

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 19 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24580097

研究課題名(和文) 草地の脱窒酵素活性に及ぼす有機物管理の影響解析

研究課題名(英文) Influence analysis of organic management on denitrification enzyme activity of grassland

研究代表者

森 昭憲 (Mori, Akinori)

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・畜産草地研究所草地管理研究領域・主任研究員

研究者番号：60355089

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)：本研究は、堆肥連用と適切な減肥の組合せで草地における一酸化二窒素(N₂O)の発生量が抑制されるメカニズムの解明を目的とした。堆肥連用と適切な減肥を組合せた管理は、化学肥料のみの連用による管理との比較において、土壌のDEAを増加させたが、脱窒過程におけるN₂O/N₂+N₂Oの生成比率を低下させた。この低下が草地からのN₂O発生量を抑制する第一要因と考えられた。N₂O/N₂+N₂Oの生成比率の低下は、堆肥の表面散布と減肥に起因する土壌pH上昇によると考えられた。また、堆肥区における減肥は、土壌中の硝酸態窒素を抑制し、草地からのN₂O発生量を抑制する第二要因と考えられた。

研究成果の概要(英文)：The objective of this study was to clarify the mechanisms how the emission of nitrous oxide (N₂O) decreased by the annual applications of farmyard manure (FYM) with appropriate reduction in synthetic fertilizer rate. The denitrification enzyme activity of soil in the grassland receiving FYM plus synthetic fertilizer was greater in comparison with the grassland receiving only synthetic fertilizer, however, the production ratio of N₂O/N₂+N₂O in the process of denitrification was smaller in the former grassland. This reduction was considered to be the primary factor to reduce the N₂O emission from grassland. The reduction in the production ratio of N₂O/N₂+N₂O was considered to be due to the higher soil pH derived from the surface application of FYM and reduction in synthetic fertilizer rate. The appropriate reduction in the application rate of synthetic fertilizer also reduced nitrate in the soil and considered to be the secondary factor to reduce the N₂O emission from grassland.

研究分野：土壌学

キーワード：脱窒酵素活性 草地土壌 堆肥

1. 研究開始当初の背景

窒素施肥は、牧草の生産性を維持するため必要不可欠であるが、土壌から一酸化二窒素 (N_2O) の発生量を増加させる側面がある。地温、土壌水分、土壌中の硝酸態窒素の濃度が高まると脱窒過程が促進されるため、低温寡雨より高温多雨の条件下で N_2O 発生量は増加する (Mori et al. 2008)。

草地で乳牛堆肥を連用し、施肥量を段階的に削減すると、化学肥料のみを連用した場合より、 N_2O の発生量が少なくなることが報告されている (Mori and Hojito 2012)。

地温が低い晩秋に堆肥を表面散布し、牧草の生育期間に適切な減肥を行うと、高温多湿条件下で、化学肥料のみを連用した場合より土壌中の硝酸態窒素の濃度が抑制されることが一因と考えられる。

しかし、表面散布された堆肥は、草地表面に易分解性有機物を供給することで、表層土壌の脱窒酵素活性 (DEA) を高め、表層土壌の pH を上昇させることで、DEA や脱窒過程における $\text{N}_2\text{O}/\text{N}_2+\text{N}_2\text{O}$ 生成比率を変化させると考えられる。

また、毎年数回の施肥と収穫を繰り返す採草地における N_2O 発生量は、明瞭な季節変化を伴うため (Mori et al. 2008)、堆肥連用が DEA に及ぼす影響も季節変化を伴う可能性がある。

2. 研究の目的

堆肥連用と適切な減肥の組合せで、草地における N_2O 発生量が抑制されるメカニズムを解明することを目的とする。堆肥連用が、土壌の DEA、脱窒過程における $\text{N}_2\text{O}/\text{N}_2+\text{N}_2\text{O}$ の生成比率に及ぼす影響を化学肥料のみを連用した場合と比較しながら調査し、特に、土壌 pH が脱窒過程における $\text{N}_2\text{O}/\text{N}_2+\text{N}_2\text{O}$ の生成比率に及ぼす影響、堆肥連用に伴う減肥が N_2O 生成量に及ぼす影響に注目して解明する。

3. 研究の方法

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・畜産草地研究所・那須研究拠点 (栃木県那須塩原市) の表層に火山灰を含むオーチャードグラス (*Dactylis glomerata* L.) 単播草地 (Entic Haplumbrepts, loamy over fragmental, mixed, mesic) の堆肥区、化学肥料区から土壌試料を採取した。なお、両処理区は、2007年に、乱かい法 (4 反復) で配置され、採草地として管理され、地表面で N_2O 発生量の観測が継続されていた (Mori et al. 2008; Mori and Hojito 2012)。

堆肥区には、毎年 11 月に木質系副資材 (オガクズ) を含む乳牛堆肥 ($30 \text{ Mg ha}^{-1} \text{ year}^{-1}$) が表面散布され、堆肥連用年数に応じた段階的な減肥で管理されていた (志賀ら 1985)。他方、化学肥料区は、地域の標準的な施肥量で管理されていた。また、両処理区では、2007年と 2014 年に草地更新 (耕起と再播種) が

実施された (Mori and Hojito 2012)。継続的に DEA 測定を実施した 2013-2014 年の 3、5、7、9 月に堆肥区では、それぞれ 24-25、25、25、20 kg N ha^{-1} 、化学肥料区では、それぞれ 60、50、50、30 kg N ha^{-1} の硫酸アンモニウムが、表面散布された。年間施肥量は、堆肥区 ($94-95 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ year}^{-1}$) が、化学肥料区 ($190 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ year}^{-1}$) の約半量であった。

土壌試料は、両処理区とも、3、5、7、9 月の施肥 (1、2、3、4 番草) の 4~10 日後に、草地表層 (0-5 cm) から採取した。新鮮土壌をステンレス篩 (4 mm) に通し、以下の様にアセチレン (C_2H_2) 阻害法による DEA 測定に供試した。

まず、土壌 (15 g) をバイアル瓶 (100 mL) に秤取し、クロラムフェニコール (0.1 g L^{-1})、硝酸カリウム (50 mg N L^{-1})、グルコース (300 mg L^{-1}) を含む水溶液 (15 mL) を添加した。続いて、プチルゴム栓でバイアル瓶を密封し、真空ポンプでヘッドスペースの大気を除去後、窒素 (N_2) ガスで置換する操作を 4 回繰り返し、 C_2H_2 (10%) を含む N_2 ガスでヘッドスペースを置換した。恒温器内 (25 °C) で、振とう培養し、ヘッドスペースの N_2O 濃度を ECD ガスクロマトグラフで測定し、その経時変化を基礎に DEA を求めた。

また、 C_2H_2 無添加の条件下で同様の培養を行い、 C_2H_2 添加の条件下で得られた結果 (DEA) と比較することで、脱窒過程における $\text{N}_2\text{O}/\text{N}_2+\text{N}_2\text{O}$ の生成比率を求めた。

さらに、硝酸カリウムとグルコースの添加条件を変えて (クロラムフェニコールは常に添加) 同様の培養実験を行い、堆肥区、化学肥料区から採取した土壌中の脱窒基質が N_2O 生成量に及ぼす影響を調べた。

4. 研究成果

(1) 草地土壌の DEA と pH の深度分布

DEA は、浅い土壌ほど大きく、堆肥区が化学肥料区より大きかった (図 1)。また、土壌

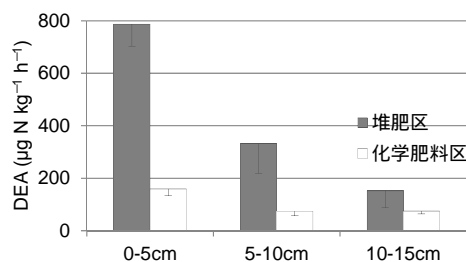


図 1 草地土壌の脱窒酵素活性 (DEA)

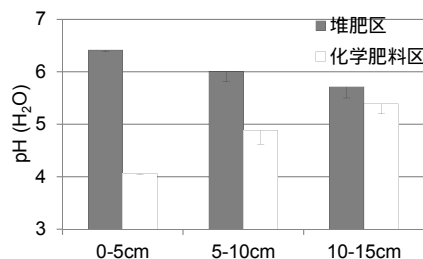


図 2 草地土壌の pH (H_2O)

pH は、堆肥区では浅い土壌ほど高く、化学肥料区では浅い土壌ほど低かった(図2)。

このことから、草地土壌の DEA と pH は、堆肥の表面散布と硫酸アンモニウムの表面散布の双方の影響を受けて変化すると推察された。すなわち、堆肥区では、堆肥散布と減肥の両者の影響で、DEA と pH が相対的に上昇したと考えられた。

(2) 草地土壌の DEA と pH の季節変化

DEA は、3月施肥(1番草)から7月施肥(3番草)の時期にかけ増加する明確な季節変化を示した(図3)。この季節変化は、別途地表面で観測された N₂O 発生量の季節変化と定性的に一致した(Mori and Hojito 2012)。また、DEA は、堆肥区が化学肥料区より常に大きかった。

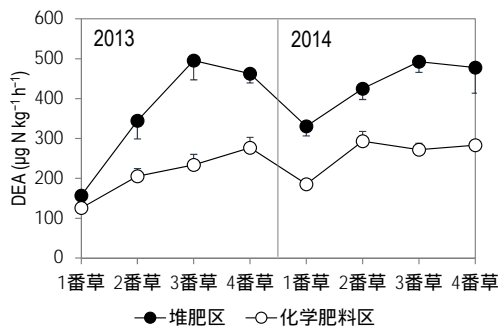


図3 脱窒酵素活性 (DEA) の季節変化

土壌 pH は、硝酸化成の影響で7月施肥(3番草)から9月施肥(4番草)の時期に低下したが、両処理区で、季節変化の傾向は少し異なった(図4)。堆肥区では、9月施肥(2013年の4番草)と3月施肥(2014年の1番草)の間に上昇し、2013年11月の堆肥散布(30 Mg ha⁻¹)の影響と推察された。土壌 pH は、堆肥区が化学肥料区より常に高かった。

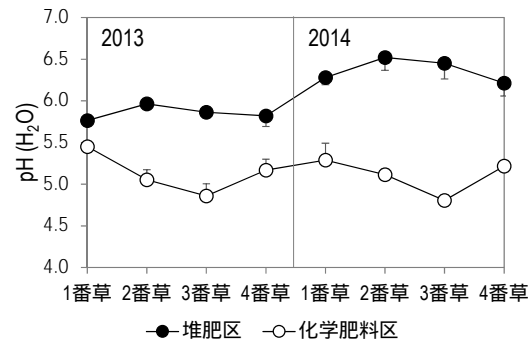


図4 土壌 pH の季節変化

C₂H₂ 添加による培養実験の結果 (DEA) と C₂H₂ 無添加による培養実験の結果の比較で求めた脱窒過程における N₂O/N₂+N₂O の生成比率は、土壌 pH と負の相関を有し (R² = 0.56)、堆肥区が化学肥料区より小さかった(図5)。さらに、堆肥連用を継続すると、土壌 pH の処理間差は徐々に拡大し、脱窒過程における N₂O/N₂+N₂O の生成比率は、堆肥区でさらに低下した。

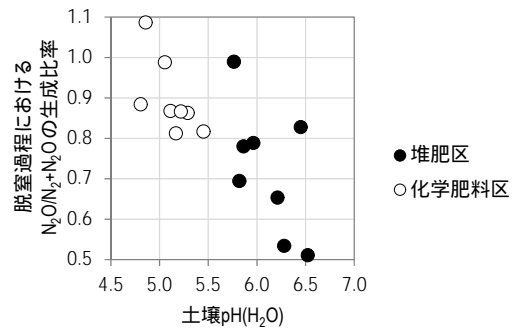


図5 土壌 pH と N₂O/N₂+N₂O の生成比率

(3) 脱窒基質が N₂O 生成量に及ぼす影響

硝酸カリウム無添加、グルコース無添加の条件下で培養時の N₂O 生成量は、C₂H₂ 添加の場合、堆肥区の方が多かった(図6左)。また、C₂H₂ 無添加の場合、両処理区で、同等であった(図6右)。5月施肥(2番草)では、処理間差が逆転し、化学肥料区の方が多かった(図6右)。これらの結果から、総脱窒量 (N₂+N₂O) は、堆肥区の方が多かったが、脱窒における N₂O 生成量は、両処理区で、ほぼ同等であったと推察された。

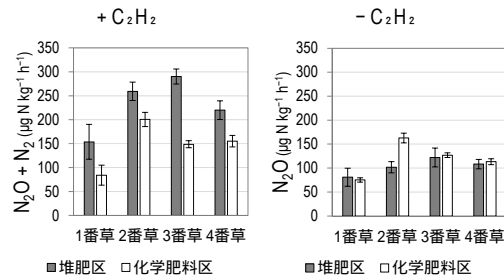


図6 硝酸カリウム無添加、グルコース無添加の条件下における N₂O 生成量

硝酸カリウム添加、グルコース無添加の条件下で培養時の N₂O 生成量は、C₂H₂ 添加の場合、堆肥区の方が多かった(図7左)。また、C₂H₂ 無添加の場合、処理間差は縮小したが、堆肥区の方が高い傾向が維持された(図7右)。5月施肥(2番草)では、両処理区で、同等であった(図7右)。図6と図7の比較から、堆肥区における硝酸態窒素が、総脱窒量 (N₂O+N₂) と脱窒における N₂O 生成量の律速因子であったと推察され、堆肥区における減肥が、N₂O 発生量を削減したと示唆された。

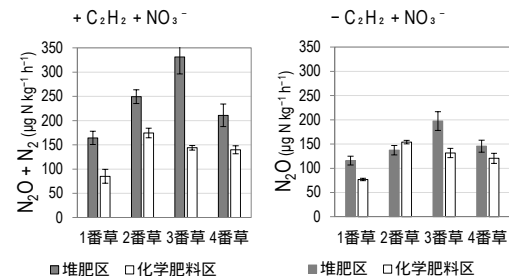


図7 硝酸カリウム添加、グルコース無添加の条件下における N₂O 生成量

硝酸カリウム無添加、グルコース添加の条件下で培養時の N_2O 生成量は、 C_2H_2 添加の場合、堆肥区の方が多かった(図8左)。また、 C_2H_2 無添加の場合、処理間差が逆転した(図8右)。7月施肥(3番草)では、両処理区で、ほぼ同等であった(図8右)。図6と図8の比較から、両処理区で、易分解性有機物が、総脱窒量(N_2O+N_2)と脱窒における N_2O 生成量の双方で、律速因子であったと推察された。

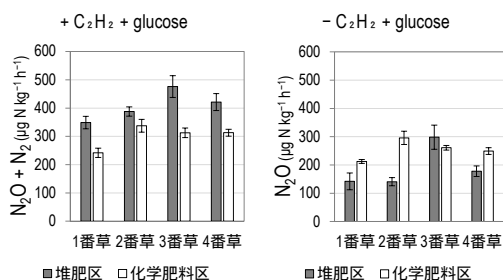


図8 硝酸カリウム無添加、グルコース添加の条件下における N_2O 生成量

硝酸カリウム添加、グルコース添加の条件下で培養時の N_2O 生成量は、 C_2H_2 添加の場合、堆肥区の方が多かった(図9左)。また、 C_2H_2 無添加の場合、両処理区で、同等であった(図9右)。7月施肥(3番草)では、堆肥区の方が高い傾向が維持された(図9右)。この結果から、硝酸態窒素と易分解性有機物を十分に添加した場合、総脱窒量(N_2O+N_2)は、堆肥区の方が多かったが、脱窒における N_2O 生成量は、両処理区で、ほぼ同等であったと推察され、堆肥区の比較的高い土壌 pH が N_2O 発生量を抑制したことが示唆された(図5)。

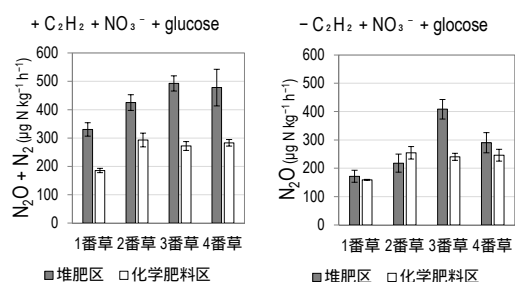


図9 硝酸カリウム添加、グルコース添加の条件下における N_2O 生成量

以上の結果から、硝酸態窒素は、堆肥区で脱窒過程の律速因子であり、堆肥区における減肥は、草地土壌中の硝酸態窒素を抑制することで、 N_2O 生成量を抑制したと示唆された。また、易分解性有機物は、両処理区で、脱窒過程の律速因子と考えられた。

(4) まとめ

堆肥連用と適切な減肥を組合せた管理は、化学肥料のみの連用による管理との比較において、土壌の DEA を増加させたが、脱窒過程における N_2O/N_2+N_2O の生成比率を低下

させた。この低下が草地からの N_2O 発生量を抑制する第一要因と推定された。脱窒過程における N_2O/N_2+N_2O の生成比率の低下は、堆肥散布と減肥に起因する土壌 pH 上昇によると考えられた。また、堆肥区における減肥は、土壌中の硝酸態窒素を抑制することで、草地からの N_2O 発生量を抑制する第二要因と考えられた。上記の二つの要因の相乗効果により堆肥を連用した草地で N_2O 発生量が抑制されたと推察された。

<引用文献>

Mori A, Hojito M, Shimizu M, Matsuura S, Miyaji T, Hatano R (2008) N_2O and CH_4 fluxes from a volcanic grassland soil in Nasu, Japan: comparison between manure plus fertilizer plot and fertilizer-only plot. *Soil Sci Plant Nutr*, 54, 606–617

Mori A, Hojito M (2012) Effect of combined application of manure and fertilizer on N_2O fluxes from a grassland soil in Nasu, Japan. *Agric Ecosyst Environ*, 160, 40–50

志賀一一、大山信雄、前田乾一、鈴木正昭(1985) 各種有機物の水田土壌における分解過程と分解特性に基づく評価、農研センター研報、5、1–19

5. 主な発表論文等

[学会発表](計5件)

森 昭憲(2013) 堆肥散布が草地土壌の脱窒酵素活性に及ぼす影響、日本草地学会誌、59(別) 126、山形大学小白川キャンパス(山形県山形市) 平成25年3月24~26日

森 昭憲(2014) 草地土壌の脱窒酵素活性の季節変化、日本草地学会誌、60(別) 143、宮崎観光ホテル(宮崎県宮崎市) 平成26年3月30~4月2日

Mori A (2014) Effect of manure applications on denitrification activity of grassland soil, *Proceedings of the 20th World Congress of Soil Science, ICC Jeju* (韓国済州道西帰浦市) 平成26年6月8~13日

森 昭憲(2014) 草地土壌の脱窒酵素活性の季節変化に及ぼす有機物管理の影響解析、日本土壌肥料学会講演要旨集、60、175、東京農工大学小金井キャンパス(東京都小金井市) 平成26年9月9~11日

森 昭憲(2015) 堆肥連用に伴う土壌 pH 上昇が草地土壌の N_2O 生成に及ぼす影響、日本草地学会誌、61(別) 170、信州大学伊那キャンパス(長野県上伊那郡) 平成27年3月25~27日

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

森 昭憲 (Mori, Akinori)

独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構・畜産草地研究所・草地管理研究領域・主任研究員

研究者番号：60355089