

令和 5 年 5 月 19 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2022

課題番号：18H02116

研究課題名(和文) 肥料として農地に投入されたリンが土壌微細構造内で不均一に蓄積するメカニズムの解明

研究課題名(英文) Mechanisms controlling heterogeneous distribution of fertilizer-derived P in soil microstructure

研究代表者

山口 紀子 (YAMAGUCHI, Noriko)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・農業環境研究部門・グループ長補佐

研究者番号：80345090

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,100,000円

研究成果の概要(和文)：長期にわたる施肥により、土壌のリン吸着容量近くまでリンが蓄積した土壌では、余剰リンの一部がカルシウムと結合した形態で存在した。特に堆肥施用土壌では、pHが中性付近となり、カルシウム型リンが、土壌の微細構造内に不均一に点在し、土壌鉱物へ吸着されずに保持されていることが示された。固体NMR等による化学形態分析より、トルオーグ抽出と酢酸抽出の組合せにより土壌中の溶解性の異なるカルシウム型リンを評価できることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

化学肥料由来のリンが土壌中で一様に分布するのに対し、堆肥施用によって、土壌微細構造内でのリンの化学状態の多様性を作り出すことができることが示された。肥料価格の高騰にともない、効率的な施肥の重要性がさらに高まってきた。堆肥施用によりリンがカルシウム型リンとして局在することで土壌鉱物への強固な吸着が抑制されていることを示した本研究成果は、堆肥をはじめとする有機質資材の積極的活用を後押しする根拠となる。

研究成果の概要(英文)：This study revealed that when soil P levels reached nearly the maximum P sorption capacity of soils due to the long-term fertilizer application, the surplus P was accumulated as calcium phosphate (Ca-P). Particularly in the compost amended soils, Ca-P was heterogeneously distributed and formed micro hot spots. Such segregation of Ca-P in soil microstructure functions to prevent P from sorbing on soil minerals strongly. Solid-state NMR measurements for soil extraction residues revealed that soluble and insoluble soil Ca-P species can be differentiated by combined uses of Truog and acetic acid extractions.

研究分野：土壌化学

キーワード：蓄積リン 堆肥 XANES 固体NMR

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

多量のリン肥料が継続的に投入された結果、畑地や施設園芸土壌(ハウス土壌)には、リンが過剰蓄積している傾向がある。このようなリンは、レガシー(遺産)リンともよばれ、水系の富栄養化の要因になるなど、環境負荷が懸念されている(Withers et al. 2014)。一方で作物は、土壌に蓄積されたリンを十分に利用できない。土壌中リンの主要な化学形態であるオルトリン酸イオンが、土壌中鉱物に強固に吸着、あるいは溶解度の低い沈澱を生成することによって、土壌溶液に溶出しにくい形態で存在しているためである。吸着・沈殿反応によりリン酸イオンを土壌固相にとどめる役目をもつ鉱物や陽イオン種、有機物は、土壌の微細な構造内で不均一に分布している。リンのホストとなる鉱物等へのリンの親和性は、肥料として投入されたリンの化学形態、ホスト相の種類、pHなどの土壌の平均的な物理化学的条件だけでなく、土壌の微細構造内でのホスト相の物理的な隔離状況によっても異なる。化学肥料中のリンと比較し、堆肥中のリンは作物に利用されやすいことが実証されているが、リン酸イオンが土壌構成成分に強固に保持される性質を持つにもかかわらず、堆肥施用によってどのようなメカニズムでリンの作物可給性が維持されているのかについては十分に明らかにされていなかった。

### 2. 研究の目的

本研究では、化学肥料および堆肥を連用した土壌におけるリンの主要なホスト相と化学形態が、土地利用・土壌タイプ、リンの投入量、土壌中滞在期間によってどのように変動するかを明らかにし、堆肥施用が土壌中リンの形態に与える影響と余剰リンの蓄積形態を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

以下の5セットの圃場より土壌を採取し、全リン濃度、可給態リン濃度(トルオーグ法) 0.44 mol/L 酢酸抽出態リン濃度(関谷法、土壌養分測定法委員会編(1983))のカルシウム型リンに相当)土壌理化学性を分析するとともに、P K 吸収端放射光源 X 線吸収スペクトル近傍構造(XANES)および<sup>31</sup>P 固体核磁気共鳴法(固体 NMR; ECA600 FT NMR JEOL)により土壌固相中の平均的なリンの化学形態を解析した。また、~の土壌セットについては、土壌を樹脂で固化後切断・研磨し、土壌薄片を作成した。Brookhaven National Laboratory NSLSII Beamline 8-BM あるいは SPring-8 BL27SU において、4~10 μm 径の X 線ビームを用いて薄片上をスキャンし、の元素マッピングをおこない、リンの集積部位を特定し、μXANES 分析により微小領域に集積したリンの形態を解析した。μXANES 測定後の土壌薄片試料をカーボンコーティングし、電子線プローブマイクロアナライザー(EPMA)により、リン、アルミニウム、鉄、ケイ素、カルシウム、硫黄の二次元分布を分析した。また、の土壌セットについては、ポリタングステン酸溶液を用いた比重分画法により 2.4g/cm<sup>3</sup> 以上の画分を回収し、ヒドロキシアパタイトが集積する画分の分離を試みた。の土壌セットについては、還元にもなうリン可溶化を評価するために、アスコルビン酸還元前後のブレイ II 抽出リンについても分析した。

化学肥料あるいは牛ふん堆肥を8年連用した赤黄色土畑圃場

化学肥料あるいは牛ふん堆肥を53年連用した黒ぼく土草地圃場

可給態リン含量の異なる黒ぼく土畑とハウス圃場

長期間化学肥料と堆肥を連用した赤黄色土と黒ぼく土ハウス圃場

化学肥料あるいは稲わら堆肥、消石灰を92年連用した水田圃場

### 4. 研究成果

#### 1) 化学肥料・牛ふん堆肥を連用した畑・草地土壌におけるリンの形態

黄色土畑(試料セット)においては、堆肥施用の有無にかかわらず、主要なリンの化学形態は、アルミニウム鉱物への吸着態であった。化学肥料のみを連用した土壌から作成した薄片上においてリンは、比較的均一に分布していたが(図 1a)、堆肥施用土壌には土壌微細構造内にスポット状にリンの局在箇所(ホットスポット)が存在することが示された(図 1b、c)。堆肥連用土壌のリンホットスポットにおけるリンの蓄積形態は、土壌 pH により異なり、pH6 の堆肥連用区では土壌団粒を被覆する鉄鉱物への吸着態(図 1b)、pH7 の堆肥連用無窒素区では、ヒドロキシアパタイトが主体であった(図 1c)。堆肥を連用することにより、バルク土壌とは異なる微小なスポットにリンが集積することが明らかになった。pH の高い堆肥連用土壌に局在するヒドロキシアパタイトは土壌中で生成したのではなく、牛ふん堆肥中にもともと含有していたものが溶解せず残留したものであると考えられる(Yamaguchi et al. 2021)。

リン吸着能の高いアルミニウム鉱物(アロフェン等)含有量の多い黒ぼく土草地(試料セット)においては、牛ふん堆肥連用区においてもリンの局在部位が少なく、土壌薄片全体にリンが一様に分布していた。逐次抽出やバルク XANES の LCF では、両試験区とも大部分のリンがアルミニウム鉱物結合態として存在していた。堆肥連用区では化学肥料連用区よりもカルシウムと結合した形態のリンが多かった。

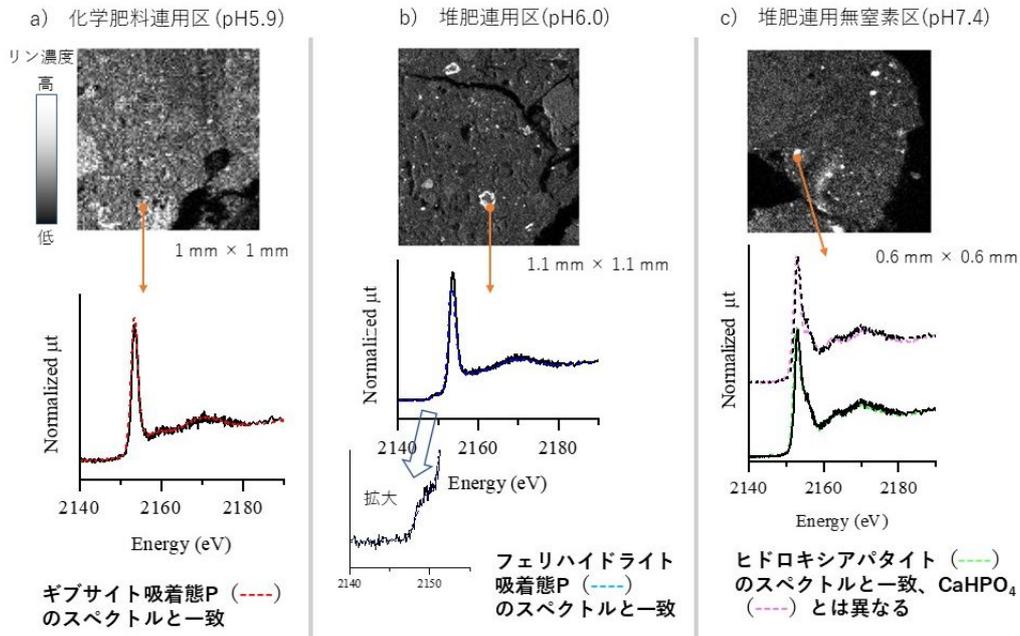


図 1：化学肥料・堆肥連用土壌におけるリンの分布およびリン局在部位における P K 吸収端  $\mu$ XANES スペクトル

2) ハウス土壌に蓄積した余剰リンの形態

黒ぼく土の畑とハウス土壌(試料セット)の XANES スペクトル分析より、全リン濃度、可給態リン濃度によらず、土壌中のリンの大部分がアルミニウム鉱物との吸着態として存在していることが示された。 $^{31}\text{P}$  固体 NMR (図 2) では、化学シフト 3ppm の位置に、ヒドロキシアパタイト、炭酸カルシウム吸着態リンのピーク (図 1a、ピーク X) があらわれる。栽培年数が長いことからリンが蓄積しており、トルオーグリン濃度の高いハウス土壌においては、ピーク X の寄与が高く、カルシウム結合態としてもリンが蓄積していると考えられた。一方、トルオーグリン濃度の高いハウス土壌と全リン濃度が同程度の黒ぼく畑土壌においては、トルオーグリン濃度が低かった。固体 NMR スペクトルにおいてもピーク X が検出されたが、その寄与はハウス土壌と比較し、小さかった。また、トルオーグリン濃度、および全リン濃度に対するトルオーグリン

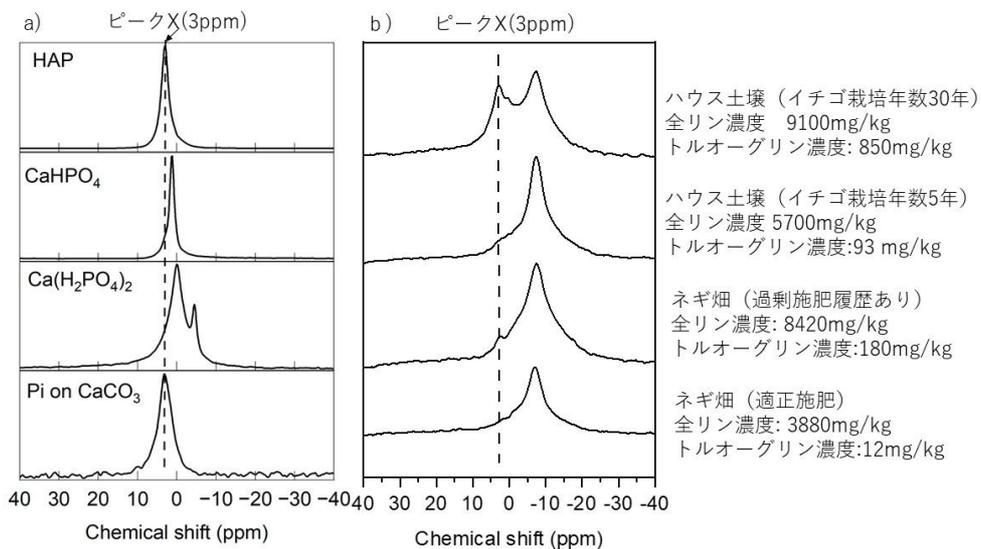


図 2 a) 標準物質の  $^{31}\text{P}$  固体 NMR スペクトル (HAP:ヒドロキシアパタイト、Pi on  $\text{CaCO}_3$ :炭酸カルシウム吸着態リン酸, b) ハウス土壌および畑土壌の  $^{31}\text{P}$  固体 NMR スペクトル

濃度の割合、ピーク X の寄与率ともに、栽培年数 5 年の土壌よりも 30 年の土壌の方が高かった。栽培年数 30 年の土壌薄片の EPMA および  $\mu$ XANES 分析より、カルシウム態リンは、ホットスポットを形成し、局所的に存在していることが明らかになった。リン吸着能の高い黒ぼく土においても、リン酸肥料を継続的に施用し続けることで、一部のリンがカルシウム塩として蓄積することが示された。

試料セットでは、リン酸吸着能の異なる黒ぼく土と赤黄色土のハウス土壌のリンの形態を比較した (Yamaguchi et al., 2023)。XANES スペクトルの解析より、バルク土壌中リンの大部分がアルミニウム鉱物への吸着態であったが、黒ぼく土では全リンの約 10%、赤黄色土では約 30% がカルシウム型であることが示された。黒ぼく土では、トルオーグ法抽出リンの約 3 倍のリンが 0.44 mol/L 酢酸により抽出されたが、赤黄色土では両者の差が小さかった。トルオーグ抽出前後、および 0.44 mol/L 酢酸抽出前後の土壌固相の  $^{31}\text{P}$  固体 NMR スペクトルを図 3 に示す。黒ぼく土、赤黄色土のハウス土壌ともに、ピーク X はトルオーグ抽出後に小さくなり、0.44 mol/L 酢酸抽出後に消失した。アパタイトのような難溶性のリンは 0.44 mol/L 酢酸に溶解する一方、トルオーグ法では溶解しない

(Ando et al., 2021)。固体 NMR のピーク X のみからは、ヒドロキシアパタイト、リン酸三カルシウム、炭酸カルシウム吸着態リン酸の区別が困難であるが (図 2a)、トルオーグ抽出リンと 0.44 mol/L 酢酸抽出リンの比較から、溶解度の異なるカルシウム型リンの存在を評価できると考えられる。施肥リンが蓄積した黒ぼく土のハウス土壌に比べ、赤黄色土のハウス土壌では、全リンに対するカルシウム型リンの寄与が大きく、カルシウム型リンは、黒ぼく土に蓄積したカルシウム型リンよりも溶解しやすい形態であることが明らかになった。

黒ぼく土、赤黄色土ハウスのバルク土壌をさらにポリタングステン酸ナトリウム溶液を用いた比重分画により 2.4g/cm<sup>3</sup> 以上の画分を回収し、リンの化学形態を XANES により分析した結果を図 4 に示す。黒ぼく土の比重 2.4g/cm<sup>3</sup> 以上の画分の XANES は、分画前のバルク土壌と大きく異なり、ヒドロキシアパタイトに特徴的なスペクトル形状であった。一方、赤黄色土では XANES スペクトルからは、2.4g/cm<sup>3</sup> 以上の画分にヒドロキシアパタイトの存在はみとめられなかった。

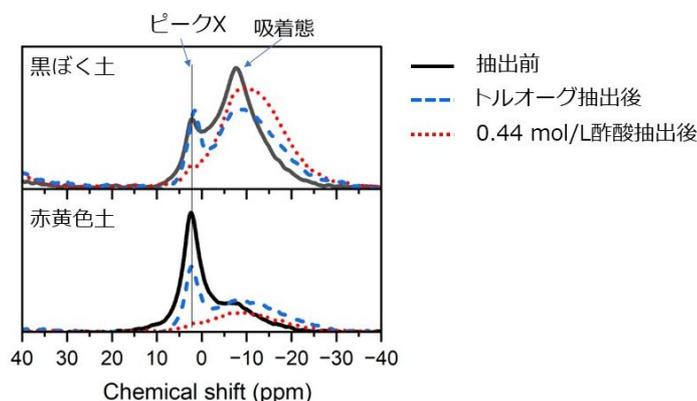


図 3 トルオーグ抽出、0.44mol/L 酢酸抽出前後の土壌の  $^{31}\text{P}$  固体 NMR スペクトル

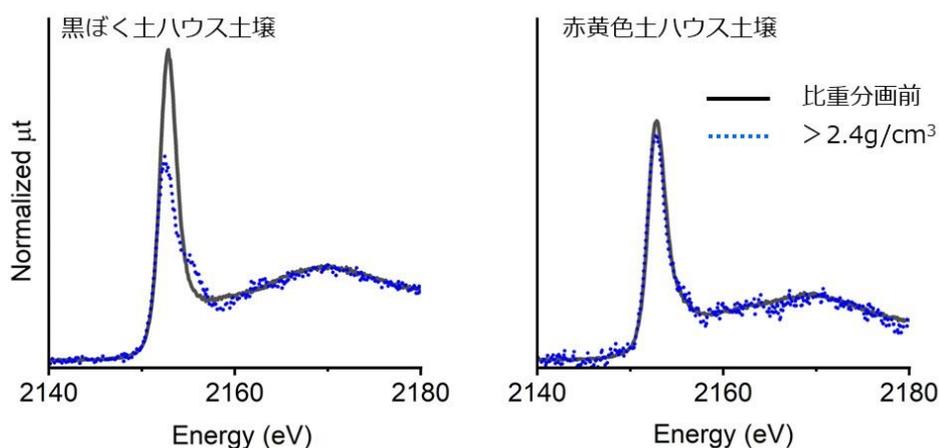


図 4 比重分画前後の黒ぼく土、赤黄色土ハウス土壌の P K 吸収端 XANES

以上の結果は、土壌に蓄積したカルシウム型リンが、赤黄色土では比較的溶解性の高い形態が主体であった一方、黒ぼく土にはヒドロキシアパタイトのような難溶性塩としても蓄積していたことを示し、図 3 に示したトルオーグ抽出、0.44 mol/L 酢酸抽出処理後の土壌の固体 NMR スペクトル結果とも矛盾しない。しかし、比重 2.4 g/cm<sup>3</sup> のポリタングステン酸溶液に黒ぼく土ハウス土壌および赤黄色土ハウス土壌に浸潤し、乾燥した後の  $^{31}\text{P}$  固体 NMR スペクトルより、黒ぼく土では、ポリタングステン酸溶液に浸潤させるだけでピーク X のピーク面積が大きくなる

ことが分かった(図5)。すなわち、ポリタングステン酸溶液を用いた比重分画は、リンの形態変化を引き起こす可能性がある。一方で赤黄色土ハウス土壌では同様の形態変化は認められなかったことから、形態変化が引き起こされた要因についてはさらなる検討が必要である。

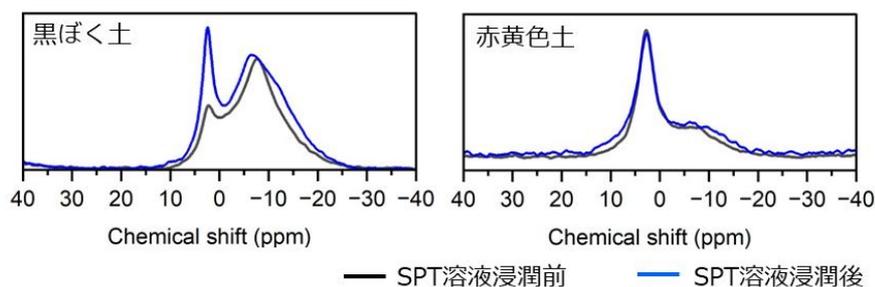


図5 ポリタングステン酸(SPT)溶液(2.4g/cm<sup>3</sup>)浸潤前後土壌の<sup>31</sup>P固体NMRスペクトル

### 3) 化学肥料・稲わら堆肥の長期連用が水田土壌中リンの形態におよぼす影響

水田土壌では、湛水による還元進行にともない、イネへのリンの可給性が増加する。リンを収着した鉄鋳物が還元溶解することにもない、リンが溶解するためである。また、継続的な水田利用は土壌pHの低下を引き起こすことが知られている(Kyuma, 2004)。試料セットの分析の結果、消石灰を施用せずに過リン酸石灰を92年間連用した水田では、アルミニウム鋳物収着型のリンが増加したことが明らかになった。過リン酸石灰と同時に稲わら堆肥を施用することにより、還元によって可溶化するリンが増加し、リンの可給性が増加した。一方、多量の稲わら堆肥(年間2250 g/m<sup>2</sup>)を連用することにより、土壌中の遊離酸化鉄濃度および鉄鋳物に収着した形態のリンが減少、すなわちリンの溶脱を促進することが示された(Ando et al., 2022)

### 5. まとめ

投入リンの形態にかかわらず、土壌中リンの大部分はアルミニウム鋳物に収着した形態で蓄積していた。余剰リンの一部はカルシウムと結合した形態で蓄積しており、特に堆肥施用土壌では、カルシウム型リンが、不均一に分布するホットスポットとして点在していることが明らかになった。

### 引用文献

- Ando K, Yamaguchi N, Nakamura Y, Kasuya M & Taki K 2021: Speciation of phosphorus accumulated in fertilized cropland of Aichi prefecture in Japan with different soil properties by sequential chemical extraction and P K-edge XANES. *Soil Sci Plant Nutr* 67, 150-161.
- Ando K, Yamaguchi N, Kasuya M, Oga T, Ohashi Y & Taki K 2022: Long-term (nearly a century) effects of fertilizer, lime and rice straw compost application on active aluminum and iron and available phosphorus in paddy fields. *Geoderma* 424.
- Kyuma K (2004) *Paddy soil science*, Kyoto University Press, Melbourne
- 土壌養分測定法委員会編(1983): *りん酸、土壌養分分析法*, p.225-257 養賢堂、東京
- Withers PJA, Neal C, Jarvie HP & Doody DG 2014: Agriculture and Eutrophication: Where Do We Go from Here? *Sustainability-Basel* 6, 5853-5875.
- Yamaguchi N, Ohkura T, Hikono A, Hashimoto Y, Suda A, Yamamoto T, Ando K, Kasuya M, Northrup P, Wang SL & Hesterberg D 2021: Microscale Heterogeneous Distribution and Speciation of Phosphorus in Soils Amended with Mineral Fertilizer and Cattle Manure Compost. *Minerals* 11, 121
- Yamaguchi N, Hikono A, Suda A, Hashimoto Y, Yada, S, Ooshima M, Yamamoto T, Ando K, Kasuya M 2023: Speciation and Microscale Distribution of Phosphorus Compounds Accumulated in Continuously Fertilized Greenhouse Soils. *Soil Sci. Soc. America J.* in print

放射光実験は SPring-8 BL27SU における一般研究課題 課題番号 2018B1255、2019B1126、2020A0658、2021B1113、2022B1203、あいちシンクロトロン光センターBL6N1 における実験番号 201805013、2019L4002、2019L6002、202103006、202206093 としておこなった。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ando Kaori, Yamaguchi Noriko, Kasuya Masahiro, Oga Toshiya, Ohashi Yoshinori, Taki Katsutoshi	4. 巻 424
2. 論文標題 Long-term (nearly a century) effects of fertilizer, lime and rice straw compost application on active aluminum and iron and available phosphorus in paddy fields	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Geoderma	6. 最初と最後の頁 115992 ~ 115992
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.geoderma.2022.115992	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ooshima Masatoshi, Yamaguchi Noriko, Nakanishi Yoko, Hitomi Yoshimi, Hiradate Syuntaro	4. 巻 68
2. 論文標題 Changes in chemical form of phosphorus in rice bran during fermentation process as determined by <sup>31</sup> P nuclear magnetic resonance spectroscopy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Soil Science and Plant Nutrition	6. 最初と最後の頁 421 ~ 428
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/00380768.2022.2083904	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 安藤薫, 中村嘉孝, 山口紀子, 糟谷真宏, 瀧勝俊	4. 巻 93
2. 論文標題 愛知県露地野菜畑土壌におけるリンの蓄積形態とその可給性	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 日本土壌肥科学雑誌	6. 最初と最後の頁 197 ~ 200
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Noriko Yamaguchi, Atsuko Hikono, Aomi Suda, Saeko Yada, Yohey Hashimoto, Masatoshi Ohshima, Taku Yamamoto, Kaori Ando, Masahiro Kasuya	4. 巻 -
2. 論文標題 Speciation and Microscale Distribution of Phosphorus Compounds Accumulated in Continuously Fertilized Greenhouse Soils	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Soil Science Society of America Journal	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/saj2.20553	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamaguchi Noriko, Ohkura Toshiaki, Hikono Atsuko, Hashimoto Yohey, Suda Aomi, Yamamoto Taku, Ando Kaori, Kasuya Masahiro, Northrup Paul, Wang Shan-Li, Hesterberg Dean	4. 巻 11
2. 論文標題 Microscale Heterogeneous Distribution and Speciation of Phosphorus in Soils Amended with Mineral Fertilizer and Cattle Manure Compost	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Minerals	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/min11020121	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ando Kaori, Yamaguchi Noriko, Nakamura Yoshitaka, Kasuya Masahiro, Taki Katsutoshi	4. 巻 67
2. 論文標題 Speciation of phosphorus accumulated in fertilized cropland of Aichi prefecture in Japan with different soil properties by sequential chemical extraction and P K-edge XANES	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Soil Science and Plant Nutrition	6. 最初と最後の頁 1~12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/00380768.2021.1874249	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 山口紀子・橋本洋平・須田碧海・安藤薫・山本拓・糟谷真宏・Paul Northrup
2. 発表標題 pHの異なる堆肥連用土壌におけるリンの局所分布と蓄積形態
3. 学会等名 日本土壌肥料学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山口 紀子・橋本洋平・須田 碧海・安藤薫・山本拓・糟谷真宏・大倉 利明・為則雄祐
2. 発表標題 土壌中肥料由来リンの分布と化学形態：堆肥と化学肥料の比較
3. 学会等名 日本土壌肥料学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 安藤薫・山口 紀子・中村義孝・糟谷真宏・瀧勝俊
2. 発表標題 XANESと抽出法の比較による愛知県露地野菜畑のリン蓄積形態の解明
3. 学会等名 日本土壌肥料学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山口紀子・須田碧海・牧野知之・橋本洋平・大倉利明
2. 発表標題 水稻根酸化鉄被膜におけるリンとヒ素の局所分布と蓄積形態
3. 学会等名 日本土壌肥料学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 N. Yamaguchi, Y. Hashimoto, A. Suda, T. Yamamoto, K. Ando, M. Kasuya, P. Northrup, S-L Wang, D. Hesterberg
2. 発表標題 Bulk and microscale speciation of phosphorus in soils after continuous application of cattle manure compost and mineral fertilizer.
3. 学会等名 2nd International Pan American Light Sources for Agriculture (PALSA 2021) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山口紀子・和穎朗太・須田碧海・大島正稔・安藤 薫・山本 拓
2. 発表標題 施設園芸土壌におけるカルシウム型リンの蓄積
3. 学会等名 日本土壌肥料学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山口紀子・須田碧海・大島正稔
2. 発表標題 長期間の施肥により黒ボク土に蓄積したリンの局所分布と化学形態
3. 学会等名 日本土壌肥料学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 安藤薫・山口紀子・安井俊樹・大竹敏也
2. 発表標題 97年間の消石灰・稲わら堆肥の連用が土壌のカリウム・ケイ酸の可給性に及ぼす影響
3. 学会等名 日本土壌肥料学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 安藤薫・糟谷真宏・山口紀子・尾賀俊哉・久野智香子・松永久恵・大竹敏也
2. 発表標題 水田土壌における施肥管理が可給態リン量に及ぼす影響
3. 学会等名 日本土壌肥料学会中部支部第101回例会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	橋本 洋平  (HASHIMOTO Yohey)  (80436899)	東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・准教授    (12605)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	安藤 薫  (ANDO Kaori)		
研究協力者	大島 正稔  (OOSHIMA Masatoshi)		
研究協力者	山本 拓  (YAMAMOTO Taku)		
研究協力者	須田 碧海  (SUDA Aomi)		
研究協力者	大倉 利明  (OKURA Toshiaki)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関