

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 5 月 30 日現在

機関番号：10101

研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化(B））

研究期間：2018～2022

課題番号：18KK0183

研究課題名（和文）Consequences of intensive maize cultivation on soil microbiome and efficient nitrogen cycling in sub-Saharan Africa

研究課題名（英文）Consequences of intensive maize cultivation on soil microbiome and efficient nitrogen cycling in sub-Saharan Africa

研究代表者

内田 義崇（Uchida, Yoshitaka）

北海道大学・農学研究院・准教授

研究者番号：70705251

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,600,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、サブサハラ・アフリカ地域における土壌劣化の深刻性を、窒素循環に関わる土壌微生物の機能と多様性によって評価し、有機物施用によるそれらの回復力を明らかにすることを目的としている。そのために、現地調査により土壌劣化の現状やそれに伴う土壌理化学性の変化を明らかにし、海外の研究者と共同で土壌遺伝子の解析を行った。農地開発によって微生物コミュニティが多様化したこと、そのことが硝化などの微生物機能の向上に関連していることを発見した。さらに、農地開発にตอบสนองする微生物種や機能の一部は土壌採取場所に依存しているが、採取場所に依存せず共通してตอบสนองする種や機能遺伝子も存在することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

サブサハラ・アフリカ土壌の農地開発によって特異的に増える、もしくは減る硝化菌グループが存在する可能性を示唆するデータを得ることができた。この結果はサブサハラ・アフリカ農地の土壌炭素欠乏がどのように低減できるか、または農地開発によって土壌炭素やその他栄養素の枯渇が起きないようにするための経営指針に繋がる基礎情報となった。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study is to evaluate the seriousness of soil degradation in Sub-Saharan Africa based on the function and diversity of soil microorganisms involved in the nitrogen cycle, and to clarify their resilience due to the application of organic matter. For this purpose, field surveys were carried out to determine the actual state of soil degradation. We clarified the changes in soil physicochemical properties associated with soil conditions, and conducted soil gene analysis in collaboration with overseas researchers. We discovered that microbial communities diversified due to agricultural land development, and that this was related to the improvement of microbial functions such as nitrification. Furthermore, we clarified that some of the microbial species and functions that respond to agricultural land development depend on the soil sampling site, but that there are species and functional genes that respond in common regardless of the sampling site.

研究分野：環境生命地球化学

キーワード：サブサハラ 窒素循環 土壌微生物 硝化 機能遺伝子

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

窒素は生物の必須元素であり、その環境中の循環には土壌微生物が重要な役割を担っている。しかし、土壌の窒素循環における微生物の量・多様性の寄与やその詳細なメカニズムは明らかでない。それは、窒素循環には多数の微生物機能遺伝子(図1、斜体が遺伝子名)が関与しており、各プロセスの相互関係が極めて複雑であるからである。

研究代表者らはサブサハラ・アフリカ地域において、高価格の化学肥料を購入できない小規模農家が、主食のトウモロコシを連作することで起こる深刻な土壌劣化を目の当たりにしてきた。しかし、この土壌劣化と微生物機能の関係は解明されていない。微生物機能は劣化土壌の機能回復や少量の肥料を効率よく活用する上で有用である。そのため、この地域のトウモロコシ畑土壌における微生物機能を理解することは、アフリカの持続可能型農業の確立のために必要不可欠である。

また、畑作土壌への有機物施用(堆肥散布等)は、土壌の微生物活性を高める。この有機物施用による窒素循環に関わる微生物機能の回復力や、回復不全となる「限界値」の存在解明は、利用可能な有機物資源が限られる地域にとって非常に重要である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、サブサハラ・アフリカ地域のトウモロコシ根圏土壌を対象に、土壌劣化の程度に伴う窒素循環の機能遺伝子の量および多様性の変化を解明し、さらに有機物施用によるそれら土壌機能の回復評価の基準となる微生物的指標を明らかにすることである。根圏は作物根が土壌微生物と直接接している場であり、微生物が作物生育に影響を及ぼす場所である。

そのため、ザンビア、マラウイ、ケニアのトウモロコシ畑から根圏土壌を採取し、1)トウモロコシ畑の連作などによる土壌劣化の深刻性を窒素循環に関わる様々な機能遺伝子の量および多様性、作物収量、土壌理化学的相互関係によって評価し、2)それら機能遺伝子の量や多様性が低い土壌において、有機物の施用が土壌微生物機能や土壌機能の回復に及ぼす影響を明らかにする。

3. 研究の方法

まず、ザンビアにて現地拠点機関研究者と共同で土壌サンプリングを行った。雨期(作物生育期)に、農地とその隣の未開発地区から土壌コアを採取し、土壌に関する基礎情報(土性、全炭素・窒素量等)を収集した。サンプリングは、三ヶ所で行われた。どこも低木林と隣り合わせでトウモロコシを育てている場所であったが、開発時期や土壌タイプが異なる場所を設定した。さらに、農地だけではなく付近の自然生態系であると考えられる場所(森林など)の土壌も採取し、土壌劣化についての指標を得ることを狙った。土性に関してはザンビア農水省または土壌輸入後日本にて解析した。農地毎にメタデータを収集したが、使用している化学肥料などは基本的に類似していた。

さらに、マラウイ、ケニアの共同研究者と現地調査を行った。土壌の採取方法に関しては可能な限りザンビアでの調査と類似の方法を用いた。

得られた土壌の微生物性に関しては、DNA抽出、真菌や Prokaryotes の定量評価(qPCR)、コミュニティ構造解析の順で行った。コミュニティ解析に関しては次世代シーケンサ Ion PGMを用いた。また、一部のザンビア土壌に関しては得られたDNAを網羅的に解析するために全ゲノムを読んだ。この部分はドイツの研究者らと連携した。

また、真菌や Prokaryotes そのものに着目するだけでなく、窒素循環に関わる「機能」の変化や機能遺伝子の多様性といった部分にも注目して実験を進めた。具体的には、化学肥料施肥で増えるアンモニアを硝酸態窒素に酸化する硝化菌の存在と微生物多様性の変化の関連性について調べた。

4. 研究成果

一つの大きな発見は、自然生態系を農地化した場合、バクテリア群集は多様化する、ということである。これは、類似であるが他地域(ヨーロッパやアメリカなど)で行われた研究結果と大きく異なる。一方で、微生物の「量」の減少(DNA量から推定)、全炭素や窒素の欠乏といった傾向は他地域と似ているため、この地域の土壌劣化は微生物多様性損失問題とは切り離して考えなければいけないことがわかりつつある。特に土壌炭素は世界的に見ても極端に少なく、農地利用としての土壌の限界値であるとされている1.1%を切る土壌も多くみられた。このような土地でも農地開発によって微生物が多様化しているのは驚きであった。

さらなる解析を進めた結果、特に硝化菌の多様性が増加している可能性が示唆され、この部分は後述する硝化機能遺伝子の精緻な解析実験につながっている。また、硝化菌と直接は関係ないが、*Balneimonas* や *Bacillus* に関しても農地開発による増加が見られた一方で、*Chloroflexi* は農地開発によって逆に減少していることがわかった。こういった個々の微生物門の変化が微生物の多様性を引き起こしていると考えられる。

ドイツと共同で行ったこれらの全ゲノム解析は、合計で 120 ギガバイト程のデータを得た。詳細は解析中であるが、全ゲノムでは PCR に依存しない微生物や機能遺伝子量や多様性評価が行える。共同研究者のヘルムホルツ研究所・Schloter 博士は特に窒素循環に関わる全ゲノムデータ解析ツールを開発することを得意としているため、それらツールを使った全ゲノム解析を今後行っていく予定である。

硝化菌コミュニティの構造と硝化能力に焦点をあてた培養試験の結果としては、硝酸生成速度が土壌を採取したサイトによってかなり異なること、各サイトでは農地で高くなっていることがわかった。具体的には農地化することによって平均で 1.5 倍ほど硝化能力が高まった。また、この硝酸生成速度と存在量が正に相関している硝化菌の種が、サイトによって偏在していること、および農地開発によって増えてくることがわかった（大東、森、多胡、内田ら；未発表）。

硝化菌は AOB、硝化古細菌は AOA として知られており、同じ硝化能力を持つが環境応答への影響が異なるとされていたため、これらのコミュニティ構造や量の変化についても調べた。その結果、AOB は農地開発で増える傾向が土壌採取場所に関わらず見られたが、AOA は土壌採取場所ごとに特徴があり、農地開発をしてもあまり変化しなかった。一方で、高い硝化能力を見せた一つの土壌採取場所ではある種の AOA が非常に多く、土壌毎の特徴が硝化能力をコントロールしている可能性についてもわかってきた。

さらに研究を進め、鍵となる硝化菌の種に着目して硝化機能遺伝子 *amoA* の種レベルでのコミュニティ解析を進めた。その結果、硝化ポテンシャルが低いサイトでは、農地開発によって *Nitrosospira multiformis* の相対存在量が増加し *Nitrosospira* sp. Wyke8 の相対的存在量が減少した。硝化機能遺伝子の多様性解析に関しては、その解析を行うツールが不足していたため、この部分は農研機構と連携しデータベースを構築する部分から行った。アフリカ土壌微生物を硝化機能多様性群に対して評価する研究は世界でもほとんどない試みであり、この点も大きな成果である。

さらに、複数のザンビア産土壌を用いて、炭素投入（堆肥等）が土壌炭素動態や微生物多様性の変化にどのような影響を与えるかについても精緻に調査した。その結果、炭素投入の微生物多様性変化への影響は土壌によって大きく異なることがわかった。具体的には、炭素量が 1% を上回り、水分保持力の大きい土壌においては、炭素投入の微生物への影響が小さくなり、炭素投入よりも水分量によって微生物多様性が変動することが定量された。また、炭素量が 1% を下回るような極めて貧栄養な土壌においては、炭素投入による微生物量の増加、およびそれに伴う有機物分解速度の増加がより顕著であることも評価できた。

その結果、サブサハラアフリカ土壌の農地開発によって特異的に増える、もしくは減る硝化菌グループが存在する可能性を示唆するデータを得ることができた。この結果はサブサハラアフリカ農地の土壌炭素欠乏がどのように低減できるか、または農地開発によって土壌炭素やその他栄養素の枯渇が起きないようにするための経営指針に繋がる基礎情報となった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Takamitsu Ohigashi、	4. 巻 5
2. 論文標題 Changes in Soil Prokaryotic Diversity in Response to Land-Use Changes in Sub-Saharan Africa	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Soil Systems	6. 最初と最後の頁 62
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/soilsystems5040062	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

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Ohigashi, T., Uchida, Y.
2. 発表標題 Effects of cultivation on soil microbial community structures and functions related to nitrogen cycle in sub-Saharan Africa
3. 学会等名 Eurosoil（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ohigashi, T., Mori, S., Uchida, Y.
2. 発表標題 Site-dependent and land-use effects on community structures and activities of ammonia-oxidizing bacteria and archaea in Zambian soils
3. 学会等名 日本土壌肥料学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takamitsu OHIGASHI, Yoshitaka UCHIDA
2. 発表標題 Changes in the microbial diversity and the abundance of nitrification-related microbes by the cultivation in sub-Saharan Africa
3. 学会等名 日本土壌肥料学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takamitsu OHIGASHI, Yoshitaka UCHIDA
2. 発表標題 Influence of Cultivation on Soil Microbial Diversity and Composition of Nitrification-Related Microbes in Sub-Saharan Africa
3. 学会等名 ASA, CSSA and SSSA International Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takamitsu OHIGASHI, Yoshitaka UCHIDA
2. 発表標題 Can soil microbes increase their diversity despite nutrient loss? –Study on effects of cultivation in sub-Saharan Africa
3. 学会等名 日本生態学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Suzumi MORI, Takamitsu OHIGASHI, Yoshitaka UCHIDA
2. 発表標題 Evaluation of the effect of cultivation on nitrification potential and on the nitrifier abundance and community structure in Zambia
3. 学会等名 日本生態学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takamitsu Ohigashi, Yoshitaka Uchida
2. 発表標題 Effects of cultivation on soil microbial community structures and functions in sub-Saharan Africa
3. 学会等名 International Symposium on Biodiversity in the Global Food System
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大東孝充 内田義崇
2. 発表標題 サブサハラアフリカにおける耕作が土壤微生物機能に及ぼす影響
3. 学会等名 令和元年度 日本生態学会北海道地区大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大東孝充 内田義崇
2. 発表標題 サブサハラアフリカにおける耕作が土壤微生物の窒素循環関連機能に及ぼす影響
3. 学会等名 令和元年度 日本生態学会
4. 発表年 2019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	多胡 香奈子 (Tago Kanako) (20432198)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・農業環境変動研究センター・主任研究員 (82111)	
研究分担者	山本 昭範 (Yamamoto Akinori) (20733083)	東京学芸大学・教育学部・講師 (12604)	

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