

平成 29 年 5 月 22 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (特設分野研究)

研究期間：2014～2016

課題番号：26520301

研究課題名(和文) 作物残さ中窒素成分の土壌表面における分解と環境負荷 - 物理的、生物的、化学的要因

研究課題名(英文) Decomposition of nitrogen within plant residues and environmental impacts - physical, biological and chemical controlling factors

研究代表者

内田 義崇 (Uchida, Yoshitaka)

北海道大学・農学研究院・助教

研究者番号：70705251

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：窒素成分が多いヘアリーベッチを残さとして用いた実験を行った。土壌は日本を代表する黒ぼく土と灰色低地土を用いた。また、土壌改良剤であるもみがらくん炭の効果も調べた。灰色低地土で黒ぼく土よりも高い窒素由来温室効果ガス「N<sub>2</sub>O」の排出が見られた。また、もみがらくん炭にヘアリーベッチ由来窒素が吸着されており、ガスになりにくい可能性も示唆された。水域の汚染につながる硝酸量は黒ぼく土で灰色低地土よりも高い蓄積が見られた。灰色低地土ではより高い脱窒反応が起きていた可能性がある。有機態窒素の分子量変化を調べた結果、ヘアリーベッチの分解過程で分子量にばらつきがあることがわかった。

研究成果の概要(英文)：We used hairy vetch as an example of plant residue. Andosol and Fluvisol were used because they were common in Japan. Also, rice husk charcoal was evaluated. In Fluvisol, N<sub>2</sub>O emissions were higher when compared to those from Andosol. There was a possibility of nitrogen adsorption by rice husk charcoal. The amount of nitrate, links to water pollution, was higher in Andosol when compared to Fluvisol. In Fluvisol, denitrification rates could be larger. The molecular size distribution of organic-nitrogen, during the decomposition of hairy vetch was variable.

研究分野：有機物分解

キーワード：窒素循環

## 1. 研究開始当初の背景

### (1) 残さ由来窒素成分の重要性

農業が環境へ与える影響のうち、窒素を由来とする温室効果ガス排出と、硝酸態窒素の河川等への溶出は近年深刻な問題となっている。これら環境負荷と化学肥料との関連性に関しては数多くの研究がなされてきたが、作物残さ（野菜の非食用部分など）由来の窒素も、環境負荷の要因となる。野菜畑などでは、食用部分が出荷された後、土壌表面に作物残さが放置され、分解されるままとなっている場合が多い。これら残さ由来の環境負荷に関する研究はまだ進んでいない。これら分解する残さは、有効な肥料ともなりうるため、さらなる研究が必要である。

残さは土壌表面で分解し、温室効果ガスとなる。例えばダイズ畑では収穫後が一年において温室効果ガス排出量が最も高い時期となる。しかし、作物残さ由来窒素による環境負荷は、過去の研究例を調べてもばらつきが非常に大きく、現在の知識では予測や対策を立てることは不可能に近い。

### (2) 研究が必要である理由、着眼するべき点

残さ由来環境負荷は、微生物の活動と強く関連している。微生物は残さを分解し、土に有機態、無機態窒素を蓄積するだけでなく、それらを大気や河川へ放出し環境負荷を引き起こす役割も持っている。残さの分解には、土壌の表面付近に住む微生物の活性が重要な役割を果たしていると考えられる。そのため、残さが分解する場所である土壌表面部分と、分解した窒素成分が浸みこむその下の土壌層に分けて窒素循環を考える必要がある。また、残さは分解する過程で土壌の透水性や通気性などに影響を与える。土壌物理性の変化は、窒素循環に関わる微生物に大きな影響を及ぼす。また、土壌に蓄積する有機態窒素、無機態窒素についても精緻に検証する必要がある。

このように、残さの土壌表面における分解と、窒素成分由来の環境負荷を引き起こす複雑に関連した要因について理解するには、土壌構造や物理性の変化、微生物活性の変化、有機態窒素が無機化するメカニズムについての検証を融合した研究が必要不可欠である。

### (3) 残さ由来の環境負荷（予備的な実験）

ブロッコリーの残さを土表面で腐敗させる実験を行い、その際の温室効果ガス排出量が非常に高いことを明らかにした（未発表）。また、アミノ酸を土壌に添加した際に土壌から排出される温室効果ガスの増加速度は、化学肥料（アンモニア態窒素）を添加した際の増加傾向とは異なっていた（未発表）。これらの結果から、残さ由来の環境負荷の要因を明らかにするためには、有機態窒素などに着目する必要があるのではないかと考えた。

## 2. 研究の目的

本研究は、農業廃棄物（作物残さ）由来の窒素成分を最大限活用し、同時に大気や河川など水資源への窒素流出（環境負荷）を低減できる環境保全型農法への発展を目指すものである。

まず、土壌表面で残さが分解する過程で排出される温室効果ガス、亜酸化窒素（ $N_2O$ ）を定量し、加えて河川の汚染と関連している、下層へ浸透する残さ由来の硝酸量を明らかにする。次に、これら残さ分解による環境負荷に強く関わる土壌微生物のコミュニティ構造と活性を、DNA、RNA を抽出し調べる。また、微生物の活性と関連づけるために、残さが分解する過程で土の物理性、つまり透水性や通気性がどのように変化するのかを明らかにする。

これらの関連性を調査することにより温室効果ガス排出や地下水等への硝酸溶脱を最小限にする残さ活用方法の提唱を目指す。

## 3. 研究の方法

### (1) ヘアリーベッチと二種類の土、もみがらくん炭、 $^{15}N$ を使った実験

ここでは、日本を代表する二種類の土である黒ぼく土と灰色低地土を使って、まずは作物残さがどのように分解し、窒素由来の環境負荷となりうる  $N_2O$  の排出と硝酸量の変化を明らかにする実験を行った。さらに、日本を代表する土壌改良資材であるもみがらくん炭が、窒素由来環境負荷にどのような効果があるのかを調べる実験を行った。

### (2) ヘアリーベッチが分解する際に変化する有機態窒素の分子量サイズ変化の検討

特殊な液クロマトグラフィー（HPLC-CLND）を用いて、ヘアリーベッチが分解する際に変化する有機体窒素の分子量サイズ変化の検討を行った。ここでは、水溶性有機態窒素を観察したが、80度の湯で土壌を16時間抽出することでこの有機態窒素分画を得た。

### (3) ヘアリーベッチが分解する際に変化する土壌微生物コミュニティ変化の検討

土壌からDNAを抽出し、ヘアリーベッチが分解する際に変化するバクテリア種の増減を検証した。バクテリアの種同定に用いることが出来る16S rRNA遺伝子を次世代シーケンサーを使って解析した。

### (4) ガス透過性の検証

土壌の物理性を調査するため、酸素センサーとピンを使ったガス透過性測定装置を開発した。この装置は、ピンの蓋の上に土壌コアを設置し、ピンの中を窒素で置換した後、どれほどのスピードでピン中の酸素濃度が上昇するのかを検証する。

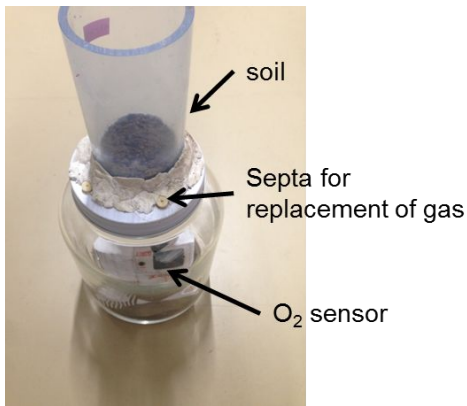


図 1 ガス透過性測定装置

#### 4. 研究成果

(1) ヘアリーベッチと二種類の土、もみがらくん炭、 $^{15}\text{N}$  を使った実験

結果として、30日程度の培養期間内で積算した  $\text{N}_2\text{O}$  発生量は、灰色低地土 ( $36 \text{ mg N ha}^{-1}$ ) で黒ぼく土 ( $31 \text{ mg N ha}^{-1}$ ) より僅かに高かった。もみがらくん炭の効果は、積算の  $\text{N}_2\text{O}$  発生量に対しては無かったが、突発的に高くなる亜酸化窒素発生が、もみがらくん炭施用によって抑えられる傾向が見られた。

さらに、 $\text{N}_2\text{O}$  の  $^{15}\text{N}$  量から計算した結果、ヘアリーベッチ由来の  $\text{N}_2\text{O}$  に限れば、もみがらくん炭施用によって  $\text{N}_2\text{O}$  発生量が増加していることも明らかになった。土壌中の窒素が、もみがらくん炭によって吸着され、土壌微生物が土壌表面の窒素を好んで利用している可能性があった。

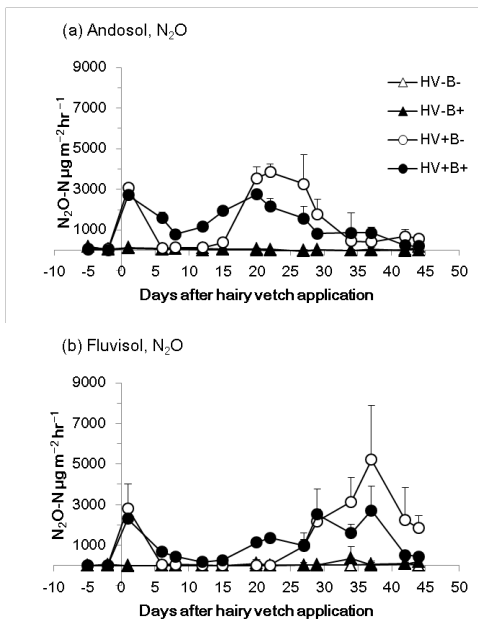


図 2 黒ぼく土 (a: Andosol) と灰色低地土 (b: Fluvisol) からの時系列であらわした  $\text{N}_2\text{O}$  排出量。△と▲は土のみで、もみがらくん炭ありなし。○と●は土にヘアリーベッチ残さに乗せた場合で、もみがらくん炭ありなし。

さらに、土中で増減する硝酸についても調べた結果、黒ぼく土と灰色低地土で異なる傾

向が見られた。具体的には、全体的に黒ぼく土で硝酸が蓄積する傾向があった。これは、水はけの悪い灰色低地土でより強く脱窒反応が起こっているためではないかと考察したが、さらなる研究が必要であった。

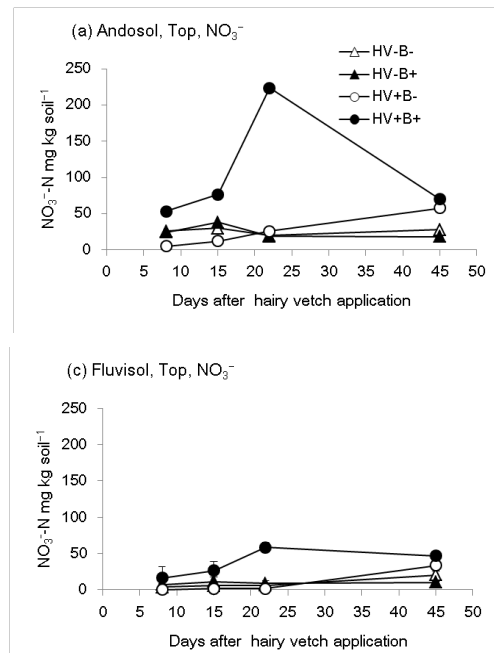


図 3 黒ぼく土 (a: Andosol) と灰色低地土 (b: Fluvisol) 中の硝酸量。△と▲は土のみで、もみがらくん炭ありなし。○と●は土にヘアリーベッチ残さに乗せた場合で、もみがらくん炭ありなし。

(2) ヘアリーベッチが分解する際に変化する有機態窒素の分子量サイズ変化の検討

下図で示したように、分子量が一番高い6分頃に見られたピークから、分子量が一番小さい13分頃に見られたピークまで、7つのピークが示された。

この7つのピークが、ヘアリーベッチの分解過程でどのように増減するのかを調べた結果、分子量が大きいピークが蓄積していく一方で、分子量が小さいピークが枯渇していく様子が一ヶ月間の培養期間中に観察された。

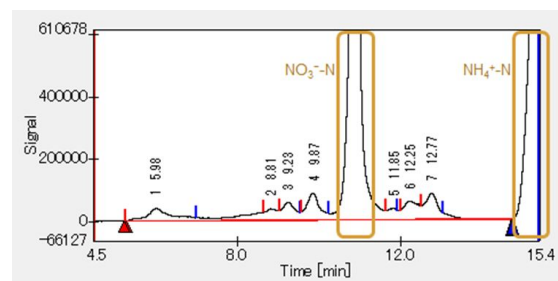


図 4 ヘアリーベッチが土壌表面で分解される際に見られる HPLC-CLND で検証された水溶性有機窒素のピーク。

(3) ヘアリーベッチが分解する際に変化する

土壤微生物コミュニティ変化の検討  
土壤中バクテリアのうち、*Bacteroidetes*、*Acidobacteria*、*Chloroflexi* などがヘアリーベッチ残さ添加によって増加していることが明らかになった。これら微生物が残さ分解に強く関わっていると考えられる。

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1件)

Moe Shimotsuma, Yoshitaka Uchida, Yasuhiro Nakajima, Hiroko Akiyama, The effects of rice (*Oryza sativa* L. ssp. Japonica) husk biochar on nitrogen dynamics during the decomposition of hairy vetch in two soils under high-soil moisture condition, *Soil Science and Plant Nutrition*, 査読有, 63 巻, 2017, 178-184  
DOI:10.1080/00380768.2017.1290498

〔学会発表〕(計2件)

Yoshitaka Uchida and Moe Shimotsuma, Effect of rice husk biochar on nitrous oxide emission from decomposing hairy vetch in two soils under high-soil moisture condition, 2016 International Nitrogen Initiative Conference, 2016年12月5日,メルボルン,オーストラリア  
Shimotsuma M, Moriizumi M, Uchida Y. Effects of organic matter (hairy vetch) and rice husk biochar application on the N cycle of volcanic ash soil. 5th International Doctoral Symposium – Sustainable Management of Resources and Environment in the 21st Century, 2016年11月9日,北海道・札幌市

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

○取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

内田 義崇 (UCHIDA, Yoshitaka)  
北海道大学・大学院農学研究院・助教

研究者番号：70705251

(2)研究分担者

森泉美穂子 (MORIIZUMI, Mihoko)

龍谷大学・農学部・准教授

10220039

(3)連携研究者

(4)研究協力者