

令和 4 年 5 月 2 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2020～2021

課題番号：20K21303

研究課題名（和文）菌食性土壌動物による農耕地土壌からの一酸化二窒素ガス発生低減：普遍性の検証と応用

研究課題名（英文）Mitigating N<sub>2</sub>O emission from agricultural soils with fungivorous mites

研究代表者

妹尾 啓史（Senoo, Keishi）

東京大学・大学院農学生命科学研究科（農学部）・教授

研究者番号：40206652

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：農耕地土壌は温室効果ガスである一酸化二窒素（N<sub>2</sub>O）の大きな発生源である。土壌に施用された肥料に含まれる窒素が土壌微生物によって形態変換される過程で発生する。本研究では、「ササラダニ等の菌食性の土壌動物が、N<sub>2</sub>Oを生成する土壌微生物を摂食してN<sub>2</sub>Oガスの排出が低減している」という我々の発見について、各種の土壌や肥料において起こる現象であるかどうかを検証した。その結果、ササラダニの住み家となるココナツハスクの施用は、各種の土壌中のダニ個体数を増加させ、有機質肥料由来のN<sub>2</sub>O排出を低減することが示された。化学肥料由来のN<sub>2</sub>O削減や、他の素材の住み家としての効果についてはさらに検討が必要である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

農耕地土壌は温室効果ガスの一つである一酸化二窒素（N<sub>2</sub>O）の大きな人為的排出源であり、その排出削減は世界的急務である。しかし、農業現場に普及する安定的で簡便な削減技術はこれまでになかった。本研究から、ココナツハスクの施用により菌食性土壌動物を増加させ、有機質肥料の施用に由来するN<sub>2</sub>O排出を削減する技術は、土壌の種類や場所の異なる農耕地において広く有効であることが示唆された。また、尿素肥料施用に由来するN<sub>2</sub>O排出の削減にも有効である可能性も示された。本研究により、土壌生態系機能を簡便な方法で制御してN<sub>2</sub>O発生削減に結びつける斬新な技術の基盤を構築でき、地球環境保全への大きな貢献が期待できる。

研究成果の概要（英文）：Agricultural soils are a major source of the greenhouse gas nitrous oxide (N<sub>2</sub>O). It is generated through microbial transformation of nitrogen contained in fertilizers applied to soil. We previously found that "fungivorous soil fauna, such as mites, feed on N<sub>2</sub>O-producing soil microorganisms, thereby mitigate N<sub>2</sub>O gas emissions" In this study, we examined whether this phenomenon occurs in various types of soils and fertilizers. The results showed that the application of coconut husk as habitat for fungivorous mites increased mite abundance and mitigated N<sub>2</sub>O emissions derived from organic fertilizers in various types of soil. Further studies are needed to examine the mites' effects on N<sub>2</sub>O mitigation derived from chemical fertilizers and examine other materials as habitat for mites.

研究分野：土壌学、土壌微生物学

キーワード：一酸化二窒素ガス 畑土壌 排出削減 菌食性土壌動物 ココナツハスク

## 1. 研究開始当初の背景

二酸化炭素の約 300 倍もの温室効果強度を持つとともにオゾン層破壊作用も有する一酸化二窒素 ( $N_2O$ ) の大気中濃度が人間活動の活発化に伴って急上昇している。農耕地土壌は  $N_2O$  の大きな人為的発生源であり、日本では人為的発生源の約 25%、世界では 60% を占めている。地球温暖化を抑制するため、 $N_2O$  ガスの発生削減は農業分野において喫緊の世界的課題となっている。

我々は、 $N_2O$  を  $N_2$  に還元する能力が高く、かつ植物生育を促進する作用を有する微生物を探索し、 $N_2O$  削減・植物生育促進微生物資材の開発を行ってきた。この微生物資材化の過程で、菌体を保持する担体 (キャリア) として選定した植物性繊維 (ココナッツハスク) が、全く予想もしなかった  $N_2O$  削減効果を有することを圃場試験において発見した。そのメカニズムとして、ササラダニなどの菌食性土壌動物が土壌に混合したココナッツハスクの密集繊維の間隙に住み着いて増殖し、有機質肥料近傍に生育する  $N_2O$  生成系状菌を摂食したことによって  $N_2O$  発生が低減されるということ突き止めた。菌食性土壌動物による  $N_2O$  発生削減は、今までに全く報告例のない学術的に新規な知見であるだけでなく、農業現場における  $N_2O$  発生削減技術にもつながる画期的な発見であった。

しかしながら、この  $N_2O$  削減効果は限られた圃場試験で確認した段階であった。土壌によって菌食性土壌動物の種類が異なり、土壌や肥料によって  $N_2O$  生成微生物が異なると考えられる。そのため、 $N_2O$  削減効果の及ぶ範囲を明らかにするためには、異なる種類の土壌や各種の肥料を組み合わせた検証を行う必要がある。また、農業現場に普及する  $N_2O$  削減技術へと展開するためには、ココナッツハスクにとどまらず、菌食性土壌動物の「住み家」としての効果が高く、かつ入手しやすく安全で安価な素材を幅広く探索することが必要であった。

## 2. 研究の目的

農耕地土壌は温室効果ガスである一酸化二窒素 ( $N_2O$ ) ガスの大きな発生源である。農耕地からの  $N_2O$  ガスは、肥料に含まれる窒素が土壌中の微生物によって形態変換される過程で発生する。本研究では、応募者が見出した「ササラダニ等の菌食性の土壌動物が、 $N_2O$  を生成する土壌微生物を摂食することによって  $N_2O$  ガスの発生を低減している」という萌芽的発見について、各種の土壌や肥料において起こる普遍的な現象であるのかどうかを検証する。さらに、この効果を農耕地からの  $N_2O$  ガス削減技術へと結び付けるため、菌食性土壌動物が土壌中で集積・増殖を行う「住み家」としての効果が高い素材を探索する。

## 3. 研究の方法

### I. 土壌からの $N_2O$ 排出量に対するココナッツハスクの長期的効果

実験は、東京大学農学生命科学研究科附属生態調和農学機構 (東京都西東京市) 内の畑圃場で行った (Fig. 1 left)。土壌は、日本の畑地面積の約半分を占める黒ボク土 (Andisols) である。試験圃場の各設置区は  $1m \times 1m$  になるように設計された (Fig. 1 left)。この試験圃場は 2019 年 7 月 29 日に設置して試験を開始したものである。2019 年の試験では、ココナッツハスクの施用が土壌のダニの数と  $N_2O$  排出量に及ぼす短期的 (半年以内) な影響を調査した。2020 年の試験は 2020 年 7 月 10 日に開始し、2019 年に施用したココナッツハスクの効果が 2 年目にも持続するか (長期的効果) を調査することを目的とした。ココナッツハスクは、試験開始時 (2019 年 7 月 29 日) に半数の設置区画の土壌の 0~10cm 層に施用した。施用量は  $250g/m^2$  ( $\sim 1\% v/v$ ) である (Fig. 1 right)。基肥として試験開始時に有機質肥料を土壌に混合施用し、約 1 ヶ月後に追肥として有機質肥料を土壌表面に施用した。施肥後の土壌からの  $N_2O$  排出量は、チャンパー方式によって 1 週間ごとに測定した。2019 年と 2020 年の試験の方法は、2020 年には新たなココナッツハスクを土壌に施用しなかった以外は同様である。

### II. ココナッツハスクと多孔質素材の施用が土壌のダニ個体数と $N_2O$ 排出量に与える影響

我々の以前の研究 (Shen et al., 2021) では、ココナッツハスクを土壌に施用すると、土壌中の菌食性ダニの個体数が増加し、土壌中の  $N_2O$  生成系状菌を摂食することにより土壌からの  $N_2O$  排出量が減少することが示された。ダニ個体数の増加は、ココナッツハスクが有する多孔質構造により土壌の通気性・透水性が向上し、ダニの生存や産卵が有利になったためと推測された。そこで本研究では、土壌改良資材として用いられる他の安価な多孔質素材の施用が、土壌中のダニの個体数や土壌からの  $N_2O$  排出量に同様の影響を与えるかどうかを検証することを目的とした。また、黒ボク土以外のタイプの土壌において、ココナッツハスクの施用がダニ個体数と  $N_2O$  排出量に与える影響を検証するため、砂質土壌を用いた実験を行った。

この実験は 2 段階に分けて行った。第 1 段階では、有機質肥料を基肥として混合した砂質土壌 (北海道岩見沢圃場から採取) にココナッツハスクまたは多孔質素材を添加して培養し、ダニの個体数に対する効果を調べた。

第 2 段階では、第 1 段階の培養後の土壌からの  $N_2O$  排出量を測定した。各区のバルク土壌が

ら 200g (乾燥重量) の土壌をガラス瓶に移し替えた。追肥として 2g の有機肥料を土壌表面に施した (0.6g N/kg 乾燥土壌、基肥の場合と同量)。N<sub>2</sub>O フラックスを 2~3 日おきに測定した。N<sub>2</sub>O フラックスは、1 時間密閉したガラス瓶のヘッドスペースから採取したガスサンプルの N<sub>2</sub>O 濃度を測定することによって調べた。

### III. 尿素肥料を施用した土壌からの N<sub>2</sub>O 排出量に対するダニの影響

尿素肥料施用後の土壌からの N<sub>2</sub>O 排出量に及ぼすダニの影響を室内系土壌マイクロコズム試験によって調べた。低温保存してダニを排除した土壌に尿素肥料を混合し、ガラス瓶に入れた。そこに、新潟県農業総合研究所 (長岡市) の試験圃場 (Shen et al., 2021) において採取した土壌から抽出したダニを添加した。この土壌マイクロコズムを保温静置して、土壌からの N<sub>2</sub>O 排出量を調べた。

## 4. 研究成果

### I. 土壌からの N<sub>2</sub>O 排出量に対するココナッツハスクの長期的効果

有機質肥料を施用した全ての区画において、試験期間中に N<sub>2</sub>O フラックスの 2 つのピークが観測された。それぞれ基肥と追肥後の最初の週に発生した。ココナッツハスクの施用は、N<sub>2</sub>O フラックスのピークの時期や期間に影響を与えなかったが、その高さを減少させた。ココナッツハスクを施用した圃場区画では、基肥および追肥後の N<sub>2</sub>O フラックスの高さが、ココナッツハスクを施用していない区画に比べて約 4 分の 1 および 5 分の 1 低くなっていた。その結果、ココナッツハスクを施用した区画の全試験期間中の N<sub>2</sub>O 累積排出量は、ココナッツハスクを施用していない区画のそれよりも約 30% 少なかった。ココナッツハスクは主にセルロースとリグニンから構成されているため土壌中での分解が遅く、施用後 2 年目でもある程度残存しており、N<sub>2</sub>O 排出を削減できると考えられた。

また、ココナッツハスクの施用は、基肥後よりも追肥後の N<sub>2</sub>O 排出削減に、より顕著な効果を与えた。この結果は我々の先行研究 (Shen et al., 2021) と一致している。これは、ココナッツハスクが菌食性ダニの個体数を増加させ、N<sub>2</sub>O を生成する糸状菌の摂食を促進したために N<sub>2</sub>O 排出量が低減したこと (Shen et al., 2021) ならびに、土壌表面に有機質肥料を施用した場合は、糸状菌脱室による N<sub>2</sub>O 排出の寄与がより大きい (Wei et al., 2014) ためと考えられる。

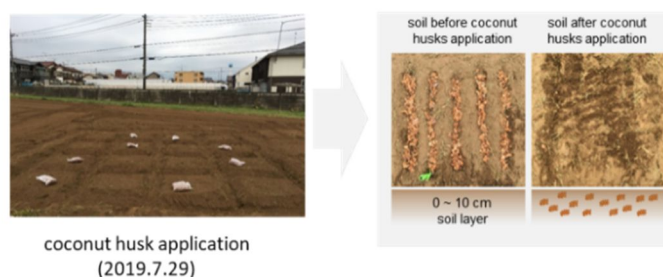


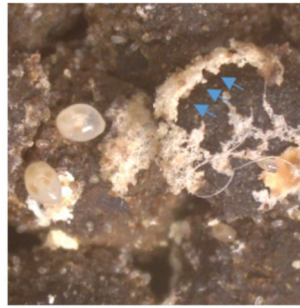
Fig. 1 Field experiment. left: plot design, right: coconut husk application

### II. ココナッツハスクと多孔質素材の施用が土壌のダニ個体数と N<sub>2</sub>O 排出量に与える影響

1 ヶ月間の培養後、ココナッツハスクを施用した土壌のダニ個体数は、ココナッツハスクを施用していない土壌よりも有意に多くなった (Fig. 2)。また、多孔質素材を施用した土壌では、統計的に有意な差はなかったが、施用していない土壌よりもダニ個体数が高い傾向にあった。

N<sub>2</sub>O の排出パターンは、ココナッツハスク施用土壌と多孔質素材施用土壌とは異なっていた。ココナッツハスクを施用した土壌からの N<sub>2</sub>O フラックスは、施肥後最初の 4 日間は無施用区よりもやや高く、次の週には無施用区と同程度になり、最後の 10 日間は無施用区よりも少なくなった。砂質土壌を用いた本実験におけるこのような N<sub>2</sub>O 排出パターンは、黒ボク土を用いた過去の実験 (Shen et al., 2021) で見られたものとは異なっていた。しかし、どちらの土壌においても、ココナッツハスクの施用によってダニの個体数が増加し、糸状菌の量が減少した (Fig. 2) ことから、N<sub>2</sub>O 排出に対するダニの効果は土壌の種類によって異なっており、おそらく N<sub>2</sub>O 排出の基盤となる N<sub>2</sub>O 生成微生物群集が異なるためであろうと考えられた。N<sub>2</sub>O 排出を支配する微生物群集は、施肥後の時間の経過とともに変化する可能性があり、これが N<sub>2</sub>O 排出の段階によってココナッツハスクの効果の変動につながった可能性が考えられる。

土壌への多孔質素材の施用は、ダニの個体数を増加させたが、実験期間を通して N<sub>2</sub>O 排出量を減少させることはなかった。これは、多孔質素材の施用によって土壌の理化学性が変化して N<sub>2</sub>O 排出を悪化させ、ダニの菌食作用増強による N<sub>2</sub>O 排出の削減効果が相殺された可能性が考えられる。



fungal mycelia in being consumed by mites

**Fig. 2 Fungivorous activity of mites in soil applied with coconut husk**

### III. 尿素肥料を施用した土壌からの $N_2O$ 排出量に対するダニの影響

ダニを添加した土壌と添加していない土壌の両方で、尿素施用直後に  $N_2O$  の排出が急速に始まり、1週間で終了した。 $N_2O$  フラックスは施肥の翌日にピークとなり、その後減少に転じた。ダニを添加した土壌では、 $N_2O$  フラックスのピークの高さが無添加土壌よりも低かったが、その差は統計的に有意ではなく、 $N_2O$  累積排出量の有意な減少につながらなかった。尿素による  $N_2O$  排出量に対するダニの効果は、有機肥料による  $N_2O$  排出量に対する効果に比べて明らかに小さかった。これは、尿素施用後の土壌からの  $N_2O$  排出量には、糸状菌脱窒の寄与が少なかったためと考えられる。尿素や他の化学肥料を施用した土壌からの  $N_2O$  排出にダニが及ぼす影響については、今後さらなる研究が必要である。

### IV. 考察と展望

#### IV-1. ダニは農耕地土壌からの $N_2O$ 排出を普遍的に制御できる

黒ボク土 (Shen et al., 2021)、灰色低地土 (未発表)、砂質土壌 (Fig. 2) などの異なる種類の土壌や、新潟 (Shen et al., 2021)、東京 (Fig. 1)、北海道 (Fig. 2) などの異なる場所から採取した土壌でダニによる  $N_2O$  排出削減効果が示された。ダニは、有機肥料施用による  $N_2O$  排出 (Shen et al., 2021) だけでなく、尿素などの化学肥料施用による  $N_2O$  排出も削減している可能性があるが、さらなる検証が必要である。

#### IV-2. ココナッツハスクは土壌中のダニ個体数を増加させる

ココナッツハスクが土壌中のダニ個体数を増加させることは、様々な場所、様々なダニ群集の生息する土壌で確認されている (未発表)。ココナッツハスクと同様の多孔質特性を持つ他の素材も、ダニの個体数を増加させる可能性があり (Fig. 2)、わら、樹皮、各種バイオ炭など、今後さらに様々な素材について検証する価値がある。

#### IV-3. ココナッツハスクの施用による $N_2O$ 排出削減効果

ココナッツハスクの施用により、長岡圃場 (Shen et al., 2021) と西東京圃場では、施用1年目 (未発表) 2年目ともに  $N_2O$  排出が削減された (Fig. 1)。しかし、他の土壌タイプ (Fig. 2) や尿素を施用した土壌では、ココナッツハスク施用によるダニの増加が  $N_2O$  フラックスを減少させたステージが見られた一方、ステージでは  $N_2O$  フラックスが変化しないか微増したステージも見られた。これは、施肥後のステージによって、 $N_2O$  生成微生物群集が異なることが原因だと考えられる。様々な種類の肥料を施用した土壌から排出される  $N_2O$  を軽減するためにダニをどのように利用できるかは、今後さらに研究する必要がある。

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 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Shen Haoyang, Shiratori Yutaka, Ohta Sayuri, Masuda Yoko, Isobe Kazuo, Senoo Keishi	4. 巻 online
2. 論文標題 Mitigating N2O emissions from agricultural soils with fungivorous mites	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The ISME Journal	6. 最初と最後の頁 online
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41396-021-00948-4	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 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 申浩洋、白鳥豊、前田征之、永峰賢、深野透、妹尾啓史
2. 発表標題 菌食性ササラダニによる農耕地土壌からのN2O発生削減（III）：日本の各地の圃場で実践
3. 学会等名 日本土壌肥料学会2020年度岡山大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shen H., Shiratori Y., Maeda M., Ohta S., Nagamine, T., Masuda Y., Isobe K., Senoo K.
2. 発表標題 Mites mitigate soil N2O emissions by consuming fungal N2O producers
3. 学会等名 World Microbe Forum（国際学会）
4. 発表年 2021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
---------	---------