

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 5 月 15 日現在

機関番号：21401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24780320

研究課題名(和文)火山灰土壌の有機物集積メカニズムを利用した土壌への炭素固定法の開発

研究課題名(英文)Development of the organic carbon fixation in soil by the soil organic matter accumulabe mechanism of volcanic ash soils.

研究代表者

頼 泰樹 (Rai, Hiroki)

秋田県立大学・生物資源科学部・助教

研究者番号：30503099

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：火山灰土壌がもつ腐植集積機能の解明と利用技術の開発を目指して実験を行った。年平均気温が高い温帯では、土壌微生物の活性が高く植物バイオマスが土壌に還元してもほとんど分解されるが、火山灰土壌では有機物が腐植化し、集積する。我々は難抽出性であったアロフェン質黒ボク土からの土壌DNA、RNA抽出法に改良を加えた。また、<sup>13</sup>Cおよび<sup>15</sup>Nで高標識した植物をチャンパー内で作成し、火山灰土壌中の有機物分解過程をLC/MSでアミノ酸、有機酸などを追跡した。90%の標識率でも炭素数1から5程度の化合物の識別が限界であり、より高濃度での標識が腐植化過程の解析には必要であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：For the analysis and utilization of the humus accumulate functions of the volcanic ash soil and utilization, this research was carried out. In the area where the annual average temperature is moderate or high, most of the applied plant biomass are decomposed by the higher activity of soil microorganism, but in volcanic ash soil, soil organic matter accumulate. In this research, we developed the effective extraction method of soil DNA and RNA from soil, in which those were hardly extractable. And a high-labeled plants by stable isotope (<sup>13</sup>C and <sup>15</sup>N) were grown in the closed chamber, the organic matter decomposition process by soil microorganisms in volcanic ash soil was traced by the LC / MS analysis of amino acids or organic acid. Even 90% of the stable isotope labeled organic matter was limited for about the compounds which contained from 1 to 5 carbons to the identification from the unlabeled organic matter. It was necessary higher isotope labeling for the analysis of humic process.

研究分野：土壌肥料・植物栄養

キーワード：土壌DNA 土壌RNA 安定同位体標識 腐植 火山灰土壌 有機物集積

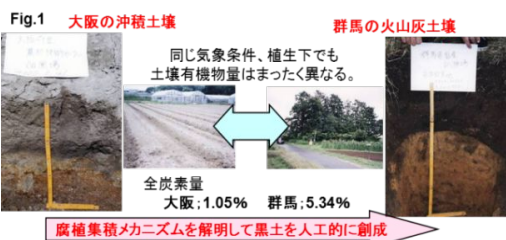
1. 研究開始当初の背景

土壌有機物(腐植)は作物への養分供給、保水、保肥力といった理化学性維持に大きな役割を持つ「地力の源」であり、作物生産にとって極めて重要なものである。

寒帯、亜寒帯では低温のため、植生が供給した有機物の分解が進まず、土壌有機物量は相対的に集積傾向となり、その量は多く、それに対し、温帯から熱帯の気温が高い地域では、植生のバイオマス量が同等以上に存在しても、土壌微生物活性が高まり土壌有機物の分解が進むため、その量は非常に少ない。このように土壌有機物量の支配的要因は主に気候によるものが大きい。しかし、この法則に当てはまらない特殊な土壌も存在する。

関東地方、北海道を中心に分布する火山灰土壌は畑地の耕地面積の50%を占めるまさにわが国の畑地農業の屋台骨といえる土壌である。この火山灰土壌は日本やニュージーランドなど世界的にはごく限られた地域だけに存在する特殊な土壌である。これら火山灰土壌の最大の特徴は、温暖、多雨な地域にあるにもかかわらず腐植と呼ばれる土壌有機物を大量に集積することである。その量は最大10%にも達し、きわめて膨潤で物理性がよく、リン酸吸収が強いことを除けばきわめて生産性の高い土壌である。

日本国内で降水量、気温、植生(土地利用形態)がほぼ同じ火山灰土壌と他の主要な土壌である沖積土壌を比較すると、有機物含量の差は数倍にも達する(Fig.1)。



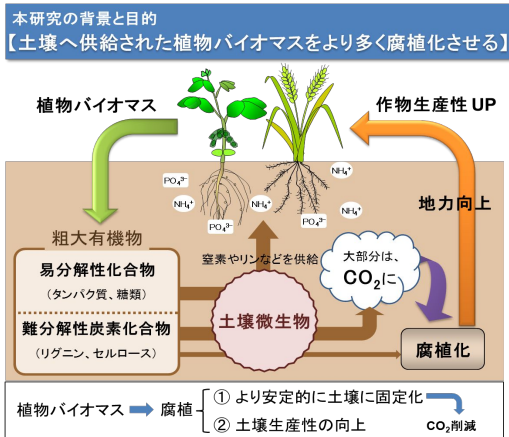
このことは材料(植物遺体)が等しく土壌に供給されても、土壌の性質の違いにより腐植の生成、保持量が変わることを示唆している。しかし、この火山灰土壌の腐植集積には非晶質鋳物の影響が示唆されているが、どのような過程で多量に腐植を集積させた黒土が生成されるかはいまだ解明されていない部分が多い。

下の図に示した通り、堆肥、植生から有機物が供給されても普通の土壌では難分解性のリグニン化合物までが分解されCO<sub>2</sub>になり、腐植化し土壌に残る

有機物はごくわずかである。

リグニンなどの難分解性炭素化合物は養分をほとんど含まないため、これらを腐植化へ振り向けても植物への養分供給には影響はない。

本研究は植物バイオマスに含まれるこれらの画分をより多く腐植に変換し、土壌への腐植として安定的に固定し、理化学性を改善することで、CO<sub>2</sub>の土壌への固定化および土壌の作物生産性の向上を目指すものである



2. 研究の目的

火山灰土壌がもつ腐植集積機能の解明と利用技術の開発を本研究は目指す。気温が高い温帯・熱帯では、土壌微生物の活性が高く植物遺体など植物バイオマスを土壌に還元してもそのほとんどが分解されてしまう。それに対し、関東ローム層など日本の火山灰土壌は温暖多雨な気候帯でも有機物が腐植化し、集積する世界に類を見ない有機物に富む土壌である。

本研究は火山灰土壌中の土壌微生物による有機物分解、腐植化過程を土壌 RNA の解析と安定同位体標識技術を用いて明らかにし、火山灰土壌以外でも供給した植物バイオマスをより多く腐植化させることができるかを検討する。最終的には植物バイオマスをより多く腐植に変換させ、土壌への炭素固定量を増やし、腐植による土壌生産性を向上させる技術の開発を目指す。

3. 研究の方法

火山灰土壌の腐植集積を解明するため、土壌 RNA 抽出法で rRNA、mRNA の抽出解析を行い、微生物群集、分解酵素群を遺伝的に解析し、土壌微生物による有機物分解過程を追跡する。

<sup>13</sup>C 標識植物を育て、これを有機物源として土壌添加し、LC/MS を用いて分解物、微生物代謝産物を <sup>13</sup>C のマスシフトで同定する。また経時的に腐植も抽出し、添

加有機物の分解物が腐植への重合についても MS/MS 分析により、何が重合して腐植が生成されるのかを明らかにする。これら土壤 RNA 抽出による有機物分解における微生物機能の解析と  $^{13}\text{C}$  標識有機物添加-LC/MS 解析による腐植生成の前駆体同定により、火山灰土壤中での腐植が生成される経路のモデル化、火山灰土壤が含む非晶質の Al-Fe と腐植化との関係を明らかにし、各土壤（人為的に無機因子を付加した土壤を含む）の将来の腐植集積量の定量的な予測式を作成する。

#### 4. 研究成果

土壤からの DNA、RNA 抽出法の開発

難抽出性であったアロフェン質黒ボク土からの土壤 DNA、RNA 抽出法に改良を加えた。抽出溶液のリン酸塩濃度、抽出後の加熱温度、精製法などの最適化により従来困難であった火山灰土壤からも RNA を抽出可能な方法を開発した。

安定同位体標識植物を用いた土壤有機物の分解追跡

$^{13}\text{C}$  および  $^{15}\text{N}$  で高標識した植物をチャンバー内で作成し、火山灰土壤中の有機物分解過程を LC/MS でアミノ酸、有機酸などを追跡した。90%の標識率でも炭素数 1 から 5 程度の化合物の識別が限界であり、より高濃度での標識が腐植化過程の解析には必要であることが示唆された。

#### 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 3 件)

頼 泰樹、横山 咲、服部 浩之、伊藤 正志、進藤 昌 ファイトレメディエーションバイオマスからのカドミウム完全除去法の開発とバイオマス資源としての活用 環境浄化技術(3-4) 査読無、Vol.13 No.2、2014、p66-70

頼 泰樹、横山 咲、服部 浩之 キレート剤によるファイトレメディエーションバイオマス抽出液からのカドミウム除去 ケミカルエンジニアリング、査読無。Vol.59 No.4、2014、p1-5

Nakamura, S., Suzui, N., Nagasaka, T., Komatsu, F., Ishioka, N.S., Ito-Tanabata, S., Kawachi, N., Rai, H., Hattori, H., Chino, M. and Fujimaki, S. : Application of glutathione to roots selectively inhibits cadmium transport from roots to shoots in oilseed rape. 査読有、2013、J. Exp. Bot. 64:1073-1081.

〔学会発表〕(計 12 件)

横山 咲、中村 進一、服部 浩之、頼 泰樹 土壤微生物バイオマスの変動と土壤中の遊離アミノ酸の動態について 2012 年 6

月 23 日 土壤微生物学会

Rai H., Yokoyama S., Nomi T., Sakamoto J., Yasuda K., Nakamura S., Fuji S., Kobayashi Y., Hattori H. Development of low cadmium uptake oryza sativa (cv. Akitakomachi) by the chemical mutagen. The 17th International Plant Nutrition Colloquium (IPNC) 2013, 2013.8.19-22

Yokoyama S., Nakamura S., Hattori H., Rai H. The Fluctuation of Microbial Biomass and Supplying of Free Amino Acids in Soils. The 17th International Plant Nutrition Colloquium (IPNC) 2013, 2013.8.19-22

Nakamura S., Suzui N., Yin Y.-G., Ishii S., Kawachi N., Rai H., Hattori H., Fujimaki S. : Effects of glutathione, applied to roots specifically, on Cd behavior in oilseed rape plants, The 17th international Plant Nutrition Colloquium (IPNC) 2013, 2013.8.19-22

中村 進一、鈴井 伸郎、菊池 優香、佐々木 彩、石井 里美、尹 永根、河地 有木、頼 泰樹、服部 浩之、藤巻 秀：葉へのグルタチオンの施用が体内での亜鉛動態に及ぼす影響 日本土壤肥料学会東北支部会 2013 年度福島大会、2013 年 7 月 8-9 日

頼 泰樹、横山 咲、伊藤 正志、進藤 昌、服部 浩之 カドミウム含長香穀バイオマスの有効利用(第 3 報)-カドミウム除去バイオマスからのバイオエタノール生産-日本土壤肥料学会 2013 年度名古屋大会 2013 年 9 月 13 日

横山 咲、中村 進一、服部 浩之、頼 泰樹 クロロホルムくん蒸法と土壤 DNA によるバイオマス評価の違い 日本土壤肥料学会 2013 年度名古屋大会 2013 年 9 月 13 日

中村進一、鈴井伸郎、尹永根、石井里美、河地有木、頼 泰樹、服部浩之、藤巻秀：根に与えたグルタチオンが植物体内のカドミウム分配に及ぼす影響、日本土壤肥料学会 2013 年度名古屋大会 2013 年 9 月 13 日

服部 浩之、泉 清香、中村 進一、頼 泰樹：堆肥の性質と肥効に及ぼす副資材の影響、日本土壤肥料学会 2013 年度名古屋大会、2013 年 9 月 13 日

頼 泰樹、横山 咲、能美 多希子、中村 進一、服部 浩之 化学変異処理で得られた水稲 低 Cs 吸収変異体の特性解析 日本土壤肥料学会 2014 年度東京大会 2014 年 9 月 10 日

横山 咲、中村 進一、服部 浩之、頼 泰樹 有機物施用による土壤へのアミノ酸供給の定量的解析 日本土壤肥料学会 2014 年度東京大会 2014 年 9 月 10 日

中村 進一、近藤 ひかり、鈴井 伸郎、尹 永根、石井 里美、河地 有木、頼 泰樹、服部 浩之、藤巻 秀 根へのグルタチオンの施用方法が植物体内のカドミウム動

態に及ぼす影響 日本土壌肥料学会 2014 年  
度東京大会 2014 年 9 月 10 日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 1 件)

名称：植物バイオマスからのカドミウ  
ムを除去する方法

発明者：頼 泰樹、横山 咲、服部 浩之、進  
藤 昌

権利者：秋田県立大学、秋田県

種類：特許出願

番号：特願 2013-94945

出願年月日：2013 年 4 月 30 日

国内外の別：国内

取得状況(計 1 件)

名称：環境サンプルからの DNA の回収方  
法

発明者：頼 泰樹、大塚 重人、西山雅也、  
妹尾啓史

権利者：東京大学 TLO

種類：特許公開

番号：特開 2013-135681

出願年月日：2013 年 2 月 12 日

取得年月日：2013 年 7 月 11 日

国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

頼 泰樹 (RAI, Hiroki)

秋田県立大学 生物資源科学部

生物生産科学科 植物栄養研究室

研究者番号：30503099

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：