

令和 4 年 5 月 25 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K05370

研究課題名(和文) 高CO2環境は水田土壌肥沃度にどう影響するか？多品種水稲残さによる検証

研究課題名(英文) How does elevated CO2 affect paddy soil fertility? Investigation using straws of diverse rice varieties

研究代表者

八島 未和(松島未和)(Yashima, Miwa)

千葉大学・大学院園芸学研究院・講師

研究者番号：60527927

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：コメの生産を支える水田土壌肥沃度は、現在進行している大気CO2濃度の増加により  
確実に  
に変化すると考えられるが、関連知見は不足している。水稲残さを通した土壌肥沃度への高CO2影響を精査する  
必要がある。本研究は、1.高CO2が水稲残さに与える質的变化を多品種で検証した。2.高CO2が水稲残さの分解性  
に与える影響を検証した。Free air CO2 enrichment, FACE試験実施中に栽培した多品種の水稲残さを用いて、  
成分分析と短時間の分解試験を実施した。その結果、多品種・複数年度の水稲残さで高CO2によるNSCの増加、リ  
グニンの減少、分解性の増大が認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

将来の地球環境では、大気中の二酸化炭素濃度が現在よりも大幅に高くなることが予測される。そのような環境  
で稲作を継続した場合、土壌に起こりうる変化は何であるかを追求し、その変化が好ましくなければ対応策を準  
備する必要がある。本研究では、稲わらに注目し、将来環境で作られる稲わらが土壌に与える影響を予測するた  
め、稲わら中の成分分析や、分解性を調査した。その結果、将来環境で作られた稲わらは、現在の環境で作られ  
る稲わらと性質が一部異なることが示唆され、分解性は拡大することが分かった。また、そのような影響は年度  
や異なる品種に関わらず生じていた。今後、この変化が土壌に対する影響をさらに調査する予定である。

研究成果の概要(英文)：Paddy soil fertility that supports rice production may be influenced by the  
ongoing increase in atmospheric CO2 concentration. However, there is a lack of related knowledge. It  
is necessary to investigate the effect of elevated CO2 on soil fertility through paddy rice residue  
(i.e. rice straw). In this study, 1. The qualitative changes that elevated CO2 gives to paddy rice  
residues were examined in diverse varieties. 2. We examined the effect of elevated CO2 on the  
decomposition of rice residue. Using a variety of rice residues cultivated during the Free air CO2  
enrichment experiment (FACE), component analysis and short-term decomposition were tested. As a  
result, we found that NSC significantly increased, lignin decreased, and degradability increased due  
to elevated CO2 in the rice residue of many varieties and multiple years.

研究分野：土壌学

キーワード：大気二酸化炭素濃度 水稲 土壌 炭素 稲わらの分解 非構造性炭素含有率 リグニン 水田肥沃度

## 1. 研究開始当初の背景

### (1) 大気 CO<sub>2</sub> 濃度増加が水田土壌肥沃度に与える影響は未解明である

大気 CO<sub>2</sub> 濃度は年 2ppm 以上のペースで継続的に増加しており、2015 年に 400ppm を超えた。工業化以前と比較すると、44% の増加である。世界の主食コメの生産拠点である水田生態系にもその影響が及ぶ。高 CO<sub>2</sub> (通常よりも 200ppm 高い大気 CO<sub>2</sub> 濃度の環境を指す) が作物の生理に与える影響は直接的であり、光合成速度や収量の変化、そのメカニズムの多くは徐々に明らかとなっている (例えば Hasegawa et al. 2013)。一方、土壌への高 CO<sub>2</sub> 影響は植物を通じた間接的なものが主であり、長期にわたる研究が必要となるため、未解明事項が多く残っている。コメの生産において、土壌が果たす役割は非常に大きく、作期中有機物分解に伴い 100kgN/ha という実に多量の可給態窒素を水稻に供給し、コメの生産を支える。消耗した地力は、収穫後の残さ投入および鋤き込みにより翌年春には回復する。こういった一連の現象に対し、高 CO<sub>2</sub> 環境は確実に影響をおよぼすはずである。

今後の国内の安定的コメ生産のためには、生じうる環境変動要因によって逐一変化する水田土壌肥沃度を予測し、適切に維持・管理していくことが肝要である。しかし、そのツールとして必要不可欠な炭素および窒素循環を記述するモデル (例えば Roth-C や DNDC) は、現状の高 CO<sub>2</sub> 影響に関する知見不足により、大気 CO<sub>2</sub> 増加による影響を一切加味していない。これが水田土壌肥沃度の将来予測に不確実性をもたらす一因となっている。

### (2) 大気 CO<sub>2</sub> 濃度増加が水稻残さを通して与える土壌への影響に注目すべきである

高 CO<sub>2</sub> 環境が土壌中の微生物を中心とした炭素および窒素循環に与える影響の検証は、生育中植物根の滲出有機物を通じたもの、植物の残さを通じたもの、に分けてアプローチすべきである。に関する検証は比較的進んでおり、例えば、高 CO<sub>2</sub> は生育中の植物根の滲出有機物量増加とそれに伴う土壌微生物活性化を導き、その結果、短期的な土壌有機物の分解を増加させる (Allard et al. 2006) などの知見がある。一方、収穫後に地上部重の約半分という多量の残さ (水稻残さ) を土壌に還元するという水田独自の管理体系があるにも関わらず、高 CO<sub>2</sub> 環境で育成した水稻残さを通じた土壌への影響に関しては報告がほとんどない。高 CO<sub>2</sub> が植物残さを通して土壌肥沃度と炭素および窒素循環にもたらす影響に関するデータの積み上げが急務である。

### (3) 大気 CO<sub>2</sub> 濃度増加は、水稻残さの Litter Chemistry を変化させるか？

植物残さの土壌中での分解は『炭素：窒素率 (C/N 比)』に大きく左右される。高 CO<sub>2</sub> 環境下で生産された作物残さは、植物種によっても異なるが、通常 CO<sub>2</sub> 環境下で生産されたものに比べ、窒素率が低い (すなわち C/N 比が高い) という報告が多い (Norby et al. 2001)。水稻の場合、高 CO<sub>2</sub> 環境下で窒素の体内分配を変化させることが知られ、より多くをモミに回し、それ以外の部位に含まれる窒素量を減らす (Kobayashi et al. 2006)。これにより残さとして土壌に還元される窒素量は減少し、長期的に見ると地力窒素の発現量が減少すると仮説を立てることができる。

炭素の『質』に注目すると、高 CO<sub>2</sub> 環境下で水稻残さ中の非構造炭水化物 (デンプン、スクロース、遊離グルコースおよび遊離フルクトース) は増加し、構造炭水化物 (セルロース、ヘミセルロースおよびリグニン) は減少する (Zhu et al. 2016)。これにより鋤き込み後の土壌微生物による残さの分解速度が高くなり、有機物の土壌中での滞在時間 (Mean Residence Time) が短くなると仮説を立てることができる。このように、水稻残さの Litter Chemistry は鋤き込み後の分解、またその後の地力回復プロセスに関与するが、高 CO<sub>2</sub> 影響に関する検証研究がほとんど存在しない。

### (4) 大気 CO<sub>2</sub> 濃度増加による水稻残さへの影響は、品種によって異なるか？

大気 CO<sub>2</sub> 濃度増加が水稻生育に与える影響は、品種によって大きく異なる。玄米収量に対する高 CO<sub>2</sub> の効果はシンクサイズが大きい秋田 63 号やタカナリで大きく (23% および 19%)、あきたこまちやコシヒカリで小さい (15% および 9%) (Hasegawa et al. 2013)。非構造炭水化物含有量に対する高 CO<sub>2</sub> 効果も品種によって異なる (Zhu et al. 2016)。将来予測される高 CO<sub>2</sub> 環境下の栽培される水稻品種は、現在の国内主要品種であるコシヒカリやその血縁品種だけとは限らない。

例えば、現状では水稻栽培面積の 1% にも満たない飼料米の栽培面積は、今後増加していくと予測されている。広範囲の遺伝的形質を持つ複数の水稻品種の水稻残さに対する高 CO<sub>2</sub> 影響を網羅的に評価しておくことは、品種による土壌への影響を事前に予測し、土壌管理分野における気候変動適応策を勘案する際に不可欠である。

## 2. 研究の目的

本研究の目的はまず、(1) 高 CO<sub>2</sub> が水稻残さに与える質的变化を多品種で評価すること、とする。残さの質 (Litter Chemistry) が高 CO<sub>2</sub> によって直接受ける影響を検証し、どのような品種で影響を受けやすいのか、構造的・生理的特徴と合わせて明らかにすることを旨とする。

次の目的は、(2) 高 CO<sub>2</sub> が水稻残さを通して土壤肥沃度に与える影響を検証すること、とする。(1) で得られた結果を参考にしながら、高 CO<sub>2</sub> 環境下で生産された水稻残さが土壤中で分解されるプロセスの特徴を明らかにすることを旨とする。とくに長期的土壤肥沃度を左右すると考えられる、水稻残さ由来炭素・窒素の土壤中での挙動と滞在時間、残さ投入による priming 効果、indigenous な有機物の分解と地力窒素の発現に注目する。

### 3. 研究の方法

#### (1) 実験材料の準備

高 CO<sub>2</sub> の植物残さを通した土壤へ間接的影響の研究には、高 CO<sub>2</sub> 環境で生産された材料 (植物残さ) が必要となる。この材料は人工的な要素を含む温室、チャンバー、ポットなどで生産されたもので代用することができない (Norby et al. 2001)。本課題では、完全に開放系で大気 CO<sub>2</sub> 濃度を通常濃度より 200ppm 高めた環境を実現した高濃度大気 CO<sub>2</sub> 増加実験 (Free air CO<sub>2</sub> enrichment、FACE) で得られた水稻サンプルを使用する。これは現在使用可能な技術の最高峰で得られた『将来環境で栽培された水稻サンプル』である。

つくばみらい FACE 試験地で栽培された多品種の中から、品種の生育応答が特に顕著に現れたものや、特徴のあるものを選定した。2016 年度に栽培された品種からは、KALO DHAN、QINGYU(SEIYU)、SHWENANG GYI、MUHA、MILYANG23、JARJAN の 6 品種と基幹品種であるコシヒカリ、タカナリを選んだ。2017 年度に栽培された品種からは、上記品種に加え、DIANYU を選んだ。2017 年度栽培試験において栽培された NIPPONBARE はジャポニカ品種であるという点から、研究品種に加えた。すべての品種は窒素肥料が施用されていない『0 N 区』で栽培されたものを使用した。

#### (2) 実験方法

まず、各種水稻残さの成分含有量分析を実施した。非構造性炭水化物含有量 (NSC) は次のように調べた。Abe らの酵素抽出法 (Abe and Horii, 1979、Abe ら 1979) を一部改変して実験を行った。すなわち、滅菌瓶 (オートクレーブ用) にボールミルで粉碎した試料およそ 0.5g を正確に計りとり、蒸留水を加えて密栓した。ホットプレート上で煮沸状態になるまで加熱 (デンプンの糊化) 後、栓を軽く開けて放冷した。リン酸緩衝液 (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 12.08g/L<sup>-1</sup>、Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> · 12H<sub>2</sub>O; 3.98g/L<sup>-1</sup>) に  $\alpha$ -アミラーゼとアミログルコシターゼを使用直前に添加した懸濁液を作製し、サンプルに添加したのち、40 °C・24 時間振とうを行った。その間にアルミ秤量皿に濾紙を入れ、135 °C で 2 時間乾燥させる。秤量皿を乾燥機からデシケーターに移し放冷させた後、秤量皿と濾紙の秤量を行った (空恒量、W<sub>0g</sub>)。振とう後の瓶を取り出し、乾燥させた濾紙を用いて吸引濾過を行った。吸引濾過後は 135 °C のオープンにて 24 時間乾燥を行った (W<sub>1g</sub>)。

NSC 含有率は以下の式によって求めた。

$$W_1 - W_0 / 0.5 (\%)$$

NSC 含有率については CW (細胞壁構成物質)、細胞内容物 (CC) の定量法 (Abe and Horii、1979、Abe ら 1979、阿部 1989) の一部を用いた。

次に、各種水稻残さのリグニン含有量を次のように調べた。本試験では King and Heath (1967) の方法に従い、リグニンは Klason リグニンとして定量を行った。各サンプル 4 反復 (各リングごと) で測定し、結果は割合として示した。詳細な測定方法を以下に記す。

##### 脂肪酸の除去

振とうビンに細かく粉碎した乾燥したイネサンプルを 0.5g 入れる。エタノール-ベンゼン混合液を加え、室温で 30 分間振とうした。振とう後、計量した濾紙を用いてサンプル液を濾過した。濾紙とサンプルを、ドラフト内に設置した真空デシケーター中で真空状態で乾燥させ、サンプルの質量を測定した。

##### 酸による加水分解

濾紙からできるだけ多くのサンプルを回収し、500ml のオートクレーブ可能なガラスびんに入れ、10ml の 72% 硫酸を加え、室温で 2 時間振とうした。このとき酸を添加した直後に振り、サンプルを完全に加水分解した。そこに 280ml のイオン交換水を加え、サンプルを入れたガラスびんを 121 °C で 1 時間オートクレーブを行った。あらかじめ秤量したガラス濾紙を通してサンプルを濾過し、イオン交換水を十分に添加し、残留硫酸を洗浄した。その後、濾紙とサンプルを 105 °C の乾燥オープンで 2 時間乾燥させた。

##### リグニン燃焼

サンプルを載せた濾紙をるつぽに入れ、550 °C の炉で 4 時間加熱する。その後サンプルをデシケーター内で完全に冷却し、秤量した。

最後に、水稻残さの分解性を調べるため、土壤懸濁液での培養分解試験 (36 時間) を実施した。36 時間培養試験では、微粉碎した水稻残さを供試土壤と混和し、36 時間にわたる分解試

験を実施した。そして培養 4 時間目、8 時間目、36 時間目の CO<sub>2</sub>生成量と CO<sub>2</sub>生成速度について測定した。これらの CO<sub>2</sub>生成量を測定することにより、排出された水稻残さ由来炭素量について調査し、水稻体を通した大気 CO<sub>2</sub>濃度と品種の違いが、水稻残さすきこみ後の非作付期間中の土壌における水稻残さ由来炭素動態におよぼす影響について考察した。

方法は以下の通りである。

土壌希釈液作成 2 mm のふるいに通した石垣土壌を純水で希釈し、10<sup>-3</sup>土壌希釈溶液を作成した。作成した希釈溶液は恒温器内にて 20 で 24 時間前培養を行った（蓋には土壌前培養用のシリコン栓を用いた）。なお、20 は FACE 実験地つくばにおける年平均気温を基準にした。

○実験方法 カuttingミル(SM100, Restch)で微粉碎した水稻残さを 0.05g(50mg)を薬包紙にとり、ろうとを使って狭口 100ml バイアル瓶に投入した。前培養した 10<sup>-3</sup>希釈溶液 2ml をバイアル瓶に添加し、更に純水を 18ml 混合し加えた(10<sup>-4</sup>希釈溶液)。真空バイアル瓶にガスを採取後、毎回窒素置換を行った(1L/min で約 2 分)。ガス採取は 4 時間、8 時間、36 時間後に行った。

CO<sub>2</sub>排出量は採取したサンプルガス中の CO<sub>2</sub>濃度を、熱伝導型検出器付きガスクロマトグラフ(GC-TCD: GC-12B、島津製作所、京都)を用いて測定した。そして水稻残さを入れた各試験区の結果から、水稻残さ由来 CO<sub>2</sub>放出速度(風乾土 1 kg 当たりの 1 時間ごとの値)および積算水稻残さ由来 CO<sub>2</sub>放出量を示した。また、各ガス採取時点における積算水稻残さ由来 CO<sub>2</sub>放出量を、水稻残さの特性分析で測定した水稻残さ粉末の全炭素量(TC)から算出した本試験に投入した炭素量で割ることにより、水稻残さ炭素の積算分解率を求め、結果として示した。なお、本研究では 36 時間目の時点での水稻残さ炭素の積算分解率を水稻残さの易分解性炭素とみなした。

統計分析 IBM SPSS Statistics Version 26 (IBM, New York, USA)を用いて行った。また、2016 年度・2017 年度ともに CO<sub>2</sub>処理および品種・施肥処理についてそれぞれの単独効果および交互作用を対応のある三元配置分散分析に SAS (Statistical Analysis System)を用いた。

#### 4. 研究成果

##### (1) NSC 含有率

2016 年および 2017 年産の多品種水稻残さの成分分析を完了した。その結果、2016・2017 年度共に高 CO<sub>2</sub>によって有意に NSC が増加したことが分かった。また、品種による有意差も確認された。基幹品種であるコシヒカリとタカナリでは、2016 年および 2017 年ともに高 CO<sub>2</sub>による NSC 効果が顕著であったが、そのほかの品種では複数年間の効果が一貫しない場合も多かった。Miliyang23 では 2016 年度産水稻残さの NSC 含有率は高 CO<sub>2</sub>により最も増加率が高かったが、2017 年度産ではその効果は判然としなかった。また、品種と CO<sub>2</sub>濃度の間に有意な交互効果は見られなかった。品種の効果、CO<sub>2</sub>濃度上昇の効果は独立して働く傾向が強いものと考えられた。図 1 ではコシヒカリおよびタカナリに関する結果を中心に報告する。水稻残さの NSC 含有率は高 CO<sub>2</sub>区でより高く、その増加率は両品種とも 30%を超えていた(図 1)。

##### (2) リグニン含有率

高 CO<sub>2</sub>によりすべての品種で有意に減少が生じた。また、この傾向は 2016 年および 2017 年産の水稻残さで共通していた。高 CO<sub>2</sub>単独での効果は両年度とも認められたが、品種×CO<sub>2</sub>は 2017 年度においてのみ有意となった。2017 年度サンプルにおいて品種によって高 CO<sub>2</sub>への応答が異なることを示唆する。リグニンは光合成同化産物の最大の貯留庫であり、細胞壁は CO<sub>2</sub>を固定する場であるが、高 CO<sub>2</sub>濃度環境下での負の制御が起こったことが示唆された。リグニン含有率の減少はコシヒカリで 37%、タカナリで 16%であった(図 1)。

##### (3) 36 時間分解試験

36 時間の培養実験において炭素積算分解率は培養期間を高 CO<sub>2</sub>区で高い傾向であった。しかし、その効果は品種により異なり、品種と高 CO<sub>2</sub>の間には有意な交互効果が見られた。特にコシヒカリとタカナリに注目すると、2016・2017 年度の結果から高 CO<sub>2</sub>環境による水稻残さ分解性の上昇は、タカナリの方がコシヒカリよりも程度が大きい可能性が示唆された(図 2 および 3)。品種による主効果は有意であった。

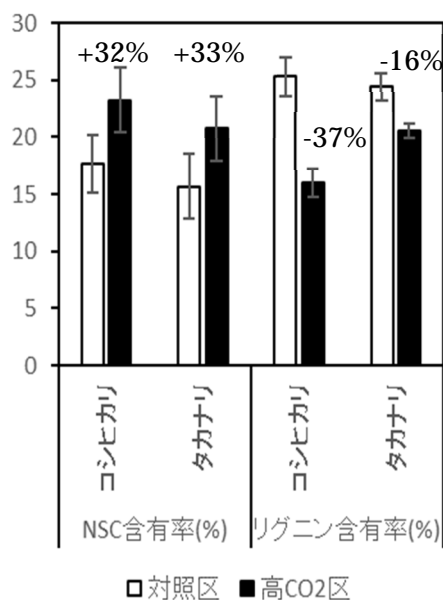


図 1 高 CO<sub>2</sub> が水稻残さ中の非構造性炭素 (NSC) とリグニン含有率に与える影響。图中数値は増減比率。

#### (4) 水稻残さの分解性を制御する要因の検討

水稻残さ分解に伴う炭素分解率は品種や試験区で異なった。土壌中で分解される際にも、分解性が異なる可能性が示唆される。今回実施した測定項目の結果を用いて、水稻残さの分解性を制御する主要な原因が何であるかを検討するため、重回帰分析を行った。その結果 NSC 含有率は今回の試験では炭素分解率に影響を及ぼさず、リグニン/N と C 含有率が分解率に対して負の相関を示し、C/N 比が正の相関を示した。

#### (5) まとめ

本研究では 2016 および 2017 年度産という複数年の水稻残さサンプルを用いて試験を実施した。両年度ともに NSC およびリグニン 含有率に対して、高 CO<sub>2</sub>効果を確認できた。よって、気象の異なる条件下でも、広い遺伝的多様性をもつ品種間で高 CO<sub>2</sub>は作用することが分かった。さらに過去の知見から高 CO<sub>2</sub>により NSC 増加・リグニン減少による水稻残さ分解率の上昇するのではないかという仮説に反し、今回の研究において NSC 増加は分解率の上昇に寄与しておらず、リグニンの減少とそれに対する窒素含有率の比率、また水稻残さの C 含有率によりその分解率が変化することが示唆された。今後、水稻残さの性質に関する他の項目(各種元素含有率など)と分解率の関係の調査や、実際に土壌での分解を試験することが必要であると考えられる。

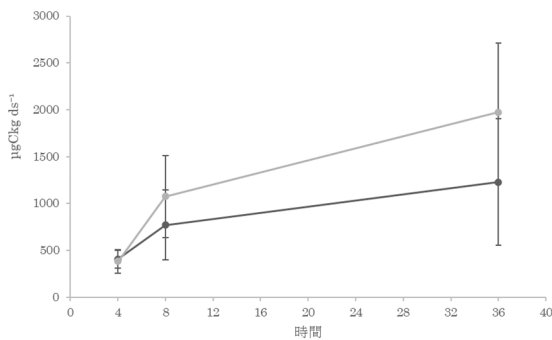


図2 コシヒカリ水稻残さの 36 時間短期培養実験における分解 (CO<sub>2</sub>積算生成量) 図中の表記はそれぞれ 対照区 および 高 CO<sub>2</sub>区 n=4 error bar = SD

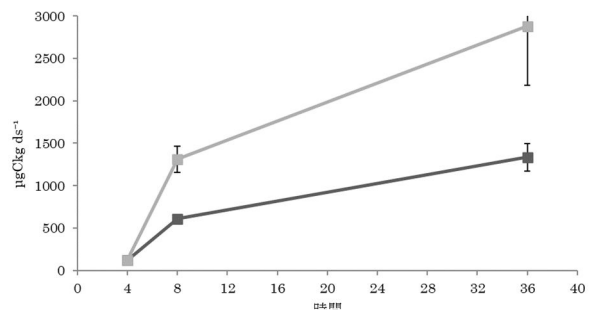


図3 タカナリ水稻残さの 36 時間短期培養実験における分解 (CO<sub>2</sub>積算生成量) 図中の表記はそれぞれ 対照区 および 高 CO<sub>2</sub>区 n=4 error bar = SD

#### 参考文献：

Norby et al. (2001) *Oecologia* 126, 543-562. Allard et al. (2006) *Soil Biology and Biochemistry* 38, 1178-1187. Kobayashi K et al. (2006) In *Managed ecosystems and CO<sub>2</sub>*. Pp 87-104. Hasegawa T et al. (2013) *Functional Plant Biology* 40, 148-159. Zhu C et al. (2016) *CBC Bioenergy* 8, 579-587.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	常田 岳志  (Tokida Takeshi)  (20585856)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・農業環境変動研究センター 物質循環研究領域 広域循環評価ユニット・主任研究員   (82111)	
連携研究者	和穎 朗太  (Wagai Rota)  (80456748)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・農業環境研究部門・上級研究員   (82111)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関