

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 8 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K20434

研究課題名（和文）森林生態系における土壌微生物の多様性とプライミング効果の関係

研究課題名（英文）Relationship between Soil Microbial Diversity and Priming Effects in Forest Ecosystems

研究代表者

沢田 こずえ（Sawada, Kozue）

名古屋大学・生命農学研究科・特任助教

研究者番号：60795285

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、森林土壌において、菌根菌タイプ（外生菌根菌とアーバスキュラー菌根菌）の違いや土壌酸性度、窒素・リン制限の違いが、微生物の群集組成や多様性と炭素添加による有機物分解促進効果（プライミング効果）に与える影響を解明した。

その結果、菌根菌タイプの違いは、微生物群集組成や多様性に大きく影響を与えるが、プライミング効果には影響しないことが解明された。日本の強酸性土壌では、プライミング効果が抑制された。また、リンが欠乏する熱帯林土壌では、リンマイニングによるプライミング効果が、窒素が欠乏する温帯林土壌では、窒素マイニングによるプライミング効果が起こった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

プライミング効果は、菌根菌タイプの違いや微生物群集組成・多様性の違いよりも、土壌酸性度の違いや窒素・リン制限の違いの影響の方が大きいことが分かった。つまり、樹種選択による微生物群集組成の改変は、プライミング効果にはあまり影響しないかもしれない。一方、土壌酸性化は有機物分解を抑制しうること、適切な養分バランスが森林土壌の炭素蓄積に重要であることが示された。以上の成果は、森林土壌における炭素動態の予測精度の精緻化と、CO₂放出量の抑制や土壌炭素量の増加に向けての適切な管理と利用法の考案につながる重要な成果である。

研究成果の概要（英文）： This study elucidated the effects of differences in mycorrhizal types (ectomycorrhizal and arbuscular mycorrhizal fungi), soil acidity, and N and P limitation on microbial community composition and diversity and the effect of C addition to promote organic matter degradation (priming effect) in forest soils.

The results revealed that differences in mycorrhizal types significantly affected microbial community composition and diversity, but not the priming effect. The priming effect was suppressed in highly acidic soils in Japan. The priming effect through P mining occurred in P-poor tropical forest soils, and the priming effect through N mining occurred in N-poor temperate forest soils. These results are essential for accurately predicting C dynamics in forest soils.

研究分野：土壌生化学

キーワード：土壌微生物 土壌有機物 プライミング効果 森林生態系

1. 研究開始当初の背景

将来、大気 CO_2 濃度の増加に伴って植物の光合成能が高まり、土壌への炭素供給量が増加すると予測される。このような土壌への炭素供給量の増加によって、微生物活性が高まり、土壌有機物の分解速度が増加することを正のプライミング効果という。土壌は、大気中炭素の 2 倍以上、植物体炭素の約 4 倍に相当する約 2 兆トンの炭素を有機物として保持しており、土壌からの CO_2 放出量は、化石燃料の燃焼などの人為起源放出量の約 8 倍に相当する。そのため、正のプライミング効果によって土壌からの CO_2 放出量がわずかでも増加し、土壌炭素量がわずかでも減少すれば、大気 CO_2 濃度については気候変動に大きな影響を及ぼす。しかし、プライミング効果によって土壌炭素量が減少するかどうかについて、未だ意見の一致がみられない。

日本は、国土の約 7 割を森林が占める。温帯湿潤地の自然植生は、ブナ科などの外生菌根 (ECM) 性樹種が優占する。しかし日本では、戦後の拡大造林政策により全森林面積の約 4 割が人工林で、人工林の約 7 割をスギやヒノキなどアーバスキュラー菌根 (AM) 性樹種が占める。また、湿潤洗脱条件下の日本森林土壌では、強酸性になりやすく、さらに窒素不足が樹木生育の制限因子になる場合が多い。一方で、同じ湿潤洗脱条件下であっても、熱帯林土壌では、リン不足が樹木生育を制限する場合が多い。しかしこれまで、森林土壌において、菌根菌タイプのちがいや、土壌酸性度、養分 (窒素・リン) 制限のちがいがプライミング効果に与える影響については、ほとんど解明されていない。また、プライミング効果を引き起こす微生物群集についての知見も限られている。

2. 研究の目的

本研究では、森林土壌において、近年急速に発展してきた同位体トレーサー法と分子生物学的手法を応用し、菌根菌タイプ (ECM 菌と AM 菌) の違いや土壌酸性度、窒素・リン制限の違いが、微生物群集組成とプライミング効果に与える影響を解明する。そして、森林土壌における炭素動態の予測精度の精緻化と、 CO_2 放出量の抑制や土壌炭素量の増加に向けての適切な管理と利用法、対策技術を考案することを目的とする。

3. 研究の方法

プライミング効果は、 ^{13}C 標識グルコースを微生物バイオマス C の約 50% 量土壌に添加後、 $^{12}\text{C}\text{-CO}_2$ と $^{13}\text{C}\text{-CO}_2$ を測定することで土壌有機物由来と添加グルコース由来 CO_2 量を求め、グルコース添加ありとなしの場合の土壌有機物由来 CO_2 量の差から計算した。細菌と真菌の群集組成は、次世代シーケンサーによるアンプリコンシーケンスにより解析・比較した。

4. 研究成果

4.1. 土壌酸性度の違いがプライミング効果に与える影響

強酸性の高知県ヒノキ林土壌 (pH4.1) では、グルコースの添加によって、土壌有機物分解が促進されるのではなく抑制される負のプライミング効果が起こった (図 1a)。このとき、土壌有機物由来バイオマス C が有意に高くなった。つまり、バイオマス体内に C が蓄積することによって CO_2 放出が抑えられたと考えられた (図 1b) (Sawada et al., 2021a)。

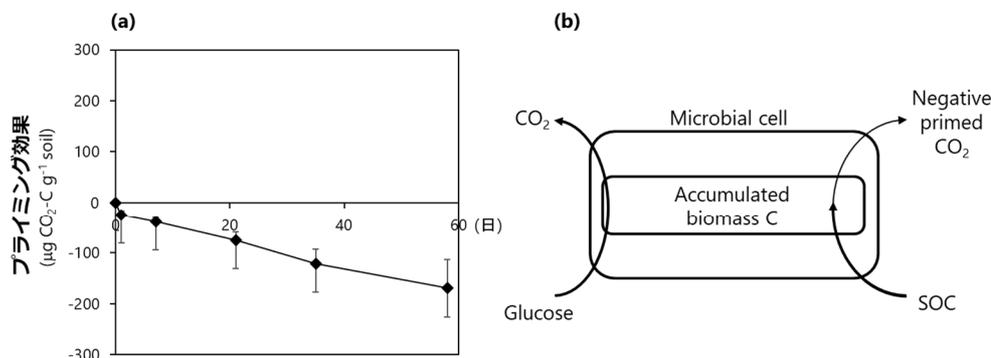


図1 (a) ヒノキ林土壌のプライミング効果。(b) 負のプライミング効果のメカニズムの概念図

同様に、強酸性の高知県スギ林土壌 (pH5.0 と pH4.8) と天然林土壌 (pH4.9) においても、正のプライミング効果は起こらなかった。以上から、強酸性の森林土壌では、炭素供給量の増加によっても有機物分解は促進されず、むしろ抑制される場合もあることが解明された。

4.2. 菌根菌タイプの違いが微生物群集組成とプライミング効果に与える影響

高知県四万十川流域の弱酸性 (pH 約 5.5) の地域において、約 50 年前にスギ人工林化したサイトと隣接する針葉樹 (ツガ・モミ) が優占する天然林サイトから土壌 (根圏・表層・下層) と樹木根を採取し、細菌と真菌群集組成をアンプリコンシーケンスによって解析した。その結果、(1)スギ林の根や土壌では ECM 菌が存在しない一方、天然林では全真菌の約 20% が ECM 菌であること (図 2a)、(2)天然林では、鉱物風化細菌であるバークホルデリア属細菌など特定の細菌が根に集積された結果 (図 2b)、スギと比べて細菌の多様性が低いこと (表 1) が示された (Sawada et al., 2021b)。

しかし、このような細菌・真菌群集組成や細菌多様性が異なる土壌においても、正のプライミング効果の大きさには差がなかった。以上から、微生物は有機物分解に対して冗長性を持つことが示唆された。

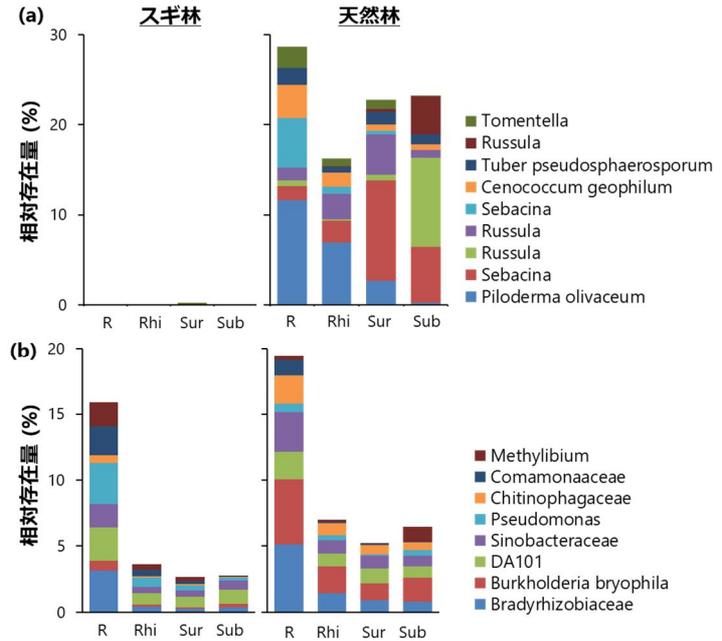


図2 (a) ECM菌群集組成。(b) 根に集積する細菌群集組成。
R: 根、Rhi: 根圏、Sur: 表層、Sub: 下層。

表1. Richness and diversity index values of the bacterial and fungal communities in four compartments for two vegetation types.

| | Cedar plantation | | | | Natural forest | | | |
|-----------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | Root | Rhizosphere | Surface | Subsurface | Root | Rhizosphere | Surface | Subsurface |
| Bacteria | | | | | | | | |
| Numbers of OTUs | 2643 (259) ^b | 3623 (200) ^a | 3740 (119) ^a | 2478 (172) ^b | 1734 (146) ^b | 2734 (233) ^a | 2788 (216) ^a | 2158 (28) ^b |
| Shannon index | <u>6.52 (0.06)^b</u> | <u>6.97 (0.20)^a</u> | <u>7.08 (0.08)^a</u> | <u>6.24 (0.11)^b</u> | 5.81 (0.20) ^b | 6.25 (0.17) ^a | 6.20 (0.21) ^a | 5.73 (0.12) ^b |
| Fungi | | | | | | | | |
| Numbers of OTUs | 69 (11) ^c | 219 (20) ^a | 218 (57) ^a | 149 (11) ^b | 76 (17) ^b | 181 (38) ^a | 201 (35) ^a | 128 (37) ^{ab} |
| Shannon index | 2.40 (0.52) | 3.38 (0.22) | 3.30 (0.65) | 2.75 (0.55) | 2.82 (0.25) | 2.77 (0.59) | 3.24 (0.26) | 2.48 (0.45) |

Data are means (standard deviations) of three replicates. Different letters indicate significant differences ($P < 0.05$) among compartments for each vegetation type. Data with a significantly higher value ($P < 0.05$) between vegetation types for each compartment are underlined.

4.3. 窒素・リン制限の違いがプライミング効果に与える影響

ベトナム中央高地の熱帯林土壌と長野県森林土壌において、無添加 (CTL)、無機態 N 添加 (N)、無機態 P 添加 (P)、¹³C 標識グルコース添加 (C)、C と N 添加 (CN)、C と P 添加 (CP)、C と N、P 添加 (CNP) の処理を加えた後、プライミング効果を定量した。その結果、ベトナム土壌では、C および CN で正のプライミング効果が起こったが、CP および CNP では正のプライミング効果は起こらなかった (図 3a) (Sawada et al., 2023)。長野県土壌では、C および CP 添加で正のプライミング効果が起こったが、CN および CNP では正のプライミング効果は起こらなかった (図 3b)。すなわち、リン制限のある熱帯ベトナム土壌では P 添加によって正のプライミング効果が抑制 (P マイニングが抑制) され、窒素制限のある長野県土壌では N 添加によって正のプライミング効果が抑制 (N マイニングが抑制) された。

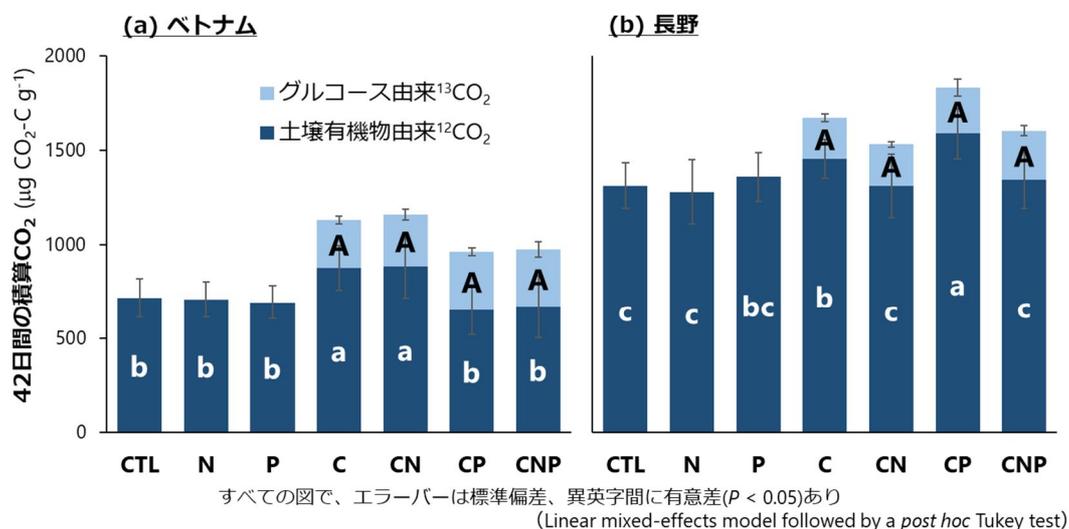


図3 (a) ベトナム土壌と(b)長野土壌における42日間のグルコース由来CO₂と土壌有機物由来CO₂。

4.4. まとめ

プライミング効果は、菌根菌タイプの違いや微生物群集組成・多様性の違いよりも、土壌酸性度の違いや窒素・リン制限の違いの影響の方が大きいことが分かった。つまり、樹種選択による微生物群集組成の改変は、プライミング効果にはあまり影響しないかもしれない。一方、土壌酸性化は有機物分解を抑制しうることで、適切な養分バランスが森林土壌の炭素蓄積に重要であることが示された。

<引用文献>

- Sawada K, Inagaki Y, Toyota K (2021a). *Applied Soil Ecology*, 162, 103884.
 Sawada K, Inagaki Y, Sugihara S, Funakawa S, Ritz K, Toyota K (2021b). *Applied Soil Ecology*, 167, 104027.
 Sawada K, Kunito T, Watanabe T, Kitagawa N, Lyu H, Nguyen HL, Toyota K, Funakawa S (2023). *Soil Science and Plant Nutrition*, In Press

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 1件）

| | |
|--|---------------------|
| 1. 著者名 Sawada Kozue, Inagaki Yoshiyuki, Sugihara Soh, Funakawa Shinya, Ritz Karl, Toyota Koki | 4. 巻 167 |
| 2. 論文標題 Impacts of conversion from natural forest to cedar plantation on the structure and diversity of root-associated and soil microbial communities | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Applied Soil Ecology | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.apsoil.2021.104027 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 該当する |
| 1. 著者名 Sawada Kozue, Watanabe Shinichi, Nguyen Ho Lam, Sugihara Soh, Seki Mayuko, Kobayashi Hana, Toyota Koki, Funakawa Shinya | 4. 巻 12 |
| 2. 論文標題 Comparison of the Structure and Diversity of Root-Associated and Soil Microbial Communities Between Acacia Plantations and Native Tropical Mountain Forests | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Frontiers in Microbiology | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fmicb.2021.735121 | 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 |
| 1. 著者名 沢田 こずえ、渡邊 哲弘、舟川 晋也 | 4. 巻 75 |
| 2. 論文標題 「ミニマム・ロスの農業」の規範となる自然生態系および 伝統的農業生態系土壌における炭素・養分循環の解明 | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 土と微生物 | 6. 最初と最後の頁 52～59 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.18946/jssm.75.2_52 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Sawada Kozue, Inagaki Yoshiyuki, Toyota Koki | 4. 巻 162 |
| 2. 論文標題 Priming effects induced by C and N additions in relation to microbial biomass turnover in Japanese forest soils | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Applied Soil Ecology | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.apsoil.2021.103884 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-----------------|
| 1. 著者名 Sawada Kozue, Kunito Takashi, Watanabe Tetsuhiro, Kitagawa Natsuko, Lyu Han, Nguyen Ho Lam, Toyota Koki, Funakawa Shinya | 4. 巻 - |
| 2. 論文標題 Positive priming effects through microbial P-mining in tropical forest soils under N2-fixing trees | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Soil Science and Plant Nutrition | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/00380768.2023.2199777 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 該当する |

〔学会発表〕 計4件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

| |
|--|
| 1. 発表者名 沢田こずえ・稲垣善之・國頭恭・杉原創・豊田剛己・舟川晋也 |
| 2. 発表標題 菌根タイプの異なる日本森林土壌における無機態窒素と微生物群集組成の比較 |
| 3. 学会等名 日本土壌肥料学会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 沢田こずえ |
| 2. 発表標題 「ミニマム・ロス」の農業の規範となる自然生態系土壌における微生物群集組成と養分循環の解明 |
| 3. 学会等名 日本土壌微生物学会 (招待講演) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 沢田こずえ・稲垣善之・渡邊哲弘・國頭恭・豊田剛己 |
| 2. 発表標題 四万十川流域における天然林のスギ人工林化が土壌微生物群集組成とプライミング効果に及ぼす影響 |
| 3. 学会等名 土壌肥料学会関東支部会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 沢田こずえ・稲垣善之・杉原創・國頭恭・村瀬潤・豊田剛己・舟川晋也 |
| 2. 発表標題 針葉樹天然林のスギ人工林化が微生物群集組成と窒素循環に及ぼす影響 |
| 3. 学会等名 土壤肥料学会中部支部会 |
| 4. 発表年 2022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 |
|---------------------------|-----------------------|----|
| | | |

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 |
|---------|---------|
| | |