

B-57 土壌微生物の基質誘導呼吸に基づいた黒ボク土中の未利用リン画分の量的評価について

○立石 貴浩^{1*}・宮本 和枝²・颯田 尚哉¹・前田 武己¹

¹岩手大学農学部（〒020-8550 岩手県盛岡市上田3-18-8）

²岩手大学大学院農学研究科（〒020-8550 岩手県盛岡市上田3-18-8）

* E-mail: ttateisi@iwate-u.ac.jp

1. はじめに

リン肥料は、年間70万トン前後のリン鉱石を海外から全面的に輸入し、これを加工して製造している。ここ数年、資源ナショナリズムの高まりにより、リン鉱石の価格は急騰や乱高下し、リン肥料の価格も上昇した。農水省はリン肥料の高騰に対する対応の一つとして、効率的な施肥方法への転換をあげており、この方針に沿った新たな方策が求められている。

ところで、日本に多く分布している黒ボク土はリンを強く吸着する性質を持っている。そのため、植物が利用できるリン画分（可給態リン）の含有量は非常に少なく、リン欠乏による作物の生育障害が発生していた。これを改善するため、黒ボク土を基盤とする農耕地では、1950年代以降多くの化成肥料が施用されたが、その結果、近年ではリンは土壌に過剰に蓄積することとなった¹⁾。現在、農耕地土壌に蓄積したリン資源をどのように回収、有効活用するかが重要な課題となっている。

著者らは、可給態リンが非常に少ない黒ボク土上に生息する植物の養分獲得様式について調査・分析を行い、一部の草本植物は黒ボク土の腐植に含まれる有機態リンをリン源として利用していることを指摘した²⁾。しかし、このリン画分は酸溶液の溶解性に基づく従来の可給態リンの測定法では測定することができない。そこで著者らは、酵素や微生物の働きを介することで植物が利用できるようになるリン画分の存在を想定し、これを潜在的に利用可能なリン画分（Potentially available phosphorus, PAP）と定義し、この分析法の確立を目指している。

本研究ではPAPの定量的な評価を行うために、土壌微生物の現存量測定法である基質誘導呼吸法³⁾の利用を検討した。基質誘導呼吸とは、十分量の炭素源を土壌に添加した時、一時的に土壌からのCO₂発生量が増加する現象である。炭素源・窒素源を過剰に添加しリン律速の状

態においた黒ボク土における基質誘導呼吸は、PAPの量や質を反映しているものと思われる。そこで、本研究では、有機態リンを内部標準として黒ボク土に添加し、基質誘導呼吸の変化を分析することで、黒ボク土中に存在するPAPの量的評価を試みた。

2. 実験方法

(1) 供試土壌および土壌の化学性の分析

基質誘導呼吸に基づいたPAP評価のため条件設定の実験には、岩手県二戸市正法寺町の自然草地の黒ボク土を用いた。PAPの分析には、自然草地区として二戸市正法寺町の自然草地、施肥管理区として岩手大学上田キャンパス内上台草地、岩手大学農学部付属滝沢農場で採取した土壌を用いた。さらに、森林区として岩手大学農学部付属滝沢演習林のアカマツ林およびコナラ林で採取した土壌を用いた。各調査地内で、任意の2～4地点でA₀層を除いた表層0-5cmの土壌を採取した。採取した土壌は研究室に持ち帰り、口径2 mmふるいを通し、分析まで4℃で保存した。各土壌の全リンは湿式灰化法、可給態リンは酢酸抽出法、有機態リンは焙焼法、酸性ホスファターゼ（以下ACP）活性はPNP法により分析した。

(2) 基質誘導呼吸

供試土壌は、100 ml トールビーカーに湿重あたり20 g 分取し、パラフィルムでシーリングし、暗所25℃で3日間前培養を行った。

無添加区では、上記土壌にキャリアであるタルクのみを乾土1 gあたり100mgになるよう添加し十分に攪拌した。ビーカー内のヘッドスペースをCO₂フリーの空気と置換し、直後にパラフィルムでシーリングした。一方、炭素源と窒素源を添加した炭素・窒素添加区（以下CN区）で

は、土壤にグルコース、塩化アンモニウム、およびタルクを、最終濃度がそれぞれ5 mgC/g乾土、1 mgN/g乾土、および100 mg/g乾土になるよう添加した後、無添加区と同様の処理を行った。

CN区にリンの内部標準としてフィチン酸を添加する実験（以下CNP区）では、CN区に添加した成分に加えて、有機態リンとしてフィチン酸(Phytic acid sodium salt hydrate, SIGMA)を最終濃度がそれぞれ0.05, 0.10, 0.15, 0.20, および0.25 mg P/g乾土になるよう添加し、その後は無添加区と同様の処理を行った。

また、空のビーカーで同様に内部の空気をCO₂フリーの空気と置換し、これを対照区とした。

以上の処理を行ったのちに、土壤を暗所25℃で3日間培養した。

(3) 土壤から発生した二酸化炭素量の測定

土壤の二酸化炭素発生量はヘッドスペース法により、ガスクロマトグラフを用いて測定した。各処理区を3日間インキュベーターで培養後、ガスクロマトグラフ(GAS CHROMATOGRAPH, GC-8A, 島津製作所)を用いてヘッドスペース内のCO₂濃度を測定し、1 g乾土あたりのCO₂発生量(μg C/g乾土)として表示した。

3. 結果および考察

(1) 土壤の基質誘導呼吸に基づいたPAPの評価

様々な量のフィチン酸を有機態リンの内部標準として黒ボク土に添加し、さらに炭素源・窒素源を添加し培養した時の土壤の基質誘導呼吸を分析した(図-1)。図-1の縦軸は、炭素源・窒素源・フィチン酸添加後3日間培養した時に発生した積算のCO₂量を示している。無添加区に比べ、CN区では、大きくCO₂発生量が増加した。これは、CN区では土壤中の微生物が添加されたアンモニア態窒素を同化すると同時に、添加されたグルコースを炭素源として利用し、異化する事でCO₂が発生したことを示している。この時、土壤中の微生物は、リンの吸収も必要としているため、黒ボク土中に存在する何らかリン画分を利用したものと思われる。

一方、CN区にさらにフィチン酸を添加したCNP区では、添加フィチン酸量が増加するとCO₂発生量もまた増加した(図-1)。CN区とCNP区との差に相当するCO₂発生量、すなわちフィチン酸添加によるCO₂発生の増加量(y)と土壤へのフィチン酸添加量(x)をプロットしたところ、図-2に示すような相関関係が認められ、式(1)に示す原点を通る回帰式が得られた。両者の間に危険率1%で有意な正の相関が認められた。

$$y = 2232x \quad (r=0.97) \quad (1)$$

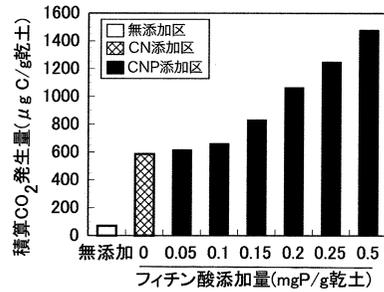


図-1 フィチン酸の添加が黒ボク土の基質誘導呼吸に及ぼす影響。

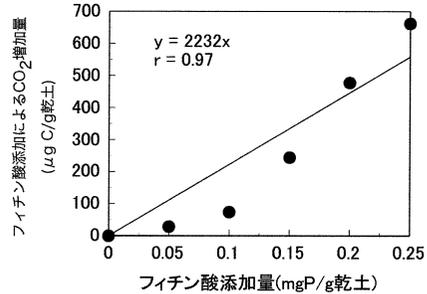


図-2 黒ボク土へのフィチン酸添加に伴うCO₂発生の増加。

有機態リンであるフィチン酸の添加に伴い、CO₂発生量は増加したことから、土壤微生物がフィチン酸をリン源として利用しているものと考えられる。フィチン酸添加に伴い増加したCO₂発生量は、添加したフィチン酸の量を反映しており、式(1)の傾きは土壤に添加した単位フィチン酸(P)あたりのCO₂発生の増加量に該当する。

ところで、図-1における(CN区と無処理区のCO₂発生量の差)は、もともと土壤中に存在するリンを微生物が利用した結果発生したCO₂量とみなすことができ、この値は、微生物にとって潜在的に利用可能なリンの量(PAP)を反映していると考えられる。そこで、以下の項目では、各種黒ボク土で得られたCN区および無処理区のCO₂発生量と式(1)に基づき、PAPを測定した。

(2) 各種黒ボク土におけるPAPの測定の試み

様々な地点で採取した黒ボク土を用いてPAPの測定を行った。PAPは、自然草地区では100g乾土あたり15~27 mg P、施肥管理区では53~65 mg P、森林区では38~83 mg Pの範囲にあった。

本研究で得られたPAPの値と、各土壤試料に含まれる各種リン含有量と有機態リンの無機化に関するACP活性との間の関係性について分析した(図-3)。供試土壤すべてに対して、全リン含有量と有機態リン含有量との間の相関分析を行ったところ、両者に有意な正の相関が認められた(r=0.93, p<0.001)。森林区の土壤では、有機態リン含有量が全リン含有量を越えていたが、自然

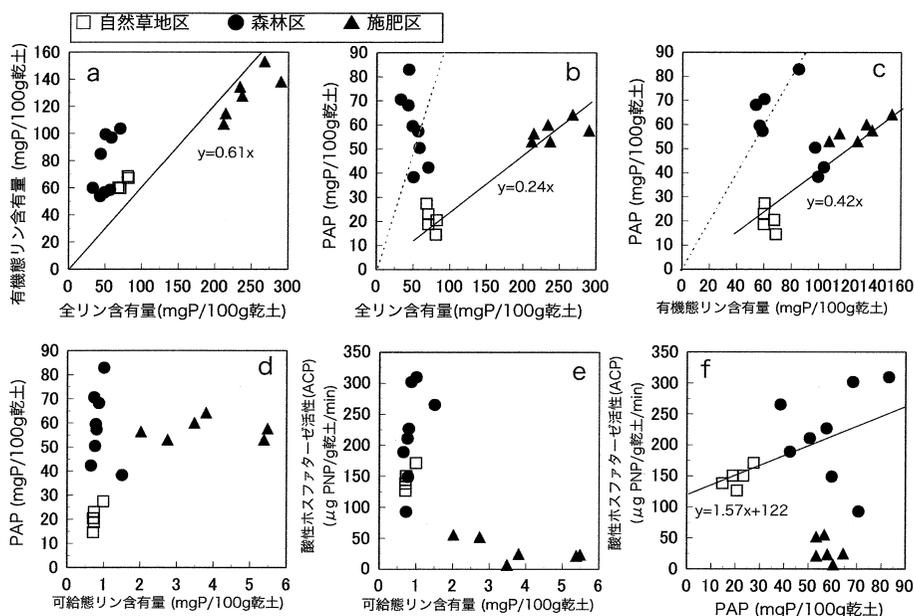


図-3 黒ボク土中のリンに係わる各種測定値間の関係について。実線は回帰直線を、点線は図中における $y=x$ の直線を示す。a, 全リン—有機態リン； b, 全リン—PAP； c, 有機態リン—PAP； d, 可給態リン—PAP, e, 可給態リン—ACP； f, PAP—ACP。

草地区、施肥区では、有機態リン含有量は全リン含有量の48～89%のレベルにあった。このことから、黒ボク土中に含まれるリンの半分以上は有機態リンの形態で存在していることが明らかとなった。

一方、全リン含有量—PAP、有機態リン含有量—PAPの散布図では、森林区の一部の土壌試料において、PAPの値が全リンまたは有機態リンの含有量を越えるものがあった。森林区を除いた自然草地区と施肥区の土壌では、全リン—PAPおよび有機態リン—PAPの間にそれぞれ有意な相関が認められた ($r=0.99$, $p<0.001$; $r=0.99$, $p<0.001$)。一方、可給態リン—PAPの間では、一定の傾向は見られなかった。可給態リン—ACPの間では、可給態リンが少ない土壌ではACPの変動は大きいものの、高い活性を示す土壌が存在し、一方、可給態リンが多い土壌では、ACP活性は低くなる傾向を示した。このことは、可給態リン含有量の少ない黒ボク土では、ACPの産生が多くなることを示している。ACPは有機態リンの無機化に関与する酵素であるが、PAPとの間には有意な相関は認められなかった。しかし、可給態リンが少ない自然草地区、森林区の土壌に限定すると、PAPが増加するに伴い、ACP活性が高くなる傾向にあった。このことは、可給態リンが少ない黒ボク土では、PAPはACPの基質として作用し、リンの可給態化と植物へのリン源の供給に寄与している可能性を示している。

4. まとめ

現在までに、黒ボク土に含まれるリン成分の中で、潜在的に利用可能なリン画分 (PAP) は提唱されていなかったが、本研究ではその画分の存在を土壤微生物の基質誘導呼吸により明らかにすることができた。供試した黒ボク土の中で、森林区の土壌では、得られたPAPが高い値を示す傾向にあり、必ずしも妥当なPAP値を評価するには至らなかったが、自然草地、施肥区の土壌におけるPAPは、全リンの約26%、有機態リンの約40%を占めていることが明らかとなった。また、土壌中のACPは、有機態リンの加水分解による無機態リンの生成に関与することから、PAP—ACPの組み合わせによる無機態リンの生成は、可給態リンの少ない黒ボク土でのリンの可給態化に寄与している可能性が示唆された。

参考文献

- 1)小原 洋, 中井 信: 農耕地土壌の可給態リン酸の全国的変動, 日本土壤肥科学雑誌, Vol. 75, pp. 59-67, 2004.
- 2)宮本和枝, 立石貴浩: 黒ボク土におけるリン吸収に対する植物—AM菌共生系の寄与, 2011年度日本土壤肥科学会東北支部会岩手大会講演要旨集, p. 4.
- 3)Anderson J.P.E. and Domsch K.H. : A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils, *Soil Biol. Biochem.*, Vol. 10, pp. 215-221, 1978.