

### 3. 政策課題研究3 (5-PS3)

## 生態系保全につながる物質循環のあり方に関する研究

佐藤祐一・早川和秀・永田貴丸・尾原禎幸<sup>1)</sup>・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<sup>2)</sup>・今井章雄<sup>3)</sup>・富岡典子<sup>3)</sup>・佐野友春<sup>3)</sup>・小松一弘<sup>3)</sup>・土屋 健司<sup>3)</sup>・高津文人<sup>3)</sup>・霜鳥孝一<sup>3)</sup>・中野伸一<sup>4)</sup>・程木義邦<sup>5)</sup>・小松英司<sup>6)</sup>・上原 浩<sup>7)</sup>

### 要約

琵琶湖では流入負荷の抑制による水質の改善だけではなく、魚介類等につながる物質循環を円滑にすることの重要性が指摘されている。本研究は、湖内の生食食物連鎖および微生物食物連鎖の状況を詳細な調査により把握し、モデルを用いて魚類資源量との関連について解析することで、生態系保全の観点から望ましい湖内物質循環のあり方を提案することを目的とした。琵琶湖における植物プランクトン、動物プランクトン、細菌の生産性を実測する手法を確立して琵琶湖沖帯における有機物収支を概算したところ、上位の捕食者への有機物供給は微生物食物連鎖よりも生食食物連鎖が卓越すると考えられた。また、食物網を炭素・窒素安定同位体比で調査した結果からは、アユやホンモロコの成魚が餌とする動物プランクトンは、45 μm未満の植物プランクトンを主食にしており、微生物や大型藻類（45 μm以上）はほとんど食べないことが明らかになった。物質循環の円滑さに着目した琵琶湖の健全性を評価する指標として、①呼吸効率、②転換効率、③生物バランスの3つを提案し、指標間の関係をモデルで解析したところ、転換効率と生物バランスの間に有意な相関がみられた。これらのことから、動物プランクトンが食べやすい中小サイズの植物プランクトンを増やすことは、動物プランクトンの増加を通じて「魚の豊かさ」の向上につながるだけでなく、「水のきれいさ」にもつながると考えられた。また、有機物の分解性を把握する指標について検討したところ、培養期間を28日間に延長したBOD<sub>28</sub>や、粒子態有機物（POC）の炭素安定同位体比、溶存態有機物（DOC）の分子サイズ分布といった指標が有用であると考えられた。

### 1. はじめに

琵琶湖では流入負荷の削減等により水質（透明度、TN、TP等）は改善する一方で、漁獲量が減少したり、水草が大量繁茂するなど、新たな問題が顕在化している。この要因として、湖内における物質循環の様相が大きく変化してきたことが指摘されている（滋賀県・京都府、2017）。具体的には、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り、有機物や栄養が適切に上位の生態系に転送されていないことが考えられる。すなわち、流入負荷を抑制して湖内の物質量を削減するだけではなく、魚介類等につながる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ことが求められている。

琵琶湖流域の物質循環の状況については、近年では湖内の一次生産量や二次生産量の現状評価がなされていない。また、微生物が起因となる微生物食物連鎖についても、現状把握が不十分であった。そこで本研究では、湖内の生食食物連鎖および微生物食物連鎖の状況を詳細な調査により把握し、モデルを用いて魚類資源量との関連について解析することで、生態系保全の観点から望ましい湖内物質循

環のあり方を検討することを目的とする。具体的には、生食食物連鎖および微生物食物連鎖を介した有機物量を把握するとともに、食物網の構造や魚類の餌資源を解析して、湖内における物質循環の状況を明らかにする。また、魚類等を考慮できる水物質循環モデルを構築し、琵琶湖の健全性を評価する手法を構築する。本稿は4つの章で構成されており、各章の概要および章間の関係は以下の通りである（図1-1）。

#### 第2章：物質循環評価手法の構築

物質循環の円滑さを表す指標を提案するとともに、第3・4章の調査結果を踏まえ、2種類のモデルを用いた各種指標の解析を行う。モデルとしては、「食物連鎖モデル」および「琵琶湖流域水物質循環モデル」を構築・改良し、指標間の関係および生態系保全につながる物質循環の評価手法について検討する。

#### 第3章：沖帯の食物網構造からみた魚類への餌資源評価

プランクトン食魚（ホンモロコ等）への餌生物の影響を評価するため、安定同位体比分析で沖帯の食物網構造を解析し、魚が各餌生物をそれぞれどんな割合で食べているのかを把握する（生食食物連鎖を対象とする）。

1) 元・琵琶湖環境科学センター（現：湖北環境事務所） 2) 滋賀県立大学 3) 国立環境研究所 4) 京都大学生態学研究センター  
5) 元・京都大学生態学研究センター（現：茨城県霞ヶ浦環境科学センター） 6) 明治大学 7) パシフィックコンサルタンツ(株)

## 第4章：琵琶湖における有機物収支の把握に関する研究

物質循環のフローを測定する新手法を構築し、生食食物連鎖および微生物食物連鎖を介して動物プランクトンに至る有機物量（ストック・フロー）を把握する。また、有機物量を把握する上でベースとなる全有機炭素（TOC）およびその構成要素であるPOC・DOCについて、手法による測定値のばらつきが大きいことから、高精度に測定する手法の検討を行う。

## 第5章：物質循環の状況把握手法に関する研究

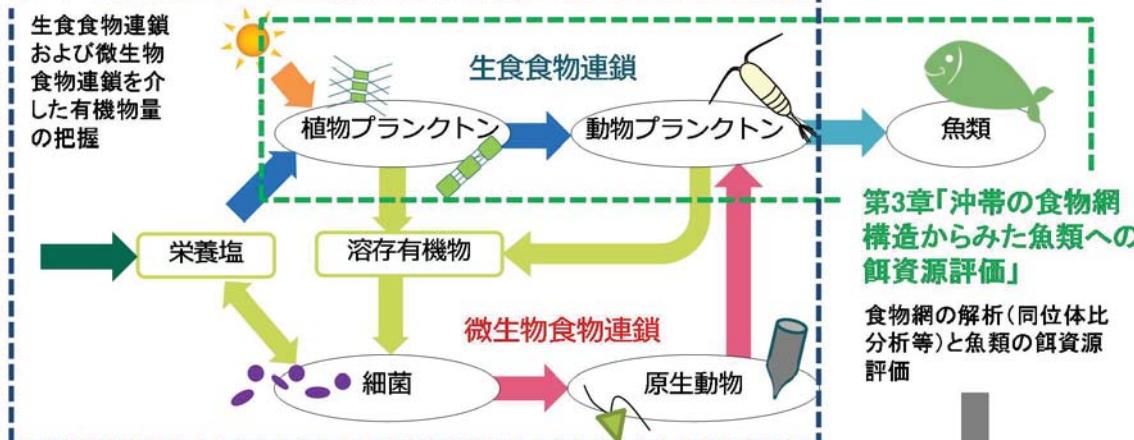
有機物の炭素安定同位体比や分子サイズ分布等、炭素を中心とする物質循環の把握に適切な指標を検討する。炭素安定同位体比については、第四期中期計画において生分解中の同位体比の変化を調査していることから、これらの調査を継続しつつ、有機物フローの把握等に応用できる手法を検討する。分子サイズについては、DOCの分子サイズ別の分解速度を調べ、生分解性指標としての可能性を検討する。

## 2. 物質循環評価手法の構築

### 2.1. はじめに

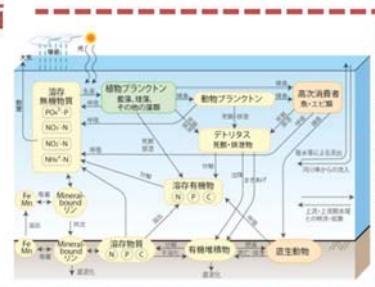
「湖沼が健全である」とはどのような状態を指すだろう

#### 第4章「琵琶湖における有機物収支の把握」



#### 第2章「物質循環評価手法の構築」

シミュレーションモデルを用いた物質循環の円滑さを評価する指標の提案



か。化学物質などで汚染されていないこと、水が清澄であること、水産資源が豊富なことなどが健全性の要素として挙げられるが、いずれも人間社会における用途を想定したものであり、湖沼そのものの健全性を評価したものとはいえない。また、例えば水質と水産資源は食物連鎖を通じて相互に関係しており、同時に向上させることが困難な場合もある。

水域生態系の健全性を定義する試みはこれまで数多くなされており、Costanza (1992) はそれらを以下の6つに総括した；①恒常性、②病気のないこと、③多様性・複雑性、④安定性・復元性、⑤成長力、⑥要素間のバランス。これら全てを同時に扱うことは容易ではないため、本研究ではまず「湖沼の健全性」を表す項目として「湖沼内での物質循環が円滑であること」に着目する。その結果として水質や水産資源に関する目標も一定達成されるとの仮説を立てる。これは、飲料水等としての水質と魚介類資源の豊かさの両立を求められる湖沼で特に有用となる。

本研究では、湖沼内の生物間の物質フローに着目し、湖沼全体でみたときの物質循環の円滑さを表す指標を提案する。次に、琵琶湖とその流域における物質循環を再現できる数理モデルを構築し、それら指標の現状や指標間の関

#### 第5章「物質循環の状況把握手法」

炭素を中心とする物質循環把握手法の検討



図1-1 本研究の全体像と各章の関係

係を解析することで、上記の仮説を検証する。数理モデルとしては、モデル構造によって評価できる因子の違いや扱いやすさといった特徴を考慮した上で、①湖内における食物連鎖の状況を簡易に計算する「食物連鎖モデル」、②琵琶湖流域（陸域・湖内）における水・物質循環の分布および三次元的な状況を計算する「琵琶湖流域水物質循環モデル」の2種類を構築し、各種指標値を評価する。

## 2.2. 方法

### 2.2.1. 物質循環の円滑さを表す指標

「人間の健康」を評価対象とした場合、それが体重だけで測れると考える人はいないだろう。バランスの取れた食事を適量摂り、日々の生活や運動の中で適切に消化・分解され、呼吸や排泄等により排出される。結果として、体重が概ね維持されるとともに、大きな病気もなく暮らすことができる。体重のような「ストック」だけではなく、摂取量、呼吸量、排泄量といった「フロー」をみることで初めて人間の健康な姿が浮かび上がる。こうした考え方方が、湖沼の生態系にも当てはまると考える（佐藤ら、2019a）。

生態系を、生産者、消費者、分解者の食物連鎖関係から模式的に表現したものを見ると図2-1に示す。生産者の光合成により生産された有機物は、一旦は自身のバイオマスの増加となるが、同時に呼吸や被食、分解によって消費され、いずれにも回らないものが難分解物として系内に蓄積する。消費者や分解者も同様に、摂取した有機物はそのバイオマスの増加や呼吸、難分解物となる。つまり生態系全体としてみれば、一次生産された有機物は、各バイオマスが平衡状態にあると仮定すれば、最終的に呼吸により消費されるか、難分解物として蓄積するかのどちらかとなる。

したがって、生産された有機物ができるだけ無駄なく活用され、上位の消費者等にも回っていくこと、すなわち「フロー」としての物質循環が円滑であることが、湖沼の健全性に直結すると考えられる。

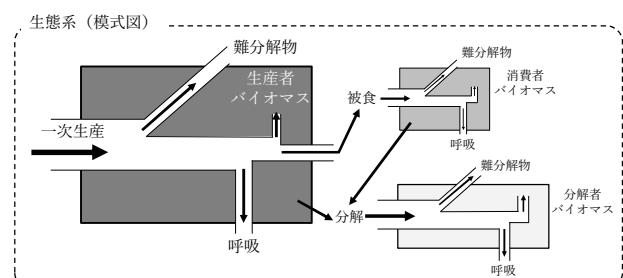


図2-1 生態系における食物連鎖の模式図

以上の考察から、湖沼における物質循環の円滑さを、以下の2つの指標で捉える。

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「滞りがない」：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。

さらに、水質と魚介類資源のバランスを捉える以下の指標を追加し、湖沼の健全性を評価する。

③「偏りがない」：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。

### 2.2.2. 食物連鎖モデルの概要

琵琶湖の生態系構造を簡易に表現可能な食物連鎖モデルを構築した。具体的には、琵琶湖全体を1ボックスの完全混合槽と仮定し、図2-2に示す生物種の生産や捕食、呼吸、分解、沈降等を表現するモデルとした（佐藤ら、2019b；佐藤ら、2019c）。季節変化は考慮せず、2010年代における年間の平均的な状況を再現できるようにした。流入負荷および栄養塩としては、生物に利用されやすい溶存態リン（DP）のみを考慮した。

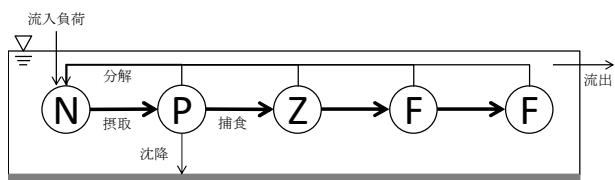


図2-2 食物連鎖モデルの構造；Nは栄養塩、Pは植物プランクトン、Zは動物プランクトン、Fは魚類（プランクトン食性魚、魚食性魚）を示す。

各モデルパラメータは、最大値および最小値を文献等から設定し、その幅の範囲内でランダムに値を設定してモデルを10年間Runし、10年目の栄養塩濃度および各バイオマスの平均値が観測値の範囲内にあり、かつ変動係数が一定値以下であれば、そのモデルを採用することとした。モンテカルロシミュレーションにより、100パターンのモデルが採用されるまで計算を繰り返した（図2-3）。

得られた100パターンの結果をもとに、生態系のストックやフロー間の関係、および物質循環の円滑さ指標間の関係を解析した。本研究では、琵琶湖における主たる漁獲対象魚がアユなどのプランクトン食性魚であることを踏まえ、生物バランス指標で用いる魚類をプランクトン食性魚

とした。

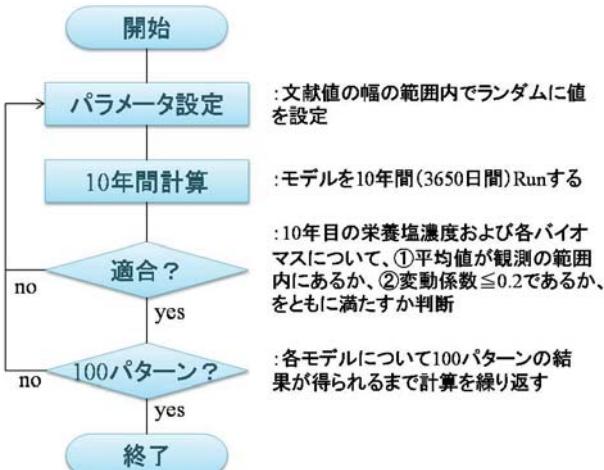


図 2-3 モンテカルロ法を用いた計算フロー

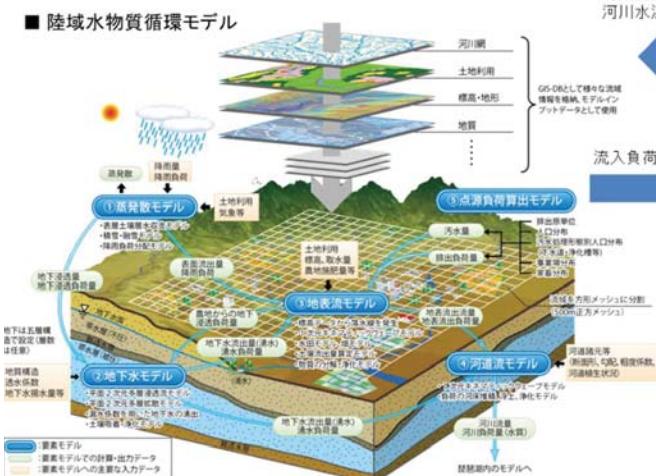
### 2.2.3. 琵琶湖流域水物質循環モデルの概要

筆者らが構築した「琵琶湖流域水物質循環モデル」（佐藤ら、2011）を改良し、琵琶湖とその流域における物質循環を再現、予測できるモデルとした。

本モデルは「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 2-4）。栄養塩の他、有機物として TOC (POC および DOC) とその分解性を考慮でき、また植物プランクトンを3種、魚類を食性を考慮し3種に分類して計算ができるように改良した。

**【陸域】500mメッシュ 分布型モデル  
【湖内】1kmメッシュ12層 準3次元モデル**

- ・平常時・降雨時を考慮した非定常モデル
- ・水および物質の物理的挙動を同時に解析



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。

再現期間は 2017~2018 年度の 2 ケ年とし、各モデルについて数ヶ月程度の助走期間を設定した。後述する、同期間にを中心に観測された各物質・バイオマス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うとともに、物質循環の円滑さ指標の推移について解析を行った。

## 2.3. 結果

### 2.3.1. 食物連鎖モデルの結果

バイオマスとバイオマスの関係については、植物プランクトンと動物プランクトン、動物プランクトンとプランクトン食性魚、植物プランクトンとプランクトン食性魚のいずれについても有意な相関はなかった ( $p>0.05$ )。DP 濃度と植物プランクトンについては、決定係数 0.043 という非常に低い相関ではあったが有意な関係が得られた。

一方で、一次生産量と植物プランクトン、動物プランクトンの各バイオマスとの関係は、有意な正の相関が得られた（いずれも  $p<0.01$ ）。魚類バイオマスについては有意な相関はなかった（図 2-5）。

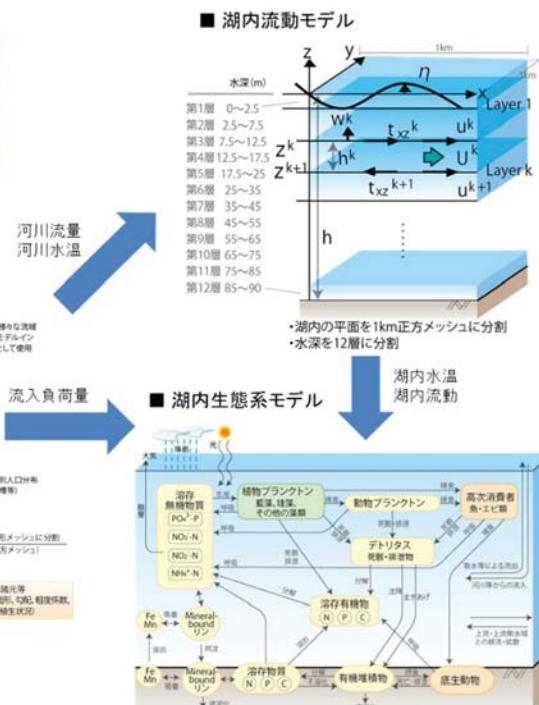


図 2-4 琵琶湖流域水物質循環モデルの概要

物質循環の円滑さ指標に着目すると、植物プランクトンから動物プランクトン、および動物プランクトンからプランクトン食性魚への転換効率の双方が、生物バランスと正の有意な相関がみられた（図 2-6）。

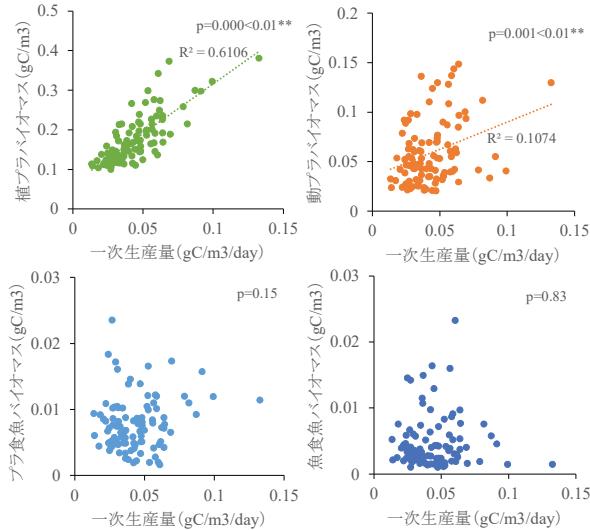


図 2-5 一次生産量と生物バイオマスの関係

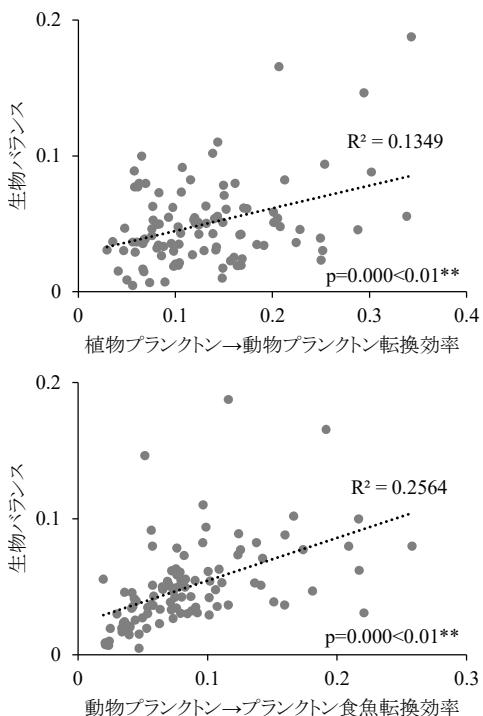


図 2-6 転換効率と生物バランスの関係（佐藤ら、2019c）

### 2.3.2. 琵琶湖流域水物質循環モデルの結果

湖内表層の TOC、TN、TP 濃度の分布については概ね再現することができた（図 2-7）。季節変動の例として今津沖中央（17B）における再現結果を図 2-8 に示すが、夏季に

TOC が上昇し TN が減少する傾向などを良好に再現することができた一方で、春の植物プランクトンのブルームや一時的な TP 濃度の上昇などは再現できなかった。

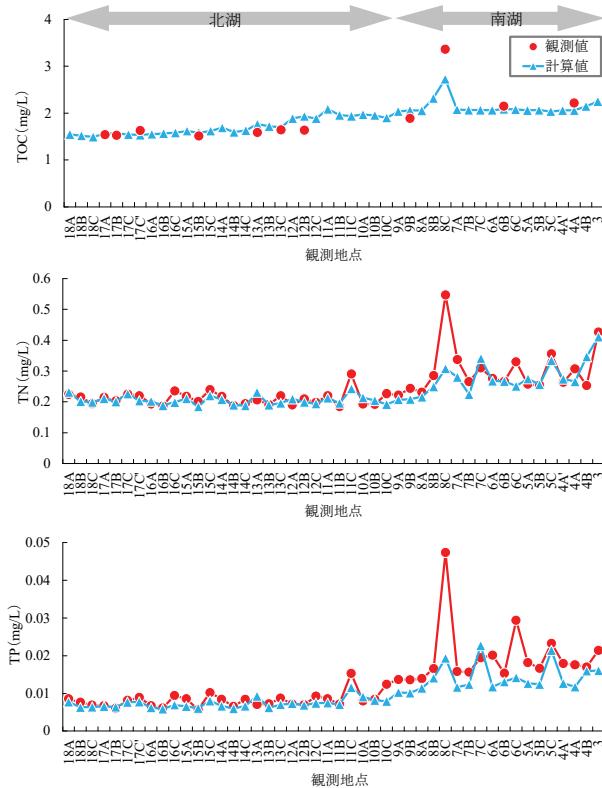


図 2-7 湖内水質の再現計算結果（2017-18 年度平均）

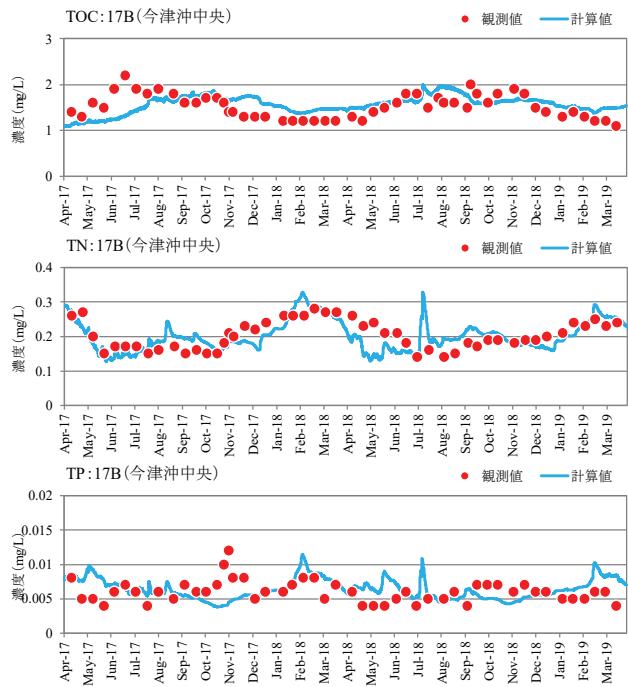


図 2-8 水質季節変動の再現計算結果（今津沖中央（17B））

一次生産量は光合成－光曲線を用いた連続観測の結果（琵琶湖環境科学センター、2019）とモデル計算値の比較を行った。2017 年度は量・変動ともに十分な再現性が得られたが、2018 年度は観測値の方が 2 倍程度大きい値となった。2018 年度は夏季および秋季に大型緑藻が多く増殖したが、その傾向をモデルで再現できなかったことに起因すると考えられた（佐藤ら、2019c）。

モデルから計算された、北湖における炭素フロー（一次生産量、群集総呼吸量、流入有機炭素量）、および呼吸効率（ここでは分母の一次生産量の他に流入有機炭素量も考慮）を図 2-9 に示す。呼吸効率は一時期を除き概ね一定であり、2 年間の平均値は 92.2% であった。

北湖における一次生産量、二次生産量（動物プランクトンの生産量（同化分）、三次生産量（プランクトン食性魚の生産量（同化分））、および一次転換効率（=二次生産量／一次生産量）、二次転換効率（=三次生産量／二次生産量）を図 2-10 に示す。生産量はいずれも夏季に高く、秋季から冬季に減少する傾向がみられたが、一次転換効率についても同様の傾向がみられたため、冬季は植物プランクトンに比して動物プランクトンの生産量が小さいと考えられた。

## 2.4. 考察

食物連鎖モデルによる解析結果からは、DP 濃度が高い、あるいは植物プランクトンが多ければ魚が多くなるという関係（逆に言えば、「水清ければ魚棲まず」という関係）は明らかではなかった。一方で、一次生産量が高ければ植物プランクトンや動物プランクトンバイオマスは増加する傾向がみられた。以上より、植物プランクトンの量ではなく一次生産量をみるとことが、湖沼の健全性を測る上で重要な指標となることが示唆された。

また転換効率と生物バランスの間に有意な相関がみられたことは、動物プランクトンやプランクトン食性魚に食べられやすい餌生物が存在することが、「水がきれいで魚が豊かである」環境のために重要であることを示している。近年琵琶湖では植物プランクトン種の変遷が見られており、このことが食物連鎖を通じて水質や魚類資源に影響を与えている可能性が示唆された。

琵琶湖流域水物質循環モデルを用いることで、呼吸効率や転換効率といった物質循環の円滑さを表す指標の季節変動やその要因を詳細に解析できることが明らかになった。一方で各生物種のバイオマスや生産量の季節変動については観測データの取得を含めさらなる検証が必要と考えられた。



図 2-9 炭素フローと呼吸効率（北湖全体）

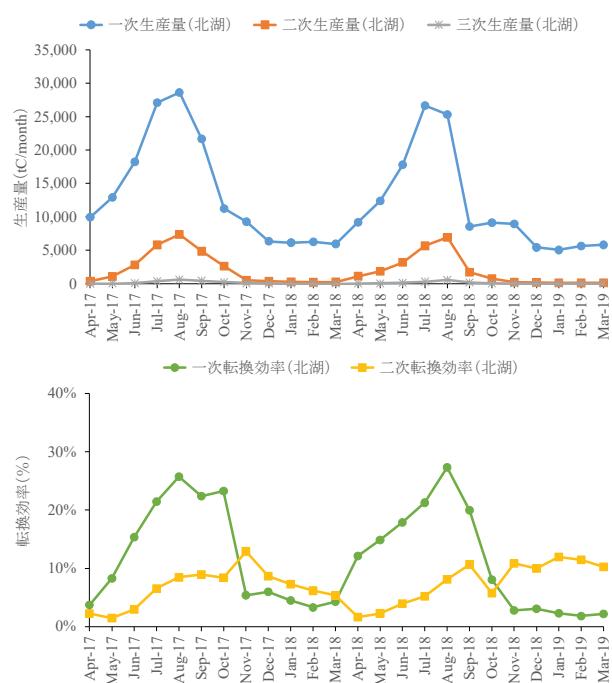


図 2-10 生産量と転換効率（北湖全体）

## 2.5. まとめ

本研究では、「湖沼の健全性」を評価する上で「湖沼内での物質循環が円滑であること」に着目し、物質循環の円滑さを表す以下 3 つの指標を提案した。すなわち、①「過不足がない」：呼吸効率（=群集総呼吸量／一次生産量等）、②「滞りがない」：転換効率（=二次生産量／一次生産量等）、③「偏りがない」：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）である。

次に、琵琶湖とその流域における物質循環を再現できる

2種類の数理モデルを構築し、それら指標の現状や指標間の関係を解析した。食物連鎖モデルを用いた結果からは、栄養塩の濃度や植物プランクトンと魚の関係は明確ではなかった。一方で、転換効率と生物バランスの間に有意な相関がみられたことから、動物プランクトンやプランクトン食性魚に食べられやすい餌生物が存在することが、「水がきれいで魚が豊かである」環境のために重要であると考えられた。

琵琶湖流域水物質循環モデルを用いた結果からは、呼吸効率については季節変動が少ないと、転換効率は明瞭な季節性があることなどが示唆された。

### 3. 沖帯の食物網構造からみた魚類への餌資源評価

#### 3.1. はじめに

琵琶湖において、アユやホンモロコ等の在来魚を支える餌は、ミジンコ類やケンミジンコ類等の動物プランクトンである（千葉ら、1987；Kawabata et al., 2006）。在来魚の各魚種には、餌の好みがあり、例えばアユはカブトミジンコを好んで捕食する（Kawabata et al., 2006）。一方、動物プランクトンは、植物プランクトン（以降、藻類とする）や微生物（細菌や原生動物）といった生産者を餌にする。動物プランクトンは、摂食できる餌のサイズ範囲が、種ごとに異なる（Reynolds, 1984）。各魚種の餌の好みと、動物プランクトンの種ごとに異なる餌のサイズ範囲により、生産者－動物プランクトン－在来魚へと繋がる餌の経路（食物網の構造）は、複雑になっている。よって、在来魚への餌の影響評価には、第一に、各魚種へと繋がる食物網の構造を把握することが不可欠である。

2016年以降、琵琶湖では、細胞サイズが大きい藻類、ミクラステリアス (*Micrasterias hardyi*) や、スタウラストルム (*Staurastrum dorsidentiferum*) が頻繁に大発生するようになった（Hodoki et al., 2020；滋賀県琵琶湖環境部、2020）。この様な大型藻類は、動物プランクトンの可食サイズより大きいことから（Reynolds, 1984）、動物プランクトンの餌にはなりにくいと予想される（ミクラステリアスは約 200 μm、スタウラストルムは約 65 μm）。もし、動物プランクトンの餌にならないなら、大型藻類は、在来魚へ繋がる食物網からは外れた存在となる。また、彼らの大発生で他藻類のための栄養塩が奪われ、在来魚へ渡るはずであった栄養素等の量が減っている可能性がある。しかし、大型藻類が大発生するようになった近年の琵琶湖において、大型藻類と動物プランクトンとの関係解析や、在来魚へ繋がる食物網の構造を解析した研究はない。そこで本研究では、大型藻類が、在来魚へ繋がる食物網から逸脱しているか否か

を評価するため、大型藻類を含む生産者を 3つのサイズに分け（<20 μm, 20-45 μm, 45-250 μm）、各サイズの生産者、動物プランクトン、在来魚の炭素・窒素安定同位体を 2 年以上に渡って分析した（在来魚のみ毎年 1 回）。その結果を用いて、各サイズの生産者と動物プランクトンとの関係を詳細に解析するとともに、在来魚へ繋がる現状の食物網の構造を調べた。

#### 3.2. 方法

##### 3.2.1. 生物採取と安定同位体分析

生産者と動物プランクトンは、2017～2019 年に琵琶湖北湖沖帯の南比良沖中央(12B, 水深約 60 m)で採取した。採取は、2017 年では 7 月、9 月、10 月に 1 回ずつ行い、2018 年と 2019 年では、1 年を通して、隔月 1 回あるいは毎月 1 回の頻度で行った。本研究では、生産者を藻類や微生物の粒子態有機物とし、それを藻類と微生物に分けることは不可能なため、藻類と微生物をまとめて生産者として扱った。生産者は、表層水から採取し、動物プランクトンは、メッシュサイズが 100 μm のプランクトンネットを 0 ～10 m まで鉛直引きすることで採取した。本研究では、在来魚として、琵琶湖漁業で重要なアユとホンモロコに着目した。アユは、2018 年と 2019 年の 7 月に沖すくい漁で採取した個体を、ホンモロコは、2018 年と 2019 年の 10 月に沖曳き網漁で採取した個体を堅田漁業協同組合から購入した。両魚種とも、北湖の沖帯で捕れた「成魚」を安定同位体の分析試料に使用した。

動物プランクトンの餌のサイズ範囲は種ごとに異なることから、採取した生産者を、Urabe et al. (1996) と Brönmark and Hansson (2018) を参考に、3 つのサイズ (<20, 20-45, 45-250 μm) に分画した。そのサイズ分画には、メッシュサイズが 20 μm と 45 μm の篩を使った。近年、琵琶湖で大発生し始めたミクラステリアスとスタウラストルムは、45-250 μm のサイズ分画に含まれる。各サイズに分画した湖水 0.35～12 L に含まれる生産者を、予め 5 時間 450 °C で熱処理した GF/F フィルター (Whatman) 上に捕集し、40 °C で乾燥させた。フィルター上で乾燥させた後、生産者の炭素・窒素安定同位体を、京都大学生態学研究センターの元素分析計付き質量分析計 (Thermo Fisher 社, DELTA V plus、もしくは DELTA V advantage) で測定した。

本研究では、>250 μm の動物プランクトンであるミジンコ類とケンミジンコ類に着目した。採取した動物プランクトンの中から、琵琶湖で多く見られるカブトミジンコ (*Daphnia galeata*)、プリカリア (*D. pulicaria*)、ヤマトヒゲナガケンミジンコ (*Eodiaptomus japonicus*)、ケンミジンコ類 (*Cyclopoida*) を種ごとにパストールピペットやピンセットで 150～200 個体ずつ拾い出し、超純水 (Milli-Q 水)

で洗浄した (*Cyclopoida* のみ目レベルで分類した)。洗浄した各種の動物プランクトンは、種ごとにスズカップ (SÄNTIS analytical) に入れ、40 °C で乾燥させた。乾燥させた動物プランクトンの炭素・窒素安定同位体を、生産者と同じ機器で測定した。

本研究では、アユとホンモロコを、体長でそれぞれ 3 つに分類した (アユ : 大=>8 cm、中=7-8 cm、小=<7 cm ; ホンモロコ : 大=>10 cm、中=7-10 cm、小=<7 cm)。各サイズのアユとホンモロコは、頭と背鰭の間の肉をメスで切り取り (皮と骨は除去)、それをオートクレーブ滅菌済みの 1.7 mL リングロックチューブ (BMBio) に入れ、40 °C で乾燥させた。乾燥させた肉は、粉末にした後、スズカップに入れて炭素・窒素安定同位体の分析試料とした。両魚種とも、各サイズ 5~10 個体を安定同位体の分析試料に使用した。安定同位体の分析は、生産者と同じ機器で行った。

各サイズの生産者、各種の動物プランクトン、各サイズのアユとホンモロコの安定同位体比は、国際標準物質に対する千分偏差 (δ値、単位‰) で表した (式 1)。これ以降は、炭素安定同位体比を δ<sup>13</sup>C、窒素安定同位体比を δ<sup>15</sup>N とする。

$$\delta^{13}\text{C} \text{ or } \delta^{15}\text{N} = (\text{R 試料}/\text{R 国際標準物質}) - 1] \times 1000 \text{ (式 1)}$$

ここで、R は <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C、または <sup>15</sup>N/<sup>14</sup>N を示す。国際標準物質として、炭素は Pee Dee 層のベルムナイト炭酸塩 (VPDB : <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C = 0.011180) を用い、窒素は大気中の窒素ガス (<sup>15</sup>N/<sup>14</sup>N = 0.0036765) を用いた。

魚の δ<sup>13</sup>C は、含まれる脂質の含有量によって影響を受け、誤差が生じる。本研究では、その影響をなくすため、分析で得られたアユとホンモロコの δ<sup>13</sup>C を、それぞれ沢田ら (2018) と Logan et al. (2008) の式によって補正した。

### 3.2.2. アユとホンモロコの餌選択性の解析

本研究では、琵琶湖のアユとホンモロコの餌は、ミジンコ類やケンミジンコ類等の動物プランクトンとし (千葉ら、1987 ; Kawabata et al., 2006)、各種の動物プランクトン、アユ、ホンモロコの δ<sup>13</sup>C と δ<sup>15</sup>N から、アユとホンモロコの餌選択性を解析した。餌選択性の解析は、混合モデルで行い、R version 3.6.0 (R Development Core Team) の SIAR パッケージを用いた。魚の安定同位体比の置換速度は、約 3 か月と考えられていることから (Busst and Britton, 2018 ; Winter et al., 2019)、餌選択性の解析には、餌の動物プランクトンの δ<sup>13</sup>C や δ<sup>15</sup>N として、3 か月の平均値と標準偏差を使用した。7 月に採取したアユの餌選択性の解析には、5 ~ 7 月の動物プランクトンの δ<sup>13</sup>C や δ<sup>15</sup>N の平均値と標準偏差を、10 月に採取したホンモロコの餌選択性の解析には、8 ~ 10 月の動物プランクトンの δ<sup>13</sup>C や δ<sup>15</sup>N の平均値と

標準偏差を用いた。栄養段階が 1 つ上がるごと (動物プランクトン→在来魚) の安定同位体比の濃縮係数は、炭素が 0.4 ± 1.3‰、窒素が 3.42 ± 0.99‰とした (Post, 2002)。

### 3.3. 結果

生産者の δ<sup>13</sup>C は、-31.3 ~ -13.4‰ の範囲を変動しており、毎年 5 ~ 7 月に高くなる傾向があった (図 3-1)。細胞サイズ別にみると、<20 μm と 20-45 μm は同程度の値で推移していたのに対し、45-250 μm はそれよりも高い値だった。一方、生産者の δ<sup>15</sup>N は、2.6 ~ 8.6‰ の範囲を変動しており、その変動に季節的な傾向はみられなかった。細胞サイズ別にみても、どのサイズも同程度の値で推移していた (図 3-1)。

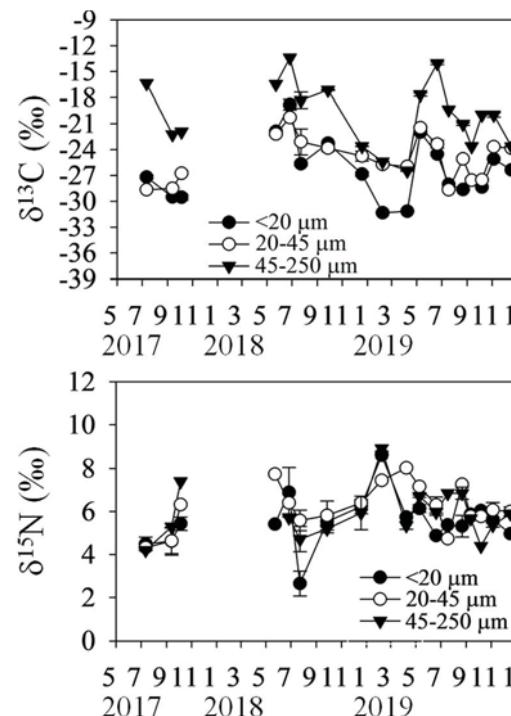


図 3-1 2017~2019 年の北湖沖帯における生産者の δ<sup>13</sup>C (上図) と δ<sup>15</sup>N (下図) の変化. 平均±SD.

動物プランクトンの δ<sup>13</sup>C は、種によってほとんど差がなかった (図 3-2)。その値は、-35.5 ~ -16.7‰ の範囲を変動しており、毎年 6 月と 7 月に高くなる傾向があった。各種の動物プランクトンの δ<sup>13</sup>C は、<20 μm や 20-45 μm 生産者の値に濃縮係数を足した範囲に、ほとんど入っていた。一方、δ<sup>15</sup>N については、カブトミジンコとプリカリア、ヤマトヒゲナガケンミジンコとケンミジンコ類が、それぞれ同程度の値で推移しており、後者の 2 種の方が、前者よりも高かった (図 3-2、カラー図表参照)。季節的には、すべての種の δ<sup>15</sup>N は、5 月 ~ 7 月に高くなる傾向があった。カブトミジンコとプリカリアの δ<sup>15</sup>N は、1 ~ 4 月と、8 ~ 12 月には各サイズの生産者の値に濃縮係数を足した範囲にほぼ入っ

ていたが、5月～7月にはその範囲より高くなる傾向があった。ヤマトヒゲナガケンミジンコとケンミジンコ類の $\delta^{15}\text{N}$ は、各サイズの生産者の値に濃縮係数を足した範囲に比べて、どの季節でも高かった。

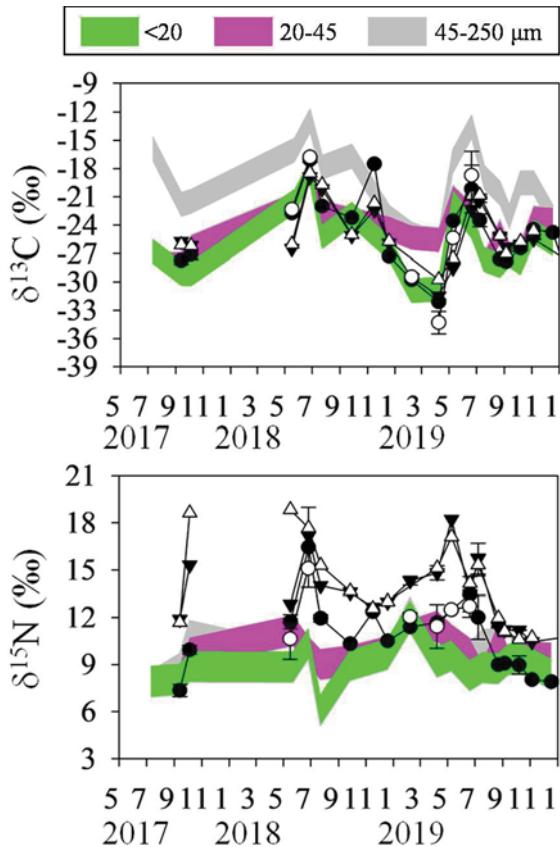


図 3-2 2017～2019 年の北湖沖帯における動物プランクトンの $\delta^{13}\text{C}$ （上図）と $\delta^{15}\text{N}$ （下図）の変化。●はカブトミジンコ、○はプリカリア、▼はヤマトヒゲナガケンミジンコ、△はケンミジンコ類。平均±SD。帯状の折れ線は、それぞれ $<20\ \mu\text{m}$ 、 $20\text{--}45\ \mu\text{m}$ 、 $45\text{--}250\ \mu\text{m}$ の生産者の $\delta^{13}\text{C}$ や $\delta^{15}\text{N}$ に濃縮係数（Post 2002）を足した範囲（カラー図表参照）。

$\delta^{13}\text{C}$  と  $\delta^{15}\text{N}$  から、2018 年 7 月と 2019 年 7 月のアユへ繋がる食物網の構造を調べた結果、 $<20\ \mu\text{m}$  や  $20\text{--}45\ \mu\text{m}$  の中小型の生産者が起点となっていた（図 3-3）。一方、ミクライアスやスタウラストルムが含まれる  $45\text{--}250\ \mu\text{m}$  の大型生産者の $\delta^{13}\text{C}$  は、両年ともアユへ繋がる食物網からは外れていた。両年とも、アユの $\delta^{13}\text{C}$  と  $\delta^{15}\text{N}$  は、体長でそれ程差はなかった。

$\delta^{13}\text{C}$  と  $\delta^{15}\text{N}$  から、2018 年 10 月と 2019 年 10 月のホンモロコへ繋がる食物網の構造を調べた結果、アユの場合と同じく、 $<20\ \mu\text{m}$  や  $20\text{--}45\ \mu\text{m}$  の中小型の生産者が起点となっていた（図 3-4）。また、 $45\text{--}250\ \mu\text{m}$  の大型生産者の $\delta^{13}\text{C}$  は、両年ともホンモロコへ繋がる食物網からは外れていた。各サイズのホンモロコの $\delta^{13}\text{C}$  と  $\delta^{15}\text{N}$  は、それ程差がなかった。

2018 年 7 月と 2019 年 7 月に捕れたアユの $\delta^{15}\text{N}$  は、両年の 5～7 月のヒゲナガケンミジンコとケンミジンコ類の平均値より低かった（図 3-3）。よって、両年の 5～7 月において、アユが上記 2 種類の動物プランクトンを捕食していたとは考えられなかったため、混合モデルによるアユの餌選択性の解析では、アユの餌からその 2 種類を除外した。アユの餌選択性を解析した結果、2018 年 7 月と 2019 年 7 月のアユの $\delta^{13}\text{C}$  と  $\delta^{15}\text{N}$  は、各年 5～7 月のカブトミジンコとプリカリアの値で有意に説明でき（95%ベイズ信用区間  $>0$ ）、2 種をそれぞれ平均約 50%の割合で餌にしていた。アユの餌選択性には、体サイズによる違いはなかった。

ホンモロコの餌選択性を解析した結果、2019 年 10 月のホンモロコの $\delta^{13}\text{C}$  と  $\delta^{15}\text{N}$  は、8～10 月のカブトミジンコ、ヤマトヒゲナガケンミジンコ、ケンミジンコ類の値で 70～90%まで説明できた。餌選択性としては、ホンモロコの餌の 50～60%はカブトミジンコであり、<30%がヤマトヒゲナガケンミジンコとケンミジンコ類であった。残り 10～30%は、本研究では調べなかった餌であった。ホンモロコの餌選択性には、体サイズによる違いはなかった。一方、2018 年 10 月のホンモロコの餌選択性は、餌生物の $\delta^{13}\text{C}$  と  $\delta^{15}\text{N}$  のデータ数が少なかったため、算出できなかった。

### 3.4. 考察

本研究では、近年に琵琶湖で大発生し始めた大型藻類が、在来魚へ繋がる食物網から逸脱しているか否かを評価するため、 $\delta^{13}\text{C}$  と  $\delta^{15}\text{N}$  により、各サイズの生産者と動物プランクトンとの関係を詳細に解析するとともに、アユとホンモロコへ繋がる現状の食物網の構造を調べた（大型藻類は大型生産者に含まれる）。本研究の様に、各サイズの生産者と動物プランクトンの $\delta^{13}\text{C}$  と  $\delta^{15}\text{N}$  を 2 年以上に渡って分析した研究は、琵琶湖ではない（国内の他湖でもない）。よって、詳細な $\delta^{13}\text{C}$  と  $\delta^{15}\text{N}$  データにより、大型藻類と動物プランクトンとの関係や、アユやホンモロコへ繋がる食物網との関係を評価した本研究の結果は、近年の琵琶湖生態系を理解するうえで貴重である。本研究で得られた結果について、次から項目ごとに考察する。

#### 3.4.1. 生産者について

本研究の結果から、生産者の $\delta^{15}\text{N}$  は、細胞サイズでは差がなかった（図 3-1）。これは、全てのサイズのものが、同じ栄養段階に属する生産者であったことを示す。一方、生産者の $\delta^{13}\text{C}$  は、サイズごとで異なり、 $45\text{--}250\ \mu\text{m}$  の大型の値が、 $<20\ \mu\text{m}$  と  $20\text{--}45\ \mu\text{m}$  の中小型よりも 1 年を通して高かった（図 3-1）。この差は、生産者の増殖速度が種類やサイズで異なっており、大型の増殖速度の方が高かった結果と考えられる（Gearing et al., 1984 ; Takahashi et al., 1991）。

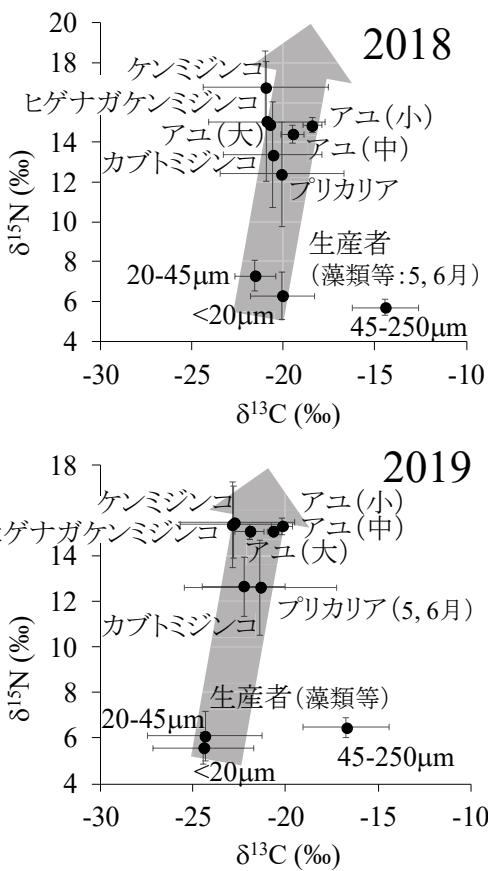


図 3-3 2018 年 7 月と 2019 年 7 月に北湖沖帯で捕れたアユと、生産者および動物プランクトンの $\delta^{13}\text{C}$  と $\delta^{15}\text{N}$  の関係。平均 $\pm\text{SD}$ 。魚の安定同位体比の置換速度との関係から、生産者と動物プランクトンの値は、5~7 月の平均値とした。矢印は、 $\delta^{13}\text{C}$  と $\delta^{15}\text{N}$  の濃縮係数から想定されるアユへ繋がる食物網。

本研究と同様に、Yamada et al. (1998) は、1993 年と 1994 年の北湖沖帯において、各サイズの生産者の $\delta^{13}\text{C}$  と $\delta^{15}\text{N}$  を調べている。彼らの結果では、 $<40 \mu\text{m}$  の生産者に比べて、 $>40 \mu\text{m}$  の大型の $\delta^{13}\text{C}$  が高かったのは、夏から秋の間だけであった。一方、本研究の 2018 年と 2019 年では、1 年を通して、 $45\text{-}250 \mu\text{m}$  の大型の $\delta^{13}\text{C}$  が高かった。本研究と Yamada et al. (1998) の大きな違いは、 $45\text{-}250 \mu\text{m}$ 、あるいは $>40 \mu\text{m}$  に含まれる大型藻類の現存量である。Yamada et al. (1998) で春と冬に調査を行った 1994 年では、2018 年と 2019 年に比べて、春と冬の大型藻類スタウラストルムの現存量が低く、またミクラステリアスも存在しない(一瀬ら、2011 ; Kishimoto et al., 2013 ; Hodoki et al., 2020 ; 滋賀県琵琶湖環境部、2020)。よって、本研究における大型生産者の高い $\delta^{13}\text{C}$  は、近年では、1 年を通して大型藻類の増殖が、活発になっていることを示していると考えられる。

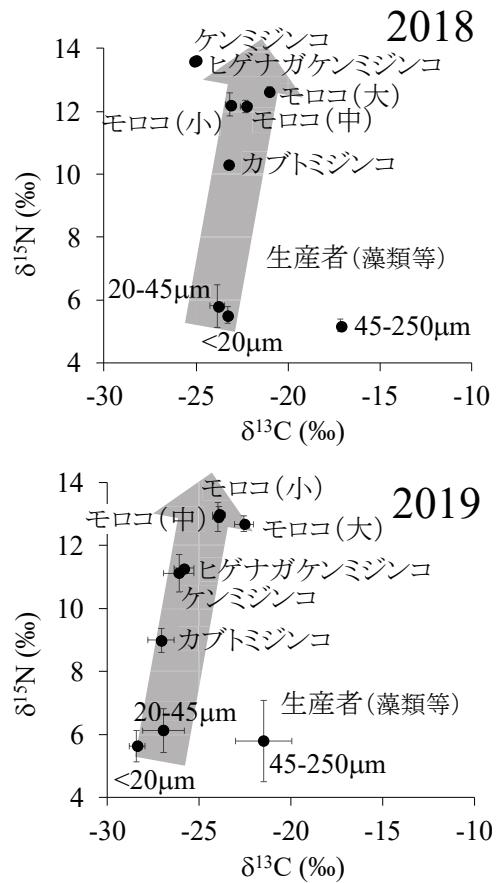


図 3-4 2018 年 10 月と 2019 年 10 月の北湖沖帯で捕れたホンモロコと、生産者および動物プランクトンの $\delta^{13}\text{C}$  と $\delta^{15}\text{N}$  の関係。平均 $\pm\text{SD}$ 。魚の安定同位体比の置換速度との関係から、生産者と動物プランクトンの値は、8~10 月の平均値とした。矢印は、 $\delta^{13}\text{C}$  と $\delta^{15}\text{N}$  の濃縮係数から想定されるホンモロコへ繋がる食物網。

### 3.4.2. ミジンコ類の餌について

カブトミジンコやブリカリ亞といった *Daphnia* 属のミジンコは、主に 1~50  $\mu\text{m}$  の藻類を食べる一次消費者と考えられている (Reynolds, 1984 ; Brönmark and Hansson, 2018)。本研究でも、カブトミジンコとブリカリ亞の $\delta^{13}\text{C}$  と $\delta^{15}\text{N}$  は、 $<20 \mu\text{m}$  や 20-45  $\mu\text{m}$  の中小型生産者の値に濃縮係数を足した範囲にほとんど入っており、その 2 種のミジンコが、中小型の藻類等を食べていたことを示す結果となった(図 3-2)。これに対し、2 種のミジンコの $\delta^{13}\text{C}$  は、45-250  $\mu\text{m}$  の大型生産者の値に濃縮係数を足した範囲からは外れており、大型生産者をほとんど食べないと考えられた。これらのミジンコの食性に関する結果は、多くの既存研究の結果を支持している (e.g. Yamada et al., 1998 ; Yoshida et al., 2001)。一方、夏には、カブトミジンコとブリカリ亞の $\delta^{15}\text{N}$  が、中小型生産者の値に濃縮係数を足した範囲を超えることがあった。この理由としては、次の 2 つが考えられる。

① 餌からミジンコの $\delta^{15}\text{N}$  の濃縮率は、通常  $3.42 \pm 0.99\text{\%}$

だが(3.2.2.参照)、C:Nの高い餌(質の低い餌)をミジンコが食べると、 $\delta^{15}\text{N}$ の濃縮率が約6‰まで上がる(Adams and Sterner, 2000)。夏にミジンコの $\delta^{15}\text{N}$ が上昇するのは、質の悪い餌を食べていることを示しているのかもしれない。

- ② 琵琶湖では、本研究で調査した表層より、20 m以深の方が生産者の $\delta^{15}\text{N}$ が高い(Tanaka et al., 2010)。夏にミジンコの $\delta^{15}\text{N}$ が上昇するのは、ミジンコが深い水深まで移動し、そこで餌を食べていることを示しているのかもしれない(ミジンコが鉛直移動した結果)。この様な理由が考えられるが、検証は今後の課題である。夏にミジンコの $\delta^{15}\text{N}$ が上昇することを捉えたのは、本研究が初めてである。その理由は未解明だが、 $\delta^{15}\text{N}$ が上昇することから、夏にミジンコが食べる餌の質が、近年に変化したと考えられる。

### 3.4.3. ケンミジンコ類の餌について

本研究でヤマトヒゲナガケンミジンコとケンミジンコ類の $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{15}\text{N}$ を調べた結果、 $\delta^{13}\text{C}$ は<20 μmや20-45 μmの中小型生産者の値に濃縮係数を足した範囲にほとんど入っていたのに対し、 $\delta^{15}\text{N}$ は各サイズの生産者に濃縮係数を足した範囲より高かった(図3-2)。この結果から、2種類のケンミジンコは、<20 μmや20-45 μmの中小型生産者を起点とする食物網に入っており、その生産者を餌にする何かしらの生物を食べていたと考えられる。実際、この2種類のケンミジンコは、<20 μmの小型の生産者を餌にする繊毛虫やワムシ類を食べることが知られている(Yamada et al., 1998; Yoshida et al., 2001)。よって、本研究の結果は、近年の琵琶湖においても、彼らが、<20 μmの生産者を餌にする繊毛虫やワムシ類を食べていたことを示していると考えられる。

### 3.4.4. アユやホンモロコへ繋がる食物網について

2018年7月と2019年7月では、アユへ繋がる食物網は、<20 μmや20-45 μmの中小型生産者が起点となっていた(図3-3)。また、アユは、カブトミジンコとプリカリアを平均約50%ずつの割合で食べていた。琵琶湖のアユがカブトミジンコを選択的に捕食することは、Kawabata et al. (2006)等の研究で知られている。一方、プリカリアは、1999年に初めて琵琶湖で観察されたようになった侵入種であり(Urabe et al., 2003)、アユ等の在来魚との関係は研究されていない。よって、本研究の結果は、侵入後に琵琶湖で定着したプリカリアが、アユの餌になっていることを示す貴重な情報である。一方、本研究の結果から、45-250 μmの大型生産者は、アユへ繋がる食物網からは外れた存

在であることが分かった(図3-3)。45-250 μmの大型生産者には、近年に大発生するようになったミクラステリアスやスタウラストルムが含まれる。アユへ繋がる食物網から外れているということは、大型藻類が中小型生産者の栄養塩を奪い、アユへ渡るはずの栄養素等の量を減らしている可能性がある。今後、そのような栄養素等の損失が生じているのかを、詳細な調査・実験で調べる必要がある。

アユへ繋がる食物網と同じく、2018年10月と2019年10月のホンモロコへ繋がる食物網は、<20 μmや20-45 μmの中小型生産者が起点となっており、45-250 μmの大型生産者はその食物網から外れていた(図3-4)。この結果は、ミクラステリアスやスタウラストルムの大発生により、ホンモロコへ渡る栄養素等も、減少している可能性があることを示している。この可能性も、今後、検証する必要がある。一方、本研究の結果から、ホンモロコの餌の50~60%はカブトミジンコであり、餌の<30%がヤマトヒゲナガケンミジンコとケンミジンコ類であることが分かった。琵琶湖のホンモロコの食性については、ほとんど知見がない(千葉ら 1987)。よって、本研究の結果は、ホンモロコの食性を明らかにした貴重な知見と言える。

### 3.5. まとめ

カブトミジンコとプリカリアの $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{15}\text{N}$ を調べた結果、その $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{15}\text{N}$ は、<20 μmや20-45 μmの中小型生産者の値に濃縮係数を足した範囲内にほとんど入っており、中小型の生産者を食べていたと考えられた。これに対し、2種のミジンコの $\delta^{13}\text{C}$ は、45-250 μmの大型生産者の値に濃縮係数を足した範囲からは外れており、大型生産者をほとんど食べないと考えられた。一方、夏には、カブトミジンコとプリカリアの $\delta^{15}\text{N}$ が、中小型生産者の値に濃縮係数を足した範囲を超えることがあった。その理由は未

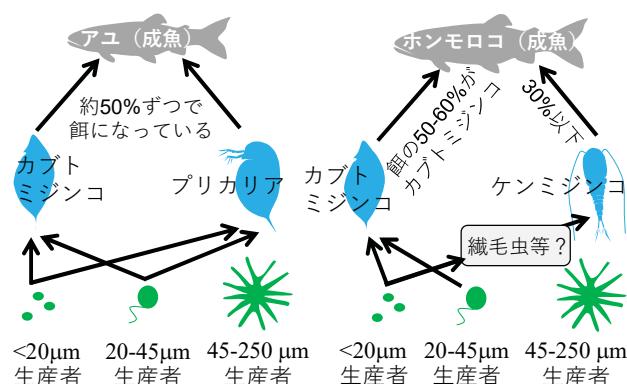


図3-5  $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{15}\text{N}$ から解析したアユ(左)やホンモロコ(右)へ繋がる食物網。各魚種の餌選択性は、混合モデルで算出。<20 μm生産者—繊毛虫等—ケンミジンコの経路は $\delta^{15}\text{N}$ や既存知見より推定。

解明だが、 $\delta^{15}\text{N}$  が上昇することから、夏にその 2 種のミジンコが食べる餌の質が、近年に変化したと考えられた。

ヤマトヒゲナガケンミジンコとケンミジンコ類の $\delta^{13}\text{C}$  と $\delta^{15}\text{N}$  を調べた結果、 $\delta^{13}\text{C}$  は $<20\ \mu\text{m}$  や $20\text{--}45\ \mu\text{m}$  の中小型生産者の値に濃縮係数を足した範囲にほとんど入っていたのに対し、 $\delta^{15}\text{N}$  は各サイズの生産者に濃縮係数を足した範囲より高かった。この結果から、2 種類のケンミジンコは、 $<20\ \mu\text{m}$  の小型の生産者を餌にする纖毛虫やワムシ類を食べていたと考えられた。

本研究によるアユやホンモロコへ繋がる食物網は、図 3-5 のようになった。アユの場合は、 $<20\ \mu\text{m}$  や $20\text{--}45\ \mu\text{m}$  の中小型生産者—カブトミジンコやプリカリアーアユといった食物網になっていた。一方、ホンモロコの場合は、 $<20\ \mu\text{m}$  や $20\text{--}45\ \mu\text{m}$  の中小型生産者—カブトミジンコやケンミジンコ—ホンモロコという食物網になっていた。大型藻類ミクラステリアスやスタウラストルムを含む $45\text{--}250\ \mu\text{m}$  の大型生産者は、いずれの食物網からも外れていた。このことから、大発生した大型藻類は、中小型生産者の栄養塩を奪い、アユやホンモロコへ渡るはずであった栄養素等の量を減らしている可能性があると考えられた。

## 4. 琵琶湖における有機物収支の把握

### 4.1. はじめに

2016~18 年度に環境省環境研究総合推進費の助成を受けて「琵琶湖における有機物収支の把握に関する研究」(以下「推進費研究」という。) を実施した。本章では、この研究を中心に得られた成果の概要を紹介する。研究の詳細については、独立行政法人環境保全再生機構の Web サイト上に終了研究成果報告書が掲載されているので、そちらを参照していただきたい(滋賀県琵琶湖環境科学研究所センター、2019)。

### 4.2. 推進費研究の主な成果

推進費研究は、以下のような趣旨で実施した。

水質保全と在来生物群集の回復という両者のバランスをとるため、湖内の有機物質の収支を把握することが重要である。そこで、琵琶湖における一次生産、細菌生産、動物プランクトンの生産について測定を行い、水域内の食物連鎖にかかる物質循環の特性や問題点を明らかにした。さらに有機炭素フローの把握から、湖沼環境の現状に合わせて的確かつ効率的な水質管理や生態系管理が実現できるよう、湖の生産性の測定手法や管理指標を検討した。

3 年間の研究で様々な知見が得られたので、要点をおさえつつ以下に記した。(◆は推進費研究で得られた知見)

### 4.2.1. 有機物収支と食物連鎖の特徴

湖沼生態系の食物連鎖には、植物プランクトンを動物プランクトンが捕食し、それを魚類が捕食する生食食物連鎖だけでなく、細菌群集を起点に纖毛虫や鞭毛虫などの原生動物が細菌を捕食し、さらに動物プランクトンの捕食へつながる微生物食物連鎖が存在する(図 4-1)。近年の琵琶湖は富栄養化が抑制されつつあり、植物プランクトンによる一次生産量や動物プランクトンの減少、さらに餌資源の減少により水産資源にも影響のあることが懸念されている(酒井ら、2015)。貧栄養下の食物網では、一次生産の減少によって相対的に微生物食物連鎖の重要性が増すとの説があり(加藤・増田、2014)、微生物食物連鎖による湖内の物質循環への寄与が注目された。そこで、植物プランクトンや細菌の生産量等を測定してデータを蓄積するとともに、各生物の生産量と現存量から関係性を考察した。

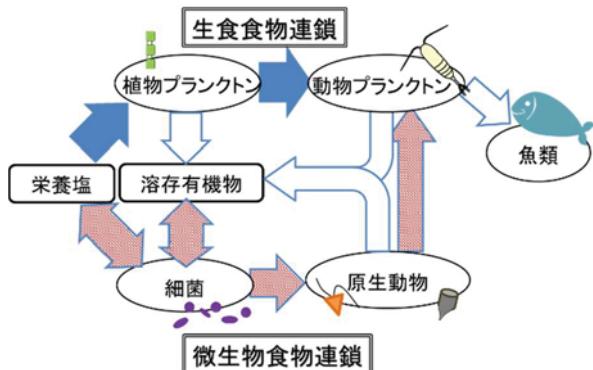


図 4-1 生食食物連鎖と微生物食物連鎖の概念図

◆琵琶湖における植物プランクトン、動物プランクトン、細菌の生産性に関して、先進の各実測法を確立した。各実測値にもとづく琵琶湖沖帯の有機炭素収支を概算すると、細菌がもつ炭素要求量(総生産力)は一次生産量の約 50% に相当していた。しかし細菌の呼吸を引いた細菌生産量(純生産力)は小さく、微生物食物連鎖の上位の捕食者への有機物供給は乏しいことが明らかとなった。

◆細菌や原生生物の捕食による動物プランクトンの成長や生産を評価するため、培養・野外実験を行った結果、例外はあるものの、琵琶湖の動物プランクトンの生産性は、細菌や原生生物よりも植物プランクトンの捕食で高いことを見出した(永田ら、2017)。

以上のことから、琵琶湖の物質循環の現状は、食物連鎖における高次捕食者(魚類等)への物質伝達には、微生物食物連鎖より生食食物連鎖が主体であると判断された。そのため、餌不足を解消するための魚類等の保全には、動物プランクトンを増やすこと、さらに動物プランクトンに食べられやすい $45\ \mu\text{m}$  以下のサイズの植物プランクトンを増やすことが重要と考えられた。

#### 4.2.2. 物質循環のフローを測定する新手法

本研究では、物質循環のフローを測定するための新手法を確立した。これらの新手法は、湖沼において物質循環を基礎とした水質管理を行う上で有用である。以下にその新手法とその成果を列記した。

◆パルス変調式クロロフィル励起蛍光法などの光学的手法を組み合わせて、連続の一次生産速度の測定法を確立し、季節変動や気象イベントに応答する大型緑藻などの植物プランクトンの一次生産速度の変化を観測できた。これらは従来の測定法では捉えることができなかつた現象で、琵琶湖における水質や一次生産を考える上で有用な知見となった（図4-2）。

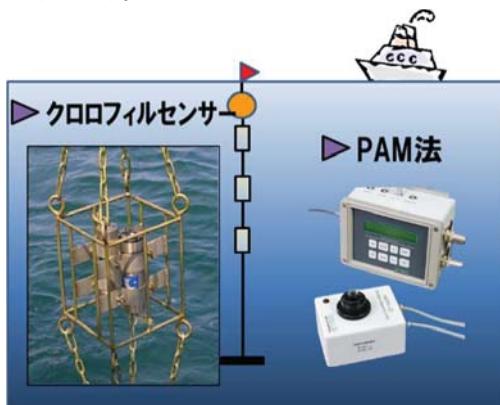


図4-2 一次生産の光学的測定法（イメージ）

◆細菌の生産量測定法について、<sup>15</sup>N-デオキシアデノシン法を用いた細菌生産の定量が確立し、これまでに現場での測定が困難であった細菌生産に関して、国内に類を見ない多地点、多頻度の細菌生産測定を行えるようになった（図4-3）。その結果、これまで知られていなかった琵琶湖内の地点間や深さ方向の細菌活性の違い、長期的な琵琶湖の細菌生産の減少を明らかにした（Tsuchiya et al., 2020）。

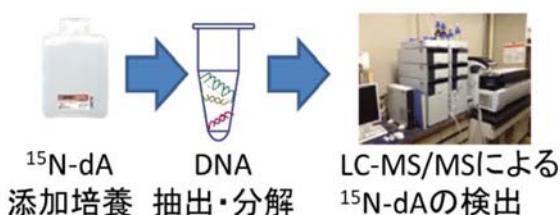


図4-3 細菌生産量の測定法（イメージ）

◆細菌と原生生物の現存量と種・グループレベルでの群集組成をメタゲノミクス解析によって空間・季節的に詳細に明らかにして、新規未培養細菌の一大系統群を含む琵琶湖の細菌群集の多様性の高さを見出した（Okazaki et al., 2017; Mukherjee et al., 2017）。

◆D-アミノ酸バイオマーカーを用いた、細菌由來の溶存有

機物の寄与度定量法を、分析法開発と微生物培養実験により、湖沼環境でも適用可能なアプローチとして新たに確立した。琵琶湖湖水のD-アミノ酸分析から、湖水DOM（溶存有機物）の生成源として細菌の寄与が重要であることが分かった。特に難分解性DOMには、細菌が30-40%程度寄与していた。つまり、湖水DOMには、細菌および植物プランクトン等の、少なくとも二種類の異なる生成源が存在した。

◆有機物の生分解性を評価する分析手法としてBOD（生物化学的酸素要求量）があるが、琵琶湖においては従来の5日間の培養期間（BOD<sub>5</sub>）では測定下限値である0.5mg/L未満となることが頻発し、精度に問題があった。そこで培養期間を28日間（BOD<sub>28</sub>）に延長することにより、酸素消費量が約3倍となり、多くの試料で測定下限値を上回り、精度よく測定することができた（図4-4）。BOD<sub>28</sub>とBOD<sub>5</sub>の比率の変動は、水中の有機物が大きく変化する植物プランクトンの増殖と関係なく、BOD<sub>5</sub>が0.2mg/L以下でばらつきが大きくなつた。このことは、BOD<sub>5</sub>が0.2mg/L以下では精度を確保できていないことを示唆した（図4-4）。

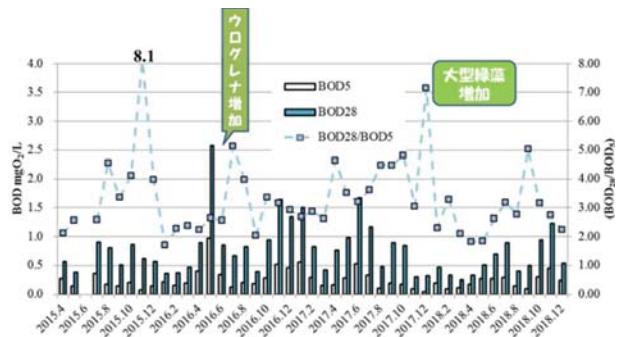


図4-4 北湖今津沖中央におけるBOD<sub>5</sub>とBOD<sub>28</sub>、およびBOD<sub>28</sub>/BOD<sub>5</sub>比の経月変動

#### 4.2.3. 有機物指標の整理

水質改善の進む湖沼においても生態系の搅乱が続いていること、公共用水域の環境保全には、生態系保全を含めた新たな水質管理の枠組みを構築する必要がある。湖沼における生態系の状態を把握する1つの方策には、生態系を介した栄養素や有機物のネットワークとエネルギーのフラックスを解析することである（Reyjol et al., 2014）。例えば、生態系における食物網の把握には、各栄養段階におけるエネルギーと栄養元素（窒素、リン）の効率が議論される。一方で、水質保全にも水中の窒素やリンなどの栄養塩類と有機物の制御が求められる。両者において栄養元素や有機物は共通することから、湖沼における栄養・有機物のフラックス、すなわち物質循環の解析が新たな水質管理手法への有効な手段となることが期待される。その第一歩として、有機物量を示す有機炭素の現存量（ストック）と移流量（フロー）を可視化した環境評価の活用があげられる。

湖沼における有機汚濁の指標には COD（化学的酸素要求量）が用いられてきたが、全有機炭素（TOC）を用いる有用性が見えにくかった。そこで本研究では、過去に琵琶湖流域で調査された COD と TOC データについて関係を整理した（早川ら、2018）。COD は、TOC と相関があり、相対的に有機汚濁のレベルを示す指標としては有効であった。しかし、生分解時の酸素消費量と COD は等量ではないことや、試料の濃度や質（懸濁物）の違いにより COD に差が出ることが確認された（図 4-5）。例えば、懸濁粒子を含む湖水の COD 測定では、TOC に比べて測定値が低いことから、粒子を含む COD の測定では酸化効率が低下して過少評価になる（図 4-5）。以上のことから、水環境の有機物量を正確に示すには TOC を用いるべきである。

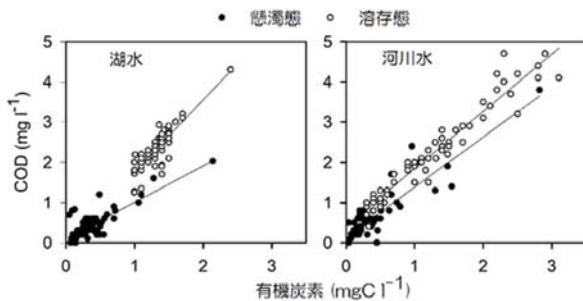


図 4-5 湖水と流域河川水における懸濁態と溶存態に分った COD と TOC の関係性。

その TOC も、燃焼酸化式 TOC 計による懸濁物を含む試料の測定では、正確性が落ちることがあるため、測定方法の改善手法も提案した（早川ら、2019）。燃焼酸化式 TOC 計

による測定では、超音波ホモジナイズによって懸濁物を破碎することで、分散した物質の均質化を促し、TOC 測定値の精度を向上できる。また、試料の注入シリング内や機器内の経路の減失を少なく設計された TOC 計を用いる、TOC 燃焼酸化方式にある NPOC 法と TC-IC 法の 2 つの測定方法を試料濃度によって使い分ける、などにより測定精度が向上する（早川ら、2019）。

以上のことから、公共用水域の生態系保全との両立を目指す新たな水質管理の枠組みには、水質だけでなく生物量の指標にもなる有機炭素が循環を見る物差として活用を期待できる。総括的な研究の概要をポンチ絵（図 4-6）にまとめた。

### 4.3. 環境行政への提案

また、この環境研究総合推進費の研究では、得られた研究成果を環境省等の行政が行う政策立案につなげるために「政策決定者向けサマリー」を作成して提出した。サマリーは Web サイト上で公開されていないため、以下にその提案を紹介する。

#### 【公共用水域における有機炭素の計測について】

水質改善の進む湖沼においても生態系の搅乱が続いていることから、公共用水域の環境保全には、生態系保全を視野に入れた新たな水質管理の枠組みを構築する必要がある。そのためには、水質だけでなく生物量の指標にもなる有機炭素の計測を現状の COD による水質モニタリングに併用して始めるべきである。

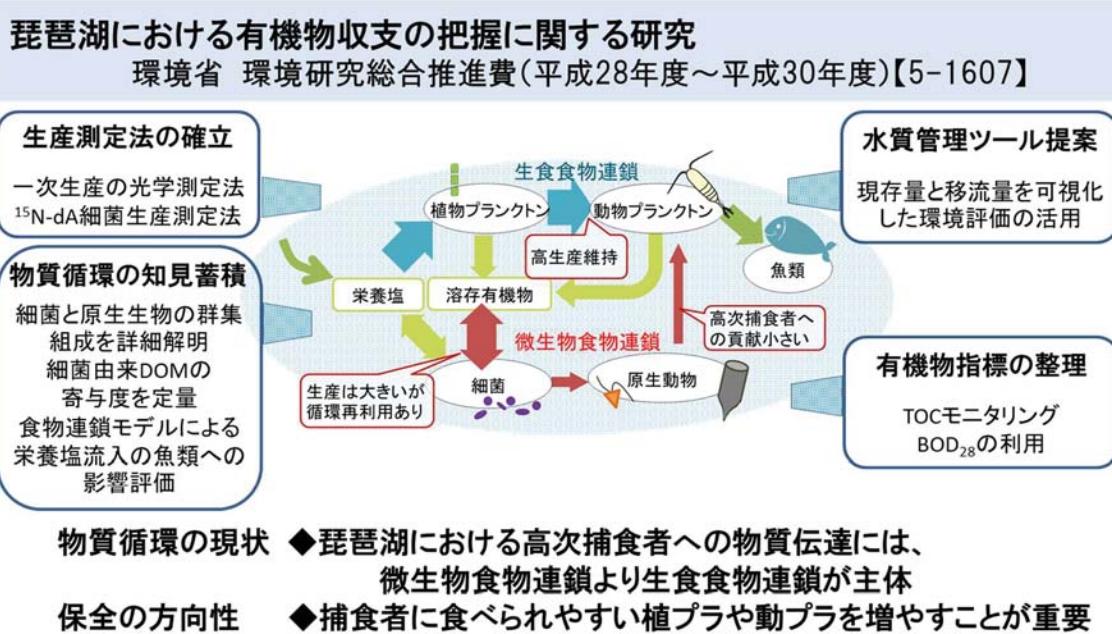


図 4-6 「琵琶湖における有機物収支の把握に関する研究」のポンチ絵。滋賀県琵琶湖環境科学センター（2019）を改訂

#### 【魚類の増加を目的とした栄養塩の負荷について】

湖沼において魚類の増加を目的とした栄養塩の負荷増・添加は、植物プランクトンの増加にはつながるもの、それに比した魚類の増加がない、あるいは増加対象でない魚種が増えるなど、望まない結果をもたらす可能性があることに留意すべきである。

#### 【公共用水域モニタリングにおける光学的測定について】

植物プランクトンの一次生産速度と現存量等に関する光学的測定法は、湖沼や閉鎖性海域における植物プランクトン群集動態のモニタリングに活用できる。一次生産量は、水域の健全性を考える上でも重要な要素であることから、今後、水質管理と水産資源管理のそれぞれの部局において、本技術の活用について検討を進めるべきである。

#### 【湖沼の新たな水質管理のあり方について】

水域の総合的な視点に基づく効果的な水環境保全施策を進めるために、有機炭素による現存量（ストック）と移流量（フロー）を可視化した環境評価の活用を提案する。特に水質保全と生態系保全の両立のためには、基礎生産のうち栄養段階が上位の生物（動物プランクトン、魚類等）に回る割合（転換効率）を増やすことが重要であることから、今後ストックとフローを考慮した環境評価の実用化に向けて、一次生産等の測定の導入や生態系モデルを用いた収支推定の利用などを検討すべきである。

琵琶湖における第7次湖沼水質保全計画では、すでにTOCを指標として活用されている。これ以外にも本サマリーが水環境の政策立案検討の参考となり、さらなる環境政策や研究への発展につながることを期待する。

## 5. 物質循環の状況把握手法

### 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、数十日スケールで生分解される準易分解性有機物がほとんどを占める。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にも、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）。第四期中期計画では、有機物の起源や生分解過程の評価の手法のひとつとして、炭素安定同位体比 ( $\delta^{13}\text{C}$ ) 分析を試みた

(金ら, 2018)。しかし、難分解性有機物と易分解性有機物それぞれの起源や、有機物の難分解/易分解比率が時空間的に変化するメカニズムについては、不明点がまだ数多く残されていた。

一つ目の大きな課題として、有機物の起源推定の手法に不確定性が残っている。琵琶湖北湖では、湖水 DOC の  $\delta^{13}\text{C}$  値の水深別・季節別分布と、流入河川水 DOC の  $\delta^{13}\text{C}$  値が報告されており、表層湖水の易分解性 DOC (LDOC) は、主に湖内生産由来と推定されている (Maki et al., 2010)。一方で、難分解性 DOC (RDOC) の主要起源として、湖内生産由来と陸域由来について、 $\delta^{13}\text{C}$  値からは区別が難しいとされてきた。そのため Maki et al. (2010) も、仮定として、天然の水中 DOC (深水層湖水や河川水) の値を、湖水中および陸域由来 RDOC の代表として用いている。つまり、RDOC の  $\delta^{13}\text{C}$  値は直接測定されておらず、DOC 起源推定には不確定性が残っていた。第四期では、2014年11月～2016年2月の琵琶湖の様々な地点の湖水について、100日生分解試験から、RDOC と LDOC それぞれの  $\delta^{13}\text{C}$  値を報告した (金ら, 2018)。湖水 RDOC の  $\delta^{13}\text{C}$  値は -26 ‰前後となり、Maki et al. (2010)による琵琶湖北湖の推定値と近い傾向が得られた。しかし琵琶湖では近年、2016年に大型緑藻ミクラステリアス・ハーディのブルームが起きるなど、湖内の物質循環・生態系に変化がみられており、有機物の動態をさらに調べる必要が生じてきた。また、第四期では、西の湖の湖水についても同様に生分解試験を行い、陸域由来 RDOC の値を推測した。しかし、流入河川水 DOC の値を西の湖湖水 DOC が代表できるかどうかは不明だった。

二つ目の課題として、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）よりも迅速な把握手法が必要となっている。DOC については、分子サイズ分布が生分解性の指標になる可能性がある。これまで様々な水圏環境において、DOC 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 DOC が分解を受けて、難分解な低分子 DOC に徐々に変換していくとするモデル) が提唱されている (Amon & Benner, 1996; Benner & Amon, 2015)。しかし従来、天然レベル濃度の水圏環境 DOC 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。

これらの知見を背景として、本研究（第五期中期計画）ではまず、湖中有機物の起源特定に向けたさらなる手法開発を目的として、 $\delta^{13}\text{C}$  分析を用いた研究を継続した。2016年5月～2017年2月と、2018年8月の琵琶湖北湖

17B 地点の表層湖水について、生分解試験試料の  $\delta^{13}\text{C}$  値を分析し、第四期の結果と合わせて、経年的な変化を追跡した。DOC に加えて、POC についても、生分解性と  $\delta^{13}\text{C}$  値の関係性について調べた。大型緑藻が POC と DOC の動態に与える影響も、 $\delta^{13}\text{C}$  値から考察した。さらに、野洲川河川水についても同様に生分解試験を行い、琵琶湖流入河川水に含まれる陸域由来 RDOC の  $\delta^{13}\text{C}$  値を初めて実測した。

本研究では次に、湖水中有機物の難分解/易分解比率を迅速に把握できる手法開発を目的として、DOC の分子サ イズ分析に着目して研究を進めた。琵琶湖湖水および野洲川河川水の DOC について、長期生分解実験により分子サ イズ別に有機炭素生分解速度を推定した。その結果に基づき、DOC の分子サ イズ分布を指標として、DOC の生分解性を迅速に把握できる可能性について考察した。

## 5.2. 方法

### 5.2.1. 水試料の採取

2016 年 5 月～2017 年 2 月の各季節（春：5 月、夏：8 月、秋：11 月、冬：2 月）に、琵琶湖北湖の今津沖中央（17B：湖底水深 89m）において、調査船「びわかぜ」により、表層（水深 0.5m）の琵琶湖湖水を採水した。2018 年 8 月には、同地点の表層（水深 5 m）において、同様に琵琶湖湖水を採水した。琵琶湖湖水の採取日は、それぞれ図 5-4 に記載した。琵琶湖への流入河川の代表として、野洲川の河口付近の河川水を、2019 年 8 月 9 日に服部大橋でステンレス製バケツを用いて採水した。

### 5.2.2. 有機物の長期生分解試験

2016 年 5 月～2017 年 2 月に採取した琵琶湖湖水については、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で、100 日間の生分解試験を行った。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; 金ら, 2018）。ポリカーボネート製 Nalgene 容器は事前に、ペルオキソ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。

2018 年 8 月採取の琵琶湖湖水と、2019 年 8 月採取の野洲川河川水は、まず採水後にプランクトンネット（150 μm メッシュ、超純水で洗浄済）を用いて 150 μm 以上の粗大粒子とプランクトンを除去した。その後、上記と同様の手法で、有機物の生分解試験を行った。2L ポリカーボネート製容器は、生分解実験の試料数本を準備し、1 本ずつ 2L 全量を濾過に用いた。再現性を確認するための各日の繰り返し試料数は、それぞれ 2 点とした。

### 5.2.3. 水試料の濾過と有機物の定量

琵琶湖湖水のうち 2016 年 5 月～2017 年 2 月の生分解試験では、0、7、28、100 日目の試料について、ガラス製 GF/B フィルター（Whatman、直径 47mm、孔径 1.0 μm、450°C で 2 時間加熱済）で濾過を行い、粒子状有機物と溶存態有機物に分けて採取した。

2018 年 8 月採取の琵琶湖湖水と、2019 年 8 月採取の野洲川河川水の生分解試験では、より高い時間解像度かつ長期間の変化を追跡するために、それぞれ 0、1、3、9、16、23、30、53、101、205、402 日目と、0、7、12、26、53、102、202 日目の試料について、濾過を行った。DOC 分子サ イズ分析など他の有機物分析項目にも試料を用いるため、従来の生分解試験とは、濾過の手法も変更した。湖水と河川水の 0 日目試料は、採取当日に、ナイロン製プランクトンネット（150 μm メッシュ、超純水で洗浄済）、ガラス製 GF/F フィルター（Whatman、直径 47mm、孔径 0.7 μm、450°C で 5 時間加熱済）、ポリカーボネート製 Nuclepore フィルター（Whatman、直径 47mm、孔径 0.2 μm、酸洗浄済）を用いて、三段階の濾過で粒子状有機物と細菌細胞を除去し、溶存態試料 (<0.2 μm) を採取した。生分解試験の試料水は、GF/F フィルター（同上）と Nuclepore フィルター（同上）の二段階の濾過で、溶存態試料を採取した。溶存態試料は、ポリプロピレン製容器（アルカリ・酸洗浄済）に入れて、-30°C で冷凍して保存して、後日の  $\delta^{13}\text{C}$  分析と分子サ イズ分布分析に用いた。

バルク DOC 濃度は、全有機炭素計 TOC-L または TOC-V（島津製作所）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。

### 5.2.4. 炭素安定同位体比の測定

DOC と POC の  $\delta^{13}\text{C}$  分析は、国立環境研究所湖沼・河川環境研究室の元素分析計連結型安定同位体比質量分析計（EA-IRMS : Flash EA1112/Conflo III/Delta Plus Advantage, Thermo Finnigan）を用いて分析した。本装置は Ogawa et al. (2010) の手法を一部使用して、細管仕様の燃焼管と還元管を用いることで、 $\delta^{13}\text{C}$  分析を通常仕様よりも高感度化されている。炭素同位体比の値は、国際標準物質（Vienna Pee Dee Belemnite: VPDB）に対する偏差の千分率（‰）で示す。2016 年 5 月～2017 年 2 月の琵琶湖湖水の試料は DOC と POC の両方について、2018 年 8 月採取の琵琶湖湖水と、2019 年 8 月採取の野洲川河川水の試料は DOC のみについて、 $\delta^{13}\text{C}$  分析の結果を示す。

DOC 試料の前処理ではまず、50mL 程度の水試料をポリプロピレン製容器に入れたまま凍結乾燥処理した後、塩酸

蒸気にさらして無機炭素を除去した。その容器の底に残存した有機物を、GF/B または GF/F フィルター（450°C 加熱済）の 5mm 四方程度の小片に付着させて採取して、フィルター小片をスズカップに包んで分析に用いた。POC 試料の前処理ではまず、乾燥処理したガラス製フィルターを塩酸蒸気にさらして無機炭素を除去して用いた。そのフィルターの濾過上方側の表面をピンセットではがし、スズカップに包んで分析に用いた。

$\delta^{13}\text{C}$  分析では、約 100 日経過後の試料の有機物を、RDOC および難分解性 POC (RPOC) と定義した。難分解性画分と易分解性画分の二成分混合モデルを仮定して、0 日目から約 100 日後にかけての濃度と  $\delta^{13}\text{C}$  値の変化から、LDOC と易分解性 POC (LPOC) の  $\delta^{13}\text{C}$  値を算出した。

### 5.2.5. 溶存有機炭素の分子サイズ分布分析

2018 年 8 月採取の琵琶湖湖水と、2019 年 8 月採取の野洲川河川水の生分解試験の溶存態試料について、国立環境研究所琵琶湖分室が独自に開発したサイズ排除クロマトグラフ全有機炭素計 (SEC-TOC) を用いて、Shimotori et al. (2016) の手法により、DOC の分子サイズ分布を測定した。分子量 10 万 Da 程度のピークを高分子 DOC、分子量数百～数千 Da 程度のピークを低分子 DOC と定義した（後述の図 5-6 参照）。

高分子 DOC については、検出限界以上の濃度データが得られた経過時点まで（琵琶湖表層湖水は 53 日目、野洲川河川水は 26 日目まで）、「生分解過程は分解速度定数が一定の一次反応として近似できる」との仮定を置いて、指數関数近似により分解速度定数を算出した。低分子 DOC とバルク DOC については、数百日スケールの難分解性画分 (RDOC) と準易分解性画分 (SLDOC) の二成分混合モデルを仮定して、SLDOC の濃度を算出した。琵琶湖表層湖水は 402 日目、野洲川河川水は 202 日目の濃度を RDOC の値とした。このため、 $\delta^{13}\text{C}$  分析とは、RDOC の定義が異なっている。低分子 SLDOC とバルク SLDOC について、高分子 DOC と同様に分解速度定数を算出した。

## 5.3. 結果

### 5.3.1. 炭素安定同位体比測定による琵琶湖における有機物フローの状況把握手法の検討

2016 年度に採取した琵琶湖湖水について生分解試験を行った結果、17B 表層の DOC の  $\delta^{13}\text{C}$  値は、約 100 日間の分解過程において、夏季を除いて横ばいもしくは低下していく傾向が見られた（図 5-1 上）。一方で、17B 表層の POC の  $\delta^{13}\text{C}$  値は、約 100 日間の分解過程において、横ばいもしくは高くなっていく傾向が見られた（図 5-1 下）。特に、2016 年秋季において、17B 表層の DOC の  $\delta^{13}\text{C}$  値は明ら

かに低下する傾向が見られた（表層で -26.7‰ → -27.2‰）一方で、POC の  $\delta^{13}\text{C}$  値は、他の季節と比べて特に高い値となり、分解過程においてさらに高くなっていく傾向が見られた。なお、同時期には大型緑藻ミクラステリアス・ハイディが増加していた。

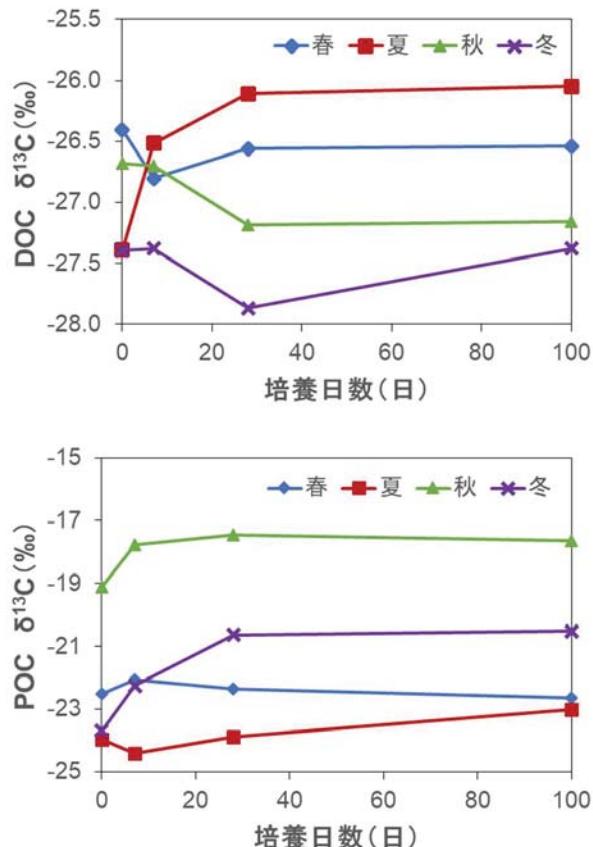


図 5-1 2016 年度の琵琶湖今津沖中央 (17B) 表層湖水における、季節ごとの生分解試験培養日数と  $\delta^{13}\text{C}$  値の推移  
(上 : DOC、下 : POC)

2018 年 8 月に採取した琵琶湖湖水について生分解試験を行った結果、17B 表層（水深 5m）の DOC の  $\delta^{13}\text{C}$  値は、約 400 日間の分解過程において大きな変化はなくほぼ一定の値 -26～-27‰ であった。一方で、2019 年 8 月に採取した野洲川河川水は、約 100 日間の分解過程において -26.5～-29.2‰ 程度であり、琵琶湖湖水と比べて低い値であった（図 5-2）。

2014 年 11 月から 2017 年 2 月にかけて実施した 17B 表層の生分解試験の結果について、DOC 濃度と POC 濃度を難易分解性別に分けて図 5-3 に示す。LTOC (LPOC と LDOC の合計) には季節差が認められるが、RTOC (RPOC と RDOC の合計) としては 1.0 mgC/L 前後であり季節による違いは認められなかった。この傾向は、第四期で報告した傾向と同様であった。

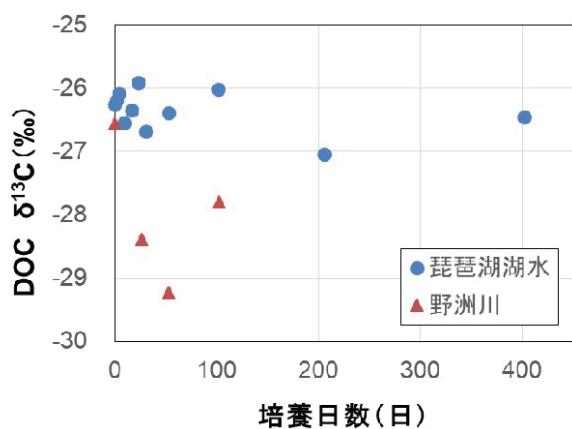


図 5-2 2018 年 8 月採取の琵琶湖湖水と、2019 年 8 月採取の野洲川河川水における、生分解試験培養日数と DOC の  $\delta^{13}\text{C}$  値の推移（野洲川については、0, 26, 53, 102 日目の試料について分析した結果）

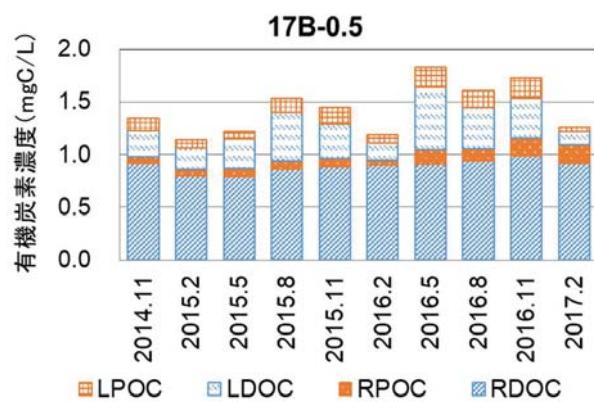


図 5-3 琵琶湖今津沖中央 (17B) 表層湖水に含まれる有機炭素のうち、易分解性 POC (LPOC)、易分解性 DOC (LDOC)、難分解性 POC (RPOC)、難分解性 DOC (RDOC) の濃度の季節変化。2014 年 11 月～2016 年 2 月の結果は、第四期に報告した値を引用した (金ら, 2018)。

2014 年 11 月から 2018 年 8 月にかけて実施した琵琶湖表層湖水の生分解試験前後の  $\delta^{13}\text{C}$  値の推移について検討した結果、DOC と POC の両方で、各季節に共通する傾向は見られず、年によって異なった。また、2019 年 8 月の野洲川河川水の RDOC の  $\delta^{13}\text{C}$  値は、2016 年 2 月以外の琵琶湖湖水の値と比べて低い値であった (図 5-4 上)。

琵琶湖湖水の DOC の  $\delta^{13}\text{C}$  値は、特に夏季 (8 月)において、LDOC と RDOC の関係が年によって大きく異なる傾向が見られた。各年の湖水採取の直前 (7 月) には、2015 年は藍藻のゴンフォスフェリアと大型緑藻のスタウラストルムで構成されるブルームが、2016 年と 2018 年は主にスタウラストルムで構成されるブルームが発生していた。

一方、POC の  $\delta^{13}\text{C}$  値が特異的に高い値であった 2016 年

11 月は、大型緑藻ミクラステリアス・ハーディのブルームと重なる時期であった (図 5-4 下)。

2014 年 11 月から 2017 年 2 月までの各季節に採取した合計 10 回分の POC の  $\delta^{13}\text{C}$  値について、POC 濃度との関係を検討した結果、RPOC 濃度と分解試験前の POC の  $\delta^{13}\text{C}$  値の相関係数 ( $r$  値) は 0.84 となり、正の相関が見られた (図 5-5 上)。また、RPOC 濃度と 100 日分解試験後の POC の  $\delta^{13}\text{C}$  値との相関係数は 0.90 であった (図 5-5 下)。一方、RDOC 濃度と DOC の  $\delta^{13}\text{C}$  値には相関が認められなかった。

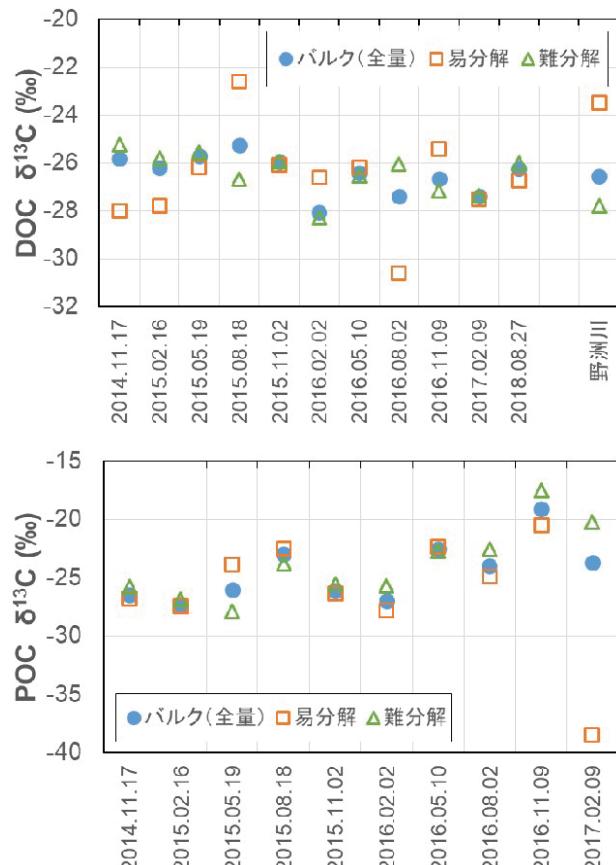


図 5-4 琵琶湖今津沖中央 (17B) 表層における生分解試験前後の  $\delta^{13}\text{C}$  値の推移 (上 : DOC (野洲川 DOC の  $\delta^{13}\text{C}$  値を含む)、下 : POC)。0 日目の値をバルク (全量) とし、約 100 日間の分解試験後に RDOC もしくは RPOC の  $\delta^{13}\text{C}$  値を測定、LDOC と LPOC の  $\delta^{13}\text{C}$  値は計算により求めた値である。2014 年 11 月～2016 年 2 月の結果は、第四期に報告した値 (金ら, 2018) を引用して示した。2017 年 2 月の LPOC の  $\delta^{13}\text{C}$  値は、LPOC 濃度が低かったため、誤差が大きい可能性がある。

### 5.3.2. 分解に伴う溶存有機物分子サイズ分布の変化

琵琶湖表層湖水と野洲川河川水の両方で、SEC-TOC 分析では、高分子 DOC (重量平均分子量 = 13 万～15 万程度)

と、低分子 DOC（重量平均分子量=1300 程度）の二つのピークに分かれた（図 5-6）。実験 0 日目での両者の濃度はそれぞれ、琵琶湖表層湖水では 0.132 mgC/L、1.025 mgC/L、野洲川河川水では 0.09 mgC/L、1.093 mgC/L だった。バルク DOC 濃度に占める高分子 DOC 濃度の割合は、琵琶湖表層湖水で 11%、野洲川河川水で 8% だった。

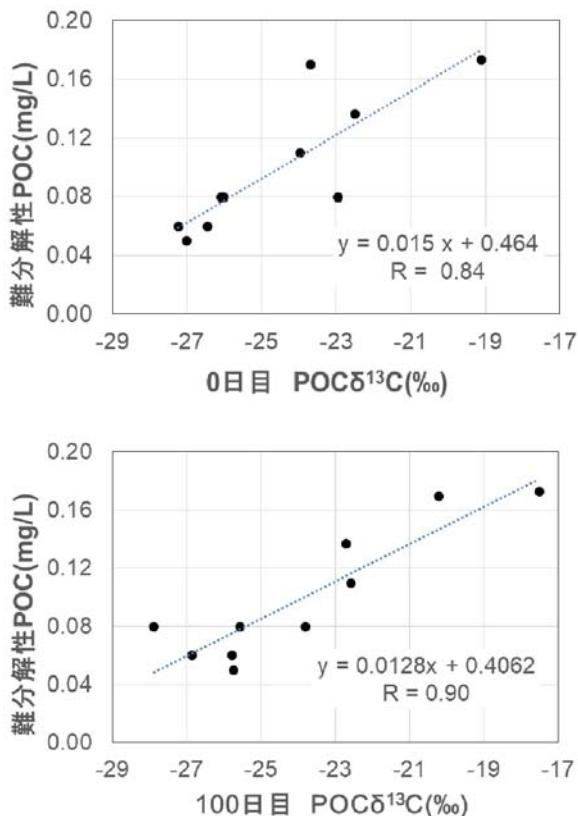


図 5-5 琵琶湖今津沖中央（17B）表層における難分解性 POC 濃度と分解試験前後の POC の  $\delta^{13}\text{C}$  値の相関（上：0 日目、下：100 日目）

生分解の進行に伴い、高分子 DOC は比較的速く減少して、琵琶湖表層湖水では 101 日目時点で、野洲川河川水では 53 日目時点で、それぞれ検出限界以下の濃度になった。低分子 DOC には、難分解性画分（RDOC）が含まれ、琵琶湖表層湖水では 402 日目時点で 0.669 mgC/L（0 日目の 65%）が、野洲川河川水では 202 日目時点で 0.808 mgC/L（0 日目の 74%）が、それぞれ残存していた。高分子 DOC、低分子 DOC とともに、生分解に伴う重量平均分子量の変化は小さかった。

濃度変化から算出した、各 DOC 画分の分解速度定数を図 5-7 に示した。琵琶湖表層湖水、野洲川河川水とともに、高分子 DOC が、低分子 SLDOC よりも 2 倍程度高い値（=速い分解速度）を示した。比較のために、Hama et al. (2004) が報告した、植物プランクトン由来の高分子 DOC（1 万 Da 以上画分）と低分子 DOC（1 万 Da 以下画分）の分解

速度定数の値も、図 5-7 に示した。本研究と Hama et al. (2004) では、分子サイズ別分画と分解速度定数算出の手法は異なるものの、概ね同様の傾向が見られた。

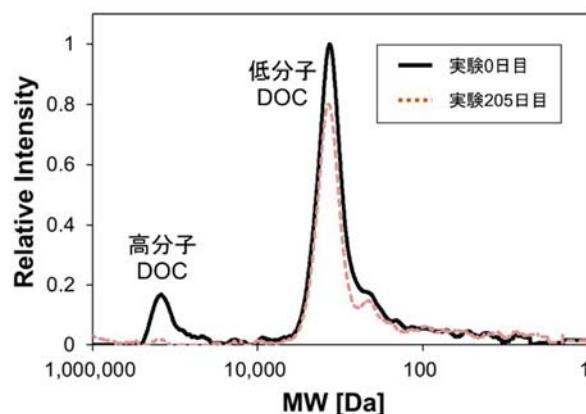


図 5-6 生分解に伴う DOC 分子サイズ分布の変化の例。ここでは、琵琶湖表層湖水の実験 0 日目（黒線）と実験 205 日目（破線）の有機炭素濃度を示した。縦軸は、実験 0 日目の低分子 DOC の高さを 1 として規格化して、相対強度として示した。横軸は、左側が高分子、右側が低分子として、分子量（MW）をログスケールで示した。

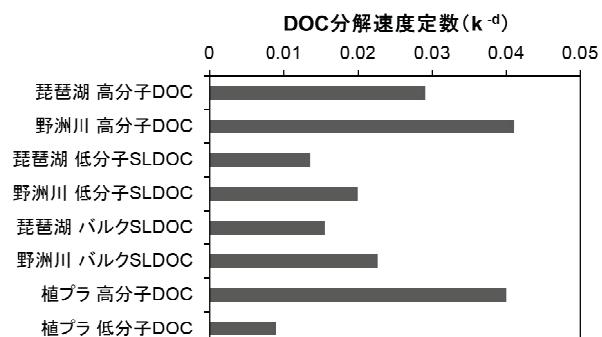


図 5-7 長期生分解実験から算出した、琵琶湖表層湖水と野洲川河川水の DOC の分子サイズ別の分解速度定数。植物プランクトン DOC の値は、比較のため Hama et al. (2004) より引用した。

## 5.4. 考察

### 5.4.1. 炭素安定同位体比分析による有機物の起源推定および分解性評価

本研究では、琵琶湖流入河川水に含まれる陸域由来 RDOC の  $\delta^{13}\text{C}$  値を初めて実測したこと、琵琶湖湖水 RDOC の起源推定手法の不確実性を減少させることができた。野洲川の RDOC の  $\delta^{13}\text{C}$  値 (-27.8‰) は、天然 DOC (0 日目) の  $\delta^{13}\text{C}$  値 (-26.6‰) よりも有意に低い値となつたため、河川水に含まれる天然 DOC の値は、陸域由来 RDOC の値を代表していない可能性が示された。今回の野

洲川 RDOC の値が、琵琶湖に流入する陸域由来 RDOC をどの程度代表できるかは、今後の研究による確認が必要となる。しかし、第四期で報告した西の湖の RDOC の値 (-27.7‰) がほぼ同じ値であり、場所による陸域由来 RDOC の  $\delta^{13}\text{C}$  値の差は小さい可能性がある。

湖水のバルク POC および RPOC の  $\delta^{13}\text{C}$  値は、2016 年 11 月および 2017 年 2 月に高くなる傾向が見られ（図 5-4 下）、2016 年秋季のミクラステリアス・ハーディなど、大型緑藻のブルームの寄与が示唆される。本報告書の第 3 章「沖帯の食物網構造からみた魚類への餌資源評価」では、2017~2019 年度の琵琶湖北湖の南比良沖中央（12B）のサイズ別の POC の  $\delta^{13}\text{C}$  値を報告している。大型緑藻を含む 45-250  $\mu\text{m}$  のサイズは、20-45  $\mu\text{m}$  と <20  $\mu\text{m}$  のサイズよりも高い値を示している。時期と場所は異なるが、本研究の 2016 年 11 月の試料でも、POC の  $\delta^{13}\text{C}$  値が特異的に高くなっている、大型緑藻の高い  $\delta^{13}\text{C}$  値が POC 全体の値に大きく影響したと考えられる。各年の 11 月から 2 月への POC の  $\delta^{13}\text{C}$  値推移に着目すると、2016 年 11 月から 2017 年 2 月への推移は特に変化が大きく循環期にあたることから、2016 年秋季の大型緑藻由來の有機物が全層に分布した後、POC として深水層へと沈降している可能性が示唆される。

また、RPOC の  $\delta^{13}\text{C}$  値と RPOC 濃度の高い正の相関関係（図 5-5 下）からは、大型緑藻由來で高い  $\delta^{13}\text{C}$  値を持つ POC が、RPOC の起源として重要であることが示唆される。さらに、RPOC の  $\delta^{13}\text{C}$  値だけでなく、生分解試験前のバルク POC の  $\delta^{13}\text{C}$  値と RPOC 濃度にも正の相関関係が見られたため（図 5-5 上）、天然湖水 POC の  $\delta^{13}\text{C}$  値が、難分解性 POC の濃度の指標として有用な可能性がある。

一方で、DOC の  $\delta^{13}\text{C}$  値の経年・季節変動からは、琵琶湖湖水 DOC の起源として、大型緑藻の寄与が限定的であり、中小型植物プランクトンを起点にした有機物が起源として重要なことが示唆される。2014 年 11 月から 2018 年 8 月にかけて、DOC の  $\delta^{13}\text{C}$  値には、POC のように高くなる現象は見られなかった（図 5-4 上）。RDOC と LDOC とともに、2015 年 8 月の LDOC (-22.6‰) 以外は、全て -25‰ 以下だった。2015 年 8 月の値には、直前に起きたゴンフオスフェリア（藍藻）のブルームが影響していることが示唆される。さらに 2016 年 11 月には、ミクラステリアス・ハーディ（大型緑藻）の大増殖により POC の  $\delta^{13}\text{C}$  が特異的に高い値を示したと考えられるが、DOC の  $\delta^{13}\text{C}$  値（RDOC : -27.2‰、LDOC : -25.4‰）は POC とは大きく異なった。2015 年、2016 年の夏にも、湖水採取の前にスタウラストルム（大型緑藻）のブルームが発生しているが、POC の  $\delta^{13}\text{C}$  は 2016 年 11 月ほどではないものの比較的高い値を示している。また、2018 年 8 月にもスタウラスト

ルムが増殖しているが DOC の  $\delta^{13}\text{C}$  値（RDOC : -26.0‰、LDOC : -26.8‰）は、2014-2016 年の増殖時以外の DOC の  $\delta^{13}\text{C}$  値の範囲内に収まっていた。

ただし、琵琶湖湖水の RDOC は濃度レベルがそもそも高く、増殖の寄与が小さいこと、比較的低い  $\delta^{13}\text{C}$  値を持つ陸域由来 RDOC と比較的高い  $\delta^{13}\text{C}$  値を持つ湖内生産由来 RDOC が混合したものと考えられることから、その効果を考慮する必要がある。実際に琵琶湖表層湖水の RDOC の  $\delta^{13}\text{C}$  値は、2016 年 2 月の試料 (-28.3‰) 以外は、-25.2 ~-27.4‰ と比較的狭い範囲内に収まり、野洲川 RDOC よりも高い値を示した。2014 年 11 月～2018 年 8 月の琵琶湖表層湖水 RDOC の  $\delta^{13}\text{C}$  値の範囲 (-25.2 ~-28.3‰：平均 = 26.4‰）と、野洲川 RDOC の  $\delta^{13}\text{C}$  値 (-27.8‰)、琵琶湖ボックスモデルで推定された陸域由来 RDOC と湖内生産由来 RDOC の割合（北湖でそれぞれ 49.0% と 51.0%：佐藤ら、2016）を用いると、湖内生産由来 RDOC の  $\delta^{13}\text{C}$  値は -22.7 ~-28.8‰ の範囲（平均 : -25.1‰）と計算される。この値は、湖水 RDOC 全体の値よりは高い傾向であるが、大型緑藻が示す  $\delta^{13}\text{C}$  値の範囲より低いままであり、分解過程における同位体分別の課題はあるが、湖水 RDOC の起源に大型緑藻の寄与が少ないことを支持する。

本報告書第 3 章では「大型緑藻は動物プランクトンに捕食されにくく、生食連鎖への寄与が小さい」という結果が得られている。この結果と、「大型緑藻由來の有機物は湖水 DOC への寄与が小さい」「大型緑藻は RPOC の起源として重要」という本研究の結果と総合すると、大型緑藻由來の有機物は、大部分は湖表層には残らず、POC として湖深水層へと沈降している可能性が考えられる。

また、本研究で報告した 2014-2018 年の表層湖水 LDOC の  $\delta^{13}\text{C}$  値（平均で -26.7‰）は、Maki et al. (2010) で報告されている 2006-2007 年の値 (-22‰ 程度) よりも低い値となっており、湖内の物質循環の長期的な変化を反映している可能性がある。2014-2017 年の表層湖水 POC は、2006-2007 年と同様に、-22‰ 程度かそれ以上の高い  $\delta^{13}\text{C}$  値を示す時期もあり、一次生産者全体の  $\delta^{13}\text{C}$  値に長期的な傾向は見られない。これらの結果は一見して相反するようだが、表層湖水 LDOC の起源が主に中小型植物プランクトン由來の有機物であるとすれば、説明可能である。つまり、2014-2017 年の表層湖水 POC でも中小型植物プランクトンが優占した時期には  $\delta^{13}\text{C}$  値が低く、また本報告書第 3 章の結果でも中小型植物プランクトンの  $\delta^{13}\text{C}$  値が大型緑藻よりも低いことから、その低い  $\delta^{13}\text{C}$  値が湖水 LDOC に反映されたと考えられる。2006-2007 年には、春季～夏季の表層では、硝酸塩は一定濃度残存していた一方で、溶存 CO<sub>2</sub> 濃度が低かった。このため、2006-2007 年の春季～夏季においては、中小型植物プランクトンの活発な生産時には、光

合成における溶存 CO<sub>2</sub> からの炭素同位体分別が小さく、生産された有機物の δ<sup>13</sup>C 値は高かったと考えられている (Maki et al., 2010)。一方で、2006-2007 年に比べて、2014-2018 年は、夏季表層での硝酸塩の枯渇が顕著になっており、特に夏季の中小型植物プランクトンの生産が主に栄養塩に律速されていたと考えられる。このため、光合成における溶存 CO<sub>2</sub> からの炭素同位体分別が大きくなり、中小型植物プランクトンが生産した有機物の δ<sup>13</sup>C 値は低かったと考えられる。

#### 5.4.2. 溶存有機物の分子サイズと生分解性の関係

長期生分解試験試料の分子サイズ分析の結果から、琵琶湖表層湖水と野洲川河川水の DOC は、三つの画分 (①高分子 DOC、②低分子 SLDOC、③低分子 RDOC) の混合として近似できることが示された。各画分の特性について、以下にまとめた。

- ① 高分子 DOC : 重量平均分子量は 13 万～15 万程度を示す。分解速度定数 ( $k^d$ ) が 0.03～0.04 程度と比較的高い準易分解性成分であり、半減期は 16～23 日程度となる。バルク DOC 濃度に占める割合は、三画分の中で最も小さく、本研究で用いた琵琶湖表層湖水では 11%、野洲川河川水では 8% だった。
- ② 低分子 SLDOC : 重量平均分子量は 1300 程度で、低分子 RDOC とほぼ変わらない。準易分解性成分ではあるが、分解速度定数 ( $k^d$ ) は 0.014～0.02 程度で、高分子 DOC より低い。半減期は 34～51 日程度となる。バルク DOC 濃度に占める割合は、三画分の中で中間であり、本研究で用いた琵琶湖表層湖水では 31%、野洲川河川水では 24% だった。
- ③ 低分子 RDOC : 重量平均分子量は 1300 程度で、低分子 SLDOC とほぼ変わらない。本研究の実験の時間スケール (200～400 日) では分解されない難分解性成分である。バルク DOC 濃度に占める割合は、三画分の中で最も大きく、本研究で用いた琵琶湖表層湖水では 58%、野洲川河川水では 68% だった。

本研究の結果は、水圏環境 DOC に関するサイズ反応性連続体モデル (Amon & Benner, 1996) に対して、整合的な部分とそうでない部分の両者を含む。(1)高分子 DOC の分解速度定数が低分子 SLDOC よりも高かったこと、(2)100 日以上の時間スケールでの RDOC が全て低分子 DOC 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。一方で、低分子 SLDOC 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 DOC 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。水圏環境 DOC へのサイズ反応性連続体モデルの適用可能性と、分

子サイズと生分解性が相關するメカニズムについては、分子サイズ別の DOC 化学組成分析など、今後さらに研究が必要になる。

この三画分(高分子 DOC、低分子 SLDOC、低分子 RDOC)の割合は、天然の湖水・河川水の DOC の生分解性と分解速度の指標として有用である可能性がある。このうち、高分子 DOC と低分子 DOC の割合は、SEC-TOC 分析から直接算出できる。一方で、天然試料の低分子 SLDOC と低分子 RDOC の割合の算出には、さらなる研究が必要になる。例えば、低分子 RDOC の濃度が季節や地点で大きく変化しないことが確認できれば、SEC-TOC 分析で得られる低分子 DOC 濃度の情報だけから、低分子 SLDOC と低分子 RDOC の割合を算出できる。また、SEC-TOC 分析では、DOC の蛍光成分・吸光成分の分子サイズ分布も把握可能であるため、それらの情報から、低分子 SLDOC と低分子 RDOC の割合を推定できる可能性もある。

#### 5.5. まとめ

本研究では、琵琶湖の物質循環に重要な、湖中有機物の起源と生分解性を把握するための手法として、δ<sup>13</sup>C 分析と分子サイズ分析に着目して研究を進めた。

まず、琵琶湖の湖中有機物の起源特定に向けた手法の開発として、δ<sup>13</sup>C 分析を用いた研究を進めた。野洲川河川水の生分解試験により、琵琶湖流入河川水に含まれる陸域由来 RDOC の δ<sup>13</sup>C 値を初めて実測できた。琵琶湖湖水の生分解試験試料の POC と DOC の δ<sup>13</sup>C 値の経年・季節変動からは、分解過程における同位体分別の検討は残されているものの、ブルームが近年観測されている大型緑藻は、湖水 RPOC の起源としては重要だが、湖水 LDOC と湖水 RDOC の起源としては寄与が小さい可能性が示唆された。湖水 LDOC と湖水 RDOC の起源としては、中小型植物プランクトン由來の有機物が重要だと考えられる。つまり、大型緑藻由來の有機物は、大部分は湖表層には残らず、POC として湖深水層へと沈降するケースが増えていることが予想される。このプロセスは、湖の栄養塩動態や底層溶存酸素濃度に大きな影響を与えている可能性があり、今後の研究で実態や影響の評価を進めていく必要がある。

有機物の長期生分解試験試料の分子サイズ分析からは、琵琶湖湖水と野洲川河川水について、DOC の分子サイズと生分解性の関係を解明した。分子サイズと生分解性に基づき、湖水・河川水の DOC は、三画分 (①高分子 DOC、②低分子 SLDOC、③低分子 RDOC) の混合として近似できることが示された。今後、DOC の生分解性を迅速に把握できる指標の開発に向けて、様々な季節・地点・水深の試料について同様の長期生分解試験を行うこと、分子サイズ別に DOC 化学組成を解明することが重要になる。

## 6. 結論

本研究では、湖内の有機物収支に着目し、植物プランクトンによる生産や食物連鎖を通じた物質循環の状況を詳細に把握した。また、湖沼の健全性を「物質循環の円滑さ」から定義し、それを評価する指標を提案するとともに、モデルを用いた解析や現場調査・分析を行った。その結果、主に以下のことが明らかになった。

- ① 生食食物連鎖と微生物食物連鎖の寄与について調べたところ、栄養塩の負荷量が減少した琵琶湖でも、魚の餌となる動物プランクトンは、栄養塩で増える植物プランクトンを主に食べており、有機物で増える微生物はわずかしか食べていなかった。よって、魚への物質伝達（餌と消費者の関係）としては、生食食物連鎖の方が微生物食物連鎖よりも重要であることが明らかになった。
- ② 炭素・窒素安定同位体比分析の結果から、動物プランクトンは、植物プランクトンの中でも中小型（45 μm未満）のものを主食にしており、大型（45 μm以上）のものはほとんど食べないことを確認した。実際、大型藻類が大発生した時期には、数種の動物プランクトンの現存量や生産量が低くなる傾向があった。よって、動物プランクトンを増やすためには、高い増殖速度を持つ中小サイズの植物プランクトンが増えやすい環境づくりが必要と考えられた。
- ③ 「湖沼の健全性」を評価する上で「湖沼内での物質循環が円滑であること」に着目し、物質循環の円滑さを表す以下3つの指標を提案した。すなわち、①「過不足がない」：呼吸効率（=群集総呼吸量／一次生産量等）、②「滞りがない」：転換効率（=二次生産量／一次生産量等）、③「偏りがない」：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）である。
- ④ 食物連鎖モデルを用いた結果から、栄養塩の濃度や植物プランクトン量と魚類バイオマスの関係は明確ではなかった一方で、転換効率と生物バランスの間に有意な相関がみられた。これより、動物プランクトンやプランクトン食性魚に食べられやすい餌生物が存在することが、「水がきれいで魚が豊かである」環境のために重要であると考えられた。
- ⑤ 琵琶湖湖水の生分解試験や $\delta^{13}\text{C}$ 値の経年・季節変動からは、近年観測されている大型緑藻は、湖水DOCの起源としては寄与が小さく、大部分はPOCとして湖深水層へと沈降していることが示唆された。
- ⑥ 有機物の分解性（易分解性有機物の量）を評価する手法として、BODの培養期間を28日間（BOD<sub>28</sub>）に延長することによって精度良く測定することを可能と

し、BOD<sub>28</sub>はBOD<sub>5</sub>のおよそ3倍となることなど、有機物の生分解性の指標となることが明らかになった。その他、POCの炭素安定同位体比はPOCの生分解性の指標として有用な可能性があること、DOMの分子サイズが有機物の分解性と大きく関連することから、高分子DOMと低分子DOMの濃度比等がDOMの生分解性の指標として有用な可能性があることが明らかになった。

2010年代に入ってからは、ミクラステリアスやスタウラストルムに代表される大型藻類が大量増殖する時期が頻発しており、水質管理や魚介類等への物質循環の観点から問題視されている。本研究で明らかにしたように、これらの大型藻類ではなく中小型の植物プランクトンが生み出される環境を形成できれば、水質保全と生物生産の両立につながることが期待される。今後、中小型の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、流域対策のあり方を提案していくことが必要である。

## 7. 謝辞

滋賀県「琵琶湖における新たな水質管理のあり方懇話会」、環境研究総合推進費5-1607「琵琶湖における有機物収支の把握に関する研究」を通じて、本課題についてご意見をいただいた以下の方々（敬称略 順不同）に感謝する。津野洋、清水芳久、田中宏明、高村典子、近藤竜二、小野雅司、小松直樹、三和伸彦、奥田一臣、田仲輝子、滋賀県琵琶湖環境部の皆様、環境省水・大気環境局水環境課の皆様。

本研究の一部は、環境研究総合推進費5-1607「琵琶湖における有機物収支の把握に関する研究」、および京都大学生態学研究センターの共同利用・共同研究事業「2017～2019年度共同研究b：生態系保全につながる物質循環のあり方に関する研究」の支援により行われた。

## 8. 引用文献

（第1章）

滋賀県・京都府（2017）：第7期琵琶湖に係る湖沼水質保全計画。

（第2章）

Costanza, R. (1992): Toward an operational definition of ecosystem health. Ecosystem health, New goals for environmental management, 239-256.

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・早川和秀 (2019a) : 「物質循環の円滑さ」を指標とした新たな流入負荷管理の方向性, 第 22 回日本水環境学会シンポジウム講演集, 194-195.
- 佐藤祐一・早川和秀 (2019b) : 栄養塩負荷の増減が琵琶湖の高次生態系に与える影響: モンテカルロ法を用いた食物連鎖モデルによる解析, 水環境学会誌, 42 (4), 133-143.
- 佐藤祐一・早川和秀・酒井陽一郎 (2019c) : 「水のきれいさ」と「魚の豊かさ」は両立できるのか? 琵琶湖における食物連鎖モデルを用いた解析, 第 53 回日本水環境学会年会講演集, 388.
- 佐藤祐一・早川和秀・小松英司 (2019c) : 流域水物質循環モデルを用いた琵琶湖の有機物収支の把握, 日本陸水学会第 84 回大会講演要旨集.

### (第 3 章)

- Adams, T. S. and R. W. Sterner (2000) : The effect of dietary nitrogen content on trophic level  $^{15}\text{N}$  enrichment. Limnology and Oceanography, 45 : 601-607.
- Brönmark, C. and L. A. Hansson (2018) : The biology of lakes and ponds (third edition). Oxford University Press, Oxford.
- Busst, G. M. A. and J. R. Britton (2018) : Tissue-specific turnover rates of the nitrogen stable isotope as functions of time and growth in a cyprinid fish. Hydrobiologia, 805 : 49-60.
- 千葉泰樹・伊東正夫・八木久則・田畠喜三夫 (1987) : ホンモロコ稚魚の食性調査. 滋賀県水産試験場研究報告, 38 : 76-82.
- Gearing, J. N., P. J. Gearing, D. T. Rudnick, A. G. Requejo and M. J. Hutchins (1984) : Isotopic variability of organic carbon in a phytoplankton-based, temperate estuary. Geochimica et Cosmochimica Acta, 48 : 1089-1098.
- 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.
- 一瀬諭・藤原直樹・古田世子・池田将平・岸本直之 (2011) : 琵琶湖におけるプランクトン等の長期変遷に関する解析モニタリング—動・植物プランクトンおよび細菌を含む微生物の変動解析—. 滋賀県琵琶湖環境科学研究中心研究報告書 (平成 20~22 年度), 7 : 196-218.
- 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 : 199-203.
- 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.
- Logan, J. M., T. D. Jardine, T. J. Miller, S. E. Bunn, R. A. Cunjak and M. E. Lutcavage (2008) : Lipid corrections in carbon and nitrogen stable isotope analyses: comparison of chemical extraction and modelling methods. Journal of Animal Ecology, 77 : 838-846.
- Post, D. M. (2002) : Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods, and assumptions. Ecology, 83 : 703-718.
- Reynolds, C. S. (1984) : The ecology of freshwater phytoplankton. Cambridge University Press, Cambridge.
- 沢田隼・米倉竜次・丸山敦 (2018) : アユの炭素・窒素安定同位体分析のための脂質量補正式と筋肉, 卵巣, 粘液における濃縮係数. 魚類学雑誌, 65 : 1-7.
- 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・土壤・大気部会開催概要, <https://www.pref.shiga.lg.jp/ippan/kankyoshizen/kankyou/313082.html>.
- Takahashi, K., E. Wada and M. Sakamoto (1991) : Relationship between carbon isotope discrimination and the specific growth rate of green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. Japanese Journal of Limnology, 52 : 105-112.
- Tanaka, L. L., S. Ban and M. Kumagai (2010) : Spring ammonium maximum in the mid-depth layer of Lake Biwa, Japan. Canadian Journal of Civil Engineering, 37 : 502-510.
- Urabe, J., K. Kawabata, M. Nakanishi and K. Shimizu (1996) : Grazing and food size selection of zooplankton community in Lake Biwa during BITEX '93. Japanese Journal of Limnology, 57 : 27-37.
- Urabe, J., S. Ishida, M. Nishimoto and L. J. Weider (2003) : *Daphnia pulicaria*, a zooplankton species that suddenly appeared in 1999 in the offshore zone of Lake Biwa. Limnology, 4 : 35-41.
- Winter, E. R., E. T. Nolan, G. M. A. Busst and J. R. Britton (2019) : Estimating stable isotope turnover rates of epidermal mucus and dorsal muscle for an omnivorous fish using a diet-switch experiment. Hydrobiologia, 828 : 245-258.
- Yamada, Y., T. Ueda, T. Koitabashi and E. Wada (1998) : Horizontal and vertical isotopic model of Lake Biwa ecosystem. Japanese Journal of Limnology, 59 : 409-427.
- Yoshida, T., T. B. Gurung, M. Kagami and J. Urabe (2001) : Contrasting effects of a cladoceran (*Daphnia galeata*) and a calanoid copepod (*Eodiaptomus japonicus*) on algal and microbial plankton in a Japanese lake, Lake Biwa. Oecologia, 137 : 77-84.

(第 4 章)

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(6): 259-267.

早川和秀・岡本高弘・廣瀬佳則・佐藤祐一 (2018) : 低濃度有機汚濁水域における有機物指標の特性把握:琵琶湖流域における COD(Mn), BOD, TOC の比較から. 水環境学会誌, 41(6): 193-203.

加藤伸悟, 増田貴則 (2014) 微生物食物連鎖を含む概念的食物網モデルの構築と細菌が食物網動態におよぼす影響. 土木学会論文集 G (環境), 70(7): III\_389-III\_401.

Mukherjee, I., Hodoki, Y., Nakano, S. (2017): Seasonal dynamics of heterotrophic and plastidic protists in the water column of Lake Biwa, Japan. *Aquat. Microb. Ecol.* 80: 123-137.

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. 日本国水処理生物学会誌, 54(3): 73-82.

Okazaki, Y., Fujinaga, S., Tanaka, A., Kohzu, A., Oyagi, H., Nakano, S. (2017): Ubiquity and quantitative significance of bacterioplankton lineages inhabiting the oxygenated hypolimnion of deep freshwater lakes. *ISME J.* 11: 2279-2293.

Reyjol, Y., Argillier, C., Bonne, W., Borja, A., Buijse, A.D., Cardoso, A.C., Daufresne, M., Kernan, M., Ferreira, M.T., Poikane, S., Prat, N., Solheim, A.L., Stroffek, S., Usseglio-Polatera, P., Villeneuve, B., van de Bund, W. (2014): Assessing the ecological status in the context of the European Water Framework Directive: Where do we go now? *Sci. Total Environ.*, 497-498: 332-344.

酒井明久, 白杵崇広, 片岡佳孝 (2015) 琵琶湖におけるアユ資源の冬季減耗と環境要因. 日本国水産学会誌, 81(4): 667-673.

滋賀県琵琶湖環境科学研究センター (2019) : 環境研究総合推進費 終了研究成果報告書「琵琶湖における有機物収支の把握に関する研究 (5-1607) 平成 28 年度～平成 30 年度」 独立行政法人環境再生保全機構. [https://www.erca.go.jp/suishinhi/seika/pdf/seika\\_1\\_r01/5-1607\\_2.pdf](https://www.erca.go.jp/suishinhi/seika/pdf/seika_1_r01/5-1607_2.pdf) (2020 年 11 月 6 日確認)

Tsuchiya, K., Tomioka, N., Sano, T., Kohzu, A., Komatsu,

K., Imai, A., Hayakawa, K., Nagata, T., Okamoto, T., Hirose, Y. (2020) Decrease in bacterial production over the past three decades in the north basin of Lake Biwa, Japan. *Limnology*, 21(1): 87-96.

(第 5 章)

Amon R. M. W., Benner R. (1996): Bacterial utilization of different size classes of dissolved organic matter. *Limnology and Oceanography*, 41: 41-51.

Benner R., Amon R. M. W. (2015): The Size-Reactivity Continuum of Major Bioelements in the Ocean. *Annual Review of Marine Science*, 7: 185-205.

Hama T., Yanagi K., Hama J. (2004): Decrease in molecular weight of photosynthetic products of marine phytoplankton during early diagenesis. *Limnology and Oceanography*, 49: 471-481.

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.

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. 琵琶湖環境科学センター第 4 期中期計画総合報告書, 7-15.

Ogawa, N.O., Nagata, T., Kitazato, H., Ohkouchi, N. (2010): Ultra-sensitive elemental analyzer/isotope ratio mass spectrometer for stable nitrogen and carbon isotope analyses. In: Ohkouchi, N., Tayasu, I., Koba, K. (Eds.), *Earth, Life, and Isotopes*. pp. 339-353. Kyoto University Press, Kyoto.

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.

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.

Shimotori K., Satou T., Imai A., Kawasaki N., Komatsu  
K., Kohzu A., Tomioka N., Shinohara R., 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.