

## 湛水土壤の水溶性有機物について(第5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	加藤, 忠司
巻/号	46巻8号
掲載ページ	p. 340-342
発行年月	1975年8月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



# 湛水土壌の水溶性有機物について (第5報)

遊離アミノ酸の集積と細菌数の関係

加藤 忠 司\*

湛水条件下での遊離アミノ酸の集積とその質的内容は外部より加えられた炭素源の種類によって異り、また経時的にも変化が認められた<sup>1)</sup>。このように遊離アミノ酸は土壌内環境の変化に伴って量的かつ質的に変化するが、それは直接的には微生物の増殖とフローラの変動によるものと考えられる。湛水土壌の有機酸代謝においては、すでにそのことは明らかにされており<sup>2)</sup>、遊離アミノ酸においてもこのことは十分予想される。

土壌中の微生物の増殖に重要な影響を与える内的要因の一つに、易分解性有機物の質および量の問題があるが、ここではグルコースで代表させ、一方外的要因の一つとして温度の影響を問題とし、湛水条件下の遊離アミノ酸の集積と微生物との関係に若干の検討を加えた。

## 実験方法

草津風乾土壌<sup>3)</sup> 10 g を試験管にとりグルコースと塩化アンモニウムを第1表に示す割合で添加し、水 10 ml を加えてよくかく拌し、パラフィルムで蓋をし、30°C の定温器中でインキュベーションを行った。所定日数経過後、0.25 N 塩化カリウムで遊離アミノ酸を抽出し、ニンヒドリン比色法<sup>4)</sup> で定量を行った。

またアミノ酸の集積に対する温度の影響をみるため、土壌 10 g にグルコース 100 mg、アンモニア態窒素 2 mg、水 10 ml を加えて、所定の温度 (10, 20, 30 および 40°C) でインキュベーションを行い、同様に処理してアミノ酸の定量を行った。なお 30°C で処理した区について菌数の測定を行った。菌数の測定は次の方法によった<sup>5)</sup>。

第1表 実験区の処方 (添加量: mg/10 g 土壌)

区名	グルコース	窒素 (N)	リン (P)	カリウム (K)
No. 1	0	2.0	2.0	1.6
No. 2	75.0	0	2.0	1.6
No. 3	75.0	2.0	2.0	1.6
No. 4	75.0	5.0	2.0	1.6
No. 5	150.0	5.0	2.0	1.6

注) それぞれ塩化アンモニウム、リン酸-カリウムを使用

好気性および条件的嫌気性細菌: アルブミン寒天を基質とする稀釈平板法

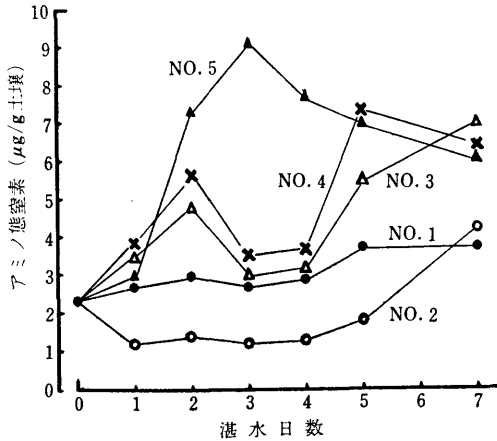
嫌気性菌: チオグリコレートブイヨン寒天を基質とする高層寒天法

硫酸還元菌: 改変 STARKEY の培地による希釈頻度法

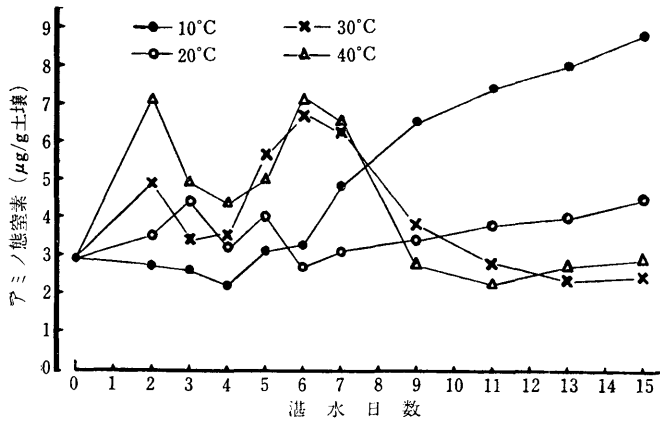
## 実験結果および考察

グルコースとアンモニア態窒素の割合を変化させて、インキュベーションした場合の遊離アミノ態窒素の推移を第1図に示した。アンモニア態窒素のみを加えた場合は集積は認められず、出発時のレベルで推移した。微生物が増殖にとって最も多量必要とする栄養分は炭水化物であるが、土壌溶液は比較的稀薄であり、またたえず固相から液相への炭水化物の水溶化が進行<sup>3)</sup> するにしても、微生物の増殖にとって常に十分量存在するとは考えられない。したがって炭素源の不足がアミノ酸の生成集積を抑制しているものと考えられる。一方グルコースのみを加えてインキュベーションした場合も同様に集積はみられず、アンモニア態窒素のみを加えたときより低いレベルで経過した。この場合微生物はむしろ増殖しやすい条件にあって、存在する窒素源は可能なかぎり菌体形成に利用され、そのためアミノ酸の生成集積に利用される窒素が制限されたものと考えられる。グルコースと共にアンモニア態窒素を加えると、急激に集積がはじまり、湛水2日および6日目にそれぞれ集積のピークが認められた。このような推移については菌数と関係があるので後述する。グルコースの添加量 (75 mg/10 g) を一定にして、アンモニア態窒素を増加してもアミノ酸の集積量に大きな変化はみられない (No. 3, No. 4)。グルコース 75 mg の添加によって有機化されるアンモニア態窒素は約 1.3 mg であって<sup>1)</sup>、これ以上の窒素源を与えてもあまり影響のないことを示している。この場合グルコースが制限因子になっていることは、グルコースをさらに多く添加することによって、アミノ酸の集積が飛躍的に増加することからも理解される。グルコースの添加量を増加した場合 (No. 5) は湛水3日目のみピークが認められた。これについては多量の炭素源の供給によってアミノ酸の生成、集積が若干長時間にわたるため、集積のピークが湛水3日目にづれたものと考えられる。

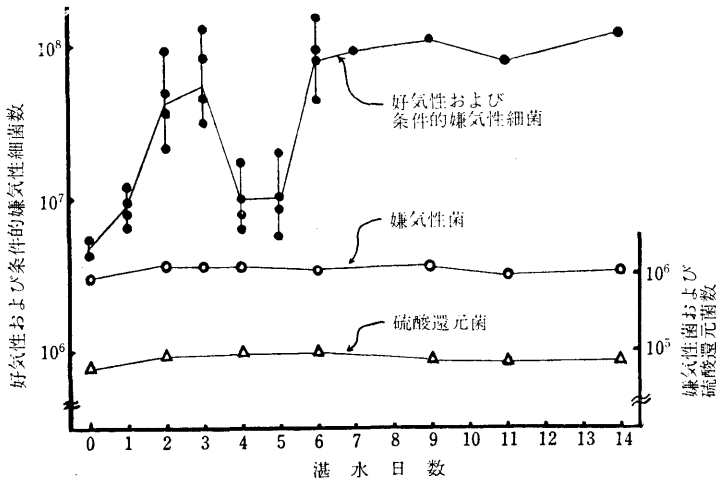
\* 京都大学農学部 (現在四国農業試験場, 普通寺市普通寺 3) 昭和 48 年 9 月 10 日受理  
日本土壌肥科学雑誌 第 46 巻 第 8 号 p. 340~342 (1975)



第1図 炭素・窒素の添加量と遊離アミノ酸



第2図 遊離アミノ酸の生成と温度の関係



第3図 微生物の動態

前報第1図のグルコース区は本報第1図の No. 3 に相当するが、アミノ酸の推移はむしろ No. 5 に一致する。両者の実験条件の差は添加量にあり、前報の実験では 20 ml、今回は 10 ml であって、土壌表面より上の水（以下上水とよぶ）の量に大きな差がある。均一な液層と不均一な土壌層ではアミノ酸の集積および減少過程に相違があり、上水中では湛水3日目に集積のピークを示し、土壌層内では、それと異り、湛水2日と6日目にピークのある推移を辿ったものと予想され、この両者の違いが全体としてのアミノ酸の推移に影響を与えたと考えられる。

微生物の増殖は温度の影響を著しく受けることから、遊離アミノ酸の集積も温度の影響を受けることが予想される。第2図によれば温度は湛水初期のアミノ酸の集積速度と集積量に著しい影響を与えることが理解される。

遊離アミノ酸の集積は温度が高いほど速やかに進行し、かつその量も多い。逆に温度が低いと湛水初期の集積は抑えられるが、後期において大きくなる。低温におけるこの現象は有機酸の集積に類似している<sup>6,7)</sup>。低温条件下では微生物の代謝活動は低く抑えられるので、アミノ酸の生成が促進されるとは考えられない。おそらくアミノ酸を減少させる要因の方が強く抑えられるためと推測される。30°C でインキュベーションした場合の菌数の変化を第3図に示した。菌数の経時的変化の最も大きいのは好気性および条件的嫌気性細菌である。嫌気性菌や硫酸還元菌はそれぞれ約  $1 \times 10^6$  および  $1 \times 10^5$  で推移するが、好気性および条件的嫌気性細菌においては湛水直後  $7 \times 10^6$  から急激に増加し、3日目には10倍の  $7 \times 10^7$  に達し、4日、5日目はいったん減少するが、6日目に再び  $1 \times 10^8$  まで増加し、15日までそのレベルで推移した。一方寒天培地上のコロニーの形態に変化がみられ、顕微鏡下でのおよその形態変化を示すと、湛水1~3日目においては種々雑多な形態のコロニーが、4~6日目にはべたついた感じの大型のコロニーが、7~11日目においては小形で褐色の成円でないコロニーがそれぞれ多くみられた。これらのことから好気性および条件的嫌気性細菌数の変動はフローラの

交替によるものと推測される。

好気性および条件的嫌気性細菌の推移と遊離アミノ酸窒素の推移の間に密接な関係が認められる。遊離アミノ酸の集積する湛水2日目および5~6日目は菌数の急激に増加する時期に一致し、遊離アミノ酸の減少する3~4日目および7日目を降は菌数の最高時から減少する時期と次のフローラの定常期にそれぞれ相当している。一定の条件のもとでは微生物の化学的活性は菌数と比例関係にあるが、湛水条件下の土壤層内においては微生物をとりまく様々な環境条件は経時的に変化しており、また同一の活性が多種類の微生物によって営まれていて、化学的活性が菌数に比例すると単純に考えるのは危険である。しかしながら活性の種類によっては菌数と比例することが予想され、事実土壤条件においても菌数と活性の比例する報告がある<sup>8)</sup>。また古坂ら<sup>9)</sup>はグリシン灌漑土壌でグリシン酸化能が菌数の変化と相関し、対数期に最大になることを示したように、遊離アミノ酸の集積も菌数とよい相関を示しており、集積は微生物の基質が十分あって増殖が進行する時期に最大となり、定常期においてはすでに減少が進行していることを示している。嫌気菌や硫酸還元菌の変化は小さく、菌数も好気性および条件的嫌気性細菌の約1/10~1/1000にすぎず、遊離アミノ酸量の変化に対するこれらの菌類の影響は非常に小さいものと考えられる。しかしこれらの菌においても、増殖に好適な条件が与えられれば、遊離アミノ酸の推移に新しい変化が起ることも予想される。

### 要 約

試験管内湛水土壌での遊離アミノ酸の生成集積に対するグルコースとインキュベーション温度の影響を検討し、遊離アミノ酸の集積と減少が微生物の増殖とどのような関係にあるかを明らかにしようと試みた。得られた若干の結果はつぎのように要約できる。

- 1) 遊離アミノ酸の集積量は窒素源が十分存在する条

件下では、添加するグルコースの量に伴って増加し、かつその推移に変化を生じた。すなわち添加グルコース量が75 mg/10 g 土壌のレベルでは湛水2日と6日目に遊離アミノ酸の集積ピークがあり、150 mgのレベルになると湛水3日目だけに集積のピークが認められた。

- 2) 遊離アミノ酸の集積は温度の影響を強く受けた。インキュベーション温度の高いほど湛水初期の集積量、集積速度ともに大きく、その後の消長も大きい。低温においては初期の集積はみられず、後期において集積量が大きくなった。

- 3) 遊離アミノ酸の消長は好気性および条件的嫌気性細菌数の変動とよい相関を示し、菌数の増加する時期において集積量は最大となり、菌数が最高に達する時期においてはすでに集積量の減少が認められた。

### 文 献

- 1) 加藤忠司：遊離アミノ酸の挙動，湛水土壌の水溶性有機物について（第4報）．土肥誌，45，459（1974）
- 2) 高井康雄・小山忠四郎・加村崇雄：各種水田土壌における還元状態の発達について（その2），水田土壌の微生物代謝に関する研究（第4報）．農化誌，31，215（1957）
- 3) 加藤忠司：湛水土壌の水溶性有機物について（第1報）．土肥誌，43，357（1972）
- 4) 石井信一：実験化学講座，32，p.126，丸善（1957）
- 5) 田辺市郎・鈴木達彦：その1，土壤微生物の測定法，微生物に関する分析法，土肥誌，37，34（1966）
- 6) 三井進午・熊沢喜久雄・菱田 孝：湿田土壌に於ける有機酸の生成と水稻の生育に就て（その2），作物の養分吸収に関する動的的研究（第23報）．土肥誌，30，411（1959）
- 7) 佐藤和夫・山根一郎：水田土壌中におけるブドウ糖の分解に及ぼす温度の影響，土肥誌，37，547（1966）
- 8) GRAY, P.H.H. and WALLACE, R.H.: Correlation between Bacterial Numbers and Carbon Dioxide in a Field Soil. *Can. J. Microbiol.*, 3, 191 (1957)
- 9) FURUSAKA, C. and SATO, K.: Glycine-percolated Soil. I. Correlation between Glycine Oxidation and Bacterial Population. *Can. J. Biochem.*, 43, 1017 (1965)