

生産現場で実施可能な畑土壌可給態窒素の簡易評価法と施肥診断システムの開発

上 菌 一 郎

要 約

作物生産を維持・増進しつつ、環境保全と施肥コストの低減を進めるためには、農業生産現場において、土壌診断に基づく施肥の適正化を推進する必要がある。しかし、土壌診断のなかで可給態窒素は、作物の生育に大きな影響を及ぼす重要な項目であるにもかかわらず、その測定には少なくとも 4 週間の土壌培養が必要であるため、可給態窒素を分析している土壌分析機関は稀である。こうした背景のもとで、これまでに可給態窒素を簡易に評価するための化学的抽出法が数多く提案されてきたが、黒ボク土や有機物施用土壌への適用性が悪いことなどにより、広範な地域で活用されているものはない。一方、生産現場では、土壌診断結果を施肥設計に反映させるために、分析手法のさらなる迅速・簡便化が求められている。そこで、広範な土壌に適用可能で、生産現場で迅速に実施できる畑土壌可給態窒素の簡易評価法を開発した。

開発した可給態窒素簡易評価法は、80℃ 16 時間水抽出と COD 簡易測定を組み合わせたもので、その特徴は、①難しい化学分析操作が不要、②家庭で調達可能な物品のみで実施可能、③毒・劇物薬品を使用せず廃液処理が不要、④生土試料でも風乾土試料と同等の可給態窒素乾土換算値が得られるので、採土した翌日には判定可能、⑤黒ボク土を含む多様な畑土壌や堆肥連用土にも適用可能、⑥本法の抽出液を使用して土壌の硝酸態窒素も測定可能など多くの利点があり、迅速性、汎用性に優れている。

可給態窒素簡易評価法の普及推進を図るため、操作手順のマニュアルを作成した。また、県や土壌診断機関に配備される土壌分析機器の測定項目として組み込まれるとともに、JA 土壌分析センターにおいてルーチン分析項目に採用された。

今後、可給態窒素を窒素肥沃度、土づくりの指標として活用するだけでなく、窒素施肥の加減に活用する取組みを加速することで、農家の肥料コスト削減、作物の高品質、安定生産はもちろん、環境保全にも貢献できると考える。

キーワード：化学的酸素消費量，可給態窒素，簡易測定法，反応速度論的手法

I 緒 論

1 肥料コスト削減にむけた土壌診断の重要性

(1) 肥料価格の高騰

日本で使用される化学肥料の原料は、ほとんどを海外からの供給に依存しているため、国際的な動向に大きく影響される。2008 年の肥料原料価格急騰は記憶に新しく、特に、全量を輸入に依存しているりん鉱石および塩化加里は、ピーク時にはりん鉱石が高騰前の 10 倍、塩化加里は 4.5 倍まで上昇し、リン酸質および加里質肥料の価格を押し上げた。

一方、窒素の肥料供給形態はアンモニア、尿素および

硫安(硫酸アンモニウム)である。アンモニアは大気中の窒素を利用して工業的に生産されるが、窒素の固定にはエネルギーが必要で、輸入される天然ガスや原油由来のナフサが使用されている。尿素、硫安ともアンモニアから製造されるため原油価格に左右される。2008 年の肥料原料価格高騰の際は、リン酸、加里に注目が集まったが、尿素もピーク時には高騰前の 3.5 倍まで上昇した⁵⁰⁾。

農家の肥料購入価格についても、輸入価格を反映した動きになっており、肥料コストの増加が農家経営に大きな影響を及ぼし、将来的な食料の安定供給に支障をきたす要因になりかねない。その後、肥料原料価格は低下したものの、再び 2008 年と同様な事態が起こる危険性が

あり、今後も継続して農家の肥料コスト削減対策に取り組む必要がある (図 1)。

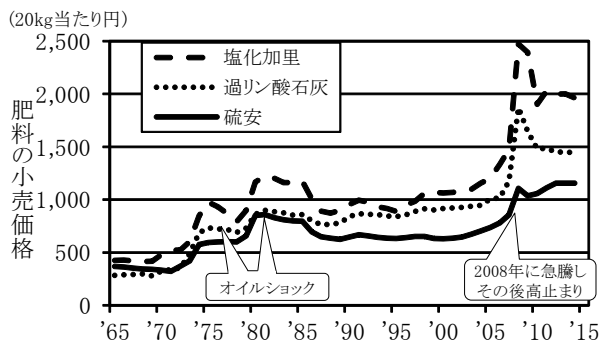


図1 肥料小売価格の推移 (ポケット肥料要覧等より)

(2) 土壌診断による肥料コスト削減対策

日本の畑土壌では、これまでの化学肥料や堆肥の多用によって、硝酸性窒素による地下水汚染やリン酸の過剰蓄積による土壌養分バランスの悪化が顕在化してきている⁵¹⁾。このような状況を改善するためには、土壌診断の実施による蓄積養分の把握とその利活用による効率的な施肥管理の推進が必要不可欠である。

2008 年の肥料原料価格急騰の時には、特に価格上昇が著しいリン酸やカリについて、土壌診断結果に基づく適正施肥に関する研究が行われた^{41), 47), 80)}。これらの成果は、施肥基準あるいは減肥基準として各都道府県でまとめられ公表されている⁴⁸⁾。

しかし、土壌診断結果に基づく適正施肥基準はリン酸、カリを対象としたものばかりで、窒素に関する適正施肥基準や指針はほとんどない。リン酸はトルオーグリーン酸、カリは交換性カリの土壌分析結果を診断基準値に照らし合わせて、過剰域であれば減肥するという共通的な考え方に加え、土壌養分の蓄積実態を踏まえて、土壌から持ち出された肥料成分を施肥で補給する「補給型施肥基準」という考え方も提案された^{23), 47)}。

一方、窒素の土壌診断項目としては無機態窒素と可給態窒素がある。なかでも窒素肥沃度の指標である可給態窒素は、土壌の作物生産力を左右する重要な診断項目の一つである。堆肥等の有機質資材を施用して窒素肥沃度を維持・向上させることは大切であるが、窒素肥沃度が必要以上に高まると、作物への窒素供給の調節が難しくなり、栽培面では過繁茂・倒伏など、環境面では硝酸イオンによる地下水汚染の問題など、水、大気および土壌環境に大きな影響を及ぼす^{66), 67), 72), 74), 75), 76), 77), 78)}。このため、窒素肥沃度の多少に応じた窒素施肥や有機物施用が望まれ、特に、畑作における可給態窒素は欠かせない土壌診断項目といえる。

2 可給態窒素の簡易・迅速評価法開発の必要性

(1) 培養法による可給態窒素の分析

作物生産と密接な関係にある土壌の可給態窒素は、栽培された作物の窒素吸収量から判断するのが最も正確であるが、それには多くの労力、時間そして費用が必要である。そこで、実験室内で判定可能な分析法として、生物的方法である培養法のほかに、化学的抽出法が提案されてきた。

日本では、可給態窒素分析法として「30℃ 4 週間保温静置培養法」が標準的分析法となっている²²⁾。水田土壌は湛水培養、畑土壌は湿潤土培養で行い、30℃ 4 週間という培養条件は共通であるが、培養条件が定まった経緯は明らかでない^{7), 35)}。

畑土壌の「30℃ 4 週間保温静置培養法」による可給態窒素分析は、1979 年の土壌環境基礎調査から実施されている。この調査は各都道府県が事業実施主体となり、土壌の時間的経過に伴う変化を総合的に把握し、適切な土壌管理対策、土地利用方式等を明らかにする目的で実施された⁴⁹⁾。このうち、定点調査は全国で 2 万地点の農地を対象として行われ、2003 年まで実施された。このような大規模かつ長期間実施された調査は他になく、日本の農耕地土壌の特性について、実態と変化を知ることのできる貴重な調査結果といえよう (図 2)。

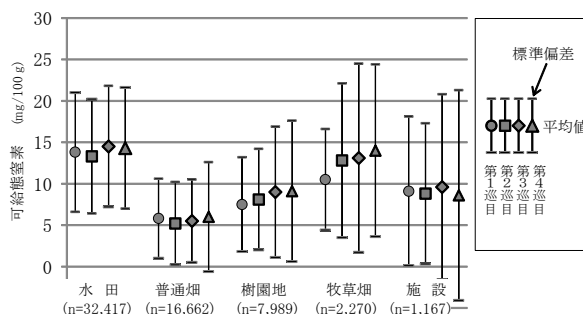


図2 各地目の可給態窒素

※測定は30℃4週間培養法による。ただし、水田は湛水、畑は湿潤土培養。
第1巡目(1979~1983) 第2巡目(1984~1988)
第3巡目(1989~1993) 第4巡目(1994~1999)
土壌保全調査事業成績書(平成20年8月、農林水産省生産局)より引用

(2) 化学的抽出法による可給態窒素分析法の必要性

30℃ 4 週間保温静置培養法で求められる可給態窒素は、土壌保全調査事業だけでなく、現在でも試験研究機関で実施される多くの試験土壌で測定されており、地力増進基本方針において、乾土 100 g 当たり 5 mg 以上という普通畑の目標値に基づいて、窒素肥沃度が判定されている。

しかし、試験研究機関を除く生産現場に近い土壌分析機関では、可給態窒素が測定項目に含まれていることはほとんどない。これは、測定が煩雑で長時間を要するた

め、ルーチンの業務には使用しにくいと考えられるが、土壌の窒素肥沃度に応じた窒素施肥を妨げる一因になっている。

そこで、これを改善するために培養法に代わる、迅速、簡便な化学的抽出による簡易測定法が多く提案されてきた。ただし、これらの簡易測定法は土壌の種類によっては使用できないことや、高価な分析機器や排気装置等の設備が必要であることなど、汎用性、利便性に問題があり、窒素肥沃度を把握したいという生産者のニーズに応えることができなかった。

今後、農産物の低コスト、高品質安定生産を達成するためには、農家自らが土壌の養分状態を簡易に把握し、その結果を迅速に土づくりや施肥設計に反映できることが大切である。そのためには、土壌の作物生産力を左右する可給態窒素の簡易、迅速な診断法を開発することが必要不可欠である。

求められる可給態窒素の簡易、迅速評価法に対する開発の着眼点としては、これまでの研究実績やデータ蓄積が多い「30℃ 4週間保温静置培養法」で求められる可給態窒素を推定する抽出法であること、高価な分析機器や有毒な薬品等を使わず、生産者自らが簡便、迅速に診断できる方法であること、新たな窒素肥沃度の尺度ではなく、土壌の違いによる影響が小さく、日本の代表的な畑土壌である黒ボク土にも対応でき、堆肥等の有機物連用土壌にも適用可能なこと、が挙げられよう。

(3) 代表的な可給態窒素の化学的抽出法における問題点

北海道では「熱水抽出性窒素」が畑土壌の可給態窒素評価法として普及定着している^{18), 42)}。さらに、表1のように熱水抽出性窒素レベルに応じて、窒素肥沃度の水準を設定している。

表1 露地野菜畑における窒素施肥対応のための肥沃度区分

窒素肥沃度の水準	分析値がある場合	
	熱水抽出性窒素 (mg N/100 g)	生土培養窒素 (mg N/100 g)
I	～ 3.0	～ 1.5
II(標準対応)	3.0 ～ 5.0	1.5 ～ 2.5
III	5.0 ～	2.5 ～

注1) 北海道施肥ガイド2010 (北海道農政部, 2010) より引用
分析値がない場合、過去2年間の有機物施用履歴で決定

現在でも、多くの畑作物で窒素肥沃度に基づく栽培試験が精力的に実施され、熱水抽出性窒素診断に基づいた窒素施肥技術が提案されている^{53), 56), 65)}。

しかし、熱水抽出性窒素の測定は北海道地域以外では実施されていない。これは、都府県においては研究実績

がなく、培養法による可給態窒素に読み替えられないためである。さらに、分析操作に熟練を要すこと²⁰⁾、黒ボク土では、同程度の培養窒素量を示す非黒ボク土に比べて抽出窒素量が多く、可給態窒素を過大評価する可能性があるなどの問題点も指摘されている^{8), 57)}。

一方、熱水抽出性窒素法と並んで、全国的に利用された方法として、中性リン酸緩衝液抽出法^{52), 7)}があげられる。中性リン酸緩衝液抽出法についても、施用有機物や腐植含量の違い、土壌の種類、さらには抽出条件によって測定値が変動することが報告されている^{45), 83), 84)}。

このように、これらの代表的な化学的抽出法は、わが国の普通畑の約50%を占める黒ボク土や有機物施用土壌への対応性に難点があるため、今なお新たな化学的抽出法の探索が進められている¹⁷⁾。

3 可給態窒素測定値を活用した施肥診断システムの構築

(1) 可給態窒素レベルに応じた窒素施肥診断の事例

土壌窒素の形態変化は複雑で速く、溶脱や脱窒などの損失量も多いため、無機態窒素測定による土壌の窒素診断で施肥量を調節するのは困難である。しかし、土壌からの窒素発現量を的確に推測することができれば、適正な窒素施肥量の決定、合理的な地力維持管理を行うことが可能になる。

畑土壌の可給態窒素は、風乾細土に加水して湿潤土とし、土壌微生物の活動に適した環境条件と考えられる30℃で4週間培養したときの窒素無機化量で求められる。つまり、可給態窒素はあくまでも潜在的な窒素供給量の尺度であり、直接的な作物栽培期間中の窒素供給量を意味するものではない。

では、可給態窒素は土壌窒素肥沃度の指標にしか利用できないのだろうか。都道府県の研究成果を検索すると、可給態窒素を窒素施肥量の加減に活用している研究成果がみられ、代表的なものとしては「北海道施肥ガイド2010」¹⁹⁾がある。表2は露地キャベツでの活用例であるが、熱水抽出性窒素による地力窒素肥沃度レベルに応じ

表2 露地キャベツ栽培に対する地力窒素水準に対応した窒素施肥量 (kg N/10 a)

地力窒素の水準 熱水抽出性窒素 (mg/100 g)	I	II(標準)	III
～3.0	～3.0	3.0～5.0	5.0～
早春まきトンネル (基準収量5 t)	22(基)	20(基)	16(基)
春まき (基準収量6 t)	16(基)+6(追)	14(基)+6(追)	12(基)+4(追)
晩夏・初夏まき (基準収量6.5 t)	18(基)+6(追)	16(基)+6(追)	12(基)+4(追)

注1) 「北海道施肥ガイド2010 p.112」を一部改変

て、基準収量を得るための施肥窒素量を設定している。他の品目についても、道内各地で実施された精密な圃場試験結果を基にして、土壤窒素肥沃度レベルに応じた窒素施肥量が設定されている。

他にも、可給態窒素を窒素施肥量の加減に活用した成果が公表されているが、いずれも、精密な圃場試験や長期にわたる現地調査から導かれた結果である。

しかし、これらの成果を、他の地域で活用する場合、地温等の栽培環境条件が異なるため、そのまま当てはめることはできず、その地域での圃場試験等で再試験しなければならない。

(2) 反応速度論的手法を活用した窒素発現予測と今後の展開

土壤の可給態窒素レベルに応じて、適正な窒素施肥量を決定するためには、作物栽培期間中における土壤からの窒素無機化量を把握することが必要である。土壤の窒素無機化量は、地温、土壤水分、土壤の種類、土壤有機物の特性等に影響されるが、最も影響が大きいのは地温であろう。これまで、反応速度論的手法を活用した土壤窒素無機化モデルの研究が進められてきた⁶²⁾。この方法は、土壤の窒素無機化過程を可分解性有機態窒素量(N_0)、無機化速度定数(k)および活性化エネルギー(E_a)の3つのパラメータで表し、地温との関係から窒素無機化量を推定するものである。このパラメータは、過去、国公立の試験研究機関で計測されており、データが整理されている¹⁰⁾。

一方、土壤の窒素は微生物活動による形態変化が起きるため、その挙動を正確に把握することは難しい。加えて畑では、根群域の発達程度や降雨等の影響で、土壤からの窒素無機化と作物の土壤由来窒素の吸収パターンが合致しないことが多い。将来的には、硝酸イオン移動モデル等を組合せながらより高精度な予測システムの検討も必要である。

まずは、これら既往の研究成果を活用し、土壤の可給態窒素レベルに応じた適正施肥診断システムを構築していくことが急務である。

土壤の可給態窒素の簡易診断から、窒素の適正施肥量を決定するための一連のシステム開発は、農家経営、農産物の安定生産につながるのももちろんのこと、環境面においても硝酸イオンによる地下水汚染の問題など、水、大気および土壤環境の健全化に大きな役割を果たすと考える。

(3) 研究の目的と研究報告の構成

今後、農産物の低コスト、高品質安定生産を達成するためには、農家自らが土壤の養分状態を簡易に把握し、その結果を迅速に土づくりや施肥設計に反映できることが大切である。そのためのツールとして、土壤の作物生産力を左右する可給態窒素の簡易、迅速な診断法を開発することを目的として研究した。

本研究報告は、畑土壤の可給態窒素測定法開発に関する研究成果^{39), 69), 70), 71)}をとりまとめたものである。

緒言では、農家の肥料コスト削減のための土壤診断の必要性、特に作物生産に大きく関わる土壤の可給態窒素診断の重要性について示した。また、多くの研究蓄積があるものの、測定に長期間を要し、操作が煩雑なため現場で活用されていない「30℃ 4週間保温静置培養法」にかわる可給態窒素の迅速な化学的抽出法の開発の必要性について論じ、求められる化学的抽出法の要件を整理した。

「Ⅱ 露地畑土壤における可給態窒素の各種簡易測定法の推定精度と抽出有機物の特性比較」では、日本の代表的な畑土壤である黒ボク土を含めた多くの種類の畑土壤に対して適用性が広く、堆肥の連用によって高まった可給態窒素を適切に評価できる、迅速な化学的抽出法の選定を目的として、既報の各種可給態窒素簡易測定法によって抽出される有機物について、同一土壤を用いて比較した。

「Ⅲ 畑土壤に対する80℃ 16時間水抽出法による可給態窒素簡易評価法の適用性」では、前章の結果を受けて、全国の試験研究期間で多くのデータ蓄積がある30℃ 4週間保温静置培養法との適合性に優れた化学的抽出法について、最適な抽出条件を詳細に検討した結果、可給態窒素の簡易・迅速な「80℃ 16時間水抽出法」の開発に至った経過を示した。

「Ⅳ 80℃ 16時間水抽出液のCOD簡易測定による畑土壤可給態窒素の迅速評価」では、80℃ 16時間水抽出法によって抽出される有機物の簡易測定法を開発することによって、生産者自らが実施可能な畑土壤の可給態窒素簡易測定法として提案するための研究過程について示した。

「Ⅴ 80℃ 16時間水抽出物の化学的性質」では、提案する可給態窒素簡易評価法で抽出される窒素の形態等について詳細に検討した。

「Ⅵ 可給態窒素簡易評価法を活用した窒素施肥の適正化に向けて」では、開発した可給態窒素の簡易、迅速判定法を生産現場で活かしていくために作成した施肥診断システムの概要と今後の展望について述べた。

「Ⅶ 総合考察」では、これらを総合的に考察した。

II 露地畑土壌における可給態窒素の各種簡易測定法の推定精度と抽出有機物の特性比較

1 緒言

畑土壌の可給態窒素は、30℃ 4週間の湿潤培養期間中に生成する無機態窒素量で表される⁷⁾。この30℃ 4週間保温静置培養法は、実際の畑土壌中における微生物の作用を想定し、土壌を好適な条件下で培養することによって、その間の微生物の消長、無機態窒素の発生量を測定するもので、作物生産性との相関が高いとされており、全国の試験研究期間で多くのデータが蓄積されている^{49), 46)}。しかし、培養に時間がかかること、培養温度や水分など環境条件を厳密に管理する必要があるなど、簡易、迅速性に欠ける分析法である。このため、土壌診断機関や生産現場からは、簡便で迅速な化学的抽出法が切望されてきた。

可給態窒素を迅速に測定するための化学的抽出法は、これまでに多く提案されている。その代表的な方法として、熱水抽出法^{57), 20)}と中性リン酸緩衝液抽出法^{7), 52)}があげられる。熱水抽出法は北海道地域において、窒素肥沃度の評価および畑作物に対する施肥窒素量の加減の目安として広く活用されている^{18), 19), 42)}。しかし、黒ボク土では、同程度の培養窒素量を示す非黒ボク土に比べて抽出窒素量が多く、可給態窒素を過大評価する可能性がある^{8), 57)}。一方、中性リン酸緩衝液抽出法についても、施用有機物や腐植含量の違い、土壌の種類、さらには抽出条件によって測定値が変動することが報告されている^{45), 83), 84)}。このように、これらの代表的な化学的抽出法は、わが国の普通畑の約50%を占める黒ボク土や有機物施用土壌への対応性に難点があるため、近年、各地域の土壌条件に適用するための改良抽出法^{1), 58)}や新しい化学的抽出法^{5), 15), 24), 25), 82), 84)}が、次々に提案されている。ただし、これら新しい化学的抽出法は、必ずしも様々な種類の土壌や堆肥連用土壌で検討されているとは限らず、地域や対象土壌を限定して提案されている方法もある。しかしながら、今まで、これら10種類以上の化学的抽出法について、黒ボク土を含む共通の土壌試料を用いて、可給態窒素の推定精度や抽出物の化学性を比較した例は見当たらず、最も汎用性の高い化学的抽出法を選定することが困難となっている。

そこで、様々な種類の土壌や堆肥連用土壌を含んだ共通の畑土壌を供試して、単位重量当たりの風乾土から、様々な化学的方法によって抽出される有機物量やC/N比、抽出アンモニウム態窒素量等を比較するために、抽出操作条件の一部を揃えて検討した。

2 材料および方法

(1) 供試土壌

供試土壌は岩手県、新潟県、香川県、鹿児島県、近畿中国四国農業研究センターおよび中央農業総合研究センターで継続中の有機物連用畑試験圃場から収集した48点の風乾細土とした(表3)。土壌の種類はアロフェン質黒ボク土24点(うち多腐植質黒ボク土22点、淡色黒ボク土2点)、非アロフェン質黒ボク土6点、褐色低地土6点、砂丘未熟土5点、褐色森林土3点、灰色低地土2点および黄色土2点であった。連用に供試された有機物の種類は、牛ふん堆肥13点、豚ふん堆肥10点、鶏ふん堆肥6点、その他植物残さ堆肥等5点、有機物無施用14点であった。

表3 供試土壌一覧

試料 No.	(場所 試験区名 (施用有機物))	(場所 土壌の種類)		C/N比
		可給態窒素 (mg kg ⁻¹)	全窒素 (g kg ⁻¹)	
(岩手県 非アロフェン質黒ボク土)				
1	化学肥料	40.9	3.63	16.1
2	牛ふん堆肥2t	50.5	4.30	15.8
3	牛ふん堆肥4t	48.4	4.47	15.6
4	牛ふん堆肥8t	80.7	5.37	15.3
5	豚ふん堆肥	69.8	4.84	13.6
6	鶏ふん堆肥	50.8	4.37	14.4
(新潟県 砂丘未熟土)				
7	牛ふん堆肥	20.7	0.96	10.9
8	豚ふん堆肥	27.0	1.06	9.7
9	鶏ふん堆肥	28.5	0.98	10.2
10	化学肥料	18.0	0.66	11.2
11	無肥料	18.1	0.66	11.6
(香川県 褐色森林土)				
12	化学肥料	24.5	0.58	9.4
13	牛ふん堆肥1t	31.4	0.84	10.7
14	牛ふん堆肥3t	43.5	1.31	12.4
(鹿児島県 多腐植質黒ボク土)				
15	化学肥料	24.2	4.26	20.5
16	牛ふん堆肥	51.5	5.18	18.7
17	豚ふん堆肥	37.7	5.63	18.4
18	鶏ふん堆肥	31.0	5.63	19.2
19	牛ふん堆肥	45.5	4.55	18.4
20	豚ふん堆肥	30.8	4.65	18.1
21	無窒素	11.4	3.75	21.8
22	化学肥料	11.4	3.62	21.4
23	鶏ふん堆肥	13.3	4.03	19.4
24	牛+鶏ふん堆肥	22.8	3.90	19.7
25	化学肥料	15.9	4.20	20.5
26	牛ふん堆肥	46.0	5.20	17.2
27	豚ふん堆肥	44.2	5.31	16.6
28	鶏ふん堆肥	37.1	4.75	18.2
29	無窒素	20.6	3.59	19.8
30	化学肥料	26.3	4.10	19.2
31	鶏ふん堆肥	42.2	4.72	18.0
32	豚ふん堆肥+化肥	38.2	4.98	18.0
33	豚ふん堆肥	45.1	5.46	17.4
34	牛ふん堆肥	51.7	5.60	18.1
(近畿中国四国農研 褐色低地土)				
35	牛ふん堆肥3倍量	21.6	3.32	10.5
36	牛ふん堆肥標準量	64.2	1.67	10.2
37	牛ふん堆肥半量	47.1	1.26	9.8
38	豚ふん堆肥3倍量	110.5	3.77	9.5
39	豚ふん堆肥標準量	56.2	1.60	9.0
40	豚ふん堆肥半量	44.7	1.36	8.9
(中央農研)				
41	作物残渣堆肥	45.4	6.22	14.0
42	化学肥料	19.0	4.79	16.5
43	作物残渣堆肥	61.2	3.15	9.4
44	化学肥料	35.8	1.10	11.2
45	作物残渣堆肥	51.4	1.96	9.6
46	化学肥料	30.5	0.67	10.9
47	作物残渣堆肥	43.3	5.27	10.7
48	化学肥料	16.5	3.77	12.4

注1) 30℃4週間・湿潤条件における保温静置培養法による。

2) 41・42 多腐植質黒ボク土、43・44 灰色低地土
45・46 黄色土、47・48 淡色黒ボク土

(2) 分析方法

ア 培養法

可給態窒素は、風乾細土に最大含水量の 60 % になるように蒸留水を加え、30 °C で 4 週間培養後の無機態窒素量から培養前の無機態窒素量を減じて算出した⁷⁾。

イ 化学的抽出法

化学的抽出法は、表 4 に示した 11 種類の方法についてそれぞれ 2 反復で実施した（以下、方法は表 4 の略称で表記する）。提案されている化学的抽出法は土壌試料の前処理、試料や抽出液の量などそれぞれ抽出操作条件が異なるが、本試験では、化学的抽出による影響をより明

確にするため、原法間の比較とはせず操作条件の一部を揃えて抽出した。すなわち、抽出固液比を風乾細土 5.0 g に対して抽出液 50 mL 添加の 1:10 に統一し、振とう条件は室温を 25 °C として 1 時間の水平往復振とうとした。ろ過は東洋濾紙社製ろ紙 No.5C による常圧ろ過とした。また、加熱処理を伴わない 10 % 塩化カリウム（以下、KCl）浸出、中性リン酸緩衝液（以下、PB）抽出、0.1 mol L⁻¹ 塩酸および 0.4 mol L⁻¹ 硫酸抽出では蓋付きのポリプロピレン製 100 mL 容器を用い、その他の加熱処理を伴う抽出法ではガラス製 100 mL 容三角フラスコを用い、アルミ箔で覆って蓋をした。

表4 可給態窒素の培養法と各種簡易測定法の概要

方法	略称	測定方法の概要	可給態窒素の推定	原法の試料量 抽出固液比
○ 保温静置培養法	培養法	最大含水量の60%湿潤条件で30°C4週間培養	無機態窒素生成量	風乾土10g培養 培養後抽出 1:8
① 10%塩化カリウム溶液浸出法	KCl浸出	10%塩化カリウム溶液で振とう浸出	なし ^{注2)}	生土・風乾土10g 1:10
② 中性リン酸緩衝液抽出法	PB抽出	pH7.0・1/15 mol L ⁻¹ リン酸緩衝液で振とう抽出	有機態窒素または420 nm吸光度	風乾土10g 1:8
③ 0.1 mol L ⁻¹ 塩酸抽出法	0.1 mol L ⁻¹ 塩酸抽出	0.1 mol L ⁻¹ 塩酸溶液で振とう抽出	アンモニウム態窒素増加量	風乾土5g 1:10
④ 0.4 mol L ⁻¹ 硫酸抽出法	0.4 mol L ⁻¹ 硫酸抽出	0.4 mol L ⁻¹ 硫酸溶液で振とう抽出	有機態窒素	風乾土5g 1:10
⑤ 熱水抽出性窒素法	AC法	105°Cで1時間オートクレーブ処理し、冷却後にろ過	有機態窒素または280 nm吸光度	風乾土10g 1:10
⑥ 熱水抽出無機態窒素法	AC変法	121°Cで1時間オートクレーブ処理後、飽和塩化カリウム溶液を添加し、ろ過	アンモニウム態窒素増加量	風乾土8g 1:10
⑦ 煮沸浸出法	煮沸法	100°Cで6時間、乾燥機内で湿式加熱した後、ろ過	有機態窒素	風乾土1g 1:50
⑧ 乾熱処理法	乾熱法	風乾土を105°Cで24時間乾燥した後、10%塩化カリウム溶液で抽出	アンモニウム態窒素増加量	乾熱処理土15g 1:8.7
⑨ 1.0%SDS抽出法	1.0%SDS法	1.0%または0.5%ラウリル硫酸ナトリウムで105°C2時間、静置加熱抽出 ^{注3)}	280 nm吸光度	風乾土10g 1:5 生土20g 1:2.5
⑩ 0.5%SDS抽出法	0.5%SDS法			
⑪ マイクロ波処理法	レンジ法	電子レンジ500Wで3分間加熱処理し、1.0%塩化カリウム溶液で抽出	280 nm吸光度	レンジ処理土5g 1:10

注1) 文献: ②(小川ら, 1989; 日本土壌協会, 2000) ③(Cornforth and Walmsley, 1971) ④(松本ら, 2000) ⑤(斎藤, 1988)

⑥(北海道立中央農業試験場・北海道農政部農業改良課, 1992) ⑦(八槇, 2009) ⑧(原・土屋, 2007)

⑨・⑩(岩手県農業研究センター, 2002; 安田ら, 1998) ⑪(岩手県農業研究センター, 2006)

2) ①KCl浸出は、可給態窒素の推定法としての提案はない。

3) ⑩0.5%SDS法は複数の抽出時間および温度が提案されているが、105°C2時間で実施した。

ウ 測定法

培養法における培養前後の10%塩化カリウム浸出液、および各種化学的抽出法における抽出液中のアンモニウム態窒素はインドフェノール法⁷⁾、硝酸態窒素は銅・カドミウム還元-ナフチルエチレンジアミン法⁷⁾によって、オートアナライザ (TRACCS800, ブラン・ルーベ) で測定した。抽出液中の有機態炭素および全窒素は、適宜希釈後、TOC/TN 分析装置 (TOC-VCPh・TN ユニット付属, 島津製作所) を用いて測定した。また、有機態窒素は全窒素から硝酸態窒素とアンモニウム態窒素を減じて算出した。吸光度は適宜希釈後、分光光度計 (UV-1600, 島津製作所) で測定した。

3 結果および考察

(1) 供試土壌の化学性

表5に供試土壌の化学性を示す。培養法による可給態窒素の平均値は40.6 mg kg⁻¹で、全窒素の平均値3.48 g kg⁻¹の1.2%であった。土壌の全炭素、全窒素およびC/N比について、黒ボク土と非黒ボク土 (以下、土壌の種類別と略記する) 間で比較すると、黒ボク土の全炭素、全窒素は非黒ボク土に比べて明らかに多く、C/N比が高かった。一方、堆肥連用土壌と堆肥無施用土壌間 (以下、堆肥施用別と略記する) で比較した場合、本供試土壌においては両者に統計的な有意差が認められなかった。また、培養法で求めた可給態窒素は、最高122 mg kg⁻¹、最低11.4 mg kg⁻¹、平均40.6 mg kg⁻¹で、土壌の種類別では有意差が認められなかったが、堆肥施用別では堆肥連用土壌が堆肥無施用土壌に比べて多かった。このことから、

本供試土壌を用いて可給態窒素の培養法と化学的抽出法による測定値との適合性を評価するに当たって、土壌試料全体としての相関係数が高いことは勿論、土壌の種類別では抽出有機物量の差が小さく、堆肥施用別では堆肥連用土壌の抽出有機物量が多いという傾向が類似していることも、手法の正確さの判断材料になると考えた。

さらに、培養窒素の無機化に関する微生物体のC/N比は細菌で6~13、糸状菌で3~6であり、土壌のC/N比に比べて低い⁸⁵⁾。このため、化学的抽出法で抽出された有機物のC/N比も低い方が望ましいと考えた。

(2) 各種化学的抽出法による測定値と培養法による可給態窒素との関係

図3に各種化学的抽出法による測定値と培養法による可給態窒素との関係を示す。培養法による可給態窒素とは、KCl浸出、0.1 mol L⁻¹塩酸抽出、AC法、煮沸法、1.0%および0.5% SDS法、レンジ法は1%水準で、PB抽出は5%水準で有意な正の相関を示した。

KCl浸出、PB抽出および0.4 mol L⁻¹硫酸抽出等の常温溶液による抽出法では、黒ボク土の測定値が、同程度の可給態窒素量を示す非黒ボク土に比べて高くなる傾向にあり、培養法による可給態窒素との関係が土壌の種類別で異なるため、相関係数が低かった。また、アンモニウム態窒素増加量で可給態窒素を評価するAC変法と乾熱法でも、黒ボク土での測定値が非黒ボク土に比べて明らかに多いことから、試料全体の相関が劣った。

表5 供試土壌の化学性

		全炭素	全窒素	C/N比	硝酸態窒素 ^{注1)}	アンモニウム態窒素 ^{注1)}	可給態窒素 ^{注2)}
		(g kg ⁻¹)	(g kg ⁻¹)		(mg kg ⁻¹)	(mg kg ⁻¹)	(mg kg ⁻¹)
全体 (n=48)	平均値	56.2	3.48	14.7	7.3	6.9	40.6
	標準偏差	34.5	1.8	4.1	8.8	6.2	23.9
	変動係数 (%)	61	50	28	120	72	57
土壌の種類別	非黒ボク土 (n=18)	15.0	1.49	10.3	5.4	4.9	46.4
	黒ボク土 (n=30)	80.8	4.67	17.4	8.5	8.2	37.1
	有意差 ^{注3)}	**	**	**	n. s.	n. s.	n. s.
堆肥施用別	堆肥連用 (n=34)	58.5	3.76	14.3	8.4	6.9	48.0
	堆肥無施用 (n=14)	50.5	2.81	15.9	4.7	7.0	22.4
	有意差 ^{注3)}	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.	**

注1) 硝酸態窒素およびアンモニウム態窒素は、風乾細土を10%塩化カリウム溶液 (固液比1:10) による30分間振とう浸出法で測定した値。

2) 可給態窒素は30°C4週間の湿潤条件による培養期間中の無機態窒素生成量。

3) 土壌の種類別および堆肥施用別で区分した有意差, **1%水準で有意, n.s.は5%で有意差なし。

■非黒ボク土(堆肥連用) □(堆肥無施用) ●黒ボク土(堆肥連用) ○(堆肥無施用)

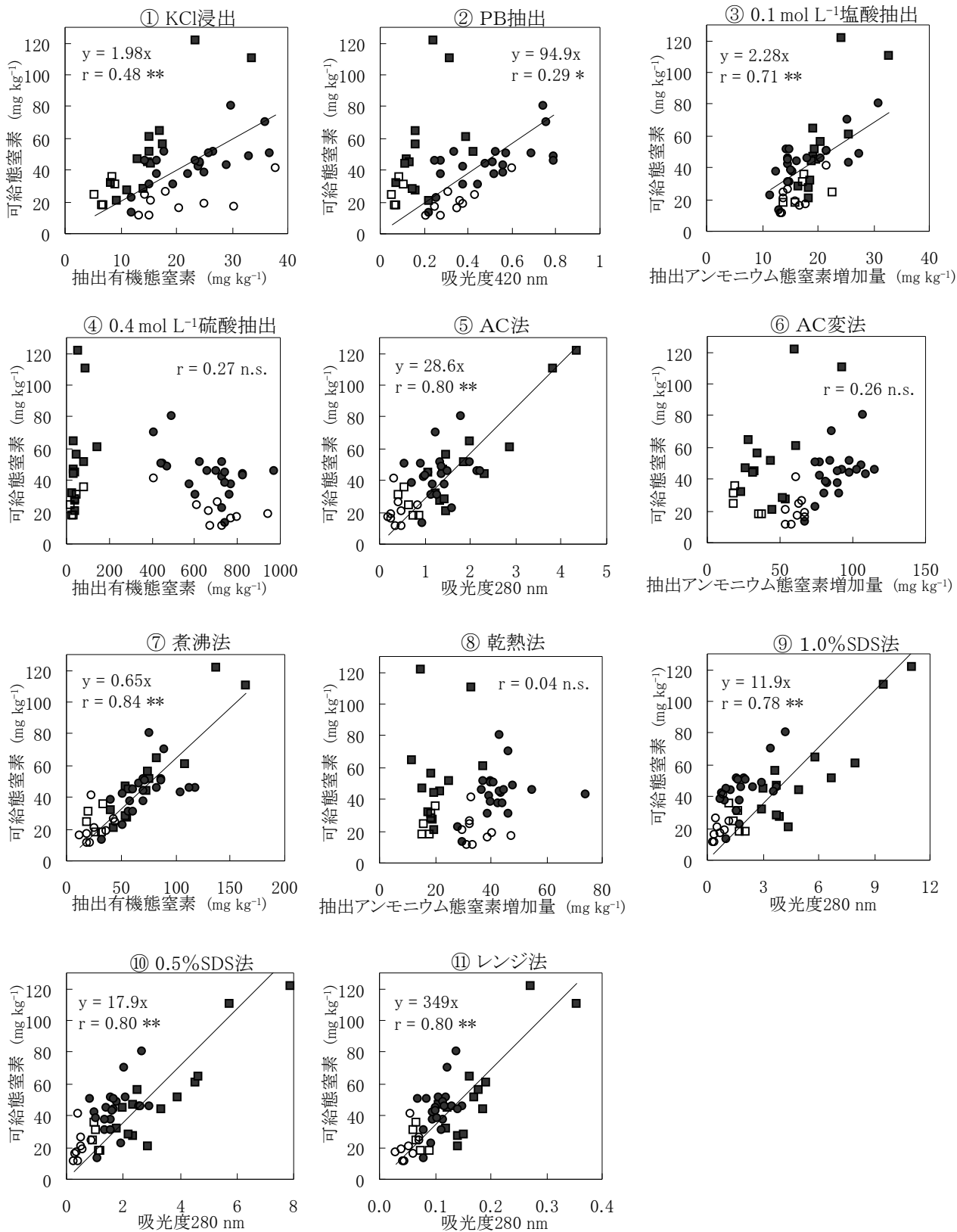


図3 各種化学的抽出法による測定値と培養法による可給態窒素の関係

注1) 回帰式は、全て原点を通る直線とした。なお、回帰式に5%水準で有意性がない場合は式を記していない。

注2) 相関係数に付した n.s.;有意でない, *,5%水準で有意, **,1%水準で有意。

(3) 各種化学的抽出法による抽出物の特性比較

表6に各種化学的抽出法による抽出有機態窒素、有機態炭素、アンモニウム態窒素増加量およびこれらの測定値と培養法による可給態窒素との相関係数を示す。表中のアンモニウム態窒素増加量は、各種化学的抽出法によって抽出されたアンモニウム態窒素量から10%KCl溶液浸出法で求めた原土のアンモニウム態窒素量を減じた値で、抽出有機態窒素の一部が加水分解されて生成されたものと考えられる^{5),69)}。このことを考慮し、抽出液のC/N比は、抽出有機態炭素量/(抽出有機態窒素量+アンモ

ニウム態窒素増加量)で算出した。ただし、AC法および煮沸法は、抽出液が水であるため、生成したアンモニウム態窒素の一部は土壌に吸着され、抽出量が不十分であることが考えられる。

なお、抽出硝酸態窒素量は、いずれの化学的抽出法によっても、10%KCl溶液浸出法による測定値と差異が認められなかった。また、1.0%あるいは0.5%SDS法の抽出に用いる陰イオン性界面活性剤のラウリル硫酸ナトリウム(NaC₁₂H₂₅SO₄)は炭素を含むため、抽出有機態炭素量は測定しなかった。

表6 各種化学的抽出法による抽出有機態窒素、有機態炭素、アンモニウム態窒素増加量、抽出液のC/N比、および培養法による可給態窒素との相関係数

	①KCl浸出			②PB抽出			
	有機態窒素 (mg kg ⁻¹)	有機態炭素 (mg kg ⁻¹)	C/N比 ^{注2)}	有機態窒素 (mg kg ⁻¹)	有機態炭素 (mg kg ⁻¹)	アンモニウム態窒素増加量 (mg kg ⁻¹)	C/N比 ^{注1)}
全体 (n=48) 平均値	19.2	144	8.0	63.7	842	0.66	12.9
非黒ボク土 (n=18)	13.6	111	8.5	30.0	296	3.65	9.4
黒ボク土 (n=30)	22.5	164	7.8	83.9	1,169	-1.13	14.9
有意差 ^{注3)}	**	**	n. s.	**	**	n. s.	**
堆肥連用 (n=34)	20.4	149	7.7	69.0	848	0.87	11.9
堆肥無施用 (n=14)	16.2	133	8.9	50.9	826	0.15	15.1
有意差 ^{注3)}	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.	**
可給態窒素との相関係数 ^{注4)}	0.48**	0.41**	-	0.21	0.04	0.18	-

	③0.1 mol L ⁻¹ 塩酸抽出				④0.4 mol L ⁻¹ 硫酸抽出				⑤AC法			
	有機態窒素 (mg kg ⁻¹)	有機態炭素 (mg kg ⁻¹)	アンモニウム態窒素増加量 (mg kg ⁻¹)	C/N比	有機態窒素 (mg kg ⁻¹)	有機態炭素 (mg kg ⁻¹)	アンモニウム態窒素増加量 (mg kg ⁻¹)	C/N比	有機態窒素 (mg kg ⁻¹)	有機態炭素 (mg kg ⁻¹)	アンモニウム態窒素増加量 (mg kg ⁻¹)	C/N比
全体平均値	32.7	592	10.0	13.9	442	7,150	27.4	14.2	72.4	847	5.32	12.7
非黒ボク土	16.6	362	14.1	12.4	51.2	935	30.8	11.6	64.1	648	4.33	11.8
黒ボク土	42.4	730	7.5	14.8	677	10,879	25.4	15.8	77.3	967	5.91	13.2
有意差	**	**	n. s.	n. s.	**	**	n. s.	**	**	*	n. s.	n. s.
堆肥連用	35.5	618	10.4	13.4	433	6,969	28.0	14.0	89.3	993	5.84	11.5
堆肥無施用	26.1	528	8.9	15.1	466	7,589	26.0	14.7	31.2	493	4.06	15.6
有意差	n. s.	n. s.	n. s.	**	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.	**	**	*	**
相関係数	0.21	0.23	0.30*	-	-0.27	-0.26	0.13	-	0.65**	0.50**	-0.14	-

	⑥AC変法				⑦煮沸法				⑧乾熱法			
	有機態窒素 (mg kg ⁻¹)	有機態炭素 (mg kg ⁻¹)	アンモニウム態窒素増加量 (mg kg ⁻¹)	C/N比	有機態窒素 (mg kg ⁻¹)	有機態炭素 (mg kg ⁻¹)	アンモニウム態窒素増加量 (mg kg ⁻¹)	C/N比	有機態窒素 (mg kg ⁻¹)	有機態炭素 (mg kg ⁻¹)	アンモニウム態窒素増加量 (mg kg ⁻¹)	C/N比
全体平均値	117	1,611	65.8	9.1	60.9	823	21.1	10.6	63.7	771	33.0	7.8
非黒ボク土	90.3	1,058	39.8	8.4	64.2	747	20.9	9.1	30.0	509	20.1	8.1
黒ボク土	134	2,022	81.3	9.5	59.0	868	21.1	11.5	83.9	928	40.8	7.6
有意差	**	**	**	**	n. s.	n. s.	n. s.	**	**	**	**	n. s.
堆肥連用	135	1,839	72.8	8.8	74.9	952	22.7	10.1	69.0	800	34.6	7.6
堆肥無施用	74.5	1,227	48.7	9.8	27.1	509	17.0	11.8	50.9	700	29.2	8.4
有意差	**	**	**	**	**	**	**	n. s.	n. s.	*	n. s.	**
相関係数	0.63**	0.41**	0.26	-	0.84**	0.76**	0.27	-	0.21	0.31*	0.04	-

	⑨1.0%SDS法 ^{注5)}				⑩0.5%SDS法 ^{注5)}				⑪レンジ法			
	有機態窒素 (mg kg ⁻¹)	アンモニウム態窒素増加量 (mg kg ⁻¹)	有機態炭素 (mg kg ⁻¹)	アンモニウム態窒素増加量 (mg kg ⁻¹)	有機態窒素 (mg kg ⁻¹)	アンモニウム態窒素増加量 (mg kg ⁻¹)	有機態炭素 (mg kg ⁻¹)	アンモニウム態窒素増加量 (mg kg ⁻¹)	有機態窒素 (mg kg ⁻¹)	有機態炭素 (mg kg ⁻¹)	アンモニウム態窒素増加量 (mg kg ⁻¹)	C/N比
全体平均値	128	9.1	84.1	3.9	8.8	143	3.23	12.4	8.8	143	3.23	12.4
非黒ボク土	181	11.8	118	4.2	11.8	137	4.29	10.9	11.8	137	4.29	10.9
黒ボク土	96.3	7.5	63.9	3.7	6.9	147	2.59	13.6	6.9	147	2.59	13.6
有意差	**	**	**	**	n. s.	n. s.	n. s.	*	**	**	*	**
堆肥連用	161	10.0	106	4.8	10.5	157	3.92	11.1	10.5	157	3.92	11.1
堆肥無施用	47.1	7.1	30.5	1.7	4.6	111	1.54	15.9	4.6	111	1.54	15.9
有意差	**	*	**	*	**	**	*	**	**	**	*	**
相関係数	0.85**	0.36*	0.80**	0.29*	0.50**	0.81**	0.11	-	0.50**	0.81**	0.11	-

注1) アンモニウム態窒素増加量は、それぞれの抽出アンモニウム態窒素量から10%KCl浸出法で測定した原土のアンモニウム態窒素量を減じた値。
 注2) C/N比は有機態炭素/(有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量)で算出した。ただし、①KCl浸出は有機態炭素/有機態窒素で算出した。
 注3) 有意差は堆肥施用別および土壌の種類別の平均値の差を検定した結果で、**は1%水準、*は5%水準で有意、n. s.は5%で有意差なし。
 注4) 相関係数は、30°C4週間の湿潤培養法による可給態窒素との相関で、**は1%水準、*は5%水準で有意。
 注5) 1.0%SDS法および0.5%SDS法では、抽出溶液に炭素が含まれているため有機態炭素の測定は行わなかった。

ア 各種化学的抽出法による抽出有機物の比較

抽出有機態窒素と培養法による可給態窒素とは、図 3 でも 1 %水準で高い正相関を示した煮沸法、1.0%および 0.5%SDS 法で 0.7 以上の高い相関係数を示した ($p < 0.01$)。また、抽出有機態炭素と培養法による可給態窒素とは、煮沸法およびレンジ法で 0.7 以上の高い相関係数を示した ($p < 0.01$)。これらの方法では、抽出有機態窒素と有機態炭素のいずれも土壤の種類別で有意差がなく、堆肥施用別で有意差が認められた。一方、煮沸法に比べて抽出温度が高い AC 法および AC 変法の抽出有機態窒素および有機態炭素は、土壤の種類別、堆肥施用別の両者とも有意差が認められた。また、1.0%および 0.5%SDS 法の抽出有機態窒素も土壤の種類別で有意差が認められたが、非黒ボク土の抽出有機態窒素が黒ボク土に比べて多く、他の化学的抽出法とは逆の傾向を示した。KCl 浸出、PB 抽出、 0.1 mol L^{-1} 塩酸および 0.4 mol L^{-1} 硫酸抽出等の常温抽出では、土壤の種類別で抽出有機態窒素および有機態炭素に差が認められたが、堆肥施用別では差が認められなかった。この傾向は乾熱法でも同様で、図 3 で示したように、これらの化学的抽出法による測定値と培養法による可給態窒素の相関を低下させる原因となっている。また、PB 法、 0.1 mol L^{-1} 塩酸および 0.4 mol L^{-1} 硫酸抽出では、抽出液の C/N 比が他の化学的抽出法に比べて高く、土壤の C/N 比が高いほど抽出液の C/N 比も高まる傾向が認められることから、培養無機化窒素への寄与が小さい難分解性の有機物が、抽出有機態窒素のなかで比較的高い割合を占めていると推察され、これも推定精度の低下につながったと考えられた。これら化学的抽出法によって抽出液の C/N 比が異なることは、土地利用・土壤型別に、数種の化学的抽出法で比較した Sano et al.⁵⁹⁾の結果と同様であった。

イ 各種化学的抽出法による抽出アンモニウム態窒素増加量の比較

抽出に伴うアンモニウム態窒素増加量は AC 変法、乾熱法、 0.4 mol L^{-1} 硫酸抽出、煮沸法の順に多かった。このなかで土壤の種類別で差がなく、堆肥施用別で差が認められた化学的抽出法は煮沸法であった。Curtin et al.⁵⁾は加熱時間の増加に伴って抽出全窒素量に占めるアンモニウム態窒素の比率が上昇したと報告しており、増加したアンモニウム態窒素は有機態窒素化合物が加熱によって加水分解されて生成したものであると推察している。一方、常温抽出の PB 法における抽出アンモニウム態窒素量は、原土の 10 %塩化カリウム溶液浸出法によるアンモニウム態窒素とほぼ同量であったが、 0.1 mol L^{-1} 塩

酸および 0.4 mol L^{-1} 硫酸抽出では増加したため、これらの希酸溶液による抽出法では、抽出された有機態窒素の一部が酸加水分解されたものと考えられる。また、これら希酸溶液による抽出アンモニウム態窒素は堆肥施用別では差が認められず、AC 法や煮沸法などの加熱処理によって増加したアンモニウム態窒素とは傾向が異なった。

ウ 可給態窒素簡易評価法として活用されている中性リン酸緩衝液抽出法と熱水抽出性窒素法の推定精度

(7) 中性リン酸緩衝液抽出法 (PB法)

PB 法の抽出有機態窒素量と培養法による可給態窒素との相関係数は 0.21 で、危険率 5 %で有意な相関関係は認められなかった (表 6)。これを、土壤の種類別で比較すると、黒ボク土の抽出有機態窒素量および有機態炭素量が非黒ボク土に比べて多かった。また、抽出有機物の C/N 比は非黒ボク土が 9.4、黒ボク土が 14.9 で、黒ボク土の C/N 比が非黒ボク土に比べて明らかに高く、この値は供試土壤の C/N 比の傾向に類似していた。したがって、PB 法では、培養無機化窒素への寄与が小さい腐植由来の有機物が、抽出された全有機物のなかで比較的高い割合を占めていると推察される。このため、培養法による可給態窒素を推定するためには、土壤の種類によって異なる推定式を示す必要があると考えられる。

(イ) 熱水抽出性窒素法 (AC法)、熱水抽出無機態窒素法 (AC変法) および煮沸浸出法 (煮沸法)

AC 法、AC 変法および煮沸法の抽出有機態窒素と、培養法で求めた可給態窒素の相関係数は、それぞれ 0.65、0.63 および 0.84 で、いずれも 1 %水準で有意な相関関係が認められた (表 6)。また、3 方法のいずれも、堆肥連用土壤の抽出有機態窒素および有機態炭素が堆肥無施用土壤に比べて有意に多く、堆肥施用によって高まった可給態窒素が適切に評価されていると考えられた。一方、土壤の種類別で比較すると、AC 法および AC 変法では黒ボク土の抽出有機態窒素および有機態炭素が非黒ボク土に比べて有意に多かったが、煮沸法では土壤の種類別で有意差が認められなかった。抽出温度は AC 変法が $121 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 、AC 法が $105 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 、煮沸法が $100 \text{ }^{\circ}\text{C}$ である。抽出温度が高いほど、培養無機化窒素に寄与しない腐植由来の有機物の抽出量が増加すると推察され、抽出温度は低い方が望ましいと考えた。

以上、煮沸法では、可給態窒素の平均値が同程度の黒ボク土試料群と非黒ボク土試料群から抽出される有機態窒素量、有機態炭素量に有意な差が認められず、また堆

肥施用に伴う可給態窒素の増加に対応してこれらの抽出量が増加することが確認された。また、AC 法、AC 変法および煮沸法の湿式加熱抽出では、加熱温度が低いほど抽出有機物の C/N 比が低く、土壌の種類の違いによる影響が小さくなる傾向が認められた。

4 要 約

土壌の種類や堆肥施用条件の異なる畑土壌を供試して、培養法による可給態窒素と既報の化学的抽出法による測定値との適合性、および抽出有機物の特性について抽出操作条件の一部を揃えて比較した。

緩衝液や希酸による非加熱抽出法では、黒ボク土と黒ボク土以外の土壌の違いによって、抽出有機物量が大きく異なるため、堆肥施用によって高まった可給態窒素を適切に評価できなかった。一方、加熱を伴う抽出法では非加熱抽出法に比べて、培養法による可給態窒素と高い正相関を示す方法が多かった。その中で、加熱温度の高い AC 変法では、堆肥施用によって高まった可給態窒素を評価できたが、土壌の種類の違いによる影響も大きかった。また、105℃加熱の AC 法や SDS 法においても、AC 変法に比べるとその影響は小さいものの、土壌の種類の違いによって抽出有機物量に差が認められた。これらに対して、加熱温度が低い 100℃加熱の煮沸法の静置加熱抽出法では、土壌の種類の違いによる影響が小さく、堆肥施用によって高まった可給態窒素を適切に評価できた。これらの結果から、培養法による可給態窒素を推定する化学的抽出法としては、湿式加熱抽出法を基本に、抽出温度や時間等を検討することによって、抽出される有機物の C/N 比がより低く、かつ、抽出される有機物のうち窒素無機化への寄与が低い有機物の割合を低下できる加熱条件を探索する必要がある。

Ⅲ 畑土壌に対する80℃16時間水抽出法による可給態窒素簡易評価法の適用性

1 緒言

前章では、様々な種類の堆肥連用畑土壌を供試して、可給態窒素の保温静置培養法と各種簡易評価法の適合性について検討した。その結果、加熱処理を伴う湿式抽出法で良好な結果を認めた。湿式加熱抽出法として代表的な熱水抽出法³⁷⁾は、北海道地域で畑作物に対する窒素施肥の加減の目安として活用されているが^{18), 42)}、黒ボク土では培養窒素量が同等の非黒ボク土に比べて、抽出される窒素量が多くなるため、適用土壌が限定されるとい

う問題が残されている。わが国では普通畑の 50 %以上が黒ボク土であるため⁶⁾、黒ボク土にも適した可給態窒素簡易評価法の開発が望まれる。一方、八槇⁸²⁾は土壌の種類による影響が小さく、有機物連用土壌にも適する 100℃ 6 時間湿式加熱抽出の煮沸浸出法を開発した。そのなかでは、加熱抽出時間について検討されているが、適切な抽出温度や加熱に伴って増加するアンモニウム態窒素については未検討である。また、Curtin et al.⁵⁾はニュージーランドの土壌について 80℃ 16 時間水抽出法により、抽出窒素量と微生物バイオマス量および作物窒素吸収量との間に良好な相関を得ているが、日本で広く用いられている 30℃ 4 週間湿潤培養法による可給態窒素との適合性については未検討である。

そこで、黒ボク土を含めた日本の畑土壌への適用性が広く、堆肥連用土壌の可給態窒素についても適切に評価できる加熱抽出条件について検討した。

また、これまでに提案された可給態窒素簡易評価法の多くは風乾細土での測定である。土壌の可給態窒素を推定して窒素施肥量を決定する場合、生産現場で求められるのは正確性ととも迅速性である。そこで、風乾処理を省略した生土試料での適用性についても検討した。さらに、未知試料を供試して簡易評価法の精度について検証した。

2 材料および方法

(1) 湿式加熱抽出法における抽出温度および抽出時間の検討

供試土壌は岩手県、新潟県、香川県、鹿児島県、近畿中国四国農業研究センターおよび中央農業総合研究センターで継続している有機物連用畑試験圃場から収集した 60 点の風乾細土とした。土壌の種類はアロフェン質黒ボク土 24 点（うち多腐植質黒ボク土 20 点、淡色黒ボク土 4 点）、非アロフェン質黒ボク土 6 点、砂丘未熟土 5 点、褐色低地土 14 点、灰色低地土 4 点、黄色土 7 点であった。施用有機物の種類は牛ふん堆肥 15 点、豚ふん堆肥 10 点、鶏ふん堆肥 5 点、その他植物残さ堆肥等 11 点、有機物無施用 19 点であった。30℃ 4 週間保温静置培養法で求めた可給態窒素は最高 122 mg kg⁻¹、最低 11.4 mg kg⁻¹、平均 37.4 mg kg⁻¹であった。なお、黒ボク土群 30 点の可給態窒素の平均値は 37.1 mg kg⁻¹、非黒ボク土群は 37.8 mg kg⁻¹で両者に有意差は認められなかった（表 7）。

抽出温度は、高压蒸気滅菌器を使用した 121℃と 105℃、送風定温乾燥機を使用した 100℃、80℃、60℃および非加熱 25℃抽出を加えた 6 段階として、全て 1 時

間の静置条件下で検討した。抽出時間の検討では 80℃ 設定の送風定温乾燥機に 1 時間～ 36 時間の静置加熱抽出とした。ガラス製 100 mL 容三角フラスコに、土壌 3.0 g を秤取し、高圧蒸気滅菌器を使用する場合は 50 mL の蒸留水、送風定温乾燥機を使用する場合はあらかじめ設定温度に加熱した蒸留水（以後、湯と略記）50 mL 程度を加え、アルミホイルで覆った後、軽く攪拌して静置加熱処理した。ここで、湯を用いたのは、水を注水して加熱を開始した場合、送風定温乾燥機内に静置する試料数によって液温が 80℃ に達するまでの時間が異なり、窒素抽出量に変動が認められたためである。処理後は室温

まで放冷した後に、アンモニウム態窒素の抽出およびろ液からの懸濁粘土粒子の除去を目的として 10% 硫酸カリウム溶液を 5 mL 添加し、軽く振とうした後、直ちに東洋濾紙社製濾紙 No.5C でろ過した。抽出水量は放冷後の重量から加水前の重量を減じて求めた。これは、湯の計量が困難であることと、処理中の蒸発を考慮するためであり、本試験における注湯量は 42～59 mL であった。なお、予備試験により ± 10 mL 程度の範囲では、抽出窒素量に差がないことを確認した。さらに、供試土壌に含まれる水分も考慮し、結果は乾土当たりで計算した。

表7 湿式加熱抽出温度の違いが抽出アンモニウム態窒素増加量、抽出有機態窒素および抽出有機態炭素に及ぼす影響

抽出条件	供試土壌			121℃ 1 時間			105℃ 1 時間					
	※1 全炭素	※1 全窒素	C/N比	※2 アンモニウム 態窒素	※3 可給態 窒素	アンモニウム 態窒素 増加量	有機態 窒素	有機態 炭素	アンモニウム 態窒素 増加量	有機態 窒素	有機態 炭素	
	(g kg ⁻¹)			(mg kg ⁻¹)			(mg kg ⁻¹)			(mg kg ⁻¹)		
全体 (n=60)	48.1	3.03	14.1	7.8	37.4	58.6	105	1,507	7.4	63.6	789	
非黒ボク土 (n=30)	12.9	1.27	10.4	5.8	37.8	37.6	74.9	955	5.0	52.7	598	
黒ボク土 (n=30)	80.8	4.67	17.4	9.6	37.1	78.1	133	2,022	9.7	73.1	967	
土壌別有意性※4	*	*	*	*	n. s.	*	*	*	*	*	*	
堆肥無施用 (n=19)	40.9	2.33	14.9	4.4	21.6	44.8	64.6	1,086	6.3	29.0	475	
堆肥連用 (n=41)	51.3	3.34	13.7	9.3	44.6	64.8	123	1,696	7.5	78.7	926	
堆肥施用別有意性※4	n. s.	*	n. s.	*	*	*	*	*	m. s.	*	*	
相関係数※5	0.11	0.31*	—	0.58*	1	0.38*	0.68*	0.50*	0.19	0.71*	0.55*	

抽出条件	100℃ 1 時間			100℃ 1 時間			80℃ 1 時間			25℃ 室温	
	アンモニウム 態窒素 増加量	有機態 窒素	有機態 炭素	アンモニウム 態窒素 増加量	有機態 窒素	有機態 炭素	アンモニウム 態窒素 増加量	有機態 窒素	有機態 炭素	有機態 窒素	有機態 炭素
	(mg kg ⁻¹)			(mg kg ⁻¹)			(mg kg ⁻¹)			(mg kg ⁻¹)	
全体	6.4	51.5	630	5.5	44.9	485	3.1	35.0	350	17.5	134
非黒ボク土	5.5	48.7	551	4.7	41.9	434	2.8	31.4	322	12.2	102
黒ボク土	7.3	54.1	705	6.2	47.6	532	3.3	38.4	376	22.5	164
有意性	*	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.	*	*
堆肥無施用	5.0	22.2	348	4.8	28.8	317	3.8	23.2	242	14.1	119
堆肥連用	6.6	64.7	757	5.8	52.1	560	2.1	40.3	349	19.1	141
有意性	n. s.	*	*	n. s.	*	*	*	*	*	*	n. s.
相関係数	0.02	0.71*	0.74*	0.17	0.77*	0.83*	0.35*	0.66*	0.85*	0.55*	0.50*

注)1 全炭素および全窒素は、SUMIGRAPH NC-95A(住化分析センター社製)で測定した。
 2 アンモニウム態窒素は、風乾細土を10%塩化カリウム溶液 (1:10) による30分間振とう抽出法で測定した値である。
 3 可給態窒素は30℃ 4 週間の湿潤条件によって培養期間中に増加した無機態窒素量である。
 4 土壌別有意性は非黒ボク土30点と黒ボク土30点、堆肥施用別有意性は堆肥無施用19点と堆肥連用41点の平均値の差の検定結果で、*は5%水準で有意差あり、n. s.は有意差なし。
 5 相関係数は、可給態窒素と各項目値間における試料全体の相関係数であり、*は危険率5%以下で有意な相関があり、無印は危険率5%で相関が有意でないことを意味する。
 なお、抽出硝酸態窒素は、いずれの抽出条件においてもほぼ同量であったため表記を省略した。

(2) 80℃16時間水抽出法における土壌風乾処理の有無による影響

供試土壌は新潟県、岐阜県、三重県および中央農業総合研究センターから収集した露地畑圃場の土壌 55 点、うち黒ボク土が 43 点、有機物施用土壌が 27 点で、それぞれ生土 (平均含水比 0.286 kg kg^{-1})、あるいは風乾後に 2 mm で篩別後 (平均含水比 0.068 kg kg^{-1})、供試試料とした。供試量は生土の場合 5.0 g、風乾細土の場合 3.0 g とし、家庭用の保温注湯機能付き電気ポットを用い、80℃の湯 50 mL 程度を注湯した後、80℃設定の送風定温乾燥器に 16 時間静置した。その他の操作は(1)と同様である。また、(1)および(2)の試験は 2 反復で行った。

(3) 80℃16時間水抽出法による多点土壌での検証

供試土壌は普通畑、野菜畑および飼料畑の作土層 330 点の風乾細土とした。土壌の種類は黒ボク土 243 点、非黒ボク土 87 点で、うち、可給態窒素が 100 mg kg^{-1} を超える試料が 60 点、硝酸態窒素が 100 mg kg^{-1} を超える試料が 40 点含まれていた。また、土壌の C/N 比の平均値は黒ボク土で 15.7、非黒ボク土で 15.2 であり、供試土壌の 8 割以上が堆肥施用圃場から採取したものであった。これらの土壌について、80℃16 時間水抽出法による抽出窒素量と、培養法による可給態窒素との関係を調査した。

(4) 分析方法

可給態窒素は、風乾細土に最大容水量の約 60 % になるように加水して湿潤土とし、30℃4 週間培養後の無機態窒素から培養前の無機態窒素を減じて算出した⁷⁾。培養前後の抽出液および前述の加熱処理抽出液の硝酸態窒素とアンモニウム態窒素はオートアナライザ (TRACCS800, ブラン・ルーベ) で測定した。なお、加熱処理によって抽出されたアンモニウム態窒素から 10 % 塩化カリウム溶液で風乾細土から抽出されるアンモニウム態窒素を差引いた値を抽出アンモニウム態窒素増加量とした。抽出液中の有機態炭素および全窒素は、適宜希釈後、TOC/TN 分析装置 (TOC-VCPH・TN ユニット付属、島津製作所) を用いて測定した。また、有機態窒素は全窒素から硝酸態窒素とアンモニウム態窒素を減じて算出した。

3 結果および考察

(1) 湿式加熱抽出法における抽出温度の検討

表 7 に抽出温度条件ごとの抽出アンモニウム態窒素増加量、有機態窒素および有機態炭素を示した。アンモニ

ウム態窒素増加量、有機態窒素および有機態炭素は抽出温度が高いほど多くなった。非黒ボク土試料と黒ボク土試料とで比較した場合、高圧蒸気滅菌器を使用した 121℃と 105℃および室温の 25℃抽出では、黒ボク土の抽出有機態窒素および有機態炭素が非黒ボク土に比べて有意に多かった。これに対して、送風定温乾燥機を使用した 100℃、80℃および 60℃では有機態窒素および有機態炭素の抽出量に非黒ボク土と黒ボク土間で差異が認められず、培養法による可給態窒素の傾向と一致した。熱水抽出による抽出窒素量と培養無機化窒素量の関係については、土壌の種類によって回帰係数が異なるという報告があり⁶⁾、本調査でも 121℃および 105℃ではこの傾向が明らかであった。しかし、抽出温度を低く設定することで土壌の種類の違いによる影響が次第に小さくなるため、同一回帰式で表すことが可能と考えられた。また、25℃の非加熱抽出では微生物由来の有機物の抽出量が少なく、腐植含量の差が抽出量に大きな影響を及ぼしたと考えられる⁵⁾。

供試土壌全体における抽出有機態窒素と可給態窒素との相関係数は 80℃が最も優れ、抽出有機態炭素との相関係数も高かったため、抽出温度は 80℃が適当であると考えられた。

一方、堆肥無施用試料と堆肥連用試料を比較すると、抽出有機態窒素および有機態炭素は、25℃を除くいずれの抽出温度においても堆肥連用試料で多く、可給態窒素の傾向と一致した。

(2) 80℃湿式加熱抽出法における抽出時間の検討

(1)で抽出温度は 80℃が適当であると判断したため、次に抽出時間の比較を行った。有機態窒素および有機態炭素の抽出量は、加熱処理 6 時間までは急激に増加したが、16 時間以降ではあまり増加しなかった。(図 4A, B)。抽出有機物の C/N 比は 6 時間までは土壌試料ごとの変動が大きく、8 時間以降は 10 ~ 14 に安定した (図 4C)。これは、加熱直後の短時間には様々な形態の有機物が加水分解されているためと考えられる。抽出硝酸態窒素は加熱時間に関係なくほぼ一定であった (図 4D)。

一方、抽出アンモニウム態窒素増加量は抽出時間の経過に伴って直線的に増加し (図 4E)、有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量に占めるアンモニウム態窒素増加量の比率も上昇した。Curtin et al.⁹⁾の報告でも、抽出時間が長いほど抽出全窒素に占めるアンモニウム態窒素の比率が上昇しており、増加したアンモニウム態窒素は抽出された有機態窒素化合物の一部が加熱によって加水分解されて生成したものであると推察している。

以上、加熱静置時間が 16 時間以上では有機態窒素の抽出量増加が少なく、処理時間が長いほうが抽出窒素の試料間差が明瞭になりやすいこと、処理後、室温まで放冷するために 2 時間程度を要することなどの分析操作上の利便性を考慮し、夜間の加熱処理を想定した 16 時間が抽出条件として適当と考えた。

105 °C 1 時間の熱水抽出法では、アンモニウム態窒素増加量が少ないため抽出有機態窒素での評価となっているが、121 °C 1 時間抽出の熱水抽出無機態窒素法では、アンモニウム態窒素増加量が多く、放冷後に塩化カリウム溶液を添加して抽出することによってアンモニウム態窒素増加量のみで評価している。一方、80 °C 16 時間水

抽出法では、抽出窒素のうち、有機態窒素から加水分解によって生じたアンモニウム態窒素の比率は平均で 25 %となる。後述するが、有機態窒素あるいはアンモニウム態窒素増加量の片方だけに比べ、両者の和で可給態窒素との相関が高くなるため、両者とも培養法で無機化する窒素との関連性が高いと推察される。

そこで、図 5 に(1)の加熱温度の試験における、培養法の可給態窒素と抽出有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量の関係を示す。それぞれ加熱時間 1 時間で比較したが、加熱温度が高いほど抽出有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量が多く、両者の関係は 80 °C が最も良好であることが確認できた。

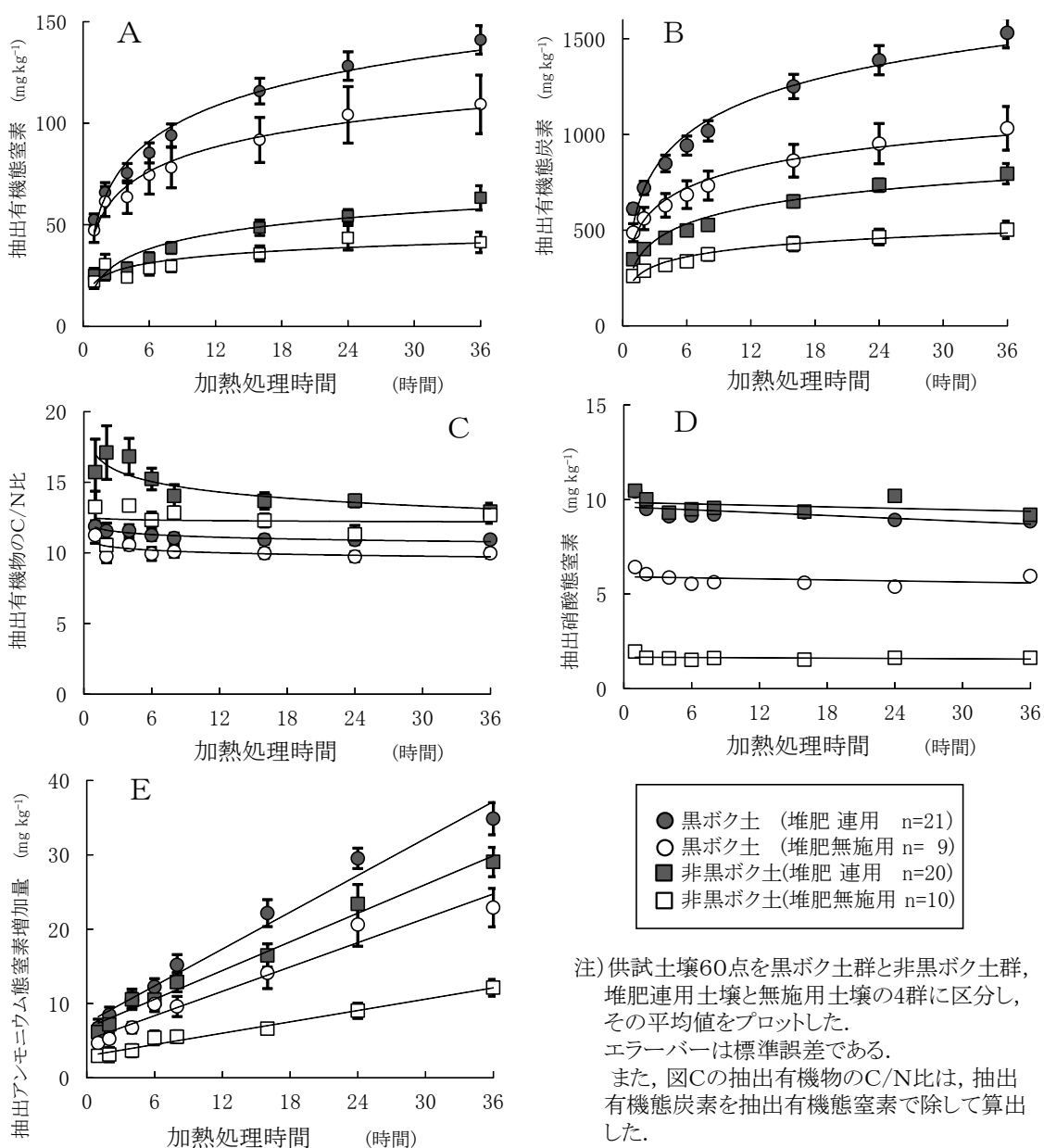


図4 加熱処理時間と抽出有機態窒素(A), 有機態炭素(B), 抽出有機物のC/N比(C), 硝酸態窒素(D)およびアンモニウム態窒素増加量(E)の関係

注) 供試土壌60点を黒ボク土群と非黒ボク土群、堆肥連用土壌と無施用土壌の4群に区分し、その平均値をプロットした。エラーバーは標準誤差である。
また、図Cの抽出有機物のC/N比は、抽出有機態炭素を抽出有機態窒素で除して算出した。

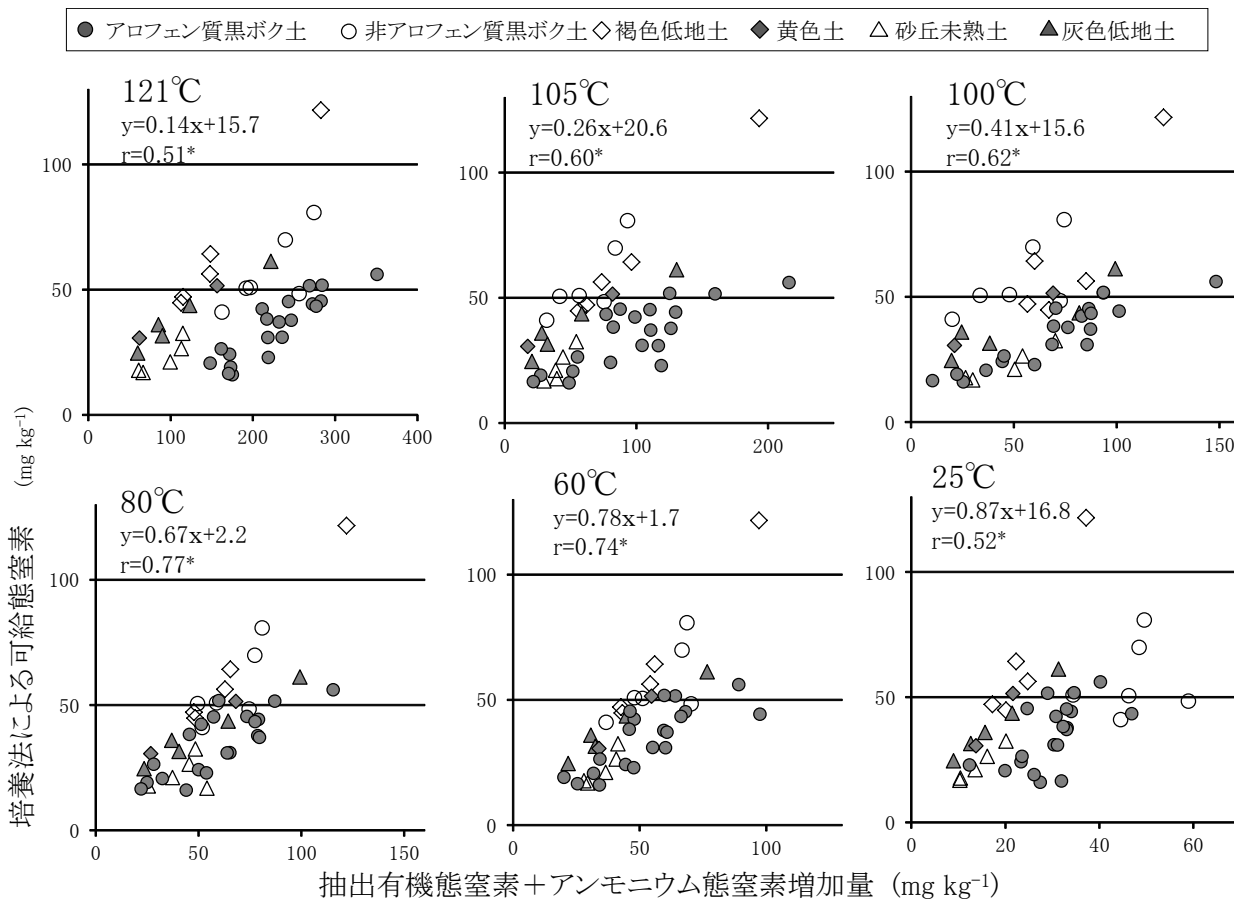


図5 抽出温度の違いによる抽出有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量と可給態窒素の関係
 注) 加熱抽出時間はそれぞれ1時間である. いずれの抽出温度の回帰式も, 危険率5%以下で有意な相関が認められる.

(3) 80°C16時間水抽出法における土壌風乾処理の有無による影響

Keeney and Bremner²⁹⁾は熱水抽出において風乾土, 未風乾土(生土)での窒素抽出量に違いがないことを報告している. そこで, 80°C 16時間水抽出法においても, 同一試料において風乾処理の有無によって窒素抽出量に違いがないか検討した. その結果, 両者の抽出全窒素, 有機態炭素量には差が認められず(図6), 有機態窒素, 無機態窒素にも差異はなかった. したがって, 本抽出法は生土でも適用可能であると判断できた. これは, 本法における生土からの抽出物中に, 土壌の風乾処理に伴って易分解性に変化する有機物が含まれていることを意味する. また, 10%塩化カリウム溶液抽出と80°C 16時間熱水抽出における硝酸態窒素抽出量にも差異が認められないことから, 八槇⁸¹⁾の開発した煮沸浸出法と同様に, 本法においても可給態窒素の推定と硝酸態窒素の測定が同一抽出液の分析で可能と考えられる.

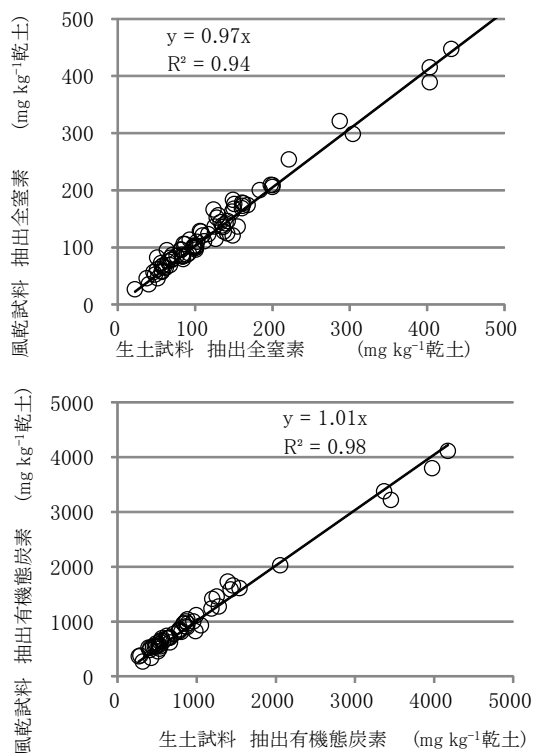


図6 80°C16時間水抽出法による生土試料と風乾試料の抽出全窒素(上)および抽出有機態炭素(下)

(4) 80℃16時間水抽出法による多点土壌での検証

前述の試験によって確定した 80℃ 16 時間水抽出法の妥当性を他の土壌試料で検証した。その結果、80℃ 16 時間水抽出法による抽出有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量と可給態窒素には、相関係数 0.87**、推定標準誤差 29 mg kg⁻¹ の良好な正相関が認められ、黒ボク土群、非黒ボク土群のそれぞれで作成した検量線の回帰係数にも有意差が認められなかった (図 7A)。

一方、可給態窒素含量との関係は、抽出アンモニウム態窒素のみでは相関係数 0.62、推定誤差 45 mg kg⁻¹ (図 7B)、抽出有機態窒素のみでは相関係数 0.73、推定誤差 38 mg kg⁻¹ (図 7C) で、両者の和による推定に比べて精度が劣り、特に、可給態窒素が 100 mg kg⁻¹ を超える試料が推定精度を低めた。これは、抽出有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量に占めるアンモニウム態窒素増加量の比

率が試料によって大きく変動するためである (図 7D)。以上により、本抽出法において、可給態窒素は抽出有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量で評価するのが妥当である。

抽出された有機物の C/N 比は 12.3 (平均値) ± 3.3 (標準偏差) で土壌ごとに変動したが、有機態炭素が加水分解反応によって二酸化炭素に変換される量を無視できると仮定して、抽出有機物の C/N 比を抽出有機態炭素 / (抽出有機態窒素+抽出アンモニウム態窒素増加量) で求めると 8.5 ± 1.6 となり、土壌の C/N 比 15.6 ± 5.4 に比べて明らかに低い傾向が認められる (図 8)。このことから、本法で抽出される有機物の主体は無機態窒素を放出しやすい易分解性有機物であると推察されるが、抽出有機物の化学的特性については「V 80℃ 16 時間水抽出物の化学的性質」で検討する。

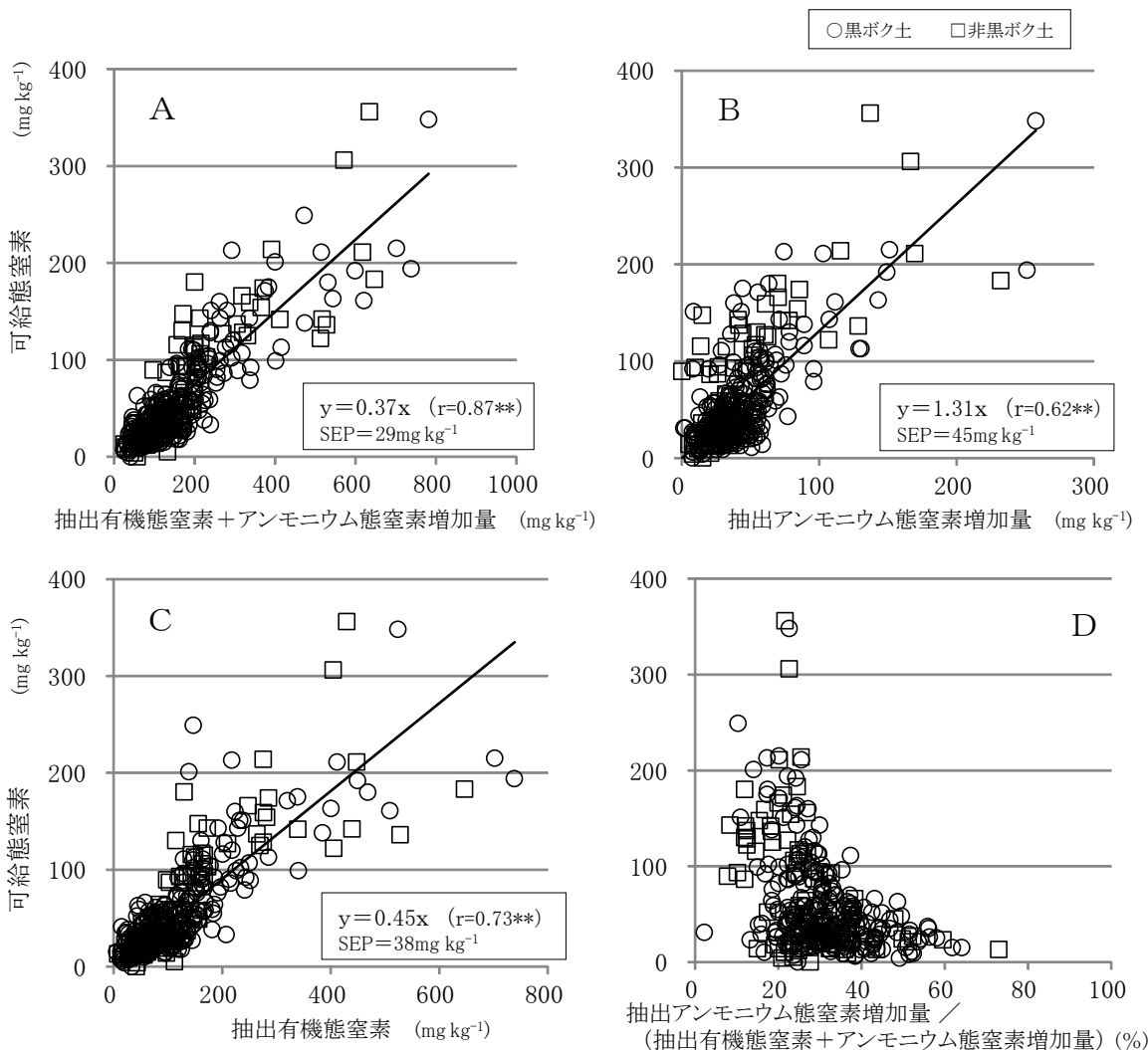


図7 80℃16時間水抽出法による抽出有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量(A), 抽出アンモニウム態窒素増加量(B), 抽出有機態窒素(C), および抽出アンモニウム態窒素増加量 / (抽出有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量) (D)と可給態窒素の関係

注) **:1%水準で有意であることを示す。

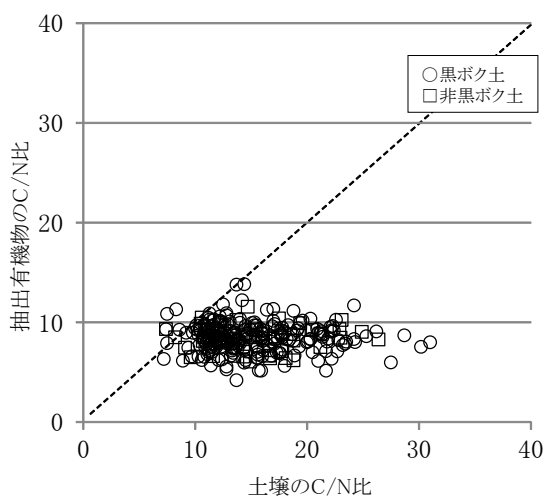


図8 土壌のC/N比と抽出有機物のC/N比の関係

注)抽出有機物のC/N比は、抽出有機態炭素を抽出有機態窒素+抽出アンモニウム態窒素増加量で除して算出した。

(5) 培養期間の違いと80℃16時間水抽出法による抽出窒素量の関係

80℃ 16 時間水抽出法による抽出有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量と可給態窒素の関係式 (図 7A) から、抽出有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量の約 40% が可給態窒素に相当することがわかる。それでは、残りの 60% は培養無機化に関係しない窒素なのであろうかという疑問が残る。ここで、可給態窒素は 30℃ 4 週間の培養条件で無機化する窒素であり、培養期間が長期化すると窒素無機化量も増加する。そこで、培養期間を 12 週間に延長し、その関係性を調査した。まず、30℃ 4 週間培養による可給態窒素 (y₁) と 12 週間培養無機化窒素 (x) の関係は $y_1 = 0.46x$, $r = 0.87^{**}$ で、両者は高い正相関を示した (図 9B)。次に、80℃ 16 時間水抽出法による抽出有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量 (y₂) と 30℃ 12 週間培養による窒素無機化量 (x) の関係は $y_2 = 1.05x$, $r = 0.85^{**}$ で、同じく高い正相関であった (図 9B)。すなわち、80℃ 16 時間水抽出法による抽出有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量はおよそ 30℃ 12 週間培養無機化窒素量に等しかったが、その詳細については、「80℃ 16 時間水抽出物の化学的性質」で検討する。

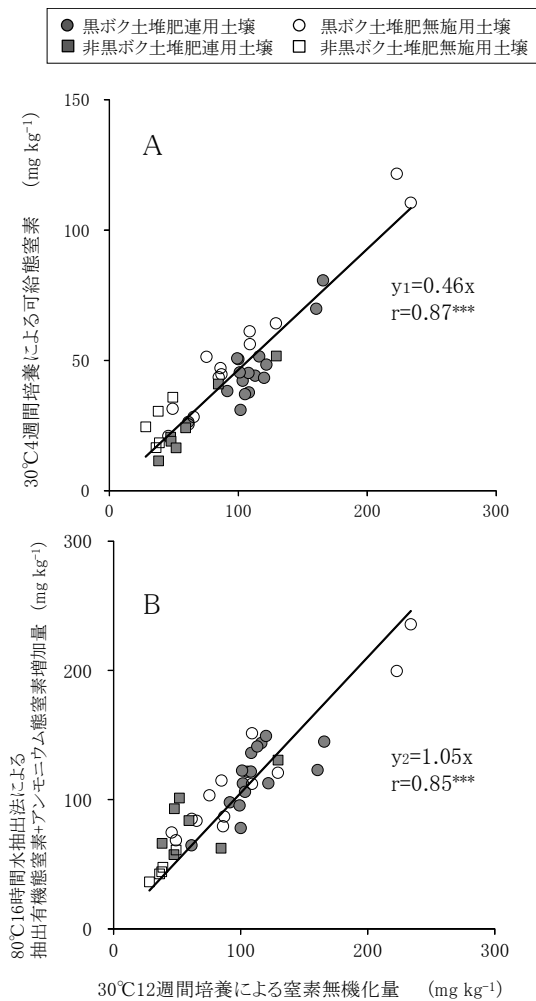


図9 30℃12週間培養による窒素無機化量(x)と可給態窒素(y₁)および80℃16時間水抽出法による抽出有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量(y₂)との関係

注) 土壌は表3の試料48点から一部を抜粋して供試した (n=41)

4 要約

露地畑土壌の可給態窒素を迅速に推定するため、湿式加熱法の抽出条件について検討した。抽出温度 121℃, 105℃, 100℃, 80℃, 60℃および常温の 25℃を比較した結果、培養法による可給態窒素と各抽出有機態窒素の相関係数は 80℃が最も優れ、抽出有機態炭素との相関係数も高かったため、抽出温度は 80℃が適当と考えられた。また、加熱抽出時間は長いほど抽出窒素の試料間差が明瞭かつ誤差が小さくなることや、分析操作上の利便性を考慮し、夜間の加熱処理を想定した 16 時間が抽出条件として適当と考えられた。

80℃ 16 時間水抽出法は、土壌の違いによる抽出窒素量への影響が小さく黒ボク土にも適用可能であり、堆肥連用土壌の評価にも利用できると考えられた。また、生土を用いた測定も可能であるため、圃場の採土から抽出まで 2 日間で操作が可能であり、生産現場で求められる測定の迅速性に十分応えられる抽出法といえる。

IV 80℃16時間水抽出液のCOD簡易測定による畑土 壤可給態窒素の迅速評価

1 緒言

「畑土壌に対する 80℃ 16 時間水抽出法による可給態窒素簡易評価法の適用性」の項で、畑土壌の可給態窒素の化学的抽出法として 80℃ 16 時間水抽出法の適用性が高いことを明らかにした。この抽出法は生土にも適用可能であることから、可給態窒素のより迅速な評価が可能となった。この方法では、抽出された有機態窒素とアンモニウム態窒素増加量の和から、30℃ 4 週間保温静置培養法で求める可給態窒素を推定する。しかし、抽出有機態窒素を測定するためには、抽出液の酸分解等による窒素無機化が必要であり、操作が煩雑で分析機器が整備された機関でなければ実施できない。近年では生産者自身が測定可能な土壌診断簡易キットの開発が進み、生産現場で簡易な土壌診断が実施できるようになってきた¹¹⁾。そこで、可給態窒素についても生産現場で迅速に実施可能な簡易評価法を開発しなければ普及性がない。抽出液を分解せずに窒素量を推定する方法として従来から吸光光度法が利用されてきたが、土壌の種類によって吸光度が異なる等の問題が指摘されている⁵⁷⁾。

可給態窒素は 80℃ 16 時間水抽出法による抽出有機態炭素とも高い正相関が認められる。これは、抽出有機物の C/N 比が土壌によらず、ほぼ一定であることによる。このことは、ニュージーランドの土壌を用いて 80℃ 16 時間水抽出法を検討した Curtin et al.⁵⁾も報告している。さらに、Sano ら⁵⁹⁾も種々の可給態窒素の簡易抽出法を検討し、抽出炭素量が抽出窒素量と同等以上に可給態窒素と高い相関を示すものがあり、抽出された有機物中の炭素の評価も、窒素無機化量を予測する上で有効であると報告している。

一方、化学的酸素消費量 (COD) は排水基準⁴⁴⁾や海域と湖沼の環境基準に用いられ、同一水源では全有機態炭素 (TOC) と高い正相関を示すことが知られている³⁰⁾。また、笠井ら²⁸⁾は COD 測定の公定法である過マンガン酸カリウム滴定による分析値と COD 簡易測定キットを用いた測定値との間に高い正相関を認めたと報告している。

そこで、80℃ 16 時間水抽出法において COD 簡易測定キットを用いた可給態窒素の推定を試みた。さらに、露地畑土壌だけでなく施設土壌での適用性についても検討した。

2 材料および方法

(1) COD簡易測定キットを用いた可給態窒素簡易評価法の検討

供試土壌は岩手県、茨城県、新潟県、岐阜県、三重県、京都府、香川県、福岡県、大分県、鹿児島県から収集した畑土壌 99 点の風乾細土とした。土壌の種類は黒ボク土 55 点、非黒ボク土 44 点で、有機物施用土壌が 55 点、無施用土壌が 44 点であった。定法の 30℃ 4 週間保温静置培養法で求めた可給態窒素含量 (土壌環境分析法編集委員会編, 1997) は最高 170 mg kg⁻¹、最低 9.7 mg kg⁻¹、平均 43.1 mg kg⁻¹であった。

80℃ 16 時間水抽出法は、前項の「畑土壌に対する 80℃ 16 時間水抽出法による可給態窒素簡易評価法の適用性」にしたがって操作した。すなわち、ガラス製三角フラスコに秤取した風乾細土 3.0 g に、80℃の湯 50 mL 程度を家庭用の保温注湯機能付き電気ポットを用いて注湯した後、予め 80℃設定した送風定温乾燥機内に 16 時間静置した。処理後は室温まで放冷した後に、10%硫酸カリウム溶液を 5 mL 添加し、軽く振とうした後、直ちに東洋濾紙社製濾紙 No.5C でろ過し、抽出液を得た。

培養前後の抽出液および 80℃ 16 時間水抽出液の硝酸態窒素とアンモニウム態窒素はオートアナライザ (TRACCS800, ブラン・ルーベ) で測定した。なお、加熱処理によって抽出されたアンモニウム態窒素から 10%塩化カリウム溶液で風乾土から抽出されるアンモニウム態窒素を差引いた値を抽出アンモニウム態窒素増加量とした。抽出液中の有機態炭素および全窒素は、適宜希釈後、TOC/TN 分析装置 (TOC-VCPH・TN ユニット付属, 島津製作所) を用いて測定した。また、有機態窒素は全窒素から硝酸態窒素とアンモニウム態窒素を減じて算出した。一方、簡易測定キットによる COD の測定には、測定範囲 0 ~ 100 mg O L⁻¹の市販製品 (COD パックテスト, 株式会社 共立理化学研究所製) を使用した。抽出液を蒸留水で 5 倍に希釈して検水 (液温 25℃) とし、取扱説明書にしたがってチューブ内に検水を半量 (1.5 mL 程度) 吸入し、軽く攪拌して 4 分 30 秒後に標準色版に照合して数値を判読した。また、数値が 13 mg O L⁻¹を超える場合は、色の判定が困難になるため、検水をさらに希釈して測定した。なお、COD 測定値は、図 19 に示す計算方法により、乾土 1 kg 当たりの酸素消費量に換算した。

(2) 生産者が測定可能な可給態窒素簡易評価法の開発

生産者自らが操作できる可給態窒素簡易評価法を開発するため「III 畑土壌に対する 80℃ 16 時間水抽出法に

よる可給態窒素簡易評価法の適用性」で示した抽出操作に改変を加え、その測定精度について検討した。抽出には送風定温乾燥機の代わりに、煎茶 80℃保温設定機能付き家庭用電気ポットを利用した。これに伴って、抽出器具をガラス製三角フラスコから 50 mL 容ポリプロピレン製遠沈管に変更した。また、蒸留水の代わりとして、予め COD 簡易測定キットで COD 値が 0 であることを確認した市販のミネラルウォーターを抽出と希釈の操作に使用した。さらに、冷却後に添加する 10%硫酸カリウム溶液 5 mL は塩化カリウム試薬 0.3 g に変更した。なお、塩化物イオンは COD 測定の際、妨害イオンになることが知られているが、COD 簡易キットに用いられている測定法は塩化物イオンの影響を受けにくいアルカリ性過マンガン酸カリウム酸化法であり、測定時に抽出液を 5 倍以上希釈することから、硫酸カリウム溶液を塩化カリウム試薬あるいは食塩に変更しても色の判定に影響は認められなかった。

すなわち、遠沈管に風乾土 3.0 g と電気ポットで 80℃にしたミネラルウォーター 50 mL を加えて蓋をし、よく攪拌した後、液漏れ防止のためのチャック付きポリエチレン袋に封入し、保温温度 80℃に設定した電気ポットの中に 16 時間浸漬した。本試験では、容量 4 L の電気ポットを使用し、遠沈管 13 本を同時に浸漬した。放冷後、塩化カリウム 0.3 g を加え、軽く振とう後、ろ過し、抽出液を得た。その後の COD 簡易測定手順は前述の通りである。

供試土壌は、前述の試料 99 点の中から無作為に抽出した 25 点とした。試験は 3 反復で行い、「Ⅲ 畑土壌に対する 80℃16 時間水抽出法による可給態窒素簡易評価法の適用性」の章で示した方法で測定した値と比較した。

(3) 施設土壌に対する適用性の検討

供試土壌は 2010 年に鹿児島県内の施設畑から収集した 120 点の風乾細土とした。施設果樹が 32 点、施設花きが 69 点、施設野菜が 19 点であった。土壌タイプ別では褐色低地土 25 点、黄色土 16 点、灰色低地土 18 点、黒ボク土 61 点であった。これらの土壌を供試して、30℃4 週間保温静置培養法による可給態窒素と 80℃16 時間水抽出-COD 簡易測定法で求めた判定値と比較した。

3 結果および考察

(1) COD簡易測定キットを用いた可給態窒素簡易評価法の検討

30℃4 週間保温静置培養法による可給態窒素(y)と 80℃16 時間水抽出法による抽出有機態窒素+アンモニウ

ム態窒素増加量 (x_1) との関係は、 $y=0.41 x_1$ で有意な正相関 ($r=0.86, p<0.001$) を認め、土壌の種類別 (図 10A)、堆肥施用の有無別 (図 10B) 別にプロットしても、同一回帰式で推定することが可能であった。また、80℃16 時間水抽出法による抽出有機物の C/N 比は、土壌の種類や有機物施用履歴に関係なく、概ね 8.9 の一定値を示した (図 11)。このことから、可給態窒素 (y) と 80℃16 時間水抽出法による抽出有機態炭素 (x_2) との関係は $y=0.046 x_2$ で、 x_1 と同様に有意な正相関 ($r=0.91, p<0.001$) を認め、80℃16 時間水抽出法では抽出有機態炭素も可給態窒素を推定するのに有効である (図 12)。

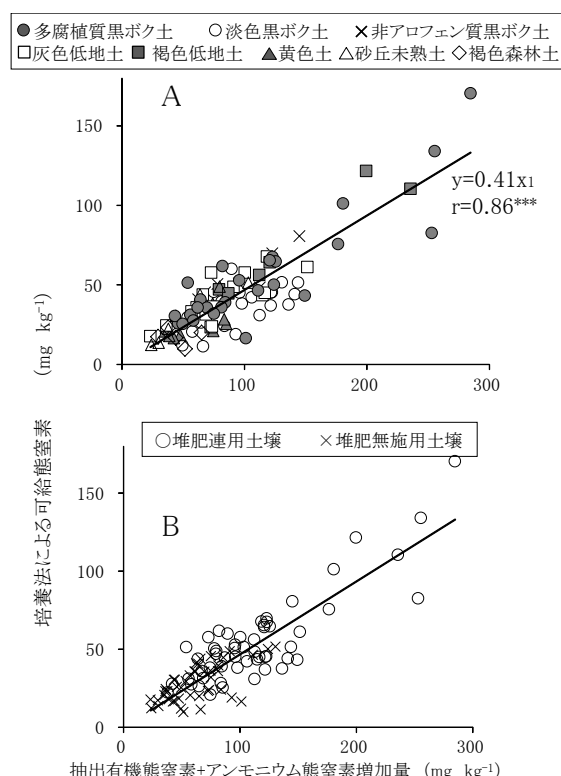


図10 80℃16時間水抽出法による抽出有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量と可給態窒素との関係 (注) 同一調査で、Aは土壌の種類別、Bは堆肥施用の有無別にプロットした

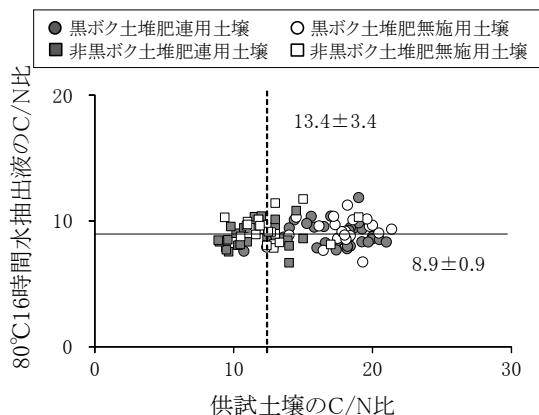


図11 供試土壌と80℃16時間水抽出液のC/N比 (注1)抽出液のC/N比は、抽出有機態炭素/(抽出有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量)

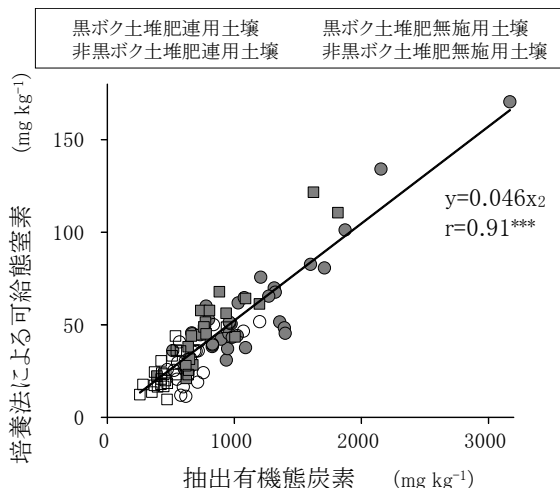


図12 80℃16時間水抽出法による抽出有機態炭素と可給態窒素との関係

一方、図 13 に示したとおり、80℃ 16 時間水抽出法による抽出有機態炭素 (x_2) と COD 簡易測定キットで測定した COD 値 (x_3) との関係は $x_2 = 0.68 x_3$ で極めて高い正相関 ($r=0.94, p<0.001$) を示した。そこで、最終的に可給態窒素 (y) と COD 簡易測定キットによる COD 値 (x_3) との関係を求めたところ、 $y=0.034 x_3$ で相関係数は x_1 および x_2 と同程度に良好で ($r=0.89, p<0.001$)、推定標準誤差は 12.0 mg kg^{-1} であった (図 14)。

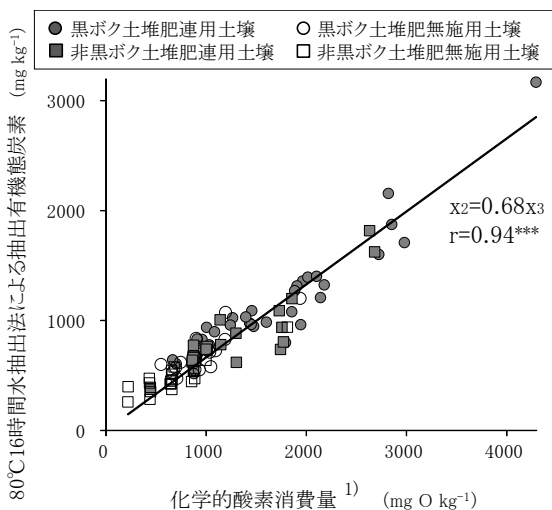


図13 80℃16時間水抽出液の化学的酸素消費量 (COD)と抽出有機態炭素(TOC)の関係

注1) COD簡易測定キットによる測定値を乾土当たりに換算した値。

簡易水質測定キットは、チューブに吸引した反応液を標準色版 (赤→紫→緑→黄) に照合して数値を判定する方法であり、 13 mg O L^{-1} を超える高濃度 (標準色: 緑～黄) では、色の判定が困難である。そこで、測定の際は、まず抽出液を 5 倍希釈して付属の標準色版で読み取り、検水が 13 mg O L^{-1} を超えた場合は、さらに 2 倍希

釈を繰り返すと判定が容易であった。本試験では、試料 99 点のうち、5 倍希釈で判定できた試料が 66 点、10 倍希釈が 26 点、20 倍希釈が 7 点であり、それぞれ可給態窒素に換算して 50 mg N kg^{-1} 以下、 $50 \sim 100 \text{ mg N kg}^{-1}$ 、 100 mg N kg^{-1} 以上に相当した。

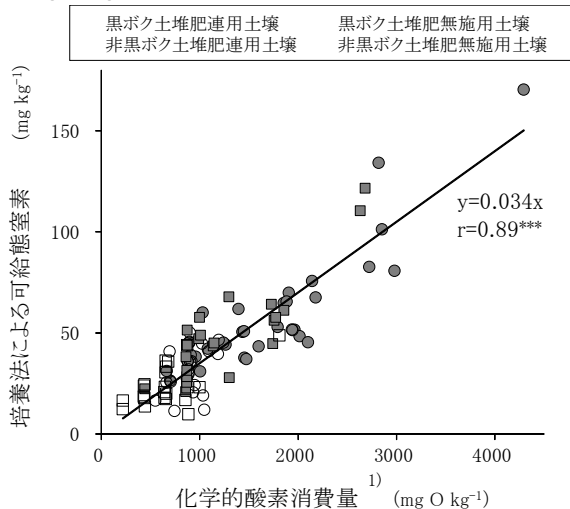


図14 80℃16時間水抽出法による化学的酸素消費量と可給態窒素との関係

注1) COD簡易測定キットによる測定値を乾土当たりに換算した値。

(2) 生産者が測定可能な可給態窒素簡易評価法の開発

80℃保温設定機能付き家庭用電気ポットの保温機能は極めて安定しており、16 時間内での温度変化は認められず、通風恒温乾燥機の代替として十分利用可能であった (図 15)。

表 8 に抽出操作法の違いが抽出有機態炭素および簡易 COD 測定値に及ぼす影響を示す。それぞれの方法で分析した有機態炭素および COD 測定値は、抽出操作法の違いによる有意な差が認められず、3 反復の変動係数も同程度であった。また、前述したとおり、80℃ 16 時間水抽出法において、抽出窒素量から可給態窒素を推定する場合の指標は「抽出有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量」になる。このため、加塩によって土壤に吸着しているアンモニア態窒素を抽出する必要がある。加塩しない場合、十分なアンモニウム態窒素の抽出ができず、過小評価になる恐れがある。一方、加塩の有無は抽出有機態炭素には影響しなかった (図 16)。このことは、80℃ 16 時間水抽出法において、抽出有機態炭素あるいは簡易 COD で評価する場合は、必ずしも加塩の必要はないことを意味する。ただし、加塩することで土壤粒子の分散が抑えられるため、ろ液の濁りが軽減できる。また、硫酸カリウム、塩化カリウムの他に、ナトリウム塩やカルシウム塩でも代替が可能であった (データ略)。

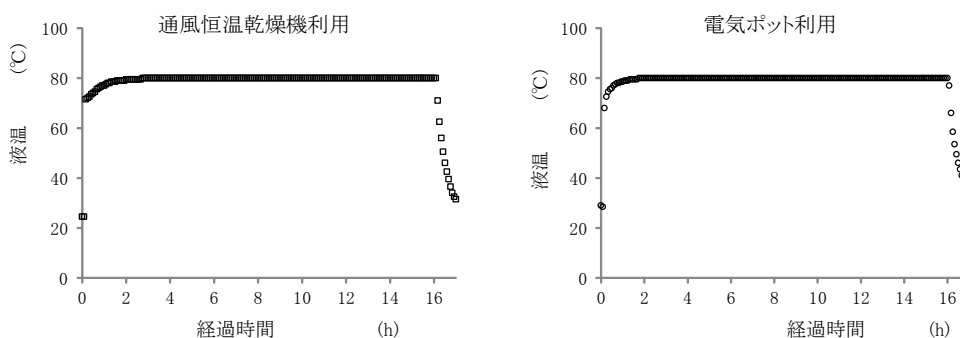


図15 80℃に設定した通風恒温乾燥機および電気ポットにおける抽出液温の時間経過

※温度は超小型温度記録計スーパーサーモクロン(KNラボラトリーズ)で計測した

表8 抽出操作方法の違いが抽出有機態炭素および簡易COD測定値に及ぼす影響

	通風恒温乾燥機抽出	電気ポット抽出
抽出有機態炭素 ²⁾ 平均值 (変動係数%) ⁴⁾	905 (5.1)	888 (4.5)
簡易COD測定値 ³⁾ 平均值 (変動係数%) ⁴⁾	1,275 (7.4)	1,257 (9.6)

注1) 土壌25点を供試し、それぞれ3反復で調査した分析値と変動係数の平均値を表記した。

2) 乾土当たり, mg kg^{-1}

3) COD簡易測定キットによる測定値, 乾土当たり, mg O kg^{-1}

4) 抽出有機態炭素と簡易COD測定値のそれぞれについて、抽出操作方法の違いによって、対応のあるt検定を行った結果、いずれも有意差は認められなかった。

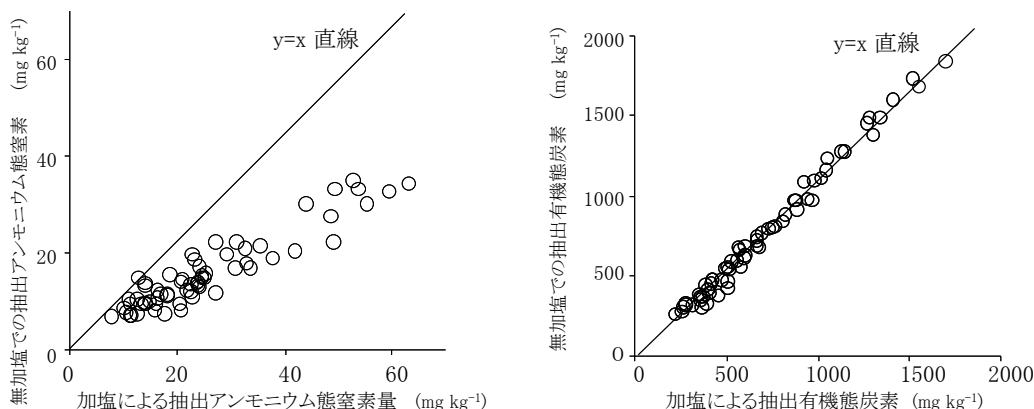


図16 80℃16時間水抽出法における抽出-冷却後の加塩(塩化カリウム)の有無が抽出アンモニウム態窒素および有機態炭素抽出量に及ぼす影響

(3) 施設土壌に対する適用性の検討

供試土壌の可給態窒素 (30℃ 4週間保温静置培養) の平均値は 96.2 mg kg^{-1} 乾土で、鹿児島県の土壌診断基準値²⁷⁾および地力増進基本方針の目標値である 50 mg kg^{-1} を大きく上回った。また、硝酸態窒素の平均値は 200 mg kg^{-1} 乾土で、露地畑(表3の供試土壌の平均は 23.1 mg kg^{-1} 乾土)に比べて多かった。図17に土壌のpH矯正の有無が可給態窒素におよぼす影響を示す。土壌が著しく酸性である場合、培養中に硝酸化成分が抑制され、可給態窒素を過小評価する恐れがあるが、供試した土壌ではそのような傾向は認められなかった。図18にCOD簡易測定値を、回帰式 $y=0.034x_3$ に当てはめて求めた可

給態窒素の推定値と、培養法による実測値の関係を示す。実測値と推定値の関係はほぼ $y=x$ 、推定標準誤差は 26 mg kg^{-1} であり、施設土壌でも80℃16時間水抽出液のCOD簡易測定値から可給態窒素が同一推定式で適用可能であった。

以上の結果から、畑土壌の可給態窒素は80℃16時間水抽出法とCOD簡易測定キットにより、迅速な推定が可能である。また、図6で示したとおり、生土を使用した分析でも同じ数値が得られるため、生産現場で速やかに活用できると考えられる。さらに、家庭で調達可能な物品でも測定可能である。その簡易操作手順を図19に示す。

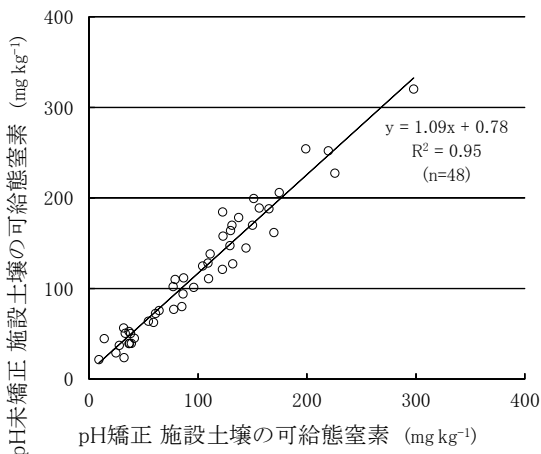


図17 施設土壌試料においてpH矯正の有無が30℃4週間培養法による可給態窒素に及ぼす影響

注) pH6.0以下の施設土壌48点を供試し、pH6.5を目標として炭酸カルシウムを添加して矯正した。
 添加した炭酸カルシウム量は、土壌10gに対して平均20.9mgで、pH矯正前土壌における平均pHは5.5(4.0~6.0)、矯正後には平均6.4(6.2~6.8)となった。

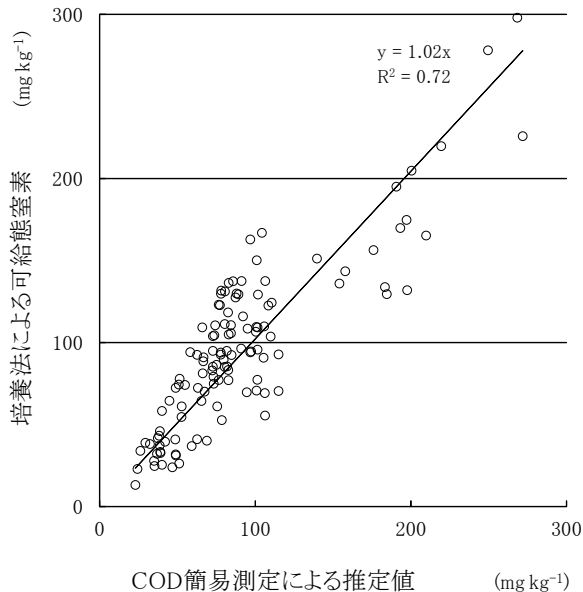


図18 施設土壌試料における抽出液の簡易COD測定による推定値と培養法による実測値との関係

事前に電気ポットの水を80℃保温状態にしておく・・・1)
 測定する畑土壌を準備する・・・2)

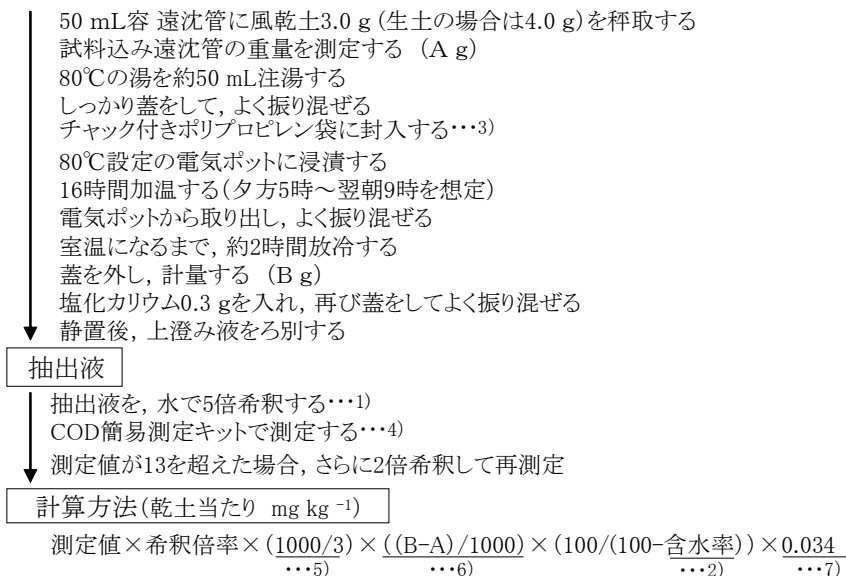


図19 80℃16時間簡易水抽出法の操作手順

- 注1) 市販のミネラルウォーターを使用する場合は、予めCOD値が0であることを確認する。
- 2) 別途、土壌の含水率を測定しておく。
- 3) 土壌懸濁液の漏れ防止のため。
- 4) COD簡易測定キットの取扱説明にしたがう。検水温によって反応時間が異なる。
- 5) 土壌を1 kg当りに換算(生土の場合は、1000/4)。
- 6) 抽出液を1 L当りに換算。
- 7) 簡易COD測定値を可給態窒素に換算する係数。

4 要約

80℃16時間水抽出法とCOD簡易測定キットを用いた、畑土壌の可給態窒素簡易評価法を開発した。本法は簡易、

迅速で高価な分析機器を必要としないため、生産現場での活用が期待できる。

V 80℃16時間水抽出物の化学的性質

①畑土壌の80℃16時間水抽出有機態窒素の分解特性

1 緒言

可給態窒素簡易評価法として提案する 80℃16 時間水抽出法は、抽出液中の有機態炭素または有機態窒素と加熱によるアンモニウム態窒素増加量との合計窒素量が、30℃4 週間培養法による窒素無機化量と比例関係にあることを利用して、可給態窒素を推定するものである。この 80℃16 時間水抽出液中の有機態炭素および有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量は、畑土壌や草地土壌の土壌肥沃度と良い相関があることが知られており^{5),13),69),70)}、本法は従来のリン酸緩衝液抽出法⁵²⁾などの可給態窒素簡易測定法に比較して、黒ボク土や堆肥等の有機物施用土壌についても適用できるという特徴がある⁶⁹⁾。また、この 80℃16 時間水抽出性有機物の化学形態は、主に炭水化物とタンパク質様物質から構成されているという報告がある^{13),32)}。そのため、抽出物に含まれる窒素の主成分であるアミノ糖やタンパク質様物質が比較的短時間に分解され可給態窒素の給源となると考えられる。しかしながら、抽出物には腐植物質などの難分解性の成分も含まれている²⁾。

可給態窒素を推定するための抽出法においては、培養中に微生物活動によって無機化されるであろう有機態窒素だけを抽出することが理想的であるが、現在、化学的抽出法によって可給態窒素だけを抽出する方法は確立されていない³⁵⁾。そこで、可給態窒素の供給源となる有機物の実体を明らかにするために、30℃4 週間培養窒素無機化量と相関の良い 80℃16 時間水抽出性有機物の分子化学的特徴を明らかにし、培養によってそれらがどのように変化しているかを検討する。すなわち、80℃16 時間水抽出される有機態窒素の約 40%が 30℃4 週間培養窒素無機化量に相当すること(図 7)から、抽出有機態窒素は無機化可能窒素とそれ以外の無機化に関与しない有機態窒素を含むものと予想され、無機化可能有機態窒素は土壌培養によって減少すると考えられる。そこで、培養過程において減少した抽出有機態窒素の特徴を分解有機物の炭素量と窒素量の比率(C/N 比)、抽出有機態窒素の分子サイズ分布、アミノ酸含量などから検討した。さらに、抽出有機態窒素の減少速度と窒素無機化速度を比較した。

2 材料および方法

(1) 供試土壌および培養条件

培養試験には、2 mm の篩を通過した多腐植質黒ボク

土、淡色黒ボク土、灰色低地土、黄色土の 4 種類の土壌(中央農研人工畑圃場：茨城県つくば市)を供試した。4 種類の土壌とも有機物連用区(植物残渣堆肥 2 kg m⁻² year⁻¹を 25 年間連用；以下有機物区)と有機物を施用していない化学肥料区(以下無施用区)の 2 つの施用区の土壌を用い、合計 8 種類の土壌について湿潤土培養を行った。土壌の全炭素、全窒素、および 30℃4 週間培養窒素無機化量を表 9 に示す。培養は直径 3.5 cm のガラス瓶に風乾土 10 g を入れ、最大容水量の 60%になるように超純水を加え 30℃で 14, 28, 56, 85, 112, 145 日間行った。培養中の土壌水分量を一定に保つために、1 週間毎に重量を測定し、減少した重量の水分を添加した。培養は 2 反復で行った。培養を終了した土壌は、30℃の通風乾燥機で約 2~3 日間風乾させ、分析に供した。

表9 土壌の全炭素量および全窒素量と30℃4週間培養窒素無機化量

注) 試料 番号	土壌の種類	有機物 施用	全炭素 全窒素		30℃4週間培養 窒素無機化量 (mg kg ⁻¹)
			(g kg ⁻¹)		
41	多腐植質黒ボク土	+	87.2	6.2	109
42		-	78.9	4.8	45
43	灰色低地土	+	29.7	3.1	72
44		-	12.2	1.1	42
45	黄色土	+	18.8	2.0	69
46		-	7.3	0.7	7
47	淡色黒ボク土	+	56.7	5.3	88
48		-	46.7	3.8	42

注) 試料番号は、表3に準ずる。

(2) 抽出方法

培養前後の風乾土 1.5 g に 25 mL の水および 2.5 mL の 10%硫酸カリウム溶液を加え 1 時間振とうし、抽出液中の無機態窒素の差し引きから土壌窒素の無機化を算出した。また、培養後の風乾土 1.5 g に 80℃水 25 mL を加え、通風乾燥機で 80℃16 時間加熱した。加熱後、試料を 1 時間ほど空冷し、2.5 mL の 10%硫酸カリウム溶液を加え、軽く振って再び 1 時間ほど定置後、濾過(濾紙：ADVANTEC No.5C)した抽出液を有機態炭素測定および溶存態窒素の形態別分析に供した。なお、超純水を用いてブランク試験を行ったところ、濾紙から 4 mg L⁻¹ の有機態炭素が溶出したため、これを測定値から差し引いた。抽出法の詳細については図 19 に従った。さらに、同様の抽出方法ではあるが分析上の理由(後述)から 10%硫酸カリウム溶液を添加しない試料をアミノ酸濃度分析および分子サイズ分布分析に供した。10%硫酸カリウム溶液の添加は、カリウム(K⁺)とアンモニウム(NH₄⁺)イオンの交換によって増加したアンモニウムイオンを正確に測定するために行われる。硫酸カリウム溶液は中性であり、抽出液中の有機物への影響は少ないと考えられるが、電解質であるため一部の土壌有機物が

凝析する可能性がある。そのため、10%硫酸カリウム溶液を添加しない試料で実施したアミノ酸濃度分析および分子量分布分析に関しては図 19 の手順による 80 °C 16 時間抽出物とは完全には一致しない。しかし、両分析は有機態窒素の実体を明らかにする手段として必要と考えた。また、両分析結果については、アミノ酸濃度や分子サイズの絶対値ではなく、経時変化に注目した考察を行った。

(3) 抽出物の形態別窒素および溶存有機態炭素の測定

抽出液の全炭素および全窒素は TOC/TN 分析装置（島津製作所 TOC- VCPH・付属 TN ユニット）を用いて発光分析法により測定し、硝酸態窒素、アンモニウム態窒素はオートアナライザ（TRACCS800, プランルーベ）で比色法により測定した。また、それぞれの抽出液の有機態窒素は、全窒素から硝酸態窒素およびアンモニウム態窒素を合算した無機態窒素を差し引いて求めた。また、加熱によって抽出液中のアンモニウム態窒素が増加するため、加熱前後のアンモニウム態窒素の差から増加したアンモニウム態窒素を求めた。

(4) 加水分解性アミノ酸含量の測定

アミノ酸量は、硫酸カリウム溶液を添加していない抽出液 20 μ L を 40 °C 設定の遠心エバポレーターで乾固後、定沸点塩酸（フェノールおよびメルカプトエタノール添加）で気相加水分解（110 °C 19 時間）した試料を脱塩、乾固後、*o*-フタルアルデヒド（OPA）試薬を含む pH9.4 のホウ酸緩衝液に溶解させ、高速液体クロマトグラフ（HPLC）により分離・測定した。測定したアミノ酸は、アスパラギン酸（Asp）、グルタミン酸（Glu）、ヒスジチン（His）、セリン（Ser）、アルギニン（Arg）、グリシン（Gly）、スレオニン（Thr）、アラニン（Ala）、チロシン（Tyr）、メチオニン（Met）、バリン（Val）、フェニルアラニン（Phe）、イソロイシン（Ile）、ロイシン（Leu）、リジン（Lys）の 15 種類である。アミノ酸分析には ODS カラム（Crest pack 18；日本分光）を用い、溶離液 A（0.5 mM 酢酸緩衝液, pH 6.0）と溶離液 B（メタノールとテトラヒドロフランの 90 : 10 混合液）のグラディエント法により分析を行い、蛍光検出器（検出波長 Ex340 nm, Em455 nm）で測定した（日本分光 2011 を一部改変）。また、一部のアミノ酸は加水分解によって減収するため、加水分解毎に標準試料アミノ酸をサンプルと同条件で加水分解し各アミノ酸の減収分を補正した。本測定では、硫酸カリウムを添加した試料を用いると、乾固時に塩が析出し、加水分解を阻害するためアミ

ノ酸回収率が低下する。そのため、本測定では、硫酸カリウムを添加しない試料を用いた。

(5) 分子量分布の測定

硫酸カリウム溶液を添加していない抽出液 50 μ L をサイズ排除 HPLC（カラム YMC-Pack Diol-120；溶離液 pH7 酢酸緩衝液）で分離し、分子量分布を発光分析装置（ANTEK8060）により測定した。測定方法は、Moriizumi and Matsunaga³⁸⁾に従った。標準物質として、ovalbumin（42 kDa）、myoglobin（17 kDa）、vitamin B-12（1.35 kDa）を用いた。また、thyroglobulin（670kDa）の溶出時間を排除限界（V₀）とし、示差屈折率計の溶媒（水）ピークを全浸透限界（V_t）とした。本測定では、硫酸カリウム添加溶液試料を連続測定すると発光分析装置のネブライザーが詰まり、測定精度に著しく影響を与えるため、硫酸カリウム無添加抽出溶液を試料として用いた。ただし、2 サンプルについて硫酸カリウム溶液を添加した試料と無添加の試料について測定を行ったところ、アンモニウムイオンの量は異なるが有機態窒素の分子量分布は一致していた。硫酸カリウム溶液を添加した試料では、土壤に吸着したイオン交換性のアンモニウムイオンはカリウムイオンと交換するため増加する。

(6) 窒素無機化モデルと抽出有機物の炭素および窒素の分解モデル

窒素無機化速度および抽出有機物の分解速度を計算するためには分解モデルを想定する必要がある。窒素の無機化モデルには 0 次反応または単数または複数の給源を仮定した一次反応モデルが用いられている³⁾。本報では、窒素無機化モデルとしては、下記のような一次反応式を用いた。

$$MN = MN_0 (1 - e^{-kt}) \quad (1)$$

ここで、無機化窒素は MN であり、MN₀ は反応前の可給態窒素量である。また、無機化速度を k とする。

土壤有機物の分解に関しては、一般に土壤有機物の異なる分解特性を持つ複数の成分を仮定した並列型一次反応分解モデルが提案されている^{54), 60)}。また、土壤の溶存有機態窒素には、遊離アミノ酸に代表されるような分解時間が数時間と短い低分子の有機態窒素、より分子量の大きな数日～数ヶ月で無機化する高分子の有機態窒素、および難分解性の有機態窒素が含まれると考えられており²⁹⁾、分解モデルにはこれら複数の給源を仮定した一次反応モデルが用いられる¹⁴⁾。本報では、抽出液中の遊離アミノ酸は有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量の 8%以下と少量であること、土壤の培養期間が最大

142 日であることから、分解モデルとして数ヶ月で分解する易分解性有機物と培養期間内には分解しない難分解性有機物の 2 種類の給源を仮定した。分解速度式は以下のとおりである。

$$C = C_0 + C_1 e^{-at} \quad (2)$$

$$N = N_0 + N_1 e^{-bt} \quad (3)$$

ここで、抽出液の有機態炭素および有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量は C および N である。また、 C_1 は易分解性有機態炭素、 C_0 は難分解性有機態炭素、 N_1 は易分解性有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量、 N_0 は難分解性有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量であり、それぞれの分解速度を a, b とする。

本論では、上記モデル式で、MN、C および N の分解速度を見積もった。実測値とモデルの決定係数 (R^2) は許容誤差 0.1 % で、それぞれ 0.94 ~ 0.99, 0.76 ~ 0.99, 0.77 ~ 0.99 であり、良い適合性を示した。なお、回帰曲線および統計計算にはカレイダグラフ 4.1 (HULINKS) を用いた。

3 結果

(1) 培養期間中の無機化窒素量および抽出物の有機態炭素、有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量の変化

培養期間全体 (142 日間) の無機化窒素量は、培養期間が長いほど増加した (図 5-1)。抽出される有機態炭素および有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量は、培養期間が長いほど減少した (図 5-2)。有機態炭素は、培養期間に有機物区では 300 ~ 500 mg kg⁻¹、無施用区では、200 ~ 300 mg kg⁻¹ が減少したが、いずれの土壌

培養期間を通して相当量の有機態炭素が抽出された。一方、有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量は、培養期間に有機物区では 60 ~ 100 mg kg⁻¹、無施用区では 30 ~ 40 mg kg⁻¹ が減少し、有機態炭素と同様に有機物区の減少程度が無施用区に比べて大きかった。抽出された全窒素中の有機態窒素の割合は培養期間が長くなるほど低下し、有機物区では有機態窒素が培養前には 65 ~ 70 % であったのに対し、142 日後には多腐植質黒ボク土、黄色土、灰色低地土では約 30 % に、淡色黒ボク土では 10 % に低下した (図 5-3)。また、無施用区土壌の抽出性有機態窒素の割合は、培養前に多腐植質黒ボク土は 60 %、淡色黒ボク土および黄色土では 55 %、灰色低地土では 70 % であったものが、培養後には 10 ~ 20 % に低下した (図 5-3)。これは、有機態窒素が無機化し、無機態窒素の割合が高くなったためと考えられる。無機態窒素のうち、硝酸態窒素は有機物施用の有無に関わらず、いずれの土壌においても培養期間が長くなるほど増加した。一方、アンモニウム態窒素は、有機態窒素の無機化による増加と並行して、硝化によって硝酸態窒素に変化して減少するものがある。多腐植質黒ボク土では培養 14 ~ 28 日後に、そのほかの土壌では培養 0 ~ 14 日後に減少し、その後の変化量は小さかった (図 5-3)。すなわち、有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量の変化は主として有機態窒素量の減少によるものであると判断した。有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量の減少量は、50 ~ 70 日以降ではわずかであるが (図 5-2)、土壌中有機態窒素の無機化は 70 日以降も続いていることから (図 5-1)、無機化する有機態窒素が抽出物以外の画分にも含まれていると考えられる。

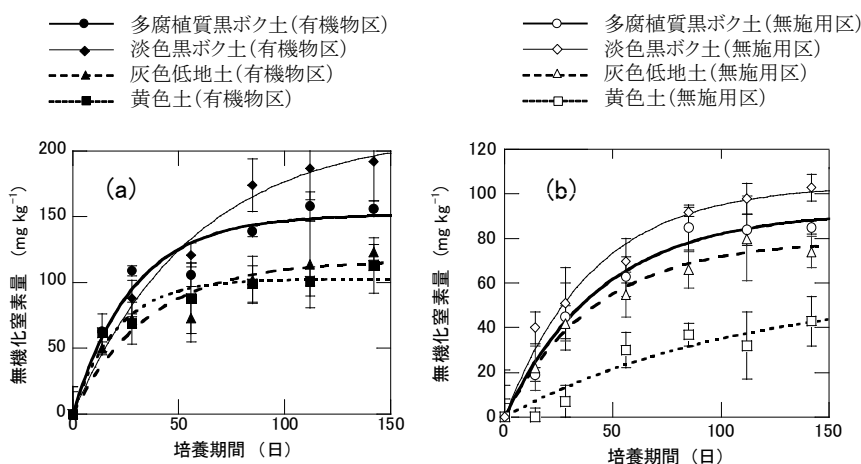


図20 無機化窒素量の変化

(a) 有機物区土壌の無機化窒素量の変化, (b) 無施用区土壌の無機化窒素量の変化
エラーバーは標準偏差

においても、

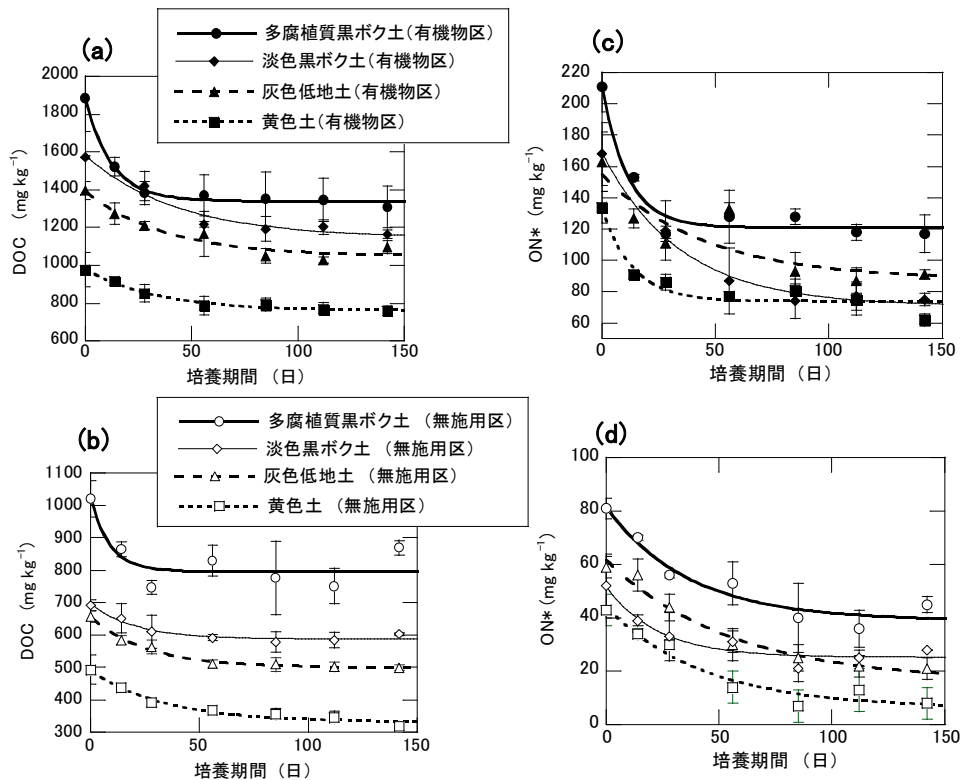
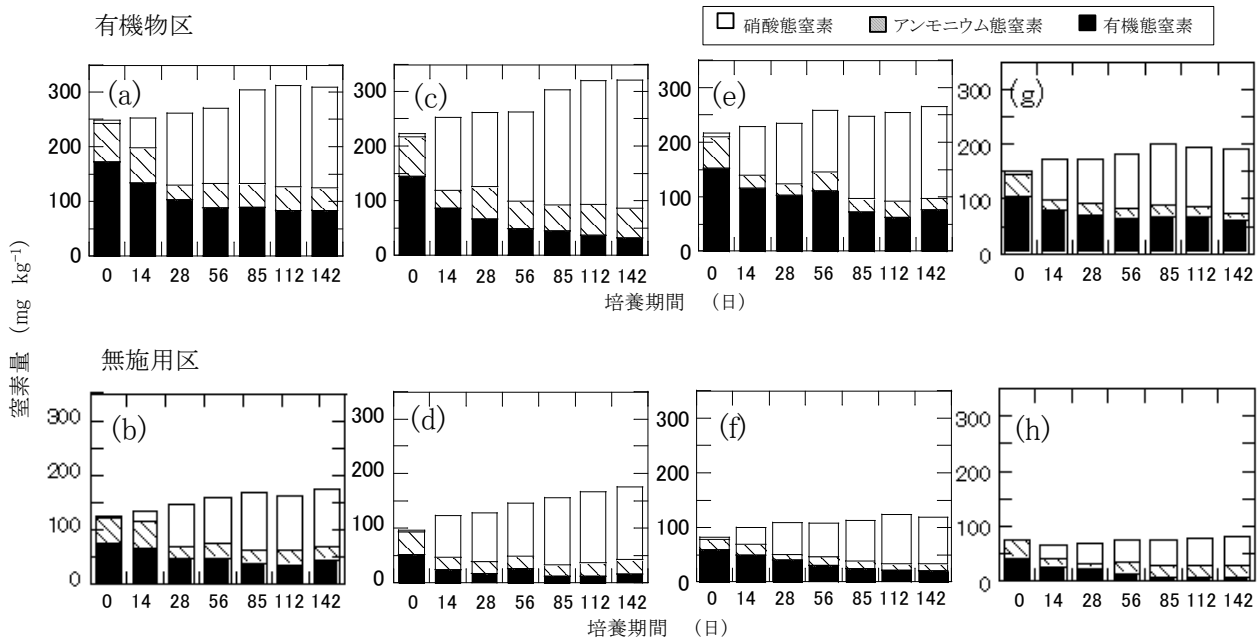


図21 培養期間における80℃水抽出物の溶存有機態炭素量(DOC)および有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量(ON*)

(a) 有機物区土壤のDOC量の変化 (c) 有機物区区土壤のON*量の変化
 (b) 無施用区土壤のDOC量の変化 (d) 無施用区土壤のON*量の変化



(a)多腐植質黒ボク土(有機物区) (c)淡色黒ボク土(有機物区) (e)灰色低地土(有機物区) (g)黄色土(有機物区)
 (b)多腐植質黒ボク土(無施用区) (d)淡色黒ボク土(無施用区) (f)灰色低地土(無施用区) (h)黄色土(無施用区)

図22 培養期間における窒素の化学形態の変化

(2) アミノ酸量と組成

図 23 に多腐植質黒ボク土の抽出物の加水分解性アミノ酸量の培養期間内の変化を示した。加水分解性アミノ酸の量は、全ての処理区で培養期間が長くなるに従って減少した。アミノ酸の組成は、有機物区の方が無施用区よりも若干 Asp や Glu の割合が高かった。しかしながら、各土壌抽出物の培養期間中のアミノ酸組成はほぼ一定であり、中性アミノ酸 Gly, Ala が最も多く、次に酸性アミノ酸 Asp, Glu, さらに中性アミノ酸 Ser, Thr, Val,

Leu などが主成分であった。したがって、抽出液は培養期間によらず類似したアミノ酸組成の有機物を含んでいたと考えられる。本測定では、試料として硫酸カリウム無添加の抽出液を用いたため、土壌の荷電表面に保持されている交換性の遊離アミノ酸は定量的に測定されなかった可能性がある。しかしながら、硫酸カリウム添加前後の有機態窒素量にはほとんど変化がなかったため、そのような交換性アミノ酸は存在していたとしても少量と考えられる。

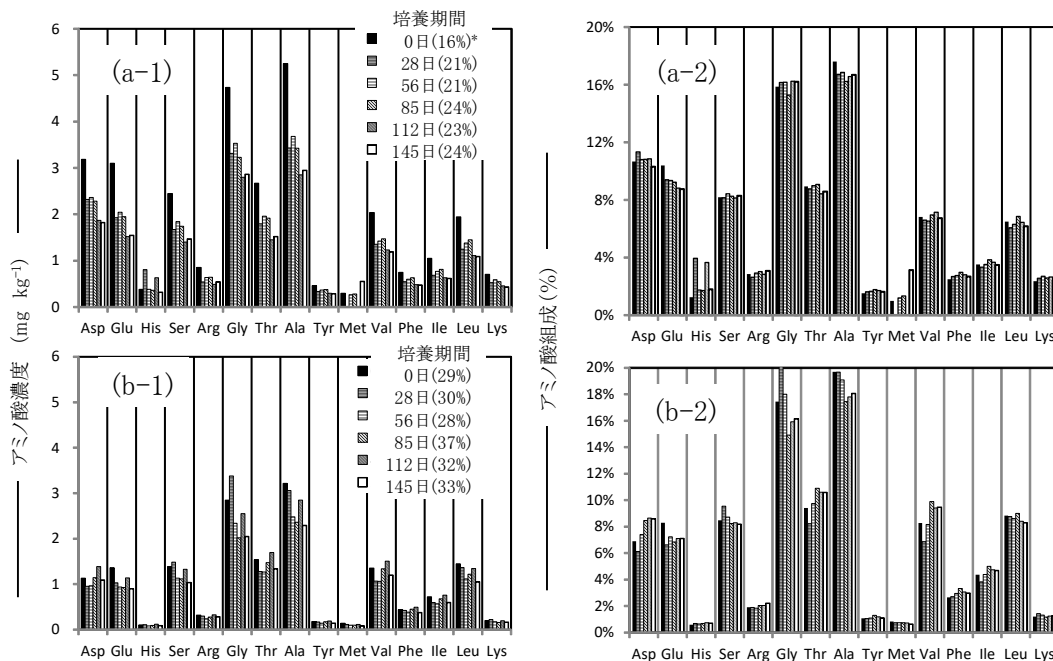


図23 抽出物の加水分解性アミノ酸濃度と組成

(a-1)(a-2)多腐植質黒ボク土有機物区, (b-1)(b-2)多腐植質黒ボク土無施肥区
* 培養期間日数の後の()内の数字は加水分解率(アミノ酸態窒素量の合計/有機態窒素量)を示す。

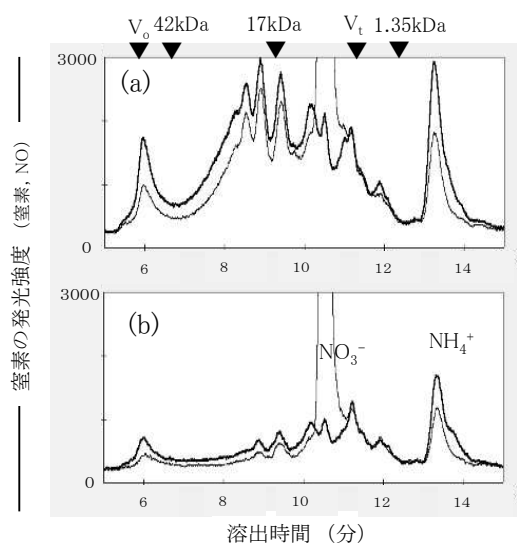


図24 培養前後の水抽出性窒素のサイズ排除クロマトグラム

(a) 多腐植質黒ボク土有機物区, (b) 多腐植質黒ボク土無施肥区
*太線は培養前、細線は培養85日目の土壌の抽出物
▼は標準タンパク質の溶出時間(ovalbumin 42 kDa, myoglobin 17 kDa, vitamin B-12 1.35 kDa) および排除限界(Vo),全浸透限界(Vt)
* YMC-Pack Diol120はシリカ系カラムであるため、NO₃⁻はSiO₂と反撥し早く溶出し、NH₄⁺は、SiO₂と弱く結合し遅く溶出する。

(3) 分子サイズ分布

図 24 に培養前と培養 85 日目の土壌抽出液の有機態窒素の分子サイズ分布を示す。抽出液の有機態窒素の分子サイズは標準タンパク質の分子量が数十万 Da から数千 Da までの広範囲に相当する。85 日目以外の分子サイズ分布については、図が煩雑になるため省略するが、培養期間が長くなるほど抽出液の有機態窒素は減少し、溶出時間が 10 分よりも早い数十万～数万 Da の有機態窒素は顕著に減少していた。一方、溶出時間 12 分程度の数千 Da の分子サイズの有機態窒素はほとんど減少していなかった。ただし、無施用区の淡色黒ボク土では、全ての分子サイズにおいて、有機態窒素が減少していた。

4 考察

(1) 無機化窒素量と抽出有機態窒素減少量の関係

図 25 に各培養期間における無機化窒素量と抽出有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量の減少量の関係を示した。培養期間が長くなると無機化窒素量は増加する。一方、培養後の 80℃ 16 時間水抽出の有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量は培養前に比べて減少し、無機化窒素量が多いほど減少する量も多くなる。80℃ 16 時間水抽出物には、培養中に新たに他の画分から供給された有機物も含まれると考えられるため、真の有機態窒素+

一定になるが(図 21) 無機化窒素量は 50 日以降も増加する傾向が顕著である(図 20)。そのため、80℃ 16 時間水抽出画分以外の有機態窒素も無機化していると考えられる。

窒素の無機化速度(表 10)と有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量の減少速度(表 11)を比較したとき、両者が一致していれば窒素の無機化速度は 80℃ 16 時間水抽出窒素の分解で説明できるが、多腐植質黒ボク土、淡色黒ボク土、黄色土では無機化速度のほうが遅く、灰色低地土では無機化速度のほうが速かった。今後、より

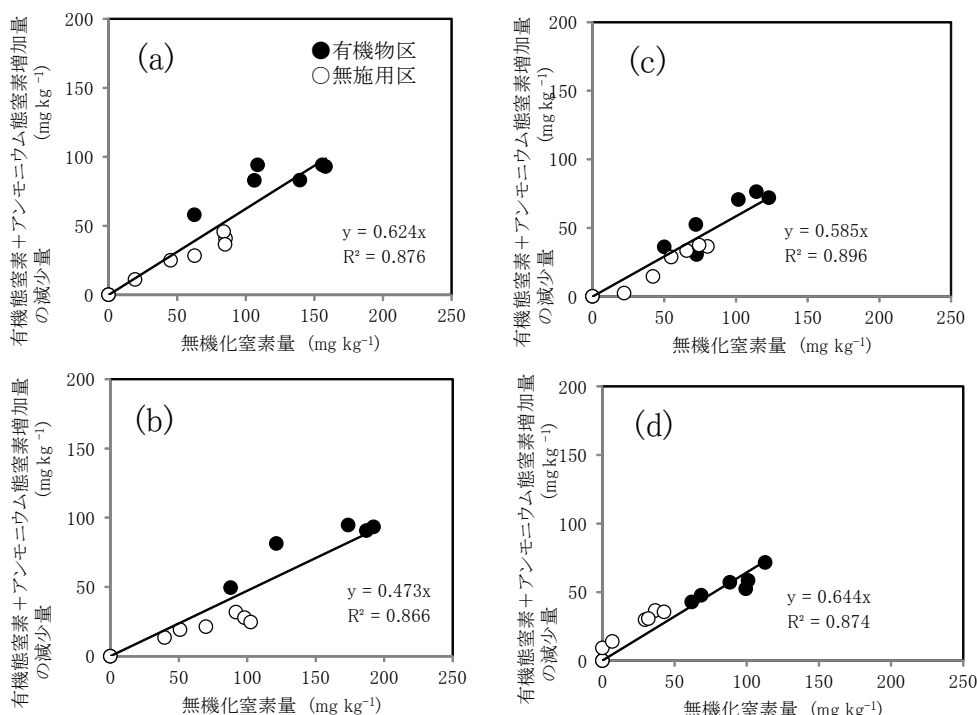


図25 各培養期間の無機化窒素量と80℃16時間抽出有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量の減少量¹⁾

(a)多腐植質黒ボク土、(b)淡色黒ボク土、(c)灰色低地土、(d)黄色土

1) 有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量の減少量は、培養前の量から培養後の量を差し引いて求めた。

アンモニウム態窒素増加量の減少量は不明であるが、有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量が培養期間内にほぼ消失する土壤もあることから、水溶性画分への供給量よりも硝酸態窒素への変換量が多いと考えられる。図 25 に示した回帰式の回帰係数から、多腐植質黒ボク土は 62 %、淡色黒ボク土は 47 %、灰色低地土は 59 %、黄色土では 64 % が培養期間内に無機化された窒素量に対する有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量の寄与率といえる。すなわち、淡色黒ボク土以外の土壤では土壤全体から無機化する窒素の約 60 % が 80℃ 16 時間水抽出性有機態窒素によるものと考えられる。一方、淡色黒ボク土は、有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量の寄与率が 47 % で他に比べて低い。淡色黒ボク土の有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量は培養期間 50 日以降でほぼ

多くの種類の土壤について調査し、窒素の無機化速度を決定づける土壤有機物と 80℃ 16 時間水抽出法で抽出される有機物の関係性について解明する必要がある。

表10 窒素無機化速度の解析結果

土壤タイプ	有機物 施用	無機化速度 k	MN ₀ (mgkg ⁻¹)	半減期 (日)
多腐植質黒ボク土	+	0.04	151	20
	-	0.02	92	32
灰色低地土	+	0.02	214	40
	-	0.02	104	28
黄色土	+	0.03	116	25
	-	0.02	79	29
淡色黒ボク土	+	0.05	103	14
	-	0.01	58	77
平均値	+	0.03	146	25
	-	0.02	83	41

(2) 抽出有機物の分解速度

表 11 に抽出有機態炭素と抽出有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量の減少速度の解析結果を示す。C₁ / (C₁+C₀) および N₁ / (N₁+N₀) を分解率とすると、有機態炭素の分解率は 17 ~ 37 % である。一方、有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量の減少率は 43 ~ 90 % であり、有機態炭素の分解率よりも高い。したがって、培養期間内に有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量の大部分が分解しているのに対し、有機態炭素はその一部が分解しているに過ぎないと考えられる。有機物区土壌抽出物の有機態炭素および有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量の減少速度は、有機態炭素が半減期平均 21 日、有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量が平均 18 日ではほぼ同じであるが、そのなかで、多腐植質黒ボク土および黄色土の有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量は減少速度が速く、半減期はそれぞれ 8 日と 9 日であった(表 11)。一方、無施用区土壌の抽出物の有機態炭素と有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量の半減期は淡色黒ボク土 (15 日および 16 日) と黄色土 (24 日および 26 日) ではほぼ等しく、多腐植質黒ボク土と灰色低地土では、炭素に比べて窒素の方の減少速度が遅かった (多腐植質黒ボク土は C₁ が 6 日で N₁ が 25 日、灰色低地土は C₁ が 18 日で N₁ が 38 日)。以上の結果から、抽出物の有機態炭素および有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量の減少速度は、半減期数十日程度ではほぼ同等であるが、一部の土壌において分解速度が半減期 10 日以内の速い場合があることが分かる。多腐植質黒ボク土は有機態炭素と有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量の半減期が他の土壌よりも短く、C₁/N₁ が大きい。これは、アミノ糖や糖などの C/N 比が高く分解時間が数時間と非常に速い成分の影響を受けるためと考えられる^{16), 55)}。以上、抽出有機物の分解速度は土壌の種類や有機物施用履歴などに影響されるため、より精密な分解モデル構築には、さ

らに多くのデータ解析やアミノ糖含量等の計測が必要であり、今後の課題である。

(3) 分解される有機物の特徴

分解に関与する有機物の C₁/N₁ は 3.4 ~ 6.0 であり、タンパク質の C/N 比に近く⁴⁰⁾、抽出液中の加水分解性アミノ酸量も減少すること(図 23)から、分解する有機物は主にタンパク様物質だと考えられる。なお、アミノ酸組成は培養期間にほとんど変化していないため、土壌に供給された窒素は細菌などに変換され、それらの遺体の腐植化の過程で一定の組成を持つようになるためと考えられる⁶¹⁾。また、主として比較的分子サイズが大きな数万 Da ~ 数十万 Da に相当する有機態窒素が培養期間内に減少している(図 24)。減少する有機物は、可視光 420nm の吸収を持っており、同様の特徴を持つ堆肥中の有機態窒素は腐植酸と結合していると考えられていることから³⁶⁾、本研究における有機態窒素も腐植酸と結合あるいは混在していると考えられる。そのため、分子サイズの大きな腐植に結合した有機態窒素が優先的に無機化され、分子サイズの大きな有機物が分解することで、分子サイズの小さな有機物に変化していると考えられる。分解に関与しない有機物の C₀/N₀ は 9.5 以上であり、窒素の分解率 {N₁ / (N₀ + N₁)} が高いほど大きい値を示す (R²=0.85)。これは、分解率が高い土壌は培養期間内にタンパク質様物質等の窒素を含む成分が減少し、より難分解性の炭素に富む成分の比率が高まるためと考えられる。

以上の結果から、80 °C 16 時間水抽出物に含まれ無機化に寄与する画分は数万 Da ~ 数十万 Da の分子サイズの大きな有機態窒素であり、易分解性成分の C₁/N₁ 比はタンパク質に近く、タンパク質様物質が分解し、無機化窒素を供給していると推察される。タンパク質様物質の存在状態は未解明であるが、土壌炭素有機物の炭素骨格

表11 抽出液の有機態炭素および有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量の減少速度解析結果

土壌タイプ	有機物 施用	減少速度		C ₀ (mgkg ⁻¹)	C ₁ (mgkg ⁻¹)	N ₀ (mgkg ⁻¹)	N ₁ (mgkg ⁻¹)	C ₁ /N ₁	C ₀ /N ₀	分解率		半減期(日)	
		a	b							C ₁ /(C ₀ +C ₁)	N ₁ /(N ₀ +N ₁)	C ₁	N ₁
多腐植質黒ボク土	+	0.08	0.09	1280	545	121	91	6.0	10.6	30%	43%	9	8
	-	0.11	0.03	734	226	39	42	5.4	18.8	24%	52%	6	25
淡色黒ボク土	+	0.02	0.03	1086	438	70	98	4.5	15.5	29%	58%	30	24
	-	0.05	0.04	526	108	25	26	4.2	21.0	17%	51%	15	16
灰色低地土	+	0.03	0.02	907	414	88	67	6.2	10.3	31%	43%	23	31
	-	0.04	0.02	439	156	16	46	3.4	27.4	26%	74%	18	38
黄色土	+	0.03	0.07	700	219	74	59	3.7	9.5	24%	44%	23	9
	-	0.03	0.03	271	158	4	36	4.4	67.8	37%	90%	24	26
平均値	+	0.04	0.05	993	404	88	79	5.1	11.5	28%	47%	21	18
	-	0.06	0.03	493	162	21	38	4.3	33.8	26%	67%	16	26

に結合したタンパク質様物質が脱離することにより無機化窒素が供給される可能性もある。今後は土壤有機物とタンパク質様物質の分子結合状態を明らかにすることが重要であろう。

(4) 可給態窒素推定法としての80℃16時間水抽出法の適用範囲

培養後の土壤の80℃16時間水抽出物は無機化窒素量に対する有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量の減少量の割合が47～64%であること(図25)から、抽出物は無機化する有機態窒素の給源の主成分である。さらに、80℃16時間水抽出物の有機態炭素と有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量の減少の半減期が20日程度であること(表11)から、80℃16時間抽出有機態炭素と有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量が可給態窒素量(4週間培養窒素量)と比較的良好な相関関係を持つと考えられる。しかしながら、80℃16時間水抽出物の有機態炭素は分解に関係しない画分(C₀)が70～80%を占めている(表11)。そのため有機態炭素/(有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量)の高い抽出液が得られる土壤では、水溶性の易分解性有機物が含まれないために無機化窒素は抽出画分以外から供給される割合が相対的に高くなり、抽出液の有機態炭素で可給態窒素を推定すると過大評価になる可能性がある。

可給態窒素を推定するための80℃16時間水抽出法は有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量と有機態炭素に相関があり、抽出された有機物のC/Nがほぼ一定であることが前提である。

本章で用いた8試料の土壤は有機態炭素(C₀+C_i)と

有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量(N₀+N_i)を一次回帰式で表すことができ、その決定係数は0.93である。そこで、有機態炭素と有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量の回帰直線の信頼区間(95%信頼度)と予測区間(有意水準5%)を求め、この図に第4章で用いた畑地土壤試料(全国の合計99点)の80℃16時間抽出有機態炭素および有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量をプロットすると、有意水準5%の区間予測の範囲内にほぼ全てのデータが入った(図26)。したがって、80℃16時間水抽出法は日本の大部分の畑土壤に適用可能だと考えられるが、有機態炭素が1,500mg kg⁻¹以上の試料では予測値の誤差が大きい試料がある。これは、例えば、堆肥など有機物投入直後の土壤試料等が想定され、堆肥散布後1ヶ月以内の土壤は適用外として注意を促すこととした。

(5) 要約

- ア. みかけ上、数ヶ月間の土壤培養における無機化窒素量の47～65%が水溶性画分(80℃16時間水抽出性有機物)から供給されている。
- イ. 水溶性画分のうち有機態窒素+アンモニウム態窒素増加量の43～90%、有機態炭素の17～37%が数ヶ月以内に分解する易分解性画分と推定される。
- ウ. 培養期間中に分解する有機物は、C/N比3.4～6程度であり、抽出物中の加水分解性アミノ酸も減少していることから、タンパク質様物質が主体の有機物と考えられる。
- エ. 培養期間中に抽出有機態窒素のなかで、分子サイズ数万～数十万Da程度の画分が減少する。

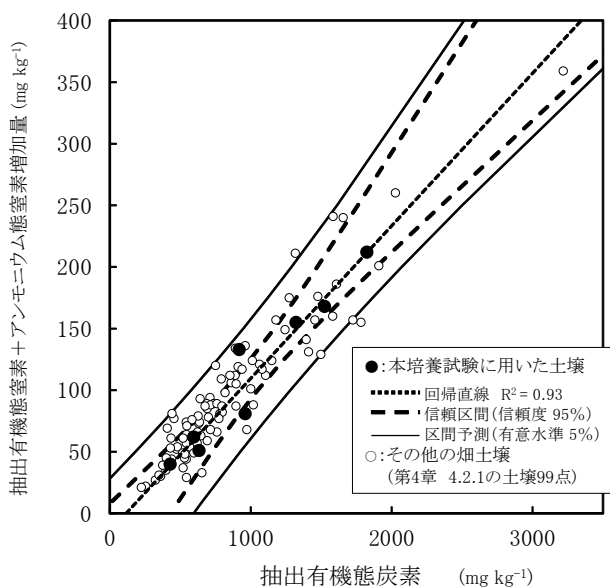


図26 抽出物の溶存有機態炭素量と全有機態窒素量の関係

V 80℃16時間水抽出物の化学的性質

②土壌の加熱抽出による抽出液の三次元蛍光スペクトルの特性

1 目的

表4で比較した種々の化学的抽出法の中で、培養法による可給態窒素との適合性が高かった煮沸浸出法³²⁾や80℃16時間水抽出法等の静置加熱抽出法について、加熱抽出過程に分解する有機態窒素の分光学的特徴を明らかにするために、三次元蛍光分光分析を行った。

2 三次元蛍光分光分析

三次元蛍光スペクトルは三次元蛍光光度計 (FP-6600, 日本分光) で測定し、励起波長が200~500 nm、蛍光波長が250~550 nmで、励起、蛍光ともに2 nm毎に測定した。供試試料は施用有機物の種類が異なる6種類の土壌23点とした(表12)。100 mL容ガラス製三角フラスコに風乾細土5.0 gを秤取し、100℃に加熱した蒸留水50 mLを注湯した後、予め100℃に設定した通風恒温乾燥機内で2, 4, 6, 8, 24時間静置加熱した。加熱時間経過後は室温まで冷却した後、東洋濾紙社製ろ紙No.5Cで常圧ろ過し、さらに0.45 μmメンブレンフィルターで清浄処理したものを検水とした。また、家畜ふん堆肥と化学肥料を併用した試料番号32については、加熱温度80℃でも検討した。

3 結果および考察

(1) 土壌の加熱抽出による抽出液の三次元蛍光スペクトルの特性

煮沸浸出法や80℃16時間水抽出法のような静置加熱による抽出では、抽出有機態窒素の一部が加熱によってアンモニウム態窒素に変化していることが推察されたことから、経時的に加熱抽出物の三次元蛍光スペクトルを測定することによって、加熱抽出の過程で分解される有機物の特徴把握を試みた。図27に、豚ふん堆肥および化学肥料を連用した多腐植質黒ボク土畑の土壌試料(表12の試料No.32)における100℃加熱抽出液の三次元蛍光スペクトルを示す。加熱時間の経過とともに励起波長340 nm、蛍光波長440 nmのピークが顕著に増加した。これは主としてフルボ酸のピークであり³⁸⁾、加熱時間が増加するとフルボ酸様物質が、より多く抽出されるものと考えられる。また、励起波長270 nm、蛍光波長300 nmのピークは加熱時間が長くなるほど減少した。これは、タンパク質の構成成分であるチロシンやトリプトファン等の蛍光をもつアミノ酸に帰属するとされ、タンパク質様物質起源の蛍光と考えられる³³⁾。なお、調査した23点の土壌は、三次元蛍光スペクトルのピーク強度に違いはあるものの、ピーク位置やピーク強度の経時変化は同様な傾向を示した。

表12 供試土壌一覧

試料番号	場所	土壌の種類	試験区名 (施用有機物)	可給態窒素 ^{注2)} (mg kg ⁻¹)	全窒素含有率 (g kg ⁻¹)	C/N比		
1	岩手県	非アロフェン質黒ボク土	化学肥料	40.9	3.63	16.1		
4			牛ふん堆肥8t	80.7	5.37	15.3		
5			豚ふん堆肥	69.8	4.84	13.6		
6			鶏ふん堆肥	50.8	4.37	14.4		
7			新潟県	砂丘未熟土	牛ふん堆肥	20.7	0.96	10.9
8					豚ふん堆肥	27.0	1.06	9.7
9	鶏ふん堆肥	28.5			0.98	10.2		
10	化学肥料	18.0			0.66	11.2		
11	無肥料	18.1			0.66	11.6		
29	鹿児島県	多腐植質黒ボク土	無窒素	20.6	3.59	19.8		
30			化学肥料	26.3	4.10	19.2		
31			鶏ふん堆肥	42.2	4.72	18.0		
32			豚ふん堆肥+化肥	38.2	4.98	18.0		
33			豚ふん堆肥	45.1	5.46	17.4		
34			牛ふん堆肥	51.7	5.60	18.1		
41	中央農研	多腐植質黒ボク土	作物残渣堆肥	45.4	6.22	14.0		
42			化学肥料	19.0	4.79	16.5		
43		灰色低地土	作物残渣堆肥	61.2	3.15	9.4		
44			化学肥料	35.8	1.10	11.2		
45		黄色土	作物残渣堆肥	51.4	1.96	9.6		
46			化学肥料	30.5	0.67	10.9		
47		淡色黒ボク土	作物残渣堆肥	43.3	5.27	10.7		
48			化学肥料	16.5	3.77	12.4		

注1) 供試試料は第2章の表3から抜粋した。試料番号は表3に準ずる。

2) 30℃4週間・湿潤条件における保温静置培養法による。

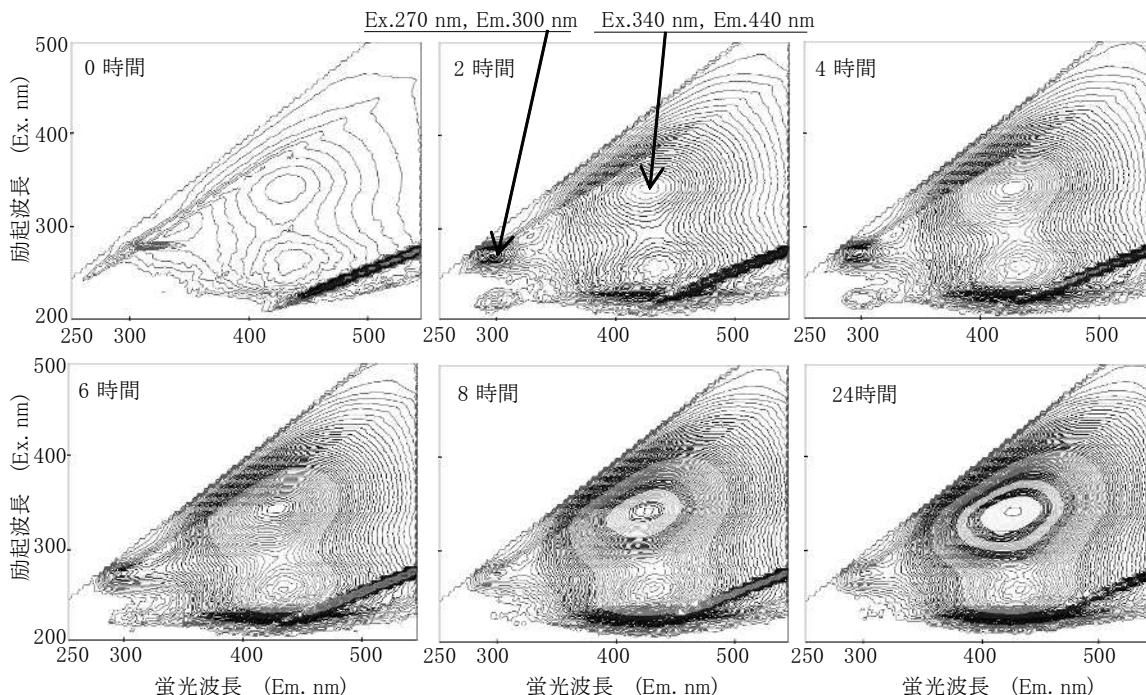


図27 土壌の100℃加熱抽出による抽出液の三次元蛍光スペクトルの経時変化

供試土壌は、多腐植質黒ボク土で、豚ふん堆肥と化学肥料を10年間併用して栽培した土壌(表12の試料No.32)。可給態窒素量は38.2 mg kg⁻¹である。土壌5.0 gに100℃の湯50 mLを添加し、100℃に設定した通風恒温乾燥機内で静置加熱した。設定時間経過後は、室温になるまで放冷した後、0.45 μmメンブレンフィルターで清浄処理し、三次元蛍光光度計で測定した。

図 28 は、加熱時間によって変化する抽出アンモニウム態窒素増加量と励起波長 270 nm，蛍光波長 300 nm のピーク強度の関係について、供試土壌 23 点の平均値でプロットしたものである。このピークは、加熱時間が長くなりアンモニウム態窒素が増加すると小さくなることから、加熱抽出中に、抽出タンパク質様物質が少しずつ分解しているものと考えられ、これらが加熱時間の経過に伴って増加するアンモニウム態窒素の起源になっているものと推察される。

図 29 に、図 27 と同一の試料 No.32 について、80℃抽出条件における 2 時間、8 時間および 24 時間後の三次元蛍光スペクトルを示す。ピーク位置は 100℃加熱抽出の結果と同じであった。フルボ酸様物質起源とされる励起波長 340 nm，蛍光波長 440 nm のピークは、100℃加熱抽出と同様に加熱時間の経過とともに増加したが、80℃抽出では、100℃抽出に比べて抽出有機物量が減少するためピーク強度は小さかった。一方、タンパク質様物質起源とされる励起波長 270 nm，蛍光波長 300 nm のピークは、時間の経過とともに減少する傾向が認められたが、100℃抽出ほど明瞭でなかった。これは、加熱抽出によるピークの増量分と加水分解によるピークの減量分に大きな差がないためと推察されるが、抽出温度が低温であるほどアンモニウム態窒素増加量が減少することとは矛盾しなかった。以上の結果は、80℃ 16 時間水抽

出において、抽出有機態窒素にアンモニウム態窒素増加量を合計した値を可給態窒素の評価指標に用いたことの妥当性を示しているものと考えられる。

4 要約

静置加熱抽出法について、抽出液の三次元蛍光分光分析を行った結果、加熱時間の経過とともにフルボ酸様物質の抽出量が増加した。また、抽出されたタンパク様物質は加熱時間の経過とともに減少し、これが、加熱時間の経過に伴って増加するアンモニウム態窒素の起源になっているものと推察された。

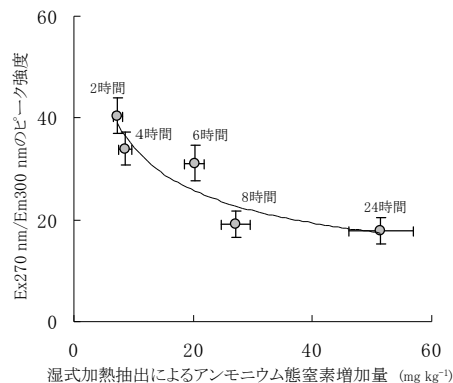


図28 土壌の100℃加熱抽出によるアンモニウム態窒素増加量と三次元蛍光分析による励起波長270 nm/蛍光波長300 nmのピーク強度との関係

注)各プロットは供試土壌23点の平均値で、エラーバーは標準誤差である。プロットに付した時間は加熱処理時間を示す。

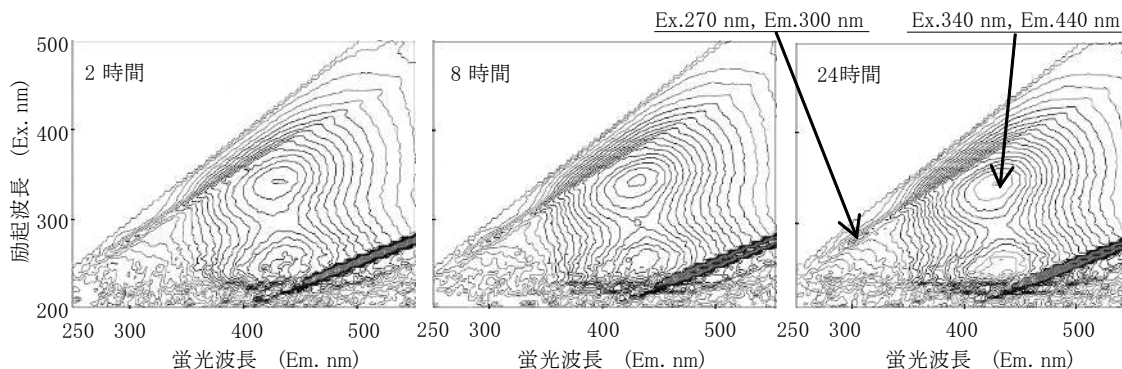


図29 土壌の80℃加熱抽出による抽出液の三次元蛍光スペクトルの経時変化

供試土壌は図27と同一(試料No.32)で、土壌5.0 gに80℃の湯50 mLを添加し、80℃に設定した通風恒温乾燥機内で静置加熱処理した。

VI 可給態窒素簡易評価法を活用した窒素施肥の適正化に向けて

1 緒言

30℃4週間の培養中に無機化する窒素量で表される土壌の可給態窒素は、窒素肥沃度の指標値であり、地力増進基本方針において、乾土100g当たり5mg以上という普通畑の目標値に基づいて、窒素肥沃度が判定されている。土壌診断において目標値に満たない圃場では、堆肥の施用や緑肥栽培によって可給態窒素を高めることが推奨される。

この窒素肥沃度の指標値である可給態窒素を窒素施肥の加減に活用するためには、作物の栽培期間中に発現する窒素無機化量に換算する必要がある。土壌中の有機態窒素がいつ頃、どのくらいの量、無機化して作物が利用可能かを的確に把握することは、合理的施肥を進めるために重要である。土壌窒素の無機化量および速度は、土壌の種類、地温、水分などによって影響を受けるが、このうちの地温の影響に焦点を絞って無機化量を推定することが適当であると考え、可給態窒素の簡易診断を活用した窒素の適正施肥量診断シートを作成することとした。

なお、本章では農家指導の際に一般的に用いられる単位「kg/10a」あるいは「mg/100g」を用いている。

2 可給態窒素を施肥窒素量の加減に活用している事例
都道府県の研究成果のなかから、可給態窒素を窒素施肥量の加減に活用している事例を検索した。

(1) 北海道の例

可給態窒素(北海道では熱水抽出性窒素)を窒素施肥の加減に活用している代表的なものが「北海道施肥ガイド2010」である。表13は露地にんじん栽培での活用例

であるが、熱水抽出性窒素で測定した地力窒素肥沃度レ

ベルに応じて、基準収量を得るための施肥窒素量が設定されている。また、表2で露地キャベツについて作型別に示したように、他の品目についても、道内各地で実施された精密な圃場試験結果を基にして、土壌窒素肥沃度レベル(露地野菜畑では熱水抽出性窒素によって3段階、施設土壌では硝酸態窒素によって5段階に区分)に応じた窒素施肥基準が策定されている¹⁹⁾。

表13 地力窒素水準に対応した露地にんじんの窒素施肥量 (単位:kg/10a)

地力窒素の水準	I	II(標準)	III
熱水抽出性窒素 (mg/100g)	~3.0	3.0~5.0	5.0~
基肥量 (基準収量2.5~3.0t)	15	12	9

注1)「北海道施肥ガイド2010 p.133」を一部改変
2)全層施肥を原則として、条施の場合は窒素施肥量を20%減肥
3)熱水抽出性窒素のかわりに生土培養窒素や過去2カ年の有機物施用実績からも読み替えが可能

(2) 茨城県の例

茨城県普及成果情報²⁰⁾では秋冬レタス栽培において、商品価値の高い等階級Lの割合向上のために、窒素肥沃度の異なる圃場試験や現地調査の結果から、硝酸態窒素と可給態窒素の土壌診断値を活用した土壌診断施肥式を作成し、生産現場で活用されている(表14)。

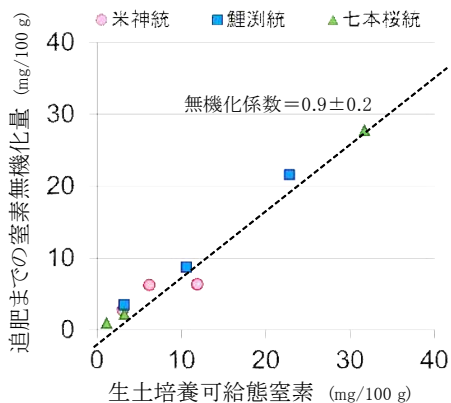
表14 秋冬レタスの施肥窒素量を決定する土壌診断施肥式

施肥窒素量 = 供給窒素 - (作付前の硝酸態窒素 + 可給態窒素)
(kg/10a) (kg/10a) (mg/100gをkg/10aに読み替える)
(10月収穫)
施肥窒素量 = 10 - (作付前の硝酸態窒素 + 可給態窒素)
(11月収穫)
施肥窒素量 = 15 - (作付前の硝酸態窒素 + 可給態窒素)

注) 茨城県農業総合センター園芸研究所 平成24年度「普及情報」を一部改変

(3) 栃木県の例

栃木県農業試験場⁶⁴⁾では施設土壌において、可給態窒素の簡易測定法を提案して県内の土壌タイプごと検証するとともに、有効積算温度による窒素無機化の推定法を活用して窒素施肥量に反映させる考え方を整理している(図 30)。



きゅうり早熟栽培での累積地温

定植日	4月11日
追肥1回目	5月23日
定植～追肥の期間(日)	42

定植～追肥までの平均地温(°C)	22.0
定植～追肥までの累積地温(°C)	924
累積地温/840°C	1.1

840°Cは30°C4週間培養の積算地温

図30 施設きゅうりにおける窒素無機化量を考慮した基肥窒素量の決定
※栃木県農業試験場研究成果集(2005年)を一部改変

(4) 熊本県の例

熊本県農林水産部³¹⁾ではアールスメロン栽培において、堆肥利用や無機態窒素、可給態窒素等の土壌診断結果を活用した、総合的な施肥量決定のための考え方をフローチャートで示している(図 31)。

以上、可給態窒素を窒素施肥量の加減に活用した4事例を示した。それぞれ、精密な圃場試験や長期にわたる現地調査から導かれた結果である。

しかし、これらの成果を、他の地域で活用する場合、地温等の栽培環境条件が異なるため、そのまま当てはめることができないと予想され、改めて栽培検証が必要になる。したがって、より汎用的で地域、栽培品目を問わず活用できるような窒素適正施肥診断シートを作成するためには、その地域における栽培期間の窒素無機化量をより正確に推定しなければならない。

3 反応速度論的手法の利用

可給態窒素は 30 °C 4 週間培養条件における窒素無機化量であるが、これを作物の栽培環境条件に適合させることによって窒素無機化量を算出し、その量を施肥窒素基準量から加減することにした。なお、土壌窒素の無機化量および速度は土壌の種類、地温、水分等、多くの環境条件の影響を受けるが、このうち地温の影響に絞って無機化量を推定することとし、反応速度論的手法を用いた窒素無機化量の推定プログラム¹⁰⁾を用いて作物栽培期間の無機化窒素量を算出した。

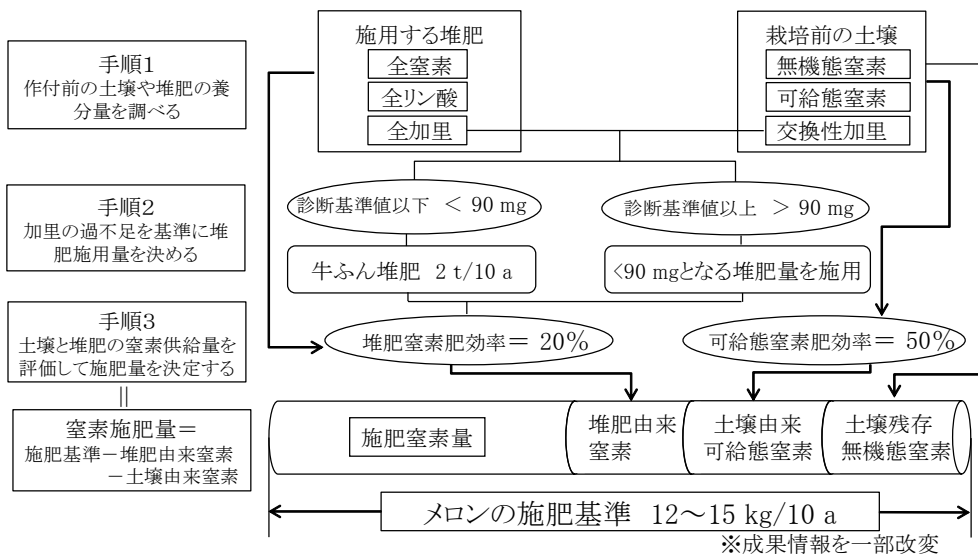


図31 圃場カルテによる診断と施肥法の手順
※成果情報を一部改変

4 可給態窒素レベルに応じた適正窒素施肥指針の構築

(1) 可給態窒素簡易評価法に基づく窒素適正施肥シート作成の試み

図 32 は 2017 年時点で作成中の窒素適正施肥シートである⁷⁹⁾。必要なデータセットは、栽培する作物の栽培期間（移植期～収穫期）、窒素施肥基準および地温である。まず、プルダウンメニューから土壌の種類、栽培する作物名および作型を選択すると、栽培期間の 30℃変換日数（栽培期間の地温が 30℃で何日分に相当するか）が自動的に抽出される。次に、COD 簡易測定キットによる標準色版の判定色を選択すると可給態窒素の推定値が自動表示されると同時に、期間中の地温データを抽出し、推定プログラムを使って栽培期間中の窒素無機化量が算出される。そして、可給態窒素 (mg/100g) を施肥窒素 (kg/10a) 相当量に換算し、施肥窒素基準量から加減する仕組みとした。なお、施肥基準が平均的な可給態窒素の (約 3 mg/100g 乾土) で設定されていることを考慮し、可給態窒素がそれより低い場合は増肥、高い場合は減肥とした。

(2) 栽培期間における地温の違いと窒素無機化量の推定

図 33 は、作成中の可給態窒素簡易評価法に基づく窒素適正施肥シート (図 32) を使って、鹿児島県のハクサイ栽培での窒素無機化をシミュレートした結果である。栽培期間中の地温が高い早まき栽培 (9 月定植 - 11 月収穫) では、栽培期間の地温は 30℃に温度変換すると 5.1 週間となり、地温が低い普通まき栽培 (10 月定植 - 翌年 1 月収穫) では、2.8 週間に相当する。つまり、同一圃場でも栽培する時期によって窒素無機化量が異なる。

(3) 施肥基準の設定と可給態窒素の分布

可給態窒素簡易評価法に基づく窒素適正施肥シートでは、可給態窒素から栽培期間の窒素無機化量を予測し、これを施肥基準量から加減することとしている。一般に施肥基準は、目標収量を確保するために必要な施肥量であり、地域の中庸な肥沃度水準の土壌を想定して作成されている。図 34 は鹿児島県の畑の可給態窒素の分布であるが、露地畑の平均は約 3 mg/100g である。したがって、可給態窒素がそれより高い場合に窒素減肥が可能とし、反対に可給態窒素が低い場合、目標収量を確保するためには、窒素施肥基準量に対して増肥が必要である。

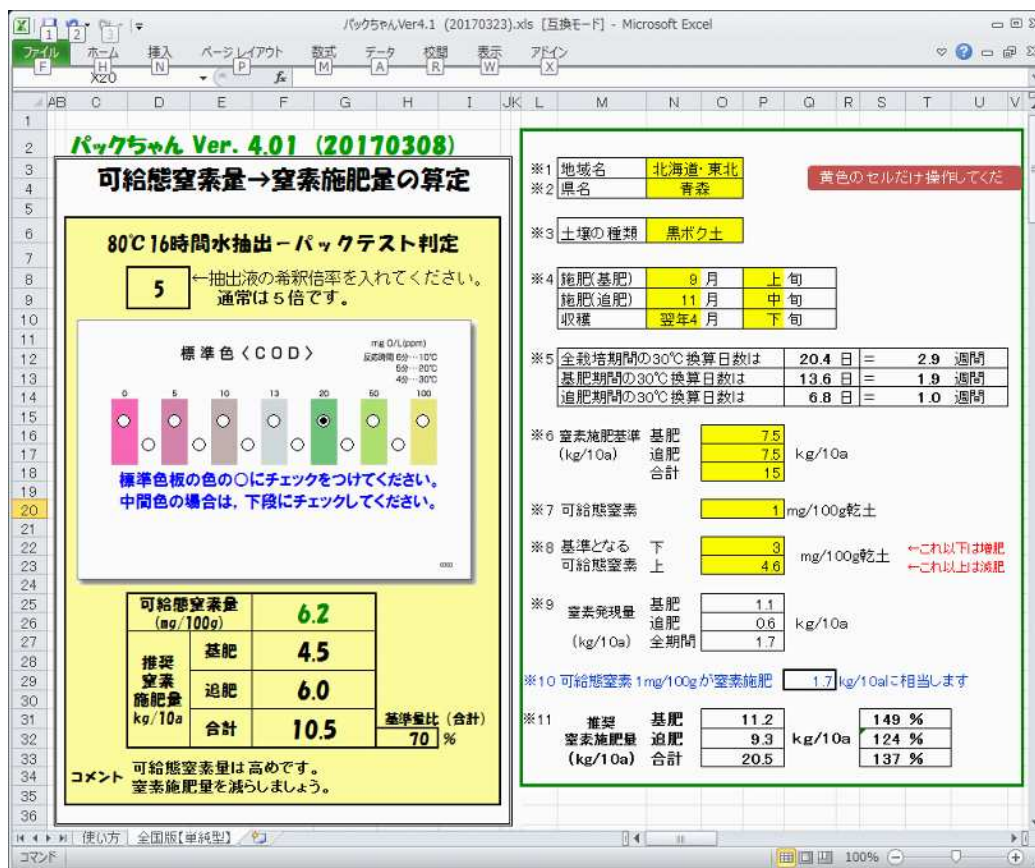


図32 可給態窒素簡易評価法に基づく窒素適正施肥シート (2017年現在 作成中)

平均地温	28.2	25.8	20.8	15.6	10.4	8.3	栽培期間 の地温 → 30℃への 換算日数	栽培期間 合計(週)	
作型	8月	9月	10月	11月	12月	1月			
早まき	○—△—▽—□						9月25.8℃ → 10月20.8℃ → 11月15.6℃ →	19日 11日 6日	30℃で 5.1週間
普通まき	○—△—▽—□						10月20.8℃ → 11月15.6℃ → 12月10.4℃ →	11日 6日 3日	30℃で 2.8週間

※ 可給態窒素 5.0 mg/100 gが、早まきでは5.9 mg、普通まきでは3.3 mgに相当する。
凡例 ○:は種 △:移植(基肥) ▽:追肥 □:収穫

図33 鹿児島県のハクサイを例にした栽培時期別の窒素無機化量

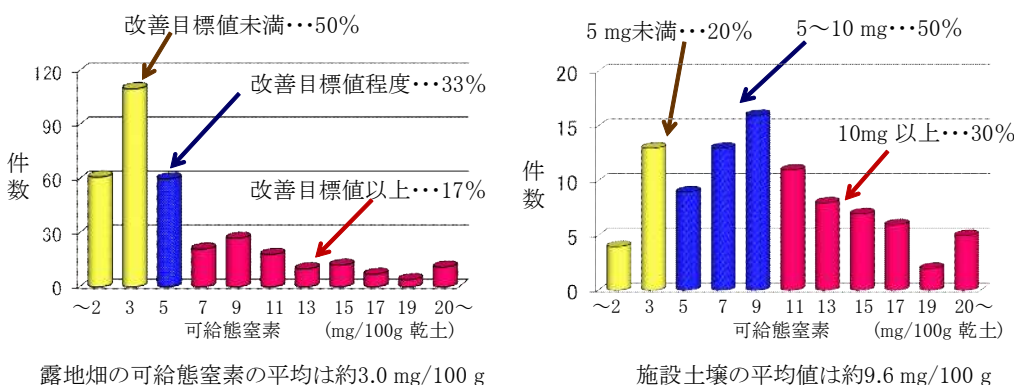


図34 露地および施設畑における可給態窒素の実態

(4) 可給態窒素を考慮した窒素施肥指針

窒素無機化に影響する地温には年次変動があり、地温以外にも土壌水分等の予測しにくい環境要因があること、また畑作の場合は硝酸イオンの溶脱等を考慮しなければならない場合があること等を考慮すると、可給態窒素を考慮した窒素施肥量は、厳密な推定は困難で、「北海道施肥ガイド 2010」に準じて3～4段階（可給態窒素レベル＝低、中、やや高、高）程度の指針を提示することが適当と考える⁹⁾。

なお、この考え方が適用できない作物もあると考える。例えば、肥料、土壌以外に窒素の給源がある作物や、永年作物等である。そして、特に梅雨期には連続する降雨による硝酸態窒素溶脱の影響によって、施肥および土壌由来窒素の利用率は大きく変動する。これらを総合的に考えると、当面は、秋冬野菜を対象とした利用に限定し、栽培検証を進めていくこととした。

(5) 可給態窒素レベルに応じた適正窒素施肥法の栽培検証

ア 目的

現在公表されている可給態窒素レベルに応じた窒素施肥法は、前述したように地域、作型に限定した成果がほとんどで、他の地域でそのまま活用することは難しい。この問題を解決するために、図 32 で示した可給態窒素

簡易評価法に基づく窒素適正施肥シートを作成した。このシートでは、栽培期間の平年地温データと土壌の種類ごとに収集した窒素無機化特性値を用いて窒素無機化量を推定するため、全国での利用が可能となる。そこで、栽培期間の地温が異なる秋冬露地野菜を対象として、可給態窒素レベルに応じた適正窒素施肥法の栽培検証を行った。

イ 材料および方法

試験は 2016 年に鹿児島県農業開発総合センター（南さつま市金峰町）内の 35 m × 20 m 区画畑で実施した。供試土壌は腐植質普通黒ボク土造成相の米神統（全炭素 5.0 %，全窒素 0.3%，陽イオン交換容量 24.1 cmol_e kg⁻¹）である。供試野菜はキャベツ（*Brassica oleracea* var. *capitata*）で、栽培型は「晩夏まき」および「晩秋まき」とした。畝間は 0.65 m，株間は 0.4 m の m² 当たり 3.85 株で、試験規模は 1 区 20 m²（4 m × 5 m）の 2 反復で設置した。試験区の構成は表 15 の通りである。晩夏まきの可給態窒素レベルは 6.8 mg/100 g と 2.5 mg/100 g で、露地畑における可給態窒素の平均値が 3 mg/100 g 程度なので、それぞれ高レベル、低レベルに分類でき、晩秋まきにおいても高（5.1 mg/100 g）、低（1.8 mg/100 g）に設定した。

表15 試験区の構成

試験区名	栽培型	可給態窒素 (レベル, 数値)	窒素施肥量 (kg/10 a, 標準比%)
1 夏・高・無 N	晩夏まき	高 (6.8 mg/100 g)	0
2 夏・高・標準N			15.0 (100)
3 夏・高・診断N			7.6 (50)
4 夏・低・無 N		低 (2.5 mg/100 g)	0
5 夏・低・標準N			15.0 (100)
6 夏・低・診断N			16.0 (107)
7 秋・高・無 N	晩秋まき	高 (5.1 mg/100 g)	0
8 秋・高・標準N			15.0 (100)
9 秋・高・診断N			12.3 (82)
10 秋・低・無 N		低 (1.8 mg/100 g)	0
11 秋・低・標準N			15.0 (100)
12 秋・低・診断N			16.5 (110)

注)施肥は、窒素-リン酸-加里=15-20-20を標準として、リン酸および加里は全区標準施用とした。なお、窒素質肥料は硫酸アンモニウム、リン酸は過リン酸石灰、加里は塩化カリで施肥した。

(7) 栽培方法

晩夏まきは、2016年8月4日に128穴のセルトレイに市販の育苗培養土(与作N150)を充填した後、キャベツ(品種金系201EX)のコーティング種子を播種し、ガラスハウス内で21日間育苗した。施肥は8月25日に行い、耕耘、作畝して移植した。収穫は11月7日(在圃期間74日)に一斉に行った。

晩秋まきも、晩夏まきと同一品種を用い、同様の育苗方法で、播種は2016年10月25日(育苗期間20日)で、11月16日に施肥、耕耘、作畝、移植を行い、2017年3月27日(在圃期間131日)に一斉収穫した。

試験区は、各栽培型とも無窒素(以下無N)区、標準窒素施肥(15 g N m², 以下標準N)区および診断施肥(以下診断N)区とした。診断N区の窒素施肥量は、可

給態窒素簡易評価法に基づく窒素適正施肥シートで求めて決定した(表15)。

(4) 調査方法

キャベツの収穫は各区10株とし、外葉、結球に分別し、重量、窒素吸収量等を測定した。収穫調査後の植物体は20mm大に粗砕して60℃の通風乾燥機で乾燥した後、高速振動試料粉碎机(TI-100 シーエムティ科学)で微粉碎した。全窒素含有率は微粉碎試料を硫酸-過酸化水素水で分解し³⁷⁾、水蒸気蒸留法で測定した。水分含有率は105℃乾燥法により求めた。

ウ 結果および考察

(7) 生育概要

図35および36に栽培期間中の気温、地温および降水量の経過を示す。晩夏まき栽培期間中の気温は高めに経過し、特に生育期間後半の9月中旬~11月中旬は高かった。地温も気温の経過と同様であった。栽培期間中の平均地温は24.9℃であった。一方、晩秋まき栽培期間中の気温は変動が大きかった。栽培期間中の平均地温は10.5℃であった。

晩夏まき栽培は栽培期間が74日で積算気温は1,790℃、晩秋まき栽培は131日間で1,410℃(晩夏まきの79%)であった(図37)。積算地温はそれぞれ1,840℃、1,890℃であった。一方、シミュレーションによる窒素発現量は、晩夏まきで1.80 g m²、晩秋まきで0.64 g m²と(晩夏まきの36%)推定され、晩夏まきが晩秋まきを大きく上回った(図37)。

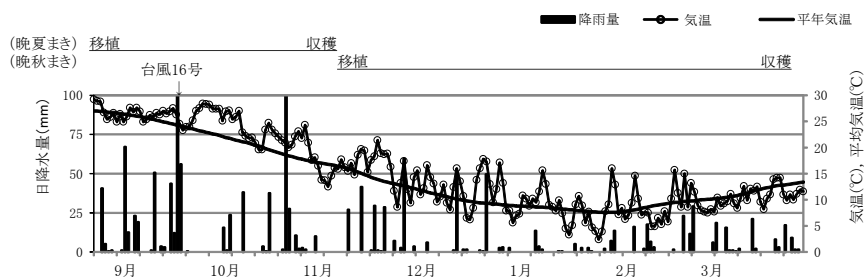


図35 栽培期間中の気温、平均気温および日降水量の経過

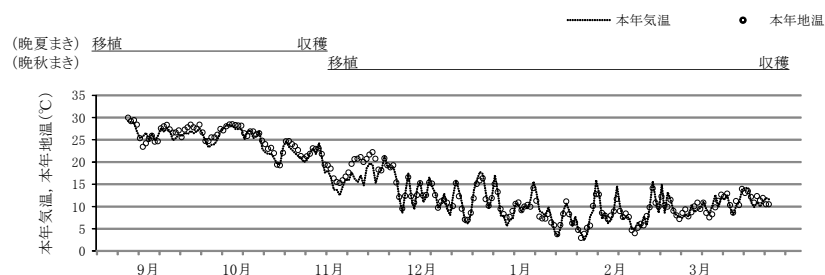


図36 栽培期間中の平均気温および平均地温の経過

(4) 収穫調査結果

表 16 に収穫物調査結果を示した。晩夏まきキャベツ外葉の葉長，葉巾は晩秋まきに比べて長く，気温の高い晩夏まきで初期生育が旺盛であることが窺えた。一方，結球重は可給態窒素低レベルの無窒素区を除いて，栽培期間の長い晩秋まきで重く，同一品種でも栽培時期によって生育相が異なった。

図 38 に示した結球収量および出荷規格の結果から，栽培期間の地温が高い晩夏まきにおいて，可給態窒素高レベルでは，無N区でも標準N区や診断N区と同程度の結球が得られた。一方，栽培期間の地温が低い晩秋まきでは，無N区の結球は標準区に比べて小さく，栽培期間の地温経過によって無機化窒素量の影響が異なった。また，可給態窒素レベルに応じて施肥窒素量を加減した診断N区では，晩夏まき，晩秋まきのそれぞれにおいて同程度の収量が得られた。

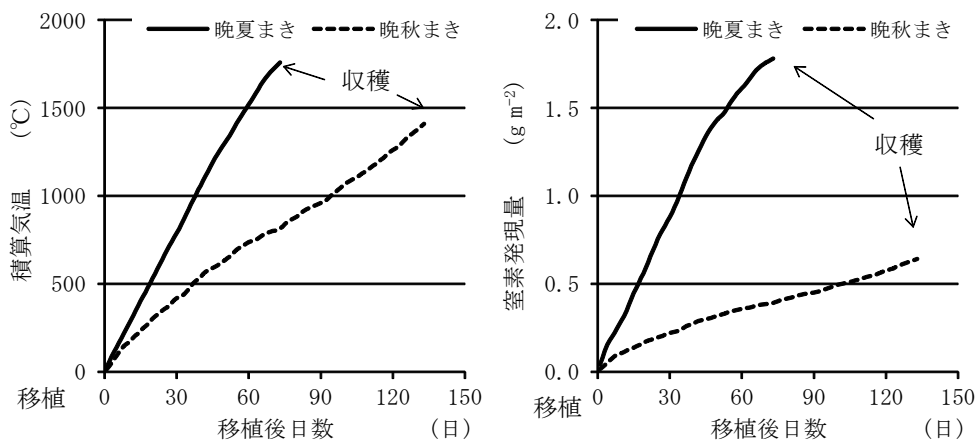


図38 栽培期間中の積算気温と窒素発現推定量の比較

注 1) 窒素発現量は実測地温からのシミュレーションによって，可給態窒素1 mg/100 gからの発現量で表した。

表 17 は乾物重および窒素吸収量の比較である。土壌の可給態窒素レベルが異なっても，可給態窒素簡易評価法に基づく窒素適正施肥シートで求めた窒素施肥量で栽培することによって，同程度の窒素吸収量が得られ，シミュレーションの妥当性が評価できた。

エ 要約

栽培期間中の地温データと土壌タイプごとの平均的な窒素無機化特性値から窒素発現量を予測して，可給態窒素レベルに応じた適正窒素施肥算出シートを作成した。この妥当性について，地温が異なる2栽培型でキャベツを栽培し，生育，収量，窒素吸収量等を比較検討した結果，作成した適正窒素施肥算出シートの妥当性を実証することができた。今後，現地実証や他の作物への適用性についても確認し，実用化に向けて取り組みを加速させたい。

表16 収穫物調査結果

試験区名	外葉		結球		
	葉長 (m)	葉巾 (m)	縦径 (m)	横径 (m)	調整重 (g)
1 夏・高・無 N	0.356 ^a	0.406 ^a	0.119 ^a	0.177 ^a	1,115 ^a
2 夏・高・標準N	0.352 ^a	0.408 ^a	0.117 ^{ab}	0.180 ^a	1,226 ^a
3 夏・高・診断N	0.339 ^a	0.407 ^a	0.120 ^b	0.177 ^a	1,112 ^a
4 夏・低・無 N	0.335 ^a	0.336 ^a	0.113 ^b	0.168 ^b	780 ^b
5 夏・低・標準N	0.339 ^a	0.404 ^a	0.117 ^b	0.181 ^a	1,106 ^{ab}
6 夏・低・診断N	0.340 ^a	0.402 ^a	0.119 ^b	0.177 ^a	1,143 ^a
7 秋・高・無 N	0.253 ^{AB}	0.350 ^{AB}	0.156 ^B	0.171 ^B	1,411 ^A
8 秋・高・標準N	0.286 ^A	0.404 ^A	0.170 ^A	0.181 ^A	2,201 ^A
9 秋・高・診断N	0.271 ^A	0.374 ^A	0.166 ^{AB}	0.176 ^{AB}	1,769 ^A
10 秋・低・無 N	0.213 ^B	0.304 ^B	0.140 ^C	0.142 ^C	546 ^B
11 秋・低・標準N	0.255 ^A	0.370 ^A	0.163 ^{AB}	0.173 ^{AB}	1,543 ^A
12 秋・低・診断N	0.264 ^A	0.381 ^A	0.163 ^{AB}	0.176 ^{AB}	1,783 ^A

注1) 英小文字は晩夏まき(試験区1~6)間の比較，英大文字は晩秋まき(試験区7~12)間の比較で，異なる英文字は5%の危険率で有意差があることを示す。

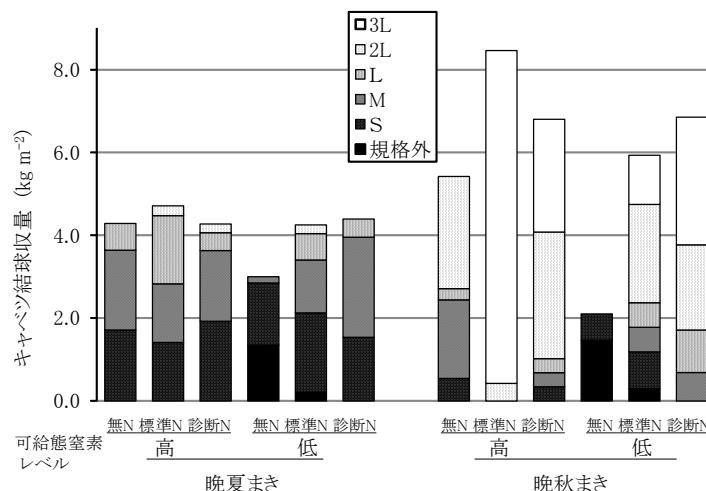


図38 キャベツ収量と出荷規格割合

注1) 出荷規格は、規格外<700 g ≤ S <1,100 g ≤ M <1,300 g ≤ L <1,500 g ≤ 2 L <1,900 g ≤ 3 Lとした。(n=20)

表17 収量物の乾物重および窒素吸収量

試験区名	乾物重			窒素吸収量		
	外葉	結球 (g)	合計	外葉	結球	合計 (g m ⁻²)
1 夏・高・無 N	71.1 ^a	61.6 ^{ab}	133 ^{ab}	7.79 ^a	5.55 ^a	13.3 ^{ab}
2 夏・高・標準N	80.0 ^a	71.9 ^a	152 ^a	8.83 ^a	6.79 ^a	15.6 ^a
3 夏・高・診断N	68.4 ^a	60.6 ^{ab}	129 ^{ab}	8.52 ^a	6.11 ^a	14.6 ^a
4 夏・低・無 N	62.0 ^b	51.6 ^b	114 ^b	4.89 ^a	4.47 ^a	9.36 ^b
5 夏・低・標準N	62.3 ^a	58.4 ^{ab}	121 ^{ab}	7.01 ^a	5.95 ^a	13.0 ^{ab}
6 夏・低・診断N	61.9 ^a	55.0 ^{ab}	117 ^{ab}	55.0 ^a	7.09 ^a	13.8 ^{ab}
7 秋・高・無 N	68.6 ^A	89.7 ^{AB}	158 ^A	7.08 ^{AB}	8.58 ^{AB}	15.7 ^{AB}
8 秋・高・標準N	78.8 ^A	126 ^A	204 ^A	9.67 ^A	14.1 ^A	23.8 ^A
9 秋・高・診断N	77.4 ^A	105 ^A	182 ^A	9.47 ^A	12.3 ^A	21.8 ^A
10 秋・低・無 N	47.2 ^B	38.2 ^B	85.4 ^B	4.38 ^B	3.99 ^B	8.37 ^B
11 秋・低・標準N	75.8 ^A	78.4 ^A	154 ^A	8.76 ^A	9.26 ^{AB}	18.0 ^A
12 秋・低・診断N	73.2 ^A	97.4 ^A	171 ^A	8.59 ^A	12.3 ^A	20.9 ^A

注1) 英小文字は晩夏まき(試験区1~6)間の比較, 英大文字は晩秋まき(試験区7~12)間の比較で, 異なる英文字は5%の危険率で有意差があることを示す。

(6) 今後の展開

土壌診断測定項目のなかで可給態窒素は、土壌の窒素肥沃度を表す重要な項目であるにもかかわらず、測定法が煩雑で長時間を要するため、これまで、ほとんどの土壌分析機関では可給態窒素を測定実施項目としておらず、地力窒素を知りたいという生産者のニーズに応えることができていなかった。開発した簡易評価法は非常に簡便で、農業技術指導機関だけでなく生産者自らが実施できるため、自分の畑の窒素肥沃度がどの程度であるかを実感できるとともに、窒素肥沃度を考慮した適正施肥に活用できる。対象としては大規模畑作農家、農業関連企業、地域の生産者部会等が想定される。

また、この方法を組み込んだ分析機器（富士平工業：SFP-4i, 通称 SPAD4）が2012年8月に発売された。さらに、JA 全農（広域土壌分析センター）では土壌診断

項目に本法が追加された。このように、地域の普及指導機関等で可給態窒素が簡単に測定できるようになったため、可給態窒素と作物の収量、品質との関連性をより明確に示すことができると考える。

今後は、可給態窒素レベルに応じた適正窒素施肥指針の策定が必要であり、現時点（2017年）ではまだ試験研究段階であるが、今後、全国各地域で現地実証等を行ってマニュアル化を進めることにしている。

これらの実証結果を踏まえ、可給態窒素レベルに応じた窒素施肥法を個別農家指導に役立てることが可能になれば、適正施肥指導に大きく貢献でき、農家の肥料コスト削減、安定生産が可能になるとともに、環境面においても硝酸イオンによる地下水汚染の問題など、水、大気および土壌環境の健全化に大きな役割を果たすことができる。

Ⅶ 総合考察

1 緒言

近年の肥料原料価格の高騰や、有機性資源の利用促進を背景として、土壌蓄積養分の適正な評価に基づく施肥管理の重要性が高まっている。なかでも、窒素は作物の生育、収量、品質だけでなく、水、大気、土壌環境にも大きな影響を及ぼす成分であるため、農作物の高品質安定生産、施肥コストの低減ならびに環境保全を実現するには、土壌分析を行って、土壌から供給される窒素量、すなわち土壌の可給態窒素を考慮した施肥を行う必要がある^{67), 72), 74), 75), 76), 77), 78)}。

可給態窒素は土壌の窒素肥沃度（地力窒素）を表す重要な土壌診断項目であり、「30℃ 4週間保温静置培養法」を標準的分析法として、全国の試験研究機関等で多くの調査データが蓄積されている。しかし、その測定には少なくとも4週を要するため、可給態窒素をルーチン業務として測定している土壌分析機関はほとんどない。このため、これまでに可給態窒素を迅速に評価するための化学的抽出法が数多く提案されてきたが、高価な分析機器が必要であったり、わが国の普通畑の約50%を占める黒ボク土や有機物施用土壌への適用性が悪いことなどにより、広範な地域で活用されている方法はなかった。一方、生産現場では、土壌診断結果を直ちに施肥設計に反映させるために、分析手法のさらなる迅速・簡便化が急務となっていた。

そこで、広範な土壌に適用可能で、生産現場で迅速に実施できる畑土壌可給態窒素の簡易評価法の開発に取り組んだ。開発に当たって、まず全国各地の試験研究機関で実施されている有機物連用試験圃場から、土壌の種類や有機物施用履歴が異なる畑土壌を収集し、これらを共通試料として十数種類の既報の化学的抽出法を詳細に比較検討し、再評価した。次に、その中から培養法との適合性に優れた化学的抽出法を選定し、より最適な抽出条件を再検討した。最後に、抽出有機物の簡易測定法を開発することによって、生産現場で実施可能な畑土壌の可給態窒素簡易評価法として提案した。

2 可給態窒素推定のための簡易抽出法

土壌の種類や堆肥施用条件が異なる畑土壌を用いて、培養法による可給態窒素と既報の化学的抽出法による測定値との適合性、および抽出有機物のC/N比などの化学的特性について比較検討した。その結果、中性リン酸緩衝液抽出法、0.1 mol L⁻¹ 塩酸抽出法および0.4 mol L⁻¹ 硫酸抽出法等による非加熱抽出法では、黒ボク土と黒ボク土以外の土壌の違いによって抽出有機物量が大きく異

なるため、堆肥施用によって高まった可給態窒素を適切に評価できなかった。一方、加熱を伴う抽出法では非加熱抽出法に比べて、培養法で求めた可給態窒素と高い正相関を示す方法が多かった。その中で、加熱温度が121℃の熱水抽出無機態窒素法では、堆肥施用によって高まった可給態窒素を評価できたが、土壌の種類の違いによる影響も大きかった。また、105℃で加熱する熱水抽出性窒素法、1.0% SDS抽出法、あるいは0.5% SDS抽出法についても、熱水抽出無機態窒素法に比べるとその影響は小さいものの、土壌の種類の違いによって抽出有機物量に差が認められた。これらに対して、加熱温度が100℃の煮沸浸出法は土壌の種類の違いによる影響が小さく、堆肥施用によって高まった可給態窒素を適切に評価できた。

そこで、100℃ 6時間条件である煮沸浸出法を基に、加熱抽出温度と時間について再検討した。抽出温度を25℃～121℃の6段階で比較した結果、抽出有機態窒素、有機態炭素ともに抽出温度が高いほど多かった。非黒ボク土試料と黒ボク土試料とで比較した場合、高圧蒸気滅菌器を使用した121℃と105℃および室温の25℃抽出では、黒ボク土の抽出有機態窒素および有機態炭素が非黒ボク土に比べて有意に多く、温度が高いほど抽出有機物のC/N比も高かった。これに対して、送風定温乾燥機を使用した100℃、80℃および60℃では有機態窒素および有機態炭素の抽出量に非黒ボク土と黒ボク土間で差異が認められず、培養法による可給態窒素の傾向とよく一致した。なかでも、80℃が培養法による可給態窒素との相関が最も高かった。

次に、抽出温度を80℃として抽出時間について検討した。有機態窒素および有機態炭素の抽出量は、加熱処理直後に多く、6時間後までは増加したが、16時間以降は時間当たりの抽出量が減少するため抽出誤差が小さくなった。また、処理時間が長いほうが抽出窒素量の試料間差が明瞭になりやすいことや、処理後、室温まで放冷するために2時間程度を要することなどの分析操作上の利便性を考慮し、夜間の処理を想定した16時間を抽出時間に決定した。また、通風乾燥機などの性能の違いや、分析点数等の違いによる温度上昇の誤差を極力小さくし、測定の再現性を高めるために、水でなく80℃の湯を注いで抽出を開始することとした。

3 抽出過程における窒素動態と抽出有機物の特性

80℃の加熱処理によって、土壌から抽出されるアンモニウム態窒素は経時的に増加すること、またその増加量は土壌試料によって大きく異なることを明らかにし

た。また、抽出液を三次元蛍光分光分析で解析し、抽出されるタンパク様物質が加熱処理に伴い減少することを明らかにした。これらの結果から、増加するアンモニウム態窒素の起源は、加熱処理によって分解されるタンパク様物質であると推察した。そこで、アンモニウム態窒素増加量と抽出有機態窒素の和を評価指標とすることにより、既報よりも推定精度の高い可給態窒素評価法とした。

可給態窒素 (y) と 80 °C 16 時間水抽出法による抽出有機態窒素 + アンモニウム態窒素増加量 (x) との関係は、 $y=0.41 x$ 、すなわち 80 °C 16 時間水抽出される窒素の 41 % が 30 °C 4 週間湿潤土培養による窒素無機化量に相当する。培養期間を長期化すると窒素無機化量も増加し、培養期間が 12 週間程度に長期化すると両者の関係性は $y=x$ に近づく。ただし、80 °C 16 時間水抽出法によって抽出された窒素には、腐植物質のような難分解性有機物も含まれていることが確認された。培養無機化窒素の本質は不明な部分が多いが、80 °C 16 時間水抽出物に含まれ無機化に寄与する画分は数十万 Da ~ 数万 Da の分子サイズの大きな有機態窒素であり、易分解性成分の C/N 比はタンパク質に近く、タンパク質様物質が分解し、無機化窒素を供給していると推察された。

中性リン酸緩衝液や希酸による抽出法では、土壌の C/N 比が高いほど抽出される有機物の C/N 比も高くなるが、80 °C 16 時間水抽出法では、抽出有機物の C/N 比は既報の抽出法に比べて低く、また土壌の種類の違いや有機物施用履歴にかかわらず、約 9 の一定値になるという特徴があることを示した。このことから、80 °C 16 時間水抽出法は、抽出有機物に占める窒素無機化への寄与が低い有機物の割合が比較的少ない抽出法であると推察された。さらに、80 °C 16 時間水抽出法の適用性について、普通畑、野菜畑、飼料畑の作土 330 点を用いて検証した結果、これら畑作物に対する減肥基準の策定に活用可能な推定精度であることを確認した。

また、これまでに提案された可給態窒素簡易抽出法の多くは風乾細土での測定である。土壌の可給態窒素を考慮して窒素施肥量を決定する場合、生産現場で求められるのは正確性ととも迅速性である。そこで、風乾処理を省略した生土試料での適用性について検討した結果、風乾と生土試料の抽出全窒素量には差が認められず、有機態炭素、有機態窒素、無機態窒素にも風乾、生土試料で差異はなかった。したがって、80 °C 16 時間水抽出法は生土試料でも適用可能である。これは、生土からの抽出物中に土壌の風乾処理に伴って易分解性に変化する有機物が含まれていることを意味する。また、10 % 塩化

カリウム浸出液と 80 °C 16 時間水抽出液の硝酸態窒素抽出量にも差異が認められないことから、同一抽出液で可給態窒素の推定と硝酸態窒素量の測定が可能である。

4 80°C16時間水抽出液の簡易分析法

抽出される有機態窒素や有機態炭素の分析には、酸分解等の前処理、あるいは高額な分析機器が必要となる。また、抽出液を分解せずに抽出窒素を推定する方法として従来から吸光光度法が利用されてきたが、土壌の種類によって吸光度が異なる等の問題があった。

80 °C 16 時間水抽出法では、抽出有機物の C/N 比が土壌の種類によらず、約 9 の一定値を示すため、抽出有機態炭素と可給態窒素にも高い相関関係がある。一方、河川等の水質分析では全有機態炭素量 (TOC) と化学的酸素消費量 (COD) は正相関を示すことが知られている。そこで、分析の簡便化のために、80 °C 16 時間水抽出法において抽出液の COD から可給態窒素を推定することを試み、COD 簡易測定キットの適用を検討した。

可給態窒素 (y) と 80 °C 16 時間水抽出法による抽出有機態窒素 + アンモニウム態窒素増加量 (x_1) との関係は、 $y=0.41 x_1$ で有意な正相関 ($r=0.86$, $p<0.001$) を示した。また、可給態窒素 (y) と 80 °C 16 時間水抽出法による抽出有機態炭素 (x_2) との関係は $y=0.046 x_2$ で、 x_1 と同様に有意な正相関 ($r=0.91$, $p<0.001$) を認め、80 °C 16 時間水抽出法では抽出有機態炭素も可給態窒素を推定するのに有効であることが示された。一方、80 °C 16 時間水抽出法による抽出有機態炭素 (x_2) と COD 簡易測定キットで測定した COD 値 (x_3) との関係は $x_2 = 0.68 x_3$ で極めて高い正相関 ($r=0.94$, $p<0.001$) を示した。そこで、可給態窒素 (y) と COD 簡易測定キットによる COD 値 (x_3) との関係を求めたところ、 $y=0.034 x_3$ で相関係数は x_1 および x_2 と同程度に良好 ($r=0.89$, $p<0.001$) であった。

以上の結果から、抽出液の COD 値を市販の簡易測定キットで測定しても推定精度を低下させることなく可給態窒素の推定が可能であることを確認した。さらに、土壌診断分析機関でなくても、家庭で調達可能な物品で測定ができるように改良した。また、露地畑に比べて有機物投入量が多く、土壌養分の蓄積が多い施設畑においても適用可能であることを示した。

5 開発した畑土壌可給態窒素簡易評価法の特徴

上記の研究により、80 °C 16 時間水抽出と COD 簡易測定による畑土壌可給態窒素の簡易評価法を開発した。

本評価法には、①難しい化学分析操作が不要、②家庭

で調達可能な物品のみで実施可能、③毒・劇物薬品を使用せず廃液処理が不要、④生土試料でも風乾土試料と同等の可給態窒素乾土換算値が得られるので、採土した翌日には判定可能、⑤黒ボク土を含む多様な畑土壌や堆肥連用土にも適用可能、⑥本法の抽出液を使用して土壌の硝酸態窒素量も測定可能など、多くの利点があり、迅速性、汎用性に優れている。

6 開発した技術の普及と今後の展望

本評価法の普及推進を図るため、操作手順のマニュアルを作成した⁶⁸⁾。また、本分析法は平成 28 年から J A 全農の土壌分析項目に採用され、神奈川県の全国土壌分析センターで測定されることとなり、普及が加速化されることになった。

さらに、可給態窒素を窒素肥沃度、土づくりの指標として活用するだけでなく、窒素肥料の適正化に活用する取組みをはじめた。畑作物は種類・作型が多様であるため、本技術による評価結果に反応速度論を組み合わせ平均地温から土壌の窒素無機化量を時期別に推定し、施肥基準から適正な窒素施肥量を自動算定する表計算システムを作成した。

2016 年度にこの適正窒素施肥システムを利用して、可給態窒素レベルの異なる圃場で栽培試験を実施した結果、精度よく実証でき、可給態窒素レベルが高い場合は窒素減肥を、低い場合は有機物施用等による土づくりの励行と並行して、目標とする可給態窒素レベルに到達するまでの期間は窒素を増肥して、目標収量を得るための指導指針として活用できる目処がついた。今後、多品目での栽培試験や現地実証を経て実用化に取り組むこととしている。

7 おわりに

土壌診断測定項目のなかで可給態窒素は、土壌の窒素肥沃度を表す重要な項目であるにもかかわらず、測定法が煩雑で長時間を要するため、これまで、ほとんどの土壌分析機関では可給態窒素を測定実施項目としておらず、地力窒素を知りたいという生産者のニーズに応えることができていなかった。開発した簡易評価法は非常に簡便で、農業技術指導機関だけでなく生産者自らが実施できるため、自分の畑の窒素肥沃度がどの程度であるかを実感できるとともに、窒素肥沃度を考慮した適正施肥に活用できる。

本簡易評価法を活用することによって、農家の肥料コスト削減、作物の高品質安定生産はもちろん、環境保全にも貢献できると考える。

謝 辞

本研究は農林水産省委託プロジェクト研究「収益力向上のための研究開発」の生産コストの削減に向けた効率的かつ効果的な施肥技術の開発（平成 27 ～ 31 年度予定）、農林水産省委託プロジェクト「地域内資源を循環利用する省資源型農業確立のための研究開発」（平成 21 ～ 25 年度）および農林水産省の新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業「農業環境規範に適合する家畜ふん堆肥の肥効評価システムの確立（課題番号 18053）」（平成 18 ～ 20 年度）で行われたものであり、著者が 2007 ～ 2009 年度、農研機構・中央農業総合研究センター在籍中に、加藤直人博士および森泉美穂子博士とともに検討を重ねて開発した技術と、2010 年以降鹿児島県農業開発総合センターにて行った研究成果をまとめたものです。共同研究者の加藤直人博士および森泉美穂子博士には心から感謝し、厚くお礼を申し上げます。本論文のとりまとめに際し、素稿の段階からご指導とご助言を賜りました九州大学農学研究院の山川武夫准教授に厚くお礼申し上げます。

また、論文の審査過程において、九州大学農学研究院の平館俊太郎教授と平井康丸准教授にはご助言とご校閲を賜りました。深く感謝申し上げます。

著者の中央農業総合研究センター派遣に御尽力頂き、鹿児島県農業開発総合センターに戻ってからも、賞の推薦や、論文執筆等に多大なる労を取りはからって頂きました元鹿児島県農業開発総合センター副所長の松元順博士にお礼申し上げます。また、本論文の執筆を強く薦めて頂いたジェイカムアグリ株式会社の郡司掛則昭博士にお礼申し上げます。

加藤直人氏および森泉美穂子氏はもちろんのこと、中央農業総合研究センターの木村武研究管理監（当時）、筆者が 3 年間所属した資源循環・溶脱低減研究チームの石岡巖氏をはじめ、駒田充生氏、高橋茂氏、前田守弘氏、金澤健二氏、西村誠一氏、井原啓貴氏、伊藤純雄氏、建部雅子氏、菊地直氏、淵山律子氏、渡部真佐子氏、根本由美子氏および小松津由子氏に厚く感謝申し上げます。さらに、大豆生産安定研究チーム、土壌生物機能研究チーム、土壌作物分析診断手法高度化研究チーム（いずれも当時のチーム名称）の皆様には、日頃から貴重なご指導とご助言を頂き、深く感謝申し上げます。

本技術のうち、可給態窒素の簡易評価法の開発については、主として実用技術開発事業で実施した成果であり、共同研究機関の岐阜県農業技術センター、新潟県農業総合研究所、三重県科学技術振興センター、(財)畜産環境整備機構の研究担当者の皆様、なかでも岐阜県の棚橋

寿彦氏および和田巽氏, 新潟県の小柳渉氏, 三重県の村上圭一氏および外部有識者の小川吉雄博士には, 試料提供や評価法に対する助言, 試行等で多大な協力をいただきました。厚くお礼申し上げますとともに, 貴重な有機物連用畑の土壌試料を提供いただいた各試験研究機関の関係者の皆様に感謝します。

さらに, 中央農業総合研究センターにおいて, 著者の後任として本研究の発展に大きく貢献して頂いた, 富山県農林水産総合技術センターの東英男氏ならびに野原茂樹氏に深く感謝申し上げます。

可給態窒素を活用した施肥診断システムの開発については, 農林水産省委託プロジェクト研究で実施中の中間成果であり, 農研機構中央農業研究センター土壌肥料研究領域の大谷卓領域長をはじめとする研究員の皆様, 共同研究機関の岩手県農業研究センター, 茨城県農業総合センター, 長野県野菜花き試験場, 愛知県農業総合試験場の研究担当の皆様, および運営委員の安西徹郎博士, 木村和彦博士には, 多くのご助言やご指導を頂いており, 厚く御礼申し上げます。

鹿児島県農業試験場に勤務以来, 試験研究に対するご指導を頂いた上村幸廣氏(故人), 安庭誠氏(故人)に心より感謝申し上げます。

鹿児島県農業開発総合センターにおいて, 研究の遂行にご助言頂いた古江広治氏, 井上栄明氏, 脇門英美氏, 長友誠氏, 井上健一氏, 餅田利之氏, 白尾吏氏, 加治屋五月氏, 森清文氏, 西裕之氏に感謝申し上げますとともに, 栽培試験, 化学分析にあたって多くの労を頂いた網屋成子氏, 竹山健一氏, 下山かおり氏, 惣福脇晃氏, 園田嘉邦氏ほか農業開発総合センター生産環境部土壌環境研究室の臨時職員の皆様に感謝します。

引用文献

- 1) 阿部盟夫 2008. 可給態窒素簡易推定のためのリン酸緩衝液 pH の検討—栃木県における黒ボク畑土壌の場合—, 土肥誌, 79, 193-197.
- 2) 青山正和・木村智志・野呂拓未 2013. 有機栽培期間が異なる野菜畑土壌の粗粒有機物, 水溶性有機物と微生物バイオマス. 土肥誌, 84, 30-37.
- 3) Benbi, D.K. and Richter, J. 2002. A critical review of some approaches to modeling nitrogen mineralization. *Biol. Fertil. Soils*, 35, 168-183.
- 4) Cornforth, I. W. and D. Walmsley 1971. Methods of measuring available nutrients in West Indian soils. *Plant Soil*, 35, 389-399.
- 5) Curtin, D., Wright, C.E., Beare, M.H. and McCallum, F.M. 2006. Hot Water-Extractable Nitrogen as an Indicator of Soil Nitrogen Availability. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 70, 1512-1521.
- 6) 土壌保全調査事業全国協議会編 1991. 日本の農耕地土壌の実態と対策, p.36-55. 博友社, 東京.
- 7) 土壌環境分析法編集委員会編 1997. 土壌環境分析法, p.241-262. 博友社, 東京.
- 8) 独立行政法人 農業・生物系特定産業技術研究機構 2007. 最新 農業技術事典, p.1172. 農文協, 東京.
- 9) 藤原俊六郎・安西徹郎・加藤徹郎 1996. 土壌診断の方法と活用 7.地力窒素による診断と有機物の評価, p.193-144. 農文協, 東京.
- 10) 古江広治, 上沢政志 2001. 反応速度論的手法での土壌および有機質資材の有機態窒素の無機化特性値データ集, 農研センター研究資料, 43.
- 11) 後藤逸男 2006. 農大式簡易土壌診断キット「みどりくん」とその使い方, 農業技術体系, 第4巻(土壌肥料編, 追録第17号), 基本 p.232の10-15, 農文協, 東京.
- 12) 独立行政法人 農業・生物系特定産業技術研究機構 2007. 最新農業技術事典, p.1172. 農文協, 東京.
- 13) Ghani A., Dexter M., Perrott K.W. 2003. Hot-water extractable carbon in soils: a sensitive measurement for determining impacts of fertilization, grazing and cultivation. *Soil Biol. Biochem.*, 35, 1231-1243.
- 14) Gregorich, E.G., Beare, M.H., Stoklas, U., St-Georges P. 2003. Biodegradability of soluble organic matter in maize-cropped soils. *Geoderma*, 113, 237-252.
- 15) 原嘉隆・土屋一成 2007. 乾熱処理後のアンモニウム態窒素量による土壌の窒素肥沃度の簡便迅速評価の可能性, 土肥誌, 78, 573-580.
- 16) Hayakawa, C., Fujii, K., Funakawa, S., Kosaki, T. 2011. Biodegradation kinetics of monosaccharides and their contribution to basal respiration in tropical forest soils. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 57, 663-673.
- 17) 平館俊太郎・松永俊朗・和田信一郎・渡邊彰 2011. 第2部門 土壌化学・土壌鉱物, 土肥誌, 82, 466-478.
- 18) 北海道農政部 2002. 北海道施肥ガイド, p.1-242.
- 19) 北海道農政部 2010. 北海道施肥ガイド 2010. http://www.hro.or.jp/list/agricultural/research/chuo/fukyu/sehiguide2010_index.html
- 20) 北海道立中央農業試験場・北海道農政部農業改良課

1992. 土壌および作物栄養の診断基準—分析法 (改訂版) 一, p80- 81.
- 21) 茨城県普及成果情報 2012. 秋冬レタスは土壌の硝酸態窒素および可給態窒素含量により診断施肥できる.
http://www.pref.ibaraki.jp/nourinsuisan/enken/seika/yasai/yosai/documents/s24_09.pdf
- 22) 井ノ子昭夫 1979. 可給態窒素. 農林水産省農蚕園芸局農産課編, 土壌環境基礎調査における土壌, 水質及び作物体分析法, p84- 85. 土壌保全調査事業全国協議会, 東京.
- 23) 岩手県 2009. 岩手県農作物施肥管理指針 II-1 補給型施肥基準の基本的考え方.
http://www.pref.iwate.jp/dbps_data/_material/_files/000/000/029/027/2kangae.pdf
- 24) 岩手県農業研究センター 2002. 平成 14 年度試験研究成果書; SDS 抽出法による土壌の可給態窒素量の簡易測定法,
<http://www.pref.iwate.jp/~hp2088/seika/h14/b12.pdf>
- 25) 岩手県農業研究センター 2006. 平成 18 年度試験研究成果書; マイクロ波を用いた土壌可給態窒素の簡易推定手法,
http://www.pref.iwate.jp/~hp2088/seika/h18/h18_kenkyu27.pdf
- 26) Jones, D.L., Shannon, D., Murphy, D.V., Farrar, J. 2004. Role of dissolved organic nitrogen (DON) in soil N cycling in grassland soils. *Soil Bio. Biochem.*, 36, 749- 756.
- 27) 鹿児島県農政部 2014. 鹿児島県土壌管理指針 (六訂版), p24- 59.
- 28) 笠井信善・佐野敦・岩田隆 1999. COD 簡易分析法の実用性に関する研究 (第 2 報), 富山県環境科学センター研究報告書, 27-2, 35- 38.
- 29) Keeney, D.R. and Bremner, J.M. 1966. Comparison and evaluation of laboratory methods of obtaining an index of soil nitrogen availability. *Agron. J.*, 58, 498- 503.
- 30) 厚生労働省 2003. 第 7 回厚生科学審議会生活環境水道部会水質管理専門委員会.
<http://www.mhlw.go.jp/Shingi/2003/02/s0217-5.html>.
- 31) 熊本県農林水産部 2008. 牛ふん堆肥を用いたアールスメロン栽培において養分を適正に管理するための診断カルテ
https://www.pref.kumamoto.jp/common/UploadFileOutput.ashx?c_id=3&id=6666&sub_id=1&flid=25&dan_id=1
- 32) Leinweber P., Schulten H.R., Körschens. 1995. Hot water extracted organic matter: chemical composition and temporal variations in a long-term field experiment. *Biol Fertil soils.*, 20, 17- 23.
- 33) 眞家永光 2009. 近年の腐植物質分析法の展開 1. 三次元蛍光分析, 土肥誌, 80, 419- 426.
- 34) 松本真悟・阿江教治・山懸真人 2000. 中性リン酸緩衝液および希硫酸抽出による土壌の可給態窒素の推定と抽出される有機態窒素の特性, 土肥誌, 70, 86- 89.
- 35) 松永俊朗・森泉美穂子 2012. 土壌の可給態窒素分析法と課題. 土肥誌, 83, 625- 629.
- 36) Matsunaga T., Moriizumi M., and Kameda T. 2013. Molecular characterization of organic nitrogen in cattle manure compost by size-exclusion HPLC with chemiluminescent nitrogen detection. *Anal. Sci.*, 29, 923- 926.
- 37) 水野直治・南松雄 1980. 硫酸一過酸化水素水による農作物中 N, K, Mg, Ca, Fe, Mn 定量のための迅速前処理法, 土肥誌, 51, 418- 420.
- 38) Moriizumi M. and Matsunaga T. 2011. Molecular weight separation of hot-water extractable soil organic matter using high-performance size exclusion chromatography with chemiluminescent nitrogen detection. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 57, 185- 189.
- 39) 森泉美穂子・上菌一郎・松永俊朗・加藤直人 2015. 畑土壌の 80 °C 16 時間水抽出性有機態窒素の分解特性. 土肥誌, 86, 8- 16.
- 40) 文部科学省科学技術学術審議会資源調査分科会 2010. 五訂増補日本食品標準成分表. 国立印刷局, p508.
- 41) 長友誠・上菌一郎・有村恭平・森清文・古江広治 2017. 黒ボク土畑における可給態リン酸含量に対応したリン酸施肥. 土肥誌, 88, 48- 52.
- 42) 中辻敏朗・坂口雅己・柳原哲司・小野寺政行・櫻井道彦 2008. 有機栽培野菜畑の窒素肥沃度指標とその簡易分析法, 土肥誌, 79, 317- 321.
- 43) 日本分光 2011. 日本分光 LC application data No.430012HRE3. 1- 2.
- 44) 日本規格協会 1981. 工場排水試験方法. JIS K 0102, p33- 38.
- 45) 日本土壌協会編 2000. 土壌機能モニタリング調査のための土壌, 水質及び植物体分析法, p66- 72. 日本土壌協会, 東京.
- 46) 西裕之・森田重則・小玉泰生・澁川洋・相本涼子・

- 井上健一・久米隆志・後藤忍・末永博・永田茂穂・鳩野哲也・松本順・森清文・山下純一・脇門英美・和合由員 2013. 30 年間における鹿児島県農耕地土壌の理化学性の変化. 鹿児島農総セ研報, 7, 47- 61.
- 47) 新良力也・伊藤豊彰 2016. 水稲作におけるリン酸減肥基本指針の策定. 土肥誌, 87, 462- 466
- 48) 農林水産省 2013. 都道府県施肥基準等.
http://www.maff.go.jp/j/seisan/kankyo/hozen_type/h_sehi_kizyun/
- 49) 農林水産省生産局 2008. 土壌保全調査事業成績書 土壌機能モニタリング調査編, p1- 483.
- 50) 農林統計協会編 2017. ポケット肥料要覧 2015/2016, p4- 67. 農林統計協会, 東京.
- 51) 小川吉雄 2000. 地下水の硝酸汚染と農法転換, p1- 200 農文協, 東京.
- 52) 小川吉雄・加藤弘道・石川実 1989. リン酸緩衝液抽出による可給態窒素の簡易測定法, 土肥誌, 60, 160- 163.
- 53) 大塚省吾・沢口敦史・笛木伸彦・中道浩司 2015. 土壌窒素肥沃度に対応した春まき小麦「はるきらり」の栽培法. 土肥誌, 86, 38- 41.
- 54) Paul, E.A., Follett, R.F., Haddix, M., Pruessner, E. 2011. Soil N dynamics related to soil C and microbial changes during long-term incubation. *Soil Science*, 176, 527- 536.
- 55) Roberts P., Bol, R., Jones, D.L. 2007. Free amino sugar reactions in soil in relation to soil carbon and nitrogen cycling. *Soil Biol. Biochem.* 39, 3081- 3092.
- 56) 櫻井道彦・坂口雅己・日笠裕治 2016. 北海道における有機栽培タマネギ・パレイシヨの窒素施肥対応. 土肥誌, 87, 205- 208.
- 57) 斎藤雅典 1988. 土壌可給態窒素量の紫外吸光度法による評価. 土肥誌, 59, 493- 495.
- 58) 坂口雅己・櫻井道彦・柳原哲司 2008. 火山性土における熱水抽出性窒素簡易測定法の検討, 土肥要旨集, 54, 131.
- 59) Sano, S., Yanai, J., and Kosai, T. 2006. Relationships between labile organic matter and nitrogen mineralization in Japanese agricultural lands with reference to land use and soil types. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 52, 49- 60.
- 60) 白戸康人 2006. 日本およびタイの農耕地における土壌有機物動態モデルの検証と改良. 農業環境技術研究所報告, 24, 23- 94.
- 61) Stevenson, F. 1982. Organic forms of nitrogen in agricultural soils. *ASA. CSSA. Madison, Wisconsin*, 67- 114.
- 62) 杉原進・金野隆光・石井和夫 1986. 土壌中における有機態窒素無機化の反応速度論的解析法. 農業環境技術研究所報告, 1, 127- 166.
- 63) Stanford, G. and Smith, S.J. 1976. Estimating potentially mineralizable soil nitrogen from a chemical index of soil nitrogen availability. *Soil Sci.*, 122, 71- 76.
- 64) 栃木県農業試験場 研究成果集 23 号 2005. 施設土壌の可給態窒素の簡易測定法と土壌からの無機化量.
http://www.agrinet.pref.tochigi.lg.jp/nousi/seikasyu/seika23/sep_023_3_15.pdf
- 65) 富沢ゆい子・濱村美由紀・須田達也・渡部敢・笛木伸彦・吉田昌幸 2017. 北海道における子実用トウモロコシの窒素利用特性と土壌診断に基づく窒素施肥対応. 第 2 報 土壌診断に基づく窒素施肥対応の構築. 土肥誌, 88, 100- 108.
- 66) Uezono Ichiro 2005. Capability of Wetland Crops on Paddy Fields in Removal of Nitrate Nitrogen from Irrigation Water. *Bull. Inst. Trop. Agr., Kyushu Univ*, Vol 28- 1, p147- 154.
- 67) 上菌一郎 2006. 水田転作物栽培の灌漑水中硝酸態窒素に対する浄化能. 土肥誌, 77, 687- 690.
- 68) 上菌 一郎・加藤直人 2010. 畑土壌可給態窒素の簡易・迅速評価マニュアル, p1-35. (独) 農業・食品産業技術総合研究機構 中央農業総合研究センター 資源循環・溶脱低減研究チーム.
- 69) 上菌一郎・加藤 直人・森泉 美穂子 2010a. 日本の畑土壌に対する 80 °C 16 時間水抽出法による可給態窒素簡易評価法の適用性. 土肥誌, 81, 39- 43.
- 70) 上菌一郎・加藤 直人・森泉 美穂子 2010b. 80 °C 16 時間水抽出液の COD 簡易測定による畑土壌可給態窒素含量の迅速評価. 土肥誌, 81, 252- 255.
- 71) 上菌一郎・加藤 直人・森泉 美穂子 2012. 露地畑土壌における可給態窒素の各種簡易測定法の推定精度と抽出有機物の特性比較. 土肥誌, 83, 555- 563.
- 72) 上菌一郎・餅田利之 2007. ハクサイにおける硝酸イオンの蓄積に対する施肥窒素の影響. 鹿児島農総セ報, 1, 37- 47.
- 73) 上菌 一郎・餅田 利之・有村 恭平・古江 広治 2012. 可給態窒素簡易判定法を活用した施肥窒素

- 量の算定ツール. 土肥要旨集, 58, 306.
- 74) 上菌一郎・長友誠・上之菌茂・中園充紀・上村幸廣 2003. シラス水田におけるかんがい水含有窒素の低減化. 鹿児島農試報, 31, 31- 38.
- 75) 上菌一郎・長友誠・上之菌茂・中園充紀・上村幸廣 2004. ¹⁵Nトレーサー法による家畜ふん堆肥由来窒素の動態解析. 鹿児島農試報, 32, 55- 70.
- 76) 上菌一郎・中園充紀・長友誠・上村幸廣 2005a. 飼料稲の窒素吸収特性とかんがい水中硝酸態窒素の浄化. 鹿児島農試報, 33, 9- 20.
- 77) 上菌一郎・中園充紀・長友誠・上村幸廣 2005b. 水田転作サトイモ栽培におけるかんがい水中硝酸態窒素の除去効果. 鹿児島農試報, 33, 21- 32.
- 78) 上菌一郎・仁科一哉・大浦典子・古江広治 2013. 豚ふん堆肥, 鶏ふん堆肥の酸性デタージェント可溶性窒素量による一酸化二窒素発生量の評価. 土肥誌, 54, 104- 107.
- 79) 上菌一郎・脇門 英美 2012. 家畜排せつ物の利活用と水質問題から考える有機物管理の次世代パラダイム 2.家畜ふん堆肥の窒素無機化特性と連用畑の窒素収支. 土肥誌, 83, 203- 204.
- 80) 和田巽・棚橋寿彦 2017. 葉菜類(コマツナ・ホウレンソウ)におけるリン酸減肥指標の設定. 土肥誌, 88, 129- 133.
- 81) 八槇敦 2007. 煮沸浸出法による畑土壌の可給態窒素量の推定. 土肥要旨集, 53, 262.
- 82) 八槇敦 2009. 煮沸浸出法による畑土壌の可給態窒素量の推定. 土肥誌, 80, 173- 176.
- 83) 柳井政史・上沢正志・金野隆光・清水義昭 1998. リン酸緩衝液による土壌窒素の抽出量と湛水培養可給態窒素量の関係—土壌群, 土壌化学性および土壌管理来歴の指標による土壌のグループ化—. 土肥誌, 80, 365- 370.
- 84) 安田道夫・岡田泰明 1998. 界面活性剤を用いた水田土壌の可給態窒素量の推定. 土肥要旨集, 44, 138.
- 85) 米林甲陽 1993. 炭素/窒素比—土壌の事典— 久馬一剛・佐久間敏雄・庄子貞雄・鈴木皓・服部勉・三土正則・和田光史編集, 朝倉書店, 東京, 242- 243.

Development of a Simplified Method for Measuring Available Nitrogen in Upland Soil and the Diagnostic System for Appropriate Application of Nitrogen Fertilizer

Ichiro Uezono

Summary

Fertilizer application is desirable to apply timely an appropriate amount of nutrients to the soil. Therefore, the first step of proper application of fertilizer is to check the nutrient status of targeted soil using the soil diagnosis. Available nitrogen that is supplied slowly from soil to crops is an important soil diagnostic parameter influencing the potential crop production. Although increasing the available nitrogen level by applying organic matter such as compost is important, an excessive increase makes it difficult to adjust the nitrogen supply to crops. And also, it causes cultivation-related concerns such as over luxuriant growth or lodging and furthermore groundwater contamination with nitric acid that causes environmental pollution. For these reasons, nitrogen fertilizer and organic matter application must be adjusted based on available nitrogen level in soils.

However, the measurement of available nitrogen in upland soil has required four weeks of soil incubation under aerobic condition at 30°C, taking a lot of time and effort. For these reasons, many simple extraction methods for measurement of available nitrogen have been proposed, although these methods pose concerns related to their diversity and convenience. For example, some methods cannot be applied to some soil types or need toxic chemicals or require expensive analytical equipment. As a result, there are few institutions providing a soil diagnosis service including the routine analysis of available nitrogen, making it difficult for farmers to response rapidly the available nitrogen level.

To solve these problems, we researched on the development of a simple method for measuring available nitrogen that not only institutions provide a soil analysis service but also the individual farmer can operate easily.

Firstly, it was compared about previously reported chemical extraction methods for estimating the available nitrogen of soils collected from experimental field with long-term organic matter application at agricultural experiment station in Japan. It was found that hot water extraction methods has superior estimation accuracy by providing a high correlation with the available nitrogen by incubation method and with good applicability to soils with long-term application of organic matter. In addition, the extraction temperature, time, reproducibility of measurement values are compared and examined, leading to the conclusion that the hot water extraction method at 80°C-16 hour is the best.

As the soil continues to be heated with hot water at 80°C, the extracted ammonium nitrogen increases with the passage of time. Therefore the source of ammonium nitrogen will be originated from protein-like nitrogen compounds that are decomposed by heat treatment. In order to accurately estimate the available nitrogen, it is necessary to calculate the total amount of nitrogen in both of the organic nitrogen or increased ammonium nitrogen by heating with hot water extraction at 80°C -16 hour.

In the case of chemical extraction using phosphate-buffered solution or some acid, the C/N ratio of the organic matter extracted by these extracts varies depending on the soil's C/N ratio. In contrast, 80°C -16 hour hot water extraction method provides a constant value of C/N ratio (roughly 9) regardless of the soil types and organic matter application. The value of C/N ratio 9 of this extracted organic matter is obviously lower than the C/N ratio by previously reported extraction methods. From these results, the 80°C -16 hour hot water extraction is likely the method that extracts easily decomposable organic matter that especially undergo nitrogen mineralization.

Furthermore, the organic carbon extracted by the 80°C -16 hour hot water extraction can be used as an assessment index because it has a strong positive correlation with available nitrogen measured by the incubation method. In order to confirm the applicability of this method, it was verified using soil samples collected from 330 sites plow layers of upland soils. As a result, this method has an estimation accuracy that can be used to evaluate a standard for reducing fertilizer for upland crops.

Although the extraction method was established for the analysis of extracted organic nitrogen and organic carbon, pretreatment such as acid decomposition or expensive analytical equipment is necessary. So, it was examined the ways to simplify the current analytical methods and found that chemical oxygen demand (COD) of an extract solution has a very strong positive correlation with the level of organic carbon. And it was also confirmed that the available nitrogen can be estimated without compromising estimation accuracy even if COD is measured using a simple and commercially available measurement kit. In conclusion, we developed a simplified measurement method for estimating available nitrogen by combination between the 80°C -16 hour hot water extraction and a simple COD measurement method.

This method has numerous advantages, indicating quick measurement and diversity: (1) it is not necessary for difficult chemical analysis, (2) it does not require expensive chemical analyzers and measurement can be undertaken using easily obtainable instruments, (3) it does not use poisonous substances, (4) soil diagnosis is usually measured with air-dried soil, but this method is available to the same result in fresh soil, so the results can be obtained as early as the next day of soil sampling at upland fields, (5) it can be applied to various types of soil including soil which has received compost, and (6) the usage of extract solution makes it possible to measure soil nitrate nitrogen.

It was created a user manual for the purpose of promoting the wider use of this simple assessment method for measuring available nitrogen. This method of measurement has been adopted for use with soil analytical equipment deployed to institutions providing soil diagnosis services and is being adopted as an item for routine soil analysis.

In the future, it will be not only used for measuring available nitrogen as a parameter of soil fertility but also be further advanced to determine the proper level of nitrogen fertilizer application. Our research findings suggest that an 80°C -16 hour hot water extraction method can contribute not only to reducing the fertilizer costs for farms, improving crop quality, and stabilizing production but also to conserving the environment.

Keywords :Available nitrogen, Chemical oxygen demand, Simple extraction, Upland soil