

普及技術

分類名〔土壤肥料〕

普 4	水田土壤可給態窒素の簡易・迅速評価法と デジタル画像解析を組み合わせた推定法
-----	---

宮城県古川農業試験場

要約

水田土壤可給態窒素含量の分析は風乾土を30℃湛水培養で4週間を要するが、絶乾土水抽出法（不振とう法）とCOD簡易比色キットのデジタル画像解析を組み合わせることで、3～5日間程度の短期間で簡易に精度良く推定することができる。

1 取り上げた理由





地力増進基本指針に示された可給態窒素は土壤の肥よく度を知る上で重要であるが、水田の場合風乾土を30℃で4週間湛水培養しなければならず、手間と時間がかかる。近年、絶乾土水振とう抽出法や振とう機を必要としない不振とう法が開発され、かつCOD簡易比色キットを用い、より安価で簡易に可給態窒素を推定する手法（東ら2015, 上園ら2010, 野原ら2016）が開発された。

COD簡易比色キットでは発色後、目視によりサンプルの色を確認し、同梱された色見本（標準色）と見比べて値を決定する。本手法は簡易で安価に測定値が得られるが、測定値に個人差が反映され、誤差が生じやすい。そこで、絶乾土水抽出法（不振とう法）とCOD簡易比色キットのデジタル画像解析を組み合わせることで可給態窒素を簡易に推定できたので普及技術とする。

2 普及技術

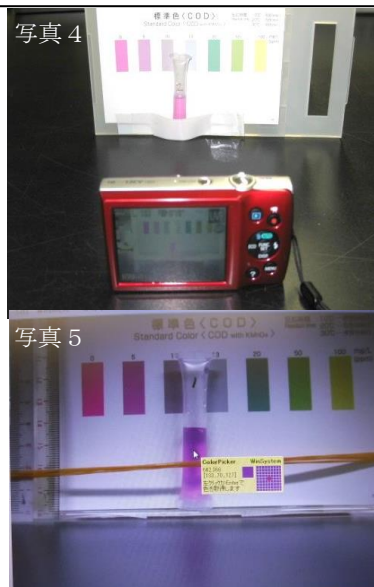
(1) 振とう機を必要としない絶乾土水抽出法（不振とう法）で得た抽出液をCOD簡易比色キット（共立理科学研究所製CODパックテスト）のチューブに吸引発色させ、室内条件下でデジタルカメラにより色見本とともに直接撮影し、得られた画像のRGB値を画像解析ソフトで解析し、COD値(COD^{R-G})を測定することで水田土壤の可給態窒素含量が推定できる（デジカメ-RGB法）。具体的な手順については下記フローチャートのとおり。

デジカメ-RGB法による可給態窒素含量の推定に関するフローチャート

<p>1. 絶乾土水抽出法（不振とう法）</p> <p>①風乾土を105℃24時間加熱し絶乾土とする（写真1）。絶乾土3gに予め25℃に加温した蒸留水50mLを加え、転倒攪拌（30回程度）後、25℃で正確に1時間静置する。</p> <p>②静置後10%硫酸カリウム5mLを加え、20回程度手で攪拌し、10分間静置後にNo.5cまたはNo.6のろ紙でろ過抽出液を得る（写真2）。</p>	<p>写真1</p>  <p>写真2</p> 
	
<p>2. CODパックテストによる発色</p> <p>①抽出液を蒸留水で5倍に希釈する。</p> <p>②パックテストチューブで抽出液をチューブの半分まで吸引する（吸引後のチューブ重量が2.9±0.2g程度）。</p> <p>③軽く振り混ぜ取扱説明書にしたがい正確に数分間発色する。</p> <p>※発色前に、パックテストのチューブをビニールテープや輪ゴム等で迅速に立てられるように準備する。また、チューブに通し番号を油性ペン等で記載するとサンプルの取り間違い等を防止できる（写真3）。</p>	<p>写真3</p> 

3. デジカメ-RGB 法による RGB 値の取得

- ①室内照明を ON にする。透明のカバーを外した標準色を箱等に貼り付け、机の上に垂直に立てる。チューブを立て、カメラを 20~30cm 離して標準色とチューブが写るように設置する（写真4）。
- ②発色時間になったら、シャッターを押す。カメラはフラッシュを使わず、オートモードで撮影する。
- ③目視でサンプルの色が 13 mgO L^{-1} 以上であれば、蒸留水でサンプルを 8~10 倍に希釈し、再測定する。
- ④画像データを、カラーピッカーがインストールされたパソコンに取り込み Windows フォトビューワー等で画像を開く。
- ⑤標準色とサンプルの発色液部分（液面より 1cm 下方で中央部 1 か所、陰や光の反射部位がある場合は避ける。）の RGB 値を取得し（写真5）、表計算ソフトのセル形式を予め文字列にしたシートにペースト（貼付）する。セル分割し、RGB 値を数値化する。



4. RGB 値による COD および可給態窒素含量の推定

- ①サンプル毎の標準色の R-G 値と COD の関係式（一次直線）を求め、サンプルの R-G 値を代入する。得られた値に希釈倍率を乗じ、 $\text{COD}^{\text{R-G}}$ (mgO L^{-1}) を求める。
- ② $\text{COD}^{\text{R-G}}$ を下記式に代入し可給態窒素含量を求める。

$$\text{可給態窒素含量} (\text{mg kg}^{-1}) = (\text{COD}^{\text{R-G}} (\text{mgO L}^{-1}) \times 1.74) - 55.0$$

3 利活用の留意点

- (1) 抽出法については農研機構中央農業研究センターが作成した「水田土壌可給態窒素の簡易・迅速評価マニュアル」に準じて行い、絶乾処理については絶乾土水振とう抽出法を、抽出法（不振とう法）については簡易乾熱土水抽出法を参考にすること。
 - (2) 抽出液は密栓し 3 日間程度であれば冷蔵庫内で保存は可能であるが、菌の増殖を防ぐためできるだけ早めに分析すること。
 - (3) 室内温度の違いにより COD パックテストの発色時間は異なり、かつ、色の変化が早いことから室温を計測し、取扱説明書にしたがい発色時間を正確に守ること。また、COD パックテストのチューブからひも状の栓を抜く際、チューブの穴を素手で触ると汚染され COD が正確に測定できなく可能性がある。したがって、作業時にはゴム手袋等を着用しピンセット等の使用を推奨する。
 - (4) 光量の多寡による分析値の変動は少ないが、太陽光の反射や光量の不足により画像がぼやける事を防ぐため、撮影は室内照明条件下で行うこと（図2）。
 - (5) 光条件を一定にするため、発色したチューブを色見本と共に机の上に立てる際、チューブの裏側は色見本の余白部分とすること。
 - (6) 使用した画像は幅約 5200 ピクセル高さ約 3900 ピクセルであり、ファイルサイズは 4~5 MB である。
 - (7) 本稿で使用したデジタル画像の RGB 値を取得するソフト「カラーピッカー」は無料で取得することができる（2019年1月現在）。
 - (8) デジタルカメラの価格は約 15,000 円、COD パックテストは 1 回 63 円（徳用セット、150 回分/箱）である。
 - (9) 畑土壌の可給態窒素については、普及に移す技術第 94 号「畑土壌可給態窒素の簡易・迅速評価法」を参考にすること。
- (問い合わせ先：宮城県古川農業試験場 作物環境部 電話 0229-26-5100)

4 背景となった主要な試験研究の概要

(1) 試験研究課題名及び研究期間

簡易・迅速土壌診断による土壌の窒素肥沃度測定法の確立（平成28～平成30年度）

(2) 参考データ

イ 色見本の R-G 値と COD との関係式から標準液の COD 濃度 (COD^{R-G}) が測定可能である（図1, 図3）。

ロ COD^{R-G} と可給態窒素含量から得られた関係式 $y=1.74x-50.0$ により, COD^{R-G} から可給態窒素含量を推定することが可能である。（図4）

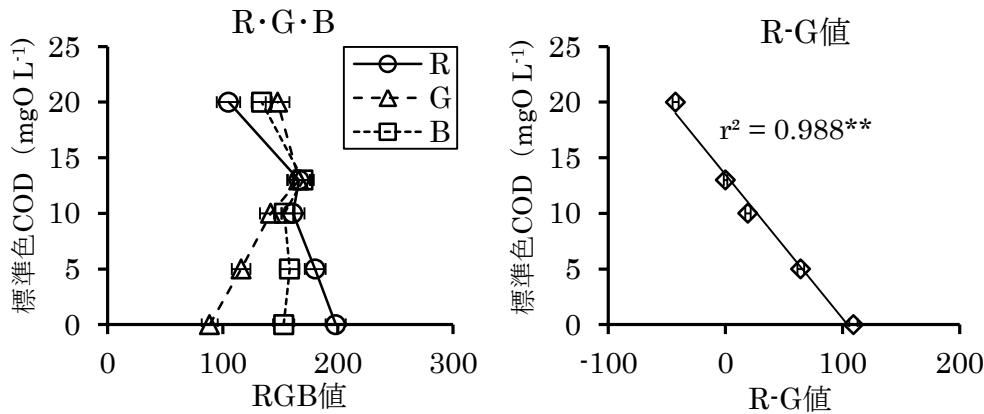


図1 RGB 値および R-G 値と標準色 COD の関係

各プロットは $n=60$ の平均値, エラーバーは標準偏差を示した。決定係数は R-G の平均値と標準色 COD 値を用いて求めた。決定係数に記した**は危険率 1% 水準で有意な相関関係があることを示す。

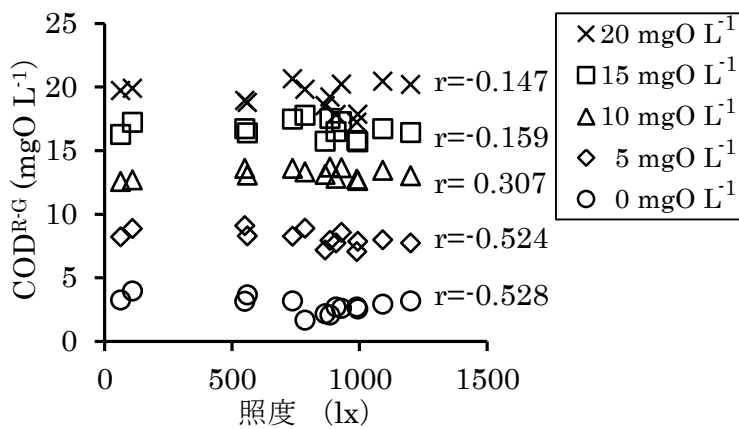


図2 測定室内照度とデジタルカメラ-RGB 法による COD^{R-G} の関係
試料は COD 理論値が 0, 5, 10, 15, 20mgO L⁻¹ の D-グルコース水溶液。各 COD^{R-G} において危険率 5% 水準で有意な相関関係は見られなかった。なお, 図中の左側に位置する 2 種類の低照度条件は室内照明無灯下の結果を示し, それ以外はいずれも室内照明点灯下の結果を示す。

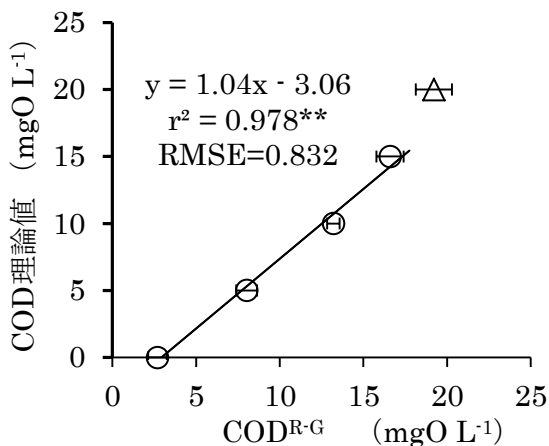


図3 デジタルカメラ-RGB 法による COD^{R-G} と COD 理論値との関係

試料は COD 理論値が 0, 5, 10, 15, 20mgO L⁻¹ の D-グルコース水溶液。各 COD^{R-G} において危険率 5% 水準で有意な相関関係は見られなかった。なお, 図中の左側に位置する 2 種類の低照度条件は室内照明無灯下の結果を示し, それ以外はいずれも室内照明点灯下の結果を示す。決定係数に記した**は危険率 1% 水準で有意な相関関係があることを示す。

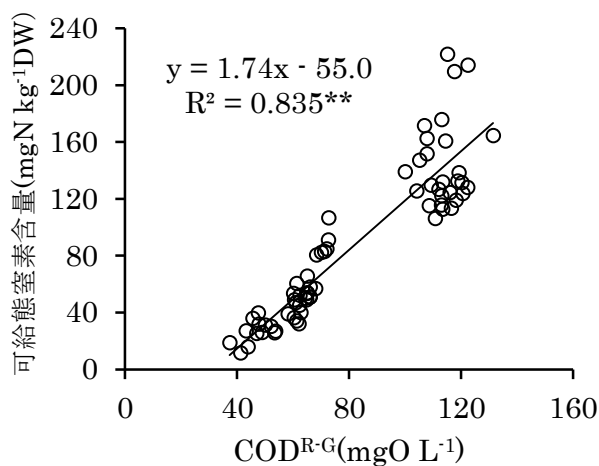


図4 デジカメ-RGB法によるCOD^{R-G}と可給態窒素含量の関係

供試土壌は作土層0～15cmの風乾細土(2mm以下)。土壌採取ほ場数は17で、内14ほ場が現地、他の3ほ場が試験場内。土壌サンプル数は現地54点、場内13点で合計67点。可給態窒素含量は30℃4週間湛水培養して得た値。決定係数に記した**は危険率1%水準で有意な相関関係があることを示す。

(3) 発表論文等

イ 関連する普及に移す技術

なし

ロ その他

(イ) 阿部ら(2018)土肥誌、89(4):317-320

(ロ) 普及成果情報(2018)

(4) 共同研究機関

農研機構 中央農業研究センター

本研究の一部は依頼研究員制度(農研機構中央農研センター)により得られたデータを使用した。