

平成 21 年 6 月 12 日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2007～2008

課題番号：19310019

研究課題名（和文） 大気沈着窒素の特異な同位体シグナルを利用した生態系影響の評価

研究課題名（英文） Evaluation of ecosystem impact by using peculiar isotopic signatures of nitrogen deposition

研究代表者

楊 宗興 (YOH MUNEOKI)

東京農工大学・大学院共生科学技術研究院・准教授

研究者番号：50260526

研究成果の概要：

大気沈着窒素の負荷により生ずる森林の窒素過剰化に伴い、ヒノキの葉の窒素安定同位体比 ( $\delta^{15}\text{N}$ ) が顕著に低下すること、さらに、それが生ずる土壌・植物間の機構を解明した。一方、高標高域における大気沈着由来の窒素は特異に低い同位体シグナルを持つことが明らかになった。地衣類、植物ならびにニホンザルの体毛の  $\delta^{15}\text{N}$  も低標高域に比較し有意に低下しており、大気沈着窒素が高標高生態系に重大な物質的インパクト加えている実態が明らかになった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	6,100,000	1,830,000	7,930,000
2008 年度	3,500,000	1,050,000	4,550,000
年度			
年度			
年度			
総計	9,600,000	2,880,000	12,480,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：環境学・環境影響評価

キーワード：窒素沈着物、安定同位体比、窒素飽和、高標高山岳域、生態系影響

## 1. 研究開始当初の背景

大気沈着物による負荷のために、「窒素飽和」と呼ばれる生態系変化が欧米のみならずわが国の森林にも生じ始めており (Ohri and Mitchell, 1997; Yoh et al., 2001)、今後の窒素沈着の継続により拡大・深化する懸念がある。その一方で、本来貧栄養で森林限界付近の高標高生態系にも少なからぬ窒素沈着負荷が観測されており、その影響が注目される。わが国のみならず、大陸の経済活動か

らの長距離輸送も今後の増加が予想される今日、これら生態系に対する窒素負荷影響を明らかにすることは重要である。

これまでも、窒素沈着物の生態系影響を理解することを目的として窒素安定同位体比の測定が試みられ、知見が集積されてきている (たとえば Hogberg, 1997; Pardo et al. 2006)。しかし、窒素負荷に伴う生態系変化と同位体比の関係は、必ずしも十分体系化されるまでに至っていない現状にある。また、高標高域

についての検討は、これまで未着手に等しい。

## 2. 研究の目的

これまで我々が行った予備的研究により、窒素飽和の森林ならびに高地山岳生態系のそれぞれにおいて、窒素沈着影響と思われる特徴ある同位体比の測定結果が得られた。そこで本研究では、これら2つの生態系を対象にした系統的な調査研究を行い、それぞれの生態系における特異な同位体的特徴を解明し、生態系変化の理解に役立てることを目的とする。

## 3. 研究の方法

森林限界を越えている北アルプス燕岳ならびに槍ヶ岳山頂付近で、大気沈着窒素およびそこに生息する植物、地衣類、ニホンザル(体毛)の試料を採取した。標高は2500-3180mの範囲である。大気沈着物はイオン交換樹脂カラムを現地に設置して無雪期のみ回収した。その生活形態から、大気沈着物によって窒素を賄っており、大気沈着窒素のプロクシと見なせる全15種、65サンプルの地衣類を採取した。高標高域に生息域をもつことが判明している個体群のニホンザル(Izumiyama 1994)からも体毛試料を採取した。前処理の後、元素分析計(Thermo Finnigan, Flash EA1112)を接続した同位体比測定用質量分析計(Thermo Finnigan Delta plus XP)によりそれぞれの窒素安定同位体比を測定した。対照として、その山麓、および都市近郊の東京八王子の森林でも各試料を採取し、同様の測定を行った。大気沈着窒素としては、林内雨を試料とした。

## 4. 研究成果

### (1) 森林の窒素過剰化に伴う樹木葉の窒素安定同位体比変化とその機構

現在わが国の森林地域でも広がりつつあることが報告されている窒素飽和現象(Yoh et al., 2001)に着目し、渓流水の $\text{NO}_3^-$ 濃度の異なる流域において、樹木葉や土壌窒素成分の同位体比測定を行った。その結果、次のような系統的な変化が見出された。

渓流水 $\text{NO}_3^-$ 濃度が高い森林ほど、ヒノキの葉の $\delta^{15}\text{N}$ が低下しており、両者には明瞭な負の相関関係が見出された(図1)。窒素濃度の低い乗鞍地域では葉の $\delta^{15}\text{N}$ は $-0.81 \pm 0.32\text{‰}$  ( $n=15$ )であったのに対し、窒素飽和の状況にある多摩丘陵では $-5.23 \pm 0.33\text{‰}$  ( $n=6$ )であり、両者の値は顕著に異なっていた。

渓流水 $\text{NO}_3^-$ 濃度が高い地域では窒素飽和の状況に対応して土壌の $\text{NO}_3^-$ 含量も高く、またその $\delta^{15}\text{N}$ は $-7.8 \pm 2.2\text{‰}$  ( $n=3$ )と低かった。

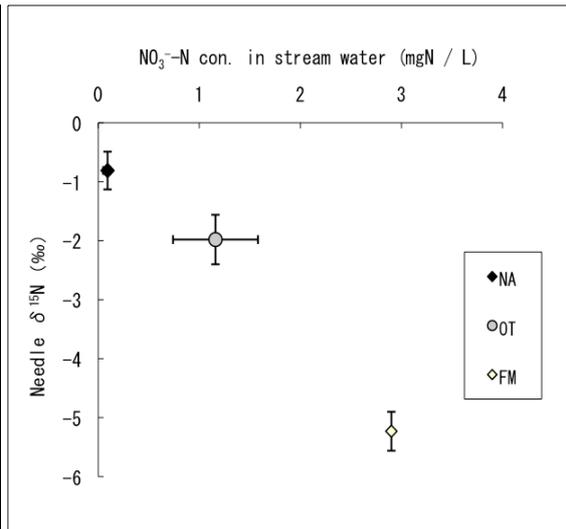


図1. ヒノキ針葉 $\delta^{15}\text{N}$ 値と集水域渓流水中の $\text{NO}_3^-$ 濃度との関係

y軸のerror barは標準誤差、x軸のerror barは測定した地域における最大値から最小値の濃度範囲を示す。ただし、多摩丘陵では年間の加重平均濃度を用いた。

ヒノキの葉の $\delta^{15}\text{N}$ と土壌の窒素成分の $\delta^{15}\text{N}$ との相関関係を検討したところ、 $\text{NO}_3^-$ 単独よりも(ピアソンの相関係数=0.50)、 $\text{NO}_3^-$ と $\text{NH}_4^+$ とを合わせたTINの $\delta^{15}\text{N}$ と強く関係していた(同0.91)(図2)。また、ヒノキ針葉 $\delta^{15}\text{N}$ 値と土壌中の $\text{NO}_3^-$ 濃度の関係におけるスピアマン順位相関係数は-0.82と高く、土壌中の $\text{NO}_3^-$ 濃度が高いほどヒノキ針葉 $\delta^{15}\text{N}$ 値が低下する傾向が明瞭であった。

植物は $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{NO}_3^-$ および溶存有機態窒素をそのN源として利用する。本研究では、これら3つの形態それぞれの $\delta^{15}\text{N}$ の測定も行った。その上で、Iso Sourceというソフトウェアツールを用いて土壌の各形態窒素および植物の $\delta^{15}\text{N}$ 値にもとづき植物の利用する窒素の形態を解析した。その結果、いずれの地点でも溶存有機態窒素の利用はわずか

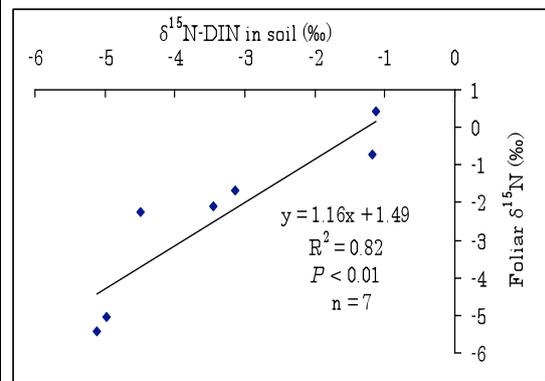


図2. ヒノキ針葉 $\delta^{15}\text{N}$ 値と土壌中の無機態窒素の $\delta^{15}\text{N}$ 値との関係

であることが示された。また、 $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{NO}_3^-$ の利用は地点により異なり、窒素レベルの高い地域ほど、主に $\text{NO}_3^-$ を利用していることが示された。

以上の事実より、窒素過剰となった森林で葉の $\delta^{15}\text{N}$ 値が低下するのは、そのような森林の土壤中で $\delta^{15}\text{N}$ の低い多量の $\text{NO}_3^-$ が生成され、樹木がそれを取り込むためと理解される。本研究において、窒素飽和の森林ほど多量の $\text{NO}_3^-$ が含まれ、無機態窒素の主要形態となっていた事実でも明らかなように、窒素沈着に由来する生態系の窒素可給性の増加は、硝化過程を活発に生じさせる(Aber et al., 1989; 1998)。一方、この硝化過程においては比較的大きな同位体分別が生じるため、 $\delta^{15}\text{N}$ の低い $\text{NO}_3^-$ が生成されることが知られている。このため窒素レベルの高い地域の森林において植物が相対的に多くの $\text{NO}_3^-$ をN源として利用し、その結果低い $\delta^{15}\text{N}$ をもつことは、一般的な現象と判断できる。窒素過剰程度による植物葉の $\delta^{15}\text{N}$ の変化は、窒素過剰化に伴うこのような土壤中の無機態窒素の量的・同位体的変化に起因したものと結論できる。

植物の葉の同位体比についての既往の研究では、硝化が活発になるにつれて土壤中の $\text{NH}_4^+$ プールに $^{15}\text{N}$ が濃縮し、植物が $\text{NH}_4^+$ を利用するために葉の $\delta^{15}\text{N}$ 値が高くなる、と仮説を立てている場合が多い(Emmett et al. 1998, Pardo et al. 2006, Garten 1994)。しかし、これらの研究では土壤中の可給態窒素の $\delta^{15}\text{N}$ 値は測定されておらず、もしくは測定していてもその信頼性に疑問がある。生態系の窒素レベルにともなう同位体比変化は、このように、世界の研究でもこれまで明確ではなかった。これに対し本研究により、窒素過剰が植物葉の $\delta^{15}\text{N}$ にもたらす影響について、はじめて合理的な説明が与えられた。窒素飽和現象が、物質の量的変化のみならず同位体比という質の面でも確実な変化をもたらすことが本研究により明確に示された。

## (2) 高地山岳生態系における窒素安定同位体比の特徴

高標高山岳域で回収された大気沈着 $\text{NH}_4^+$ の $\delta^{15}\text{N}$ 値は、低標高域の値との間で有意な違いは認められなかった。しかしながら $\text{NO}_3^-$ は、低標高域での $\delta^{15}\text{N}$ が $+3.3 \pm 1.5\text{‰}$ であったのに対し、高標高域では $-5.3 \pm 0.7\text{‰}$ であり、顕著に低い $\delta^{15}\text{N}$ を持つことが明らかになった(表1)。

大気沈着物にのみ窒素を依存していると思わせる岩石や樹皮に着生している地衣類を測定した結果、窒素固定性の種を除けばその $\delta^{15}\text{N}$ は $-6.2 \pm 3.0\text{‰}$ であり、同様に著しく低い値を示した。これより、高標高域にもたらされている窒素は特異に低い同位体的特徴を持つことが支持さ

れた。なお、樹皮上に着生する樹枝状地衣であるサルオガセ sp.は、他の種に比べてさらに低い $\delta^{15}\text{N} = -10.3 \pm 1.7\text{‰}$ を示し、霧や乾性沈着物などの沈着形態が $\delta^{15}\text{N}$ 値の違いに関係している可能性も示された。

表 1. 高標高山岳域と低標高域における大気沈着窒素、地衣類、植物、サル体毛の $\delta^{15}\text{N}$

	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)		
	高標高山岳 mean ± sd (n)	山麓 mean ± sd (n)	都市近郊 mean ± sd (n)
沈着	$\text{NO}_3^-$ $-5.3 \pm 0.7$ (12)	$-4.3 \pm 1.2$ (28)	$+3.3 \pm 1.5$ (150)
	$\text{NH}_4^+$ $-4.1 \pm 1.2$ (12)	$-3.1 \pm 2.3$ (28)	$-3.3 \pm 1.3$ (150)
地衣類	$-6.2 \pm 3.0$ (64)		
植物	$-3.6 \pm 2.1$ (291)	$-1.5 \pm 1.8$ (155)	
ニホンザル	$-0.1 \pm 0.3$ (9)	$+2.5 \pm 0.8$ (39)	

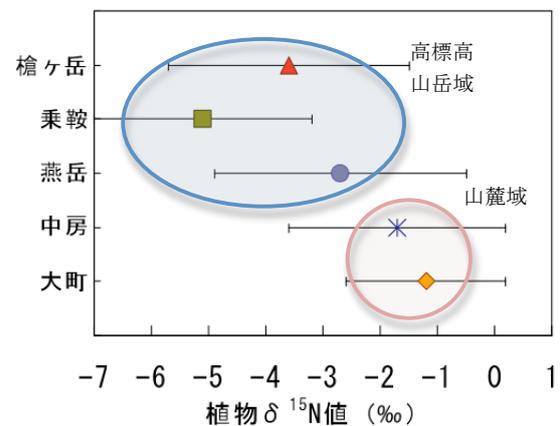


図 3. 高標高山岳域及び山麓における植物の $\delta^{15}\text{N}$ の違い

標高別に測定した植物の窒素安定同位体比には、標高が上昇するにつれて低下するトレンドが見出された(図3)。植物はこのような同位体的特徴を持つ大気沈着窒素を吸収し、その $\delta^{15}\text{N}$ 値を反映していると思なせる。

3000mにまで及ぶ高標高地に生息域をもつ個体群のニホンザルの体毛の窒素安定同位体比を測定した結果、 $\delta^{15}\text{N}$ 値は $-0.1 \pm 0.3\text{‰}$ という負の値を示した。これまで知られている草食動物の $\delta^{15}\text{N}$ 値の範囲は $+2 \sim +11\text{‰}$ であり、これはきわめて例外的な低い値と言える。これに対し山麓に生息するニホンザル個体群の $\delta^{15}\text{N}$ は $+2.5 \pm 0.8\text{‰}$ であり、異なる標高帯に生息域をもつ両

個体群の間には 3.6‰もの差が見られた(図 4、表 1)。

しかし、植物の  $\delta^{15}\text{N}$  値とニホンザル体毛の  $\delta^{15}\text{N}$  の差は高標高山岳域、山麓においてそれぞれ 3.5‰、4.0‰であり、通常、食物連鎖に伴って見出されている窒素同位体比上昇の経験的關係から外れるものではなかった。すなわち、高標高山岳域のニホンザルの低い  $\delta^{15}\text{N}$  値は、そこに生息する植物を摂食していると考えれば、何ら矛盾なく説明することができる。このことから、ニホンザルの  $\delta^{15}\text{N}$  値が特異に低かったのは、大気沈着窒素の影響を受けて植物が例外的に低い値を示したためと理解される。このことは、大気沈着由来の窒素はサル生体の組織に寄与していることを意味する。換言すれば、サルは大気沈着物をその窒素源として利用していると言

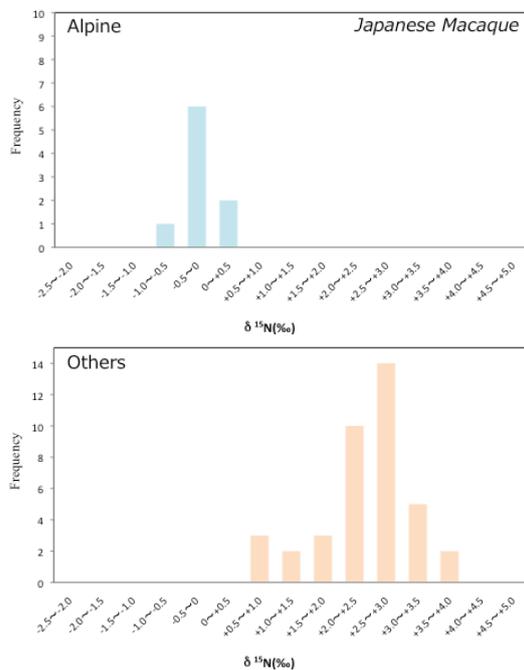


図 4. 北アルプスにおける高標高域を利用するニホンザル個体群および常時より低標高域に生息する個体群それぞれの体毛の  $\delta^{15}\text{N}$  の分布

えることになる。

以上より明らかにされた重要な事実は、高標高域にもたらされている窒素沈着物が、その生態系に対し、高等動物までを含む重大な物質的攪乱をもたらしている状況にあることである。

### (3) 総括

現在理解されている窒素沈着により引き起こされる生態系植物の窒素安定同位体比変化は、窒素レベルの上昇に伴って  $\delta^{15}\text{N}$  が上昇するというトレンドである(Pardo et al., 2007)。しかし本研究の詳細な測定により、窒素過剰化はむしろ植物葉の  $\delta^{15}\text{N}$  を低下さ

せることが明瞭に立証された。その一方で、山岳地等の土壤に乏しい生態系では、 $\delta^{15}\text{N}$  が低い窒素沈着物の特徴が反映される結果として、 $\delta^{15}\text{N}$  は土壤の窒素レベルに対して正の相関性を生じさせる機構が存在する(図 5)。このように、窒素レベルと窒素同位体比変化について統一的に説明することが可能な、これまで未知の 2 つの機構を分離し、解明することができた。

窒素沈着負荷は森林、高標高生態系のそれ

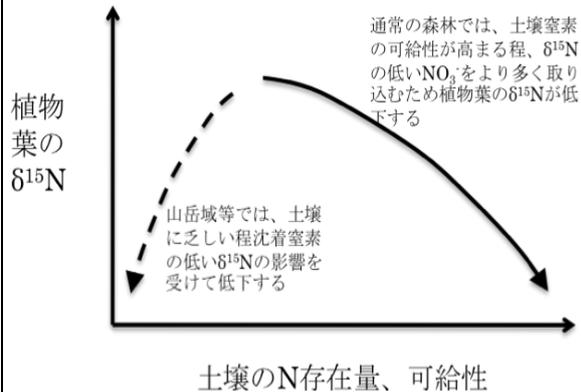


図 5. 本研究で解明された植物の  $\delta^{15}\text{N}$  変化をもたらす二つの機構(模式図)

ぞれで重大な影響をもたらしつつあり、その実態が窒素安定同位体比によって明確に裏付けられた。

### 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 5 件)

- 1) FANG Yun-Ting, M. YOH, MO Jiang-Ming, P. GUNDERSEN and ZHOU Guo-Yi: Response of Nitrogen Leaching to Simulated Nitrogen Deposition in a Disturbed and a Mature Forest in Southern China. *Pedosphere*, 19, 1- 10 (2009) (査読有)
- 2) Fang, Yunting; Zhu, Weixing; Gundersen, Per; Mo, Jiangming; Zhou, Guoyi; Yoh, Muneoki: Large loss of dissolved organic nitrogen from nitrogen-saturated forests in subtropical China. *Ecosystems* 12: 33-45 (2009) (査読有)
- 3) 中下留美子・後藤光章・泉山茂之・林秀剛・楊宗興: 窒素・炭素安定同位体によるツキノワグマ捕獲個体の養魚場ニジマス加害履歴の推定. *哺乳類科学*, 47 (1): 19-23. (2007) (査読有)
- 4) 木庭啓介: 安定同位体を用いた窒素循環研究—微生物機能へのアプローチを

目指して. *Journal of Japanese Society for Extremophiles*, 6, (2008) (査読なし)

- 5) Naemura, A., T. Yoshikawa, M. Yoh, N. Ogura, and Y. Dokiya: Acidic deposition on Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) in mountain and suburban hill. *Natural Environ. Sci. Res.*, 20. 13-17 (2007) (査読有)
- [学会発表] (計 16 件)
- 1) 竹林佑、木庭啓介、楊宗興 ヒノキ針葉窒素安定同位体比の決定機構. 日本地球惑星科学連合大会. 幕張. 2009. 5.
  - 2) 木庭 啓介・磯貝 ゆりか・楊 宗興: 硝酸の安定同位体比を用いた亜熱帯湿润森林生態系の窒素飽和状態に関する研究. 日本地球惑星科学連合大会 幕張. 2008. 5.
  - 3) 宮本 侑・木庭 啓介・楊 宗興: The natural abundance of  $^{15}\text{N}$  and  $^{13}\text{C}$  in lichens at mountainous region 日本地球惑星科学連合大会 2008. 5.
  - 4) 楊 宗興、中下留美子、北澤陽子、深山景亮、宮本侑、泉山茂之: 高標高山岳域における大気沈着窒素、植物、地衣類、サルの低い窒素安定同位体比. 日本地球化学会. 東大駒場. 2008. 9. 17.
  - 5) 楊 宗興、中下留美子、北澤陽子、深山景亮、宮本侑、泉山茂之: 高山帯におけるニホンサルと大気沈着窒素の特異に低い窒素安定同位体比. 生物地球化学研究会. 山梨県清里. 2008. 9. 4.
  - 6) 楊 宗興 中国亜熱帯で始まっている”アジア型”の激しい酸性化 2008 酸性雪(雨)シンポジウム (招待講演) 新潟 2008. 11. 3.
  - 7) 楊 宗興 湿原生態系の特徴的な生物地球化学的ストイキオメトリー九州大学シンポジウム: 水圏を中心とした物質の循環と古環境の復元—今後の発展に向けて— (招待講演) 九州大学(福岡) 2008 年 12 月 22-23 日
  - 8) Nakashita, R., H. Hayashi, M. Yoh, T. Tsubota, T. Korenaga: 安定同位体による職制解析と年齢査定による 2006 年長野県ツキノワグマ大量出沒の特徴. 哺乳類学会 2008 年大会. 山内大学. 2008. 9.
  - 9) Keisuke Koba, Yurika Isogai, Muneoki Yoh, Jiangming Mo, Sakae Toyoda, and Naohiro Yoshida Nitrogen dynamics in a sub-tropical forest in south China. The 4th International Symposium on Isotopomers. Odaiba, Tokyo. 4-8 October 2008
  - 10) Yuji Sasaki, Keisuke Koba, Muneoki Yoh, Akiko Makabe, Masamichi Yamamoto,

Yuichiro Ueno, Mayuko Nakagawa, Sakae Toyoda, and Naohiro Yoshida: Nitrogen cycling in Lake Kizaki elucidated by isotopic analysis. The 4th International Symposium on Isotopomers. Odaiba, Tokyo. 4-8 October 2008

- 11) Rumiko Nakashita, Y. Suzuki, M. Sato, M. Goto, S. Izumiya, H. Hayashi, M. Yoh, T. Tsubota, T. Korenaga: A study on feeding habit of Asiatic black bear by nitrogen isotope analysis of amino acids. The 4th International Symposium on Isotopomers. Odaiba, Tokyo. 4-8 October 2008
- 12) 北澤 陽子・中下 留美子・楊 宗興: Ion-Exchange-Resin Technique to Measure Nitrogen Deposition and Its Isotopic Composition in Alpine Region. 日本地球惑星科学連合. 幕張. 2007. 5.
- 13) 渡邊浩史・楊 宗興: 多摩川上流とその周辺域における森林溪流水質の特性および酸性化に関する考察. 日本陸水学会 2007 大会. 水戸. 2007. 9. 11
- 14) 中下留美子、泉山茂之、後藤光章、岸元良輔、楊宗興、林秀剛: 長野県における 2006 年ツキノワグマ捕獲個体の炭素・窒素安定同位体比. 日本哺乳類学会 2007 年度大会. 東京府中. 2007 年 9 月
- 15) Nakashita R, Suzuki Y, Akamatsu F, Sato M, Goto M, Izumiya S, Hayashi H, Yoh M, Tsubota T, Korenaga T: A study on feeding habit of Asiatic black bear by nitrogen isotope analysis of amino acids. 6th International Conference on the Applications of Stable Isotope Techniques to Ecological Studies. Honolulu, Hawaii, USA. 25-29 August 2008
- 16) 木庭啓介: 安定同位体を用いた窒素循環研究—微生物機能へのアプローチを目指して. 極限環境微生物学会シンポジウム (2007) 2009 年 6 月 9 日

[図書] (計 3 件)

- 1) 木庭啓介: 流域環境評価と安定同位体—水循環から生態系まで. 199-216. 京都大学出版会 (2008)
- 2) 木庭啓介: 流域環境評価と安定同位体—水循環から生態系まで. 240-241. 京都大学出版会 (2008)
- 3) 木庭啓介: 流域環境評価と安定同位体—水循環から生態系まで. 388-394. 京都大学出版会 (2008)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

楊 宗興 (YOH MUNEOKI)  
東京農工大学・大学院共生科学技術研究院・  
准教授  
研究者番号：50260526

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者

木庭 啓介 (Koba Keisuke)  
東京農工大学・大学院共生科学技術研究院・  
准教授  
研究者番号：90311745

泉山 茂之 (IZUMIYAMA Shigeyuki)  
信州大学・農学部・准教授  
研究者番号：60432176