科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 元年 6月24日現在

機関番号: 82111

研究種目: 挑戦的萌芽研究 研究期間: 2016~2018 課題番号: 16K14875

研究課題名(和文)水稲根圏のメタン動態:アイソトポローグ解析による生成・酸化の分離定量

研究課題名(英文)Quantification of methane production and oxidation in the rice rhizosphere: an isotopic approach

研究代表者

常田 岳志 (Tokida, Takeshi)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・農業環境変動研究センター・主任研究員

研究者番号:20585856

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文):水田のメタン動態解明に向けて、メタンの「生成」と「酸化」(分解)を実際の水田で測定すること、およびメタン酸化時に同位体分別が生じる現象を利用し、両者を分離定量する手法の開発を試みた。メタン酸化阻害剤を用いた試験から、水稲根圏ではメタン酸化が生じていることが分かった。これまでの知見によれば、メタン酸化仮定では軽い同位体分子種が優先的に使われるため、残ったメタンは「重く」なると予想された。しかし、阻害剤の有無による安定同位体比の違いは確認されなかった。そのため、実際の水田ではメタン酸化が生じていても同位体分別は必ずしも生じず、同位体情報からメタン酸化を定量することは難しいと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義 水田は人類最大の食料生産基地である一方、温室効果ガスであるメタンの排出源でもあり、大幅なメタン削減が必要とされている。本研究の結果、イネの根圏ではメタンの生成だけでなく、酸化(分解)が生じていることが実際の水田で確認された。これは、メタン削減技術を開発する上で生成量の抑制だけでなく、メタン酸化の促進を図るという視点も重要であることを意味している。また本研究では、同位体分別を利用することで、手間のかかる阻害剤法によらない新しいメタン酸化の定量手法の確立を目指したが、予想に反しメタン酸化に伴う同位体分別は確認されず、手法確立には至らなかった。今後は同位体分別が生じなかった理由を解明する必要がある。

研究成果の概要(英文): Methane emissions from rice paddies represent a balance between methane production and oxidation (consumption) occurring in rice rhizosphere. In this study we determined the gross methane production and oxidation with a use of specific inhibitor of methane oxidation in an actual rice paddy, and also tried to develop a quantification method of methane oxidation by taking advantage of isotope discrimination during the reaction of methane oxidation. Results of specific inhibitor experiments confirmed the occurrence of methane oxidation in rice rhizosphere. However, no discernible differences was found in the isotope ratio between the plots with presence/absence of the inhibitor. These results suggest that isotopic discrimination does not necessarily occur even under the occurrence of methane oxidation, and that estimation of methane oxidation from the isotope ratio is questionable.

研究分野: 農業環境工学

キーワード: Methane rice oxidation production isotope

様 式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19(共通)

1.研究開始当初の背景

水田は世界人口の半数に主食のコメを提供する主要な食料生産基地である一方、強力な温室効果ガスであるメタンの大きな発生源でもある。湛水条件下の嫌気的な土壌中でメタン生成菌によって作られたメタンの大部分はイネを通って大気へ放出されるが、その際に一部はメタン酸化菌によって分解されることが知られている。したがってメタンの発生機構を解明するには、この二つのプロセス・生成と酸化・を正確に定量することが必要不可欠である。これまで複数の方法(培養差分法、窒素置換法、阻害剤法)によってメタン生成量と酸化量が推定されてきたが、いずれも現場適用性に難がある上、深刻なバイアスをもつことが指摘されていた。したがって、実際の水田でどの程度メタン酸化が生じているかはよく分かっていなかった。またメタン酸化の定量手法として、同位体を用いた方法が注目されていた。これはメタンのアイソトポローグ(同位体分子種)の中で「12CH4」が「13CH4」よりも酸化分解されやすい性質を利用したもので、同位体分別の大きさと分別係数からメタン酸化率を推定する。しかし、「微生物によるメタン酸化の大きさ」を指標するとされてきた同位体分別の大部分が、実は物理的な「拡散輸送に伴う」分別であることが、指摘されつつあり、この致命的な欠陥を克服する新しいアプローチが必要とされていた。

2.研究の目的

- (1)以上の背景を踏まえ、本研究ではまず改良したメタン酸化阻害剤法によって実際の水田におけるメタン酸化率を測定することを目的とした。
- (2)次に、阻害剤の有無、すなわちメタン酸化の有無によって排出されるメタンの安定同位体比がどの程度異なるかを、同位体分析から実測した。
- (3)最後に、同位体分別とメタン酸化率の関係を解析し、同位体によるメタン酸化の定量法(アイソトポローグ法)を提案することとした。

3.研究の方法

- (1)水田土壌として最も一般的な灰色低地土水田において、改良阻害剤法を用いたメタン酸化量・酸化率の測定を行った。具体的には特異的メタン酸化阻害剤であるジフルオロメタンをメタン排出量測定用チャンバーのヘッドスペースに3%の混合比になるように充填し、一晩現場でインキュベーションした。翌朝排出量を実測し、メタン酸化をストップさせた阻害区からの排出量【=生成量】と、対照区(阻害剤無し)からの排出量【=生成量-酸化量】から、メタン酸化量および酸化率を求めた。実験はつくばみらい市の農家水田にて行った。様々な条件におけるメタン酸化量を実測するため、水稲2品種、窒素施肥の有無(0gNおよび8gNm²)3つの稲生育段階において調査を行った。
- (2)方法(1)により採取した阻害区および対照区のサンプルの炭素安定同位体比(¹³C)を測定し、メタン酸化に伴う同位体分別を実測した。分析は農研機構・高度解析センターの安定同位体比質量分析計を用いて行った。また一部のサンプルについては、炭素と比べてより大きな同位体分別が生じると考えられる水素の安定同位体比(D)を海洋研究開発機構において測定した。

なお後述するようにメタン酸化に伴う同位体分別が認められなかったことから、同位体による メタン酸化の定量法の開発は行わなかった。

4. 研究成果

- (1)メタン酸化阻害剤を用いて試験を行った結果、阻害剤処理によってメタン排出量は増加したことから、実際の水田においても確かにメタン酸化が生じていることが確認された(図 1)、メタン酸化は生成量に対する割合(メタン酸化率)にすると、最大で30%程度であった。
- (2)メタン酸化が生じていることが改良阻害剤法によって確認されたにも拘わらず、メタンの炭素安定同位体比に阻害剤の有無による違いは認められなかった(図2)。また一部のサンプルについては、水素安定同位体比も測定したが、やはり阻害剤の有無による違いは認められなかった。
- (3)既存の研究は、排出されるメタンの同位体比の変動がメタン酸化の変化に起因すると仮定しているが、本研究の結果からその仮定は少なくとも今回の条件では満たされないことが分かった。これはメタン酸化の制限要因が必ずしもメタン酸化菌による酵素反応自体ではないことを示唆している。メタン酸化量はメタン生成量と正の相関関係を示してことから(図3)メタン酸化の制限要因が基質であるメタン(あるいは酸素)の可給性にある可能性が浮上してきた。

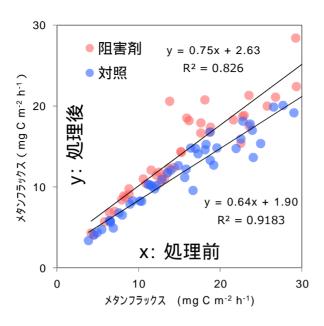


図 1 メタン酸化阻害剤の有無によるメタンフラックス(=ここでは排出量)の違い。X 軸は処理前(夕方)のフラックスで Y 軸は処理後(翌朝)の値。対照区でも処理前と処理後で異なるのは、フラックスに日変化があるため。阻害剤区と対照区との差がメタン酸化に相当する。

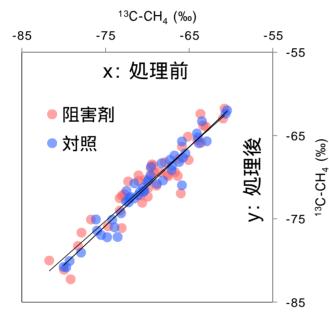


図2 排出されたメタンの炭素安定 同位体比(¹³C)。図1同様、X軸 は処理前(夕方)のサンプルでY軸 は処理後(翌朝)のサンプルの値。 対照区でも処理前と処理後で値が 異なるのは、同位体比が時間帯による でよの違いがメタン酸化に伴う同位 体分別に起因することになる。しか しながら、処理の有無による安定 位体比の違いは認められなかった。

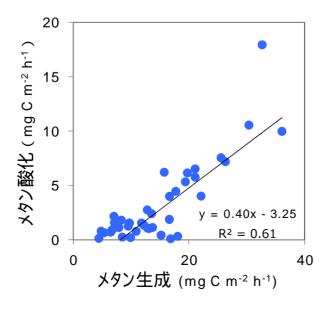


図 3 メタン生成量とメタン酸化量との関係。メタン酸化量はメタン生成量と有意な正の相関を示した。

(4)以上の結果から、実際の水田においても無視できない量のメタン酸化が生じていること、ただしその定量手法として、同位体を単純に利用することは難しいことが分かった。一方で、排出されるメタンの同位体比自体には大きな日・季節変動が観測された。この変動を解明することで、メタンの輸送プロセスや基質(炭素)源、あるいはメタン生成経路に関する情報が得られると考えられた。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件)

長谷川利拡、酒井英光、<u>常田岳志</u>、林健太郎、水稲作における気候変動への土壌肥料的適応技術 1.水稲の CO₂ 増加に対する生育反応からみた窒素施肥の必要性、日本土壌肥料学雑誌89(6),491-496,2018 (査読有)

[学会発表](計8件)

常田岳志、農地からの温室効果ガス排出とその気候変動応答、日本農業工学会シンポジウム「農業における気候変化への適応と気象災害リスクの軽減」、2018

常田岳志、大気 CO₂ 濃度の増加と温暖化が水田からのメタン排出におよぼす影響、農業農村工学会・土壌物理研究部会、2018

常田岳志ら、炭素源から見たメタン排出量の品種間差~土壌・残渣由来のメタンは栽培するイネ品種によって異なるか? ~、日本土壌肥料学会、2018

常田岳志、FACE 水田におけるメタン研究:高 CO2 影響の実態解明と炭素同位体ラベル実験としての観点から、第 31 回気象環境研究会、2018

常田岳志ら、安定同位体比から紐解く水田メタンフラックスの日変化メカニズム、日本農業 気象学会、2018

<u>常田岳志</u>、安定同位体比が解き明かす水田メタンフラックスの変動要因、第 34 回土・水研究会、2017

永澤裕人、西脇淳子、常田岳志ら、大気 CO₂ 濃度と窒素施肥が水田におけるメタンの生成および酸化に及ぼす影響、土壌物理学会、2016

Miwa Arai, <u>Takeshi Tokida</u>, et al., Effects of FACE and N fertilizer treatments on CH₄ production and oxidation in a rice paddy determined by an oxidation inhibitor technique. The international conference: FACEing the future | food production and ecosystems under a changing climate. 2016

[図書]

なし。

〔産業財産権〕

なし。

〔その他〕

なし。

6.研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名:西脇 淳子

ローマ字氏名: Nishiwaki Junko

所属研究機関名:茨城大学

部局名:農学部

職名:助教

研究者番号(8桁):00549892

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。