

広域評価を目指した室内実験および圃場観測：硝化を例とした 実験室とモニタリングのつながりについての小考察

木庭啓介¹

Laboratory experiment and field monitoring for regional scale analysis: a thought on the relation of
laboratory and monitoring by the example of nitrification

Keisuke KOBAYASHI¹

1. 実験室と野外の間にある壁

土壌中での生物地球化学プロセスを考える際には、しばしば野外における連続観測により得られるモニタリングデータと、その結果を解釈するために行う室内実験で得られるデータとの間にある隔たりはどのようなものなのか、また、どのようにつなげることが可能なのか、ということが問題となる。本稿では、実験室と野外をつなげる試みとして、ある陸上生態系での硝化活性（土壌中で微生物によりアンモニウムイオンが硝酸イオンへと酸化される反応）の推定を通じて、この点について考察してみる。

ある陸上生態系を対象として、硝酸イオンの挙動を理解したいというような状況の場合、下記のような4種類のデータを扱うことが多い；

- A 土壌や土壌溶液を採取し、土壌中の硝酸イオン濃度を測定して得られるデータ
- B 土壌を採取した後、実験室で培養し、土壌中の硝酸イオン濃度の時間的な変化から正味の（または見かけ上の）土壌の硝酸イオン生成速度、つまり純硝化速度を測定して得られるデータ
- C 土壌を採取し、重窒素（¹⁵N）でラベルされたアンモニウムイオンや硝酸イオンを用い、¹⁵Nの濃度変化を追跡する（同位体希釈法；Davidson et al., 1991）ことで土壌の総硝酸イオン生成速度（総硝化速度）を測定して得られるデータ
- D BやCについて、温度や水分といった環境要因を変化させて、土壌の純硝化速度、総硝化速度を測定して得られるデータ

これらについて考えて行くこととする。

¹Institute of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology
Saiwai-cho 3-5-8, Fuchu, Tokyo 183-8509, Japan.
Corresponding author : 木庭啓介, ¹東京農工大学農学研究院
2012年9月18日受稿, 2012年11月12日受理
土壌の物理性 122号, 35-39 (2012)

1.1 モニタリングから得られる情報

「A」は現場状態のモニタリングの一部である。土壌を定期的に採取し抽出して硝酸イオンの現存量を測定するのは労力がかかり、現場の攪乱もしばしば大きいことがある。そのため、テンションライシメーターを設置し、これにより土壌溶液を経時的に採取し、土壌溶液中の硝酸イオン濃度をモニタリングすることがしばしば行われる（たとえば Hobara et al., 2001）。しかし、土壌採取にしても土壌溶液採取にしても、連続的な経時変化ではなくスナップショットの情報であり、硝酸イオン濃度が夏に高く冬に低い傾向があるといった漠とした情報は得られるものの、濃度形成メカニズムについて結論を導くことは難しい。少しでもメカニズムに迫るために、スナップショットデータセットの中で、pHやアンモニウムイオン濃度、溶存有機態炭素濃度などの要素と硝酸イオン濃度との相関を調べることはできるが、相関は相関でしかなく、必ずしも因果関係を示すものではないため、硝酸イオン濃度を決定するプロセスの解析が容易でないことが多々ある。また、ある生態系全体の硝酸イオンの挙動を理解する、という大きな目標に対しては、採取した個々のサンプルの代表性、言い換えればどれだけの数のサンプルを、どれだけの頻度で、どのように採取し、測定すべきか、という大きな問題にも直面することになる。

1.2 実験室での操作実験から得られる情報

「B」、「C」、「D」の手法は「A」の手詰まり状態を打破するため、メカニズムに迫るために行う積極的なアプローチであり、これらを「実験室でのデータ」と見なすことができよう。これらのアプローチにおいては土壌を現場から採取して実験室で実験している時点で、解析できるものは植物や大気沈着による影響を除去した環境下でのメカニズムに限定される、ということに留意する必要がある。そして、特に森林のように窒素制限下にある生態系においては、大気沈着由来の硝酸イオンは、土壌の硝酸イオンの現存量に影響しないのか、そして、大気沈着由来の硝酸イオンの影響を排除した場合、純硝化速度の測定にバイアスがかかるのではないのか、という疑問が生じる。しかし、例えば森林表層鉍質土壌（0-10 cm 深）を考えてみると土壌へ¹⁵Nラベルされた硝酸イオン

を添加すると、その滞留時間は数日程度であるし (Davidson et al., 1992)、土壌中における硝酸イオンの生産 (硝化) 及び消費 (微生物による吸収) に比べれば、外部からもたらされる大気沈着由来の硝酸イオンのインプットは相対的に小さく無視できると考えられてきた。しかし、この前提に疑問を投げかける結果が報告されてきている。近年になって、大気沈着硝酸イオンと土壌で生成された硝酸イオンを区別する新しい指標として硝酸イオン酸素同位体比異常 ($\Delta^{17}\text{O}$) というものが提案されている。これは ^{16}O 、 ^{17}O そして ^{18}O の自然存在比が、大気沈着硝酸イオンとそれ以外で異なることを利用した指標である。大気沈着硝酸イオンが 25 ~ 35 % と大きな $\Delta^{17}\text{O}$ 値をとるのに対し、土壌中で生成される硝酸イオンは 0 % という値をとる (Michalski et al., 2003)。この $\Delta^{17}\text{O}$ を用いた Costa et al. (2011) は、0-30 cm 深の森林土壌において、土壌中に存在する硝酸イオンのうち約 9 % が大気沈着由来の硝酸イオンであることが明らかにした。これは、一般に窒素が足りないと考えられている森林生態系においても、大気沈着で供給された硝酸イオンの約 1 割が、微生物や植物に使われなまま土壌中に存在し続けていることを示している。また、より窒素が豊富にある窒素飽和林でも、このように使い切れていない大気沈着由来の硝酸イオンが土壌中に存在していたことが報告されている (Michalski et al., 2004)。これらの新たな知見は、土壌のみを硝酸イオンの生成源として土壌硝酸イオンの解析を行うという前提が実際には成り立たないことを強く示唆している。さらには、森林の植物や微生物は本当に硝酸イオンを必要としているのか、そして窒素制限下に本当にあるのか、という窒素循環を考える上で大変重要な問いを投げかけるものである。

では、「B」として挙げられた実験室に持ち帰った土壌を培養するという作業は、実際、どれほど野外の状況からかけ離れているのだろうか。陸水学や海洋学では、実験室における培養実験と現場との乖離を表す用語として bottle effect という言葉がある (Zobel and Anderson 1936, Hammes et al., 2010)。元々、微生物バイオマスが小さく、更に微生物が定着する有機物の少ない水環境においては、水試料をボトルに採取し培養すると、接着しうる広大な物理面 (ボトルの壁面) が与えられることになり、微生物の増殖が促進される可能性がある。そこで、異なるボトルの大きさによって微生物群集の大きさ、構造、その機能、さらには物質循環プロセスに大きな違いが出てくるという懸念を示したものが bottle effect という語句であると筆者は理解している。土壌を対象とした場合、この点に関しては、土壌という媒体が微生物にとっての広大な接着面積をすでに有しているため、考慮する必要はあまりないと言える。ところが野外と実験室、特に培養環境との間には、前述した植物による硝酸イオン吸収、大気沈着硝酸イオンの供給がないというだけでなく、他にも水の動きがない、一定の温度、一定の水分環境である、などといった多数の違いがある。この中で温度や水分といった要因については、丁寧にこれらの要因

を変化させ、できるだけ野外で土壌が経験している環境を再現しながら培養することが可能である (例えば Xiang et al., 2008)。しかし、このような対処法はかなりの労力を必要とするので、残念ながら一般的ではない。つまり、野外での環境を実験室で再現して実験を行うというのは容易ではない。

メタンや硝酸イオンのような回転速度の大きい物質の挙動を追跡するには、その純生成 (消費) 速度でなく、総生成 (消費) 速度を求めなければならないことはよく知られている。そのため「C」のような場合、 $^{15}\text{NH}_4^+$ や $^{15}\text{NO}_3^-$ を添加し、 ^{15}N の行方を追跡することで総速度を求めることが一般に行われる。しかし、どうしても土壌に窒素を添加した上で培養することになる。通常1日や2日という短期間の培養ではあるが、様々な微生物が利用する窒素を土壌に添加することによる窒素循環の変化は、特に森林土壌のような窒素制限下にある対象においては大きいものであると危惧される。この変化の大きさを見積もるために Concentration test と呼ばれるような、窒素添加量を変化させたときの反応速度の違いを見る試験がある (Groffman et al., 2006)。しかし、 ^{15}N の追跡による総硝化速度の測定は試料の処理が大変煩雑であり、純硝化速度測定と比較して膨大な労力がかかるため、Concentration test の実施を困難にしている。

「D」の手法は、たとえば地温と硝化速度の関係を異なる温度環境での培養実験を通じて求め、その関係とモニタリングされた膨大な地温データから年間の硝化速度を求める、というような流れでよく用いられる (窒素固定の例ではあるがたとえば Hobara et al., 2006)。これは最良の手續きだと考えられるが、実際のところ、Bの手法のところでも述べたように制御できる環境要因は数少なく、それらだけで本当に現象を説明できるのかという問題がある。さらには、硝化の場合は基本的に純硝化速度の推定であり、硝酸イオン生成と硝酸イオン消費という全く異なるプロセスの差分を少ない環境要因で説明しているわけで、現象を完全に説明しきれてはいない。

2. 壁を超える、そして壁を壊すためのツールは？

「A」の硝酸イオン濃度データは、それだけの硝酸イオンが現場に確かに存在していたという点で大変重要なのであるが、その解釈においては、濃度情報が持つ意味というものが大変曖昧なことが問題となる。現場で観測された土壌の硝酸イオン濃度は、植物の吸収、微生物による吸収、微生物による硝酸イオン生成、そして脱窒 (貧酸素環境で微生物が酸素呼吸の代わりに硝酸呼吸を行うこと)、そして大気沈着による供給ならびに下方への移動、の差し引きの結果である。また一方で、その濃度の高低が微生物や植物の硝酸イオン利用を制御するため、あるプロセスの原因ともなりうる。この、結果であり原因でもあるという濃度データの二面性により、どうしてもその解釈は混乱してしまう。結局解析といっても、例えば土壌の C/N 比といった硝化速度を制御していると考えられる環境要因と硝酸イオン濃度の相関を取るとい

うことしかできず、議論は曖昧なものになってしまうことがある（濃度データをどう考えるかについては、陸水生態系を対象としているが Dodds 2003 が参考になる）。

ある硝酸イオン濃度がどのように形成されたのかについての何かしらの情報を与える手段、つまりある物質の濃度情報にその物質の生成及び消費情報を与える手段はいくつかある。たとえば生態学的化学量論の考えにそって、上記に挙げた土壌の C/N 比や、海洋であれば一次生産者である植物プランクトンがとるとされる Redfield 比 (C:N:P=106:16:1)、さらにはこの Redfield 比からどれだけ窒素が過剰かをあらわす N^* ($N^* = N - 16 \times P$; Gruber and Sarmiento 1997) を用い、土壌中の微生物活動や、ある環境の一次生産が窒素供給によって制限されているか、それともリン供給が制限しているかを議論することができる。これらをベースにすると、たとえば硝酸イオン濃度が高いのは窒素が過剰であるために硝酸イオンを使い切れていない状態である、というような議論へと展開することができる。また、たとえば硝化については、土壌中の *amoA*（アンモニア酸化酵素をコードする遺伝子）の存在量を測定することで、実際に硝化を担っている微生物が存在していることを確認することができるであろう (Isobe et al., 2012)。また、後述するように、物質循環プロセスが駆動することに付随して循環系から漏れ出てくるガス（たとえば CO_2 ）というものは、そのものが再利用されることがない条件下では、駆動しているプロセスのよい指標となり得ると考えられる。

2.1 安定同位体の利用

筆者は濃度情報に生成プロセス及び消費プロセスの情報を与えるツールの一つである安定同位体自然存在比に着目して研究を行ってきた。たとえば微生物が硝酸イオンを脱窒で利用するときには選択的に ^{14}N と ^{16}O を消費するために、硝酸イオンの窒素と酸素の安定同位体自然存在比 ($\delta^{15}N$ と $\delta^{18}O$) は 1:1 の割合をもって上昇すると考えられている (Granger et al., 2008)。また大気沈着硝酸イオンは大変高い $\delta^{18}O$ 値をとることも知られている (Durka et al., 1994)。このような特性を用いると硝酸イオンの $\delta^{15}N$ と $\delta^{18}O$ は、土壌中の硝酸イオンが大気沈着により供給されたのか、それとも土壌中で硝化によって生成されたのか、また、脱窒によって消費されたのか、吸収によって消費されたのか、という生成消費プロセスの種類と規模について、半定量的ではあるが情報を与えてくれる (Ohte 2012)。たとえば、Osaka et al. (2010) では、地下水中の硝酸イオンが脱窒を受けるだけでなく同時に硝化による生成を受けているという複雑な状態にあることを $\delta^{15}N$ と $\delta^{18}O$ の解析から示している。しかし、 $\delta^{15}N$ と $\delta^{18}O$ を用いた解析も、上記に半定量的と記載しているように、上記の同位体比の変動パターンが、微生物群集、基質濃度、pH などの環境要因によって変化してしまう可能性があることが、どれだけの硝化と脱窒が生じているか、という定量的な議論を可能にしないという重大な欠点を有している。

「B」, 「C」, 「D」の培養実験においては、土壌培養と

いうものがどうしても現場環境とは異なるのだということに改めて念頭に置き、現場とは異なる生態系を扱っているという自覚を持った上で、少しでも一般性を持った解析へとつなげられるような実験設定が必要であろう。得られた結果は、「ある場所の土壌を用いた解析結果」として終わるのではなく、その土壌のパラメーターを詳細に列記し、「ある条件下の土壌の解析結果」として、得られた結果を他の土壌環境下の現象へ外挿しやすくする、というようなことが必要である。また、培養の際は、様々な物質が生成され同時に消費されてしまうため、 ^{15}N を用いた総速度の測定がどうしても必要になってくる。総速度の測定においては、物質の添加が不可欠であるため、上記に述べた Concentration test を、与える物質濃度に関して実施し、窒素の添加が物質循環系に与えている影響を自分たちで判断できるような材料を得ておくことが肝要と考える。これを実現するためには、より容易に ^{15}N 濃度を測定できるような方法論が必要であろう (Isobe et al., 2011)。

2.2 代謝ガス測定の土壌生物地球化学プロセス解析への可能性

土壌培養中でも、総速度と純速度の区別をあまり考えずに解析できるデータがいくつかある。ガス濃度は、土壌培養中に継続的に、比較的物質循環系の変化を少なく押さえたまま測定できるものの一つである。たとえば前述した CO_2 は土壌培養中、無機化によって生成されるのみとほぼ考えられるので、土壌からの CO_2 放出は、直接的に無機化速度を測定できる良いパラメーターである。また、多くのガスは土壌中で吸着などをあまり考えなくても良いと思われるため、そのガスが生成された土壌微環境の情報を保持したまま放出される。すなわち、土壌中でのあるガスの濃度勾配は土壌培養中の土壌酸化還元環境について、重要な情報を連続的に示している可能性がある。近年、Barometric Process Separation (Ingwersen et al., 1999) という手法が開発され、培養容器中の大気圧と大気組成の変化を詳細に測定してゆくことで、総硝化速度を見積もる試みがなされている。硝化反応で O_2 は消費されるので O_2 濃度の減少と共に気圧は減少し、脱窒反応では、 CO_2 が発生するので CO_2 濃度の上昇と共に気圧が上昇し、微生物の呼吸では O_2 が消費され CO_2 が放出されるため、 O_2 濃度の減少と CO_2 濃度の上昇がみられるが気圧の変化はみられない。この特徴を利用し、土壌を閉鎖培養容器内で培養しながらガス濃度と気圧の変化を観測することで、 ^{15}N を用いると大変煩雑である総硝化速度の測定を多数行い、より時間分解能の高いデータを用いてシミュレーションモデルを構築できた例がある (Stange and Neue 2009)。このように、基質添加のように物質循環系に大きな変化を与えずかつ連続的に観測が可能なガス濃度・ガス組成というものは、今後、土壌培養のデータをより詳細に解析し、野外での現象につなげてゆくための、重要な観測要素になり得るかもしれない。現在、そのような測定を行おうとする場合、多くの場合ガスサンプルを時系列で採取して、

ガスクロマトグラフィー (GC) にシリンジで打ち込むということが主流であるが、測定技術の進歩により今後は、より短い分解能 (たとえば秒単位、それ以下) で、ガス濃度・ガス組成を連続的にモニタリングしてゆけるようになると思われる。たとえば、Membrane Inlet Mass Spectrometry (MIMS: Sheppard and Lloyd 2002), オプトード (Blossfeld et al., 2011) やマイクロセンサー (Jørgensen and Elberling 2012) を用いた連続的 O_2 , N_2O ガスの観測などはすでに始まっている。近年のレーザー分光を用いたガス濃度とその安定同位体自然存在比の連続測定技術は、これまでのガス測定の煩雑さを一気に解消し、更に総速度の情報を有する安定同位体自然存在比の測定も可能になるということで、大変注目されている (たとえば Mohn et al., 2012)。これらの技術を用いることで、より詳細に土壌環境、土壌プロセスの情報が得られるだけでなく、測定の煩雑さが軽減されることでより多くの土壌を対象にすることが可能となる。さらにその結果、Concentration test の実施や、これまで手が回らなかった環境要因の測定が可能となったりすれば、より野外での現象へと外挿可能なデータセットの構築が可能となると期待できる。

2.3 新たな安定同位体ツールの可能性: 硝酸イオンの $\Delta^{17}O$

最後に、土壌培養を基礎としたデータの解析を行っても、集水域全体の現象へとつなげるには、空間的・時間的異質性という大きな壁がまだ残っている。これについては、土壌培養実験を丁寧に外挿してゆくしかないと個人的には考えているものの、果たして、正しく外挿できるのかという疑問は常に残る。硝化速度を例としてみれば、総硝化速度測定は1日間培養した結果で求めることが多く、しかも ^{15}N でラベルされた窒素化合物を土壌に添加しなければならない。一方、よく用いられている純硝化速度の測定では土壌を1月間ほど培養する。この間、土壌中では大量の硝酸イオンが生成し同時に消費されており、得られる純硝化速度は土壌微生物の要求速度を超えた分の硝酸イオン生成速度となる。つまりは1ヶ月間土壌培養により得られる純硝化速度は、微生物が使い切れなかった硝酸イオンについての指標であり、言い換えれば、植物にとっての硝酸イオンの可給性についての良いパラメーターであると考えられるが、実験室内の一定温度、一定水分環境で測定された可給性に意味があるのかという疑問が残る。

近年、角皆ら (2010) は、上述した $\Delta^{17}O$ を用いて、利尻島の集水域の総硝化速度を求めている。これは、 $\Delta^{17}O$ が脱窒や硝酸吸収では変化せず、大気沈着硝酸イオンの $\Delta^{17}O$ が 25% 程度と高いのに対し、湖水中で生成される硝酸イオンは $\Delta^{17}O=0\%$ と一定であるということを利用したものである (Michalski and Thiemens 2006, Tsunogai et al., 2010)。詳細は角皆ら (2010)、そして Tsunogai et al. (2010) を参照したいが、この手法は定常状態を仮定し、生態系内の硝酸イオンの消費は $\Delta^{17}O$ を変化させることがないという $\Delta^{17}O$ の特長を生かし

て、ある期間の平均的な大気沈着硝酸イオンインプット速度とその平均的な $\Delta^{17}O$ 値、さらにある生態系内の平均的な硝酸イオンの $\Delta^{17}O$ から、生態系内の総硝化速度を求めることができるというものである。この手法は、個別のサンプルから得られたデータの積み上げでなく、トップダウン的に集水域の硝酸イオンインプットおよびアウトプットから、全く循環系を変化させることなく、時間・空間平均した硝化速度を見積もることができるものである。もちろん、上記にあるように、ある生態系での平均的な硝酸イオンインプット量とその $\Delta^{17}O$ を見積もるということは容易ではなく、さらに定常状態を仮定するという事は、農地のようなダイナミックに窒素循環が変化する生態系では問題の残るところであり、まだまだ改善の余地がある。さらに、硝酸イオンの $\Delta^{17}O$ 測定は大変複雑な測定装置を必要とするため、まだ世界的にもほとんど行われていない。しかしながら、これまで行われてきた土壌培養からの、ボトムアップなアプローチに加えて、このようなトップダウン的な全く別の手法を用いることにより、少しずつではあるが生態系全体のプロセス解析・プロセス推定へと近づくことが可能であると期待される。

謝辞

本稿の執筆機会を与えていただいた東京農工大学農学部木村先生、農業環境技術研究所片柳博士、ならびにこれまで長きにわたり様々な形でご指導いただいている東京大学農学部大手先生、京都大学農学部徳地先生のお名前を特に挙げさせていただき感謝の意を示したいと思います。また、本稿に対してご意見をいただいた東京大学農学部磯部先生、黒岩様にも深くお礼申し上げます。また、編集委員の中央農業試験場中辻敏朗先生、並びに査読者の方には原稿の改訂において大変多くのご尽力を頂きました。ここに御礼申し上げます。

引用文献

- Blossfeld, S., Gansert, D., Thiele, B., Kuhn, A. J., Lösch, R. (2011): The dynamics of oxygen concentration, pH value, and organic acids in the rhizosphere of *Juncus* spp. *Soil Biol. Biochem.*, 43: 1186-1197.
- Costa, A. W., Michalski, G., Schauer, A. J., Alexander, B., Steig, E. J., and Shepson, P. B. (2011): Analysis of atmospheric inputs of nitrate to a temperate forest ecosystem from $\Delta^{17}O$ isotope ratio measurements. *Geophys. Res. Lett.*, 38: L15805. doi: 10.1029/2011GL047539
- Davidson, E. A., Hart, S. C., Shanks, C. A., Firestone, M. K. (1991): Measuring gross nitrogen mineralization, immobilization, and nitrification by N isotopic pool dilution in intact soil cores. *Soil Sci.*, 42: 335-349.
- Davidson, E. A., Hart, S. C., Firestone, M. K. (1992): Internal cycling of nitrate in soils of a mature coniferous forest. *Ecology*, 73: 1148-1156.
- Dodds, W. K. (2003): Misuse of inorganic N and soluble reactive P concentrations to indicate nutrient status of surface waters. *J. N. Am. Benthol. Soc.*, 22: 171-181.
- Durka, W., Schulze, E.-D., Gebauer, G., Voerkellus, S. (1994): Effects of forest decline on uptake and leaching of deposited nitrate determined from ^{15}N and ^{18}O measurements. *Nature*, 372: 765-767.
- Granger, J., Sigman, D. M., Lehmann, M. F., Tortell, P. D.

- (2008) : Nitrogen and oxygen isotope fractionation during dissimilatory nitrate reduction by denitrifying bacteria. *Limnol. Oceanogr.* 53 : 2533-2545.
- Groffman, P. M., Altabet, M. A., Böhlke, J. K., Butterbach-Bahl, K., David, M. B., Firestone, M. K., Giblin, A. E., Kana, T. D., Nielsen, L. P., Voytek, M.A. (2006) : Methods for measuring denitrification : diverse approaches to a difficult problem. *Ecol. Appl.* 16 : 2091-2122.
- Gruber, N., Sarmiento, J. L. (1997) : Global patterns of marine nitrogen fixation and denitrification, *Global Biogeochem. Cycles*, 11 : 235-266.
- Hammes, F., Vital M., Egli, T. (2010) : Critical Evaluation of the Volumetric "Bottle Effect" on Microbial Batch Growth. *Appl. Environm. Microbiol.*, 76 : 1278-1281.
- Hobara, S., Tokuchi, N., Ohte, N., Koba, K., Katsuyama, M., Kim, S-J., Nakanishi, A. (2001) : Mechanism of nitrate loss from a forested catchment following a small-scale, natural disturbance. *Can. J. For. Res.*, 31 : 1326-1335.
- Hobara, S., McCalley, C., Koba, K., Giblin, A.E., Weiss, M. S., Gettel, G. M., Shaver, G.R. (2006) : Nitrogen Fixation in Surface Soils and Vegetation in an Arctic Tundra Watershed : A Key Source of Atmospheric Nitrogen. *Arc. Antarc. Alp. Res.*, 38 : 363-372.
- Ingersen, J., Butterbach-Bahl, K., Gasche, R., Papen, H. (1999) : Barometric Process Separation : New Method for Quantifying Nitrification, Denitrification, and Nitrous Oxide Sources in Soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 63 : 117-128.
- Isobe, K., Suwa, Y., Ikutani, J., Kuroiwa, M., Makita, T., Takebayashi, Y., Yoh, M., Otsuka, S., Senoo, K., Ohmori, M., Koba, K., (2011) : Analytical techniques for quantifying $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ of nitrate, nitrite, total dissolved nitrogen and ammonium in environmental samples using a gas chromatograph equipped with a quadrupole mass spectrometer. *Microbes Environ.* 26 : 46-51.
- Isobe, K., Koba, K., Suwa, Y., Ikutani, J., Fang, Y., Yoh, M., Mo, J., Otsuka, S., Senoo, K. (2012) : High abundance of ammonia-oxidizing archaea in acidified subtropical forest soils in southern China after long-term N deposition. *FEMS Microbiol. Ecol.* 80 : 193-203.
- Jørgensen, C. J., Elberling, B. (2012) : Effects of flooding-induced N_2O production, consumption and emission dynamics on the annual N_2O emission budget in wetland soil. *Soil Biol. Biochem.*, 53 : 9-17.
- Michalski, G., Scott, Z., Kabling, M., Thiemens, M. H. (2003) : First measurements and modeling of $\Delta^{17}\text{O}$ in atmospheric nitrate. *Geophys. Res. Lett.*, VOL. 30, NO. 16, 1870, doi : 10.1029/2003GL017015, 2003.
- Michalski, G., Meixner, T., Fenn, M., Hernandez, L., Sirulnik, A., Allen, E., Thiemens, M. (2004) : Tracing atmospheric nitrate deposition in a complex semiarid ecosystem using $\Delta^{17}\text{O}$. *Environ. Sci. Technol.*, 38 : 2175-2181.
- Michalski, G., Thiemens, M. (2006) : The use of multi-isotope ratio measurements as a new and unique technique to resolve NO_x transformation, transport and nitrate deposition in the lake Tahoe basin. California Air Resources Board, Sacramento, CA, 03-317 (http://www.arb.ca.gov/research/singl-peroject.php?row_id=60741) .
- Mohn, J., Tuzson, B., Manninen, A., Yoshida, N., Toyoda, S., Brand, W. A., Emmenegger, L. (2012) : Site selective real-time measurements of atmospheric N_2O isotopomers by laser spectroscopy. *Atmos. Meas. Tech.*, 5 : 1601-1609.
- Ohte, N. (2012) : Implications of seasonal variation in nitrate export from forested ecosystems : a review from the hydrological perspective of ecosystem dynamics. *Ecol. Res.*, 27 : 657-665.
- Osaka, K., Ohte, N., Koba, K., Yoshimizu, C., Katsuyama, M., Tani, M., Tayasu, I., Nagata, T. (2010) : Hydrological influences on spatiotemporal 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. *J. Geophys. Res.*, 115 : G02021, doi : 10.1029/2009JG000977.
- Sheppard, S. K., Lloyd, D. (2002) : Direct mass spectrometric measurement of gases in soil monoliths. *J. Microbiol. Met.*, 50 : 175-188.
- Stange, C.F., Neue, H.-U. (2009) : Measuring and modelling seasonal variation of gross nitrification rates in response to long-term fertilization. *Biogeosci.*, 6 : 2181-2192.
- 角皆 潤・小松 大祐・代田 里子・中川 書子・野口 泉・張 勁 (2010) : 三酸素同位体組成を指標に用いた大気沈着窒素—森林生態系間相互作用の定量的評価法. *低温科学*, 68 : 107-120.
- Tsunogai, U., Komatsu, D. D., Daita, S., Kazemi, G. A., Nakagawa, F., Noguchi, I., Zhang, J. (2010) : Tracing the fate of atmospheric nitrate deposited onto a forest ecosystem in eastern Asia using $\Delta^{17}\text{O}$. *Atmos. Chem. Phys.*, 10 : 1809-1820.
- Xiang, S-R., Doyle, A., Holden, P. A., Schimel, S. P. (2008) : Drying and rewetting effects on C and N mineralization and microbial activity in surface and subsurface California grassland soils. *Soil Biol. Biochem.*, 40 : 2281-2289.
- Zobell, C. E., Anderson, D. Q. (1936) : Observations on the multiplication of bacteria in different volumes of stored sea water and the influence of oxygen tension and soil surfaces. *Biol. Bull.*, 71 : 324-342.

要 旨

土壌中での生物地球化学的プロセスの解析、特に生元素の挙動の解析においては、様々な物理的、化学的そして生物的な影響を生元素が同時に受けるため、極めて困難である。そのため、しばしば実験室内で、制御環境下における生元素の挙動を追跡し、得られた結果を野外モニタリングデータの解析へと外挿するが、その際にはいくつか大きなギャップがある。本稿では、このような実験室で得られる結果と野外モニタリングのつながりについて、特に硝化活性というものを中心に、どのような問題があり、どのような解決策があり得るのかについて解説する。特に近年、ガス濃度測定や安定同位体比の利用について、新たな測定解析手法が提案されてきており、本稿ではそれらについて特に解説して行く。

キーワード：室内実験, 圃場観測, 硝化