

学 位 論 文 要 旨

窒素安定同位体比 ($\delta^{15}\text{N}$) を用いた森林土壌における微生物の窒素獲得様式の解析

Analysis of nitrogen utilization by microbes in forest soil using the ^{15}N natural abundance ($\delta^{15}\text{N}$)

環境資源共生科学専攻

環境保全大講座

篠田一輝

土壌微生物は、土壌有機態窒素 (SON) の分解を通して植物に無機態 N (EIN) を供給することで一次生産を維持するとともに、その遺骸が SON の前駆物質となるため森林生態系において非常に重要な役割を持つ (Chapin et al. 2011)。このような微生物を中心とした N 循環を把握するために、そのモデル化が必要である。しかし、土壌微生物が N 制限状態であり、足りない N を無機態 N (NH_4^+ や NO_3^-) の吸収同化するのか (不動化)、もしくは炭素制限状態であり、有機態 N を炭素源として吸収し、結果として余った N を NH_4^+ として放出するのか (窒素無機化)、という 2 つの N 獲得様式が提唱されていることが、モデルによる N 循環の正確な把握を困難にしている (Manzoni and Porporato 2009)。この原因として、N 獲得様式の把握には、土壌に N を添加する ^{15}N トレーサー法が用いられており、N 濃度や水分量、pH 等の土壌環境が大きく変化してしまうため、実際の現場における土壌微生物の N 獲得様式を把握できないことが挙げられる (Averill et al. 2018)。そこで本研究では N を添加する必要がなく現場の情報が得られる窒素安定同位体比 ($\delta^{15}\text{N}$) を用いて、土壌微生物バイオマス N (SMN) の $\delta^{15}\text{N}$ 、そして土壌中の N 基質 (SON, EIN, EON: 溶存有機態 N) の $\delta^{15}\text{N}$ を比較し、土壌微生物の N 獲得様式を把握することを目的とする。

先行研究において、 $\delta^{15}\text{N}\text{-SMN} > \delta^{15}\text{N}\text{-SON}$ となること、 $\delta^{15}\text{N}\text{-EON} > \delta^{15}\text{N}\text{-SON} > \delta^{15}\text{N}\text{-EIN}$ となることがわかっている。このような $\delta^{15}\text{N}$ のオーダーがみられる原因として、微生物が炭素制限であるため窒素無機化を起こす

際に、SON を炭素源として取り込み余った N を放出するが、この放出された NH_4^+ が低い $\delta^{15}\text{N}$ をもつ (同位体分別) という SMN の ^{15}N 濃縮機構が挙げられている (Dijkstra et al. 2008)。そこで、SMN の遺骸が SON の前駆物質となることから、 ^{15}N 濃縮した SMN の遺骸は EON 画分に取り込まれ、この $\delta^{15}\text{N}$ の高い EON 画分の一部が SON に取り込まれるというプロセスが $\delta^{15}\text{N}$ -SON を上昇させるという仮説が立てられる。実際、 $\delta^{15}\text{N}$ -SON は土壌深度方向に上昇することが知られており、この微生物の ^{15}N 濃縮機構中心のプロセスが深度方向に進行していくためと考えられている (Craine et al. 2015)。この仮説を検証するため、本研究では下記3つの問題に基づき課題に取り組んだ。第一に、森林土壌の有機物形成で重要な役割をもつ真菌について SMN の ^{15}N 濃縮機構が明らかになっていない (課題 1)。第二に、これまでは $\delta^{15}\text{N}$ -SON の上昇要因が大きな同位体分別を伴う脱窒であると考えられてきた (Houlton and Bai 2009) が、窒素無機化による SMN の ^{15}N 濃縮機構が重要である可能性がある (課題 2)。第三に、測定法の煩雑さから $\delta^{15}\text{N}$ -SMN、 $\delta^{15}\text{N}$ -EON の測定例は少なく、深度方向に測定した例はない (課題 3)。

課題 1 に対して、真菌 (*A.oryzae*) を C/N 比の異なる培地にて純粋培養した結果、窒素無機化の際に軽い同位体比を持つ NH_4^+ を細胞外に放出するために、 ^{15}N を細胞内に濃縮するという SMN の ^{15}N 濃縮機構が明らかとなった。さらに、N 無機化が進行するほど SMN が ^{15}N 濃縮する ($\Delta^{15}\text{N}$ が高くなる) という関係は、窒素利用効率 (NUE) という指標で単純化することができた。課題 2 に対しては、同位体モデルを用いて、 $\delta^{15}\text{N}$ -SON の上昇に対して脱窒と窒素無機化のどちらの影響が強いのかを検証した。脱窒のみの同位体分別による $\delta^{15}\text{N}$ -SON の上昇は、脱窒速度の上限と思われる脱窒速度 ($33.2 \text{ kg-N ha}^{-1} \text{ year}^{-1}$)、また現場よりも過大評価している可能性のある非常に高い脱窒の同位体分別 (31.3‰) という条件においても 0.2‰ の上昇にとどまった。その一方で窒素無機化のみの同位体分別による $\delta^{15}\text{N}$ -SON の上昇は、NUE に応じて、0.4‰ から 1.9‰ まで上昇した。これらの結果から、 $\delta^{15}\text{N}$ -SON 上昇の主要因はこれまで考えられていた脱窒ではなく、むしろ窒素無機化であることが明らかとなった。第 3 の課題に対して、日本の 8 カ所のヒノキ 2 次林において土壌深度ごとに各同位体比を測定した結果、各深度において同位体比のオーダーが $\delta^{15}\text{N}$ -SMN > $\delta^{15}\text{N}$ -EON > $\delta^{15}\text{N}$ -SON > $\delta^{15}\text{N}$ -EIN となり、各 $\delta^{15}\text{N}$ 値はこの関係を保ったまま深度方向に増加した。この結果は、SMN の ^{15}N 濃縮機構を中心としたプロセスが $\delta^{15}\text{N}$ -SON を上昇させるという本研究の仮説を支持した。

以上より、本研究では、森林において土壌微生物は常に炭素制限であるため、有機態 N を炭素源として吸収し、結果として余った N を NH_4^+ として放出しているという土壌微生物の N 獲得様式を明らかにすることができた。この結果は、これまで用いられてきた ^{15}N トレーサー実験からは得られない結果であり、N 循環モデルを精緻化する上で非常に重要な知見である。