森林集水域における窒素循環研究の 今日的な課題とそれに対するストラテジー

大手 信人^{*1}・磯部 一夫^{*1}・徳地 直子^{*2}

Relevant study subjects on nitrogen dynamics and cycles in forested catchment and expected strategies

Nobuhito OHTE^{*1}, Kazuo ISOBE^{*1} and Naoko TOKUCHI^{*2}

Abstract

After the Industrial Revolution, anthropogenic nitrogen (N) emission to the atmosphere has reached unprecedented level, and “Nitrogen Saturation” has correspondingly been reported in the forested areas within the high N deposition regions of Europe and North America. Mechanisms of nitrogen saturation have previously been studied through biogeochemical methodologies; however, N dynamics in catchment-scale could not be described sufficiently, because geographical variability of catchment characteristics such as hydrologic properties is generally large and its effects provide various responses. We propose new strategy depending upon microbial ecological approach to reconstruct the mechanistic understandings on previously reported biogeochemical responses to the environmental changes. Combined usage of novel isotopic techniques on bioelements and newly advanced gene analysis using functional genes will have potential to provide insightful information on spatiotemporal heterogeneity and non linear responses of N dynamics in forested ecosystems.

Key words: forested catchment, nitrogen dynamics, nitrogen saturation, microbial ecology

I. はじめに

集水域の生態系は、一般に水や炭素に関しては極めて開放的な系で、「水循環」、「炭素循環」と言いながら、どれほど境界を大きくとっても陸面だけで循環が完結することはない。一方、窒素循環がこうした水や炭素の循環と大きく異なるところは、集水域などの比較的小さな空間スケールの中で、明確な内部循環を持っていることだろう。窒素は生態系を構成する生物にとって炭素とともに最も優先度の高い必須元素の一つであるが、多くの自

然生態系で生産に制限をかける元素となっている(例えば Odum, 1983; Ricklefs and Miller, 1999)。このため、生態系内では植物、土壤動物、微生物などの構成員が極めて巧みに協働して窒素を再循環させるメカニズムが機能している。天然に近く、成熟した森林生態系では、内部で循環する窒素のフラックスは、大気降水下で流入する窒素や、溪流を通して流出する窒素のフラックスよりもはるかに大きい(例えば Bormann and Likens, 1994)。

しかしながら、産業革命以降、化石燃料の燃焼や工業的なアンモニアの合成などの技術が進むこ

*1 東京大学大学院農学生命科学研究科 Graduate School of Agricultural and Life Sciences, University of Tokyo

*2 京都大学フィールド科学教育研究センター Field Science Education and Research Center, Kyoto University

とで、特に大気を巡る窒素フラックスはそれ以前と比べて極めて大きな変化を遂げた。それ以前の自然生態系では窒素固定という微生物の働きが、ほぼ唯一の生物にとって利用可能な窒素が流入する経路であったが、産業活動の結果大気中に放出された種々の窒素酸化物、水素化物は、降水物として陸域・海域にもたらされ、生物にとって直接的に利用可能な窒素の生物圏への流入フラックスがかつてないレベルに増加したと推定されている (Galloway, 2000; Galloway and Cowling, 2002)。

II. 窒素飽和現象に関する研究とその周辺

「窒素飽和」は1980年代から、上記のような生物に利用可能な窒素が過剰に大気降水物でもたらされる地方の森林で報告され始めた現象で (例えば, Skeffington and Wilson, 1988; Aber et al., 1989), 土壌中の硝酸の現存量が増大する, 渓流水中の硝酸濃度が高くなる等の事例が報告されてきている (例えば, Stoddard, 1994; Ohrui and Mitchell 1997)。これまでいろいろな側面から現象の記述, メカニズムの解明に向けた研究がなされてきた。Stoddardによる, 森林集水域での窒素飽和では何が起るのかというレビューが出たのが1994年で, 以来, 森林生態系への過剰な窒素負荷の影響への関心は20年近く継続されている。この間, 世界の温帯・冷温帯森林で窒素飽和に関する事例研究は蓄積され, 生物地球化学的なプロセスに関する仮説がいくつか提示されてきた (例えば, Aber et al., 1989; Aber et al., 1998)。しかしながら, 集水域レベルでの窒素の現存量や内部循環のフローは, 土地利用, 植生, 土壌など系の特性ごとに極めて多様で, 過剰な窒素負荷に対する系全体の反応は決して一様ではない。結果, 多くの謎は残され, より深いメカニズムの理解が依然として必要とされている。

窒素飽和現象は, 過剰な大気降水物による比較的長期的な養分循環の攪乱であると見ることができると, 森林に生じうる種々の短期的で強い攪乱も窒素循環に大きな変化をもたらす。伐採, 病虫害, 気

象害などで森林植生の地上部が除去されたり, 枯死したりすることで生物に利用可能な窒素が過剰に土壌に供給されたり, 系外に流出したりする現象は数多く調べられている。(例えば, Likens et al., 1970; Feller and Kimmins, 1984; Christenson et al., 2002; Ohte et al., 2003; Fukushima et al., 2011)。

III. 水文学的な視点の重要性

以上述べてきたような, 集水域の生態系を対象とした研究事例では, いずれの場合でも多かれ少なかれ, 生態系内での窒素の代謝過程, 特に土壌中での窒素の形態変化にかかわる生物地球化学的な諸反応と, 窒素化合物の空間的な移動, 特に水系への流出に関わる水文過程の両方の把握と相互作用のメカニズムに関する理解が必要となる (Stoddard, 1994; Ohte et al., 2010; Ohte, 2012)。従来のこれに関する事例研究が主として, 北米と北部ヨーロッパにおいて集中して行われてきたことは, 上記に述べた窒素飽和問題が, それ以前の酸性雨の森林への影響に関する研究 (例えば, Likens et al., 1972; Reuss et al., 1987) が先行して生態系, 特に土壌中における生物地球化学的知見を蓄積していたことが背景にある。ヨーロッパ諸国による NITREX (NITrogen saturation EXperiments, Wright and Breemen, 1995), 北米の NADP (National Atmospheric Deposition Program, Lamb and Bowersox, 2000) に見られる, 窒素降水物の組織的なモニタリングの体制が1990年代初頭から展開されたことは, この問題への継続的な取り組みが行われてきたことを如実に示している。

しかしながら, ここで同様に温帯森林を有する日本を含む東アジア地域と, 北米, 北部ヨーロッパの間には, いくつかの重要な環境条件の相違があることに注意を払わなければならない。北米や中北部ヨーロッパに共通する気候学上の特徴は, 降水量の季節変動が明瞭でない (西岸海洋性気候) か, 夏季の降水量が著しく少ない (地中海性気候) ことであり (Fig. 1), このことは, アジアモンスーンの影響

Fig. 1 Seasonal variations in precipitation, discharge, and loss (estimated by subtracting discharge from precipitation) in three different temperate forest catchments: Coweeta's broad leaf deciduous forest under a maritime temperate climate (Cfb); H.J. Andrews' evergreen coniferous forest under a Mediterranean climate (Cs); and Kiryu's evergreen coniferous forest under a humid subtropical climate (Cfa). Partly modified from Ohte and Tokuchi (2011).

で夏季の降水量が多く集水域が湿潤になる東アジアの森林とは、成長季節における生態系内の植物と微生物にとっての水分環境に著しい相違があることを物語っている (Ohte and Tokuchi, 2011)。この降水パターンの相違に起因する土壌中の窒素代謝の質的・量的相違、水文条件の相違に起因する窒素化合物のモビリティの相違が、流出窒素量の時空間的相違にどのように影響を与えているかという点については、今後、温帯森林の養分循環の普遍的な理解を得るために不可欠であるが、これまで北米、ヨーロッパの研究者によって検討されたことはない。筆者らは、我が国と北東アメリカや中北部ヨーロッパのケースとの間に、流出窒素量の季節変動に系統的な相違があることを見出し、この違いが生じるメカニズムを解明する必要性を主張してきた (Ohte et al., 2010; Ohte, 2012)。NO₃⁻流出の季節パターンについては、その後北米の研究者、特に生態系生態学者らによっても注目され始め (Goodale et al., 2009)、背後のメカニズムに関する議論が続いている。筆者らは、森林からの窒素流出の季節性は、上述のように、本質的

には土壌中の窒素代謝がもつ季節変動と、降水と放射量の季節パターンが生み出す水文学的な季節変動の組み合わせによって制御され、北アメリカや中北部ヨーロッパと東アジアのパターンの違いは、そのどちらのウエイトが高いかによって説明できるとする仮説を提示している (Ohte, 2012)。

Ⅳ. 新しいツールと戦略

1. 新しい安定同位体技術の利用と研究の展開

水文過程が窒素の生態系内での移動や流出に及ぼす影響を考察するというコンテキストでの研究では、上記のように降水の季節パターンが異なる地域間の比較研究によって現象の理解が深まっていくことが期待される。この一方で、生態系内での窒素の形態変化に関わる種々の代謝反応のメカニズムは十分に明らかにされてきたわけではなく、窒素飽和が生じる生物地球化学的な条件や、現象の移り変わりに関する野外データは未だ不足している (Aber et al., 1998)。

近年の軽元素の安定同位体の自然存在比に関す

る測定技術の発展は森林を含む自然生態系の窒素の動態に関わる生物地球化学的な理解を深化させるのに大きく貢献してきている (Kendall et al., 2007)。例えば、2001年に発表された微生物脱窒菌法 (Microbial denitrifier method, Sigman et al., 2001; Casciotti et al., 2002) による NO_3^- の窒素・酸素安定同位体の同時測定は、いろいろな時空間スケールでの野外試料に適用され、分析過程でのスループットがそれまでの、硝酸銀 (AgNO_3) による濃縮を用いた分析手法 (Silva et al., 2000; Chang et al., 2002) に比べて飛躍的に向上し、以降、有用性が認められてきている。海洋での窒素代謝に関する研究での利用事例としては Granger et al. (2004), Wankel et al. (2006) 等、森林集水域での窒素のダイナミクスの考察への利用としては, Ohte et al. (2004), Osaka et al. (2010), Tobari et al. (2010), 中規模から大規模な河川における流入窒素の起源推定への利用としては Townsend-Small et al. (2007), Johannsen et al. (2008), Ohte et al. (2010) 等があげられる。脱窒菌法以前の手法による事例としては, Mayer et al. (2002), Lee et al. (2008) 等があげられる。また、大気降水物の起源推定にも利用されている (Elliott et al., 2009)。

これらに加えて近年では、 NO_3^- 中の酸素のもう一つの安定同位体である ^{17}O を測定する新しい分析手法が開発され (Kaiser et al., 2006), 湖沼や河川中の NO_3^- のより精緻な起源推定に利用されている (Tsunogai et al., 2011)。

2. 微生物生態学的なアプローチが開く新しい地平

もう一つのフロンティアは、窒素の形態変化が生じるブラックボックスのなかにある。森林生態系において生物地球化学的な方法論で示されてきた窒素の形態変化の殆どに微生物の活動が関わっていて、「生物地球化学的な反応」の本質は、微生物が行う同化や異化という生理学的な代謝活動であることに議論の余地がない。野外や実験で測定される反応速度や代謝量は、個々の微生物の生理活動の強度と群集の規模に左右される。観測値

から得られる反応速度が温度や水分条件といった物理環境に左右され、その関係性が時として大きな多様性をもっていたり、非線形性を持っていたりすることは、例えば、構造や粒径組成が異なる土壌間の透水性や保水性といった物理性の違いなどから、しばしば説明される。しかし、その背後にあるメカニズムは、微生物群集の環境に対する反応性や適応性などの生態学的な記述によって理解されるべきである。

例えば、森林において斜面上部と下部では卓越する窒素プールの形態が異なるという観測事例はこれまでにいくつかの場所で示されている (Hirobe et al., 1998; Hobara et al., 2001; Tateno et al., 2005)。Hirobe et al. (1998) の例では、斜面上部で NH_4^+ のプールが大きく、 NO_3^- のプールは下部にしか生じない。培養実験で得られた無機化 (NH_4^+ 生成) のポテンシャルは上下ではっきりとした相違は無いが、硝化 (NO_3^- 生成) のポテンシャルは斜面下部の方が大きく、斜面下方に向かってその値が上昇していくことが示された (Fig. 2)。

Fig. 2 Net nitrogen mineralization rate and nitrification rate (a) and percent nitrification (b) of the surface soil along the forest slope (mean $\pm$ SE, $n=6$, Hirobe et al. 1998).

このような窒素代謝の空間的なパターンについて、生物地球化学的には、これまで無機化 (NH_4^+ 化) と硝化の水分依存性や土壌の化学性の違いによって生じるという記述が行われてきた (Hirobe et al., 1998; Tokuchi et al., 1999; 2000; Koba et al., 2003; Tateno et al., 2005)。

しかし、こうした見かけの代謝形態の空間的な相違は、 NH_4^+ 化菌群集、 NH_4^+ 酸化菌群集の動態が空間的に異なるというようなコンテキストで本来説明されるべきで、このためには種々の細菌の生理、それぞれの個体群動態、群集内の細菌種の多様性の消長という微生物生態学的な変数を把握することで、よりメカニズムに踏み込んだ説明が可能になってくると考えられる。ところで、Fig. 3a は、全ゲノムが読まれている生物 (古細菌、細菌、真核生物) の系統樹の中で、L-アルギニンを分解して尿素を生成する酵素をつくる遺伝子を持つ系統を示している。同様に Fig. 3b は、尿素から NH_3 を生成する酵素を持つ系統が示されている。L-アルギニン-尿素- NH_3 の変化 (分

解・無機化) は、窒素を含む極めて多様な有機物の分解・無機化の経路のごく一例に過ぎないが、これが可能な微生物でも、古細菌、細菌の領域に多様な系統に分布しており、同じ機能を持つ多様な微生物が存在していることがわかる。窒素を含む有機物が多様である分、それを分解・無機化し NH_3 を生成する経路も多様であるともいえる。一方、Fig. 3c は、 NH_3 を酸化する酵素を持つ細菌と古細菌の系統を示している。前二者の細菌・古細菌に比べて著しく系統が限られていて、多様性が低いことがわかる。これらのことは次のことを示唆している。有機態の窒素から NH_4^+ を生成することができる細菌・古細菌の多様性が高いことは、森林の斜面において水分などの環境条件に地形に従った異質性があっても、それぞれの条件で機能が発揮できる微生物が存在できる。一方、多様性の乏しい硝化を行う細菌・古細菌は、その系統が適応した環境でしか機能が発揮できない。実際の森林では、水分が多い場所で適応した NH_4^+ 酸化微生物がこれを行っている。つまり、

Fig. 3(a) Positions of archaea and bacteria having arginase gene within the phylogenetic tree based on whole genome sequence (dots). Arginase acts in the following reaction: L-Arginine + H_2O → L-Ornithine + Urea.

Fig. 3(b) Positions of archaea and bacteria having urease gene within the phylogenetic tree based on whole genome sequence (dots). Urease acts in the following reaction: $\text{Urea} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CO}_2 + 2\text{NH}_3$.

Fig. 3(c) Positions of archaea and bacteria having ammonia oxygenase gene within the phylogenetic tree based on whole genome sequence (dots). Ammonia oxygenase acts in the following reaction: $\text{NH}_3 + \text{O}_2 \rightarrow \text{NO}_2^- + 3\text{H}^+$. Archaea and bacteria having arginase, urease and ammonia oxygenase gene were extracted from the database of Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG: <http://www.genome.jp/kegg/>, Kanehisa Laboratories, 2014). The phylogenetic tree based on whole genome sequence were re-drawn from the Interactive Tree of Life (iTOL: <http://itol.embl.de/>, Letunic and Bork, 2011).

斜面位置の違いで NH_4^+ 生成と NO_3^- 生成の空間分布にコントラストが生じる原因が微生物群集の多様性の相違にあるのではないかという仮説が提示できよう。

以上述べてきたように、これまで生物地球化学的に記述してきた窒素の形態変化を微生物生態学的に解明していくことには、もう一つの重要な意義がある。それは、生物群集内の種の多様性が、生態系の維持や成長などの機能にどのような影響を及ぼしているかという、生態学上の今日的な課題に、比較的実証的に答えることができる素材であるということである。

V. おわりに

今後、森林などの陸域の自然生態系における物質循環のメカニズムを解明するチャレンジの過程で、微生物生態学的なアプローチが果たす役割として、例えば、次のようなことが考えられる。

窒素の形態変化や蓄積、フローを制御する微生物群集の動態を記述することで、生態系全体の機能的な安定性（維持機構）を理解するための鍵が得られるかもしれない（Isobe and Ohte, 2014）。つまり、植生に対する攪乱が生じた際に見られる窒素流出の非線形なレスポンスや、反応の時空間的な非均質性は、窒素の土壤中でのリテンションを制御する微生物群集の動態を機能ごとに正確に知ることで説明でき、結果として系全体の安定性のメカニズムを理解することができるのではないのだろうか。最近の遺伝子の解析技術と情報処理技術の飛躍的な進展は、微生物群集の包括的な把握と、機能遺伝子ごとに記述する作業の効率を飛躍的に増大させつつある。こうしたツールを、森林集水域での水文観測を含む野外観測と組み合わせることで、物質循環のよりメカニスティックな理解が進むばかりでなく、生物群集の動態と生態系の様々な機能との間の連関を実態として浮き上がらせることができるのではないだろうか。

引用文献

- Aber, J., W. McDowell, K. Nadelhoffer, A. Magill, G. Berntson, M. Kamakea, S. McNulty, W. Currie, L. Rustad and I. Fernandez (1998): Nitrogen saturation in temperate forest ecosystems. *BioScience*, **48**, 921–934.
- Aber, J. D., K. J. Nadelhoffer, P. Steudler and J. M. Melillo (1989): Nitrogen saturation in northern forest ecosystems. *BioScience*, **39**, 378–386.
- Bormann, F. H. and G. E. Likens (1994): *Pattern and process in a forested ecosystem : disturbance, development, and the steady state based on the Hubbard Brook ecosystem study*. Springer-Verlag, 253 p.
- Casciotti, K. L., D. M. Sigman, M. G. Hastings, J. K. Böhlke and A. Hilkert (2002): Measurement of the Oxygen Isotopic Composition of Nitrate in Seawater and Freshwater Using the Denitrifier Method. *Analytical Chemistry*, **74**, 4905–4912, doi: 10.1021/ac020113w.
- Chang, C. C. Y., C. Kendall, S. R. Silva, W. A. Battaglin and D. H. Campbell (2002): Nitrate stable isotopes: tools for determining nitrate sources among different land uses in the Mississippi River Basin. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **59**, 1874–1885, doi: 10.1139/f02-153.
- Christenson, L., G. Lovett, M. Mitchell and P. Groffman (2002): The fate of nitrogen in gypsy moth frass deposited to an oak forest floor. *Oecologia*, **131**, 444–452, doi: 10.1007/s00442-002-0887-7.
- Feller, M. C. and J. P. Kimmins (1984): Effects of clearcutting and slash burning on stream-water chemistry and watershed nutrient budgets in Southwestern British Columbia. *Water Resour. Res.*, **20**, 29–40.
- Fukushima, K., R. Tateno and N. Tokuchi

- (2011): Soil nitrogen dynamics during stand development after clear-cutting of Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) plantations. *Journal of Forest Research*, **16**, 394–404, doi: 10.1007/s10310-011-0286-1.
- Galloway, J. N. (2000): Nitrogen mobilization in Asia. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, **57**, 1–12. doi: 10.1023/A:1009832221034.
- Galloway, J. N. and E. B. Cowling (2002): Reactive Nitrogen and The World: 200 Years of Change. *AMBIO: A Journal of the Human Environment*, **31**, 64–71, doi: 10.1579/0044-7447-31.2.64.
- Goodale, C., S. Thomas, G. Fredriksen, E. Elliott, K. Flinn, T. Butler and M. Walter (2009): Unusual seasonal patterns and inferred processes of nitrogen retention in forested headwaters of the Upper Susquehanna River. *Biogeochemistry*, **93**, 197–218, doi: 10.1007/s10533-009-9298-8.
- Granger, J., D. M. Sigman, J. A. Needoba and P. J. Harrison (2004): Coupled nitrogen and oxygen isotope fractionation of nitrate during assimilation by cultures of marine phytoplankton. *Limnology and Oceanography*, **49**, 1763–1773, doi: 10.4319/lo.2004.49.5.1763.
- Hirobe, M., N. Tokuchi and G. Iwatsubo (1998): Spatial variability of soil nitrogen transformation patterns along a forest slope in a *Cryptomeria japonica* D. Don plantation. *European Journal of Soil Biology*, **34**, 123–131, doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S1164-5563\(00\)88649-5](http://dx.doi.org/10.1016/S1164-5563(00)88649-5).
- Hobara, S., N. Tokuchi, N. Ohte, K. Koba, M. Katsuyama, S. J. Kim and A. Nakanishi (2001): Mechanism of nitrate loss from a forested catchment following a small-scale, natural disturbance. *Canadian Journal of Forest Research*, **31**, 1326–1335, doi: 10.1139/x01-064.
- Isobe, K. and N. Ohte (2014): Ecological perspectives on microbes involved in N cycling. *Microbes and Environments*, **29**, 4–16, doi: 10.1264/jsme2.ME13159.
- Johannsen, A., K. Dähnke and K. Emeis (2008): Isotopic composition of nitrate in five German rivers discharging into the North Sea. *Organic Geochemistry*, **39**, 1678–1689, doi: 10.1016/j.orggeochem.2008.03.004.
- Kaiser, J., M. G. Hastings, B. Z. Houlton, T. Röckmann and D. M. Sigman (2006): Triple oxygen isotope analysis of nitrate using the denitrifier method and thermal decomposition of N₂O. *Analytical Chemistry*, **79**, 599–607, doi: 10.1021/ac061022s.
- Kendall, C., E. M. Elliott and S. D. Wankel (2007): Tracing anthropogenic inputs of nitrogen to ecosystems. 375–449 in R. Michener and K. Lajtha, (eds), *Stable isotopes in ecology and environmental science, 2nd edn*. Blackwell, 594p.
- Kanehisa Laboratories (2014): Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG). <http://www.genome.jp/kegg/> (2014.3.31).
- Koba, K., M. Hirobe, L. Koyama, A. Kohzu, N. Tokuchi, K. J. Nadelhoffer, E. Wada and H. Takeda (2003): Natural ¹⁵N abundance of plants and soil N in a temperate coniferous forest. *Ecosystems*, **6**, 457–469, doi: 10.1007/s10021-002-0132-6.
- Lamb, D. and V. Bowersox (2000): The national atmospheric deposition program: an overview. *Atmospheric Environment*, **34**, 1661–1663, doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S1352-2310\(99\)00425-2](http://dx.doi.org/10.1016/S1352-2310(99)00425-2).
- Likens, G. E., F. H. Bormann and N. M. Johnson (1972): Acid rain. *Environment: Science and Policy for Sustainable Development*, **14**, 33–40, doi: 10.1080/00139157.1972.9933001.
- Likens, G. E., F. H. Bormann, N. M. Johnson, D. W. Fisher and R. S. Pierce (1970): Effects

- of forest cutting and herbicide treatment on nutrient budgets in the Hubbard Brook watershed-ecosystem. *Ecological Monographs*, **40**, 23–47, doi: 10.2307/1942440.
- Letunic, I. and P. Bork (2011): Interactive Tree of Life v2: online annotation and display of phylogenetic trees made easy. *Nucleic Acids Research*, **39**, W475–W478, <http://itol.embl.de/> (2014.3.31).
- Odum, E. P. (1983): *Basic Ecology*. Saunders College Pub, 320 p.
- Ohrui, K. and M. J. Mitchell (1997): Nitrogen saturation in Japanese forested watersheds. *Ecological Applications*, **7**, 391–401, doi: 10.1890/1051-0761(1997)007 [0391:NSIJFW] 2.0.CO;2.
- Ohte, N. (2012): Implications of seasonal variation in nitrate export from forested ecosystems: a review from the hydrological perspective of ecosystem dynamics. *Ecological Research*, **27**, 657–665, doi: 10.1007/s11284-012-0956-2.
- Ohte, N., S. D. Sebestyen, J. B. Shanley, D. H. Doctor, C. Kendall, S. D. Wankel and E. W. Boyer (2004): Tracing sources of nitrate in snowmelt runoff using a high-resolution isotopic technique. *Geophysical Research Letters*, **31**, L21506, doi:10.1029/2004GL020908.
- Ohte, N., I. Tayasu, A. Kohzu, C. Yoshimizu, K. Osaka, A. Makabe, K. Koba, N. Yoshida and T. Nagata (2010): Spatial distribution of nitrate sources of rivers in the Lake Biwa watershed, Japan: Controlling factors revealed by nitrogen and oxygen isotope values. *Water Resour. Res.*, **46**, W07505, doi: 10.1029/2009WR007871.
- Ohte, N. and N. Tokuchi (2011): Hydrology and biogeochemistry of temperate forests. 261–283 in D. F. Levia, D. Carlyle-Moses, and T. Tanaka, (eds), *Forest Hydrology and Biogeochemistry: Synthesis of Research and Future Directions*. Springer, 740 p.
- Ohte, N., N. Tokuchi and M. Fujimoto (2010): Seasonal patterns of nitrate discharge from forested catchments: Information derived from Japanese case studies. *Geography Compass*, **4**, 1358–1376, doi: 10.1111/j.1749-8198.2010.00377.x.
- Ohte, N., N. Tokuchi, M. Katsuyama, S. Hobara, Y. Asano and K. Koba (2003): Episodic increases in nitrate concentrations in streamwater due to the partial dieback of a pine forest in Japan: Runoff generation processes control seasonality. *Hydrological Processes*, **17**, 237–249, doi: 10.1002/hyp.1121.
- Osaka, K., N. Ohte, K. Koba, C. Yoshimizu, M. Katsuyama, M. Tani, I. Tayasu and T. Nagata (2010): Hydrological influences on spatio-temporal variations of $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{18}\text{O}$ of nitrate in a forested headwater catchment in central Japan: Denitrification plays a critical role in groundwater. *Journal of Geophysical Research*, **115**, G02021, doi: 10.1029/2009JG000977.
- Reuss, J. O., B. J. Cosby and R. F. Wright (1987): Chemical processes governing soil and water acidification. *Nature*, **329**, 27–32, doi: 10.1038/329027a0.
- Ricklefs, R. E. and G. L. Miller (1999): *Ecology*. W H Freeman & Co., 822 p.
- Sigman, D. M., K. L. Casciotti, M. Andreani, C. Barford, M. Galanter and J. K. Böhlke (2001): A bacterial method for the nitrogen isotopic analysis of nitrate in seawater and freshwater. *Analytical Chemistry*, **73**, 4145–4153, doi: 10.1021/ac010088e.
- Silva, S. R., C. Kendall, D. H. Wilkison, A. C. Ziegler, C. C. Y. Chang and R. J. Avanzino (2000): A new method for collection of nitrate from fresh water and the analysis of ni-

- trogen and oxygen isotope ratios. *Journal of Hydrology*, **228**, 22–36, doi: 10.1016/S0022-1694(99)00205-X.
- Skeffington, R. A. and E. J. Wilson (1988): Excess nitrogen deposition: Issues for consideration. *Environmental Pollution*, **54**, 159–184, doi: 10.1016/0269-7491(88)90110-8.
- Stoddard, J. L. (1994): Long-term changes in watershed retention of nitrogen. 223–284 in L. A. Baker, (ed), *Environmental chemistry of lakes and reservoirs, advances in chemistry series*. American Chemical Society, Washington, 627 p.
- Tateno, R., N. Osada, M. Terai, N. Tokuchi and H. Takeda (2005): Inorganic nitrogen source utilization by *Fagus crenata* on different soil types. *Trees*, **19**, 477–481, doi: 10.1007/s00468-005-0409-4.
- Tobari, Y., K. Koba, K. Fukushima, N. Tokuchi, N. Ohte, R. Tateno, S. Toyoda, T. Yoshioka and N. Yoshida (2010): Contribution of atmospheric nitrate to stream-water nitrate in Japanese coniferous forests revealed by the oxygen isotope ratio of nitrate. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, **24**, 1281–1286. doi: 10.1002/rcm.4498.
- Tokuchi, N., H. Takeda, K. Yoshida and G. Iwatsubo (1999): Topographical variations in a plant–soil system along a slope on Mt Ryuoh, Japan. *Ecological Research*, **14**, 361–369, doi: 10.1046/j.1440-1703.1999.00309.x.
- Tokuchi, N., M. Hirobe and K. Koba (2000): Topographical differences in soil N transformation using ^{15}N dilution method along a slope in a conifer plantation forest in Japan. *Journal of Forest Research*, **5**, 13–19, doi: 10.1007/BF02762758.
- Townsend-Small, A., M. McCarthy, J. Brandes, L. Yang, L. Zhang and W. Gardner (2007): Stable isotopic composition of nitrate in Lake Taihu, China, and major inflow rivers. *Hydrobiologia*, **581**, 135–140, doi: 10.1007/s10750-006-0505-5.
- Tsunogai, U., S. Daita, D. D. Komatsu, F. Nakagawa and A. Tanaka (2011): Quantifying nitrate dynamics in an oligotrophic lake using $\Delta^{17}\text{O}$. *Biogeosciences*, **8**, 687–702, doi: 10.5194/bg-8-687-2011.
- Wankel, S. D., C. Kendall, C. A. Francis and A. Paytan (2006): Nitrogen sources and cycling in the San Francisco Bay Estuary: A nitrate dual isotopic composition approach. *Limnology and Oceanography*, **51**, 1654–1664, doi: 10.4319/lo.2004.49.5.1763.
- Wright, R. F. and N. van Breemen (1995): The NITREX project: an introduction. *Forest Ecology and Management*, **71**, 1–5, doi: 10.1016/0378-1127(94)06080-3.

(原稿受付：2014年3月23日)

(原稿受理：2014年6月2日)

この論文に対する「討論」を2015年2月28日まで受け付けます。

森林集水域における窒素循環研究の 今日的な課題とそれに対するストラテジー

大手 信人・磯部 一夫・徳地 直子

要 旨

産業革命以降、人為起源の bioavailable な窒素の供給がかつてないレベルに増加した結果、森林では窒素飽和現象が1980年代から報告され始めた。これまで生物地球化学的な側面からこの現象のメカニズムの解明が進められてきたが、集水域レベルでの窒素の現存量や内部循環のフローは、集水域の地理的な特性ごとに極めて多様で、系全体のレスポンスは決して一様ではなかった。この課題に対して、今後展開すべきアプローチの一つとして、窒素の形態変化を左右する微生物群集の動態の記述から、今まで見てきた「生物地球化学的反応」を再解釈することを提案する。近年、急速に発展した軽元素の安定同位体比の測定技術と、機能遺伝子によって正確に目的とする微生物群を絞り込める遺伝子解析技術を組み合わせることで、反応の時空間的な非均質性や環境変化に対する非線形な応答の仕組みを明らかにすることができるのではないだろうか。

キーワード：森林集水域、窒素動態、窒素飽和、微生物生態学