

窒素・炭素同位体生物地球化学から 同位体生態学への半世紀

和田 英太郎^{*,**}

(2013年3月25日受付, 2013年5月13日受理)

50 years history of C/N isotope studies- from biogeochemistry to ecology

Eitaro WADA^{*,**}

* National Research Institute of Fisheries Science, Fisheries Research Agency (FRA)
2-12-4 Fukuura, Kanazawa-ku, Yokohama, Kanagawa 236-8684, Japan

** Research Institute for Global Change, Japan Agency for Marine-Earth and
Technology (JAMSTEC)
3175-25 Showa-machi, Kanazawa-ku, Yokohama, Kanagawa 236-0001, Japan

My life as an isotope scientist started in 1967, when the enrichment of ^{15}N along a marine food chain in the western North Pacific Ocean was reported in my DS Dissertation. After 46 years, my newest paper which was published in March, 2013 concluded that the ratios of trophic fractionation of carbon and nitrogen isotopes ($\Delta\delta^{15}\text{N}/\Delta\delta^{13}\text{C}$) throughout marine and terrestrial food chains could be regarded to have similar correlation, expressed with the following linear regression line:

$$\delta^{15}\text{N} = 1.61 \delta^{13}\text{C} + 44.3 + [\text{ecosystem specific constant}].$$

with standard errors of $[\pm 0.41]$ and $[\pm 9.7]$ for the slope and the intercept, respectively. After this long journey of isotope research, I finally reached to a hypothesis on “ISOTOPICALLY ORDERED WORLD” with emphasis on amino acid synthesis, which I will describe in this article.

Key words: C/N isotope ratios, $\delta^{15}\text{N}$ - $\delta^{13}\text{C}$ map, Food chain, Isotope ecology

1. はじめに：大気二酸化炭素は増加し，科学技術は時空間の壁を越えた

重水素を発見した Urey (1947) による「軽い元素の同位体の分配が統計熱力学的分布則に基づく同位体交換平衡によって決定される」という有名な論文に触発され，有機化学反応論，化学反応における溶媒効果の研究，更には自然界の色々な地球化学的現象について，同位体の分布を明らかにする研究が始まった。1950～60年代前後には，Urey を中心とするシカゴグ

ループが同位体地球化学のパイオニアとなった。例えばマグマから晶出した鉱物の生成温度や，貝殻形成時の温度を推定する研究が盛んとなっていた。これらの研究を追いかける形で，生物地球化学的同位体比変動の研究も始まった。当然のことながら生化学反応は不可逆的であり，Bigelisen and Wolfsberg (1958) による速度論的同位体効果の世界も含まれることになる。上記二つの理論を，野外観測に応用することから同位体生物地球化学が展開している。特に重要なことは，安定同位体精密測定法は理論から始まったことを同位体生物地球化学・同位体生態学を志す方は銘記して欲しい。即ち生物界のような複雑な系でも，この方法は自然界を統計熱力学の目で見えるため，一般解を与えうるポテンシャルを持っていることである。時間に

* 独立行政法人水産総合研究センター中央水産研究所
〒236-8648 神奈川県横浜市金沢区福浦2-12-4

** 独立行政法人海洋研究開発機構
〒236-0001 神奈川県横浜市金沢区昭和町3173-25

は時系列の側面（クロノス神）と人間の内的な時間、或いは時刻・チャンス・タイミング・ターニングポイントなどの意味を持つ側面（カイロス神）の二つがある。ここではこの二つの時間を縦軸・横軸として、窒素・炭素同位体生物地球化学、或いは同位体生態学の近過去誌について、筆者が「絶えず学びながら、何を起し、何をして、何を考えたか」を中心として纏めることにしたい。

2. 習と起の時代：何を学び、何を見、何を起こしたか？ 1960年代から70年代

一大学で化学をじっくりと学び、世の中を‘化学反応で見るメガネ’を獲得した。大学院で地球化学・海洋学を学び、化学反応論で自然界を診るベースとなっている。

2.1 茗荷谷での大学院の頃

筆者が学部4年生になった当時（1961年4月）、卒研のテーマは‘自然界における窒素同位体比の測定’であった。この研究テーマは指導教官の松尾禎士先生の卒業研究でもあり、測定は難しく、簡単には測定出来ないと思うがやってみようと言うことであった。但し、この目的に使える精度感度の高い質量分析計は無く、右肩上がりの時代背景のせいか、そのうち何とかなるという考えでこのテーマの研究を進めた。手始めに千葉県君津の地下水中の溶存 N_2 ガスや NH_4 、那須火山の噴気孔で集めた凝縮水中のアンモニア態窒素、火山ガス中の N_2 ガスの窒素同位体比を測定した。この当時、理化学研究所には安定同位体の中根良平研究室があり、 ^{15}N の濃縮とシングルスキャンニングによる窒素同位体比の測定を行っていた。測定は此処のお世話になったが、精度・感度が低く有意な結果は得られなかった。卒業研究はガラス細工と真空技術の初歩を学んだ結果となった。

生元素の中で炭素同位体比（Craig, 1953）の研究に比べ、窒素同位体比の測定は遅れていた。その理由として、質量スペクトルの中で $m/e=29$ は有機物と $^{13}C^{16}O$ ($m/e=29$) によるバックグラウンドが高く、測定に誤差を与えやすいことが上げられる。このため、質量分析計のベイキングや試料の調製、 N_2 ガスの精製には細心の注意が必要とされていた。事実、有名な国際誌に失敗の論文があることも教えられた。生物界における窒素同位体測定の初めての報告は、米国アーカンソー大学の T. Hoering 教授に始まる（Hoering, 1955）。私は何度かテキサス大学海洋研究

所で同博士にお会いしたが、職人肌で絶えず機器を点検し、難しい測定法に挑戦するのが好きようであった。

大学院の5年間を通じて、三宅泰雄教授の専門分野であった「海洋の窒素同位体自然存在比の測定」が研究テーマとなった。試料の採取は気象庁の凌風丸に乗船して本州沖で行った。黒潮域での研究航海では、測深やニュートラルフロウの測定、採泥、プランクトン採取などの手伝いで色々な知識を得る事が出来た。運よく日立製の比率直読型質量分析計が教育大化学教室に入り、保守管理を習得し、使い出したのは1963年の修士2年の時である。質量分析計の導入部の組み立て、イオンソースの洗浄、繰り返すフィラメントの交換と高真空への到達・維持、液体窒素の製造等色々な仕事を行い、質量分析計を肌で理解することが出来た。修士2年の秋に、海の硝酸塩の窒素同位体比のデータを初めて測った。この試料処理は以下のような手順で行った。まず十分量の NO_3^- を得るために20 Lの海水を濾過後、凍結濃縮し、濃い NO_3^- と塩分飽和の試水とした。これを50 ml のナス型フラスコに入れ、アルカリを加えデバルダ合金で還元しながら水蒸気蒸留をかませ、生成した NH_4^+ を硫酸中に集めた（Fig. 1）。 NO_3^- の還元は大きな同位体効果を伴うため、間違ったデータを出したら研究者としては死ぬと思っていた。還元・水蒸気蒸留を2回繰り返し、還元率を99.99%以上にすることを心がけた。その後、得られた硫酸アンモニウム溶液を真空中で $KOBr$ と反応させ、生成した N_2 ガスを $Cu-CuO$ 炉を通して精製（ CO を CO_2 として除くなど）した。世界初の測定値が何処まで正しい値かどうかはまるっきり分からなかった。

院生時代の成果の概要は以下のようにまとめられる（Miyake and Wada, 1967; 1971）。

(1) 海洋の硝酸塩の窒素同位体比 ($\delta^{15}N$) は約6%で酸素極小で高くなる。(2) 海洋微生物（硝化細菌と脱窒菌）の培養実験（指導は京大の河合章助教授・当時）により、硝化・脱窒系では、それぞれ1.02と1.04の高い窒素同位体分別係数を得た。(3) 平均的に見て陸は海洋に比べて $\delta^{15}N$ が低い。(4) 海洋では食物連鎖にそって $\delta^{15}N$ が高くなる。

私が出した硝酸のデータがほぼ正しいことが判明したのは、UCLA Kaplan 教授のグループがペルー沖の貧酸素水塊の硝酸塩のデータを報告したときである。彼らは、海洋中の脱窒の際の窒素同位体効果に関する

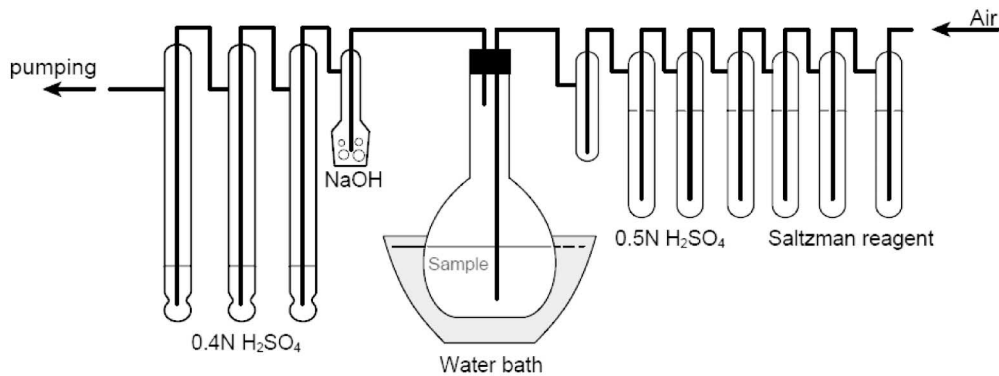


Fig. 1 The steam distillation apparatus used for the reduction of nitrate.

本格的な論文 (Cline and Kaplan, 1975) を報告した。私の学位取得後ほぼ8年後のことで、東大海洋研からアメリカに留学する途中のハワイ大学でセミナーを行ったとき、偶然 Cline の学位論文を見る機会があり、私のデータがほぼ正しかったことを知ってほっとしたことを今でも鮮やかに記憶に留めている。

2.2 中野時代

1967年秋、東大海洋研究所に海洋生化学部門が発足し、助手として赴任した。部門の教授は服部明彦先生で、藍藻と硝酸還元酵素が専門であり、またしても海の窒素の研究をやることになった。海洋生化学部門には、大型機種として新しい日立製比率直読方質量分析計 (RMU 6型) が導入された。主目的は ^{15}N トレーサー法の確立であった。イオンソース、スリット系等どれをとっても当時の技術の粋を集めた構造であった。試料の窒素ガスを導入し、 $m/e=28$ と 29 の間隔が7 mmであることも、スリットを操作で分かる仕組みとなっていた。現在このように手の込んだ機種は姿を消してしまっている。

海洋有光層下部には亜硝酸ピークが存在する。このピーク形成機構に興味を持ち、 ^{15}N トレーサー方で硝化活性、硝酸還元の際の亜硝酸生成活性の測定に最初の仕事として取り組んだ。思いつきでイオン交換樹脂にアゾ色素を吸着させる方法で、亜硝酸の定量感度が $0.003\ \mu\text{M}$ まで上がった。詳細は割愛するが、最初の試みた条件が最適条件であったのは偶然とはいえ運が良かったのであろう (Wada and Hattori, 1971)。当時は海洋を学ぶ時代であり、大げさに言えば同じ海域には2度と行けないことを覚悟した航海が多かった。西経155度線を北緯50度から南緯15度に渡った KH 69-4、親潮・黒潮航海 (KH 71-3, KH 73-1) が特に印象に残っている。KH 69-4では最初の北の観測点

St.1で、 ^{15}N 取り込み活性の *in-situ* インキュベーションシステムを沈めてしまった大失敗のこと、あの時あの試料を取っていたらという慙愧の念に思い至る事が多い。服部明彦教授は船酔いが全く無く敏捷なので、濾過を含む船上実験では大変とお役に立つ上司であった。英作文が好きで厳しく教育された。藍藻狂いの藤田善彦助教授には、飲み屋で生物学の講義を受け大変と勉強になった。海洋研時代は ^{15}N をトレーサーとして用いた海洋の無機窒素代謝活性に関する研究や、藻類の培養実験を主に進め、上記微小藻類の窒素同位体比の変動や外洋の窒素サイクルに関する新しい知見を明らかにした (Wada and Hattori, 1976; 1978)。

2.3 自然豊かなディープサウスに行くーテキサス大学で $\delta^{13}\text{C}$ の測定法を学ぶ

1975年にアメリカ・テキサス州の田舎町ポートランサスにあるテキサス大学海洋研究所、有機地球化学の P. L. Parker 教授の研究室に1年在籍した。当時ここには院生として B. Fry (Isotope Ecology の著者：前ルイジアナ州立大教授、現オーストラリア河川研究所)、M. Estep (現カーネギー研究所, Washington DC)、後に S. A. Macko (現ヴァージニア大教授) も加わり、いわゆる $\delta^{13}\text{C}$ —同位体生態学の走りとなった研究が進められた。研究所がメキシコ湾沿いの C_4 植物の多い藻場の中にあり、安定同位体比の生態学をやる自然環境に恵まれていた。テキサス大学では窒素同位体比の測定法の仕事を進めながら、培養藍藻、メキシコ湾とその内湾で採取した試料について炭素同位体比測定法を習得できた。ここで行った研究も含め、昨年、Plankton and Benthos Research に藍藻の論文を纏めた (Wada *et al.*, 2012)。この論文のため、雪のばらつくアーカンソー州の片田舎のソーサーに

Parker 教授を訪ねたのは2011年2月4日であった。論文の打ち合わせの時にはお元気だったが、2ヵ月後の4月6日に教授は突然亡くなられた。奇しきご縁であった。

3. 三菱化成生命科学研究生物地球化学・社会地球化学部門（承Ⅰの時代；1977年～1991年）

3.1 町田市南大谷時代

—江上所長に‘学の体系化’の重要性を示唆された、同位体生物地球化学の体系の構築—

テキサス在米中、突然、江上不二夫所長（三菱化成生命科学研究所・当時）から数行の航空郵便が届いた。テキサスの田舎に一人で住み、相談するヒトも回りに居ず、なんとなくお呼びが掛かったからと思い、三菱化成生命科学研究所に移ることにした。結果として、これは大きな転換となった。帰国後15分の面接で、上司はいないこと、中心となって生物地球化学（地球生化学）・社会地球化学の学問の体系を作ること、東大農学部土壌学教室、高井康雄先生のところへ1年間修行に行き陸の勉強をすること、などを申し渡された。海洋から陸域の水田や畑、森林、湖に研究の幅を広げることとなった。さらに、外国の真似をしないこと、Who's Who in the World. に載ること（これは何故かよく判らない？）、10±5年で転出すること、などが所長からの要請であった。とても力足らずで、すぐに胃を悪くしたが、北大教授になった南川雅男さんや日大教授となった水谷広さんらと、研究室を同位体生物地球化学のメッカとするべく奮闘した。現・東工大の吉田尚弘教授（ N_2O ）、栗田工業の中村孝一博士（水田の土壌有機物）、京大の吉岡崇仁教授（諏訪湖ワカサギの食性）、北大の杉本敦子教授（メタン）、Jedrysek M. O.（メタン、現ポーランドブロッツア大教授）らが博士研究員として参加した。また、名大の中塚武教授、トヨタの高橋和志博士、日大の上田信吾准教授、片瀬隆雄名誉教授、広島大の山崎岳教授、中央水研の杉崎宏哉コーディネイター・市川忠史GLなど沢山の有能な若手が出入りしてとても賑やかであった。誰でも質量分析を使えるようにしないと学問が發展しないと考え、2種の硫酸標準液を作り国内外に配布もした。

また、希望がかなって鳥居鉄也先生のお供で南極・ドライバレーを訪問できた（調査期間は1980年12月～1981年1月、Wada *et al.*, 1981）。ここで地球上で

の $\delta^{15}N$ 最大値（ペンギンルッカリーの土壌・藻類、Mizutani and Wada, 1985）と最小値（藍藻）を見出した。これらのデータは化学のギネスブックに載せることを意図した。アマゾン・サムエルダムなどブラジルのダム湖や人工湖の調査（1985年）、タイの熱帯湿地林に関する特定研究への参加、諏訪湖メソコスンププロジェクトへの参加など多くの生態系を調査研究し、地球化学・海洋学・土壌学・生命科学へと交流が広がっていった。私なりのProfessorshipを取る意味を込め‘Nitrogen in the Sea: Forms, Abundances, and Rate Processes (Wada and Hattori, 1991)’を1991年CRC Pressで出版した。この本の第3章と6章に、それまでの我が国の窒素同位体の研究に関して、海洋を中心として成果を纏めてある。

3.2 SIワールドの構築のための同位体マップ作り—植物の $\delta^{15}N$ - $\delta^{13}C$ マップ

横軸の炭素同位体比は高等植物に関しては C_3 （-25～-28‰）と C_4 植物（-14‰）に大きく分けられる（Hanba *et al.*, 1997）。陸上生態系における植物の窒素同位体比は、窒素の供給経路に強く依存する。森林の窒素は、通常、降水（平均-5‰）か生物学的窒素固定系（-2‰、Wada *et al.*, 2012）があり、木の葉はマイナスの数値を示す。森林や耕地の土壌中では、分解と有機物—土壌間との相互作用により $6 \pm 5\%$ の範囲で変動する（Wada *et al.*, 1984）。 $\delta^{15}N$ の増加は、主として土壌水分が高い箇所での脱窒によって起こるため、一般には河川上流の山岳地帯から平野部・下流域にかけて、或いは河川の高地から低地へと高くなってゆく（Wada *et al.*, 1987a）。

高緯度の海は中深層から供給される豊かな栄養塩によって、低温下で $\delta^{15}N$ 、 $\delta^{13}C$ の低い珪藻が生育する。これに対して気温が高く成層化が進み栄養の少ない黒潮域では、微小なピコ植物プランクトンが短寿命で生長・消滅を繰り返し、 $\delta^{15}N$ 、 $\delta^{13}C$ の高い藻体となる。窒素が欠乏しリンが残っている海域やサンゴ礁では、空気中の窒素ガスを固定する藍藻が繁茂する。これら三つの海域の藻類は炭素・窒素同位体マップ上できれいに分かれる（Fig. 2）。一方、藻類の生育の際の炭素・窒素同位体分別係数は、生育速度定数と一定の関係（負の直線関係あるいは負の相関）にあると報告されている（Wada and Hattori, 1978; Takahashi *et al.*, 1991; Wada *et al.*, 2012）。

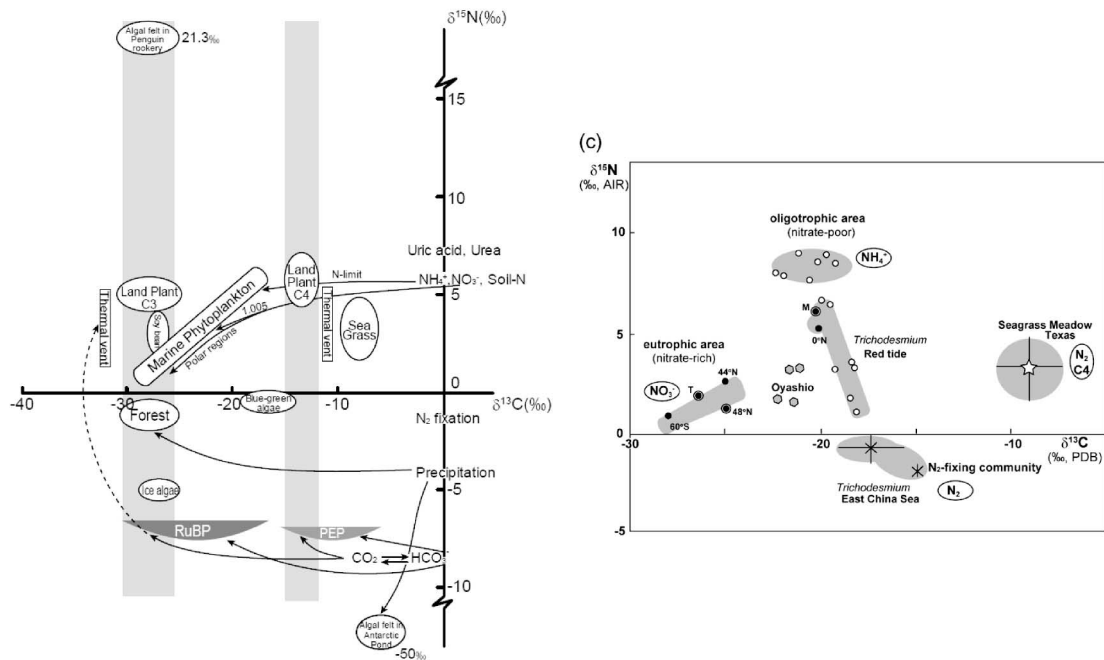


Fig. 2 The $\delta^{15}\text{N}$ - $\delta^{13}\text{C}$ map for plant kingdom with the regional characteristics. The map for marine phytoplankton is presented in the right. After Wada 2009 (left), Wada *et al.*, 2012 (right) with permission.

3.3 窒素同位体比の trophic effect

食物連鎖に沿った ^{15}N の濃縮に関する本格的な論文は、DeNiro and Epstein (1981), Minagawa and Wada (1984) らによって報告された。摂餌段階で窒素同位体が一定の比率で濃縮されることを見出したのを受けて、南極海食物連鎖がこの検証にむいていると考え、共同研究者の寺崎誠氏（後に東大海洋研究所・教授）によって、白鳳丸の航海で試料の採取が行われた。珪藻から始まり南極オキアミ・サルパ、ミンククジラとその他の魚類などを採取し、胃内容物から決定された栄養段階 (Trophic Level: TL) との間に、

$$\delta^{15}\text{N}_{\text{animal}} (\text{‰}) = 3.3 (\text{TL}-1) + \delta^{15}\text{N}_{\text{algae}} (r = 0.99),$$

の関係式を得た。この論文は Deep-Sea Research (Wada *et al.*, 1987b) の F. A. Richards 博士の記念号に載せてある。この論文は自然生態系で食物連鎖に沿った $\delta^{15}\text{N}$ 上昇を確認した最初の例となった。

3.4 再現性とばらつき

三菱生命科学研究所では薬理学の工藤佳久室長（東京薬科大名誉教授）と共同で「記憶のプロジェクト」に入れていただいた。Fig. 3は16匹のラットに同一の餌を一か月間与え続け成熟させた後、更に二か月間飼育し、各個体について臓器の窒素・炭素同位体比の再現性を調べた結果である。16個体の同位体比の再現

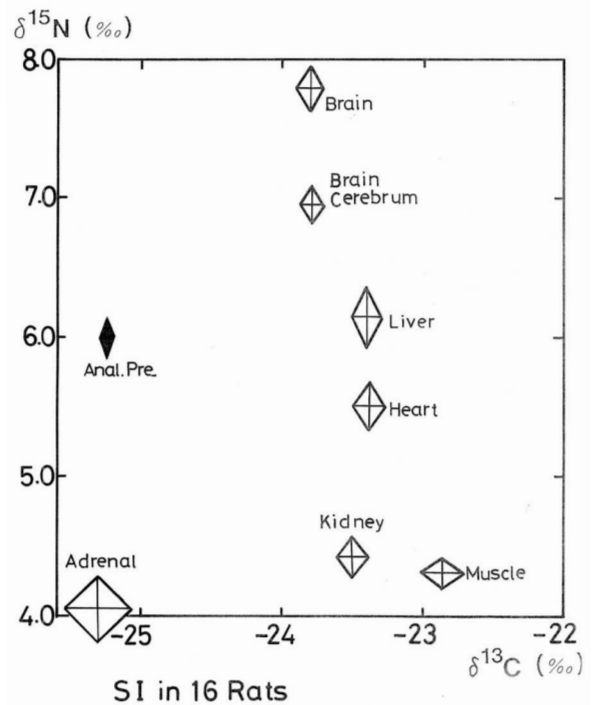


Fig. 3 The $\delta^{15}\text{N}$ - $\delta^{13}\text{C}$ map of rat organs reared with the same food.

ISOTOPIC ORDERED WORLD was strongly suggested by this reproducibility of 16 rats (Wada, 2009 with permission).

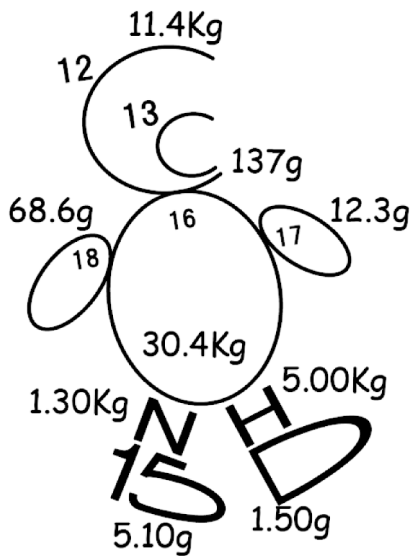


Fig. 4 ISOTOPE PERSON.

He has 225 g of heavier biophilic elements within his body of 50 kg.

性は極めて良く、同一の餌を食べているときは栄養段階を見積もることが可能となる(和田, 2009)。一般に市場で売られている外洋の魚の $\delta^{13}\text{C}$ 値は $\pm 1\%$ の幅に入ることが確認されている。

再現性が良いことは、深く考えると‘生体内に規則性のある同位体分布存在の可能性’を予見させるが、最近2~3年前迄このことには気が及ばなかった。

更に‘教科書に使われるようなシンボルマーク’を考案した(Fig. 4)。アイソトープパースン: 50 kgの人は重い同位体を225 g持っている。この図は当時の三菱化成生命研の社長も兼任していた鈴木永二社長に安定同位体を理解してもらうために発案した。現在、このロゴマークは世界で使われている。

4. 同位体生態学へ〜承Ⅱ(1991年~2000年: 京大大学生態学研究センター)

4.1 同位体生態学の構築を目指して各種生態系で確認の調査研究

1991年7月、縁あって京大大学生態学研究センター生態構造部門に赴任した。この年、日本で初めて生物界の安定同位体に関するシンポジウムを三菱生命研で開催した。欧米で活躍する世界の第一人者が集まってくれ、大成功であった。この成果は京大出版の‘Stable Isotopes in the Biosphere (Wada, Yoneyama, Minagawa, Ando, Fry eds.1995)’にまとめら

れている。

生態学研究センターでは川那部浩哉センター長の下、DIVERSITUS Western Pacific & Asia (DI-WPA)の設立、大型プロジェクト(新プロ、IGGP-MESC, 未来開拓など)の獲得、講座増設、建物の建設等々で目の回るような忙しさであった。この頃、質量分析法は真空排気システムとしてはターボモレキュラーポンプの実用化、更にはエレクトロニクス・計算機システムの進歩により、ガスクロマトグラフィー・同位体精密測定用質量分析計(GC-IRMS 微分測定法)への進歩と実用化があった。具体的には Matthews and Hayes (1978)によって開発されたHe フロウスルー法と微分同位体比測定法の Isotope-Ratio-Monitoring Gas Chromatography Mass Spectrometry が市販され、同位体生態学が普及する引き金となった。我が国には現センサーテックの松本晋元社長のご好意で、1990年ごろ三菱化成生命科学研究所にこの機種を無料で導入・設置された。その後、これを京大生態学研究センターに移転した際に購入した。機器の具体的な運用は、私と一緒に動いた南浩史氏(当時北大博士課程の学生、現水産総合研究センター国際水産研究所グループリーダー)が担当した。この後、窒素・炭素同位体比の測定法は乾燥粉末生物試料の測定がオンラインで可能となり、この方法が飛躍的に世界中にひろがった。先端技術と其の発展には、誰もが使えるようにすることが肝要であることを学んだ。京大時代の優秀な学生さんらの成果を以下にまとめておく。異色の顔ぶれとして、センター阪本時代には大河内直彦博士研究員(現・独立行政法人海洋研究開発機構(JAMSTEC)海洋・極限環境生物圏領域プログラムディレクター)が参加し、同位体グループに大きな影響を与えた。

4.2 食物網に関する分布則

$\delta^{15}\text{N}$ は摂餌過程で3.3‰濃縮される。これに対して $\delta^{13}\text{C}$ は餌と捕食者の間に0.0~1.5‰の差が見られる(DeNiro and Epstein, 1978; Fry and Sherr, 1984)。従って $\delta^{15}\text{N}$ - $\delta^{13}\text{C}$ マップ上に、一応食物網の構造を描くことができる(注: $\delta^{13}\text{C}$ の変動に関して、後述するように新しい解釈が必要である)。この流れに沿って琵琶湖(Yamada *et al.*, 1996)、バイカル湖(Yoshii *et al.*, 1999; Ogawa *et al.*, 2000)、モンゴル草原(Kohzu *et al.*, 2009)、河畔林の蜘蛛の食性(Kato *et al.*, 2004)の研究がすすめられた。樹木に共生・寄生する森林の菌類について、Kohzu *et al.*

(1999) は菌類の同位体比の調査を行い、菌根菌と木材腐朽菌が $\delta^{15}\text{N}$ - $\delta^{13}\text{C}$ マップ上で識別されることなどを見出している。シロアリの系については ^{14}C も含めた研究が展開された (Tayasu *et al.*, 1994; Hyodo *et al.*, 2006)。

4.3 色々な同位体二次元グラフ

以下には、三菱生命研時代と京大時代に得られた色々な2次元グラフについて文献を挙げておく。河川中の亜酸化窒素の $\delta^{18}\text{O}$ - $\delta^{15}\text{N}$ マップの解析により亜酸化窒素の生成経路 (酸化経路か還元系か) を論じた (Boontanon *et al.*, 2000)。水系の同位体マップでは、岩手県東部大槌川水系 (Wada *et al.*, 1987a) に比べ、人間活動の影響が大きい琵琶湖—淀川水系の堆積物の $\delta^{15}\text{N}$ - $\delta^{13}\text{C}$ マップは大きく変化する (Yamada *et al.*, 1996)。バイカル湖沖帯の食物連鎖とオームルの鱗 (オームルはサケ科の魚で、バイカル湖で最も有用な魚種である) の $\delta^{13}\text{C}$ を測定すると、数十年スケールで直線的に低くなることが認められた。この傾向は化石燃料の消費による大気二酸化炭素の $\delta^{13}\text{C}$ 値の減少と一致した (Ogawa *et al.*, 2000)。著しく富栄養化が進行した琵琶湖では、この40年間の湖沼の堆積物や固有魚：イサザの生物標本資料が残されている。イサザ標本・堆積有機物の分析結果は、近過去の琵琶湖の窒素循環系の変化を浮き彫りにした (Ogawa *et al.*, 2001)。また Koba *et al.* (1997) では、琵琶湖集水域桐生演習林で降水・林内雨・地下水を採取し、硝酸塩の $\delta^{15}\text{N}$ - $\delta^{13}\text{C}$ マップから地下水中の脱窒を定量的に評価できることを示した。これらの成果は和田の地球生態学 (2002) に纏められている。

5. 転 I 何をしたか—文理統合・同位体環境診断学 (2001~2004)

2001年、教授として総合地球環境学研究所に移りその創設に寄与した。文理統合を旗印に、流域管理法の確立と同位体環境診断学を意識して「琵琶湖—淀川における流域管理モデルの構築」のプロジェクトを進めた。このプロジェクト推進の中で琵琶湖—淀川水系の $\delta^{15}\text{N}$ - $\delta^{13}\text{C}$ マップを作成し、小河川について新しい環境指標を提示した。具体的には、一時消費者や河川懸濁粒子が示す $\delta^{15}\text{N}$ は集水域の人口密度と正の相関があること (Nishikawa *et al.*, 2009) を利用して、水系が持続的に好氣的状態を保持するための流域人口密度の上限を決める方法を提示した。同位体環境学は、現在、中野孝教授 (総合地球研究所) によって

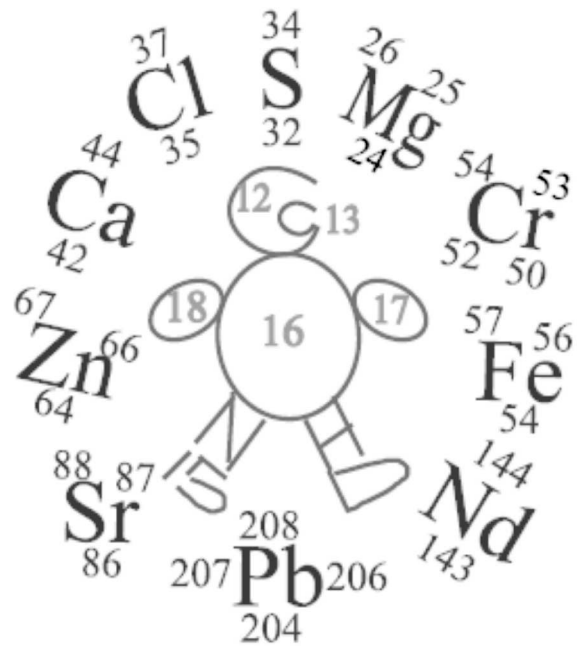


Fig. 5 New symbol mark for Isotopic Person with heavy metal tracers (After T. Nakano with permission).

重金属の同位体比にまで広がっている (Fig. 5)。

6. 修と結：何を考えたか—分野の統合と海食物連鎖

—地球環境フロンティア研究センター (現・JAMSTEC) 生態系変動予測研究プログラムモデルのプログラムディレクター、プログラムディレクター退任後の特任上席研究員、その後 JAMSTEC フェローに着任。また独立行政法人水産総合研究センター中央水産研究所で特別フェローとして着任した時代—

地球環境フロンティア研究センター及び JAMSTEC では、陸域・海洋生態系モデリンググループのプログラムディレクターとなった。松野太郎先生の指導の下に地球物理的な数値モデルの組み立て方や、リモートセンシング・生態系モデルの構築について多くを学んだ。その結果、野外調査のみで複雑な多次元の自然生態系を理解することは不可能であると考えようになった。作業仮説の下で、観測・モデル・シミュレーションの流れが生態系の理解の中心となると考えるようになり、この頃、私なりに生態学を理解できるようになってきた。即ち、複雑系の見方、生態学的見方が身につき始めた。地球物理の世界に入ったお蔭と思っている。約5年間で JAMSTEC での公式のプログ

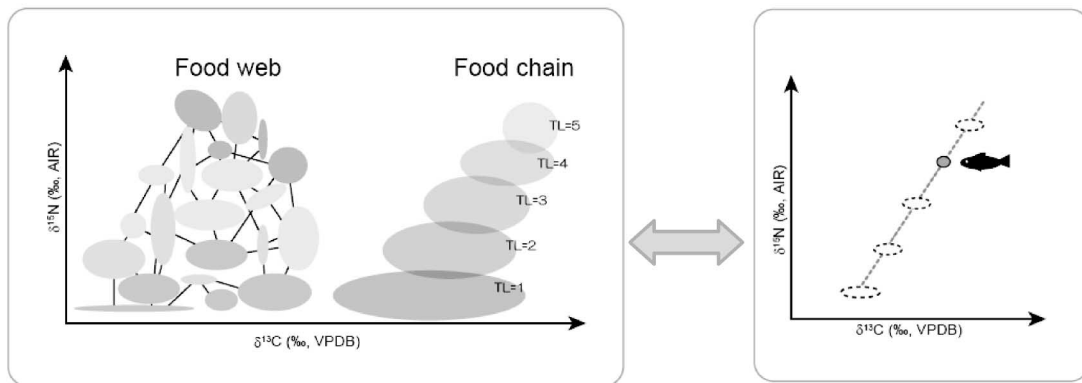


Fig. 6 Schematic presentation of the stable isotope food chain. Complicated food chain (left) is simply shown by a linear regression line, in case isotopic compositions of primary producers are kept constant in time and space.

ラムディレクターの立場を離れ、特任上席研究員を2年、さらにフェローとなった。ここ1年は水産総合研究センター中央水産研究所の特別フェローとして、都合3年間に渡って同位体生態学・生物地球化学の再吟味を進める時間を持つことが出来た (Wada, 2009)。

時間的な余裕の中で、複雑系は普遍的な切り口で切らないと、その骨格が見えない。切り口の一つは同位体比である。最小二乗法適用の意味、その検定法としての共分散分析 ANCOVA (Analysis of co-variance), 更に作業仮説から演繹的にデータを統合化することを目指すようになっていった。その成果の一つとして、Aita *et al.* (2011) は共通勾配として $\Delta\delta^{15}\text{N}/\Delta\delta^{13}\text{C} = 1.53 \pm 0.25$ の値が4海域 (A-line 親潮水域, 黒潮系暖水塊, アラスカ湾, 南極海) から見出されることを報告した。さらに Wada *et al.* (2013) はバイカル湖, 琵琶湖, モンゴル草原の食物連鎖が一定の $\Delta\delta^{15}\text{N}/\Delta\delta^{13}\text{C}$ 値を示すことを報告した。一般に自然生態系では植物の窒素・炭素同位体比は光条件, 基質となる栄養塩の濃度と化学形, 陸上での地形による環境条件の差によって変化する。このような場で、目的とする一般的な勾配を求めるためには、TL=2の植食性動物が植物を次空間的に満遍なく食べ、平均化する事が望まれる。水界の寿命が年単位のカイアシ類や草原の山羊, 羊などがこれに相当する。

このような考えから、食物連鎖の第二経験則が生まれた (Aita *et al.*, 2011; Wada *et al.*, 2013)

$$\delta^{15}\text{N} = 1.61[\pm 0.4] \delta^{13}\text{C} + \text{各海域の定数}$$

$$(p < 0.05)。$$

この経験則が正しければ、我々は積分平均値である高位の動物の $\delta^{15}\text{N}$ - $\delta^{13}\text{C}$ 値と、その TL 値と勾配から出

発点となった仮想的な植物の $\delta^{15}\text{N}$ - $\delta^{13}\text{C}$ 値を推定し、現場と比較検討する事が可能となる。このような操作は食性が変化しない成熟個体を試料として使う事が必須となる (Fig. 6)。

現在データは少ないが $\Delta\delta^{15}\text{N}/\Delta\delta^{13}\text{C}$ は成長速度の関数と予想している (石井, 未発表)。動物体を構成するアミノ酸には、(1) 餌の中にあったアミノ酸 (Re-use), (2) 捕食者が生合成したアミノ酸, (3) 捕食者の体を構成する蛋白が分解したものを再利用する (Recycle) 三つのタイプのアミノ酸が存在する。これらのアミノ酸が再びタンパク質に生合成される際のエネルギー系との連環で摂餌過程の同位体効果が顕在化すると考えている。また自然界の動物は概ね三つのタイプのアミノ酸の割合がほぼ等しいため食物連鎖に沿った $\Delta\delta^{15}\text{N}/\Delta\delta^{13}\text{C}$ が等しくなると考えている。第二経験則は「食物連鎖に於ける代謝系の機能的適応戦略の原理：必要最小限の材料を使って、最大の効果 (連鎖の持続的維持) が得られるように形作られる (ルーの法則：溝口, 2011)」という原理のため、多くの生物で成立すると考えている。この効率的な資源利用は、持続的な世界に必要な「3R」といわれる “Reduce, Re-use, Recycle” になぞらえれば、Reduce を体現していることになる (石井・和田, 2013)。結果として自然界に住む動物は、通常はスリムな体系を保持している。太った縄文人もいなかっただろう。第二経験則が成立しないケースもあるが (Wada *et al.*, 2013), 今後詳細な検討が必要となる。

7. ま と め

本稿全体を「起・承・転・結」の流れで纏めること

を意図したが、個人史は、やはり単純ではなくロジカルでもない。強いて纏めると、絶えず学びつつ、起・承1・承2・転・結となりそうである。振り返ると、‘運と時代の風、それらをつかむ一瞬の能力’の一体化が大きな影響を持った研究史であったように思える。

「習」は化学・地球化学・海洋性化学の学習から始まり、「起」は学位論文における窒素同位体比の分布に関する初歩的発見であった。更に陸域の代表分野として水田土壌学を学び、「承1」として同位体生物地球化学の体系を創ることを試みた。「承2」は同位体生態学の起学となった。「転」は文理統合の地球環境学への参入であり、続いて数値モデルとリモートセンシングを学び「承2」の理解が深化した。「結」は食物連鎖の経験則の確立となり、生体内における‘調和の取れた分子内同位体分布が存在すること’、即ち‘Isotopically Ordered World’の存在の提言である。更に自然界の食物連鎖の3Rについて新しい解釈を示した。

最後に私の研究を通して、大変お世話になった沢山の方に心からお礼申し上げる。

引用文献

- Aita, M. N., Tadokoro, K., Ogawa, N. O., Hyodo, F., Ishii, R., Smith, S. L., Saino, Y., Kishi, M. J., Saitoh, S. and Wada, E. (2011) Linear relationship between carbon and nitrogen isotope ratios along simple food chains in marine environments. *Journal of Plankton Research*, **33**, 1629–1642.
- Bigeleisen, J. and Wolfsberg, M. (1958) Theoretical and experimental aspects of isotope effects in chemical kinetics. In: *Advances in Chemical Physics* (ed I. Prigogine), Wiley, pp. 15–76.
- Boontanon, N., Ueda, S., Kanatharana, P. and Wada, E. (2000) Intramolecular stable isotope ratios of N_2O in the tropical swamp forest in Thailand. *Naturwissenschaften*, **87**, 188–192.
- Cline, J. D. and Kaplan, I. R. (1975) Isotopic fractionation of dissolved nitrate during denitrification in the eastern tropical North Pacific Ocean. *Marine Chemistry*, **3**, 271–299.
- Craig, H. (1953) The geochemistry of the stable carbon isotopes. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **3**, 53–92.
- DeNiro, M. J. and Epstein, S. (1978) Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **42**, 495–506.
- DeNiro, M. J. and Epstein, S. (1981) Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **45**, 341–351.
- Fry, B. and Sherr, E. B. (1984) $\delta^{13}C$ measurements as indicators of carbon flow in marine and freshwater ecosystems. *Contributions in Marine Science*, **27**, 13–47.
- Hanba, Y. T., Mori, S., Lei, T. T., Koike, T. and Wada, E. (1997) Variations in leaf $\delta^{13}C$ along a vertical profile of irradiance in a temperate Japanese forest. *Oecologia*, **110**, 253–261.
- Hoering, T. (1955) Variations of nitrogen-15 abundance in naturally occurring substances. *Science*, **122**, 1233–1234.
- Hyodo, F., Tayasu, I. and Wada, E. (2006) Estimation of the longevity of C in terrestrial detrital food webs using radiocarbon (^{14}C): how old are diets in termite? *Functional Ecology*, **24**, 385–393.
- 石井 励一郎・和田 英太郎 (2013) 炭素・窒素同位体を利用した生態系解析法の展開. 化学と教育, 61巻, 190–193.
- Kato, K., Iwata, T. and Wada, E. (2004) Prey use by web-building spiders: stable isotope analyses of trophic flow at a forest-stream ecotone. *Ecological Research*, **19**, 633–643.
- Koba, K., Tokuchi, N., Wada, E., Nakajima, T. and Iwatsubo, G. (1997) Intermittent denitrification: the application of a ^{15}N natural abundance method to a forested ecosystem. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **61**, 5043–5050.
- Kohzu, A., Yoshioka, T., Ando, T., Takahashi, M., Koba, K. and Wada, E. (1999) Natural ^{13}C and ^{15}N abundance of field-collected fungi and their ecological implications. *New Phytologist*, **144**, 323–330.
- Kohzu, A., Iwata, T., Kato, M., Nishikawa, J., Wada, E., Amartuvshin, N., Nankhaidorj, B. and Fujita, N. (2009) Food webs in Mongolian grasslands: the analysis of ^{13}C and ^{15}N natural abundances. *Isotopes in Environmental and Health Studies*, **45**, 1–12.
- Matthews, D. E. and Hayes, J. M. (1978) Isotope-Ratio-Monitoring Gas chromatography-mass spectrometry. *Analytical Chemistry*, **50**, 1465–1473.
- Minagawa, M. and Wada, E. (1984) Stepwise enrichment of ^{15}N along food chains: Further evidence and the relation between $\delta^{15}N$ and animal age. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **48**, 1135–1140.
- Miyake, Y. and Wada, E. (1967) The abundance ratio of $^{15}N/^{14}N$ in marine environments. *Records of Oceanographic Works in Japan*, **9**, 37–53.
- Miyake, Y. and Wada, E. (1971) The isotope effect on the nitrogen in biochemical, oxidation-reduction reactions. *Records of Oceanographic Works in Japan*, **11**, 1–6.
- 溝口 優司 (2011) アフリカで誕生した人類が日本人になるまで. ソフトバンククリエイティブ, 192 pp.
- Mizutani, H. and Wada, E. (1985) Ammonia volatilization and high $^{15}N/^{14}N$ ratio in a penguin rookery in Antarctica. *Geochemical Journal*, **19**, 323–327.
- Nishikawa, J., Kohzu, A., Boontanon, N., Iwata, T., Tanaka, T., Ogawa, N. O., Ishii, R. and Wada, E. (2009) Isotopic composition of nitrogenous compounds with emphasis on anthropogenic loading in river ecosystems. *Isotopes in*

- Environmental and Health Studies*, **45**, 27–41.
- Ogawa, N. O., Yoshii, K., Melnik, N. G., Bondarenko, N. A., Timoshkin, O. A., Smirnova-Zalumi, N. S., Smirnov, V. V. and Wada, E. (2000) Carbon and nitrogen isotope studies of pelagic ecosystems and environmental fluctuations of Lake Baikal. In: *Lake Baikal* (ed. K. Minoura), Elsevier Science B. V. The Netherlands., pp. 262–272.
- Ogawa, N. O., Koitabashi, T., Oda, H., Nakamura, T., Ohkouchi, N. and Wada, E. (2001) Fluctuations of nitrogen isotope ratio of gobiid fish (*Isaza*) specimens and sediments in Lake Biwa, Japan, during the 20th century. *Limnology and Oceanography*, **46**, 1228–1236.
- Takahashi, K., Wada, E. and Sakamoto, M. (1991) Relationship between carbon isotope discrimination and the specific growth rate of green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *The Japanese Journal of Limnology*, **52**, 105–112.
- Tayasu, I., Sugimoto, E., Wada, E. and Abe, T. (1994) Xylophagous termites depending on atmospheric nitrogen. *Naturwissenschaften*, **81**, 229–231.
- Urey, H. C. (1947) The thermodynamic properties of isotopic substabces. *Journal of the Chemical Society*, **56**, 562–581.
- 和田英太郎 (2002) 環境学入門3地球生態学. 岩波書店, pp. 109–140.
- Wada, E. (2009) Stable $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ isotope ratios in aquatic ecosystems. *Proceedings of the Japan Academy, Series B*, **85**, 98–107.
- 和田英太郎 (2009) 安定同位体フィンガープリント法. 日本生態学会誌, **59**, 259–268.
- Wada, E. and Hattori, A. (1971) Spectrophotometric determination of traces of nitrite by concentration of azo dye on an anion-exchange resin, application to sea waters. *Analytica Chimica Acta*, **56**, 233–240.
- Wada, E. and Hattori, A. (1976) Natural abundance of ^{15}N in particulate organic matter in the North Pacific Ocean. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **40**, 249–251.
- Wada, E. and Hattori, A. (1978) Nitrogen isotope effects in the assimilation of inorganic nitrogenous compounds by marine diatoms. *Geomicrobiology Journal*, **1**, 85–101.
- Wada, E. and Hattori, A. (1991) *Nitrogen in the sea: forms, abundances & rate processes*. CRC Press, Florida, U.S.A., pp. 208.
- Wada, E., Shibata, R. and Torii, T. (1981) ^{15}N abundance in Antarctica: origin of soil nitrogen and ecological implications. *Nature*, **292**, 327–329.
- Wada, E., Imaizumi, R. and Takai, Y. (1984) Natural abundance of ^{15}N in soil organic matter with special reference to paddy soils in Japan: biogeochemical implications on the nitrogen cycle. *Geochemical Journal*, **18**, 109–123.
- Wada, E., Minagawa, M., Mizutani, H., Tsuji, T., Imaizumi, R. and Karasawa, K. (1987a) Biogeochemical studies on the transport of organic matter along the Otsuchi River watershed, Japan. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, **25**, 321–336.
- Wada, E., Terazaki, M., Kabaya, Y. and Nemoto, T. (1987b) ^{15}N and ^{13}C abundances in the Antarctic Ocean with emphasis on the biogeochemical structure of the food web. *Deep-Sea Research*, **34**, 829–841.
- Wada, E., Yoneyama, T., Minagawa, M., Ando, T. and Fry, B. D. (Eds.) (1995) STABLE ISOTOPES IN THE BIOSPHERE. Kyoto Univ. Press, 192 pp.
- Wada, E., Ohki, K., Yoshikawa, S., Parker, P. L., Baalen, C. V., Matsumoto, G. I., Aita, M. N. and Saino, T. (2012) Ecological aspects of carbon and nitrogen isotope ratios of cyanobacteria. *Plankton and Benthos Research*, **7**, 135–145.
- Wada, E., Ishii, R., Aita, M. N., Ogawa, N. O., Kohzu, A., Hyodo, F. and Yamada, Y. (2013) Possible ideas on carbon and nitrogen trophic fractionation of food chains: a new aspect of food-chain stableisotope analysis in Lake Biwa, Lake Baikal, and the Mongolian grasslands. *Ecological Research*, **28**, 173–181.
- Yamada, Y., Ueda, T. and Wada, E. (1996) Distribution of carbon and nitrogen isotope ratios in the Yodo River watershed. *Japanese Journal of Limnology*, **57**, 467–477.
- Yoshii, K., Melnik, N. G., Timoshkin, O. A., Bondarenko, N. A., Anoshko, P. N., Yoshioka, T. and Wada, E. (1999) Stable isotope analyses of the pelagic food web in Lake Baikal. *Limnology and Oceanography*, **44**, 502–511.

著者の論文リストは以下のホームページに乗せてある。

<http://www.jamstec.go.jp/biogeos/j/elhrp/biogeochem/takara-bako.html>