

亜高山帯針葉樹林下の土壌有機物の性状と分解過程 第6報

誌名	日本土壌肥料学雑誌 = Journal of the science of soil and manure, Japan
ISSN	00290610
巻/号	504
掲載ページ	p. 297-303
発行年月	1979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



亜高山帯針葉樹林下の土壌有機物の性状と分解過程 (第6報)

本地域の土壌中のアミノ糖の蓄積量とその分解に関する
β-アセチルグルコサミニダーゼ活性について*

金 沢 晋 二 郎**

はじめに

国際生物学事業計画 (IBP) 特別研究地域である長野県志賀高原志賀山の、亜高山帯針葉樹林地における代表的な土壌型である湿性ポドソル土 (P_{wh} 型土壌) および高山型褐色森林土 (B_D 型土壌) を対象として、それぞれの土壌有機物の性状と分解過程に関する研究を進めてきた¹⁻⁹⁾。前報⁹⁾ においては、両土壌型の有機物層は糸状菌にとくに富んでおり、たとえば菌糸長は乾土 1g 中数 km にも及んでいることを明らかにした。糸状菌の膜成分の主要な構成物はいわゆるアミノ糖と称されるキチン⁹⁾ であり、さらに土壌中に存在するグルコサミンの大部分はキチンの基本的な構成成分である N-アセチルグルコサミンであるとされている¹⁰⁾。したがって、本地域の両土壌型には糸状菌由来のアミノ糖がかなり蓄積されているものと推定される。本研究においてはこの推定を確かめるために、土壌動物および微生物などによって二次的に生産され、土壌窒素化合物の主要な構成成分の一つであるアミノ糖の蓄積量を調べた。さらに前報⁹⁾ の菌糸長の計数値から糸状菌の現存量を求めた。ついで、キトビオースおよびキチンのような β-N-アセチルグルコサミニド結合を有する化合物を加水分解し、土壌中のアミノ糖類の代謝に重要な役割を果していると思われる β-アセチルグルコサミニダーゼ活性を金沢・高井の方法¹¹⁾ で測定した。また β-アセチルグルコサミニダーゼ活性とヘテロトロフによる呼吸量⁹⁾ およびこの酵素の主要な形成者であると考えられる各種微生物数との関係についても若干の考察を加えた。

1. 実験方法

1) 供試土壌および試料の調整方法

供試土壌は、前報⁹⁾ と同じく長野県下高井郡志賀高原志賀山南斜面の「おたの申すの平」(海拔 1780m) の天

* 本報告の概要は昭和 50 年 4 月、日本土壌肥料学会大会 (伊勢) にて発表した。

** 東京大学農学部 (東京都文京区弥生 1-1-1)
昭和 54 年 3 月 27 日受理
日本土壌肥料学雑誌 第 50 巻 第 4 号 p. 297~303 (1979)

然林下にある湿性ポドソル土 (P_{wh} 型土壌) および高山型適潤性褐色森林土 (B_D 型土壌) を、昭和 46 年 6 月に採取し、アイスボックスに入れ、実験室に持ち帰り、ただちに実験に供試した。

2) 試料の調整方法

酵素活性を測定するにあたり、新鮮な湿潤試料を以下のようにして調整した。粗大な植物遺体に富む L および F 層については、アルコール処理で殺菌したハサミを用いて、粗大な植物遺体を細かく切断して試料をできるだけ均一にした。その他の層位は 2 mm の篩を通した。

3) アミノ糖の測定方法

立川²⁰⁾の方法に従い、以下のように測定した。土壌 2 g を耐熱用バイエルビン (20×150 mm, バイレックス製) に入れ、10 ml の濃塩酸を注ぎ 48 時間室温に放置したのち、10 ml の蒸留水を加え、沸騰湯煎中に 9 時間浸し、加水分解を行った。加水分解液は遠心分離管に移し、沈殿を 0.1 N 塩酸で 3 回洗浄し、上澄液および洗液を 40°C で減圧濃縮した。ついで水酸化カリウムを入れた真空デシケータに移し乾燥させ、塩酸を除いた。つぎに加水分解物を少量の蒸留水に分散させ、Amberlite IRA-400 (炭酸塩型) をつめた 2.5×12 cm のカラムを通し、それに吸着されたアミノ糖は 240 ml の 0.02 M 重炭酸ナトリウム溶液で溶出した。この溶出物を 1.25 N 酢酸 5 ml で中和したのち、総液量を 250 ml とした。

アミノ糖の定量に際しては、上述の交換樹脂処理液 2 ml を 10 ml 容メスフラスコに採取し、アセチルアセトン溶液 1 ml を添加後、90°C の湯浴中で 45 分間加温した。流水中で冷却後、2.5 ml の無水エタノールを添加、攪拌後、エールリヒ試薬 1 ml を加え、無水エタノールで 10 ml とした。フラスコを 28°C 2 時間静置してから、530mμ における吸光度を光電比色計 (日立 Model 139 spectrophotometer) で測定した。アミノ糖量はグルコサミンの標準曲線から読みとった値を 1.19 倍して算出した。

4) β-アセチルグルコサミニダーゼ活性の測定法

金沢・高井¹¹⁾の方法に従い、以下のようにして測定し

た。調整した湿潤試料 0.2~0.5 g を試験管 (16×175 mm) に取り、静菌剤としてトルエン 0.1 ml を加えて 10 分間放置した。つぎに蒸留水 0.5 ml, McIlvaine 緩衝液 1.5 ml を加えたのち、基質として 0.01 M *p*-ニトロフェニル-N-アセチル-β-D-グルコサミニド溶液 1.0 ml を加えて振盪攪拌し、30°C の振盪恒温水槽で 60 分間インキュベーションした。インキュベーション終了後エタノール 8 ml を加えてホモミキサーで攪拌し、酵素反応を止めたのち、濾過した。酵素反応により遊離した *p*-ニトロフェニールに由来する黄色の発色に際しては、エタノール抽出の濾液の一定量 (1~5 ml) を試験管 (16×175 mm) に取り、1 M トリス (ハイドロキソ) メチルアミノメタン溶液 2 ml 加え、エタノールを用いて測定溶液量を 7 ml にした。この液の 400 mμ における吸光度を測定した。

2. 実験結果および考察

1) アミノ糖量

森林土壌のアミノ糖に関する詳細なる研究は SOWDEN^{12,13)} の報告がみられる程度できわめて少ない。ヘキソサミン、すなわちアミノ糖は、高等植物にはほとんど含まれていないが、動物の軟骨、腱、血管壁などの構成成分、甲殻類および昆虫などの外表面を覆う外骨格成分、微生物の細胞壁成分として存在している¹³⁾。したがって土壌中には種々のアミノ糖の化合物が高等および下等動物、および微生物によって供給されるために、かなり多量に存在している。たとえば、大部分の表層土壌においては、全窒素の 5~10% がアミノ糖態窒素である^{12,14-16)}。今までの研究¹⁷⁾によれば、土壌中のアミノ糖の主要な供給者は土壌微生物であり、土壌動物に由来するアミノ糖は少ないとされている。さらに土壌の酸加水分解によって見出されるアミノ糖の大部分^{12,16)}はヘキソサミンであるグルコサミン (主に糸状菌由来) およびガラクトサミン (主に細菌由来) である。その他のアミノ糖¹⁰⁾としてマンノサミンおよびムラミン酸が見出されているが、その量はきわめてわずかである。今までの報告^{12,16,18)}によればグルコサミン/ガラクトサミンの比は 1.2 から 4.6 の間にある。とくに細菌よりも糸状菌の方が土壌の物質代謝においてより重要な役割をになっている森林土壌においては、酸性を示す落葉落枝¹⁹⁾およびポドソル土壌¹²⁾などでこの比がきわめて高いことが見出されている。このことから本研究地域の土壌中に集積しているアミノ糖の起原は主に糸状菌体のキチン (β-N-アセチルグルコサミニドの重合体) であることが推定される。

両土壌型のアミノ糖量は、第 1 表に示した。アミノ糖

第 1 表 アミノ糖量

土壌型	層位	アミノ糖量		アミノ糖態窒素 全窒素 × 100 %	
		乾土当り mg/g	有機物* 当り mg/g		
P _{wh}	L	3.86	4.02	4.3	
	F	F ₁	12.46	16.77	7.0
		F ₂	13.62	19.21	7.5
		F ₃	25.79	38.96	13.4
	H	8.90	32.01	7.6	
	A ₂	2.26	14.39	5.5	
	B ₁	4.29	16.07	5.8	
B ₂	1.80	8.78	4.2		
B _D	L	7.77	8.57	3.9	
	F	24.96	35.86	10.4	
	H	22.10	56.96	15.4	
	A	13.73	41.23	11.4	
	B ₁	4.35	17.54	5.8	
	B ₂	1.83	8.47	3.0	

* 有機物量²⁷⁾は全炭素量を 1.724 倍して算出。

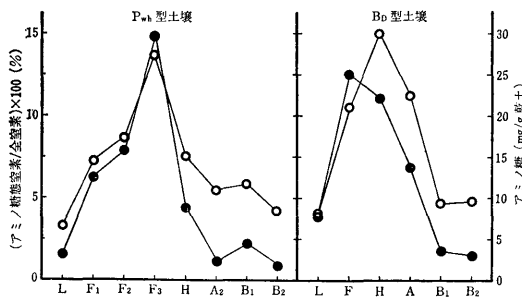
量は、両土壌型ともに F 層が最も多く、ついで H 層、新鮮な植物遺体が集積している L 層が最も少なくなっていた。このように、有機物層の中で L 層のアミノ糖量が著しく少ない理由としては、この層の植物遺体は新鮮で組織も堅硬なので微生物の侵入もそれほど多くない。したがって他の層に比べて微生物体の集積が少ないことを示している。とくに有機物層の厚い P_{wh} 型土壌の F 層を上部 1.8 cm (F₁)、中部 3.0 cm (F₂)、下部 5.0 cm (F₃) に分けて、それらの量を調べてみると、下部になるほど高くなっていて、H 層上部の F₃ が最も高くなっていった。この事実は、F 層では下部になるほど菌体由来の窒素化合物が集積していることを示唆している。また F 層の下部になるほど窒素量⁸⁾が高くなる事実もこれを支持していると考えられる。一方、各層位の全炭素量を 1.724 倍²⁶⁾して全有機物量を算出し、アミノ糖量を全有機物当りに換算すると、両土壌型ともに H 層は F 層に相当するかそれ以上の量が含まれていた。アミノ糖の形成者と考えられる微生物の数⁹⁾は層位が深くなるに伴って減少することから、これら有機物層中のアミノ糖の存在形態は、次のように推定することができよう。すなわち、有機物層においては、下層になるに伴い生菌体由来のアミノ糖が減少し、死菌体およびその変質物由来のアミノ糖が相対的に増加集積していることを示唆している。

つぎに、鈣質土層におけるこれらの量は、有機物層に比べて乾土および有機物当りとも少ないことが示された。一方、アミノ糖の減少傾向は、P_{wh} 型土壌では A₂ 層 < B₁ 層 > B₂ 層の順で、A₂ 層よりも下層の B₁ 層の方が多かったが、一方、B_D 型土壌では層位が深くなるに

伴って減少していた。SOWDEN¹²⁾ もまたポドソル土壌において、アミノ糖量は有機物層ではF層(A₀₁)が最も高く、鈳質土壌では有機物層に比べてかなり低いことを示している。

各層位のアミノ糖態窒素量を7.813%²⁷⁾として算出し、両土壌型の各層位の全窒素量に占めるアミノ糖態窒素量の割合(第1表)を求めると、有機物層においては両土壌型ともにF層が最も高く、ついでH層、L層が最も低くなっていた。とくに層の厚いP_{wh}型土壌のF層では下層になるほど高く、たとえばF₃では13.4%と最も高い値を示した。一方、鈳質土層においてはP_{wh}型土壌では4~6%の間で各層ともにほとんど差異が認められなかったが、B_D型土壌ではA層で11.4%とP_{wh}型土壌のA₂層に比べて著しく高かった。この理由は今までの知見^{1,2,8)}から次のようなことが考えられる。すなわちB_D型土壌のA層はP_{wh}型土壌のそれに比べて、1) 構造的が良いこと、2) 易分解性有機物が多いこと、3) 微生物数が多いこと、4) 生物活性が高いことなどによる。SOWDEN¹²⁾によれば、ポドソル土壌のこの割合は、有機物層で4.4~8.4%、A₂層で6.6~10.0%、B₂₁層では5.7~24.1%である。一方、STEVENSON¹⁹⁾は灰褐色ポドソル性土壌のB層(Gray-brown podzolic, B horizon)で11%と高い値を報告している。

全窒素量に占めるアミノ糖態窒素量の割合は、第1図に示したように、アミノ糖量が示す変動と類似し、両者の間の相関係数はP_{wh}型土壌r=0.958、B_D型土壌r=0.839で両土壌型ともかなり高い相関関係(1%水準)を有することが認められた。この事実、森林土壌において、アミノ糖量が多い層位には全窒素に占めるアミノ糖態窒素量の割合が高いことを示唆している。



第1図 アミノ糖量と全窒素量に占めるアミノ糖態窒素量の割合
 ○—○：アミノ糖態窒素/全窒素
 ●—●：アミノ糖

2) 糸状菌体およびそのキチン量

本研究地域のように、冷涼過湿下で発達した強酸性で有機物層がきわめて厚く糸状菌が富化した土壌中に存在するアミノ糖のうち、どの程度糸状菌のキチンに由来しているのかを明らかにすることを試みた。糸状菌の菌体量とそれに含まれているキチン量とを、次に述べるいくつかの仮定のもとに推定し、第2表に示した。まず、糸状菌の菌体量は前報⁸⁾に示した直接検鏡法で得た菌糸長を基に、その径を3.5μ(測定した菌糸の平均値)、比重1.2、水分80%と仮定⁹⁾して算出した。つぎに糸状菌のキチン量は種類によって1%以下から25%までの範囲¹⁰⁾にあるので、一応その中間の値をとり13%と仮定して算出した。第2表に示したように、糸状菌体量およびそのキチン量は両土壌型ともに層位が深くなるに伴って減少していた。有機物層におけるそれらの量は、鈳質土層に比べてきわめて多かった。とくにP_{wh}型土壌

第2表 糸状菌体量およびその菌体キチン量

土壌型	層位	糸状菌 mg/g	糸状菌体キチン mg/g	糸状菌体キチン/アミノ糖 × 100 %
P _{wh}	L, F	15.54*	2.02*	9.0*
	H	1.61	0.21	2.3
	A ₂	0.26	0.03	1.4
	B ₁	0.17	0.02	0.5
	B ₂	0.05	0.006	0.4
B _D	L, F	20.47*	2.66*	10.7*
	H	7.25	0.94	4.3
	A	1.57	0.20	1.5
	B ₁	0.80	0.10	3.0
	B ₂	0.10	0.013	0.5

* L層の厚さをF層に含めて算出。

のF層には、糸状菌体量およびそのキチン量が他の層位に比べ極端に多いことが注目された。なお直接検鏡法による細菌数の計数を試みたが、有機物層などの未分解の植物遺体の多い層位では、種々の分散方法、たとえば、超音波およびブレンダー処理によっても、植物遺体に強く付着している菌およびその内部に存在している菌を分散させることが困難で、計数することが不可能であった。そのため細菌量を計算するに当り、直接検鏡法による細菌数は希釈平板法のそれに比べて10~100倍の範囲にあるとの知見²¹⁾に準拠し、希釈平板法で得た細菌数を50倍し、径1μ、比重1.2、水分80%と仮定²⁰⁾して細菌量を推定したが、両土壌型の各層位ともに糸状菌体量の10%にも満たなかったことを付記する。

土壌中のアミノ糖量とそのアミノ糖の主要な供給者である糸状菌体のキチン量との間の関係を明らかにするた

めに、土壤中のアミノ糖量に占める糸状菌体のキチン量の割合を求め、この割合が層位によってどのように変動するかを調べた。第2表に示したように、この割合はF層が最も高く、層位が深くなるに伴って減少していた。この事実、両土壌型ともに層位が深くなるに伴って糸状菌由来のアミノ糖が減少し、死菌およびその変質物由来のアミノ糖が増加集積していることを示唆している。また、B_D型土壌はP_{wh}型土壌に比べて、土壤中のアミノ糖量に占める糸状菌体キチン量の割合が多少とも高い程度で、両土壌型間には大きな差異が認められなかった。

3) β-アセチルグルコサミニダーゼ活性

β-アセチルグルコサミニダーゼは、動物臓器および微生物などに広くその存在が知られ²²⁻²⁴⁾、アミノ糖の一種であるN-アセチル-β-D-グルコサミニド結合を有するβ-アセチルアミノグルコシド化合物(キチン、キトビオース等々)を加水分解する酵素である。前述したように、アミノ糖は土壤有機物中にかなりの比率で存在し、かつその存在量も多い本研究地域の両土壌型において、これらアミノ糖の加水分解に関する酵素の一つであるβ-アセチルグルコサミニダーゼ活性を知ることは、土壤中のアミノ糖の代謝速度を明らかにする上で、重要な意義を持っていると思われる。また土壤中におけるキチンの分解に関する主要な微生物は、放線菌であり、多くの種類の細菌および糸状菌もこれらを分解することが知られている。しかし放線菌は中性付近を好む種類が多いので、本研究地域のように強酸性の土壌ではこの菌の活動が弱いことが推定される。

両土壌型の各層位のβ-アセチルグルコサミニダーゼ活性は、第3表に示した。P_{wh}型土壌のβ-アセチルグルコサミニダーゼ活性の垂直分布は、F層で最も高く、L層がこれにつき、L層およびF層に比べてH層およびそれよりも深い層位になると極端に活性が低下していることであった。また鈣質土層の各層位間の活性の差はきわめて少なく、ほぼ同程度であることが注目された。有機物層において、L層よりも下層にあるF層の方がβ-アセチルグルコサミニダーゼ活性が高い理由としては、1) L層を構成する植物遺体がまだ新鮮で組織が堅硬であるため易分解性有機物が多いにもかかわらず、この分解に関与する土壤微生物数が少ないこと、2) この酵素の基質であるアミノ糖量がF層よりもL層の方が少ないことなどを指摘することができよう。またβ-アセチルグルコサミニダーゼ活性の最も高いF層につき、アミノ糖量を測定したのと同じく上部(F₁)、中部(F₂)、下部(F₃)の三部位に分けて調べた。F層でのこの酵素

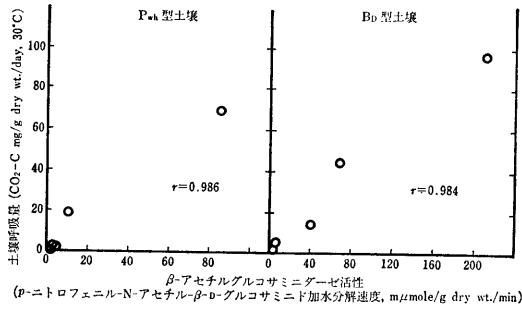
第3表 β-アセチルグルコサミニダーゼ活性

土壌型 層位	深 さ cm	β-アセチルグルコサミニダーゼ 活性 mμ mole/g dry wt./min		
L	0~0.2	30.5		
P _{wh}	F { F ₁ F ₂ F ₃ } 0.2~10	{ 0.2~2 2~5 5~10 }	{ 181.5 123.5 39.5 }	
		H	10~18	10.2
		A ₂	18~25	4.7
B ₁	25~29	2.8		
B ₂	29~33	2.2		
B _D	L	0~0.5	181.2	
	F	0.5~4	209.8	
	H	4~10	67.3	
	A	10~16	42.7	
	B ₁	16~26	4.8	
	B ₂	26~41	2.7	

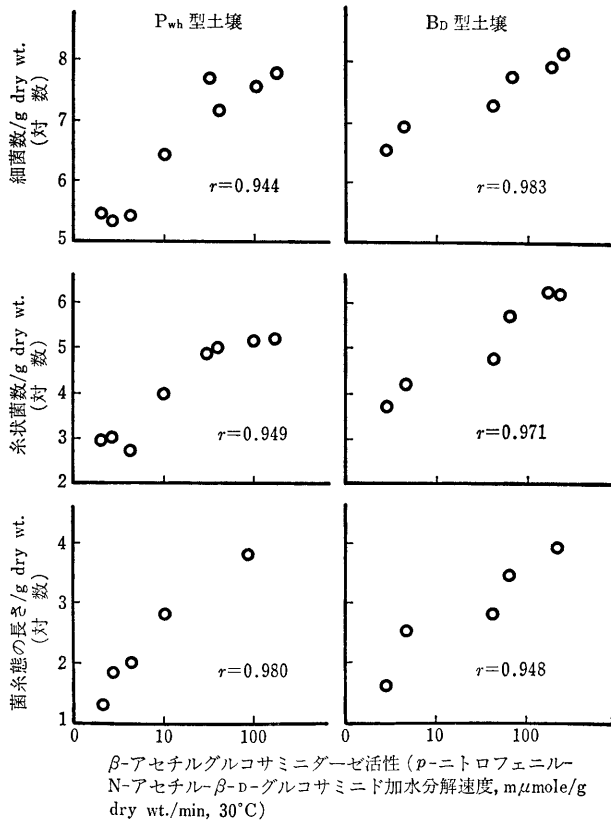
測定値は 10 連の平均値である。

活性は下部になるほど低くなっていて、L層直下の部位(F₁)が最も高くなっていて、少なくともこの理由の一つは、F層では、アミノ糖の分解に関与する微生物数が下部になるに伴って減少することを挙げることができる。一方、この酵素の基質であるアミノ糖量は、F層では下部に位置するほど多くなっている。したがって、もう一つの理由は、前報⁹⁾のプロテアーゼ活性と蛋白質のところ論じたと同じく、F層では下部に位置するほどβ-アセチルグルコサミニダーゼで作用しがたいアミノ糖化合物が集積していることによると考える。B_D型土壌におけるこの酵素活性の垂直分布は、P_{wh}型土壌と著しく異なっていた。たとえば、L層およびF層に比べて、H層およびそれよりも深い層位(A層)に至ってもそれほど活性が落ちていなかった。両土壌型でこの酵素活性を比べると、アミノ糖量と同様に各層位ともにB_D型土壌の方がP_{wh}型土壌よりもかなり高いことが認められた。

前報⁹⁾において、ヘテロトロフによる土壤呼吸量と酵素活性(β-グルコシダーゼ、プロテアーゼ)との間にかかなり密接な相関関係が認められた。そこで、β-アセチルグルコサミニダーゼにおいてもこの関係が成立するかを調べた。第2図に示したように、両者の間にはきわめて高い相関関係(1%水準)が認められた。この事実から、前報⁹⁾で述べたように、土壤酵素活性の測定は、土壤有機物の分解速度を推定するのにきわめて有効な手段と考える。つぎにβ-アセチルグルコサミニダーゼ活性と、この酵素の主要な形成者であると思われる微生物相⁹⁾との間の関係を調べ、第3図に示した。この図から明らかなように、前報⁹⁾で得られたプロテアーゼおよびβ-グルコシダーゼの両酵素活性の結果と同じく、いず



第2図 β-アセチルグルコサミニダーゼ活性と土壤呼吸量との関係



第3図 β-アセチルグルコサミニダーゼ活性と微生物相との関係

れの微生物相もともにならかなり高い指数関数的な相関関係（1%水準）が認められた。これらの事実、前報⁸⁾に引き続き土壤中の酵素活性を測定することによって、土壤中に生息する微生物の現存量を推定しうる可能性を示唆している。

4) アミノ糖の存在量、糸状菌およびその菌体キチンの現存量

本研究地域のアミノ糖の分解過程を量的に解明するた

めには、そこに存在しているアミノ糖の存在量とそのアミノ糖を主に供給している糸状菌の現存量を明らかにする必要があると考える。そこで、両土壤型の 1 m² 当りのこれらの量を前報の容積重¹⁾とを用いて算出し、第4表に示した。さらに、各層位に存在する全炭素および全窒素の中で糸状菌に由来する炭素および窒素量の占める割合を求めるために、糸状菌の炭素量 50%、窒素量 5%と仮定⁹⁾して算出し、第5表に示した。

アミノ糖の存在量（第4表）は、P_{wh}型土壤ではF層が最も多く集積し、ついでH層、鈳質土層に至るとA₂層よりもB₁層の方が多かった。一方、B_D型土壤のそれはH層に最も多く集積し、H層以下の層位では層位が深くなるに伴って減少していた。また、有機物層と鈳質土層とでアミノ糖の存在量を比べると、土壤型によって明瞭に異なっていた。たとえば、その存在量は、P_{wh}型の有機物層には層位全体の77%と著しく多量に存在し、一方、B_D型土壤の鈳質土層には層位全体の50%と有機物層にはほぼ匹敵する量が存在していた。

糸状菌およびそのキチンの現存量（第4表）の層位別分布は、両土壤型ともに有機物層に局在しており、アミノ糖の存在量と多少とも異なる変動を示した。それらの量は両土壤型ともに有機物層に局在しており、P_{wh}型土壤では層位全体の96.4%、B_D型土壤では80.8%をも占めていた。とくにP_{wh}型土壤のF層には0.3%と集中的に現存していた。

つぎに全炭素および全窒素の存在量に占める糸状菌炭素および窒素の割合（第5表）は、糸状菌の現存量と同様に有機物層の方が鈳質土層に比べて著しく高く、その有機物層の中でもL層およびF層がきわめて高かった。たとえば、全炭素ではP_{wh}型3.1%、B_D型4.0%、全窒素ではP_{wh}型9.6%、B_D型9.3%も占めていた。

有機物層からB層までの1 ha 当りのアミノ糖の存在量はP_{wh}型7.8t、B_D型9.9t、糸状菌の現存量はP_{wh}型3.1t、B_D型3.3tであった。さらに糸状菌の現存量を基にして求めた糸状菌体中のキチンの存在量はP_{wh}型0.50t、B_D型0.43tであった。

5) β-アセチルグルコサミニダーゼによるN-アセチルグルコサミンの遊離量

本研究地域のアミノ糖の分解速度の一端を量的に明らかにすることを以下のようにして試みた。β-アセチルグ

第 4 表 アミノ糖の存在量, 糸状菌およびその菌体キチンの現存量

土壌型 層位	厚 さ cm	アミノ糖		糸 状 菌						
		g/m ²	分布 %	菌体量 g/m ²	キチン量 g/m ²	分布 %				
P _{wh}	L	0~0.2	1.3	0.2	}*	}*	}*			
	F	0.2~10	368.8	47.3				261.0	33.9	83.8
	H	10~18	226.4	29.1				41.0	5.3	13.1
	A ₂	18~25	59.3	7.6				6.9	0.9	2.2
	B ₁	25~29	81.9	10.5				3.2	0.4	1.0
	B ₂	29~33	41.1	5.3				1.1	0.1	0.4
合 量		778.8	100.0	313.2	39.8	100.0				
B _D	L	0~0.5	12.9	1.2	}*	}*	}*			
	F	0.5~4	124.3	11.9				135.9	17.7	41.7
	H	4~10	387.8	37.1				127.5	16.6	39.1
	A	10~16	251.3	24.0				28.7	3.7	8.8
	B ₁	16~26	149.3	14.3				27.5	3.6	8.4
	B ₂	26~41	121.0	11.5				6.6	0.9	2.0
合 量		987.9	100.0	326.2	43.4	100.0				

* L層の厚さをF層に含めて算出。

第 5 表 糸状菌体炭素および窒素の存在量

(乾土当り)

土壌型 層位	厚 さ cm	糸 状 菌				
		菌体炭素量		菌体窒素量		
		g/m ²	菌体炭素 全炭素 ×100 %	g/m ²	菌体窒素 全窒素 ×100 %	
P _{wh}	L, F	0~10	130.5	1.90	13.05	5.34
	H	10~18	20.5	0.50	2.05	0.88
	A ₂	18~25	3.5	0.15	0.35	0.41
	B ₁	25~29	1.6	0.05	0.16	0.14
	B ₂	29~33	0.6	0.02	0.06	0.08
	合 量		156.7	0.82	15.67	2.09
B _D	L, F	0~4	68.0	2.44	6.80	5.60
	H	4~10	63.8	1.61	6.38	3.16
	A	10~16	14.4	0.41	1.44	0.84
	B ₁	16~26	13.8	0.28	1.38	0.68
	B ₂	26~41	3.3	0.04	0.33	0.11
	合 量		163.3	0.70	16.33	1.62

ルコサミニダーゼによる *p*-ニトロフェニル-β-D-グルコサミニドの分解量から、同酵素の活性を測定した。この分解量を N-アセチルグルコサミンの分解量に換算した値と、土壌の容積重¹⁾から、30°C, 1日, 1m² 当りの N-アセチルグルコサミンの遊離量を算出し、第 6 表に示した。N-アセチルグルコサミンの層位全体の遊離量は、P_{wh} 型 0.51 kg および B_D 型 1.17 kg/day/min (30°C) であった。この結果から、B_D 型土壌は P_{wh} 型土壌に比べて、N-アセチルグルコサミンの遊離量が約 2 倍程度多いことが示された。N-アセチルグルコサミンの遊離量の層位別分布は、アミノ糖の存在量および糸状菌の

現存量の分布と類似していた。とくに糸状菌の現存量ときわめてよく対応していることが注目された。

要 約

国際生物事業計画 (IBP) の特別研究地域である長野県志賀高原志賀山の亜高山帯針葉樹林下の代表的な土壌型である湿性ポドソル土 (P_{wh} 型土壌) および高山型適潤性褐色森林土 (B_D 型土壌) を選び、それぞれ各層位に含まれているアミノ糖量を調べ、ついでそれらの分解に重要な役割を果していると思われる β-アセチルグルコサミニダーゼ活性を測定した。さらに前報で述べた容積重および菌糸長を用いて、両土壌型のアミノ糖の存在量およびそれらのアミノ糖の主な供給者であると思われる糸状菌の現存量および糸状菌体キチンの存在量も併せて算出した。得られた

結果を要約すればつぎのごとくである。

1) アミノ糖量は、両土壌型ともに F 層に最も多く、層位が深くなるに伴って減少したが、とくに有機物層の厚い P_{wh} 型土壌の F 層 (9.8cm) を上部 (8cm), 中部 (3cm), 下部 (5cm) に分けて、アミノ糖量を詳細に調べてみると、下部になるほど増加する傾向が示された。また、アミノ糖量を有機物当りに換算すると、H 層は F 層に相当するかそれ以上の量が含まれていた。

2) 全窒素量に占めるアミノ糖態窒素量の割合は

第 6 表 β-アセチルグルコサミニダーゼによる N-アセチルグルコサミンの遊離量

土壌型 層位	深 さ cm	N-アセチルグルコサミンの 遊離量* g/dry wt./m ² (30°C)	分 布 %	
P _{wh}	L	0~0.2	3.3	0.6
	F	0.2~10	356.8	69.3
	H	10~18	82.7	16.1
	A ₂	18~25	39.4	7.6
	B ₁	25~29	17.0	3.3
	B ₂	29~33	16.0	3.1
合 量		515.2	100.0	
B _D	L	0~0.5	47.9	4.1
	F	0.5~4	387.9	33.1
	H	4~10	376.6	32.2
	A ₂	10~16	248.7	21.2
	B ₁	16~26	52.5	4.5
	B ₂	26~41	56.9	4.9
合 量		1170.5	100.0	

* 30°C における *p*-ニトロフェニル-N-アセチル-β-D-グルコサミニドの加水分解速度から算出。

P_{wh}型土壤では3.3~11.9%, B_D型土壤では3.9~15.4%であった。また、両土壤型ともにアミノ糖量が多い層位では、その割合が高くなる傾向が示された。

3) 両土壤型に存在する微生物体の大部分は糸状菌体であることが認められた。したがって、本研究地域に蓄積しているアミノ糖の大部分は糸状菌由来であると推定される。また、両土壤型ともに、層位が深くなるに伴い糸状菌由来のアミノ糖が減少し、死菌およびその変質物由来のアミノ糖が増加集積していた。

4) アミノ糖の存在量は、土壤型によって明瞭に異なっていて、P_{wh}型土壤では有機物層の方が多く、一方、B_D型土壤では鉱質土層の方が多かった。また、糸状菌の現存量はアミノ糖の存在量と異なる層位別変動を示し、それは両土壤型ともに有機物層に局在していた。

5) β-アセチルグルコサミニダーゼ活性は、両土壤型ともにF層が最も高く、層位が深くなるに伴って減少していた。B_D型土壤はP_{wh}型土壤の同一層位に比べて、いずれの層位ともにこの酵素活性が高かった。

6) β-アセチルグルコサミニダーゼ活性とヘテロトロフによる呼吸量との間には、きわめて高い相関関係(1%水準)が認められ、また微生物相との間にも指数関数的な相関関係(1%水準)が認められた。

謝辞 本研究を行うに当たり、種々のご助言をいただいた東京大学農学部高井康雄教授に心より感謝致します。

文 献

- 1) 高井康雄・金沢晋二郎・浅見輝男・竹島征二・川島 登：亜高山帯針葉樹林下の土壤有機物の性状と分解過程（第1報）、本地域の土壤の種類と土壤有機物の存在量について、土肥誌、47、33~38（1976）
- 2) 金沢晋二郎・高井康雄・竹島征二・和田秀徳：同上（第2報）、本地域の土壤有機物の近似組成とその存在量について、土肥誌、47、307~313（1976）
- 3) 金沢晋二郎・浅見輝男・高井康雄：同上（第3報）、本地域における野外の土壤呼吸量について、土肥誌、47、549~554（1976）
- 4) 浅見輝男・竹内 宏・金沢晋二郎・高井康雄：同上（第4報）、土壤ヘテロトロフによる土壤有機物の分解、土肥誌、48、348~351（1977）
- 5) 金沢晋二郎・和田秀徳・竹島征二・高井康雄：森林土壤における有機物の存在状態とその分解過程（第1報）、有機物層を構成する各画分の炭素・窒素量および形態的特徴、土肥誌、48、181~186（1977）
- 6) 金沢晋二郎・竹島征二・和田秀徳・高井康雄：同上（第2報）、有機物層を構成する各画分の有機物の近似組成について、土肥誌、48、187~192（1977）
- 7) 金沢晋二郎・和田秀徳・高井康雄：同上（第3報）、有機物層を構成する各画分の生物的特徴、土肥誌、48、266~271（1977）
- 8) 金沢晋二郎・高井康雄：亜高山帯針葉樹林下の土壤有機物の性状と分解過程（第5報）、本地域の土壤中のβ-グルコシダーゼおよびプロテアーゼ活性について、土肥誌、48、534~539（1977）
- 9) ARONSON, J. M. : The Cell Wall. in The Fungi, Vol. 1, ed. G. C. AINSWORTH and A. S. SUSSMAN, p. 49~76, Academic Press, London (1965)
- 10) STEVENSON, F. J. and BRAIDS, O. C. : Variation in the Relative Distribution of Amino Sugars with Depth in Some Profiles. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 32, 598~600 (1968)
- 11) 金沢晋二郎・高井康雄：土壤中におけるβ-アセチルグルコサミニダーゼ活性の測定法、土肥誌、47、329~332（1976）
- 12) SOWDEN, F. J. : Investigations on the Amounts of Hexosamines Found in Various Soils and Methods for Their Determination. *Soil Sci.*, 88, 135~143 (1959)
- 13) 松島祥夫：グルコサミノグリカン（ムコ多糖）総括、糖類化学I、江上不二夫ら編、p. 389、共立出版（1969）
- 14) BREMNER, J. M. and SHAW, K. : Studies on the Estimation and Decomposition of Amino Sugars in Soil. *J. Agric. Sci.*, 44, 152~159 (1954)
- 15) STEVENSON, F. J. : Investigation of Aminopolysaccharides in Soils, II. Distribution of Hexosamines in Some Soil Profiles. *Soil Sci.*, 84, 99~106 (1957)
- 16) BREMNER, J. M. : Amino Sugars in Soil. *J. Sci. Food Agric.*, 9, 528~532 (1958)
- 17) PARSONS, J. W. and TINSLEY, J. : Nitrogenous Substances. in Soil Components, Vol. I, Organic Components, ed. J. E. GIESEKING, p. 287, Springer-Verlag, New York (1975)
- 18) SOWDEN, F. J. and IVARSON, K. C. : Decomposition of Forest Litters. II. Changes in the Nitrogenous Constituents. *Plant Soil*, 11, 249~261 (1959)
- 19) STEVENSON, F. J. : Investigations of Aminopolysaccharides in Soils, I. Colorimetric Determination of Hexosamines in Soil Hydrolysates. *Soil Sci.*, 84, 113~122 (1957)
- 20) LURIA, S. E. : The Bacterial Protoplasm. in The Bacteria, Vol. 1, A Treatise on Structure and Function, ed. I. C. GUNSALES and R. Y. STANIER, p. 1~34, Academic Press, New York and London (1960)
- 21) 田辺市郎・鈴木達彦：微生物に関する分析法 その1、土壤微生物の測定法、土肥誌、37、34~45（1966）
- 22) WALKER, P. G. : Hexosaminidase, in The Amino Sugars, Vol. IIB, ed. A. B. ENDRE and W. J. ROGER, p. 155, Academic Press, New York (1966)
- 23) WOOLLEN, J. W., WALKER, P. G. and HEYWORTH, R. : Studies on Glucosaminidase, 6, N-Acetyl-β-glucosaminidase and N-Acetyl-β-galactosaminidase Activities of a Variety of Enzyme Preparations. *Biochem. J.*, 79, 111~116 (1961)
- 24) 村松 喬：β-N-アセチルグルコサミニダーゼ、多糖類化学II、江上不二夫ら編、p. 685、共立出版（1969）
- 25) 立川 涼：土壤および液体試料中の有機物の迅速定量法、土肥誌、37、28~33（1966）
- 26) BROADBENT, F. E. : Organic Matter, in Methods of Soil Analysis, Part 2, ed. C. A. BLACK et al., p. 1397, American Society of Agronomy, Madison (1965)
- 27) STEVENSON, F. J. : Amino Sugars, *ibid.*, p. 1435