

微小電極を用いた放牧地からの N₂O 生成速度の測定

北海道大学大学院 正 ○佐藤久、日向寺崇文、正 高橋正宏、正 岡部聡

1. はじめに：平成 11 年に家畜排せつ物法が施行された。これにより、家畜排せつ物は適切に管理され、悪臭、流域の水質汚染などの環境問題が解決し、さらには家畜排せつ物が有効に活用され、化学肥料投入量が低減されることが期待される。一方、肥料を化学肥料から家畜排せつ物に変更した場合に発生する問題として、家畜排せつ物に含まれる微生物や有機物により土壤微生物生態系がかく乱されることが考えられる。Schütz et al. は水田に有機肥料を施肥したことにより CH₄ 発生量が増大したことを報告している¹⁾。家畜排せつ物により窒素循環もかく乱されることが予想される。窒素循環の変化により発生する環境問題として、地下水の NO₃⁻ 汚染や N₂O の発生が挙げられる。N₂O は CO₂ の 200 から 300 倍の温室効果を持ち、オゾン層を破壊することが知られている。N₂O は、土壤や水域の底泥における生物学的反応、有機物の燃焼、工業プロセス、廃水処理プロセス等で発生する。土壤においては、硝化反応（アンモニア酸化細菌による NO₂⁻ 呼吸や NH₂OH の化学的酸化）と脱窒反応（従属栄養性脱窒細菌、アンモニア酸化細菌および ANAMMOX 細菌による NO₃⁻ または NO₂⁻ の還元）により生成され、アンモニア酸化細菌や従属栄養性脱窒細菌により N₂ に還元（消費）される。このように N₂O の変換に関わる反応は極めて複雑である。水域の底泥や有機物および窒素負荷の高い土壤では、好気領域は表層の数 mm に限られており、すなわち表層の僅か数 mm の領域に好気領域と無酸素領域が共存している²⁾。O₂ は上述の窒素循環に関わる様々な反応を制御する因子であるため、土壤表層での窒素循環はさらに複雑になる。土壤中の窒素循環は一般に窒素安定同位体を用いて解析されている。しかしながらこの方法は空間的解像度が低く、土壤表層の僅か数 mm の領域の窒素循環を明らかにすることはできない。以上の背景から、本研究では微小電極を用いて土壤表層中の窒素循環を解明することを目的とした。微小電極は先端径が数 μm から数 100 μm のセンサーであり、現在のところ最も非破壊的に土壤中の物質濃度を分析できるツールである。本研究では土壤中の物質循環を解明する基礎的実験として、N₂O 微小電極を用いて消化液施用後の放牧地土壤中の N₂O 濃度を測定し、この結果から土壤深さ方向に 100 μm 間隔で N₂O 生成および消費速度プロファイルを解析した。

2. 実験方法：北海道大学生物生産研究農場内の放牧地の区画（1 m×1 m）に、2009 年 11 月 17 日に消化液を散布した（施用区）。消化液として同農場内の家畜排せつ物メタン発酵槽の処理液を用いた。消化液施用量は同農場の一般的な値（約 19 g-TN/m²）に合わせた。消化液の施用後、施用区および非施用区にステンレスガスチャンバー（直径 50 cm、高さ 35 cm）を設置した。チャンバーにはガスサンプリング用のチューブおよび攪拌用のプロペラを取り付けた。チューブにプラスチックシリンジ（50 mL）を取り付け、チャンバー内のガスを採取した。ガスはチャンバー密閉直後、1 時間後、2 時間後に採取した。施用から 0 日目および 7 日目に、施用区および未施用区の土壤中の N₂O 濃度プロファイルは N₂O 微小電極を用いて測定した。測定方法は Satoh et al. の方法に準拠した²⁾。

3. 結果および考察：施用日以降の施用区および未施用区からの N₂O フラックスを Fig. 1 に示した。施用日（0 日目）には N₂O フラックスは施用区および未施用区において同程度（0.2 および 0.1 μmol/m²/h）であった。その後 N₂O フラックスは施用区においてのみ増大し、施用日から 7 日目に最大（1.2 μmol/m²/h）となった。その後施用区の N₂O フラックスは減少し、施用日から 12 日目には未施用区と同程度（0.3 μmol/m²/h）となった。未施用区からの N₂O フラックスは -0.1 から 0.3 μmol/m²/h の間を推移した。このことから、未施用区からも N₂O が放出していたことが明らかとなった。測定期間（23 日間）において施用区からの N₂O フラックスは常に未施用区からのフラックスを上回った。

N₂O 微小電極を用いて、施用から 0 日目および 7 日目の、施用区および未施用区の土壤中の N₂O 濃度プロファイル測定した。0 日目では、施用区の土壤表面から深さ 5000 μm の領域には N₂O は検出されなかった。これに対し

キーワード 消化液施用、N₂O 濃度、N₂O 生成速度、微小電極

連絡先 〒060-8628 札幌市北区北 13 条西 8 丁目 北海道大学大学院工学研究院 TEL : 011-706-6277

7日目では、施用区の土壤表面から深さ 2600 μm の地点から N_2O 濃度が増大し始め、深さ 2900 μm の地点で最大 (14 μM) となった (Fig. 2 左図)。これ以深では深部に向かうに従い N_2O 濃度は低下し、深さ 3900 μm の地点で検出限界値以下となった。この N_2O 濃度プロファイルから N_2O 生成速度を算出した (Fig. 2 右図)。 N_2O は深さ 2700 μm から深さ 3000 μm の範囲で生成され、生成した N_2O は生成領域の上部および下部に輸送され、深さ 2400 μm から深さ 2600 μm の領域、および深さ 3100 μm から深さ 3300 μm の領域において消費されていたことが明らかとなった。生成領域における生成速度の和 (Σ 単位体積あたりの N_2O 生成速度 $\times 100 \mu\text{m}$) は 0.059 $\mu\text{mol}/\text{cm}^2/\text{h}$ 、上部消費領域における消費速度の和は 0.036 $\mu\text{mol}/\text{cm}^2/\text{h}$ 、下部消費領域における消費速度の和は 0.020 $\mu\text{mol}/\text{cm}^2/\text{h}$ であった。この結果から、生成された N_2O の 62% (0.036/0.059) が生成領域の上部において、34% (0.020/0.059)

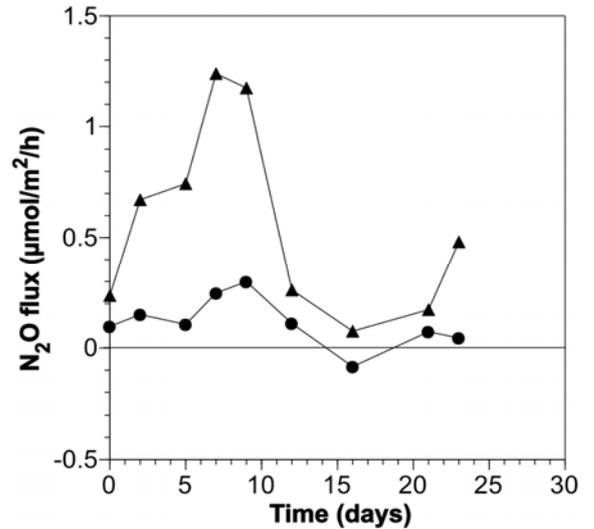


Fig. 1 施用日以降の施用区(▲)および未施用区(●)からの N_2O フラックスの経日変化

が生成領域の下部において消費されていたことが明らかとなった。消費されなかった N_2O は (0.059-0.036-0.020=) 0.003 $\mu\text{mol}/\text{cm}^2/\text{h}$ (=30 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{h}$) である。この値が Fig. 1 に示したフラックスよりも 1 オーダー高い理由として、生成領域と土壤表面の間に存在する土壤が土壤外へ N_2O が放出される際の輸送抵抗となっていること、近似 (カーブフィット) した濃度プロファイルから N_2O 生成速度を求めたために誤差が生じたこと、微小電極の検出限界以下のレベルで N_2O が消費されていたこと、微生物活性の空間的不均一性、が考えられる。

4. 結論: 本研究では、放牧地に消化液を施用し、その後の N_2O フラックスの経日変化を測定した。さらに、 N_2O 微小電極を用いて土壤中の N_2O 濃度プロファイルおよび N_2O 生成速度プロファイル測定した。 N_2O フラックスは施用から 7 日目に最大となった。土壤中の N_2O 濃度は深さ 2900 μm の地点で最大となった。 N_2O は深さ 2700 μm から深さ 3000 μm の範囲で生成され、生成した N_2O は生成領域の上部および下部領域において消費された。土壤からの N_2O フラックスは土壤中の N_2O 生成速度よりも 1 オーダーも低かった。

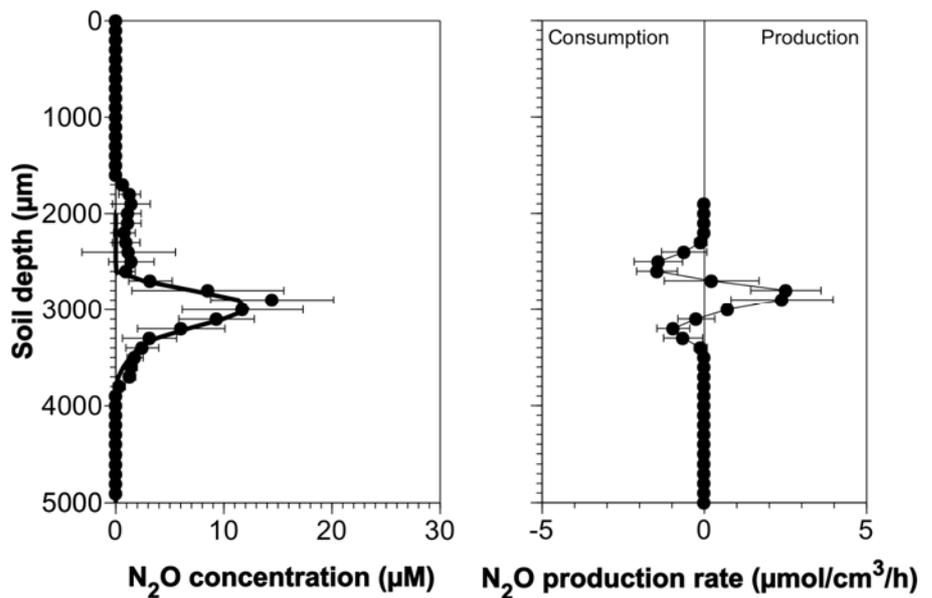


Fig. 2 施用から 7 日目の施用区土壤中の N_2O 濃度プロファイルおよび N_2O 生成速度プロファイル。 N_2O 濃度プロファイルの点は実測値、実線は生成速度を求める際に用いた近似濃度プロファイル。

参考文献: 1. Schütz *et al.* 1989. A 3-year continuous record on the influence of daytime, season, and fertilizer treatment on methane emission rates from an Italian rice paddy. *J Geophys. Res.*, **94**(D13), 16405–16416.

2. Satoh *et al.* 2007. Influences of infaunal burrows on the community structure and activity of ammonia-oxidizing bacteria in intertidal sediments. *Appl. Environ. Microbiol.*, **73**(4), 1341-1348.

謝辞: 本研究を行うにあたり、北海道大学大学院農学研究院 波多野隆介 教授には多大なご協力を戴きました。ここに記して感謝の意を表します。