

令和 5 年 6 月 27 日現在

機関番号：14301

研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化(A））

研究期間：2021～2022

課題番号：20KK0261

研究課題名（和文）土壌微生物による鉱物吸着態窒素（MAON）の利用様式の解明

研究課題名（英文）Elucidating microbial utilization of mineral associated organic nitrogen in soils

研究代表者

渡邊 哲弘（Watanabe, Tetsuhiro）

京都大学・地球環境学堂・准教授

研究者番号：60456902

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 6,400,000円

渡航期間：13ヶ月

研究成果の概要（和文）：陸域における最大の窒素プールである鉱物吸着態有機窒素の蓄積形態とその微生物による利用の分析に取り組んだ。成果として、有機窒素を吸着する鉱質成分である活性Al・Feの分布に与える、主要な土壌生成因子の影響を明らかにした。また、火山灰土壌の表層から下層にかけて、植生由来の有機成分（リグニン、多糖類等）が減少するとともに、微生物由来の窒素含有有機化合物が増加することを示した。さらに、活性Al・Feによって有機窒素の微生物利用が阻害されること、有機物による活性Al・Feの被覆が有機窒素の微生物利用性を高めることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

窒素は植物の生産量を制限する極めて重要な元素である。現在、その循環量が農業を主とする人間活動によってかつてないレベルまで増大し、深刻な環境問題として顕在化している。本研究の成果は、有機窒素の蓄積と分解に大きく影響する活性Al・Feの分布について、その規定因子の影響を明らかにし、活性Al・Feの広域分布の理解への基礎を与えた。また、有機窒素の活性Al・Feへの吸着により、その分解が影響されることを示し、窒素動態の理解を進めることができた。

研究成果の概要（英文）：In this project, mineral associated organic nitrogen, which is the largest terrestrial nitrogen pool, was investigated in terms of its accumulation form and microbial utilization. First, the influence of major soil forming factors on the distribution of active Al/Fe, which stabilize organic nitrogen, was clarified. Also, decreases in plant-derived organic compounds (e.g., lignin and polysaccharides) and increases in microbial-derived compounds (e.g., nitrogen containing organic compounds) were observed with increasing soil depth. The utilization of organic nitrogen was inhibited by the adsorption of organic nitrogen on active Al/Fe, but the effect was weakened by the organic matter coverage on active Al/Fe.

研究分野：土壌学

キーワード：窒素循環 粘土鉱物 土壌 生物地球科学

1. 研究開始当初の背景

窒素は植物の生産性を制限する元素である。そのため、農地における窒素の施用は生産を向上させるうえで不可欠であり、我々の生活は窒素の利用の上に成り立っている。しかしながら、農地への多量の窒素の投入にともない、硝酸 (NO_3^-) の流出による水質汚染、一酸化二窒素 (N_2O) と一酸化窒素 (NO) の放出による温暖化、オゾン層破壊、大気汚染が顕在化するなど、窒素循環量の増大が人類の存続を脅かす二大環境問題の一つとなっている (Steffen et al. 2015)。直接的に問題となる硝酸 (NO_3^-) やガス態窒素 (N_2O , NO) の放出プロセスについて多くの研究がなされているが、それらの供給源となっている土壌中の有機窒素の研究が、その蓄積形態の複雑さから十分に進んでおらず、窒素動態の予測に必要な有機窒素からの窒素供給プロセスの理解が欠けている (Jilling et al. 2018, Wooliver et al. 2018)。

土壌中の有機窒素の微生物による利用は、溶存化によって始まり、その後の形態変化で NO_3^- や N_2O , NO などが生成する。これまで、溶存有機窒素の主な給源は、分解の程度が低く粘土鉱物と吸着していない粒子状有機窒素であると想定されていた (Schimel & Bennett 2004)。しかし、土壌中の有機窒素のほとんどは粘土鉱物と吸着した鉱物吸着態有機窒素 (Mineral associated organic nitrogen: MAON) として存在しており (多くの土壌で 80~90%)、微生物が放出する有機酸によって脱着する MAON が溶存有機窒素の供給源として重要であることが指摘されている (Jilling et al. 2018, Wooliver et al. 2018)。この MAON からの窒素の放出については、粘土鉱物との吸着による蓄積形態や微生物による有機酸の放出が重要であると想定されているものの、まだ研究が始まったばかりである。陸域における窒素動態の予測とその制御に向けて、MAON の蓄積形態と、微生物によるその利用様式を明らかにすることが不可欠である。

2. 研究の目的

基課題で取り組んでいる土壌有機炭素の蓄積・分解を制御するメカニズムの解明を、同じく有機物を構成する MAON の蓄積形態と微生物によるその利用の理解へと発展させることができれば、窒素動態の理解を進めることができる。そこで本研究では、MAON の微生物による利用様式を明らかにすることを目的とし、土壌有機物の粘土鉱物への吸着に着目し MAON の蓄積形態を調べるとともに、微生物による有機窒素利用の解析を行った。

3. 研究の方法

(1) 活性 Al・Fe は、有機態窒素を吸着する土壌成分として重要である。そこで、活性 Al・Fe の分布を規定する因子を明らかとするために、異なる気候および地質条件を有する熱帯火山帯の土壌を対象とし、活性 Al・Fe の分布を調べた。

(2) 鉱物吸着有機物の蓄積状態を解析するため、森林植生下に成立した火山灰を母材とする土壌について、O 層、A 層、B 層からサンプルを採取し、熱分解分析による土壌有機物の分子構造の決定と窒素ガス吸着分析による土壌粒子の比表面積の測定を行った。

(3) 微生物による鉱物吸着態有機窒素の利用様式を解明するため、(2) に用いた土壌について、有機窒素の鉱物への吸着が、微生物の窒素利用に与える影響を評価した。遊離アミノ酸、鉱物吸着アミノ酸、タンパク性アミノ酸の微生物による利用は、 ^{13}C 標識アミノ酸 (L-Alanine)、鉱物に吸着させた ^{13}C 標識アミノ酸、タンパク性アミノ酸 (カゼイン、標識無) を添加した後、培養を行うことで調べた。遊離アミノ酸と鉱物吸着アミノ酸の利用は、同位体トレーサー法に基づき、無機化率 (添加炭素量に対する CO_2 放出量の割合) を求めることで調べた。

4. 研究成果

(1) 土壌生成因子について因子分析を行い、その因子得点と活性 Al・Fe の関係 (表 1) より、温度、風化程度、乾燥が、異なるメカニズムを通して、活性 Al・Fe の分布を決めていることが明らかとなった。すなわち、低温が有機物分解の遅延と鉱物結晶化の障害を通じて、有機-Al・Fe 複合体の形成と維持に重要である一方、低結晶鉱物については、風化程度がより強い制限因子であることを明らかにした。また、乾燥が鉱物の結晶化を促し、活性 Al・Fe 量を減らすことを示した。

表 1 因子分析によって抽出した土壌生成に関わる因子と活性 Al・Fe の間のピアソン相関係数

	温度因子	風化因子	水分因子
活性Al	-0.60 **	-0.54 **	0.43 *
活性Fe	-0.46 *	-0.55 **	0.50 **
有機-Al複合体	-0.72 ***	-0.31	0.32
有機-Fe複合体	-0.64 ***	0.02	0.37
低結晶鉱物Si	-0.35	-0.66 ***	0.45 *
低結晶鉱物Al	-0.28	-0.62 ***	0.33
低結晶鉱物Fe	-0.08	-0.68 ***	0.22

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$

(2) 土壌有機物の熱分解分析により、主要な有機物質のうち、O 層から B 層へ向けてリグニンおよびセルロースを含む糖類の割合が減少し、一方で単環芳香族炭化水素、窒素含有有機物、

低分子アルケンの割合が増加していることが分かった(図1)。地上部植生より供給された有機物の分解が、土壌深度とともに進んでおり、また微生物由来と考えられる窒素含有有機物がB層土壌において重要となることが示された。また、土壌の比表面積は $1.3 \sim 68 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ であり、土壌深度とともに減少し、活性 Al・Fe と正に、有機物含量および有機物含量と活性 Al・Fe の比と負に相関した。このことより鉱物、特に火山灰土壌において比表面積に大きく影響するアロフェンやイモゴライト等の活性 Al・Fe が有機物に覆われることで、比表面積が減少すると考えられた。

(3) 遊離アミノ酸無機化率は、鉱物吸着のないO層で最も高く、これまでに報告されている添加アラニンの無機化率と同程度(約40%)であった。遊離アミノ酸と鉱物吸着アミノ酸の無機化率は、いずれもO層で最も高く、下層に行くほど小さくなる傾向があった。いずれの無機化率も全有機炭素量および吸着サイトの被覆程度の指標である活性 Al・Fe に対する有機炭素の比と正に相関した(図2)。全有機炭素および吸着サイトの被覆程度が低い下層では、アミノ酸の土壌への吸着により、無機化率が低下したと考えられる。鉱物吸着アミノ酸の微生物による利用は、いずれの層位においても遊離アミノ酸の約65%であり、鉱物吸着アミノ酸の利用率の低さを示すとともに、本実験条件下では微生物による鉱物吸着態アミノ酸の利用が層位間で違わなかったことを示した。一方、カゼイン添加実験では、A層およびB層土壌の半分で無添加土壌に比べ呼吸量の増加が観測されたが、O層および残りの半分のA層およびB層土壌では無添加土壌とCO₂放出量に有意差はなかった。これは、土壌中のタンパク質賦存量に影響を受けたと考えられた。すなわち、O層にはすでに微生物の脱重合能を超えるタンパク質が存在していたため、カゼイン添加により呼吸量が変化しなかったと考えられる。一方、もともと微生物のタンパク質脱重合能が小さなAおよびB層ではカゼイン添加により呼吸量の増大が誘導されたが、その程度は添加カゼインもしくは脱重合で生成したアミノ酸の土壌への吸着のため限定的であったと考えられた。以上より、土壌微生物によるタンパク質および遊離アミノ酸の利用様式は、土壌鉱物の有機物吸着能により異なることが明らかとなった。今後、植物根圏などを想定し、微生物の活性を高めるための基質添加などを行い、どのような条件下でMAONの利用が起きるのかを検討する必要がある。

<引用文献>

- Jilling, A., Keiluweit, M., Contosta, A. R., Frey, S., Schimel, J., Schnecker, J., Smith, R. G., Tiemann, L., & Grandy, A. S. (2018). Minerals in the rhizosphere: overlooked mediators of soil nitrogen availability to plants and microbes. *Biogeochemistry*, 139(2), 103–122.
- Schimel, J. P., & Bennett, J. (2004). Nitrogen mineralization: Challenges of a changing paradigm. *Ecology*, 85(3), 591–602.
- Steffen, W., Richardson, K., Rockstrom, J., Cornell, S. E., Fetzer, I., Bennett, E. M., Biggs, R., Carpenter, S. R., de Vries, W., de Wit, C. A., Folke, C., Gerten, D., Heinke, J., Mace, G. M., Persson, L. M., Ramanathan, V., Reyers, B., & Sorlin, S. (2015). Planetary boundaries: Guiding human development on a changing planet. *Science*, 347(6223), 736+, Article Unsp 1259855.
- Wooliver, R., Pellegrini, A. F. A., Waring, B., Houlton, B. Z., Averill, C., Schimel, J., Hedin, L. O., Bailey, J. K., & Schweitzer, J. A. (2019). Changing perspectives on terrestrial nitrogen cycling: The importance of weathering and evolved resource-use traits for understanding ecosystem responses to global change. *Functional Ecology*, 33(10), 1818–1829.

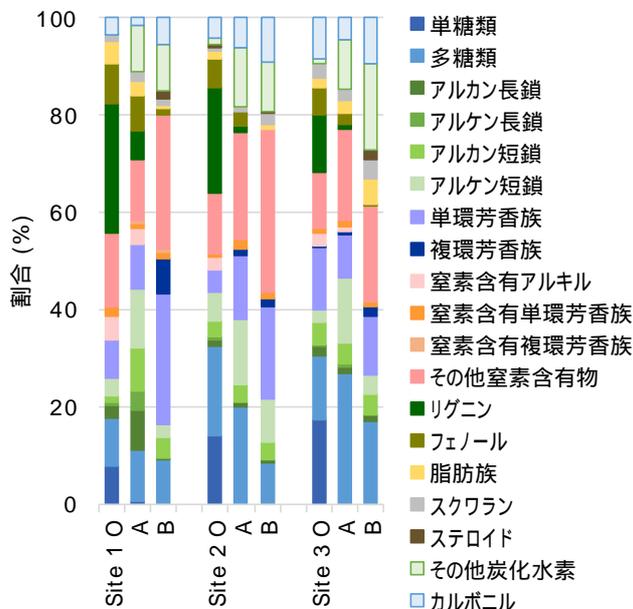


図1 土壌層位ごとの有機物組成

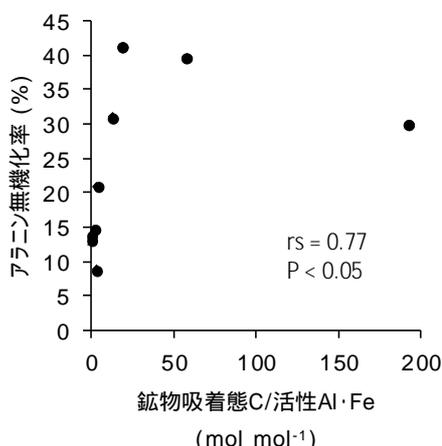


図2 アラニン無機化率と活性 Al・Fe の有機炭素による被覆程度の関係

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Watanabe Tetsuhiro, Ueda Shiori, Nakao Atsushi, Ze Antoine Mvondo, Dahlgren Randy A., Funakawa Shinya	4. 巻 430
2. 論文標題 Disentangling the pedogenic factors controlling active Al and Fe concentrations in soils of the Cameroon volcanic line	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Geoderma	6. 最初と最後の頁 116289 ~ 116289
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.geoderma.2022.116289	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Anda Markus, Purwanto Setiyo, Dariah Ai, Watanabe Tetsuhiro, Dahlgren Randy A.	4. 巻 433
2. 論文標題 A 200-year snapshot of soil development in pyroclastic deposits derived from the 1815 super explosive eruption of Mount Tambora in Indonesia	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Geoderma	6. 最初と最後の頁 116454 ~ 116454
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.geoderma.2023.116454	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Lyu Han, Watanabe Tetsuhiro, Ota Yoriko, Hartono Arief, Anda Markus, Dahlgren Randy A., Funakawa Shinya	4. 巻 425
2. 論文標題 Climatic controls on soil clay mineral distributions in humid volcanic regions of Sumatra and Java, Indonesia	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Geoderma	6. 最初と最後の頁 116058 ~ 116058
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.geoderma.2022.116058	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 該当する
1. 著者名 Watanabe Tetsuhiro, Harsh James B., Wagai Rota	4. 巻 -
2. 論文標題 Short-range ordered aluminosilicates	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Encyclopedia of Soils in the Environment, Second Edition	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/B978-0-12-822974-3.00223-8	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 該当する

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 Watanabe, T., Lyu, H., Funakawa, S.
2. 発表標題 pH, silicic acid activity, and weathering index link soil forming factors and clay mineral composition
3. 学会等名 ASA, CSSA, SSSA International Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 柴田誠, 岡田千裕, 渡辺伸一, Nguyen Lam Ho, 渡邊哲弘, 舟川晋也
2. 発表標題 OxisolsとUltisolsが分布するベトナム中部高原の森林生態系における窒素・リン制限の評価：葉のN:P比および基質添加に対する微生物応答を用いて
3. 学会等名 日本土壌肥料学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 渡辺伸一, 柴田誠, Hartono Arief, Lion Marryanna, 小杉緑子, 荒木茂, 渡邊哲弘, 舟川晋也
2. 発表標題 全窒素濃度とpHが酸性熱帯林土壌の総硝化速度に及ぼす影響：鉱質土層とO層の比較
3. 学会等名 日本土壌肥料学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kitagawa, N., Watanabe, T., Sawada, K., Kunito, T., Funakawa, S.
2. 発表標題 Sorpton to clay mineral reduces alanine mineralization in volcanic soils
3. 学会等名 8th International Symposium on Soil Organic Matter (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Watanabe, T., Ueda, S., Nakao, A., Mvondo Ze, A., Dahlgren, R., Funakawa, S.
2. 発表標題 Disentangling the pedogenic factors controlling active Al and Fe concentrations in soils of the Cameroon volcanic line
3. 学会等名 22nd World Congress of Soil Science (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kitagawa, N., Watanabe, T., Sawada, K., Kunito, T., Funakawa, S.
2. 発表標題 Sorption and desorption controls on alanine bioavailability in volcanic soils
3. 学会等名 European Geosciences Union General Assembly (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 北川夏子, 渡邊哲弘, 沢田こずえ, 國頭恭, 舟川晋也
2. 発表標題 火山灰土壌における粘土鉱物への吸着によるアラニン無機化の抑制
3. 学会等名 日本土壌肥料学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Han Lyu, 渡邊哲弘, Ruohan Zhong, 舟川晋也
2. 発表標題 Understanding stabilization mechanism of soil organic matter by molecular composition analysis
3. 学会等名 日本土壌肥料学会
4. 発表年 2022年

〔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
主たる渡航先の主たる海外共同研究者	ダールグレン ランディ (Dahlgren Randy)	カリフォルニア大学デービス校・Department of Land, Air and Water Resources・Professor	

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		
米国	カリフォルニア大学デービス校		