

土壌構造と微生物の生育

松口 龍彦* 蘭 道生* 石沢 修一** 鈴木 達彦*

はじめに

土壌微生物の生態を支配する要因として土壌の物理性のもつ意味は大きい。土壌の構造が通気、水分や養分の供給、根の伸長などに難易をもたらして高等植物の生育を左右するように、微生物の生育にもさまざまな影響をもたらすことは容易に理解できる。不均一な構造をもつ土壌中での微生物生態を調べるにさいしては Winogradsky (1952)¹⁾が指摘したように微細構造における微生物の存在状態を描写できる技法の導入が必要である。この要求にそった方法として、埋没スライド法²⁾、固結剤で固めた土壌フィルムを直接検鏡して土壌粒子周辺での微生物分布を調べる方法^{3,4,5,6)}や土壌粒子を洗滌⁷⁾、コロジオン液⁸⁾や超音波処理⁹⁾して粒子内外両部の微生物を企画する方法などが提案されてきた。

わが国におけるこの分野の研究はまず石沢ら¹⁰⁾により直接検鏡法を用いて試みられ、土壌の孔隙、粒子組成や有機・無機コロイド物質と微生物の生育との関係について多くの示唆が与えられた。その後、服部⁹⁾は土壌の固粒構造に着目し、洗滌法と超音波処理を併用して環境変化の大きい固粒外部と小さい内部での微生物の住み分けを明らかにするとともに、この住み分けが環境変化に対応する微生物の生育や微生物同志の相互関係に大きな意味をもつことを報告している。しかし彼の言う固粒は20~50 μ の粒径の耐水性2次粒子¹¹⁾に相当し、その内外両部を画別した知見と理解される。

一般に土壌の微細構造は結合次数のことなる大小さまざまな粒子(粒径数 μ ~数mm)の配列と粒子内外に張りめぐらされた粒子間隙(孔隙)によって特徴づけられ、2次粒子のみを固粒と仮想することには多くの問題が残る。

筆者らは固粒構造のもつ通気性、保水性などの諸性質が、その孔隙性に由来するものと考え、土壌構造の問題を孔隙性の面から捉えようとした。そのために充填密度のことなる土壌および粒径のことなる石英砂およびペーライト固体培地を用い、孔隙量、大きさ、および水分条

件の変化に対応する微生物の生育を追跡し、土壌孔隙内での微生物の住み場の問題を検討した。

実験 I 土壌を用いた実験

1 方法

厨川洪積性黒色火山灰土と武豊洪積性赤褐色土の熟畑表層土新鮮土壌を2mm篩別し、養分として乾土100g当たりクローバー乾燥粉末1.0gと過リン酸石灰、硫酸

表-1 充填土壌の三相分布とpF水分

土壌	区	三 相 分 布			pF
		固相%	液相%	気相%	
厨川土壌	密-高水分C-h	32.2	46.5	21.3	2.7
	密-低水分C-l	34.0	35.5	30.5	3.9
	粗-高水分L-h	24.4	40.6	35.0	2.1
	粗-低水分L-l	20.0	28.5	50.0	3.3
武豊土壌	密-高水分C-h	50.0	31.5	18.5	2.0
	密-低水分C-l	50.0	21.5	28.5	3.4
	粗-高水分L-h	34.5	22.5	43.0	2.3
	粗-低水分L-l	34.5	15.5	50.0	3.0

カリを成分0.1g相当量ずつ混合し、表-1に示す三相分布とpF水分を与えるようにガラス容器に充填し、28°Cで1ヵ月量培養し、細菌、放線菌、糸状菌の生育経過を調べた。

2 結果と考察

a 土壌の三相分布と微生物の生育との関係

平板法による好気性細菌、グラム陰性細菌、嫌気性細菌、放線菌、糸状菌の菌数変動および直接検鏡法(埋没スライド法)による放線菌、糸状菌の菌糸密度を図-1、図-2に示した。

厨川土壌では、平板法による好気性細菌数、グラム陰性細菌数、嫌気性細菌数は時期により程度の差はあるが一般に C-h>L-h>C-l>L-l で土壌の液相率とほぼ一致した。これに対し放線菌と糸状菌の生育は細菌の場合と傾向をことにし、平板法の菌数、直接検鏡法による菌糸密度のいずれも L-l>L-h \approx C-l \approx C-h の順となり土壌の気相率とよい対応を示した。

類似の傾向は武豊土壌においてもみられた。平板法による好気性細菌数、嫌気性細菌数はともに C-h \approx L-h>C-l \approx L-l で液相率にほぼ一致し、放線菌は平板法

* 現・神戸大学農学部

** 農業技術研究所

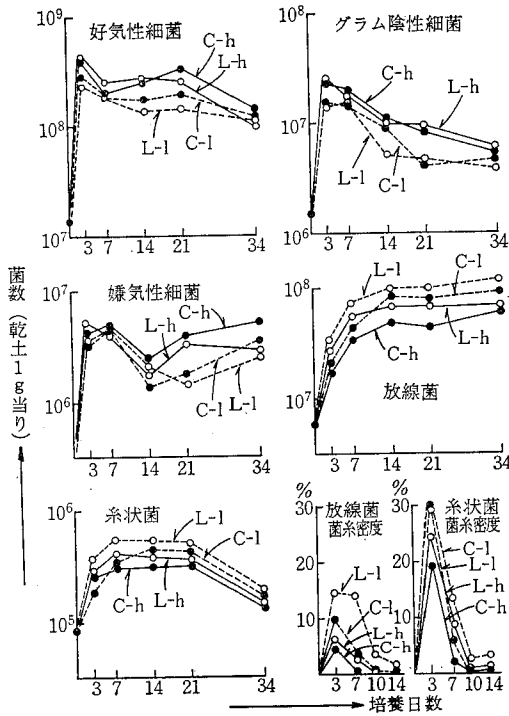


図-1 各種微生物数の生育および放線菌、糸状菌の菌糸密度 (厨川土壌)

の菌数、菌糸密度のいずれも $L-1 > C-1 > L-h > C-h$ の順で、気相率の最も大きい $L-1$ で最大値を示し、最も小さい $C-h$ で最小値を示した。一方、糸状菌では、菌糸の生育は $L-1 > L-h \approx C-1 > C-h$ で土壌の気相率と同じ傾向がみられたが、平板法の菌数は菌糸密度で最大値を示した $L-1$ でも $L-h$ 、 $C-1$ とほぼ同じ菌数で推移した。平板法の糸状菌数が主として孢子に由来することを考慮すれば、この結果は、 $L-h$ 、 $C-1$ にくらべ $L-1$ では糸状菌の生育が、菌糸型であったことを示すものであろう。

供試した両土壌は腐植質土壌と鈹質土壌で対照的な物理性をもつが、いずれの土壌においても細菌の生育は土壌の液相率、放線菌および糸状菌の生育は気相率とよい対応を示した。このことは細菌が主として土壌の飽水孔隙中に生育するのに対し、放線菌と糸状菌はむしろ気相孔隙中で生育していることを物語っている。石沢ら¹²⁾は火山灰土壌表層土の水分量と微生物の生育との関係でほぼ同様の結果をえ、特に放線菌、糸状菌の生育が気相、液相の両相で行なわれるとしている。土壌液相、気相中での菌糸生育の難易については不明の点が多いが、液相では細菌の増殖に伴う嫌気条件の発達や微生物相互間の競合作用が気相にくらべ著しい点が菌糸生育の抑制要因として考えられる。

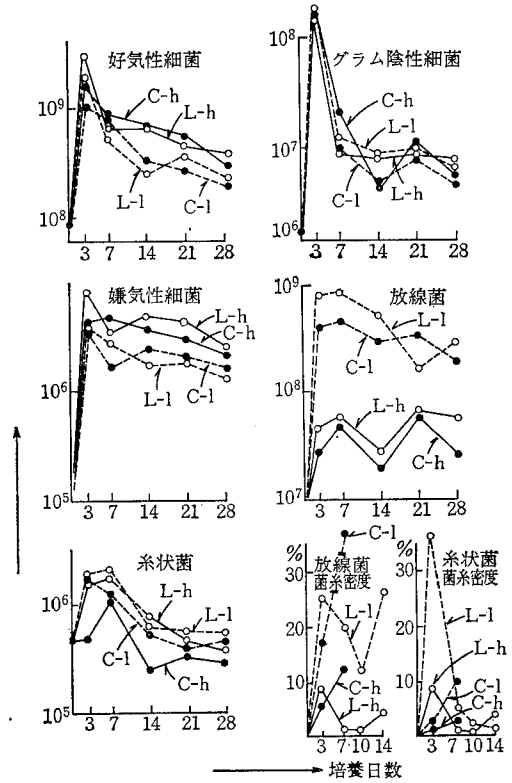


図-2 各種微生物菌数および放線菌、糸状菌の菌糸密度 (武豊土壌)

b 土壌孔隙と微生物の生育

以上に土壌の水分条件が各種微生物の生育を著しく左右することを明らかにしたが、それでは各微生物の生育に適した飽水孔隙あるいは気相孔隙は一体どのような性質のものであろうか。微生物の生育に関係の深い孔隙の性質に水分張力、通気性があり、いずれも孔隙の大きさに支配される。そこで微生物の生育と孔隙の大きさとの関係を検討した。

図-3に示すように本実験で設定した各区の pF 水分曲線、最小気相孔隙径 (pF 値から求めた孔隙の当量直径) および飽水孔隙、気相孔隙の容積率 (対土壌三相) と細菌、放線菌、糸状菌の生育との関係から、これら微生物の生育に適した孔隙の大きさを知ろうとした。

第3図によれば、厨川土壌では $C-h$ と $C-1$ の孔隙性の差は $0.4 \sim 6.0 \mu$ の孔隙 (容積率 11%) での水の存否であり、 $L-h$ と $L-1$ の差は $1.5 \sim 24 \mu$ の孔隙 (容積率 12.1%) での水の存否である。この差を微生物の生育差と比較検討してみよう。

厨川土壌は細菌数の高水分区 > 低水分区で、その差は密充填区 (C) と粗充填区 (L) でほぼ同程度であった。

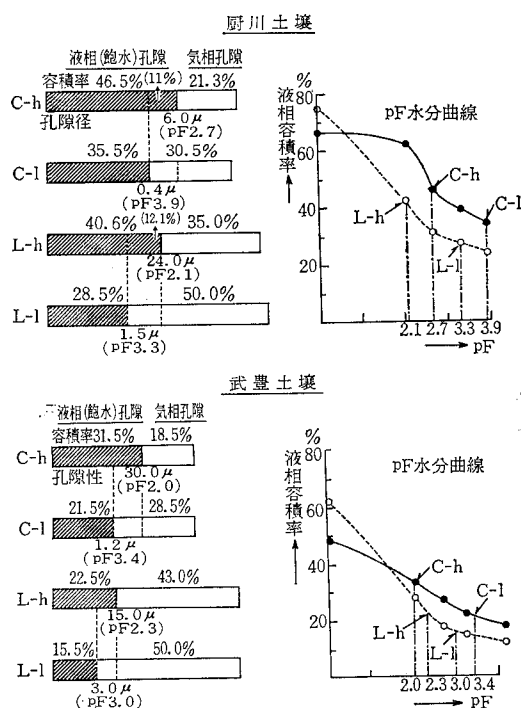


図-3 土壌の孔隙性と pF 水分曲線

このことは、ほぼ同容積を占める 0.4~6.0 μ の飽水孔隙と 1.5~24 μ の飽水孔隙が細菌数の増加に同程度の効果を持ったことを示し、換言すれば 0.4~24 μ の飽水孔隙中ではほぼ同密度の生育を示したものと考えられる。また武豊土壌ではほぼ同容積を占める 1.2~30 μ の飽水孔隙と 3.0~15 μ の飽水孔隙中ではほぼ同密度の生育を示したと思われる。Seifert¹²⁾は土壌細菌数が最大容水量の 60~80% までの範囲内では水分量とともに増加すると報告しているが、本実験の結果からも、細菌は一般に孔隙の大きさに関係なく飽水孔隙中に生育することが示された。

放線菌の菌糸密度は厨川土壌では C-l>C-h, L-l>L-h であり、0.4~6.0 μ の気相孔隙にくらべ 1.5~24 μ の気相孔隙で旺盛な菌糸生育がみられた。この結果は 6.0 μ 以下の微細な気相孔隙が放線菌の菌糸生育にとって好適でなかったことを示している。これに対して、武豊土壌における菌糸密度は C-l>C-h, L-l>L-h であり、3.5~15 μ の気相孔隙および 1.2~30 μ の気相孔隙のいずれにおいても菌糸は旺盛に生育したことを示している。このことから、武豊土壌では厨川土壌よりも小さい 1.2 μ の気相孔隙でも放線菌の菌糸生育に好適な条件にあったことが理解される。

さらに糸状菌の菌糸密度をみると、厨川土壌では L-l

≧L-h, C-l≧C-h であったが、いずれの区でも菌糸の生育は旺盛であった。これに対し武豊土壌では L-l>L-h≧C-l>C-h の順となり、L-l 以外の区では糸状菌の菌糸生育は著るしく劣った。これらの結果を気相孔隙の大きさとの関係でみれば、厨川土壌では菌糸は主として 24 μ 以上の比較的大きな気相孔隙に生育したのに対し、武豊土壌では 3~15 μ のかなり小さい気相孔隙であったことを示している。

以上に述べたように、放線菌と糸状菌の菌糸の生育に適した気相孔隙の大きさは、厨川土壌ではそれぞれ 6.0 μ 以上と 24 μ 以上、武豊土壌ではそれぞれ 1.2 μ 以上と 3~15 μ であり、土壌によってちがう結果が得られた。この相違は何に起因するものであろうか。放線菌や糸状菌の菌糸生育が主に気相孔隙中で行なわれるにしても、同時に適量の酸素と有効水分の供給が不可欠である。Griffin は土壌糸状菌の菌糸生育と酸素分圧¹³⁾、相对湿度¹⁴⁾との関係を調べ、一般に菌糸の生育は酸素分圧 4% 以下では急激に低下すること、また相对湿度 94~97% では 100% での生育の約半分以下に低下し、菌糸生育には最少限 70~95% の相对湿度が必要であると報告している。これらの点を考慮すれば、両土壌の気相孔隙中でのガス拡散速度と蒸気圧が問題となろう。腐植に富み多孔質粒子からなる厨川土壌では、鉱質粒子を主体とする武豊土壌に比較すれば、粒子表面積が大きいためガス拡散速度が小さく、その結果、菌糸生育に必要な酸素供給と炭酸ガスの拡散が比較的大きな気相孔隙でしかえられないこと、しかもその大きな気相孔隙でも飽水した微細孔隙が豊富に露出しているため菌糸生育に必要な蒸気圧がえやすいものと考えられる。

c 土壌の呼吸作用

図-4 に示すように、土壌の炭酸ガス発生量に対する孔隙性の影響は厨川土壌と武豊土壌でちがった結果が得られた。厨川土壌ではほぼ L-l>L-h>C-l>C-h の

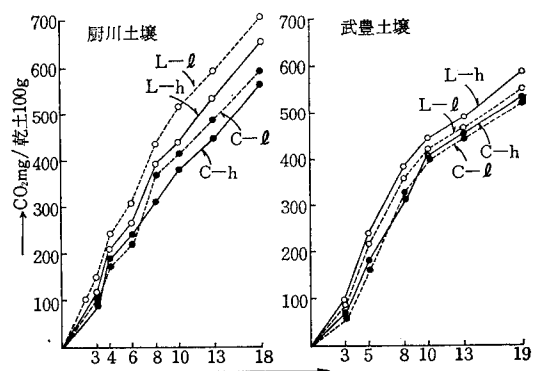


図-4 土壌の呼吸作用

順で土壌の気相率とよい対応を示したが、武土壌豊では $L-h > L-l > C-h \approx C-l$ となり区間の差も厨川土壌の場合よりは明らかに小さかった。このように厨川土壌の炭酸ガス発生量は初期の放線菌、糸状菌の菌糸密度とほぼ同じ傾向を示したが、武土壌では初期の放線菌、糸状菌の菌糸生育に伴う呼吸量が、それを上回る細菌の増殖に伴う呼吸量にアスクされたものと思われる。このことは武土壌の初期の細菌数が厨川土壌のその約10倍に達している点からも理解される。

実験Ⅱ 石英砂およびパーライト固体培地を用いた実験

土壌を用いた実験Ⅰの結果を細菌、放線菌および糸状菌のそれぞれについてさらに検討するため、粒径の異なる石英砂とパーライトの固体培地に細菌、放線菌、糸状菌を単独接種し、孔隙性のちがいが菌の生育と呼吸作用におよぼす影響を調べた。

1 方 法

粒径のちがう石英砂 (0.28~0.18 mm と 0.10~0.07 mm) とパーライト (1.0~0.5 mm と 0.25~0.10 mm) を定法により十分洗滌、乾燥し、予め液体培養した分離菌 (*Penicillium* sp. *Streptomyces* sp. *Bacillus* sp.) のサスペンションを単独接種し、下記の微生物養分とともに所定量の無菌蒸溜水を加えて、表-2の三相分布を与えるように200 ml 容広口ビンに充填した。28°Cで無菌的に培養し、経時的に菌の生育(平板法による菌数、埋没スライド法による菌糸密度)と呼吸作用(CO₂発生量)

を測定した。

表-2 石英砂、パーライト固体培地の三相分布、pF 水分および最小気相孔隙径

固体培地	粒径 (mm)	区	三 相 分 布			pF	最小孔隙径
			固相 %	液相 %	気相 %		
石英砂	0.28~0.18	A(A')	66.2	17.7	26.6	2.0	30 ^μ
	0.10~0.07	B(B')	62.3		30.5	7.2	2.0
パーライト	1.0~0.5	C	21.1	17.3	61.6	2.0	30
	0.25~0.10	D	18.6		60.8	20.6	2.0

* A', B'区は、それぞれA, Bの1/5の微生物養分を添加した。

ビン当たりの添加微生物養分量：

A, B, C, D区： グルコース 0.935 g, ペプトン 0.194 g, K₂HPO₄ 0.058 g, MgSO₄·7H₂O 0.0025 mg, MnCl₂ 4 H₂O 0.0025 mg, CuSO₄·7 H₂O 0.001 mg, ZnSO₄·7H₂O 0.0025 mg

A', B'区： いずれも上記添加量の1/5

2 結果と考察

a 糸状菌 (*Penicillium* sp.)

図-5に示すように菌糸の生育は石英砂固体培地の上半部と下半部で様相をことにした。下半部では気相率の大きいA区では初期から旺盛な生育がみられたが、B区では初期5日間はほとんど生育せず以後急速に回復しついにA区とほぼ同菌糸密度に達した。一方、上半部では下半部にくらべA区の菌糸生育が明らかに劣った反面、B区では逆に促進され、A区の生育を上回った。この結果は固体培地全体について調べた菌数と呼吸作用にも反映され、A, B両区で大差ないばかりか呼吸作用は

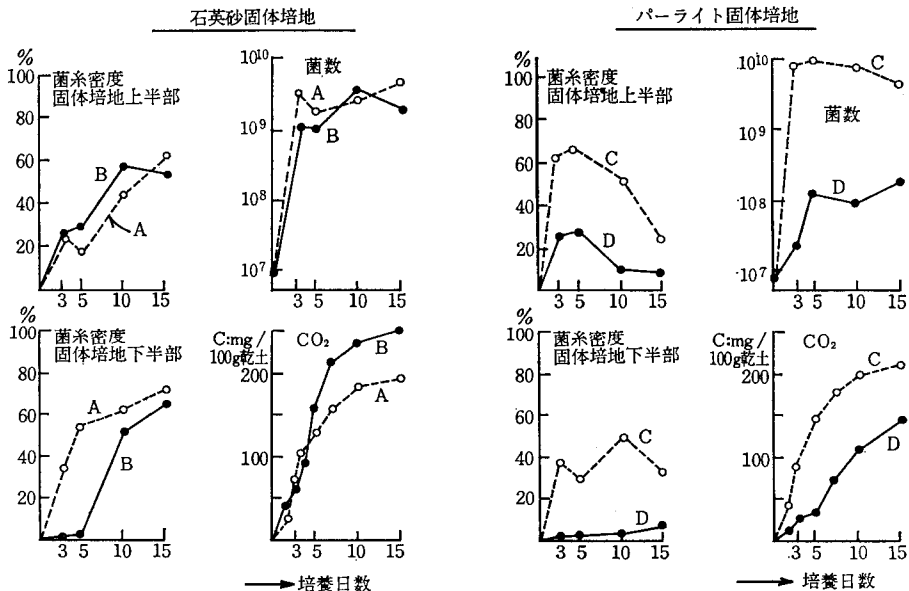


図-5 *Penicillium* 菌の生育と CO₂ 発生におよぼす固体培地構造の影響、三相分布の影響

B区がA区より高い値を示した。

これに対してパーライト固体培地では菌糸の生育は一般に上半部が下半部より旺盛だったが、両部とも気相率の大きいC区がD区より旺盛な生育を示し、平板法の菌数、炭酸ガス発生量にも同様の結果を得た。

両固体培地での結果は、土壌の場合と同様、糸状菌の菌糸が主に気相孔隙に生育するとしても、水分供給が極めて重要であることを示している。すなわち菌糸生育が気相孔隙量とよい対応を示したパーライト培地では粒子が多孔質でかなり大きな気相孔隙中にも微細な飽水孔隙が多数露出しているため有効水分の供給が比較的円滑に行なわれたのに対し、非孔隙質の石英砂粒子の固体培地の場合、気相孔隙中での有効水分不足がA区の上半部にみられたような菌糸生育の阻害をもたらす原因と考えられる。

b 放線菌 (Streptomyces sp.)

図-6のように、石英砂培地では気相率の大きいA区の菌数がB区よりも著しく低いばかりか3日目以降急減した。この現象は微生物養分添加量を1/5にしたA'区では著しく回復し、A区の増殖阻害が液相の高浸透圧に原因したものと思われる。しかしながら、いずれにせよ菌の生育は液相率の大きいB、B'区がA、A'区を上回

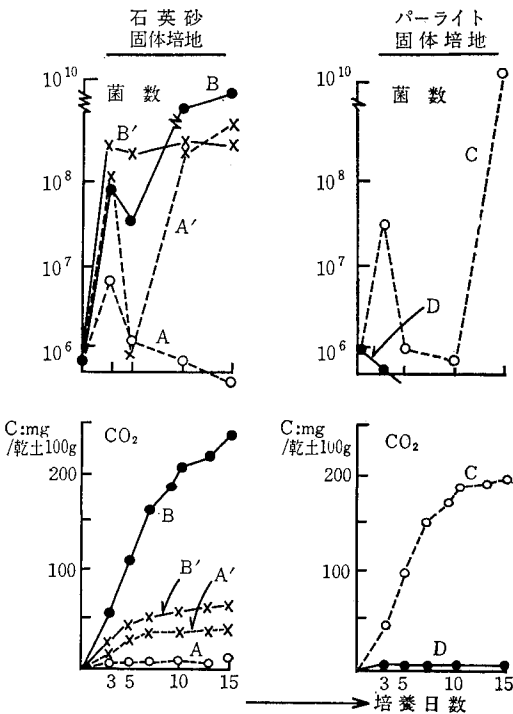


図-6 Streptomyces 菌の生育と CO₂ 発生におよぼす固体培地 3 相分布の影響

り、同様の傾向は呼吸作用にもみられた。一方、パーライト培地では気相率の大きいC区がD区より菌数、呼吸作用のいずれも高い値を示した。以上、石英砂、パーライト両固体培地での逆の結果、および武豊土壌での放線菌の生育を考え合すると、放線菌は糸状菌よりも水分に対する要求性が大きいものと考えられる。

c 細菌 (Bacillus sp.)

図-7によれば、石英砂培地では液相率の大きいB区が菌数、呼吸作用とも終始A区を上回る結果を得たが、パーライト培地では、液相率の小さいC区で初期から菌数増大がみられたのに対し液相率の大きいD区では放線菌と同様、初期から菌数は急激に減少した。接種菌のこの死滅現象の原因は明らかでない。

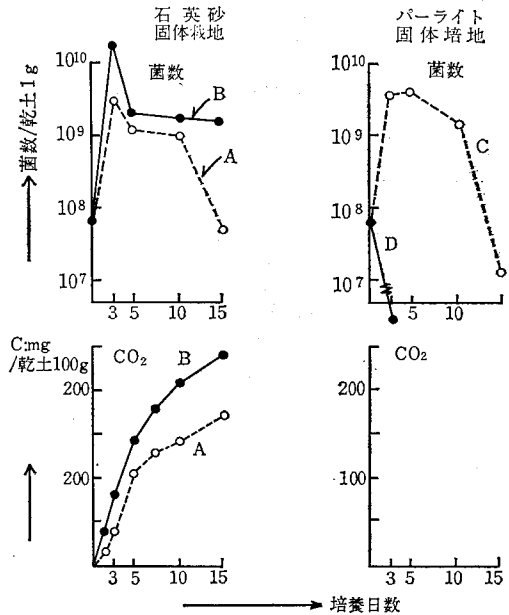


図-7 Bacillus 菌の生育と CO₂ 発生におよぼす固体培地 3 相分布の影響

要 約

土壌構造と微生物の生育との関係を解明するため充填密度のことなる土壌、および粒径のことなる石英砂、パーライト固体培地を用いて、孔隙の量、大きさおよび水分条件が細菌、放線菌、糸状菌の生育に与える影響を調べた。

A 厨川黒色火山灰土および武豊赤褐色土を用いた実験。

1) いずれの土壌でも細菌群(好気性細菌, グラム陰

性細菌、嫌気性細菌)の菌数(平板法)は土壤の液相率が大きい程、また放線菌と糸状菌の菌数(平板法)、菌糸密度(埋没スライド法)は気相率が大きい程、高い値を示した。この結果から細菌群が主に土壤の飽水孔隙中で生育するのに対し、放線菌と糸状菌はむしろ気相孔隙中で生育しているものと推察された。

2) 上記微生物の生育に適した孔隙の大きさを検討した結果、細菌群は飽水孔隙であればその大きさに関係なくほぼ一様に生育したのに対し、放線菌、糸状菌の生育に適した気相孔隙の大きさは土壤の種類によって違い、厨川土壤では前者が 6μ 以上、後者が 24μ 以上であるのに対し、武豊土壤では前者が $1.2\sim 15\mu$ 、後者が $3\sim 15\mu$ であると思われた。この差は気相孔隙中での酸素供給速度および蒸気圧に起因するものと考えられる。

3) 土壤の呼吸活性は厨川土壤では気相孔隙率が大きい程高く、放線菌と糸状菌の呼吸活性が細菌群のそれを上回ったが、細菌に富む武豊土壤ではむしろ液相孔隙率が大きい程高く、細菌による呼吸活性が放線菌、糸状菌のそれを上回った。

B 石英砂およびパーライト固体培地を用いた実験。

土壤での結果を細菌、放線菌および糸状菌のそれぞれについてさらに検討するため、それぞれの分離菌(Bacillus 菌, Streptomyces 菌および Peucillium) 菌の上記固体培地中での行動を調べた。

1) 糸状菌(Penicillium sp.)は石英砂、パーライトいずれの固体培地中에서도ほぼ気相孔隙中で菌糸生育するが、そのためには、同時に円滑な水分供給が必要である。

2) 放線菌(Streptomyces sp.)の生育には、糸状菌の場合よりもさらに豊富な水分が必要と考えられ、酸素と水分が保障されれば、気相、飽水いずれの孔隙にも旺盛な生育を示すものと推察される。

3) 細菌(Bacillus sp.)の生育は石英砂培地とパーライト培地で著しくちがいが、前者では飽水孔隙の増大とともに促進されたが、後者ではこの傾向はみられなかった。パーライト培地高水分区(液相60.8%)での細菌の増殖阻害の原因は明らかでない。

文 献

- 1) Winogradsky, M. S.: Soil Microbiology. Methods of soil microbiology part 6. Izd AN SSSR (1952)
- 2) Cholodny N.: Arch. Mikrobiol. 1, 620 (1930)
- 3) Jones, P. T. C. and Mollison, J. E.: J. Gen. Microbiol. 2, 54 (1948)
- 4) Alexander, F. E. S. and Jackson, R. M.: Nature, Lond., 174, 750 (1954)
- 5) Zvyagintsev, D. G.: Pochvovedeniye. 18 (1962)
- 6) Kubiena, W. and Renn, C. E.: Zbl. Bakt. II, 91, 267 (1935)
- 7) Krasilnikov, N. A.: Soil Microorganisms and Higher plants, Acad. Sci. USSR. Moscow. (1958)
- 8) Tyagnii-Ryadno: Soviet Soil Sci 1378 (1958)
- 9) 服部勉: 東北大農研報告, 18, 159 (1967)
- 10) 石沢修一, 鈴木達彦, 甲田知則, 佐藤修: 農技研報告, B 8, 1 (1958)
- 11) 美園繁, 木下彰, 須藤清次, 寺沢四郎: 農技研報告 B 2, 125—145
- 12) Seifert, J.: Folia Microbiol. Praha. 6, 268 (1960)
- 13) Griffin, D. M. and Nair, N. G.: J. Exper. Bot. 19, 812 (1968)
- 14) Griffin, D. M.: Biol. Rev., 38, 141 (1963)