

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 4 日現在

機関番号：24403

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23780017

研究課題名(和文) 緑肥分解に伴うN₂Oの発生ならびに土壤微生物相の変化からみた作物の生育と養分吸収研究課題名(英文) Relationship between crop growth and nutrition and N₂O emission or soil microbial community by green manure incorporation

研究代表者

松村 篤 (MATSUMURA, Atsushi)

大阪府立大学・生命環境科学研究科(系)・助教

研究者番号：30463269

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円、(間接経費) 1,050,000円

研究成果の概要(和文)：緑肥作物のすき込み後の亜酸化窒素の排出とそれに伴う土壤微生物バイオマス量や群集構造の変化を調査した。また緑肥の施用方法の違いや炭施用による亜酸化窒素排出低減の可能性についても検討した。亜酸化窒素は易分解性の緑肥をすき込んだ場合に多く発生し、グラム陰性菌の増殖が亜酸化窒素の発生に大きく関与していた。緑肥の施用の方法により亜酸化窒素の排出量は変化し、すき込む場合と比較してマルチで施用すると亜酸化窒素の排出は低減された。炭の施用は亜酸化窒素の排出量を大きく低減し、その原因の一つとして炭施用による土壤微生物相の変化が考えられ、炭を施用することでグラム陰性菌の割合が減少し糸状菌が優占する傾向がみられた。

研究成果の概要(英文)：Nitrous oxide (N₂O) emissions and the change of microbial biomass and their community by green manure incorporation was investigated. Further studies on different green input method (incorporation or mulching) and biochar application were conducted to reduce the N₂O emission. N₂O emission was high when easily decomposed green manure (low CN ratio) was incorporated, and gram negative bacteria biomass was positively correlated to N₂O emission. Mulch treatment reduced N₂O emission compared with incorporation method. Biochar treatment clearly reduced N₂O emission. One of the reason for this N₂O reduction by biochar was thought to be due to microbial community change i.e. biochar treatment decreased gram negative bacteria while increased fungi.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：作物学・雑草学

キーワード：亜酸化窒素 温室効果ガス 二酸化炭素 土壤微生物バイオマス 土壤微生物相 緑肥作物 炭施用

1. 研究開始当初の背景

作物生産活動は化石燃料の消費や肥料分の流出などにより環境危機を招いているという指摘がある。近年、化学肥料の代替として緑肥が再評価されており、特に、マメ科作物は根粒菌との共生による窒素固定に優れることから後作物へ窒素源を供給する緑肥として期待されるところが大きい。土壌にすき込んだ緑肥が含有する窒素の全てが後作物に利用されることはなく、化成肥料と同様に、大気中への放出・微生物による取り込み・溶脱などによって作物に利用されない部分の窒素が生じるが現在まで十分に定量化されていない。

緑肥施用は、利用する多様な緑肥の分解過程と養分供給機能の経時変化を明確にできなければ安定した生産技術にはなりえない。その際の重要な視点の一つに亜酸化窒素の放出が挙げられる。オゾン層破壊の原因物質である亜酸化窒素ガス (N_2O) について緑肥すき込み後の排出量の定量とそれを制御する土壌微生物の解析は緑肥導入を考える上で極めて重要である。

2. 研究の目的

上記したようにマメ科作物の窒素固定過程や有機物分解時の N_2O の発生には未解明な点も多い。 N_2O は土壌微生物の硝化や脱窒過程によって生産されることから、緑肥すき込み時に変化すると予想される土壌微生物バイオマスやその群集構造と N_2O 排出との関係を明らかにすることは重要である。本研究では、緑肥すき込み後の土壌微生物バイオマスと群集構造の変化、 N_2O の排出、作付体系における窒素の動態を可能な限り定量化し、それらの要因と作物の生育や養分吸収との相互関係を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 緑肥作物のすき込みが微生物相の変化ならびに N_2O の排出に及ぼす影響

緑肥作物のすき込みによる N_2O の排出量を調査するため、窒素含有率が異なる緑肥を実験に用いた。すなわち、冬作緑肥作物としてイネ科のエンバクおよびマメ科のヘアリーベッチ、夏作緑肥作物としてイネ科のソルガムおよびマメ科のセスバニアを圃場で栽培し、供試した。また、これらの緑肥作物をすき込む土壌には、わが国に広く分布している灰色低地土および黒ボク土を用いた。それぞれの土壌を充填したポットに上述した緑肥作物をすき込み（冬作緑肥：5月上旬、夏作緑肥：10月下旬）、土壌から発生するガスを経時的にサンプリングし、腐熟期間中に排出される N_2O 量を測定した。また、圃場条件下での N_2O 排出量を評価するため、窒素源を有機質肥料と化学肥料として、それぞれ施用した圃場でスイートコーンを栽培し、栽培期

間中に排出される N_2O 量を調査した。また、 N_2O 排出の原因を明らかにするために、実験期間中の土壌水分や土壌の窒素濃度、pH および EC などの推移やリン脂質脂肪酸分析による土壌微生物バイオマスの変化を調査した。

(2) スイートコーン栽培におけるソラマメ収穫残渣のすき込み施用とマルチ施用が N_2O の排出に及ぼす影響

2012年10月20日に、ソラマメ（仁徳一寸）を播種し、翌年5月27日に収穫した。ソラマメの収穫指数は乾物重で57、窒素含有量で23であった。収穫残渣を栽培跡地に施用してすきこみ区とマルチ区を設け、8-8-8化成肥料を50 g/m² 施用し、スイートコーン（おひさまコーン88）の3葉齢実生を6月25日に移植した。生育と収量を調査するとともに、土壌溶液、微生物バイオマス量、 CO_2 と N_2O 放出量を調査した。

(3) 緑肥作物の導入による土壌微生物の量的・質的变化がコムギとトウモロコシの生育および収量に及ぼす影響

緑肥作物としてセスバニアまたはソルガムを栽培する区および裸地区を各3区画ずつ設けた。緑肥作物は2012年6月8日に播種し、10月5日に刈り取り、すき込みを行い、腐熟期間を45日間設けた。11月20日にコムギ（農林61号）を株間15 cm、条間20 cmで点播した。コムギについては経時的に草丈、茎数、主茎葉数および葉色値を調査し、2013年6月7日に5株を刈り取り、収量と収量構成要素を求めた。収穫後の麦稈を元の区画にすき込んだ後、7月3日にトウモロコシ（ゴールドデントKD850）を株間20 cm、条間40 cmで点播した。トウモロコシについては経時的に草丈、葉数、葉色値を調査し、10月2日に3個体を刈り取り、収量を求めた。また、緑肥すき込み後からトウモロコシ収穫までの期間を通じて各区画から深さ0~10 cmの土壌を採取し、土壌 pH、EC、無機 N 含有量、可給態 P 含有量を測定し、土壌微生物バイオマス量および微生物相の推移を調査するためにリン脂質脂肪酸含量を分析した。

(4) 土壌へ炭施用が緑肥すき込み後に発生する亜酸化窒素の排出に及ぼす影響

赤玉土とヘアリーベッチ栽植土壌を3:1で混和したものを準備し、1ポット当たりヘアリーベッチを26.98 g FW（乾物で5 g）をすき込んだ。炭施用区は1ポット当たり10 gの炭（活性炭）を、1）土壌に混和する（炭混和区）、あるいは2）土壌表面にばら撒いた（炭表面施用区）。対照区としてヘアリーベッチのみをすき込む区を設けた。各処理区のポットは25に設定した人工気象器内で管

理し、土壌水分は圃場要水量になるよう蒸発によって失われた水を補充した。経時的に N_2O の排出量を測定した。また土壌微生物の活性の指標として呼吸量の測定(二酸化炭素発生量)と土壌微生物相の解析のためリン脂質脂肪酸分析を行った。

4. 研究成果

(1) すき込み時における緑肥の C/N 比はヘアリーベッチで 12.1 と最も低く、次いでセスパニア 39.8, エンバク 42.2, ソルガム 56.3 であった。冬作緑肥作物では、ヘアリーベッチで N_2O の排出が著しく高く、すき込み後 3 日でその排出が確認された。ヘアリーベッチにおける 45 日間の N_2O 積算排出量は灰色低地土で 762 mg N m^{-2} , 黒ボク土で 94 mg N m^{-2} となり、エンバクと比較して 4~5 倍量の N_2O を排出した。一方、夏作緑肥の場合、ソルガムおよびセスパニアの 85 日間の N_2O 積算排出量は、それぞれ灰色低地土で $67, 128 \text{ mg N m}^{-2}$, 黒ボク土で $40, 49 \text{ mg N m}^{-2}$ の値を示し、セスパニアでやや高い傾向がみられたが、冬作緑肥と比較して低く推移した。これらのことから、地温が N_2O の排出に大きく影響していることが考えられた。また、 N_2O 排出量は土壌によって大きく異なった。すなわち、黒ボク土と比較して灰色低地土では N_2O 排出量が多く、緑肥をすき込んでいない区においてもその排出が確認された。リン脂質脂肪酸分析の結果、灰色低地土と黒ボク土では緑肥すき込み後の土壌微生物相の変化に差異がみられ、灰色低地土では脱窒菌が多く含まれるグラム陰性菌の脂肪酸が増加した。このことから、灰色低地土で確認された N_2O の排出は主に脱窒によるものと考えられた。一方、圃場試験では施肥直後の降雨によって N_2O の排出が促される傾向がみられたが、その排出は一時的なものであった。この原因としては、トウモロコシによる窒素の吸収や降雨による窒素の溶脱などが考えられた。

(2) スイートコーンの収量と全窒素含有量は、すき込み区で高い傾向を示したが、有意な差は認められなかった。土壌中の無機態窒素濃度は、施用直後にすき込み区でやや高い傾向を示したが、3 ヶ月の栽培期間を通して一定の傾向はみられなかった。土壌微生物バイオマス量は、施用直後には耕耘したすき込み区と対照区で高く、マルチ区で低かったが、施用 2 週間目には処理区間で差異は認められなかった。 CO_2 と N_2O 放出量は、施用直後にすき込み区で多く、 N_2O は 7 月以降いずれの区でも低く推移した。一方、マルチによる土壌水分の保持や亜酸化窒素放出量の減少効果が期待された。

(3) セスパニアあるいはソルガムのすき込み区ではそれぞれ異なる微生物相を形成しながら裸地区と比べて微生物バイオマス量が大きく推移した。すなわち、セスパニア区では

グラム陰性菌、ソルガム区では腐生糸状菌の増殖が著しかった。ソルガム区ではコムギの栽培期間においても微生物バイオマス量が大きく推移した。ソルガム区のコムギでは節間伸長期以降から窒素欠乏による葉色値の低下がみられたことから、コムギと土壌微生物間で窒素の競合が生じたと推察される。コムギの収量に最も影響を及ぼしたと考えられた穂数に対して各土壌特性を用いて重回帰分析を行った結果、土壌 pH, EC, 無機態 N 含有量、微生物バイオマス量が有意に寄与しており、特に土壌 pH が最も影響していた。このことから、ソルガム区において土壌 pH が他の処理区と比較して低く推移したことがコムギの生育を制限した要因だと考えられる。微生物バイオマス量は穂数に対して負の関係を示したが、セスパニア区ではバイオマス量が高いにも関わらず穂数が最大となっていたことから、バイオマス量よりも微生物相の違いがコムギの生育および収量に影響することが推察される。一方、トウモロコシでは播種時に処理区間で見られた微生物バイオマス量の差異が収穫時では認められず、ソルガム区と裸地区ではコムギの栽培期間と比較して微生物相が大きく変動した。処理区間におけるトウモロコシの生育や収量に有意な差異は認められなかったが、コムギ栽培時では窒素欠乏を生じたソルガム区において無機態 N 含有量が高く推移する傾向がみられた。

(4) N_2O の排出は、ヘアリーベッチすき込み区 >ヘアリーベッチすき込み + 土壌表面への炭施用 >ヘアリーベッチすき込み + 土壌への炭混和の順となり、炭を土壌に処理することにより N_2O の排出は抑制された。一方、 CO_2 の発生量はすべての処理区で差異が認められなかったことから、土壌中で増殖している微生物相の違いが N_2O の排出に影響を及ぼしていると推察された。そこで土壌のリン脂質脂肪酸を分析したところ、土壌微生物相は炭を施用することによって変化しており、ヘアリーベッチのみをすき込んだ土壌ではグラム陰性菌の増殖が優先された。炭表面では糸状菌の増殖が目立っていた。このことから、炭添加による N_2O 排出量の抑制には微生物相の変化が関与していることが示された。

以上、緑肥のすき込みに伴う土壌微生物の急激な増殖によって、 N_2O が排出され、特に易分解性の緑肥をすき込んだ場合に顕著であった。また、すき込む緑肥によって増殖する微生物が異なり、 N_2O 排出や栽培作物の生育に直接的あるいは間接的に大きく影響することが示された。一方、緑肥の施用方法として従来のすき込みではなくマルチ施用により N_2O 排出が抑制する傾向がみられたことから、今後土壌への緑肥の施用方法を検討することが必要である。最後に、土壌への炭施用は N_2O の排出を抑えることが明ら

かとなり,その原因の一つとして微生物相の変化が挙げられた.しかし,炭施用についてはポット試験レベルの結果であり,今後圃場において,再現性があるか検討する.

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6件)

Matsumura A*, Taniguchi S, Yamawaki K, Hattori R, Tarui A, Yano K and Daimon H. 2014. Nitrogen uptake from amino acids in maize through arbuscular mycorrhizal symbiosis. *American Journal of Plant Sciences* 4: 2290-2294. (査読有)

Hattori R, Matsumura*, A, Yamawaki K, Tarui, A and Daimon H. 2014. Excess soil water impact on colonization and extraradical mycelium biomass production of arbuscular mycorrhizal fungi in soybean field. *International Journal of Agricultural Policy and Research* 2: 41-48. (査読有)

Hattori R, Matsumura A*, Yamawaki K, Tarui A and Daimon H. 2014. Effects of flooding on arbuscular mycorrhizal colonization and root-nodule formation in different roots of soybeans. *Agricultural Sciences* 4: 673-677. (査読有)

Yamawaki K, Matsumura A*, Hattori R, Tarui A, Hossain MA, Ohashi Y and Daimon H. 2013. Effect of inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi on growth, nutrient uptake and curcumin production of turmeric (*Curcuma longa* L.). *Agricultural Sciences* 4: 66-71. (査読有)

Tarui A, Matsumura A, Asakura S, Yamawaki K, Hattori R and Daimon H*. 2013. Enhancement of nitrogen uptake in oat by cutting hairy vetch grown as an

associated crop. *Plant Root* 7: 83-91. (査読有)

Tarui A, Matsumura A, Asakura S, Yamawaki K, Hattori R and Daimon H*. 2013. Evaluation of mixed cropping of oat and hairy vetch as green manure for succeeding corn production. *Plant Production Science* 16: 383-392. (査読有)

[学会発表](計5件)

Matsumura A and Daimon H. Effect of soil microbial community structure changed by different crop rotations on wheat growth and yield. 韓国作物学会秋季学術発表会,ピョンチャン,韓国. 2013年10月17,18日.

Hattori R, Matsumura, A, Yamawaki K, Tarui, A and Daimon H*. Influence of excess soil water during early growth stage on growth, nutrient uptake, and yield of soybean and AM colonization and biomass. 6th International Crop Science Congress. Bento Goncalves, Brazil. 2012年8月6~10日

Yamawaki K, Hattori R, Matsumura A, Hossain MA and Daimon H. Effect of residual root N of faba bean on the growth, yield and N uptake of the succeeding turmeric (*Curcuma longa* L.) crop. 6th International Crop Science Congress, Bento Goncalves, Brazil. 2012年8月6~10日.

松村篤*・大門弘幸. 灰色低地土および黒ボク土への緑肥作物のすき込みが微生物相の変化ならびに亜酸化窒素の排出に及ぼす影響. 第236回日本作物学会,鹿児島. 2013年9月10日~12日.

宮本拓磨*，大門弘幸，松村篤．緑肥作物の導入により増殖した土壤微生物バイオマスとコムギの生育および収量との関係．第236回日本作物学会，鹿児島．2013年9月10日～12日．

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

6．研究組織

(1)研究代表者

松村 篤 (MATSUMURA Atsushi)
大阪府立大学大学院生命環境科学研究科・助教
研究者番号：30463269

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし