

論文内容の要旨

森林科学 専攻

平成 23 年度博士課程 入学

氏 名 石 瑠

指導教員名 大手 信人

論文題目 Study on nitrogen deposition and transformation dynamics along the canopy-soil continuum in a suburban forest near Tokyo metropolitan area

(東京首都圏近郊林の樹冠-土壌連続系における窒素の沈着とその形態変化に関する研究)

本論文は、大気降水物としてもたらされる過剰な窒素が森林生態系の窒素循環に与える影響に着目して、東京近郊の森林における窒素循環の実態を、安定同位体トレーサーを用いる新しい手法によって明らかにしたものである。

第一章では、森林生態系における窒素循環研究のこれまでの研究をレビューし、高窒素沈着条件の森林において、窒素循環の実態を把握する必要性が高いことを述べた。

森林生態系における窒素循環はその系内に生息する全ての生物の活動を維持する最も基礎的な物質循環の一つである。同時に、森林生態系を構成する複数の機能群に属する生物群集によって駆動されている極めて複雑な循環構造を持っている。その主要なメンバーは植物、微生物、動物であるが、中でも水溶性の窒素を利用する植物と微生物は、しばしば可吸性窒素の核種である無機態窒素 (NH_4^+ 、 NO_3^-)、低分子の有機態窒素について競争関係にある。このように窒素が生態系内で循環したり、利用可能な窒素を巡って植物と微生物との間に競争が生じたりするのは、生態系内の可吸性の窒素量が生態系の構成員である多くの生物、特に一次生産者にとって成長の制限要因になっていることに起因する。

しかしながら、産業革命以降、化石燃料の燃焼や化学肥料の製造、農地での使用が増加し、生物にとっての利用可能性が高い窒素の大気への放出が劇的に増大した。その結果、降水物として地表の生態系にもたらされる窒素量も増大した。今日、窒素の大気沈着量が $10 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ yr}^{-1}$ を超える地域は先進国、人口集中地域を中心に広い範囲に広がっている

(Galloway and Cowling, 2002)。

1980年代以降、先進国の温帯森林を中心に「窒素飽和現象」が報告され始めた。これは、大気沈着による生物にとっての可吸性の高い無機態の窒素のインプットが多い地域の森林で、土壌中の NO_3^- の現存量が増大していたり、水系に高濃度で NO_3^- が流出したりすることで現象が認知されてきた(例えば Stoddard 1994)。窒素飽和現象のメカニズムに関する議論は今日まで続いているが、窒素沈着量が多い森林における土壌中での窒素動態についての詳細なプロセス研究は未だ限られている。また、こうした研究の展開のなかで、土壌中での微生物が関与する窒素の形態変化速度を、安定同位体トレーサーを用いた添加培養によって定量する方法や NO_3^- の酸素と窒素の安定同位体比を同時に測定する新たな手法の開発など、より詳細なプロセス研究が可能な方法論が提案されてきた。

以上のような背景を踏まえ、本研究は窒素沈着量の多い都市近郊林を対象にして、大気沈着としてもたらされる窒素が森林に流入する過程、土壌中で窒素の内部循環に取り込まれる過程の実態を把握することを目的とし、上記の二つの同位体測定技術を用いた方法を適用した。

第二章では本研究で用いた調査サイト、調査手法の説明を行った。野外観測と土壌試料、水試料などのサンプリングは、東京都西東京市に位置する東京大学農学生命科学研究科附属田無演習林内(35°44'N, 139°32'E)で実施した。調査地の標高は約60 m、年平均気温は14.6°C(2009-2012)、平均年降水量は1718 mm(2009-2012)であった。対象林分としてこの地域として典型的なスギ(*Cryptomeria japonica*)人工林とクヌギ(*Quercus acutissima*)が優占する落葉広葉樹二次林を選定した。

対象とする二つの林分において、2011~2012年の3年間、大気降下物量の観測と、降水、樹幹流、土壌水等、森林へのインプットから土壌中の雨水浸透過程における無機態窒素濃度と、 NO_3^- の窒素、酸素安定同位体比($\delta^{15}\text{N}$ 、 $\delta^{18}\text{O}$)の測定を行った。加えて、2012~2013年に、主として植生の成長期において、土壌の理化学性、窒素の無機化、硝化特性の測定を4回実施した。

降水(林外雨、林内雨)、樹幹流、土壌水中の NO_3^- の安定同位体比は、微生物脱窒菌法(Sigman et al. 2001)を用いて $\delta^{15}\text{N}$ 、 $\delta^{18}\text{O}$ の同時測定を行った。この方法は2001年に開発された水試料の前処理方法で、測定したい試料水中の NO_3^- を培養された脱窒菌を用いて N_2O ガスに変換する。 N_2O はガスクロマトグラフィー・インターフェイスを介して質量分析計に導入され、 $\delta^{15}\text{N}$ と $\delta^{18}\text{O}$ の測定が行われる。 NO_3^- の $\delta^{15}\text{N}$ と $\delta^{18}\text{O}$ の値は、 NO_3^- が生成される前の起源物質の安定同位体比の情報を保存していたり、 NO_3^- が形態変化を起こす時に変化したりする(同位体分別など)する。例えば、 NH_4^+ の酸化によって NO_3^- が生じる場合、前駆物質である NH_4^+ が、化学合成によって生成された肥料由来の場合、 $\delta^{15}\text{N}$ は低く、-10~5‰であるのに対し、尿由来の場合、0~25‰と高くなる。他方、 $\delta^{18}\text{O}$ は、大気中で生成された NO_3^- の場合、60~95‰であるのに対し、土壌中で微生物によって NH_4^+ から生成される場合、-15~15‰と顕著な差がある。この差異は、 NO_3^- を構成する酸素が生成され

る場の酸素ガスと水の酸素に由来することから、ある程度普遍的に生じることであり、ある試料水中の NO_3^- の含まれる大気由来の NO_3^- と土壤微生物生成由来の NO_3^- の存在比率を推定するために有力な情報となる。

土壤中の有機態窒素の無機化と硝化は、微生物の活動によって進行し、植物や微生物自身の生存のために必要な養分としての溶存窒素（無機態窒素、低分子の有機態窒素）を生成する。また、微生物はこの溶存窒素を吸収することで再度の有機化を進め（不動態）、結果、窒素は土壤中で循環する。この一連の窒素の形態変化は、これまで土壤試料を一定環境条件下で培養し、培養前後の NH_4^+ 、 NO_3^- の存在量の増減から、無機化速度、硝化速度を評価する手法によって記述されてきた。これらの速度は、それぞれ純無機化速度、純硝化速度と呼ばれる。実際には、例えば、 NH_4^+ の現存量は有機物の無機化による NH_4^+ の生成と、微生物による硝化と不動態による消費の差引で決まるものなので、それぞれ機能がことなる微生物の実際の活動量（速度）が評価できない。実際の形態変化速度（総無機化速度、総硝化速度）を測定する手法として、 ^{15}N トレーサーを利用した同位体希釈法が 1990 年代に提案され (Davidson et al. 1992)、これまでに多くの森林土壤で適用されてきている。

この2つの安定同位体比技術を用いた窒素動態の把握のための手法は、これまでに同じサイトの調査において適用された例はほとんどなく、本研究の方法論的な新規性は極めて高い。本研究の場合、前者の安定同位体比技術は、大気沈着由来の窒素流入の実態把握に有用で、後者の ^{15}N トレーサーを用いた技術は、その流入窒素の土壤中の窒素循環の中にもどのように取り込まれるかを記述するために極めて有用である。

第三章では、大気沈着でもたらされる窒素、特に NO_3^- が樹冠を通過して林床のもたらされるまでと、土壤中での濃度と安定同位体比の測定結果から、両過程での窒素の形態変化について考察をおこなった。

NO_3^- 濃度は、スギ林のプロットでは、A層表層部で最も高く、下層でも明らかな減少が見られないのに対して、クヌギ林のプロットではA層以下の鉍質土層で徐々に減少することがわかった。溶存 NO_3^- の $\delta^{18}\text{O}$ は、スギ林とクヌギ林の両方のプロットで、林内雨、樹幹流では中央値が60~70%であるのに対し、A層の表層部で2~7%と急激に低下していることが明らかになった。このことは、大気沈着として流入した NO_3^- が、リター層、A層表層部で微生物によって生成された NO_3^- と混合し、質量比としては大半が微生物生成由来の NO_3^- となっていることを意味している。スギ林プロットでは、この変化はリター層よりもA層表層部で顕著に生じているのに対し、クヌギ林プロットでは季節的な変化があり、成長期（着葉期）ではリター層において明らかな $\delta^{18}\text{O}$ の低下が見られ、リター層中における微生物による NO_3^- 供給が顕著であることが示唆された。

加えて、クヌギ林プロットでは、特に成長期（着葉期）において樹幹流中の NO_3^- の $\delta^{18}\text{O}$ が林外雨や林内雨に比べて明らかに低い場合がしばしばみられた。このことは、樹体表面において微生物が NO_3^- を生成し、その NO_3^- が大気沈着由来の NO_3^- と混合、流下していること示唆していた。樹体や葉表面における微生物による NO_3^- 生成については、これまでに微生物学的な研究

事例はわずかにあるが、 NO_3^- の同位体比変化から検証が行われたのは本研究が最初である。

第四章では、三章で明らかにした、大気沈着としての NO_3^- の流入過程の実態を踏まえて、土壌中での微生物活動による窒素の形態変化を明らかにし、両者から現状の土壌中での NO_3^- 濃度の鉛直分布や変化に関する考察を行った。

スギ林、クヌギ林、両林分のリター層、A 層表層部では、大気降沈着で供給される NO_3^- が微生物によって生成される NO_3^- と混合しているが、大部分が微生物由来の NO_3^- によって占められていることは、 NO_3^- の $\delta^{18}\text{O}$ の変化を見ることで明らかになったが、 ^{15}N トレーサーを用いた同位体希釈法によって測定された総硝化能の高さはこれを裏付けるものであった。また、クヌギ林のプロットでは、A 層表層より深い部位において NO_3^- 濃度の急激な減少が見られた。このことは、この部位において成長期を通じて総不動化速度が総硝化速度を上回っていることと対応しており、微生物活動による窒素の保持機構が機能していることが明らかになった。一方、スギ林のプロットでは、常に総硝化速度が総不動化速度を上回っていた。この結果は、クヌギ林分の場合とことなり A 層以下の鉱質土層中でも、 NO_3^- 濃度が減少しないことと対応していた。

第五章では、本研究によって明らかになった、都市近郊の森林における大気沈着 NO_3^- の樹冠-土壌連続系での動態と、土壌中での微生物による NO_3^- 生成・不動化能から、土壌中での NO_3^- の現存量やフローがどのようなメカニズムで制御されているかを要約した。