

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 7 日現在

機関番号：12604

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2014～2015

課題番号：26892010

研究課題名(和文) レーザー分光計による安定同位体比連続測定から迫る作物残渣由来N₂O発生経路の解明研究課題名(英文) Temporal change in N₂O production process after crop-residue input by continuous measurements of N₂O isotopomer ratios using quantum cascade laser spectrometry

研究代表者

山本 昭範 (YAMAMOTO, AKINORI)

東京学芸大学・教育学部・講師

研究者番号：20733083

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：亜酸化窒素(N₂O)はCO₂の298倍の温室効果を持つ強力な温室効果ガスである。近年、農耕地では、作物残渣がN₂Oの重要な発生源となっていることが指摘されている。本研究は、作物残渣投入後のN₂O同位体比(平均窒素同位体比、N₂O分子内における¹⁵N分布の偏り)の変化をN₂O同位体比レーザー分光計により測定し、作物残渣管理に伴うN₂O生成プロセスの変化を解析した。その結果、本研究課題の実験期間を通してN₂O同位体比は大きな時間変化を示し、また、作物残渣投入によって主要なN₂O生成プロセスが変化することが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Nitrous oxide (N₂O) has 298 times of the global warming potential than carbon dioxide. Crop-residue is an important N₂O source in agricultural ecosystems. We measured N₂O isotopomer ratios (bulk N isotope ratios, and intramolecular ¹⁵N site preference) using a quantum cascade laser spectrometry system to estimate microbial N₂O production process after crop-residue input. The N₂O isotopomer ratios showed large fluctuation throughout the experiment. We found that predominant microbial process of N₂O production changed after crop-residue input.

研究分野：環境農学

キーワード：亜酸化窒素 作物残渣 N₂O同位体レーザー分光計

1. 研究開始当初の背景

亜酸化窒素 (N₂O) は二酸化炭素の約 300 倍の温室効果を持ち、今後オゾン層破壊の主要因になると考えられている。農業は、N₂O の最大の発生源であり、その発生量は人為由来発生量の約 42% を占めると推定されている (Solomon et al. 2007, Ravishankara et al. 2009)。農耕地において N₂O は、主に硝化や細菌脱窒およびカビ脱窒などの微生物の作用によって生成されている。これらの生成プロセスは、窒素肥料の施用や土壌の耕起などの栽培管理、土壌タイプ、気温や降水量などの気象条件の影響を受けて変化する。

農耕地における N₂O 生成には、主に窒素肥料や有機物が基質として利用される。加えて、最近の研究によって、作物収穫後の作物残渣が微生物の基質となり、重要な N₂O 発生源となっている可能性が指摘されている (Baggs et al 2000 など)。

農耕地における作物残渣投入 (すき込み等) 後の N₂O 発生においては、作物残渣に含まれる炭素や窒素が N₂O 生成の基質として N₂O 生成に関与する様々な微生物に利用されていると考えられるが、その生成プロセスは明らかでない。また、農耕地の N₂O 放出は気象等の環境変化によって日変化することが知られており、作物残渣すき込み後の生成プロセスも同様に日変化をすると考えられる。加えて、温度や降水量などの環境要因の変動により、長期的なスケールでも生成プロセスは変化すると思われる。

このように、研究開始時点においては、農耕地における作物残渣由来の N₂O 発生の重要性が指摘されていた。しかし、実際の圃場スケールにおける作物残渣投入 (すき込み等) 後の N₂O 生成プロセス変化や N₂O 放出との関係解明を目的とした研究は行われておらず、作物残渣の管理 (すき込みの実施の有無など) による N₂O 生成プロセスの変化に着目した研究が必要とされていた。

2. 研究の目的

本研究課題の目的は、世界で初めて作物残渣すき込み後の実際の圃場において、時間スケールの N₂O のフラックスおよび自然安定同位体比の変化を測定することにより、N₂O 生成経路 (微生物による硝化や脱窒など) の変化を解明し、作物残渣由来の N₂O 放出の時間変動との関係を明らかにすることである。

具体的には、まず、作物残渣すき込み後の短期的な N₂O 生成プロセス変化と N₂O 放出との関係を明らかにするため、土壌培養試験により時間スケールの生成プロセス変化を検証する。

また、長期的な N₂O 生成プロセス変化と N₂O 放出との関係を明らかにするため、圃場試験により年スケールの生成プロセス変化を検証する。最後に、作物残渣の管理に伴う時間～年スケールの生成プロセスの変化を明らかにし、微生物プロセスの観点から作物残渣

由来の N₂O 放出の時間変動のメカニズムを解明する。

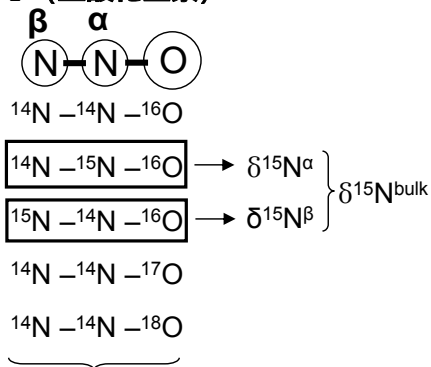
3. 研究の方法

硝化や脱窒などの N₂O 生成プロセスの解明には N₂O 自然安定同位体を用いた解析が有効であるが、従来の質量分析計では時間単位などの短期的な連続測定は不可能である。そのため、時間～日単位の短期的な時間スケールでの N₂O 生成プロセスの変化と N₂O 放出との関係を解明することはできなかった。そこで本研究は、N₂O 同位体比の連続測定を可能にした新規技術である N₂O 同位体レーザー分光計により時間～年の短期的、長期的スケールにおける N₂O 同位体比を測定した。

生成プロセスを明らかにするため、N₂O アイソトポマー比 [平均窒素同位体比 ¹⁵N^{bulk}、NNO 分子内における ¹⁵N 分布の偏り SP (site preference)] の解析を行った。自然界には主に 5 種類の N₂O アイソトポマー (同位体分子種) が存在する (図 1)。

N₂O は主に好気的環境を好む微生物による硝化 (硝化細菌や古細菌が関与) と嫌気的環境を好む微生物による脱窒 (脱窒細菌や脱窒カビが関与) の 2 つの過程で生成される。この 2 つの生成プロセスから発生する N₂O では SP 値などアイソトポマーの構成比率が異なる (図 1)。そこで、この構成比率の違いに着目して、発生した N₂O の生成経路 (硝化、細菌脱窒、カビ脱窒) の割合を解析した。

N₂O (亜酸化窒素)



自然界に存在する N₂O のアイソトポマー

$$^{15}\text{N site preference (SP)} = \delta^{15}\text{N}^{\alpha} - \delta^{15}\text{N}^{\beta}$$

各生成プロセスの SP 値 (‰)

硝化:	31 ± 4	} SP 値を 基準に解析
脱窒:	-2.0 ± 3.4	
カビ脱窒:	37.0 ± 2.6	

図 1: N₂O アイソトポマー比の概要
各生成プロセスの SP 値 (‰) は Toyoda et al. (2011) の best estimate 値を用いた。

本研究課題は、土壌培養試験と圃場試験を組み合わせることで研究を進めた。
土壌培養試験では、日本の代表的な土壌で

ある黒ボク土と先行研究で残渣由来の N_2O 発生量の大きいことが報告されているキャベツ、加えて、作物残渣の違いを考慮するため、科が異なるが栽培形態の似ているレタスを用いた。100cm³の土壌コアを作成し、土壌の上に作物残渣を添加した。生成プロセスの時間変化を明らかにするため、土壌コアを容器に入れて密閉し、一定時間後に容器内部のガスを採取した。採取したガスは N_2O 同位体レーザー分光計により N_2O 同位体比を測定し、ガスクロマトグラフィーにより N_2O 濃度を測定した。培養試験は、異なる土壌水分条件で実施し、 N_2O 放出、 N_2O 同位体比、土壌中および作物残渣中の無機態窒素濃度（アンモニア態窒素、硝酸態窒素）の時間変化パターンを調べた。

圃場試験は黒ボク土の圃場で実施した。圃場試験では、一般的な栽培基準に基づき栽培を行い、作物収穫後の作物残渣の管理が異なる2つの試験区を設けた（作物残渣すき込み区と作物残渣持ち出し区）。 N_2O 生成プロセスの変化を明らかにするため、自動開閉チャンバーとレーザー分光計から構成される測定システムにより N_2O 同位体比を連続測定した（図2）。また、表層土壌（0-5cm）を採取し、土壌中の無機態窒素濃度の時間変化パターンを調べた。



図2： N_2O 放出測定のためのチャンバーシステム。チャンバーは測定時に自動で蓋が閉じ、分析機器の設置している実験室内にガスが吸引される。測定は1日6回行った。

4. 研究成果

土壌培養試験における作物残渣添加後の N_2O 放出の時間変化パターンは、作物の種類によって異なり、積算 N_2O 発生量にも差が見られた（図3）。そのため、農耕地における作物残渣由来 N_2O 発生量の評価には、作物の種類による影響を考慮することが必要だと考えられる。

また、 N_2O 放出は土壌水分の状態によって異なり、作物の種類に関係なく高い水分条件で N_2O 放出が低い傾向が見られた（図3）。このことから、作物残渣が発生する時の農耕地の環境条件によって、 N_2O 放出の時間変化パターンや N_2O 発生量が変化することが示唆された。作物間差の要因としては、作物の CN

比などが影響していると考えられるが、詳細なメカニズムを解明するために今後のさらなる研究が望まれる。

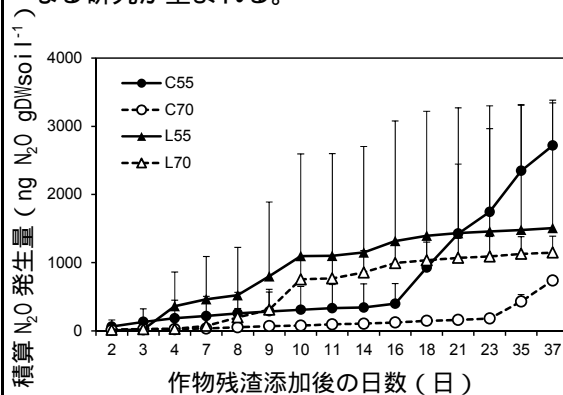


図3：土壌培養試験における作物残渣添加後の積算 N_2O 発生量の時間変化

凡例の C と L は作物残渣の種類（C；キャベツ、L；レタス）数値（55、70）は土壌水分（WFPS）を示している。作物の種類によって N_2O 放出の増加が大きくなる時期や最終的な N_2O 発生量（37日後）が異なった。

土壌培養試験において、 N_2O 同位体比（¹⁵N^{bulk}、SP）は大きな時間変動を観測した。作物残渣添加後の N_2O 生成プロセスを N_2O 同位体比解析により推定した（図4）。その結果、作物残渣添加後の N_2O 生成プロセスは、日単位の時間スケールにおいても変化していると考えられた。

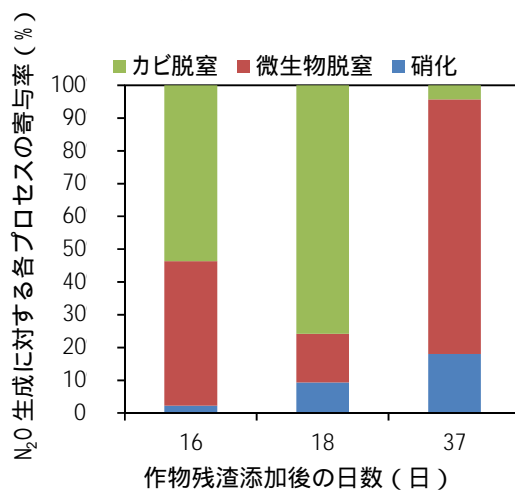


図4：土壌培養試験における作物残渣添加後の N_2O 生成に対する各微生物プロセス（硝化、微生物脱窒、カビ脱窒）の寄与率の時間変化データは C55（キャベツ、WFPS が 55%）における結果を示している。 N_2O アイソトポマー比解析における各微生物プロセスの基準となる N_2O 同位体比は、Toyoda et al. (2011) で報告されている best estimate 値を用いた。そのため、best estimate 値の範囲外の測定値は解析から除外した。グラフの色は各微生物プロセスを示している。

一方、圃場試験では、 N_2O 発生は施肥後と作物残渣発生後に顕著な時間変化を示し、作物残渣発生後に最大の N_2O 発生が観測された。また、 N_2O 同位体比は実験期間を通して短期的な時間変動を示した。作物残渣すき込み後のすき込み区における SP は、約 0-40%の間で短期的な時間スケールで大きく変動した(図 5)。

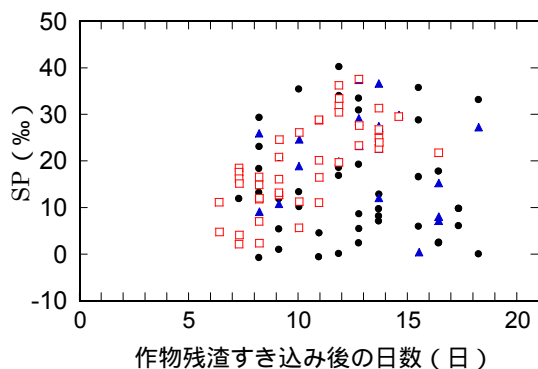


図 5：圃場試験のすき込み区における作物残渣すき込み後の SP の時間変化
各試験区は反復 3 で設置しており、凡例は反復間のチャンパーの違いを示している。データは作物残渣すき込み区における結果を示している。

圃場試験における $^{15}N^{bulk}$ と SP の関係を解析した結果、施肥後と作物残渣発生後では主要な N_2O 生成プロセスが異なることが示唆された。特に、作物残渣発生後の N_2O 発生のピーク期間において、 N_2O 生成に対するカビ脱窒の寄与が増加する傾向を示した。

本研究課題における圃場試験は、1 種の作物のみを対象として実施した。しかしながら、異なる作物残渣を用いた土壌培養試験の結果から作物の種類によって作物残渣由来の N_2O 放出や生成プロセス変化が異なる可能性が示唆された。そのため、今後は、複数の作物を対象にして作物残渣の N_2O 生成プロセスに対する影響を圃場レベルで明らかにしていく必要がある。

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 0 件)

〔学会発表〕(計 3 件)

山本昭範、秋山博子、中島泰弘、星野(高田)裕子 N_2O 発生と発生機構の短期的時間変化：発生源としての作物残渣の重要性、日本生態学会第 63 回大会、2016 年 3 月 24 日、仙台、仙台国際センター

山本昭範、秋山博子、星野(高田)裕子、中島泰弘 作物残渣由来 N_2O の発生経路の時間変化、2015 年度日本土壤肥料学会京都大会、2015 年 9 月 9 日、京都、京都大学

山本昭範、内田義崇、秋山博子、中島泰弘 N_2O 生成プロセスの時間変化パターンの解明に向けた試み-レーザー分光計による N_2O 安定同位体比の連続測定-、日本生態学会第 62 回大会、2015 年 3 月 21 日、鹿児島、鹿児島大学

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山本 昭範 (YAMAMOTO AKINORI)
東京学芸大学・教育学部・講師
研究者番号：20733083