

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 22 日現在

機関番号：82107

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25660200

研究課題名(和文) イネを経由するメタンガス放出機構の解明：同位体分別効果を活用した新アプローチ

研究課題名(英文) CH<sub>4</sub> transport mechanisms via rice plants: a new approach using isotopic fractionation of <sup>13</sup>C-CH<sub>4</sub>

研究代表者

常田 岳志 (Tokida, Takeshi)

独立行政法人農業環境技術研究所・その他部局等・研究員

研究者番号：20585856

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：水田土壌中では温室効果ガスであるメタンが盛んに生成され、多くはイネの通気組織を介して大気へ放出される。しかしその輸送メカニズムは殆ど分かっていない。本研究課題では実際のフィールド(農家水田)から放出されるメタンの量とその炭素安定同位体比を生育期間全般に渡って調べた。その結果、生育中盤以降、放出されたメタンの量は2～3倍に及び日較差を示すこと、さらに放出量の多い日中には、<sup>13</sup>Cの割合が相対的に多い「重い」メタンが放出され、夕方～早朝にかけての放出量が少ない時間帯では比較的「軽い」メタンが出てくること分かった。この結果は昼夜でメタンの移動メカニズムが異なることを示唆していた。

研究成果の概要(英文)：Rice paddies represent one of the largest anthropogenic sources of atmospheric CH<sub>4</sub>. Methane is produced by methanogens in anoxic soil and released into the atmosphere mainly via aerenchyma tissue of rice plants; however physical mechanisms of the emissions remain unclear. In this study CH<sub>4</sub> emission was measured at a farmer's rice paddy, showing a large (>2-3 folds) diurnal variation in CH<sub>4</sub> emissions after the middle of the growth season. The larger emissions during the daylight hours accompanied relatively heavier CH<sub>4</sub> (enriched in <sup>13</sup>C) while smaller emissions during the nighttime were characterized with lighter (less <sup>13</sup>C) CH<sub>4</sub>. These results suggest occurrence of and shift in different transport mechanisms of CH<sub>4</sub> through rice plants.

研究分野：生物地球科学

キーワード：メタン 水田 イネ 炭素安定同位体比 ガス輸送 移流 拡散

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 水田は約 30 億人に主食のコメを提供する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最大人為発生源でもある。水田からのメタン発生には、微生物によるメタンの i) 「生成」と ii) 「酸化(分解)」、および iii) 土壌中の「貯留」と iv) 大気への放出に至る「輸送」、という 4 つのプロセスが関与する。これまでの研究から、水田からのメタン発生は、環境・土壌・品種・栽培管理によって大きく変動することが明らかになってきた。こうした変動を発生制御技術として適正に評価・活用するためには、メタン発生量の応答を 4 つのプロセスに切り分けて理解する必要がある。これまでの研究からメタンの「生成」と「酸化」(生物的過程)に関する知見は充実してきている。一方で物理的過程(「貯留」・「輸送」)に関する知見は乏しい。そのためこれまでの研究の多くは、物理的過程はメタン放出量の変動を引き起こさないと仮定してきた。

しかし筆者らは、水田土壌中でメタンが気泡バブル状態で多量に存在することを明らかにし、生成と放出には時間的なギャップがあり貯留過程を考慮する必要があることを指摘した<sup>文献 1</sup>。このことは、これまで生成のみに帰結されてきたメタン放出量の変動が、実際には物理的な貯留・輸送過程にも左右されている可能性を示唆している。またメタンの多くがイネの通気組織を経由して大気へ放出されることを考え合わせると<sup>文献 2</sup>、イネを通るガス輸送メカニズムを解明することが、メタン放出量の変動要因の解明に重要と考えられる。

メタンの輸送メカニズムとしては濃度勾配に従った「分子拡散」と、圧力勾配に伴う「移流」の二つが想定されるが、単に放出量を測定しただけでは、この 2 つを分離して評価することはできない。しかし自然界に存在する炭素安定同位体を利用することで、拡散と移流を分離できる可能性がある。これは分子量が小さいほど、分子拡散係数が大きいことを利用するもので、メタンの場合  $^{12}\text{CH}_4$  は  $^{13}\text{CH}_4$  と比べて 1.0195 倍拡散係数が大きい。したがって拡散による移動が生じる場合には最大で 19.5% の同位体分別が生じる。一方、「移流」では全てのガスが圧力勾配に従って移動するため同位体分別は生じない。筆者は放出量に加えて炭素安定同位体比を調べることで、メタン放出量の変動に拡散・移流といった輸送メカニズムがどのように影響を与えるか調べることができると考え、本研究課題を設定した。

## 2. 研究の目的

(1) 本研究ではまず、多検体のメタンの炭素安定同位体比を測定できる分析ラインの開発を行った。次に作成したラインを用い、イネを経由するメタンの輸送メカニズムを、同位体分別効果を活用して調べ、メタン放出

量の変動に輸送過程がどのように影響しているか明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

(1) これまでメタンの炭素安定同位体比は主に地球科学分野で研究が行われており、比較的均質なサンプル(たとえば地球大気)を高精度で測定することが重視され、本研究のように環境中で採取した多数のサンプルをハイスループットで分析することは意図されてこなかった。そこで筆者は、精度を損なわないまま、メタンの分析プロトコルを自動化し、ハイスループットで多検体の分析が行えるラインの開発を行った。

特に改良を要した点は、メタンの精製過程である。メタンの同位体分析では -130 程度の低温下で多孔質ポリマーにメタンを一旦吸着させることで、他の大気成分(窒素/酸素/アルゴン等)からメタンを精製する必要がある。既存の分析ラインではこの過程で冷媒(*n*-pentane)と液体窒素を用いるため、2-3 時間に 1 度手で液体窒素を冷媒に加えて攪拌する操作が必要で、測定の自動化を妨げてきた。そこで筆者は冷媒を用いず、液体窒素とヒーターを組み合わせて任意の温度に調節できる装置を作成し、24 時間自動で分析できるラインを作ることを目指した。

(2) 茨城県つくばみらい市の農家圃場の一角に自動で開閉するチャンバとガスを採取する装置を設置した。チャンバは透明なアクリル製でイネを 4 株覆う大きさ(30 cm x 60 cm)とした。チャンバ高さは初期は 35cm とし、イネの生育を阻害しないように徐々に高くした。チャンバは 1 日 2 回、日中と真夜中に 30 分間蓋が閉まるようにセットし、自動ガス採取装置によってチャンバ閉鎖直後と 30 分後のガスを予めセットした真空バイアル瓶に採取した。採取したガスサンプルは定期的に研究所に持ち帰り、ガスクロマトグラフによりメタンの濃度を分析した。チャンバ内のメタン濃度の変化から放出されるメタンの量を調べ、さらに同じサンプルのメタンの炭素安定同位体比を新たに開発したメタンの炭素安定同位体比自動分析ラインを用いて測定した。

## 4. 研究成果

(1) メタンの炭素安定同位体比を高精度かつハイスループットで測定する分析ラインを世界に先駆けて開発した<sup>発表論文 1</sup>。開発したラインはガラスバイアル瓶に保存してあるサンプルを高純度ヘリウムの流れの中でトラップ・精製した後、1000 で燃焼し、 $\text{CO}_2$  にしてから安定同位体比分析計で炭素の同位体比を測定するものである。大気レベルの濃度でも 10mL の量で安定同位体比を 0.10% 以下の精度で測定することができる。液体窒素とヒーターを組み合わせた温度コントローラ

によって分析の全過程を自動化し、1日に77サンプルの分析が可能となった。またこのラインは近年指摘されている大気中クリプトンがメタンの同位体比測定に与える影響<sup>文献3</sup>についても考慮した。具体的には、メタンと他の炭化水素・CO・CO<sub>2</sub>をガスクロマトグラフで分離後、メタンをCO<sub>2</sub>に酸化し、その後2つめの分離カラムを用いてクリプトンとメタン由来のCO<sub>2</sub>を分離することで、クリプトンの影響を排除することに成功した。

(2)自動開閉チャンバを用いることで、実際の農家水田におけるメタン放出量の変動を明らかにすることができた。メタン放出量は土壌の還元に伴って徐々に増加したが、イネの生育初期は昼夜で大きな差は見られなかった。穂孕み期頃になると明瞭な日変化が見られるようになり、日中の放出量は夜間の2-3倍程度大きくなった。興味深いことに、この時メタンの炭素安定同位体比も明瞭な日変化を示した。すなわち、日中放出量が多いときは<sup>13</sup>CH<sub>4</sub>が多い「重い」メタンが放出され、夜間放出量が少ないときは比較的「軽い」メタンが放出されていた。この傾向は登熟期後半に水田が落水してメタンの放出が止まるまで続いた。

(3)これらの結果は、イネを通るメタンの輸送メカニズムの変動として解釈することができる。すなわちメタンの放出は濃度勾配に従う「拡散」によって定常的に生じており、同位体分別効果によって比較的軽いメタンが放出される傾向にある。一方、日中にはそれに加えて「移流」が生じ、同位体分別を受けない重いメタンが放出されることで、夜間と比べて放出量が飛躍的に多くなる、と考えられた。

土壌中に多量のメタンが気泡バブル状態で存在していることを踏まえれば、日中地温の上昇によって土壌中に蓄積している気泡の圧力が上昇することが、移流を生じさせるメカニズムの一つと考えられた。この解釈は、生育期間の途中までメタン放出量に明瞭な日変化が見られないこととも一致する。つまり生育前半はまだ土壌中のメタン賦存量が少なく、気泡の量も少ないため、気泡圧力の日変動も生じないと考えられるからである。

ただし、メタン放出量やその同位体比の季節変動には、通期組織の形成や節間伸長などイネの生育・生理が直接影響している可能性も考えられるため、今後はそれらの点を踏まえた研究を行う必要がある。

(4)本研究の結果、メタン放出量の日変化の要因として、ガス輸送メカニズムの変動が関与している可能性が強く示唆された。これまでメタン放出量の日変化は、地温の日変化に伴って微生物によるメタンの生成量が変化することで生じる、という考えが一般的であった。しかし生成量が放出量を規定すると

いう仮説は、放出量の日変化が生育前半で見られないことを説明できず、また同位体比の変化を説明することも困難である。したがって本研究の成果は、放出メカニズムの解明に留まらず、メタン生成の温度依存性など、これまでのデータ解釈に対して再考の必要性を示唆している。

なお安定同位体を用いたメタン発生の変動要因の研究はまだ始まったばかりであり、今後その進展が大いに期待される。例えばメタンの酸化や生成に伴う同位体分別効果に注目することで、生成されたメタンが放出される前にどの程度分解されているかや、メタンの生成経路に関する情報も得られる可能性がある。

#### <引用文献>

Tokida T, Cheng W, Adachi M, Matsunami T, Nakamura H, Okada M, Hasegawa T (2013) The contribution of entrapped gas bubbles to the soil methane pool and their role in methane emission from rice paddy soil in free-air [CO<sub>2</sub>] enrichment and soil warming experiments. *Plant and Soil*, 364, 131-143.

Nouchi I, Mariko S, Aoki K (1990) Mechanism of methane transport from the rhizosphere to the atmosphere through rice plants. *Plant Physiology*, 94, 59-66.

Schmitt J, Seth B, Bock M et al. (2013) On the interference of Kr during carbon isotope analysis of methane using continuous-flow combustion-isotope ratio mass spectrometry. *Atmospheric Measurement Techniques*, 6, 1425-1445.

#### 5. 主な発表論文等

##### [雑誌論文](計1件)

Takeshi Tokida, Yasuhiro Nakajima, Kentaro Hayashi, Yasuhiro Usui, Nobuko Katayanagi, Masako Kajiuura, Hirofumi Nakamura, Toshihiro Hasegawa, Fully automated, high-throughput instrumentation for measuring the <sup>13</sup>C of methane and application of the instrumentation to rice paddy samples, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 査読有り, 28(21), 2014, 2315-2324. doi:10.1002/rcm.7016.

##### [学会発表](計1件)

常田岳志、安定同位体比から水田のメタンフラックスの変動要因を読み解く、日本土壤肥料学会 2015年度京都大会、2015年9月9日(予定) 京都大学。

#### 6. 研究組織

(1)研究代表者

常田 岳志 (TOKIDA, Takeshi)

独立行政法人・農業環境技術研究所・任期  
付研究員

研究者番号：20585856