

令和 3 年 5 月 27 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K05918

研究課題名(和文)カバークロップのアレロケミカルが冬期間の有機物分解と雑草抑制に及ぼす効果の解明

研究課題名(英文)The effects of cover crop containing allelochemicals on decomposition of organic matter and weed suppression in winter

研究代表者

平田 聡之(HIRATA, Toshiyuki)

北海道大学・北方生物圏フィールド科学センター・助教

研究者番号：60281797

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：冬期間におけるヘアリーベッチの雑草抑制物質であるシアナミドおよび土壌微生物叢の分析から、ヘアリーベッチが早春の雑草出芽に与える影響について検討した。越冬時におけるヘアリーベッチ内のシアナミドは、2月までに測定検出外まで減少したにも関わらず、アンモニア性窒素量が2月以降に急激に増加した。このことから、アンモニア性窒素の増加はシアナミド由来のジシンジアミド生成による硝化抑制効果ではなく、低温によるものと考えられた。早春時のアンモニア性窒素量を投与した雑草の出芽試験では、低温下において平均発芽日数の遅延が認められたことから、早春のヘアリーベッチの雑草抑制効果はアンモニア障害によるものと考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

寒冷地におけるカバークロップの利用は生育期間が制限されるが、秋期のヘアリーベッチの導入には、優れた養分供給と雑草抑制効果が認められている。本研究は、冬期間における雑草抑制効果を、アレロケミカル、土壌微生物相および残渣分解から多角的に検討した初めての例である。早春のヘアリーベッチ残渣にアレロパシー効果は認められず、土壌内のアンモニア性窒素の上昇が雑草抑制に強く影響していた。その一方、土壌微生物叢の組成の動態は、カバークロップよりも温度環境に強い影響を受けていた。これらの結果は、報告例の少ないカバークロップの冬期間の効果について明らかにしており、カバークロップ利用の更なる指針を加えるものである。

研究成果の概要(英文)：The effect of hairy vetch on weed emergence in early spring was investigated by analyzing cyanamide, a major allelochemical in hairy vetch, soil microbe structure, and soil nitrogen dynamics during winter. Although cyanamide in the hairy vetch during winter decreased below the detection range by February, ammonia nitrogen in soil increased rapidly after February. It suggested that the increase in ammonia nitrogen was not due to the nitrification-inhibiting effect of cyanamide-derived dicyandiamide formation but due to low temperatures. Germination tests of weeds treated with ammoniacal nitrogen concentration in early spring showed a delay in the average germination days at low temperatures. These results show that the weed suppression effect of hairy vetch in early spring was due to ammonia damage.

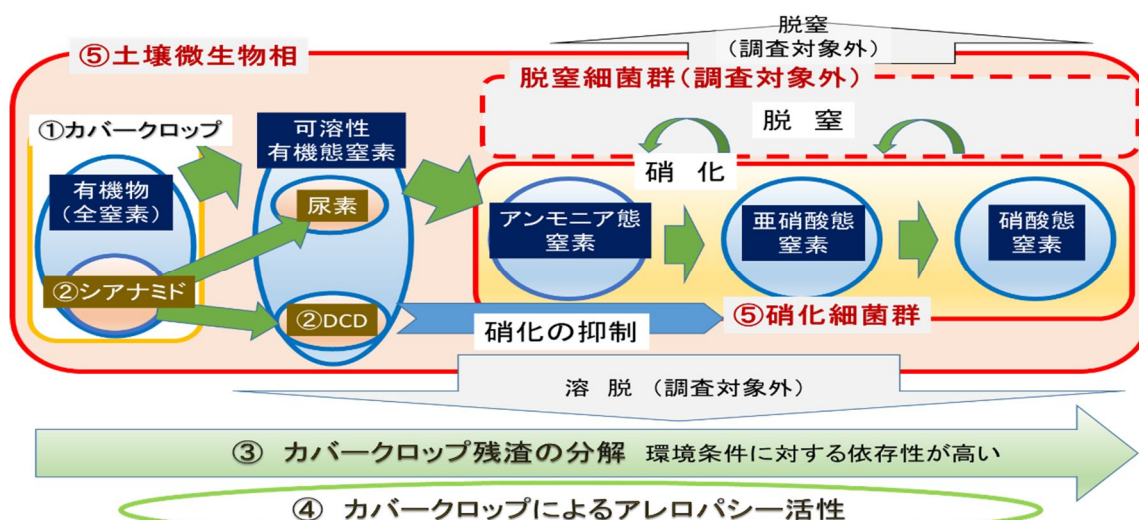
研究分野：耕地生態系

キーワード：カバークロップ アレロケミカル 積雪下 土壌微生物 土壌養分動態

1. 研究開始当初の背景

圃場環境を維持するために栽培されるカバークロップは、土壌物理環境の改善、土壌有機物や土壌養分の保持、土壌生物相の多様化および雑草抑制などの多面的な効果があることが明らかとなっており、環境保全型の作物生産の要求の高まりから、その利用が世界各地に広がっている。特に、除草剤に頼らない有機農法や減農薬栽培では、その代参手段としてカバークロップのアレロパシーの活用が進められている。アレロパシーとは、植物間において他種の成育を阻害する化学的な効果を指し、その原因物質はアレロケミカルとよばれている。

高い窒素固定能力をもつヘアリーベッチは、強いアレロパシー活性をもつシアナミド (CN_2H_2) を高濃度で含んでおり、窒素供給と雑草抑制の効果が高いカバークロップとして知られている。シアナミドは、土壌中でアンモニア態窒素に分解されるとともに、重合化し、ジシアンジアミド ($\text{C}_2\text{H}_4\text{N}_4$: DCD) を生成することが明らかとなっている。シアナミドから派生した DCD は、硝化阻害剤として働くことが明らかとなっており、土壌内の硝化細菌群の活性を抑制し、アンモニア態窒素を増加させ、窒素の溶脱を防止し、温室効果ガスである亜酸化窒素 (N_2O) の発生を抑制するなどの効果が報告されている。これらの反応は、環境条件に強く依存し、土壌の組成、温度、水分含量などで大きく変化すると考えられるが、植物残渣由来の有機物が豊富に存在する状態において、ヘアリーベッチ内のシアナミドが有機物の分解、土壌微生物相にどのような影響を及ぼすかについては明らかとなっていない。またヘアリーベッチは、主に主作物栽培後の冬期間に栽培されるが、冬期間における有機物分解と窒素動態についての知見は乏しく、シアナミドや DCD が窒素動態にどのような影響を及ぼすかについては、全くの未知である。



窒素動態からみたヘアリーベッチ分解による影響 (概念図)

2. 研究の目的

北海道のような積雪地域では、主作物栽培後の後作カバークロップの生育期間が短く、春先のバイオマス生産が限定されている。しかしながら、このような条件下においてもヘアリーベッチが次作物に対して高い養分供給能力をもち、雑草抑制効果が維持されていることが認められている。冬期間のヘアリーベッチの分解過程において、主作物の生育過程とは異なる土壌微生物相が関与している可能性が考えられるが、冬期間における土壌微生物相と有機物の分解過程の関連についての知見はそれほど蓄積されていない。本研究では、冬期間のヘアリーベッチの分解過程における土壌微生物相および雑草発生に及ぼす影響について、培養試験と圃場調査により評価し、冬期間のヘアリーベッチが有する養分供給および雑草抑制について検討した。

培養試験では、主に低温下におけるヘアリーベッチ由来のシアナミドおよびジシアンジアミドの推移とヘアリーベッチの無機化への影響を評価し、圃場調査では、地温が氷温で安定している積雪下条件と土壌の凍結—解氷サイクルが生じる排雪条件で無機態窒素の蓄積と土壌微生物叢の種構成の動態を比較した。

3. 研究の方法

研究方法の詳細は、以下の通りである。

(1) 培養試験では、北海道において越冬能力をもつヘアリーベッチ (HV) であるカンタロウを加えた区 (K 区)、越冬能力のないマメスケを加えた区 (M 区)、ポジティブコントロールとして尿素とシアナミドとスクロースを加えた区 (P1 区)、尿素とスクロースを加えた区 (P2 区)、ネガティブコントロールとして脱イオン水のみを加えた区 (N 区) を設けた。P1 区と P2 区において HV 残渣の無機化率を 50% とし、HV 残渣の半分量の炭素と窒素をスクロースと尿素により調

節した。P1 区のシアナミドは HV 区の等量分 (414 $\mu\text{g/gFwHV}$ で計算) を加えた。温度 2 条件 (2°C、25°C) 水分量を圃場容水量の 40% で培養した。調査は、50ml チューブに HV 残渣 1.0 g と土壌 5 g を加え、培養開始後 0、1、2、5、7、14、28、56 日目に、シアナミドおよびジシアンジアミド(DCD)量をそれぞれ各処理につき 4 反復測定した。また、HV 残渣 0.80 g と土壌 4 g を加え、培養開始後 0、1、2、5、7、14、28、56 日目に、アンモニア態窒素量と硝酸態窒素量を 8 反復で測定した。

(2) 圃場調査は 2018 年 9 月から 2020 年 4 月まで北海道大学生物生産研究農場で行った。9 月にヘアリーベッチ区 (K: 2 年生ヘアリーベッチ; カンタロウ、M: 1 年生カバークロップ; マメスケ)・アカクローバ区 (RC:メルビィ)・裸地区 (B) を 4 反復乱塊法で設置し、11 月に各区の半分をシートで覆い、積雪区と除雪区に分割した。除雪区では降雪後に排雪し、少積雪状態を維持した。また、シート設置直前にサンプル管 (横穴を空けたステンレス管・ $\phi 3.5\text{cm} \times 12\text{cm}$ 長) を各区あたり 4 本埋設した。土壌サンプリングは 11 月から 4 月まで月一回の頻度で行った。土壌表層部 (10cm) を 11 月および 4 月では採土器を用いて採取し (3 箇所/plot)、12~3 月ではサンプル管 (1 本/plot) を回収した。各サンプルを 2°C で 1 晩解氷させた後、10 倍量の 2M 塩化カリウムで 1 時間浸透抽出し、アンモニア態窒素量、硝酸態窒素量、亜硝酸態窒素量を測定した。また、クロロホルム燻蒸法およびチオ硫酸カリウムによる熱分解法により、溶存有機態窒素 (DON) および微生物由来窒素 (MBN) を測定した。

各調査年の 11 月、2 月、4 月にサンプリングした土壌を、各処理区ごとに全反復について等量混合し、土壌微生物叢を分析した。ISOIL for Beads Beating (ニッポンジーン) を用いて土壌 0.5 g から DNA を抽出し、アンプリコン PCR によって 16S V3-V4 領域を増幅した。その後、精製した PCR 産物の塩基配列および増幅数を次世代シーケンサー-MiSeq によって決定した。97% 以上の相同性をもつ塩基配列集団を Operational taxonomic unit (OTU) として扱い、塩基配列をデータベース (Green Gene) と照合して菌種を同定した。次世代シーケンサーによって得られた全リード数に対する各菌のリード数を相対値として算出し、MNDS 解析を行った。

(3) 冬期の窒素環境が雑草の発生に及ぼす影響について評価する目的で、培養器による出芽試験を行った。マルチセルトレイに黒ぼく土を詰め、イネピエ、エゾノギシギシ、春コムギ、レタスの種子を播種した (1 粒/1 穴、1 反復 12 粒、4 反復乱塊法配置)。土壌処理として、ヘアリーベッチの冬期分解後 (2 28 日目を基準) の無機態窒素量を添加した区 (W; NH_4^+ :5.83mgN/L, NO_3^- :1.20mgN/L) 夏分解後 (25 28 日目) の無機態窒素量を添加した区 (W; NH_4^+ :1.16mgN/L, NO_3^- :10.81mgN/L) および対照区 (C; CaSO_4 :136mg/L) の 3 条件を設け、温度条件として春出芽条件 (明期 15°C14 時間/暗期 10°C10 時間) と夏出芽条件 (明期 25°C14 時間/暗期 20°C10 時間) で各種の出芽状況を調査した。

4. 研究成果

(1) 培養試験におけるシアナミド・ジシアンジアミド・土壌無機態窒素の推移

HV 残渣内のシアナミドは、25°C 処理では 7 日で分解、消失したが、2°C 処理では 28 日以上維持された (図 1)。DCD は温度に関係なく生成したが、最大でも HV 由来シアナミドの 0.2% 程度に留まった。

HV 残渣の無機態窒素への分解は、25°C では 7 日目にアンモニア態窒素量が、28 日目に硝酸性窒素量がピークを迎えた (図 2)。2°C では、アンモニア態窒素量は 28 日目でピークに達し、56 日目でも維持されたのに対し、硝酸態窒素量は培養期間を通して変動が小さかった。

P1 区と P2 区の無機態窒素量は、調査期間を通じて両温度処理ともほとんど有意差がなく、尿素の分解、硝化におけるシアナミドの影響は認められなかった。その一方、2°C では硝酸態窒素量の蓄積が認められず、56 日目まで高濃度のアンモニア態窒素が確認されたことから、低温が硝化抑制の主要因であったと示唆された。これらのことから、ヘアリーベッチ由来のシアナミドには硝化抑制の効果はほとんどないことが示唆された。

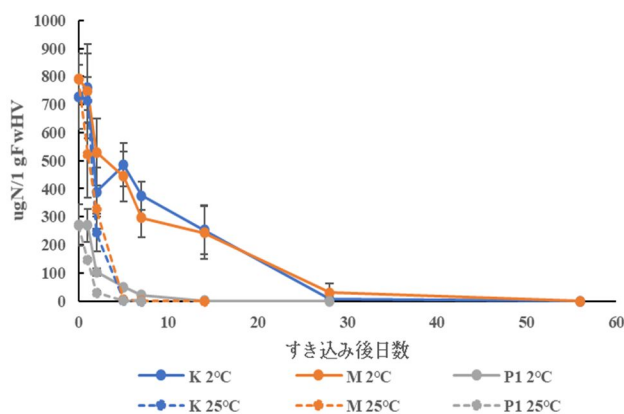


図 1. 各処理区におけるシアナミド量の推移

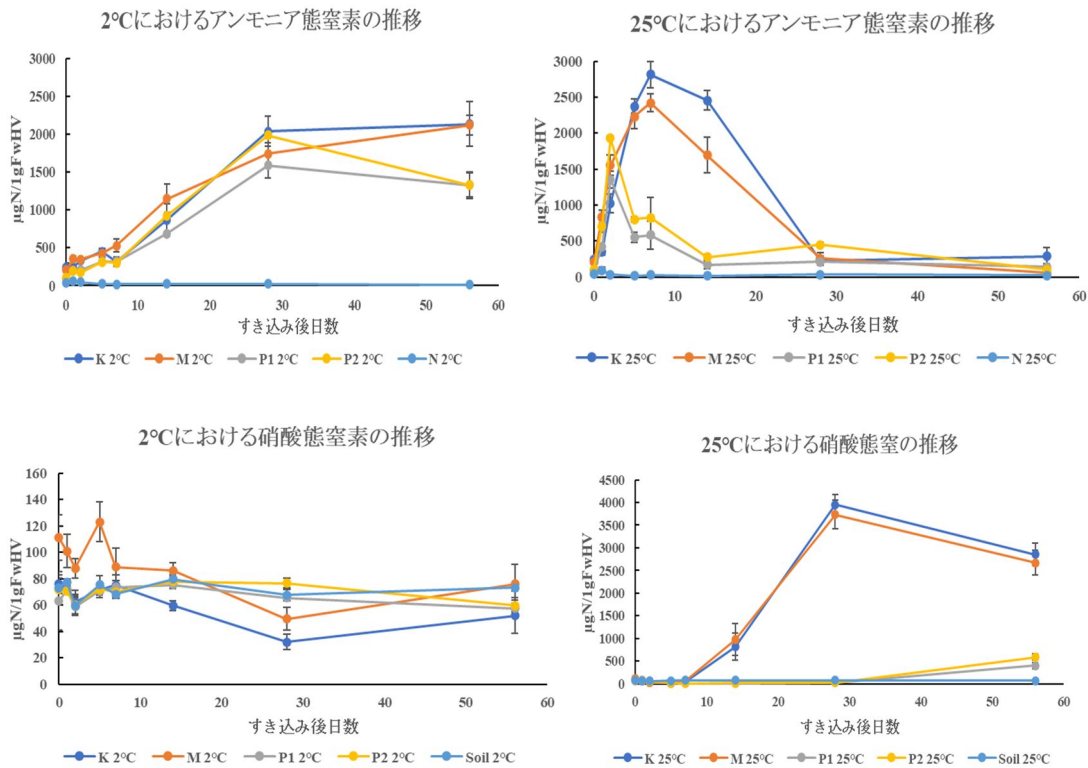


図 2 2 と 25 におけるヘアリーベッチ投入後の土壌無機態窒素の推移

(2) 圃場試験における土壌無機態窒素と微生物相の推移

調査期間における地温は、2018 年度では裸地区に比べ積雪区で高い傾向が認められたが、2019 年度では明確な傾向は認められなかった。2019 年度は 2 月中旬まで少雪傾向であったことが原因と考えられる。各区の植物バイオマスは、ほとんどの区において越冬前後で減少し、2018 年度で減少率が高かった。2 年生ヘアリーベッチを播種した K 区では、再成長が認められ、特に 2019 年度ではバイオマスを維持した。また、ヘアリーベッチ区では、越冬前に雑草種が存在したが越冬後にはほとんど認められなかった。土壌内の無機態窒素は、両年ともアンモニア態窒素が 2 月から 3 月にかけて急激に増加し、硝酸態窒素が 3 月から 4 月に増加した(図 3)。この傾向は、除雪処理間では小さかったがカバークロープ処理間で大きく、特にマメスケ区(M)で顕著であった。微生物由来窒素(MBN)は、2018 年度では 3 月から 5 月にかけて急激に増加したが、2019 年度では明確な傾向は認められなかった。また、ヘアリーベッチ区で高い傾向が認められた。

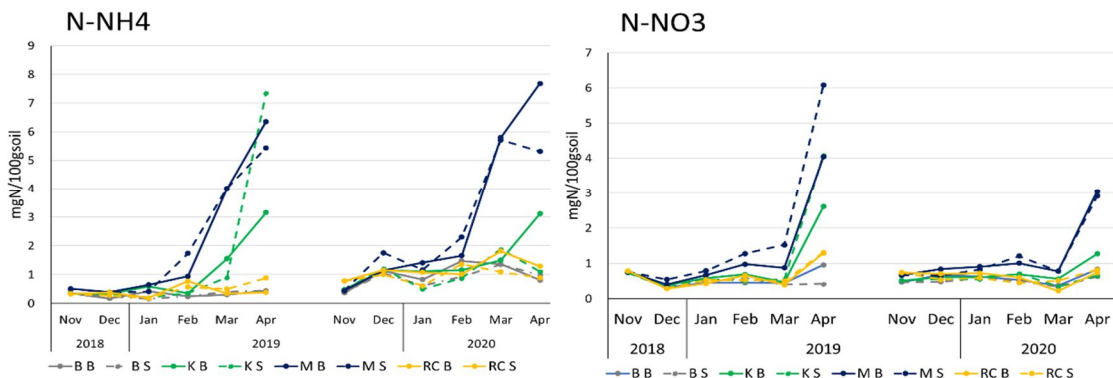
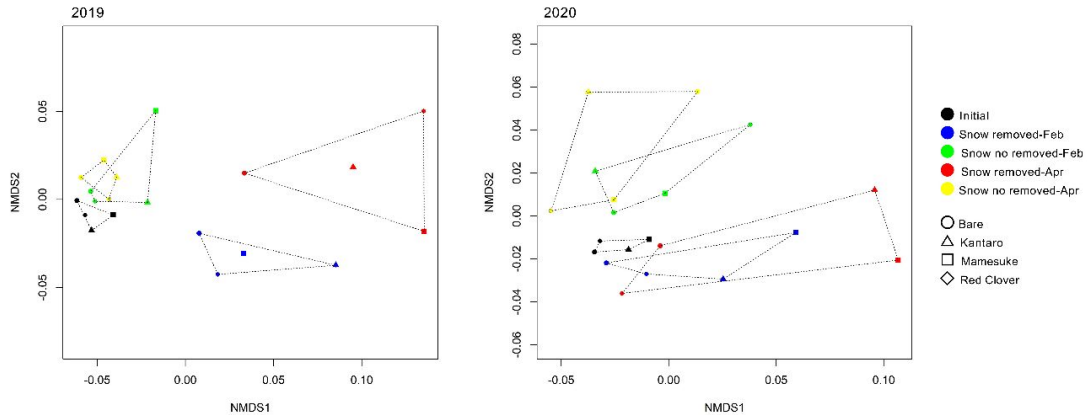


図 3 2018 年と 2019 年におけるアンモニア態窒素と硝酸態性窒素の推移

土壌微生物叢の分析では、種構成の動態に年次間差異が認められた(図 4)。2018 年度では 2 月の積雪区と除雪区間で明確な差異が認められたが、2020 年度では、11 月および 2 月の積雪処理間の差異は小さかった。両年とも、2 月の土壌においてカバークロープ処理間の差異が大きくなり、冬期間においてカバークロープ特異的な種構成の変化が生じていると考えられた。硝化細菌群は、両年とも 4 月の除雪処理ヘアリーベッチ区で上昇が認められたことから、地温の上昇が関与していたと考えられた。



4 2018年度と2019年度における各処理区の土壌微生物の種組成

(3) ヘアリーベッチ栽培後の雑草の出芽抑制効果の検証

ヘアリーベッチ区において融雪期間の長期にわたり高アンモニア態窒素環境が維持されたことから、高 NH_4^+ 環境が雑草種の出芽に及ぼす影響を評価したところ、エゾノギシギシの春出芽条件において平均出芽日数が増加した(図5)。以上の結果から、積雪地帯における秋作ヘアリーベッチは融雪期における高 NH_4^+ 環境をもたらし、それが雑草抑制の一因となっている可能性が示唆された。

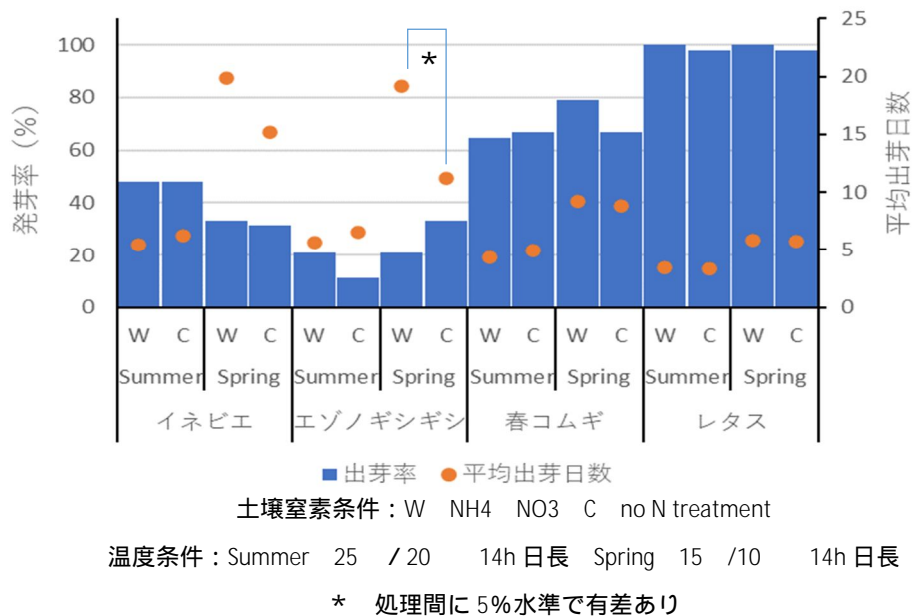


図5 ヘアリーベッチ区早春の窒素状態における雑草の出芽の感受性

(4) 結論

本研究は、ヘアリーベッチに含まれるシアナミドが冬期間のヘアリーベッチの分解に与える影響について解析した初の研究例となる。その結果、ヘアリーベッチ内のシアナミドは低温下で1ヶ月以上維持されると考えられたが、無機化に対する影響はほとんど認められなかった。その一方、ヘアリーベッチ栽培により、冬期間にアンモニア態窒素が土壌に蓄積していくことが明らかとなった。圃場試験で認められた冬期間の硝化抑制は、アレロケミカル由来ではなく、地温の低下による影響が大きいと考えられたが、早春におけるアンモニア態窒素の上昇は、同じマメ科のアカローバでは認められず、ヘアリーベッチ残渣のもつ高窒素含量、低CN比の高分解性による影響が強いと考えられた。ヘアリーベッチ栽培後のアンモニア態窒素の蓄積は、早春における雑草の出芽抑制の一因と考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 内林大志・平田聡之・松村 篤
2. 発表標題 ヘアリーベッチ残渣におけるシアナミドの分解の温度依存性と窒素動態に及ぼす影響
3. 学会等名 日本農作業学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 平田聡之・内林大志・松村 篤
2. 発表標題 秋作ヘアリーベッチが冬期の土壌内窒素環境と雑草の出芽に及ぼす影響
3. 学会等名 日本農作業学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hiratata T., Uchibayashi T., and Mastumura A.
2. 発表標題 Decomposition of hairy vetch mulch under snow and its effect on nitrogen dynamics in soil
3. 学会等名 10th Asian Crop Science Association Conference (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 内林大志・平田聡之
2. 発表標題 ヘアリーベッチの残渣すき込み時にシアナミドがレタスの成長に与える影響
3. 学会等名 日本育種学会作物学会北海道談話会
4. 発表年 2020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
研究 分担 者	松村 篤 (MATSUMURA Atsushi) (30463269)	大阪府立大学・生命環境科学研究科・講師 (24403)	

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
---------	---------