

仙石原湿原におけるトレーサー分析による

全窒素全リン濃度の増加原因調査と

環境 DNA 分析による生態系影響評価

神奈川県環境科学センター調査研究部

発表者 中山 駿一

史跡名勝天然記念物である仙石原湿原では、近年全窒素及び全リンの濃度が上昇し、富栄養化の傾向が確認されているが、現時点ではその原因が自然由来であるのか人為由来であるのかがわかっていない。そこで、生活排水の流入や農地からの水の流れ込みの影響の有無を調査し、由来を特定することで、水質改善への道筋をつけるとともに、水生昆虫類等の環境 DNA 調査手法を開発して調査を行うことで湿原生態系への影響を明らかにした。

1 はじめに

史跡名勝天然記念物である仙石原湿原では、近年全窒素及び全リンの濃度が上昇し、富栄養化の傾向が確認されているが、現時点ではその原因が自然由来であるのか人為由来であるのかがわかっていない。

富栄養化は湿原内の希少な動植物へ悪影響を与えることが懸念されるが、水質に鋭敏に反応する水生昆虫等については十分な調査が実施されておらず、生態系への影響評価も十分とは言えない状況である。

2 研究の目的と位置付け

仙石原湿原の汚染源由来を究明するため、汚染源特有の分子であるトレーサー（環境分子マーカー）分析の手法を確立し、汚染原因を特定する。例えば人工甘味料であれば自然界で生成されることはなく、必ず排出源は人為的な汚染源由来である。これにより、人工甘味料が検出されれば、生活排水による汚染があったと判断できる（図 1）。また、汚染範囲を特定し、水質改善への道筋をつけるとともに、水生昆虫類等の環境 DNA 調査手法を開発して調査を行うことで湿原生態系への影響を明らかにする。環境 DNA 調査はサンプリングした少量の水を分析することにより、現地での捕獲調査に替えることができるため、簡便かつ高精度の調査手法が開発できることが期待できる（図 2）。

今回、全窒素全リンの分析を、冬季を除く毎月一回サンプリング及び分析を行い、同時に汚染源由来のトレーサーとして、農薬および人工甘味料の分析を行い、汚染源の推定を行った。また、イオンクロマトグラフィーを用いたイオン分析により、イオンのパターンを比較すること

で流動方向を推測した。加えて、汚染範囲の確定に先立ち環境 DNA の試行サンプリング及び分析を行い、水生昆虫類を始めとした無脊椎動物の検出可能な手法開発を行うとともに、将来にわたる環境 DNA モニタリング体制構築のため、より広範な生物の生息情報を把握するために脊椎動物も検出可能な手法開発も併せて実施した。

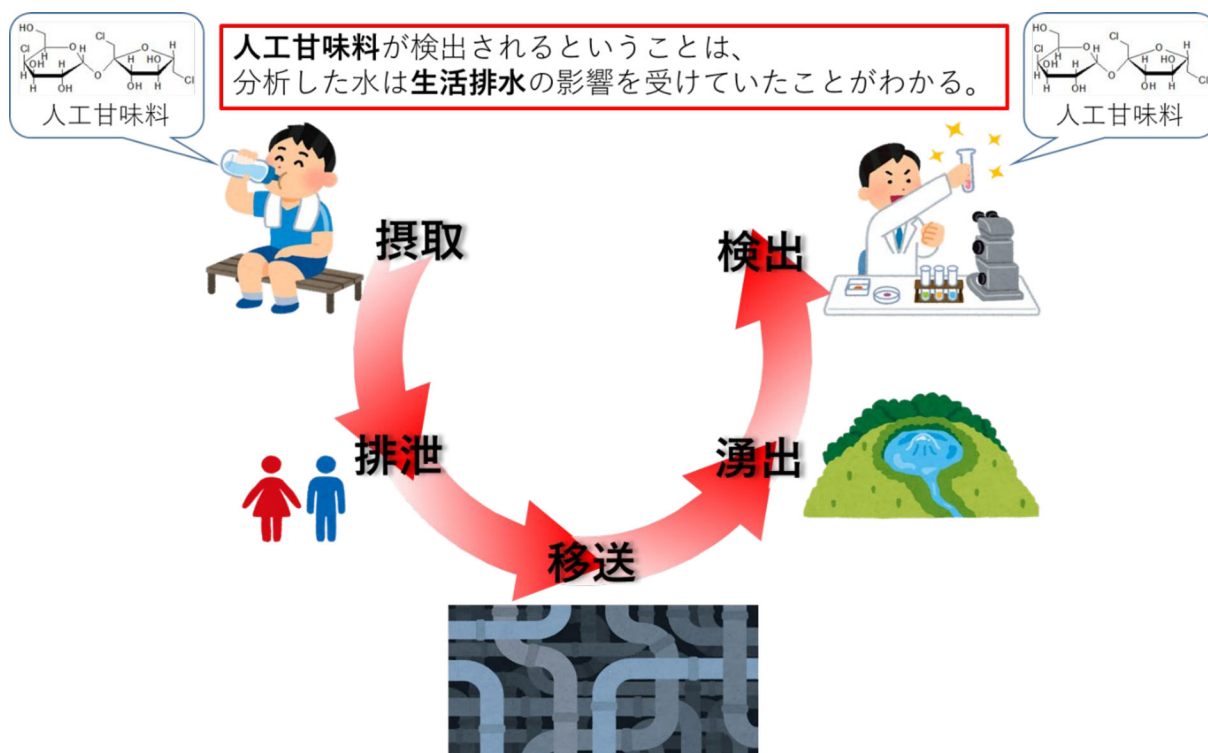


図 1 トレーサー分析（人工甘味料の場合）

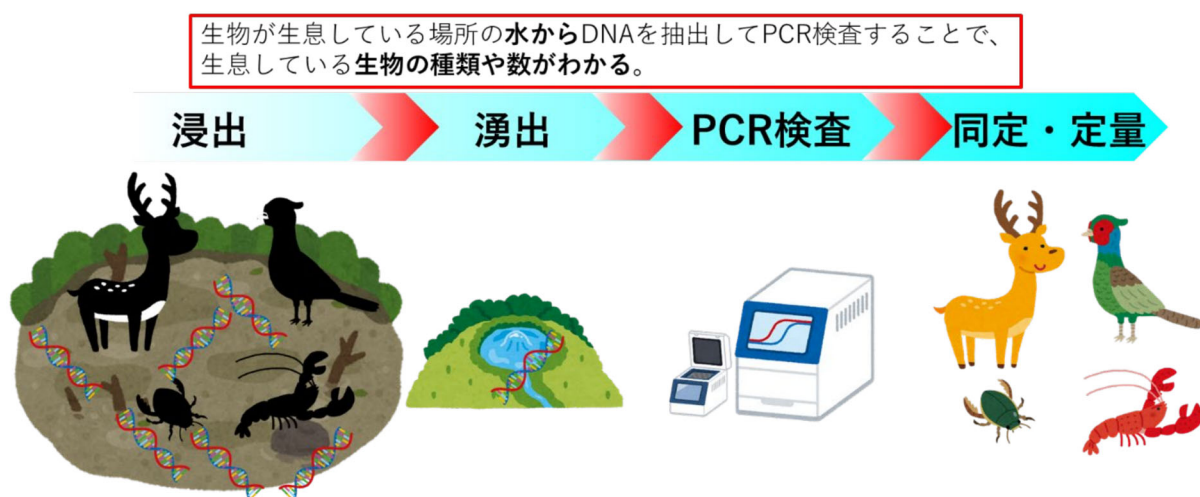


図 2 環境 DNA 分析

3 調査方法

調査手法として次の項目を行った。

I. 全窒素、全リン分析

II. トレーサー分析

一. 農薬分析

二. イオンクロマトグラフィー分析

三. 人工甘味料の分析

III. 環境 DNA 分析

3. 1 全窒素、全リン分析

JIS K 0102 45.2 紫外線吸光光度法及び JIS K 0102 46.3 全リンに従って分析を行った。

3. 2 農薬分析

県農業振興課に問合せをして近隣ゴルフ場で使われていることが確認されている農薬類 110 種のうち、AIQS-GC を用いた網羅分析可能な 40 種について、マニュアル¹⁾及び三保ら²⁾の方法に従い分析した。

3. 3 イオンクロマトグラフィー分析

JIS K 0102 48.3 イオンクロマトグラフ法に従って分析を行った。

3. 4 人工甘味料の分析

AIQS-GC の分析サンプルを用い、表 1 の方法に従い分析した。

表 1 スクラロース分析条件

MS condition		LC condition	
Instrument	WATERS Xevo G2-XS Qtof	Instrument	WATERS ACQUITY UPLC H-Class PLUS system
Ionization mode	Positive	LC column	ACQUITY UPLC BEH C18 1.7 μ m, 2.1 $\times$ 100 mm
m/z of precursor(-)	419.12	Column temperature($^{\circ}$ C)	40
m/z of product(-)	221.12	Flow rate(mL/min)	0.2
CE(V)	22	Solvent A	10 mM Ammonium Acetate
CV(V)	30	Solvent B	Methanol
Capillary(kV)	2.5	Injection volume(μ L)	5
Source($^{\circ}$ C)	120	Elution mode	Isocratic
Desolvation($^{\circ}$ C)	450	%A(%)	12
Cone Gas(L/h)	50	%B(%)	88
Desolvation(L/h)	800	Run time(min)	5

3. 5 環境 DNA 分析

既報³⁾を参考に分析を行った。得られた各種のリード数から、非類似度指数を算出し K-medoid 法によるクラスタリングを実施するとともに、Indval 法により、指標種を選定した。

4 結果

仙石原湿原内で農薬の網羅分析を実施したところ、近隣で使われていることが確認されている農薬類 110 種のうち、網羅分析可能な 40 種について、全て検出されなかった。また、スクラロースの分析の結果、検出はされたが、全窒素、全リン、pH、EC 等の濃度 の変化および位置

関係と照らし合わせて、これらの値の変化と相関が見られなかったため、湿原内に生活排水の影響は確認されなかった。また、これらとイオンクロマトグラフィー分析の結果を合わせて原因の推定を行った結果を発表する予定である。

環境 DNA 分析とクラスタリングを実施した結果、水質と関連が深い水生生物について、大きく 4 つのグループに分けられた（図 3）。湿原内と湿原外はそれぞれ別のグループに分けられ、湿原内は更に 2 つのグループに分けられた。nMDS（非計量多次元尺度法）により、湿原内と湿原外では大きく生物組成が異なっていたことがわかった。このことは、現状では湿原内の生物群集を変化させるような大きな水質変化は発生していないものと考えられた。



図 3 K-medoid 法によるクラスタリング結果

3 おわりに

今回開発された手法を仙石原湿原保全有識者検討会に本手法を管理手法として提案することで、高精度かつ簡便な管理が可能となることが期待される。

参考文献

- 1) AIQS-GC によるスクリーニング分析法暫定マニュアル
令和 5 年 3 月 環境省水・大気環境局水環境課
- 2) 三保紗織, 亀屋隆志, 小林 剛, 藤江幸一, 2020, 河川水モニタリングにおける GC-MS AIQS-DB 法の同定定量精度の評価, 環境科学会誌, vol.33, No.5, 90-102
- 3) Masaki Takenaka, Yuta Hasebe, Koki Yano, Seiya Okamoto, Koji Tojo, Masashi Seki, Shun Sekiguchi, Takeshi Jitsumasa, Nobuyuki Morohashi, Yoshihiro Handa, Tomoka Sakaba, 2024, Environmental DNA metabarcoding on aquatic insects: Comparing the primer sets of MtInsects-16S based on the mtDNA 16S and general marker based on the mtDNA COI region, Environmental DNA, vol.6, No.4