

## 有機物を通じた植物へのリン供給経路・動態

### 5. リン酸供給が促進される条件を探る

大塚重人<sup>1,2</sup>・國頭 恭<sup>3</sup>

<sup>1</sup> 東京大学大学院農学生命科学研究科,

<sup>2</sup> 東京大学微生物科学イノベーション連携研究機構, <sup>3</sup> 信州大学理学部

キーワード リン酸, 生態化学量論, 資源配分モデル, プライミング効果, 根分泌物

#### 1. はじめに

「有機物を通じた植物へのリン供給経路・動態」について議論するにあたり, 有機物の枠から少々はみ出して, 環境におけるリンの動態や生物との関わりを広い視点から理解することは, 一つの有用な手段であろう。そこで今回はまず, リン循環の生態学的特性や, そもそも生態系を支配している法則のようなものについて考えてみたい。そして, その延長において, 植物根から分泌される有機物がリンの可給性に与える影響について検討する。

リンは非常に身近な元素であり, 地球のすべての生命にとって必須元素であるにもかかわらず<sup>1)</sup>, 同じく身近な存在である炭素, 酸素, 水素, 窒素, イオウといった元素と比べ, 日常生活の中でその名前があまり登場しない。我々が知るところの生命を定義するための, 最も中心的な基準の一つは代謝能力であり, もう一つは自己複製能力である。これらの機能のために, 地球上の既存のすべての生物は, 含リン化合物であるアデノシン三リン酸 (ATP) と核酸 (DNA および RNA) に, エネルギーシステムと遺伝システムをそれぞれ依存している。現在の地球上の生命が一つの祖先に由来すると考えられている以上, 生命はその誕生の時から, いや, 生命誕生に至る過程においてすでに, リンを必要としていたと言える。

Shigeto OTSUKA and Takashi KUNITO: Pathways and dynamics of phosphorus supply to plants through organic substances. 5. Exploring conditions that promote phosphate supply

<sup>1</sup> 113-8657 東京都文京区弥生 1-1-1

<sup>2</sup> 113-8657 東京都文京区弥生 1-1-1

<sup>3</sup> 390-8621 長野県松本市旭 3-1-1

Corresponding Author: 大塚重人 otsuka@g.ecc.u-tokyo.ac.jp

2021年6月3日受付・2021年8月19日受理

日本土壌肥科学雑誌 第92巻 第6号 p. 481~490 (2021)

「宇宙の年齢は十分に長く恒星の数も膨大であるため, 地球外文明が存在する可能性は非常に高い。それにもかかわらず, 我々は人類以外の知的生命体との接触がまったくない。」ここで指摘される矛盾はフェルミのパラドクスと呼ばれる。その原因は様々に説明されているが, 英国カーディフ大学は, 暫定的な観測・研究結果としながらも, 生命に不可欠な元素であるリンが宇宙において不足していることでフェルミのパラドクスを説明できると発表した (Newsweek 2018年4月4日)。科学者であり作家でもあった Asimov が早くも 1960 年代に指摘した通り, 我々が存在できるような温度において生命体を構成できる元素の候補には制限がある (Asimov, 1963)。もしも我々と接触可能な地球外生命体がいるなら, やはり地球の生命と似た性質を持っている可能性が高いと考えられるのだ。しかし宇宙にはリンが少なく, しかもその存在は偏っている。たとえハビタブルゾーンに地球型の惑星が存在していたとしても, そこにリンが十分にあるとは限らないのである。

実は, 地球は例外的に豊富なリンに恵まれた惑星であり, 土壌中にはリンが質量にして 0.07% 存在する (高橋, 1992)。一方で生物体を構成するリンはもっと多く, 植物に含まれるリンは 0.23% であり, 細菌では 3.0%, 哺乳類では細胞で 1.0%, 全身で 4.3% と見積もられている (高橋, 1992)。なお, 哺乳類の全身でリンの割合が大きいのは, リンは骨の成分であるハイドロキシアパタイトをカルシウムと共に構成しているからである。地球上のすべての生物は生きるためにリンの供給源を見つけなければならない。一般的な動物は, 植物を食べて (または植物を食べる動物を食べて) リンを摂取し, 陸上植物や土壌細菌などは, 土壌からリンを取り込むことになる。土壌には合計  $1.6 \times 10^{11}$  トンものリンが貯留されていると見積もられているが, これはリン鉱石の推定埋蔵量  $2.4 \times 10^{10}$  トン<sup>2)</sup>をも上回る。しかし, それにも関わらず陸上植物等にとって土壌中のリンを吸収することは大いなる難関なのである。

現在の地球の表面にあるリンのほとんどは, ある種のリン

ン酸塩に含まれている。その理由は、酸素が豊富な地球の環境では、リン酸塩がリンの最低エネルギー状態だからである。このリン酸という形態のリンが溶液中で電荷を運ぶ3つの酸素原子を持つことは生命にとって都合が良く、ATPや核酸、リン脂質の構造と機能にとって非常に重要である。しかしながらリン酸塩は、アンモニウム塩、アルカリ金属塩、カルシウム塩を除き、溶解度が非常に小さい。また、土壌の成分の一つである粘土鉱物の中には表面にリン酸を吸着しやすいものがあり、一般に火山灰土壌では特に吸着力が強い。結果として、これら無機態リンから土壌溶液中に供給されるリン酸の濃度は非常に低く、植物への供給が限定される。生命にとって都合の良いリンの形態は、同時に生命に対して供給されにくい形態なのである。

土壌中にはリンを含有する有機物も蓄積している。植物は、土壌から吸収したリン酸の多くを、様々な器官で利用した後、最終的に *myo*-イノシトールヘキサキスリン酸(フィチン酸)として種子に蓄積する。フィチン酸に含まれるリンは一般的に種子の全リンの75%に相当し、乾燥重量の1から数%にも達する(Raboy, 2001)。結果として、大量のフィチン酸が土壌に供給されることになる。また、農業を通して合成されるフィチン酸のリン量は、リン肥料として使用されるリン量の50%以上に相当すると見積もられている(Raboy, 2001)。よって、農耕地土壌にはさらに多くのフィチン酸が供給される。土壌中に存在する様々な有機態リンの中でもフィチン酸はその蓄積量が特に多いが、フィチン酸は土壌粒子に強く吸着されていることに加え、おそらく土壌中のフィターゼの量が少ないために分解されにくく(Jarosch *et al.*, 2019)、フィチン酸の分解は陸域のリン循環のボトルネックとなっている。

以上のように、土壌中のリンの大部分は、それが無機態であれ有機態であれ、植物に供給されにくい状態になっている。それでは、土壌中で難溶態となった無機態リンや難分解性となった有機態リンからのリンの可給化は、どのようにコントロールされているのだろうか。リンの可給化の程度や速度と関係のありそうな化学的・生理学的・生態学的な理論や現象を、今から見ていこう。

## 2. 生態化学量論

化学量論(stoichiometry)は元来、化学反応式の係数によって表される、反応物と生成物のモル比による相対量によって記述されるものである。化学反応が与えられれば、化学量論は、目的の生成物を十分に得るために必要な各反応物の量を示す。正確性を無視してもっと簡単に言うなら、化学量論は、化学反応における2つ以上の元素同士の量的関係を説明するものである。近年、科学や技術のいくつかの分野でこの言葉の意味や概念が多様化し、生態学においては生態化学量論(ecological stoichiometry)という術語が生まれている。生態化学量論は、エネルギーと元素のバランスが環境内の生物とどのように相互作用

をするか考察するための概念的な枠組みである(Frost *et al.*, 2005)。2つ以上の元素の化学変化がどのように関連しているかを理解するのに役立つため、生態学においては非常に重要な概念である。この視点は、近年、主に海洋生態系において発展してきた。

すべての生命と同様に、植物プランクトン細胞にはATPやDNA, RNAといった生体分子が含まれており、それぞれは一定の元素の組み合わせにより成り立っている。また、脂質、タンパク質、炭水化物などの化合物も、植物プランクトン細胞の元素組成を左右する。植物プランクトンの種類によって化学組成はわずかに異なるが、さまざまな海洋から採取された植物プランクトンの元素組成には、ある程度の均一性が認められる。この植物プランクトン細胞を構成する元素の比、特に窒素(N)とリン(P)の比率(N/P比)に注目したのがアメリカの海洋学者レッドフィールドである。レッドフィールドの調査により、植物プランクトン細胞のリンの各原子には、平均して16原子の窒素と106原子の炭素(C)が付随していることが明らかになった(Redfield, 1934)。このC:N:P=106:16:1という比は、レッドフィールド比と呼ばれる。レッドフィールドはその後、海洋深層水中のN/P比も、植物プランクトンと同様にほぼ16であることをつきとめ、海洋表層の植物プランクトンはやがて死骸となって深層へ移行し分解されるため、深層の無機栄養塩のN/P比は植物プランクトン細胞のN/P比を反映しているのだろうと考えた(Redfield, 1958)。最近になって、Loladze and Elser (2011)は、タンパク質合成とリボソーム産生の速度にかんするモデルから、栄養素が豊富な条件下における生物の恒常的なタンパク質/rRNA比を $3 \pm 0.7$ と予測した。これはN/P比=16 $\pm$ 3に相当し、タンパク質/rRNA比が植物プランクトンのN/P比を決定していることが示唆された。レッドフィールド比は他の元素まで拡張されることもあるが、ほとんどの場合、C, N, P, O<sub>2</sub>のいずれかの元素または分子の比が議論される。海洋サンプルに含まれる植物プランクトン細胞のN/P比の変動は驚くべき小ささで、ほとんどの測定で12~20という範囲の値が得られ、平均は16に近くなっているという。なお、植物プランクトンではなく世界の海洋水のレッドフィールド比は、近年、Martiny *et al.* (2014)によりその中央値が163:22:1であると報告されている。レッドフィールド比の有用性の一つは、ある栄養素の濃度にかんするデータから、別の栄養素の濃度の変動を推定できることである。たとえば、植物プランクトンの成長によりリン酸塩が $0.5 \mu\text{mol kg}^{-1}$ 減少したことが観察されれば、硝酸塩は $(0.5 \times 16) = 8 \mu\text{mol kg}^{-1}$ 減少したと大まかに見積もることができる。また、地球循環モデルの構築や制限要因となっている栄養塩の推定にもレッドフィールド比は利用される(Dodds, 2006)。

それでは、陸域生態系においても、海洋で見られるレッドフィールド比のようなもの、あるいは生態化学量論に基づいて議論できるような元素比の相関が存在する

のだろうか。現在までに、陸域生態系（特に土壌）においては、多くの研究者が受け入れるような共通した見解は形成されていないと思われるが、生態化学量論にかんする知見は少しずつ蓄積してきている。Cleveland and Liptzin (2007) は、世界規模で土壌微生物バイオマスと土壌の C:N:P 化学量論性を調査し、その比率が恒常的であることを明らかにした。また、土壌微生物バイオマスの C/P 比および N/P 比（それぞれ 60 および 7）は土壌全体（それぞれ 186 および 13）よりも低く、また草地生態系の土壌微生物バイオマスは P が豊富である傾向があると報告した。Xu *et al.* (2013) も同様の化学量論性を調査したが、彼らは土壌微生物バイオマスの C/P 比および N/P 比をそれぞれ 42 および 6 と報告している。一方、個別の生態系レベルでは、土壌の利用形態や植生によって微生物バイオマスの C/P 比や N/P 比が著しく変化することも報告されている (Hartman and Richardson, 2013)。Sardans *et al.* (2012) によると、陸域の生態系では、冷温帯から熱帯に、すなわち緯度が高い方から低い方に向かい、土壌と植物の N/P 比が高くなるという一般的な傾向が認められるものの、各気候帯の内部には大きなばらつきがあるという。緯度と生態化学量論の関係については、Xu *et al.* (2013) もまた、土壌微生物バイオマスの C/N 比、C/P 比、N/P 比は、緯度と有意な負の相関を示すことを報告しており、加えて、土壌 pH は微生物バイオマスの C:N:P 比にほとんど影響しないことを明らかにしている。McGroddy *et al.* (2004) は、森林の樹木の葉およびリターの化学量論性が海洋生態系よりも変動しやすいことを明らかにしたが、異なる森林タイプ（温帯広葉樹林、温帯針葉樹林、熱帯林）を個別に検討すると、C:N:P 比のばらつきは小さいことを発見した。Taylor and Townsend (2010) は、土壌・淡水・海洋生態系における硝酸塩濃度と溶存有機炭素あるいは懸濁態有機炭素濃度との間に一貫した負の非線形相関があることを見だし、溶存有機炭素と硝酸塩の循環を結びつけているのは微生物プロセスであることを示した。Tipping *et al.* (2016) は、世界各地の 2000 以上の土壌試料のデータを集め、土壌の有機態炭素含量と、土壌有機物中の窒素、リン、イオウ(S)の含量との間に存在する関係を探った。その結果、泥炭土以外では、N/C 比、P/C 比、S/C 比と有機態炭素含量の間に強い負の相関が見られた。つまり、有機態炭素含量が少ない土壌の方が、有機物に含まれる窒素、リン、イオウが多いことが明らかとなった。

このように、陸域の生態系においては、生態化学量論にかんする研究が進められてはいるものの、まだレッドフィールド比のような恒常的な元素比は見つかっていない。おそらくは、気候、植物、土壌、微生物といった陸域生態系を構成する要素の多様性や複雑性がその原因の一つであり、陸域では生態系のタイプごとに異なる生態化学量論が規定される可能性が考えられる。たとえば真菌類の方が細菌よりも C/N 比が高いため、微生物群集組成が異なる

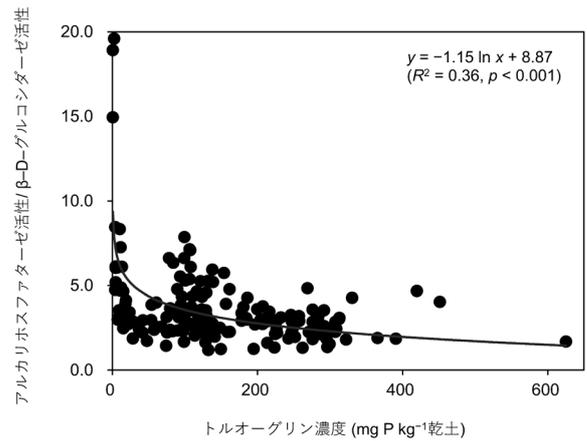


図1 日本の畑土壌におけるトルオーグリン酸（比較的穏やかな条件で抽出されるリン酸）の濃度とアルカリホスファターゼ活性の $\beta$ -D-グルコシダーゼ活性に対する比との関係 ( $n=169$ )

スペアマンの順位相関においても有意な負の相関が得られた ( $r=-0.379$ ,  $p<0.001$ )。トルオーグリン酸濃度を  $\text{mg P}_2\text{O}_5$   $100\text{g}^{-1}$  乾土に換算するには、横軸の値に 0.229 を乗ずる必要がある。Moro *et al.* (2015), Fujita *et al.* (2017, 2019), Mise *et al.* (2018) および未発表データを基に解析。

ると微生物バイオマスの元素比も異なることが知られている (Mooshammer *et al.*, 2014)。重要なことは、生態化学量論は植物や微生物といった生物の活動の結果として現れるものであり、C: N: P 比の具体的な値がどうであれ、その中の一つの元素が何らかのプロセスを受けるためには、他の元素を含む化合物もまた何らかのプロセスを受けるということである。炭素や窒素の循環を考慮せずに、リンの循環だけをコントロールすることはできないのだ。

### 3. 細胞外酵素生産における資源配分モデル

土壌中で炭素、窒素、リンの多くは高分子の有機物に含まれているため、微生物はこれら元素を獲得するために酵素を生産し、細胞外へ分泌している (藤田ら, 2019)。これら炭素、窒素、リンを獲得するために生産された細胞外酵素活性の比（細胞外酵素の化学量論）は、土壌と淡水底質 1440 試料で、概ね一定の値を示すことが報告されている (Sinsabaugh *et al.*, 2009)。しかしこの解析では、酵素活性を対数変換した値を用いており、実際には細胞外酵素の化学量論は試料間で顕著な変動を示す。この一因として、土壌微生物が、利用可能な状態で存在する元素の生態化学量論に応じ、各元素を獲得するための細胞外酵素の生産量を調節していることが挙げられる (藤田ら, 2019)。例えば可給態リン酸濃度が低い場合は、微生物はリンを獲得するために、有機態リンを分解する酵素であるホスファターゼの生産に、炭素や窒素を獲得するための酵素の生産と比較して、より多くの資源を配分する。これを細胞外酵素の資源配分モデル (Sinsabaugh and Follstad Shah, 2012) という。

細胞外酵素の資源配分モデルと一致し、畑土壌ではリ

ン獲得酵素であるアルカリホスファターゼと炭素獲得酵素である $\beta$ -D-グルコシダーゼの活性比が(図1; Moro *et al.*, 2015; Fujita *et al.*, 2017), また森林土壌では酸性ホスファターゼと $\beta$ -D-グルコシダーゼの活性比が, 可給態リン酸濃度と負の関係を示すことが明らかになっている(Fujita *et al.*, 2017). 同様の結果は, 中国の草地土壌(Yang *et al.*, 2020)や森林土壌(Qiu *et al.*, 2021)でも報告されている. また土壌に炭素・窒素を添加して相対的なリン利用性を低下させた場合でも, リン獲得酵素の炭素獲得酵素に対する活性比は増加することが明らかになっている(Mise *et al.*, 2020a). なお, リン獲得酵素の炭素獲得酵素に対する活性比は, 無機態である可給態リン酸濃度と負の関係を示すが, 有機態リン濃度との間には有意な関係は見られない(Moro *et al.*, 2015; Fujita *et al.*, 2017).

このように, 土壌中のホスファターゼの生産は資源配分モデルに一致しているが, 各土壌における微生物の群集組成は, 可給態リン酸濃度によって影響されることが報告されている(Mise *et al.*, 2018). 土壌試料間で微生物群集組成が異なるにも関わらず, 多数の土壌試料に共通して土壌酵素の生態化学量論が資源配分モデルに一致しているという結果は(図1), 土壌微生物群集における有機態リンを分解する能力の冗長性を反映しているのかもしれない. 例えばアルカリホスファターゼの一つであるPhoDをコードする遺伝子は, メタゲノム解析により, 土壌中の約半分の細菌が保有していることが報告されている(Lidbury *et al.*, 2017; Neal *et al.*, 2017). またアルカリホスファターゼ生産菌の群集組成も, 可給態リン酸濃度によって異なることが示されている(Mise *et al.*, 2018; Fujita *et al.*, 2020). 今後, 可給態リン酸濃度が低い土壌において, 主にどのような微生物が有機態リン分解に関わっているのかを解明する必要がある.

可給態リン酸濃度が低い時にホスファターゼ生産が増加するという関係は(図1), 可給態リン酸濃度が低い時に有機態リンの分解が促進されることを暗示している. このことは, とくにリン利用性の低い土壌では, 無機態リン酸だけでなく, 有機態リンも植物栄養において重要であるという知見(McDowell *et al.*, 2008)と一致する. しかしながら, 実際の土壌中において, どのような化学種あるいは存在形態の有機態リンがどの程度分解・利用されているのかといった情報は極めて少ない. これまでの研究では, 比較的生物学利用性が低いとされる, 逐次抽出法におけるNaOH画分の有機態リンが, ホスファターゼ活性が高い根圏では分解・減少することが見出されている(Chen *et al.*, 2002; Liu *et al.*, 2004; George *et al.*, 2006). しかし, 分解されたNaOH画分の有機態リンの詳細は不明のままである.

土壌中の有機態リンの大半を占めるフィチン酸は, フィターゼによって数個のリン酸基が切断されるとともに, 酸性ホスファターゼやアルカリホスファターゼによる分解も受け, 完全に脱リン酸化される(國頭ら, 2019). この

フィチン酸の脱リン酸化ではフィターゼが重要な働きをするため, これまで, 土壌に蓄積した有機態リンの分解では, フィターゼの働きが重視されてきた. フィターゼの生産は, 真菌類ではリン酸濃度に応じて調節されるものが多いが, 細菌ではリン酸濃度による調節を受けないものも多い(國頭ら, 2019). このため, 真菌類の生産するフィターゼは資源配分モデルに一致する可能性があるが, 土壌中のフィターゼ全体としては, 資源配分モデルに一致するのかどうかは不明である.

最近の研究では, フィチン酸は土壌中の有機態リンの3分の1以下であり, 有機態リンの半分近くが10kDa以上の高分子有機物に含まれるリン酸モノエステルである可能性が指摘されている(McLaren *et al.*, 2015, 2019, 2020). また5kDa以上のサイズの有機態リンは, ホスファターゼによる分解を受けにくいことも示唆されている(Jarosch *et al.*, 2015). このため, このような難分解性の高分子有機態リンが土壌に蓄積している可能性があり(McLaren *et al.*, 2020), これら高分子有機態リンの特性の解明に加え, その分解にかかわる酵素の特定, その生産と資源配分モデルとの一致の有無, 分解を促進する条件の解明といった課題が残されている.

#### 4. プライミング効果

プライミングとは, 有機物を投入された土壌において, 土壌中にもともと存在していた有機物の分解速度が変化する現象である(Bingeman *et al.*, 1953). 有機物(一般に易分解性有機物)の添加により土壌有機物の無機化が促進される効果は正のプライミング効果, 逆に土壌有機物の無機化が抑制される効果は負のプライミング効果と定義される(Kuzyakov, 2010). プライミングが起こる詳細なメカニズムは解明されてはいないが, 微生物の活性化や生態化学量論などを含むいくつかのメカニズムが提唱されている(Perveen *et al.*, 2019など). プライミング効果のメカニズムを研究する際の問題の1つは, この効果が, 最初の刺激が次の反応を引き起こすという連鎖反応によるものと考えられることである(Liu *et al.*, 2020). しかし, メカニズム解明のために行われる努力により, もっと広範な生物地球化学的現象の基盤が明らかにされると期待されている(Liu *et al.*, 2020).

正のプライミングを説明するために提案されたモデルの1つは「微生物活性化」あるいは「コマタボリズム」と呼ばれる(Kuzyakov *et al.*, 2000; Blagodatskaya and Kuzyakov, 2008; Perveen *et al.*, 2019). このモデルによると, 易分解性有機物を添加することにより微生物が活性化し, 様々な細胞外酵素を生産して土壌有機物が分解される(Blagodatskaya and Kuzyakov, 2008). また Fontaine *et al.* (2003) は, 添加した易分解性有機物をr選択微生物が利用し, 基質が枯渇するとr選択微生物は死滅あるいは休眠し, 代わりにK選択微生物がr選択微生物由来の代謝産物を利用しながら増加するとともに, 土壌有機物を分

解すると考えている。

一方、「窒素採掘モデル」あるいは「生態化学量論モデル」では、利用可能な炭素源とのバランスのために微生物が窒素源にアクセスすると想定し、易分解性有機物の添加によってもともと土壌中にあった有機物の分解が促進されると考える (Blagodatskaya and Kuzyakov, 2008; Chen *et al.*, 2014)。この窒素採掘モデルによれば、プライミングの大きさは、微生物増殖の炭素と窒素のバランスに強く依存する (Kuzyakov *et al.*, 2000)。よって、複雑な有機物を分解することができるフェノールオキシダーゼやペルオキシダーゼのような酵素は、炭素源だけでなく窒素源の獲得のためにも生産され得る (Sinsabaugh, 2010)。Liu *et al.* (2020) によると、グルコースだけ添加した場合に比べ、グルコースと窒素源を同時に土壌に添加した場合には、フェノールオキシダーゼ活性は大幅に低下したが、ペルオキシダーゼ活性ではそのような結果は得られなかった。

なおこれら2つのモデルは両立可能であり、例えば Perveen *et al.* (2019) は、プライミングの前半では「微生物活性化」が主なメカニズムとして働き、r 選択微生物が優占し、細胞外酵素を生産して土壌有機物を分解するが、後半では「窒素採掘モデル」が主に働き、K 選択微生物が窒素を獲得するために難分解性有機物を分解するものと推察している。しかしながら、プライミングにおいて土壌有機物の分解には、特定の細菌種ではなく、多様な細菌種が関与していることが報告されている (Morrissey *et al.*, 2017)。さらなる理解のためには、今後はプライミングに関与する真菌類の知見も重要となってくるだろう。

なお、正のプライミングがおこる機序を説明するモデルは上述したように2つに大別できるが、それぞれのモデルにもバリエーションがあり、また名称も統一されていない点に留意する必要がある。例えば、「生態化学量論モデル」は、「窒素採掘モデル」と同じ意味合いで使われる場合もあれば (Liu *et al.*, 2020)、「微生物活性化モデル」と同義的に使われる場合もある (Chen *et al.*, 2014; Perveen *et al.*, 2019; Feng and Zhu, 2021)。

易分解性の生育基質の投入により、土壌酵素の活性が増加する際の微生物の応答は、生態化学量論や資源配分モデルで説明され得る。土壌中の窒素の利用性が高まると、土壌有機物を分解する酵素の生産が減少すること (Sinsabaugh *et al.*, 2005) や、投入する基質に含まれる窒素が多ければプライミング効果が低下すること (Guenet *et al.*, 2010; Fontaine *et al.*, 2011) が報告されている。ただし、これらの現象は普遍的に観察されるものではなく、分析結果は一貫していない。たとえば、養分を多く含む土壌は、養分の少ない土壌よりもプライミング効果が小さい場合があることが報告されている一方 (Dimassi *et al.*, 2014)、逆の例も報告されている (Perveen *et al.*, 2019)。Feng and Zhu (2021) は 355 のデータのメタ解析より、土壌の窒素制限の程度 (微生物呼吸速度に基づき評価したもの)

が大きい場合には「微生物活性化」モデルと一致し、炭素と窒素の添加でプライミング効果は増大する一方、窒素制限の程度が小さい場合には「窒素採掘モデル」と一致し、炭素と窒素の添加でプライミング効果は低下することを見いだした。このため土壌の窒素濃度によって、さらに正確に言うならば微生物にとっての窒素利用性によって、主要なプライミング効果のメカニズムと程度が異なる可能性があり、今後の検証が待たれる。このように、土壌への易分解性有機物の投入は、土壌の炭素貯留量を変動させるのみならず、土壌の可給態窒素の含量にも影響を与える。土壌微生物の窒素要求量が高まり、土壌有機物の中に閉じ込められた窒素が「採掘」されることによって可給態窒素が増加するのだ (Conde *et al.*, 2005)。

それでは、土壌への易分解性有機物の投入によって、可給態リンは増加しないのだろうか。炭素源の投入に伴って窒素が採掘されても、リンが制限要因となっている状況では微生物は増殖できないはずだ。リン採掘がプライミング効果によって行われるか否かについては、これまでのところ一致した見解はない (Achat *et al.*, 2016)。関与しないという主張の根拠の一つは、有機態リンの無機化は細胞外で酵素により行われるため、炭素の動態とは連結しておらず CO<sub>2</sub> も発生しないというものである (McGill and Cole, 1981; Achat *et al.*, 2016)。Bastida *et al.* (2019) も、土壌の可給態リン含有量とプライミング効果との間に有意な相関がなかったことを報告している。しかしながら、仮に土壌有機物のかなりの部分が、有機態リンを含む多様な低分子の有機物が集合した状態で存在している場合には (Schmidt *et al.*, 2011; Lehmann and Kleber, 2015)、微生物はリンを獲得するために土壌有機物を分解する必要があり、その際にはリン採掘がプライミングに関与する可能性はある。実際、とくにリン制限の程度が強い熱帯林において、プライミングとリン採掘との結びつきを示す結果が得られている (Nottingham *et al.*, 2012; Feng *et al.*, 2021)。また、Feike *et al.* (2013) は、リン制限下の根圏では易分解性有機物の投入によるプライミングが発生せず、土壌有機物の分解よりもリンの溶解に利用される場合があることを指摘している。なお、プライミング効果の視点で行われた研究ではないものの、炭素源と窒素源を添加することで微生物にリン採掘をさせ、難利用性のリン酸がバイオマスリンに変換されることを明らかにした研究もある (Wu *et al.*, 2007; Ding *et al.*, 2012)。

## 5. 根圏はリン酸供給が促進される環境か

ここで、植物根の近傍の土壌環境にかんして現在までに得られている知見と、上述の生態化学量論や資源配分モデル、プライミング効果といった概念や理論とを合わせたときに、リン循環にかんして想定されることを考えてみたい。

植物根のごく近傍の土壌領域は根圏と呼ばれる。根の存在と活動によって生じる根圏土壌の物理的、化学的、生

物学的特性の変化は、その後の植物の生長に大きな影響を及ぼす (Richardson *et al.*, 2009). 植物根からは様々な糖類, 有機酸, アミノ酸, 脂質, ビタミン等が分泌され, 根圏はこの分泌物の影響の及ぶ領域である. 根分泌物の効果として, まず, 根圏土壌の微生物を活性化することがあげられる. この作用は根圏効果と呼ばれる. 微生物の存在量, 活性, および酵素活性は, 根の表面からの距離が遠くなるにしたがって明確に減少することが報告されている (Marschner *et al.* 2012). リン循環にかかわる効果としては, 植物根から分泌されるクエン酸やシュウ酸といった有機酸がキレートとして機能し, リン酸と結合している金属イオンと錯体を形成して, 土壌粒子に吸着したリン酸や有機態リンを脱着させる, あるいは難溶態となっているリン酸化合物を溶解することが知られている (Dijkstra *et al.*, 2013; Clarholm *et al.*, 2015; 丸山・和崎, 2017). そのままでは植物が吸収できない有機態リンは, 植物細胞壁結合性のホスファターゼ, または植物根や微生物から分泌されたホスファターゼによって分解を受け, 無機態リン酸となる (Clarholm *et al.*, 2015; 丸山・和崎, 2017). このように, 根分泌物の中には, 植物が自らの力でリンを獲得するために機能するものがあることが知られている. なお, 詳細なメカニズムは不明なものの, 植物はグルコシノレートのような二次代謝産物やアミノ酸等の根分泌物によって根圏の微生物群集を変化させ, それによりリンを獲得しているという予想もある (Bakker *et al.*, 2018; Hartman and Tringe, 2019).

根分泌物のうち量的に主要なものは有機酸と炭水化物であり, 窒素の供給源としてのアミノ酸の量は, 根圏土壌の微生物バイオマスを説明するには不十分である (Bürgmann *et al.*, 2005). したがって根圏は窒素固定細菌にとって潜在的に他の微生物と比べて有利な環境にあり (Bürgmann *et al.*, 2005), 逆に言えば, 根分泌物は, 根圏土壌の窒素固定細菌による窒素固定を促進する力となっている (Jones *et al.*, 2003). 窒素固定の促進は, 根圏土壌の生態化学量論に基づいて炭素と窒素のバランスが取られた結果であると解釈できるし, 根圏微生物群集をひとまとまりと考えれば, 炭素源が十分に手に入る状態において, 微生物群集が窒素獲得の方向に舵を切った (資源配分を変えた) とも解釈できる. そして, 窒素固定のみならず, 根分泌物による根圏プライミングにより土壌有機物からの窒素の採掘も行われている可能性がある (Dijkstra *et al.*, 2013; Jilling *et al.*, 2018). また植物根が分泌する有機酸により, 土壌粒子に吸着していた有機態窒素が脱着し, 分解・利用可能となると考えられている (Jilling *et al.*, 2018).

それではリンはどうだろうか. 土壌中のリンは一般に難利用性であることを考えると, 根分泌物により土壌微生物が増殖し活発になる時にはリン欠乏の状態になりやすいと考えられる. 一部の根分泌物は植物が自らリンを獲得するために用いられているとは言え, 植物と土壌微生物との間

でリンの競合が起こることは容易に推測される. それにもかかわらず, なぜ植物は多量の根分泌物を土壌に供給するのだろうか. 根分泌物には様々な機能があるために分泌量が多くなるという考え方もあるだろうが, 目的は何であれ相当量の炭素源化合物が土壌に供給されていることは間違いなく, たとえばトウモロコシでは正味の光合成産物の5% (Haller and Stolp, 1985), 小麦では15–21%が, 根から土壌に分泌されることが報告されている (Barber and Martin, 1976). 植物がこれだけの炭素源化合物を土壌に積極的に供給しているということは, 生態化学量論や資源配分の理論に基づけば, リンの可給化がある程度促進されなくてはならない. また, プライミングによるリンの採掘が行われる可能性もある. そうでなければ, 根分泌物の多い植物は, 他の植物との生存競争において不利になってしまう. 実際, 土壌のリン循環のホットスポットの1つは植物の根圏であることが知られており (Hinsinger, 2001), リン酸溶解細菌 (phosphate-solubilizing bacteria, PSB) を含む特定の微生物群集が根圏に形成されることが例証されている (Li *et al.*, 2019). PSBは, 上述の植物根と同様に有機酸を分泌してリン酸と金属との塩を溶解するが, 同じ仕組みを用いて土壌粒子に吸着したリン酸の脱着も行う (Osorio and Habte, 2013).

植物の根の粘液の主成分はペクチンであり (Western *et al.*, 2000), これは主要な根分泌物の1つであると考えられている (Oades, 1978). しかし, 根圏のPSBに対するペクチンの影響はこれまで知られていない. 興味深いことに, 土壌から分離されたPSBの培養株の生理試験を行った過去の研究 (Naik *et al.*, 2008; Chang and Yang, 2009) を見てみると, その著者らは因果関係にまったく注意を払っていないものの, PSB分離株の多くはペクチナーゼ活性があることが示されている. つまり, 土壌中のPSBの活性または存在量がペクチンによって増加する可能性が暗示されるが, 実際の土壌中でこれが起きているのかどうかは不明であった.

上述の背景の下, 著者らは, ペクチンがPSBを活性化し土壌のリン溶解・脱着を促進するという仮説を立てた. そして最近, その仮説を裏付ける実験結果が得られた (図2; Mise *et al.*, 2020b). 以下にその研究を紹介したい.

著者らはまず, ①ペクチン分解細菌のリン酸溶解能の保有率を検証した. ペクチン, ガラクツロン酸, グルコースのそれぞれを単一炭素源とする寒天培地, および普通ブイオン (Nutrient Broth) 寒天培地を用いて, 土壌から細菌を分離した. なお, ガラクツロン酸はペクチンの主要な構成成分であり, グルコースは根分泌物に含まれる様々な多糖の構成成分である. 分離株一つひとつについて, Pikovskaya 寒天培地にてリン酸カルシウム溶解に伴うハロの形成を試験した. その結果, ペクチン培地およびガラクトン酸培地が, グルコース培地や普通ブイオン培地よりもPSBをスクリーニングする効果が有意に高いことが, 明確に示された.

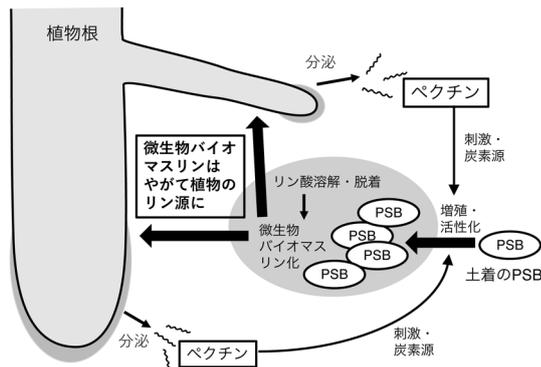


図2 リン供給にかかわるペクチンの役割(仮説)の概念図  
ペクチンが土壌中のリン酸溶解細菌 phosphate solubilizing bacteria (PSB) の増殖を一定の選択性をもって促進し、おそらく機能も活性化す。結果として、無機態リン酸塩の溶解・脱着を経て微生物バイオマスリンが増加する。微生物バイオマスリンはやがて植物のリン源となる。

次に、②土壌マイクロゾム実験により、ペクチンの添加が土壌のリン酸塩の溶解や脱着を促進するかどうかを調べた。土壌へのペクチン添加により、比較的穏やかな条件で抽出されるリン酸(トルオーグリン酸)の土壌中含量は有意に低下し、それにもなって土壌中の微生物バイオマスリンの含量が有意に増加した。これは、ペクチン添加によってリン酸塩の溶解や脱着が促進され、PSBを含む微生物に取り込まれたことを意味する。

さらに、③土壌中のDNAを鋳型として16S rRNA遺伝子の部分塩基配列を増幅し、次世代DNAシーケンサーを用いてアンプリコンを大量に解読した(1サンプルあたり11万~19万配列)。そして、土壌マイクロゾム中の細菌群集におけるPSBの割合を推測するため、得られた塩基配列を、iPSBデータベース(Zheng *et al.*, 2017)と照合した。このデータベースには、査読を受けて公表された論文において報告されているPSBの16S rRNA遺伝子塩基配列がまとめられている。その結果、iPSBデータベース上の塩基配列に適合した塩基配列の割合は、ペクチン添加土壌の方が対照土壌よりも有意に大きくなっており、最大3倍に増加していた。

これらの結果を総合して著者らが導いた結論は、ペクチン添加が土壌中のPSBの増殖を一定の選択性をもって促進し(①、③より)、無機態リン酸塩の溶解や脱着とバイオマスリンの増加を招いた(②より)というものだ(図2)。無機態リンの溶解・脱着とバイオマスリンの増加が土壌において示されたことは大きな意義をもつと考えている。この研究成果はまた、PSBのペクチン分解とリン酸溶解・脱着にかかわる二つの代謝系が共進化的に獲得されてきた可能性を示唆する。ペクチンの役割としてはこれまで、「根が土壌中を伸長する物理的な抵抗やアルミニウムの毒性から根を保護する役割がある」などと説明されてきたが、「特定の微生物群に刺激を与え、難利用性リン酸を吸収させバイオマスリンを増大する、あるいは植物にリン酸

を供給する役割もある」のではないだろうか。微生物バイオマスリンは、やがて死滅した微生物細胞から土壌に、リン酸や易分解性有機態リンの形態で放出される。したがって、PSBが溶解・脱着したリン酸を植物が直ちに利用できなかったとしても、PSBの活性または存在量を高めることは、土壌中のリン可給性の向上に寄与すると考えられる。

生態化学量論や資源配分の理論や概念が潜在的に予言する根圏でのリンの有効化は、このように実際に起きていると考えられる。有機態リンからのリンの採掘にかんして検討していない点で、(プライミング効果の定義や解釈にもよるが)著者らの研究成果はリン欠乏による正のプライミング効果が起きたと表現するのは相応しくないかもしれないが、無機態リン酸の有効化はリン採掘と見なすことができよう。しかし、いずれにせよ、炭素源という資源を利用するために欠乏する他の養分を微生物が獲得しようとする作用が働いたと考えるのは妥当であろう。

それでは、炭素源さえ与えれば、いくらでも窒素は固定されリン酸は溶解・脱着されるのだろうか。そんなことはあり得ないと、土壌学・肥料学に携わる研究者や現場で作物生産を営む農家であれば誰でも知っている。生態化学量論や資源配分、プライミング効果が理論通りに現れるためには、各種養分のバランスを適正に維持することが条件の一つとなりそうだ。この際のバランスを適正に維持することは、微生物活性を上げるためには各種養分の化学量論を、微生物が要求するものと一致させることであり、またリン採掘を促すには、炭素や窒素と比較してリンが欠乏した状態にすることである。実際の土壌生態系においては、それぞれの養分のもつ化学的性質やそもその存在量といったものが制限要因となり、必ずしも理論通りには養分バランスを保てないものと推測される。また、根分泌物には様々な種類の化合物があり、その中にはグルコースを構成単糖とする糖類も含まれるが、上述の通り、すでにペクチンやガラクトuron酸よりもグルコースの方がPSBをスクリーニングする効果が低いことが示されている(Mise *et al.*, 2020b)。よって、根分泌化合物は炭素源として生態化学量論的に働くのみならず、ある化合物が微生物の特定の機能に影響を与える他のメカニズムがあることは間違いないだろう。しかしながら、本稿にて紹介した生態化学量論や資源配分、プライミング効果といった考え方は、土壌における養分の循環や動態の理解にとって非常に有用であろうと思われる。これらの理論や概念により、今後たとえばより効率的な施肥の方法といったものが提案されるかもしれない。土壌中のリンの動態は複雑でまだまだ全容は明らかにならないが、生態学的な理論を導入した研究が増えることにより、未説明の問題が少しずつ明らかになっていくものと期待する。

## 注

- 1) 近年、リンの同族元素であるヒ素を利用して生息する細菌

が米カリフォルニア州のモノ湖で発見されたと発表され (Wolfe-Simon *et al.*, 2011, ただし報道は2010年末), ヒ酸をリン酸の代わりに使っているのかどうか注目された。しかし他の研究者たちの分析により, 2012年には, この細菌は高濃度のヒ素に対する耐性をもち, かつ低濃度のリンを利用して生育できる細菌であり, DNAにはヒ素が含まれていないことが明らかになった。現在ではヒ素を利用して生息する細菌の存在を信じる研究者は少ないと考えられるが, 2021年3月現在, Wolfe-Simonらは発表を取り下げていない。

- 2) 採掘・精製コストの低い高純度のリン鉱石は今後50~90年間で枯渇すると予測されていたが (Gilbert, 2009 など), 2011年に国際肥料開発センターが改めて調査を行い, 世界の経済的リン鉱石の埋蔵量の見積もり総量を大幅に修正し, 残り600億トン, 経済的に300年弱は利用できると発表した。しかし現在, この値を鵜呑みにする研究者は少なく, その後の研究でも今後の採掘可能年限は70~140年と見積もられている (Cordell and White, 2014 など)。本文の $2.4 \times 10^{10}$  トンという埋蔵量は, Rhodes (2013) の値を採用した。

## 文 献

- Achat, D.L., Augusto, L., Gallet-Budynek, A., and Loustau, D. 2016. Future challenges in coupled C-N-P cycle models for terrestrial ecosystems under global change: A review. *Biogeochemistry*, **131**, 173–202.
- Asimov, I. 1963. View from a Height. Doubleday, Garden City, N. Y.
- Bagyaraj, D.J., Thilagar, G., Ravisha, C., Kushalappa, C.G., Krishnamurthy, K.N., and Vaast, P. 2015. Below ground microbial diversity as influenced by coffee agroforestry systems in the Western Ghats, India. *Agric. Ecosyst. Environ.*, **202**, 198–202.
- Bakker, P.A.H.M., Pieterse, C.M.J., de Jonge, R., and Berendsen, R.L. 2018. The soil-borne legacy. *Cell*, **172**, 1178–1180.
- Barber, D.A., and Martin, J.K. 1976. The release of organic substances by ceteal roots into soil. *New Phytol.*, **76**, 69–80.
- Bastida, F., García, C., Fierer, N., Eldridge, D.J., Bowker, M.A., Abades, S., Alfaro, F.D., Asefaw Berhe, A., Cutler, N.A., Gallardo, A., García-Velázquez, L., Hart, S.C., Hayes, P.E., Hernández, T., Hseu, Z.Y., Jehmlich, N., Kirchmair, M., Lambers, H., Neuhauser, S., Peña-Ramírez, V.M., Pérez, C.A., Reed, S.C., Santos, F., Siebe, C., Sullivan, B.W., Trivedi, P., Vera, A., Williams, M.A., Luis Moreno, J., and Delgado-Baquerizo, M. 2019. Global ecological predictors of the soil priming effect. *Nat. Commun.*, **10**, 3481.
- Bingeman, C.W., Varner, J.E., and Martin, W.P. 1953. The effect of the addition of organic materials on the decomposition of an organic soil. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, **17**, 34–38.
- Blagodatskaya, E., and Kuzyakov, Y. 2008. Mechanisms of real and apparent priming effects and their dependence on soil microbial biomass and community structure: Critical review. *Biol. Fertil. Soils*, **45**, 115–131.
- Bürgmann, H., Meier, S., Bunge, M., Widmer, F., and Zeyer, J. 2005. Effects of model root exudates on structure and activity of a soil diazotroph community. *Environ. Microbiol.*, **7**, 1711–1724.
- Chen, C.R., Condrón, L.M., Davis, M.R., and Sherlock, R.R. 2002. Phosphorus dynamics in the rhizosphere of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) and radiata pine (*Pinus radiata* D. Don). *Soil Biol. Biochem.*, **34**, 487–499.
- Chen, R., Senbayram, M., Blagodatsky, S., Myachina, O., Dittert, K., Lin, X., Blagodatskaya, E., and Kuzyakov, Y. 2014. Soil C and N availability determine the priming effect: Microbial N mining and stoichiometric decomposition theories. *Glob. Change Biol.*, **20**, 2356–2367.
- Cleveland, C., and Liptzin, D. 2007. C:N:P stoichiometry in soil: Is there a “Redfield ratio” for the microbial biomass? *Biogeochemistry*, **85**, 235–252.
- Conde, E., Cardenas, M., Ponce-Mendoza, A., Luna-Guido, M.L., Cruz-Mondragon, C., and Dendooven, L. 2005. The impacts of inorganic nitrogen application on mineralization of C-14-labelled maize and glucose, and on priming effect in saline alkaline soil. *Soil Biol. Biochem.*, **37**, 681–691.
- Cordell, D., and White, S. 2014. Life’s bottleneck: Sustaining the world’s phosphorus for a food secure future. *Annu. Rev. Environ. Resour.*, **39**, 161–188.
- Dijkstra, F.A., Carrillo, Y., Pendall, E., and Morgan, J.A. 2013. Rhizosphere priming: A nutrient perspective. *Front. Microbiol.*, **4**, 216.
- Dimassi, B., Mary, B., Fontaine, S., Perveen, N., Revaillo, S., and Cohan, J.-P. 2014. Effect of nutrients availability and long-term tillage on priming effect and soil C mineralization. *Soil Biol. Biochem.*, **78**, 332–339.
- Ding, L., Wu, J., Xiao, H., Zhou, P., and Syers, J.K. 2012. Mobilisation of inorganic phosphorus induced by rice straw in aggregates of a highly weathered upland soil. *J. Sci. Food Agric.*, **92**, 1073–1079.
- Dinkelaker, B., Römheld, V., and Marschner, H. 1989. Citric acid excretion and precipitation of calcium citrate in the rhizosphere of white lupin (*Lupinus albus* L.). *Plant Cell Environ.*, **12**, 285–292.
- Dodds, W. 2006. Nutrients and the “dead zone”: The link between nutrient ratios and dissolved oxygens in the Northern Gulf of Mexico. *Front. Ecol. Environ.*, **4**, 211–217.
- Feike, D., Yolima, C., Elise, P., and Jack, M. 2013. Rhizosphere priming: A nutrient perspective. *Front. Microbiol.*, **4**, 216–216.
- Feng, J., and Zhu, B. 2021. Global patterns and associated drivers of priming effect in response to nutrient addition. *Soil Biol. Biochem.*, **153**, 108118.
- Feng, J., Tang, M., and Zhu, B. 2021. Soil priming effect and its responses to nutrient addition along a tropical forest elevation gradient. *Glob. Change Biol.*, **5587**, 2793–2806.
- Fontaine, S., Mariotti, A., and Abbadie, L. 2003. The priming effect of organic matter: A question of microbial competition? *Soil Biol. Biochem.*, **35**, 837–843.
- Fontaine, S., Henault, C., Aamor, A., Bdioui, N., Bloor, J.M.G., Maire, V., Mary, B., Revaillo, S., and Maron, P.A. 2011. Fungi mediate long term sequestration of carbon and nitrogen in soil through their priming effect. *Soil Biol. Biochem.*, **43**, 86–96.
- Frost, P.C., Cross, W.F., and Benstead, J.P. 2005. Ecological stoichiometry in freshwater benthic ecosystems: An introduction. *Freshw. Biol.*, **50**, 1781–1785.
- Fujita, K., Kunito, T., Moro, H., Toda, H., Otsuka, S., and Nagaoka, K. 2017. Microbial resource allocation for phosphatase synthesis reflects the availability of inorganic phosphorus across various soils. *Biogeochemistry*, **136**, 325–339.
- 藤田一輝・諸人誌・大塚重人・長岡一成・國頭 恭 2019. 土壌中の養分利用性と微生物による酵素生産との関係: 資源配分モデルを中心に. *土と微生物*, **73**, 10–23.
- Fujita, K., Miyabara, Y., and Kunito, T. 2019. Microbial biomass and ecoenzymatic stoichiometries vary in response to nutrient availability in an arable soil. *Eur. J. Soil Biol.*, **91**,

- 1–8.
- Fujita, K., Kunito, T., Otsuka, S., and Nagaoka, K. 2020. Anaerobic soil disinfection using diluted ethanol increases phosphorus availability in arable Andosols. *Biol. Fertil. Soils*, **56**, 927–941.
- George, T.S., Turner, B.L., Gregory, P.J., Cade-Menun, B.J., and Richardson, A.E. 2006. Depletion of organic phosphorus from Oxisols in relation to phosphatase activities in the rhizosphere. *Eur. J. Soil Sci.*, **57**, 47–57.
- Gilbert, N. 2009. The disappearing nutrient. *Nature*, **461**, 716–718.
- Guenet, B., Leloup, J., Raynaud, X., Bardoux, G., and Abbadie, L. 2010. Negative priming effect on mineralization in a soil free of vegetation for 80 years. *Eur. J. Soil Sci.*, **61**, 384–391.
- Haller, T., and Stolp, H. 1985. Quantitative estimation of root exudation of maize plants. *Plant Soil*, **86**, 207–216.
- Hartman, W.H., and Richardson, C.J. 2013. Differential nutrient limitation of soil microbial biomass and metabolic quotients ( $qCO_2$ ): Is there a biological stoichiometry of soil microbes? *PLoS One*, **8**, e57127.
- Hartman, K., and Tringe, S.G. 2019. Interactions between plants and soil shaping the root microbiome under abiotic stress. *Biochem. J.*, **476**, 2705–2724.
- Hinsinger, P. 2001. Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: A review. *Plant Soil*, **237**, 173–195.
- Jarosch, K.A., Doolette, A.L., Smernik, R.J., Tamburini, F., Frossard, E., and Bünemann, E.K. 2015. Characterization of soil organic phosphorus in NaOH-EDTA extracts: A comparison of  $^{31}P$  NMR spectroscopy and enzyme addition assays. *Soil Biol. Biochem.*, **91**, 298–309.
- Jarosch, K.A., Kandeler, E., Frossard, E., and Bünemann, E.K. 2019. Is the enzymatic hydrolysis of soil organic phosphorus compounds limited by enzyme or substrate availability? *Soil Biol. Biochem.*, **139**, 107628.
- Jilling, A., Keiluweit, M., Contosta, A.R., Frey, S., Schimel, J., Schnecker, J., Smith, R.G., Tiemann, L., and Grandy, A.S. 2018. Minerals in the rhizosphere: Overlooked mediators of soil nitrogen availability to plants and microbes. *Biogeochemistry*, **139**, 103–122.
- Jones, D.L., Farrar, J., and Giller, K.E. 2003. Associative nitrogen fixation and root exudation—What is theoretically possible in the rhizosphere? *Symbiosis*, **35**, 18–38.
- 國頭 恭・諸 人誌・藤田一輝・美世一守・長岡一成・大塚重人 2019. リン可給性をめぐる土壤微生物群集. *土と微生物*, **73**, 41–54.
- Kuzyakov, Y. 2010. Priming effects: Interactions between living and dead organic matter. *Soil Biol. Biochem.*, **42**, 1363–1371.
- Kuzyakov, Y., Friedel, J.K., and Stahr, K. 2000. Review of mechanisms and quantification of priming effects. *Soil Biol. Biochem.*, **32**, 1485–1498.
- Lehmann, J., and Kleber, M. 2015. The contentious nature of soil organic matter. *Nature*, **528**, 60–68.
- Li, H., Ding, X., Chen, C., Zheng, X., Han, H., Li, C., Gong, J., Xu, T., Li, Q.X., Ding, G.C., and Li, J. 2019. Enrichment of phosphate solubilizing bacteria during late developmental stages of eggplant (*Solanum melongena* L.). *FEMS Microbiol. Ecol.*, **95**, fiz023.
- Lidbury, I.D.E.A., Fraser, T.D., Murphy, A.R.J., Scanlan, D.J., Bending, G.D., Jones, A.M.E., Moore, J.D., Goodall, A., Tibbett, M., Hammond, J.P., and Wellington, E.M.H. 2017. The ‘known’ genetic potential for microbial communities to degrade organic phosphorus is reduced in low-pH soils. *MicrobiologyOpen*, **6**, e474.
- Liu, Q., Loganathan, P., Hedley, M.J., and Skinner, M.F. 2004. The mobilisation and fate of soil and rock phosphate in the rhizosphere of ectomycorrhizal *Pinus radiata* seedlings in an Allophanic soil. *Plant Soil*, **264**, 219–229.
- Liu, X.-J.A., Finley, B.K., Mau, R.L., Schwartz, E., Dijkstra, P., Bowker, M.A., and Hungate, B.A. 2020. The soil priming effect: Consistent across ecosystems, elusive mechanisms. *Soil Biol. Biochem.*, **140**, 107617.
- Loladze, I., and Elser, J.J. 2011. The origins of the Redfield nitrogen-to-phosphorus ratio are in a homeostatic protein-to-rRNA ratio. *Ecol. Lett.*, **14**, 244–250.
- Martiny, A.C., Vrugt, J.A., and Lomas, M.W. 2014. Concentrations and ratios of particulate organic carbon, nitrogen, and phosphorus in the global ocean. *Sci. Data*, **1**, 1–7.
- 丸山隼人・和崎 淳 2017. 低リン条件で房状の根を形成する植物の機能と分布低リンストレスに対する植物の適応機構. *化学と生物*, **55**, 189–195.
- Marschner, P., Marhan, S., and Kandeler, E. 2012. Microscale distribution and function of soil microorganisms in the interface between rhizosphere and detritusphere. *Soil Biol. Biochem.*, **49**, 174–183.
- McDowell, R.W., Condron, L.M., and Stewart, I. 2008. An examination of potential extraction methods to assess plant-available organic phosphorus in soil. *Biol. Fertil. Soils*, **44**, 707–715.
- McGill, W.B., and Cole, C.V. 1981. Comparative aspects of cycling of organic C, N, S and P through soil organic matter. *Geoderma*, **26**, 267–286.
- McGroddy, M., Daufresne, T., and Hedin, L. 2004. Scaling of C:N:P stoichiometry in forest worldwide: Implication of terrestrial redfield-type ratios. *Ecology*, **85**, 2390–2401.
- McLaren, T.I., Smernik, R.J., McLaughlin, M.J., McBeath, T.M., Kirby, J.K., Simpson, R.J., Guppy, C.N., Doolette, A.L., and Richardson, A.E. 2015. Complex forms of soil organic phosphorus—A major component of soil phosphorus. *Environ. Sci. Technol.*, **49**, 13238–13245.
- McLaren, T.I., Verel, R., and Frossard, E. 2019. The structural composition of soil phosphomonoesters as determined by solution  $^{31}P$  NMR spectroscopy and transverse relaxation ( $T_2$ ) experiments. *Geoderma*, **345**, 31–37.
- McLaren, T.I., Smernik, R.J., McLaughlin, M.J., Doolette, A.L., Richardson, A.E., and Frossard, E. 2020. The chemical nature of soil organic phosphorus: A critical review and global compilation of quantitative data. *Adv. Agron.*, **160**, 51–124.
- Mise, K., Fujita, K., Kunito, T., Senoo, K., and Otsuka, S. 2018. Phosphorus-mineralizing communities reflect nutrient-rich characteristics in Japanese arable Andisols. *Microbes Environ.*, **33**, 282–289.
- Mise, K., Maruyama, R., Miyabara, Y., Kunito, T., Senoo, K., and Otsuka, S. 2020a. Time-series analysis of phosphorus-depleted microbial communities in carbon/nitrogen-amended soils. *Appl. Soil Ecol.*, **145**, 103346.
- Mise, K., Koyama, Y., Matsumoto, A., Fujita, K., Kunito, T., Senoo, K., and Otsuka, S. 2020b. Pectin drives microbial phosphorus solubilization in soil: Evidence from isolation-based and community-scale approaches. *Eur. J. Soil Biol.*, **97**, 103169.
- Mooshammer, M., Wanek, W., Zechmeister-Boltenstern, S., and Richter, A. 2014. Stoichiometric imbalances between

- terrestrial decomposer communities and their resources: Mechanisms and implications of microbial adaptations to their resources. *Front. Microbiol.*, **5**, 22.
- Moro, H., Kunito, T., and Sato, T. 2015. Assessment of phosphorus bioavailability in cultivated Andisols from a long-term fertilization field experiment using chemical extractions and soil enzyme activities. *Arch. Agron. Soil Sci.*, **61**, 1107–1123.
- Morrissey, E.M., Mau, R.L., Schwartz, E., McHugh, T.A., Dijkstra, P., Koch, B.J., Marks, J.C., and Hungate, B.A. 2017. Bacterial carbon use plasticity, phylogenetic diversity and the priming of soil organic matter. *ISME J.*, **11**, 1890–1899.
- Neal, A.L., Rossmann, M., Brearley, C., Akkari, E., Guyomar, C., Clark, I.M., Allen, E., and Hirsch, P.R. 2017. Land-use influences phosphatase gene microdiversity in soils. *Environ. Microbiol.*, **19**, 2740–2753.
- Newsweek, article titled “Crucial Ingredient of Life Might Not Exist Across Universe, Scientists Discover”, by Bartels, M. on 4/4/ 2018.
- Nottingham, A.T., Turner, B.L., Chamberlain, P.M., Stott, A.W., and Tanner, E.V.J. 2012. Priming and microbial nutrient limitation in lowland tropical forest soils of contrasting fertility. *Biogeochemistry*, **111**, 219–237.
- Oades, J.M. 1978. Mucilages at the root surface. *J. Soil Sci.*, **29**, 1–16.
- Osorio, N.W., and Habte, M. 2013. Phosphate desorption from the surface of soil mineral particles by a phosphate-solubilizing fungus. *Biol. Fertil. Soils*, **49**, 481–486.
- Perveen, N., Barot, S., Maire, V., Cotrufo, M.F., Shahzad, T., Blagodatskaya, E., Stewart, C.E., Ding, W., Siddiq, M.R., Dimassi, B., Mary, B., and Fontaine, S. 2019. Universality of priming effect: An analysis using thirty five soils with contrasted properties sampled from five continents. *Soil Biol. Biochem.*, **134**, 162–171.
- Qiu, X., Peng, D., Tian, H., Wang, H., Liu, X., Cao, L., Li, Z., and Cheng, S. 2021. Soil ecoenzymatic stoichiometry and microbial resource limitation driven by thinning practices and season types in *Larix principis-rupprechtii* plantations in North China. *For. Ecol. Manage.*, **482**, 118880.
- Raboy, V. 2001. Seeds for a better future: ‘low phytate’ grains help to overcome malnutrition and reduce pollution. *Trends Plant Sci.*, **6**, 458–462.
- Redfield, A.C. 1934. On the proportions of organic derivatives in sea water and their relation to the composition of plankton. In R.J. Daniel (ed.) James Johnstone Memorial Volume, p. 176. University Press of Liverpool, UK.
- Redfield, A.C. 1958. The biological control of chemical factors in the environment. *Am. Sci.*, **46**, 205–222.
- Rhodes, C.J. 2013. Peak phosphorus—Peak food? The need to close the phosphorus cycle. *Sci. Prog.*, **96**, 109–152.
- Richardson, A.E., Barea, J.M., McNeill, A.M., and Prigent-Combaret, C. 2009. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. *Plant Soil*, **321**, 305–339.
- Sardans, J., Rivas-Ubach, A., and Peñuelas, J. 2012. The elemental stoichiometry of aquatic and terrestrial ecosystems and its relationships with organismic lifestyle and ecosystem structure and function: A review and perspectives. *Biogeochemistry*, **111**, 1–39.
- Schmidt, M.W.I., Torn, M.S., Abiven, S., Dittmar, T., Guggenberger, G., Janssens, I.A., Kleber, M., Kögel-Knabner, I., Lehmann, J., Manning, D.A.C., Nannipieri, P., Rasse, D.P., Weiner, S., and Trumbore, S.E. 2011. Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. *Nature*, **478**, 49–56.
- Sinsabaugh, R.L. 2010. Phenol oxidase, peroxidase and organic matter dynamics of soil. *Soil Biol. Biochem.*, **42**, 391–404.
- Sinsabaugh, R.L., and Follstad Shah, J.J. 2012. Ecoenzymatic stoichiometry and ecological theory. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, **43**, 313–343.
- Sinsabaugh, R.L., Gallo, M.E., Lauber, C., Waldrop, M.P., and Zak, D.R. 2005. Extracellular enzyme activities and soil organic matter dynamics for northern hardwood forests receiving simulated nitrogen deposition. *Biogeochemistry*, **75**, 201–215.
- Sinsabaugh, R.L., Hill, B.H., and Follstad Shah, J.J. 2009. Ecoenzymatic stoichiometry of microbial organic nutrient acquisition in soil and sediment. *Nature*, **462**, 795–798.
- 高橋英一 1992. 元素からみた生物の世界. 日本農薬学会誌, **17**, S291-S296.
- Taylor, P., and Townsend, A. 2010. Stoichiometric control of organic carbon–nitrate relationships from soils to the sea. *Nature*, **464**, 1178–1181.
- Tipping, E., Somerville, C.J., and Luster, J. 2016. The C:N:P:S stoichiometry of soil organic matter. *Biogeochemistry*, **130**, 117–131.
- Western, T.L., Skinner, D.J., and Haughn, G.W. 2000. Differentiation of mucilage secretory cells of the Arabidopsis seed coat. *Plant Physiol.*, **122**, 345–355.
- Wolfe-Simon, F., Switzer-Blum, J., Kulp, T.R., Gordon, G.W., Hoeft, S.E., Pett-Ridge, J., Stolz, J.F., Webb, S.M., Weber, P.K., Davies, P.C., Anbar, A.D., and Oremland, R.S. 2011. A bacterium that can grow by using arsenic instead of phosphorus. *Science*, **332**, 1163–1166.
- Wu, J., Huang, M., Xiao, H.A., Su, Y.R., Tong, C.L., Huang, D.Y., and Syers, J.K. 2007. Dynamics in microbial immobilization and transformations of phosphorus in highly weathered subtropical soil following organic amendments. *Plant Soil*, **290**, 333–342.
- Xu, X., Thornton, P.E., and Post, W.M. 2013. A global analysis of soil microbial biomass carbon, nitrogen and phosphorus in terrestrial ecosystems. *Glob. Ecol. Biogeogr.*, **22**, 737–749.
- Yang, Y., Liang, C., Wang, Y., Cheng, H., An, S., and Chang, S.X. 2020. Soil extracellular enzyme stoichiometry reflects the shift from P- to N-limitation of microorganisms with grassland restoration. *Soil Biol. Biochem.*, **149**, 107928.
- Zheng, B.X., Hao, X.L., Ding, K., Zhou, G.W., Chen, Q.L., Zhang, J.B., and Zhu, Y.G. 2017. Long-term nitrogen fertilization decreased the abundance of inorganic phosphate solubilizing bacteria in an alkaline soil. *Sci. Rep.*, **7**, 42284.