

研究テーマ：含窒素ガス放出の土壌放出量測定と微生物動態との関係	
研究代表者：生物資源科学部 生命環境学科 環境科学コース 教授 米村正一郎	連絡先：yone@pu-hiroshima.ac.jp
共同研究者：総合学術研究科 生命システム科学専攻 大学院生 田端爽一 羽住政信	
【研究概要】 土壌からの放出量予測が困難である含窒素ガス（N_2O, NO）のモデル化に向けた交換量測定では、森林土壌・茶園土壌について、1：乾燥法に引き続き、加水法でも放出量ピークを確認した。2：圧密実験を行いガス交換量を測定し、物理性の変化に伴うガス放出量の変化の結果を得た。3：森林土壌の空間的ばらつきの評価：酸素雰囲気を変えての実験では、混合林は人工林より5倍程度の N_2O 放出量を示した。微生物動態解析については、それぞれの土壌において特徴的な微生物群が観察された。以上、微生物の群集構造とガス交換量のデータを組み合わせで、土壌の窒素循環プロセスの理解につながる結果が得られた。	

【研究内容・成果】

1. ガス交換量の測定

ガス交換量測定システムを用いた、含窒素ガス（ NO , N_2O ）の交換量測定では、森林土壌および茶園土壌について以下の実験を行った。

- 乾燥法（キャリアガスを流し続けることで土壌水分を徐々に減少（乾燥）させてガス交換量を見る方法）に引き続き、加水法（低水分条件から水分を増加させてガス交換量を見る）の検討を行った。加水法では、一定の時間後にガス放出量のピークが見られた（図1）。

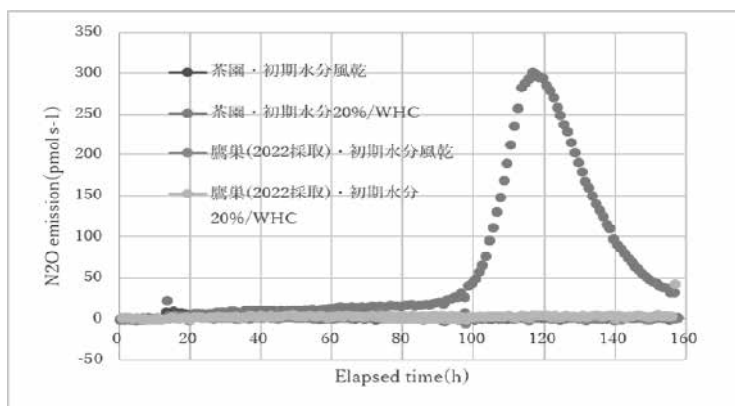


図1 加水後の N_2O

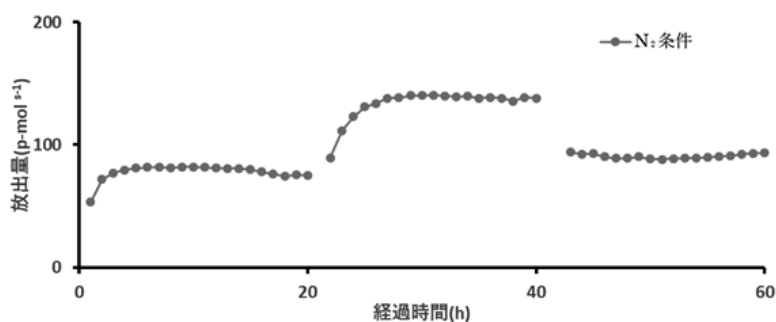


図2 最大容水量60%条件における森林土壌の N_2O の放出量推移。20-40時間で密にした条件にしてある。

- 圧密実験（圧密を上げ下げを行った）を行いガス交換量を測定した。 N_2 条件下では、 N_2O の放出量は密条件では上昇（図2）、 NO 放出量は減少する傾向にあった。密条件では、ガス拡散係数が落ち N_2O の前駆体である NO の土壌内での滞留時間が増え N_2O まで反応がより進んだものと考えられる。

- 森林土壌の空間的ばらつきの評価：酸素雰囲気を変えての実験を行った。混合林は人工林より5倍程度の N_2O 放出量を示した。

以上、土壌における含窒素ガスの交換過程のモデル化で重要になる情報が得られた。

なおモデル化は図2のように土壌内での物理的な要素も土壌内での化学反応量に影響することから、拡散過程を入れ込んだモデル化が重要であると考えられる。

2. 供試土壌の微生物群集構造解析

本セクションでは各培養条件における微生物群集の構造を明らかにし、条件間に差異があるか否かを確認した一連の実験について報告する。本研究で注目する土壌における N₂O や N₂ などのガス交換プロセスは、土壌の様々な生物が関与して駆動される現象である。そこで、微生物群集の構造に関する情報を得て、硝化・脱窒プロセスを駆動する生物学的なメカニズム

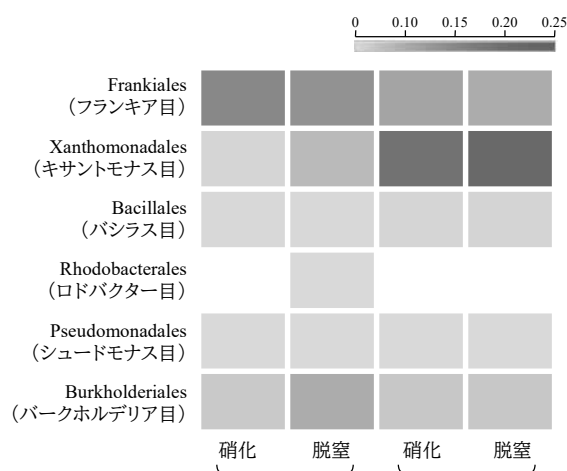


図3 各条件における硝化または脱窒に関与している可能性の高い細菌群の相対存在量。

の一端を明らかにすることを目的とした。茶園土壌、森林土壌で窒素条件（脱窒卓越）、空気条件（硝化卓越）を対象ととして、ヒートマップ図からまとめた（図3）。まず、森林土壌と茶園土壌の両方において、脱窒条件で特徴的であった細菌群はキサントモナス目（Xanthomonadales）・バークホルデリア目（Burkholderiales）であった。キサントモナス目の割合は両方の土壌で脱窒条件の時にその相対存在量が高くなった。森林土壌で硝化条件の時のキサントモナス目の割合は 0.7% であるのに対し、脱窒条件では 4.3%, 茶園土壌では硝化条件時で 18.0% であったところ、脱窒条件で 21.3% になっていた。キサントモナス目に分類される微生物群は尿素などの窒素肥料が施肥された際に増殖することが知られている微生物の細菌群である。本研究で用いた茶園土壌は窒素肥料が長年にわたり施肥されていたことが原因で、森林土壌と比べて初期状態のキサントモナス目の相対存在量が高かったと考えられる。しかし、キサントモナス目の細菌群が脱窒や硝化のプロセスに直接関与するという確固たる証拠は未だに報告されておらず、本実験の脱窒条件でガス交換を駆動するメインプレイヤーとしての役割を果たしていたかは不明である。また、森林土壌ではロドバクター目とバークホルデリア目の相対存在量が硝化条件の時にそれぞれ 0% と 2.3% であったが、脱窒条件ではそれらが 0.01% と 6.3% と増加していた。ロドバクター目は脱窒能を持つことが知られている。加えてバークホルデリア目の細菌群の中には、亜硝酸還元酵素遺伝子を持つものが存在すると先行研究で報告されており、本研究において脱窒条件下での窒素循環プロセスに関与していた可能性が高い。一方で、茶園土壌ではロドバクター目とバークホルデリア目の相対存在量に差はなく、この 2 つの細菌群は森林土壌に特徴的な細菌群であった。加えて、図3に合わせて示しているバシラス目（Bacillales）・シュードモナス目（Pseudomonadales）も脱窒作用を有しているとされているが、本研究において脱窒条件と硝化条件での間にその相対存在量に差はなかった。

次に、硝化条件でそのプロセスに直接関与している可能性が高い細菌群は、フランキア目（Frankiales）であった。森林と茶園の両方の土壌において、硝化条件で相対存在量が高かったフランキア目は放線菌類と共生し、大気中の窒素ガス（N₂）を固定することが知られているが、本研究では硝化条件でその相対存在量が増加した。フランキア目は好気性細菌であり、本研究の硝化条件での酸素濃度は大気濃度レベルであったため、キャリアガス内の酸素を用いて窒素固定を行っていた可能性がある。

今後は本研究で明らかになった微生物の群集構造とガス交換量のデータを組み合わせることで、土壌の窒素循環プロセスの深い理解につながると期待される。