

草地表層の土壤微生物相に及ぼす施肥処理の影響*

東田 修司** 西宗 昭*** 高尾 欽弥****

草地土壤微生物は物質循環の中で不可欠な分解者の役割を担っている。そこで、N, P, K, Ca, Mg の 5 要素欠除処理草地の土壤表層における土壤微生物数・活性について調査、検討した。細菌数は土壤 pH の低下した窒素施用系列で低く、土壤 pH の低下していない窒素無施用系列で高かった。さらに、窒素無施用系列ではマメ科草が混生しており、これも細菌数を高めている要因であった。また、測定した分解活性のほとんどが細菌数と有意な相関を示し、低 pH 土壤で低下していた。窒素無施用系列の細菌数は春と秋にピークを持つ典型的な季節変化を示したが、窒素施用系列では低 pH が規制要因となって顕著な季節変化を示さなかった。このため低 pH 土壤では有機物分解が阻害され、有機物の蓄積が起っていた。このことは、草地の物質循環を阻害し、草地生産性に悪影響を与えるものと考えられた。

はじめに

土壤微生物は耕地物質循環の中で不可欠な分解者としての役割を担っている。作物が生産した有機物の過半を土壤微生物が分解・無機化しているとの報告もあり⁶⁾、土壤内での炭素、窒素等の動きを理解するためにはそこに住む微生物についての知識が必要であろう。特に草地の表層においては、牧草残査、根およびその分泌物が集中的に還元され、それらの再無機化により牧草への養分供給が円滑に進むことは、牧草生産に寄与すること大と考えられている³⁴⁾。それ故、物質循環を担っている土壤微生物相および活性の把握や、その大小に関与する要因の解明は、草地生産力を検討する上で重要な項目の一つといえることができる。

一方、土壤微生物およびその活性は、土壤の理

化学性や気象条件など環境要因の影響を受けることが知られている。長年耕起されず利用される草地においては、表層 0—2 cm 土層での pH の低下¹⁶⁾、りん酸・カリの蓄積⁷⁾、有機物の蓄積^{22), 27), 29)}など経年化により変化が起り、結果として顕著な層位分化をおこすことが報告されている。その微生物的側面として、沢田らは草地では畑地に比べ 0—5 cm 土層と 5—10 cm 土層の菌数差が大きくなっていることを明らかにし²⁸⁾、また、筆者らはそれに加えて草地の菌数は畑地と異なった独特の季節変化を示すことを報告している^{13), 15)}。一方、草地の理化学性の変化は当然その草地の施肥管理来歴の違いにより異なり、それに対応した土壤微生物相が形成されると考えられる。筆者らは草地の土壤微生物を制御する上で有用な知見が得られると考え、施肥処理 (N, P, K, Ca, Mg の 5 要素欠除処理) および混生マメ科草の有無が草地表層の土壤微生物相に及ぼす影響を検討した。

試験方法

1. 調査圃場

A 施肥処理の土壤微生物に与える影響：1976 年造成の天北農試内、褐色森林土に立地する草地に表 1 のような施肥処理を 1977 年度から加えた。刈り取りは 6 月上旬、8 月上旬および 9 月下旬の

1985 年 11 月 25 日受理

*本報告の一部は第 15 回国際草地学会で発表した。

**北海道立天北農業試験場, 098—57 枝幸郡浜頓別町 (現北海道立十勝農業試験場, 082 河西郡芽室町)

***同上

****同上 (現北海道立中央農業試験場, 069—13 夕張郡長沼町)

3 回刈りであり、窒素・りん酸・カリ肥料は早春、1 番刈り後、2 番刈り後の3 回に分けて均等施用した。用いた肥料はそれぞれ塩化アンモニウム、過りん酸石灰および塩化カリウムである。苦土(水マグ)は早春、石灰(炭カル)は晩秋に各1 回施用した。

この圃場で1983年7月1日に層位別の微生物数を測定した。1984年には、5月1日から11月15日の間に6度にわたり微生物数・活性を測定した。

B イネ・マメ混播草地の土壤微生物性; 1981年に天北農試、褐色森林土に造成したチモシー単播草地とチモシー=ラジノクロバ混播草地において1983年度に数回にわたり土壤微生物活性を測定した。刈り取りは6月下旬および9月上旬の2回刈りであり、 $N-P_2O_5-K_2O$ それぞれ年間10-10-15kg/10aを早春と1番刈り後に3:2の割合で施用した。土壤pHは6.0、ブレイりん酸は22mg/100g、全炭素は2.7%であった。なおすべての微生物活性の測定は土壤採取後8時間以内に開始した。

2. 微生物性測定法

A 微生物数; 細菌, グラム陰性細菌, 糸状菌はそれぞれ卵アルブミン培地, クリスタルバイオレット添加卵アルブミン培地, ローズベンガル培地を用いて測定した²⁰⁾。糸状菌長は Jones-

Mollison 法により測定した²¹⁾。すなわち, トーマ血球計数板を用いて寒天薄膜を作成し, アニリンブルーで染色後, 顕微鏡下で交点法²⁴⁾により長さを算出した。

B 微生物活性

i) フラクトース分解活性; 土壤10gを100mlのポリビンに入れ, 1mlの1%フラクトース溶液を加え30℃4時間培養後, 80mlの1N-KCl溶液を加え, 残存フラクトースを汙過抽出した。フラクトースの定量は堀越らのアンスロン法⁹⁾で行なった。

ii) グルコース分解活性; フラクトース分解活性と同様の方法で行なった。

iii) 尿素分解活性; 10gの土壤を100mlのポリビンに取り, 1mlの3%の尿素溶液を添加して16時間培養した。培養後80mlの1N-KClを加え充分振とうして汉過した。2mlの汉液に1mlの80%トリクロル酢酸と, 2mlの発色試液(p-ジメチルアミノベンズアルデハイド2.0gを95%のエタノール100mlに溶かし, さらに濃塩酸10mlを加えたもの)を加え, よく混和した。

iv) 蛋白分解活性; 大型試験管に10gの土壤を入れ, それに5mlの1%カゼインを添加してよく混和し52℃で1時間培養した。反応を5mlの20%トリクロル酢酸を加えて停止させたのち, 汉過した。汉液1mlに7mlの3.7% Na_2CO_3 と1mlの0.06% $CuSO_4$ を加え30分間室温で放置した。さらに蒸留水で1/4に希釈したフォーリン=チオカルト試薬³⁰⁾を1ml加え5分間37℃で培養後578nmの波長で生成したアミノ酸を定量した。スタンダードにはチロシンを用いた。

v) デンブン分解活性; 100mlのポリビンに10gの土壤を取り, 5mlの2%デンブン溶液と0.5mlのトルエンを加え16時間, 30℃で培養した。次に80mlの1N-KClを加え残存デンブンを汉過抽出した。デンブンの定量は以下に行なった。1mlの汉液に5mlの蒸留水と5mlの発色液(45mlの蒸留水に5mlの過酸化水素水と2mlのヨウ素試薬を加えたもの)を加え混和後, 室温で30分放置してから620nmで比色定量した。ヨウ素試薬は1.2gのヨウ素と2.5gのヨウ化カリを100mlの蒸留水に溶解したものである。

なお, 分解活性はすべて土壤100g 当り1日間の培養で分解した基質量又は生成した産物量に換算

Table1. The fertilizers applied annually. N, P, and K were applied in a form of ammonium chloride, superphosphate and potassium chloride, respectively. $Mg(OH)_2$ and $CaCO_3$ were used as Mg and Ca, respectively. The dominant grass was orchardgrass, and legume was ladino clover. The grassland was clipped tree-times per year. One-third of N, P, K Fertilizer was applied at early spring, after 1st cut and after 2nd cut. All of $Mg(OH)_2$ was applied at early spring and $CaCO_3$ at late autumn.

Treatment	Fertilizer applied annually (kg/10a)				
	N	P	K	Mg	Ca
-F	0	0	0	0	0
PK	0	3.9	12.5	0	0
NK	12	0	12.5	0	0
NP	12	3.9	0	0	0
NPK	12	3.9	12.5	0	0
NPKMg	12	3.9	12.5	1.8	0
NPKCa	12	3.9	12.5	0	23.6

して表示した。

試験結果

1. 5要素欠除処理区の土壤化学性と収量

1982～1984年の3ヶ年の平均収量と0～2 cm土層の化学性(1984年度跡地土壤)を表2に示した。収量調査時の主草種はイネ科はオーチャードグラス、マメ科はラジノクローバであった。また化学性をみると窒素施用区では随伴アニオンの作用により塩基が流亡するためpHが低下していた。NPKCa区のpHは窒素施用区と無施用区の間であった。置換性カリ、ブレイりん酸はそれぞれの無施用区で低い値を示した。全炭素、全窒素はともに-F、PK区で低く、NK、NP、NPK区で高い傾向であった。また、表示しなかったが2～5 cm、5～15 cm土層の土壤化学性はそれぞれpH5.3および5.8、ブレイりん酸8および4

mg/100g、全炭素2.7および2.4%であり処理間の差は小さかった。

2. 施肥処理の土壤微生物に与える影響

施肥処理開始7年目の層位別細菌数、尿素分解活性を表3に示した。両者とも0～2 cm土層では-F、PK区で高い傾向であった。また層位別には、すべての区で下層ほど細菌数が低下していた。全処理区の平均値でみると、2～5 cm土層は0～2 cm土層の約1/2であり、5～15 cm土層は1/5であった。尿素分解活性は0～2 cm土層の活性が抑制されていたNP、NPK、NPKMg区では2～5 cm土層の方が高い傾向を示していたが、他は0～2 cm土層の方が高かった。5～15 cm土層はどの区でも例外なく最も活性の低い土層であった。

次に1984年に6度にわたり測定した0～2 cm土層の微生物数・活性の平均値を表4に示した。

Table2. Chemical analysis and average yield of recent three years of experimental plots.

Treatment	Soil properties(0-2cm depth)						Yield	
	pH	Ex. base		Bray P*	T-C (%)	T-N (%)	(D.M.kg/10a)	
		K	Mg				grass	legume
-F	5.8	17	16	7	3.4	0.31	127	80
PK	5.7	37	9	36	3.4	0.31	211	150
NK	4.5	33	5	10	4.2	0.36	457	0
NP	4.5	12	5	40	4.1	0.36	500	0
NPK	4.5	21	4	38	3.8	0.34	501	0
NPKMg	4.3	28	7	37	3.6	0.30	525	0
NPKCa	5.0	23	6	42	3.8	0.33	540	0

*mg/100g. soil

Table3. The effect of fertilization treatments on bacterial numbers and urea decomposing activities in the three soil depth.

Treatment	Bacterial number ($\times 10^6$ /g.soil)			Urea decomposing activity (mg/day/100g.soil)		
	0-2 cm	2-5 cm	5-15 cm	0-2 cm	2-5 cm	5-15 cm
-F	30.1	13.3	4.0	284	182	145
PK	25.1	8.6	5.9	277	194	153
NK	22.5	11.1	3.4	188	172	148
NP	17.9	16.7	3.8	143	213	125
NPK	16.3	12.5	4.2	150	179	146
NPKMg	17.9	10.7	4.1	146	151	137
NPKCa	20.8	9.7	3.0	185	155	146
Average	21.5	11.8	4.1	196	178	143

Table 4. The effects of fertilizer treatments on some microbial and biochemical activities in the 0 to 2cm depth.

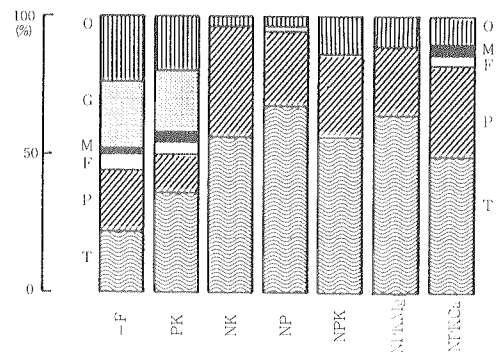
Mean values of 6 sampling date are indicated.

Treatment	Microbial count				Decomposing Activity*				
	Bacteria ($\times 10^6$ /g)	Gram- bact. ($\times 10^6$ /g)	Hyphal length (m/g)	Fungi ($\times 10^4$ /g)	Urea	Fructose	Glucose	Protein	Starch
-F	40.0a	4.5a	262	18.5ab	298a	315a	331ab	230	1000a
PK	39.3ab	4.0a	262	17.9b	236b	313a	351a	277	953ab
NK	24.8abc	1.6b	292	24.7a	180c	287ab	265bc	235	906ab
NP	15.6c	1.3b	291	21.4a	201bc	273ab	272bc	231	853b
NPK	12.8c	0.9b	321	21.5a	164c	265b	263c	260	825b
NPKMg	18.5bc	1.4b	279	22.5a	180c	269b	212c	246	860ab
NPKCa	27.6ab	3.0a	217	17.9ab	171c	276ab	287bc	268	1009b

*These activities are expressed as mg of product formed or mg substrate decomposed per 100g soil per day.

細菌数, グラム陰性菌数は N 無施用で比較的 pH の高かった -F, PK 区で高く, N が施用されており pH の低下した NP, NPK 区で低く, Ca 添加区では両者の中間であった。また, 土壌 pH が高い水準で維持されている -F, PK 区ではイネ科牧草より分解されやすいとされているラジノクロバが存在していたことは細菌数との関連で重要な点と考えられる。尿素分解活性, フラクトース分解活性, グルコース分解活性は細菌数とほぼ類似の傾向で, -F, PK 区で高く, NK, NP, NPK 区で低かった。蛋白分解活性には処理間に有意な差が認められなかった。

希釈平板法の糸状細菌数は, 土壌中の糸状菌胞子数を表わしていると考えられるが¹⁹⁾, 細菌数とは逆に pH の低い NK, NP, NPK 区で高く, pH の高い -F, PK 区で低かった。糸状菌長は希釈平板法の糸状菌胞子数とやや類似した傾向で NK, NP, NPK 区で高く, -F, PK 区で低い傾向であったが, その差は有意ではなかった。またローズベンガル培地上の糸状菌を形態別に分類したものを図 1 に示す。土壌 pH の低下した NK, NP, NPK 区および NPKMg 区では, 耐酸性の強いと考えられている *Trichoderma* 属, *Penicillium* 属¹²⁾ の出現割合が高く, 両者で全糸状菌の 86~96% を占めていた。それに対し, -F, PK 区では, 両者合計の出現割合はそれぞれ 44, 49% であり, -F, PK 区の糸状菌相は多様性に富んでいることが示された。

**Fig. 1.** Percentages of different fungi isolated from soils under different fertilization practices.

T; *Trichoderma* P; *Penicillium*
 F; *Fusarium* M; *Mucor*
 G; *Gliocladium* O; Other fungi

次に細菌数の季節変化を図 2 に示す。N が施用されておらず pH の低下していない -F, PK 区の細菌数は先に報告したように¹⁹⁾, 春と秋にピークを有し, 夏に谷を持つ季節変化を示した。それに対し, 土壌 pH 低下の著しい他の区では, 明確な春, 秋のピークはみとめられなかった。

3. イネ・マメ混播草地の土壤微生物性

細菌数の高かった -F, PK 区では土壌 pH が相対的に高く, またラジノクロバが混生していた。そこでラジノクロバの微生物性に与える影響を pH と分離して検討するために, チモシー単播草地とチモシー・ラジノクロバ混播草地の土壤微

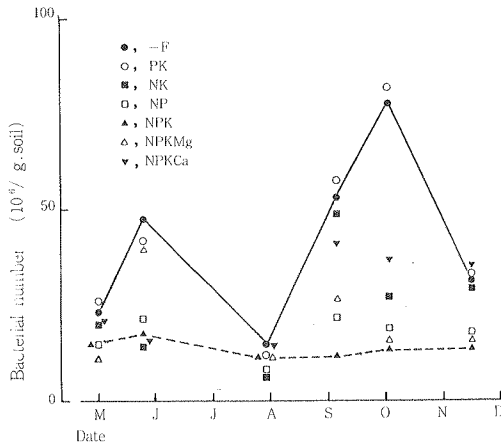


Fig.2. The effect of different fertilization treatments on seasonal changes in bacterial numbers.

生物性を表5に示す。細菌数、グラム陰性細菌数、糸状菌数、尿素分解活性のすべてがチモシー・ラジノクローバ混播区で高い傾向であった。このことから、ラジノクローバの混生は微生物数・活性ともに高めることが示唆された。

考 察

土壤微生物の草地生態系での役割は、おおまかに①物質変換の担い手 ②最も可変的な土壤有機物の構成要素に二分される。本報告は①の側面、すなわち草地の物質変換を担っている微生物の動態を明らかにすることを目的とした。そこで、細菌数の計測は、比較的活性の高い部分を代表しているとされている¹⁾通常の培地を用いた希釈平板法で行なった。これに対して②の観点からは直接

検鏡法²¹⁾によりバイオマスを測定すべきであろう。さらに、より直接的な微生物の分解力を評価するため各種基質を土壤に添加した場合の分解活性を測定した。選んだ基質は草地生態系内で一定程度意義があり、かつ定量法の確立しているものである。

1. 草地表層の土壤微生物的特徴

表3で明らかなように草地表層の土壤微生物は0～15cmの比較的狭い範囲で明確な層分化を起こしていた。一般的に下位の土層ほど微生物が乏しくなることは多くの研究者により報告されており^{31),32)}、その要因としては、基質・酸素の不足、低温などがあげられている⁴⁾。特に草地においては、基質・酸素の制限が作土下部の微生物を抑圧していると考えられる。すなわち、草地は耕起されず長年利用されるため枯葉、枯株の還元は草地表面に限定される。また根も表層に集中しているため²⁶⁾、死根・根の分泌物の供給もごく浅い表層が主体となる。それにとまって草地表層でさかな有機物の分解＝酸素の消費が起これ、それが耕起されず通気性の低下している草地の物理性と相まって、下層の酸素不足に拍車をかけていると考えられる。もちろん表層に集中している牧草根の活発な呼吸作用もこの傾向を助長しているであろう³⁴⁾。これについて、沢田らは、草地の5～10cm土層を酸化的条件で培養すると微生物数が増加することを報告し、上記の推論を裏付けた²⁸⁾。

さて、三木ら²²⁾は草地では地上部だけで年間100～350kg/10aの有機物が還元され、根部を含めればその量はさらに多くなるとしている。その分解による無機養分供給は草地の生産性に大きくか

Table5. Microbial parameters of timothy only (T) and timothy-ladino clover (TL) pasture in the 0 to 2cm depth.

Parameters	Date	7th June	2th Aug.	8th Nov.	Average
Bacterial number ($\times 10^6$ /g.soil)	T	87.5	61.8	28.1	59.4
	TL	94.6	95.9	39.8	76.8
Gram neg. bacterial number ($\times 10^6$ /g.soil)	T	6.0	17.5	3.0	8.8
	TL	8.8	22.1	7.0	12.1
Fungal count ($\times 10^4$ /g.soil)	T	9.8	13.3	8.2	10.4
	TL	13.0	22.8	10.7	15.5
Urea decomposing activities	T	221	241	200	221
	TL	279	274	227	260

かわつていよう。これに携っているのが0～2 cm 土層の微生物である。この土層で微生物数および活性が高まっているのは逆の見方をすれば、物質変換を円滑ならしめるための自然界の適応現象ともみることができよう。本報告では上記の観点から、以下草地の物質変換に大きな役割を演じている0～2 cm 土層の微生物を中心に検討を進める。

0～2 cm 土層の微生物を検討するに当り、まず、微生物数と分解活性相互の関係を把握するため両者間の相関係数をもとめた(表6)。-F, PK 区で高い全細菌数, グラム陰性細菌数が得られ、これを第1のグループとした。これらは、蛋白分解活性を除く他の分解活性と相関が高い。この結果は、希釈平板法が土壤細菌中の比較的活性の高いものを検出しているとの指摘¹⁾を追認するものである。さらに、尿素・フラクトース分解活性と細菌数との相関が高いことは、これらの活性を測定することにより土壤細菌数がある程度推定できることを意味している。このような化学的分析手法を取り入れた微生物測定法は従来の微生物計測法と比べて簡易であり、一度に多くの点数を分析できる利点があるので^{8), 14)}、土壤の生物性診断法として利用し得る可能性がある。

他方、糸状菌数はNP, NK, NPK 区で高く、どの分解活性とも正の相関を有しないので別の第2グループとして位置付けられる。糸状菌長は糸状菌数と若干類似した一面もあるが、有意な処理間差を持たなかったため、とりあえず除外しておく。ここで糸状菌と糸状菌長がどの分解活性とも正の相関を示さなかった要因について検討を加えてみたい。まず、希釈平板法の糸状菌数はそのほとんどが休眠体である胞子を計測しているので一般に代謝活性は低いと考えられる。それ故、分解活性と相関を有しなかったのは当然であろう。糸

状菌長の方は栄養体を測定しており、それがここで測定したような基本的な基質の分解活性を有していないとは考え難い。分解活性との相関が低かった理由としては、一つに活性の低下した菌糸も染色され測定されていること、他に糸状菌菌糸の活性が細菌のそれ以上に変化に富んでいる可能性があげられるが、本試験の場合はむしろ、菌糸長の処理間差が小さくて分解活性との関係が顕在化しなかったものと思われる。

2. 施肥処理と微生物性の関係

次に、施肥管理により招来された土壤化学性の変化と微生物性の関係を検討するため、両者間の相関係数を算出した(表7)。これによると第1のグループに属する微生物性は土壤pHと有意な正の相関を有していた。この観点から細菌数の処理間差を再びみると(表3)、土壤pHが5.8, 5.7である-F, PK 区で最も多く、pH5.0のNPKCa 区がそれにつづき、pH 4 台の他の区が最も少なくなっており、pH 値と明確な対応関係を示していた。土壤pHが低下することにより細菌数、微生物活性の低下する例は他にも報告されており^{3), 18)}、その要因としては活性アルミニウムの害作用が指摘されているが³⁶⁾、植物の場合¹⁷⁾と同様にりん酸の吸収阻害も関与していると考えられる。このように細菌数とそれに付随する活性を規制する最大の要因は土壤pHであった。さらに、-F, PK 区の細菌数が多かったことに関して他にもう一つの要因を指摘することができる。表2によると、-F, PK 区では他の区と異なりラジノクロバが混生しておりこのことは当然-F, PK 区に他の区より多くのラジノクロバ残渣が供給されたことをものがたっている。ラジノクロバはイネ科牧草と比べて蛋白質や非構造化画分が多く、飼料としての消化性が良い²⁵⁾。従って微生物の基質としても良質であると考えられる。実際、表5に示したよ

Table6. Correlation coefficients for soil microbial parameters and biochemical activities.

	Decomposing activities				
	Urea (UDA)	Fructose (FDA)	Glucose (GDA)	Protein (PDA)	Starch (SDA)
Bacteria	0.786	0.950	0.831	0.177	0.851
Gram-bacteria	0.812	0.896	0.850	0.207	0.882
Fungal count	-0.504	-0.507	-0.733	-0.522	-0.700
Hypchal length	-0.103	-0.093	-0.107	-0.070	-0.766

うに、ラジノクローバの混生により、イネ科単播より高い微生物数・活性が得られている。以上から、pHとラジノクローバ混生の2つが-F, PK区の細菌数・分解活性を高めている要因と考えられた。

第1グループに対して、第2グループの糸状菌の孢子数は土壌pHと有意な負の相関関係を示していた。しかしながら、アクティブな糸状菌の形態である菌糸長には有意な処理間差が認められなかった。後者の要因としては糸状菌の耐酸性が相対的に強いことがあげられる²⁾。低pH条件になるほど糸状菌孢子数が増加する例は他にも報告されているが^{12), 17)}、その要因は現時点では特定できない。ひとつには図1に示されるように窒素が施用されて土壌pHが低下した区では*Trichoderma*, *Penicillium*のように低pH耐性の強い糸状菌が優先しており、かつそれが高い孢子形成能を有しているため低pH区の糸状菌孢子数が多く計測されたことが指摘される。これについては、Warcupらも酸性土壌で孢子形成能の強い種類の糸状菌が優先しているとしている³⁴⁾。他の可能性としては低pH耐性の強いと考えられている糸状菌でさえ、本来低pHを好むものではなく、そのため耐久体である孢子の形成が低pH条件で促進されたことが考えられる。本試験でみられた孢子数と菌糸長の違いは他の試験でも認められており^{13), 17)}、糸状菌のactive formを検討しようとする場合、菌糸長の測定は不可欠と言える。

pH以外のP, Kも土壤微生物にとって必須な要素であり、その施用は土壤微生物活性を高めることが報告されている^{5), 14)}。本試験では細菌数と置換性カリが正の相関を有していたのを除き、これ

らの要素と微生物性の関係は明確でなかった。これは一つにP・Kの影響を直接比較できるNPKとNP, NK区がいずれも低土壌pH条件であることが要因として考えられる。すなわち、低pHの影響が大きいため他の要素の影響がマスクされた可能性があり、これらの要素の土壤微生物的意義付けは通常のpH条件下での検討を待つ必要がある。一方、Mgは表6によるとグラム陰性細菌、尿素、フラクトースの分解活性と正の相関を有し、またNPKMg区の有機物蓄積量が同一pHレベルであるNP, PK, NPK区より少ないことから(表2)微生物活性に対しプラスに働いているものと推察されるが、通常の土壌pH条件での検討を要する。

3. 季節変化

これまでに検討してきたように本試験の範囲では、糸状菌のactive formである菌糸長の処理間差は小さく、分解活性の大小は細菌数に負うところが多かった。そこで、微生物性の季節変化を細菌に代表させて検討することにする。筆者らは先に、草地の0～2 cm土層の細菌数および分解活性が春と秋にピークを有し、夏に谷を持つ季節変化をたどることを報告し、その要因として基質供給の多寡を想定した¹³⁾。図2ではpHの高い-F, PK区において先の報告と同様のパターンを示したが、他の区では明瞭な春・秋のピークはみとめられなかった。これは低土壌pHが第1の細菌数規制要因となっている条件下では草地植生から基質の供給があっても、細菌がそれに反応して増殖できなくなっていることを示している。この結果として、土壌pHの低下した草地の場合、物質循環が遅滞し有機物の集積が起ることが想定され

Table 7. The correlation coefficients between microbial measures and soil properties.

	Microbial count				Decomposing activity				
	Bacteria	Gram-bact.	Hyphal length	Fungi	Urea	Fructose	Glucose	Protein	Starch
Soil pH	.933**	.971**	.511	-.803*	-.834*	.912**	.933**	.247	.781*
Ex. K	.766*	.159	-.096	.103	-.139	.295	.122	.520	.127
Ex. Mg	-.341	.841*	-.376	-.516	.937**	.808*	.593	-.245	.663
Bray-P	-.459	-.338	-.102	-.247	-.550	-.563	-.246	.597	-.314
Total-C	-.638	-.710	.343	.694	-.619	-.579	-.488	-.386	-.433
Total-N	-.500	-.548	.386	.508	-.428	-.388	-.185	-.338	-.355

*and **denote significance at 5% and 1% level, respectively.

る。草地の有機物集積については、三木らが定量的な把握を行なっている²²⁾。本試験においても表1に示されるように-F区と有機物が最も多く蓄積しているNK区との土壤全炭素、全窒素の差は、それぞれ0.8%, 0.05%に達し、これは-F区に比べNK区の0-2 cm土層に炭素で160kg/10a、窒素で10kg/10aに相当する多量の有機物が集積していることになる。これには当然、無機化すれば牧草の栄養素となるN, P, S等が有機態の形で含まれている。早川らは古い草地では有機物が集積しているにもかかわらず、窒素無機化量が小さいことを認めている¹¹⁾。これも草地経年化に伴うpHの低下、マメ科牧草の衰退による微生物活性低下の一例であろう。

4. 総合考察

一般に毎年耕起される畑地においては、土壤有機物は経年的に減少傾向にあるが、草地では更新時にすき込まれる前植生由来の部分を除くと、むしろ経年的に増加すると推論されている²²⁾。Harmsenは、このような有機物蓄積の起こる理由として、植生からの有機物還元量が多いことに加え、草地の微生物による分解活性が低いことをあげている¹⁰⁾。本試験の結果0-2 cm土層の細菌数は5-15cm土層の5倍以上であるのに対し、尿素分解活性は約1.4倍にすぎなかった(表3)。すなわち、0-2 cm土層では細菌数の割に分解活性は高くないと言える。筆者らは同様の現象を他にも報告している¹⁵⁾。この要因としては、0-2 cmと5-15cmの土壤pHの違いが考えられる。大部分の微生物は中性付近を至適pHとしておりと考えられ、0-2 cm土層の低pH条件が微生物の活性を低下させているのであろう。また、草地表層に蓄積した有機物は、いったん乾燥すると仲谷が指摘しているように疎水性を生じ²³⁾、そのため微生物にとって過乾となり分解が抑制されている可能性もある。加えて、早春、刈り取り直後は太陽光の直射を受けるなど、草地表層は微生物の活性発現にとって好適とはいえない条件にある。このような、有機物分解にとって条件の悪い部位に不可避免的に大量の有機物が還元されることが、草地の有機物の分解を畑地に比べ遅延させている要因と考えられる。Clarkらは草地において牧草として収穫される量とほぼ同等の有機物が還元されるとしている⁶⁾。もし、分解・無機化による養

分供給が円滑に進まない場合、草地の生産力は低下の方向をたどるであろう。このことから、表層での過度の有機物蓄積は好ましくなく、分解者たる土壤微生物の重要性が示される。先に論じたように、その分解活性が草地表層では低下を余儀なくされていることから、微生物活性を高めることは草地生産力維持のため重要であると言える。本試験の結果、低pHが土壤微生物活性の第1の阻害要因であることが明らかになったので、まずこの要因を取り除く必要がある。酸性化草地に対する石灰施用は牧草のリン酸、石灰、苦土の吸収を促進する効果があるとされているが、長い目でみれば、草地の有機物分解を促進し、有機態で蓄積されるN, P, Sなどを無機化することにより牧草への養分供給量を高める働きがあると考えられる。また、可能な限りマメ科草を維持することも微生物の活性化につながることは言うまでもない。しかしながら、天北地方で高収をねらい多肥を行なう場合はラジノクロバの維持は困難である³⁵⁾。従って、堆肥などマメ科牧草に替る易分解性有機物の施用効果を検討する必要がある。このような手段により土壤微生物活性を維持することは草地生産性の維持向上に有効と考えられる。今後、具体的事項について検討を深め、その効果を明らかにする必要がある。

謝 辞 本報告の御校閲と貴重な御指導をいただいた當場場長斉藤亘博士と大垣昭一化学部長に謝意を表する。

引用文献

- 1) Babiuk, L.A.; Paul, E.A. "The use of fluorescein isothiocyanate in the determination of the bacterial biomass of grassland soil". *Can. J. Microb.* **16**, 57-62 (1970).
- 2) Buckman, H.O.; Brady, N.C. "The nature and crop properties of soils". The Macmillan Co, London. 1969, p.398.
- 3) Bryant, R.D.; Gordy, E.A., Laishley, E.J. "Effect of soil acidification on soil microflora". *Water, Air, and Soil Pollution*, **11**, 437-445 (1979).
- 4) Campbell, C.A.; Biedembeck, V.O. "Changes in mineral N and numbers of bacteria and actinomycetes during two years under wheat-

- fallow in southwestern Saskatchewan". Can. J. Soil Sci. **62**, 125—137 (1982).
- 5) Campino, I. "Effect of the K fertilization on the N-mineralization in a grassland soil and on the N-uptake by Italian rygrass". Proceedings of 15th International Grassland Congress. in Press.
 - 6) Clark, F.E. ;Paul, E.A. "The microflora of grassland". Adv. Agron. Vol. 22, Brady, N.C. ed. New York, Academic Press, 1970, p375—435.
 - 7) Doll, E.C. ;Hatfield, A.L. ;Todd, J.R. "Vertical distribution of topdressed fertilizer phosphorus and potassium in relation to yield and composition of pasture herbage". Agron. J. **51**, 645—648 (1959).
 - 8) Frankenberger, Jr., W.T. ;Dick, W.A. "Relationships between enzyme activities and microbial growth and activity indices in soil". Soil Sci. Soc. Amer. J. **47**, 945—951 (1983).
 - 9) 福井作蔵. "還元糖の定量法". 東京大学出版会, 1969, p47—54.
 - 10) Harmsen, G.W. "Soil inorganic nitrogen". Soil Nitrogen. Clark, F.E. ed. Madison Wisconsin, Amer. Soc. Agron., 1965, p43—92.
 - 11) 早川康夫, 橋本久夫. "根釦地方火山灰地における牧草地土壌の理化学的特性とその施肥法に関する試験 第5報 牧草地土壌としての特性発現過程と窒素, 燐酸, 加里の供給力について". 北海道立農試集報, **7**, 16—34 (1961).
 - 12) 東田修司, 高尾欽弥. "草地の経年化と土壤微生物". 北海道草研報, **16**, 44—46 (1982).
 - 13) Higashida, S. ;Takao, K. "Seasonal fluctuation patterns of microbial numbers in the surface soil of a grassland". Soil Sci. Plant Nutr. **31**, 113—121 (1985).
 - 14) 東田修司, 高尾欽弥. "道北草地の土壤微生物 第3報 土壤環境との関係". 日本土壤肥科学会講演要旨集, **31**, 46 (1985).
 - 15) Higashida, S. ;Takao, K. "Seasonal changes in microbial activities in the surface soil of a grassland". Soli Sci. Plant Nutr. **31**, 647—651 (1985).
 - 16) 宝示戸雅之, 佐藤辰四郎, 高尾欽弥. "草地土壌の酸性化に伴うアルミニウム溶出と牧草生育". 北海道立農試集報, **50**, 43—53 (1983).
 - 17) Hojito, M. ;Higashida, S. ;Nishimune, A. ;Takao, K. "The effect of liming on acidificated grassland". Soil Sci. Plant Nutr, in press.
 - 18) Ivarson, K.C. "Changes in decomposition rate, microbial population and carbohydrate content of an acid peat bog after liming and reclamation". Can. J. Soil Sci. **57**, 129—137 (1977).
 - 19) Jensen, H.L. "Contribution to the microbiology of Australian soils: III. The Rossi-Cholodny method as a quantitative index of the growth of fungi in the soil, with some preliminary observations on the influence of organic matter on the soil microflora". Proc. Linn. Soc. N.S. Wales, **60**, 145—154 (1935).
 - 20) Johnson, L.F. ;Curl, E.A. "Methods for research on the ecology of soil-borne plant pathogens". Minneapolis, Minnesota, Burgess Pub. Co., 1972, p.187—197.
 - 21) Jones, P.C.T. ;Mollison, J.E. "A technique for the quantitative estimation of soil organisms". J. Gen. Microbiol. **2**, 54—69 (1948).
 - 22) 三木直倫. "畜産草地系における窒素サイクルと管理上の問題点". 北海道土壌肥料研究通信, 1984, p17—32.
 - 23) 仲谷紀男. "有機物が関与する土壌の水分特性について—とくに, 土壌有機物の存在様式と潅水性を中心として—". 農業技術研究所報告, **B32**, 1—72 (1981).
 - 24) Newman, E.I. "A method of estimating the total length of root in a sample". J. Appl. Ecol. **3**, 139—145 (1966).
 - 25) 大原益博, 田辺安一, 土岐和夫. "寒地型牧草の *in vivo* 乾物消化率および粗蛋白質含量". 新得畜試研究報告, **8**, 13—20 (1977).
 - 26) 大崎玄佐雄, 奥村純一. "根圏土壌の理化学性が牧草生育に及ぼす影響. I, 土壌密度と牧草生育の関係". 北海道立農試集報, **27**, 77—88 (1973).
 - 27) Russel, J.S. "Soil fertility changes in the long-term experimental plots at Kybybolioe, South Australia. 1. Changes in pH, total nitrogen, organic carbon and bulk density". Aust. J. Agric. Res. **11**, 902—926 (1960).
 - 28) 沢田泰男, 新田恒雄. "耕・草・林地土壌の微生物相の対比". 草地試研報, **6**, 32—39 (1975).
 - 29) Sears, P.D. ;Goodall, V.C. ;Jackman, R.H. ;Robinson, G.S. "Pasture growth and soil fertility. 8. The influence of grass, white clover, fertilizers and the return of herbage clippings on pasture production of an impoverished soil". N.Z. J. Agric. Res. **8**, 270—283 (1965).
 - 30) 菅原潔, 副島正美. "蛋白質の定量法". 東京大学

- 出版会, 1977, p.95—109.
- 31) Vandecaveye, S.C. ;Katznelson, H. "Microbial activities in soil, IV. Microflora of different zonal soil types developed under similar climatic condioions". Soil Sci. **46**, 57—84 (1938).
- 32) Waksman, S.A. "Bacterial numbers in soils at different depths, and in different seasons of the year, Soil Sci. **1**, 363—380 (1916).
- 33) Warcup, J.H. "The ecology of soil fungi". Trans. Br. Mycol. Soc. **34**, 376—399 (1951).
- 34) Whitehead, D.C. "The role of nitrogen in grassland productivity". Commonwealth Agricultural Bureaux, London. 1970, pp30—41.
- 35) 山神正弘. "天北地方におけるオーチャードグラス主体草地の肥培管理と植生変遷". 昭和57年度北海道農業試験会議資料. 1983.
- 36) 吉田富男, 坂井弘. "北海道における各種土壌の微生物学的研究 第4報 土壌微生物相におよぼすアルミニウムの影響". 北海道農試彙報. **82**, 23—27 (1963).

Effects of Some Fertilization Practices on Soil Microbial Activities in the Surface Soil of the Grassland

Shuji HIGASHIDA*, Akira NISHIMUNE** and Kinya TAKAO***

Summary

The understanding of nutrient transformation in soil must be based on a knowledge of soil microbial activities. In order to clarify the relationship between fertilization and microbial activity, some microbial and biochemical characteristics were studied in soils collected from the grassland under different fertilization practices, which caused marked changes in the uppermost part of grassland soil. The experimental plot was located in the northern part of Hokkaido, and the characteristics examined included bacterial and fungal number obtained by the plate method, hyphal length, and decomposing activities of urea, fructose, glucose, starch and protein. Simple correlation analysis indicated that the bacterial counts were significantly correlated with soil pH, and another factor which appeared to be responsible for bacterial count was the vegetation. That is, legume might increase bacterial numbers because it would provide better substrates than grasses. Biochemical activities except for the protein decomposing activity were parallel to bacterial count. Soil pH, however, had less influence on hyphal length. That is likely due to the ability of fungi as a group which can grow in a low pH condition. As the dominant fungal genera in the low pH plots were *Trichoderma* and *Penicillium*, while the fungal genera in the high pH plots were more divergent. The seasonal fluctuation of bacterial count in the high pH plots indicated two maxima in spring and autumn. This pattern was less pronounced as soil pH decreased. Bacterial numbers of low pH plots were primarily restricted by soil pH, so other factors concerning seasonal fluctuation such as substrate level or climatic factors can not have a control over the seasonal fluctuation pattern. As a result of low microbial activities in the low pH plots, the transformation of nutrient elements would be retarded, including the mineralization of plant nutrient elements from the leaf litter and dead roots and stubble. We concluded the factors which govern the microbial activities in the intensive pasture was soil pH and vegetation and our work provided the basic information on controlling microbial activities.

*Hokkaido Prefectural Tokachi Agricultural Experiment Station, Memuro, Hokkaido, 082, Japan.

**Hokkaido Prefectural Tenpoku Agricultural Experiment Station, Hamatonbetsu, Hokkaido, 098—57, Japan.

***Hokkaido Central Agricultural Experiment Station, Naganuma, Hokkaido, 069—13, Japan.