

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 28 日現在

機関番号：22604

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2008 ～ 2011

課題番号：20248008

研究課題名（和文） 湿潤地の土壌有機物動態におけるストレス要因の解明とその農業利用

研究課題名（英文） Identification of stress factors in soil organic matter dynamics in humid regions and its utilization in agriculture

研究代表者

小崎 隆 (KOSAKI TAKASHI)

首都大学東京・都市環境科学研究科・教授

研究者番号：00144345

研究成果の概要（和文）：本研究では、湿潤地において定常的な有機物動態を攪乱・変容させるストレス要因を、土壌有機物動態モデルへ定量的に組み込む可能性を検討した。その結果、多糖基質分解プロセスにおいては可溶化/無機化二段階プロセスモデルの、また単糖無機化プロセスにおいては段階的基質利用コンセプトの適用が有用であり、反応論としてミカエリス・メンテン式の利用によって定量的に評価することが可能であった。いずれにおいても土壌酸性がストレス要因として重要なものであることが検証された。

研究成果の概要（英文）：The possibility for introducing stress-factors that could modify the soil organic matter dynamics under humid regions was tested. Two-step decomposition model including both solubilization and mineralization processes in the decomposition of polysaccharides and two-step metabolism by soil microorganisms in substrate utilization were evaluated positively in quantifying influence of stress factors such as soil acidity on the processes; and the Michaelis-Menten kinetics was successfully applied for describing individual decomposition processes. The soil acidity was considered to be one of most important factors that significantly affected both processes.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	11,200,000	3,360,000	14,560,000
2009 年度	6,600,000	1,980,000	8,580,000
2010 年度	5,600,000	1,680,000	7,280,000
2011 年度	5,500,000	1,650,000	7,150,000
年度			
総計	28,900,000	8,670,000	37,570,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・植物栄養学・土壌学

キーワード：湿潤熱帯、ストレス要因、土壌有機物動態モデル、土壌微生物

1. 研究開始当初の背景

土壌および植物バイオマス中への有機物の集積は、農学的見地からはこれが土地生産性を担う主要因子の一つであると同時に、環境科学的には炭酸ガスのシンクとして地球規模の気候変動に対して大きな影響力を持つものであり、異なる生態系におけるそのモ

デル化は重要な課題である。有機物蓄積量の長期動態を予測する生態系モデルはすでに多く考案されており（中～長期的な土壌有機物量を求めるものでは Century model [Parton et al. 1987] や RothC model [Jenkinson et al. 1990] など）、特に温帯以北、半乾燥帯などでは一定の成果が得られて

いる。しかしながら「仮想的な土壌有機物画分」に基づいたこれらのモデルが、メカニスティックな検証に耐えられないという批判も提出されている。

一方筆者らのこれまでの研究では、湿潤地生態系(熱帯～寒帯)においては、強酸性条件や乾湿変動、土地利用の変化(森林から耕地あるいはこの逆)が、土壌有機物動態を大きく変容させることがわかっている。これらを一括してストレス要因と呼ぶことが可能であるが、概してこのような要因は、湿潤地あるいは熱帯地域でより大きな役割を果たすことが多い。湿潤熱帯における土壌有機物動態の記述・予測には、モデルへのストレス要因の組み込みが必須である。

2. 研究の目的

本研究では、湿潤熱帯域における土壌有機物動態モデル構築に必須であるストレス要因の解明を目指す。その際、特に以下の2点を考慮した。

(1) モデルの検証可能性を保証するために、従来成功してきた一般的なアプローチ——土壌有機物を分解(あるいは他の画分への移行)速度定数の異なる複数の仮想画分に分画し、その各画分の線形的な増減を連続的に記述する——に加えて、実測可能な有機物画分(例えば軽・重比重画分のような物理分画を利用する)を利用する可能性を検討する。

(2) 定常的な有機物動態を攪乱・変容させるストレス要因の寄与を定量的に評価する。具体的には、土壌酸性因子、土壌攪乱因子が土壌有機物動態に及ぼす影響を評価する。

3. 研究の方法

(1) ロザムステッド・カーボン(RothC)モデルによって推定された土壌有機物画分の実測可能性の検討。本課題では、ユーラシア各地域において異なる土地利用を含むように広域的に採取した表層土壌を用い、1)土壌有機物現存量のデータからRothCモデルで推定された抵抗性植物残渣画分(RPM)と、実測された土壌有機物の軽比重炭素画分(LFC)の比較、2)RothCモデルにより推定された潜在土壌有機炭素無機化量(PMC)と、実測されたPMCの量および代謝回転速度の比較を行い、RothCモデルによって設定されている各土壌有機物画分のうち、比較的易分解性の画分に対する実測可能性を検討した。

(2) ^{14}C トレーサー法を用いた日本、タイ、インドネシアの森林土壌におけるセルロース分解の速度論的解析。本課題では、植物リターの主成分であるセルロースを基質として、 ^{14}C トレーサー法により、日本、タイ、インドネシアの森林土壌における可溶性・無機化速度を定量評価し、各速度の規定要因を解析することを目的とした。

(3) ストレス要因に対する土壌微生物の応答に関する実験的アプローチ。本課題では、理論的には段階的基質利用コンセプトを、また解析手法としてミカエリス・メンテン式を用いて、基質に対する土壌微生物の応答およびこれに対する酸性・攪乱ストレスの影響を定量的に解析する手法を確立した。

4. 研究成果

(1) RothCモデルによって推定された土壌有機物画分の実測可能性の検討

森林および自然草地より採取した土壌については、RothCモデルによって推定されたRPM量と実測されたLFC量との間で比較的良い相関がみられたが($r = 0.85$)、ほとんどの耕地土壌ではLFC量が非常に低く、LFC量がRothCモデルのRPM量を反映しているとはいえなかった(図1a)。同様にRothCモデルによるPMC推定量と実測されたPMC量を比較したところ、全体としての相関は良好であるが($r = 0.80$)、やはり耕地土壌のPMCを適切に表しているとはいえなかった(図1b)。一方PMCの代謝回転速度(分解速度定数)は、特に耕地と自然草地の土壌において、実測された値の方がRothCモデルで想定されている値よりもはるかに大きかった。これらの結果より、特に耕地土壌で顕著であるが、本課題では測定しなかった微生物活性など他の土壌特性の検討が必要であることが示唆された。

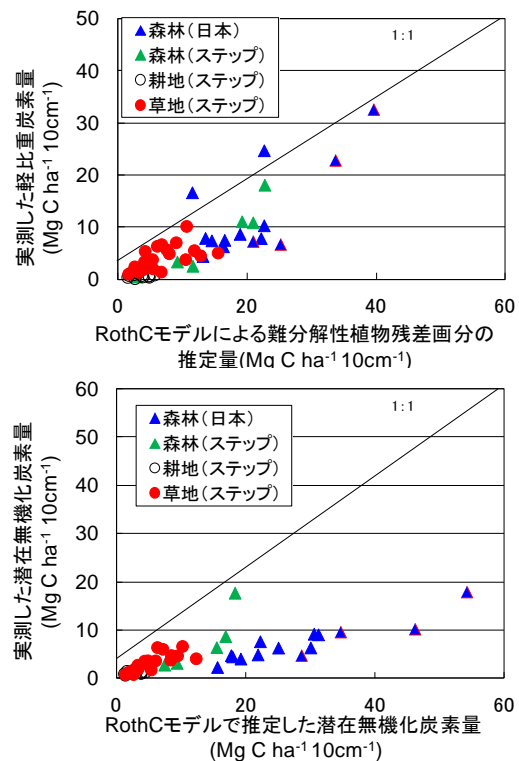


図1 RothCモデルで推定した各有機物プールと実測値との対応関係

(2) ^{14}C トレーサー法を用いた日本、タイ、インドネシアの森林土壌におけるセルロース分解の速度論的解析

本課題で用いた調査地および試料は、日本の長野(NG; Andisols)、丹後(TG; Spodosols)、京都(KT; Inceptisols)、タイ国チェンライ県のRP (Ultisols)、インドネシア国東カリマンタン州のBS, BB, KR1, KR2, KR3 (Ultisols)の各森林土壌である。降水量はいずれの調査地においても1400 mm以上と湿潤であるが、タイのRPは熱帯モンスーン気候のため、明瞭な乾季がある。

① 森林土壌における単糖生分解の速度論的解析および基底呼吸に対する寄与の検討。各森林土壌を用いて、 ^{14}C 標識グルコース無機化の濃度依存性を測定し、得られたパラメーターと土壌溶液中の単糖濃度に基づき、基底呼吸に対する単糖の寄与を推定した。

ミカエリス-メンテン式を回帰して得られた単糖の無機化速度のパラメーター V_{max} と K_M は、それぞれ11-400 $\text{nmol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ と198-3150 $\mu\text{mol L}^{-1}$ と幅広い値を示した。これら森林土壌においては、 V_{max} は主に微生物バイオマス炭素量に規定されることが示唆された。またこれら単糖の無機化パラメーター値を用いて算出した無機化ポテンシャルは、実測された土壌溶液中の単糖プールに基づく推定無機化速度よりはるかに大きい(平均滞留時間は0.4-1.9 h)。また後者で算出した現場の単糖の無機化速度は、基底呼吸速度の平均60%を占めた(図2)。このように、土壌溶液中での継続的な生産と迅速な消費を通して、単糖の無機化は基底呼吸の主要な画分を占めることが示された。

② 日本、タイ、インドネシアの森林土壌におけるセルロース可溶化の速度論的解析。セルロースは植物リターの代表成分であり、従属栄養微生物にとって主要なエネルギー源となる。本課題では、これら各地森林土壌のフィールド実験において、セルロース可溶化の速度定数 k とその規定要因を調べ、微生物のグルコース要求量とセルロース可溶化速度の比較を試みた。積算温度を用いた k 値は土壌によって大きく異なり(1.3-13.3 $10^{-4} \text{ degree-day}^{-1}$)、乾季のデータを除いて、土壌pHと有意に相関した(図3)。セルロースの可溶化速度は、土壌温度に加えて、土壌水分と酸性度によって規定されていると考えられた。得られた k 値と土壌中のセルロース量より、調査地の森林土壌におけるセルロースの可溶化速度は2.7-72.7 $\text{mg C kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ と推定され、グルコースの潜在(最大)無機化速度(26.4-263.4 $\text{mg C kg}^{-1} \text{d}^{-1}$)と比べてかなり低かった(図4)。この結果は、セルロースの可溶化速度が、森林土壌における微生物呼吸由来の CO_2 放出の律速段階となることを示している。

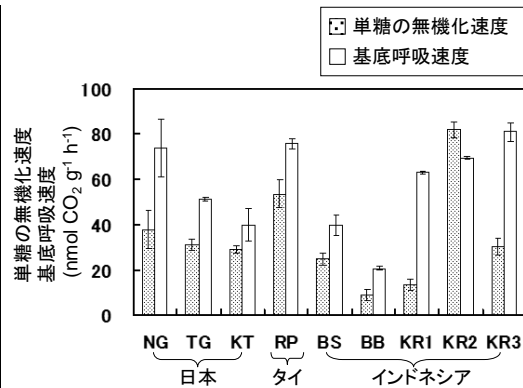


図2 単糖の無機化速度と基底呼吸速度(エラーバーは標準誤差)。ここで基底呼吸速度とは、従属栄養微生物による全 CO_2 放出速度を指す。

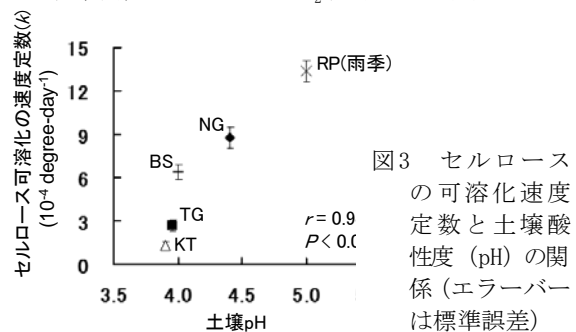


図3 セルロースの可溶化速度定数と土壌酸性度(pH)の関係(エラーバーは標準誤差)

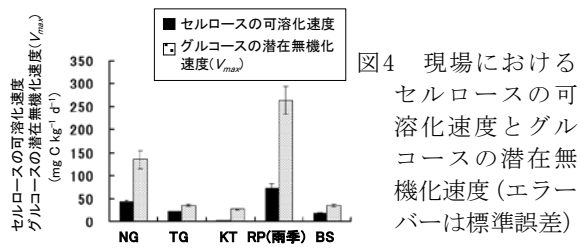


図4 現場におけるセルロースの可溶化速度とグルコースの潜在無機化速度(エラーバーは標準誤差)

③ ^{14}C 標識セルロースを用いた日本、タイ、インドネシアの森林土壌における可溶化・無機化カイネティクスの解析。本課題では、セルロースを代表とする多糖の分解を、可溶化と無機化の二段階プロセスとして解析した。具体的には、土壌試料と ^{14}C 標識セルロースを用いて、可溶化・無機化速度と、可溶化されたセルロースの CO_2 、微生物バイオマス、水溶性有機物、土壌有機物のそれぞれの画分への分配比の定量評価を試みた(図5)。その結果、セルロースから水溶性有機物画分への移行は、いずれの土壌においても常に低く算出され、土壌種に関わらず可溶化されたセルロース由来有機物の吸収速度が非常に速いことが示された。これに対し、セルロースの可溶化速度は土壌によって大きく異なり、土壌pHと正の相関を示した。一方、可溶化されたセルロースの CO_2 、土壌残存画分(微生物バイオマスと土壌有機物)への分配比は土壌間で有意差がなく、土壌種に依存しなかった。よって、セルロースの無機化速度は可溶化速度に大きく依存する一方、可溶化されたセルロースの吸収速度と、微生物バイオマス、水溶性

有機物、土壌有機物画分への分配比の影響は非常に小さかったといえる。

④ まとめ。¹⁴C標識グルコースの無機化実験より、土壌溶液中の単糖は土壌種によらず素早く無機化され、単糖は微生物呼吸の主要な基質となることが示された。またセルロース沪紙を用いたフィールド試験及び¹⁴C標識セルロースの培養実験より、セルロースの可溶化速度は、土壌の酸性度によって影響を受けることが示された。セルロースの可溶化速度はいずれの土壌においても微生物の単糖の無機化能よりも低く律速であり、かつ可溶化後に微生物に吸収されたセルロースのCO₂と土壌中に残存する画分への分配比は土壌種に依存しないため、セルロースの無機化速度は単糖の供給速度、すなわち可溶化速度に規定されていることが明らかとなった。

(3) ストレス要因に対する土壌微生物の応答に関する実験的アプローチ

① 段階的基質利用コンセプトの概要。基質利用効率は、基質炭素のうち微生物バイオマス炭素に組み込まれる割合(組み込まれない分は二酸化炭素として放出される)を意味し、土壌有機物動態モデルにおいては、その値の変動がシミュレーション結果に最も影響を与える重要なパラメーターである。

添加グルコース濃度を違えて測定したところ、基質利用効率は、添加グルコース炭素がバイオマス炭素の50%以下の場合にはグルコース炭素濃度に関わらず一定であるのに対し、添加グルコース炭素がバイオマス炭素の50%以上の場合にはグルコース炭素が増加するにつれて低下するという結果が得られた(図6)。この結果は、基質炭素濃度が低い場合は貯蔵体のみ生成されるが(図7a)、基質炭素濃度が高くなると細胞構成成分である構造体が生成される(図7b)という微生物の段階的基質利用コンセプト(Bremer and Kuikman, 1994)を用いて明確に説明された。以上から、添加基質炭素濃度がある閾値を超えると、基質利用効率が低下し、二酸化炭素の放出割合が増加することが明らかになった。また、これまで提案された有機物動態モデルでは、基質利用効率は基質炭素濃度にかかわらず一定と仮定されているため、根や新鮮有機物近傍などにおいて閾値を超える基質が添加され基質利用効率が低下した場合には、呼吸量が過小評価されることが明らかとなった。

② ミカエリスメンテン式の適用。次に、呼吸速度の短期動態、なかでもこれまで解析手法が開発されていないゼロ次タイプ(最初最大一定でその後減少するタイプ)の呼吸速度を解析するために、ミカエリスメンテン式を用いたモデルを提案した。この式は、最大呼吸速度を含むが、微生物増殖は含まない

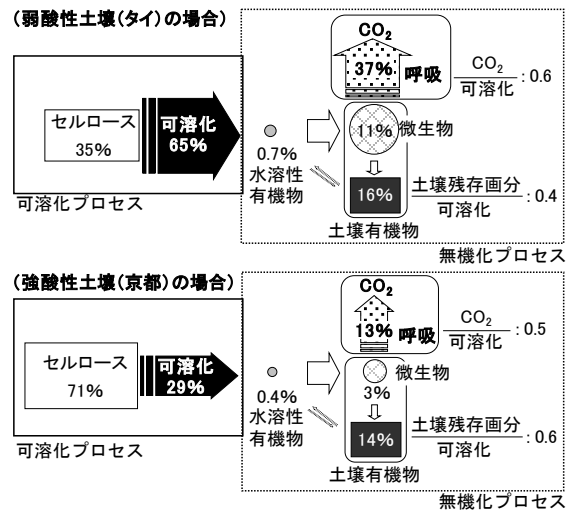
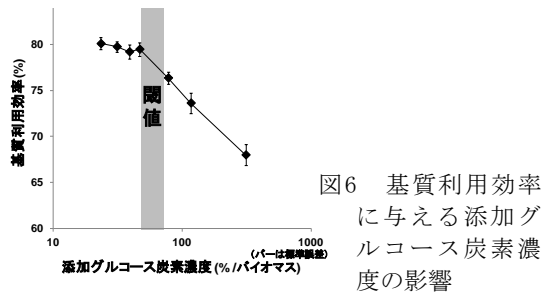


図5 ¹⁴C標識セルロースを用いたセルロースの二段階分解(可溶化・無機化)プロセスの定量評価



(a) 基質炭素が閾値以下



(b) 基質炭素が閾値以上

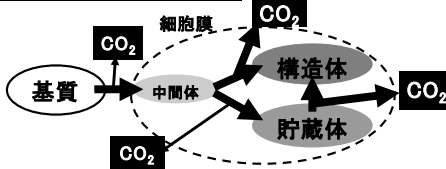


図7 段階的基質利用コンセプト. 基質炭素が閾値以上で、細胞構成成分である構造体が生成され、基質利用効率が低下する。

ものである。まず呼吸を微生物が簡単に利用できる基質(R)の無機化と定常状態での一定速度の無機化に分けた。ストレス要因が小さいと判断したカザフスタン森林土壌を用いて、グルコース添加後のゼロ次タイプの呼吸速度を分析することによって、利用されたRに対する呼吸量の割合とRの初期値を推定した。またこの結果を用いてRの経時的な減少をシミュレートし、ミカエリスメンテン式のパラメーター値 V_{max} と K_M を推定した。得られたパラメーター値を用いて呼吸速度の短期動態をシミュレートすると、推定値は測定値とよく一致した。相関係数と二乗平均平方根誤差(RMSE)の結果は、一次反応式よりミカエ

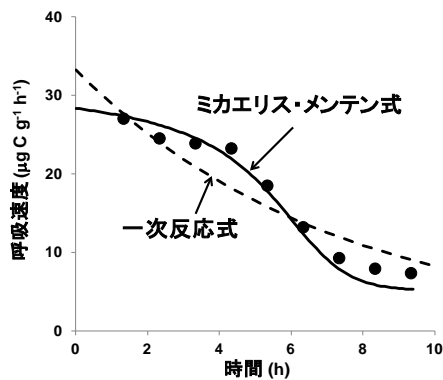


図8 ゼロ次タイプの呼吸速度

リヌーメンテン式の方が推定値は測定値とよく一致することを示した(図8)。また、ゼロ次タイプの呼吸速度だけでなく一次タイプの呼吸速度も推定値は測定値とよく一致した。以上から、ミカエリス・メンテン式は、増加しない呼吸速度の短期動態を解析するのに適していることが示された。

③ ストレス要因の異なる土壌における基質に対する微生物の応答。次に、上記で確立した解析手法を用いて、アジア各地の異なる気候条件下で生成したストレス要因の大きく異なる土壌において、基質に対する微生物の応答を解明した。はじめにストレス要因に関して代表的な3土壌(低ストレスのカザフスタン森林土壌、攪乱ストレスの高い日本農耕地土壌、酸性ストレスの高い日本森林土壌)において、基質利用効率プロファイル解析した。その結果、両土壌においてもストレスの低いカザフスタン森林土壌と同様に、基質利用効率は、グルコース添加濃度が低い場合には一定であったのに対し、グルコース添加濃度がある閾値を超えると低下した。また、日本農耕地土壌と日本森林土壌の閾値はストレスの低いカザフスタン森林土壌より低かった(図9)。

そこで、アジア各地の表層土壌19点において、グルコース添加後の初期呼吸速度と誘導時間を測定した。土壌は、攪乱ストレスの低い天然林や自然草地および耕作や火入れにより攪乱ストレスの高い農耕地の双方から採取した。またこれらの土壌の酸性ストレスは大きく異なっていた。その結果、被攪乱土壌の誘導時間は非攪乱土壌より有意に短くなった。また、初期呼吸速度は酸性ストレスが高いほど低くなった。

以上から、被攪乱農耕地土壌や酸性土壌では、根や新鮮有機物近傍など急激な基質添加がある場合には、基質炭素濃度は比較的容易に基質利用効率が低下する閾値を超えることが示された。そのため、既存の有機物動態モデルでは、攪乱や酸性ストレスの高い土壌の呼吸量は過小評価される可能性が高いことが示された。

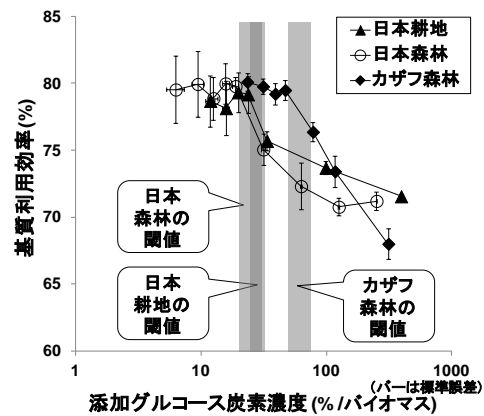


図9 日本農耕地、日本森林、カザフ森林土壌における基質利用効率

④ 攪乱ストレスに対する微生物の応答。土壌に乾燥/再湿潤のような急激な攪乱を加えると、死菌体の消費などを通して呼吸速度が増加することが知られている。本課題では、被乾燥ストレス履歴の異なる土壌を用いて、土壌の乾燥/再湿潤に起因する呼吸速度の短期動態を解析した。その結果土壌の乾燥/再湿潤処理は、呼吸速度と易分解性炭素の増加とバイオマス炭素の減少を引き起こした。特に被乾燥履歴をもたない日本森林土壌では、乾燥/最湿潤処理によってこれらが最も大きく変化するとともに、約半分の微生物が死滅して死菌体由来の基質炭素が増加したため、基質炭素濃度は基質利用効率が低下する閾値を超えた。このようにほとんど被乾燥履歴のない土壌が乾燥/再湿潤を受けるという強度の攪乱を受けた場合、既存の有機物動態モデルが適用できないことが示された。

⑤ まとめ。理論的には段階的基質利用コンセプトを、また解析手法としてミカエリス・メンテン式を用いて、基質に対する土壌微生物の応答を定量的に解析することに成功した。またこのような解析手法を攪乱や酸性ストレスの高い土壌に適用することによって、ストレス要因に対する土壌微生物の応答の解明が可能となった。

(4) まとめ

本研究を遂行するにあたって留意した2点に関し総括すると、1) 検証可能性を担保するために、従来型構造のモデルにおいて実測可能な有機物画分を利用しようとするアプローチに関しては、自然土壌と比べて耕地土壌においては困難であると考えられた。ここでは微生物特性など新たな要因への考慮が必要となろう。また、2) 定常的な有機物動態を攪乱・変容させるストレス要因の評価においては、本研究で用いた多糖基質分解プロセスにおける可溶化/無機化二段階プロセスモデル、および単糖無機化プロセスにおける段階的基質利用コンセプトの適用が有用であり、反応論としてミカエリス・メンテン式の利

用によって定量的に評価することが可能であった。いずれにおいても土壌酸性がストレス要因として重要であることが検証された。

(5) 引用文献

- Bremer E, Kuikman P 1994. *Soil Biol. Biochem.*, 26, 511-517.
- Jenkinson DS 1990. The turnover of organic carbon and nitrogen in soil. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 329, 361-368.
- Parton WJ et al. 1987. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 51, 1173-1179.
- Schimmel JP, Weintraub MN 2003. *Soil Biol. Biochem.*, 35, 549-563.

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 24 件)

- ① Hayakawa C, Fujii K, Funakawa S, Kosaki T 2011: Biodegradation kinetics of monosaccharides and their contribution to basal respiration in tropical forest soils. *Soil Science and Plant Nutrition*, 57 (査読有), 663-673, doi:10.1080/00380768.2011.623226.
- ② Sawada K, Funakawa S, Kosaki T 2010: Simulating short-term dynamics of non-increasing soil respiration rates by a model using Michaelis-Menten kinetics. *Soil Science and Plant Nutrition*, 56, 874-882 (査読有), doi: 10.1111/j.1747-0765.2010.00495.x.
- ③ Funakawa S, Shinjo H, Kadono A, Kosaki T 2010: Factors controlling in situ decomposition rate of soil organic matter under various bioclimatic conditions of Eurasia. *Pedologist* (査読有), 53, 50-66.
- ④ Sawada K, Funakawa S, Kosaki T 2009: Different effects of pH on microbial biomass carbon and metabolic quotients by fumigation-extraction and substrate-induced respiration methods in soils under different climatic conditions. *Soil Science and Plant Nutrition*, 55, 363-374 (査読有), doi: 10.1111/j.1747-0765.2009.00378.x.
- ⑤ Kadono A, Funakawa S, Kosaki T 2009: Factors controlling potentially mineralizable and recalcitrant soil organic matter in humid Asia. *Soil Science and Plant Nutrition*, 55, 243-251 (査読有), doi: 10.1111/j.1747-0765.2008.00355.x.
- ⑥ Sawada K, Funakawa S, Kosaki T 2008:

Soil microorganisms have a threshold concentration of glucose to increase the ratio of respiration to assimilation. *Soil Science and Plant Nutrition*, 54, 216-223 (査読有), doi: 10.1111/j.1747-0765.2007.00235.x.

[学会発表] (計 22 件)

- ① Funakawa S 2011: Significance of soil acidity to sequester organic carbon in soils. KSEA's 30th Anniversary International Symposium, 7 July 2011, Jeju, Korea.
- ② 沢田こずえ、舟川晋也、小崎隆 2010: 乾燥履歴の異なる土壌における乾燥再湿潤処理によって増加する基質炭素濃度の推定——添加グルコース炭素濃度を指標として. 日本土壌肥料学会 2010 年度大会、2010 年 9 月 9 日、北海道大学.
- ③ 早川智恵、藤井一至、舟川晋也、小崎隆 2010: ^{14}C トレーサー法を用いた土壌における有機物分解速度と蓄積割合の定量的解析. 日本土壌肥料学会 2010 年度大会、2010 年 9 月 9 日、北海道大学.
- ④ Kadono A, Funakawa S, Kosaki T 2010: Modeling of carbon flux in grassland ecosystems in Ukraine. 19th World Congress of Soil Science, Brisbane Convention and Exhibition Centre, 1-6, August, Brisbane, Australia.

[図書] (計 4 件)

- ① Funakawa S, Watanabe T, Nakao A, Fujii K, Kosaki T 2011: 5. Pedogenetic acidification in upland soils under different bioclimatic conditions in humid Asia. In *World Soil Resources and Food Security*. Eds. R. Lal and B.A. Stewart. p.169-269, CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, London, New York.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小崎 隆 (KOSAKI TAKASHI)
首都大学東京・都市環境科学研究科・教授
研究者番号: 00144345

(2) 研究分担者

縄田 栄治 (NAWATA EIJI)
京都大学・農学研究科・教授
研究者番号: 30144348

舟川 晋也 (FUNAKAWA SHINYA)
京都大学・地球環境学学・教授
研究者番号: 20244577

矢内 純太 (YANAI JUNTA) (H20 のみ)
京都府立大学・生命環境科学研究科・教授
研究者番号: 00273491