

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K18663

研究課題名(和文)窒素の有機化・無機化をコントロールする微生物学的要因の解明

研究課題名(英文)Evaluation of microbes controlling nitrogen immobilization and mineralization

研究代表者

内田 義崇 (Yoshitaka, Uchida)

北海道大学・農学研究院・准教授

研究者番号：70705251

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は地力を評価するために、土壤中の微生物が有機物をすきこんだ際にどう変化するかを調査した。まず、有機栽培土壌と慣行栽培土壌を比較した。この実験では、稲わらをすきこんですぐに増減する微生物門を遺伝子レベルで明らかにした。さらに、次の実験では一つの土壌を用いたが、異なる有機物をすきこんだ際の微生物の増減について明らかにした。ここでは、同じ有機物でも、すきこむタイミングや量によって増減する微生物が異なることを明らかにした。このことが窒素循環に与える影響についても評価したが、硝酸やアンモニア態窒素といった無機態栄養素の増減に変化がある場合とない場合が観察された。

研究成果の概要(英文)：To evaluate soil fertility, changes in soil microbial communities before and after the application of organic matter were evaluated. First, the comparison between organically farmed and conventionally farmed soil was performed. We used rice straw as an organic matter. In the next experiment, we evaluated using one soil but with different organic matter sources. We showed that the timing and application rates of soil organic matter were critically important in controlling soil microbial communities. To evaluate nitrogen cycle, we also investigated the flow of ammonium-nitrogen and nitrate-nitrogen. Interestingly, the flow and soil microbial community structures were correlated in one experiment but not for the other. Further studies are needed to research the mechanisms behind the different results.

研究分野：環境生命地球化学

キーワード：土壌微生物 窒素循環 残さ

1. 研究開始当初の背景

良い土は、余分な窒素を有機物として蓄え、必要に応じて無機窒素として植物に提供する。この研究では、窒素をより効率よく有機化/無機化できる土とそうでない土の違いを微生物学的視点から明らかにする。そのために、無機化/有機化を担う土壤微生物群集構造と、窒素無機化/有機化の相互関係を調べる。

2. 研究の目的

有機化/無機化が起こる条件で増減する微生物は何なのか、またその増減をコントロールすることが出来るのかを明らかにする。

3. 研究の方法

まず、有機栽培土壌と慣行栽培土壌を比較した。それら土壌に窒素と有機化を引き起こし微生物を活性化させるための有機物(稲わら)を投入し、短期間で起きる有機化と併せて微生物コミュニティの変化を検証する実験を行った。そのために、土壌中の硝酸態窒素やアンモニア態窒素の増減を数日毎に検証し、同時に1~2週間で複数回DNAを土壌から抽出してバクテリアコミュニティの変化を追った。

具体的には、本大学農場で長期的に(7年間)行われているトマトハウス試験の土壌を利用した。ここでは、有機栽培として、緑肥を利用した区と、慣行栽培として、通常の化学肥料(硫酸アンモニウム)を施肥した区が三反復で同じハウス内に準備されている。

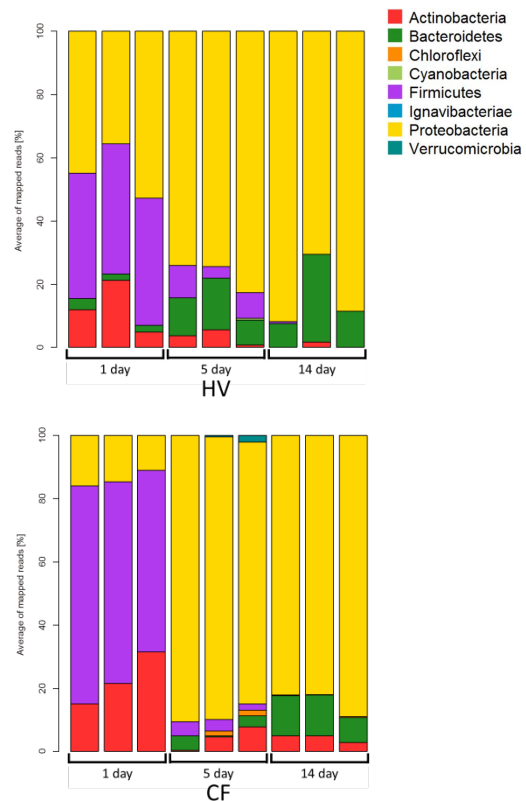
トマト栽培が終わった後の秋に土壌をサンプルし、この土壌を利用した培養実験を行った。上述したように、これら土壌に窒素と稲わらを投入し、無機態窒素の増減と、土壤微生物コミュニティの変化を同時に追う実験を行った。無機態窒素の増減は、土壌を塩化カリウム溶液で抽出し、比色法で分析することで把握した。土壤微生物に関しては、まず土壌からDNAをPowerSoilという土壤微生物遺伝子抽出キットを利用して抽出し、16SrRNAを増幅させ、それを次世代シーケンサーを利用して解析することでコミュニティ構造を調べた。コミュニティ構造の解析には、QIIMEというコマンドラインを用いた。

また、有機物のタイプと投入量、タイミングを変化させる実験も行った。ここでは草地土壌を利用し、投入する有機物としてクローバーやトウモロコシを用いた。これら質の異なる有機物を混ぜて、もしくは異なる順序で投入し、同じ量の有機物が異なるタイミングで投入した場合の土壤微生物コミュニティの変化を精緻に追う実験を行った。

4. 研究成果

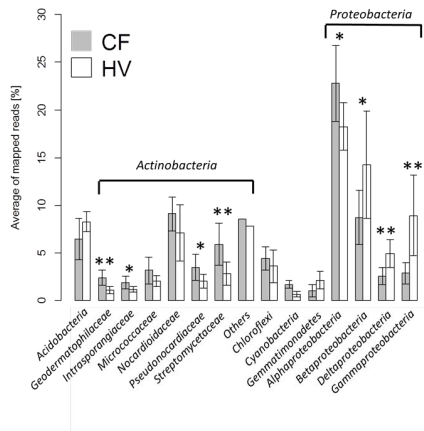
一つ目の実験では、有機栽培土壌と慣行栽培土壌で微生物コミュニティが異なることがわかった。そのことが、有機化の効率に関

連すると考え実験を進めたが、有機化の効率に対しては違いが認められなかった。一方で、有機化が数日~2週間程度という短い期間でおきることを定量し、この期間にProteobacteria門、Actinobacteria門、Firmicutes門などの微生物が急激に増えることも明らかにした。このような微生物グループが有機化の効率を担っていると考えた。下記の図で、有機栽培区(HV)と慣行栽培区(CF)で有機物投入後1、5、14日後に見られた土壤微生物コミュニティの変化を示す。

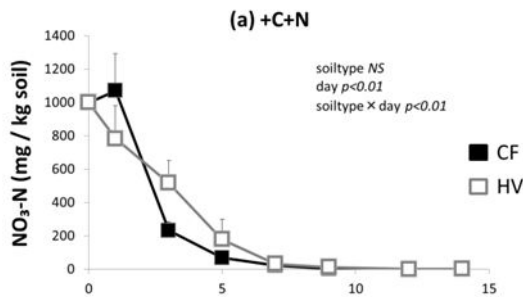


さらに、次ページの図は、有機物を投入する前の有機栽培区(HV)と慣行栽培区(CF)の土壤微生物コミュニティの違いである。様々な門や属に違いが見られるが、有機物を加えると急激に一部の門が増加する傾向は同じであった。つまり、この結果から、土壌有機物の遺伝子的な多様性や構造が異なっても、機能的な能力は同じである可能性が示唆された。

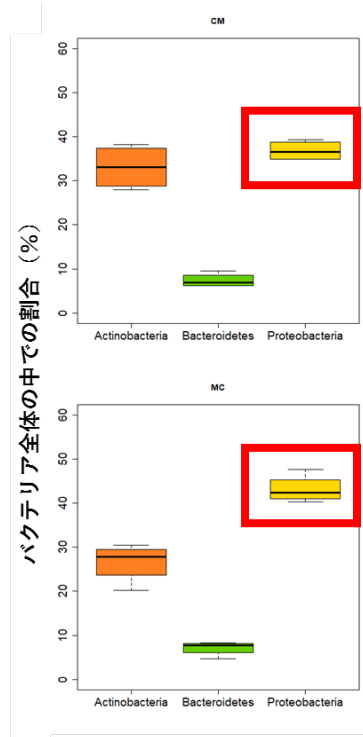
次ページの図は、有機物を施用する前の土壌は多様な微生物がある程度の割合(全体の5%以上)で存在しているが、有機物を投入すると微生物コミュニティが偏ることも明らかになった。短期的に有機物を利用して窒素を有機化している微生物は、全体のうちわずかなのかもしれない。



また、本研究で、同じ期間内に硝酸態窒素がどのように減少するのかを調べることで、前ページで示した土壌微生物コミュニティの増減と、窒素循環に違いが見られるのかを検証したが、硝酸態窒素の減少に関しては大きな違いが見られなかった。下記の図では、HV が有機栽培区、CF が慣行栽培区である。多量の硝酸態窒素が急激に減少しており、これは投入した稲わらの影響があると考えられるが、その減少量やスピードには有意差がなかった。



二つ目の実験では、このような一部の門の増減が、同じ有機物でも施用する順序を変えることで、変化することを明らかにした。例えば、あらかじめクローバーを施用しておいた土壌では、後にトウモロコシを施用しても Proteobacteria 門の強い増加が見られなかったのに対し、逆の条件（トウモロコシを最初に施用しその後クローバーを投入）では Proteobacteria 門が優占種となった（下図）。クローバーとトウモロコシを混合して施用した際にもこういった変化は見られなかった。この実験では、窒素の有機化についてもこの有機物投入順序の影響が見られている。二つの実験でなぜ異なる結果が得られたのかを今後調査していく予定である。また、この実験では 15N でラベリングされた窒素を用いて、窒素の動態についても調べており、今後そのデータを解析する予定である。



CM = クローバー → トウモロコシ、MC = トウモロコシ → クローバー

5. 主な

発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕(計 1 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：
 発明者：
 権利者：
 種類：
 番号：
 出願年月日：
 国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
 発明者：
 権利者：
 種類：
 番号：
 取得年月日：
 国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

内田義崇 (Yoshitaka Uchida)
北海道大学・大学院農学研究院・准教授

研究者番号：70705251

(2) 研究分担者

なし ()

研究者番号：

(3) 連携研究者

なし ()

研究者番号：

(4) 研究協力者

なし ()