

「水の循環系モデリングと利用システム」

平成15年度採択研究代表者

永田 俊

(京都大学生態学研究センター 教授)

「各種安定同位体比に基づく流域生態系の健全性／持続可能性指標の構築」

1. 研究実施の概要

本研究では、各種安定同位体比を用いることで、流域環境を総合的に診断する指標を構築することを目標として研究を進めている。とくに、流域の水循環と物質循環の統合的な評価と、生態系環境や生物群集の健全性査定に重点を置いた研究を展開している。また、流域診断において今後必要とされる安定同位体比の分析手法の微量化・自動化・高精度化といった技術的な課題に応えるための開発研究も進めている。本年度は、観測研究と技術開発の両面で大きな進展がみられた。まず、硝酸イオンの酸素・窒素安定同位体比の高精度微量自動分析システムの構築を達成し、従来法の100倍の分析感度を得ることに成功した。この手法を用い、琵琶湖および流入河川の各種窒素化合物の安定同位体比を測定した結果、流域に対する窒素の人為負荷が窒素安定同位体比を用いて極めて鋭敏に検出できることを明らかにした。また浄化機能と窒素循環の査定における窒素安定同位体指標の有効性の検証も大きく進展した。一方、溶存酸素の酸素安定同位体比、および、懸濁態有機物の炭素安定同位体比からそれぞれ、溶存酸素の発生・吸収源と有機汚濁の発生源の推定が行えることを示した。海外ではモンゴルのツール川で大規模な共同観測を展開し、水、物質、生物の安定同位体比の分析に供する大量の精密試料の採取に成功した。技術面では酸素の¹⁷Oアノマリーの微量測定手法の詳細な検討を進めるとともに、流域診断における今後の需要が見込まれる微量安定同位体比測定技術の開発研究を推進した。次年度は、観測結果の統合化とモデル化を大幅に進めるとともに、新たな流域診断技術としての安定同位体法の確立にむけての体系化と成果発信に向けての活動を強化する予定である。

2. 研究実施内容

<硝酸イオンの酸素・窒素安定同位体比測定の微量化と高速化>

流域における硝酸イオンの酸素と窒素の安定同位体比は、窒素汚染源の推定のうえで極めて有用であるばかりでなく、窒素化合物の流出や物質代謝過程の解析においても重要な情報を提供する。しかし、これまで分析手法上の制約から、流域診断に必要とされる多試料・高速分析が阻まれてきた。本研究では、硝酸イオンの窒素と酸素の安定同位体比測定の微量化・高精度化・高速化を大きく推進し、新たな流域診断技術の開発の突破口となる強固

な方法基盤の確立を目指した。新手法では、脱窒菌を用いて NO_3^- を N_2O に変換し、 N_2O ガスの同位体比を測定する。この反応を容積 30ml の密封ガラスバイアル内で完了させることで分析の自動化・高速化が可能になった。手順は以下の 4 ステップからなる。1) 脱窒菌の培養と収穫、2) 脱窒菌の作用で NO_3^- を N_2O に変換、3) N_2O を質量分析計に導入して同位体比を測定、4) N_2O の質量数から窒素と酸素の同位体比を計算。これらの手順に関して、以下の改良を達成した。1) 脱窒菌の培養環境の整備、2) N_2O への変換状況の確認のための NO_2^- 濃度モニター法の確立、3) 最適な培養環境を継続するプロトコルを作成、4) 試料からの N_2O ガスの導入に際してのキャリアガス流量の最適化、5) $\text{N}_2\text{O} \cdot \text{CO}_2$ の分離用ガスクロの調整、6) 冷却濃縮条件の最適化、7) 総合分析プロトコルの作成。以上の改良により従来法（硝酸銀沈殿法）の 100 分の 1 以下の試料 (0.3 マイクログラム-N) での自動連続測定が可能となった。

<琵琶湖流域における窒素化合物の安定同位体比観測の展開>

本研究では、硝酸イオンの酸素、窒素安定同位体比に加え、アンモニウム、一酸化二窒素、懸濁態有機物 (POM) の安定同位体比を測定することで、琵琶湖流域における各種窒素化合物の負荷と浄化過程を考慮した環境診断技術の開発を目的として研究を推進した。琵琶湖に流入する河川のうち、人為影響の程度が大きく異なる野洲川（人為負荷大）と安曇川（人為負荷小）の観測結果から、両河川の窒素安定同位体比の流下変化パターンが著しく異なることが明らかになった。野洲川では人為負荷を反映して中流域での急激な窒素安定同位体比の上昇が観測されたのに対して、安曇川ではほぼ一定の値を示した。硝酸イオンの酸素安定同位体比は両河川とともに源流付近で高い値を示したが、この理由については現在検討を進めている。一方、琵琶湖堆積物中の硝酸の窒素安定同位体比から高い脱窒活性が示唆された。さらに、堆積物での脱窒、水柱での硝化という 2 つの異なるプロセスが混合した結果、一酸化二窒素の濃度プロファイルが形成されることが示唆された。以上の結果から、水域の浄化機能の評価のうえで各種窒素化合物の安定同位体比が極めて有効な指標となることが示された。今後、これらの観測データを統合化し、シミュレーションモデルを用いた河川生態系の安定同位体比の解析を展開する予定である。

<酸素安定同位体比を用いた流域の酸素環境の診断>

流域の酸素環境は、魚類など水生生物の存続を左右するという点で決定的に重要であるばかりでなく、堆積物からの有害金属の溶出などの地球化学反応や汚染物質の輸送にも大きな影響を与える。水中溶存酸素濃度は生物過程（光合成と呼吸）と物理過程（拡散、混合）に支配されるが、その相対的な寄与の評価はしばしば困難である。本研究では、大気との交換により供給される酸素（大気の酸素同位体比に近い）、光合成により生産される酸素（同位体分別係数がほぼ 1 であり、水の酸素同位体比を反映する）、呼吸により消費される酸素（呼吸で消費される時の同位体効果により、残った溶存酸素同位体比は上昇する）がそれ

ぞれ特徴的な同位体比を有することを利用し、流域の酸素環境の新たな評価手法を構築することを目的としている。琵琶湖沖部定点における定期観測および琵琶湖流入河川（高時川）における観測の結果から、溶存酸素の発生源と吸収源の評価を行うための新たな環境診断手法として、溶存酸素飽和度一酸素安定同位体比プロットを用いた光合成・呼吸比のアイソクライン解析法が有効であることを示した。

＜有機汚濁物質の炭素安定同位体比を用いた一次汚濁と二次汚濁の評価法の開発＞

河口域の汚濁は、陸上起源有機物の直接的な負荷（一次汚濁）と河川水由来の栄養塩負荷に起因するプランクトン大発生（二次汚濁）の二つに区別される。両者の相対的寄与やその制御機構を解明することは河口域環境の管理上きわめて重要であるが、BOD法やCOD法では両者の区別ができない。本研究では、炭素安定同位体比を用いてこの問題を克服することを目指している。陸上起源有機物はプランクトンに比べて炭素安定同位体比（ $\delta^{13}\text{C}$ ）が平均10%程度低い。これを用いれば、河口域汚濁有機物の $\delta^{13}\text{C}$ 値を測定するだけで、一次汚濁と二次汚濁の相対的寄与を迅速に評価できる可能性がある。本研究では、河口域の粒子状有機物の粒径画分ごとの $\delta^{13}\text{C}$ を詳細に追跡した。その結果プランクトンの $\delta^{13}\text{C}$ は淡水流入量と植物プランクトンの成長速度と種構成（鞭毛藻：珪藻）に依存して変動するという新たな知見が得られた。これに基づき、二次汚濁物質の $\delta^{13}\text{C}$ が変動する場合に、その相対的寄与を正確に定量するために、クロロフィルaの $\delta^{13}\text{C}$ をエンドメンバーとして利用する手法を考案した。この手法を用い、(1) 隅田川の流量が少ないと二次汚濁の相対的寄与が高い、(2) 一次汚濁の相対的寄与は粒径20 μm以下のシルト・粘土画分において特に高い、(3) 一次汚濁は海水の塩分による凝析効果により低下する、ことが明らかになった。以上から、新たな有機汚濁の発生源評価法として、クロロフィルaの $\delta^{13}\text{C}$ を利用した手法の有効性が示された。

＜河川の生物群集と生態系環境の健全性評価＞

河川の自浄作用の維持と利用のためには、粒状有機物の生産・滞留・分解の過程と河床地形の対応関係を知り、これを河川管理に活かすことが必要である。本研究では、河川を流下する粒状有機物の粒径分布と安定同位体比からその発生源と輸送過程に関する情報を得ることを目的としている。5ダム下流域、5対照流域の生物群集について、窒素と炭素の安定同位体比を比較した結果、ダム下流では生物群集全体の炭素安定同位体比が低下する顕著な現象が見いだされた。これは、ダム湖由来の粒状有機物が下流の生物群集の炭素源となっていることを示唆する。安定同位体比の流程変化からダム湖由来の有機物の影響が3-4km程度下流まで及ぶことが示された。以上の結果から、河川の粒状有機物および水生生物の安定同位体比が、河川生態系の自浄作用と食物網基盤を示す有効な指標であることが示された。

<モンゴルツール川における総合環境観測の展開>

ウランバートルを通過するツール川は急激な人口集中による汚染が深刻化している。半乾燥地域における貴重な水資源管理に資する新たな環境評価の手法を構築することを目的として、モンゴル科学アカデミーの共同研究者とともに源流域からオルホン川合流域にまでおよぶ全長約900kmの流程において総合環境調査を実施した。一般水質項目測定のほか、硝酸イオン、アンモニウム、一酸化二窒素、溶存酸素、溶存無機炭酸、溶存有機物、懸濁態有機物の各種安定同位体比の測定用の精密試料を採取するとともに、魚類、水生昆虫などの生息環境と生物相の詳細な調査を行った。現在、採取した多数の試料の分析を進めている段階である。

<酸素の¹⁷Oアノマリ測定のための技術開発>

高分子電解膜を用いた水の電気分解装置を使って、水の酸素同位体比を測定するための予備実験を繰り返し、システムの改良を行った。その結果平成18年2月末の時点において、 $\delta^{18}\text{O}$ 値に関しては、測定精度は0.1%以内で、確度は0.3%以内での測定が可能となつたが、 $\delta^{17}\text{O}$ 値の精度はまだ目標精度いたっていない。今後装置の改良を加え精度向上を進める予定である。

3. 研究実施体制

統括グループ

- ①研究分担グループ長：永田俊（京都大学生態学研究センター、教授）
- ②研究項目：各班の成果を統合化。海外拠点における指標の適用。

水循環研究グループ

- ①研究分担グループ長：大河内直彦（海洋研究開発機構、グループリーダー）
- ②研究項目：水の安定同位体比を用いた新しい水循環指標の開発。

物質循環研究グループ

- ①研究分担グループ長：宮島利宏（東京大学海洋研究所、助手）
- ②研究項目：生元素の各種安定同位体比による流域物質循環指標の構築。

生態系研究グループ

- ①研究分担グループ長：竹門康弘（京都大学防災研究所、助教授）
- ②研究項目：生物の安定同位体比による流域生態系の健全性指標の構築。

4. 主な研究成果の発表

(1) 論文（原著論文）発表

- Naohiko Ohkouchi, Yoji Nakajima, Hisatake Okada, Nanako O. Ogawa, Hisami Suga, Kazumasa Oguri, Hiroshi Kitazato (2005) Biogeochemical processes in the saline meromictic Lake Kaiike, Japan: implications from molecular isotopic evidences of photosynthetic pigments. *Environmental Microbiology* 7(7): 1009-1016
- Yoshito Chikaraishi, Kohei Matsumoto, Nanako O. Ogawa, Hisami Suga, Hiroshi Kitazato, Naohiko Ohkouchi (2005) Hydrogen, carbon and nitrogen isotopic fractionations during chlorophyll biosynthesis in C3 higher plants. *Phytochemistry* 66: 911-920
- Ayato Kohzu, Toshihiro Miyajima, Takahiro Tateishi, Takashi Watanabe, Munezoh Takahashi, Eitaro Wada (2005) Dynamics of ^{13}C natural abundance in wood decomposing fungi and their ecophysiological implications. *Soil Biology and Biochemistry* 37: 1598-1607
- Naohiko Ohkouchi, Yoji Nakajima, Hisatake Okada, Hiroshi Kitazato (2005) Copper-chelated bacteriochlorophyll *e* homologues in sediment from an anoxic lake (Lake Abashiri, Japan). *Organic Geochemistry* 36: 1576-1580
- Yoko Nishimura, Chulgoo Kim and Toshi Nagata (2005) Vertical and seasonal variations of bacterioplankton subgroups with different nucleic acid contents: Possible regulation by phosphorus. *Applied and Environmental Microbiology* 71(10): 5828-5836
- Chulgoo Kim, Yoko Nishimura, and Toshi Nagata (2005) Role of dissolved organic matter in hypolimnetic mineralization of carbon and nitrogen in a large, monomictic lake. *Limnology and Oceanography* 51(1): 70-78
- 永田 俊, 谷内 茂雄 (2005) 流域生態系の保全・修復戦略-生態学的ツールとその適用. 日本生態学会誌 55: 175-176
- 陀安 一郎 (2005) 流域生態圏の環境診断-安定同位体アプローチ. 日本生態学会誌 55: 183-187
- 竹門 康弘 (2005) 底生動物の生活型と摂食機能群による河川生態系評価. 日本生態学会誌 55: 189-197