

平成 22 年 9 月 9 日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2008～2009

課題番号：20780173

研究課題名（和文） 節水灌漑下における土壌微生物の化学走性・水分走性が窒素循環に及ぼす影響

研究課題名（英文） effect of chemotaxis and hydrotaxis of soil microbes on nitrogen cycle during water saving irrigation

研究代表者

末継 淳（SUETSUGU ATSUSHI）

名古屋工業大学・工学研究科・プロジェクト研究員

研究者番号：50398335

研究成果の概要（和文）：点滴灌漑および陶器灌漑の条件を考慮した水分分布の予測を、数学モデルを用いて行った。この予測計算により、灌漑の強度と間隔を様々に変えた結果を比較し、現実的な灌漑条件となるような実験条件を行った。次に、滅菌型 Hele-Shaw 土壌槽の設計と、効率的灌漑を模した小スケールの水分供給装置を作製した。Hele-Shaw 土壌槽を用いて、節水灌漑前後の土壌に含まれる微生物群集の化学走性および水分走性の測定と、化学走性に関する微生物群集構造の解析を行った。

研究成果の概要（英文）：We calculated the distribution of water by using mathematical model implemented with drip irrigation and pitcher irrigation. Based on the calculation, condition of irrigation was evaluated by varying the strength and interval of irrigation. Then, we designed the sterilized Hele-Shaw soil column and prepared the small-scale water supplying equipment. With the Hele-Shaw soil column, chemotaxis and hydrotaxis of microbial community in soil before and after water saving irrigation were evaluated.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合 計
2008 年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2009 年度	500,000	150,000	650,000
総 計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農業工学

キーワード：土壌物理

1. 研究開始当初の背景

(1) 点滴灌漑 (drop irrigation) や陶器灌漑 (pitcher irrigation) などの節水灌漑では、局所的な水分分布の形成による植物の水利用効率の向上が期待される。また、植物への効率的な養分供給や地下水汚染の防止には、節水灌漑下での窒素循環などが重要である。しかし、乾燥した土壌などでは不均一流が発生しやすく、窒素循環に関わる微生物の多くが自発的移動をするため、節水灌漑下での土壌窒素循環を正確に予測することは困難である。そこで、点滴灌漑および陶器灌漑下での土壌水分の移動・分布様式が、窒素代謝に関わる微生物の群集構造と窒素イオン種の空間分布に与える影響を明らかにする必要がある。また節水灌漑前後の土壌に含まれる微生物群集の化学走性 (chemotaxis) および水分走性 (hydrotaxis) の測定と、化学走性に関与する遺伝子発現量および微生物群集構造の解析によって、微生物細胞の自発的移動に基づく空間分布形成の可能性の検証が求められている。

2. 研究の目的

(1) 局所的な水分分布の形成による節水灌漑 (マイクロ灌漑) の代表的な方法には、陶器灌漑や点滴灌漑がある。陶器灌漑は、透水性の高い素焼きの壺に灌漑水を入れて植物根近傍に埋設し、植物へ水分を局所的に少量ずつ供給する方法である。陶器灌漑は、少ない初期投資で行えるため、乾燥地・半乾燥地の小規模農家が伝統的に行ってきたが、大規模化が困難で、陶器の埋設や水の補給のために多大な労働力を要する。一方、点滴灌漑は、多孔質の素焼き管を用いた陶器灌漑が発展したものであり、点滴を行うノズルや穴がもうけられたビニールチューブや竹などを、地表面もしくは地中に設置して、植物へ水分を局所的に少量ずつ供給する方法である。これらの節水灌漑法の有効性は、設備の利用可能性や持続性が保証される場合でも、土壌・水質・気候・作物の特性などの多くの要因に左右されるため、節水灌漑時の用水量の推定や

灌漑スケジュールの理論化などの多くの研究が行われている。特に、灌漑効率とは土壌中に不均一流が形成されると劇的に変化するため、不均一流の形成や散逸過程の研究も数多く行われている。また、土壌中の溶質移動も不均一流によって著しい影響を受けることが知られている。Hanson らは、窒素肥料溶液の点滴灌漑時の窒素成分の移動と形態変化を、Simunek らの二重間隙モデルを用いてシミュレートできることをしめすなど、不均一流が発生した場合の窒素循環過程も予測可能になりつつある。さらに微生物活動が不均一流の形成に及ぼす影響に関する研究も行われている。

本研究では、フィンガー流やバイパス流を Hale-Shaw 土壌槽内で発生させ、無菌通気下で培養した後、土壌中に形成される窒素イオン種と微生物群集の空間分布を明らかにする。また、微生物群集や窒素成分の空間分布をもたらす機構を十分考慮し、局所的に添加された灌漑水に対して、土壌微生物が化学走性や水分走性によって実際に誘引されるかを検証する。以上の因子を考慮することで、節水灌漑時に生じる土壌中の窒素成分の動態を定量的に予測し、湿潤領域に集積する微生物群集の特徴を推定する。

3. 研究の方法

本研究では、節水灌漑下における3つの因子、((1) 節水灌漑方式、(2) 微生物の化学走性・水分走性、(3) 窒素代謝活性の空間分布) が窒素循環に及ぼす影響を明らかにする。これらの結果を踏まえ、微生物の化学走性・水分走性を考慮して、節水灌漑下で窒素循環過程のモデル化を行う。

(1) 節水灌漑方式によって水分供給の様式は様々であるため、代表的な節水灌漑法である点滴灌漑および陶器灌漑を行う。特に陶器灌漑においては、陶器の埋設や水の補給にかかる労働量を削減するため、自動給水が可能な簡易陶器灌漑システムを設計し、同量の水

を使用した点滴灌漑の結果と比較する。これらの2つの節水灌漑法の結果を再現できるように、撥水性に基づく不均一流のモデルと Hydrus2D という汎用的モデルを組み合わせでモデル化を行う。

(2)微生物の土壌中での化学走性については、数学モデル化が数多く行われているが、土壌中の微生物の化学走性を実際に観測するためには多くの工夫が必要であり、土壌微生物群集の全体を対象とした研究は困難である。そこで、化学走性に関与する遺伝子の塩基配列に基づいたユニバーサルプライマーを用いて、土壌微生物群集全体から化学走性を持つ遺伝子転写産物を逆転写・増幅・検出し、検出される遺伝子発現量と群集構造の空間分布を測定することで、化学走性を示す土壌微生物の空間分布を明らかにする。この遺伝子増幅法には、非特異的産物の生成を抑制する方法と、既往のデータに基づく正確な融解温度条件を使用する。一方、微生物の水分走性をもたらす遺伝子は特定されていないため、遺伝子抽出に基づく方法だけではなく、土壌から抽出した生菌の土壌水溶液に対する化学走性と、水ポテンシャル勾配に対する水分走性を実際に測定することで、自発的移動能力が高い微生物が空間的にどのように分布しているのかを明らかにする。さらに、化学走性を誘導すると期待される低濃度の酢酸を灌漑水に加えて Hele-Shaw 実験を行い、微生物群集と窒素イオン種の空間分布がどのように変化するのかを調べることで、窒素循環モデルにおいて化学走性を考慮する必要性を検証する。

(3)節水灌漑下での窒素循環モデルに組み込めるように、十分に小さなメッシュ間隔 (1 cm 程度) でサンプリングを行い、土壌水分分布との関係を明らかにする。また、通常の活性測定法では、土壌水分を最適化して測定を行うため、サンプリング時の水分分布の影響を反映していると考えられる。これらのデータに基づいて、節水灌漑下での土壌中の窒素循環過程を推定するモデルを作成する。

4. 研究成果

(1) 点滴灌漑および陶器灌漑の条件を考慮した水分分布の予測を、数学モデルを用いて行った。この予測計算により、灌漑の強度と間隔を様々に変えた結果を比較し、現実的な灌漑条件となるような実験条件を行った。次に、滅菌型 Hele-Shaw 土壌槽の設計と、効率的灌漑を模した小スケールの水分供給装置を作製した。Hele-Shaw 土壌槽を用いて、節水灌漑前後の土壌に含まれる微生物群衆の化学走性 (chemotaxis) および水分走性 (hydrotaxis) の測定と、化学走性に関与する微生物群衆構造の解析を行った。まず、DNA 組成に基づく微生物群衆構造解析において、PCR 実験における非特異的産物によって微生物群衆を正しく評価できない可能性があるため、3'末端近傍を LNA (Locked Nucleic Acid) で就職したユニバーサルプライマーと 3'→5'エキソヌクレアーゼ活性 (校正活性) を持つ DNA ポリメラーゼを用いて、実験方法の最適化を行い微生物群衆構造の解析を DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) によって確認した。つぎに、Hele-Shaw 土壌槽を用いて微量濃度の酢酸水溶液を用いた節水灌漑を行い、微生物群衆構造の空間分布への影響を調べた。さらに、微生物群衆構造解析によって得られたデータを確認するため、液体窒素による凍結処理を行わない土壌試料から微生物細胞を回収して、土壌水溶液を用いた寒天培地上での化学走性の測定と、ガラスビーズ (平均粒子径 50 μm) 中の水ポテンシャル勾配下での水分走性の測定を行った。

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)

〔学会発表〕(計1件)

① A. Suetsugu, K. Asakura, T. Miyazaki, K. Hori
“ ^{13}C PST/MAS and CP/MAS NMR for estimation of biodegradation properties of environmental organic matters at hydrated and

desiccated states” 5th International Conference
Interfaces Against Pollution, Kyoto, Japan,(2008
年 6 月 1 日)

6. 研究組織

(1)研究代表者

末継 淳 (SUETSUGU ATSUSHI)

名古屋工業大学・工学研究科・プロジェクト研究員

ト研究員

研究者番号：50398335