

課題名	4D-1102 生物多様性の機能評価のための安定同位体指標に関する研究
課題代表者名	陀安 一郎（国立大学法人 京都大学 生態学研究センター 准教授）
研究実施期間	平成23～25年度
累計予算額	112,249千円（うち25年度34,538千円） 予算額は、間接経費を含む。
本研究のキーワード	安定同位体比、アミノ酸、放射性炭素14、生物標本、河川生態系、集水域、食物網構造、数理モデル、生態複雑性、生態系機能

研究体制

- (1) 森林生態系管理が河川生態系に及ぼす影響の研究（京都大学）
- (2) 集水域の栄養塩供給機構評価のための安定同位体指標の開発（東京大学）
- (3) 安定同位体解析による食物網構造解析技術の開発（京都大学）
- (4) 安定同位体食物網情報を用いた生態系評価（龍谷大学）

研究概要

1. はじめに（研究背景等）

平成22年10月に我が国で第10回生物多様性条約締約国会議（COP10）が開催された。そのなかで、生物多様性や生態系の保全・活用を一層進めていくことが議論された。そして、策定された愛知目標の中で数値目標を設定することにより、より実効的な保全策を議論していくことで合意がなされた。愛知目標に向けて政策を進めていく上において、生物多様性の保全・活用に不可欠な情報収集のためには、生物多様性観測データの収集とその解析のためのデータの標準化が必要である。

生物多様性は、(1)遺伝子の多様性、(2)種多様性、(3)生態系の多様性といった階層構造をもった複雑系である。現代生物学はDNAシーケンサー技術の進歩により遺伝子情報の効率的な収集を容易なものにし、(1)遺伝子の多様性情報に関してはデータベース化が進んでいる。また、(2)種多様性に関しては地道な調査研究が必要であり、人材の養成が必要である。一方、(3)生態系の多様性については、遺伝子の多様性および種多様性に関する情報の総和だけでは不十分であるが、生態系の多様性を表す適切な指標についての研究が進んでいない。なぜなら、生態系の多様性には個々の地域生態系において、食物網構造を含む結合の複雑性があるために、地域間の比較を可能にする総合的な生物多様性観測を行う必要があるからである。さらに、多くの場合において生物多様性の減少は生息域の環境変化によって起っているために、生物多様性観測データは環境状態のデータとともに採取する必要がある。また、生態系の多様性が生態系機能の違いを生み生態系サービスの変化にもつながるように、生物多様性と生態系機能には相互作用が存在する。しかしながら、このような生物多様性総合調査と生態系機能調査には多くの労力がかかるため、効率的な情報収集のためには手法的なブレークスルーが必要となってくる。

2. 研究開発目的

本研究課題が提案するのが各種安定同位体比を用いた生態系観測である。生物の体を構成する元素の安定同位体比は、その生物が利用した資源の情報が刻印されている。植物における炭素同位体比は、光合成における炭素獲得条件の情報、窒素同位体比は栄養塩起源の情報を表す。動物においては捕食-被食関係（食物網構造）を反映し、炭素同位体比は餌資源の情報、窒素同位体比は栄養段階を表す。これらを統合した時、生物群集の安定同位体比は食物網構造というパラメーターを提供する。さらに近年開発されたアミノ酸同位体指標は、時空間的に変動する一次生産者や一次消費者の同位体比をキャンセルし、高次捕食者の同位体比から食物網構造を推定することができるため、今後の食物網構造観測に有効な指標であると考えられている。また、放射性炭素14の天然存在比は、炭素安定同位体比によっては分けられない炭素源の情報を得ることが明らかになりつつある。

本研究課題では、最新の安定同位体研究手法を生物多様性観測に適用することで、生態系レベルの生物多様性に対して評価を与える手法を開発し、地球規模での生物多様性観測に有効な指針を提供することを目標とする。食物連鎖の原理に基づいて生態系サービスの評価をすることで、生物多様性観測データを有機的に

統合し、愛知目標に即した生物多様性評価を進めることが出来る。本研究は、現在各省庁により各地で行われている生き物分布調査や生物多様性調査(例えば環境省「モニタリング1000」、国土交通省「河川水辺の国勢調査」など)の次の段階の調査立案に際して、安定同位体指標を生物間相互作用の指標として用いるための実証的・理論的基盤を提出することを目的とする。

3. 研究開発の方法

(1) 森林生態系管理が河川生態系に及ぼす影響の研究

京都大学和歌山研究林およびその周辺(護摩壇山試験地)では、一溪流河川ごとの集水域単位で森林が管理されている。したがって、本調査地は、集水域単位で皆伐され、それ以降の履歴が明らかことから、森林管理による生物群集への影響応答を時間軸に基づいて解明できるモデルフィールドといえる。たとえば、伐採直後から森林が成熟する過程では、林床が徐々に暗くなり河川内への光量は減少する一方、リター(落葉落枝)などの陸域起源の有機物の供給が増加する。また、斜面地における森林では、伐採後しばらくは地下に伐採木の根が残り土壌を支えているが、徐々に分解されていく。そのため、10年から20年経過した若齢林で斜面崩壊が起こりやすいとされ、土砂の流入や河床の流出といった攪乱が引き起こされる可能性が高い。

このような背景を踏まえ、伐採から成熟段階に達する森林の時間的変化に応じた河川生物群集の種構成および食物網構造の変化を明らかにするため、調査地を伐採後、2011年時点で3年(S34)、12年(S16)、23年(S12)、38年(S5)、49年(S20)、および対照区として90年以上手つかずの天然生林(上ウレビ)の6地点を設定した(括弧内は地点名)。水質は硝酸態窒素ならびに溶存炭素および溶存窒素濃度をそれぞれ調べた。水生昆虫の採集は、2011年10月24-26日、12月19-21日、2012年6月11-13日、および8月19-21日に実施した。サーバーネットによる定量採集を行い、得られた生物は同定可能な階級まで分類した後に生物量を計測した。さらに、分類群ごとに炭素・窒素安定同位体比を分析し各栄養段階を求めた。そのデータに基づき、時間的変化に応じた河川生物群集の多様性および食物網構造の変化について分析を深めると同時にサブテーマ(4)で提案された食物網複雑性指標を用いた解析を行った。

(2) 集水域の栄養塩供給機構評価のための安定同位体指標の開発

本サブテーマでは、上流水源域の森林から、中・下流の農地・都市域を経て湖沼・海洋などの沿岸にいたる一連の溪流・河川における水質、その他の諸環境条件に、集水域の状況がどのように影響しているのかを評価するための安定同位体比指標を開発、提案することを目的とした。集水域の土地利用の相違に着目し、和歌山県の有田川、滋賀県の野洲川、安曇川を対象として、窒素と炭素の安定同位体比指標を利用した溪流・河川水の水質、生物群集の特徴に関する調査を行った。

有田川集水域に関する調査はサブテーマ(1)、(3)と共同で、2011年9月から2012年10月までに4回実施した。調査は、藻類、水生昆虫、それ以外の底性生物、魚類を含む生物採集と溶存成分、懸濁態成分の分析のための水試料の採取からなる。試料の採取地点は上流から下流までの4地点である。なお、最上流部の一次谷については、京都大学フィールド科学教育研究センター和歌山一次谷研究林内のウレビ谷において、サブテーマ(1)の護摩壇山試験地での調査が行われた2012年10月23-26日に併せて同様のサンプリングを行った。

本サブテーマでは、主として栄養塩類の濃度やそれらの流入経路に着目した。特に、窒素の河川への流入、その生物群集への影響を把握する必要があるため、溶存態では硝酸イオン(NO_3^-)の窒素と酸素の安定同位体比、アンモニウムイオン(NH_4^+)の窒素安定同位体比を測定した。その上で、生物試料の組織の窒素安定同位体比を測定し、一次生産者が利用する無機塩の窒素安定同位体比の河川、流程毎の変異がどのように生物群集の窒素安定同位体比に反映しているかを調べた。

さらに最終年度には、河川への窒素流入を制御する要因を、集水域の地理情報から抽出し、影響を評価するモデルを構築した。また、窒素濃度の異なる流程の各地点での生物の群集構造の記述と窒素流入の影響についての検討をサブテーマ(4)と協力しておこなった。

(3) 安定同位体解析による食物網構造解析技術の開発

本サブテーマにおいては、まずアミノ酸窒素同位体比分析および放射性炭素14分析技術を確立した後、琵琶湖集水域河川である野洲川と安曇川において、上流から下流までの調査を行った。調査地は、上流から下流までの流程調査および、上流と下流それぞれ1点ずつの集中調査の両方を行った。調査は春と秋に行い、各調査地点においては、瀬と淵に調査区画を設け、底生生物の定量調査を行うことと採取した試料の炭素・窒素のバルク(全体)安定同位体比の分析およびアミノ酸窒素同位体比の分析を行った。アミノ酸窒素同位体比は、従来からのバルク同位体手法に比べて栄養段階を正確に見積もることができると近年主張されているが、陸域生産起源と水域生産起源の物質が混合する陸水生生態系(河川・湖沼)においては、資源の混合があると想定され、現在まで適用されてこなかった。本研究においては、陸水生生態系におけるアミノ酸窒素同位体手法によって、栄

養段階を求める手法の開発を行った。

河川のトランセクト調査においては、魚類(カワヨシノボリおよびトウヨシノボリ)を採取して、上流から下流における栄養段階の変化に関する分析を行った。さらに、琵琶湖に生息する魚類(アユ、ビワマス、ビワコオオナマズ)に関して、他の調査によって採取・保管されている乾燥標本のアミノ酸窒素同位体比分析によって、栄養段階推定を行った。

さらに、琵琶湖集水域における複数河川の上流と下流、および護摩壇山試験地河川において底生生物の放射性炭素14分析を行った。放射性炭素14手法は炭素起源情報のみに依存するため、水域生産において光合成活性の違いを判別する炭素安定同位体比($\delta^{13}\text{C}$)に比べ、陸域生産起源と水域生産起源を明確に区別することが期待される。

京大大学生態学研究センターに保管されている液浸標本を用いて、過去100年の琵琶湖における魚類の栄養段階の変化を調べた。研究手法においては、窒素の安定同位体比分析およびアミノ酸窒素同位体比分析の両方を行い、両者の比較を行った。用いた試料は、琵琶湖沖帯の食物連鎖上に行っていると考えられる琵琶湖固有の遊泳魚であるイサザと、高次捕食者であるが繁殖期には琵琶湖流入河川の河口に生息するハスの比較を行った。

最後に、野洲川および安曇川の野外調査で得られた底生動物群集について、Shannon-Wienerの多様度指数(H')およびサブテーマ(4)で提案された複雑性指標(D_H 、 D_V 、 D_C)を算出し、食物網の構造を地点・季節間で比較した。

(4) 安定同位体食物網情報を用いた生態系評価

安定同位体解析をもとにして得られる情報に基づいて生態系を評価するための理論的手法開発を目的として、以下の5つの小課題および関連する複数の副課題に関連して数理モデルを利用した研究を行った。

第1の課題として、食物網フローネットワークに基づいて群集動態モデルを構築する方法をまとめた。量的食物網は、種間の物質流(フロー)と各生物の保持する物質質量(ストック)によって表される「食物網フローネットワーク」、あるいは捕食・被食関係によって駆動される仕組みを記述した「個体群動態モデル」の二つの方法で表現される。本課題では、食物網フローネットワークをもとに、群集動態モデルを構築する理論的方法をまとめた。個体群動態モデルとしては、任意の数の種からなる食物網を想定し、捕食-被食関係によって駆動される生物種ごとのバイオマス動態を記述する数理モデルを利用した。

第2の課題として、食物網フローネットワークのアンフォールディング手法をまとめた。エネルギー・物質収支に着目すると、食物網構造は各生物種(種*i*)のストック(B_i)と種間および種-環境間の物質フロー(F_{ij})によって特徴づけられる。この食物網構造と生態系過程を結びつけるには、物質の同化過程を表した食物連鎖系に食物網を変換することが必要である。なぜなら多くの生態系生態学的理論は単純な連鎖系を想定して発展してきた経緯があるためだ。ネットワークアンフォールディング(Higashi et al. 1989)の手法を食物網における物質フローネットワークに適用することによって、これを実現する方法をまとめた。

第3の課題として、アンフォールドされた食物網の動態モデルの導出を行った。食物網動態から生態系機能やその動態を評価するには、アンフォールドされた食物網におけるバイオマス動態を記述することが必要となる。そこで、アンフォールドされた食物網の構造を決定するうえで最も重要な「栄養段階*x*に属する種*i*のバイオマスストック」を表す変数 $B_i^{(x)}$ の動態を表現する数理モデルの開発をおこなった。具体的には、課題1で提案した個体群動態モデルに基づき、任意の個体群のバイオマスのうち任意の栄養段階に属するバイオマス量の動態を表す数理モデルを構築した。

第4の課題として、アンフォールドされた食物網の構造を表現するための食物網複雑性指標を開発した。食物網をアンフォールドすることで新たに得られるストックに関する情報 $B_i^{(x)}$ は、食物網構造に関する情報を含んでいる。そこで、情報理論に基づいて、簡便かつ安定同位体比解析と関連づけることが可能な $B_i^{(x)}$ に基づく多様性指標を探索した。

さらに、第5の課題として、①解析的モデルを用いた方法と②数値計算・モデル選択に基づく方法を利用して、課題4で提案した食物網複雑性指標と生態系機能の間の関係を探った。前者の方法では、課題1で提案した数理モデルを利用して、食物網複雑性指標と密接に関連する構造指標(Vertical Diversity [D_V]とspecies Horizontal Diversity [D_H])が栄養段階間の物質フローに及ぼす影響を評価した。後者の方法では、Benguela湾食物網動態モデルより、様々なサイズの部分生物群集(種数2~46の300のモジュール)を抽出、課題1で提案した個体群動態モデルの変数決定をした上で、モデル選択によって複雑性指標と栄養転換効率の間の関係を明らかにした。

これら以外にも、付随する成果として、(1)干潟生態系における食物網構造の推定、(2)捕食者-被食者体サイズ関係に関する研究、種間相互作用の多様性と群集安定性をおこなった。

4. 結果及び考察

(1) 森林生態系管理が河川生態系に及ぼす影響の研究

河川水の硝酸態窒素濃度(NO_3^-)は伐採後急速に上昇し、5-6年後に最高値を示し、その後15年程度で伐採前の水準に回復した。また溶存炭素濃度は林齢に伴う明らかな傾向はなかったが、溶存窒素濃度は伐採後濃度が上昇し、20年程度で伐採前にもどる NO_3^- と同様の変動がみられた。本調査地に生息していた水生生物は、6目20科9属の計35分類群であった。水生生物の群集構造は季節を通じて、若齢林では付着藻類食の刈取食者が卓越し、高齢林ではリター食の破碎食者が増加するため、河川内部の藻類を炭素起源とする食物網構造から、陸域起源の有機物であるリターの依存度を高めていく構造へ変化していくことを明らかにした。それと同時に群集全体の炭素安定同位体比($\delta^{13}\text{C}$)は、伐採からの時系列に伴い低下した。各摂食機能群の $\delta^{13}\text{C}$ 値と照度に強い正相関があったことから、時系列に伴う $\delta^{13}\text{C}$ 値の変化は、光環境に起因する付着藻類の同化速度による可能性も示した。

生物多様性の指標であるShannon-Wienerの多様性指数(H')を用いて、分類群と摂食機能群のそれぞれの多様性を林齢間で比較した。分類群の多様性は、林齢が上がるに連れて緩やかな減少が見られた。一方、水生生物の捕食形態のあり方から分類した摂食機能群でみた多様性は、森林成熟過程の中間段階にあたる23年生で最も低くなった。摂食機能群の多様性の低下は、石の隙間に網を張る濾過食者の減少と捕食者の増加によって生じていると考えられた。斜面地の森林では、伐採植林後10-20年後あたりで斜面崩壊が起きやすく、この地点では2010年夏に大雨による出水が起きた。造網性の濾過食者は攪乱後の回復が遅いことや反対に捕食者のトウゴウカワゲラは、移動能力が比較的高いことから考慮しても、23年生の摂食機能群の多様性の減少は、河床攪乱の影響によるものと考えられた。

捕食者であるトウゴウカワゲラの栄養段階(TP)を林齢間で比較した。TPは、23年生をピークに中間段階の林齢で高い値を示した。一方、藻類食者でトウゴウカワゲラの餌にあたるヒラタカゲロウのTPには変化がみられなかった。このことから、トウゴウカワゲラの食性が変化しと考えられる。中間段階の林齢ではいずれもトウゴウカワゲラの過密が高く、TPの上昇は共食いによるものと考えられた。

サブテーマ(4)との共同により、ネットワークアンフォールディングの手法によって、複雑な食物網を食物連鎖へ変換し栄養ピラミッドおよび生物多様性の複雑性を示す指標を求めた。森林成立過程で変化する生物多様性に加えて、生物間の関係や生態系機能の変化を抽出した。

(2) 集水域の栄養塩供給機構評価のための安定同位体指標の開発

有田川では河川水の NO_3^- の $\delta^{15}\text{N}$ 、生物試料の $\delta^{15}\text{N}$ 、炭素安定同位体比 $\delta^{13}\text{C}$ の値が測定された。流程4地点の採集ポイントにおいて $\delta^{15}\text{N}$ は、底性の藻類・落葉のデトリタス食の水生昆虫で低く、肉食性の昆虫、魚類などで高い、各生物機能群の栄養段階を概ね反映した値となった。 $\delta^{13}\text{C}$ は、どの地点もばらつきが大きかったが、低次の栄養段階の水生昆虫が水中で光合成を行う藻類に依存しているか落葉の分解物に依存しているかによって変動の幅が決まっていることが示された。

各地点の NO_3^- の $\delta^{15}\text{N}$ のレベルが上流から下流に向かって上昇することに呼応して、低次の栄養段階の水生昆虫の $\delta^{15}\text{N}$ が高くなっていた。つまり、流下している NO_3^- を栄養としてそれぞれのローカルな食物網の基盤としての一次生産が行われていることが示された。また、それを基盤とした最上位の栄養段階までの $\delta^{15}\text{N}$ の上昇の程度は、地点毎に大きな差異はなく、およそ6-7%であった。

上記のように、中流から下流にかけての流程で、 NO_3^- の濃度と $\delta^{15}\text{N}$ の両者が急激に増加していたが、地理情報(GIS)の解析結果から、果樹園の増加に対応した NO_3^- 流入の増加が主要な原因であると考えられた。試料採取点ごとの集水域の人口から生活排水による NO_3^- の流入量、果樹園面積率から肥料由来の NO_3^- 流入量をパラメタライズし、同位体マスマバランスを計算して各地点で観測された NO_3^- 濃度と $\delta^{15}\text{N}$ をシミュレートした。

この結果、中流以下の地点においては、果樹園からの排水による NO_3^- の負荷が生活排水の NO_3^- 負荷に比べて、濃度、 $\delta^{15}\text{N}$ の両方の上昇により強く影響していることが明らかになった。果樹園からの排水の NO_3^- 濃度と、その $\delta^{15}\text{N}_{\text{No}_3}$ は、シミュレーションの結果が観測値に適合するように最適化されたが、それらの値は、既往の研究事例で示されている農地排水の観測値と類似の値であった。一般に化学合成肥料由来の NO_3^- の $\delta^{15}\text{N}$ の値は-10~5‰と広いレンジをとるが、鶏糞等動物性タンパク質由来の窒素を含む堆肥由来の NO_3^- の窒素同位体比は正の高い値をとることが推測される。果樹園での施肥には、一般的に流動性の低い堆肥が使用されることが多く、ここで行ったシミュレーションの結果は、果樹園に使用された肥料由来の NO_3^- の河川への流出が顕著であったことを示すものと考えられる。

測定された生物試料の種ごとの $\delta^{15}\text{N}$ から栄養段階(TP)が計算され、この値をもとに、ネットワークアンフォールディングの手法(サブテーマ(4))を用いて、整数値で表される栄養段階(TL)にそれぞれの測定されたバイオマスを分配し、TLごとのバイオマスが算出された。バイオマスの季節性については地点間で変動の幅に違いが見られたが、栄養段階ごとのバイオマスの大小関係や、食物網の複雑性については大きな差異は認められなかった。

最下流の地点では上流側の他の地点に比べて栄養塩濃度は顕著に高く、一次生産へのその影響が、バイオマスの季節変動の大きさに表れていたと考えられるが、食物網の構造、複雑性については、そのことに起因する差異が生じていたと結論づけることはできなかった。

(3) 安定同位体解析による食物網構造解析技術の開発

野洲川では、流下過程で水域ベースラインのバルクおよびフェニルアラニン窒素同位体比が顕著に増加した。これは、先行研究で示されている、硝酸の窒素同位体比が下流で増加するパターンと一致しており、人為起源の窒素負荷の影響を反映しているものと考えられる。一方で、集水域からの人為影響の少ない安曇川では、流下過程で窒素同位体比はあまり変化しなかった。付着藻類の炭素同位体比は大きく変動し、陸域起源と水域起源の寄与率の推定は難しかった。さらに、一部の地点で付着藻類の窒素同位体比が生物の窒素同位体比を上回ることがあった。一方、グルタミン酸・フェニルアラニンの窒素安定同位体比を用いた場合の、2ソース混合モデルによる付着藻類の寄与率推定値および栄養段階推定値に関しては、妥当な結果が得られた。本研究結果は、アミノ酸窒素同位体比を用いて食物網構造を把握することの有用性を示すとともに、陸水生態系においては従来の栄養段階推定式をそのまま適用することが難しいことを示した。また、これはカワヨシノボリとトウヨシノボリの研究においても確認され、ヨシノボリが水域と陸域の栄養起源を混合して利用していることが明らかになった。2種のヨシノボリで栄養段階や寄与率が異なったのは、餌群集の変化を反映している可能性がある。本研究により、多様な栄養起源が存在する複雑な食物網においても、アミノ酸窒素安定同位体比を用いることで栄養段階や異なる栄養起源の寄与率を同時に推定できることが示された。

琵琶湖流入15河川において付着藻類の $\Delta^{14}\text{C}$ 値を測定したところ、流域に石灰岩を含む河川で低い傾向が見られたが、非石灰岩河川であっても、サンプルを採集した年における大気 CO_2 の $\Delta^{14}\text{C}$ 値より低かった。このことは、石灰岩河川でなくとも、流域に ^{14}C 年代の古い炭素が含まれており、かつそれが河川の内部生産経路を通して付着藻類へと取り込まれていることを示唆している。非石灰岩河川では、河岸土壤に含まれる有機物や、農地から排出される有機物が、 ^{14}C 年代の古い炭素を供給しているものと考えられる。さらに、トウヨシノボリの $\Delta^{14}\text{C}$ 値は河川間で大きく値が異なるものの、付着藻類の $\Delta^{14}\text{C}$ 値と、大気 CO_2 の $\Delta^{14}\text{C}$ 値の間に位置することが分かった。従って、 $\Delta^{14}\text{C}$ 値を用いて河川の生物に対する内部生産(付着藻類)と外部生産(リター)の相対的な貢献度を評価することは、いろいろな河川において広く有効と考えられる。

琵琶湖において過去100年間に採取された試料の窒素同位体比を分析したところ、多くの魚種の栄養段階は、1990年代に劇的に低下した後、2000年代には再び上昇傾向に転じた。今回新たに測定した2010年に収集した標本の栄養段階推定結果に基づくと、14種のうち8種において、2000年代からさらに0.1~1程度の上昇が観察された。対照的に、琵琶湖で優占する外来魚オオクチバスとブルーギルの栄養段階は低下傾向を示した。本結果の妥当性を確認するために、アミノ酸窒素同位体比を分析したところ、ハスにおいては概ね同様の結果を示した。物理環境の変化や侵略的外来種の侵入などが原因となり、食物網を構成していた生物種の減少や絶滅が起こると、その生物を摂食していた捕食者へとつながる栄養経路の縮小や短縮が起こるため、この捕食者の栄養段階は低下し得る。そのため、高次捕食者の栄養段階は、その食物網構造の変化を示す指標として有効であると考えられる。本研究では、アミノ酸窒素安定同位体比に基づき、琵琶湖の高次捕食者であるハスの栄養段階を過去にさかのぼって推定できた。このことは、食物網構造の長期的な変遷を明らかにする上で、アミノ酸窒素安定同位体比が有効なツールとなることを示している。

サブテーマ(4)において開発された「食物網複雑性指標(D_H 、 D_V 、 D_C)」を用いて実際の河川生態系に適用した結果、通常生態学で用いられるShannon-Wienerの多様性指数(H')に似ているが、生息する生物の栄養関係を考慮した多様性を示すことが明らかになった。これは、栄養段階を評価することのできる画期的な指標である可能性を示唆する。

(4) 安定同位体食物網情報を用いた生態系評価

安定同位体解析をもとにして得られる栄養段階に関する情報をバイオマス情報と組み合わせる事で生態系を評価するための理論的手法を開発した。これは、以下の5つの小課題および関連する副課題の成果を組み合わせる事で可能になる。

第1の課題の成果として、任意の数の種からなる食物網を想定し、捕食-被食関係によって駆動される生物種ごとのバイオマス動態を記述する数理モデルを構築した。これによって、他の生物を利用せずに成長可能な生産者と、他の生物を捕食することによって成長する消費者のバイオマス動態を分けてモデリングできる。さらにこの数理モデルは、ECOPATHにおいて実装されている方法に基づき、食物網フローネットワークから変数決定が可能である。本研究では、すべてのモデリングや食物網構造の決定手法が、この数理モデルと関連可能な形で開発された。

第2の課題の成果として、ネットワークアンフォールディング(Higashi et al. 1989)の手法を食物網における物質

フローネットワークに適用する方法を整理した。食物網の物質フローネットワークにネットワークアンフォールディングの手法を適用することで、各生物種のバイオマスは各栄養段階に分配することが可能になる。すなわち栄養段階 x に属する種 i のバイオマス($B_i^{(x)}$)を得ることができる。

第3の課題の成果として、種間の相互作用に基づいて構築された群集動態モデルから、 $B_i^{(x)}$ の動態を導くことが可能にした。

第4の課題の成果として、食物網の物質フローネットワークにネットワークアンフォールディングを適用することで、3つの食物網複雑性指標を定義することが可能になった。すなわち、一つの栄養段階内部における種の多様性を表す「栄養段階内多様性(Horizontal Diversity: D_H)」、1つの生物種が所属する栄養段階の多様性を表す「種内栄養段階多様性(Vertical Diversity: D_V)」、生態系における栄養段階の多様性を表す「栄養段階多様性(Trophic Level Diversity: D_C)」である。さらに、これらの指標が、Shannon-Wienerの多様度指数(H')と密接に関わっている事を明らかにした。

第5の課題として、食物網の複雑性指標が生態系における栄養転換効率と密接に関係する事が明らかになった。具体的には、 D_V は生態系の生産性(栄養転換効率)に正の効果をもつこと、 D_H と D_C は生態系の生産性(栄養転換効率)に負の効果をもつこと、 D_V の正の効果は $D_H \cdot D_C$ の負の効果より1オーダー大きいこと、 $D_V \cdot D_H \cdot D_C$ の増大は生態系生産性を高めること、が明らかとなった。

また、これらに付随する副課題の成果として、(1)干潟生態系において、シギ類は最大で餌全体の78%をも占める量を干潟泥表面のバイオフィームに依存すること、小型のシギ類ほど舌先に発達したブラシ構造を持っており餌の多くをバイオフィームに依存していること;(2)捕食者と被食者の体サイズ比の生物学的レベルへの依存性を調べる研究からは、体サイズ比はそれを定義する生物学的レベルに依存すること;(3)種間相互作用の多様性が種間相互作用ネットワークにおいて正の複雑性-安定性関係を生み出すことを明らかにした。

5. 本研究により得られた主な成果

(1) 科学的意義

本研究課題では、近年確立されたばかりのアミノ酸窒素安定同位体比分析手法を中心とする高度な同位体分析手法を、河川生態系に適用した。護摩壇山試験地における研究では、森林伐採からの時間的変化に応じた河川生物群集の多様性や食物網の変化について、炭素・窒素安定同位体分析値を用いて捉えることができた。特に、捕食者の栄養段階(TP)が、林齢ごとに変化することが明らかとなった。これは群集構造の変化によるものと推察される。有田川の流程における研究では、中下流部の果樹園を主とする農業地帯からの流入する硝酸イオン(NO_3^-)に、河川の生物群集は窒素利用の面で依存していることが明らかになった。生物群集については、バイオマスの季節変動は見られたが、栄養段階ごとのバイオマスの大小関係や、食物網の複雑性については大きな差異は認められなかった。栄養塩の資源量は人為起源の窒素負荷によって自然河川の状態から変動しているが、その攪乱の強度は生物群集の構造に影響をあたえるレベルではないということかもしれない。河川生態系は、陸域と水域由来の資源が混合する代表的な系である。このような複雑系でのアミノ酸同位体手法の検証は、研究手法の確立において非常に重要である。本研究では、世界で初めてアミノ酸窒素同位体比を用いた結果を提示した。その結果、本手法は栄養段階だけでなく餌起源の推定にも利用できることを示した。放射性炭素 ^{14}C を用いた炭素起源推定は、流域に石灰岩を含むような特殊な河川においては有効であることが、これまでの研究で分かっていた。本研究が示したように、琵琶湖周辺のいろいろな河川でも、河川の一次生産者が現世の大気 CO_2 とは異なる起源の炭素に依存し、そのような炭素が高次捕食者にまで転送されていることが新しく分かった。さらに、伐採後の若い森林でも ^{14}C 年代の極めて古い炭素が一次生産者に取り込まれていることが分かり、本研究の成果が今後の森林-河川生態系における炭素循環研究にとって重要な知見をもたらす可能性が示された。琵琶湖における魚類の100年にわたる栄養段階の変遷について、アミノ酸窒素同位体比を用いて検証を行ったところ、餌の混合の可能性など、フェニルアラニンとグルタミン酸という両者のアミノ酸動態を理解した上で用いる必要があることが明らかになった。また、本研究で開発した食物網複雑性指標(D_H , D_V , D_C)と生態系機能との関連を数理モデル解析によって明らかにした。これらの食物網複雑性指標を実際の食物網に適用したところ、Shannon-Wienerの多様度指数(H')とは必ずしも一致しない多様性の尺度になることがわかり、食物網構造を加味した生物多様性情報の有用性を示唆した。

(2) 環境政策への貢献

本研究は、生態系情報としての生物試料の安定同位体比、および、環境情報としての栄養塩の安定同位体比が、生物多様性の構造・機能評価のための重要な指標となりうることを示した。生物多様性国家戦略の実行に向けては、地域の生物多様性や生態系機能をモニタリングする実施主体である地方行政・研究機関の観測体制を強化することが必須である。しかしながら、現状では、幅広い生物分類群や物理・化学的項目を対象とした調査を実施する体制が十分に整備されているとは言い難い。本手法を流域生態系管理に適用することによ

て、今後土地利用改変などの人為攪乱要因に対する生物多様性および生態系の応答を簡便かつ統一的な尺度で評価する観測体制を導入することが期待できる。液浸標本のアミノ酸窒素同位体比分析が可能であることを鑑みれば、全国の大学・研究所・博物館などに収蔵されている生物標本・環境試料などを利用して過去の流域生態系を復元することが可能となるだろう。過去から現在に至る生態系の時系列情報を得ることで、生態系の構造的変化をもたらす人為駆動要因を特定し、修復・再生すべき生態系の目標像を具体的な数値目標に基づいて設定することにも応用可能である。

<行政が既に活用した成果>

特に記載すべき事項はない。

<行政が活用することが見込まれる成果>

本研究成果は、まず今後行政が行う生物多様性調査において、標本試料を残しておく重要性を指摘する。行政単位の自然保護課もしくは博物館において、たとえば毎年決まった時期に生物多様性調査を行い、その一部において乾燥標本もしくは液浸標本を保存しておくことにより、種レベルの生物多様性調査以上の生態系情報を保存しておけることを示した。同位体分析については前者の標本の方が望ましいが、DNA情報も保持するためには後者が望ましく、選択は行政単位にゆだねられると考えられる。また、本分析手法を用いることにより、既存の生物標本を利用することができれば、情報が不足しがちな過去の生態系復元も可能になると考えられる。本研究課題で扱った同位体分析手法は、一般企業や研究機関において外注分析が簡単なものから、技術的に分析可能な機関に限られるものもあるが、今後行政ニーズが明確になると技術革新は自ずと進むものであると考えられる。その意味において、本研究課題の成果は、ただちに行政が活用することの出来る部分とともに、今後を見据えた技術開発の側面をもっている。

6. 研究成果の主な発表状況

(1) 主な誌上発表

<査読付き論文>

- 1) T. NAKAZAWA, M. USHIO and M. KONDOH: *Advances in Ecological Research*, 45, 269–302 (2011)
“Scale Dependence of Predator–Prey Mass Ratio: Determinants and Applications”
- 2) T. KUWAE, E. MIYOSHI, S. HOSOKAWA, K. ICHIMI, J. HOSOYA, T. AMANO, T. MORIYA, M. KONDOH, R. C. YDENBERG and R. W. ELNER: *Ecology Letters*, 15, 347–356 (2012)
“Variable and complex food web structures revealed by exploring missing trophic links between birds and biofilm”
- 3) M. YOSHIMURA: *Entomological Science*, 15, 145–154 (2012)
“Effects of forest disturbances on aquatic insect assemblages”
- 4) A. MOUGI and M. KONDOH: *Science*, 337, 349–351 (2012)
“Diversity of interaction types and ecological community stability”
- 5) N. OHTE: *Ecological Research*, 27, 657–665 (2012)
“Implications of seasonal variation in nitrate export from forested ecosystems: a review from the hydrological perspective of ecosystem dynamics”
- 6) N. OHTE, M. NAKAOKA, and H. SHIBATA: In “The Biodiversity Observation Network in the Asia-Pacific Region” eds. S. NAKANO, T. YAHARA and T. NAKASHIZUKA, 205–215 (2012)
“ILTER and JaLTER: Their Missions and Linkage to Database Development in the Asia-Pacific Region”
- 7) N. F. ISHIKAWA, M. UCHIDA, Y. SHIBATA and I. TAYASU: *Marine & Freshwater Research*, 63, 210–217 (2012)
“Natural C-14 provides new data for stream food web studies: a comparison with C-13 in multiple stream habitats”
- 8) 奥田昇: *日本生態学会誌* 62, 207–215 (2012)
“安定同位体を用いた水田生態系の構造と機能の評価手法”
- 9) S. OHBA, J. TAKAHASHI and N. OKUDA: *Insect Conservation and Diversity*, 6:155–161 (2013)
“A non-lethal sampling method for estimating the trophic position of an endangered giant water bug using stable isotope analysis”
- 10) Y. SAKAI, Z. KARUBE, T. TAKEYAMA, A. KOHZU, C. YOSHIMIZU, T. NAGATA, I. TAYASU and N. OKUDA: *Limnology*, 14, 167–177 (2013)

- “Seasonal and site-specific variability in terrigenous particulate organic carbon concentration in near-shore waters of Lake Biwa, Japan.”
- 11) N. Ohte: Ecological Research, 28, 749-757 (2013)
“Tracing sources and pathways of dissolved nitrate in forest and river ecosystems using high-resolution isotopic techniques: A review”
- 12) T. Egusa, N. Ohte, T. Oda and M. Suzuki: Hydrological Research Letters, 7, 12-17 (2013)
“Relationship between catchment scale and the spatial variability of stream discharge and chemistry in a catchment with multiple geologies”
- 13) N. F. Ishikawa, F. Hyodo and I. Tayasu: Ecological Research, 28, 759-769 (2013)
“Use of carbon-13 and carbon-14 natural abundances for stream food web studies”
- 14) A. Mougi and M. Kondoh: Population Ecology, 56, 257-263 (2014)
“Instability of a hybrid module of antagonistic and mutualistic interactions”
- 15) A. Mougi and M. Kondoh: Ecological Research, 29, 113-119 (2014)
“Adaptation in a hybrid world with multiple interaction types: a new mechanism for species coexistence”
- 16) N. F. Ishikawa, M. Uchida, Y. Shibata and I. Tayasu: Ecology, 95, 1264-1271 (2014)
“Carbon storage reservoirs in watersheds support stream food webs via periphyton production”
- 17) N. F. Ishikawa, Y. Kato, H. Togashi, M. Yoshimura, C. Yoshimizu, N. Okuda and I. Tayasu: Oecologia, 175, 911-922 (2014)
“Stable nitrogen isotopic composition of amino acids reveals food web structure in stream ecosystems”

(2) 主な口頭発表(学会等)

- 1) 近藤倫生: 第21回日本数理生物学会 (2011)
「食物網をめぐる生態学: 群集構造と動態をむすぶ」
- 2) 石川尚人、内田昌男、柴田康行、陀安一郎: 日本陸水学会第76回大会 (2011)
「流域地質が河川食物網を流れる炭素の¹⁴C年代に及ぼす影響」
- 3) 奥田昇、苅部甚一、酒井陽一郎、武山智博、陀安一郎、由水千景、永田俊: 日本陸水学会第76回大会 (2011)
「水界動物群集の「生物多様性 - 生態系機能関係」を再考する: 栄養段階の重要性」
- 4) N. F. Ishikawa, H. Doi and J. C. Finlay: The 5th East Asian Federation of Ecological Societies International Congress, 2012 (2012)
“Global meta-analysis for controlling factors on carbon stable isotope ratios of lotic periphyton”
- 5) 富樫博幸、徳地直子、陀安一郎: 日本生態学会第59回大会 (2012)
「山地溪流流域の食物連鎖長: 決定機構に果たす生産性の役割」
- 6) 奥田昇: 日本生態学会第59回大会 公開講演会 (2012)
「水でつながる人の暮らしと琵琶湖の生物多様性」
- 7) 大手信人、青木麻耶、勝山千恵、諏訪裕、丹下健: 日本地球惑星科学連合 (JpGU) 2012年大会、セッション 流域の水文地質と物質循環 (2012)
「森林土壌における脱窒に関わる微生物群集構成: 脱窒機能遺伝子による把握」 (招待)
- 8) N. F. Ishikawa, M. Uchida, Y. Shibata and I. Tayasu: ASLO Aquatic Sciences Meeting, Otsu, Japan, 2012 (2012)
“Evidence of aged carbon subsidization to stream food webs approached by C-14 natural abundance method”
- 9) Y. Kato, N. F. Ishikawa, H. Togashi, M. Yoshimura, M. Itoh, K. Osaka, N. Okuda, N. Ohte, C. Yoshimizu and I. Tayasu: ASLO Aquatic sciences meeting, Otsu, Japan, 2012 (2012)
“Food web analysis based on nitrogen isotopic ratio of amino acids in river ecosystem”
- 10) N. Okuda, Y. Kato, T. Komiya, Y. Okuzaki, M. Hori, I. Tayasu and T. Nagata: ASLO Aquatic sciences meeting, Otsu, Japan, 2012 (2012)
“Biological specimens tell us a centurial history of ecosystem alterations in the ancient Lake Biwa.”

- 11) Tayasu, N. Ohkouchi, G. Schubert and M. McCarthy: ASLO Aquatic sciences meeting, Otsu, Japan, 2012 (2012)
 “SS42: New frontiers of isotope tools for biogeochemistry, ecology and environmental sciences” (Organizer)
- 12) Tayasu, N. Okuda, N. Tokuchi, N. Ohte and M. Kondoh: ASLO Aquatic sciences meeting, Otsu, Japan, 2012 (2012)
 “Multiple isotope approach for studying material flow and food web structures of stream ecosystems in Lake Biwa watershed”
- 13) 大手信人: 環境科学会 2012年会 (2012)
 「安定同位体比情報を利用する水資源保全に必要な森林・河川生態系の健全性評価手法の開発」
- 14) 富樫博幸、加藤義和、石川尚人、吉村真由美、徳地直子、大手信人、由水千景、陀安一郎: 日本陸水学会 第77回大会 (2012)
 「アミノ酸の窒素安定同位体比から読み解く山地渓流域の食物網構造-護摩壇山試験地の事例-」
- 15) 石川尚人、内田昌男、柴田康行、陀安一郎: 日本陸水学会 第77回大会 (2012)
 「放射性炭素14天然存在比を用いた陸水生態系の解析手法」
- 16) 加藤義和、石川尚人、富樫博幸、吉村真由美、由水千景、奥田昇、陀安一郎: 日本陸水学会 第77回大会 (2012)
 「アミノ酸の窒素安定同位体比を用いた琵琶湖流域の食物網解析」
- 17) 舞木昭彦、近藤 倫生: 第22回数理生物学会 (2012)
 「新しい多種共存メカニズム: 種間相互作用の多様性」
- 18) 陀安一郎: 第2回同位体環境学シンポジウム (2013)
 「同位体生態学の進展と生物多様性研究」
- 19) 石川尚人、加藤義和、富樫博幸、吉村真由美、由水千景、奥田昇、陀安一郎: 日本生態学会第60回大会 (2013)
 「河川複雑系食物網の高精度解析 ~アミノ酸窒素安定同位体比からのアプローチ~」
- 20) 加藤義和、石川尚人、富樫博幸、由水千景、陀安一郎、奥田昇: 日本生態学会第60回大会 (2013)
 「アミノ酸の窒素安定同位体比を用いた琵琶湖産魚類の栄養段階推定」
- 21) 富樫博幸、加藤義和、石川尚人、尾坂兼一、吉村真由美、由水千景、徳地直子、陀安一郎、大手信人: 日本生態学会第60回大会 (2013)
 「ミカン畑と魚類をつなぐ硝酸: 土地利用が河川生態系へ及ぼす影響に関する安定同位体解析」
- 22) 舞木昭彦: 第17回日本生態学会宮地賞受賞者・受賞記念講演 (2013)
 「多様な種間関係が生物多様性を支える」
- 23) 富樫博幸、加藤義和、石川尚人、吉村真由美、徳地直子、大手信人、由水千景、陀安一郎: 第124回日本森林学会大会 (2013)
 「森林施業が河川生態系へ及ぼす長期的影響とその解明: 安定同位体比を利用して」
- 24) N. Tokuchi, H. Togashi, N. Ohte, M. Yoshimura, Y. Kato and N. Ishikawa: US-Japan Joint Seminar on Responses of Catchment Hydrology and Forest Biogeochemistry to Climatic and Environmental Change (2013)
 “Interecosystem connection between forest and river: Nutrient linkages”
- 25) 陀安一郎: 日本地球惑星科学連合2013年大会 (2013)
 「生物の同位体比から得られる生態系・生物多様性情報について」
- 26) 石川尚人、加藤義和、富樫博幸、吉村真由美、由水千景、奥田昇、陀安一郎: 日本地球惑星科学連合2013年大会 (2013)
 「アミノ酸窒素安定同位体比を用いた河川食物網解析」
- 27) 舞木昭彦、近藤倫生: 第23回日本数理生物学会大会 (2013)
 「3種の種間相互作用タイプが共存する生物群集の安定性」
- 28) 奥田昇: 第78回日本陸水学会 (2013)
 「大津臨湖実験所の遺産: 生物標本が語る琵琶湖100年史」 In: 公開シンポジウム「湖沼の長期モニタリングを考える: 京大・大津臨湖創設から100年を経て」
- 29) 加藤義和、石川尚人、富樫博幸、由水千景、奥田昇、陀安一郎: 第78回日本陸水学会 (2013)
 「琵琶湖集水域のヨシノボリ属におけるアミノ酸窒素安定同位体比の流程変化」
- 30) 石川尚人、富樫博幸、加藤義和、吉村真由美、徳地直子、陀安一郎: 第78回日本陸水学会 (2013)
 「スギ人工林の伐採施業が溪流生態系を流れる炭素の¹⁴C年代に及ぼす影響」

- 31) 奥田昇：第46回日本魚類学会(2013)
「標本が拓く魚類学の無限の可能性：琵琶湖の過去・現在・未来」In:セッション「日本の古代湖・琵琶湖における魚類進化と生態研究の現在とこれから」
- 32) 酒井陽一郎、武山智博、苅部甚一、陀安一郎、奥田昇：第46回日本魚類学会(2013)
「安定同位体比から見た琵琶湖産アユの回遊行動多型」In:セッション「日本の古代湖・琵琶湖における魚類進化と生態研究の現在とこれから」
- 33) M. Kondoh, A. Mougi：第29回個体群生態学会大会(2013)
“What generates the stabilising effect of interaction-type diversity in ecological communities?”
- 34) M. Kondoh：Food Webs 2013: Science with Impact, Giessen, Germany (2013)
“Interaction-type diversity and complexity-stability relationship of community network”
- 35) N. Ohte, H. Togashi, N. Tokuchi, K. Osaka and I. Tayasu: Integrated ecosystem management from Hill to Oceans (2013)
“Nitrogen status and its effects on the aquatic food webs of the Arida river.”
- 36) T. Egusa, N. Ohte, T. Oda and M. Suzuki: American Geophysical Union, Fall meeting, Hydrology Section (2013)
“Spatial organization of stream water discharge and chemistry in forested headwaters”
- 37) 陀安一郎：第3回同位体環境学シンポジウム(2013)
「同位体手法を用いた食物網研究の現状と展望」
- 38) I. Tayasu:日本生態学会第61回大会(2014)
Symposium “Use of various isotope tools in watershed ecology” [Organizer]
- 39) I. Tayasu:日本生態学会第61回大会(2014)
“Isotope tools: new directions”
- 40) N. Ohte：日本生態学会第61回大会(2014)
“How does anthropogenic nitrogen input affect the nutrient dynamics and food web structures? :Revealed by transect surveys of nitrate isotopes”
- 41) H. Togashi and N. Tokuchi:日本生態学会第61回大会(2014)
“A difference in food web structures with various forest stand ages in headwater streams”
- 42) N. F. Ishikawa:日本生態学会第61回大会(2014)
“Analysis of stream food web using stable nitrogen isotope ratios of amino acids”
- 43) Y. Kato:日本生態学会第61回大会(2014)
“Biological specimens reveal centurial dynamics of trophic level of fishes in Lake Biwa
- 44) M. Kondoh, T. Miki, S. Kato:日本生態学会第61回大会(2014)
“Stable isotope analysis and food-web unfolding”

7. 研究者略歴

課題代表者:陀安 一郎

京都大学理学部卒業、博士(理学)、現在、京大大学生態学研究センター准教授

研究分担者

- (1) 徳地 直子
京都大学農学部卒業、博士(農学)、現在、京都大学フィールド科学教育研究センター教授
- (2) 大手 信人
京都大学農学部卒業、博士(農学)、現在、東京大学大学院農学生命科学研究科准教授
- (3) 1):陀安 一郎 (同上)
2):奥田 昇
東京理科大学理工学部卒業、博士(理学)、現在、京大大学生態学研究センター准教授
- (4):近藤 倫生
京都大学理学部卒業、博士(理学)、現在、龍谷大学理工学部教授

4D-1102 生物多様性の機能評価のための安定同位体指標に関する研究

(1) 森林生態系管理が河川生態系に及ぼす影響の研究

京都大学フィールド科学教育研究センター

徳地直子

<研究協力者>

京都大学フィールド科学教育研究センター

神松幸弘（平成25年度）

(独)水産総合研究センター東北水産研究所

富樫博幸

(独)森林総合研究所関西支所

吉村真由美

平成23～25年度累計予算額：32,487千円（うち、平成25年度予算額：10,101千円）

予算額は、間接経費を含む。

[要旨]

京都大学和歌山研究林および護摩壇山試験地において、伐採直後（3年）から成熟期（90年以上）にいたる森林生態系の管理と河川生態系および生物多様性の関係を調べた。森林の成熟に伴い林床の光量は低下した。河川水の硝酸態窒素（ NO_3^- ）濃度は伐採後急速に上昇し、5-6年後に最高値を示し、その後15年程度で伐採前の水準に回復した。また溶存炭素濃度は林齢に伴う明らかな傾向はなかったが、溶存窒素濃度は伐採後濃度が上昇し、20年程度で伐採前にもどる NO_3^- と同様の変動がみられた。水生生物は、6目20科9属の計35分類群を確認した。摂食機能群別に出現量をみると、若齢林では刈取食者が卓越し、高齢林では対照的に破碎食者が増加した。また、水生生物の生体（バルク）炭素安定同位体比（ $\delta^{13}\text{C}$ ）は、成熟林になるほど低下し、リターの $\delta^{13}\text{C}$ に近い値を示した。これらの結果から、河川生態系は森林の若齢期は付着藻類を起点とする食物網が形成され、成熟林では陸上資源に強く依存すると考えられた。しかし、付着藻類の $\delta^{13}\text{C}$ は、森林の林齢と負の相関を示し、照度と正の相関を示した。したがって、藻類の $\delta^{13}\text{C}$ の変化は光条件に応じた同化速度の変化による可能性もあり、成熟林の食物網の起点が水域と陸上のどちらにより依存していたのか判別は困難である。そこで生体内アミノ酸の窒素安定同位体比（ $\delta^{15}\text{N}_{\text{Glu}}$ および $\delta^{15}\text{N}_{\text{Phe}}$ ）を分析し、各分類群の水域と陸上起源の有機物の依存度や栄養段階を推定できる可能性を示した。また、Shannon-Wienerの多様性指数（ H' ）を用いて、分類群と摂食機能群のそれぞれの多様度を林齢間で比較した。分類群の多様性は、林齢が上がるに連れて緩やかな減少が見られた。さらに、摂食機能群でみた多様性は、森林成立の中間段階にあたる23年生で最も低くなった。これは、この林齢で河床攪乱を受け、その後の回復していない分類群がいるためと考えられた。 $\delta^{15}\text{N}$ から推定したカワゲラの栄養段階は23年生林で最も高く、餌不足による共食いが起こったと考えられ、森林の発達段階で生じる攪乱が生態系機能変化に波及する可能性が示唆された。

[キーワード]

河川生態系、食物網、森林生態管理、摂食機能群、林齢

1. はじめに

森林と河川のように異なる生態系が接する境界領域では、二つの生態系が相互に関連し密接に結びつけられる¹⁾。そのため一方の生態系に引き起こされる機能や構造の変化は他方の生態系に波及する。たとえば、森林の発達は光環境を変化させ、河川の一次生産に影響を及ぼす²⁾。また河川に供給される落枝や落葉（リター）は、河川生物にとって重要な資源であり、種数や生物量を制限する主な要因となる³⁾。また、森林の植生変化は土壌の物質循環機構を通じて水質に影響を及ぼす⁴⁾。さらに、食物網を介した物質やエネルギーの輸送は、双方の生態系の生産性や多様性に影響する⁵⁾。このように森林生態系の変化は、林内を流れる河川生態系にさまざまに影響を及ぼす。

日本の国土の66%は森林が占め、そのうちの約4割は人工林であり、残る6割もかつては薪炭林として利用されてきた二次林がほとんどを占める⁶⁾。伐採などの施業やその後の森林の回復過程は、光環境を大きく変える他、河川に流出する水の水質や水量に影響を及ぼす。つまり河川水に含まれる溶存物質の濃度や量は、森林生態系の状態を反映する指標とみなすことができる。一般に、日本では急峻な地形が多く、世界的にも多雨な地域が多い。斜面地に作られた人工林では、降雨などにより地滑り、土砂流出といった攪乱に見舞われることが多い。土砂流出の発生頻度は植生の土壌中の根による緊縛度と関係することから⁷⁾、森林の発達段階は重要な発生要因となる。以上のように、人工林において伐採やその後の成立過程は、河川生態系の生物多様性および機能に強く影響を及ぼす可能性が高い。もし、そうであるならば、国内の河川環境における生物多様性の保全を考える上で、森林生態系の管理は極めて重要なものと言える。

森林伐採が河川に及ぼす影響について調べた先行研究は、アメリカのHubbard Brook森林試験流域で行われた事例が有名である⁸⁾。そこでは森林を皆伐した流域と手を加えなかった流域とで対照実験が行われ、皆伐した流域は、手を加えなかった流域に対して硝酸態窒素の濃度の上昇が見られることを示している。伐採による河川水質への影響は、国内でも滋賀県朽木村⁹⁾や本調査地⁴⁾で行われ、同様に硝酸態窒素の上昇が認められている。窒素流出のメカニズムは、伐採が起こると、それまで植物に吸収されていたアンモニアを主とする養分物質が余剰となり、土壌微生物が消費するも、消費つくされない余剰分が硝化され、土壌中から流出するものと考えられている^{4),10)}。伐採が物質循環に及ぼす効果に関する研究は、伐採後短期間の影響を観測することは比較的容易であるが、森林の寿命は長いため、成立過程を追跡するには非常に長い年数が必要になる。また、伐採の効果を観測するためには、それ以外の環境条件が均質である同一地域で行うことが理想的であるが、きびしい条件に見合う調査地を設けることは難しい。これに対して、本研究の調査地は、深いV字谷を刻む長い峰に魚骨状の谷川が並ぶ特殊な地形にあり、各谷川の集水域を単位とし「輪伐」という形態で林業が営まれてきた場所にある。伐採年以外の環境条件がほぼ同じであることから、伐採直後から成熟にいたるまでの森林について、ほぼ林齢のみを要因として抽出することができる⁴⁾。

これまでの研究では主に森林伐採と流出する河川水質との関連に焦点が当てられてきた。しかし、森林伐採が周辺環境にどのような影響を及ぼすか明らかにしていくためには、森林伐採による光環境および水質への影響が、その後さらに河川生態系の構造や機能にどのように波及効果を与えるのかを調査する必要がある。そこで、本研究では、森林伐採とその後の成立が河川生態系にどのような影響を与えるかを明らかにするため、林齢ごとの河川水質と河川生物相と食物網構造に注目し調査した。

2. 研究開発目的

サブテーマ（1）は、本研究課題の目的の一つである、「最新の安定同位体研究手法の生物多様性観測への適用」に関するケーススタディーと位置づけられる。具体的には、森林の成立過程に伴う河川生物群集の食物網構造の変化を炭素および窒素安定同位体分析により把握し、森林管理が、河川生態系の機能や生物多様性に及ぼす影響について明らかにする。

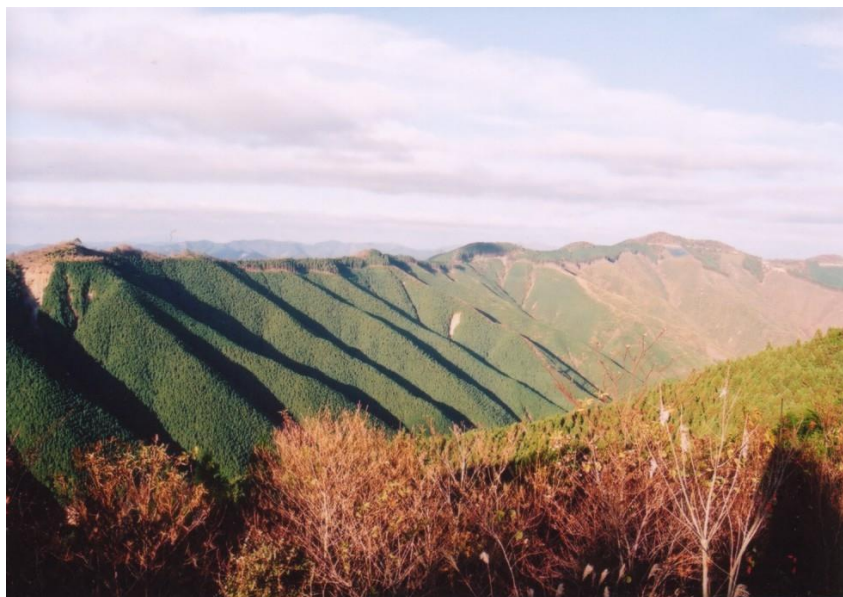
森林を流れる河川の生態系では、藻類など河川内の植物が食物網の起点となると同時に、リターなど陸上で生産される有機物も食物網を支える重要な資源となる。伐採直後から森林が成熟する過程では、樹木の成長に伴って光が遮られ河川への光量は減少する一方で、リターなどの陸上起源の有機物の供給が増加する。そのため、森林内における河川群集も、森林の発達段階初期には藻類を摂食する生物が優占するが、森林が成立してくると、リターを摂食する生物が卓越することによって、系外の資源に依存するといった食物網構造の変化が予想される。京都大学和歌山研究林およびその周辺（護摩壇山試験地）は、集水域単位で森林が管理され、さらに地形や地質、植生など環境要因がほぼ一様で、発達段階のみ異なる森林が連なっていることから、森林管理による生物群集への影響応答を時間軸に基づいて解明できるモデルフィールドといえる。

これまで、食物網構造の解析を目的とした炭素および窒素安定同位体分析は生体のバルク（組織や全体）を用いた分析が主流であった。しかし、植物の炭素同位体比は、光合成による同化速度などによって大きく変動することから、河川群集のように食物網の起点に河川内と陸上と双方を起点に持ち複雑に混ざり合う場合には、餌となる食物起源を推定することが困難な場合も多かった。サブテーマ（3）の研究目的の一つである河川食物網解析へのアミノ酸窒素安定同位体比の応用は、これまで困難であった河川における二つの食物起源を分離し、食物網構造の詳細な推定が出来る可能性が高く本研究にも応用する。

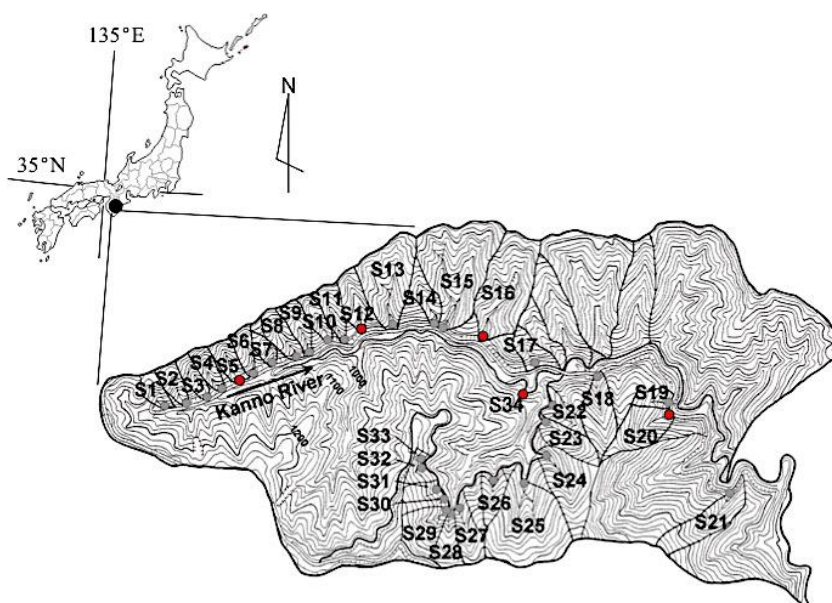
3. 研究開発方法

（1）調査地

調査は、紀伊山地の中央に位置する、京都大学和歌山研究林（北緯34°03'43.6"・東経135°30'56.5"）および護摩壇山試験地で行った。護摩壇山試験地は、十津川水系の神納川の浸食によって形成された急峻なV字谷の尾根斜面にある。斜面には、尾根と垂直に魚骨状に幾筋も谷が刻まれ溪流が流れている(図(1)-1)。調査地の大部分はスギ (*Cryptomeria japonica*) が植林されている。森林の伐採から植林、間伐といった一連の施業・管理は、谷ごとの集水域を一つの単位として行われている。調査地点は伐採から数えて異なる林齢を持つ地点を以下のように選択した。S34（3年目：2011年を起点に数え多年数、以下同様）、S16（12年目）、S12（23年目）、S5（38年目）、S20（49年目）、および上ウレビ（90年生以上）の6個所を設置した(図(1)-2)。なお、上ウレビは、モミ (*Abies firma*) およびツガ (*Tsuga sieboldii*) の優占する手つかずの天然生林であり、植林地の対照区として選定した。



図(1)-1 護摩檀山試験地の景観。



図(1)-2 護摩檀山試験地の位置と採集地点。なお、上ウレビ（90年生以上）は、隣接する京都大学和歌山研究林内に設置している。

（2）水質および光環境の調査

6地点の河川水は、2011年から2013年までほぼ月1回の頻度で採集した。実験室に持ち帰った試料水はイオンクロマトグラフィーにより硝酸態窒素濃度を測定した。伐採で供給された多量の枝条からは、分解に伴い多様な有機物が供給されると考えられるため、それらを含む河川水中の溶存炭素濃度・溶存窒素濃度は680℃燃焼触媒酸化方式分析器(TOC-L:島津製作所)にて測定を行った。光環境については、各林齢に照度計を3つずつ設置し、2012年5月1日から8月21日まで観測し、その平均照度を求めた。

(3) 水生生物の採集および測定

水生生物の採集は、2011年10月24-26日（秋）、12月19-21日（冬）、2012年6月11-13日（春）、および8月19-21日（夏）の4つの季節に実施した。河床にある礫を3つ採取し、石表面に付着した藻類をブラシではぎ取り試料瓶に詰めて実験室に持ち帰ったのち、凍結乾燥機で乾燥した。リターは、2011年10月24-26日（秋）、12月19-21日（冬）の2つの季節において調査地点の川から3カ所選り採りし、実験室で凍結乾燥機を用いて乾燥した。水生動物はコドラート付きサーバーネット(25cm×25cm)を用いて定量的に採集を行った。各地点につき3箇所選り、繰り返し採集を行った。

捕らえた生物は、現場で同定可能な階級まで分類（以下、分類群とする）し、個体数を記録した。また、水生生物の形態や摂食行動から、5つの摂食機能群に分類した。すなわち、1) 捕食者：主に肉食する大型のカワゲラの仲間など。藻類やデトライタスなども食べる。2) 濾過食者：水中にアミを張る などして流下する 有機物を捉えて食べる。潜在的な雑食。シマトビケラ、ヒゲナガカワトビケラなど。3) 採集食者：河床の有機物を拾って食べる。潜在的な雑食。モンカゲロウ、ユスリカなど。4) 破碎食者：主に落ち葉を食べる。ヨコエビ、カクツツトビケラなど。5) 刈取食者：主に礫上の藻類を食べる。ヒラタカゲロウ、コカゲロウなどである。採集した生物は、実験室へ持ち帰り凍結乾燥器で乾燥後に乾燥重量を測定し、面積あたりの重量を算出した。

(4) 水生生物の炭素および窒素安定同位体の分析

河川生態系の食物網構造を推定するため、藻類、リターおよび各分類群にまとめた水生生物は、乾燥した後に粉碎し、バルク（組織や全体）試料により炭素および窒素安定同位体比（ $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{15}\text{N}$ ）を求めた。

バルク $\delta^{13}\text{C}$ は、水中の植物と陸上の植物で一般に値が異なることから、食物網の起点を推定する指標とされる。また、 $\delta^{15}\text{N}$ は栄養段階が一段上がるごとに約3.4‰上昇する経験則をもとに栄養段階を推定する指標とされ、 $\delta^{13}\text{C}$ - $\delta^{15}\text{N}$ マップ上に試料から得た各分類群の $\delta^{13}\text{C}$ および $\delta^{15}\text{N}$ をプロットすることで、食物網構造の推定が試みられる。しかし、河川生態系では、藻類など水生植物による河川内での生産に加え、リターなど系外で生産された有機物の流入が起こるため食物網は複雑である。さらに水中植物の $\delta^{13}\text{C}$ は光合成活性や水中の炭酸ガスの $\delta^{13}\text{C}$ などの環境要因によって値が大きく変動し、陸上起源植物の値と重なる場合も珍しくない¹¹⁾。水中の植物と陸上の植物では $\delta^{15}\text{N}$ も異なることから、どちらの植物起源により依存するか分からなければ栄養段階の推定も難しくなる。このような問題点を克服するため、ガスクロマトグラフィー／燃焼／同位体質量分析計

(GC/C/IRMS)によって、動物のアミノ酸窒素安定同位体比を用いた分析が開発されている。20種ほどあるアミノ酸の中には、動物が捕食する過程で $\delta^{15}\text{N}$ が大きく上昇するアミノ酸とほとんど変化しないアミノ酸が存在する。たとえば、グルタミン酸の $\delta^{15}\text{N}$ は約8.0‰の上昇する一方で、フェニルアラニンの $\delta^{15}\text{N}$ は0.4‰程度しか上昇しない。このことに着目し、動物の栄養段階を推定する式が以下のように決定されている。

$$[\text{栄養段階}=\text{TP}] = (\delta^{15}\text{N}_{\text{Glu}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{Phe}} + \beta) / (8.0 - 0.4) + 1 \quad [\text{式}(1)-1]$$

ここで、TPは栄養段階（または栄養位置）、 $\delta^{15}\text{N}_{\text{Glu}} \cdot \delta^{15}\text{N}_{\text{Phe}}$ はそれぞれグルタミン酸・フェニルアラニンの窒素安定同位体比、 β は一次生産者のフェニルアラニン・グルタミン酸同位体比の差を表

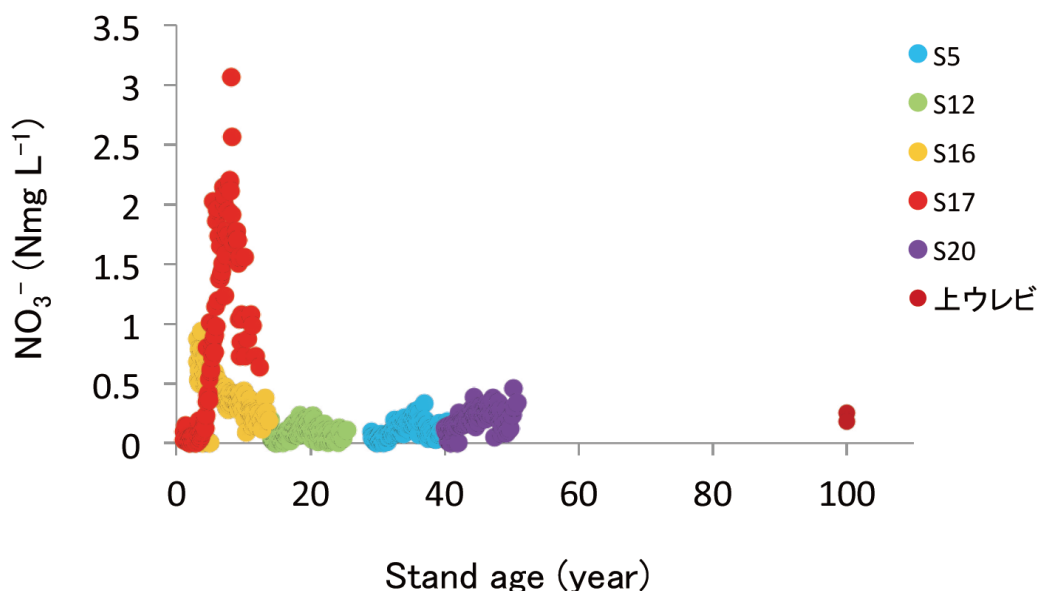
す。 β は水域生産者で-3.4‰、陸上C3植物で+8.4‰、陸上C4植物で-0.4‰と見積もられている^{12, 13)}。
そこで、本研究では一部の分類群について、GC/C/IRMSを用いたアミノ酸の窒素同位体比分析を行い、各摂食機能群のTPの推定を試みた。

(5) 森林の成立の伴う河川生態系における生産構造および生物多様性への影響に関する検討

森林の伐採から回復に向かう過程では、河川生態系において生物相や生物量の変化が生じ、その結果として生産構造や機能を変化させることが予想される。ただし、複雑な食物網構造の記載だけでは、物質やエネルギーの流れが生態系の生産性あるいは安定性といった機能的特性を理解する指標にはならない。そこで、サブテーマ(4)で提案されている食物網の物質フローネットワークにネットワークアンフォールディングの手法を適用することによって、各分類群のバイオマスを各栄養段階に分配し、食物網を食物連鎖へ変換することを試みた。すなわち、各地点における各分類群をバルク試料の $\delta^{13}\text{C}$ および $\delta^{15}\text{N}$ を元に、1)各分類群のTPを算出(サブテーマ(3)の手法を参照)し、2)各分類群は2つの栄養段階にまたがると仮定し、TPの値からバイオマスで重みづけし振り分けた。この手法を用いることで各地点の食物網について栄養ピラミッドを描くことができる。さらに、生物多様性の複雑性を示す以下の3つの指標を得ることができる。1) 栄養段階あたりの分類群の多様性(D_H)、2) 1分類群が属する栄養段階の多様性(D_V)、3) 栄養段階の数の多様性(D_C)。食物網フローネットワークのアンフォールディングの理論や手法の詳細については、サブテーマ(4)の項目を参照されたい。

4. 結果及び考察

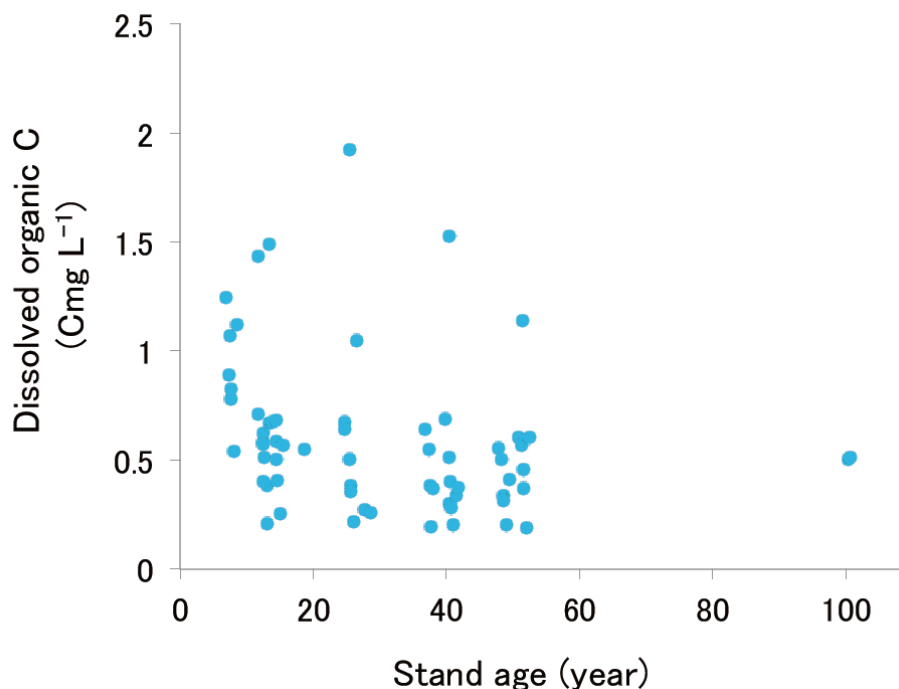
(1) 森林施業への河川水質の応答



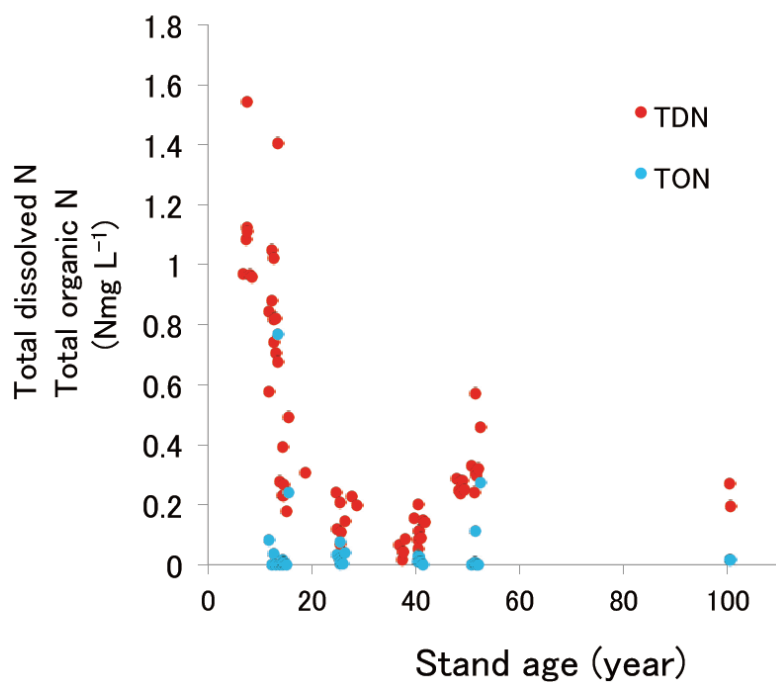
図(1)-3 森林管理(皆伐)後の河川水中の硝酸態窒素濃度の変化。2011年から2013年までの調査データに福島・徳地⁴⁾およびFukushima et al¹⁰⁾の同一地点データを加え、植栽年度の異なる集水域を植栽後の年数で整理した。

森林管理後、河川水中の硝酸態窒素 (NO_3^-) 濃度は急速に上昇し、5-6年後に最高濃度に達した。その後低下し、管理後15年程度で伐採前の水準に回復した(図(1)-3)。森林管理によって河川水の NO_3^- 濃度が上昇することはよく知られており^{8), 14)}、皆伐によって上昇した NO_3^- 濃度が植生の回復に伴って低下することもよくみられ¹⁵⁾、本試験の結果とも一致した。さらに、本試験地では1998年から河川水質のモニタリングが続けられており、これまでみられた伐採への応答とも一致していた。これらのことより、本試験地においても森林管理は河川水質の NO_3^- 濃度に影響を及ぼし、その結果は数年間続くこと、植生の回復に従って NO_3^- 濃度への影響は小さくなることが確認された。

伐採で供給された多量の枝条からは、分解に伴い多様な有機物が供給されると考えられるため、それらを含む河川水中の溶存炭素濃度・溶存窒素濃度の測定を行った。河川水中の溶存炭素濃度には森林管理に伴う傾向は明らかでなかった(図(1)-4)。一方、溶存窒素濃度(TDN)および有機窒素濃度(TON)は森林管理後に濃度が上昇し、20年程度で伐採前にもどるといふ NO_3^- の場合と同様の変動がみられた(図(1)-5)。溶存態窒素のほとんどを NO_3^- が占めているということもあるが、溶存有機態窒素も伐採後に高まる様子がみられた。つまり、森林管理直後はC/N比の低いものが流出するのに対して、森林管理から時間が経つとC/N比の高いもののみとなった。このことは、森林管理によって河川に流出してくる有機物の質が変化することを示しており、河川の水生生物の餌資源の供給として森林管理が重要であることが示唆された。



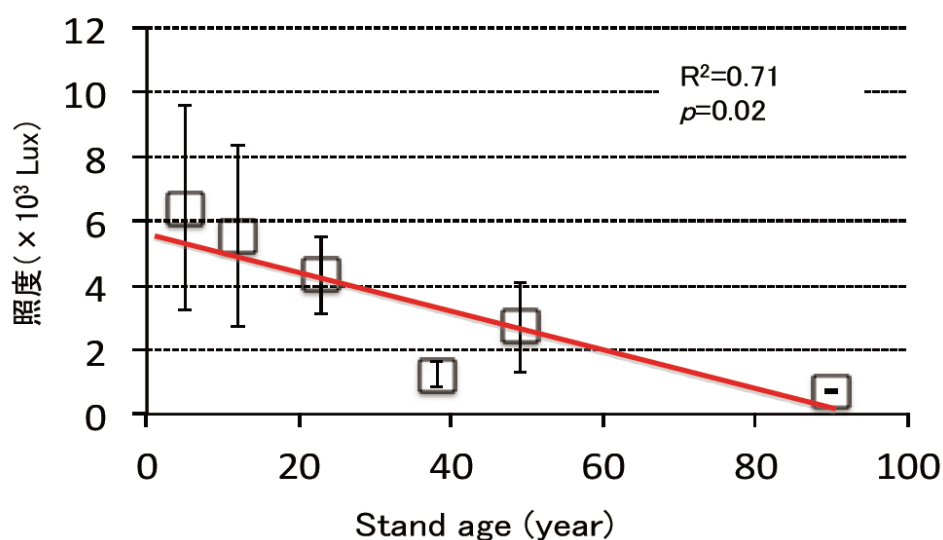
図(1)-4 2011-13年の河川水中の溶存炭素濃度の森林管理からの時間変化



図(1)-5 2011-13年の河川水中の溶存窒素濃度 (TDN) および有機窒素濃度 (TON) の森林管理からの時間変化

(2) 光環境の経時的変化

2012年5月から8月までの平均照度は、林齢と有為な負の相関を示した ($R^2=0.71, p=0.02$: 図(1)-6)。これは、森林の成長とともに林冠が遮蔽し、開空度を下げるためと考えられる。本調査地では、30年生で約30%の間伐を行うが、それでも残された木の枝葉が伸長し、90年生以上の森林では、皆伐時の約1割程度まで林床部の光は減少する。



図(1)-6 林齢と林床における照度 (Lux) の関係。図中の中抜き四角および誤差線は、2012年5月1日から8月21日までの各林齢の平均値と標準偏差をそれぞれ示す。

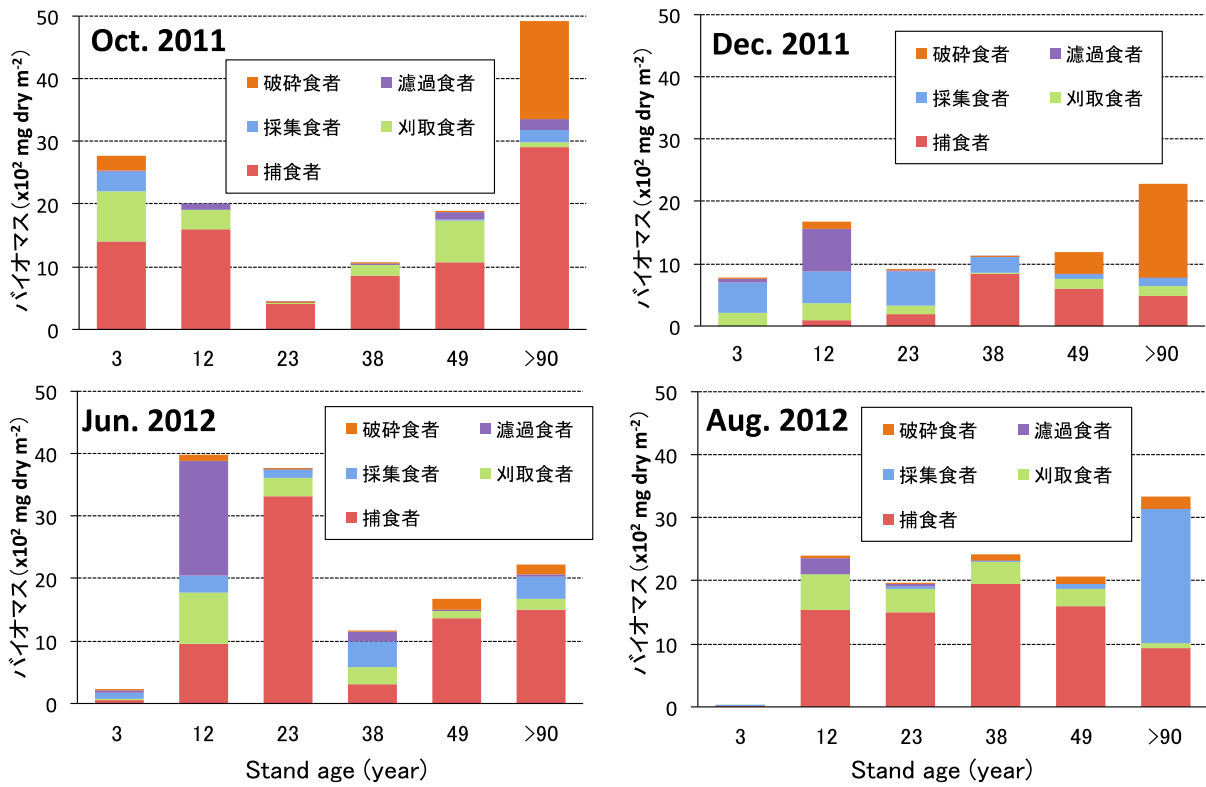
(3) 水生生物の生物量および種構成

本調査地に生息していた水生昆虫は、6目20科9属の計35分類であった。調査した6地点すべてに出現したのはサワガニ（採集食者）で、次いでガガンボ科とコカゲロウ科（共に採集食者）が多く見られた。これらの出現種・個体数密度は、同地域の水生生物群集を調べた先行研究¹⁶⁾の結果とほぼ同じであった。水生生物を摂食機能群ごとに集計した現存量は、林齢および季節で異なっていた（図(1)-7）。破碎食者は、林齢によって現存量に違いが有為にみられ（ $p<0.001$;表(1)-1）、かつその差には季節的な変化がみられた（ $p<0.01$;表(1)-1）。とくに成熟林では破碎食者に属するヨコエビが優占していた。成熟林では、ヨコエビの餌となるリター供給量が増えたことが考えられる。一方、藻類を摂食する刈取食者は、一年を通じてみると、若齢林で多く見られた（図(1)-8）ものの同一地点における季節的な変動が大きく、林齢間で有為な差はみられなかった（ $p>0.05$;表(1)-1）。ただし、林齢ごとの季節的な変化は有為に違いがみられ（ $p<0.05$;表(1)-1）、卓越する季節は林齢によって異なるが、90年生以上の成熟林に少なく比較的若い森林に多く出現した（図(1)-7）。この傾向は、捕食者も同様であった（表(1)-1）。刈取食者と捕食者は匍匐型の移動形態をとり¹⁷⁾、攪乱などの回復過程が似ているのかもしれない。また、採集食者は、季節において有為な差が有り（ $p<0.01$;表(1)-1）、季節間の違いは、林齢によって異なった（ $p<0.05$;表(1)-1）。これは、比較的小さなコカゲロウなどのように河川内で季節的な消長を示す種がこの機能群に属する一方で、サワガニなどのように一年中水中生活をする生物もこの分類群に含まれており、それらの林齢での出現傾向が異なるためと考えられる。すなわち、全体的にコカゲロウ類は生息するものの、サワガニの現存量は、成熟林で多く、その他の林齢と異なる季節的パターンを示した（図(1)-7）。濾過食者は、他の機能群とは、特異な傾向を示した。現存量の違いは、林齢のみで有為に異なり（ $p<0.05$;表(1)-1）、23年生でその出現量が少なかった。2011年9月2日から4日にかけて日本に接近した台風12号は、調査地付近も高い降雨量を観測した。72時間の総雨量は、護摩檀山761mm、龍神1012mm、清水531mmであった¹⁸⁾。23年生の森林では10月の生物量は全体的に低下した。固着性の濾過食者はその後も回復が遅れた可能性を示唆するものと考えられる（図(1)-7,8）。

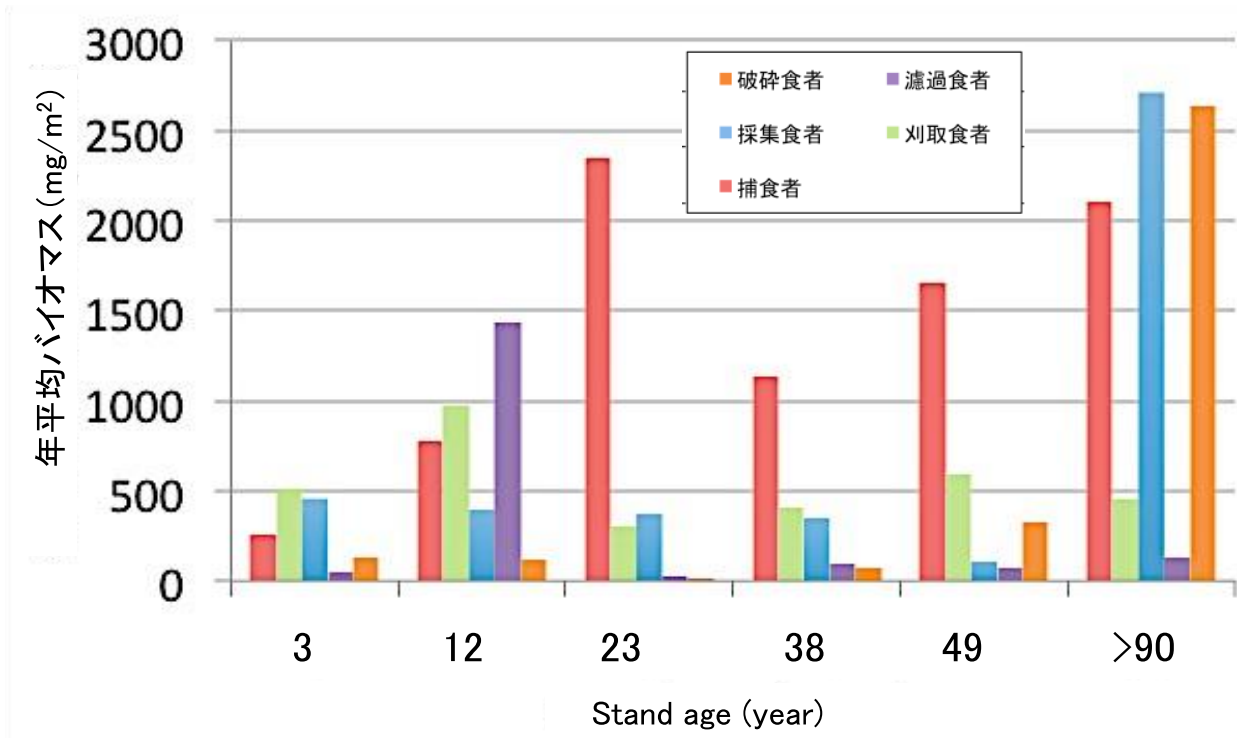
表(1)-1 二元配置ネスト分散分析の結果。

Source of variation	d.f.	捕食者		採集食者		濾過食者		破碎食者		刈取食者	
		F-ratio	p-varue	F-ratio	p-varue	F-ratio	p-varue	F-ratio	p-varue	F-ratio	p-varue
Site	5	1.19	-	1.35	-	2.35	*	6.06	***	1.39	-
Season	3	2.41	-	5.51	**	2.14	-	2.6	-	1.23	-
Site x Season	15	2.02	*	2.09	*	1.06	-	1.03	-	2.11	*
Site [Season]	20	1.84	*	1.93	*	1.28	-	2.53	**	1.96	*

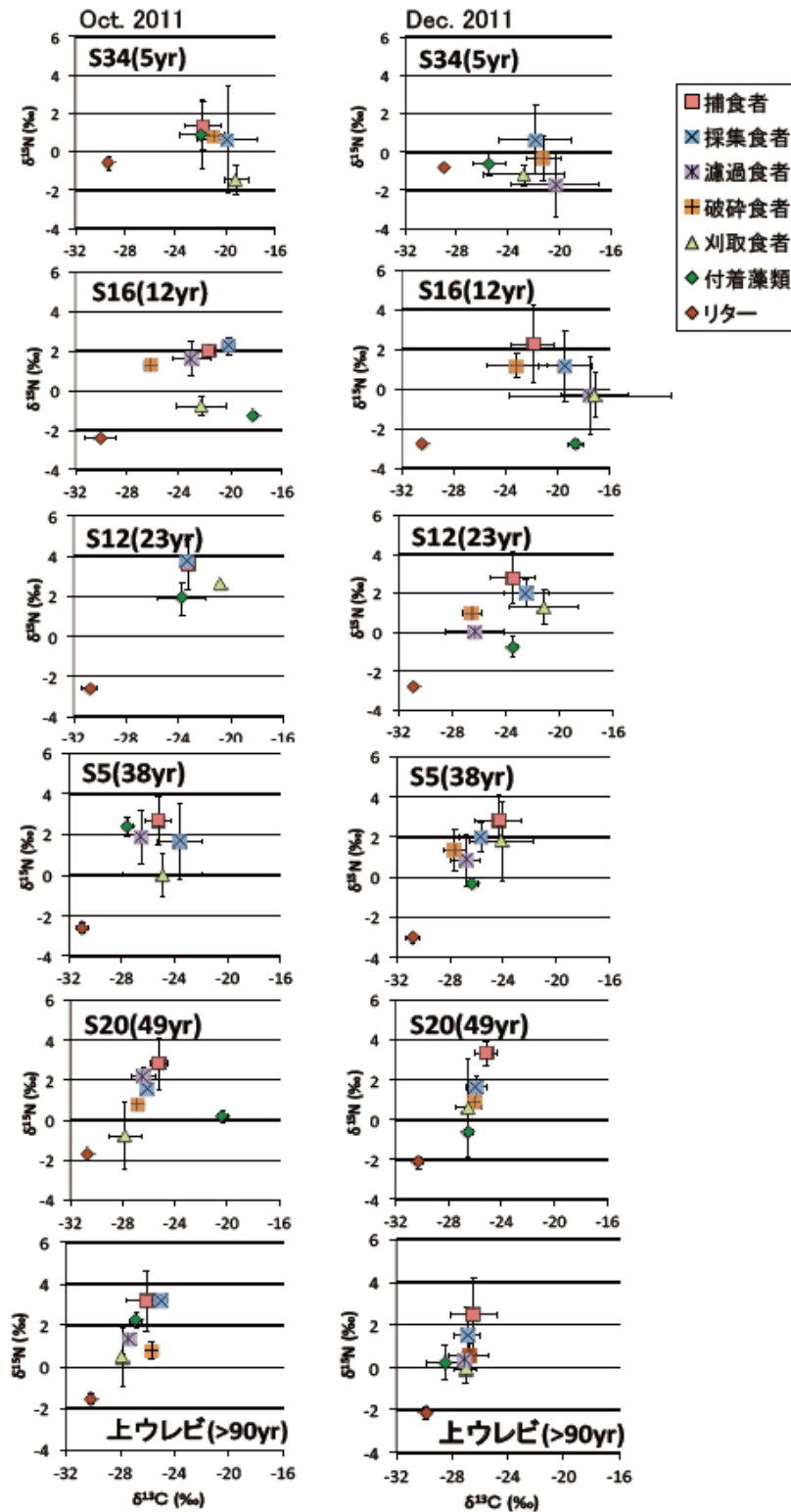
The symbol (-) denotes nonsignificant p-varue. * $p<0.05$ ** $p<0.01$ *** $p<0.001$.



図(1-7) 季節別にみた水生生物（摂食機能群ごと）の現存量と林齢の関係。



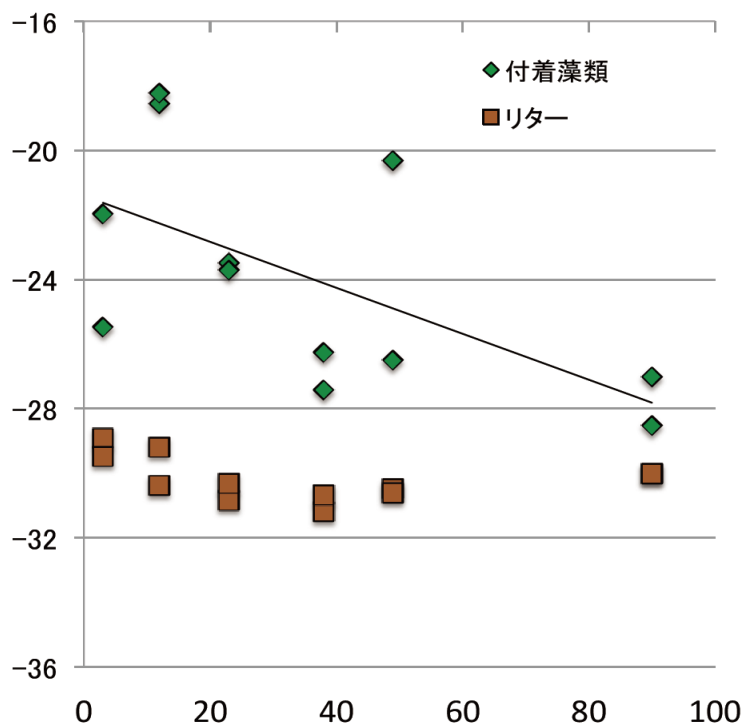
図(1-8) 一年間の水生生物（摂食機能群ごと）の現存量（平均）と林齢の関係。



図(1)-9 水生生物における生体バルク炭素（横軸）および窒素（縦軸）安定同位体比マップ。左は、2011年10月を右は、2011年12月を示す。上から3年、12年、23年、38年、49年および90年以上の森林を表す。

(4) 安定同位体分析の結果

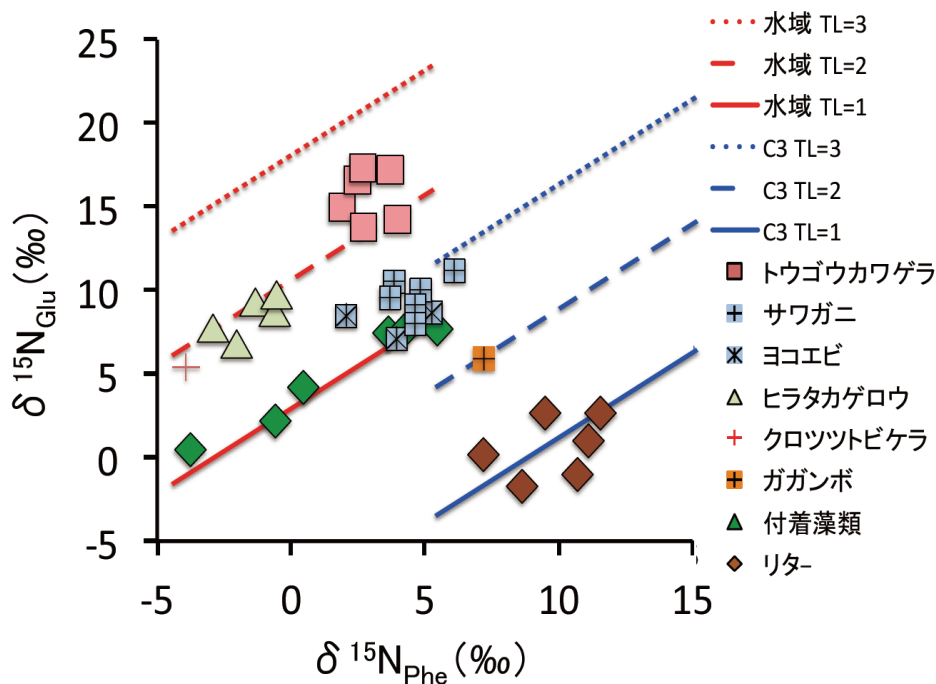
バルク炭素・窒素安定同位体比分析により得られた食物網構造を図(1)-9に示した。水生生物の炭素同位体比 ($\delta^{13}\text{C}$) は、総じて林齢が増すにつれて低い値を示した。このことは、群集全体の食物網の起点となる炭素源が、伐採からの時系列にともなって水域から陸域へ変化していくようにみられる。しかし、これらの現象は河川生態学において開空度（光環境）によって議論されている^{2),19)}。一般に河川では、上流ほど樹冠が閉鎖され水中への光照射量が減少するため、河川内部の生産性は低くなる。そのため、上流ほど陸上で生産される系外資源に依存する割合が多くなる。本調査地においても、森林が成熟するにつれ樹冠の開空度は減少し、光照射量が減少していたことから食物網の起点が内部生産から外部生産へシフトしたと考えることはできる（図(1)-10）。ただし、光量の低下による、藻類の同化効率の低下は藻類自体の $\delta^{13}\text{C}$ の低下を引き起こす²⁰⁾。したがって、生物群集全体の炭素安定同位体比が低下したことについて、食物網の起点がシフトしたことと、付着藻類の炭素安定同位体比が低下したことは同時に引き起こされる可能性があり、バルク安定同位体の分析からは両者の効果を分離して議論することは困難である。



図(1)-10 2011年10月、12月における付着藻類およびリターの炭素安定同位体比 ($\delta^{13}\text{C}$) と林齢の関係。回帰直線は、付着藻類の $\delta^{13}\text{C}$ と林齢の関係を示す。回帰直線は2つの季節（10月および12月）をプールした。

そこで、水生生物のアミノ酸の窒素安定同位体比を分析し、得られた値を $\delta^{15}\text{N}_{\text{Glu}}-\delta^{15}\text{N}_{\text{Phe}}$ マップにプロットし、水中と陸上の異なる栄養起源が混在した河川食物網の構造推定を試みた（図(1)-11）。各地点で採集された付着藻類および付着藻類を専食すると想定される刈取食者の $\delta^{15}\text{N}_{\text{Glu}}$ および $\delta^{15}\text{N}_{\text{Phe}}$ の値は、予測される栄養段階に一致した。また、リターの値も陸上植物として予測される値に一致し、かつ水中の植物の値と分離することができた。このことから、アミノ酸の窒素安定同

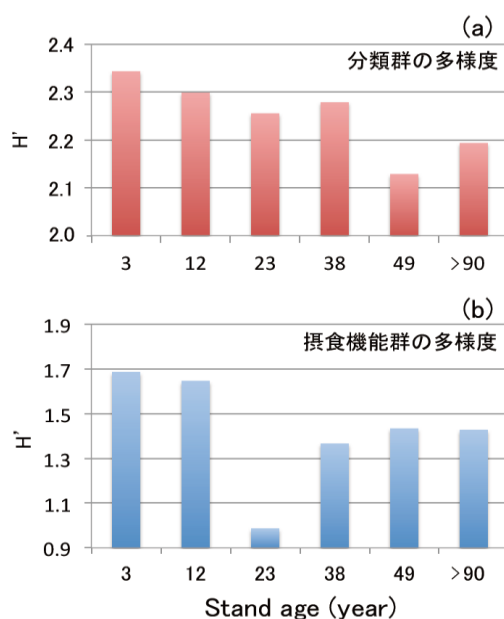
位体比は河川生態系において生物の栄養起源や栄養段階の推定に有効であることが示された。ただし、捕食者と想定されるトウゴウカワゲラの栄養段階は、水域の生産者をもとにした推定式を用いると TL=2から2.5と計算され、予測される栄養段階を示す値と比べて過小評価することになる。トウゴウカワゲラのような高次捕食者は、さまざまな水生昆虫を捕食することで陸域と水域の両方の栄養起源を得ている可能性がある。そのような生物の場合は、両者の混合を考慮する必要がある。河川生態系では、陸域と水域双方の一次生産によって食物網が支えられていることから、栄養段階の上昇に伴う $\delta^{15}\text{N}_{\text{Glu-Phe}}$ の変化と、栄養起源の混合モデルを考慮する必要があるだろう。また、サワガニのような採集食者においても様々な食物を雑食することから、藻類とリターと双方を栄養起源に持つ可能性が高く、アミノ酸安定同位体分析からもそれを示唆する値が得られた。一方、刈取食者であるヒラタカゲロウは、付着藻類の値から見積もられる栄養段階によく一致した。このように種の食性に関する生態的な情報や生体バルク同位体分析などの既存の方法による情報と補完することで、これまで困難であった河川生物の食物網構造の解明が出来る可能性が高い。



図(1)-11 水中（付着藻類）および陸上（リター）の異なる栄養起源と水生生物のフェニルアラニン $\delta^{15}\text{N}$ ($\delta^{15}\text{N}_{\text{Phe}}$) とグルタミン酸 $\delta^{15}\text{N}$ ($\delta^{15}\text{N}_{\text{Glu}}$) の2次元プロット。

(5) 林齢に伴う生物多様性の変化

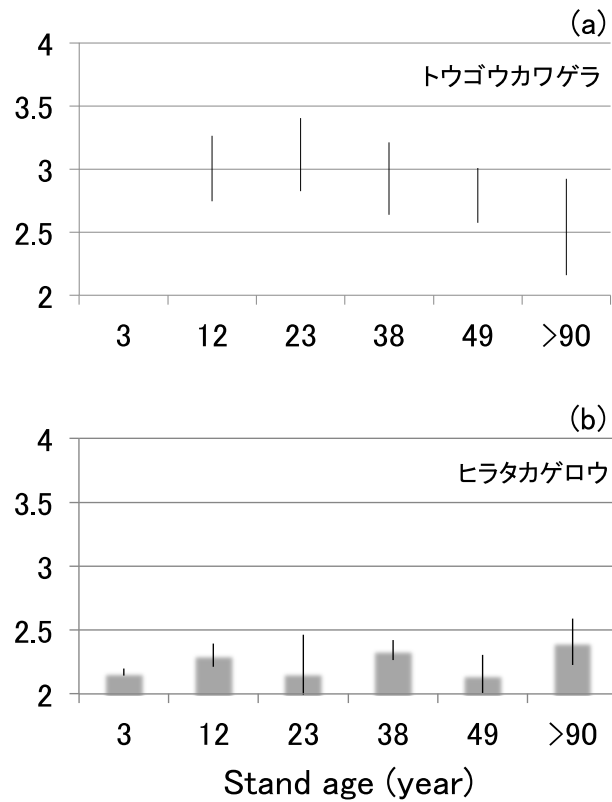
生物多様性の指標であるShannon-Wienerの多様度指数 (H') を用いて、分類群と摂食機能群のそれぞれの多様度を林齢間で比較した (図(1)-12a,b)。分類群の多様性は、林齢が上がるに連れて緩やかな減少が見られた。一方、水生生物の捕食形態のあり方から分類した摂食機能群でみた多様度は、森林成熟過程の中間段階にあたる23年生で最も低くなった。



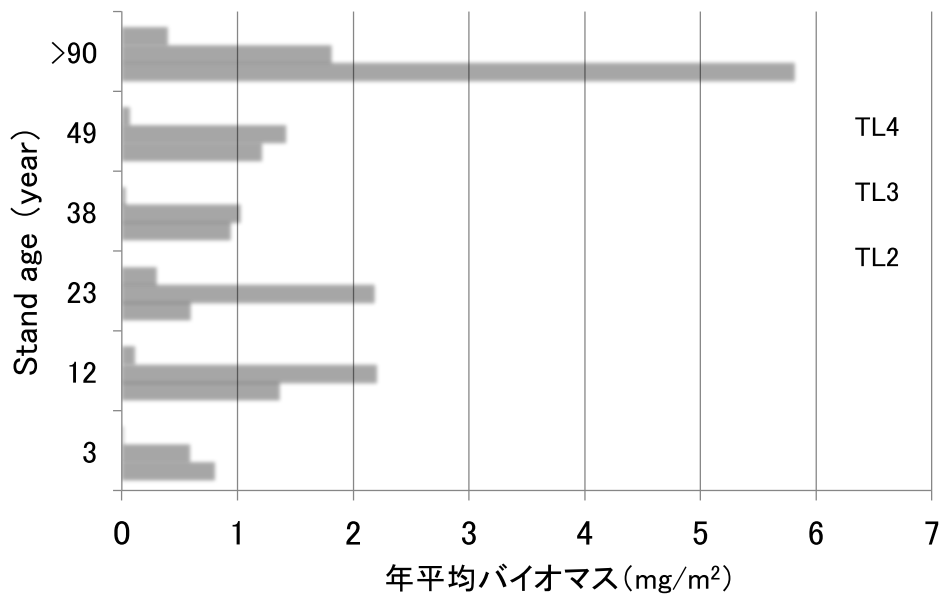
図(1)-12 林齢と多様度指数（Shannon-Wienerの多様度指数（ H' ））との関係。(a)分類群の多様度、(b)摂食機能群ごとの多様度をそれぞれ示す。

成熟した森林には落ち葉を食べる破砕食者の一種であるヨコエビの占める割合が高く、分類群の多様度が低くなったと考えられた。また、23年生で見られた摂食機能群の多様性の低下は、石の隙間に網を張る濾過食者の減少と捕食者の増加によって生じていると考えられた（図(1)-8）。斜面地の森林では、伐採植林後10-20年後あたりで斜面崩壊が起きやすいこと²¹⁾や、造網性の濾過食者は攪乱後の回復が遅いこと、反対に捕食者のトウゴウカワゲラは、移動能力が比較的高いことから考慮しても、23年生の摂食機能群の多様性の減少は、河床攪乱の影響によるものと考えられた。

安定同位体分析値をもとに算出された種の栄養段階（TP）と林齢の関係に着目し、捕食者であるトウゴウカワゲラと、藻類食者のヒラタカゲロウのTPを林齢間で比較した。トウゴウカワゲラのTPは、23年生をピークに中間段階の林齢で高い値を示した（図(1)-13a）。一方、ヒラタカゲロウのTPには大きな変化がみられなかった（図(1)-13b）。これは、トウゴウカワゲラの食性が地点間で異なっていたことを示している。伐採後3年の森林や90年以上の成熟林では、TPが比較的低く、またヒラタカゲロウのTPと近い値を示していることから、藻類などの植物も摂食していたと考えられた。大型のカワゲラ類は一般に肉食性であるが、藻類なども雑食することが知られる²¹⁾。本研究でもトウゴウカワゲラのTPは、ほとんどの地点で2から3の間に位置していることから、植物と動物の両方を餌としていると考えられた。ただし、23年生の森林では、TPが3を上回っていた。同じ23年生の森林のヒラタカゲロウのTPが他地点と比較して高くはないことから、トウゴウカワゲラのTPの上昇は下位の栄養段階からの影響とは考えにくい。したがって、トウゴウカワゲラは、肉食性の動物を捕食していたと考えられる。23年生の森林で採集された捕食者はトウゴウカワゲラのみであったことから、トウゴウカワゲラは、共食いを行っていた可能性が高いと考えられた。

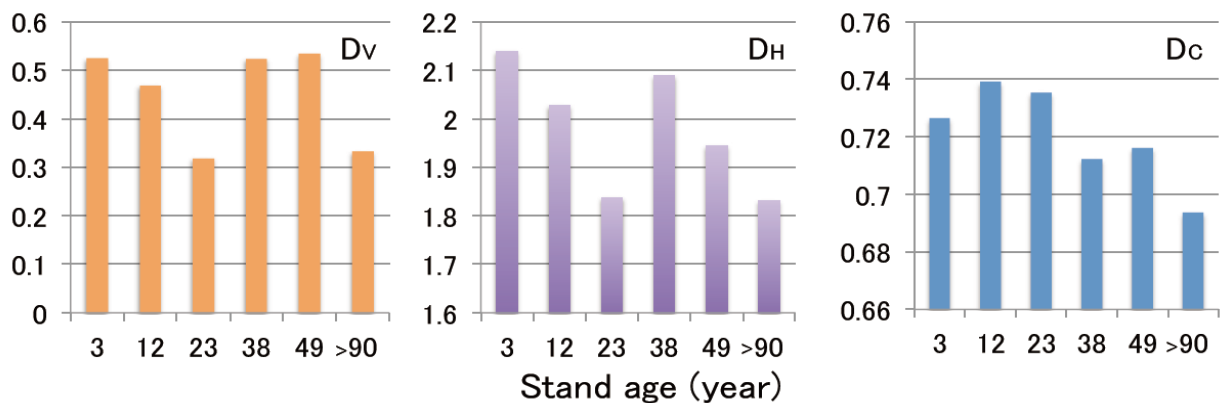


図(1)-13a,b 林齢の違いによる(a)トウゴウカワゲラおよび(b)ヒラタカゲロウの栄養段階(TP)の比較 (値は各地点の年平均と標準偏差)



図(1)-14 林齢ごとの各栄養段階 (TL) の生物量を示した栄養ピラミッド。図中の数字は、捕食者 (TL3+TL4) に対する一次消費者 (TL2) との比を表す。

各分類群の同位体比を元にアンフォールディング化し、栄養ピラミッドを作図した(図(1)-13)。森林の発達段階によって、栄養ピラミッドは大きく異なった ($(TL3 + TL4) / TL2 = 0.38-4.19$)。ほとんどの地点で一次消費者に対する高次捕食者 (TL3, 4) の占める割合が1を上回った。ただし、伐採直後の森林と90年生以上の森林は低かった。伐採直後では刈取食者が優占した(図(1)-8)。伐採直後の森林河川は、光量が多く藻類の生産性が高いため、藻類食の一次消費者が卓越するものと考えられる。90年生以上の森林では、ヨコエビなどの破碎食者が優占した。成熟した森林は、破碎食者の餌となるリターの供給量が増えることが考えられる。また、周辺地域では、ヨコエビは成熟した森林ほど多くみられることが知られる(徳地ら未発表)。一方、23年生の森林では、高次栄養段階(二次および三次消費者)の占める割合が4.19と極めて高かった。分類群でみると、とくに固着生活を行う造網性のトビケラなど移動性の低い濾過食者やヨコエビなどの破碎食者の生物量が低いことがわかった(図(1)-7,8)。また、TPの解析からは捕食者のトウゴウカワゲラが共食いを行っていた可能性が示唆された(図(1)-13a)。これら群集の組成や個々の種の食性変化は、23年生の森林で台風による攪乱を大きく受けた結果と考えられ、さらに栄養ピラミッド構造にも影響することが示された。



図(1)-15 各林齢における生物多様性を示す複雑性指標(左から D_v, D_H, D_c)の比較。

安定同位体値から得られた生物多様性の複雑性を示す3つの指標(D_v, D_H, D_c)について林齢間で比較した(図(1)-15)。D_vは、23年生と90年以上の森林で低くなった。23年生で値が低くなったことは、摂食機能群でみた場合のShannon-Wienerの多様度指数(H')と同様であったが、90年以上の森林では傾向が異なった(図(1)-12)。D_vは一つの分類群が属する栄養段階の多様性を示すことから、複数の栄養段階にまたがる種が多い場合に大きくなることが予想される。しかし、雑食性とされる採集食者や濾過食者のバイオマスとの関係(図(1)-8)とは一致せず、メカニズムを明らかにすることはできなかった。D_Hは、栄養段階あたりの分類群の多様性を表す指標とされ、分類群でみた場合の多様度指数(H')と似た傾向を示した。ただし、23年生では一致しなかった。D_cは栄養段階の数の多様性を示す指標で食物連鎖長などに関係すると考えられる。林齢間の比較から、森林の成熟とともに低くなる傾向が見られたものの、同様に林齢とともに低くなる分類群でみた場合の多様度指数(H')(図(1)-12)のパターンとは異なっていた。以上の結果から、分類群や摂食機能群別に算出したShannon-Wienerの多様度指数(H')との単純な比較やメカニズムの推定は難しいと考えられた。分類群や摂食機能群といった属性は、食性や生態的地位を推定する手が

かりの一つである。ただし、実際には生息地の環境状況によって、必ずしもその属性通りの振る舞いを実現するとは限らない。本研究においてもトウゴウカワゲラのTPは地点間で異なっていた。安定同位体分析値を元にした、TPのアンフォールディング化や D_v , D_c , D_H 指標は、分類群や摂食機能群の属性と分離して生物間の関係や生態系構造を捉えることができる。また、3つの指標は、生態系の栄養転換効率を説明する重要な因子となることが理論的に示されており(サブテーマ(4))、生態系の生産性や安定性を診断するツールとして期待されている。フィールドへの適用事例の蓄積がまだ十分ではないが、多様性指数(H')と比較して、より現実的な生物間の関係や食物網構造の特性を抽出できると考えられる。

以上の結果から、森林の成立過程は、河川生態系の生物多様性や機能に影響を及ぼすことを示した。このことは、河川生態系の生物多様性や生態系サービスを保全、維持する上で、森林の管理・施業が重要であることを示唆する。とくに人工林が多くを占める日本の国土環境においては、流域内の森林管理を視野に入れ、林齢を考慮することが求められると考えられる。また、安定同位体分析により測定される個体の固有値は、現実の栄養段階の推定や種間をつなぐ食物網構造解析に欠かせないものであり、種や分類群レベルで見た多様性評価に加えて、生物多様性の構造・機能を評価する上で重要な指標である。

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

最新の安定同位体研究手法を用いることによって、森林の成立過程に伴う河川生態系への影響応答を明らかにした。とくに食物網構造の解析について、従来のバルク炭素・窒素安定同位体分析では困難であった、水域と陸上の生産者を起点とする物質の流れや両者の依存性を推定することを、アミノ酸窒素同位体比手法を用いることで解決する見通しを示すことができた。すなわち、若齢林から成熟林にいたる過程において、河川内部の藻類を起源とする食物網構造から、落ち葉など系外の有機物を起源への依存度を高めていく構造へ変化していくことを明らかにした。なお、森林伐採による物質循環の影響は多くの研究があるが、寿命の長い森林の回復過程を追った研究は例が少なく、同一地域でほぼ林齢違いのみ条件の異なるフィールドでの研究は世界でも希である。森林の光環境、炭素および窒素の循環過程、さらに生物群集の構成や多様性の変化、生態系機能への影響とそれらの関連についてまとめた本研究は、生態学、森林科学の分野において貴重な知見を提供できたと考えられる。これらの成果は、*Entomological Science*誌の発表を端緒に生態学の一流誌への発表準備を進めている。

また、2011年に大型の台風12号の影響で大雨に見舞われ、従来から最も攪乱に見舞われやすいとされる、発達初期の森林で攪乱後の生態系構造の特異な変化を観測することができた。理論研究を行ったサブテーマ(4)において開発された食物網複雑性指標の適用により、群集の種構成や多様性の変化のみでなく、栄養段階や生態系のピラミッドなどの構造の変化についても評価することができた。今後この手法を様々なフィールドに適用することによって、生物多様性観測について、種の多様性に加えて、食物網構造や機能など生態系レベルの多様性観測が期待できる。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

特に記載すべき事項はない。

<行政が活用することが見込まれる成果>

さらなる一般性を確かめるために、様々な地域で河川生態系と森林の発達段階の関係を調査する必要があるが、森林の発達段階は河川生態系に強く影響し、どのような生物群集が成立するか予測し得る見通しがたった。日本は国土の大部分を森林が占め、その多くは人工林である。河川環境の保全、とくに生物多様性や生態系サービスの維持管理において、河川集水域の森林管理を盛り込んだ計画を立てる必要性を指摘する。また、安定同位体分析手法を多様性観測と併用することによって、食物連鎖や生態系ピラミッド、さらには生物多様性の複雑性指標から生態系の栄養転換効率や生産性を推定出来る可能性があり、今後、さらなる技術的応用にむけた研究の推進を建言する。

6. 国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない。

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文(査読あり)>

- 1) M. YOSHIMURA: Entomological Science, 15, 145-154 (2012)
“Effects of forest disturbances on aquatic insect assemblages”

<その他誌上発表(査読なし)>

特に記載すべき事項はない。

(2) 口頭発表(学会等)

- 1) 富樫博幸、徳地直子、陀安一郎: 日本生態学会第59回全国大会 (2012)
「山地渓流域の食物連鎖長: 決定機構に果たす生産性の役割」
- 2) 富樫博幸、加藤義和、石川尚人、吉村真由美、徳地直子、大手信人、由水千景、陀安一郎:
日本陸水学会 第77回大会 (2012)
「アミノ酸の窒素安定同位体比から読み解く山地渓流域の食物網構造-護摩壇山試験地の事例-」
- 3) 富樫博幸、加藤義和、石川尚人、尾坂兼一、吉村真由美、由水千景、徳地直子、陀安一郎、大手信人: 日本生態学会第60回大会 (2013)
「ミカン畑と魚類をつなぐ硝酸: 土地利用が河川生態系へ及ぼす影響に関する安定同位体解析」
- 4) 富樫博幸、加藤義和、石川尚人、吉村真由美、徳地直子、大手信人、由水千景、陀安一郎:
第124回日本森林学会大会 (2013)

「森林施業が河川生態系へ及ぼす長期的影響とその解明: 安定同位体比を利用して」

- 5) N. Tokuchi, H. Togashi, N. Ohte, M. Yoshimura, Y. Kato and N. Ishikawa: US-Japan Joint Seminar on Responses of Catchment Hydrology and Forest Biogeochemistry to Climatic and Environmental Change (2013)
“Interecosystem connection between forest and river: Nutrient linkages”
- 6) H. Togashi, Y. Kato, N. F. Ishikawa, Y. Kohmatsu, C. Yoshimizu, M. Yoshimura, N. Ohte, N. Tokuchi and I. Tayasu: International Symposium on Connectivity of Hills, Humans and Oceans (2013)
“Terrestrial versus aquatic resources contribution to stream food webs with various forest stand ages: Results from nitrogen isotopic ratios of amino acids”
- 7) N. Tokuchi, H. Togashi, N. Ohte, M. Yoshimura, Y. Kato and N. Ishikawa: US-Japan Joint Seminar on Responses of Catchment Hydrology and Forest Biogeochemistry to Climatic and Environmental Change (2013)
“Interecosystem connection between forest and river: Nutrient linkages”
- 8) H. Togashi and N. Tokuchi: 日本生態学会第61回大会 (2014)
“A difference in food web structures with various forest stand ages in headwater streams”
- 9) N. Ohte, H. Togashi, N. Tokuchi, M. Yoshimura, Y. Kato, N. Ishikawa, M. Kondo, I. Tayasu : Japan Geoscience Union Meeting 2014, Yokohama, Japan, 2014 (2014)
“How does anthropogenic nitrogen input affect the nutrient dynamics and food web structures? ”

(3) 出願特許

特に記載すべき事項はない。

(4) シンポジウム、セミナー等の開催（主催のもの）

特に記載すべき事項はない。

(5) マスコミ等への公表・報道等

特に記載すべき事項はない。

(6) その他

特に記載すべき事項はない。

8. 引用文献

- 1) W. F. Fagan, R. S. Cantrell, and C. Cosner (1999) How habitat edges change species interactions. *The American Naturalist*, 153: 165-182
- 2) R. Vannote, L. G. W. Minshall, K. W. Cummings, J. R. Sedell, and C. E. Cushing (1980) The river continuum concept. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 37: 130-137
- 3) S. G. Fisher and G. E. Likens (1973) Energy flow in Bear Brook, New Hampshire: An integrative approach to stream ecosystem metabolism. *Ecological Monographs*, 43: 421-439
- 4) 福島慶太郎、徳地直子 (2008) 皆伐・再造林施業が溪流水質に与える影響 -集水域単位で林齢

の異なるスギ人工林を用いて-. 日本森林学会誌, 90: 6-16

- 5) S. Nakano and M. Murakami (2001) Reciprocal subsidies: Dynamic interdependence between terrestrial and aquatic food webs. PNAS, 98: 166-170
- 6) 林野庁/平成24年度 森林・林業白書
- 7) 塚本良則 (1998) 『森林・水・土の保全—湿潤変動帯の水文地形学—』朝倉書店, 東京, 138pp.
- 8) G. E. Likens, F. H. Bormann, N. M. Johnson, D. W. Fisher, and R. S. Pierce (1970) Effects of forest cutting and herbicide treatment on nutrient budgets in the Hubbard Brook watershed - ecosystem. Ecological Monographs, 40:23-47
- 9) 金子有子、國松孝男、籠谷泰行、中島拓男 (2007) 森林流出水および森林動態の長期モニタリング. 滋賀県琵琶湖環境科学研究センター試験研究報告書, 3: 110-118
- 10) K. Fukushima, R. Tateno and N. Tokuchi (2011) Soil nitrogen dynamics during stand development after clear-cutting of Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) plantations. Journal of Forest Research, 16: 394-404
- 11) 高津文人、河口洋一、布川雅典、中村太士 (2005) 炭素、窒素安定同位体自然存在比による河川環境の診断. 日本応用生態工学会特集号, 7: 201-213
- 12) Y. Chikaraishi, N. O. Ogawa, Y. Kashiyama, Y. Takano, H. Suga, A. Tomitani, H. Miyashita, H. Kitazato and N. Ohkouchi (2009) Determination of aquatic food-web structure based on compound-specific nitrogen isotopic composition of amino acids. Limnol Oceanogr Meth, 7:740-750
- 13) Y. Chikaraishi, N. O. Ogawa, H. Doi and N. Ohkouchi (2011) $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ratios of amino acids as a tool for studying terrestrial food webs: a case study of terrestrial insects (bees, wasps, and hornets). Ecol Res, 26:835-844
- 14) C. Neal, B.Reynolds, M. Neal, H. Wickham, L. Hill and B. Pugh (2003) The impact of conifer harvesting on stream water quality: A case study in mid-Wales. Water, Air and Soil Pollution: Focus, 3: 119-138.
- 15) P.M. Vitousek and W.A. Reiners (1975) Ecosystem succession and nutrient retention: a hypothesis. BioScience, 25: 376-381
- 16) S. Kobayashi, T. Gomi, R. C. Sidle and Y. Takemon (2010) Disturbances structuring macroinvertebrate communities in steep headwater streams: relative importance of forest clearcutting and debris flow occurrence. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 67: 427-444
- 17) 水野信彦, 御勢久右衛門 (1972) 河川の生態学. 築地書館
- 18) 気象庁 和歌山地方気象台気象観測データ <http://www.jma.go.jp/jma/index.html>
- 19) J.C. Finlay, (2001) Stable carbon isotope ratios of river biota: implications for energy flow in lotic food webs. Ecology, 84: 1052-1064
- 20) R.L. France (2000) Comparing $\delta^{13}\text{C}$ among littoral foodwebs using lake DOC. Aquatic Ecology, 34: 445-448
- 21) H. Miyasaka and M. Genkai-Kato (2009) Shift between carnivory and omnivory in stream stonefly predators. Ecol. Res., 24: 11-19
- 22) 北村喜一、難波宣士 (1968) 樹根の抵抗力に関する現地試験 (II), 第79回日本林学会論文集, 360-361

(2) 集水域の栄養塩供給機構評価のための安定同位体指標の開発

国立大学法人東京大学

大学院農学生命科学研究科 森林科学専攻

大手信人

平成23(開始年度)～25年度累計予算額：13,377千円（うち、平成25年度予算額：3,003千円）
予算額は、間接経費を含む。

[要旨]

本サブテーマでは、上流水源域の森林から、中・下流の農地・都市域を経て湖沼・海洋などの沿岸にいたる一連の溪流・河川における水質その他の諸環境条件に、集水域の状況がどのように影響しているのかを評価するための安定同位体比指標を開発、提案することを目的として野外調査とモデルの構築を実施した。本研究によって、流域に存在する生活排水や農地からの排水に含まれる窒素の河川への流入が、流程各所で比較的ローカルに成立している生物群集の栄養源となっていることが明らかになった。下流に行くに従って人為起源の窒素の負荷が大きくなることは NO_3^- の窒素安定同位体比を指標とすることで明確にすることができ、人口密度や土地利用分類などの地理情報を援用することで、負荷源の寄与度までを推定することができた。負荷の大きい下流で、水棲生物群集が何等かの攪乱を受けて食物網構造に特異的な変化が見られるかどうかを検討したが、このケーススタディーでは、明らかな特異性は検出できなかった。しかしながら、このプロジェクトで進めた、窒素流入源の特定と寄与度の推定、生物群集の食物網構造へのインパクトの評価からなる一連の調査手法は、今後、河川と集水域の栄養塩を介した連関と、延いては健全性を評価していくプロトコルとして提案可能なものと考えられる。

[キーワード]

集水域、人為的 NO_3^- 流入、窒素安定同位体比 ($\delta^{15}\text{N}$)、マスバランスモデル、食物網構造

1. はじめに

本推進費による「生物多様性の機能評価のための安定同位体指標に関する研究」のなかで、本サブテーマの必要性は、河川生態系の生物群集の棲息を支える栄養塩の供給状態が、群集のバイオマスや構造にどのような影響を与えるのかを明らかにすることである。日本は国土の約68%が森林で占められ、水源地域の殆どを占める。さらに、多くの河川流域で中流域に農地、居住地を含み、下流域で都市を有するところがある。河川生態系の生物群集の生息環境や、生物にとっての資源確保にこうした流域の土地利用形態に起因する流入物質の影響が大きく関わることはこれまでも多くの研究事例で報告されている。河川生態系の機能の保全ばかりでなく、水資源の量的、質的な安定供給を確保するために、健全な森林・溪流（河川）環境の持続的な保全は不可欠である。近年、大気降下物による過剰な窒素の森林への負荷や、人工林の管理不足等による物質循環の劣化が懸念され、溪流・河川水への影響予測の必要性が高まっている。また、上流からの過剰な栄養塩類の負荷は河川生態系の生物群集の構造に攪乱をもたらし、それによるさらなる水質の悪化という負のフィードバックをもたらす可能性も指摘される（例えばRabalais¹⁾）。1970年代の

酸性雨問題に関する研究以降、水源地である森林溪流・河川水の水質形成に関する研究は北米、北欧を中心に多大な蓄積を残してきている（例えば、Likens and Butler²⁾）。近年は、大気降下物でもたらされる過剰な窒素化合物が、森林生態系の窒素循環に与える攪乱のメカニズムと影響に関する研究が盛んに行われている³⁾。また、過剰な栄養塩の河川への負荷が生態系の食物網や群集構造に与える影響については主として、北米の河川を中心に研究の蓄積が多い（例えばAnderson and Cabana⁴⁾）。

これらに対して、日本では河川の最上流から下流域までの全流程を対象として栄養塩の流入とその河川生態系の生物群集の構造や機能に与える影響に関する総合的な調査は殆ど行われていない。

2. 研究開発目的

本サブテーマでは、上流水源域の森林から、中・下流の農地・都市域を経て湖沼・海洋などの沿岸にいたる一連の溪流・河川における水質その他の諸環境条件に、集水域の状況がどのように影響しているのかを評価するための安定同位体比指標を開発、提案することを目的としている。

筆者らのグループは、前節で述べたように研究蓄積の多い欧米とは大きく異なる、アジアモンスーン影響下の特徴的な気候水文環境において、これまでに森林流域からの栄養塩、有機物流出機構を明らかにしてきた。また、過剰な栄養塩の流入が河川生態系に及ぼす影響に関して、生元素の同位体比をトレーサーとして用いた研究を進めてきた⁵⁾。本研究ではこれらによって提案されてきた手法を用い、我が国の河川において適用可能な栄養塩流入の影響評価のための安定同位体指標やツールを開発することを目的として、野外調査とモデルシミュレーションを組み合わせた検討を行った。

3. 研究開発方法

(1) 有田川流程における水質調査と生物試料サンプリング

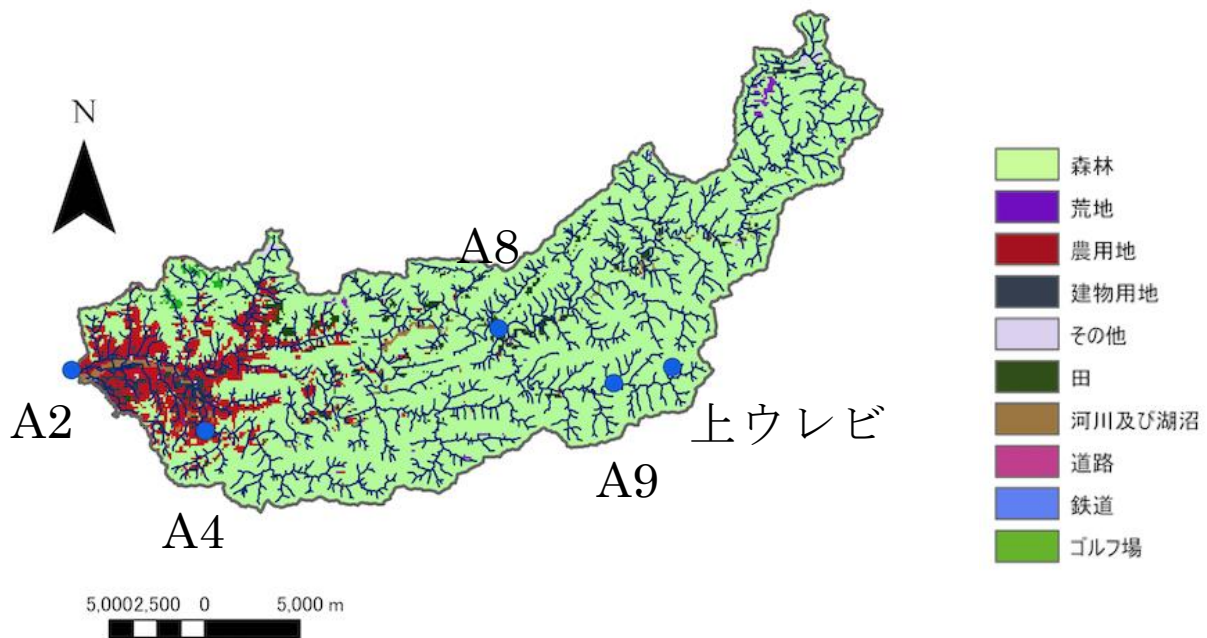
集水域の土地利用の相違に着目して、窒素と炭素の安定同位体比指標を利用した溪流・河川水の水質、生物群集の特徴に関するシノプティックな調査を行った。

森林伐採を定期的に行っており各林分の履歴が正確に分かっている京都大学フィールド科学教育研究センター和歌山研究林を上流に含む有田川集水域。中流域には柑橘系の果樹園を中心とする農地と居住地、下流には市街地を含む（図(2)-1）。国土数値情報土地利用細分メッシュデータ⁶⁾をもとに作図した土地利用、水系、試料採取ポイントの位置を図(2)-2に示す。採取ポイントごとの集水域について集水面積と土地利用の状況を表(2)-1に整理する。

有田川集水域は、全集水面積の80%以上が森林で占められているが、中下流域には大面積の果樹園が広がっている。果樹園面積の増加に伴って河川水中の硝酸イオン（NO₃⁻）濃度が上昇するという先行研究⁷⁾もあり、人為的な窒素の流入が顕著に見られる流域である。中流上部のA8地点に近い清水町での1976～2013年の年降水量の平均値は1952mm、年平均気温は13.7℃である。



図(2)-1 有田川における生物・水試料の採取ポイントの位置



図(2)-2 有田川流域の土地利用分類図(国土数値情報土地利用細分メッシュデータ⁶⁾から作成)、青点は試料採取ポイントの位置を示す。

(2) 調査の概要と試料の採取方法

有田川集水域に関する調査はサブテーマ(1)、(3)と共同で、2011年9月26-28日と2012年1月26-28日、5月9-11日、10月26-28日の4回の流程調査を実施した。調査は、藻類、水生昆虫、それ以外の底性生物、魚類を含む生物採集と溶存成分、懸濁態成分の分析のための水試料の採取からなる。水試料の採取法、分析項目、分析法を表(2)-2にまとめる。試料の採取地点は図(2)-2に示す上流(A9)から下流(A2)までの4点であるが、それに加え、有田川の最上流部の一次谷として、京都

大学フィールド科学教育研究センター和歌山一次谷研究林内のウレビ谷において、サブテーマ(1)の護摩壇山試験地での調査が行われた10月23-26日に併せて同様のサンプリングが行われたので、そのデータを加えておく。水質についての測定項目のうち、水温、pH、電気伝導度(EC)、溶存酸素濃度(DO)、流速は、原位置で測定した。

本サブテーマでは、主として栄養塩類の濃度やそれらの流入経路に着目する。特に、窒素の河川への流入、その生物群集の食物網への影響を把握する必要があるため、溶存態では硝酸イオン(NO_3^-)の窒素と酸素の安定同位体比を、脱窒菌法⁸⁾を用いて測定した。その上で、生物試料の組織の窒素安定同位体比測定し、一次生産者が利用する無機塩の窒素安定同位体比の河川、流程毎の変異がどのように生物群集の窒素安定同位体比に反映しているかを調べる。

表(2)-1 有田川流域の試料採取ポイントにおける集水面積と土地利用状況

	A2	A4	A8	A9	上ウレビ
集水面積(km ²)	434.84	336.24	190.36	15.57	0.31
集水面積に対する面積比率(%)					
森林	84.5	94.1	95.5	100.0	100.0
荒地	0.4	0.5	0.7	0.0	0.0
水田	2.2	1.9	1.4	0.0	0.0
その他の農用地	8.8	1.4	0.1	0.0	0.0
建物用地	2.0	0.9	1.2	0.0	0.0
河川及び湖沼	1.3	1.0	0.7	0.0	0.0
道路	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
鉄道	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
ゴルフ場	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0
その他の用地	0.3	0.2	0.4	0.0	0.0

(3) 河川への窒素流入量の集水域地理情報を用いたモデル化

上記の手法で収集された NO_3^- 濃度、 NO_3^- の窒素安定同位体比のデータを用い、流域の土地利用状況を用いて流入窒素の起源と負荷を推定するモデルを構築した。対象流域の土地利用状況は、国土数値情報土地利用細分メッシュデータ⁷⁾を、ArcGISを用いて整理し、各採水・生物採集地点ごとに統計値を算出した。各地点における集水域の人口統計値は、平成22年度国勢調査統計データ⁹⁾をもとに集水域単位に集計して作成した。

表(2)-2 有田川における水質調査項目と処理方法

項目	サンプリング量	サンプリング時の処理法	準備	実験室での処理	保存方法
<水Total>					
水同位体	10mlバイアル	(共洗い不要)	ピンを焼く	—	キャップをきつく締め、常温
DIC濃度	20ml	直接採水	塩酸洗浄した20mlガラスバイアル/セプタム	—	<速やかに分析>
DII3C	34ml	直接採水	塩酸洗浄した34mlガラスバイアル/セプタム	—	塩化水銀固定
TN, TP	20ml	直接採水	塩酸洗浄	—	冷凍
電気伝導度	100mlDOピン	(共洗い)	—	—	水中に保存
<懸濁態・<150μm>					
C/N濃度 & 同位体比	20L		20Lポリタンク/あらかじめ450°C5時間焼いておいた47mmGF/F	GF/Fろ過。ろ液はDO13CおよびDO14C分析に用いる	60°C乾燥
PP濃度	0.1L~	現場で河川水を汲み、20Lポリタンクへ移す	あらかじめ450°C5時間焼いておいた25mmGF/F焼き+酸処理	GF/Fろ過	冷凍
クロロフィルa濃度	0.1L~		あらかじめ450°C5時間焼いておいた25mmGF/F	GF/Fろ過	冷凍
DOC濃度	~50mL		あらかじめ450°C5時間焼いておいたガラスバイアル	ろ液をガラスバイアルに集め、塩酸添加。TOC-5000Aにて濃度測定	塩酸性、冷蔵(早く測定)
<溶解態>					
NO2,NO3,PO4,DON,DOP	(100 ml)	47GF/F現場ろ過	47GF/F焼き+酸処理ポリピン等塩酸洗浄 250mlピンを焼く	—	冷凍
NH4	(10ml)			—	<速やかに分析>
15NO3	(20ml)			塩酸添加	塩酸性pH2以下、冷蔵 or 常温
SO4他Macro Nutrients	50ml	0.45μmシンジジフィルタ現場ろ過	—	—	冷凍
15NH4	4L	0.45μmシンジジフィルタ現場ろ過	—	—	培養
SiO2	20ml	0.45μmシンジジフィルタ現場ろ過	—	—	冷蔵
Sr同位体比	100ml	0.45μmシンジジフィルタ現場ろ過	—	—	常温
ICP分析項目	50ml	0.45μmシンジジフィルタ現場ろ過	—	—	硝酸酸性(6規定を1ml)、常温

集水域内のNO₃⁻態窒素のソースと考えられる主要なものは、森林等の自然に近い生態系の土壌からの溶脱、人家等の生活排水中の窒素、農地から流出する主として肥料由来の窒素等である。これらの河川への流入を考慮し、NO₃⁻態窒素、窒素の安定同位体のマスバランスを計算するモデルを構築した。観測地点における河川水のNO₃⁻態窒素安定同位体比 $\delta^{15}\text{N}_R$ は式(2)-1で表される。

$$\delta^{15}\text{N}_R = (L_B * \delta^{15}\text{N}_B + L_A * \delta^{15}\text{N}_A + L_O * \delta^{15}\text{N}_O) / (L_A + L_B + L_O) \quad \text{[式(2)-1]}$$

ここで、L_A、L_O、L_Bは、それぞれ生活排水、水田以外の農地からの排水、森林からの流出によるNO₃⁻の負荷量、 $\delta^{15}\text{N}_B$ 、 $\delta^{15}\text{N}_A$ 、 $\delta^{15}\text{N}_O$ は、生活排水、水田以外の農地からの排水、森林からの流出水のNO₃⁻の $\delta^{15}\text{N}$ を表し、以下の式で定義される。

$$L_A = C_A * Q_A * P \quad \text{[式(2)-2]}$$

$$L_O = C_O * Q_T * R_O \quad \text{[式(2)-3]}$$

$$L_B = C_B * (Q_T - Q_A * P - Q_T * R_O) \quad \text{[式(2)-4]}$$

各変数の定義は、以下の通りである。

C_A: 生活排水のNO₃⁻濃度、Q_A: 1人、1日当たりの生活排水量、P: 観測地点の集水域の人口密度、C_O: 水田以外の農地からの排水のNO₃⁻濃度、Q_T: 1日当たりの平均的な河川流量、R_O: 観測地点の集水域の水田以外の農地面積率、C_B: 森林からの流出水のNO₃⁻濃度。

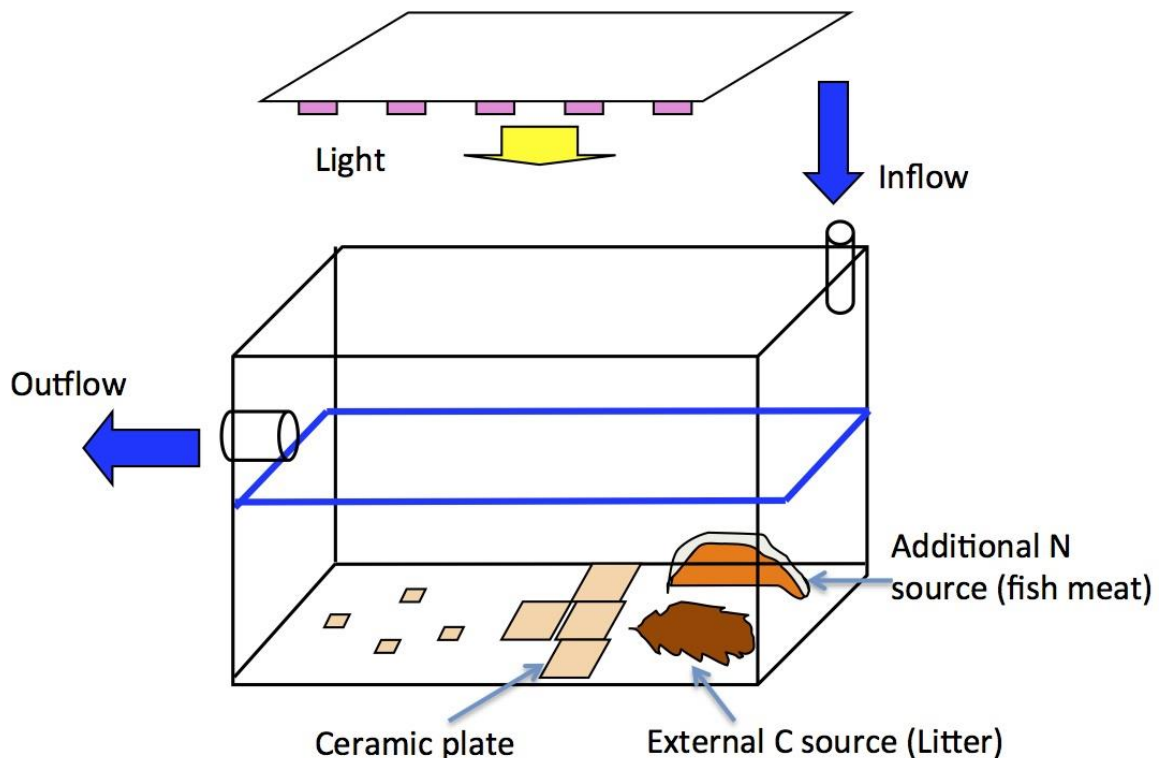
観測地点におけるNO₃⁻濃度C_Rは以下の通りである。

$$C_R = (C_B * (Q_T - Q_A * P - Q_T * R_O) + C_A * Q_A * P + C_O * Q_T * R_O) / Q_T \quad \text{[式(2)-5]}$$

各パラメータの値は、生活排水の NO_3^- 濃度、1人1日当たりの生活排水量、生活排水の NO_3^- 濃度は、Ohteら⁵⁾で滋賀県の琵琶湖集水域のモデリングで用いられた値に習い決定した。集水域の人口密度は上述のように平成22年度の国勢調査データを用い、観測地点の集水域ごとに集計して求めた。1日当たりの平均的な河川流量は、この地域の降水量と蒸発散量の年間平均値から推定した。観測地点の集水域の水田以外の農地面積率は、上述の国土数値情報土地利用細分メッシュデータから計算した。森林からの流出 NO_3^- 濃度は、上流の観測地点A9での4回の平均値を用いた。水田以外の農用地排水の NO_3^- 濃度と、その $\delta^{15}\text{N}$ を未知数とし、このパラメータを試行錯誤によって決定し、得られた推定値の妥当性を検証した。

(4) 各観測地点における生物群集の食物網構造の記述と窒素の負荷の影響についての検討

生物試料の窒素安定同位体比の測定値を用い、サブテーマ(4)で提案されている食物網フローネットワークのアンフォールディング手法を適用することで、各地点、季節ごとの食物網構造のキャラクターゼーションを行った。この手法を用いることによってそれぞれの食物網について栄養ピラミッドを描くことができ、食物網構造の複雑性を示す3つの指標を得ることができる。1) 栄養段階あたりの種の多様性 (D_H)、2) 1種が所属する栄養段階の多様性 (D_V)、3) 栄養段階の数の多様性 (D_C)。食物網フローネットワークのアンフォールディングの理論や手法の詳細については、サブテーマ(4)の項目を参照されたい。



図(2)-3 実験用水路

(5) 溪流・河川における藻類の硝酸吸収速度の制御要因の解明についての操作実験

上記の調査において、有田川流程において溶存 NO_3^- の窒素安定同位体比 ($\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$) と一次生産者である底生藻類の同位体比 ($\delta^{15}\text{N}_{\text{al}}$) のモニタリングを実施されたが、下流で両者は近い値を示すが、上流ほど $\delta^{15}\text{N}_{\text{al}}$ の方が $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$ より低くなる傾向が見られた。このことは底生藻類の NO_3^- 吸収に上・下流で異なる条件が影響しているか、窒素源の差異があることを示唆している。こうした NO_3^- 吸収を制御する要因を明らかにするため、光、窒素の負荷、藻類を摂食する底生動物の有無などを変化させる操作実験を実施した。有田川最上流部の渓岸に位置する、京大フィールド研和歌山研究林事務所の敷地内に渓流水を導入し、一つのユニットが図(2)-3のような水路を複数設置した。実験条件は表(2)-3の通りである。水路内に必要な処理を施した後、流水条件を持続する。この間に藻類は水路内に設置した陶板上 (45×45mm、4枚) に増殖する。20日後に、呼吸量、酸素生成速度等の測定を行った後に、水路内の水と藻類を採取した。溶存 NO_3^- の窒素安定同位体比は、京都大学生態学研究センターにて微生物脱窒菌法⁸⁾を用いて測定した。藻類の試料は陶板から剥離させて純水に懸濁させた後にグラスファイバーフィルター (GF/F) で捕集した。試料の窒素安定同位体比は海洋研究開発機構において、元素分析計付き質量分析計を用いて測定した。窒素源を負荷した処理の繰り返しは3、それ以外の各処理の繰り返しは6である。

表(2)-3 実験ユニットの諸条件

実験条件	
共通	
ユニット内水量	3,500 mL
流量	12.3 mL s ⁻¹
炭素源	ミズナラ(落葉) 5g
処理	
光量	強光: 300 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 弱光: 15 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$
窒素源	サクラマス(筋肉組織) 18g 有・無
藻類食動物	ヒメフタオカゲロウ 8 個体 ヨコエビ 15 個体 有・無

4. 結果及び考察

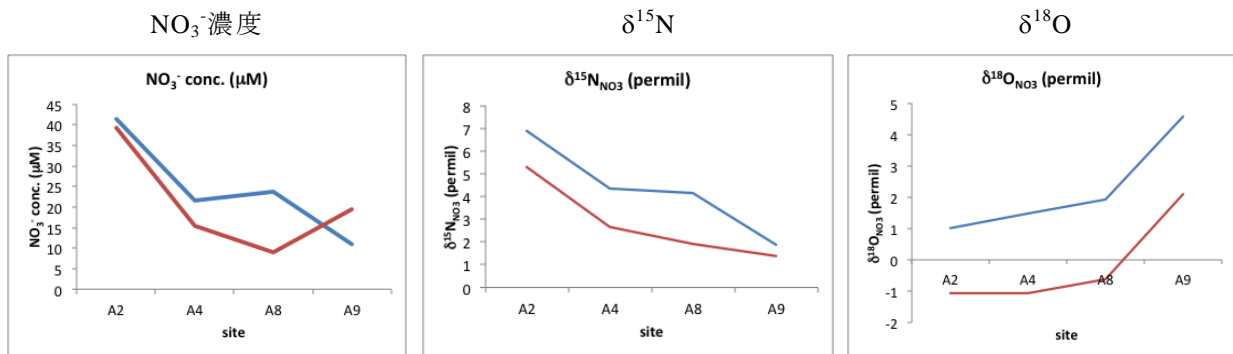
(1) 流程における NO_3^- の安定同位体比

図(2)-4 に、有田川の2012年1月と5月の調査での、上流(A9)から下流(A2)までの4地点における河川水の硝酸の濃度、窒素と酸素の安定同位体比 ($\delta^{15}\text{N}$ と $\delta^{18}\text{O}$) を示す。濃度は下流に行くに従って上昇し、それに呼応して $\delta^{15}\text{N}$ が上昇していた。 $\delta^{18}\text{O}$ は反対に低下していくことがわかる。この傾向は2004年に実施された野洲川における調査での NO_3^- の安定同位体比の傾向と類似している。また、白濱⁹⁾による有田川の調査でも、下流ほど NO_3^- 濃度が上昇していた。また、この調査結果では流域面積に対する果樹園面積の割合と NO_3^- 濃度との間に正の相関関係があることが指摘されている。Ohteら⁵⁾の野洲川での観測の場合も NO_3^- 濃度の上昇と $\delta^{15}\text{N}$ の上昇に対応関係が見られ、これについては、生活排水由来の NO_3^- の流入が主要因であることが結論づけられた。有田川の場合、果樹園

の増加と $\delta^{15}\text{N}$ の上昇との間に相関関係があることから、この対応関係には2つの原因が考えられる。一つは、果樹園において動物性タンパク質由来の肥料の使用があり、それを起源物質とする NO_3^- が顕著な量、河川に流入していること。もう一つは居住人口の増加に伴って、生活排水由来の NO_3^- の流入が増加することである。この寄与に関する検討は、後述のモデルシミュレーションを用いて行った。結論としては、果樹園での施肥によって投下された窒素の NO_3^- での流出の方が、より寄与が大きいということが示された。

(2) 生物群集の $\delta^{15}\text{N}$ と NO_3^- 流入の関係

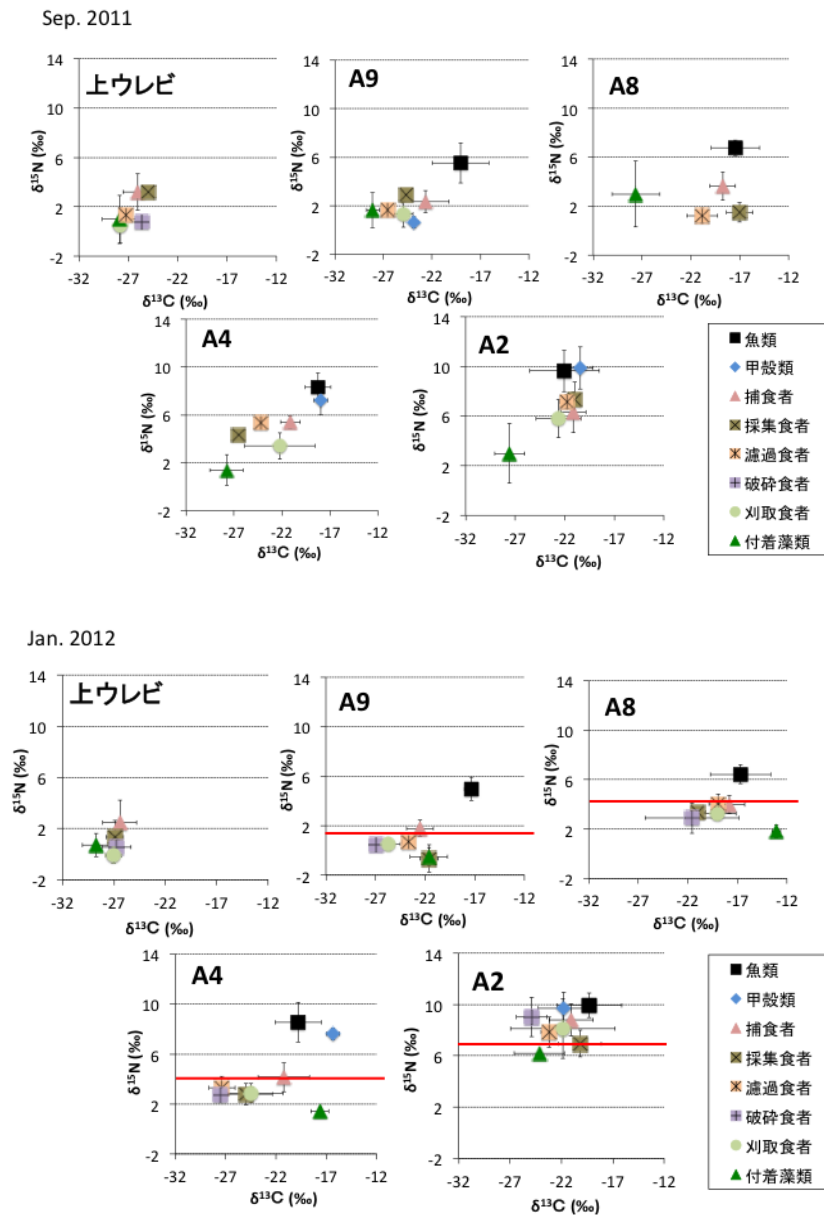
図(2)-5に、有田川の2011年9月と2012年1月の調査における生物試料の $\delta^{15}\text{N}$ と炭素安定同位体比 $\delta^{13}\text{C}$ の値を、試料採取地点毎に示す。各地点において $\delta^{15}\text{N}$ は、底性の藻類・落葉のデトリタス食の水生昆虫で低く、肉食性の昆虫、魚類などで高かった。これらは各生物機能群の栄養段階を概ね反映した値であった。 $\delta^{13}\text{C}$ は、どの地点もばらつきが大きい、低次の栄養段階の水生昆虫が水中で光合成を行う藻類に依存しているか落葉の分解物に依存しているかによって変動の幅が決まっていることは示唆されている。



図(2)-4 有田川流程の4地点における NO_3^- の濃度、 $\delta^{15}\text{N}$ 、 $\delta^{18}\text{O}$

— Jan. 29-30, 2012 — May. 9-10, 2012

図(2)-4中には、その地点の NO_3^- の $\delta^{15}\text{N}$ も示しているが、その値が上流から下流に上昇することに呼応して、低次の栄養段階の水生昆虫の $\delta^{15}\text{N}$ が高くなり、流下している NO_3^- を栄養としてそれぞれのローカルな食物網の基盤としての一次生産が行われていることが示唆される。この傾向は両時期において大きな違いは見られなかった。これらの事から、1) 河川の流下過程で人為的な窒素を起源とする NO_3^- が顕著に濃度を上昇させる量で流入していること。2) この NO_3^- 態窒素は、比較的ローカルな各地点において一次生産者に利用され、その上位の栄養段階にある生物群集へと伝達されていることが明らかになった。ただし、流程における河川水の NO_3^- の $\delta^{15}\text{N}$ の上昇と生物の $\delta^{15}\text{N}$ の上昇が呼応していることは明らかであるが、直接の吸収者であると考えられる底生の付着藻類と NO_3^- の $\delta^{15}\text{N}$ は必ずしも一致していない。2012年1月の観測では NO_3^- に比べて、付着藻類の $\delta^{15}\text{N}$ 値は最下流のA2で0.5‰、中上流では2‰程度低い。付着藻類と溶存 NO_3^- の $\delta^{15}\text{N}$ の対応関係については、後述する操作実験において検討した。



図(2)-5 有田川流程の4地点および上ウレビにおける生物の $\delta^{15}\text{N}$ と $\delta^{13}\text{C}$ 。赤線は各地点における NO_3^- の $\delta^{15}\text{N}$ を示す。

(3) 流程における生物の機能群ごとの栄養段階の変化

本サブテーマで着目していることの一つに、栄養塩の過剰な流入があり、いわゆる富栄養条件が生じた場合に生物群集の食物網構造に何等かの変化が生じないかということがある。作業仮説としては、以下のことを想定している。一次生産者（藻類）の多様性が減少し、消滅した藻類に依存していた消費者とそれを摂食していた捕食者が消滅し、結果として捕食者の機能群の多様性も減少する。これに伴い、一次生産者から最高次捕食者までの栄養段階の距離が短くなるという事である。

表(2)-4 2011年9月、2012年1月の有田川流程における魚類と付着藻類の平均 $\delta^{15}\text{N}$ 値と魚類の栄養段階

	付着藻類の $\delta^{15}\text{N}$ (‰)		魚類の $\delta^{15}\text{N}$ (‰)		魚類の栄養段階	
	2011/9	2012/1	2011/9	2012/1	2011/9	2012/1
A2	2.99	6.17	9.62	9.96	2.95	2.11
A4	1.38	1.42	8.33	8.36	3.04	3.04
A8	2.99	1.84	6.77	6.43	2.11	2.35
A9	1.65	-0.52	5.53	4.97	2.14	2.61

表(2)-4に、図(2)-5に示した生物の窒素同位体比の機能群ごと平均値から求めた栄養段階をしめす。栄養段階上の位置(trophic position :TP)は以下の式に従って計算した。

$$\text{栄養段階(TP)} = (\text{各機能群の平均}\delta^{15}\text{N} - \text{付着藻類の平均}\delta^{15}\text{N}) / 3.4 + 1 \quad \text{[式(2)-6]}$$

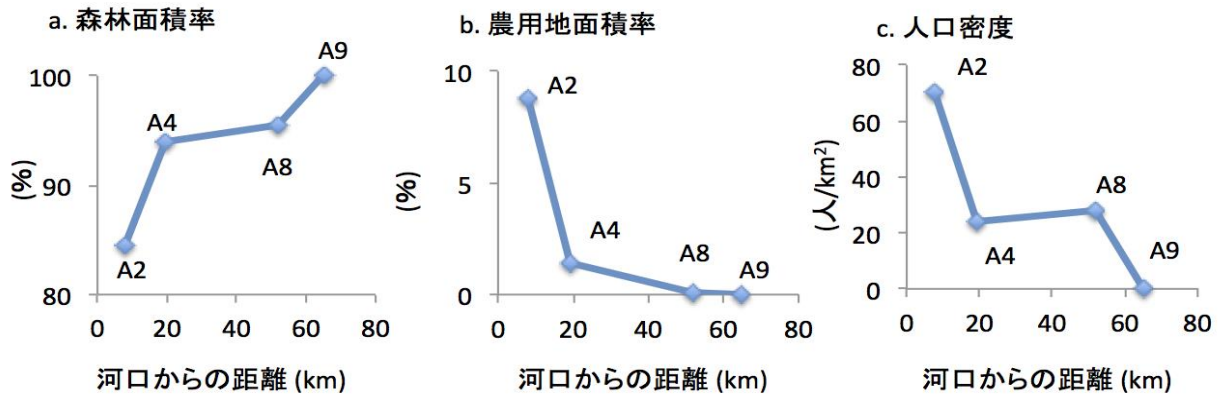
2季節、各地点における付着藻類と魚類の $\delta^{15}\text{N}$ は、他の機能群に比べて比較的ばらつきは小さかった。魚類の推定された栄養段階は、上流で2.1~2.6、中流のA4で最も高くなる(3.0)。ここまでの流程では、付着藻類と魚類との間の $\delta^{15}\text{N}$ の差は季節ごとの差は大きくない。しかし、最下流のA2では、魚類の $\delta^{15}\text{N}$ が時期で大きく変化しないのに対して、藻類の $\delta^{15}\text{N}$ は2012年1月に2011年9月に比べて著しく高くなり、結果、魚類の栄養段階が低下していた。各地点で採取された魚類に、同等に比較できる最上位の捕食者が必ずしも含まれているとは限らないが、 NO_3^- 濃度と $\delta^{15}\text{N}$ が高い最下流A2において、一次生産者と上位捕食者との間の食物連鎖長が短縮されることがあることが示唆される。

(4) 河川への窒素流入量の集水域地理情報を用いたモデル化

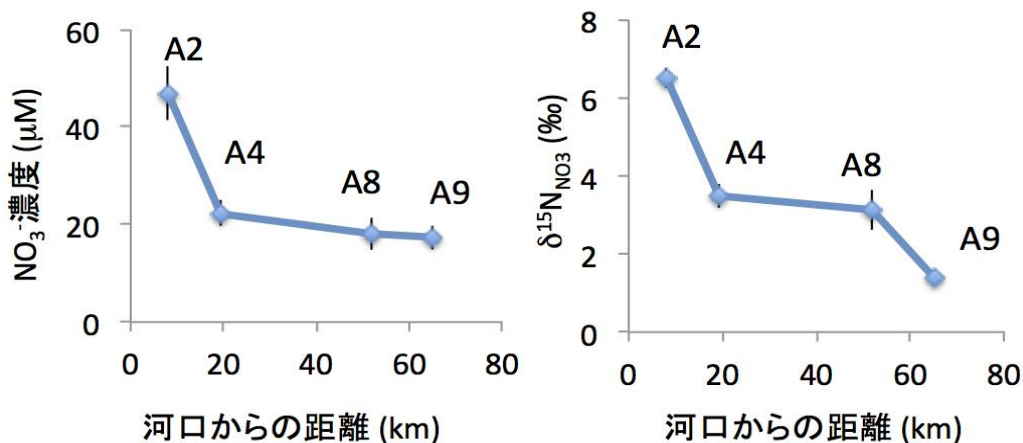
図(2)-6a,bは、図(2)-2で示した国土数値情報土地利用細分メッシュデータ⁷⁾に基づく土地利用分類の統計値から算出される、流程上の観測地点における集水域内の森林面積の比率と「水田以外の農用地」面積の比率を示している。また、図(2)-6cは平成22年度国勢調査統計データ⁹⁾から集計された集水域ごとの人口密度の変化を表している。地点A4より下流で急激に「水田以外の農用地」が増加することがわかる。水田以外の農用地は、この流域の場合ほぼ全てが柑橘類の果樹園で占められている。図(2)-7は、これまでに実施した4回の調査での NO_3^- 濃度と $\delta^{15}\text{N}$ を示している。地点A4からA2にかけての流程で、 NO_3^- の濃度と $\delta^{15}\text{N}$ の両者が急激に増加している。このことから果樹園の増加に対応した NO_3^- 流入の増加が示唆される。表(2)-5に各調査地点の集水域についての地理的情報を整理しておく。

図(2)-8に、前節で示したモデルを用いてシミュレートした NO_3^- 濃度と $\delta^{15}\text{N}$ の流程での変化を示す。この計算に用いたパラメーターセットは表(2)-5に示す。また、図(2)-9に水田以外の農用地からの排水による NO_3^- の負荷がないと仮定したときのシミュレーションの結果を示す。図(2)-8と9の計算結果の比較から、A4以下の地点においては、果樹園排水による NO_3^- の負荷が生活排水の NO_3^- 負荷に比べて、濃度、 $\delta^{15}\text{N}$ の上昇により強く影響していることが明らかになった。果樹園排水の NO_3^-

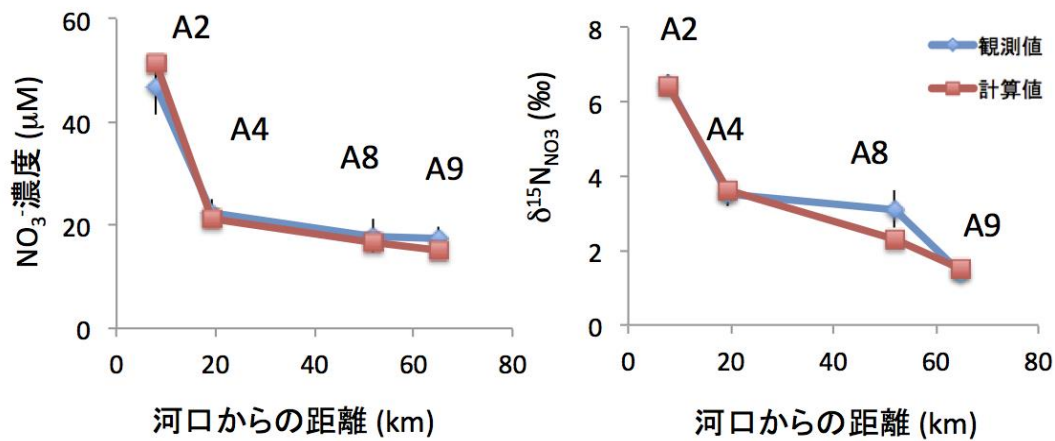
濃度と、その $\delta^{15}\text{N}$ は、シミュレーションの結果が観測値に適合するように決定されたが、それらの値は、既往の研究事例（例えば中村ら¹⁰⁾）で示されている農地排水の観測値と類似の値であった。一般に化学合成肥料由来の NO_3^- の $\delta^{15}\text{N}$ の値は $-10\sim 5\%$ と広いレンジをとるが¹¹⁾、鶏糞等を含む堆肥の由来の NO_3^- の窒素同位体比は正の高い値をとることが推測できる。果樹園での施肥には、一般に流動性の低い堆肥が使用されることが多く、ここで行ったシミュレーションの結果は、果樹園に使用された肥料由来の NO_3^- の河川への流出が顕著であったことを示すものと考えられる。



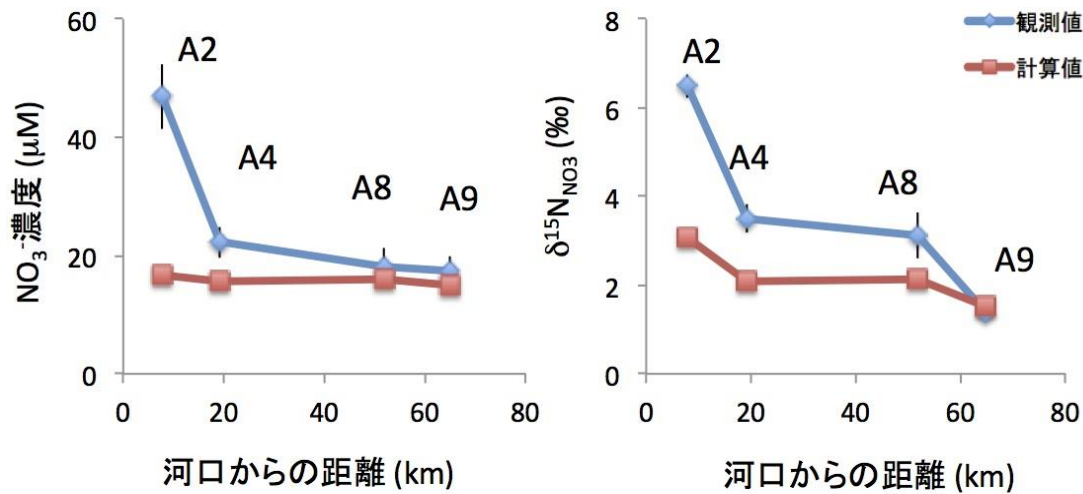
図(2)-6 試料採取地点の集水域における a) 森林面積率、b) 水田以外の農用地面積率⁶⁾、c) 人口密度⁹⁾



図(2)-7各試料採取地点における NO_3^- 濃度、 $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$ （エラーバーは標準誤差を示す）



図(2)-8 各試料採取地点における NO_3^- 濃度、 $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$ のモデルによる計算結果（観測値のエラーバーは標準誤差を示す）



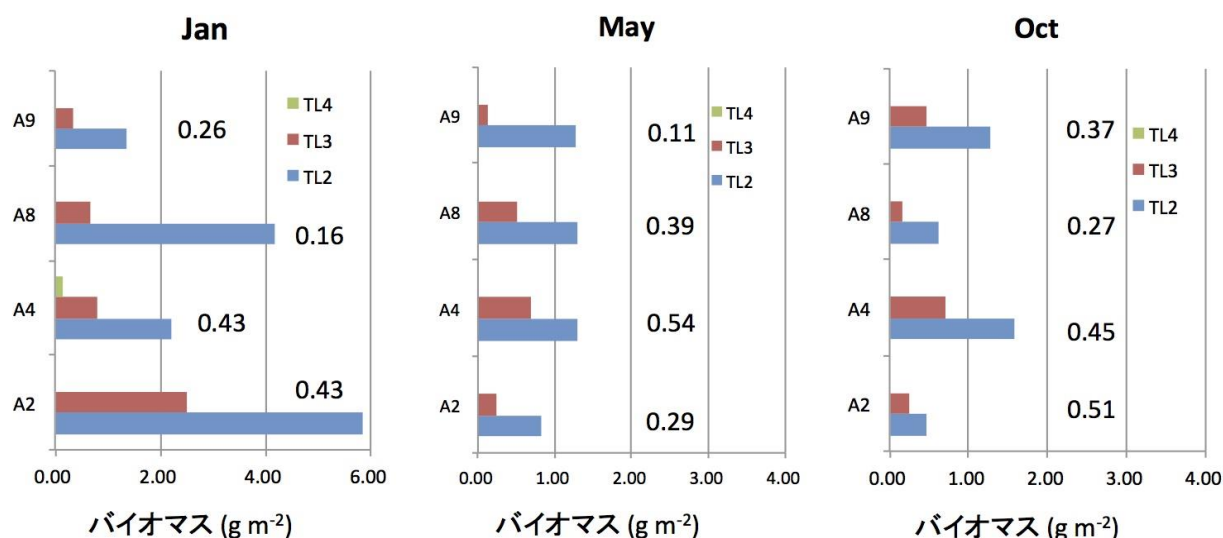
図(2)-9 各試料採取地点における NO_3^- 濃度、 $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$ の、水田以外の農用地からの NO_3^- 流出がないと仮定した場合のモデルによる計算結果（観測値のエラーバーは標準誤差を示す）

表(2)-5 河川水の NO_3^- 濃度と $\delta^{15}\text{N}$ のシミュレーションに用いたパラメータ

C_A	生活排水の NO_3^- 濃度	350 μM
C_O	水田以外の農地からの排水の NO_3^- 濃度	400 μM
C_B	森林からの流出水の NO_3^- 濃度	15 μM
Q_T	1日当たりの平均的な河川流量	2400 $\text{kL day}^{-1} \text{km}^{-2}$
Q_A	1人、1日当たりの生活排水量	0.3 $\text{kL day}^{-1} \text{km}^{-2}$
$\delta^{15}\text{N}_A$	生活排水の $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$	10 ‰
$\delta^{15}\text{N}_O$	水田以外の農地における排水の $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$	8 ‰
$\delta^{15}\text{N}_B$	森林からの流出水の $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$	1.5 ‰

(5) 各観測地点における生物群集の食物網構造の特徴と窒素負荷の影響について

図(2)-10は、各季節、各地点において採取された生物群集の栄養ピラミッドである。各数値の計算は、以下の手順で行われている。測定された生物試料の種ごとの $\delta^{15}\text{N}$ から、前述の式(1)-6に従って栄養段階上の位置 (trophic position: TP) を計算する。これらの種ごとに決められた栄養位置(TP)は小数部分を含むが、この値をもとに、食物網フローネットワークのアンフォールディング手法 (サブテーマ(4)参照) を用いて、整数値で表される栄養段階 (TL)にそれぞれの測定されたバイオマスを分配し、栄養段階ごとのバイオマスを算出する。



図(2)-10 各試料採取地点、時期における生物群集の栄養ピラミッド

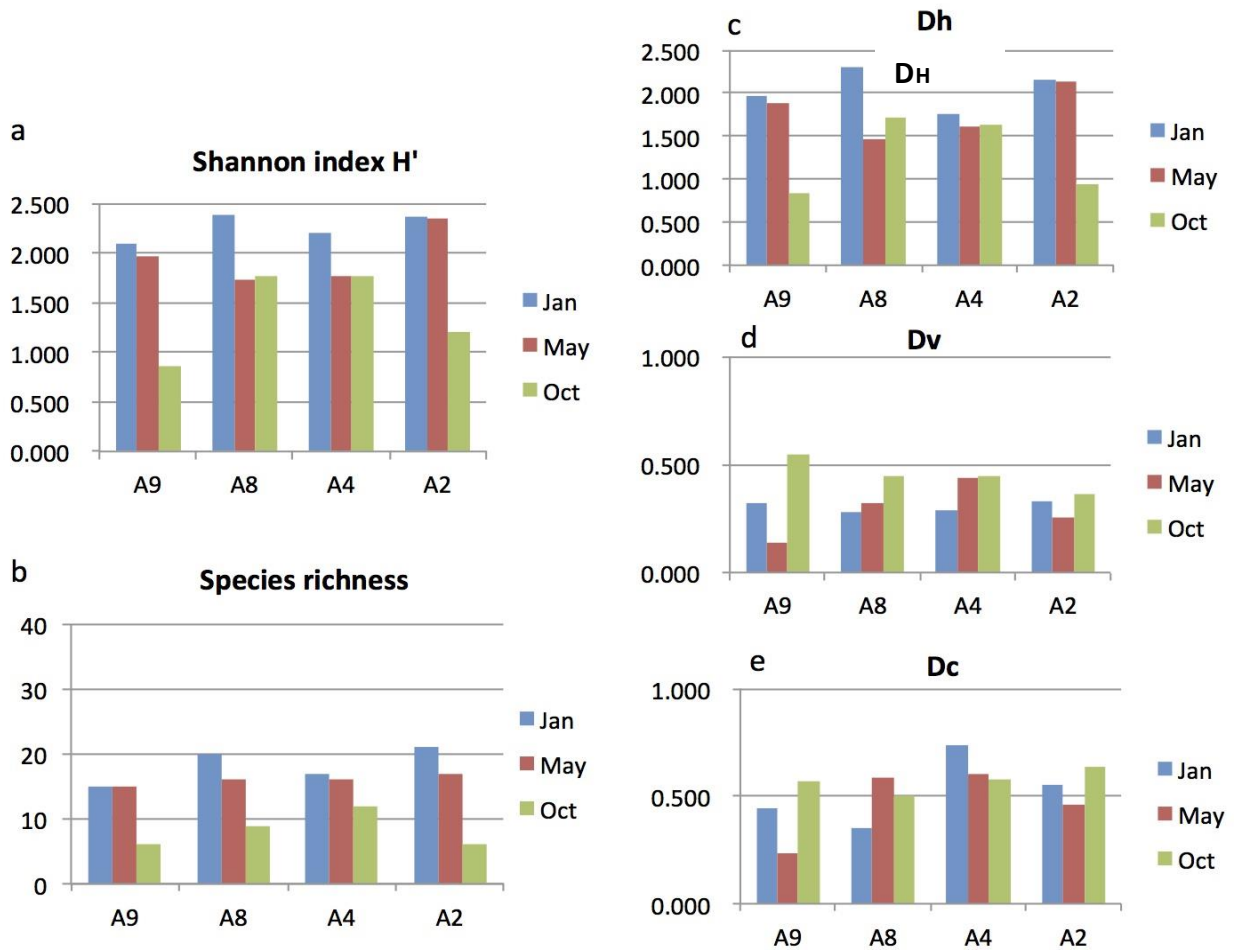
バイオマスは、上流のA9を除いて大きな季節変動が見られ、A8、A2（最下流）で冬季に顕著に大きくなっていった。他方、総バイオマスの季節変動の大きさに比べて、捕食者 (TL3 + TL4)と植食者TL2の現存量の比は小さく各季節、各地点の群集の食物網の構造が保たれていることが示唆された。

これら、アンフォールドされた栄養段階ごとのバイオマスデータを用いて算出された、栄養段階あたりの種の多様性 (D_H)、1種が所属する栄養段階の多様性 (D_V)、栄養段階の数の多様性 (D_C)、加えてShannon-Wienerの多様度指数 (H')と種数を、各季節、各地点について示す(図(2)-11)。

どのインデックスについても、地点間で際立った特徴は見られなかった。但し、10月にA9、A2で多様度指数 (H')、種数、 D_H が他の地点に比べて低下しているが、この原因については特定できない。しかしながら、多様度指数 (H')と種数、 D_H の地点間、季節間での変動のパターンが類似していることから、各群集の種の均等度にばらつきが小さいことが示唆される。

以上のことから、バイオマスの季節変動については地点間で変動の幅に違いが見られたが、栄養段階ごとのバイオマスの大小関係や、食物網の複雑性に大きな差異は認められなかった。下流のA2地点では上流側の他の地点に比べて栄養塩濃度は顕著に高く、一次生産へのその影響が、バイ

オマスの季節変動の大きさに表れていたと考えられる。しかしながら、食物網の構造、複雑性については、そのことに起因する差異が生じていたと結論づけることはできなかった。



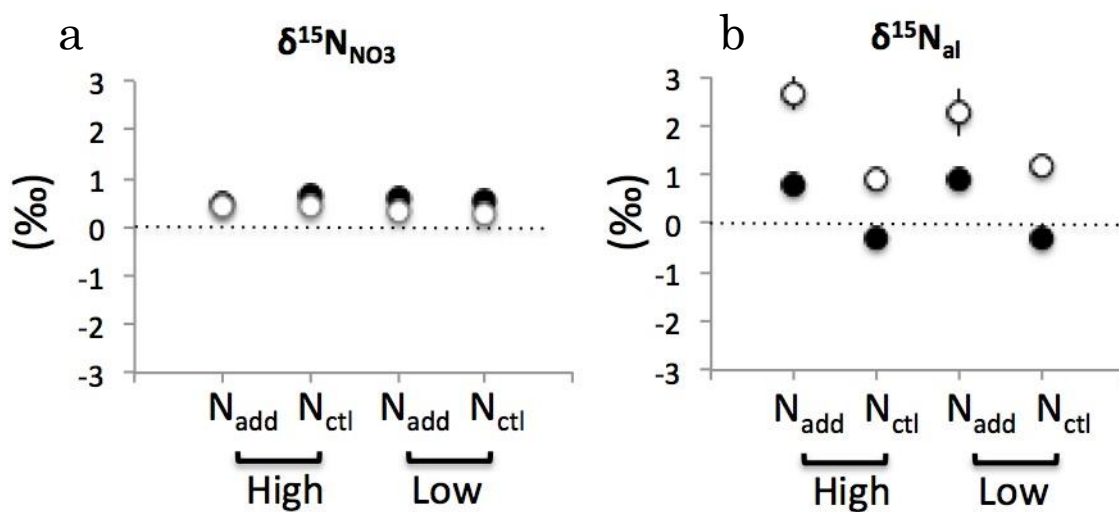
図(2)-11 各試料採取地点、時期における生物群集の多様度に関するインデックス： a) Shannon-Wiener の多様度指数 (H')、b) 種の豊富さ (species richness)、c) 栄養段階あたりの種の多様性 (D_h)、d) 1 種が所属する栄養段階の多様性 (D_v)、e) 栄養段階の数の多様性 (D_c)

(6) 溪流・河川における藻類の硝酸吸収速度の制御要因

溶存 NO_3^- の窒素同位体比 $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$ は、0.26~0.62‰の範囲で、処理による差異はなかった (図(2)-12a)。藻類の窒素同位体比 $\delta^{15}\text{N}_{\text{al}}$ は、負荷窒素源がある方が無いものより1~1.5‰高く、この傾向は光の強弱によって差異はなかった。負荷窒素源の有無による差異は保存されたまま、底生動物による被食がある方が無い場合より1~1.4‰高かった (図(2)-12b)。つまり、底生動物による被食の影響が無い場合で、窒素源の負荷がなされていない場合に、藻類の窒素同位体比は光の強弱にかかわらず、溶存 NO_3^- のそれよりも低くなり、それ以外の条件では溶存 NO_3^- の窒素同位体比よりも高くなっていた。

負荷窒素源が無い場合、藻類は渓流水中の溶存 NO_3^- を主要な窒素源として生育するので、藻類の $\delta^{15}\text{N}_{\text{al}}$ が溶存 NO_3^- のそれと近くなることは予測される。しかしながら、実験結果は $\delta^{15}\text{N}_{\text{al}}$ が $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$ よりも低い。このことから藻類による NO_3^- の吸収において同位体分別の効果が示唆される。他方、他の窒素源が負荷されたケースでは、溶液中の $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$ に負荷の有無で差が無いにもかかわらず藻類の $\delta^{15}\text{N}_{\text{al}}$ が高い。このことは、負荷窒素源から供給される NO_3^- 以外の溶存窒素を藻類が吸収したことを示唆している。想定される窒素はアンモニウムか、溶存有機態の窒素であるが、今後これらの濃度、窒素同位体比を把握し、吸収の有無を確かめる必要がある。

被食があった場合の方が、 $\delta^{15}\text{N}_{\text{al}}$ が高くなることから推測されることは、底生動物の藻類の摂食、代謝によって系内での窒素の再利用が促進され、藻類組織内で同位体濃縮が進んだというメカニズムである。



図(2)-12 実験開始から20日後の a)溶存 NO_3^- と b)藻類の窒素安定同位体比 ($\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$ 、 $\delta^{15}\text{N}_{\text{al}}$)。Highは強光条件、Lowは弱光条件を示す。N_{add}は窒素源の負荷有り、N_{ctl}は無しを示す。○は底生動物による被食有り、●は無しを示す。

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

本研究によって、流域に存在する生活排水や農地からの排水に含まれる窒素の河川への流入が、流程各所で比較的ローカルに成立している生物群集の栄養源となっていることが明らかになった。下流に行くに従って人為起源の窒素の負荷が大きくなることは NO_3^- の窒素安定同位体比を指標とすることで明確にすることができ、人口密度や土地利用分類などの地理情報を援用することで、負荷源の寄与度までを推定することができた。負荷の大きい下流で、水棲生物群集が何等かの攪乱を受けて食物網構造に特異的な変化が見られるかどうかを検討したが、このケーススタディーでは、明らかな特異性は検出できなかった。集水域の物質循環、特に窒素循環と生物群集の構造

と機能を比較的直接的に結びつけた研究は未だ事例は少なく、データ群そのものに科学的な価値が高いと考えられる。本研究で適用した一連のプロトコルを、今後、人為的起源の栄養塩流入の強度が異なる流域に適用していくことで、生物群集へのインパクトが流入量に対してどのように変化していくのかを明らかにしていくことができよう。こうすることによって、河川生態系の構造の富栄養化に対する可塑性やレジリエンスが評価出来るようになるものと考えられる。

このプロジェクトで進めた、窒素流入源の特定と寄与度の推定、生物群集の食物網構造へのインパクトの評価からなる一連の調査手法は、今後、河川と集水域の栄養塩を介した連関と、延いては健全性を評価していくプロトコルとして提案可能なものと考えられる。今後、学会発表だけでなく、一般向けの出版物への公表を視野に入れて成果の広報、普及に努めたいと思う。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

特に記載すべき事項はない。

<行政が活用することが見込まれる成果>

生物群集の棲息状況を含む河川環境は、今日的には集水域の土地利用、上下水道などの整備状況など地理的・社会的な条件に強く影響を受けることが本サブテーマから明らかになった。今後、行政が河川における生物の多様性やローカルな生態系の多様性を保全し、総合的な河川環境の整備を行う場合、集水域が持つ栄養塩その他の生物に影響を与えうる化学物質の排出量を支流河川ごとに正確に把握する必要があることを指摘できる。本サブテーマにおける研究手法で用いた一連のプロトコルは、こうした河川への人為的な栄養塩負荷が、生態系の構造や機能に与える影響を評価する上で有用な手段で、集水域の土地利用改変、上下水道の整備等の計画策定前のアセスメントにおいて、取り入れることができるものと考えられる。加えて、施策が行われた場合、経過を監視し影響を評価するための手段として利用可能であると考えられる。

本サブテーマの一連の調査・研究で使用した化学分析は、従来行政機関の多くが所有する設備で実施可能なものである。また、生物試料の炭素、窒素の安定同位体比の測定は商業ベースで分析業務を行っている機関が複数あり、行政機関でもデータを収集することは容易である。溶存 NO_3^- の窒素安定同位体比も米国カリフォルニア大学デービス校に分析を依頼することが可能である。近い将来には、国内の機関・企業で依頼分析が可能になることが予想される。以上のように調査自体は行政関連の調査機関で実施可能であり、上記のような集水域生態系管理のための施策に利用できるものと考えられる。

6. 国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない。

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文（査読あり）>

- 1) N. OHTE: Ecological Research, 27, 657-665 (2012)
 “Implications of seasonal variation in nitrate export from forested ecosystems: a review from the hydrological perspective of ecosystem dynamics”
- 2) N. OHTE: Ecological Research, 28, 749-757(2012)
 “Tracing sources and pathways of dissolved nitrate in forest and river ecosystems using high-resolution isotopic techniques: A review”
- 3) N. OHTE, M. NAKAOKA and H. SHIBATA: In “The Biodiversity Observation Network in the Asia-Pacific Region” eds. S. NAKANO, T. YAHARA and T. NAKASHIZUKA, 205-215(2012)
 “ILTER and JaLTER: Their Missions and Linkage to Database Development in the Asia-Pacific Region”

<その他誌上発表（査読なし）>

- 1) 大手信人： 京都大学生態学研究センターニュース2014年7月号（No. 124）
 「溪流・河川における藻類の硝酸吸収速度の制御要因に関する研究」（掲載予定）

(2) 口頭発表（学会等）

- 1) 伊藤雅之、陀安一郎、由水千景、大手信人：日本陸水学会第76回大会(2011)
 「溶存有機炭素の炭素安定同位体比のハイスループットオンライン分析手法の開発」
- 2) N. Ohte, N. Tokuchi and M.Fujimoto: AGU (American Geophysical Union) Fall Meeting, San Francisco, USA, 2011
 “Seasonal variations of nitrate discharge from forested catchments: Suggestions from Japanese Case Studies” (Invited)
- 3) M.Itoh, I. Tayasu, C. Yoshimizu, N. Ohte: AGU (American Geophysical Union) Fall Meeting, San Francisco, USA, 2011
 “A low-cost and high-throughput measurement for stable carbon isotope analysis of dissolved organic carbon in freshwater using wet chemical oxidation”
- 4) N. Ohte: Symposium on sustaining forest resources in a changing climate, Taipei, Taiwan (2012)
 “Global comparisons on seasonal patterns of nitrate discharge from forested catchments” (Invited)
- 5) 大手信人、青木麻耶、勝山千恵、諏訪裕、丹下健： 日本地球惑星科学連合（JpGU）2012年大会、セッション 流域の水文地質と物質循環（2012）
 「森林土壌における脱窒に関わる微生物群集構成：脱窒機能遺伝子による把握」（招待）
- 6) 大手信人、日浦勉、三枝信子、柴田英昭、村岡裕之： 第3回 J-BON（Japanese Biodiversity Observation Network 日本生物多様性観測ネットワーク）ワークショップ（2012）
 「JaLTERの活動、到達点と課題」（招待）
- 7) 大手信人： 環境科学会 2012年会（2012）

- 「安定同位体比情報を利用する水資源保全に必要な森林・河川生態系の健全性評価手法の開発」
- 8) H. Togashi, Y. Kato, N. F. Ishikawa, Y. Kohmatsu, C. Yoshimizu, M. Yoshimura, N. Ohte, N. Tokuchi and I. Tayasu: International Symposium on Connectivity of Hills, Humans and Oceans (2013)
 “Terrestrial versus aquatic resources contribution to stream food webs with various forest stand ages: Results from nitrogen isotopic ratios of amino acids”
- 9) N. Ohte, H. Togashi, N. Tokuchi, K. Osaka and I. Tayasu: Integrated ecosystem management from Hill to Oceans (2013)
 “Nitrogen status and its effects on the aquatic food webs of the Arida river.”
- 10) 大手信人：第13回奈良女子大学共生科学研究センターシンポジウム、第17回紀伊半島研究会シンポジウム「紀伊半島の河川生態系と流域環境」(2013)
 「有田川流程における流入窒素源の把握と水棲生物群集の食物網への影響評価：安定同位体比情報を利用して」
- 11) T. Egusa, N. Ohte, T. Oda and M. Suzuki: American Geophysical Union, Fall meeting, Hydrology Section (2013)
 “Spatial organization of stream water discharge and chemistry in forested headwaters”
- 12) M. Green, T. Oda and N. Ohte: American Geophysical Union, Fall meeting, Hydrology Section (2013)
 “Conceptualizing Hydrologic Resilience in Temperate Forested Catchments”
- 13) T. Oda, M. Green, N. Ohte, R. Urakawa, I. Endo, T.M. Scanlon, S.D. Sebestyen, K.J. Mcguier, M. Katsuyama, K. Fukuzawa, C. Tague, M. Hiraoka, K. Fukushima and T.W. Giamnelluca: American Geophysical Union, Fall meeting, Hydrology Section (2013)
 “Comparison of methods for determining the hydrologic recovery time after forest disturbance”
- 14) N. Ohte: 第61回日本生態学会大会、広島(2014)
 “How does anthropogenic nitrogen input affect the nutrient dynamics and food web structures? : Revealed by transect surveys of nitrate isotopes”
- 15) N. Ohte, H. Togashi, N. Tokuchi, M. Yoshimura, Y. Kato, N. Ishikawa, M. Kondo, I. Tayasu : Japan Geoscience Union Meeting 2014, Yokohama, Japan, 2014
 “How does anthropogenic nitrogen input affect the nutrient dynamics and food web structures? ”

(3) 出願特許

特に記載すべき事項はない。

(4) シンポジウム、セミナー等の開催（主催のもの）

特に記載すべき事項はない。

(5) マスコミ等への公表・報道等

特に記載すべき事項はない。

(6) その他

大手信人： 「第17回 生態学琵琶湖賞」 受賞 2013年7月

8. 引用文献

- 1) Rabalais, N.N. (2002) Nitrogen in Aquatic Ecosystems. *AMBIO: A Journal of the Human Environment*, 31: 102-112
- 2) Likens, G.E. and Butler, T.J. (1981) Recent acidification of precipitation in North America. *Atmospheric Environment* (1967), 15: 1103-1109
- 3) Aber, J., McDowell, W., Nadelhoffer, K., Magill, A., Berntson, G., Kamakea, M., McNulty, S., Currie, W., Rustad, L. and Fernandez, I. (1998) Nitrogen saturation in temperate forest ecosystems. *BioScience*, 48: 921-934
- 4) Anderson, C. and Cabana, G. (2005) $\delta^{15}\text{N}$ in riverine food webs: effects of N inputs from agricultural watersheds. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 62, 333-340
- 5) Ohte, N., Tayasu, I., Kohzu, A., Yoshimizu, C., Osaka, K., Makabe, A., Koba, K., Yoshida, N., and Nagata, T. (2010). Spatial distribution of nitrate sources of rivers in the Lake Biwa watershed, Japan: Controlling factors revealed by nitrogen and oxygen isotope values. *Water Resour. Res.* 46, pp. W07505
- 6) 国土地理院 (2013) 国土数値情報土地利用細分メッシュデータ
<http://nlftp.mlit.go.jp/ksj/gml/datalist/KsjTmplt-L03-b.html> (2014/3/6 参照)
- 7) 白濱圭通 (2008) 土地利用と地質が有田川水系の水質に与える影響. 京都大学卒業論文
- 8) Sigman, D.M., Casciotti, K.L., Andreani, M., Barford, C., Galanter, M. and Böhlke, J.K. (2001) A bacterial method for the nitrogen isotopic analysis of nitrate in seawater and freshwater. *Analytical Chemistry*, 73:4145-4153
- 9) 総務省統計局 (2010) 平成22年度国勢調査統計データ
<http://www.stat.go.jp/data/kokusei/2010/index.htm> (2014/3/6 参照)
- 10) 中村高志, 長田淑美, 風間ふたば (2007) 水素・酸素および窒素安定同位体組成からみた甲府盆地東部地下水の涵養源と硝酸イオン濃度分布特性. *水環境学会誌*, 31: 87-92
- 11) Kendall, C., E. M. Elliott, and S. D. Wankel (2007) Tracing anthropogenic inputs of nitrogen to ecosystems, in *Stable Isotopes in Ecology and Environmental Science*, edited by R. H. Michener and K. Lajtha, pp. 375-449, doi: 10.1002/9780470691854.ch12, Blackwell, Oxford, U. K.

(3) 安定同位体解析による食物網構造解析技術の開発

京都大学

生態学研究センター

陀安一郎

奥田 昇

<研究協力者>

京大大学生態学研究センター

由水千景・加藤義和

海洋研究開発機構 海洋・極限環境生物圏領域

石川尚人

平成23(開始年度)～25年度累計予算額：47,002千円（うち、平成25年度予算額：14,336千円）
予算額は、間接経費を含む。

[要旨]

本サブテーマにおいては、炭素・窒素の安定同位体比（バルク同位体比）、アミノ酸窒素同位体比、および放射性炭素14（天然存在比）を用いた食物網構造解析手法の開発を目的とした。まず、本研究の遂行のために必要な安定同位体比質量分析装置の改造を行った。そして、琵琶湖集水域に属する野洲川・安曇川の上流および下流において、河川生物の定量採集を行い、各種同位体分析を行った。アミノ酸窒素同位体比分析結果からは、いままでの炭素・窒素バルク安定同位体比を用いた研究では難しかった河川生態系においても、食物網構造（一次生産起源割合および栄養段階）の把握が行えることを世界で初めて明らかにした。本手法が、外部生産（陸域起源炭素）および内部生産（水域起源炭素）が混合する系では一般的に利用可能であることを、河川におけるヨシノボリの研究、および琵琶湖におけるアユとビワマスの研究によって明らかにした。さらに、放射性炭素14を用いることによっても、この外部生産と内部生産の割合を計算することが出来ることを示し、各種同位体手法を測定することによって食物網構造解析を精緻に行うことができることを明らかにした。これらの食物網構造解析手法を元にとると、生物多様性と、栄養転換効率といった生態系機能を比較することができ、それらを元にした評価をすることが出来ることを示唆した。さらに、ホルマリンで固定された琵琶湖の魚類標本試料の窒素同位体比分析、さらにはアミノ酸窒素同位体比分析を用いた、長期にわたる魚類の栄養段階の変遷を明らかにすることにより、過去の生態系における特定種の栄養段階の変化の議論を行うことが可能となった。特に、アミノ酸窒素同位体比分析は、一次生産起源割合の仮定をすることが可能であれば、原理的に魚類のみの同位体比で計算することが可能なため、断片的な試料しか存在しない場合でも利用可能であることに利点がある。さらに、サブテーマ（4）で開発された食物網構造解析手法を用いることにより、栄養段階の変化を取り込んだ多様性評価手法を提案した。

[キーワード]

安定同位体比、アミノ酸窒素同位体比、放射性炭素14、生物標本、食物網複雑性指標

1. はじめに

生物多様性は、(1)遺伝子の多様性、(2)種多様性、(3)生態系の多様性といった階層構造をもった複雑系と解釈されるが、生態系機能を議論するためには遺伝子の多様性および種多様性に関する情報の総和だけでは不十分である。特にエネルギーと物質の流れと、生物多様性を関連づけるためには、生物間相互作用を簡便に記述する必要がある。食う-食われる関係はそのなかでも物質の流れに直接関係するため、食物網を的確に記述する必要がある。

安定同位体手法は、それらの問題を解決するために近年幅広く使われるようになってきた。特に、炭素・窒素の安定同位体比は、炭素が食物源の情報、窒素が栄養段階の情報を持つために、食物網の形を記述する上で重要なパラメータとして使うことができる。さらに、近年では分子レベル安定同位体分析手法の進歩から、今後の生物多様性モニタリングに利用することも可能ではないかと考えられる。しかしながら、炭素・窒素のバルク（全体）同位体比手法に比べ、分子レベル手法は分析化学の予備知識が必要であることに加え、実際の野外調査が十分に行われていないため、現実の多様性モニタリングには利用されていないのが現状である。

2. 研究開発目的

本研究においては、最新の各種同位体分析手法を駆使することにより、生態系機能を評価することも考慮に入れながら、生物多様性モニタリング調査を行う上で有効な研究手法の開発を行うことを目的とした。まず、市販の安定同位体比質量分析計をカスタマイズし、アミノ酸窒素同位体比分析に最適な分析機器のセッティングを行う。そして、本手法を人間活動が生態系に与える評価を研究する上でもっともわかりやすい生態系として、陸水生態系を選んだ。河川や湖沼によって代表される陸水生態系は、人間活動の結果として物理的・化学的・生物学的な影響を受けている。陸水生態系における生物多様性は、それら複数の影響下に置かれている。特にここ100年の著しい人為影響によって、陸水生態系を改変してきたことは明白であるが、正当にそれを評価する手法は十分ではないと考えられる。現在の生態系においても、生物多様性調査といわゆる環境調査については別々の評価基準で進められているため、客観的なデータセットを得るのが難しい。本研究においては、それらの状況に鑑み、博物館等に断片的に存在する過去100年程度の標本分析を利用することができ、かつ今後の生物多様性・生態系変化を的確に記録しておける手法の開発を目標に定めた。

3. 研究開発方法

研究を（1）～（10）の10項目に分け、順を追って説明する。

（1）アミノ酸分析技術の開発

食物網は生態系の中で物質やエネルギーの流れを規定しており、その研究は生態学の中で最も重要なテーマの1つである。陸域と水域とをつなぐ河川生態系において、生物の餌起源の指標となる炭素安定同位体比（ $\delta^{13}\text{C}$ ）は、小さなスケールで大きな変動を示す¹⁾。一方、栄養段階の指標となる窒素安定同位体比（ $\delta^{15}\text{N}$ ）は、生物分類群間で分別係数が異なることが知られている²⁾。

このような従来手法の問題点を克服し、河川食物網を高精度に解析するためには、新たな指標の開発・応用が必要不可欠である。

近年、動物のアミノ酸窒素安定同位体比から栄養段階を推定する手法が開発され、注目を集めている。アミノ酸代謝において、脱アミノ基やアミノ基転移を繰り返すアミノ酸（例：グルタミン酸）は、栄養段階間で顕著に窒素同位体比が上昇するのに対し、C-N結合が保存されるアミノ酸（例：フェニルアラニン）は、栄養段階間で窒素同位体比がほとんど変化しない。先行研究によればこの原理から、両アミノ酸の窒素同位体比の差は動物の栄養段階の一次関数となり、単一の一次生産者を起点とする食物連鎖に依存している動物の栄養段階は、以下の式により決定される³⁾。すなわち、

$$TP = \frac{\delta^{15}N_{\text{Glu}} - \delta^{15}N_{\text{Phe}} + \beta}{8.0 - 0.4} + 1 \quad \text{[式(3)-1]}$$

ここで、TPは栄養段階（または栄養位置）、 $\delta^{15}N_{\text{Glu}}$ ・ $\delta^{15}N_{\text{Phe}}$ はそれぞれグルタミン酸・フェニルアラニンの窒素安定同位体比、 β は一次生産者のフェニルアラニン・グルタミン酸同位体比の差を表す。 β は水域生産者で-3.4‰、陸上C3植物で+8.4‰、陸上C4植物で-0.4‰と見積もられている^{3,4)}。分母における8.0、0.4はそれぞれグルタミン酸とフェニルアラニンの濃縮係数である。従って、この式は高次捕食者のみのデータで栄養段階が推定可能であることを示している。

そこで、平成21年度に京都大学生態学研究センターに導入された、ガスクロマトグラフGC-Isolink付き安定同位体比質量分析計を用いて、分析システムの確立・調整を試みた。

(2) 野洲川・安曇川における食物網解析

ところで、水域・陸域一次生産者は式(3)-1中の β 値が異なることから^{3,4)}、水域・陸域食物連鎖が混合する系においては、それぞれに由来する資源の混合割合を考慮する必要がある。しかしながら、複雑な食物網の解析にアミノ酸同位体比を応用した例はほとんどなく、この栄養段階推定法が生態系一般に広く応用可能かどうか、まだ分かっていない。

本研究では河川生態系に着目し、まず2004年に野洲川および安曇川で採集した試料の、バルク窒素安定同位体比測定結果を再解析した。この結果を基に、河川生態系の食物網を高精度に解析することを目的として、2011年11月と2012年5月の2季節に野外調査を行った。次に採集した水生昆虫や魚類、およびこれらの餌資源（礫表面付着性の藻類：水域一次生産者：C3植物リター：陸域一次生産者）から、Nピバロイル／イソプロピル誘導体化法によってアミノ酸を抽出し、ガスクロマトグラフ／燃焼／同位体比質量分析計を用いて各アミノ酸の窒素安定同位体比を測定した。また、食物網解析でこれまで広く用いられてきた生物体全体（バルク）の炭素・窒素安定同位体比も測定した。

各地点において、礫表面に付着している藻類（以下付着藻類）、C3植物リターと水生昆虫や魚類のバルク炭素・窒素安定同位体比から、各動物へのC3植物リターに対する付着藻類の相対的寄与率 (f) を、以下のように算出した⁵⁾：

$$f = \frac{\frac{\delta^{15}\text{N}_{\text{Bulk}}[\text{A}] - \delta^{15}\text{N}_{\text{Bulk}}[\text{L}]}{\Delta_{\text{N}}} - \frac{\delta^{13}\text{C}_{\text{Bulk}}[\text{A}] - \delta^{13}\text{C}_{\text{Bulk}}[\text{L}]}{\Delta_{\text{C}}}}{\frac{\delta^{15}\text{N}_{\text{Bulk}}[\text{P}] - \delta^{15}\text{N}_{\text{Bulk}}[\text{L}]}{\Delta_{\text{N}}} - \frac{\delta^{13}\text{C}_{\text{Bulk}}[\text{P}] - \delta^{13}\text{C}_{\text{Bulk}}[\text{L}]}{\Delta_{\text{C}}}}$$

[式(3)-2]

ここで、 $0 \leq f \leq 1$ であり、 $\delta^{15}\text{N}_{\text{Bulk}}[\text{A}]$, $\delta^{13}\text{C}_{\text{Bulk}}[\text{A}]$, $\delta^{15}\text{N}_{\text{Bulk}}[\text{L}]$, $\delta^{13}\text{C}_{\text{Bulk}}[\text{L}]$, $\delta^{15}\text{N}_{\text{Bulk}}[\text{P}]$, $\delta^{13}\text{C}_{\text{Bulk}}[\text{P}]$ はそれぞれ動物、C3植物リター、付着藻類のバルク窒素・炭素安定同位体比を表す。 Δ_{N} と Δ_{C} は、栄養段階あたりの $\delta^{15}\text{N}_{\text{Bulk}}$ と $\delta^{13}\text{C}_{\text{Bulk}}$ の濃縮係数である。式(3)-2から、動物の栄養段階（TP）を以下のように算出した：

$$\text{TP} = \frac{\delta^{15}\text{N}_{\text{Bulk}}[\text{A}] - \delta^{13}\text{C}_{\text{Bulk}}[\text{A}] - \{f(\delta^{15}\text{N}_{\text{Bulk}}[\text{P}] - \delta^{13}\text{C}_{\text{Bulk}}[\text{P}]) + (1-f)(\delta^{15}\text{N}_{\text{Bulk}}[\text{L}] - \delta^{13}\text{C}_{\text{Bulk}}[\text{L}])\}}{\Delta_{\text{N}} - \Delta_{\text{C}}} + 1$$

[式(3)-3]

同様に、付着藻類、C3植物リターと水生昆虫や魚類のグルタミン酸・フェニルアラニンの窒素安定同位体比から、各動物へのC3植物リターに対する付着藻類の相対的寄与率（ g ）を、以下のように算出した：

$$g = \frac{\frac{\delta^{15}\text{N}_{\text{Glu}}[\text{A}] - \delta^{15}\text{N}_{\text{Glu}}[\text{L}]}{\Delta_{\text{Glu}}} - \frac{\delta^{15}\text{N}_{\text{Phe}}[\text{A}] - \delta^{15}\text{N}_{\text{Phe}}[\text{L}]}{\Delta_{\text{Phe}}}}{\frac{\delta^{15}\text{N}_{\text{Glu}}[\text{P}] - \delta^{15}\text{N}_{\text{Glu}}[\text{L}]}{\Delta_{\text{Glu}}} - \frac{\delta^{15}\text{N}_{\text{Phe}}[\text{P}] - \delta^{15}\text{N}_{\text{Phe}}[\text{L}]}{\Delta_{\text{Phe}}}}$$

[式(3)-4]

ここで、 $0 \leq g \leq 1$ であり、 $\delta^{15}\text{N}_{\text{Glu}}[\text{A}]$, $\delta^{15}\text{N}_{\text{Phe}}[\text{A}]$, $\delta^{15}\text{N}_{\text{Glu}}[\text{L}]$, $\delta^{15}\text{N}_{\text{Phe}}[\text{L}]$, $\delta^{15}\text{N}_{\text{Glu}}[\text{P}]$, $\delta^{15}\text{N}_{\text{Phe}}[\text{P}]$ はそれぞれ動物、C3植物リター、付着藻類のグルタミン酸・フェニルアラニンの窒素安定同位体比を表す。 Δ_{Glu} と Δ_{Phe} は、栄養段階あたりの $\delta^{15}\text{N}_{\text{Glu}}$ と $\delta^{15}\text{N}_{\text{Phe}}$ の濃縮係数である。式(3)-4から、動物の栄養段階（TP）を以下のように算出した：

$$\text{TP} = \frac{\delta^{15}\text{N}_{\text{Glu}}[\text{A}] - \delta^{15}\text{N}_{\text{Phe}}[\text{A}] - \{g(\delta^{15}\text{N}_{\text{Glu}}[\text{P}] - \delta^{15}\text{N}_{\text{Phe}}[\text{P}]) + (1-g)(\delta^{15}\text{N}_{\text{Glu}}[\text{L}] - \delta^{15}\text{N}_{\text{Phe}}[\text{L}])\}}{\Delta_{\text{Glu}} - \Delta_{\text{Phe}}} + 1$$

[式(3)-5]

最後に、バルク炭素・窒素安定同位体比を用いた場合の2ソース混合モデルによる付着藻類の寄与率推定値および栄養段階推定値と、グルタミン酸・フェニルアラニンの窒素安定同位体比を用いた場合のそれらの推定値との違いについて、検討した。

(3) 琵琶湖産魚類の栄養段階および栄養起源の推定

琵琶湖内に生息する多様な魚種についてアミノ酸窒素安定同位体分析を行い、その栄養段階および栄養起源の推定を行った。2000年以降に採集され、乾燥保存されていた魚類標本から分析試料を採取し、3種（アユ *Plecoglossus altivelis*、ビワマス *Oncorhynchus masou rhodurus*、ビワコオオナマズ *Silurus biwaensis*）についてアミノ酸窒素安定同位体分析を行った。栄養起源の候補として、沖合の植物プランクトン、湖の表層（水深2.5m）および深層（50m）で採集した粒状有機物（POM）についてもアミノ酸窒素安定同位体分析を行った。各魚種の栄養段階の推定には式(3)-1を用い、 $\beta = 3.4$ （水域での生産者の値）として計算した。

さらに、琵琶湖流域に生息する2種のヨシノボリを対象とし、アミノ酸窒素安定同位体比による栄養段階の推定を行った。カワヨシノボリ *Rhinogobius flumineus* は完全な陸封性であり、琵琶湖の流入河川の上流部だけに生息するが、トウヨシノボリ *Rhinogobius* sp. ORは成長段階に応じて琵琶湖と流入河川を行き来する両側回遊性の生活史を持ち、河川の中流部から下流部にかけて生息する。野外調査は、琵琶湖の流入河川である安曇川および野洲川の流域で、2011年11月および2012年5月に実施した。安曇川流域は上流から下流まで森林が多く、比較的的自然状態が保たれている。一方、野洲川流域では、上流は安曇川と同様に自然状態が保たれた景観だが、下流に行くほど農地や住宅地が増えてくる。両河川の流程に沿って複数の調査サイトを設定し、各サイトで採集したヨシノボリ、付着藻類（水域の栄養起源）、陸上C3植物の落葉（陸域の栄養起源）について、アミノ酸窒素安定同位体比を測定した。2種のヨシノボリは雑食性であるため、水域と陸域両方の栄養起源を混合して利用していると予想される。そこで、2ソース混合モデルにより、ヨシノボリの栄養段階およびそれぞれの栄養起源への寄与率を求めた。バルクの窒素安定同位体比を用いた先行研究では、トウヨシノボリは琵琶湖から流入河川に遡上した直後（8月頃）からしばらくの間は、湖由来の栄養起源（植物プランクトン）の同位体比を反映するが、3か月が経過した時点では河川由来の栄養起源のみを反映した値となることが知られている⁶⁾。今回採集を行った時期（11月および5月）は、湖由来の栄養起源が反映される期間に当たらないため、本研究では湖由来の栄養起源の混合は考慮しなかった。さらに、同一の試料についてバルクの炭素および窒素安定同位体比による栄養段階推定も行い、推定手法間での比較検討を行った。

(4) 放射性炭素14を用いた琵琶湖流入河川食物網の炭素起源推定

河川生態系は空間的な異質性が大きく、瀬淵構造や明暗環境の存在は、一次生産者である付着藻類の光合成活性に影響を及ぼす。付着藻類の炭素安定同位体比 ($\delta^{13}\text{C}$) は光合成に伴う同位体分別によって値が決定されるため、河川生態系のハビタット間で大きな差が生じる^{7), 8)}。炭素起源の指標である $\delta^{13}\text{C}$ の大きな変動は、食物網への寄与率推定に不明確さを生み出す要因となる。これに対して、放射性炭素14天然存在比 ($\Delta^{14}\text{C}$) は光合成に伴う同位体分別効果を理論上相殺し⁹⁾、純粋に付着藻類の炭素起源を反映した指標になると考えられる。本研究の野外調査は、滋賀県芹川上流の河内地区にて行われた。対照的な光および流速環境を持つ1つの蛇行区間（リーチ）が選ばれた。本リーチは石灰岩および玄武岩で覆われており、幅10–15 m、深さ10–40 cm、高度250 mであった。河岸の優占樹種はブナ科およびスギ科であった。調査リーチ中で4つのハビタット（2×2 factorial design: 明/瀬、明/淵、暗/瀬、暗/淵）が選ばれた。それぞれのハビタットにおいて、12個のコドラート（30×30 cm²）をランダムに設定した。それぞれのコドラートにおいて、河川中の石

を5個ランダムに選び、表面をブラシでこすり取り、付着藻類を、また各ハビタットにおいて、粒状有機態炭素 (POC) をメッシュサイズ1-mmのサーバーネットを用いて採取し、それぞれの $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\Delta^{14}\text{C}$ を測定した。

河川生態系は、各種の生態系プロセスが最も盛んな系の1つであり、同時にその空間的な異質性は生物群集の多様性を生み出し、捕食・被食関係を通じて複雑な食物網を形成する。また集水域には、現世の大気 CO_2 と異なる放射性炭素 ^{14}C 年代をもつ炭素リザーバーがいくつか存在する。例えば石灰岩は、数千万年以上前に大気 CO_2 から隔離された炭素を炭酸塩として保持しているため、その ^{14}C 年代は極めて古い（加速器質量分析計における ^{14}C 年代の検出限界は約60,000年）。炭酸塩が風化してできた溶存 CO_2 は、河川の一次生産者を介して食物網に ^{14}C 年代の古い炭素を供給する。本研究では、琵琶湖流域の15河川において付着藻類と、河川食物網の高次消費者であるトウヨシノボリ (*Rhinogobius* sp. OR) の $\Delta^{14}\text{C}$ を測定した。

流域内の様々なソースに由来する炭素は、その生成過程や分解特性、流下プロセスなどに応じて、固有の時間的遅れを示しながら各炭素プールに流入・滞留し、その履歴が $\Delta^{14}\text{C}$ 値に反映されていると考えられる^{10), 11)}。石灰岩を基盤とする河川（以下、石灰岩河川）は、集水域に成立年代の古い炭酸塩岩から成る炭素リザーバーが存在するため、ここから風化する無機炭素の $\Delta^{14}\text{C}$ 値は極めて低い（ $\Delta^{14}\text{C} = -1000\text{‰}$ ）。この無機炭素を光合成により固定する河川の一次生産者（例：岩表に付着する藻類）の $\Delta^{14}\text{C}$ 値も低く、水生昆虫や魚類といった、食物網の構成要素の $\Delta^{14}\text{C}$ 値も低くなると考えられる。一方、石灰岩を基盤としない河川（以下、非石灰岩河川）は、古い炭酸塩岩から成る炭素リザーバーが存在しない、もしくは少ないため、石灰岩河川のような炭素輸送経路は存在しない、もしくは重要ではない。しかしながら、土壤に蓄積された無機態、有機態の炭素画分が河川へ流入しているとするれば、大気 CO_2 から固定されてから数十年程度の炭素が食物網へと供給されている可能性はある（ $\Delta^{14}\text{C} > +50\text{‰}$ ）。同時に、いずれの河川においても現在の大気 CO_2 を固定した陸上植物由来のリター（ $\Delta^{14}\text{C} = +50\text{‰}$ ）は河川に供給されており、食物網の中でこれらの年代および起源の異なる炭素が混合されていると考えられる。以上のような予測を検証するために、琵琶湖流域の3石灰岩河川（芹川、犬上川、愛知川）および3非石灰岩河川（和邇川、安曇川、野洲川；ただし野洲川は上流の調査地点よりやや下流側に、石灰岩地帯が少し分布している）において、網羅的な生物サンプリングを行い、得られたサンプルの一部を用いて $\Delta^{14}\text{C}$ 分析を実施した。本研究では河川食物網の主要な構成要素である水生昆虫および魚類に着目した。特に水生昆虫には、口腔の形態と採餌パターンから、摂食機能群 (FFG) と呼ばれる分類体系が存在する。本研究では、FFGに基づき個々の水生昆虫を藻類食者、リター食者、ろ過食者、雑食者、捕食者に分別し、それぞれの炭素起源と $\Delta^{14}\text{C}$ 値との対応関係を調べた。

付着藻類、リター、粗大粒状有機物 (CPOM)、微細粒状有機物 (FPOM)、水生昆虫の各サンプルは、封緘法にて $\Delta^{14}\text{C}$ 測定のためのグラファイト化を行った。サンプルは石英管を用いて酸化銅・還元銅・銀と共に真空中で封緘した後、850°Cで燃焼し CO_2 と窒素化合物とに変換した。得られた CO_2 は寒剤を用いてライン上で分取し、鉄触媒下650°Cで水素を用いて還元してグラファイトを得た。グラファイトサンプルは、GNS Science (ニュージーランド) のRafter Radiocarbon Laboratoryの加速器質量分析計 (AMS) により $\Delta^{14}\text{C}$ 分析を実施した。 $\Delta^{14}\text{C}$ 値は1950年のスタンダードに対する ^{14}C 活性の相対値として定義され、サンプルの $\delta^{13}\text{C}$ 値によって補正された値となる。 $\Delta^{14}\text{C}$ 値の測定誤差は概ね3%以内であった。理論上、 ^{14}C には ^{13}C の2倍の同位体分別が働くと仮定され、以下の

式により $\Delta^{14}\text{C}$ として定義される⁸⁾：

$$\Delta^{14}\text{C}(\text{‰}) = \delta^{14}\text{C} - 2(\delta^{13}\text{C} + 25)(1 + \delta^{14}\text{C}/1000) \quad [\text{式}(3)\text{-}6]$$

(5) 放射性炭素14を用いた護摩壇山試験地河川食物網の炭素起源推定

我が国は国土の7割を森林が占めるため、大規模な伐採と人工林化が、涵養する河川や集水域の生態系の炭素循環に及ぼす影響を解明することは極めて重要である。本研究では森林伐採・植栽からの時間経過と河川食物網の ^{14}C 年代との間にどのような関係があるかを明らかにすることを目的とし、集水域の林齢が異なる調査地において、付着藻類、陸上植物リター、水生昆虫の $\Delta^{14}\text{C}$ を測定した。伐採直後は、土壌から栄養塩が溶脱し、河床に到達する光量も増加する。このため、河川の内部生産力は増加し、陸上植物由来資源の供給は減少すると考えられる。一方で林齢が進むにつれ、植生が回復し林冠が閉鎖されるため、河床に到達する光量は減少し、土壌からの栄養塩溶脱も減少する。これにより、河川の内部生産力は低下するため、生態系が陸上由来の資源に依存する割合が増加すると考えられる。以上の仮説は、サブテーマ(1)における $\delta^{13}\text{C}$ の変動パターンによって間接的に支持された。しかしながら、河川の主要な一次生産者である付着藻類の $\delta^{13}\text{C}$ は時空間的な変動が大きく、極端な場合、陸域C3植物リターの $\delta^{13}\text{C}$ と重複してしまうことがある。一方、 $\Delta^{14}\text{C}$ は $\delta^{13}\text{C}$ とは異なり、同位体分別とは独立に値が決まるため、特に一次生産者の光合成活性の違いに起因する、付着藻類の同位体比の時空間変動は小さいことが予測される。このことは、河川食物網が陸域・水域由来の資源にどれだけ依存しているかを評価する上で有効と考えられる。以上の予測を検証するために、サブテーマ(1)と連携して研究を実施した。

サブテーマ(1)の研究サイトである京都大学フィールド科学教育研究センター和歌山研究林およびその周辺の集水域(護摩壇山試験地)は、集水域単位の皆伐施業が行われ、集水域面積が 1km^2 未満の一次～三次河川が集中的に分布する¹²⁾。林齢以外の要因がほぼ等しいため、スギ人工林の皆伐から再成立過程と、それに伴う河川生態系の変化を把握できる。それぞれの林分の伐採後の経過年数は台帳から照会可能であり、森林管理の時間軸に基づいた生物群集と生態系の応答を把握することができる。本研究では、森林伐採からの時系列に応じた生物群集の時間変動と食物網構造の変化を明らかにするため、調査地を伐採からの時系列の異なるS34(3yr)、S16(12yr)、S12(23yr)、S5(38yr)、S20(49yr)、及び上ウレビ(90yr以上)の6地点に設定した。水生昆虫は、コドラート付サーバーネットによる定量採集を行った。得られた生物は同定可能な分類群に類別後、分類群ごとに $\Delta^{14}\text{C}$ を分析した。

(6) 安定同位体指標に基づく生物多様性と生態系機能の関係解明

平成18年に琵琶湖沿岸33地点から底生動物群集を定量採集したデータをもとに解析を行った。同定可能な分類群に類別した後、その個体数とバイオマスを計数・計測し、各地点の生物多様性をShannon-Wienerの多様度指数(H')で評価した。さらに、分類群ごとに炭素・窒素安定同位体分析を行い、底生動物群集の基盤餌源となるPOMと礫付着物の安定同位体比に基づいて、各分類群の栄養段階を推定した。バイオマスで重みづけした群集の平均栄養段階(CTL)は、以下のように定式化した。

$$CTL = \Sigma(TL_i * M_i) / CM \quad \text{[式(3)-7]}$$

ここで、 TL_i と M_i は底生動物*i*の栄養段階とバイオマス、 CM は群集の総バイオマスを表わす。また、底生動物の栄養段階と栄養転送効率（ TTE ）を考慮しながら、群集の総バイオマスを以下の式に従って基盤資源への生産依存量（ BPR ）に換算した。

$$BPR = \Sigma \{M_i * (1/TTE)^{TL_i}\} \quad \text{[式(3)-8]}$$

ここで、 TTE は沿岸底生動物で報告されている最小（ $TTE=0.037$ ）と最大（ $TTE=0.271$ ）の推定値を代入した。

（7）安定同位体指標に基づく空間食物網解析

生物の食性・行動圏と安定同位体情報の空間変異に基づいて、空間食物網解析を実施した。上記（6）より多地点から複数の個体が採集されているベントス・魚類の炭素同位体データを解析に使用した。また、高次捕食魚であるハスについては、平成23年に沿岸7地点から42個体を採集して、安定同位体分析に供した。

各種生物の炭素安定同位体比に基づく局所食物網情報の空間変異（ $\delta^{13}C_{var}$ ）は、以下のように定式化できる。

$$\delta^{13}C_{var} = \Sigma_{i=1}^k n_i (\bar{x}_i - \bar{x})^2 / (k - 1) \quad \text{[式(3)-9]}$$

ここで、 \bar{x}_i は炭素安定同位体比の地点別平均、 \bar{x} は全地点平均、 k は地点数を表す。局所食物網に依存する定住性の生物種ほど $\delta^{13}C_{var}$ が大きい値を示し、広域に移動することによって局所食物網の同位体情報を平均化する生物種ほど $\delta^{13}C_{var}$ が小さい値を示すと理論的に予測される。各生物種の $\delta^{13}C_{var}$ の逆数を対数変換 $\ln(1/\delta^{13}C_{var})$ することによって、生物の摂餌行動圏を数値化することを試みた。

（8）液浸標本を用いた食物網の長期動態解析

大正3年（1914年）以降に収集・保管された液浸生物標本のアミノ酸窒素安定同位体分析を行うため、バルク（組織全体）窒素安定同位体比に基づく既存の解析データの整理と新たな安定同位体分析試料の収集を実施した。既存資料には平成16年以降の安定同位体データが存在しないため、今回新たに平成22年に琵琶湖で採集され、液浸保存された魚類標本から分析試料の採取および調整を行った。魚類14種（ハス、オオクチバス、ブルーギル、アユ、オイカワ、ホンモロコ、トウヨシノボリ、ヌマチチブ、ウツセミカジカ、ゼゼラ、カマツカ、ニゴイ、ワカサギ、イサザ）、のべ122個体について、バルク窒素安定同位体比を測定した。分析値に基づいて、各個体の栄養段階をOkudaら¹³⁾に従い、以下のように算出した。

$$\text{栄養段階} = (\text{魚の}\delta^{15}\text{N} - \text{湖底表層堆積物の}\delta^{15}\text{N}) / 3.4 + 1 \quad \text{[式(3)-10]}$$

ここで、湖底表層堆積物（主に植物プランクトン遺骸によって構成される）の $\delta^{15}\text{N}$ は食物網の窒素同位体比ベースラインとして使用した。表層堆積物は平成23年に生態学研究センターの定期観測定点Ie-1においてエクマンバージ採泥器を用いて採集されたものをバルク窒素同位体分析に供した。栄養段階を魚種ごとに平均し、Okudaら¹³⁾によって報告された1910年代から2000年代までの各魚種・年代別平均栄養段階と比較した。

(9) ハスおよびイサザにおける栄養段階の長期変動

琵琶湖流域において1914年より収集・保管されてきた魚介類の液浸標本のうち、遊泳性の肉食魚であるハス*Opsariichthys uncirostris uncirostris*を用いて、アミノ酸窒素安定同位体比による栄養段階の推定を行い、その長期変動を解析した。ハスの生活史は、沖合での回遊生活が大部分を占めるが、繁殖期（6～8月）になると成魚は琵琶湖流入河川の河口から下流域に滞在する。そのため、繁殖期のハスは、河川を流下してきた陸域由来の有機物（落葉など）も栄養起源として利用している可能性がある。そこで、ハスが水域・陸域両方の栄養起源を混合して利用している可能性を考慮し、2ソース混合モデルによって栄養段階を推定した。過去の琵琶湖における水域栄養起源の候補には、琵琶湖固有の遊泳魚であるイサザ*Gymnogobius isaza*を用いた。イサザは、沿岸部で孵化した直後から沖合で一生を過ごすため、水域栄養起源の同位体情報を有していると考えられる。また、ハスと同様に1910年代から液浸標本が蓄積されているため、過去100年にわたる栄養起源の候補として適している。陸域の栄養起源候補には、野洲川、安曇川の下流部で2011年11月および2012年5月に採集した陸生C3植物の落葉を用いた。2ソース混合モデルによって推定された栄養段階を、バルク窒素安定同位体比に基づく栄養段階の推定値と比較するため、同じ個体について求めた両値の相関を求めた。

(10) 理論と実証の融合—複雑性指標の野外食物網への適用—

理論研究で得られた複雑性指標の利用可能性を示すため、野洲川および安曇川の野外調査で得られた底生動物群集について、Shannon-Wienerの多様度指数（ H' ）および複雑性指標（ D_H 、 D_V 、 D_C ）を算出し（手法はサブテーマ（4）を参照）、食物網の構造を地点・季節間で比較した。比較検討には、バルク安定同位体比によって得られた食物網のみを用いた（食物網の数：2河川×上流・下流×2季節＝8個）。

4. 結果及び考察

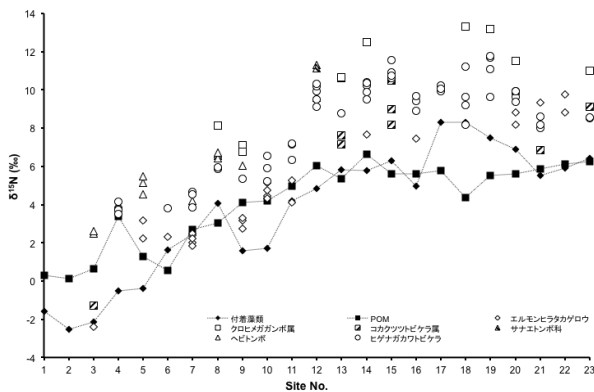
(1) アミノ酸分析技術の開発

京都大学生態学研究センターのガスクロマトグラフGC-Isolink付き安定同位体比質量分析計では、標準仕様で窒素測定を行う場合、ガスクロマトグラフで分離された成分は、燃焼炉で酸化分解された後、トラップで水と二酸化炭素を除去してからヘリウムキャリアガスと共に質量分析計に導入される。高温で燃焼することにより窒素酸化物の発生は押さえられるとされているため、本システムには還元炉が設定されていなかったが、実際には発生を完全に防ぐことはできないため、システムを改造して還元管をとりつけた。また、燃焼管の内容物の検討を行うなどして、システムの調整を行った。その結果、標準試薬の実測値の較正直線からのずれは小さくなり、アミノ酸窒素同位体比の分析精度は向上した。また、指標化に向けたデータ収集のためには測定の高速度が求められるため、上記機械の改造・調整と並行して、ガスクロマトグラフィーの分析条件も最適化を行った。

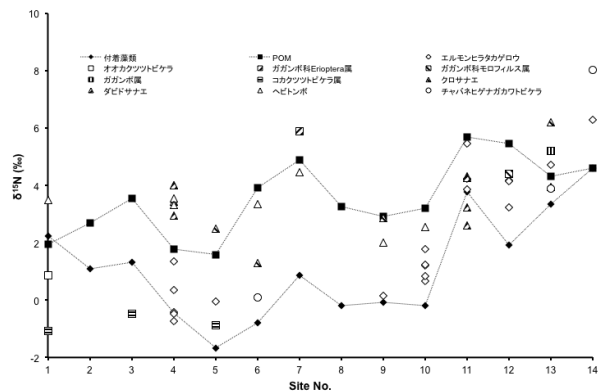
(2) 野洲川・安曇川における食物網解析

平成16年に野洲川および安曇川で採集した試料のバルク炭素・窒素同位体比の再解析から、図

(3)-1、図(3)-2を得た。下流にかけて人口密度が大幅に増加する野洲川では、生物のバルク窒素同位体比が顕著に増加した（図(3)-1）。一方、安曇川流程での窒素同位体比の変化は明確ではなかった（図(3)-2）。このことは、集水域から負荷される人為起源の窒素化合物（農業肥料、生活排水など）が高い窒素同位体比を持ち、それが一次生産者を経て食物網に流入していることを示唆する。一次生産者を起点とした、バルク窒素同位体比による栄養段階推定では、いくつかの生物で食性と栄養段階推定値が一致しない場合が見られた。この結果をもとに、野洲川と安曇川の各上下流において代表的な2地点を選定し（野洲川は図(3)-1の地点番号2と14、安曇川は図(3)-2の地点番号3と12）、2011年11月と2012年5月の2季節に、それぞれの地点において重点的な生物採集調査を行った。

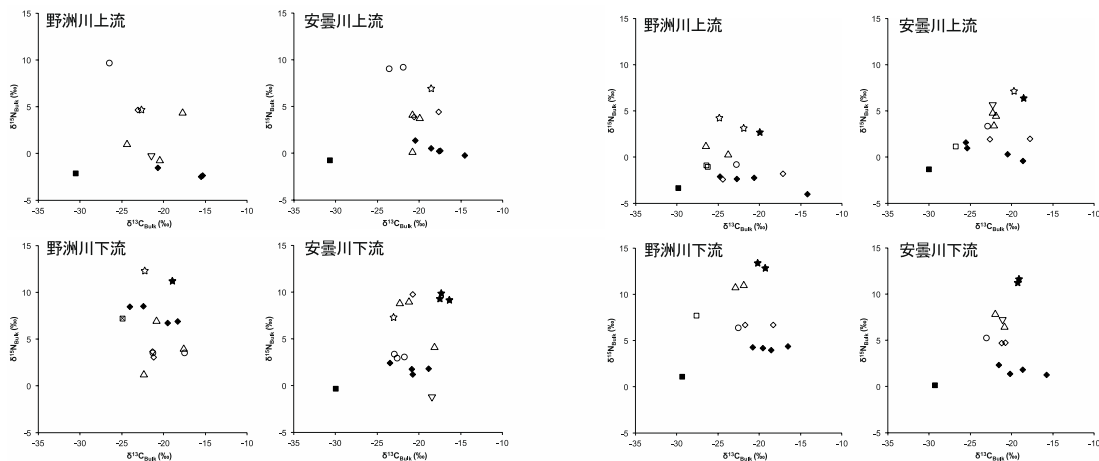


図(3)-1 野洲川における、生物の窒素安定同位体比の流程変化。



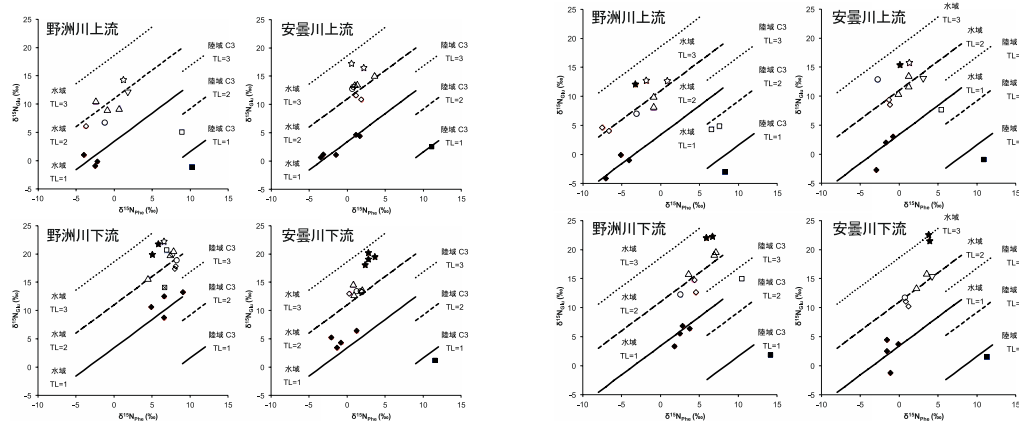
図(3)-2 安曇川における、生物の窒素安定同位体比の流程変化。

2011年11月と2012年5月に野洲川・安曇川上下流で採集した生物試料のバルク炭素・窒素安定同位体比から、図(3)-3、図(3)-4を得た。また、グルタミン酸とフェニルアラニンの窒素同位体比から、図(3)-5、図(3)-6を得た。野洲川では、11月、5月とも、流下過程で水域ベースラインのバルクおよびフェニルアラニン窒素同位体比が顕著に増加した。これは、先行研究で示されている、硝酸の窒素同位体比が下流で増加するパターンと一致しており、人為起源の窒素負荷の影響を反映しているものと考えられる¹⁴⁾。一方で、集水域からの人為影響の少ない安曇川では、流下過程で窒素同位体比はあまり変化しなかった。付着藻類の $\delta^{13}\text{C}_{\text{Bulk}}$ は、同一地点内でも5~10‰変動し、一部の地点では付着藻類とC3植物リターの $\delta^{13}\text{C}_{\text{Bulk}}$ の間に、生物の $\delta^{13}\text{C}_{\text{Bulk}}$ が挟まれないことがあった（例：11月の安曇川上流）。また、一部の地点で付着藻類の $\delta^{15}\text{N}_{\text{Bulk}}$ が生物の $\delta^{15}\text{N}_{\text{Bulk}}$ を上回ることもあった（例：11月の野洲川上流）。これらの地点では、式(3)-2を用いた2ソース混合モデルによる付着藻類とC3植物リターの寄与率推定が行えなかった。



図(3)-3 2011年11月 (左)、図(3)-4 2012年5月 (右)におけるバルク食物網マップ

◆付着藻類、■C3植物リター、☒POM、◇藻類食者、□破碎食者、○濾過食者、△捕食者、▽他の無セキツイ動物、★ヨシノボリ (Goby)、☆他の魚類



図(3)-5 2011年11月 (左)、図(3)-6 2012年5月 (右)におけるアミノ酸食物網マップ

◆付着藻類、■C3植物リター、☒POM、◇藻類食者、□破碎食者、○濾過食者、△捕食者、▽他の無セキツイ動物、★ヨシノボリ (Goby)、☆他の魚類

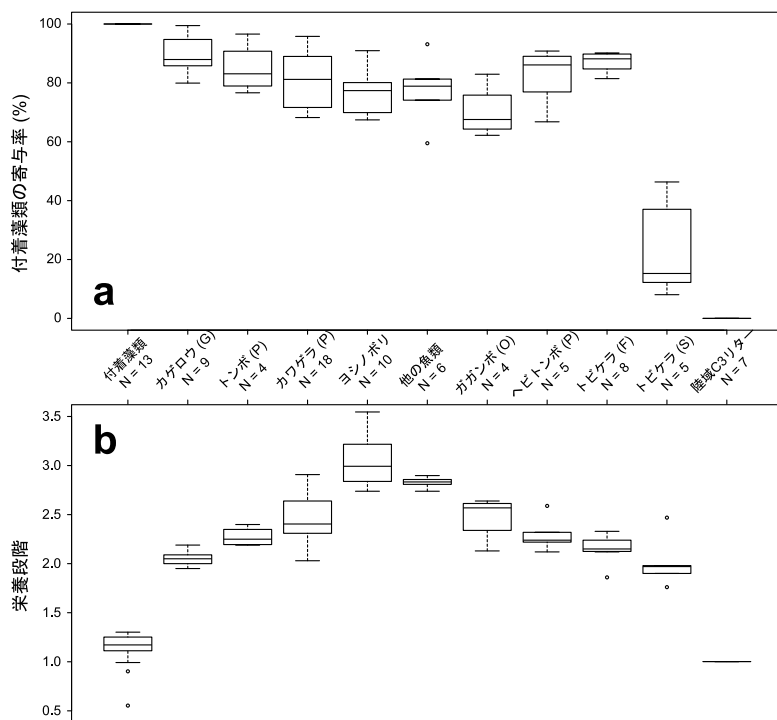
河川食物網の一次消費者(カゲロウやトビケラ幼虫)の栄養段階は、生産者(付着藻類: Periphyton や陸上植物リター: C3 litter)よりも1段階高く、食性に近い推定値が得られた。一方、肉食性の水生昆虫(カワゲラやサナエトンボ幼虫)や魚類の栄養段階は、単一の餌資源(水域生産者)を仮定すると、食性からの予測値よりも低く推定された。水域・陸域生産者間では式(3)-1中の β の値が異なることから、水域・陸域生産者に由来する食物連鎖の混合を考慮し、高次捕食者の栄養段階を計算したところ、食性からの予測値に近くなった。

図(3)-7a, bは、付着藻類とリターの2ソース混合モデルから推定した、各生物に対する付着藻類の寄与率と、ソースの混合を考慮した場合の各生物の栄養段階を、それぞれ示している。カゲロウ(藻類食者)は、付着藻類の寄与率が高く、水域一次消費者に近いアミノ酸同位体比を示した。コカクツツトビケラ(破碎食者)は、付着藻類の寄与率が低く、陸域C3一次消費者に近いアミノ酸同位体比を示した。雑食者であるシマトビケラ(濾過食者)やガガンボ(他の無セキツイ動物)

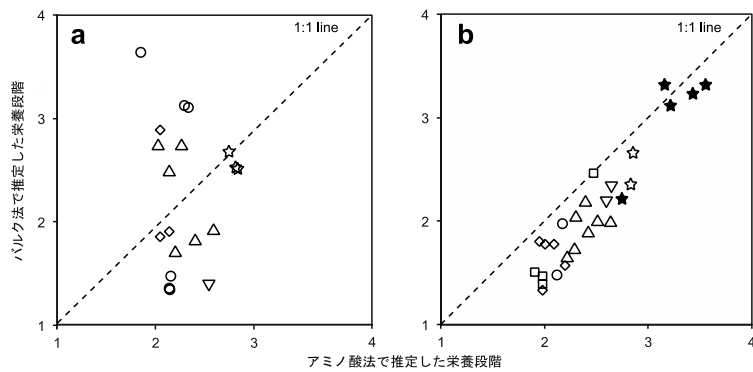
などは、混合を考慮すると栄養段階が少し上がったといえる。カワゲラ（捕食者）のアミノ酸栄養段階は変動が大きく、種間・季節間で餌が異なることが示唆された。サナエトンボ（捕食者）やヘビトンボ（捕食者）など捕食性昆虫の栄養段階は、混合を考慮して若干上がったものの、3以下であった。ヨシノボリや他の遊泳魚類は陸域C3植物由来の資源の影響をかなり受けており、混合を考慮すると栄養段階は3程度となった。

バルク炭素・窒素安定同位体比を用いた場合の2ソース混合モデルによる付着藻類の寄与率推定値および栄養段階推定値は、11月と5月とで対照的な結果となった。5月においては、ほとんどの動物の $\delta^{13}\text{C}_{\text{Bulk}}$ は付着藻類とC3植物リターとの間に位置し、2ソース混合モデルによって付着藻類の寄与率が算出できた。また、ほとんどの水生昆虫の $\delta^{15}\text{N}_{\text{Bulk}}$ は付着藻類もしくはC3植物リターと魚類との間に位置し、2ソース混合モデルによって栄養段階が推定できた（図(3)-8b）。これに対し、11月においては、一部の動物の $\delta^{13}\text{C}_{\text{Bulk}}$ が付着藻類より高く（例：安曇川下流）、また一部の動物の $\delta^{15}\text{N}_{\text{Bulk}}$ が付着藻類より低かった（例：野洲川下流）このため、2ソース混合モデルによる付着藻類の寄与率推定および栄養段階推定が困難となる場合があった。さらに、推定された栄養段階は1~4と大きくばらついた（図(3)-8a）。

本研究では、先行研究の結果^{3), 4), 15)}に基づき、グルタミン酸とフェニルアラニンの同位体比が栄養段階間でそれぞれ8.0‰、0.4‰濃縮すると仮定して計算を行った。しかし、サナエトンボやヘビトンボなど捕食性昆虫の栄養段階は、彼らの食性からの予測値よりも低かった^{16), 17)}ため、彼らの栄養段階間濃縮係数を検証することは今後の課題である。実際にいくつかの研究例において、グルタミン酸とフェニルアラニンの濃縮係数が、我々の仮定とは異なる場合があることが報告されている^{18), 19), 20)}。



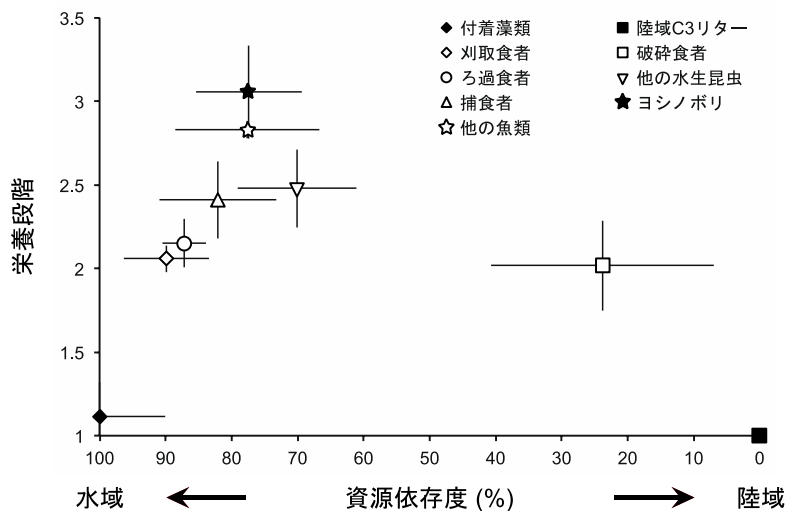
図(3)-7 河川生物における付着藻類と陸上植物リターの相対的寄与率 (a) と栄養段階 (b)



図(3)-8 バルク法とアミノ酸法による栄養段階推定値の比較

一方、グルタミン酸・フェニルアラニンの窒素安定同位体比を用いた場合の2ソース混合モデルによる付着藻類の寄与率推定値および栄養段階推定値は、11月・5月ともに、妥当な結果が得られた。なぜなら、ほとんどの動物の $\delta^{15}\text{N}_{\text{Phe}}$ は付着藻類とC3植物リターとの間に位置し、2ソース混合モデルによって付着藻類の寄与率が算出でき、また、ほとんどの水生昆虫の $\delta^{15}\text{N}_{\text{Glu}}$ は付着藻類もしくはC3植物リターと魚類との間に位置し、2ソース混合モデルによって栄養段階が推定できたからである（図(3)-8a, b）。

バルク炭素・窒素安定同位体比による河川食物網解析には、ベースラインの同位体比の変動や栄養段階間の濃縮係数が分類群によって異なることなど、多くの問題点が指摘されてきた。このため、付着藻類の寄与率および栄養段階に基づく河川食物網構造は、これまであまり精度よく解析されていなかった。本研究から、グルタミン酸・フェニルアラニンの窒素安定同位体比を用いることで、河川生態系の中で水域由来の食物連鎖と陸域由来の食物連鎖がどのように統合されているかが明らかとなり、食物網構造を解明することができた（図(3)-9）。



図(3)-9 アミノ酸同位体比によって明らかになった河川食物網構造

本研究から、河川生態系のような複数の食物連鎖が食物網を構成する複雑系の解析において、アミノ酸窒素安定同位体比が有効な指標となることが示された。

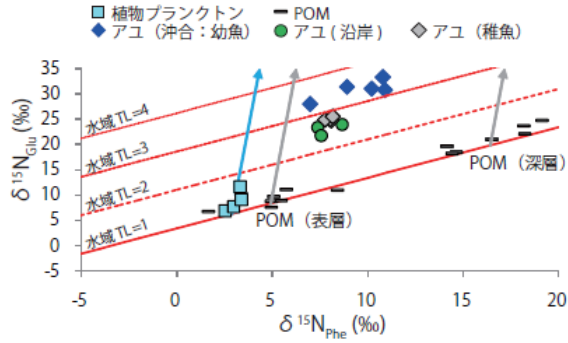
(3) 琵琶湖産魚類の栄養段階および栄養起源の推定

2010年代に採集されたハスについて、アミノ酸窒素安定同位体分析によって求められた栄養段階 (TP) は、6月に採集された個体では3~3.5、8月に採集された個体では2.8程度であった。また、前者よりも後者の方が、 $\delta^{15}\text{N}_{\text{Phe}}$ は2~3‰程度高かった。琵琶湖のハスは普段は沖合を広範囲にわたって遊泳しているが、5月下旬から8月中旬には繁殖のため、流入河川の河口付近に滞留する。この期間には、流入河川を通じて流れ込む陸域の栄養起源 (C3植物由来の有機物) も利用していると考えられる。そのため、6月と8月での栄養段階および $\delta^{15}\text{N}_{\text{Phe}}$ の違いは、陸域由来の栄養起源への寄与率の違いによるものと推測された。

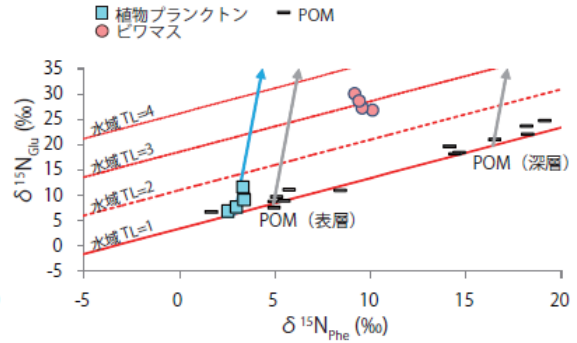
2010年代に琵琶湖の沖合で採集されたアユの栄養段階は3~3.5程度、沿岸で採集されたアユの栄養段階は2.5程度であった(図(3)-10a)。このことから、沖帯のアユは動物プランクトンなどを主に摂食しているが、沿岸帯のアユは付着藻類も多く摂食していることが示唆された。また、ビワマスの栄養段階はおおよそ3と推定されたが(図(3)-10b)、ビワマスは小型魚類やヨコエビ (底生の一次消費者) を摂食していることが知られている。さらに、夏期には通常、躍層付近 (水深15~20m) で遊泳しているが、採餌のときは表層へと移動する。ビワマスの $\delta^{15}\text{N}_{\text{Phe}}$ が表層と深層のPOMの間程度の値を取ったことは、ビワマスの生活パターンをよく示していると考えられる。ビワコオオナマズの栄養段階は3.5程度と推定され、小型魚類などの水生動物を捕食していることが示唆された(図(3)-10c)。これらの結果から、湖に生息するさまざまな生活パターンを持つ魚類の栄養段階や栄養起源を推定する際に、アミノ酸窒素安定同位体比が有効なツールとなることが示された。

安曇川および野洲川の流程で採集された2種のヨシノボリおよび付着藻類について、アミノ酸窒素安定同位体比に基づく2ソース混合モデルによって推定された栄養段階を図(3)-11に示す。野洲川、安曇川ともに、上流部にカワヨシノボリ、中流部から下流部にトウヨシノボリが棲み分けていた。アミノ酸窒素安定同位体比に基づく推定では、安曇川に生息するトウヨシノボリの栄養段階はカワヨシノボリのそれよりも有意に高く、また、水域の栄養起源への寄与率は有意に低かった。一方、野洲川では、トウヨシノボリとカワヨシノボリの栄養段階に有意な差はなかったが、5月に採集したヨシノボリの方が11月に採集したものよりも有意に高い栄養段階を示した。また、水域の栄養起源への寄与率に有意な差はなかった。これらの結果から、2種のヨシノボリは、水域と陸域の栄養起源を混合して利用していることが明らかになった。また、2種のヨシノボリで栄養段階や寄与率が異なったのは、餌群集の変化を反映している可能性がある。本研究により、多様な栄養起源が存在する複雑な食物網においても、アミノ酸窒素安定同位体比を用いることで栄養段階や異なる栄養起源の寄与率を同時に推定できることが示された。

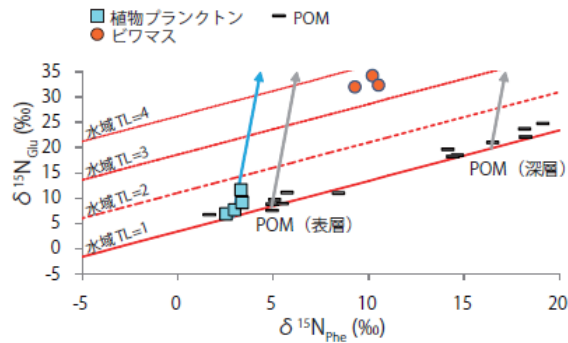
a) アユ



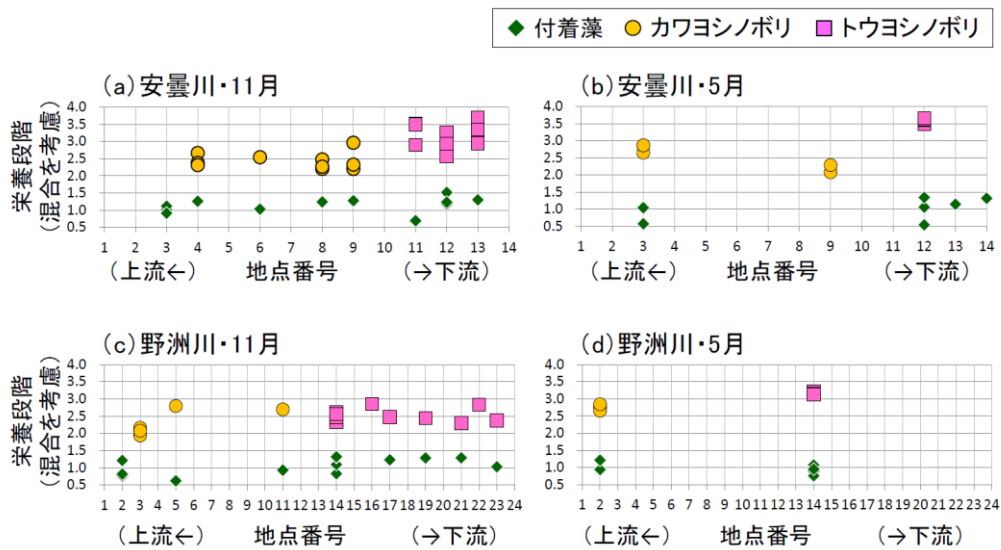
b) ビワマス



c) ビワコオオナマス

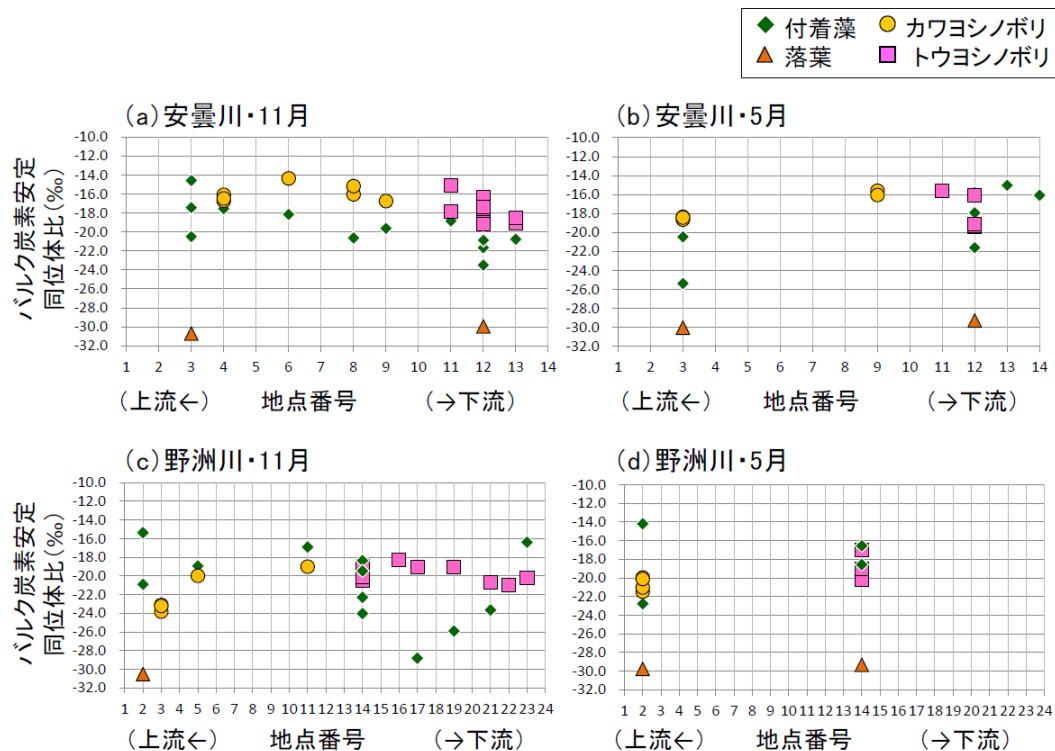


図(3)-10 琵琶湖産魚類におけるアミノ酸食物網マップ。a) 湖内のアユ、b) ビワマス、c) ビワコオオナマス。矢印は単一の栄養起源（植物プランクトン、表層あるいは深層の粒状有機物）を利用した場合の食物連鎖の方向をそれぞれ示す。



図(3)-11 野洲川・安曇川の流程における2種のヨシノボリおよび付着藻類の栄養段階（アミノ酸窒素安定同位体比に基づく2ソース混合モデルによる推定値）。

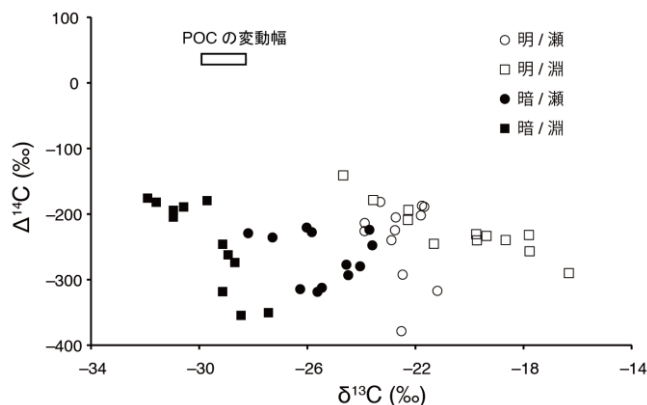
一方、ほとんどのサイトにおいて、陸域および水域の栄養起源のバルク炭素安定同位体比はヨシノボリのそれよりも著しく低く（図(3)-12）、2ソース混合モデルによる栄養段階推定を行うことができなかつた。付着藻類の炭素安定同位体比は、成長速度や流速、代謝に用いる溶存態炭素の安定同位体比といったさまざまな要因によって大きく変動することが知られており、栄養段階の推定が不正確になる場合がある。しかし、アミノ酸窒素安定同位体比に基づく2ソース混合モデルでは、ヨシノボリの栄養段階や栄養起源への寄与率をうまく推定することができた。バルクの安定同位体比では値のばらつきが大きすぎ、生物の栄養段階や栄養起源への寄与率の推定が難しい食物網の構造解析には、アミノ酸窒素安定同位体比が威力を発揮する可能性がある。



図(3)-12 野洲川・安曇川の流程における2種のヨシノボリ、付着藻、陸上植物の落葉のバルク炭素安定同位体比。

(4) 放射性炭素14を用いた琵琶湖流入河川食物網の炭素起源推定

付着藻類の $\delta^{13}\text{C}$ 値は $-31.9 \sim -16.3\%$ で、光、流速環境において有意に異なっていた（光: $P < 0.001$ 、流速: $P = 0.04$ 、光 \times 流速: $P < 0.001$ ）。付着藻類の $\delta^{13}\text{C}$ 値はハビタット間で有意に異なっていた(Tukey HSD検定)。付着藻類の $\Delta^{14}\text{C}$ 値は $-379 \sim -141\%$ で、光、流速環境において有意に異なっていなかった（光: $P = 0.13$ 、流速: $P = 0.26$ 、光 \times 流速: $P = 0.82$ ）（図(3)-13）。陸上由来の有機物を主な起源とするPOCの $\delta^{13}\text{C} \cdot \Delta^{14}\text{C}$ 値はそれぞれ一定であったため、付着藻類のハビタット間における同位体比の差の有無は、直接的に炭素起源推定に影響を及ぼすことが明らかとなった。すなわち、たとえ付着藻類とPOCの $\delta^{13}\text{C}$ 値が重複しない場合であっても、河川生態系のハビタット間を移動する生物の炭素起源を推定するにあたり、 $\delta^{13}\text{C}$ よりも $\Delta^{14}\text{C}$ の方が有効であることが示された。



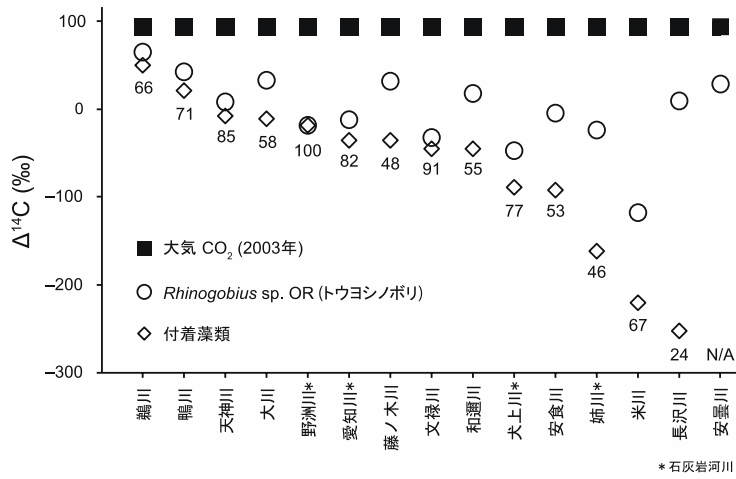
図(3)-13 付着藻類とPOCに関する、 $\delta^{13}\text{C}$ と $\Delta^{14}\text{C}$ (‰) の2次元プロット。

琵琶湖流入15河川において、付着藻類の $\Delta^{14}\text{C}$ 値は、流域に石灰岩を含む河川で低い傾向が見られ、非石灰岩河川であっても、サンプルを採集した年における大気 CO_2 の $\Delta^{14}\text{C}$ 値より低かった。このことは、石灰岩河川でなくとも、流域に ^{14}C 年代の古い炭素が含まれており、かつそれが河川の内部生産経路を通して付着藻類へと取り込まれていることを示唆している。非石灰岩河川では、河岸土壌に含まれる有機物や、農地から排出される有機物が、 ^{14}C 年代の古い炭素を供給しているものと考えられる²¹⁾。さらに、トウヨシノボリの $\Delta^{14}\text{C}$ は河川間で大きく値が異なるものの、付着藻類の $\Delta^{14}\text{C}$ 値と、大気 CO_2 の $\Delta^{14}\text{C}$ 値の間に位置することが分かった。よって $\Delta^{14}\text{C}$ を用いて河川の生物に対する内部生産（付着藻類）と外部生産（リター）の相対的な貢献度を評価することは、いろいろな河川において広く有効と考えられる（図(3)-14）。

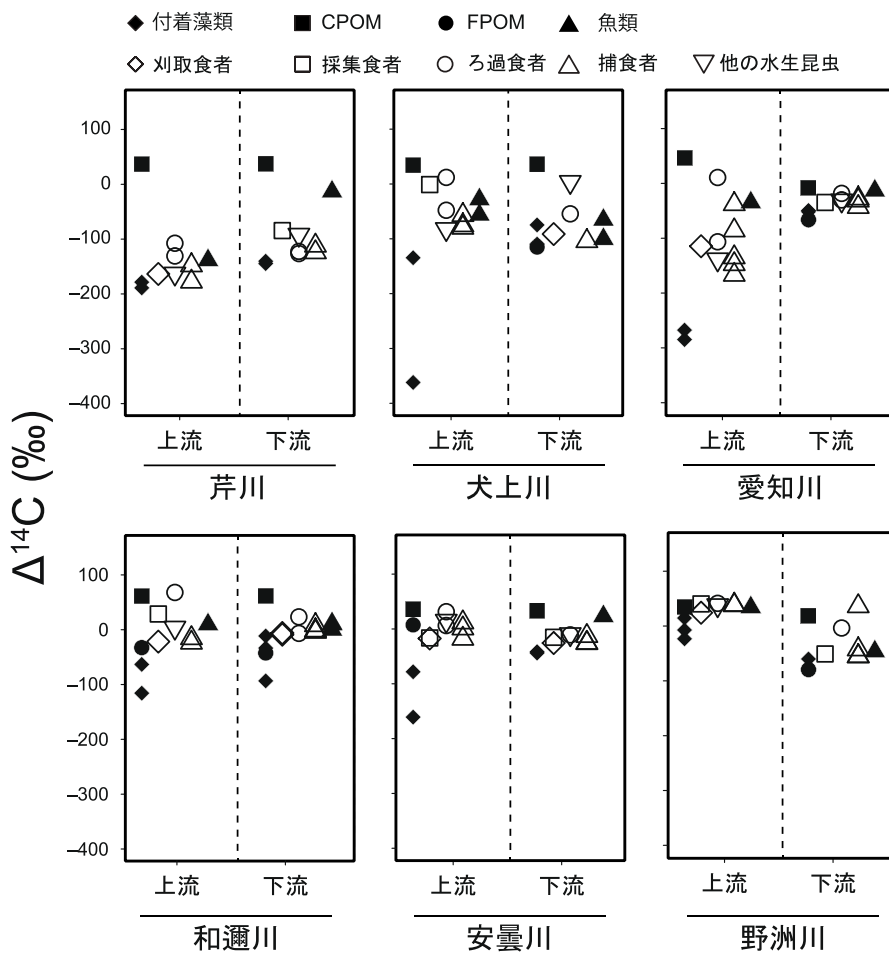
河川内部の炭素循環の起点の1つとなる溶存無機炭素（DIC）には、大気 CO_2 と石灰岩（炭酸塩岩）という2つの大きなソース（大気 CO_2 : $\delta^{13}\text{C} \sim -8\text{‰}$ 、 $\Delta^{14}\text{C} \sim +40\text{‰}$ （2013年時点）；炭酸塩岩: $\delta^{13}\text{C} \sim 0\text{‰}$ 、 $\Delta^{14}\text{C} \sim -1000\text{‰}$ ）があると考えられる。大気 CO_2 は、水に溶解すると水和して H_2CO_3 が生成し、さらに解離して HCO_3^- と CO_3^{2-} が生成するが、pH7付近では HCO_3^- がDICの大半を占める。溶存 CO_2 と HCO_3^- との間の炭素同位体分別係数は水温に依存し²²⁾、一般に $\delta^{13}\text{C}$ 値が約9～12‰変化する。このため、大気 CO_2 と平衡状態にある河川水のDICは $\delta^{13}\text{C}$ で0‰、 $\Delta^{14}\text{C}$ で+40‰（2013年時点）前後の値を示すことが多い。一方、生物の呼吸によって有機物が分解されると、大気 CO_2 とは $\delta^{13}\text{C}$ 値や $\Delta^{14}\text{C}$ 値の異なる CO_2 がDICへ供給されると考えられる^{23), 24)}。しかし、特に河川生物の $\Delta^{14}\text{C}$ データ蓄積が少ないため、生物呼吸由来の CO_2 がDICにどの程度寄与しているかは、まだよく分かっていないのが現状である。

琵琶湖流域の河川生態系の主要な一次生産者である付着藻類の $\Delta^{14}\text{C}$ 値は、芹川、犬上川、愛知川の3石灰岩河川で-361～-48‰であった（図(3)-15）のに対し、和邇川、安曇川、野洲川の3非石灰岩河川では-61～+21‰であった（図(3)-15）。一方、粗大粒状有機物（CPOM）の $\Delta^{14}\text{C}$ 値は-6～+62‰であった。生物の $\Delta^{14}\text{C}$ 値は3石灰岩河川で-164～+12‰であったのに対し、3非石灰岩河川では-63～+68‰であった。生物の $\Delta^{14}\text{C}$ 値と2ソース混合モデルの推定値から、石灰岩河川では炭酸塩の風化によって生じる無機炭素が、付着藻類による光合成を通じて食物網へと供給されていることが明らかとなった。一方、非石灰岩河川においても、現在の大気 CO_2 と異なる $\Delta^{14}\text{C}$ 値をもつ生物が存在し、集水域に含まれる石灰岩以外の炭素リザーバーも、食物網の ^{14}C 年代に影響していることが示

された。下流の集水域にわずかに石灰岩地帯が分布する野洲川（総面積の約0.1%）以外は、付着藻類の $\Delta^{14}\text{C}$ 値は上流より下流で高かった。動物の $\Delta^{14}\text{C}$ 値は、河川間で200‰以上の変動を示した。

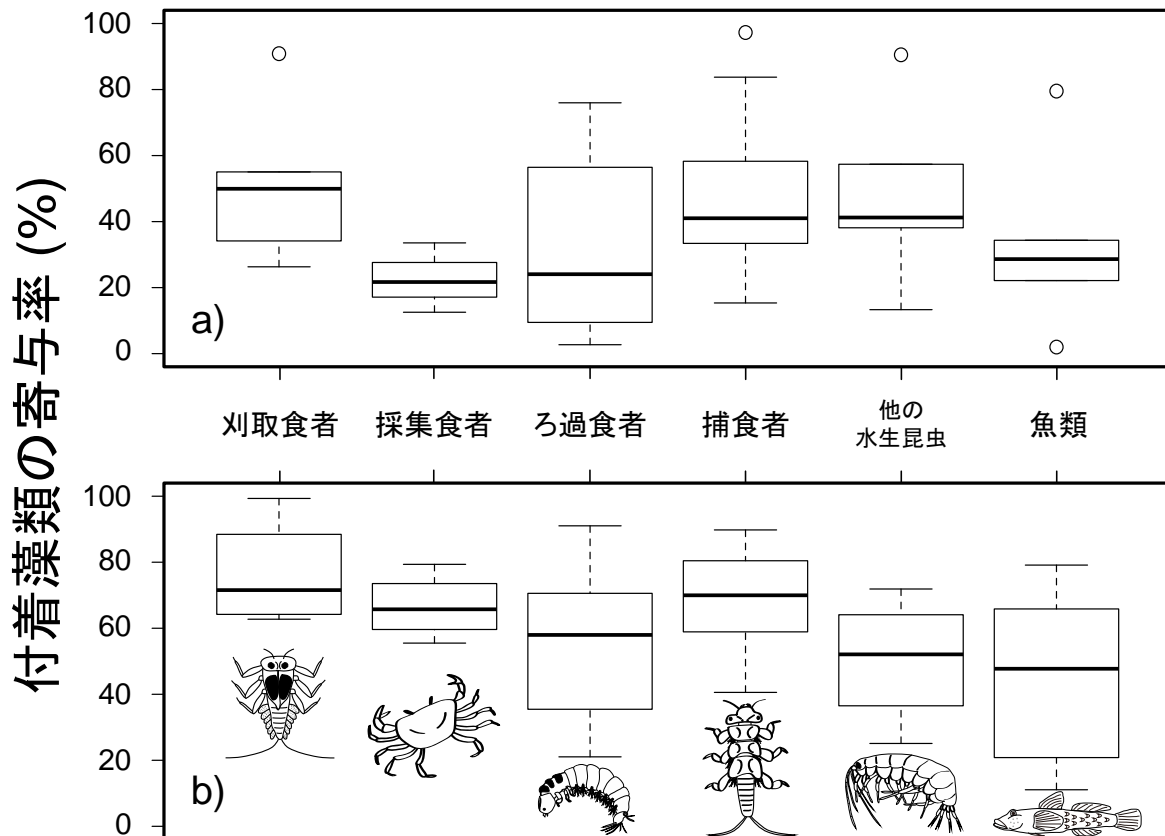


図(3)-14 琵琶湖流入15河川における、付着藻類とヨシノボリの $\Delta^{14}\text{C}$ シンボルの下の数字は、ヨシノボリに対する水域生産の相対的寄与率 (%) を表す



図(3)-15 琵琶湖流域における河川食物網の $\Delta^{14}\text{C}$

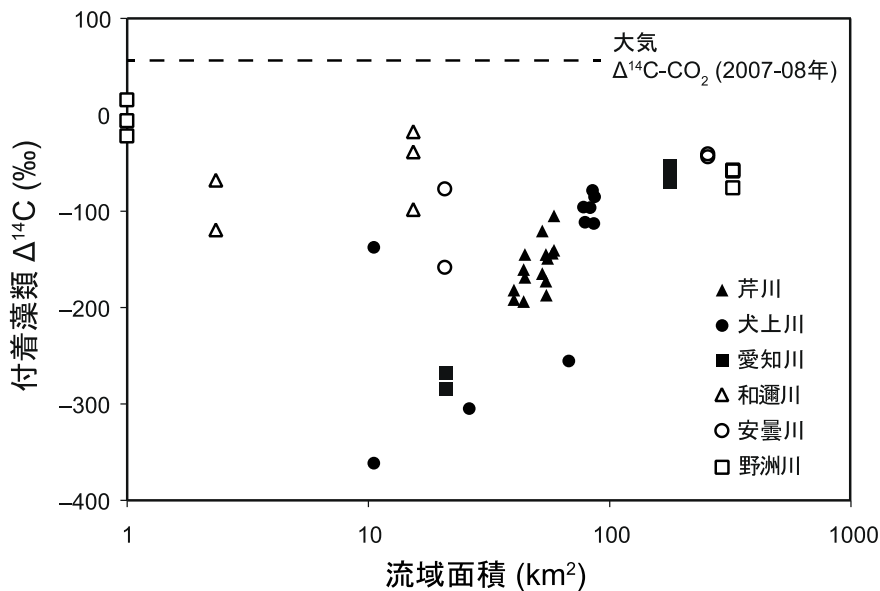
ほとんどの動物の $\Delta^{14}\text{C}$ 値は、それぞれのサイトの付着藻類とCPOMの $\Delta^{14}\text{C}$ 値の間に位置し、これらの炭素起源が河川食物網の $\Delta^{14}\text{C}$ 値のエンドメンバーであることを示した。ほとんどの河川で見られた、付着藻類の藻類食者（ヒラタカゲロウ科：Heptageniidae spp.）への大きな寄与は、摂食機能群からの予測と一致している。愛知川下流でのCPOMの比較的低い $\Delta^{14}\text{C}$ 値（-6‰）は、CPOM表面に $\Delta^{14}\text{C}$ 値の低い藻類が付着しており、結果としてCPOMの $\Delta^{14}\text{C}$ 値が低下したためかもしれない。ろ過食者（ヒゲナガカワトビケラ：S. marmorataとモンカゲロウ属：Ephemera spp.）の付着藻類への依存度は下流で増加した。このことは、付着生物から脱離した藻類細胞などが、彼らの餌である微細粒状有機物（FPOM）に寄与していることを示唆する。すなわち、光と栄養塩供給が乏しく、かつCPOM供給量の多い上流部では、河川内部の一次生産力は低く、FPOMは陸上植物由来の有機物の占める割合が高い。一方、下流部では河川上空の開空度が増加し、集水域からの栄養塩供給も一般に多いため、付着藻類などの生産者の光合成活性が増加する。このため、下流部においてFPOMに占める付着藻類由来の有機物の割合が増加するものと考えられる（図(3)-16）。



図(3)-16 $\Delta^{14}\text{C}$ を用いた2ソース混合モデルによって推定された、琵琶湖流域河川のa) 上流、b) 下流における、各生物に対する付着藻類の相対的寄与率

さらに、流域の地質だけでなく流下過程においても $\Delta^{14}\text{C}$ は変化した。図(3)-17は流域面積と付着藻類 $\Delta^{14}\text{C}$ 値との相関図であるが、石灰岩河川では上流から下流にかけて $\Delta^{14}\text{C}$ 値の増加が見られた（芹川と犬上川流程8地点において、より詳細な調査を行った結果を示している）。調査した石灰

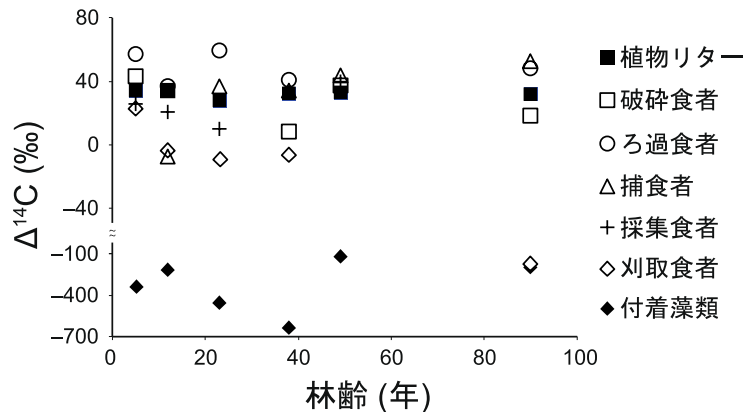
岩河川の芹川、犬上川、愛知川はいずれも、滋賀県東部の伊吹山石灰岩地帯に端を発しており、石灰岩が分布しているのも上流部のみである。したがって上流部の地点の付着藻類はこの石灰岩が風化した無機炭素を高い割合で固定していたものと考えられる。河川が流下するにつれ、大気 CO_2 の直接的な溶解、あるいは陸上植物由来の有機物の分解に伴う溶存無機炭素の増加により、このような岩石由来の年代の古い炭素は「希釈」され、必然的に無機炭素を固定する付着藻類の $\Delta^{14}\text{C}$ が現世よりの値にシフトしている可能性が考えられる。一方で、非石灰岩河川の付着藻類も現世の大気 CO_2 よりも低い $\Delta^{14}\text{C}$ 値を示した。前述の通り、これは集水域スケールで保持されている、炭素年代が数十年から数百年スケールの炭素の寄与と考えられる。北米のハドソン川における先行研究の結果からは、上流部では溶存有機炭素の炭素年代が粒状無機有機炭素のそれよりも古く、下流部ではこれらの $\Delta^{14}\text{C}$ 値が逆転するという事例も報告されている¹⁹⁾。これは主に、上流部の粒状有機物の起源が河岸から供給された陸上植物由来の炭素であるのに対し、下流部では付着藻類などの自生性資源の粒状有機物に対する寄与が増加するためと考えられる。



の間には正の関係性があるのではないかと考えた。第一に、林齢の進行に伴い林冠が閉鎖されるため、河床へ到達する光量が減少して河川内一次生産が減退し、結果として食物網全体としては陸上生産産物への依存度を増していくのではないかと予測した。第二に、一般に林齢の進行に伴い土壌の緊縛力は増大することが知られており、調査地における斜面崩壊の発生確率は、高齢林になるにつれて低下することが既に分かっている²⁵⁾。したがって、土壌に蓄積されている¹⁴C年代の古い有機物の河川への流入量は、林齢の進行に伴い減少すると予測した。本研究では、付着藻類を河川の自生性生産産物を代表するものとして捉え、土壌から溶出する有機物、そして土壌有機物が分解されて発生した無機炭素の $\Delta^{14}\text{C}$ のシグナルが、付着藻類に反映されていると考えた。付着藻類の固定する炭素が、土壌に由来する¹⁴C年代の古い有機物起源であるとするならば、付着藻類の $\Delta^{14}\text{C}$ 値は現世の大気 CO_2 のそれよりも低くなるはずである。一方、陸上植物による当年生の光合成生産は、現世の大気 CO_2 の $\Delta^{14}\text{C}$ シグナルを、植物リターを介して河川食物網へと供給していると考えた。このため、陸上植物リターの $\Delta^{14}\text{C}$ 値は、河畔林の林齢に関わらず一定で、かつ現世の大気 CO_2 の $\Delta^{14}\text{C}$ 値とほぼ等しくなるものと予測した。すなわち、付着藻類 $\Delta^{14}\text{C}$ 値がリター $\Delta^{14}\text{C}$ 値よりも低くなることが予測されたため、これらに依存する水生昆虫への、両者の相対的な寄与率と、林齢の進行に伴う寄与率の変化を、 $\Delta^{14}\text{C}$ により評価できるのではないかと考えた。

陸上植物リターの $\Delta^{14}\text{C}$ 値は、予想通り林齢に関わらず一定で、かつ現世の大気 CO_2 の $\Delta^{14}\text{C}$ 値とほぼ等しくなった。このことは、大気 CO_2 由来の $\Delta^{14}\text{C}$ シグナルが、陸上植物生産を介して、河川食物網へと供給されるポテンシャルがあることを示唆している。実際に、林齢と河川生物の $\Delta^{14}\text{C}$ との関係性を見ると、水生昆虫のほとんどは若齢林から老齢林にかけてほとんど陸上植物リターに依存していた。このことは、河畔林の林齢、あるいは水生昆虫の摂食機能群に関わらず、溪流生態系の食物網は植物リターを介して、陸上植物生産（すなわち現世の大気 CO_2 ）に強く依存していることを示唆している。一方、付着藻類の $\Delta^{14}\text{C}$ と林齢との間に明瞭な関係性は見られず、前述した「土壌由来の¹⁴C年代の古い炭素流入量は林齢の進行に伴い減少するため、付着藻類の $\Delta^{14}\text{C}$ は高齢林ほど高くなる」という仮説は支持されなかった。水生昆虫の機能群別に考察してみると、付着藻類に強く依存すると考えられる刈取食者（Grazers）は、他の機能群の水生昆虫よりも若干、付着藻類寄りの低い $\Delta^{14}\text{C}$ 値を示していた。また驚くべきことに、最も河床の暗かった90年生のサイトにおいて、付着藻類と刈取食者の $\Delta^{14}\text{C}$ 値がほぼ一致した。

本研究では、集水域の林齢が異なる調査地が連続的に分布する特異的なサイトを用いて、河川食物網を流れる炭素の¹⁴C年代が、河畔林の成立とともにどのように変化していくかを検証した。これは1種のChronosequence（年代系列）研究と位置づけられ、河川生態学、あるいは生物地球化学の範囲で捉えるならば、極めて独創性の高いものである。本研究から、京都大学フィールド科学教育研究センター和歌山研究林およびその周辺の集水域（護摩壇山試験地）においては林齢に関わらず、河川食物網は現世の大気 CO_2 に強く依存していることが分かった。すなわち森林皆伐は、河川生態系の炭素循環、とりわけ炭素滞留時間に対してほとんど影響していないというのが、現時点での結論である。本研究の最終的な完成によって得られる成果は、森林-河川生態系の連結、あるいはこれら集水域の一元的な管理を考える上でも、極めて有用な情報を提供するものと期待される。

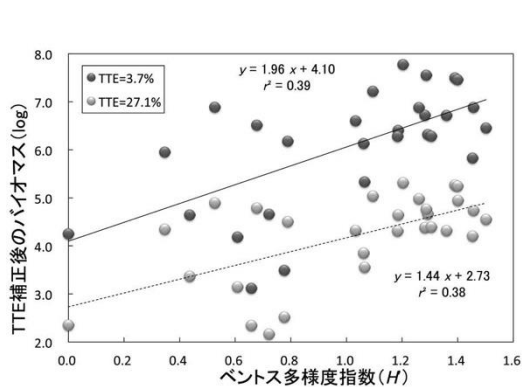


図(3)-18 護摩壇山試験地河川における、河畔林齢と河川生物 $\Delta^{14}\text{C}$ との関係 (2011年12月)

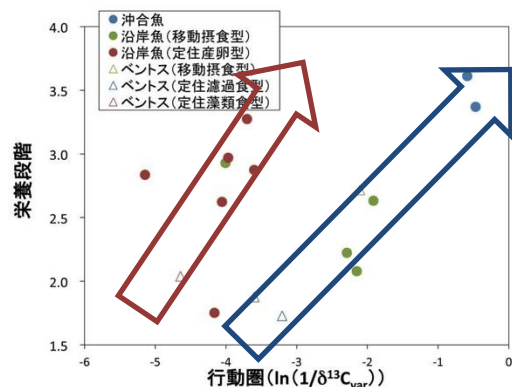
(6) 安定同位体指標に基づく生物多様性と生態系機能の関係解明

琵琶湖沿岸生態系では、底生動物の多様性指数が高い局所群集ほど、バイオマス加重平均栄養段階が高くなる有意な傾向がみられた。多様性指数と群集総バイオマスとの間に有意な相関関係は認められなかったが、栄養転送効率 (TTE) で補正した基盤資源への生産依存量で比較すると生物多様性と生産性の間には有意な正の相関関係がみられた (図(3)-19)。この傾向は、底生動物が示しうる TTE の幅広い値に対してロバストであった。また、この生産性の高さは沿岸生態系の捕食者となる底生魚の栄養段階にも反映された。

結論として、栄養関係が階層化しやすい水界動物群集の生物多様性と生産性の関係を評価する際、栄養段階を考慮することの重要性が示唆された。



図(3)-19 琵琶湖沿岸における底生動物群集の生物多様性と栄養転送効率で補正した基盤資源への生産依存量の関係。



図(3)-20 異なる摂餌ギルドに属する生物種の行動圏 $\ln(1/\delta^{13}\text{C}_{var})$ と栄養段階の関係。

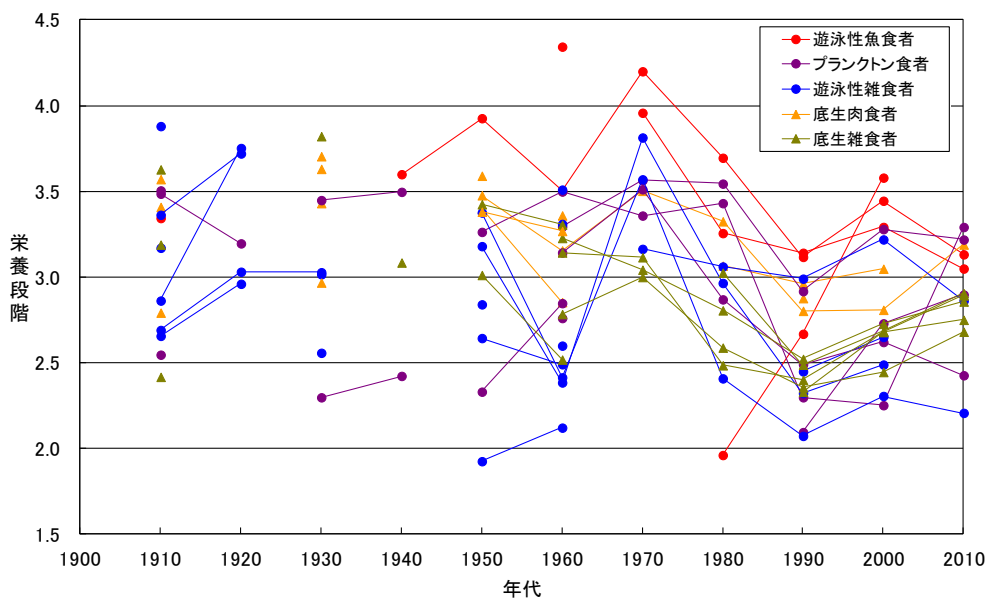
(7) 安定同位体指標に基づく空間食物網解析

炭素・窒素安定同位体比に基づく生物の摂餌ギルド、行動圏、および、栄養段階の関係を図(3)-20に示す。沿岸の底生藻類を起点とした底生食物連鎖上 (赤矢印) に位置する生物群集は栄養段階が上昇するにつれて $\ln(1/\delta^{13}\text{C}_{var})$ があまり変化しないのに対して、植物プランクトンを起点とした

表層食物連鎖上（青矢印）の頂点に位置する沖合遊泳性のプランクトン食魚や魚食魚は栄養段階が上昇するにつれて高い $\ln(1/\delta^{13}C_{var})$ を示した。本結果より、沿岸定住性魚類の安定同位体情報が局所食物網を反映する指標として有効であり、沖合遊泳性魚類の安定同位体情報は湖沼生態系全体の食物網構造を積分的に反映すると結論された。湖沼や海洋の食物網構造を記述する際に、着目する生態系の空間範囲（局所沿岸域あるいは生態系全域）に応じて異なる摂餌ギルドに属する捕食魚の安定同位体情報を用いることが有効となる。本成果は、現在の生態系のみならず過去の生態系の食物網構造を生物標本から復元する方法論に理論的根拠を提供する（次項（8）を参照）。

（8）液浸標本を用いた食物網の長期動態解析

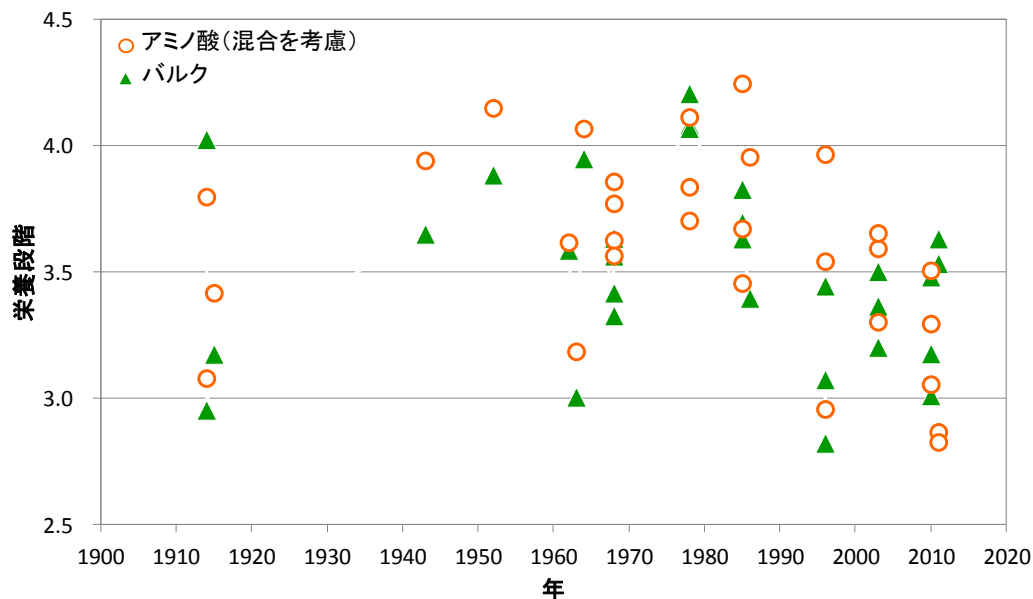
バルク窒素安定同位体比に基づく解析の結果を図(3)-21に示す。多くの魚種の栄養段階は、1990年代に劇的に低下した後、2000年代には再び上昇傾向に転じた。今回新たに測定した2010年に収集した標本の栄養段階推定結果に基づく、14種のうち8種において、2000年代からさらに0.1～1程度の上昇が観察された（図(3)-21）。対照的に、琵琶湖で優占する外来魚オオクチバスとブルーギルの栄養段階は低下傾向を示した。本結果は、2000年代以降に沿岸ヨシ帯の保全事業や外来魚の駆除事業が精力的に実施されたことにより、琵琶湖の食物網が回復傾向にあることを示唆する。以上より、湖沼生態系への人為的な影響を過去にさかのぼって評価する指標としてバルク窒素安定同位体比に基づく栄養段階推定の有効性が示された。



図(3)-21 バルク窒素安定同位体分析によって求められた、琵琶湖における魚類の栄養段階の長期的な動態（1910年代～2010年代）。それぞれのプロットは各魚種の栄養段階を10年ごとに平均した値を示し、10年おきの変化を実線で結んである。

（9）ハスおよびイサザにおける栄養段階の長期変動

アミノ酸窒素安定同位体比によって推定されたハスの栄養段階の長期変動を図(3)-22に示す。また、アミノ酸窒素安定同位体比およびバルク窒素安定同位体比それぞれに基づいて推定された栄養段階の間には有意な相関がみられ、両者はほぼ一致した（ $r = 0.60$; $P < 0.001$ ）。



図(3)-22 琵琶湖におけるハスの栄養段階の長期的な動態（1910年代～2010年代）。丸および三角のプロットは、アミノ酸窒素安定同位体比およびバルク窒素安定同位体比に基づく栄養段階をそれぞれ示す。

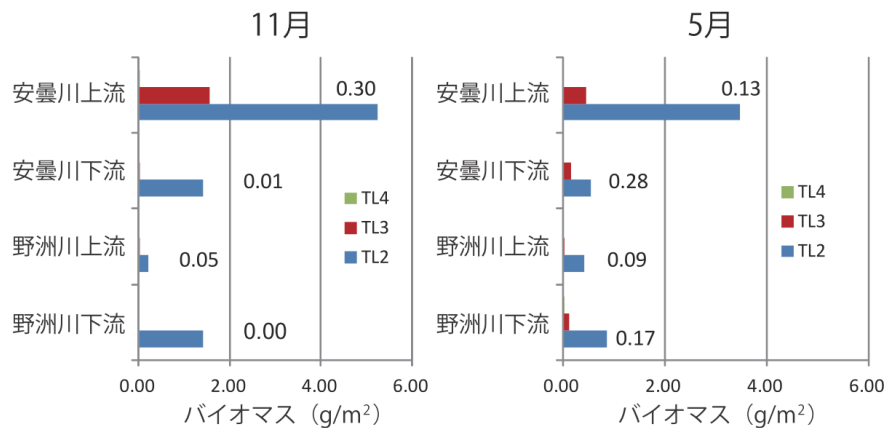
物理環境の変化や侵略的外来種の侵入などが原因となり、食物網を構成していた生物種の減少や絶滅が起こると、その生物を摂食していた捕食者へとつながる栄養経路の縮小や短縮が起こるため、この捕食者の栄養段階は低下し得る。そのため、高次捕食者の栄養段階は、その食物網構造の変化を示す指標として有効であると考えられる。本研究では、アミノ酸窒素安定同位体比に基づき、琵琶湖の高次捕食者であるハスの栄養段階を過去にさかのぼって推定できた。このことは、食物網構造の長期的な変遷を明らかにする上で、アミノ酸窒素安定同位体比が有効なツールとなることを示している。ただし、栄養起源の混合が想定される場合には、過去のベースラインとなる栄養起源を適切に選ぶ必要がある。従来のバルク安定同位体比では、栄養起源の推定に炭素安定同位体比を用いる場合が多かったが、ホルマリン等の有機溶媒によって固定された液浸標本の炭素安定同位体比は大きく変化してしまうため、解析に用いることができない。一方、アミノ酸窒素安定同位体比は、ホルマリン中で長期保存された生物標本でも変化しないことが知られている²⁶⁾。そのため、過去の液浸標本を用いて食物網構造を解析する際には、アミノ酸窒素安定同位体比を用いた手法の方が有用な場合も多いだろう。さまざまな機関に保管されている生物標本を用い、アミノ酸窒素安定同位体比による栄養段階推定を行うことで、過去の食物網構造の復元、さらには水産資源管理等への応用が期待される。

（10）理論と実証の融合—複雑性指標の野外食物網への適用—

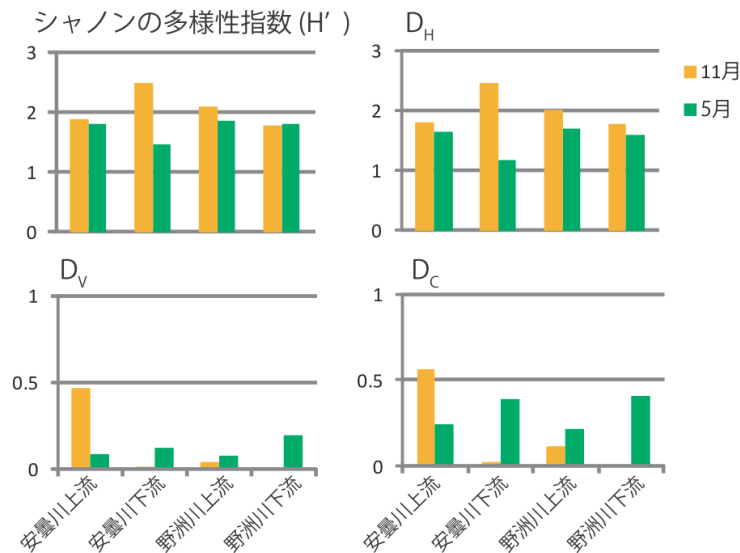
アンフォールドされた食物網について、各栄養段階におけるバイオマスの分布を図(3)-23に示す。11月の安曇川上流では、高次捕食者（TL>3）のバイオマス比（0.30）が他の地点よりも際立って高かった。さらに、それぞれの食物網について求めたShannon-Wienerの多様度指数（ H' ）および

複雑性指標を比較すると、 H' と D_H 、あるいは D_V と D_C はたがいによく似た挙動を示した(図(3)-24)。例えば、11月の安曇川上流では、 H' や D_H はずば抜けて高いわけではないが、 D_V と D_C が際立って高かった。また、野洲川下流では、11月と5月で H' はほぼ同じだが、 D_V と D_C は5月の方がずっと高かった。 D_V と D_C は栄養段階方向の多様性を示す指標であることを考えると、「11月の安曇川上流では、高次捕食者(TL>3)のバイオマス比が他の地点よりも高かった」という現象をよく説明している。

また、「野洲川下流では、11月より5月の方が高次捕食者のバイオマス比が高かった」という現象もよく説明している。以上の結果から、異なるタイプの河川・季節間で食物網の比較を行ったとき、 D_V や D_C は食物網構造を理解するための良い指標となることが示唆された。



図(3)-23 アンフォールドされた野洲川・安曇川の底生動物群集における栄養段階ごとのバイオマス分布。グラフ中の数字は、捕食者と植食者のバイオマス比 ($(TL4+TL3)/TL2$) を示す。



図(3)-24 野洲川・安曇川の底生動物群集から求められたShannon-Wienerの多様度指数 (H') および複雑性指標 (D_H 、 D_V 、 D_C)。

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

本研究を通じて、現在最新の研究としてとらえられている、アミノ酸窒素同位体比手法や放射性炭素14手法を陸水生態系に用いることの利点および注意すべき点が明確になった。本手法の利用可能性に関するプロトコルが作成されたことにより、陸水生態系において種レベルの生物多様性調査に加え食物網構造を解析する手法が一般的に活用されることになる。これらの成果は、*Ecology*や*Oecologia*といった一流の生態学一般の専門誌に掲載されており、国際的にも利用可能な手法として認められたと言える。さらに、放射性炭素14手法に関しては、河川生態系研究における利用法に関する現在の世界的状況を*Ecological Research*誌に総説としてまとめることによって、世界に研究手法を紹介する記事となった。琵琶湖における過去100年の栄養段階の変遷に関するものは、バルク同位体比に関しては出版済みであるが、アミノ酸窒素同位体比の分析によるものは未発表であり、早急に出版するよう準備中である。サブテーマ(4)において開発された「食物網複雑性指標 (D_H 、 D_V 、 D_C)」を用いて実際の河川生態系に適用した研究は、通常生態学で用いられるShannon-Wienerの多様度指数 (H') に似ているが、栄養段階を評価することのできる画期的な指標であると考えられる。我々の野外調査試料以外に比較対象が出来るデータがないために、その一般性に関してはさらなる検証が必要ではあるが、大いなる可能性があると考えている。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

特に記載すべき事項はない。

<行政が活用することが見込まれる成果>

本研究成果は、まず今後行政が行う生物多様性調査において、標本試料を残しておく重要性を指摘する。行政単位の自然保護課もしくは博物館において、たとえば毎年決まった時期に生物多様性調査を行い、その一部において乾燥標本もしくは液浸標本を保存しておくことにより、種レベルの生物多様性調査以上の生態系情報を保存しておくことを示した。同位体分析については前者の標本の方が望ましいが、DNA情報も保持するためには後者が望ましく、選択は行政単位のゆだねられると考えられる。また、本分析手法を用いることにより、既存の生物標本を利用することができれば、情報が不足しがちな過去の生態系復元も可能になると考えられる。本研究課題で扱った同位体分析手法は、一般企業や研究機関において外注分析が簡単なものから、技術的に分析可能な機関に限られるものもあるが、今後行政ニーズが明確になると技術革新は自ずと進むものと考えられる。その意味において、本研究課題の成果は、ただちに行政が活用することの出来る部分とともに、今後を見据えた技術開発の側面をもっている。

6. 国際共同研究等の状況

2013年7月に研究協力者の石川尚人が、Mary E. Power (Univ. California Berkeley、教授)、Jacques C. Finlay (Univ. Minnesota、准教授) とともに、アメリカ合衆国カリフォルニア大学の管理下にあるAngelo Coast Range Reserve (ウェブサイト <http://angelo.berkeley.edu>) を含んだEel River集水域

において野外調査を行い、共同研究を開始した。Angelo Coast Range Reserveは、1970年代から150編にわたる研究業績がある研究サイトであり、集水域生態学の研究を行う聖地とも言える。これらの研究成果を元に、日本生態学会第61回大会(2014.03.15、広島国際会議場)においてシンポジウムS10「Use of various isotope tools in watershed ecology」を開催した(参加者約100名)。シンポジウムでは、以下に示す演題によって、本研究のすべてのサブテーマから研究成果のまとめの発表を行った。また、Mary E. Power (Univ. California Berkeley、教授)、Jacques C. Finlay (Univ. Minnesota、准教授)の参加を得て、研究発表を行っていただいた後、引き続き今後共同研究を深めていくことを確認した。

1. Ichiro Tayasu (CER, Kyoto Univ.) Isotope tools: new directions
2. Hiroyuki Togashi (Tohoku NFRI), Naoko Tokuchi (FSERC, Kyoto Univ.) A difference in food web structures with various forest stand ages in headwater streams
3. Nobuhito Ohte (Univ. Tokyo) How does anthropogenic nitrogen input affect the nutrient dynamics and food web structures?: revealed by transect surveys of nitrate isotopes
4. Naoto F. Ishikawa (JAMSTEC) Analysis of stream food web using stable nitrogen isotope ratios of amino acids
5. Yoshikazu Kato (CER, Kyoto Univ.) Biological specimens reveal centurial dynamics of trophic level of fishes in Lake Biwa
6. Michio Kondoh (Ryukoku Univ.), Takeshi Miki (National Taiwan Univ.), Satoshi Kato (Ryukoku Univ., Fujirebio INC.) Stable isotope analysis and food-web unfolding
7. Jacques C. Finlay (Univ. Minnesota), Martin Tsui (Univ. North Carolina), Mary E. Power (UC Berkeley) and Wendy Palen (Simon Fraser Univ.) Mercury, carbon and hydrogen stable isotope tracers for analyses of energy sources in stream food webs
8. Mary E. Power (UC Berkeley) Linkages of forests with river and coastal ocean food webs

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文(査読あり)>

- 1) N.F. ISHIKAWA, M. UCHIDA, Y. SHIBATA and I. TAYASU: Marine & Freshwater Research, 63, 210-217 (2012)
“Natural C-14 provides new data for stream food web studies: a comparison with C-13 in multiple stream habitats”
- 2) 奥田昇: 日本生態学会誌, 62, 207-215 (2012)
“安定同位体を用いた水田生態系の構造と機能の評価手法”
- 3) S. OHBA, J. TAKAHASHI and N. OKUDA: Insect Conservation and Diversity, 6, 155-161 (2013)
“A non-lethal sampling method for estimating the trophic position of an endangered giant water bug using stable isotope analysis”
- 4) Y. SAKAI, Z. KARUBE, T. TAKEYAMA, A. KOHZU, C. YOSHIMIZU, T. NAGATA, I. TAYASU and N. OKUDA: Limnology, 14, 167-177 (2013)
“Seasonal and site-specific variability in terrigenous particulate organic carbon concentration in

near-shore waters of Lake Biwa, Japan”

- 5) N.F. ISHIKAWA, F. HYODO and I. TAYASU: Ecological Research, 28, 759-769 (2013)
“Use of carbon-13 and carbon-14 natural abundances for stream food web studies”
- 6) N.F. ISHIKAWA, M. UCHIDA, Y. SHIBATA and I. TAYASU: Ecology, 95, 1264-1271 (2014)
“Carbon storage reservoirs in watersheds support stream food webs via periphyton production”
- 7) N.F. ISHIKAWA, Y. KATO, H. TOGASHI, M. YOSHIMURA, C. YOSHIMIZU, N. OKUDA and I. TAYASU: Oecologia, 175, 911-922 (2014)
“Stable nitrogen isotopic composition of amino acids reveals food web structure in stream ecosystems”

<その他誌上発表（査読なし）>

- 1) グローバルCOE広報委員会編：生き物たちのつづれ織り、第四巻、179-180 (2011)
「生命のるつぼ「琵琶湖」：生物標本はタイムマシーン（執筆担当：奥田昇）」
- 2) グローバルCOE広報委員会編：生き物たちのつづれ織り、第五巻、27-33 (2012)
「生態-進化フィードバック-生態学という名の舞台で繰り上げられる進化劇-（執筆担当：奥田昇）」
- 3) 日本生態学会編、陀安一郎 責任編集、エコロジー講座5 生物のつながりを見つめよう-地球の豊かさを考える生態学-、文一総合出版、44-55(2012)
「琵琶湖がつなぐ人の暮らしと生きものたち（執筆担当：奥田昇）」
- 4) 日本生態学会 編、吉田丈人、鏡味麻衣子、加藤元海 担当編集委員、現代生物学講座第9巻 淡水生態学のフロンティア、共立出版、61-72(2012)
「魚類の表現型多型と生態系の相互作用：生態-進化フィードバック（執筆担当：奥田昇）」
- 5) 日本生態学会編、吉田丈人、鏡味麻衣子、加藤元海 担当編集委員、現代生物学講座第9巻 淡水生態学のフロンティア、共立出版、122-131(2012)
「同位体の利用法（執筆担当：陀安一郎、苅部甚一、石川尚人）」
- 6) 永田俊、熊谷道夫、吉山浩平編：温暖化の湖沼学、京都大学学術出版会、210-211(2012)
「安定同位体比を用いた高次生産者の栄養段階の推定（執筆担当：陀安一郎）」
- 7) H. KAWANABE, M. NISHINO and M. MAEHATA (Eds) Lake Biwa: Interaction between Nature and People. Springer Academic, Amsterdam, pp.205-210 (2012)
“A food web and its long-term dynamics in Lake Biwa: a stable isotope approach (N. OKUDA, T. TAKEYAMA, T. KOMIYA, Y. KATO, Y. OKUZAKI, J. KARUBE, Y. SAKAI, M. HORI, I. TAYASU and T. NAGATA)”
- 8) 陀安一郎、石川尚人：ぶんせき、2月号、79-85 (2013)
「生物の同位体天然存在比と生物多様性科学」
- 9) 加藤義和、陀安一郎：環境技術、43:209-214 (2014)
「安定同位体分析が拓く環境科学の地平」

(2) 口頭発表 (学会等)

- 1) 石川尚人、内田昌男、柴田康行、陀安一郎：日本陸水学会第76回大会(2011)
「流域地質が河川食物網を流れる炭素の¹⁴C年代に及ぼす影響」
- 2) 奥田昇、荻部甚一、酒井陽一郎、武山智博、陀安一郎、由水千景、永田俊：日本陸水学会第76回大会(2011)
「水界動物群集の「生物多様性 -生態系機能関係」を再考する：栄養段階の重要性」
- 3) 伊藤雅之、陀安一郎、由水千景、大手信人：日本陸水学会第76回大会(2011)
「溶存有機炭素の炭素安定同位体比のハイスループットオンライン分析手法の開発」
- 4) 荒山和則、奥田昇：平成23年度日本水産学会秋季大会 (2011)
「炭素・窒素安定同位体比から推定された霞ヶ浦北浦におけるワカサギの回遊範囲」
- 5) 大庭伸也、高橋純一、奥田昇：第23回日本環境動物昆虫学会 (2011)
「殺さずにタガメの栄養段階を推定する：安定同位体分析のための非侵略的サンプリング法の確立」
- 6) M. Itoh, I. Tayasu, C. Yoshimizu and N. Ohte: AGU (American Geophysical Union) Fall Meeting, San Francisco, USA, 2011 (2011)
“A low-cost and high-throughput measurement for stable carbon isotope analysis of dissolved organic carbon in freshwater using wet chemical oxidation”
- 7) N.F. Ishikawa, H. Doi and J.C. Finlay: The 5th East Asian Federation of Ecological Societies International Congress, 2012 (2012)
“Global meta-analysis for controlling factors on carbon stable isotope ratios of lotic periphyton”
- 8) 富樫博幸、徳地直子、陀安一郎：日本生態学会第59回全国大会 (2012)
「山地渓流域の食物連鎖長：決定機構に果たす生産性の役割」
- 9) 奥田昇：日本生態学会第59回全国大会 公開講演会(2012)
「水でつながる人の暮らしと琵琶湖の生物多様性」
- 10) 大庭伸也、奥田昇：日本生態学会第59回全国大会 (2012)
「非破壊的サンプリングによる高次捕食者の栄養段階の推定」
- 11) H. Togashi, Y. Kato, N.F. Ishikawa, M. Yoshimura, N. Tokuchi, N. Ohte, N. Okuda and I. Tayasu: ASLO Aquatic sciences meeting, Otsu, Japan, 2012 (2012)
“A difference in food web structures with various forest stand ages in headwater streams in central Japan”
- 12) N. F. Ishikawa, M. Uchida, Y. Shibata and I. Tayasu: ASLO Aquatic Sciences Meeting, Otsu, Japan, 2012 (2012)
“Evidence of aged carbon subsidization to stream food webs approached by C-14 natural abundance method”
- 13) Y. Kato, N.F. Ishikawa, H. Togashi, M. Yoshimura, M. Itoh, K. Osaka, N. Okuda, N. Ohte, C. Yoshimizu and I. Tayasu: ASLO Aquatic sciences meeting, Otsu, Japan, 2012 (2012)
“Food web analysis based on nitrogen isotopic ratio of amino acids in river ecosystem”
- 14) N. Okuda, Y. Kato, T. Komiya, Y. Okuzaki, M. Hori, I. Tayasu and T. Nagata: ASLO Aquatic sciences meeting, Otsu, Japan, 2012 (2012)

- “Biological specimens tell us a centurial history of ecosystem alterations in the ancient Lake Biwa”
- 15) I. Tayasu, N. Ohkouchi, C. Schubert and M. McCarthy: ASLO Aquatic sciences meeting, Otsu, Japan, 2012 (2012)
 “SS42: New frontiers of isotope tools for biogeochemistry, ecology and environmental sciences”
 (Organizer)
- 16) I. Tayasu, N. Okuda, N. Tokuchi, N. Ohte and M. Kondoh: ASLO Aquatic sciences meeting, Otsu, Japan, 2012 (2012)
 “Multiple isotope approach for studying material flow and food web structures of stream ecosystems in Lake Biwa watershed”
- 17) 富樫博幸、加藤義和、石川尚人、吉村真由美、徳地直子、大手信人、由水千景、陀安一郎：日本陸水学会 第77回大会（2012）
 「アミノ酸の窒素安定同位体比から読み解く山地渓流域の食物網構造-護摩壇山試験地の事例-」
- 18) 石川尚人、内田昌男、柴田康行、陀安一郎：日本陸水学会 第77回大会（2012）
 「放射性炭素14天然存在比を用いた陸水生態系の解析手法」
- 19) 加藤義和、石川尚人、富樫博幸、吉村真由美、由水千景、奥田昇、陀安一郎：日本陸水学会 第77回大会（2012）
 「アミノ酸の窒素安定同位体比を用いた琵琶湖流域の食物網解析」
- 20) 陀安一郎：第2回同位体環境学シンポジウム（2013）
 「同位体生態学の進展と生物多様性研究」
- 21) 石川尚人、加藤義和、富樫博幸、吉村真由美、由水千景、奥田昇、陀安一郎：日本生態学会第60回大会（2013）
 「河川複雑系食物網の高精度解析 ～アミノ酸窒素安定同位体比からのアプローチ～」
- 22) 加藤義和、石川尚人、富樫博幸、由水千景、陀安一郎、奥田昇：日本生態学会第60回大会（2013）
 「アミノ酸の窒素安定同位体比を用いた琵琶湖産魚類の栄養段階推定」
- 23) 富樫博幸、加藤義和、石川尚人、尾坂兼一、吉村真由美、由水千景、徳地直子、陀安一郎、大手信人：日本生態学会第60回大会（2013）
 「ミカン畑と魚類をつなぐ硝酸：土地利用が河川生態系へ及ぼす影響に関する安定同位体解析」
- 24) 富樫博幸、加藤義和、石川尚人、吉村真由美、徳地直子、大手信人、由水千景、陀安一郎：第124回日本森林学会大会(2013)
 「森林施業が河川生態系へ及ぼす長期的影響とその解明：安定同位体比を利用して」
- 25) 陀安一郎：日本地球惑星科学連合2013年大会（2013）
 「生物の同位体比から得られる生態系・生物多様性情報について」
- 26) 石川尚人、加藤義和、富樫博幸、吉村真由美、由水千景、奥田昇、陀安一郎：日本地球惑星科学連合2013年大会（2013）
 「アミノ酸窒素安定同位体比を用いた河川食物網解析」
- 27) A.P. Cid, U. Song, I. Tayasu, J. Okano, H. Togashi, N.F. Ishikawa, A. Murakami, T. Hayashi, T. Iwata, K. Osaka, S. Nakano and N. Okuda : 日本地球惑星科学連合2013年大会（2013）

- “Phosphate oxygen isotopes as a tool to trace phosphorus sources and cycling in a watershed”
- 28) 中野孝教、陀安一郎：日本地球惑星科学連合2013年大会（2013）
地球惑星2013セッションH-TT32「同位体環境学の創出」[Organizer]
- 29) 奥田昇：第78回日本陸水学会（2013）
「大津臨湖実験所の遺産：生物標本が語る琵琶湖100年史」In: 公開シンポジウム「湖沼の長期モニタリングを考える：京大・大津臨湖創設から100年を経て」
- 30) A.P. Cid, U. Song, I. Tayasu, J. Okano, H. Togashi, N.F. Ishikawa, A. Murakami, T. Hayashi, T. Iwata, K. Osaka, S. Nakano and N. Okuda: 第78回日本陸水学会（2013）
“Tracing sources and cycling of phosphorus in a watershed using phosphate isotopes of oxygen”
- 31) 酒井陽一郎、武山智博、苅部甚一、陀安一郎、奥田昇：第78回日本陸水学会（2013）
「安定同位体比からみた琵琶湖沿岸域における陸封アユの餌資源利用様式と回遊行動の多型」
- 32) 加藤義和、石川尚人、富樫博幸、由水千景、奥田昇、陀安一郎：第78回日本陸水学会（2013）
「琵琶湖集水域のヨシノボリ属におけるアミノ酸窒素安定同位体比の流程変化」
- 33) 石川尚人、富樫博幸、加藤義和、吉村真由美、徳地直子、陀安一郎：第78回日本陸水学会（2013）
「スギ人工林の伐採施業が溪流生態系を流れる炭素の ^{14}C 年代に及ぼす影響」
- 34) 由水千景、陀安一郎：第78回日本陸水学会（2013）
「微生物分解に伴う湖沼有機物の窒素安定同位体比の変動」
- 35) 奥田昇：第46回日本魚類学会(2013)
「標本が拓く魚類学の無限の可能性：琵琶湖の過去・現在・未来」In:セッション「日本の古代湖・琵琶湖における魚類進化と生態研究の現在とこれから」
- 36) 酒井陽一郎、武山智博、苅部甚一、陀安一郎、奥田昇：第46回日本魚類学会(2013)
「安定同位体比から見た琵琶湖産アユの回遊行動多型」In:セッション「日本の古代湖・琵琶湖における魚類進化と生態研究の現在とこれから」
- 37) H. Togashi, Y. Kato, N. F. Ishikawa, Y. Kohmatsu, C. Yoshimizu, M. Yoshimura, N. Ohte, N. Tokuchi and I. Tayasu: International Symposium on Connectivity of Hills, Humans and Oceans（2013）
“Terrestrial versus aquatic resources contribution to stream food webs with various forest stand ages: Results from nitrogen isotopic ratios of amino acids”
- 38) N. Ohte, H. Togashi, N. Tokuchi, K. Osaka and I. Tayasu: Integrated ecosystem management from Hill to Oceans (2013)
“Nitrogen status and its effects on the aquatic food webs of the Arida river”
- 39) 陀安一郎：第3回同位体環境学シンポジウム(2013)
「同位体手法を用いた食物網研究の現状と展望」
- 40) I. Tayasu: 日本生態学会第61回大会(2014)
Symposium “Use of various isotope tools in watershed ecology” [Organizer]
- 41) I. Tayasu: 日本生態学会第61回大会(2014)
“Isotope tools: new directions”
- 42) N. F. Ishikawa: 日本生態学会第61回大会(2014)
“Analysis of stream food web using stable nitrogen isotope ratios of amino acids”
- 43) Y. Kato: 日本生態学会第61回大会(2014)

“Biological specimens reveal centurial dynamics of trophic level of fishes in Lake Biwa

44) N. Ohte, H. Togashi, N. Tokuchi, M. Yoshimura, Y. Kato, N. Ishikawa, M. Kondo, I. Tayasu : Japan Geoscience Union Meeting 2014, Yokohama, Japan, 2014

“How does anthropogenic nitrogen input affect the nutrient dynamics and food web structures?”

45) I. Tayasu, Y. Kato, N. Ishikawa, C. Yoshimizu, T. Haraguchi, N. Okuda, N. Tokuchi, Y. Koumatsu, H. Togashi, M. Yoshimura, N. Ohte, M. Kondo : Japan Geoscience Union Meeting 2014, Yokohama, Japan, 2014

“Biodiversity indicators of trophic structure measured by stable isotope ratios”

(3) 出願特許

特に記載すべき事項はない。

(4) シンポジウム、セミナー等の開催（主催のもの）

- 1) 京都大学生態学研究センター一般公開「びわ湖がつなぐ生き物と文化の多様性」
(2013年11月2日、京都大学生態学研究センター、参加者61名)
担当：奥田昇

(5) マスコミ等への公表・報道等

特に記載すべき事項はない。

(6) その他

- 1) 陀安一郎：社会活動 2011年4月9日
京都大学総合博物館ジュニアレクチャー 講師「元素の同位体が語る、生き物の暮らしと環境」
- 2) 陀安一郎：社会活動 2011年8月19日
彦根東高等学校スーパーサイエンスハイスクール講師「あなたの安定同位体比はいくつ？食物網を同位体で解析する」
- 3) 石川尚人、富樫博幸、加藤義和、吉村真由美、徳地直子、陀安一郎：日本陸水学会第78回大会(2013)「優秀ポスター賞」受賞 2013年9月12日
- 4) 陀安一郎：社会活動 2013年8月23日
彦根東高等学校スーパーサイエンスハイスクール講師「あなたの安定同位体比はいくつ？食物網を同位体で解析する」

8. 引用文献

- 1) N. F. Ishikawa, H. Doi and J. C. Finlay (2012) Global meta-analysis for controlling factors on carbon stable isotope ratios of lotic periphyton. *Oecologia*, 170:541-549
- 2) J. H. McCutchan Jr, W. M. Lewis Jr, C. Kendall and C. C. McGrath (2003) Variation in trophic shift for stable isotope ratios of carbon, nitrogen, and sulfur. *Oikos*, 102:378-390
- 3) Y. Chikaraishi, N. O. Ogawa, Y. Kashiyama, Y. Takano, H. Suga, A. Tomitani, H. Miyashita, H.

- Kitazato and N. Ohkouchi (2009) Determination of aquatic food-web structure based on compound-specific nitrogen isotopic composition of amino acids. *Limnol Oceanogr Meth*, 7:740-750
- 4) Y. Chikaraishi, N. O. Ogawa, H. Doi and N. Ohkouchi (2011) $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ratios of amino acids as a tool for studying terrestrial food webs: a case study of terrestrial insects (bees, wasps, and hornets). *Ecol Res*, 26:835-844
 - 5) Y. I. Naito, N. V. Honch, Y. Chikaraishi, N. Ohkouchi and M. Yoneda (2010) Quantitative evaluation of marine protein contribution in ancient diets based on nitrogen isotope ratios of individual amino acids in bone collagen: an investigation at the Kitakogane Jomon site. *Am J Phys Anthropol*, 143:31-40
 - 6) A. Maruyama, Y. Yamada B. Rusuwa and M Yuma, (2001) Change in stable nitrogen isotope ratio in the muscle tissue of a migratory goby, *Rhinogobius* sp., in a natural setting. *Can J Fish Aquat Sci*, 58: 2125-2128
 - 7) J. C. Finlay, M. E. Power and G. Cabana (1999) Effects of water velocity on algal carbon isotope ratios: Implications for river food web studies. *Limnol Oceanogr*, 44:1198-1203
 - 8) H. Doi, Y. Takemon, T. Ohta, Y. Ishida and E. Kikuchi (2007) Effects of reach-scale canopy cover on trophic pathways of caddisfly larvae in a Japanese mountain stream. *Mar Freshw Res*, 58:811-817
 - 9) M. Stuiver and H. A. Polach (1977) Discussion: Reporting of ^{14}C data. *Radiocarbon*, 19:355-363
 - 10) P. A. Raymond, J. E. Bauer, N. E. Caraco, J. J. Cole, B. Longworth and S. T. Petsch (2004) Controls on the variability of organic matter and dissolved inorganic carbon ages in northeast US rivers. *Mar Chem*, 92:353-366
 - 11) E. Mayorga, A. K. Aufdenkampe, C. A. Masiello, A. V. Krusche, J. I. Hedges, P. D. Quay, J. E. Richey and T. A. Brown (2005) Young organic matter as a source of carbon dioxide outgassing from Amazonian rivers. *Nature*, 436:538-541
 - 12) N. Tokuchi and K. Fukushima(2009) Long-term influence of stream water chemistry in Japanese cedar plantation after clear-cutting using the forest rotation in central Japan. *Forest Ecol Manag*, 257: 1768-1775
 - 13) N. Okuda, T. Takeyama, T. Komiya, Y. Kato, Y. Okuzaki, J. Karube, Y. Sakai, M. Hori, I. Tayasu and T. Nagata (2012) A food web and its long-term dynamics in Lake Biwa: a stable isotope approach. In: *Lake Biwa: Interaction between Nature and People*. (Eds. Hiroya Kawanabe, Machiko Nishino & Masayoshi Maehata) Springer Academic, Amsterdam, pp.205-210
 - 14) N. Ohte, I. Tayasu, A. Kohzu, C. Yoshimizu, K. Osaka, A. Makabe, K. Koba, N. Yoshida and T. Nagata (2010) Spatial distribution of nitrate sources of rivers in the Lake Biwa watershed, Japan: controlling factors revealed by nitrogen and oxygen isotope values. *Water Resour Res*, 46:W07505
 - 15) S. A. Steffan, Y. Chikaraishi, D. R. Horton, N. Ohkouchi, M. E. Singleton, E. Miliczky, D. B. Hogg and V. P. Jones (2013) Trophic hierarchies illuminated via amino acid isotopic analysis. *PLoS ONE* 8:e76152
 - 16) F. Hayashi (1988) Prey selection by the dobsonfly larva, *Protohermes grandis* (Megaloptera: Corydalidae). *Freshw Biol*, 20:19-29
 - 17) Y. Takemon (2005) Life-type concept and functional feeding groups of benthos communities as indicators of lotic ecosystem conditions. *Japan J Ecol*, 55:189-197 [In Japanese]

- 18) A. Lorrain, B. Graham, F. Ménard, B. Popp, S. Bouillon, P. van Breugel and Y. Cherel (2009) Nitrogen and carbon isotope values of individual amino acids: a tool to study foraging ecology of penguins in the Southern Ocean. *Mar Ecol Prog Ser*, 391:293-306
- 19) J. J. Dale, N. J. Wallsgrave, B. N. Popp and K. N. Holland (2011) Nursery habitat use and foraging ecology of the brown stingray *Dasyatis lata* determined from stomach contents, bulk and amino acid stable isotopes. *Mar Ecol Prog Ser*, 433:221-236
- 20) L. R. Germain, P. L. Koch, J. Harvey and M. D. McCarthy (2013) Nitrogen isotope fractionation in amino acids from harbor seals: implications for compound-specific trophic position calculations. *Mar Ecol Prog Ser*, 482:265-277
- 21) N. Caraco, J. E. Bauer, J. J. Cole, S. Petsch and P. Raymond (2010) Millennial-aged organic carbon subsidies to a modern river food web. *Ecology*, 91:2385-2393
- 22) W. G. Mook, J. C. Bommerson and W. H. Staverman (1974) Carbon isotope fractionation between dissolved bicarbonate and gaseous carbon dioxide. *Earth and Planetary Science Letters*, 22:169-176
- 23) S. L. McCallister and P. A. del Giorgio (2008) Direct measurement of the $\delta^{13}\text{C}$ signature of carbon respired by bacteria in lakes: Linkages to potential carbon sources, ecosystem baseline metabolism, and CO_2 fluxes. *Limnology and Oceanography*, 53:1204-1216
- 24) S. L. McCallister, and P. A. del Giorgio (2012) Evidence for the respiration of ancient terrestrial organic C in northern temperate lakes and streams. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109:16963-16968
- 25) S. Kobayashi, T. Gomi, R. C. Sidle and Y. Takemon (2010) Disturbances structuring macroinvertebrate communities in steep headwater streams: relative importance of forest clearcutting and debris flow occurrence. *Can J Fish Aquat Sci*, 37: 130-137
- 26) N. O. Ogawa, Y. Chikaraishi and N. Ohkouchi (2013) Trophic position estimates of formalin-fixed samples with nitrogen isotopic compositions of amino acids: an application to gobiid fish (*Isaza*) in Lake Biwa, Japan. *Ecol Res*, 28: 697-702

(4) 安定同位体食物網情報を用いた生態系評価

龍谷大学

理工学部環境ソリューション工学科

近藤倫生

<研究協力者>

龍谷大学理工学部 環境ソリューション工学科

舞木昭彦 (平成23~24年度)

川津一隆 (平成25年度)

平成23(開始年度)~25年度累計予算額：19,383千円 (うち、平成25年度予算額：7,098千円)
予算額は、間接経費を含む。

[要旨]

食物網構造の複雑性が生態系機能に及ぼす影響を理論的に明らかにするとともに、安定同位体解析から自然生態系における食物網複雑性を評価する方法を開発した。種間の捕食-被食関係によって個体群動態が駆動されるような食物網動態モデルを構築し、食物網のフローネットワークからこの数理モデルの変数を決定する方法をまとめた。また、食物網アンフォールディングを利用することで定義ができる、食物網の複雑性を示す3つの指標を提案した。すなわち、一つの栄養段階内部における種の多様性を表す「栄養段階内多様性 (Horizontal Diversity: D_H)」、1つの生物種が所属する栄養段階の多様性を表す「種内栄養段階多様性 (Vertical Diversity: D_V)」、生態系における栄養段階の多様性を表す「栄養段階多様性 (Trophic Level Diversity: D_C)」である。これらの食物網複雑性指標は、一定の条件のもとでは生態系を構成する生物種のバイオマス、および安定同位体比解析から推定される栄養位置 (trophic position) のみより推定することが可能であり、現実の生態系に対しても適用できることが本手法の強みである。食物網動態モデルの解析と、実データに基づいて変数決定された数値計算の両方から、食物網複雑性指標と栄養転換効率の間の関係を調べたところ、食物網複雑性は生態系機能に強い影響を及ぼすことが明らかとなった。このことは生物群集の構造的複雑性が生態系機能の「健全さ」の維持に役立っていることを意味している。さらに、種多様性のみをモニタリングするだけでは、生態系の働きを理解し保全するには不十分であること、安定同位体比解析等に基づく食物網構造のモニタリングが重要になる可能性をも示唆している。さらに、現実の食物網構造の解析、捕食者・被食者の体サイズに関するパターン、種間相互作用ネットワークの構造と安定性の関係について研究を行い、生物群集構造と生態系機能の間の関係を考察した。

[キーワード]

数理モデル、食物網、生態複雑性、生態系機能、安定性

1. はじめに

生態系は、多数の生物種が互いに相互作用すると同時に、物理・化学環境と関係し合うことによって駆動される複雑系である。生態系の保有する機能（生態系機能）のなかでも、物質生産とその転換は生態系サービスと密接に関わる重要な機能である。これら物質生産に関わる生態系機能は多種の生物種間の相互作用（生産者による資源利用や捕食-被食関係等）によって支えられており、したがって生物群集の構造の影響を受けると考えられる。このように、生物の群集構造は生態系機能と深い関わりをもつことが期待される。実際、植物からなる生産者群集に着目した生態学的研究から、生産者の種多様性がその生産性と安定性に正の影響を及ぼすことやその仕組みが明らかになってきた。しかし、過去の研究の多くは単一の栄養段階（多くは生産者）に着目したもので、栄養転換効率のような多栄養段階からなる生態系（食物網）における生態系機能が生物群集の構造とどのように関わっているかを明らかにするものはほとんどなかった。このような食物網構造-生態系機能間に成立する関係に関する課題に取り組む際の困難の一つは、実証面では、捕食-被食関係を現実の生態系において検出するのに多大な労力がかかることにある。これまでに胃内容分析や目視による直接観察などによって捕食-被食関係を推定する方法が提案されてきたが、これらの方法のみから巨大で複雑な食物網の全体像を把握するのは難しい。さらに、生態学理論の側面に着目すると、どのような食物網構造の特徴が生態系機能と関わっているかもよくわかっていない。生物多様性・複雑性の喪失が進行する現代において、生態系の保全とそれに必要な適切な生態系評価方法の確立が急務である。そのため、比較的簡便な手法に基づいて食物網の複雑性を評価し、さらに生態系機能を評価するための理論的手法を開発することが求められている。

2. 研究開発目的

安定同位体比解析から各生物種の栄養関係を推定することが可能であることはよく知られている。この手法のみからどの捕食者がどの被食者を利用しているかを厳密に特定することは容易ではないが、注目する生産者からその生物に物質フローが到達するまでに通過する生物種の数の平均（栄養位置）を精度よく知ることができる。本研究課題では、安定同位体解析から推定される栄養位置、およびフィールド調査等から得られるバイオマス密度の二つの情報に基づいて、①食物網構造の複雑性を評価し、さらに②この食物網複雑性と生態系機能（栄養転換効率）の間の関係を理論的に明らかにすることを目的とする。この目的を達成するために、主として5つの研究課題を設定する。第1の課題として、食物網フローネットワークに基づいて群集動態モデルを構築する方法をまとめる。第2の課題として、食物網フローネットワークのアンフォールディング手法（Higashiら¹⁾）をまとめる。第3の課題として、アンフォールドされた食物網の動態モデルの導出を行う。第4の課題として食物網複雑性指標を提案したのち、第5の課題としてこの食物網複雑性指標と生態系機能の間の関係を探る。

3. 研究開発方法

(1) 食物網フローネットワークに基づく群集動態モデルの構築

任意の数の種からなる食物網を想定し、捕食-被食関係によって駆動される生物種ごとのバイオマス動態を記述する数理モデルを構築した。他の生物を利用せずに成長可能な生産者と、他の生物を捕食することによって成長する消費者のバイオマス動態は以下の微分方程式で表すことができ

る。生産者は：

$$\begin{aligned} \frac{dB_i}{dt} &= R_i(B_i) - \dot{a}_k (1 + d_{ki}) F_{ki} + I_i \\ &= R_i(B_i) - \dot{a}_k \frac{(1 + d_{ki}) QB_j a_{ji} B_i^n B_j}{H_j + \dot{a}_k a_{jk} B_k^n + a_{jE} B_{E(i)}^n} + I_i \circ g_i(B) \end{aligned} \quad [\text{式(4)-1A}]$$

消費者は：

$$\begin{aligned} \frac{dB_i}{dt} &= -T_i(B_i) + \dot{a}_k F_{ik} + F_{iE} - \dot{a}_k (1 + d_{ki}) F_{ki} + I_i \\ &= -T_i(B_i) + QB_i B_i \frac{\dot{a}_k a_{ik} B_k^n + a_{ik} B_{E(i)}^n}{H_i + \dot{a}_k a_{ik} B_k^n + a_{iE} B_{E(i)}^n} - \dot{a}_k \frac{(1 + d_{kj}) QB_k a_{kj} B_i^n B_k}{H_k + \dot{a}_k a_{kj} B_j^n + a_{kE} B_{E(k)}^n} + I_i \circ g_i(B) \end{aligned} \quad [\text{式(4)-1B}]$$

F_{ij} は捕食者*i*が被食者*j*から捕食を通じて受け取る物質質量、 R_i は生産者である種*i*の自然増加、 T_i は呼吸や自然死亡によるロス、 I_i は移出入（漁獲を含む）である。 F_{ij} はHollingのTYPE IIまたはIII型の機能の反応に従うものとし、その関数の形は*n*によっていろいろに変えることができる。 a_{ij} は種*i*

と種*j*の種間相互作用強度、 QB_i は種*i*の最大同化速度、 H_i は捕食者*i*のハンドリングタイム、 d_{ij} は捕食者*i*が被食者*j*を利用する時の未消化物割合を表している。種*i*に系外資源の利用がある場合には、捕食項に密度一定（ $B_{E(i)} = \text{const.}$ ）の資源を考慮することで補正を加えることも可能である。

本研究課題では、すべてのモデリングや食物網構造の決定手法を、この数理モデルと関連可能な形で開発する。フォローネットワークの形式で与えられる食物網実証データとこの個体群動態モデルを関連づけるためには、後者のデータから前者の動態モデルの変数決定をする必要がある。そこで、ECOPATHとして知られる食物網収支モデルを参考に、各生物種間のフロー、生物-環境間のフロー、各生物種のストック（バイオマス）に関する情報をもとに、この数理モデルの変数決定をおこなうための手続きをまとめた。

（2）食物網フローネットワークのアンフォールディング

エネルギー・物質収支に着目すると、食物網構造は各生物種のバイオマスストック（ B_i ）と種間お

よび種-環境間の物質フロー (F_{ij}) によって特徴づけられる。この食物網構造と生態系過程を結びつけるには、物質の同化過程を表した食物連鎖系に食物網を変換することが必要である。なぜなら多くの生態系生態学的理論は単純な連鎖系を想定して発展してきた経緯があるためだ。そこで、ネットワークアンフォールディング¹⁾の手法を食物網における物質フローネットワークに適用することによる、その実現を検討した。なお、食物網の物質フローネットワークにネットワークアンフォールディングの手法を適用すると、各生物種のバイオマスは各栄養段階に分配されることに注意が必要である。すなわち：

$$B_i = \sum_{x=1}^{\infty} \dot{a} B_i^{(x)} \quad \text{[式(4)-2]}$$

を満たすような $B_i^{(x)}$ を得られる。ここで i は種を、 x は栄養段階を表している。なおこの食物網には S 種が存在するものとする。この各生物種の各栄養段階への分配構造に基づいて食物網の複雑性を評価しようと言うのが本研究課題の基本的アイデアである。

(3) アンフォールドされた食物網の動態モデルの構築

食物網動態から生態系機能やその動態を評価するには、アンフォールドされた食物網におけるバイオマス動態を記述することが必要となる。そこで、アンフォールドされた食物網の構造を決定するうえで最も重要な変量 $B_i^{(x)}$ の動態を表現する数理モデルの導出をおこなった。基礎となる食物網動態モデルとして、群集生態学分野で一般的に利用されるバイオエナジエティックモデルを利用した。この数理モデルは、同化過程に伴うバイオマスのゲインと被食および呼吸によるロスによって、生物種 i のバイオマス (B_i) の動態を記述するものであり、以下のように記述される：

$$\begin{aligned} \frac{dB_i}{dt} &= R_i(B_i) - \sum_k \dot{a} (1 + d_{ki}) F_{ki} + I_i \\ &= R_i(B_i) - \sum_j \dot{a} \frac{(1 + d_{ki}) Q B_j a_{jk} B_i^n B_j}{H_j + \sum_k \dot{a} a_{jk} B_k^n + a_{jE} B_{E(j)}^n} + I_i \circ g_i(B) \end{aligned} \quad \text{[式(4)-3a]}$$

$$\begin{aligned} \frac{dB_i}{dt} &= -T_i(B_i) + \sum_k \dot{a} F_{ik} + F_{iE} - \sum_k \dot{a} (1 + d_{ki}) F_{ki} + I_i \\ &= -T_i(B_i) + Q B_i B_i \frac{\sum_k \dot{a} a_{ik} B_k^n + a_{iE} B_{E(i)}^n}{H_i + \sum_k \dot{a} a_{ik} B_k^n + a_{iE} B_{E(i)}^n} - \sum_j \dot{a} \frac{(1 + d_{kj}) Q B_k a_{kj} B_i^n B_k}{H_k + \sum_j \dot{a} a_{kj} B_j^n + a_{kE} B_{E(k)}^n} + I_i \circ g_i(B) \end{aligned} \quad \text{[式(4)-3b]}$$

ここで F_{ij} は捕食者 i が被食者 j から受け取る物質質量、 $Q B_i$ は種 i の最大同化速度、 r_i は種 i の増加、 T_i は

呼吸や自然死亡によるロス、 δ_{ij} は種iが種jを捕食・同化する際の未消化排出量の同化量に対する比率、 I_i は移出入（漁獲を含む）である。ここで、呼吸や被食が種のアイデンティティーのみによって決まり、そのバイオマスの属する栄養段階によっては影響されないという自然な過程をおくことにより、 $B_i^{(x)}$ の動態の導出をおこなった。

(4) アンフォールディングに基づく食物網複雑性指標

食物網をアンフォールドすることで新たに得られるストックに関する情報 $B_i^{(x)}$ は、種のバイオマス B_i とは異なり、食物網構造に関する情報を含んでいる。したがって、 $B_i^{(x)}$ に基づいた簡便な多様性指標を提案できれば、それはこれまでに一般的によく利用されてきたような B_i のみに基づく多様性指標（例えばShannon-Wienerの多様度指数（ H' ））とは違い、食物網の結合の複雑性を表現できるようになることが期待される。そこで、情報理論に基づいて、簡便かつ安定同位体比解析と関連づけることが可能な $B_i^{(x)}$ に基づく多様性指標を提案した。

(5) 食物網複雑性指標と生態系機能

1) 解析的モデル

本研究課題では、課題1で提示した数理モデルとそれに基づいて導出されたアンフォールドされた食物網の動態モデル（課題3）をもとにして、これらを解析的に解析することで、食物網の複雑性に関わるネットワーク基本構造と生産性との基本的な関係を明らかにすることを目的とした。

2) シミュレーションとモデル選択による解析

本研究課題では、群集生態学分野で一般的に利用されるバイオエナジエティックモデルに基づいて導出したアンフォールドされた食物網の動態モデルを利用することで、これらの食物網複雑性指標と生態系機能との関連性を解析した。栄養段階xに属する生物種iのバイオマス $B_i^{(x)}$ の動態は、生産者、消費者それぞれについて以下の微分方程式によって書き表される：

$$\frac{dB_i^{(1)}}{dt} = R_i(B_i^{(1)}) - \sum_j \frac{(1 + d_{ki})QB_j a_{ji} (B_i^{(1)} B_i^{n-1}) B_j}{H_j + \sum_k \frac{a_{jk} B_k^n}{\emptyset} + a_{jE} B_{E(j)}^n} + I_i \quad \text{[式(4)-4a]}$$

$$\frac{dB_i^{(1)}}{dt} = -T_i(B_i) \frac{B_i^{(1)}}{B_i} + B_i \frac{QB_i a_{iE} (B_{E(i)}^{(1)} B_{E(i)}^{n-1})}{H_i + \sum_j \frac{a_{ij} B_j^n}{\emptyset} + a_{iE} B_{E(i)}^n} - \sum_k \frac{QB_k a_{ki} (B_i^{(1)} B_i^{n-1})}{H_k + \sum_j \frac{a_{kj} B_j^n}{\emptyset} + a_{kE} B_{E(k)}^n} + I_i \quad \text{[式(4)-4b]}$$

$$\frac{dB_i^{(x)}}{dt} = -T_i(B_i) \frac{B_i^{(x)}}{B_i} + B_i QB_i^{-k} \frac{\dot{a}_{ik} \{B_k^{(x-1)} B_k^{n-1}\} + a_{iE} \{B_{E(i)}^{(x-1)} B_{E(i)}^{n-1}\}}{H_i + \dot{a}_{ik} B_k^n + a_{iE} B_{E(i)}^n} - \dot{a}_{ik} B_k \frac{QB_k a_{ki} \{B_i^{(x)} B_i^{n-1}\}}{H_k + \dot{a}_{kj} B_j^n + a_{kE} B_{E(k)}^n}$$

(n ≥ 2) [式(4)-4c]

QB_i は種iの最大同化速度、 r_i は種iの増加、 T_i は呼吸や自然死亡によるロス、 δ_{ij} は種iが種jを捕食・同化する際の未消化排出量の同化量に対する比率、 I_i は移出入（漁獲を含む）である。

変数推定が可能なBenguela湾食物網動態モデルより、様々なサイズの部分生物群集（種数2～46の300のモジュール）を抽出して、動態モデルにおける平衡状態を求めた。そして、安定にすべての種が共存できる部分群集モデルのすべてについて、 D_H 、 D_V 、 D_C の3つの食物網複雑性指標を算出するとともに、生態系機能を評価した。評価した生態系機能は、隣り合う2つの栄養段階に流入する物質フローの比（栄養転換効率 L_F ）と隣り合う2つの栄養段階のバイオマス比（バイオマス分布 L_b ）の2つである。栄養段階に対して、それぞれの量（フローまたはバイオマス）の線形回帰を行うことで求めた。その上で、AICを利用してこれらの生態系機能をもっともよく予測する一般化線形モデルを求めた。考慮したモデルは

$$L_i = [\text{種数}S] + [\text{リンク数}L] + [\text{Shannon-Wienerの多様度指数}(H')] \quad [\text{式(4)-5a}]$$

および

$$L_i = [\text{種数}S] + [\text{リンク数}L] + [D_H] + [D_V] + [D_C] \quad [\text{式(4)-5b}]$$

である。

さらにこれらの食物網複雑性指標を、安定同位体比解析より得られる栄養位置、およびバイオマスデータから推定する方法を検討した。

（6）その他の付随した成果

1）干潟生態系における食物網構造の推定

開発した理論的手法の妥当性を検討するためには食物網データの集積が不可欠である。そこで、港湾空港技術研究所の桑江氏ら共同研究者とともに現実の干潟生態系における食物網構造の決定とその生態学的意義の考察を行った。具体的には、シギ類とバイオフィルム間の栄養的關係を明らかにするために、安定同位体比、形態的特徴、高速度撮影による解析等の複数の方法論を組み合わせた食物網構造解析をおこなった。

2) 捕食者-被食者体サイズ関係に関する研究

さらに、本研究課題の成否の鍵を握る食物網動態モデルの変数推定方法を改良するための研究をおこなった。捕食者と被食者の体サイズ比はバイオエナジェティックモデルにおいて、相互作用強度を規定する重要な変数である。旧来の群集モデルではその推定の方法は様々な生物学的レベルに基づいていて、研究の間で手法の違いがしばしば見受けられる。しかし、この生物学的レベルに関する手法の差異が変数推定についてどのような差異をもたらすのかわかっていなかった。本研究では、すでに報告されている捕食者-被食者ペアの詳細なデータを解析することによって、体サイズ比を定義する生物学的レベルによって体サイズ比がどのような影響を受けるかを明らかにした。

3) 種間相互作用の多様性と群集安定性

種間相互作用ネットワークの構造と動態の関連に関する基礎的知見を得るために、食物網構造のみならず競争関係や相利関係をも考慮した群集動態モデルを作成し、種間相互作用の混在が構造-動態関係に及ぼす影響を評価した。一般に、生物群集研究やその生態系機能との関わりをめぐる研究課題においては、特定の種間相互作用のみを考慮することが多いが、実際の生物群集にはさまざまな種間相互作用が含まれている。しかし、この種間相互作用の多様性が、生物群集における構造と動態の間に見解に関わる知見に及ぼす影響はほとんどわかっていなかった。そこで本課題では、栄養、競争、相利の3つの種間相互作用を考慮に入れた群集動態モデルを作成し、解析することで、種間相互作用の多様性が種間相互作用ネットワークの複雑性-安定性関係に及ぼす影響を明らかにした。

4. 結果及び考察

(1) 食物網フローネットワークに基づく群集動態モデルの構築

ECOPATHにおいて実装されている方法をもとにして、食物網フローネットワークの推定方法を決定した。具体的には、すべての生物種の生態学的特性（バイオマス B_i ）、餌利用特性（捕食生物種 j の胃内容物に餌生物 i が占める割合 DC_{ij} ）、生理学的特性（最大同化速度 QB_i ；呼吸速度 T_i ）より、種間のフローを推定し、さらに個体群動態モデルの構築を可能にすることを目的とする。捕食者 i の単位時間、単位バイオマスあたりの最大同化量は QB_i であるが、実際にその生態系において実現している同化量が QB_i の何割にあたるかを示す変数 f_i を利用すると、以下が成り立つ

$$\dot{F}_{ik} + F_{iE} = QB_i B_i f_i = QB_i B_i \frac{\frac{\partial}{\partial k} \dot{a}_{ik} B_k^n + a_{iE} B_{E(i)}^n}{H_i + \frac{\partial}{\partial k} \dot{a}_{ik} B_k^n + a_{iE} B_{E(i)}^n} \quad [\text{式}(4)-6]$$

N 種からなる生物群集において、 C 種（種 $1...C$ ）が消費者、のこり（種 $C+1...N$ ）が生産者とする。収支がすべて合っているとき、以下が成り立つ

$$\dot{a}_k(1 + d_{ki})F_{ki} = r_i(B_i) + I_i \quad (\text{for } i = C+1 \dots N) \quad [\text{式(4)-7a}]$$

$$\dot{a}_k F_{ik} + F_{iE} - \dot{a}_k(1 + d_{ki})F_{ki} = T_i(B_i) - I_i \quad (\text{for } i = 1 \dots C) \quad [\text{式(4)-7b}]$$

ここで式(4)-6の関係を利用すると、式(4)-7bは以下のように書き換えられる

$$QB_i B_i fJ_i - \dot{a}_k(1 + d_{ki})QB_k B_k fJ_k DC_{ki} = T_i(B_i) - I_i \quad (\text{for } i = 1 \dots C) \quad [\text{式(4)-8}]$$

ここで未知の変数 (fJ_i - fJ_C) と式はともにC個あるので、以下のようにすべてのfJ_iを決定することができる。式(4)-7bから：

$$\begin{matrix} \text{\textcircled{0}}QB_1 B_1 - (1 + d_{11})QB_1 B_1 DC_{11} & -(1 + d_{21})QB_2 B_2 DC_{21} & \dots & -(1 + d_{C1})QB_C B_C DC_{C1} & \text{\textcircled{0}}fJ_1 - \text{\textcircled{0}}T_1 - I_1 \\ \text{\textcircled{1}}-(1 + d_{12})QB_1 B_1 DC_{12} & \text{\textcircled{1}}QB_2 B_2 - (1 + d_{22})QB_2 B_2 DC_{22} & \dots & -(1 + d_{C2})QB_C B_C DC_{C2} & \text{\textcircled{1}}fJ_2 - \text{\textcircled{1}}T_2 - I_2 \\ \text{\textcircled{2}}\vdots & \text{\textcircled{2}}\vdots & \text{\textcircled{2}}\vdots & \text{\textcircled{2}}\vdots & \text{\textcircled{2}}\vdots \\ \text{\textcircled{C}}-(1 + d_{1C})QB_1 B_1 DC_{1C} & -(1 + d_{2C})QB_2 B_2 DC_{2C} & \dots & QB_C B_C - (1 + d_{CC})QB_C B_C DC_{CC} & \text{\textcircled{C}}fJ_C - \text{\textcircled{C}}T_C - I_C \end{matrix} \quad [\text{式(4)-9}]$$

これを簡単のため以下のように表記することにする：

$$X \times FJ = Y \quad [\text{式(4)-10}]$$

ベクトルFJ=(fJ₁, fJ₂...fJ_C)は、以下によって求められる：

$$FJ = X^{-1} \times Y \quad [\text{式(4)-11}]$$

式(4)-11よりベクトルFJが決定されれば、式(4)-2等を用いてさらに *a_{ij}* と *H_i* を決定することができることを以下に示す。DC_{ij}に関して以下が成り立つ：

$$\begin{aligned}
 DC_{ij} &= \frac{\frac{\partial}{\partial H_i} \frac{a_{ij} B_j^n}{\frac{\partial}{\partial H_i} (H_i + \sum_k \dot{a}_{ik} B_k^n + a_{iE} B_{E(i)}^n)}}{\frac{\partial}{\partial H_i} (H_i + \sum_k \dot{a}_{ik} B_k^n + a_{iE} B_{E(i)}^n)} \bigg/ \frac{\frac{\partial}{\partial H_i} \frac{\dot{a}_{ik} B_k^n + a_{iE} B_{E(i)}^n}{\frac{\partial}{\partial H_i} (H_i + \sum_k \dot{a}_{ik} B_k^n + a_{iE} B_{E(i)}^n)}}{\frac{\partial}{\partial H_i} (H_i + \sum_k \dot{a}_{ik} B_k^n + a_{iE} B_{E(i)}^n)}} \\
 &= \frac{a_{ij} B_j^n}{\frac{\partial}{\partial H_i} (\dot{a}_{ik} B_k^n + a_{iE} B_{E(i)}^n)}
 \end{aligned} \tag{式(4)-12}$$

また、式(4)-6より以下が成り立つ：

$$fJ_i = \frac{\frac{\partial}{\partial H_i} (\dot{a}_{ik} B_k^n + a_{iE} B_{E(i)}^n)}{H_i + \frac{\partial}{\partial H_i} (\dot{a}_{ik} B_k^n + a_{iE} B_{E(i)}^n)} \tag{式(4)-13}$$

式(4)-12、(4)-13から、一般性を失わず、 a_{ij} と H_i を以下のようにおいてよい：

$$a_{iE} B_{E(i)}^n = DC_{iE} \dot{a}_{ik} B_k^n = const. \tag{式(4)-14a}$$

$$a_{ij} = \frac{DC_{ij} \dot{a}_{ik} B_k^n}{B_j^n} \tag{式(4)-14b}$$

$$\begin{aligned}
 H_i &= \frac{1}{fJ_i} - \frac{\frac{\partial}{\partial H_i} (\dot{a}_{ik} B_k^n + a_{iE} B_{E(i)}^n)}{\frac{\partial}{\partial H_i} (H_i + \sum_k \dot{a}_{ik} B_k^n + a_{iE} B_{E(i)}^n)} \\
 &= \frac{1}{fJ_i} - \frac{\frac{\partial}{\partial H_i} \dot{a}_{ik} (1 - DC_{iE}) B_k^n + \dot{a}_{ik} DC_{iE} B_k^n}{\frac{\partial}{\partial H_i} (H_i + \sum_k \dot{a}_{ik} B_k^n + a_{iE} B_{E(i)}^n)} \\
 &= \frac{1}{fJ_i} - \frac{\dot{a}_{ik} B_k^n}{\frac{\partial}{\partial H_i} (H_i + \sum_k \dot{a}_{ik} B_k^n + a_{iE} B_{E(i)}^n)}
 \end{aligned} \tag{式(4)-14c}$$

また、同様にして、生産者に関する未知の変数 r_i は、式(4)-3aより以下のように求められる：

$$r_i(B_i) = \dot{a}_{ik} (1 + d_{ki}) F_{ki} - I_i = \dot{a}_{ik} (1 + d_{ki}) fJ_k Q B_k B_k DC_{ki} - I_i \tag{式(4)-15}$$

さらに自己抑制の効果はバイオマスロス (T_i および r_i) のなかに含まれていると仮定する。具体的には：

$$T_i(B_i) = t_i^{const} B_i + s_i^0 B_i (s_i^1)^{B_i} = B_i (t_i^{const} + s_i^0 B_i (s_i^1)^{B_i}) \quad [\text{式(4)-16a}]$$

$$R_i(B_i) = B_i \{r_i^{\max} - t_i^{const} - s_i^0 B_i (s_i^1)^{B_i}\} \quad [\text{式(4)-16b}]$$

呼吸で失われるバイオマスのうち、割合 x が自己抑制で失われているならば、以下が成り立つ：

$$x T_i(B_i) = s_i^0 B_i (s_i^1)^{B_i} \quad [\text{式(4)-17a}]$$

$$x \{B_i r_i^{\max} - R_i(B_i)\} = s_i^0 B_i (s_i^1)^{B_i} \circ x T_i \quad [\text{式(4)-17b}]$$

群集行列の対角要素に現れる自己抑制効果を

$$-s_i^0 s_i^1 B_i (s_i^1)^{B_i} = y \quad [\text{式(4)-18}]$$

とするならば、任意の x と y のペアに対して、上式(4)-14a、(4)-14bを満たす s_0 、 s_1 のペアが以下のよ

$$s_i^0 = \frac{x T_i}{B_i (s_i^1)^{B_i}} \quad [\text{式(4)-19a}]$$

$$s_i^1 = \frac{-y B_i}{x T_i} \quad [\text{式(4)-19b}]$$

以上のように、すべての生物種の生態学的特性（バイオマス B_i ）、餌利用特性（捕食生物種 j の胃内容物に餌生物 i が占める割合 DC_{ij} ）、生理学的特性（最大同化速度 QB_i ；呼吸速度 T_i ）から、すべてのエネルギー・物質フローを推定し、さらに個体群動態モデルの構築に必要な変数決定が可能であることを示した。

(2) 食物網フローネットワークのアンフォールディング

Higashiら¹⁾をもとに、食物網のアンフォールディングは以下のようにまとめることができる。種*i*から種*j*へのフローを F_{ji} 、そして種*i*から環境へのフロー（収奪や呼吸による損失）を F_{oi} 、環境から種*i*へのフロー（生産）を F_{io} と表すことにする。すべての生物種について、以下の通り収支が釣り合っている状況を考えよう：

$$\mathring{a}F_{ki} = \mathring{a}F_{ik} \quad \text{[式(4)-20]}$$

生物種*i*が他の種または環境に渡すフロー（アウトフロー）に着目し、以下の値を*i*行*j*列要素として持つ行列*G*を定義する：

$$g_{ji} = \frac{F_{ji}}{\mathring{a}F_{ki}} \quad \text{[式(4)-21]}$$

このとき種*y*の受け取るフローの総計 $\mathring{a}F_{yk}$ は：

$$\mathring{a}F_{yk} = F_{yo} + F_y(I) + F_y(II) + \dots + F_y(K) + \dots \quad \text{[式(4)-22]}$$

と表される。ここで $F_y(K)$ とは種*y*がすべての生産者から*K*ステップで受け取る物質フローの大きさを表していて、生産者ごとにこれを書き分けると：

$$F_y(K) = \mathring{a} \sum_{x \in \text{producer}} F_{yx}(K) \quad \text{[式(4)-23]}$$

と表すことができる。ここで $F_{yx}(K)$ は生産者*x*の生産のうち*K*ステップで種*y*に到達するフローの量を示しており：

$$F_{yx}(K) = F_{x0}g_{yx}^{(K-1)} \quad \text{[式(4)-24]}$$

と計算される。なお $g_{yx}^{(K-1)}$ とは $G^{(K-1)}$ の*y*行*x*列要素である。種*y*のバイオマスのうち栄養段階*K*に属

するバイオマスの割合は、種*y*の受け取る（受け渡す）すべてのフロー（ $\dot{a}_{yi} = \dot{a}_{iy}$ ）のうち、すべての生産者の生産のうちKステップで種*y*に到達したフローの割合と等しく：

$$\frac{\dot{a}_{x0} g_{yx}^{(K-1)}}{\dot{a}_{yi}} \quad [\text{式(4)-25}]$$

と表される。すなわち栄養段階Kに属する生物種*y*のバイオマスは以下のように表すことができる：

$$B_y^{(K)} = \frac{\dot{a}_{x0} g_{yx}^{(K-1)}}{\dot{a}_{yi}} B_y \quad [\text{式(4)-26}]$$

(3) アンフォールドされた食物網の動態モデルの構築

本研究において新しく開発した3つの生物多様性指標は、栄養段階*x*に属する種*i*のバイオマス（上記 $B_i^{(x)}$ ）の動態と密接に関係がある。そのためこれらの指標の生態学的意味を解析するには、 $B_i^{(x)}$ の動態を明示的に記述するが必要となる。本研究課題では、種間の相互作用に基づいて構築された群集動態モデルから、 $B_i^{(x)}$ の動態を導くことが可能になった。具体的には、栄養段階*x*に属する

生物種*i*のバイオマス $B_i^{(x)}$ の動態は：

生産者については：

$$\frac{dB_i^{(1)}}{dt} = R_i(B_i^{(1)}) - \dot{a}_{ij} \frac{(1 + d_{ki}) Q B_j a_{ji} (B_i^{(1)} B_i^{n-1}) B_j}{H_j + \dot{a}_{jk} B_k^n + a_{jE} B_{E(j)}^n} + I_i \quad [\text{式(4)-27a}]$$

消費者については：

$$\frac{dB_i^{(1)}}{dt} = -T_i(B_i) \frac{B_i^{(1)}}{B_i} + B_i \frac{Q B_i a_{iE} (B_{E(i)}^{(1)} B_{E(i)}^{n-1})}{H_i + \dot{a}_{ij} B_j^n + a_{iE} B_{E(i)}^n} - \dot{a}_{ki} B_k \frac{Q B_k a_{ki} (B_i^{(1)} B_i^{n-1})}{H_k + \dot{a}_{kj} B_j^n + a_{kE} B_{E(k)}^n} + I_i \quad [\text{式(4)-27b}]$$

$$\frac{dB_i^{(x)}}{dt} = -T_i(B_i) \frac{B_i^{(x)}}{B_i} + B_i Q B_i^{-k} \frac{\dot{a} a_{ik} \{B_k^{(x-1)} B_k^{n-1}\} + a_{iE} \{B_{E(i)}^{(x-1)} B_{E(i)}^{n-1}\}}{H_i + \dot{a} a_{ik} B_k^n + a_{iE} B_{E(i)}^n} - \dot{a} B_k \frac{Q B_k a_{ki} \{B_i^{(x)} B_i^{n-1}\}}{H_k + \dot{a} a_{kj} B_j^n + a_{kE} B_{E(k)}^n}$$

(n ≥ 2) [式(4)-27c]

と表される。各栄養段階に属する種*i*のバイオマス変化の合計は、種*i*のバイオマス変化になるはずであり、これは確かに以下のとおり成り立っている：

$$\begin{aligned} \dot{a}_x \frac{dB_i^{(x)}}{dt} &= \dot{a}_x \left(-T_i(B_i) \frac{B_i^{(x)}}{B_i} + Q B_i B_i^{-k} \frac{\dot{a} a_{ik} \{B_k^{(x-1)} B_k^{n-1}\} + a_{iE} \{B_{E(i)}^{(x-1)} B_{E(i)}^{n-1}\}}{H_i + \dot{a} a_{ik} B_k^n + a_{iE} B_{E(i)}^n} - \dot{a} B_k \frac{Q B_k a_{ki} \{B_i^{(x)} B_i^{n-1}\}}{H_k + \dot{a} a_{kj} B_j^n + a_{kE} B_{E(k)}^n} \right) \\ &= -T_i(B_i) + Q B_i B_i^{-k} \frac{\dot{a} a_{ik} B_k^n + a_{iE} B_{E(i)}^n}{H_i + \dot{a} a_{ik} B_k^n + a_{iE} B_{E(i)}^n} - \dot{a} B_k \frac{Q B_k a_{ki} B_i^n}{H_k + \dot{a} a_{kj} B_j^n + a_{kE} B_{E(k)}^n} = \frac{dB_i}{dt} \end{aligned}$$

[式(4)-28]

(4) アンフォールディングに基づく食物網複雑性指標

食物網の物質フローネットワークにネットワークアンフォールディングを適用することで、3つの食物網複雑性指標を定義することが可能になった。すなわち、一つの栄養段階内部における種の多様性を表す「栄養段階内多様性 (Horizontal Diversity: D_H)」、1つの生物種が所属する栄養段階の多様性を表す「種内栄養段階多様性 (Vertical Diversity: D_V)」、生態系における栄養段階の多様性を表す「栄養段階多様性 (Trophic Level Diversity: D_C)」である。それぞれ

$$\dot{a}_{x=1} \left(\frac{B^{(x)}}{B_T} \right) \dot{a}_{i=1}^S - \dot{a}_{i=1}^S \left(\frac{B_i^{(x)}}{B^{(x)}} \right) \left(\log \frac{B_i^{(x)}}{B^{(x)}} \right) \dot{a}_p \quad [式(4)-29a]$$

$$\dot{a}_{i=1}^S \left(\frac{B_i}{B_T} \right) \dot{a}_{x=1}^{\infty} - \dot{a}_{x=1}^{\infty} \left(\frac{B_i^{(x)}}{B_i} \right) \left(\log \frac{B_i^{(x)}}{B_i} \right) \dot{a}_p \quad [式(4)-29b]$$

$$\sum_{x=1}^{\infty} \hat{a} \left(B^{(x)} / B_T \right) \left(\log B^{(x)} / B_T \right) \quad [\text{式(4)-29c}]$$

と計算される。ここで B_T は総バイオマス、 B_i は種 i のバイオマス、 $B^{(x)}$ は栄養段階 x に属する総バイオマス、 $B_i^{(x)}$ は栄養段階 x に属する種 i のバイオマスを表している。これらの指標は、Shannon-Wiener の多様度指数 (H') と：

$$H' = D_H - D_V + D_C \quad [\text{式(4)-30}]$$

という関係があり、Shannon-Wiener の多様度指数 (H') との関連付けが可能であることも特筆すべきである。

(5) 食物網複雑性指標と生態系機能

1) 解析的モデル

a. dv の効果について

Species vertical range (dv) を以下のように定義する：

$$dv_i^{(x)} = \frac{B_i^{(x)}}{B_i} \quad [\text{式(4)-31}]$$

さて、栄養段階 x に属する生物種 i のバイオマスの動態は以下のとおり：

$$\begin{aligned} & \frac{dB_i^{(x)}}{dt} \\ &= -T_i(B_i) dv_i^{(x)} + QB_i \frac{B_i^{(x)}}{dv_i^{(x)}} \frac{\hat{a} a_{ik} \{ B_k^{(x-1)} B_k^{n-1} \} + a_{iE} \{ B_{E(i)}^{(x-1)} B_{E(i)}^{n-1} \}}{H_i + \hat{a} a_{ik} \{ B_k^{(x-1)} / dv_k^{(x-1)} \}^n + a_{iE} \{ B_{E(i)}^{(x-1)} / dv_{E(i)}^{(x-1)} \}^n} - \hat{a} \frac{B_k^{(x+1)}}{dv_k^{(x+1)}} \frac{QB_k a_{ki} \{ B_i^{(x)} B_i^{n-1} \}}{H_k + \hat{a} \{ a_{kj} \{ B_j^{(x)} / dv_j^{(x)} \}^n \} + \{ a_{kE} \{ B_E^{(x)} / dv_E^{(x)} \}^n \}} \end{aligned} \quad [\text{式(4)-32}]$$

ある食物網について、栄養段階 x における種 i のバイオマス $B_i^{(x)}$ が平衡状態にあると仮定する。この食物網における各栄養段階のトータルバイオマス ($B^{(x)*}$) や栄養段階間フロー ($F^{(x+1,x)*}$) をそのままに保ったままで、 $dv_i^{(x)}$ を変化させる操作について考えよう。もともとの食物網の平衡状態に

において、栄養段階 x に属する種 i に流入するフローの合計は：

$$F_{i(x)}^{total*} = QB_i \frac{B_i^{(x)}}{dv_i^{(x)}} \frac{\sum_k \dot{a}_{ik} \{B_k^{(x-1)} B_k^{n-1}\} + a_{iE} \{B_{E(i)}^{(x-1)} B_{E(i)}^{n-1}\}}{H_i + \sum_k \dot{a}_{ik} B_k^n + a_{iE} B_{E(i)}^n} \quad [式(4)-33]$$

となるが、定義より

$$\frac{B_i^{(x)*}}{B_i^*} = \frac{F_{i(x)}^{total*}}{F_i^{total*}} \quad [式(4)-34]$$

が平衡状態において常に成り立つことに注意すれば、以下が導かれる：

$$F_{i(x)}^{total*} = QB_i \frac{B_i^{(x)}}{dv_i^{(x)}} \frac{\sum_k \dot{a}_{ik} \{B_k^{(x-1)} B_k^{n-1}\} + a_{iE} \{B_{E(i)}^{(x-1)} B_{E(i)}^{n-1}\}}{H_i + \sum_k \dot{a}_{ik} (B_k^{(x-1)} / dv_k^{(x-1)})^n + a_{iE} (B_{E(i)}^{(x-1)} / dv_{E(i)}^{(x-1)})^n} \quad [式(4)-35]$$

ここで、 $dv_i^{(n)}$ が、 i や n によらず一定だと仮定すると、以下が成り立つ：

$$\begin{aligned} F_{i(x)}^{total*} &= QB_i \frac{B_i^{(x)}}{dv^*} \frac{\sum_k \dot{a}_{ik} \{B_k^{(x-1)} (B_k^{(x-1)} / dv^*)^{n-1}\} + a_{iE} \{B_{E(i)}^{(x-1)} (B_{E(i)}^{(x-1)} / dv^*)^{n-1}\}}{H_i + \sum_k \dot{a}_{ik} (B_k^{(x-1)} / dv^*)^n + a_{iE} (B_{E(i)}^{(x-1)} / dv^*)^n} \\ &= QB_i B_i^{(x)} \frac{\sum_k \dot{a}_{ik} (B_k^{(x-1)} / dv^*)^n + a_{iE} (B_{E(i)}^{(x-1)} / dv^*)^n}{H_i + \sum_k \dot{a}_{ik} (B_k^{(x-1)} / dv^*)^n + a_{iE} (B_{E(i)}^{(x-1)} / dv^*)^n} \\ &= QB_i B_i^{(x)} \frac{\sum_k \dot{a}_{ik} B_k^{(x-1)n} + a_{iE} B_{E(i)}^{(x-1)n}}{H_i dv^{*n} + \sum_k \dot{a}_{ik} B_k^{(x-1)n} + a_{iE} B_{E(i)}^{(x-1)n}} \end{aligned} \quad [式(4)-36]$$

以上のことから、平衡状態における各生物種の各栄養段階におけるバイオマス ($B_i^{(x)*}$)、トータルバイオマス ($B^{(x)*}$) や栄養段階間フロー ($F^{(x+1,x)*}$) をそのままに、 dv^* を変化させるには、

$$\frac{dv^{*n} H_i}{a_{ik}} = const.$$

[式(4)-37]

を維持すれば良いことがわかる。言い換えると、 dv^* を増加（vertical diversityを低下）させて、同じ B^* や F^* を実現するには、相互作用強度を強くしなくてはならないことがわかる。

b. dh の効果について

Species horizontal range(dh)を以下のように定義する：

$$dh_i^{(x)} = \frac{B_i^{(x)}}{B^{(x)}}$$

[式(4)-38]

これを利用すると、以下が導ける：

$$\begin{aligned} F_{(x)}^{total*} &= \dot{a}_i F_{i(x)}^{total*} \\ &= \dot{a}_i B_i^{(x)*} QB_i \frac{\dot{a}_k a_{ik} B_k^{(x-1)*n} + a_{iE} B_{E(i)}^{(x-1)*n}}{dv^{*n} H_i + \dot{a}_k a_{ik} B_k^{(x-1)*n} + a_{iE} B_{E(i)}^{(x-1)*n}} \\ &= \dot{a}_i dh_i^{(x)*} B^{(x)*} QB_i \frac{\dot{a}_k a_{ik} dh_k^{(x-1)*n} B^{(x-1)*n} + a_{iE} dh_E^{(x-1)*n} B^{(x-1)*n}}{dv^{*n} H_i + \dot{a}_k a_{ik} dh_k^{(x-1)*n} B^{(x-1)*n} + a_{iE} dh_E^{(x-1)*n} B^{(x-1)*n}} \end{aligned}$$

[式(4)-39]

ここで、

$$dh_i^{(n)} = dh^*(const.)$$

[式(4)-40]

を仮定すると、

$$F_{(x)}^{total*} = \dot{a}_i dh^* B^{(x)*} QB_i \frac{\dot{a}_k a_{ik} dh^{*n} B^{(x-1)*n} + a_{iE} dh^{*n} B^{(x-1)*n}}{dv^{*n} H_i + \dot{a}_k a_{ik} dh^{*n} B^{(x-1)*n} + a_{iE} dh^{*n} B^{(x-1)*n}}$$

[式(4)-41]

さらに、QBと α 、H、 dv がすべての種、種ペアにおいて同一と仮定すると、

$$F_{(x)}^{total*} = B^{(x)*} QB \frac{\dot{a} a B^{(x-1)*n} + a B^{(x-1)*n}}{(dv^{*n}/dh^{*n})H + \dot{a} a B^{(x-1)*n} + a B^{(x-1)*n}} \quad [式(4)-42]$$

が成り立つ。以上のことから、平衡状態における各生物種の各栄養段階におけるバイオマス ($B_i^{(n)*}$)、トータルバイオマス ($B^{(n)*}$) や栄養段階間フロー ($F^{(n+1,n)*}$) をそのままに、 dh を変化させるには、相互作用強度に関する変数 (α 、H) を変化させて、

$$\frac{dv^n H_i}{dh^n a} = const. \quad [式(4)-43]$$

を維持すれば良いことがわかる。

2) シミュレーションとモデル選択による解析

食物網モデルの解析から、本研究課題において提案した複雑性指標 (D_H 、 D_V 、 D_C) は生態系機能をよく予測することが示された。

栄養転換効率 L_F については、最もこれをよく予測するモデルは

$$L_F = 3.10 D_V - 0.28 D_H - 0.25 D_C \quad [式(4)-44]$$

であった ($AIC = -183.3$)。ただしこれらの効果のうち有意であると認められたのは、 D_V の正の効果のみであった。また、40の可能なモデルの中で、栄養転換効率 L_F をよく予測するトップ16のモデルはすべて有意な正の D_V の効果、負の D_H 、 D_C の効果を持っていた。さらにShannon-Wienerの多様度指数 (H') を利用したモデルは総じて予測の成績が悪かった ($AIC > -138.7$)。

栄養転換効率 L_b については、最もこれをよく予測するモデルは

$$L_F = 0.03 S - 0.00 L + 3.58 D_V - 0.55 D_H \quad [式(4)-45]$$

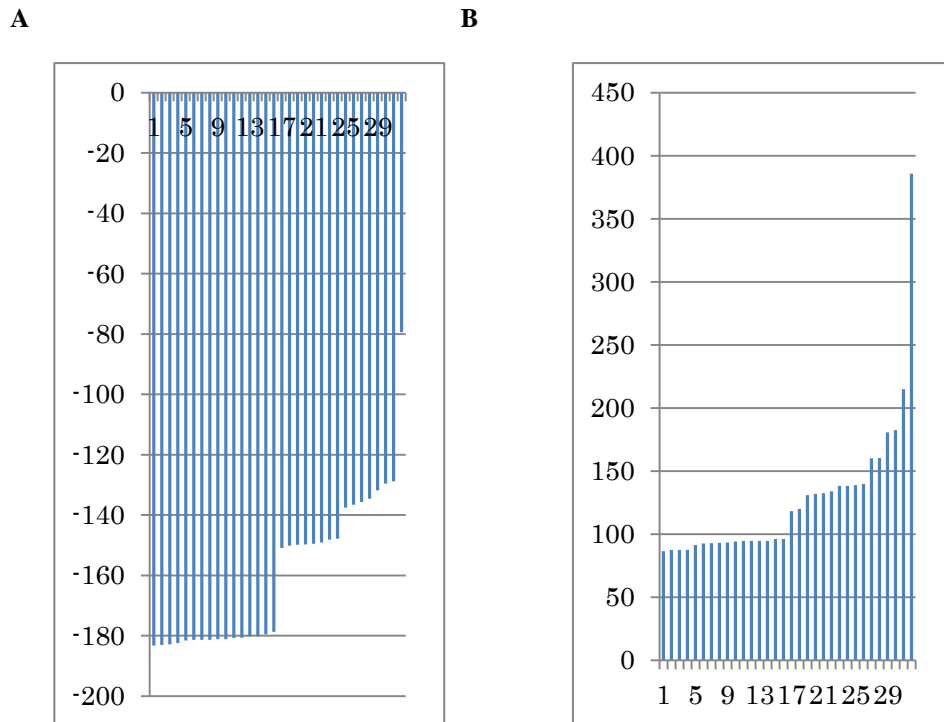
であった ($AIC = 86.54$)。ただしこれらの効果のうち有意であると認められたのは、 S ($P = 0.02$)、 L ($P = 0.02$)、 D_V ($P < 0.001$) の効果のみであった。また、40の可能なモデルの中で、バイオマス分布 L_b をよく予測するトップ16のモデルはすべて有意な正の D_V の効果、負の D_H 、 D_C の効果を持

していた。さらにShannon-Wienerの多様度指数 (H') を利用したモデルは総じて予測の成績が悪かった ($AIC > 132.6$)。

これらの結果は以下のようにまとめられる：

1. D_V は生態系の生産性（栄養転換効率）に正の効果をもつ
2. D_H と D_C は生態系の生産性（栄養転換効率）に負の効果をもつ
3. D_V の正の効果は $D_H \cdot D_C$ の負の効果より1オーダー大きいいため、 $D_V \cdot D_H \cdot D_C$ の増大は生態系生産性を高めることが期待される

Shannon-Wienerの多様度指数 (H') が $H' = -D_V + D_H + D_C$ と表されることに注目すると、多様度指数 (H') が生態系機能に対して正の効果を持つか否かは、 $D_V \cdot D_H \cdot D_C$ の値次第であり、一意に決めることはできないことが推察できる。ただし、Shannon-Wienerの多様度指数 (H') を利用したモデルでは、 H' は正の効果を持つことにも注意が必要である。



図(4)-1 異なるモデルのAIC 栄養転換効率(A)とバイオマス分布(B)を説明する個々のモデルのAICを低いものから順にすべて表示している。

3) 安定同位体比を利用した複雑性指標の推定

また、提案した3つの食物網複雑性指標 (D_H , D_V , D_C) を安定同位体比より推定する手法を検討した。安定同位体比より得られる栄養位置 (trophic position ; $(TP)_i$) は、各栄養段階に振り分けられたバイオマスによって重み付けされた栄養段階の平均であるので、以下の定義が可能である：

$$(TP)_i = \frac{k \hat{a} B_i^{(k)}}{B_i} \quad \text{[式(4)-46]}$$

したがって、この指標は複雑性指標と比較して情報量が少ない。そこで現実の食物網に見られるいくつかの構造的特徴に関する仮定を加味することで、栄養位置より食物網複雑性指標 (D_H 、 D_V 、 D_C) を推定するアプローチをとった。

a. 栄養段階多様性 (D_C) の推定

平衡状態において各栄養段階に配分されるバイオマスは栄養段階の増加とともに指数関数的に低下することが理論的に予測されている。実際、Benguela湾の食物網モデルにおいてもそのパターン

は確認された。このとき、栄養段階 k におけるバイオマスは $B^{(k)} = B^{(1)} \exp\{-a(k-1)\}$ と表される。

これを用いると、以下の関係式が成り立つことが示された：

$$D_T = a \langle TP \rangle + \log \left(\frac{1 - \exp[-ak_{\max}]}{1 - \exp[-a]} \right) \quad \text{[式(4)-47]}$$

ここで $\langle TP \rangle$ は生物群集全体での栄養位置の平均（重心）、 a は指数関数の係数、 k_{\max} は最大栄養位置である。このことは、特定の生態系におけるバイオマス分布の一部が推定できれば、そこから D_C も推定可能であることを示している。

b. 種内栄養段階多様性 (D_V) ・ 栄養段階内多様性 (D_H) の推定

各生物種がたかだか2栄養段階 n と $(n+1)$ にしか存在しないことを仮定すると、栄養位置 $(TP)_i$ をもと

にしてその生物種の2つの栄養段階に属するバイオマスを、 $B_i^{(n)}/B_i = n - (TP)_i + 1$ 、

$B_i^{(n+1)}/B_i = (TP)_i - n$ と推定することができ、これを利用することで D_V は種ごとに求めた：

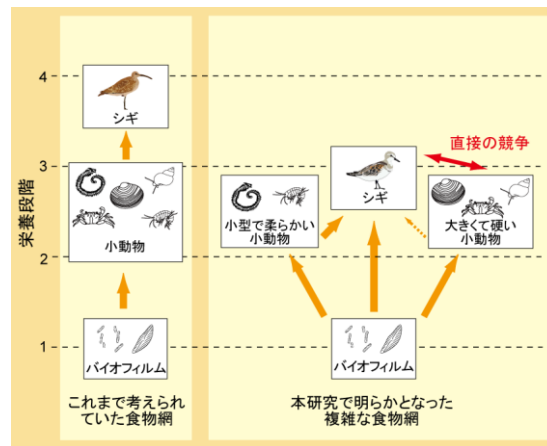
$$\left(1 - n + (TP)_i\right) \log \left(1 - n + (TP)_i\right) + \left((TP)_i - n\right) \log \left((TP)_i - n\right) \quad \text{[式(4)-48]}$$

のバイオマスによる重み付け平均として求めることが可能である。また、各生物種のバイオマスをもとにして、 H' を求めることができれば、上記で求めた D_V と D_C 、および関係式 $H' = -D_V + D_H + D_C$ を利用して、 D_H を求めることもできる。

(6) その他の付随した成果

1) 干潟生態系における食物網構造の推定

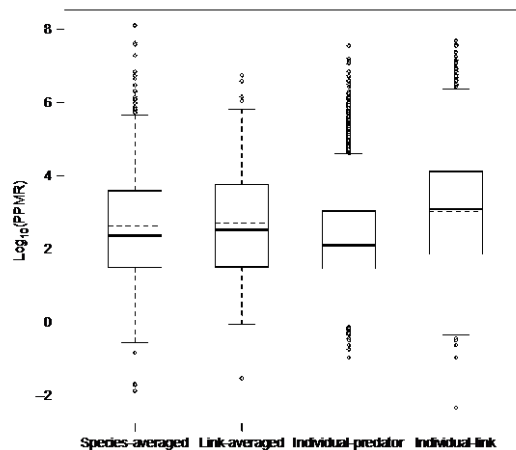
干潟食物網の解析からは、シギ類とバイオフィルムの関係の見直しを必要とする新たな発見が得られた。これまではシギ類はゴカイやカニなどの小動物を食べていると考えられてきた。しかし、実際にはシギ類は最大で餌全体の78%をも占める量を干潟泥表面のバイオフィルムに依存すること、小型のシギ類ほど舌先に発達したブラシ構造を持っており餌の多くをバイオフィルムに依存していること等がわかった。本成果は査読付き学術論文 (Kuwaieら²⁾) において報告した。



図(4)-2 これまで考えられてきた干潟食物網（左）は、本研究によってより複雑な構造（右）を持つことが明らかになった。

2) 捕食者-被食者体サイズ関係に関する研究

捕食者と被食者の体サイズ比の生物学的レベルへの依存性を調べる研究からは、体サイズ比はそれを定義する生物学的レベルに依存することが明らかになった。体サイズをもとに食物網動態モデルを変数決定したり、物質フローネットワークを構築する際には、体サイズ換算でオーダーが1程度異なっても大きな影響を受けないような、変数の誤差に対して頑強な予測を行うことが重要になることが示唆された。

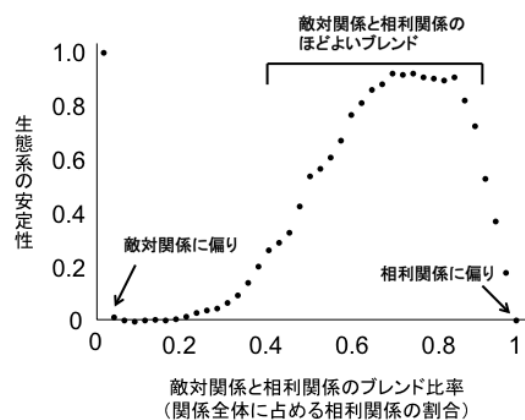


図(4)-3 捕食者と被食者の体サイズ比 (PPMR) は、体サイズを種ごとに平均した場合 (Species-averaged)、特定の被食者を実際を利用して捕食者個体の平均体サイズを利用した場合 (Link-averaged)、捕食者個体の体サイズと捕食されていた被食者の平均体サイズを用いた場合 (Individual-predator)、捕食者・被食者ともに個体の体サイズを利用した場合 (Individual-link) ではオーダー1つ程度のばらつきが生じる。

3) 種間相互作用の多様性と群集安定性

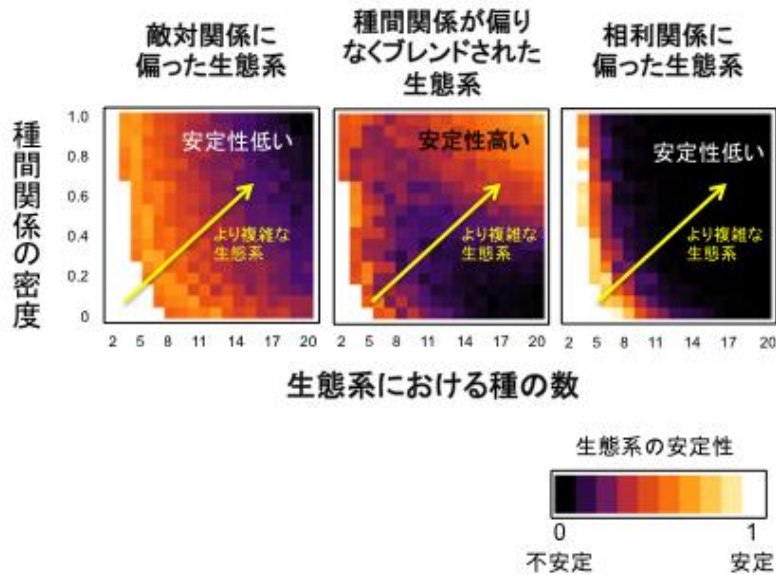
種間相互作用の多様性を考慮した群集動態モデルの解析の結果、敵対関係と相利関係の割合が平衡状態の局所安定性に強く影響することが分かった。

第1に、種間関係が多様だと多種の共生が容易になる (自然のバランスが保たれやすくなる) ことが分かった (図(4)-4)。敵対関係と相利関係の割合が一方に偏っていると、生態系における個体数変動の安定性は低くなる。だが、両者がほどよい割合で共存していると、共存する生物の個体数変動は小さく押さえられた。



図(4)-4 生態系における相利関係と敵対関係 (食う-食われる関係) のブレンド比率と生態系の安定性の間の関係

第2に、敵対関係と相利関係が適切な割合で共存していると、生態系の複雑性（種数、リンク密度）が高まるほど、個体数変動が小さくなり、生態系の安定性が高まることがわかった（図(4)-5）。



図(4)-5 生態系の複雑性と安定性の関係 生態系における種間関係全体に占める相利関係・敵対関係の割合を変化させると、生態系の複雑性（種数が多い、または種間関係が密であること）が生態系の安定性に及ぼす影響も変化する。

これら2つの理論予測は、生物種間の競争関係の存在や、想定する種間関係ネットワークの構造など、いくつかの前提を変えて数理モデルを解析し直しても変化することなく、いつも導かれる。これらの結果は、捕食-被食関係のみに注目した生物群集・生態系の動態把握・理解には限界があることを示しており、安定同位体を用いた生態系機能の評価にもほかのあらゆる評価法と同様に限界があることを意味している。

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

本研究には3つの大きな科学的意義がある。第一に、食物網構造の複雑性を考慮に入れた指標を提案し、安定同位体比解析からそれらを推定する手法を提案したことである。これまで生物群集の構造や種多様性を評価する際には、Shannon-Wienerの多様度指数 (H') や食物連鎖長といった指標が利用されてきた。しかし、前者の指標は食物網の構造を全く考慮に入れる事ができず、また後者の指標は種の多様性を考慮できない事から、食物網構造の複雑性の把握には適さない。本研究において提案した「食物網複雑性指標 (D_H 、 D_V 、 D_C)」は、食物網構造の複雑性を表す事ができるだけでなく、食物連鎖長・各栄養段階における種多様性・雑食の程度といった、群集生態学で重要と考えられてきた食物網構造を適切に評価する事ができる。第二に、

各生物種のバイオマスは、アンフォールディングによって各栄養段階に分配されるが、この分配された生物量の動態を表現するための数理モデルを開発した。このモデルは、これまで互いに分断されていた群集生態学と生態系生態学の統合ツールとして利用することができる。このモデルの強みを活かす事で第三の科学的な成果を得た。生物群集の構造と生態系過程の間の関係が近年注目されているが、ほとんどの研究は単一の栄養段階に着目しており、食物網の複雑性・種多様性といった生物群集構造と生態系機能の間の関係は明らかではなかった。本研究では、食物網構造の複雑性・種多様性を評価する新しい生態系指標と数理モデルの開発・解析によって、両者の間に成立する関係が明らかとなった。具体的には、雑食の程度と関連すると思われる食物網複雑性指標 D_v が、食物網における栄養転換効率と正の関係を持つ事を初めて明らかにした。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

具体的な事例はないが、今後さらなる研究発展、特に実証研究との連携によって行政における活用が可能となるように務める。

<行政が活用することが見込まれる成果>

本研究では、安定同位体解析を利用した生態系評価を可能にする理論的手法を提案した。今後、簡便かつ理論的サポートも存在する環境評価法として、この環境評価手法の活用が見込まれる。そのためには、今後行政がおこなう生態系調査において、各生物種のバイオマス調査と並行して、安定同位体を利用した栄養位置の調査を行う事が重要である。これにより、単に種組成や種の豊富さのみからではなく、生態系機能の面から生態系の「健康さ」を評価する事が可能になると思われる。バイオマスデータと栄養位置データさえそろえる事ができれば、食物網複雑性指標の導出は特別な技能や技術を必要とせず、極めて容易である。このことも本研究において開発した手法の、環境評価における活用において有利に働き、安定同位体比分析に基づく生態系評価の推進を後押しするものと考えられる。

6. 国際共同研究等の状況

- (1) 「実証的群集生態学に革新をもたらす環境DNA分析手法の確立」、科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）挑戦的萌芽研究、Volker Rudolf・ライス大学・米国、成長に伴うニッチシフトや体サイズの変化が食物網の構造に及ぼす影響に付いて情報交換をおこなった、2013年度日本生態学会におけるシンポジウムにおいて共同で講演を行った（英語による国際セッション）。
- (2) 「水域生態系における栄養関係指標に関する研究」、JSPS外国人招へい研究者（短期）、Andrea Belgrano・スウェーデン農業科学大学・スウェーデン、本研究課題代表者が受け入れ研究者となり共同研究をおこなった、食物網複雑性指標と生態系機能の間の関係についての理論予測を世界で初めて実証的データによってテストする事を目的としている
- (3) 「環境DNA分析に基づく魚類群集の定量モニタリングと生態系評価手法の開発」、JST CREST 研究「海洋生物多様性および生態系の保全・再生に資する基盤技術の創出（H25～）」、謝

志豪・国立台湾大学・台湾、本研究課題代表者が代表を務める研究プロジェクトの共同研究者として参加、国際的にも未だ成功していない環境DNAに基づく生物群集の定量的モニタリングを可能にする技術を開発する事を目的としている

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文(査読あり)>

- 1) T. NAKAZAWA, M. USHIO and M. KONDOH: *Advances in Ecological Research*, 45, 269-302 (2011)
“Scale Dependence of Predator-Prey Mass Ratio: Determinants and Applications”
- 2) T. KUWAE, E. MIYOSHI, S. HOSOKAWA, K. ICHIMI, J. HOSOYA, T. AMANO, T. MORIYA, M. KONDOH, R. C. YDENBERG and R. W. ELNER: *Ecology Letters*, 15, 347-356(2012)
“Variable and complex food web structures revealed by exploring missing trophic links between birds and biofilm”
- 3) A. MOUGI and M. KONDOH: *Science*, 337, 349-351 (2012)
“Diversity of interaction types and ecological community stability”
- 4) A. MOUGI and M. KONDOH: *Population Ecology*, 56, 257-263 (2014)
“Instability of a hybrid module of antagonistic and mutualistic interactions”
- 5) A. MOUGI and M. KONDOH: *Ecological Research*, 29, 113-119 (2014)
“Adaptation in a hybrid world with multiple interaction types: a new mechanism for species coexistence”

<その他誌上発表(査読なし)>

- 1) M. KONDOH: *Encyclopedia of Theoretical Ecology* (eds. A. Hasting, L. Gross; University of California Press) (2012)
“Resilience and Stability”
- 2) 舞木昭彦、近藤倫生:文部科学省委託研究開発事業 統合データベースプロジェクト ライフサイエンス新着論文レビュー (2012)
「種間関係の多様性が生態系をささえる」
- 3) 近藤倫生、舞木昭彦:岩波「科学」, 83, 282-288 (2013)
「種間相互作用の多様性は自然のバランスを支えるか — 複雑性体系のパラドクスとその解消」

(2) 口頭発表(学会等)

- 1) 近藤倫生:第21回日本数理生物学会(2011)
「食物網をめぐる生態学:群集構造と動態をむすぶ」
- 2) 舞木昭彦、近藤倫生:第27回個体群生態学会(2011)
“混成群集ネットワークと個体群動態の安定性“
- 3) 舞木昭彦、近藤倫生:第22回数理生物学会(2012)

- 「新しい多種共存メカニズム：種間相互作用の多様性」
- 4) 舞木昭彦：第27回日本生態学会（2013）
宮地賞受賞講演「多様な種間関係が生物多様性を支える」
 - 5) M. Kondoh：Food Webs 2013: Science with Impact, Giessen, Germany（2013）
“Interaction-type diversity and complexity-stability relationship of community network”
 - 6) 舞木昭彦、近藤倫生：第23回日本数理生物学会大会（2013）
「3種の種間相互作用タイプが共存する生物群集の安定性」
 - 7) K. Kawatsu：第23回日本数理生物学会大会（2013）
“Relative effect of direct and indirect selection in sexual antagonism on the maintenance of sex”
 - 8) M. Kondoh, A. Mougi：第29回個体群生態学会大会（2013）
“What generates the stabilising effect of interaction-type diversity in ecological communities?”
 - 9) 川津一隆：第29回個体群生態学会大会（2013）
「孝行息子は性の負債を完済する：性的対立における間接選択が性の維持に与える影響」
 - 10) M. Kondoh, T. Miki, S. Kato：日本生態学会第61回全国大会（2014）
“Stable isotope analysis and food-web unfolding”
 - 11) 川津一隆：第61回日本生態学会広島大会（2014）
「その無駄はどこに消える：オスの存在が群集構造に与える影響」

(3) 出願特許

特に記載すべき事項はない

(4) シンポジウム、セミナー等の開催（主催のもの）

- 1) 日本生態学会第61回全国大会 シンポジウム“Use of various isotope tools in watershed ecology”（2014年3月15日、広島国際会議場）

(5) マスコミ等への公表・報道等

- 1) 日刊工業新聞（2012年7月20日）「生物多様性の保全、人工飼育では不十分？－龍谷大が研究成果」
- 2) 京都新聞（2012年7月20日）「生態系、複雑なほど安定」龍大グループが解明 featured by Yahoo! Japan ニュース
- 3) 中日新聞（2012年7月20日）「生態系、複雑なほど安定」
- 4) 読売新聞（2012年7月21日）「生態系、複雑なほど安定」
- 5) 朝日新聞（2012年7月25日）「敵と味方、多いほうが「世界」安定します」
- 6) 国際日報（2012年7月21日）「日新研究稱越複雑的生態系統越容易維持平衡」
- 7) マイナビニュース（2012年7月23日）「多様な生物種間関係こそが「自然のバランス」を保つカギ-JSTと龍谷大」
- 8) 日経バイオテク（2012年7月23日）「龍谷大、生態系の多様な生物種間関係が自然のバランスを保つ鍵、Science誌に発表」

(6) その他

2013年3月 第27回日本生態学会宮地賞受賞 舞木昭彦

2013年5月 文部科学大臣表彰若手科学者賞 近藤倫生

8. 引用文献

- 1) M. Higashi, T. P. Burns and B. C. Patten (1989) Food network unfolding: an extension of trophic dynamics for application to natural ecosystems. *Journal of Theoretical Biology*, 140: 243-261
- 2) T. Kuwae, E. Miyoshi, S. Hosokawa, K. Ichimi, J. Hosoya, T. Amano, T. Moriya, M. Kondoh, R. C. Ydenberg and R. W. Elner (2012) Variable and complex food web structures revealed by exploring missing trophic links between birds and biofilm. *Ecology Letters*, 15:347-356

Stable isotope indicators for evaluating ecosystem functions of biodiversity

Principal Investigator: Ichiro TAYASU

Institution: Center for Ecological Research, Kyoto University
2-509-3, Hirano, Otsu, 520-2113 JAPAN
Tel: +81-77-549-8254 / Fax: +81-77-549-8254
E-mail: tayasu@ecology.kyoto-u.ac.jp

Cooperated by: The University of Tokyo, Ryukoku University

[Abstract]

Key Words: Stable isotope ratio, Amino acid, Carbon-14, Biological specimen, River ecosystem, Watershed, Food web structure, Mathematical model, Ecological complexity, Ecosystem function

Decline of biodiversity is a matter of concern, however, it is often difficult to describe biodiversity itself because the term “biodiversity” contains various levels of biological diversity including (1) genetic diversity, (2) species diversity and (3) ecosystem diversity. Freshwater ecosystem is one of the threatened systems, on which human activity has affected by nutrient loading, artificial modification and introduction of exotic species. Ecosystem level property, i.e. ecosystem function, in relation to biodiversity is further difficult to be measured, however, stable isotope ratios of organisms and nutrients are one of the useful parameters to bridge the two concepts. Current development of isotope technique, especially, nitrogen isotope ratios of individual amino acids and natural abundance of carbon-14 ($\Delta^{14}\text{C}$), has potential advantage to evaluate interactions between species.

We first developed a methodology to describe food web structure using nitrogen isotope ratios of individual amino acids in riverine ecosystem, where aquatic and terrestrial resources are mixed. We applied this approach to food webs in Yasu and Ado streams, which are tributaries in the Lake Biwa watershed. Then, we compared $\Delta^{14}\text{C}$ values of aquatic organisms, and confirmed a utility to quantify the reliance between aquatic or terrestrial productions. In Gomadan-area, we studied trophic structures of headwater streams, using a chronosequence after a clear-cut, and found the trophic position (TP) of a Plecoptera (*Togoperla* sp.) showed the lowest TP after 23 years of a clear-cut. In Arida-river, nitrogen isotope ratios of living organisms were higher downstream, indicating the effect of nutrient loading from orchard (especially tangerine), however, food-web structure didn't change as a result of moderate eutrophication.

We also applied the method of nitrogen isotope ratios of individual amino acids to

preserved specimen sampled for 100 years in Lake Biwa. We confirmed that the change of TPs of a three-lips (*Opsariichthys uncirostris uncirostris*) calculated by the amino-acid method was similar to the TPs calculated by the bulk-method.

We developed indices of food-web complexity (Horizontal diversity: D_H ; Vertical diversity: D_V ; Trophic level diversity: D_C) based on the Higashi's network unfolding theory. The values are complementary to the well-known Shannon-Wiener's H' -index and have advantage in describing trophic relationship among species. A theoretical approach proved that D_V value has positive relationship with trophic transfer efficiency. Finally, we applied the indices to food-webs obtained in this research and suggested the utility of indices of food-web complexity.