

土壌微生物のグルコース利用効率に関する要因の検証

誌名	土と微生物
ISSN	09122184
著者名	沢田,こずえ 舟川,晋也 小崎,隆
発行元	土壌微生物研究会
巻/号	65巻1号
巻号補足	
掲載ページ	p. 41-48
発行年月	2011年4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



総説

土壌微生物のグルコース利用効率に関与する要因の検証

沢田こずえ^{1*}・舟川晋也¹・小崎 隆²¹ 京都大学農学研究科, 〒606-8502 京都府京都市左京区北白川追分町² 首都大学東京都市環境科学研究科, 〒192-0397 東京都八王子市南大沢1-1

Factors relating to glucose utilization efficiency by soil microorganisms

Kozue Sawada^{1*}, Shinya Funakawa¹ and Takashi Kosaki²¹ Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Oiwake-cho, Kitashirakawa, Sakyo-ku, Kyoto 606-8502, Japan² Graduate School of Urban Environmental Science, Tokyo Metropolitan University,
1-1 Minami-Osawa, Hachioji, Tokyo, 192-0397, Japan**Key words** : glucose concentration, glucose utilization efficiency, microbial biomass carbon, soil respiration

1. はじめに

土壌に投入された有機炭素の大部分は、土壌微生物バイオマスを通ずるため、微生物は土壌中の炭素循環の中心となる。セルロースなどの重合体の有機炭素は、土壌中で、微生物の体外酵素により単量体や二量体の基質炭素に分解された後、微生物体内に取り込まれる。好気的環境下の従属栄養土壌微生物の大部分は、基質炭素をエネルギー源として利用し二酸化炭素を放出するだけでなく、新しい細胞を作るための炭素源としても利用する (Scow, 1997)。基質利用効率は、消費された基質炭素濃度に対する新たに生成された微生物バイオマス炭素濃度の割合を示す (図1)。この基質利用効率を正確に推定することは、土壌微生物の増殖や代謝活性を理解するためだけでなく、土壌有機物循環を記述するシュミレーションモデルにおいても重要である (Six *et al.*, 2006)。

これまで、基質利用効率を推定する研究の大部分において、モデル基質としてグルコースが用いられている。その理由として、グルコースは、(1) 土壌に投入される主要な有機物であるセルロースの加水分解産物であり、また植物根からも頻繁に放出されるため、土壌において微生物に取り込まれる基質の主成分であること (Hill *et al.*, 2008)、(2) 大部分の微生物が利用可能であること (Anderson and Domsch, 1978)、(3) 土壌粒子に吸着されないこと (Jones and Edwards, 1998) が考えられる。

グルコース利用効率は、好気的な純粋培養下における広い範囲の従属栄養細菌や糸状菌において、約60%であることが知られている (Payne, 1970)。また、滅菌土壌にグルコースを添加後特定の細菌を接種した場合において

も、同様の値が得られている (Anderson *et al.*, 1981; Elliott *et al.*, 1983)。そのため、土壌微生物動態モデル (Chapman and Gray, 1986; Smith *et al.*, 1986) や、有機物循環モデルの一種であるデイジーモデル (Mueller *et al.*, 1997) などでは、基質利用効率に60%という定数を用いている。

しかしながら、新鮮土壌中の微生物によるグルコース利用効率は、広い範囲の値を取ることがこれまで知られている (Six *et al.*, 2006 など)。また、その要因もいくつか検証されている (Six *et al.*, 2006 など)。そこで、本稿では、はじめに、すべての土壌に共通してグルコース利用効率に関与する要因について検証する。その後、土壌の性質に由来する要因について検証する。最後に、既存の土壌有機物循環モデルによる土壌微生物呼吸量予測に与える上記の要因の影響について考察する。

2. 全土壌に共通の要因

1) 計算方法

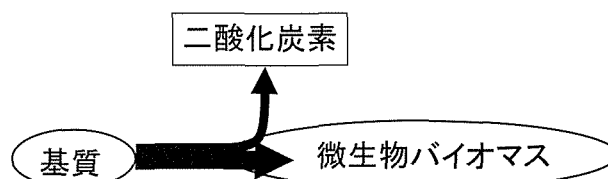
グルコース利用効率は、実測される項目により、以下の4つの式のいずれかによって推定される (Frey *et al.*, 2001)。

$$Y_s = (dS - \Sigma CO_2 - C) / dS$$

$$Y_b = dB / (dB + \Sigma CO_2 - C)$$

$$Y_c = dB / dS$$

$$Y_r = 1 - (\Sigma CO_2 - C / S_{tot})$$



基質利用効率 = 増加バイオマス炭素濃度 / 消費基質炭素濃度

図1 基質利用効率を示す概念図

2010年12月30日受付・2011年1月3日受理

* Corresponding author.

E-mail: kozue.do@gmail.com

ここで、 dS は消費されたグルコース炭素濃度、 ΣCO_2-C はグルコース添加によって増加した二酸化炭素の積算放出量（積算呼吸量）、 dB はグルコース添加によって増加した微生物バイオマス炭素濃度、 S_{tot} は添加された全グルコース炭素濃度である。 Y はグルコース利用効率であるが、添加グルコース炭素がすべて消費された場合、 Y_r は Y_s と等しくなる。

Frey *et al.* (2001) は、捕食圧が高い土壌では、微生物が動物に捕食されるため dB の実測値が低くなるので、 dB に基づき算出される Y_b や Y_c が、消費グルコース炭素濃度に基づく Y_s より低く見積もられると報告している。同様に、グルコース添加によって増加した微生物が測定期間中に死滅したり代謝産物の放出を行ったりした場合も、 dB が低くなるので Y_b や Y_c が Y_s や Y_r より低く見積もられると考えられる。

また、 Y_b と Y_c の計算には、正確な微生物バイオマス炭素濃度の測定が必須である。近年、バイオマス炭素濃度の測定には、クロロホルム燻蒸抽出法 (Vance *et al.*, 1987) と基質誘導呼吸法 (Anderson and Domsch, 1978) がよく使われている。クロロホルム燻蒸抽出法では、クロロホルムで溶菌した炭素の抽出率を一定と仮定してバイオマス炭素濃度が推定されるが、Bremer and Kuikman (1994) や Nguyen and Guckert (2001) は、グルコース炭素を添加した場合に抽出率が低くなる可能性を指摘している。また、基質誘導呼吸法では、グルコース添加後の指数増殖期には、バイオマス炭素濃度が過大評価されることが知られている (Anderson and Domsch, 1978)。以上より、グルコース添加後のバイオマス炭素濃度を正確に測定することは困難であるといえる。

そのため、本稿では、増加バイオマス炭素濃度 (dB) を計算式に含まない Y_s あるいは Y_r によるグルコース利用効率についてのみ引用した。また、呼吸量などのデータのみでグルコース利用効率を計算していない文献については、本稿では、 Y_r によってグルコース利用効率を再計算したうえで検討に供した。

2) 培養時間

微生物呼吸は、成長のための呼吸と維持呼吸に分けられる。維持呼吸とは、細胞構成成分の更新や浸透圧調節、運動のために要する呼吸である (Chapman and Gray, 1986 など)。維持呼吸は、通常バイオマス炭素濃度に比例して発生すると考えられるため (Chapman and Gray, 1986; Smith *et al.*, 1986 など)、グルコースを添加後バイオマスが増加すると、その分維持呼吸量も増加する。また、いったんバイオマスに取り込まれたグルコースが代謝産物として放出され、それがさらに利用されるといったリサイクルによっても呼吸量は増加する (Schimel and Weintraub, 2003 など)。この維持やりサイクルによる呼吸量の増加は、いったんグルコースが微生物に取り込まれた後から継続して起こる。そのため、グルコース添加後の培養時間が長くなればなるほど、グルコース利用効率は減少する (Blagodatsky *et al.*, 2002 など)。以上より、異なる土壌において、この

維持やりサイクルによる呼吸量の増加の要因を可能な限り除外してグルコース利用効率を比較するためには、グルコースの消費中あるいは消費直後の短時間でのグルコース利用効率を推定するのが望ましい。このような理由から、Dahlin と Witter (1998) や Frey *et al.* (2001)、Thiet *et al.* (2006) などは、グルコースを消費中（グルコース添加後 13～30 時間）のグルコース利用効率を推定している。また、Sawada *et al.* (2008, 2009) は、グルコースがすべて消費された直後（グルコース添加後 6～24 時間）のグルコース利用効率を推定している。しかし、すべてのグルコースが消費された後数時間から数日経過した後のグルコース利用効率を推定している文献は数多く存在する。その場合も、グルコース添加後 24 時間以内では、維持やりサイクルによる呼吸量の増加の影響は少ないと考えられる。そこで、本稿では、グルコース添加後の時間を明記していない場合は、添加グルコースの消費中や消費直後かグルコース添加後 24 時間以内のグルコース利用効率を示している。

3) 微生物バイオマス炭素由来呼吸の影響

グルコース添加直後から増加し始める呼吸には、グルコース炭素由来呼吸と微生物バイオマス炭素由来呼吸がある (Dalenberg and Jager, 1981; Wu *et al.*, 1993)。そのため、 ^{13}C や ^{14}C でラベルされたグルコース炭素を土壌に添加後、ラベルされた積算呼吸量だけを測定してグルコース利用効率を推定した場合、バイオマス炭素由来呼吸を無視するため、グルコース利用効率は過大評価になる。そこで、多くの文献では、ラベルされたグルコースを添加後ラベルありとなしの呼吸量が同時に測定されている。このような研究は、添加グルコース炭素の動態を詳細に調べるためや、新たな基質添加によって土壌有機物の無機化が促進されるプライミング効果 (Blagodatskaya and Kuzyakov, 2008 など) のメカニズムを解明するためには欠かせない。しかし、有機物循環モデルのパラメーターとしては、全呼吸量のみを考慮すればよいので、本稿では、特に明記しない限り、ラベルの有無にかかわらず、グルコース添加後増加した全呼吸量を用いて推定したグルコース利用効率について引用した。

4) 添加グルコース炭素濃度

グルコース利用効率は、添加グルコース炭素濃度が増加するにつれて低下することが知られている (Bremer and van Kessel, 1990; Bremer and Kuikman, 1994; Marstorp and Witter, 1999; Nguyen and Henry, 2002; Tsai *et al.*, 1997; Witter and Kanal, 1998)。また、Bremer and Kuikman (1994) は、この理由を説明するために、図 2 のような概念図を提案した。この図は、土壌に添加されたグルコースは、まず微生物体内の中間体に取り込まれ、その後、添加濃度が低いときは貯蔵体に同化され、添加濃度が高い場合のみ構造体に同化されることを示す。また、彼らは、貯蔵体への同化は、構造体への同化より効率がよいため、添加グルコース炭素濃度が低い場合にグルコース利用効率が高くなり、添加グルコース炭素濃度が高くなるにつれて効率が悪く

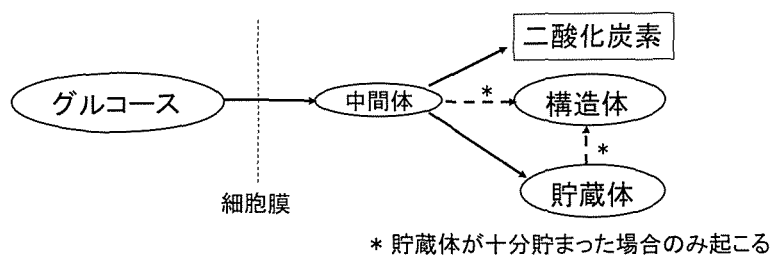


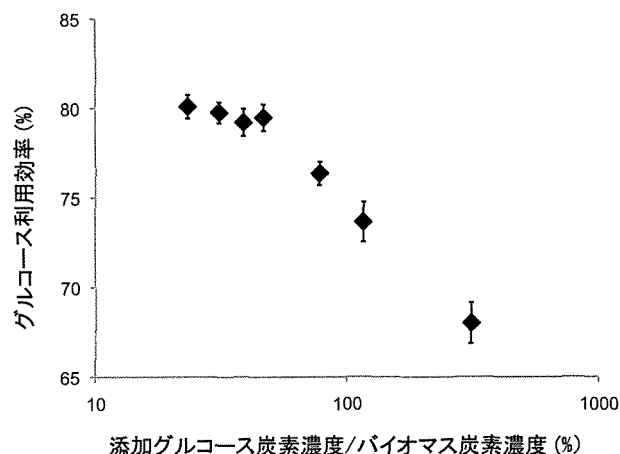
図2 Bremer and Kuikman (1994) によるグルコース炭素消費に関する概念図

なったと考えた。

以上の文献では、主にバイオマス炭素濃度より高い濃度のグルコース炭素を土壤に添加しているが、土壤中の基質炭素濃度はバイオマス炭素濃度を超えることはほとんどない。そこで、Sawada *et al.* (2008) は、弱酸性森林土壤に、主にバイオマス炭素濃度より低い濃度のグルコース炭素を添加後のグルコース利用効率を推定した。その結果、図3で示すように、添加グルコース炭素濃度がバイオマス炭素濃度の50%以下の場合、グルコース利用効率は、添加グルコース炭素濃度に関わらず約80%と一定であった。一方、添加グルコース炭素濃度がバイオマス炭素濃度の50%以上の場合、グルコース利用効率は、80%より低く、既存の研究と同じく添加グルコース炭素濃度が増加するにつれて減少した。これらの結果は、土壤微生物は、添加グルコースを図2のモデル中の構造体に同化させることにより、グルコース利用効率を低下させるグルコース炭素濃度の閾値を持つと考えることで説明できる。

また、添加グルコース炭素濃度がその閾値以下の場合、グルコース利用効率は約80%となり、純粋培養微生物で得られた値60%と比べてかなり高かった。このような高い値は、低濃度のグルコース炭素が添加された場合によく報告されている。たとえば、Nguyen and Guckert (2001) は、 $0.07 \mu\text{g C g}^{-1} \text{soil}$ という低濃度のグルコース炭素を添加後のグルコース利用効率は、92.2%であったと報告している。同様に、Brant *et al.* (2006) や Chu *et al.* (2007)、Schneckenberger *et al.* (2008) も、低濃度のグルコースを添加後のグルコース利用効率は、80%以上であったことを報告している。ただし、以上の結果は、ラベルされたグルコースを添加後のラベルされた呼吸量を用いて計算されたグルコース利用効率であり、バイオマス由来呼吸量を考慮に入れていないため、Sawada *et al.* (2008) の80%より高い値が得られたものと考えられる。

また、Sawada *et al.* (2008) は、様々な濃度のグルコース炭素を添加後の呼吸速度の経時変化を測定したところ、添加グルコース炭素濃度が閾値以下の場合、どの添加濃度においても、呼吸速度は経時的に増加しなかったことを報告している。また、閾値以下の様々な濃度のグルコース炭素を添加し12時間後にクロロホルム燻蒸抽出法で測定したバイオマス炭素濃度（構造体と貯蔵体の両方を含む全バイオマスに相当すると考えられる）は、添加グルコース炭素濃度が増加するにつれて増加したが、活性なバイオマス、つまり構造体のみを測定すると考えられる（Wardle


 図3 弱酸性森林土壤に様々な濃度のグルコース炭素を添加後のグルコース利用効率(%)
Sawada *et al.* (2008) のデータを基に作図。

and Ghani, 1995a など）基質誘導呼吸法によるバイオマス炭素濃度は増加しなかったことを報告している。同様に、Anderson and Domsch (1985) は、低濃度のグルコース炭素を添加後、呼吸速度も培養できる細菌数も増加しなかったことを報告している。Marstorp and Witter (1999) は、低濃度のグルコース添加後、クロロホルム燻蒸法によるバイオマス炭素濃度は増加したが、呼吸速度と二本鎖DNAは増加しなかったことを報告している。以上の実験結果はすべて、閾値以下の濃度のグルコース炭素を添加した場合には、図2のモデル中の貯蔵体のみ増加し、構造体は増加しなかったと考えることで説明できる。

3. 土壤の性質に由来する要因

1) 酸性や重金属ストレス

バイオマス炭素に対する土壤微生物呼吸速度の割合は、代謝指数や $q\text{CO}_2$ と呼ばれ、土壤微生物による相対的な基質利用効率の指標になりうると考えられている（Wardle and Ghani, 1995b）。つまり、 $q\text{CO}_2$ が高いと基質利用効率は低いと考えられる。広い範囲の土壤において、 $q\text{CO}_2$ は土壤pHと負に相関することが報告されている（Anderson and Domsch, 1993 など）。また、重金属汚染土壤においても $q\text{CO}_2$ は高くなることが報告されている（Bardgett and Sagar, 1994 など）。そのため、これまで、酸性土壤や重金属汚染土壤といったストレスのある土壤では、基質利用効率が低いと考えられてきた。一方、 $q\text{CO}_2$ は、基質炭素の消費速度を定量的に評価していないため、基質利用効率の

間接的な指標にすぎない。

そこで、Killham (1985) や Chander and Brookes (1991), Bardgett and Saggar (1994) は、酸性土壌や重金属汚染土壌といったストレス土壌と非ストレス土壌において、直接グルコース利用効率を測定した。その結果、ストレス土壌では、非ストレス土壌と比べてグルコース利用効率が高くなったと報告している。しかし、Witter and Dahlin (1995) や Dahlin and Witter (1998) は、上記の研究では、単位土壌量当たり一定の高濃度のグルコース炭素濃度を添加しているが、ストレス土壌では、非ストレス土壌と比べてバイオマス炭素濃度が低いため、バイオマス炭素濃度当たりの添加グルコース炭素濃度が高くなるので、上記 2 (4) で示したような理由によってグルコース利用効率が高くなった可能性を指摘している。このような理由から、Witter and Dahlin (1995) は、バイオマス炭素濃度と同濃度の ^{14}C ラベルされたグルコース炭素を添加後数日のラベルされた呼吸量からグルコース利用効率を推定したところ、ストレス土壌と非ストレス土壌で差がなかったと報告している。Dahlin and Witter (1998) は、バイオマス炭素濃度の 3 倍の濃度のグルコース炭素を添加後のグルコース利用効率は、両土壌で差がなかったと報告している。以上の結果は、添加グルコース炭素濃度をバイオマス炭素濃度当たり一定の割合になるように調節した場合のグルコース利用効率は、酸性や重金属ストレスの影響を受けないことを示す。

これらの研究はすべて、添加グルコース炭素濃度がバイオマス炭素濃度以上の場合である。そこで、Sawada *et al.* (2009) は、強酸性森林土壌に、主にバイオマス炭素濃度以下の様々な濃度のグルコース炭素を添加後のグルコース利用効率を測定した。その結果、強酸性森林土壌では、前述の弱酸性森林土壌と同様、グルコース利用効率が低下し始めるグルコース炭素濃度の閾値があったが、この土壌の閾値は、弱酸性森林土壌より小さくなった (図 4)。つまり、グルコース利用効率は、添加グルコース炭素濃度がバイオマス炭素濃度の約 20% 以下の低濃度のときは、両土壌とも約 80% と一定であったが、添加濃度が

約 20 ~ 100% のときには、強酸性土壌で低くなった。また、100% 以上では明瞭な差は見られなかった (図 4)。以上から、酸性ストレスのグルコース利用効率に与える影響は、添加グルコース炭素濃度に大きく依存すると考えられた。なお、重金属汚染土壌のグルコース利用効率に与える添加グルコース炭素濃度の影響は調べられていない。

2) 窒素やリンなどの養分濃度

純粋培養系において、窒素やリンなどの養分が制限された条件下で、微生物が炭素を吸収した場合、同化と異化のバランスが変化するため、オーバーフロー代謝と呼ばれる増殖を伴わない呼吸が起こることが知られている (Tempest and Neijssel, 1992)。そのため、河川などの水系環境では、窒素やリン、まれに鉄などの養分濃度が低いと基質利用効率が低くなることが広く知られている (del Giorgio and Cole, 1998)。

土壌においても、Thiet *et al.* (2006) は、グルコースとともに窒素を添加した場合、添加しない場合と比べて、ラベルされたグルコースを添加後ラベルされた呼吸量を用いて計算されたグルコース利用効率は高くなったと報告している。また、Dilly (1999) は、多くの土壌において、グルコースとともに窒素を添加した場合、添加しない場合と比べて、24 時間以内の呼吸速度は低くなり、7 日後のグルコース利用効率は高くなったと報告している。以上の結果は、窒素の添加によってオーバーフロー代謝が減ったことによると考えられる。また、Teklay *et al.* (2006) は、エチオピアの隣接する耕地と森林土壌において、グルコース添加数十日後のグルコース利用効率を測定した結果、施肥がないためとくにリン濃度が低い森林土壌において、グルコース利用効率は低くなったと報告している。

以上の研究は、バイオマス炭素濃度以上の高濃度のグルコース炭素を一点のみ添加後の結果である。そのため、上記の結果が、実際土壌で起こりうる低濃度の基質利用に際しても適応できるかどうかは定かでない。以上より、低濃度のグルコース炭素を添加した場合にも、グルコース利用効率が養分欠乏のため低下する土壌が存在するかどうかを調べることは今後の重要な課題であろう。

3) 細菌と糸状菌の割合

Sakamoto and Oba (1994) や Blagodatskaya and Anderson (1998) は、細菌バイオマス炭素に対する糸状菌バイオマス炭素の割合は、 qCO_2 と負に相関することから、糸状菌の基質利用効率は、細菌より高いだろうと推測している。一方、Thiet *et al.* (2006) は、糸状菌の優占する土壌と細菌の優占する土壌において、バイオマス炭素濃度以上のグルコース炭素を添加後のグルコース利用効率を測定した結果、両土壌に差がないことを確かめた。以上より、これまで、糸状菌の基質利用効率は、細菌と比べて高いという直接的な証拠はない。

4) 粘土含量

粘土含量は、有機物動態において重要な役割を持つが、グルコース利用効率に与える粘土含量の影響については、ほとんど調べられていない。しかし、Saggar *et al.* (1999) は、

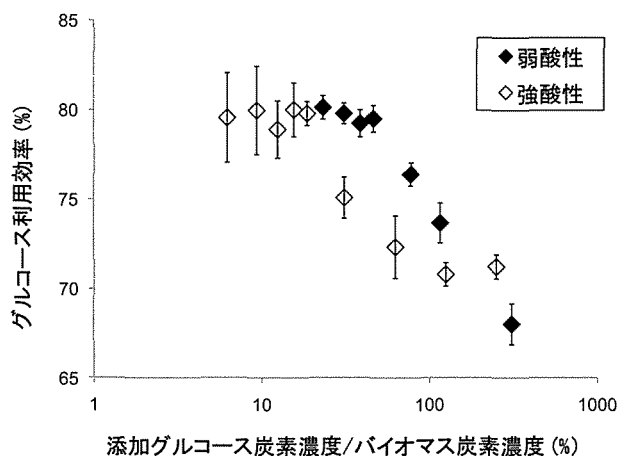


図 4 弱酸性森林土壌と強酸性森林土壌に様々な濃度のグルコース炭素を添加後のグルコース利用効率 (%) Sawada *et al.* (2008, 2009) のデータを基に作図。

粘土含量が大きく異なる16点の土壌において、 ^{14}C でラベルされたグルコースを添加後35日間の動態に与える粘土含量の影響を調べているので、筆者らは、そのデータをもとに、3日目までのラベルされた積算呼吸量を用いてグルコース利用効率を計算した。その結果、このグルコース利用効率は、粘土含量と有意に相関しなかった。一方、35日目の残存グルコース炭素濃度は粘土含量と有意に相関した。以上の結果は、粘土含量が高い土壌は、添加グルコース炭素が残存しやすいが、その理由にグルコース利用効率は関与しないことを示す。

4. 土壌有機物循環モデルに与えるグルコース利用効率の影響

有機炭素動態の長期的な予測を目的とし、疑似定常状態を仮定しているロザムステッド・カーボン・モデルやセンチリーモデルなどの有機物循環モデルは、これまで、特にモデルが開発された温帯の草地、農耕地土壌においては、有機炭素動態を精度良く予測できることが知られている (Smith *et al.*, 1997 など)。これらのモデルでは、土壌に投入された植物残渣や土壌有機物は一定の速度定数によって分解され、二酸化炭素、微生物バイオマス、土壌腐植へと分配されると仮定している。ここで、二酸化炭素への分配割合というパラメーターは、基質利用効率や維持呼吸、微生物の死滅や代謝産物の動態に関する要因をすべて反映させることで決定されている。ロザムステッド・カーボン・モデルでは、二酸化炭素への分配割合は粘土含量が高いほど小さくなるように決定される (Coleman and Jenkinson, 1996)。センチリーモデルでは、リグニン以外の有機物が分解される場合、表層では45%が二酸化炭素に、土壌中では55%が二酸化炭素に分配されると仮定している。この違いは、表層では主に基質利用効率が高いと考えられる糸状菌が分解を担うためと説明されている (Parton *et al.*, 1987)。一方、上記3(3)と3(4)で示したように、これまで、粘土含量や細菌と糸状菌の割合がグルコース利用効率に影響を与えるという直接的な証拠はない。このことは、維持呼吸や微生物の死滅や代謝産物の動態に関する要因のほうで、基質利用効率より二酸化炭素への分配割合に与える影響が大きいことを示す。たとえば、粘土含量が高い土壌では、微生物の代謝産物が粘土鉱物へ吸着されることなどにより、二酸化炭素への分配割合が低くなると考えられる。また、糸状菌の多い土壌では、糸状菌の細胞壁が分解されにくいことや、糸状菌の菌糸や糸状菌が排出する多糖類が団粒の形成を促進し、有機物を保護することなどにより、二酸化炭素への分配割合が低くなると考えられる (Six *et al.*, 2006)。

一方、有機炭素動態の短、中期的な予測を目的とし、基質利用効率、維持呼吸、微生物の死滅や代謝産物の動態に関するパラメーターをそれぞれ組み込んだ微生物動態モデル (Chapman and Gray, 1986; Smith *et al.*, 1986) やデージーモデル (Mueller *et al.*, 1997) においても、基質濃度が低い疑似定常状態における土壌微生物呼吸量を精度よく予測で

きることが知られている (Mueller *et al.*, 1997 など)。これらのモデルでは、基質利用効率を60%の定数と仮定しているが、ここまで論じてきたように、通常土壌で起こりうる低濃度のグルコース炭素を添加した場合のグルコース利用効率は、約80%とより高い実験値を示していた。このような乖離の理由として、土壌中における低分子有機酸などのグルコースより利用効率の低い基質の存在 (van Hees *et al.*, 2005; Brant *et al.*, 2006 など) が、実際の基質利用効率を80%より低下させる要因として働くことは考えられる。しかし、基質に占める低分子有機酸の割合は高くはないこと (van Hees *et al.*, 2005 など)、アミノ酸の利用効率はグルコースとそれほど変わらないこと (Brant *et al.*, 2006 など) から、実際の基質利用効率は、グルコースで得られた値80%に近い値だろうと推測できる。そこで、実際の基質利用効率は80%であると想定し、上記のモデルにおいて、他のパラメーター値は変更せず、基質利用効率の値のみ60%から80%へ変更すると、このモデルでの微生物呼吸量の予測値は実際の呼吸量と比べて過小評価になる。そのため、基質利用効率80%をモデルに組み込み、なお、微生物呼吸量を精度よく予測するためには、バイオマス炭素濃度を高くし、維持呼吸量を大きくする、あるいは、微生物の代謝産物の分解速度を小さくするといったように、モデルのその他のパラメーター値を再考する必要があると考えられる。実際、デージーモデルにおいて、バイオマス炭素濃度は過小評価であるとの報告もある (Mueller *et al.*, 1997)。

一方、添加グルコース炭素濃度がある閾値を超えるとグルコース利用効率は80%より低くなり、また、添加グルコース炭素濃度が増加するにつれて低下した (図3)。以上の結果は、未熟な堆肥などの易分解性有機物が土壌へ多量に投入された場合や、急激な乾湿変動などのかく乱が起こった場合など、多量の基質が土壌に添加された場合、基質利用効率が低下することを示す。その場合、基質利用効率を一定と仮定するモデルでは、微生物呼吸量が過小評価されると考えられる。実際、疑似定常状態を仮定するモデルでは、急激な環境変動後の微生物呼吸量を予測できないという報告がある (Lawrence *et al.*, 2009 など)。以上の結果は、基質濃度が低い疑似定常状態での微生物呼吸量に関しては、基質利用効率を考慮しない (あるいは一定と考える) これまでのモデルで十分予測できるが、急激な基質添加がある状況下では、基質利用効率を変数としてモデルに組み込む必要があることを示唆している。

また、基質利用効率が低くなると予想された強酸性土壌においても、通常土壌で起こりうる低濃度のグルコース炭素を添加後のグルコース利用効率は、弱酸性土壌と同様、約80%であることが明らかとなった (図4)。このことは、疑似定常状態を仮定するモデルにおいて、pHを要因として考慮しなくても予測がうまくいくという事実と一致する。一方、強酸性土壌では、グルコース利用効率が低下するグルコース炭素濃度の閾値が小さいことが確かめられた (図4)。以上の結果より、基質利用効率を一定と仮定する

モデルを用いると、強酸性土壌では、急激な基質添加に際して、微生物呼吸量を過小評価する可能性が高いことが示唆される。

また、森林土壌や熱帯土壌など、モデルが開発された環境以外におけるモデルの適用可能性の検証は、今後ますます重要になるだろう。その際、森林土壌や熱帯土壌は、養分が有機物動態を制御する環境である可能性が高い。しかし、養分の有機物動態に与える影響に関してはまだ不明な点が多く、上記3(2)で述べたように、グルコース利用効率に与える養分濃度の影響についても、十分には研究されていない。仮に低濃度の基質利用に際しても、養分欠乏が基質利用効率を低下させるなら、既存のモデルは、養分欠乏が顕著な土壌では、微生物呼吸量を過小評価する恐れがある。今後、このような点を明らかにするような研究の進展が期待される。

要 旨

土壌微生物のグルコース利用効率は、有機物循環モデルにおけるパラメーターを見積もるために重要である。グルコース利用効率は、純粋培養微生物では約60%であることが知られている一方、土壌微生物においては、広い範囲の値が報告されている。本稿では、その要因を、全土壌に共通のものと、土壌の性質に由来するものに分けて検証した。共通要因として、(1) 計算方法、(2) 培養時間、(3) バイオマス炭素由来呼吸の影響、(4) 添加グルコース炭素濃度が考えられた。特に(4)において、グルコース利用効率は、添加グルコース炭素濃度が増加するにつれて、ある閾値までは約80%と一定で、閾値を超えると徐々に低下することが明らかになった。一方土壌の性質に由来する要因として、(1) 酸性や重金属ストレス、(2) 養分濃度、(3) 糸状菌と細菌の割合、(4) 粘土含量が考えられた。しかし、これらの要因のうち、明らかにグルコース利用効率に影響を与えるものは存在しなかった。以上から、基質濃度が低い疑似定常状態では、基質利用効率を考慮しないこれまでのモデルで微生物呼吸量は十分予測できるが、急激な基質添加がある状況下では、従来のモデルでは微生物呼吸量が過小評価される可能性があることが示唆された。

引用文献

- 1) Anderson JPE and Domsch KH (1978) A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biol. Biochem.*, **10**, 215-221
- 2) Anderson RV, Coleman DC, Cole CV and Elliott ET (1981) Effect of the nematodes *Acrobeloides* sp. and *Mesodiplogaster lheritieri* on substrate utilization and nitrogen and phosphorous mineralization in soil. *Ecology*, **62**, 549-555
- 3) Anderson TH and Domsch KH (1985) Maintenance carbon requirements of actively - metabolizing microbial populations under in situ conditions. *Soil Biol. Biochem.*, **17**, 197-203
- 4) Anderson TH and Domsch KH (1993) The metabolic quotient for CO₂ (qCO₂) as a specific activity parameter to assess the

- effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. *Soil Biol. Biochem.*, **25**, 393-395
- 5) Bardgett RD and Saggar S (1994) Effects of heavy metal contamination on the short - term decomposition of labelled [¹⁴C] glucose in a pasture soil. *Soil Biol. Biochem.*, **26**, 727-733
- 6) Blagodatskaya EV and Kuzyakov Y (2008) Mechanisms of real and apparent priming effects and their dependence on soil microbial biomass and community structure: critical review. *Biol. Fertil. Soils*, **45**, 115-131
- 7) Blagodatskaya EV and Anderson TH (1998) Interactive effects of pH and substrate quality on the fungal - to - bacterial ratio and qCO₂ of microbial communities in forest soils. *Soil Biol. Biochem.*, **30**, 1269-1274
- 8) Blagodatsky SA, Demyanova FG, Kobzeva EI and Kudeyarov VN (2002) Changes in the efficiency of microbial growth upon soil amendment with available substrates. *Eurasian Soil Sci.*, **35**, 874-880
- 9) Brant JB, Sulzman EW and Myrold DD (2006) Microbial community utilization of added carbon substrates in response to long - term carbon input manipulation. *Soil Biol. Biochem.*, **38**, 2219-2232
- 10) Bremer E and van Kessel C (1990) Extractability of microbial ¹⁴C and ¹⁵N following addition of variable rates of labelled glucose and (NH₄)₂SO₄ to soil. *Soil Biol. Biochem.*, **22**, 707-713
- 11) Bremer E and Kuikman P (1994) Microbial utilization of ¹⁴C [U] glucose in soil is affected by the concentration and timing of glucose. *Soil Biol. Biochem.*, **26**, 511-517
- 12) Chander K and Brookes PC (1991) Microbial biomass dynamics during the decomposition of glucose and maize in metal - contaminated and non - contaminated soils. *Soil Biol. Biochem.*, **23**, 917-925
- 13) Chapman SJ and Gray TRG (1986) Importance of cryptic growth, yield factors and maintenance energy in models of microbial growth in soil. *Soil Biol. Biochem.*, **18**, 1-4
- 14) Chu H, Zhu J, Lin X, Yin R, Xie Z, Cao Z and Fujii T (2007) Short - term decomposition of ¹⁴C - labelled glucose in a fluvo-aquic soil as affected by lanthanum amendment. *Biol. Fertil. Soils*, **43**, 811-814
- 15) Coleman K and Jenkinson DS (1996) RothC - 26.3 - A model for the turnover of carbon in soil. In *Evaluation of Soil Organic Matter Models: Using Existing Long - Term Datasets*, Ed. DS Powlson, P Smith and JU Smith, pp. 237-246, Springer, Berlin
- 16) Dahlin S and Witter E (1998) Can the low microbial biomass C - to - organic C ratio in an acid and a metal contaminated soil be explained by differences in the substrate utilization efficiency and maintenance requirements? *Soil Biol. Biochem.*, **30**, 633-641
- 17) Dalenberg JW and Jager G (1981) Priming effect of small glucose additions to ¹⁴C - labelled soil. *Soil Biol. Biochem.*, **13**, 219-223
- 18) Dilly O (1999) Nitrogen and phosphorus requirement of the microbiota in soils of the Bornhöved Lake district. *Plant Soil*, **212**, 173-181

- 19) Elliott ET, Cole CV, Fairbanks BC, Woods LE, Bryant RJ and Coleman DC (1983) Short - term bacterial growth, nutrient uptake, and ATP turnover in sterilized, inoculated and C - amended soil: The influence of N availability. *Soil Biol. Biochem.*, **15**, 85-91
- 20) Frey SD, Gupta VVSR, Elliott ET and Paustian K (2001) Protozoan grazing affects estimates of carbon utilization efficiency of the soil microbial community. *Soil Biol. Biochem.*, **33**, 1759 -1768
- 21) del Giorgio PA and Cole JJ (1998) Bacterial growth efficiency in natural aquatic systems. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, **29**, 503-541
- 22) van Hees PAW, Jones DL, Finlay R, Godbold DL and Lundström US (2005) The carbon we do not see—the impact of low molecular weight compounds on carbon dynamics and respiration in forest soils: a review. *Soil Biol. Biochem.*, **37**, 1-13
- 23) Hill PW, Farrar JF and Jones DL (2008) Decoupling of microbial glucose uptake and mineralization in soil. *Soil Biol. Biochem.*, **40**, 616-624
- 24) Jones DL and Edwards AC (1998) Influence of sorption on the biological utilization of two simple carbon substrates. *Soil Biol. Biochem.*, **30**, 1895-1902
- 25) Killham K (1985) A physiological Determination of the impact of environmental stress on the activity of microbial biomass. *Environ. Pollution (Series A)*, **38**, 283 -294
- 26) Lawrence CR, Neff JC and Schimel JP (2009) Does adding microbial mechanisms of decomposition improve soil organic matter models? A comparison of four models using data from a pulsed rewetting experiment. *Soil Biol. Biochem.*, **41**, 1923-1934
- 27) Marstorp H and Witter E (1999) Extractable dsDNA and product formation as measures of microbial growth in soil upon substrate addition. *Soil Biol. Biochem.*, **31**, 1443-1453
- 28) Mueller T, Jensen LS, Magid J and Nielsen NE (1997) Temporal variation of C and N turnover in soil after oilseed rape straw incorporation in the field: simulations with the soil - plant - atmosphere model DAISY. *Ecol. Modelling*, **99**, 247-262
- 29) Nguyen C and Guckert A (2001) Short - term utilisation of ^{14}C - [U] glucose by soil microorganisms in relation to carbon availability. *Soil Biol. Biochem.*, **33**, 53-60
- 30) Nguyen C and Henry F (2002) A carbon-14-glucose assay to compare microbial activity between rhizosphere samples. *Biol. Fertil. Soils*, **35**, 270-276
- 31) Parton WJ, Schimel DS, Cole CV and Ojima DS (1987) Analysis of factors controlling soil organic matter levels in Great Plains grasslands. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **51**, 1173-1179
- 32) Payne WJ (1970) Energy yields and growth of heterotrophs. *Annu. Rev. Microbiol.*, **24**, 17-52
- 33) Saggar S, Parshotam A, Hedley C and Salt G (1999) ^{14}C - labelled glucose turnover in New Zealand soils. *Soil Biol. Biochem.*, **31**, 2025-2037
- 34) Sakamoto K and Oba Y (1994) Effect of fungal to bacterial biomass ratio on the relationship between CO_2 evolution and total soil microbial biomass. *Biol. Fertil. Soils*, **17**, 39-44
- 35) Sawada K, Funakawa S and Kosaki T (2008) Soil microorganisms have a threshold concentration of glucose to increase the ratio of respiration to assimilation. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **54**, 216-223
- 36) Sawada K, Funakawa S and Kosaki T (2009) Threshold concentrations of glucose to increase the ratio of respiration to assimilation in a Japanese arable soil and a strongly acidic Japanese forest soil. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **55**, 634-642
- 37) Schimel JP and Weintraub MN (2003) The implications of exoenzyme activity on microbial carbon and nitrogen limitation in soil: a theoretical model. *Soil Biol. Biochem.*, **35**, 549-563
- 38) Schneckenberger K, Demin D, Stahr K and Kuzyakov Y (2008) Microbial utilization and mineralization of [^{14}C] glucose added in six orders of concentration to soil. *Soil Biol. Biochem.*, **40**, 1981-1988
- 39) Scow KM (1997) Soil microbial communities and carbon flow in agroecosystems. In *Ecology in Agriculture*, Ed. LE Jackson, p. 367-413, Academic Press, London
- 40) Six J, Frey SD, Thiet RK and Batten KM (2006) Bacterial and fungal contributions to C - sequestration in agroecosystems. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **70**, 555-569
- 41) Smith JL, McNeal BL, Cheng HH and Campbell GS (1986) Calculation of microbial maintenance rates and net nitrogen mineralization in soil at steady-state. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **50**, 332-338
- 42) Smith P, Smith JU, Powlson DS, McGill WB, Arah JRM, Chertov OG, Coleman K, Franko W, Frolking S, Klein - Gunnewiek H, Jenkinson DS, Jensen LS, Kelly RH, Komarov AS, Li C, Molina JAE, Muller T, Parton WJ, Thornley JHM and Whitmore AP (1997) A comparison of the performance of nine soil organic matter models using datasets from seven long - term experiments. *Geoderma*, **81**, 153-225
- 43) Teklay T, Nordgren A and Malmer A (2006) Soil respiration characteristics of tropical soils from agricultural and forestry land - uses at Wondo Genet (Ethiopia) in response to C, N and P amendments. *Soil Biol. Biochem.*, **38**, 125-133
- 44) Tempest DW and Neijssel OM (1992) Physiological and energetic aspects of bacterial metabolite overproduction. *FEMS Microbiol. Lett.*, **100**, 169-176
- 45) Thiet RK, Frey SD and Six J (2006) Do growth yield efficiencies differ between soil microbial communities differing in fungal: bacterial ratios? Reality check and methodological issues. *Soil Biol. Biochem.*, **38**, 837-844
- 46) Tsai CS, Killham K and Cresser MS (1997) Dynamic response of microbial biomass, respiration rate and ATP to glucose addition. *Soil Biol. Biochem.*, **29**, 1249-1256
- 47) Vance ED, Brookes PC and Jenkinson DS (1987) An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biol. Biochem.*, **19**, 703-707
- 48) Wardle DA and Ghani A (1995a) Why is the strength of relationships between pairs of methods for estimating soil

- microbial biomass often so variable? *Soil Biol. Biochem.*, **27**, 821-828
- 49) Wardle DA and Ghani A (1995b) A critique of the microbial metabolic quotient (qCO_2) as a bioindicator of disturbance and ecosystem development. *Soil Biol. Biochem.*, **27**, 1601-1610
- 50) Witter E and Dahlin S (1995) Microbial utilization of [U- ^{14}C]-labelled straw and [U- ^{13}C]-labelled glucose in soils of contrasting pH and metal status. *Soil Biol. Biochem.*, **27**, 1507-1516
- 51) Witter E and Kanal A (1998) Characteristics of the soil microbial biomass in soils from a long-term field experiment with different level of C input. *Appl. Soil Ecol.*, **10**, 37-49
- 52) Wu J, Brookes PC and Jenkinson DS (1993) Formation and destruction of microbial biomass during the decomposition of