

平成 30 年 6 月 8 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2017

課題番号：26850039

研究課題名(和文) 有機物施用に伴うプライミング効果を考慮した土壌炭素動態のモデル化

研究課題名(英文) The effect of the priming effect to soil carbon dynamics by organic fertilization

研究代表者

早川 智恵 (Hayakawa, Chie)

東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・特別研究員

研究者番号：10725526

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題は、土壌炭素動態モデルに難分解性有機物の分解プロセス(プライミング効果)を組み込むことを目指し、北海道標茶町の森林・農耕地の黒ぼく土を事例とし、プライミング効果の発現条件(易分解性有機物量、土壌微生物群、環境条件)を解明した。13C-トレーサーを用いた室内培養試験により、プライミング効果を発現させる易分解性有機物量の閾値を示した。基質の種類、土壌pH、無機態窒素量がプライミング効果の発現に寄与することが示唆された。また、従来報告されている真菌と共に細菌もプライミング効果の担い手となることが示唆された。以上の結果を基に、プライミング効果による土壌炭素貯留量の変動を予測する推定式を得た。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to reveal the factors regulating the priming effect of volcanic ash soils in Hokkaido, in order to estimate the soil carbon dynamics including the priming effect. Using the 13C tracer incubation experiment, the priming effects in the volcanic ash soils were quantified and the threshold value of the added labile organic matter to induce the priming effect was revealed. The added substrate type, soil pH and the amount of soil inorganic nitrogen contributed to the size and term of priming effects. In addition to fungi which were reported as the driver of the priming effects, bacteria was also suggested to control the priming effects. According to the results, the functions by Michaelis-Menten fit were determined to estimate soil carbon dynamics including the priming effect.

研究分野：土壌学

キーワード：プライミング効果 火山灰土壌 埋没腐植層 炭素貯留 同位体トレーサー法 土壌微生物

### 1. 研究開始当初の背景

土壌は多量の有機物を蓄積しており、有機物の施用は地球温暖化の緩和策として期待されている(1)。しかし、有機物施用が土壌炭素量を増加できる一方で、微生物の分解活性を刺激し、土壌からのCO<sub>2</sub>放出を増加する『プライミング効果』を引き起こす可能性がある。

火山大国の日本では有機物の厚く堆積した黒ぼく土が広く分布しており、世界的にも高い炭素貯留能を有している。黒ぼく土に堆積した埋没腐植は化学構造的に極めて分解しにくい(2)、易分解性有機物(植物残渣・牛糞)の施用が長期的な炭素隔離に及ぼす影響は多くの不確定要素を含んでいる。近年、易分解性有機物の添加によって微生物の活性が爆発的に上昇する『プライミング効果』によって、難分解性有機物の分解が促進されることが報告された(図1; Kuzyakov, 2010, Soil Biol. Biochem.より改変)。

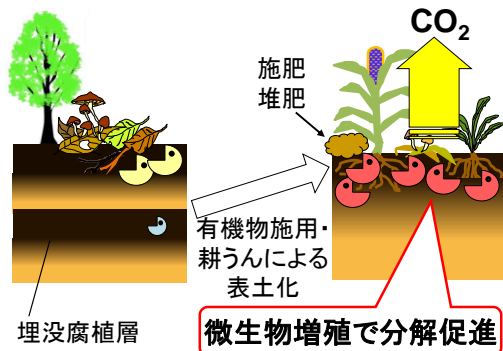


図1. プライミング効果による埋没腐植の分解促進メカニズム

筆者らのこれまでの研究により、黒ぼく土の微生物が易分解性有機物であるセルロースを速やかに利用・吸収できることを確認しており(4)、難分解性有機物(埋没腐植)の分解が急速に進む可能性がある(5)。しかし、既存の炭素動態モデルでは難分解性有機物の量は変動しない画分として設定されており、プライミング効果によって起こる土壌有機物量の変動予測が困難となってきた(6)。

本研究で黒ぼく土におけるプライミング効果の起こる条件(易分解性有機物量、微生物組成、環境条件)を特定することで、有機物施用が土壌炭素蓄積に及ぼす影響の予測が可能となると着想した。

### 2. 研究の目的

本研究課題は、土壌炭素動態モデルに難分解性有機物の分解促進プロセス(『プライミング効果』)を組み込むことを目指し、北海道標茶町の森林・農耕地の黒ぼく土を事例とし、プライミング効果の発現条件およびプライミング効果を引き起こす土壌微生物や環境条件を解明する。

### 3. 研究の方法

(1) 易分解性有機物の施用による埋没腐植の分解促進効果(『プライミング効果』)の検証: 黒ぼく土における有機物の施用や農地管理がプライミング効果を引き起こすことを室内・圃場レベルで検証する。黒ぼく土の埋没腐植は新鮮有機物の供給が少なく、数千年以上の滞留時間を持つ難分解性有機物からなる。埋没腐植を用いることで難分解性有機物に対するプライミング効果を検証できる。易分解性有機物の増加が難分解性有機物のプライミング効果を引き起こすことを<sup>13</sup>Cトレーサーを用いた室内培養実験によって解明する。さらに過去に森林から転換した農地において、露出した埋没腐植の難分解性有機物の減少速度を放射性炭素Δ14C年代の変化から調べ(図1)、現場でのプライミング効果を定量評価する。

(2) プライミング効果に対する土壌微生物の多様性および環境要因が及ぼす影響の解明: プライミング効果はドライバーである土壌微生物の組成(真菌/細菌比)の劇的な遷移によって引き起こされると考えられる(3)。モデルのパラメーターとしてプライミング効果を引き起こす微生物および環境条件を抽出するため、①プライミング効果に対して微生物種が及ぼす影響を脂肪酸の組成分析および土壌DNA解析から解明し、②微生物の活性を高める環境条件を特定する。

(3) プライミング効果を組み込んだ土壌炭素動態モデルの構築と管理技術への応用: 上記(1)、(2)で得られた結果を基に、プライミング効果による土壌有機物の分解促進効果の予測式を構築する。本実験で用いた北海土壤標茶町の土壌を事例に、プライミング効果を考慮した有機物施用量を提案する。

### 4. 研究成果

#### (1) 現場プライミングの検証

農地の造成や反転耕起、深耕によって埋没腐植層が表土として露出した場所では、プライミング効果の発現により難分解な埋没腐植の分解が進み、炭素貯留量が減少している可能性がある。本仮説について検証するため、京都大学北海道研究林(標茶区)および北海道立総合研究機構根釧農業試験場において、表層・埋没腐植層の土壌断面サンプリングと現地調査、土壌の理化学性の測定を行った。また、土壌有機物を比重分画し、Δ14C年代を測定した。断面調査を行った4地点(森林土壌3点、採草地土壌1点)の表層土壌は全て同じ年代の火山灰を母材とするが、その全炭素濃度は土地利用によって異なり、森林より採草地で低かった。また、採草地の炭素貯留量(19.7 kg C m<sup>-2</sup>)は隣接する森林の表層・埋没腐植層の炭素貯留量(21.3 kg C m<sup>-2</sup>)より低く、農地転換により埋没腐植の分解が進行していることが示唆された。土壌有機物のΔ14C

年代測定を用いた現場プライミング効果の定量については、農地転換後の植物残渣の積算投入量の推定が困難であったため、推定に至らなかった。そのため、今後は、残渣投入量を制御できる室内培養試験において同手法を適用し、現場プライミング効果を推定する予定である。

### (2) 埋没腐植層における微生物分解活性のポテンシャルの解明

表層・埋没腐植層の微生物による有機物の無機化ポテンシャルを明らかにするため、 $^{14}\text{C}$  標識グルコース（セルロースのモノマー）の無機化速度の濃度依存性を室内培養試験により調べた。尚、 $^{14}\text{C}$  標識試験は藤井一至氏（森林総研）の協力を得て行った。

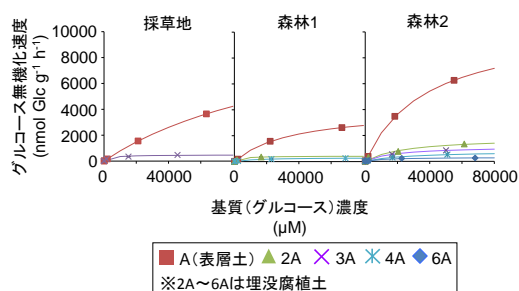


図 2. 表層・埋没腐植層におけるグルコースの潜在無機化速度

表層・埋没腐植層における微生物のグルコース無機化ポテンシャル（最大無機化速度）は表層で高く（図 2）、微生物バイオマスと有意な相関を示した。埋没腐植層におけるグルコース無機化ポテンシャルは表層より低いものの（図 2）、他の土壌種の表層に匹敵する高さを示した。このことから、埋没腐植層においても、易分解性有機物の添加により微生物の無機化速度が増大する（プライミング効果が引き起こされる）ことが示唆された。

### (3) プライミング効果の発現条件（基質濃度依存性、土壌理化学性）の解明

$^{13}\text{C}$ -グルコース、セルロースを用いた長期培養試験により、難分解性土壌有機物（埋没腐植）の分解に及ぼすプライミング効果の影響、及び発現条件について調べた。

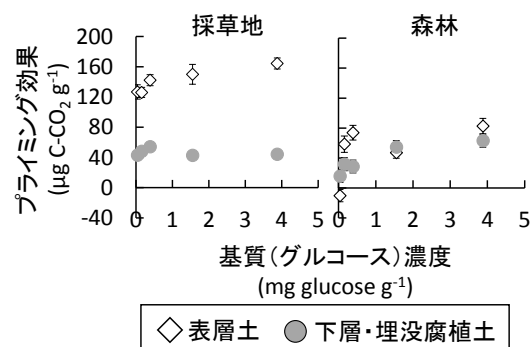


図 3 (a). プライミング効果の基質（グルコース）濃度依存性

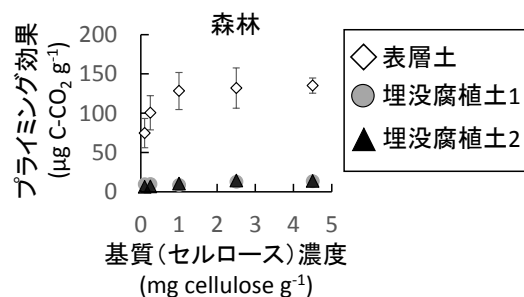


図 3 (b). プライミング効果の基質（セルロース）濃度依存性

表層土と同様に、埋没腐植土においてもプライミング効果の発現が見られ、易分解性有機物の添加により難分解性土壌有機物（埋没腐植）の分解が促進されることが示された（図 3a, b）。プライミング効果の程度は易分解性有機物の添加濃度に依存して増大し、本実験で用いた土壌では、添加炭素量が微生物バイオマス炭素量の 3.5%以上の時にプライミング効果が発現することが示された（図 3a, b）。プライミング効果の持続時間は添加する易分解性有機物の種類によって異なり、グルコースでは約 1 ヶ月、セルロースでは少なくとも 4 ヶ月間持続した。また、プライミング効果は森林より採草地の方が大きかった（図 3a）。これは、土壌理化学性の違いがプライミング効果に影響を及ぼしたためと考えられた。森林土壌でプライミング効果が抑制された主な要因は、①土壌 pH が低いことにより微生物の増殖が抑制されたこと（ $r = 0.64 - 0.92$ ,  $P < 0.05$ ）、②土壌中の無機態窒素量が多く、微生物の増殖に必要な窒素を積極的に土壌有機物から分解・獲得する必要性が低かったこと（ $r = -0.93 - -0.75$ ,  $P < 0.05$ ）が示唆された。したがって、黒ぼく土におけるプライミング効果の発現の規定要因は、易分解性有機物の添加量、土壌 pH、土壌中の無機態窒素量であることが示唆された。

### (4) プライミング効果を促進する微生物群集の解明

プライミング効果による難分解性土壌有機物の分解促進は、易分解性有機物の供給によって増殖した微生物群集が担うと考えられている。しかし、黒ぼく土のプライミング効果を促進する微生物群はわかっていない。そこで、黒ぼく土におけるプライミング効果を促進する微生物群を推定するため、脂肪酸の組成分析および土壌 DNA の定量 PCR により、プライミング効果と微生物群集の関係について調べた。

脂肪酸の組成分析と土壌 DNA の定量 PCR 分析ともに、細菌量は森林より採草地で大きく、真菌量は森林の方が大きかった。真菌/細菌比は採草地より森林で高かった（1.6 -

4.5)。また、採草地の真菌/細菌比は表層土より下層土で低かったが、森林では表層土より埋没腐植土で高かった。これらのことから、採草地では細菌が、森林では真菌が微生物群集の主体であることが示唆された。

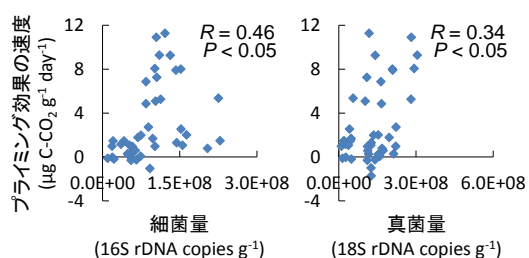


図 5. プライミング効果と微生物群集の関係

プライミング効果の速度と真菌/細菌比の間には有意な相関は見られなかった。しかし、プライミング効果の速度と真菌量、細菌量は、それぞれ有意に正に相関した(図 5)。このことから、本実験で用いた黒ぼく土においては、従来報告されている真菌と共に、細菌もプライミング効果の重要な担い手であることが示唆された。これは、上述のように、本実験で用いた採草地土壌では、微生物群集の主体が細菌であったためと考えられる。

(5) 土壌炭素貯留量にプライミング効果が及ぼす影響とプライミング効果による難分解性土壌有機物の分解速度の推定

プライミング効果の発現が土壌の炭素貯留量に及ぼす影響について調べるため、グルコースまたはセルロースを添加・培養した土壌において、易分解性有機物の投入量と土壌からの CO<sub>2</sub> 放出量を比較した。

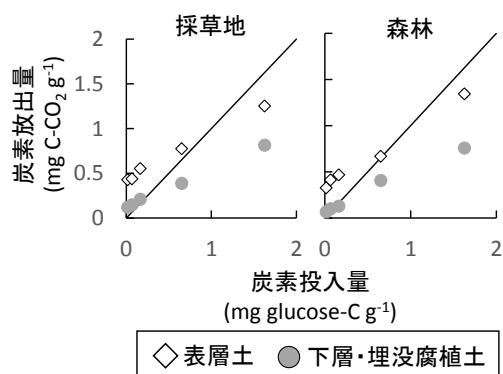


図 6 (a). プライミング効果を含む土壌炭素収支 (グルコース基質の場合)

表層土・埋没腐植土ともに、プライミング効果の発現により、土壌有機物の分解が促進され、土壌炭素貯留量は減少した(図 6a, b)。ただし、グルコースの場合は約 1.6 mg C g<sup>-1</sup> 以上、セルロースの場合は約 1 mg C g<sup>-1</sup> 以上添加すれば、土壌の炭素収支はプラスとなり、プライミング効果が発現しても土壌炭素貯留量は増加することが示された(図 6a, b)。

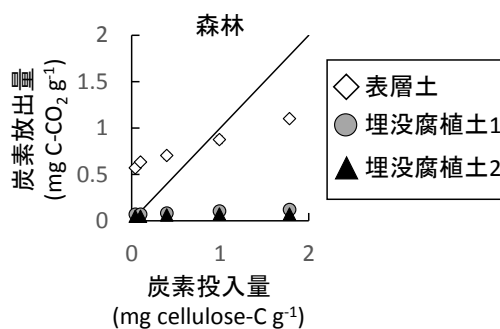


図 6 (b). プライミング効果を含む土壌炭素収支 (セルロース基質の場合)

しかしながら、プライミング効果が発現した際は、蓄積している土壌有機物の質的な変化も考慮する必要があると考えられる。プライミング効果が発現した際の土壌炭素収支は、滞留時間が長く安定な埋没腐植が、添加基質由来のより易分解性有機物と置換される現象を意味することに留意する必要がある。

以上より得られた結果を基に、プライミング効果による難分解性土壌有機物の分解速度の推定式を得るため、Michaelis-Menten式を用いて回帰分析を行った。その結果、易分解性有機物の添加による難分解性土壌有機物の分解促進効果の予測式 ( $V_{MAX}$ : 12-150  $\mu\text{g C g}^{-1} \text{ month}^{-1}$ ,  $K_M$ : 0.01-0.1  $\text{mg C g}^{-1}$ ) が得られ、プライミング効果による土壌炭素貯留量の変動の推定が可能となった。

<引用文献>

- Marris, Black is the new green, Nature, Vol.442, 624-626, 2006.
- 柳由貴子, 藤嶽暢英, 渡邊眞紀子, 生成年代の異なる埋没腐植酸の担子菌 *Corioli* *consors* による褪色特性・愛鷹ロームを事例にして, 第四紀研究, Vol.43 (5), 367-373, 2004.
- Kuzyakov, Priming effects: Interactions between living and dead organic matter, Soil Biology and Biochemistry, Vol.42, 1363-1371, 2010
- Hayakawa C, Fujii K, Funakawa S, Kosaki T, Biodegradation kinetics of monosaccharides and their contribution to basal respiration in tropical forest soils, Soil Science and Plant Nutrition, Vol.57 Issue 5, 663-673, 2011.
- Hayakawa C, Funakawa S, Fujii K, Kadono A, Kosaki T, Effects of climatic and soil properties on cellulose decomposition rates in temperate and tropical forests, Biology and Fertility of Soils, Vol.50, 633-643, 2014.
- TAKAHASHI M, ISHIZUKA S, UGAWA S, SAKAI Y, SAKAI H, ONO K, HASHIMOTO S, MATSUURA Y,



MORISADA K, Carbon stock in litter, deadwood and soil in Japan's forest sector and its comparison with carbon stock in agricultural soils, *Soil Science and Plant Nutrition*, Vol.56, 19-30, 2010.

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1件)

① Hayakawa C\*, Fujii K, Funakawa S, Kosaki T. Effects of sorption on biodegradation of low-molecular-weight organic acids in highly-weathered tropical soils. *Geoderma*, Elsevier, (査読有), vol. 324, pp. 109-118, 2018.

[学会発表] (計7件)

<国際学会>

① Hayakawa C\*, Fujii K, Senoo K. Microbial communities in buried humic horizons can possess smaller size and mineralization activity than expected in volcanic soils of Hokkaido, Japan. *Proceedings of 5th International Symposium on Soil Organic Matter*, p 47, Göttingen, Germany, 2015年9月.

<国内学会>

② 早川智恵\*、小林太一、藤井一至、稲垣善之、妹尾啓史. 異なる土地管理の火山灰土壌におけるプライミング効果の発現条件の解明. 日本土壤肥料学会, 神奈川, p 9, 2018年8月.

③ 早川智恵\*、藤井一至、妹尾啓史. 埋没腐植層におけるプライミング効果の発現条件の解明. 日本土壤肥料学会, 仙台, p 9, 2017年9月.

④ 小林太一\*、早川智恵、藤井一至、稲垣善之、妹尾啓史. 火山灰土壌におけるプライミング効果に対する土地管理と土壤微生物群集の影響: 13-C 標識グルコースを用いた基質濃度依存性の検討. 日本土壤肥料学会, 仙台, p 36, 2017年9月.

⑤ 早川智恵\*、藤井一至、妹尾啓史. 埋没腐植層の有機物は安定か? - 土壤微生物の分解活性ポテンシャルから読み解く -. 日本生態学会, 仙台, P2-465, 2016年3月.

⑥ Hayakawa C\*, Fujii K, Senoo K. Biodegradation activity of organic matter in the buried humic horizons in volcanic ash soils. *Japan Geoscience Union Meeting*, BGM22-P04, 2015年5月.

⑦ 早川智恵\*、藤井一至、妹尾啓史. 埋没腐植層の有機物分解活性に及ぼす土壤微生物相

の影響. 日本土壤肥料学会, 京都, p 11, 2015年9月.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

早川 智恵 (Hayakawa, Chie)

東京大学・農学生命科学研究科・特別研究員

研究者番号: 10725526

(4) 研究協力者

藤井 一至 (Fujii, Kazumichi)

森林総合研究所・立地環境研究領域・主任研究員

研究者番号: 60594265

妹尾 啓史 (Senoo, Keishi)

東京大学・農学生命科学研究科・教授

研究者番号: 40206652

稲垣 善之 (Inagaki, Yoshiyuki)

森林総合研究所・四国支所・主任研究員

研究者番号: 00353590

磯部 一夫 (Isobe, Kazuo)

東京大学・農学生命科学研究科・助教

研究者番号: 30621833