

## 家畜スラリー連用畑土壌における低栄養要求型脱窒菌群の垂直分布

橋本知義・安 起弘<sup>1</sup>・金澤晋二郎<sup>1</sup>  
(九州沖縄農業研究センター・<sup>1</sup>九州大学大学院農学研究院)

Tomoyoshi Hashimoto, Gi-Hong An and Sinjiro Kanazawa :  
Vertical Distribution of Oligotrophic Denitrifying Bacterial Population in Upland Soil with Slurry Application

## 1. はじめに

土壌中の窒素循環の中で重要な位置を占める脱窒過程はシュードモナス属細菌等多様な脱窒菌群が担っており、この過程は酸素、水分および基質等の土壌環境条件の影響を受けている。これまでに、揮散を含む窒素収支が明らかにされている家畜スラリー連用畑圃場において、この表層から4 m下層までの土壌層位別の脱窒活性と従来法<sup>1)</sup>による脱窒菌数とは相関関係が低いことを明らかにした<sup>2)</sup>。一般に、脱窒菌の計数には高栄養な培地(硝酸添加肉汁培地)を用いるが、土壌中には低栄養環境に適応した微生物群が多数生息する。

## 2. 材料および実験方法

そこで、低栄養培地を用いた計数法による低栄養要求型脱窒菌の動態および脱窒活性との相関を調査した。土壌試料は、九州沖縄農研・畑作研究部(宮崎県都城市)において1985年から継続されている家畜スラリー長期連用試験圃場のスラリー投入量の異なる4処理区(0 t/ha区, 60t/ha区, 150t/ha区, 300t/ha区)を対象に、表層クロボク層から4 m下層のローム層までの土壌層位別にスラリー秋期投入前(2000年9月4日)に採取した。また時期別変動調査のために、スラリー春期投入前(2000年4月7日)および投入2ヶ月後(2002年6月14日)に300t/ha区から採取した試料も供試した。

脱窒菌密度は、10倍希釈5連のMPN法により計数した。すなわち、 $10^1 \sim 10^8$ 倍に希釈した土壌試料を2種類の培地組成(高栄養培地:50ppm硝酸添加肉汁培地,あるいは低栄養培地:5ppm硝酸添加100倍希釈肉汁培地)を用いて28℃で培養した。なお低栄養培地の場合には、気相を10%アセチレンガス添加アルゴンガスで置換した。従来法では培養8日目に硫酸ジフェニルアミン溶液を用いて硝酸イオンの消失から脱窒菌の増殖を判断し、これにより脱窒菌数を推定した(以下、普通脱窒菌数と呼ぶ)。また低栄養培地の場合には、培養28日目にECD付きガスクロマトグラフを用いて亜酸化窒素ガスの集積から増殖を確認し、これにより脱窒菌数を推定した(以下、低栄養要求型脱窒菌数と呼ぶ)。

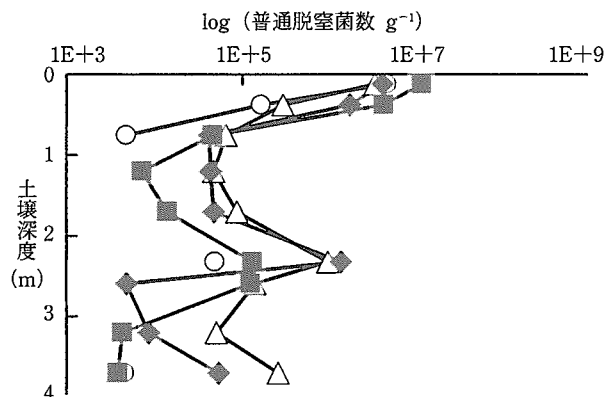
アセチレン阻害法によりCおよびN源としてグルコースと硝酸を土壌にそれぞれ10mM添加し、24時間後の亜酸化窒素発生量から潜在的脱窒活性を評価した。

## 3. 結果

従来法による普通脱窒菌数の垂直分布は表層ではスラリー投入量に比例した菌数の分布を示したが、下層では投入量との関係は認められなかった(第1図)。一方、低栄養要求型脱窒菌数の場合、表層から下層までスラリー投入量に比例した菌数の垂直分布を示した(第2図)。またスラリー投入2か月後に採取した土壌試料の場合には、スラリー投入前の試料に比べて、表層におい

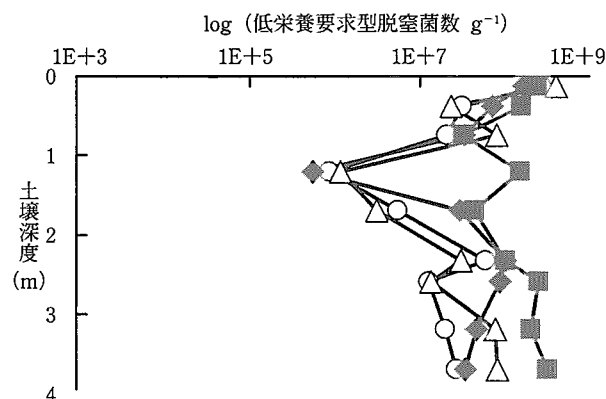
て低栄養要求型脱窒菌数の増加が認められた。いずれの土壌層位においても、低栄養要求型脱窒菌数が普通脱窒菌数よりも $10 \sim 10^5$ 倍多くなった。また、家畜スラリー投入量が多いほど、下層における低栄養要求型脱窒菌数が相対的に増加した。

アセチレン阻害法による潜在的脱窒活性の垂直分布は、低栄養要求型脱窒菌数の変動と同様に、スラリー投入量に比例した活性分布が認められた。普通脱窒菌数および低栄養要求型脱窒菌数は、いずれの場合も脱窒活性との有意な相関関係が認められた(前者 $r=0.756^*$ , 後者 $r=0.462^*$ )。しかし下層土だけで見ると、低栄養要求型脱窒菌数および普通脱窒菌数いずれの場合にも、脱窒活性との間に有意な相関関係は認められなかった。



第1図 普通脱窒菌群の垂直分布

○: 0 t/ha区, △: 60t/ha区  
◆: 150t/ha区, ■: 300t/ha区



第2図 低栄養要求型脱窒菌群の垂直分布

## 引用文献

- 1) 土壤微生物研究会編:新編土壤微生物実験法, pp. 411, 養賢堂, 東京, 1992.
- 2) HASHIMOTO, T. and H. NIIMI, *Soil Sci. Plant Nutr.* 47, 503-510, 2001.