

総説

名古屋大学水圏科学研究所第五部門の研究の歴史と意義

—水圏の窒素循環研究を中心に—

寺井久慈¹⁾

The history and the efficacy of research studies conducted in the Laboratory of Material Cycle, The Water Research Institute of Nagoya University — Studies focusing on nitrogen metabolisms in hydrosphere —

Hisayoshi TERA¹⁾

はじめに

1973年9月に名古屋大学理学部附属水質科学研究施設から独立して名古屋大学水圏科学研究所が発足した(1993年4月大気水圏科学研究所に改組)。大気、海洋、陸水の環境の構造と動態に関する総合的研究を行うことを目的として、1) 大気水圏無機化学部門、2) 大気水圏有機化学部門、3) 水圏物理学部門、4) 降水物理学部門、5) 水圏物質代謝部門の五部門から構成された。第五部門は西條八束教授、坂本充助教授、富永裕之助手の3名のスタッフで発足したが、1974年4月に寺井久慈が助手に赴任して他の部門と足並みを揃えた。第5部門は生物・生態系を通じたC・N・P・Sなど生元素の物質循環を扱う部門で、湖沼や内湾をフィールドとして一次生産による有機物生産と微生物による有機物の分解過程を主要なターゲットとして研究を展開した。

湖沼・内湾の一次生産と富栄養化の研究

研究所発足の前後から内湾の富栄養化と赤潮発生機構に関する研究プロジェクトが始まり、三河湾を中心に調査研究が進められた。

この結果、面積当たりの窒素・リンの負荷量が伊勢湾の方が大きいにも関わらず三河湾の方が富栄養化の進行が著しいこと、これが両水域の海況特性の違いやそれに基づく植物プランクトンの栄養物質利用効率の違いによることが明らかにされた。また、風による海水の鉛直混合や河川水流入による

栄養塩の間欠的供給が植物プランクトンの生産活性を高めて異常増殖の引き金となること、この場合植物プランクトンが水中のリンを体内に蓄積して水中のリン欠乏後も増殖を続け赤潮をもたらすことが見出された。窒素の同様な体内蓄積も調べられ、種による窒素、リンの蓄積特性の差が赤潮プランクトン種の時間的変動を支配していることが明らかにされた。

一方、湖沼の富栄養化に関しては、我が国の湖水中の窒素、リン、クロロフィル含量の総合的解析をすすめ、浅い湖沼ほどそれらの含量は高く富栄養化が進んでいるが、富栄養化の進行につれて窒素とリンの比率が小さくなり、生産の制限因子としての窒素の重要度が高まることが示された。この現象についての多重相関解析から、富栄養化の進行に伴う深層の貧酸素化による脱窒の進行が大きな要因と考えられた。

また、1980年代前半からは、炭素、窒素の安定同位体をトレーサーとする研究法を導入し、一次生産動態のより深い解析を進めた。諏訪湖や三河湾では大型のラン藻、珪藻が硝酸イオンを積極的に利用し、河川流量の多い時期に優占するが、小型の鞭毛藻、緑藻、珪藻は有機物分解で供給されるアンモニウムイオンを専ら利用するため、常在種となることを明らかにした。

水圏における窒素循環の研究

本稿では「—水圏の窒素循環研究を中心に—」となっているのでやや詳しく述べる。

¹⁾ 〒487-8501 愛知県春日井市松本町 1200 中部大学 Chubu University. 1200 matsumoto-cho, Kasugai City, Aichi Prefecture, 487-8501, Japan.
(E-mail: hitera@sci.chubu.ac.jp)

(1) 内湾・湖沼における窒素栄養塩としての尿素の研究

窒素循環研究は1970年代前半、当時大学院修士課程に在籍した三田村緒佐氏が窒素栄養塩としての尿素の動態を取り上げたのが始まりとなる。的矢湾や三河湾で植物プランクトンの光合成に伴う尿素の動態を調べ、窒素量としては硝酸態窒素より少ないがアンモニア態窒素より多く存在し、窒素栄養塩としてアンモニア態窒素に匹敵するくらい重要であることを明らかにした。

また、三河湾や琵琶湖などにおいて ^{14}C でラベルした尿素やこれと合わせて ^{15}N でラベルした尿素を用いた実験により、植物プランクトンが光合成に伴って尿素を分解して窒素を取り込み、水中に放出された CO_2 の一部が光合成に利用されていることが示された。すなわち、海でも湖でも生産層における尿素の分解過程は、植物プランクトンが窒素源として尿素を取り込む際に行われ、バクテリアによる分解より重要であることが明らかにされた（文献1～8）。

(2) 木崎湖生産層における無機態・有機態窒素の研究

1970年代後半からは長野県木崎湖における窒素循環の総合的な研究が始まった。

従来、木崎湖のような湖沼の観測・調査は1～2ヶ月間隔で水深5m程度の間隔で採水、分析が行われていた。しかし、当時博士課程の大学院生であった高橋幹夫氏が2週間間隔、1m間隔の綿密な採水、分析に取り組んだ結果、生産層におけるアンモニア態窒素と硝酸態窒素および有機態窒素(PON・DON)の動態、窒素固定の特性などが明らかになった。すなわち、生産層における窒素源としては4月から5月にかけては硝酸態窒素の取り込みが多いが、それ以外はアンモニア態窒素の取り込み活性が高く、湖水中のアンモニア濃度が低いにもかかわらず再生循環利用されていることが示された。また、アンモニア濃度が低いとき($< 0.5 \mu\text{g-atN}\cdot\text{l}^{-1}$)は窒素(アンモニア態+硝酸態)の取り込み量と植物プランクトン量の間に直線関係が成り立つが、アンモニア濃度がそれ以上になると、硝酸の取り込みが1/10に抑制されるため直線関係が成り立たなくなることも示された。

^{15}N をトレーサーとして窒素固定活性を測定した結果、8月にラン藻アナベナを主とするクロロフィル極大層(5m)が形成され、この層における窒素固定が植物プランクトンの窒素取り込みの40%を占め、アンモニアと同程度、硝酸の2倍となっていた。

また、窒素固定活性は硝酸態窒素による影響は受けながアンモニア態窒素は微量($0.5 \mu\text{g-atN}\cdot\text{l}^{-1}$)でも著しく活性が抑制されることも明らかにされた。

有機態窒素の分布と分解過程に関しては、夏から秋(6月下旬～9月)にかけて生産層下部(5～7m)にPONのピークが形成されクロロフィルの極大層と一致することから植物プランクトンを主体としていることが示された。PONより

濃度は低いがDONも同様の傾向を示した。さらに7月はじめから10月はじめにかけて7～10m層にアンモニア極大層が認められ、PONやDONのピークが急減する深度に対応していることから有機態窒素の活発な分解・無機化が生産層直下で起こっていることが示された。（文献9～13）

(3) 木崎湖の好氣的深水層における硝化作用の研究

高橋幹夫氏の緻密な木崎湖観測で最も説得力のある結果は、毎年6月中旬から下旬にかけて好氣的な深水層でアンモニアが硝酸に急速に変化する硝化作用の発現を示したことである。すなわち1977年6月15日から7月上・中旬までの期間に水深12, 14, 16, 18, 20mの各層でアンモニア濃度の減少とほぼ当量の硝酸濃度の増加が認められた。更に ^{15}N でラベルしたアンモニアや亜硝酸を用いて硝化活性を測定した結果、20m層では6月14日に活性が発現して7月1日に活性が5倍になり、7月13日以降は活性が1桁低下するが8月下旬まで持続していること、15mと10m層では6月14日にほとんど発現していなかった活性が7月1日にピークを示し、7月13日以降は活性が1桁低下するが9月下旬まで持続することが示された。同様の結果が1979年にも得られた。しかし、なぜ硝化作用がこの時期に発現するかについては不明であった。

この問題に取り組んだのが吉岡崇仁氏であった。まず、硝化細菌がこの時期に深水層に増加するためではないかと考え、その原因として梅雨期に集水域から土砂が流入し、それに付着した硝化細菌が沈降粒子として深水層に供給されたのではないかということであった。それで湖水中にセジメント・トラップを設置し、沈降粒子を集めて付着している硝化細菌の数と活性を測定した。しかし硝化細菌数は水中よりは多かったが活性は極めて低く、このストーリーは成り立たなくなった。

いろいろ模索する中で、海洋で亜硝酸の極大層が見出される現象について研究した論文で、アンモニア酸化菌と亜硝酸酸化菌が光で阻害される程度が異なるという報告を見つけて、「光阻害」ということに着目した。そこで木崎湖底泥から単離したアンモニア酸化菌を用いて光照射の日数を変えて、暗条件に戻して何日で活性が回復するかを調べた。その結果、最大10日間光照射したとき活性回復までの日数が、回復時のアンモニアの濃度が $50 \mu\text{M}$ と 1mM でそれぞれ350日以上、42日となり、照射日数が7日の場合は120日以上と7.5日となった。同様の実験を亜硝酸酸化菌についても行って、アンモニア酸化菌より強く光の影響を受けることが確認された。このことから硝化細菌は光で活性阻害されるが、暗条件に戻すと一定期間後に活性が回復すること（光静菌作用）が明らかとなった。そこで次に、木崎湖の成層初期の5月上旬に水深5mと20mの湖水を採取し7℃で明所と暗所に静置し、アンモニアと硝酸の濃度変化を調べた。明

条件ではいずれも植物プランクトンが生育しアンモニアも硝酸もほとんど消失したが、暗条件では 50 日後からアンモニアが減少し始めて硝酸が増加し、硝化作用の発現が確認された。以上の結果から木崎湖で 6 月中旬に硝化作用が発現する機構が明らかになった。すなわち木崎湖では 4 月上旬までは循環期で深層水も表層へ上昇して光照射を受けるため硝化細菌は活性を阻害されている。4 月中旬より成層が形成されることにより深層水は光照射を受けなくなり、2 ヶ月後の 6 月中旬に深層から硝化活性が発現することになる。(文献 11, 14 ~ 18)

高橋幹夫氏は木崎湖の夏季における窒素代謝の研究をまとめ、物理的、生物的要因により生産層(〜5 m)、生産層下部(5 ~ 8 m)および好氣的深水層(8 ~ 20 m)で主要な窒素フラックスが異なっているが、相互に密接な関連を持っていることを定量的に示した(文献 31)。

(4) 湖沼の嫌氣的深水層における脱窒と亜酸化窒素の動態

大学院時代に脱窒菌の微生物生理学的な研究に関わっていた寺井久慈は、水圏科学研究所に着任して、最初に木崎湖の脱窒菌種と脱窒活性の季節的・鉛直的分布を調べた。次いで蛍光抗体法を用いて木崎湖に優占する特定の脱窒菌種の分布と脱窒活性の関連を調べた。脱窒菌は一般的に通性嫌氣性の従属栄養細菌であるため、好氣的環境に広く分布しているが、通常は好氣層に見られる脱窒菌種が脱窒活性の活発な晩秋の深水層に見出されることを示した。その後、木崎湖深水層で嫌氣層が発達するのに伴って硝化作用で蓄積した硝酸を用いて脱窒活性が発達し、脱窒菌数も増加することを明らかにした。ここで嫌氣層の発達(溶存酸素が 0 となる深度)やアセチレン阻害法で測定した脱窒活性のピークとなる層が 9 月下旬から一ヶ月に 1 m ずつ上昇し、湖水の全循環直前の 12 月初めには 22 m 層に達することを見出した。

この頃、大学院博士前期課程に在籍した楊宗興氏が湖水に溶存する亜酸化窒素を測定していた。1970 年代後半から 80 年代初めにかけて、亜酸化窒素(N_2O)は温暖化ガスであると共に成層圏のオゾン層破壊に関連している物質として研究者の間で関心が高まっていた。海洋では硝化作用で発生していることが Yoshinari (1976) の研究で明らかとなっていたが、淡水湖沼の研究結果は未だあまり報告されていなかった。木崎湖で 1981 年 10 月に調べたところ、 N_2O は深水層で溶存酸素が消失しつつあって($0.1 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$)、硝酸イオンが減少して亜硝酸イオンが増加する層に大気平衡の 133 倍の濃度で蓄積していることが認められた。また、それより酸素が消失する深度では N_2O 濃度が低下していたので、脱窒の中間産物として蓄積しているものと推定された。このことを確認するために、同様の酸素状況が春に再現できる長野県阿南町の深見池で 1982 年 4 月に観測した。その結果、やはり DO が $0.1 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$ の層に N_2O が大気平衡濃度の 174 倍の濃度で

蓄積していること、それより酸素が消失する下層で N_2O が減少していることが確認された。いずれも脱窒過程での N_2O の蓄積ということで 1983 年 1 月 Nature 誌に報告された。

その後、寺井は木崎湖と深見池における脱窒活性と脱窒菌の発達過程について調べ、木崎湖の 20 m 以深では硝化によって蓄積された硝酸態窒素は全循環までにほぼ脱窒されることを脱窒活性と脱窒菌の生育過程から明らかにした。また、深見池では深層水中の硝酸は成層の初期に消費し尽され、その後降水により集水域から供給される硝酸により脱窒菌の生育が制御されていることが示された。

楊宗興氏はその後、木崎湖の硝化作用が発現する時期(1988 年 6 月下旬 ~ 7 月中旬)の N_2O の動態を調べ、海洋で報告されているのと同様に硝化に伴う N_2O の蓄積があることを確認した。また、1988 年 9 月下旬の深水層において、脱窒活性があり N_2O 蓄積が認められる低酸素領域で、硝化活性も共存していることを確認し、硝化作用はかなりの低酸素濃度でも起こることを確認している。更に 1988 年 10 月下旬の木崎湖で溶存酸素が $0.1 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$ となる層は酸素濃度が低下してマンガンが溶存化する層(21 m)と鉄が溶存化する層(24 m)の間にあることを明らかにした。(文献 19 ~ 31)

以上、水圏科学研究所第五部門(旧西條研究室)における「水圏における窒素循環の研究」の歴史を振り返って述べてきた。その意義についても記しておきたい。

故西條八束教授は 1977 年に日本海洋学会賞を受賞される一方、1980 ~ 83 年に日本陸水学会会長を二期にわたり務められ、まさに海洋と陸水を併せた水圏科学の研究者であった。この間、1980 年に京都での国際理論応用陸水学会議(SIL) 21 回大会の開催には副委員長として活躍され、1980 ~ 95 年の 5 期にわたって SIL 日本代表委員を務められるなど、国際的にも知名度の高い研究者であった。

西條教授は三河湾の富栄養化の研究に一区切りをつけて、木崎湖を拠点に再び陸水研究を進める意図で 1975 年に木崎湖の近くに研究拠点として別荘を建てられ、私財を投じて実験室やボートハウスを整備された。ボートハウスは後に信州大学に寄贈され、諏訪湖臨湖実験所木崎湖分室として現在に至っている。

1976 年以降、高橋幹夫、吉岡崇仁、楊宗興の各氏と寺井久慈がこの研究拠点を活用して窒素循環に関する研究に取り組んだわけである。高橋氏は当初は三河湾の研究に取り組んだが、海の研究では調査研究のための船の運行があらかじめ設定されていて自分の意図するサンプリングができないということで三河湾の研究に見切りをつけた。そこで木崎湖をフィールドとし、先に述べたような緻密な観測計画を立てた。空間的・時間的に密なサンプリングを行うだけでなく、すべての分析を 3 連で行うという精度の高いデータを得て、夏季の窒素固定、生産層や生産層直下での栄養塩の動態、好氣的深水層での硝化プロセスについての新しい知見を得た。

この研究が足がかりとなって硝化発現のメカニズムの研究や脱窒プロセスの研究、硝化・脱窒と N_2O の蓄積機構に関する研究が発展した。そして、窒素固定から脱窒までの湖沼における一連の窒素循環の研究が木崎湖という場で完結したとも言える。

西條教授は名古屋大学定年退官を機に出版された「湖は生きている—自伝的研究史—」に木崎湖の研究を振り返って以下のように述べられた。「いつも思うことだが、研究というもののはらせん階段を上るようなものである。この10年ほどの間に若い人たちによって行われた木崎湖の窒素代謝の研究で、どうやら1953年頃にくらべて、階段をやっと2まわりぐらい昇ったように思える。」まさに、木崎湖で集中して取り組んだ窒素循環の研究は「日本の陸水学研究的フィールドとして木崎湖あり」を世界に示したものであり、Lake Kizaki (Eds. Y.Saijo and H.Hayashi, Backhuys Publishers 2001) 出版の原動力にもなったものと思われる。

本原稿は下記を参考文献として文章等引用しました。

- ・「水圏科学研究所の研究と教育」昭和48(1973年度—平成3(1991)年度 資料集(平成4年7月 名古屋大学水圏科学研究所)
 - ・湖は生きている—自伝的研究史— 西條八束著 蒼樹書房(1988)
 - ・Lake Kizaki, Limnology and Ecology of a Japanese Lake. Y.Saijo and H.Hayashi, Eds. Backhuys Publishers. (2001)
- 1) O.Mitamura and Y.Saijo (1975) Decomposition of Urea Associated with Photosynthesis of Phytoplankton in Coastal Waters. *Mar. Biol.*, 30: 67-72.
 - 2) O.Mitamura and Y.Saijo (1976) Decomposition of Urea in Lake Biwa. *Physiol. Ecol. Japan*, 17: 601-605.
 - 3) O.Mitamura and Y.Saijo (1980) Urea Supply from Decomposition and Excretion of Zoo-plankton. *J. Oceanogr. Soc. Japan*, 36, 121-125.
 - 4) O.Mitamura and Y.Saijo (1980) In Situ Measurement of the Urea Decomposition Rate and Its Turnover Rate in the Pacific Ocean. *Mar. Biol.*, 57, 147-152.
 - 5) O.Mitamura and Y.Saijo (1981) Studies on the Seasonal Changes of Dissolved Organic Carbon, Nitrogen, Phosphorus and Urea Concentrations in Lake Biwa. *Arch. Hydrobiol.*, 91, 1-14.
 - 6) Y.Saijo, O.Mitamura and M.Takahashi (1982) Nitrogen Metabolism in Freshwater Lakes. *Proc. 3rd Japan-Brazil Symp. Sci. Tech.*, 253-256.
 - 7) O.Mitamura and Y.Saijo (1986) Urea Metabolism and Its Significance in the Nitrogen Cycle in the Euphotic Layer of Lake Biwa I. In Situ Measurement of Nitrogen Assimilation and Urea Decomposition. *Arch. Hydrobiol.*, 107, 23-51.
 - 8) O.Mitamura and Y.Saijo (1986) Urea Metabolism and Its Significance in the Nitrogen Cycle in the Euphotic Layer of Lake Biwa IV. Regeneration of Urea and Ammonia. *Arch. Hydrobiol.*, 107, 425-440.
 - 9) M.Takahashi and Y.Saijo (1981) Nitrogen Metabolism in Lake Kizaki, Japan I. Ammonium and Nitrate Uptake by Phytoplankton. *Arch. Hydrobiol.* 91, 393-407.
 - 10) M.Takahashi and Y.Saijo (1981) Nitrogen Metabolism in Lake Kizaki, Japan II. Distribution and Decomposition of Organic Nitrogen. *Arch. Hydrobiol.* 92, 359-376.
 - 11) M.Takahashi, T.Yoshioka and Y.Saijo (1982) Nitrogen Metabolism in Lake Kizaki, Japan III. Active Nitrification in Early Summer. *Arch. Hydrobiol.* 93, 272-286.
 - 12) M.Takahashi and Y.Saijo (1983) Nitrogen Metabolism in Lake Kizaki, Japan IV. Ammonium Maximum Layer in the Metalimnion. *Arch. Hydrobiol.* 97, 180-195.
 - 13) M.Takahashi and Y.Saijo (1988) Nitrogen Metabolism in Lake Kizaki, Japan V. The Role of Nitrogen Fixation in Nitrogen Requirement of Phytoplankton. *Arch. Hydrobiol.* 112, 43-54.
 - 14) T.Yoshioka, H.Terai and Y.Saijo (1982) Growth Kinetic Studies of Nitrifying Bacteria by the Immunofluorescent Counting Method. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 28, 169-180.
 - 15) T.Yoshioka, H.Terai and Y.Saijo (1982) Analysis of the Growth of NH_4^+ Oxidizing Bacteria and NO_2^- Oxidizing Bacteria in Mixed Culture. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 28, 181-188.
 - 16) T.Yoshioka and Y.Saijo (1984) Photoinhibition and Recovery of NH_4^+ Oxidizing Bacteria and NO_2^- Oxidizing Bacteria. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 30, 151-166.
 - 17) T.Yoshioka, M.Takahashi and Y.Saijo (1985) Active Nitrification in the Hypolimnion of Lake Kizaki in Early Summer. 1. Nitrifying Activity of Rapidly Sinking Particles. *Arch. Hydrobiol.*, 104, 557-570.
 - 18) T.Yoshioka and Y.Saijo (1985) Active Nitrification in the Hypolimnion of Lake Kizaki in Early Summer. 2. Effects of Light on Nitrification in Water. *Arch. Hydrobiol.*, 105, 1-9.
 - 19) H.Terai (1979) Taxonomic Study and Distribution of Denitrifying Bacteria in Lake Kizaki. *Jpn. J. Limnol.*, 40, 81-92.
 - 20) M.Yoh, H.Terai and Y.Saijo (1982) Accumulation of Nitrous Oxide in the Oxygen Deficient Layer of Freshwater Lakes. *Nature*, 301, 327-329.
 - 21) H.Terai and T.Yoshioka (1983) Serological Study on Seasonal and Vertical Distribution of Specific Denitrifying Bacteria in Lake Kizaki. *Jpn. J. Limnol.*, 44, 81-92.

- 22) H.Terai and Y.Saijo (1983) New Ampoule Type Water Sampler for Microbiological Study in Aquatic Environments. Jpn. J. Limnol., 44, 341-344
- 23) H.Terai, M.Yoh and Y.Saijo (1987): Denitrifying Activity and Population Growth of Denitrifying Bacteria in Lake Fukami-ike. Jpn. J. Limnol., 48: 211-218.
- 24) H.Terai, M.Yoh and Y.Saijo (1987): Active Denitrification in the Hypolimnetic Water Column in Lake Kizaki. Jpn. J. Limnol., 48: 219-224.
- 24) H.Terai (1987): Studies on Denitrification in the Water Column of Lake Kizaki and Lake Fukami-ike. Jpn. J. Limnol., 48: 257-264.
- 25) H.Terai (1988): Influence of precipitation on Development of the Denitrification Process in Lake Fukami-ike. Jpn. J. Limnol., 49: 87-92.
- 26) M.Yoh, H.Terai and Y.Saijo (1988): Nitrous Oxide in Freshwater lakes. Arch. Hydrobiol., 113: 273-294.
- 27) M.Yoh, H.Terai and Y.Saijo (1988): A Preliminary Study on N_2O Production through Nitrification in Lake Kizaki. Jpn. J. Limnol., 49: 43-46.
- 28) M.Yoh (1990): Experimental Examination on Nitrous Oxide Accumulation during Nitrification in a Freshwater Lake. Jpn. J. Limnol., 51: 237-248.
- 29) M.Yoh, A.Yagi and H.Terai (1990): Significance of low-oxygen zone for nitrogen cycling in a freshwater lake: Production of N_2O by simultaneous denitrification and nitrification. Jpn. J. Limnol. 51: 163-171.
- 30) H.Terai and M.Yoh (1996): Denitrification and N_2O production in Lake Kizaki. Mitt. Internat. Verein. Limnol., 25: 97-104.
- 31) M.Takahashi (2001): Nitrogen Metabolism a, Nitrogen Metabolism in the Aerobic Layer In “Lake Kizaki. Limnology and Ecology of a Japanese Lake” (Eds, Y. Saijo and H. Hayashi) p.123-138.