

# 水田土壌作土層における物質および微生物の不均一分布と 粒団(第1報)

誌名	日本土壌肥料学雑誌 = Journal of the science of soil and manure, Japan
ISSN	00290610
著者	和田, 秀徳 ほか3名,
巻/号	45巻4号
掲載ページ	p. 204-207
発行年月	1974年4月

# 水田土壌作土層における物質および微生物の 不均一分布と粒団 (第1報)

非湛水期間の耐水性粒団の性状 (その 1)\*

和田秀徳\*\*・石井久一\*\*\*・辻 博和\*\*\*\*・高井康雄\*\*

土田土壌の作土層は、夏期湛水期間中、還元状態の発達のもとに、一見均質ないわゆる泥状構造を示すことが知られている<sup>1,2)</sup>。このような畑土壌、森林土壌などとは様相を著しく異にする水田土壌の作土層の構造ないしは物理性については、これまでに少数の研究が行なわれているにすぎない<sup>1-9)</sup>。しかもそれらの研究においては、水田土壌作土層における物質および微生物の微細な不均一分布に対しては、ほとんどふれられていなかった。ただ川口・喜田<sup>10)</sup>は、非湛水期間の水田土壌の耐水性粒団を研究し、粒団の粒径の大小に対応して、その化学組成が変化することを明らかにしている。また夏期湛水期間に野外の水田土壌を詳細に調査した結果、泥状の作土層中に種々の形態の斑紋および比較的崩壊しにくい粒団が含まれていることが見だされている<sup>9,11)</sup>。したがって夏期湛水期間に泥状構造を呈している水田土壌作土層においても、土壌粒子が完全に分散され、均一に分布しているとは考えにくく、むしろ物質および微生物の不均一な分布と、それに規制されて生じる物質変化、土壌粒子の集合状態などの不均一性とが、この作土層の動態を支配している重要な因子となっていると推測される。事実、古坂ら<sup>12,13)</sup>は、水田土壌中で硫酸還元菌が不均一に分布していることを報告しており、西垣ら<sup>14)</sup>は、野外の水田土壌作土層において、Eh の局所的な変動があることを認めている。なお湛水前に水田土壌作土層に存在していた土壌構造および物質・微生物の不均一分布は、湛水後の作土層の不均一性を規制しているとともに、湛水期間に作土層に存在していた不均一性は、落水後、作土層に発達する土壌構造に対して何らかの形で寄与していることが予想される。

以上のような考察に基づいて一連の研究を実施するに当たり、その第一段階として、まず非湛水期間の水田土壌作土層の物質および微生物の不均一分布を、粒団の構

成を中心として追跡した結果をここに報告する。

## 1. 耐水性粒団の理化学的性質

### 実験方法

供試土壌：長野県農業試験場（長野市中御所町）水田の作土層より、落水後に、自然の土壌構造をなるべく破壊しないように注意しつつ土塊を採取し、実験室に持ちかえった（1969年10月）。この土塊を川口・喜田の方法<sup>15)</sup>に準じて風乾し、ついで沸化したのち、水中で篩を用いて各種の粒径（<5メッシュ（>4mm）、5~16メッシュ（4~1mm）、16~32メッシュ（1~0.5mm）、32~60メッシュ（0.5~0.25mm）、60~150メッシュ（0.25~0.1mm）、150~200メッシュ（0.1~0.074mm）、>200メッシュ（<0.074mm））の画分に分画した。このようにして得られた諸画分のそれぞれをいったん風乾し、形態観察、粒径分析、化学分析、微生物分析などに供した。なお長野土壌作土層の二、三の理化学的性質を第1表に示した。

第1表 長野土壌の理化学性

土性	全炭素 %	全窒素 %	C/N	遊離鉄 %	易還元性マンガン mg/100g 風乾土 4.4
LiC	2.01	0.19	10.5	1.22	

形態観察：実体顕微鏡（オリンパス光学製 XTr 型）を用いた。

粒径分析：試料にカルゴンを加え、音波分散し、ついでピペット法により測定した。

全炭素：VAN SLYKE-FOLCH 法<sup>16)</sup>

全窒素：ミクロケルダール法<sup>17)</sup>

遊離鉄：ASAMI-KUMADA 法<sup>18)</sup>

易還元性マンガン：0.2% ハイドロキノンを含むN酢酸アンモニウム液を抽出剤として用いた。

### 実験結果および考察

#### 1) 粒団の形態

各画分を実体顕微鏡で観察し次の結果を得た。すなわちいずれの粒径の粒団においても、植物遺体が粒団に含まれている例が多く見られた。またこれらの植物遺体は、その形が粒径の粗い粒団で大きく、粒径の細かい粒団で小さかった。これらの事実は、種々の大

\* 本報告の要旨は昭和46年度日本土壌肥科学会九州大会にて発表した。

\*\* 東京大学農学部（東京都文京区弥生 1-1-1）

\*\*\* 東京大学農学部（現在、エーザイ株式会社）

\*\*\*\* 東京大学農学部（現在、大林組中央研究所）

昭和47年12月26日受理

日本土壌肥科学雑誌 第45巻 第4号 p.204~207(1974)

きさの植物遺体が、水田土壌作土層中の粒団の形成ないしは維持に対して、重要な寄与を果たしていることを示唆している。

土壌から分離された粒団の外形は、多少とも角ばっており、これらの粒団が、もともと独自の形態を保持しており、土壌試料を水中で篩別している間に、摩耗されることが少なかったことを示していた。なお粒団の形状は粒団の粒径によって多少とも異なっていた。たとえば、1 mm よりも粗い粒団、その中でもとくに 4 mm よりも粗い粒団にあっては、しばしば多数の植物根(水稻根)が粒団に付随しており、ときには粒団の表面を密に囲んでいること、粒団にいくつもの割れ目が走っていることなどが認められた。

## 2) 粒団の組成

粒団の分析結果を第2表に示した。この表から明らかのように、4 mm よりも細かい画分については、粒径が粗くなるに伴って全炭素、全窒素、遊離鉄、易還元性マンガン、粘土などの含量が増加し、C/N 比が広くなるということが認められた。これらの実験結果は、川口・喜田の報告<sup>10)</sup>とよく一致しているといえよう。川口・喜田は、これらの事実の原因については十分な説明を加えていないが、上述した耐水性粒団の形態の観察結果、および水田土壌作土層中に含まれている植物遺体に関する研究結果<sup>20-24)</sup>からするならば、ここで得られた粒団の粒径と組成との間の関係を、以下のように解釈することができる。すなわち形が大きく、腐朽の程度が低く、かつ C/N 比が広い植物遺体は、粗い粒団に含まれており、形が小さく、腐朽の程度が高く、かつ C/N 比がせまい植物遺体は、粗い粒団にも、細かい粒団にも含まれており、その結果、粗い粒団は細かい粒団よりも有機物含量が多く、C/N 比が広くなっていると推定される。またこれらの植物遺体のまわりには、糸根状、糸状あるいはうん管状、管状などの形態をとって、鉄・マンガンが沈着しており、しかもその沈着量は、形の大きい植物遺体の方が、形の小さい植物遺体よりも多いとするならば、4 mm よりも細かい粒団に関する分析結果、すなわちこの粒径範囲では、粒径が粗くなるに伴い、有機物、遊離鉄、易還元性マンガンなどの含量が増加するという成績を統一的に説明できたことになるであろう。

ところで川口・喜田<sup>24)</sup>は、土壌試料を小型シリンダーにとり、水を加え、2時間以上放置後、シリンダーを往復振とう器で所定時間振とうし、その後、水中篩別法で分画される粒団を耐震動性粒団と呼んでいる。この種の実験において、0.25 mm よりも粗い耐震動性粒団は、振とう時間とともに次第に崩壊し、それに伴って 0.25

第2表 各種粒径の粒団の理化学性

粒径区分 mm	全炭素 %	全窒素 %	C/N 比	遊離鉄 %	易還元性 マンガン mg/100g 乾土	粘土 %
>4	1.98	0.18	10.9	1.83	5.7	28.7
4~1	2.21	0.20	11.3	1.68	5.5	33.9
1~1.5	2.17	0.19	11.0	1.38	5.7	31.7
0.5~0.25	1.98	0.19	10.5	1.21	5.4	33.0
0.25~0.1	1.89	0.18	10.3	1.15	5.2	28.9
0.1~0.074	1.71	0.18	9.5	1.02	5.1	
<0.074	1.47	0.17	8.8	1.10	3.6	

mm よりも粗い粒団の有機物、遊離鉄、活性マンガン、粘土などの含量が徐々に増加することが見だされている<sup>25)</sup>。他方水田土壌作土層から植物遺体を分離することを試みた著者らの既報の実験においては、植物遺体の破壊を最小限にとどめつつ、0.037 mm よりも粗い粒団をなるべく完全に崩壊・分散するように努めた<sup>20)</sup>。この2種類の実験は互いに密接な関係にあり、ともに土壌粒団の形成に植物遺体が関与しているとする上述の推定を支持しているものと思われる。すなわち植物遺体を含む粒団に物理的な力を加え、次第に崩壊させると、まず粒団にゆるく結合していた粒子が除去され、植物遺体およびそれに強く結合していた粒子から構成されている粒団が残存するようになり、これをさらに崩壊させると、強く結合していた粒子までも除去され、ついには裸の植物遺体が分離されるに至ると推定される。川口・喜田の耐震動性粒団は、粒団のこのような一連の崩壊過程の初期段階に対応しているといえよう。

4 mm よりも粗い粒団は、4~1 mm の粒団に比べて、粘土含量および有機物含量が減少し、C/N 比がせまくなっていた(第2表)。川口・喜田<sup>10)</sup>も、N/5 塩酸可溶鉄につき類似した事実を見だしている。この事実は、4 mm よりも粗い粒団が、それよりも細かい粒団とは、何らかの点で性格を異にしていることを示唆している。喜田<sup>6)</sup>は、4 mm よりも粗い粒団が稲の根によってからめられているとして、これを一応除外した上で耐水性粒団の考察を行なっている。顕微鏡観察につき上述した際に、とくに 4 mm よりも粗い粒団にあっては、しばしば根が多数、粒団に付随しており、かつ多くの割れ目が走っていることを指摘したが、これらの事実は、喜田の考えを支持していると思われる。しかし 4 mm よりも粗い粒団と、4 mm よりも細かい粒団との間に見られる性格の相違については、今後の検討をまたねばならない点が多く残されているといえるであろう。

## 2. 耐水性粒団の微生物数

### 実験方法

直接検鏡法：JONES and MOLLISON 法<sup>26)</sup>に準じ、以下

のようにして細菌数を測定した。粒団 5g および無菌水 50 ml を強力音波用 100 ml 容の容器に入れ、1 分間手で振とうしたのちに、東陽理工製作所製 50-6 型音波発振器を用いて、50 kW, 10 kc, 3 分間、音波分散を行なった。この土壤懸濁液 10 ml をとり、55°C にまで冷却した 1.5% 寒天 (Difco 製, Bact-Agar) 40 ml を入れた 50 ml 容三角フラスコに移し、密栓後、十分に振とう混和して、土壤-寒天液を調製した。THOMA 血球計数板にカバーガラスをかぶせ、その両端を軽く押さえながら、ピペットを用いて土壤-寒天液を流し込み、土壤-寒天フィルムを作った。このフィルムを滅菌したメスを用いて水中で切り取り、スライドガラス上に移し、これを清浄な箱に入れ、放置、風乾した。

風乾が終了したスライドを、ローズベンガル液 (フェノール 5% 水溶液 100 ml にローズベンガル 1.0 g と塩化カルシウム 0.05 g を溶かす) に、30°C, 1 時間浸漬した。ついでスライドガラスを流水で軽く水洗後、90% エタノール、95% エタノールの順に、各 20~30 秒間浸漬し、脱色、脱水を行なった。なお染色液としては、ローズベンガルのほかに、コトンプルー、アニリンブルーの使用も試みたが、コトンプルーは染色力が強すぎ、アニリンブルーは染色力が弱すぎ、ともに微生物、土壤粒子、植物遺体の 3 者を識別しにくい欠陥があった。

以上のようにして作成したプレパラートを、倍率 1500 倍で検鏡し、50  $\mu$  × 50  $\mu$  の大きさの視野 20 をランダムに選び、各視野内に見られた菌数を計数した。この操作を各試料 4 枚のプレパラートにつき行ない、試料中の菌数を算出した。なお計数に際しては、球菌と桿菌との形態的区分を行なった。

希釈平板法：直接検鏡法の場合と同様の操作で、音波分散してえられた土壤懸濁液を坂口フラスコに移し、液量を 500 ml にし、手で 1 分間振とう後、トリス緩衝液で希釈し、常法にしたがって寒天平板を作製した。この寒天平板を 26.5°C の恒温室に静置して、出現するコロニーを計数した。培地としては、全菌数用に WAKSMAN のアルブミン培地、色素耐性菌数用にクリスタル紫を 1/200,000 の濃度に加えた WAKSMAN のアルブミン培地を用いた。なお全菌数測定用の平板に出現する放線菌のコロニーを識別計数した。

#### 実験結果および考察

直接顕鏡法および希釈平板法で求めた菌数を第 3, 4 表に示した。土壤試料の分散の程度は、直接検鏡法、希釈平板法のいずれに対しても、計数値に大きな影響をおよぼすとされているが、直接検鏡法で菌数を計数した際に、ここで用いた音波処理によって、土壤試料がほぼ完

第 3 表 粒団中の細菌数 (JONES and MOLLISON 法)  
( $\times 10^9/g$  風乾試料)

粒径区分 mm	球 菌	桿 菌	全 細 菌
>4	4.28	1.48	5.76
4~1	2.25	1.55	3.80
1~0.5	1.80	1.18	2.98
0.5~0.25	1.68	0.95	2.63
0.25~0.1	1.85	0.98	2.83

第 4 表 粒団中の菌数 (希釈平板法)  
(風乾試料 1g 当たり)

粒径区分 mm	全 細 菌 $\times 10^6$	色素耐性細菌 $\times 10^9$	放 線 菌 $\times 10^5$
<4	17.6	2.64	5.8
4~1	9.5	1.62	1.75
1~0.5	10.2	2.24	1.0
0.5~0.25	8.8	1.95	2.2
0.25~0.1	7.5	0.7	*

\*  $10^4$  以下

全に分散されていることが確かめられた。

第 3, 4 表から明らかのように、直接検鏡法による球菌数、桿菌数および全菌数は、ともに粗い粒団の方が細かい粒団よりも多い傾向を示した。また希釈平板法による全細菌数、色素耐性細菌数、放線菌数のいずれについても、粗い粒団の方が細かい粒団よりも多い傾向が認められた。さらに直接検鏡法、希釈平板法のどちらにおいても、4 mm よりも粗い粒団の菌数がとくに多いことが注目された。なお予備実験として CONN 法<sup>27)</sup>に準じて計数した直接検鏡法の菌数も、培地として soil extract agar を用いた希釈平板法によって得られた菌数も、ともに粗い粒団の方が細かい粒団よりも多かった (たとえば、4 mm よりも粗い粒団では、全細菌数、 $3.87 \times 10^7$ 、放線菌数、 $7.5 \times 10^5$ 、0.25~0.1 mm の粒団では、全細菌数、 $1.6 \times 10^7$ 、放線菌数、 $10^5$  以下であった)。これらの事實は、前述した粒団の組成についての知見にほぼ対応していると思われる。すなわち 4 mm よりも細かい粒団では、粒径が粗いほど、有機物含量が多く、C/N 比が広く、分解の程度の低い大形の植物遺体を多数含んでおり、また 4 mm よりも粗い粒団では、有機物含量が少ないにもかかわらず、未分解の植物根が多数付随していたが、これらの知見は、粗い粒団ほど易分解性有機物に富んでおり、これを基質とする微生物の数も多いことを示唆しているといえるであろう。また 4 mm よりも粗い粒団に、とくに多数の微生物が生存している事實は、未分解の植物根が、土壤に元来存在していた有機物に比べて、著しく多量な易分解性有機物を含み、土壤微生物相に大きな影響をおよぼすことを示していると考えら

れる。

しかし本実験においては、野外から採取してきた湿潤な土壌試料に対し、風乾、水中篩別、再風乾などの一連の前処理を加えてきたことになるので、この間に、土壌微生物の死滅あるいは増殖が行なわれた可能性が高いと思われる。したがってここで得られた各種粒径の風乾粒団の菌数は、野外のそれとは多少とも異なっていると予想される。これらの点については今後検討を加える必要があると考える。

### 要 約

水田土壌作土層における物質および微生物の不均一分布の様相を、粒団に着目しつつ、解析することを試みた。すなわち野外から採取してきた土壌試料を風乾、沸化、水中篩別して各種の粒径の粒団に分画し、これらの粒団の構成を相互に比較検討した。得られた結果を要約すれば以下のものである。

1) 4 mm よりも細かい粒団にあっては、粒径が粗くなるに伴って、全炭素、全窒素、遊離鉄、易還元性マンガン、粘土などの含量が増加し、C/N 比が広がる傾向にあることを確かめた。これらの事実の原因として、形が大きく、腐朽の程度が低く、かつ C/N 比が広い植物遺体が粗い粒団に含まれており、形が小さく、腐朽の程度が高く、かつ C/N 比がせまい植物遺体が、粗い粒団にも、細かい粒団にも含まれていることを指摘した。また糸根状、糸状などの形態をとって植物遺体のまわりに沈着している鉄・マンガンの量は、形の大きい植物遺体の方が、形の小さい植物遺体よりも多いと推定された。なお 4 mm よりも粗い粒団は、4 mm よりも細かい粒団とは性格が多少異なっており、付随している多数の植物根によって、崩壊が防がれていると想定された。

2) 直接検鏡法による球菌数、桿菌数、希釈平板法による全細菌数、色素耐性細菌数、放線菌数のいずれについても、粗い粒団の方が細かい粒団よりも多い傾向があること、および 5 mm よりも粗い粒団の菌数がとくに多いことが認められた。これらの事実は、粗い粒団ほど易

分解性有機物の含量が多く、これを基質とする微生物の数も多くなっていることを示していると考えられた。

### 文 献

- 1) 川口桂三郎・喜田大三・*Soil Plant Food (Tokyo)*, 2, 92 (1956)
- 2) 斎藤万之助・川口桂三郎・土肥誌, 42, 1 (1971)
- 3) 横井 肇・柏木大安：土肥誌, 26, 101 (1955)
- 4) 青峯重範：農業技術, 10, 297 (1955)
- 5) 志賀洋郎・青峯重範：土肥誌, 29, 406 (1958)
- 6) 喜田大三：土壌構造と結合物質の作用および改良剤の利用に関する研究, 京大学位論文 (1960)
- 7) 松尾英俊・佐藤雄夫：土肥誌, 31, 295 (1960)
- 8) 出井嘉光：土壌の物理性, No. 16, 27 (1967)
- 9) 斎藤万之助：水田土壌の凝集性, 土木試験所報告, No. 56, 1 (1971)
- 10) 川口桂三郎・喜田大三：土肥誌, 27, 342 (1956)
- 11) 和田秀徳・辻 博和・大石啓子：金沢晋二郎・石井久一：土肥要旨集, 18, Part 1, 70 (1972)
- 12) 古坂澄石：水田土壌における硫酸還元菌群の化学的活性について, 東北大農研報, 19, 101 (1968)
- 13) WAKAO, N. and FURUSAKA, C. : *Soil Sci. Plant Nutr.* (Tokyo), 投稿中
- 14) 西垣 晋・渋谷政夫・花岡郁子：続作物試験法 (戸荻養次編) p. 498 農業技術協会 (1960)
- 15) 川口桂三郎・喜田大三：土肥誌, 27, 262 (1956)
- 16) VAN SLYKE, D. D. and FOLCH, J. : *J. Biol. Chem.*, 136, 509 (1940)
- 17) BREMNER, J. M. : "Methods of Soil Analysis", part 2, ed. BLACK, C. A. p. 1149 Amer. Soc. Agronomy, Madison (1965)
- 18) ASAMI, T. and KUMADA, K. : *Soil Plant Food (Tokyo)*, 5, 141 (1959)
- 19) ADAMS, F. : "Methods of Soil Analysis" Part 2, ed. BLACK, C. A. p. 1011, Amer. Soc. Agronomy, Madison (1965)
- 20) 和田秀徳・金沢晋二郎：土肥誌, 41, 273 (1970)
- 21) 和田秀徳・金沢晋二郎・高井康雄：土肥誌, 41, 395 (1970)
- 22) 和田秀徳・金沢晋二郎・高井康雄：土肥誌, 42, 109 (1971)
- 23) 和田秀徳：土壌肥料の研究第3集 (日本土壌肥料学会編) p. 26 養賢堂 (1972)
- 24) 川口桂三郎・喜田大三：土肥誌, 29, 13 (1958)
- 25) 川口桂三郎・喜田大三：土肥誌, 29, 47 (1958)
- 26) JONES, P. C. T. and MOLLISON, J. E. : *J. Gen. Microb.* 2, 54 (1948)
- 27) CONN, H. T. : *J. Bact.*, 17, 399 (1929)