### マジュロ環礁における堆積物酸性化 Sediment acidification on Majuro Atoll

\*伊藤 理彩<sup>1</sup>、服部 祥平<sup>2</sup>、吉田 尚弘<sup>2</sup>、高橋 嘉夫<sup>1</sup> \*Lisa Ito<sup>1</sup>, Shohei Hattori<sup>2</sup>, Naohiro Yoshida<sup>2</sup>, Yoshio Takahashi<sup>1</sup>

- 1. 東京大学大学院 理学系研究科 地球惑星科学専攻、2. 東京工業大学 物質理工学院 応用化学系
- 1. Department of Earth and Planetary Science, School of Science, The University of Tokyo, 2. Department of Chemical Science and Engineering, School of Materials and Chemical Technology, Tokyo Institute of Technology

Soil acidification often occurs due to various factors such as  $NO_x$  and  $SO_x$  from anthropogenic combustion substances. In the process of rock weathering or nitrification, protons are also released which causes soil acidification. It is difficult to evaluate each factor independently in industrial countries, since the many factors are affected one another, which makes it difficult to evaluate each factor. On the other hand, it is relatively easy to discuss anthropogenic impacts and natural effects independently in the case of atoll, since atoll sediments are composed of bio-clastic sand such as foraminifera and coral that are made from calcium carbonate ( $CaCO_3$ ), which exhibits simpler composition compared with other areas with more heterogeneous geology. Here, we investigated the degrees of acidity in Majuro Atoll, one of the atolls of Marshall Islands. In Majuro Atoll, human residence has lasted for about 2000 years, which is the longest history among atolls around the world (Yamaguchi et al., 2005, 2009). However, the traditional life style in the atoll has changed and more industrial products such as motor vehicles have been used after 20th century.

In this study, we focused on factors which have a possibility to change surface environment of reef islands in atoll in terms of both artificial and natural factors. We evaluated the correlation between the elements contained in the sediment and sediment pH at different depths. We also examined the mechanism to acidify the pH of the sediment.

Samples were taken at different depth of the sediments in both inland area and ocean side of each reef island which are named as Laura, Calalen, and Jelto. All the surface layers are black-colored and well-vegetated. The grain size is medium to fine sand.

We examined concentrations of major elements such as calcium (Ca) and magnesium (Mg) by XRF. Concentration of inorganic ions ( $NO_3^{-1}$ ,  $SO_4^{-2-}$ , and  $NH_4^{-1}$ ) were measured by ion chromatography and absorption spectrophotometry, respectively. Concentration of organic acid was calculated by pH titration. Mineral composition of foraminifera, which is the main component of the sediment was examined by XRD. Porosity of foraminifera were calculated using X-ray micro-Computed Tomography ( $\mu$ -CT) and Image J. Stable isotope of nitrogen ( $^{14}N$  and  $^{15}N$ ) and triple oxygen isotopes ( $^{16}O$ ,  $^{17}O$ , and  $^{18}O$ ) in nitrate contained in the sediment were measured by the denitrifier method (Hattori et al., 2016) to identify the origin of the nitrate.  $^{13}C$  solid state Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectroscopy were used to identify the organic matter which was concentrated in the upper layer.

As a result, sediment pH decreased near the surface layer and the concentration of Mg decreased. Mg-calcite fraction to total  $CaCO_3$  (calcite + magnesian calcite (Mg-calcite)) of foraminifera also decreased near the surface. In contrast, the porosity of foraminifera, concentrations of  $NO_3^-$ ,  $NH_4^+$ , TOC, and organic acid increased in the upper layer, whereas concentration of  $SO_4^{-2-}$  fluctuated and especially became higher in the lower layer which is close to the water-table. Therefore,  $SO_4^{-2-}$  may be originated from seawater, which did not induce acidification of the sediment. According to NMR analysis, organic matter enriched in the upper layer was identified as fulvic acid. Both the concentrations of nitrate and organic acid as fulvic acid had high correlation with sediment pH in the range from pH 7.5 to 8.0. Therefore, it is considered that both factors contribute to the acidification and dissolution of foraminifera

test in the upper layer. From the analysis of the stable isotopes, the average of  $\Delta^{17}$ O was close to 0% over all the areas, which suggested that nitrate was produced by bacterial activities. Therefore, we can conclude that highly concentrated nitrate produced during the excess nitrification and subsequent release of proton during the process should be the main factor to acidify the sediments on Majuro Atoll.

キーワード: 堆積物酸性化、環礁州島、硝化

Keywords: sediment acidification, reef island, nitrification

3種のモデル海洋細菌株により生成された難分解性溶存有機物の比較 Comparison of recalcitrant dissolved organic matter produced by three model marine bacterial strains

\*後藤 周史<sup>1</sup>、多田 雄哉<sup>2</sup>、鈴木 光次<sup>1,3</sup>、山下 洋平<sup>1,3</sup> \*Goto Shuji<sup>1</sup>, Yuya Tada<sup>2</sup>, Koji Suzuki<sup>1,3</sup>, Youhei Yamashita<sup>1,3</sup>

- 1. 北海道大学 大学院環境科学院、2. 海洋研究開発機構、3. 北海道大学 大学院地球環境科学研究院
- 1. Graduate School of Environmental Science, Hokkaido University, 2. Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology, 3. Faculty of Environmental Earth Science, Hokkaido University

海洋溶存有機物(Dissolved Organic Matter、DOM)は、全炭素量662 Pg Cの巨大な炭素リザーバーを構成する。海洋DOMの90%以上は、生物的に難分解なDOM(Recalcitrant DOM、RDOM)である。海洋におけるRDOMの生成・分解過程についての知見は少ないが、近年、海洋細菌によるRDOM生成機構"微生物炭素ポンプ"が提唱され、地球表層における炭素隔離機構としての重要性が示唆された。この概念によれば細菌の働きにより易分解性DOM(Labile DOM、LDOM)がRDOMへ変換される。微生物炭素ポンプの概念形成は、主に海洋細菌群集の培養実験から評価されたRDOM生成によりなされた。海洋細菌群集を用いた先行研究では、細菌種間のRDOMの生成効率の差や生成機構の違いは評価できず、微生物炭素ポンプの機構や制御要因の解明には至っていない。

そこで本研究では、既知のLDOMを添加した培養実験を複数種の細菌単離株について行い、培養中に生成された細菌由来DOMの炭素量および光学特性を分析することで、RDOMの生成効率や組成の細菌種間での異同を明らかにし、微生物炭素ポンプの機構や制御要因を解明することを目的とした。

細菌単離株は、Gammaproteobacteria網に属する Alteromonas macleodii(A. macleodii)と Vibrio splendidus(V. splendidus)、Alphaproteobacteria網に属する Phaeobacter gallaciensis(P. gallaeciensis)を用いた。唯一の炭素源としてグルコース(1 mmol C L $^{-1}$ )、さらに無機態窒素とリンを加えた人工海水を培養液として使用した。4つの処理区:(1) グルコースと細菌株を添加した実験区、(2) グルコースと細菌株を添加しない区、(3) グルコースを添加しない区、(4) 細菌株を添加しない区を用意した。250 mL容のポリエチレンテレフタレートボトルで暗所・25℃で1–2週間培養し、計8回の三反復のサブサンプリングを行った。未濾過サンプルを用い細菌数と総有機炭素濃度を、GF75フィルター(孔径0.3  $\mu$ m)の濾液サンプルを用い溶存有機炭素濃度、DOMの三次元蛍光スペクトルと吸収スペクトルを分析した。

溶存有機炭素濃度は、3種の細菌株に依らず、培養初期の急激な減少の後、消費され尽くされずに残存し、培養終了時まで大きな変動はなかった。これは、グルコースの消費後、細菌由来DOMが残存したことを示唆した。しかし、残存したDOC濃度はV.splendidusで205±11  $\mu$ mol C L<sup>-1</sup>とA.macleodii(51±4  $\mu$ mol C L<sup>-1</sup>) やP.gallaciensis(75±3  $\mu$ mol C L<sup>-1</sup>)と比較して顕著に高かった。つまり、細菌種によってRDOM生成効率が異なる可能性が示唆された。培養前の培地における三次元蛍光スペクトルには顕著な蛍光ピークは見られなかったが、培養後のDOMの三次元蛍光スペクトルには3種の細菌株間で特徴的な蛍光ピークが見られた。しかし、生成された蛍光ピークの数とピーク位置は3株間で異なっており、RDOMだと考えられている腐植様蛍光ピークの組成に3株間で違いが見られた。例えば、Gammaproteobacteriaに属する2株では蛍光波長500 mm以上の波長域に位置する腐植様蛍光ピークを持つDOMを生成したが、Alphaproteobacteriaに属するP.gallaciensisでは同様な腐植様DOMを生成しなかった。これらのモデル細菌株の比較実験から、同じ基質を用いたとしても細菌種・綱により生成されるRDOMの効率や組成が異なることが示唆された。

キーワード:海洋炭素循環、溶存有機物、微生物炭素ポンプ、海洋細菌単離株 Keywords: Marine carbon cycle, Dissolved organic matter, Microbial carbon pump, Marine bacterial isolate 硝酸の三酸素同位体組成を利用した河川水中内の窒素循環速度測定法開発 Quantifying nitrogen cycling rate in streams water by using triple oxygen isotopes as tracers

\*池上 文香<sup>1</sup>、角皆 潤<sup>1</sup>、小幡 裕介<sup>1</sup>、安藤 健太<sup>1</sup>、中川 書子<sup>1</sup>

\*Ayaka Ikegami<sup>1</sup>, Urumu Tsunogai<sup>1</sup>, Yusuke Obata<sup>1</sup>, Kenta Ando<sup>1</sup>, Fumiko Nakagawa<sup>1</sup>

- 1. 名古屋大学大学院環境学研究科
- 1. Graduate School of Environmental Studies, Nagoya Univ.

水環境中の硝酸(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)の濃度は、系内や下流に位置する湖沼やダム、沿岸海域の一次生産や生態系構造を直接的に左右する可能性があるため、各河川水中の硝酸濃度が流域内のどのような過程で制御されているのか、知見を深める必要がある。しかし、系外からの流入はもちろん、系内における硝化による生成や、同化や脱窒による消費など、多様な供給・消費過を考慮せねばならず、各河川水の硝酸濃度の制御因子を明らかにすることは容易ではない。

近年になって河川水などの水環境中の硝酸の窒素・酸素安定同位体組成( $\delta^{15}$ N、 $\delta^{18}$ O、 $\Delta^{17}$ O値)の高感度分析法が確立し、硝酸の起源が高確度・高精度で推定できるようになった。特に、同化や脱窒過程で値が変化しない三酸素同位体異常( $\Delta^{17}$ O= $\Delta^{17}$ O-0.52× $\delta^{18}$ O)は有用で、河川水中の硝酸についてこれを定量化することで、大気沈着由来の硝酸(大気硝酸・NO $_3$  atm)と、硝化によって生成する硝酸(再生硝酸・NO $_3$  re)の混合比を正確に定量出来るようになった。さらに、定量化したNO $_3$  atm の混合比と全硝酸(NO $_3$  total)濃度をもとに、NO $_3$  atm の絶対濃度を求めることも出来るようになった。

本研究では、以上のようにして求めた $NO_3^-$  atm の絶対濃度が、河川水中の硝化速度などの窒素循環速度の指標として利用できる可能性があると考えた。例えば、硝化による供給速度と、同化や脱窒による消費速度がバランスしている場合、河川水中の $NO_3^-$  total 濃度は見た目上変化しない。しかし、硝化によって供給されるのは $NO_3^-$  でだけなので、 $NO_3^-$  の絶対濃度は減少する。従って、流下に伴う $NO_3^-$  total と $NO_3^-$  atm の濃度変化を定量することで、供給・消費速度を定量化できる可能性がある。そこで、琵琶湖の代表的な流入河川の1つである野洲 (やす)川をフィールドとして、流下に伴う $NO_3^-$  は異皮とその窒素・酸素安定同位体組成( $\delta^{15}N$ 、 $\delta^{18}O$ 、 $\delta^{17}O$ )の変化を実測して、河川水中内の窒素循環速度の定量に挑戦した。さらに、人工濃縮 $\delta^{15}NO_3^-$  を使用した $\delta^{15}N$  トレーサー法を組み合わせることによって、求めた各速度を検証したので、その結果を報告する。

河川水試料の採取は15地点の定点を設け、2014年から2016年12月までの期間で計8回実施した。各試料の  $NO_3^-$  total 濃度はイオンクロマトグラフで測定し、硝酸の安定同位体組成は、Chemical Conversion 法を用いて  $NO_3^-$  を  $N_2^-$  の 化した後、連続フロー型の質量分析システムで定量した。また、2016年8月及び12月時には、採取した試料に $NO_3^-$  を添加して現場水温で24時間培養を行い、その取り込み率からその同化速度を求めた。そして、同化速度から硝化及び脱窒速度を求めた。

夏季(8月)は下流域(最上流地点から20 km以上)で、 $NO_3^-$  item i 濃度が流下に伴って約40  $\mu$  mol/Lから5  $\mu$  mol/L以下付近まで減少する様子が見られた。同時に $NO_3^-$  atm 濃度も減少していることから、夏季は同化または脱窒過程による硝酸の除去が下流域で活発に進行していることが明らかになった。また、 $^{15}$ Nトレーサー法を用いて求めた同化速度との比較によって、この主要除去過程は脱窒である可能性が高いことが判明した。

キーワード:硝酸、三酸素同位体組成、河川水、硝化、同化、脱窒

Keywords: nitrate, triple oxygen isotopes, stream water, nitrification, assimilation, denitrification

## Exploration of the relationship between isotopic signatures of inorganic nitrogen and the spiraling metrics in the river

Nguyen Cong Thuan<sup>2</sup>、\*木庭 啓介<sup>1</sup>、矢野 翠<sup>1</sup>、岩田 智也<sup>3</sup>、池田 勇太<sup>3</sup>、楊 宗興<sup>2</sup> Thuan Nguyen Cong<sup>2</sup>, \*Keisuke Koba<sup>1</sup>, Midori Yano<sup>1</sup>, Tomoya Iwata<sup>3</sup>, Yuta Ikeda<sup>3</sup>, Muneoki Yoh<sup>2</sup>

- 1. 京都大学生態学研究センター、2. 東京農工大学、3. 山梨大学
- 1. Center for Ecological Research, Kyoto University, 2. Tokyo University of Agriculture and Technology, 3. University of Yamanashi

Spiraling metrics are important for the better understanding of the biogeochemical processes in rivers, although it is quite demanding to measure these parameters. We explore the possibility to use the natural abundance of 15N and d18O of inorganic nitrogen (ammonium, nitrate and occasionally nitrite) as a proxy of the spiraling metrics. We measured concentrations and isotopes ratios of ammonium, nitrate and nitrite in a reach of Fuji River to figure out how concentrations and isotope ratios of these inorganic nitrogen can change according to their spiraling. We continuously collected water samples in the reach of ca. 6.5 km in the Fuji River by directly tracking a specific parcel of water following the longitudinal Lagrangian approach in June, October, November and December of 2015. We found significant inverse correlations between ammonium concentrations and d15N of ammonium in all sampling periods, implying that ammonium was removed by nitrification and assimilation. The d15N of nitrite measured in December were lower than both d15N of ammonium and nitrate, suggesting the inverse isotopic fractionation during nitrite oxidation in the nitrification. Both concentrations and d15N of nitrate significantly increased with the distance in all sampling periods, indicating the consumption of nitrate in parallel with nitrification. We will present more data collected from different rivers to explore the usefulness of isotope ratios as proxies of the spiraling metrics in the presentation.

キーワード:河川生態系、無機態窒素、安定同位体

Keywords: nutrient spiral, inorganic nitrogen, stable isotope

丘陵地における渓流水の高リン酸濃度と底層藻類の一次生産 High concentrations of phosphate in streams of hilly areas, which stimulate high primary production by benthic algae on pond soils

\*笹 孝明<sup>1</sup>、武井 六華、楊 宗興<sup>2</sup> \*Komei Sasa<sup>1</sup>, Ritsuka Takei, Yoh Muneoki<sup>2</sup>

- 1. 東京大学、2. 東京農工大学
- 1. The University of Tokyo, 2. Tokyo University of Agriculture and Technology

Phosphate is an essential mineral nutrient for all life forms. However, little phosphate is present in river waters, because it is strongly adsorbed on particulates such as oxides and hydroxides of iron and aluminum. Wakamatsu et al. (2006) reported low concentrations of phosphate in many headwater streams in Japan, which was presumed to vary depending on geological features. Here, we report high concentrations of phosphate in streams of hilly areas, which are created through a topographical feature of hilly areas. The reduction of Fe under humid soils resulted in the release of phosphate, which could act as a prime source of phosphate in a watershed. Moreover, we report an occurrence of significant primary production by benthic algae on sediments of a shallow pond, which may be stimulated by phosphate released from sediments.

キーワード:リン、丘陵地、一次生産、河川、還元

Keywords: phosphate, hilly area, primary production, river, reduction

#### 淡水生態系における好気的メタン生成

#### A nobel methane production pathway in freshwater ecosystems

- \*KHATUN SANTONA<sup>1</sup>、小島 久弥<sup>2</sup>、岩田 智也<sup>1</sup>
  \*SANTONA KHATUN<sup>1</sup>, KOJIMA HISAYA<sup>2</sup>, IWATA TOMOYA<sup>1</sup>
- 1. 山梨大学大学院医学工学総合教育部、2. 北海道大学低温科学研究所
- 1. Interdisciplinary Graduate School of Medicine and Engineering, University of Yamanashi, 2. Institute of low temperature science, Hokkaido University

Climate change caused by the increasing of greenhouse gases (GHGs) in the atmosphere is the major problem of the 21st century. Methane (CH<sub>a</sub>) is one of the powerful GHGs. Freshwater ecosystems (i.e., lakes and ponds) are recently identified as one of the most important natural sources of atmospheric CH<sub>4</sub> , accounting for 18% of total annual  $CH_{4}$  emission to the atmosphere. It has long been believed that  $CH_{4}$ is mainly produced by CH<sub>4</sub>-producing archaea (i.e., methanogens) in anaerobic lake sediments. However, our laboratory recently revealed the novel CH<sub>4</sub> production by photosynthetic microorganisms (i.e., cyanobacteria) in aerobic lake waters. Similar findings also confirmed that the planktonic microbes in the North Pacific subtropical Gyre have C-P lyase that cleaves the C-P bond of methylphosphonic acid (MPn) and produce methane aerobically as a byproduct of MPn decomposition. However, the pathways and organisms responsible for the aerobic methane production in freshwater ecosystems are still unknown. The ability of CH<sub>4</sub> production by freshwater organisms was examined for ten axenic planktonic microbes by three batch-culture experiments (Experiment 1, 2 & 3). In Experiment 1, to confirm the ability of aerobic methane production ability by planktonic microbes, we compared the CH<sub>1</sub> production of P-starved microbes between inorganic phosphorus (P<sub>i</sub>) and MPn addition treatments. In Experiment 2, to identify the enzymatic reaction of aerobic methane production, we measured the CH<sub>4</sub> production of P-starved microbes for various phosphonate addition treatments (MPn, EPn, 2-AEPn and DMMPn). Finally, in Experiment 3, inorganic nitrogen (N) and P<sub>i</sub> was added with MPn to identify the effects of nutrient stoichiometry on aerobic methane production by planktonic microbes. In Experiment 1, the aerobic methane production was observed only in the MPn-add treatment for all microbes, while there was no CH<sub>4</sub> production in control and Pi-add treatments. Therefore, it is confirmed that the most planktonic microbes are able to decompose MPn to produce CH<sub>4</sub> under Pi-starved condition. Experiment 2 also revealed that the test organisms are able to cleave the C-P bond of MPn as a substitute for P<sub>1</sub>, thereby producing CH<sub>4</sub> or C<sub>2</sub>H<sub>6</sub> gases. However, the Protein BLAST search revealed that the test organisms have no C-P lyase (phn) genes, implying that different enzymes may function for the degradation of phosphonates. Therefore, further biochemical and proteomic analyses are necessary to identify the metabolic pathway. Finally, the effect of nutrient stoichiometry on CH<sub>4</sub> production was confirmed in Experiment 3. In particular, CH<sub>4</sub> production rate was accelerated in the MPn+N-addition treatment, indicating that N availability controls the MPn decomposition.

The present study revealed that the planktonic microbes have the ability to produce  $CH_4$  aerobically by cleaving the C-P bond of phosphonates, whereas N availability increases  $CH_4$  production. Therefore, the hitherto unknown  $CH_4$  production by planktonic microbes in aerobic freshwater ecosystems represents a contemporary fact to amend the global  $CH_4$  budget.

キーワード:好気性メタン生成、プランクトン微生物、 淡水生態系、メチルホスホン酸 Keywords: Aerobic methane production, Planktonic microbes, Freshwater ecosystems, Methylphosphonic acid

### 水田土壌のメタン酸化微生物食物連鎖の構造と機能

Structure and functions of a methane-driven microbial food chain in rice field soil

\*村瀬 潤 $^1$ 、日比野 優子 $^1$ 、常田 岳志 $^2$ 、大久保 卓 $^2$ 、荒井 美和 $^2$ 、林 健太郎 $^2$ 、酒井 英光 $^2$ 、長谷川 利  ${
m tr}^2$ 

\*Jun Murase<sup>1</sup>, Yuko Hibino<sup>1</sup>, Takeshi Tokida<sup>2</sup>, Takashi Okubo<sup>2</sup>, Miwa Arai<sup>2</sup>, Kentaro Hayashi<sup>2</sup>, Hidemitsu Sakai<sup>2</sup>, Toshihiro Hasegawa<sup>2</sup>

- 1. 名古屋大学大学院生命農学研究科、2. 農業・食品産業技術総合研究機構農業環境変動研究センター
- 1. Graduate School of Bioagricultural Sciences, Nagoya University, 2. Institute for Agro-Environmental Sciences, NARO

メタン酸化は湿地生態系からのメタン放出を左右する鍵反応である。メタン酸化細菌はメタンを酸化するだけでなく増殖のための炭素源として利用する。いったんメタン酸化細菌に同化されたメタン炭素はメタン酸化細菌以外の微生物に利用可能である。本発表では、水田土壌におけるメタン酸化が駆動する微生物食物連鎖の構造とその潜在的機能について報告する。安定同位体プロービング法による解析により、メタンの炭素はメタン酸化細菌だけでなく、非メタン酸化細菌、捕食性原生生物(原生動物)、細菌捕食性線虫に利用されることが明らかとなった。また、T4型ファージのカプシド遺伝子へのメタン炭素の取り込みも示された。これらの結果から、いったんメタン酸化細菌に同化されたメタンは、クロスフィーディング、捕食、ウイルス感染・溶菌を含む土壌の微生物食物連鎖に結びついていると推察された。水田生態系における活発なメタン酸化の場である水稲根圏でメタン酸化微生物食物連鎖に関与する捕食性原生生物の群集構成は、非根圏の群集とは異なっており、大気 $CO_2$ 濃度の上昇に伴い変化した。このことはメタン酸化食物連鎖における捕食-非捕食関係の多様性を示唆している。原生生物はその選択的捕食作用により、メタン酸化細菌群集構造を左右するとともに、表層土壌におけるメタン酸化活性に影響を与える可能性が示唆された。これら一連の結果は、水田土壌のメタンの動態における微生物間相互作用の重要性を示している。

キーワード:水田土壌、原生生物、原生動物、メタン酸化、食物連鎖 Keywords: Paddy soil, Protists, Protozoa, Methane oxidaiton, Foodweb

## ゲノム科学から見えてくる微生物によるヒ素循環 Biogeochemical arsenic cycling unraveled by microbial genome analysis

- \*天知 誠吾<sup>1</sup>、土屋 達哉<sup>1</sup>、笠原 康裕<sup>3</sup>、濱村 奈津子<sup>2</sup>
  \*Seigo Amachi<sup>1</sup>, Tatsuya Tsuchiya<sup>1</sup>, Yasuhiro Kasahara<sup>3</sup>, Natsuko Hamamura<sup>2</sup>
- 1. 千葉大学大学院園芸学研究科、2. 九州大学理学研究院、3. 北海道大低温科学研究所
- 1. Chiba Univ., 2. Kyushu Univ., 3. Hokkaido Univ.

Arsenic is released from anaerobic sediments into groundwater as As(III) (arsenite), which threatens the health of millions of people in southern Asia. It is widely accepted that certain anaerobic bacteria, such as dissimilatory iron-reducing bacteria and dissimilatory As(V) (arsenate)-reducing bacteria, play important roles in arsenic release in nature. Although respiratory arsenate reductase genes (arrA) closely related with Geobacter species have been detected frequently in arsenic-rich sediments, it is still unclear whether they directly participate in arsenic release, mainly due to lack of pure cultures capable of arsenate reduction. Previously, we isolated Geobacter sp. OR-1 from Japanese paddy soil. Strain OR-1 also utilized soluble Fe(III) and ferrihydrite as electron acceptors, and catalyzed dissolution of arsenic from arsenate-adsorbed ferrihydrite. Furthermore, inoculation of strain OR-1 into sterilized paddy soil successfully restored arsenic release. In this study, we analyzed draft genome sequence of strain OR-1, and found two distinct "arsenic islands", the genomic regions highly enriched with arsenic-metabolizing genes. One consisted of arrAB, and they are also flanked with genes for arsenic resistance (arsADR and acr3) Another island consisted mainly of genes for arsenic resistance including that for a detoxifying arsenate reductase ArsC. Transcriptional analysis revealed that most of these genes were expressed specifically in the presence of arsenic, and that the expression of arrA was more than 30 times higher in the presence of arsenic. Comprehensive proteomic analysis by means of 1D SDS-PAGE and LC-MS/MS showed that not only arsenic-metabolizing proteins but also those involved in oxidative stress response, protein folding, molecular chaperones, phosphate uptake, and sulfur metabolism were expressed cooperatively in the presence of arsenic. Our results shed light on how microbes cope with this toxic metalloid, and play an important role in the biogeochemical cycling of arsenic.

キーワード:ヒ素、微生物、ゲノム解析、ヒ酸還元、転写解析、プロテオーム解析 Keywords: arsenic, microbes, genome analysis, arsenate reduction, transcriptional analysis, proteomic analysis 陸上温泉の好熱性微生物群集における化学独立栄養の硫黄代謝と共役した 生物学的窒素固定

### Biological nitrogen fixation coupled to chemolithotrophic sulfur metabolisms in a thermophilic microbial community in a hot spring

- \*西原 亜理沙<sup>1</sup>、McGlynn Shawn<sup>2</sup>、Thiel Vera<sup>1</sup>、松浦 克美<sup>1</sup>、春田 伸<sup>1</sup>
- \*Arisa Nishihara<sup>1</sup>, Shawn E McGlynn<sup>2</sup>, Vera Thiel<sup>1</sup>, Katsumi Matsuura<sup>1</sup>, Shin Haruta<sup>1</sup>
- 1. 首都大学東京、2. 東京工業大学 地球生命研究所
- 1. Tokyo Metropolitan University, 2. Earth-Life Science Institute, Tokyo Institute of Technology

Thermophilic microbial communities are potent model systems for ecological and evolutionary analysis in ecosystems. One important physical component related to evolutionary and ecological dynamics in these systems is the availability of fixed nitrogen, which can only be acquired from the atmosphere (from  $N_2$ ) by the action of nitrogenase, an enzyme which might have emerged as early as 3.5 billion years ago. Molecular based studies have suggested a distribution of nitrogen-fixing bacteria and archaea in hydrothermal vents and geothermal springs, however, the activities and ecological consequences of these metabolisms are poorly understood. Here, we detected and characterized nitrogen-fixing activity of chemosynthetic microbial communities developed at  $74^{\circ}$ C at sulfidic and slightly alkaline hot spring water.

 $N_2$ -fixation (nitrogenase activity) was determined using the acetylene reduction assay. Collected microbial communities were incubated in hot spring water in a sealed vial in situ or at  $70^{\circ}$ C in the laboratory. Nitrogenase activities were detected in conditions where moderate amounts of methane were produced, but not detected under conditions where methane production was at the observed maximum or minimum. These results suggest that nitrogen fixation occurs within a limited range of redox levels in the communities.

Addition of molybdate, an inhibitor of anaerobic sulfur metabolisms which have sulfite as an intermediate (e.g. sulfate reduction, and sulfur disproportionation), inhibited the nitrogenase activity of the communities. Dispersion of cell aggregates of the communities also decreased the nitrogenase activity, but the activity was partially recovered by amendment with  $H_2$  and  $CO_2$ . These suggest that the nitrogenase activity in the communities is coupled with hydrogen-autotrophic and anaerobic sulfur metabolisms. In addition, cell aggregation may contribute to efficient interactions which support the currently unknown  $N_2$ -fixing microbe(s).

Taken together, our findings provide new insight into the ecological contributions of anoxic sulfur metabolisms in chemosynthetic thermophilic microbial communities.

キーワード:窒素固定、硫黄代謝、好熱菌、温泉

Keywords: nitrogen fixation, sulfur metabolism, thermophiles, geothermal spring

## Climate and geochemical controls on soil phosphorus in Bornean tropical rainforest soils

\*Rota Wagai<sup>1</sup>, Yohey Hashimoto<sup>2</sup>, Kosuke Ikeya<sup>1</sup>, Shuntaro Hiradate<sup>1</sup>, Taiki Yokoyama<sup>3</sup>, Kanehiro Kitayama<sup>3</sup>

1. NARO, Institute for Agro-Environmental Sciences, 2. Tokyo University of Agriculture and Technology, 3. Kyoto University

Phosphorus (P) is a major limiting nutrient controlling primary productivity in terrestrial ecosystems especially on highly-weathered soils. It was recently suggested that P depletion during soil weathering may also control long-term ecosystem evolution and plant species diversity. However, the connection between soil P forms and availability, forest productivity, and other ecosystem properties remains uncertain. The stock and chemical forms of soil P in ecosystem development is a fundamental issue because it affects plant and microbial strategies for acquiring P.

Here we examined how climate and parent materials control soil P in tropical rainforest ecosystems on Mt. Kinabalu, northeastern Borneo. We selected the sites developed on two chemically-contrasting rock types (ultramafic igneous and acidic sedimentary rocks) along an elevation gradients. We will present the results of soil P concentration (relative to C and N) as well as P forms assessed by liquid-state 31P NMR spectroscopy using NaOH/EDTA extracts.

Keywords: Phosphorus, 31P liquid-state NMR spectroscopy, Tropical forest ecosystems, Biogeochemical cycling, Ultramafic rock

### 東アジアの蛇紋岩土壌における元素組成・鉱物組成の多様性 Elemental and mineralogical diversity of serpentine soils in East Asia

- \*片岡 純佳<sup>1</sup>、中尾 淳<sup>1</sup>、山崎 慎一<sup>2</sup>、和穎 朗太<sup>3</sup>、矢内 純太<sup>1</sup> \*Sumika Kataoka<sup>1</sup>, Atsushi Nakao<sup>1</sup>, Yamasaki Shinichi<sup>2</sup>, Rota Wagai<sup>3</sup>, Yanai Junta<sup>1</sup>
- 1. 京都府立大学大学院、2. 東北大学大学院 、3. 農研機構 農業環境変動研究センター
- 1. Kyoto Prefectural University, 2. Tohoku University, 3. NARO, Institute for Agro-Environmental Sciences

【目的】蛇紋岩は超塩基性岩の一種で、Mgや重金属元素に富む苦鉄質の易風化性鉱物(蛇紋石・タルク)を主成分とする岩石である。この元素・鉱物組成は地殻の平均組成と著しく異なるため、火山フロントに沿って点状分布している蛇紋岩地帯では、特殊な植物群落が成立する。一方で、蛇紋岩は他の母材に比べ風化作用を受け変質しやすく、東アジアの幅広い気候条件下では、多様な蛇紋岩土壌が生成・分布している。しかし、これまで東アジア広域多地点の蛇紋岩土壌の発達段階、元素組成や鉱物組成について、包括的に比較した研究はなく、蛇紋岩土壌の発達の全容は明らかではないのが現状である。そこで本研究では、緯度・標高に幅のある、日本、マレーシア、インドネシアの蛇紋岩地帯8地点から岩石および層位別土壌試料を採取し、元素組成および鉱物組成における多様性を明らかにするとともに、東アジアにおける蛇紋岩土壌の発達の実態を解明することを目的とした。

【方法】緯度の高いほうから順に、北海道・天塩、京都府・大江山、高知県・円行寺、マレーシア・キナバル山、インドネシア・クアロで標高1,000 m以下の地点、キナバル山の高標高地点の試料 (1,700 m, 2,700 m, 3,100 m) を採取した。この試料計39点について、湿式分解-AAS/ICP-AES分析およびXRFによる主要元素 (Na, K, Ca, Mg, Fe, Al, Ni, Cr, Mn, Ti, Si) の全量分析と、1,10-フェナントロリンを用いた全Fe量あたりのFe(II)割合の測定、さらにはDCB抽出によるFe 濃度の測定を行った。また、岩石試料と土壌の粘土画分について、XRDを用いた鉱物同定を行った。さらに、元素組成を変数として主成分分析を行った。

【結果と考察】岩石および土壌のいずれの試料においても $SiO_2$ , MgO,  $Fe_2O_3$ 量が $7\sim9$ 割を占めていた。岩石 試料では、 $SiO_2$ 、MgO、 $Fe_2O_3$ 量が $96\pm0.8\%$ と大部分を占め、それらの重量比もおよそ8:5:1で、主要構成元素 組成に大きな地域間の差は確認されなかった。一方土壌では、 $SiO_{5}$  (5%~45%), MgO (0%~40%),  $Fe_{5}O_{5}$ (15%~80%) とそれぞれの値域が非常に幅広く, 類似標高ではより低緯度, 同緯度 (キナバル山) ではより低標高 に位置するほど、Si, Mgの減少とFeの増加する傾向が見られた。さらにFeの存在形態に着目すると、岩石では 0.3以上であったFe(Ⅱ)の割合が, 土壌では0.2から0.01にまで減少する一方で, 岩石で12±1.5 g kg<sup>-1</sup>とごく微量 であった $Fe_a$ が, 土壌では40から $200 g kg^{-1}$ にまで増加した。加えて元素の主成分分析を行った結果, 第一主成 分はSi, Mgが正に, Fe, Ni, Cr, Mnが負に大きく負荷していた。これらは土壌の発達に伴い大きく増減したSi, Mg, Feと, 蛇紋岩に特徴的に見られる重金属であることから, 第一主成分は蛇紋岩土壌の発達を示す要素である と結論づけた。また、第二主成分はNa, K, Al, Tiが負に大きく負荷していた。これらの元素は岩石よりも土壌に 多く含まれ, 中でも日本の表層土壌で多い傾向が見られた。日本には偏西風により, 石英や長石, 雲母類を含む 大気降下物が飛来し, これらの鉱物にはNa, K, Al, Tiが含まれている。そのため, 第二主成分は混入物の存在を示 す要素であると考えられ, 鉱物同定の結果, 第二主成分得点が大きい日本の試料では, 造岩鉱物に加えて石英と 雲母の存在が確認された。さらに, 岩石の主要な鉱物は蛇紋石であったが, 比較的未発達な土壌では造岩鉱物や クロライトが見られ, 土壌の発達とともにこれらの鉱物は減少, 中間種鉱物に変化するとともに, 粘土中の鉄酸 化物の割合が90%にまで増加した。このように、東アジアの蛇紋岩土地帯では、母材が同種の岩石であるにも関 わらず, 気候の違いを反映して土壌の発達程度が異なり, 地域特有の混入物も加わって, 母岩とは大きく異なり かつ多様な元素組成・鉱物組成を持つ土壌が分布していることが明らかとなった。

キーワード: 土壌、蛇紋岩 Keywords: Soil, Serpentinite 生物地球化学的研究のためのグローバルな土壌粘土鉱物データセット開発 Development of global dataset of soil clay minerals for biogeochemical studies

- \*伊藤昭彦<sup>1,2</sup>、和穎朗太<sup>3</sup>
- \*Akihiko Ito<sup>1,2</sup>, Rota Wagai<sup>3</sup>
- 1. 国立環境研究所、2. 海洋研究開発機構、3. 農研機構
- 1. National Institute for Environmental Studies, 2. Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology, 3. National Agriculture and Food Research Organization

Clay minerals play important roles in terrestrial biogeochemistry and atmospheric physics, but their data have been only partially compiled at global scale. We present a comprehensive global dataset of clay minerals in the topsoil and subsoil at different spatial resolutions. The data of soil clay mineral composition were gathered through a literature survey and aggregated by soil orders of the Soil Taxonomy for each of the nine clay mineral groups: chlorite, gibbsite, kaolinite, mica/illite/mica, quartz, smectite, vermiculite, non-crystalline, iron oxide, and others. Using a global soil map, a global dataset of soil clay minerals distribution was developed at resolutions of 2' to 2° grid cells. The data uncertainty associated with data variability and assumption was evaluated using a Monte Carlo method, and validity of the clay mineral distribution obtained in this study was examined by comparing with other datasets. The global soil clay data offer spatially explicit studies on terrestrial biogeochemical cycles, dust emission to the atmosphere, and other interdisciplinary earth sciences.

キーワード: 粘土鉱物、土壌 Keywords: Clay mineral, Soil

# Probing the Future: Response of Soil Organic Carbon and Nitrogen dynamics to elevated CO<sub>2</sub> in a paddy field

\*Julien Guigue<sup>1</sup>, Takeshi Tokida<sup>1</sup>, Hirofumi Nakamura<sup>3</sup>, Toshihiro Hasegawa<sup>2</sup>, Rota Wagai<sup>1</sup>

1. NARO, Institute for Agro-Environmental Sciences, 2. NARO, Tohoku Agricultural Research Center, 3. Taiyo Keiki Co. Ltd., Tokyo

Rice is the staple food for approximatively half of people on Earth and, because of the projected increase in the world population, the sustainability of paddy fields ecosystems is of great importance. Continuous increase in atmospheric CO2 concentration is likely to alter rice ecosystems productivity directly via photosynthesis or indirectly via global climate change. Less is known for how elevated CO<sub>2</sub> (eCO<sub>2</sub>) affect soil C pool which is linked to soil N availability and long-term soil fertility. Free Air  ${\rm CO_2}$  Experiments (FACE) give an opportunity to simulates future atmospheric CO<sub>2</sub> concentrations in open-field environment by maintaining an elevated CO<sub>2</sub> concentration throughout the field. Here we report results from a rice paddy FACE at Tsukuba, Ibaraki started in 2010. We examined how the eCO<sub>2</sub> altered soil C and N stocks as well as the fate of rice-derived C over a four year period.. We analyzed surface (Ap) horizon samples from 2010, 2012 and 2014 and determined their C and N contents. The soils were fractionated into three density fractions (i.e. free light fraction, occluded light fraction and heavy fraction) that correspond to soil organic matter pools with different degrees of decomposition state and mineral association. The free light fraction corresponds to relatively recent plant residues which were not extensively decomposed by soil microorganisms. The occluded light fraction is composed of organic matter that was entrapped in soil aggregates. This organic matter is physically entrapped into soil aggregates. The heavy fraction is enriched in mineral particles and the organic matter present in this fraction is associated with mineral particles and underwent more pronounced microbial transformation. Because the CO2 added in this experiment derived from fossil C, its carbon isotopic signature differed from natural atmospheric CO2. This isotopic signature allowed us to track the flow of photosynthesized C into different soil organic matter pools and to estimate mean residence time of C in each fraction.

Both soil C and N contents progressively decreased over the four year period due presumably to a shift in management (i.e. removal of rice straw form the field since 2010). It is worth mentioning that this decrease in soil organic matter was 25% more pronounced in the control plot compared to the plot exposed to eCO<sub>2</sub>, suggesting that eCO<sub>2</sub> significantly enhanced organic matter input to the soil. The decrease in N contents was not as pronounced relative to C, leading to an increase in C:N ratios. The higher C:N ratios of soil and plant observed are likely to promote N immobilization by soil microbial community, which might lowered N availability for rice.

Further soil analysis using stable isotopes measurements revealed that, after four years, significant proportions of original soil C were replaced with recent C at different degrees among the three soil density fractions. The mean residence time of C was on average 6.5, 120 and 56 years in free light fraction, occluded light fraction and heavy fraction, respectively. About 60% of soil organic matter was distributed in the heavy fraction and the relatively rapid turnover of C in this fraction was not expected. The heavy fraction contains the organic matter bound with mineral particles, which is more stable into the soil. We found that, after four years, about 7% of the C in the heavy fraction was originating from C assimilated by rice plants since 2010.

The relatively rapid incorporation of newly added carbon into the heavy fraction and the higher soil C

contents measured under  $eCO_2$  suggest that the soil may be acting as a C sink under the open-field  $eCO_2$  conditions. As it corresponds to a negative feedback for the rise in atmospheric  $CO_2$  concentration, further research investigating this process are necessary.

Keywords: Soil, C and N cycling, Free Air CO2 Experiment (FACE), Density fractionation, 13C, Climate change

## 異なる土壌タイプの微小団粒中の有機無機集合体の不均一性 Heterogeneity of organo-mineral particles within submicron aggregate among contrasting soil types

- \*浅野 眞希 $^1$ 、武市 泰男 $^2$ 、菅 大暉 $^3$ 、小野 寛太 $^2$ 、高橋 嘉夫 $^4$ 、和穎 朗太 $^5$
- \*Maki Asano<sup>1</sup>, Yasuo Takeichi<sup>2</sup>, Hiroki Suga<sup>3</sup>, Kanta Ono<sup>2</sup>, Yoshio Takahashi<sup>4</sup>, Rota Wagai<sup>5</sup>
- 1. 筑波大、2. 高エネ研、3. 広大、4. 東大、5. 農研機構
- 1. University of Tsukuba, 2. KEK, 3. Hiroshima University, 4. The University of Tokyo, 5. NIAES

Soil organic matter (SOM) accounts for a major portion of terrestrial C and is considered to be stabilized against microbial degradation due partly to its interaction with soil minerals. These organo-mineral interactions contribute to the formation of heterogeneous organo-mineral aggregate at various space scales down to submicron level. Many early studies showed hierarchical structure of organo-mineral aggregates that are bound together by various binding agents. Yet how organic compounds of microbial and plant origins interact with mineral phases within soil aggregate structure at the spatial scale relevant to microbial extracellular enzymes (tens of nanometers) remain unclear.

Here we focused on the sonication-resistant organo-mineral aggregates that are enriched in organic matter (OM) collected by particle size fractionation from four soil types of contrasting minerology. We hypothesize that spatial variation of C, Fe and Al and it's chemical composition differ among the soil types due to the differences in the mode of organo-mineral associations.

We compare top soils (A horizon) from four soil types: allophanic Andisol, non-allophanic Andisol, Mollisol, Ultisol. The recovered particle size fractions are observed by scanning transmission X-ray microscopy (STXM) and near-edge X-ray absorption fine structure (NEXAFS). We will discuss common patterns and differences based on the mapping of these elements as well as that of carbon chemical composition among the four soils.

キーワード:土壌団粒、土壌有機物、有機無機相互作用、STXM、炭素安定化

Keywords: soil aggregate, soil organic matter, organo-mineral associate, STXM, carbon stabilization

## 骨コラーゲンの同位体分析によるマダガスカル絶滅種の食性解析 Paleodiet study based on isotopic ratio analysis of bone collagen from Malagasy extinct species

- \*畑中 美沙希<sup>1</sup>、横山 祐典<sup>1</sup>、小川 奈々子<sup>2</sup>、宮入 陽介<sup>1</sup>、Geoffrey Clark<sup>3</sup>、大河内 直彦<sup>2</sup>
  \*Misaki Hatanaka<sup>1</sup>, Yusuke Yokoyama<sup>1</sup>, Nanako O. Ogawa<sup>2</sup>, Yosuke Miyairi<sup>1</sup>, Geoffrey Clark<sup>3</sup>, Naohiko Ohkouchi<sup>2</sup>
- 1. 東京大学大気海洋研究所、2. 海洋研究開発機構、3. オーストラリア国立大学
- 1. Atmosphere and Ocean Research Institute, the University of Tokyo, 2. Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology, 3. The Australian National University

マダガスカルは独自の生態系で知られ、生息する動植物の80%以上が固有種であると言われている。しかし 完新世後期における大型動物相の絶滅は著しく、過去2000年の間に少なくとも脊椎動物の17属が絶滅し、クロコダイル*Crocodylus niloticus*を除く12 kg以上の体重をもつ大型動物が絶滅したと推定されている(Burney and MacPhee, 1988)。その絶滅要因としては、人間活動(乱獲による個体数の減少、火の使用による生息地の縮小)や環境変化(乾燥化、植物相変化による住環境・餌環境の変化)との関連が示唆されている(Burney et al., 2004, Crowley, 2010)。マダガスカル南西部においては植物相分布の変化時期と大型動物相の絶滅時期が一致するとされる(Geoffrey Clark, 私信)が、両者の因果関係は明らかではない。

本研究では、絶滅動物の栄養段階やC3・C4植物レベルでの食性の経時変化の復元を行い、植物相変化や人類の移住と食性変化との関連性について評価することを目的とした。研究対象としてマダガスカル南西部のTaolambiby、Ambolisatra、Itampoloの3地点の異なる年代層から採取された絶滅種(コビトカバ・Choeropsis liberiensis)の化石骨試料を用いた。化学処理を経て化石骨からコラーゲンを抽出した後、抽出したコラーゲンの炭素および窒素安定同位体比を元素分析計/同位体比質量分析計を用いて測定し、シングルステージ加速器質量分析計によって年代測定を行なった。

測定されたカバ化石骨コラーゲンの暦年代は2750-1130 cal BPの値を示した。窒素安定同位体比は、2750 cal BPの1個体を除けば、Taolambiby(2個体)では9.6-10.1‰、Itampolo(6個体)では 11.1-12.3‰、Amblisatra (3個体)では12.48-12.57‰の値を示し、同一地域では栄養段階が変動するほどの 変化は生じなかったことが本研究により明らかになった。炭素安定同位体比は、Taolambibyで は-18.9--19.7‰、Ambolisatraでは-17.2--17.9‰、Itampoloでは-12.7--14.8‰の変動を示し た。Taolambibyから東に約20km離れたBeza Mahafalyに生息する現生C3植物の炭素安定同位体比を測定 し、純粋C3植物食動物の化石骨の同位体比の予測値を計算したところ約-31--17‰であった(Crowley et al., 2011)。同位体分別を考慮すると、C4植物食ならばより高い炭素安定同位体比を示すと予想される。この予 測値と本研究の結果とを比較すると、Taolambiby、AmbolisatraではC3植物食、ItampoloではC4植物食寄り であり、同一地域では $C3 \cdot C4$ 植物食に変動が起きるほど  $\delta^{13}$  C値に差が生じなかったことが明らかと なった。人類は2300 cal BP頃マダガスカル南西部に到来したとされており(Burney et al., 2004)、マダガ スカル南西部でのカバの絶滅年代は1250-950 cal BPと推定されている(Geoffrey Clark, 私信)。加え て、Ambolisatraの堆積物中に見られる花粉記録から、この地域で植物相が1250 cal BP頃を境に激変したこと が報告されている(Geoffrey Clark, 私信)。したがって、2600-1100 cal BPの間、すなわち人間が島へ到達 してからカバが絶滅する直前まで、植物相の大規模な変化が起こったにもかかわらず、骨コラーゲンの同位体 組成に反映されるようなカバの食性の変化は起きなかったことが示唆される。さらに、炭素安定同位体比の測 定値より、Taolambiby・Ambolisatraに生息していたカバはC3植物食、Itampoloに生息していたカバはC4植 物寄りと地域性が顕著に表れていることから、カバはC3植物・C4植物によらず生息域に生える植物を摂取し ていたという知見が得られた。すなわち、植物相の変化は植物食を通じてカバの体組織の同位体組成に影響を

与えず、食物の不足はカバの絶滅の直接的な要因でない可能性が示唆される。

キーワード:マダガスカル、完新世、絶滅、骨コラーゲン、安定同位体比、食性 Keywords: Madagascar, Holocene, extinction, bone collagen, stable isotope ratio, feeding habit 高知県の地形の異なるヒノキ林における樹冠葉量の推定 Leaf biomass of hinoki cypress forests along a slope gradient in Kochi Prefecture.

\*稲垣 善之<sup>1</sup>、宮本 和樹<sup>1</sup>、奥田 史郎<sup>1</sup>、野口 麻穂子<sup>1</sup>、伊藤 武治<sup>1</sup>
\*Yoshiyuki Inagaki<sup>1</sup>, Kazuki Miyamoto<sup>1</sup>, Shiro Okuda<sup>1</sup>, Mahoko Noguchi<sup>1</sup>, Takeharu Itou<sup>1</sup>

- 1. 森林総合研究所
- 1. Forestry and Forest Products Research Institute

森林生態系の樹冠葉量は様々な手法で推定される。ヒノキなどの常緑樹については、サイズの異なる個体を伐倒し、樹木のサイズと葉量の関係についてアロメトリー式を作成する。生枝下断面積あたりの樹冠葉量は樹種ごとに一定になる性質があり、様々な状態の林分について成り立つことが知られている。また、生枝下断面積は、樹高(H)、生枝下高(Hb)、胸高断面積( $A_{1,3}$ )から推定することができる。これらを組み合わせた樹冠葉量の簡易推定手法が提案された。この手法を用いて高知県の2地域の地形条件の異なる18か所のヒノキ林分の葉量を推定した。簡易手法で推定した林分葉量は高標高地域で14.1~19.2 Mg/ha、低標高地域で12.6~18.2 Mg/haであった。地域や斜面位置による林分葉量の差は認められなかった。 $D^2H$ を幹バイオマスの指標とし、林分ごとに対数変換した $D^2H$ と葉量の関係を直線で回帰した。回帰直線の傾きは高標高地域で0.75~1.03、低標高域で0.92~1.05を示した。回帰直線の傾きが1の時に、幹バイオマスあたりの葉量が個体サイズに対して一定になり、傾きが小さいほど、サイズが小さい個体ほど幹バイオマスあたりの葉量が大きくなることを示す。本調査地では、傾きが1より小さい林分が多く、サイズの小さい個体は幹バイオマスあたりの葉量が大きかった。林分の収量比数と回帰直線の傾きには正の相関関係が認められた。収量比数が小さい林分は樹高成長が不良な地形条件であるが、このような林分では小さい個体の幹バイオマスあたりの葉量が多かった。一方、収量比数の大きい林分は、林冠が閉鎖するために小さい個体の葉量が大きく減少した。これらのメカニズムにより、地形条件に対してヒノキの林分葉量は比較的一定の値を示すと考えられた。

キーワード:葉量、ヒノキ林、斜面

Keywords: Leaf biomass, hinoki cypress forest, slope

植物中の硝酸の同位体組成:自然同位体組成を指標に用いた大気中の窒素 酸化物の寄与評価

The stable isotopic compositions of nitrate extracted from natural plants: Quantifying the contribution of atmospheric nitrogen oxides to nitrogen assimilated by plants

- \*小幡 祐介1、池谷 康祐1,2、中川 書子1、角皆 潤1
- \*Yusuke Obata<sup>1</sup>, Kosuke Ikeya<sup>1,2</sup>, Fumiko Nakagawa<sup>1</sup>, Urumu Tsunogai<sup>1</sup>
- 1. 名古屋大学環境学研究科、2. 農業環境技術研究所
- 1. Graduate school of Environmental Studies, 2. National Institute for Agro-Environmental Sciences

窒素は生物の必須元素の一つであり、植物が窒素を取り込む (同化) ときの代表的な形態が $NO_3$  である。植物が同化する $NO_3$  の大部分は、土壌から供給されていると考えられているが、それ以外に大気中の窒素酸化物を取り込んで体内で $NO_3$  化し、その一部は窒素源として用いられていることが知られている。このような窒素代謝過程の解析は、従来は人工的に $^{15}N$  を濃縮した $NO_3$  等を投与して培養する $^{15}N$  トレーサー法を用いて研究されてきたが、 $^{15}N$  トレーサー法を植物に応用する場合、培養に長大な時間と労力を要する上に、培養操作が植物の生育環境を変化させてしまうという問題があった。そこで本研究では、植物試料から抽出した $NO_3$  の自然同位体組成をトレーサーとして用いることで、植物体内における $NO_3$  の起源や同化過程を明らかにすることを試みた。特に $\delta^{15}N$ 、 $\delta^{18}O$ だけでなく、三酸素同位体組成( $\Delta^{17}O$ )を同時に分析することで、大気中の窒素酸化物の寄与評価に重点を置いたので、その結果を中心に報告する。

本研究で試料としたのは、名古屋大学東山キャンパス内に自生するメタセコイアやヒノキなどの針葉樹、アラカシやソメイヨシノなどの広葉樹を含む木本類、ササを含む草本類の葉で、2016年4月から2017年4月までひと月に1回のペースで同じ個体について採取したものである。採取した試料は超純水を用いて外表面を丁寧に洗浄した後、乾燥させたうえで粉砕し、超純水にNO $_3$ を抽出した上で、夾雑物を濾過により取り除いた。抽出液中のNO $_3$ は、一酸化二窒素 (N $_2$ O) に化学的に変換してからその濃度および  $\delta$  15N、  $\delta$  18O値を、さらにN $_2$ OをO $_2$ に変換することによってNO $_3$ の三酸素同位体組成 ( $\Delta$  17O値) を、それぞれ連続フロー型安定同位体質量分析計を用いて定量した。

NO $_3$ つ濃度は、植物の乾燥重量あたり0.1から0.5 ( $\mu$  mol/g) で、明瞭な季節変動は見られなかった。  $\delta$  <sup>15</sup> N値は植物間で-25から+10%まで大きな違いが見られた。土壌中に含まれるNO $_3$  の  $\delta$  <sup>15</sup> N値は-5から+5%程度なので、これと比較すると、少なくともアラカシやメタセコイアが有意に低い  $\delta$  <sup>15</sup> N値を示した。  $\delta$  <sup>18</sup> O値は供試した全ての植物で+60から+80%程度であり、土壌水に含まれるNO $_3$  中の  $\delta$  <sup>18</sup> O値 (-10 $\sim$ 0%) よりはるかに高い値を示した。さらに  $\Delta$  <sup>17</sup> O値は+13から+20%程度の大きな異常を示した。これらは土壌から吸収したNO $_3$  では説明できない値であり、本手法で植物から抽出されるNO $_3$  の大部分は、大気中のNO $_2$ に由来するNO $_3$  であることが明らかになった。

キーワード:植物、窒素酸化物、三酸素同位体組成

Keywords: Plant, Nitrogen oxides, Triple oxygen isotopic composition

### Effects of flooding on iron solubilization in soils

- \*Kazumichi Fujii<sup>1</sup>
- 1. Forestry and Forest Products Research Institute

Solubilization of iron (Fe) oxides in soils has strong influences on phosphorus (P) sorption and plant productivity (Fe<sup>2+</sup> toxicity). Seasonal flooding is hypothesized to change the red-ox status of Fe<sup>3+</sup> (Fe<sup>2+</sup>) and Fe oxide stability to varying extents under different ecological conditions. The stability of Fe oxides were thermodynamic analyzed using Fe<sup>2+</sup> concentrations, Eh, and pH in soil solution for a variety of seasonally-flooded soils in arctic, temperate, and tropical regions (forest and paddy system). In continuous permafrost zone (Canada), permafrost-affected soils of black spruce forest are seasonally flooded due to summer thawing impermeable permafrost table. The surface soil solutions were under-saturated with short-range order Fe oxides (ferrihydrite). The soil solutions in deeper horizons are supersaturated with short-range order Fe oxides, consistent with the high concentrations of oxalate-extractable Fe oxides. In tropical forest soils (Indonesia), soil solutions are under-saturated with short-range order Fe oxides, but they are supersaturated with crystalline Fe oxides (esp., lepidocrocite). This suggests solubilization and re-precipitation of short-range order Fe oxides. This process is promoted in the soils of riparian zone. The highly reducing condition of tropical paddy soils (Indonesia) promoted solubilization of goethite and hematite, which caused Fe<sup>2+</sup> toxicity. The red-ox cycles in temperate paddy soils (Japan) caused solubilization of lepidocrocite and supersaturation with short-range order Fe oxides after drainage. This process caused P solubilization and translocation of Fe oxides in deeper horizons.

Keywords: paddy soil, iron, phosphorus