

湖沼の円滑な物質循環につながる要件と指標に関する研究

佐藤祐一・早川和秀・永田貴丸・山口保彦・尾原禎幸¹⁾・中村光穂²⁾・岡本高弘・酒井陽一郎
 霜島孝一³⁾・上原 浩⁴⁾・東海林太郎⁴⁾・永禮英明⁵⁾・小松英司⁶⁾

要約

琵琶湖では水質が改善傾向にある一方で、漁獲量の減少や水草の大量繁茂、大型緑藻の増加などの新たな課題が顕在化している。この要因の1つとして、植物プランクトンから動物プランクトン、魚介類につながる物質循環が滞ってきたことが指摘されている。そこで本研究では、動物プランクトンに捕食されやすい中小植物プランクトンの増殖に着目し、湖内における有機物および栄養塩の円滑な循環につながる要件を明らかにするとともに、物質循環の円滑さを評価する指標を検討した。沖帯と沿岸帯において、動物プランクトンの現存量および生産量と、餌となる小型セストンの量や質との関係性を解析したところ、沿岸帯では沖帯と比べて動物プランクトンの量や、その餌資源の量が多く、沿岸帯の環境保全が重要であると考えられた。湖水中の溶存有機物(DOM)の生産・分解フラックスをその分子サイズに着目して算出する手法を開発し、時系列で計算したところ、夏季成層期にDOM分解で放出される窒素栄養塩は、表層生態系の窒素同化フラックスの25~60%程度に寄与していると推定された。湖水中の有機物の生物利用可能性を評価する手法として、DOM蛍光・吸光特性を利用した易分解性・難分解性DOM濃度の推定や、培養期間を28日間に長期化したBODについて検証、提案した。大型植物プランクトンの消長を一定再現できる琵琶湖流域水物質循環モデルを用いて、気象条件が物質循環の円滑さに与える影響の評価を行ったところ、気候変動が物質循環の円滑さに影響を与えていることが示唆された。また以上の成果を踏まえて、物質循環の円滑さの要因となる指標として「大型(小型)植物プランクトンの割合」「サイズ別植物プランクトン(セストン)のC:N:P比」「溶存有機物(DOM)分解により供給される栄養塩量」を加え、これまで提案した「呼吸効率」「転換効率」などの指標とともに、物質循環の円滑さを評価する指標体系として整理した。

1. はじめに

琵琶湖では流入負荷の削減により、水質が1970~80年代と比較して改善する一方で、漁獲量の減少や水草の大量繁茂などの新たな課題が顕在化している。図1-1に琵琶湖の漁獲量と透明度の推移を示す。1980年代以降、透明度は改善傾向にあるが、漁獲量は減少傾向にあり、近10年については透明度も年により悪化する現象が見られている。この要因として、大型植物プランクトンの大量増殖がある。大型植物プランクトンは動物プランクトンに捕食されにくいため、植物プランクトンから動物プランクトン、魚介類につながる物質循環が滞る、すなわち食物連鎖を通じて魚介類にも影響することが懸念されている(佐藤ら, 2021)。そのため、従来の湖沼水質保全の考え方である、流入負荷を減らして湖内の水質を改善するという考えとともに、物質循環を円滑にすることで水産資源を保全し、水質の保全との両立を図るという考え方への転換を目指し、湖沼の健全性や物質循環について評価指標等の検討を進めていく必要がある(中央環境審議会, 2023)。



図1-1 琵琶湖の漁獲量と透明度の推移(滋賀県琵琶湖環境科学研究センターWebサイト(2023)より作成)

第五期中期計画において、生食食物連鎖および微生物食物連鎖を介した有機物量について調査した結果、琵琶湖における生態系物質循環の特長は、内部生産によって支えられており、特に植物プランクトンから動物プランクトンへの物質の転換効率が水質保全と豊かな在来生物の保全の

1) 現・湖北環境事務所 2) 現・東近江環境事務所 3) 国立環境研究所琵琶湖分室 4) バシフィックコンサルタンツ(株) 5) 岡山大学 6) 明治大学

両立に大きく影響することが明らかとなった（佐藤ら、2021）。そこで本研究では、動物プランクトンに捕食されやすい中小植物プランクトンの増殖に着眼し、湖内における有機物および栄養塩の円滑な循環につながる要件を明らかにするとともに、物質循環の円滑さを評価する指標を検討することを目的とする。具体的には、栄養塩の流入・循環の状況と、植物プランクトンのサイズや生産に関する調査を実施するとともに、動物プランクトンの摂餌実験を行って、中小植物プランクトンを介した湖内物質循環の状況を明らかにする。また、これまで構築してきたモデルを改良して、物質循環の円滑さを表す指標の検討と評価を行う。

本研究は4つのサブテーマで構成されており、概要は以下の通りである（図1-2）。

サブテーマ①「琵琶湖の健全性評価と総合計画推進支援」

物質循環の円滑さを表す指標について検討を行うとともに、サブテーマ②～④の結果も活用しつつ、モデルを用いてそれらの指標に影響を与える環境因子の解析を行う。また、2021年度の第8期湖沼水質保全計画の策定に係る負荷量データの解析、および予測シミュレーションを実施する。

サブテーマ②「動物プランクトンの餌資源解析」

動物プランクトンの餌資源の状況やその選択性について把握するため、動物プランクトンの現存量と生産量のモニタリングを行うとともに、沿岸帯と沖帯において餌のサイズに着目した動物プランクトンの摂食実験を行う。

サブテーマ③「湖内有機物の生産と分解プロセスの把握」

植物プランクトンの生産機構について把握するため、湖内に流入および循環する栄養塩の動態を、溶存有機物(DOM)の生産・分解プロセスに着目して明らかにする。まず、分子サイズ別のDOMの分解特性について、変動の把握と経験的モデル化を行う。次に、DOMの生産・分解フラックスの推定手法を開発し、湖内物質循環におけるDOMの機能を定量的に把握する。さらに、分子サイズ別のDOM分画濃縮法を開発する。

サブテーマ④「物質循環の状況把握とその指標の検討」

湖内の物質循環の状況を詳細に把握するための手法として、特に湖水中有機物の分解特性を把握できるモニタリング指標について検討する。まず、湖水中有機物の分解実験を実施し、DOMの蛍光・吸光特性、長期BOD(28日分解)等の指標と有機物分解特性を比較する。また、粒子状有機物(POM)の粒径分布の長期的変化を調査する。



図1-2 本研究の全体概要

2. 琵琶湖の健全性評価と総合計画推進支援

2.1. はじめに

滋賀県では2005年度以降、琵琶湖流域の水文・水質状況を再現・予測できる「琵琶湖流域水物質循環モデル」(以下「モデル」という。)を構築し、水質保全施策の効果予測や水質汚濁メカニズムの解明等を行ってきた(図2-1)(佐藤ら、2011)。具体的には、第5~7期の湖沼水質保全計画に係る水質予測シミュレーションを実施したほか、琵琶湖における難分解性有機物の起源推定を行い、陸域由来に比べて湖内生産由来のものが卓越することなどを明らかにした(佐藤ら、2016)。

一方で近年、琵琶湖では在来魚介類の減少が問題となっており、この要因の一つとして、流域スケールでの物質循環の様相が大きく変化し、植物プランクトンから動物プランクトン、魚介類につながる物質循環が滞ってきたことが指摘されている。そのため、2014年度以降に物質の存在量(ストック)だけではなく移流量(フロー)についても把握・評価するためのモデルの改良を行うとともに、2018年度以降には物質循環の円滑さを評価する指標について検討してきた(佐藤ら、2021)。今後、物質循環を円滑にして、良好な水質と魚介類の資源量の改善の両立を図るためには、流域における気象や流入負荷の変化が物質循環の円滑さに与える影響について把握し、適切な対策を講じていく必要がある。

以上を踏まえ本稿では、以下4つの課題に取り組んだ結果について報告する。

①これまで構築してきたモデルを用いて第8期湖沼水質保全計画(以下「第8期湖沼計画」という。)に係る水質シミュレーションを実施した。

②大型植物プランクトンの消長を再現できるようにモデルを改良した。

③気象に関するシナリオ計算を行い、物質循環の円滑さ指標に与える影響について検討した。

④物質循環の円滑さを表す指標に加えて、その要因となる指標について提案した。

2.2. 方法

2.2.1. 第8期湖沼計画に係る水質シミュレーション

第8期湖沼計画では、2020年度を現況として、2025年度における対策実施時の水質予測を行い、目標値を設定することが求められる。生態系保全も視野に入れた水質管理手法を検討するため、各種水質指標のみならず、魚介類等を含む物質循環や全層循環の状況などについて、長期の連続計算と再現ができるよう改良を行ったモデルを用いて、現況再現と将来予測を行った(佐藤ら、2022; 滋賀県琵琶湖環境科学研究センター、2021)。

モデルは「陸域水物質循環モデル」「湖内流動モデル」「湖内生態系モデル」の3つから成り、それぞれ気象や地形、社会条件等のデータと他のモデルからの出力を読み込んでシミュレートする(図2-1)(佐藤ら、2011)。陸域水物質循環モデルは、蒸発散モデル、地表流モデル、地下水

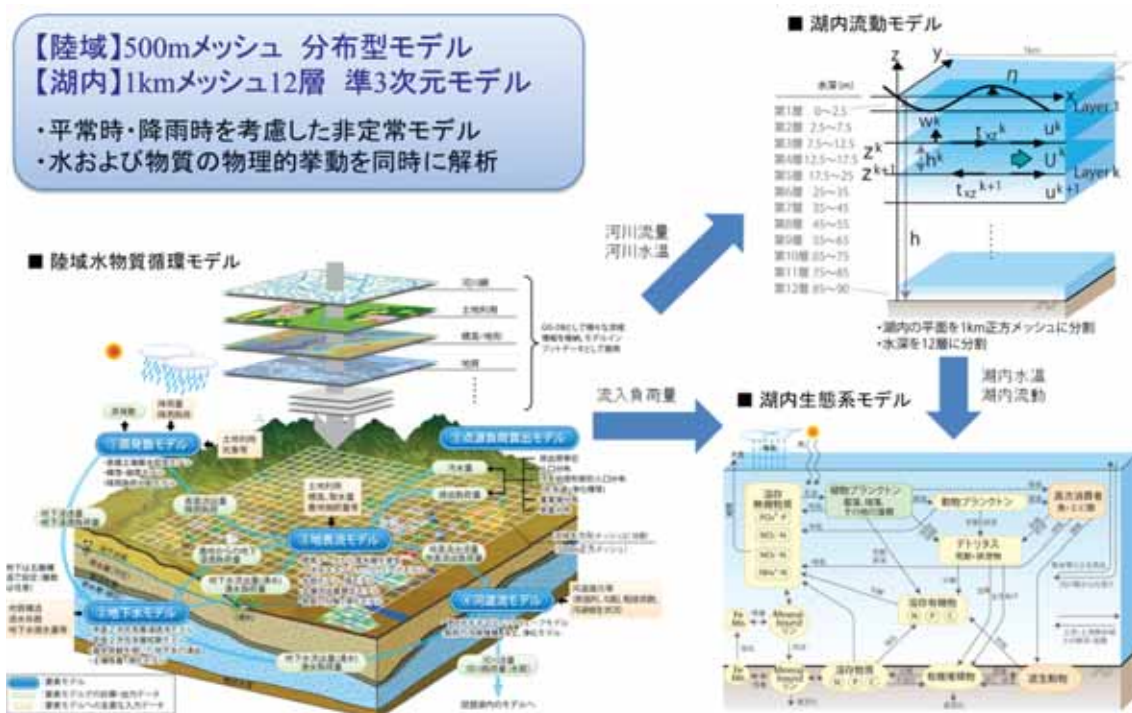


図2-1 琵琶湖流域水物質循環モデルの概要

モデルなど 5 つの要素モデルから成る分布型物理モデル（500m メッシュ）である。湖内流動モデルは、湖内の水温や流動を計算する準 3 次元モデル（1km メッシュ 12 層）である。湖内生態系モデルは、物質の移流・拡散・沈降過程、水-底質相互作用を含む湖内の地化学・生化学反応過程を記述した生態系モデル（湖内流動モデルと同じ空間分割）である。物質としては栄養塩（形態別窒素およびリン）の他、有機物として TOC（POC および DOC）とその分解性を考慮して計算を行う。

モデルの現況再現は 2018～20 年度を対象として実施した。2020 年度の点源負荷や土地利用、気象等のデータを整理し、GIS を用いてメッシュデータに変換した。同期間に観測された各物質の濃度や湖内の生産量等と、モデルによる計算結果を比較してパラメータの調整を行った。2018・19 年度末は観測史上初めて全層循環が未完了となったため、特に注意して調整を行った。

将来予測にあたっては、「対策あり」「対策なし」の 2 つのシナリオを設定し、2018 年度から 2025 年度までの 8 か年の連続計算を行った。「対策あり」では下水道整備や面源負荷削減対策の進展を考慮する一方で、「対策なし」では下水道整備は現状維持、人口増加分は合併浄化槽で対応するなどと仮定した。気象条件については、現況の水質と比較を行うことから、2020 年度と同じ気象が将来にわたり続くと仮定して予測計算を行った。

2.2.2. 大型植物プランクトン消長のモデル化

大型植物プランクトンの増殖は、透明度の低下や飲料水資源としての問題を引き起こすだけでなく、サイズが大きく動物プランクトンに捕食されにくいと、食物連鎖を介して魚介類資源にも影響を与えることが懸念される。しかし、大型植物プランクトンの発生メカニズムは明らかになっておらず、対策を講じる上で支障が生じている。そこでモデルに大型植物プランクトンのコンパートメントを追加し、本モデルを用いたパラメータの感度分析と現況再現を行った（佐藤ら，2023）。

大型植物プランクトンのうち琵琶湖で近年特に増殖が問題となっている大型緑藻を対象としてモデル化を行い、植物プランクトンを 4 種に区分するモデルを構築した（図 2-2）。大型緑藻の特性としては、①光合成活性が高い、②強光ストレスに強い、③高温下で増殖阻害が生じる、④CN 比・CP 比が大きい、⑤沈降速度が速い、⑥動物プランクトンに捕食されにくい、といったことが考えられる。大型緑藻のモデルパラメータについて、①は増殖速度を増加し、②は光合成応答関数を修正し、③はアレニウス係数を高温増殖阻害が起こるよう関数化し、④は細胞内最小 CN 比・CP 比を増加し、⑤は平均粒径を増加し、⑥は捕食比率を

減少するといった変更を行った。

再現期間は 2018～2021 年度の 4 か年とし、数か月程度の助走計算期間を設定した。同期間を中心に観測された各物質の濃度や生産量等と、モデルによる計算結果を比較して検証を行った。

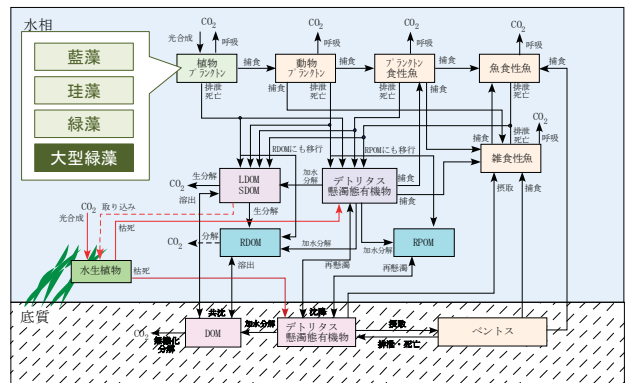


図 2-2 改良した湖内生態系モデルの構造

2.2.3. 気象条件が物質循環の円滑さに与える影響の評価

物質循環の円滑さ指標に影響を与える因子を明らかにするため、2018～2021 年度の間が生じた豪雨や暖冬、猛暑等の気象イベントについて、当該期間の気象データを平年気象に差し替える等により、それらがなかった場合のシナリオ計算を行った。計算期間は 2018～2021 年度の 4 か年とし、以下 4 つのシナリオを設定した（表 2-1）。

表 2-1 シナリオの概要

シナリオ	概要
- 現況再現	現況再現ケース
① 2018 猛暑暖冬なし	2018 年度の猛暑・暖冬がなく、2018 年度末の全層循環が完了するケース
② 降雨平年	降水量について平年気象（2013 年度）が継続したケース
③ 全気象平年	全ての気象条件について平年気象（2013 年度）が継続したケース
④ 日射増加	日射量を 10% 増加させたケース（1990 年代以降日射量が約 10% 増加していることを参考）

シナリオ計算を行った結果について、物質循環の円滑さ指標による評価を行い、2.2.2 で改良したモデルによる現況再現の結果と比較することで、流域における気象の変化が物質循環の円滑さに与える影響について考察した。物質循環の円滑さ指標は、第五期中期計画で提案した以下について評価した（佐藤ら，2021）。

①「過不足がない」：呼吸効率（＝群集総呼吸量／一次生産量等）

評価対象の湖沼における生態系全体をみて、分解されずに残される有機物がほとんど存在せず、生産から呼吸を引

いたものが生態系内の生体量の蓄積に対応している。

②「滞りが無い」：転換効率（＝二次生産量／一次生産量等）

各栄養段階をみて、植物によって生産された有機物が高次の消費者に多く受け渡され、生物の連鎖の中で効率よく利用されている。

③「偏りが無い」：生物バランス（＝魚類バイオマス／植物プランクトンバイオマス）

物質循環が円滑になった結果として、水質が一定レベルに抑えられ、かつ魚介類の資源量が保全されるというように、各栄養段階のバイオマスが「偏りなく」存在する。

2.2.4. 物質循環の円滑さの要因となる指標

これまで物質循環の円滑さ、およびその結果としての水質保全と生態系保全の両立を表す指標として、「呼吸効率」「転換効率」「生物バランス」を検討してきたが、これらは直接測定することが難しく、モニタリングにより現状を把握し、対策検討に活用するという点で課題が残されていた。そこで、サブテーマ②～④の結果も踏まえて、物質循環の円滑さの要因となる指標について検討し、物質循環の円滑さを評価する指標体系として整理した。

2.3. 結果

2.3.1. 第8期湖沼計画に係る水質シミュレーション

2018～20年度における現況再現を行った結果、有機物、窒素、リン濃度の地点別の差異や、代表地点における時系列変化については、良好な再現結果が得られた（図2-3・図2-4）。一方で大型植物プランクトンの一時的な大量増殖については再現ができなかった。全層循環未完了とその影響については、2018年度末は水深別水温およびD0の両方が良好に再現できたが、2019年度末については全層循環がほぼ完了する結果となり乖離が見られた。全層循環に伴うD0回復後の濃度レベルが観測よりも高く、また水温躍層形成後の減少速度が観測よりも遅くなり、2020年度の底層D0の枯渇を再現することができなかった（図2-5）。

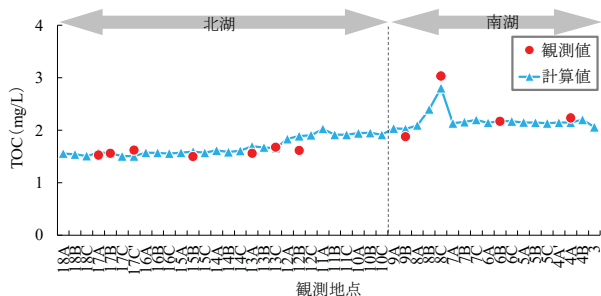


図2-3 地点別 TOC 年間平均値（2018～2020年度）

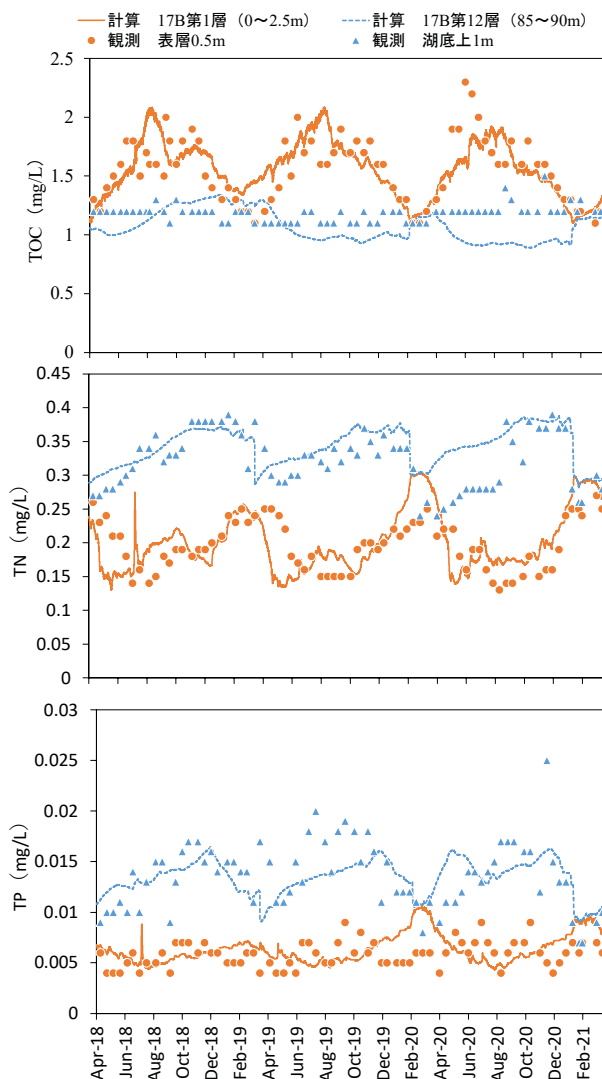


図2-4 今津沖中央（17B）における表層・底層水質の時系列変化（TOC・TN・TP）

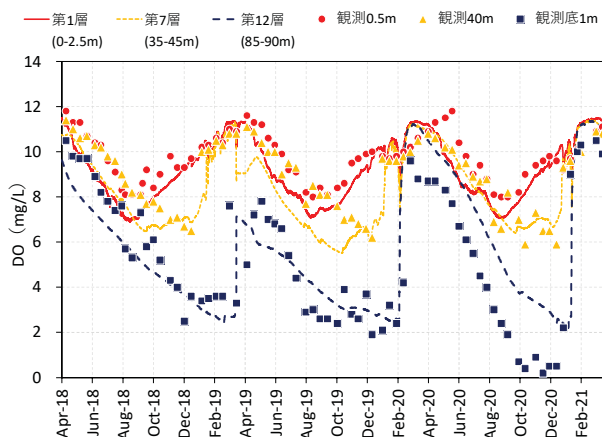


図2-5 今津沖中央（17B）層別 DO の時系列変化

将来予測を行った結果について、北湖はいずれの水質項目も2020年度からほぼ横ばいであり、対策の有無による

水質への影響は極めて軽微であった。一方で南湖については、対策の有無にかかわらず TOC がやや減少傾向となり、また TN (全窒素)、TP (全リン) で対策なしの場合に濃度上昇が見込まれた (図 2-6)。将来予測の気象として用いた 2020 年度は降水量が多く南湖で植物プランクトンが増殖しにくい環境にあったこと、対策なしのシナリオで主に増加する合併浄化槽からの栄養塩負荷が影響したことなどが要因として考えられた (佐藤ら, 2022; 滋賀県琵琶湖環境科学研究センター, 2021)。

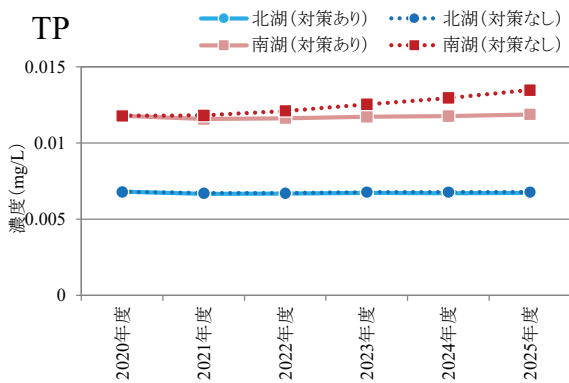


図 2-6 シナリオ別水質予測結果 (TP)

2.3.2. 大型植物プランクトン消長のモデル化

2018~2021 年度の月別植物プランクトン種別バイオマス (炭素量) の計算結果を示したのが図 2-7 である。大型緑藻が春季・秋季にブルームを起こしやすいという季節変動を概ね再現することができた。しかし、2018 年度 6~7 月と 10~11 月、2020 年 5~7 月にかけて大型緑藻の一種であるスタウラストルムが大きく増殖したことが報告されている (滋賀県環境審議会, 2023) が、そのような年次ごとの違いについては必ずしも再現ができなかった。

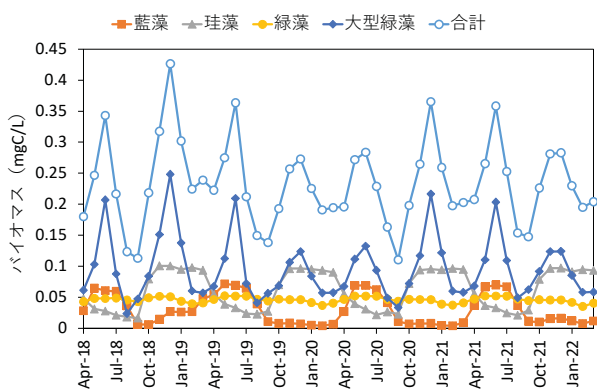


図 2-7 植物プランクトン種別バイオマスの再現結果 (月間平均値)

2.3.3. 気象条件が物質循環の円滑さに与える影響の評価

各シナリオが北湖全体における物質循環の円滑さを表

す指標に与える影響についてまとめたのが図 2-8 である。呼吸効率と転換効率 (二次生産量/一次生産量) については、現況再現と比較してシナリオ①で有意に小さく、シナリオ④で有意に大きかった (シナリオ②・③は有意差なし)。日射の増加により水温が上昇し、生物群集の呼吸量や、動物プランクトンの捕食量が増加したことが一因と考えられる。生物バランス (動物プランクトンバイオマス/植物プランクトンバイオマス) については、シナリオ①で有意に小さく、シナリオ②・③・④で有意に大きかった。特にシナリオ④の影響が最も大きく、現況再現と比較して平均値で見ると 1.24 倍となった。物質循環の円滑さを表す指標と同様に水温増加の影響が寄与していると考えられた。次いでシナリオ③がプラスの影響となり、現況再現と比較して 1.1 倍となった。

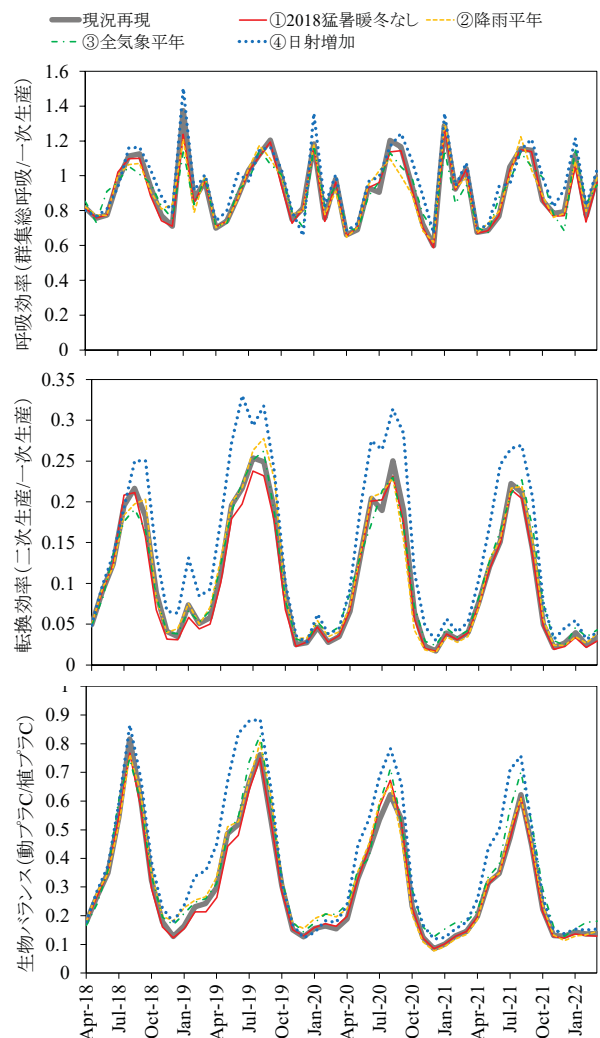


図 2-8 シナリオごとの物質循環の円滑さ指標の変化

2.3.4. 物質循環の円滑さの要因となる指標

後述するように、大型植物プランクトンは動物プランクトンに食べられにくく、また中小植物プランクトンの量が

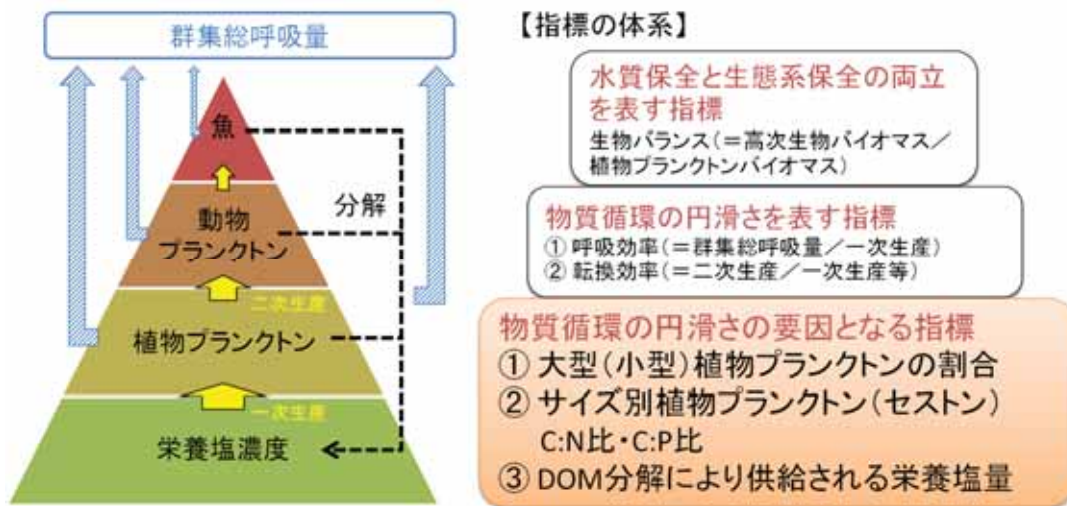


図 2-9 物質循環の円滑さを評価する指標体系

動物プランクトンの量や生産量にプラスの影響を与えていることがサブテーマ②から示唆された。したがって、転換効率の要因となる指標として、「大型(中小)植物プランクトンの割合」が挙げられる。また、「サイズ別植物プランクトン(セストン)のC:N(炭素:窒素)比、C:P(炭素:リン)比」についても、動物プランクトンの餌の質に関連する指標であると考えられる。サブテーマ③では、「溶存態有機物(DOM)分解により供給される栄養塩量」について簡便な算出方法が提案されたが、夏季表層生態系の窒素同化の大きな割合を占めることが明らかになったことから、湖内における効率的な生産を支える指標になると考えられる。以上のことから、3つの指標を物質循環の円滑さの要因となる指標として提案する(図 2-9)。これらの指標は比較的容易に測定することが可能であり、物質循環の状況や対策効果を知る上で有用な情報となり得る。

2.4. 考察

以上を踏まえて、気象条件、特に近年の気候変動が物質循環の円滑さに与える影響について考察する。

近年の日射増加は総合的に物質循環の円滑さにプラスの影響を与えていると言えるが、これは気候変動の影響とは考えられない。

各シナリオが植物プランクトンのサイズ(中小植物プランクトン比率)に与える影響を図示したものが図 2-10 である。現況再現と比較してシナリオ①・③・④で有意に大きかった(シナリオ②は有意差なし)。すなわち、中小植物プランクトンの比率や生物バランスは、気象が平年的であるほど指標値がよくなっており、気候変動が植物プランクトンサイズの変化を通じて、物質循環の円滑さに悪影響を与えてきたことが示唆された。一方で、生物バランスは

全層循環が完了する方が指標値が悪くなったため、全層循環未完了のマイナス効果よりも、水温上昇による影響がプラスに働いた可能性がある。

このように、2.3.4で提案した物質循環の円滑さとその要因となる指標の関係は単純ではなく、その他の環境因子とあわせて複合的に影響するため、物質循環の円滑さの状況を理解する一手段と捉えるとともに、調査を継続して指標間の関係を把握していく必要がある。今後、水質や水温に応じたサイズ別植物プランクトンの増殖条件や有機物の分解・酸素消費との関係などを解析するなど、気候変動がもたらす影響について総合的に明らかにすることが必要と考えられた。

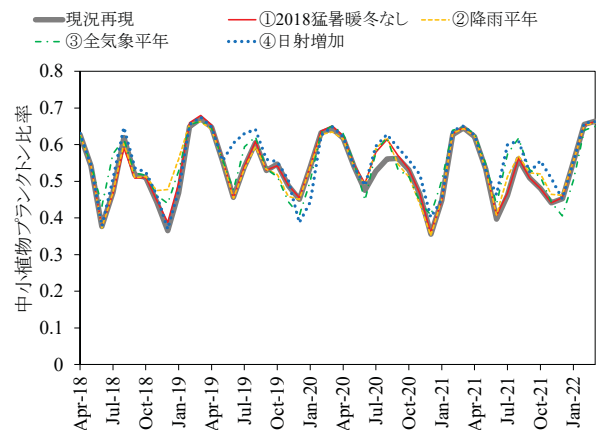


図 2-10 シナリオごとの中小植物プランクトン比率の変化

2.5. まとめ

第 8 期湖沼計画において、琵琶湖流域物質循環モデルを用いて現況再現を行ったところ、多くの水質項目の地点・水深別指標値について良好な再現結果が得られた。大型植物プランクトン消長のモデル化に取り組んだところ、

春季・秋季にブルームを起こしやすいという季節変動を概ね再現することができたが、年次ごとの違いについては必ずしも再現ができなかった。気象条件が物質循環の円滑さに与える影響の評価を行ったところ、気候変動が物質循環の円滑さに影響を与えていることが示唆されたが、指標によっては必ずしも悪化するとは限らず、より詳細な調査が必要と考えられた。物質循環の円滑さの要因となる指標として、「大型（小型）植物プランクトンの割合」「サイズ別植物プランクトン（セストン）の C : N : P 比」「溶存有機物（DOM）分解により供給される栄養塩量」を検討し、物質循環の円滑さを評価する指標体系として整理した。

3. 動物プランクトンの餌資源解析

3.1. はじめに

琵琶湖は、全国の湖沼の中でも、水質保全対策で顕著に栄養塩濃度が低下する等、水質が向上した。一方、アユ等の在来魚の漁獲量が回復しない等、生態系の問題は残っている。特に近年では、細胞サイズが大きい藻類（植物プランクトン）のミクラステリアス (*Micrasterias hardyi*, 細胞サイズ約 200 μ m) や、スタウラストルム (*Staurastrum dorsidentiferum*, 細胞サイズ約 65 μ m) が頻繁に大発生する等、植物プランクトンの種組成に変化が生じた (Hodoki et al., 2020 ; 滋賀県琵琶湖環境部, 2020)。この様な大型藻類は、ミジンコ類やケンミジンコ類といった動物プランクトンの可食サイズより大きいため (Reynolds, 1984)、彼らの餌にはなりにくい。そのため、動物プランクトンや、また彼らを餌にするアユ等の在来魚への悪影響が懸念されている。

一般的に、動物プランクトンは、1-50 μ m サイズ範囲のセストン（植物プランクトンや微生物）を摂食する。彼らの生産量は、そのサイズ範囲のセストンの量だけではなく、質（C : P 比、C : N 比等の化学量比）にも左右される (Touratier et al., 1999 ; Bukovinszky et al., 2012)。例えば、セストンの C : P 比が 300 を超える時には、動物プランクトンの生産量は、セストンの量（炭素 C 量）ではなく、リン量に律速される (Urabe and Watanabe, 1992 ; 占部, 2003)。よって、動物プランクトンへの餌資源の影響を評価するためには、セストンの量と、C : P 比や C : N 比といった化学量比を調べる必要がある。

動物プランクトンの餌になるセストンは、主に植物プランクトンと微生物で構成されている。このことから、近年に生じた植物プランクトンの種組成の変化により、動物プランクトンの餌資源の量、質も変化した可能性がある。しかし、琵琶湖で動物プランクトンと餌資源の関係を解析した研究は、主に 1990 年代に行われたものがほとんどであり、近年ではその知見はない。そこで、本研究では、動物

プランクトンへの餌資源の影響を評価するため、流入負荷の状況が異なる沖帯と沿岸帯において、動物プランクトンの現存量および生産量と、餌となるセストンの量や質との関係性をモニタリングや実験で解析した。

3.2. 方法

3.2.1. 動物プランクトンの現存量とサイズ別セストンの CNP 分析

動物プランクトンと餌資源のセストンの試料採取は、2020 年と 2021 年において南比良沖（12B, 水深約 60 m, 沖帯とする）と長命寺沖（12C, 水深約 7 m, 沿岸帯とする）でそれぞれ行った。各地点での試料の採取時には、表層の水温を直読式総合水質計（AAQ-RINKO : JFE Advantech CO., Ltd.）で測定した。

琵琶湖では、動物プランクトンは、20m より浅い深度に分布している (Kawabata, 1987)。そこで、動物プランクトンの現存量を調べるため、プランクトンネット（メッシュサイズ 100 μ m, 口径 22.5 cm）を沖帯では 20m から表層の間を、沿岸帯では 6m から表層の間を鉛直引きして動物プランクトンを濾し集めた。集めた動物プランクトンは、300ml ボトルに入れ、そこに最終濃度が 4% になるようにシュガーホルマリンを加えて固定した。固定した動物プランクトンは、顕微鏡の 40 倍、あるいは 100 倍で観察し、同定・計数した。

セストンの CNP を測定するため、沖帯および沿岸帯で表層水を採水した。採水した湖水は、セストンへの摂食圧が高いミジンコ類やケンミジンコ類を除去するため、250 μ m メッシュネットの篩を通した。<250 μ m の湖水は、実験室に直ちに持ち帰り、45 μ m のメッシュネットの篩で <45 と 45-250 μ m の 2 つにサイズ分画した。その後、CN 測定に向け、各分画の湖水を GF/F フィルター（孔径約 0.7 μ m）で濾し、フィルター上に懸濁物を載せて 40~50 $^{\circ}$ C で乾燥させた。一方、P 測定に向け、各分画の湖水を GF/F フィルターで濾し、フィルター上に懸濁物を載せて 40~50 $^{\circ}$ C で乾燥させた。

乾燥させた各サイズ分画の試料の C と N の量は、京都大学生態学研究センターの元素分析装置付き質量分析計（Thermo Fisher DELTA V plus、あるいは Thermo Fisher DELTA V advantage, Thermo Fisher Scientific）で測定した。一方、各サイズ分画の試料の P 量を測定するため、試料が載ったフィルターを Milli-Q 水に浸し、そこにペルオキシ二硫酸カリウムを加えて、高圧蒸気滅菌器にて 120 $^{\circ}$ C で 30 分間加熱して分解した。その後、上澄み液中の PO₄-P 濃度をオートアナライザー（メーカー）で測定した。

3.2.2. 動物プランクトンの生産量の評価

我々の以前の研究結果から、動物プランクトンは、微生物の中でも鞭毛虫が多い時には、鞭毛虫を多く同化し、その同化速度（生産量に相当）は植物プランクトンを食べた時より高まる可能性が示されている（永田，2019）。よって、ここでは、まず2019年～2020年において微生物の鞭毛虫の現存量を沖帯と沿岸帯でモニタリングした。また、同時に動物プランクトンの可食サイズである $<45\mu\text{m}$ のクロロフィルa濃度（植物プランクトンの総量の指標）も測定した。クロロフィルa（Chl. a）濃度の測定のため、沖帯5mと沿岸帯3mの湖水を採水し、湖水中の植物プランクトンをGF/Fフィルターに捕集した後、N,N-ジメチルホルムアミドでChl. aを抽出した。抽出したクロロフィルa濃度は、クロロフィル蛍光光度計（Turner Design 10-AU Fluorometer）で測定した。

鞭毛虫のモニタリング結果から、鞭毛虫が多い時期と、少ない時期に、植物プランクトンと微生物のそれぞれに対する動物プランクトンの同化速度を求める実験を行った。同化速度の実験を行うため、沖帯の5mと沿岸帯の3mの湖水を採水し、その湖水を $45\mu\text{m}$ メッシュネットの篩を通して動物プランクトンの可食サイズのセストンのみを含む実験水を作成した。そして、両地点の実験水を、 ^{13}C 重炭酸ナトリウムを加える処理系（植物プランクトンを ^{13}C 標識する系）と、 ^{13}C グルコースを加える処理系（微生物を ^{13}C 標識する系）の2つに分けた。その後、植物プランクトンを ^{13}C 標識した処理系と、微子を ^{13}C 標識した処理系のそれぞれに、対応する地点で採取した $>250\mu\text{m}$ の動物プランクトン（ミジンコ類とケンミジンコ類）を加えて、動物プランクトンに ^{13}C を取り込ませた。取り込んだ ^{13}C 量から、沖帯、あるいは沿岸帯における植物プランクトンと、微生物のそれぞれに対する動物プランクトンの同化速度を求めた。

3.3. 結果

3.3.1. 動物プランクトンの現存量とサイズ別セストンのCNP

動物プランクトンの現存量である密度を調べた結果、総動物プランクトンは、沖帯より沿岸帯の方が、夏に高かった（図3-1）。優占種は、ヤマトヒゲナガケンミジンコであり、彼らの密度も夏に沿岸帯の方で高くなっていた。一方、ミジンコ類の優占種であるカブトミジンコの密度は、沖帯と沿岸帯で、それ程差がなかった。

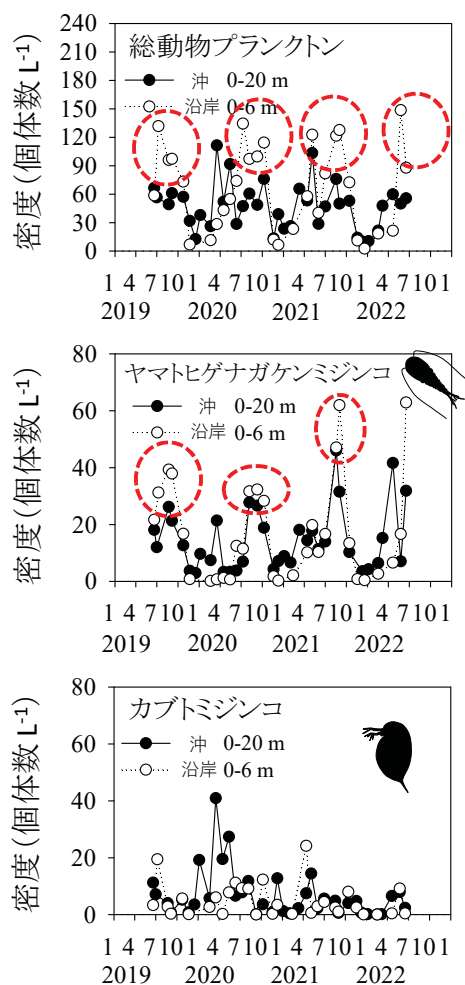


図3-1 沖帯と沿岸帯の動物プランクトンの季節変化。総動物プランクトンは、ミジンコ類とケンミジンコ類のみ。

沖帯と沿岸帯で各サイズのセストン量を調べたところ、動物プランクトンの可食サイズである $<45\mu\text{m}$ のセストン量は、沖帯より沿岸帯の方が常に高かった（図3-2）。一方、動物プランクトンがほとんど摂食できない $45\text{--}250\mu\text{m}$ のセストン量は、沖帯と沿岸帯でほぼ同程度であった。

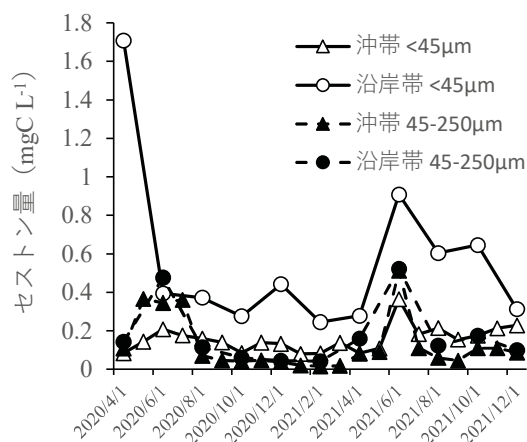


図3-2 沖帯と沿岸帯の表層における各サイズのセストン量（炭素C量）

沖帯と沿岸帯において各サイズのセストンの C : N 比を調べたところ、 $<45\mu\text{m}$ のセストンの C : N 比は、沖帯と沿岸帯でほぼ同じであった (図 3-3)。一方、 $45\text{--}250\mu\text{m}$ のセストンの C : N 比は、沖帯と沿岸帯で、 $<45\mu\text{m}$ のセストンの比より高くなるがしばしばあった。これは、 $45\text{--}250\mu\text{m}$ のセストンの方が、 $<45\mu\text{m}$ のものよりも動物プランクトンの餌としての質が低いことを示す。

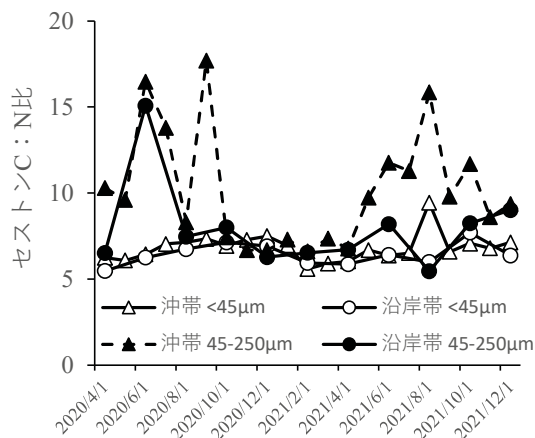


図 3-3 沖帯と沿岸帯の表層における各サイズのセストンの C : N 比 (モル比)。低い方が質の高いことを示す。

沖帯と沿岸帯において各サイズのセストンの C : P 比を調べたところ、 $<45\mu\text{m}$ のセストンの C : P 比は、沖帯より沿岸帯の方が若干高かった (図 3-4)。これは、沖帯より沿岸帯の方が、動物プランクトンの可食サイズの餌質が、少し低いことを示す。一方、 $45\text{--}250\mu\text{m}$ のセストンの C : P 比は、沖帯と沿岸帯で $<45\mu\text{m}$ のセストンの比より高かった。これは、 $45\text{--}250\mu\text{m}$ のセストンの方が、 $<45\mu\text{m}$ のものよりも動物プランクトンの餌としての質が低いことを示す。

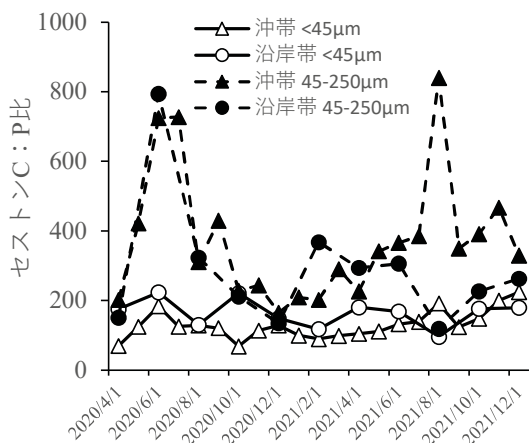


図 3-4 沖帯と沿岸帯の表層における各サイズのセストンの C : P 比 (モル比)。低い方が質の高いことを示す。

3.3.2. 動物プランクトンの生産量

琵琶湖の沖帯と沿岸帯で野外調査を行った結果、沖帯より沿岸帯の方が、動物プランクトンの餌になる鞭毛虫の密

度、および Chl. *a* 濃度が高かった (図 3-5)。特に、沿岸帯の鞭毛虫の密度は、2019 年 11 月、2020 年 3 月と 7 月に高かった。この沿岸帯で鞭毛虫が多かった月のうち、2019 年 11 月 (秋) と 2020 年 7 月 (夏) に、動物プランクトンの同化速度を求める実験を行った。また、沿岸帯で鞭毛虫が少なかった 2020 年 2 月 (冬) と 2020 年 5 月 (春) にも同様の実験を行い、鞭毛虫が多い時期と少ない時期で実験結果を比較した。

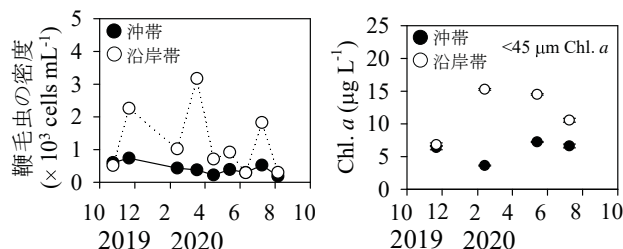


図 3-5 沖帯 5 m と沿岸帯 3 m の鞭毛虫の密度、および Chl. *a* の変化。鞭毛虫と Chl. *a* は、動物プランクトンの可食サイズ ($<45\mu\text{m}$) の値。Chl. *a* は平均 \pm SD。クリタ水・環境科学振興財団研究成果報告書 19B047 より転載。

実験結果から、全般的に動物プランクトンの同化速度は、沖帯より沿岸帯の方が高く、夏の沿岸帯を除き、動物プランクトンは微生物よりも植物プランクトンの方を多く同化した (図 3-6)。これは、沿岸帯の方が動物プランクトンの生産性が高く、動物プランクトンへ繋がる食物連鎖は、植物プランクトンを起点とする生食食物連鎖が主体であったことを示す。一方、夏には、沿岸帯の動物プランクトンは微生物を多く同化し、その同化速度は期間中で最も高かった。

3.4. 考察

3.4.1. 沖帯と沿岸帯における動物プランクトンの密度と餌環境

カプトミジンコを除く動物プランクトンの密度は、沖帯より沿岸帯の方が夏に高かった (図 3-1)。この結果は、沿岸帯の高い餌量 ($<45\mu\text{m}$ セストン量, 図 3-2) と、夏の水温上昇によって動物プランクトンの摂食速度が増加し、彼らの生産量が高まった結果と考えられる。本サブテーマの同化速度の実験結果も、この結果を支持している (図 3-6)。一方、カプトミジンコの密度は、沖帯と沿岸帯でほとんど差がなかった。本種は、ヤマトヒゲナガケンミジンコ等の他種に比べて、アユ等の在来魚の捕食圧を強く受ける (Kawabata et al., 2006)。餌資源が豊富だったにもかかわらず、沿岸帯でカプトミジンコの密度が高まらなかったのは、在来魚から強い捕食圧を受けたことが原因かもしれない。

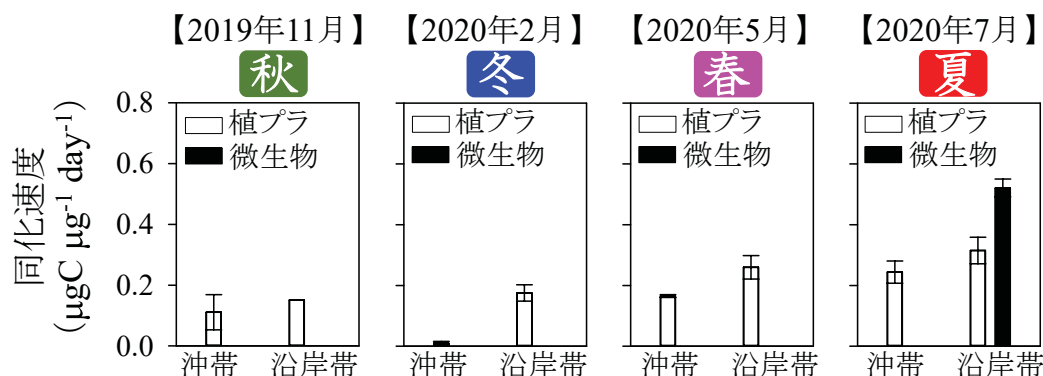


図 3-6 各季節における植物プランクトン（植プラ）と微生物に対する動物プランクトンの同化速度。平均 ± SD。
クリタ水・環境科学振興財団研究成果報告書 19B047 より転載。

動物プランクトンの餌量を示す$45\mu\text{m}$のセストン量は、沖帯より沿岸帯の方が常に高かった。一方、$45\mu\text{m}$セストンのC:N比とC:P比から、動物プランクトンの餌質は、沖帯と沿岸帯と同程度か、あるいは沖帯より沿岸帯の方がやや低いことが分かった。しかし、本研究の期間中、沖帯、沿岸帯ともに、C:N比とC:P比は、それぞれ動物プランクトンの生産の閾値である13以下、300以下であった(図3-3と3-4: Urabe and Watanabe, 1992; 占部, 2003)。このことから、現在の琵琶湖沖帯と沿岸帯では、動物プランクトンの生産は、窒素やリンの制限を受けていないと考えられた。

動物プランクトンの餌になりにくい(可食サイズを超える)45-250 μm セストンの量は、沖帯と沿岸帯でほとんど差はなく、また、沖帯の$45\mu\text{m}$のセストン量とほぼ同水準であった(図3-2)。一方、両地点の45-250 μm セストンのC:N比とC:P比は、$45\mu\text{m}$セストンのC:N比とC:P比と比べると、それぞれ高かった(図3-3と3-4)。これは、45-250 μm のセストンは、$45\mu\text{m}$のものより炭素あたりの窒素やリン含有量が低く、動物プランクトンの餌としては質が低いことを示す。これは、世界的にも新しい知見である。今後は、45-250 μm セストンの主な構成要素である大型藻類の発生状況と、45-250 μm セストンの質との関係を解明することや、それらを餌にする植食性(植物プランクトン食性)の底生動物への影響を評価することが課題と考える。

夏の琵琶湖沿岸帯では、ホンモロコ等の在来魚の稚魚や未成魚が分布し、動物プランクトンを捕食している(藤岡, 2013)。本研究の結果から、沿岸帯では、沖帯に比べて、動物プランクトンの餌資源($45\mu\text{m}$セストン)が常に豊富にあり、また動物プランクトンも夏に増えることが分かった。これらのことから、夏の沿岸帯は、琵琶湖生態系の生物生産の場として大きく機能しており、生態系保全のためには沿岸帯の環境保全が大切であると考えられた。

3.4.2. 動物プランクトンの生産量

実験の結果から、動物プランクトンの同化速度は、沖帯より沿岸帯の方が高いことが分かった(図3-6)。同化速度は、生産量に相当することから、本研究の結果は、沿岸帯の方が、動物プランクトンの生産量が高いことを示す。一方、夏の沿岸帯を除き、動物プランクトンは微生物よりも植物プランクトンを多く同化したことから、現在の琵琶湖生態系食物連鎖は、植物プランクトンから動物プランクトンへと繋がる生食食物連鎖が主体であると考えられた。近年の琵琶湖では、水質保全対策の効果により、栄養塩濃度が減少傾向(貧栄養化傾向)にあり、それに伴って、植物プランクトンの量も減少しつつある(Kishimoto et al., 2013)。貧栄養化傾向にある湖沼では、植物プランクトンの量が低下するため、有機物を消費する微生物から動物プランクトンへと繋がる微生物食物連鎖の重要性が増すと考えられている(加藤・増田, 2016)。現段階の琵琶湖は、未だ生食食物連鎖が主体であったが、今後の水質改善により、将来的に微生物食物連鎖の主流化へとレジームシフトが生じる可能性がある。今後も、琵琶湖の食物連鎖を注視する必要があると考える。

夏には、沿岸帯の動物プランクトンは微生物を多く同化し、その同化速度は全実験中で最も高かった(図3-6)。夏には、鞭毛虫の密度が高かったことから(図3-5)、鞭毛虫から動物プランクトンへ繋がる微生物食物連鎖が卓越しており、動物プランクトンの同化速度が高まったと考えられる。この結果から、動物プランクトンの生産量は、時期によっては、餌となる鞭毛虫によって大きく高まることが明らかになった。しかし、同様に鞭毛虫が多かった秋は結果が異なり、沿岸帯の動物プランクトンは微生物をほとんど同化しなかった。これは、秋に多かった鞭毛虫の種類が原因と考えられる。鞭毛虫の中には、動物プランクトンの餌に適さない種類が存在する(永田ら, 2018)。本研究では、鞭毛虫の種同定は行わなかったが、餌に適さない鞭毛

虫が秋に多かったため、動物プランクトンは微生物をほとんど同化しなかったと考えられる。今後は、鞭毛虫を動物プランクトンの生産量を高める種類とそうではない種類に分けることが課題である。生産性を高める種類を特定できれば、魚の餌である動物プランクトンを効率的に増やすことも可能と考えられる。

3.5. まとめ

本研究から明らかになった琵琶湖沖帯と沿岸帯の動物プランクトンの量とその餌環境の特徴は、次の通りである(図 3-7)。

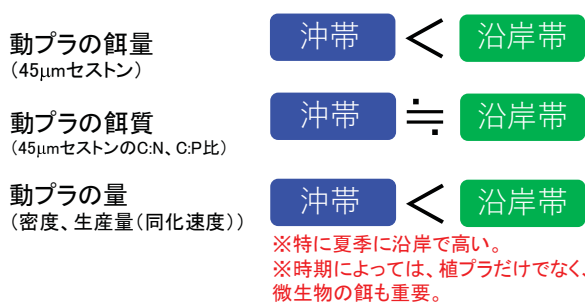


図 3-7 琵琶湖沖帯と沿岸帯の動物プランクトンとその餌環境の特徴。植プラ=植物プランクトン。

沿岸帯では、沖帯と比べて動物プランクトンの量や、その餌資源の量が多い。琵琶湖の動物プランクトンは、アユやホンモロコ等の在来魚の重要な餌である。よって、琵琶湖の生態系保全のためには、沿岸帯の餌場としての機能を活用するため、沿岸帯の環境保全が重要であると考えられた。

4. 湖内有機物の生産と分解プロセスの把握

4.1. はじめに

富栄養化の抑制がみられる琵琶湖では、水産資源につながる生物生産の維持が課題である。北湖では近年、無機窒素栄養塩(硝酸塩、アンモニア等)は成層期表層では低濃度となっている。一方、比較的豊富に存在する溶存有機物(DOM)が、生物生産を支える栄養塩供給源として注目される。生物に利用可能で栄養塩供給源として機能するDOMには、遊離アミノ酸や尿素が古くから知られるが、それらはDOMのごく一部にすぎず、実際には難分解性のDOMも多い。

これまで様々な水圏環境において、DOMの分子サイズと生分解性が関連する傾向が報告され、「サイズ反応性連続体モデル」(size-reactivity continuum model: 比較的易分解な高分子DOMが分解を受けて、難分解な低分子DOMに徐々に変換されていくとするモデル)が提唱されている(Amon & Benner, 1996)。しかし従来、天然レベル濃度の

水圏環境DOMについて、分子サイズ別の生分解過程を直接かつ長期的に調べた研究は世界的に乏しかった。

当センターはこれまでに、DOMの分子サイズと分解特性に着目して研究を進めてきた(第五期中期計画:佐藤ら, 2020)。第五期の研究では、琵琶湖北湖沖合の夏季表層湖水、野洲川の河川水について、有機物の長期生分解実験を実施し、DOMのうち高分子DOM(分子量10万程度)が低分子DOM(分子量1~2千程度)よりも速い分解速度を持つことを明らかにした。課題として、DOM分解速度が地点・季節等で変動する可能性があること、高分子DOMと低分子DOMで分解速度が異なるメカニズムが不明なことが残った。また、DOMの生産・分解プロセスが、湖内物質循環に果たす役割について定量的評価もできていなかった。

そこで本研究(第六期中期計画)では、第五期の研究の発展として、下記三つの目的を設定し、DOMの生産・分解プロセスについて研究を進めた。

- (1) 琵琶湖湖水について、様々な地点・水深・季節で採取した試料の長期生分解実験を実施し、分子サイズ別のDOM分解速度の分布を把握する。各試料のDOMの組成等の情報から、DOM分解速度の変動を説明する経験的モデルを作成する。
- (2) 上記の経験的モデルを活用して、琵琶湖の天然湖水試料のDOMの時系列データから、DOMの生産・分解フラックスを算出する手法を開発する。琵琶湖北湖沖合で得られたデータから、湖内物質循環にDOMが果たす役割を評価する。
- (3) 分子サイズ別にDOMの詳細な化学組成情報を取得することを目的として、高分子DOMと低分子DOMを限外濾過等で分画する手法を開発する。

4.2. 方法

4.2.1. 湖水試料の採取

2020年2月~2023年3月にほぼ毎月(2021年~2023年の各1月を除く)、北湖の今津沖中央(17B:湖底水深89m)の表層(水深5m)と深層(水深60m)において、調査船「びわかぜ」により、湖水を採取した。このうち、2020年3月の17B深層と、2020年7月の17B表層の湖水は、有機物長期生分解実験に供した。2022年9月および2023年2月の17B表層の湖水は、小規模限外濾過システムによるDOM分子サイズ別分画実験に供した。

2020年5, 8, 11月と2021年1月には、上記の毎月調査とは別に、17B表層(水深0.5m)と深層(水深85m)、6B表層(水深0.5m)の湖水を採取し、有機物長期生分解実験に供した(5.2.1で記載したものと同一試料)。

2021年10月には、当センター前棧橋から琵琶湖南湖の湖水を採取し、DOM分子サイズ別分画実験に供した。

4.2.2. 湖水有機物の長期生分解実験

2020年3月、7月の湖水試料の有機物長期分解実験では、湖水をナイロンメッシュ（孔径150 μm）で濾過して粗大粒子や動物プランクトンを除去した後、250 mLポリカーボネート製Nalgene容器に入れ、一定温度（20℃または9℃）、暗条件で、水平振とう（60回/分）を行った。温度条件は、2020年3月の試料は20℃と9℃（2020年の琵琶湖深層水温）の2条件で実施した。2020年7月の表層試料は20℃でのみ実施した。2020年3月の実験では1, 5, 9, 15, 29, 65, 133, 191, 251, 365, 603日目に、2020年7月の実験では1, 4, 7, 13, 20, 55, 83, 120, 146, 195, 412, 600日目に、それぞれ容器1本を1試料として採取した。分解実験は繰り返し2本ずつで実施した。

2020年5, 8, 11月と2021年1月の湖水試料の有機物長期分解実験は、第5章（5.2.3）で記載した実験の試料を用いた。

4.2.3. DOMの化学分析

天然湖水試料および有機物長期生分解実験試料は、ポリカーボネート製Nucleporeフィルター（Whatman、直径47mm、孔径0.2 μm、1N塩酸に浸漬して80℃で2時間加熱して洗浄）で濾過を行い、細菌細胞サイズ画分も除去したDOM試料を採取した。DOM分子サイズ分布分析用の試料は-30℃で冷凍保存した。

バルク溶解有機炭素（DOC）濃度は、全有機炭素計（島津製作所TOC-L）を用いて、早川ら（2019）に記載された手法により濾過当日に測定した。

DOM分子サイズ分布は、サイズ排除クロマトグラフィー全有機炭素計（島津製作所SEC-TOC）を用いて、Shimotori et al.（2016）の手法により測定した。分子量10万Da程度のピークを高分子DOM、分子量数百～数千Da程度のピークを低分子DOMと定義した。各ピークの有機炭素濃度、吸光度（波長254 nm）、タンパク様蛍光強度（励起波長275 nm、蛍光波長340 nm）、腐植様蛍光強度（励起波長320 nm、蛍光波長420 nm）、各シグナルの重量平均分子量を定量した。

4.2.4. データ解析

各生分解実験における高分子DOM、低分子DOMそれぞれの有機炭素濃度の時系列データについて、易分解性DOC（LDOC）画分（一定の分解速度定数を持つ）と難分解性DOC（RDOC）画分（分解速度ゼロ）の二成分混合モデルを仮定し、LDOC画分の日あたりの分解速度定数（ k^d ）を算出した。

第五期で生分解実験を実施した2018年8月の17B表層試料も含め、20℃で実施した合計15実験のデータについて、

高分子DOM、低分子DOMそれぞれの易分解性画分の分解速度定数の変動を説明する経験的モデルを作成した。生分解前のDOMの10種類の測定パラメータ（バルクDOC濃度、高分子DOC濃度、低分子DOC濃度、高分子DOC比率、高分子タンパク様蛍光強度、低分子タンパク様蛍光強度、低分子腐植様蛍光強度、および分子サイズ別DOC濃度で規格化した各蛍光強度）について、ステップワイズ重回帰分析を適用し、 k^d を目的変数として予測する式を算出した。

得られた経験的モデルを用いて、湖水DOMの時系列データから、湖水DOCの分子サイズ別の生産フラックスと総分解フラックス（＝生産フラックスと正味分解フラックスの合計値）を算出した。2018年8月～2022年3月の17B表層（水深5 m）の湖水DOMのデータのうち、成層期（4～12月）のデータを用いた。分子サイズ別DOC総分解フラックスは、湖水DOMのSEC-TOC測定値から推定した k^d と、LDOC画分濃度、水温から算出した。 k^d の温度依存性は、2020年3月試料の20℃実験と9℃実験の比較から算出した。高分子DOMは全てLDOCからなるとした（4.3.1の結果に基づく）。低分子LDOC濃度は、RDOC濃度（5.3.2で開発した手法を用いて算出）を低分子DOC濃度から差し引いて算出した。DOC生産フラックスは、正味分解フラックス（1か月間におけるDOC濃度の見かけの増減から計算）を、総分解フラックスから差し引いて算出した。

4.2.5. DOM分子サイズ別分画法の開発

DOMの分子サイズ別分画法の開発のため、数十Lスケールの中規模限外濾過システムを2台、数Lスケールの小規模限外濾過システムを2台、数百mL～1Lスケールの固相抽出システムを1台、それぞれ独自設計でセンター内に整備した。

中規模限外濾過システムでは、スパイラル膜用メンブレンハウジング（Synder製1812サイズ）とマグネットステンレスポンプ（三和ハイドロテック製MMP22およびMMP21）を用いた。数種類の限外濾過膜エレメントと、様々な運転条件（速度、圧力等）を試験した。小規模限外濾過システムでは、平膜セル（メンブレンソルテック製C10-T）とペリスタルティックポンプ（マスターフレックス製L/Sサイズ）を用いた。数種類の平膜製品と、様々な運転条件（速度、圧力等）を試験した。固相抽出システムでは、ペリスタルティックポンプ（マスターフレックス製L/Sサイズ）とBond Elut PPL固相抽出カートリッジ（Agilent製1 gサイズ）を用い、Dittmar et al.（2008）の手法で固相抽出を実施した。

2021年10月の南湖湖水は、ガラス製GF/Fフィルター（Whatman、直径142 mm、孔径0.7 μm）およびポリエーテルスルホン製カートリッジフィルター（ADVANTEC、有効濾

過面積 450 cm²、孔径 0.2 μm) で濾過した後、中規模限外濾過システムでの DOM 分子サイズ別分画実験に供した。限外濾過は、ポリエーテルスルホン製限外濾過膜エレメント MK-1812TM (Synder、有効膜面積 0.3 m²、分子量カットオフ 30kDa) で実施した。限外濾過の透過液は固相抽出システムに供し、低分子 DOM 画分を濃縮・回収した。限外濾過の濃縮液は、ポリエーテルスルホン製限外濾過平膜 MK (Synder、有効膜面積 60 cm²、分子量カットオフ 30kDa) を装着した小規模限外濾過システムで、さらに濃縮した。濃縮液はさらに、遠心限外濾過デバイス (Pall 製 Macrosep 10K) を用いて、Xu and Guo (2017) および Komatsu et al. (2020) の手法を一部改変して、最終濃縮と脱塩を実施し、高分子 DOM 画分を回収した。回収した各分子サイズ画分について、4.2.3 に記載した手法でバルク DOC 濃度と DOM 分子サイズ分布を測定し、分画における DOC 回収率と純度を算出した。

2022 年 9 月および 2023 年 2 月の 17B 表層の湖水は、親水性 PTFE 製 Omnipore フィルター (MERCK、直径 142 mm、孔径 0.1 μm) で濾過した後、小規模限外濾過システムでの DOM 分子サイズ別分画実験 (30kDa および 0.6kDa の 2 種類の膜を用いた 2 段階濃縮分画) を実施した。濃縮液と透過液のバルク DOC およびバルク溶存有機窒素 (DON) 濃度測定から、分子サイズ別の DOC 濃度と DON 濃度を推定する手法を検討した。限外濾過における膜透過は、孔径より小さな分子量の溶質であっても、膜間の移動には抑制が働く。そのため、膜の濃縮液側でも低分子 DOM の保持が起こることから、高分子 DOM の濃度過大評価になる。そこで、高分子量画分の透析操作および Logan and Jiang (1990) の Permeation model を用いた透過画分濃度を推定する手法を導入した。

4.3. 結果

4.3.1. 分子サイズ別の DOC 分解速度定数の分布と経験的モデル作成

本研究で実施した有機物長期分解実験では、第五期の結果と同様に、高分子 DOM は実験期間内にほぼ全て分解された (=全て LDOC とみなせる) 一方で、低分子 DOM は 400 ~ 600 日後にも残存する成分を含んでいた (=LDOC と RDOC の混合物)。高分子 DOM、低分子 DOM とともに、実験期間内での重量平均分子量の変化は有意ではなかった。

20°C で実施した 15 実験では、 k^d は平均で、高分子 LDOC が 0.016 ± 0.003 (1σ)、低分子 LDOC が 0.008 ± 0.003 (1σ) と、高分子が低分子よりも高い値を示した。

多重共線性を考慮したステップワイズ重回帰解析の結果、20°C における分子サイズ別 k^d について、下記の予測式が選択された。

$$k_{HMW}^d = 0.009 + 0.00067 \times \%HMWDOC \quad \dots \text{(式 4.1)}$$

$$k_{LMW}^d = 0.0023 + 0.0053 \times [\text{低分子 DOC}] + 3.74 \times 10^{-8} \times \text{低分子タンパク様蛍光強度} - 1.6 \times 10^{-5} \times \text{低分子腐植様蛍光規格化強度} \quad \dots \text{(式 4.2)}$$

このうち、 k_{HMW}^d と k_{LMW}^d はそれぞれ高分子 LDOC と低分子 LDOC の k^d を、%HMWDOC はバルク DOC 濃度に対する高分子 DOC 濃度の寄与度 (%) を、[低分子 DOC] は低分子 DOC 濃度 (mgC/L) を示す。低分子タンパク様蛍光強度は、SEC-TOC 測定での面積値を示す。低分子腐植様蛍光規格化強度は、蛍光強度面積値を低分子 DOC 濃度 (mgC/L) で規格化した値を示す。各式を用いて予測した k^d を測定値と比較した標準誤差は、高分子で 0.005 (2σ)、低分子で 0.0026 (2σ) だった (図 4-1)。

2020 年 3 月試料の水温別実験から得られた、 k^d の温度依存性 (温度係数 Q_{10}) は、高分子で 1.95、低分子で 1.24 だった。

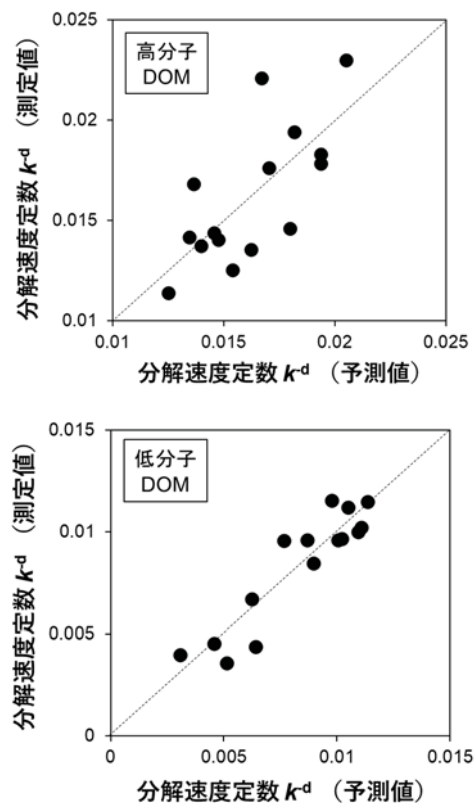


図 4-1 琵琶湖湖水の長期生分解実験 (20°C で実施した 15 実験) における分子サイズ別の LDOC の分解速度定数の測定値 (縦軸) と、SEC-TOC 測定パラメータを用いた予測値 (横軸) の比較。破線は、測定値と予測値の 1:1 対応線を示す。上: 高分子 DOM、下: 低分子 DOM。

4.3.2. 湖水中 DOC の生産および総分解フラックスの変動

図4-2に、17B 表層成層期の湖水について推定した、分子サイズ別の DOC 生産フラックスおよび DOC 総分解フラックスの月々変動を示す。高分子 DOC は全体的に、低分子 DOC と同等かそれ以上の値を示した。DOC 全体（高分子と低分子の合算値）の総分解フラックスは、夏季（8～9 月頃）に 8～10 $\mu\text{gC L}^{-1} \text{d}^{-1}$ 程度と高い値を示した。

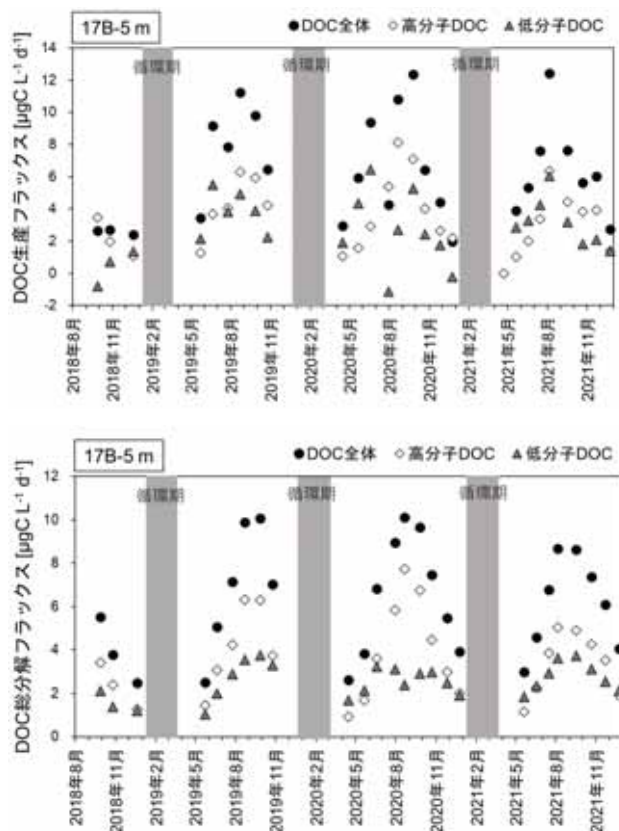


図4-2 湖水 DOM の SEC-TOC 測定値の時系列データ（2018 年 8 月～2021 年 12 月の成層期）から推定された、17B 地点表層における分子サイズ別の DOC 生産フラックス（上）と DOC 総分解フラックス（下）。

4.3.3. DOM 分子サイズ別分画法の開発

まず、限外濾過に用いる膜の選定を行った。平膜のメーカー公証の孔径と実際に保持される溶質サイズは一致しなかったため、候補となる数種類の平膜を、市販の試薬および琵琶湖水を分離試験した。その結果、高分子 DOM の分画には 30kDa の膜を用い、低分子 DOM の分画にはナノ膜（約 0.6kDa）を用いることで分離が可能であることを確認した。

2021 年 10 月に南湖で採取した湖水について実施した

DOM 分子サイズ別分画実験の概要と、回収試料の SEC-TOC 測定結果（クロマトグラム）を、図4-3に示す。分画前の天然湖水には高分子 DOM と低分子 DOM が混合して含まれていたが、分子サイズ別分画試料では、それぞれほぼ純粋に分離して回収できた。DOC 換算の回収率は、高分子 DOM が 40%、低分子 DOM が 60～70%程度だった。

2022 年 9 月および 2023 年 2 月に 17B 表層で採取した湖水について 2 段階濃縮分画を行い、DOC および DON の分子サイズ分布を推定した。その結果、30kDa 以上の高分子 DOM 画分は、DOC 換算で全体の 7～8%、低分子 DOM のうち 0.6kDa 以上の画分が 44～47%を占めた（図4-4）。高分子 DOM 画分と低分子 DOM 画分では C/N 比が異なっていて、分子サイズによる有機物組成の違いが見られた。一方、9 月と 2 月では、バルク DOC 濃度に高低（約 0.4 mgC L^{-1} ）があるものの、各分子サイズ画分の割合は類似していた。DON の各分子サイズ画分の割合については、DOC と同様の結果を得た。

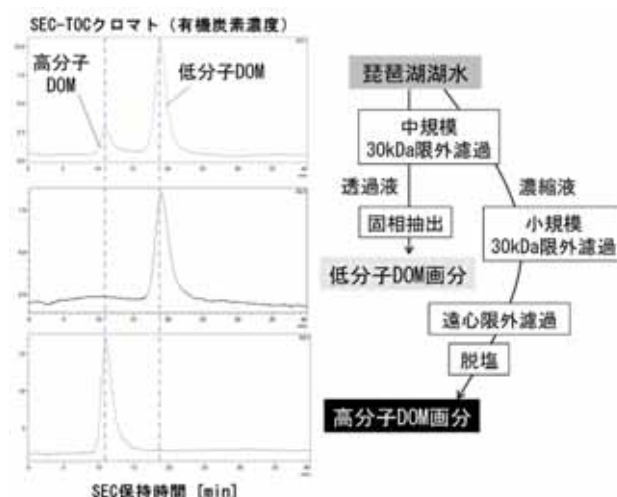


図4-3 湖水 DOM（2021 年 10 月の南湖湖水）について実施した DOM 分子サイズ別分画実験の概要と、回収試料の SEC-TOC 測定結果（TOC クロマトグラム）。左上：分画前の天然湖水、左中央：低分子 DOM 画分（限外濾過透過液を固相抽出で回収）、左下：高分子 DOM 画分（限外濾過濃縮液を脱塩して回収）。

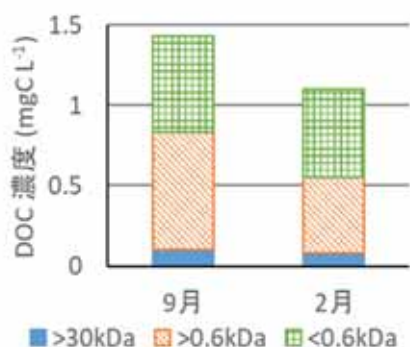


図 4-4 小規模限外濾過システムを用いた 2 段階濃縮分画で推定した、琵琶湖水の分子サイズ別 DOC 濃度 (2022 年 9 月および 2023 年 2 月の 17B 表層湖水)。

4.4. 考察

4.4.1. 分子サイズ別の DOC 分解速度定数の分布と経験的モデル作成

本研究および第五期で実施した有機物長期生分解実験の結果は、従来のサイズ反応性連続体モデル (Amon & Benner, 1996) に対して、統合的な部分とそうでない部分を含む。(1) ほとんどの実験で高分子 LDOC の k^d が低分子 LDOC よりも高かったこと、(2) 100 日以上での RDOC が全て低分子だったことは、それぞれサイズ反応性連続体モデルと整合的だった。一方、全ての実験において、低分子 LDOC と低分子 RDOC の重量平均分子量はほぼ同じだったため、低分子 DOM ピークの中では分子サイズと生分解性が対応していない。

このため、DOM の分子サイズと生分解性の関係については、両者が相関する連続体ではなく、離散的な三画分 (高分子 LDOC、低分子 LDOC、低分子 RDOC) の混合として捉えるのが適切と考えられる。離散的な画分として扱うことで、 k^d の経験的モデル化 (4.3.1) および DOC の生産・総分解フラックスの推定 (4.3.2) が容易となる効果も得られる。

高分子 LDOC の k^d の変動は、%HMWDOC と強い正の相関関係 ($R^2 = 0.514$, $p = 0.0026$) を示し、一つの変数のみを使った経験的モデル (式 4.1) が選択された。%HMWDOC は夏季表層で高く、成層期深層で低い傾向があったため、季節・水深等による高分子 LDOC の化学組成の変動が、 k^d の変動を駆動している可能性がある。高分子タンパク様蛍光と k^d の相関は有意でなかったため、蛍光・吸光で捉えられない成分 (糖類等) が重要である可能性が示唆される。

低分子 LDOC の k^d の変動は、経験的モデル (式 4.2) で選択された三つの変数のうち、単独では低分子腐植様蛍光規格化強度が最も強い負の相関関係 ($R^2 = 0.524$, $p = 0.0023$) を示した。DOM 腐植様蛍光は、琵琶湖等の水圏環境では、細菌による有機物分解の副産物として生成される

ことから (Thottathil et al., 2013)、細菌由来の低分子 DOM 成分が遅い分解速度を持つ可能性がある。

今後、4.4.3 で開発した分子サイズ別分画法を活用することで、DOM の分子サイズ別の詳細な化学組成の季節・水深別調査から、高分子と低分子それぞれの k^d の変動を駆動する要因を解明できると期待される。

本研究では、分子サイズ別の k^d の温度依存性も予察的に推定したが、1 試料の 2 温度条件の比較だけから得た結果であるため、まだ不確実性が大きい。今後、より頑強な推定のためには、試料と温度条件の数を増やすことが必要となる。

4.4.2. 湖水中 DOC の生産および総分解フラックスの変動

高分子 DOM は、炭素換算でバルク DOC 濃度の 10%前後を占めるだけだが、高い k^d を示すことから、17B 表層での DOC 全体の生産および総分解フラックスの概ね半分以上を占めるという推定結果となった。水中の細菌のエネルギー源や、栄養塩供給源として、高分子 DOM の動態や化学組成、起源を今後詳細に解明することが重要となる。

夏季 (8~9 月頃) の 17B 表層における DOC 全体の総分解フラックス (8~10 $\mu\text{gC L}^{-1} \text{d}^{-1}$ 程度) は、易分解性 DOM の C/N 比を 10 と仮定した場合、窒素栄養塩の無機化フラックスは 67~83 $\text{nmol-N L}^{-1} \text{d}^{-1}$ 程度と計算される。夏季 (8~9 月頃) の 17B 表層 (0~15m) における硝酸塩同化フラックスは、 ^{15}N トレーサー法と $\Delta^{17}\text{O}$ 法から、133~267 $\text{nmol-N L}^{-1} \text{d}^{-1}$ 程度と見積もられている (Tsunogai et al., 2018 の 2013 年のデータから計算)。つまり、貧栄養環境となっている夏季成層期表層において、DOM 分解から放出される窒素栄養塩が、表層生態系にとって重要な栄養塩供給源 (硝酸塩同化フラックスに換算して 25~60%程度に寄与) として機能していると考えられる。

4.4.3. DOM 分子サイズ別分画法の開発

高分子 DOM と低分子 DOM を高純度に分離して濃縮回収する手法を確立できたことで、C:N:P 比、DOM 分子組成など、詳細な化学組成分析を分子サイズ別に実施できるようになった。

高分子 DOM の回収率が比較的低い原因としては、限外濾過膜への吸着等による損失が考えられる。回収率向上のためには、濃縮液の回収時に、膜洗浄等の工程が必要である可能性がある。低分子 DOM の回収率は、PPL 樹脂固相抽出の一般的な値 (Dittmar et al., 2008) に近いが、低分子 DOC 濃度が高い試料で回収率が高くなる傾向が見られた。蒸発濃縮、凍結乾燥、逆浸透等により、低分子 DOM を試料水中で一定濃縮してから固相抽出を実施すると、さらに回

収率を向上させられる可能性がある (Daoud and Tremblay, 2019)。

4.5. まとめ

本研究では、琵琶湖水中 DOM の生産・分解プロセスについて、分子サイズに着目した研究を実施し、以下の三つの成果が得られた。

- (1) 様々な季節、地点、水深の湖水有機物の長期生分解実験を実施し、16 実験 (20°C が 15 実験、9°C が 1 実験) に増やした。高分子、低分子それぞれの分解速度定数 (k^d) の変動を、SEC-TOC 測定パラメータから予測できる経験的モデルを作成した。 k^d の温度依存性の予察的な結果が得られた。
- (2) 上記の経験的モデルを用いて、湖水中 DOM の SEC-TOC 測定の時系列データから、DOC の生産・分解フラックスを算出する手法を開発した。琵琶湖沖帯表層では、夏季成層期 (8-9 月) に両者ともピークを示した。夏季成層期に DOM 分解で放出される窒素栄養塩は、表層生態系の窒素同化フラックスの 25~60% 程度に寄与していると推定された。
- (3) 高分子 DOM と低分子 DOM を高純度に分離して濃縮回収する手法として、2 段階の分画濃縮法 (1 段階目: 30kDa の限外濾過膜、2 段階目: 0.6kDa のナノ濾過膜または PPL 樹脂固相抽出) を開発した。高分子 DOM が 40% 程度、低分子 DOM が 60~70% 程度の回収率で、それぞれほぼ純粋に濃縮回収できた。これにより、C:N:P 比、DOM 分子組成など、詳細な化学組成分析を分子サイズ別に実施できるようになった。

5. 物質循環の状況把握とその指標の検討

5.1. はじめに

琵琶湖の湖水中の有機物は、生分解性の低い難分解性有機物と、数十日~数百日以内に生分解される易分解性有機物に分類できる。このうち難分解性有機物は、有機汚濁の環境基準である COD の増加や、浄水過程でのトリハロメタン生成能の増加の原因となりうる。一方、易分解性有機物は、生分解される過程で、水中の細菌代謝の炭素源・エネルギー源となるほか、無機化されて栄養塩を放出することで、湖内の物質循環と生態系に重要な役割を果たしている (Kim et al., 2006)。

当センターはこれまでも、難分解性有機物と易分解性有機物の濃度の時空間分布や、難分解性有機物の生態系への影響、炭素安定同位体比を用いた起源解析などについて研究を進めてきた (第二期中期計画: 岡本ら, 2011; 第三期中期計画: 早川ら, 2015 など; 第四期中期計画: 金ら, 2017; 第五期中期計画: 佐藤ら, 2020)。

これまでの課題として下記の項目が挙げられ、本研究 (第六期中期計画) では各課題に対する研究を実施した。

- ① 有機物の難分解/易分解比率について、高解像度な時空間分布の把握や、その変動メカニズム解明に向けては、従来法 (100 日生分解試験) よりも迅速・簡便な把握手法が必要となっている。
- ② 粒子態有機物 (POM) のサイズ (粒径) 分布は、動物プランクトンによる摂食可能性、湖表層から深層への沈降速度等へ大きく影響する重要なパラメータだが、過去から現在にかけての琵琶湖における長期的変化が不明である。
- ③ 湖水中有機物の利用可能性を生物化学的酸素要求量 (BOD) によって把握する方法は、琵琶湖では水質改善が進み、BOD₅ (培養期間 5 日間) の値が低下したことにより、精度確保が困難になっている。

課題①については、湖水中有機物の生分解性を迅速に把握できる手法開発を目的として、溶存有機物 (DOM) の蛍光・吸光特性に着目して研究を進めた。通常の 5 年おきの 100 日生分解試験と同時に、DOM に着目した長期生分解実験を実施し、難分解性および易分解性の溶存有機炭素 (DOC) の濃度変化と、蛍光・吸光特性の対応を調査した。その結果に基づき、DOM 蛍光・吸光特性を指標として、DOC 生分解性を迅速に把握できる手法を開発した。さらに、開発した手法を、琵琶湖水中 DOM の時系列データに適用し、難分解性 DOC (RDOC) および易分解性 DOC (LDOC) 濃度の変動を高解像度 (月別) に推定した。

課題②については、旧滋賀県立衛生環境センターと当センターにおいて 1993~2006 年に粒径別の琵琶湖水中 POM 濃度分析が実施されており (七里ら, 2000 ほか)、当時と同じ手法を用いた調査を新たに実施することで、過去と現在の粒径別 POM 濃度を比較した。

課題③については、培養期間を 28 日間に長期化した BOD₂₈ のモニタリングを、第五期から開始しており、第六期でも継続実施した。空間分布や季節変動から、BOD₂₈ により易分解性有機物濃度を把握する可能性を検討した。

このように、有機物については水質保全と生態系保全の両立の物質循環の視点から、有機物総量の増加は抑制しながら、食物連鎖につながる易分解性有機物の比率を維持することが望ましく、これらの把握につながる指標を探索すべく、これまで調査が行われた指標を検討拡張し、現状の物質循環の状況把握の評価を行った。

5.2. 方法

5.2.1. 湖水試料の採取

2020 年 4 月~2023 年 3 月の毎月、琵琶湖水質定期調査地点のうち、南湖の唐崎沖中央 (6B)、北湖の今津沖 (17A)、今津沖中央 (17B: 湖底水深 89 m)、長浜沖 (17C') にお

いて、調査船「びわかぜ」により、表層（水深 0.5 m）と 17B においては水深別に琵琶湖湖水を採水した。また、南湖の新杉江港沖（8C）の湖水は漁船から採水した。

このうち、2020 年 5, 8, 11 月と 2021 年 1 月の 17B 表層（水深 0.5 m）と深層（水深 85 m）、6B 表層（水深 0.5 m）は、通常の 100 日生分解試験および DOM 蛍光・吸光指標開発用の長期生分解実験に供した。2021 年 6~12 月の毎月と 2022 年 3, 5, 8, 10 月に採取した 17B の 5 m、15 m の各深度の湖水については、0.7, 2, 10 μm 径の粒径別 POM 濃度の分析に用いた。また、各月の 5 地点（6B, 8C, 17A, 17B, 17C'）の表層（水深 0.5 m）および 17B の底層（湖底直上 1 m）の湖水については、BOD の測定に供した。

DOM 蛍光・吸光特性を用いた易分解性 DOC 濃度推定の天然湖水試料への応用のため、2018 年 8 月~2023 年 3 月にほぼ毎月（2018 年 11 月、2019 年 4 月、2020 年~2023 年の各 1 月を除く）、17B の表層（水深 5 m）と深層（水深 60 m）で湖水を採取した。

5.2.2. 100 日生分解試験と有機物の定量

100 日生分解試験は、第四期に生分解試験の結果を報告した 2014 年 11 月~2016 年 2 月の試料と同じ手法を用いた。湖水は前処理をせずに、2L ポリカーボネート製 Nalgene 容器に入れ、一定温度（20°C）、暗条件で、水平振とう（60 回/分）を行った（佐藤ら、2016）。ポリカーボネート製 Nalgene 容器は事前に、ペルオキシ二硫酸カリウム溶液で満たして 120°C で 30 分間オートクレーブをかけた後に、超純水で洗浄を行った。

100 日生分解試験前後の湖水を、ガラス製 GF/B フィルター（Whatman、直径 47 mm、孔径 1.0 μm 、450°C で 2 時間加熱済）で濾過を行い、粒子態有機物と溶存態有機物に分けて採取した。

DOC 濃度は、全有機炭素計（島津製作所 TOC-L）を用いて、早川ら（2019）に記載された手法により測定した。POC 濃度は、ガラス製フィルター上の粒子を NC アナライザー（SUMIGRAPH NC-22F）で測定した。

5.2.3. DOM 蛍光・吸光特性を用いた易分解性 DOC 濃度予測指標の開発

DOM 蛍光・吸光指標開発用の長期生分解実験は、100 日生分解試験と同じ湖水試料かつ同じ条件（容器、温度等）のもとで、複数・長期間の時点（28, 100, 200, 400 日程度）で試料を採取した。各試料について、分解実験は繰り返し 2 本ずつで実施した。

採取した湖水は、親水性 PTFE 製 Omnipore フィルター（MERCK、直径 47mm、孔径 0.1 μm 、1N 塩酸に浸漬して 80°C

で 2 時間加熱して洗浄）で濾過を行い、細菌細胞サイズ画分も除去した DOM 試料を採取した。DOM 蛍光・吸光分析用の試料は、-30°C で冷凍保存した。

DOC 濃度は、全有機炭素計（島津製作所 TOC-L）を用いて、早川ら（2019）に記載された手法により測定した。400 日程度経過した時点の DOC 濃度を、各分解実験の RDOC 濃度とした。0~200 日目の各試料中の LDOC 濃度について、バルク DOC 濃度（試料中 DOC 濃度の測定値）から、対応する RDOC 濃度を差し引いて算出した。

DOM の蛍光・吸光特性は、三次元蛍光測定装置（堀場製作所 Aqualog）を用いて、測定した。R（ver. 4.0.5）の staRdom パッケージ（Pucher et al., 2019）を使用し、蛍光・吸光特性に関する代表的な指標を、10 種類算出した（Peak A, B, C, M, T の各ピーク強度、HIX、FI、BIX、a(254)、SUVA₂₅₄: Coble, 2014; Weishaar et al., 2003）。

上記の DOM 蛍光・吸光特性指標に、バルク DOC 濃度を加えた 11 種類のパラメータについて、合計 105 個の試料のデータにステップワイズ重回帰分析を適用し、LDOC 濃度を目的変数として予測する式を算出した。

5.2.4. 粒径別 POM 濃度の測定

まず、湖水を孔径 10 μm のメンブレンフィルターで濾過した濾液と、この濾液をさらに孔径 2 μm のメンブレンフィルターで濾過した濾液を得た。各濾液を、ガラス製 GF/F フィルター（Whatman、直径 47mm、孔径 0.7 μm 、450°C で 2 時間加熱済）で濾過し、粒子をフィルター上に補足し、それぞれの粒子の画分を B、C とした。これとは別に、未濾過湖水を GF/F フィルターで濾過して補足した粒子画分を A とした。A~C 各画分のフィルター上の粒子態有機炭素（POC）および粒子態窒素（PN）を、NC アナライザー（SUMIGRAPH NC-22F）で測定した。A 画分と B 画分の差から >10 μm 径の粒子画分を、B 画分と C 画分の差から 2~10 μm 径の粒子画分の濃度をそれぞれ算出し、C 画分を 0.7~2 μm 径の粒子画分とした。

5.2.5. 長期（28 日培養）BOD の測定

JIS K0102 21 の手法により、BOD₅ と 28 日目の BOD₂₈ を測定した。培養は、20°C の暗所で行い、28 日間の培養については培養容器の器壁への付着を避けるため 60 回転/分で水平振とうした。なお、BOD₅ が比較的高い 8C の湖水については、BOD₂₈ の測定は 2022 年 6 月までとした。

5.3. 結果

5.3.1. 湖水有機物の 100 日生分解試験における有機炭素濃度

2020 年度に採取した琵琶湖湖水について 100 日生分解

試験を行った結果を図 5-1 に示す。RDOC 濃度は、1mg/L 前後でほぼ一定であり、5 月の表層では易分解 POC 画分が多く見られた。

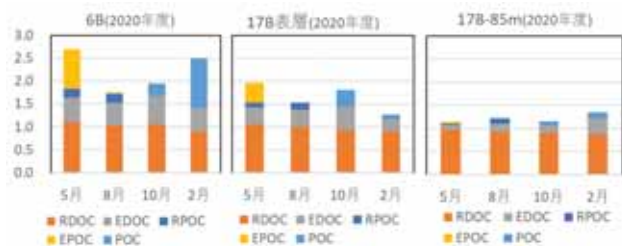


図 5-1 2020 年度の 6B 地点と 17B 地点の各表層および 17B の深度 85m 湖水の、季節ごとの 100 日生分解試験の結果（難・易分解別 DOC および POC の濃度：単位＝mgC/L）。ただし、10 月と 1 月の粒子態の難分解 POC 測定はコロナ対応により実施しなかったため、バルク POC 濃度を図示。

5.3.2. DOM 蛍光・吸光特性を用いた易分解性 DOC 濃度予測手法の開発

LDOC 濃度の実測値は、生分解前試料（実験 0 日目）では 0.221～0.665 mgC/L の範囲で、生分解後試料（実験 28, 100, 200, 400 日目）では 0～0.544 mgC/L の範囲で分布していた（図 5-2 縦軸）。

多重共線性を考慮したステップワイズ重回帰解析の結果、下記の 5 つの説明変数を用いた予測式が選択された。

$$[LDOC] = -0.805 + 0.903 \times [\text{バルク DOC}] - 0.141 \times \text{SUVA}_{254} + 0.604 \times \text{BIX} - 0.389 \times \text{FI} + 0.421 \times \text{HIX} \quad \dots \quad (\text{式 5.1})$$

このうち、[LDOC] と [バルク DOC] は、それぞれの濃度値 (mgC/L) を示す。式 5.1 を用いて予測した LDOC 濃度を実測値と比較した標準誤差は、0.086 mgC/L (2σ) だった。

式 5.1 を 17B 地点の湖水試料に適用して、LDOC 濃度 (400 日間で無機化される画分) と RDOC 濃度 (バルク DOC 濃度と LDOC 濃度の差分として計算) の月々変動を推定した結果を、図 5-3 に示す。LDOC 濃度および RDOC 濃度の平均と標準偏差 (2σ) は、それぞれ表層では 0.386 ± 0.220 mgC/L、0.772 ± 0.052 mgC/L、深層では 0.210 ± 0.134 mgC/L、0.759 ± 0.046 mgC/L だった。表層の LDOC 濃度は大きな季節変動を示したが、他の項目の変動は比較的小さかった。

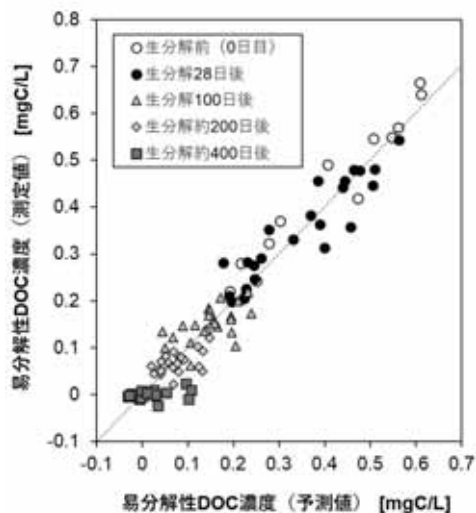


図 5-2 琵琶湖湖水の長期生分解実験における易分解性 DOC (LDOC) 濃度の実測値（縦軸）と、DOM 蛍光・吸光特性を用いた予測値（横軸）の比較。破線は、実測値と予測値の 1:1 対応線を示す。

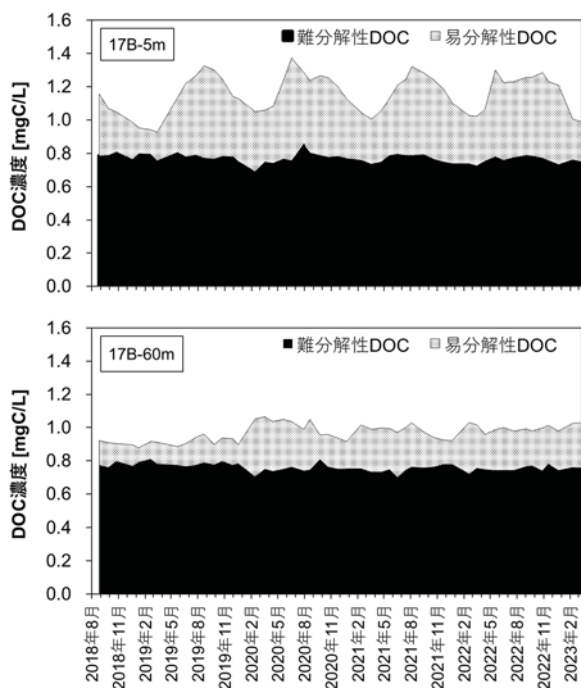


図 5-3 DOM 蛍光・吸光特性から推定された、17B 地点の天然湖水中の LDOC 濃度と RDOC 濃度の月々変動（2018 年 8 月～2023 年 3 月）。上：水深 5 m、下：水深 60 m。

5.3.3. 粒径別の有機物の測定結果

図 5-4 に、2021 年 6 月～2022 年 3 月の各月に実施した 17B 地点の 5m と 15m の各深度における粒径別の POC 濃度の測定結果を示す。POC 濃度は 6～7 月と 10 月が高く、次いで、8, 9, 11 月で、1～3 月は低かったが、冬季は循環混合する水深が深いことから、水柱の総量で把握すること

が必要となる。2021年6月の深度15mや6月の深度5mのように顕著に多い月は、 $>10\ \mu\text{m}$ 径が多くを占めたが、月による変動が大きく、 $0.7\sim 10\ \mu\text{m}$ 径の粒子は6~12月は $0.1\sim 0.2\ \text{mg/L}$ と大きな増減は見られなかった。

次に、PNも分析した2022年の6、8、10月の結果について、2021年の同じ季節の結果と並べ各分画の比率で図5-5に示す。両者を比較すると、炭素と窒素の粒径別の比率のパターンは類似しているが、全体的には炭素より窒素の方が、 $0.7\sim 10\ \mu\text{m}$ の小さい粒子に含まれる比率が多く、特に2021年6月の両深度と、2022年5月の深度15mが窒素の比率が高かった。

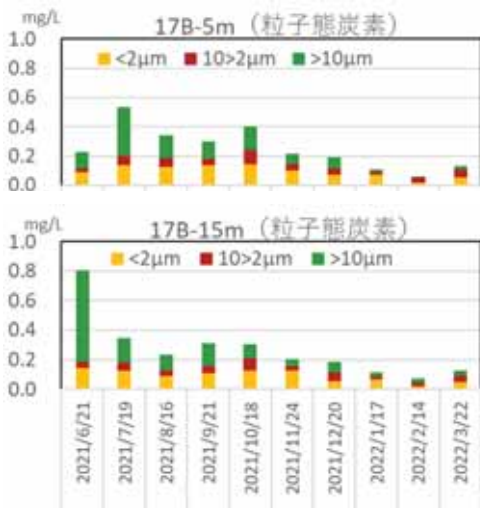


図5-4 2021年6月~2022年3月における17B地点湖水中の粒径別の粒子態炭素(POC)濃度の経時変化(単位: mg/L)。上: 水深5m、下: 水深15m。

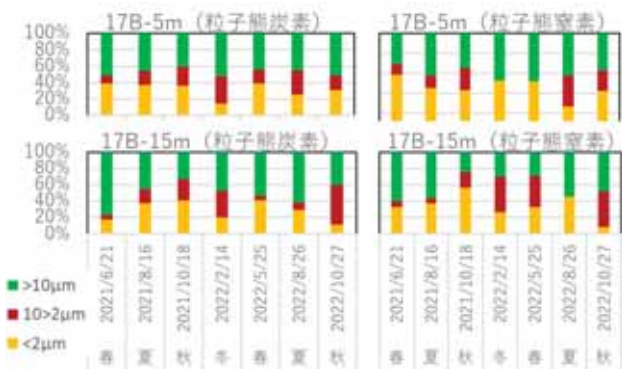


図5-5 POCおよびPNの季節別の粒径比率(左: 炭素、右: 窒素)

5.3.4. 長期(28日培養)BODの測定結果

2020~2022年度の BOD_5 と BOD_{28} 、および BOD_{28}/BOD_5 比を、図5-6に示す。 BOD 値が比較的高い南湖では、 BOD_{28}/BOD_5 比はほぼ $2.5\sim 4$ の範囲で安定しているが、 BOD_5 値が $0.1\ \text{mg/L}$ 以下になる北湖の底層では、ばらつきが大きくなる。

BOD_5 では年間変動の特徴があまり見えないが、 BOD_{28} では毎年春先に高くなる傾向で、底層でもその後初夏にかけてやや高くなる傾向だった。

次に3か年の平均値を表5-1に示す。地点別でみると、西側沿岸の17Aは沖帯の17Bとほとんど変わらないが、東側沿岸の17C'は夏から秋に高かった。

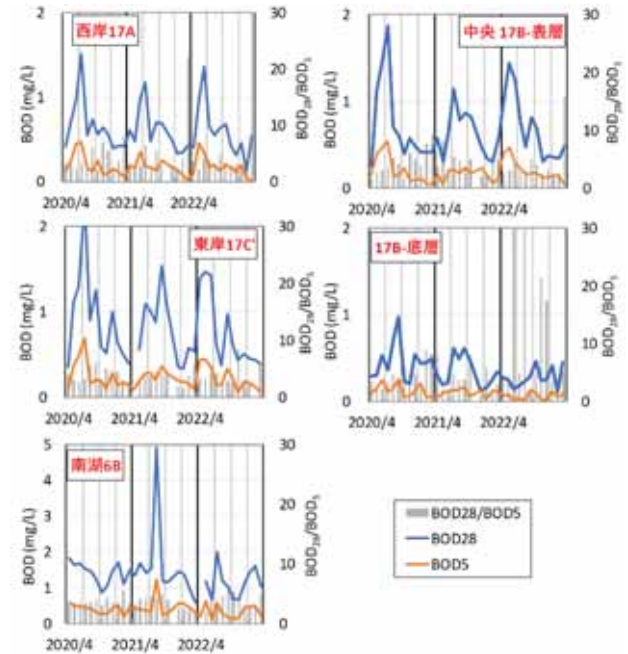


図5-6 2020~2022年度における琵琶湖4地点の BOD_5 (橙線)と28日目の BOD_{28} (青線)の変動。棒グラフ(右軸)は BOD_{28}/BOD_5 比

表5-1 2020~2022年度のBODの平均値。8Cは2022年3月までの2か年。

地点(-層)	BOD_{28}		BOD_5		標準偏差
	平均	標準偏差	平均	標準偏差	
6B	1.39	0.713	0.39	0.199	
8C	3.60	2.183	1.51	1.321	
17A	0.62	0.295	0.18	0.113	
17B-表層	0.68	0.384	0.19	0.125	
17B-底層	0.36	0.187	0.10	0.062	
17C'	0.82	0.458	0.23	0.136	

5.4. 考察

5.4.1. 湖水有機物の100日分解試験の過去の比較

100日分解試験結果を2009年度と2015年度に実施した結果とあわせて、図5-7に示す。3か年の結果を比較すると、全有機炭素(TOC)濃度が $1.5\ \text{mg/L}$ を超えたのは、2009、2020年度では、南湖の6Bは4回とも、北湖17B表層でも3回超えたが、2015年度は6Bで3回と全般に低かった。RDOC濃度は各年度とも、地点、季節によらず $1\ \text{mg/L}$

前後とほぼ一定であったが、2015 年度はやや低かった。それ以外に特に大きな変化は求められなかった。



図 5-7 2009, 2015, 2020 各年度の 6B と 17B 各表層および 17B の深度 85m 湖水の 100 日生分解試験の結果（難・易分解別 DOC および POC）の季節変動。2009 年のみ 2 月から四季調査、底層は湖底直上 1 m。2015, 2020 年度は 5 月から四季調査、底層は深度 85 m。

本調査は、5 年ごとに評価・予測・策定が行われる湖沼水質保全計画のシミュレーション等で必要とされる難分解比率等の算定のためのモニタリングであるが、物質循環の状況把握の観点からは、易分解成分の状況が生物利用性の把握に活用できる可能性があることに着目している。5 年ごとの比較では、その年の気象条件によって、内部生産や食物連鎖等の構造が変わる可能性があることから、増減のトレンドや要因までは論じられないが、2020 年度では

春と秋の表層において易分解成分が 2009, 2015 年より多いことがわかる。

以上より、2020 年度においても難分解性画分の増減は認められず、水質改善に伴う貧栄養化により物質循環に影響するような易分解性画分の減少も認められなかった。

5.4.2. DOM 蛍光・吸光特性を用いた易分解性 DOC 濃度予測手法の開発

DOM 蛍光・吸光特性を用いて推定した、琵琶湖湖水中の RDOC 濃度は、平均 0.77 mgC/L 程度であり（図 5-3）、100 日分解試験で得られた値（1 mgC/L 程度）よりも低かった。これは、湖水中 DOC の生分解が概ね終了する期間として、生分解実験期間を 400 日程度と長期に設定したことが主な理由である。長期生分解実験の中では、100 日目から約 400 日目にかけて、バルク DOC 濃度は平均で 0.15 mgC/L 程度減少した（図 5-2）。

一方、長期生分解実験の 100 日目および約 400 日目で、DOC 濃度の試料間の標準偏差（ばらつき）は、それぞれ ± 0.13 , ± 0.12 mgC/L (2σ) であり、約 400 日目にかけて値が収束することはなかった。このため、湖水中の RDOC 濃度を一定と仮定してバルク DOC 濃度から LDOC 濃度を高精度に算出することは難しい。本研究で開発した手法（DOM 蛍光・吸光特性の利用）により、より高精度に LDOC と RDOC の濃度を推定できるようになった（標準誤差 = 0.086 mgC/L : 2σ ）。

DOM 蛍光・吸光特性による推定値には、一定の誤差があるため、従来の 5 年ごとの 100 日生分解試験を代替することは難しいと考えられる。一方で、測定が迅速・簡便であることから（本研究で用いた機器では 1 日 10 試料程度）、より高い時間解像度での変動や、多点試料による空間分布の把握に適している。このため、本研究で開発した手法は、従来の 100 日生分解試験を補完できる、LDOC 濃度と RDOC 濃度の高解像度モニタリング手法として活用可能である。DOM 蛍光・吸光特性から推定した 17B 地点における LDOC 濃度と RDOC 濃度の月々変動（図 5-3）は、これまでの 100 日生分解試験で実測されている水深別・季節別のパターン（図 5-6）と整合的である。今後、他の環境・生態学的パラメータと比較して、変動要因を考察することが重要となる。

5.4.3. 粒径別 POM 濃度の過去との比較

粒径別の POM 濃度の測定結果について、1993~2006 年に同様の手法で実施されたデータと並べて、図 5-8 に示す。2021 年度の結果を過去と比較すると 0.7~2 μm 径の粒子がやや増えている。また、2021 年度は深度 15 m の方が 5 m よりも高い時期がある。しかし、全般的に過去の調

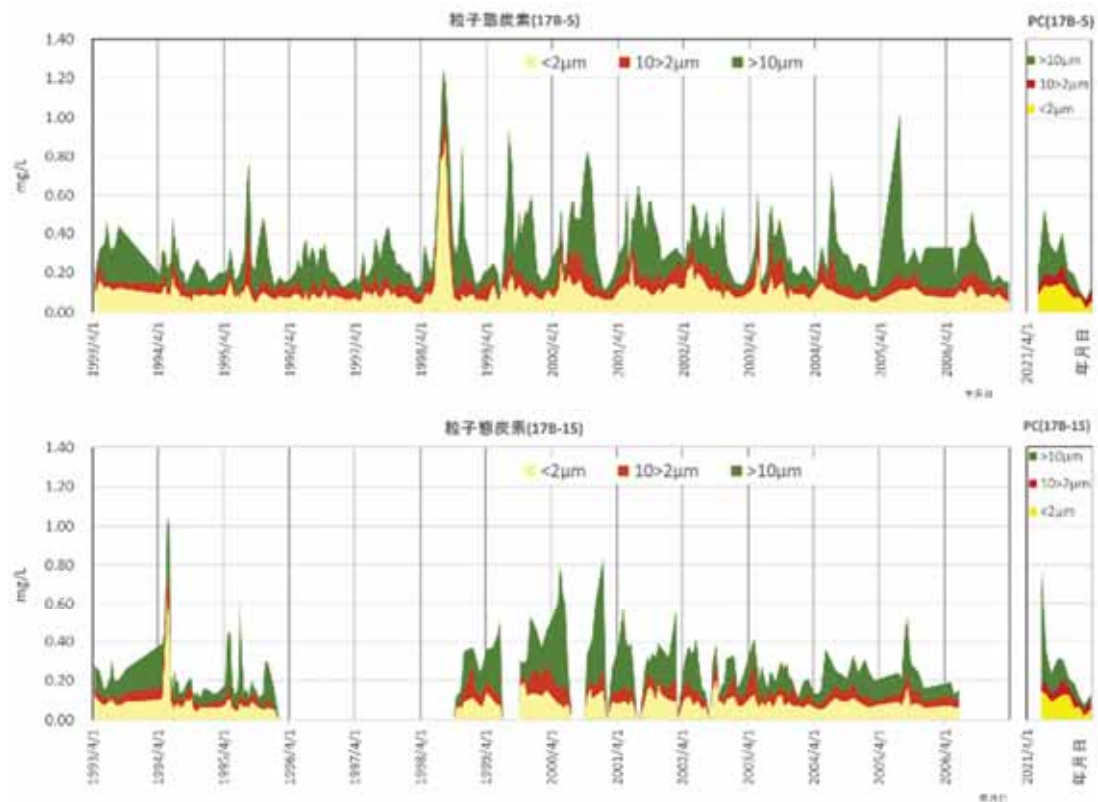


図 5-8 17B 地点の深度 5 m と 15 m における粒径別 POC 濃度の結果の過去との比較。左が 1993 年 4 月から 2006 年 12 月まで、右が 2021 年 6 月から 2022 年 10 月まで。上：深度 5 m、下：深度 15 m。

査と大差はなく、 $0.7\sim 10\ \mu\text{m}$ 径の動物プランクトン可食サイズの POC の量は減少していないことが推察される。

さらに、炭素と窒素について粒径別の比率を調べた結果では、季節や水深によって差異は生じているが、動物プランクトンが摂餌できる $10\ \mu\text{m}$ 以下の粒子が概ね半分以上を占めていた。2021 年 6 月の深度 15 m の炭素については $10\ \mu\text{m}$ 以下の画分が 20% と低くなっているが、POC 濃度全体は高いことから、生食食物連鎖等を阻害する状況は認められないものと考えられた。

今回の調査では、過去の調査結果と比較するため $10\ \mu\text{m}$ で分画したが、物質循環の観点からは、サブテーマ 2 で用いた、ミジンコ可食サイズの $45\ \mu\text{m}$ で分画した分布を把握することが有効であると考えられる。

5.4.4. 長期（28 日培養）BOD の測定結果

これまで表層の BOD_5 では明確に見られなかった春先の上昇が、 BOD_{28} では観測できた。JISK0102 に示されている BOD 測定法において、望ましい酸素消費量は $3.5\sim 6.2\ \text{mg/L}$ とされているが、琵琶湖では $0.5\ \text{mg/L}$ 未満となる場合が多い。底層では BOD_5 が $0.2\ \text{mg/L}$ 以下とさらに低いため、 BOD_5 では季節変動は感知できなかったが、 BOD_{28} では表層でピークが見られた後の 7~9 月頃に上昇する傾向があった。近年の琵琶湖表層で 5~7 月に見られる大型緑藻増

加後に一部が沈降し、底層で細菌等に分解され、細菌生産量も増えていることが推察される。また、これらを起源とした有機炭素や栄養塩が動物プランクトンに供給される可能性があることも示唆される。

表 5-1 のとおり、3 か年の平均値を地点別でみると、東側沿岸の 17C' は夏から秋に高かったことから、こちらも細菌生産の増加に寄与していることが推察される。

5.5. まとめ

湖内の物質循環状況のモニタリングの観点から、琵琶湖水中の有機物の生物利用可能性について、指標の開発・検討と、過去から現在にかけての長期的変化の観測を実施した。主な成果は以下の通りである。

- (1) 湖水中有機物の 100 日分解試験では、易分解性および難分解性の DOC・POC 濃度に、2009、2015、2020 年度にかけての長期的な傾向は見られなかった。
- (2) DOM 蛍光・吸光特性を利用して、長期分解実験をせずに LDOC と RDOC 濃度を迅速・簡便に推定する手法を開発した。従来の 100 日分解試験を補完できる、高解像度モニタリング手法として活用可能である。
- (3) 粒径別 POM 濃度に着目し、1993~2006 年度と 2021 年度の結果を比較したところ、長期的な変化傾向はなく、動物プランクトン可食サイズの一部である $0.7\sim 10$

μm 径の POC 濃度は減少していないことが推察された。

- (4) BOD の培養期間を 28 日間に長期化したことで、精度が確保でき、その季節変動を把握することができた。東岸で長期 BOD₂₈ が春から夏に高いことは、細菌生産から動物プランクトンに至る微生物ループが駆動する可能性が示唆され、サブテーマ 2 の成果と整合している。

6. まとめ

本研究では、動物プランクトンに捕食されやすい中小植物プランクトンの増殖に着目し、湖内における有機物および栄養塩の円滑な循環につながる要件を明らかにするとともに、物質循環の円滑さを評価する指標を検討した。その結果、主に以下の成果を得られた。

- (1) 琵琶湖流域水物質循環モデルに大型植物プランクトン消長の機構を組み込んだところ、春季・秋季にブルームを起こしやすいという季節変動を概ね再現することができた。また本モデルを用いて気象条件が物質循環の円滑さに与える影響の評価を行ったところ、気候変動が物質循環の円滑さに影響を与えていることが示唆された。
- (2) 動物プランクトンへの餌資源の影響を評価するため、沖帯と沿岸帯において、動物プランクトンの現存量および生産量と、餌となる小型セストンの量や質との関係性をモニタリングや実験で解析した。その結果、沿岸帯では、沖帯と比べて動物プランクトンの量や、その餌資源の量が多いことが明らかになった。琵琶湖の生態系保全のためには、沿岸帯の餌場としての機能を活用するため、沿岸帯の環境保全が重要であると考えられた。
- (3) 琵琶湖水中 DOM の生産・分解プロセスについて、分子サイズに着目した研究を実施した。高分子 DOM と低分子 DOM を高純度に分離して濃縮回収する手法として、2 段階の分画濃縮法を開発した。これにより、C:N:P 比、DOM 分子組成など、詳細な化学組成分析を分子サイズ別に実施できるようになった。
- (4) 高分子、低分子それぞれの分解速度定数の変動を、SEC-TOC 測定パラメータから予測できる経験的モデルを作成した。このモデルを用いて、DOC の生産・分解フラックスを算出したところ、琵琶湖沖帯表層では、夏季成層期 (8-9 月) に両者ともピークを示した。夏季成層期に DOM 分解で放出される窒素栄養塩は、表層生態系の窒素同化フラックスの 25~60%程度に寄与していると推定された。
- (5) 琵琶湖水中の有機物の生物利用可能性について、指標

の開発・検討と、過去から現在にかけての長期的変化の観測を実施した。湖水中有機物の 100 日生分解試験では、易分解性および難分解性の DOC・POC 濃度に長期的な傾向は見られなかった。DOM 蛍光・吸光特性を利用して、長期生分解実験をせずに LDOC と RDOC 濃度を迅速・簡便に推定する手法を開発した。粒径別 POM 濃度に着目し、1993~2006 年度と 2021 年度の結果を比較したところ、長期的な変化傾向はなく、動物プランクトン可食サイズの一部である 0.7~10 μm 径の POC 濃度は減少していないことが推察された。BOD の培養期間を 28 日間に長期化したことで、精度が確保でき、その季節変動を把握することができた。

- (6) 物質循環の円滑さを表す指標として、これまで「呼吸効率」「転換効率」を提案してきたが、以上の成果を踏まえて、この要因となる指標について検討した。大型植物プランクトンは動物プランクトンに食べられにくく、また中小植物プランクトンの量が動物プランクトンの量や生産量にプラスの影響を与えていることから、「大型 (中小) 植物プランクトンの割合」が挙げられる。また、「サイズ別植物プランクトン (セストン) の C:N (炭素:窒素) 比、C:P (炭素:リン) 比」についても、動物プランクトンの餌の質に関連する指標であると考えられる。「DOM 分解により供給される栄養塩量」が夏季表層生態系の窒素同化の大きな割合を占めることが明らかになったことから、湖内における効率的な生産を支える指標になると考えられる。以上の 3 つの指標を物質循環の円滑さの要因となる指標として提案した。

7. 謝辞

(第 3 章)

本研究の一部は、クリタ水・環境科学振興財団の国内研究助成 (課題番号 19B047) と JSPS 科研費 JP 21K05742 の支援により実施しました。また、本研究の一部は、京都大学生態学研究センターの共同研究施設 (安定同位体比精密測定用分析システム) を利用して実施しました。ここに記して深く謝意を表します。

(第 4 章)

本研究の一部は、JSPS 科研費 18K18189、19H03302、21K12232、21H03584 の支援により実施しました。ここに記して深く謝意を表します。

8. 引用文献

(第 1 章)

中央環境審議会 大気・騒音振動部会、水環境・土壌農薬部会 (2023) : 今後の水・大気環境行政の在り方について

て (意見具申)。

<https://www.env.go.jp/content/000153988.pdf>

佐藤祐一・早川和秀・永田貴丸・尾原禎幸・岡本高弘・七里将一・山口保彦・酒井陽一郎・中村光穂・後藤直成・今井章雄・富岡典子・佐野友春・小松一弘・土屋健司・高津文人・霜鳥孝一・中野伸一・程木義邦・小松英司・上原浩 (2021) : 政策課題研究 3 生態系保全につながる物質循環のあり方に関する研究, 滋賀県琵琶湖環境科学研究センター 研究報告書, 16 : 55-79.

滋賀県琵琶湖環境科学研究センターWeb サイト (2023) : 琵琶湖流域オープンデータ.

<https://www.lberi.jp/investigate/motherlake21/opendata>

(第2章)

佐藤祐一・小松英司・永禮英明・上原浩・湯浅岳史・大久保卓也・岡本高弘・金再奎 (2011) : 陸域-湖内流動-湖内生態系を結合した琵琶湖流域水物質循環モデルの構築とその検証, 水環境学会誌, 34 (9) : 125-141.

佐藤祐一・岡本高弘・早川和秀・大久保卓也・小松英司 (2016) : 琵琶湖における難分解性有機物の起源 : 発生源における生分解試験とボックスモデルによる推計, 水環境学会誌, 39 (1) : 17-28.

佐藤祐一・早川和秀・永田貴丸・尾原禎幸・岡本高弘・七里将一・山口保彦・酒井陽一郎・中村光穂・後藤直成・今井章雄・富岡典子・佐野友春・小松一弘・土屋健司・高津文人・霜鳥孝一・中野伸一・程木義邦・小松英司・上原浩 (2021) : 政策課題研究 3 生態系保全につながる物質循環のあり方に関する研究, 滋賀県琵琶湖環境科学研究センター 研究報告書, 16 : 55-79.

佐藤祐一・岡本高弘・中村光穂・小松英司・永禮英明・上原浩・徐冰潔・小川稔 (2022) : 琵琶湖水質の将来予測シミュレーション〜第8期湖沼水質保全計画の結果から〜, 第56回日本水環境学会年会講演集, 228.

佐藤祐一・小松英司 (2023) : 琵琶湖における大型植物プランクトン消長のモデル解析 (2) : 再現計算の結果, 第57回日本水環境学会年会講演集, 276.

滋賀県琵琶湖環境科学研究センター (2021) : 第8期湖沼水質保全計画に係る将来水質予測シミュレーションについて, 令和3年度第3回滋賀県環境審議会水・土壌・大気部会資料.

滋賀県環境審議会 水・土壌・大気部会資料 (2023).

<https://www.pref.shiga.lg.jp/kensei/kenseiunei/shingikai/22365.html>

(第3章)

Bukovinszky, T., A. M. Verschoor, N. R. Helmsing, T. M. Bezemer, E. S. Bakker, M. Vos and L. N. S. Domis (2012) : The good, the bad and the plenty: interactive effects of food quality and quantity on the growth of different *Daphnia* species. PLoS ONE, 7, e42966:

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042966>.

Hodoki, Y., T. Koitabashi, Y. Goda, T. Akatsuka and S. Nakano (2020) : Long-term variation in abundance of the non-native phytoplankton *Micrasterias hardyi* (Zygnematophyceae, Streptophyta) in Lake Biwa, Japan. Limnology, 21 : 67-72.

藤岡康弘 (2013) : 琵琶湖固有 (垂) 種ホンモロコおよびニゴロブナ・ゲンゴロウブナ激減の現状と回復への課題. 魚類学雑誌, 60 : 57-63.

加藤伸悟・増田貴則 (2016) : 流域汚濁負荷量と湖中有機物量の関係についての概念的食食物網モデルを用いた考察. 水環境学会誌, 39 : 1-15.

Kawabata, K. (1987) : Abundance and distribution of *Eodiaptomus japonicus* (Copepoda: Calanoida) in Lake Biwa. Bulletin of Plankton Society of Japan, 34 : 173-183.

Kawabata, K., T. Narita and M. Nishino (2006) : Predator-prey relationship between the landlocked dwarf ayu and planktonic Crustacea in Lake Biwa, Japan. Limnology, 7 : 199-302.

Kishimoto, N., S. Ichise, K. Suzuki and C. Yamamoto (2013) : Analysis of long-term variation in phytoplankton biovolume in the northern basin of Lake Biwa. Limnology, 14 : 117-128.

永田貴丸・廣瀬佳則・岡本高弘・早川和秀 (2018) : ミジンコの生存・成長および再生産に対する従属栄養性鞭毛虫の餌としての影響. 日本水処理生物学会誌, 54 : 73-82.

永田貴丸 (2019) : 動物プランクトンの生産量評価に関する検討. 琵琶湖における有機物収支の把握に関する研究 (5-1607, 代表 : 早川和秀) : 88-107. 令和元年度環境研究総合推進費終了研究成果報告書.

Reynolds, C. S. (1984) : The ecology of freshwater phytoplankton. Cambridge University Press, Cambridge.

滋賀県琵琶湖環境部 (2020) : 資料2 令和元年度公共用水域水質測定結果 (琵琶湖・河川). 令和2年度第1回滋賀県環境審議会水・土壌・大気部会開催概要, <https://www.pref.shiga.lg.jp/ippan/kankyoshizen/kankyou/313082.html>.

- Touratier, F., L. Legendre and A. Vézina (1999): Model of copepod growth influenced by the food carbon:nitrogen ratio and concentration, under the hypothesis of strict homeostasis. *Journal of Plankton Research*, 21: 1111-1132.
- 占部城太郎 (2003): プランクトン群集の栄養動態と環境変化の化学量効果. *日本プランクトン学会報*, 50: 91-98
- Urabe, J. and Y. Watanabe (1992): Possibility of N or P limitation for planktonic cladocerans: an experimental test. *Limnology and Oceanography*, 37: 244-251.
- (第4章)
- Amon, R. M. W. and Benner, R. (1996): Bacterial utilization of different size classes of dissolved organic matter. *Limnology and Oceanography*, 41: 41-51.
- Daoud, A. B. A., and Tremblay, L. (2019): HPLC-SEC-FTIR characterization of the dissolved organic matter produced by the microbial carbon pump. *Marine Chemistry*, 215: 103668.
- Dittmar, T., Koch, B., Hertkorn, N. and Kattner, G. (2008): A simple and efficient method for the solid-phase extraction of dissolved organic matter (SPE-DOM) from seawater. *Limnology and Oceanography Methods*, 6: 230-235.
- 早川和秀・廣瀬佳則・岡本高弘・七里将一・尾原禎幸・能登紀幸・井上信介 (2019): 湖沼水の TOC 分析について全有機炭素計を用いて精度高く測定する手法の検討. *水環境学会誌*, 42: 259-267.
- Komatsu, K., Onodera, T., Kohzu, A., Syutsubo, K. and Imai, A. (2020) Characterization of dissolved organic matter in wastewater during aerobic, anaerobic, and anoxic treatment processes by molecular size and fluorescence analyses. *Water Research*, 171: 115459.
- Logan, B. E., and Jiang, Q. (1990): Molecular size distributions of dissolved organic matter. *Journal of Environmental Engineering*, 116: 1046-1062.
- 佐藤祐一・早川和秀・永田貴丸・尾原禎幸・岡本高弘・七里将一・山口保彦・酒井陽一郎・中村光穂・後藤直成・今井章雄・富岡典子・佐野友春・小松一弘・土屋 健司・高津文人・霜鳥孝一・中野伸一・程木義邦・小松英司・上原浩 (2020): 政策課題研究 3 生態系保全につながる物質循環のあり方に関する研究. 琵琶湖環境科学研究センター研究報告書, 16: 55-79.
- Shimotori, K., Satou, T., Imai, A., Kawasaki, N., Komatsu, K., Kohzu, A., Tomioka, N., Shinohara, R. and Miura, S. (2016): Quantification and characterization of coastal dissolved organic matter by high-performance size exclusion chromatography with ultraviolet absorption, fluorescence, and total organic carbon analyses. *Limnology and Oceanography Methods*, 14: 637-648.
- Thottathil, S. D., Hayakawa, K., Hodoki, Y., Yoshimizu, C., Kobayashi, Y., and Nakano, S. I. (2013): Biogeochemical control on fluorescent dissolved organic matter dynamics in a large freshwater lake (Lake Biwa, Japan). *Limnology and Oceanography*, 58: 2262-2278.
- Tsunogai, U., Miyauchi, T., Ohyama, T., Komatsu, D. D., Ito, M., and Nakagawa, F. (2018): Quantifying nitrate dynamics in a mesotrophic lake using triple oxygen isotopes as tracers. *Limnology and Oceanography*, 63: S458-S476.
- Xu, H. and Guo, L. (2017): Molecular size-dependent abundance and composition of dissolved organic matter in river, lake and sea waters. *Water Research*, 117: 115-126.
- (第5章)
- Coble, P. G. (Ed.). (2014). *Aquatic organic matter fluorescence*. Cambridge University Press.
- 早川和秀・岡本高弘・五十嵐恵子・古角恵美・廣瀬佳則・一瀬諭・古田世子・田中稔・永田貴丸・津田久美子・清水芳久・日下部武敏・三崎健太郎・中野伸一・藤嶽暢英・山田悦・布施泰朗・田中仁志・杉山裕子・丸尾雅啓 (2015): 政策課題研究 3 琵琶湖水の新たな水質指標に関する研究. 琵琶湖環境科学研究センター研究報告書. 10: 52-75.
- 早川和秀・廣瀬佳則・岡本高弘・七里将一・尾原禎幸・能登紀幸・井上信介 (2019): 湖沼水の TOC 分析について全有機炭素計を用いて精度高く測定する手法の検討. *水環境学会誌*, 42: 259-267.
- 七里将一・藤原直樹・一瀬諭・若林徹哉・野村潔 (2000): 琵琶湖北湖における粒子態炭素・窒素・りん濃度の変動について (平成 11 年度). *滋賀県立衛生環境センター所報*. 35: 74-77.
- Kim C., Nishimura Y. and Nagata T. (2006): Role of dissolved organic matter in hypolimnetic mineralization of carbon and nitrogen in a large,

monomictic lake. *Limnology and Oceanography*, 51: 70-78.

金再奎・佐藤祐一・木村道徳・河瀬玲奈・岡本高弘・廣瀬佳則・古角恵美・芳賀裕樹・川崎竹志・尼子博章・田仲輝子 (2018): 政策課題研究 6 持続可能な琵琶湖・滋賀の社会像とその実現手法に関する研究①. 琵琶湖環境科学研究センター第 4 期中期計画総合報告書, 7-15.

岡本高弘・佐藤祐一・早川和秀・一瀬 諭 (2011): 政策課題研究 3 水質汚濁メカニズムの解明に関する政策課題研究 - 難分解性を考慮した琵琶湖における有機物の現状と課題 -. 琵琶湖環境科学研究センター研究報告書, 7: 87-102.

Pucher, M., Wunsch, U., Weigelhofer, G., Murphy, K., Hein, T., and Graeber, D. (2019): staRdom: versatile software for analyzing spectroscopic data of dissolved organic matter in R. *Water*, 11: 2366.

佐藤祐一・岡本高弘・早川和秀・大久保卓也・小松英司 (2016): 琵琶湖における難分解性有機物の起源: 発生源における生分解試験とボックスモデルによる推計. *水環境学会誌*, 39: 17-28

佐藤祐一・早川和秀・永田貴丸・尾原禎幸・岡本高弘・七里将一・山口保彦・酒井陽一郎・中村光穂・後藤直成・今井章雄・富岡典子・佐野友春・小松一弘・土屋 健司・高津文人・霜鳥孝一・中野伸一・程木義邦・小松英司・上原浩 (2020): 政策課題研究 3 生態系保全につながる物質循環のあり方に関する研究. 琵琶湖環境科学研究センター研究報告書, 16: 55-79.

Weishaar, J. L., Aiken, G. R., Bergamaschi, B. A., Fram, M. S., Fujii, R., and Mopper, K. (2003): Evaluation of specific ultraviolet absorbance as an indicator of the chemical composition and reactivity of dissolved organic carbon. *Environmental Science & Technology*, 37: 4702-4708.