

自然教育園の土壤

—— 一カテナにおける土壤微生物相 ——

坂上寛一*・奥山篤司*・田中治夫*・浜田龍之介*

Soil in the Institute for Nature Study

Status of Soil Microflora
of a Hydro-catema

Kan-ichi Sakagami,* Atsushi Okuyama,*
Haruo Tanaka* and Ryunosuke Hamada*

1. ま え が き

自然教育園の土壤については多くの報告（坂上ら, 1978; 平山ら, 1978; 坂上・山崎, 1978; 坂上ら, 1980; 坂上ら, 1984）がある。植生と微生物について坂上ら（1984）は、微生物の生育環境として重要なのは植生そのものではなく、 A_0 層の発達状態、水分環境などであると報告している。

土壤微生物数は自然環境条件の変化に応じて変動する。特に土壤最表部は外界の環境条件の影響を強く受けるため、その土壤微生物相は環境条件を反映した形をとる。降雨により土壤の水分含量は増すが、後に降雨がなければ、やがて風乾状態になる。乾燥に伴い土壤微生物数は減少する（Chen & Alexander, 1973）。特に、水分変化に敏感なグラム陰性菌はグラム陽性菌に比べて大きくその菌数を減少させる（津山, 1962）。服部（1967）は土壤微生物の微視的な観点から、土壤の団粒内部、団粒外部の水分条件の違いによる土壤微生物の住み場所の違いを指摘した。つまり、団粒内部は水分変化が少ないため、乾燥に弱いグラム陰性菌が多く存在し、団粒外部では水分変化が大きいため、乾燥に耐え得るグラム陽性菌が多く存在するというものである。これに対して、木曾ら（1978）はグラム陰性菌の中にも比較的乾燥に耐え得るグループの存在を指摘している。また、水分変化と微生物数の変化に関してLow（1968）は、粘土のゲルからゾルへの変化に伴い、イオン活性と水の性質が変化するために、微生物の活性に相違が生じ、その結果、微生物数に変化が起こることを報告している。

自然教育園は起伏に富んでいる。土壤微生物数は土壤の水分、温度、pHなどの環境条件と有機物の組成などの影響を受けると考えられるが、温度は各地域ごとの海拔高などによって基本的に支配される気候条件の影響が大きく、pHは有機物の分解の良否によって二次的に影響され、また、植物遺体の組成は

* 東京農工大学農学部, Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology

樹種の影響が大きい。土壌の水分環境は基本的には地形的因子, すなわち, 大部分の森林土壌に共通な斜面地形の影響によって支配される。したがって, 水分環境以外の因子はむしろ二次的な影響にとどまると考えられる。よって, 微地形の差異から生じる水分環境が土壌微生物相を規定する大きな要因となる。傾斜地では, その斜面位置によって水分条件が異なり, 下部では水分も多く, 地下水位も高い。そこで本研究では, 地形によって生じた異なる水分条件にあるいくつかの土壌 (カタナ) の微生物相を調査した。また, 現地点における水分環境の違いが, 土壌を風乾処理した後の微生物および微生物相の変化にどのように反映されるかを調査した。

2. 供試土壌と実験方法

1) 供 試 土 壌

自然教育園内のさんしょう魚の沢から南の方角に面した斜面に, Hydro-catena を設定し直線上に4つの採取地点を設け, 下部からA, B, C, D地点とした(図1)。各地点の低木植生は, A, C地点ではアオキ, シュロ, アズマネザサ, B, D地点ではアオキ, 高木植生は, A地点ではミズキ, B, C地点ではコナラ, D地点ではスダジイが見られた。土壌採取は1988年7月26日, 降雨3日後に行った。各地点, 小枝や落葉など未分解の植物遺体からなるA₀層を除去した後, 表層10cm以浅の土壌を採取した。採取後直ちに実験室に持ち帰り, 2mmの篩を通し植物残渣を取り除き生土試料とした。また先に調整した生土を室温で29日間風乾し, 風乾土試料とした。

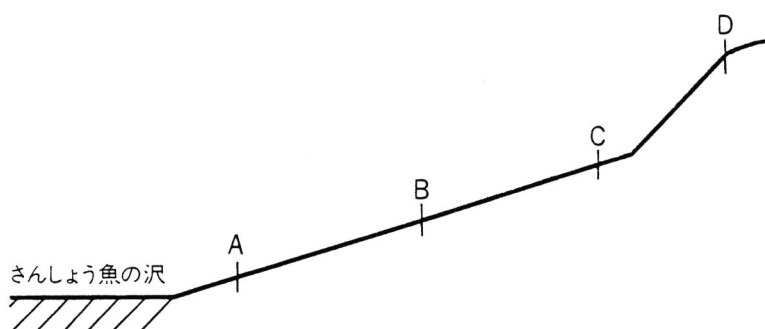


図1. 土壌採取地点の模式断面図
(A地点とD地点の標高差は約15m)

2) 微生物数の測定

各地点の生土, 風乾土について全細菌数, 放線菌数, グラム陰性菌数とそれぞれの孢子数, およびDNB放線菌数を希釈平板法で測定し, 糸状菌数を塗抹平板法で測定した。なお, ここでいう孢子とは, 孢子の耐熱性を利用し, 土壌希釈懸濁液を80°Cに保った湯浴中に10分間ひたし無菌的に熱処理を加え(土壌微生物研究会, 1975), 栄養細胞を死滅させて生き残った耐熱性孢子のことである(以下, 孢子と略記する)。全細菌数, 放線菌数, およびそれぞれの孢子数の測定には, 肉汁・ペプトン・寒天培地(土壌微生物研究会, 1975)で1週間, グラム陰性菌数, およびその孢子数の測定には, 肉汁・ペプトン・寒天培地に培地1ℓ当0.3%クリスタル紫5mℓ添加した培地で2週間, DNB全細菌数, DNB放線菌数の測定には, 1/100の濃度の肉汁・ペプトン・寒天培地で1週間, 糸状菌数の測定には, ローズベンガル寒

天培地（土壤微生物研究会，1975）で4日間，いずれも25°Cで培養した。出現したコロニーを計数し，乾土1 g当たりの菌数を求めた。

3) 供試土壤の土壤水の測定

生土の含水率を105°C乾燥重量法（土壤標準分析・測定法委員会，1986）により，また，最大容水量をHilgard法（川口・小島，1965）により求めた。最大容水量に対する採取時の容水量（生土の含水率）の割合を相対容水量（%）とした。

3. 実 験 結 果

1) 各地点の水分条件

生土の含水率，最大容水量，および相対容水量を表1に示した。含水率は斜面最下部のA地点が60.2%と最も高く，B地点，C地点と上部になるにつれて低くなったが，斜面最上部のD地点ではA地点に次いで高かった。最大容水量はD地点が294%と最も高く，C地点，B地点と下部になるにつれて低くなったが，A地点はD地点に次いで高かった。また相対容水量は，微生物に対する水分環境の指標となると考えられるが，A地点で62.4%と最も高く，B，C，D地点の順に斜面上部ほど低い値であった。

表1. 生土の含水率 最大容水量 相対容水量

	含水率(%)	最大容水量(%)	相対容水量(%)
A	60.2	243	62.4
B	50.8	206	50.0
C	47.8	220	41.6
D	54.6	294	41.0

2) 各地点の微生物数

生土における各種菌数を表2に示した。全細菌数は $10^7 \sim 10^8$ のオーダーであったが，A地点がやや高く，他の地点ではほとんど差がみられなかった。孢子型全細菌数については各地点 10^6 でA地点でわずかに高く，他の地点では差がみられなかった。

放線菌数は 10^6 のオーダーであったが，A，B地点が高く，C，D地点が低かった。孢子型放線菌数については各地点 $10^4 \sim 10^5$ でA，C，D地点が高く，B地点が低かった。

グラム陰性菌数は 10^5 のオーダーで，A地点で最も高く，以下B，C，D地点の順に高かったが，地点間に顕著な差はみられなかった。孢子型グラム陰性菌は希釈平板法によってはコロニーが形成されず，その存在を認めることができなかった。

糸状菌数は 10^4 のオーダーで，D地点が最も高く，以下，C，B，A地点の順に高かった。

DNB全細菌数は $10^7 \sim 10^8$ のオーダーで，A地点が最も高く，他の地点では差がみられなかった。DNB放線菌数については， $10^6 \sim 10^7$ のオーダーで，A地点が他の地点に比べてかなり高かった。

表 2. 生土の微生物数

(／1 g 乾土)

	A	B	C	D
全細菌	11.2×10^7	4.04×10^7	3.61×10^7	3.55×10^7
〃 (孢子)	4.46×10^6	2.58×10^6	2.65×10^6	2.69×10^6
放線菌	6.16×10^6	7.12×10^6	4.16×10^6	5.10×10^6
〃 (孢子)	12.4×10^4	6.73×10^4	16.1×10^4	11.0×10^4
グラム陰性菌	6.63×10^5	4.71×10^5	3.80×10^5	3.60×10^5
〃 (孢子)	*	*	*	*
糸状菌	2.22×10^4	2.33×10^4	3.20×10^4	6.10×10^4
DNB全細菌	14.8×10^7	5.11×10^7	4.93×10^7	4.70×10^7
DNB放線菌	22.7×10^6	8.75×10^6	5.70×10^6	5.14×10^6

(＊) 3次希釈液でコロニー認められず

3) 風乾処理による各種菌数の変化

風乾土における各種菌数を表3に、風乾処理による各地点の微生物数の変化を図2に示した。この微生物数の変化をみることによって次のようなことが言えた。

表 3. 風乾土の微生物数

(／1 g 乾土)

	A	B	C	D
全細菌	5.24×10^6	4.23×10^6	3.15×10^6	2.74×10^6
〃 (孢子)	7.51×10^5	7.75×10^5	7.49×10^5	7.82×10^5
放線菌	8.94×10^5	6.81×10^5	4.35×10^5	3.32×10^5
〃 (孢子)	12.8×10^4	7.21×10^4	5.93×10^4	5.22×10^4
グラム陰性菌	5.60×10^3	14.4×10^3	50.9×10^3	62.2×10^3
〃 (孢子)	*	*	*	*
糸状菌	1.63×10^4	2.01×10^4	2.99×10^4	4.98×10^4
DNB全細菌	10.5×10^6	5.27×10^6	4.19×10^6	4.98×10^6
DNB放線菌	5.22×10^5	6.01×10^5	7.00×10^5	8.85×10^5

(＊) 2次希釈液で10以下のコロニーが出現

全細菌数は風乾処理により各地点ともオーダーが $10^1 \sim 10^2$ 低くなった。風乾処理により地点間の差異が小さくなった。孢子型全細菌数についても同様の傾向を顕著に示した。

放線菌数は風乾処理により各地点ともオーダーが 10^1 低くなり、各地点での変化の程度に差はあまりみられなかった。孢子数については、A, B地点では風乾処理による変化はみられず、C, D地点では風乾処理により低くなった。

グラム陰性菌数については風乾処理によりオーダーが $10^1 \sim 10^2$ 低くなり、特にC, D地点に比べてA, B地点の変化の程度が大きかった。

糸状菌数は風乾処理による変化の程度はわずかであった。

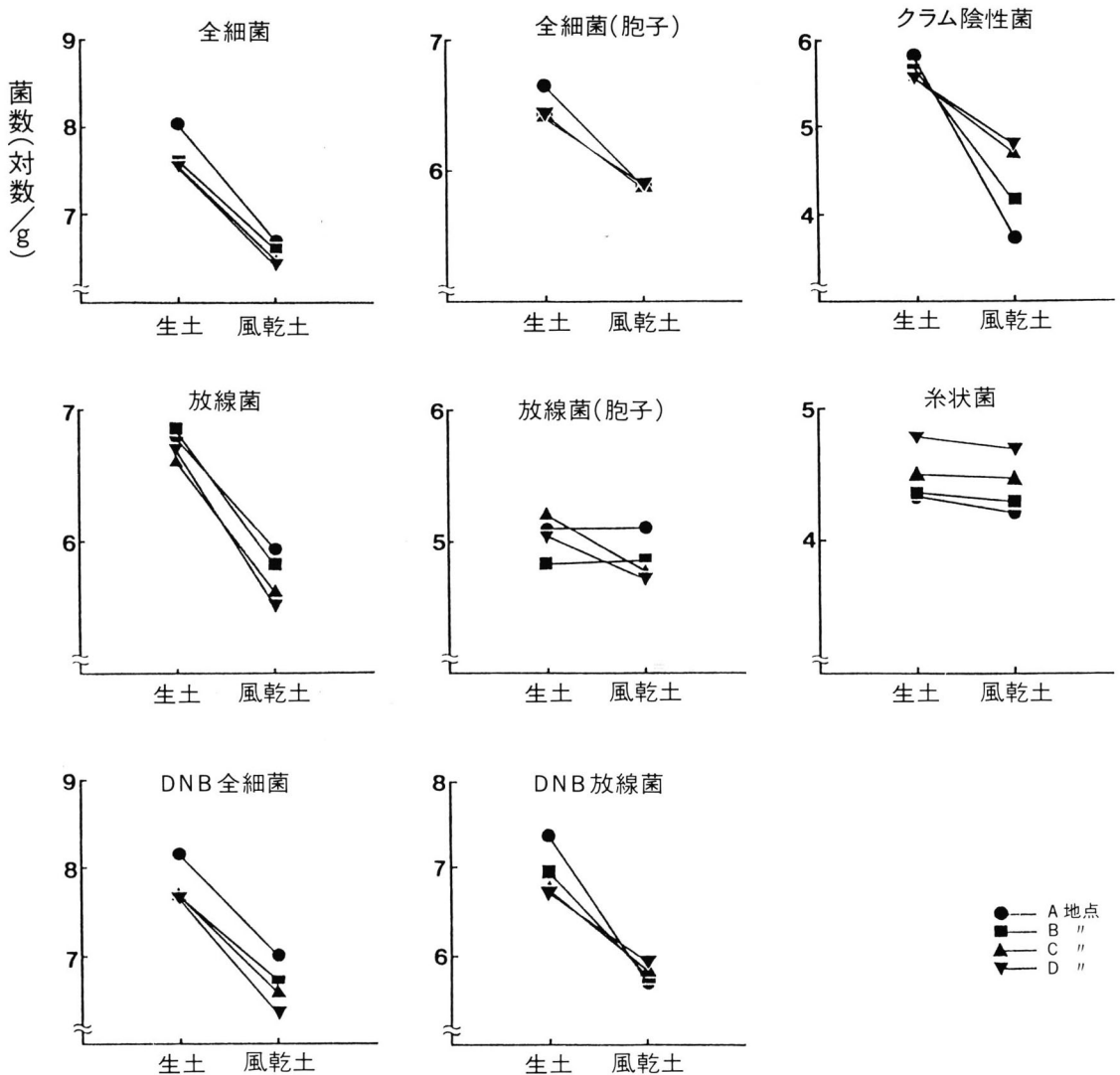


図2. 風乾処理にともなう菌数の変化

DNB全細菌数については全細菌数とほぼ同じ結果であったが、DNB放線菌数については風乾処理によって各地点オーダーが 10^1 低くなり、各地点で変化の程度に若干差が見られ、A、B地点でより低下した。

4) 全細菌数に対する各種菌数の比率の変化

風乾処理による全細菌数に対する各種菌数の比率の変化を図3に示した。

A/B値(放線菌数/全細菌数)は生土でA地点が最も低く、D、C、B地点の順に高くなった。風乾処理によりA地点の値が高くなり、変化の程度が大きかった。D地点においても若干上昇したが、C、B地点は若干低下した。

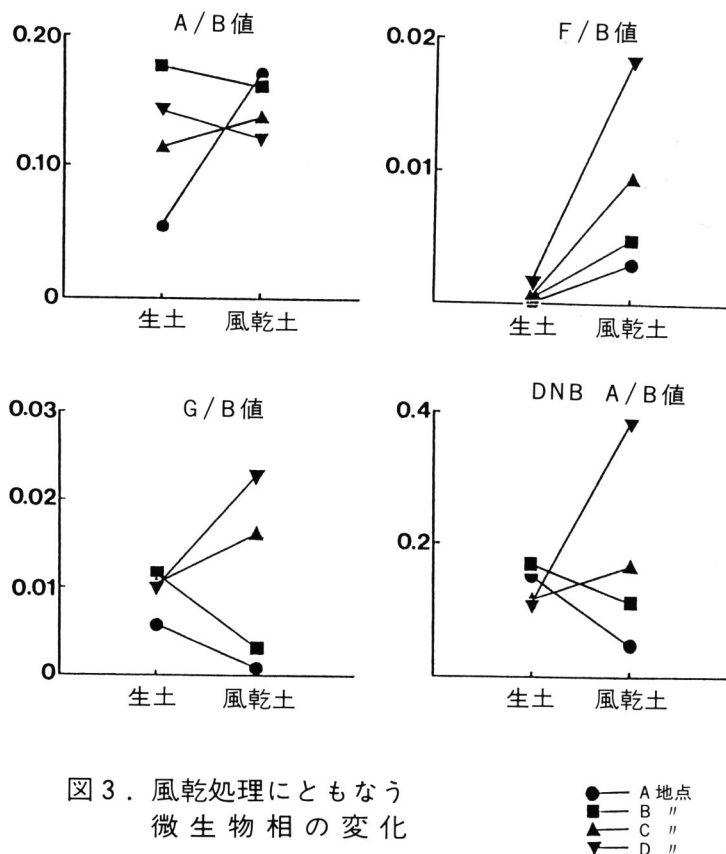


図 3. 風乾処理にともなう
微生物相の変化

F/B 値 (糸状菌数/全細菌数) は生土では各地点とも非常に低かったが、風乾処理によって各地点とも高くなり、特に C、D 地点の値が高くなった。

G/B 値 (グラム陰性菌数/全細菌数) は生土ではさほど差がなかったが、風乾処理によって A、B 地点は低くなり、C、D 地点は逆に高くなった。

DA/DB 値 (DNB 放線菌数/DNB 全細菌数) 生土では差がなかったが、風乾処理により A、B 地点が低くなり、D、C 地点が高くなった。

4. 考 察

今回の実験では、含水率は A、B、C、D 地点の順に低くはならなかった。これには A₀ 層の状態や土壌構造の違い、また、同じ値の含水率でも、そこに存在する土壌水分の性質の違いなどが影響していると考えられる。一方、含水率などの概念と異なる水分表示として水分張力 (pF) がある。竹中 (1964) は水分張力と含水率は一義的に対応しないことを示し、田中 (1974) は細菌数の増減に関する水分含量の表示には水分張力を用いる方が良い結果を得ると報告している。水分含量と微生物数の関係を厳密に明らかにするには、今後、水分張力との関係の検討が必要である。しかし、ここで用いた相対含水量は、pF の概念に近い指標である。その値は A、B、C、D 地点の順に低くなり、地形との対応がみられた。

土壌中のグラム陰性菌数は、一般にグラム陽性菌数より非常に少ない。このことは今回の実験からも明らかである。よって、全細菌数の変化はほとんどグラム陽性菌数の変化とみることができる。以下、グラム陰性菌数と対比するのに全細菌数を用いることにする。風乾処理によってグラム陰性菌数の変化の程度に、地点間の違いが明らかに認められたのに対し、全細菌数の変化の程度に各地点の違いはほとんどみられなかった。このようなグラム陰性菌数と全細菌数の傾向の違いを考える上で次の4点が重要である。グラム陰性菌数の変化の程度は斜面最下部のA地点で最も高かった。風乾処理により、A、B地点のG/B値が低くなり、C、D地点のそれが高くなった。グラム陰性菌(孢子)数がほとんど認められなかったようにグラム陰性菌で孢子形成をするものはごくわずかである(服部, 1987)。土壌団粒内部に多数存在するグラム陰性菌を希釈平板法で測定する場合、土壌希釈懸濁液を音波処理にかけ細菌を分散させないと、細菌の半数は測定されない(服部, 1966)とされるが、ここでは音波処理をしていない。以上のことから、グラム陰性菌は水分環境に対する反応が大きく、乾燥に弱い、風乾土で得られたグラム陰性菌数は、団粒外部にありながら乾燥に耐え得るグループと考えられる。そのグループの菌数の割合が地点によって異なることを示していると考えられた。

糸状菌数は生土で地点間の違いはみられたが、風乾処理による変化の差異はみられなかった。放線菌数では生土で地点間の違いはみられなかったが、風乾処理によって菌数が減少した。これらの結果は坂上ら(1984)が放線菌に、より耐乾性を認めた傾向と異なった。石沢ら(1958)は、糸状菌、放線菌は、乾性土壌ほど多くなるとしているが、Jensen(1934)は、オーストラリアの各土壌について放線菌は水分に無関係であり、糸状菌は水分が増すにつれて増加するとし、Eggleson(1938)は牧草土壌を供試し、放線菌数は水分の増加につれて若干増加し、糸状菌数は水分に無関係であるとしている。これらの傾向が異なる原因は明らかではないが、それぞれ基準と考える水分環境としてのpFあるいは相対含水量が異なっていることも考えられる。

全細菌については、風乾処理によって、その生菌数、孢子数ともに減少した。グラム陽性菌の多くは耐乾性の孢子形成をする(服部, 1987)とされているが、ここでの耐熱性の孢子が必ずしも耐乾性でないため、生菌数、孢子数の減少となったと考えられる。一方、放線菌については、風乾処理によって、生菌数は減少したが、孢子数は大きな変化がなかった。生菌体は乾燥に弱い、孢子は乾燥に耐え得るのであろう。

DNB全細菌数は全細菌数とあまり違いがなかった。服部(1987)によれば、DNB全細菌は低栄養条件での生存、活動によく適応し、塩に対して強い感受性を示し、通常肉汁培地ではアミノ酸によって増殖阻害されるものも生存できるため、菌数としては肉汁培地での希釈平板法による全細菌数よりもはるかに多いという。今後、有機物、塩類の影響を検討する必要があるだろう。

以上、傾斜地という一つのカテナにおける各種土壌微生物数について検討した結果、傾斜による水分条件の違いにより各地点での微生物相に違いがみられた。特にグラム陰性菌数について、生土は各地点で差はみられなかったが、風乾処理によって、その菌数の減少の程度がA地点では大きく、D地点では小さいという顕著な違いがみられた。この結果から、A地点よりも水分変化の大きいD地点では、風乾と湿潤の繰り返しにより、選択的に乾燥に強いものが生き残り、優勢種となっていると考えられる。森林土壌ではA₀層の形態も土壌水分に影響をおよぼすであろうし、温度、pH、有機物の組成、土壌団粒構造など水分条件をとりまく諸要因についても考慮にいれる必要がある。今後、これら水分条件を左右する各要因との関連など、より微視的な観点からの検討が必要である。

5. ま と め

自然教育園内の一カテナ上の4地点について、生土、風乾土における全細菌数、放線菌数、グラム陰性菌数とそれぞれの孢子数、糸状菌数、DNB全細菌数、DNB放線菌数を計数し、水分条件との関係を検討した。得られた結果は下記の通りである。

1. 最大容水量に対する採取地の容水量（相対容水量）は、最下部のA地点が最も高く、以下、B、C、D地点の順に高かった。
2. 生土における全細菌数とその孢子数はそれぞれ $10^7 \sim 10^8$ 、 10^5 、放線菌数とその孢子数はそれぞれ 10^6 、 $10^4 \sim 10^5$ 、グラム陰性菌数は 10^5 、糸状菌数は 10^4 、DNB全細菌数は $10^7 \sim 10^8$ 、DNB放線菌数は $10^6 \sim 10^7$ のオーダーで計測された。なおグラム陰性菌の孢子数の存在は希釈平板法では認められなかった。
3. 生土では、全細菌数とその孢子数、グラム陰性菌数、DNB全細菌数、DNB放線菌数はA地点で最も高く、D地点で最も低く、糸状菌数は逆にD地点で最も高く、A地点で最も低くなった。これらの菌数の多少は各地点の相対容水量とほぼ対応した。ただし放線菌数とその孢子数については関係がみられなかった。
4. 風乾処理による各地点の各種微生物数の変化の程度をみると、グラム陰性菌について、D地点では変化の程度が少なく、A地点では逆に大きいという顕著な違いがみられた。D地点はA地点に比べ常に水分変化が大きく、風乾と湿潤を繰り返すことにより、乾燥に耐え得るグループのグラム陰性菌が選択的に生き残り、その菌数の割合が高くなったためと考えられた。
5. 全細菌数、放線菌数、糸状菌数の風乾処理による変化は各地点で違いが認められなかった。

謝 辞

本実験の実施にあたって、自然教育園の関係各位に大変お世話になった。記して謝意を表する。

引 用 文 献

- 坂上寛一・山崎美津子・平山良治・浜田龍之介. 1978. 自然教育園の代表的植生の土壌と水分環境. 自然教育園報告, 8: 20—38.
- 平山良治・山崎美津子・坂上寛一・浜田龍之介. 1978. 自然教育園の土壌図. 自然教育園報告, 8: 39—59.
- 坂上寛一・山崎美津子. 1979. 自然教育園土壌の腐植の形態と水分環境. 自然教育園報告, 9: 51—60.
- 坂上寛一・菅原十一・浜田龍之介・黒部 隆. 1980. 自然教育園における降下ばいじんおよび土壌中の重金属. 自然教育園報告, 10: 5—17.
- 坂上寛一・久戸瀬哲・浜田龍之介. 1984. 自然教育園における植生と土壌微生物相. 自然教育園報告, 15: 13—19.
- Chen, M. & Alexander, M. 1973. Survival of soil bacteria during prolonged desiccation. *Soil Biol.*

- Biochem.*, **5** : 213—221.
- 津山博之. 1962. 白菜軟腐病に関する研究. 東北大農研彙報, **13** : 222—340.
- 服部 勉. 1967. 土壤の団粒構造と微生物. 東北大農研報, **18** : 159—193.
- 木曾政二・浜田龍之介・渡辺直吉. 1978. 畑土壤における全細菌数および硝化細菌数の動態 (第2報), 土壤中の細菌数におよぼす水分張力・温度の影響. 東京農工大農場報, **8** : 48—60.
- Low, F. P. 1968. Clay sols versus clay gels. Biological activity compared. *Science*, **161** : 897.
- 土壤微生物研究会編. 1975. 土壤微生物実験法. 45. 431. 434pp. 養賢堂.
- 土壤標準分析・測定法委員会編. 日本土壤肥料学会監修. 1986. 土壤標準分析・測定法 8—10. 博友社
- 川口桂三郎・小島 懋. 1965. 新改版農芸化学実験書 (増補) (京都大学農学部農芸化学教室編), 第1巻 : 270—272. 産業図書.
- 竹中 肇. 1964. 畑地における土壤水分張力と含水量の関係. 土肥誌, **35** : 260—264.
- 田中 博. 1974. 土壤細菌数と土壤水分ポテンシャル (土壤水分張力, pF, Bar) の関係. 土と微生物, **16** : 70—76.
- 服部 勉. 1987. 微生物の生態 15. (日本微生物生態学会編), 各種モデルとその利用 : 124—137. 学会出版センター.
- 服部 勉. 1966. 土壤中のグラム陰性菌群の変動性. 土肥誌, **37** : 298—301.
- 石沢修一・鈴木達彦・甲田知則・佐藤 修. 1958. 土壤の微生物とその作用に関する研究. 農技研報告, **B8** : 1—212.
- Jensen, H. L. 1934. *Proc. Linn. Soc.* LIX, **1** : 201.
- Eggleton, W. G. E. 1938. The Influence of Environmental Factor on Numbers of Soil Micoorganisms. *Soil Sci.*, **46** : 351—363.