

国立環境研究所研究プロジェクト報告

NIES Research Project Report from the National Institute for Environmental Studies, Japan

SR - 103 - 2012

湖沼における有機物の循環と微生物生態系との
相互作用に関する研究
(特別研究)

Study on the biogeochemical cycle of organic matter and its interrelationships
with microbial community in lacustrine environments

平成 20 ~ 23 年度

FY2008 ~ 2011

NIES



独立行政法人 国立環境研究所

NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES

<http://www.nies.go.jp/>

SR - 103 - 2012

湖沼における有機物の循環と微生物生態系との
相互作用に関する研究
(特別研究)

Study on the biogeochemical cycle of organic matter and its interrelationships
with microbial community in lacustrine environments

平成 20 ~ 23 年度

FY2008 ~ 2011

独立行政法人 国立環境研究所

NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES

特別研究「湖沼における有機物の循環と微生物生態系との相互作用に関する研究」
(期間 平成 20 ～ 23 年度)

課題代表者：今井章雄

執 筆 者：今井章雄、小松一弘、富岡典子、高津文人、川崎伸之、佐藤貴之
岩崎一弘

編 者：今井章雄、小松一弘

序

本報告書は、平成 20 年度から 23 年度の 4 年間にわたって実施した特別研究「湖沼における有機物の循環と微生物生態系との相互作用に関する研究」の成果をとりまとめたものです。

近年、多くの湖沼において、分解しにくい（難分解性の）水に溶けている有機物（溶存有機物、**dissolved organic matter, DOM**）が漸増する現象が報告されています。1990 年代に中栄養湖の琵琶湖北湖で注目された難分解性 **DOM** の漸増現象は、その後、貧栄養湖の十和田湖、富栄養湖の霞ヶ浦、印旛沼、八郎湖と、湖の栄養状態に関係なく偏在的な広がりを見せています。一方、国外に目を向けると、世界の湖沼でも **DOM** 濃度の上昇が頻繁に報告されています。**DOM** や難分解性 **DOM** の濃度上昇は局所的なものではなく、一般的な現象として生起しているかもしれません。

湖水中での **DOM** 濃度の上昇は、湖沼生態系の変化、水道水源としての健康リスクおよび異臭味、浄水処理の膜処理プロセスにおける膜の詰まりなど、湖沼環境に大きな影響を及ぼすと考えられます。湖沼環境を保全・再生するために、早急に、湖水中でなぜ難分解性 **DOM** が漸増するメカニズムを、微生物生態系の役割に注目して、明らかにする必要があります。

このような背景のもとに、本研究は、主に霞ヶ浦を対象として、（1）湖水中の有機物と微生物生態系はどのように相互に影響し合っているのか、（2）浅い湖沼である霞ヶ浦で有機物、特に溶存有機物（**DOM**）がどのように長期的にあるいは季節的に変動するのか、という点に焦点を絞って実施しました。

成果としては、湖沼における **DOM** や難分解性 **DOM** の動態に微生物生態系が大きな役割をはたしていることが明らかとなり、さらに湖沼の特定地点で難分解性 **DOM** の供給源別にその寄与を数値として算定することができました。長期モニタリングの活用により、滞留時間が比較的長い湖沼では観察しにくい急激な変化を明確に捉えることができました。実りある成果を得るには、地道な長期的なモニタリングと先端的な分析手法・解析手法を組み合わせ、横断的な視点で研究を実施する必要性が強く認識されました。

本研究の成果を、湖沼環境再生・保全のための具体的な施策に結びつけ、多くの湖沼の環境の維持、改善に役立てていきたいと考えています。

研究を推進する上で、研究所内外の多くの方々にご協力とご助言を頂きました。ここに深く感謝の意を表します。

平成 24 年 12 月

独立行政法人 国立環境研究所
理事長 大垣 眞一郎

目 次

1	研究の目的と経緯	1
1.1	研究の目的	1
1.2	研究の構成	1
2	研究の成果	6
2.1	有機物と微生物の相互作用の評価	6
2.1.1	微生物生産速度の測定法の開発	6
2.1.2	DOM 難分解性化メカニズムの検討	12
2.1.3	アオコ形成藍藻類の動態解析	17
2.2	湖沼における有機物の動態・循環の解明	19
2.2.1	湖沼・河川における DOM の動態と特性の評価	19
2.2.2	底泥間隙水中 DOM の濃度・特性と変動の評価	27
2.2.3	霞ヶ浦底泥における微生物群集構造の解析	31
2.2.4	底泥の炭素・窒素の安定同位体解析による湖沼での炭素・窒素循環の検討	34
2.2.5	有機物負荷発生源寄与のピンポイント的算定	37
2.3	まとめと展望	39
[資 料]		
I	研究の組織と研究課題の構成	45
1	研究の組織	45
2	研究課題と担当者	45
II	研究成果発表一覧	46
1	誌上発表	46
2	口頭発表	48

1 研究の目的と経緯

1.1 研究の目的

わが国の湖沼では、1980年代中頃以降、湖水中で難分解性と考えられる溶存有機物 (dissolved organic matter, DOM) が徐々に増え続けている。琵琶湖北湖、霞ヶ浦、印旛沼、八郎湖、十和田湖、野尻湖、宍道湖等で難分解性 DOM の漸増が懸念されている。特に、霞ヶ浦では DOM の急激な難分解性化が進行している。一方、国外に目を転じると、英国、欧州、北アメリカの湖沼や河川では、数十年に及ぶ長期モニタリングの結果として、DOM 濃度の上昇が次々に報告されている。広域的かつ長期的な温暖化等の影響が原因とされている。

湖水 DOM は、生態系構造の変化 (特に植物プランクトン—バクテリア微生物群集構造等)、微生物生産、透明度、水道水源としての湖水に係る健康リスク (トリハロメタン等の消毒副生成物) や異臭味、重金属や農薬等の有害物質の可動化等に深く関与する。従って、その濃度上昇や難分解性化は湖沼環境に大きな影響を及ぼすと考えられる。一方、微生物は DOM の供給源であるとともに、DOM を難分解性化する役割も担っていると考えられる。しかし、現状では、湖沼における有機物循環と微生物に注目した湖沼生態系 (微生物生態系) の相互作用 (微生物ループ等) についてはほとんど検討されていない。湖沼環境および水道水源保全上、早急に、この相互作用を定量的に捉えて、DOM の濃度上昇や難分解性のメカニズムを明らかにする必要がある。

我が国は、湖水中の有機物について、水質環境基準の生活環境項目として、長期的に (約 40 年) モニタリングを実施してきた。化学的酸素要求量 (COD、過マンガン酸カリウム COD [COD_{Mn}]) が有機物パラメータとして使われてきた。ところが、この COD_{Mn} によるデータは加算性に乏しいため、定量的な数値データとして扱えないことがわかってきた。COD_{Mn} を主要なパラメータとして用いて、湖沼における DOM の動態や難分解性化のメカニズムを明らかにすることは極めて困難である。この COD_{Mn} 問題を解決するために、環境基準パラメータではないが、内容の意味するものの明確さ、操作性、管理への応用という面で優れている溶存有機炭素 (DOC: dissolved organic carbon) で DOM 濃度を評価する必要がある。

国内外の DOM (DOC として) のトレンドデータを見ると、人為的汚染、地政および気候変動によって、湖水中の DOM 濃度が長期的なトレンド (～数十年) を持つて変動する可能性が高い。特に湖沼は気候変動に敏感に反応すると報告されている。将来に備えて、できる限り多くの湖沼において DOM 等に係る情報を整備しておくことは肝要である。

本研究の目的は、(1) 有機物の質や量と微生物生産量 (特にバクテリア) の相互関係を明らかにする、(2) 長期トレンドデータ解析および室内実験等により、DOM の難分解性化メカニズムを明らかにする、(3) モデル解析 (湖内流動モデル等) により、湖沼特定地点における難分解性 DOM の起源別・発生源別の寄与を定量的に算定することである。

1.2 研究の構成

[研究仮説] 本研究における仮説は、“湖水 DOM の難分解性化にバクテリア (細菌) が大きく関与する” というものである (図 1)。この仮説は、海洋関係の研究報告から導いた。海洋における DOM に関する研究では、(i) 海洋 DOM 中に D- 体アミノ酸 (鏡像異性体) が多く存在する；(ii) DOM の大部分はバクテリア由来、細胞壁 (cell wall) 中の構成物質ペプチドグリカン (peptidoglycan) 起源である、と示唆する報告がある。また、海洋での難分解性 DOM の生成は生物学的プロセスであるという報告もある。

バクテリアの細胞壁 (cell wall) 中のペプチドグリカンには、D-アラニン等の D 体-アミノ酸が沢山存在する。バクテリアの細胞壁由来の物質が難分解性 DOM として湖水中で残存・蓄積していると着想した。

[研究アプローチ] 本研究の基本的なアプローチは、湖沼における有機物循環と微生物生態系の相互関係を数値的に把握することで、湖沼水質と生態系構造や生産量の結びつきを理解しようとするものである (図 2)。研究全体としての流れは：(i) 先ず重点的に、細菌や藻類の生産速度、アミノ酸・糖類組成、DOM の分子サイズ等に対する独創性や新規性の高い測定法を開発する；(ii) 次に湖水 DOM の分解実験を明確な条件で実施して、開発した測定法等を用いて、溶存有機物 (DOM) の難分



湖水DOMの難分解性化にバクテリアが大きく関与する

- 海洋DOMIにはD-アミノ酸が多く存在する。DOMの大部分はバクテリア由来、cell wall [peptidoglycan] 起源？(McCarthy et al. Nature 1998)
- 海洋難分解性DOMの生成は生物学的プロセス(Ogawa et al. Science 2001)

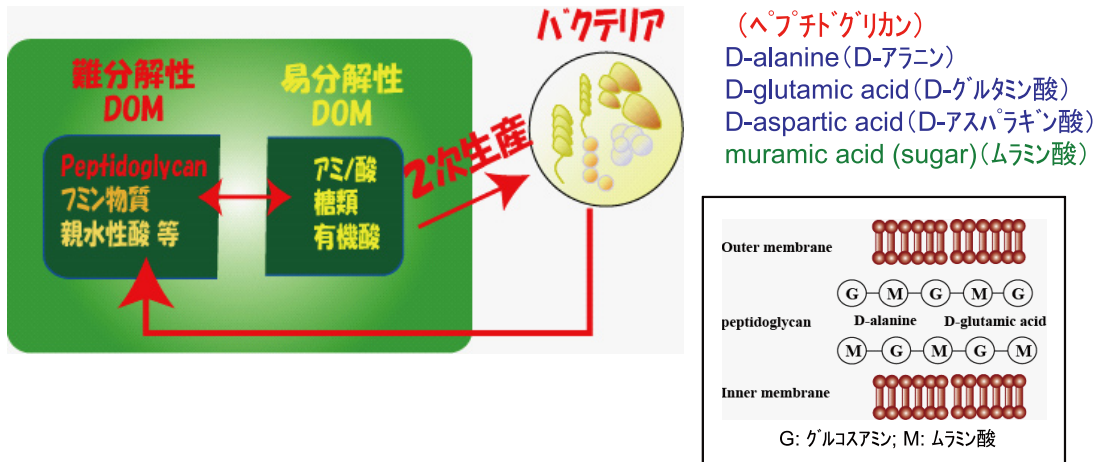


図1 研究仮説

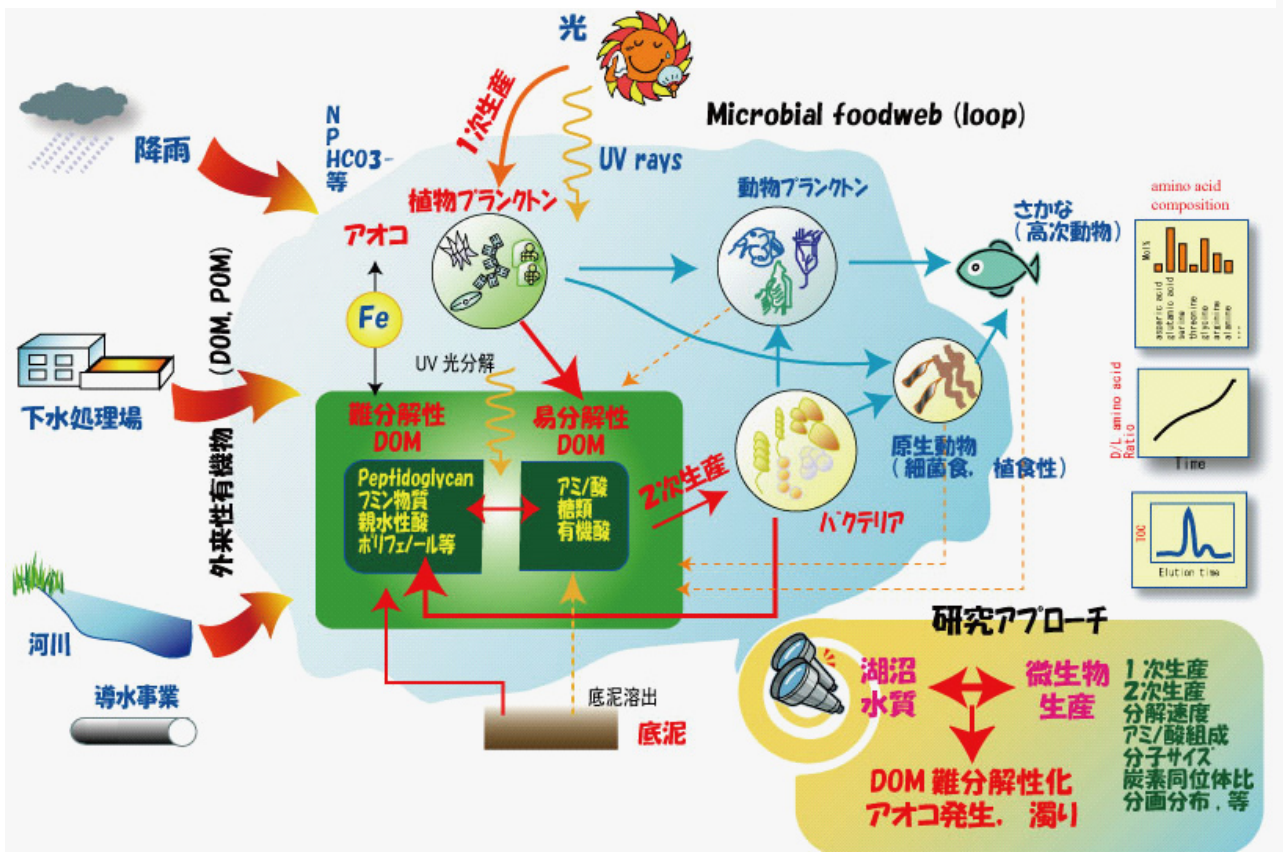


図2 研究アプローチ

解性メカニズムを検討する；(iii) 霞ヶ浦流域を対象としてフィールド調査を実施して、過去に採取・保存した試料も活用して、開発した測定法等より、有機物の質・量の変動と微生物群集の動態に関する長期トレンドを解析する；(iv) フィールド調査によって得られた実測値に対して湖内モデル解析を実施して、DOMに係る各発生源負荷の寄与を定量的に算定する。

研究フローチャートを図3に示す。サブテーマを以下に記す。

サブテーマ1. 有機物と微生物の相互作用の評価

1-1 微生物生産速度の測定法の開発

(1) 藻類一次生産速度法の開発

湖沼での一次生産とは、独立栄養生物による無機物からの有機物生産を指す。通常、植物プランクトン、水草や付着藻類などの光合成が一次生産量に相当する。本研究では、湖水柱における藻類の一次生産速度の測定法の開発・確立を目指した。藻類一次生産速度の一般的な測定法は放射性炭素同位体を使うものであり、野外での放射性物質の使用が厳しく制限されている我が国では、特

に陸水域では藻類一次生産速度のデータが極端に少ない状況を招いている。本研究では、放射性同位体を使用せずに、かつボトル効果の影響もなく、非常に迅速に測定可能なアクティブ蛍光法である FRRF (fast repetition rate fluorometry) 法による藻類一次生産速度の開発・測定を目指した。

結果として、FRRF 法の開発に成功し、霞ヶ浦での一次生産速度に場所的・地点的な違いがあることを明らかにした。アオコが出ている水域で藻類一次生産速度は低いというとても興味深い成果を得た。

(2) 細菌二次生産速度測定法の開発

植物による一次生産を利用する生物体による生産を二次生産という。従属栄養性細菌は水環境における炭素循環、有機物の変質や無機化にとっても重要な役割を果たしている。細菌の生産は藻類一次生産の10-30%に相当する。これほど重要な細菌二次生産ではあるが、放射性同位体を野外で使用する測定法が一般的であるため、我が国、特に湖沼ではほとんど実施されていない。本研究では、この状況を鑑み、チミジン (DNAヌクロチド)

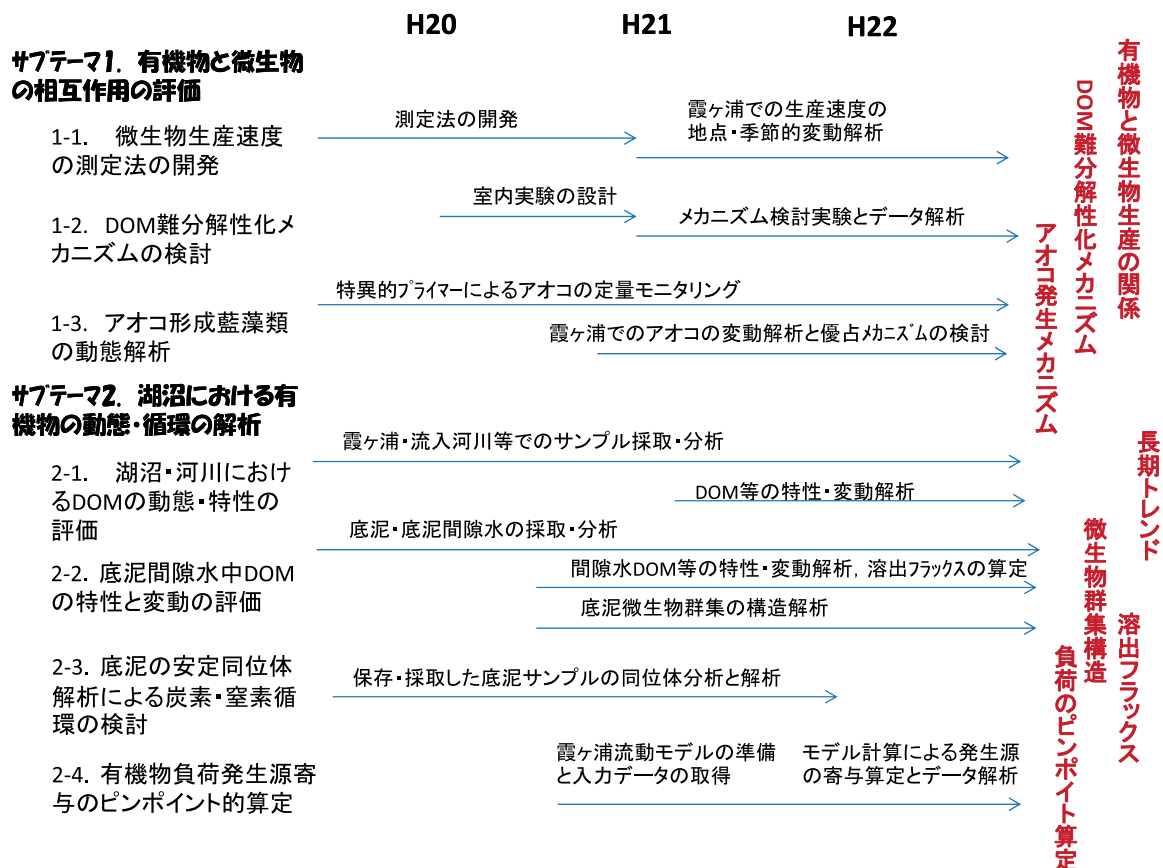


図3 研究フローチャート

の類似物質（アナログ）であるプロモデオキシウリジン（BrdU）を用いて、放射性同位体を全く使用しない細菌の二次生産速度測定方法（BrdU法）の開発を目指した。

結果として、研究目標である完全に放射性同位体を使用しない測定法の確立までは到達できなかったが、BrdU法によって霞ヶ浦における細菌の二次生産速度を測定し、季節的・地点的な変動を把握することができた。霞ヶ浦の細菌二次生産速度はとて高く140～690 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ の範囲の値を示した。この値は沿岸域の当該速度の14～70倍に相当した。

1-2 DOM 難分解性化メカニズムの検討

研究仮説「湖水DOMの難分解性化にバクテリア（細菌）が大きく関与する」を検証するために、霞ヶ浦ろ過湖水を対象として、室内培養実験を実施した。培養（分解）日数に伴う細菌二次生産速度、DOM濃度、細菌の起源バイオマーカーであるアミノ酸（D-体アミノ酸）の変化等からDOMの難分解性化メカニズムの評価を目指した。D-体アミノ酸は細菌の細胞壁ポリマーであるペプチドグリカン中に存在するため、細菌由来を示す起源マーカーとして使うことができる。

結果として、培養実験におけるD-体アミノ酸濃度を用いて細菌起源DOMの寄与割合を算出することができた。霞ヶ浦湖水DOMにおける細菌起源DOMの割合は35-55%にも及ぶことが明らかとなった。湖水中の典型的な外来性難分解性DOMであるフミン物質はDOMの約30%を占めるため、湖水柱で生産される難分解性DOMのほとんどは細菌由来であると強く示唆された。従って、本研究仮説は検証されたと言える。

1-3 アオコ形成藍藻類の動態解析

アオコを形成する代表的な藍藻類 *Microcystis* 属（現在は全てが *Microcystis aeruginosa* と分類されている）は大量のDOMを細胞外に放出することが知られている。DOMの特性や収支を検討する際に、*Microcystis* 属の存在密度に関する情報が必要である。本研究では、*Microcystis* 属等の存在量を特異的なプライマーと定量PCR（ポリメラーゼ連鎖反応）によって定量する測定法の確立を目指した。さらに、霞ヶ浦における *Microcystis* 属等の存在密度の長期トレンドを解析した。

結果として、1999～2010年における霞ヶ浦での *Microcystis aeruginosa* の存在密度に係る長期トレンドが

明らかとなった。顕微鏡計数では不検出（ND）と算定されている場合でも、*Microcystis* の存在密度は定量的に算定することができた。*Microcystis* の存在密度（湖心）は2003年まで減少傾向にあったが、2004年から増加に転じ、2009年夏季にアオコとみなされる密度に達した。夏季・秋季にアオコが発生する際には、前年冬季における *Microcystis* の存在密度が高い傾向が認められた。

サブテーマ2. 湖沼における有機物の動態・循環の解析

2-1 湖沼・河川におけるDOMの動態と特性の評価

最近、国外の湖沼や河川で長期モニタリングの結果としてDOM濃度が漸増している現象が頻繁に報告されている。国内の湖沼では難分解性DOMがかなりの濃度で存在するのではと懸念されている。なぜDOM濃度が上昇するのか、難分解性DOMの主要な供給源とはなにか、分かっていない。このような状況では、地道に着実にモニタリングデータを積み上げることが、将来、より良い理解を得るための布石となりえる。そのため、我々は、霞ヶ浦湖内5地点および流入4河川を対象として、毎月水サンプルを採取して、DOM、難分解性DOM等の動態を明らかにすることを目指した。加えて、DOMの特性の変化を把握するために、湖水や河川水の典型的な易分解性有機化合物である炭水化物の濃度・組成を測定した。また、DOMの特性や反応性と密接に関係すると報告されている分子サイズ分布も評価した。

結果として、霞ヶ浦（湖心）では、DOMと難分解性DOMの長期的な動態（1997～2010年）を明らかにすることができた。DOMは1997～2005年まで減少したが、2006年からは上昇に転じて2007年にピークを呈した。難分解性DOMは1997～2006年まで減少トレンドを示したが、2007年以降はほぼ一定、あるいは微増の傾向を示した。このDOMと難分解性DOMのトレンドの違いは2005年以降にDOMの生分解率が上昇したためである。DOM生分解性の変化はアオコ形成藍藻の存在密度のトレンドに対応していると推察された。

霞ヶ浦や河川水中の炭水化物（単糖を構成成分とする有機化合物の総称）の濃度・組成を分析・解析した結果、河川水の炭水化物濃度は湖水に比べて顕著に低く単糖組成も大きく異なることが明らかとなった。流入河川の炭水化物は湖水のそれに顕著な影響を与えていないと判断された。

霞ヶ浦湖水DOMの分子サイズ分布を全有機炭素

(TOC) 検出器で測定した。DOM の分子サイズは、15 ~ 18 万 Da、1500 ~ 3000Da 付近に頂点を持つ 2 ないし 3 つのピークを示した。15 ~ 18 万 Da 高分子画分は、紫外外部吸収や蛍光発光がほとんどなく易分解性であることが分かった。

2-2 底泥間隙水中 DOM の特性と変動の評価

浅い湖沼において DOM、栄養塩の供給源として底泥からの溶出はとても重要である。従って、間隙水中の DOM、窒素、リンの底泥鉛直方向プロファイルの経年的・季節的な変動を把握することはとても有用である。この観点から、我々は、霞ヶ浦の数地点で毎月底泥柱状サンプルを採取して、また以前に採取して冷凍保存していたサンプルも活用して、霞ヶ浦における底泥間隙水中の DOM、窒素およびリンの濃度プロファイルの経年的・季節的な長期トレンドを明らかにすることを目指した。

間隙水中の DOM は 1997 ~ 2005 年まで漸減したが、2006 年に突然上昇に転じて 2007 年には急上昇した。一方、間隙水中のリン（リン酸態リン）は 1997 ~ 2005 年まで増大したが、2006 年からは減少する傾向を示した。間隙水中の窒素（アンモニア性窒素）は 2006 年に劇的に変化した。1997 ~ 2005 年には、リン濃度とは正反対に、全ての深度で年々減少していたが、2006 年 5 月に、V 字回復のように一変して増大に転じた。それ以降全深度で高い濃度に留まった。底泥間隙水中の有機物、窒素やリンの動態は顕著に異なることが明らかとなった。

間隙水中の炭水化物濃度が急激に変化することが観察された。2005 年 7 月 ~ 2006 年 5 月に炭水化物濃度は上昇したが、6 月以降は急激に減少した。間隙水中の炭水化物濃度に係る鉛直方向分布は、間隙水中の窒素やリンの鉛直分布と正反対に変動していた。すなわち、底泥や底泥間隙水中の DOM の質の違い（炭水化物の割合等）が間隙水中の栄養塩濃度に大きな影響を及ぼしていると推察された。

2-3 霞ヶ浦底泥における微生物群集構造解析

浅い湖沼である霞ヶ浦では底泥からの溶出がとても重要な有機物・栄養塩の供給源であり、底泥から間隙水への物質の移動には、底泥中の微生物群集構造が深く関与している可能性が高い。そのため、我々は、霞ヶ浦で採取された底泥を対象として、底泥中の微生物群集構造の深さ方向の変化や季節変動を検討した。

いずれのサンプルにも *Proteobacteria* 門の細菌が半数近くあるいは以上を占めていた。全てのサンプルで、硫酸還元菌などの嫌気性菌が含まれる δ -*Proteobacteria* に分類される細菌が優占していた。亜硝酸酸化細菌 *Nitrospira* 属が属する *Nitrospira* 門に分類される細菌がいずれの月でも 4 ~ 6 cm で多く存在していた。この特定の深さで硝化が活発に行われていると推測された。

2-4 底泥の炭素・窒素の安定同位体解析による湖沼での炭素・窒素循環の検討

底泥研究としては底泥コアの化学・生物組成の変化を深度方向に解析することで湖や周辺海域の歴史的变化を再構築する研究が主である。生活排水や畜産排水の指標である窒素安定同位体比の変遷から霞ヶ浦流域での窒素負荷源の寄与を解析した。一方、炭素安定同位体比は光合成活性の指標となることから、湖内での一次生産の歴史的变化について検討した。過去 28 年間に渡って採取・保存された底泥コアを対象サンプルとして研究を実施した。

結果として、湖の環境復元の手法としてしばしば用いられる炭素、窒素の安定同位体比の解析であるが、底泥内部の酸化還元環境はとても変化しやすく、それに伴う有機物の同位体比の変化も無視できないことが明らかとなった。

2-5 有機物負荷発生源寄与のピンポイント的算定

湖沼水環境保全対策を立案する際に、湖沼の特定地点・特定日時における負荷供給源の寄与が個別に算定できれば、効率的に対策を計画・実施が可能になると考えられる。本研究では、湖沼の難分解性 DOM に関して、湖沼の特定地点で特定日時における起源別負荷発生源の寄与を定量的に算定することを目指した。

結果として、全対象期間の平均値としては、霞ヶ浦湖心における河川由来の難分解性 DOM の寄与率は 67.5 %、下水処理水由来は 2.9 %、溶出由来は 12.0 %、湖水柱内部生産由来は 17.6 % であった。湖内部生産由来が全体の約 30 % を占め、その重要性が認識された。

底泥溶出と湖水柱生産の対象期間における変動はとても大きかった。湖水柱生産は 2004 年末まで減少傾向にあったがそれ以降増大に転じた。底泥溶出は 2004 年まではほぼ一定であったが、2005 年に減少し、2006 年以降は急激に増大した。アオコ発生や透明度上昇と湖内部生産が連動していると推測された。

2 研究の成果

2.1 有機物と微生物の相互作用の評価

2.1.1 微生物生産速度の測定法の開発

湖沼における物質循環には、植物プランクトンの光合成による生産（一次生産）を起点とする食物連鎖とともに、溶存有機物（DOM）を起点とした従属栄養細菌によるバイオマス生産（二次生産）があり（微生物ループ）、高次の栄養段階の物質循環に大変重要な役割を果たしている（図4）。

湖沼でのDOM供給源として、藻類由来、あるいは藻類由来細胞外DOMの内部生産的な寄与は大きいと想定される。藻類由来DOMの供給は藻類の一次生産速度に直接的に関係するだろう。一方、藻体および藻類由来DOMは細菌に利用され、細菌が生産され、難分解と考えられる細菌由来DOMも放出される。従って、細菌（細菌）二次生産速度と易分解性DOMや難分解性DOM濃度の関係性が示唆される。すなわち、湖沼において藻類一次生産速度や細菌二次生産速度を測定する必要性はとても高い。しかし、一次や二次生産速度を測定する方法としては放射性同位体を用いたものが一般的であるため、放射性同位体の野外使用が厳しく制限されている我が国においては、当該微生物

の生産速度を測定することはとても困難である。実際に、湖沼での一次生産や二次生産速度のデータはとても少ない。

本セクションでは、湖沼のDOMの特性・濃度に直接的に関係すると考えられる藻類や細菌の生産速度を、放射性同位体を使用せずに測定する方法の開発について報告する。

(1) FRRF (fast repetition rate fluorometry) 法による一次生産測定法の開発

植物プランクトンによる一次生産は、陸水における有機物循環に大きな影響を与えると考えられるため、感度が高く短時間に測定する事ができる手法の開発が求められている。これまで一次生産量は¹⁴C法、明暗ビン法、¹³C法などで測定されてきた。しかしこれらの手法は、現場と異なる条件での培養が必要であるため、時間がかかり実験操作もやや煩雑となる。そのためモニタリングに適用するのは困難である。また従来法で最も一般的で感度の高い¹⁴C法は、放射性同位体を用いた実験であるため、我が国では適用が難しく、一次生産に係る研究進展を遅らせる原因ともなっている。

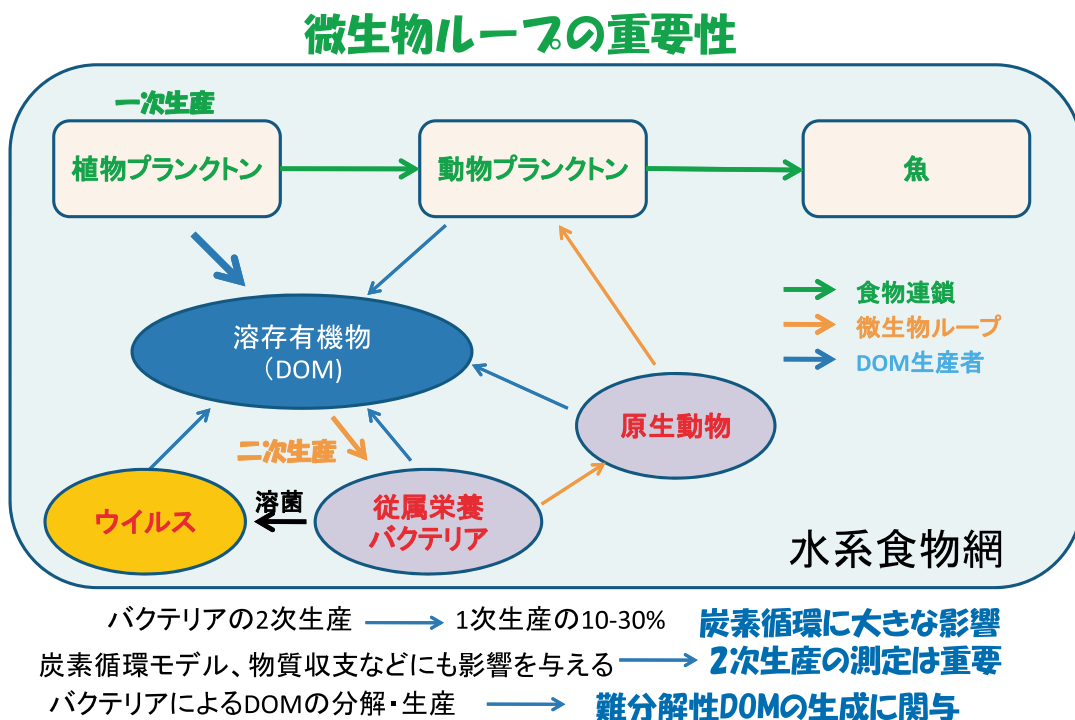


図4 水系における微生物ループの概要

そこで本研究ではアクティブ蛍光法（人工光源 [キセノンランプや発光ダイオード等] によって励起された生体内クロロフィル蛍光の強度 [量子収率] を測定する方法）の一つである FRRF (Fast repetition rate fluorometry) 法により、一次生産量を陸域で測定する手法を開発した。また短時間で測定できるという利点を生かし、霞ヶ浦での一次生産速度の季節的・地点的変動を捉える事に成功した。

測定機器として Chelsea Instruments 社製 FAST^{tracka} を用いた (図 5)。FAST^{tracka} には閃光を照射し、得られるクロロフィル蛍光を検出する本体とともに、現場での光量子を測定する PAR センサーが付属されている。閃光照射条件は、飽和過程で 1 μs の閃光を 1 μs 間隔 (100 回照射)、緩和過程で 1 μs の閃光を 49 μs 間隔 (50 回照射) とした。以上の照射によって発せられるクロロフィル蛍光を検出することで図 6 に示すような Kautsky 誘導曲線を得ることができた (10 回測定の実験値)。この誘導曲線から PSII に関する各種のパラメーターを求め、以下の式 1 を用いて一次生産量を算出した。

$$P^*_{O_2}(E) = E(z) \cdot \sigma_{PSII} \cdot n_{PSII} \cdot f \cdot qP \cdot \phi_e \quad (式 1)$$

ここで、

$P^*_{O_2}(E)$: クロロフィル 1 分子、単位時間あたりに発生

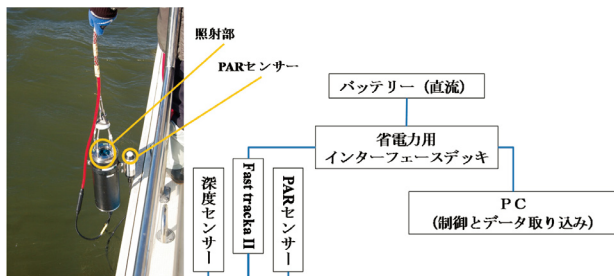


図 5 FRRF 測定機器とその構成 (FAST^{tracka})

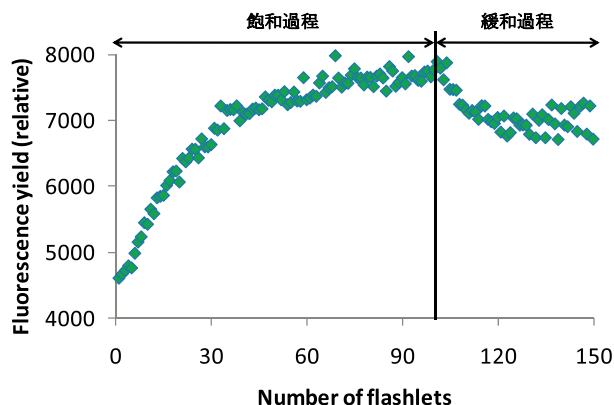


図 6 FRRF 法における Kautsky 誘導曲線の例

する酸素分子の数 ($O_2 \cdot Chl.a^{-1} \cdot s^{-1}$)

$E(z)$: z m 深における PAR 照度 ($quanta \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$)

σ_{PSII} : PSII の有効光吸収断面積 ($m^2/quanta$)

n_{PSII} : クロロフィル 1 分子あたりの P_{680} の数 ($electron \cdot Chl.a^{-1}$)

f : 暗所における有効な光化学系 II の反応中心の割合 (-)

qP : 光化学反応による蛍光の消光 (-)

ϕ_e : PSII の酸素発生のための電子輸送の量子収率 ($O_2 \cdot electron^{-1}$)

である。

なお各種のパラメーターを求める際には、暗所時での誘導曲線における F_0 と F_m の値が必要となる。そのため、本研究では湖心部において採水した試料 (60 L) を、実験室の暗所で 1 時間静置した後、同様に誘導曲線を求めた。

飽和過程での誘導曲線は、以下の式 2 に示すようなワンヒットポアソン関数で近似させることにより、植物プランクトンの PSII における有効光吸収断面積 (σ_{PSII}) を得ることができる。

$$F = F_0 + (F_m - F_0) \cdot [1 - \exp(-\sigma_{PSII} \cdot E)] \quad (式 2)$$

ここで

F : クロロフィル蛍光の量子収率

E : 積算閃光エネルギー

である。

また、緩和過程での誘導曲線は以下の式 3 に示すような近似から、 τ_{Qa} を得ることができる。

$$\phi(t) = \alpha \cdot \exp(-t/\tau_{Qa}) \quad (式 3)$$

この τ_{Qa} は以下の式 4 において適用され、 ϕ_e を求めるために利用される。

$E \cdot \sigma_{PSII} \cdot qP \leq 1/\tau_{Qa}$ の時、 $\phi_e = 0.25$

$E \cdot \sigma_{PSII} \cdot qP > 1/\tau_{Qa}$ の時、 $\phi_e = 0.25 / (E \cdot \sigma_{PSII} \cdot qP \cdot \tau_{Qa})$

(式 4)

なお qP は以下の式 5 から得られる。

$$qP = 1 - E \cdot \sigma_{PSII} / [E \cdot \sigma_{PSII} + (1/\tau_{Qa})] \quad (式 5)$$

また f は Kolber & Falkowski の測定方法に倣い、暗所時で得られる誘導曲線の F_0 と F_m の数値を用いて、 $f = (F_m - F_0) / F_m / 0.65$ として計算した。

(2) 霞ヶ浦における藻類一次生産速度の測定

測定は霞ヶ浦 3 地点 (図 7 の St.3, St.7, St.9) において 2010 年 12 月 27 日、2011 年 8 月 3 日、12 月 7 日、2012 年 4 月 12 日に行った。なお、一部の月では

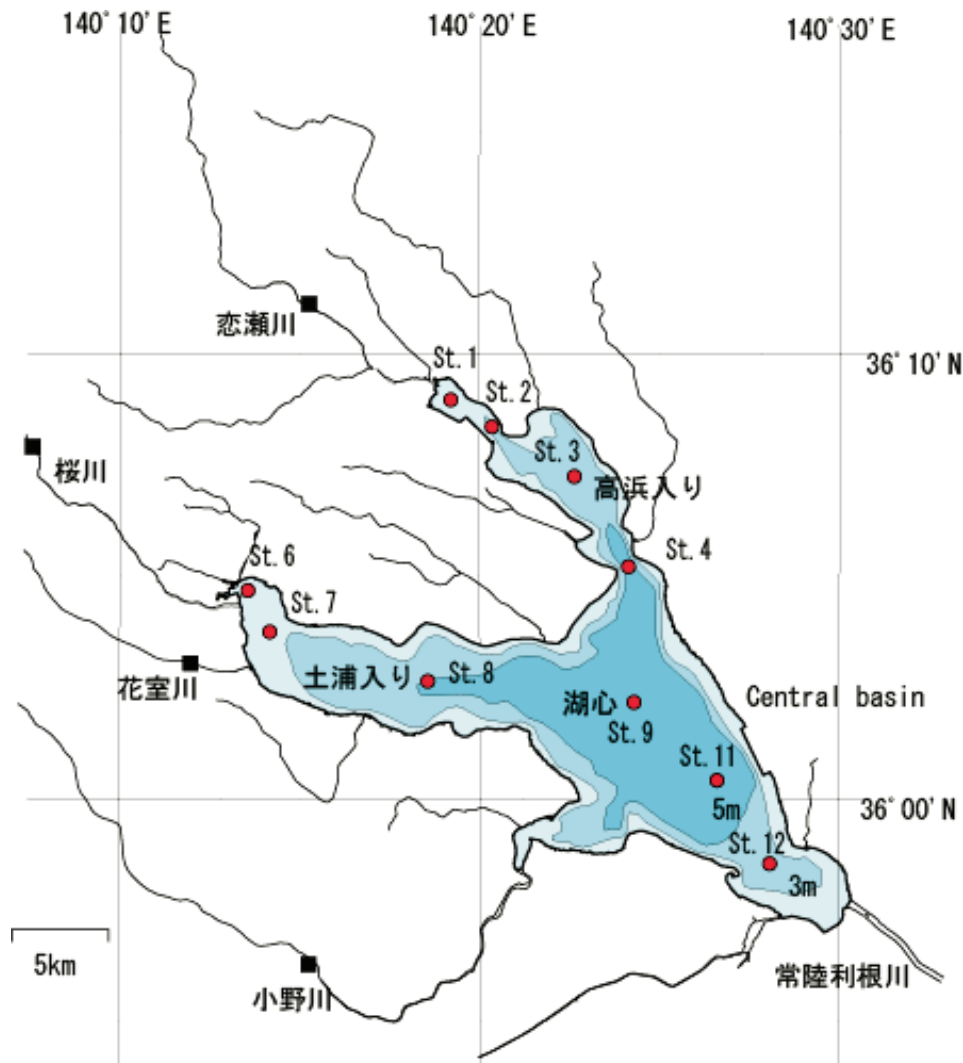


図7 霞ヶ浦および流入河川におけるサンプル採取地点

10 地点 (St.1, St.2, St.3, St.4, St.6, St.7, St.8, St.9, St.11, St.12) で測定した。

霞ヶ浦での一次生産量は、図8に示すとおり、調査地点や調査時期に関わらず概ね表層で高く深層で低い傾向が見られた。単位クロロフィル a 当たり換算したデータであるため、植物プランクトンは表層で活発に活動していることが分かる。一方で、太陽光が十分に透過していないと思われる 200cm 付近でも、僅かながら生産が行われている事が示された。

St.3 (高浜入) での一次生産量は図8 (a) に示すとおり、冬季 (12月) に低く夏季 (8月) に高いことが分かった。しかし 100cm 以深に着目すると、夏季では深さ 150cm において一次生産量がほぼゼロとなるのに対し、冬季では深さ 200cm においても生産が行われていることがうかがえた。2011年8月は高浜入においてアオコが大量に発生しており、太陽光が十分に透過されな

かったためと考えられる。

St.7 (土浦入) では他地点の結果と比べ一次生産量が低かった。また季節変化も顕著には見られなかった (図8 (b))。2011年8月は土浦入において20年ぶりにアオコの大量発生が確認され、悪臭や景観の悪化など社会問題を引き起こした。しかし、有機物の生産性と言う点から見れば、それらの植物プランクトンの生産性は冬季と変わらないものであり、非常に低いことが分かった。

St.9 (湖心) でも冬季の一次生産量は夏季に比べて低く、St.3やSt.7とも大差がなかった。一方で、夏季の一次生産量は非常に高く、St.3と同様の季節変化を示した (図8 (c))。しかし他地点と異なり、St.9では春季 (2012年4月) においても生産性が高い事が分かった。特に深さ 200cm でも $0.015 \text{ (O}_2 \cdot \text{Chl.a}^{-1} \cdot \text{s}^{-1})$ という比較的高い生産性が見られたことは興味深い。

図8で明確に地点間の差が見られた夏季 (2011年8月)

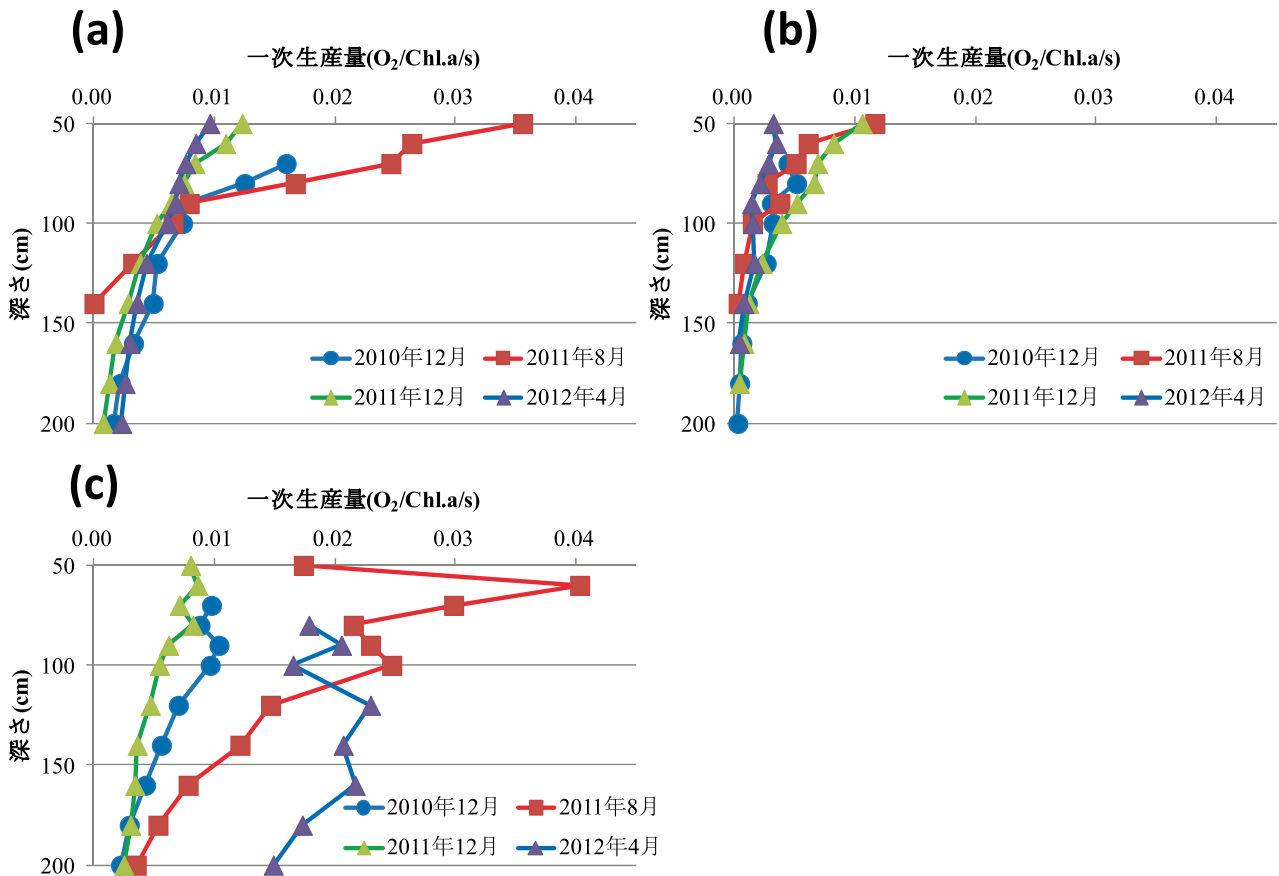


図8 霞ヶ浦における藻類一次生産速度の季節変化：(a) St.3 (高浜入り)、St.7 (土浦入り)、St.9 (湖心)

については、霞ヶ浦 10 地点における一次生産量（深さ 100cm）と Chl.a 量（200cm カラムで採取した試料の測定値）の比較を行った。図 9 に示す通り、高浜入と土浦入の最湾奥にあたる St.1 と St.6 では Chl.a が高く一次生産量が低かった。しかし St.1 → St.2 → St.3 → St.4 または St.6 → St.7 → St.8 と、湖心に近づくにつれて Chl.a が低くなり一次生産量が高くなっていく傾向が見られた。また湖心付近では一次生産量の最大値と Chl.a の最小値を記録した。以上の結果から、2011 年 8 月にアオコを引き起こした植物プランクトンは、もともと湖心付近で活発に活動していた植物プランクトンが吹き寄せられたものであった可能性が高く、また湾奥に到達する頃には非常に高密度で存在するものの、有機物の生産性（増殖）については低かったものと推測される。

陸水における有機物循環をさらに詳しく捉えるためにも、今後は FRRF 法を用いて河川での一次生産量を測定していく必要がある。河川における植物プランクトンの一次生産測定は研究例が少なく新規性の高い成果が得られると期待される。しかし河川は湖沼と違い、水深が浅いことから、測定を可能にするためには、これまでの様

に縦向きにセンサーを沈める方法は適さない。そこで、縦向きにセンサーを沈めた場合と横向きにセンサーを沈めた場合において、得られたデータを比較した。結果として、測定地点と測定時期に関わらず、いずれも高い相関性が見られ、横向きに沈めた場合には縦向きに沈めた場合よりも一次生産量を低く見積もることが分かった。ただし、その際の係数が測定地点と測定時期によって異なっていた (1.1 ~ 1.9)。従って、河川において調査する際には、何らかの形で縦向きに沈めた場合の測定を行い、係数を定めておかななくてはならない。また、St.9 での測定結果から、一次生産量が 0.01 (O₂・Chl.a⁻¹・s⁻¹) を越える場合には、相関性が低くなることも分かった。

(3) 細菌二次生産速度測定法の開発

従属栄養性細菌は水環境中における炭素や窒素の循環において重大な役割を果たしている。細菌は微生物ループ（溶解有機物、従属栄養性細菌、および微小動物プランクトンの三者から構成される栄養経路のこと、主に海洋で）における主要な貢献者であり、当該ループにおいて DOM を吸収異化して、バイオマスを増大させる（図

4). このバイオマス増加が細菌生産と呼ばれる。細菌は鞭毛虫類や原生動物に、鞭毛虫類や原生動物はより高次の生態栄養段階の生物に捕食される。海洋では細菌の生産量は一次生産量の10-30%に相当すると報告されており、沿岸域や陸水域ではその寄与はさらに大きいと推察されている。

一方、従属栄養性細菌は海洋における主要なDOM供給源と考えられている。細菌由来の有機炭素の懸濁態有機物(POM)やDOMプールへの寄与は、海洋では20-40%と言われている。従って、水環境中における炭素循環への細菌の寄与はとても重要であり、炭素およびエネルギーフローに係るモデルを構築する際に考慮されるべきと考えられる。

しかしながら、これ程重要な細菌の生産速度について、藻類の一次生産速度や動物プランクトンの生産速度の測定に比較すると、報告例が極めて少ない。特に、我が国においては、陸水環境ではほとんど報告例が見当たらない。この報告例払底の重大な理由は、細菌生産速度の測定には放射性同位体を使用しなければならないことにあった。1980年代に放射性炭素同位体でラベルした

ロイシン(leucine)あるいはチミジン(thymidine)を使った細菌生産の測定法が確立された。しかしながら、放射性同位体の野外での使用は、多くの国々において、専用設備の不備や法律の問題のため厳しく制限されている。

Steward & Azam (Aquat.Micro.Ecol., 1999)は、細菌二次生産測定において、放射性同位体の代わりにプロモデオキウリジンを使う代替法を提案した。プロモデオキシウリジン(5-bromo-2'-deoxyuridine [BrdU])は免疫学の分野でチミジンアナログ(類似物質)として使用されてきたものである(図10)。BrdUは生物によって生産されないため、チミジンの代わりに細菌に取り込まれたBrdUをDNAの合成量、すなわち細菌生産量の指標とみなせる。取込まれたBrdUは特異的に結合する蛍光物質と抗体を作るため、その蛍光抗体の測定(化学発光)により定量することができる。ところが、免疫学的な化学発光強度を濃度に変換するために、放射性同位体で標識したBrdUを使うことが依然として要求されている。すなわち、現時点において、BrdU法も完全に放射性同位体フリーな方法ではない。

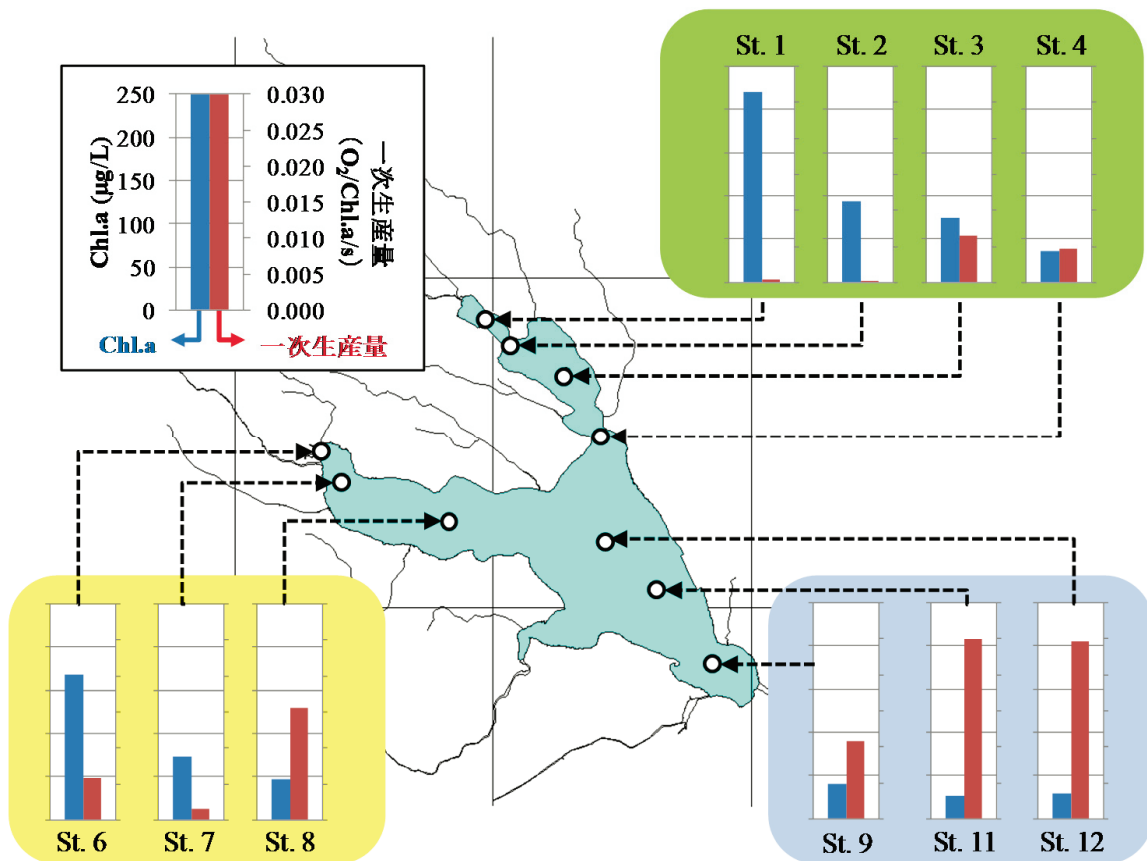


図9 各測定地点におけるクロロフィル a (Chl. a) 量と一次生産量の比較 (2011年8月)

(4) 霞ヶ浦におけるバクテリア二次生産速度

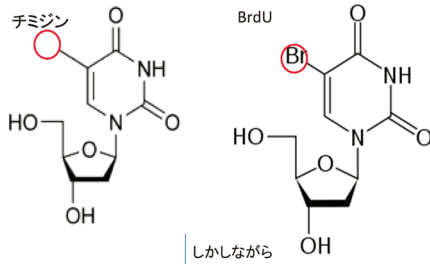
霞ヶ浦の10地点において(図7)、2010年8月、2011年3月、2011年5月に、細菌の二次生産速度をBrdU法(完全放射性同位体フリーではない)によって測定した(図11)。採取した湖水をポリカーボネイト瓶にいれ、BrdUを添加し培養を行った。培養終了時に、BrdUを添加した湖水にはチミジン(Thymidine)を最終濃度100 μ Mになるように添加し、反応を止めた。その後、孔径0.2 μ m Omnipore メンブレンフィルターでろ過した。フィルターはDNA抽出を行うまで、-80 $^{\circ}$ Cで冷凍保存した。

結果として、霞ヶ浦における細菌二次生産速度は140 μ gC \cdot L $^{-1}\cdot$ d $^{-1}$ ~ 690 μ gC \cdot L $^{-1}\cdot$ d $^{-1}$ の範囲にあり、2011年3月では高浜入りや土浦入りの湾中央付近でと

ても高く、湖心では低い値を示した。当該細菌二次生産速度の値は沿岸域における報告値の14~70倍に相当した。2011年5月には、河川からの出水の影響のためか、高浜入りで恋瀬川が流入する地点(Sts.1,2,3)で高い生産速度を示した。前年の夏、2010年8月には、土浦入りで桜川が流入する地点で最大値を示した。一方、高浜入りでは5月に比べてかなり低い値を示した。季節によって、霞ヶ浦の二つの入り江の細菌二次生産速度の変化パターンが異なることは興味深い。

最近、BrdUの誘導体化によるLC/MSでの定量にやっと成功した(図12)。今後は、放射性同位体 3 H]-TdR(チミジン)、または 3 H]-BrdUを用いたバクテリア生産速度測定法との比較検討を行う予定である。完全放射性

1990年代後半にチミジンの類似物質である5-bromo-2'-deoxyuridine(7-デオキシウリジン, BrdU)を使用した測定法が確立された。BrdUは非生物由来であり、取り込まれたBrdU量が、二次生産みならずことができるため放射性同位体を使用しなくても良いためフィールドでの二次生産測定も可能になった。



標準物質の輝度を濃度変換するのに放射性同位体で標識されたBrdUが必要

図10 プロデオキシウリジン (BrdU) 法の原理

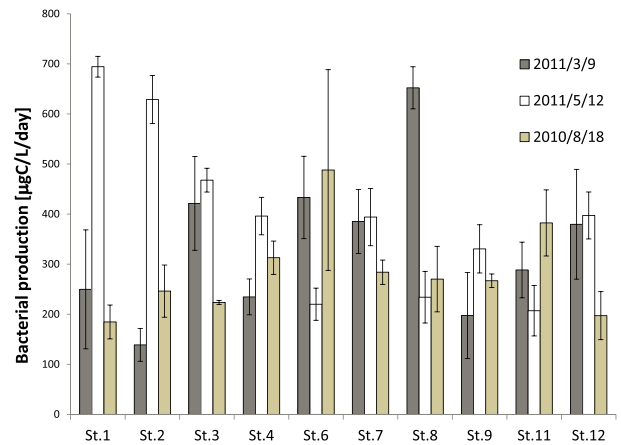


図11 霞ヶ浦における細菌二次生産速度の季節変化

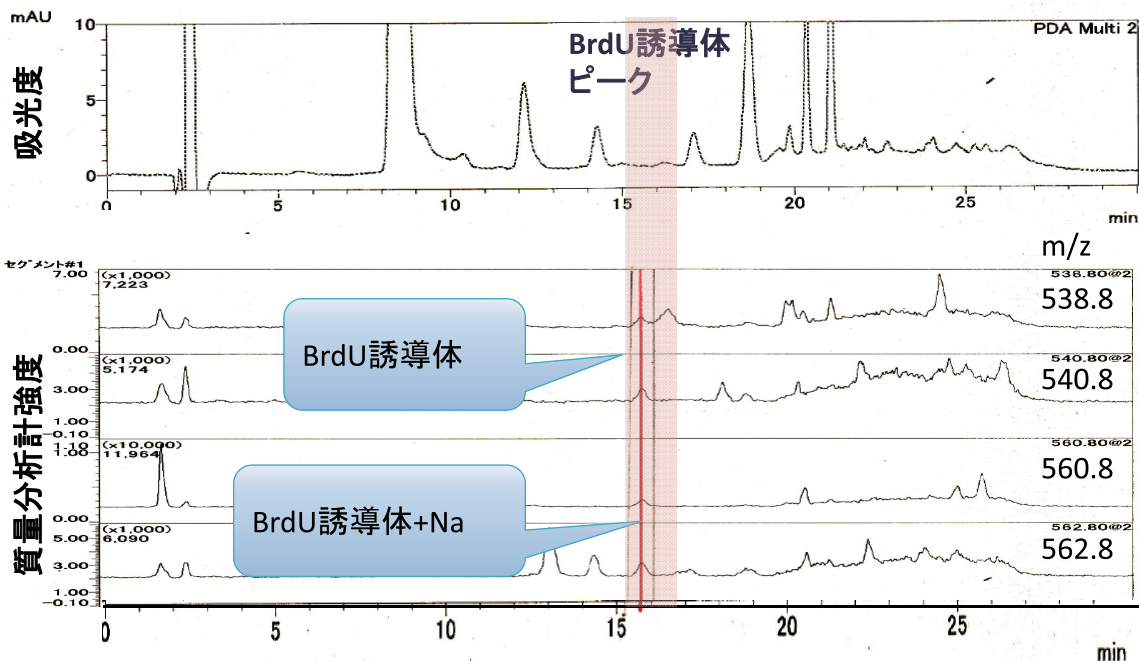


図12 細菌に取り込ませたBrdU誘導体のLC/MSによる検出 (BrdU 100nM 添加、5時間培養、20 $^{\circ}$ C)

同位体フリーの方法に向かって前進する。

2.1.2 DOM 難分解性化メカニズムの検討

水環境中の有機物は本質的に従属栄養性細菌に利用されるが、非生物・非粒状である溶存態の有機物、溶存有機物 (DOM) の蓄積が広く認められている。水環境における細菌と DOM との関係について見てみよう。図 13 は水系食物網 (aquatic food web) を概念的に表したものである。細菌は DOM を消費して細菌バイオマスを生産する。生産された細菌は従属栄養性の鞭毛虫類や繊毛虫類に捕食される。次に、それらの原生動物は動物プランクトンに捕食され、生食連鎖 (grazing food chain) に結び付く。一次生産の約 50 % が微生物ループを通ると見積もられている。そして、細菌はこの微生物ループを介して易分解性 DOM を消費することと並行して難分解性の DOM を生産すると考えられる。

海洋における難分解性 DOM についての研究報告をまとめると、(i) 生産された DOM の大部分は迅速に消費される、(ii) 残存している DOM の大部分は細菌に利用されない (難分解性)、(iii) 海洋 DOM のほとんどは細菌由来、特に細胞壁構成物質ペプチドグリカン由来、(iv) 海洋難分解性 DOM の生成は生物学的プロセスであり細菌由来である、等のことが言える。

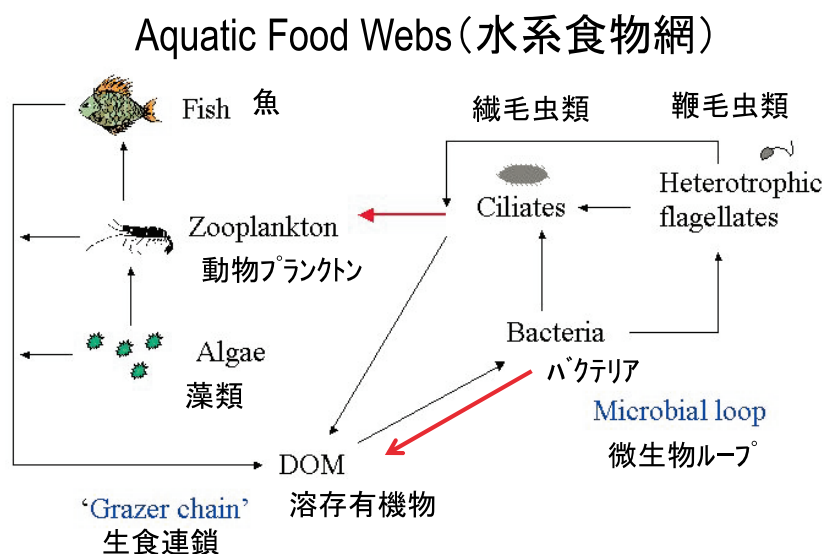
図 14 はグラム陰性細菌 (Gram negative bacteria) の細胞壁構造を表したものである。細菌の細胞壁に特異的に存在するリポ多糖類 (lipopolysaccharides)、ポーリン (porin)、D-体アミノ酸 (D-amino acids)、ムラミ

ン酸 (muramic acids) が海洋 DOM に遍在的に存在すると報告されている。この事実は、海洋において細菌が DOM の主要な生産者、供給源であることを示唆している。最近の研究では、細菌のバイオマーカー (ムラミン酸や D-体アミノ酸) を使って細菌由来の DOM が算定されている。

本研究では、霞ヶ浦ろ過湖水を用いて培養実験を行い、細菌の増殖や分解過程において、DOM の濃度および化学的組成の変化を追跡・解析することで難分解性 DOM の生成メカニズムを明らかにすることを目指した。

(1) 培養実験概要

培養実験は 2009 年 8 月と 2010 年 4 月に霞ヶ浦で採取された湖水を使って行われた。2009 年の培養実験を実験 I、2010 年の実験 II と呼ばせていただく。湖水は事前に希塩酸と Milli-Q 水で洗浄された 20L タンクに採取された後、霞ヶ浦湖畔の臨湖実験施設内で、押し出しポンプと 0.7 ミクロンのカートリッジフィルターでろ過された湖水を事前に希塩酸と Milli-Q 水で洗浄された 10L のナルゲンタンクに送水した。それぞれの実験では 10L のナルゲンタンクは 2 つずつ用意された。測定試料は実験 I では 0、1、2、3、6、9、14、24、60 日、実験 II では 0 日、3 時間、1、2、5、9、36 日目に採取された。試料もバキュームポンプを使ってタンクから直接 1 L のガラス瓶に採取する事によりあらゆるコンタミの可能性を防いでいる。



- 微生物ループの重要性: 一次生産の約 50% が微生物ループを通過する。
- バクテリアが海洋 DOM の主要な生産者と報告されている。

図 13 水環境における食物網 (<http://www.esf.edu/efb/schulz/Limnology/microbialloop/jpg>)

(2) バクテリア数の変化

バクテリア数は、最初の3日間で大きく変化した。実験Iでは 1.9×10^6 (mL⁻¹) から 7.9×10^6 (mL⁻¹) に、実験IIでは 1.7×10^6 (mL⁻¹) から 2.2×10^6 (mL⁻¹) に上昇した。実験Iに比べて実験IIはバクテリア数の増加は顕著ではなかった。その後、バクテリア数は徐々に下がり最終的には実験Iでは約 3×10^6 (mL⁻¹) に、実験IIでは約 1×10^6 (mL⁻¹) になった (図15)。

(3) バクテリア2次生産量の変化

バクテリアの2次生産量の測定は実験Iのみで行われた。実験は2つの10Lタンクがあるのでそれぞれ Bottle I、Bottle II とする。Bottle Iでは最初の2日

間は約 $35 \mu\text{g C} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{D}^{-1}$ であったが、Bottle IIでは約 $20 \mu\text{g C} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{D}^{-1}$ であった。2日目以降はどちらも $5 \mu\text{g C} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{D}^{-1}$ 以下に減少した (図16)。Bottle間で違いが見られたが、海洋や沿岸域のデータと比較するとバクテリア2次生産は非常に高い事が分かった。通常、海洋では外洋で $5 \mu\text{g C} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{D}^{-1}$ 、沿岸域では $10 \mu\text{g C} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{D}^{-1}$ 、河口域では $50 \mu\text{g C} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{D}^{-1}$ と報告されている。

(4) DOM および溶存アミノ酸 (Total Dissolved Amino Acids: TDAA) の変化

DOM および TDAA の変化を図17に示す。実験開始時のDOM (DOCとして) 濃度は実験Iでは3.79

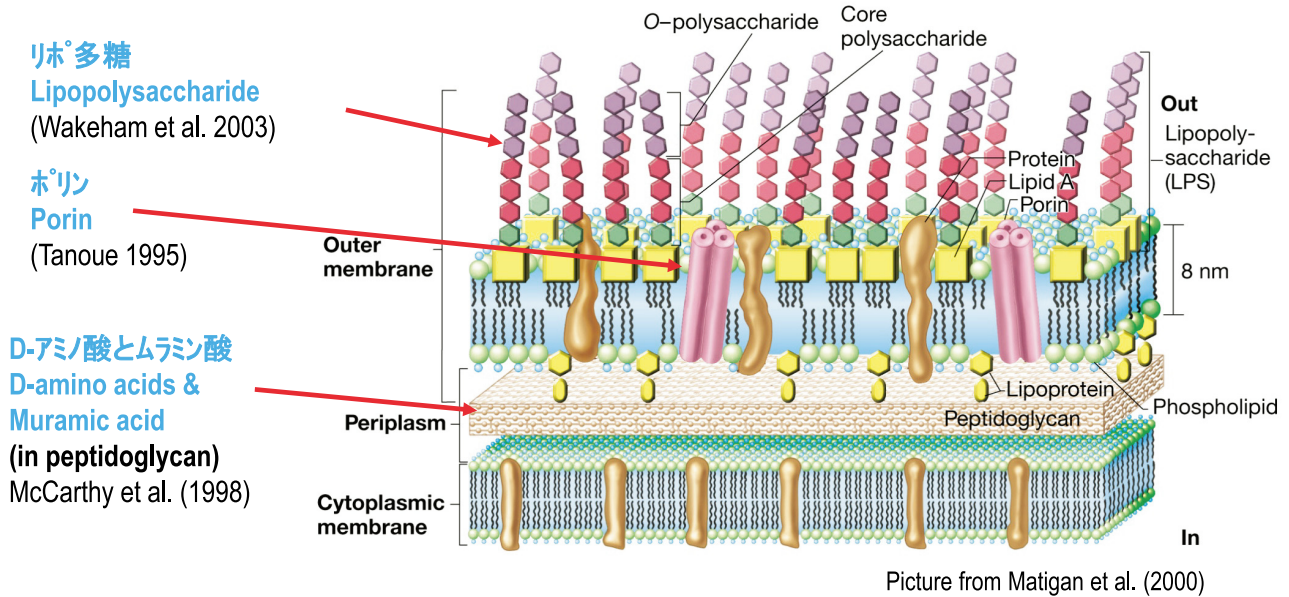


図14 グラム陰性細菌の細胞壁構造の模式図

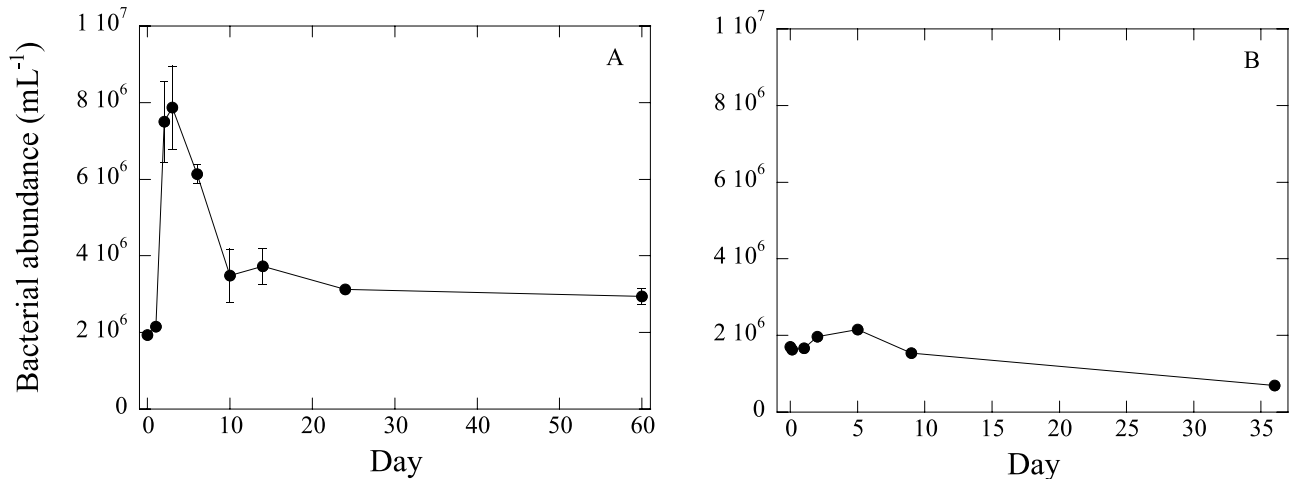
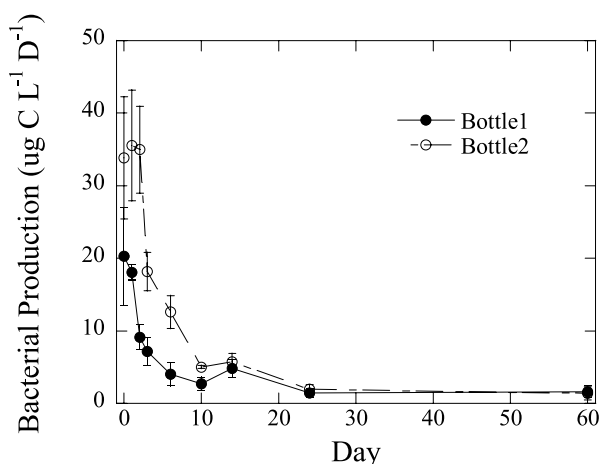


図15 バクテリア数密度の変化：A) 実験I、B) 実験II



バクテリア生産は、最初の2日間
では20-35 ($\mu\text{g C L}^{-1} \text{D}^{-1}$).

バクテリア生産は減少したDOC
の30-50%に相当した.

図 16 培養実験におけるバクテリア二次生産速度の変化

$\text{mgC}\cdot\text{L}^{-1}$ 、実験 II では $2.95 \text{ mgC}\cdot\text{L}^{-1}$ であった (図 17A, B)。TDAA 濃度は実験 I では $5.71 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、実験 II では $3.77 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ であった。DOM も TDAA も培養実験中には徐々に減少し、実験終了時には DOM 濃度は実験 I では $3.23 \text{ mgC}\cdot\text{L}^{-1}$ 、実験 II では $2.59 \text{ mgC}\cdot\text{L}^{-1}$ になった。TDAA 濃度は実験 I では $2.73 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、実験 II では $2.67 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ になった。

DOM と TDAA の残存量を比較すると、実験終了時の DOM の残存量は 85 % 以上であったのに対して TDAA の残存量は 50 ~ 70 % であった (図 17C, D)。このことからアミノ酸は DOM の中でも比較的分解しやすいと考えられる。この事は様々な研究でも同じ結果が主に海洋などで確認されているが、湖水を使った報告例はほとんどないため、貴重な報告だと考えられる。

(5) バクテリア起源バイオマーカーである D-アミノ酸
の変化およびバクテリア起源 DOM の計算

測定可能なアミノ酸 (17 種類) の中でアスパラギン酸 (Asp)、グルタミン酸 (Glu)、セリン (Ser)、アラニン (Ala) が、D-体アミノ酸が検出された。D-体アミノ酸濃度変化を図 18 に示す。D-Ala のみがバクテリア増殖期に増加していたが、他の D-体アミノ酸の濃度はほとんど変化がなかった。D-Ala のみがバクテリアの増殖期に増加するのは Kawasaki & Benner (Limnol. Oceanogr., 2006) でその可能性が示されている。しかしその D-Ala は増殖期を過ぎるとすぐに減少し、最初の濃度と同じくらいになり、実験終了後までほとんど変化がなかった。

次に D-体アミノ酸を使ってバクテリア起源 DOM の寄与計算を試みた (図 19)。バクテリア起源 DOM を算

出するには、先ず、グルコース等の既知基質を単一炭素源として与えた培養実験を行う。バクテリアがこの既知基質を消費して、結果として、バイオマーカーを含む DOM を放出する。次に、バクテリア・バイオマーカーの有機炭素当たりの収率を算出する。天然水中の DOM はバクテリア由来 DOM と非バクテリア由来 DOM の混合物である。重要なポイントは、非バクテリア由来 DOM はバクテリア・バイオマーカーを含まないこと、そして天然水 DOM 中のバクテリア由来 DOM は同一のバイオ・マーカー収率も持つこと、である。

バクテリア起源 DOM の計算は Kaiser & Benner (Limnol. Oceanogr., 2008) や Kawasaki et al. (Aquat. Microb. Ecol., 2011) による計算方法を用いた。彼らの計算方法では、バクテリアによって作られた DOM 中に占める D-体アミノ酸の割合を求め、海洋 DOM 中に占める D-体アミノ酸の割合の比からバクテリア起源の DOM を求めている。下記に計算式を示す。

$$\text{Bacterially-derived carbon}[\%] = \frac{\text{Biomarker}_{\text{DOM}}}{\text{Biomarker}_{\text{Bacterial DOM}}} \times 100$$

$\text{Biomarker}_{\text{DOM}}$ は試料中 DOM の D-体アミノ酸の割合、 $\text{Biomarker}_{\text{Bacterial DOM}}$ はバクテリアによって作られた DOM 中に占める D-体アミノ酸の割合である。上記の研究者達によると、海洋 DOM 中に占めるバクテリア起源 DOM の割合は 20-30 % と報告されている。

われわれの培養実験における D-Asp、D-Glu、D-Ala が DOC 中に占める割合を計算した。D-Ser 濃度は他よりかなり低いため除外した。 $\text{Biomarker}_{\text{Bacterial DOM}}$ の計算には、グルコースやアミノ酸など、単一の炭素源の溶媒を使ってバクテリアを数十日から数百日培養し DOM の

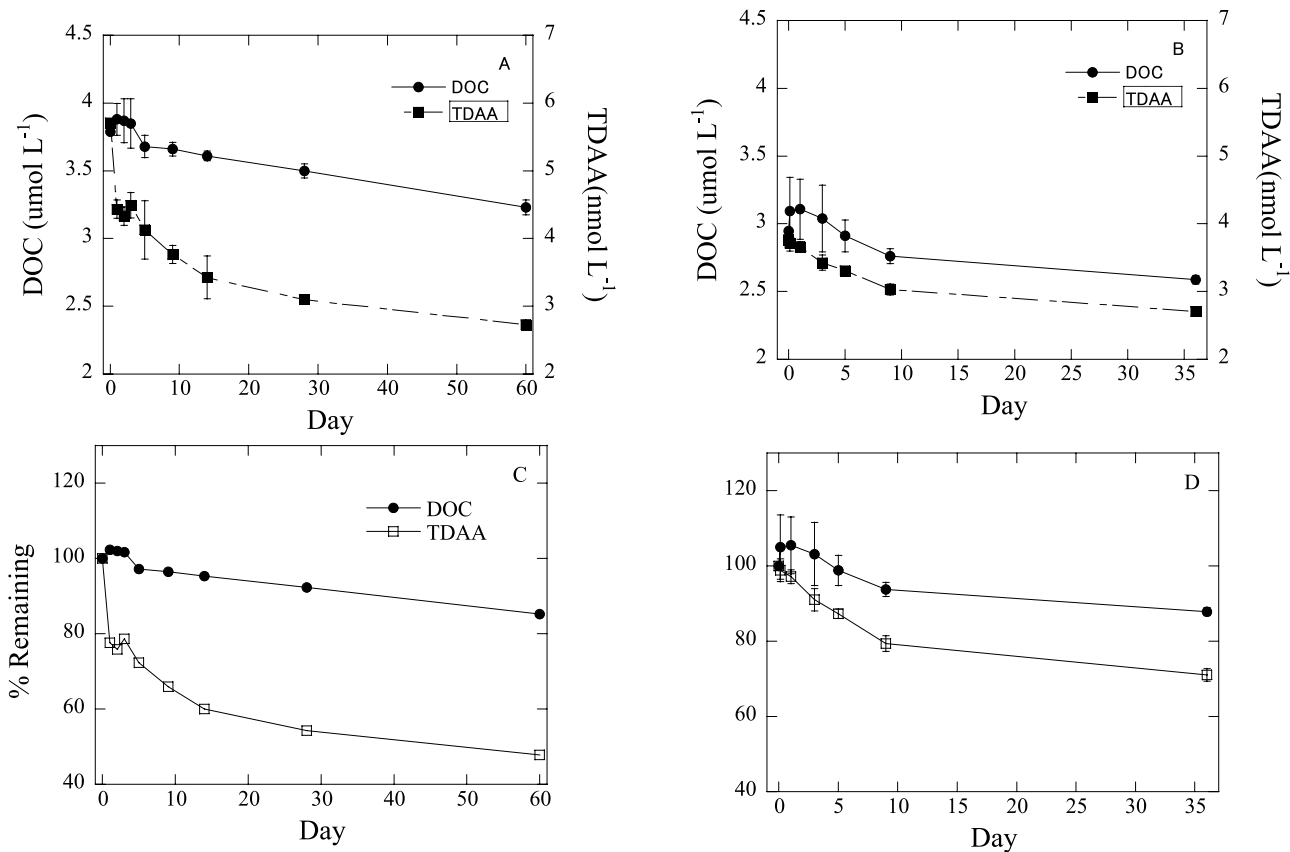
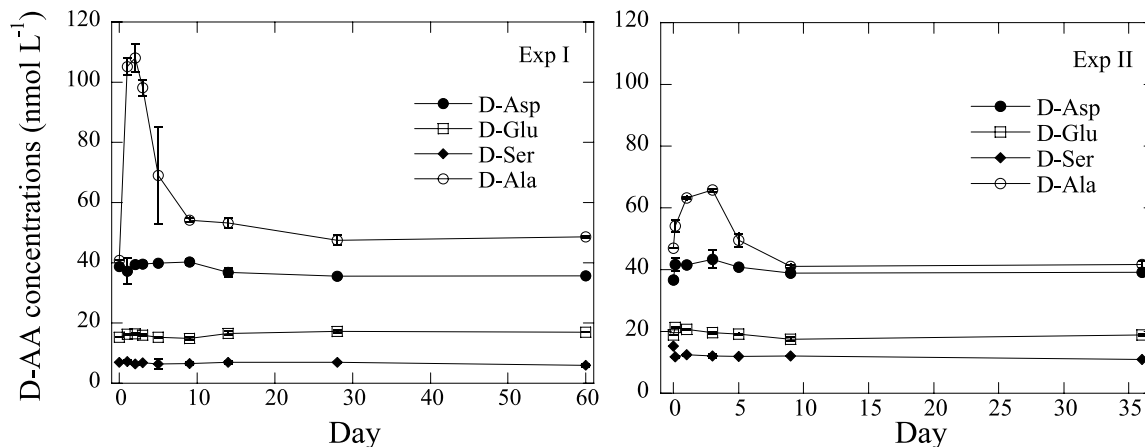


図 17 DOC と溶解アミノ酸 (TDAA) の変化 (A : 実験 I、B : 実験 II) および残存比率の変化 (C : 実験 I、D : 実験 II)



細菌の対数増殖においてD-アラニンのみが増大(Kawasaki & Benner 2006).
 定常・死滅期でのD-アスパラギン酸, D-グルタミン酸, D-アラニンの含量を使えば, 細菌
 由来のDOCが算定できる.

図 18 培養実験における D- 体アミノ酸の変化 (左図 : 実験 I、右図 : 実験 II)

濃度変化がほとんど無くなったときの DOM 中に D- 体アミノ酸が占める割合を使用する。今回、そのような実験を行わなかったため、現存するデータ (n=5) の平均を使用した。今回の実験で D-Asp、D-Glu、D-Ala が DOM 中に占める割合の計算結果を図 20 に示す。D-Ala は、細菌増殖期に濃度が上昇するため、細菌

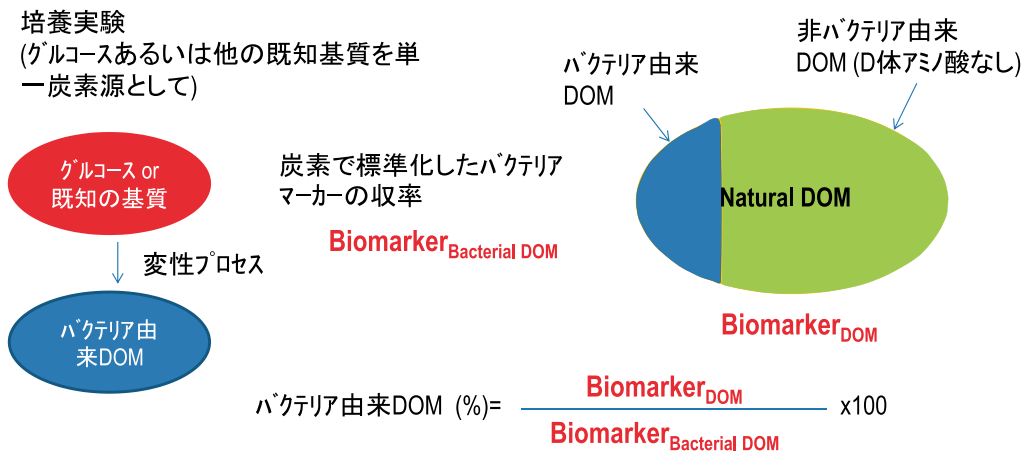
起源 DOM の割合が上昇するが、その後は減少した。平均値には D-Ala の細菌増殖期の値は含まれていない。

これらの計算結果から霞ヶ浦湖水 DOM における細菌起源 DOM の割合は 35 ~ 55 % となった。この値は海洋 DOM 中の割合 (20 ~ 30 %) よりも高い。こ

の違いは、次のように考えられる。1つは、海洋 DOM の主な生産者は植物プランクトンであるが、霞ヶ浦では、植物プランクトンによる湖内生産の他に河川、底泥、下水処理水等から DOM が供給される。特に下水処理水は、バクテリアを使って生物分解できる DOM のほとんどが分解されているため、残った DOM の多くはバクテリア起源 DOM だと考えられる。また底泥間隙水も、底泥でバクテリアによってかなり修飾されているものと考えられる。それゆえ、湖水の方がバクテリア起源 DOM の割合が高いかもしれない。他には DOM の古さも違いの大きな原因になっているかもしれない。Kaiser & Benner (Limnol. Oceanogr., 2008) では、この点につ

いて次のように考察している。本来はバクテリア起源 DOM の割合はもう少し高い可能性があるが、続成作用 (Diagenesis) によりバクテリア起源のバイオマーカーも徐々に分解されてしまうため、実際よりも過小評価され 20 ~ 30 % 程度になるのではないかと考えている。一方霞ヶ浦では DOM は比較的若い。Nara et al. (Nucl. Instr. & Methods in Phys. Res. B, 2010) の報告では霞ヶ浦湖水 DOM は生成されて 200-700 年位であるが、海洋 DOM は 4,000 ~ 6,000 年という報告がある (Williams & Druffel, Nature 1987)。今回の測定データからバクテリアが水環境中 DOM の主起源であることが示唆された。

バクテリア由来 DOM の算定法



バクテリアDOM (%) はこれまでに海洋においてのみ算定。

図 19 バクテリア起源溶存有機物 (DOM) の寄与算定の考え方

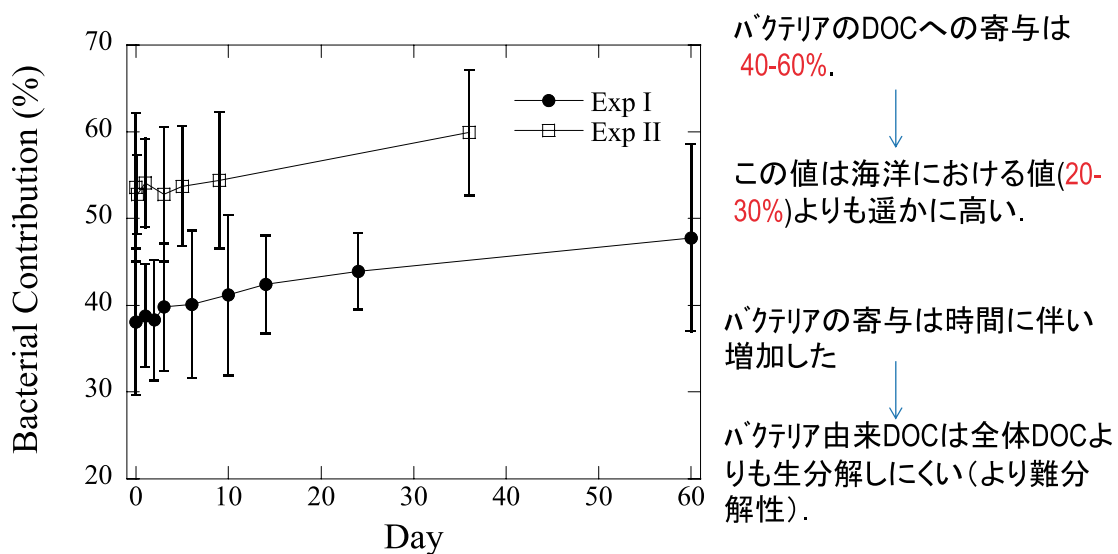


図 20 培養実験におけるバクテリア起源 DOM の割合の変化

2.1.3 アオコ形成藍藻類の動態解析

アオコ（青粉）とは、藍藻類を主体とした水の華（湖面が呈色するほど藻類が増える）現象を指す。湖面が青緑の粉を撒いた筋状に分布することからアオコと名付けられた。

アオコを形成する主要な藻類は藍藻類の *Microcystis aeruginosa*（ミクロキスティス・エルギノーサ、以下 *M. aeruginosa* と記す）と報告されている。この藍藻を存在密度は、通常、光学顕微鏡の計数により定量するが、*M. aeruginosa* の存在密度が低いと検出限界以下と見なされるため、冬季にはあたかも *M. aeruginosa* がいないかのように報告され、その季節的な変動を把握することが困難であった。しかし、夏季・秋季にアオコが発生するのであるから、*M. aeruginosa* は冬季には当然ある程度の密度で存在していると想定される。

この状況を鑑みて、本研究では、湖水から微生物の DNA を定量的に抽出する方法を開発して、*M. aeruginosa* のみを検出できる特異的なプライマーを設計して、定量 PCR（ポリメラーゼ連鎖反応）解析によって簡便に広いレンジで測定できる方法を開発・確立することを目指した。

当該手法を用いて、長期的に採取・凍結保存していたサンプルも用いて、霞ヶ浦における *M. aeruginosa* の存在密度の長期的動態を解析した。さらに、当該存在密度と水温、光強度等の環境因子との相互関係を検討した。

(1) *Microcystis aeruginosa* 検出用プライマーの設計

既存のシーケンス・データベースおよび国立環境研究所（NIES）保存株より得られた *M. aeruginosa* のシーケンスと他の藍藻のシーケンスから、*M. aeruginosa* に共通して存在し、他の藍藻に存在しない塩基配列を検索して、特異的プライマーの設計を行った。設計の結果、二つのプライマー Mairo229f と Micro749f を作成した。これらのプライマーと細菌のユニバーサルプライマー（1492f）を用いて、霞ヶ浦湖心で採取した湖水中の微生物から抽出した DNA に対して PCR を行い電気泳動に供した（図 21）。図 21A が Micro229f、図 21B が Micro749f を使って実施した PCR の結果である。図から、明らかに、Micro229f-1492r による PCR では 1 種類の予定した長さ（1300bp）の PCR 産物しか得られなかったが（黒線囲み）、Micro749f-1492r による PCR では、予定した長さ（800bp）の PCR 産物（黒線

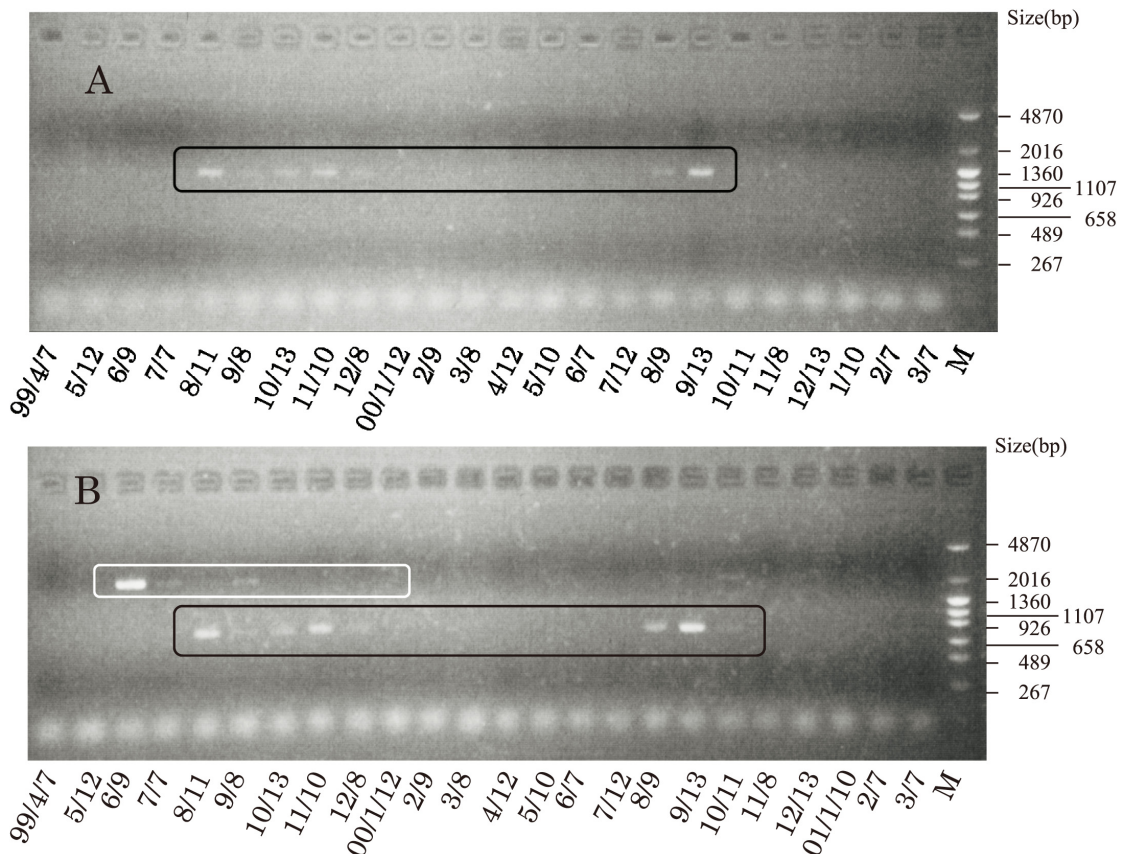


図 21 藍藻 *Microcystis aeruginosa* 検出用プライマーの設計。A: Micro229f; B: Micro749f

囲み)に加えて2000bpの産物も生産され(白線囲み)、749fの特異性が低いことが明らかとなった。このように、プライマーの設計と特異性の確認を繰り返し、*M. aeruginosa* に対する特異的プライマーを作成した。同様な手法により、*M. aeruginosa* と優占を競合すると報告されている藍藻類 *Planktothrix agardii*, *Planktothrix pseduoagardhii*, *Planktothrix mougeotii* に対するプライマーも作成した。

プライマー Micro229f の定量性を確認するために、Micro229f と細菌ユニバーサルプライマー 342r を用いて、2004年夏に霞ヶ浦近隣の用水路で発生したアオコの発生前後の水サンプルの微生物から抽出したDNAに対する定量PCR結果と、顕微鏡観察結果の相関関係を評価した。その結果、回帰分析において $r^2 = 0.978$ ととても高い相関が得られた(図22)。定量PCRと顕微鏡観察結果が一致することが確認された。当該手法を使えば1 mL中に細胞が3個あれば定量可能である。

(2) 霞ヶ浦における *M. aeruginosa* 存在量の動態

特異的プライマー Micro233f (Micro229f を一部改良したもの)を用いて、1999年4月から2011年2月の期間において、霞ヶ浦高浜入り(St.1)と湖心(St.9)で(図7)、湖水中の微生物から抽出したDNAに基づいて定量PCRを行い、*M. aeruginosa* 存在密度の動態を把握

した(図23)。St.1では肉眼でアオコが認識できる濃度 1.0×10^6 copies/mL を越えているのに対して、St.9では夏季においても 1.0×10^6 copies/mL をほとんど越えることはなかった。従って、霞ヶ浦においては夏季における *M. aeruginosa* の存在密度は地点により大きく異なることが明らかになった。

冬季においては、St.1およびSt.9ともに例外もあるがほぼ $1.0 \times 10^3 \sim 1.0 \times 10^4$ copies/mL で推移しており、夏季の存在密度は春から夏にかけての増殖特性の違いに大きな影響を受けていると考えられた。

1999年から2010年にかけての *M. aeruginosa* 存在

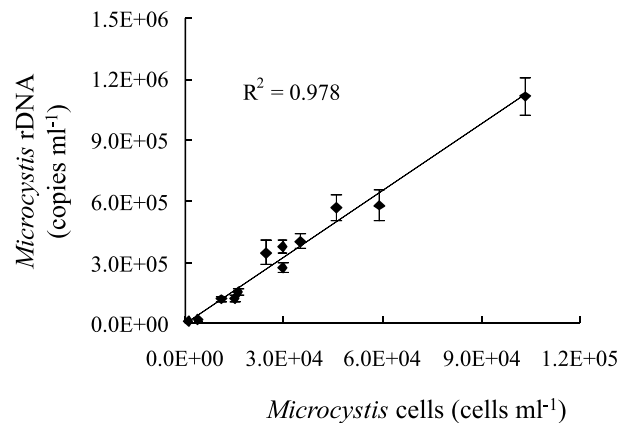


図22 アオコ発生時の水環境サンプルにおける定量ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)値と顕微鏡計数結果の相関関係

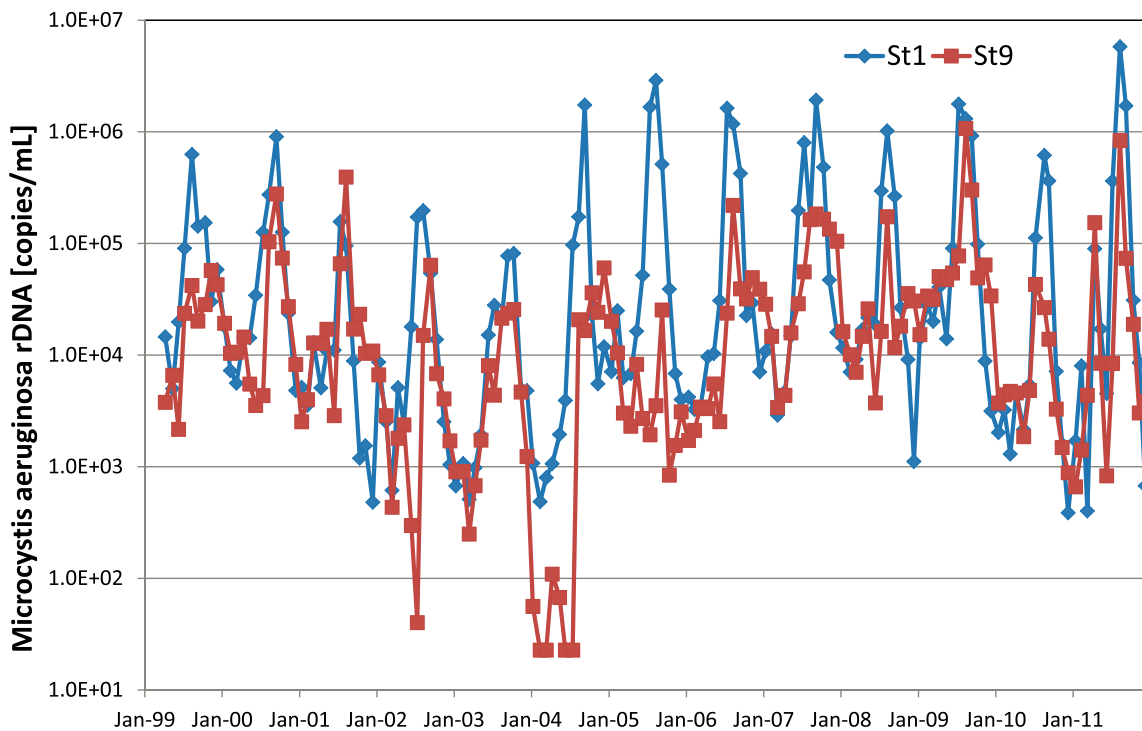


図23 霞ヶ浦における *Microcystis aeruginosa* 存在量の長期トレンド: St.1(高浜入り)、St.9(湖心)

密度の長期的な変動を見ると、St.1 および St.9 ともに 2003 年までは減少トレンドを示した。St.1 では 2004 年に夏季にアオコが観察できる 1.0×10^6 copies/mL まで増大してそれ以降ほぼ同じトレンドを記録した。一方、St.9 でも 2004 年以降漸増する傾向が示され 2009 年夏季にはアオコが観察される密度に到達した。

(3) 霞ヶ浦における *M. aeruginosa* の増殖律速因子について

霞ヶ浦高浜入り (St.3) において実施した定量 PCR の結果から *M. aeruginosa* の比増殖速度を算出して、様々な環境因子との関係を検討した。1999 年～2007 年の 6 月から 7 月及び 7 月から 8 月の比増殖速度を縦軸に、その期間における環境因子の変化を横軸に取ってその関係を統計解析した (図 24)。図中白抜き△で示した期間は、採水直前に降雨があったため、除外した。

結果として、当該期間において、*M. aeruginosa* の比増殖速度と水柱平均日射量 (b) 及び吸光係数 (c) と

の間に有意な相関関係 ($p < 0.05$) が認められた。一方、比増殖速度と全天日射量 (a) との間には弱い相関 ($p=0.07$) しか認められなかった。白抜き○で示した月は、矢印 (➤) をつけた月以外は比較的吸光係数が大きく全天日射量に比べて、水柱平均日射量が小さく、濁度の増加が *M. aeruginosa* の増殖に影響を及ぼしていると考えられた。また、これらの除外値 (白抜き△及び○) を無視した場合、全天日射量と比増殖速度の間には高い相関 ($p=0.0006$) (a) が、また、水温と比増殖速度の間にも相関が認められた ($p=0.03$) (d)。従って、霞ヶ浦において *M. aeruginosa* の増殖を左右する環境因子として日射量や水温が重要であることが裏付けられた。

2.2 湖沼における有機物の動態・循環の解明

2.2.1 湖沼・河川における DOM の動態と特性の評価

(1) 霞ヶ浦における水質の長期トレンド

国立環境研究所では、1977 年から現在に至るまで、霞ヶ浦において、水質や生物の調査を毎月継続してきた

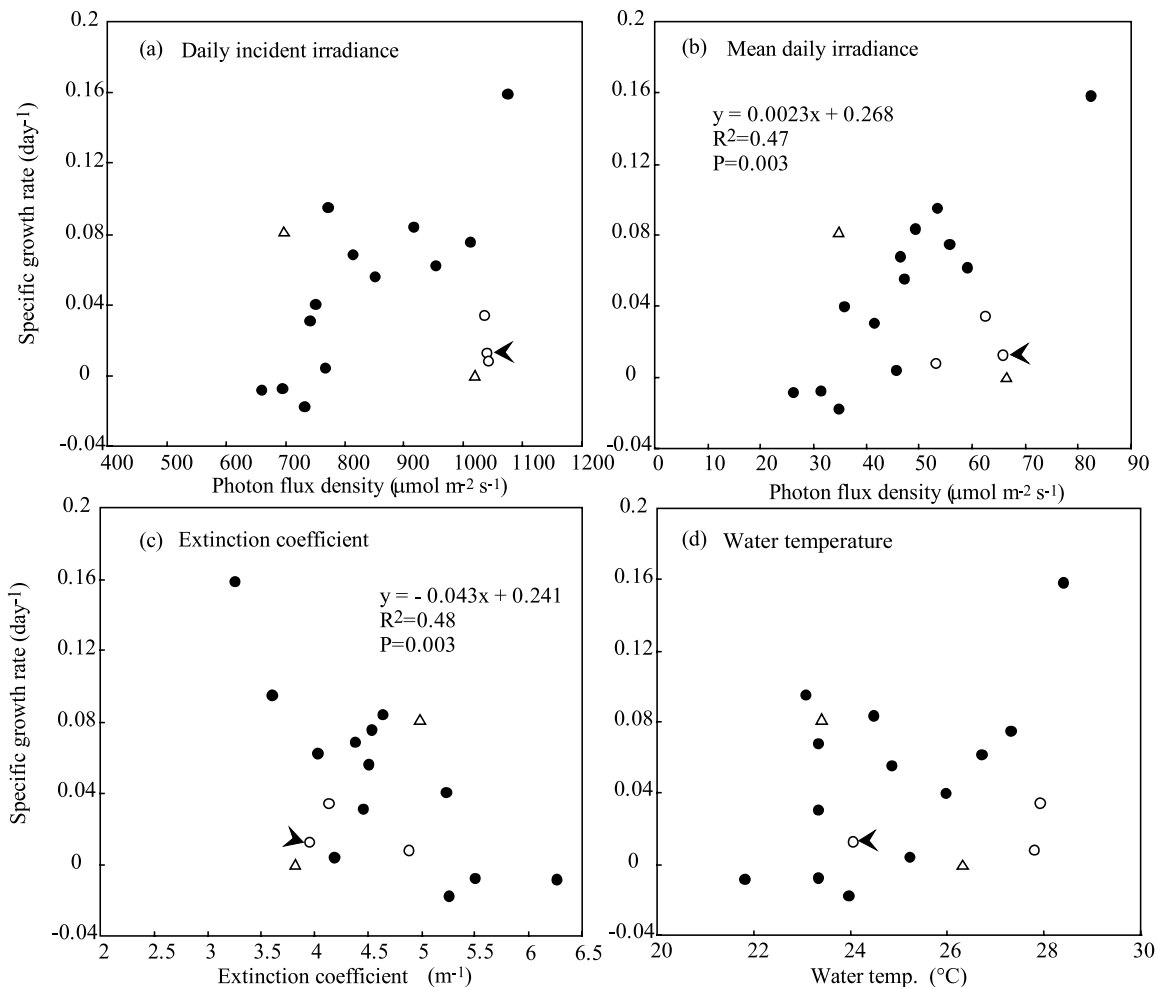


図 24 霞ヶ浦における *Microcystis aeruginosa* 増殖速度と環境因子との関係

(霞ヶ浦長期トレンドモニタリング)。湖沼の有機物指標
 といえば、環境基準である化学的酸素要求量 (COD_{Mn})
 である。COD_{Mn} は湖水中の有機物全量を表すものであ
 るため、植物プランクトンと水に溶けている有機物を
 足したものを表すと考えられる。霞ヶ浦湖心における
 COD_{Mn} の長期トレンド・プロットを図 25 (a) に表す。
 COD_{Mn} はアオコが全盛時の 1979 年に $15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ の高
 い値を示した後、徐々に減少して、1995 年以降は年間
 変動を小さくなり漸減傾向にあったが、2006 年に突然
 上昇傾向に転じた。2006 年以降、霞ヶ浦ではアオコが
 復活している。一方、植物プランクトンの量を表すクロ
 ロフィル a (色素の量) はほぼ COD_{Mn} のトレンドと同
 様のトレンドを示した (図 25 (b))。COD_{Mn} に対する
 植物プランクトン由来の寄与が顕著であると思われる。

リンや窒素は植物プランクトンの増殖必須栄養素であ

る。全リンについては、1986 年頃から 2005 年まで明ら
 かに増加傾向にあったが、アオコ復活以降、増加傾向は
 ストップした (図 25 (c))。全窒素は、1985 年～1993
 年まで漸増傾向で、次に 2005 年位まで漸減、そしてア
 オコ復活に伴い漸増傾向に転じたように見える (図 25
 (d))。しかし、リン程の顕著な変化は見えない。

霞ヶ浦でアオコが有名であったのは 1973 年～1986 年
 であるから、アオコが発生すると全リンは増加せず、ア
 オコが発生しないと全リン濃度が上昇したことになる。
 アオコはリンが多いと出現しやすいはずなので、とても
 不思議である。

次に、水がキレイかどうかを表す指標である透明度の
 長期トレンド・プロットをみてみよう (図 25 (e))。霞ヶ
 浦では、明らかに、1994 年辺りから透明度が急激に悪
 くなり、2004 年、2005 年には 50cm を下回った。しか

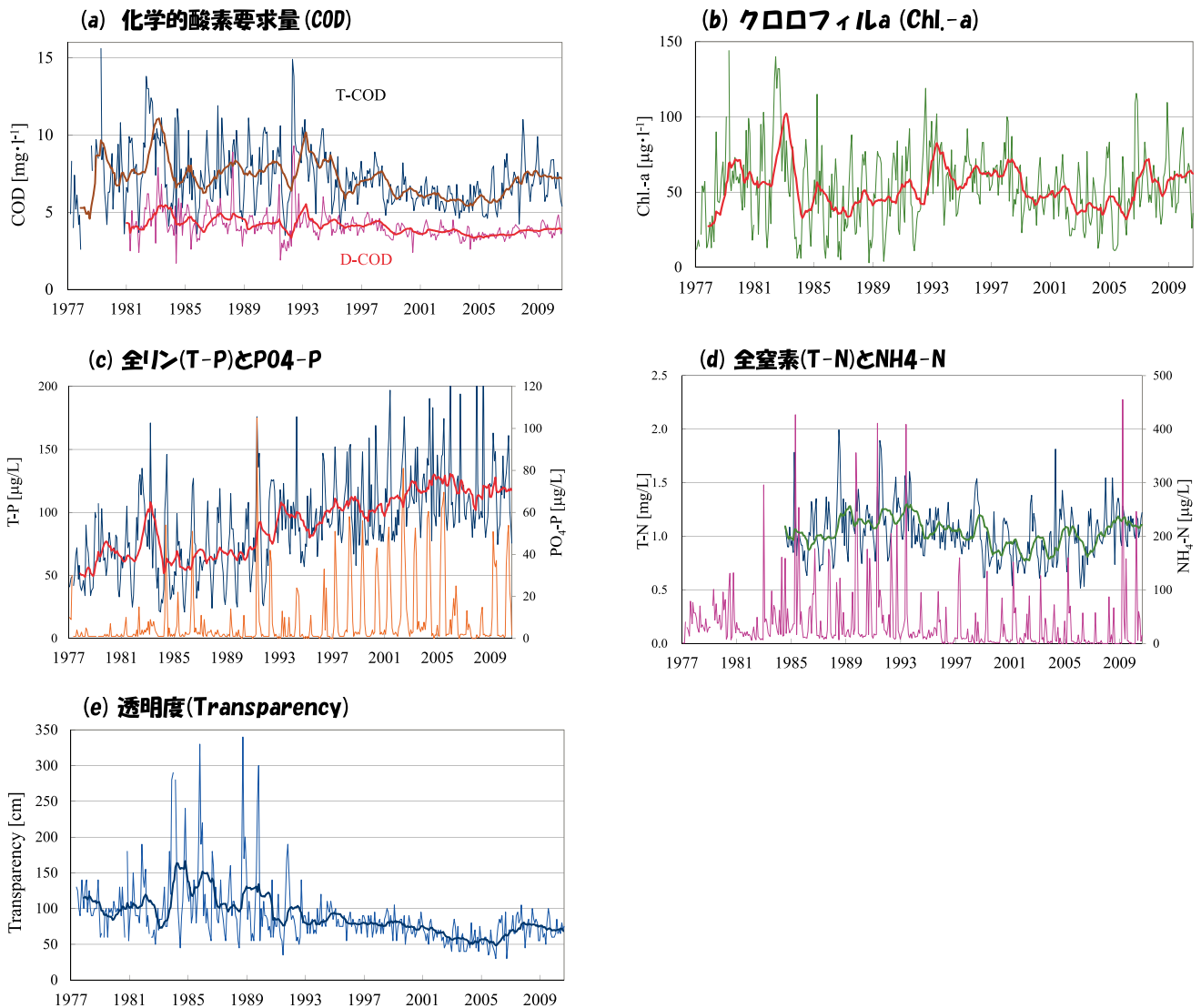


図 25 霞ヶ浦の水質パラメータの長期トレンド。(a) 全化学的酸素要求量 (T-COD) と溶存態 COD (D-COD) ; (b) クロロフィル a (Chl-a) ; (c) 全リンとリン酸態リン (PO₄-P) ; (d) 全窒素とアンモニア性窒素 (NH₄-N)、(e) 透明度

し、アオコの復活とともに透明度は上昇して、最近では1 m を越えるケースが多々見られる。

(2) 霞ヶ浦および流入河川水 DOM の長期トレンド

[霞ヶ浦 DOM のトレンド] 霞ヶ浦湖心 (St.9) における DOM と粒子状有機物 (particulate organic matter, POM) の 1997 年～2010 年の動態 (月別濃度変化) を図 26 に示す。DOM と POM (有機炭素 [DOC と POC] として) は、1997 年から 2005 年頃まで減少したが、2006 年から上昇に転じて 2007 年にピーク (極大値) を呈し、その後減少傾向に移行した。有機物に関するトレンドも、前セクションで示した水質パラメータと同様に、2005 年～2006 年に大きな変化が起きたことを示唆している。図 27 に DOM と難分解性 DOM (100 日間分解試験後の残存 DOM) の長期トレンド (1997 年～2010 年) を表す。難分解性 DOM は、DOM と同様に、1997 年～2005 年で減少トレンドを示したが、2006 年以降、DOM で観察された濃度上昇は認めらず、ほぼ一定の範囲での季節変化を示した。

DOM と難分解性 DOM の値から、DOM の分解率を算出して、その長期トレンドを評価した (図 28)。DOM 分解率の変動は顕著であった。1997 年から 2005 年までは年平均値で 12 % から 20 % で変動していたが、2006 年に急激に上昇して 2007 年には年平均分解率として 32 % を記録した。2007 年 6 月には調査期間中最大の分解率 49 % を示した。それ以降、分解率は低下して、2010 年には 14 % であった。

[流入河川 DOM のトレンド] 霞ヶ浦に流入する主要な

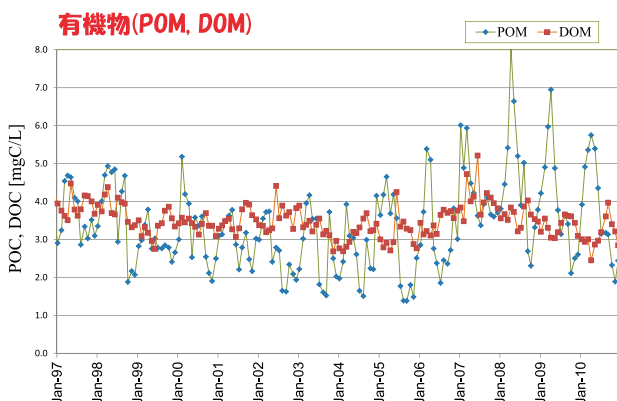


図 26 霞ヶ浦湖水中の溶存有機物 (DOM) と粒子状有機物 (particulate organic matter, POM) の長期トレンド

河川で最も湖心水質に影響を及ぼすと考えられる桜川の河川水中 DOM および難分解性 DOM の 2001 年～2009 年の月別濃度の長期トレンドを図 29 に表す。河川水 DOM は湖水 DOM よりも明白な季節変動を示し、6 月から 8 月に最大値、冬季の 10 月～3 月に最小値を記録した。調査期間中の最大値は 2005 年 6 月 ($4.27 \text{ mgC} \cdot \text{L}^{-1}$)、最小値は 2006 年 10 月 ($1.22 \text{ mgC} \cdot \text{L}^{-1}$) に観察された。年平均値で見ると、2004 年と 2005 年が各々 2.33 及び $2.38 \text{ mgC} \cdot \text{L}^{-1}$ と高い値を示した。2007 年に最小値 $1.87 \text{ mgC} \cdot \text{L}^{-1}$ を示した。

難分解性 DOM も DOM とほぼ同じトレンドを示した。年平均では最大は 2005 年の $1.65 \text{ mgC} \cdot \text{L}^{-1}$ で、最少は 2009 年の $1.35 \text{ mgC} \cdot \text{L}^{-1}$ であった。DOM の年平均分解率は 24 %～32 % の範囲の値を示し、2001 年から 2004 年まで漸減傾向にあったが、2005 年以降は、2007 年を除いて (25 %)、30 % を越える値を示した。

湖水 DOM や難分解性 DOM のトレンドと比較すると、桜川の DOM や難分解性 DOM のトレンドが湖水のそ

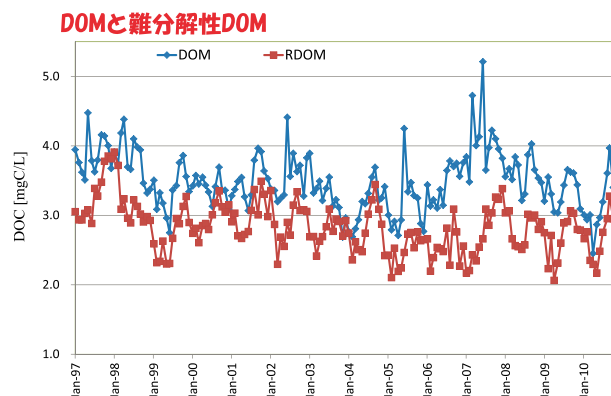


図 27 霞ヶ浦における DOM と難分解性 DOM の長期トレンド

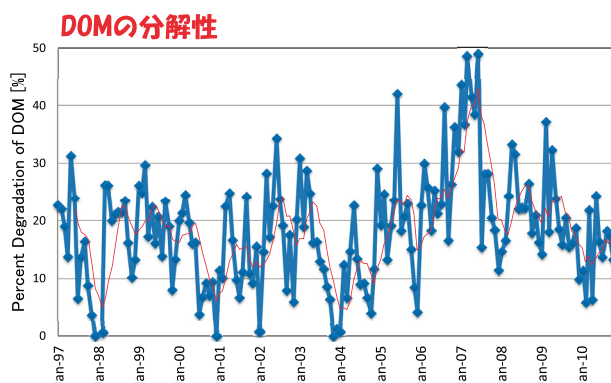


図 28 霞ヶ浦における DOM 分解性の長期トレンド

れを規定しているとは言い難い。湖沼内部由来の有機物負荷の影響が大きいと推察される。しかしながら、湖水 DOM およびその他の水質パラメータの長期トレンドに対応するように、桜川において 2005 年や 2006 年に高い DOM 濃度や分解性を示したことはとても興味深い。

(3) 霞ヶ浦湖水および流入河川水中の溶存炭水化物 (DCHO) の濃度・組成の季節変動

炭水化物は湖沼において溶存有機物 (DOM) の構成要素として同定可能な有機化合物として最大のものである (DOM の 1-12 % を占める)。湖水中の炭水化物は、光合成によって炭水化物を体内で生産・貯蔵する藻類から、細胞外排出、細胞死滅による浸出、動物プランクトン等による摂取および細胞分解を介して水中に入っていく。

炭水化物は生物学的にとっても利用性が高いため、細菌に速やかに利用される。陸水域での炭水化物の偏在性と量的な多さを考えると、炭水化物は水環境中における従属栄養代謝システムを支えている生態学的に重要な化合物と言える。しかしながら、湖沼域における DCHO の動態に関する報告例はほとんど見当たらない。そこで本研究では、霞ヶ浦湖水および流入河川水における DCHO の濃度・組成の季節変化について検討した。

[霞ヶ浦の溶存炭水化物 (DCHO) の濃度・組成・動態]

霞ヶ浦 (西浦) の高浜入り (Sts. 1, 3)、土浦入り (St. 7)、湖心 (St. 9) および湖尻 (St. 12) の 5 地点で、2005 ~ 2009 年に採取・凍結保存されたろ過サンプルを用いた (図 7)。流入河川としては、桜川、恋瀬川、花室川および

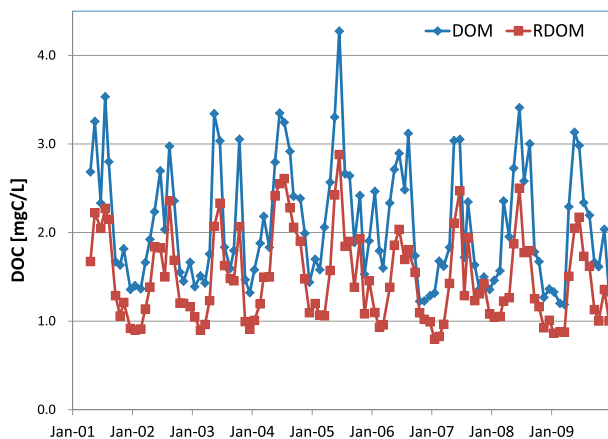


図 29 桜川における DOM 分解性の長期トレンド

び小野川の流入 4 河川で 2005 ~ 2006 年に採取・凍結保存されたろ過サンプルを用いた。DCHO の分析方法は篠原ら (水環境学会誌, 2008) の方法に従った。霞ヶ浦湖水中の DCHO が点源と面源のどちらに由来するかを明らかにするために、まず、2006 年 1 ~ 12 月に採取された各ステーション (合計 5 地点) の湖水試料を用いて DCHO 濃度の水平分布を調べた。検出された単糖類で主要なものは、フコース、ラムノース、アラビノース、ガラクトース、グルコース、マンノースおよびキシロースの 7 種類であり、加水分解後にはのみこれらが検出されることから、これらはすべて重合物の形態で湖水中に存在しており、単糖類が遊離した状態で存在しないことが確認された。DCHO 濃度は 1.2 ~ 3.2 μM の範囲であり、各ステーションともに 2、5 および 9 月に大きな濃度上昇が見られた (図 30)。月ごとの濃度変化を比べると、Sts. 3、9 および 12 の DCHO 濃度およびその変動傾向は、ともにほとんど同じだった。一方、St. 1 および St. 7 では、DCHO 濃度が 7 月から他の 3 地点よりも低下しはじめ、9 月以降では急激に低下した。

次に、霞ヶ浦湖水の DCHO 組成の特徴と DCHO 組成にステーション間の差異が見られるかどうかについて検討した。図 31 に全ステーションにおける DCHO 構成単糖類の存在割合の平均値と標準誤差をエラーバーで示した。各 DCHO 構成単糖類の存在割合は、年間を通じて大きな組成の変化が見られず、比較的安定した組成であることが分かった。霞ヶ浦湖水において、年間を通じて最も卓越する構成単糖類はキシロースであり、20 ~ 23 % を占めていた。フコース、ラムノース、ガラクトースおよびグルコースの存在割合はほぼ同程度であり、14 ~ 15 % を占めていた。また、マンノースおよびアラビノースは存在割合が低く、8 ~ 10 % 程度だった。

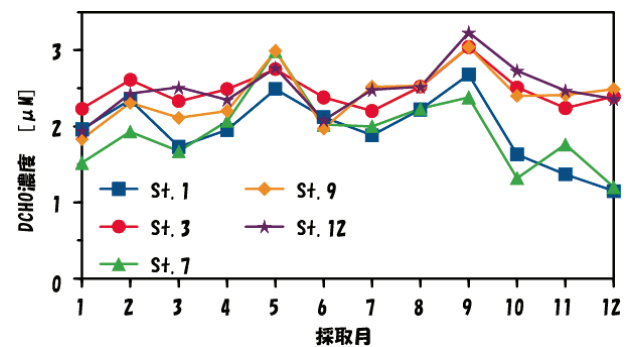


図 30 霞ヶ浦湖水における炭水化物 (DCHO) 濃度の変化 (2006 年)

各構成単糖類の存在割合が増減する時期には、物質による依存性が認められた。すなわち、ガラクトースやキシロースは4～5月に多く、グルコース、アラビノースおよびラムノースは、8～10月に多くなった。霞ヶ浦では、春季に珪藻類、夏季・秋季に藍藻類の優占が見られることから、DCHO 濃度だけでなく組成についても藻類の種組成の変化の影響を受けている可能性が高い。また、ステーション間の DCHO 組成は、図 31 のエラーバーが示す通り大きな空間変動は認められなかった。つまり、St.1 および St.7 の7月以降の DCHO 濃度の低下は増水した河川水による希釈の影響と考えられる。以上の事から、霞ヶ浦湖水の DCHO は、特定の地点で供給されたものが拡散したのではなく、湖内でかつ面源的な供給である可能性が高い。

2006 年の霞ヶ浦湖水で見られた DCHO 組成の経時変化が、藻類の種組成の季節的な変化に由来するかどうかを明らかにするために、2005 年 3 月から 2009 年 3 月ま

での DCHO 濃度、DOC に対する DCHO 由来炭素の割合 (DCHO yield) の変化 (図 32) および DCHO 組成の変化 (図 33) を調べた。霞ヶ浦湖水の DCHO の濃度および組成には空間変動がほとんど見られなかったことから、湖心 (St. 9) の試料のみを用いた。DCHO 濃度 (図 32) は、1.8～4.6 μM の範囲で増減を繰り返しており、2005 年 4 月から 2006 年にかけて減少した後、2007 年 1～4 月に急激に上昇して最大値を示した。それ以降は、大きな濃度の増減をしながら緩やかに減少した。DOC 濃度は 2.7～4.7 $\text{mgC}\cdot\text{L}^{-1}$ の範囲で分布しており、概ね DCHO 濃度と似た変動をしていた。DCHO yield は、3.6～7.8 % の範囲で分布しており、DOC 濃度ではなく DCHO 濃度と連動していた。また、DCHO 濃度および yield が上昇する時期には規則性が認められ、どの年も 3～5 月と 7～9 月が特に高い。つまり、DOM 中に炭水化物が供給されるのは、主にこの時期だと考えられる。

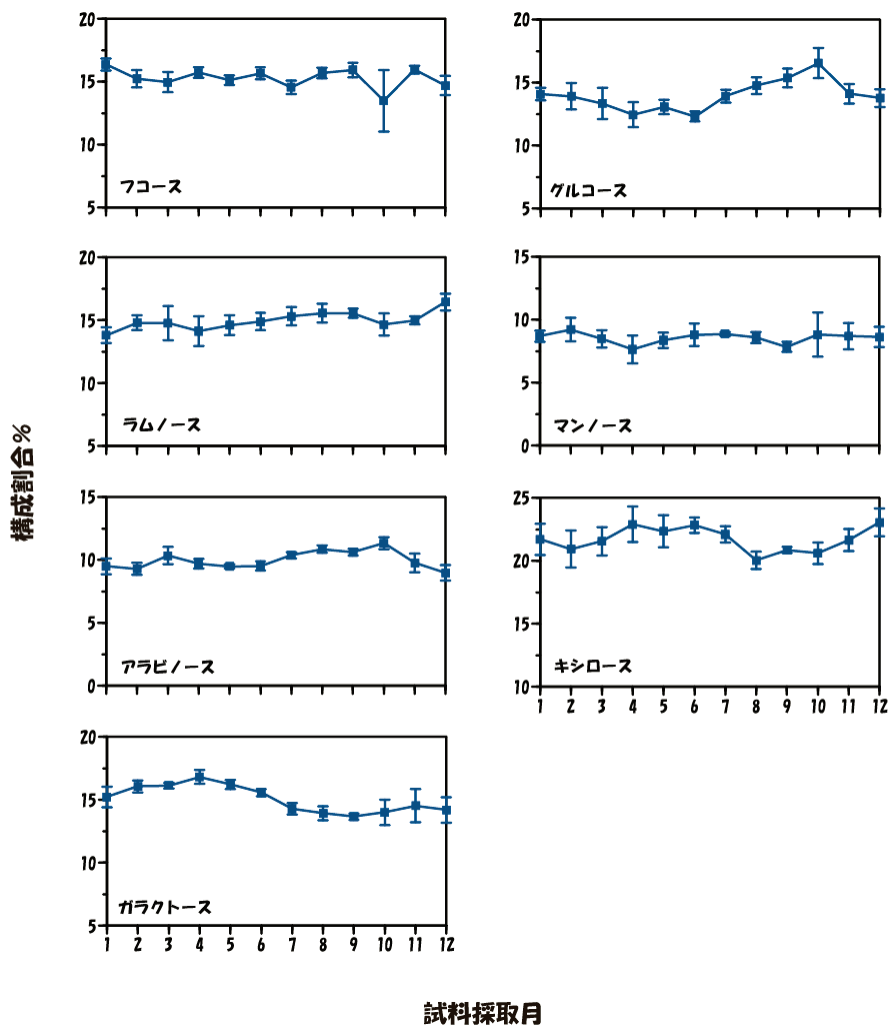


図 31 霞ヶ浦湖水における炭水化物 (DCHO) 構成単糖類の構成割合の変動 (2006 年)

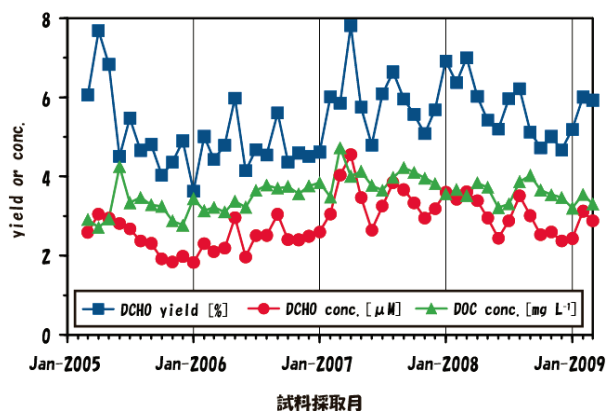


図 32 霞ヶ浦湖心における炭水化物 (DCHO) の収率と濃度の変化

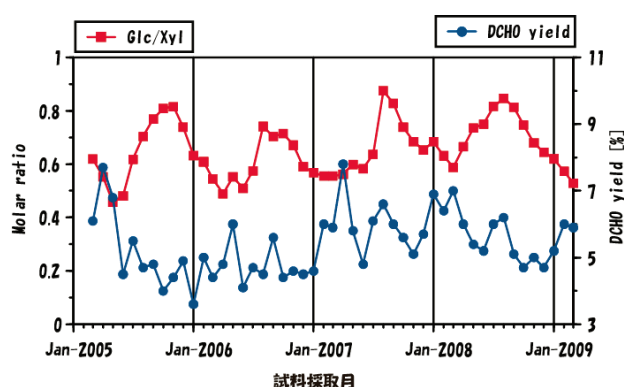


図 33 霞ヶ浦湖心におけるキシロースに対するグルコースのモル比と炭水化物 (DCHO) 収率の変化

次に、供給される DCHO の組成が年間を通じて同じかどうかについて検討した。過去の研究から、定常期に達した藍藻類がグルコースを主成分とする多糖類を大量に放出する事や藍藻および珪藻の藻体を構成する炭水化物の主成分がグルコースである事が明らかになっている。また、これらが従属栄養細菌に分解されるに伴い、yield が低下して組成が均一になる事も明らかになっている。したがって、分解を受けていない DCHO はグルコースの割合が高い事になる。一方、霞ヶ浦湖水では、前述の 2006 年の結果のとおり、霞ヶ浦湖水の DCHO 組成はキシロースが年間を通じて卓越し、その増減はグルコースと逆の傾向を示しているのが特徴である。そこで、キシロースに対するグルコースのモル比 (Glc/Xyl) を算出し、DCHO yield とともにそれらの経時変化をプロットした (図 33)。Glc/Xyl 比は 0.46 ~ 0.88 の範囲で変動しており、供給直後の組成から考えると霞ヶ浦湖水の Glc/Xyl 比は極めて低い。つまり、霞ヶ浦湖水の DCHO が従属栄養細菌による分解の影響を相当程度受けている事になる。Glc/Xyl 比には

明確な季節変動が認められた。すなわち、霞ヶ浦でアオコの発生が再び確認されるようになった 2006 年以降、8 月に最大値を示した後、次第に低下して 3 ~ 5 月に最低値となる変動を繰り返していた。8 月に DCHO yield も上昇している事から、夏季の DCHO の増加は主に夏季に起こる藍藻類の増殖に由来すると考えられる。一方、3 ~ 5 月に見られた DCHO yield の上昇は、8 月のものよりも明らかに大きかった。また、年間を通じた湖水の DCHO 組成変化の中で、キシロースが特に卓越する状況下で yield が上昇するという特徴もある。3 ~ 5 月の霞ヶ浦は、湖水での珪藻類のブルーム、底泥からの DOM 溶出が重なる時期であり、この時期の支配的な供給源を明らかにするためには、河川からの流入、底泥中の DCHO 動態および珪藻類からの DCHO 放出を調べる必要がある。

[流入河川水中の溶存炭水化物 (DCHO) の濃度・組成・動態] 霞ヶ浦周辺の水田では、4 月末から 5 月中旬にかけては周辺で田植え作業が行われ、代かき等によって大量の懸濁粒子が水田から河川へ排水される。そのため、河川による DCHO 供給も可能性として考えられなくはない。そこで、霞ヶ浦湖水の DCHO が河川からの流入に由来するかどうかを検討するために、霞ヶ浦の主要な流入河川である桜川、恋瀬川、花室川および小野川の 4 河川水中の DCHO の分布を調べた。検出された単糖類は、流入河川水および底泥間隙水ともに霞ヶ浦湖水と同じ 7 種類だった。流入河川水の DCHO 濃度 (図 34 (a)) は、0.48 ~ 3.5 μM の範囲であり、4 ~ 6 月以外は霞ヶ浦湖水よりも低かった。DCHO yield (図 34 (b)) は、1.5 ~ 7.6 % の範囲で変動しており、4 ~ 6 月と 11 ~ 2 月には湖水と同程度の値だったが、それ以外の時期では湖水よりも低かった。次に河川水における DCHO 組成の特徴を明らかにするために、Glc/Xyl 比を算出して湖水と比較した (図 34 (c))。河川水の DCHO 組成は、キシロースの構成割合が 20 % 以下と湖水よりも低く、グルコースの構成割合が 13 ~ 41 % と時期によって大きく変化する特徴があった。Glc/Xyl 比は 0.72 ~ 3.8 の範囲で分布しており、一般的に湖水の値よりも高く、特に冬季に極めて顕著な上昇を示した。一方、DCHO 濃度の顕著な上昇が見られた 4 ~ 6 月では、Glc/Xyl 比の上昇が見られなかった。霞ヶ浦周辺では、湖水が灌漑用水 (霞ヶ浦用水) として稲作 (4 月下旬 ~ 8 月下旬) に利

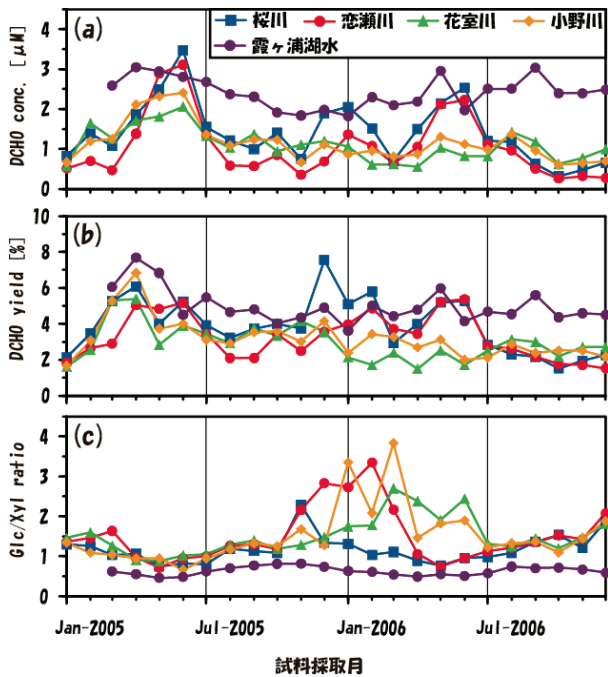


図 34 流入河川水における (a) 炭水化物 (DCHO) 濃度、(b) DCHO 収率および (c) 具グルコース/キシロース比の経月変動

用されており、この時期の河川は水田や畑地から排水された灌漑水 (=霞ヶ浦湖水) が多く混入している状態となる。したがって、4～6月の DCHO 濃度および yield の上昇は、霞ヶ浦湖水の影響と考えられる。以上のように、河川水は、DCHO の濃度、yield がともに湖水よりも低く、単糖組成は湖水のものとは大きく異なった。つまり、河川が霞ヶ浦湖水の DCHO 動態に大きく影響しているとは考えにくい。

(4) 霞ヶ浦湖水等の DOM の分子サイズ分布

水環境における DOM の特性・反応性 (生物利用性、分解、吸着、凝集沈殿等) は、その分子サイズとともに密接に関係すると報告されている (例えば Amon & Benner [Limnol. Oceanogr., 1996])。近年、DOM 分子サイズと反応性・特性の関係については、従来の知見に対して大幅な見直しや修正がなされている。例えば、以前は低分子 DOM の生物利用性が高いと言われていたが、現在は、高分子 DOM が利用性は高いと示唆されている。すなわち、水環境における DOM の特性・起源・影響を評価するためには、DOM の分子サイズに関する情報はとても重要であると言える。

水系 DOM の分子サイズを測定する最も一般的な方法は、サイズ排除クロマトグラフィー (SEC) である。SEC における分離の原理は、いわゆる “分子ふるい効

果” (molecular sieve) である。SEC システムによって DOM の分子サイズを測定する場合、紫外吸光度 (UV) 検出器が一般的に使用されるが、DOM 中には UV 吸収能が低い DOM が卓越して存在することが報告されている。従って、UV 検出器では DOM 全体の分子サイズを適正に評価できない。DOM の分子サイズを適正に評価するために、DOM の存在量を定量的に表せるパラメータ、すなわち、全有機炭素 (total organic carbon, TOC) によって検出する SEC システムが必要である。

我々の研究グループは、DOM の分子サイズ測定的重要性を強く認識し、高感度 TOC 検出 SEC システムを最近になってようやく学術的に十分なレベルでの開発に成功した (Kawasaki et al. [Wat. Res., 2011])。当該システムは従来法 (Huber & Frimmel [Vom Wasser, 1996]) よりも 20 倍以上感度が高く、測定時間も大幅に短縮された。最も重要なポイントは、当該システムでは、DOM に対する現時点で最も適切とされる分子サイズ標準物質であるポリスチレンスルホン酸 (PSS) に対して線形の校正曲線が得られることである。従来法ではこれまでに PSS 標準校正曲線は一切報告されていない。

【霞ヶ浦湖水 DOM の分子サイズ分布の特徴】 開発した SEC システムを用いて、霞ヶ浦湖水の DOM の分子サイズ分布を調べた。検出器としては UV 検出器 (254nm)、励起蛍光 (FL) 検出器 (励起: 340nm、蛍光: 430nm) および TOC 検出器を直列に組み合わせて使用した。図 35 に、典型例として、2007 年 4 月に霞ヶ浦湖心で採取したサンプルの DOM の SEC クロマトグラムを示す。DOM の分子サイズは、15 万～18 万ダルトン (Da)、1500～3000 Da 付近に頂点を持つ 2 ないし 3 つのピークが存在した。これらのピークの分光学的な特質は大きく異なっていた。特に、15 万～18 万 Da の画分は UV 吸収や蛍光がほとんど持たないという特徴があった。この画分は炭素換算で DOM 濃度の 5～21 % 程度存在した。このような高分子画分を過去に定量的な評価した報告例はなく、TOC 検出器を導入した SEC システムによる大きな成果と言える。1500～3000 Da 付近の画分はベンゼン環の特性吸収波長である 254 nm での吸光度が高く、フミン物質特有の蛍光 (励起: 340nm、蛍光: 430nm) も発しているため、フルボ酸を主成分とする比較的疎水的な画分であると考えられた。表 1 に重量平均分子量 (Mw)、数平均分子量 (Mn)、多分散性指数

(polydispersity index, Mw/Mn) および相対面積値を示す。

[高分子画分の経月変化 (2005 年～2008 年)] 2005 年 1 月～2008 年 8 月において、湖水 DOM 中に存在する高分子画分の存在割合を経月変化を検討した。分子量 1.5 万 Da 以上の画分の存在割合は DOM 濃度の 5%～21% に相当し、冬季から春季 (2 月～5 月) にかけて顕著に増加し夏季に低下する季節変化を示した (図 36)。経年的には、2005 年から 2008 年にかけて、高分子画分の存在割合は上昇する変動パターンが認められた。特

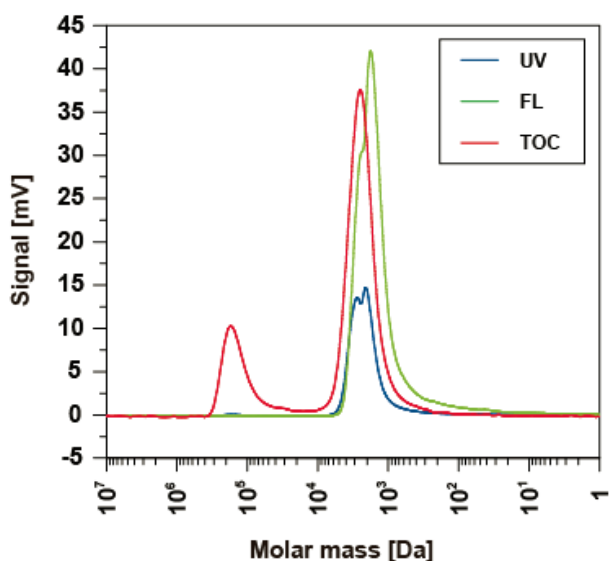


図 35 霞ヶ浦湖水 DOM のサイズ排除クロマトグラムの一例。試料：2007 年 4 月 (St.9) 0.45 μ L ろ過。UV：紫外外部吸光度、FL：蛍光強度、TOC：全有機炭素検出

表 1 2007 年 4 月に採取した霞ヶ浦湖水 DOM (St.9) の分子量分布情報

	Mw	Mn	Mw/Mn	Area composition %
UV 検出				
peak1	177996	170570	1.04	0.31
peak2	3032	2928	1.04	42.3
peak3	1529	960	1.59	57.3
FL 検出				
peak1	N.D.	N.D.	N.D.	
peak2	2641	2570	1.03	26.7
peak3	1252	618	2.03	73.3
TOC 検出				
peak1	160556	124034	1.29	21.1
peak2/3	2374	1849	1.28	78.9

N. D. : ピーク非検出

に 2007 年の上昇は顕著であった。これらの変動パターンは湖水中の炭水化物 (中性糖、DCHO) のそれと良く似ていた (図 32)。そこで、中性糖の存在割合 (DCHO 収率) との関係を検討したところ、両者に正の相関関係 ($r=0.75$) が認められた (図 37)。高分子画分の UV 吸収能の低さと中性糖の存在割合との相関関係を鑑みると、DOM の高分子画分は主に植物プランクトン由来の細胞外多糖類が主成分であると推察される。

[生分解前後の DOM 分子サイズの変化] 霞ヶ浦湖心において 2005 年～2006 年に採取した湖水 DOM サンプル

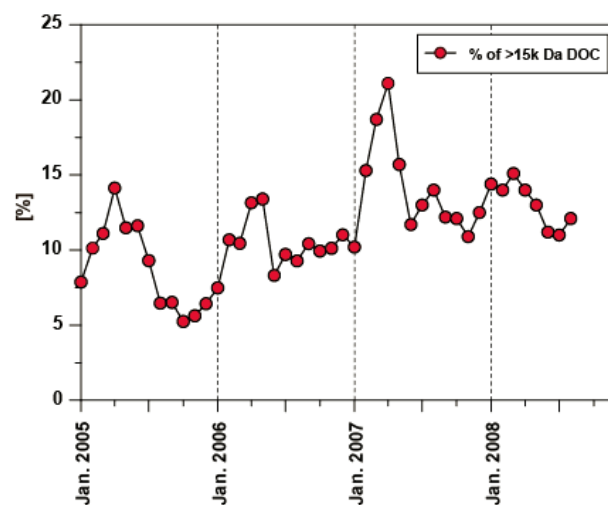


図 36 高分子量画分の存在割合の経月変化 (2005 年～2008 年 8 月まで)

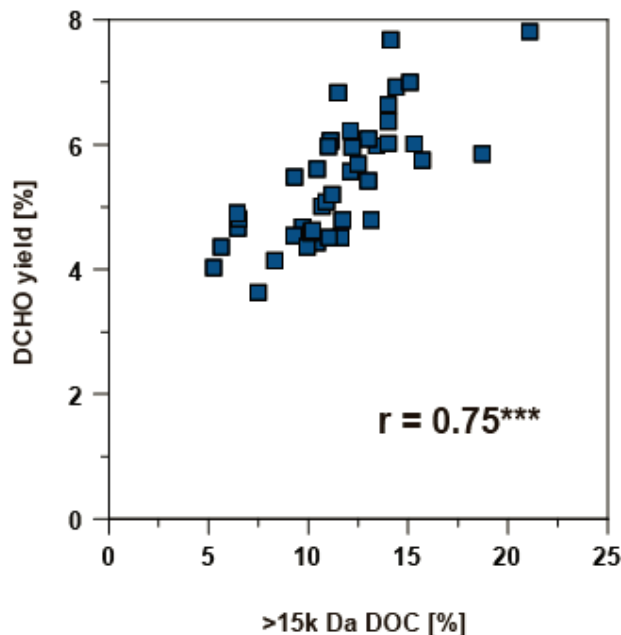


図 37 DOM 中の高分子量画分と中性糖の存在割合との関係

ルに対して、長期間分解試験（100日間、暗所、20℃）前後に、DOM分子サイズ分布がどのように変化するかを検討した（図38）。結果として、DOMの生分解性は分子サイズによって異なることが明らかとなった。分子量15万Da以上の画分では低い分解性の時でも25%以上、高い場合にはほぼ100%が分解された。分子量15万Da以下の画分では、分解率が高い場合でも25%程度であり、全く分解されないケースもあった。これらのことから、分子量15万Da以上の高分子画分は、それ以下の画分に比較して、細菌による生物利用性が極めて高いと言える。一方で、高分子画分の分解率があまり高くないサンプルもあったが、この低い分解率と分解前の高分子画分の存在割合とは関係が認められなかった。この高分子画分に係る分解性の違いはDOMの質に起因する可能性が高い。

2.2.2 底泥間隙水中DOMの濃度・特性と変動の評価

浅い湖沼において有機物や栄養塩の供給源として底泥からの溶出はとても重要である。例えば、霞ヶ浦の場合、底泥溶出負荷の全体負荷量に占める割合はかなり高い（平成12年、化学的酸素要求量（COD）では56%、全リンでは56%、全窒素では34%；平成17年、CODで13%、全リンで29%、全窒素で9%）。加えて、底泥溶出の湖水難分解性DOMに対する寄与率は年平均で28%であったとの報告もある。しかし、このように重要な湖沼底泥からの溶出を長期に渡ってモニタリングしたとする報告は皆無に近い。底泥間隙水中のDOMや栄養塩に関する情報も不足している。

本研究では、霞ヶ浦を対象として、底泥柱状（コア）サンプルを採取して、間隙水中の溶存有機物（DOM）

や栄養塩（窒素、リン）の深さ方向濃度プロファイルや溶出フラックスの季節変化および経年変化を検討した。加えて、底泥間隙水中の溶存炭水化物の存在量や動態を評価した。

霞ヶ浦湖心(St.9)で、1997年～2011年に、毎月一回、底泥コアサンプルをアクリル製コアサンプラー（内径40mm）によって採取した。コアサンプルは実験室に持ち帰り、窒素ガス雰囲気下で深さ方向に切り（0-1cm、1-2cm、2-4cm、4-6cm、6-8cm、8-10cm、10-15cm）、低温での遠心分離・ろ過操作によって深さ別の間隙水サンプルと底泥サンプルを採取した。

(1) 底泥間隙水中のDOM、窒素およびリンの長期トレンド

霞ヶ浦底泥間隙水中のDOM、窒素およびリンの深さ方向濃度プロファイルは、経年的に特徴的で顕著な変動を示した。霞ヶ浦湖心（St.9）における間隙水中のDOMと栄養塩の鉛直濃度プロファイルを図39に表す。なお、底泥間隙水中では、溶存態リンとしてはリン酸態リン（ $PO_4\text{-P}$ ）、溶存態窒素としてはアンモニア性窒素（ $NH_4\text{-N}$ ）が卓越するため、栄養塩としては、本研究ではこの二つについて検討した。

[間隙水中のDOMの動態] 間隙水中のDOMの深さ方向プロファイルは経年的にも季節的にも顕著に変化することが明らかになった。間隙水DOM濃度は1997年にとっても高い値を呈したが、それ以降2005年まで漸減した。しかし、2006年に間隙水DOM濃度が突然上昇に転じて2007年に急上昇した。それ以降は、濃度は多少減少したものの、高い値に留まった。間隙水DOM濃度

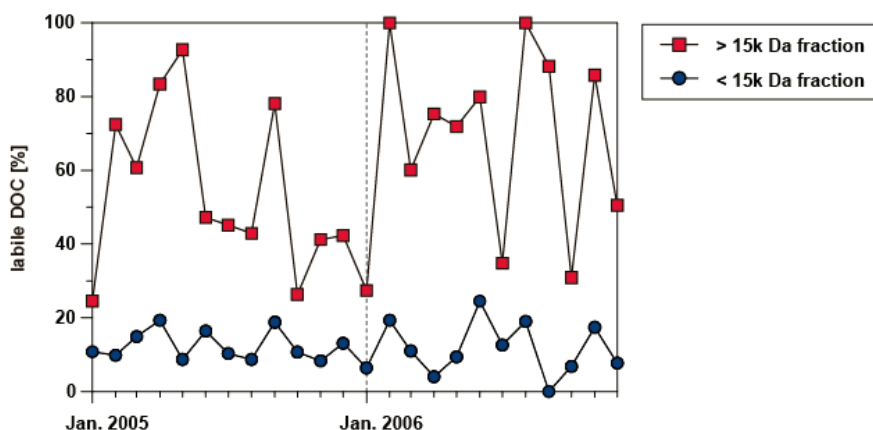


図38 各分子量画分に占める易分解性DOCの割合

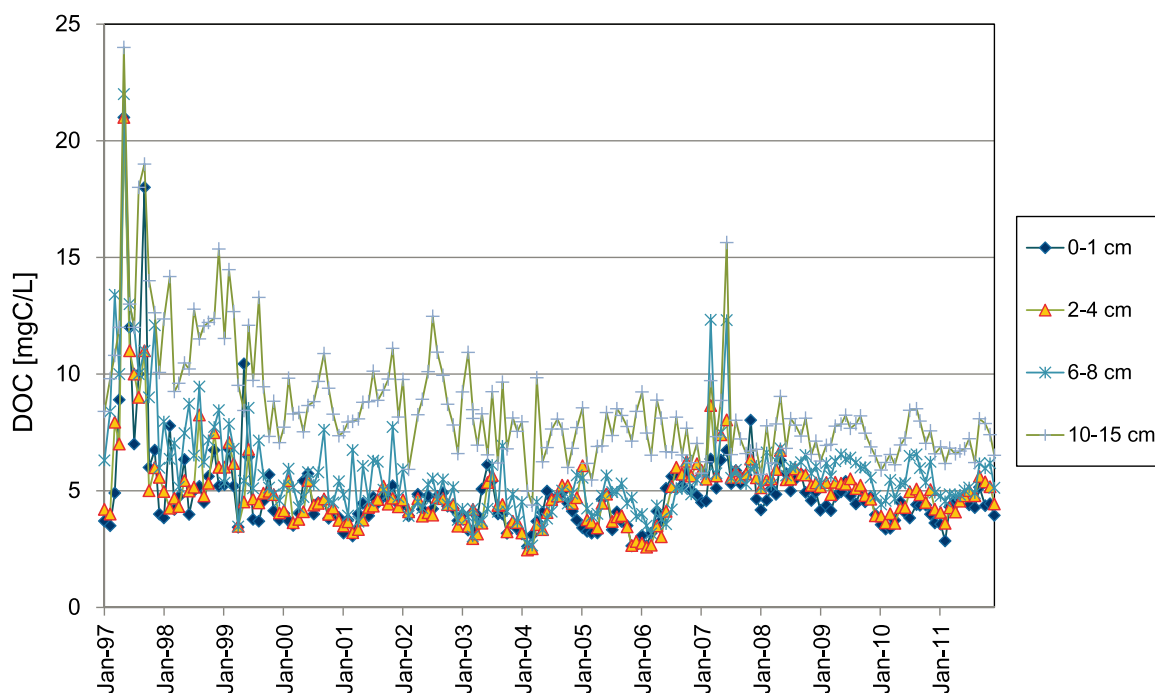


図 39 霞ヶ浦湖心における底泥間隙水中の DOM 濃度の長期トレンド

は概ね春季（5月、6月）に最大値を示した。

2006年の間隙水濃度は特徴的である。6月から表層から8～10cm層のDOM濃度が著しく上昇して、結果として底泥全層のDOM濃度に差がなくなった。2007年も同様な鉛直プロファイルを示したが、3月、5月、6月に顕著な間隙水濃度の増大が、特に、深さ6～8cm層と10～15cm層に見られた。

【間隙水中のリンの動態】 1997年～2011年における、霞ヶ浦湖心での、間隙水中のリン酸態リン（ $\text{PO}_4\text{-P}$ ）濃度の深さ別の変動を図40に表す。間隙水DOMとは正反対に、1997年から2005年までは、間隙水 $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度は全深度で年々増大していた。ところが、2006年からは、表層（0～1cmと1～2cm）を除いて、間隙水 $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度は減少に転じた。しかし、2009年以降は再び上昇し続けている。表層の間隙水 $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度が1997年から2011年まで増加傾向にあることは興味深い。 $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度は、DOMやアンモニア性窒素（ $\text{NH}_4\text{-N}$ ）とは異なり、深さ2～6cmの深さに濃度ピークを示し、その最大値は夏季～秋季に観測された。間隙水 $\text{PO}_4\text{-P}$ の濃度プロファイルは経年的に顕著に変化したが、この濃度ピークの出現位置は経年的に表層方向に移動したため、結果として表層の $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度が単調に増加するトレンドを示したと考えられる。

間隙水 $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度のピークが2～6cmに現れること

はとても興味深い。この濃度ピークの発現は、底泥微生物群集構造の変化に対応していると思われる。霞ヶ浦底泥では硫酸還元菌に近縁なクローンが多数検出され、0～1cm層からはほとんど検出されず、1cm以深のサンプルから大部分が検出され、特に4～8cmにその検出が集中していた。硫酸還元反応は鉄の還元反応（3価の鉄 $[\text{Fe}(\text{III})]$ の水酸化沈殿物 $[\text{Fe}(\text{OH})_3(\text{solid})]$ が還元されて2価の鉄 $[\text{Fe}(\text{II})]$ になる反応）の酸化還元電位よりも低い電位（より還元的な状態）で起きると考えられる。硫酸還元が起きている底泥の直上で鉄還元が起きると、 $\text{Fe}(\text{III})$ の酸化物に吸着していたリン（ $\text{PO}_4\text{-P}$ ）が脱着され液相に溶出してくる。底泥の2～6cmで $\text{PO}_4\text{-P}$ の濃度ピークが現れるのは、この説明と合致する。底泥表層で $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度が減少するのは、この層まで溶存酸素が侵入して好氣的となり $\text{Fe}(\text{II})$ から $\text{Fe}(\text{III})$ への酸化が速やかに起きて、結果として、 $\text{PO}_4\text{-P}$ が再び $\text{Fe}(\text{III})$ 水酸化沈殿物によって吸着されたと想定される。表層の間隙水 $\text{PO}_4\text{-P}$ のピークが上昇に移動したということは、 $\text{PO}_4\text{-P}$ に係る化学反応が生起する深さが表層に移動したことを意味する。底泥深層から表層にかけて嫌氣的雰囲気が上方に移動したと言える。

【間隙水中の窒素の動態】 間隙水中のアンモニア性窒素（ $\text{NH}_4\text{-N}$ ）濃度は2006年に注目する劇的な変化を示した（図41）。間隙水 $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度は、1997年～2005年において、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度とは正反対に、底泥全層において

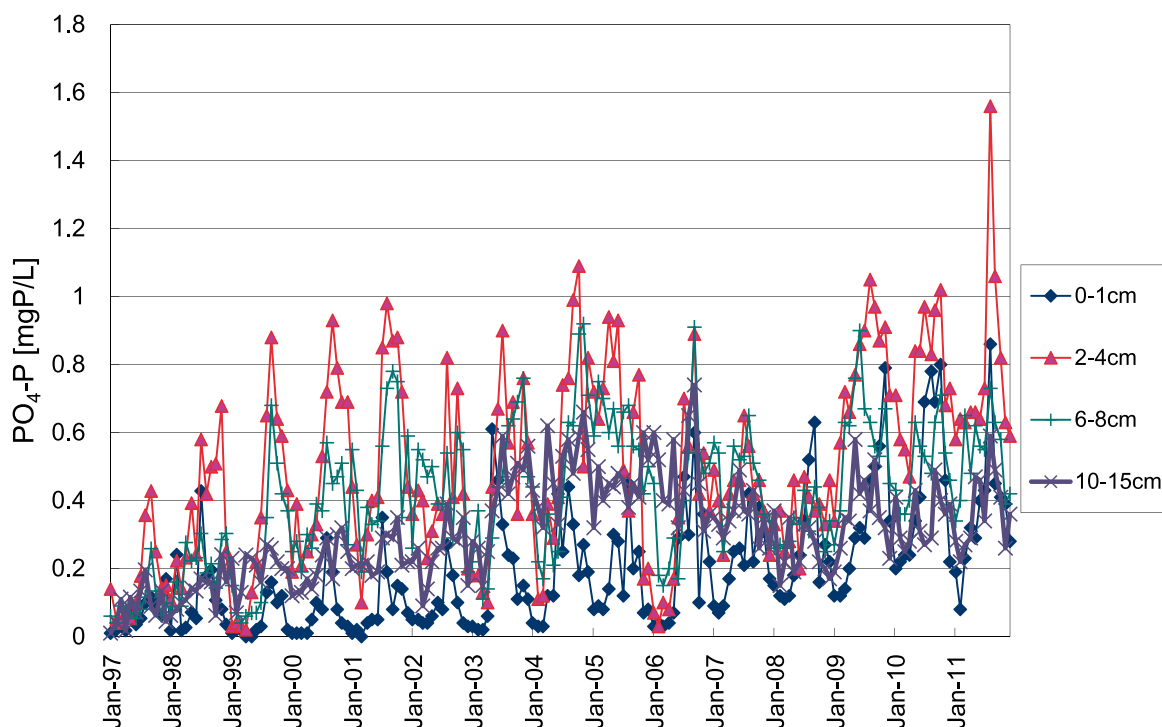


図 40 霞ヶ浦湖心における底泥間隙水中の PO₄-P 濃度の長期トレンド

年々減少していた。NH₄-N 濃度は最深層で最大となり、表層に向かって低くなる傾向を示した。PO₄-P のように特異的な深さでの濃度ピークは観察されなかった。ところが、やはり 2006 年 5 月以降、PO₄-P の場合と同様に急激に変化した。間隙水 NH₄-N 濃度は V 字回復のように一変して増大に転じた。全層で急激に濃度上昇して、それ以降、間隙水 NH₄-N 濃度は全層で高い濃度に留まっている。この濃度上昇はとても急激かつ強烈なものであり、深さ 2cm 以深で NH₄-N はほぼ同じ濃度を示した。

間隙水 NH₄-N 濃度の浅い深度での急激な上昇は、底泥での有機物分解（嫌気性分解：有機物→タンパク質→アミノ酸→NH₄-N）が顕著に進行したためと考えられる。従って、2006 年以降、霞ヶ浦底泥は急激に嫌気性化が進行し始めたと推察される。霞ヶ浦では、2006 年からアオコを形成する典型的な藍藻類 *Microcystis* 属の発現が確認されており（図 23）、また透明度も改善傾向にある（図 25 (e)）。この藻類種の変化および一次生産量の変化によって底泥表層への分解しやすい有機物の供給が増大して、結果として、底泥の酸化還元状態をより還元的なものに変化させたと推測される。

(2) 底泥間隙水中における溶存炭水化物 (DCHO) の動態
霞ヶ浦の様に水深が浅い湖では、湖水への DOM 供

給源として底泥の寄与はとても重要であると言われている。そこで、2005～2007 年の霞ヶ浦湖心の底泥間隙水を対象にして溶存炭水化物 (DCHO) の深度分布とその季節変動を調べた。底泥間隙水の DCHO 濃度分布（図 42 (a)）は、霞ヶ浦湖水や河川水の約半分から 2 倍に相当する濃度（1.4～13 μM）まで非常に幅が広く、鉛直プロフィールが経時的に大きく変化していた。DCHO 濃度は、表層 0～2 cm と 8 cm 以深で特に高い傾向にあった。表層 0～2 cm の変化は、湖水柱内で起きた一次生産によって大量の有機物が底泥表面に堆積したことが原因と考えられ、若干の年変動が見られるものの季節的な変化と考えられる。この変化は、霞ヶ浦湖水の DCHO 濃度の経月変化とは明らかに異なっていた。特に 2006 年が象徴的な例で、湖水の DCHO 濃度が 2007 年にかけて上昇していくのに対し、表層の底泥間隙水では濃度が低下していた。3～5 月の底泥表層の間隙水についても濃度上昇は見られていない。したがって、底泥から大量の DCHO が湖水中に供給されていたとは考えにくい。

DCHO 濃度の鉛直プロフィールで最も激しく変化していたのは 2～8 cm の層で、2005 年の 7 月から 2006 年 5 月の間に DCHO 濃度が上昇し、6 月以降は急激に減少に転じていた。DOC に対する DCHO 由来の炭素割合を示す DCHO yield の鉛直分布（図 42 (b)）についても、

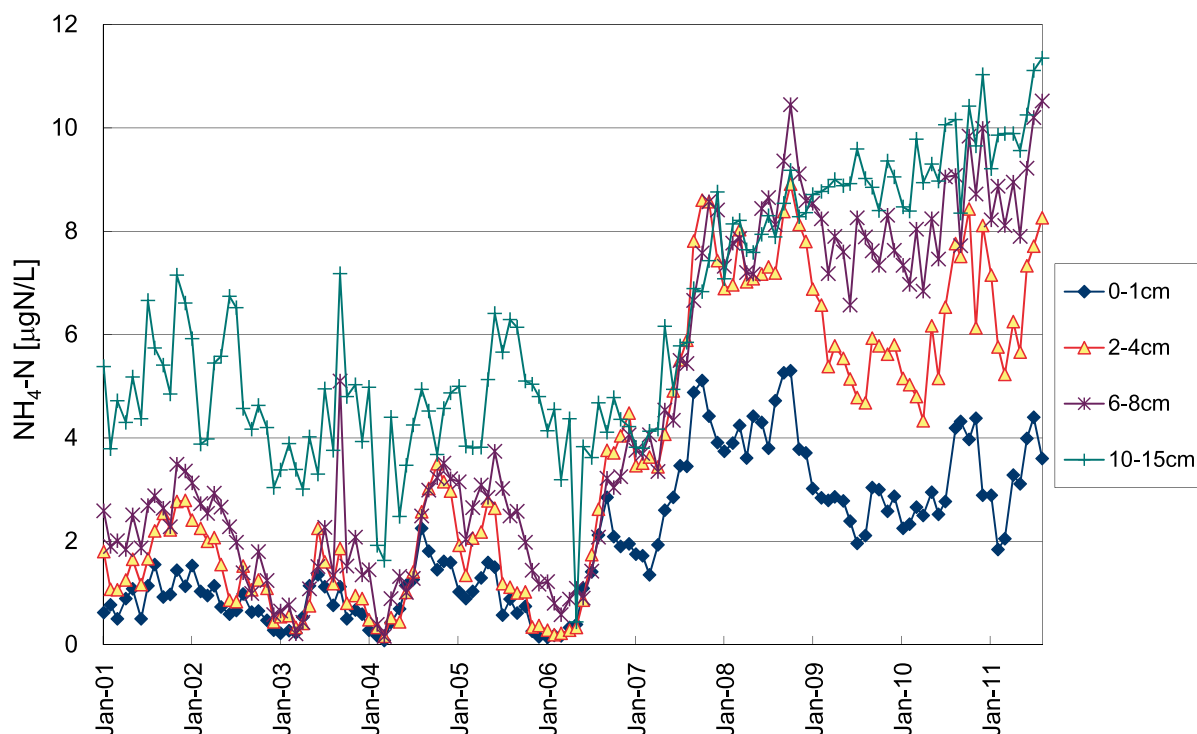


図 41 霞ヶ浦湖心における底泥間隙水中の $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度の長期トレンド

この部分の変動が極めて特徴的だった。DCHO yield は、2006 年の 5 月までとそれ以降では大きく異なっており、特に 2005 年 11 月から 2006 年 5 月の間に 0～10cm のほぼ全層で 10～20% と極めて高かったが、6 月以降は約 1/2～1/5 まで低下していた。DCHO 組成の鉛直分布に着目すると、特徴的なものはやはりグルコースとキシロースの鉛直分布であり、表層ではキシロースが、下層ではグルコースが卓越する傾向にあった (図 42 (c))。また、グルコース/キシロース (Glc/Xyl) 比は DCHO 濃度および yield の鉛直分布と同様に 2005 年 11～2006 年 5 月の間が最も高く、その後は上の層から次第に低下する傾向だった。これらの結果は、堆積物に覆われて湖水柱からの有機物供給が途絶えた後でも、埋没した有機物の嫌気分解によってグルコースを多く含む炭水化物が間隙水中に供給される事を示している。さらに、DCHO yield および Glc/Xyl 比の低下からも明らかのように、2006 年 6 月以降はこの DCHO が資化された事が分かる。

底泥間隙水中の $\text{NH}_4\text{-N}$ および $\text{PO}_4\text{-P}$ の鉛直分布 (図 43 (b)、(c)) に目を向けると、DCHO とこれらの分布傾向は逆であり、DCHO yield が高い間は濃度が低下している事が分かった。また、当該 yield が低下した後に栄養塩の急激な濃度上昇が起きており、特に $\text{NH}_4\text{-N}$ で顕著だった。このような濃度の低下は、バクテリアの増殖によって栄養塩の吸収量が上がったために起きたのか、

底泥の酸化還元電位が酸化側に若干傾いて硝化や鉄の水酸化物への吸着が起きたためなのかは不明だが、底泥における有機物代謝から炭水化物が放出され、その資化が酸化還元境界の上下動や栄養塩類放出のトリガーとなっている可能性が高いと考えられる。

(3) 底泥間隙水 DOM の分子サイズ分布

これまでの検討から、底泥間隙水中の DOM の濃度および特性が 2006 年に急激な変化をしたと推測される。同様な急激な変化が DOM の分子サイズにも起きたか否かを確認するために、2006 年に採取した間隙水の DOM の分子サイズ分布を測定・評価した。底泥間隙水 DOM の SEC クロマトグラムは湖水のそれとほぼ一致したものであり、間隙水に特有のピークは対象サンプルでは観察されなかった。湖水と同様に、TOC 検出で二つのピークが認められ、重量平均分子量 (Mw) は各々 15 万 Da 前後 (表 1 の peak 1 に相当) と 2000～3000 Da (表 1 の peak 2/3 に相当) だった。間隙水 DOM の平均分子量 (重量平均 Mw、数平均 Mn) は深さ方向に若干変化した (図 44)。Peak 2/3 は表層から深層へ漸増する傾向を示したが、Peak 1 は反対に低下する傾向が見られた。同一深度における平均分子量は経月的な違いがほとんどなく、各ピークの存在割合のみが変化していた。

2006 年における間隙水 DOM 中の > 11 kDa 画分 (Peak

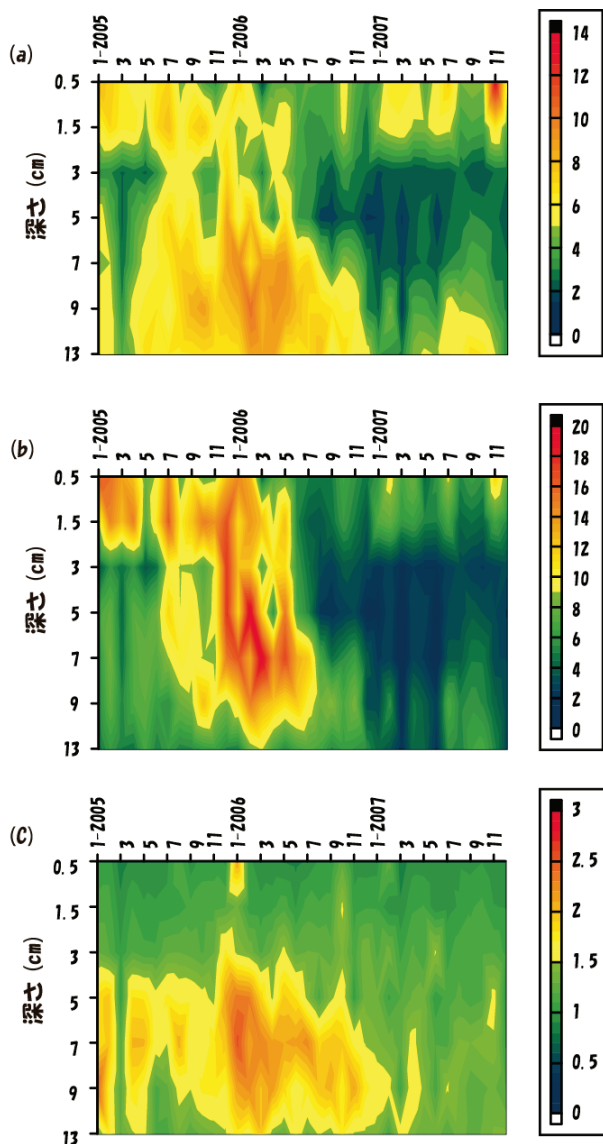


図42 霞ヶ浦湖心の底泥間隙水中の (a) 炭水化物 (DCHO) 濃度、(b) 収率および (c) グルコース/キシロース比の深さ方向分布 (2005年～2007年)

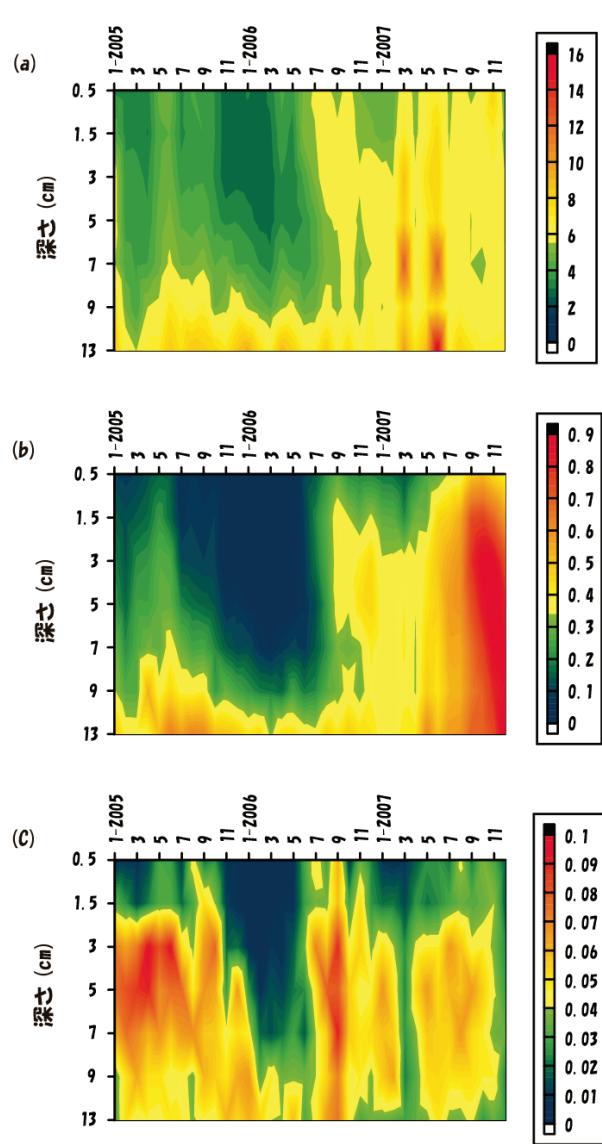


図43 霞ヶ浦湖心の底泥間隙水中の (a) DOM 濃度 (DOC として)、(b) $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度および (c) $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度の深さ方向分布 (2005年～2007年)

1) の存在割合に関する鉛直方向分布および経月変化を調べた (図45)。> 11 kDa DOM は、深さ 5 cm 以深の下層で卓越していた。1月から8月にかけて特に高い割合で存在していた。深さ 5 cm 以下の表層では、> 11 kDa DOM は6月から急激に低下し、8月以降は 2 cm～5 cm では 5% 以下にまで低下した。この鉛直分布プロフィールの変化は、DCHO (中性糖) のものと非常に類似していた。中性糖の DOM に対する炭素割合 (DCHO 収率) と > 11 kDa DOM の存在率の相関関係を調べたところ、湖水との境界層である深さ 0.5 cm の最表層では明瞭な関係が認められなかった、それ以深の層では、明確な正の相関関係が認められた (全体で $r =$

0.73, $p < 0.001$) (図46)。> 11 kDa DOM の存在割合が大きく変化する深さ 5 cm 以浅と以深を別々に評価すると、各々 $r = 0.18$ ($p < 0.001$) (0.5～5 cm) と $r = 0.83$ ($p < 0.001$) (5～13 cm) であった。> 11 kDa DOM の存在割合が 10% 以上、DCHO 収率が 7.5% 以上の条件で、両者のプロットの傾きが大きく変化することがわかった。この傾きの変化は酸化還元環境の違いや生物分解後に DOM の分子量画分の組成や中性糖の量が変化することによると推察された。

2.2.3 霞ヶ浦底泥における微生物群集構造の解析

湖沼の富栄養化問題に対する解決策としては湖沼への

有機物やリン、窒素など栄養塩の負荷量の低減と底泥からのそれらの溶出を抑えることが重要となる。特に長年富栄養化が続いている霞ヶ浦などの湖沼ではすでに多量の有機物や栄養塩が蓄積されており、底泥からの溶出量の管理が求められている。こうした有機物や栄養塩の挙動を把握するためには、環境中の物質循環に深く関与している微生物群集を解析することが大切であると考えられる。しかしながら、霞ヶ浦底泥中の微生物群集構造に関する知見はまだ乏しいのが現状であるため、分子生物学的手法により微生物群集構造の底泥の深さによる変化及び季節変動の解析を実施した。

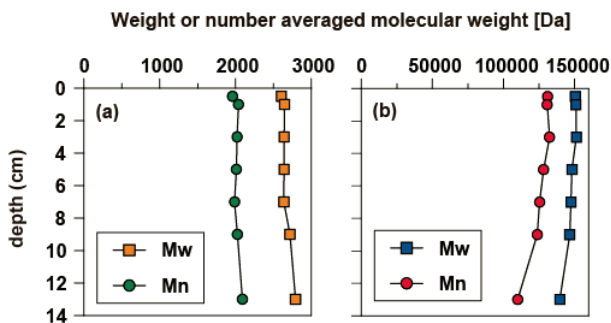


図 44 2006 年における底泥間隙水 DOM の重量平均および数平均分子量 (Mw, Mn) の深度方向への変化 (1 ~ 12 月の平均値、Mw の RSD <6%、Mn の RSD <13 %)

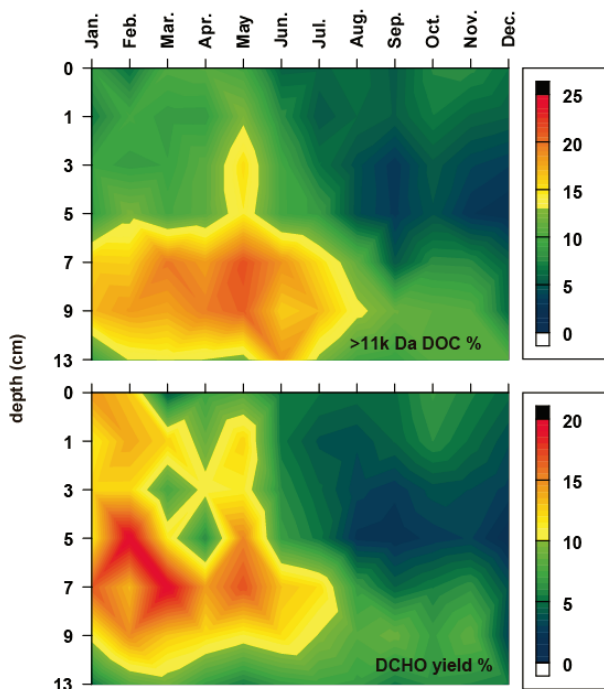


図 45 2006 年の湖心底泥間隙水における peak1 の存在割合の鉛直分布プロファイル

(1) 底泥のサンプリングと微生物群集構造解析

霞ヶ浦底泥サンプリングは(独)国立環境研究所が GEMS/Water 霞ヶ浦トレンドモニタリングにおいて毎月実施しているモニタリング調査の一環として行われた。霞ヶ浦湖心 (St.9) において、湖沼簡易型コアサンプラーで底泥サンプルを採取して、底泥層が乱れないように注意深く保持して実験室に持ち帰った。底泥コアを窒素雰囲気化で、0-1 cm、1-2 cm、2-4 cm、4-6 cm、6-8 cm、8-10 cm、10-15 cm の 7 層に分取した後、-30℃以下で保存した。

本研究では、2007 年 1 月から 2007 年 6 月までに採取・保存された底泥サンプルを用いた。各底泥サンプルよりガラスビーズを利用した物理破碎法により全 DNA を抽出した。抽出したサンプル DNA を鋳型として、真正細菌においてその細胞内のリボゾームの骨格を形成している 16S rRNA 遺伝子に特異的なプライマーセット 350F-920R を用いて PCR 反応に供した。各底泥中に存在する全ての真正細菌の 16S rRNA 遺伝子の一部領域を増幅させた。アガロースゲル電気泳動により目的の約 580 bp の増幅産物を確認後、これらの増幅産物をベクタープラスミドに組み込みこんだ。この増幅産物(真正細菌の 16S rRNA 遺伝子の一部領域)を解析できるようにそれぞれ独立して獲得するために大腸菌に導入し、平板培地上で培養してコロニーを形成させた(クローンライブラリー法)。さらに、これら大腸菌(クローン)に目的とする 16S rRNA 遺伝子が導入されているかを確認する

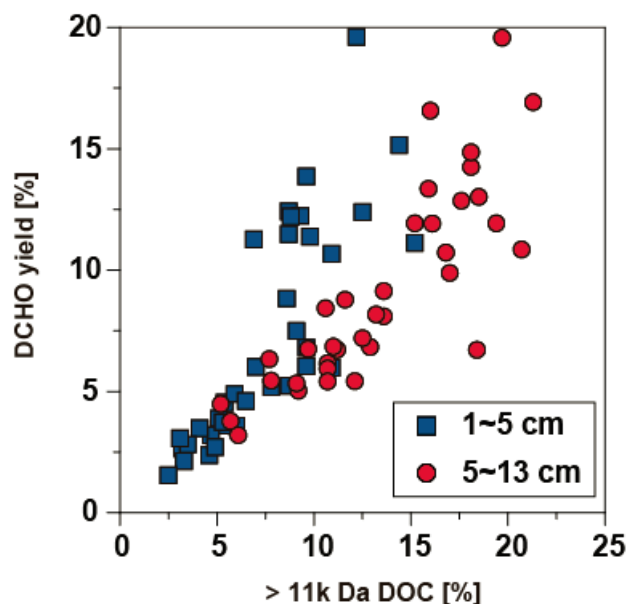


図 46 2006 年の湖心底泥間隙水における > 11k DOC% と DCHO-C% との関係

ために、平板培地上で生育したコロニーを滅菌した爪楊枝を用いてピックアップして直接 PCR 法に供し、各クローンの保持するプラスミドのインサートサイズを確認した。各底泥サンプルより得られたクローンのうちそれぞれ 50 から 140 クローン (計 800 クローン以上) のシーケンスを決定した。決定したシーケンスについては、生物種同定ソフト DNASIS®Taxson Ver3.0 を利用して、近縁な既知配列を検索し、既存のデータベースライブラリに含まれている細菌相の門 (*Proteobacteria* については亜門) を同定した。

(2) 微生物群集構造の底泥深さによる変化

2007 年 2 月及び 6 月の試料に対して解析を実施した結果を図 47 に示した。いずれの月及び深さの試料においても真正細菌中で非常に多くのグラム陰性細菌が分類されている *Proteobacteria* 門の細菌が半数近くあるいは

以上を占めていることが認められた。また、微生物群集構造の多様性は季節や深さによる違いは明確には示されず、いずれの試料においても多様な細菌が生息していることが認められた。*Proteobacteria* 門の下位分類に着目すると、全ての試料において δ -*Proteobacteria* に分類される細菌が優占していることが確認できる。このグループには硫酸還元菌などの嫌気性菌が含まれている。一方、 β -*Proteobacteria* のグループには好気性菌が多く分類されており、これらのことから霞ヶ浦底泥において各深さでは嫌気状態と好気状態が繰り返されており、その時に生育した細菌が生き残っているのかもしれない。

いずれの月の試料においても表層 (0-1 cm および 1-2 cm) で *Bacteroidetes* 門が増加していることが認められた。*Proteobacteria* 門と同様にこの門に分類される細菌も腸内や環境中に広く生息していることが知られているが、特に水系や土壌においては有機物を必要とする従属

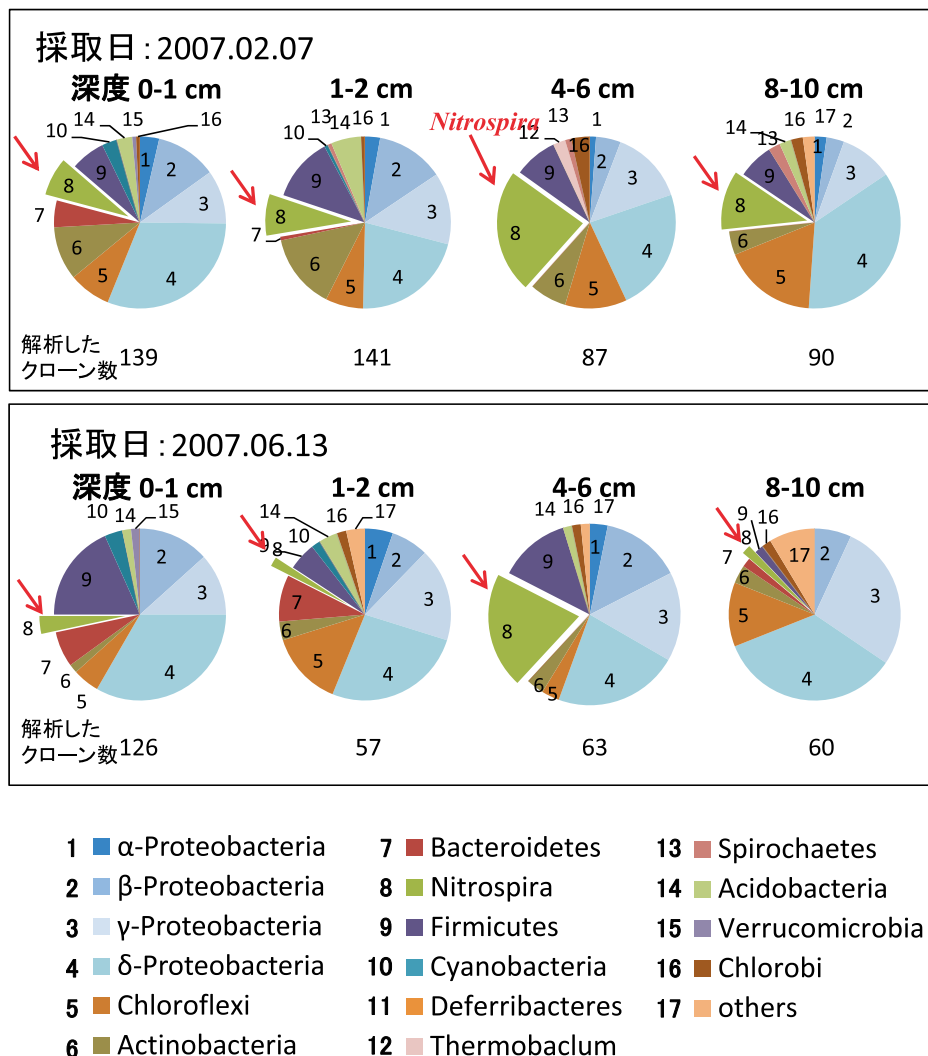


図 47 霞ヶ浦底泥の各深さにおける微生物群集構造。グラフ内の数字は微生物分類 (門) を示している

栄養で好気的な細菌が多く、表層に多く検出されることと良く一致している。

Nitrospira 門に分類される細菌はいずれの月でも 4-6 cm で多く存在していることが認められた。*Nitrospira* 門には、亜硝酸酸化細菌 *Nitrospira* 属が分類されており、特に 4-6 cm において硝化が活発に行われていること、すなわち微生物による窒素代謝が活性化されていることが示唆された。

(3) 微生物群集構造の季節による変化

前述の底泥深さでの変化を調べた結果から、4-6 cm の試料において窒素代謝が活発で微生物群集構造が大きく変化していることが認められたので、2007 年 1、2、4、6 月の 4-6 cm 試料について解析し比較した (図 48)。

いずれの月においても前述の結果と同様に *Proteobacteria* 門の細菌が優占していること、多様な微生物が生息していることが認められた。また微生物群集構造の多様性については季節による大きな違いは認められなかった。*Nitrospira* 門に分類される細菌はいずれの月でも比較的多く存在しており、冬から初夏にかけての底泥において硝化反応が活発であることが示唆されている。今後は年間通しての季節の試料を解析していくとともに、年による違いについても検討する必要があると考えている。

2.2.4 底泥の炭素・窒素の安定同位体解析による湖沼での炭素・窒素循環の検討

底泥研究は底泥コアの化学・生物組成の変化を深度方向に解析することで湖や周辺海域の歴史的变化を再構築する研究が主である。今回の解析では、生活排水や畜産排水の指標である窒素安定同位体比 ($\delta^{15}\text{N}$ で表記) の変遷から霞ヶ浦流域でのそうした窒素負荷源の寄与率について解析した。一方、炭素安定同位体比 ($\delta^{13}\text{C}$ で表記) は光合成活性の指標となることから、湖内での一次生産の歴史的变化についての情報が得られた。こうした解析は、湖沼や海洋の底泥コアの解析は過去の水域生態系の変化を知る上で大切な研究手法であるが、堆積過程及び堆積後の続成作用の影響の小さいことが前提条件となる。今回、過去 28 年間に渡って採取されてきた底泥表層コアの深度方向および歴史的な安定同位体比の変化パターンを合わせて解析することで、堆積後に同位体比が変化するか否かを検証できた。

(1) 採泥方法と前処理および分析方法

底泥コアは UNEP GEMS/Water の活動としての毎月の霞ヶ浦全域調査に伴い採取された。底泥コアは水深 6 m 程度の湖心にて内径 4 cm のアクリルチューブを使って採取し、表層から 1 から 2 cm の厚みで 15cm の深さまで切り分け、層別に凍結乾燥後、粉碎し乾燥下で密閉

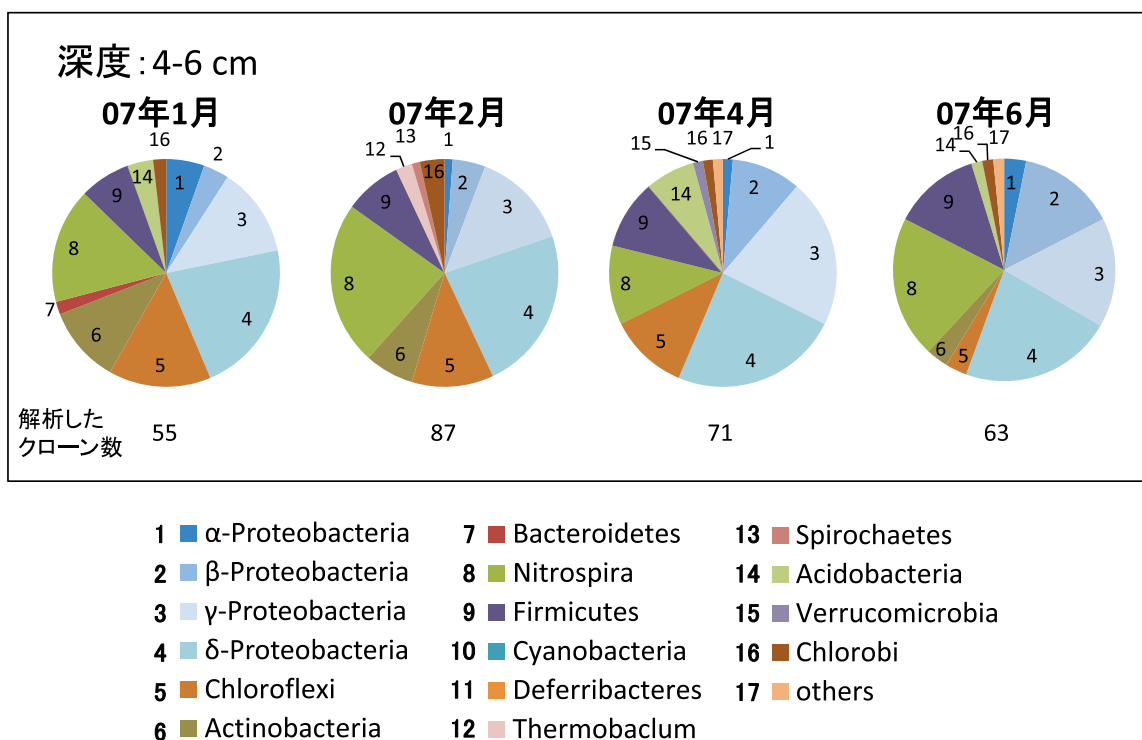


図 48 霞ヶ浦底泥 (4-6 cm) の各月における微生物群集構造。グラフ内の数字は微生物分類 (門) を示している

保存した（図49）。4から6 mgの乾燥底泥試料をスズ箔に包み、元素分析計と質量分析計からなるCF/IRMS（Flash EA 1112/ConfloIII/Delta plus Adv.）により $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 、C%、N%を自動分析した。 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 、C%、N%の測定精度（ \pm SD, n=14）はそれぞれ ± 0.15 （‰）、 ± 0.31 （‰）、 ± 0.63 （wt%）、 ± 0.08 （wt%）であった。

(2) 底泥コアの $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 、C/N比の歴史の変遷

霞ヶ浦の底泥コアのうち表層2 cmの $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 、C/N比は歴史的に大きく変化した。沈降過程での同位体比の変化が少ないと仮定すれば、底泥表層における同位体比の変遷は湖水柱で生産された植物プランクトン起源の懸濁態有機物の歴史的变化を反映していると考えられる。

底泥表層有機物の $\delta^{13}\text{C}$ は1980年代前半の -24.7 ‰程

採泥方法と切り分け

採泥器：柱状サンプル用採泥器

採泥チューブ： ϕ 4 cmの亚克力チューブ

採泥期間：1979年から2007年

採泥頻度：5年に1度から毎月まで

採泥深度：基本は表層15 cm

切り分け：下から押し出してヘラで切り分け

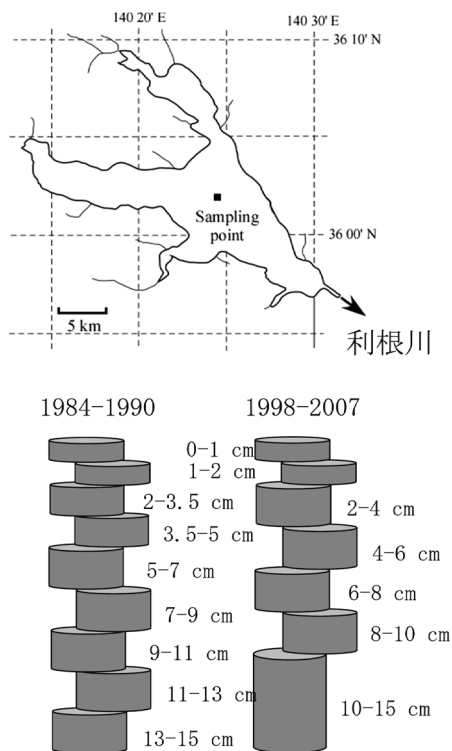


図49 底泥コアサンプルの採取方法と切り分けについて

度から1990年代後半の -25.6 ‰程度まで約 0.9 ‰低下し、その後2000年代中ごろの -25.3 ‰程度まで上昇した（図50a）。植物プランクトンの $\delta^{13}\text{C}$ はさまざまな環境要因の影響を受けるが、もっとも大きく影響するのが植物プランクトンの種組成と思われる。水面近くで夏季大増殖し問題となるアオコ（*Microcystis* spp.）の $\delta^{13}\text{C}$ は高くなることが知られており、こうしたプランクトンの消長が背景にあると考えられる。1980年代中ごろまで霞ヶ浦で問題となっていたアオコの大発生は80年代末から2000年代前半まで見られなくなる。それが近年再び問題となってきた。2000年あたりをさかいに底泥表層有機物の $\delta^{13}\text{C}$ が再び上昇に転じているパターンともよく符合している。

一方、底泥表層有機物の $\delta^{15}\text{N}$ は1980年代前半の 6.2 ‰程度から2000年代後半の 7.4 ‰程度まで上昇した（図50b）。植物プランクトンの $\delta^{15}\text{N}$ もさまざまな環境要因の影響を受けるが、霞ヶ浦のように毎年無機態窒素の枯渇が見られる湖沼では、硝酸イオンやアンモニウムイオンといった無機態窒素の $\delta^{15}\text{N}$ を反映していると考えられる。無機態窒素の $\delta^{15}\text{N}$ は流域からの畜産排水や生活

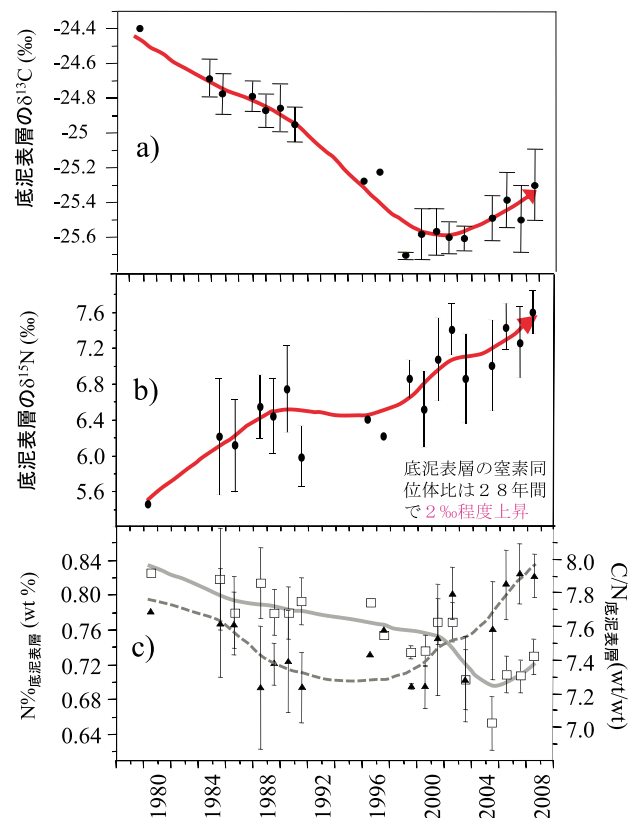


図50 底泥表層2 cmの安定同位体比（ $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ ）とC/N比の変化。a) $\delta^{13}\text{C}$ 、b) $\delta^{15}\text{N}$ 、c) N%（□）、C/N比（▲）

排水、堆肥由来の農業排水の流入増加に伴い増大すると考えられる。このことから、霞ヶ浦流域でのそうした人為起源の窒素負荷が近年増大したことが背景にあると考えられた。

底泥表層有機物の C/N 比は 1980 年代前半の 7.6 程度から 1990 年代に 7.3 付近まで低下し、2000 年代後半の 7.9 程度へと上昇した (図 50c)。霞ヶ浦では 1990 年代に大規模な底泥の浚渫工事が行われており、そうしたことに伴う 1990 年代から 2000 年代はじめにかけての透明度の低下が背景にあると思われる。

(3) 堆積過程における底泥有機物の $\delta^{13}\text{C}$ および $\delta^{15}\text{N}$ の変化

堆積後の初期の続成作用において、底泥有機物の $\delta^{13}\text{C}$ および $\delta^{15}\text{N}$ が変化するか否かという問いは古くからなされてきたが、霞ヶ浦のように 30 年間という比較的長い時間変化を検証できた例はほとんどない。底泥有機物の $\delta^{13}\text{C}$ が真の値より高く変化するのであれば、過去の

湖の状態を真実より富栄養で生産的であったと誤った結論を導きやすい。一方、底泥有機物の $\delta^{15}\text{N}$ が真の値より低く変化するのであれば、過去の湖の状態を真実より貧栄養であったと誤判断しやすい。霞ヶ浦の底泥では、底泥有機物の $\delta^{13}\text{C}$ は概ね保存されていたが、ときどき高くシフトすることがあり (図 51a)、その原因の詳細は不明であるが、底泥内部がより酸化的な環境になった際にそうしたことが起こりやすくなることが明らかとなった (図 51b)。また底泥有機物の $\delta^{15}\text{N}$ は深いところで低く変化しやすく、底泥コアの深層の $\delta^{15}\text{N}$ をつかって、過去の湖の環境を復元することは危険であることが確かめられた (図 52)。

以上の結果から、湖の環境復元の手法としてしばしば用いられる炭素、窒素の安定同位体比の解析であるが、底泥内部の酸化還元環境は変化しやすく、それに伴う有機物の同位体比の変化も無視できない場合のあることが明らかとなった。

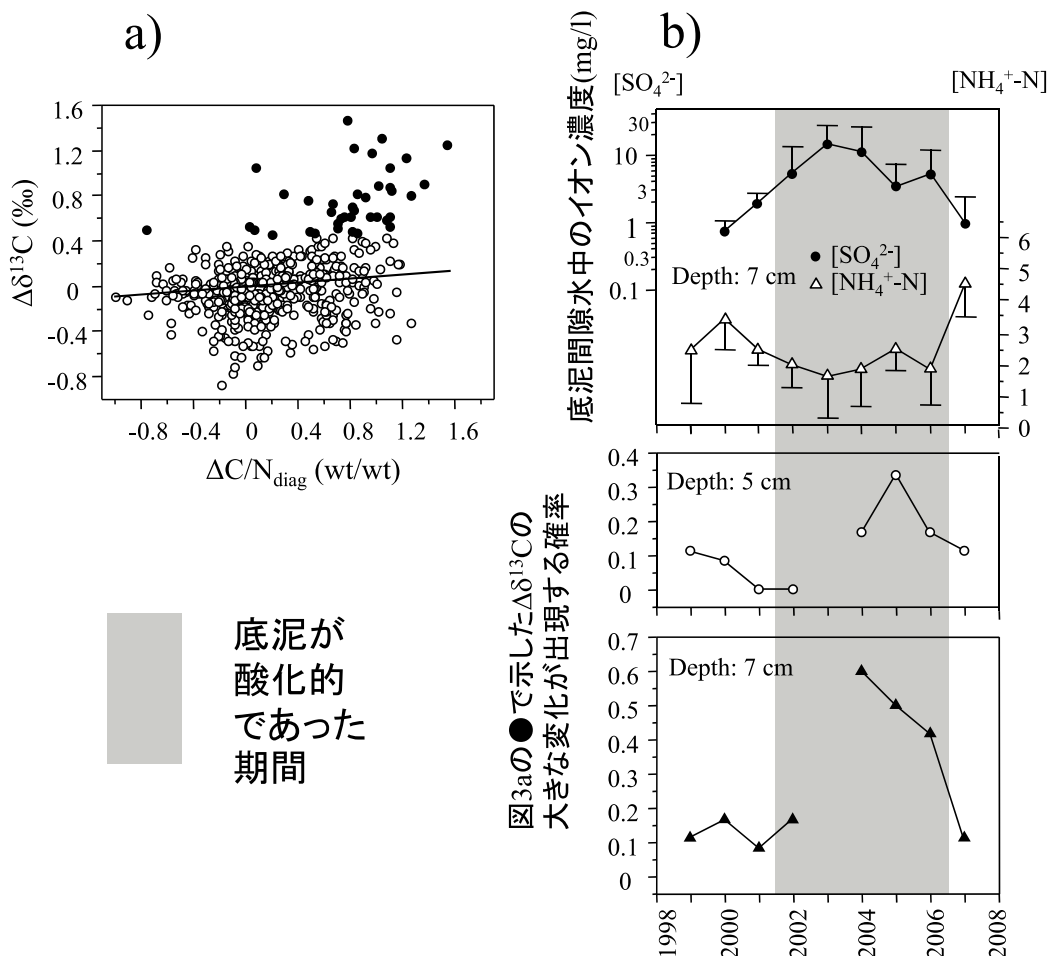


図 51 堆積過程での a) 炭素安定同位体比の変化 ($\Delta\delta^{13}\text{C}$) と b) その大きな変化と底泥環境との対応

2.2.5 有機物負荷発生源寄与のピンポイント的算定

我々の研究グループは、霞ヶ浦を対象として、2001年～2007年12月の期間において、Princeton-Ocean-Model (POM) の境界条件を改良した湖沼3次元流動モデル（水平方向100m × 100mメッシュ、鉛直5層）を構築して、難分解性DOM等の濃度変動に係るシミュレーションを実施した。

当該設定期間の気象データ、河川流入データ、農業用水量（揚水）データ、上水取水量データ、下水処理場流出水の放流量、水温、負荷濃度データと湖内水位データを入手・整理した。気象データは風向・風速、気温、日射量、雲量、湿度等の各項目をそれぞれ1ファイルで1時間間隔のデータとして整理した。河川流入量、農業用水、上水取水量や下水処理場流出水データと湖内水位データから、水位変動に合致するように、河川流入量（対象河川29河川）を調整するとともに、潮来から北浦方向への流出量も作成した。河川からの負荷濃度データについては、採水時の河川流量データを利用してL-Q式を作成した。

モデル計算において、難分解性DOMの供給源として起源別の供給源を複数設定した：桜川、恋瀬川、小野川、新利根川、土浦入り南岸由来河川、土浦入り北岸由来河川、湖盆由来河川、底泥溶出（湖心）、底泥溶出（土浦入り）、底泥溶出（高浜入り）、下水処理場、降雨、内部生産。2001年～2007年の計算実施期間での数値解の安定性を高めるため、実測値に基づいた適当な初期値を使い1999年～2000年を対象として予備計算を行った。

[モデルの検証] 湖沼モデルの検証は、湖水中の難分解性フミン物質を使って実施した。難分解性フミン物質については、(1) 湖水柱において藻類由来の難分解性フミン物質は生産（内部生産）されない、(2) 底泥由来

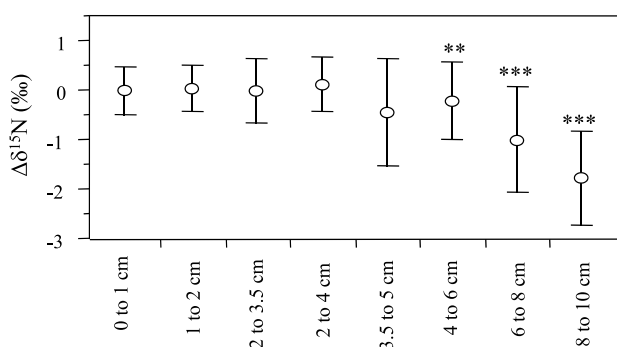


図52 堆積過程での窒素安定同位体比の変化 ($\Delta\delta^{15}\text{N}$)

DOMはほぼ難分解性である、(3) 流入河川水中の懸濁物質からの難分解性DOMへの寄与はない、ことが報告されている。従って、難分解性フミン物質に関しては湖水柱での生産を考慮する必要がなくなり、実測値と実測値に基づいた算定値を用いて収支を計算することができる。この考え方に基づいて、実測値とモデル計算値を比較検討することによってモデルの検証を行った。結果として、7年間（2001年～2007年）、湖内5地点で実測された420サンプルに対する平均相対誤差は12.2%であった。開発した3次元流動モデルの有効性・整合性が認められた。

[難分解性DOM負荷源の起源別寄与算定] 難分解性フミン物質と同様なアプローチで、難分解性DOM (RDOM) についてモデル計算を実施した。現時点での霞ヶ浦3次元モデルには、未だ湖水柱で生産されるRDOM（主に難分解性親水性酸）のサブモデルが組み込まれていない。そのため、現時点では、湖水柱内部生産由来のRDOMをRDOMの実測値とモデル計算値の差として推定した。

図53に2001年～2007年での霞ヶ浦湖心 (St.9) における起源別の湖水RDOMへの寄与濃度の計算結果を示す。降雨由来RDOMの寄与は平均で0.6%ととても低い値であったため図示していない。

全期間平均において、河川由来RDOMの寄与率は67.5%、下水処理場由来の寄与率は2.9%、溶出由来の寄与率は12.0%、内部生産由来の寄与率が17.6%であった。湖内部負荷由来が全体の約30%を占め、その重要性が認識された。河川別では、湖心において桜川の寄与がとて大きく(18.9%)、次いで恋瀬川(9.2%)、小野川(7.7%)の順であった。溶出の地域別の寄与は、湖心域での溶出が8.5%、土浦入りが1.6%、高浜入りが1.8%であった。

起源別RDOM供給源のうち対象期間内で変動が大きかったのは、湖内由来である湖水柱生産と底泥溶出であった。湖水柱生産は2004年末まで減少傾向にあったが、それ以降は増大に転じた。湖心域からの溶出の寄与は2004年までほぼ一定であったが、2005年は減少し、2006年以降は増大傾向を示した。湖内部生産の変動は全COD (図25 (a))、クロロフィルa (図25 (b))、透明度 (図25 (e))、懸濁態POM (図26) の経年変動に対応しているように思える。底泥溶出のトレンドは間際

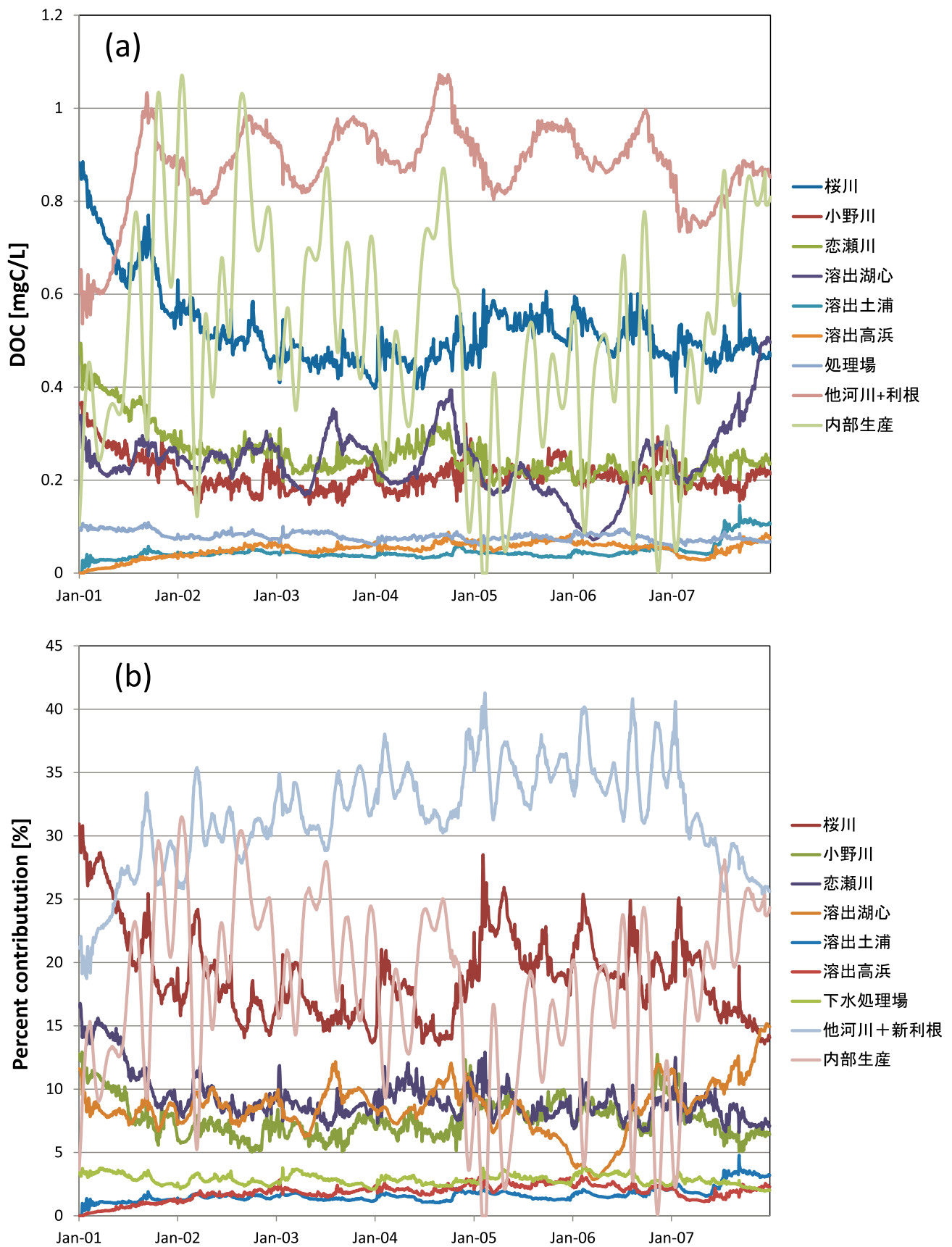


図 53 霞ヶ浦湖心 (St.9) における湖水難分解性 DOM (RDOM) に対する各起源別供給源寄与のモデル計算結果. (a) DOC 濃度として、(b) 寄与率として

水中の DOM と窒素の濃度変化に整合しているように思われる。湖水の微生物生態系の機能・活動に由来する湖水柱生産や底泥の微生物生態系の機能・活動が大きく影響する底泥溶出は、湖沼における RDOM の動態に大きく関与していることが示唆される。湖沼微生物生態系の RDOM への影響は大きい。

2.3 まとめと展望

本研究では、長期的モニタリングを活用し、先端的な分析手法や解析法を開発、そして組み合わせることにより、湖沼（霞ヶ浦）の有機物、特に溶存有機物（DOM）の動態、特性および生産に、微生物生態系がどのように関係しているのかを明らかにすることを目指した。結果、多くの成果が得られた。その概要を列記する。

[藻類一次生産速度] 放射性同位体を使用せずに迅速に藻類一次生産速度測定法（FRRF 法）の開発に成功した。当該手法を用いて霞ヶ浦において藻類一次生産速度を測定した。一次生産速度は概ね表層で高く深層で低く、地点的な違いも認められた（土浦入れく湖心、高浜入り）。季節的な違いとしては、湖心のみで4月の一次生産速度が顕著に高かった。

[細菌二次生産速度] 放射性同位体を用いないプロモデオキシウリジン法（BrdU 法）によって霞ヶ浦において細菌二次生産速度を測定した。当該二次生産速度の値はとて大きく、沿岸域での報告値の 14～70 倍に相当した。BrdU 法を完全に放射性同位体フリーにするところまで到達できなかったが、誘導化 BrdU を LC/MS で検出できるという結果を得た。完全放射性同位体フリーとなる展望が見えた。

[DOM 難分解性化メカニズム] 室内培養実験においてバクテリア起源バイオマーカーである D 体-アミノ酸濃度からバクテリア起源の DOM の存在割合を求めることに成功した。霞ヶ浦におけるバクテリア起源 DOM の割合は 35～55% であった。湖沼 DOM の主要な起源はバクテリアであることが明らかとなった。バクテリア起源の DOM は極めて難分解性であるため、本研究仮説「湖水 DOM の難分解性化にバクテリアが大きく関与する」は検証されたとと言える。

[アオコ形成藍藻類の動態] 典型的なアオコ形成藍藻である *Microcystis aeruginosa* に対する特異的プライマーを作成して、霞ヶ浦における *M. aeruginosa* 存在密度の長期的トレンドを評価し、さらに増殖速度と環境因子

の関係について検討した。湖心では、*M. aeruginosa* は 1999 年から 2003 年まで減少する傾向を示したが、2004 年以降上昇するトレンドを示した。2009 年夏季にアオコが観察される密度に到達した。*M. aeruginosa* の増殖を左右する環境因子として日射量や水温が重要であることが明らかとなった。

[湖水・河川水中の溶存炭水化物（DCHO）の動態] 霞ヶ浦湖水の DCHO 濃度は河川水よりも顕著に高く、かつ両者の単糖組成は大きく異なっていた。従って、霞ヶ浦 DCHO の動態に対する河川水 DCHO の影響はとて小さいと示唆された。湖水で検出された単糖類は主要なものでフコース、ラムノース、アラビノース、ガラクトース、グルコース、マンノースおよびキシロースの 7 種類で、年間を通じて最も卓越する単糖はキシロースであった（20～23%）。DCHO の供給は 3～5 月、7～9 月に特に高かった。

[湖水 DOM の分子量分布] 霞ヶ浦湖水 DOM の分子サイズ分布を全有機炭素（TOC）、紫外吸光度（UV）および蛍光検出器で測定した。湖水 DOM は 15～18 万ダルトン（Da）と 1500～3000 Da 付近に頂点を持つ 2 ないし 3 つのピークを示した。高分子画分（15～18 万 Da）は UV 吸収や蛍光がほとんどなく、湖水中の溶存炭水化物（DCHO）と高い相関を示した。当該高分子画分は、植物プランクトン由来の細胞外 DCHO に由来すると推察された。

[底泥間隙水中 DOM、リンおよび窒素の動態] 霞ヶ浦底泥間隙水中の DOM、窒素およびリンの深さ方向濃度プロファイルは経年的に特徴的な変動を示していることが明らかとなった。

間隙水中 DOM 濃度は 1997 年から 2005 年まで漸減傾向であったが、2006 年に突然上昇に転じた。間隙水中の溶存態窒素（ $\text{NH}_4\text{-N}$ ）濃度は DOM と同様に 2005 年まで減少していたが、2006 年に劇的に増大した。それ以降、底泥全層で高い値に留まっている。間隙水中の溶存態リン濃度（ $\text{PO}_4\text{-P}$ ）は、1997 年から 2005 年まで底泥全層で年々増大していた。その後、2006 年に表層を除く全層で減少に転じた。しかし、2009 年以降は再び全深度で $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度が上昇し続けている。

[底泥間隙水中の溶存炭水化物の動態] 底泥間隙水中の溶存炭水化物（DCHO）濃度の急激な変化を、特に 2～8cm の層で、2005 年 7 月から 2006 年 5 月にかけて捉えることができた。DCHO 濃度と DCHO 収率（DCHO/

DOC 比) が当該期間に顕著に上昇し、その後急減した。表層でキシロース、下層でグルコースが単糖として卓越していた。当該期間中に、底泥有機物の嫌気性分解によってグルコースを多く含む炭水化物が間隙水中に大量供給され、その後、DCHO が速やかに資化されたことがわかる。この DCHO の動態は、間隙水中の $\text{NH}_4\text{-N}$ 、DOM およびリンの動態、特に $\text{NH}_4\text{-N}$ の動態と連動していた。底泥有機物の代謝から炭水化物放出をトリIGGERとして、その資化により酸化還元境界が上下動して間隙水中の DOM や栄養塩濃度を急変させていると推察される。

[底泥間隙水中 DOM の分子サイズ分布] 底泥間隙水 DOM の分子サイズ分布は、湖水 DOM のそれとほぼ一致していた。間隙水特有のピークの存在は観察されなかった。劇的な変化が観察された 2006 年の間隙水では、高分子画分 (> 11 kDa) の存在割合と溶存炭水化物 (DCHO) の収率の間に高い相関が認められた。底泥有機物代謝によって間隙水に供給される DCHO は DOM 高分子画分を形成すると考えられた。

[底泥微生物群集構造] 底泥サンプルには真正細菌中で非常に多くのグラム陰性細菌に分類される *Proteobacteria* 門の細菌が半数近くあるいはそれ以上を占めていた。全ての底泥サンプルで δ -*Proteobacteria* に分類される細菌が優占していた。このグループには硫酸還元菌などの嫌気性菌が含まれる。*Nitrospira* 門に分類される細菌はいずれの月でも深さ 4-6 cm で多く存在していることが認められた。*Nitrospira* 門には、亜硝酸酸化細菌 *Nitrospira* 属が分類されており、特に 4-6 cm において硝化が活発に行われていること、すなわち微生物による窒素代謝が活性化されていることが推察された。

[底泥の安定同位体解析] 過去 28 年間に渡って採取されてきた霞ヶ浦底泥表層コアの深度方向および歴史的な安定同位体比の変化パターンを合わせて解析することで、堆積後の同位体比が変化するか否かを検証した。底泥表層における炭素および窒素同位体比の変遷は湖水柱で生産された植物プランクトン起源の懸濁態有機物の歴史的变化を反映していると考えられた。近年のアオコ復活と底泥表層有機物の $\delta^{13}\text{C}$ の再上昇に転じるパターンは良く符号している。一方、底泥表層有機物の $\delta^{15}\text{N}$ は 1980 年代前半の 6.2% 程度から 2000 年代後半の 7.4% 程度まで上昇した。霞ヶ浦流域で人為起源の窒素負荷が

近年増大したと推察される。

湖の環境復元の手法としてしばしば用いられる炭素、窒素の安定同位体比の解析であるが、底泥内部の酸化還元状態は変化しやすく、それに伴う有機物の同位体比の変化は無視できない場合があることが明らかになった。

[DOM の長期トレンド] DOM は 1997 年～2005 年頃まで減少し、2006 年から上昇に転じ 2007 年にピークに達し、その後減少傾向に移行した。難分解性 DOM も DOM と同様に 1997 年～2005 年で減少トレンドを示したが、2006 年以降、DOM で観察された濃度上昇は認められなかった。この違いは、DOM は 2006 年に顕著に上昇するが、その分解性がとても高いためであった。すなわち、2006 年に易分解性 DOM が著しく増える現象が生じたことを示唆する。

[難分解性 DOM の起源別寄与の算定] 湖沼 3 次元流動モデルを使い、霞ヶ浦における難分解性 DOM (RDOM) の起源別 (供給源別) の寄与を算定した (2001～2007 年)。湖心では、降雨由来 RDOM の寄与は平均で 0.6% と無視できる程小さいものであった。河川由来 RDOM の平均寄与率は 67.5%、下水処理場放流水由来は 2.9%、溶出由来は 12.0%、内部 (湖水柱) 生産由来は 17.6% であった。起源別 RDOM 供給源として変動が大きかったものは湖内由来である湖水柱生産と底泥溶出であった。湖水や底泥の微生物生態系の機能・活動が、湖沼における RDOM の動態に大きく関与していると示唆された。

今後の展望

本研究は、湖沼における有機物の循環と微生物生態系との関係を評価・検討することを目的として実施された。すなわち、有機物、特に溶存有機物 (DOM) に注目して研究を進めるアプローチを取った。しかし、有機物の特性や動態を解き明かそうとすればするほど、詰まる所、窒素やリンの栄養塩や光・水温・底泥酸化還元状態等の環境因子およびアオコ形成藍藻類や湖水・底泥の微生物群集構造等の情報が、その解明の鍵になっていることが明白となった。すなわち、湖沼における環境因子と微生物生態系情報 (生態系機能や多様性等) との因果関係を具体的に評価することが極めて重要と推察される。多種多様の湖沼に係るパラメータを測定、モニタリングすることは大変な労力である。しかし、多くの湖沼パラメータについて、地道に確実に長期的な数値データを積み上げてゆくことが、結局のところ、湖沼環境再生・保

全の近道だろう。

本研究で測定・モニタリングした多くの水質・微生物パラメータに関して、2006年において、ブレイクポイントのような急激な変化が観察された。湖水中のアオコ形成藍藻種の存在密度、クロロフィル a、全リン、全窒素、懸濁態有機物 (POM)、DOM、間隙水中の $\text{PO}_4\text{-P}$ 、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、DOM および溶存炭水化物等のパラメータが整合的な変動を示した。このような報告例はこれまで皆無であり極めて貴重なデータである。東日本大震災の影響のため、底泥微生物群集構造や DOM の分子サイズ等の測定は限定的なレベルに留まってしまった。本研究は終了するが、引き続き、保存されているサンプルを使って研究を進めることで、浅い湖沼における有機物の循環や湖沼生態系との相互関係が具体的に明らかになると期待

される。

本研究では、新規性の高い測定法・分析法が数多く適用されている。藻類一次生産速度測定、細菌二次生産測定、アオコ形成藍藻の特異的プライマーによる定量 PCR 測定、D 体-アミノ酸による細菌起源 DOM の算定、溶存炭水化物測定、全有機炭素 (TOC) 検出サイズ排除クロマトグラフィー、炭素・窒素安定同位体解析、底泥微生物群集構造解析、難分解性 DOM の起源別寄与のモデル算定等。その結果、従来の知見とは顕著に異なる数多くの新しい知見が得られた。新しいアプローチ・手法と地道な水質や生物に係る長期モニタリングという“新しさ”と“忍耐”の組み合わせが、湖沼環境研究の明日への扉を開くのだと思う。

[資料]

I 研究の組織と研究課題の構成

1 研究の組織

[A 研究担当者] (現在の職員の現職, 転出者は転出時の職)

地域環境研究センター

湖沼・河川環境研究室

今井章雄

松重一夫*

小松一弘

高津文人

富岡典子

川崎伸之**

佐藤貴之

土壌環境研究室

林 誠二

水環境管理研究室

岩崎一弘***

生物・生態系環境研究センター

生態系機能評価研究室

野原精一

環境計測研究センター

環境計測化学研究室

佐野友春

動態化学研究室

荒巻能史

* 現在の所属

総務部総務課

** 現在の所属

マレーシア・セラングール大学

***現在の所属

内閣府参事官

[B 客員研究員]

川崎伸之 (マレーシア・セラングール大学) (平成 23 年度)

[C 共同研究員]

奈良郁子 (東北大学大学院) (平成 20 年度)

三浦真吾 (株式会社武楊堂) (平成 20 ~ 23 年度)

吉村和也 (筑波大学大学院) (平成 21 ~ 22 年度)

[D 研究生]

多田雄哉 (東京大学海洋研究所) (平成 21 年度)

渡邊史郎 (茨城大学大学院) (平成 21 ~ 23 年度)

土屋健司 (創価大学大学院) (平成 23 年度)

2 研究課題と担当者 (*客員研究員)

サブテーマ 1. 有機物と微生物の相互作用の評価

今井章雄・松重一夫・小松一弘・高津文人・富岡典子・川崎伸之*・佐藤貴之・岩崎一弘・野原精一・
佐野友春・荒巻能史

サブテーマ 2. 湖沼における有機物の動態・循環の解析

今井章雄・松重一夫・小松一弘・高津文人・佐藤貴之・林 誠二

II 研究成果発表一覧

1 誌上発表

発表者・(刊年)・題目・掲載誌・巻(号)・頁

- Arai H., Fukushima T., Komatsu K. (2012) Increase in silicon concentrations and release from suspended solids and bottom sediments in Lake Kasumigaura, Japan. *Limnology*, 13(1), 81-95
- Fukushima T., Kamiya K., Onda Y., Imai A., Matsushige K. (2010) Long-term changes in lake sediments and their influences to lake water quality in Japanese shallow lakes. *Fundamental and Applied Limnology*, 177(3), 177-188
- He B., Oki K., Yi W., Oki T., Yamashiki Y., Takara K., Miura S., Imai A., Komatsu K., Kawasaki N. (2012) Stream nutrient characteristic analysis and water quality load estimation with the aid of Quick Bird remote sensing imagery. *Hydrological Sciences Journal* (in print)
- 今井章雄, 小松一弘, 高津文人 (2009) 霞ヶ浦, 泥の中で激しい変化が起きた! 地球環境研究センターニュース, vol.20 (3), 5-7
- 今井章雄 (2010) 調査研究日誌 霞ヶ浦調査, ろ過と泥切りがタイヘンです, 国立環境研究所ニュース vol.29, N0.3, 11-12
- 今井章雄 (2010) 貧栄養湖十和田湖における溶存有機物 (DOM) の起源と特性, 特別企画/日本陸水学会—水研究のさまざまなかたち, 資源環境対策, 46 (9), 58-65
- 今井章雄 (2011) 巻頭言 溶存有機物の研究—最近の動向—, 水環境学会誌, 34 (A), No.5, 129
- Kawasaki N., Matsushige K., Komatsu K., Kohzu A., Satou T., Nara F.W., Ogishi F., Yahata M., Mikami H., Goto T., Imai A. (2011) A fast and precise method for HPLC-size exclusion chromatography with UVA and TOC (NDIR) detection: Importance of multiple detectors to evaluate the characteristics of dissolved organic matter in aquatic environments. *Water Research*, 42, 6240-6248
- 高津文人, 今井章雄, 中島泰弘, 小松一弘, 川崎伸之, 佐藤貴之 (2011) 硝酸イオンの窒素・酸素安定同位体比測定のための自作による安価な自動前処理ラインの開発, *Radioisotopes*, 60 (6), 231-240
- 高津文人, 渡邊未来, 林誠二, 今井章雄, 中島泰弘, 尾坂兼一, 三浦真吾 (2011) 筑波山周辺の渓流水中の硝酸イオンの酸素・窒素安定同位体比による硝酸イオンの生成・混合・消費プロセスの解析, *陸水学雑誌*, 73, 1-16
- Kohzu A., Imai A., Miyajima T., Fukushima T., Matsushige K., Komatsu K., Kawasaki N., Miura S. (2011) Direct evidence for nitrogen isotope discrimination during sedimentation and early diagenesis in Lake Kasumigaura, Japan. *Organic Geochemistry*, 42(2), 173-183
- Kohzu A., Imai A., Ohkouchi N., Fukushima T., Kamiya K., Komatsu K., Tomioka N., Kawasaki N., Miura S., Satou T. (2011) Direct evidence for the alteration of ^{13}C natural abundances during early diagenesis in Lake Kasumigaura, Japan. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*, 12(10), doi:10.1029/2011GC003532
- 小松一弘, 今井章雄, 松重一夫, 奈良郁子, 川崎伸之 (2008) 三次元励起蛍光スペクトル法による湖水及び流域水中 DOM の特性評価, 水環境学会誌, 31 (5), 261-267
- 小松一弘 (2011) 湖沼における難分解性溶存有機物の特性評価, 水環境学会誌, 35 (A), No.5, 139-144
- 越川(金尾)昌美, 渡邊未来, 越川海, 小松一弘, 今井章雄, 稲葉一穂, 高松武次郎 (2010) 霞ヶ浦湖水におけるアルミニウムの化学形態, *Bunseki Kagaku*, 59 (12), 1137-1142
- 松中哲也, 西村弥重, 村上哲生, 井筒康裕, 奈良郁子, 渡邊隆広, 今井章雄, Zhu Liping (2012) チベット高原・プマユムツォ湖の水温躍層 (20-25m) 以深における一次生産の規模とその維持機構に関する検討, *陸水学雑誌* (in print)
- 三浦真吾, 沖一雄, 松重一夫, 今井章雄, 小松一弘, 相崎守弘 (2010) QuickBird 画像による小流域ベースの土地被覆分類と Stepwise 法を用いた河川流出負荷量の算定, 水環境学会誌, 31 (5), 57-61
- 水落元之, 牧秀明, 今井章雄, 木幡邦男, 弓木麻記子, 松田和久 (2008) 水質汚濁に係る環境基準 (水質環境基準) の問題点と課題に関する考察—自治体アンケートによる検討—, 月刊「水」, 50 (6), 32-37
- Nagai T., Imai A., Matsushige K., Yokoi K., Fukushima T. (2008) Short-term temporal variations in dissolved iron and its speciation, and their controlling factors in freshwater system. *Aquatic Sciences*, 70(4), 388-396

- Nagai T., Tomioka N., Kawasaki T., Imai A., Matsushige K. (2011): In situ growth rate of *Microcystis* spp. and their growth limiting factors: An application of cellular RNA content. *Limnology*, 12(3), 235-244
- Nara F.W., Imai A., Matsushige K., Komatsu K. (2009) Stable carbon isotopic characterization of DOC and its humic fraction in Lake Kasumigaura, Japan. *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, 30(8), 1307-1309.
- Nara F.W., Imai A., Uchida M., Matsushige K., Komatsu K., Kawasaki N., Shibata Y. (2010) Radiocarbon measurements of dissolved organic carbon in sewage-treatment-plant effluent and domestic sewage. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms* 268(7/8), 1142-1145.
- Nara F.W., Watanabe T., Nakamura T., Kakegawa T., Katamura F., Shichi K., Takahara H., Imai A., Kawai T. (2010) Radiocarbon and stable carbon isotope ratio data from a 4.7-m-long sediment core of Lake Baikal (Southern Siberia, Russia). *Radiocarbon*, 52(3), 1449-1457
- Nara F.W., Imai A., Uchida M., Matsushige K., Komatsu K., Kawasaki N., Shibata Y., Amano K., Mikami H., Hanaishi R. (2010) High contribution of recalcitrant organic matter to DOC in a Japanese oligotrophic lake revealed by ¹⁴C measurements. *Radiocarbon*, 52(3), 1078-1083
- Nara F. W., Watanabe T., Kakegawa T., Seyama H., Horiuchi K., Nakamura T., Imai A., Kawasaki N., Kawai T. (2010) Climate control of sulfate influx to Lake Hovsgol, northwest Mongolia during the last glacial-postglacial transition: Constraints from sulfur geochemistry. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 298(3-4), 278-285
- Oyama Y., Matsushita B., Fukushima T., Matsushige K., Imai A. (2009) Application of Spectral Decomposition Algorithm for Mapping Water Quality in a Turbid Lake (Lake Kasumigaura, Japan) from Landsat/TM Data. *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*, 64, 73-85
- Oyama Y., Matsushita B., Fukushima T., Nagai T., Imai A. (2010) Testing the spectral decomposition algorithm (SDA) for different phytoplankton species by a simulation based on tank experiments. *International Journal of Remote Sensing*, 31(6), 1605-1623.
- 三枝信子, 高村典子, 今井章雄 (2009) 霞ヶ浦の長期モニタリング研究 - 30年間の水質・生物モニタリングに基づいた新しい湖沼環境研究の展開 -, 地球環境研究センターニュース vol.20, No.9, 13-16
- 篠原梓, 今井章雄, 小松一弘, 松重一夫, 奈良郁子 (2008) HPLC-PAD法を用いた糖類の高感度分析法への応用と湖水及び藻類由来溶存有機物の糖類組, 水環境学会誌, 31(8), 447-454 (平成20年度日本水環境学会論文奨励賞「広瀬賞」受賞)
- Terrel M.M., Fukushima T., Matsushita B., Yoshimura K., Imai A. (2012) Long-term light environment variability in Lake Biwa and Lake Kasumigaura, Japan: Modeling approach. *Limnology* (in print)
- Tomioka N., Nagai T., Kawasaki T., Matsushige K., Imai A. (2008) Quantification of *Microcystis* in a eutrophic lake by simple DNA extraction and SYBR Green real-time PCR. *Microbes and Environments*, 23(4), 306-312
- 富岡典子, 小松一弘, 越川(金尾)昌美, 今井章雄, 松重一夫, 稲葉一穂 (2010) 霞ヶ浦表層水中の銅と鉄の長期モニタリング, *Bunseki Kagaku*, 59(12), 1169-1174
- 富岡典子 (2011) アオコはどこにいるのかな? (その後) 地球環境研究センターニュース, vol.21(12), 21
- Tomioka N., Imai A., Komatsu K. (2011) Effect of light availability on *Microcystis aeruginosa* bloom in shallow hypereutrophic Lake Kasumigaura. *J. Plankton Research*, 33(8), 1263-1273
- Yoshimura K., Zaitsu N., Sekimura Y., Matsushita B., Fukushima T., Imai A. (2012) Parameterization of chlorophyll a-specific absorption coefficients and effects of their variations in a highly eutrophic lake: a case study at Lake Kasumigaura, Japan. *Hydrobiologia* (in print)
-

今井章雄, 松重一夫, 小松一弘, 川崎伸之, 奈良郁子, 天野邦彦, 中西哲, 花石竜治, 三上一 (2008) 貧栄養湖十和田湖における溶存有機物 (DOM) の季節変動と特性評価, 日本陸水学会第 73 回大会, 同講演集

今井章雄, 小松一弘, 高津文人 (2009) 霞ヶ浦の長期水質トレンドデータが教えること, 国環研シンポジウム 霞ヶ浦の長期モニタリング研究—30 年間の水質・生物モニタリングに基づいた新しい湖沼環境研究の展開—, 同講演集

今井章雄, 小松一弘, 高津文人, 奈良郁子, 川崎伸之, 佐藤貴之, 天野邦彦, 中西哲, 花石竜治, 三上一 (2009) 十和田湖における溶存有機物 (DOM) の特性・起源および動態, 第 44 回日本水環境学会年会, 同講演集

今井章雄, 小松一弘, 川崎伸之, 佐藤貴之, 高津文人 (2012) 底泥間隙水中の溶存有機物の分画分布および分子サイズ, 第 46 回日本水環境学会年会, 同講演集

金谷弦, 高津文人, 佐藤正典, 塔筋弘章, 今井章雄 (2011) 汽水域に生息するゴカイ科多毛類における季節的な安定同位体比変動, 第 58 回日本生態学会大会 (ESJ 58), 同講演集

川崎伸之, 今井章雄, 松重一夫, 小松一弘, 大岸史和, 矢幡雅人, 三上博久, 後藤武 (2008) サイズ排除クロマトグラフィーシステムにおけるカラムの種類および溶離液組成が及ぼす影響の検討, 日本陸水学会第 73 回大会, 同講演集

川崎伸之, 今井章雄, 松重一夫, 小松一弘, 大岸史和, 矢幡雅人, 三上博久, 後藤武 (2009) 全有機炭素検出器を組み込んだサイズ排除クロマトグラフィーによる様々な水環境下での溶存有機物の分子サイズの検討, 第 43 回日本水環境学会年会, 同講演集

川崎伸之, 今井章雄, 小松一弘, 高津文人, 佐藤貴之, 三浦真吾 (2009) 霞ヶ浦湖水のアミノ酸濃度および鏡像異性体の季節変化, 日本陸水学会 第 74 回大会, 同講演集

川崎伸之, 今井章雄, 小松一弘, 高津文人, 佐藤貴之, 三浦信吾, 浜崎恒二, 多田雄哉 (2010) 霞ヶ浦における微生物ループの役割と有機物循環の解明, 陸水学会年会 第 75 回大会, 同講演集

川崎伸之, 今井章雄, 小松一弘, 高津文人, 佐藤貴之, 三浦信吾 (2010) バクテリアバイオマーカーから求めた霞ヶ浦におけるバクテリア起源 DOM の占める割合, 第 45 回日本水環境学会年会, 同講演集

Kawasaki N., Imai A., Komatsu K., Kohzu A., Satou T., Miura S. (2011) Seasonal changes of dissolved organic matter properties in Lake Kasumigaura and its sediment pore water using size-exclusion chromatography with both UV and TOC detectors. The 4th IWA-ASPIRE Conference & Exhibition toward sustainable water supply and recycling systems, Abstracts

Kohzu A., Imai A., Matsushige K., Komatsu K., Kawasaki N., Fukushima T. (2008) Historical change in nitrogen isotope ratios of sediments in Lake Kasumigaura during 1979–2007, The 7th International Symposium for Subsurface Microbiology, Abstracts

高津文人, 永田俊, 大手信人, 陀安一郎, 由水千景, 今井章雄, 川崎伸之, 小松一弘 (2009) 集水域の土地利様式と河川水中の炭素・窒素の安定同位体比からみた河川への有機物負荷および窒素負荷の解析, 第 120 回日本森林学会, 同講演集

高津文人, 今井章雄, 松重一夫, 小松一弘, 川崎伸之, 三浦真吾, 佐藤貴之, 宮島利宏, 福島武彦 (2009) 霞ヶ浦底泥表層の窒素安定同位体比の支配要因—過去 28 年間の底泥試料から—, 第 44 回日本水環境学会年会, 同講演集

高津文人, 今井章雄, 小松一弘, 川崎伸之, 三浦信吾, 佐藤貴之, 大河内直彦, 福島武彦, 神谷航一 (2010) 霞ヶ浦底泥表層の炭素安定同位体比の支配要因—過去 28 年間の底泥試料から—, 第 45 回日本水環境学会年会, 同講演集

Kohzu A., Imai A., Nakajima Y., Osaka K., Komatsu K., Kawasaki N., Miura S., Satou T. (2011) The introduction of the denitrifier method for the analysis of nitrate $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{18}\text{O}$ and their variation in the surface water of Lake Kasumigaura from 2000 to 2005, The 4th IWA-ASPIRE Conference & Exhibition toward sustainable water supply and recycling systems, Abstracts

高津文人, 今井章雄, 小松一弘, 川崎伸之, 佐藤貴之, 三浦真吾, 中嶋泰弘, 尾坂兼一 (2012) 硝酸イオン・懸濁有機物の同位体組成による 2000 ~ 2005 年における霞ヶ浦湖水柱での窒素循環の解析, 第 46 回日本水環境学会年会, 同講演集

小松一弘, 今井章雄, 高津文人, 川崎信之, 佐藤貴之, 三浦信吾 (2010) 光分解実験から見てきた DOM の立体構造に関する発見, 陸水学会年会 第 75 回大会, 同講演集

Komatsu K., Imai A., Yonekawa H., Hashimoto T., Kawasaki N., Satou T., Kohzu A. (2011) Characterization of dissolved organic matter in water reclamation process. The 4th IWA-ASPIRE Conference & Exhibition toward sustainable water supply and recycling systems, Abstracts

小松一弘, 今井章雄, 富岡典子, 篠原隆一郎, 佐藤貴之, 高津文人, 三浦真吾 (2012) 三次元励起蛍光マトリクス (EEM) における「フミン様物質」が示すもの, 第 46 回日本水環境学会年会, 同講演集

越川昌美, 渡邊未来, 越川海, 小松一弘, 今井章雄, 稲葉一穂, 高松武次郎 (2011) 霞ヶ浦湖水におけるアルミニウムの化学形態, 日本陸水学会第 76 回大会, 同講演集

松中哲也, 西村弥亜, 中村俊夫, 渡邊隆広, Zhu Liping, 寺井久慈, 中野志穂, 奈良郁子, 今井章雄 (2009) チベット高原南東域における過去 19,000 年間に亘る水循環の歴史的変動, 第 21 回名古屋大学年代測定総合研究センターシンポジウム, 同講演集

三浦信吾, 沖一雄, 今井章雄, 小松一弘, 高津文人, 川崎伸之, 佐藤貴之 (2010) 高分解衛星画像による小流域の土地被覆分類と河川流出負荷量の検討, 陸水学会年会 第 75 回大会, 同講演集

三浦真吾, 渡邊未来, 林誠二, 高津文人, 今井章雄, 小松一弘, 川崎伸之, 佐藤貴之, 富岡典子, 篠原隆一郎 (2011) 筑波山における植生及び地形要因と渓流水中 NO₃-N 濃度との関係, 日本陸水学会第 76 回大会, 同講演集

Nara F.W., Imai A., Uchida M., Matsushige K., Komatsu K., Kawasaki N., Shibata Y. (2008) Radiocarbon measurements of dissolved organic carbon in sewage-treatment-plant effluent and domestic sewage, The 11 International Conference on Accelerator Mass Spectrometry (AMS-11), Abstracts

Nara F.W., Imai A., Uchida M., Matsushige K., Komatsu K., Kawasaki N., Shibata Y., Amano K., Mikami H., Hanaishi R. (2009): High contribution of recalcitrant organic matter to dissolved organic carbon (DOC) in Japanese oligotrophic lake (Lake Towada) revealed by radiocarbon measurements, 2nd International Radiocarbon Conference, Abstracts

岡本高弘, 小林博美, 佐藤祐一, 青木眞一, 原良平, 矢田稔, 一瀬諭, 坪田てるみ, 古田世子, 大野達雄, 山本春樹, 早川和秀, 小松直樹, 吉田美紀, 今井章雄 (2009) 有機物による琵琶湖の水質汚濁メカニズム調査について, 第 43 回日本水環境学会年会, 同講演集

岡本高広, 早川和秀, 今井章雄, 佐藤祐一, 中村敏博, 北川典孝, 一瀬諭, 奥村陽子, 大野達男, 古田世子 (2009) 琵琶湖における難分解性有機物を含む有機汚濁のメカニズム調査について, 日本陸水学会 第 74 回大会, 同講演集

岡本高広, 佐藤祐一, 早川和秀, 古角恵美, 中村敏博, 北側典孝, 矢田稔, 一瀬諭, 奥村陽子, 大野達男, 坪田てるみ, 古田世子, 南真紀, 藤原直樹, 青木眞一, 小林博美, 今井章雄 (2010) 琵琶湖における TOC, COD, 難分解性有機物を指標とした発生源調査について, 第 44 回日本水環境学会年会, 同講演集

岡本高弘, 佐藤祐一, 早川和秀, 今井章雄, 小松英司, 奥村陽子, 南真紀, 三和伸彦, 藤原直樹 (2012) 琵琶湖における第 6 期湖沼水質保全計画の策定について (1) ~水質評価における課題~, 第 46 回日本水環境学会年会, 同講演集

佐藤貴之, 川崎伸之, 小松一弘, 今井章雄, 高津文人, 三浦真吾 (2010) 富栄養霞ヶ浦における炭水化物の分布, 第 44 回日本水環境学会年会, 同講演集

佐藤貴之, 川崎伸之, 小松一弘, 今井章雄, 高津文人, 三浦信吾 (2010) 霞ヶ浦における溶存炭水化物の組成と季節変動~湖水、底泥間隙水および流入河川水の特徴~, 陸水学会年会 第 75 回大会, 同講演集

佐藤貴之, 川崎伸之, 今井章雄, 小松一弘, 高津文人, 三浦真吾, 篠原隆一郎, 富岡典子 (2011) 霞ヶ浦底泥および底泥間隙水における炭水化物動態と栄養塩の濃度分布との関係, 日本陸水学会第 76 回大会, 同講演集 (日本陸水学会ポスター賞優秀賞受賞)

Satou T., Kawasaki N., Komatsu K., Imai A., Kohzu A., Miura S. (2011) Distribution patterns of dissolved carbohydrates in eutrophic Lake Kasumigaura, The 4th IWA-ASPIRE Conference & Exhibition toward sustainable water supply and recycling systems, Abstracts

富岡典子, 今井章雄, 小松一弘 (2010) 霞ヶ浦湖水 *Microcystis aeruginosa* 濃度の季節変化について, 第 44 回日本水環境学会年会, 同講演集

富岡典子, 今井章雄, 小松一弘 (2011) 霞ヶ浦における *Microcystis aeruginosa* 濃度変化と地理情報の関連について. 第 45 回日本水環境学会年会, 同講演集

Tomioka N., Imai A., Komatsu K., Fukushima M. (2011) An analysis of temporal dynamics of *Microcystis aeruginosa* in eutrophic Lake Kasumigaura by real-time PCR, International Symposium on Microcystis Studies from Asia., Abstracts

Tomioka N., Imai A., Komatsu K. (2011) Seasonal dynamics of *Microcystis aeruginosa* in eutrophic Lake Kasumigaura, The 4th IWA-ASPIRE Conference & Exhibition toward sustainable water supply and recycling systems, Abstracts

渡邊圭司, 石井裕一, 小松伸行, 渡邊未来, 山村茂樹, 今井章雄, 林誠二 (2010) 湖沼の浮遊細菌による溶存有機物の取込みと生育特性, 陸水学会年会 第 75 回大会, 同講演集

渡邊圭司, 佐藤貴之, 渡邊未来, 山村茂樹, 今井章雄, 林誠二, 北村立実, 小松伸行, 石井裕一 (2011) 湖沼における主要浮遊細菌群の生態と湖内炭素循環への寄与, 日本陸水学会第 76 回大会, 同講演集

渡邊圭司, 渡邊未来, 山村茂樹, 今井章雄, 林誠二, 小松伸行, 北村立実, 石井裕一 (2011) 湖沼で優占する浮遊細菌群の生理生態的特徴. 第 27 回日本微生物生態学会大会, 同講演集

渡邊史郎, 清木徹, 小松一弘, 今井章雄, 佐藤貴之, 川崎伸之, 高津文人 (2012) 栄養状態の異なる湖沼における藍藻類の増殖要因に関する研究. 第 46 回日本水環境学会年会, 同講演集

[招待講演]

今井章雄 (2008) 韓国国立環境科学院, 招待講演「日本における有機物基準について」および「湖沼における難分解性溶存有機物の特性・起源と動態」, 韓国国立環境科学院・漢江環境研究所, 韓国, 2008.12.12

今井章雄 (2010) 滋賀県琵琶湖環境研究センター, 招待講演「国立環境研究所における湖沼環境研究について」, 大津市, 2010.2.2

今井章雄 (2010) 東京大学水環境制御研究センターシンポジウム, 招待講演「有機物リンケージに基づいた湖沼環境の評価」, 東京大学, 東京, 2010.2.23

今井章雄 (2010) 第 14 回日本水環境学会ノンポイント汚染研究集会「ワークショップ in 日立・霞ヶ浦」ワークショップ (II), 公開シンポジウム, 招待講演「難分解性有機物を考える」および「湖沼および河川における難分解性有機物の特性」, (独) 国立環境研究所水環境保全再生ステーション, 美浦村, 2010.9.6

今井章雄 (2010) 第 26 回日本腐植物学会, 招待講演「湖沼における DOM およびフミン物質の起源, 特性および動態」, 筑波大学, 2010.11.29

今井章雄 (2011) CREST 研究「持続可能な水利用を実現する革新的な技術とシステム」, 招待講演「浄水・排水処理プロセスにおける溶存有機物 (DOM) の特性評価—DOM の分画分布と分子サイズ分布で見ると—」, 京都市, 京都メルパーク, 2011.9.6

今井章雄 (2011) 日本陸水学会第 76 回大会, 公開シンポジウム I “指定湖沼が直面する諸問題～湖はどうあるべきか～” 招待講演, 「日本における有機物環境基準について」, 公松江市, 島根大学, 2011.9.24

今井章雄 (2011) 平成 23 年度十和田湖環境保全会議, 招待講演「十和田湖における溶存有機物の特性・起源および動態—2004 年, 濃度上昇の原因とは—」十和田湖富士屋グランドホール 2 階 平安の間 A, 十和田市, 2011.12.26

高津文人 (2010) 平成 22 年度安定同位体利用技術研究会 企画—エコロジーにおけるアイソトープ利用—, 招待講演「炭素・窒素の安定同位体比による環境解析—生物間相互作用から流域の物質代謝まで—」, 日本アイソトープ協会主催, ライフサイエンス部会, 東京大学農学部, 東京, 2010.9.22

高津文人 (2011) 平成 22 年度 GCOE セミナー—流域研究における同位体科学の先端と未来—, 招待講演「硝酸同位体分析を用いた河川と閉鎖性水域の物質循環研究」, 山梨大学国際流域環境研究センター主催, 山梨大学, 甲府, 2011.2.24

高津文人 (2011) 第 30 回「重窒素圃場利用研究会」討論会, 招待講演「安定同位体自然存在比による植物の窒素栄養に関する研究紹介—菌根共生経, 湿地生態系, 河畔生態系を例に」, 重窒素圃場利用研究会主催, 日本土壌肥料学会 2011 年度つくば大会, つくば, 2011.8.8

NIES RESEARCH PROJECT REPORT FROM
THE NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES, JAPAN

国立環境研究所研究プロジェクト報告
SR - 103 - 2012

平成 24 年 12 月 28 日発行

編 集 国立環境研究所 編集委員会

発 行 独立行政法人 国立環境研究所

〒305-8506 茨城県つくば市小野川 16 番 2

電話 029-850-2343 (ダイヤルイン)

印 刷 株式会社 イ セ ブ

〒305-0005 茨城県つくば市天久保 2 丁目 11-20

Published by the National Institute for Environmental Studies

16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305-8506 Japan

December 2012

無断転載を禁じます

リサイクル適性の表示：紙へリサイクル可
本冊子は、グリーン購入法に基づく基本方針における「印刷」に係る判断の基準にしたがい、印刷用の紙へのリサイクルに適した材料 [A ランク] のみを用いて作製しています。