

平成 30 年 6 月 18 日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K18659

研究課題名(和文) 微生物マイクロハビタットとしての土壌団粒微小環境の解明

研究課題名(英文) Nature of submicron soil aggregate as microbial habitat

研究代表者

長尾 眞希(浅野眞希)(ASANO, Maki)

筑波大学・生命環境系・助教

研究者番号：80453538

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)：土壌微生物の生態や微生物活動の場となる土壌団粒内の微小環境について基礎的知見を得ることを目的とし、微小団粒の有機物と鉱物の関係について明らかにした。放射光を用いたX線顕微鏡(STXM)とX線吸収端微細構造(NEXAFS)、電子顕微鏡(SEM・TEM)を用いて、火山灰土壌(黒ボク土)から採取した3 μ m程度の土壌団粒について微小領域の元素マップおよび化学種の分析を行った結果、微生物代謝産物が主体の有機物が低結晶性鉱物とともに分布していること、微小団粒そのものが、団粒の接着物質として高次構造を形成していることが示された。

研究成果の概要(英文)：The nature of submicron aggregate separated from an allophanic Andisol was studied using scanning transmission X-ray microscopy (STXM) and near-edge X-ray absorption fine structure (NEXAFS) as well as electron microscopy (SEM, TEM). The results of this study provided the direct evidence of preferential binding of microbially-altered C with poorly-crystalline mineral phases at submicron scale.

研究分野：Soil environmental chemistry

キーワード：土壌団粒 有機無機相互作用 STXM NEXAFS 土壌有機物

1. 研究開始当初の背景

土壌には様々な機能を持つ微生物が生息し、その微生物生態の解明は、生態系における養分動態解明のほか、高機能土壌の作成、汚染土壌の微生物浄化等への技術応用のために不可欠である。微生物機能の発現や、有効活用には、土壌団粒が提供する微生物の微小生息域(マイクロハビタット)の環境状態が重要である。土壌団粒の中と外で異なる微生物相が存在することが示されているが(服部, 1966) 微生物マイクロハビタットそのものに関する知見は極めて少ない。特に、微生物と直接関係していると考えられるマイクロ団粒(250 μm 以下)については、分析対象領域が微小、かつ複雑であることから研究が進展しておらず、サブマイクロ団粒内で生じる有機無機相互作用に対する知見の重要性が高まっている。

2. 研究の目的

本研究は、土壌微生物の微小生息域の環境解明を目指し、ナノ・マイクロメートルスケールにおいて、鉱物-有機物の相互作用を空間的に明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

茨城県つくば市の火山灰土壌(黒ボク土)および、三宅島 2000 年噴火で堆積した新鮮火山灰土壌の 2 点を用いた。黒ボク土の表層から得られた試料では、長期間の土壌生成過程の結果、安定化している有機物と土壌団粒構造の関係が考察でき、一方、新鮮火山灰土壌の表層試料では、土壌生成極初期に生じる、土壌鉱物と有機物の関係を考察できると考え、土壌試料を選択した。超音波分散法を用いた微小団粒の分画を行った。得られた土壌団粒の微小領域を非破壊でイメージングするため、放射光を用いた固体分析技術を応用した。走査型透過軟 X 線顕微鏡(STXM)および X 線吸収端微細構造(NEXAFS)分析を用いた土壌団粒微小領域の元素分布とその化学状態のマッピングと、電子顕微鏡(TEM・SEM)を用いた、表面構造の観察、鉱物の結晶性解析を行い、微小土壌団粒内の解析を行った。

また、高次土壌団粒における生物性を明らかにするため、追加課題として、ミミズ飼育後の土壌団粒を用い、団粒粒径サイズ別の土壌有機物含量、酵素活性試験、マクロ・マイクロ団粒についてマイクロ・エコプレート(BIOLOG 社)を用いた微生物群集の多様性分析を行った。さらに、得られた微小団粒について、JAMSTEC 高知コアセンターにおいて蛍光染色、および X 線 CT 画像の取得を行った。

4. 研究成果

(1) 黒ボク土の微小団粒内の有機炭素と鉱物の分布について

STXM-NEXAFS 分析によって判別した炭素が分布した領域とほぼ分布しない領域について、TEM によって微細構造を観察した。同時に、電子線回折によって、鉱物の結晶性を判別した。その結果、炭素の分布が多い領域には、微小で非晶質の鉱物が分布していることが示され、一方、炭素がほぼ存在しない領域は、比較的単純な微細構造を示し、結晶性の鉱物が分布していた。これらの結果から、土壌団粒内微小空間で炭素分布は低結晶性鉱物の分布に規定されることを示した。さらに、これらの低結晶性鉱物と有機物が分布した、反応性の高い領域が微小団粒表面に広く分布するため、微小団粒そのものが、高次の土壌団粒構造を形成する接着物質として働く、というモデルを提示した(図 1)

に、電子線回折によって、鉱物の結晶性を判別した。その結果、炭素の分布が多い領域には、微小で非晶質の鉱物が分布していることが示され、一方、炭素がほぼ存在しない領域は、比較的単純な微細構造を示し、結晶性の鉱物が分布していた。これらの結果から、土壌団粒内微小空間で炭素分布は低結晶性鉱物の分布に規定されることを示した。さらに、これらの低結晶性鉱物と有機物が分布した、反応性の高い領域が微小団粒表面に広く分布するため、微小団粒そのものが、高次の土壌団粒構造を形成する接着物質として働く、というモデルを提示した(図 1)

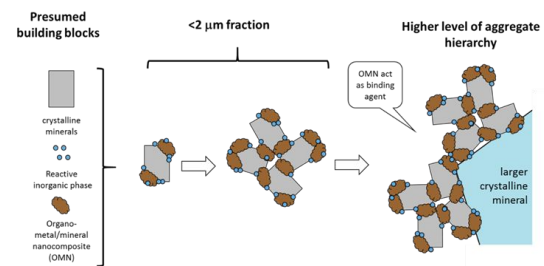


図 1 微小団粒が形成する高次団粒のモデル

(2) 三宅島 2000 年噴火火山灰堆積地の初期土壌生成に伴う有機無機相互作用

三宅島西部伊ヶ谷地区の火山灰堆積荒地(固定調査区)と、対照として火山灰等の被害をほぼ受けていない伊豆地区のスタジイ自然林を選定し、2007 年、2011 年、2015 年に採取されたアーカイブ試料を用いて経年変化を分析した。

その結果、2011 年には土壌団粒構造の発達認められ、孔隙率、透水性が増加したこと、15 年間で有機炭素含量は痕跡量から 54.71g kg⁻¹ に増加したことが示された。さらに、2017 年に採取した表層試料を用いて粒径分画法による土壌有機物の分画を行った。その結果、<2 μm および 2-20 μm 画分量が増加し、特に A 層が認められた 2011 年に<2 μm に含まれる有機炭素含量が著しく増加した。C/N 比は 2-20 μm 画分で高い値を示した。また、2011 年と 2017 年では、全炭素含量の増加が認められたのに対し、<2 μm 画分の有機炭素含量の増加は認められず、<2 μm 画分が土壌全有機炭素含量に占める割合は約 70%と変化しなかった。このことから、土壌生成初期の土壌有機炭素量の増加には、<2 μm 画分そのものの増加が寄与していることが示唆された。

有機炭素を最も保持していた<2 μm 画分について、STXM-NEXAFS 分析を行った結果、対照区では、微小団粒中の炭素官能基組成は均一であるのに対し、降灰区では炭素官能基組成が領域によって異なり、生成初期土壌では、低結晶性の粘土鉱物含量が少なく、スポット的に微生物代謝産物が分布していることが示された(図 2)。

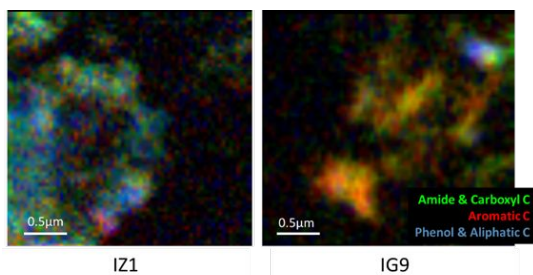


図2 軟X線透過型電子顕微鏡(STXM)による三宅島土壌の微小団粒内の炭素官能基空間分布図(IZ1:対照区,IG9:降灰区)

(3) ミミズ糞団粒の生物・理化学性(追加課題)

研究成果(1)と(2)では、マクロ団粒を超音波によって破壊してミクロ団粒を分画し、有機無機相互作用を考察していた。しかし、実環境中で生じる有機物・鉱物・生物の関係性を明らかにするためには、団粒の高次構造を破壊せずにイメージングを行う必要があると考え、本課題を追加した。

表層性のヒトツモンミミズをつくば市内で採取し、筑波大学構内の土壌、植物リターを使用して飼育実験を行い、土壌団粒を採取した。その結果、ミミズ区のみで、暗褐色の2mm以上の団粒が土壌表面に観察され(図3)、耐水性団粒の含量が増加した。また、ミミズ区の土壌試料の有機炭素含量、全窒素含量、グルコシダーゼ活性が対象区、リター区と比較して増加した。また、BIOLOG Ecoマイクロプレートを用いて微生物群集の差異を検討した結果、ミミズ区では資化された炭素源が最も多かった。以上の結果から、ヒトツモンミミズ飼育によって土壌の有機物含量が高く、酵素活性、微生物の多様性とも高くなることが示された。

また、得られた微小団粒について、JAMSTEC高知コアセンターにおいて蛍光染色、およびX線CT画像の取得を行った結果、ミミズ団粒の表面および内部には、対照区よりも多数の染色ポイントが観察され、内部に未分解有機物が多く含まれていると考えられた。マクロ団粒であるミミズ糞団粒にはSTXM-NEXAFS分析が適応できないため、マクロ・ミクロ団粒内の有機物と鉱物のマルチスケール解析が今後の課題である。

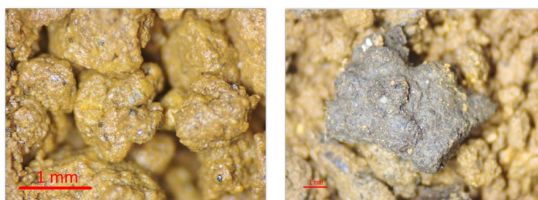


図3 ヒトツモンミミズ飼育実験によって得られた土壌団粒の実態顕微鏡写真
左)リター区、右)ミミズ区

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)

1. Asano M., R. Wagai, N. Yamaguchi, Y. Takeichi, M. Maeda, H. Suga, Y. Takahashi: In Search of a Binding Agent: Nano-Scale Evidence of Preferential Carbon Associations with Poorly-Crystalline Mineral Phases in Physically-Stable, Clay-Sized Aggregates. *Soil Systems*, 2(2), 32, 2018. DOI: 10.3390/soilsystems2020032 (open access) (査読有)

2. Wagai R., M. Kajiura, M. Uchida, M. Asano: Distinctive roles of two aggregate binding agents in allophanic Andisols: young carbon and poorly-crystalline metal phases with old carbon. *Soil Systems*, 2(2), 29, 2018. DOI: 10.3390/soilsystems2020029 (open access)(査読有)

〔学会発表〕(計8件)

1. 浅野真希, LI XINXIN, 田村憲司, 上條隆志, 和穎朗太, 武市泰男, 小野寛太, 高橋嘉夫: Initial soil formation on fresh volcanic ash from the 2000 eruption of Miyake Island. 日本地球惑星科学連合2018年大会, 2018年

2. LI XINXIN, 浅野真希, 上條隆志, 田村憲司: 三宅島2000年噴火火山灰堆積地の初期土壌生成について. 日本ペドロロジー学会2018年度大会, 2018年

3. 浅野真希, 和穎朗太, 武市泰男, 菅大暉, 小野寛太, 高橋嘉夫: Heterogeneity of organo-mineral particles within submicron aggregate among contrasting soil types. 日本地球惑星科学連合2017年大会, 2017年

4. 菅野志瞭, 浅野真希, 田村憲司: Effect of epigeic earthworm casting on soil properties of subsoil from an Andosol. 日本地球惑星科学連合2017年大会, 2017年

5. 浅野真希, 和穎朗太, 武市泰男, 菅大暉, 小野寛太, 高橋嘉夫: 鉱物組成が異なる土壌の微小団粒中の炭素官能基空間分布. 日本ペドロロジー学会2017年度大会, 2017年

6. 菅野志瞭, 浅野真希, 金田哲, 田村憲司: ミミズが土壌の理化学性に及ぼす影響に関する研究. 日本ペドロロジー学会2017年度大会, 2017年

7. 浅野真希, 和穎朗太, 山口紀子, 武市泰男, 平館俊太郎, 菅大暉, 小野寛太, 高橋嘉夫: 鉱物組成が異なる土壌の有機物集積作用をサブミクロンスケールから考える. 日本土壤肥料学会2016年度大会, 2016年

8. 浅野真希, 和穎朗太, 武市泰男, 前田誠, 菅大暉, 山口紀子, 平館俊太郎, 高橋嘉夫: Nature of organo-mineral particles at a lower level of aggregate hierarchy among contrasting soil types. 日本地球惑星科学連合2016年大会, 2016年

〔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

長尾 眞希(浅野 眞希) (ASANO, Maki)

筑波大学・生命環境系・助教

研究者番号: 80453538

(2) 研究協力者

和穎 朗太 (WAGAI, Rota)

諸野 祐樹 (MORONO, Yuki)