

「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

(京大大学生態学研究センター 生態学研究部門 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

本研究の目的は、各種安定同位体比を用いることで、流域生態系を総合的に診断する新たな指標を構築することにある。特に、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おいた研究を展開している。H18年度は前年度までに開発を進めた硝酸イオンの窒素・酸素安定同位体比および各種安定同位体比の微量測定技術の改良と適用を大きく進めた。それらの新しい手法を用い、琵琶湖およびその集水域とモンゴル国トール川流域を中心とする観測を展開した。また、ボルネオ島(マレーシア)の流域環境の査定に関する予備的な調査も実施した。以上の観測結果に関する解析を進め、特に、湖沼に流入する有機汚濁物の起源(一次汚濁と二次汚濁の判定)、河川の汚濁物質である硝酸イオンの起源推定、森林における窒素循環と窒素流出、また、湖における溶存酸素、溶存無機炭素、一酸化二窒素の循環に関して新しい知見を得た。以上の結果から、各種安定同位体比が、流域圏における汚染源の特定、自然浄化機能の評価、汚染履歴の復元、温室効果気体の発生過程の評価、生態系健全性の査定といった多様な環境診断ニーズに応える指標として有効であることが示された。

2. 研究実施内容

<琵琶湖集水域における各種安定同位体比の分布と環境評価>

前年度までに立ち上げた硝酸イオンの酸素・窒素安定同位体比微量高速測定システムなどを駆使して、琵琶湖集水域における各種安定同位体比の分布の総合観測を実施した。硝酸イオンは植物にとっての重要な栄養源であるが、これが水域に過剰に負荷されると富栄養化を引き起こし、水質の悪化、低酸素水塊の出現、生態系の劣化につながる。また、人が高濃度の硝酸イオンを摂取するとメヘモグロビン症の原因となる。このため、硝酸イオンなどの栄養塩類の濃度は一般水質項目として従来からモニタリングがなされている。しかし、これらの成分は環境中で非保存的に振る舞うため、濃度の変動のみからは、起源や循環過程の特定が困難な場合が多い。一方、先行研究において、硝酸イオンの安定同位体比が、その起源や反応過程についての情報を与えてくれることが明らかになっている。本研究では、琵琶湖に流入する大河川である、野洲川の中上流域において、約200地点で試料を採集し、硝酸イオン同位体比をはじめとした各種安定同位体比を総

合的に調査した。この調査の結果、世界的にも例をみない高密度分布データを短期間に取得することに成功した。これは技術支援グループの報告に述べる高精度・極微量安定同位体比測定技術の構築によって初めて可能になったものであり、国際的にも先導性の高い流域観測である。データの解析の結果、野洲川本流の青土ダム下流の流域において硝酸イオンの窒素安定同位体比が著しく高く、この付近に排水起源の窒素負荷源が存在する可能性が指摘された。野洲川に流入する主要な支川であるそま川についても、窒素負荷源となっている地域が絞り込まれた。酸素安定同位体比の分布を見ると、野洲川ダムの上流で高い値が集中して見られることから、最上流域における主要な窒素負荷源が大气降水物であることが裏付けられた。硝酸イオンの酸素安定同位体比は大气降水物の影響を極めて鋭敏に反映するため、降雨・融雪に伴う大气汚染物質の流出過程の解析における有用な指標となることが実証された。

一方、琵琶湖においては、沖合定点における定期観測を実施し、各種安定同位体比の分布を求め、湖生態系の環境評価手法としての有効性の検討を実施している。特に湖の深層や堆積物中での物質代謝の状態を的確に評価するための安定同位体手法の確立を目指した観測とモデル化を推進している。湖の浄化や温室効果気体の発生に関わる窒素化合物の動態については、アイソトプマー分析を含めた高度な分析を展開し、高品質かつ先導的な観測データが得られた。本年度は、炭素安定同位体比を用いた汚濁有機物の起源推定に関しての解析が大きく進展した。琵琶湖においては、春から秋にかけての生産期に湖内で生産された現地性の有機炭素の同位体比が比較的安定しており(-20~-24%)、外部から流入する異地性有機炭素(-27~-28%)と明確に区別することができることが明らかになった。深層に蓄積する溶存無機炭素の安定同位体比から、呼吸基質として利用される有機炭素の発生源の推定を行った。その結果、異地性有機炭素の寄与率は20 - 30%あり、無視できない値となった。従って、深水層の溶存酸素消費のモデル化と制御にあたっては有機物の湖内生産と外部流入の両方を考慮する必要がある。また、溶存酸素の安定同位体比が、酸素循環に関する有益な情報を与えてくれることも実証された。深水層の酸素安定同位体比は、呼吸に伴う同位体分別の結果、大气平衡値(約24%)を上回る。一方、表水層では、光合成による酸素発生の影響で酸素安定同位体比が大气平衡値よりも低くなる。深水層に蓄積する「重い酸素」と表水層に蓄積する「軽い酸素」は秋から冬にかけての鉛直混合によって混ざりあう。したがって、酸素安定同位体比の鉛直分布の季節変動を調べることで、生産・分解・混合に関する情報が得られる。予備的な解析の結果では、光合成に由来する「軽い酸素」が、循環期における深水層の酸素回復に寄与している可能性が示唆された。

<海外拠点(モンゴル、マレーシア)における総合的観測と指標の有効性の検証>

本サブ課題は、琵琶湖集水域を中心として構築を進めている安定同位体指標が、アジアの異なる気候帯でも適用可能であるかどうかを検討することを目的としている。モンゴル国では、都市部への人口集中と急激な経済・社会構造の変化に伴う環境問題の激化が懸念されている。本研究では、モンゴル科学アカデミー地球生態学研究所と共同研究覚書を取り交わし、同研究所の水文・水生物部門の研究者をカウンターパートとして国際共同研究を実施した。本研究において特に注目し

たのは首都ウランバートル近郊を流れる大河川トール川である。この川はこの地域における重要な水資源であるが、近年の人口集中の影響から、急速な汚濁化が進んでいる。研究の第一段階として、トール川の最上流からオルホン川の合流地点にいたる約800kmの流程において、水質と生態系に関する流下変化の調査を行い、大域的な状況の把握を試みた(平成17年度)。この調査結果から市の西部に位置する下水処理場の排水流出地域が重要な汚濁源であることが示された。従って、本年度は、この強度汚濁域における集中調査を実施し、汚濁物質の流出経路や循環過程に関する情報を取得した。これらのデータを用いることで、各種安定同位体指標が寒冷草原生態系であるモンゴルにおいても適用可能であるかどうかの検証を試みた。

平成18年度の調査の結果、汚濁発生源からトール川本流にいたる約4kmの区間における汚濁物質の輸送過程には次の二類型が認められた。

(A) 有機態窒素とアンモニア態窒素を主成分とする表流水による輸送。河床が著しく還元的であるため、硝化の進行が遅い。汚濁域にもかかわらず硝酸イオンの窒素安定同位体比が低いという特徴がある。

(B) 硝酸イオンを多く含む表流水と伏流水による輸送。トール川本流から浸透した比較的清浄な表層地下水との混合により汚濁物質は適度に希釈され、その結果、硝化が促進される。嫌氣的な伏流水においては脱窒が進行している可能性がある。硝酸イオンの安定同位体比が高いという特徴がある。

つまり、琵琶湖集水域においては、窒素汚濁は必ず「窒素安定同位体比の上昇」につながるのに対し、モンゴルの場合のように汚濁の程度がさらに著しくなると、汚濁負荷とともに「窒素安定同位体比が下降」することが明らかになった。これは、有機汚濁による極度に還元的な環境中では硝化が阻害されるため、水中に大量のアンモニア態窒素が残留し、硝化に際しての同位体分別が顕著になるためであると解釈された。モンゴルの流域生態系が持つ自然浄化機能を最大限に活用し、トール川への汚濁負荷の低減化を低コストに実現するためには、(B)のタイプの流達経路を強化することが有効である。このような現象は、高度下水処理装置の設置されていない(あるいは正常に機能していない)アジアの都市部において一般的に見られる可能性がある。これについては本研究の今後の新たな展開において重要な課題になると考えられる。

マレーシアに関しては、ボルネオ島サバ州のコタキナバル近郊の河川において河川水質と生態系環境に関する予備調査を実施した(平成19年2月5日～9日)。サバ大学生物工学部の協力のもと、山間部を流れる河川と、都市部の汚濁河川のそれぞれにおいてサンプルを採取した。現在、分析を進めているところである。この調査のねらいは、湿潤熱帯地域の流域における安定同位体指標の適用可能性の検証である。

<各種安定同位体比の測定技術の開発と高度化>

本サブ課題では、全研究グループの研究推進の基盤をなす分析技術の改良や発展のための技術革新を目指している。本年度は以下の点で進展がみられた。

水の¹⁷O アノマリ測定法の開発 天水の起源やその蒸発・移流プロセスの詳細について知るため、¹⁸O/¹⁶O 比や D/H 比だけでなく ¹⁷O/¹⁶O 比 (¹⁷O アノマリ) を微量の水試料で正確に測定する分析法の開発を行っている。現在開発中の分析システムでは、高分子膜上で水を電気分解し、水から生成した酸素ガスの同位体比を測定する、これまでにない全く新しい方法を採用している。これまで、高分子膜を挟み込む反応チャンバーを各種製作し、それらの有効性を試している。現時点では酸素同位体比の精度が悪く、分析システムの確立までは至っていない。この精度の悪さは不完全な電気分解に起因すると考えられ、これを改善すべくシステムのデザインの変更を行っている。

同位体測定の微量化 微量化を目的として、同位体測定システムの内、元素分析計部の酸化管、還元管の最適化を完成したが(特許出願中)、本年度は、さらなる微量化をめざした改良をすすめた。

アミノ酸の安定同位体測定 アミノ酸の窒素同位体比をハイスループットで分析するために、ガスクロマトグラフ/燃焼/同位体質量分析計(GC/C/IRMS)を用いている。そのための前処理法として、アミノ酸をあらかじめ誘導体化する必要がある。本研究では、試行錯誤により *N*-ピバロイル/イソプロピル法がこの分析にもっとも適した誘導体化法であることを見出した。またこの手法によると、各アミノ酸について 30ngN 以上あれば、0.5 パーミル以内の誤差で各アミノ酸の窒素同位体比が測定できることが明らかになった。

<物質循環系の査定>

物質循環グループでは、森林から湖沼、河川を経て河口域に至る水系での炭素・窒素循環を総合的に対象としている。水系に対する安定同位体比を用いた従来の研究例は水域生態系の或るサブシステムだけに着目し、安定同位体比分布の一面的な解釈に終始している場合が多く、同位体比を環境指標として使用するために実用的なレベルにはなお隔たりが大きい。本研究では(1)新しい分析技術を積極的に導入し、(2)データの緻密で信頼性の高い複合的な解釈手法を開発するとともに、(3)同位体比変動パターンに対する系統的な因果関係モデルを適用することにより、河川を中心とする水域生態系という複雑度の高い生態系に対する有効な環境指標体系の確立を目指している。

また、各種の物質循環プロセスにおける安定同位体比の変動様式を明らかにすることにより、人間活動により特に影響を受ける局面が何であるかを明らかにし、そのプロセスに影響している環境要因を探る。このことを通して具体的な生態系に対して現実に即応した柔軟な物質循環像を得ると共に、その環境復元のための有効な対策を立案する指針を提供する一助となることを応用面における目標としている。

琵琶湖流入河川をはじめとして、流域面積やダムの有無などにおいてさまざまな特徴を持つ河川、および琵琶湖を対象として、微量窒素化合物(アンモニウム・イオン、硝酸イオン、亜酸化窒素)の窒素・酸素安定同位体比ならびにアイトポマー比を測定し、その季節変化、空間変化なら

びに変動を引き起こすプロセスについての検討を行った。琵琶湖の硝酸イオン、亜酸化窒素については、成層期・循環期の鉛直分布データが多数採れており、超微量であるために測定が大変困難であったアンモニウム・イオンのデータも比較検討に堪えられるだけのデータが集まりつつあり、解析が進められている。また、硝酸イオンの同位体比には湖水中と堆積物間隙水中とで歴然とした差があり、堆積物中での窒素循環が湖水とはかなり独立に進んでいることが明らかになった。これは、本プロジェクトで実現した微量硝酸イオン同位体比測定システムによって可能となったものであり、従来の伝統的な同位体測定手法では、このような堆積物中の微小還元環境を明らかにすることは不可能である。琵琶湖流入河川水中の各種窒素化合物についても既に膨大なデータが集まった。現在のところ、琵琶湖水中で成層期に増加する亜酸化窒素は水中での硝化によるものか、脱窒によるものか、決定的な証拠はまだ得られていない。しかし溶存酸素濃度が低くなる湖底付近における硝酸イオンの窒素同位体比に特徴的な高まりが観察され、近い将来に発生が懸念されている底層部貧酸素水塊の初期段階における兆候を検知するためにこれが有効な指標となりうる可能性が示唆された。一方、堆積物中の硝酸イオンの酸素・窒素安定同位体比測定により、1. 堆積物表層で硝酸イオンが生成されていること、2. その硝酸イオンは堆積物中で脱窒を受けて減少して行くこと、がはじめて確証された。さらに堆積物中の硝酸イオンの同位体比と、直上水のそれとが大きく異なり、堆積物における硝化は湖水中における硝化と独立に進行しているらしいことが推定された。また、堆積物硝酸イオンから類推される堆積物脱窒によって生成される亜酸化窒素の同位体比・アイトポマー比と、水中で観測されるそれとが大きく異なっていた。これらの同位体比データより、琵琶湖で生成されている亜酸化窒素は、水中の硝化でも、堆積物中の脱窒でもなく、堆積物表層で盛んに起こっている硝化によって生成されているものであると結論された。

この結果、湖沼の中の複雑な窒素循環(硝化 vs 脱窒、そして水中 vs 堆積物という複雑系)を同位体・アイトポマーによって明快に記述できたことになり、本研究での解析手法を河川・陸上に適用する基盤を得たことになる。

<各種安定同位体比を用いた生態系の健全性指標の構築>

生態系に負荷された硝酸イオンや有機物の同位体シグナルは、植物による取り込みや食物連鎖を介した伝達により、生態系の各構成要素に刻み込まれる。換言すれば、生態系を構成する様々な生物(生産者、消費者、分解者)や非生物性有機物(堆積物やデトリタス)は、汚濁履歴の「記録媒体」とみなすことができる。本研究では、このような考え方にに基づき、各種生物や非生物性有機物の炭素・窒素安定同位体比を用いた、生態系の新しい診断手法の開発を試みている。また、生態系構成員の安定同位体比を解析することで、生態系を支えるエネルギー基盤や食物連鎖長の評価を行い、生態系の健全度を客観的に表現する新たな指標を構築することもねらっている。

前年度までの研究の結果、琵琶湖流入河川における水生植物、堆積物、魚類の窒素安定同位体比の測定の結果、汚濁の進行とともに、これらの窒素安定同位体比が顕著に上昇することが明らかになった。本年度は、その機構についての解析を進め、生態系の窒素ベースが同位体的に均一でないため、食物網の解析においては、複数のエンドメンバーを仮定する必要があることが明らか

かになった。これは、安定同位体を用いた生態系解析における重要な知見である。

ダム下流域の総合調査の結果からは、ダム建設によって、下流域の生物群集の炭素安定同位体比が著しく低下するという現象が明らかになった。ダムから排出される各態有機物や溶存成分の解析結果とあわせると、ダム内部で生産された炭素安定同位体比の低い粒子状有機物が大量に下流域に供給され、それを餌として利用する生物群集の炭素安定同位体比が低下するためであると考えられた。この結果は、従来の方法では定量的な把握が困難であった、ダムによる生態系影響の評価を行ううえで重要な意義を有する。すなわち、炭素安定同位体比を指標として用いることで、ダム影響の規模や影響範囲(下流の何kmの地点まで影響がおよぶか)に関する客観的な情報を得ることが可能になると期待される。

3. 研究実施体制

(1)「総括」グループ

①研究者名

永田 俊(京大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。

(2)「水循環・技術支援」グループ

①研究者名

大河内 直彦(海洋研究開発機構 地球内部変動研究センター 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。

(3)「物質循環」グループ

①研究者名

宮島 利宏(東京大学海洋研究所生元素動態分野 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。

(4)「生態系」グループ

①研究者名

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. 研究成果の発表等

(1) 論文発表(原著論文)

(国内)

- 木庭 啓介, 眞壁 明子 (2006) 安定同位体を用いた流域生態系における窒素循環研究の可能性について. *水文・水資源学会誌* 19(4) : 293-301
- 高津 文人(2006) 窒素安定同位体比による富栄養化診断. *水文・水資源学会誌* 19(5) : 413-419

(国際)

- Taeko Sato, Toshihiro Miyajima, Hiroshi Ogawa, Yu Umezawa, Isao Koike (2006) Temporal variability of stable carbon and nitrogen isotopic composition of size-fractionated particulate organic matter in the hypertrophic Sumida River Estuary of Tokyo Bay, Japan. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 68: 245-258
- Yasuaki Tanaka, Toshihiro Miyajima, Isao Koike, Takeshi Hayashibara, Hiroshi Ogawa (2006) Translocation and conservation of organic nitrogen within the coral-zooxanthella symbiotic system of *Acropora pulchra*, as demonstrated by dual isotope-labeling techniques. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 336: 110-119
- Yasuaki Tanaka, Toshihiro Miyajima, Yu Umezawa, Hideki Fukuda, Isao Koike, Hiroshi Ogawa, Takeshi Hayashibara (2006) Effects of nitrate enrichment on release of dissolved organic carbon and nitrogen from zooxanthellate coral, *Acropora pulchra* and *Porites cylindrical*. *Proceedings of the 10th International Coral Reef Symposium* 925-931
- Osaka, K., Ohte, N., Koba, K., Katsuyama, M. and Nakajima, T. (2006) Hydrologic controls on nitrous oxide production and consumption in a forested headwater catchment in central Japan. *Journal of Geophysical Research* 111: G01013, doi:10.1029/2005JG000026.
- Takemon Y., Yamamoto A., Nakashima N., Tanida K., Kishi M. and Kato M. (2006) Isolation of sperm vesicles from adult male mayflies and other insects to prepare high molecular weight genomic DNA samples. *Molecular Biology Reports* 33: 65-70.
- Anbutsu, K., Makajima, T., Takemon, Y., Tanida, K., Goto, N. and Mitamura, O. (2006) Distribution of biogeochemical compounds in interstitial and surface standing water bodies in the gravel bar of the kizu River, Japan. *Archiv fur Hydrobiologie* 166: 145-167.
- Takemon, Y. (2006) Ecohydrological Roles of Debris-Flow and Flood in Stream Ecosystems and Challenges for Their Restoration. *The 6th Japan-Taiwan Joint Seminar on Natural Hazard Mitigation*, 9-11 October, Kyodai Kaikan, Kyoto, Japan. 5pp. published in CRROM
- Masayuki Itoh, Nobuhito Ohte, Keisuke Koba, Masanori Katsuyama, Kana Hayamizu and Makoto Tani (2007) Hydrologic effects on methane dynamics in riparian wetlands in a temperate forest catchment. *Journal of Geophysical Research* 112: G01019, doi: 10.1029/2006JG000240

○Kabeya, N., Katsuyama, M., Kawasaki, M., Ohte, N. and Sugimoto, A. (2007) Estimation of mean residence times of subsurface waters using seasonal variation in deuterium excess in a small headwater catchment in Japan. *Hydrological Processes* 21: 308-322.

(2) 特許出願

平成18年度特許出願: 1件 (CREST 研究期間累積件数: 1件)