洋性の *Synechococcus* といったピコ植物プランクトンがそれぞれ優占しており、こうした植物プランクトンの優占種の相違と不連続性は、水塊が淡水・汽水・外洋水へと変化していく状態を生物学的に示すと同時に、植物プランクトンが、環境の変化に対応して、異なる生態的地位(niche)を有していることを示唆した。今回の観測結果は、長江から供給された栄養塩・重金属が沖合(東経 123° 付近)で生態系へ取り込まれること、河口域の生態系が環境の変化に応じて大きく異なることを示した。

6. 引用文献

- ① Beardsley RC, Limeburner R, Yu H, and Cannon GA, Discharge of the Changjiang into the East China Sea, Continental Shelf Research, 4, 57-76 (1985)
- ② Edmond JM, Spivack A, Grant BC, Ming-Hui H, Zexiam C, Sung C, and Xiushau Z, Chemical dynamics of the Changjiang estuary, 4, 17-36 (1985)
- ③ Mackin JE, and Aller RC, Dissolved Al in sediment and waters of the East China Sea:

Implications for authigenic mineral formation, *Geochimica Cosmochimica Acta*, 48, 281-297 (1984)

- ④ Kawachi, M. Hiroki, M. Watanabe, M.M. 1999. Preliminary observations on the phytoplankton species at the Changjiang Estuary Mouth in May 1998. In: Proceedings of the Japan-China Joint Workshop on the Cooperative Study of the Marine Environment. (Ed. by Watanabe, M. and Zhu, M.), p. 67-72.

[国際共同研究などの状況]

国立環境研究所と中国科学院地理科学与資源研究所及び、華東師範大学との間で「長江流域及びその河口域での生態系機能の観測及び評価モデルの開発」に関する実施取り決めが締結され、これに基づき研究推進を行っている。

[研究成果の発表状況]

(1) 誌上発表

- ① Koshikawa H, Xu K, Maki H, Murakami S, Zhu M, Ioriya T, Kohata K, Watanabe M. 1999. Mesocosm experiment in Changjiang Estuary. Proceedings in MEDCOAST 99 - EMECS 99 Joint Conference, Land- Ocean Interactions: Managing Coastal Ecosystems, Antalya, Turkey, 1 : 245-252.
- ② Koshikawa MK, Takamatsu T, Takada J, Matsushita R, Murakami S, Xu K, Zhu M, and Watanabe M. 1999. Trace Element Composition of Suspended Matter in the Changjiang Estuary Mouth, Proceedings in MEDCOAST 99 - EMECS 99 Joint Conference, Land- Ocean Interactions: Managing Coastal Ecosystems, Antalya, Turkey, 1 : 575-580.
- ③ Harada S, Koshikawa H, Watanabe M, Kohata K, Ioriya T, and Hiromi J. 2000. Contribution of bacterial production to sinking carbon flux in a Japanese coastal area: a marine mesocosm study, *Journal of Global Environmental Engineering*, 6, 51-64.
- ④ Fujiwara S., Kawachi, M., Minaka, N., Tsuzuki, M. and Inouye, I. 2001. A molecular phylogeny of the Haptophyta based on the *rbcL* gene and the spacer region of *RuBisCO* operon. *J. Phycol.* 37: 121-129.
- ⑤ Mitsuhashi, M. Kawachi, M., Kurano, N. and Miyachi, S. 2001. Intracellular localization of a carbonic anhydrase in *Porphyridium purpureum* (Porphyridiales, Rhodophyta). *Phycologia* 40 (4): 319-323.
- ⑥ Kawachi, M., Inouye, I., Honda, D., O'Kelly, C.J., Bailey, J.C., Bidigare, R. R., and Andersen, R. A. 2002. The Pinguiphyceae *classis nova*, a new class of photosynthetic stramenopiles algae whose members produce large amounts of omega-3 fatty acids. *Phycol. Res.*, 50: 31-47.
- ⑦ Kawachi, M., Atsumi, M., Ikemoto, H. and Miyachi, S. 2002. *Pinguiochrysis pyriformis* gen. et sp. nov. (Pinguiphyceae), a new picoplanktonic alga isolated from the Pacific Ocean. *Phycol. Res.*, 50: 49-56.
- ⑧ Kawachi, M., Noël, M.-H. and Andersen, R. A. 2002. Re-examination of the marine "chrysophyte" *Polypodochrysis teissieri* (Pinguiphyceae). *Phycol. Res.*, 50: 91-100.
- ⑨ Sekiguchi H, Koshikawa H, Hiroki M, Murakami S, Xu K, Watanabe M, Nakahara T, Zhu M,

and Uchiyama H. Bacterial Distribution and Phylogetic Diversity in the Changjiang Estuary before the Construction of the Three Gorges Dam, *Microbial Ecology*, 43, 81-91, 2002.

(2) 口頭発表

- ① 関口博之、渡辺正孝、徐保華、中原忠篤、内山裕夫；DGGE を用いた長江流域における細菌群集構造の解析、日本微生物生態学会第 15 回大会（1999）
- ② H. Sekiguchi, H. Uchiyama, S. Kambe, M. Hiroki, M. M. Watanabe, T. Nakahara, M. Watanabe, M. Y. Zhu : Bacterial Community structure in the East China, 第 99 回米国微生物学会大会（1999）
- ③ 関口博之、徐保華、渡辺正孝、中原忠篤、内山裕夫；長江の各流域における細菌群集構造の解析、日本微生物生態学会 2000 年度大会（土浦、2000 年 11 月）
- ④ Sekiguchi, H., H. Uchiyama, M. Watanabe, T. Nakahara, and B. Xu Bacterial community dynamics along with the Changjiang River, American Society of Limnology and Oceanography 2001 aquatic sciences meeting. 2001.
- ⑤ 関口博之、中原忠篤、内山裕夫；分子生物学的手法による長江流域細菌群集構造の変動解析、日本微生物生態学会 2001 年度大会（静岡、2001 年 11 月）
- ⑥ Kawachi, M. Ultrastructures (including the flagellar apparatus) of heterococcolith bearing cell of *Calyptrorphaera* sp., Coccolithophores from Molecular Processes to Global Impact, Ascona, Switzerland, 10-15 February 2002.
- ⑦ Kawachi, M., Inouye, I., Honda, D., O'Kelly, C. J., Bailey, J. C., Bidigare, R. R. and Andersen, R. A. : The Pinguiphyceae classis nova, a new class of photosynthetic stramenopiles whose members produce large amounts of omega-3 fatty acids, International Symposium of the Asian Pacific Phycological Association, Yamagata, June 2001; (Abstracts, 32).

(3) 出願特許

なし

(4) 受賞等

土木学会地球環境委員会「平成 12 年度地球環境論文賞」（受賞年月日：平成 13 年 7 月 19 日、受賞者：渡辺正孝、木幡邦男、越川海 [ほか 3 名との共同受賞]）

(5) 一般への公表・報道等

日本経済新聞（平成 14 年 5 月 3 日）

(6) その他成果の普及、政策的な寄与・貢献について