

### 第3章 草地における物質循環にかかわる土壤微生物の動態

#### 第1節 天北地方の草地における 土壤微生物特性

草地は耕起されないため、他の耕地と異なった理化学性を有しており、これが土壤微生物特性を形づくる第一の要因である。加えて、常に草地を覆っている牧草も土壤微生物特性に対して大きな影響を及ぼすと考えられる。ここでは天北地方の重粘土草地における土壤微生物の特徴を空間（土層深）と時間（季節変化）の面から明らかにしようとした。また、草地の特徴をより明確にするために畑地との比較も行った。

行方点で意義あるものと考えた。土壤微生物数・活性も1つの土壤で垂直的に変化することが報告されている。ここでは、まず、その垂直的变化に天北重粘土の特色がどう反映されているかを検討した。また、草地は永年耕起されることなく利用されるので、作土上部の0-15cm土層が理化学性の点で明確な層位分化を起すことが知られている<sup>104)</sup>。この様な層位分化をおこす条件や結果としての層位分化そのものが微生物特性に及ぼす影響を検討し、天北重粘土草地の土壤微生物的特徴を明らかにしようとした。さらに、比較検討のために畑地でも同様の測定を行った。

#### 実験方法

##### 1. 土壤の層位分化にともなう微生物特性の変化

土壤の断面形態や層位別の理化学性変化は土壤の特徴を把握するうえで重要な項目である。同様の考えから土壤微生物においても垂直的な分布状況を知ることは研究対象である土壤の特徴づけを

##### (1) 土壤断面形態に対応した微生物 特性の垂直分布

天北農試内の草地土壤を土層別に採取して微生物特性の測定に供試した（表3-1）。測定は1984および1985年の早春に実施した。

表3-1 供試草地の断面形態と土壤理化学性

草地 番号	土 壤	層 位 (cm)	土 性	土 色	全炭素 (%)	pH (H <sub>2</sub> O)	BrayII-P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (mg/100g)	置換性K <sub>2</sub> O (mg/100g)
1	酸性褐色 森林土	0-5	CL	暗褐	2.2	6.2	29	9
		5-15	CL	暗褐	2.0	6.1	13	4
		15-42	CL	黄褐	1.5	5.4	5	4
		42-	L	明黄褐	-	-	-	-
2	酸性褐色 森林土性 疑似 グライ土	0-5	C	黒褐	4.2	5.7	31	11
		5-15	C	黒褐	3.3	6.4	13	5
		15-30	C	黒褐	3.0	5.8	0	6
		30-	C	黄褐	-	-	-	-
3	疑似 グライ土	0-5	C	黒褐	4.0	5.9	23	26
		5-15	C	にぶい黄褐	2.1	5.4	2	5
		15-	C	灰オリーブ	1.1	5.5	0	6
4	酸性褐色 森林土	0-5	CL	暗褐	2.8	5.9	37	38
		5-15	CL	暗褐	2.5	6.5	18	16
		15-25	CL	黄褐	1.9	5.6	3	8
		25-50	L	明黄褐	-	-	-	-

## (2) 作土表層における微生物特性の層位分化

草地・畑地の作土0-15cmを0-2, 2-5, 5-15cmの3土層に分けて微生物特性の測定を行った。供試圃場は天北農試内の各種土壤に造成された管理来歴の異なる草地30ヶ所と畑地7ヶ所である。草地の経年数は造成後の年数ではなく、更新後の年数とした。草地はすべてオーチャードグラス主体草地であり、畑地の作付作物はテンサイ、トウモロコシ、ヒマワリ、コムギであった。草地の採土・測定は1982, 1983年の早春又は晩秋に行った。畑地の測定は兩年の晩秋耕起前に行った。土壤の化学性の分析は、微生物特性の測定のために採取した試料を風乾砕土して行った。土壤の3層分布、仮比重の測定は、高さ5cmの100ml容の円筒状採土管を用いて測定した。円筒状採土管による土壤の採取は一括して1984年の5月中旬に行った。

## 結 果

## (1) 土壤断面形態に対応した微生物特性の垂直分布

まず、天北地方の代表的な土壤型における草地土壤の微生物数を調査した。3土壤とも表層0-5cmには、乾土1g当り約 $10^7$ の細菌、約 $10^6$ のグ

ラム陰性細菌、約 $10^5$ の糸状菌が生息した(表3-2)。土壤間の比較では、停滞水の影響を大きく受けると考えられる土壤ほど0-5cm土層の微生物数が多い傾向であった。どの土壤でも、微生物数は下位層に向かうほど低下した。低下の程度は地下水位が季節的に上昇し、2価鉄が生じて灰オリーブ色を呈する疑似グライ土で激しく、15cm以下の土層で0-5cm土層の約1/1000まで低下し、酸性褐色森林土性疑似グライ土がこれに続き、酸性褐色森林土では45cm以下であっても微生物数の低下は1/10程度にとどまった。

次に、天北地方で最も代表的な非火山性酸性褐色森林土(表3-1の番号4)においてより詳細な検討を試みた。前表にあげた測定項目ばかりでなく、菌糸長や尿素・カゼインの分解活性も土色に変化する部位から著しく低下することが伺われた(表3-3)。また、各土層間の希釈平板法の糸状菌数、すなわち、糸状菌の孢子数と菌糸長の傾向は概ね一致した。

## (2) 作土における微生物特性の層位分化

前項で示されたように、土壤微生物は数および活性の高い表層から、ほとんど活性の存在しない

表3-2 土壤別土層別の土壤微生物数

草地 番号	土 壤	層 位 (cm)	微生物数(土壤g当り)		
			全細菌数 ( $10^6$ )	グラム陰性菌数 ( $10^6$ )	糸状菌数 ( $10^4$ )
1	酸性褐色 森林土	0-5	$1.9 \times 10^7$	$3.5 \times 10^6$	$1.4 \times 10^5$
		5-15	$7.0 \times 10^6$	$7.0 \times 10^5$	$9.2 \times 10^4$
		15-42	$3.1 \times 10^6$	$1.3 \times 10^5$	$3.0 \times 10^4$
		42-	$1.1 \times 10^6$	$6.1 \times 10^4$	$1.1 \times 10^3$
2	酸性褐色 森林土性 疑似 グライ土	0-5	$2.3 \times 10^7$	$4.1 \times 10^6$	$1.2 \times 10^5$
		5-15	$8.2 \times 10^6$	$1.1 \times 10^6$	$8.1 \times 10^4$
		15-30	$6.8 \times 10^5$	$1.8 \times 10^4$	$4.3 \times 10^4$
		30-	$1.3 \times 10^5$	$5.5 \times 10^3$	$1.1 \times 10^3$
3	疑似 グライ土	0-5	$4.4 \times 10^7$	$8.3 \times 10^6$	$2.0 \times 10^5$
		5-15	$9.0 \times 10^6$	$7.0 \times 10^5$	$1.1 \times 10^5$
		15-	$5.1 \times 10^4$	$2.3 \times 10^3$	$3.4 \times 10^2$

表3-3 酸性褐色森林土における土壤微生物性の垂直分布

層位 (cm)	放射菌 (10 <sup>6</sup> /g)	細菌 (10 <sup>6</sup> /g)	全細菌数 (10 <sup>6</sup> /g)	グラム陰性菌 (10 <sup>6</sup> /g)	糸状菌数 (10 <sup>4</sup> /g)	糸状菌長 (m/g)	分解活性*	
							尿素	カゼイン
0-5	9.6	6.9	16.5	1.3	8.4	243	152	97
5-15	8.6	7.4	16.0	0.7	4.6	138	155	76
15-25	4.7	3.9	8.6	0.6	1.7	103	145	73
25-50	0.7	1.9	2.6	0.1	0.3	8	19	3
25-50/0-5	7	26	16	7	3	3	13	3

\*: g/100g/day

表3-4 供試草地土壤の理化学性と経年数

項目	土層 (cm)	最高	最低	平均	変動係数 (%)
容積重 (g)	0-5	134.6	90.9	114.8	10
	10-15	145.1	102	122.4	8
固相率 (%)	0-5	51.1	37.0	44.9	15
	10-15	54.3	39.0	47.6	15
気相率 (%)	0-5	20.7	1.5	9	61
	10-15	15.4	1.2	7	67
土壌pH(H <sub>2</sub> O)	0-2	7.0	4.2	5.5	14
	2-5	7.5	4.4	5.6	14
	5-15	7.4	5.2	6.0	8
置換性-CaO (mg/100g土)	0-2	743	50	244	66
	2-5	615	38	213	59
	5-15	594	154	260	33
置換性-MgO (mg/100g土)	0-2	82	3.4	16.9	98
	2-5	29.5	2.1	11.2	61
	5-15	29.8	5.0	12.8	37
置換性-K <sub>2</sub> O (mg/100g土)	0-2	65.3	9.4	27.4	52
	2-5	48.8	4.0	12.5	65
	5-15	33.3	3.8	9.1	75
Bray II-P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (mg/100g土)	0-2	104	18.9	55.1	51
	2-5	20.7	3.4	13.3	34
	5-15	21.6	1.9	9.6	51
全窒素 (%)	0-2	0.54	0.17	0.31	24
	2-5	0.32	0.15	0.23	22
	5-15	0.33	0.15	0.22	22
全炭素 (%)	0-2	8.7	2.7	4.7	31
	2-5	4.3	1.3	3.1	22
	5-15	4.5	1.3	3.0	25
易分解性 基質量 (C mg/100g/20日間)	0-2	218	15	101	48
	2-5	56	11	26	38
	5-15	48	11	20	36
草地の経年数	-	11	1	5.8	55

表 3 - 5 供試畑地土壤の理化学性

項目	土層 (cm)	最高	最低	平均	変動係数 (%)
土壌pH (H <sub>2</sub> O)	0-2	6.6	5.7	6.0	5
	2-5	6.3	5.3	5.9	6
	5-15	6.2	5.3	5.9	6
置換性-CaO (mg/100 g 土)	0-2	343	118	243	31
	2-5	376	85	248	36
	5-15	370	100	236	37
置換性-MgO (mg/100 g 土)	0-2	23.2	11.2	17.6	24
	2-5	22.0	11.6	15.4	25
	5-15	20.3	10.9	14.7	24
置換性-K <sub>2</sub> O (mg/100 g 土)	0-2	58.0	18.0	37.2	42
	2-5	53.6	11.3	29.3	54
	5-15	44.5	10.6	28.6	45
Bray II-P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (mg/100 g 土)	0-2	32.7	12.5	22.8	35
	2-5	32.5	8.5	18.7	47
	5-15	30.4	7.7	19.4	42
全窒素 (%)	0-2	0.34	0.27	0.30	8
	2-5	0.33	0.23	0.28	11
	5-15	0.32	0.23	0.28	11
全炭素 (%)	0-2	4.7	3.3	3.9	12
	2-5	4.0	3.2	3.6	8
	5-15	4.1	3.3	3.7	8
易分解性 基質量 (Cmg/100 g /20日)	0-2	31.8	14.7	22.4	29
	2-5	26.4	11.3	19.7	27
	5-15	30.0	10.7	17.5	38

下層まで垂直的に変化する。これらの土層中で、草地の物質代謝を考える上で特に重要なのは、牧草からの有機物還元量が多く、根群が集中する作土部分(0-15cm土層)である。

土壤理化学性の分析結果には草地と畑地の特徴がよく表れていた(表3-4,5)。草地の容積重・固相率は0-5cm土層よりも10-15cm土層の方が高まっており、土壤の堅密化は有機物の蓄積する作土表層よりも作土下層でより強く進行することが示された。気相率は0-5, 10-15cmの両土層とも10%以下であり微生物の活性に問題が生ずると考えられるレベルであった<sup>70, 103)</sup>。草地の作土表層では、作土下層(5-15cm)に比べて置換性マ

グネシウム、有効態リン酸、有機物、易分解性の微生物基質量が増加し、逆にpHが低下する傾向が伺えた。これに対して、畑地でも置換性MgO、K<sub>2</sub>O、有効態リン酸、易分解性基質量は作土表層で僅かに高まる傾向であったが、層位間差は草地と比べて小さかった。さらに、本実験で調査した草地における土壤理化学性の多くの項目の変動係数は下位層に比べて0-2cm土層で大きい傾向であった。これは、草地の施肥を含めた各種管理が土壤表面で行われるため、管理来歴の違いを反映して0-2cm土層における化学性の変化が多岐にわたることを示していよう。毎年耕起される畑地では0-2cm土層の変動係数も草地と比べて小さ

表3-6 供試草地30ヶ所の土壤微生物特性の平均値

微生物特性	層位 (cm)	最高	最低	平均	変動係数(%)
全細菌数 ( $10^6/g \cdot \text{土}$ )	0-2	104.2	11.6	36.5	64
	2-5	67.5	4.8	19.8	69
	5-15	31.4	0.3	11.7	73
グラム陰性菌数 ( $10^6/g \cdot \text{土}$ )	0-2	13.0	T	5.0	76
	2-5	6.8	T	1.6	98
	5-15	3.2	T	0.8	102
糸状菌数 ( $10^4/g \cdot \text{土}$ )	0-2	48.5	6.3	20.5	52
	2-5	23.2	1.6	9.7	51
	5-15	17.7	T	6.7	59
TTC還元活性 ( $10^{-3} \text{ mg}/g \cdot \text{土}$ )	0-2	674	11	107	118
	2-5	328	2	43	138
	5-15	258	T	30	164
硝酸化成活性 ( $10^{-2} \text{ mgN}/g \cdot \text{土}$ )	0-2	17.6	T	2.7	174
	2-5	14.6	T	2.4	162
	5-15	15.6	T	2.0	176
添加窒素有機化率 (%)	0-2	33	10	21	8
	2-5	27	8	17	39
	5-15	29	17	23	19

表3-7 供試畑地7ヶ所の土壤微生物特性の平均値

微生物特性	層位 (cm)	最高	最低	平均	変動係数(%)
全細菌数 ( $10^6/g \cdot \text{土}$ )	0-2	65.2	29.9	41.0	28
	2-5	58.7	16.9	31.7	48
	5-15	43.7	14.1	27.5	38
グラム陰性菌数 ( $10^6/g \cdot \text{土}$ )	0-2	5.5	1.1	3.9	36
	2-5	5.1	0.6	3.0	48
	5-15	3.8	0.3	2.2	51
糸状菌数 ( $10^4/g \cdot \text{土}$ )	0-2	19.6	6.3	12.6	36
	2-5	16.4	4.4	9.8	44
	5-15	14.4	4.2	9.2	41
TTC還元活性 ( $10^{-3} \text{ mg}/g \cdot \text{土}$ )	0-2	32	11	20	34
	2-5	39	10	18	58
	5-15	21	9	14	34
硝酸化成活性 ( $10^{-2} \text{ mgN}/g \cdot \text{土}$ )	0-2	37	T	14	84
	2-5	22	T	12	59
	5-15	18	T	10	62
添加窒素有機化率 (%)	0-2	25	2	12(10)	62
	2-5	44	5	17(12)	76
	5-15	48	7	18(11)	80

かった。

表3-6に天北農試内の管理来歴の異なる草地30ヶ所の微生物特性を0-2, 2-5, 5-15cmの3層に分けて示した。いずれの測定項目も層位が深くなるに従って例外なく低下し、微生物特性においても理化学性と同様に層位分化が起こることが観察された。

中でも、グラム陰性菌は、0-2cm土層に比べて、5-15cm土層では約1/6に低下した。同様に全細菌数、糸状菌数およびTTC還元活性は約1/3に低下した。これに対し毎年耕起される畑地では、下位層での微生物特性の低下程度は草地に比べて小さく、0-2cm土層に比較して、5-15cm土層ではグラム陰性菌でも約1/2に低下する程度であり、他の微生物数や活性は、やや低下傾向が認められる程度であった(表3-7)。

他に草地・畑地の違いとして、以下のことをあげることができる。0-2cm土層の全細菌数は畑地・草地ではほぼ同等であるのに対し、下位層では畑地で多く、草地の全細菌数が0-2cm土層できわめて多いことが伺われた。また、0-2cm土層の糸状菌数は草地で大きい傾向であった。0-2cm土層のTTC元活性も草地の方が明らかに高かった。これは、TTCの還元が土壌中の基質を利用して行われるので、易分解性基質存在量の多い草地で高くなったものであり、必ずしも畑地の潜在的微生物活性が草地と比べて低いことを示さない。

また、草地の硝酸化活性はいずれの土層でも畑地の数分の1であった。添加窒素の有機化率は平均値と比較しても、草地で高い傾向であった。畑地の添加窒素有機化率が最高であったのは前作の麦稈を鋤込んだ圃場であり、特殊な例と考えられるので、これを除いた平均値を( )内に示した。これより、添加窒素有機化率は、草地で畑地より、かなり大きいとみることができる。

草地における0-2cm土層の変動係数(CV)は、糸状菌で最も小さく、TTC還元活性、硝酸化活性で大きかった。全細菌数とグラム陰性菌数では、グラム陰性菌の変動係数が大きく、このグループが環境要因の影響をより鋭敏に受けることが示された。理化学性の場合と同様に畑地の微生物特

性測定項目の変動は添加窒素有機化率を除いて、いずれの土層でも草地より小さかった。

## 考 察

### (1) 微生物特性の土層間差

土壌において下位の土層ほど微生物数・活性が低下することは多くの研究者によって報告されたが、その程度は土壌によって異なる。表3-2の結果では停滞水の影響を強く受ける土壌ほど下層での低下程度が大きかった。土壌の水分含量が多いことは、土壌の通気性を低下させ、微生物の活動にとって必要な酸素の供給を制約する。これが、下層土での微生物数および活性低下の原因の1つと考えられる。表3-2の疑似グライ土では15cm以下の土層での細菌数が $10^4$ と著しく低かったが、停滞水の影響がさらに長期に続くと、微生物数の低下はさらに大きくなり、また停滞水の水位が高まると微生物数の低下は上位層まで及ぶことになる。その結果、有機物の分解が遅延して集積の方向になり、泥炭が形成されることになる。これは、微生物活性が低下して、物質循環が停滞した典型といえる。関谷<sup>155)</sup>が十勝地方で実施した測定の結果では、非火山性の停滞水グライ土壌も含めて、下層土でのグラム陰性細菌数が乾土1g当り $10^5$ 以下になる例は希であったが、本実験では、比較的条件のよい酸性褐色森林土においてさえ、42cm以下の土層でも、すでに $10^4$ まで低下した。この原因は、天北地方に分布する草地土壌の主体をなす重粘土の粘性が強く、構造が堅密であるため通気性が劣ることにあると考えられる。

表3-3において、糸状菌の孢子数と菌糸長はおおむね対応して動いており、大まかにみれば、菌糸のあるところにはそれに対応した孢子も存在すると言える。言い替えると、孢子数をもって糸状菌のアクティブな形態である菌糸長の一応の目安とすることが可能である。

細菌と糸状菌の下層土での減少程度を比較すると、グラム陰性菌を除けば、細菌の方が糸状菌より下層での低下割合が小さい(表3-2, 3)。この原因の1つに、糸状菌が絶対好気性菌であるのに対し、本実験で測定した細菌には通性嫌気性菌も

含まれ、これらは嫌気条件でも生存可能なことがあげられよう。一方、グラム陰性菌の下層土での低下割合は糸状菌と同等であった。グラム陰性菌は一般に栄養要求性がきびしく、根の分泌物の供給を受けることのできる根圏での数が多いとされる<sup>143)</sup>。下層土では、微生物基質量が一段と低下するので、これが、グラム陰性菌数を低下させた要因と言えよう。

## (2) 作土内での微生物特性の層位分化

一般に畑地では、Ap、A、B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>といった1つの土層の微生物数はほぼ均一であることを前提として論議が行われることが多い。しかし、前項の結果では、草地のAp層に当たる0-15cm土層においても、微生物特性の顕著な層位分化が観察された。草地では微生物基質となる牧草の枯死茎葉の還元が草地表面に限られる。加えて、土壌の堅密化に対応して牧草根も表層に集中するので<sup>123)</sup>、微生物基質としての死根や根の分泌物の供給も極く浅い表層に限定されることになる。それに対して、作土下層では牧草からの基質供給が極めて少ない。すなわち、基質供給の面からも層位分化が進行することとなる。また、草地が永年にわたって耕起されず、加えて大型機械による踏圧によって堅密化するので、通気性が低下し、作土下層への酸素供給が制限されることも層位分化の原因と考えられる。この傾向は、作土表層における微生物や牧草根による酸素消費によって拍車をかけられよう。

この影響を最も強く受けたのはグラム陰性菌であった。グラム陰性菌は植物根圏での密度が高いとされており<sup>143)</sup>、草地の経年化によって牧草根が作土表層に集中することが、グラム陰性菌数の層位間差を大きくした主要因であると推定された。逆に硝酸化成活性の層位間差は極めて小さかった(表3-6)。この要因については特定できなかったが、後でも触れるように、草地の0-2cm土層ではpHが低いために硝酸化成活性が抑制されているので作土下層との差が小さくなった可能性がある。

上記の諸要因が複合して、0-15cm土層の層位分化をもたらすと考えられる。畑土壌の作土層に

おける微生物特性の層位分化は、草地と比べてはるかに小さく、この層位分化は永年にわたって耕起されることなく施肥利用が繰り返される草地土壌の特徴の1つであると言える。

草地土壌の2-5cm、5-15cm土層の易分解性基質量は、0-2cm土層と異なり、長い期間にわたって多量の有機物還元を受けないにもかかわらず畑地よりも高い値を示した(表3-4,5)。これは、草地作土下層の微生物活性が低下し、分解が抑制されたことによると推定される。0-15cm土層全体で考えても、草地と畑地の全細菌数と糸状菌数を土層の厚さを換算して加重平均すると、それぞれ、全細菌数が17および $30 \times 10^6/g \cdot 土$ 、糸状菌数が9.1および $9.8 \times 10^4/g \cdot 土$ であり、作土全体にわたってほぼ均一な微生物特性を有する畑地の方が草地よりも微生物数が多く、従ってその活性も高いと推定される。また、畑地との比較において、草地は硝酸化成活性が低く、添加窒素の有機化率が高いことが特徴であった(表3-6, 7)。草地で硝酸化成活性が低いことは、一般的に認められており、牧草による吸収のため常にアンモニア濃度が低いこと<sup>134)</sup>、低pH<sup>161)</sup>、牧草根分泌物による硝酸化成作用の阻害<sup>186)</sup>などがその要因として挙げられている。上記の結果は、施用された窒素が硝酸化成を受けず、微生物菌体に一旦取り込まれる割合が高いことを意味しており、これは、天北地方の草地で施肥窒素の利用率が極めて高い<sup>63)</sup>ことの1因であると推定される。

## 2. 微生物数および活性の季節変化

土壌の微生物特性が季節的に変化することは多くの研究者によって報告されている。しかし、報告された季節変化のパターンは一定しない。微生物特性の季節変化は、土壌、気象、作物、人為的な草地管理等を総合的に反映しており、土壌微生物の特徴の一つと考えた。そこで、微生物特性の季節変化を把握し、それを形成する要因を検討することによって天北地方に分布する重粘土草地における微生物特性の特徴の一端を明らかにしようとした。

### 実験方法

天北農試圃場内にある酸性褐色森林土の草地と畑地を供試した(表3-8)。草地は1976年度に更新・播種を行ったオーチャードグラス単播草地であり<sup>53)</sup>、刈り取りは6月上旬・8月上旬・9月下旬に3回実施した。畑地は秋コムギを前作とするテンサイ畑である。草地では0-2cm土層のpHが低下し、Bray II-リン酸、置換性K<sub>2</sub>O、有機物の蓄積が進行していたのに対して、畑地では3土層とも比較的均一な化学性を有しており、両土壌とも畑地、草地の特徴がよく表れていた。

表3-8 季節変化調査圃場の化学性

調査圃場*	層位 (cm)	全窒素 (%)	全炭素 (%)	pH (H <sub>2</sub> O)	Bray II-P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (mg/100g)	置換性K <sub>2</sub> O (mg/100g)	牧草根乾重 (kg/10a)
草地	0-2	0.39	4.9	5.3	104	15.4	120
	2-5	0.32	3.5	5.9	17	5.7	51
	5-15	0.30	3.3	6.5	13	5.2	18
畑地	0-2	0.27	3.8	6.6	33	47.7	—
	2-5	0.28	3.5	6.3	27	34.5	—
	5-15	0.28	3.7	6.1	28	36.6	—

\*: いずれの圃場も天北農試内の酸性褐色森林土に立地する

表3-9 季節変化調査年度の気象条件

項目	年次	月									
		4	5	6	7	8	9	10	11		
月平均気温 (℃)	1982	2.6	8.7	12.0	16.7	20.0	15.1	9.0	2.2		
	1983	6.7	8.2	7.5	12.7	17.8	14.1	6.7	2.5		
月間降水量 (mm)	1982	73	82	26	36	84	81	133	121		
	1983	67	94	57	84	141	137	139	82		

データはいずれも天北農試内に設置されたアメダス測定機による。

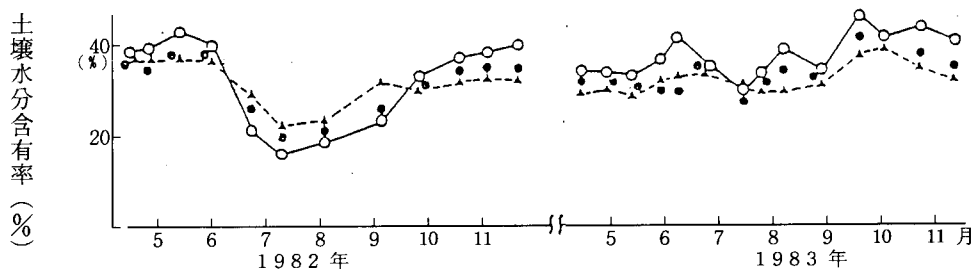


図3-1 草地における土壌水分含有率の季節変化

○, 0-2cm土層; ●, 2-5cm土層; ▲, 5-15cm土層



変化を示した。寡雨年であった1982年には、7月に土壤水分が激しく低下し、その程度は0-2cm土層で大きかった。多雨年であった1983年には目だった土壤水分の低下が認められず、0-2cm土層で、下位層より常に高い水分含有率を示した。

草地土壤の作土を深さ別に3つの層に分け、全細菌数の季節変化を図3-2に示した。1982, 1983兩年とも全細菌数は春と秋に高く、早春、夏および晩秋に低かった。夏期の低下は寡雨のため土壤水分の低下した1982年でより激しく、かつ長期間にわたっており、1982年における秋のピークは1983年に比べて、約1ヶ月遅れて出現した。季

節的変動は2-5, 5-15cmの下位土層では相対的に小さかった。

糸状菌数(孢子数)も年次間に共通点があり、兩年とも8~9月にピークを有していた(図3-3)。ただし、1983年のピークは1982年に比べて低く、台形状であった。菌糸長は春から夏にかけて、僅かではあるが増加の傾向にあり、糸状菌数が増加した時点で一時期逆に低下するが、再び秋にかけて微増傾向をたどった。糸状菌数の場合、2-5, 5-15cm土層での季節的な変化の幅は全細菌数でみられたよりもさらに小さかった。

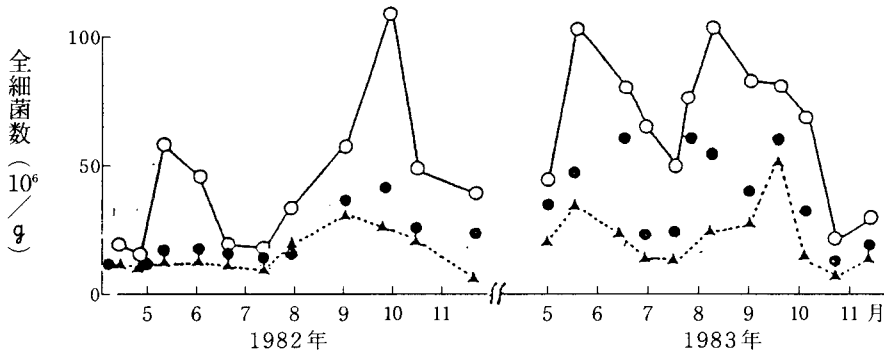


図3-2 草地における全細菌数の季節変化

○, 0-2cm土層; ●, 2-5cm土層; ▲, 5-15cm土層

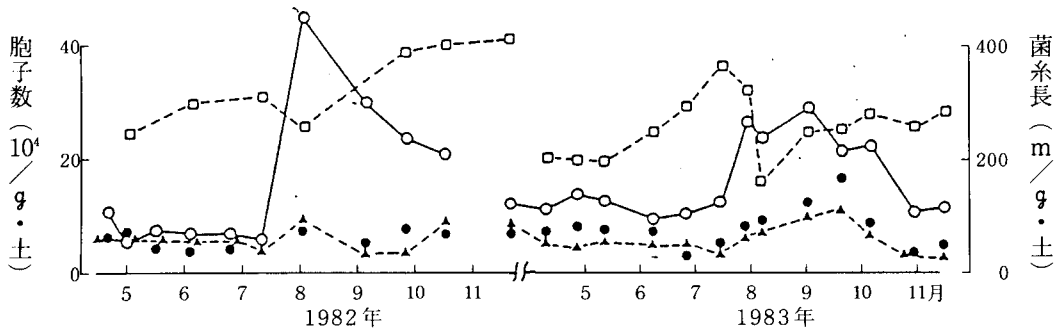


図3-3 草地における糸状菌孢子数と菌糸長の季節変化

全細菌数—○, 0-2cm土層; ●, 2-5cm土層;  
▲, 5-15cm土層 菌糸長—□, 0-2cm土層

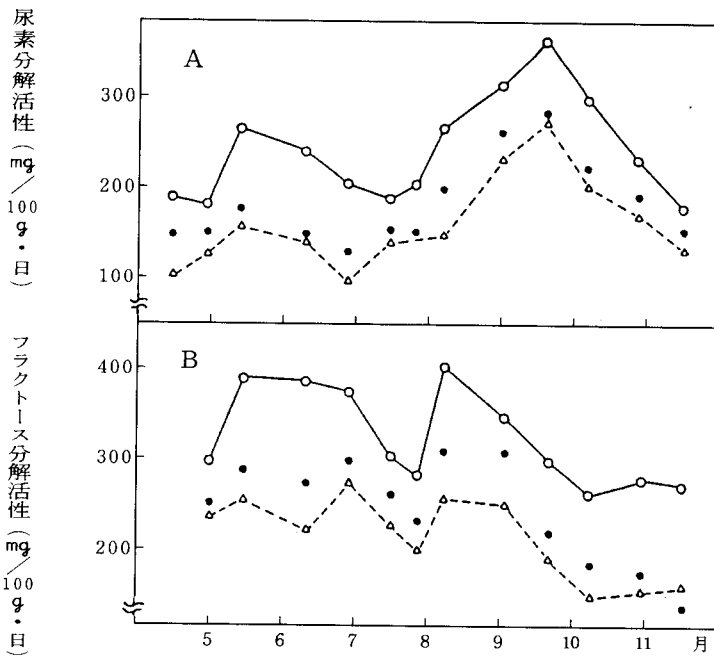


図3-4 草地における微生物活性の季節変化(1983年)

○, 0-2cm土層; ●, 2-5cm土層; △, 5-15cm土層

0-2cm土層における尿素およびフラクトースの分解活性も全細菌数と同様に、春と秋にピークを有する季節変化を示した(図3-4)。作土下層では活性自体も低下し、季節変化の特徴も小さかった。

草地における全細菌数の季節変化の特徴をより明確にするために、畑土壤についても同様の調査をおこなった。畑地の測定は1982年に行ったため、

夏期に草地と同様に土壤水分の低下が起こったにもかかわらず(図3-5)、全細菌数は草地でみられたような夏期の減少を示さなかった(図3-6)。全細菌数の層位間差は、表3-7の結果と同様に比較的小さかったが、耕起から7月までは5-15cm土層で相対的に高く、8月以降は0-2cm土層で高かった。

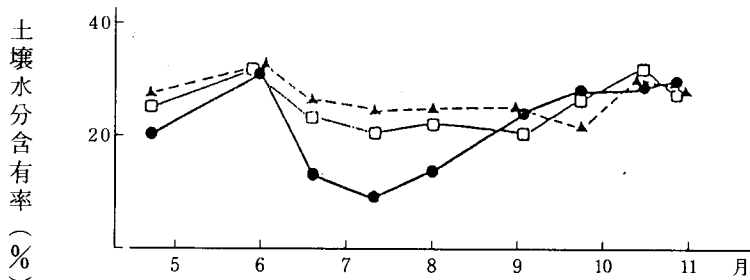


図3-5 畑地における土壤水分の季節変化(1982年)

○, 0-2cm土層; ●, 2-5cm土層; ▲, 5-15cm土層

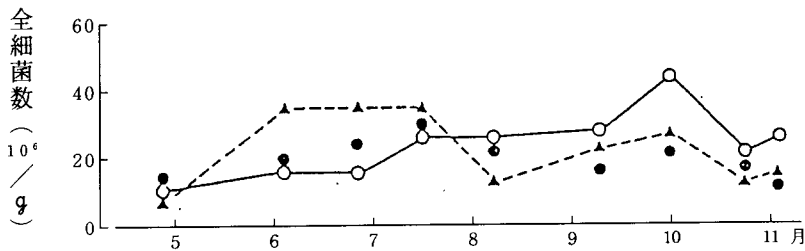


図3-6 畑地における全細菌数の季節変化 (1982年)

○, 0-2cm土層; ●, 2-5cm土層; ▲, 5-15cm土層

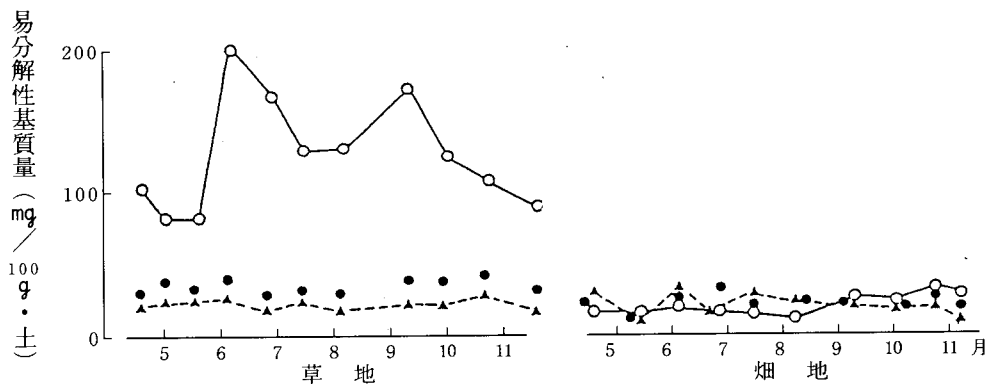


図3-7 草地と畑地における易分解性基質量の季節変化 (1982年)

○, 0-2cm土層; ●, 2-5cm土層; ▲, 5-15cm土層

植生から微生物に対する有機物の供給は微生物特性の季節変化の大きな要因であることが指摘されている。易分解性基質量は草地表面で極めて高く、かつ、全細菌数の季節変化と同様に、春と秋に高く夏に低かった(図3-7)。畑地での易分解性基質量は3土層とも草地の2-5cm土層よりもさらに低い値で推移した。また、差は僅かではあるが、8月までは5-15cm土層で相対的に高く、それ以降は0-2cm土層で高い傾向がうかがえた。

### 考 察

土壤微生物は季節的に常に変動を繰り返している。変動の要因としては、土壤水分や温度等の気象環境要因があげられる。また、乾燥や凍結・融解が土壤中の有機物に質的な変化をおこさせて、微生物基質量が増大し、微生物数が一時的に増加することも報告された。以下に天北地方の草地に

おいて認められた特徴的な微生物数の季節変動をもたらした要因について考察する。

#### (1) 草地における全細菌数の季節変動の要因

本実験で観察された夏期における全細菌数の減少と類似の現象は、これまでも報告され、その要因として夏期の高温・乾燥条件があげられた<sup>72)</sup>。しかし、天北地方では、夏期でも最高気温が20℃程度にとどまり(表1-1)、これが、全細菌数を減少させた要因とは考えられない。これに対し、低温条件は初春と晩秋に全細菌数を低下させた主要因である可能性がある。土壤水分は1982年においては夏期に極端に低下しており、これは、全細菌数の低下と対応している。しかし、畑地の0-2cm土層では同年の夏期に草地以上に土壤水分が枯渇したにも拘らず(図3-5)、夏期における全細菌

数の低下は認められず(図3-6)、また、草地において1983年には、土壤水分が夏期に低下しないにもかかわらず(図3-1)、7月に全細菌数の低下が起こった(図3-2)。これらの結果から、本実験で観察された季節変化が、気象環境要因のみによってもたらされたのではなく、これに畑地にはない草地特有の要因が加わって引き起こされたことが示唆される。

一方、草地では前項で示したように、0-2 cm土層での微生物数と活性が、それ以下の層より、明らかに高かった(図3-2, 3-4)。この原因の一つに、牧草の落葉や死根等の微生物基質となる有機物が、常に供給されることがあげられた。図3-7の結果からも、草地表面では、畑地よりも著しく多量の微生物基質が供給されることが理解できる。

このような牧草からの基質供給は年間を通じて常に一定ではなく、寒地型であるオーチャードグラス草地の場合には、その生育相から2つのピークが存在すると考えられる。第一のピークは越冬中に失われる葉や、株によるものである。1例をあげると、晩秋11月下旬の調査時に106kg/10aあった牧草地上部が、融雪時には23kg/10aに減少したので<sup>145)</sup>、その間に差引き83kgの有機物が微生物基質として土壤に還元されたことになる。また、オーチャードグラスの一番草収量の50%以上を占める出穂茎は刈り取り後再生せず、枯死する<sup>146)</sup>。残された刈株や根は微生物によって分解されることになる。

これが、第二のピークの供給源と考えられる。このように、図3-7に示した易分解性基質量のピークは牧草からの基質供給のパターンを反映していると考えられた。

ここで、問題となるのは、草地からの有機物供給が越冬中、および6月であるのにそれぞれに対応した易分解性基質量のピークがこれよりも遅れて出現したことである(図3-7)。この理由としては、表層土壤採取の際に腐食の進んでいない植物体を除去したことがあげられる。そのために、これがある程度崩壊するまでは易分解性基質量の高まりとして測定できなかつた。加えて、1番草刈り取り後の枯死茎葉に由来する2番目のピークが

遅れて出現したことには以下の要因も関与したと考えられる。冬季に凍損によって失われた茎葉は、雪によって土壤に押し付けられ、いわば、土になじんだ条件にあるので分解が容易に進行すると推定される。それに対して、夏期に枯死した葉や枯れ株は、土壤から離れた位置にあり、乾燥し易いので、ある程度崩壊が進んで土壤になじむまでは、急激な微生物の増大をもたらさなかつた可能性がある。

また、イネ科牧草は一般に出穂した後にリグニンのような構造的な画分が増加し、TDN含有率が低下する<sup>13)</sup>。このため、1番草出穂茎は土壤微生物にとって比較的難分解性であり、分解が遅れることも指摘できる。難分解性有機物を土壤に施用した場合に、微生物数の増加が一定期間を経てから起こることは他にも報告されている<sup>146)</sup>。

1982年秋の全細菌数増加は、1983年よりも約1ヶ月遅れて出現した。これは、1982年の夏に激しく低下した土壤水分が微生物作用を抑制した結果であると考えられた。牧草から微生物に対しての基質供給が行われる部位は、草地表面および根の集中する極浅い表層が主体となるので、全細菌数の季節変化は、作土表層で大きく作土下層では小さいのが特徴的であった。

以上に記載した草地0-2 cm土層における全細菌数の変化に関与する要因を次のようにまとめることができる。まず、初春に菌数が少ないことは、冬期間から起生期にわたる長期の低温条件によって、もたらされたものと考えられる。続いて、越冬中に枯死した牧草茎葉の分解によって、全細菌数が増加する。基質の低下に伴って全細菌数は一時減少するが、1番草出穂茎由来の枯死茎葉の供給で再び増加する。但し、乾燥条件等が2つ目のピークの出現を遅らせる場合がある。晩秋には基質の消耗と低温によって全細菌数が低下し、一年のサイクルを終えることになる。本実験での全細菌数の季節変化は他の報告と比べて、かなりはつきりした特徴を有していた。これは、全細菌数の季節変化が気象要因に加えて、オーチャードグラスの生育パターンにも強く支配されたためと考えられる。

## (2) 畑地における全細菌数の季節変化と

### その要因

草地と比較すると、畑地における易分解性基質量は年間を通じて比較の変動が少なく、これは全細菌数にも反映した。ただし、詳細にみると、全細菌数の層位間の大小関係に特徴的な季節変化がみいだされた。

すなわち、春には、5-15cm土層の全細菌数が相対的に多く、秋には0-2cm土層で多かった(図3-6)。この変化は、易分解性基質量ともおおむね一致した(図3-7)。この現象は畑地の微生物基質供給の特性から以下のように理解できる。秋に行われたプラウによる反転耕によって、前作の残渣は、作土下層に反転して鍍込まれる。これが、春先に5-15cm土層で易分解性基質量が相対的に高かった原因であろう。続いて、夏から秋にかけて下位層の基質は減少し、替わって0-2cm土層では、落葉したテンサイ茎葉など作物体地上部からの微生物基質の供給を受けるので、層位間の大小間差が逆転したものと推定される。

これまでに考察したように、草地も含めて20日間培養で発生する炭酸ガスは、定性的ではあるが全細菌数の変動をよく説明しており(図3-2, 6, 7)、細菌にとって利用可能な基質量の指標となることが明らかとなった。

また、秋に5-15cm土層の全細菌数が低下した原因には、耕起直後から始まる土壤の堅密化によって、酸素の供給が徐々に低下することも含まれていよう。この条件がさらに長時間にわたって続けば、草地と同様の明確な層位分化が起こることになる。このように、畑土壌での春耕起から秋にかけての全細菌数の変化のなかに作土内で微生物特性の層位分化が形成される過程を見ることが出来る。もちろん、畑地の場合は、再び耕起されて翌年同じサイクルをたどることとなり、草地の場合には耕起されないため、層位分化がさらに明瞭になる。

## (3) 草地土壌における糸状菌の季節変化の要因 糸状菌数・菌糸長は、全細菌数と異なった独特

の季節変化のパターンを示した(図3-3)。糸状菌数で表される胞子は休眠体であるので、ここでは先に菌糸長の季節変化について検討を加える。菌糸長の季節変化の幅は細菌のそれと比べて小さかった。このことは、糸状菌が易分解性基質量の影響を受ける程度が細菌と比べて小さいことを意味していよう。その理由の一つとして、一般に糸状菌が細菌より難分解性の有機物を利用することができる<sup>116)</sup>ことがあげられる。そのため、菌糸長は、本実験で炭酸ガス放出量として測定した易分解性有機物が消耗したときでも低下する程度が小さかった可能性がある。

しかし、8月初めに観察された菌糸長減少の理由については明確に推定できなかった。菌糸長の減少は、胞子数の増加とほぼ同時に起こったので、この時期になんらかの原因で、菌糸から胞子への変換が起こった可能性が指摘できる。これを起こした要因としては一つに、7月中は温度が比較的高く、有機物分解が旺盛なために糸状菌が利用できるような基質でさえも消耗したことが考えられる。また、微生物的な要因も含めて、なんらかの糸状菌の生存を抑制するような条件が土壌中に生じ、そのために、耐久体である胞子へと変化した可能性がある。沢田ら<sup>152, 153, 154)</sup>も、静菌作用が土壌微生物の構成に影響をおよぼす可能性を指摘した。これらを解明するためには糸状菌が利用可能な基質量の定量を含めて、さらに研究が必要である。

## (4) 草地における微生物特性の測定時期

本実験によって、草地土壌の微生物数には大きな季節変動が存在することが明らかになった。季節変化の要因である牧草からの基質供給や土壌の乾湿は個々の草地で異なっており、季節変化そのものが草地土壌の微生物特性を表す具体的な指標といえる。

しかし、多数の草地土壌において同時に微生物特性を比較する場合に、季節変化の特徴まで検討するためには多大な労力をはらわなければならない。そのため、異なる年次間や土壌間で微生物特性を比較する場合に、微生物数や活性をいつの時

期に測定することが適切であるかを設定し、その時期の測定値で微生物特性の差を検討することが効率的である。春から秋にかけて微生物特性がダイナミックに変動する時期は、同じ土壌でも測定時期の違いによって微生物特性の測定値が大きく異なる可能性があるため、適当な時期とは言えない。それ故、年次間による土壌水分や牧草生育の変動が小さい初春あるいは晩秋が適当な時期であると考えられた。

#### (5) 各微生物の環境に対する反応性の特徴

ここで、これまでに得られた知見をもとに、本研究で測定した放射菌を含んだ細菌、グラム陰性菌、糸状菌の環境条件への対応性についてまとめる。表3-2の土層間差や表3-6の層位間差と変動係数から、グラム陰性菌は土層深、土壤理化学性および微生物基質の影響を最も受け易いグループであった。グラム陰性菌は乾湿の影響を受け易いばかりでなく<sup>43)</sup>、植物根への依存度が高いと言われている<sup>43)</sup>。草地では牧草根が極浅い表層に集中しており、これもグラム陰性菌が土層深の影響を受け易い理由の一つにあげることができる。糸状菌は絶対好気性菌であるので下位層での減少は激しいが、土壤化学性や基質の影響を受けにくいと判断された。また、全細菌数には土層深の影響が他のグループと比べ小さく表れるが、土壤化学性や基質の影響を受ける程度は前2者の中間であった。

### 第2節 微生物特性の規制要因

草地の土壤微生物活性を高めて物質循環を円滑にするためには、微生物活性を制約している要因を明らかにして、それを取り除く必要がある。ここでは、草地造成や施肥などの草地管理によってもたらされる土壤理化学性の違いの中で、どの要因が微生物特性の規制要因となっているかを明らかにしようとした。前節では、草地土壌が0-15cmの浅い作土内で明確な層位分化を起すことがみいだされた。これを踏まえて、規制要因の検討は0-2cmと5-15cm土層に分けて行い、両者の遷

移的な性格を有する2-5cm土層は取り扱わなかった。

#### 1. 0-2cm土層での規制要因

草地の0-2cm土層は、牧草の枯死茎葉の還元を受けるばかりでなく根の分布も多いため、死根や根の分泌物なども含め有機物供給量がきわめて多い土層である。このため、0-2cm土層は、草地の物質循環が最もダイナミックに進行している部位といえる。一方、草地維持段階での施肥は表面施用に限られるので、施肥や降雨による塩基の流亡などがこの土層の理化学性を激しく変化させる。微生物特性もこのような条件の影響を強く受けると考えられる。ここでは、顕著に変化していく草地0-2cm土層の土壤理化学性の中で、どの要因が土壤微生物特性の規制要因であるかを明らかにしようとした。

### 実験方法

#### (1) 土壤理化学性と微生物特性の関連

第1節 1. (2) (表3-4) で供試した草地30ヶ所の微生物特性と理化学性との関連性を相関係数によって検討した。

#### (2) 異なる施肥処理条件下にある草地作土表層の微生物特性

異なる施肥処理を行った草地の土壤微生物特性を調査し、施肥処理によってもたらされる土壤理化学性の違いが、微生物特性に及ぼす影響について検討した。1976年に酸性褐色森林土に造成したオーチャードグラスとラジノクローバ混播草地に、1977年から表3-10に示すような施肥処理を毎年継続して加えた。刈り取りは6月中旬(1番刈り)、8月上旬(2番刈り)および9月下旬(3番刈り)の3時期に行った。施肥は早春、1番刈り後、2番刈り後の3回に年間の施肥量を均等に分けて施用した。用いた肥料は塩化アンモニウム、過リン酸石灰、塩化カリウムである。マグネシウム(硫酸マグネシウム、MgOとして3kg/10a)は早春、炭酸カルシウム(CaOとして33kg/10a)は晩秋に

1回施用した。この圃場で1984年に、5月1日から11月15日の間におおむね1ヶ月毎に6回にわたり微生物数・活性を測定した。

(3) リン酸・カリおよびpHを変えた土壌と  
牧草茎葉を加えた土壌を供試した培養実験  
天北農試内の酸性褐色森林土の作土に表3-11

に示すような処理を行い、化学性を变化させて3週間培養後の微生物数を測定した。リン酸の添加はリン酸そのものを用いて行ったのでpHの低下を避けるために炭酸カルシウムを加えた。なお、pH処理とリン酸・カリの処理は異なる地点から採取した土壌を用いて行った。

表3-10 施肥処理の内容

区番号	施肥量 (kg/10a・年)				
	N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	MgO	CaO
-F	0	0	0	0	0
PK	0	9	15	0	0
NK	12	0	15	0	0
NP	12	9	0	0	0
NPK	12	9	15	0	0
NPKMg	12	9	15	3	0
NPK炭カル	12	9	15	0	33
使用肥料	塩化 アンモニウム	過リン酸 石灰	塩化 カリウム	硫酸 マグネシウム	炭酸 カルシウム

Mgは早春1回施用、炭カルは越冬前に1回施用

表3-11 化学性を変えるための土壌の処理法

処理名	処理方法
pH-1	未風乾土300g 当り 5N H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 7ml 添加
pH-2	未風乾土300g 当り 5N H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 3.5ml 添加
pH-3	未風乾土300g 当り 5N H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 2ml 添加
pH-4	無処理
pH-5	未風乾土300g 当り CaCO <sub>3</sub> 450mg 添加
pH-6	未風乾土300g 当り CaCO <sub>3</sub> 900mg 添加
高P-1	未風乾土300g 当り リン酸273μl とCaCO <sub>3</sub> 663mg 添加
高P-2	未風乾土300g 当り リン酸546μl とCaCO <sub>3</sub> 1326mg 添加
高K-1	未風乾土300g 当り K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 96mg 添加
高K-2	未風乾土300g 当り K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 555mg 添加
無処理	無処理
+G	牧草粉末(1番草無出穂茎粉碎物)を50mg/20g・土添加

## (4) 表層酸性化草地土壤の微生物的特徴

1975年に造成し、毎年塩化アンモニウム24kg/10aを施用することにより、表層pHの低下した草地<sup>66)</sup>と、塩化アンモニウムに換えて尿素を施用し、pHの低下を抑制した草地を供試した。作土表層の試料は「牧草枯死茎葉」、「牧草枯死茎葉を除いた0-2cm土層」、「牧草枯死茎葉を込みにした0-2cm土層(従来の0-2cm土層)」に分けて採取した。通常の微生物特性測定を実施すると共に、卵アルブミン培地に塩化アルミニウムをアルミニウムとして50ppm添加した培地、同じく卵アルブミン培地に硫酸を加えてpH4.0に調整した培地を用いて、アルミニウム耐性と耐酸性を有する細菌数を計数

した。なお、寒天の加水分解を避けるため、硫酸は培地をオートクレーブ滅菌後に添加した。

## 結 果

## (1) 土壤理化学性と微生物特性の関連

作土表層では全細菌数、グラム陰性菌数、硝酸化活性および糸状菌数は互いに有意な正の相関関係を示した(表3-12)。土壤環境要因との関係では全細菌数は、土壤pHと正の、草地の経年数、全炭素、Bray II-リン酸と負の相関関係を有したが、糸状菌数はどの理化学性、また、草地経年数とも相関を示さなかった(表3-13)。

表3-12 0-2cm土層における土壤微生物特性間の相関係数

項 目	全細菌数	グラム陰性菌	糸状菌数	TTC還元活性	硝酸化威力
全細菌数	—	0.829*	0.532*	0.404	0.611*
グラム陰性菌	0.829*	—	0.727*	0.179	0.727*
糸状菌数	0.532*	0.727*	—	0.404	0.325
TTC還元活性	0.404*	0.179	0.404	—	0.503*
硝酸化威力	0.611*	0.727*	0.325	0.503*	—

\* 5%以上で有意

表3-13 0-2cm土層における土壤微生物特性と土壤理化学性および草地経年数間の相関係数

項 目	土壤理化学性									草地の 経年数	
	容積重	固相率	土壤pH	置換性塩基			Bray II P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	全炭素	全窒素		易分解性 基質量
				CaO	MgO	K <sub>2</sub> O					
全細菌数	0.400	0.093	0.720*	0.348	0.176	0.186	-0.586*	-0.338	-0.483*	-0.451*	-0.700*
グラム陰性菌	0.416	0.504*	0.326	0.021	0.144	0.199	-0.426	-0.378	-0.629*	-0.361	-0.437
糸状菌数	0.185	0.072	0.279	0.066	-0.003	0.241	-0.345	-0.269	-0.257	-0.245	-0.392
TTC還元活性	-0.144	-0.006	0.492*	0.545*	0.141	0.372	-0.129	0.133	0.169	0.203	-0.223
硝酸化威力	0.511*	0.357	0.623*	0.359	-0.012	0.512*	-0.234	-0.148	-0.169	-0.217	-0.585*

\* 5%以上で有意



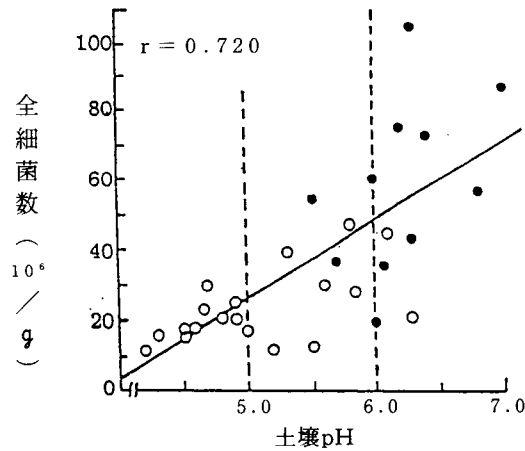


図3-8 0-2cm土層における土壌pHと全細菌数の関係

● 経年数が1～5年の草地 ○, 経年数が6年以上の草地

TTC還元活性、硝酸化成活性も全細菌数と同様に土壌pHと正の相関関係を有した。また、グラム陰性菌数は容積重と正の相関を示した。これらの関係の中で、pHと全細菌数との相関係数が最も高かったので、その関係を図3-8に示した。経年数が1～5年の草地は6年以上の草地に比べて土壌pHが高く、全細菌数も多い傾向であった。また、pHが低い場合には全細菌数の回帰直線からの変動は小さかったが、pHが5.0以上になると、回帰直線から大きく外れる草地が現れた。

0～2cm土層では、経年数が土壌理化学性の多くの項目と有意な相関関係を有しており、草地の理化学性が経年化にともなって一定方向に変化することが伺われた(表3-14)。すなわち、経年数と全窒素・全炭素の間には有意な正の相関関係が認められ、経年化によって有機物の蓄積が起こることが伺えた。また、草地は不耕起条件にあるにも拘らず経年数と容積重の間には有意な負の相関関係が存在した。さらに、経年化と共にpHが低下してBray II-リン酸が高まった。このように、草地の0-2cm土層では、経年化と理化学性相互の相関関係が高いので、規制要因の検討にあたっては注意を要しよう。表3-12, 13, 14で得られた相関係数のうち5%水準以上で有意だったものの関係を図3-9に模式的に示した。

## (2) 異なる施肥処理条件下にある草地作土表層の微生物特性

調査圃場の1982-1984年の3ケ年の平均収量と0-2cm土層の化学性(1984年跡地)を表3-15に示した。収穫調査時の主草種はオーチャードグラスであり、-F、PK区ではかなりの量のラジノクロバが維持された。また、化学性をみると窒素(塩化アンモニウム)施用区では随伴アニオン(Cl-)の作用により塩基が流亡するため、草地造成時に6.0であった土壌pHが4.5まで低下した。NPK炭カル区には塩化アンモニウムに含まれる塩素イオン量に相当するCaが連年施用されたにもかかわらず、pH低下が起こっており、処理7年目のpHは窒素施用区と無施用区の間であった。草地では硝酸化成活性が低く、窒素は牧草根によって速やかに吸収されるので<sup>106, 186)</sup>、硝酸の流亡にともなう塩基の溶脱は無視しうる量であると考えられる。NPK炭カル区でのpH低下は、施肥されたCl-イオンに加えて、降雨中に含まれる重炭酸イオン等によってCaが溶脱されたためであると推定される。これに対し、7年目でも-F、PK区の土壌pHはほとんど低下しなかった。ラジノクロバのCa含有率がイネ科牧草と比べて高く、その枯死茎葉の還元によって雨水による溶脱分が補填さ

表 3-14 0-2 cm土層における土壤理化学性と草地経年数間の相関係数

項目	土壤理化学性									草地の	
	容積重	固相率	土壌pH	置換性塩基			Bray II	全窒素	全炭素	易分解性 基質量	経年数
				CaO	MgO	K <sub>2</sub> O	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>				
容 積 重	-	0.486*	0.267	-0.168	-0.041	0.163	-0.509*	-0.475*	-0.553*	-0.497*	-0.483*
固 相 率	0.486*	-	-0.041	-0.119	-0.062	0.159	-0.004	-0.136	-0.109	0.026	0.059
土 壌 p H	0.267	-0.041	-	0.697*	0.121	0.324	-0.540*	-0.081	-0.215	-0.257	-0.722*
置換性CaO	-0.168	-0.119	0.697*	-	-0.059	0.150	0.041	0.327	0.396	0.304	-0.255
置換性MgO	-0.041	-0.062	0.121	-0.059	-	0.341	-0.452*	0.304	-0.096	0.013	0.112
置換性K <sub>2</sub> O	0.163	0.159	0.324	0.150	0.341	-	-0.298	0.154	-0.103	-0.081	-0.135
Bray II-P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	-0.509*	-0.004	-0.540*	0.041	-0.452*	-0.298	-	0.386	0.698*	0.576*	0.622*
全 窒 素	-0.475*	-0.136	-0.081	0.327	0.304	0.154	0.386	-	0.653*	0.658*	0.623*
全 炭 素	-0.553*	-0.109	-0.215	0.396	-0.096	-0.103	0.698*	0.653*	-	0.668*	0.519*
易分解性基質	-0.497*	0.026	-0.257	0.304	0.013	-0.081	0.576*	0.658*	0.668*	-	0.698*
草地の経年数	-0.483*	0.059	-0.722*	-0.255	0.112	-0.135	0.622*	0.623*	0.519*	0.698*	-

\* 5%以上で有意

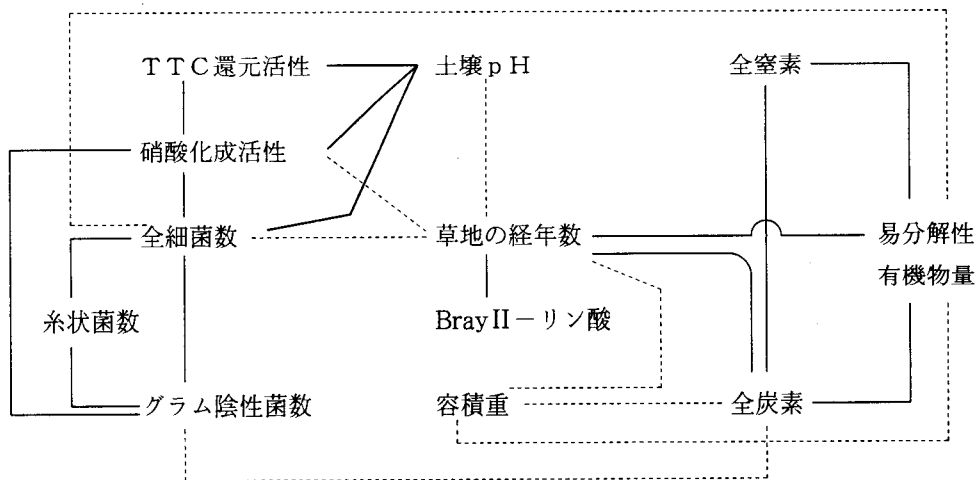


図 3-9 0-2 cm土層における微生物特性、草地経年数および土壤理化学性間の相互関係  
 ————: 相関係数が正で有意 (5%レベル以上)  
 - - - - - : 相関係数が負で有意 (5%レベル以上)

表3-15 施肥処理の異なる草地土壌における0-2cm土層の化学性と収量

処 理 番 号	土 壤 化 学 性							牧草収量**	
	pH (H <sub>2</sub> O)	置換性塩基(mg/100g)			Bray II P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> *	全炭素 (%)	全窒素 (%)	(乾物・kg/10a)	
		K <sub>2</sub> O	CaO	MgO				イネ科	マメ科
-F	5.8	17	161	16	7	3.4	0.31	127	80
PK	5.7	37	159	9	36	3.4	0.31	211	150
NK	4.5	33	40	5	10	4.2	0.36	457	0
NP	4.5	12	76	5	40	4.1	0.36	500	0
NPK	4.5	21	61	4	38	3.8	0.34	501	0
NPKMg	4.3	28	73	7	37	3.6	0.30	525	0
NPK炭カル	5.0	23	234	6	42	3.8	0.33	540	0

草地造成時(1976年)の土壌pHは6.0、化学性の測定は1984年に実施

\*: mg/100g

\*\* : 1982~1984年の3ヶ年の平均収量

表3-16 施肥処理の異なる草地土壌(0-2cm土層)の微生物数

処 理 番 号	細 菌 (10 <sup>6</sup> /g)	グラム陰性菌 (10 <sup>6</sup> /g)	糸状菌菌糸長 (m/g)	糸 状 菌 (10 <sup>4</sup> /g)
-F	40.0a	4.5a	262	18.5ab
PK	39.3ab	4.0a	262	17.9b
NK	24.8abc	1.6b	292	24.7a
NP	15.6c	1.3b	291	21.4a
NPK	12.8c	0.9b	321	21.5a
NPKMg	18.5bc	1.4b	279	22.5a
NPK炭カル	27.6ab	3.0a	217	17.9ab

abcの異なる処理区間には5%水準での有意差がある。

表3-17 施肥処理の異なる草地土壌(0-2cm土層)の分解活性

処 理 番 号	分解活性 (mg/100g・日)				
	尿 素	フラクトース	グルコース	カゼイン	デンプン
-F	298a	315a	331ab	230	1000a
PK	236b	313a	351a	277	953ab
NK	180c	287ab	265bc	235	906ab
NP	201bc	273ab	272bc	231	853b
NPK	164c	265b	263c	260	825b
NPKMg	180c	269b	212c	246	860ab
NPK炭カル	171c	276ab	287bc	268	1009b

abcの異なる処理区間には5%水準での有意差がある。

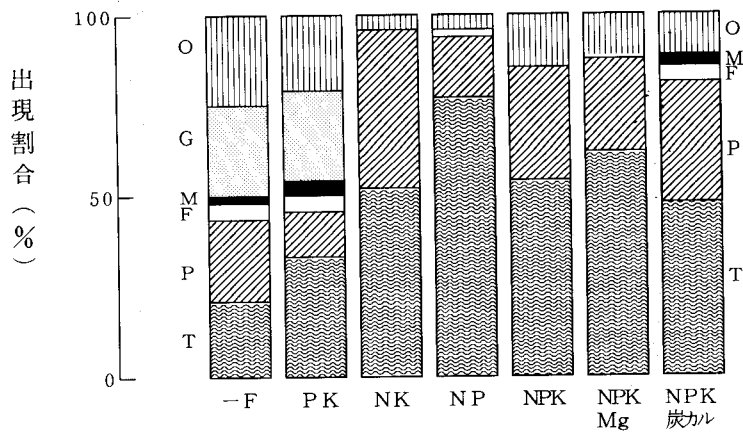


図3-10 施肥処理の異なる草地での糸状菌の出現割合  
T, Trichoderma属; P, Penicillium属; F, Fusarium属  
M, Mucor属; G, Gliocladium属; O, その他

れたためと推定される。置換性カリ、Bray II-リン酸はカリ、リン酸それぞれの無施用区で低かった。全炭素、全窒素は共に-F区とPK区で低く、NP、NK、NPK区で高い傾向であった。また、表示しなかったが、2-5cm、5-15cm土層の化学性には処理間差がほとんどなく、それぞれpHは5.3および5.8、Bray II-リン酸は8および4mg/100g、全炭素は2.7および2.4%であった。

1984年に6度にわたって調査した0-2cm土層の微生物数と活性の、時期を込みにした処理区別平均値を表3-16、17に示した。全細菌数とグラム陰性菌数は、窒素無施用でpHが比較的高かった-F、PK区で多く、窒素が施用されておりpHが低下したNP、NPK区で少なく、炭カル添加区では両者の中間であった。また、土壌pHが高かった-F、PK区でイネ科牧草より構造的な画分が少なく、分解され易いとされているラジノクロバが維持されたことは全細菌数との関連で重要であると考えられる。微生物特性の処理間の差は表3-6の結果と同様に、グラム陰性菌で大きく、菌糸長で小さかった。

尿素・フラクトース・グルコース・デンプン分解活性は全細菌数とほぼ類似の傾向であり、-FおよびPK区で高く、Nを施用した全ての区で

低かった(表3-17)。カゼイン分解活性には処理間に有意な差が認められなかった。

希釈平板法で測定した糸状菌数は、全細菌数とは逆にpHの低いNK、NPおよびNPK区で高く、pHの高い-FおよびPK区で低かった(表3-16)。菌糸長は糸状菌数と類似した傾向であったが、処理間差に有意性は認められなかった。さらに、ローズベンガル培地上の糸状菌コロニーを形態的に区分した測定結果を図3-10に示した。土壌pHの低下したNK、NP、NPKおよびNPKMg区では、耐酸性が強いと考えられるTrichoderma属とPenicillium属<sup>4)</sup>の出現割合が高く、両者で全糸状菌の86~96%を占めた。それに対し、-FおよびPK区では、両者合計の出現割合はそれぞれ44、49%であり、これらの区では糸状菌相は多様性に富むことが示された。

微生物特性と施肥管理によってもたらされた土壌化学性の違いの関係を検討するために、両者の相関係数を算出した(表3-18)。全細菌数、グラム陰性菌数、尿素・フラクトース・グルコースおよびデンプンの分解活性は、土壌pHと有意な正の相関係数を示し、逆に、糸状菌数は、土壌pHと負の相関係数を有した。これらの他に、グラム陰性菌数と尿素分解活性は、置換性マグネシウ

ムと、全細菌数は置換性カリと有意な正の相関を有した。

次に、微生物特性の季節変化として全細菌数の例を図3-11に示した。-FおよびPK区的全細菌

数は図3-2と同様に春と秋に高く、初春、夏および晩秋に低い典型的な季節変化をたどった。一方、pH低下が著しかった区的全細菌数は常に低く、顕著な季節的変動を示さなかった。

表3-18 施肥処理の異なる草地の作土表層における微生物特性と土壤化学性間の相関係数

微生物特性 化学性	微生物数			糸状菌					
	全細菌	グラム陰性菌	糸状菌	菌糸長	尿素	分解活性 フラクトース	グルコース	カゼイン	デンプン
土壤pH	0.933**	0.971**	-0.803*	0.511	0.834**	0.912**	0.933**	0.247	0.781*
置換性カリ	0.766*	0.159	0.103	-0.096	-0.139	0.295	0.122	0.520	0.127
置換性マグネシウム	-0.341	0.841*	-0.516	-0.376	0.937**	0.808*	0.593	-0.245	0.663
Bray II-リン酸	-0.459	-0.338	-0.247	-0.102	-0.550	-0.563	-0.246	0.597	-0.314
全炭素	-0.638	-0.710	0.694	0.343	-0.619	-0.579	-0.488	-0.386	-0.433
全窒素	-0.500	-0.578	0.508	0.386	-0.428	-0.388	-0.185	-0.338	-0.355

\*, \*\* ; それぞれ5%、および1%水準で有意。

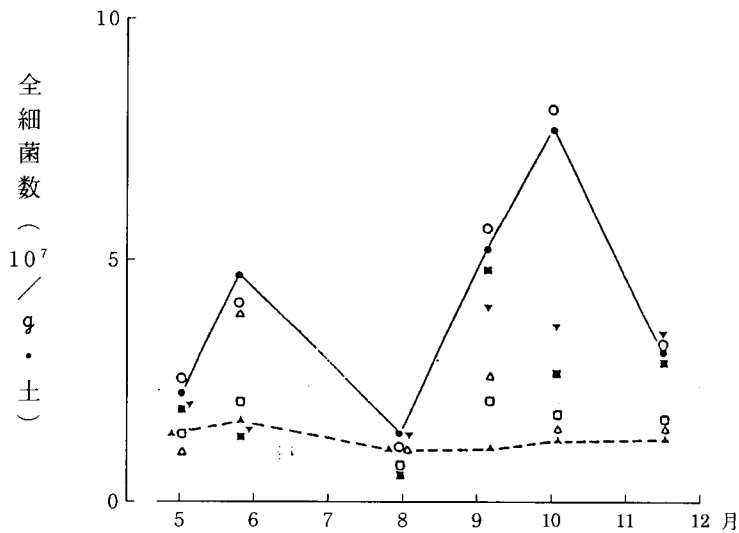


図3-11 施肥処理の異なる土壌における全細菌数の季節変化(1984年)

●, -F(pH5.8); ○, PK(pH5.7); ■, NK(pH4.5); □, NPK(pH4.5)  
△, NPK+炭カル(pH5.0); ▼, NPK+Mg(pH4.3)

### (3) リン酸、カリ、pHを変えた土壤および 牧草茎葉を加えた土壤を供試した培養実験

草地表層では(1)、で述べたように、経年化に伴う土壤pHの低下を軸として、理化学性が変化するので、相関係数によってそれぞれの理化学性と微生物特性の相互関係を独立して評価することができない。そこで、化学性の中でも微生物特性と密接な関係があると考えられた土壤pH、有効態のKおよびPレベルを人為的に変えた土壤の微生物数を調査した。

pH低下の影響を最も強く受けたのは、グラム陰性菌であり、pH3.8ではpH5.7に比べて1/10以下に減少した(表3-19)。逆にpHの影響が少なかったのは糸状菌であったが、この場合でも低pH土壤では明かな低下が認められた。また、pHを高めた場合には、全細菌数が30%以上増加したが、グラム陰性菌と糸状菌の増加程度は小さかった。

リン酸やカリの富化も微生物数を増加させた。特に、増加程度の大きかったのは全細菌数であっ

た。ただし、全細菌数とグラム陰性菌数はリン酸、カリとも添加量が多い場合に逆に低下する傾向が伺われ、このことから、微生物にとって最適なリン酸、カリのレベルが存在し、過剰域になるとマイナスに作用することが示唆された。

表3-4に示した草地土壤30ヶ所の0-2cm土層におけるpH、置換性カリおよびBray II-リン酸含量の幅は、それぞれ、4.2~7.0、9.4~65.3mg・K<sub>2</sub>O/100g および18.9~104mg・P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/100g であり表3-19に示した培養実験におけるpH4.5~6.9、置換性カリ14~79mg/100g、Bray II-リン酸28~103mg/100g に相当する。培養実験の結果、この範囲での全細菌数とグラム陰性菌数の変化率(最大/最小)はそれぞれpHで2.7と9.4倍、置換性カリで2.0と1.4倍、Bray II-リン酸で1.6と1.5倍であった。以上の結果から、通常の草地条件での変異幅の中で、全細菌数とグラム陰性菌数に与える影響が最も大きい要因は土壤pHであると考えられることができる。

表3-19 土壤のpH、リン酸、カリのレベルと牧草茎葉の添加が微生物数に及ぼす影響

処理名	土壤の化学性			微生物数*		
	pH	置換性K <sub>2</sub> O (mg/100g)	Bray II-P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (mg/100g)	全細菌数 (10 <sup>6</sup> /g)	グラム陰性菌数 (10 <sup>6</sup> /g)	糸状菌数 (10 <sup>4</sup> /g)
pH-1	3.8	22	30	38	6	69
pH-2	4.5	—	—	50	11	84
pH-3	5.2	—	—	62	23	94
pH-4	5.7	—	—	(51.3)	(3.5)	(11.0)
pH-5	6.5	—	—	112	91	107
pH-6	6.9	—	—	135	103	107
P高-1	6.7	17	103	157	148	112
P高-2	6.8	14	148	151	127	103
K高-1	6.7	79	30	198	136	110
K高-2	6.8	128	33	151	130	113
無処理	6.8	19	28	(45.5)	(3.3)	(9.7)
G-	—	—	—	(18.8)	(1.2)	(9.0)
G+	—	—	—	398	1175	299

\*: 無処理のみ実数で表示(括弧内)、他は無処理に対する比で表示

## (4) 表層酸性化草地土壌の微生物的特徴

通常の卵アルブミン培地(pH7.0)では、酸性化した0-2cm土層の全細菌数(Nmax)は非酸性化土壌に比べて約1/2に低下しており、 $\lambda$ も低下した(表3-20)。一般に $\lambda$ が小さい細菌の生理活性は低いと推定される<sup>44)</sup>。尿素分解活性も酸性化土壌で低下した。0-2cm土層を表層に蓄積した枯死茎葉部分と、土壌部分に分けると酸性化土壌での全細菌数の低下程度は枯死茎葉で小さく、土壌部分で大きい傾向であった。さらに、枯死茎葉部位で測定された $\lambda$ は酸性化土壌で非酸性化土壌よりもやや低いが、大差はなかった。

これらの結果は、程度は土壌中よりも激しくはないが、草地表面に存在する枯死茎葉部位に生息する細菌も土壌酸性化の影響を受けることを示す。そのため、酸性化土壌では非酸性化土壌に比べて有機物の蓄積量が大きく、微生物の分解活性が低いことが示される。

次に、酸性化した土壌に特異的にアルミニウム耐性や耐酸性の強い細菌が生息する可能性について検討をおこなった。塩化アルミニウムをAlとして50ppm添加した培地のpHは約4.5であった。枯死茎葉中の細菌数は、酸性化土壌の方が非酸性化土壌より多かったが、0-2cm土層全体では、むしろ非酸性化土壌で多かった(表3-21)。また、どの部位でも、 $\lambda$ は非酸性化土壌の方が高い値を示した。低pH培地で計数された細菌数も、いずれの部位でも非酸性化土壌で酸性化土壌より高かった。以上から、酸性化した草地土壌において特に耐酸性の強い細菌が活動しているとの結果は得られなかった。

## 考 察

土壌微生物特性は、土壌環境の上に成り立っている。草地土壌の場合、その環境要因は土壌の物理性、化学性、および植生の三者に分けられる。

表3-20 細菌数のFORモデルの各パラメーターおよび微生物活性に及ぼす土壌酸性化の影響

区	土 層	土 壌 pH (H <sub>2</sub> O)	卵アルブミン培地での FORモデルのパラメーター			糸 状 菌 数 (10 <sup>4</sup> )	尿 素 分 解 活 性 (mg/100g/日)	有 機 物 含 量 (%)
			N max. (10 <sup>6</sup> )	$\lambda$	T <sub>0</sub> (日)			
非酸性化 処理	枯死茎葉*	—	36.6	0.36	0.9	—		
	0-2cm**	—	91.3	0.45	2.5	—	181	
	0-2cm	5.6	111.4	0.43	2.2	8.1	222	8
	2-5cm	5.7	36.2	0.30	1.7	4.8	167	
	5-15cm	6.0	25.2	0.21	0.4	6.1	128	
酸 性 化 処理	枯死茎葉*	—	26.5	0.38	2.8	—		
	0-2cm**	—	39.1	0.26	2.9	—	126	
	0-2cm	4.3	55.9	0.31	2.9	32.0	127	13
	2-5cm	4.5	27.3	0.21	1.1	12.7	60	
	5-15cm	5.5	16.0	0.19	1.4	6.1	76	

\*: 0-2cm土層1gに対応して草地表面に存在する枯死茎葉

\*\* : 草地表層の枯死茎葉を除いた試料について測定

表3-21 土壤酸性化が細菌のアルミニウム耐性に及ぼす影響

処 理	層 位	Al50ppm 含有			pH4.0		
		卵アルブミン培地 (pH4.5)			卵アルブミン培地		
		Nmax. (10 <sup>6</sup> )	$\lambda$	T <sub>0</sub> (日)	Nmax. (10 <sup>6</sup> )	$\lambda$	T <sub>0</sub> (日)
非酸性化	枯死茎葉*	19.8	0.11	1.9	14.7	0.08	1.8
処 理	0-2cm**	62.2	0.06	0.7	33.6	0.19	2.7
	0-2cm	71.0	0.07	1.1	39.5	0.17	2.7
酸性化	枯死茎葉*	27.8	0.05	1.4	6.7	0.06	2.5
処 理	0-2cm**	44.6	0.03	1.1	29.0	0.25	3.0
	0-2cm	63.1	0.04	1.3	37.0	0.15	3.1

\*: 0-2cm土層 1g に対応して草地表面に存在する枯死茎葉

\*\* : 草地表層の枯死茎葉を除いた試料について測定

このうち、植生についてはマメ科牧草との関連で(4章2節)取り扱うこととする。また、0-2cm土層の表面は常に大気に曝されており、さらに、草地条件でもこの土層(0-5cm土層)の容積重と固相率は経年化によってそれほど増加しない傾向であった(表3-4)。これは、0-2cm土層に枯死茎葉、枯死根等の有機物が多量に存在するからであろう。容積重および固相率が微生物数と負の相関を示さなかったことは、天北地方で得られる土壤物理性の変動の範囲では、物理性が0-2cm土層における微生物特性の変動要因ではないことを示している。そこで、ここでは物理性を除外して、施肥と土壤化学性が微生物特性に及ぼす影響に絞って検討を進める。ただし、夏期の土壤水分が安定しない時期には、過乾の影響を受けて土壤の化学性に関わりなく微生物数が低下する恐れがある。このような影響を避けるため、土壤微生物特性の調査は土壤水分の安定した初春と晩秋に実施した(表3-6, 7)。

微生物特性の中で、糸状菌数は理化学性の影響を受けにくいと、30ヶ所の草地の測定結果において、最も変動係数が小さかった(表3-6)。糸状菌数がどの理化学性とも相関を示さなかったことも(表3-13)、糸状菌数が土壤環境の影響を受ける程度が小さいことを表している。草地の0-2cm土層では、糸状菌が土壤条件に拘らず比較的一定

だとすると、微生物活性の高低を左右したのは細菌ということになる。そこで、まず全細菌数と土壤条件との関係について検討を行った。

#### (1) 全細菌数の規制要因

30ヶ所の草地土壤における全細菌数と土壤化学性との相関関係から、pHの低い土壤、全炭素の高い土壤、Bray II-リン酸の高い土壤で全細菌数が低い傾向であった(表3-13, 図3-9)。このうち、全炭素のほとんどを構成する有機態の炭素は、微生物のエネルギー源や菌体合成のための炭素源となるものである。リン酸は微生物用の培地に必ず添加されることから理解されるように、作物と同様に微生物にとっても必須であり、土壤中ではむしろ不足しがちな成分であると考えられる。全炭素とリン酸が全細菌数に対してマイナスに作用するというのは明らかに不合理である。草地では、経年化によって土壤の理化学性が同時に一定方向に変化するもので、それぞれの相関係数のみによって、微生物特性と化学性の関係を判定することは危険であると考えた。

そこで、pH、カリ、リン酸および牧草茎葉を加えた培養実験を行った。その結果、pHを低下させた場合には全細菌数が明らかに低下したが、リン酸、牧草茎葉の添加は、全細菌数の増加をもたらした(表3-19)。これに対し、実際の草地土壤



の調査からは、土壌の有効態リン酸、全窒素含量と全細菌数の間には負相関が得られた(図3-9)。草地条件では、草地の経年化に伴って0-2cm土層で、pHの低下と有機物ならびに有効態リン酸の蓄積が同時に進行する。このため微生物特性に対する影響力がより大きいpHに引きずられて、全炭素とBray II-リン酸が見かけ上、全細菌数と負の相関関係を示したものであろう。0-2cm土層では、常に牧草の枯死茎葉が供給されることに加えて、微生物による有機物の分解能力が低下したため、枯死茎葉の分解が停滞し、結果的に有機物が蓄積することも全炭素が全細菌数と負の相関を示した要因の1つに数えられる。

低pH条件が0-2cm土層において全細菌数を低下させる主要因であることは、培養実験の結果ばかりでなく、経年数が同じで、施肥処理をかえた実験の結果からも首肯された(表3-16, 18)。さらに、服部らのコロニー形成式から、酸性化した草地土壌の細菌は数ばかりでなく、その活性も低下したことが伺えた(表3-20)。また、TTC還元活性、硝酸化成活性や他の多くの分解活性も、全細菌数と同様にpHの低い土壌では低かった(図3-9, 表3-18)。この様に、土壌pHが低い条件で、微生物活性が低下する例は他にも多くの研究者によって報告された<sup>14, 71, 156)</sup>。その要因としては活性アルミニウムの害作用が指摘されたが<sup>10)</sup>、植物の場合と同様にリン酸の吸収阻害やマンガン過剰が関与した可能性もある。

草地30ヶ所の全細菌数と土壌pHとの関係から、pHが5.0以下では全細菌数が乾土1g当り $10^7$ を超える例がなく、他の条件に関わりなく低pH条件が主体的に全細菌数を抑制することが伺われる(図3-8)。pHが5.0~6.0の間では、回帰直線の上に位置するプロットが3点であるのに対し、下に位置するプロットが6点であった。これは、このpH領域では、他の要因が少しでも悪化すると細菌数が低下し易い条件にあるためと推定される。さらにpHが6.0以上になると、全細菌数は、回帰直線から大きくばらついており、ここでは、もはやpHが全細菌数を左右する主要因ではなく、他の要因が全細菌数の多寡を支配すると考えられた。

土壌の低pH条件が微生物特性の規制要因にならない場合、何が微生物特性の変動を起こしているかを推定するために、30ヶ所の草地の中でpH 6.0以上の試料について全細菌数と土壌化学性の相関係数を算出した。ここでは、具体的な数値を示さないが、全細菌数はどの理化学性とも相関を示さず、変動の原因は不明であった。リン酸やカリ等も微生物の生育にとって必須であり、培養実験の結果からも(表3-19)これらが全細菌数に影響を与える要因になりうると考えられた。

しかし、草地の0-2cm土層では、これらの要素は通常表面施肥されるので、むしろ蓄積方向にある。それ故、リン酸やカリの施肥が行われないような極端な例を除いては、これらが0-2cm土層の規制要因にはなりにくいと考えられる。一方、マグネシウムは、やはり微生物生育の必須要素であり、表3-18に示したようにグラム陰性菌数や尿素・フラクトース分解活性と有意な正の相関を示したことから、pHが比較的高い条件での微生物数と活性の規制要因の1つである可能性がある。

各種基質に対する土壌微生物の分解活性(表3-18)とTTC還元活性や硝酸化成活性(表3-13)も全細菌数と同様にpHが低い土壌で低下した。また、pHが低い土壌では、全細菌数の季節的な増加が認められなかった(図3-11)。これらのことは、低pH条件にある土壌においては、細菌が牧草からの有機物供給に反応して増殖できないことを示していよう。草地の表面に存在する枯死茎葉は、土壌pHの影響を直接受けないとも考えられるが、本実験の結果からは、低pH土壌の牧草枯死茎葉中に生息する細菌数も低下することが伺えた(表3-20, 21)。これは、枯死茎葉中の水分のpHが多少なりとも土壌pHの影響を受ける結果であると推察される。供給された有機物に対応して微生物が増殖できないことは、この有機物の分解・無機化が円滑におこなわれないことを意味する。作土表層の酸性化した草地では、そうでない草地と比べて有機物の蓄積量が多かった(図3-9, 表3-15, 20)。これまで論議したように、微生物活性の低下は低pH草地の作土表層における有機物蓄積の原因であると考えられる。

施肥処理を変えた草地において、0-2cm土層の全炭素含有率は低pH土壤で高まった(表3-15)。加えて、施肥処理を変えた草地では、NPKMg区の全炭素が同一pHレベルであるNP、PKおよびNPK区より少なく、-F、PK区に近い値であることから、副次的ではあるが先にも述べたようにマグネシウムが微生物活性に対してプラスに作用している可能性が指摘される。

## (2) 土壤pHの糸状菌への影響

糸状菌も細菌ほど顕著ではないが、pHの影響を受けることが伺われた。培養試験の結果では、糸状菌数もpHが低くなるに従って低下した(表3-19)。このことから、糸状菌といえどもやはり本質的には酸性よりも中性条件を好むといえよう。しかし、この実験での糸状菌に及ぼすpHの影響は他のグループよりも小さく(表3-19)、相対的には他のグループよりも糸状菌の方が耐酸性が強いことが理解できる。

他方、草地条件ではpHの低い土壤で高い土壤よりも糸状菌数が多い例も見いだされた(表3-16)。この例と上記の培養実験の結果との相違をもたらした要因としては、草地表層に微生物基質となる枯死茎葉が潤沢に供給されることがあげられる。有機物が豊富な条件では、低pH条件のために細菌数が減少するので、糸状菌が利用できる基質量が多くなり、これに対応して糸状菌数が増加したと推定できる。これに対して、表3-19の様に有機物の供給のない系では、その程度は小さいとしても糸状菌数も全細菌数と同様に土壤pHの低下にともなって減少することになる。細菌と糸状菌の関係には、単に養分競合ばかりでなく物質レベルのより直接的な拮抗現象が介在している可能性もある。また、酸性化した草地表層では腐生力・耐酸性が強く、しかも孢子形成能の大きなTrichoderma属や、Penicillium属<sup>183)</sup>が優先することも、糸状菌数が高まった要因の1つである可能性がある。しかし、表3-16にみられた低pH区(NK, NP, NPKの平均)における糸状菌数の増加は高pH区(-F, PK区の平均)に対して、孢子数で15%、菌糸長で20%にすぎず、細菌・グラム陰性菌がそ

れぞれ1/2、1/3に低下したのと比べると、増加の比率は小さい。また、低pH草地での糸状菌数増加は本研究で測定した微生物による分解活性に反映せず(表3-16, 17)、糸状菌数と有機物蓄積量にも負の相関が得られなかった(図3-9, 表3-18)。このことから、相対的に糸状菌が増加しても、低pH土壤に生息する糸状菌自体の代謝活性が活発であるとは考えられず全体的な土壤の有機物分解活性は低pH条件で低下するといえる。

## 2. 5-15cm土層での規制要因

永年にわたって耕起されない草地においては、その維持段階で5-15cm土層(作土下層)に供給される有機物量は少ない。しかし、この土層は草地の更新時に鋤込まれる前植生や堆きゅう肥、それに加えて土壤の腐植が分解・無機化する場であり、更新→低収化→再更新の長いサイクルでみれば、やはり草地の物質循環において重要な役割を担っているといえる。一方、5-15cm土層は、草地の経年化に伴って、堅密化が進行する部位であり、このような条件は微生物の活動にとって良好な条件とは言えない。そこで、ここでは、化学性と物理性の両面から、5-15cm土層の微生物活性を規制する要因について検討を加えた。

## 実験方法

### (1) 土壤の理化学性と微生物特性の関係

第3章第2節1. (1)と同様に、第3章1節1. (2)で供試した草地30ヶ所(表3-4)の5-15cm土層における理化学性と微生物特性相互の単相関係数を算出し、両者の相互関係を検討した。また、経年数が微生物数に与える影響をより明確化するために、第1節で調査した草地を経年数で1-5年と6-11年に分けて、それぞれの平均値を求め、これに、表3-7に示した畑の平均値を付記して検討に供した。

### (2) 土壤の物理性が炭酸ガス放出量に及ぼす影響

土壤の物理性が炭酸ガス放出量に及ぼす影響を

中心に検討した。供試土壤を表3—22に示した。供試土壤の物理性に幅をもたせるために、十勝地方の火山性土壤も含めて検討を行った。

土壤物理性の影響を調査するにあたっては、化学性と異なり、土壤の構造をできるだけ破壊しないで行うことが必要である。そこで、100ccの採土管で0-5、5-10、10-15cm土層の土壤を採取し、まず、0-5cm土層の採土管の底に蓋をして密閉し、この試料が発生した炭酸ガスを0-5cm土層の炭酸ガス放出量とした。下位層での炭酸ガス放出量はその上位にある土層の酸素拡散の遅速に影響されると考えられる。そこで、0-5、5-10、10-15cm土

層の採土管をたてに連結し、底を密閉した試料の炭酸ガス放出量から、0-5cmと5-10cm土層を連結して、やはり底を密閉した試料の炭酸ガス放出量を差し引いたものを10-15cmから発生した炭酸ガス放出量とした(図3-12)。試料採取時における土壤空気組成の攪乱の影響を避けるため、採土管を連結後10日間にわたり30℃で前培養した。その後、試料を1100mlの広口ガラスビンに入れ、中に0.5 N NaOH溶液を入れた試験管を立てて密栓し、5日間、30℃で培養し、発生した炭酸ガス量を測定した。

表3—22 土壤物理性が炭酸ガス放出量におよぼす影響に関する実験の供試土壤

種類	記号	地目	作付作物	経年数(年)	土壤型
重粘土壌	A	草地	オーチャードグラス	10	褐色森林土
	B	草地	オーチャードグラス	4	褐色森林土
	C	草地	オーチャードグラス*	4	褐色森林土
	D	草地	オーチャードグラス	14	疑似グライ土
	E	畑地	テンサイ	—	褐色森林土
	F	畑地	デントコーン	—	褐色森林土
火山性土壌	G	草地	チモシー	3	褐色火山性土
	H	草地	チモシー	3	黒色火山性土
	I	畑地	テンサイ	—	褐色火山性土
	J	畑地	テンサイ	—	黒色火山性土

\*: アルファルファが混生

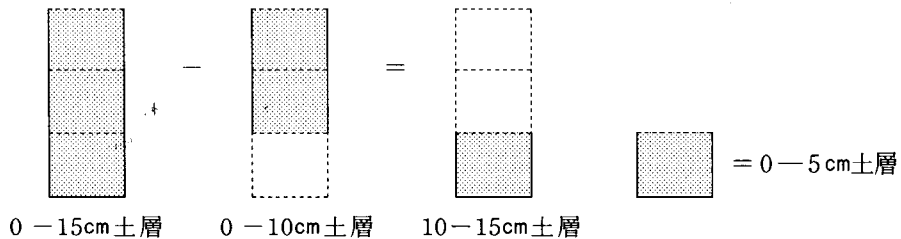


図3—12 採土管を用いた炭酸ガス放出量測定の様式図

また、易分解性有機物の指標として、別に採取したそれぞれの土層をよく混和して5日間30℃で培養し、発生した炭酸ガス量を測定した。土壤試料の採取と測定はすべて、1985年の晩秋に行った。

草地A、C、D(表3-22)については、土壤空气中の酸素濃度を測定するために土壤空气の採取管を埋設した。採取管は、上端をシリコンゴムで密栓した直径5mmのプラスチック製管で測定の約20日前に埋設した。土壤空气を針付きシリンジ(容量1ml)で採取し、その酸素分圧をガスクロマトグラフ(日立製作所製073型)で測定した。カラム充填材にはMolecular sieve 5Aを、検出機にはTCDを用いた。

### (3) 土壤水分条件と微生物数との関係

土壤の気相割合を変える最も簡便な方法として、水分含有率を変えて培養した土壤の微生物数を調査した。供試土壤は酸性褐色森林土の畑地作土から採取した。生土(水分含有率23%)20gをポリビンに取り、水分含有率(重量比)が30, 60, 80%となるように脱塩水を添加した。水分含有率30%が約pF1.5に相当する。さらに、牧草粉末(オーチャードグラスの1番草未出穂)を生土20g当りに、50mg添加した系列と無添加系列を設けた。これを、20℃で30日間培養し、微生物数を測定した。

## 結 果

### (1) 土壤の理化学性と微生物特性の関係

測定した全細菌数等5項目の微生物特性は、い

ずれも互いに有意な正の相関を示すことが多かった(表3-23)。特に全細菌数は全ての微生物特性と、糸状菌数は硝酸化成活性を除いた他の微生物特性と有意な正の相関関係にあった。化学性の中で、易分解性基質量はすべての微生物特性と正の相関関係を示し、pH、置換性カリはグラム陰性菌を除く微生物特性と正の相関を有した(表3-24)。また、Bray II-リン酸は全細菌数と正の相関を示し、草地の経年数は全ての微生物特性と負の相関関係にあった。0-2cm土層と同様に全細菌数を代表として、それと有意性を示した要因の相関係数を比較すると、草地の経年数(-0.811) > 易分解性基質(0.585) > 置換性カリ(0.572) > 土壤pH(0.551) > Bray II-リン酸(0.491)の順であった。

有意性を示した土壤の化学性と全細菌数との関係を、図3-13に示した。全細菌数は、5-15cm土層では0-2cm土層と異なり、草地造成後の経年化にともなう土壤の酸性化はほとんど進行しない。そのため、pHが5.0を下回る草地はなかった。しかし、pHが6.0以下の草地では、全細菌数が $15 \times 10^6/g$ 以下に抑制されていた。リン酸の場合にも、Bray II-リン酸で10mg/100g以下の土壤では、全細菌数が $15 \times 10^6/g$ を超える例が認められず、低pHやリン酸欠乏は5-15cm土層における細菌数の重要な規制要因であることが伺われた。また、易分解性基質が20mg/100gを超える草地では全細菌数 $10 \times 10^6$ を下回ることなく、易分解性基質量の多い土壤は全細菌数が多い傾向であった。そこで、供試した草地土壤を易分解性基質量で3段階に分

表3-23 5-15cm土層における土壤微生物特性間の相関係数

項 目	全細菌数	グラム陰性菌	糸状菌数	TTC還元活性	硝酸化威力
全細菌数	—	0.739*	0.752*	0.464*	0.534*
グラム陰性菌	0.739*	—	0.581*	0.103	0.154
糸状菌数	0.752*	0.581*	—	0.503*	0.413
TTC還元活性	0.464*	0.103	0.503*	—	0.945*
硝酸化威力	0.534*	0.154	0.413	0.945*	—

\*: 5%以上で有意

表3-24 5-15cm土層における土壤微生物特性と土壤理化学性間および草地経年数間の相関係数

項目	土壤理化学性										草地の 経年数
	容積重	固相率	土壤pH	置換性塩基			BrayII P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	全炭素	全窒素	易分解性 基質量	
				CaO	MgO	K <sub>2</sub> O					
全細菌数	0.132	-0.038	0.551*	0.438	-0.042	0.572*	0.491*	0.449*	0.386	0.585*	-0.811*
グラム陰性菌	0.186	0.174	0.412	0.213	0.080	0.180	0.087	0.047	-0.062	0.509*	-0.600*
糸状菌数	0.038	-0.099	0.653*	0.534*	0.159	0.648*	0.345	0.538*	0.420	0.501*	-0.642*
TTC還元活性	0.037	-0.199	0.707*	0.755*	-0.100	0.652*	0.416	0.638*	0.540*	0.750*	-0.569*
硝酸化威力	0.228	0.001	0.640*	0.719*	0.001	0.648*	0.287	0.526*	0.459	0.748*	-0.564*

\* : 5%以上で有意

表3-25 5-15cm土層における土壤理化学性と草地経年数間の相関係数

項目	土壤理化学性										草地の 経年数
	容積重	固相率	土壤pH	置換性塩基			BrayII P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	全炭素	全窒素	易分解性 基質量	
				CaO	MgO	K <sub>2</sub> O					
容積重	-	0.551*	0.049	-0.160	0.059	0.081	-0.110	-0.307	-0.219	-0.003	-0.148
固相率	0.551*	-	-0.026	-0.129	-0.036	-0.232	-0.507*	-0.365	-0.334	0.086	0.194
土壤pH	0.049	-0.026	-	0.772*	0.180	0.518*	0.232	0.588*	0.260	0.488*	-0.586*
置換性CaO	-0.160	-0.129	0.772*	-	0.256	0.480*	0.105	0.598*	0.368	0.603*	-0.346
置換性MgO	0.059	-0.036	0.180	0.256	-	0.321	-0.538*	-0.007	-0.054	-0.137	0.171
置換性K <sub>2</sub> O	0.081	-0.232	0.518*	0.480*	0.321	-	0.323	0.578*	0.454*	0.491*	-0.628*
BrayII-P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	-0.110	-0.507*	0.232	0.105	-0.538*	0.323	-	0.591*	0.518*	0.263	-0.727*
全炭素	-0.307	-0.365	0.588*	0.598*	-0.007	0.578*	0.591*	-	0.717*	0.472*	-0.549*
全窒素	-0.219	-0.334	0.260	0.368	-0.054	0.454*	0.518*	0.717*	-	0.461*	-0.399
易分解性基質量	-0.003	0.086	0.488*	0.603*	-0.137	0.491*	0.263	0.472*	0.461*	-	-0.529
草地の経年数	-0.148	0.194	-0.586*	-0.346	0.171	0.628*	-0.727*	-0.549*	-0.399	0.529*	-

\* : 5%以上で有意

けて図示したところ、(図3-13)同一pH、あるいはBrayII-リン酸レベルでは易分解性基質の高い草地ほど全細菌数が高い傾向であった。

置換性カリは化学性の中では全細菌数との相関係数が比較的高い項目であるが、置換性カリが10mg/100g前後でも比較的高い全細菌数を有する草地もあり、全細菌数とのはっきりした関係が得られなかった。他の特徴として、経年数6年以上で固相率の高い草地の全細菌数は低いことがあげら

れた。

供試した草地では、経年数と土壤pH、置換性カリ、全窒素、全炭素が有意な負の相関関係を示した(表3-25)。また経年数と容積重、固相率の間には有意な相関関係は認められず、土壤の堅密化は経年化にともなって徐々に進行するものではなく、もともとの土壤の特性に支配されていることが示された。表3-23, 24, 25で相関係数が有意であった項目の関係を図3-14に模式的に示した。

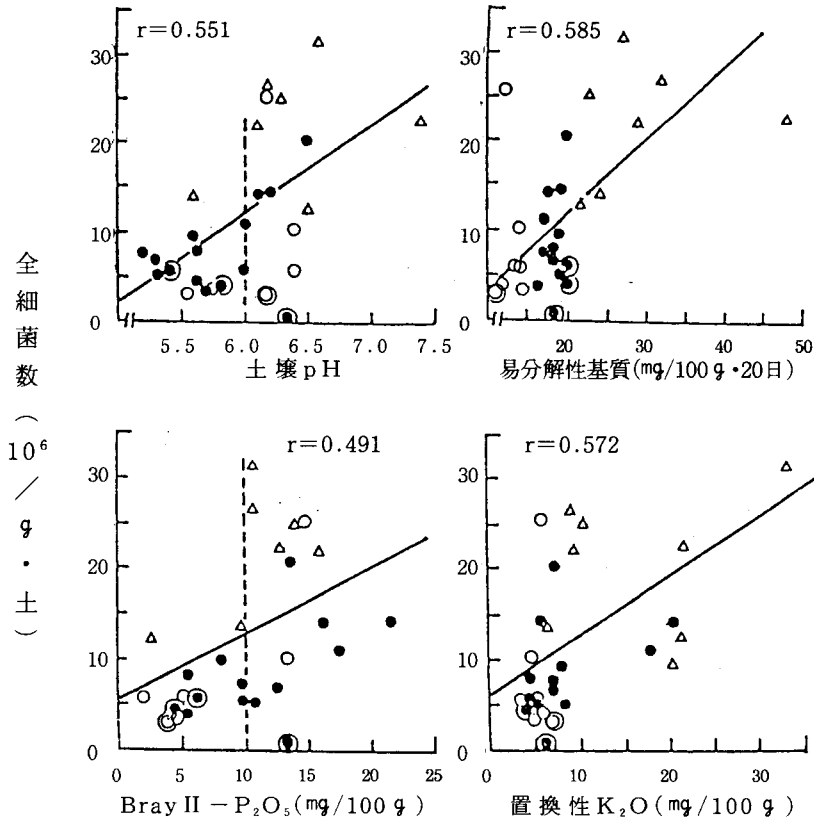


図3-13 5-15cm土層における全細菌数と化学性の関係

- , 易分解性基質 0~10mg/100g
- , 易分解性基質 10.1~20.0mg/100g
- △, 易分解性基質 20.1mg/100g以上
- ◎, 6年以上の経年草地で固相率50%以上

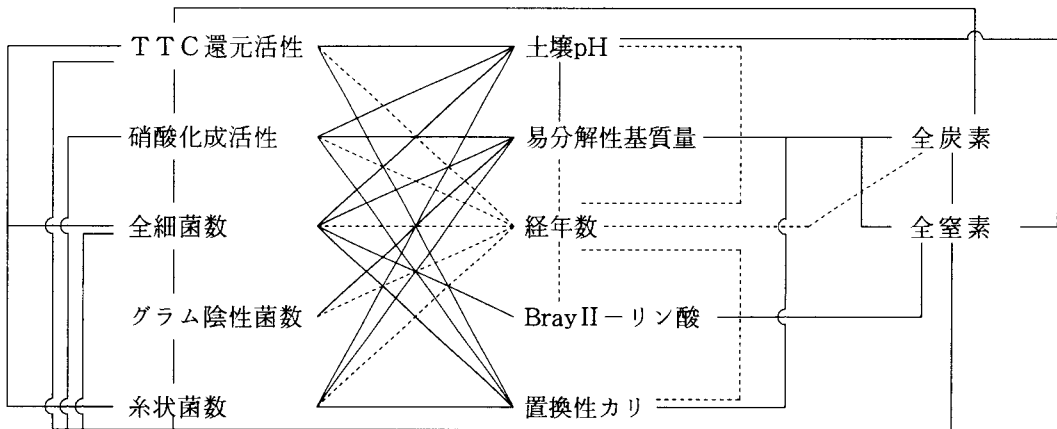


図3-14 5-15cm土層における微生物特性、草地経年数および土壤理化学性間の相互関係

————— ; 相関係数が正で有意 (5%レベル以上)

----- ; 相関係数が負で有意 (5%レベル以上)

表3-26 草地の経年数が5-15cm土層の微生物数に及ぼす影響

調査対象	調査数	5-15cm土層の微生物数		
		全細菌数 ( $10^6/g \cdot \text{土}$ )	グラム陰性菌 ( $10^6/g \cdot \text{土}$ )	糸状菌数 ( $10^4/g \cdot \text{土}$ )
畑地	7	27.5a	2.2a	9.2a
1~5年目草地	7	21.3b	1.4b	10.2a
6~11年目草地	20	6.4c	0.4c	4.9b

a, b, cが異なれば、平均値の差が5%で有意であることを示す。

表3-27 供試土壌の層位別の物理性

種類	地目	記号	0-5cm土層				10-15cm土層			
			固相率 (%)	液相率 (%)	気相率 (%)	容積重 ( $g/100ml$ )	固相率 (%)	液相率 (%)	気相率 (%)	容積重 ( $g/100ml$ )
重 粘 土 壤	草地	A	39.9	40.8	19.3	99.6	47.8	43.5	8.7	126.7
	草地	B	37.0	46.3	16.7	97.8	39.6	48.1	12.3	104.8
	草地	C	39.1	45.2	15.7	105.2	41.5	44.7	13.8	109.1
	草地	D	34.4	55.3	10.3	86.5	48.0	46.8	5.2	125.4
	畑地	E	38.9	43.6	17.5	103.7	41.8	47.0	11.2	108.9
	畑地	F	42.9	44.1	13.0	109.6	47.2	48.6	4.2	122.3
火 山 性 土 壤	草地	G	32.4	47.6	18.2	91.5	32.4	47.8	19.8	91.6
	草地	H	25.3	48.1	26.6	63.4	30.0	55.9	14.1	76.6
	畑地	I	28.0	36.5	35.5	77.8	34.7	45.6	19.7	95.7
	畑地	J	29.1	41.3	29.6	75.0	34.3	50.9	14.8	88.1

草地経年化の影響をより明確にするため畑地、1~5年目草地および3~11年目草地における5-15cm土層の微生物数を平均して表3-24に示した。グラム陰性菌は草地化することによって直ちに減少した。

全細菌数と糸状菌数は、草地化した初期に当たる1~5年目には大きく減少しなかったが、経年数が6年以上では、顕著に減少した。

## (2) 土壌の物理性が炭酸ガス放出量に及ぼす影響

土壌の物理性も微生物活性を支配する重要な要因である。重粘土は火山性土に比べて、0-5cm、5-15cmの両土層ともに、固相率が高く、気相率

は低かった(表3-27)。容積重も重粘土で大きい傾向にあった。特に、重粘土の5-15cm土層の容積重は、すべて100g以上であり、火山性土で100g以下であったのと対照的であった。また、火山性土、重粘土を問わず、5-15cm土層の固相率と容積重は、0-5cm土層のそれを上回った。

これを反映して、どの土壌でも5-15cm土層の微生物数は0-5cm土層よりも低かった(表3-28)。また、5-15cm土層の全細菌数は、重粘土・火山性土ともに共通して、草地より畑地で多かった。一方、グラム陰性菌は火山性土では畑地の方が高い傾向であったのに対し、重粘土では、畑地・草地間で特徴が認められず、糸状菌数の大小にも一定の傾向が見いだせなかった。また、0-5cm土層

表3-28 層位別の土壤微生物数

種類	地目	記号	0-5cm土層			5-15cm土層		
			全細菌 (10 <sup>6</sup> )	グラム陰性菌 (10 <sup>6</sup> )	糸状菌 (10 <sup>4</sup> )	全細菌 (10 <sup>6</sup> )	グラム陰性菌 (10 <sup>6</sup> )	糸状菌 (10 <sup>4</sup> )
重粘土	草地	A	14.5	0.6	18.8	6.6	0.1	4.4
	草地	B	14.9	2.0	10.6	9.8	0.7	3.3
	草地	C	22.4	4.6	17.6	9.3	1.4	3.9
	草地	D	32.3	4.4	15.9	5.0	0.1	8.7
	畑地	E	24.7	1.4	5.1	16.1	1.0	5.8
	畑地	F	25.5	1.5	9.6	13.3	0.9	7.2
	重粘土平均		22.4	2.4	12.9	10.1	0.7	5.6
火山性土	草地	G	27.8	0.6	15.1	10.6	0.2	5.4
	草地	H	16.9	0.7	5.8	6.8	0.1	2.2
	畑地	I	27.7	3.5	12.3	16.9	2.0	5.9
	畑地	J	18.3	2.9	11.9	17.8	2.3	10.6
	火山性土平均		22.7	1.9	11.3	13.0	1.2	6.0

の微生物数は、土壤間・作日間で一定の傾向を示さない場合が多かった。ただし、重粘土では、畑地より草地で糸状菌数が多かった。

表3-29にそれぞれの土層の易分解性基質量および炭酸ガス放出量を示した。易分解性基質量は攪乱試料から発生した炭酸ガス量から算出した炭素量であり、炭酸ガス放出量は採土管試料から差

引法によって求めた炭酸ガス量を同じく炭素量として示した。土層間で比較すると、0-5cm土層の方が易分解性基質量・炭酸ガス放出量ともに10-15cm土層より多かった。また、炭酸ガス放出量/易分解性基質量は好気的な条件にした場合に分解される基質量の何割が実際の土壤物理性を加味した条件で分解したかを表す。

表3-29 層位別の易分解性基質と炭酸ガス放出量

種類	地目	記号	炭酸ガス放出量(mg/100g・土/日)					
			0-5cm土層			5-15cm土層		
			易分解性* 基質 ①	炭酸ガス** 放出量 ②	②/①	易分解性* 基質 ③	炭酸ガス** 放出量 ④	④/③
重粘土	草地	A	6.18	2.74	0.44	1.66	0.53	0.32
	草地	B	6.43	2.69	0.24	1.80	0.58	0.32
	草地	C	2.81	2.28	0.81	1.54	0.62	0.40
	草地	D	5.05	2.85	0.56	1.38	0.17	0.12
	畑地	E	1.12	0.46	0.41	1.58	0.39	0.25
	畑地	F	4.15	1.29	0.31	4.06	0.28	0.07
	重粘土平均		4.29	2.05	0.46	2.00	0.43	0.25
火山性土	草地	G	2.38	1.60	0.67	0.99	0.50	0.51
	草地	H	1.98	1.69	0.85	0.94	0.37	0.39
	畑地	I	1.01	0.38	0.38	0.80	0.27	0.34
	畑地	J	0.83	0.67	0.75	1.27	0.48	0.35
	火山性土平均		1.80	1.09	0.66	1.00	0.41	0.40

\*：攪乱試料からの炭酸ガス放出量

\*\*：非攪乱試料（採土管）からの炭酸ガス放出量



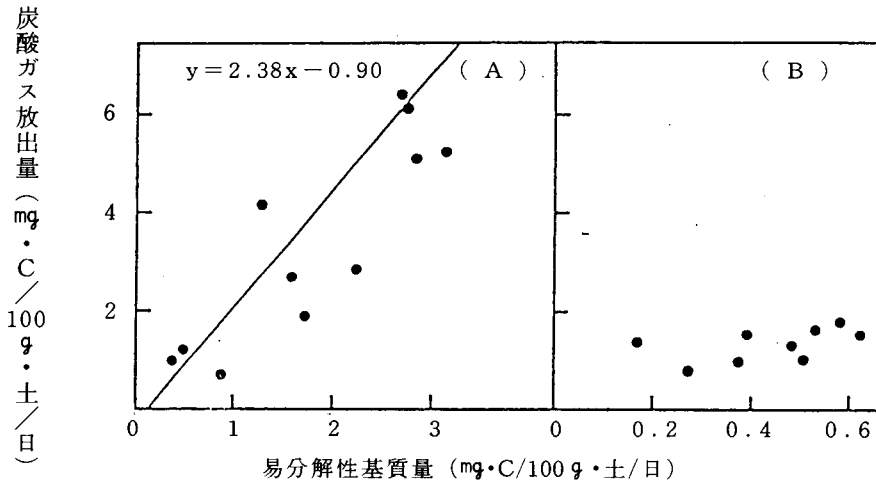


図3-15 易分解性基質量と炭酸ガス放出量の関係  
A, 0-5cm土層; B, 10-15cm土層

この比は、0-5cm土層で高く、10-15cm土層で低かった。易分解性基質量と炭酸ガス放出量の関係を図3-15に示した。0-5cm土層では両者に有意な正の相関関係が認められた。このことは、0-5cm土層の条件では、基質存在量のほぼ一定割合が実際に分解したことを意味する。しかし、この関係は、10-15cm土層では認められず、この土層では微生物基質量に加えて、別の要因が炭酸ガス放出量を支配したと理解される。以上から、10-15cm土層では、存在する基質量の割に分解量は少なく、加えて、分解量と基質量との比も一定しないと言えた。

次に、各土壌での平均値を比較すると、易分解性基質量は両土層とも重粘土で火山性土に比べて多く、炭酸ガス放出量も重粘土で多かった(表3-29)。しかし、その差は、易分解性基質量より炭酸ガス放出量で小さかった。特に10-15cm土層における易分解性基質量は、重粘土で火山性土の2倍に達するにもかかわらず、実際に発生した炭酸ガス放出量は両土壌でほとんど差が認められなかった。その結果として、炭酸ガス放出量/易分解性基質量の比は重粘土で火山性土より小さく、その傾向は10-15cm土層でより顕著であった。言い替えると、重粘土の特に10-15cm土層では、基質が

あっても分解されにくい条件があることが示された。

表3-30 圃場条件での土壌中の酸素濃度

土 壤	土層深	
	酸素濃度 (容積%)	
	5 cm	15cm
褐色森林土草地 (A)	18	17
褐色森林土草地 (C)	19	18
疑似グライ土草地 (D)	2	3

炭酸ガス放出量は、酸素供給と関連する可能性がある。物理性の異なる酸性褐色森林土(A、C)、疑似グライ土(D)草地の土壌空気中の酸素分圧を測定した。その結果、気相率の高いAとC草地では土層深15cmの部位で酸素分圧の低下がほとんど認められなかった(表3-30)のに対し、気相率が低いD草地では、5cm深でも大気の1/10近くまで酸素含量が低下した。

(3) 土壌水分条件と微生物数との関係

土壌の気相割合は水分含有率が高まれば低下する。表3-31で用いた酸性褐色森林土壌の気相率は水分含有率30%で約7%であるが、60、80%では孔隙のすべてが水で満たされることになる。それ

表3-31 土壤水分が微生物数に及ぼす影響

処 理 番 号	牧草添加 (mg/g乾土)	土 壤 水 分 (圃場容水の%)	全 細 菌 数 ( $10^6/g \cdot \text{土}$ )	グ ラ ム 陰 性 菌 数 ( $10^6/g \cdot \text{土}$ )	糸 状 菌 数 ( $10^4/g \cdot \text{土}$ )
1-1	0	30	22.9	1.8	7.0
1-2	0	60	18.8	1.2	9.0
1-3	0	80	17.0	1.3	9.7
2-1	3.2	30	182.0	17.8	69.2
2-2	3.2	60	74.8	14.1	26.9
2-3	3.2	80	38.7	6.6	22.0

故、60%と80%の差は、過剰水を通じての酸素拡散の差となる。牧草茎葉無添加系列における全細菌数、グラム陰性菌数は水分含有率が高い場合に低下した。H<sub>2</sub>O自体が、直接微生物に害作用を及ぼすことは考えられず、水分含有率の増加にともなう酸素供給の低下が微生物数を減少させることが伺えた。

糸状菌に対する土壤水分の影響は他と比べて小さかった。ここで測定した糸状菌数は耐久体である孢子数を測定しているため、30日間の培養では影響が大きく現れなかったものと考えられる。

牧草粉末を添加することによってどの水分含有率でも無添加に比べ微生物数が大幅に増加した。さらに、微生物数に対する水分含有率処理間の差は牧草粉末無添加系列に比較して増大した。牧草粉末無添加区では水分含有率の影響をあまり受けなかった糸状菌でも、添加系列では水分が高まることによって激しく減少した。牧草添加系列では有機物を分解するため系全体の酸素要求量が大きくなり、酸素不足がより顕在化したものと考えられた。

### 考 察

草地の5-15cm土層では、測定した微生物特性が、互いに相関関係を有していた。また、易分解性基質等特定の項目が多くの微生物特性と有意な相関を示す場合が多かった(図3-14)。このことは、1つの要因が程度の違いはあれ、すべての微生物特

性に同様に影響を及ぼしたことを示唆する。そこでここでは、0-2cm土層と同様に、まず、全細菌数を指標にして微生物特性の規制要因に検討を加えた。

#### (1) 化学性からみた規制要因

リン酸、カリはいずれも微生物生育にとって必要な要素であり、本実験に供試した土壤の範囲(表3-4)では高い方が微生物活動にとって好適であると考えられる。土壤pHは、5-15cm土層でも全細菌数と正の相関関係を有した。前述の様に、5-15cm土層では、0-2cm土層と異なり、経年的な土壤酸性化がほとんど進行しないので、pHの変動も小さい。従って、全細菌数とpHとの相関も0-2cm土層と比べて小さく、pHが他の要因を遮蔽する程ではなかった。そのため、0-2cm土層ではpHの影響が大きすぎるために正の相関関係が認められなかった易分解性基質、置換性カリ、Bray II-リン酸と全細菌数の関係が、5-15cmでは顕在化したと考えられる。また、pHと細菌数の関係には0-2cmと5-15cmで相違点がみられた。図3-8と図3-13の回帰直線の傾きから、同一土壤pH条件でも、5-15cm土層の全細菌数は、0-2cm土層の約1/5にとどまることが示された。この現象には、0-2cm土層で5-15cm土層より微生物基質が豊富なことと、後に検討する酸素供給の問題が関与したと推察された。以上から化学性の中では、有効態リン酸や、カリ、土壤pH、基質量が5-15cm土層で

の細菌数の規制要因であると判断された。

## (2) 経年化に伴う規制要因

表3-24において、全細菌数と最も高い相関係数を有していた要因は草地の経年数であった。そこで、次に経年化に伴って変化する諸要因の中で何が細菌数の低下をもたらしたかを検討した。草地の経年数とpH、Bray II-リン酸および置換性カリは有意な相関係数を示した。しかし、草地での施肥は土壌表面に行われるので、5-15cm土層の化学性は草地維持段階には施肥の影響を受けない。従来行われてきた施肥試験の結果<sup>57)</sup>でも、5-15cm土層でのpH、Bray II-リン酸および置換性カリ含量の経年変化が極めて小さいことを示している。このため、これらの要因は造成時の条件をそのまま維持しており、経年数とは独立した要因であると考えられる。経年数と Bray II-リン酸および pHが有意な負の相関を示した原因としては、経年数の短い草地の方が過去に更新された回数が多く、そのたびに石灰・リン酸資材が投入されており、加えて、表層に蓄積したリン酸が作土下層に混合された結果であると推察された。

これらの他に経年化によって変化し、かつ微生物特性に影響を与える要因として、第一に、易分解性基質量をあげることができる。草地の維持段階では枯死茎葉は草地表面にのみ還元され、根も経年化によって表層に集中する(表3-8)ので、死根と根の分泌物等も0-2cm土層を中心に供給されることになる。更新時には、前植生や、堆肥等が作土下層に鋤込まれるが、それらが経年的に消耗するに従って、微生物活性も低下すると推察される。

もう一つの要因としては、酸素供給量の低下をあげることができる。物理性の良好な根釧地方の火山性土壌でも草地の経年化によって硝酸化成や有機物の酸化的分解速度が低下することが指摘されている<sup>45)</sup>。東海地方に分布する重粘土地帯でも50mm以上の降雨後、気相率が低下するため土壌空気中の酸素含量が低下し<sup>120)</sup>、気相率が10%以下になると有機物の分解が抑制されること<sup>103)</sup>がみいだされた。天北地方の重粘土は孔隙が少なく、通

気性に劣ることが指摘されている<sup>122)</sup>。本実験に供試した重粘土は調査時点の気相率が平均で7%と極めて低く(表3-4、10-15cm土層)、また固相率が大きく気相率の小さな疑似グライ土では土壌空気中の酸素含量が大幅に低下した(表3-30)。このため、天北地方の重粘土はもともと微生物に対する酸素供給が不足しがちな条件にあるといえる。

このような条件は従来草地が永年にわたって耕起されないことによってさらに厳しさを増すといわれている。しかし、耕起後数カ月を経過した畑地と草地とでは、土壌の3相分布や容積重に大きな違いが見いだせなかったことから(表3-27)、重粘土の場合、堅密化は数年にわたって徐々に進行するのではなく、耕起後の初めの数カ月間でそのほとんどが終了すると考えられた。また、通気性は土壌の気相率と関連があるとされているが<sup>35)</sup>、表3-4に示した30ヶ所の草地では、気相率と全細菌数の間に相関関係が認められなかった。同様に、表3-28の全細菌数と表3-27の気相率も明確な相関関係を示さなかった。しかし、5-15cm土層の全細菌数と糸状菌数は、1-5年目草地よりも5年目以上の草地で明らかに低下した(表3-26)。このことは、経年化過程の中で、単純な土壌の堅密化とは別の要因によって、5-15cm土層への酸素供給が徐々に低下する可能性を示す。

草地では0-2cm土層に牧草根が高密度に分布しており、加えて、この土層では枯死茎葉が還元されるので微生物による酸素消費量も多い。これらの根と微生物の活動によって酸素が消費されれば、作土下層への酸素供給は抑制されることになろう。Woldendrop<sup>189)</sup>も植物根による呼吸が土壌の酸素濃度を低下させる可能性を指摘した。また、重粘土へのイナワラの鋤込みは一時的に土壌空気中の酸素分圧を低下させることも報告されている<sup>120)</sup>。根の作土表層への集中<sup>123)</sup>や草地表面での有機物の蓄積<sup>106)</sup>は草地の経年化に伴って進行する。すなわち、草地の作土表層における牧草根と微生物による酸素消費は作土下層への酸素供給を低下させる要因の1つになっていると推察された。そこで、作土表層の酸素消費量と関連のある要因として草地30ヶ所の調査結果(表3-4、3-6)から、0-2

cm土層の易分解性基質量と作土下層の全細菌数の関係を図3-16に示したところ、0-2cm土層の易分解性基質量の多い草地では、5-15cm土層の全細菌数が低下する傾向が伺えた。0-2cm土層で易分解性基質量が多いことはこの部位での酸素消費量が多いことを示唆していよう。前項(第3章、第2節、1.)の結果から、経年草地の作土表層のpHが低下し、微生物による有機物分解活性が低下することを述べたが、草地表層では枯死茎葉の還元量が多いことから、活性が相対的に低下したとしても、微生物による酸素消費は作土下層における有機物分解抑制の要因として無視できないと考える。

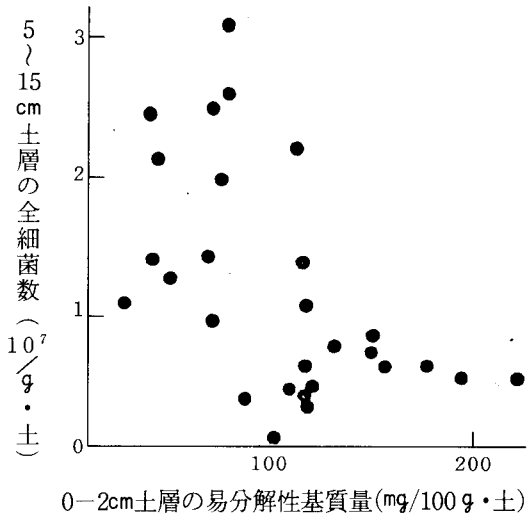


図3-16 0-2cm土層における易分解性基質量の蓄積と5-15cm土層の全細菌数の関係

以上の結果から、もともと通気性に問題があることに加えて、作土表層での酸素消費量が経年的に増加することが、作土下層への酸素供給を制約し、それが経年的に微生物数が減少する主要な原因の一つであると考えられることができる。

5-15cm土層では、細菌数と糸状菌数の相関が高く、かつ細菌数と有意な相関を示す理化学性が同時に糸状菌数とも有意な相関を有していることが多かった。それ故、ここまで細菌について議論してきたことは、糸状菌にもほぼそのまま当てはまると考えられた。

### (3) 炭酸ガス放出の規制要因

次に、土壤内で実際に起こる有機物分解の指標としての炭酸ガス放出量について考察する。前項までに、草地作土下層では微生物活性が抑制されることを述べた。その結果として、作土下層での有機物分解が表層に比べてどの程度低下するかは、大きな問題である。従来の培養試験では、試料採取時に土壤が攪乱されるため、物理性の影響が無視される場合が多い。そこで、本実験では、採土管を用いて、土壤の攪乱を最少限にとどめると共に、差し引き法によって、10-15cm土層の炭酸ガス放出量を推定した(図3-12)。

その結果、10-15cm土層では、易分解性基質があってもその分解を妨げる要因が存在することが示唆された。分解の抑制傾向は火山性土に比べて重粘土でより顕著であった(表3-29)。これを微生物数の面から検討すると、重粘土での10-15cm土層の易分解性基質は0-5cm土層の約1/5であり、全細菌数・糸状菌数はほぼこれに比例して低下した。しかし、10-15cm土層の炭酸ガス放出量の低下程度は微生物数の低下よりもさらに著しく、0-5cm土層の約1/4であった。このことから、10-15cm土層では、微生物が生息していてもこれらが十分に活動できない条件にあると推察される。この条件は気相率が大きく、通気性の良い火山性土では緩和された。そこで、10-15cm土層の気相率と、易分解性基質の内で実際に分解された基質の割合(表3-29、④/③)との関係をプロットしたところ(図3-17)、両者に有意な正の相関が得られた。このことから、気相率の低い土壤では、酸素の拡散が抑えられ、土壤中の酸素濃度が低下し、微生物活性が抑制されたものと推定された。実際の圃場でも気相率の低い土壤では、土壤空気中の酸素濃度が低下した(表3-30)。10-15cm土層における重粘土の易分解性基質量は火山性土よりも高かった。これは、重粘土の5-15cm土層では微生物活性がより大きく低下し、有機物の分解が抑制された結果であると理解できる。

0-5cm土層においても、炭酸ガス放出量/易分解性基質量(②/①)は重粘土で火山性土より低かつ

た(表3-29)。この土層は地表面に近いので10-15cm土層程ではないが、やはりこの部位でも、重粘土の微生物活性は火山性土よりも低いと判断される。10-15cm土層と同様に0-5cm土層の易分解性基質量が火山性土より重粘土の方で高いのは、重粘土でより強く有機物の分解が抑制された結果である可能性がある。重粘土間の比較では、0-2cm土層の物理性と微生物特性の間に負の相関関係が認められなかったが(表3-13)、火山性土と比較した場合には気相率が低く、通気性の劣る重粘土で、有機物の分解が抑制されていることが示唆された。

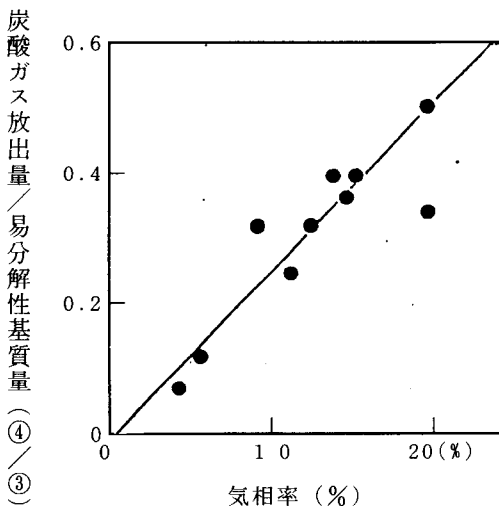


図3-17 5-15cm土層における易分解性基質量(③)に対する炭酸ガス放出量(④)の比と気相率の関係

以上の結果から、堅密化しやすく、通気性の劣る重粘土草地の作土では、土壤空气中の酸素分圧が低下し易く、そのために、微生物活動が停滞すると考えられた。

従来 of 畑地や草地で行われている窒素診断においては熱水抽出性窒素含量などの易分解性の窒素量を測定して、これを無機化する窒素の指標にしようとしてきた。また、培養法にしても、その土壤が置かれている物理的条件を無視して窒素無機

化量の測定を行う場合が多い。Cassmanら<sup>29</sup>は室内での培養試験をもとに下層土からの窒素供給が重要であるとした。しかし本実験の結果から、特に重粘土のような場合には、作土下層の微生物活動は抑制されており、基質があっても分解できない条件にあることが明らかになった。それゆえ、窒素にかかわる土壤診断の精度を高めるためには、土壤の物理性に起因する微生物活性の抑制程度を加味することが必要であろう。

### 3. 草地土壤の理化学性改善による土壤微生物の活性化

前節までに、草地の微生物数と活性を規制する要因を明らかにしてきた。草地の微生物数および活性は一般に経年的に低下する傾向があり、そのために草地の物質循環が停滞し、生産性が低下すると理解された。そこで、微生物活性を低下させる要因を改善することによって、これを向上させることを試みた。0-2cm土層ではpHの低下が土壤微生物の活性を抑制する第1の要因であったので、炭酸カルシウムの施用による酸性矯正を行って、その微生物特性に対する効果について検討を加えた。5-15cm土層では、易分解性基質量、リン酸、カリ、通気性などの低下が複合して微生物活性を抑制した。そこで、堆肥の鋤込み処理を行って、これらの要因を総合的に改善することを試みた。

#### 実験方法

##### (1) 作土表層の酸性化に対する炭酸カルシウムの施用効果

1) 1975年に造成し、硫酸アンモニウムを窒素として毎年24kg/10a施用することにより、表層pHの低下したオーチャードグラス主体草地を供試した。土壤は酸性褐色森林土である。この草地に対し、1983年早春に炭酸カルシウムを0, 200, 400, 800kg/10aの4段階で表面施用し<sup>67)</sup>、施用当年と、翌年春(5月)に微生物数と活性を測定した。

2) 1975年に造成し、窒素を硫酸アンモニウムで毎年10kg/10a施用して、表層pHの低下したオーチャードグラス草地を供試した。この草地に

1982年早春に炭酸カルシウムを200kg/10a施用し、その微生物特性に与える影響を秋に調査した。土壤は酸性褐色森林土である。

(2) 堆肥施用による微生物特性の改善

造成時に堆肥20tを鋤込んだ草地と堆肥無鋤込み草地の土壤微生物特性を比較した。供試草地は酸性褐色森林土と疑似グライ土の2土壤に1977年に造成し<sup>61)</sup>、毎年窒素、リン酸、カリ、13-18-13 kg/10aを施用した。微生物特性の調査は経年化によって微生物数と活性の低下が進行する5年後の1982年に行った。

結 果

(1) 作土表層の酸性化に対する炭酸カルシウムの施用効果

草地の0-2cm土層では、経年的な酸性化の進行が微生物活性を低下させる最大の要因であった。前項(第2節.1.)の表3-16, 17では、毎年炭酸カルシウムを草地表面に施用してpHの低下を緩和させた草地においては、表層が酸性化した草地と比べて微生物数および活性が高いことが示された。

ここでは、一度酸性化して微生物活性が低下した草地における酸性矯正効果について検討を行なった。

硫酸アンモニウムを8年間連用し、表層土壤のpHが4.2まで低下した草地の例では、炭酸カルシウムの施用によって、0-2cm土層のpHは最大6.3まで改善され(表3-32)、全細菌数と尿素分解活性は炭酸カルシウム施用量に対応してほぼ直線的に増加した。また、TTC還元活性とフラクトース分解活性は、炭酸カルシウム施用400kgまでは増加したが、800kg施用では400kgよりも低下した。一方、糸状菌の場合には、孢子(糸状菌数)と菌糸(糸状菌菌糸長)で異なった傾向を示した。すなわち、炭酸カルシウム施用によって、孢子数は減少したが、菌糸長は逆に増加した。また、炭酸ガス放出量は、炭酸カルシウム施用量が多いほど増加し、微生物の活性化によって有機物分解が促進されることが示された。

酸性矯正の効果は、炭酸カルシウムを施用した翌年にも認められた(表3-33)。特に、尿素、カゼイン、フラクトース、デンプンの各分解活性は、炭酸カルシウム施用量が多いほど上昇した。ただ

表3-32 作土表層酸性化草地に対する炭酸カルシウム施用による土壤微生物の活性化

炭酸カルシウム 施用量 (kg/10a)	土 壤 pH (H <sub>2</sub> O)	置換性 EC (mS)	牧 草 収 量 CaO (mg/100g)	細菌数 ( $\times 10^6/g$ )	糸 状 菌		TTC 還 元 活 性	フラクトース 分 解 活 性	尿 素 分 解 活 性	炭酸ガス 放 出 量 (Cmg/100g $\cdot$ 土)	
					孢子数 ( $\times 10^4/g$ )	菌糸長 (m/g)					
0	4.2	80	50	867	12.8	15.8	201	37	271	150	125
200	5.2	98	272	850	13.4	12.9	216	105	345	183	145
400	5.5	235	588	899	13.7	13.9	269	287	471	211	190
800	6.3	743	743	941	22.3	9.1	270	172	392	254	218

表3-33 土壤微生物特性に対する炭酸カルシウムの施用の残効

炭カル 施用量	細菌 ( $10^6/g$ )	グラム 陰性菌 ( $10^6/g$ )	糸 状 菌 数		分解活性(mg/日/100g)			
			孢子数 ( $10^4/g$ )	菌糸長 (m/g)	尿 素	カゼ イン	フラク トース	デ ン ブ ン
0	18.4	4.2	25.4	206	172	117	273	721
200	29.9	4.7	33.2	206	192	142	310	881
400	60.4	8.5	24.3	177	193	185	366	999
800	46.0	5.4	34.1	155	218	195	369	1111

表3-32. の翌年春の測定結果

表3-34 炭酸カルシウム施用による土壤微生物特性の改善

炭カル施用量 (kg/10a)	層位 (cm)	pH	細菌数 (10 <sup>6</sup> /g)	糸状菌数 (10 <sup>4</sup> /g)	TTC 還元 活性 <sup>1)</sup>	尿素 分解 活性 <sup>2)</sup>	CO <sub>2</sub> 発生量 <sup>3)</sup>	牧草 収量 (kg/10a・年)
0	0-2	4.3	16.3	29.7	35	194	62.1	801
	2-5	4.6	12.0	6.6	35	177	25.0	—
	5-15	5.6	9.6	8.3	20	172	19.2	—
200	0-2	4.9	20.9	23.4	54	251	107.8	731
	2-5	5.0	14.4	6.1	20	177	23.7	—
	5-15	5.6	13.8	7.2	21	197	24.2	—

1) 10<sup>-3</sup> mg/g・土壌/日    2) mg/100g・土壌/日    3) mg/100g・土壌/20日

し、糸状菌長は施用当年と傾向が異なり、炭酸カルシウム施用量が多いほど低下した。

作土表層のpHが4.3まで低下した草地においては、炭酸カルシウム200kg/10aの施用でpHの上昇は4.9にとどまり、酸性矯正は充分ではなかったが、それでも微生物数と活性の向上がみられた(表3-34)。特に、炭酸ガス放出量などの微生物活性面の向上効果が大きかった。糸状菌数は、表3-16、32の結果と同様に土壌pHの上昇によって減少した。また、作土下層の微生物特性は炭酸カルシウム施用の影響を受けず、炭酸カルシウムの施用効果は0-2cm土層に限られた。

炭酸カルシウム200kg/10aの施用は、表3-32、34のいずれの実験でも、むしろ牧草収量を低下させた。一方、800kg/10aの施用では、収量増が得られた。

#### (2) 堆肥施用による微生物特性の改善

草地の経年化に伴う微生物生育環境の悪化に対する堆肥の施用効果を検討するため、造成後5年を経過した堆肥鋤込み草地と無鋤込み草地の微生物特性を比較検討した。

両土壌の相違は、全細菌数で最も明瞭であった(表3-35)。疑似グライ土は通気性に問題がある土壌であり、無堆肥区的全細菌数は、0-5、5-15cmの両土層ともに酸性褐色森林土のほぼ50%と低かった。これに対し、堆肥鋤込み処理は全細菌数の増加をもたらし、その程度は疑似グライ土で大きかったので、両土壌の堆肥鋤込み区間では全細菌数に大きな差はなかった。また、酸性褐色森林土においては全細菌数に対する堆肥鋤込みの影響は、5-15cm土層より0-5cm土層でより大きく表れ

表3-35 堆肥施用による土壤微生物特性の改善

土壌	処理	層位 (cm)	細菌数 (×10 <sup>6</sup> )	グラム陰性 細菌数	糸状菌数 (×10 <sup>4</sup> )	biomass (mg/100g)
酸性褐色 森林土	無堆肥	0-5	15.3	1.2	8.4	27.2
		5-15	11.9	0.5	4.3	25.5
	堆肥 (20t/10a)	0-5	23.2	2.7	13.6	52.7
		5-15	14.5	0.9	11.3	32.6
疑似 グライ土	無堆肥	0-5	9.9	1.2	9.0	28.3
		5-15	5.4	0.3	4.5	23.0
	堆肥 (20t/10a)	0-5	23.4	2.0	7.7	73.4
		5-15	15.6	0.8	7.1	31.0

た。グラム陰性菌数とバイオマス量も堆肥鋤込みによって高まった。一方、糸状菌数は酸性褐色森林土では、堆肥鋤込みによって高まったが、疑似グライ土では、堆肥鋤込みの効果が認められなかった。

なお、本実験で供試した圃場では、堆肥鋤込みによって、牧草収量が大幅に増大し、その効果は5年目になってもまだ持続していた。堆肥20t/10a施用区の無堆肥区に対する5ヶ年間の平均収量比は褐色森林土で123%、疑似グライ土で121%であった<sup>6)</sup>。

## 考 察

### (1) 作土表層の酸性化に対する炭酸カルシウムの施用効果

草地表面への炭酸カルシウム施用によって、酸性条件が改善され、微生物活性が向上した(表3-32, 33, 34)。炭酸カルシウム施用の効果としては単に微生物の培地としての土壤pHを改善したことにとどまらず、水田でアルカリ効果として知られるように、直接有機物に働きかけて、分解され易くした可能性がある。ただし、TTC還元活性、フラクトース分解活性は、炭酸カルシウム施用が400kgで最大値を示した。炭酸カルシウム800kg施用区でも塩類濃度は土壤微生物の活動を阻害するほど上昇しておらず、この原因として、800kg区では局部的にpHが上がりすぎて、活性を阻害した可能性があげられる。施用翌年に、炭酸カルシウム施用量の高い方が微生物数と活性が高まったのは、その影響が緩和されたためと考えられる。

また、糸状菌の孢子数はpHの高い土壤で低い土壤より少なかったが、糸状菌長は増大しており、それまで孢子状態であった糸状菌が酸性矯正によって活性化し、菌糸状態に変化したと推察される。炭酸カルシウムを施用する以前の表層pHが低い草地では有機物分解活性が低く、還元される牧草枯死茎葉の分解が抑制されているので、多量の有機物が蓄積している。それが酸性矯正された時点では、微生物基質が豊富であるため、一時的に、基質としての有機物に対する微生物間の競合が緩和された状態となり、そのために細菌、糸状菌と

も増加した可能性がある。しかし、炭酸カルシウム施用の翌年の測定では、pHの高い区の方が低い区より菌糸長が小さくなる傾向であった。これは、有機物の分解が促進されて、酸性矯正以前に蓄積した微生物基質が消耗し、微生物間の養分競合が激しくなったため、pHが高い条件で優勢になる細菌によって糸状菌の生育が抑制されたことによると理解される。

このように、酸性矯正によってC/N比の大きな枯死茎葉を資化して微生物数が急激に増加する結果、多量の窒素が微生物菌体に取り込まれると考えられる。このため、炭酸カルシウム施用量が200kg/10aでは、牧草の増収効果が得られなかったと理解できる(表3-32, 34)。しかし、pHが6.5まで上昇した800kg/10a区では、増収が得られた。これは、微生物活性が十分に高まったために、いったん有機化された窒素が再無機化されたためであろう。酸性矯正当初に起こる窒素有機化の影響を小さくするためには、作土表層に蓄積したC/N比の大きな有機物の分解、消耗を速やかに行なわせることが必要であろう。そのためには、土壤pHを6.0~6.5まで高めるような酸性矯正を行い、土壤微生物を十分に活性化することが効果的であった(表3-32)。逆に酸性矯正が充分でない場合には、有機化された窒素がそのまま蓄積され、牧草収量の向上効果が得られない可能性がある。

作土表層の酸性化した草地に対する炭酸カルシウムの表面施用は、低pH条件でもたらされる牧草に対するアルミニウム障害やリン酸吸収障害を改善する面から技術化されている<sup>5)</sup>が、草地の微生物活性を高く維持することによる物質循環の円滑化の点からも重要であると考えられる。

### (2) 堆肥施用による微生物特性の改善

堆肥にはカリウムや、微生物基質となる易分解性有機物が多量に含まれている。これらはいずれも、5-15cm土層の微生物特性規制要因であり、堆肥が鋤込まれることによって、微生物活性が増大することが期待された。加えて、堆肥は、粗孔隙を増大させ、作土下層のもう一つの微生物特性規制要因である通気性も改善する<sup>6)</sup>。全細菌数に



対する堆肥の施用効果は、物理性の劣る疑似グライ土でより大きかった(表3-35)。これは堆肥施用による物理性の改善効果が大きかったことを示唆していよう。特に、疑似グライ土ではpF0~2.0までの粗孔隙量が無堆肥区で4.3%であったものが、堆肥20t/10aの鋤込みでは6.87%まで増加しており(0-20cm土層)、さらに、作土下層において堆肥が鋤込まれた部位に沿って牧草が根を伸ばしたことが観察された<sup>6)</sup>。堆肥そのものばかりでなく、堆肥に沿って伸長した牧草根によっても作土下層への微生物基質供給量が増大し、これも全細菌数やグラム陰性菌数の増加をもたらした要因の一つであると考えられる。

堆肥の鋤込みによって0-5cm土層の微生物数も増加した(表3-35)。0-5cm土層における微生物数の増加には堆肥施用による理化学性の改善が直接微生物に影響したことに加えて、牧草の生育が良好になったことも関連していよう。牧草の生育が旺盛であることは枯死茎葉および根の分泌物等の微生物基質供給量が多くなることを意味し、これが微生物活性を高く維持した要因の一つであると考えられる。0-5cm土層でグラム陰性菌数が増加したことも、牧草生育が良好で根量が多かったことを反映したと理解できる。

なお、本実験で用いた草地では、尿素を主体にした化成肥料を施用したため、0-2cm土層の微生物特性規制要因である表層pHの低下はそれほど激しくなかった。そのため、経年化による作土表層の微生物数低下は激しくなかったと考えられる。

以上の結果は、造成後5年を経た草地での結果であり、造成時の堆肥鋤込みは、微生物特性の経年的低下を緩和する上で有効な手段と考えられた。

#### 4. 土壤微生物活性の簡易測定法

草地土壤において物質代謝を直接触媒する土壤微生物は、化学性や物理性と同様に牧草の生産性にとって重要な要因であるが、これまでのところ、草地土壤における微生物特性の測定例は多くない。この理由としては、①草地土壤の有機物分解活性の尺度となり得る微生物特性の測定法が提示されていないこと、②土壤微生物特性の測定が一般に煩雑であること、③土壤微生物特性は季節的に変化するが、どの時期の測定が適当であるかが示されていないこと、④土壤の理化学性と異なり、微生物特性は土壤を圃場から採取したあとの保存によって変化する恐れがあるため、試料採取後直ちに測定を行なわなければならないこと、などが挙げられる。③については、第1節の「季節変化」で一応の目安が得られた。ここでは、残された問題点のうち①、④について検討を加える。

#### 実験方法

##### (1) 各種土壤微生物特性の測定値相互の関係—1

前項までに草地の微生物活性を表すために、多くの測定法を試みてきた。ここでは、これらの測定法相互の関係を明らかにし、どの測定法が草地の微生物活性を代表し、かつ簡易測定法として適当であるかを検討しようとした。

第3章. 第1節2.で測定した季節変化の中で測定した微生物特性相互の関係を検討した。また、第3章. 第2節. 2.(2)で測定した0-5cmと10-15cm土層の炭酸ガス放出量と尿素、フラクトースおよびカ

表3-36 保存条件の実験に供試した土壤の化学的性質

記号	種類	土性	全炭素 (%)	全窒素 (%)	pH (H <sub>2</sub> O)	Bray II-P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (mg/100g)	置換性塩基(mg/100g)		
							CaO	MgO	K <sub>2</sub> O
A	酸性褐色森林土	S L	2.8	0.22	6.6	37	223	10	32
B	酸性褐色森林土	L	4.3	0.38	5.8	121	229	15	12
C	疑似グライ土	C L	6.5	0.59	5.4	42	227	28	23

ゼイン分解活性の関係を検討した。

(2) 各種土壤微生物特性の測定値相互の関係-2

天北農試内の管理来歴の異なる草地20ヶ所の0-2cm土層を供試した。これらの土壤について、尿素・フラクトース・グルコース・グルタミン酸・カゼイン・デンプン・セルロースの分解活性および、全細菌数、グラム陰性菌数、糸状菌菌糸長、糸状菌数を測定し、測定項目相互の関係を検討した。

(3) 微生物特性に対する土壤の保存条件の影響

天北農試圃場内の3種類の土壤を供試した(表3

-36)。これについて、採取直後と4℃1日間、4℃7日間、-20℃7日間保存後の微生物数と活性を測定した。

結 果

(1) 各種土壤微生物特性の測定値相互の関係-1

季節変化における微生物数と活性の相互関係を表3-37に示した。0-2cm土層においては、フラクトース分解活性と全細菌数との間に有意な相関関係が存在した。全細菌数は、尿素分解活性とも弱いながら、相関関係を示した。それに対し、糸状菌菌糸長(菌糸長)と両活性には全く相関関係が認められなかった。また、2-5、5-15cm土層では、全細菌数と分解活性の相関係数が0-2cm土

表3-37 季節変化における微生物数と有機物分解活性の相関関係

層位 微生物数 活性	0-2cm土層		2-5cm土層	5-15cm土層
	全細菌数	糸状菌長	全細菌数	全細菌数
尿素分解活性	0.515	-0.212	0.426	0.419
フラクトース分解活性	0.791**	-0.336	0.396	0.185

表3-38 土層別の分解活性<sup>1)</sup>と炭酸ガス放出量の相互関係

種類	地目	記号	0-5cm土層			10-15cm土層		
			フラクトース	尿素	カゼイン	フラクトース	尿素	カゼイン
重粘土	草地	A	360	169	138	263	141	57
	草地	B	258	182	75	165	50	48
	草地	C	280	163	82	194	136	46
	草地	D	389	180	145	288	86	35
	畑地	E	197	63	59	168	55	54
	畑地	F	228	93	73	197	93	69
	重粘土平均		285	142	95	213	94	52
火山性土	草地	G	261	99	82	178	81	60
	草地	H	262	226	130	293	145	83
	畑地	I	252	91	66	259	71	64
	畑地	J	240	91	38	283	87	55
	火山性土平均		254	127	79	253	96	66
炭酸ガス放出量との相関係数			0.87**	0.76**	0.50	0.06	0.08	-0.39

\*\* ; 1%水準で有意 1)(mg/100g・日)

層よりも低く、有意性も認められなかった。

表3-22に示した土壤のフラクトース、尿素およびカゼイン分解活性を測定し、炭酸ガス放出量との相関関係を求めた(表3-38)。10-15cm土層の分解活性は0-5cm土層に比べて低い場合が多かったが、その程度は微生物数(表3-28)よりも小さかった。特に、火山性土壤のフラクトース分解活性は10-15cm土層の方が高い場合も存在した。火山性土壤では他の分解活性の土層間差も重粘土層より小さい傾向であった。

0-5cm土層の炭酸ガス放出量(表3-29)とフラクトースおよび尿素的分解活性との間には有意な相関が存在した。カゼイン分解活性は炭酸ガス放出量と有意な相関を示さなかったが、これはカゼインの加水分解が直接炭酸ガスを放出するプロセスではないことによる可能性がある。一方、10-15cm土層では、いずれの分解活性と炭酸ガス放出量との間にも有意な正の相関が得られなかった。

## (2) 各種土壤微生物特性の測定値相互の関係-2

草地20ヶ所の0-2cm土層から採取した土壤で測定した各種微生物特性相互の相関係数を算出した

(表3-39)。微生物数と活性の関係をみると、全細菌数は尿素・フラクトース・グルコースの分解活性と有意な相関を有し、グラム陰性菌は尿素・フラクトースの分解活性と、糸状菌長はカゼイン・セルロース分解活性と有意な相関がみられた。しかし、糸状菌数はどの分解活性とも有意な相関関係を示さなかった。

さらに、表3-39の結果を主成分分析し、それぞれの主成分に対する因子負荷量(主成分との相関係数)を算出したところ(表3-40)、尿素・フラクトース・グルコース・カゼイン・デンプン・セルロースの分解活性および、全細菌数、グラム陰性菌数、菌糸長は第1主成分との相関が有意であり、1つのグループを成すとみることができる。このグループに含まれる測定項目の中で主成分との相関が最も高かったのは尿素分解活性と全細菌数であり、両者はこのグループを代表する測定項目であるといえる。

第2主成分とは、菌糸長、カゼイン・セルロース分解活性が有意な相関係数を示しており、この中で相関係数の最も大きい項目は菌糸長であった。第3主成分は糸状菌数との相関が最も高く、これ

表3-39 作土表層(0-2cm土層)における微生物特性相互の相関係数

	グラム 陰性菌	糸状菌 数	糸状菌 長	分 解 活 性						
				尿 素	フラクトース	グルコース	グルタミン酸	カゼイン	デンプン	セルロース
全細菌	0.841**	0.052	0.219	0.823**	0.741**	0.581**	0.018	0.425	0.418	0.430
グラム陰性菌	-	0.206	-0.079	0.693**	0.545*	0.356	0.035	0.192	0.435	0.225
糸状菌数	0.206	-	-0.125	0.183	0.138	0.103	0.098	0.057	0.405	0.364
糸状菌菌糸長	-0.079	-0.125	-	0.241	0.098	0.189	-0.648	0.777**	0.115	0.539*
分解活性										
尿 素	0.693**	0.183	0.241	-	0.610**	0.467*	0.014	0.414	0.627**	0.449*
フラクトース	0.545*	0.138	0.098	0.610**	-	0.672**	0.105	0.345	0.304	0.564**
グルコース	0.356	0.103	0.189	0.467*	0.672**	-	0.034	0.192	0.113	0.618**
グルタミン酸	0.035	0.098	-0.648	0.014	0.105	0.034	-	-0.536	0.122	-0.472
カゼイン	0.192	0.057	0.777**	0.414	0.345	0.192	-0.536	-	0.469*	0.606**
デンプン	0.435	0.405	0.115	0.627**	0.304	0.113	0.122	0.469*	-	0.326

\*, \*\*; それぞれ、5%および1%で有意

表3-40 0-2cm土層における微生物特性の主成分分析

微生物特性 測定項目	因子 負 荷 量		
	第1主成分	第2主成分	第3主成分
全細菌	0.633**	-0.439	-0.437
グラム陰性菌	0.565**	-0.550*	-0.179
糸状菌数	0.360	-0.248	0.818**
糸状菌菌糸長	0.453*	0.725**	-0.357
分解活性			
尿素	0.625**	-0.403	0.225
フラクトース	0.600**	-0.429	-0.491
グルコース	0.552*	-0.301	-0.613*
グルタミン酸	-0.317	-0.737**	-0.232
カゼイン	0.555*	0.622**	0.293
デンプン	0.525*	-0.333	0.731**
セルロース	0.592*	0.502*	0.153
累積寄与率	0.426	0.637	0.753

\* \*\*はそれぞれ5%、10%で有意

にデンプン分解活性が続いていた。グルタミン酸の分解活性は第2主成分と高い負の有意な相関を示したがその理由は不明である。

土壤に生息する個々の微生物は枯死茎葉などに

由来する複雑な有機物を利用している以上、ある微生物群の数が多いことは複数の有機物分解活性が平行して高まることを意味する。本実験の結果、分解活性を大まかに細菌で説明できるグループと

表3-41 土壤の保存による微生物数の変化

項目	条件	採取 直後	1日間 4℃	7日間 4℃	7日間 -20℃
	土壤				
細菌 ( $10^6/g \cdot \text{土}$ )	A	20.5	13.8( 67)	15.5( .76)	21.5(105)
	B	27.3	15.3( 56)	28.0(103)	19.2( 70)
	C	32.1	22.4( 70)	18.6( 58)	39.5(124)
グラム陰性 細菌 ( $10^6/g \cdot \text{土}$ )	A	1.2	0.7( 58)	0.7( 58)	0.7( 58)
	B	1.9	1.3( 68)	2.0(105)	1.2( 65)
	C	4.0	2.0( 50)	2.2( 55)	2.8( 70)
糸状菌数 ( $10^4/g \cdot \text{土}$ )	A	9.9	10.3(104)	9.7( 98)	8.3( 84)
	B	10.2	8.7( 85)	14.9(146)	8.5( 83)
	C	38.7	34.6( 89)	43.5(112)	36.6( 95)
糸状菌 菌糸長 ( g / m )	A	199	—	160( 80)	212(107)
	B	250	—	312(125)	230( 92)
	C	221	—	201( 91)	210( 95)

( ) 内の数値は採取直後の微生物数を100とした時の100分比

表3-42 土壤の保存による微生物活性の変化

項目	条件	採取 直後	1日間	7日間	7日間
	土壤		4℃	4℃	-20℃
尿素 分解活性	A	115	102( 89)	102( 89)	123(107)
	B	107	107(100)	117(109)	98( 92)
	C	236	222( 94)	213( 90)	226( 96)
フラクトース 分解活性	A	83	78( 94)	53( 64)	38( 45)
	B	54	95(176)	74(137)	16( 30)
	C	174	202(116)	184(106)	83( 48)
カゼイン 分解活性	A	142	206(145)	233(164)	202(142)
	B	109	196(180)	215(197)	150(138)
	C	178	279(157)	266(149)	215(121)

糸状菌で説明できるグループに分けることができた。

### (3) 微生物特性に対する土壤の保存条件の影響

作土下層の微生物特性は、土壤の物理性によって大きな影響を受けているため、土壤採取時に物理性が破壊されることによって、変化を余儀なくされる。そこで、ここでは、物理性の影響が比較的少ないと考えられる0-2cm土層に絞って検討を進めた。また、草地土壤では試料採取後に常温保存することによって、菌数の増加がみられることが報告されている<sup>150)</sup>。そこで、ここでは常温保存は除外し、低温保存のみについて検討した。

保存の影響は各微生物特性の測定項目によって異なっており一様ではなかった(表3-41, 42)。目立った傾向としては、グラム陰性菌数がほとんどの保存条件で低下し、カゼイン分解活性が保存することによって例外なく上昇したことがあげられる。

尿素分解活性と糸状菌数は保存による影響が比較的小さかった。特に、尿素分解活性はすべての保存条件による変化率が10%内外の範囲に収まった。保存条件別の特色としては、-20℃の凍結保存で、グラム陰性菌数とフラクトース分解活性の低下が著しいことがあげられる。

他に、注目すべき点として、採取直後に菌糸長を除く全ての測定項目で土壤「C」が最も高かったが、土壤の保存によって、項目によってはこの大小関係が逆転する場合がみられた。

## 考 察

### (1) 各種微生物特性相互の関係と微生物特性を代表する測定項目

主成分分析の結果(表3-40)から、ここで測定した微生物特性は、それぞれ全細菌数、菌糸長、糸状菌数を代表するグループに大別することができる。2種類以上の主成分と有意な相関を示す測定項目は、相関が大きい方のグループに入れることとして、それぞれの微生物特性測定項目を区分した(表3-43)。

全細菌数と同じグループに含まれるのは尿素、

表3-43 主成分分析による微生物数および分解活性の区分

区分	微生物数	分解活性
第1主成分	全細菌数 グラム陰性菌	尿素、フラクトース グルコース、 セルロース
第2主成分	糸状菌菌糸長	カゼイン
第3主成分	糸状菌数	デンプン

フラクトース、グルコースなど低分子化合物の分解活性であった。実際は、糸状菌数とグルタミン酸の分解活性を除く全ての測定項目が第1主成分と有意な相関関係にあるので(表3-40)、第1主成分は草地における有機物の分解活性を表すと性格づけることができる。これらの活性が高まって有機物の分解が促進されれば草地における物質循環は円滑化する。第1主成分との相関係数は全細菌数、尿素分解活性、フラクトース分解活性で高く、この3者は第1主成分を代表する測定項目であり、全細菌数の多い条件ではかなり広範な有機物の分解活性が向上するといえる。

これに対し、第2主成分に属するのは糸状菌菌糸長とカゼインの加水分解活性であった。また、グルタミン酸の分解活性は第2主成分と有意な負の相関関係を示し、他のいくつかの分解活性も有意ではないものの第2主成分と負の相関係数を示した(表3-40)。グルタミン酸分解活性はどの主成分とも正の相関を示さなかった。グルタミン酸はC・Nを兼ね備えた基質であるため、その添加によって土壤微生物の増殖が起り、培養過程で元の微生物特性が大きく変化したと考えられる。第2主成分と有意な負相関を示した理由はグルタミン酸添加後の微生物の増殖が菌糸長の大きな土壌で小さかったことによる可能性がある。糸状菌は草地作土表層のpHが低下し、分解活性が低下した場合に、逆に増加する例もあり(表3-16, 17)、第2主成分は草地の微生物活性の低下を表す要因である可能性が指摘できる。

デンプンの分解活性は糸状菌孢子数と同様に第3主成分に含まれたが、この両者は単相関で有意な相関が認められず、両者の関連性や第3主成分の意味するところは不明であった。

## (2) 0-2cm土層における微生物特性の

### 簡易測定法

0-2cm土層においては、ここで行ったいくつかの実験を通じて全細菌数と尿素およびフラクトース分解活性の間に有意な相関関係が認められることが多かった(表3-37, 39)。加えて、尿素およびフラクトースの分解活性と炭酸ガス放出量との間にも有意な相関関係が存在した(表3-38)。尿素は、

植物や微生物の窒素代謝上重要な物質である。また、寒地型牧草は貯蔵炭水化物としてフラクトースの重合体であるフラクタンを集積する<sup>160)</sup>。このため、尿素およびフラクトースは草地生態系のなかで一定の位置付けを有し、それらの分解活性は、草地の微生物が広く有している活性であると推察された。また、このことが、両分解活性が全細菌数および炭酸ガス放出量と有意な相関を示した要因であると推定された。さらに、主成分分析の結果も踏まえて、全細菌数と尿素およびフラクトース分解活性の3者は第1主成分を代表しており、草地における土壤微生物の分解活性の指標として利用し得ると判断された。

全細菌数、尿素・フラクトース分解活性の3者の中で、全細菌数を測定するための希釈平板法は長期の培養を伴うため、実験開始から結果が得られるまでに1週間を必要とする。他方、尿素とフラクトースの分解活性は培養期間が短く、実験開始の当日あるいは翌日には結果を得ることができる。加えて、両分解活性の測定には、オートクレーブ等の微生物実験用器材を必要とせず、化学分析用の機器で測定を行えるので、簡易分析法として適当であると考えられることができる。

近年、p-ニトロフェノールのエステル化合物等、人工基質を利用した酵素活性の測定が盛んに行われるようになってきた。これらは、酵素活性を短時間に、しかも簡便に行える利点を有している。食品や水質検査分野では蛍光法や、試験紙化された微生物コロニー計数キットが開発され、微生物の分別計数も可能になってきた。今後、これらの新しい方法の土壤微生物特性診断への応用も考慮すべきである。

## (3) 5-15cm土層における微生物特性の

### 簡易測定法

0-2cm土層と比較して、下位層では全細菌数と各種基質の分解活性との相関関係が低く(表3-37)、また、炭酸ガス放出量と分解活性との相関も認められなかった(表3-38)。Frankenbergerら<sup>37)</sup>は微生物基質を付加した土壌では、微生物数と活性の間に相関があるが、そうでない土壌では両者に相関が認められないと報告した。草地の0-2cm土層

は常に牧草の枯死茎葉の供給を受け、微生物基質が付与された状態であるのに対し、作土下層は基質の供給量が少ない土層であるので、活性と微生物特性の間に有意な相関がなかったと理解できる。また、作土下層では第2節.2.(2).で述べたように、通気性が不良であるために微生物活性は抑制された条件にある。そのため、土壌を採取後攪乱した場合に未攪乱状態と比べて高い炭酸ガス放出量を示した(表3-29)。同様の理由から、作土下層ではフラクトースなどの基質を添加して測定する方法も分解活性を本来の値より高く評価する可能性がある。このため、10-15cm土層の分解活性の低下程度は、微生物数よりも小さかったと考えられる(表3-28, 3-38)。これも、微生物数、炭酸ガス放出量と分解活性との間に相関が認められなかった要因の一つであろう。

作土下層では試料採取とその後の物理的攪乱によって、炭酸ガス放出量の増加程度が大きかったことから(表3-29)、試料採取後の土壌攪乱は他の微生物特性にも変化をもたらすと想定される。このため、作土下層の微生物特性測定は、土壌採取後速やかに行うことが必要となる。土壌の分解活性や酵素活性を測定するためには、土壌に対する微生物基質の添加と一定期間の培養が必要になるので、作土下層の微生物活性を過大に評価する恐れが大きい。それ故、採取時点の微生物数を直ちに計測し得る希釈平板法が、作土下層の微生物活性を評価する上で最も適当な方法であると考えた。ここまでの結果から、草地の経年変化を最も鋭敏に反映するグラム陰性菌が、作土下層の微生物活性の指標として適当であると考えられた。グラム陰性菌数を簡便に測定する方法としては前述の試験紙化されたコロニー計数キット等の応用が考えられ、簡便な測定法については、さらに検討が必要である。

#### (4) 土壌保存の影響

土壌の微生物特性は一般に物理性や化学性より変化しやすい。このため、従来、試料採取後直ちに分析するのが好ましいとされてきた。これが、土壌微生物特性の測定を行い難くしている原因の1つといえる。また、一度に多量の試料を採取し

て、各種の微生物特性を順次測定することや、異なる時期に採取した試料の微生物特性を同時に測定し比較することが可能であれば、研究の遂行上有利な点が多い。そこで、ここではいくつかの保存条件が微生物特性の測定値に与える影響を調査し、それが微生物特性の測定上容認し得るか否かについて検討を加えた。

比較的穏和な保存条件である4℃1日間の保存によっても微生物数は低下することが多かった。しかし、一部の土壌では4℃1週間の保存で微生物数が回復する場合があった。4℃条件では常温菌よりも好冷菌(サイクロファイル)の活動が活発化すると考えられ、4℃の長期保存によって微生物相は、もとの状態から好冷菌を中心としたものへと変化した可能性がある。

より低温条件である-20℃では、一部の微生物が凍結によるダメージを受けたと考えられる。-20℃保存処理でフラクトース分解活性が低下したが(表3-42)、これは凍結により、微生物の代謝活性が一時的に低下したことに起因するとの推定が可能である。また、凍結や低温条件によって一部の微生物は自己分解的な代謝を行うため、カゼイン分解活性が高まった可能性が指摘できる。これに対し、尿素分解活性はフラクトース分解活性と異なり単一の酵素によって触媒されており、微生物自体の活性とは独立している部分もある<sup>130)</sup>ため、保存の影響が比較的小さかったと考えられる。Zantuaら<sup>199)</sup>もウレアーゼ活性が土壌の保存によってあまり影響を受けないことを報告した。

グラム陰性菌数、フラクトースおよびカゼインの分解活性は、測定値自体が保存によって大きく変化することに加えて、土壌間の大小関係も保存によって変化することから、土壌採取後直ちに測定すべき項目であると判断された。他の項目でも、土壌保存後の測定値は保存前に比べて変化することが多かった。本実験の結果から、基本的には土壌微生物特性の測定は試料採取後直ちに行うべきであると考えられた。そのためにも、前項で検討した簡易かつ迅速な土壌微生物特性測定法の開発が望まれる。