

DCMU 蛍光法に関する技術レポート
～アオコ発生の予兆察知手法に関する技術資料～

令和6年4月

一般財団法人 水源地環境センター

まえがき

我が国のダム貯水池では、富栄養化現象に伴うアオコ発生による景観阻害やカビ臭発生による上水道への影響といった水質障害が発生しているところがある。国土交通省および独立行政法人水資源機構が管理するダムを対象として平成 27 年に実施されたアンケート調査によると、管理ダムのうち約 4 割で上述のような水質省が発生している。

この富栄養化現象に伴う水質障害に対しては、各ダム貯水池において様々な水質改善対策が講じられ、一定の効果を発揮しているダムが多い。その一方で、水質改善対策を実施しているにも拘らずアオコやカビ臭現象に悩まされているダムや対策を実施する程の常習性はないものの時々問題が発生し対応に苦慮しているダムも一定数存在する。

こういったアオコ・カビ臭対策に課題を抱えているダムでは、アオコの発生状態や発生するカビ臭物質濃度が今後どのように推移するかを事前に察知できると、その対応に要する時間を確保できるなど現場管理上のメリットが大きいものと推察される。例えば、カビ臭の発生に関しては、事前にカビ臭濃度上昇の予兆が検知されれば、浄水場において活性炭を調達する時間的猶予が確保できる。また、湖面利用の活発なダムでは、向こう 1 ヶ月程度のアオコ発生予報があれば、その後の湖面利用計画の参考にすることができる。

こういった現場ニーズに対応するためには、予報的観点でのアオコ予測技術の確立が 1 つの対応策として有効と考えられることから、当財団が主催する「ダム貯水池水質保全対策研究会」では、『効率的な水質管理に資するアオコ発生予報』技術の確立を目標に調査研究を行うこととした。

この技術開発を進めるにあたっては、先行研究¹⁾の発案者である中部大学の程木義邦准教授にも研究会委員として参加頂き、室内実験から実際のフィールドでの適用実験等を行うとともに、現場で利用しやすい簡易な測定装置の適用検証等を進めてきた。

本技術レポートは、以上に記した研究会での調査研究結果を取りまとめたものであるが、あくまで現時点までに得られた知見を取りまとめたものであり、今後の更なる調査研究や技術開発により記載内容は見直しや拡充の余地があることに留意されたい。

本技術レポートがアオコ発生予測を検討する現場や技術者の参考となり、ダム貯水池における水質管理の一助になれば幸いである。

令和 6 年 4 月

一般財団法人 水源地環境センター

1) Yoshikuni Hodoki, Kato Ohbayashi, Yuki Kobayashi, Noboru Okuda, Shinichi Nakano, Temporal variation in cyanobacteria species composition and photosynthetic activity in experimentally induced blooms, JOURNAL OF PLANKTON RESEARCH, Vol.33, No.9, P1410-1416, 2011

ダム貯水池水質保全対策研究会

委員名簿

委員長	浅枝 隆	埼玉大学 名誉教授
委員	今井 章雄	埼玉県環境科学国際センター 研究所長
”	今本 博臣	独立行政法人水資源機構 総合技術センター シニアアドバイザー
”	梅田 信	日本大学工学部 教授
”	川崎 将生	国土交通省 国土技術政策総合研究所 河川研究部 水環境研究官
”	中野 伸一	京都大学 生態学研究センター センター長・教授
”	程木 義邦	中部大学 応用生物学部 環境生物科学科 准教授
”	吉村 千洋	東京工業大学 環境・社会理工学院 教授
オブザーバー	大野 良徳	国土交通省 水管理・国土保全局 河川環境課 流水管理室長
事務局	小平 卓	一般財団法人 水源地環境センター 理事 兼 水源地環境技術研究所長
	中村 伸也	一般財団法人 水源地環境センター 研究第二部長
	木村 文宣	一般財団法人 水源地環境センター 研究第二部 水質技術開発室長
	丸尾 慶樹	一般財団法人 水源地環境センター 研究第二部 上席主任研究員
	朝倉 加連	一般財団法人 水源地環境センター 研究第二部 研究員

令和6年4月時点

目 次

1. 目的.....	1
2. DCMU 蛍光法について	3
2.1. DCMU 蛍光法と F_v/F_m	3
2.2. 細胞密度と F_v/F_m	4
2.3. 測定方法及びフロー.....	5
3. 現地調査によるアオコ予測の試行（調査事例）	7
3.1. ケース 1：津久井湖（H26 年度～H27 年度）	7
3.1.1. 対象水域概要.....	7
3.1.2. 調査概要	8
3.1.3. 現地調査結果.....	10
3.1.4. アオコ予測の試行	18
3.2. ケース 2：三春ダム（H29 年度）	21
3.2.1. 対象水域概要.....	21
3.2.2. 調査概要	22
3.2.3. 現地調査結果.....	23
3.2.4. アオコ予測の試行	24
3.3. 現地調査におけるまとめ	25
4. 培養試験による藻類の増殖と F_v/F_m の関係性.....	27
4.1. 培養試験①（H28 年度：参考）	27
4.1.1. 試験条件	27
4.1.2. 試験結果	28
4.2. 培養試験②（H29 年度）	30
4.2.1. 試験条件	30
4.2.2. 試験方法	31
4.2.3. 試験結果	32
4.3. 培養試験におけるまとめ	38

5. 簡易測定機器の現場での適用可能性（参考）	40
5.1. 現地調査で併用した機器（H29 年度）	40
5.1.1. ポータブル簡易測定機器.....	40
5.1.2. 調査における使用機器	41
5.2. 測定結果	42
5.3. 簡易測定機器を用いた直線性の確認（H30 年度）	43
5.3.1. 方法	43
5.3.2. 試験結果	44
5.4. まとめと課題.....	49
6. まとめと今後の課題.....	50
6.1. Fv/Fm を用いたアオコ予測	50
6.2. 藻類の増殖フェーズと Fv/Fm の関係性	51
6.3. 簡易測定機器の適用可能性（参考）	52

1. 目的

我が国のダム貯水池では、特定の藍藻類の異常増殖に伴い、アオコによる景観障害やアオコの集積・腐敗による悪臭が問題となっている。発生する藍藻類の種類によってはカビ臭による浄水障害等が発生する場合もある。

これら富栄養化に伴う水質問題への対応策としては、曝気循環施設に代表されるような貯水池内の水質保全対策のほか、流入水に含まれる栄養塩類の除去を目的とした礫間浄化対策、流域での下水道整備や畜産排泄物の処理規制等がこれまで行われてきている。各種対策については、一定の効果が認められているが、依然として問題の解消には至っていない。

平成 23 年度に全国 242 の多目的ダム（国土交通省直轄：95 ダム（当時の全管理ダム）、水資源機構：22 ダム（当時の全管理ダム）、補助：125 ダム（各県 3 ダム程度を抽出））を対象に実施したアンケート調査¹によると、富栄養化に伴うアオコやカビ臭等の問題を経験したことのあつるダムは、全体の 26%（63 ダム）に及んでいた。平成 14 年に全国 432 ダムを対象に実施したアンケート調査においても同様の結果が得られている²ことから、我が国のダム貯水池で発生する富栄養化に伴うアオコやカビ臭の問題が深刻且つ根深いものであることが窺える。

このような現状を鑑みると、ダム貯水池で発生するアオコやカビ臭等の問題の発端となる藍藻類の異常増殖を完全に抑制することは困難であると考えられるので、その発生予兆を早期に察知し、関係機関等へ連絡・周知する等の体制も同時に用意しておくことがアオコ障害の低減のためには有効と考えられ、ダム貯水池においてアオコやカビ臭の原因となる藍藻類が異常増殖する前に、その予兆を察知するための技術的手法を確立することのニーズは高いものと推察される。しかし、藍藻類の発生は気象・水象・水質の微妙な違いに左右されることから、事前に発生予兆を察知することは極めて難しく、数週間～数ヶ月スパンでの予報を行っている事例は殆どない。

先進的な事例としては、定点設置された水質自動観測機器や同機器を船舶に設置して面的に湖内水質を収集し、予め構築した貯水池水質モデルに予測される気象・水象データとともに入力することで数週間後の水質やアオコ発生を予測する取り組み³もあるが、施設設置や維持管理にかかるコストが大きくなること、管理者自らが水質モデルを操作して予測することの難しさ等もあり、現場における管理負担が大きいことに課題があるものと推察される。

¹ 木村文宣・田中靖：カビ臭発生／非発生に着目した藍藻綱コレモ目の分類同定手法開発の試み，平成 23 年度 ダム水源地環境技術研究所 所報，2012

² 曝気循環施設及び選択取水設備の運用マニュアル(案)，国土交通省 河川局 河川環境課，P2-17-19，2005

³ 香出聡一郎・西林健一郎・酒井康彦・佐々倉諭：アオコ事前検知システムの紹介，土木学会第 64 回年次学術講演会，2009

以上のような現状や課題を解決する一手法として、アオコ現存量把握の指標として、主に藍藻類がもつ色素のフィコシアニンを定量する方法を観測手段として活用し、且つ藍藻類の増殖過程での光化学系Ⅱの代謝経路の変化に着目した現場で適用可能なアオコ発生予測手法の確立に着手した。本研究では、アオコの指標となるフィコシアニンを蛍光光度法で測定し、DCMUを用いたFv/Fm（最大量子収率）を把握することによって、アオコ予測を行う先行研究⁴をベースにし、本手法を現場へ適用するためのフィールド調査、現場での判断指標を明確にするための室内実験、現場での作業性向上を視野に簡易機器の導入へ向けた調査を行った。

本レポートは、平成26～29年度に実施したこれらの調査研究結果をとりまとめたものである。

⁴ Yoshikuni Hodoki, Kato Ohbayashi, Yuki Kobayashi, Noboru Okuda, Shinichi Nakano, Temporal variation in cyanobacteria species composition and photosynthetic activity in experimentally induced blooms, JOURNAL OF PLANKTON RESEARCH, Vol.33, No.9, P1410-1416, 2011

2. DCMU 蛍光法について

2.1. DCMU 蛍光法と Fv/Fm

本レポートで用いている DCMU 蛍光法とは、分光蛍光光度計を用いて藍藻類がもつ光合成補助色素であるフィコシアニンを励起し、その蛍光強度を測定することで、アオコの発生状況を予測するものである。

本レポートでは、アオコの指標となるフィコシアニンを用いてアオコ予測を行う方法⁴に従って実験を行った。DCMU は、3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea (別名：ジウロン) の略称であり、電子伝達反応の阻害剤として用いられる農薬である。

光合成の阻害効果がある DCMU 試薬を添加した場合の蛍光強度 (F_m) と添加しない場合の蛍光強度 (F₀) を測定し、その差分から光化学系 II の最大量子収率 (F_v/F_m) を求めることにより、光合成活性のポテンシャルを把握する。以下に、最大量子収率 (F_v/F_m) の算出式を示す。

$$\begin{aligned} F_v/F_m &= \text{光化学系 II の最大量子収率} \\ &= (F_m - F_0) / F_m \\ \text{ここで、} F_v &= F_m - F_0 \\ F_m &: \text{DCMU 添加後の蛍光強度} \\ F_0 &: \text{DCMU 添加前の蛍光強度} \end{aligned}$$

この手法を用いて、ダム貯水池での F_v/F_m を継続的にモニタリングし、F_v/F_m の増大が認められると、それ以降にアオコの原因となる藍藻類の増殖が顕著となり、アオコ現象が顕在化するものと想定される。したがって、F_v/F_m を継続監視することで、アオコ現象が顕在化する前にその予兆を察知することが可能となる。

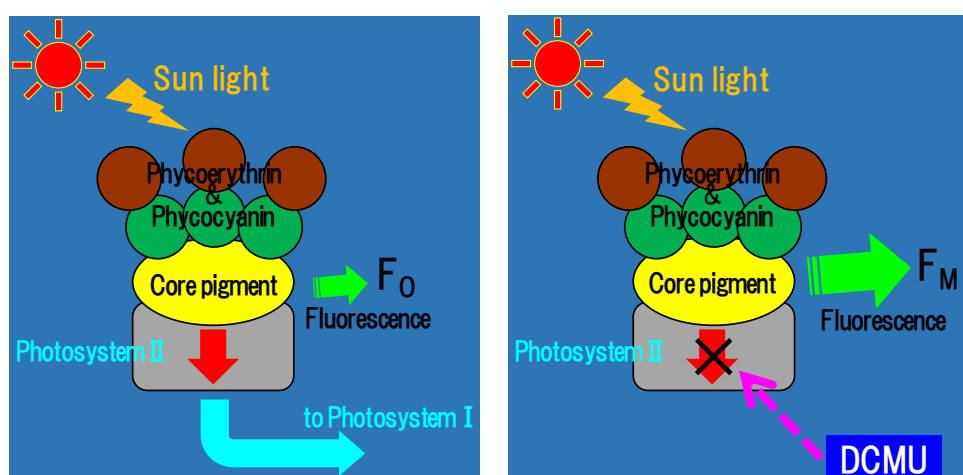


図 2-1 DCMU 蛍光法の概念図

2.2. 細胞密度と Fv/Fm

DCMU 蛍光法で得られる Fv/Fm と藍藻類の細胞密度には、図 2-2 のような関係性が見られた。詳細は後述するが、複数の *Microcystis* 属の株を用いた培養試験において、対数増殖期から定常期までの各フェーズで Fv/Fm の目安を把握することができている。

Fv/Fm が 0.5~0.7 と高い値を示すと、それ以後に増殖の可能性がある、アオコの種類によって定常期以降の Fv/Fm の挙動は異なるが、概ね Fv/Fm が 0.3 以下であればこれ以降の増殖の可能性は少ない。これらを目安として捉えることで、現場調査において測定された Fv/Fm から今後のアオコ発生を予測することが可能と考えられる。

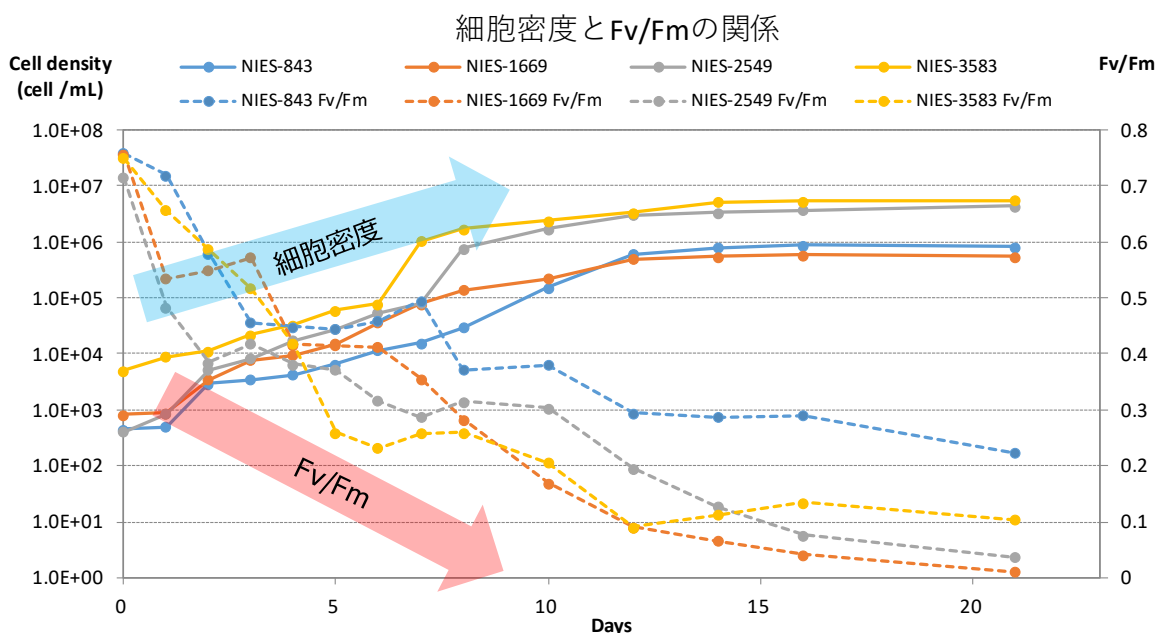


図 2-2 各種株の細胞密度と Fv/Fm の関係

2.3. 測定方法及びフロー

蛍光強度の測定には、分光蛍光光度計を用いた。試料はろ過等の操作を行わないものであるため、蛍光強度の測定時間による変化が想定されたことから、分光蛍光光度計は1試料につき1秒毎に繰り返し5回程度の測定を行った。

繰り返し測定を行って得られた値について、大きなばらつきが認められない限りは、 F_0 は平均値、 F_m は最大値を1回の測定結果とした。分析手順及びフローを以下に示す。

【分析手順】

- 1) 1回の蛍光分析に必要なサンプル量は3mLであるため、共洗い・再測などを考え50mL程度を採水した。採水後は日光の当たらない冷暗所で保管し、極力すぐに測定を行った。
- 2) サンプルを3mL分取し、測定した(F_0)。
この時、多少値が振れるため、機器にセットしたらなるべく速やかに測定を行うこととした。
- 3) サンプルを3mL分取し、DCMUを15 μ L添加する。セル上部をパラフィルム等で覆い、転倒させしっかりと混合した。
- 4) DCMU添加後、正確に30秒間で測定した(F_m)。
- 5) F_v/F_m 値を求めた。

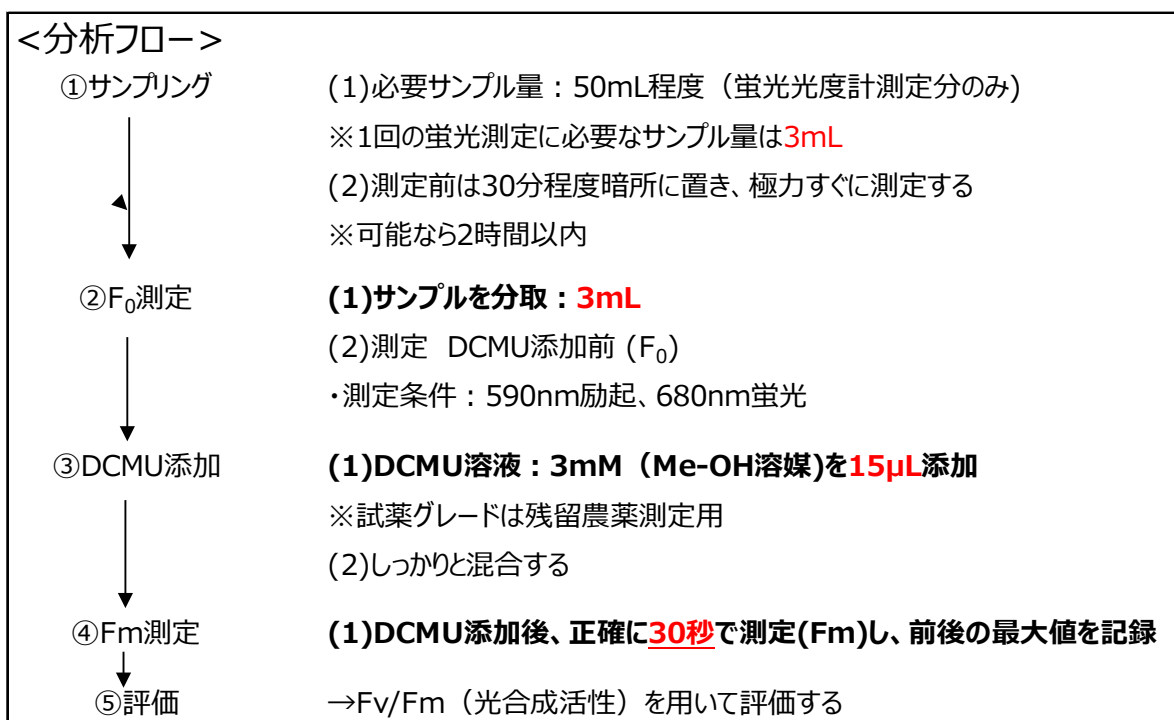


図 2-3 DUMU 蛍光法測定フロー

表 2-1 分光蛍光光度計（H26,H27 年使用）

機種名	FP-8200DS 
メーカー名	日本分光株式会社
光源	150W キセノンランプ
測定方式	単色光モニタ比演算方式
測定波長範囲	200～750nm
感度	S/N=500 以上、バンド幅 10nm(Ex,Em)
スペクトルバンド幅	2.5,5,10,20nm
波長正確さ	±2.0nm
波長繰り返し性	±1.5nm
寸法	490(W)×545(D)×270(H)mm
重量	34kg
所要電力	AC100V±10V 270VA
設置環境	周辺温度 15～35℃、湿度 85%以下

表 2-2 分光蛍光光度計測定条件（H26,H27 年使用）

機器	FP-8200DS(日本分光株)
シリアル番号	C021161448
測定モード	蛍光強度
励起側バンド幅	10nm
蛍光側バンド幅	10nm
レスポンス	0.5sec
励起波長	590nm
蛍光波長	680nm
繰り返し回数	5 回
繰り返し間隔	1sec

3. 現地調査によるアオコ予測の試行（調査事例）

異なる2箇所の現地調査において、DCMU 蛍光法を用いた現地調査を行った。いずれもアオコ発生前から調査を行い、Fv/Fm の推移と調査日におけるアオコの細胞数等の関係から、アオコ予測の試行を行ったものである。

3.1. ケース1：津久井湖（H26年度～H27年度）

3.1.1. 対象水域概要

津久井湖の概要を以下に示す。

表 3-1 津久井湖概要

形式	重力式コンクリートダム	
堤高	75.0m	
湛水面積	2.47 km ²	
総貯水容量	62,300,000 m ³	
有効貯水量	治水 54,700,000 m ³ 利水 51,200,000 m ³	
常時満水位	標高 124.0m	
完成年月日	昭和 40 年 3 月	

<http://www.pref.kanagawa.jp/cnt/f8018/p45936.html>

津久井湖とその上流にある相模湖では、1960年代からの高度経済成長に伴い、流域での宅地開発や観光開発が進み、ダム貯水池の富栄養化が進行した。その結果、1972年に初めてアオコが確認され、以降、1980年代からは夏季を中心にアオコの異常発生が頻繁に確認されるようになった。

アオコの原因となっている藍藻類は、主に *Microcystis* 属であるが、それ以外にも *Dolichospermum* (旧 *Anabena*) 属や *Aphanizomenon* 等も確認されている。*Microcystis* 属は、毎年、 $10^4 \sim 10^5$ cells/mL レベルで発生しており、多い年では 10^7 cells/mL に達することもある。

津久井湖では、以上のアオコへの対策として、1993年～1997年の間に合計9基の水質保全施設（空気揚水筒×1基、散気管×4基、流動化装置×4基）が設置された。その結果、アオコの発生量は従前よりかなり減少したが、完全に抑制されるには至っておらず、現在もほぼ毎年、アオコの発生が確認されている。^{5,6}

⁵ 県営水道の水質,神奈川県企業庁水道局, 1987～2006

⁶ 芹沢浩・雨宮隆・伊藤公紀,相模湖と津久井湖におけるアオコ異常発生現象の数理モデル解析, 技術マネジメント研究 9, 1-14, 2010

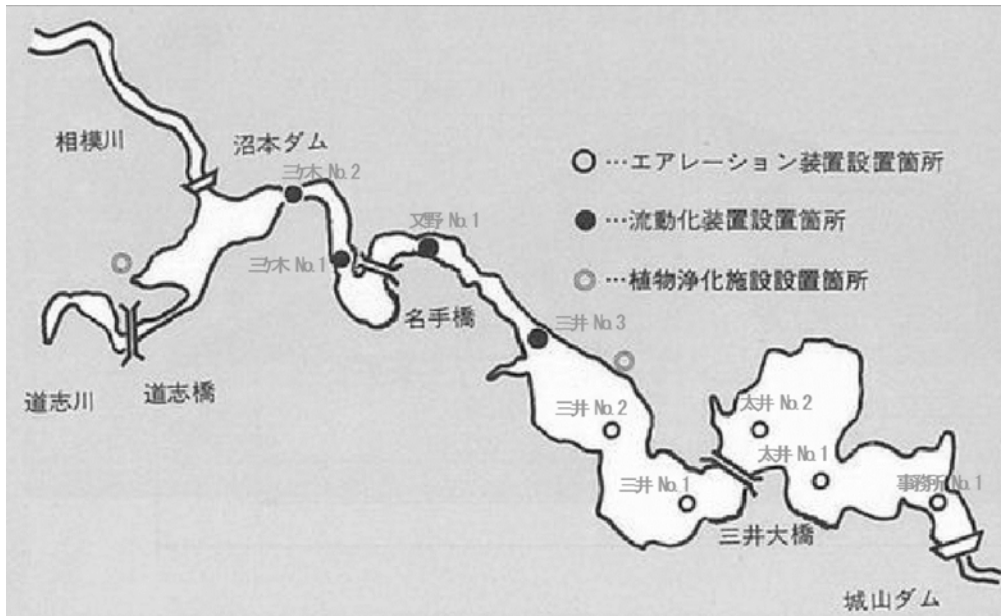


図 3-1 城山ダム(津久井湖) 水質保全施設位置図

<http://www.pref.kanagawa.jp/cnt/f8018/p45936.html>

3.1.2. 調査概要

津久井湖での現地調査は、平成 26 年、平成 27 年度に実施した。調査時期は、アオコが湖面に発生する前の 5 月頃からアオコのピーク及び衰退期となる 10 月頃まで実施した。調査頻度は、概ね 2 週間に 1 回程度とした。分析項目は水温、クロロフィル a、植物プランクトン、Fv/Fm とし、Fv/Fm は採水から 2 時間程度で蛍光分析を行った。

また、採水地点は名手橋と三井大橋の 2 箇所とし、各箇所ではアオコの検出状況や Fv/Fm の差を確認することとした。なお、名手橋は出水の影響を受けやすく且つ水質保全施設の影響を受けにくい(既往のアオコ発生報告から羅藻類が増殖しやすい)採水地点として、三井大橋は広い湖盆で出水の影響が緩和されやすく且つ水質保全施設の影響を受けやすい(藍藻類の増殖環境としては適さない)地点として各々選定した。

表 3-2 調査実施日

調査日	平成 26 年度	平成 27 年度
5 月	5/8、5/13、5/27	—
6 月	6/10、6/24	6/9、6/23
7 月	7/9、7/29	7/7、7/22
8 月	8/7、(8/14*)、8/20、8/27	8/4、8/18
9 月	9/3、9/10	9/1、9/15
10 月	—	10/6、10/21

※ H26/8/14 は Fv/Fm のみ測定を実施した



図 3-2 城山ダム(津久井湖)採水地点

3.1.3. 現地調査結果

(1) H26 年度結果

平成 26 年は、5 月から 9 月までの期間で計 13 回の調査を行った。

城山ダムでは、例年夏季に *Microcystis* 属によるアオコが発生していたが、平成 26 年度は *Dolichospermum* (旧 *Anabena*) 属及び *Aphanizomenon* 属によるアオコが主に形成された。

調査では、各調査地点で Fv/Fm がピークを示した約 1 ヶ月後に藍藻類が増加していることが確認された。

以下に調査結果の概要を示す。

- ・ 6 月初旬には降雨の影響により大規模な出水があった。これにより、湖水に栄養塩が供給された。その後、徐々に気温が高くなり、日照時間が長くなったことで藻類が増加した。
- ・ 6 月には、*Ceratium hirundinella* による淡水赤潮も混在して見られた。このため、7 月以降に確認されたアオコのうち *Microcystis* 属によるアオコは比較的少なく、*Aphanizomenon* 属によるアオコが多く確認された。ただし、いずれも同じ藍藻類であったことから、Fv/Fm を用いた評価が可能であった。
- ・ Fv/Fm は、名手橋及び三井大橋ともに 6 月中旬から 7 月中旬に上昇した。名手橋では 8 月上旬に一旦低下し、三井大橋では増減が見られた。いずれも 8 月末に再び上昇したが、9 月には低下した。
- ・ 藍藻類の現存量はいずれの地点でも大きな差は見られなかったが、三井大橋の方が Fv/Fm の増減がゆるやかな傾向であった。
- ・ 藍藻類は 7 月から徐々に増加し 8 月末にピークとなり、藍藻類の増加から増殖ピークが概ね捉えられ、Fv/Fm が増殖ピークに先駆けてピークを示したことから、夏季の藍藻類によるアオコ発生約 1 ヶ月前の予測の可能性が示された。
- ・ 一般的に富栄養化したダム湖では、夏季には藍藻類によるアオコが発生するが、淡水赤潮等が混在する可能性もある。淡水赤潮種は藍藻類に比べて大型であるため、同列に細胞数で量を把握することは難しい。そこで今回のように体積による現存量把握をあわせて実施することも考えらえる。
- ・ 藍藻類によるアオコの場合、Fv/Fm によるアオコ予測が可能である。併せて、フィコシアニン濃度の定量まで行えばアオコの現存量の把握も可能と考えられる。

表 3-3 H26 年度調査結果

調査回数	地点 採水日	名手橋						三井大橋					
		クロロフィルa量 μg/L	Fv/Fm 590-680 フコシアニン	植物プランクトン				クロロフィルa量 μg/L	Fv/Fm 590-680 フコシアニン	植物プランクトン			
				細胞数/mL		体積mm ³ /L				細胞数/mL		体積mm ³ /L	
				合計	藍藻類	合計	藍藻類			合計	藍藻類	合計	藍藻類
1	2014/5/8	6.9	0.32	284	0	0.67	0.00	<2	0.41	185	0	0.68	0.001
2	2014/5/13	34.5	0.26	3,674	0	2.31	0.00	5.2	0.24	2,867	2,600	1.28	0.191
3	2014/5/27	6.0	0.29	312	0	0.67	0.00	3.9	0.36	2,895	2,755	0.61	0.181
4	2014/6/10	7.0	0.40	1,744	0	1.87	0.00	16.0	0.30	6,375	0	2.15	0.001
5	2014/6/24	24.2	0.64	4,738	0	6.83	0.00	7.9	0.32	649	43	0.95	0.003
6	2014/7/9	69.9	0.73	13,554	1,200	17.31	0.08	48.2	0.45	2,367	20	4.22	0.003
8	2014/8/7	34.7	0.51	25,162	24,480	8.13	2.95	88.9	0.45	29,714	28,575	30.90	8.426
9	2014/8/14	-	0.41	-	-	-	-	-	0.61	-	-	-	-
10	2014/8/20	103.0	0.41	43,904	42,750	27.92	5.13	26.2	0.41	20,868	18,818	10.72	2.239
11	2014/8/27	144.0	0.58	92,841	90,900	53.27	10.91	50.9	0.64	69,240	68,655	16.19	8.231
12	2014/9/3	233.0	0.35	186,162	183,600	65.37	22.03	101.0	0.39	156,246	155,055	26.10	18.579
13	2014/9/10	187.0	0.38	183,024	179,955	60.53	21.56	105.0	0.34	157,260	154,845	30.63	18.563

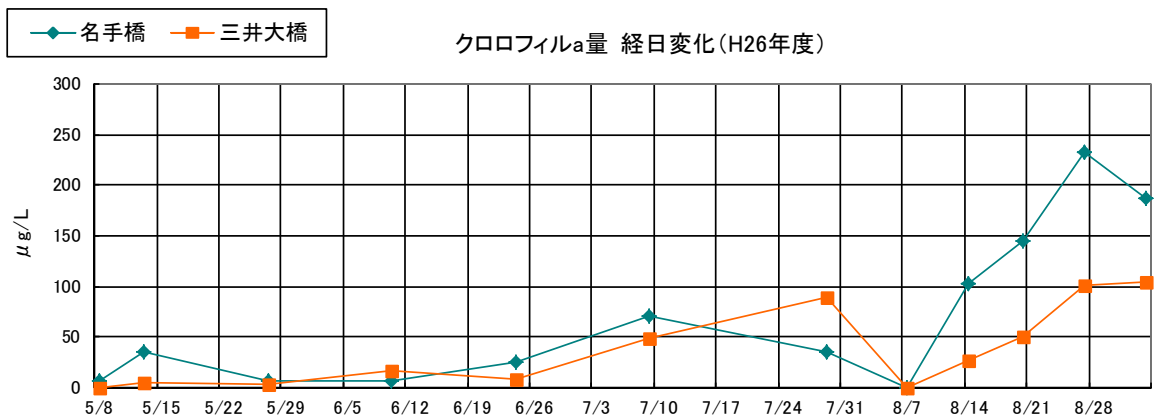
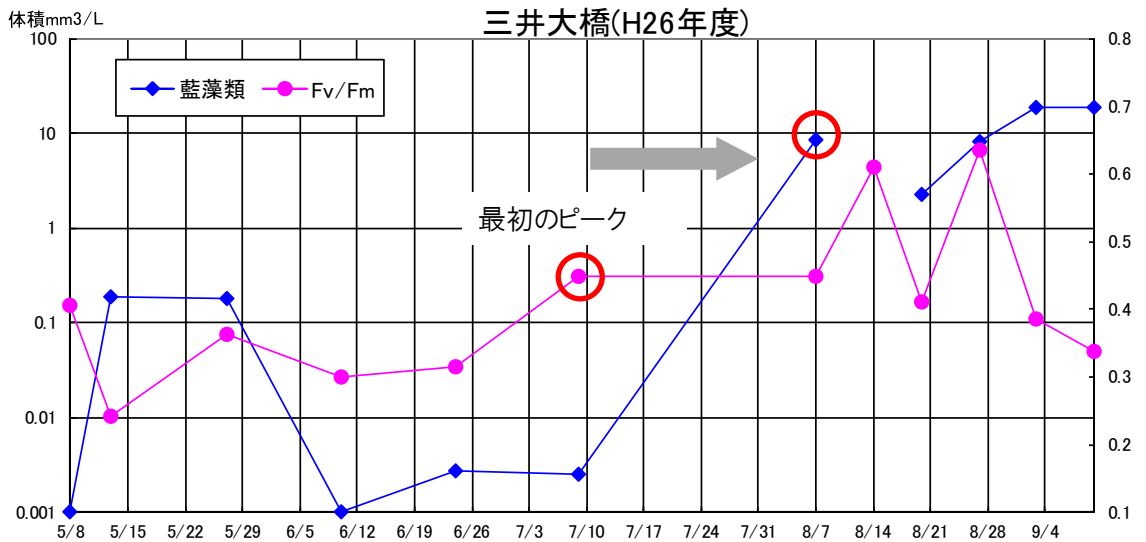
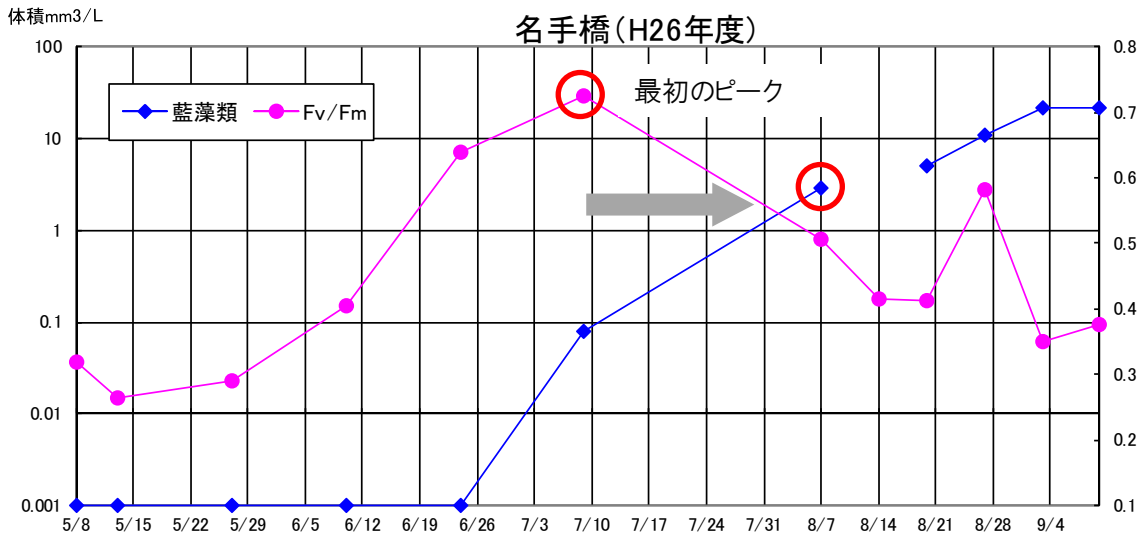


図 3-3 H26 年度調査結果 (1)

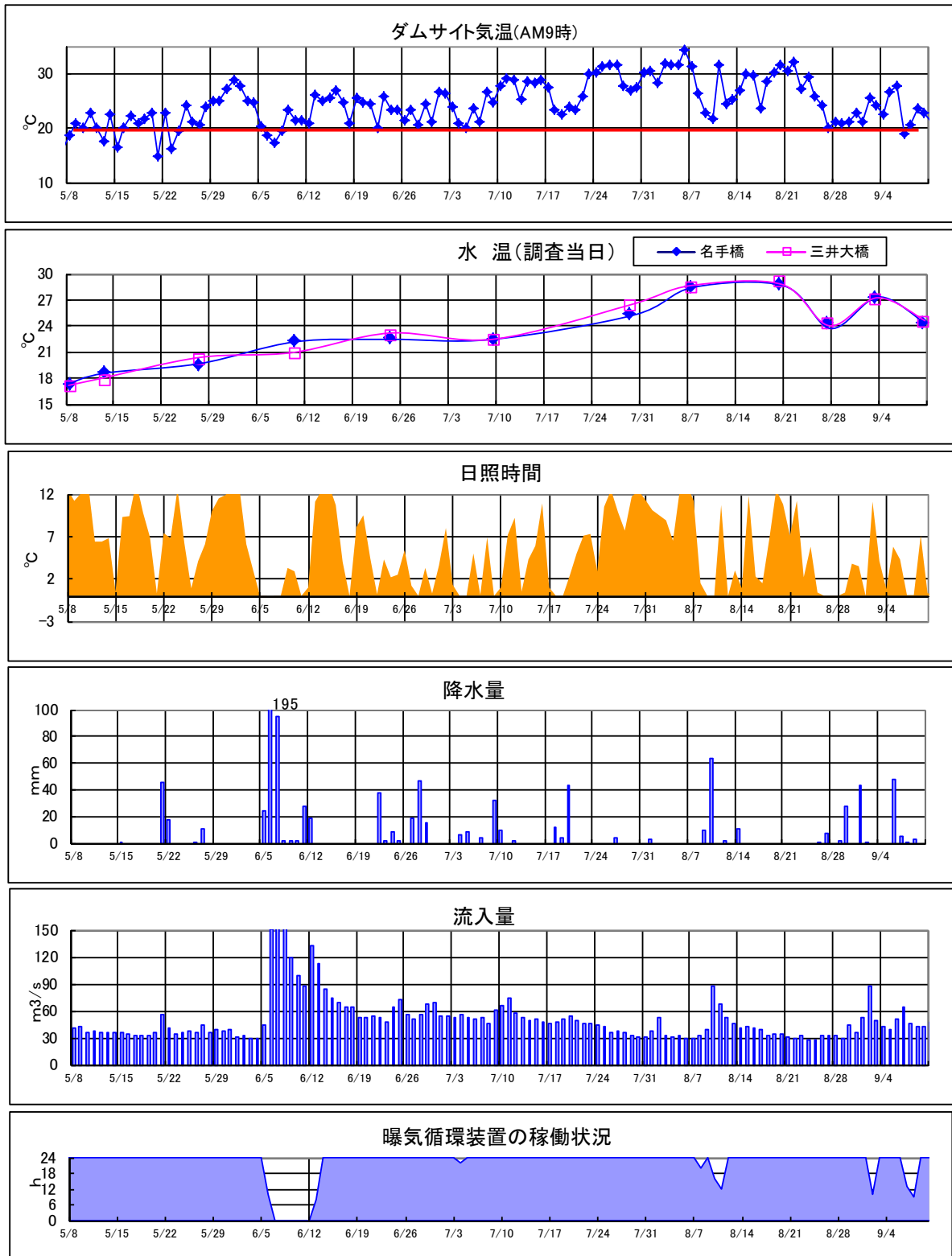


図 3-4 H26 年度調査結果 (2)

(2) H27 年度結果

平成 27 年は、6 月から 10 月までの期間で計 10 回の調査を行った。

城山ダムでは、例年夏季に *Microcystis* 属によるアオコが発生していたが、平成 26 年度は *Dolichospermum* (旧 *Anabena*) 属及び *Aphanizomenon* 属によるアオコが主に形成されており、*Microcystis* 属 によるアオコは少なかった。平成 27 年度については、7 月から 9 月に台風による降雨が多くなった影響で、9 月までアオコはほとんど確認されなかった。

以下に調査結果の概要を示す。

- ・ 名手橋では 6~7 月に *Microcystis* 属が、三井大橋では *Dolichospermum* (旧 *Anabena*) 属が 10^3 細胞数/mL レベルで確認された。しかしその後 7 月中旬の台風 11 号による影響で $100\text{m}^3/\text{s}$ を超える出水が 6 日間続き、それ以降湖水中のアオコ等藍藻類は 9 月になるまでわずかに出現したのみであった。
- ・ Fv/Fm はいずれの地点でも 6 月に高い値を示したが、その後藍藻類は確認されなかった。また、7 月末には降雨の影響により著しく低下した。
- ・ 名手橋では平成 26 年度調査結果と同様に、Fv/Fm のピークから 3~4 週間後に藍藻類のピークとなる傾向が見られた。
- ・ 藍藻類の推移はいずれの地点でも大きな差は見られなかったが、Fv/Fm の数値は名手橋の方が三井大橋に比べて変動幅が大きく、三井大橋は比較的増減が緩やかな傾向であった。
- ・ 平成 27 年度の調査では、Fv/Fm が高い状態が見られたものの、その後、降雨等の気象条件の影響を受けてアオコは確認できなかった。
- ・ Fv/Fm と藍藻の関係については、小池 (2011)⁷によれば最大 Fv/Fm は、0.6 以上は対数増殖期、0.5 以下で定常期~減衰期、0.4 以下でほとんど増殖の可能性がないと報告されている。このことから、名手橋で 6 月末に見られた Fv/Fm のピークは、対数増殖期にあったと考えられ、気象条件が安定していればアオコの大発生に至った可能性が高いと考えられる。

⁷ 小池一彦,光合成活性を指標とした新奇有害プランクトン増殖予知手法の開発,広島大学大学院,2011

表 3-4 H27 年度調査結果

調査回数	採水日	地点 項目	名手橋						三井大橋					
			クロロフィルa量 μg/L	Fv/Fm 590-680 フィコシアニン	植物プランクトン				クロロフィルa量 μg/L	Fv/Fm 590-680 フィコシアニン	植物プランクトン			
					細胞数/mL		体積mm ³ /L				細胞数/mL		体積mm ³ /L	
					合計	藍藻類	合計	藍藻類			合計	藍藻類	合計	藍藻類
1	2015/6/9		81.5	0.45	10.768	0	14.23	0.000	80.2	0.57	4.038	0	14.75	0.000
2	2015/6/23		133.0	0.64	9.690	8.250	15.46	0.697	35.3	0.48	998	20	2.44	0.003
3	2015/7/7		32.2	0.27	1.910	1,574	4.09	0.153	26.8	0.39	8,358	7,758	6.73	0.921
4	2015/7/22		2.1	0.23	346	0	0.35	0.000	19.6	0.40	5,752	0	2.97	0.000
5	2015/8/5		7.5	0.67	2,865	0	1.08	0.000	7.1	0.39	1,506	0	1.51	0.000
6	2015/8/18		16.9	0.26	12,162	0	0.83	0.000	19.4	0.23	9,009	27	1.41	0.000
7	2015/9/1		2.6	0.29	299	55	0.05	0.004	2.8	0.44	278	66	0.36	0.004
8	2015/9/15		24.1	0.31	1,174	0	3.55	0.000	13.4	0.22	2,649	17	2.07	0.000
9	2015/10/6		21.8	0.23	7,781	354	2.10	0.018	5.6	0.14	613	0	0.37	0.000
10	2015/10/21		14.9	0.35	2,232	36	1.82	0.005	15.5	0.36	4,217	73	4.05	0.005

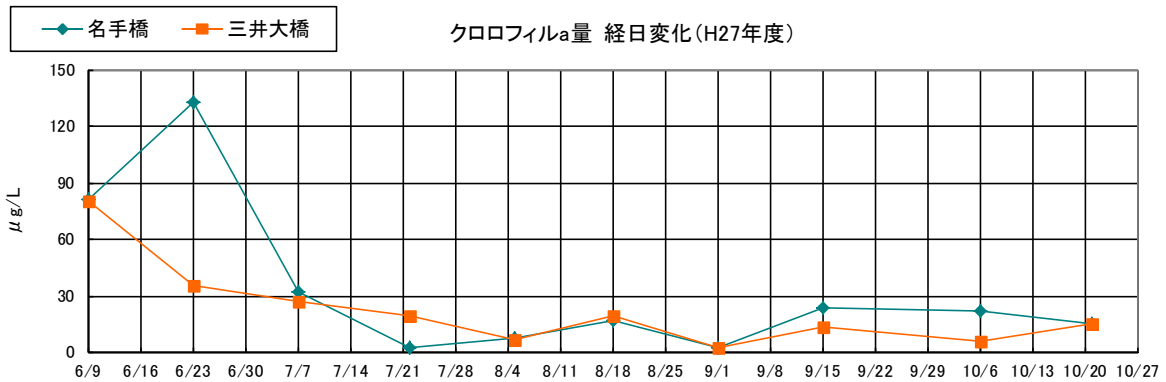
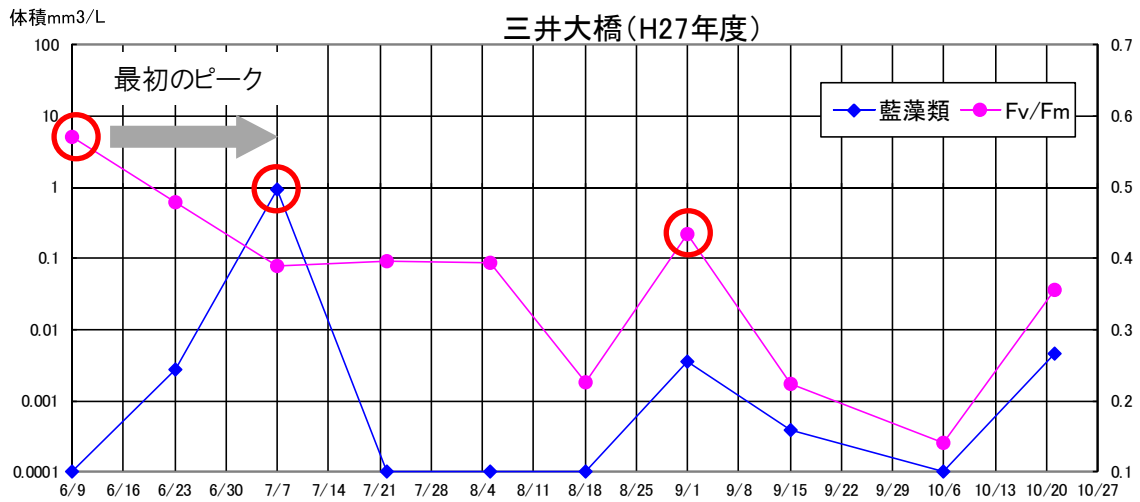
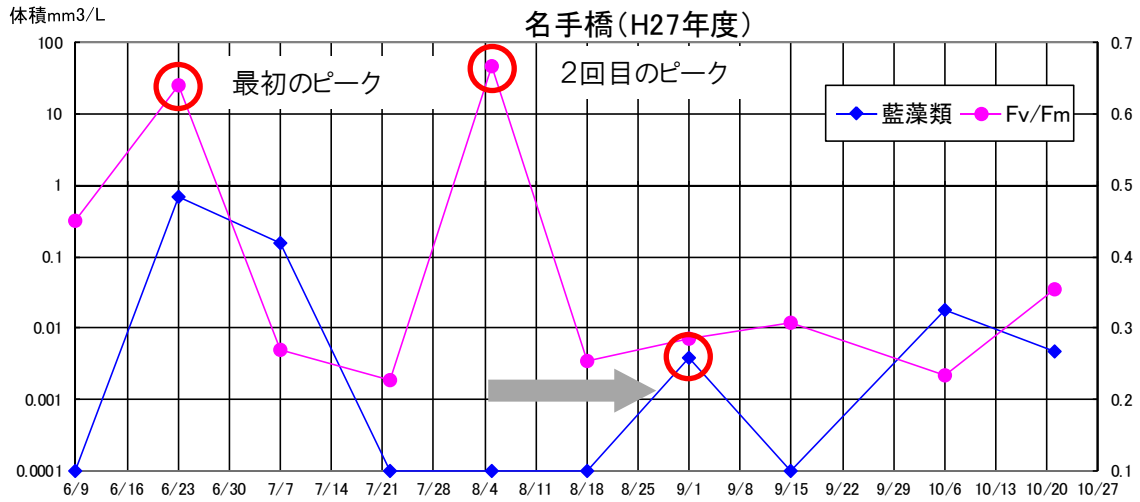


図 3-5 H27 年度調査結果 (1)

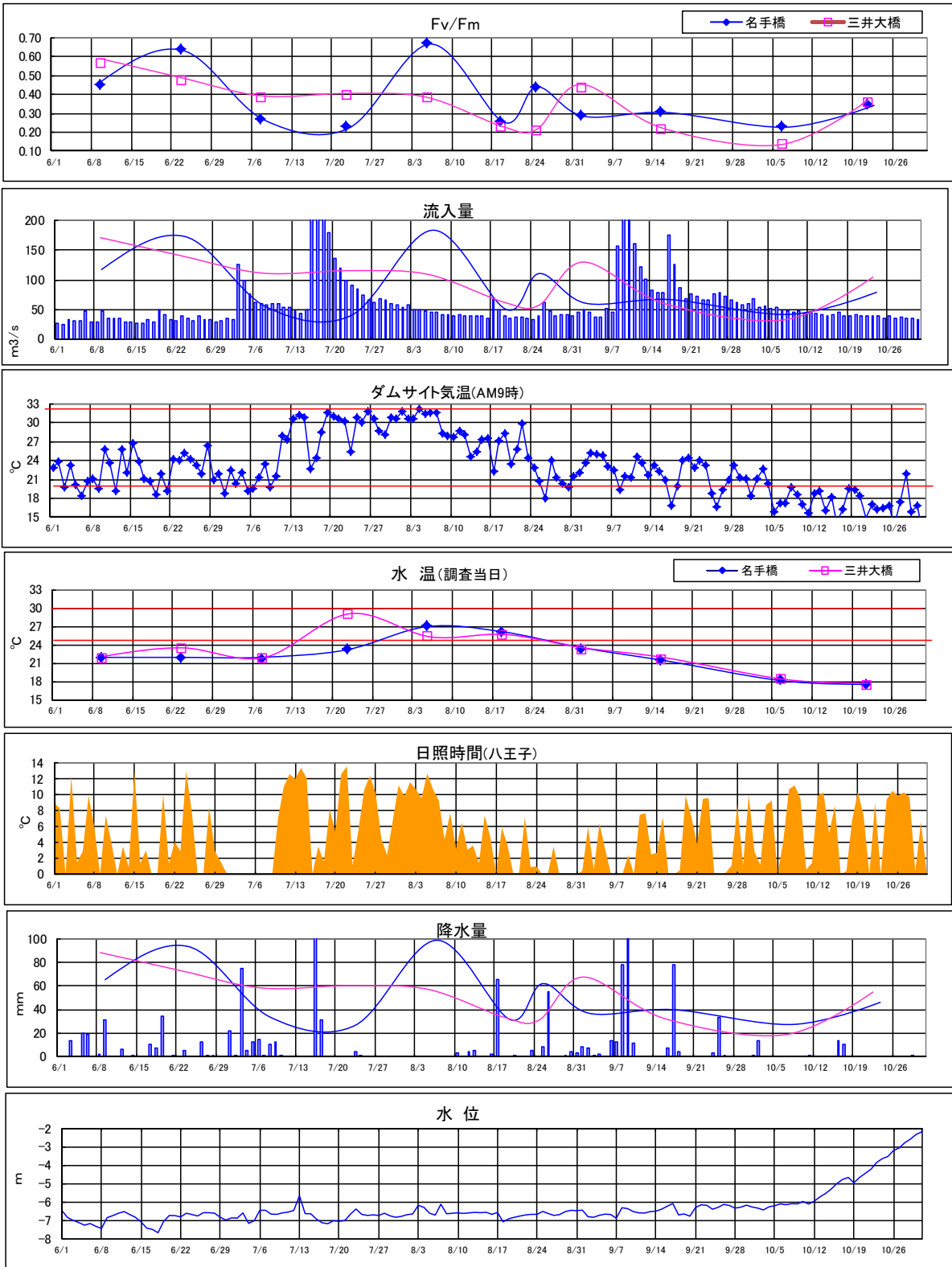


図 3-6 H27 年度調査結果 (2)

3.1.4. アオコ予測の試行

調査で得られた Fv/Fm と植物プランクトンの関係から、アオコ予測の可能性について検討し、以下に整理した。

アオコ予測の手法に係る整理を行ったが、これは調査結果を整理した後で Fv/Fm の変化と藻類の消長を比べて得られたものである。

アオコは、*Microcystis* 属、*Dolichospermum* (旧 *Anabena*) 属、*Aphanizomenon* 属を含む藍藻類によるものとした。平成 26 年、平成 27 年といずれも *Microcystis* 属のアオコではなかったが、DCMU 蛍光法では、藍藻類の持つフィコシアニン色素に対して有効であるため、いずれの属であっても予測可能であると考えられることから、予測的整理を行った。

(1) H26 年度

表 3-5 アオコ予測手法の可能性に係る整理 (H26 年度)

月日	Fv/Fm	藍藻類		予測的整理	
		細胞数 /mL	体積 mm ³ /L		
5月	8日	0.32	0	0	◆Fv/Fmは三井大橋でやや高めだが、比較的低い。
	13日	0.41	0	0	
	27日	0.26	0	0	◆三井大橋で <i>Dolichospermum</i> (旧 <i>Anabena</i>) 属が見られた。 ◆Fv/Fmは三井大橋でも低下し、いずれの地点でも低い状態。
	27日	0.24	2,600	0.191	
6月	10日	0.29	0	0	◆大きな変化はなし。
	10日	0.36	2,755	0.181	
	24日	0.40	0	0	◆6/6に降雨により100m ³ /sを超える流入があり、藍藻類は見られない。 ◆名手橋でややFv/Fmが上昇。
	24日	0.30	0	0	
7月	9日	0.64	0	0	◆名手橋でFv/Fmが上昇。流入により、栄養塩が豊富であるため、アオコが増殖する可能性高い。三井大橋は大きな変化なし。
	9日	0.32	43	0.003	
	29日	0.73	1,200	0.079	◆名手橋でFv/Fmが高くピークに近い。アオコは増殖期にある。今後、アオコが大発生する可能性あり。
	29日	0.45	20	0.003	
8月	7日	0.66	6,525	0.825	◆名手橋でFv/Fmが高くピークに近い。 <i>Microcystis</i> 属が見られた。 ◆アオコ(<i>Dolichospermum</i> 属)が10 ⁴ cells/mLに達した。
	7日	0.45	7,110	1.164	
	14日	0.51	24,480	2.946	◆Fv/Fmは名手橋でやや低下、三井大橋は変化なし。 ◆アオコ(<i>Dolichospermum</i> 属, <i>Aphanizomenon</i> 属)が増加し10 ⁵ cells/mLに達した。いずれの地点でも <i>Microcystis</i> 属が見られた。
	14日	0.45	28,575	8.426	
9月	20日	0.41	—	—	◆名手橋のFv/Fmは低下している。 ◆三井大橋のFv/Fmが高くピークに近い。
	20日	0.61	—	—	
	27日	0.41	42,750	5.130	◆いずれの地点でもFv/Fmは低下。今後アオコは低下か。 ◆ <i>Dolichospermum</i> 属が低下し、 <i>Aphanizomenon</i> 属が優占。
	27日	0.41	18,818	2.239	
9月	3日	0.58	90,900	10.903	◆いずれの地点でもFv/Fm高くピークに近い。アオコは増殖している。今後更に増殖する可能性大きい。
	3日	0.64	68,655	8.231	
	10日	0.35	183,600	22.032	◆Fv/Fmが著しく低下。気温、水温共に依然として高いため、現状維持か。今後衰退期を迎える。
10日	0.39	155,055	18.579		
9月	10日	0.38	179,955	21.560	◆引き続き安定した気象条件。Fv/Fmは前回と同程度であり、更に増殖する可能性は低い、衰退期はまだ先の可能性あり。
	10日	0.34	154,845	18.563	

* 上段:名手橋 下段:三井大橋

* 赤字:Fv/Fmが0.5以上の値

(2) H27 年度

表 3-6 アオコ予測手法の可能性に係る整理 (H27 年度)

月日		Fv/Fm	藍藻類		予測的整理
			細胞数 /mL	体積 mm ³ /L	
6 月	9 日	0.45	0	0	◆Fv/Fmは高い。湖水中にアオコは確認されないが、順調な増殖過程にある。
		0.57	0	0	
	23 日	0.64	8,250	0.7	◆Fv/Fm 高くピークに近い。アオコは対数増殖期にある。 名手橋は 10 ³ 細胞数/mL レベルで、天候安定していれば 7 月上旬までには 10 ⁴ 細胞数/mL に達する可能性あり。 ◆三井大橋は前回よりは低下したものの、7 月上旬にアオコ 10 ³ 細胞/mL に達する可能性あり。
	0.48	20	0.003		
7 月	7 日	0.27	1,574	0.2	◆7/3 に 100m ³ /s 超える流入があり、Fv/Fm は低下。アオコは 10 ³ 細胞数/mL を維持したが、Fv/Fm 低下したのでアオコも減少する可能性あり。
		0.39	7,758	0.92	
	22 日	0.23	0	0	◆名手橋 Fv/Fm 低下、三井大橋は維持、いずれもアオコ確認されない。 ◆7/16 に台風 11 号による記録的大雨、流入量連日 100m ³ /s 以上で湖水大きく入れ替り、数週間はアオコの発生が見られない可能性高い。
	0.40	0	0		
8 月	5 日	0.67	0	0	◆Fv/Fm 高くピークに近い。アオコは再び増殖期にある。栄養塩も供給され豊富であり、数週間後にはアオコ発生の可能性あり。
		0.39	0	0	
	18 日	0.26	0	0	◆8/17 に 50m ³ /s 超える流入量があったため、Fv/Fm も著しく低下。アオコも増えていない。◆しかし今後気象が安定すれば再び増殖する可能性高い。
	0.23	27	0		
9 月	1 日	0.29	55	0.004	◆8 月末に気温 20℃以下に低下したが台風等はなく比較的安定、Fv/Fm はやや上昇し、アオコも若干確認された。増殖初期段階。 ◆残暑が長いので、2 週間ほど気象安定するとアオコが増える可能性あり。
		0.44	66	0.004	
	15 日	0.31	0	0	◆9 月中旬に台風があり、流入量 100m ³ /s 以上が約 1 週間続く。このまま終息の可能性大きい。
	0.22	17	0		
10 月	6 日	0.23	354	0.02	◆Fv/Fm さらに低下したが名手橋にはアオコが増加。日照時間長く安定した気象が 2 週間ほど継続中。このまま衰退か。
		0.14	0	0	
	21 日	0.35	36	0.005	◆引き続き日照時間長く安定した気象条件継続。Fv/Fm は上昇し、少ないがアオコも確認されている。衰退期が延びる可能性あり。
	0.36	73	0.005		
11 月	中 旬	・湖水中に肉眼でアオコの粒が多数確認できた (<i>Microcystis</i> 属 の大きな群体と <i>Anabaena</i> 属の束によるもの)。 ・安定した気象条件下における記録的な高温により、アオコの衰退時期が延びている状況と考えられる。			

* 上段: 名手橋、下段: 三井大橋 11 月記載内容は参考


* 赤字: Fv/Fm が 0.5 以上の値

3.2. ケース 2：三春ダム（H29 年度）

3.2.1. 対象水域概要

三春ダムの概要を以下に示す。

表 3-7 三春ダム概要

形式	重力式コンクリートダム	
堤高	EL.336m	
湛水面積	2.9 km ²	
総貯水容量	42,800,000 m ³	
利水容量	洪水期 8,000,000 m ³ 非洪水期 19,800,000 m ³	
最低水位	標高 308.8m	
完成年月日	平成 10 年 3 月	

<http://www.thr.mlit.go.jp/miharu/introduction/index.html>

三春ダムは、流域に人口約 3 万人の田村市を抱える典型的な「里ダム」であり、富栄養化は避けられず、何らかの水質障害が発生する恐れがあるダム貯水池であると計画時点から予測されていた。実際に、管理開始当初より *Microcystis* 属、*Dolichospermum* (旧 *Anabena*) 属によるアオコはほぼ毎年発生しており、平成 26 年からは *Aphanizomenon* 属も確認されるようになった。

このような状況のため、ダム建設段階から流域も含めた詳細な水質調査と水質補足を行い、種々の水質保全対策施設を導入し、これまでそれらの運用を実施してきた。その結果、毎年のアオコ発生はあるものの、深刻な水質問題は発生していない。なお、近年はアオコ対策強化を目的に水質保全施設の増設等が計画されている。

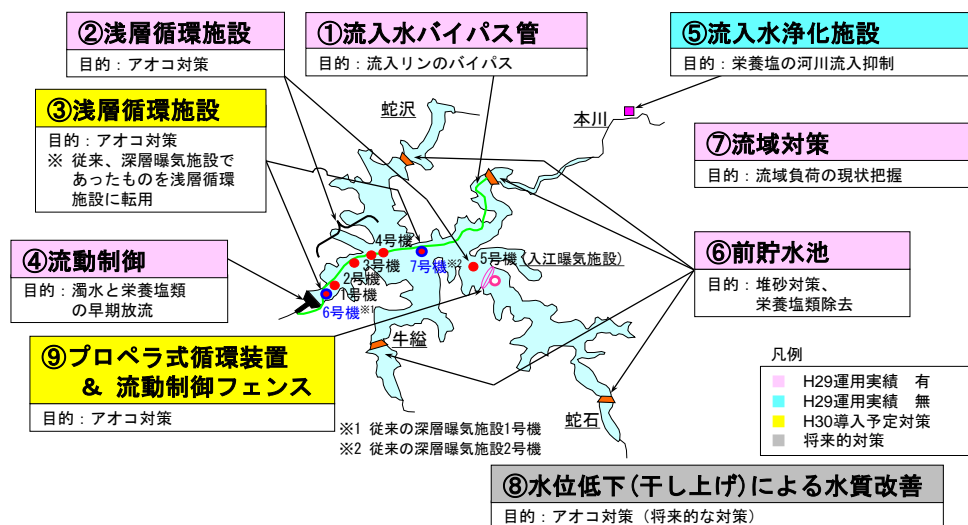


図 3-7 三春ダム(さくら湖) 水質保全施設位置図

3.2.2. 調査概要

平成 29 年度は三春ダムにて現地調査を行った。調査時期は、アオコが湖面に発生する前の時期として 6 月頃からアオコが見られる 8 月まで実施した。概ね 2 週間に 1 回程度の頻度とし、全 6 回の調査を行った。

分析項目は水温、クロロフィル a、植物プランクトン、Fv/Fm とし、Fv/Fm は採水から 2 時間程度で蛍光分析を行った。

また、採水地点はダムサイトと不動滝橋とし、不動滝橋は出水の影響を受けやすい採水地点として、ダムサイトは出水の影響が緩和されやすい地点として、アオコの検出状況や Fv/Fm の差を確認することとした。

表 3-8 調査実施日

平成 30 年度	回数	調査日
6 月	3 回	6/7、6/20、6/26
7 月	2 回	7/12、7/31
8 月	1 回	8/7



図 3-8 三春ダム採水地点

3.2.3. 現地調査結果

三春ダムでは、毎年アオコが見られており、*Dolichospermum* (旧 *Anabena*) 属が 6 月下旬頃に発生し、その後、*Microcystis* 属が発生する傾向がある。平成 29 年度は、*Microcystis* 属が 7 月下旬頃から高い密度で発生した。平成 29 年度調査では、アオコの発生までの期間でモニタリングを行うことができおり、Fv/Fm の上昇から 1 週間から 1 ヶ月程度とばらつきが見られたものの、アオコの発生が確認された。以下に結果の概要を示す。

- ・ 本調査においてアオコ予測手法の検討では、アオコが発生する 1~3 週間前に Fv/Fm が高い値を示したことから、予測手法として有効と考えられる。
- ・ アオコ予測手法の適用においては、Fv/Fm 測定による数値変動だけでなく、気象・水理条件等を踏まえて測定データを整理する必要がある。
- ・ Fv/Fm は、藍藻類の細胞数がある程度存在している場合には比較的高い値を示していることから、細胞数の増加によっても高くなる傾向が見られる。ただし、細胞数が多数存在している状況下においても、衰退期前に Fv/Fm は低下すると考えられることから、調査等によりデータを蓄積することが望ましい。
- ・ 調査期間中の 6 月~7 月上旬には、降雨の影響、気温及び水温が低い状態、天候等の気象条件の影響を受けてアオコはほとんど見られなかった。
- ・ Fv/Fm は、測定のタイミングに依存するため、実際に現場で用いる場合は、対象水域の Fv/Fm の変動幅を把握した上で、ある程度短い継続した間隔（1 週間に 1~2 回等）で測定を行うことが望ましい。

3.2.4. アオコ予測の試行

アオコの発生は、増殖フェーズの初期・対数増殖期・定常期・衰退期として区分される。三春ダムでは、夏期（6月～10月）にアオコが発生する傾向がある。

本調査においては、6月～8月にかけて1～3週間に1度測定されたFv/Fmデータを用いて、アオコ予測手法の可能性について検討し、以下に整理した。

表 3-9 アオコ予測手法の可能性に係る整理（H29年度）

月日	Fv/Fm	藍藻類		予測的整理
		細胞数 /mL	体積 mm ³ /L	
6 月 日	0.28	0	0	◆Fv/Fmは低い。まだ湖水中にアオコは確認されない。
	0.16	0	0	
	20 日	0.39 0.59	450 74	0.015 0.002
26 日	0.42	1,100	0.037	◆Fv/Fmはダムサイトでほぼ横ばい、不動滝橋では低下したが低い水準ではない。 ◆いずれの地点でもアオコが10 ³ cells/mLに達したが、Fv/Fmが横ばいまたは、低下していたためこれ以上の増殖は起こらない可能性あり。
	0.38	2,200	0.074	
7 月 日	0.47	50	0.002	◆気温、水温が高くなり、日照時間も増加し、アオコが増殖しやすい環境。 ◆Fv/Fmはダムサイトで横ばい、不動滝橋では再び高くなり、アナベナに加えて <i>Microcystis</i> 属が見られるようになった。 ◆不動滝橋のアオコは10 ³ cells/mLに継続して維持されており、今後 <i>Dolichospermum</i> (旧 <i>Anabena</i>)属に替わって <i>Microcystis</i> 属が優占種となり、10 ⁴ cells/mLに達する可能性高い。
	0.57	2,760	0.123	
31 日	0.62	3,410	0.163	◆Fv/Fmはいずれの地点でも高くピークとなり、 <i>Dolichospermum</i> (旧 <i>Anabena</i>)属に替わって <i>Microcystis</i> 属が増殖期にある。 ◆7月29日に日平均19.9m ³ /日の小規模な出水があり、栄養塩が供給され豊富であることから、今後更にアオコは増殖し10 ⁴ cells/mLに達する可能性高い。
	0.67	9,150	0.441	
8 月 日	0.67	16,650	1.04	◆継続してFv/Fm高くピークに達しており、アオコは増殖期にある。 ◆7月下旬に栄養塩が供給されたばかりであることから、衰退期はまだ先と推察される。今後更に、アオコが増殖し大発生に至る可能性高い。
	0.70	18,390	1.14	

* 上段:ダムサイト 下段:不動滝橋

* 赤字:Fv/Fmが0.5以上の値

3.3. 現地調査におけるまとめ

アオコ発生前の 5 月頃からアオコ衰退期の 10 月頃までの期間において、主にアオコ発生の目安となる Fv/Fm （光合成の最大収率）、植物プランクトン（藍藻類）、クロロフィル a 等を測定し、 Fv/Fm と植物プランクトン等の関係性を整理する現地調査を平成 26 年、27 年、29 年の 3 年間にわたり実施した。以下に 3 ヶ年の調査結果から得られた知見をまとめる。

- ・ ケース 1（H26,H27：津久井湖）では、 Fv/Fm が高い値を示した約 1 ヶ月後にアオコが確認された。一方、ケース 2（H29：三春ダム）では、 Fv/Fm が高い値を示した約 1～3 週間後にアオコが確認された。
- ・ 各ケースで Fv/Fm のピークからアオコが確認されるまでの期間に違いが認められたが、これはダム貯水池の環境条件や測定のタイミングによって左右されることが原因と考えられ、事例を蓄積することで精度が高めることができるものと想定される。
- ・ Fv/Fm によるアオコの発生予測は、測定のタイミングに依存する可能性があるため、実際に現場で適用する際には、対象水域の Fv/Fm の変動特性（ Fv/Fm の上限値～下限値の幅、変化が生じやすい期間等）を把握した上で、変化把握に適した期間にできる限り密な間隔（1～2 回/週程度）で測定を行うことが望ましい。
- ・ アオコが継続的に発生している状況下では、 Fv/Fm は比較的高い値を維持している場合もあれば低下する場合も見られた。これは、現存しているアオコの状態が増殖期・定常期である（ Fv/Fm が比較的高い値を維持）か、衰退期である（ Fv/Fm が低下）かによって異なるものと考えられるが、その判断には継続的なモニタリングが必要と考えられる。
- ・ アオコ発生の予測に際しては、降雨に伴う出水（栄養塩供給）や好天・気温上昇（水温上昇や成層形成）等は、藻類増殖に大きく影響を与えることから、 Fv/Fm だけでなく気象・水理条件等の他の要素も踏まえて測定データを整理する必要がある。
- ・ Fv/Fm と増殖速度の関係をみると、 Fv/Fm が 0.5 以上の場合に比較的増殖速度も大きな値を示しており、大まかな比例関係が認められた。但し、今回の調査結果は、ランダムな調査日毎に増殖速度を求めたものであるため、調査日間の環境条件の影響や調査日設定によるタイムラグを含んでいることから、更なるモニタリングによる裏付けが必要である。
- ・ 富栄養化したダム貯水池では、夏季には藍藻類によるアオコ発生と同時期に淡水赤潮等も発生する場合もある。淡水赤潮の原因となる藻類種は、藍藻類に比べて大型であり、同列に細胞数で量を把握することは難しい。そこで今回のように生体積による現存量把握をあわせて実施することも重要である。
- ・ アオコ予測の精度を高めるためには、 Fv/Fm によるアオコ予測に加えて、フィコシアニン濃度の定量を行い、アオコ現存量を把握することが有効である。

表 3-10 Fv/Fm と調査日における増殖速度

年度	名手橋	Fv/Fm	藍藻類 cells/mL	増殖速度 day ⁻¹	経過日数 day
H26	2014/5/8	0.32	10	0.000	5
	2014/5/13	0.26	10	0.000	14
	2014/5/27	0.29	10	0.000	14
	2014/6/10	0.40	10	0.000	14
	2014/6/24	0.64	10	0.319	15
	2014/7/9	0.73	1,200	0.104	29
	2014/8/7	0.51	24,480	-1.115	7
	2014/8/14	0.41	10	1.393	6
	2014/8/20	0.41	42,750	0.108	7
	2014/8/27	0.58	90,900	0.100	7
H27	2014/9/3	0.35	183,600	-0.003	7
	2014/9/10	0.38	179,955		
	2015/6/9	0.45	10	0.480	14
	2015/6/23	0.64	8,250	-0.118	14
	2015/7/7	0.27	1,574	-0.337	15
	2015/7/22	0.23	10	0.000	14
	2015/8/5	0.67	10	0.000	13
	2015/8/18	0.26	10	0.122	14
	2015/9/1	0.29	55	-0.122	14
	2015/9/15	0.31	10	0.170	21
H29	2015/10/6	0.23	354	-0.152	15
	2015/10/21	0.35	36		
	2017/6/7	0.28	10	0.293	13
	2017/6/20	0.39	450	0.149	6
	2017/6/26	0.42	1,100	-0.193	16
	2017/7/12	0.47	50	0.222	19
	2017/7/31	0.62	3,410	0.227	7
	2017/8/7	0.67	16,650		

年度	三井大橋	Fv/Fm	藍藻類 cells/mL	増殖速度 day ⁻¹	経過日数 day
H26	2014/5/8	0.41	10	1.112	5
	2014/5/13	0.24	2,600	0.004	14
	2014/5/27	0.36	2,755	-0.401	14
	2014/6/10	0.30	10	0.104	14
	2014/6/24	0.32	43	-0.051	15
	2014/7/9	0.45	20	0.251	29
	2014/8/7	0.45	28,575	-1.137	7
	2014/8/14	0.61	10	1.257	6
	2014/8/20	0.41	18,818	0.185	7
	2014/8/27	0.64	68,655	0.116	7
H27	2014/9/3	0.39	155,055	0.000	7
	2014/9/10	0.34	154,845		
	2015/6/9	0.57	10	0.050	14
	2015/6/23	0.48	20	0.426	14
	2015/7/7	0.39	7,758	-0.444	15
	2015/7/22	0.40	10	0.000	14
	2015/8/5	0.39	10	0.076	13
	2015/8/18	0.23	27	0.064	14
	2015/9/1	0.44	66	-0.097	14
	2015/9/15	0.22	17	-0.025	21
H29	2015/10/6	0.14	10	0.133	15
	2015/10/21	0.36	73		
	2017/6/7	0.16	10	0.154	13
	2017/6/20	0.59	74	0.565	6
	2017/6/26	0.38	2,200	0.014	16
	2017/7/12	0.57	2,760	0.063	19
	2017/7/31	0.67	9,150	0.100	7
	2017/8/7	0.70	18,390		

年度	ダムサイト	Fv/Fm	藍藻類 cells/mL	増殖速度 day ⁻¹	経過日数 day
H29	2017/6/7	0.28	10	0.293	13
	2017/6/20	0.39	450	0.149	6
	2017/6/26	0.42	1,100	-0.193	16
	2017/7/12	0.47	50	0.222	19
	2017/7/31	0.62	3,410	0.227	7
2017/8/7	0.67	16,650			

年度	不動滝橋	Fv/Fm	藍藻類 cells/mL	増殖速度 day ⁻¹	経過日数 day
H29	2017/6/7	0.16	10	0.154	13
	2017/6/20	0.59	74	0.565	6
	2017/6/26	0.38	2,200	0.014	16
	2017/7/12	0.57	2,760	0.063	19
	2017/7/31	0.67	9,150	0.100	7
2017/8/7	0.70	18,390			

赤字 藍藻類がゼロの調査日には便宜上10を入力

調査最終日(増殖速度は計算せず)

赤字 Fv/Fmが0.5以上

※増殖速度は、 $\ln\{(n+1)\text{回目調査の細胞数}\} - \{(n)\text{回目調査細胞数}\} \div \text{経過日数}$ から求めた。

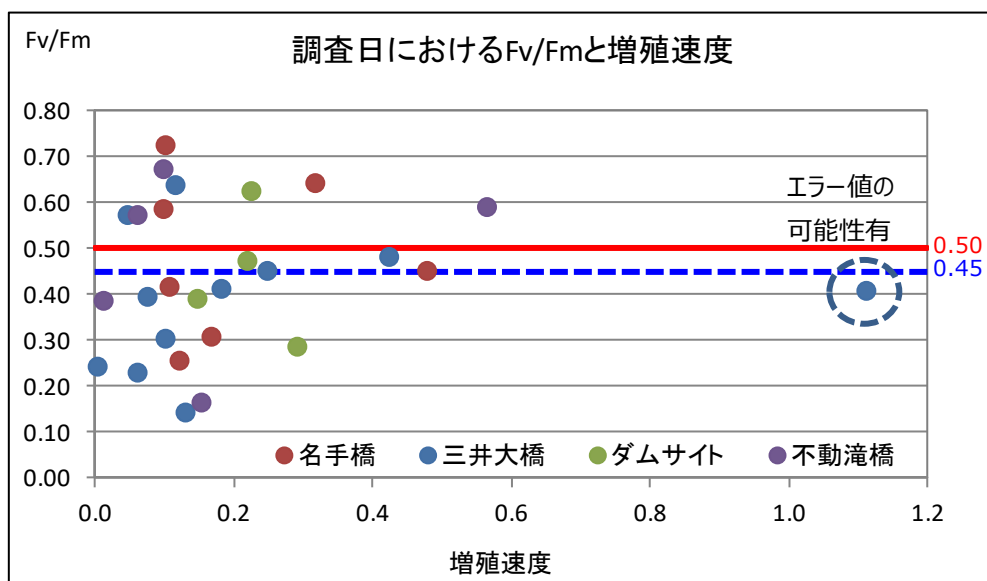


図 3-9 Fv/Fm と調査日における増殖速度

4. 培養試験による藻類の増殖と Fv/Fm の関係性

現地調査結果からは、Fv/Fm と藍藻類によるアオコ発生には有意な関係性があることが確認された。現地調査結果で測定された Fv/Fm は、0.1~0.7 程度であった。一方、Fv/Fm と藍藻の関係については、小池（2011）⁷によれば最大 Fv/Fm は、0.6 以上は対数増殖期、0.5 以下で定常期～減衰期、0.4 以下ではほとんど増殖の可能性がないと報告されており、今回の現地調査と既往報告では、Fv/Fm の取り得る値にやや違いが認められた。

そこで、アオコ発生の可能性がある Fv/Fm のレベル、衰退期となる Fv/Fm の目安等を把握するため、単離培養した *Microcystis* 属の供試体（標準株）を用いて培養試験を行い、藻類の増殖過程に合わせて Fv/Fm を測定し、各フェーズ（増殖期、定常期、衰退期）における Fv/Fm の取り得る幅を確認した。

4.1. 培養試験①（H28 年度：参考）

平成 28 年度は、単離培養した *Microcystis* 属の供試体（標準株）を用いて、培養試験を行ったが、増殖期以降の培養において Fv/Fm のばらつき、挙動の傾向が掴みにくい、定常期から衰退期へ移行しない等の問題が生じた。このため、以下の結果は参考として示す。

なお、H28 年度の培養試験結果から得られた課題を踏まえ、H29 年度に培養試験を再度実施することとした（4.2. 培養試験②を参照）。

4.1.1. 試験条件

培養試験の試験条件を表 4-1 に示す。株は比較的近年の夏場に採取された株を選定し、培地は購入株の培養条件として記載された MA 培地を用いて行った。

表 4-1 培養試験条件

条件	本試験（10/4 から実施）
株情報	<i>Microcystis aeruginosa</i> NIES-1056 （国立環境研究所から入手）
培地	MA 培地
培養方法	振とう（60rpm）
試験温度	25℃±2℃
照明	クールホワイト蛍光灯（照度：3000±1000Lux）
明暗	12h 明 12h 暗
初期生物量	1×10 ⁴ cells/mL
期間	10/20 まで
所要日数	6 週間（42 日）程度
測定	1~2 日毎に 1 回

4.1.2. 試験結果

培養試験は、定常期を含めて約 40 日間実施した。*Microcystis* 属は、培養開始から 10 日目までは活発に増殖したが、その後 25 日目程度まで緩やかに増殖した。それ以後は、ほぼ横ばいとなりほとんど増殖は見られなかったが、衰退期に達することもなかった。

結果と課題を以下に示す。

(1) 結果

- ・ 培養後、増殖開始から 10 日目程度までは細胞数が著しく増加し、対数増殖していた（青色矢印①）。この間の Fv/Fm は、培養期間中で最も高い水準であった（0.36～0.43）。
- ・ 10 日目以降は、細胞数が緩やかな増加傾向にあったが、Fv/Fm は急激に低下した（0.24～0.42）。
- ・ 25 日目以降は、細胞数は横ばいとなり定常状態となった。Fv/Fm の大幅な低下が増殖速度の低下を示唆しており、増殖ピークが過ぎたことを示していた。
- ・ 定常期には Fv/Fm は再び上昇し、その後も比較的高く推移した。*Microcystis* 属の細胞数は横ばいで推移していたものの、培養フラスコの外観は黄色味で濁りが増えていたことから、定常期から衰退期へ向かって細胞は分解過程にあったことが伺われた。
- ・ なお、自然条件下での *Microcystis* 属は、水温や照度の低下、藻類との競合等の影響により湖水中から衰退して Fv/Fm が低下していくことが推測された。

(2) 課題

平成 28 年度に実施した培養試験では、対数増殖期以降の Fv/Fm に変動が見られており、定常期が続いている中で再び Fv/Fm が上昇した。この理由として、培地濃度が高濃度であり、自然条件と大きく異なり、栄養塩が不足して増殖が止まったのではなく、光欠乏による影響が考えられた。

また、Fv/Fm の最大値が 0.43 程度であり、現地調査で得られた値と隔たりがあった。

このため、以下の通り課題を整理し、平成 29 年度に再度培養試験を行った。

- ・ 培養試験で用いた MA 培地は、窒素、りん濃度が高すぎたため、試験期間中は窒素制限やりん制限で増殖し続け、衰退期は確認できなかった。また、対数増殖期以降の定常期に Fv/Fm の挙動が異なったことから、制限因子が変化した可能性があった。このことから、培地のりん濃度を制限した条件で試験を行うことが望ましい。
- ・ Fv/Fm は増殖期においてもそれほど高い値にならず、全体を通して小さな変動幅で推移したが、測定時に変動が大きかったため、測定回毎のばらつきについても検討する必要がある。
- ・ 培養における各フェーズの Fv/Fm の目安を確認することで、*Microcystis* 属が置かれている環境を判断する指標となる可能性がある。

表 4-2 培養時の経過日数と外観

培養日数 (日)	外観
0~3	無色透明
4	淡緑色透明
5~7	淡緑色
8~15	緑色
16~26	濃緑色
27~42	やや黄色味がかった濃緑色

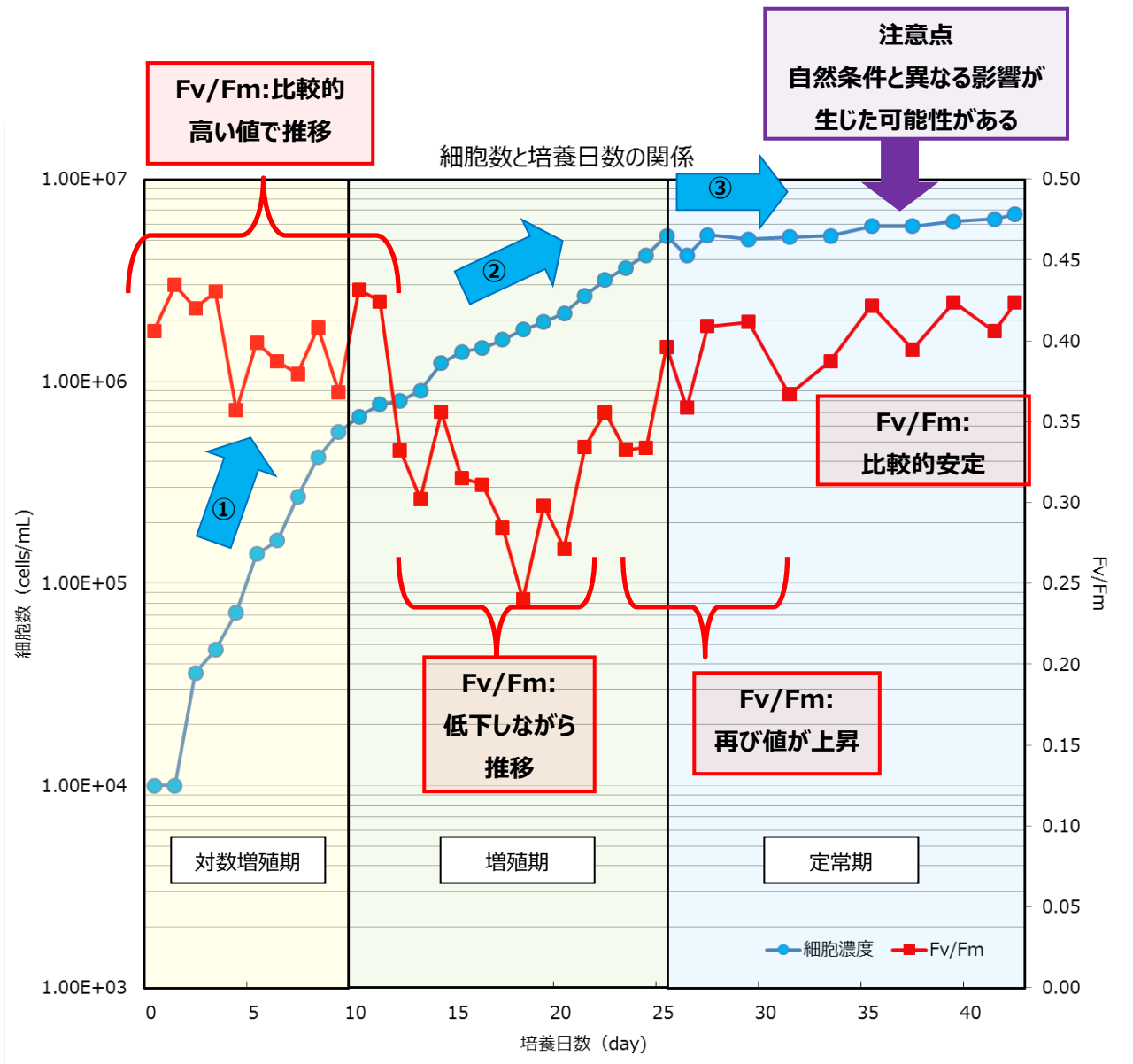


図 4-1 細胞数、培養日数、Fv/Fm の関係

4.2. 培養試験② (H29 年度)

平成 28 年度に実施した培養実験における課題を踏まえて、再度、単離培養した *Microcystis* 属の供試体 (標準株) を含む複数の株を用いて培養試験を行った。試験には以下の 4 つの株を用いた。

- ・ NIES-843 : *Microcystis aeruginosa* (有毒株、タイプ標準株)
- ・ NIES-2549 : *Microcystis aeruginosa* (無毒株)
- ・ NIES-1669 : *Dolichospermum flos-aquae* (有毒株)
- ・ NIES-3583 : *Raphidiopsis raciborskii* (有毒株)

4.2.1. 試験条件

前培養では、CT 培地を用い、静置培養 (23°C、15 μ mol/m²/s、12L : 12D) で行った。

本培養は表 4-3 の通り、改変 CT 培地 (100-200 μ g P/L) を用いて攪拌培養を行い、1~2 日毎にサンプルを 50mL 分取して分析した。なお、全ての培養作業はシリコン栓 (空気の透過性のある培養用キャップ) を用いた。

表 4-3 培養条件 (本培養)

条件	培養試験
株情報	NIES-843 : <i>Microcystis aeruginosa</i> NIES-2549 : <i>Microcystis aeruginosa</i> NIES-1669 : <i>Dolichospermum flos-aquae</i> NIES-3583 : <i>Raphidiopsis raciborskii</i>
培地	改変 CT 培地 (100-200 μ g P/L)
培養方法	攪拌 (300rpm, 24L)
試験温度	23°C
照明	30 μ mol/m ² /s
明暗	24h 明
初期生物量	1 \times 10 ² cells/mL~
測定	1~2 日毎に 1 回

表 4-4 培地の組成

CT培地	Original		Addition (X100)		1/25P		Addition (X100)	
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	15	mg	1	mL	15	mg	1	mL
KNO ₃	10	mg	1	mL	10	mg	1	mL
β-Na ₂ glycerophosphate·5H ₂ O	5	mg	1	mL	5	mg	40	uL
MgSO ₄ ·7H ₂ O	4	mg	1	mL	4	mg	1	mL
Vitamin B12	0.01	ug	1	mL	0.01	ug	1	mL
Biotin	0.01	ug	1	mL	0.01	ug	1	mL
Thiamine HCl	1	ug	1	mL	1	ug	1	mL
PIV metals	0.3	mL	0.3	mL	0.3	mL	0.3	mL
NaCl (190mg/100mL)	-	mg	-		1.8	mg	0.96	mL
TAPS	40	mg	40	mg	40	mg	40	mg
D.W.	99.7	mL	99.7	mL	99.7	mL	99.7	mL
pH	8.2				8.2			

4.2.2. 試験方法

(1) 細胞密度と光化学系Ⅱの最大量子収率 (F_v/F_m) の関係

通常の CT 培地を用いて静置培養した NIES-843 株を順次希釈し、それぞれの F_v/F_m を各希釈サンプルにつき 4 回測定を行った。

(2) 細胞密度と F_v/F_m の関係

1) NIES-843 株を用いた繰り返しの実験

DIP の濃度が 200 μg/P となるように β-グリセロリン酸ナトリウムの添加量を調整した改変 CT 培地を用いて実験を行った。

なお、初期細胞密度は 5.7×10² cells/mL、培地は 2,000mL のフラスコに 1,500mL とした。

2) シアノバクテリア 4 株を用いた繰り返しの実験

DIP の濃度が 100 μg/P となるように β-グリセロリン酸ナトリウムの添加量を調整した改変 CT 培地を用いて実験を行った。

なお、初期細胞密度は 4~8×10² cells/mL、培地は 3,000mL のフラスコに 2,000mL とした。

4.2.3. 試験結果

(1) 細胞密度と光化学系IIの最大量子収率 (Fv/Fm) の関係

細胞密度が $10^2 \sim 10^5$ cells/mL となるように希釈し、各サンプルの Fv/Fm を繰り返し 4 回測定した結果を以下に示す。なお、図 4-3 の値はサンプル 4 回の測定値の平均値、誤差線は標準偏差を示す。

1×10^2 cells/mL のサンプルでは、Fv/Fm 値が他の希釈倍率に比べて大きくなり、標準偏差もやや大きい。測定機器の精度や感度にもよるが、細胞密度が低いことによる影響を受けていると考えられたため、安定した Fv/Fm の測定には 1×10^3 cells/mL 以上の細胞数が含まれるサンプルを用いることが望ましい。 1×10^3 cells/mL 以上のサンプルでは、Fv/Fm に大きな差は見られず各 4 回の測定値 (F₀、F_m) は安定していた。

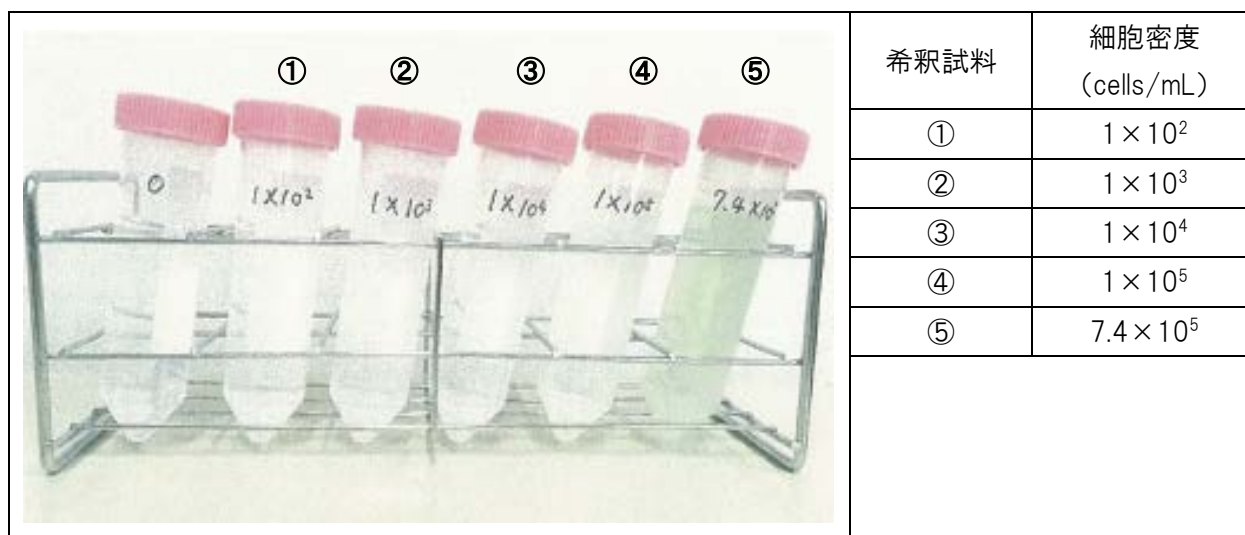


図 4-2 NIES-843 株の希釈サンプル

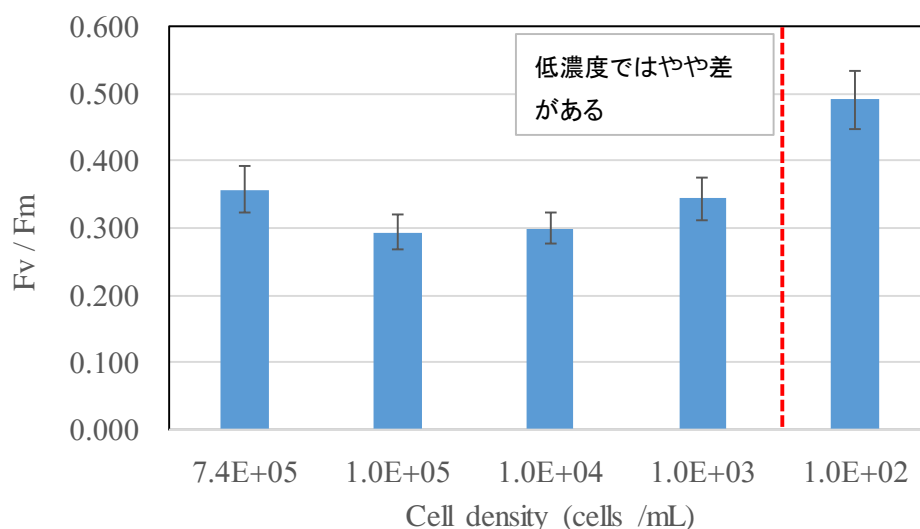


図 4-3 希釈試料の Fv/Fm

表 4-5 希釈倍毎の繰り返し測定結果

測定 (N)	F0	Fm	Fv/Fm	STDEV
1	33.839	55.362	0.389	
2	33.777	53.186	0.365	
3	34.548	54.750	0.369	
4	36.478	52.728	0.308	
		average	0.358	0.035
1	5.502	7.401	0.257	
2	4.976	7.113	0.300	
3	4.875	7.003	0.304	
4	4.911	7.157	0.314	
		average	0.294	0.025
1	0.690	0.974	0.292	
2	0.693	0.949	0.270	
3	0.628	0.913	0.312	
4	0.631	0.930	0.322	
		average	0.299	0.023
1	0.120	0.182	0.341	
2	0.119	0.185	0.357	
3	0.114	0.163	0.301	
4	0.111	0.178	0.376	
		average	0.344	0.032
1	0.024	0.042	0.429	
2	0.020	0.042	0.524	
3	0.017	0.035	0.514	
4	0.016	0.032	0.500	
		average	0.492	0.043

(2) 細胞密度と Fv/Fm の関係

1) NIES-843 株を用いた繰り返しの実験

りん酸濃度を $200 \mu\text{g P/L}$ となるようなリン制限培地を用いて、2 サンプルを用いた繰り返し試験として培養試験を行った。各サンプルの細胞密度と Fv/Fm を経時的に測定し、増殖における各フェーズの Fv/Fm の目安を確認した。

対数増殖期の Fv/Fm は、0.7 を超えており高いレベルで推移した。定常期までは 0.5 程度まで低下し、その後、定常期では 0.5 以下となり、0.2 程度まで低下し続けた後に安定した。

定常期までに要した日数は 12 日程度であり、培養日数は 35 日と長期に渡ったが、衰退期は訪れなかった。これは、りん制限培地を用いて栄養塩の供給を行っていない状況にあっても、自然環境とは異なり共存する藻類がないため定常期が長く続いたものと考えられ、通常自然環境下であれば、上記の状態では細胞数は減少すると推察される。なお、培養 15 日以降の定常期では繰り返し 2 サンプルともに Fv/Fm は 0.2 程度を推移していた。



図 4-4 NIES-843 株を用いた培養試験（右側 2 つ）

表 4-6 細胞密度、増殖速度、Fv/Fm の結果

Days	Cell density (cell /mL)		Growth rate		Fv/Fm	
	P1	P2	G1	G2	1	2
0.0	571	575			0.745	0.679
1.0	1,020	865	0.580	0.408	0.734	0.775
2.0	1,500	1,410	0.386	0.489	0.690	0.729
3.0	1,520	1,230	0.013	-0.137	0.695	0.725
4.0	3,310	4,420	0.778	1.279	0.594	0.535
5.0	4,440	4,370	0.294	-0.011	0.599	0.693
6.0	6,690	6,040	0.406	0.320	0.558	0.533
8.0	14,000	18,200	0.371	0.554	0.546	0.585
10.0	25,200	28,900	0.294	0.231	0.427	0.446
12.0	248,000	284,000	1.143	1.143	0.362	0.353
14.0	532,000	578,000	0.382	0.355	0.331	0.247
16.0	709,000	619,000	0.144	0.034	0.180	0.113
18.0	1,000,000	632,000	0.172	0.010	0.198	0.162
20.0	1,160,000	807,000	0.074	0.122	0.245	0.221
22.0	1,460,000	1,200,000	0.115	0.198	0.263	0.301
24.0	1,940,000	1,820,000	0.142	0.208	0.242	0.280
25.9	3,070,000	2,415,000	0.245	0.151	0.228	0.237
27.1	3,020,000	2,250,000	-0.014	-0.059	0.240	0.243
29.0	3,120,000	2,000,000	0.017	-0.061	0.266	0.266
31.0	3,190,000	2,150,000	0.011	0.035	0.233	0.275
34	2,850,000	2,280,000	-0.038	0.020	0.193	0.267

※Fv/Fmは4回の測定結果の平均値を示す。

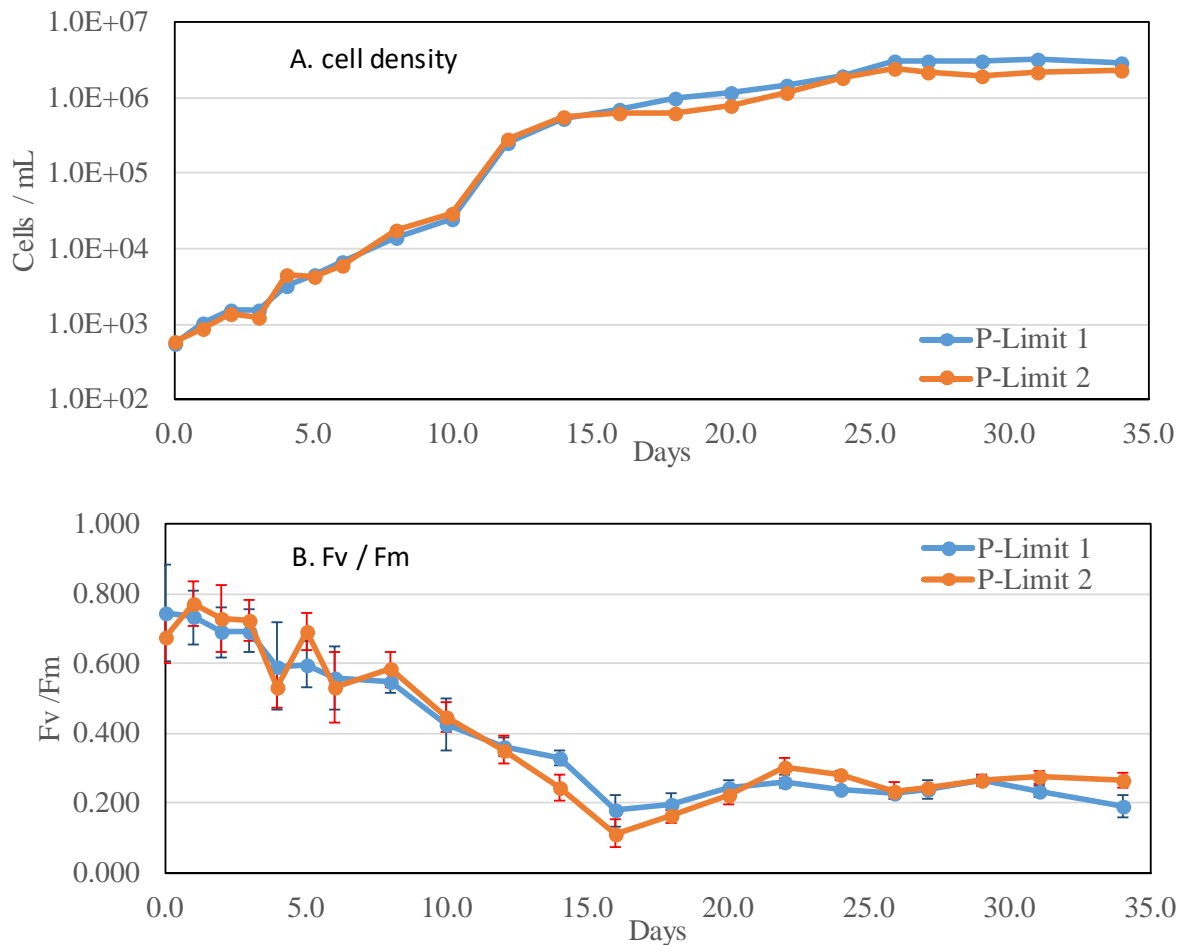


図 4-5 NIES-843 を用いた細胞密度 (A) と Fv/Fm (B) の変化

2) シアノバクテリア 4 株を用いた繰り返しの実験

りん酸濃度を $100 \mu\text{g P/L}$ となるようなリン制限培地を用いて、4 種類のシアノバクテリアを用いて培養試験を行った。各株の細胞密度を経時的に測定し、増殖における各フェーズの Fv/Fm の目安を確認した。

- NIES-843 : *Microcystis aeruginosa* (有毒株、タイプ標本株)
- NIES-2549 : *Microcystis aeruginosa* (無毒株)
- NIES-1669 : *Dolichospermum flos-aquae* (有毒株)
- NIES-3583 : *Raphidiopsis raciborskii* (有毒株)

いずれの株も対数増殖初期の Fv/Fm は、0.7 を越えており、その後、徐々に低下した。定常期の Fv/Fm は、概ね 0.4 付近の値となり、株の種類によっては 0.1~0.3 付近で安定するものもあった。

定常期までに要した日数は 7 日から 10 日程度であり、培養日数は 21 日となった。いずれの株も 21 日の間では細胞数は減少せず、衰退期に達するには更に時間を要すると考えられた。これ

は、先の NIES-843 株を用いた繰り返し試験と同様に、自然環境とは異なり共存する藻類がないため定常期が長く続いたものと考えられ、通常自然環境下であれば、上記の状態では細胞数は減少すると推察される。

Fv/Fm はいずれの株も細胞が増殖する環境、つまり活性が高い状態では 0.5~0.7 程度となり、定常期、また細胞が増殖しない環境の場合では株によって傾向が異なっていた。NIES-843 は 0.3 程度、NIES-1669 は 0.1 程度、NIES-2549 は 0.2~0.1 程度、NIES-3583 は 0.1 程度であった。このことから、アオコの種類によっては、定常期以降における Fv/Fm の挙動が異なっていることがわかるが、Fv/Fm が 0.3 以下であればこれ以降の増殖はないと考えて良い。

また、今後増殖する場合は Fv/Fm が 0.7~0.5 と高いレベルとなるため、これをひとつの目安として捉えることが可能である。

表 4-7 細胞密度、増殖速度、Fv/Fm の結果

Days	Cell density (cell /mL)				Growth rate			
	843	1669	2549	3583	843	1669	2549	3583
0	457	832	413	5,040				
1	492	885	853	8,904	0.074	0.063	0.724	0.569
2	2,919	3,434	5,250	11,400	1.780	1.355	1.818	0.247
3	3,528	7,686	8,190	22,120	0.189	0.806	0.445	0.663
4	4,270	9,345	17,150	32,455	0.191	0.195	0.739	0.383
5	6,538	15,288	27,588	60,060	0.426	0.492	0.475	0.616
6	11,564	36,624	54,096	78,960	0.570	0.874	0.673	0.274
7	15,456	77,784	79,800	1,029,000	0.290	0.753	0.389	2.567
8	29,190	139,300	779,333	1,715,000	0.636	0.583	2.279	0.511
10	151,872	220,080	1,734,000	2,394,000	0.825	0.229	0.400	0.167
12	600,600	491,400	3,008,250	3,376,800	0.687	0.402	0.275	0.172
14	781,200	546,000	3,402,000	5,187,000	0.131	0.053	0.062	0.215
16	890,400	588,000	3,706,500	5,376,000	0.065	0.037	0.043	0.018
21	806,400	554,400	4,320,750	5,621,000	-0.020	-0.012	0.031	0.009
Days	Fv/Fm							
	843	1669	2549	3583				
0	0.758	0.757	0.715	0.750				
1	0.720	0.535	0.483	0.656				
2	0.579	0.549	0.384	0.588				
3	0.456	0.572	0.418	0.518				
4	0.448	0.417	0.381	0.418				
5	0.445	0.415	0.371	0.259				
6	0.459	0.412	0.316	0.231				
7	0.495	0.355	0.287	0.257				
8	0.372	0.282	0.314	0.259				
10	0.381	0.169	0.304	0.205				
12	0.294	0.091	0.196	0.090				
14	0.287	0.066	0.127	0.112				
16	0.291	0.042	0.076	0.134				
21	0.222	0.011	0.036	0.104				

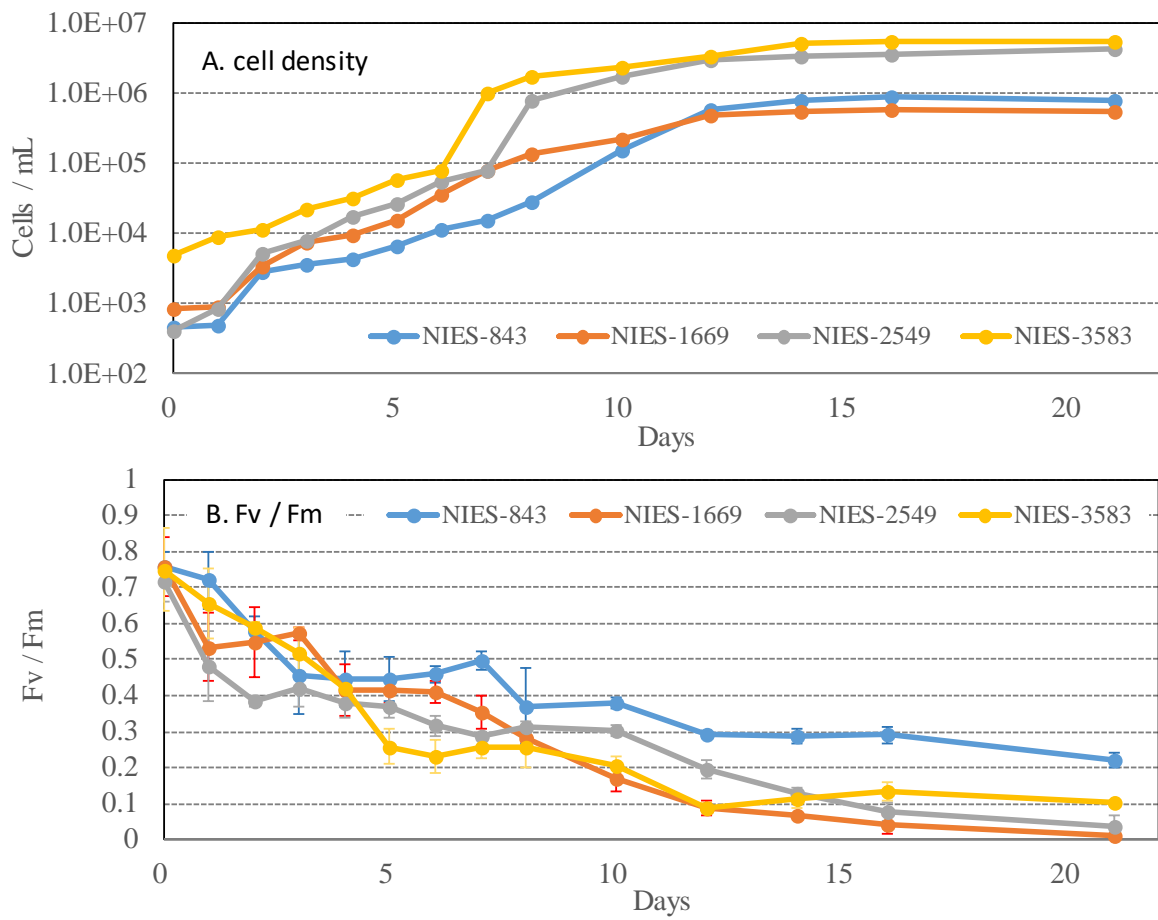


図 4-6 4種の株を用いた細胞密度 (A) と Fv/Fm (B) の変化

4.3. 培養試験におけるまとめ

以上の培養試験の結果から、アオコ発生の可能性がある Fv/Fm のレベル、衰退期となる Fv/Fm の目安等を把握することができた。

単離培養した *Microcystis* 属の供試体（標準株）を含む複数の株を用い、各フェーズ（増殖期、定常期、衰退期）における Fv/Fm について確認した。以下にまとめを示す。

(1) Fv/Fm の測定に必要な細胞数の目安

- ・ NIES-843 を用いて培養した培養液を希釈し、各サンプルについて繰り返し測定（4回）を行い、Fv/Fm を求めた。
- ・ 1×10^3 cells/mL 以上のサンプルでは、Fv/Fm に大きな差は見られず各4回の測定値（F₀、F_m）は安定していたが、 1×10^2 cells/mL のサンプルでは、Fv/Fm 値が他の希釈倍率に比べて大きくなり、標準偏差もやや大きくなった。
- ・ 測定機器の精度や感度にもよるが、以上の結果は細胞密度が低いことによる影響を受けていると考えられた。
- ・ この結果から、安定した Fv/Fm の測定には 1×10^3 cells/mL 以上の細胞数が含まれるサンプルを用いることが望ましいと言える。

(2) 藻類種による各フェーズでの Fv/Fm の違い

- ・ 4種類の株（NIES-843、NIES-1669、NIES-2549、NIES-3583）を用いた培養試験では、各フェーズにおける Fv/Fm の凡その目安を把握することができた。
- ・ 4種いずれの株においても、細胞が増殖する環境、つまり活性が高い状態では Fv/Fm が 0.5～0.7 程度であった。
- ・ これより、増殖する場合の Fv/Fm は 0.7～0.5 をひとつの目安として概ね差し支えないものと考えられる。
- ・ 一方、定常期または細胞が増殖しない環境の場合は、NIES-843 は 0.3 程度、NIES-1669 は 0.1 程度、NIES-2549 は 0.2～0.1 程度、NIES-3583 は 0.1 程度と株によって傾向が異なった。
- ・ アオコの種類によっては、定常期以降における Fv/Fm の挙動が異なるが、Fv/Fm が 0.3 以下であればこれ以降の増殖はないと評価して差し支えないものと考えられる。

(3) 増殖速度と Fv/Fm の関係性

- ・ 増殖速度（ μ ）と Fv/Fm の関係を見ると、 $\mu = 0.5$ で Fv/Fm が 0.3 以上、 $\mu = 0$ で Fv/Fm が 0.1～0.3 程度であった。

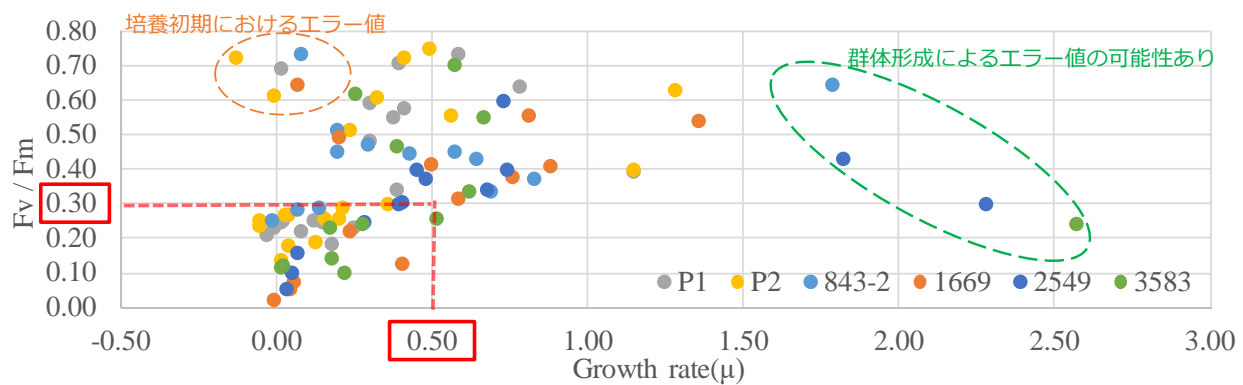


図 4-7 3種の株から得られた増殖速度 (μ) と Fv/Fm の関係

5. 簡易測定機器の現場での適用可能性（参考）

平成 29 年度の三春ダムにおける現地調査では、分光蛍光光度計（F-2700・日立ハイテクサイエンス社製）に加えて、ポータブル簡易測定機器（FC-1・東海光学社製）を用いて Fv/Fm を測定し、両者の Fv/Fm の傾向等を比較することにより、ポータブル簡易測定機器の有用性について評価を行った。

5.1. 現地調査で併用した機器（H29 年度）

5.1.1. ポータブル簡易測定機器

ポータブル簡易測定機器は、励起波長および蛍光波長をそれぞれ 590nm、680nm としてフィルタをカスタマイズしたものをを用いた。

装置は、片手に乗るハンディサイズでコンパクトに持ち運びが可能である。機器構成は、セル内の試料を LED 光で励起し、発光された蛍光を受光素子で検出する。なお、受光素子方向へ散乱・乱射した励起光は蛍光フィルタでカットされる。

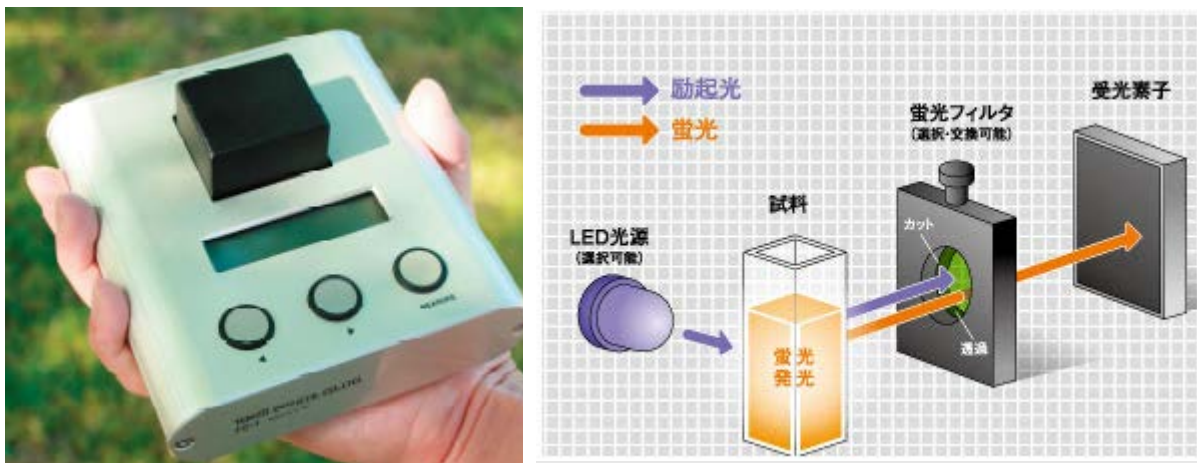


図 5-1 ポータブル簡易測定機器の測定原理

（出典：東海光学 HP, <http://www.tokaioptical.com/product/product19.php>）

5.1.2. 調査における使用機器

平成 29 年度の三春ダムにおける現地調査では、全 6 回の調査を行い、各回の試料の Fv/Fm を分光蛍光光度計の測定フローに従って測定した。

使用機器を以下に示す。

表 5-1 使用機器

測定機器	分光蛍光光度計 (F-2700・日立ハイテクサイエンス社 製)	ポータブル簡易測定機器 (FC-1・東海光学社製)
光源	キセノンランプ	LED
励起波長	590nm	590nm
蛍光波長	680nm	680nm
レスポンス	0.4sec	—
スリット幅	励起・蛍光共に 5nm	—
繰り返し	5 回	5 回 (手動)

5.2. 測定結果

分光蛍光光度計（F-2700）とポータブル簡易測定機器（FC-1）の測定結果から得られた Fv/Fm を以下に示す。

6月26日測定までは、いずれの機器においても大きく傾向が異なることはなかった。しかし、7月31日以降は機器間で Fv/Fm が大きく異なっており、ポータブル簡易測定機器で測定感度が低くなっていた。この原因については不明であるが、測定・操作・機器において何らかの不具合が生じていたものと推察された。

後日、両方の機器を用いて検出下限値を確認する試験を行ったところ、 10^3 cells/mL 程度の細胞密度の試料が問題なく測定できており、分光蛍光光度計とポータブル簡易測定機器で傾向が異なることはなかった。ただし、濃縮試料を用いた場合においては、やや傾向が異なったことから、測定に用いる試料の状態によっては測定値に差が見られる場合がある可能性が考えられる。

表 5-2 機器別の測定結果

測定日	ダムサイト		不動滝橋	
	F-2700	FC-1	F-2700	FC-1
6月7日	0.28	0.00	0.16	0.36
6月20日	0.39	0.40	0.59	0.44
6月26日	0.42	0.36	0.38	0.34
7月12日	0.47	0.33	0.57	0.33
7月31日	0.62	0.00	0.67	0.00
8月7日	0.67	0.13	0.70	0.04

※F-2700：分光蛍光光度計

※FC-1：ポータブル簡易測定機器

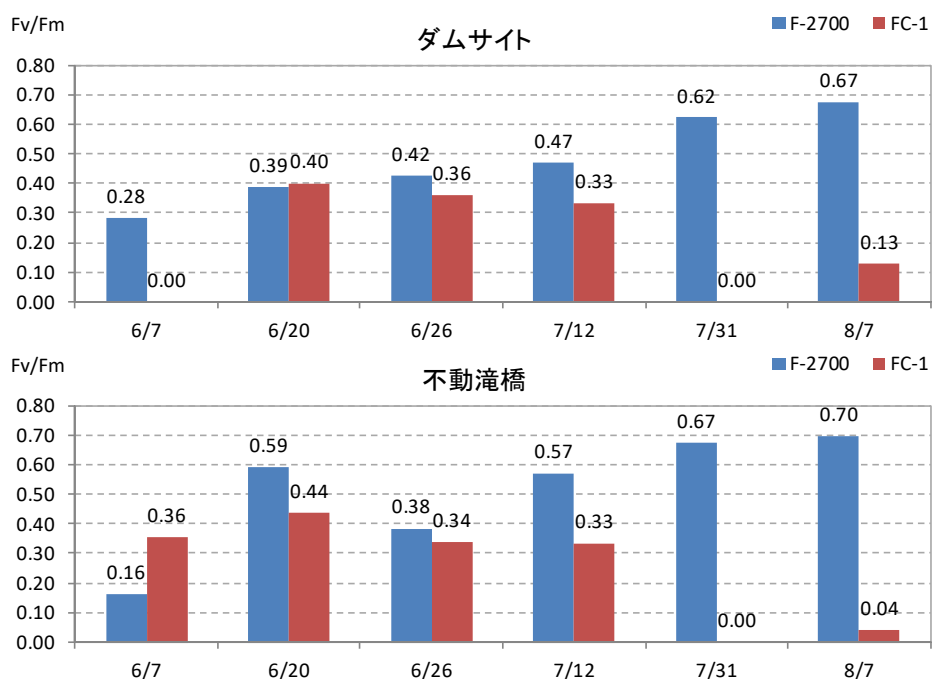


図 5-2 機器別の測定結果

5.3. 簡易測定機器を用いた直線性の確認 (H30 年度)

アオコ予報を行う際に用いる F_v/F_m (光合成最大量子収率) は、蛍光分光光度計 (励起波長 590nm、蛍光波長 680nm) で F_0 及び F_m を測定することにより求められる。これまでの調査では卓上型の蛍光分光光度計を用いて測定を行っており、H29 年度には蛍光分光光度計とポータブル簡易測定機器 FC-1 (東海光学社製) を用いて測定を行った。

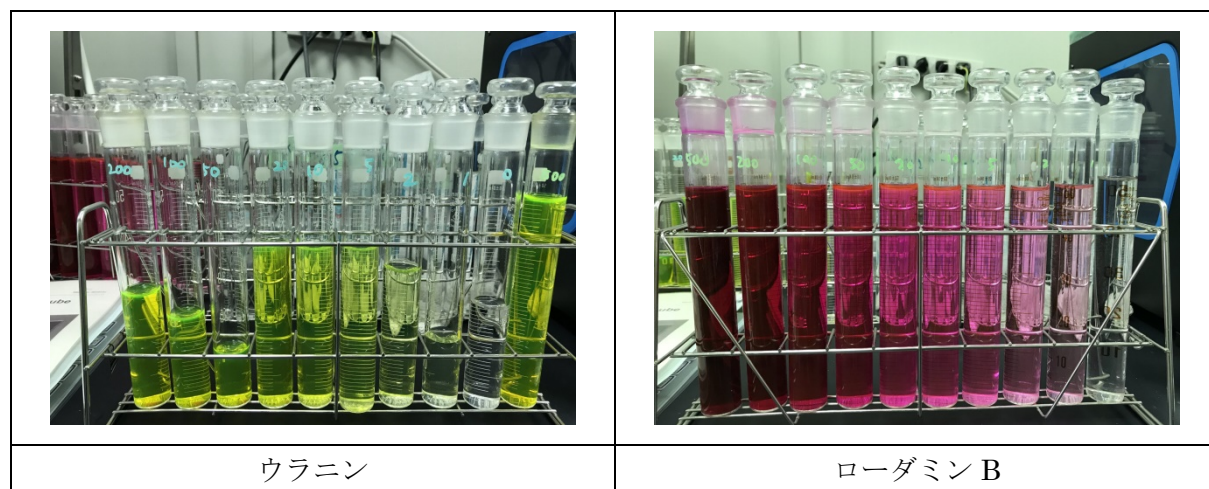
平成 29 年度の現地調査において、ポータブル簡易測定機器 (FC-1) と蛍光分光光度計の測定値を比較したところ、傾向が異なる場合が見られたことから、標準物質と三春ダム試料 (ダムサイト) を用いてポータブル簡易測定機器 (FC-1) の直線性を確認した。

5.3.1. 方法

(1) 標準物質

蛍光物質の標準試料として、ウラニン、ローダミン B を用いてそれぞれポータブル簡易測定機器と蛍光分光光度計で蛍光強度を測定した。各標準物質の濃度は、以下に示す通りとした。

ウラニン	: 0、50、100、200、500、1,000mg/L (低濃度側はほとんど検出されず)
ローダミン B	: 0、0.1、0.2、0.5、1、2、5、10、20、50、100mg/L



(2) クロロフィル a

9月3日(月)に三春ダムで採水した試料(ダムサイト)を段階的に希釈し、クロロフィル a 濃度と蛍光強度を各機器で測定した。実試料の希釈段階は、以下に示す通りとした。

希釈段階	: 1 倍、2 倍、10 倍、20 倍、100 倍、200 倍
------	---------------------------------

5.3.2. 試験結果

(1) 標準物質

ウラニン、ローダミン B を用いて蛍光強度（励起波長 590nm、蛍光波長 680nm）を測定したところ、特にウラニンのピークが設定した励起・蛍光波長と外れていたため、測定強度が低くなっており、検量線を作成することは困難であった。このため、ローダミン B を用いて測定を行ったところ、ウラニンと同様にピークの波長はやや外れていたが測定強度に問題がなかったため、本試験の波長に合う標準物質をローダミン B として検量線を作成した。

ローダミン B を用いて作成した検量線は、いずれの機器においても 0.1mg/L～20mg/L 程度まで問題なく直線性が得られた。ローダミン B の波長スペクトルを図 5-3、各標準物質の測定値と検量線を図 5-4、測定値を表 5-3 に示す。

また、各機器で得られた測定値の相関を図 5-5 に示す。いずれも直線性が得られていたことから、良好な相関が得られた。

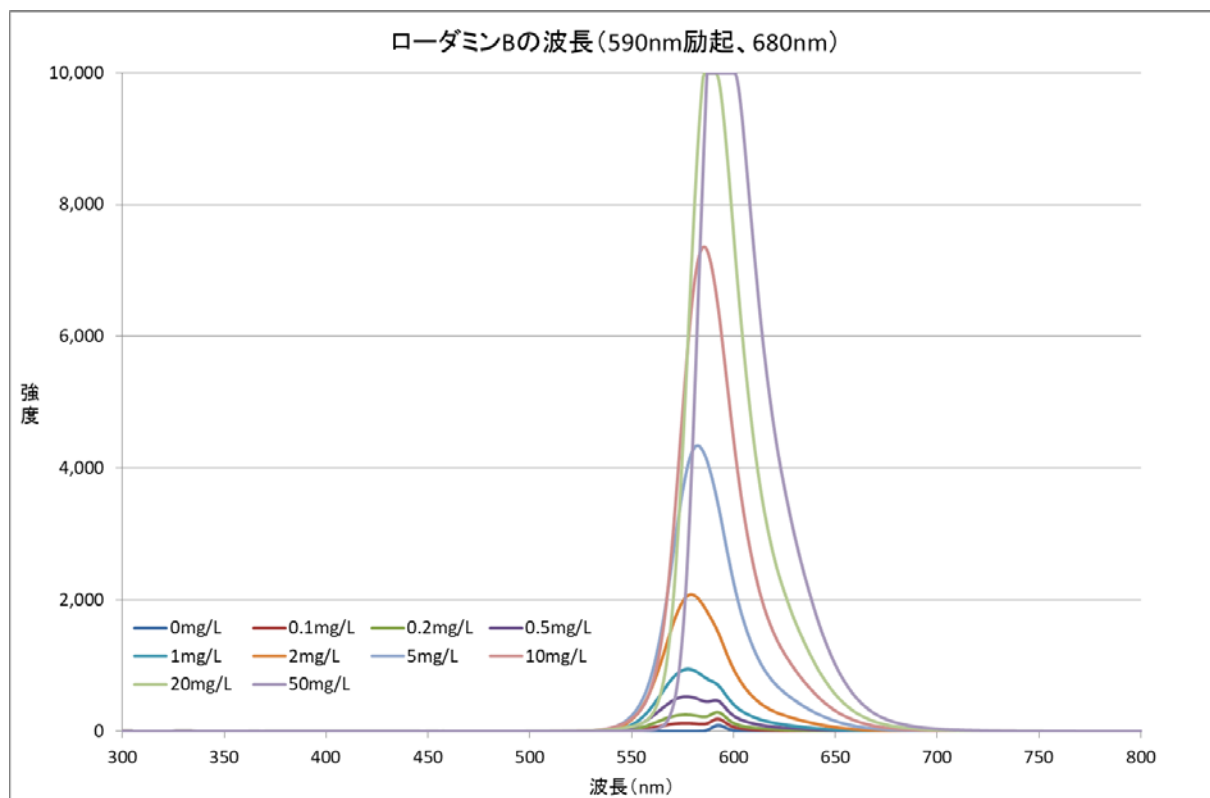


図 5-3 ローダミン B の波長スペクトル

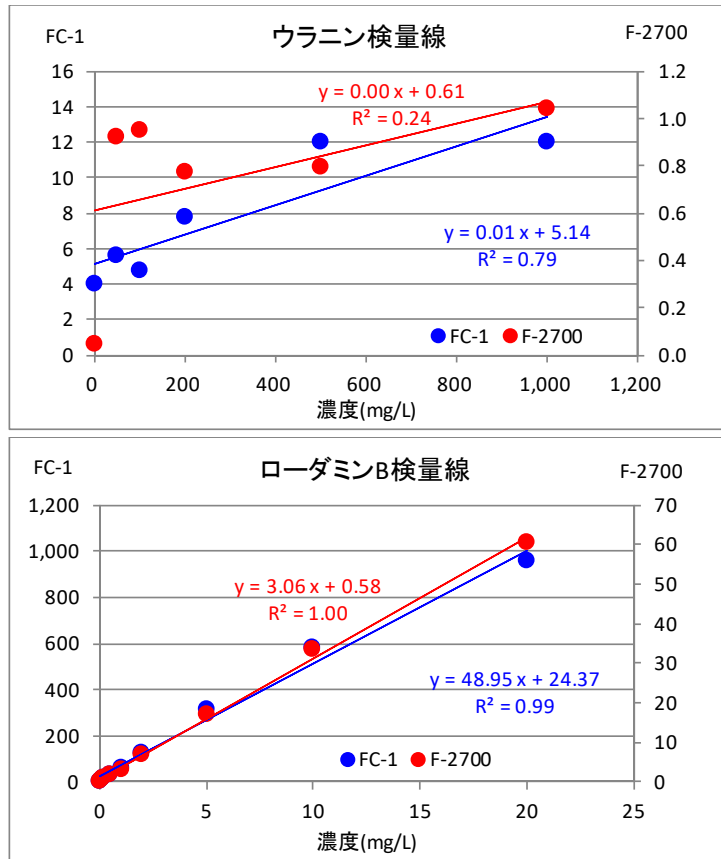


図 5-4 標準物質の検量線

表 5-3 標準物質（機器別）の測定結果

ウラン	簡易測定機器(FC-1)						蛍光分光光度計(F-2700)					
	1	2	3	4	5	FC-1	1	2	3	4	5	F-2700
0	5	4	4	3	4	4	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
50	6	5	5	5	7	6	0.90	0.90	0.95	0.94	0.93	0.92
100	5	5	5	4	5	5	0.97	0.93	0.95	0.95	0.97	0.95
200	9	8	8	8	6	8	0.77	0.79	0.78	0.78	0.75	0.77
500	12	12	12	12	12	12	0.78	0.80	0.81	0.79	0.79	0.80
1000	12	12	12	12	12	12	1.03	1.06	1.05	1.03	1.06	1.04

ローダミンB	簡易測定機器(FC-1)						蛍光分光光度計(F-2700)					
	1	2	3	4	5	FC-1	1	2	3	4	5	F-2700
0	5	7	7	5	7	6	0.14	0.15	0.16	0.15	0.16	0.15
0.1	12	12	12	12	12	12	0.53	0.54	0.53	0.52	0.54	0.53
0.2	18	18	18	19	21	19	0.93	0.92	0.92	0.92	0.92	0.92
0.5	33	33	33	33	33	33	1.77	1.81	1.77	1.80	1.77	1.78
1	63	63	63	63	63	63	2.96	2.96	3.00	2.96	2.94	2.96
2	129	129	129	129	129	129	6.89	6.90	6.91	6.94	6.90	6.91
5	317	315	316	314	313	315	17.00	16.91	16.93	16.91	17.00	16.95
10	587	586	584	583	582	584	33.43	33.31	33.27	33.29	33.39	33.34
20	959	958	956	957	955	957	60.41	60.38	60.78	60.60	60.63	60.56
50	1,496	1,494	1,493	1,492	1,492	1,493	107.90	107.80	107.70	107.80	107.70	107.78
100	1,619	1,617	1,616	1,614	1,613	1,616	125.80	125.80	125.90	125.90	126.00	125.88

※ウランは低濃度範囲では数値が検出されなかったため、高濃度範囲で測定を行った。

※ローダミンBは、50mg/L以上で検量線が曲線となったため20mg/Lまでの範囲とする。

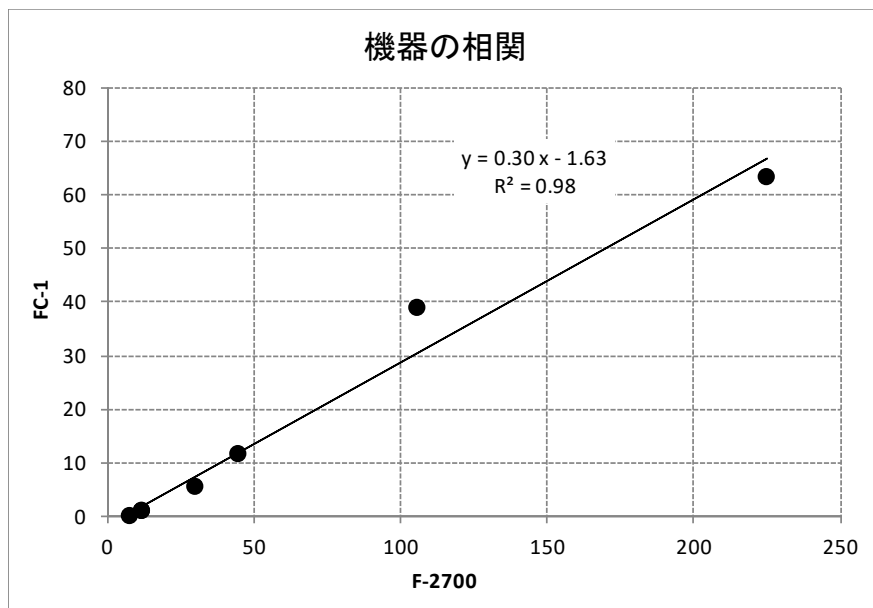


図 5-5 各機器の測定値の相関

(2) クロロフィル a

9月3日調査では、三春ダム（ダムサイト）で湖面にアオコが確認された。植物プランクトンの優先種は *Microcystis* であり、三春ダム（ダムサイト）のクロロフィル a 濃度は、1,100 $\mu\text{g/L}$ と高濃度であった。

以下にクロロフィル a 濃度と各機器での測定結果を示す。簡易測定機器である FC-1 は、希釈倍率 100 倍、200 倍の 11 $\mu\text{g/L}$ 以下では測定値に差が見られなかったことから、簡易測定機器としての検出感度が不足している可能性が考えられた。卓上型の F-2700 は、200 倍希釈のクロロフィル a 濃度 5.5 $\mu\text{g/L}$ で安定した値が得られていた。

各機器で得られた測定値とクロロフィル a 濃度の関係を図 5-6 に示す。クロロフィル a 濃度の増加に伴い測定値が比例して高くなり、いずれも直線性が得られた。

表 5-4 クロロフィル a 濃度と機器別測定結果

9月3日 クロロフィルa		FC-1					平均
倍率	μg/L	1	2	3	4	5	
blank	0	6	7	6	10	9	8
200	5.5	12	12	12	12	12	12
100	11	12	12	12	12	12	12
20	61	30	30	30	30	30	30
10	120	45	45	45	45	45	45
2	580	128	128	128	18	128	106
1	1100	225	225	225	225	225	225

9月3日 クロロフィルa		F-2700					平均
倍率	μg/L	1	2	3	4	5	
blank	0	0.14	0.14	0.13	0.14	0.13	0.14
200	5.5	0.99	1.11	1.10	1.00	1.07	1.06
100	11	1.05	1.33	1.09	0.95	0.91	1.07
20	61	5.53	5.31	5.42	5.53	5.44	5.44
10	120	11.80	11.59	11.77	11.49	11.95	11.72
2	580	38.37	39.29	39.15	38.56	38.78	38.83
1	1100	63.81	63.33	63.74	62.84	62.76	63.30

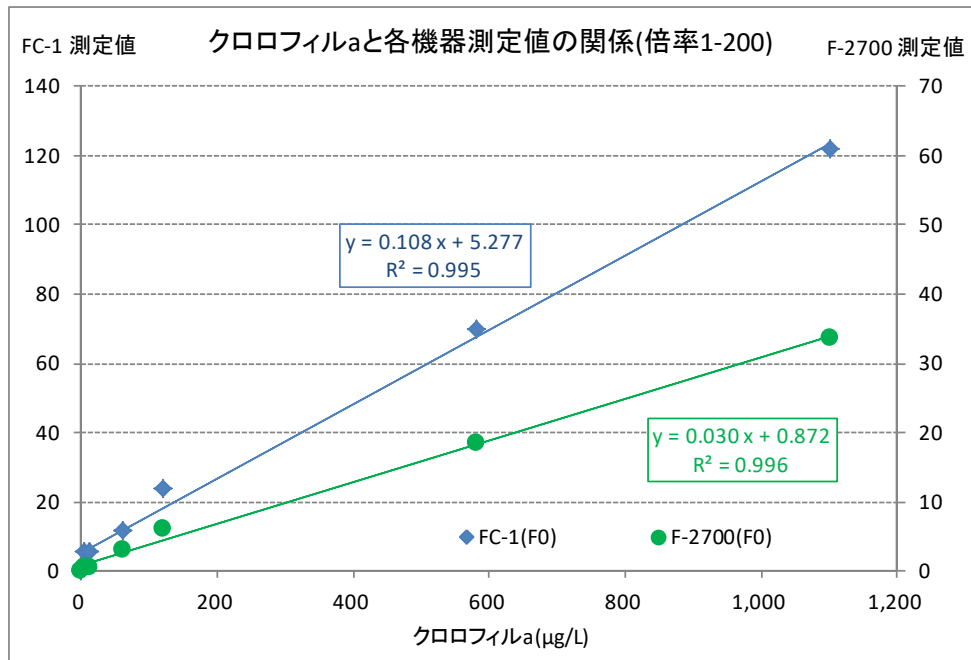


図 5-6 クロロフィル a と各機器の測定値

(3) 簡易測定機器 (FC-1) を用いた繰り返し測定

標準試料 (ローダミン B) を希釈した試料について、簡易測定機器 (FC-1) を用いて、5 回連続測定を 3 回繰り返して測定した。

標準試料の下限値は 0.1mg/L とした。繰り返し測定で数値のばらつきは全く見られず、繰り返し測定による測定値も安定していた。なお、この時の蒸留水測定結果は、5~7 程度となっており、やや値にばらつきが見られるものの、概ね安定していた。

表 5-5 繰り返し測定 (ローダミン B) の測定結果

ローダミンB(mg/L)	0.1mg/L			blank	蒸留水		
n数	1回目	2回目	3回目	n数	1回目	2回目	3回目
1	12	12	12	1	5	6	5
2	12	12	12	2	7	5	7
3	12	12	12	3	7	5	5
4	12	12	12	4	5	7	6
5	12	12	12	5	7	7	6
平均	12	12	12	平均	6.2	6	5.8
標準偏差	0.00	0.00	0.00	標準偏差	1.10	1.00	0.84
CV(%)	0.00	0.00	0.00	CV(%)	17.67	16.67	14.43

(4) 簡易測定機器 (FC-1) の濃度ゼロの測定値について

簡易測定機器 (FC-1) を使用の際は、ゼロ点調整を行った後に試料を測定した。前項の表 5-5 の通り、蒸留水の測定結果はゼロにならないことがある。これまでの測定結果から概ね 5~9 程度となる場合が多いが、比較的安定した値が得られていた。

蒸留水 (ブランク) を濃度ゼロとした場合、主に低濃度の試料測定時に蒸留水 (ブランク) との差がほとんど見られない場合があった。

このため、低濃度の試料を測定する場合は、蒸留水 (ブランク) を試料の測定値から減算することが望ましい。ただし、Fv/Fm のように比率計算を行う場合については比率計算となるため、蒸留水 (ブランク) を減算する必要はない。

5.4. まとめと課題

平成 29 年度に実施した三春ダムの現地調査において、分光蛍光光度計とポータブル簡易測定機器を用いて同一試料を測定した結果から Fv/Fm を求め、それぞれの傾向を確認した。

また、平成 30 年度には簡易測定機器を用いた検出下限値の確認、標準物質、クロロフィル a を用いた検量線を作成した。以下にまとめと課題を示す。

(1) 三春ダム現地調査 (H29 年度)

- ・ 本調査においては、分光蛍光光度計と簡易測定機器で測定した Fv/Fm は、ある程度は一致した傾向を示した。
- ・ しかし、調査終盤には目視でアオコが検出されているにも係らず、ポータブル簡易測定機器で測定した F₀ と F_m にほとんど差が見られず、Fv/Fm が非常に小さくなったため、簡易測定機器本体または測定の際に何らかの不具合が生じていた可能性が考えられた。
- ・ 実際に現場で用いる場合には、まずポータブル簡易測定機器の下限値を把握し、分光蛍光光度計との比較を行いつつ、データを蓄積する必要がある。
- ・ その上で、現場で用いることが可能か否かを操作性・メンテナンス等を考慮して判断することが望ましい。
- ・ 励起・蛍光波長をカスタマイズ可能であること、機器本体が軽量化されていること、バッテリー式のため電源コンセントが不要であること等から、ポータブル簡易測定機器は測定精度の課題が解決できれば、現場で手軽に測定できる有用な機器であると言える。

(2) 標準物質、クロロフィル a を用いた直線性の確認 (H30 年度)

- ・ 標準物質として、ローダミン B を用いて検量線を作成したところ、いずれの機器（卓上型、簡易測定機器）においても 0.1mg/L~20mg/L 程度まで問題なく直線性が得られた。
- ・ 簡易測定機器である FC-1 は、クロロフィル a 濃度が高い実試料を希釈して、直線性を確認した。低濃度の範囲では、測定値に差がほとんど見られなかったことから、機器特有の感度不足が考えられ、より高感度の簡易機器が求められる。
- ・ 卓上型の F-2700 は、200 倍希釈のクロロフィル a 濃度 5.5 μg/L においても安定した値が得られていた。
- ・ 低濃度域の標準物質（ローダミン B）を用いた繰り返し測定では、いずれの機器においても安定した測定値が得られた。また、蒸留水（ブランク）についてもややばらつきが見られたものの概ね安定した測定値が得られた。
- ・ 今後、低濃度の試料を測定する場合は、蒸留水（ブランク）を試料の測定値から減算することが望ましい（Fv/Fm では減算の必要はない）。

6. まとめと今後の課題

6.1. Fv/Fm を用いたアオコ予測

平成 26 年、平成 27 年、平成 29 年に実施した現地調査で得られた Fv/Fm を用いたアオコ予測の試行を行った。

ケース 1 (H26～H27 年度：津久井湖)、ケース 2 (H29 年度：三春ダム) の各調査において、Fv/Fm が高い値 (0.5 以上) を示した場合、その後の気象条件等の影響を受けていなければ、一定期間経過後に藍藻類によるアオコの発生が確認された。

これにより、Fv/Fm を測定し、得られた値をモニタリングすることによって、アオコの発生を予測することが可能である。

ケース 1 では、Fv/Fm が高い値を示してから約 1 ヶ月後にアオコが発生していたが、Fv/Fm が高い値を示しても気象条件によってはアオコが発生しなかった場合もあった。ケース 2 では、Fv/Fm が高い値を示してから約 1 週間から 3 週間後にアオコが発生していた。

いずれのケースにおいても、調査地点の地形や流速等の諸条件の違いにより、やや Fv/Fm のピーク時期のずれが生じていたことから、流速が早い、滞留しない地形である等の条件を考慮してアオコ発生予測を行うために適当な調査地点を選定する必要がある。

また、各調査においては、Fv/Fm のピークからアオコが確認されるまでの期間に違いがみられているが、これはダム貯水池の環境条件や測定のタイミングによって左右されることが原因と考えられるため、事例を蓄積することで精度を高める必要がある。

また、Fv/Fm によるアオコの発生予測は、測定のタイミングに依存する可能性があるため、実際に現場で適用する際には、対象水域の Fv/Fm の変動特性 (Fv/Fm の上限値～下限値の幅、変化が生じやすい期間等) を把握した上で、変化把握に適した期間にできる限り密な間隔 (1～2 回/週程度) で測定を行うことが望ましい。

本レポートで行ったアオコ予測の試行は、調査結果を整理した上で Fv/Fm と藍藻類の消長を比較したものであり、アオコ予測を実際に行ったものではない。

今後の課題として、継続的に Fv/Fm のデータを収集し、アオコ予測の運用に向けて精度を高めていく必要がある。

6.2. 藻類の増殖フェーズと Fv/Fm の関係性

単離培養した *Microcystis* 属の供試体（標準株）を含む複数の株を用いて培養試験を行い、細胞密度と Fv/Fm の関係を確認した。

用いた 4 種の株（*Microcystis* 属 2 種：NIES-843,1669、*Dolichospermum* 属 1 種：NIES-2549、*Raphidiopsis* 属 1 種：NIES-3583）で、各フェーズにおける Fv/Fm の凡その目安を把握することができた。

4 種いずれの株においても、細胞が増殖する環境、つまり活性が高い状態では Fv/Fm が 0.5～0.7 程度の値を示していた。一方、定常期以降のフェーズでは、NIES-843 は 0.3 程度、NIES-1669 は 0.1 程度、NIES-2549 は 0.2～0.1 程度、NIES-3583 は 0.1 程度と株によって傾向が異なった。

以上より、Fv/Fm が 0.5～0.7 と高い値を示すと、それ以後に増殖の可能性がある、アオコの種類によって定常期以降の Fv/Fm の挙動は異なるが、概ね Fv/Fm が 0.3 以下であればこれ以降の増殖の可能性は少ないと言え、これらをひとつの目安として捉えることで、現場調査において測定された Fv/Fm から今後のアオコ発生を予測することが可能と考えられる。

ただし、実際のフィールドでは多様な植物プランクトンが存在しているため、環境・気象条件、測定のタイミング、アオコ以外の植物プランクトンの存在比率等によっては培養試験で得られた Fv/Fm の目安値よりも大きく変動する可能性が考えられる。

また、対象水域の傾向、植物プランクトンの現存量、水温等の他の観測データ、藻類の増殖にかかわる窒素、リンの栄養塩類のデータ等を踏まえて湖内の状況を把握することにより、予測精度をより一層高めることが可能とも考えられる。

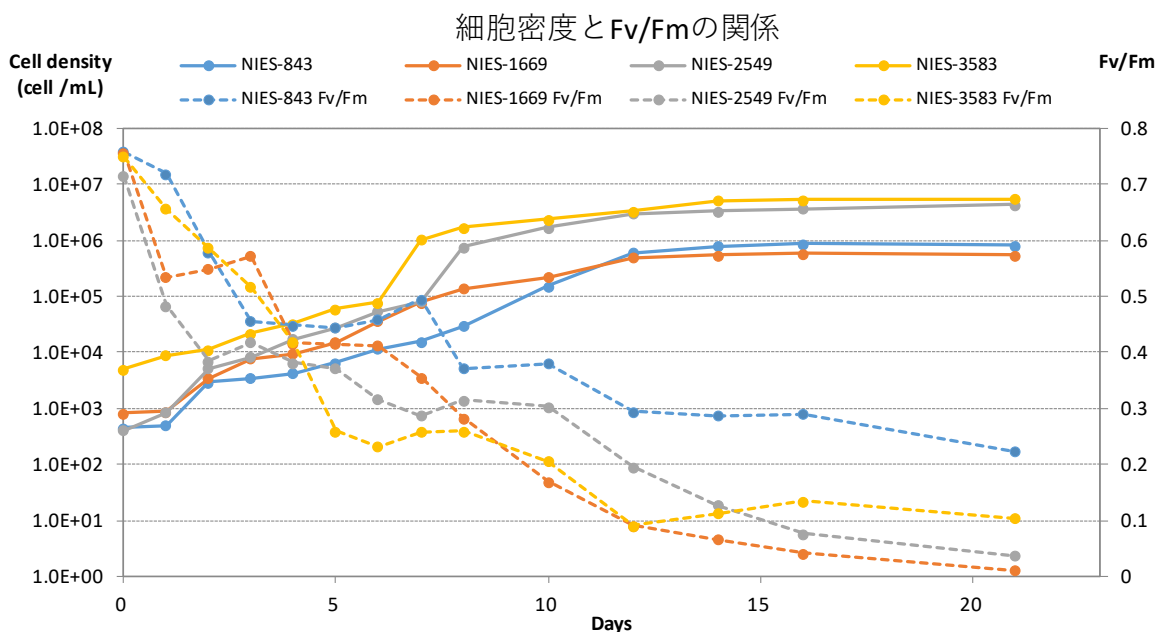


図 6-1 各種株の細胞密度と Fv/Fm の関係（再掲）

6.3. 簡易測定機器の適用可能性（参考）

Fv/Fm の測定にあたり、現場における適用性の模索のため、分光蛍光光度計（F-2700・日立ハイテクサイエンス社製）に加えて、ポータブル簡易測定機器（FC-1・東海光学社製）を用いて評価（表 6-1）を行った。

分光蛍光光度計とポータブル簡易測定機器でそれぞれ Fv/Fm を測定したところ、概ね同様の結果が得られたが、一部で測定値が得られない等のトラブルが生じた。この原因については、試料の状態や性状、測定手順、機器の状態等が考えられたが、特定することはできなかった。

しかし、不具合が生じた場合を除けば、分光蛍光光度計とポータブル簡易測定機器において、検出下限値に大きな差はなく、検出可能なレベルは概ね同程度であった。

実際の現場では、卓上型の機器に比べて小型で手軽に Fv/Fm を測定できるポータブル簡易測定機器の利便性は非常に高いものと考えられる。適用に際しては、分光蛍光光度計との比較データを蓄積しつつ、操作性・メンテナンス性等を十分考慮して判断することが望ましい。

調査においては、Fv/Fm とアオコ細胞数の傾向がやや異なった期間があったため課題はあるものの、現場で手軽に測定できるメリットは大きい。励起・蛍光波長をカスタマイズ可能であること、機器本体が軽量化されていること、バッテリー式のため電源コンセントが不要であること等から、機器の取扱いや維持管理に問題がなければ有用な機器であると評価される。

現状のテーブル試験結果から、簡易測定機器を用いたフィールドにおける DCMU 蛍光法の適用は十分に対応可能と考えられるが、検証のため、実際のフィールドでアオコが発生する前の試料を用いてデータを蓄積していく必要がある。

ただし、簡易測定機器は、卓上型に比べて検出感度が低くなることが課題である。感度がどれだけ高いものでも、低コストで現地測定ができるような機器が望ましい。このため、より精度の高い、安価な簡易測定機器の開発が求められる。


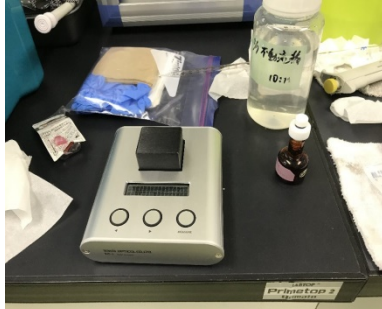
既存のターナーデザイン社の「アクアフルオ⁸」（図 6-2, 図 6-3）は、フィールド調査に適しており、持ち運びが容易であることから、有用な結果が得られる可能性が高い。

また、参考文献⁹では、LED を用いた簡易測定装置（図 6-4）を開発しており、蛍光を測定する DEMU 蛍光法にも適用可能である。このような低コストで簡易に測定が可能な機器を用いることができれば、データの蓄積が一層容易になるものと考えられる。

⁸ [AquaFluor Handheld Fluorometer | Turner Designs | United States](https://www.turnerdesigns.com/aquafluor-handheld-fluorometer)
(<https://www.turnerdesigns.com/aquafluor-handheld-fluorometer>)、[サービス／製品一覧 - 株式会社アムラボ \(am-lab.co.jp\)](http://www.am-lab.co.jp/service.html) (<http://www.am-lab.co.jp/service.html>)

⁹ 齋藤允由紀, 小型他波長センサーを用いた植物プランクトンの蛍光測定装置の開発について, 2022 年度 程木研究室 卒業研究

表 6-1 卓上型と簡易測定機器の比較

測定機器	分光蛍光光度計	ポータブル簡易測定機器
機種	F-2700	FC-1
メーカー名	日立ハイテクサイエンス	東海光学
機器写真		
初期費用	200~300万程度	50万程度
操作容易性	△ (安定化までに時間を要する)	○ (波長固定式、すぐに測定可)
現場への適用性	× (設置環境に制限)	○
測定感度	○	△ (低濃度側の感度が低い)
検出下限	0.1mg/L(ローダミン B)	0.1mg/L(ローダミン B) ※極端な低濃度では安定した測定値が得られないため注意が必要。
繰り返し精度	○	○
直線性	○	○
維持管理	○	○ (標準物質を用いた感度管理)
Fv/Fm とアオコ細胞数	○ (概ね傾向は捉えられる)	△ (操作性・維持管理の確認が必要)

AquaFluor®

Handheld Fluorometer/Turbidimeter

TURNER
DESIGNS



AquaFluor® ハンドヘルド蛍光光度計/濁度計

アクアフルオ (AquaFluor®) は小型、軽量、安価なハンドヘルドの蛍光/濁度計です。フィールド・ユースを想定した本装置は実験室から離れた環境での迅速な計測を必要とする方々に最適です。個々にキャリブレーションもできるデュアルチャンネル設計ですから、1つのサンプルだけで蛍光と濁度の両方を容易に計測できます。ターナーデザインの蛍光光度計は小型軽量であってもその性能に妥協はありません。

アプリケーション

アクアフルオ (AquaFluor®) は下記のリストから1つまたは2つのアプリケーションを選択できます。:

- ・濁度 (Turbidity)
- ・ *In Vivo* クロロフィル (*In Vivo* Chlorophyll)
- ・ 抽出クロロフィル a (Extracted Chlorophyll a)
- ・ 藍藻 (陸水) - Phycocyanin (freshwater)
- ・ 藍藻 (海洋) - Phycoerythrin (marine)
- ・ フルオレッセイン (Fluorescein Dye)
- ・ ローダミン WT (Rhodamine Dye)
- ・ アンモニウム (Ammonium, OPA 法)
- ・ 溶存有色/蛍光有機物 (CDOM/FDOM)
- ・ 増白剤 (Optical Brighteners for Wastewater Monitoring)

ご要望に応じてカスタマイズいたします。お問い合わせください。

アクアフルオ (AquaFluor®) の特徴

- ・ ボタン操作で2つのアプリケーションを切り替えるデュアルチャンネル
- ・ 持ち運びが容易なポケットサイズ
- ・ フィールドでの利用を想定した防塵、防水構造でメンテナンスも容易
- ・ ブランク、シングルポイントキャリブレーション機能
- ・ 12bit の分解能
- ・ 単四電池 4 本で 1000 回測定
- ・ ワームアップはわずか 5 秒



オプション アクセサリー

- ・ 1000 ポイントまでログ・データを PC にダウンロードするロギング・ケーブル
- ・ 迅速にキャリブレーション、安定性、性能をチェックできるアジャスタブル・ソリッド・スタンダード。

Reliable Instruments for an Unreliable World

am-lab

URL: <http://www.am-lab.co.jp/>

(出典：株式会社アムラボ (<http://www.am-lab.co.jp/service.html>) より受領したカタログを抜粋)

図 6-2 「アクアフルオ」カタログ (1)

AquaFluor®

Handheld Fluorometer/Turbidimeter



アプリケーション	検出限界	リニアレンジ
Ammonium	0.1 µM	0 - 100 µM*
CDOM/FDOM	0.1 ppb	0 - 1000 ppb
Chl <i>a</i> Extracted - Acidification	0.5 µg/L	0 - 300 µg/L
Chl <i>in vivo</i>	0.3 µg/L	0 - 300 µg/L
Fluorescein Dye.	0.4 ppb	0 - 400 ppb
Optical Brighteners	0.5 ppm	0-30,000 ppm
Phycocyanin	1 ppb	0-3,500 ppb
(Freshwater Cyanobacteria)	10 ppb	0-20,000 ppb
Phycocerythrin	150 cells/ml	0 - 150,000 cells/ml
(Marine Cyanobacteria)		
Rhodamine Dye	0.4 ppb	0 - 400 ppb
Turbidity	0.5 NTU	0 - 1000 NTU

* Ammonium linear range >10 µM requires minicell adapter and minicells
 ** PC linear range >3500 ppb requires minicell adapter and minicells

AquaFluor®	物理的仕様
重量	0.4 kg
寸法	4.45 cm x 8.9 cm x 18.4 cm
ウォームアップ	5 秒
ケース	IP 67
温	5-40° C

AquaFluor®	電氣的仕様
電源	単 4 乾電池または充電電池
検出器	フォトダイオード (300nm~1,000nm)

Ordering Information

INSTRUMENT	PART NUMBER	AVAILABLE CHANNELS	PART NUMBER
AquaFluor® Handheld Fluorometer/Turbidimeter	8000-010		
		Turbidity	8000-408
		Chlorophyll <i>in vivo</i>	8000-406
		Chlorophyll <i>a</i> Extracted	8000-407
		Blue Green Algae - Phycocyanin (freshwater)	8000-412
		Blue Green Algae - Phycocerythrin (marine)	8000-411
		Fluorescein Dye	8000-405
		Rhodamine Dye	8000-409
		Ammonium	8000-402
		CDOM/FDOM	8000-401
		Optical Brighteners for Wastewater Monitoring	8000-403
		<i>Contact us for Custom Optics</i>	

*For use with chlorophyll, phycocerythrin, phycocyanin and rhodamine WT channels only
 **For use with fluorescein channel only
 ***Required for use with extracted chlorophyll
 ****Recommended for use with turbidity
 *****Required for use with UV (<400nm)

株式会社アムラボ
 〒273-0864
 千葉県船橋市北本町1-17-25
 ベンチャープラザ船橋 216
 TEL 047-455-8031 FAX 047-455-8032
 e-mail: info@am-lab.co.jp

Reliable Instruments for an Unreliable World



URL: <http://www.am-lab.co.jp/>

(出典：株式会社アムラボ (<http://www.am-lab.co.jp/service.html>) より受領したカタログを抜粋)

図 6-3 「アクアフルオ」カタログ (2)

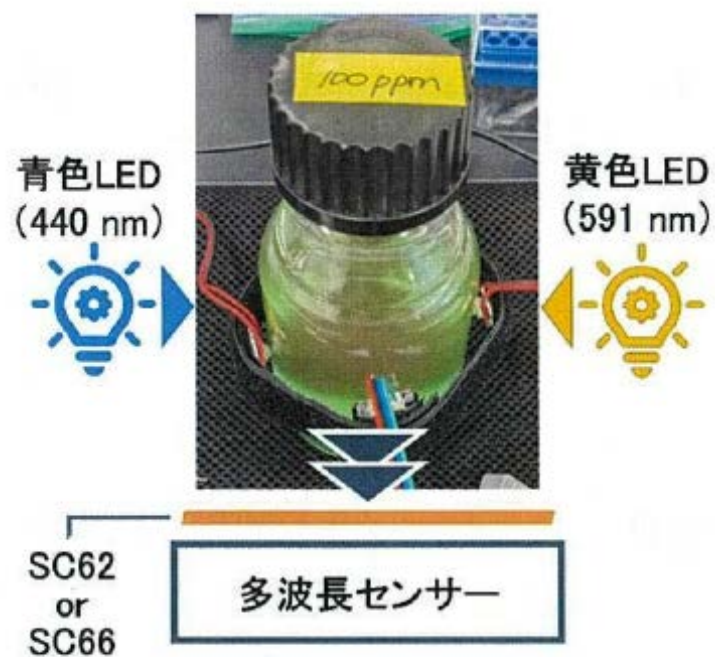


図4 装置全体の構成

(出典：「小型他波長センサーを用いた植物プランクトンの蛍光測定装置の開発について (2022年度 程木研究室 卒業研究, 齋藤允由紀)」より抜粋)

図 6-4 蛍光測定装置