

報 文

火山灰草地土壌の微生物バイオマス窒素の  
無機化に及ぼす石灰施用の影響

丸 本 卓 哉<sup>1</sup>・岡 野 正 豪<sup>2</sup>・西 尾 道 徳<sup>2</sup>

<sup>1</sup>山口大学農学部 (〒753 山口市吉田1677-1)

<sup>2</sup>草地試験場 (〒329-27 栃木県那須郡西那須野町千本松768)

Effect of Liming on the Mineralization of Microbial Biomass  
Nitrogen in Volcanic Grassland Soil

Takuya MARUMOTO<sup>1</sup>, Seigo OKANO<sup>2</sup> and Michinori NISHIO<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Yamaguchi University, 1677-1 Yoshida, Yamaguchi, 753 Japan

<sup>2</sup>National Grassland Research Institute, 768 Senbonmatsu,  
Nishinasuno, Tochigi, 329-27 Japan

The pH of volcanic grassland soils (3.8 and 4.9) was adjusted to 6.5 and 7.0 by liming with calcium carbonate, respectively. 1) Mineralization of C and N from the treated soils was accelerated after liming and the degree of mineralization during 20 days was larger in the soil with adequate application of lime (pH7.0) than in the soil adjusted to pH6.5. 2) Soil microbial biomass C decreased during the 2 day period after liming and then gradually reached the level of the control soil within the following 2 weeks. 3) Fungal biomass C which was determined by a microscopic method decreased significantly immediately after liming in spite of the constant level of fungal biomass C in the control soil. On the other hand, bacterial biomass C in the control soil increased from the early stage of incubation in treated and control soils. 4) On the basis of these results, it is concluded that (a) a considerable portion of fungal biomass was destroyed by liming and (b) soil respiration and nitrogen mineralization were promoted due to the subsequent decomposition of the cytoplasm and cell walls of the dead fungi by the bacteria.

Key Words : Liming, Microbial biomass nitrogen, Volcanic grassland soil

序 言

施肥レベルが一般に低いわが国の草地土壌では、草地生態系を循環してくる窒素が、牧草に対する可給態窒素の重要な給源となっている。そのなかで土壌微生物菌体から放出される窒素が重要な役割を演じており、草地土壌管理技術のひとつとして、菌体窒素を制御することの必要性が指摘されている<sup>1)</sup>。そのためには、草地土壌における菌体窒素の流れを把握することが必要であり、その際、地力維持からみた長期的な菌体窒素の動態と、土壌処理に伴って放出が促進される短期的な動態を解明することが必要である。

長期的な動態については、共著者の岡野・西尾によって研究が進められている<sup>2)</sup>。本報では、栃木県西那須野の草地試験場内の火山灰草地土壌を用いて、炭酸カルシウム施用による土壌の酸性矯正後に生じる土壌窒素の無機化促進現象における菌体窒素の短期的動態を明らかにし、無機化促進機構における微生物バイオマスの役割を解明しようとしたものである。

実験方法

1. 供試土壌

1985年6月に草地試験場(栃木県西那須野町)の藤荷田山草地から土壌を採取した。この草地は放牧圧の異なる強放牧区(H区)と弱放牧区(L

区) から成り, 1973年に造成されてから1981年までのそれぞれの放牧庄は平均350CDと180CDであった<sup>3)</sup>。施肥量は, 造成時に1 ha 当り(以下同じ) N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, K<sub>2</sub>Oとしてそれぞれ100, 180, 100kg, その後1974-1979年までは年平均それぞれ106, 90, 106kg, そして1980年からは3要素すべて54kgずつであった<sup>4)</sup>。苦土石灰は, 造成時に2 t 施用され, その後1979年と1981年に400kg ずつ表面施用されている。土壌採取時での牧草の被度はL区でオーチャードグラス28%, トールフェスク11%, ホワイトクローバ10%, ケンタッキーブルーグラス9%, シバ7%であった。H区でのこれらの草種の被度はそれぞれ22%, 4%, 3%, 6%と低く, シバが33%を占めていた(データ, 草地生態研究室)。

両区(L区とH区)のルートマット層とそれ以下の土壌(深さ0-10cm)を採取後, 直ちに2 mmのふるいを通し, 水分量を最大容水量の60%に調整して室温(約25°C)で10日間静置した。これらの供試土壌の理化学性をTable 1に示す。

## 2. 土壌の酸性矯正と培養

供試土壌のpH(H<sub>2</sub>O)は, L区:3.8, H区:4.9であった(Table 1)。両区の土壌に炭酸カルシウム(以下炭カルと称する)の粉末を加え, pHを6.5及び7に調整した。炭カルの施用量は, pH6.5調節区はヘクタール当り約1,000kg, pH7.0区は約1,200kgに相当する。以下pH6.5に矯正したL区の土壌をL6, pH7に矯正した土壌をL7とする。同様に酸度を矯正したH区の土壌をH6, H7とする。酸性土壌に炭カルを施用した直後は, 炭酸塩の酸加水分解によってCO<sub>2</sub>の一時的な放出が生じた。それが施用後5時間以内に終了したのを確認し, 以下の土壌処理や培養は6時間後より開始

した(Fig. 1)。土壌は, 乾土15g相当量を200ml容三角フラスコに分取し, 炭酸ガス定量用のコック栓および無機態窒素定量用のアルミホイル蓋をそれぞれ施した後, 水分を最大容水量の60%, 温度25°Cにて恒温器中に20日間培養した。

## 3. 微生物バイオマスCの定量

a) クロロホルムくん蒸法: Jenkinsonの方法<sup>5)</sup>に従って土壌中の全微生物バイオマスCを定量した。土壌からの発生炭素ガスはU字管中のソーダタルク(メルク社製)に吸収させた後, その重量増より求めた<sup>6)</sup>。バイオマス定量に用いたKc factor(10 days)は0.45とした。

b) 直接検鏡法: 生土10gに滅菌水90mlを加え, ホモジナイザー(18,000回転/分)で5分間分散させた<sup>7)</sup>。この懸濁液からJones and Mollisonの方法<sup>8)</sup>により寒天薄膜を作成して染色したものを

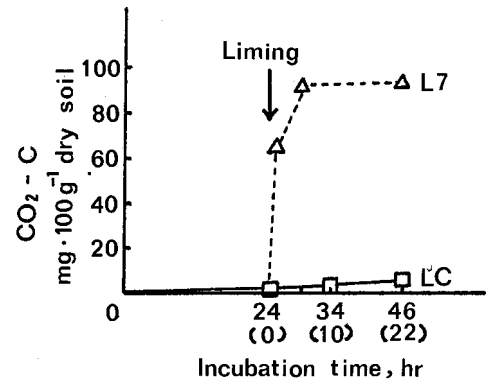


Fig. 1 Release of CO<sub>2</sub>-C from the soil after liming ( $\Delta$ : pH7,  $\square$ : control)

Table 1 Properties of soil samples

Grazed* plot	Texture (%)	T-C (%)	T-N (%)	C/N	CEC (me/100g)	pH (H <sub>2</sub> O)
L	sand 42.2	6.6	0.46	14.3	14.0	3.8
	silt 27.6					
	clay 30.2					
H	sand 41.2	7.1	0.47	15.1	19.9	4.9
	silt 16.4					
	clay 42.4					

\*L: Plot with low grazing level (180CD), H: Plot with higher grazing level (350CD)

顕微鏡観察した。観察条件は Nishio (1983)<sup>9)</sup>の通りで、測定された糸状菌菌糸長と菌糸の太さから糸状菌菌糸の全体積を算出した。細菌の場合はこの圃場の1細胞の大きさの実測値<sup>7)</sup>の平均値 $0.2 \mu\text{m}^3$ を用いて全細胞数から全体積を算出した。さらに、体積・重量換算係数(菌体の乾物率×比重)を $0.22(0.2 \times 1.1)$ 、乾物当りのC含量を50%として、糸状菌と細菌のそれぞれのバイオマスCを求めた。

#### 4. 土壌中の無機化窒素の定量

培養中の土壌試料を経時的に取り出し、10%の塩化カリウム溶液にて無機態窒素を抽出した。抽出液中の無機態窒素を Conway 法<sup>10)</sup>にて求めた。

### 実験結果及び考察

#### 1. 炭カル施用土壌からの土壌呼吸による二酸化炭素の放出

無施用土壌に比べ、炭カル施用土壌からの  $\text{CO}_2$ -C 発生量は明らかに増加した。その増加量は0~5日間で最も多く、その後は徐々に増加した(Fig. 2)。これは、後の Table 2 に示すように、炭カル施用後の細菌の増加による土壌呼吸の促進と一部死滅糸状菌の細菌による分解に伴う  $\text{CO}_2$  の発生によるものであろう。さらに炭酸ガス発生量は糸状菌減少率の大きい pH7調節区の方が pH6.5区より高かった。なお、土壌溶液中に溶解する  $\text{CO}_2$  量が、pHの上昇によって増加した可能性を考慮すると、pH調節区の真の  $\text{CO}_2$  発生量は測定値より若干高い可

能性がある。

#### 2. 炭カル施用土壌からの窒素の無機化

供試土壌では培養直後から窒素の著しい有機化が生じた(Fig. 3)。これはルートマット層以下の嫌氣的条件下にある土壌が好氣的に培養されたのに伴い、微生物が嫌氣的代謝から好氣的代謝へと切替えたために生じた現象<sup>9)</sup>と考えられる。無施用土壌の値を差し引いた炭カル施用による無機態Nの増加量は、2日目と15日目に極大を示した。その無機化量は、土壌からの放出  $\text{CO}_2$  と同様に pH7区の方が pH6.5区より高く推移した(Fig. 3)。

#### 3. 炭カル施用による微生物バイオマスの変化

くん蒸法で測定した土壌バイオマスCは、炭カル無施用土壌では培養に伴って徐々に減少したが、炭カル施用土壌では施用直後急激に減少し、その後10日から20日目にかけて徐々に回復した(Fig. 4)。炭カル施用によるバイオマスCの2日目の減少量は、100g 乾土当り L 6区:8.8mg, L 7区:3.0mg, H 6区:10.8mg, H 7区:9.9mgで、0日のバイオマスCに対し、それぞれ22.6%, 7.7%, 27.8%, 25.5%を示した。

直接法を用いて推計した細菌及び糸状菌バイオマスCの値(Table 2)によると、炭カル施用前の土壌では、糸状菌Cが細菌Cの7.9~8.7倍も多かった。そして、糸状菌Cは無施用土壌ではほぼ一定であったが、炭カル施用土壌においては、施用直後の5日目には当初の約1/3~1/2に急激に減少し、その後徐々に回復する傾向を示した。こ

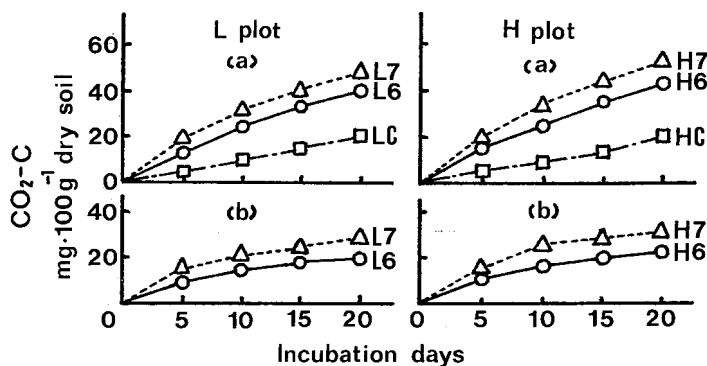


Fig. 2 Release of  $\text{CO}_2$ -C from the soils after liming

(a) measured values (b) difference from the control

( $\Delta$ ) : pH7-L7, H7, ( $\circ$ ) : pH6.5-L6, H6, ( $\square$ ) : control-LC, HC)

Table 2 Changes in the microbial biomass carbon estimated by a microscopic method in soil following the application of calcium carbonate

Treat.	Incubation time (days)			
	0	5	10	20
Bacterial carbon (C mg/100g soil)				
LC	3.8±0.1*	5.6±0.4	7.4±0.1	6.4±0.1
L7	3.8±0.1	6.1±0.7	6.9±0.1	7.4±0.1
HC	3.9±0.5	7.9±0.3	7.6±0.5	7.2±0.8
H7	3.9±0.5	7.6±0.3	7.3±0.5	7.7±0.5
Fungal carbon (C mg/100g soil)				
LC	33±4	25±2	35±4	27±2
L7	33±4	13±0	19±6	13±1
HC	31±3	29±1	44±2	28±3
H7	31±3	17±2	22±0	21±0

\*Mean ± S.E.

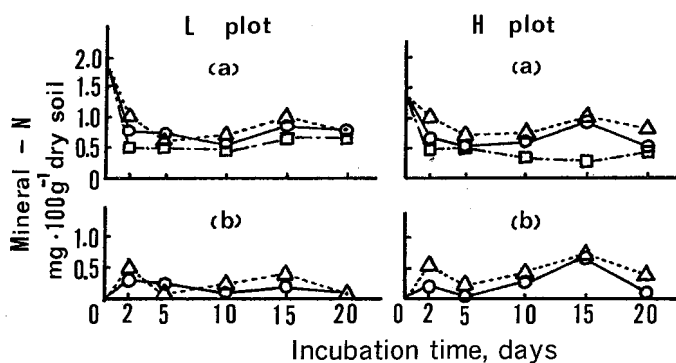


Fig. 3 Nitrogen mineralization from soils after liming  
(a) measured values (b) difference from the control  
( $\Delta$  : pH7,  $\circ$  : pH6.5,  $\square$  : control)

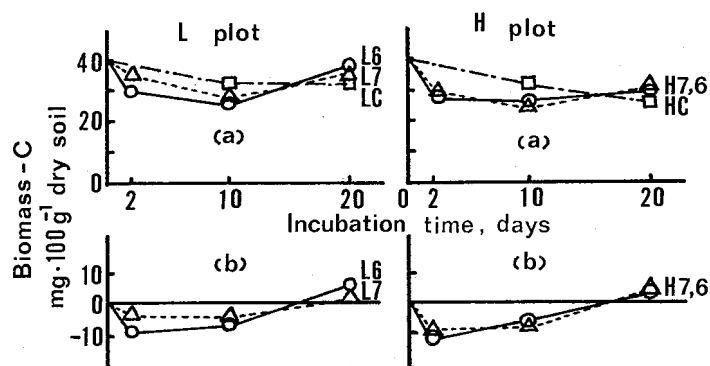


Fig. 4 Changes in soil microbial biomass C determined by the chloroform fumigation method  
(a) measured values (b) difference from the control  
( $\Delta$  : pH7,  $\circ$  : pH6.5,  $\square$  : control)

れに対して細菌Cは、炭カル無施用及び施用土壌ともに、培養初期急激に増加し、10日以後ほぼ一定となり、20日目には炭カル施用区の細菌Cは当初の1.9～2.0倍に増加した。

これらの結果は、酸性の草地土壌を炭カル施用によってpHを6.5ないし7に矯正すると、土壤呼吸によるCO<sub>2</sub>-C発生量は増加したにもかかわらず、くん蒸法で測定したバイオマスCは無処理土壌より減少したという、一見矛盾した現象を示している。つまり、炭カル施用によって単位バイオマス量当りのCO<sub>2</sub>-C発生量が高まったことになる。糸状菌及び細菌バイオマスの量的変化とそれぞれの一般的なC利用効率の比較によると、糸状菌は利用したCの30～50%を菌体に合成するが、好気性細菌は5～10%、嫌気性細菌は2～5%にすぎない。換言すれば、同量の基質を利用したとき、細菌の方がより多くのCO<sub>2</sub>-Cを発生する。したがって、仮に同量の基質があったとき、細菌の割合が高く、糸状菌の割合が低いほどCO<sub>2</sub>-C発生量が多くなる。また、細菌と糸状菌のいずれでも生理的に若い細胞ほど代謝活性が高いと考えてよい。こうしたことが、炭カル施用に伴う一見矛盾した現象を示した原因のひとつと考えられる。しかしながら、このことは、糸状菌と細菌の量的構成比や生理的年齢によって、くん蒸法で用いられているKc factorの値がずれることを示唆しており、今後検討が必要であろう。

#### 4. 炭カル施用によって無機化が促進された窒素の給源とその機構

炭カル施用による窒素の無機化促進量と糸状菌バイオマスCの減少量、つまり、無施用に比べた炭カル施用による糸状菌の死滅率の変化を、L7及びH7区の土壌についてFig.5に示した。糸状菌バイオマスの減少量は、炭カル添加後10日目に最大となり、以後減少した。無機化促進Nは、2日目に小さなピークを示して一旦減少したが、5日以後は糸状菌バイオマス減少量の増加に伴って再び増加し、糸状菌バイオマスのピークより5日遅れの15日目に最大となった後減少した。このNの無機化促進量は、糸状菌減少量の多かったH7区の方がL7区土壌より高かった。

以上の結果から、酸性の草地土壌への炭カル施用にともなって、pH上昇による有機物の化学的加水分解と抽出<sup>11)</sup>も当然考えられるが、それに加えて、糸状菌菌体のかなりの部分が死滅し、死菌体の細

胞質成分を細菌が分解して増殖するため、施用直後に土壤呼吸によるCO<sub>2</sub>の発生量やNの無機化促進が生じる。その後に糸状菌死菌体の細胞壁成分が細菌や生き残った糸状菌に徐々に分解されて、土壤呼吸やNの無機化が徐々に増加するという過程が、酸性矯正に伴う易分解性土壌有機物の化学的抽出とその微生物分解の過程に加えて存在することが推定された。ただし、Fig.5でNの無機化促進量と糸状菌Cの減少量のパターンが一致しない部分がある。それは、糸状菌Cは直接法で測定したため、生菌と死菌の区別や細胞内容物の充填度合の区別ができていないためと考えられる。

#### 5. 草地土壌の炭カルによる酸性矯正に伴うバイオマスからの短期的N放出量

草地のルートマット層下の土壌は、一般の畑土壌などとはかなり異なった微生物学的特徴を有しており、養分の代謝や循環も異なることが指摘されているが<sup>1,2,7,9)</sup>、本試験の結果より、炭カルによる酸性矯正に伴う微生物バイオマスからの短期的N放出量を概算した。ヘクタール当り400kgのバイオマスCを含有する酸性の草地土壌に対し、炭カルを1,000kg施用して土壌pHを6.5に矯正した場合、約100kg(25%)のバイオマスが死滅し、その後2～3週間に約5kgのNが土壌中に無機態Nとして放出されるという結果が得られた。

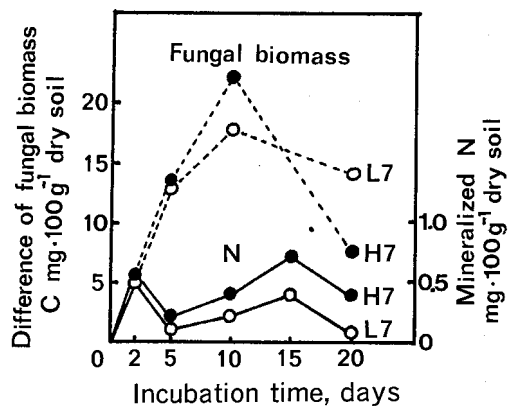


Fig. 5 Changes in the difference in fungal biomass C and mineralized nitrogen in soils (pH7) after liming

## 要 旨

石灰施用による草地土壌の酸性矯正に伴う、土壌窒素の無機化促進における土壌バイオマスの役割について解明を試みた。

- 1) 炭カル施用で土壌呼吸が促進され、無施用土壌に対する CO<sub>2</sub>-C 発生の増加量は、0～5 日で最も多く、その後は徐々に増加した。
- 2) 供試土壌では培養直後に急激な N の有機化が生じた。これはルートマット層以下の嫌氣的土壌が好氣的に培養されたのに伴い、微生物が嫌氣的から好氣的代謝に切り替えたためと考えられた。そして、無施用土壌の値を差し引いた炭カル施用土壌の無機態 N の増加量は 2 日目と 15 日目にピークを示した。
- 3) くん蒸法で測定した土壌バイオマス C は、無施用土壌でも培養に伴って徐々に減少したが、炭カル施用によって施用直後に急激に減少し、その後徐々に回復した。直接法で推計した糸状菌 C は無施用土壌でほぼ一定であったが、炭カル施用直後に急激に減少し、その後徐々に回復する傾向を示したのに対し、細菌 C は炭カルの無施用及び施用土壌とともに培養初期から著しく増加した。
- 4) 以上の結果から、草地土壌の炭カル施用による酸性矯正に伴って、糸状菌菌体のかなりの部分が死滅し、死菌体の細胞質成分を細菌が分解して増殖するために、施用直後に土壌呼吸による CO<sub>2</sub> の発生や N の無機化促進が生じ、その後糸状菌死菌体の細胞壁成分が細菌や生き残った糸状菌に徐々に分解されて、土壌呼吸や N の無機化が徐々に増加するという過程が推定された。

## 謝 辞

本研究は1985年度、農林水産省の流動研究員制度の適用を受けて草地土壌試験場において実施したものである。関係各位に対し感謝の意を表します。

## 引用文献

- 1) 西尾道徳 (1986) 植物養分の貯蔵源・供給源としての土壌微生物菌体. 農業技術, **41**, 307-311.
- 2) OKANO, S., NISHIO, M. and SAWADA, Y. (1987) Turnover rate of soil biomass nitrogen in the root mat layer of pasture. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **33**, 373-386.
- 3) AKIYAMA, T., TAKAHASHI, S., SHIYOMI, M. and OKUBO, T. (1984) Energy flow at the producer level. The energy dynamics of grazed grassland I. *Oikos* **42**, 129-137.
- 4) 小山信明・塩見正衛・築城幹典・高橋繁男・秋山侃・大久保忠旦 (1986) 放牧草地におけるエネルギーの流れ. III. 草種構造割合の変化が牧草のエネルギー現存量に及ぼす影響. 草地試研報, **35**, 24-34.
- 5) JENKINSON, D.S. and POWLSON, D.S. (1976) The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. V. A method for measuring soil biomass. *Soil Biol. Biochem.* **8**, 209-213.
- 6) 丸本卓哉・甲斐秀昭・吉田 堯・原田登五郎 (1974) 土壌の易分解性有機物に対する微生物体およびその細胞壁の寄与について (第 3 報). 土壌中における微生物体およびその細胞壁物質の無機化に及ぼす乾燥処理の効果と易分解性有機物に対する細胞壁物質の寄与. 日本土壌肥科学雑誌, **45**, 332-340.
- 7) 岡野正豪・沢田泰男・近藤 照 (1983) 放牧草地における微生物バイオマス. 草地試研報, **26**, 8-16.
- 8) JONES, P.C.T. and MOLLISON, J. E. (1948) A technique for the quantitative estimation of soil microorganisms. *J. Gen. Microbiol.* **2**, 54-69.
- 9) NISHIO, M. (1983) Direct-count estimation of microbial biomass in soil applied with compost. *Biol. Agric. Hortic.*, **1**, 109-125.
- 10) 甲斐秀昭・原田登五郎 (1972) Devarda 合金を選元剤とする Conway の微量拡散分析法による硝酸態窒素の定量, 九大農学芸誌, **26**, 61-66.
- 11) 原田登五郎 (1959) 水田土壌の有機態窒素の無機化とその機構に関する研究, 農技研報 B9, 123-199.