

土壌と植物の生長

石川県立金沢泉丘高等学校 2年

粟森 雅 袖 明日香 別宮 ノエル

1. 要旨、概要

世界の食料不足の解決のために、農業において、効率よく植物を栽培できないかと考え、私たちは植物を育てるのに必要不可欠な土壌に着目した。そして植物の生長に適した土壌とは何かを検討した。植物の生長に影響を与える土壌の条件には、粒子の大きさや保水性等の物理的条件、栄養分やpHに関する化学的条件、微生物や土壌動物の活動といった生物的条件がある。これらの内、私たちは微生物の役割に着目し、微生物の活動により、変化する土壌中の化学成分の増減が栽培植物の生長にどう影響を及ぼすのかを調べた。用いたのは黒土（市販の土と畑の土）と自然土である。

土壌微生物の活動は、分解者としての有機物から無機物への分解、硝化作用などが考えられるが、本研究では硝化作用（硝化細菌）に着目し、硝化作用の大きさを定量化した。なぜなら、肥料の三要素である窒素、リン、カリウムの中で植物そのものの生長を促進するのは窒素であり、植物は窒素を主にアンモニウムイオンまたは硝酸イオンの形で吸収するが、その際、硝酸イオンとしての方が吸収しやすいと言われているからだ。また、実際に植物を育てることで土壌の種類や土壌中の微生物の有無と、植物の生長の関係について調べた。その結果、市販されている黒土は土壌微生物は少ないがpHが中性付近に調整してあるため、自然の土壌より適していることが分かった。

2. 問題提起、研究目的

私たちは、どのような土壌中の硝化作用が大きい（硝化細菌を多く含む）のかを調べた。また、土壌中の微生物の有無がどれほど植物の生長に影響を及ぼすのかを調べた。また、一般的にはpHの低い土壌は植物を育てるのに適していないといわれているが、pHの差が植物の生長にどのくらいの違いをもたらすのか疑問に思った。これらのことから以下の実験を行った。

3. 実験方法

実験1「土壌中の硝酸イオン濃度の測定」

先述のような理由から、黒土とコナラ林土（自然土）の硝酸イオン濃度の測定を行った。

<材料、器具>

- ・金沢市内のホームセンターで購入した市販の黒土
- ・金沢市内の人の手が加わっていないコナラ林（平栗、角間）の土壌（以下コナラ土と表記する）
- ・低温インキュベーター
- ・分光光度計
- ・0.01%塩化アルミニウム溶液
- ・硫酸アンモニウム溶液(乾土1gに300 μ gの窒素が存在するようにするように、1.42g/mlの溶液にする。)
- ・乾熱滅菌器
- ・電子上皿天秤
- ・駒込ピペット
- ・ビーカー
- ・メスシリンダー

<実験方法>

「紫外吸光度法を利用した土壌中硝酸態窒素の迅速測定法」^①を用いる。

- 1.それぞれの土壌の粒子の大きさを揃えるために、金属ざる（メッシュ幅1mm）を用い、大きめの水槽の上でふるう。
- 2.1でふるった2種類の土壌を新聞紙の上に広げ、約1日間風乾させる。
- 3.2で風乾させた2種類の土壌を電子上皿天秤で50gずつ量り、ビーカーに入れ、それぞれ10個のビーカーを作る。
- 4.黒土の土壌を硫酸アンモニウム溶液 10mlを添加するものとし、コナラ土も同様に分け、硫酸アンモニウム溶液を添加する。
- 5.土壌の入ったビーカーをアルミ箔でおおい、低温インキュベーターで硝化細菌の最適生育温度である30度におく。^②
- 6.1週間ごとにビーカーを取り出し、新聞紙の上にキムワイブを2枚重ね、風乾させる。
- 7.風乾させた土壌のうちから1gを電子上皿天

秤で量り、0.01%塩化アルミニウム溶液 100m l と混ぜ、ろ過する。

8.ろ過した液体を 0.01%塩化アルミニウム溶液でベースライン補正した分光光度計で 210.0 nm の波長で土壌 1 g あたりの硝酸イオン濃度を定量する。

実験 2 「呼吸速度の測定」

一時間あたり土壌 1 g あたりの二酸化炭素排出量を測定することにより、土壌中の微生物量を測定する。

<用いる材料、器具>

- ・密封できる容器
- ・水酸化ナトリウム溶液
- ・ろ紙
- ・土壌 (黒土 (市販)、黒土 (畑)、コナラ土)
- ・スポンジ
- ・フェノールフタレイン溶液
- ・針金

<実験方法>

1. 容器に土壌をとる。
2. ろ紙を適当な大きさに切り重さを測定する。
3. 素早く水酸化ナトリウム溶液につける。
4. 3.の上にフェノールフタレイン溶液を数滴たらし、土壌につかないように針金とスポンジを用いてつす。
5. 容器のふたをしめ、フェノールフタレインのピンク色が消えるまでの時間を測定する。
6. 色が消えた後のろ紙の重さを測定する
7. 容器内の土壌の重量を測定する。

(1 時間あたり土壌 1 g あたりの二酸化炭素排出量)

$$= (\text{水酸化ナトリウム溶液の濃度}) / 1000 \times (\text{水酸化ナトリウム溶液の液量}) \times (\text{二酸化炭素の分子量}(44\text{g/mol}) \div (\text{色が消えるまでの時間 (時間)}) \div (\text{土壌の重量}))$$

上記の計算式を用いて、二酸化炭素排出量の値を出した。

実験 3 「コマツナの長さ、重さ、クロロフィル a 濃度の測定」

殺菌した土壌としていない土壌で実際に植物を育て比較することで、土壌ごとに、微生物が植物の生長に与える影響を比較した。

<用いる材料、器具>

- ・コマツナ (市販)
- ・黒土 (市販)
- ・コナラ土
- ・分光光度計

- ・乳鉢
- ・80%アセトン溶液
- ・乾熱殺菌器
- ・卓上遠心機
- ・遠沈管
- ・ざる
- ・電子上皿天秤

<実験方法>

黒土とコナラ土を殺菌し、それらの土でコマツナを発芽させ、一週間ごとにコマツナの長さ、重さを測定した。クロロフィル a 濃度は、コマツナを乳鉢ですりつぶし、分光光度計を用いて測定した。

クロロフィルには複数の種類があるが、クロロフィル a は光合成の中心となる色素なのでクロロフィル a 濃度を測定した。

「80%アセトンによるクロロフィル定量法」^④を用いる。

- 1.ざるでふるった土壌を新聞紙の上に広げて風乾させる。
- 2.黒土をさらに二つに分け、80~90 度で殺菌するものと、殺菌しないものに分ける。コナラ土も同様に分ける。
- 3.黒土とコナラ土を 80~90 度で殺菌する。
- 4 ポットに土壌と種子を入れ、水道水を一日に朝と夜の回与える。
- 5.コマツナの生長の様子を見て、一週間ごとに、生長に変化の見られたものを無作為に 10 本ずつ採取する。
- 6.採取したもの 10 本あたりの質量とそれぞれの葉の茎頂から茎の末端 (根を含まない) までの長さを測り、平均値をとる。
- 7.採取したものは、80%アセトン溶液を少しずつ加えながら、乳鉢ですりつぶす。
- 8.7 の溶液を 100m l メスフラスコに入れ、混ぜる。
- 9.8 の溶液を遠沈管に入れ、卓上遠心機で、3000rpm、室温で 5 分間遠心させる。この過程でタンパク質を沈殿させる。
- 10.9 の溶液を分光光度計で、663.6nm と 646.6nm の吸光度を測定する。(663.6nm の吸光度→A663.6 646.6nm の吸光度→A646.6 と表記する)

$$\text{Chla} [\mu \text{g} / \text{m l}] = 12.25 \times \text{A663.6} - 2.55 \times \text{A646.6}$$

$$(\text{コマツナ 1 g あたりのクロロフィル濃度} (\mu \text{g chla/m l})) = \text{Chla} [\mu \text{g} / \text{m l}] \times \text{メスフラスコ} [\text{m l}] \div \text{生重量} [\text{g}]$$

この計算式を用いて、コマツナ 1 g あたりのクロロフィル濃度の値を出す。

実験4 「完全滅菌された土壌でのコマツナの生長の観察」

完全滅菌した土としていない土で植物を育て生長を観察し比較することで、土壌中の微生物が植物の生長に与える影響

＜用いる材料、器具＞

- ・市販の黒土
- ・畑で採取した黒土
- ・コナラ土
- ・オートクレーブ
- ・コマツナの種子（市販）
- ・密閉容器

＜実験方法＞

オートクレーブを用いて土壌を 121 度で滅菌する。その土壌に水を適量加え、密閉容器に入れる。密閉容器 1 つあたりに次亜塩素酸ナトリウムで滅菌したコマツナの種子を 5 つずつ植え、12 日後のコマツナの長さの平均値を測定した。

実験5 「土壌の酸性度の測定」

研究の過程で、コナラ土と黒土で育てたコマツナの生長に違いが見られたのには、土壌の酸性度の違いが大きく関わっているのではないかと考えた。そこで、黒土とコナラ土の pH（水素イオン濃度指数）の測定を行った。

＜用いた材料、器具＞

- ・200m l ビーカー
- ・黒土（市販・畑）
- ・コナラ土
- ・pHメーター

＜実験方法＞

- ① 黒土、コナラ土 50 g を手を加えず 200m l ビーカーに入れ、加水し、200m l とする。
- ② pHメーターで測定。

4. 結果と考察

実験 1 「土壌中の硝酸イオン濃度の測定」について

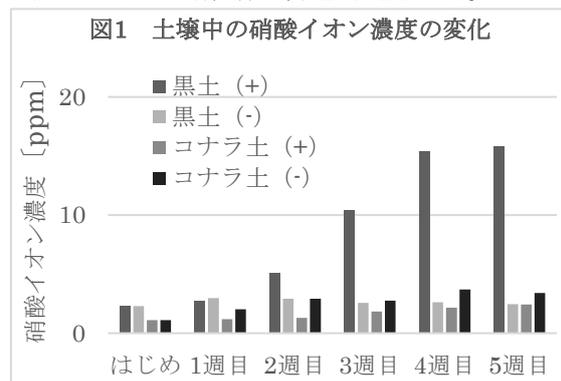
・黒土では、硫酸アンモニウム溶液を添加した黒土(+)の土壌の硝酸イオン濃度が約 6.89 倍に高くなっている。硫酸アンモニウム溶液を添加していない黒土(-)の土壌は、硝酸イオン濃度の変化の仕方にばらつきがあったものの、はじめの土壌の硝酸イオン濃度よりも 1.03 倍に高くなっている。

・コナラ土では、硫酸アンモニウム溶液を添加したコナラ(+)や添加していないコナラ(-)も

硝酸イオン濃度は高くなっているが、硫酸アンモニウム溶液を添加していないコナラ(-)のほうが硝酸イオン濃度は高くなっている。

・黒土とコナラ土で硝酸イオン濃度が最も高くなったのは、黒土の硫酸アンモニウム溶液を添加した土壌であった。

黒土はコナラ土より硝化活性の高いことが分かった。もともとの含有する硝酸イオン濃度も黒土がコナラ土の 2 倍あることから、黒土中には硝化細菌そのものも多く存在すると考えられる。土壌にはその土壌本来の硝化活性を持っていることがわかった。しかし、コナラ土に硫酸アンモニウムを加えなかった場合では、多少ではあるが、常に硫酸アンモニウムを加えた場合よりも硝酸イオン濃度が大きかったことは、もともとコナラ土中に存在していたアンモニウムイオンの硝化作用分と考えられる。



実験を始めた日(始め)では、もとの土壌の硝酸イオン濃度のみを定量した。

実験2 「呼吸速度の測定」について

黒土に比べコナラ土の二酸化炭素排出量が大きかった。

コナラ土中の微生物量は 2 種類の黒土に比べ大きく、市販の黒土と比較すると約 14 倍もの微生物が存在すると言える。

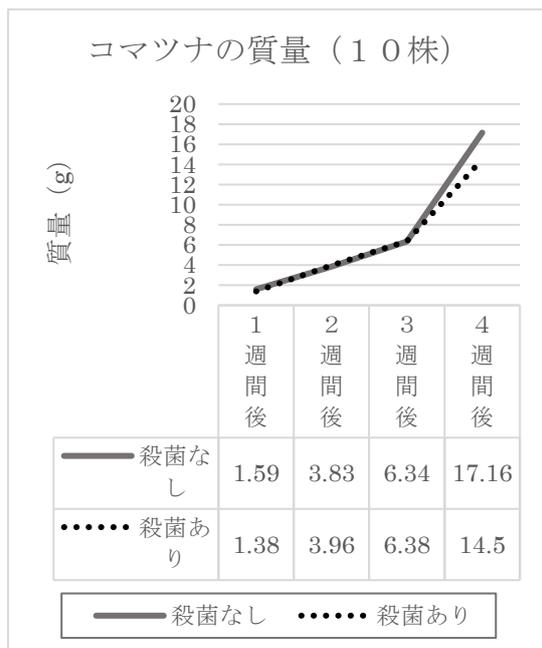
	二酸化炭素排出量(g)	比
黒土 (市販)	5.5×10^{-7}	1
黒土 (畑)	11.5×10^{-7}	2
コナラ土	75.1×10^{-7}	14

表①

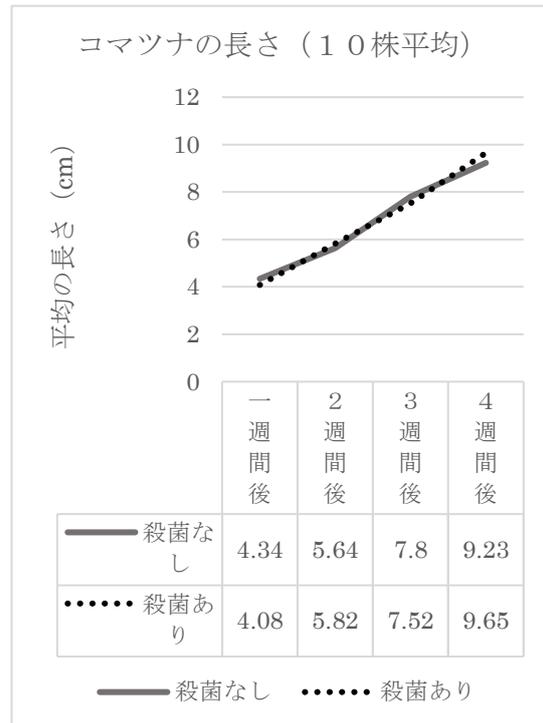
実験 3 「コマツナの長さ、重さ、クロロフィル a 濃度の測定」について

コナラ土に播種したコマツナは極めて発芽率が低かったため、コマツナの長さ、質量、クロロフィル a 濃度を測定することは出来なかった。黒土に播種したコマツナにおいて、コマツナの長さ、質量、クロロフィル a 濃度は、殺菌したものと殺菌していないものであまり変化は見られなかった。

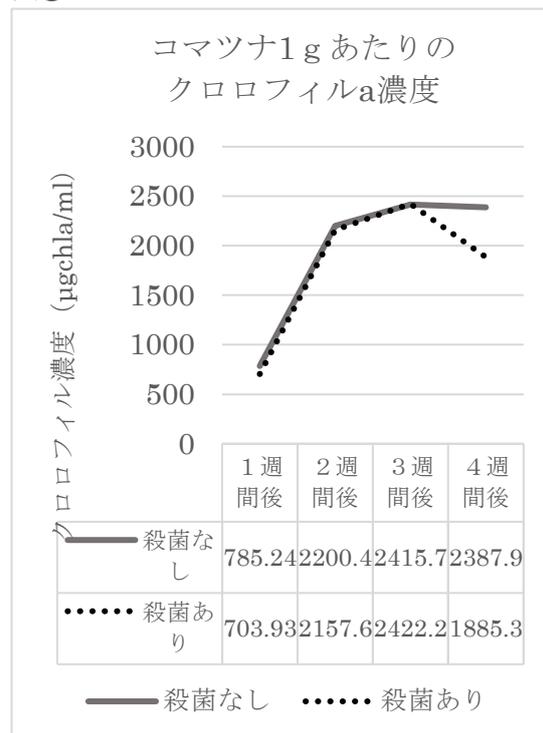
殺菌ありの土と殺菌なしの土でコマツナの生長に違いが見られなかった理由として以下の 2 点を考えた。1 点目として、土を加熱する際の温度が低く土壤中に微生物が存在していたからだと考えた。2 点目として、黒土にはそもそも植物の生長に差を与えるほどの微生物が存在せず、土壌の殺菌によって土壌中の微生物量があまり変化しなかったからだと考えた。



図②



図③



図④

実験 4 「完全滅菌された土壌でのコマツナの生長の観察」について

播種してから 12 日後のコマツナの長さ、それぞれ滅菌した土壌としていない土壌で育っ

たコマツナの長さを比べた生長比は以下の表の通りである。コナラ土で育ったコマツナは2種類の黒土で育ったコマツナに比べて、滅菌したもの、していないものの両方で長さが短かった。

黒土、コナラ土ともに滅菌したものとしていないもので違いが見られたので、微生物の有無が植物の生長に影響を与えていると言える。このことから、実験3では土壌を殺菌する際の温度が低く、微生物がまだ存在していたと考えられる。殺菌した土壌としていない土壌で育ったコマツナの長さを比べた生長比が2種類の黒土に比べ大きい。このことから、コナラ土中の微生物の働きは黒土中の微生物の働きに比べ活発であると言える。

加熱滅菌あり	長さ①	加熱滅菌なし	長さ②	生長比②÷①
黒土(市販)	4cm	黒土(市販)	6cm	1.5
黒土(畑)	4cm	黒土(畑)	5cm	1.25
コナラ土	0.5cm	コナラ土	3cm	6

表②

実験5「土壌の酸性度の測定」についてコナラ土の酸性度が黒土に比べて大幅に高いことが分かった。

一般に酸性度の高い土壌は植物の生育に適しないとされている。また、コマツナの生育に適している土壌はpH5.5～6.5だ。コナラ土はそれらに比べ酸性度が高かったため、実験3・5の結果から分かるように、コナラ土の酸性度の高さがコマツナの生育を妨げていると考えられる。

	土壌の pH
黒土 (市販)	5.71
黒土 (畑)	6.53
コナラ土	4.35

表③

5. 参考文献

- ・(1) 試験研究成果普及情報 課題名：紫外吸光度法を利用した土壌中硝酸態窒素の迅速度測定法 日本土壌肥科学雑誌 vol74.(2)p.195-197(2003年)
- ・(2) 森林土壌中の窒素の動態(I)：森林表層土における硝化細菌の分布と硝化活性 日林誌 vol61(1)1979年 吉田 重明 他2名
・土壌の生物多様性・活性を一括計量する～IT技術の活用による複雑系へのアプローチ～ (独)農研機構 中央農業総合研究センター生産支援システム研究チーム 横山 和成
- ・(3) クロロフィル定量法 光合成風速実験プロトコル 光合成の森 www.photosynthesis.jp/proto/chlorophyl.ntm/
・緑化法面の硝化活性に及ぼす要因の検討 藤田祐規 他2名 日本緑化工学会誌 vol28(1)p.279-282(2002年)

6. 謝辞

今回の研究を進めていくにあたり、ご指導いただいた北陸先端科学技術大学院大学の先生方や、石川県農業総合研究センター農業試験場の方、留学生の方、石川県立金沢泉丘高等学校の先生方に、心より感謝いたします。ご協力ありがとうございました。