

B-0805 湖内生産および分解の変化と難分解性有機物を考慮した有機汚濁メカニズムの解明
に関する研究

(1) 植物プランクトン由来の有機物の長期変動解析に関する研究

滋賀県琵琶湖環境科学研究センター
龍谷大学理工学部

一瀬 論
岸本直之

平成20-21年度 合計予算額	4,049 千円
(うち、平成21年度予算額	2,424 千円)

予算額には、間接経費を含む。

[要旨] 琵琶湖水の有機物指標に及ぼす内部負荷の寄与を評価するためには、湖内で一次生産を行う植物プランクトンの定量的評価が不可欠である。滋賀県では1979年より植物プランクトンの検鏡調査を継続しており、そのデータは種ごとの細胞密度として記録されている。しかし、炭素量として生物量換算されていないため、必ずしも琵琶湖水質保全施策に有効活用されているとは言えない。

上記を鑑み、本サブテーマでは、1979年から現在までの琵琶湖の植物プランクトン調査データベースを整備し、植物プランクトンの長期変動と有機物指標との関係を解析した。さらに、植物プランクトンの細胞容積から細胞内炭素量への換算式の構築、および観測点における点データから琵琶湖全体の生物量を推定する手法の開発を行った。構築したデータベースはインターネットを通じて公開した。データベースに基づき、植物プランクトンの経年挙動を解析した結果、琵琶湖において植物プランクトンが小型化し、藍藻等の粘質鞘を有する植物プランクトンの優占度が増していることという特徴が認められた。種組成変化に伴う生産構造の質的、量的変化が難分解性有機物の供給に影響している可能性が示唆された。琵琶湖産植物プランクトンの細胞容積と細胞内炭素量の定量分析により両者の関係を調査した結果、調査途上ではあるが、海産植物プランクトンに関する既報の関係式に類似した関係が認められた。さらに、琵琶湖全体の植物プランクトンバイオマス推定のため、水深方向3地点の観測データから植物プランクトンの鉛直分布を誤差率7.5%の精度で推定する方法を開発した。

[キーワード] 琵琶湖、植物プランクトン、バイオマス、細胞容積、粘質鞘

1. はじめに

我が国では1985年以降、琵琶湖をはじめ霞ヶ浦、印旛沼、十和田湖、野尻湖等の多くの湖沼で、難分解性と考えられる溶存態の有機物量が漸増傾向にあることが報告されている(今井ら: 2004)。これら有機物指標にかかる水質メカニズムを解明するため、今まであまり注目されなかった湖内生産者である植物プランクトンに焦点を当て、近年、増加傾向にあるプランクトンと溶存態有機物との関連性についての研究を実施した。

2. 研究目的

琵琶湖における長期的な植物プランクトン調査結果から琵琶湖全体の第一次生産量を評価する

ための基礎情報として琵琶湖の植物プランクトンバイオマスの長期変動を把握し、琵琶湖の溶存有機物と植物プランクトンによる内部生産の関係を明らかにすることを目的とした。

3. 研究方法

(1) 植物プランクトン情報のデータベース化と長期変動解析

1979年以降現在までに琵琶湖で観測された600種を超える植物プランクトン毎に細胞容積を評価した。細胞容積評価に当っては各細胞を楕円柱、楕円体、直方体およびこれらの組み合わせで近似し、以下の式に従って細胞容積Vを求めた。

$$\text{楕円柱 } V = \frac{\pi}{4} abh \quad (\text{a: 楕円の長軸, b: 楕円の短軸, h: 楕円柱の高さ})$$

$$\text{楕円体 } V = \frac{\pi}{6} ab^2 \quad (\text{a: 楕円の長軸, b: 楕円の短軸})$$

$$\text{直方体 } V = abh \quad (\text{a: 長さ, b: 幅, h: 高さ})$$

これらの情報を加えて1979年から現在までの植物プランクトンデータベースを構築した（H20年度実施）。加えて、植物プランクトンが有する粘質鞘を墨汁やラテックス球で染色し、その容積を評価するとともに、長期変動解析を行った（H21年度実施）。

(2) 細胞容積から細胞内炭素量への換算式の構築（H21年度実施）

琵琶湖より単離した植物プランクトン細胞を M-11 培地または CT 培地にて培養した。培養した植物プランクトン種は *Phormidium tenue* G株（藍藻）、*Closterium gracile*、*Pediastrum biwae*、*Coelas*、*Staurastrum arcticon*、*Staurastrum dorsidentiferum*（以上、緑藻）である。このうち *S. arcticon* と *S. dorsidentiferum* が粘質鞘を有している。培養後、培養液中の細胞密度、細胞容積、Chl.a濃度を計測した。次に事前に 550°C で1時間強熱し、恒量に達したガラス繊維ろ紙

（Whatman GF/F）にて培養液の適量をろ過した。ろ紙を 105°C で2時間乾燥後、TOC計（ヤナコ MT-4）で炭素量、窒素量を測定した。粘質鞘を有する植物プランクトンの場合、粘質鞘サイズの計測を実施するとともに、ろ過段階で低差圧ろ過を行って粘質鞘をろ紙上に残存させた場合と純水で洗浄しつつ高差圧ろ過を行って粘質鞘を取り除いた場合、それぞれについて炭素量の測定を行った。分析により藻体POC（ C_{POC} [μgC]）、藻体+粘質鞘POC（ C_{TPOC} [μgC]）、藻体重量（ S [μg]）、藻体+粘質鞘重量（ TS [μg]）、Chl.a（ C_{Chl} [μg/L]）、フェオフィチン a、細胞容積、培養液の細胞密度（ P [cells/mL]）のデータが得られる。これらの結果から次の式により細胞内炭素量、粘質鞘炭素量、細胞重量、粘質鞘重量、Chl.a含有量を算出した。

$$\text{細胞内炭素量 } Q_c = \frac{C_{POC}}{PV} [\mu\text{gC/cell}]$$

$$\text{粘質鞘炭素量 } Q_{sc} = \frac{C_{TPOC}}{PV} - Q_c [\mu\text{gC/cell}]$$

$$\text{細胞重量 } W = \frac{S}{PV} [\mu\text{g/cell}]$$

$$\text{粘質鞘重量 } W_s = \frac{TS}{PV} - W [\mu\text{g/cell}]$$

$$\text{Chl.a含有量 } Q_{Chl} = \frac{C_{Chl}}{1000P} \quad [\mu\text{g/cell}]$$

ここで、 V は各サンプルのろ過量[mL]である。

(3) 観測点における点データから琵琶湖全体の生物量を推定する手法の確立 (H21年度実施)

湖沼では鉛直方向の水質変化が卓越するため、鉛直分布を正しく評価することが湖全体のバイオマス評価精度を大きく左右することになる。そこで、バイオマス鉛直分布を適切に評価する手法の開発を行った。

手法開発に当たり、バイオマスの鉛直分布データが必要となるが、植物プランクトン観測データは鉛直方向に3点(水深0.5m、5m、底層)しかない。そこで、過去から現在にわたって鉛直データが存在するChl.aを用いることとした。検討方法は以下の通りである。

- (a) Chl.a および水温について、1979年4月～2008年3月の水深別調査データを月毎に平均し、月毎の平均的なChl.aおよび水温の鉛直分布を求め、検討対象とした。以下、ここで算出した値を実測値と称する。
- (b) 水温実測値の鉛直分布および水深0.5m、5m、90mのChl.a実測値を用い、その他の水深のChl.a濃度を推定する手法を考案、適用した。
- (c) 水深別Chl.a実測値 (C_m) と (b) で推定された水深別Chl.a推定値 (C_p) より以下の式を用いて平均誤差および誤差率を算出し、推定精度を評価した。

$$\text{平均誤差 } E_m = \frac{\sum \sqrt{(C_m - C_p)^2}}{N}, \quad \text{誤差率 } R_E = \frac{NE_m}{\sum C_m}$$

ただし、 N : Chl.a 実測値のデータ数

4. 結果・考察

(1) 植物プランクトン情報のデータベース化 (H20年度実施) と長期変動解析 (H21年度実施)

植物プランクトン生物量データの一例として、図1.1に琵琶湖北湖今津沖中央地点0.5mにおける植物プランクトン生物量経時変化を示す。南湖のデータは示していないが、琵琶湖北湖、南湖とも経年的にバイオマスピークが小さくなっていく傾向にある。

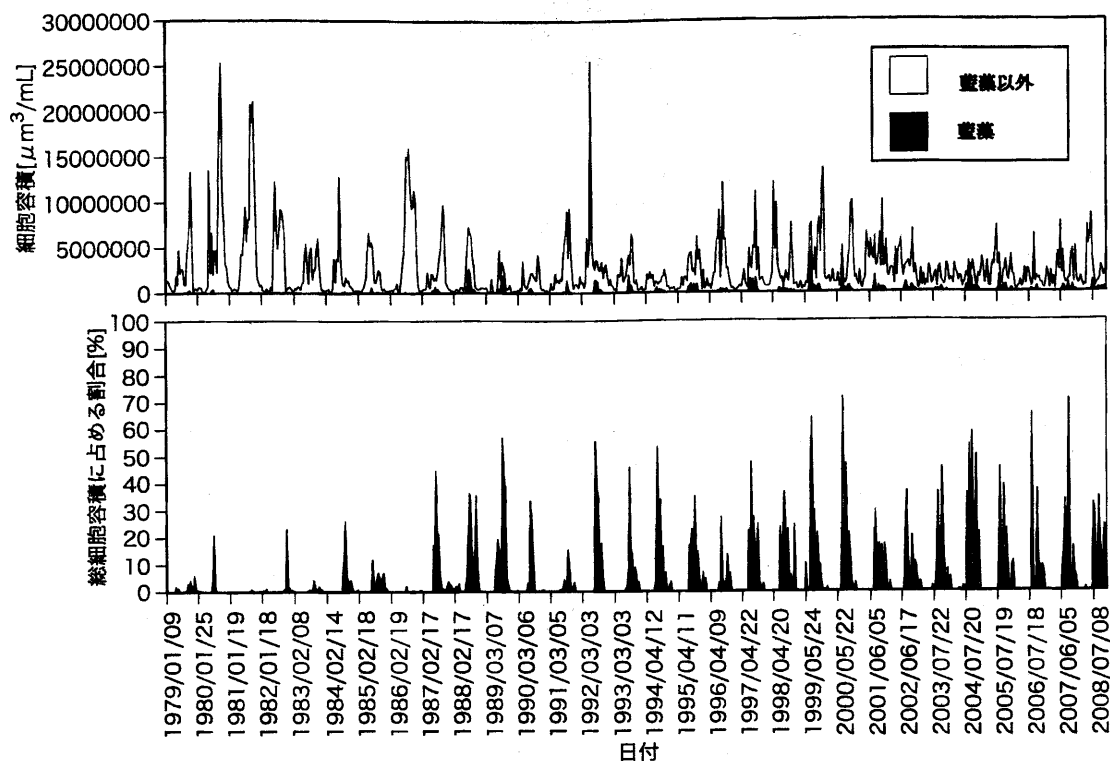


図 1.1. 琵琶湖北湖今津沖中央地点 0.5 m の植物プランクトン生物量経時変化
(上図：細胞容積の推移、下図：総細胞容積に占める藍藻の割合)

網別に見ると、琵琶湖では夏季から秋季にかけて藍藻および緑藻のバイオマスが増大するのに対し、珪藻や褐色鞭毛藻は一年を通して比較的安定的に存在していた。そのため、藍藻や緑藻の炭素量割合は夏から秋にかけて高く、冬から春に珪藻および褐色鞭毛藻の炭素量割合が高くなる傾向にある。経年的に見れば、琵琶湖北湖・南湖とも藍藻の割合が徐々に高まっている傾向が伺えた。図 1.2 に琵琶湖今津沖中央地点表層における藍藻の総細胞容積と有機態炭素の関係を示す。両者には正の相関が認められた。藍藻は粘質鞘を有している種が多く（表 1.1）、藍藻の増加により生成された一部の粘質鞘や細胞外排泄有機物が溶存有機物となっている可能性が示唆された。

植物プランクトンサイズ（細胞容積）に着目すると、琵琶湖南湖では細胞容積の変化は顕著ではないが、琵琶湖北湖では1980年代後半からの細胞容積の小さな植物プランクトンの割合が増加していることがわかった。比増殖速度は一般に小さな種ほど大きいことが知られており

（Kagami and Urabe, 2001; Reynolds, 2006）、細胞容積の小さな植物プランクトンの増加は一次生産の増加をもたらす。琵琶湖ではバイオマスの経年的な減少も認められることから、一次生産が増大したとは断定できないが、バイオマス減少から予想されるほどには一次生産の減少が起こっていない可能性が高い。

植物プランクトン炭素量に基づき、1979～2008年の30年間の平均バイオマスを求め、細胞容積毎に優占度の高い種を選定した結果、琵琶湖で確認されている600種超の植物プランクトン種のうち、琵琶湖北湖では16種の植物プランクトンが全植物プランクトンバイオマスの84%を占めることが明らかとなった。よって、これらの種の挙動や生産力に着目することで琵琶湖の内部負荷

の理解に繋がると考えられた。

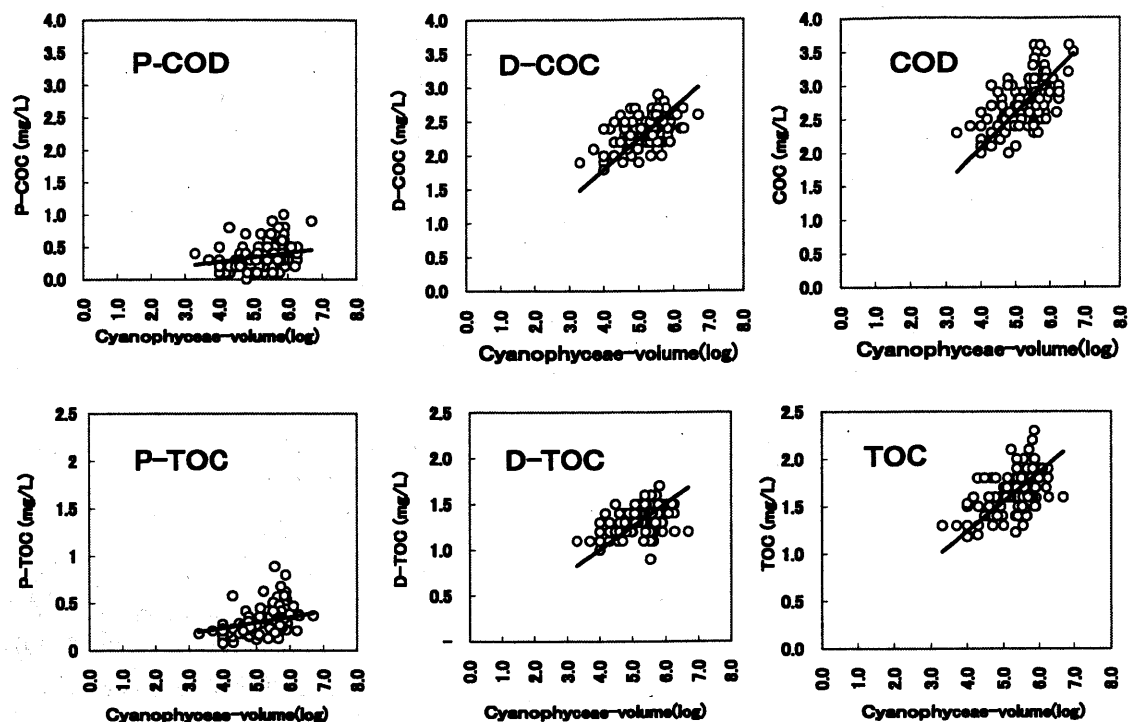


図 1.2. 琵琶湖今津沖中央における藍藻細胞容積と有機態炭素の関係

表 1.1 琵琶湖における植物プランクトン種の粘質鞘保有率(細胞容積の2倍以上)

各 綱	2倍以上の粘質鞘保有率(有/種類数)	主要プランクトン
藍 藻	73%	51/70 <i>Aphanothece</i>
黄緑藻	15%	2/13 <i>Botryosphaerella</i>
黄色鞭毛藻	6%	3/50 <i>Uroglena</i>
珪 藻	0%	0/152 <i>Fragilaria</i>
渦鞭毛藻	0%	0/20 <i>Gymnodinium</i>
褐色鞭毛藻	0%	0/7 <i>Cryptomonas</i>
ミドリムシ藻	0%	0/16 <i>Euglena</i>
緑 藻	38%	104/273 <i>Staurastrum</i>
合 計	27%	160/601

(2) 細胞容積から細胞内炭素量への換算式の構築 (H21 年度実施)

細胞容積から細胞内炭素量への換算式に Strathmann (1967) の式がある。しかし、Strathmann の式は海産植物プランクトンを用いて求めたものであり、かつ、一部の植物プランクトンが有する粘質鞘の影響が考慮されていないという問題点がある。そこで琵琶湖産の植物プランクトンの細胞容積と細胞内炭素量の実測し、細胞容積と細胞内炭素量の関係式構築を試みた。また、測定にあたっては粘質鞘を含む場合、含まない場合それぞれについて炭素量を実測し、粘質鞘の影響を排除するように配慮した。

粘質鞘を取り除いた分析結果より、細胞容積と細胞内炭素量の両対数グラフをプロットすると図 1.2 のようになった。近似直線より細胞容積と細胞内炭素量の関係式は以下の通り求められた。

$$\log C = -0.487 + 0.885 \log V \quad R^2 = 0.96$$

Strathmann の式は $\log C = -0.460 + 0.866 \log V$ であり、本式の係数は Strathmann が海産植物プランクトンについて提示した係数に近い値であった。ただし、現時点では評価した植物プランクトン種が 6 種と少ないため、今後、さらに植物プランクトン種を追加し、関係式の精度向上を図ることが必要であると考えられた。

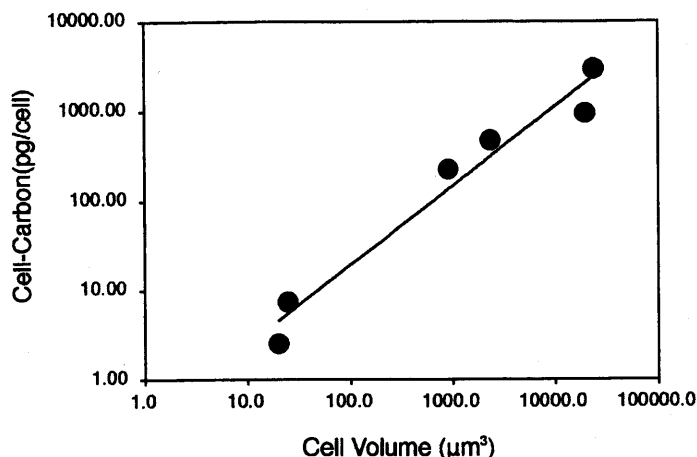


図 1.3. 琵琶湖産植物プランクトンの細胞容積と細胞内炭素量の関係

比較的大きな粘質鞘を有する *S. arctiscon* について粘質鞘が有する炭素量を求めたところ、表 1.2 の結果が得られた。表 1.2 から判るように、粘質鞘の炭素密度は藻体の 1/100 程度であるが、粘質鞘容積は藻体の 40 倍であったため炭素量としては無視できない値を示すことが明らかとなった。今後、琵琶湖の植物プランクトン由来の有機炭素量を評価するにあたり、粘質鞘の寄与を正しく評価することが重要であると考えられた。

表 1.2 *S. arctiscon* の炭素量

<i>S. arctiscon</i>	容積 [μm³/cell]	総炭素量 [pgC/cell]	
藻体	23,903	2,994	0.125
粘質鞘	953,757	1,240	0.0013
藻体 + 粘質鞘	976,660	4,234	0.0043

(3) 観測点における点データから琵琶湖全体の生物量を推定する手法の確立 (H21 年度実施)

図 1.4 に Chl.a 実測値、水温実測値および Chl.a 推定値の月毎の鉛直分布を示す。Chl.a 実測値と水温実測値の鉛直分布を比較すると、水温躍層以深において類似した分布をとっていることがわかる。よって、Chl.a 推定の基本的な考え方として「水温躍層以深の Chl.a 濃度は相対的に水温鉛直分布と同様の分布となる」ように決定することとした。Chl.a 濃度推定の計算式は以下の通りとな

る。

$$\text{水深 } h[\text{m}] \text{ の Chl.a 濃度 推定値 } C_p(h) = C_m(h_{s2}) + (C_m(h_{s1}) - C_m(h_{s2})) \frac{T(h) - T(h_{s2})}{T(h_{s1}) - T(h_{s2})}$$

ここで $C_m(h)$: 水深 $h[\text{m}]$ における Chl.a 実測値、 $T(h)$: 水深 $h[\text{m}]$ における水温実測値、 h_{s1} : 表層側基準水深 $[\text{m}]$ 、 h_{s2} : 深層側基準水深 $[\text{m}]$ 。

基準水深は基本的に実測データがある水深を採用した。表層側基準水深は植物プランクトン計測が 0.5 m および 5 m において行われているため、5 m とするが、7-9 月については Chl.a 濃度のピークが 10 m 近傍にあり、そのままでは推定誤差が大きくなるため、10 m を基準水深とし、 $C_m(10)$ の値は $C_m(0.5)$ と $C_m(5)$ から直線的に外挿して与えた。

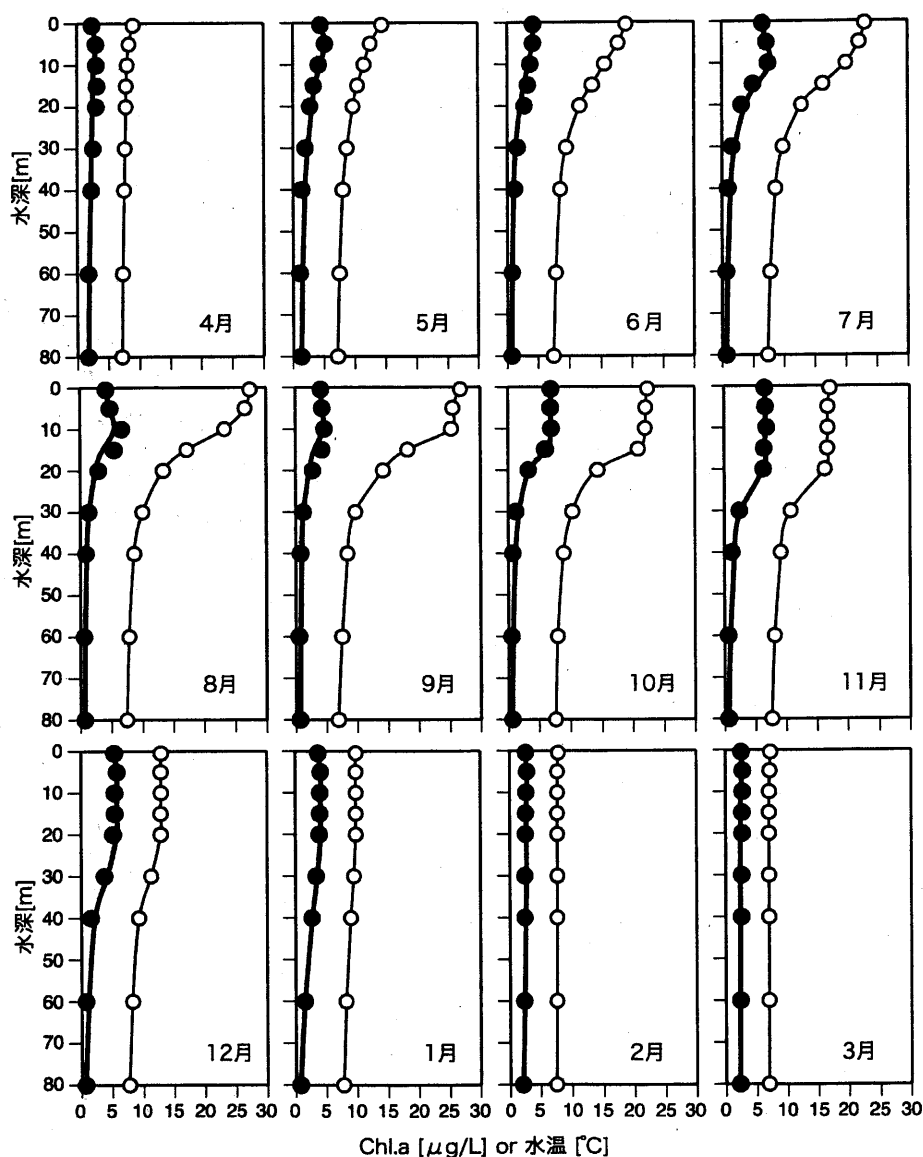


図 1.4 水温 (○)、Chl.a 実測値 (●) および Chl.a 推定値 (黒太線) の鉛直分布
実測値は 1979 年 4 月～2008 年 3 月の平均値、推定基準水深は 5 m および 80 m

Chl.a 実測値の年平均値：3.09 $\mu\text{g/L}$ 、平均予測誤差：0.23 $\mu\text{g/L}$ 、誤差率：7.5%であり、本推定法

により精度よくChl.a鉛直分布が推定可能であった。

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

1979年から現在までの琵琶湖の植物プランクトン検鏡調査データベースを整備した。植物プランクトンの経年挙動を解析した結果、琵琶湖において植物プランクトンが小型化し、藍藻類の優先度が増しているという特徴が認められた。種組成変化に伴う生産構造の質的、量的変化が難分解性有機物の供給に影響している可能性が示唆された。

淡水植物プランクトンの細胞容積と細胞内炭素量の関係の一端を明らかにした。将来的に関係式の精度向上を図ることで植物プランクトン検鏡データを有機物量データに変換するための基礎情報を提供できる。

水深方向3地点の観測データから植物プランクトンの鉛直分布を精度よく推定する方法を開発した。これにより少数の観測データから琵琶湖全体のバイオマスを推定する足掛かりを得ることができた。

(2) 環境政策への貢献

本サブテーマの目的は琵琶湖の植物プランクトンバイオマスを炭素量として正確に評価することであり、現在、そのための基礎的知見および手法を調査、開発しているところである。湖内の有機物量を定量的に把握することは湖沼管理を行う上で不可欠な基礎情報であり、本サブテーマはその基礎情報およびその評価手段を提示することで、今後の琵琶湖の水質管理に貢献するものである。

6. 引用文献

今井章雄他(2004)：湖沼における有機炭素の物質収支および機能・影響の評価に関する研究，

国立環境研究所特別研究報告(2001～2003)，SR-62

Kagami, M., Urabe J. (2001) Phytoplankton growth rate as a function of cell size: an experimental test in Lake Biwa. *Limnology*, **2**, 111-117.

Reynolds, C. (2006) Growth and replication of phytoplankton, In: *Ecology of Phytoplankton*, Cambridge University Press, Cambridge.

Strathmann, R. R. (1967) Estimating the organic carbon content of phytoplankton from cell volume or plasma volume. *Limnology and Oceanography*, **12**, 411-418.

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文(査読あり)>

なし

<その他誌上発表(査読なし)>

なし

(2) 口頭発表(学会)

1) N. Kishimoto, C. Yamamoto, S. Ichise and T. Wakabayashi: The 14th International Symposium on River

and Lake Environments (2009)

"Variation in a phytoplankton community in the northern basin of Lake Biwa, Japan for past 30 years"

2) 一瀬 諭, 古田世子, 原 良平, 岸本直之: 第43回日本水環境学会年会 (2009)

「琵琶湖における植物プランクトン由来炭素量の長期変遷について」

3) 山本千尋, 岸本直之, 一瀬 諭, 若林徹哉: 日本陸水学会第74回大会 (2009)

「琵琶湖植物プランクトン群衆の長期変化」

4) 一瀬 諭, 古田世子, 岸本直之: 日本陸水学会第74回大会 (2009)

「琵琶湖の内部生産を考慮した難分解性有機物の一考察」

(3) 出願特許

なし

(4) シンポジウム、セミナーの開催 (主催のもの)

(5) マスコミ等への公表・報道等

なし

(6) その他

なし