

減圧が基質添加後の団粒の全炭素量に与える影響

武藤由子*・渡辺晋生*・新庄 彬*

T-C amount in soil aggregates under different pressures following substrate incorporation

Yoshiko MUTO*, Kunio WATANABE* and Akira SHINJO*

* Faculty of Bioresources, Mie University, 1515 Kamihama, Tsu, Mie 514-8507, Japan

Abstract

With the growing concern over the sustainable use of soil organic matter, it is important to know the relationship between microbial activity and the physics of soil. This study measured changes in the T-C in soil aggregate and crushed aggregate at sub-atmospheric and atmospheric pressures, following substrate incorporation, to examine the effect of decompression on microbial activity in soil. The T-C decreased rapidly in the beginning and decreased more slowly at later time stages. The decrease in T-C varied with pressure. The decrease in T-C was greatest at a gauge pressure of approximately -20 kPa. The decrease also differed between the aggregate and crushed aggregate samples. These results suggest that the chemical potential of soil water changes with decompression, affecting the vital activity of microbes. Furthermore, soil aggregates play an important role in this activity.

Key words : Decompression, Total carbon amount, Microbe, Soil water, Soil aggregate

1. はじめに

化学肥料や農薬の過剰な使用による環境汚染と農村地域における物質循環機能の崩壊が問題となっており、かつての伝統的な農業で行われた持続的循環型農業を現代社会に可能な形で再生することの重要性が指摘されている(増島, 1991)。また、大気中の二酸化炭素濃度の深刻な上昇を背景に、炭素化合物の農地への保持に関する研究が行われており、土壌の持つ物質循環機能への関心が高まっている(Jacincthe *et al.*, 2002)。

土壌における物質循環過程には、土壌微生物の活動が深く関係している。土壌微生物が生産する物質は作物に養分として供給され、土壌微生物自体も養分の貯蔵庫としての役割を果たす(関・坂本, 1996)。有機性資材の施用と微生物バイオマス量の関係については多くの研究が行われており、これまでに有機性資材の連用年数の短い土壌で有機性資材の施用による全微生物バイオマス量の増大割合が大きいこと等が報告されている(Sakamoto and Oba, 1991)。様々な環境問題を解決していくために

は、土壌中での土壌微生物の生活の詳細をさらに明らかにし、その活動を制御することが求められる。

土壌微生物の住み場所は土壌粒子を骨格とした微細な孔隙で、土壌微生物の活動と土壌の物理的性質は相互にかつ複雑に影響し合っている。中でも全ての生物の生命活動に欠くことのできない水分は、土壌微生物にとってもまた重要な物質である。服部(1967)は土壌細菌の住み場所としての土壌団粒が、水分保持力の弱い比較的大きい孔隙から成る「団粒外部」と水分保持力の強い比較的小さい毛管孔隙から成る「団粒内部」に分化していることを示した。そして、土壌の水分条件の表現法のうち、そのエネルギー状態を表す水分ポテンシャルを用いると、土壌の種類を越えて微生物の生活をより統一的に扱うことを示唆した(服部, 1980)。この土壌水のエネルギー状態と土壌微生物量の関係については、田中(1972)によって、全菌数とグラム陰性細菌数が土壌水分ポテンシャル(pF)の値に反比例した一次回帰式で表されることが示されている。また松口ら(1973)は、試料のpF値から最小気相孔隙径を求め、微生物の生育と孔

* 三重大学生物資源学部 〒514-8507 三重県津市上浜町 1515

キーワード: 減圧, 全炭素量, 土壌微生物, 土壌水, 団粒

隙の大きさ・水分状態との関係を調べた。その結果、細菌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するのに対し、放線菌と糸状菌の生育に適した気相孔隙の大きさは土壌の種類によって異なることが示された。上野ら (2002) は、酸性硫酸塩土壌を用いた実験で、水分条件が -31.0 kPa 付近で鉄酸化細菌の活性が高まり土壌の酸性化が速まることを明らかにした。さらに、同じく酸性硫酸塩土壌で、水分条件が $-35 \sim -220$ kPa (pF 2.55 \sim 3.35) の場合に土壌呼吸量が多いことを示した (上野ら, 2003)。これらの研究では、土壌の水分含量を土壌水分ポテンシャルに置き換えて表すことにより、各実験の結果を種々の土壌について相互に比較検討することを可能とした。しかし、土壌の水分含量を変えることによる気相と液相の比や基質濃度の変化等による影響については考慮されていない。

そこで本研究では、土壌微生物の活動が土壌水のエネルギー状態にどのように影響されるかを調べるために、土壌の水分含量・気相と液相の比・基質濃度の等しい土壌試料を用いて、ゲージ圧と試料の全炭素 (T-C) 減少量の関係を調べた。減圧によって、土壌微生物の活動に関わる土壌水のエネルギー状態を制御できると考えられる。試料には土壌微生物の活動の単位環境と考えられる団粒を土壌より分画して用いた。

2. 実 験

2.1 試 料

三重県津市安濃町の畑地 (黒ボク土) において表土 (0 \sim 10 cm) を採取した (採土日: 2003年5月19日)。採土

時、作物の栽培は行われておらず、地表は雑草に覆われていた。土壌採取圃場の土壌物理性を表1に示す (鬼頭, 2003)。採取直後の含水比は 0.19 kg kg^{-1} であった。採取した土壌を、孔径 0.85, 1.70, 2.36 mm の組フルイを用いて乾式篩別法によりフルイ分けした。孔径 0.85 mm のフルイ上に残った団粒を試料 A, 孔径 1.70 mm のフルイ上に残った団粒を試料 B とした。また、試料 B を乳鉢でパウダー状に粉碎したものを試料 C とした。顕微鏡観察の結果、試料 C には径が 0.2 mm 以下の微細団粒が残っていた。なお、植生の影響を排除するために試料中に混入した植物とその種子を取り除いた。各試料の諸物性を表2に示す。最大容水量を測定する際の容器への試料の充填は、各試料とも器具を使わない方法で行った。表2より、試料 A \sim C の諸物性はほぼ等しいといえる。

2.2 培養の方法と条件

室温で約 10 日間、各試料を前培養した後、以下の方法で培養を行った。試料 A \sim C の乾土 10 g 相当量を 60 mL 容の円筒形ガラス器 (秤量瓶: 内径 42 mm, 高さ 43 mm) に入れた。このとき、最大容水量の測定時と同様、器具等を用いた充填を行わないこととした。基質として、硫酸アンモニウム溶液とグルコース溶液を試料の全窒素 (T-N) 量と全炭素 (T-C) 量がそれぞれ 2 mgN g^{-1} 乾土, 30 mgC g^{-1} 乾土となるように添加した。また、試料の水分含量は最大容水量の 60% とした。これらの試料をデシケータに入れて減圧した。減圧は、デシケータ内の圧力条件が、ゲージ圧で $-60, -40, -30, -20, -10, 0$ kPa となるように行った。デシケータ内の相対湿度を 100% に保ち、 27°C の恒温槽内で培養した。恒温

表-1 採取土壌の土壌物理性

Table 1 Physical and chemical properties of the field

粒度組成 (%)			土性	飽和透水係数 (m/s)	有機物含量 (強熱減量, %)
粘土	シルト	砂			
18	25	57	植壤土 CL	3.98×10^{-5}	10.39

表-2 試料の諸物性

Table 2 Physical and chemical properties of the sample

試料	団粒径 mm	最大容水量 $10^{-2} \text{ kg kg}^{-1}$	T-C mg g^{-1}	T-N mg g^{-1}	C/N	pH (H ₂ O) (1:2.5)	EC (1:5) S/m
A	0.85 \sim 1.70	43	20.9	1.4	14.9	6.6	5.5
B	1.70 \sim 2.36	43	19.9	1.4	14.2	6.6	5.4
C	Bを粉碎	88					

槽内は暗黒条件とした。培養によってデシケータ内の酸素量が減少することを考慮して、1日に1回の換気を行った。培養中、試料の水分量は各試料の最大容水量の56~65%に保たれた。時間経過による水分量の減少は見られなかったため、培養中の水分補正は行わなかった。なお、培養は全ての条件について2連で行った。

2.3 T-C量の測定

培養後の試料を乳鉢を用いて粉碎した後、3点の試料(1点につき約100mg)を採取した。これらのT-C量を乾式燃焼法で測定した(NCアナライザーNC-800:住化分析センター)。T-C量の測定は、試料Bでは全ての減圧条件について培養開始から0, 2, 4, 7, 12, 15日後に行った。また、試料AとCでは全ての減圧条件の0, 15日後に行った。

3. 結果と考察

3.1 減圧条件下におけるT-C量の経日変化

図1に試料B(団粒径1.70~2.36mm)を各減圧条件下で培養したときの、T-C量の経日変化を示した。全ての減圧条件において、試料のT-C量は培養開始後4~7日目までは大きく減少し、その後は緩やかに減少した。本実験では植物を取り除いた試料を暗黒条件で培養したので、試料のT-C量の変化に影響すると考えられる要因は土壤微生物の酸素呼吸による二酸化炭素の発生と炭酸固定であるといえる。山口ら(1995)は、径が0.5~2mmの団粒試料に基質として硫酸アンモニウム溶液とグル

コース溶液を添加し、培養中のバイオマスN量の経日変化を測定した。その結果、バイオマスN量は基質を添加した1日後に急増し、その後は指数関数的に減少して12日後に基質添加前の生土の値とほぼ等しくなり一定となった。山口ら(1995)の実験と本実験では実験条件がほぼ等しいことから、本実験の培養試料でも山口ら(1995)と同様なバイオマスN量の経日変化があったと考えられる。以上のことから、培養前半(0~7日後)のT-C量の急激な減少は、急増した土壤微生物が行ったグルコースを炭素源とした酸素呼吸によるもので、培養後半(7~15日後)のT-C量の緩やかな減少は、土壤微生物量が減少し残った土壤微生物が死滅菌体を炭素源として酸素呼吸を行ったことによるものであると考えられる。

図2に、培養15日後のゲージ圧とT-C量の関係を示した。T-C量は培養時の圧力条件によって異なった。測定値のバラツキを考慮すると、今回の減圧条件の範囲ではゲージ圧が-30~-20kPaでT-C量が最も少なくなったと考えられる。培養15日後の添加Cの残存率は、培養中に減少した全ての炭素が基質として添加したグルコースに由来するものと仮定すると15~35%であった(図3)。全ての培養条件と期間においてグルコースに由来する炭素は残っており、各実験条件において土壤微生物の酸素呼吸に必要な炭素源が絶対量として不足したことによる影響はなかったと考えられる。

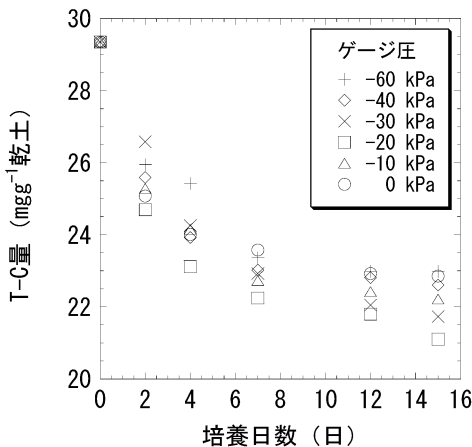


図-1 T-C量の経日変化(試料B: 団粒径1.70~2.36mm)

Fig. 1 Changes in the T-C amount in soil aggregate. (Sample B: Aggregate size 1.70~2.36 mm)

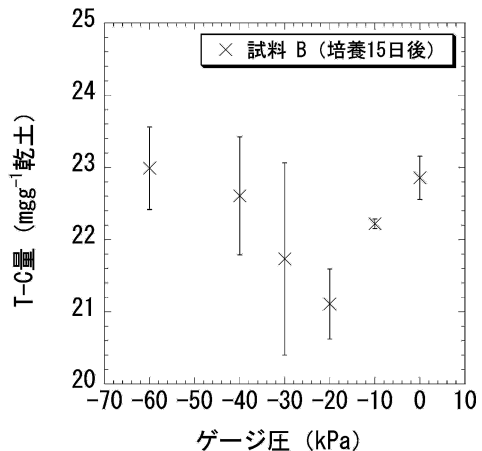


図-2 ゲージ圧とT-C量の関係(試料B: 団粒径1.70~2.36mm, 培養15日目)

Fig. 2 T-C amount when the samples were placed under different gauge pressure for 15 days. (Sample B: Aggregate size 1.70~2.36 mm)

3.2 減圧条件と相対C減少量の関係

図4に試料B(団粒径1.70~2.36mm)を各減圧条件下で培養したときの、ゲージ圧と相対C減少量の関係を示した。相対C減少量は、培養中のT-C減少量をゲージ圧0kPaを基準に評価したものである。培養後2,4日目では顕著な相対C減少量のゲージ圧依存性は見られなかったのに対し、7日目以降では相対C減少量がゲージ圧に依存した。7日目以降の相対C減少量は、ゲージ圧が-20~0kPaの範囲では減圧に伴って増加したが、ゲージ圧が-20kPaよりも小さい場合には減圧に伴って減少し、ゲージ圧が-60kPaでほぼ1となった。

環境相の圧力が小さくなると土壌水のエネルギー状態が相対的に大きくなり、土壌微生物の活動にとって有利な水分条件になることが予想される。一方、酸素量は土壌微生物の酸素呼吸を制限する因子であるが、デシケータ内の酸素量は減圧量に比例して減少する。そこで、減圧による土壌水のエネルギー状態の変化が相対C減少量を対数的に増加させ、逆に酸素量の減少が相対C減少量を比例的に減少させると仮定すると、ゲージ圧と相対C減少量の関係は上記の2つの効果の足し合わせで表され、図4に示された様なゲージ圧と相対C減少量の関係が得られると思われる。しかしながら、T-C量の変化には炭酸同化など上述の2つ以外にも影響する効果があると考えられる。今後、相対C減少量に対する各々の効果を明らかにしていく必要がある。

水のエネルギー状態が微生物に与える影響を調べた研

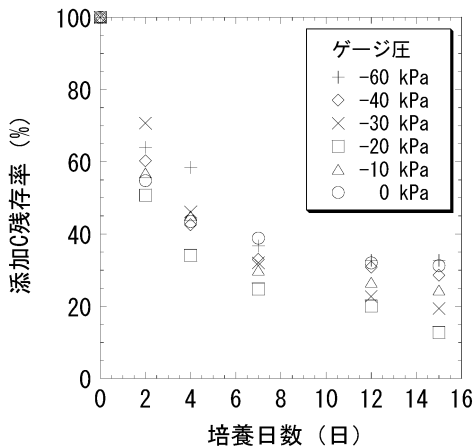


図-3 添加C残存率の経日変化(試料B: 団粒径1.70~2.36mm)

Fig. 3 Changes in the C_{glucose} amount in soil aggregate. (Sample B: Aggregate size 1.70~2.36 mm)

究に、橋本ら(1999)の大腸菌や枯草菌等の懸濁液に疎水性ガスを溶解させて水を構造化させると、細菌の死滅抑制効果があることを明らかにしたものがある。これは、水の構造化が細胞内の基質の移動速度を低減させ細胞の代謝速度が抑制されたことによると考えられたものである。これまで、土壌微生物については複雑な土壌構造における水の分布状態という点で土壌水のエネルギー状態が着目されてきた。しかし、土壌水のエネルギー状態その物も、土壌微生物の代謝に影響していると考えられる。土壌の物質循環過程での土壌微生物の活動を制御するためには、土壌水のエネルギー状態が土壌微生物の代謝に与える影響についても明らかにされることが重要であろう。

また培養中、一日に一度の換気を行ったが、24時間に土壌微生物が必要とする酸素量がデシケータ内の酸素量を上回る場合には、デシケータ内の酸素量がT-C減少量の制限因子となる。基質を添加した後の土壌微生物の増殖によって、土壌呼吸速度は急激に増加するので、特にゲージ圧が大きい条件で行った培養の初期においてはデシケータ内の酸素量が相対C減少量に影響している可能性がある(日本土壌微生物学会編, 2000)。今後はデシケータ内の酸素量を把握した実験を行い、各培養段階でのゲージ圧と相対C減少量との関係を明らかにする必要がある。

3.3 試料の構造と相対C減少量の関係

図5に試料A(0.85~1.70mm), B(1.70~2.36mm),

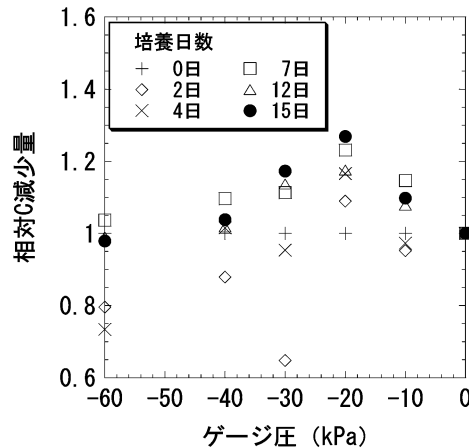


図-4 ゲージ圧と相対C減少量の関係(試料B: 団粒径1.70~2.36mm)

Fig. 4 Relative T-C amount of sample B, which was placed under different gauge pressure. (Sample B: Aggregate size 1.70~2.36 mm)

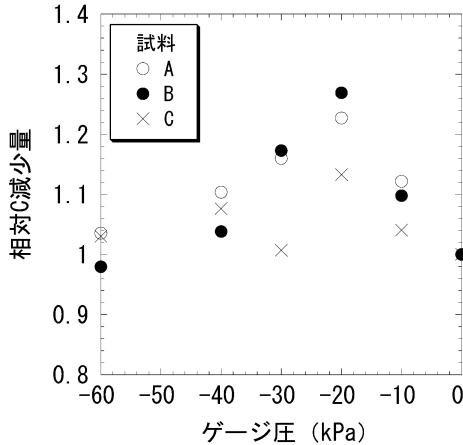


図-5 ゲージ圧と相対C減少量の関係(培養15日目)
 Fig. 5 Relative T-C amount when the samples were placed under different gauge pressure for 15 days.

C (Bを粉碎)を各減圧条件下で15日間培養したときのゲージ圧と相対C減少量の関係を示した。相対C減少量は、団粒試料である試料AとBでは減圧に伴って、ゲージ圧が-20~0 kPaの範囲では増加し、ゲージ圧が-60~-20 kPaの範囲では減少した。一方、試料Bをパウダー状態に粉碎した試料Cでは、試料A、Bと同様ゲージ圧が-20 kPaのときに相対C減少量が最大となったが、試料A、Bほどはっきりとしたゲージ圧と相対C減少量の関係は示されなかった。団粒内の孔隙の大きさは様々で、土壤微生物の生活に重要な影響を及ぼす土壤水のエネルギー状態はこの孔隙の大きさによって異なる。したがって、団粒内の土壤微生物の分布状況は均一でないと考えられる(服部, 1976)。一方、団粒を破壊した試料の孔隙サイズは破壊前の団粒に比べて均一で土壤水のエネルギー状態に幅がなく、土壤微生物の分布状況も比較的均一になると考えられる。本実験の結果は限られた6種の圧力条件における相対C減少量を比較したものである。以上のことから、団粒試料を用いた場合で減圧が土壤微生物の分布状況に与える影響が表れやすかったと考えられる。また、T-Cの減少量には試料中のグルコースの分布状態も影響すると考えられる。特に団粒試料の場合には、グルコースが団粒の外部から内部へ向けてどの位置まで到達して分解されたのかも重要な要因の1つであろう。

4. おわりに

土壤の水分含量・気相と液相の比・基質濃度が等しい

土壤試料を用いて、異なるゲージ圧で培養した土壤のT-C減少量を測定した。その結果、相対C減少量はゲージ圧が-20~0 kPaの範囲では減圧に伴って増加し、-60~-20 kPaでは減圧に伴って減少した。これは、減圧によって土壤水のエネルギー状態と酸素量に変化したことによると考えられる。また、相対C減少量のゲージ圧依存性は、団粒を粉碎した試料よりも団粒試料を用いた場合に強いことが示された。これは、団粒内の土壤微生物の分布状態によって減圧の影響が異なったことによると思われる。今後は、減圧による酸素量の減少が相対C減少量に与える影響を明らかにする必要があるだろう。

謝 辞

本研究に際し、三重大学 生物資源学部 新垣雅裕教授、武田明正教授、木佐貫博光助教授、松田陽介助手、三重大学大学院 生物資源学研究所 林佐智子氏に御協力頂きました。平井 悟氏・平井とも子氏には貴重な土壤試料を提供して頂きました。東京大学大学院 農学生命科学研究科 溝口勝助教授には貴重なご助言を賜りました。ここに記し、心より感謝致します。なお本研究の研究費は科学研究補助金(特別研究員奨励費)によるものです。

引用文献

橋本 篤・亀岡孝治・椎木靖彦・伊藤健介(1999):疎水性ガス圧力下における水の構造化を利用した細胞の代謝抑制. 化学工学論文集, **25**: 189-194.

服部 勉(1967):土壤の団粒構造と微生物. 東北大農研報, **18**: 159-193.

服部 勉(1976):団粒理論の背景と課題. 土と微生物, **18**: 1-5.

服部 勉(1980):土壤微生物の住み場所をめぐる物理的諸問題. 土壤の物理性, **41**: 2-16.

Jacinthe, P.A., Lal, R. and Kimble, J.M. (2002): Effects of wheat residue fertilization on accumulation and biochemical attributes of organic carbon in a central ohio luvisol. Soil Science, **167**: 750-758.

鬼頭靖明(2003):農地土層の団粒分布と土壤侵食に関する基礎的研究. 三重大学生物資源学部 修士論文.

増島 博(1991):農地の持つ浄化機能と持続的農業. 農業土木学会誌, **59**: 33-38.

松口龍彦・蘭 道生・石沢修一・鈴木達彦(1973):土壤構造と微生物. 土壤の物理性, **28**: 9-14.

日本土壤微生物学会編(2000):新・土の微生物(6)一生態的にみた土の菌類-. p. 114, 博友社.

Sakamoto K. and Oba Y. (1991): Relationship be-

tween the amount of organic material applied and soil biomass content. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **37**: 387-397.

関 鋼・坂本一憲 (1996): 各種畑土壌における微生物バイオマス窒素・炭素量と主要な土壌理化学性との関係. *土肥誌*, **67**: 1-6.

田中 博・坂本正幸 (1972): 土壌伝染性細菌の生態と土壌の物理的環境要因 (4) —細菌数と土壌水分ポテンシャル (土壌水分吸引力, pF) の関係—, *東北大農研報*, **23**: 141-158.

上野 薫・足立忠司・成岡 市 (2002): 児島湖底堆積

土の酸性化過程における温度・水分条件の影響. *土壌の物理性*, **91**: 15-23.

上野 薫・足立忠司・成岡 市 (2003): 酸性硫酸塩土壌の水分状態が土壌呼吸活性に及ぼす影響. *土壌の物理性*, **93**: 35-45.

山口知幸・浜田龍之介・坂上寛一・田中治夫 (1995): 団粒外部および内部における基質添加後の土壌微生物バイオマスの動態. *土肥誌*, **66**: 140-145.

受稿年月日: 2003年9月22日

受理年月日: 2004年1月14日