原 著 [Original article]

筑波山周辺の渓流水中の硝酸イオンの酸素・窒素安定同位体比による
硝酸イオンの生成・混合・消費プロセスの解析

高津文人¹⁾・渡邊未来¹⁾・林誠二¹⁾・今井章雄¹⁾・中島泰弘²⁾・尾坂兼一^{2),3)}・三浦真吾¹⁾

**Analysis of nitrate production, mixing, and consumption processes in mountain streams
around Mt. Tsukuba using the oxygen and nitrogen isotope ratios of nitrate**

Ayato KOHZU¹⁾, Mirai WATANABE¹⁾, Seiji HAYASHI¹⁾, Akio IMAI¹⁾, Yasuhiro NAKAJIMA²⁾, Kenichi OSAKA^{2),3)} and Shingo MIURA¹⁾

Abstract

The isotopic signatures of nitrate in mountain streams indicate the dominant processes associated with nitrogen (N) export from a forested watershed. The nitrate concentrations sampled at 40 mountain streams around Mt. Tsukuba, and the oxygen ($\delta^{18}\text{O}$) and nitrogen isotope ratios ($\delta^{15}\text{N}$) of that nitrate, showed that the geophysical and geological characteristics of the basin significantly affected the N export processes in the forest watershed. From this study we discovered the following: 1) At seven sites, the isotopic signal (i.e., high $\delta^{18}\text{O}$) indicated that bulk precipitation was one of the primary nitrate sources in winter. Using two source mixing models, high $\delta^{18}\text{O}$ levels in winter were only found in streams with low nitrate concentrations although precipitation substantially inflow. 2) Significant correlations were found between the geophysical/geological parameters of the basin and the nitrate concentration/isotope ratio parameters. These could mostly be explained by the increased nitrate production and consumption activity during the summer and the increase in the relative contribution of nitrate derived from bulk precipitation in winter.

Keywords: nitrate, oxygen isotope ratio ($\delta^{18}\text{O}$), nitrogen isotope ratio ($\delta^{15}\text{N}$), bulk precipitation, two source mixing model

摘要

筑波山周辺の渓流水中の硝酸イオンの濃度と同位体比の夏季と冬季の俯瞰的な調査結果から、1) 夏季と冬季の硝酸イオンの濃度特性を基に 40 流域は 13 流域からなるグループ 1 (濃度が低く、季節間差も小さい) と 17 流域からなるグループ 2 (濃度は低くないが、季節間差は小さい) と 8 流域からなるグループ 3 (濃度は低くないが、夏季に濃度が低下する) と 2 流域からなるグループ 4 (濃度は低くない

¹⁾(独) 国立環境研究所 地域環境研究センター 〒305-8506 茨城県つくば市小野川 National Institute for Environmental Studies, Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305-8506, Japan

²⁾(独) 農業環境技術研究所 物質循環研究領域 〒305-8604 茨城県つくば市観音台 National Institute for Agro-Environmental Sciences, Kannondai 3-1-3, Tsukuba, Ibaraki 305-8604, Japan

³⁾滋賀県立大学 環境科学部 〒522-8533 滋賀県彦根市八坂町 2500 The University of Shiga Prefecture, Yasakacho 2500, Hikone, Shiga 522-8533, Japan

(連絡先 高津文人 ✉kohzu@nies.go.jp)

が、冬季に濃度が低下する)に大別できた。2) グループ1では冬季に $\delta^{18}\text{O}$ の大きく上昇する地点が多く、グループ3では冬季に $\delta^{15}\text{N}$, $\delta^{18}\text{O}$ ともに低下する地点が多かった。3) 硝酸イオン濃度の低いグループ1で冬季に雨水由来の硝酸イオンの寄与が増大することとグループ3では冬季に硝酸イオンの消費活性が大きく低下していることが示唆された。4) 雨水由来の硝酸イオンが流入した場合の濃度と $\delta^{18}\text{O}$ の挙動を同位体混合モデルで解析した結果、硝酸イオンの量として最大見積もりで8.2%程度の雨水由来の硝酸イオンが渓流水へ流出したと推測された。5) 雨水由来の硝酸イオンのシグナルが検出された流域の平均勾配は小さく、土壌の湿潤分布状態を示すTWI(地形的な湿潤指標)が高かったことから、そうした流域では水の滞留時間が長く、硝酸イオンの消費活性が高く、その結果、硝酸イオンの濃度が低くなったことが原因と考えられた。

キーワード： 硝酸イオン, 酸素同位体比($\delta^{18}\text{O}$), 窒素同位体比($\delta^{15}\text{N}$), 林外雨, 同位体混合モデル

(2011年5月2日受付; 2011年9月30日受理)

はじめに

20世紀の100年間で地球上の人口は4倍になり、その食料供給を支えるための安定した農業活動はハーバーボッシュ法により化学的に合成された窒素肥料の施肥量を飛躍的に増大させた。その結果今世紀に入るところには、年間の合成有機窒素の投下量が自然界でマメ科などによって行われる窒素固定量とほぼ等しくなるまでに増大し、農地からのアンモニウムイオン起源の窒素の飛散、拡散が問題になっている(Galloway and Cowling, 2002)。化石燃料の燃焼に伴って発生する大気中の NO_x 濃度の過去50年間の著しい上昇と相まって、過去100年間で大気から供給される窒素降下量は4から5倍に増加したと推定されている(Galloway and Cowling, 2002; Rabalais, 2002)。

その結果、森林域のように本来窒素欠乏の状態、窒素の系外への流出の少ないはずの生態系においても、大気からの窒素負荷量の増大に伴い、生態系全体が窒素飽和状態となり(Aber et al., 1989; Vitousek et al., 1997)、比較的高濃度の硝酸イオンの流出する事例が相次いで報告されるようになった(Dise and Wright, 1995; Peterjohn et al., 1996; 木平ら, 2006)。渓流水中の硝酸イオンの窒素濃度が 1 mg L^{-1} を超える森林地帯が我が国においても多数存在することが明らかとなっており(木平ら, 2006)、窒素飽和したと考えられる森林の拡大が危惧されている。森林が我が国の国土面積の3分の2程度を占めていることを考えれば、窒素飽和した森林の拡大は沿岸や湖沼生態系における広範で深刻な富栄養化につながる事が予想される(Rabalais, 2002)。

にもかかわらず、森林域からの窒素流出機構は土壌

浸透、地下水での滞留、溪流への流出といった複雑なプロセスを経ることから、その正確な診断は容易ではない(Nadelhoffer and Fry, 1994; Ohte et al., 2010b)。本研究では今や生物地球化学の分野で広く使われるようになった安定同位体比の解析手法を使って森林域からの窒素流出機構に関する考察をおこなった。安定同位体解析は物質の起源や混合過程もしくは微生物代謝など物質の動態を支配するプロセスに関する重要な情報を与えてくれる。硝酸イオンにおいて、 ^{18}O と ^{16}O の存在比を示す酸素安定同位体比($\delta^{18}\text{O}$)は $\delta^{18}\text{O}$ の高い大気降下物由来硝酸イオンの寄与の解析に使われてきた(Durka et al., 1994; Mayer et al., 2001)。一方、 ^{15}N と ^{14}N の存在比を示す窒素安定同位体比($\delta^{15}\text{N}$)は生活排水や堆肥由来の農業排水の流入で高くなることが知られており、人間影響の指標となると考えられる(Mayer et al., 2002; 高津, 2006; Ohte et al., 2010a)。

森林域からの窒素流出物質としては渓流水中の硝酸イオンと溶存有機物がその主たるものと考えられる。今回は硝酸イオンの $\delta^{18}\text{O}$ と $\delta^{15}\text{N}$ をつかって、降水由来、内部循環由来といった硝酸イオンの起源と脱窒など流出にいたるまでの硝酸代謝プロセスを考えることで、筑波山周辺森林域からの窒素流出機構の解析を試みた。筑波山周辺の森林は日本でも有数の窒素飽和した森林と考えられている(Mitchell et al., 1997; Ohte et al., 2001; Takamatsu et al., 2010)。東西南北10 km四方に及ぶ広範囲の溪流40か所から夏季と冬季の2回のサンプリングを行い、その硝酸イオンの濃度と $\delta^{18}\text{O}$ と $\delta^{15}\text{N}$ および流域の地形特性との関係性を基に解析した結果は、窒素飽和した森林域での窒素流出プロセスの研究に大きく貢献するものと思われる。

方 法

サンプリング地点と時期

東経 $140^{\circ} 4.8'$ から $10.2'$ ，北緯 $36^{\circ} 9.8'$ から $15.1'$ にまたがる筑波山周辺の溪流 40 か所 (Fig. 1 の○印) で採水を行った。採水地点より上流の流域の地形特性を，地理情報システム ArcGIS ver. 9.3 ならびに同システム上で TauDEM (Terrain Analysis Using Digital Elevation Models, Tarboton, 1997) を用い，国土地理院基盤地図情報 10 m メッシュの数値標高データから解析した。また，流域の母岩タイプ分けは，吉岡ら (2001) により作成された縮尺 20 万分の 1 地質図を基に行った。各採水地点より上流の流域の地形・地質情報に関しては Table 1 に掲載した。40 か所の集水域の面積の平均は 15.3 ha で，斜面勾配の平均は 23.6° であった。

渓流水のサンプリングは夏季と冬季の 2 回行った。夏

季は 2007 年の 8 月 13 日から 21 日，冬季は 2008 年の 2 月 25 日から 28 日の期間にサンプリングした。採水地域内に位置する (独) 土木研究所裏筑波流出試験地における祖父ヶ峰観測所 (Fig. 1 の☆印) での流量データから，両サンプリング期間ともに低水時に相当すると考えられた (Fig. 2)。採水地域の冬季の降水量は例年夏季の 3 分の 1 以下で，冬季の降水は基本的には降雨によるもので一時的な積雪が見られるにすぎない。

林外雨のサンプリングは渓流水のサンプリング地域内の 3 か所 (Fig.1 の□印) で雨水バルクサンプラーを用いて行った (Takamatsu et al., 2010)。林外雨のサンプリング自体は毎月行っているが，同位体分析を行ったのは，最も西に位置する地点では，2005，2007，2008 年の 3 年間の 8 月と 11 月の計 6 サンプルであり，他の 2 地点においては 2008 年の 8 月と 11 月の 2 サンプルである。

Fig. 1. Map of 40 water sampling sites (○) in forest streams around Mt. Tsukuba (▲). The discharge and precipitation rates were monitored at sites identified by the star symbol. The nitrate concentration and δ -values of nitrate were analyzed in bulk precipitation samples composited for one month during 2005-2008, with total ten samples collected from three sites (□). The contour line interval in the elevation is 20 m.

図 1. 筑波山周辺の渓流水のサンプリング地点 (○)。渓流水の採水は 40 か所で行った。河川流量と降水量の経時的変化は星印の地点でモニターされたデータ。□印の 3 か所で 2005 年から 2008 年にかけて 1 ヶ月間集めた林外雨 (n = 10) の硝酸イオンの濃度と同位体比を測定した。等高線間隔は 20 m に相当する。

Fig. 2. Daily hydrological measurements from 1 June 2007 to 1 April 2008 including summer and winter sampling periods (horizontal bars). The discharge rate (solid curving lines) is plotted against the left y-axis, and precipitation (vertical bars from the top) is plotted against the right y-axis.

図2. 調査地点にほど近い(図1の☆印)水文観測所で観測された2007年6月1日から2008年4月1日までの流量と降水量のハイドログラフ。夏季と冬季のサンプリング期間を太い横バーで示した。

採水と保存および硝酸イオンの濃度と安定同位体比の測定方法

渓流水の採水はポリプロピレン製ボトルによる直接採水後、保冷状態で実験室に持ち帰り速やかにろ過(孔径 $<0.45\mu\text{m}$, メンブレンフィルター)した。ろ液は -20°C で冷凍保存された後、後日解凍して硝酸イオンの濃度と同位体測定用の試料に供した。硝酸イオン濃度はイオンクロマトグラフィー(DX-100, Dionex)により測定し、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度 0.5 から 4.5 mg L^{-1} の範囲における測定精度CVは1%未満($n=3$)であった。硝酸イオンの $\delta^{15}\text{N}$ および $\delta^{18}\text{O}$ の測定は、Granger et al. (2006)の方法で亜硝酸をアスコルビン酸によって除去後、Sigman et al. (2001)および由水・大手(2008)の脱窒菌法に従って分析した。脱窒菌法とは脱窒菌(*Pseudomonas chlorophis*)を用いて硝酸イオンを N_2O ガスに変換し、コールドトラップとGCもしくはガスベンチを使って分離精製後、安定同位体比質量分析計(IRMS)に導入して $\delta^{15}\text{N}$ および $\delta^{18}\text{O}$ を同時測定する方法である。今回はPAL/PreCon/TraceGC/GCC/DeltaV(Thermo Finnigan, Germany)の測定システムで分析した。 $\delta^{15}\text{N}$ は大気窒素ガスを基準として、 $\delta^{18}\text{O}$ はVienna standard mean ocean water(VSMOW)を基準として‰(パーミル)で表わす。測定精度は $\delta^{15}\text{N}$ が ± 0.2 から 0.4‰ 、 $\delta^{18}\text{O}$ が ± 0.5 から 0.7‰ であった。

結果と考察

40地点の渓流水の硝酸イオン濃度($\text{NO}_3\text{-N mg L}^{-1}$)の平均値は夏季冬季ともに 1.7 mg L^{-1} であり、夏季は $0.5-4.3\text{ mg L}^{-1}$ 、冬季は $0.4-4.2\text{ mg L}^{-1}$ の範囲に収まった(Table 1)。Gundersen et al. (2006)は渓流水の硝酸イオン濃度が 1.0 mg L^{-1} 以上で顕著な季節変化のない森林が窒素飽和の進行した森林と定義している。本研究サイト40地点中の10地点で夏季と冬季の硝酸イオンの濃度差が比較的顕著であったが、先述した窒素飽和の定義の前半部(硝酸イオン濃度が 1.0 mgN L^{-1} 以上)を適応した場合、夏季には40地点中の32地点で、冬季には34地点で窒素飽和状態と診断された。一方、硝酸イオンの $\delta^{15}\text{N}$ の夏季の平均値は 2.4‰ 、冬季の平均値は 1.6‰ であり、夏季冬季ともに -0.2 から $+7.4\text{‰}$ の範囲に収まった(Table 1)。この分布域はKendall and McDonnell (1998)により報告されたアメリカでの渓流水の範囲(-2 から $+6\text{‰}$)、およびOhte et al. (2010b)による滋賀県の渓流水での範囲(0 から $+5\text{‰}$)とほぼ重なっていた。また、硝酸イオンの $\delta^{18}\text{O}$ の夏季の平均値は $+4.7\text{‰}$ 、冬季の平均値は $+5.0\text{‰}$ であり、夏季冬季ともに $+1.2$ から $+8.7\text{‰}$ の範囲に収まった(Table 1)。この範囲はKendall and McDonnell (1998)により報告されたアメリカでの渓流水の範囲($+5$ から $+25\text{‰}$)に比べると低めだが、Ohte et al. (2010b)による滋賀県の渓流水での範囲(-2 から

筑波山周辺の渓流水中の硝酸イオンの酸素・窒素安定同位体比による硝酸イオンの生成・混合・消費プロセスの解析

Table 1. Basin characteristics including physiography, geology and stream water quality (pH, ion content, nitrate isotope ratios) in summer and winter.

表 1. 全 40 調査地点の流域の地理・地質情報と夏季と冬季の渓流水中の pH、塩化物イオン濃度および硝酸イオンの濃度と同位体比 ($\delta^{15}\text{N}$, $\delta^{18}\text{O}$).

Symbols used in Figs. 3, 6, 8	Site No. [*]	Site eleva- tion (mASL)	Mean basin physiographic parameters and geological characteristics						Stream water quality												
			Area (ha)	Eleva- tion (mASL)	Slope (°)	Slope Direc- tion (°)	TWI [†]	Primary bedrock geology [§]	Summer					Winter					Summer - Winter		
									pH	[Cl] (mg L ⁻¹)	[NO ₃ -N] (mg L ⁻¹)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	$\delta^{18}\text{O}$ (‰)	pH	[Cl] (mg L ⁻¹)	[NO ₃ -N] (mg L ⁻¹)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	$\delta^{18}\text{O}$ (‰)	$\Delta[\text{NO}_3^- - \text{N}]$ (mg L ⁻¹)	$\Delta\delta^{15}\text{N}$ (‰)	$\Delta\delta^{18}\text{O}$ (‰)
*	1	506	50.0	666.2	24.4	171.6	7.43	GA	7.7	4.3	1.5	5.8	4.0	7.6	4.6	1.9	5.7	3.0	-0.5	0.1	1.0
●	2	474	25.9	673.0	26.7	168.9	7.64	GA	7.6	3.7	1.0	1.7	4.4	7.6	3.9	1.0	1.3	6.7	0.0	0.4	-2.3
●	3	516	5.9	588.8	16.8	156.1	7.11	ME	7.5	3.5	1.3	1.2	4.3	7.5	3.6	1.2	1.1	5.9	0.2	0.1	-1.6
*	4	377	3.9	416.5	23.2	141.6	6.79	GR	7.3	5.3	1.2	1.9	4.5	7.6	5.7	1.7	-0.1	4.3	-0.5	1.9	0.2
●	5	310	4.9	368.3	21.3	102.2	7.44	GR	7.3	5.5	1.4	0.4	3.8	7.3	5.4	1.0	0.2	7.0	0.4	0.2	-3.3
●	6	333	5.5	419.5	19.1	107.4	7.06	ME	7.6	4.6	0.9	1.6	5.4	7.5	4.7	0.7	1.4	7.7	0.2	0.1	-2.2
*	7	472	10.2	657.0	32.7	269.7	6.54	GA	7.6	5.1	2.0	1.4	5.8	7.7	5.2	2.4	1.3	8.7	-0.5	0.1	-2.9
○	8	353	5.6	441.0	23.0	178.8	6.52	other	7.7	4.0	2.1	2.0	2.1	7.6	3.9	2.1	1.5	2.4	-0.1	0.5	-0.3
●	9	238	39.5	384.6	21.4	118.5	7.85	GR	7.4	4.1	0.7	2.7	2.1	7.4	4.2	0.8	1.0	6.9	-0.1	1.8	-4.8
□	10	334	1.9	359.0	23.6	126.6	6	GR	7.3	5.0	2.4	1.1	4.5	7.3	5.3	1.2	1.3	4.6	1.1	-0.2	-0.1
○	11	339	11.1	500.1	30.5	197.6	6.43	GA	7.8	10.3	2.7	1.7	4.1	7.6	10.6	2.8	2.3	4.0	-0.1	-0.7	0.1
*	12	338	9.9	491.7	32.2	252.4	6.69	GA	7.7	8.1	2.6	4.8	7.8	7.7	8.5	3.1	2.1	7.1	-0.5	2.7	0.7
*	13	297	25.6	502.8	29.4	293.2	7.73	GA	7.7	5.3	1.2	4.5	3.3	7.7	5.7	1.9	1.9	3.2	-0.6	2.6	0.2
○	14	235	29.8	418.0	23.9	287.1	7.62	other	7.9	7.3	1.7	3.6	2.7	7.7	7.5	1.7	2.3	4.2	0.1	1.3	-1.5
●	15	249	33.8	325.7	22.6	222.7	7.67	GR	7.2	3.6	0.5	0.0	2.4	7.3	4.2	0.5	1.1	5.7	0.0	-1.1	-3.4
●	16	303	7.3	340.5	26.1	204.4	7.4	GR	7.1	3.9	0.7	2.9	3.3	7.2	3.9	0.8	0.3	4.6	-0.2	2.6	-1.3
●	17	248	8.8	297.9	19.5	217.7	7.66	GR	6.9	4.5	0.5	0.5	4.0	7.3	4.0	0.4	0.6	7.5	0.1	-0.1	-3.5
●	18	397	23.3	552.1	23.7	92.2	7.45	GA	7.5	3.4	0.9	1.3	2.9	7.4	3.4	1.0	1.0	7.8	0.0	0.3	-5.0
○	19	290	5.4	344.8	25.7	139.4	7.11	GR	6.9	5.0	1.5	0.5	4.7	7.2	4.9	1.5	-0.2	6.2	0.1	0.7	-1.5
●	20	243	4.8	296.5	25.4	130.6	7.43	GR	7.4	5.5	1.3	0.1	6.7	7.3	6.0	1.0	0.3	7.0	0.2	-0.2	-0.3
●	21	284	13.2	371.9	20.7	126.5	7.73	GR	7.4	5.7	1.2	1.7	6.6	7.4	5.8	1.1	2.1	6.0	0.1	-0.4	0.6
○	22	390	16.7	522.6	23.4	184.9	6.98	GA	7.6	6.0	1.4	1.6	5.7	7.8	6.0	1.6	2.6	4.9	-0.2	-1.0	0.8
●	23	313	19.8	357.0	21.3	172.9	7.53	GR	7.2	4.5	0.7	1.8	5.0	7.2	4.2	0.7	0.9	4.9	0.1	0.9	0.1
○	24	163	13.6	259.3	24.9	162.2	7.25	ME	7.4	5.1	1.6	1.5	6.5	7.4	4.8	1.4	2.2	7.1	0.2	-0.6	-0.6
○	25	280	4.3	331.6	21.0	146.7	6.36	ME	7.3	4.7	2.3	2.0	6.6	7.4	4.7	2.2	1.9	7.4	0.1	0.2	-0.9
○	26	118	9.3	136.1	23.5	127.3	7.77	GR	7.5	5.5	1.4	2.6	3.1	7.3	5.3	1.5	1.6	2.2	0.0	1.0	0.9
○	27	198	5.9	302.8	22.7	192.4	6.55	ME	7.6	8.8	2.7	3.9	5.1	7.4	9.5	2.7	2.0	3.6	-0.1	1.9	1.4
○	28	206	7.8	348.3	22.6	229.8	6.5	ME	7.6	8.4	2.1	1.7	5.7	7.3	11.1	1.8	1.6	3.7	0.2	0.0	2.1
*	29	253	3.4	321.7	26.4	259.8	6.17	ME	6.7	5.1	2.6	3.2	3.8	6.8	5.2	3.0	1.5	1.2	-0.5	1.7	2.6
○	30	269	9.3	382.5	27.0	221.3	6.76	ME	6.5	5.2	2.6	2.1	3.6	7.0	5.4	2.5	1.1	1.9	0.1	1.0	1.6
□	31	252	4.0	316.7	19.2	148.0	6.64	ME	7.1	6.1	2.8	3.0	6.9	7.1	6.3	1.6	2.9	6.3	1.2	0.1	0.6
○	32	220	26.2	327.8	20.4	153.8	7.31	GR	7.5	5.2	1.6	2.8	5.1	7.4	5.5	1.5	2.0	3.9	0.1	0.8	1.2
○	33	210	14.9	315.4	23.2	163.4	7.4	ME	7.5	5.1	1.8	1.9	5.3	7.3	5.4	1.7	1.7	4.5	0.1	0.3	0.8
○	34	205	18.9	318.5	20.9	143.1	7.35	GR	7.5	6.5	2.2	3.1	5.5	7.3	6.8	2.1	2.4	3.5	0.1	0.7	2.0
*	35	66	10.6	167.9	24.8	103.4	6.83	ME	7.5	6.2	3.6	1.5	5.7	7.4	6.8	4.2	1.4	3.0	-0.6	0.0	2.7
○	36	56	3.9	135.6	23.5	69.2	6.48	ME	7.5	7.5	4.3	1.6	5.3	7.5	8.0	4.0	2.0	3.6	0.2	-0.4	1.7
○	37	169	52.4	320.3	24.4	204.9	7.48	ME	7.6	6.5	2.2	3.2	5.3	7.5	6.8	2.2	2.1	5.2	0.0	1.1	0.1
*	38	122	22.8	240.8	25.5	246.2	7.32	ME	7.6	11.5	0.5	7.4	3.8	7.4	11.7	1.3	2.2	2.6	-0.7	5.2	1.2
●	39	79	20.7	212.4	18.8	153.9	7.76	ME	7.5	5.6	1.3	4.3	3.6	7.5	8.2	1.2	2.7	3.6	0.2	1.6	0.1
○	40	132	22.1	237.2	20.2	115.3	7.42	ME	7.1	6.7	2.1	4.3	6.2	7.4	7.2	2.1	2.4	5.1	0.0	1.9	1.2

*Site No. relates to the number beside the circle on the sampling map (Fig. 1). [†] TWI was the topographic wetness index calculated by $\ln(a/\tan\beta)$ where “ $\tan\beta$ ” is slope and “ a ” is drainage area per unit contour length. [§] The four kinds of bedrock are GR: granite, GA: gabbro, ME: metamorphic rock, and other.

Fig. 3. Relationship between winter nitrate concentration ($[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{winter}}$) and the change in nitrate concentration from summer to winter ($\Delta[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer-winter}}$). The nitrate concentration characteristics at the 40 sampling sites are classified into four groups in this diagram. Group 1 (●) has low $[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{winter}}$ ($< 1.2 \text{ mg L}^{-1}$) and the $\Delta[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer-winter}}$ is almost 0 mg L^{-1} ; Group 2 (○) has moderate to high $[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{winter}}$ ($> 1.2 \text{ mg L}^{-1}$) and the $\Delta[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer-winter}}$ is almost 0 mg L^{-1} ; Group 3 (*) has moderate to high $[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{winter}}$ ($> 1.2 \text{ mg L}^{-1}$) and the $\Delta[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer-winter}}$ is below -0.45 mg L^{-1} ; and Group 4 (□) has moderate $[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{winter}}$ ($1.2\text{-}2.0 \text{ mg L}^{-1}$) and the $\Delta[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer-winter}}$ greater than 1.0 mg L^{-1} . The same classification system and symbols are also used in Table 1, and Figures 4, 6, and 8.

図 3. 冬季の硝酸イオンの濃度 ($[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{winter}}$) と夏季と冬季の濃度差 ($\Delta[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer-winter}}$) の関係。この関係を基に全調査地点 ($n = 40$) を 4 グループに分割した。グループ 1 (●) は $[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{winter}}$ が $< 1.2 \text{ mg L}^{-1}$ と低く、 $\Delta[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer-winter}}$ が 0 mg L^{-1} 付近、グループ 2 (○) は $[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{winter}}$ が $> 1.2 \text{ mg L}^{-1}$ と比較的高く、 $\Delta[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer-winter}}$ が 0 mg L^{-1} 付近、グループ 3 (*) は $[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{winter}}$ が $> 1.2 \text{ mg L}^{-1}$ と比較的高く、 $\Delta[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer-winter}}$ が $< -0.45 \text{ mg L}^{-1}$ と低いグループ、グループ 4 (□) は $[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{winter}}$ が 1.2 から 2.0 mg L^{-1} と中程度で $\Delta[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer-winter}}$ が $> 1.0 \text{ mg L}^{-1}$ と高いグループであった。この分割の方法および各グループのシンボルマークは表 1、図 4、6、8 においても共通である。

+12%) とはほぼ重なっていた。

硝酸イオンの濃度特性に基づくグループ分け

夏季と冬季の硝酸イオンの濃度差 ($\Delta[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer-winter}}$) と冬季の濃度 ($[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{winter}}$) から、40 地点の渓流水の水質を大きく 4 つのグループに分けることができた (Fig. 3)。すなわち、濃度が低く、季節間差も小さいグループ 1 (●, $n = 13$) $[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{winter}} < 1.2 \text{ mg L}^{-1}$ かつ $-0.3 \text{ mg L}^{-1} < \Delta[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer-winter}} < 0.4 \text{ mg L}^{-1}$ 、濃度は低くないが、季節間差は小さいグループ 2 (○, $n = 17$) $[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{winter}} > 1.2 \text{ mg L}^{-1}$ かつ $-0.3 \text{ mg L}^{-1} < \Delta[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer-winter}} < 0.4 \text{ mg L}^{-1}$ 、濃度は低くないが、夏季に濃度が低下するグループ 3 (*, $n = 8$) $[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{winter}} > 1.2 \text{ mg L}^{-1}$ かつ $\Delta[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer-winter}} < -0.4 \text{ mg L}^{-1}$ 、濃度は低くないが、冬季に濃度が低下するグループ 4 (□, $n = 2$) $[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{winter}} > 1.2 \text{ mg L}^{-1}$ かつ $\Delta[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer-winter}} > 1.2 \text{ mg L}^{-1}$ の 4 グループである。

低水時の採水とはいえ、夏季冬季各 1 回のサンプリングであるため、その代表性に関して不明であるが、上記のような夏季と冬季の硝酸イオンの濃度特性が安定した流域特性であるとすれば、 $\Delta[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer-winter}}$ は硝酸イ

オンの生成活性と消費活性の季節間差を反映していると考えられる。すなわち、 $\Delta[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer-winter}}$ が正の値の場合、夏季に硝酸イオン濃度が上昇することから、冬季に比べ硝酸イオンの生成活性が消費活性を大きく上回っていることを示している。逆に $\Delta[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer-winter}}$ が負の値の場合、夏季に硝酸イオン濃度が減少することから、硝酸イオンの生成活性は消費活性を冬季ほど大きく上回っていないことを示している。硝酸イオンの生成活性と消費活性のバランスに関するこうした定性的な側面を Fig. 3 で分けたグループごとの特性として Fig. 4 の模式図にまとめた。ただし、話を単純化するため、このスキームには雨水の混合による希釈の効果を入れてはいない。また、硝酸イオンの生成・消費プロセスは地温の影響を強く受ける (Grenon et al., 2004; Szukics et al., 2010)。硝化や無機化速度などの多くは Q10 (地温が 10°C 上昇すると反応速度が何倍になるかの指標) が 2 付近と考えられているが、Abdalla et al. (2009) によれば脱窒反応の Q10 は 1.7 から 9.3 程度の報告例がある。いずれにしても、硝酸イオンの生成・消費プロセスは冬季には低下すると予想されることから、Fig. 4 の模式図でもそれを

Fig. 4. Schematic diagram relating $\Delta[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer-winter}}$, $\Delta\delta^{15}\text{N}_{\text{summer-winter}}$ and $\Delta\delta^{18}\text{O}_{\text{summer-winter}}$ using the seasonal shift in the balance between nitrate production and consumption rates. The nitrate concentration was assumed to be a steady state without annual changes despite the significant seasonal changes. To simplify the comparison, direct inflows of nitrate from bulk precipitation were not considered. Groups 1-4 correspond to those described in Figure 3.

図 4. $\Delta[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer-winter}}$ が夏季から冬季への硝酸イオンの $\delta^{15}\text{N}$ や $\delta^{18}\text{O}$ の増減にどのように結びつくかを硝酸イオンの生成・消費活性の季節変化の違いを用いて示した概念図。地下帯水層中の硝酸イオン濃度は季節変動するが、年々変動は無く定常状態にあると仮定している。また、概念を単純化するため雨水由来の硝酸イオンの地下帯水層への直接流入はここでは考慮していない。グループ 1 から 4 の分け方は図 3 にならった。

踏まえた。

硝酸イオンの濃度特性と同位体特性の関係(概念モデル)

硝酸イオンの $\delta^{18}\text{O}$ と $\delta^{15}\text{N}$ は硝酸イオンの起源解析に有効であるが、硝酸イオンの消費プロセスである脱窒や微生物による同化の過程において同位体分別の存在することが示されている (木庭, 2008)。こうした同位体分別を伴うプロセスの影響を強く受けた硝酸イオンの $\delta^{18}\text{O}$ と $\delta^{15}\text{N}$ は起源の同位体比より高くなることが知られている (Kendall and McDonnell, 1998)。一方、硝酸イオンの生成プロセスである硝化過程においては、窒素の同位体分別は小さく、土壌中の硝酸イオンの $\delta^{15}\text{N}$ は地上植物体もしくは土壌表層有機物のそれに近い 0‰ 付近かそれ以下の低い値をとるとの報告がある (Koba et al., 2003)。硝化により生成される硝酸イオンの $\delta^{18}\text{O}$ に関して言えば、筑波山周辺に降る雨 (H_2O) の $\delta^{18}\text{O}$ は

Mizota & Kusakabe (1994) からは -9‰ 程度と推測され、大気中の酸素 (O_2) の $\delta^{18}\text{O}$ は +23‰ なので、Barnes et al. (2008) も仮定している硝酸イオンの 3 つの O の 2 つが水由来で残りが O_2 由来だとすれば、硝酸イオンの $\delta^{18}\text{O}$ は、 $23 \times 1/3 + (-9) \times 2/3 = 1.7\text{‰}$ となる。この値は 40 地点夏季冬季を通しての最低値 (+1.2‰) に近い値となっていることから、硝酸イオンの生成プロセスでは $\delta^{18}\text{O}$, $\delta^{15}\text{N}$ とともに低い硝酸イオンが供給されると考えられる。 $\delta^{18}\text{O}$, $\delta^{15}\text{N}$ を上昇させやすい硝酸イオンの消費プロセスと逆に低下させる傾向にある生成プロセスを Fig. 4 の概念図にあてはめるとすれば、 $\Delta[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer-winter}}$ のマイナスの地点では硝酸イオンの $\delta^{18}\text{O}$, $\delta^{15}\text{N}$ は夏季に上昇しやすく、冬季に低下しやすいと予想された。一方、 $\Delta[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer-winter}}$ のプラスの地点では硝酸イオンの $\delta^{18}\text{O}$, $\delta^{15}\text{N}$ は夏季に低下しやすいと考えられた。 $\Delta[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer-winter}}$ と夏季と冬季の同位体比の

差 ($\Delta\delta^{15}\text{N}_{\text{summer-winter}}$, $\Delta\delta^{18}\text{O}_{\text{summer-winter}}$) の関係性を、雨水由来の硝酸イオンの流入の影響も入れて Fig. 5 に概念的に整理しまとめた。雨水由来の硝酸イオンの $\delta^{15}\text{N}$ は $0.0 \pm 1.9\text{‰}$ ($n = 10$) と冬季の渓流水の硝酸イオンの $\delta^{15}\text{N}$ $1.6 \pm 1.0\text{‰}$ ($n = 40$) と比較して若干低い程度である。一方、雨水由来の硝酸イオンの $\delta^{18}\text{O}$ は $72.3 \pm 6.6\text{‰}$ ($n = 10$) と冬季の渓流水の硝酸イオンの $\delta^{18}\text{O}$ の $5.0 \pm 1.9\text{‰}$ ($n = 40$) と大きく異なる。従って、雨水由来の硝酸イオンの流入の影響が顕著な場合でも渓流水の硝酸イオンの $\delta^{15}\text{N}$ は若干低下する程度であるのに対して、 $\delta^{18}\text{O}$ は大きく上昇すると予想された。一方、林外雨の硝酸イオンの濃度は $0.25 \pm 0.1 \text{ mgN L}^{-1}$ と冬季の渓流水の硝酸イオンの濃度 $1.74 \pm 0.9 \text{ mgN L}^{-1}$ より有意に低かった。従って、雨水

由来の硝酸イオンの流入が顕著な場合には渓流水の硝酸イオン濃度は希釈され低下すると予想された。夏季と冬季で濃度変化が見られない場合でも、従属栄養的な硝化の寄与が夏季と冬季で変化する場合には、硝酸イオンの $\delta^{18}\text{O}$ が変化する可能性がある。従属栄養的な硝化反応では有機物中の $\delta^{18}\text{O}$ の高い酸素分子が硝酸イオンに取り込まれやすいと考えられており (Mayer et al., 2001), 独立栄養の硝化の場合に比べて生成される硝酸イオンの $\delta^{18}\text{O}$ が高くなる可能性が指摘されている (Mayer et al., 2001; Spoelstra et al., 2007)。他にも土壌水や土壌間隙の O_2 ガスの $\delta^{18}\text{O}$ が夏季と冬季で大きく異なる場合も生成される硝酸イオンの $\delta^{18}\text{O}$ を変える可能性はあるが (Mayer et al., 2001; Spoelstra et al., 2007), このスキーム

Fig. 5. Schematic figures show the direction of nitrate consumption and production processes and precipitation derived nitrate inflows on the figures showing the relationships between $\Delta[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer-winter}}$ vs. $\Delta\delta^{15}\text{N}_{\text{summer-winter}}$ (upper) and $\Delta[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer-winter}}$ vs. $\Delta\delta^{18}\text{O}_{\text{summer-winter}}$ (lower). The nitrate production and consumption rate increase during summer, while the contribution of nitrate from precipitation increases in winter. For the contribution of heterotrophic nitrification in the lower diagram, arrows circled by broken lines were used to indicate the uncertainties in its seasonality and the degree of $\delta^{18}\text{O}$ enrichment.

図 5. 夏季に増大すると考えられる硝酸イオンの生成・消費活性と冬季に増大すると予想される雨水由来の硝酸イオンの流入が $\Delta[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer-winter}}$ vs. $\Delta\delta^{15}\text{N}_{\text{summer-winter}}$ (上図) や $[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer-winter}}$ vs. $\Delta\delta^{18}\text{O}_{\text{summer-winter}}$ (下図) においてどのように作用するかの作用方向を矢印で示した概念図。下図に示した従属栄養硝化の寄与に関しては、森林では重要な硝化プロセスではあるが、夏季冬季で大きな変化があるとの報告は無く、 $\delta^{18}\text{O}$ への影響も仮説の域を出ないが、もし夏季に高くなればという条件付きとの意味で、点線で囲った矢印で示した。

で硝酸イオンの生成・消費・混合に関わる各種プロセスが夏季と冬季の硝酸イオンの濃度および同位体変化にどのように影響をするかを Fig. 5 にまとめた。

硝酸イオンの濃度特性と同位体特性の関係（概念モデルと実データとの比較）

Fig. 4 や Fig. 5 といった概念的なモデルは実データによって検証されなければならない。実データを Fig. 5 と同じ軸上でプロットした Fig. 6 と比較することで以下のような事実が明らかとなった。

$\Delta\delta^{15}\text{N}_{\text{summer-winter}}$ と $\Delta[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer-winter}}$ との関係について (Fig. 6 上図)

$\Delta\delta^{15}\text{N}_{\text{summer-winter}}$ が $\Delta[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer-winter}}$ と有意な負の相関を示し、大きくはモデルによって予想された傾向と一致したと言えた。 $\Delta\delta^{15}\text{N}_{\text{summer-winter}}$ が大きくプラスになる地点が、硝酸イオンの消費プロセスの影響が夏季に顕著になる $\Delta[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer-winter}}$ がマイナスの領域に集中していたからと考えられる。しかしながら、 $\Delta[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer-winter}}$ がマイナスであるにも拘らず、 $\Delta\delta^{15}\text{N}_{\text{summer-winter}}$ が 0‰ 付近の地点が見られたケースや、 $\Delta[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer-winter}}$ が大きくプラスになるグループ 4 の $\Delta\delta^{15}\text{N}_{\text{summer-winter}}$ がマイナスにならず 0‰ 付近であったケースはモデルからの予測結果と異なっていた。前者の矛盾の見られた理由としては、脱窒、植物、微生物による硝酸イオンの吸収といった硝酸イオンの消費プロセスの見かけの同位体分別が小さかった可能性がある。Houlton et al. (2006) も野外でのこうした消費プロセスの窒素同位体分別が実験結果のものより小さくなることを報告している。こうした小さな同位体分別は硝酸イオンの消費活性が硝酸イオンの拡散律速下にあるような場合にみられることから、そうした状況が前者のようなケースでは支配的であった可能性がある。グループ 4 の $\Delta\delta^{15}\text{N}_{\text{summer-winter}}$ がマイナスにならず 0‰ 付近であったケースに関しては、概念図 Fig. 4 の右下の冬季の net nitrification が小さい場合に $\Delta\delta^{15}\text{N}_{\text{summer-winter}}$ が上昇しなかった可能性がある。冬季の硝酸イオンの消費活性は小さいと考えられ、生成活性と比べて小さくなかったとしても、地下帯水層の硝酸イオンプールの同位体比を上昇させるほどではなかった可能性が考えられる。

$\Delta\delta^{18}\text{O}_{\text{summer-winter}}$ と $\Delta[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer-winter}}$ との関係について (Fig. 6 下図)

冬季の硝酸イオン濃度の低いグループ 1 の地点が原点周辺から下方向へと広がったのは、雨水由来の硝酸イオンの影響によるものと思われ、その点ではモデルによ

て予想された傾向と一致したように見える。しかしながら、 $\Delta[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer-winter}}$ がマイナスの領域で $\Delta\delta^{18}\text{O}_{\text{summer-winter}}$ は $\Delta\delta^{15}\text{N}_{\text{summer-winter}}$ のように高い値のものが集中する傾向は無く、グループ 1 を除外したとしても $\Delta\delta^{18}\text{O}_{\text{summer-winter}}$ と $\Delta[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer-winter}}$ の間には有意な負の相関は見られなかった。ただ、雨水由来の硝酸イオンの影響を受けやすいグループ 1 とグループ 3 の site No.7 を除外すれば、 $\Delta[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer-winter}}$ がマイナスの領域では $\Delta\delta^{18}\text{O}_{\text{summer-winter}}$ は 0‰ 付近から +3‰ 程度の値をとることから、硝酸イオンの消費プロセスでの同位体分別は窒素の場合にくらべて小さいものの存在する可能性が高いことが分かった。グループ 4 の $\Delta\delta^{18}\text{O}_{\text{summer-winter}}$ がマイナスにならず 0‰ 付近であったケースに関しては、先述した $\Delta\delta^{15}\text{N}_{\text{summer-winter}}$ がマイナスにならず 0‰ 付近であった理由と同じと考えている。

Fig. 6. Relationships between $\Delta[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer-winter}}$ and $\Delta\delta^{15}\text{N}_{\text{summer-winter}}$ (upper figure); and $[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer-winter}}$ and $\Delta\delta^{18}\text{O}_{\text{summer-winter}}$ (lower figure) in 40 mountain streams. Symbols correspond to those described in Fig. 3. The significant correlation coefficient for the upper figure is shown in the upper right corner.

図 6. 40 地点の渓流水における $\Delta[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer-winter}}$ と $\Delta\delta^{15}\text{N}_{\text{summer-winter}}$ の関係 (上図) および $[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer-winter}}$ と $\Delta\delta^{18}\text{O}_{\text{summer-winter}}$ の関係 (下図). シンボルマークは図 3 と同じ. 有意な負の相関の得られた上図に関しては、右上に相関係数を示した。

雨水由来の硝酸イオンの影響下での硝酸イオンの濃度と $\delta^{18}\text{O}$ との関係

冬季には地温が低下し、降水量が少なく土壌表層も乾燥するため、微生物活性が一般的に低くなり有機物分解速度や硝化活性が低下すると推測される。また夏季には雨水の流入があったとしてもすぐに微生物に取り込まれ不動化されるのに対し、冬季には雨水由来の硝酸イオンが取り込まれにくくなっていると考えられる。そこで、冬季には雨水由来の硝酸イオンがほとんど不動化されずに地下帯水層の硝酸イオンと混合し渓流水中に流出するという仮定を置いた場合の混合モデルの結果を Fig. 7 に示した。混合前の地下帯水層の硝酸イオンの濃度 ($[\text{NO}_3]_{\text{before mixing}}$) は夏季のデータを参考に 0.5 mgN L^{-1} から 4.5 mgN L^{-1} 程度ばらつかせ、そこに {地下帯水層の水の体積} : {流入雨水の体積} = $(100 - X) : X$ の体積比で混合後、流出した場合の硝酸イオンの濃度と $\delta^{18}\text{O}$ および $\Delta\delta^{18}\text{O}$ の関係を $X = 0, 10, 15, 20\%$ の4通りに分けて Fig. 7 に示した。単純な仮定を置いた場合の混合体積比をできるだけ正確に見積もるため、混合体積比 X を最大に見積もる場合と最小に見積もる場合の2通りのエンドメンバーの $\delta^{18}\text{O}$ の組み合わせで示した。雨水由来の硝酸イオンの寄与率は $\Delta\delta^{18}\text{O}_{\text{before-after mixing}}$ が低くなるほど高く、 $\delta^{18}\text{O}_{\text{after mixing}}$ が高くなるほど高くなる。硝酸イオンの量としての雨水由来の硝酸イオンの寄与率は下記の計算式で求めることができ、グループ1の大きく $\delta^{18}\text{O}$ が冬季に上昇した地点に関しても、数%から10%未満であることが分かる。

雨水由来の硝酸イオンの寄与率 %

$$= \Delta\delta^{18}\text{O}_{\text{before-after mixing}} / \{\delta^{18}\text{O}_{\text{before mixing}} - \delta^{18}\text{O}_{\text{precipitation}}\} \times 100$$

Fig. 7 の混合モデルの仮定が正しければ、 $\Delta\delta^{18}\text{O}_{\text{summer-winter}}$ が大きくマイナス (-2‰ 以下) となったグループ1の地点では (Fig. 7 の灰色塗りつぶし領域)、体積比で10から20%の雨水が浸透した結果、硝酸イオンの量としては2.4から8.2%程度の雨水由来の硝酸イオンが混合し、渓流水として流出したと推測された。2.4から8.2%という雨水由来の硝酸イオンの寄与率の推定値は、低水時ではない日本の奈良県の人工林での報告値23から34% (Tobari et al., 2010)、アメリカ NY 州の広葉樹林での融雪時の報告値10から47% (Goodale et al., 2009)、同じくアメリカ VT 州の針広混交林での融雪時の報告値50% (Sebestyen et al., 2008) に比べると低めであった。一方、Goodale et al. (2009) は非融雪時には雨水由来の硝酸イオンの寄与率は8%以下に低下し、Sebestyen et al. (2008) も融雪前の冬季には寄与率は7%程度であっ

たと報告している。このことから、今回得られた雨水由来の硝酸イオンの低めの寄与率は融雪時でない低水時のサンプリングによるところが大きいと考えられた。Fig. 7 に示した混合モデルの結果から、雨水由来の硝酸イオンが流入した時の濃度と $\delta^{18}\text{O}$ の変化は以下の特徴を備えていると思われる。

特徴1) $[\text{NO}_3]_{\text{before mixing}}$ が低い場合ほど、少量の雨水の流入で地下帯水層の硝酸イオンの $\delta^{18}\text{O}$ は大きく上昇する。

特徴2) $[\text{NO}_3]_{\text{before mixing}}$ が高い場合には、多量の雨水が流入したとしても地下帯水層の硝酸イオンの $\delta^{18}\text{O}$ は大きく上昇することはない。

特徴3) $[\text{NO}_3]_{\text{before mixing}}$ の低い場合には、雨水流入による濃度変化自体も小さく、 $\Delta[\text{NO}_3]_{\text{before-after mixing}}$ はゼロに近いプラスの値をとる。

こうした特徴は、たとえ雨水由来の硝酸イオンの一部が不動化され、林外雨の硝酸イオンの濃度より低い浸透水が地下帯水層へ流入していたとしても変わらない特徴である。実データをみても冬季に雨水由来の硝酸イオンの寄与が高いことの必要条件となる $\Delta\delta^{18}\text{O}_{\text{summer-winter}}$ が大きくマイナス (-2‰ 以下) となり、 $\delta^{18}\text{O}_{\text{winter}}$ が高い値をとる地点は、site No.7を除けばすべて、夏季冬季ともに硝酸イオン濃度の低いグループ1の地点であった事実 (Fig. 6 下図, Fig. 8a, 8b) は特徴1を反映していると思われる。さらに、 $\Delta\delta^{18}\text{O}_{\text{summer-winter}}$ が大きくマイナスとなるグループ1の地点では、 $\Delta[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer-winter}}$ がゼロ付近のものが多く (Fig. 6 下図)、特徴3を備えていると考えられた。Fig. 8c に夏季の硝酸イオンの濃度と $\delta^{18}\text{O}$ の関係を示したが、冬季とは逆の濃度と $\delta^{18}\text{O}$ の間に正の相関がみられ、グループ1においても夏季には雨水由来の硝酸イオンの流入時の特徴が全くみられないことは明らかである。Barnes et al. (2008) も議論しているように、冬季には土壌中での硝化活性の低下と微生物や植物による硝酸イオンの吸収活性の低下という2つの理由で、冬季には雨水由来の硝酸イオンが渓流水へと流出しているのが検出されたのではないかと考えられた。しかしながら、筑波山周辺は Barnes et al. (2008) の調査と異なり夏季に比べ冬季は降水量自体が大きく低下するため (Fig. 2 の日降水量変化を参照)、雨水由来の硝酸イオンが夏季ではなく冬季に検出される結果は一見矛盾したように感じられる。この不一致を説明するメカニズムとしては、1) 地下帯水層の水の滞留時間が十分長い場合、地温が低下する秋遅くの比較的降水量の多い時期の雨水由来の硝酸イオンが冬季の渓流水で検出された可能性、2) 雨水由

Fig. 7. Calculated two source mixing line, whose end members are precipitation derived nitrate and nitrate produced via nitrification. Once the $\delta^{18}\text{O}$ value and concentration of the nitrate for the two end members were fixed, single mixing curves were obtained on the $\delta^{18}\text{O}$ vs. concentration plot. Because there appeared to be a large variation in the concentration of nitrate produced via nitrification, this value was not fixed, but varied from 0.5 to 4.5 N mg L⁻¹. In this situation, a single mixing line was obtained on the $\delta^{18}\text{O}$ vs. concentration diagrams by fixing the degree of mixing. The four mixing lines differed in the degree of nitrate derived from precipitation (0%, 10%, 15%, 20% by volume) and are shown on the $\delta^{18}\text{O}_{\text{after mixing}}$ vs. mixed nitrate concentration diagrams (lower diagrams) and on the degree of $\delta^{18}\text{O}$ shift before and after mixing ($\Delta\delta^{18}\text{O}_{\text{before-after mixing}}$) vs. mixed nitrate concentration diagrams (upper diagrams). The left and right hand diagrams differ in the assumption of the $\delta^{18}\text{O}$ values of the two end member nitrate concentrations. The combination of lower $\delta^{18}\text{O}$ values for nitrate derived from precipitation and higher $\delta^{18}\text{O}$ values for nitrate before mixing (left diagrams) result in the maximum contribution of nitrate from precipitation. The two right hand diagrams show the minimum degree of nitrate contribution from precipitation, with the mixing lines showing the combination of the maximum $\delta^{18}\text{O}$ values for nitrate derived from precipitation and minimum $\delta^{18}\text{O}$ values for nitrate before mixing. In all diagrams, the concentration of nitrate derived from precipitation was assumed to be 0.246 NO₃-N mg L⁻¹, which was the average nitrate concentration in the bulk precipitation samples (n = 10). Shaded squares whose area corresponds to the distribution area of the large filled circles in Figure 8 were overlaid on each figure to understand the degree of nitrate contribution from precipitation at sites belonging to Group 1 (●) as defined by Figure 3.

図 7. 雨水由来の硝酸イオンと硝化により生成された硝酸イオンの 2 ソース混合ライン。二つの端成分である硝酸イオンの濃度と同位体比 ($\delta^{18}\text{O}$) が決まれば、混合ラインは濃度と $\delta^{18}\text{O}$ の二軸プロット上で一つのラインとして描くことが可能である。本調査地では硝化により生成された硝酸イオンの濃度が流域間で大きく異なると考えられたため、観察された溪流水の硝酸イオンの濃度の幅とほぼ等しい 0.5 から 4.5 NO₃-N mg L⁻¹ で硝化により生成された硝酸イオンの濃度がばらつくとは仮定した上で、二つの端成分の混合割合 (体積比) を 0, 10, 15, 20% の 4 通りで変化させた時に得られる混合ラインを示した。下 2 つの図は混合後の $\delta^{18}\text{O}$ ($\delta^{18}\text{O}_{\text{after mixing}}$) を混合後の濃度 ($[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{after mixing}}$) に対してプロットした図、上 2 つの図は混合前後での $\delta^{18}\text{O}$ の変化量 ($\Delta\delta^{18}\text{O}_{\text{before-after mixing}}$) を $[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{after mixing}}$ に対してプロットした図。左側は雨水由来の硝酸イオンの $\delta^{18}\text{O}$ の最低値と混合前の硝酸イオンの $\delta^{18}\text{O}$ の最大値 (実際には図 8 の大きい●印の 7 つのサイトうちの夏季の $\delta^{18}\text{O}$ の最大値) で混合ラインを引かせた時、右側は雨水由来の硝酸イオンの $\delta^{18}\text{O}$ の最大値と混合前の硝酸イオンの $\delta^{18}\text{O}$ の最低値 (実際には夏季冬季を通じての $\delta^{18}\text{O}$ の最低値) で混合ラインを引かせた時、にそれぞれ得られる混合ラインである。 $[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{after mixing}}$, $\delta^{18}\text{O}_{\text{after mixing}}$, $\Delta\delta^{18}\text{O}_{\text{before-after mixing}}$ が同じである時、雨水由来の硝酸イオンの寄与率は左側の図で最大に、右側の図で最小に見積もられると考えられる。すべての混合ラインの算出に際して、雨水由来の硝酸イオンの濃度は 0.246 NO₃-N mg L⁻¹ で一定とした。この値は、筑波山周辺で集めた林外雨の硝酸イオンのデータ (n = 10) の平均値と等しい。各図中にグレーで薄く塗りつぶした領域は、雨水由来の硝酸イオンの寄与が顕著であると考えられる図 8 の大きい●印の 7 つのサイトの図 8 での大よその分布域を写し取ったものである。実際の筑波山周辺における雨水由来の硝酸イオンの寄与率の最大がどの程度かの理解の助けになるよう示した。

Fig. 8. Relationships between: $\Delta\delta^{18}\text{O}_{\text{summer-winter}}$ and $[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{winter}}$ (Fig. 8a); $\delta^{18}\text{O}_{\text{winter}}$ and $[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{winter}}$ (Fig. 8b); and $\delta^{18}\text{O}_{\text{summer}}$ and $[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer}}$ (Fig. 8c). Significant correlations were found for Figs. 8a, 8b, and 8c. The symbols correspond to those described in Fig. 3. Sites with $[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{winter}} < 1.2 \text{ mg L}^{-1}$ and $\Delta\delta^{18}\text{O}_{\text{summer-winter}} < -2\text{‰}$ are considered to be substantially affected by nitrate derived from precipitation, so these sites were identified by large filled circles.

図8. $\Delta\delta^{18}\text{O}_{\text{summer-winter}}$ と $[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{winter}}$ (図8a)および $\delta^{18}\text{O}_{\text{winter}}$ と $[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{winter}}$ (図8b)および $\delta^{18}\text{O}_{\text{summer}}$ と $[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{summer}}$ (図8c)の関係。すべての図で有意な相関がみられた。シンボルマークは図3と同じ。ただし、 $[\text{NO}_3\text{-N}]_{\text{winter}}$ が小さく、 $\Delta\delta^{18}\text{O}_{\text{summer-winter}} < -2\text{‰}$ の地点では冬季に雨水由来の硝酸イオンの寄与が顕著であると考えられることから、それらのシンボルマークは大きい●印で区別した。

来の硝酸イオンが土壤中で微生物によって不動化される活性が夏季から冬季にかけて著しく低下し、結果的に地下帯水層へ浸透した雨水由来の硝酸イオンの量が冬季の方が多かった可能性を挙げることができる。いずれにしても、雨水由来の硝酸イオンが土壤中に浸透する過程で起きる微生物による不動化活性が地温の低下に伴い低下すること無しに、雨水由来の硝酸イオンの寄与が冬季に上昇することはないものと思われる。

硝酸イオンの濃度、同位体比と流域の地形・地質情報との関係性

渓流水中の硝酸イオンの濃度と同位体比が流域の面積や平均標高、平均勾配、TwI (地形的な湿潤指標)、母岩タイプと相関するか否かを解析することで、森林生態系から渓流水へと排出される硝酸イオンの生成・消費プロセスに地形・地質因子がどのように影響を与えるか知ることができる。渓流水中の硝酸イオンの濃度と同位体比に直接影響を与えるプロセスとしては雨水由来の硝酸

イオンの流出以外に、流域土壤中での硝酸イオンの生成・消費プロセス (硝化活性や脱窒活性、硝酸イオンの植物や微生物による吸収) があり、硝酸イオンの濃度や同位体比の季節変化を支配する要因としては上記プロセスの季節変化に加えて地下帯水層での滞留時間が重要と考えられる。こうした直接の環境因子は流域の地形・地質パラメーターと関連することも多く、今回有意に相関すると判断された地形・地質パラメーターとの組み合わせに関して説明を試みた (Table 2)。

1) 硝酸イオンの濃度に影響する地形・地質パラメーター：硝酸イオンの冬季の濃度は斜面勾配と正の相関を示し、夏季-冬季の濃度差は斜面勾配と負の相関を示した。こうした傾向は濃度特性で分類したグループ1の斜面勾配が $21.8 \pm 3.0^\circ$ と低いのにに対し、グループ2と3の斜面勾配がそれぞれ $23.6 \pm 2.6^\circ$ と $27.3 \pm 3.6^\circ$ と有意に高くなることから支持される。夏季冬季ともに濃度の低いグループ1の地点が斜面勾配の緩い流域に多かった理由としては、水の滞留時間の長くなりやすい緩斜

Table 2. Results of ANOVA and correlation analysis between isotope ratios, forest stream nitrate contents, and physiographic and geological parameters.

表 2. 渓流水中の硝酸イオンの濃度と同位体比 ($\delta^{15}\text{N}$, $\delta^{18}\text{O}$) と流域の地形・地質パラメーターとの相関分析および分散分析の結果

Basin physiographic and geological parameters	Area (ha)	Elevation (mASL)	Slope ($^{\circ}$)	Topographic wetness index	Bedrock geology [§]
$\text{NO}_3\text{-N}$ (ppm)	Summer	n.s.	n.s.	-0.68 ^{***}	ME > GR
	Winter	n.s.	n.s.	-0.60 ^{***}	ME > GR
	Summer-Winter	n.s.	n.s.	-0.51 ^{***}	n.s.
$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	Summer	0.40 ^{**} (0.56 ^{***}) [‡]	n.s.	n.s.	n.s.
	Winter	0.47 ^{**} (n.s.) [‡]	n.s.	n.s.	ME, GA > GR
	Summer-Winter	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
$\delta^{18}\text{O}$ (‰)	Summer	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	Winter	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	Summer-Winter	n.s.	-0.38 [*]	-0.38 [*]	n.s.

The statistical significance of the correlation coefficients were expressed as follows; n.s. (not significant): $p > 0.05$; $0.01 < p^* < 0.05$; $0.001 < p^{**} < 0.01$; $p^{***} < 0.001$. [§] The combination of two soil types based on four bedrock materials (GR: granite, GA: gabbro, ME: metamorphic rock, other) with significant differences ($p < 0.05$) determined by Tukey's HSD test. [‡] The correlation coefficients excluded anomalous data obtained at site No.1.

面では微生物や植物により硝酸イオンが不動化されやすく、常に低い濃度に保たれている可能性が考えられた。硝酸イオンの夏季と冬季の濃度が TWI と強い負の相関を示した理由も同様のメカニズムが働いたと考えられる。TWI (地形的な湿潤指標) は流域の土壌の湿潤分布状態を示す指標とされ、斜面勾配と逆相関し、流域内における雨水の直接流出に貢献する面積指標となる流出寄与域と相関する。TWI が高ければ高いほど、流域は斜面下部や溪畔域の勾配が緩やかで土壌が湿潤状態にあると推測される。TWI の高い流域では水の滞留時間の長くなりやすく、硝酸イオンの消費活性が高く常に低い濃度に保たれていた可能性が高い。夏季冬季ともに硝酸イオン濃度の低いグループ 1 の TWI が 7.5 ± 0.2 と高いのに対し、グループ 2 と 3 の TWI がそれぞれ 7.0 ± 0.5 と 6.9 ± 0.5 と有意に低くなったことからこの考えが支持される。花崗岩質の流域は変成岩質の流域に比べて夏季および冬季の硝酸イオンの濃度が有意に低かった。石灰岩河川では頁岩や砂岩を母岩とする河川に比べて硝酸イオン濃度が高いことが報告されている (Williard et al., 2005)。今回、花崗岩質の流域で硝酸イオンの濃度が低かった理由は分からないが、土壌の浸透性の違いや地上植生の違いによるものなどさまざまな要因が影響していると考えられる (Gundersen et al., 2006)。

2) 硝酸イオンの $\delta^{15}\text{N}$ に影響する地形・地質パラメーター：夏季、冬季ともに硝酸イオンの $\delta^{15}\text{N}$ は流域面積と正の相関を示した。しかしながら、site No.1 の 1 地点

を除けば、冬季に関してはすべての地点で $\delta^{15}\text{N}$ は 3‰以下となり、流域面積との相関については夏季に高い正の相関係数 ($r = 0.56$, $n = 39$, $p < 0.001$) が得られるのに対し、冬季には有意な相関は見られなかった (Table 2)。従って、冬季の有意な相関は流域面積が大きく冬季も $\delta^{15}\text{N}$ の低下しなかった site No.1 の特殊性に引っ張られた結果と考えられた。一般に流域面積が増えるほど深く浸透した深層地下水の割合が増えると考えられる (Kalff, 2002)。あくまで推測の域をでないが、夏季には脱窒など同位体分別の大きい硝酸イオンの消費プロセスの影響を受けた深層地下水が流域面積の大きな溪流へと流出するため、夏季の硝酸イオンの $\delta^{15}\text{N}$ を冬季のそれより高くしたのではないかと考えられた。母岩との関係では、冬季に花崗岩地帯で硝酸イオンの $\delta^{15}\text{N}$ が変成岩や斑レイ岩を母岩とする流域に比べて有意に低下した。ただ、夏季においても花崗岩の流域の $\delta^{15}\text{N}$ は平均で他の母岩の流域のそれより 1 ‰程度低くなっており、こうした違いは冬季に特異的なものと考えない方がよいと思われた。夏季にそうした違いが有意差とならなかった理由としては、変成岩や斑レイ岩といった他の母岩の流域で夏季に $\delta^{15}\text{N}$ が 4 ‰以上になる流域があり、同一母岩内のばらつきの大きくなったからと思われた。従って、花崗岩で硝酸イオンの $\delta^{15}\text{N}$ が低くなった原因としては、流域の地上植生の有機態窒素の $\delta^{15}\text{N}$ の違いなどに起因すると考えた方が自然だが、データが無いため今のところ原因不明である。

3) 硝酸イオンの $\delta^{18}\text{O}$ に影響する地形パラメーター： $\Delta\delta^{18}\text{O}_{\text{summer-winter}}$ は流域の平均標高と負の相関を示した。Fig. 5 下図および Fig. 6 下図に関連する議論からも明らかのように、 $\Delta\delta^{18}\text{O}_{\text{summer-winter}}$ を大きく低下させる要因は冬季における雨水由来の硝酸イオンの寄与率の増大である。一般に標高の高い山岳域ほど降水量の多い傾向があり（登坂，2006），こうした標高に伴う冬季の降水量の違いが $\delta^{18}\text{O}$ の高い雨水由来の硝酸イオンの寄与率の違いを生み出した可能性がある。もうひとつの可能性として，平均標高が高い流域では，秋から冬にかけていち早く地温が低下し，微生物活性も早くから低下している可能性があり，晩秋から初冬にかけての比較的規模の大きい降水由来の硝酸イオンが土壌浸透過程で取り込まれにくくなり，雨水由来の硝酸イオンが冬季の溪流へ流出しやすくなったとも考えられる。 $\Delta\delta^{18}\text{O}_{\text{summer-winter}}$ は流域の TWI と負の相関を示した。 $\Delta\delta^{18}\text{O}_{\text{summer-winter}}$ が大きくマイナスとなる地点が集中するグループ 1 の TWI は先述したように他のグループに比べ TWI が有意に高くなることからこうした負の相関がみられたと考えられた。

まとめ

今回 40 地点に及ぶ筑波山周辺の渓流水中の硝酸イオンの濃度と同位体比を夏季と冬季のデータを流域の地形・地質データと合わせて多角的に解析を行った。このような多地点における調査結果を基に森林流域での窒素代謝を多角的に解析した例は我が国ではほとんどなく，今回の結果から，1) 夏季と冬季の硝酸イオンの濃度差からは流域での硝酸イオンの生成と消費活性の季節変化についての知見が得られ，冬季の濃度と夏季冬季の濃度差の特性から 40 流域は 13 流域からなるグループ 1（濃度が低く，季節間差も小さい）と 17 流域からなるグループ 2（濃度は低くないが，季節間差は小さい）と 8 流域からなるグループ 3（濃度は低くないが，夏季に濃度が低下する）と 2 流域からなるグループ 4（濃度は低くないが，冬季に濃度が低下する）の 4 つに大別できた。2) 上記 4 グループごとに硝酸イオンの同位体特性は大きく異なり，グループ 1 では冬季に $\delta^{18}\text{O}$ の大きく上昇する地点が多く，グループ 3 では冬季に $\delta^{15}\text{N}$ ， $\delta^{18}\text{O}$ とともに低下する地点が多かった。3) こうした夏季と冬季の硝酸イオンの濃度差および同位体比の差からは，硝酸イオン濃度の低いグループ 1 で冬季に雨水由来の硝酸イオンの寄与が増大することとグループ 3 では冬季に硝酸イオンの消費活性が大きく低下していることが示唆された。4)

雨水由来の硝酸イオンと地下帯水層中の硝酸イオンが混合した場合の濃度と $\delta^{18}\text{O}$ の挙動を同位体混合モデルで解析した結果，グループ 1 で冬季に見られた濃度および $\delta^{18}\text{O}$ の変化を再現することができ， $\delta^{18}\text{O}$ が冬季に大きく低下したグループ 1 の 7 地点では硝酸イオンの量として 2.4 から 8.2% 程度の雨水由来の硝酸イオンが混合し，渓流水として流出したと推測された。5) 硝酸イオン濃度が低く，冬季に雨水由来の硝酸イオンのシグナルが検出されたグループ 1 の流域の平均勾配は小さく，土壌の湿潤分布状態を示す TWI が高かったことから，水の滞留時間の長い流域ほど硝酸イオンの消費活性が高く，高濃度の硝酸イオンの流出に至っていないこと，の以上の事象が明らかとなった。

今後，さまざまな地形特性の流域で土壌中の硝化活性，河畔での脱窒活性，不動化活性と硝酸イオンの同位体比を深度ごとに重ね合わせることで，森林水文プロセスと深く関連した森林からの窒素流出機構をより詳細に明らかにしていきたいと考えている。

謝 辞

本調査研究を実施するにあたっては，日本学術振興会の科学研究費補助金（No. 21241008 および No. 22780150）より資金援助を受けた。また，独立行政法人土木研究所水工研究グループ水理・水文研究チームから裏筑波流出試験地における流量観測データを提供頂いた。ここに謝意を表します。

文 献

- Abdalla, M., M. Jones, P. Smith and M. Williams (2009): Nitrous oxide fluxes and denitrification sensitivity to temperature in Irish pasture soils. *Soil Use and Management*, 25: 376–388.
- Aber, J. D., K. J. Nadelhoffer, P. A. Steudler and J. M. Melillo (1989): Nitrogen saturation in forest ecosystems. *Bioscience*, 39: 378–386.
- Barnes, R. T., P. A. Raymond and K. L. Casciotti (2008): Dual isotope analyses indicate efficient processing of atmospheric nitrate by forested watersheds in the northeastern U.S. *Biogeochemistry*, 90:15–27.
- Dise N. B. and R. F. Wright (1995): Nitrogen leaching from European forest in relation to nitrogen deposition. *Forest Ecology and Management*, 71: 153–161.

- Durka W., E. D. Schulze, G. Gebauer and S. Voerkelius (1994): Effects of forest decline on uptake and leaching of deposited nitrate determined from ^{15}N and ^{18}O measurements. *Nature*, 372: 765-767.
- Galloway, J. M. and E. B. Cowling (2002): Reactive nitrogen and the world: 200 years of change. *Ambio*, 31: 64-71.
- Goodale, C. L., S. A. Thomas, G. Fredriksen, E. M. Elliott, K. M. Flinn, T. J. Butler and M. T. Walter (2009): Unusual seasonal patterns and inferred processes of nitrogen retention in forested headwaters of the Upper Susquehanna River. *Biogeochemistry*, 93:197 – 218.
- Granger, J., D. M. Sigman, M. G. Prokopenko, M. F. Lehmann and P. D. Tortell (2006): A method for nitrite removal in nitrate N and O isotope analyses. *Limnology and Oceanography, Methods* 4: 205-212.
- Grenon, F., R. L. Bradley and B. D. Titus (2004): Temperature sensitivity of mineral N transformation rates, and heterotrophic nitrification: possible factors controlling the post-disturbance mineral N flush in forest floors. *Soil Biology & Biochemistry*, 36: 1465-1474.
- Gundersen, P., I. K. Schmidt and K. R. Rasmussen (2006): Leaching of nitrate from temperate forests — effects of air pollution and forest management. *Environmental Review*, 14: 1 – 57.
- Houlton, B. Z., D. M. Sigman and L. O. Hedin (2006): Isotopic evidence for large gaseous nitrogen losses from tropical rainforests. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103: 8745-8750.
- Kalff, J. (2002): *Limnology*. Prentice-Hall, Inc., Upper Saddle River.
- Kendall, C., McDonnell J.J. (1998): *Isotope tracers in catchment hydrology*. Elsevier, Tokyo.
- 木庭啓介 (2008): 土壌と河川における微生物学的窒素除去プロセスの評価. 流域環境評価と安定同位体, 永田俊・宮島利宏 (編著): 199-216. 京都大学学術出版, 京都.
- Koba, K., M. Hirobe, L. Koyama, A. Kohzu, N. Tokuchi, J. K. J. Nadelhoffer, E. Wada and H. Takeda (2003): Natural ^{15}N abundance of plants and soil N in a temperate coniferous forest. *Ecosystems*, 6: 457-469.
- 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: 413-419.
- 木平英一・新藤純子・吉岡崇仁・戸田任重 (2006): わが国の渓流水質の広域調査. 日本水文科学会誌, 36: 145-149.
- Mayer, B., S. M. Bollwerk, T. Mansfeldt, B. Hütter and J. Veizer (2001): The oxygen isotope composition of nitrate generated by nitrification in acid forest floors. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 65: 2743-2756.
- Mayer, B., E. Boyer, C. Goodale, N. A. Jaworski, N. V. Breemen, R. W. Howarth, S. Seitzinger, G. Billen, K. Lajtha, K. Naedelhoffer, D. V. Dam, L. J. Hetling, M. Nosal and K. Paustian (2002): Sources of nitrate in rivers draining sixteen watersheds in the northeastern U.S.: Isotopic constraints. *Biogeochemistry*, 57/58: 171-197.
- Mitchell, M. J., G. Iwatsubo, K. Ohruai and Y. Nakagawa (1997): Nitrogen saturation in Japanese forests: an evaluation. *For. Ecol. Manag.*, 97: 39-51.
- Ohte, N., M. J. Mitchell, H. Shibata, N. Tokuchi, H. Toda and G. Iwatsubo (2001): Comparative evaluation on nitrogen saturation of forest catchments in Japan and northeastern United States. *Water Air Soil Pollut.*, 130: 649-54.
- Ohte, N., I. Tayasu, A. Kohzu, C. Yoshimizu, K. Osaka, A. Makabe, K. Koba, N. Yoshida and T. Nagata (2010a): Spatial distribution of nitrate sources of rivers in the Lake Biwa watershed, Japan: Controlling factors revealed by nitrogen and oxygen isotope values. *Water Resource Research*, 46: W07505.
- Ohte N., N. Tokuchi and K. Osaka (2010b): Hydrologic controls on the nitrogen dynamics of forested ecosystems investigated using water and nitrate isotope signatures. In *Earth, Life, and Isotopes*, N. Ohkouchi, I. Tayasu and K. Koba (eds.): 243-262. Kyoto University Press, Kyoto.
- Peterjohn W. T., M. B. Adams and F. S. Gilliam (1996): Symptoms of nitrogen saturation in two central Appalachian hardwood forest ecosystems. *Biogeochemistry*, 35: 507-522.
- Rabalais, N. N. (2002): Nitrogen in aquatic ecosystems. *Ambio*, 31: 102-112.
- Sebestyen, S. D., E. W. Boyer, J. B. Shanley, C. Kendall, D. H. Doctor, G. R. Aiken and N. Ohte (2008): Sources, transformations, and hydrological processes that control stream nitrate and dissolved organic matter concentrations during snowmelt in an upland forest. *Water Resources Research*, 44: W12410.
- Sigman, D. M., K. L. Casciotti, M. Andreani, C. Barford, M. Galanter and J. K. Böhlke (2001): A bacterial method for the nitrogen isotopic analysis of nitrate in seawater and freshwater. *Analytical Chemistry*, 73: 4145-4153.
- Spoelstra, J., S. L. Schiff, P. W. Hazlett, D. S. Jeffries, R.

- G. Semkin (2007): The isotopic composition of nitrate produced from nitrification in a hardwood forest floor. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 71: 3757-3771.
- Szukics, U., G. C. J. Abell, V. Hödl, B. Mitter, A. Sessitsch, E. Hackl, S. Z. Boltenstern (2010): Nitrifiers and denitrifiers respond rapidly to changed moisture and increasing temperature in a pristine forest soil. *FEMS Microbiology Ecology*, 72: 395-406.
- Takamatsu, T., M. Watanabe, M. K. Koshikawa, T. Murata, S. Yamamura and S. Hayashi (2010): Pollution of montane soil with Cu, Zn, As, Sb, Pb, and nitrate in Kanto, Japan. *Sci. Total Environ.*, 408: 1932-1942.
- Tarboton, D. G. (1997): A New Method for the Determination of Flow Directions and Contributing Areas in Grid Digital Elevation Models. *Water Resources Research*, 33(2): 309-319.
- Tobari, Y., K. Koba, K. Fukushima, N. Tokuchi, N. Ohte, R. Tateno, S. Toyoda, T. Yoshioka and N. Yoshida (2010): Contribution of atmospheric nitrate to stream-water nitrate in Japanese coniferous forests revealed by the oxygen isotope ratio of nitrate. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 24: 1281-1286.
- 登坂博行 (2006): 地圏の水環境科学. 東京大学出版, 東京.
- Vitousek, P. M., J. D. Aber, R. W. Howarth, G. E. Likens, P. A. Matson, D. W. Schindler, W. H. Schlesinger and D. G. Tilman (1997): Human alteration of the global nitrogen cycle: Sources and consequences. *Ecological Application*, 7: 737-750.
- Williard, K. W. J., D. R. Dewalle and P. J. Edwards (2005): Influence of bedrock geology and tree species composition on stream nitrate concentrations in mid-appalachian forested watersheds. *Water, Air, and Soil Pollution* 160: 55 – 76.
- 由水千景, 大手信人 (2008): 分析の自動化・高速化 — 硝酸イオン分析を例に — . 流域環境評価と安定同位体, 永田俊・宮島利宏 (編著): 376-387. 京都大学学術出版, 京都.
- 吉岡敏和, 滝沢文教, 高橋雅紀, 宮崎一博, 坂野靖行, 柳沢幸夫, 高橋 浩, 久保和也, 関 陽児, 駒澤正夫, 広島俊男 (2001): 20 万分の 1 地質図幅. 水戸 (第 2 版). 地質調査所, つくば.