

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 26 日現在

機関番号：13901

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24651002

研究課題名(和文) 三酸素同位体組成を指標に用いた陸水環境中の硝酸の総同化速度定量法開発

研究課題名(英文) Quantifying nitrate dynamics in lakes using the triple oxygen isotopes as tracers

研究代表者

角皆 潤 (Tsunogai, Urumu)

名古屋大学・環境学研究科・教授

研究者番号：50313367

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円、(間接経費) 930,000円

研究成果の概要(和文)：湖沼水中の硝酸の三酸素同位体組成が、大気からの硝酸沈着速度と、湖沼内の硝化速度の相対比を反映する性質を利用して、溶存硝酸の総同化速度や、湖沼内の総硝化速度を、簡便かつ高精度に定量化する新手法の開発に挑戦した。また従来からの培養法に基づく硝酸同化速度も観測して比較することで、従来法との整合性や、従来法の問題点を評価した。各湖沼で初夏と晩夏の二回ずつの観測を行い、硝酸濃度と三酸素同位体組成の鉛直分布から、各湖沼における年平均の硝酸同化速度や、夏季の硝酸同化速度を算出した。また河川経由の硝酸の流入や流出が無視出来ないと考えられる湖沼では、その効果を実測値から補正した。

研究成果の概要(英文)：The stable isotopic compositions of nitrate, including the triple oxygen isotopes, were determined twice in 1 year in several oligotrophic and mesotrophic lakes in Japan. These data were then used to quantify the geochemical dynamics of nitrate in each lake, by using the deposition rate of the atmospheric nitrate onto each lake. The new method using the triple oxygen isotopes of nitrate has overcome the problems inherent in the conventional incubation methods to quantify the geochemical dynamics of nitrate in lake water columns, such as gross nitrate uptake rates and gross nitrification rates in lakes.

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：環境動態解析

キーワード：湖沼 硝酸 三酸素同位体組成 大気沈着 硝化 同化 物質循環速度

1. 研究開始当初の背景

硝酸( $\text{NO}_3^-$ )はアンモニアとともに水環境中の固定態無機窒素の主要な存在形態であり、一次生産(光合成)の制限元素となっていることが多い。自然環境に対する人為的な  $\text{NO}_3^-$  負荷量は日々増大しており、これが一次生産量の無用な増大や、生態系の変質を引き起こす可能性が懸念されている。このため多様な環境水試料に対して  $\text{NO}_3^-$  濃度の連続観測が広く行われているが、もし  $\text{NO}_3^-$  負荷量の増大が一次生産の増大を引き起こしていれば、 $\text{NO}_3^-$  同化速度(Fig.1中の  $F_{\text{up}}$ )も同時に増大していることになるので、必ずしも環境水中に含まれる  $\text{NO}_3^-$  濃度が増大するわけではない。むしろ、 $\text{NO}_3^-$  の同化速度やその滞留時間(寿命)の変化の方が、より重要な環境パラメーターと考えられる。しかしながら、従来法に基づく  $\text{NO}_3^-$  同化速度の測定はきわめて煩雑な上に確度も低く、報告例も限られている。これを解決するには、より簡便で、より確度の高い  $\text{NO}_3^-$  同化速度定量法の確立が必要である。

そこで本研究では、天然指標である  $\text{NO}_3^-$  の三酸素同位体組成( $\Delta^{17}\text{O}$  値)に着目した。「 $\delta^{17}\text{O}-0.52\times\delta^{18}\text{O}$ 」で定義される  $\Delta^{17}\text{O}$  値は、大気中で  $\text{NO}_x$  の酸化によって生成され、地表に沈着する  $\text{NO}_3^-_{\text{atm}}$  だけが自然界で唯一 0‰以外の値(平均+26.2‰)を示す上に、同化反応や脱窒反応では変化しないため、全  $\text{NO}_3^-$  ( $\text{NO}_3^-_{\text{total}}$ ) の  $\Delta^{17}\text{O}$  値( $\Delta^{17}\text{O}_{\text{total}}$ )は、その中に占める  $\text{NO}_3^-_{\text{re}}$  と  $\text{NO}_3^-_{\text{atm}}$  の混合比のみを反映する(Fig.2 参照)。しかも酸性雨等の環境問題を契機として、EANET(東アジア酸性雨モニタリングネットワーク)に代表されるような観測点網が整備され、大気から地上への  $\text{NO}_3^-_{\text{atm}}$  沈着量の連続観測が行われている。またこのような観測を元に、沈着モデルも開発・整備されている。東アジア域であれば、任意の湖沼に対して、高確度で  $\text{NO}_3^-_{\text{atm}}$  沈着速度(Fig.1の  $F_{\text{atm}}$ )を推定することが出来る。一方、 $\text{NO}_3^-$  の  $\Delta^{17}\text{O}$  値を定量することで求められる  $\text{NO}_3^-_{\text{atm}}$  と  $\text{NO}_3^-_{\text{re}}$  の混合比は、 $F_{\text{atm}}$  に対する  $\text{NO}_3^-_{\text{re}}$  供給速度( $F_{\text{nit}}$ )の相対比を反映する。従って、ある湖沼に溶存する  $\text{NO}_3^-$  全体の平均  $\Delta^{17}\text{O}$  値を求めることが出来れば、その湖沼に沈着した  $\text{NO}_3^-$  の  $F_{\text{atm}}$  から、その湖沼の  $F_{\text{nit}}$  が求まり、さらにこれを元に  $\text{NO}_3^-$  の総同化速度( $F_{\text{up}}$ )を求

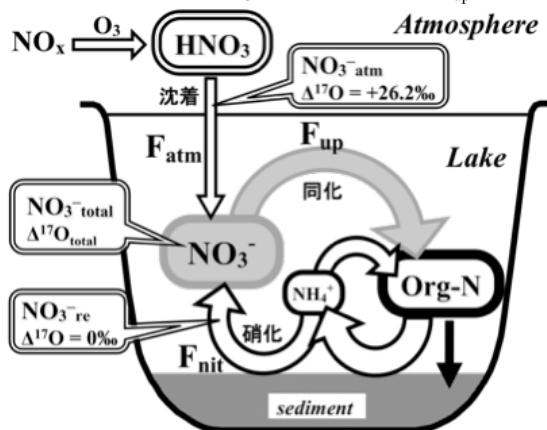


Fig. 1 湖沼における  $\text{NO}_3^-$  を中心とした窒素循環系の模式図(河川による流出入は無視)。

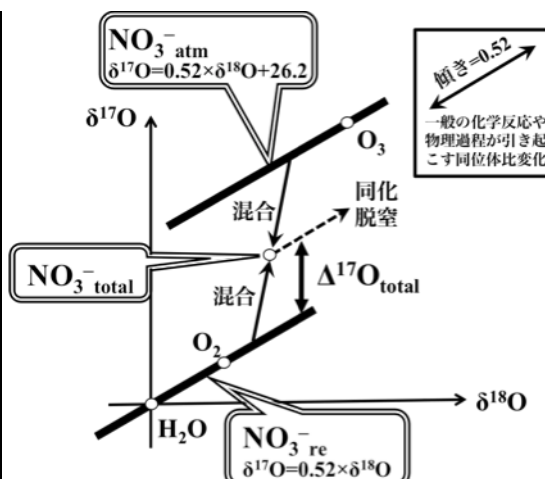


Fig. 2  $\text{NO}_3^-_{\text{atm}}$  と  $\text{NO}_3^-_{\text{re}}$  (各々太線で領域を示した)の  $\delta^{17}\text{O}$  値と  $\delta^{18}\text{O}$  値の関係。両者の混合で生成する  $\text{NO}_3^-_{\text{total}}$  の  $\Delta^{17}\text{O}$  値( $=\delta^{17}\text{O}-0.52\times\delta^{18}\text{O}$ )は、両者の混合比のみを反映する。

めることが出来る可能性がある。

2. 研究の目的

本研究では、半閉鎖的な陸水環境である湖沼のいくつかを例に、湖水中の  $\text{NO}_3^-$  の  $\Delta^{17}\text{O}_{\text{total}}$  値を利用して、各湖沼の  $\text{NO}_3^-$  の総同化速度( $F_{\text{up}}$ )を簡便・高確度で定量化することに挑戦する。また従来法(培養法)に基づく  $\text{NO}_3^-$  同化速度も同時に観測して比較することで、従来法との整合性や、従来法の問題点を評価する。

具体的には、北海道内の支笏(しこつ)湖と倶多楽(くつたら)湖で観測を行う。いずれも閉鎖的な貧栄養湖で  $\text{NO}_3^-$  濃度も一般に低く、比較的大きな  $\Delta^{17}\text{O}$  値が予想される。各年度とも同一湖沼について、初夏と晩夏の二回ずつの観測を行い、 $\text{NO}_3^-$  濃度と  $\Delta^{17}\text{O}$  値の分布から、各湖沼における年平均の  $\text{NO}_3^-$  同化速度や、夏季の  $\text{NO}_3^-$  同化速度を算出する。また河川経由の硝酸の流入や流出が無視出来ないと考えられる湖沼では、その効果を実測値から補正する方法を開発する。得られた結果について、同時に観測した培養法( $^{15}\text{N}$ トレーサー法)との比較検証を行う。

3. 研究の方法

(1) 試料採取

試料採取は1年間に2回(初夏と晩夏)行った。支笏湖では6月28日と8月22日、倶多楽湖では6月29日と8月23日に、それぞれ湖心定点で採水を行った(Fig. 2-6)。採水と同時に、CTD(SBE社製 SBE19)を用いて水温と濁度を、溶存酸素計(ALEC社製 RINKO-I)を用いて溶存酸素濃度を、クロロフィル計(ALEC社製 COMPACT-CLW)を用いてクロロフィル濃度の現場測定を行った。また支笏湖では、湖水の採取と同時に、流入河川であるオコタンペ川と美笛川、流出河川である千歳川において、河川水試料の採取を行った。

同位体組成分析用の湖水試料は、支笏湖では0、5、10、25、50、100、150、200、250、300m、倶多楽湖では0、5、10、25、50、100、120(8月のみ)、130mの各深度において採取した。採取には2.5Lのニスキン採水器を使用した。

試料は 1L のデュラン瓶に 3 回共洗いした上で  
 移し替えた。さらに、採取後数時間以内に焼き  
 出し処理済み(450°C で 12 時間)の Whatman  
 GF/F 濾紙(粒径約 0.7 μm)で濾過し、250 ml  
 のポリエチレン製容器に入れて分析まで冷蔵保  
 存した。また、フィルター試料は粒子状有機態  
 窒素(PON)の分析のために、シャーレに入れて  
 -20°Cで冷凍保存した。

河川水試料は、バケツまたはニスキン採水  
 器を用いて採水した上で、ポリエチレン製容  
 器に入れて持ち帰り、採取後数時間以内に湖水  
 と同様に濾過し、濾液を 250 ml のポリエチレン製  
 容器に入れて分析まで冷蔵保存した。

## (2) 培養実験

従来の窒素循環速度定量法である <sup>15</sup>N 培  
 養法との整合性を検証するため、8 月の観測時  
 に 0、5、25m、50m の各深度において採取した  
 湖水試料に対して、<sup>15</sup>Nトレーサーを用いた培養  
 実験を同時に行った。採取した湖水試料は複数  
 の酸洗浄済みのポリカーボネートボトルにゆっ  
 くり注ぎ、テフロンコートセパタム栓で気相が  
 出来ないように配慮しながら密封した上で、半  
 数のボトルに <sup>15</sup>NO<sub>3</sub><sup>-</sup>トレーサー水溶液(濃度  
 100 μM)を 200 μl 添加し、無添加ボトル  
 (Control)と一緒に光量調節用のネットに入れ  
 て湖岸で 24 時間培養した。培養終了後は直  
 ちに焼き出し処理済みの Whatman GF/F 濾紙  
 を使用して濾過して有機態窒素化した <sup>15</sup>N  
 をフィルター上に捕集し、シャーレに入れて分  
 析まで-20°C で冷凍保存した。

## (2) 分析

各湖水試料中の NO<sub>3</sub><sup>-</sup>濃度は EANET の標  
 準手法に則って、イオンクロマトグラフを用  
 いて定量した。NO<sub>3</sub><sup>-</sup>の安定同位体組成は、海  
 水と淡水中の NO<sub>3</sub><sup>-</sup>の <sup>15</sup>N/<sup>14</sup>N 比および <sup>18</sup>O/<sup>16</sup>O  
 比定量用に開発された Chemical Conversion  
 法(McIlvin and Altabet, 2005)を改良した手  
 法(Tsunogai et al., 2008)を用いて、それぞ  
 れの濾液サンプル(15 ml から 45 ml)中の  
 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>を化学的に N<sub>2</sub>O へ変換し、Δ<sup>17</sup>O 値を  
 分析した(Komatsu et al., 2008; Tsunogai  
 et al., 2010; Tsunogai et al., 2011)。

## 4. 研究成果

### (1) 湖水中の大気 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>総量の定量

支笏湖および倶多楽湖における NO<sub>3</sub><sup>-</sup>濃  
 度と Δ<sup>17</sup>O 値の鉛直分布を Fig. 3 および Fig. 4  
 に示す。Δ<sup>17</sup>O 値は、対象とする NO<sub>3</sub><sup>-</sup>中に  
 占める大気沈着由来の NO<sub>3</sub><sup>-</sup>(NO<sub>3</sub><sup>-</sup><sub>atm</sub>)の混  
 合比を反映するため、NO<sub>3</sub><sup>-</sup><sub>atm</sub> の平均 Δ<sup>17</sup>O  
 値を Δ<sup>17</sup>O<sub>atm</sub> とすると、湖水中の溶存 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>  
 の平均 Δ<sup>17</sup>O 値から、湖全体の NO<sub>3</sub><sup>-</sup>に  
 占める NO<sub>3</sub><sup>-</sup><sub>atm</sub> の混合比を以下の式を用  
 いて見積もることが出来る。

$$\frac{[\text{NO}_3^-]_{\text{atm}}}{[\text{NO}_3^-]_{\text{lake}}} = \frac{\Delta^{17}\text{O}_{\text{lake}}}{\Delta^{17}\text{O}_{\text{atm}}}, \quad (4-1)$$

湖内の NO<sub>3</sub><sup>-</sup>の平均 Δ<sup>17</sup>O 値(Δ<sup>17</sup>O<sub>lake</sub>)を  
 見積もる

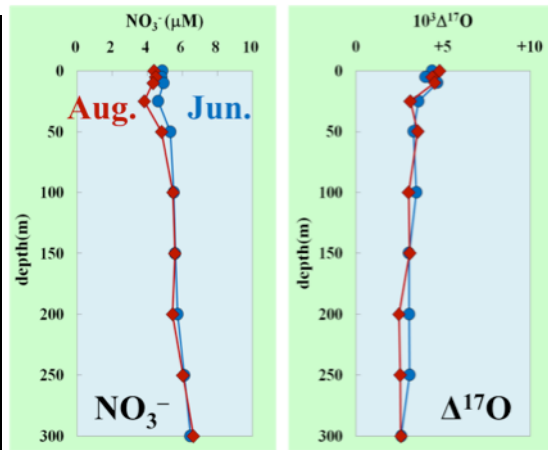


Fig. 3 支笏湖における NO<sub>3</sub><sup>-</sup>濃度および NO<sub>3</sub><sup>-</sup>の  
 Δ<sup>17</sup>O 値の鉛直分布(青字 6 月、赤字 8 月)。

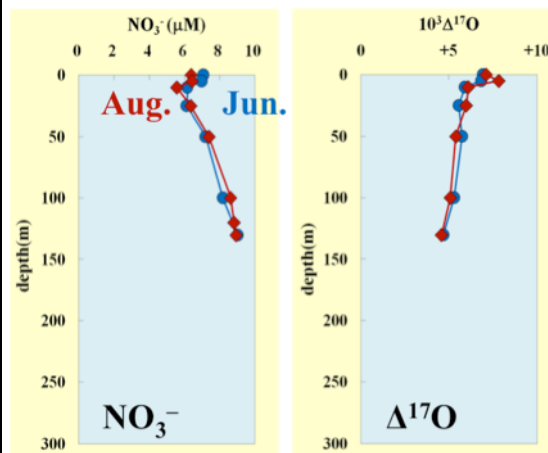


Fig. 4 倶多楽湖における NO<sub>3</sub><sup>-</sup>濃度および NO<sub>3</sub><sup>-</sup>  
 の Δ<sup>17</sup>O 値の鉛直分布(青字 6 月、赤字 8 月)。

と、支笏湖では 6 月が+3.2 ‰、8 月が+3.0 ‰  
 であり、一方倶多楽湖では 6 月が+5.5 ‰、8 月  
 が+5.4 ‰であった。両湖とも摩周湖におけ  
 る Δ<sup>17</sup>O 値(+2.5 ‰)に比べて有意に高い Δ<sup>17</sup>O  
 値を示した。また、両湖とも観測インターバ  
 ル間に大きな Δ<sup>17</sup>O<sub>lake</sub> 値の変動は見られな  
 かったことから、湖内の Δ<sup>17</sup>O<sub>lake</sub> 値は季節  
 によらずほぼ一定であると思われる。そこ  
 で利尻島で見積もられた年平均の Δ<sup>17</sup>O<sub>atm</sub>  
 値(+26.2 ‰; Tsunogai et al., 2010)を、  
 各湖沼に沈着する NO<sub>3</sub><sup>-</sup>の Δ<sup>17</sup>O<sub>atm</sub> とす  
 ることで、NO<sub>3</sub><sup>-</sup><sub>atm</sub> の混合比は、支笏湖  
 で 12.2±0.8 ‰(6 月)および 11.3±1.0 ‰  
 (8 月)であり、倶多楽湖で 21.0±1.2 ‰  
 (6 月)および 20.7±1.6 ‰(8 月)であると  
 見積もられた。各湖における NO<sub>3</sub><sup>-</sup><sub>atm</sub> の  
 混合比を比較すると、倶多楽湖、支笏湖、  
 摩周湖(9.7±0.8 ‰)の順であった。支笏  
 湖や倶多楽湖が摩周湖よりも NO<sub>3</sub><sup>-</sup><sub>atm</sub> の  
 混合比が高いことから、これらは相対的に  
 NO<sub>3</sub><sup>-</sup><sub>atm</sub> の沈着速度が大きいか、もしくは  
 湖内の NO<sub>3</sub><sup>-</sup>同化速度が小さいことを示  
 している。

式 4-1 より、6 月と 8 月の観測時におけ  
 る湖内の NO<sub>3</sub><sup>-</sup><sub>atm</sub> 量について、次式が成  
 立する。

$$\frac{(N_{\text{atm}})_{\text{Jun}}}{(N_{\text{total}})_{\text{Jun}}} = \frac{(\Delta^{17}\text{O}_{\text{lake}})_{\text{Jun}}}{\Delta^{17}\text{O}_{\text{atm}}}, \quad (4-2)$$

$$\frac{(N_{\text{atm}})_{\text{Jun}}}{(N_{\text{total}})_{\text{Jun}}} = \frac{(\Delta^{17}\text{O}_{\text{lake}})_{\text{Jun}}}{\Delta^{17}\text{O}_{\text{atm}}}, \quad (4-3)$$

ここで  $N_{\text{atm}}$  は各観測時における湖内の  $\text{NO}_3^-$  量を、また  $N_{\text{total}}$  は各観測時における湖内の全  $\text{NO}_3^-$  量を表し、 $\Delta^{17}\text{O}_{\text{lake}}$  は各観測時における湖水中の  $\text{NO}_3^-$  の平均  $\Delta^{17}\text{O}$  値を表す。この式を用いることで、湖内の総  $\text{NO}_3^-$  量をそれぞれ見積もることができる。その結果、支笏湖の総  $\text{NO}_3^-$  量は、6 月が 14.4 Mmol、8 月が 12.9 Mmol となり、倶多楽湖では 6 月が 0.9 Mmol、8 月が 0.8 Mmol となった。一方、摩周湖では 6 月の  $\text{NO}_3^-$  量が 0.4 Mmol、8 月が 0.2 Mmol と、観測インターバル間(夏季)で半減することが明らかになっていることから(Tsunogai et al., 2011)、摩周湖と比べると、支笏湖や倶多楽湖は、観測インターバル間(夏季)における  $\text{NO}_3^-$  の減少率が少ない湖沼といえる。支笏湖や倶多楽湖における高い  $\text{NO}_3^-$  混合比は、定常状態におけるこの小さい  $\text{NO}_3^-$  減少率を反映したものと考えられる。

## (2) 観測インターバル間の硝化量・同化量

各湖沼の 6 月と 8 月の  $\Delta^{17}\text{O}$  値に大きな変化がなかった。このことから、観測期間中における湖水の  $\text{NO}_3^-$  の混合比はほぼ一定であったといえる。これらは摩周湖でも観測された事実であり、湖内において表層での大気沈着と釣り合いが取れる速度で再生硝酸( $\text{NO}_3^-_{\text{re}}$ )が生産されたことを示している。しかし、湖の表層では  $\Delta^{17}\text{O}$  値の変化が見られ、湖の表層における大気硝酸の蓄積がみられる。一方湖底へ向かうにつれて 2‰程度の  $\Delta^{17}\text{O}$  値の減少がみられることから、深層では有機態窒素から  $\text{NO}_3^-_{\text{re}}$  の再生が行われ、期間中に  $\text{NO}_3^-_{\text{re}}$  が蓄積されていたと考えられる。摩周湖では、これを元に  $\text{NO}_3^-_{\text{atm}}$  の沈着速度から観測期間中における  $\text{NO}_3^-_{\text{re}}$  の供給速度(硝化量)、さらに  $\text{NO}_3^-$  の総同化量を定量した。以下、支笏湖と倶多楽湖においても、同様の方法で観測期間中の硝化量・同化量を見積もることとする。

まず、摩周湖と同様に流出入河川がない倶多楽湖における、観測インターバル間の硝化量・同化量を定量したところ、約 2 ヶ月間で湖内の硝化によって  $\text{NO}_3^-_{\text{re}}$  が  $0.2 \pm 0.4$  Mmol が供給され、同化によって  $0.3 \pm 0.4$  Mmol が除去されたと見積もられた( Table 1)。一方、流出入河川があり、河川からの  $\text{NO}_3^-$  の出入りも考えなければならぬ支笏湖における観測インターバル間の硝化量・同化量を定量したところ、支笏湖では約 2 カ月(55 日)の間に、 $13.2 \pm 13.5$  Mmol の  $\text{NO}_3^-_{\text{re}}$  が硝化によって湖内に供給され、 $17.9 \pm 13.5$  Mmol が同化によって除去された( Table 1)。

今回求めた夏季の観測インターバル間(55 日間)における各湖沼の硝化量と同化量から、支笏湖では夏季の同化量が硝化量の 1.4 倍、倶多楽湖では 1.3 倍と見積もられた。一方摩周湖では、定量された観測インターバル間(60 日)における硝化量( $0.5 \pm 0.3$  Mmol)と同化量( $2.6 \pm 0.4$  Mmol)を比較すると、硝化量のおよそ 5 倍の

$\text{NO}_3^-$  が同化されており、摩周湖と比べると、支笏湖や倶多楽湖は、硝化速度に対する夏季の同化速度の相対比がかなり小さい湖沼と言える。

もし摩周湖のように湖沼系全体の硝化速度が年間を通じてあまり大きく変化しない場合、支笏湖や倶多楽湖では  $\text{NO}_3^-$  の同化が観測期間(夏季)以外にも進行していることを示していることになるが、それ以外に硝化速度も季節変化している可能性も考えられる。そこで次に年間の平均硝化速度を求めてみる。

## (3) 年間の総硝化・同化量の見積もり

定常状態を仮定し、また河川による流入や流出を無視出来るとすると、湖内への年間の  $\text{NO}_3^-$  の供給量、すなわち  $\text{NO}_3^-$  の大気沈着と硝化による供給の合算値と、湖内の同化による  $\text{NO}_3^-$  の除去量は一致するので、倶多楽湖における年間総硝化量は  $0.8 \pm 0.03$  Mmol、年間総同化量は  $1.1 \pm 0.04$  Mmol と見積もられた。一方、河川による  $\text{NO}_3^-$  の出入りが無視出来ない可能性がある支笏湖については、年間総硝化量は  $25.7 \pm 0.4$  Mmol、年間総同化量は  $29.4 \pm 0.6$  Mmol と見積もられた。

それぞれの湖沼で見積もられた年間総硝化量から、支笏湖と倶多楽湖の平均硝化速度は、それぞれ  $2.1 \pm 0.04$  Mmol month<sup>-1</sup>、 $0.07 \pm 0.002$  Mmol month<sup>-1</sup> となる。一方、(2)で求めた、観測インターバル間(=夏季)の平均硝化速度は、支笏湖と倶多楽湖でそれぞれ  $7.2 \pm 1.4$  Mmol month<sup>-1</sup>、 $0.13 \pm 0.2$  Mmol month<sup>-1</sup> であることから、夏季の方が、年平均より有意に大きくなることが明らかになった。特に支笏湖では年間の硝化の 5 割が夏季に行われていることになる。年間を通じて硝化速度にほとんど変化

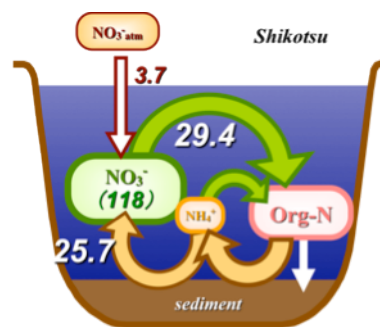


Fig. 5 支笏湖における  $\text{NO}_3^-$  を中心とした窒素循環 (単位は Mmol および Mmol/year)。

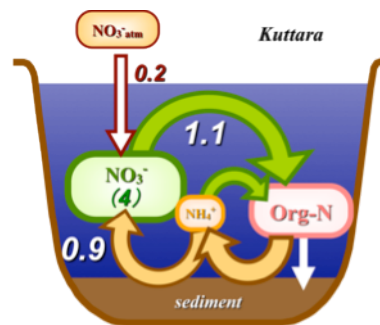


Fig. 6 倶多楽湖における  $\text{NO}_3^-$  を中心とした窒素循環 (単位は Mmol および Mmol/year)。

が見られなかった摩周湖は大きく異なる特徴である。

また観測インターバル間の同化量(支笏湖:  $17.9 \pm 13.5$  Mmol、倶多楽湖:  $0.3 \pm 0.4$  Mmol)が年間の同化量に占める割合は、支笏湖で約60%、倶多楽湖で約30%となり、摩周湖(70%)よりも有意に小さく、両湖での同化反応は夏期以外の季節でも活発に行われていることが明らかになった。さらに、求められた年間総同化量を各湖面積で割ると、支笏湖が  $374 \text{ mmol m}^{-2}$ 、倶多楽湖が  $225 \text{ mmol m}^{-2}$ 、摩周湖が  $184 \text{ mmol m}^{-2}$  となり、単位面積あたりの年間総同化量は、大きい方から、支笏湖、倶多楽湖、摩周湖の順になった。同じ貧栄養に分類される湖沼であっても、それぞれの湖に違った特徴があることがわかる。支笏湖は、 $\text{NO}_3^-$ をはじめとした栄養塩が豊富であり、一次生産( $\text{NO}_3^-$ の同化)が活発で相対的に同化速度も大きかった。倶多楽湖は、 $\text{NO}_3^-$ 濃度は高いにもかかわらず、同化速度が支笏湖よりも小さい。これは、 $\text{NO}_3^-$ 以外の栄養塩が制限元素となり、一次生産を抑えているためであると考えられる。最も同化速度が小さい摩周湖では、 $\text{NO}_3^-$ が制限元素である可能性が高い。そのため供給された  $\text{NO}_3^-$ をほとんどすべて消費した夏以降の同化が極めて小さくなり、単位面積あたりの年間総同化量が小さくなっているものと思われる。

また、6月の湖内の全  $\text{NO}_3^-$ 量を年間総同化量で割ると、湖内の  $\text{NO}_3^-$ の平均滞留時間(年)を求めることができる。求められた滞留時間は、支笏湖で4.0年、倶多楽湖で3.9年であった。摩周湖では1.2年であることから、摩周湖においてはおよそ1年という短い期間で  $\text{NO}_3^-$ が循環しており、湖内の  $\text{NO}_3^-$ が制限元素であることを示している。一方支笏湖と倶多楽湖では湖内に供給された  $\text{NO}_3^-$ が消費されるまで1年以上の期間があり、湖内において  $\text{NO}_3^-$ は1年間では同化しきれずに余っていることを示唆している。

**Table 1**  $\Delta^{17}\text{O}$  法および  $^{15}\text{N}$  培養法の各手法によって見積られた観測インターバル間の  $\text{NO}_3^-$  同化量の比較 (単位: Mmol)

	支笏湖	倶多楽湖
$\Delta^{17}\text{O}$ 法	$17.9 \pm 13.5$	$0.3 \pm 0.4$
$^{15}\text{N}$ 培養法	$7.6 \pm 1.0$	$0.5 \pm 0.1$

#### (4) $^{15}\text{N}$ 培養法の結果と $\Delta^{17}\text{O}$ 法との比較

$^{15}\text{N}$  培養法で求めた支笏湖の5、25、50mの各深度における  $\text{NO}_3^-$ の同化速度は0.9–1.2 nmol/L/h程度で、深度による違いはほとんど見られなかった。 $\text{NO}_3^-$ 濃度も深度によらず4.5 mM程度でほぼ一定であり、整合的である。一方倶多楽湖の5、25、50mの各深度における  $\text{NO}_3^-$ 同化速度は0.9–2.1 nmol/L/hで、表層(5m付近)が他の深度に比べて活発であった。

$^{15}\text{N}$  培養法から求めた各深度の  $\text{NO}_3^-$ 同化速度から、各湖沼に対して以下の条件を仮定することで、観測インターバル間(55日間)におけ

る湖内全体の  $\text{NO}_3^-$ 同化量を見積もることが出来る。①8月の24時間培養から求めた  $\text{NO}_3^-$ 同化速度が、観測インターバル間の平均的な  $\text{NO}_3^-$ 同化速度である、②クロロフィルの分布から75m以深では一次生産が行われていない、③5、25、50mの各深度で求めた  $\text{NO}_3^-$ 同化速度が、それぞれ、0–12.5m、12.5–37.5m、37.5–75mにおける平均  $\text{NO}_3^-$ 同化速度である。

求めた観測インターバル間の  $\text{NO}_3^-$ 同化量を、(2)で  $\Delta^{17}\text{O}$  法を用いて求めた結果と比較すると、両者は誤差内で一致していることが解る(**Table 1**)。  $^{15}\text{N}$  培養法は、本研究で開発した  $\Delta^{17}\text{O}$  法で十分代替可能であることが明らかになった。

$^{15}\text{N}$  培養法は、従来海洋や湖沼の  $\text{NO}_3^-$ 同化速度を求める際に広く使われてきた物質循環定量手法ではあるが、これを用いて水柱積算した  $\text{NO}_3^-$ 同化速度を求める場合には、以下に列挙するような一連の問題点があった。①培養に依拠する物質循環速度定量法であるため、現場と培養容器内との間の環境の微小な差異が、速度定量値を大きく変える危険性があり、異なる研究者間で出した数値を直接比較するのが難しい、②湖沼水に対して  $^{15}\text{N}$  培養法を適応する場合、湖沼底の付着藻類による同化が含まれていないため、特に水深の浅い湖沼では、大きな誤差要因になる、③  $^{15}\text{NO}_3^-$ の粒子態有機窒素(PON)化速度から  $\text{NO}_3^-$ 同化速度を求める場合、溶存態有機窒素(DON)化するものは算入されない、④  $\text{NO}_3^-$ 同化速度は深度によって大きく変化するため、それに合わせて複数層における採水と、各層に条件を合わせた環境条件下で培養操作を行う必要があり、非常に煩雑な作業が必要である、⑤培養法で実測可能な同化速度は観測時の瞬間値であり、非観測時の同化速度変化を定量することはできない。このため、同化速度の季節変化や経年変化を求めるには、高頻度で繰り返し観測を行う必要がある。

一方、 $\Delta^{17}\text{O}$  法を利用すれば、 $^{15}\text{N}$  培養法が内包していた上記の問題をすべて克服することができる。①  $\Delta^{17}\text{O}$  法は、(人工的な培養環境下ではなく)自然環境下における  $\text{NO}_3^-$ 同化速度を定量するため、数値の確度や信頼度が飛躍的に向上する、②湖水中の  $\text{NO}_3^-$ を同化源として利用する一次生産は、湖沼底の付着藻類によるものを含めてすべて同化速度に算入される、③  $\text{NO}_3^-$ の循環速度を直接定量化する本手法は、溶存態有機窒素(DON)化するものも同化速度に算入される、④各深度の湖水を採取して定量するだけでよいため現場作業は勘弁である、⑤ある系内に存在する  $\text{NO}_3^-$ の  $\Delta^{17}\text{O}$  値と濃度は、その  $\text{NO}_3^-$ に対して過去に進行した、 $\text{NO}_3^-_{\text{atm}}$ の混入や、同化による分解、さらに硝化による生成の履歴を積算で反映していることになる。従って、 $\text{NO}_3^-$ が数ヶ月程度以上の寿命を持つ湖沼であれば、一回の観測で湖内全体の  $\text{NO}_3^-$ 同化速度の年平均値が求まり、さらに同一年に2–3回時期を変えて観測することで、湖内の同化速度の年平均値や観測インターバル間中の平均  $\text{NO}_3^-$ 同化速度、さらにその季節変化などを見積もるこ

とができる。

#### (5) 結論と将来展望

$\Delta^{17}\text{O}$  法は、湖沼の包括的な窒素循環速度定量法として、 $^{15}\text{N}$  培養法よりも有効な手法であると言える。 $\Delta^{17}\text{O}$  法を用いることで、 $\text{NO}_3^-$  を中心とした窒素循環定量は極めて簡便になるため、観測を広く一般化・普遍化し、データの蓄積速度を飛躍的に向上させることが出来るだろう。また、ある年に観測された平均  $\Delta^{17}\text{O}$  値と、別の年に観測された平均  $\Delta^{17}\text{O}$  値の経年的な変化等から、 $\text{NO}_3^-$  同化速度の時間変化も求められるため、人為的な  $\text{NO}_3^-$  負荷量の増大が引き起こす自然環境の擾乱が、より明確に評価出来るようになる。生物地球化学はもちろん、海洋学・湖沼学・陸水学・農学・林学・水産学など、環境科学系の幅広い分野に大きな発展をもたらすことが期待される。生態系内の窒素循環や一次生産の制限元素に関する学術的な理解が大きく進展することが期待される。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 7 件)

1. Tsunogai, U., Komatsu, D. D., Ohyama, T., Suzuki, A., Nakagawa, F., Noguchi, I., Takagi, K., Nomura, M., Fukuzawa, K., and Shibata, H. (2014) Quantifying the effects of clear-cutting and strip-cutting on nitrate dynamics in a forested watershed using triple oxygen isotopes as tracers, *Biogeosciences Discuss.*, 11, 7413-7450.
2. Nakagawa, F., A. Suzuki, S. Daita, T. Ohyama, D.D. Komatsu and U. Tsunogai (2013) Tracing atmospheric nitrate in groundwater using triple oxygen isotopes: Evaluation based on bottled drinking water. *Biogeosciences* 10, 3547-3558.
3. Yamazaki, A., T. Watanabe, N. Takahata, Y. Sano, and U. Tsunogai (2013) Nitrogen isotopes in intra-crystal coralline aragonites. *Chemical Geology* 351, 276-280.
4. Konno, U., M. Kouduka, D.D. Komatsu, K. Ishii, A. Fukuda, U. Tsunogai, K. Ito, and Y. Suzuki (2013) Novel microbial populations colonized in deep granitic groundwater from Grimsel Test Site, Switzerland. *Microbial Ecology* 65, 626-637.
5. Kitagawa, T., T. Ishimura, R. Uozato, K. Shirai, Y. Amano, A. Shinoda, T. Otake, U. Tsunogai, and S. Kimura (2013) Validity of otolith  $\delta^{18}\text{O}$  of Pacific bluefin tuna (*Thunnus orientalis*) as an indicator of ambient water temperature. *Marine Ecology Progress Series* 481, 199-209.
6. Tsunogai, U., K. Maegawa, S. Sato, D.D. Komatsu, F. Nakagawa, T. Toki, and J. Ashi (2012) Coseismic massive methane release from a submarine mud volcano. *Earth and Planetary Science Letters* 341-344, 79-85.
7. Ishimura, T., U. Tsunogai, S. Hasegawa, F.

Nakagawa, T. Oi, H. Kitazato, H. Suga, and T. Toyofuku (2012) Variation in stable carbon and oxygen isotopes of individual benthic foraminifera: Tracers for quantifying the magnitude of isotopic disequilibrium. *Biogeosciences* 9, 4353-4367.

[学会発表] (計 5 件)

1. 角皆 潤, 宮内 貴規, 大山 拓也, 小松 大祐, 蓼沼 雪衣, 中川 書子, 梅田 信, 田中 敦 (2013) 「貧栄養・中栄養湖沼における大気沈着由来の硝酸の混合比」(A-2-1)、第 19 回大気化学討論会、石川県七尾市和倉温泉のと楽、2013 年 11 月 7 日。
2. Tsunogai, U., Komatsu, D. D., and Nakagawa, F., (2012) Quantifying nitrate dynamics in hydrosphere using the triple oxygen isotopes as tracers. Utilizing Rare isotope for biogeochemistry (UREY) Workshop, Academia Sinica, Taipei, Taiwan, 2-3 Oct., 2012 (Invited).
3. Tsunogai, U., Tadenuma, Y., Ohyama, T., Komatsu, D. D., Nakagawa, F., Umeda, M., and Tanaka, A. (2012) Quantifying nitrate dynamics in hydrosphere using the triple oxygen isotopes as tracers (Abstract ID: 9630). 2012 ASLO Aquatic Sciences Meeting, Lake Biwa, Otsu, Shiga, Japan, 8-13 July, 2012.
4. Ohyama, T., Nakagawa, F., Komatsu, D. D., Tsunogai, U., Kido, M., and Mizoguchi, T. (2012) Tracing the source and fate of nitrate in groundwater using  $^{15}\text{N}$ ,  $^{17}\text{O}$  and  $^{18}\text{O}$  (Abstract ID: 9949). 2012 ASLO Aquatic Sciences Meeting, Lake Biwa, Otsu, Shiga, Japan, 8-13 July, 2012.
5. Sakuma, H., Minami, S., Komatsu, D., Nakagawa, F., and Tsunogai, U. (2012) Quantifying gross primary production in oligotrophic lakes by using the triple oxygen isotopes of DO as tracers (Abstract ID: 10258). 2012 ASLO Aquatic Sciences Meeting, Lake Biwa, Otsu, Shiga, Japan, 8-13 July, 2012.

[図書] (計 1 件)

1. 「地球と宇宙の化学事典」(日本地球化学会編、朝倉書店、479pp、2012 年 9 月 30 日刊行、ISBN:978-4-254-16057-4) (「気体質量分析計(第一章)」「溶存気体(第三章)」「温室効果気体(第五章)」「ガスハイドレート(第八章)」執筆)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ

<http://biogeochem.has.env.nagoya-u.ac.jp/>

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

角皆 潤 (TSUNOGAI URUMU)

名古屋大学大学院環境学研究科・教授

研究者番号: 50313367