

東三河生態系ネットワークフォーラム

2016



穂の国いきものがたり
子どもたちへ水と緑でつなげよう

要旨集

日 時 / 2016年(平成28年)11月19日 土
10:40~16:00(開場10:15)

場 所 / 国立大学法人 豊橋技術科学大学

主会場 / A棟1階 A-101室 〒441-8580 愛知県豊橋市天伯町雲雀ヶ丘1-1

主催 / 東三河生態系ネットワーク協議会

共催 / 国立大学法人 豊橋技術科学大学

後援 / 愛知県・豊橋市・豊川市・蒲郡市・愛知大学

PROGRAM プログラム

10:15 ● 開場

10:40 ● 開会
挨拶 会長 梶野保光(NPO法人 東三河自然観察会 理事)
挨拶 豊橋技術科学大学 学長 大西 隆
挨拶 愛知県 環境部 自然環境課 内藤芳則

11:00 ● 基調講演 「第6の大量絶滅を前にして、いま生物多様性をあらためて考える」
副会長 平石 明(国立大学法人 豊橋技術科学大学 環境・生命工学系 教授)

12:00 ● ポスター発表・パネル展示

《ポスター発表》

- PP-1 光合成色素の分析
菅沼拓己・北村和也・市川洪喜・澤山太一・森田賢・中澤和希・荒木喜教(愛知県立豊橋東高校 GLOBE)
- PP-2 バクテリアの特定遺伝子の増幅および制限酵素断片解析
黄木敬・加藤理央奈・三小田莉菜・高岡優衣・八田千秋・深見保浩(愛知県立豊橋東高校 GLOBE)
- PP-3 生分解性ポリマーを利用した環境保全
加藤直也・山本遥平(愛知県立豊橋南高校)
- PP-4 亜硝酸の検出(ハム、ベーコンに添加されている亜硝酸)
前田綾也(愛知県立国府高校 サイエンス部)
- PP-5 カイワレ大根の生育に及ぼす添加溶液の影響
林 飛鳥・久嶋一毅(愛知県立国府高校)
- PP-6 豊橋市の干潟に生息するウミノシロ類の分布
谷川琢磨・坂本さくら・川合団平・富川紗恵・安田樹弘(愛知県立豊丘高校 自然科学同好会)
- PP-7 種子植物とコケ植物のストレス耐性の研究
濱口青空・安田樹弘(愛知県立豊丘高校)
- PP-8 豊橋市の向山大池に生息する魚類の移り変わり
谷川琢磨・坂本さくら・川合団平・富川紗恵・安田樹弘(愛知県立豊丘高校 自然科学同好会)
- PP-9 水資源循環の要としての排水処理プロセスと微生物の生態
成廣 隆(産業技術総合研究所)
- PP-10 土壌線虫のDNAバーコードによる分布
石川将大・広瀬 侑・浴 俊彦(豊橋技術科学大学 環境・生命工学系)
- PP-11 窒素循環と放線菌の役割
Surya Giri・平石 明(豊橋技術科学大学 環境・生命工学系)

12:00 ● ポスター発表・パネル展示

《パネル展示》

- B-1 (NPO)朝倉川育水フォーラム
- B-2 (NPO)東三河自然観察会
- B-3 (NPO)穂の国森づくりの会
- B-4 530運動環境協議会
- B-5 手取山公園管理協力会
- B-6 とよかわ里山の会
- B-7 さがらの森もりクラブ
- B-8 豊橋技術科学大学 環境・生命工学系(浴 俊彦)「土壌線虫における種多様性」
- B-9 豊橋技術科学大学 先端農業・バイオリサーチセンター(山内高広)「先端農業・バイオリサーチセンターにおける自然・環境教育の取組み」
- B-10 豊橋市 環境部 環境保全課「アカウミガメの来る表浜海岸と汐川干潟の紹介」
- B-11 豊川市 環境部 環境課「生物調査や里山保全に関する取組みについて」
- B-12 愛知県 環境部 自然環境課「あいち生物多様性戦略2020の取組について」
- B-13 国土交通省 中部地方整備局 豊橋河川事務所「豊川で実施している干潟、ヨシ原の再生について、実施内容と効果について紹介」
- B-14 三河湾環境チャレンジ実行委員会「三河湾環境チャレンジ 海の世界学習」
- B-15 渥美半島生態系NW協議会(後藤尚弘)
- B-16 桜丘高校 生物部「朝倉川の生物」
- B-17 愛知県立豊橋東高校GLOBE「おいでん、東三河ジオパーク」

14:00 ● 口頭発表

- OP-1 朝倉川の生物
蒲野健一(桜丘高校 生物部)
- OP-2 おいでん、東三河ジオパーク
田形寛斗・中畑遼祐・上杉光平・内藤広稀・朝倉稜翔・渡會一恕・尾崎恭兵(愛知県立豊橋東高校 GLOBE)
- OP-3 生分解性ポリマーを利用した環境保全
加藤直也・山本遥平(愛知県立豊橋南高校)
- OP-4 音羽川の水質調査
山口公平・篠田敦弘・今泉祐人(愛知県立国府高校 サイエンス部)
- OP-5 朝倉川流域ビジョン2015
高橋豊彦((NPO)朝倉川育水フォーラム)
- OP-6 荒廃した竹林の整備をめざす
竹本丘平(とよかわ里山の会)
- OP-7 豊川における自然再生について
竹内秀人(国土交通省 中部地方整備局 豊橋河川事務所)

16:00 ● 閉会

はじめに

本日は、「東三河生態系ネットワーク協議会フォーラム 2016 穂の国いきものがたり子どもたちへ水と緑でつなげよう」にお越しいただき、まことにありがとうございます。ご多忙の中、足を運んでいただき、協議会会員一同、心より御礼申し上げます。

生態系ネットワーク協議会は「人と自然が共生するあいち」を目指す愛知県独自の取組である「あいち方式」により、地域の多様な主体が共通の目標のもとに協働しながら、生物の生息環境空間の保全・創出を行い、生物多様性への意識を高め、自然と人のつながりを育む仕組として設置されました。県内を9地域に区分し、各地域の協議会がそれぞれの活動を行っています。

このフォーラムも協議会発足以来、3回目を迎えました。今年は、国立大学法人豊橋技術科学大学のキャンパスをお借りして開催できる運びとなりました。「技科大」（地元ではこう呼ばれて親しまれています）は今年、開学40周年を迎え、ますます、グローバルな高等教育専門機関として発展されています。私の所蔵する「豊橋技術科学大学十年史」には、創設の時代の記録など172ページにわたり記載されていました。往年、緑地環境学を学んだ私は、この大学の環境整備がどのように行われたかを知るため、「十年史」の環境整備を拝見しました。戦前は軍の演習地であった天伯原でのキャンパス整備は、敷地の南東部及び西端部の既存樹木をそのまま保存し、広いキャンパスの緑化には、今でいわれる「宮脇方式」で風土に似あった自然的な森、いわゆる「鎮守の森」の考えに従って行われたようです。40年経過した今では樹木も成長し、多様な生きものが生息する場所となり、東三河地域における生態系ネットワーク形成の大きな役割を担っていると実感しています。

今回のフォーラムでは、東三河地域で自然科学関係の研究や活動をされている高校生のみなさんの口頭発表や地域で生物多様性保全・創出に取り組んでいる団体、豊川の自然再生事業を進める、国土交通省中部地方整備局豊橋河川事務所からの事例報告や協議会加盟団体の活動報告パネル展示、ポスター発表があります。基調講演では当協議会副会長平石 明（国立大学法人豊橋技術科学大学教授）さんの「第6の大量絶滅を前にして、いま生物多様性をあらためて考える」をお聞きいただきたいと思います。なお、日本学術会議会長でもあられる豊橋技術科学大学の大西 隆学長のご挨拶と愛知県環境部のご挨拶をこの後、いただきたいと思います。

本日の「東三河生態系ネットワーク協議会フォーラム 2016」が東三河における生物多様性への意識を深め、生態系ネットワークの形成に貢献できることを願っています。

今後とも、当協議会へのみなさま方のご支援、ご指導をいただきたく、よろしくお願い申し上げます。

2016年（平成28年）11月19日
東三河生態系ネットワーク協議会
会長 梶野 保光

大学からのご挨拶

本日は、東三河生態系ネットワーク協議会と豊橋技術科学大学との共催、ならびに本学40周年記念事業の一環として、東三河生態系ネットワークフォーラム2016が本学で開催されますことを、大変喜ばしく存じます。皆様におかれましては、ご多忙の中ご足労いただき、大学を代表しまして心より御礼申し上げます。

本学は開学以来、技術を支える科学の探究によって新たな技術を開発する学問、技術科学の教育・研究を使命としてきました。この使命のもと、大学院教育に重点を置いた実践的・創造的技術リーダーと研究者の育成を行なうとともに、次代を切り拓く先端的な技術科学の研究を展開しております。さらに、地域社会との連携を強化しながら、地域や世界に開かれたトップクラスの工科系大学を目指しております。東三河生態系ネットワーク協議会、地元自治体、地域の高等学校との連携、協働は正にこの一環として推進しているものであります。

具体的な大学の使命の一つとしては、人類の持続的生存や豊かな社会の構築に資する科学的概念や先端技術の提供がありますが、それは一義的に地域や地球規模での自然環境の保全があることではじめて成立することでもあります。愛知県主導の下、県内9地域に設けられた生態系ネットワーク協議会は、この持続的社會構築の基本的考え方に添うものであり、地域の生物の生息環境空間の保全・創出、生物多様性への意識向上、自然と人との共生を目指して活動されていることを理解しています。本学はこの理念を共有し、地域の高等教育研究機関として積極的な人的・技術的支援ができれば嬉しい限りです。

今回のフォーラムでは、東三河地域で自然科学関係の研究や活動をされている高校生の皆さんの口頭発表やポスター発表が中心となると聞いております。次世代を担う若い皆さんの科学的好奇心と活動の成果がこのような場で発揮されることで、さらに将来へと繋がり、前述したような持続的社會構築へ貢献できることを願ってやみません。豊橋技術科学大学はこのような若者や市民に開かれた大学として、今後ますます教育研究や地域貢献に力を入れて行きますので、よろしくご挨拶申し上げます。

2016年（平成28年）11月19日
豊橋技術科学大学
学長 大西 隆

第6の大量絶滅を前にして、いま生物多様性をあらためて考える

平石 明

豊橋技術科学大学環境・生命工学系

東三河生態系ネットワーク協議会（以下本会）は、愛知県が主導する県内の生態系ネットワーク構築を目標とする9協議会の一つである。このネットワーク構築の主旨は、生物多様性と生態系を保全していくために、県内の点在する生物の生息生育空間をできるだけ広い面積で保全・再生し、さらにそれぞれの空間をネットワーク化することによって生物が安定的に生存できる環境をできる限り確保するというものである。この考え方は、生態的回廊（エコロジカル・コリドー）に通じる。愛知県は、この基本的考え方として、ある生物の生息に適した自然が喪失した場合でも、その生物の移動可能な範囲に類似の自然があれば、その地域における絶滅の危険を減少できるとしている。東三河地域は、新城設楽地域の山間部から平野部を挟んで海岸線で囲まれた渥美半島地域までを包括する多様な自然環境を有する地域であり、地域内を流れる河川がこれらの自然環境をつないでいる。本会では、このような特徴ある多様な自然を保全・再生し、水と緑でつなげる取り組みを推進しながら人にとって真に豊かで持続可能な社会を構築していくことを目的としている。昨年度のフォーラムでも述べたように、この活動において重要なキーワードが、生態系および生物多様性である。本講演では、この二つのキーワードに関して現在地球上で起こりつつあると考えられる大量絶滅という事象を紹介しながら、未来への展望を述べる。

先に、「ある生物の生息に適した自然が喪失した場合でも、その生物の移動可能な範囲に類似の自然があれば、その地域から絶滅する危険を減らすことができる」と述べたが、そもそも自然が喪失する要因は何であろうか。また移動可能な範囲に類似の自然があれば、生物が移動することによって絶滅の危機を回避できるであろうか。もっと根本的なことを言えば、なぜ生態系と生物多様性の保全を目指さなければいけないのだろうか。ここでは混乱を避けるために、砂漠や南極などの物理的自然と区別して、生物多様性を有する生態系を自然という形に限定して話を進める。

まず、自然が喪失する原因として気候変動などの環境の変化がある。人類が生まれる以前の太古の時代には、地球規模の生物の大量絶滅が少なくとも5回起こっており、大規模な環境変動が絶滅の原因であると考えられている（図1）。例として、最も新しい5回目の大量絶滅は、6,550万年前に起こった地球への隕石の衝突の伴う大規模な環境変動が原因であると結論づけられている。この環境変動により恐竜は絶滅した。しかしながら、この後哺乳類を中心とする新しい生物進化が起こり現在に至っている。

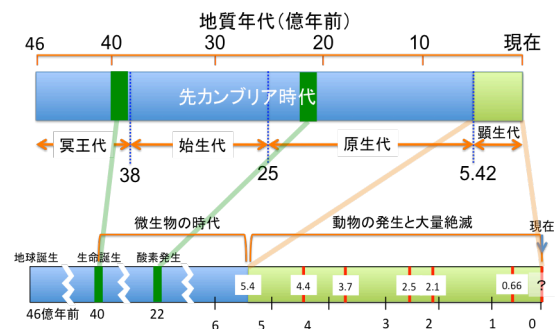


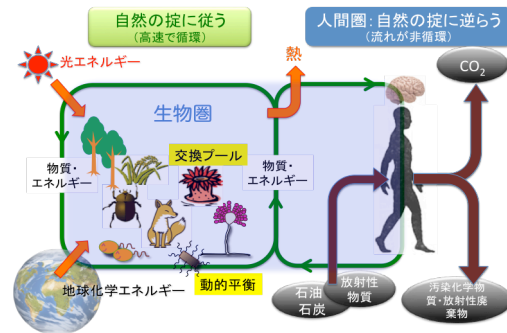
図1. 地球の地質年代（上）と生物学的出来事（下）. 顕生代以降の5回の大量絶滅（5.4, 4.4, 3.7, 2.5, 2.1, 0.66 億年前）を示す.

一方、現在起こりつつある自然喪失は、人類活動そのものが環境への圧力となっている事象である。また、人類活動が環境変動の原因ともなっていて、その要因が複雑化している。現在、年間4万種とも推定されている生物の絶滅速度は地球史において例を見ない驚異的な速さであり、地球はすでに第6の大量絶滅時代に突入したと考えられている (Ceballos et al. 2015)。

なぜ、人類そのものが環境圧として自然喪失の原因となるのか、そのことを考察するには他の生物には見られないヒトの特徴を捉えてみる必要がある。その特徴とは、きわめて発達した脳を有することである。大脳皮質の発達は哺乳類の特徴であるが、そのなかでもヒトは群を抜いている。前頭葉から快楽・報酬ホルモンであるドーパミンが分泌されることにより、ヒトは常に目新しいことや報酬を得られる行動に興味を抱き続ける。その結果、次々と道具や機械を発明し、文明とよばれる人間圏の世界を作り上げた。問題は、この過程で生物地球化学的循環に組み込まれない化石資源や物質を大量に使っていることであり、その循環に組み込まれているとしても工業的窒素固定のように、自然界の素反応を大幅に上回る速度で物質を濃縮することである。ドーパミン効果による欲望は、貨幣経済を作り出し、自然の掟を考慮することなく利益を上げることや成長することを自己目的化してしまう。そのため、それらの行為が多かれ少なかれ自然を崩壊させることになる。里山思想のような環境のゾーニング（目的別区分け）を行なうことで、自然喪失をある程度防止できると考えられるが、ドーパミン効果はそれさえも分断してしまう傾向があり、貨幣経済の権化である資本主義社会そのものでさえ、現在崩壊の危機にさらされている。

いま進み始めている第6の大量絶滅の原因は人間そのものにあると言えるが、その絶滅の一員として人間も含まれる。すなわち、第6の大量絶滅は人間そのもの絶滅でもある。大量絶滅を促進させる要因の第一は気候変動・地球温暖化である。そのほか、ヒトの生存に及ぼす危機要因として、環境変動に伴う食糧・水危機、ゲノム編集による生態学的攪乱、AI（人工知能）の拡大・暴走、核戦争などが挙げられている。このように考えると、生態系や生物多様性を考えるということは、実は人類の永続的生存を考えるということにほかならない。また、地球規模での気候変動は、局所的な自然の保護・再生というよりは、すでに人間の生き方や社会そのものを変える必要があることを示唆している。人間はドーパミン効果による欲望をむき出しにする一方で叡智も有する。マルサスの人口論では、食糧の現存量を上回る人口過剰や貧富の差は社会システムでは回避できないとされた。一方でダーウィンは、人間は叡智を有するために弱肉強食的競争を回避できるとした。いま、生物多様性という命題を前にして、ダーウィンが唱えた人類の叡智が試されている。

図 2. 生物地球化学的循環（＝生物体を通る地球規模での物質の循環）と人間活動（人間圏）との関係。緑の矢印で示す生物地球化学的循環は、ヒトを含むすべての生物体を通り、高速に進行する。この循環に組み込まれない化石燃料や放射性物質は、人類の利用により、それぞれCO₂・汚染化学物質および放射性廃棄物として蓄積されていく。



光合成色素の分析

菅沼拓己・北村和也・市川洪喜・澤山太一・森田賢・中澤和希・荒木喜教
愛知県立豊橋東高等学校 GLOBE (化学班)

1. はじめに

食物連鎖上、従属栄養生活を行なう動物にとって、食べ物の色は、それをエサと認識するための重要な情報と考えられる。また私たち人間の場合、食品が持つ色彩は食欲に対して大きな役割をもつと考えられる。私たちは、食品を美しく見せるために、光合成色素などの自然由来の色素を使って着色させることを試みてきた。一例として、青色の蒸しパンケーキを作るために、藍色細菌（シアノバクテリア）の一種であるスピルリナに含まれるフィコシアニンという青色の光合成色素を使ったが、ケーキに青色は現れなかった。そこで今回、私たちは、フィコシアニンをより濃く抽出する方法を探ること、また、一般の野菜や光合成生物にどのような色の光合成色素が含まれるかを知ることの主な目的として、スペクトル分析やクロマトグラフィーを使った実験を行った。

2. 方法

2-1. 供試材料

市販の *Spirulina* 粉末錠剤「スピルリナ 100」、ホウレンソウ *Spinach oleracea*、および酸素非発生型光合成細菌 "*Rhodospirillum rubrum*" TUT3520 株を用いた。

2-2. 光合成色素の抽出

スピルリナ 100 は乳鉢中で粉末化した（図 1）。ホウレンソウは葉を細断し、同様に乳鉢中で粒状シリカゲルを混ぜながら粉末状にした。TUT3520 株は、培養液から遠心分離で細胞を集め、ペレット化した。それぞれの試料を 50 mL 容遠心チューブに採取し、それらに 30 mL のアセトン・エタノール混液（7:2, v/v）を入れ、10 分間振とうしながら色素を抽出した。また、スピルリナ 100 およびホウレンソウは別途純水中に懸濁し、水溶性成分を抽出した。



図 1. 供試試料の外観

2-3. 吸収スペクトル分析

分光光度計は、光源から出た光が試料を通るとき、どの波長の光をどれだけ吸収したかを測定する。光源から測定に用いる波長の光を回折格子によって単色光に分光し、ガラスや水晶でできたセルに入った試料に入射させ、試料を透過した光の強度を検出する。今回は 1 mL セルに直接上記のアセトン・メタノール抽出液を入れ、島津 Biospec1600 分光光度計を用いて、波長 350-900 nm での吸収スペクトルを測定した。

2-4. 薄層クロマトグラフィー (TLC)

TLC は通常ガラス板上にコーティングした担体に試料をスポットし、展開溶媒で試料を展開し、担体の吸着と溶媒への溶解能の差によって成分を分離する。今回の分析

ではシリカゲルアルミニウムシートに上記のアセトン・メタノール抽出物をスポットし、ヘキサン・アセトン混液で (7:3, v/v) で展開した。分離された緑色～藍色のクロロフィル、赤、黄色などのカロテノイド成分を肉眼的に判定した。

2-5. 高速液体クロマトグラフィー (HPLC)

HPLC では、溶離液とカラム充填剤への吸着特性の違いにより、サンプルの成分を分離し、検出器によって検出する。今回は、上記のアセトン・メタノール色素抽出液を分析対象試料として、HPLC 分析した。本体として島津 LC10A システム、カラムとして逆相 ODS カラム、溶離液としてメタノール・イソプロピルエーテル (10:1, v/v) を用いた。マイクロシリンジで試料 20 μ L を注入し、フォトダイオードアレイ検出器により 388 nm および 450 nm でモニターしながら、PC の分析画面に表示された各成分の保持時間およびスペクトルパターンから成分を同定した。

3. 結果と考察

3-1. 吸収スペクトル分析

スピルリナ、ホウレンソウ、および光合成細菌 TUT3520 株からのアセトン・メタノール抽出物およびスピルリナの水溶性抽出物の吸収スペクトルを図 2 に示す。この結果から、スピルリナには特有の脂溶性光合成色素 (クロロフィルなど) と容易に水で抽出される青色色素 (フィコシアニン) が含まれていることが分かる。

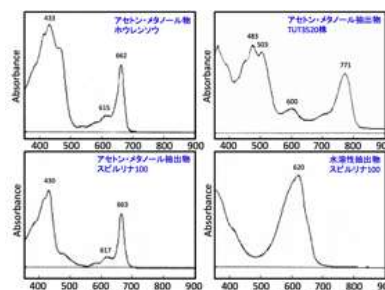


図 2. 供試試料からのアセトン・メタノール抽出物および水溶性抽出物の吸収スペクトル。

3-2. TLC による分析

スピルリナ、ホウレンソウ、および光合成細菌 TUT3520 株からのアセトン・メタノール抽出物の TLC 展開を図 3 に示す。スピルリナ、ホウレンソウからは緑色のクロロフィルが同一産物としてえられたがカロテノイド成分は異なっていた。光合成細菌からは、クロロフィルとは泳動度が異なる藍色のバクテリオクロロフィルが検出された。

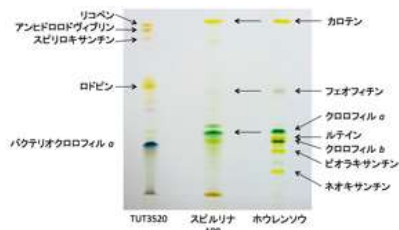


図 3. 供試試料からのアセトン・メタノール抽出光合成色素のシリカゲル TLC による分離。

3-3. HPLC 分析

次に HPLC で、スピルリナ、ホウレンソウ、および光合成細菌 TUT3520 株からのアセトン・メタノール抽出物を分析した結果、TLC と同様に (バクテリオ) クロロフィルとカロテノイド成分が分離された (データ未表示)。

5. おわりに—今後の展望

今回は光合成生物の光合成色素全般を分析した。今後は高校の設備でフィコシアニンをより濃く抽出する方法を探っていくとともに、フィコシアニンをより多く含む光合成生物やフィコシアニンのほかに青色の色素が無いかについても検討する。

最後に、実験指導をいただいた豊橋技術科学大学の平石明教授ならびに同研究室大学院生 Surya Giri 氏に感謝いたします。

バクテリアの特定遺伝子の増幅および制限酵素断片解析

黄木敬・加藤理央奈・三小田莉菜・高岡優衣・八田千秋・深見保浩
愛知県立豊橋東高等学校 GLOBE（生物班）

1. はじめに

生物の姿、形（表現型）や多様性は、それらの設計図に相当する遺伝子によって決まる。遺伝子の実体は DNA であり、それを構成する 4 種類の塩基の配列の違いで、生物の表現型も違ってくる。私たちが研究しているゲンノショウコ（フウロソウ科の多年草）の花の色の違いも、遺伝子や DNA の変異に依存していると考えられる。このような特定の遺伝子の違いを調べるために用いる方法として PCR 法がある。今回、私たちは細菌を実験材料として、PCR 法を用いて特定遺伝子を増幅し、細菌の種を識別・同定することを試みた。生物を分類する分子マーカーとして、リボソーム RNA（rRNA）がよく使われる。実際の解析では、リボソームの小サブユニット rRNA（細菌の場合 16S rRNA）をコードする遺伝子をゲノム DNA から PCR 増幅し、その塩基配列を解読することにより、種や分類群を決定する。今回は、細菌株から 16S rRNA 遺伝子を PCR で増幅し、その産物を制限酵素で消化することで生じる断片の多型性（制限酵素断片多型性、restriction fragment length polymorphism [RFLP]）を電気泳動で調べて塩基配列の間接情報を取得し、種の識別・同定を行なった。

2. 方法

2-1. 供試菌

豊橋技術科学大学環境・生命工学系平石研究室において馴養中の活性汚泥を植種源とする固相脱窒リアクターから分離された脱窒細菌 7 株を用いた。対照株として、すでに 16S rRNA 遺伝子配列が解読され、RFLP パターンが分かっている脱窒菌 *Diaphorobater nitroreducens* NA10B 株を用いた。

2-2. DNA の抽出

供試菌の培養液 10 mL を遠心分離した後、1×PBS (pH 7.0) で洗浄し、ミリ Q 水に再懸濁した。懸濁液の 40 μ L を 1.5 mL 容マイクロチューブに採り、Proteinase K 溶液 10 μ L、BL buffer（溶菌緩衝液）50 μ L を加えて混和し、60°C で 20 分間インキュベートした。その後 100°C で 5 分間加熱処理し、Proteinase K を失活させた後、遠心分離し、上清（cell lysate）を回収した。NanoDrop 分光光度計で 260 nm の吸光度を測定し、DNA 量を求めた。

2-3. PCR 増幅と検出

PCR はタカラバイオのプレミックス試薬と細菌 16S rRNA 遺伝子のユニバーサルプライマーを用いて行なった。Premix Taq 25 μ L、鋳型 DNA 溶液 1.0 μ L (≤ 50 ng μ L⁻¹)、forward primer 27f 2.0 μ L、reverse primer 1492r 2.0 μ L、ミリ Q 水（純水）20 μ L の総量 50 μ L の PCR 混液をマイクロチューブ内に入れ、サーマルサイクラー（PCR 装置）にセットした。サイクル反応は、98°C-10 秒、55°C-30 秒、72°C-60 秒の 30 サイクルで行なった。PCR 産物は、1.5%アガロースゲルによる電気泳動で分離し、臭化エチジウムで染色後、紫外線照射下で検出した。

2-4. RFLP 解析

PCR 産物は、ポリエチレングリコール (PEG) 沈殿法で精製し、制限酵素 HhaI (GCG↓C) を用いて 37°C で 1 時間断片化処理を行なった。処理物は 2% MetaPhor アガロースゲル電気泳動で分離し、RFLP 解析を行なった。

4. 結果および考察

NA10B 株を含めた 8 株から粗 DNA を抽出し、これを鋳型として 16S rRNA 遺伝子の PCR 増幅を試みた。PCR 産物のアガロースゲル電気泳動による検出結果を図 1 に示す。BH01 株 (レーン 2, 3) を除くすべての株で、予測値と同じ約 1.5 kb の産物が検出され、目的遺伝子の PCR 増幅に成功した。BH01 株は、DNA 抽出液の回収に失敗し、ほとんど DNA が含まれていない状態のまま PCR を行なって結果であり、未検出は予測された結果である。

得られたすべての PCR 産物を精製し、制限酵素 HhaI により断片化処理を行なった。HhaI は DNA 中の GCG↓C の配列を認識して↓の部分で切断する。制限酵素消化物を MetaPhor アガロースゲル電気泳動で検出した結果、3 つの RFLP パターンが得られた (図 2)。その中の一つである *D. nitroreducens* NA10B 株は、今回の PCR 産物に相当するポジション 8-1510 の領域 (約 1.5 kb) で HhaI 処理した場合、528, 361, 347, 205, 50 bp の断片を生じることがわかっている。予測どおり、本株からは 528, 347-361, 205 の 3 つの主要バンドが検出された (レーン 2, 9)。同様の RFLP パターンは、他の 3 株 (レーン 3, 4, 5) からも検出されたことから、これらは *D. nitroreducens* か、あるいは類縁菌と考えられる。

ほかの 2 つのパターンはレーン 6, 8 とレーン 7に見られたが、これらの分類学的帰属のためには、さらに塩基配列を直接解読する必要がある。

4. おわりに—今後の展望

今回、私たちは PCR と RFLP の実験に取り組み、細菌の DNA から特定遺伝子 (16S rRNA 遺伝子) を取り出し、その塩基配列の違いを利用して細菌を識別・同定できることを学んだ。このようなアプローチは、現在私たちが研究しているゲンノシヨウコの遺伝子にも応用できると考えられる。最後に、実験指導をいただいた豊橋技術科学大学の平石明教授ならびに同研究室大学院生 Surya Giri 氏に感謝いたします。

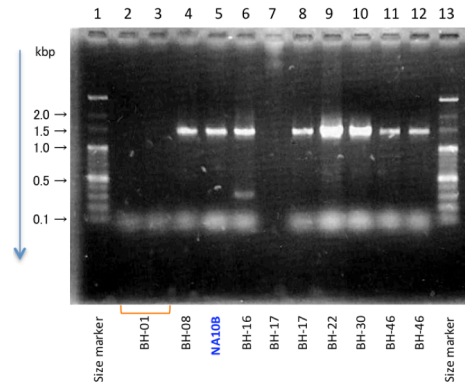


図 1. 供試菌から PCR 増幅した 16S rRNA 遺伝子断片のアガロースゲル電気泳動による検出。レーン 7 は注入失敗。

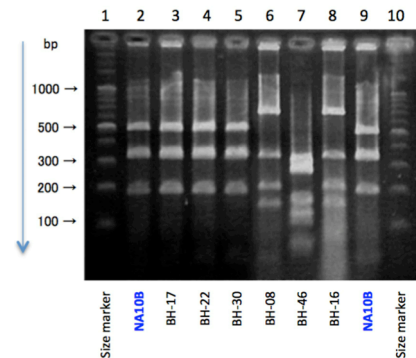


図 2. 供試菌から PCR 増幅した 16S rRNA 遺伝子断片の RFLP パターン (2% MetaPhor アガロース電気泳動)。

亜硝酸の検出(ハム、ベーコンに添加されている亜硝酸)

前田綾也

愛知県立国府高等学校サイエンス部

1. はじめに

国府高校では音羽川における亜硝酸などの汚染物質の水質調査を続けてきた。今回は豊橋技術科学大学の指導のもと、亜硝酸および硝酸塩の比色定量分析の原理について学び、それらを応用してハム、ベーコンに食品添加物として含まれる亜硝酸量を比色定量法で調べた。

2. 実験方法

市販されているハムおよびベーコンを購入し、以下の手順で、含まれる亜硝酸量を比色定量した。1) メーカーごとにハム、ベーコンを1 gとり、4 mLの水 (MilliQ) を加えて、乳鉢中ですりつぶした後、遠心分離し、上澄み液 2 mL を採取した。2) 採取試料に MilliQ 0.3 mL を添加し、これにスルファニルアミド溶液 0.1 mL を添加し、完全混合した。3) 8 分間放置後にナフチルエチレンジアミン溶液 0.1 mL を加えて発色させた。4) 分光光度計を用いて 543 nm の吸光度を測定し、別途作成した検量線から、 NO_2^- -N 濃度を求めた。

3. 結果および考察

市販のハム、ベーコン中における亜硝酸の量を調べたところ、以下の結果を得た。

- ・添加物として表示があるすべての試料から亜硝酸が検出された。
- ・添加物として表示のないハムからは亜硝酸が検出されなかった。
- ・ハムとベーコンからは、ほぼ同じ量の亜硝酸が検出された。

以上の結果より、添加物として表示があるすべてのハム、ベーコンからは、法的基準値である 70 ppm を下回る亜硝酸が添加されていることがわかった。一方、添加物表示がないハムからは、表示どおり亜硝酸が添加されていないことが確認された。今回の実験により、ハムのイメージであった赤色は亜硝酸による発色のものだと分かった。

4 おわりに-今後の展望

亜硝酸ナトリウムは、ハムやベーコンなどに対して発色効果および静菌効果を目的とする食品添加物としての使用が法令上定められている。亜硝酸は基本的に生物に対して有害であるが、今回の実験で検出された亜硝酸量は法令上の基準値を下回る量であり、人が食べても害がないと思われる。しかし、食べ過ぎてしまえば体に害が及ぼされる可能性がある。それはハムやベーコンだけでなく、いろんな食品にも言えることである。

参考文献

亜硝酸根 (亜硝酸ナトリウム) 検査一食環研-食環境衛生研究所

カイワレ大根の生育に及ぼす添加溶液の影響

林 飛鳥・久嶋一毅
愛知県立国府高等学校

1. はじめに

作物・野菜としての植物をより大きく、おいしく育てたいと思った。そこで、植物に影響を与えるのは肥料をはじめとした化学物質という観点から、溶質やその温度を変えることで植物の発育への影響の仕方、同時に水の硬度でも植物の生育に影響するかを調べた。

2. 方法

材料としてカイワレダイコンを用いた。プラスチックの容器にガーゼ（8×8×2 cm）をつめて各容器に種を20個ずつ植えた後、1日16 mLのクエン酸溶液（常温および冷蔵）、水（硬度1,468 mg/L、304 mg/L、30 mg/L）のそれぞれを与え、生育を観察した。

3. 結果および考察

すべての容器でカイワレは3日程で発芽した。しかし成長が、クエン酸（常温）では1 cm程度まで伸び、クエン酸（冷蔵）は1 cm以下しか伸びなかった。このことから、クエン酸にはカイワレの発育を抑制しているのではと考えられる。

硬度の影響については、1,468 mg/Lで4.0 cm、304 mg/Lで4.4 cm、30 mg/Lで4.1 cmであった。このことから、硬度が高ければ大きく育つわけではない。植物に与える水には適切な硬度があるのではと考えられる。

4. おわりに-今後の展望

クエン酸はカイワレの発育を抑制することから、次回はカイワレ大根以外の植物でも試したい。また、水の硬度では今回とは異なる硬度で実験したい。

豊橋市の干潟に生息するウミニナ類の分布

谷川琢磨・坂本さくら・川合団平・富川紗恵・安田樹弘
愛知県立豊丘高等学校自然科学同好会

1. はじめに

干潟は多くの生物の生息場所になっており、それらの生物は河川などから流入する有機物を摂食、分解することで海の富栄養化を防ぐことに役立っている。私たちはベントス（底生生物）の働きに注目し、愛知県豊橋市に残されている汐川干潟で調査を行った。2013～2015年に定性調査と定量調査を実施し、生息するすべてのベントスの生息頻度と個体数を記録した。この干潟で最も一般的に見られたのが、ウミニナをはじめとする塔形の巻き貝であった。そこで、同一干潟内でもこれらの巻き貝の生息分布に違いがあるのか、棲み分けなどが行われているのかを調査した。

2. 方法

調査地点とした汐川干潟北西部（豊橋市杉山町）に、その特徴ごとに調査サイトを設けた。調査サイトは、再北部の奥まった地点で3点（ミオ筋、アシ原、砂地A）、杉山町の干潟中央部に3点（水門付近、カキ礁、砂地B）とした。それぞれの地点で50cm四方のコドラート枠を設置し、表層の写真撮影し表在する枠内に存在するウミニナ類（ウミニナ、ホソウミニナ、ヘナタリ、フトヘナタリ）をすべて採集した。調査は約5m間隔で、各サイトごとに5回行った。

また、これらのウミニナ類4種類と外見がよく似た淡水性巻き貝のカワニナについて、18S rRNA 遺伝子およびシトクロムc オキシダーゼサブユニット1遺伝子を用いて、分子系統樹を作成し、遺伝的近縁性を調べた。

3. 結果および考察

各調査地点で採集されたウミニナ類の個体数とその調査サイトでの占有率を括弧内に%で示す。ウミニナ、ホソウミニナ、ヘナタリ、フトヘナタリの順に、ミオ筋で96 (14.4)、41 (6.1)、316 (47.4)、214 (32.1)、アシ原で132 (19.8)、29 (4.3)、86 (12.9)、411 (61.6)、砂地Aで422 (63.3)、10 (1.5)、79 (11.8)、513 (76.9)、水門付近で217 (32.5)、10 (1.5)、2 (0.3)、5 (0.7)、カキ礁で14 (2.1)、7 (1.0)、372 (55.8)、205 (30.7)、砂地Bで102 (15.3)、13 (1.9)、454 (67.9)、7 (1.0) となった。

この結果から、同地点内でもその特徴が異なるサイトでは占有する種類や、個体数に大きな違いがあることがわかった。これは、淡水域や海水の影響の受けやすさが水門や滞筋の流れ込みで変わることや、えさ場や隠れ家が障害物の影響で変わることなどが考えられる。

また、遺伝子解析の結果から、ウミニナ、ホソウミニナのグループとフナタリ、フトヘナタリのグループとに分けられることが、カワニナは見た目が似ているだけでこれら4種とはまた違うグループに分けられることがわかった。

4. おわりに-今後の展望

同一干潟内における生物の分布の違いに注目して環境との関連性を調べるために、それぞれの干潟の底土を採取し篩を用いて礫、砂、泥の割合や有機物の量など数値化して、地点ごとの比率も調べることで、見た目だけではなくこれらの生息分布の違いがはっきりと解明できることが期待できる。

種子植物とコケ植物のストレス耐性の研究

濱口青空・安田樹弘
愛知県立豊丘高等学校

1. はじめに

一見劣悪な環境に見える場所にも生息する地衣類は、普通の植物と比較してストレスに強いのかに興味を持った。そこで入手のしやすいカイワレダイコンと、姿形の似たコケ植物のストレス耐性を研究し、地衣類とのストレス耐性の比較に必要な他の植物のデータを得る先行研究として本研究を始めた。

2. 方法

1) さまざまな濃度の NaCl 水溶液 40 mL をプラスチックの使い捨てカップに入れ、カイワレダイコンの根を切ったものを 15 g ずつ入れた。これらにラップをかけて、暗所に置いた。

2) 1 晩ほどおいた後 (図 1) 葉のみを取り、葉の重量の 4 倍のアセトンを加え、乳鉢ですりつぶして遠心機で上清を得た。

3) その上清液の上から高輝度 LED を照射し、上清液を通過した光量の変化 (照度の変化) をスマートフォンのアプリを用いて測定した。

カイワレダイコンの他、ゼニゴケで同様の実験を行い (図 2)、ストレス耐性を比較した。

3. 結果および考察

カイワレダイコンにおいて、黄色く変色した葉の数を目視で観察すると、NaCl 濃度が高くなると多くなるのが分かった。また、赤色光の吸収量を測定すると NaCl 濃度が 0%、1%の時に減衰率が大きく、3%、6%と濃度が高くなると減衰率は小さくなった (図 3)。根を切らないまま同様に実験した個体は根を切った個体よりも差が小さいという結果となった。ゼニゴケに関しては、草体を目視で観察してもそれぞれの濃度ごとの変色に差を見出す事はできなかったが、赤色光の吸収量ではカイワレダイコンよりも差が小さいものの NaCl 濃度との間に正の相関傾向がみられた (図 1)。

NaCl 水溶液の濃度が高いほど大きなストレスとなる理由として、浸透圧の差により水分が流出した細胞がダメージを受けたことによるものと考えられる。また根が浸透圧調節の役割を担っているとも考えられる。一方、ゼニゴケは根がないため今回のようなストレスを与えて



図 2. 様々な濃度の NaCl 水溶液に浸したカイワレダイコン。



図 2. 様々な濃度の NaCl 水溶液に浸したゼニゴケ。

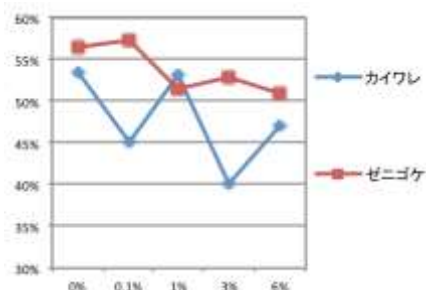


図 3. NaCl 濃度と赤色光の減衰率。

も草体全体で浸透圧を調節し、生存していけるのではないかと考えられる。

4. おわりに—今後の展望

カイワレダイコンにとって浸透圧の変化はストレスとなり、濃度差が大きいほどそのストレスも大きいことがわかった。成長の度合いが異なるゼニゴケとの比較は簡単には行えないが、同じ重量で比較した場合、コケ植物のほうが種子植物よりも浸透圧に対するストレス耐性があるという結果となった。今後はより実験の回数を重ねると共に、地衣類でも同様の実験を行い、比較していきたい。

参考文献 原色日本蘚苔類図鑑（服部新佐監修，岩槻善之助・水谷正美共著，1972年，保育社）

豊橋市の向山大池に生息する魚類の移り変わり

谷川琢磨・坂本さくら・川合団平・富川紗恵・安田樹弘
愛知県立豊丘高等学校自然科学同好会

1. はじめに

向山大池（愛知県豊橋市向山大池町）は広さ約 40,000 平方メートルの人工のため池である。向山大池は閉鎖性が高い池であるため、外部からの魚類などの流入が少ない点で特有の生態系であることから、私たちは向山大池において魚類の移り変わりを調べるために調査を行った。

調査データは、2010 年から 2013 年は坂本すみれのデータを引用し、2014 年から 2016 年は豊橋市自然史博物館のデータを引用した。本会は 2016 年 7 月 27 日と 8 月 2 日の 2 回調査を行った。

2. 方法

池の中で、2 地点の調査点を設け、池の周辺から届く範囲にキラネット（図 1）を池に沈め、採取したすべての魚類の種同定と計数を現場で行い記録した。

採集の際に使用する餌は、市販の集魚餌を利用して行った。



図 1.

3. 結果および考察

調査を始めた 2010 年の結果ではモツゴ 98.42%、タイリクバラタナゴ 0.06%、ブルーギル 1.46%、ヨシノボリ属 0.06%であったのに対し、2016 年の最新の調査で採集された魚種はモツゴ 9.47%、ブルーギル 90.53%であった。また、2014 年はオオクチバスが採取されており、外来種が大幅に増えていることがわかる。ブルーギルの個体の大きさを比較すると、2010 年から 2012 年は 2 cm から 4 cm の幼魚が多く、2016 年は 7 cm から 12 cm 程の成魚が多く確認された。

調査結果から、この池の生態系は、ほぼ全てがブルーギルを頂点とする極めて単純な生物相をしており、モツゴ（被食者）とブルーギル（捕食者）が主な食物連鎖を担っていると考えられた。ただし、外来生物（ブルーギル）の侵入による攪乱が、個体数の変化に関連していると考えられ、今後モツゴの個体数が回復するかどうかでこの両者の関係が推測できると考えている。

4. おわりに-今後の展望

より多くのデータを収集することによって個体数の推移を確認する。例えば、捕獲の方法の統一を行い、個体数の数的な変化を調べることや、他の池の生物相との比較することで、向山大池が特別なのか、このような池の特徴なのかなどがわかることが期待できる。

水資源循環の要としての廃水処理プロセスと微生物の生態

成廣 隆

産業技術総合研究所

1. はじめに

活性汚泥法や嫌気性消化法等の廃水処理プロセスは、限りある水資源の循環と再利用を支える社会基盤技術の要である。しかし、既存施設の老朽化、人口増加に伴う廃水量の増加、化学工業の発展に伴う廃水種の多様化に伴い、処理効率の安定化や、様々な化学物質の分解処理へ向けた柔軟性の向上、廃水からのエネルギーの回収に向けた高度化など、これまでの廃水処理技術そのものを持続的発展が可能な社会に適合させるための技術革新が求められている。廃水処理プロセスの内部では、様々な微生物が「汚泥」と呼ばれる複合微生物系を形成して廃水中に含まれる有機物の分解を担っているが、それら微生物群の生理・生態学的機能の全貌は明らかにされていない。本発表では、活性汚泥反応タンクや嫌気消化タンクから採取した汚泥を構成する微生物群の多様性を解析した結果や、嫌気環境における有機物分解フローの鍵物質である揮発性脂肪酸等を分解する微生物の比較ゲノム解析の結果等を紹介し、微生物学的側面から廃水処理プロセスの機能性向上を目指した研究の展開事例を報告する。

2. 方法

世界各国の都市下水処理施設から汚泥を採取し、ゲノム DNA を抽出した。得られた DNA を鋳型とし、ポリメラーゼ連鎖反応 (polymerase chain reaction, PCR) により生物の系統分類マーカーとして用いられている 16S rRNA 遺伝子を増幅した。PCR 増幅産物をイルミナ社 MiSeq シークエンサーにより塩基配列を解読した。得られたデータを統計学的・系統学的に解析した。また、メタン生成アーキアとの共生機構により酪酸等のカルボン酸を分解することが知られている *Syntrophomonas* 属細菌の比較ゲノム解析を実施した。

3. 結果および考察

各種汚泥を対象とした微生物群集構造解析の結果、活性汚泥と消化汚泥は異なる種類の微生物が構成していることが明らかとなった。また、嫌気消化タンクから採取した汚泥には、これまでに純粹分離されていない機能未知な微生物群が多数存在していることがわかった。*Syntrophomonas* 属細菌の比較ゲノム解析の結果から、酪酸等の有機物分解経路を特定することができた。

4. おわりに-今後の展望

これまでに蓄積した知見を活用しながら、廃水処理プロセスの汚泥を構成する未知微生物群の機能をメタゲノム・メタトランスクリプトーム等のオミクス解析技術により解明し、微生物機能に基づく廃水処理プロセスの制御技術の確立・高度化を目指す。

土壌線虫の DNA バーコードによる分析

石川将大・広瀬 侑・浴 俊彦

豊橋技術科学大学 環境・生命工学系 分子遺伝学研究室

1. はじめに

線虫とは、その名の通り線のように細長い形をしている（図1）。線虫種の数はいく百万とも言われており、多様な生態を持つ。その中でも *C. elegans* は 1998 年に全ゲノム配列が解読され、線虫の遺伝子構成がヒトのそれと類似していることから、多くの研究で高等動物のモデルとして利用されている。自然界において、線虫は主に土壌中に棲息し、土壌の物質循環に関与していることから、土壌生態学的に重要な生物である。土壌線虫は、(1) 生育密度が高く、少量の土壌中に多数の個体が存在している、(2) 高い種多様性を有し、環境要因への適応が系統分類群によって異なる、(3) 食性は細菌食、糸状菌食、動物捕食、植物食、雑食等多岐にわたる、などの特徴がある。以上の点から、土壌に棲息する線虫集団がどのような系統群に属するか明らかにすることで、それらの食性も明らかになり、ひいては土壌相の遷移段階や土壌肥沃度の評価にも利用できると考えられている。しかし、線虫は膨大な種が存在するうえ、互いに似た形をしているため、形態分類に基づいた線虫集団の系統解析は容易ではない。そのため、現在、簡便かつ高精度な土壌線虫集団の系統分析法を確立することが求められている。当研究室では、これまでに土壌線虫を分離する方法を改良し、線虫集団を構成する個別の線虫について、特定の遺伝子の一部の塩基配列を「DNA バーコード」として用いて土壌線虫集団の系統分析を調べる手法を開発してきた。さらに、一頭一頭について個別の線虫遺伝子の塩基配列解析を行う手法では解析に多くの手間と時間がかかるため、現在は多数の線虫の遺伝子配列を一度にまとめて決定できる次世代シーケンサーを用いた手法について検討を進めている。



図1 感染ゴーヤの根内瘤部位から分離した植物寄生性線虫

2. 実験方法

2-1 土壌線虫の分離

半管状土壌サンプラーを用いて、深さ 15cm 程度の土壌（本学キャンパス内の大豆畑と放置状態の花壇）を採土し、茶こしを用いて石や植物根を除いた。土壌のうち 10 g を 50 mL コニカルチューブに移し、水を加えよく攪拌したのち、コロイド状シリカ溶液を加え、遠心した。水とシリカとの密度差により土は底に、線虫は上澄みに分離された。その後、上澄みをフィルターに通し、フィルター上の線虫を時計皿に移し、顕微鏡で覗きながらピペットマンを用いて一頭一頭回収した。

2-2 塩基配列解析

分離した線虫を NaOH 溶液に移し、熱処理、中和処理を行ったものを線虫 DNA として実験に用いた。調製した DNA を鋳型とし、PCR 増幅を行った。用いたプライマーセットは 18S リボソーム RNA 遺伝子領域（約 900 塩基対）を標的として設計したものである。PCR 産物は PEG 沈殿法を用いて精製し、シーケンシング反応用の PCR 増幅を行った。その後、エタノール・EDTA 沈殿を用いて精製を行い、3130 Genetic Analyzer によって塩基配列を決定した。

2-3 データ解析

塩基配列解析によって得られたデータは、塩基配列解析ソフトウェア（Sequencing Analysis 5.3.1）とシーケンスアセンブリソフトウェア（ATGC Ver. 6）を用いて、解析、結合、編集を行い、塩基配列を決定した。複数の線虫より得られた塩基配列は ClustalX を用いてマルチプルアライメントを行い、GENETYX Ver.10 を用いて隣接結合法に基づき系統樹を作成した。また、塩基配列データは nucleotide BLAST で GenBank データベースを検索して、配列類似性に基づく線虫種の同定を行った。

3. 結果と考察

大学キャンパス内の畑と花壇より分離した線虫の 18S リボソーム RNA 遺伝子配列を DNA バーコードとして解析し、得られた系統樹を図 2 に示した。放置状態の花壇土壌の線虫は線虫捕食性ならびに植物寄生性線虫と類縁であり、畑土壌の線虫は多くが細菌食性の線虫群にマップされた。線虫集団の組成の違いは、両土壌の環境の違い、特に線虫における栄養環境の違いを反映していることが示唆された。以上の結果より、DNA バーコードによる線虫集団の系統分析は土壌環境を調べる有用な手段であることが示された。

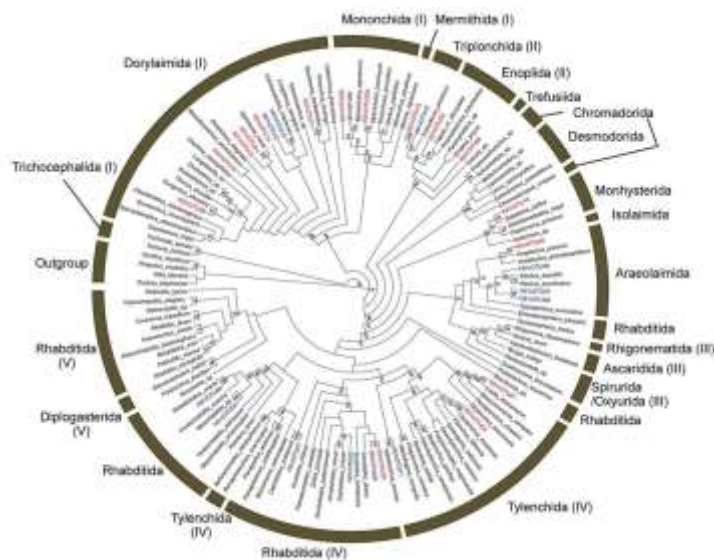


図 2 隣接結合法に基づき作成した土壌から分離した線虫の系統樹
豊橋技術科学大学キャンパス内の畑（青）と花壇（赤）より分離した線虫の系統群を、既知の線虫種からなる系統樹にマップした結果を示す。

窒素循環と放線菌の役割

Surya Giri・平石 明

豊橋技術科学大学 環境・生命工学系 生物機能工学研究室

1. はじめに

タンパク質や核酸の構成元素である窒素は、すべての生物にとって必要不可欠な物質であり、生物を介して地球上を絶えず循環している。これを窒素循環（nitrogen cycle）という（図 1）。この循環には異化的循環（図 1 中、外周の矢印で示す流れ）と同化的循環（図 1 中、内周の流れ）とがある。窒素循環は炭素循環とともに地球上の生物多様性と生態系を構築・維持する重要なプロセスである。

窒素循環の起点は、微生物による空中窒素の固定（アンモニアへの変換）である。生産されたアンモニアの一部は、微生物の作用によって亜硝酸へ、さらには硝酸へと酸化される。この酸化反応過程を硝化という。生じた硝酸（ NO_3^- ）は、次に脱窒とよばれる微生物媒介の還元反応によって順に、亜硝酸（ NO_2^- ）→一酸化窒素（ NO ）→亜酸化窒素（ N_2O ）→窒素へと還元され、空中に戻って一周する。これらの異化的窒素循環の過程で生じるアンモニアや硝酸は、植物によって取り込まれ、アミノ酸やタンパク質の合成に利用される。この植物による一次生産を起点とする食物連鎖を通じて、窒素は順に上位の栄養生物（動物）の栄養として摂取（同化）される。

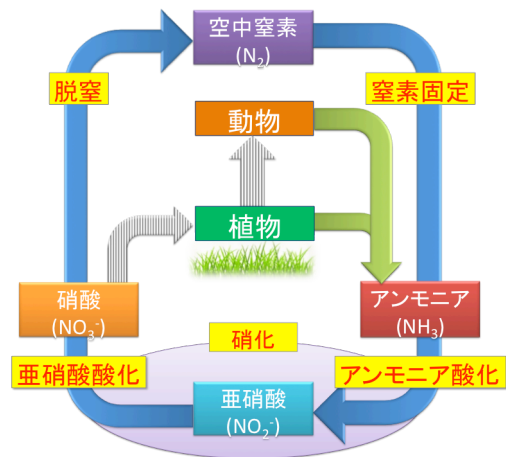


図 1. 地球上の窒素循環の概要。外側の矢印で示す窒素固定、硝化、脱窒が異化的循環。内側の矢印で示す植物、動物を通る流れが同化的循環。動物植物の排泄物や遺骸は分解されてアンモニアに戻る。

20 世紀の初めにハーバー・ボッシュ法という工業的窒素固定の製法が実用化に至った。その結果現在、本来の窒素循環（自然界の素反応）を上回る速度で世界的にアンモニアの工業的生産と利用が行なわれている。そのため、下水や産業廃水に過剰の窒素成分が流入し、農地へ施肥された過剰の窒素化学肥料は流亡し、河川水域の悪化、内湾、湖沼などの閉鎖水域系における富栄養化の進行、また温室効果ガスかつオゾン層破壊の原因物質である N_2O 放出など、重大な環境問題を引き起こしている。したがって、廃水中の窒素除去は環境保全にとって必須のプロセスであり、現在、生物学的な硝化・脱窒の組み合わせでそれを達成している。図 1 に示すように、硝化は窒素除去処理における重要な過程であるが、硝化反応が進むと NO_3^- が蓄積し、処理槽の pH が低下して硝化反応が停止してしまうという問題がある。これはアンモニア酸化の基質であるアンモニアが酸性条件でイオン化（すなわち NH_4^+ に変化）することにより、基質として認識されなくなるためであるとされている。酸性化への対策として、アルカリ剤を添加して中和し、硝化活性を戻すことが処理現場では行なわれている。

ところが本研究室では、本来酸性条件下では起こらないとされてきた硝化反応を pH 4.0 以下の条件下で回分運転することにより再現することに成功した。この酸性硝化回分リアクター (acidophilic nitrifying sequencing-batch reactor, ANSBR) には放線菌を含めた特殊な微生物が生息していることが判明している。ここでは、これらの放線菌の特性評価について報告する。

2. 実験方法

2-1. ANSBR の運転と細菌の分離

1 L 容のカルスターフラスコに植種源として活性汚泥を投入し、アンモニウム塩あるいは尿素を唯一の窒素・エネルギー源として含む酸性無機塩培地 (pH 4.0) で 5 年間回分培養した (図 1)。このリアクターから寒天平板培養法を使って、pH 4.0 で生育できる細菌を定量的に、数回にわたって分離した。

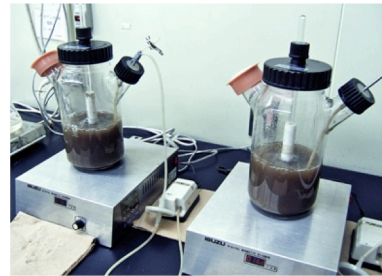


図 2. 構築した ANSBR の外観.

2-2. 分離株の特性評価

分離株は、16S rRNA 遺伝子の塩基配列を PCR とサンガー法により解読し、系統学的帰属を決定した。さらに、表現型や化学分類学的性状試験によって、種レベルでの分類学的位置を調べた。リアクター中での生態学的役割を推定する一つとして、分離株のアンモニア酸化活性を調べた。すなわち、アンモニウム塩を含む無機塩培地あるいはグルコースを添加した有機培地で分離株を培養し、生じる亜硝酸を比色定量することにより、酸化活性を推定した。

2-3. 16S rRNA 遺伝子アンプリコン解析

ANSBR 中における各系統の細菌の組成を調べるため、リアクターから DNA を抽出し、次世代シーケンサー Illumina MiSeq により 16S rRNA 遺伝子アンプリコン解析を行なった。

3. 結果と考察

ANSBR は 5 年にわたる運転期間中、良好な $\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NO}_3^-$ の酸化活性を維持した。リアクター中には、 10^{8-9} cells mL^{-1} の細菌が存在し、平均でそれらの 3% が寒天平板倍上にコロニーとして検出可能であった。それらのコロニーを分離し、16S rRNA 遺伝子配列を解析した結果、計 550 の分離株の 88% が、放線菌と慣用的に称されるアクチノバクテリア門のいくつかの菌属の該当することがわかった。しかしながら、種レベルでは大部分が新種と考えられた。一方、アンプリコン解析においては、通常 30% のアンプリコンがアクチノバクテリアとして同定されたが、ほとんど検出されない場合もあった。分離されたアクチノバクテリア菌株のアンモニア酸化活性を調べた結果、いくつかの菌株においてグルコース存在下で亜硝酸を生じることがわかった。すなわち、従属栄養的硝化の能力を有することが示唆された。

一般に、放線菌は土壌細菌であり、有機物の分解や一部は窒素固定に関わっている。今回の結果は、これらの細菌が部分的に硝化にも関わっている可能性を示唆している。

朝倉川の生物

蒲野健一

桜丘高等学校・生物部

1. はじめに

朝倉川は、多米峠付近から吉田城で豊川と合流するまでの 8.5 km ほどの、豊橋市民にとってはたいへんなじみの深い川である。桜丘高校のすぐ近くも通っており、我々生物部員にとっては格好の生き物採集、そして環境保全のための清掃活動の場となっている。2016 年 7 月には、日韓青少年水フォーラムへ高校生日本代表として生物部員 2 名が参加し、韓国の水原市で朝倉川の環境保護活動のプレゼンテーションも行なった。2016 年末にはリーフレット「朝倉川の生き物」を発行予定であり、今後もこれらの活動を後輩へと引き継いでいく予定である。今回は、これまでの朝倉川の生物調査について報告する。

2. 方法

生物部員を上流（多米公園付近）、中流（学校付近）、下流（水道局付近）の 3 グループに分け、それぞれの区域での生き物を採集した。水中の生き物は、柄のついた網で採集した。生い茂った草の下流側に網を差し入れ、上流側から足で追う方法である。見えている魚はまず捕まらないので、水面を覆っている草に隠れている生き物を川の流れに沿って網に導き入れるようにした。

3. 結果および考察

30 種を超える魚類および爬虫類を採集することができたほか、水草、抽水植物に関しても、6 種類を観察した（図 1, 2）。生物多様性という面では、たいへん豊かな川である印象を受けた。



図 1. あってビックリ絶滅危惧種のアサザ 図 2. いてガッカリ特定外来種のブルーギル

4. おわりに—今後の展望

山奥の清流と違い、都市の街中を通り、生活と密着している川の宿命として、さまざまな外来種が捨てられることが推測される。これからも、きめの細かいモニタリングや清掃活動を通じて環境保護を訴えていきたいと思う。

おいでん、東三河ジオパーク

田形寛斗・中畑遼祐・上杉光平・内藤広稀・朝倉稜翔・渡會一恕・尾崎恭兵
愛知県立豊橋東高等学校 GLOBE（地学班）

1. はじめに

東三河ジオパークが日本ジオパークに認定されるために、高校生としてできることはないかと考え、東三河ジオパークを紹介する活動をするため、ジオサイトの調査を始めた。

2. 方法

田原市博物館と吉胡貝塚資料館で渥美半島の歴史と文化を学び、その後、ジオパークや東三河のジオサイトについて、豊橋市自然史博物館の加藤千茶子主任学芸員から講義を受けた。講義の内容を受けて、竹島、蔵王山と笠山周辺、伊良湖岬を調査対象とした。

調査中に撮影した写真を厚紙に貼り、紙芝居風に仕上げた（図 1）。単純にめくるだけでなく、観音開きなどにして変化を持たせた。調査記録を基に、実際にツアーガイドが話しているかのように台詞に書き直し、内容を精選した。仮想ジオツアーを開催するときには、実際に蛇紋岩をネオジム磁石につけてもらうなど、体験してもらうことを心掛けた。またツアーの途中には、クイズを入れて、考えながら聞いてもらえるようにした。



図 1

3. 結果および考察

2016年8月26日の東三河サイエンス・テクノロジーと、9月13日の本校文化祭で仮想ジオツアーを実施し、アンケートを行った。その結果を表1に示す。

表 1. 仮想ジオツアーアンケート結果(中学生 13 人、高校生 37 人、教員・保護者 8 人)

問い	回答	人数
ジオパークという言葉を知っていますか	意味も知っていた	6
	意味は知らなかったが、言葉は知っていた	25
実際に訪れたいと思いましたか	知らなかった	27
	とても思った	28
	少し思った	28
	あまり思わなかった	2
ジオガイドをやってみたいと思いましたか	思わなかった	0
	とても思った	12
	少し思った	30
	あまり思わなかった	13
	思わなかった	2

主な感想は、次のとおりである。

- ・近くにこんなところがあったとは知らなかったので、おもしろかった。
- ・ところどころ体験できてよかった。
- ・それぞれの地理的特徴を知ることができてよかった。
- ・実際に行って観光するのも悪くないかなと思った。
- ・紙芝居がおもしろかった。

仮想ジオツアーに参加した半数以上の人「実際にジオサイトを訪れてみたい」と答えたことや、寄せられた好意的な感想を読んで、この活動が有意義であったと考えている。

4. おわりに-今後の展望

この活動を通して、東三河に住んでいても知らなかった素晴らしい場所がたくさんあると感じた。実際に行ってみることで、郷土愛を再確認することもできた。まだまだ紹介したいジオサイトや災害遺跡がたくさんある。これから、コースをもっと増やし、多くの場所で仮想ジオツアーを実施し、東三河の素晴らしさを他の地域の人たちに、もっと伝えていきたいと考えている。

生分解性ポリマーを利用した環境保全

加藤直也・山本遥平
愛知県立豊橋南高等学校

1. はじめに

現在、地球の人口は約 70 億人である。しかし、その人口を維持するためには必要な食料は、自然のままの地球で生産できる量を超えている。では、なぜ現在の地球はその人口を維持できるのでしょうか。それは化学肥料のおかげである。化学肥料は、主に窒素・リン酸・カリである。私たちは今回、窒素の循環について研究することにした。現在、ハーバー・ボッシュ法による空中窒素を原料とするアンモニアの合成が行なわれ、窒素化学肥料が生産されている。しかし、そこからが問題である。窒素肥料の生産のために工業的窒素固定をするわけであるが、作物により多く窒素を供給するために農地に大量に散布する。もちろん、植物はそれらのすべてを吸収しきることはできないので、その吸収しきれなかった窒素分から硝酸が流亡し、土壤の酸性化、地下水の汚染など、環境を悪化させ、さらに大気中へは温室効果ガスである亜酸化窒素 (N_2O) が排出されている。そこで、私たちは生分解性ポリマーで馴養した細菌群集を利用して N_2O を排出しない効率的な脱窒（硝酸除去）を目指す実験研究を通じて、良好な窒素循環を構築して農業社会の未来に貢献することを考えた。

2. 方法

2-1. 供試材料

生分解性プラスチックである 3-ポリヒドロキシ酪酸と吉草酸の共重合体 (PHBV)、およびヘキサノ酸の重合体 (PHBH) で、長期間回分脱窒培養した脱窒細菌群集を用いた。図 1 にその培養リアクター (PHBH2 および PHBV2 リアクター) を示す (図 1)。NaCl 7 g と KH_2PO_4 1.36 g を水に溶かし、その溶液に苛性ソーダを適量加えて pH 7.1 とし、さらに水を加えて 100 mL としたリン酸緩衝食塩水 (PBS) を調製した。PHBV および PHBH で脱窒培養した細菌群集混液を採取し、菌体を遠心分離 (10,000 回転・ $4^{\circ}C$ ・10 分) で集め、上記の PBS で 2 回洗浄したものを PBS に再懸濁して実験に用いた。



図 1.脱窒培養中の PHBH2 および PHBV2 リアクターの外観。

2-2. 硝酸除去（脱窒）活性のバイアル試験

13 mL 容のガラス製バイアル瓶を 6 個用意し、20 mM 硝酸を含む無機培地を 6 mL ずつ入れた。3 個ずつを 1 セットとし、基質として 130 mM 酢酸塩溶液 1 mL、130 mM 酪酸塩溶液 1 mL、および対照区として純水を入れ、それぞれのセットに上記の PHBH 培養菌液および PHBV 培養菌液をバイアル瓶が満タンになるまで (6 mL) 入れて反応を開始した。反応中は、バイアル瓶内に入れた星形回転子をマグネティック

スターラー上で回転させ、反応液を常時攪拌した。反応温度は 25°C とした。開始直後、1.5 h、3 h および 5 h 後に反応液をサンプリングし、すぐに 50% エタノールで固定し、硝酸および亜硝酸の濃度を比色定量した。

3 結果および考察

脱窒反応においては硝酸はまず亜硝酸に還元される。そこで、反応液中に亜硝酸が生成しているかどうかを調べたが、まったく検出されず、バクテリアが硝酸を一気に窒素まで還元していることが推察された。

次に、反応液中に残存する硝酸を同様に比色定量し、時間に対する濃度変化を追跡した。その結果を図 2 に示す。酢酸を基質とした場合、5 時間で硝酸は 80% 減少した。酪酸について 5 時間でほぼ 0 まで減少した。これらの濃度変化から硝酸除去速度を算出したところ、PHBH 培養および PHBV 培養群集ともに酢酸よりも酪酸で高い値が得られた (図 3)。同じ 10 mM では酪酸の方が利用できる電子の量が多いため、より還元力をえることができ、硝酸を効率よく除去したと考えられる。また、リアクター中における PHBH および PHBV の分解産物が 3-ヒドロキシ酪酸であるため、酪酸をより利用しやすい細菌群集に馴養されていたとも考えられる。対照系 (基質無添加) でも少なからず脱窒が起きているのは、バクテリアが細胞内に元々内生基質 (電子) を持っていたためであると考えられる。

4 おわりに—今後の展望

この実験より、生分解性ポリマー PHBH および PHBV で培養したバクテリアは、酪酸を効率的に利用して脱窒することが分かった。このような生分解性ポリマーを利用した窒素循環を促進する方法は、今日起きている農業による環境問題の改善に大きく貢献できると考えられ、未来の農業社会の発展につながることを期待できる。また、水中や地下水の窒素汚染などの環境問題の解決にも貢献できると考えられる。私たちはこのような実験を行うことは初めてで、失敗することが多々あったが、協力していただいた方々のおかげで最終的には研究を成功させることができた。この経験が私たちの将来につながれば良いと思う。

最後に、この実験に協力していただいた平石教授および平石研究室の皆様、そしてこの機会を与えていただいた関係者の皆様に感謝の言葉を述べさせていただきます。

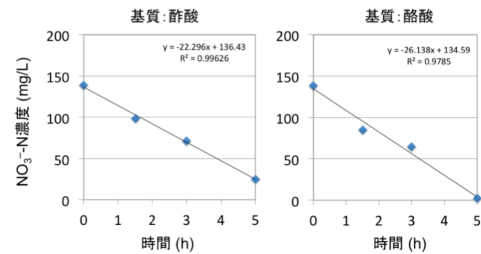


図 2. PHBV2 リアクター細菌群集による硝酸除去の例—バイアル試験による酢酸 (左) および酪酸 (右) を基質 (電子供与体) とする硝酸除去。

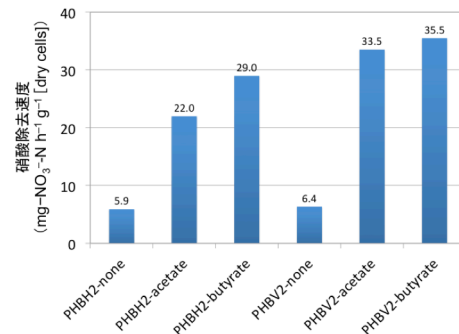


図 3. PHBH2 リアクターおよび PHBV2 リアクター細菌群集による基質依存性硝酸除去速度。

音羽川の水質調査

山口公平・篠田敦弘・今泉祐人
愛知県立国府高等学校 サイエンス部

1. はじめに

国府高校サイエンス部では音羽川の水質調査を 20 年間以上定期的に続けており、通常はパックテストを用いて、次の 9 項目について調べている。

気温、水温、pH、 HNO_3 、 HNO_2 、COD、ClO、 NH_4^+ 、 PO_4

今回はこのうち、 NO_3^- （硝酸イオン）、 NO_2^- （亜硝酸イオン）についてパックテストを使用せず、豊橋技術科学大学環境・生命工学系生物機能工学研究室の指導の下、分光光度計を用いた比色定量によって測定した。

2. 方法

音羽川から採取した河川水を 50%エタノールで固定し、供試した。亜硝酸については、常法に基づいて 2 つの薬品（スルファニルアミド溶液およびナフチルエチレンジアミン溶液）を試水に順に添加して、赤紫色のアゾ色素として発色させた。これらの 543 nm における吸光度を分光光度計によって測定した。硝酸については、あらかじめ硫酸ヒドラジニウム法によって複数の薬品と反応させて一度亜硝酸に還元させた後、同様に発色させた。既知濃度の硝酸カリウムおよび亜硝酸ナトリウムを調製して同様に発色させ、作成した検量線と比較することにより、試水中の濃度を算出した。

3. 結果および考察

- ・全体的に見て綺麗ではないことがわかった
- ・河川中の亜硝酸濃度については、普段のパックテストを使用した調査の結果とほぼ一致した
- ・分光光度計を利用するため、より細かな測定結果が得られた

4. おわりに-展望

今回の測定でパックテストを用いず、様々な物質の濃度を調べる方法を学べた。従来の方法より正確な値を取ることができるので、さらに鋭敏に水質の変化をとらえられるようになった。よりよい河川にするために小さな変化にも気づき、音羽川の環境保全を推し進めていきたい。


朝倉川流域ビジョン 2015

高橋豊彦

NPO 法人朝倉川育水フォーラム 理事長

1. 朝倉川とともに・・・子どもたちの経験を持続可能なチカラに



 face book ページあります！

※ この「朝倉川流域ビジョン2015」はホームページから
PDF形式でダウンロードできます。

<http://www.asakuragawa.net/html/vision/index.html>

2. 朝倉川流域ビジョン 2005 での提言事項について

- ・水の枯渇と多雨時の鉄砲水の危険性がある
- ・生活雑排水、尿尿系排水、農薬などの流入により水質の悪化が懸念される
- ・夏期の水温上昇（無植栽、コンクリート護岸による輻射熱、溜め池での長時間にわたる水の滞留などによる）とそれによる溶存酸素の減少が危惧される
- ・コンクリート護岸により、多くの水生生物の生息可能性が阻害されている
- ・落差工により、魚類の上下流の移動が妨げられている
- ・夜間照明により、ホタルを始めとする生物のバイオリズムが狂わされている

3. 朝倉川流域ビジョン 2015 の構成について

第1章【朝倉川との20年「育水」という思い・・・】

- 1-1 「育水」という思い・・・
- 1-2 ホタルは、環境の指標生物
- 1-3 地域社会とのコミットメント

第2章 流域ビジョン 2005 の評価と検証

第3章 「河川調査」から見えてくるもの

- 3-1 考察1 「水」からみた朝倉川について
- 3-2 考察2 「生き物」からみた朝倉川について
- 3-3 考察3 「川（河床、河辺り、住環境との関係）」からみた朝倉川
- 3-4 考察4 「朝倉川と地域」

第4章【 朝倉川流域ビジョン2015ーこれからの10年を考えるー 】

4-1 滝ノ谷池ビオトープでの活動

「子どもたちの経験を持続可能なチカラに・・・」

4-2 「朝倉川530大会」の意義と役割ー「ゴミを語る」

4-3 「水辺の緑の回廊」事業とコミュニティ

4-4 絶滅危惧種 「川ガキ」の再生

4-5 水循環を今一度考えなおしてみよう

4-6 地域社会とのコミットメントに向けて

第5章 未来へのアクションプラン

4. 朝倉川流域ビジョン2015で提言する未来へのアクションプラン

■朝倉川530大会・朝倉川植樹メンテナンス大会など地域市民参加型環境啓発事業の継続

■河川調査を中心とした、環境(水質・生態系 etc)のモニタリングの継続実施

■絶滅危惧種「川ガキ」の再生に向けての制度づくりへの提言

- ・子どもたちの体験を支えるための包容力ある社会の実現
- ・滝ノ谷池ビオトープを中心に子どもたちの体験活動の実施
- ・子どもたちの豊かな体験を育む環境を支えるための「子どもの未来を支えるための理念条例」の制定

■地域の人たちが自分たちの「水」を支えるための「水循環条例(理念条例)」の制定

- ・世界に数少ない「水道水を飲める国」としての誇りと保全に対する気持ちの醸成
- ・文明の進化などによって、早められてしまった水循環を適正な速度にするための具体的な事例の推進
(個人、事業者、行政のそれぞれのセクターに対して)
- ・利便性によって損なわれた水環境を再生するための代償制度など

荒廃した竹林の整備をめざす

竹本丘平
とよかわ里山の会

1. はじめに

とよかわ里山の会は、豊川市が平成 26 年度に開講した里山保全リーダー養成講習の受講生を中心に、平成 27 年 6 月 7 日に発足した市民活動団体です。会員数は、発足時が 25 名でしたが、現在は 33 名です。

愛知県営都市公園・東三河ふるさと公園内の竹林約 2ha を公園側とも協議し、整備活動を進めています。



図 1. H28 年 4 月チェーンソー活動第 1 回目

2. 方法

定期活動日は、毎月第 4 土曜日（8 月を除く）の 9:30 から 12:00 まで行っています。昨年度は、会員個人持ちのノコギリやナタ等による手作業で竹林整備を行いました。切るべき古い竹と残すべき若い竹の見分け方も学び、うっそうと生い茂って荒れていた竹林が徐々に切り開かれました。

平成 28 年度は「愛・地球博開催地域社会貢献活動基金(通称：「あいちモリコロ基金」)の助成を受け、チェーンソー、整備道具、防護ズボン、竹用ノコギリ等を購入しました。それにより、作業のスピードは格段に進んでいます。

3. 結果および考察

当初、竹が密集し通路もなく、地面には日が届きませんでした。間伐を進めるに従って通路と竹林の区別が付き、目標とする「傘をさして歩ける」間隔になったエリアも広がっています。日が差し込むと下草も変化し、人の手が入れば健全な里山が成り立つことを実感しています。しかし、竹の成長は早く、整備した竹林の状態を維持するには、継続した伐採作業が必要です。

4. おわりに —今後の展望—

竹林整備を継続していくには、新規会員の確保が欠かせません。ロコミ、チラシ、HP 等で活動を広めています、今一層の工夫が必要です。

現在、竹は切って積み上げたままですが、粉砕機で整理すれば、快適な散策可能な竹林になるでしょう。そのため資金の確保も必要です。



図 2. H28 年 3 月竹林の活動状況

【とよかわ里山のホームページ】

<http://toyokawa-satoyama.wixsite.com/satoyama-no-kai>

豊川における自然再生について

竹内 秀人

国土交通省豊橋河川事務所

1. はじめに

平成 9 年の河川法の改正により、河川管理の目的に「河川環境」が位置づけられ、平成 15 年より自然再生推進法が施行されるなど、近年の環境に関する機運は盛り上がる一方である。

そのような中、国土交通省豊橋河川事務所では、豊川の自然再生として河口部の干潟及びヨシ原の自然再生を計画し実施している。

本稿では、豊川での自然再生の実施状況について報告する。

2. 方法

自然再生は、「過去に損なわれた生態系その他の自然環境を取り戻すことを目的として」(自然再生推進法) 実施される事業であることから、豊川において過去に損なわれた自然環境について検討し、有識者会議の意見を踏まえて河口部の干潟と下流部のヨシ原の環境を再生すべき環境として選定した。

干潟の再生は、再生に適した場所について安定性なども考慮して造成範囲を設定した。また、近年三河湾で夏季に発生している苦潮（貧酸素水）の影響を低減することも考慮している。

ヨシ原の再生は、治水への影響が生じない範囲でヨシの生育できる地盤を造成し、ヨシ自身が成長できる空間を残してヨシの根入り土を移植することで再生を行っている。

3. 結果および考察

干潟の施工を行った場所では底生動物の種類数が増加し、周辺の自然干潟の平均的な種類数を上回っている。干潟の再生により、生物の多様性が豊かになったと考えられる。また、干潟の施工後には重要種（環境省・愛知県等のレッドリスト掲載種）が多く確認されるようになり、絶滅が危惧される生物にとっても豊川河口干潟の重要性は増していると考えられる。

ヨシ原の施工を行った範囲では、ヨシ自身が成長することにより施工面積以上にヨシ原が拡大している。また、ヨシ原に依存して繁殖するオオヨシキリの巣跡の数は事業実施後に大幅に増加している。

このように干潟・ヨシ原それぞれで再生効果が確認されている。

4. おわりに-今後の展望

今後も地域との連携を進め、事業の説明や PR を充実させることで自然再生事業を広く地域に周知していく。また、豊川河口干潟では干潟の観察会を継続して実施していく予定である。



東三河生態系ネットワーク協議会

◆事務局◆ 〒440-0888

愛知県豊橋市駅前大通2丁目 46 番地 名豊ビル6階（東三河懇話会事務局内）

TEL.0532-55-5141 FAX.0532-56-0981

seitaikei@konwakai.jp <http://higashimikawa-seitaikei.jimdo.com>

※ 本事業は「あいち森と緑づくり環境活動・学習推進事業」の助成を受けています。