

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 13 日現在

機関番号：30109

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25870653

研究課題名(和文) 第四紀埋没火山灰を用いた数千年規模の土壤炭素蓄積機構の解明

研究課題名(英文) Mechanism of carbon accumulation in soil on a millennial time scale using Quaternary, buried volcanic ash soils

研究代表者

保原 達 (HOBARA, Satoru)

酪農学園大学・農食環境学群・准教授

研究者番号：70391159

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、地中に埋没した第四紀火山灰土壌を採取し、数万年に及ぶ土壌有機物について、アミノ酸組成などの生化学的解析を行った。その結果、年代が古いものほど微生物由来のアミノ酸の含量は占める割合が多くなるなどの一定の方向性がみられた。また、土壌への炭素添加培養実験の結果、こうしたアミノ酸や炭素の蓄積は、土壌による吸着能力の違いと結びついていた。これらの研究結果は、土壌有機物が長期に隔離される上で、(1)微生物体とその生成物の質の収斂に大きく寄与していること、(2)残存する成分に選択性が存在すること、(3)そしてその残存が土壌の吸着によって左右されることを新たに示した。

研究成果の概要(英文)：In this study, I took soils including paleosols of the Quaternary period, buried deep in soil, and conducted biochemical analyses including hydrolyzable amino acid composition. The results showed that older soils contain more amino acids derived from microorganisms and amino acid composition changed to a direction. Additionally, the results in the soil incubation experiment with organic carbon addition indicated that accumulation of amino acids and carbon are closely associated with adsorption properties of soil. These observations newly demonstrate that (1) microorganisms significantly contribute to soil organic matter on a millennial time scale, (2) there is selectivity in compounds that can remain in deep soil on long time scales, and (3) the quantity of the remaining organic matter is strongly controlled by soil geochemical characteristics of organic matter adsorption.

研究分野：生物地球化学

キーワード：埋没土壌 古土壌 火山灰 アミノ酸 炭素隔離

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 陸上生態系の土壌は、植物体に比して約3倍、大気に比して約2倍の炭素蓄積を示すが、蓄積量に比して年間の炭素蓄積速度は極めて小さい (Schlesinger and Bernhardt 2013)。しかしながら、これまでの土壌炭素蓄積に関する知見は主に数年規模の試験によって得られてきており、なお大きな不確定性が残っている (Conant *et al.* 2011)。そのため、より長期的な視点からの炭素蓄積機構の解明が非常に重要となってきた。

(2) 土壌への長期炭素蓄積に関しては、土壌有機物の起源が主に植物体であるため、これまで植物の難分解性成分 (例えばリグニン) に大きな関心が寄せられてきた。しかし、植物の難分解性成分は分解とともに確実に有機物中の割合が減少するため (リグニンの平均滞留時間は30年程度 (Schmidt *et al.* 2011))、数十年を超える長期間での有機物安定性への寄与は大きいとは言えない。その一方で、微生物体由来のアミノ酸やその化合物 (アミド、ペプチド) が、植物成分の減少とは逆に、分解とともに有機物中の割合が増大し、これが土壌有機物の長期蓄積に大きく寄与することが近年示唆されてきている (Sutton and Sposito 2005, Knicker 2011)。しかしながら、どのような微生物に由来する物質がどのような機構で実質的な有機物の蓄積に寄与しているのかについては未だ明らかとなっておらず、特に、数十年を超える長期の有機物蓄積メカニズムは大きなブラックボックスとなっている。

### 2. 研究の目的

(1) 本研究では、地中に埋没した第四紀火山灰土壌を採取し、数万年に及ぶ土壌有機物について、まずアミノ酸組成などの生化学的解析を行い起源生物やその分子の長期土壌炭素蓄積への寄与を明らかにすることが第一の目的である。

(2) さらに、そうした有機物の生化学性が物理化学的メカニズム、特に有機物の溶脱や土壌吸着機構との関連について明らかにすることを第二の目的とした。

以上により、陸上生態系における数千年スケールでの土壌炭素蓄積機構について明らかにすることを主目的とした。

### 3. 研究の方法

(1) 苫小牧市及び洞爺湖町などにおいて、第四紀火山灰試料を採取した。これらはいずれも、現在冷温帯森林となっている土壌であった。それぞれの地点において、断面記載を行い、火山灰の由来ごとに土壌試料として採取を行い、実験室に持ち帰った。持ち帰った土壌試料は、細土調整・乾燥を施し、基本的な物理化学特性 (含水率、pH、密度等) を測定したほか、一部を粉にし、化学分析に供試した。分析は、NCアナライザーによる全炭素・窒素含量の測定及びアミノ酸含量の測定を行

った。アミノ酸解析では、土壌有機物を6M塩酸によって加熱加水分解して、酸脱気後、アミノ酸を超純水中に再溶解して各アミノ酸 (加水分解性アミノ酸) を測定した。測定対象としたアミノ酸は、グリシン (Glycine)、ロイシン (Leucine)、アラニン (Alanine) 等の基本的なアミノ酸の他、植物特有のヒドロキシプロリン (Hydroxyprolin) や、微生物特有のジアミノピメリン酸 (Diaminopimelic acid) 等を新たなバイオマーカーとして加えた。アミノ酸の検出には、AccQ-Tag法を用いたHPLC (High Performance Liquid Chromatography) を使用した。

(2) さらに、物理化学的メカニズムを明らかにするため、2回の、火山灰土壌を用いた室内分解実験を行った。1回目は、フィールドの埋没した第四紀火山灰で見られるアミノ酸組成の変化を再現し、それに伴って溶脱する有機物の特性を探るため、苫小牧で採取した恵庭岳火山灰 (En-a) にミズナラ葉を粉にしたものを添加して、暗所、25℃で約1ヶ月培養し、その分解段階ごとに採取した土壌のアミノ酸組成と溶存成分の分子量分布をHPLCにより求めた。アミノ酸の分析については(1)で述べた方法に準じて行い、分子量分布については、サイズ排除カラムを搭載したHPLCにより分析した。2回目の分解実験では、こうした生化学的炭素蓄積が、土壌中の吸着とどのような関連にあるかを明らかにするため、異なる吸着特性を持った土壌を用いて有機物添加培養を行い、炭素及びアミノ酸等の変化を比較した。土壌は、北海道内の火山灰の他、吸着性の高いと考えられる赤玉土や、鹿児島県桜島の新鮮火山灰土壌にも用いた。赤玉土に関しては、市販のものを磨り潰して使用し、新鮮火山灰については、桜島で採取・空輸後、篩がけ・水洗・乾燥させて実験に使用した。これに、構造の単純な有機物であるグルコース、または異なる植物種の落葉広葉樹と針葉樹の粉碎した葉を添加して室内培養し、その後の化学性の変化の違いを調べることとした。培養実験はおよそ4ヶ月行い、その間土壌を随時採取し分析した。分析内容及び方法に関しては、(1)の方法に準じた。

### 4. 研究成果

(1) 第四紀火山灰土壌を分析した結果、有機物中に植物由来及び微生物由来の有機物が一定量含まれることが確認された。特に、微生物由来のアミノ酸の含量は、年代が古いものほど占める割合が多くなる傾向にあった。また、火山灰土壌へ蓄積した有機物は、年代とともに、各種アミノ酸の構成比率が一定の方向へ変化することを見出した。特に、Leucine/Glycine比において、古い埋没土壌になるにつれ、比が徐々に低くなる傾向が見られた (図1)。また、このLeucine/Glycine比の低下は、時間に対して直線的であった。

こうした傾向は、微生物代謝、エントロピー、化学平衡などの影響による可能性が示唆された。

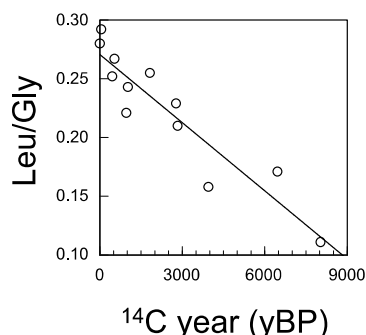


図 1. 第四紀火山灰の Leucine/Glycine 比と年代の関係

(2) 1 回目の培養実験に関しては、分解に伴うアミノ酸変化が、第四紀火山灰で長期的にみられたものと同様に起こった。さらに、溶出に寄与すると考えられる溶存可能な有機物は、蛋白質ベースで約 8,000 Da ほどの物質が、他のサイズ域の物質に比較すると有意に分解時間と共に生成していた。この傾向は、分解の元となる植物を替えても同じであった。

(3) 2 回目の培養実験では、用いた 3 種の土壌間で有意な吸着能力の違いが見られた。そして、この吸着能力の違いは、そのままアミノ酸の蓄積や炭素の蓄積と結びついていた。これらの蓄積には、土壌の炭素吸着をもたらす非晶質のアルミニウム及び鉄の水酸化物鉱物が大きく寄与していた。また、蓄積する有機物については、樹種の違いによらず、生成されるアミノ酸の構成が分解とともに類似してくる傾向が見られ、分解される有機物に寄らない分解産物の生成が示され、またこれら分解産物の生化学的特徴は長期蓄積した土壌有機物のそれとも一致した。

(4) これらの研究結果は、土壌有機物が長期に隔離される上で、微生物体とその生成物の質の収斂に大きく寄与していること、さらに残存する成分に選択性が存在すること、そしてその残存が土壌の吸着によって左右されることを新たに示した。特に、土壌有機物の長期隔離における植物由来物質の質に対する注目は大きい、微生物体由来物質への注目は比較的少ない。本研究は、そうした長期隔離炭素における微生物体の質的重要性を捉え直すと共に、吸着をはじめとする地化学性がそうした有機物の土壌への隔離の要となっていることを示すものであり、地球規模の炭素循環に及ぼす影響の大きい土壌の炭素隔離を明らかにする上で重要である。こうした微生物由来の有機物の吸着は、分解とともに起こっており、有機物の質的（化学的）変化と鉱物への吸着とが、どのようなタイミングで生じているのかに関して、より深い知

見が必要となると考えられる。

#### <引用文献>

- Conant, R.T., *et al.*, Temperature and soil organic matter decomposition rates – synthesis of current knowledge and a way forward, *Global Change Biology*, 2011, doi: 10.1111/j.1365-2486.2011.02496.x
- Knicker, H., Soil organic N - An under-rated player for C sequestration in soils?, 43, *Soil Biology & Biochemistry*, 2011, 1118-1129.
- Schlesinger, W.H., Bernhardt, E.S., *Biogeochemistry*, 3rd edition, 2013, Elsevier
- Schmidt, M.W.I., *et al.*, Persistence of soil organic matter as an ecosystem property, 478, *Nature*, 2011, 49-56.
- Sutton, R., Sposito, G., Molecular Structure in soil humic substances: the new view, *Environmental Science & Technology* 39, 2005, 9009-9015.

#### 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 2 件)

- Hobara, S., Kushida, K., Kim, Y.W., Koba, K., Lee, B.Y., Ae, N. Relationship among pH, minerals, and carbon in soils from tundra tundra to boreal forest across Alaska. *Ecosystems*, 19, 2016, 印刷中
- 水野直治、保原 達、天野洋司、34,000 年間における大気からの水銀降下量の変化、*農業および園芸*, 90 巻、2015、25-31

#### [学会発表](計 6 件)

- 河上智也、小林高嶺、保原 達、春日純子、松本真悟、阿江教治、土壌の有機物吸着性は土壌炭素蓄積量に違いをもたらすか、日本森林学会、2016、日本大学(神奈川県、藤沢市)
- 小林高嶺、河上智也、保原 達、春日純子、松本真悟、阿江教治、土壌に供給される有機物の違いは分解生成物にどのような違いをもたらすか?、日本森林学会、2016、日本大学(神奈川県、藤沢市)
- 金子 命、末次亮太、磯部一夫、保原 達、森林生態系における埋没腐植土の地化学的・微生物学的特性、日本生態学会、2016、仙台国際センター(宮城県、仙台市)
- Hobara, S., Amano, Y., Mizuno, N., Global cycle of mercury estimated

from historical tephra soil layers. International Conference on Biogeochemistry of Trace Elements. 2015, 福岡国際会議場(福岡県、福岡市) Hobara, S., Hasegawa, Y., Fujita, K., Satou, T., Imai, A., Ogawa, H., Ito, H., Ae, N., Effects of microorganisms and minerals on size distribution of organic matter adsorbed to soil. 日本地球惑星連合 JPGU2015 年大会、2015、幕張メッセ(千葉県、千葉市) 保原 達、阿江教治、長谷川裕己、佐藤 貴之、今井章雄、小川浩史、Ronald Benner、様々な環境条件化の分解過程で生成される微生物由来有機物に見られる生化学的共通性、日本地球惑星連合 JPGU2014 年大会、2014、幕張メッセ(千葉県、千葉市)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

保原 達 (HOBARA, Satoru)  
酪農学園大学・農食環境学群・准教授  
研究者番号：7 0 3 9 1 1 5 9

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：