

# 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

研究代表者  
永田 俊

# 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

東京大学海洋研究所 永田 俊

## 1. 研究の背景と目的

### (1) 研究の背景

環境の保全上「健全な水循環」を確保することが、環境政策の基本の一つとして謳われており、その実現にむけてのさまざまなとりくみがなされている。その背後には、高度経済成長期以来の水循環に対する人為影響の拡大とそれに伴い生じた深刻な諸問題がある。さらに、地球規模の気候変動が、水循環や流域環境に与える悪影響がますます懸念されるなか、持続可能な水利用システムの確保にむけた、緩和策や適応策の検討も急務の課題となっている。一方、東アジア諸国では、人口集中や急激な経済成長とそれに伴う社会システムや生活様式の激変（社会要因の変化）が、気候変動による各地域の水循環特性の変化（自然要因の変化）とともに、いわば相乗的なかたちで、河川、地下水、湖沼、沿岸海域を含めた流域圏の全体に対して、未曾有の規模と強度で影響を与えつつある。

このように、問題は多岐にわたり、かつ、その要因は複雑であるが、どのような問題の解決においても、水循環や流域環境（物質循環、生態系）の状態を、できるだけ精確かつ簡便に評価するということは、もっとも基本的な課題の一つであろう。これらの客観的な情報は、水資源や水環境の管理、利用、保全に関わる主体間での合意形成や、対策の立案、また、施策効果の評価のうえでの重要な判断材料となるからである。流域環境の評価においては、従来から、全リン、全窒素、BOD、CODといった水質指標や、各種の生物指標などが用いられてきた。これらの指標は、流域環境管理の現場で有効に活用されているが、一方で、新しい状況への対応や、複雑な流域システムの把握といった面において、手詰まりになってきているのも事実である。先端的な技術を利用した、より詳細かつ効果的な流域環境評価手法の開拓が求められている。

### (2) 研究の目的

以上のような背景をふまえ、本研究では、先端的な安定同位体精密分析技術を駆使した、新しい流域環境評価手法の構築を提案した。環境中に存在する元素の安定同位体比には、水や物質の起源や、生態系の状態に関する情報が記録されている。そこで、本研究では、流域圏の様々な構成要素がもつ各種安定同位体比を、先端的な技術を駆使して体系的に調べ、そこに刻み込まれた情報を解析するとともに、得られた知見を総合化することで、流域環境の評価や流域管理の目標像の形成に資する新しい指標群を構築することを目的とした。

## 2. 研究体制とチーム全体としての成果の概要

研究は、(1) 研究基盤の構築および新規技術の開発、(2) 琵琶湖集水域および海外拠点における総合観測の展開、(3) 情報の総合化による各種指標の構築、を3本の柱として進めた。総括グループのリーダーシップのもと、「水循環・技術開発」、「物質循環」、「生態系」の3つのサブテーマが密接に連携する形で研究を推進した。

プロジェクトの成果として、**Science** 誌を含む有力国際誌に査読論文が多数（52件）発表されたほか、流域環境評価における安定同位体の利用を総合的にまとめた世界で初めての成書である「流域環境評価と安定同位体」（京都大学学術出版会）を出版した（図1）。また、国際原子力機関（IAEA）が出版予定である、河川管理における同位体の利用に関わる国際的なマニュアルに日本代表として招待執筆した。さらに、AOGS など国際学会におけるセッション企画や招待講演を通して、本プロジェクトの先駆性を世界に示した。研究組織とチーム全体としての成果を図2にまとめる。



図1 本プロジェクトの成果として出版された「流域環境評価と安定同位体—水循環から生態系まで」永田俊・宮島利宏編（京都大学学術出版会、平成20年2月、476頁）

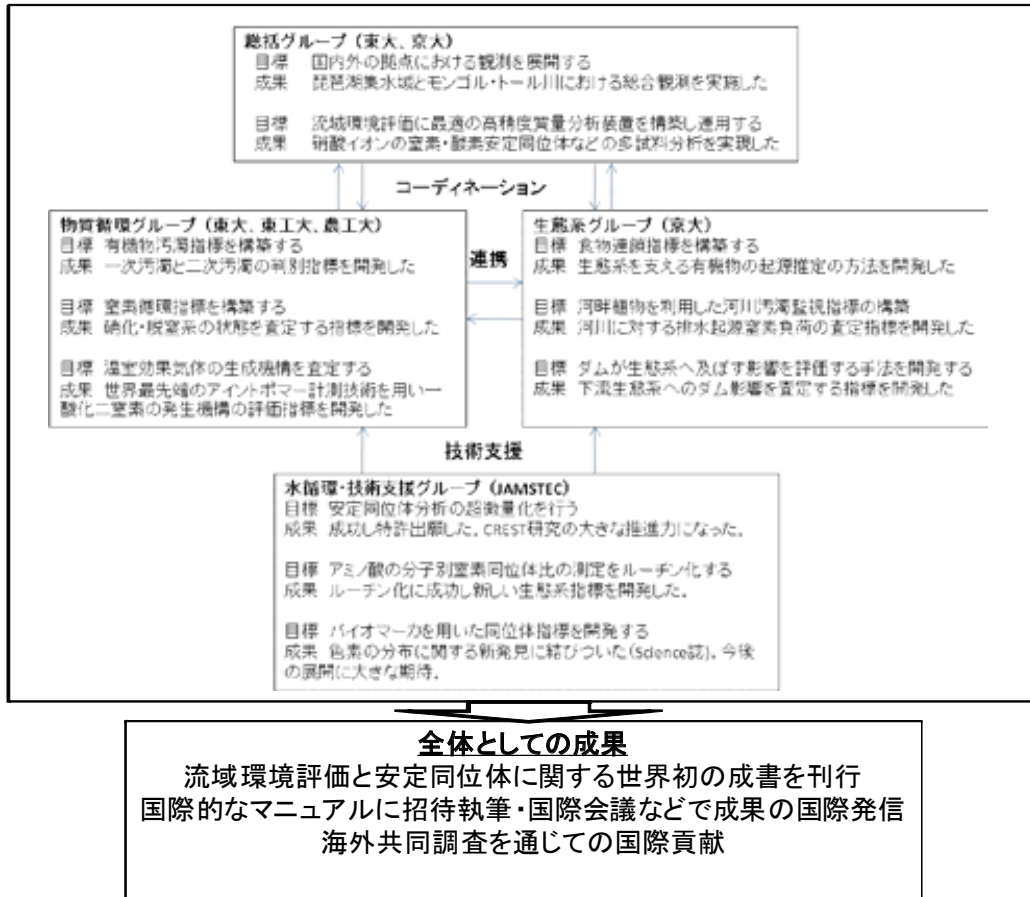


図2 研究体制とチーム全体としての成果

### 3. 各研究グループの成果

総括グループ（京大大学生態学研究センター、東京大学大学院農学生命科学研究科、東京大学海洋研究所）

#### 役割分担と目標

本プロジェクトの運営の中心として、研究全体の指揮と統合にあたりるとともに、京大大学生態学センターに設置した質量分析装置や、琵琶湖水系の観測設備・調査船、および海外拠点などを活用して、研究開発を実施する。

#### 研究の成果

##### 研究基盤の構築と新規技術の開発

安定同位体比の利用については、水文学、地球化学、生態学といった、個別分野における研究の積み重ねがある。しかし、これを分野横断的に再構成し、流域環境評価のための指標を構築するという総合的な試みは、国内外において先例が無い。本研究では、CRESTという研究枠組みの利点を最大限に生かして、この新しい課題に挑戦するうえで不可欠な研究基盤を構築した。すなわち、(1) 大型資金と5年間という長い研究期間のメリットを生かし、流域環境評価という目的に対して最適の仕様をもった、最新鋭のハイスループット型質量分析装置を導入し、ここに専属の技術員を配備した(図3)。(2) 大学・研究機関に所属する、世界最高レベルの分析技術をもった気鋭の研究者からなる学際的な研究チームを編成し、複数の機関に既設の研究基盤(質量分析装置)を有効に活用した有機的な研究ネットワークを構築した。

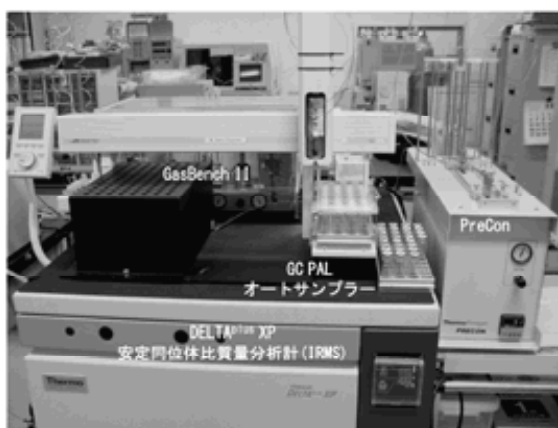
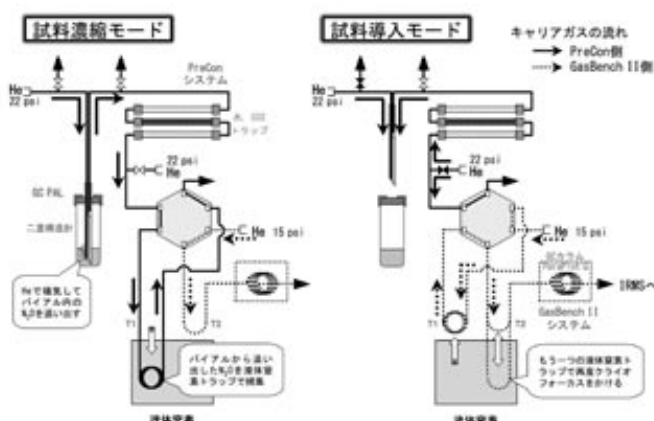


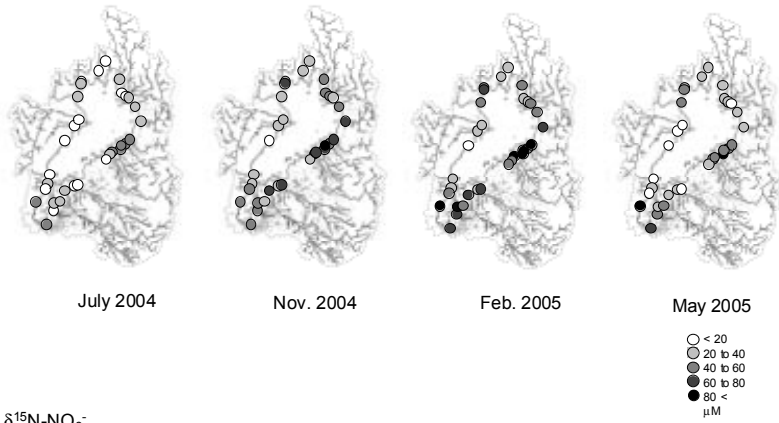
図3. 本プロジェクトでは、Finnigan PreCon（試料濃縮装置）、Finnigan GasBench II（ガスの分離、質量分析計への導入装置）、Finnigan DELTA<sup>plus</sup> XP（安定同位体比質量分析計）を用いて、オンライン自動測定システムを構築した。本システムでは Sigman らが開発した脱窒菌法を用いており、これにより、分析の微量化と高速化を実現した。硝酸イオンの安定同位体比は、排水系窒素負荷と大気系窒素負荷の判別指標として有効である。



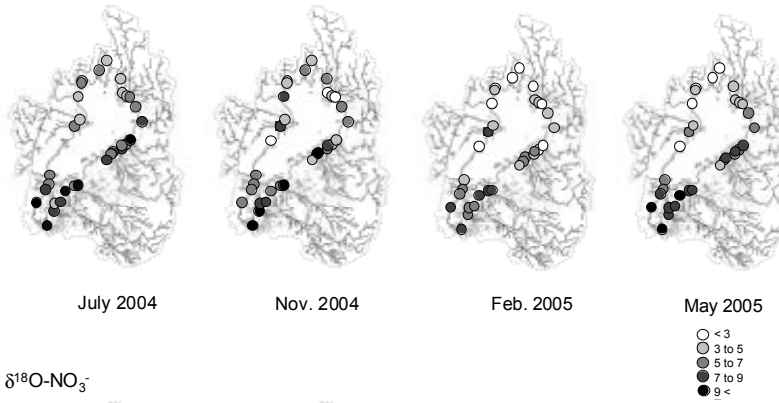
### 琵琶湖集水域および海外拠点における総合観測の展開

琵琶湖集水域において、総括グループの組織化のもとに総合観測を展開した。琵琶湖は近畿圏1200万人の水源であると同時に、豊かな生物多様性をはぐくむ貴重な生態系として、その保全・復元が重要な課題になっている。とくに、集水域における汚染源の特定と負荷削減、また、治水・利水と流域環境の保全の両立・合意形成といった案件は、行政に課せられた最重要の課題である。また、昨今、大気降下物に代表される汚染物質の遠距離輸送や、温室効果気体の排出量評価といった、地域や国境を超えた環境評価の必要性が益々高まっている。このような現状をふまえ、本研究では、様々なスケールにおける多様な環境診断ニーズに対応できる安定同位体指標を新規構築するうえで必要な総合観測を展開した。この総合観測の結果、有機物や栄養塩類の濃度などの一般水質項目や生物指標および各種の安定同位体比に関する膨大なデータを取得することに成功した（図4、5）。これらのデータは、同位体指標の構築の重要な基礎を提供した。なお、このデータセットは、ひとつの集水域で得られたものとしては、その質と量において、世界的にも類例をみない規模であるが、これは、本CREST研究による先端的分析基盤の構築と、複数の機関に所属する安定同位体分析のエキスパートの有機的な連携があって、初めて可能になったことである。

NO<sub>3</sub><sup>-</sup> concentration



δ<sup>15</sup>N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>



δ<sup>18</sup>O-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>

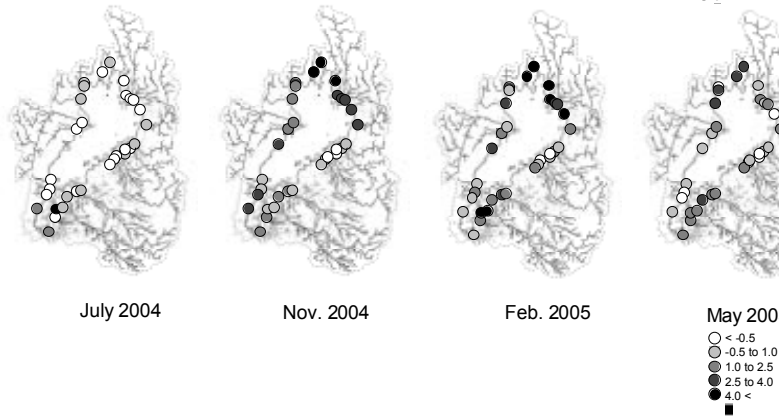
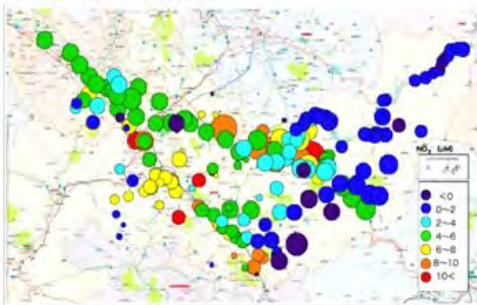


図4  
琵琶湖流入河川における硝酸イオンの濃度、および窒素・酸素安定同位体比の季節変化。それぞれの河川が、同位体的な特徴を有することが明らかになった。

A 窒素安定同位体比



B 酸素安定同位体比



図5  
野洲川中・上流域における硝酸イオン濃度と、窒素・酸素安定同位体比の空間分布。



さらに、東アジア地域の異なる気候帯の生態系においても、安定同位体指標が適用可能であるかどうかを検証した。東アジア諸国では、流域圏の汚濁と生態系劣化が著しく、水環境の管理と流域生態系の保全・修復が喫緊の課題となっている。しかし環境監視体制は著しく未熟であり、また高度下水処理装置の導入による汚濁負荷軽減といった先進国型の解決は、一部の国や地域を除いては、経済的に困難である。汚濁物質の起源や流出経路を特定し、生態系が具備する自然浄化機能を生かした低コストの環境対策を計画・実行するためには、簡便で精度の高い生態系機能の査定手法と環境監視技術の開発が不可欠である。安定同位体指標はこのようなニーズに対応できる潜在性も秘めている。海外拠点の調査においては、特に、モンゴル・トール川における総合調査で顕著な成果が得られた(図6、7)。トール川は、首都ウランバートル近郊を流れる大河川である。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400 kmの流程において、水質と生態系に関する縦断調査を行い、大域的な状況の把握を試みた。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。そこで、研究の第二段階として、この強度汚濁域における集中調査を実施し、各種安定同位体比を用い、汚濁物質の流出経路や循環過程に関する情報を取得することに成功した。なお、この研究はモンゴル科学アカデミーとの共同研究として実施したが、同アカデミーの若手研究者を日本に招聘して、安定同位体法の基礎や、質量分析の実際を指導するなど、海外の若手育成にも貢献した。

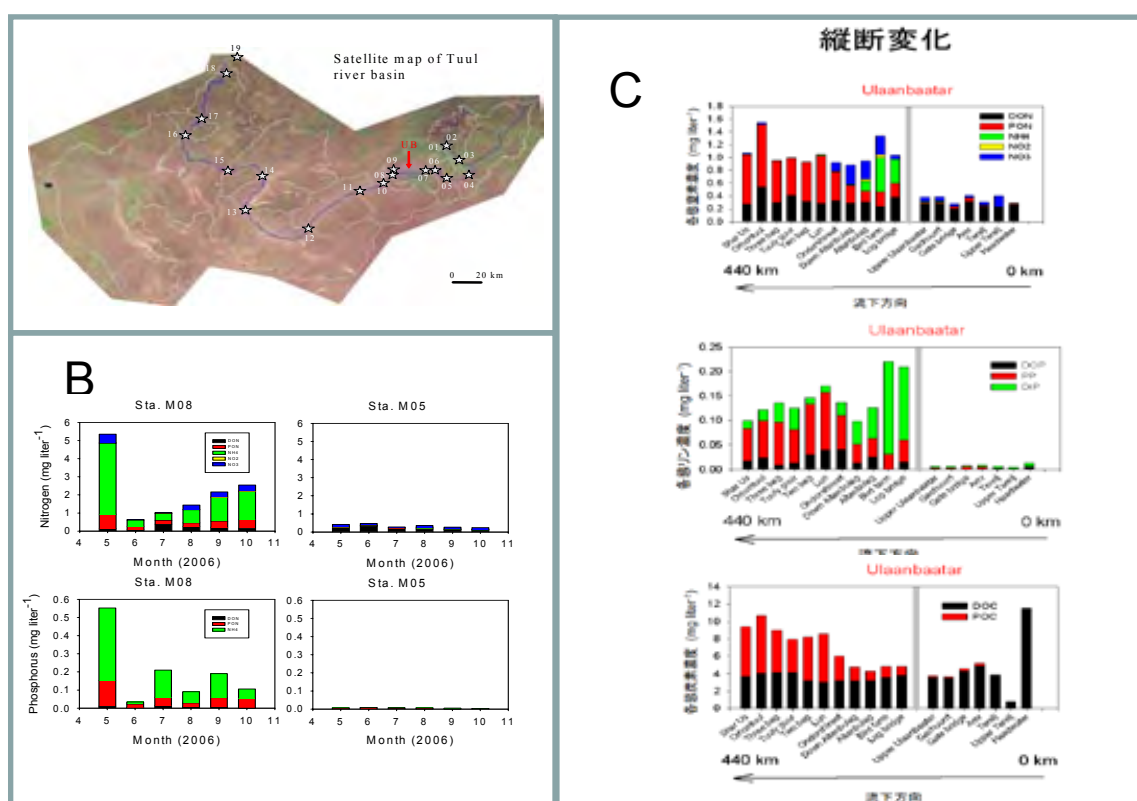


図6 モンゴル国トール川における観測地点 (A), 上流 (Sta. M05)と下流 (Sta. M08) の2地点における各態窒素、リン濃度の季節変化 (B), および各態窒素、リン、有機炭素濃度の縦断変化 (C)。



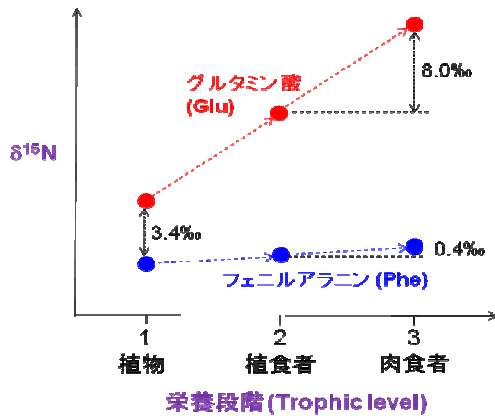


図8 アミノ酸の窒素同位体比を指標として用いた、生態系(栄養段階)の新しい評価法が開発された(Chikaraishi et al. 2007)。

## 物質循環グループ

### 役割分担と目標

流域の主要コンパートメントにおける有機物、栄養物質、気体の各種安定同位体比を調査する。得られた情報から、流域の物質循環系の状態と機能を総合的に評価する指標群を構築する。

### 実施状況

本研究グループでは、粒子態および溶存態有機物や、溶存態無機炭素の炭素安定同位体比の詳細な観測データを取得し、河口域や湖沼における有機物の起源や、炭素循環を解明する研究を行った(図9)。その結果をもとに、これらの環境中での炭素安定同位体比の変動を説明する新たなモデルを提案するとともに、一次汚濁と二次汚濁の判別指標の構築を行った。また、窒素安定同位体比を指標として用いた、河川や沿岸海域における窒素循環の研究でも成果が得られた。さらに、一酸化二窒素のアイソトポマー(分子内同位体比)の測定という高度な技術を駆使することで、琵琶湖や河川における一酸化二窒素の発生機構を判別する同位体指標の開発に関する研究を大きく推進した。これらの方法論の開発は、汚濁河川などからの温室効果気体の発生起源を査定するうえで、大変重要な意義を有するものであり、当初の期待を上回る成果が得られた。

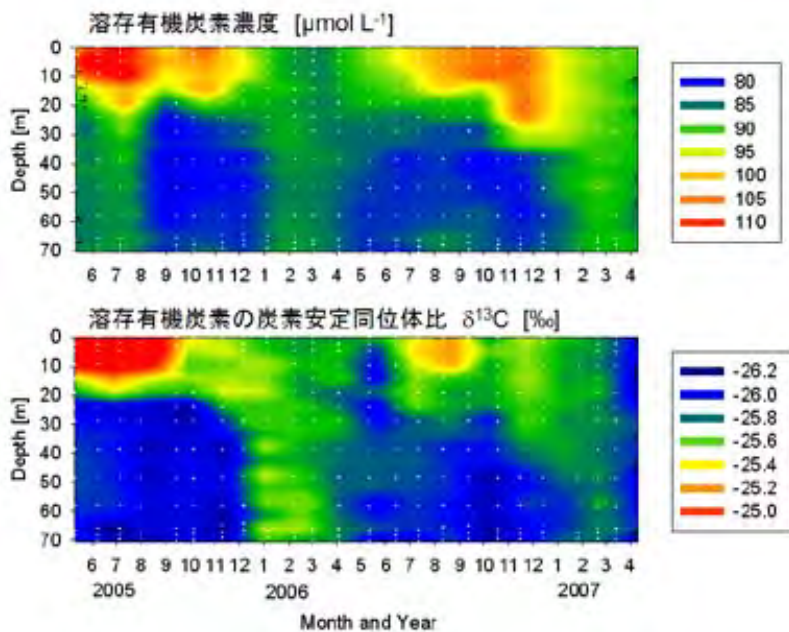


図9 琵琶湖の沖合定点における溶存有機物の濃度と炭素安定同位体比の季節的・鉛直的変動。これらのデータから有機物の起源についての有益な情報が得られた。



## 生態系グループ

### 役割分担と目標

流域生態系の生物構成員の各種安定同位体比を測定する。得られた情報を、水循環および物質循環指標と比較・体系化することで、生態物質循環系の健全性と持続可能性を評価する指標を構築する。

### 実施状況

本研究グループでは多数の河川および琵琶湖に生息する植物、無脊椎動物、魚類および各態有機物の炭素・窒素同位体比を包括的に調べ、水域の汚濁度や集水域の土地利用と、水域生態系の特性の関係を調べる研究を推進した。これをもとに、生態系の健全性を評価する指標の構築に関する研究を進めた。また、貯水ダム建設が、下流生態系に与える影響を評価するために、各種安定同位体比を利用する方法論についても検討を進めた（図10）。以上の研究の成果として、生物の安定同位体比が、河川への栄養負荷や、物理構造・土砂供給などの変化を鋭敏に反映する指標として有効であることが示された。このように、さまざまな生物の安定同位体比を、各態有機物や栄養物質の安定同位体比とあわせて包括的に調べた研究例は世界的にも類例がない。このような総合的な観測によって得られた膨大なデータを基礎として、安定同位体を用いた生態系健全性指標の開発がなされたという点において、当初の計画は期待どおりに実現した。

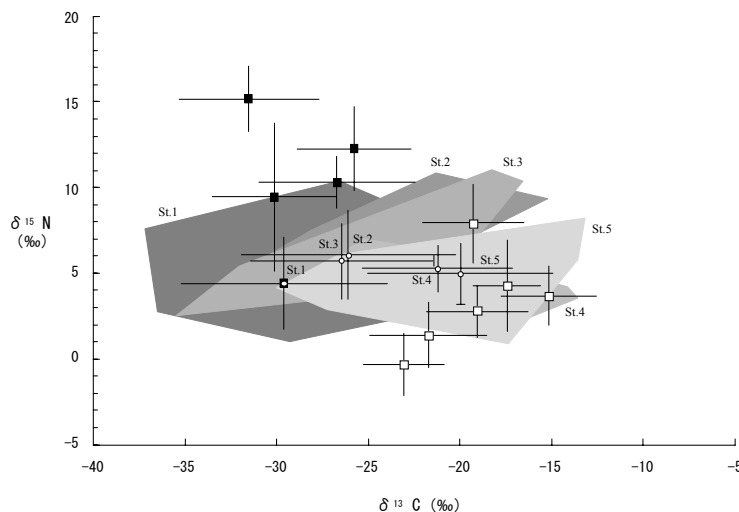


図10 ダム直下流の流程（黒四角）とダム無し河川の流程（白四角）における底生生物群集の炭素・窒素安定同位体比の差異と大迫ダム下流域における各種底生生物の炭素・窒素安定同位体比の流程変化。

## 4. 本プロジェクトで提案された各種安定同位体指標

観測で得られたデータの解析を進め、それぞれの同位体比の変動要因を探ることで、流域環境の状態を表す指標の開発を行った。その結果、窒素負荷、有機物負荷、酸化還元プロセス（温室効果気体の発生過程）、生態系に関する新たな指標の提案に結びついた。

### (1) 窒素負荷

本CREST研究において構築した硝酸イオンの窒素・酸素安定同位体比の高速分析システムを駆使し、琵琶湖および琵琶湖集水域における硝酸イオンの同位体比の分布状況を詳細に調べた。その結果、琵琶湖集水域における窒素の負荷状況が、硝酸イオンの安定同位体比の分布から査定できることが明らかになった。また、河川水中の硝酸イオンの同位体比が、ヨシなどの河畔植物の窒素安定同位体比に反映することを見出した。これをもとに、河畔植物の窒素安定同位体比を、河川の窒素汚染モニタリングのツールに使うという新しい方法論の提案を行った。

### (2) 有機物負荷

湖沼や沿岸海域の有機物汚濁には、河川からの有機物負荷がひきおこす一次汚濁と、河川から流入した栄養塩によって湖内（湾内）に発生する藻類がひきおこす二次汚濁に類別されるが、通常のモニタリングでは、これらを区別することはしばしば困難である。本研究では、粒子態有機物、溶存態有機物、溶存無機炭素、微生物群集などの炭素安定同位体比が、陸上由来の汚濁（一次汚濁）と、湖内（あるいは湾内）の植物プランクトン由来の汚濁（二次汚濁）を区別する指標として利用できることを示した。また、有機物の消費に伴う溶存酸素の消費過程を表す指標として、溶存酸素の酸素安定同位体比が利用できることを示した。

### (3)酸化還元プロセス

琵琶湖および河川において、硝酸イオン、アンモニウム、一酸化二窒素の安定同位体比を詳細に調べた。この結果から、温室効果気体である一酸化二窒素の分子内同位体比（アイソトポマー）その発生メカニズムを示す指標として有効であることを示した。窒素循環に関わる各種安定同位体比を体系的に調べることで、従来法とは比較にならない精度で一酸化二窒素の生成過程の詳細を明らかにした。

### (4)生態系

人為汚濁（栄養負荷）が河川の生物群集に与える影響を評価する新しい方法として、水生生物（無脊椎動物と魚類）の炭素・窒素安定同位体比を用いる方法を検討した。その結果、汚濁の進行とともに、河川生態系を支える基盤有機物が、河川内で生成される有機物（現地性有機物）から、外部から流入する有機物（異地性有機物）に遷移することが、窒素安定同位体比を指標として明らかにされた。また、食物網構造を解析する新しい指標として、アミノ酸の窒素安定同位体比を用いる方法が検討された。さらに、貯水ダムの下流の生態系が、ダム湖から供給される有機物によって支えられていることが、炭素安定同位体比を指標として用いた研究によって明らかにされた。

## 5. 今後の展望

安定同位体比を利用した流域環境評価手法は、これから世界的に急速に普及していくことが予想される。国際原子力機関 (IAEA) が同位体を用いた河川環境評価のマニュアルの作成を進めていること、また、AGU などの主要な国際学会でも、同位体による環境診断のセッションが開催され始めていることなどからもそのことがうかがえる。本プロジェクトで構築した研究ネットワークは、今後も、このような世界的な動向の中で、先駆的な研究を展開していくことが期待される。実際面から考えたときの重要な課題は、各種安定同位体指標の「実装」であろう。つまり、流域環境評価・流域管理の現場において、実際に、安定同位体指標を用いる仕組みを構築することである。本研究プロジェクトでは、現場観測で得られたサンプルのうち、「ルーチン的」な項目については、京都大学生態学研究センターが受けもち、より高度な技術が必要な分析は、他の研究機関で分析を行うというように、総計 6 基以上の質量分析装置を稼働してその分析にあたった。この規模のラボを各自治体が装備するというのは、昨今の財政状態をみたときに現実的ではない。国のレベル（あるいは大学共同利用研）で拠点分析センターを設立し、そこが、各地から送られてくるサンプルの分析にあたるというのがよいであろう。本研究プロジェクトの分析体制は、その雛型を提案していると考えられる。

## 6. 成果発表等

- (1) 原著論文発表（国内(和文)誌 9 件、国際(英文)誌 52 件、国際（英文）誌に投稿中の論文 8 件）  
国際誌に掲載されたおもな論文を以下に示す。
  1. Kohzu, A., Miyajima, T., Tayasu, I., Yoshimizu, C., Hyodo, F., Matsui, K., Nakano, T., Wada, E., Fujita, N. and Nagata, T. Use of stable nitrogen isotope signatures of riparian macrophytes as an indicator of anthropogenic N inputs to river ecosystems. *Environmental Science and Technology* (in press)
  2. Kashiyama, Y., Miyashita, H., Ohkubo, S., Ogawa, N. O., Chikaraishi, Y., Takano, Y., Suga, H., Toyofuku, T., Nomaki, H., Kitazato, H., Nagata, T. and Ohkouchi, N. (2008) Evidence of global chlorophyll d. *Science* 321: 658
  3. Kohzu, A., Tayasu, I., Yoshimizu, C., Maruyama, A., Kohmatsu, Y., Hyodo, F., Onoda, Y., Igeta, A., Matsui, K., Nakano, T., Wada, E., Nagata, T. and Takemon, Y. (2008) Nitrogen stable isotopic signatures of basal food items, primary consumers and omnivores in rivers with different levels of human impact. *Ecological Research* doi: 10.1007/s11284-008-0489-x
  4. Chikaraishi, Y., Kashiyama, Y., Ogawa, N. O., Kitazato, H. and Ohkouchi, N. (2007) Metabolic control of nitrogen isotopic composition of amino acids in macroalgae and gastropods: implications for aquatic food web studies. *Marine Ecology Progress Series* 342: 85-90
  5. Itoh, M., Ohte, N., Koba, K., Katsuyama, M., Hayamizu, K. and Tani, M. (2007) Hydrologic effects on methane dynamics in riparian wetlands in a temperate forest catchment. *Journal of Geophysical Research* 112: G01019, doi: 10.1029/2006JG000240
  6. Doi, H., Takemon, Y., Ohta, T., Ishida, Y. and Kikuchi, E. (2007) Effect of reach scale canopy cover on trophic pathways of caddisfly larvae in a Japanese mountain stream. *Marine and Freshwater Research* 58:

7. Uemura, R., Matsui, Y., Motoyama, H. and Yoshida, N. (2007) Deuterium and oxygen-18 determination of microliter quantities of a water sample using an automated equilibrator. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 21: 1783–1790, doi: 10.1002/rcm.3022
  8. Sato, T., Miyajima, T., Ogawa, H., Umezawa, Yu. and Koike, I. (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
  9. 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
  10. Ohkouchi, N., Nakajima, Y., Okada, H., Ogawa, O.N., Suga, H., Oguri, K. and Kitazato, H. (2005) Biogeochemical processes in the saline meromictic Lake Kaiike, Japan: implications from molecular isotopic evidences of photosynthetic pigments. *Environmental Microbiology* 7(7): 1009-1016
- (2) 学会発表（国際学会発表及び主要な国内学会発表）
- ①招待講演（国内会議 5件、国際会議 8件）
  - ②口頭発表（国内会議 96件、国際会議 44件）
  - ③ポスター発表（国内会議 61件、国際会議 44件）
- (3) 特許出願
- ①国内出願（1件）
  1. 元素分析用前処理装置、大河内奈々子・大河内直彦・永田俊、（独）海洋研究開発機構、京都大学、2006年9月12日、2006-24654
- (4) 受賞等
- 1.平成16年3月 第53回日本生態学会大会 ポスター賞 田中義幸ほか
  - 2.平成19年3月 第54回日本生態学会大会 ポスター賞（優秀賞）眞壁明子ほか
  - 3.平成19年9月 日本陸水学会第72回水戸大会 最優秀ポスター賞 高津文人ほか
  - 4.平成19年9月 日本陸水学会第72回水戸大会 優秀ポスター賞 由水千景ほか