森林土壌中の窒素の動態 I

誌名	日本林學會誌 = Journal of the Japanese Forestry Society
ISSN	0021485X
著者名	吉田,重明 三宅,大浄 仁王以,智夫
発行元	日本林學會
巻/号	61巻1号
掲載ページ	p. 21-25
発行年月	1979年1月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council Secretariat

短　報

森林土壌中の窒素の動態（I）*
森林表層土における硝化細菌の分布と硝化活性

吉田重明**・三宅大浄**・仁王以智夫***

I. はじめに

河田(6)によれば，わが国の森林土壌では，リンとともに窒素が林木の生長を支配するうえでもっとも重要な養分であるという。しかし森林土壌における窒素の存在形態と動態に関しては，これまでにいくつかの研究があるが(4, 5, 9, 10)，その実態は十分に解明されたとはいえない。

筆者らは東海地方に分布する森林土壌における窒素の動態をアンモニア生成および硝酸化成の面から特徴づけようとして一連の実験をこころみた。

本報ではその一部として，東京大学愛知演習林の植生と土壌型を異にする数種の褐色森林土A層より採取した土壌試料について，その硝化細菌数と硝化活性を比較した結果を報告する。

II. 試料と実験方法

1. 土壌試料の調製

実験に用いた土壌は昭和 50 年 11 月，東京大学愛知演習林赤津事業区（愛知県瀬戸市）内の，植生と土壌型を異にする 14 地点のA層上部（深さ 0～5 cm）より採取した。天然林のおもな樹種と人工林の林齢および立木密度を表-1 に示す。また比較のために愛知県北設楽郡稲武町の畑地土壌作土層（深さ 0～5 cm，黒色土）より同時期に採取した試料を用いた。これらの試料はふるい分けが可能になるよう 3～4 時間室内で風乾し，細根など粗大な有機物を除去したのち，5 mm のふるいを通して以下の実験に供した。

2. 土壌の細菌数，含水率，pH，炭素量の測定

硝化細菌数は硫酸アンモニウムあるいは亜硝酸ソーダを基質とする5連の希釈頻度法(2)を用いて測定した。従属栄養細菌数の測定は 0.05% の酵母エキスを補ったアルブミン寒天培地による希釈平板法(11)によった。

土壌の含水率は赤外線水分計（Kett F-1）により，pH はガラス電極 pH 計を用いて常法により，また全炭素と全窒素は CN コーダー（柳本 MT-500 型）で測定した。

3. 硝化活性の測定

硝化活性の測定はびん培養法(3)によった。殺菌した 100 ml 容のビーカーに土壌試料 50 g をとり，乾土 1 g 当り 300 μgN になるように硫酸アンモニウムを加えたものおよび加えないものについて，最大容水量の 60% になるように水分を調節したのち，ビーカーをアルミ箔でおおって 30℃ で培養した。硝化活性に及ぼす pH あるいはカルシウムの影響をみるために，炭酸カルシウム 1 g をビーカー当たり添加した区，および従属栄養細菌による硝化基質供給の影響をみるためにグルタミン酸ソーダ約 650 μgN/g 乾土を添加した区も設けた。

所定の期間培養した後，試料の 1.5 倍量の蒸留水を加えて1時間振とうし，ろ過した。ろ液中の硝酸量を硝酸イオン電極（オリオン社デジタルイオンメーターモデル 801A，92-07 型）で測定し，乾土 1 g 当りの硝酸態窒素量を算出した。アンモニア態窒素は試料を 10 倍量の 10% 塩化カリ溶液で抽出した後，微量拡散分析法(3)によって定量した。

III. 結果と考察

1. 森林土壌における硝化細菌の分布

乾性（BB 型）および適潤性（BD 型）に属する種々の植生の森林表層土について，その硝化細菌（アンモニア酸化菌・亜硝酸酸化菌）数を測定した。昭和 50 年の秋だけの結果ではあるが，これを表-2 に示す。これらの硝化細菌数は試料によって著しく異なっており，この方法ではまったく検出されないものから，1 g 当り約7万と比較に用いた畑地土壌にほとんど匹敵するものまでとなった。両種の硝化細菌とも，乾性土壌では一般に少ないのに対し，適潤性土壌では比較的多い傾向がみられた。

このような硝化細菌数の相違が土壌の他の性質とどのように関連しているのかを知るために，土壌の 2，3 の

* Shigeaki Yoshida, Daijoh Miyake & Ichio Nioh : Nitrogen dynamics in the forest soils (I) Distribution of nitrifying bacteria and nitrifying activity in the forest surface soils
本報告の大要は第 22 回日本林学会中部支部大会で報告した。

** 名古屋大学農学部 Fac. of Agr., Nagoya Univ., Nagoya 464
*** 東京大学愛知演習林 Tokyo Univ. For. in Aichi, Fac. of Agr., Univ. of Tokyo, Seto 489

理化学的性質および好気性従属栄養細菌数を測定し(表-2)，それらと硝化細菌数とを比較した。

図-1 は土壌の pH (H_2O) と硝化細菌数との関係を示したものである。一般に pH の高い土壌ほど両種の硝化細菌数がともに多かった。pH 4.3 より低い土壌からはアンモニア酸化菌は検出されなかったのに対し，亜硝酸酸化菌は 2 試料で相当数存在することが認められた。pH (KCl) の測定例は少ないが，4.0 以上の pH を示す土壌では硝化細菌の存在が認められるようである。

硝化細菌数は試料の CN 比とも関連があり，硝化細菌が検出されなかった試料を除けば CN 比が高い土壌ほど硝化細菌数が少ない傾向が明らかであった (図-2)。

図-3 は同じ試料に存在する従属栄養細菌数と 2 種の硝化細菌数との関係を対数値でプロットしたものである。この場合も両者の間に比例的な関係があり，さらに従属栄養細菌数が 3.3×10^6/g 乾土よりも少ない土壌 5 例のうち 4 例ではアンモニア酸化菌は検出されなかった。このように，従属栄養細菌数の少ない土壌ほど硝化細菌数も少なく，従属栄養細菌数のある閾値以下で硝化細菌が検出されなくなるようである。

表-1. 天然林のおもな樹種構成と人工林の林齢および立木密度

試料番号	林種	土壌型	備考
1, 2, 3, 4, 5	天然林 (二次林)	BB	おもな樹種：アカマツ，コナラ，カシ，ヤマザクラ，シロモジ，ソヨゴ，アセビ，ミツバツツジ，アカシデ，アズキナシ，マンサク，ネジキ，イヌツゲ，ヒノキ
6, 7, 8, 9	天然林 (二次林)	BD	おもな樹種：ヒサカキ，アオキ，サカキ，ソヨゴ，コナラ，シラキ，シロモジ，リョウブ，イヌツゲ，アカシデ，コシアブラ，オオバクロモジ
10, 11, 12	ヒノキ人工林	BB	林齢：51 年．立木密度 1,000 本/ha
10, 11, 12	ヒノキ人工林	BD	林齢：24 年，立木密度 3,300 本/ha
13	スギ人工林	BD	林齢：70 年，立木密度 800 本/ha
14	スギ人工林	BD	林齢：14 年，立木密度 2,800 本/ha
15	畑地	(黒色土 そ菜畑)	

2. 種々の植生下の森林土壌の硝化活性

植生と土壌型を異にする森林土壌間で硝化活性にどのような差があるかをみるために，表-2 に示した各土壌試料のうち，乾性の天然林土壌 (試料番号 5, BB 型)，適潤性の天然林土壌 (試料番号 9, BD 型)，ヒノキ人工林土壌 (試料番号 12, BD 型)，スギ人工林土壌 (試料

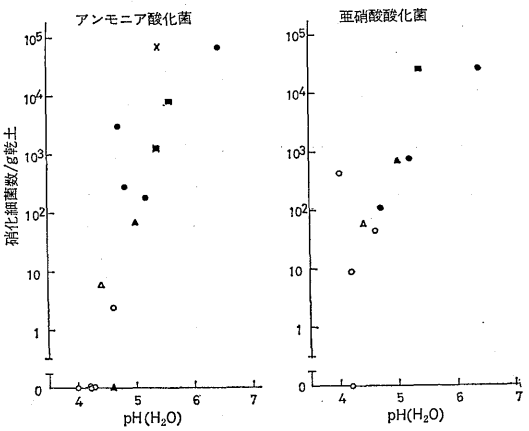

図-1. pH(H_2O) と硝化細菌数との関係
● 天然林 BD 型，○ 天然林 BB 型，▲ ヒノキ人工林 BD 型，△ ヒノキ人工林 BB 型，■ スギ人工林 BD 型，× 畑地

表-2. 試料の理化学的性質と細菌数

試料番号	含水率 (%)	pH H_2O	pH KCl	全窒素 (mg/g 乾土)	全炭素 (mg/g 乾土)	C/N	細菌数/g 乾土 アンモニア酸化菌	細菌数/g 乾土 亜硝酸酸化菌	細菌数/g 乾土 従属栄養細菌 ($\times10^6$)
1	15.5	4.19	3.75	1.43	40.3	28.2	*	9.3	1.85
2	22.0	4.22	3.45	1.18	22.2	18.4	*	*	2.94
3	21.3	4.04	3.70	1.49	38.0	25.5	*	44.5	3.15
4	20.8	4.60	4.16	0.93	36.0	38.7	2.5	4.6	4.39
5	29.0	4.30	N.D.	1.56	31.6	20.2	*	N.D.	3.28
6	25.5	4.68	4.20	2.96	41.3	14.0	2,940	113	5.62
7	28.1	5.22	4.15	3.19	45.5	14.3	182	751	7.30
8	28.4	6.40	5.42	2.21	29.0	13.1	69,000	23,700	11.90
9	24.8	4.90	N.D.	2.61	42.6	16.3	291	N.D.	4.24
10	20.9	4.38	3.81	1.56	32.2	20.6	5.7	62	3.07
11	24.2	4.98	4.13	2.33	32.5	13.9	72	712	6.00
12	23.7	4.60	N.D.	3.19	54.8	17.2	*	N.D.	4.43
13	28.5	5.35	4.21	2.85	29.6	10.4	1,290	25,300	7.43
14	30.1	5.60	N.D.	3.79	45.4	12.0	7,700	N.D.	11.30
15	24.3	5.40	N.D.	2.10	39.1	18.5	71,300	N.D.	23.80

N.D.: 測定しなかったもの，*10^{-1} で検出されなかったもの

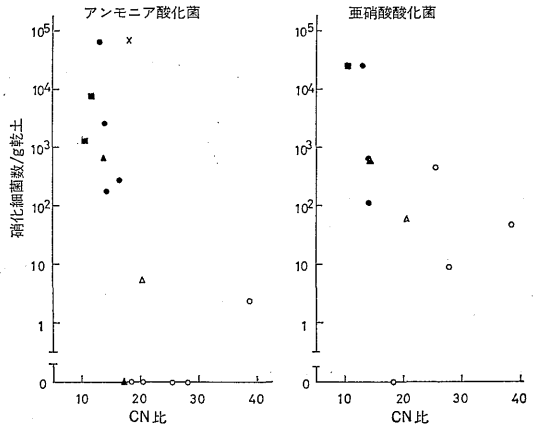

図-2.　CN 比と硝化細菌数との関係

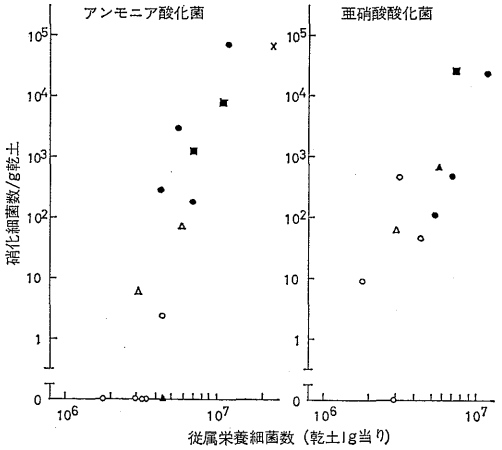

図-3.　従属栄養細菌数と硝化細菌数との関係

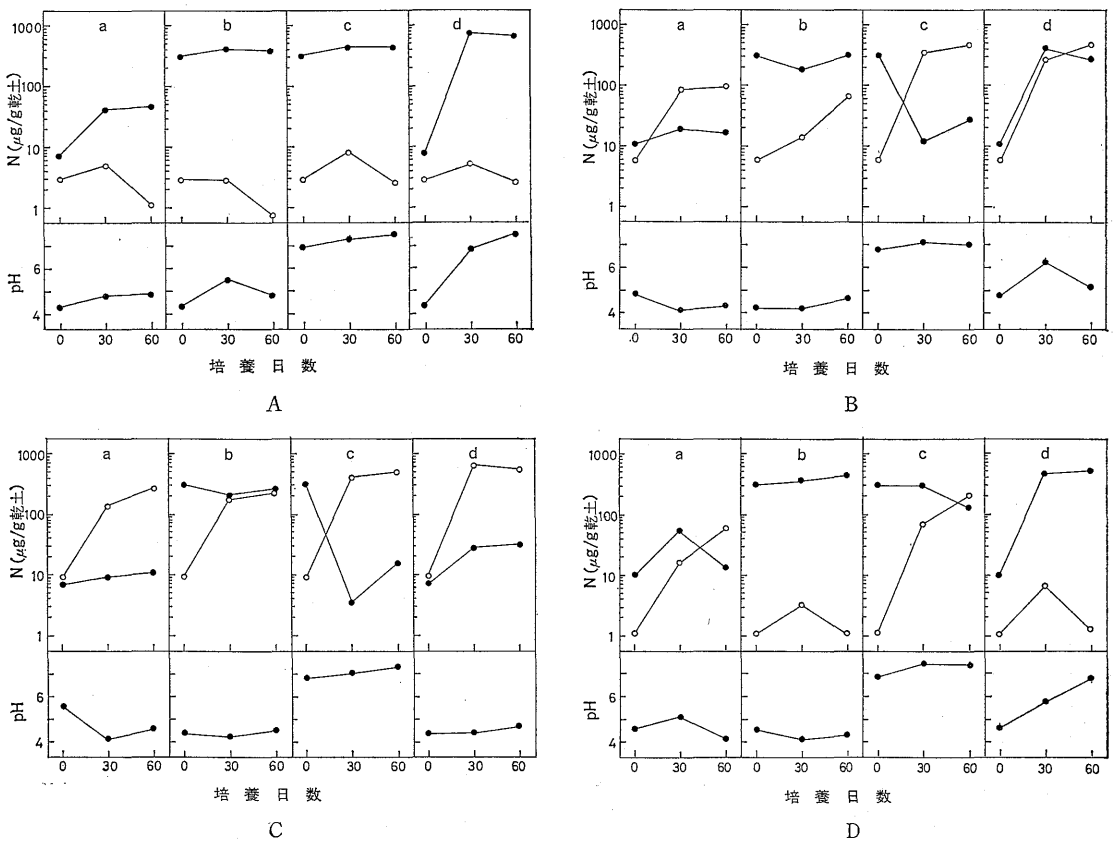

図-4.　森林土壌中のアンモニア生成と硝酸化成

A　天然林 BB 型，B　天然林 BD 型，C　スギ人工林 BD 型，D　ヒノキ人工林 BD 型，a　無添加区，b　硫安添加区，c　硫安＋炭カル添加区，d　グルタミン酸ソーダ添加区，○　硝酸，●　アンモニア

番号 14，BD 型）および畑地土壌（試料番号 15）の5種類の試料を用いてビン培養をおこない，その硝酸とアンモニアの生成量を経時的に測定した。図-4 は各森林土壌について基質無添加，硫酸アンモニウム添加，硫酸アンモニウムおよび炭酸カルシウム添加，グルタミン酸ソーダ添加の四つの培養条件下での硝酸態およびアンモニア態窒素量と pH の変化を各土壌試料ごとに示したものである。図-5 には比較のために畑地土壌について同

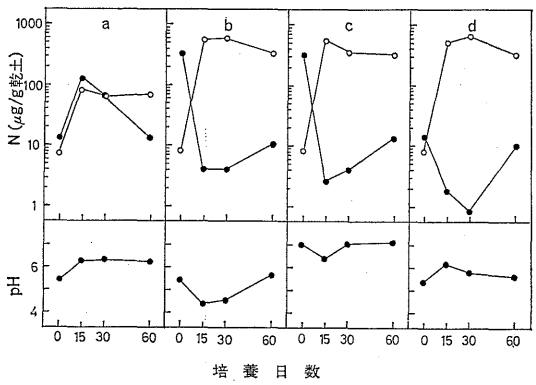

図-5. 畑地土壌中のアンモニア生成と硝酸化成
a：無添加区，b：硫安添加区，c：硫安＋炭カル添加区，d：グルタミン酸ソーダ添加区，○ 硝酸，● アンモニア

一の条件下で培養した結果を示した。

乾性（BB 型）の天然林土壌（試料番号5）では，その硝化細菌数の測定結果から推定されるようにいずれの培養条件下においても硝酸はほとんど生成されなかった(図-4A)。一方，無添加区において培養前期にアンモニア生成が認められたが，後半にはほとんど生成されなかった。またグルタミン酸を基質とした試験区ではアミノ酸分解によるアンモニア生成と，アンモニアあるいは残存するナトリウムイオンによると思われる pH 上昇が顕著であった。

これに対し適潤性（BD 型）の天然林土壌（試料番号9）では培養前半に明らかな硝酸生成が認められた(図-4B)。しかし 30 日以降ではそれ以上の無機態窒素の増加はみられなかった。300 μgN/g 乾土に相当する硫酸アンモニウムを添加した区では無添加区と比較して硝化活性は前半は抑制されたが，60日目では無添加区と同程度の硝酸生成がみられた。炭酸カルシウムを加えた区では硝化活性は著しく高まり，添加したアンモニウムをこえる硝酸が生成された。またグルタミン酸を基質とした場合も活発な硝酸生成が進行した。この区の前半の土壌 pH の上昇はアミノ酸分解によるもので，後半の下降は硝酸の蓄積によるものであろう。しかし pH は下降しても無添加区より高く，そのため硝化活性は存続し硝酸生成はさらに増大したと考えられる。

同様な硝化のパターンはスギ人工林土壌（試料番号14，BD 型）においても認められた（図-4C)。しかし本実験に用いた適潤性の天然林土壌の場合とは異なって硫酸アンモニウム添加区の硝酸生成は全期間を通じて無添加区と同様であり，炭酸カルシウムの添加によって硝酸の生成はさらに高まった。グルタミン酸添加区の pH が上昇していないにもかかわらず硝酸が多く生成された点も適潤性の天然林土壌の場合と異なっていた。

これと比較して，ヒノキ人工林土壌の場合は同じ適潤性であっても上に述べた2種の土壌とはまた異なった型を示した（図-4D)。基質無添加区の硝酸生成は培養の前半では顕著でなく，これより多くアンモニアが生成された。後半になって硝酸生成は増大し，アンモニアは減少した。表-2 に示したようにこの土壌からはアンモニア酸化菌が検出されず，この点では図-4Aに示した乾性の天然林土壌と同様であった。しかし後半の硝酸生成はこれと異なって硝化細菌の増殖をともなうことを示すと考えられた。基質無添加，硫酸アンモニウム添加および硫酸アンモニウムと炭酸カルシウム添加の3区の硝酸生成の型は適潤性の天然林土壌と同様であった。しかしグルタミン酸添加区ではアンモニア生成が活発に進行し，pH が上昇したにもかかわらず硝酸生成はわずかであった。これは炭酸カルシウムが土壌反応を中性化することによって硝化を促進するだけでなく，微生物の栄養源としても硝化促進の効果をもつことを示唆している。

図-5 には比較のために畑地土壌作土層を用いて同様の実験をおこなった結果を示す。畑地土壌ではどの処理区においても硝化は最初より活発で，基質を加えることによって硝酸生成は非常に高まった。むしろ炭酸カルシウムの添加効果はみられず，基質の供給のみで硝化は活発に進行した。

このように，実験室条件下ではあるが森林土壌の硝化活性は，土壌試料を採取した森林の土壌型によって顕著に異なっていた。60日間の培養にもかかわらず硝酸がほとんど生成されなかった乾性土壌（BB 型）と，硝酸化成の認められた適潤性土壌（BD 型）との差は明らかであった。これは土壌の硝化細菌数の測定結果（図-1）から推定されるように，一般に乾性土壌では適潤性土壌にくらべて酸性が強いことによると考えられる。事実，森林土壌では耕地と比較して一般により酸性であるために硝酸化成はほとんど無視しうるという意見もある(*1, 8, 12*)。

いっぽう，同じく硝酸化成の認められた適潤性土壌のうちでも試料中の硝化細菌数と硝酸生成のパターンは同一ではなかった。硝化細菌数の比較的多い適潤性の天然林およびスギ人工林土壌では畑地と同様に活発な硝酸生成がみられたのに対しヒノキ人工林土壌では測定した2例とも硝化細菌数は前2者と比較して少なく，さらにその1例の培養実験の結果もそれに対応して，硝酸生成は培養の前半には非常に少なかった。しかし 30 日間以降になると硝化は活発に進行しこの点はまたこの土壌が乾

性土壌とは顕著に異なるところであった。

太田と熊田(7) が愛知県および三重県下の 27 地点の森林より得た土壌試料を用いた実験結果によれば，鉱質土層（A～AB 層）の硝化活性はスギまたは広葉樹林下の適潤性土壌群で最も高く，ヒノキ林の適潤性土壌がこれにつぎ，乾性土壌群では最も低かった。本報告で得られた結果はこれと一致している。

このヒノキ林土壌は供給した適潤性土壌のうちでは pH は低いほうだが（表-2），硝化のちがいが pH の低さによるのか植生に由来するのか明らかではない。硝化のパターンのちがいが何に由来するものであるかについてはさらに検討を加える必要がある。

本実験のとりまとめにあたり有益なご助言をいただいた名古屋大学農学部農芸化学科　熊田恭一教授に深謝の意を表する。

引用文献

(1) Alexander, M.: Introduction to soil microbiology. 272 pp, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1961
(2) 土壌微生物研究会編：土壌微生物実験法．194 pp, 養賢堂，東京，1975
(3) 土壌養分測定法委員会編：土壌養分分析法．430 pp，養賢堂，東京，1970
(4) 藤田桂治・佐藤久男：林地に施肥した場合の無機態窒素の消長（II）アカマツおよびクヌギ林．84 回日林講：133～134，1973
(5) Heilman, P.: Effect of urea fertilization on nitrification in forest soils of the Pacific Northwest. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. **38**: 664～667, 1974
(6) 河田　弘：森林生態系における養分循環（総説）．森林立地 **13** (1): 1～16, 1971
(7) Ohta, S. & Kumada, K.: Studies on the humus forms of forest soils (VI) Mineralization of nitrogen in brown forest soils. Soil Sci. & Plant Nutr. **24**: 41～54, 1978
(8) Richards, B. N.: Introduction to the soil ecosystem. 153 pp, Longman, Essex, 1974
(9) Roberge, M. R. & Knowles, R.: Ureolysis, immobilization and nitrification in black spruce (*Picea mariana* Mill) humus. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. **30**, 201～204, 1966
(10) 佐藤久男・吉本　衛：林地に施肥した場合の無機態窒素の消長（1）苗畑のスギ模型林分の場合．84 回日林講：134～136，1973
(11) 田辺市郎・鈴木達彦：微生物に関する分析法（その1）土壌微生物の測定法．日土肥誌 **37**: 34～45, 1966
(12) Theobald, W. F. & Smith, W. H.: Nitrate production in two forest soils and nitrate reduction in pine. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. **38**, 668～672, 1974

(1978 年 1 月 27 日受理)