

土壌の物理的構造と細菌のすみか

西山 雅也^{1*}・妹尾 啓史²

細菌の大きさは概ね $1\ \mu\text{m}$ 前後、このスケールで土壌を捉えるならば、 μm 以下から mm レベルに亘り種類の異なる粒子を含有する土壌系は、液体培地のような均質な系ではなく、不均質な系である。対象とする微生物は、不均質な土壌系の、どのような微小領域に存在するのか、という点は、土壌環境における微生物の利用や制御を目指す上で有用な情報となろう。本稿では、まず土壌の物理的構造に由来する不均一性について構造モデルを利用して概観し、次に殺虫成分 $\gamma\text{-HCH}$ 分解細菌を題材に、土壌中での細菌の存在部位について、土壌構造と関連づけて考察した事例を紹介する。

土壌の物理的構造

土壌の構成 土壌は、固相とそれ以外の空間である土壌孔隙から成る。一見すると、土壌は、鉱物などの無機物を主体とした固形物の集まりのように思われるかもしれない。しかし多くの場合、土壌の孔隙率は30%から70%を示し、土壌の中は空間に富んだ環境である。土壌中の空間、すなわち土壌孔隙には、土壌の水分含量に応じて水と空気が存在する。細菌をはじめとする土壌微生物は、本来、固相の構成要素であるが、土壌構造中での細菌の存在部位の考察を目的とする本稿では、固相の一員から土壌微生物を外し、代わりに「土壌微生物は、土壌固相以外の空間である土壌孔隙に存在する」と考えることにする。

そうすると、土壌細菌の住み場所を考察する上で、「土壌中にはどのような孔隙がどのように配置されているか」を理解することは有用である。もちろん、土壌中の空間は固相を構成する粒子と粒子の間に主に形成される。そこでまず、土壌中における粒子の配置と形成される空間の特徴について、モデル構造を用いて考えてみる。

団粒モデルと孔隙 図1に、粒子として径の等しい球を仮定し、これが密に充填された集合体を例として示した。粒子の径が小さな場合 (a) と大きな場合 (b) を比較すると、孔隙率は同じだが、粒子間に形成される個々の空間の大きさは、径が大きな粒子の場合の方が大きくなる。実際の土壌では、図 (a) および図 (b) のように個々の粒子が単独で配列した構造 (単粒構造) の他に、まず、いくつかの粒子が集めた「団粒」が形成され、この団粒が配列した構造 (団粒構造) が形成される。図 (c) には、小さな径の粒子が密に充填されて形成された

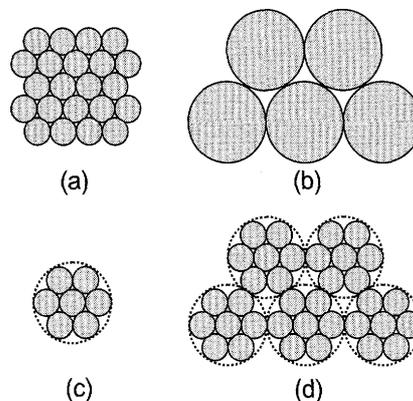


図1. 粒子の配列モデル. (a) および (b) 単粒. (c) および (d) 団粒 (原図¹⁾).

団粒を、また、この団粒が密に配列した場合を図 (d) として例示した。図 (d) では、団粒が形成されることによって、大きな径の粒子が単粒構造で配列した場合 (b) と同程度の大きな空間が団粒間に形成される。それとともに、団粒内には、小さな径の粒子が単粒構造で配列した場合 (a) と同様に小さな空間が形成される。すなわち、団粒構造を形成した土壌ではサイズの異なる空間が形成され、大きな土壌孔隙は団粒間に、また小さな土壌孔隙は団粒内に形成される。さらに、団粒内部に形成される土壌孔隙は、団粒外部との連絡が乏しい閉鎖的な空間を形成する場合もある。

土壌孔隙と微生物

孔隙サイズと微生物 孔隙の大きさは、そこに存在する微生物の種類に、直接的、また、間接的に、影響する。

微生物には、その種類により、個体の大きさにおよその範囲がある。たとえば土壌細菌は $0.5\ \mu\text{m}$ から $1\ \mu\text{m}$ の大きさのものが多く、原生動物は数 μm から数十 μm の大きさである。それぞれの微生物は、自身の大きさのために存在可能な土壌空間が制限される。団粒モデルで考えると、団粒間には大きな土壌孔隙が形成されるので、土壌細菌も原生動物も存在可能である。これに対して、団粒内部に形成される孔隙は小さいため、サイズの小さな細菌は存在できるものの原生動物の多くは進入できない。

原生動物の一群には、細菌を捕食する種類が存在する。上述のように、原生動物の存在部位が制限される結果、細菌に対する原生動物の捕食作用は、団粒モデル内部の

*著者紹介 ¹長崎大学環境科学部 (准教授) E-mail: m-248ma@nagasaki-u.ac.jp

²東京大学大学院農学生命科学研究科 (教授)

特 集

小孔隙ではほとんど起こらず、主として団粒間の大孔隙で機能すると考えられる。

孔隙の大きさは、また、孔隙の保水力に関係する。小さな径の土壤孔隙では毛管力が強く作用するため、水分保持力が強い。このため、土壤の乾燥過程においても、比較的安定して水分を孔隙内に保持する。これに対して、大きな土壤孔隙は、降雨の際は孔隙内が水で満たされるものの、土壤の乾燥過程では短期間のうちに水分が失われる部位であるため、乾湿が激しく変動する環境である。この結果、大きさが異なる土壤孔隙には、それぞれの水分変動状況に応じた土壤微生物が存在すると考えられる。また、酸素は気相中での拡散と比較すると、水中での拡散が遅い。このため、団粒内部の微小孔隙では、酸素の供給が不十分で嫌気的環境となる場合がある。安定に保持される水は、交換され難い水でもあることから、溶存成分にも影響する。

洗浄-音波法による団粒内部・外部の微生物の分画

団粒間と団粒内部に異なる種類の微生物が存在することは、洗浄・音波法^{2,3)}による服部の実験によって確かめられた。洗浄・音波法では、まず土壤を殺菌水中に緩やかに懸濁させる。この操作により、団粒間の大きな孔隙に存在する微生物は水中に放出される。しばらく静置すると団粒は沈降するので、上澄みを回収する。沈降した団粒を新たな殺菌水に懸濁させ洗浄するという一連の過程を繰り返し、最初の上澄みと洗浄水を合わせることで、団粒外部の微生物を分取する。その後、音波処理によって団粒構造を殺菌水中で破壊することにより、団粒内部の微生物を分取する。

洗浄・音波法によって各種微生物の数を調べると、原生動物が主に団粒外部から回収されるのに対して、細菌は団粒内部からも多数回収される³⁾。この結果は、団粒モデルで考えたような、団粒内と団粒外部(団粒間)で異なる大きさの孔隙が形成され、それぞれの孔隙に異なるサイズの微生物が存在する、との考え方と一致する。また、原生動物と細菌を殺菌土壤に接種したモデル実験において、団粒外部では原生動物数の増加とともに細菌数が減少する一方、団粒内部の細菌数は一定数を維持した結果から、原生動物による細菌捕食作用が団粒外部で活発に進行し、団粒内部では機能しないことが示された⁴⁾。

γ -HCH分解細菌の土壤中でのすみか

土着細菌と接種細菌の挙動 東京大学農学部長期試験圃場農薬連用区土壤に生息する *Sphingobium japonicum* (単離株名称 SS86⁵⁾) は、好気条件下において γ -1,2,3,4,5,6-ヘキサクロロシクロヘキサン (γ -HCH) を資化する。本資化能はきわめて珍しい性質であるため、多種類の微生物が混在する環境から本細菌を検出する際のマー

カーとして利用することができる⁶⁾。連用区土壤に生息する分解細菌(土着分解細菌)と、対照区土壤に接種した SS86 株(接種分解細菌)の動態を比較したところ、以下に記すいくつかの点において違いが認められた。土着分解細菌と接種分解細菌のいずれも土壤へ γ -HCH を添加すると増殖するものの、その後、接種分解細菌は検出限界以下まで菌数が低下するのに対して、土着分解細菌は 1 g 土壤あたり数千~数万個体まで菌数が低下した後、この菌数を維持して長期間生残した⁷⁾。連用区土壤を対照区土壤と混合することにより初発土着分解細菌数を低下させた土壤に対して γ -HCH を添加し培養すると、増殖時の最大菌数は連用区土壤単独の場合と同等であるものの、培養後期に長期間生残する分解細菌の数は連用区土壤単独の場合よりも低く、その割合は連用区土壤と対照区土壤の混合比と同程度であった。これらの結果から、土着分解細菌の一部は連用区土壤において長期間の生残に適した性質を有していること、また、この性質は、元来、連用区土壤に生息している土着分解細菌だけが持つ性質であること、逆に言うと、増殖により新たに誕生した土着分解細菌はこの性質を持たないことが考えられた。

分解細菌の菌数低下の原因を明らかにする目的で、殺菌土壤系に分解細菌を加え、これとともに、原生動物を含む土壤懸濁液もしくは、ろ過処理により原生動物サイズの懸濁物を除去した土壤懸濁液を加え、分解細菌の消長を追跡した。その結果、原生動物を除去した土壤懸濁液を添加した場合には対照と同等の分解細菌数の減少を示したのに対して、原生動物を含む土壤懸濁液を加えた場合はこれよりも速やかに分解細菌数が低下した。この結果から、土壤中での分解細菌数の減少は、原生動物の捕食作用によると考えられた⁸⁾。

前述の土壤中での菌数の推移の他に、土着分解細菌の挙動と接種分解細菌の挙動は以下の点でも異なることが見いだされた⁷⁾：(i) 土壤を自然乾燥させ、乾燥状態のまま培養を続けた場合、乾燥前の分解細菌数にかかわらず、土着分解細菌は 1 g 土壤あたり数千個体が長期間生き残った。これに対し、接種分解細菌は短期間に検出限界以下まで減少した。(ii) カラムに詰めた土壤に上方から多量の水を透水した場合、接種分解細菌は、透水前の分解細菌数の多少にかかわらず約 10% の分解細菌が水によって土壤から洗い出された。一方、土着分解細菌の場合は、透水前の分解細菌数が 1 g 土壤あたり数千個体以上の場合には接種分解細菌と同等の比率で土壤から洗い出されたが、分解細菌数が 1 g 土壤あたり数千個体程度にまで低下した時期には水による菌の移動がほとんど認められず多数の分解細菌が土壤に残存した。(iii) 土壤にクロロホルム燻蒸殺菌処理を施した場合、接種分解細菌

よりも土着分解細菌の方が高い生残性を示した。

土壤の物理的分画による分解細菌生息部位の同定

分解細菌の生息部位を明らかにする目的で、土壤粒子を大きさ別に分画し、分解細菌数を調べた⁹⁾。その結果、接種分解細菌、ならびに増殖期および増殖終了後間もない時期の土着分解細菌は小型の土壤分画に多数生息するのに対して、細菌数が1g土壤あたり数千個体に低下した長期生残期の土着分解細菌は主に大型の土壤分画に生息していた。各土壤分画を顕微鏡で観察すると、大型分画には団粒構造の形成が認められ、小型分画は単独の粒子が主体であった。以上の結果から、長期間生残する1g土壤あたり数千個体の土着分解細菌は、大型分画の団粒に生息していると考えられた。

分解細菌の生息部位 1g土壤あたり数千個体の土着分解細菌は土壤団粒に存在し、ここで原生動物による捕食を逃れて長期間生残するとともに、土壤の乾燥、透水、燻蒸剤による影響をも逃れて生残する。団粒モデルを考えるならば、団粒内部には小さな孔隙が存在し、原生動物の捕食圧が及ばない空間が形成される。透水処理において、土壤表面から加えられた多量の水が下方へ移動する際、粗孔隙を優先的に移動するため、団粒間に存在する微生物は水とともに移動しやすいのに対して、団粒内部の小さな孔隙に存在する微生物は透水の影響を受けにくい。乾燥により土壤から水分が失われる過程では、保水力の弱い大きな孔隙から水が失われ、団粒内の小さな孔隙にはしばらくは水が残存する。団粒内孔隙の奥まった位置であれば、燻蒸剤の到達に時間が必要である。このように考えると、土壤団粒内に形成される微小孔隙は、1g土壤あたり数千個体の土着分解細菌が長期間生残する部位としての条件を満たすように思われた。

そこで、団粒内に形成される微小孔隙内へ接種分解細菌を進入させることを念頭に、接種分解細菌が土着分解細菌と同様の生残性と挙動を示すような接種方法を探索し、見いだした¹⁰⁾。この接種方法を利用し、一定の大きさに孔隙直径が制御された多孔質ガラスを予め土壤に埋設した上で、分解細菌を接種し土壤を培養した。多孔質ガラスから回収される分解細菌の数を調べた結果、直径10 μ m程度の孔隙から長期間に亘り多数の分解細菌が回収されたことから、本分解細菌の長期生残に適した土壤微小領域がこの大きさの土壤孔隙であると推定した(図2)¹¹⁾。

おわりに

土壤薄片を電子顕微鏡で観察したKilbertusは、内部に細菌が存在する土壤毛管孔隙の直径を $1.74 \pm 0.49 \sim 2.24 \pm 1.40 \mu\text{m}$ と報告しており¹²⁾、対象とする細菌によって

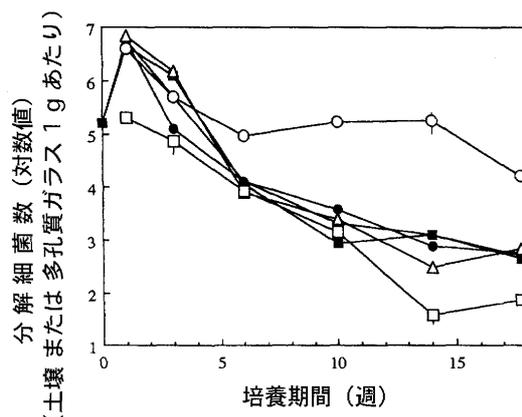


図2. 多孔質ガラスを混合した土壤系での接種分解細菌数の推移¹¹⁾。○, 孔径10.3 μm 多孔質ガラス中の菌数; △, 孔径2.8 μm 多孔質ガラス中の菌数; □, 孔径0.47 μm 多孔質ガラス中の菌数; ●, 孔径10.3 μm 多孔質ガラス除去後の土壤中の菌数; ▲, 孔径2.8 μm 多孔質ガラス除去後の土壤中の菌数; ■, 孔径0.47 μm 多孔質ガラス除去後の土壤中の菌数。

生息部位として適当な孔隙の大きさが異なることがうかがえる。また、砂質土壤のような団粒形成の貧弱な土壤では、各細菌種のすみかとして適当な鉱物種がありそうである¹³⁾。水田は、最上部の酸化的な土層、その下の還元的な土層、さらにマンガング結核、田面水、水棲小動物、水稻根圏、植物残渣など、多様な環境から成る系であり、それぞれに特徴的な微生物集団の存在が報告されている(たとえば文献14)。捕食されずに生き残ることを重視した本分解細菌の事例とは異なり、対象細菌を土壤環境で活発に活動させたいケースもあるだろう。そのような場合、植物根圏、生物遺体圏など、利用可能なエネルギーに富む領域が対象細菌の活動の場として有望である。

文 献

- 1) 川口桂三郎：土壤学概論, p.134, 養賢堂 (1977).
- 2) 服部 勉：東北大農研報, **18**, 159 (1967).
- 3) 服部 勉ら：土の微生物学, 養賢堂 (2008).
- 4) Vargas, R. and Hattori, T.: *FEMS Microbiol. Ecol.*, **38**, 233 (1986)
- 5) Senoo, K. and Wada, H.: *Soil Sci. Plant Nutr.*, **35**, 79 (1987).
- 6) Senoo, K. and Wada, H.: *Soil Sci. Plant Nutr.*, **36**, 389 (1990).
- 7) Senoo, K. et al.: *FEMS Microbiol. Ecol.*, **86**, 311 (1992).
- 8) Senoo, K. et al.: *Microb. Environ.*, **11**, 79 (1996).
- 9) Nishiyama, M. et al.: *FEMS Microbiol. Ecol.*, **101**, 145 (1992).
- 10) Nishiyama, M. et al.: *Soil Biol. Biochem.*, **25**, 769 (1993).
- 11) Nishiyama, M. et al.: *Soil Biol. Biochem.*, **27**, 1359 (1995).
- 12) Kilbertus, G.: *Rev. Ecol. Biol. Sol.*, **17**, 543 (1980).
- 13) Kotani-Tanoi, T. et al.: *Soil Sci. Plant Nutr.*, **53**, 740 (2007).
- 14) Cahyani, V. R. et al.: *Soil Sci. Plant Nutr.*, **53**, 575 (2007).