

④ 自然教育園の斜面上に生成した 土壌中の微生物活性

村田智吉*・川井伸郎**

Soil microbial activities on different sites of a slope in the Institute
for Nature Study

Tomoyoshi Murata*, Nobuo Kawai**

はじめに

土壌は、その材料となる母材がたとえ同じであっても、それをとりまく環境によって異なるものが生成される。自然教育園およびその周辺の台地上には、富士山を噴出源とする玄武岩質の火山灰やスコリアを母材とした黒ぼく土が厚く堆積している (Kawai *et al.* 2015, 川井ら 2016)。しかし、園内は、台地や湿地などの自然地形のほか、室町時代に築造された土塁が園内周縁部を取り囲み、長い斜面長を形成する場所があるなど、複雑な地形を有している (図 1)。そのため園内において同じ火山灰から生成した土壌であっても地形や斜面の位置によって異なる土壌が生成している。

自然教育園内における過去の調査において、坂上ら (1989) は、園内の特徴的な地形と土壌との関係について着目した。すなわち、サンショウウオ沢から南の方角に面した斜面上の頂部から下部 (谷底部) にかけて、土壌中の細菌数、糸状菌数を希釈平板法にて計数した。その結果、細菌数は斜面下部の湿潤な場所で多く、一方、糸状菌は斜面上部の乾燥、且つ、酸性の場所でわずかに多いことを明らかにした。

浜田ら (1990) も同様の斜面上にて、無機質層位の表面に堆積する落葉枝を主体とした有機物集積層 (堆積有機物層：O 層) の厚さと土壌断面形態を観察し、斜面上では土壌の水分条件を反映し、斜面下部で O 層は最も薄く、斜面上部になるほど厚くなることを報告している。すなわち、地形の差異は水分状態の違いを生みだし、土壌断面の規則的な遷移 (ハイドロカタナ) の形成に寄与していた。

田中ら (1990a) は、同地形面を対象に微地形の違いが土壌有機物の存在形態に与える影響を考察し、土壌炭素含量、窒素含量、糖質含量が斜面上部ほど高いことを報告している。また、斜面上部ほど糖質に占める植物起源の割合が高く、有機物の分解が斜面下部に比べ抑制されていることを示した。また、土壌呼吸活性や土壌微生物バイオマス量も水分条件を反映し、斜面下部で高く、斜面上部に向か

*国立研究開発法人国立環境研究所, National Institute for Environmental Studies

**株式会社クレアテラ, Createra Inc.

うにしたがい低くなる傾向を認めた(田中ら, 1990b)。

本報告では, 坂上ら(1989), 浜田ら(1990), 田中ら(1990ab)と同一の斜面を対象に, 表層土壌の一般理化学性と微生物活性について考察を行った。

土壌調査地点の概要と実験方法

1) 土壌採取地点および試料の調整方法

自然教育園内に分布する土壌の性状や断面形態については, 平山ら(1978)および川井ら(2016)に詳しく紹介されているのでここでは割愛する。

今回の土壌採取地点は, 坂上ら(1989), 浜田ら(1990), 田中ら(1990ab)が調査を行った地点で行った。すなわち, サンショウウオ沢から南の方角に面した斜面に調査トランセクト(カテナ)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)。なお, D地点は室町時代に建築された土塁の頂点に相当する場所である。

土壌採取は, 2018年11月13日に実施した。堆積有機物層(O層)は, 50cm×50cmのコドラート内をすべて採取し, ビニール袋に入れて実験室に持ち帰った。堆積有機物層直下の鈹質土層A層

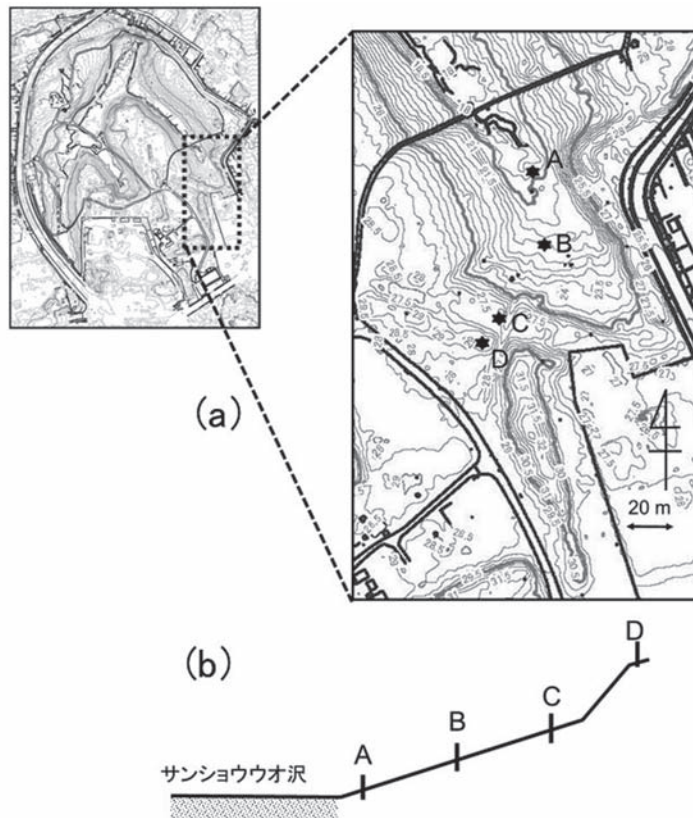


図1 土壌採取地点; (a) 平面図, (b) 模式断面図 (A地点とD地点の標高差は約15m)

は10cm以浅を移植ゴテで採取し、ビニール袋に入れて実験室に持ち帰った。A層については同一地点から2連で試料採取を行った。A層試料は2mmの篩を通過させながら植物残渣を取り除き、微生物活性測定用の生土試料とした。生土試料の一部は風乾させて風乾細土試料とし、さらにその一部を粉碎し、0.5mmの篩を通過させたものを風乾細微土試料とした。風乾試料は一般理化学性の分析に用いた。

2) 土壤の一般理化学性

土壤の一般理化学性は、pH (H₂O), pH (KCl), 最大含水量, 陽イオン交換容量, 交換性陽イオン量, 塩基飽和度, 全リン酸含量, 無機態リン酸含量, 有機態リン酸含量について分析を行った(田中・村田, 2018)。なお, 交換性陽イオン量の定量には, 誘導結合プラズマ発光分光分析法(ICPE-9820, 島津製作所)を用いた。分析値は抽出剤に含まれる元素濃度を定量値から差し引くとともに, 定量限界値はブランク溶液(希硝酸)を10回測定した際の標準偏差の10倍値(10 σ)とした。カルシウム(Ca), マグネシウム(Mg), カリウム(K)の10 σ 値は0.050, 0.010, 2mgL⁻¹だった。全炭素, 全窒素含量については乾式燃焼法を用いて定量を行った。なお, 交換性陽イオン, 全炭素, 全窒素等の元素分析については, 国立環境研究所環境計測研究センター基盤計測機器室に依頼した。

3) 堆積有機物重量

堆積有機物層試料は60℃の乾燥器内で24時間乾燥させてから重量を測定した。

4) 土壤微生物活性(土壤酵素活性)

微生物細胞内の活性測定には, デヒドロゲナーゼ活性を用いた(日本土壤微生物学会編, 2013)。微生物細胞内では, グルコースなどの基質が利用, 酸化されることにより脱水素酵素反応を起こす。土壤にあらかじめ添加しておいたトリフェニルテトラゾリウムクロライド(電子受容体)が, 細胞内で生じたこの水素を受け取る還元反応を起こし, 紫色のトリフェニルフォルマジンに変化する反応を利用するもので, 測定には吸光光度計を用いた。

β -グルコシダーゼ活性は, Freeman *et al.* (1995) および Senga *et al.* (2015) による方法によった。 β -グルコシダーゼは, 植物体由来のセルロースを分解する際に菌体外に分泌される酵素である。本測定法では, 基質に4-メチルウンベリフェリル- β -D-グルコピラノシドを用いて, 分解後に生成するメチルウンベリフェロン生成量を350nmで励起させ, 455nmの蛍光強度を蛍光分光光度計で測定することによって求めた。

フォスフォモノエステラーゼ活性は, 日本土壤微生物学会編(2013)による方法によった。フォスフォモノエステラーゼ活性は, 有機態リン酸を無機態リン酸に分解する際に菌体外に分泌される酵素であり, 基質には4-ニトロフェニルリン酸ナトリウムを用い, p-ニトロフェノール生成量を吸光光度計で測定することにより求めた。

結果および考察

1. 一般理化学性

土壌の一般理化学性については表1に示した。

pHは田中ら(1990)の報告同様、斜面頂部の地点Dで低く、下部に向かうにつれて高くなり、地点AはDよりもpH(H₂O)で1以上高い値を示した。

交換性陽イオン量の斜面上での特徴も田中ら(1990a)の報告とほぼ同様であった。すなわち、Ca, Mg, Kのいずれも斜面下部のA地点で高く、Dで最も低い値を示した。陽イオン交換容量に占めるこれらイオンの占める割合である塩基飽和度も地点Aで高く、Dで低い値を示した。これは、斜面頂部の地点Dでは降雨による交換性陽イオン類の潜脱が進み、低い値を示すのに対し、一方、地点Aでは斜面上部で潜脱された陽イオン類の流れ込みも加わり、交換性陽イオン量および塩基飽和度が高くなったと考えられた。

全炭素量、全窒素量は、田中ら(1990a)の報告では地点Dで高く、Aで低かったが、今回の調査では斜面上のいずれの箇所においても大きな違いは認められなかった。

リン酸含量については、全リン酸、無機態リン酸、有機態リン酸のいずれも地点Aで最も高く、地点Dで低い値を示した。リン酸は交換性陽イオン類に比べると移動性が極めて小さく、降雨による斜面上での潜脱の影響とは考え難い。おそらく、リン酸を強く吸着する鉄やアルミニウムを主体とした低結晶性の鉱物類の存在量に違いがあるものと予想される。

表1 土壌の一般理化学性

地点	pH		最大容水量 %	陽イオン交換容量 cmol(+)/kg	交換性陽イオン			塩基飽和度 %
	H ₂ O	KCl			Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	
						cmol(+)/kg		
A	6.4	5.7	344	92	53	5.4	1.9	65
B	5.9	5.1	280	90	37	7.8	2.1	52
C	5.5	4.9	250	76	27	3.7	1.5	42
D	5.3	4.5	241	74	11	3.4	1.1	21

地点	全炭素	全窒素	炭素/窒素比	全リン酸	無機態リン酸	有機態リン酸
	g/kg			g/kg		
A	192	14.9	12.9	3.5	1.4	2.0
B	188	14.8	12.7	2.1	0.5	1.6
C	192	14.1	13.5	1.6	0.3	1.3
D	182	12.8	14.3	1.5	0.3	1.2

2. 堆積有機物量

斜面上の4地点の堆積有機物量を図2に示した。堆積有機物量は斜面頂部Dで最も高く、下部に向かって減少する傾向が認められた。これは微生物による有機物分解がより乾燥し、且つ、酸性度の強い斜面上部で抑制され、一方、湿潤で、且つ、中性な斜面下部では有機物分解が促進されたためと考えられた。

3. 土壤微生物活性

土壤微生物細胞の活性を示すデヒドロゲナーゼ活性は、斜面下部の地点Aで最も高く、斜面上部に向かうに従って低くなった(図3)。これは微生物細胞、特に細菌群は乾燥や酸性に弱いことと関係していると考えられた(坂上ら1989)。土壤pHとデヒドロゲナーゼ活性の正の相関関係については、

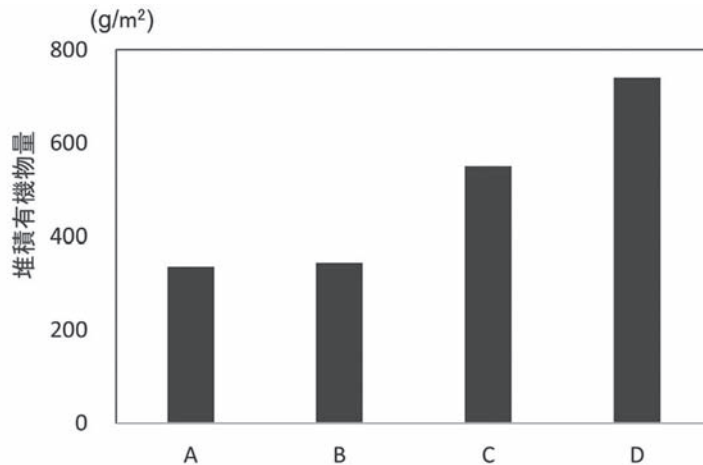


図2 斜面上の各地点に堆積した有機物層の乾燥重量

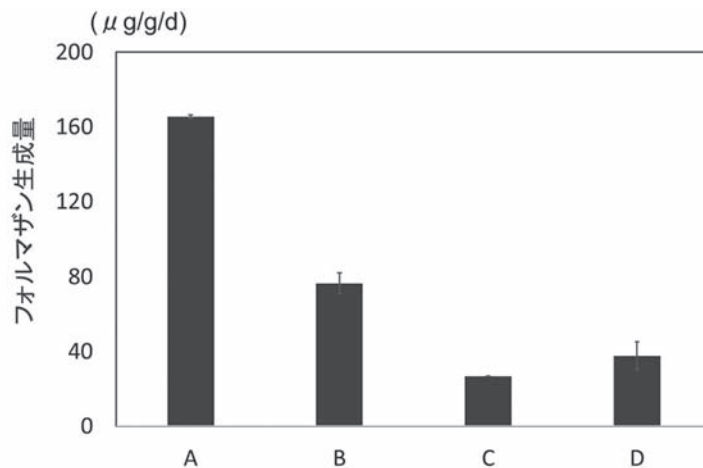


図3 斜面上の各地点の土壤のデヒドロゲナーゼ活性 (バーは二連による標準誤差)

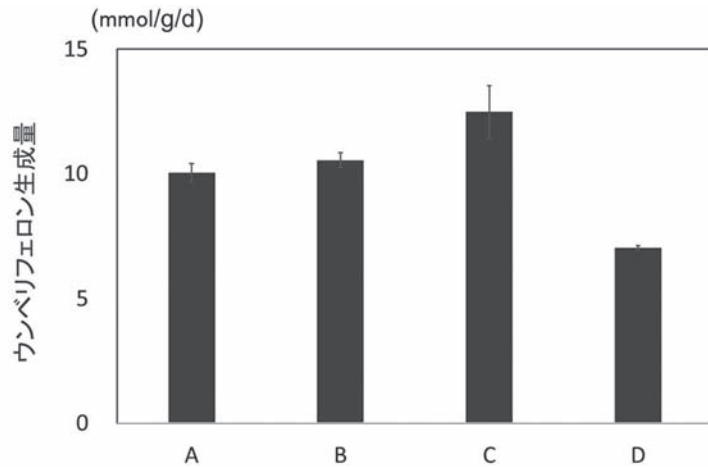


図4 斜面上の各地点の土壌の β -グルコシダーゼ活性 (バーは二連による標準誤差)

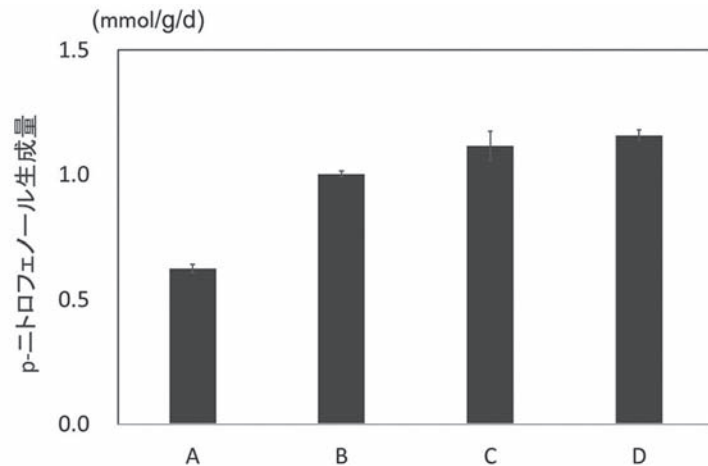


図5 斜面上の各地点の土壌のフォスフォモノエステラーゼ活性 (バーは二連による標準誤差)

Kawai *et al.* (2016)でも同様の結果を得ており、本調査地点のみならず、園内には様々な地形や植生の箇所が存在することから、このように幅広い領域においてデヒドロゲナーゼ活性と土壌 pH との間に強い関係性が認められたものと考えられた。

β -グルコシダーゼ活性は、地点 D でやや低い値を示したものの、地点間での明瞭な違いや関係性を見出すことはできなかった (図4)。また、基質となるセルロースの供給源である堆積有機物量とも明瞭な関係性は見いだせず、セルロース分解活性には複数の要素が複雑に関与していることが予想された。

フォスフォモノエステラーゼ活性は、地点 A で最も低く、斜面上部に向けて漸増する傾向が認められた (図5)。また、無機態リン酸量、有機態リン酸量との負の相関関係も認められ、特に無機態リン酸量との関係が明瞭であった。本酵素活性は、微生物細胞が栄養分として無機態リン酸を要求し

ている状況で分泌されるものであるため、土壤中に無機態リン酸が豊富にある時には活性が低くなる。自然教育園内の低地はリン酸が集積しやすいことが表 1 から示されたが、加えて湿地付近は土壤が還元状態になりやすく、リン酸の吸着場になりやすい鉄が酸化状態ではなく、より還元状態に存在することもリン酸の微生物への取り込みやすさに寄与しているものと考えられた。

ま と め

サンショウウオ沢から南の方角に面した斜面に調査トランセクトを設け、下部から A, B, C, D の 4 地点を土壤採取地点とした。そして、各土壤の微生物活性と一般理化学性の分析を行い、地形の違いがもたらす土壤の理化学性の変化とそれに伴う微生物活性の変化の特性について考察を行った。

pH、陽イオン交換容量、交換性陽イオン量および塩基飽和度は斜面上の水分の動きを反映し、斜面下部で高く、斜面上部で低い値を示した。

全リン酸、無機態リン酸および有機態リン酸含量も同様の傾向を示したが、これらの要因は、水の動きよりもむしろ、水分条件がもたらした酸化還元状態とそれに関連した鉄の存在形態が関与していることが予想された。

堆積有機物量は、土壤の水分条件や土壤酸性を反映して、斜面下部で分解が進むことでその含量は低くなり、一方上部に行くほど分解が抑制されることでその含量は高くなっていた。

デヒドロゲナーゼ活性は、微生物活性に最も強い影響を与える土壤水分条件と土壤酸性に影響を受け、斜面下部で高く、斜面上部に向かうにしたがい低い値を示していた。

β -グルコシダーゼ活性は、斜面頂部の地点 D でやや低い値を示したものの、地形との明瞭な関係性を見出すことはできなかった。

フォスフォモノエステラーゼ活性は、リン酸含量、特に無機態リン酸含量が高い地点 A で低い値を示した。

謝 辞

矢野亮氏はじめ自然教育園関係者の皆様には、日頃から著者らの調査に対しご協力とご配慮をいただき心より感謝申し上げます。

引用文献

- Freeman C, Liska G, Ostle NJ, Jones SE, Lock MA. 1995. The use of fluorogenic substrates for measuring enzyme activity in peatlands. *Plant Soil* 175 : 147-152.
- 浜田龍之介・田中治夫・村田智吉・坂上寛一. 1990. 自然教育園内のハイドロカタナの土壌 (1) —水分条件と断面形態. *自然教育園報告*, 21 : 87-96.
- 平山良治・山崎美津子・坂上寛一・浜田竜之介. 1978. 自然教育園の土壌図. *自然教育園報告*, 8 : 39-59.
- Kawai, N., Murata, T., Watanabe, M., Tanaka, H. 2015. Influence of historical manmade alterations on soil-forming processes in a former imperial estate (Shirogane-goryouchi) , the Institute for Nature Study: Development of a soil evaluation technique and importance of inventory construction for urban green areas. *Soil Science and Plant Nutrition*, 61 : 55-69.
- 川井伸郎・村田智吉・渡邊眞紀子・田中治夫. 2016. 自然教育園における土壌有機物の炭素安定同位体比とメラニックインデックスからみる人為改変の歴史. *自然教育園報告*, 47 : 53-60
- 日本土壌微生物学会編. 2013. 第12章微生物活性, 土壌微生物実験法第3版, 95-97, 養賢堂.
- 坂上寛一・奥山篤司・田中治夫・浜田龍之介. 1989. 自然教育園の土壌——カタナにおける土壌微生物相一. *自然教育園報告*, 20 : 21-29.
- Senga Y., Hiroki M., Terui S., Nohara S. 2015. Variation in microbial function through soil depth profiles in the Kushiro Wetland, northeastern Hokkaido, Japan. *Ecological Research*, (30), 563-572.
- 田中治夫・今木恵美・坂上寛一・浜田龍之介. 1990a. 自然教育園内のハイドロカタナの土壌 (2) —理化学性と土壌有機物の腐植組成と糖組成. *自然教育園報告*, 21 : 97-108.
- 田中治夫・伊藤一之・本馬昌直・坂上寛一・浜田龍之介. 1990b. 自然教育園内のハイドロカタナの土壌 (3), 微生物量および微生物活性と水溶性有機物. *自然教育園報告*, 21 : 109-115.
- 田中治夫・村田智吉. 2018. 第13章 土壌の化学性分析, 土壌環境調査・分析法入門. 138-173, 講談社.