

水生植物を介した N₂O 輸送に関する研究

千賀 有希子* 廣田 充** 野原 精一***

キーワード : N₂O 放出、N₂O 吸収、水生植物、湿地、沿岸域

1. はじめに

現在、大気中に約320ppbの濃度で存在する N₂O (亜酸化窒素) は、地球環境に対する2つの重要な関わり方から注目されている。一つは、N₂O が7.8 μmの赤外領域に強い吸収帯を有するため、温室効果ガスとして CO₂、CH₄とともに温暖化を促進していることである (Prinn et al. 1990)。もう一つは、N₂O が化学的に安定であるため、対流圏では変化せず成層圏に到達し、オゾン層の消長に重要な影響を及ぼしていることである (寺井 1996)。N₂O は年間0.2~0.3%の割合で増加している (Prinn et al. 1990) と言われており、それ故、N₂O の放出量と吸収量を含めた収支の見積もりの提示が急がれている (IPCC 2007)。

N₂O の生成は大部分が土壌や水中に存在する脱窒や硝化などを行う微生物によるものとされる (寺井 1996)。近年、農耕地において施肥の利用が増大しており、それに伴う N₂O 放出の増加が報告されている (Bouwman 1998 ; Akiyama et al. 2000)。また、施肥由来の NO₃⁻ は集水域を介して容易に流出し、沿岸域に集積する。そのため、沿岸域からの N₂O の放出量は無視できないと予測されている (Senga et al. 2006, 2009 ; Hirota et al. 2007)。しかしながら、陸域と水域の境界である沿岸域は、多様な生物が存在する非常に複雑な場である。特に水生植物が生育する湿地では環境が非常に不均一であり、N₂O 生成および放出量の評価は難しく、正確な見積もりはなされていない。

湿地を構成する大型の水生植物には、生態系の機能の面で主に2つの重要な役割がある。一つは、主要な一次生産者であり、沿岸域の物質循環の起点といえる (Mitsch & Gosselink 2000)。もう一つは、土壌と大気間をつなぐガスの交換経路になっていることである。水生植物は、嫌気的な底質に地下部を持ち呼吸に必要な酸

素を獲得するために通気組織系を発達させている。この通気組織系を介して酸素を輸送すると同時に土壌中で生成される様々な気体を大気に放出させることが知られている (野内ら 1999)。このような、水生植物体を介した気体の交換機能は、温暖化ガスを大気へ放出するという点で非常に注目されており、CO₂やCH₄を中心に野外 (Butterbach-Bahl et al. 1997 ; Hirota et al. 2005) や室内 (Nouchi et al. 1990 ; Mariko et al. 1991) で盛んに研究がおこなわれている。しかしながら、N₂O も CH₄ などと同様に湿地の底質土壌中で生成される (寺井 1996) ことを考慮すると、水生植物体を介して、放出されている可能性が高い。しかしながら、N₂O は、大気中で微量である上、水に溶けやすいなどの特徴がある (Middelburg et al. 1995) ため、湿地において水生植物を介した放出量を評価した知見は非常に少なく、特に測定が困難な野外での測定例はほとんどない。

本研究では、湿地における水生植物を介した N₂O 動態の解明を目的として、代表的な水生植物である水稲イネを介した N₂O の輸送を測定した。本研究では、N₂O の動態を精度よく定量化するために、室内実験にて密閉式チャンバーを用いた測定を行った。これまで地下部から地上部への N₂O の放出フラックスが注目されてきたが、本研究では地上部から地下部への N₂O 吸収にも着目し、吸収フラックスの測定も行った。また、N₂O 放出とイネの蒸散との関係を検討した。

2. 方法

2-1. 実験条件

「水生植物を介した」N₂O の放出と吸収の検討は、水生植物イネ (*Oryza sativa* L., 品種: 日本晴れ) を対象として用いた。イネは、体内に通気組織系を発達させた空洞があり、分子拡散による気体交換を行うことが

* 立正大学地球環境科学部環境システム学科

** 筑波大学生命環境科学研究科

*** 国立環境研究所アジア自然共生研究グループ

できることが知られている (Mariko et al. 1991 ; Nouchi and Mariko 1993)。イネの種を30 の恒温槽で発芽させ、培養土で約1週間生育させた。その後、木村氏B水耕液 (一井 1995) で2週間培養し、生育状態のいいものをサンプルとして用いた。

イネを介した N₂O フラックスを測定するために、密閉式チャンバーを作製した (図1)。イネの地上部と地下部をゴム栓で挟み分け、シリコンチューブで隙間を埋めた。イネを挟み分けたゴム栓は中心に穴が開いたシリコン板にしっかり固定し、ガラス製チャンバーのグリースが塗ってあるスリガラス上に置いた。この時、イネの地下部はガラス製チャンバー内の800mlの水に浸るようにした。イネの地上部には、アクリル製チャンバーを被せ、ガラス製チャンバーと支柱でしっかり固定し、外気が入らないようにした。地上部が入っているチャンバーを大気系、地下部が入っているチャンバーを根系とした。実験中は、チャンバー内で不均一化が起これないように、大気系はポンプで空気を循環させ、根系はスターラーを用いて水を撈拌した。

大気系への N₂O 放出を見積もるために、ガラス製チャンバーに固定したパッキンから既知濃度の N₂O 溶解水をシリンジによって添加し、0.01, 0.3, 8, 80mgN l⁻¹ となるように調製した。大気系へ放出する N₂O 量を時間を追って測定し、放出フラックスを算出した。根系への N₂O 吸収を見積もるために、アクリル製チャンバー

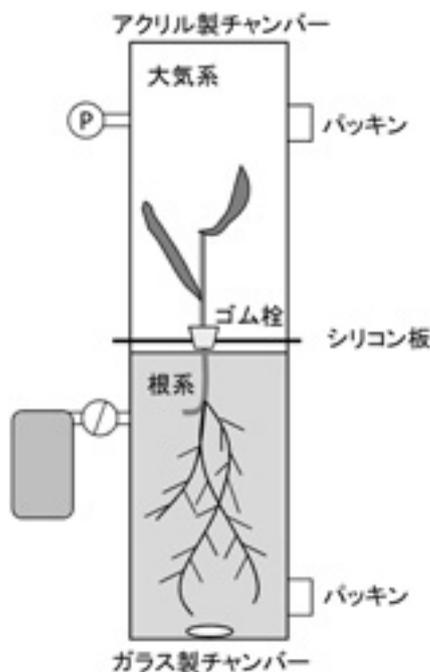


図1. 密閉式アクリル製チャンバー

のパッキンから既知濃度の N₂O をガスタイトシリンジによって添加し、2, 20, 200, 1000 μgN l⁻¹ となるように調製した。根系へ移動する N₂O 量を時間を追って測定し、吸収フラックスを見積もった。放出フラックスと吸収フラックスは、暗条件下と明条件下でそれぞれ測定し算出した。明条件下の実験は、光チャンバー内で行った。白熱電球の下に透明アクリル水槽を置き、光による急激な温度の上昇を避けた。チャンバーへの光量子密度は約1200 μmol m⁻² s⁻¹であった。また、根系への光の影響を防ぐため、ガラス製チャンバーの周りを黒い布で覆った。

イネの蒸散と N₂O 放出の関係は、根系の N₂O 濃度を50mgN l⁻¹ になるように調製し、大気系の N₂O 濃度増加を時間を追って測定した。同時に大気系で湿度と気温を1分ごとに連続観測した。

全ての実験は20 の恒温槽で行った。繰り返しは8回とした。

2 - 2. サンプリングと測定

大気系の N₂O 量の測定をするために、アクリル製チャンバーのパッキンに採血針を刺し、真空にしたバイアル瓶 (容量5 ml) にチャンバー内の空気を回収した。また、根系の溶存態 N₂O 量の測定をするために、ガラス製チャンバーのパッキンに採血針を刺し、真空にしたバイアル瓶 (容量20ml) にチャンバー内の水を回収した。この時、根系の圧力が低下しないように、回収した水サンプル分を水が入ったバックからコックを介して供給した。大気系のサンプルの回収量は、チャンバー内の空気の1%以下であったため、圧力の変化は無視できるものとした。放出フラックスおよび吸収フラックスは、0分後、10分後、20分後、30分後のサンプル中の N₂O の変化速度から見積もった。

N₂O は ECD 検出器付きガスクロマトグラフィー (6850, Agilent) で測定した。溶存 N₂O 量は、Weiss と Price の式 (1980) を用いて算出した。大気系の湿度の変化は、湿度計を設置しデータロガー (Thermic 2300 A, Eto Denki) に値を取り込んだ。また、温度の変化は温度計 (Data Logger Stowaway TIDBIT 32K, Onset Computer Co.) によって測定した。

測定値の多重比較検定には、Turkey-Kramer 法 (StatView software Version J 5.0, SAS Institute) を用いた。

3. 結果および考察

根系への N_2O 添加濃度が 0.01, 0.3, 8, 80mgN l^{-1} の時の大気系への N_2O 放出フラックスは、 N_2O 添加濃度が高くなるほど大きくなった (図 2)。前述したようにイネは体内に通気組織系を発達させており、地上部から地下部へと空洞を有している。したがって、イネは土壌 大気間で分子を輸送するパイプの役割を果たしていると考えられている (Mariko et al. 1991; Nouchi and Mariko 1993)。一般に、分子は拡散によって高濃度の場から低濃度の場へ移動し、濃度を均一にする特性がある。根系へ添加した N_2O 分子は、イネの通気組織系を介して大気系へ放出したと考えられた。 N_2O 添加濃度が低濃度の時、暗条件と明条件の N_2O 放出フラックスに差は観られなかったが、添加濃度が高濃度 (8 および 80mgN l^{-1}) の場合は、暗条件の N_2O 放出フラックスの方が明条件よりも有意に高かった ($P < 0.01$)。中海における塩生植物オオクグ (*Carex rugulosa* Kükenth.) 帯での N_2O 放出フラックスを測定した野外観測では、日中のフラックスは夜間より大きいと報告されている (Hirota et al. 2007; Senga et al. 2009)。本研究の結果は、野外観測の結果と一致しなかった。野外においては、日中と夜間で地温は大きく変化し、日中の地温が高い時、微生物の活性は高くなりより多くの N_2O を生成するため、オオクグを介して放出する N_2O フラックスが大きくなったと考えられる (Hirota et al. 2007; Senga et al. 2009)。これらのことから、温度が変化せず、また N_2O 濃度が比較的高濃度でかつ一定の場合には、大気

への N_2O 放出フラックスは暗条件で大きくなることが明らかとなった。

大気系への N_2O 添加濃度が 2, 20, 200, $1000\mu\text{gN l}^{-1}$ の時の根系への N_2O 吸収フラックスにおいても、 N_2O 添加濃度が高くなるほど大きくなった (図 3)。このことから、イネの通気組織系を介して、分子拡散により N_2O は根系から大気系へ移動するだけではなく、大気系から根系へ移動することも明らかになった。このことは、水生植物が大気中の N_2O の吸収源にもなる可能性を示唆している。植物体内を通して吸収された N_2O は、還元的な土壌に接すると脱窒細菌によって N_2 へ還元されると予測されるからである。大気中の N_2O 濃度を決定する要因として、放出と吸収のどちらの過程の寄与が大きいか、今後検討する必要がある。 N_2O 吸収フラックスは、明条件と暗条件に有意な差は観られなかったが、暗条件の方が僅かに高い傾向が認められた。

N_2O 放出と蒸散との関係は、根系への N_2O 添加濃度が 50mgN l^{-1} の時、暗条件および明条件における大気系への N_2O 濃度増加と湿度を時間を追って測定することにより検討した (図 4)。両条件とも N_2O 濃度および湿度は時間とともに増加した。しかしながら、湿度は、暗条件においては 30 分後に約 80% 近い値となったのに対し、明条件では暗条件より高く約 95% とほぼ飽和に近い値であった。この結果から、イネの蒸散は明条件で活発であると言える。 N_2O 濃度の増加についても両条件で差が観られ、暗条件 (図 4 a) よりも明条件 (図 4 b) で低かった。暗条件と明条件の N_2O 濃度増加に差が生じた要因として、蒸散量の差が考えられた。明条件では活発

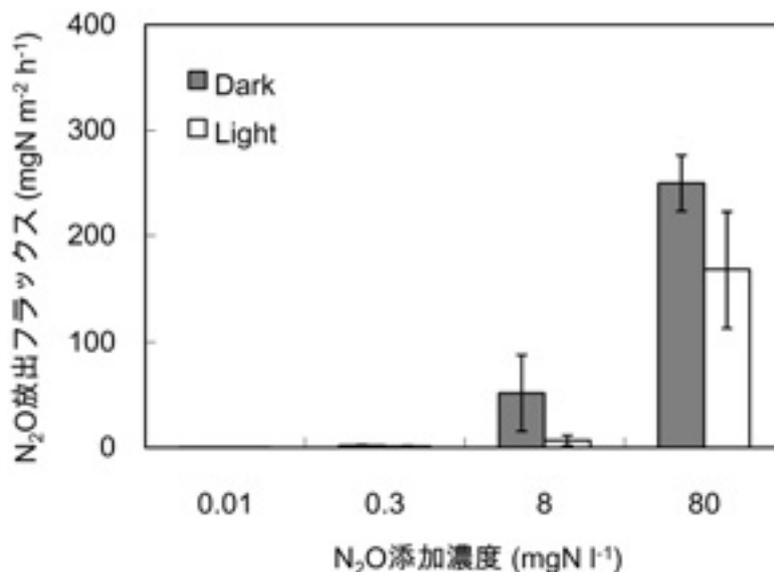


図 2. 根系から大気系への N_2O 放出フラックス

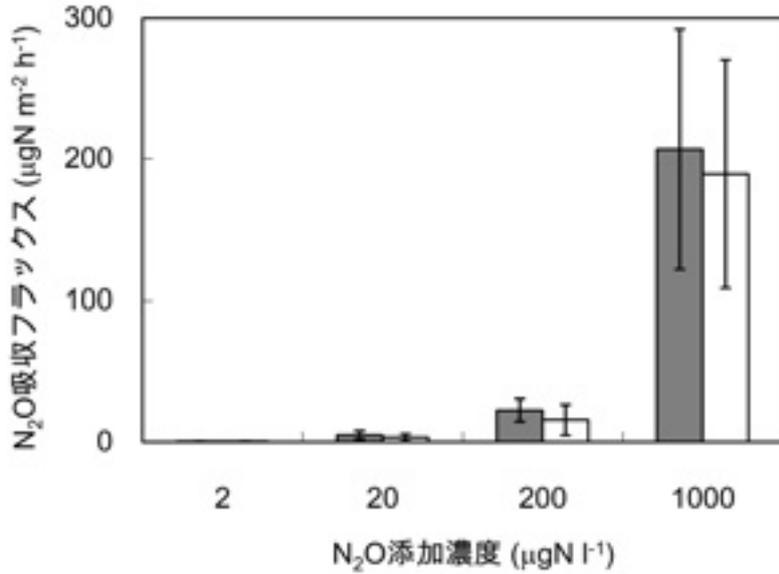


図3. 大気系から根系への N₂O 吸収フラックス

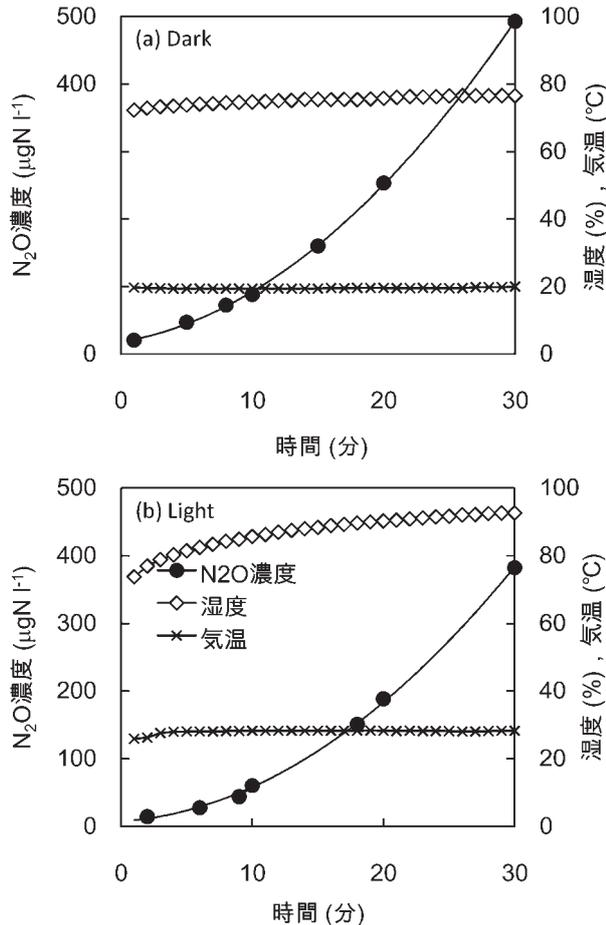


図4 N₂O 濃度、湿度および気温の時間変化
(a) 暗条件下 (b) 明条件下

蒸散水に N₂O が溶け込み、見かけ上大気系への N₂O 濃度増加が暗条件よりも低くなったと推察された。さらに、大気系内の温度は、暗条件 (図 4 a) よりも明条件 (図 4 b) の方が高かった。一般的に分子運動は温度が高い方が活発である。イネの通気組織系を介した N₂O 分子の移動が分子拡散だけによるものであれば、当然温度が高い明条件下で N₂O の移動は活発化すると考えられる。したがって、明条件の N₂O 増加の方が暗条件より大きいと予測される。しかしながら、実際は明条件の大気系への N₂O 放出は暗条件よりも低かった。このことから、やはりイネの蒸散水に N₂O が溶け込み、結果として大気系への放出が低くなった可能性が示唆された。また、蒸散水への N₂O の溶け込みは、地上での N₂O 動態を左右すると考えられる。水に溶け込むことによって、N₂O は水の流れにそった範囲で輸送されることとなる。N₂O が溶存した水が蒸発しなければ、溶存 N₂O は還元的な環境へ輸送されることによって脱窒などを通して消失される可能性がある。大気圏での N₂O は化学的に安定しており、消失過程はほとんどない。N₂O が水に溶解することで消失過程へたどり着けるのであれば、溶存 N₂O 動態は大気中の N₂O 濃度を決定する上で非常に重要であると考えられる。さらに、蒸散水への N₂O の溶解の重要性について検討していく予定である。

まとめ

水生植物イネは、分子拡散により N₂O を地下部から大気へ放出するだけでなく、大気から地下部へ吸収する

機能を持つことが解った。イネの通期組織系を介した大気から地下部への N_2O の移動は、大気中の N_2O 吸収源として重要であると考えられた。また、大気への N_2O 放出は、明条件下よりも暗条件下の方が高かった。その要因として、明条件下でのイネの活発な蒸散により、 N_2O が蒸散水に溶解し、見かけ上 N_2O 放出が低くなったことが考えられた。蒸散水への N_2O の溶け込みは、 N_2O 動態を決定する重要な因子であると推察した。

地球上での温暖化が進む中で、温暖化ガスの放出量とその寄与の正確な見積もりが必要とされている。 N_2O の大気濃度は他の温暖化ガスより低いが、その温室効果は1分子当たり CO_2 の数百倍、 CH_4 の数倍とされている(玉置ら 1989)。さらに大気中での寿命が約100年と非常に長い特徴を持つ(Khalil & Rasmussen 1992)。そのため、将来 N_2O の温室効果への寄与は、他の温暖化ガスを上回る可能性があり懸念されている。したがって、これまで注目されてこなかった沿岸域や湿地など水辺の N_2O 動態の解明が急務とされている。本研究は、これまで困難とされていた水生植物を介した N_2O の輸送を室内実験で特徴付けた。さらなる研究により、野外の水生植物帯における N_2O 動態の解明に貢献したいと考えている。

謝 辞

本研究は、2003年住友財団環境研究助成「水生植物帯における亜酸化窒素の収支に関する研究」、文部科学省科学研究費若手研究(B)「沿岸域における異化型硝酸還元過程の解明に関する研究」(研究課題番号: 20710011、研究代表者: 千賀有希子)による研究成果の一部です。また、イネの栽培に関しては、榎川上農場の松本勝美氏、松本幸子氏にご協力いただきました。ご夫妻のご尽力に深謝申し上げます。

参考文献

- Akiyama H, Tsuruta H, Watanabe T (2000) N_2O and NO emissions from soils after the application of different chemical fertilizers. *Chemosphere* 2: 313-320
- Bouwman A F (1998) Nitrous oxides and tropical agriculture. *Nature* 392: 866-867
- Butterbach-Bahl K, Papen H, Rennenberg H (1997) Impact of gas transport through rice cultivars on methane emission from paddy fields. *Plant Cell Environ* 20: 1175-1183
- Hirota M, Tang Y, Hu Q, Kato T, Hirata S, Mo W, Cao G, Mariko S (2005) Grazing alters carbon dioxide and methane fluxes in an alpine wetland on the Qinghai-Tibetan Plateau *Atmos Environ* 39: 5255-5259
- Hirota M, Senga Y, Seike Y, Nohara S, Kunii H (2007)

Fluxes of carbon dioxide, methane, and nitrous oxide in two contrasting fringing zones of a coastal lagoon, Lake Nakaumi, Japan. *Chemosphere* 68: 597-603

IPCC (2007) *Climate Change 2007: Impacts, Adaptation and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Fourth Assessment. Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change.* Cambridge: Cambridge University Press, 976pp.

一井眞比古 (1995) 水耕法. 「植物遺伝育種学実験法」. 谷坂隆俊編, 朝倉書店. 145 - 146pp

Khalil MAK, Rasmussen RA (1992) The global sources of nitrous-oxide. *J Geophys Res D* 97: 14651-14660

Mariko S, Harazono Y, Owa N, Nouchi I (1991) Methane in flooded soil water and the emission through rice plants to the atmosphere. *Environ Exp Botany* 31: 343-350

Mitsch, W.J., Gosselink, J.G., 2000. *Wetlands.* 3rd edition. John Wiley & Sons, New York.

Middelburg JJ, Klaver G, Nieuwenhuize J, Markusse RM, Vlug T, Jaco F, van der Nat WA (1995) Nitrous oxide emissions from estuarine intertidal sediments. *Hydrobiol* 311: 43-55

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

Nouchi, I., Mariko, S., 1993. Mechanism of methane transport by rice plants. In: Oremland, R.S.(Ed.), *Biogeochemistry of Global Change.* Chapman and Hall, New York, pp. 336 - 352.

野内 勇, 細野達夫, 青木一幸 (1999) 水田からの水イネを介したメタンの放出. *農業気象* 55 : 267 - 287

Prinn R, Cunnold D, Rasmussen R, Simmonds P, Alyea F, Crawford A, Fraser P, Rosen R (1990) Atmospheric emissions and trends of nitrous oxide deduced from 10 years of Ale-Gauge data. *J Geophys Res D* 95: 18369-18385

Senga Y, Mochida K, Fukumori R, Okamoto N, Seike Y (2006) N_2O accumulation in estuarine and coastal sediments: the influence of H_2S on dissimilatory nitrate reduction. *Est Coast Shelf Sci* 67: 231-238

Senga Y, Hirota M, Hirao M, Fujii T, Seike Y, Nohara S, Kunii H (2009) Nitrogen dynamics and N_2O emission in restored salt marsh, Lake Shinji, Japan. *Verh Internat Verein Limnol* 30: 907-910

玉置元則, 平木隆年, 溝口次夫 (1989) N_2O による地球の温暖化と成層圏オゾン層の破壊. その化学的特性と濃度上昇の将来予測. *公害と対策* 25 : 775 - 783

寺井久慈 (1996) 第3章 3.3 一酸化二窒素. 半田暢彦編 「大気水圏科学からみた地球温暖化」. 名古屋大学出版会. 117 - 126pp

Weiss RF, Price BA (1980) Nitrous oxide solubility in water and seawater. *Mar Chem* 8: 347-359

The Transport of Nitrous Oxide via Aquatic Plant

SENGA Yukiko^{*}, HIROTA Mitsuru^{**}, NOHARA Seiichi^{***}

^{*}Department of Environment Systems, Faculty of Geo-environmental Science, Rissho University

^{**}Graduate School of Life and Environmental Science, University of Tsukuba

^{***}Asian Environment Research Group, National Institute of Environmental Studies

Keywords: Nitrous oxide emission, Nitrous oxide adsorption, Aquatic plant, Wetland,
Coastal area