

機関番号 : 32687

研究種目 : 若手 (B)

研究期間 : 2008 ~ 2010

課題番号 : 20710011

研究課題名 (和文) 沿岸域における異化型硝酸還元過程の解明に関する研究

研究課題名 (英文) Dissimilatory nitrate reduction in the coastal area

研究代表者

千賀 有希子 (SENGA YUKIKO)

立正大学地球環境科学部・助教

研究者番号 : 30434210

研究成果の概要 (和文) : 釧路湿原は北海道の北東部に広がる日本最大の湿原であり、1980年に日本で初めてラムサール条約に登録された湿原である。近年、開発は規制され保全に力が注がれているが、湿原周辺では農地開発が進んでいる。これに伴って施肥など農地由来の栄養塩が湿原へ多く流入していると言われている。本研究ではこれらの影響を把握するために、湿原内の植生の異なる2地点において2008年11月および2009年8月に約150cm土壌を回収し、間隙水中の NH_4^+ 、 NO_2^- 、 NO_3^- 濃度、溶存有機態炭素 (DOC) 濃度の測定を鉛直的に行った。また、脱窒活性や酵素活性など微生物活性を測定した。さらに溶存有機物質の性質を知るために、三次元励起蛍光スペクトル法によって解析を行った。2地点における NH_4^+ 、DOC濃度は、冬期および夏期とも土壌深度にともなって増加した。両地点の NO_3^- は、還元的な深い土壌中で蓄積している傾向が観られた。脱窒活性は、全てにおいて表層で最も高く、下層でほとんど検出されなかった。酵素活性は、深い層でも検出された。溶存有機物質の性質を解析したところ、励起波長 330 nm / 蛍光波長 410nm, 励起波長 330 nm / 蛍光波長 440nm 付近等にピークが観られたことから、溶存有機物質中に腐植物質が含まれていることが解った。これらの結果より、深い土壌中においては脱窒細菌が利用できる有機物が少ないため脱窒が進行し難く、 NO_3^- の蓄積が観察されたと考えられた。今後湿原へ窒素負荷量が増えた場合、土壌中で窒素種の蓄積が起こり、湿原および集水域で富栄養化や酸性化などが引き起こされる可能性が示唆された。

研究成果の概要 (英文) : Kushiro Mire is the largest mire in Japan and in 1980 was the first wetland in Japan registered under the Ramsar Convention. Recent reports indicate an increase in nutrient loading into Kushiro Mire from changes in land use. We measured vertical profiles of dissolved inorganic nitrogen (DIN; NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+), dissolved organic carbon (DOC), and various types of microbial activity in soil samples collected to approximately 1.5 m depth at two sites in Kushiro Mire. We found an accumulation of NO_3^- and DOC in the deeper soil. Denitrifying activity was highest in the shallower soils, and decreased drastically with depth, whereas higher levels of fluoresceindiacetate hydrolysis and β -glucosidase, acid phosphatase, and xylosidase enzyme activity were found in the deeper layers. We also detected humic-like substances as components of the DOC. These results suggest that the DOC in the wetland soil cannot be used as a substrate for denitrification, causing denitrification to be suppressed in the deeper soil. In addition, denitrifying activity would be very low in the deeper layers due to low soil temperature. As a result, nitrogen inputs to the Mire have resulted in a large accumulation of NO_3^- in the deeper soil. This will eventually change the mire ecosystem through effects such as increased eutrophication and acidification.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,400,000	420,000	1820,000
2009年度	900,000	270,000	1170,000
2010年度	900,000	270,000	1170,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：環境学・環境動態解析

キーワード：物質循環

1. 研究開始当初の背景

近年、さまざまな人間活動が活発化するのに伴い、陸域から沿岸域へ流出する窒素が増大している。これらの窒素のほとんどは、微生物の酸化作用（硝化）や降雨のNO_x由来によって硝酸イオン（NO₃⁻）の形態で沿岸域へ流入してくる。そのため沿岸域の水質の富栄養化や酸性化が懸念されており、NO₃⁻の消失過程を把握することは沿岸域の窒素浄化にとって極めて重要である。沿岸域におけるNO₃⁻の消失には同化型硝酸還元と異化型硝酸還元があるが、前者の同化型硝酸還元は一般的には無視できる程度である。一方、微生物による異化型硝酸還元には2つの過程があり、脱窒とアンモニアへの異化型硝酸還元（DNRA）である。これらの過程は、一般的に沿岸堆積物といった還元条件下で同時に進行する。脱窒は、NO₃⁻を窒素ガス（N₂）まで還元し窒素を系外に放出する過程である。一方で、DNRAはNO₃⁻をアンモニア（NH₄⁺）に還元し系内に窒素をとどめてしまう貯留する過程である。どちらの過程が優位になるかによって窒素浄化の程度は大きく異なり、沿岸域の富栄養化に大きな影響を及ぼす可能性が高い。また、近年、温暖化ガスである亜酸化窒素（N₂O）が脱窒だけでなくDNRAからも生成されることが示された。したがって、これらの過程は窒素浄化だけでなく、大気への温暖化ガス放出にも関与する。

このような重要な過程でありながら、特にDNRAに関しては不明な点が多く、DNRAから放出されるN₂O量に至っては全く解っていない。そこで、脱窒とDNRAからそれぞれ生成され大気へ放出するN₂O量を明らかにすることは不可欠と考え、2つの過程から生成・放出されるN₂Oを分別し定量化したいという着想に至った。

2. 研究の目的

本研究は、異化型硝酸還元に対する脱窒とDNRAの寄与とこれまで考慮されてこなかった両過程から生成・放出されるN₂O量を分別定量し、これらの時空間的変動特性を明らかにすることを目的とした。本研究によって沿岸域の窒素循環に新知見が加わるとともに、沿岸域への窒素負荷の増加が懸念される中で、硝酸還元を利用した窒素浄化の技術開発や将来予測にむけたモデルの確立に役立つことが期待された。また、DNRAから生成・放出されるN₂Oを明らかにすることで、脱窒のみで推定されてきた沿岸堆積物におけるN₂Oの大気への放出予測量を塗り替えると考えられた。

3. 研究の方法

鉛直的な土壌の回収は、釧路湿原内のヨシ、ヨシおよびイワノガリヤスが優先している2地点で、ハンディジオスライサー（復建調査設計株式会社）を用いて2008年11月と2009

年8月に行った。回収した土壌は、現場で層ごとに切り分け冷蔵して持ち帰った。間隙水中の NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- , DOC の測定を行った。また、蛍光分光光度計を用いて間隙水の腐植物質を3次元蛍光スペクトル法によって解析した。また、アセチレン阻害法によって脱窒活性を測定した。

4. 研究成果

近年、釧路湿原周辺で農耕地が増えているのに伴い、集水域から湿原内へ施肥由来の窒素負荷が増加している。多量の窒素の負荷は、湿原の富栄養化や酸性化をもたらす結果として湿原生態系の構造と機能に影響をもたらすものと考えられる。したがって、窒素の消失過程である異化型硝酸還元を明らかにすることは、湿原生態系の保全にとって大変重要であると考えられる。そこで、本研究では、植生の異なる2地点で、土壌深度1.5mまでの土壌サンプルを回収し、層ごとの窒素と有機物の現存量及び脱窒活性を測定することでそれぞれの地点の窒素動態の考察を行った。

両地点の土壌層ごとの窒素と有機物の現存量及び脱窒活性の傾向は、ほぼ同じで大きな違いは観られなかった。 NH_4^+ , DOC濃度は、冬期および夏期とも土壌深度にともなって増加した。 NO_3^- も、深い土壌中で蓄積している傾向が観られ、この傾向は特に冬期によりはっきりと観られた。脱窒活性は、冬期および夏期とも全てにおいて表層で最も高く、下層でほとんど検出されなかった。DOCの性質を解析したところ、 $\text{Ex/Em}=330/410, 330/440$ 付近等にピークが観られたことから、DOCに腐植物質が含まれていることが解った (Table 1)。これらのことより、深い土壌中においては脱窒細菌が利用できる有機物が少ないため脱窒が進行し難く、結果として

NO_3^- が蓄積していたと考えられた。また、冬期においては土壌温度が低下することから、夏期に比べて脱窒は進行せず、より多くの NO_3^- が蓄積していたと考えられた。

本研究により湿原土壌深層部で脱窒がほとんど進行しないことが解った。今後湿原へ栄養塩の負荷量が増えた場合、土壌中で窒素種の蓄積が起こり、湿原および集水域で富栄養化や酸性化などが引き起こされる可能性がある。

また、DNRAの進行と寄与および N_2O の発生については現在研究中であり、今後明らかにしていく予定である。

Table 1. Fluorescence characteristics of dissolved organic matter.

Site	Depth interval (cm)	Humic-like peak A		Humic-like peak B	
		QSU ^a	Ex/Em ^b	QSU ^a	Ex/Em ^b
1	0-5	20.30	330/410	19.70	330/440
	5-70	31.47	330/410	25.43	330/440
	70-150	31.47	330/410	29.44	330/444
2	0-10	22.08	330/410	21.62	330/410
	10-90	31.27	330/409	29.29	330/438
	90-130	38.98	330/411	37.82	330/440

^aQuinine sulfate units.

^bExcitation/emission wavelengths (nm).

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9件)

- 1) Senga Y, Hiroki M, Nakamura Y, Watarai Y, Watanabe Y, Nohara S (2011) Vertical profiles of DIN, DOC and microbial activities in the peat soil in Kushiro Mire, northeastern Japan. *Limnology* 12: 17-23
- 2) 菅原庄吾, 坂本達也, 鮎川和泰, 木元克則, 千賀有希子, 奥村稔, 清家泰 (2010) 砂泥堆積物中溶存硫化物の簡便な現場抽出/吸光光度定量及びその有明海北東部

- 堆積物への適用, 分析化学, 59:1155-1161
- 3) Senga Y, Okumura M, Seike Y (2010)
Seasonal and spatial variation in the denitrifying activity in estuarine and lagoonal sediments. *Journal of Oceanography* 66: 155-160
 - 4) 千賀有希子, 渡辺泰徳 (2010) 汚濁池沼への酸素供給が有機物分解および微生物群集へ与える影響, *地球環境研究*, 12: 13-18
 - 5) 千賀有希子, 廣田充, 野原精一 (2010) 水生植物を介した湿地—大気間の N₂O 輸送に関する実験的研究, *地球環境研究*, 12: 127-132
 - 6) 千賀有希子, 照井滋晴, 野原精一, 渡辺泰徳 (2010) 釧路湿原赤沼の溶存腐植物質の分解に対する微生物と紫外線の影響, *地球環境研究*, 12: 133-137
 - 7) Senga Y, Hirota M, Hirao M, Fujii T, Seike Y, Nohara S, Kunii H (2009) Nitrogen dynamics and N₂O emission in restored salt marsh, Lake Shinji, Japan. *Verhandlungen des Internationalen Verein Limnologie* 30: 907-910
 - 8) 千賀有希子, 渡辺泰徳 (2009) 汚濁池沼への空気供給が窒素および炭素動態に与える影響, *地球環境研究* 11: 95-102
 - 9) Ohtsuka T, Hirota M, Zhang X, Shimono A, Senga Y, Du M, Yonemura S, Kawashima S, Tang Y (2008) Soil organic carbon pools in alpine to nival zones along an altitudinal gradient (4400-5300 m) on the Tibetan Plateau. *Polar Science*. 2: 277-285

[学会発表] (計 7 件)

- 1) 千賀有希子, 渡辺泰徳, 照井滋晴, 野原精一,

- 広木幹也 (2011) : 腐植湖沼赤沼における溶存有機物分解に対する光と微生物の影響. 第 58 回日本生態学会大会 (札幌).
- 2) 千賀有希子, 広木幹也, 中村洋介, 渡来靖, 渡辺泰徳, 照井滋晴, 野原精一
(2010) : 釧路湿原の土壌深層部における脱窒過程の特徴. 日本陸水学会第 75 回大会 (弘前).
- 3) 千賀有希子, 広木幹也, 中村洋介, 渡来靖, 渡辺泰徳, 照井滋晴, 野原精一
(2010) : 釧路湿原泥炭土壌の脱窒に溶存有機物質が与える影響. 第 57 回日本生態学会大会 (東京).
- 4) 千賀有希子, 渡辺泰徳, 清家泰 (2009) : 中海深層水への酸素供給が有機物分解および窒素動態へ与える影響. 日本陸水学会第 74 回大会 (大分).
- 5) 千賀有希子, 奥村稔, 清家泰 (2009) : 沿岸域における脱窒活性の時空間変動特性. 第 56 回日本生態学会大会 (盛岡).
- 6) Senga Y, Hiroki M, Nakamura Y, Watarai Y, Watanabe, Y, Nohara S (2009) Vertical Profiles of DIN, DOC and microbial activities in the peat soil in Kushiro Mire, northeastern Japan. The 14th International Symposium on River and Lake Environments, Ueda, Japan
- 7) 千賀有希子, 渡辺泰徳 (2008) : 酸素の過剰供給が汚濁水の微生物相と有機物分解および窒素代謝に与える影響. 日本陸水学会第 73 回大会 (札幌).

6. 研究組織

(1) 研究代表者

千賀有希子 (SENGA YUKIKO)

立正大学・地球環境科学部・助手

研究者番号 : 30434210

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし