

土壌呼吸速度による土壌バイオマスの測定

誌名	日本土壌肥料学雑誌 = Journal of the science of soil and manure, Japan
ISSN	00290610
著者	坂本, 一憲 吉田, 富男
巻/号	59巻4号
掲載ページ	p. 403-409
発行年月	1988年8月

土壤呼吸速度による土壤バイオマスの測定*

坂本一憲**・吉田富男***

キーワード 土壤呼吸速度, *in situ* 測定, 土壤バイオマス, ATP 量

1. はじめに

土壤微生物群集は土壤中のエネルギー転流, 有機物の分解, および作物の無機養分の循環における主要な担い手となっている。これらの過程に対する微生物の寄与を定量的に特徴づけるためには土壤微生物の現存量(土壤バイオマス)とその活性についての知見が必要である。また土壤中の易分解性有機物の主要な給源は微生物菌体であることは古くから知られており, 土壤の肥沃性を知らるうえでも土壤バイオマスの定量は必須のものとなってきている。

現在用いられている土壤バイオマスの測定方法はおもなものととして(A)直接検鏡法¹⁾, (B)クロロホルムくん蒸法²⁾, (C)ATP法³⁾がある。しかしながら, (A)は実験操作に労力と熟練を要し, (B)は温度・水分等の土壤条件の調整と長期的な培養(20日間)を要し, (C)は試薬・装置が高価であるなどそれぞれ難点を含んでいる。

土壤呼吸速度の測定は土壤中の微生物活性や有機物分解の指標として広く用いられてきている。土壤呼吸速度は土壤バイオマスとも関連があるとされてきたが, 具体的な検討は今までのところほとんどなされていない。土壤呼吸速度の測定は(1)実験操作が簡単で安価な器具を用いて行える, (2)土壤条件の調整を必ずしも必要としない, (3)現場(*in situ*条件下)でも測定できるという数々の長所を有しており土壤バイオマスの簡便な指標となりうる可能性をもっているといえる。とくに*in situ*条件下の土壤バイオマスを直接現場において把握できる指標としては唯一のものと考えられる。

著者らは以上の点に着目し肥培管理により土壤バイオマスレベルの異なる畑土壌の土壤呼吸速度を測定し, 土壤呼吸速度が土壤バイオマスの指標となりうるかについて検討した。得られた結果について報告する。

* 本報告の概要は昭和61年4月の日本土壤肥料学会筑波大会において発表した。

** 筑波大学大学院農学研究所(305 つくば市天王台 1-1-1)

*** 筑波大学応用生物化学系(305 つくば市天王台 1-1-1)

昭和63年3月15日受理

日本土壤肥料学雑誌 第5巻 第4号 p. 403~409 (1988)

2. 試料および方法

1) 供試土壌と採取方法

土壤バイオマスおよび土壤呼吸速度の測定は茨城県園芸試験場(茨城県稲敷郡阿見町)内の有機・無機資材連用試験圃場で行った。圃場土壌は淡色黒ボク土であり, 処理区および土壌の理化学性はそれぞれ第1表, 第2表に示した。資材連用は1983年より開始され, 測定を行った1985年は連用3年目であった。資材施用は各作ごとに年2回行われており, この年の作付作物はプリンスメロンとハクサイであった。

土壤採取時期とそのときの作付作物および生育時期は第3表のとおりである。4月から11月まで計9回土壌を採取した。土壌は畦間3カ所から作土10cmを採土円筒(木屋式)で採取し, 混合後2mmのふるいを通した後4℃で保存し, 1週間以内に以下の分析に供試した。

2) 土壤バイオマス

(1) ATP量: ATP量の測定はJENKINSON and OADES³⁾の方法で行った。ただし, 抽出液にはトリクロロ酢酸・リン酸水溶液を用い, パラコートは加えなかった。

(2) 細菌数: アルブミン寒天培地を用い, 28℃で2週間培養し計数した。

(3) 糸状菌数: ストレプトマイシン添加ローズベンガル寒天培地を用い, 25℃で4日間培養し計数した。

3) 土壤呼吸速度

土壤呼吸速度は現場, すなわち*in situ*条件下での測定(以下, *in situ* 土壤呼吸速度)と採取土壌の室内培養下での測定(以下, 室内土壤呼吸速度)の両方を行った。

(1) *in situ* 土壤呼吸速度: *in situ* 土壤呼吸速度の測定は赤外線炭酸ガス分析器を用いた通気法で行った⁵⁻⁷⁾。側壁に通気口を設けた円筒容器(直径15cm, 高さ18cm)を畦間の圃場土壌表面1~2cmの深さに差し込み, エアポンプで容器内の空気を連続吸引し(1.0l/min), この空気の炭酸ガス濃度を赤外線炭酸ガス分析器(富士電機・ZEP5)で測定した。別に底を密閉した容器で通気口より入る大気の炭酸ガス濃度を測定し両者

第 1 表 処理区名および資材・化学肥料の施用量 (1985年)*1

処理区	ようりん (kg/10 a)		苦土石灰 (kg/10 a)		乾 燥 豚 ぶ ん*4 (kg/10 a)		馬 ぶ ん き っ け っ 肥*5 (kg/10 a)		化学肥料 (kg/10 a)					
	1*2	2*3	1	2	1	2	1	2	1			2		
									N	P ₂ O ₅	K ₂ O	N	P ₂ O ₅	K ₂ O
ようりん区	200	200							15	15	15	10	6	8
苦土石灰区			200	200					15	15	15	10	6	8
豚 ぶ ん 区					900	600								
き っ け っ 肥 区			200				500	500	15	15	15	10	6	8

*1 施用量は現物重で示した。

*2 第 1 回資材・化肥施用 (プリンスメロン用)。

*3 第 2 回資材・化肥施用 (ハクサイ用)。

*4 T-C: 41.4%, T-N: 2.82% (乾物当たり), 現物水分: 15.7%。

*5 T-C: 24.0%, T-N: 1.42% (乾物当たり), 現物水分: 28.3%。

第 2 表 土壌の理化学性*

処理区	pH (KCl)	T-C (%)	T-N (%)	C/N
ようりん区	6.1	1.42	0.17	8.35
苦土石灰区	6.3	1.54	0.17	9.06
豚 ぶ ん 区	6.1	2.10	0.22	9.55
き っ け っ 肥 区	6.1	1.61	0.17	9.47

* 文献4)より引用 (1984年11月29日採取試料)。

第 3 表 土壌採取時期と作付作物の生育および肥培管理

採取時期	作付作物の生育および肥培管理
1985年 4月11日	裸地
4月29日	第 1 回資材・化学肥料施用 2 週間後
5月30日	メロン生育期
6月29日	メロン結果期
7月25日	裸地
8月28日	第 2 回資材・化学肥料施用 1 週間後
9月19日	ハクサイ生育期
10月10日	ハクサイ結球期
11月 9日	裸地

有機・無機資材および化学肥料は 4月15日 (第 1 回) と 8月21日 (第 2 回) に施用, プリンスメロン作付期間: 4月18日 ~ 7月中旬, ハクサイ作付期間: 8月22日 ~ 11月 7日。

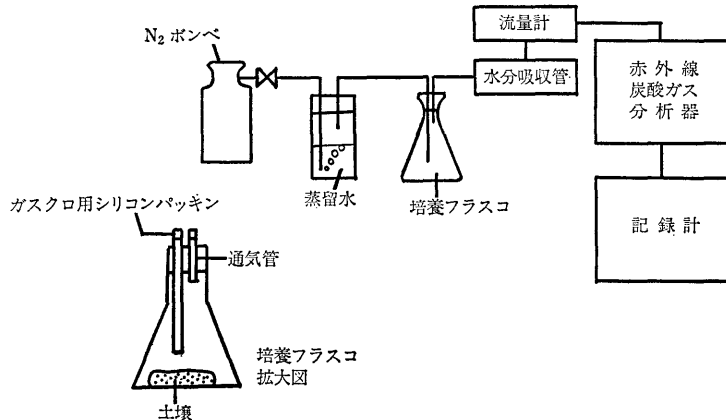
の差より土壌呼吸速度を求めた。測定は 3 連で行い, 3 時間おきに測定した値を積算して 1 日当たりの土壌呼吸速度を求めた。

(2) 室内土壌呼吸速度: 土壌 5g を 200 ml 容三角フラスコに取り 25°C で 2 週間培養し, その間発生した炭酸ガス量をもって室内土壌呼吸速度とした。第 1 図に室内土壌呼吸速度測定装置を示した。通気管をつけたゴム栓で三角フラスコを密栓し, フラスコ内に蓄積した炭酸ガス量を測定し室内土壌呼吸速度を求めた。測定は 3 連で

行い, 測定間隔は前半 1 週間は 1 日, 後半 1 週間は 2・3 日とした。

4) 地 温

曲管地中温度計を用い圃場土壌 (豚ぶん区) 深さ 5cm



第 1 図 室内土壌呼吸速度測定装置

の地温を測定した。

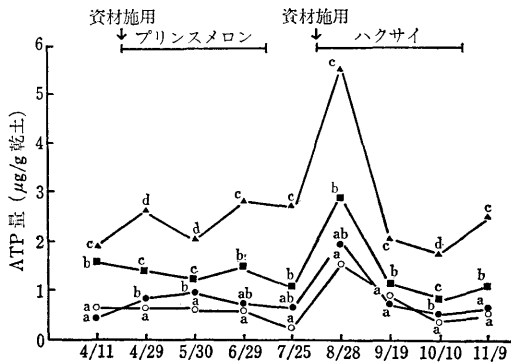
5) 土壤水分含量

土壤 10g をアルミ秤量管に取り 105℃ で 24 時間乾燥させ求めた。結果はすべて含水率で表示した。

3. 結果

各処理区土壤の ATP 量とその推移を第 2 図に示した。ATP 量はどの時期においてもほぼ豚ぶん区>きゅう肥区>ようりん区=苦土石灰区の順であった。全処理区とも第 2 回目の資材施用直後に ATP 量の増大が認められ、とくに豚ぶん区で顕著であった。

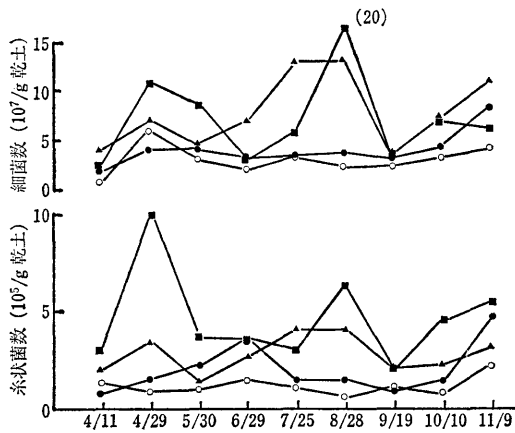
各処理区土壤の細菌数および糸状菌数とその推移を第 3 図に示した。細菌数は豚ぶん区=きゅう肥区>ようりん区=苦土石灰区の順であった。糸状菌数はきゅう肥区>豚ぶん区>ようりん区=苦土石灰区の順であった。きゅう肥区の糸状菌数は資材施用直後に顕著に増大した。



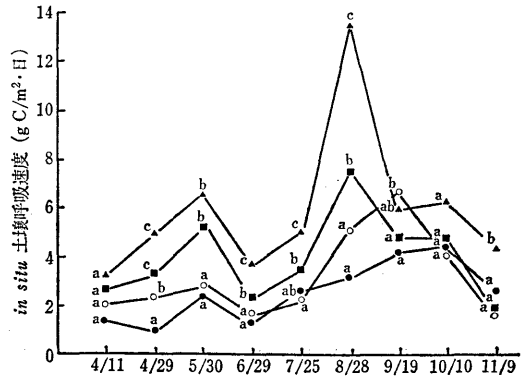
第 2 図 各処理区土壤の ATP 量とその推移

●, ようりん区; ○, 苦土石灰区; ▲, 豚ぶん区; ■, きゅう肥区。

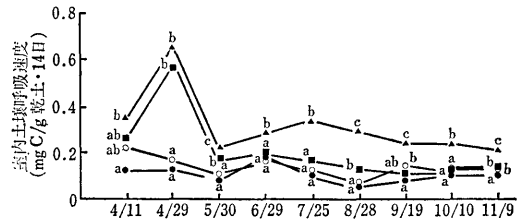
* 同一英文字は同一時期において処理間に DUNCAN の範囲検定 ($p < 0.05$) により有意差が認められないことを示す。



第 3 図 各処理区土壤の細菌数および糸状菌数とその推移
 図中記号は第 2 図に同じ。



第 4 図 各処理区土壤の in situ 土壤呼吸速度とその推移
 図中記号は第 2 図に同じ。



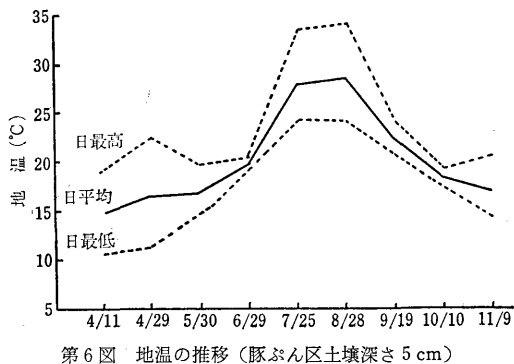
第 5 図 各処理区土壤の室内土壤呼吸速度とその推移
 図中記号は第 2 図に同じ。

ん区=苦土石灰区の順であった。豚ぶん区ときゅう肥区の細菌数は資材施用直後はきゅう肥区のほうが多かったが、その他の時期では豚ぶん区のほうが多かった。糸状菌数はきゅう肥区>豚ぶん区>ようりん区=苦土石灰区の順であった。きゅう肥区の糸状菌数は資材施用直後に顕著に増大した。

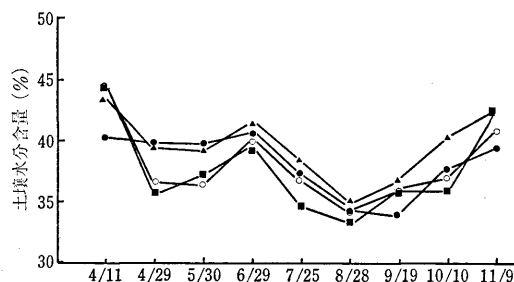
各処理区の in situ 土壤呼吸速度とその推移を第 4 図に示した。in situ 土壤呼吸速度は豚ぶん区>きゅう肥区>ようりん区=苦土石灰区の順であり、豚ぶん区およびきゅう肥区では資材施用直後に in situ 土壤呼吸速度の増大が認められ、とくに第 2 回目が顕著であった。各処理区の in situ 土壤呼吸速度とその推移は ATP 量の結果とほぼ対応していることが認められた。

各処理区の室内土壤呼吸速度とその推移を第 5 図に示した。室内土壤呼吸速度は豚ぶん区>きゅう肥区=ようりん区=苦土石灰区の順であった。豚ぶん区およびきゅう肥区では第 1 回目の資材施用直後に室内土壤呼吸速度が顕著に増大したが、第 2 回目のときはほとんど増大しなかった。これは in situ 土壤呼吸速度の結果とはまったく異なるものであった。

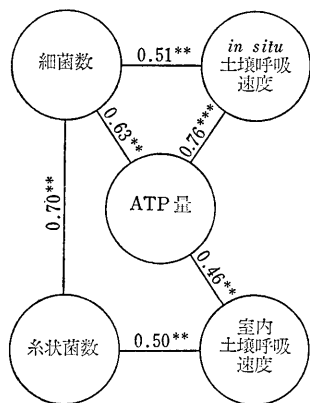
地温と土壤水分含量の推移を第 6 図、第 7 図に示し



第 6 図 地温の推移 (豚ぶん区土壌深さ 5 cm)



第 7 図 各処理区土壌の土壌水分含量とその推移
図中記号は第 2 図に同じ。



第 8 図 土壌バイオマスと土壌呼吸速度の相関関係 ($n=36$)
数字は相関係数を示し、有意な相関を有した者どうしを実線で結んだ。*, **, *** おのおの $p < 0.05, 0.01, 0.001$ を示す。

た。地温は 4 月と 5 月は日平均が約 15°C 付近であったがその後上昇し 7 月と 8 月は 25°C 以上となった。9 月以降地温は低下し 11 月には再び約 15°C となった。土壌水分含量は 4 月 11 日、6 月、9 月が高く 8 月が最も低かった。各処理区を比較してみると一般に苦土石灰区ときゅう肥区が低く豚ぶん区が最も安定していた。

以上得られた値を用いて土壌バイオマスと土壌呼吸速度の間の相関関係を検討した。その結果を示したのが第 8 図で、有意水準 5% 以下で有意な相関が認められたものを実線で結び、その相関係数を示した。ATP 量と *in situ* 土壌呼吸速度との間には高い正の相関 ($r=0.76$) が認められた。このことは両者がほぼ同様の変動をしていることが統計的にも認められることを示している。ATP 量はまた室内土壌呼吸速度とも正の相関を示した。しかし、その相関係数は 0.46 で *in situ* 土壌呼吸速度の場合より低かった。細菌数は *in situ* 土壌呼吸速度と正の相関を有し、糸状菌数は室内土壌呼吸速度と正の相関を有した。*in situ* 土壌呼吸速度と室内土壌呼吸速度との間には有意な相関は認められなかった。

4. 考 察

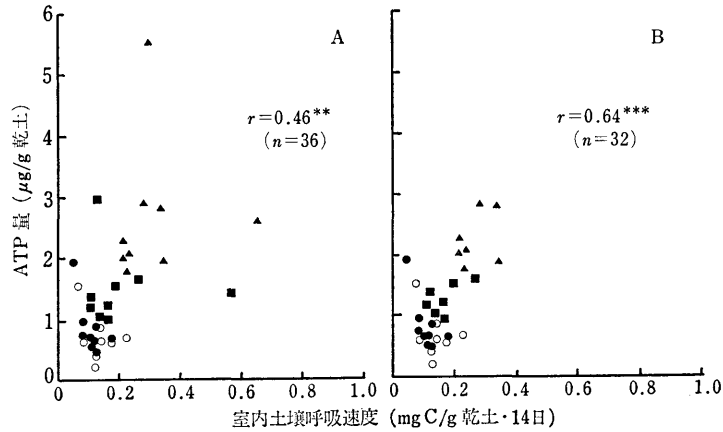
第 2 図、第 4 図および第 8 図で認められたように *in situ* 土壌呼吸速度と ATP 量の変動はほぼ一致しており、両者の間には高い正の相関があった。また *in situ* 土壌呼吸速度は細菌数とも正の相関を有した。これらのことから *in situ* 土壌呼吸速度は土壌バイオマスの指標として用いることができると考えられる。*in situ* 条件下での土壌呼吸速度と土壌バイオマスの関係について検討した報告は少ない。RAI and SRIVASTAVA⁸⁾ は森林土壌の *in situ* 土壌呼吸速度と微生物数の関係について調べ *in situ* 土壌呼吸速度と糸状菌数との間に高い正の相関を見出した。また WITKAMP⁹⁾ は森林リター層の *in situ* 土壌呼吸速度と細菌数との間に正の相関を認めている。本研究における *in situ* 土壌呼吸速度と糸状菌数の間には有意な相関はみられなかった。この原因は *in situ* 土壌呼吸速度、ATP 量、および細菌数については豚ぶん区の値はきゅう肥区の値より多かったのに対し、第 3 図に示したように糸状菌数は逆にきゅう肥区のほうが多かったためと考えられる。各処理区の ATP 量に対する *in situ* 土壌呼吸速度の比率 (SR/ATP 比) を求めその結果を第 4 表に示した。SR/ATP 比は統計的に処理区間で有意差はなくほぼ一定であった。このことは ATP 量と *in situ* 土壌呼吸速度の関係はどの処理区においてもほぼ同一であることを示している。

第 4 表 各処理区の SR/ATP 比*

ようりん区	苦土石灰区	豚ぶん区	きゅう肥区
3.42 a **	4.69 a	2.35 a	3.01 a

* 9 回測定の前平均値。

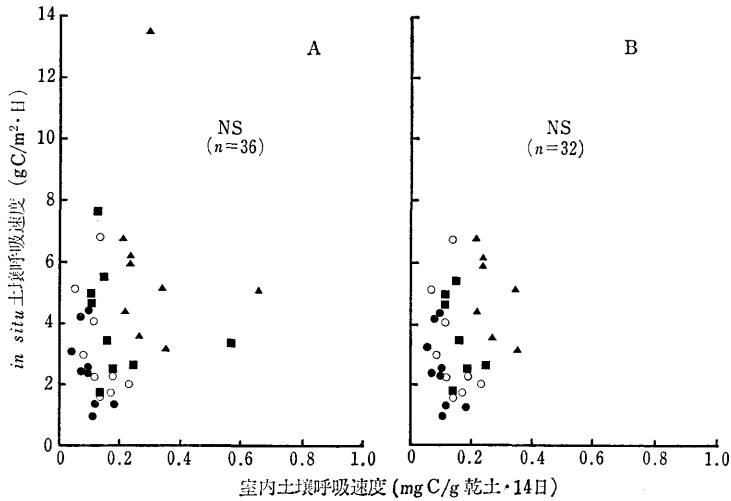
** 同一英文字は DUNCAN の範囲検定において有意な差が認められなかったことを示す ($p < 0.05$)。



第9図 室内土壤呼吸速度と ATP 量の関係

A, すべての値を用いた場合; B, 豚ぶん区・きゅう肥区の有機資材施用直後(4月29日・8月28日)を除いた場合. **, *** おのおの $p < 0.01, 0.001$ を示す.

図中記号は第2図に同じ.

第10図 室内土壤呼吸速度と *in situ* 土壤呼吸速度の関係

A・Bは第9図と同じ. NS, 有意な相関は認められなかったことを示す($p > 0.05$).

図中記号は第2図に同じ.

第8図に認められたように室内土壤呼吸速度と ATP 量の相関は低かった. また室内土壤呼吸速度は *in situ* 土壤呼吸速度とは有意な相関を示さなかった. これらの結果の要因の一つは第2図, 第4図, および第5図を比較してわかるように, 豚ぶん区・きゅう肥区の有機資材施用直後の室内土壤呼吸速度の変動が ATP 量および *in situ* 土壤呼吸速度の変動と異なっていたためであると考えられる. すなわち, 室内土壤呼吸速度は4月の第1回目の有機資材施用直後(4月29日)に顕著に増大したが, このとき ATP 量と *in situ* 土壤呼吸速度はあまり

増大しなかった. 逆に8月の第2回目の施用直後(8月28日)は室内土壤呼吸速度はあまり増大せず, ATP 量と *in situ* 土壤呼吸速度は顕著に増大した. 4月の地温は約 15°C 付近で低かった. この低温により *in situ* 土壤呼吸速度と ATP 量は資材施用直後にもかかわらず顕著に増大しなかったものと考えられる. これに対しこのときの室内土壤呼吸速度の顕著な増大は, 圃場条件下で分解されなかった有機資材が高温条件下(25°C)におかれたため急激に分解された結果と考えられる. 第2回目の施用時は地温が 25°C 以上と高かったため *in situ* 土

第 5 表 ATP 量および土壤呼吸速度と土壤水分含量の
相関関係 ($n=32$)

ATP 量	<i>in situ</i> 土壤呼吸速度	室内土壤呼吸速度
NS	-0.40*	0.60***

相関は豚ぶん区・きゅう肥区の有機資材施用直後(4月29日・8月28日)の値を除いた場合を示す。*,*** おのおの $p < 0.05, 0.001$ を示す。NS, 有意な相関は認められなかったことを示す ($p > 0.05$)。

土壤呼吸速度と ATP 量は顕著に増大したものと思われる。しかしこのとき室内土壤呼吸速度があまり増大しなかった理由はよくわからない。これについては今後の検討が必要である。以上のことから豚ぶん区ときゅう肥区の有機資材施用直後の値を除いた場合の相関係数を算出し、その結果をすべての値を用いた場合とともに第 9 図、第 10 図に示した。両図の A 図はすべての値を用いた場合を示し、B 図は除いた場合を示す。第 9 図の B 図に認められたように、この処理により室内土壤呼吸速度と ATP 量の相関係数は高くなったが ($r=0.64$)、*in situ* 土壤呼吸速度との場合と比べて依然と低い値であった。また第 10 図の B 図に認められたようにこの処理によっても室内土壤呼吸速度は *in situ* 土壤呼吸速度と有意な相関を有しなかった。この結果から室内土壤呼吸速度に対して何か他の要因が影響していることが考えられる。

DKHAR and MISHRA¹⁰⁾ は畑土壤の室内土壤呼吸速度と土壤バイオマスとの間に高い相関を認めたが同時に土壤水分含量が室内土壤呼吸速度と土壤バイオマスに影響していたと報告している。また SPARROW and DOXTADER¹¹⁾ はアメリカのパウニー草原土壤の室内土壤呼吸速度(酸素消費速度)と ATP 量の関係を検討し、現場土壤水分含量のままでは両者の相関は低いが土壤水分含量を調整することで両者の相関が高まったと報告している。これらの報告の結果をもとに本研究の ATP 量、*in situ* 土壤呼吸速度、および室内土壤呼吸速度と土壤水分含量の関係について検討を行った。その結果を示したのが第 5 表である。室内土壤呼吸速度は土壤水分含量と正の相関を有することが認められた。土壤水分含量は ATP 量とは相関を有しておらず、*in situ* 土壤呼吸速度とは負の相関を有したがその相関係数は低く両者の間には明らかな関係はないものと考えられた。この結果から室内土壤呼吸速度に対し土壤水分含量が影響していることが考えられる。室内土壤呼吸速度は好適な温度条件下(25°C)で測定を行ったため顕著に水分含量の影響が現われたものと思われる。室内土壤呼吸速度に影響を及ぼ

す他の要因としては土壤採取に伴う土壤攪乱の影響が考えられる。一般に土壤呼吸速度は環境条件の変化を受けやすく、土壤採取による攪乱だけでも急激に増加する場合があるとされている。本研究では採取直後より 2 週間の土壤呼吸速度測定を行ったが、前半 1 週間の土壤呼吸速度は後半 1 週間より高いのが一般的であった。また土壤バイオマスそのものも攪乱の影響により変化したことも考えられる。以上のことから室内土壤呼吸速度を土壤バイオマスの指標として用いるためには土壤水分、土壤採取の影響等の諸条件を検討する必要があると考えられ、今後の詳しい検討が要求されよう。

以上の考察より、*in situ* 条件下の土壤呼吸速度は土壤バイオマスの簡便な指標となりうると考えられる。しかしながら第 4 表に示したような SR/ATP 比は土壤型、微生物フロラ、本研究では検討できなかった種々の肥培・土壤管理等によって変化することが考えられる。著者らはこの点について今後検討していく予定である。

5. 要 約

肥培管理により土壤バイオマスレベルの異なる畑土壤の土壤呼吸速度を測定し、土壤呼吸速度が土壤バイオマスの簡便な指標となりうるかについて検討した。得られた結果は以下のとおりである。

1) *in situ* 条件下で測定した土壤呼吸速度は土壤中の ATP 量と高い正の相関($r=0.76, n=36, p < 0.001$)を有した。

2) 室内培養下(25°C)で測定した土壤呼吸速度は ATP 量と正の相関は認められたが、その相関係数($r=0.46, n=36, p < 0.01$)は低かった。室内培養下および *in situ* 条件下で測定した土壤呼吸速度の間には有意な相関は認められなかった。これらの原因としては有機資材施用直後の室内培養下の土壤呼吸速度の変動が *in situ* 条件下の土壤呼吸速度および ATP 量の変動と異なることと室内培養下では土壤水分含量等が土壤呼吸速度に影響を及ぼしていることが考えられた。

以上の結果から *in situ* 条件下における土壤呼吸速度は土壤バイオマスの簡便な指標となりうると考えられた。

謝 辞 本研究を行うに当たり、終始適切なご指導をいただいた筑波大学応用生物化学系大羽裕教授と土壤試料等を提供していただいた茨城県園芸試験場小松鋭太郎氏に深く感謝の意を表します。

文 献

- 1) JONES, P.C.T. and MOLLISON, J.E.: A technique for

- the quantitative estimation of soil micro-organisms. *J. Gen. Microbiol.*, **2**, 54~69 (1948)
- 2) JENKINSON, D.S. and POWLSON, D.S.: The effects of biocidal treatments on metabolism in soil V. A method for measuring soil biomass. *Soil Biol. Biochem.*, **8**, 209~213 (1976)
 - 3) JENKINSON, D.S. and OADES, J.M.: A method for measuring adenosine triphosphate in soil. *ibid.*, **11**, 193~199 (1979)
 - 4) 野菜に対する有機物ならびに土改資材の連用試験, 茨城県園芸試験場土壌肥料試験成績書(環境部), p. 60~67 (1984)
 - 5) EDWARDS, N.T. and SOLLINS, P.: Continuous measurement of carbon dioxide evolution from partitioned forest floor components. *Ecology*, **54**, 406~412 (1973)
 - 6) SETO, M.: A preliminary observation on CO₂ evolution from soil *in situ* measured by an air current method—An example in rainfall and plowing sequences—. *Jap. J. Ecol.*, **32**, 535~538 (1982)
 - 7) SAKAMOTO, K. and YOSHIDA, T.: *In situ* measurement of soil respiration rate by a dynamic method. *Soil Sci. Plant Nutr.* (投稿中)
 - 8) RAI, B. and SRIVASTAVA, A.K.: Studies on microbial population of a tropical dry deciduous forest soil in relation to soil respiration. *Pedobiologia*, **22**, 185~190 (1981)
 - 9) WITKAMP, M.: Decomposition of leaf litter in relation to environment, microflora, and microbial respiration. *Ecology*, **47**, 194~201 (1966)
 - 10) DKHAR, M.S. and MISHRA, R.R.: Microbial population, fungal biomass and CO₂ evolution in maize (*Zea mays* L.) field soils. *Plant Soil*, **99**, 277~283 (1987)
 - 11) SPARROW, E.B. and DOXTADER, K.G.: Adenosine triphosphate (ATP) in grassland soil: Its relationship to microbial biomass and activity. U.S.I.B.P. Technical Report, No. 224 (1973)

The Measurement of the Soil Biomass by Use of the Soil Respiration Rate

Kazunori SAKAMOTO and Tomio YOSHIDA*

(Graduate Sch. Agric., *Inst. Appl. Biochem., Univ. Tsukuba)

We examined the validity of the soil respiration rate as a simple indicator of the soil biomass in upland soil. The results were summarized as follows:

1) There was a high positive correlation between the ATP content in soil and the rate of soil respiration measured *in situ* ($r=0.76$, $n=36$, $p<0.001$).

2) There was a positive correlation between the ATP content and the rate of soil respiration measured in the laboratory (25°C). However, the correlation coefficient of this ($r=0.46$, $n=36$, $p<0.01$) was lower than that between the ATP content and the rate of soil respiration measured *in situ*. No significant correlation was found between the soil respiration rate measured *in situ* and that measured in the laboratory. These results seem to be due to a unique change in the soil respiration rate measured in the laboratory when organic matter was applied and to the effect of soil moisture on the rate of soil respiration measured in the laboratory.

From the results mentioned above, we suggest that the rate of soil respiration measured *in situ* is a simple indicator of the soil biomass.

Key words soil respiration rate, *in situ* measurement, soil biomass, ATP content

(Jpn. J. Soil Sci. Plant Nutr., **59**, 403-409, 1988)