

令和 6 年 6 月 20 日現在

機関番号：12201

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2023

課題番号：19K15721

研究課題名（和文）低施肥栽培を目指した土壌微生物によるプライミング効果発現機構の解明

研究課題名（英文）Priming effect can promote to decompose of soil organic matter and to release nutrition by microorganisms?

研究代表者

早川 智恵（Hayakawa, Chie）

宇都宮大学・農学部・助教

研究者番号：10725526

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本提案課題では、栽培の現場における技術化の可能性を目指し、北海道の火山灰土壌を用いて、(1)プライミング効果による難分解性有機物からの養分放出の検証、および(2)プライミング効果を駆動する微生物群集および最適環境条件（易分解性有機物量）の検証を目的とした。13C標識有機物を用いた室内培養試験により、プライミング効果の発現と易分解性有機物量の関係を解明した。また、易分解性有機物の添加によって土壌微生物が増殖し、プライミング効果を通じて、微生物による腐植からの窒素の獲得が促進されることが示唆された。プライミング効果の発現を担う微生物群は、表層土と下層の埋没腐植土とで異なる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでプライミング効果は温暖化緩和の観点からネガティブに捉えられてきたが、一方、プライミング効果は、土壌有機物の分解が促進されることによって、土壌から植物への養分供給量を増加させる可能性を秘めている。本研究課題の成果より、易分解性有機物の添加による土壌微生物の増殖とプライミング効果の発現を通じて、分解初期には『窒素採掘』によって土壌中の無機態窒素量が増加することが示された。今後さらに発現メカニズムの解明を進めることができれば、プライミング効果を炭素貯留と地力改善に寄与する駆動力として捉え直し、新たな肥培管理法として応用することが期待される。

研究成果の概要（英文）：This study aimed to reveal the mechanisms of the priming effect of volcanic ash soils in Hokkaido, in order to regulate the priming effect in the agricultural fields. Using the 13C tracer incubation experiment, it was shown that the priming effects in the volcanic ash soils depended on the added labile organic matter concentrations. Addition of labile organic matter increased soil microbial biomass and induced 'N mining' through priming effect. Furthermore, it was indicated that microorganisms to induce priming effect can be different between the surface and buried humic soils by 16S rDNA amplicon sequence analysis data.

研究分野：土壌学

キーワード：プライミング効果 火山灰土壌 埋没腐植 窒素採掘 同位体トレーサー法 土壌微生物

1. 研究開始当初の背景

酪農飼料の多くを輸入する日本では毎年 9000 万トンもの畜産廃棄物が排出されており、牛糞の堆肥化利用は炭素貯留と資源リサイクルを両立できる『環境保全型農業技術』として期待されている。しかし、堆肥養分の利用効率は低く、化成肥料との併用が必要である。この結果、農地に過剰蓄積した窒素・リンは地下水汚染リスクを高めており、北海道酪農地域では堆肥を有効利用し、化成肥料の使用を低減化した低施肥栽培技術の確立が急務となっている。化成肥料を低減するには、難分解化した堆肥の養分を作物の需要に合わせて分解・放出させる技術が有効である。近年、易分解性有機物の添加によって微生物の活性が爆発的に上昇する『プライミング効果』によって、難分解性有機物の分解が促進されることが報告された (Kuzyakov, 2010, Soil Biol. Biochem.)。微生物による『プライミング効果』を応用すれば、難分解性有機物からの養分“採掘”が期待できる。

しかし、①難分解性有機物の分解を促進する微生物群集が不明であり、②プライミング効果によって堆肥の炭素貯留効果が相殺するリスクもあるため、プライミング効果を最適化した農地管理技術への応用には至っていない。プライミング効果の発現を担う微生物群集とその最適環境条件を特定できれば、栽培現場におけるプライミング効果の応用が可能となる。

2. 研究の目的

本提案課題では、難分解化した腐植を含む土壌試料として、北海道の堆肥連用圃場および森林土壌を用いて、『プライミング効果』による難分解性有機物からの養分放出を実証する。さらに、作物栽培現場における技術化の可能性を目指して、プライミング効果を駆動する微生物群集および最適環境条件 (易分解性有機物量など) を検証する。

3. 研究の方法

(1) プライミング効果による養分採掘・放出機構の検証

プライミング効果による養分採掘と放出は、易分解性有機物の添加量に依存する (Blagodatskaya and Kuzyakov, 2008, Biol. Fertil. Soil.)。この仮説について検証するため、新鮮な作物残渣が土壌にすき込まれる現場条件を想定し、安定同位体 (^{13}C) により標識された易分解性有機物 (グルコース、またはセルロース) を、濃度を変えて土壌に添加・培養し、プライミング効果の発現とともに、窒素採掘・放出の量と期間について調べた。

(2) プライミング効果の発現を促進する微生物メカニズムの解明

プライミング効果を制御するためには、駆動車である難分解性有機物の分解を担う微生物群の特定、およびその微生物バイオマスの増殖 (窒素採掘) のタイミングを明らかにすることが必要である。 ^{13}C 標識された易分解性有機物 (グルコース、またはセルロース) を添加・培養した土壌を用いて、微生物バイオマス量を経時的に測定するとともに、土壌から抽出した DNA より微生物群集について解析した。

4. 研究成果

(1) プライミング効果の発現と易分解性有機物量との関係

表層土と下層土の両方において、有機物分解速度と、発現するプライミング効果の大きさは、土壌に添加された易分解性有機物濃度に依存することが明らかとなった (Hayakawa et al., 2020)。易分解性有機物としてグルコースを用いた場合にはプライミング効果の発現に対して閾値が存在すること、易分解性有機物の添加量が一定以上になるとプライミング効果は最大に達し、以降は添加量が増加してもプライミング効果は増大しないことが定量的に示された。

(2) プライミング効果による養分採掘と放出機構の検証

添加した易分解性有機物の種類によらず、プライミング効果の発現に伴い、増殖した微生物によって『窒素採掘』が引き起こされたことがみとめられた (図 1, 図 2)。しかし、『窒素採掘』の量や採掘の期間は、土壌に添加した易分解性有機物の種類と濃度、土壌の深さおよび土地利用によって異なることがわかった。

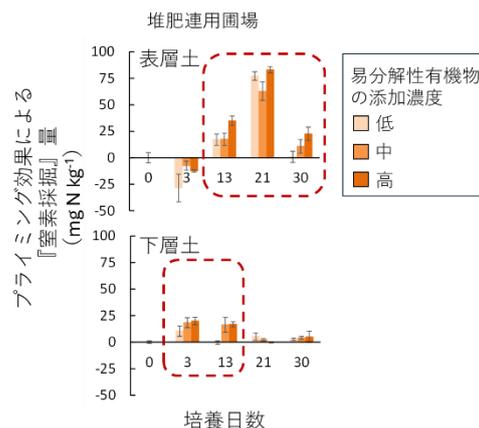


図1. プライミング効果による『窒素採掘』量 (低分子の易分解性有機物添加の場合)
棒グラフのうち0以上の値が、プライミング効果により『採掘』された窒素量であることを示す。

低分子の易分解性有機物（グルコース）を添加した条件では、堆肥連用圃場において、表層土では培養中期から後期の約 2 週間、下層土ではとくに培養初期から中期の約 2 週間の間に、有意に窒素採掘がみとめられた（図 1）。また、『窒素採掘量』は下層土より表層土において多いことがわかった。プライミング効果によって『採掘』された窒素のうち、植物に供給される窒素量（無機態窒素量）の推移についても、併せて追跡を行った（図 2）。図 1 と比較すると、『窒素採掘』量が最大の時に、『窒素供給（放出）』量も増加することが定量的に示された（図 1, 2）。

森林の表層土と埋没腐植土においても、低分子の易分解性有機物（グルコース）を添加した条件において、プライミング効果の発現に伴い有意に『窒素採掘』が起こることがみとめられた。しかし、有意な『窒素供給（放出）』は、限定的な条件でしかみられなかった。一方、高分子の易分解性有機物（セルロース）を添加した条件では、表層土と埋没腐植土の両方において、培養初期から中期の間にプライミング効果による『窒素採掘』がみとめられた。また、『窒素供給（放出）』量は、『窒素採掘』に伴って増加する傾向がみられた。

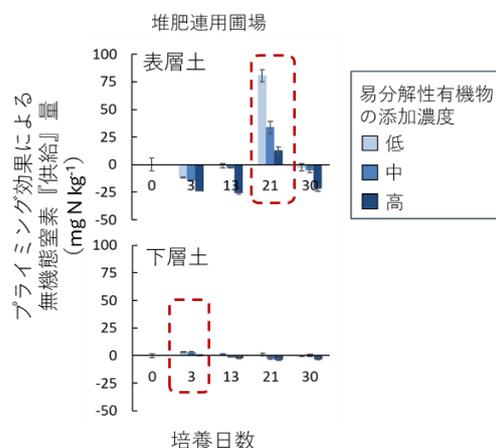


図2. プライミング効果による無機態窒素『供給』量（低分子の易分解性有機物添加の場合）
棒グラフのうち0以上の値は、プライミング効果により『供給』された無機態窒素量（植物が吸収可能な窒素量）であることを示す。

(3) プライミング効果を担う微生物群集の推定

(3.1) 土壌微生物叢とその多様性

調査地土壌より抽出した土壌 DNA を用いて、アンプリコンシーケンス解析により、土壌中の細菌叢と真菌叢について調べた。細菌叢と真菌叢は、表層土と埋没腐植土との間でそれぞれの組成が異なること、また、土地利用によっても組成が異なることがわかった（図 3、土壌微生物叢の解析事例）。

堆肥連用圃場と森林の両方において、表層土に比べると下層の埋没腐植土の方が古細菌の相対存在比が高くなる傾向がみられた。これは、土壌深度が深くなるにつれて地表面からの酸素供給量が減少するなど、土壌環境の変化が微生物叢に影響を及ぼしている可能性が考えられた。細菌叢の内訳をみると、堆肥連用圃場、森林ともに、表層土では *Proteobacteria* 門が最も相対存在比が高く、次いで *Acidobacteria* 門が多かった。一方、下層の埋没腐植土においては、上記に加えて、*Chloroflexi* 門、*Firmicutes* 門の相対存在比も同程度に高く、主要な細菌群を形成していることが明らかとなった。下層土および埋没腐植土の古細菌については、堆肥連用圃場、森林ともに、アンモニア酸化古細菌のグループとして知られる *Nitrososphaeria* 科が 40%以上を占めていることがわかった。真菌叢については、森林では表層土、下層の埋没腐植土ともに、*Basidiomycota* 門が相対存在比の 60%以上を占めていたが、堆肥連用圃場の表層土および下層土では *Basidiomycota* 門の相対存在比はごく小さく、*Ascomycota* 門および *Rozellomycota* 門の割合が大きかった。

また、細菌および真菌叢の α 多様性指数（*Shannon* 指数）は、堆肥連用圃場、森林ともに、表層土より下層の埋没腐植土において低くなる傾向を示した。一方、堆肥連用圃場と森林の間で比較すると、細菌については堆肥連用圃場の方が α 多様性指数が高く、真菌については森林の方が α 多様性指数が高い傾向がみられた。このことから、土地利用によって、細菌と真菌の多様性に变化が生じる可能性が示唆された。

(3.2) プライミング効果を担う微生物群集の推定

安定同位体標識有機物を添加・培養し、プライミング効果の発現が確認された表層土と下層の

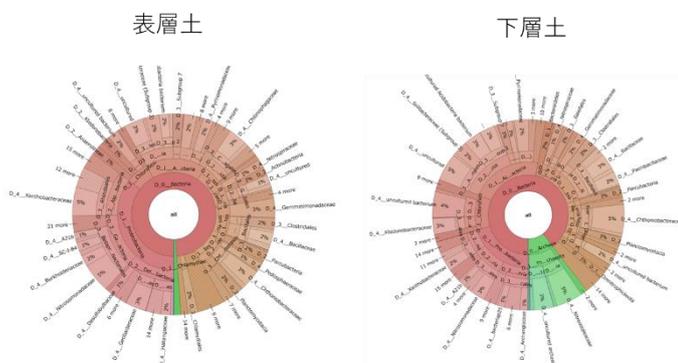


図3. 堆肥連用圃場における表層土と下層土の土壌微生物叢の違い（細菌と古細菌の解析事例）
赤～茶色は細菌、緑色は古細菌のグループを示す。

埋没腐植土を用いて、培養期間中の土壤細菌叢の変化を 16S rRNA 遺伝子のアンプリコンシーケンス解析により調べた。また、プライミング効果の発現と土壤細菌叢との関係について調べ、プライミング効果の発現に関わる微生物群について検討した。

表層土および下層の埋没腐植土では、上記(3.1)における結果と同様に、培養前の細菌叢が異なる傾向がみられた。表層土と埋没腐植土の両方において、培養期間中、微生物バイオマス量の増加と相対存在比の増加のタイミングが一致する微生物群が存在することがわかった。ただし、その微生物群は表層土と下層の埋没腐植土とは異なっていた。このことから、これらの微生物群がプライミング効果の発現を担っている可能性が高いこと、表層土と埋没腐植土では発現を担う微生物群が異なる可能性が考えられた。さらに、同じ深さの土壤においても、添加する易分解性有機物の基質濃度によって、相対存在比が増加する微生物群が異なることがわかった。これらの結果から、火山灰土壤におけるプライミング効果は、土壤深度と供給される易分解性有機物の量によって、異なる微生物群によって引き起こされている可能性が示唆された。

<引用文献>

- ① Blagodatskaya E., Kuzyakov Y., Mechanisms of real and apparent priming effects and their dependence on soil microbial biomass and community structure: critical review, *Biology and Fertility of Soils*, 45, 2008, 115–131.
- ② Hayakawa C., Kobayashi T., Fujii K., Senoo K., Fine root biomass stimulates microbial activity of glucose mineralization in buried humic horizon of volcanic ash soils, *Soil Science and Plant Nutrition*, 66, 2020, 724-733.
- ③ Kuzyakov Y., Priming effects: Interactions between living and dead organic matter, *Soil Biology and Biochemistry*, 42, 2010, 1363-1371.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Chie Hayakawa , Taichi Kobayashi , Kazumichi Fujii, Keishi Senoo	4. 巻 66
2. 論文標題 Fine root biomass stimulates microbial activity of glucose mineralization in buried humic horizon of volcanic ash soils	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Soil Science and Plant Nutrition	6. 最初と最後の頁 724-733
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/00380768.2020.1820757	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 早川智恵
2. 発表標題 微生物の制御による土壌養分採掘と炭素貯留の両立
3. 学会等名 日本学術会議 持続可能な発展のための国際基礎科学年 公開シンポジウム「食・土・肥料 SDGs達成のための基礎科学として」（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 埋没腐植におけるプライミング効果の発現条件の解明
2. 発表標題 早川智恵、藤井一至、植羅優香梨、稲垣善之、妹尾啓史
3. 学会等名 日本土壌肥料学会2020年度岡山大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 早川智恵、藤井一至、植羅優香梨、稲垣善之、妹尾啓史
2. 発表標題 Cellulose addition can promote biodegradation of the burial humus in volcanic ash soils through priming effect
3. 学会等名 日本生態学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Chie Hayakawa, Taichi Kobayashi, Kazumichi Fujii, Yoshiyuki Inagaki, Keishi Senoo
2. 発表標題 Glucose concentration controls priming effects and soil carbon storage under pasture and forest in volcanic ash soils of Hokkaido, Japan
3. 学会等名 European Geosciences Union 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 早川智恵、藤井一至、稲垣善之、妹尾啓史
2. 発表標題 プライミング効果による埋没腐植からの養分採掘機構の検証
3. 学会等名 日本土壌肥料学会2019年度静岡大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 早川智恵、藤井一至、稲垣善之、妹尾啓史
2. 発表標題 埋没腐植におけるプライミング効果の発現条件および養分放出採掘機構の検証
3. 学会等名 日本生態学会名古屋大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>宇都宮大学地域創生推進機構 研究シーズ集 https://www.sic.utsunomiya-u.ac.jp/researchseeds/agr_abr_chie Researchmap https://researchmap.jp/chayakawa http://agri.mine.utsunomiya-u.ac.jp/about/08-01-49.html https://researchmap.jp/chayakawa 黒ぼく土における土壌有機物分解促進機構の解明 http://agri.mine.utsunomiya-u.ac.jp/about/08-01-49.html 株式会社フロムページ 夢ナビ講義動画 https://yumenavi.info/vue/lecture.html?gnkcd=g012567&SerKbn=d</p>
--

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
研究協力者	藤井 一至 (Fujii Kazumichi)		
研究協力者	妹尾 啓史 (Senoo Keishi)		
研究協力者	磯部 一夫 (Isobe Kazuo)		
研究協力者	稲垣 善之 (Inagaki Yoshiyuki)		
研究協力者	堀 知行 (Hori Tomoyuki)		
研究協力者	青柳 智 (Aoyagi Tomo)		

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