

$\delta^{15}\text{N}$ を用いた黒ボク土水田土壌中での N_2O 生成経路の特定

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 明治大学農学部 公開日: 2024-05-30 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 土井,俊弘, 山岸,遥花, 登尾,浩助 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10291/0002000555

〔研究論文〕

$\delta^{15}\text{N}$ を用いた黒ボク土水田土壌中での N_2O 生成経路の特定

土井 俊弘¹・山岸 遥花²・登尾 浩助^{3†}

(23年12月15日)

Identification of N_2O Formation Pathways in Paddy Andisol using $\delta^{15}\text{N}$

Toshihiro DOI¹, Haruka YAMAGISHI² and Kosuke NOBORIO^{3†}

Abstract

Nitrification and denitrification are the two primary N_2O -producing pathways in soil. The N_2O produced by these processes has different stable isotope ratios. N_2O production pathways can be determined by analyzing the isotopic composition of ^{15}N and the site preference (SP) of ^{15}N in N_2O . The effects of different water management strategies on the N_2O production pathways in Andisols should be clarified to reduce N_2O emissions from paddy fields. The objective of this study was to evaluate the effects of changes in soil moisture on the N_2O production pathways in Andisols. The N_2O gas flux was measured using the closed-chamber method. The $\delta^{15}\text{N}$ and SP values of N_2O were measured using an N_2O stable isotope ratio analyzer. The SP values for the emitted N_2O obtained from this experiment ranged from 14.00–56.18‰, and the $\delta^{15}\text{N}$ values ranged from –44.81–15.02‰. The $\delta^{15}\text{N}$ and SP values in N_2O and the respective time variability of NH_4^+ and NO_3^- concentrations in surface soil indicated that 1) under intermittent irrigation conditions, the amount of N_2O produced by nitrification and denitrification was negligible, 2) Under continuous flooding conditions, N_2O production by nitrification was high from 0 to 24 h after the start of flooding, 3) N_2O production by nitrification was higher under waterlogging conditions, and 4) A significant negative linear relationship was observed between $\delta^{15}\text{N}$ (‰) and SP (‰). The slope of the linear regression equation was larger for Andisols than for the other soils, similar to the results of prior studies.

Key words: $\delta^{15}\text{N}$, N_2O formation, paddy soil, denitrification, nitrification

要 旨 土壌中での一酸化二窒素 (N_2O) の生成経路は主に好気条件下で生じる硝化反応と嫌気条件下で生じる脱窒反応の二種類であり、硝化と脱窒で生成された N_2O の安定同位体比が異なる。 N_2O の ^{15}N の窒素同位組成および ^{15}N の SP (site preference) を分析することで、土壌中の N_2O 生成経路を判別できることが明らかになっている。黒ボク土 (Andisol) における $\delta^{15}\text{N}$ と SP を用いた N_2O 生成経路の特定に関する研究はほとんど報告がない。黒ボク土は日本の農用地土壌のうち約19%を占めており、水管理の違いによって N_2O 生成経路が変化するのかわかっていることは農業分野における N_2O 排出を抑制するために重要である。本研究では黒ボク土水田土壌を用いて、1) 非湛水、2) 湛水および3) 落水の3条件を設定した室内フグネルポット試験を実施し、土壌水分の変化が N_2O 生成経路に与える影響を明らかにすることを目的とした。 N_2O ガス

¹ 明治大学大学院農学研究科 214-8571 神奈川県川崎市多摩区東三田 1-1-1

² 元明治大学農学部 214-8571 神奈川県川崎市多摩区東三田 1-1-1

³ 明治大学農学部 214-8571 神奈川県川崎市多摩区東三田 1-1-1

[†] Corresponding Author : 登尾浩助 noboriok@meiji.ac.jp TEL: 044-934-7156 FAX: 044-934-715

フラックスはクロードチャンバー法を用いた。N₂Oの $\delta^{15}\text{N}$ 値とSP値はN₂O安定同位体比分析計を用いて測定した。今回の実験結果から得られたN₂Oフラックス中のSP値は、14.00~56.18%の範囲であり、 $\delta^{15}\text{N}$ 値は-44.81~15.02%の範囲であった。N₂Oに含まれる $\delta^{15}\text{N}$ 、SP値と表層土壌中のNH₄⁺濃度およびNO₃⁻濃度のそれぞれの時間変動の結果より、1) 間断灌漑条件では、本実験条件では硝化と脱窒による生成量はわずかであった。実験開始から72時間後においてN₂Oフラックスの増加は、土壌中において硝化によるN₂O生成が優勢であったためと考えられた。2) 湛水条件下では湛水開始直後0~24時間後は、硝化によるN₂O生成量が高かった。湛水開始から24~144時間後にかけて脱窒によるN₂O生成量が高かった。3) 落水条件下では、硝化によるN₂O生成量が高かった。4) $\delta^{15}\text{N}$ (%)とSP (%)に有意な負の線形関係があった。黒ボク土で線形回帰式の傾きが他の土壌に比較して大きいことは先行研究と同様であった。

キーワード： $\delta^{15}\text{N}$ 、N₂O生成、水田土壌、脱窒、硝化

1. はじめに

一酸化二窒素(N₂O)は土壌中において細菌の活動により生成・消費などのプロセスを経て大気中に放出される。農地からN₂Oが大気に排出されるまでのプロセスを明らかにすることは、農業分野におけるN₂O排出を抑制していくために必要である。土壌中でのN₂Oの生成経路は主に好気条件下で生じる硝化反応と嫌気条件下で生じる脱窒反応の二種類である。硝化反応は無酸素状態を除く土壌中において生じ、間隙飽和度(Water-filled pore space, WFPS)が60%以下では硝化によるN₂O生成が優先されることが報告されている(Bollmann and Conrad, 1998)。WFPSが60%以上の際に脱窒菌によるN₂O生成が卓越すると考えられている(鶴田, 2000)。そのため水田など湛水されている土壌中においても、土壌の水分状態から土壌中で生成されたN₂Oの生成経路を特定することは困難である。

近年の先行研究では、土壌中におけるN₂Oの生成機構を解明するために安定同位体比を用いた解析が用いられている。安定同位体とは同じ元素であるが質量の異なる原子である同位体のうち、安定して変化することのない元素のことである。試料物質中の安定同位体の存在量に対する基準物質中の安定同位体の存在量の比率を安定同位体比と呼ぶ。Kool *et al.* (2009)によって硝化と脱窒で生成されたN₂Oは安定同位体比が異なることが報告されている。N₂OはN-N-Oの順番で並ぶ非対称の直線分子であるため、N₂Oの分子の中心(α)および末端(β)の位置における¹⁵Nの

窒素同位組成および分子内分布を分析することで、N₂O生成経路を判別することができる(Toyoda and Yoshida, 1999)。この¹⁵Nの分子内分布をSP(site preference)と呼び、SPは(1)式で表される。

$$\text{SP} (\%) = \delta^{15}\text{N}^{\alpha} - \delta^{15}\text{N}^{\beta} \quad (1)$$

Pérez ら(2006)は、熱帯雨林土壌において生成されたN₂Oの硝化および脱窒作用における $\delta^{15}\text{N}$ およびSPを測定し、砂質土壌(Ultisol)において硝化過程では $\delta^{15}\text{N} = -102\%$ 、脱窒過程では $\delta^{15}\text{N} = -45\%$ であったのに対し、粘土質土壌(Oxisol)においては硝化過程では $\delta^{15}\text{N} = -111\%$ 、脱窒過程では $\delta^{15}\text{N} = -31\%$ であったと報告している。またUltisolにおけるSPは硝化過程ではSP=4.2%、脱窒過程ではSP=31.6%であった。Liu ら(2016)は土壌の違いでN₂O生成量が異なり、壤土が植壤土や砂土よりもN₂O生成速度が大きいことを報告している。

一方で、日本の農用地土壌のうち約19%を占めている黒ボク土(Andisol)における $\delta^{15}\text{N}$ とSPを用いたN₂O生成経路の特定に関する研究はほとんど報告がない。黒ボク土は保肥力が小さくリン吸着能力が大きい特徴があり、多くは畑地として利用されるが、関東から東北地方では水田としての利用も多く見られる(農業・生物系特定産業技術研究機構, 2003)。黒ボク土は灰色低地土よりも土壌窒素の無機化量が大きいこと(廣川・北川, 1988)や、窒素肥料を施肥した際のアンモニウム揮散量が小さいこと(Hayashi *et al.*, 2009)、さらに水田状態の黒ボク土においてもN₂O放出が生じること(陽ら, 1983)が報告されてい

る。水管理の違いによって黒ボク土中の N₂O 生成経路がどのように変化するかを明らかにすることは、農業分野における N₂O 排出を抑制するために重要である。本研究では黒ボク土水田土壌を用いて、1) N₂O ガスフラックス、2) 土壌中の硝酸態窒素およびアンモニウム態窒素および 3) 窒素同位体比の変動から水管理の違いによる土壌水分の変化が N₂O 生成経路に与える影響を明らかにすることを目的とした。

2. 材料と方法

2.1 供試土壌と水管理

本研究は神奈川県川崎市多摩区の明治大学生田キャンパス構内の実験室で実施した。供試土壌は同キャンパス内南圃場で水田として利用されていたライシメータ区画より採取した淡色黒ボク土を用いた。この淡色黒ボク土は同キャンパス南圃場の表層土壌から採取され、ライシメータ造成時に充填された火山灰起源の土壌である（江崎，2005）。淡色黒ボク土は採取後に風乾し、2 mm 篩通過したものを 3 個の 1/2000 アールワグネルポットに同一乾燥密度 ($\rho_d = 0.65 \text{ Mg m}^{-3}$) になるように一般的な火山灰起源土壌の水田表土に近似させて充填した（徳永・深山，1971）。充填した土壌の含水比は 0.11 Mg Mg^{-1} であり、充填土壌量は 8.0 kg であった。実験は 2017 年 2 月 23 日から 2017 年 4 月 17 日にかけて以下の 3 条件で実施した：

- 1) 間断灌漑条件は 2 月 23 日から 3 月 10 日にかけて実施した。この期間中のガスフラックスの測定は間断灌漑開始から 0, 24, 48, 72, 144, 216, 312, 360 時間までの計 8 回おこなった。実験開始時に 1.0 L、24 時間後以降は 0.2 L の水を毎回ガスフラックス測定前に添加した。ガスフラックス測定開始 5 分前にワグネルポット上部から土壌表面に水道水を添加した。水道水の添加はガスフラックス測定時以外においておこなわなかった。実験期間中、ワグネルポット下部の三方コックは閉じた。
- 2) 湛水条件は 4 月 5 日から 4 月 11 日にかけて実施した。この期間中のガスフラックス測定は湛水開始から 0, 24, 48, 72, 96, 120, 144 時間までの計 7 回おこなった。ワグネルポット下部の三方コックを

開けてマリOTT管と PVC チューブで接続し、ポット下部より土壌飽和させポット内の湛水深が 3 cm となるように設定した。

- 3) 落水条件は 4 月 12 日から 4 月 17 日にかけて実施した。この期間中のガスフラックス測定は落水開始から 168, 192, 216, 288 時間後までの計 4 回おこなった。湛水しているポット下部に接続したチューブから排水し、チューブからの排水が完了した 1 時間後より測定を開始した。実験期間中は、ポット下部のチューブは閉じた。

ワグネルポットを置いた実験室の室温は 1) 間断灌漑条件の期間中は $20.8 \sim 23.8^\circ\text{C}$ の範囲であり平均室温は 22.3°C であった。2) 湛水条件ならびに 3) 落水条件の室温は $20.4 \sim 25.7^\circ\text{C}$ の範囲であり平均気温は 23.1°C であった。

2.2 施肥

本実験では各ポットの土壌表面に硫酸アンモニア（あかぎ園芸株式会社、窒素全量 21.0%）の施肥を行った。実験期間全体での硫酸アンモニアの施肥量は、1 ポット当たり合計 2.1 g (N_2 施用量 $8.8 \text{ kg} \cdot 10 \text{ a}^{-1}$ 相当) であった。間断灌漑条件の実験開始時（2017 年 2 月 22 日）に 1.0 g (N_2 施用量 $4.2 \text{ kg} \cdot 10 \text{ a}^{-1}$ 相当）、湛水条件の実験開始時（2017 年 4 月 5 日）に 1.1 g (N_2 施用量 $4.6 \text{ kg} \cdot 10 \text{ a}^{-1}$ 相当) をそれぞれ土壌表面に散布した。畑地栽培での黒ボク土において表面散布と土壌へのすきこみ施与での N₂O 発生量を比較すると、表面散布によって N₂O 発生量が低減されることが報告されている（野田，2001）。神奈川県作物別施肥基準（神奈川県環境農政局水産部農業振興課，2023）では、水稲栽培における標準 N₂ 施用量は $5.0 \sim 7.0 \text{ kg} \cdot 10 \text{ a}^{-1}$ の範囲内であるが、本研究では土壌中の N₂O 生成を観測することを目的としたので、神奈川県基準量よりも 1.3~1.8 倍多く施肥した。

2.3 測定項目

2.3.1 ガスフラックス

地表面からの温室効果ガス放出量の測定には、クローズドチャンバー法（陽・八木，1988）を用いた。

透明アクリル製のチャンバー（直径25.6 cm，高さ48.0 cm）をワグネルポット上部にかぶせてチャンバー内の N₂O ガスを含む空気を採取した。チャンバー内部にはガス濃度を均一化させるための電動ファン，温度計，ガス採取用チューブおよびチャンバー内の圧力を常に外気圧と同一に保つための調圧袋を取り付けた。毎測定時に，チャンバー内の4か所においてポット地表面からチャンバー上端までの高さを測定した。湛水条件では湛水面からチャンバー上端までの高さをチャンバー高さとして測定した。チャンバーをワグネルポット上で密閉にした直後から20分間，シリンジを用いて5分毎にチャンバー内のガスを50 mL 採取し，あらかじめ真空引きした20 mL バイアル瓶に注入し保存した。各ガスフラックス採取時に，室内大気（1 試料）も併せて採取した。

採取したガスは，ECD 付ガスクロマトグラフィ（6890N, Agilent technologies 社製）を用いて N₂O 濃度を測定した。ガスフラックス q (mg-N m⁻² h⁻¹) は，式(2)から求めた（工藤ら，2012）。

$$q = \frac{V}{A} \frac{\Delta C}{\Delta t} \left(\frac{273.15}{273.15 + T} \right) \quad (2)$$

ここで， V はチャンバー体積 (m³)， A はチャンバーの断面積 (m²) である。 T はフラックス測定開始時のチャンバー内温度 (°C)， $\Delta C/\Delta t$ は測定時間と N₂O 濃度の関係を線形近似した傾き (mg-N m⁻³ h⁻¹) である。

2.3.2 窒素安定同位体

ガスフラックス測定開始から60分後のチャンバー内のガスをテドラーバッグに500 mL 採取した。採取したガスは N₂O 安定同位体比分析計 (N₂OIA-23e-EP Model 914-0060, Los Gatos Research) を用いて，N₂O の $\delta^{15}\text{N}$ 値と SP 値を測定した。各ガスフラックス採取時に，採取した室内大気試料も分析した。

2.3.3 NO₃⁻, NH₄⁺ 濃度

窒素安定同位体の試料採取後に，各ポットの地表面の4箇所から表土を採取した。採取した土壌は1:5水抽出法（和田・古村，1996）を用いて，土壌溶液

Table 1 Measuring without measurements of soil surface temperature.

ポット no.	地温の欠測期間	
	非湛水期	湛水-落水期
2	2017.2.25 12:56~13:02 2017.3.10 12:00~17:30	2017.4.7 14:41~16:14 2017.4.8 16:19~16:30 2017.4.15 5:12 ~2017.4.17 12:51
3	2017.2.24 12:00 ~2017.2.25 14:33	—

を抽出した。土壌溶液はイオン分析計（IA-300，東亜ディーケーケー株式会社）を用いて，NO₃⁻ および NH₄⁺ 濃度を測定した。ただし，湛水から落水期の実験開始後96時間の試料は欠測であった。

2.3.4 環境条件

ポットの環境条件として，体積含水率 θ (m³ m⁻³) と土壌温度 (°C) および室温 (°C) を測定した。測定には，土壌温度・水分・EC センサー（5TM, Decagon Devices）と土壌水分センサー（EC5, Decagon Devices）を用いた。ポット no. 1 には 5TM，ポット no. 2 および no. 3 には EC5 を，それぞれポットの中心に垂直に埋設した。地表面温度と室温は T 型熱電対を用いて測定した。熱電対と水分センサーは，それぞれデータロガー（熱電対用：CR1000, Campbell Scientific；水分センサー用：Em50, Decagon Devices）に接続し，5分毎に測定・記録した。地温測定に用いた熱電対の欠測期間は Table 1 に示した。

2.3.5 間隙飽和度 (WFPS)

各ポットの間隙飽和度 (WFPS) は体積含水率と気相率の結果を用いて，以下の式で表した。

$$\text{WFPS} (\%) = \frac{\theta}{a + \theta} 100$$

ここで， θ は体積含水率 (m³ m⁻³)， a は気相率 (m³ m⁻³) である。

3. 結果と考察

3.1 WFPS, 地温および N₂O フラックスの変動

WFPS は間断灌漑条件下において13~40%，湛水

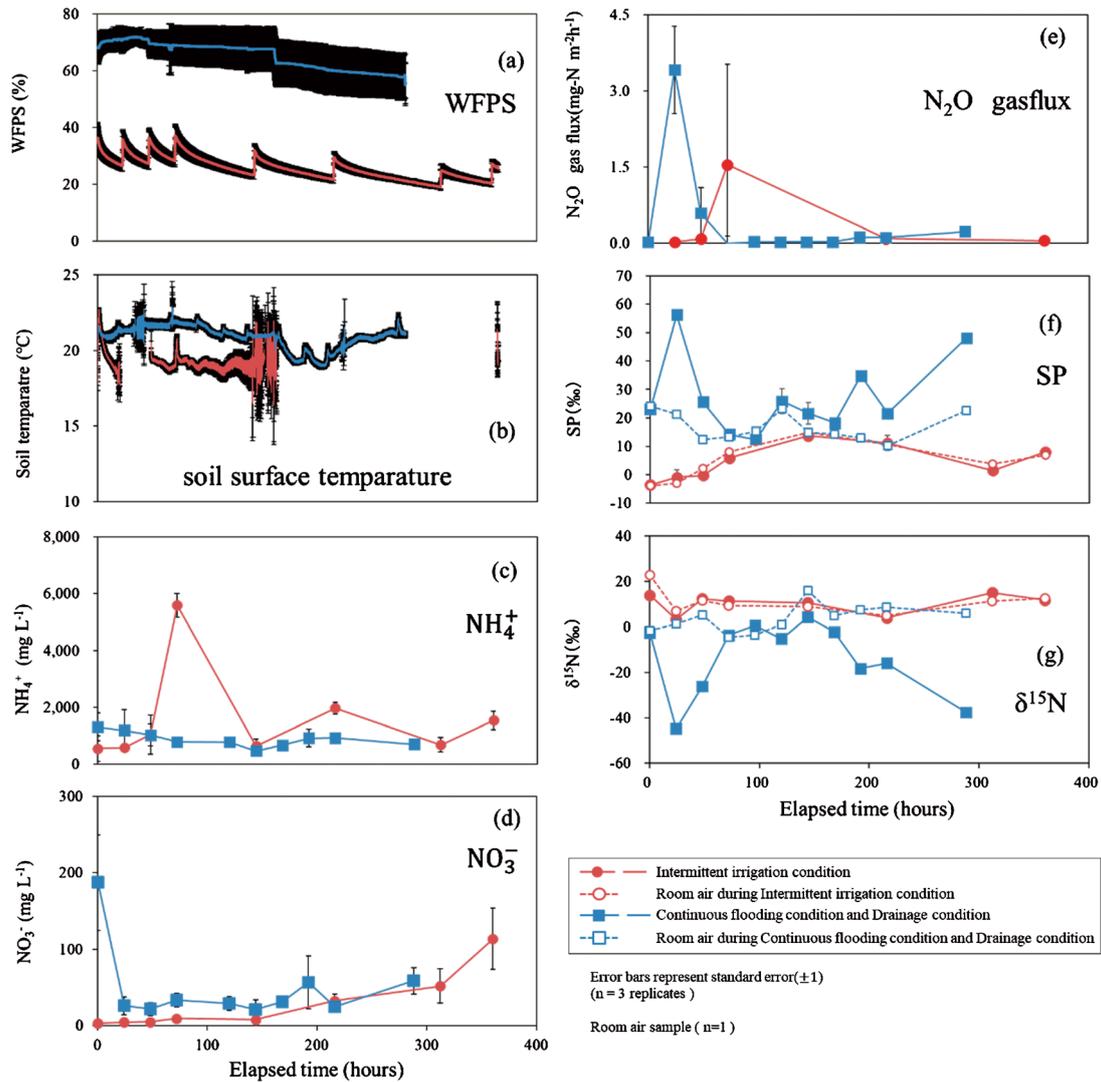


Fig. 1 Temporal changes in N₂O fluxes, WFPS, soil temperature, NH₄⁺, NO₃⁻, δ¹⁵N and SP during experimental periods. (red line: result of intermittent irrigation condition, blue line: result of flooded condition and surface drainage condition)

条件下で68~72%で変化した (Fig. 1(a))。湛水から落水後の WFPS は徐々に低下し、実験終了時には 55.4% となった。間断灌漑条件下では、土壌表面に水を添加したため、添加直後に WFPS が 10% 上昇しその後減少する傾向がみられた。WFPS の低下は地表面での蒸発や下方浸透が生じ、体積含水率が低下したためと考えられた。先行研究において、WFPS = 0% では N₂O 発生はほとんど起こらないことが報告されている (陽ら, 1983)。

地温 (Fig. 1(b)) は、間断灌漑期間において 17.7 ~ 22.7°C、湛水および落水期間において 20.5 ~ 23.0°C の範囲で変化した。温度が増加すると硝化速度が増加することが報告されているが (渡辺ら, 2019; 陽ら,

1983), この程度の温度変化では実験結果に大きな影響を与えないと考えられる。

N₂O ガスフラックス (Fig. 1(e)) は間断灌漑条件下においては、72 時間後で 1.55 mgNm⁻² h⁻¹ の放出を示したが、72 時間後以外の期間は 0.02 ~ 0.09 mgNm⁻² h⁻¹ の範囲であった。湛水条件下においては、湛水開始から 24 時間で N₂O ガスフラックス値は増加し、最大値 3.41 mgNm⁻² h⁻¹ を示した。24 から 96 時間後まで N₂O ガスフラックスが減少した。96 から 144 時間後まで N₂O ガスフラックスにほとんど変化がみられず 0.03 mgNm⁻² h⁻¹ の値を示した。落水条件下 (168-288 時間) において N₂O ガスフラックスは 0.02 から 0.22 mgNm⁻² h⁻¹ へと増加傾向が見られ

た。

3.2 NH₄⁺, NO₂⁻ および NO₃⁻ 濃度

間断灌漑条件下において、実験開始後徐々に NH₄⁺ 濃度が増加した (Fig. 1(c))。これは測定前に実施した給水により、施肥した硫酸アンモニウムが溶解したためと考えられた。

湛水条件初期 (0 から48時間) において表層土壌中の NH₄⁺ 濃度と NO₃⁻ 濃度 (Fig. 1(d)) の減少が生じたことから、硝化と脱窒による N₂O 生成が同時に生じたことが考えられた。144から288時間にかけて、WFPS 値が減少し NO₃⁻ 濃度が上昇した。これは湛水条件下においても硝化が行われたことによって NO₃⁻ 濃度が上昇したと考えられた。

3.3 安定同位体比

今回の実験結果から得られた SP 値 (14.00~56.18%) や δ¹⁵N 値 (-44.81~15.02%) 値は、先行研究の Well *et al.* (2006) の55~85% WFPS 土壌 (シルト質埴壤土) の SP 値および δ¹⁵N 値で得られた実験結果に似た値であった。一方で、Pèrez *et al.* (2006) の熱帯雨林土壌における Ultisol や Oxisol の SP 値および δ¹⁵N 値の範囲から外れた値があった。これは土壌の種類が異なることや、今回実験で使用した黒ボク土壌中に存在する基質の δ¹⁵N 値が異なったためと推察された。

間断灌漑条件下において、実験開始から72時間後にかけて SP が緩やかに上昇した (Fig. 1(f))。先行研究より、硝化によって生成された N₂O の SP 値は、脱窒で生成された N₂O の SP 値よりも高い値を示すことが報告されている (Wunderlin *et al.*, 2013)。実験開始から72時間後における WFPS 値は36.47%であり好気的な環境であるため、大気から土壌中に O₂ の供給があったことが推察された。このことから、間断灌漑条件下にて実験開始直後から72時間後にかけての SP 値の増加は、硝化による N₂O 生成が生じたためと考えられた。72時間後以外の実験期間における間断灌漑条件下で測定した N₂O の SP (%) と δ¹⁵N (%) の値は大気中の値とほぼ同じであった (Fig.

1(f)(g))。これは間断灌漑条件下において WFPS 値は13~40%の範囲であり、WFPS 値が40%以下の条件では N₂O 生成量が低減する (Bateman and Baggs, 2005; 陽ら, 1983) ため、硝化・脱窒による N₂O 生成量が間断灌漑条件下では湛水条件下と比べて低かったため大気中の値とほぼ同じ値を示したことが考えられた。

湛水開始直後から湛水2日目 (24時間後) にかけて SP が23.05%から56.18%へと増加した。WFPS 値は68.20から71.14%へと増加していたが、工藤ら (2012) によると湛水後24時間では酸化還元電位 (Eh) が負の値まで低下しないことから、WFPS 値が高くても土壌中に酸素が残存していることが考えられた。実験開始直後から24時間後にかけて NH₄⁺ 濃度と NO₃⁻ 濃度 (Fig. 1(d)) が減少したことから硝化と脱窒による N₂O 生成が同時に生じたことと、硝化によって生成された N₂O の SP 値は、脱窒で生成された N₂O の SP 値よりも高い値を示すことから (Wunderlin *et al.*, 2013)、湛水から24時間後の表層土壌中では脱窒よりも硝化による N₂O 生成量が多かったことが考えられた (Fig. 1(f))。湛水2日目以降 (24時間) から SP が減少し、NO₃⁻ 濃度が減少した。Well *et al.* (2006) は、WFPS = 55%条件下で脱窒と硝化による生成が生じることを、Wunderlin *et al.* (2013) は、SP = 25%以下で脱窒が生じることをそれぞれ報告している。湛水2日目から落水前まで (24~168時間) の期間においては、表層土壌中において脱窒による N₂O 生成量が硝化による N₂O 生成量よりも高かったことが考えられた (Fig. 1(g))。落水後 (168~288時間) に SP は増減を繰り返した後、落水開始9日から12日後 (216~288時間) にかけて SP 値が増加した。落水によって土壌中の WFPS 値が低下したことによって、土壌中が好気的な環境となり大気から O₂ が供給された結果、硝化による N₂O 生成量が増加したためだと推察された。

No. 1~3 のポットにおいて土壌から放出された N₂O の δ¹⁵N (%) と SP (%) の関係を Fig. 2 に示した。Well *et al.* (2006) および Toyoda *et al.* (2011) の先行研究と同様に、本研究でも δ¹⁵N (%) と SP (%)

に有意な負の線形関係が得られた ($r=0.95$)。

3.4 間断灌漑条件下における N₂O 生成経路の考察

間断灌漑条件下において、72時間後に N₂O ガスフラックスは高い放出を示した。実験開始直後から72時間後にかけて SP 値は増加した。実験開始後徐々に NH₄⁺ 濃度が増加したことから、72時間後における WFPS 値は36.47%であり土壌が好気的な環境であっ

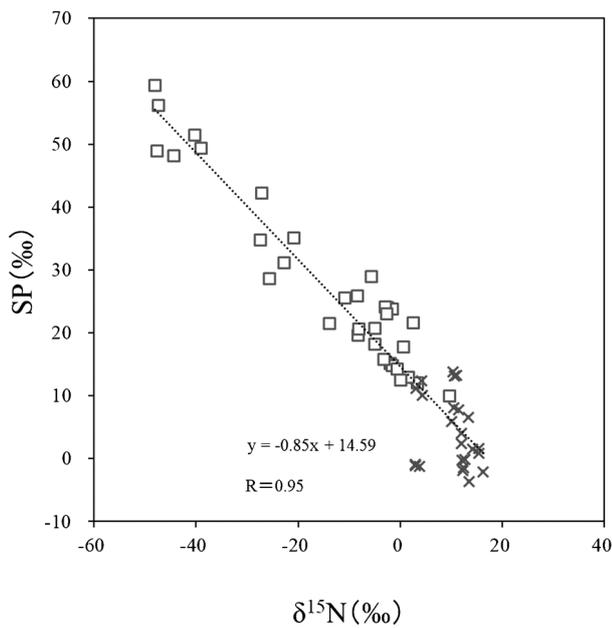


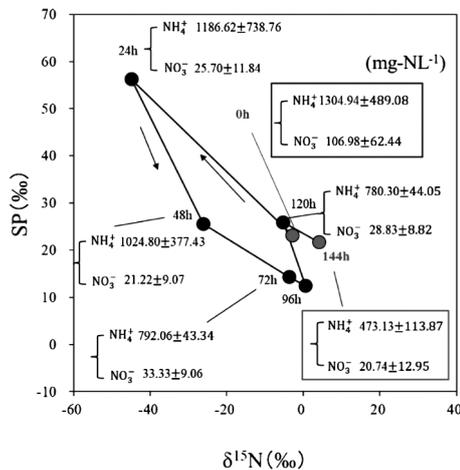
Fig. 2 Relationships between SP and $\delta^{15}\text{N}$ in N₂O emissions at experimental periods. (red cross: result of intermittent irrigation condition, blue square: result of flooded condition and surface drainage condition)

たことから、施肥した硫酸アンモニウムが利用されて硝化による N₂O 生成が優勢であったことが考えられた。72時間後以外の期間では WFPS 値は13~40%の範囲であり、N₂O ガスフラックスは0.02~0.09 mg Nm⁻² h⁻¹の範囲で一定値を示し、SP (%) と $\delta^{15}\text{N}$ (‰) の値は大気中の値と似た値を示した。WFPS 値が40%以下の条件では N₂O 生成量が低減する (Bate-man and Baggs, 2005 ; 陽ら, 1983) ことが報告されているため、硝化・脱窒による N₂O 生成量が低くなり、大気中の値と似た値を示したと考えられた。そのため、72時間後以外の期間での N₂O 生成経路を特定することはできなかった。

3.5 湛水条件下における N₂O 生成経路の考察

湛水条件 (0~144時間) で放出された N₂O に含まれる $\delta^{15}\text{N}$ および SP の時間変動と、表層土壌中の NH₄⁺ 濃度と NO₃⁻ 濃度の時間変動を Fig. 3(a) に示す。実験開始後0から24時間後にかけて SP 値は23.05~56.18%まで増加し、 $\delta^{15}\text{N}$ 値は-2.66~-44.80%まで減少した。その際に、表層土壌中の NH₄⁺ 濃度と NO₃⁻ 濃度はともに減少した。実験開始後24~96時間にかけて SP 値は56.18~12.43%まで減少し、 $\delta^{15}\text{N}$ 値は-44.80~0.64%まで増加し、表層土壌中の NH₄⁺ 濃度と NO₃⁻ 濃度は減少傾向を示した。SP 値は実験開始後96から120時間後にかけて増加し、

(a) Continuous flooding condition



(b) Drainage condition

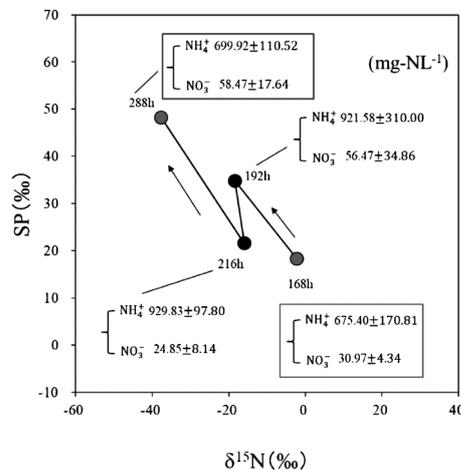


Fig. 3 Changes in relationships between $\delta^{15}\text{N}$, SP values during flooded and drainage conditions

120から144時間後にかけて減少した。実験開始後96から144時間後にかけてSPおよび $\delta^{15}\text{N}$ 値は4.3～-5.2%の範囲で変化した。湛水開始から24時間後にかけて、SP値は増加し $\delta^{15}\text{N}$ 、 NH_4^+ 濃度と NO_3^- 濃度は減少した。 NH_4^+ と NO_3^- 濃度の減少は、土壌中で硝化と脱窒が同時に生じたためと推察された。硝化によって生成された N_2O のSP値は脱窒よりも高いこと(Wunderlin *et al.*, 2013)から、脱窒よりも硝化による N_2O 生成量が高かったことが考えられた。

湛水開始から24～144時間後まで、 NH_4^+ 濃度と NO_3^- 濃度は初期値から減少し続けたため硝化および脱窒が進行し、さらに硝化による NO_3^- 生成量よりも脱窒による N_2O 生成のために使われると NO_3^- 消費量が大きかったため NH_4^+ 濃度と NO_3^- 濃度が同時に減少したと推察された。

3.6 落水条件下における N_2O 生成経路の考察

落水条件(168から288時間)で放出された N_2O に含まれる $\delta^{15}\text{N}$ とSPの時間変動と、表層土壌中の NH_4^+ 濃度と NO_3^- 濃度の時間変動をFig. 3(b)に示す。SP値は168から192時間後にかけて18.24～34.80%まで増加し、192～216時間後にかけて21.49%まで減少したのちに、288時間後にかけて48.11%まで増加する傾向を得た。その際に $\delta^{15}\text{N}$ は168～288時間後にかけて-2.19～-37.62%まで減少を示した。落水条件下ではSP値、 NH_4^+ 濃度と NO_3^- 濃度は初期値から実験終了時にかけて、全体的に増加傾向を示した。硝化によって生成された N_2O のSP値は脱窒よりも高いこと(Wunderlin *et al.*, 2013)から、落水条件下では硝化による N_2O 生成量が脱窒による N_2O 生成量よりも高かったと考えられた。 NH_4^+ 濃度が増加傾向を示したことに関しては、実験開始時に施肥した硫酸の肥料成分が表層土壌に残っていたためと考えられた。

3.7 安定同位体比の考察

Fig. 2の線形回帰式の傾き(-0.85)は、Well *et al.* (2006)のFig. 3(a)に比較(約-0.43)すると2倍程度大きかった。Toyoda *et al.* (2011)のFig. 4

も黒ボク土(約-0.71)は他の土壌(約-0.3)に比較して傾きが2倍程度大きい傾向があることを示している。これらの先行研究のデータに比較して非常に高い相関係数が得られたのは、安定した実験環境であったと言え、データの信頼性も高いと判断できる。黒ボク土での線形回帰式の傾きが大きいのは、 N_2O が生成された際に中心(α)より末端(β)へ配置される確率がより高いためと考えられるが、なぜそうなるのかは不明である。黒ボク土での事例がToyoda *et al.* (2011)と本研究以外には見当たらないため、今後の更なるデータ収集と微生物群集解析が必要である。

4. 結論

本研究では、黒ボク土水田土壌を用いて土壌水分の変化が N_2O 生成経路に与える効果を明らかにすることを目的として実験をおこなった。土壌水分条件は1) 間断灌漑条件、2) 湛水条件および3) 落水条件の3条件を設定した。放出した N_2O の $\delta^{15}\text{N}$ とSP値と、表層土壌中に存在する NH_4^+ 濃度と NO_3^- 濃度の時間変動の結果によって、下記のことが明らかとなった。

- 1) 間断灌漑条件では、本実験条件では硝化と脱窒による生成量はわずかであった。実験開始から72時間後において N_2O フラックスの増加は、SP値の増加とWFPS値から、土壌中において硝化による N_2O 生成が優勢であったためと考えられた。
- 2) 湛水条件下では、湛水開始から24時間後にかけては、脱窒よりも硝化による N_2O 生成量が高く、湛水開始から24から144時間後にかけて脱窒の N_2O 生成量が硝化による N_2O 生成量よりも高かったと考えられた。
- 3) 落水条件下では、硝化による N_2O 生成量が脱窒による N_2O 生成量よりも硝化による N_2O 生成量が高かったと考えられた。
- 4) $\delta^{15}\text{N}$ (%)とSP (%)に有意な負の線形関係があった。黒ボク土で線形回帰式の傾きが他の土壌に比較して大きいことは先行研究と同様であった。

謝辞：

本研究の一部は、科研費 A (25252044) の助成を受けて実施した。本研究で使用した Los Gatos Research 社製安定同位体比分析計 (Isotopic N₂O Analyzer N₂O IA-23e-EP) は、バイテックグローバルエレクトロニクス株式会社よりお貸し頂きました。ここに記して深く感謝いたします。

引用文献

- Bateman EJ and Baggs EM. (2005): Contributions of nitrification and denitrification to N₂O emissions from soils at different water-filled pore space. *Biology and Fertility of soils*, 41: 379–388.
- Bollmann A and Conrad R. (1998) Influence of O₂ availability on NO and N₂O release by nitrification and denitrification in soils. *Global Change Biology*, 4: 387–396.
- 江崎 要 (2005)：ライシメータ施設の計画・設計上の考え方と特徴。明治大学農学部研究報告, 142: 13–34.
- Hayashi K, Hayakawa A, Akiyama H and Yagi K. (2009): Measurement of ammonia volatilization loss using a dynamic chamber technique: A case study of surface-incorporated manure and ammonium sulfate in an upland field of light-colored Andisol. *Soil science and plant nutrition*, 55: 571–581.
- 廣川智子・北川靖夫 (1988)：水田土壌の粘土鉱物組成が有機態窒素の無機化に及ぼす影響。日本土壤肥科学雑誌, 59(1): 41–46.
- 神奈川県環境農政局水産部農業振興課。神奈川県作物別施肥基準 (令和 4 年度版)。3。神奈川県。2023.
- Kool DM, Wrage N, Onema O, Harris D and Groenigen JWV. (2009): The ¹⁸O signature of biogenic nitrous oxide is determined by O exchange with water. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 23: 104–108.
- 工藤祐亮・登尾浩助・加藤 孝・下大園直人 (2012)：間断灌漑における間断日数の違いが水田からの温室効果ガス放出と水稲収量に及ぼす影響。農業農村工学会論文集, 282(80–6): 43–50.
- Liu R, Hu H, Suter H, Hayden HL, He J, Mele P and Chen D (2016): Nitrification is a primary driver of nitrous oxide production in laboratory Microcosms from different land-use soils. *Frontiers in microbiology* 7(1373): 1–10.
- 陽 捷行・大西 将・福士定雄 (1983)：土壌中の硝酸化成の過程で発生する N₂O。日本土壤肥科学雑誌, 54(4): 277–280.
- 陽 捷行・八木一行 (1988)：水田から発生するメタンのフラックスの測定方法。日本土壤肥科学雑誌, 59(5): 458–463.
- 農業・生物系特定産業技術研究機構 (2003)：最新農業技術事典, 農山漁村文化協会。
- 野田 滋 (2001)：施肥改善による亜酸化窒素の発生量削減。日本土壤肥科学雑誌, 72(4): 575–581.
- Pérez T, Montuel DG, Trumbore S, Tyler S, Camargo PD, Moreira M, Piccolo M and Cerri C. (2006): Nitrous oxide nitrification and denitrification ¹⁵N enrichment factors from amazon forest soils. *Ecological Applications*, 16(6): 2153–2167.
- 徳永光一・深谷一弥 (1971)：関東ローム水田における含水比と乾燥密度の分布特性—農地土壌のサンプリングに関する基礎研究 (VI) —。農業土木学会論文集, 36: 33–40.
- Toyoda S and Yoshida N. (1999): Determination of nitrogen isotopomers of nitrous oxide on a modified isotope ratio mass spectrometer. *Analytical Chemistry*, 71(20): 4711–4718.
- Toyoda S, Yano M, Nishimura S, Akiyama H, Hayakawa A, Koba K, Sudo S, Yagi K, Makabe A, Tobarai Y, Ogawa NO, Ohkouchi N, Yamada, K and Yoshida N. (2011): Characterization and production and consumption processes of N₂O emitted from temperate agricultural soils determined via isotope ratio analysis. *Global Biogeochemical Cycles*, 25: 1–17.
- 鶴田治夫 (2000) 地球温暖化ガスの土壌生態系との関わり：3. 人間活動による窒素化合物の排出と亜酸化窒素の発生。日本土壤肥科学雑誌, 71(4): 554–564.
- 渡辺晋生・中西真紀・草深有紀・武藤由子 (2019)：不飽和浸透過程にある異なる温度の黒ボク土中のアンモニア態窒素の硝化。農業農村工学会論文集, 308(87–1): I_1–I_8.
- 和田信一郎・古村秀磨 (1996)：1:5 水抽出液の分析に基づく土壌溶液硝酸イオン濃度の推定。日本土壤肥科学雑誌, 67(2): 180–182.
- Well R, Kurganova I, Gerenyu VLD and Flessa H. (2006): Isotopomer signatures of soil-emitted N₂O under different moisture conditions—A microcosm study with arable loess soil. *Soil biology & biochemistry*, 38: 2923–2933.
- Wunderlin P, Lehmann MF, Siegrist H, Tuzson B, Joss A, Emmenegger L and Mohn J. (2013): Isotope Signatures of N₂O in a mixed microbial population system: Constraints on N₂O producing pathways in Wastewater treatment. *Environmental science & technology*, 47: 1339–1348.