

(参考) オオバナミズキンバイ等の管理方策に関する研究

研究期間 平成 29 年度～令和元年度

滋賀県立大学 研究実績報告書

所属学部	環境科学部		職名	教授
氏名 (代表者)	上河原献二			
研究課題	湖沼周辺における水陸両生外来水生植物管理			
区分	1. 重点領域研究			
研究組織 (共同研究者)	氏名	所属・職名	専門分野	役割分担
	○代表者 上河原献二	環境科学部教授	環境法・環境政策	研究総括。管理制度・体制に関する比較研究
	○分担者 伴修平 畑直樹 野間直彦 須戸幹	環境科学部教授 環境科学部講師 環境科学部准教授 環境科学部教授	水圏生態学 蔬菜園芸学 植物生態学 環境化学	オオバナミズキンバイのメタン発酵処理と消化液による微細藻類培養 発酵消化液を用いた野菜類の栽培 オオバナミズキンバイの分類、除草剤使用による効果の研究 除草剤使用の環境影響評価
研究の目的	第一に、仏英との3ヶ国国際比較研究により、オオバナミズキンバイ管理制度・体制に関する改善方策を提案する。第二に、種子分散などの生活史、陸上個体への除草剤使用の効果・影響を解明する。第三に、除去後の処理に、メタン発酵処理技術開発によって貢献する。			
研究実績	<p>第一：制度・体制に関する英仏との3ヶ国国際比較研究について</p> <p>①英仏日のオオバナ侵入・拡散の歴史及び法制度発展の比較研究により、オオバナ拡散を食い止めるためには、取引・野外放出等の禁止だけでは不十分であり、土地所有者（賃貸人・公的管理者を含む）の任意に任せるのではなく、管理責任を負わせることが必要であること、②水系近傍の除草剤使用について厳格な条件付きで合法化することが、効果的な管理に貢献する可能性があることを明らかにした。</p> <p>第二：種子分散などの生活史、陸上個体への除草剤使用の効果・影響の解明について</p> <p>① AFLP 法を用いた遺伝子解析の結果、亜種ウスゲ（近畿地方と手賀沼）・亜種ウスゲ（鹿児島）・亜種オオバナに対応する3つのクラスターが検出された。これは、日本に3クローンが侵入していることと、亜種ウスゲには、2回の導入機会があったことを示唆する。亜種ウスゲのうち、近畿地方と手賀沼の集団は遺伝的に非常に近いクラスターを形成したため、同一クローンに由来する可能性が示唆された。さらに、このクラスターにはミズキンバイと誤同定された栽培集団も含まれることから、園芸由来である可能性がある。一方で、日本に水質浄化資材として導入されたとされる亜種オオバナは、栗屋谷池と逆池の集団が同じクラスターを形成したことから、特定のクローンが利用されていたことが疑われる。</p> <p>②種子散布様式を調査するため、琵琶湖南端近くの2ヶ所で、5月から12月にかけて水鳥の糞採集と種・個体数調査を行った。採集した糞は水で洗って中から種子を取り出し、水鳥の種・個体数調査は双眼鏡を用いて行った。また、2018年に水鳥の糞から取り出した種子を用いて発芽実験を行った。種子（N=122）を湿潤土壌、暗所25℃で40日間静置し休眠打破を行った。その後、25℃明条件/15℃暗条件の12時間交代で35日間の発芽実験を行った。発芽した種子は温室に移し、生育実験を行った。その結</p>			

果、本種の種子は 9、11、12 月に採集した糞 212 個から 103 個見つかった。調査地で見られた水鳥は、10 月下旬まではマガモとカルガモのみだったが、11 月上旬以降はオオバン、ホシハジロ、ヒドリガモなどの様々な冬鳥が出現した。発芽実験では 122 個中 4 個の種子が発芽し、実生は 5.4cm まで成長した。以上より、留鳥や冬鳥により本種の種子が散布され、排泄された先で発芽・成長している可能性があるため、生育地とその流域から離れた場所でも注意する必要がある。

③除草剤の環境影響の程度を明らかにするため、除草剤グリホサートについて 0.06 $\mu\text{g}/\text{l}$ を検出限界とする分析法を確立した。宇曾川河口の大山橋（河口より 4.2km 上流）で 2018 年 4 月 27 日から 6 月 3 日まで 1 日 1 回採水を行ってグリホサート濃度を分析した結果、農薬登録基準(水質汚濁=2,660 $\mu\text{g}/\text{L}$ 、水産動植物=6,200 $\mu\text{g}/\text{L}$)と検出濃度を比較すると、検出された最も高い濃度であっても 3 オーダー低い値であった。

分解・消失に対する寄与度と減少速度を明らかにするために、バケツ実験とライシメーター実験を行った。バケツ実験およびライシメーター実験によるグリホサートの水中消失半減期を明らかにした。両者を比較すると、2018 年、2019 年いずれでもバケツ実験の半減期が大きかったこと、および 2019 年のバケツ実験では蒸留水のみとの区と栄養塩添加区の半減期に大きな違いがなかったことから、水中に残留するグリホサートの消失に光分解と水中微生物分解の寄与は小さいと考えられた。ライシメーター実験の半減期を見ると、植生あり区は植生無し区より半減期がやや短く、植生あり区と比較すると水田土壌と砂質土壌に大きな違いがなかった。植生あり区の土壌表層は植物体の根や微生物膜でおおわれており、植栽されたヨシとマコモの茎には微生物膜が形成されていたことから、これらの表面に吸着・分解されて水中から消失した可能性が考えられた。

標準施用量のグリホサートがすべて水深 5cm の水面に落下した場合の濃度 (10mg/l) が、農薬登録基準値 (環境動植物：6200 $\mu\text{g}/\text{L}$ 、水質汚濁：2660 $\mu\text{g}/\text{L}$)、および宇曾川で検出された最高濃度 (2 $\mu\text{g}/\text{L}$) に減少するまでに要する日数を、ライシメーター実験の植生あり区の半減期が最も長かった 5.0 日で計算すると、それぞれ 3.4、9.6、61.4 日と計算された。ただし、これらは水の移流や希釈効果、鉛直浸透による土壌吸着などが無い場合であり、実際の環境中では消失速度はさらに大きいと考えられた。

第三：メタン発酵処理技術開発について

オオバナミズキンバイの爆砕処理には 165-180 $^{\circ}\text{C}$ が適当と考えられた。200-L のベンチスケールリアクターを用いた連続メタン発酵実験では、メタン生成量は 60 日目まで減少傾向で、この期間、フェノール類の濃度が増加傾向にあった。しかし、以後、NaOH を添加することでメタン生成量は増加・安定する傾向を示した。藻類の成長に対する希釈率の効果は、用いた藻類種によって異なり、それは種によるアンモニア耐性に依存すると考えられた。これらのうち、*C. sorokiniana* が最も高いアンモニア耐性を示した。ただし、希釈倍率が高くなると Mg が不足する傾向が認められ、先行研究の知見を良く支持した。実験に供したどの処理区でも藻類の成長は、一般的な藻類培地 (C 培地) を使ったときより良く、これは ADE のリン含量に依存すると考えられた。一方、硝化処理を施した ADE を用いた培養実験では、希釈無しで高い藻類成長が認められ、処理によってアンモニアを硝酸に替えることで、希釈処理を施すことなく藻類を培養できることが分かった。

オオバナミズキンバイ由来のメタン発酵消化液は、他の水草由来の消化液と同程度の肥料成分を含んでおり、培養液として利用する際の水と消化液の混合比率 (希釈倍

	<p>率)も同程度で良いことが明らかとなった。一方で、他の水草由来の消化液同様に Mn 含量が高く、高温・強光の環境下では、水耕栽培に消化液を用いるとリーフレタスにおいても Mn 過剰障害が確認された。したがってオオバナミズキンバイを原料とした場合でも、消化液中の Mn 濃度を低下させる手法の開発が必要であることが明らかになった。</p>
<p>研究成果の 発表 (学会発 表、論文等)</p>	<p>目的第一 論文 (査読あり) <u>K. Kamigawara</u>, K. Nakai, <u>N. Noma</u>, S. Hieda, E. Sarat, A. Dutartre, T. Renals, R. Bullock, J. Haury, B. Bottner, J-P. Damien (2020) What kind of legislation can contribute to on-site management? –Comparative case studies on legislative developments in managing aquatic invasive alien plants in France, England and Japan, Journal of International Wildlife Law & Policy (in print) (2020). DOI: 10.1080/13880292.2020.1788778. <u>Kenji Kamigawara</u>, Shin-ya Hieda, Trevor Renals, What is the meaning of “Landowner Responsibility”? Legislation to manage invasive alien plants in England, EELF Conference Book 2019 (in print) (2020). 学会発表 <u>上河原献二</u>, 稗田真也環境法政策学会イングランド侵略的外来植物法制における「土地所有者責任」とは何か?, 第 23 回環境法政策学会, 上智大学 (2019 年 6 月 9 日). <u>K. Kamigawara</u>, S. Hieda, T. Renals, What is the meaning of “Landowner’s responsibility”? Legislation to manage invasive alien plants in England, European Environmental Law Forum (EELF) annual conference 2019, Utrecht, Netherland (August 28-30, 2019).</p>

目的第二

論文（査読あり）

Hieda S, Noma N., Leaves as propagules of the invasive aquatic plant *Ludwigia grandiflora* subsp. *hexapetala* in Lake Biwa.

Bulletin of Kansai Organization for Nature Conservation 41 (2), 151-153 (2019)

学会発表

太田好美, 永岑吉祥, 稗田真也, 小林大輝, 野間直彦, 琵琶湖に侵入したオオバナミズキンバイ種子の水鳥による周食型散布とその発芽能力, 日本生態学会第 67 回大会 (要旨ウェブ発表) (2020 年 3 月)

稗田真也, 渡部俊太郎, 原田英美子, 野間直彦, 特定外来生物オオバナミズキンバイのクローン構造について, 日本生態学会第 67 回大会 (要旨ウェブ発表) (2020 年 3 月) .

須戸幹, 侵略的外来植物管理における非選択制除草剤の環境水中での残留特性, 第 54 回日本水環境学会年会(2020 年 3 月 16~18 日)講演要旨集 pp116、盛岡市

目的第三

論文（査読付き）

畑直樹, 刘鑫, 田口夏帆, 金本良成, 吉田弦, 瀬山智博, 戸田龍樹, 伴修平, 琵琶湖南湖で過剰繁茂する水草を原料としたメタン発酵消化液の水耕栽培における培養液としての利用可能性, 水資源・環境研究, 32(2), pp.65-74 (2019).

学会発表

Liu, X., M. Fujiwara, T. Kodera, K. Watanabe, S. Akizuki, M. Kishi, M. Koyama, T. Toda, S. Ban (2019) Algal biomass harvested and nutrient removal from anaerobic digestion effluent of macrophytes and food wastes by continuous cultivation of microalga *Chlorella sorokiniana*, IWAAlgae2019, 1-2 July, Valladolid

Qian, J., X. Liu, M. Fujiwara, T. Kodera, S. Akizuki, T. Toda, S. Ban (2019) Optimal pre-treated pH and HRT for continuous culture of a microalga using anaerobic digestion effluent from aquatic macrophytes, IWAAlgae2019, 1-2 July, Valladolid.

Ban, S., X. Liu, J. Qian, T. Toda, K. Ishikawa, M. Koyama, A. Kohzu and A. Imai (2019) Conservation of lake ecosystems through anaerobic digestion of excessively growing aquatic weeds and mass-culturing microalgae, IWAAlgae2019, 1-2 July, Valladolid.

2020 年 3 月 26 日に国際ワークショップを大阪市立自然史博物館にて開催予定していたが、新型コロナウイルス禍のため中止の止むなきに至った。その代替として、6 月 30 日より次の web サイトに各講演スライド（基本和英併記）を公開した。

<http://www.ses.usp.ac.jp/iasmanagement/profile1.html>

滋賀県立大学特別研究 重点領域研究

「湖沼周辺における水陸両生外来水生植物管理」(代表 上河原献二)

(サブテーマ1) オオバナミズキンバイ管理制度・体制に関する日仏英3ヶ国比較研究

上河原献二

はじめに

侵略的外来種は生物多様性への主要な脅威の一つであり (IUCN 2000; CBD 2002)、淡水生態系は特に深刻な影響を受けている (Millennium Ecosystem Assessment 2007)。生物多様性保全を目的とした侵略的外来種管理法制度は、比較的新しい発展途上の分野である。日本・EU 加盟各国を含む多くの国々は、生物多様性保全条約 (CBD) 第6回締約国会議が2002年に侵略的外来種管理に関する「指導指針」(決議VI/23)を採択して以降、国内法制度を制定してきた。制度形成に関しては、早期対応の重要性が指摘されてきたが (IUCN 2000; CBD 2002)、現実には、行政主体が早期対応の機会を見逃す場合が多い (上河原 2016a; Menozzi 2005)。これまでの法制度で十分なのか、検討する必要がある。

侵略的外来水生植物の例として、近年北半球を中心に淡水生態系に大きな影響を与えているものに、中南米原産で水陸両生の多年生植物オオバナミズキンバイ (*Ludwigia grandiflora*)がある。日本では、近年琵琶湖沿岸において大規模に増殖し、さらに下流域への拡散にとどまらず、2017年には関東の霞ヶ浦・手賀沼・印旛沼でも確認され、全国的な拡散を警戒すべき段階となっている。フランスでは、19世紀に導入され、その近縁種 (*Ludwigia peploides*)とともに、地中海・大西洋沿岸を初めとする各地の湿原で大規模に増殖し、もともと侵略的な外来水生植物とみなされている。イギリスでは2018年1月時点で34カ所において定着が確認されているが、比較的小規模なうちに管理が行われ、同時点で14ヶ所において局地的根絶が認定されている。

本研究では、比較的に自然的・政治的条件に近い北半球旧世界先進国の内、オオバナミズキンバイによって最も長く侵略されているフランス、1998年以降侵略を受けながら比較的良好に侵略を抑え込んでいるイギリスと我が国との侵入の歴史・法制度の発展を比較する。それによって侵略的外来水生植物に対する効果的な法制度を明らかにすることが本研究の目的である。オオバナミズキンバイという単一の種を対象とすることによって、具体的な状況・法制度を検討することができる。

1. 方法

まずフランス、イングランド、日本における同種の生物学的侵入の歴史を把握した上で、法制度の発展について検討した。その際、次の4つの問を設定した。(1) 販売及び野外放出の禁止は拡散を防止できるのか、(2) 誰が侵入現場での管理に責任を負うのか

か、(3) 管理作業を行うのに政府による手続は必要か、(4) 侵略的水生植物管理のために除草剤の使用は合法化されるべきか。

2. 結果

2. 1 フランス

2. 1. 1 侵入の歴史

フランスはオオバナミズキンバイとその近縁種による侵入をヨーロッパの中で最も長く受けている。南仏のモンペリエ植物園は、1820 年代にオオバナミズキンバイを、そして 1860 年代にはその近縁種ミズキンバイ (*Ludwigia peploides* subsp. *montevidensis*) を園芸目的で輸入した。それらは野外に放出され定着した。両種の雑種を含むそれらの分布は 1970 年代まで南仏に限られていたが、その後、北に拡大していった。まず 1960 年代に南仏ローヌ川河口のカマルグ湿原でそれらの管理が課題となった。次に大西洋岸南部のランド (Landes) 地方の湖沼群で課題となり、1988 年には、侵略的外来水生植物管理のための計画を、同地域の湖沼群を管理する行政機関 (Geolandes) が公表した (Dutartre et al 2005)。さらに 1990 年代にはブルターニュでオオバナミズキンバイの管理が課題となった。そして、2000 年ころには、フランス本土のほとんどの圏域に拡大した (Dutartre et al 2007)。両種は、水路・水面の閉塞による船舶航行障害、釣りなどのレクリエーションに対する障害、大面積占有による在来種の駆逐、さらには低湿な牧草地への侵入による畜産業被害などを引き起こしている。そのため、フランスの専門家たちは、それらを最も侵略的な水生植物と認識している (Dutartre 2004)。

2. 1. 2 法制度の発展

2005 年フランス議会は、共同命令に掲載する動植物の移動、飼育・栽培、取引を禁止する環境法典の改正を行った。その改正は、2002 年の CBD 締約国会議における侵略的外来種管理ガイドラインの採択に影響を受けてのものであった (<http://ww.senat.fr/cra/s20050125/s20050125H18.html>)。同改正に基づき、2007 年 5 月には、農水大臣と環境大臣が、オオバナミズキンバイとミズキンバイの移動、栽培、取引を禁止する共同命令を制定し、同共同命令は同月施行された。しかし、すでに両種はフランスのほとんどの地域圏に拡散していたことから、専門家たちは同共同命令について遅すぎたと批判した。侵略的外来種管理のための EU 規則を実施するため、2017 年に新たな命令 (Decret no2017-595 du 21 avril 2017) が制定され、それによって新たに、侵略的外来種利用許可、除去事業を行う際の地方自治体との手続などが定められた。フランス法制は、特定の侵略的植物の野外放出について、故意による場合だけでなく過失の場合も禁じている。そのため、土地所有者は、非意図的な放出についても罰金を課せられる。そのことは、土地所有者は、特定の侵略的植物がその管理する土地から逸出しないよう適切に管理する責任があることを意味している。しかし、そのような罰金はほとんど課されていない。その理由としては、罰金は最後の手段であることに加え、土地を監視し関係者を説得するに

は大きな行政資源を必要とすることがあると推察される。特に、オオバナミズキンバイのように既に広範に定着している種について、そのような規制を実施することは現実的とは思われない。そのため、生態系の管理者は、オオバナミズキンバイのような侵略的植物種について、あたかも任意であるかの如く、管理してきた。また、水系近傍における除草剤使用は、2009年以來、禁止されてきた。

2. 2 イギリス

2. 2. 1 侵入の歴史

イギリスでは、オオバナミズキンバイは、1998年にロンドン・ウェットランド・センターにおいて野外定着が最初に確認された。その同定を行った専門家は、その前年のフランス訪問によってオオバナミズキンバイによる侵入がフランスにおいて深刻な問題を引き起こしていることを認識しており、同定報告の中でそのことについて警告を発した (Burton 1999)。2018年1月までに、イングランドとウェールズ合わせて34ヶ所で定着が確認された。ただし、それらは比較的小規模である。Williams *et al.* 2010によると、イングランド13ヶ所、ウールズ1ヶ所は、1エーカー (約4047 m²) 未満であった。そして、2018年1月までに14ヶ所で局地根絶を達成している (Renals 2018)。

2. 2. 2 法制度の発展

イギリス政府は、野生生物・田園地帯法の規定に基づいて、2010年にオオバナミズキンバイとミズキンバイを、野外放出を禁ずる種のリストに指定し、同リストは同年施行された (Variation of Schedule 9, England and Wales, Order 2010)。

野生生物・田園地帯法の14条2項は、「附則9の第2に掲げる植物を、意図してまたはそれ以外によって、野生に繁茂させた者は、有罪とする。」と規定している。イギリス環境省は、2010年改正の公式解説書において、「土地所有者・管理者が導入していない附則9掲載種がその土地で繁茂し、野外の他の場所に拡散する問題を発生させることを知らず許し、あるいはそれについて放置することを認識の上で決定した土地所有者・管理者は、(法14条2項の)「繁茂させた」ことになるとも言えるかもしれない。」との解釈を示した (Defra 2010, 8)。加えて、イギリス環境保護庁は、パンフレットの中で、「侵略的植物の管理の責任は、個々の土地所有者・管理者にある」と記した。さらに、イギリス環境保護庁は、2016年のオオバナミズキンバイ管理の手引書において、「イングランドとウェールズにおいて、土地所有者・管理者は、オオバナミズキンバイ・ミズキンバイを放置しあるいは拡散させた場合、法律に違反しているかもしれない。」と記した (Renals 2016)。

2014年に、イギリス政府は、野生生物・田園地帯法に基づいて、販売及び販売目的のの保持・移動などが禁止される種のリストに指定した (Prohibition on Sale etc. of Invasive Non-native Plants, England, Order 2014)。同リストは同年施行された。

加えて、2015年の公共施設法 (Infrastructure Act 2015) によって、野生生物・田園地帯法が改正されたことにより、環境当局に対し、土地所有者・管理者に対し、侵略的外来種を管理することを求める権限が与えられた。同改正によって追加された附則9Aは、「種

管理合意 (Species Control Agreement)」と「種管理命令 (Species Control Order)」の二つの制度を導入した。それら制度の対象となる侵略的外来種は、自然や人間社会に甚大な影響を与える恐れのあるものに限られ、かつ主に新規に到来したものあるいは現在は分布域が限られているが潜在的にはより広範囲に拡大するかもしれないものに限られる。そのため、野生生物・田園地帯法の附則 9 第 2 に掲げられた種 (オオバナミズキンバイ・ミズキンバイを含む) は対象となると解釈されている。

環境当局 (内務大臣、ネーチャー・イングランド、環境保護庁及び森林コミッショナー) は、土地所有者・管理者に対し、侵略的外来種 (オオバナミズキンバイ、ミズキンバイを含む) の管理の実行を求める「種管理合意」を締結することを求めることができる。

「種管理合意」は、また、環境当局が侵略的外来種管理を実行することを認めることもでき、また、管理当局から土地所有者・管理者への費用支払いの規程を設けることもできる。

合意に達することができず、あるいは合意に対する違反があった場合、環境当局は、「種管理命令」を発することができる。命令を遵守しない場合、刑法上の違法となり、また環境当局が当該土地に立ち入り管理を実行することが可能となる (Defra 2017; Lee 2016)。なお、2018 年 1 月まで「種管理命令」の発出が必要となった例はない (Renals 2018)。

2. 3 日本

2. 3. 1 侵入の歴史

オオバナミズキンバイは、日本では、2005 年に和歌山県 (内藤・稗田 2014)、2007 年に兵庫県 (須山ほか 2008)、さらに 2009 年には滋賀県 (琵琶湖) と鹿児島県でも確認された (角野・岡本 2018)。特に琵琶湖沿岸では大規模に生育面積を拡大した。それに対して 2014 年度より滋賀県が中心となって大規模な除去事業を行っているが、それでも 2017 年度には約 30ha (年間最大値) の生育面積に達している (滋賀県 2017)。そのため、港湾・水路の閉塞による漁船・プレジャーボートの航行障害、水流停滞による水質の悪化、大面積占有による在来植物の駆逐などを引き起こしている。さらに琵琶湖下流の瀬田川や鴨川に広がるだけでなく、淀川水系とは異なる大阪府下の恩智川やため池でも定着が確認された (横川 2020)。加えて 2017 年には関東の霞ヶ浦・手賀沼・印旛沼でも定着が確認された (林 2018; 伊藤他 2017)。従って、全国的な侵入のリスクを警戒すべき段階に来ていると判断される。

2. 3. 2 法制度の発展

オオバナミズキンバイは、2014 年に外来生物法に基づく特定外来生物に指定された。外来生物法は、特定外来生物の取引、飼育・栽培、放出等を禁止している。また除去事業を行う際の告示、主務大臣確認・認可等の手続は定められている。しかし、野外に定着した特定外来種を誰が駆除すべきかについての規定はない。水系近傍における除草剤使用について禁止はされていないが行政担当者は慎重である。特に国道交通省の定める河川砂防技術基準は大河川において除草剤は使用しないことを基本としている。

3. 考察と結論

(1) 取引と野外放出の禁止は拡散を防止できるか？

日仏英において、取引の野外放出の禁止は、意図的な拡散の機会を減少させることに貢献したが、拡散を防止できてはいない。オオバナミズキンバイは断片でも繁殖可能であり、それは水流のほか、水鳥などの動物によっても拡散する可能性があることを既存文献は示唆している (Haury & Damien 2014)。

(2) 誰が管理に責任を有するのか？

日本では現場での管理責任が誰にあるのかについての規定はない。フランスでは、意図的のみならず過失による逸出についても土地所有者に罰金を科す規定は土地所有者責任を示唆しているが、その規定が既に広範に拡散した侵略的外来種執行されていないことから大きく希釈されている。イングランドのみが、土地所有者責任の立法を有しかつそれを侵入現場の事例に適用している。それは土地所有者が侵略的外来植物管理に関するすべてを負担しなければならないことを意味するものではなく、利害関係者間の分担を導くものである。日本とフランスの立法は、土地所有者に管理させるための中央政府の強い関与によって支えられていない。そのような状況では土地所有者は状況が深刻になるまで様子を見る傾向になる。

(3) 政府の手続きは必要か？

日本は、個人と地方自治体が現場管理作業を行うことについて国（主務大臣）の確認・認定を得ることを求めている。フランスは、県知事に大規模な現場管理作業についての手順を定めることを求めている。それらは現場管理作業の質を保証するであろうが、土地管理者に対し管理することを誘引するものではない。また、日本では地域住民が小規模な管理を行うに当たって国の認定を受けることは不便となっている。そのため、政府の手続の現場管理への貢献は限られているように思われる。

(4) 除草剤使用は合法か？

イングランドのみが水系近傍における除草剤使用を明確に合法化している。そして、イングランドではほとんどの侵入現場で除草剤が厳格な条件下で使用されており、オオバナミズキンバイの局地的な絶滅に貢献している。しかしフランスは他の欧州大陸諸国と同様に水系近傍における除草剤使用を禁止している。日本は水系近傍における除草剤使用を禁止しておらず、水田などでは普通に使用されているが、国・地方自治体の担当者は侵略的外来水生植物管理に除草剤を使用することに大変慎重である。

取引と野外放出の禁止は、基本的な立法であるが、拡散を防止するには十分ではない。

「土地所有者責任」は、重要であるがしばしば見落とされる要素である。政府は、侵入現場管理を任意に委ねる方式から、利害関係者の協働を伴う責任方式に移行することを検討すべきである。例えば、スイス連邦政府は 2019 年に「土地管理者責任」を含む侵略的外来生物管理法制度を提案した。また、除草剤使用による水質汚濁リスクを検討しつつ水系近傍における除草剤使用を認めることも、局地的根絶に貢献しうる。

(サブテーマ2) 環境水中における散布除草剤の残留

須戸 幹

1. はじめに

グリホサートは多くの植物に対して殺草性を有する非選択性除草剤で、イギリスではグリホサートによるオオバナミズキンバイの制御に用いられて効果を発揮している。

一方、ほとんどすべての植物に対して殺草効果を示すことから、オオミズバナキンバイの駆除に用いられた後、仮に水系へ流出して殺草活性を維持すると、河川や湖沼に生息する沈水植物や植物プランクトンなどに大きな影響を及ぼす可能性が否定できない。そこで本研究では、グリホサートの水環境中での残留特性を明らかにすることを目的として行った。

まず、グリホサートの LC/MS/MS による高感度分析法を検討した。次に、バックグラウンドとしての河川水中濃度を明らかにするために、琵琶湖流域の代表的な農地河川である宇曾川において4月下旬から6月上旬まで毎日採水を行い、河川水中のグリホサート濃度を測定した。

最後に、大学実験圃場施設内のライシメーター試験及びバケツ試験により、水環境中におけるグリホサートの消失速度を明らかにする実験を行った。

2. グリホサートの分析方法

誘導体化試薬として9-フルオレニルメチルクロロホルマーテ(FMOC-Cl)、同定と定量に液体クロマトグラフータンデム型質量分析計(LC/MS/MS)を用いる定量法を検討した。その結果、0.2~200 $\mu\text{g/L}$ の範囲で検量線の直線性を確認し、0.06 $\mu\text{g/L}$ を定量限界とする分析法を確立した。

3. グリホサートの琵琶湖流入河川における残留

宇曾川は流域面積約 84km² の代表的な琵琶湖流入農地河川であり、道路などのほか、水田畦畔の雑草駆除にグリホサートが用いられている。宇曾川河口の大山橋（河口より 4.2km 上流）で 2018 年 4 月 27 日から 6 月 3 日まで 1 日 1 回採水を行ってグリホサート濃度を分析した結果、検出濃度範囲は n.d.~1.75µg/L（平均 0.65µg/L）であった（図 1）。本研究では調査期間中に明瞭な季節変動は認められなかったが、降雨による流量増加時のグリホサート濃度は、直前の降雨前と比較するとやや上昇する傾向があった。農薬登録基準（水質汚濁 =2,660µg/L、水産動植物 =6,200µg/L）と検出濃度を比較すると、検出された最も高い濃度であっても 3 オーダー低い値であった。

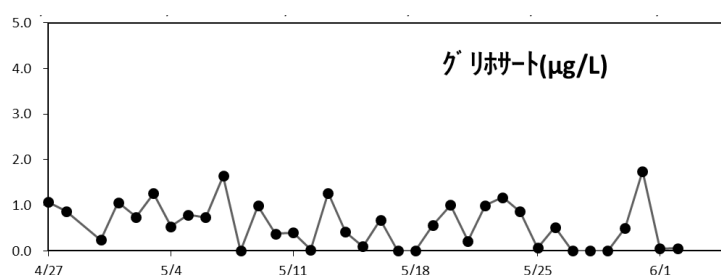


図 1 宇曾川におけるグリホサート濃度の変動（2018 年）

4. バケツ実験およびライシメーター実験による残留農薬の消失要因・消失速度の検討

環境中に散布された農薬は光分解、加水分解、微生物分解などの分解作用のほか、土壌や植物体への吸着、植生による吸収など様々な要因で分解・消失する。そこで、分解・消失に対する寄与度と減少速度を明らかにするために、円形のステンレス製のバケツ（高さ 31cm、直径 29cm、16.5L）にグリホサートが 10mg/L になるように添加して、残留量を経時的に調査するバケツ実験と、水田土壌または砂質土壌が充填されており、植生のある区画とない区画のライシメーター（縦 1m、横 1m、深さ 0.8m（ホッパー部分含む））を用いたライシメーター実験を行った。実験は 2018 年 7 月～8 月（バケツ実験平均水温 29.8℃、ライシメーター平均水温 30.3℃）と 2019 年 6 月（23.7℃、23.3℃）に行った。バケツ実験には蒸留水を用いたが、2019 年には栄養塩（窒素 10mg/L、リン 1mg/L）を添加し、水中における生物分解の寄与を検討する区を設けた。

バケツ実験とライシメーター実験いずれでも、グリホサートの残留量は指数関数的に減少したので、下記の式より半減期 ($t_{1/2}$) を算出した。（表 1）ここで、 k は分解速度定数である。

$$C = C_0 \cdot \exp(-kt), \quad t_{1/2} = \log_2 2 / k$$

バケツ実験とライシメーター実験を比較すると、2018年、2019年いずれもバケツ実験の半減期が大きかったこと、および2019年のバケツ実験では蒸留水のみと栄養塩添加区の半減期に大きな違いがなかったことから、水中に残留するグリホサートの消失に光分解と水中微生物分解の寄与は小さいと考えられた。

表1 バケツ実験およびライシメーター実験によるグリホサートの水中消失半減期

		2018年		2019年		
		半減期(日)	Chl-a (μg/L)	半減期(日)	Chl-a (μg/L)	
バケツ実験	蒸留水のみ	78~173	0.4	22~29	2.0~2.1	
	+栄養塩	—	—	21~71	202~312	
ライシメーター試験	水田土壌	植生無し	6.6	5.8	9.4	21.7
		植生あり	2.5	15.1	5.0	27.1
	砂質土壌	植生無し	2.2~8.5	0.7	2.5~2.8	2.3
		植生あり	1.4~3.2	16.9	3.3~4.5	10.0

ライシメーター実験の半減期を見ると、植生あり区は植生無し区より半減期がやや短く、植生あり区と比較すると水田土壌と砂質土壌に大きな違いがなかった。植生あり区の土壌表面は植物体の根や微生物膜でおおわれており、植栽されたヨシとマコモの茎には微生物膜が形成されていたことから、これらの表面に吸着・分解されて水中から消失した可能性が考えられた。

標準施用量のグリホサートがすべて水深5cmの水面に落下した場合の濃度(10mg/l)が、農薬登録基準値(環境動植物:6200μg/L、水質汚濁:2660μg/L)、および宇曾川で検出された最高濃度(2μg/L)に減少までに要する日数を、ライシメーター実験の植生あり区の半減期が最も長かった5.0日で計算すると、それぞれ3.4、9.6、61.4日と計算された。ただし、これらは水の移流や希釈効果、鉛直浸透による土壌吸着などがない場合であり、実際の環境中では消失速度はさらに大きいと考えられた。

(サブテーマ3) オオバナミズキンバイを材料とした効率的メタン発酵処理および発酵消化液を用いた微細藻類培養と野菜栽培方法の確立

伴修平・畑直樹・刘鑫・銭軍

研究協力者：戸田龍樹・藤原正明 (創価大学)

オオバナミズキンバイ (*Ludwigia grandiflora*) は、南米～北米南部原産の水陸両生のアカバナ科の植物であるが、園芸目的で世界各地に移植され、その生物学的侵入が大きな問題となっている。滋賀県でも 2009 年に初めて定着が確認されてから、急速に分布拡大を続けている。本サブテーマでは、刈り取ったオオバナミズキンバイをメタン発酵することで効率的にエネルギー変換し、発酵消化液を用いて微細藻類を培養する、あるいは野菜類を栽培することで有効活用する方法を確立することを目的とした。オオバナミズキンバイを含む水草はリグニン含量が多いほど発酵が進みにくいため、メタン発酵の前に適切な処理を施す必要がある。消化液の有効活用には微細藻類培養と野菜栽培を用いるが、通常、消化液に含まれる窒素成分はほとんどアンモニアであるため、これを希釈する必要がある。しかし、希釈には多くの淡水を必要とし、また逆に、希釈によって不足する成分がでてしまう。そこで、本研究では、消化液を硝化処理することで、アンモニアを硝酸に変換し、できるだけ希釈することなく利用する方法を試みた。研究は、1) オオバナミズキンバイの水蒸気爆砕処理条件の検討と半連続メタン発酵処理性能の評価 (創価大学)、2) オオバナミズキンバイのメタン発酵消化液を使った微細藻類培養 (伴)、3) オオバナミズキンバイのメタン発酵消化液を硝化処理した後の野菜栽培 (畑) の3つに分かれている。以下、それぞれの概要について説明する。

1) オオバナミズキンバイの水蒸気爆砕処理条件の検討と半連続メタン発酵処理性能の評価

実験に供したオオバナミズキンバイは、2017年10月に琵琶湖南湖にて採取し、3-5 cmに破碎した後、-20℃で冷凍保存した。本試料のリグニン含量は 21.3%であった。爆砕処理条件を決定するため、5段階の温度 (120-210℃) と 2-3段階の保持時間 (10-60分) を設定し、11段階の爆砕強度を得た。保存試料について、これらの条件で処理した後、メタン発酵 (37℃、3週間) を行いメタン生成ポテンシャルを測定した。

メタン生成量は 165℃で最大を示し、これは無処理区の 3.1倍であった。160℃以上でセルロースやヘミセルロースが溶存化するが、それ以上の温度では阻害物質 (例えば、フェノール類) が精製されることによってメタン生成量が減少するものと考えられた。結果として、オオバナミズキンバイの爆砕処理には 165-180℃が適当と考えられた。200-Lのベンチスケールリアクターを用いた連続メタン発酵実験では、メタン生成量は 60日目まで減少傾向で、この期間、フェノール類の濃度が増加傾向にあった。しかし、以後、NaOHを添

加することでメタン生成量は増加・安定する傾向を示した。これらは、アルカリ度の上昇によって水素資化性メタン菌の活性化が促進された、あるいは微生物がフェノール類に対して馴化したためと考えられた。これらを明らかにするためには追加の実験が必要だろう。

2) オオバナミズキンバイのメタン発酵消化液を使った微細藻類培養

上記の実験で得たメタン発酵消化液 (ADE) を用い、二つの実験を行った。即ち、3 種の緑藻 (*Chlorella sorokiniana*, *Chlamydomonas reinhardtii*, *Botryococcus braunii*) を用いて、ADE による培養実験、さらにこの ADE を硝化処理した後に同様に培養実験を行い、藻類種毎の適正な ADE 希釈率および硝化処理の効果について調べた。

藻類の成長に対する希釈率の効果は、用いた藻類種によって異なり、それは種によるアンモニア耐性に依存すると考えられた。これらのうち、*C. sorokiniana* が最も高いアンモニア耐性を示した。ただし、希釈倍率が高くなると Mg が不足する傾向が認められ、先行研究の知見を良く支持した。実験に供したどの処理区でも藻類の成長は、一般的な藻類培地 (C 培地) を使ったときより良く、これは ADE のリン含量に依存すると考えられた。なお、これらの実験では、窒素とリンの除去率はいずれの場合も 80% を上回った。

一方、硝化処理を施した ADE を用いた培養実験では、希釈無しで高い藻類成長が認められ、処理によってアンモニアを硝酸に替えることで、希釈処理を施すことなく藻類を培養できることが分かった。ただし、栄養塩除去率は悪く、光不足あるいは低水温の影響が考えられた。

3) オオバナミズキンバイのメタン発酵消化液を硝化処理した後の野菜栽培

オオバナミズキンバイ由来のメタン発酵消化液は、他の水草由来の消化液と同程度の肥料成分を含んでおり、培養液として利用する際の水と消化液の混合比率 (希釈倍率) も同程度で良いことが明らかとなった。一方で、他の水草由来の消化液同様に Mn 含量が高く、高温・強光の環境下では、水耕栽培に消化液を用いるとリーフレタスにおいても Mn 過剰障害が確認された。したがってオオバナミズキンバイを原料とした場合でも、消化液中の Mn 濃度を低下させる手法の開発が必要である。

水耕栽培時の培養液の殺菌を目的として、オゾン処理を行う場合がある。培養液にオゾン処理を行うと植物病原菌が死滅する一方で、培養液中の Mn が酸化沈殿し、濃度が低下して、栽培植物が Mn 欠乏症状を引き起こす問題も指摘されている。この現象を逆にとれば、消化液の Mn 濃度を低下させる手法として、オゾン処理が有効利用できる可能性がある。

そこで、6L の消化液中で、電気分解方式により直接オゾンを発生させて、消化液中の無機元素濃度の変化を調査した結果、Fe、Mn 以外の無機元素濃度を低下させることなく、30 分の処理で Mn 濃度が原液の 1/10 未満にまで低下させられた。Fe は Fe-EDTA を添加する際に補給されるため濃度が低下しても問題ない。ただし、電解質の溶液中で装置を使用すると、過電流により装置がすぐに故障し、使用不能になる問題が明らかとなった。

次に、オゾンガスを通気する方式で消化液のオゾン処理を検討した結果、電気分解方式よりも Mn 濃度低下能力は弱く、オゾン処理した消化液を水耕栽培に用いてもコマツナの Mn 過剰障害を完全に抑制するには至らなかった。一方、化学肥料を混合した通常の培養液に Mn を添加して高濃度としたものに、同じ方法でオゾン処理を行うと、Mn 濃度は大幅に低下し、

コマツナは Mn 過剰障害を発症しなかった。このことから、消化液中にはオゾン処理の効果を弱める成分が含まれていると考えられる。また、処理強度を上げることで消化液の Mn 濃度を低下させて、Mn 過剰障害を回避できる可能性も見出されたため、この観点でさらに検討を行う必要がある。

琵琶湖環境研究推進機構 本部会議 発表資料

滋賀県立大学特別研究費報告
(2017～2019年度)
湖沼周辺における水陸両生外来水生植物管理

報告者：上河原献二（滋賀県立大学環境科学部）
2020年9月11日

1

研究テーマ

1. 制度・体制に関する日仏英国際比較（上河原）
2. 種子分散などの生活史解明（野間）と
陸上個体への除草剤使用の影響解明（須戸）
3. メタン発酵処理技術開発（伴・畑）

2

1. 制度・体制に関する日仏英 国際比較研究

3

オオバナミズキンバイの侵入の歴史

- フランス
 - オオバナミズキンバイを1820年代に輸入
 - 2000年代には仏本土の多くの地域に拡散（最悪の侵略的外来水生植物）
- イギリス
 - 1998年野外初確認。
 - 2019年までに39ヶ所で確認。内9ヶ所で根絶確認、6ヶ所は根絶確認中（5年間の観察期間中）
- 日本
 - 2005年オオバナミズキンバイ日本で定着発確認
 - 2009年琵琶湖で定着確認。その後、下流の京都府, 大阪府でも確認
 - 関東でも、2015年印旛沼、2017年手賀沼・霞ヶ浦で確認

取引と放出の禁止は拡散を防止できるか？

- 答は否
- 3ヶ国とも、オオバナの販売・譲渡等を禁止
- 商業的取引は止まったが、非意図的な拡散（ヒッチハイキング・水流によるもの、更には動物による拡散の可能性）は止められない。

5

誰が管理に責任を有するのか？

- 日本：現場で侵略的外来植物を管理することを誰かに義務付ける立法なし。管理するかしないか公的管理者の裁量
- フランス：過失の場合でも野外放出に罰金を科す規定⇐土地所有者の管理責任を示唆。しかし実際には適用されていないことから、その意義は大きく薄められている。
- イギリス：侵略的外来植物の管理を明示的に土地所有者に義務付け、かつそれが現場に適用。土地所有者の管理を政府機関が支援

↓

現場管理を任意とする制度から、多様な主体の協働のもとで土地所有者に管理を義務付ける制度へ移行することを検討する必要

6

除草剤使用は合法か？

- イギリス：明確に水辺での侵略的外来植物管理における除草剤使用を合法化。ほとんどの侵入現場において除草剤を厳しい条件の下で使用し管理に効果
- フランス：水辺における除草剤使用を禁止
- 日本：水辺での除草剤使用を禁止していない（水田での除草剤使用は普通）が、行政担当者は侵略的植物管理における除草剤使用に大変慎重



リスクに配慮しつつ水辺近傍での使用を法律上認める
ことが局地的根絶に貢献する可能性あり

7

2. 種子分散などの生活史解明と 陸上個体への除草剤使用の影響解明

8

遺伝解析 クローン構造

3クローンを確認

○亜種ウスゲ（近畿地方・手賀沼）

近畿地方と手賀沼は同じクラスターで侵略的
ミスキンバイと誤同定された
咲くやこの花館の集団もここに含まれる
→園芸利用由来を示唆する

○亜種ウスゲ（鹿児島）

侵略的ではないクローン

○亜種オオバナ

方法

茎葉を採集

DNA抽出:

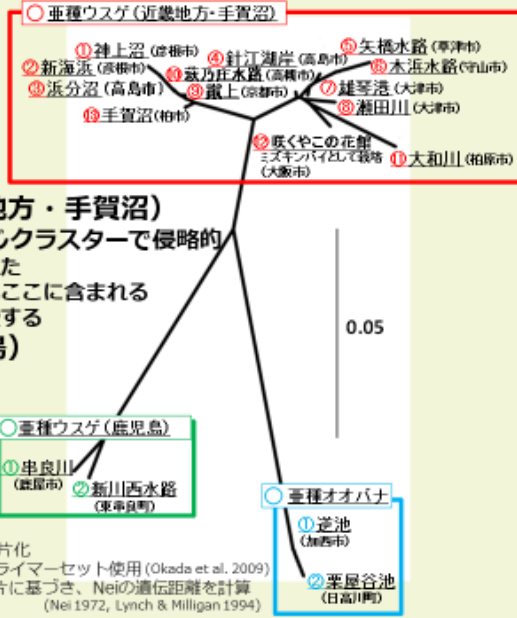
Dneasy Plant Mini Kit (QIAGEN)

AFLP法: 制限酵素EcoRI, MseIで断片化

・先行研究で多型増幅した8組のプライマーセット使用 (Okada et al. 2009)

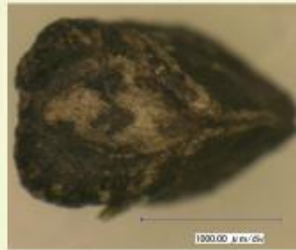
遺伝的類似度: 再現性のある265断片に基づき、Neiの遺伝距離を計算

樹状図: 近隣結合法により作成 (Nei 1972, Lynch & Milligan 1994)



水鳥の糞中に種子が含有

秋冬に、群落近くと駆除地近くの糞から確認
泥中に埋もれていて水鳥が食べる



発芽可能な種子も

状態よいものの33%、全体の3%

- ・分布水域外でも侵入に注意が必要
- ・飛行経路に基づいた侵入ポテンシャルマップの作製

環境研究総合推進費 「特定外来種オオバナミスキンバイの拡大防止策と効果的防除手法の開発」(代表: 田中周平 京都大学准教授) による成果

グリホサートの琵琶湖流入河川における残留状況

- まずグリホサートの分析法を確立（検出限界0.06 $\mu\text{g/l}$ ）
- 宇曽川河口の大山橋（河口より4.2km上流）
- 2018年4月27日から6月3日まで1日1回採水を行って河川水中のグリホサート濃度を分析
- 検出濃度範囲はn.d.～1.75 $\mu\text{g/L}$ （平均0.65 $\mu\text{g/L}$ ）
- 農薬登録基準(水質汚濁=2,660 $\mu\text{g/L}$ 、水産動植物=6,200 $\mu\text{g/L}$)と検出濃度を比較すると、検出された最も高い濃度であっても3オーダー低い

11

残留農薬の消失要因・消失速度の検討

			半減期（日）	
			2018年	2019年
バケツ実験	蒸留水のみ		78～173	22～29
	+ 栄養塩		—	21～71
ライシメーター試験	水田土壌	植生無し	6.6	9.4
	水田土壌	植生有り	2.5	5.0
ライシメーター試験	砂質土壌	植生無し	2.2～8.5	2.5～2.8
	砂質土壌	植生有り	1.4～3.2	33～4.5

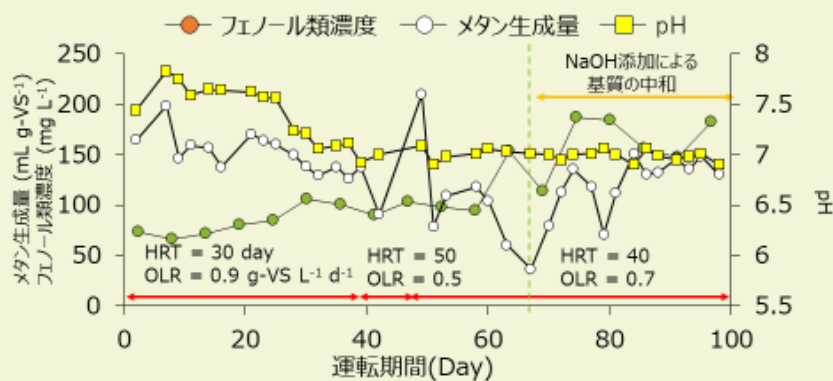
バケツ実験値 > ライシメーター実験値
ライシメーター試験：植生無し値 > 植生有り

12

3. メタン発酵処理技術開発

13

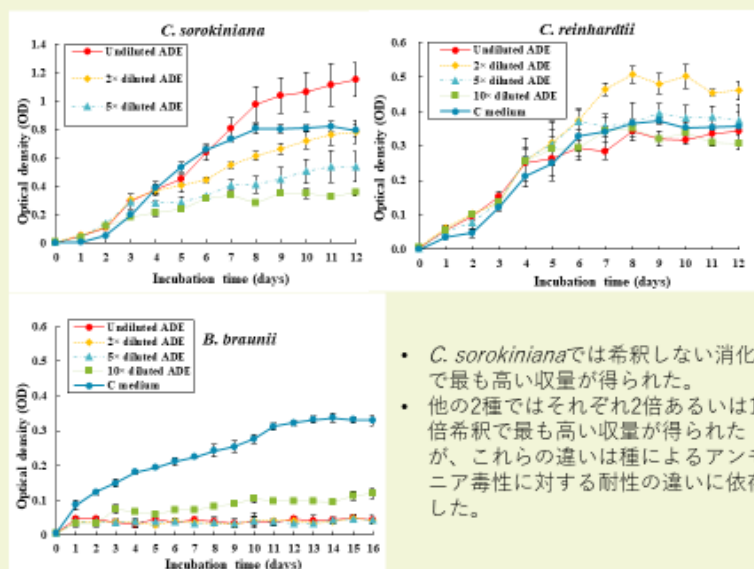
オオバナミズキンバイを材料としたメタン発酵実験



- フェノール類の濃度は運転期間を通して増加する傾向
 - NaOHで基質のpH(4.60)を中和し投入するとメタン生成量が増加・安定
- 考えられる要因
- ①アルカリ度の上昇による水素資化性メタン菌の活性化
 - ②微生物の馴養による処理性能の向上

NaOHの添加によりメタン生成が増加・安定したが、他の水草（沈水植物など）に比較してメタン生成量は低かった。

発酵消化液を用いた微細藻類培養実験



- *C. sorokiniana*では希釈しない消化液で最も高い収量が得られた。
- 他の2種ではそれぞれ2倍あるいは10倍希釈で最も高い収量が得られたが、これらの違いは種によるアンモニア毒性に対する耐性の違いに依存した。

水草およびオオバナミズキンバイを原料としたメタン発酵消化液の成分組成

培養液	希釈倍率	mg/L					
		P ₂ O ₅	K ₂ O	CaO	MgO	Fe	Mn
水草メタン発酵消化液(1回目)							
硝酸化前	×4.5	44	205	246	33	2.35	12.0
硝酸化後	×4.9	34	144	149	24	0.04	11.1
水草メタン発酵消化液(2回目)							
硝酸化前	×3.8	66	176	182	38	22.5	58.9
硝酸化後	×4.4	19	139	125	32	0.06	8.12
オオバナミズキンバイメタン発酵消化液							
硝酸化前	×4.0	41	218	184	44	6.18	7.58
硝酸化後	×5.0	44	184	119	25	0.46	10.4
園試処方培養液							
標準		47	188	112	40	1.50	0.25

メタン発酵後の消化液は、
オオバナミズキンバイを原料としてもMn濃度が高い

Mn濃度を低下させる対策が必須

オゾン処理によるメタン発酵消化液の無機成分濃度の変化

処理時間 (分)	原液を100としたときの各無機成分の相対濃度 (%)										
	P	K	Ca	Mg	Na	Fe	Mn	Zn	Cu	B	Al
0	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
1	119	101	87	102	91	66	92	97	101	113	95
5	102	95	102	109	92	36	80	87	101	101	93
15	116	86	106	93	89	26	30	88	102	116	93
30	93	97	107	133	88	20	6	81	101	114	91



電解式オゾン生成器

消化液6Lに対してO₃処理



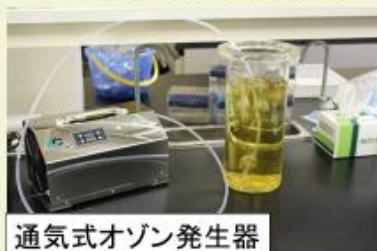
0分 1分 5分 15分 30分

沈殿物の生成により褐色化

Mn除去にオゾン処理有効

電解式では過電流により装置故障

通気式オゾン処理によるメタン発酵消化液のMn濃度低下方法の開発



通気式オゾン発生器



圃試処方標準 オオバナミズキンバイ消化液 O₃無処理 O₃処理

通気式では
オゾン処理能力が弱い
⇒Mn濃度が低下しにくい

Mn濃度を低下させる
有効な処理方法検討中