

平成 31 年 4 月 15 日現在

機関番号：11201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K07934

研究課題名(和文) 土壌微生物活動を考慮した水分移動過程における窒素動態の解明と予測

研究課題名(英文) Fate and transport of Nitrogen with microbial activity in soil following evaporation and infiltration.

研究代表者

武藤 由子 (Muto, Yoshiko)

岩手大学・農学部・准教授

研究者番号：30422512

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：農業の持続的展開のためには、土壌中における窒素炭素動態の理解が不可欠であるが、絶えず変化する水分量や水分移動の影響を考慮せずに現象を理解することはできない。そこで、水分移動が土壌中のアンモニア態窒素・硝酸態窒素・ATP濃度の分布に与える影響を明らかにするための一次元カラム実験を行い、結果を一次元土中水分溶質移動モデルで再現した。その結果、蒸発実験では硝化の速度定数の含水率依存を考慮すると窒素動態を精度よく再現できた。浸潤実験では溶存態よりも吸着態のアンモニア態窒素の硝化速度定数が小さいと仮定した場合に実験結果をよく再現できた。さらに、硝化の速度定数をATP量から推定できる可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

水分移動過程での土壌中の窒素動態の解明は、食料生産や環境保全などの見地から重要視されており、これまでに、土壌物理学・土壌学の各分野で現象に関わる土壌の諸条件が一定条件下にあるときの影響が調べられてきた。しかし、土壌中における窒素動態は微生物活動の結果であることから、現象の更なる理解には、関連する土壌物理条件・その変化速度と微生物反応速度との関係が重要である。本研究の特色は、「速度」という新たな視点に、さらに「土壌微生物活動の評価」という新しい切り口をプラスして窒素動態を考えた点である。この新たな発想に基づく取り組みにより、窒素炭素動態に関わる未解明な現象の理解に突破口を開くことが期待される。

研究成果の概要(英文)：Understanding nitrogen dynamics in soil, which variously changes the water content, is important to promote sustainable agriculture. In this study 7.5cm soil columns were settled in a constant temperature room and the distributions of water content, and concentrations of ammonium- and nitrate-nitrogen in the soil, as well as soil ATP, were monitored during evaporation. Assuming the nitrification in soil is the first-order reaction, the rate constant was proportional to the soil water content, and the ATP. Numerical calculation using the rate constant as a function of water content well-reproduced the column experiment. And the rate constant seemed to be able to estimated by the ATP, which is relatively easy to measure. We also performed infiltration experiment using 20cm soil columns. Numerical calculation for the infiltration experiment suggested that the absorbed ammonium-nitrogen had a smaller rate constant than the dissolved ammonium-nitrogen in soil.

研究分野：土壌物理学

キーワード：窒素動態 蒸発過程 浸潤過程 硝化 一次分解反応 ATP量 一次元カラム実験

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

世界的な食料問題の解決において、農業の持続的展開・生態/環境との調和・エネルギーの節減・気候変動への適応は軽視できない。これらの課題は全て、農業の基盤である土壌中における窒素炭素動態と関わっている。窒素炭素動態については、植物生理に基づく研究や、大気海洋の循環を考えた研究など様々な分野において調査やモデル化が進んでいるが、分野間での連携は必ずしも進んでいない。土壌中については、これまでに物理的・化学的な要素研究が多くなされてきたが、これらと土壌微生物活動や植物の根による吸収といった生物活動を関連付けた研究は極めて遅れている。よって、食料問題をはじめとする土壌中の窒素炭素動態に関わる種々の問題を解決するためには、現象に関わる物理的・化学的・生物的諸条件の相互的な関連を明らかにしてメカニズムの解明を進める必要がある。環境保全について挙げれば、農業生産を起源とする温室効果ガス(メタンと亜酸化窒素)の発生量の多さが問題視されている(IPCC 2007)。今後も食料不足が問題となっている国々の食料生産量の増大により更に増す可能性がある。ただし、これまでの研究で、土壌中の水移動が溶質移動や土壌 Eh に作用して窒素炭素動態を変化させることが示されており<sup>(1)</sup>、作物の栽培管理や施肥・水管理の方法といった技術開発により温室効果ガスの発生量の軽減が期待できる。我々も水田土壌を充填した一次元カラムを用いた蒸発実験を行い、水分移動に対する土壌 Eh の応答を明らかにした。また、異なる窒素・炭素濃度の畑土を用いて一次元カラム通水実験を行い、土壌 Eh の C/N 比や通水速度、通水の硝酸濃度依存性を明らかにした<sup>(2)</sup>。これらの結果は、土壌中の窒素炭素動態に対し、水分移動が土壌微生物活動に及ぼす影響が重要であることを示している。よって、水分移動と微生物活動の関係に着目することは土壌中の窒素炭素動態解明の糸口となると考えられる。

土壌中の窒素動態に着目すると、酸化的条件下にあるとき、窒素は微生物活動により有機態→アンモニア態→亜硝酸態→硝酸態へと変化する(無機化と硝化)。この一連の窒素の形態変化は一次反応式で近似され、これを水・溶質移動式に組み込むことで水分移動にともなう各態窒素の移動と予測が可能である。しかし現状では、一次反応式に用いる土壌微生物反応の程度を表す反応速度定数に対して水分移動とその移動速度が及ぼす影響は考慮されていない。土壌の水分量は気象条件や農地の水管理により絶えず変化しており、水分移動が窒素動態に与える影響は大きいと考えられる。そのため、水分移動が土壌微生物活動に与える影響を調べる必要がある。これまで、土壌微生物量測定法は煩雑であったが、近年ルミノメータを用いた土壌の簡易 ATP 量測定法が開発され、微生物量の指標となる土壌 ATP 量を 60 分程度で測定できるようになった<sup>(3)</sup>。そこで我々は、一次元カラム飽和透水実験に ATP 量測定を取り入れた実験を行い、水分移動にともなうアンモニア態窒素(NH<sub>4</sub>-N)・硝酸態窒素(NO<sub>3</sub>-N)・土壌微生物の移動と分布を同時に定量化することに成功した<sup>(4)</sup>。その結果、土壌微生物の移動特性は陽イオンである NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N と類似することを明らかにした。次の段階として、土壌に吸着した土壌微生物の活性が水分移動や土中水圧の変化から受ける影響を明らかにすれば、更なる現象の理解と現実に即した予測が可能となる。

### 2. 研究の目的

本研究においては、[1]主として、畑地土壌を充填した一次元カラムを用いた蒸発実験と不飽和の浸潤実験を行い、水分移動にともなう土壌中の NH<sub>4</sub>-N・NO<sub>3</sub>-N に加え ATP 濃度の分布がどのように変化するかを明らかにする。[2] 浸潤実験については、土壌水分量を一定に保った条件で水の移動速度を制御し、水分移動が窒素の連鎖反応(分解速度定数)に与える影響を明らかにする。[3] 実験の結果を窒素の一次分解の連鎖反応や吸着、イオン交換を考慮した一次元土中水分溶質移動モデル(Hydrus1D 及び HP1)を用いて計算し、分解速度定数の微生物活性や水分量、水分移動速度などに対する依存性を検討する。[4] さらに畑地に試験区を設けて土中の水移動と窒素動態を観測し、実験で得られた知見を現場レベルから検証する。以上の4点を目的とした。

### 3. 研究の方法

まず、供試土壌の硝化の分解速度定数( $\mu$ )の含水率( $\theta$ )依存を調べるためのバッチ試験を行い、次に蒸発と浸潤にともなう水分移動と水分移動にともなう土壌水分量や圧力変化が、土壌微生物を含む各種物質の移動と窒素動態に与える影響を調べることを目的とした、蒸発と浸潤の一次元カラム実験を行った(図1 上が蒸発実験で下が浸潤実験)。供試土壌には岩手大学圃場から採取した黒ボク土を用いた。実験は、岩手大学と三重大学の恒温実験室で一次元カラム装置を用いて行った。実験結果の解析には Hydrus1D 及び HP1 プログラムを用いた。このとき、窒素の形態変化を評

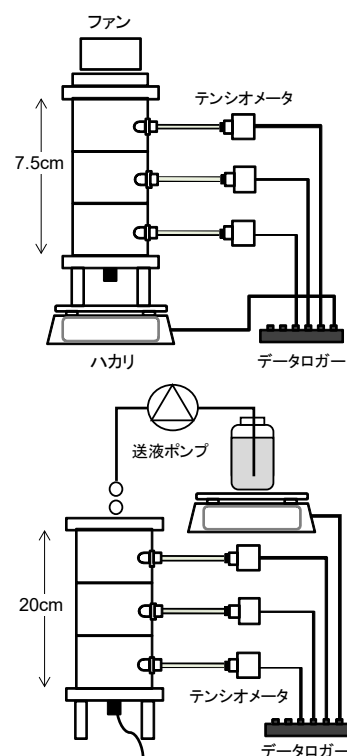


図1 一次元カラム実験の装置

価する分解速度定数を水分量の関数で与えるよう改良し、その影響を検討した。

#### (1)硝化のバッチ試験

硫酸アンモニウムと炭酸カルシウムを添加した供試土壌を、内径 50 mm、高さ 25 mm のステンレスカラムに深さ 20 mm、乾燥密度  $0.9 \text{ Mg m}^{-3}$  で詰め、蒸留水を加えて  $\theta$  を 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 の 4 種に調整した。これを  $25^\circ\text{C}$  の恒温槽内に静置し、約 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 日後に  $\theta$ ,  $\text{NH}_4\text{-N}$  量,  $\text{NO}_3\text{-N}$  量, ATP 量, pH を測定した。

#### (2)一次元カラム蒸発実験

硫酸アンモニウムと炭酸カルシウムを添加した供試土壌を、内径 50 mm、高さ 100 mm のアクリルカラムに深さ 75 mm、乾燥密度  $0.9 \text{ Mg m}^{-3}$  で詰めながら、蒸留水を加えて含水率を 0.5 に調整した。前培養期間として 10 日間  $25^\circ\text{C}$  の恒温室内に静置した後に実験を開始した。蒸発速度は  $1.5 \text{ mm d}^{-1}$  とした。開始後、0, 5, 10, 15 日目に試料を 25 mm の層ごとにカラムから取り出し、 $\theta$ ,  $\text{NH}_4\text{-N}$  量,  $\text{NO}_3\text{-N}$  量, ATP 量, pH を測定した。実験の結果を数値計算によって再現した。計算には、一次元土中水分溶質移動プログラム HYDRUS-1D と地球化学計算プログラム PHREEQC の結合コード HP1 を用いた。

#### (3)一次元カラム浸潤実験

炭酸カルシウムを添加した供試土壌を、蒸発実験と同様にアクリルカラムに充填した。カラムの高さは 200mm とした。前培養期間として 10 日間  $25^\circ\text{C}$  の恒温室内に静置し後に、上端から純水を 9 日間、続いて  $50 \text{ mmol-N L}^{-1}$  硫酸アンモニウム溶液を 9 日間、そして純水を 20 日間、定量送液ポンプを用いて  $8 \text{ mm d}^{-1}$  で滴下した。実験は 22, 24,  $26^\circ\text{C}$  の温度条件で行った。実験中、下端の負圧を  $-30 \text{ cm}$  に保ち、排液を  $30 \text{ mL}$  毎に採取した。そして、排液の  $\text{NH}_4\text{-N}$ ,  $\text{NO}_3\text{-N}$  および主要陽イオンの濃度, pH, 電気伝導度 EC を測定した。また、任意の時間に試料を 20 mm 深毎に切り分け、各深さの含水率,  $\text{NH}_4\text{-N}$  の全量と溶存量,  $\text{NO}_3\text{-N}$  の溶存量, pH,  $\text{EC}_{1.5}$  を測定した。蒸発実験と同様に、実験の結果を数値計算によって再現した。

### 4. 研究成果

#### (1)硝化のバッチ試験

硝化により、 $\text{NH}_4\text{-N}$  量は減少し  $\text{NO}_3\text{-N}$  量は増加した。 $\theta$  が 0.2 の場合を除き、30 日目には  $\text{NH}_4\text{-N}$  のほぼ全量が消失した。この結果を硝化の一次分解反応式に適合して  $\mu$  を求めた。 $\mu$  は  $\theta$  の増加に伴って増加し、 $\theta=0.4$  で最大値を示した (図 2)。また、ATP 量は  $\mu$  が最大だった  $\theta=0.4$  の条件で試験期間を通して最も高い値を保ち、 $\theta$  が 0.2 と 0.5 の条件で最も小さかった。

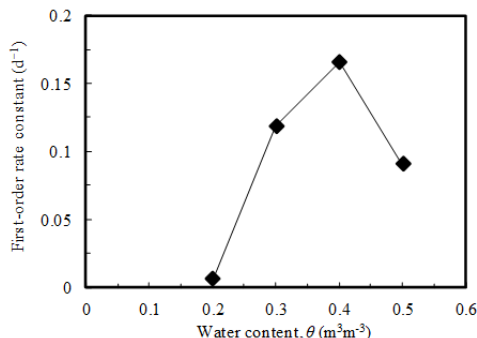


図 2 硝化の一次分解速度定数の含水率依存

#### (2)一次元カラム蒸発実験

カラム蒸発実験で測定した土中の  $\theta$ ,  $\text{NH}_4\text{-N}$  量,  $\text{NO}_3\text{-N}$  量, ATP 量, pH 分布の時間変化を図 3 の (a)~(e) に示した。 $\theta$  は上層から下層まで等しく減少し、硝化によって  $\text{NH}_4\text{-N}$  量は減少、 $\text{NO}_3\text{-N}$  量は増加した。 $\text{NO}_3\text{-N}$  量は下層ほど変化せず上層ほど大きく増加したが、これは硝化によって各深さで生成された  $\text{NO}_3\text{-N}$  が蒸発による水分移動に伴い上方に移動したためと考えられる。また、ATP 量は  $\theta$  と同様に上層から下層までほぼ等しく減少した。カラム蒸発実験における窒素移動の計算結果を図 4 に示した。(a) と (b) が実験期間中  $\mu$  が一定であったと仮定して計算した場合、(c) と (d) が  $\mu$  の  $\theta$  依存性を考慮した

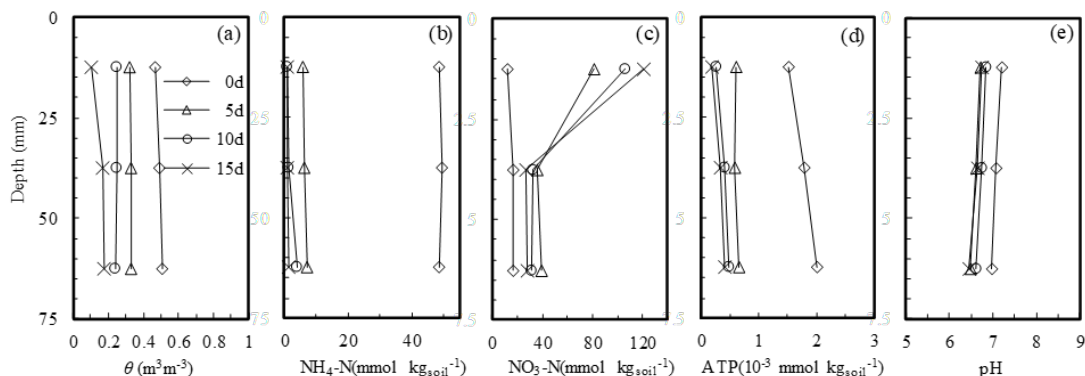


図 3 カラム実験の  $\theta$ ,  $\text{NH}_4\text{-N}$  量,  $\text{NO}_3\text{-N}$  量, ATP 量, pH の分布性

場合である。μが一定であったと仮定した場合、湿潤から乾燥までの期間であれば概ねの予測が可能であったが、初期の硝化量を小さく見積もった。これは、実験の初期では実際のμが計算に用いた値よりも大きかったことによると考えられる。これに対し、μのθ依存を考慮した場合にはNH<sub>4</sub>-Nの計算値は実験期間を通して実測値とよく一致し、NO<sub>3</sub>-Nは5dについて上層と下層の分布が実測値と異なったが、生成量については改善された。

バッチ試験よりθとμの関係が示され(図2)、また、バッチ試験とカラム実験よりθとATP量の関係が示された。そこで、これらの関係からATP量とμの関係を求めた(図5)。μはATP量が多いほど大きく、本実験系では微生物の硝化活性がATP量に反映されたと考えられる。

### (3)一次元カラム浸潤実験

硫酸アンモニウム溶液を9日間滴下した時点(9d)と、その後純水をさらに20日間滴下した時点(29d)の土中のNH<sub>4</sub>-N全量と溶存量、NO<sub>3</sub>-N量の分布を示す(図6)。NH<sub>4</sub>-N吸着態は上方に多く分布し、時間の経過により減少したが、その分布が下方に広がることはなかった。一方、NH<sub>4</sub>-N溶存態は20日間純水を滴下している間に消失した。純水で洗い流した結果、NH<sub>4</sub>-N吸着態と交換可能な溶存陽イオンの多くがカラム外へ流去したため、NH<sub>4</sub>-N溶存態が減少してもNH<sub>4</sub>-N吸着態が脱着しにくくなったと思われる。また、このためNH<sub>4</sub>-N吸着態と溶存態の比はバッチ試験のように一定とはならなかった。NO<sub>3</sub>-N量のピークは時間とともに下方に移動した。NH<sub>4</sub>-Nから生成したNO<sub>3</sub>-Nが水の流れにより下方に移動したとみなせる。

NH<sub>4</sub>-Nの溶存態の分解速度定数(μ<sub>d</sub>)と吸着態の分解速度定数(μ<sub>a</sub>)が等しいと仮定して浸潤実験の土中の窒素の移動と硝化を計算した結果を図6に実線で示す。計算は9dの上層の

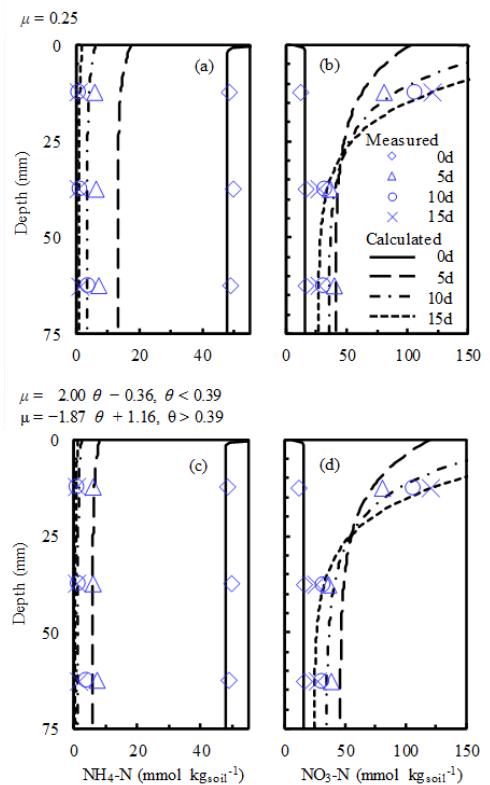


図4 カラム実験の窒素分布の計算性

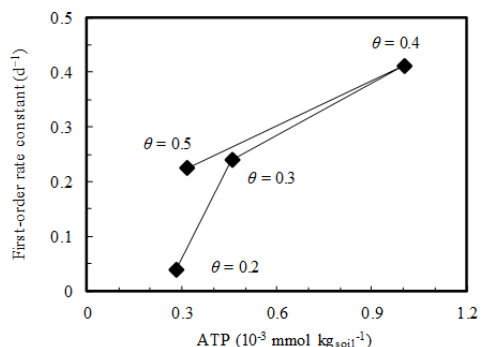


図5 ATP量と分解速度定数の関係

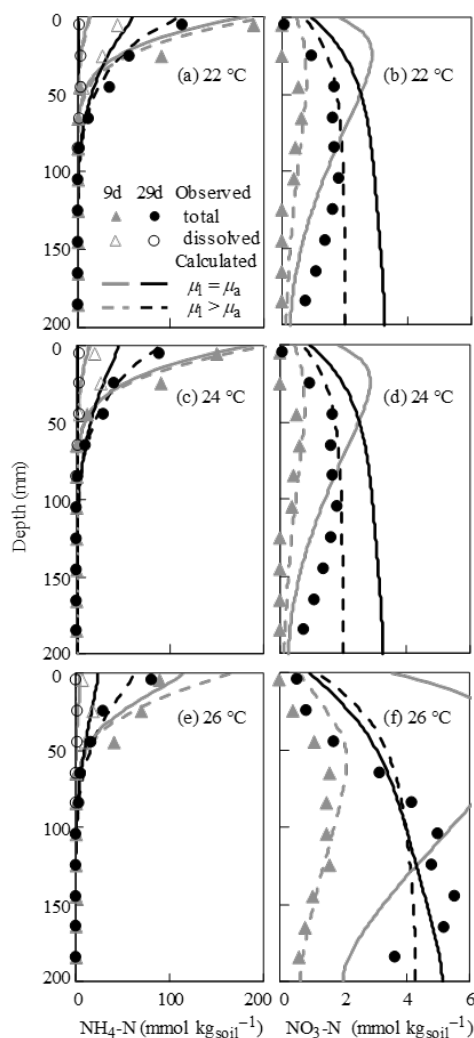


図6 カラム実験のNH<sub>4</sub>-NとNO<sub>3</sub>-Nの分布(実線と破線はそれぞれμ<sub>d</sub>=μ<sub>a</sub>とμ<sub>d</sub>>μ<sub>a</sub>の組み合わせでの計算値)

NO<sub>3</sub>-N を過大評価し、29 d の NH<sub>4</sub>-N 量を過小評価した。そこで、NH<sub>4</sub>-N の分解速度定数が溶存態より吸着態で速いと仮定すると、計算における NO<sub>3</sub>-N の過大評価と NH<sub>4</sub>-N の過小評価の傾向が強まった。一方、NH<sub>4</sub>-N の分解速度定数が溶存態より吸着態で遅いと仮定するとこれらの傾向は弱まった（図 6 の破線）。実験の結果、浸潤過程にある土中では、微生物は吸着態より溶存態の NH<sub>4</sub>-N を硝化しやすい可能性が示唆された。

#### <引用文献>

- (1) 工藤祐亮ら (2012) 間断灌漑における間断灌漑日数の違いが水田からの温室効果ガス放出と水稲収量に及ぼす影響, 農土論集, 282, 43-50.
- (2) 渡辺晋生・武藤由子ら (2012) 通水が土中の酸化還元電位に与える影響, 平成 24 年度農業農村工学会大会講演会講演要旨集, 428-429.
- (3) 浦嶋泰文ら (2007) 市販キットを用いた ATP 測定による簡易な土壌バイオマス評価法の開発, 土肥誌, 78, 187-190.
- (4) 武藤由子 (2015) 排水過程にある畑地土壌中の無機態窒素及び土壌微生物の分布, 平成 27 年度農業農村工学会大会講演会講演要旨集, 480-481.

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 3 件)

- ① 渡辺晋生, 中西真紀, 草深有紀, 武藤由子 (2019) 不飽和浸透過程にある異なる温度の黒ボク土中のアンモニア態窒素の硝化. 査読有. 農土論集 308: I\_1-I\_8.
- ② 原科幸爾, 山本清仁, 牧 雅康, 武藤由子, 倉島栄一 (2019) ドローン搭載のマルチスペクトルセンサを用いた津波被災水田の直播栽培におけるイネの生育モニタリング. 査読有. 農業農村工学会誌 87: 121-126.
- ③ 加藤 幸, 加藤千尋, 武藤由子, 遠藤 明, 千葉克己, 溝口 勝 (2018) 積雪寒冷地のリング園地における冬季地温の特色. 査読有. 農土論集 307: I\_77-I\_83.

[学会発表] (計 3 件)

- ① 下山洋平, 武藤由子, 渡辺晋生 (2018) 土中水分変化からのトマト根の吸水強度分布の推定. 平成 30 年度農業農村工学会東北支部第 60 回研究発表会.
- ② 原科幸爾, 山本清仁, 吉田宏, 葉上恒寿, 武藤由子, 倉島栄一 (2018) ドローン搭載のマルチスペクトルセンサによる津波被災水田におけるイネの生育状況モニタリング. 陸前高田グローバルキャンパス大学シンポジウム 2018.
- ③ 高橋亮祐, 山本清仁, 原科幸爾, 武藤由子, 倉島栄一 (2018) 津波被災水田における電磁探査による電気伝導度分布の測定. 陸前高田グローバルキャンパス大学シンポジウム 2018.

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究分担者

研究分担者氏名: 渡辺 晋生

ローマ字氏名: Watanabe Kunio

所属研究機関名: 三重大学

部局名: 生物資源学研究科

職名: 教授

研究者番号 (8 桁): 10335151

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。