

土壌微生物研究におけるモデル基質としてのグルコース利用

研究事例と今後の展望

誌名	土と微生物
ISSN	09122184
著者名	沢田,こずえ 豊田,剛己
発行元	土壌微生物研究会
巻/号	67巻1号
巻号補足	
掲載ページ	p. 32-38
発行年月	2013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



土壌微生物研究におけるモデル基質としてのグルコース利用 ～研究事例と今後の展望～

沢田こずえ*・豊田剛己

東京農工大学大学院生物システム応用科学府, 〒184-8588 東京都小金井市中町2-24-16

Use of glucose as a model substrate in soil microbial studies: Overview and future prospects

Kozue Sawada* and Koki Toyota

*Institute of Symbiotic Science and Technology, Tokyo University of Agriculture and Technology,
2-24-16 Nakacho, Koganei-shi, Tokyo 184-8588, Japan*

Key words : glucose, Michaelis-Menten kinetics, priming effect, soil respiration, substrate - induced growth kinetics

1. はじめに

土壌は大気中 CO_2 の2倍以上, 植物バイオマス炭素の約4倍に相当する約2兆トンの炭素有機物として保持している (Lal, 2004)。また, 土壌からの CO_2 放出量は, 化石燃料の燃焼などの人為起源 CO_2 放出量の約8倍に相当すると見積もられ, 地球規模の気候変動に大きな影響を及ぼす (Potter と Klooster, 1998)。しかし, 将来の気候・大気環境変動に伴う土壌炭素循環の応答予測は, 陸域炭素循環モデルの違いに応じて, 量的な差だけでなく正負の違いすらみられるほど不確実性が高い (Friedlingstein ら, 2006)。

将来の大気 CO_2 濃度の増加によって植物の光合成能が増加すると, 土壌への植物残渣供給量や植物根からの炭素供給量が増加すると予測される (de Graaff ら, 2006 など)。さらに農耕地では, 炭素隔離を目的に有機物施用量が増加すると考えられる (IPCC, 2007)。土壌に供給される有機炭素の大部分は, 土壌微生物バイオマスを通過するため, 微生物は土壌中の炭素循環の中心となる。そのため, 土壌中での微生物を介した炭素循環メカニズムを解明することは, 将来の気候変動下における地球規模の炭素循環を予測する上で重要である。

土壌に供給される有機炭素の微生物を介した動態に関する研究は, グルコースをモデル基質として, Lees と Porteous (1950) によって初めて報告された。グルコースは, 大部分の微生物が利用可能であるため, モデル基質として用いられた。彼らは, 土壌に添加されたグルコースは無機化されてすべて CO_2 として放出されるわけではなく, 一部は微生物に同化され, その後土壌有機物として蓄積されることを示した。Drobnik (1960) は, 土壌にグルコースを添加後の CO_2 放出速度を経時的に測定した結果, 微生物がグルコースを吸収して増殖する一次酸化 (Primary oxidation) 期間と, その後微生物に取り込まれた炭素が微生物の死滅に伴って徐々に土壌有機炭素に変化する二次酸化 (Secondary oxidation) 期間があることを報告した。Stotzky と Norman (1961) は, 土壌にグルコースを添加後の CO_2 放出速度の増加は, 窒素やリンなどの養分によって制限されると報告した。湖沼などの水系では, Wright と Hobbie (1966) によって, 細菌によるグルコースの吸収パターンが解析された。その結果, (1) グルコース吸収

速度とグルコース濃度の関係はミカエリス・メンテン式に従うこと, (2) 最大グルコース吸収速度は細菌菌体サイズの指標となること, (3) 実際の自然水系では, グルコースの平均滞留時間は数十時間であることが示された。

これらの研究の後, Anderson と Domsch (1978) は, Wright と Hobbie (1966) の研究をもとに, 土壌微生物バイオマス炭素の測定法のひとつとして基質誘導呼吸 (Substrate-induced respiration; SIR) 法を開発した。SIR 法は, CO_2 発生速度が最大になるように十分な量のグルコースを土壌に添加後, 微生物が増殖する前の誘導期間内の CO_2 発生速度を微生物バイオマス炭素の指標とする方法である。この方法が開発されて以降, グルコースをモデル基質として利用した土壌微生物研究は急速に発展した。

本稿では, グルコースをモデル基質として利用した研究の中でも, 特に微生物を介した土壌炭素循環について紹介する。次節では, グルコースをモデル基質として利用する利点と注意点を考察する。3節では, グルコースを添加直後から数日以内の微生物によるグルコース吸収 (一次酸化) 期間の研究事例を紹介する。4節では, グルコースを添加後数日から数か月のグルコース吸収後の微生物の代謝回転 (二次酸化) 期間の研究事例を紹介する。5節では, 今後の展望を考察する。なお, モデル基質としてグルコースを用いた研究の中でも, SIR 法に関しては中本と三浦 (2006) に, グルコース利用効率 (吸収されたグルコースのうち微生物バイオマスに蓄積される割合) に関しては沢田ら (2011) にまとめられているので, 本稿では省略する。

2. グルコースの利点と注意点

従属栄養の土壌微生物は, 土壌溶液中の溶存炭素のみを炭素源として吸収する (Marschner と Kalbitz, 2003)。溶存炭素は, 高分子と低分子有機炭素を含む。低分子有機炭素には, 糖, 有機酸, アミノ酸, アミノ糖, フェノールがある (van Hees ら, 2005)。多くの研究において, 土壌に供給される有機炭素のモデル基質としてグルコースが利用されている。その理由として, グルコースは, 土壌に供給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, また植物根から最も多く放出される糖であるため, 土壌中で微生物が取り込む基質の主成分であること (Kuzakov, 2010), 大部分の微生物が利用可能であること (Anderson と Domsch, 1978), 土壌粒子に吸着されないこと (Jones と Edwards, 1998) が考えられる。

しかし, Brookes ら (1990) や Wu ら (1993) は, バイオマ

ス炭素の5倍以上の ^{14}C 標識グルコースと ^{14}C 標識ライグラス残渣を土壌に添加すると、グルコースを添加した場合にのみ、もともと土壌に存在する ^{12}C バイオマス炭素が20日までに約半分に減少したと報告している。つまり、グルコースを添加後のバイオマス炭素の動態は、植物残渣を添加した場合とは異なることとされた。根圏を除いて、土壌に供給される有機物は主に植物残渣であるため、グルコースをモデル基質に用いた研究はアーティファクトである可能性がある。しかし、Kouno ら (2002) は、バイオマス炭素と同程度の ^{14}C 標識グルコースと ^{14}C 標識ライグラスを添加した場合には、バイオマス炭素の動態はほぼ等しかったと報告している。土壌への植物残渣の添加は、セルロースの加水分解による土壌溶液へのグルコースの連続的な加入という点において、グルコースのパルスでの添加とは異なる (Kuzakov, 2010)。そのため、バイオマス炭素の5倍以上という高濃度のグルコースの添加では、微生物は急激に増殖するため、植物残渣の添加とは微生物動態が大きく異なる可能性がある。しかし、バイオマス炭素とはほぼ同程度のグルコースの添加では、微生物増殖はすぐに終了するため、植物残渣の添加とは微生物動態が異ならないと考えられる。以上から、バイオマス炭素の5倍以上という高濃度のグルコースを添加した場合には、グルコースは植物残渣のモデル基質としては適さない可能性がある。

ところで、土壌中の糖濃度は、根圏土壌においても1 mM (約 $60 \mu\text{g C g}^{-1}$ 乾土) 以下である (van Hees ら, 2005)。しかし、根の細胞内の糖濃度は、約10–50 mM と高い (Ryan ら, 2001)。また、植物残渣中の糖濃度は、全炭素の2–10% を占める (Gunnarsson ら, 2008)。そのため、根や植物残渣のごく近傍 (ホットスポット) では、土壌全体での平均的な濃度よりも高濃度の糖を微生物が消費していると考えられる。このことから、バイオマス炭素の数倍以上という高濃度のグルコースを添加後の炭素動態を解析する研究は、植物残渣を添加後の炭素動態を解明するためには適さないが、ホットスポットで起こっている微生物を介した炭素循環メカニズムを解明するためには重要であるといえる (Kuzakov, 2010)。このように、グルコースをモデル基質として利用する場合には、常にグルコースの添加濃度に注意を払う必要がある。その際、グルコースを添加後のバイオマス炭素の動態は、土壌当たりよりもバイオマス炭素当たりの添加グルコース濃度に影響されることが知られている。具体的には、バイオマス炭素の半分以上のグルコースを添加した場合には、微生物増殖が起こること (沢田ら, 2011)、土壌有機物の無機化促進 (実際のプライミング効果, 4節2項参照) が起こること (Blagodatskaya と Kuzakov, 2008) である。また、土壌中のバイオマス炭素濃度は、およそ $100 \mu\text{g C g}^{-1}$ 乾土のオーダーであるため、本稿では、添加グルコース濃度は、バイオマス炭素の半分以上の場合を低濃度、バイオマス炭素の半分以上の場合を高濃度と定義する。

3. グルコース吸収期間の研究事例

1) 低濃度のグルコース添加後の炭素動態

はじめに、土壌に低濃度のグルコースを添加直後から1日以内の炭素動態に関して紹介する。これらの研究は、ホットスポットではなく土壌全体における炭素循環を定量的に解明するという点で、将来の気候変動下における土壌炭素循環を定量的に予測するうえで重要である。

Coody ら (1986) は、土壌に様々な濃度の ^{14}C 標識グルコースを添加後3または5時間での ^{14}C 標識グルコース吸収速度を測定した結果、水系でのWright と Hobbie (1966) の研究と同様に、グルコース吸収速度は、以下のミカエリス・メンテン式に従うことを示した。

$$V = V_{\max} C / (K_M + C)$$

ここで、 V はグルコース吸収速度 (nmol g^{-1} 乾土 h^{-1})、 C はグルコース濃度 (μM)、 $V_{\max}$ は最大グルコース吸収速度 (nmol g^{-1} 乾土 h^{-1})、 K_M はミカエリス定数 (μM) である。

Sikora と McCoy (1990) は、さまざまな濃度のグルコースを添加後1時間での CO_2 放出速度を測定し、以下のミカエリス・メンテン式を用いてグルコースに相当する炭素量 (A) を推定した。

$$V = V_{\max} (A + C) / (K_M + A + C)$$

ここで、 V は CO_2 放出速度 ($\mu\text{g C g}^{-1}$ 乾土 h^{-1})、 C はグルコース濃度 ($\mu\text{g C g}^{-1}$ 乾土)、 $V_{\max}$ は最大 CO_2 放出速度 ($\mu\text{g C g}^{-1}$ 乾土 h^{-1})、 K_M はミカエリス定数 ($\mu\text{g C g}^{-1}$ 乾土)、 A はグルコースに相当する炭素量 ($\mu\text{g C g}^{-1}$ 乾土) である。Bradley と Fyles (1995) は、植栽処理と無植栽処理により可給態炭素量を変化させた土壌において、Sikora と McCoy (1990) の方法を用いて A を測定した結果、 A は微生物が利用可能な炭素量の良い指標となることを示した。著者らは、低濃度のグルコースを添加後12時間での CO_2 放出速度の経時変化は、一次反応式よりもミカエリス・メンテン式でよくシミュレートできることを示した (図1) (Sawada ら, 2010)。

van Hees ら (2005, 2008), Fujii ら (2010), Hayakawa ら (2011) は、様々な濃度の ^{14}C 標識グルコースを添加直後 (一時間以内) の $^{14}\text{CO}_2$ 放出速度からミカエリス・メンテン式のパラメーター値を求め、土壌溶液中の単糖濃度の実測値と上記パラメーター値から単糖の無機化によって放出される CO_2 放出速度と単糖の平均滞留時間を推定した。その結果、土壌からの従属栄養呼吸による CO_2 放出量に対する単糖の無機化による CO_2 放出量の割合は、北方林では19–52% (van Hees ら, 2008)、日本温帯林では51–72% (Fujii ら, 2010)、熱帯林では22–118% (Hayakawa ら, 2011) であった。また、単糖の平均滞留時間は1–10時間とかなり短かった。Hill ら (2008) は、 ^{14}C 標識グルコース添加直後の $^{14}\text{CO}_2$ 放出量は土壌溶液から微生物に取り込まれる ^{14}C 標識グルコースの一部であるため、 $^{14}\text{CO}_2$ 放出速度で推定した土壌溶液中での単糖の平均滞留時間は10倍近く過大評価であることを指摘した。以上から、グルコースに代表される単糖の無機化は、土壌での従属栄養呼吸のかかなりの割合を占めること、土壌中での単糖の平均滞留時間は数分から1時間程度とかなり短いことが分かった。

2) 高濃度のグルコースを添加後の微生物の増殖特性

次に、土壌に高濃度のグルコースを窒素とリンとともに添加後3日以内の CO_2 放出速度を解析した研究を紹介する。これらの研究は、土壌微生物を、易分解性有機物を基質に急激に増殖するr戦略微生物と難分解性有機物も分解可能で増殖速度の遅いK戦略微生物に分けることなど、微生物の性質を理解するために重要である。

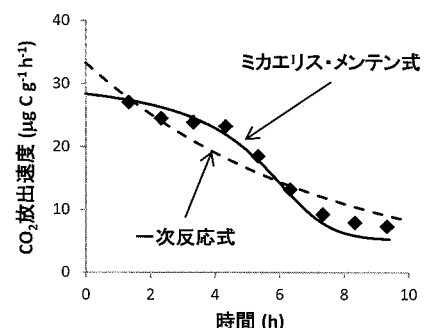


図1 低濃度のグルコースを添加後の CO_2 放出速度。Sawada ら (2010) のデータを基に作図。

グルコースを窒素とリンとともに添加後、CO₂ 放出速度が一定の期間を誘導期間、指数関数的に増加する期間を比呼吸増加期間という (Nordgren ら, 1988) (図 2)。誘導期間は、硫酸を添加して pH を低下させた土壌や重金属で汚染された土壌では、長くなった (Bewley と Stotzky, 1983; Nordgren ら, 1988)。また、フザリウム病抑止土壌では、助長土壌と比べて誘導期間が短かった (Alabouvette ら, 1985)。さらに、火入れ後の農耕地などの攪乱土壌は天然林などの非攪乱土壌と比べて誘導期間が短くなる傾向が示された (Wardle, 1993; Sawada ら, 2009)。以上のように、誘導期間は、土壌の性質の良い指標となるだろう。

Stenström ら (1998) は、グルコースを窒素とリンとともに添加後誘導期間から比呼吸増加期間までの CO₂ 放出速度を以下の式でシミュレートした (図 2)。

$$V = r e^{\mu t} + K$$

ここで、 V は CO₂ 放出速度 ($\mu\text{g C g}^{-1} \text{ 乾土 h}^{-1}$)、 r あるいは K はグルコース添加直後の r あるいは K 戦略微生物による CO₂ 放出速度 ($\mu\text{g C g}^{-1} \text{ 乾土 h}^{-1}$)、 μ は比増殖速度定数 (h^{-1})、 t はグルコース添加後の時間 (h) である。この式は、 r 戦略微生物のみ増殖し K 戦略微生物は増殖しないと仮定した式である。Blagodatsky ら (2000) は、Panikov と Sizova (1996) が開発した微生物モデルを土壌微生物に応用した。また、誘導期間と比呼吸増殖期間のみに簡略化した (詳細な理論式は本稿では省略するが、最終的な式は Stenström ら (1998) と一致する)。このモデルの特徴は、微生物バイオマスを、RNA や酵素など増殖に関与する画分 (成長画分; growing fraction) と、貯蓄物質や構造タンパク質など代謝に関与しない画分 (維持画分; sustaining fraction) に分けられる点にある。

Blagodatsky ら (2000) は、 $500 \mu\text{g C g}^{-1}$ のグルコースを添加直後あるいは 3、7、10 日間培養した土壌の全バイオマス量と成長画分の割合を推測した結果、全バイオマス量は 7 日目で最大になり、成長画分の割合は 3 日目で最大になったことを示した。Stenström ら (2001) は、添加グルコース濃度が増加するにつれてグルコース添加 4 から 46 日目までの r 戦略微生物の増加量が多くなったことを示した。Blagodatskaya ら (2010) は、開放系大気 CO₂ 増加圃場の土壌は、対照区 (現在の大気 CO₂ 濃度) の土壌と比べて、全バイオマス量はほとんど変化しなかったが、比増殖速度定数 (μ) は増加したことを示した。また、この増加はミクロ団粒で顕著であった (Dorodnikov ら, 2009)。以上から、土壌へのグルコース添加や、大気 CO₂ の増加による土壌への炭素投入量の増加によって、全バイオマス炭素よりも成長画分の割合や比増殖速度定数、 r 戦略微生物が増加することが分かった。

3) 高濃度のグルコースを添加後の窒素・リン制限

次に、土壌に高濃度のグルコースを窒素あるいはリンとともに

に添加後の (つまりリンあるいは窒素は添加しない) CO₂ 放出速度を解析した研究を紹介する。Stotzky と Norman (1961) がすでに示したように、グルコース添加後の CO₂ 放出速度は、窒素あるいはリンによって制限される。Nordgren (1992) は、土壌に高濃度のグルコースとリンを添加後 CO₂ 放出速度は経時的に増加しある時点で最大になりその後減少するが、その最大の CO₂ 放出速度 (R_N) ($\mu\text{g C g}^{-1} \text{ 乾土 h}^{-1}$) は窒素量が規定することを利用し、微生物が利用可能な窒素量 (微生物有効態窒素量) を推定する方法を開発した (図 3)。具体的には、土壌にグルコースとリンを添加した場合 (+CP) と、グルコースとリンとともに既知量の低濃度の無機態窒素 (ΔN) ($\mu\text{g N g}^{-1} \text{ 乾土}$) を添加した場合 (+CP ΔN) を比べると、最大 CO₂ 放出速度は窒素を添加すると $R \Delta N$ ($\mu\text{g C g}^{-1} \text{ 乾土 h}^{-1}$) だけ増加する (図 3)。これらの値から、微生物有効態窒素量 ($\mu\text{g N g}^{-1} \text{ 乾土}$) が以下の式によって推定できる。

$$\text{微生物有効態窒素量} = \Delta N \times R_N / R_{\Delta N}$$

ところで、Demetz と Insam (1999) は、リンが植物生育を制限しているオーストリアのアルプス森林土壌 (石灰質) に高濃度のグルコースと窒素とともにさまざまな濃度のリンを添加した場合、窒素のケースとは異なり、リンの添加濃度が高くなるにつれて、最大 CO₂ 放出速度ではなく比増殖速度が増加することを示した。

以上をもとに、さまざまな生態系において、グルコース添加後の微生物増殖に対するリン制限と窒素制限に関して研究が行われている。温帯林のブナ、ナラ、ドイツトウヒ、シトカトウヒ、バイマツ植生下土壌における微生物有効態窒素量は、ナラで最も高いこと、また全窒素や KCl 抽出窒素、C/N 比とは相関しないことが示された (Vesterdal, 1998)。北方林腐植層では、アルミニウムと鉄含量が高くなるにつれて、グルコースと窒素を添加後の微生物の比増殖速度がリン制限により低くなることが示された (Giesler ら, 2004)。Ilstedt と Singh (2005) は、マレーシア熱帯林のアカリソル (Acrisols) において、グルコース添加後の CO₂ 放出速度を解析し、比増殖速度はリン制限によって、また最大 CO₂ 放出速度は窒素によって制限されることを確かめた。さらに、同圃場において、野火の 6 か月後には、植物が吸収する窒素量が増加するため、リター層の微生物有効態窒素量が増加すること (Ilstedt ら, 2003)、クロールトラクターの使用によって腐植層の一部が除去されるため、鉍質土壌の微生物有効態窒素量が減少すること (Ilstedt ら, 2006) が示された。グルコースを添加後の CO₂ 放出速度は、南エチオピアの火山灰土壌では、リンよりも窒素によって制限されること (Teklay ら, 2006)、ブルキナファソのアグロフォレストリーでは、リンによって制限されるが、樹間よりも樹木下の土壌ではリン制限が抑えられること (Gnankambary ら, 2008) が示された。以上のように、グルコー

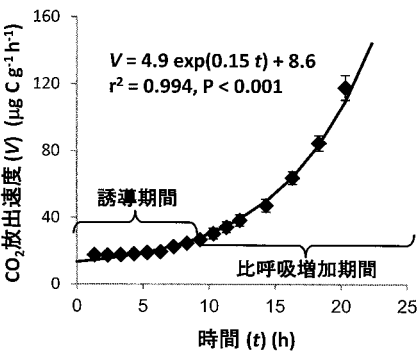


図 2 高濃度のグルコースを窒素・リンとともに添加後の CO₂ 放出速度。Sawada ら (2009) のデータを基に作図。

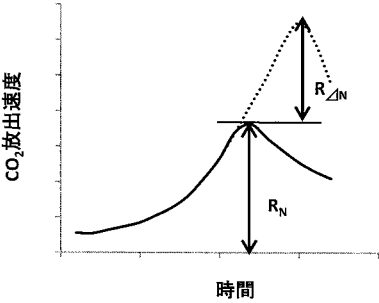


図 3 高濃度のグルコースとリン (+CP) あるいは高濃度のグルコースとリンと低濃度の窒素 (+CP ΔN) を添加後の CO₂ 放出速度の概念図。詳細は本文参照。

スを添加後の微生物増殖に対する窒素・リン制限の影響を評価することは、さまざまな生態系における窒素やリン制限についての有益な情報を短時間で簡便に得ることができる利点がある。

4. グルコース吸収後の期間の研究事例

1) 微生物バイオマス炭素の代謝回転

土壤微生物に取り込まれた炭素がどのような速度で土壤に放出され有機物として蓄積されるかは、土壤の炭素貯留能を評価するうえで重要な課題である。これまで、高濃度の ^{13}C あるいは ^{14}C 標識グルコースを添加してバイオマスを ^{13}C あるいは ^{14}C で標識した後、 ^{13}C あるいは ^{14}C 標識バイオマス炭素の減少量を一次反応式でシミュレートすることによりバイオマス炭素の代謝回転速度を推測する研究が多く行われてきた。van Veenら(1985)やLaddら(1992)は、粘土含量が高い土壤ではバイオマス炭素の代謝回転速度が遅くなったと報告している。さらに、バイオマス炭素の代謝回転速度は、アロフェン含量が高いと遅くなること(Saggarら, 1994)、粘土含量や粘土表面積、pHと相関すること(Saggarら, 1999)が示された。SakamotoとHodono(2000)は、日本の5つの土壤において、微生物バイオマス炭素の約2倍に相当する ^{13}C 標識グルコースを添加後のバイオマス炭素の代謝回転速度は、粘土含量やCEC、マクロ団粒量と負に相関したが、全炭素量とは相関しなかったことを報告している。また、バイオマス炭素の代謝回転速度は、バイオマス炭素量とも負に相関したため、土壤にバイオマス炭素が蓄積するためには、粘土含量やCECが高いことによるバイオマス炭素の代謝回転速度が遅いことが重要であると示唆した。

以上は、高濃度のグルコースを添加後の結果であるが、近年、Boddyら(2008)は、 $1\mu\text{g C g}^{-1}$ 乾土以下の低濃度の ^{14}C 標識グルコースを土壤に添加後の $^{14}\text{CO}_2$ 放出速度を解析し、微生物のグルコース取り込み直後の CO_2 放出速度と、いったん代謝された後の ^{14}C 標識バイオマス炭素の代謝回転による CO_2 放出速度を推定した。その結果、(1)バイオマス炭素の代謝回転速度は取り込み速度の約1000分の1と遅いこと、(2)取り込み速度は温度の影響を受けないが、バイオマス炭素の代謝回転速度は温度の影響を受けることが示された。微生物バイオマス炭素の代謝回転速度は、土壤の炭素貯留能を評価するうえで重要な要因である。そのため、Boddyら(2008)のような土壤の平均的な濃度である低濃度のグルコースを添加後のバイオマス炭素の代謝回転速度を定量的に解析する研究のさらなる発展が望まれる。

2) プライミング効果

プライミング効果(Priming effect)とは、土壤へ供給される有機物の影響によって、土壤にもともと存在する有機物の分解速度が数日から数カ月にわたって変化することを示す。この変化は、土壤微生物活性が変化することに起因する。プライミング効果の大きさ($\mu\text{g C g}^{-1}$ 乾土 h^{-1})は、 ^{13}C あるいは ^{14}C 標識基質炭素を添加した場合としない場合の全 CO_2 (全 $\text{CO}_2^{\text{添加}}$ と全 $\text{CO}_2^{\text{無添加}}$)($\mu\text{g C g}^{-1}$ 乾土 h^{-1})と基質由来の ^{13}C あるいは ^{14}C 標識 CO_2 ($\mu\text{g C g}^{-1}$ 乾土 h^{-1})を測定し、以下の式によって計算する(図4)。

$$\text{プライミング効果} = (\text{全}\text{CO}_2^{\text{添加}} - \text{標識}\text{CO}_2) - \text{全}\text{CO}_2^{\text{無添加}}$$

この式からわかるように、プライミング効果は正の場合のみでなく負の場合もある。ここで計算されたプライミング効果には、もともと土壤に存在した ^{12}C 微生物バイオマス炭素の代謝回転による見かけの(apparent)プライミング効果(DalenbergとJager, 1981; Wuら, 1993)と土壤有機物の無機化促進による実際の(real)プライミング効果(ShenとBartha, 1996)が含まれる。プライミング効果に関しては、2000年以前の研究事例は

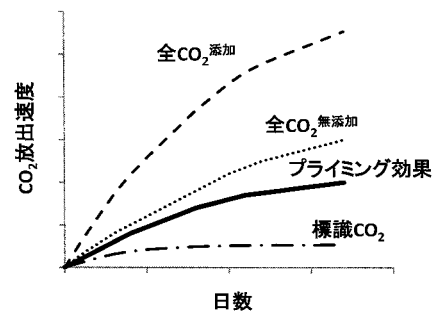


図4 標識グルコースを添加した場合としない場合の全あるいは標識 CO_2 放出速度と計算されたプライミング効果の大きさについての概念図。詳細は本文参照。

Kuzyakov(2000)の総説に、近年の研究事例はKuzyakov(2010)とBlagodatskayaとKuzyakov(2008)の総説にまとめられている。本稿では、2000年以降でグルコースを使った研究にのみ着目して研究事例を紹介する。

De Nobiliら(2001)は、低濃度のグルコース($11.3\mu\text{g C g}^{-1}$ 乾土)を添加後7日目までに、添加グルコースの14倍の CO_2 が放出されたことを報告している。つまり、低濃度のグルコースの添加によって正のプライミング効果が生じた。このような低濃度のグルコース添加による正のプライミング効果は、Blagodatskayaら(2007)やHoyleら(2008)においても報告されている。また、低濃度のグルコース添加7日目までのプライミング効果は、 ^{12}C バイオマス炭素の半分以下であった。そのため、低濃度のグルコース添加後7日以内の正のプライミング効果は、低濃度のグルコースの添加によって微生物代謝が刺激され、微生物細胞内貯蔵炭素の無機化が進んだ見掛けのプライミング効果であると考察された(BlagodatskayaとKuzyakov, 2008)。

Blagodatskayaら(2007)は、バイオマス炭素の8倍という高濃度のグルコースを窒素とともに添加後13日目までに、土壤有機物由来の $^{12}\text{CO}_2$ の放出が抑えられる負のプライミング効果が生じたことを報告している。これは、微生物が土壤有機物よりも易分解性のグルコースを優先して分解するようになったためと考察される。一方、高濃度のグルコースを添加1~3か月後には、正のプライミング効果が生じることは多く報告されている(DillyとZygun, 2008など)。Blagodatskayaら(2011)は、 C_3 植物の草地に12年前から C_4 植物のジャイアントミスカンサスを栽培することで、土壤有機炭素を $\delta^{13}\text{C}$ の割合から12年前以前に蓄積した炭素と12年前以降に蓄積した炭素に分けられる土壤において、 $100\mu\text{g C g}^{-1}$ 乾土(低濃度)と $1000\mu\text{g C g}^{-1}$ 乾土(高濃度)のグルコースを添加後のプライミング効果を測定した。その結果、低濃度と高濃度の両方のグルコースを添加後3日目までは、正の見掛けのプライミング効果のみが生じた。その後54日目までに、低濃度グルコース添加では、12年前以降に蓄積した新しい炭素由来のみの正の実際のプライミング効果が生じ、高濃度グルコース添加では、12年前以前に蓄積した古い炭素と12年前以降に蓄積した新しい炭素が同程度由来の正の実際のプライミング効果が生じたことが示された。つまり、高濃度のグルコース添加によって1~2か月までに比較的難分解性の起源が古い土壤有機物の無機化が促進された。さらに、化石燃料や植物体の不完全な燃焼によって生成する難分解性の黒色炭素の無機化が、高濃度のグルコースの添加によって促進されたことが報告されている(Hamerら, 2004; Kuzyakovら, 2009)。また、土壤中での除草剤モリネートや殺菌剤クロロクロニルの分解は、易分解性基質を炭素源とした土壤微生物の共役代謝(cometabolism)による(片山・山本, 1999)が、これも実際のプライミング効果のひとつと考えられる。BlagodatskayaとKuzyakov(2008)は、様々な濃度の基質を土壤

に添加後のプライミング効果に関するこれまでの研究をメタ分析することによって、実際のプライミング効果は添加グルコース炭素がバイオマス炭素の半分以上の場合にのみ起こるということを示した。以上から、将来の大気 CO_2 濃度の増加による植物を介した土壌への炭素供給量の増加によって、あるいは農耕地土壌への有機物施用によって、局所的に土壌への基質炭素供給量がバイオマス炭素の半分以上を超えれば増加した場合には、土壌有機物の分解促進（実際のプライミング効果）によって土壌からの CO_2 放出量が急激に増加する可能性が考えられる。

Hartley ら（2010）は、スウェーデンの森林土壌において、バイオマス炭素の約 2 倍のグルコースを添加後の正のプライミング効果は、窒素の添加によって抑えられたことを報告している。同様の窒素の効果はこれまで多く報告されている（Garcia-Pausas と Ptersson, 2011 など）。これは、施肥のある農耕地と比べて可給態窒素量が低い森林土壌では、微生物は、菌体外酵素の生成などによって土壌有機物中に含まれる窒素を獲得する結果生じる実際のプライミング効果が、窒素の添加によって抑えられるためと考察されている（Fontaine ら, 2011）。そのため、近年の人間活動の増大に伴う土壌への窒素供給量の増加によって、実際のプライミング効果が抑制され土壌からの CO_2 放出量が抑えられる可能性が考えられる。

以上から、添加基質炭素濃度と可給態窒素量がプライミング効果に与える重要な要因であることがこれまでの研究から示唆されている。近年、プライミング効果に関する研究が急速に発展しているが、土壌炭素循環に与えるプライミング効果の寄与については、まだ未解明である（Fontaine ら, 2007; Blagodatskaya と Kuzyakov, 2008）。そのため、以上に述べた 2 つの要因がプライミング効果に与える影響を定量的に評価することは、将来の大気・気候変動に伴う土壌炭素循環の応答予測の精緻化のために重要な課題である。

4. 今後の展開

これまでの、グルコースを添加後の CO_2 放出速度と微生物バイオマス炭素の動態について記述した。ところで、近年、微生物バイオマスの群集組成に注目した研究が発展している。例えば、高濃度のグルコースと窒素を添加するとリンによって微生物増殖が制限されるフェラルソル（Ferralsols）において（3 節 3 項参照）、Ehlers ら（2010）は、グルコースと窒素あるいはグルコースと窒素とリンを添加後 CO_2 放出速度が最大になる時点におけるリン脂質脂肪酸（PLFA）量と組成また微生物細胞中のリン含量を測定した。その結果、リンの添加によって、最大 CO_2 放出速度は大きくなり、また細胞中のリン含量は多くなった。しかし、リンの添加の有無にかかわらず、主に糸状菌由来 PLFA が同程度増加した。以上より、高濃度のグルコースを添加後には、リンの添加によって、微生物の量や組成ではなく、微生物活性と細胞中のリン含量が増加することが明らかとなった。

グルコースを添加後の微生物群集組成に関しては、特にプライミング効果のメカニズム解明のための研究が進展してきた。Fontaine ら（2003）は、*r* 戦略微生物が供給有機物を消費して急速に増殖した後に、その死滅とともに難分解性有機物も利用可能な *K* 戦略微生物の増殖が優占することによって、土壌有機物の無機化促進（実際のプライミング効果）が起こるという仮説を提案した。Blagodatskaya ら（2007, 2009）は、グルコースを添加後 3 日目までの見掛けのプライミング効果が生じている期間には、（1）微生物の比増殖速度（3 節 2 項参照）が増加すること（Blagodatskaya ら, 2007）、（2）ミカエリス・メンテン式の K_M 値（3 節 1 項参照）が減少する（つまりグルコースの吸収速度が増加すること）（Blagodatskaya ら, 2009）から、*r* 戦略微生物が増殖して代謝回転速度が速くなることで見掛けのプライミング効果が

生じることを確認した。Nottingham ら（2009）は、高濃度のスクロースを添加後 14 日以内の見掛けのプライミング効果が生じている期間にグラム陰性細菌が増加したことを PLFA 組成の変化から示した。Jenkins ら（2010）は、15, 50, 150 $\mu\text{g C g}^{-1}$ 乾土の低濃度のグルコースを添加後 4 日目における細菌の組成を PCR-DGGE とシーケンスによって解析した結果、15 と 50 $\mu\text{g C g}^{-1}$ 乾土のグルコース添加では *Bacillus* と *Burkholderia* が、150 $\mu\text{g C g}^{-1}$ 乾土のグルコース添加ではさらに *Pseudomonas* が増加したことを示した。以上から、基質添加後短期間では、グラム陰性菌、特に *Pseudomonas* が *r* 戦略微生物の役割を果たし急激に増殖し、その代謝回転によって見掛けのプライミング効果が生じると考えられる。一方、実際のプライミング効果には、糸状菌と放線菌が寄与したことが PLFA 組成の変化から示された（Garcia-Pausas と Paterson, 2011）。しかし、土壌炭素循環に与える寄与が大きい実際のプライミング効果を担う微生物の群集組成に関しては、まだ研究例が少なく、今後の重要な課題である。

将来の気候変動下における土壌炭素循環の予測不確実性を解決するためには、土壌中での微生物を介した炭素循環メカニズムを解明することが今後ますます重要となる。ところで、土壌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た一次反応式による土壌有機炭素循環モデルには、土壌微生物の量や組成・代謝活性はパラメーターとして組み込まれていない。そのため、微生物パラメーターを組み込んだモデルの重要性が近年指摘されている（Schimel と Weintraub, 2003; Neill と Gignoux, 2006; Bragodatsky ら, 2010 など）。微生物パラメーターには、基質吸収速度、基質利用効率、比増殖速度、維持呼吸速度、微生物の死滅速度、プライミング効果などを含む。このようなパラメーター値を個々に実測するためには、グルコースはモデル基質として最適である。なぜなら、植物残渣を添加した場合には、多糖の加水分解による土壌溶液への単糖の連続的な加入と微生物による単糖の連続的な吸収によって基質の吸収と微生物の死滅が同時に起こるので、一次酸化と二次酸化を分けることができず正確なパラメーター値を得ることができない。根の滲出物中の有機酸などは、グルコースと比べて量的に少ないだけでなく、土壌に吸着されるなど考慮すべき要因が増える。このような点から、グルコースを用いて得たパラメーター値は、より正確で普遍性が高いと考えられる。さらに、これまでの研究例も多いため、新しい土壌や実験手法、測定項目を検討する場合には、グルコースをモデル基質として用いることで有益な情報を得ることができるだろう。確かに、実際に土壌に添加される植物残渣の動態を複雑系として解析することは重要である。しかし、グルコースを添加後の微生物を介した炭素動態を要素還元的に解明することも、微生物パラメーターを組み込んだモデルの構築、ひいては土壌炭素循環の将来予測の精緻化のために、今後ますます重要になる。

要 旨

将来の気候変動下における土壌炭素循環の予測不確実性を解決するためには、土壌中での微生物を介した炭素循環メカニズムを解明することが重要である。これまで、土壌中で微生物が取り込む基質の主成分であるグルコースをモデル基質として用い、微生物メカニズムを解明する研究が発展してきた。本稿では、微生物がグルコースを吸収して増殖する期間とグルコースが微生物に吸収された後の期間に分けて、研究事例を紹介した。グルコース吸収期間において、バイオマス炭素の半分以上の低濃度のグルコースを添加後の CO_2 放出速度はミカエリス・メンテン式に従うことが分かった。また、バイオマス炭素以上の高濃度のグルコースを添加後の CO_2 放出速度の経時変化から、（1）土壌微生物を *r* 戦略微生物と *K* 戦略微生物に分けられること、（2）様々な生態系における窒素・リン制限についての情報が得られることが分かっ

た。グルコース吸収後の期間においては、微生物の代謝回転速度とプライミング効果についてまとめた。プライミング効果の大きさを決定する要因として、添加基質炭素濃度と可給態窒素量が考えられた。今後の展望としては、微生物バイオマスの群集組成に着目した研究の発展が望まれる。

引用文献

- 1) Alabouvette C, Couteaudier Y and Louvet J (1985) Recherches sur la resistance des sols aux maladies. XII. Activite respiratoire dans un sol resistant et un sol sensible aux fusarioses vasculaires enrichis en glucose. *Agronomie*, **5**, 69-72
- 2) Anderson JPE and Domsch KH (1978) A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biol. Biochem.*, **10**, 215-221
- 3) Bewley RJF and Stotzky G (1983) Simulated acid rain (H_2SO_4) and microbial activity in soil. *Soil Biol. Biochem.*, **15**, 425-429
- 4) Blagodatskaya E, Blagodatsky S, Dorodnikov M and Kuzyakov Y (2010) Elevated atmospheric CO_2 increases microbial growth rates in soil: results of three CO_2 enrichment experiments. *Global Change Biol.*, **16**, 836-848
- 5) Blagodatskaya E, Yuyukina T, Blagodatsky S and Kuzyakov Y (2011) Three - source - partitioning of microbial biomass and of CO_2 efflux from soil to evaluate mechanisms of priming effects. *Soil Biol. Biochem.*, **43**, 778-786
- 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, Blagodatsky SA, Anderson TH and Kuzyakov Y (2007) Priming effects in Chernozem induced by glucose and N in relation to microbial growth strategies. *Appl. Soil Ecol.*, **37**, 95-105
- 8) Blagodatskaya EV, Blagodatsky SA, Anderson TH and Kuzyakov Y (2009) Contrasting effects of glucose, living roots and maize straw on microbial growth kinetics and substrate availability in soil. *Eur. J. Soil Sci.*, **60**, 186-197
- 9) Blagodatsky S, Blagodatskaya E, Yuyukina T and Kuzyakov Y (2010) Model of apparent and real priming effects: Linking microbial activity with soil organic matter decomposition. *Soil Biol. Biochem.*, **42**, 1275-1283
- 10) Blagodatsky SA, Heinemeyer O and Richter J (2000) Estimating the active and total soil microbial biomass by kinetic respiration analysis. *Biol. Fertil. Soils*, **32**, 73-81
- 11) Boddy E, Roberts P, Hill PW, Farrar J and Jones DL (2008) Turnover of low molecular weight dissolved organic C (DOC) and microbial C exhibit different temperature sensitivities in Arctic tundra soils. *Soil Biol. Biochem.*, **40**, 1557-1566
- 12) Bradley RL and Fyles JW (1995) A kinetic parameter describing soil available carbon and its relationship to rate increase in C mineralization. *Soil Biol. Biochem.*, **27**, 167-172
- 13) Brookes PC, Ocio JA and Wu J (1990) The soil microbial biomass: Its measurement, properties and role in soil nitrogen and carbon dynamics following substrate incorporation. 土と微生物, **35**, 39-51
- 14) Coody PN, Sommers LE and Nelson DW (1986) Kinetics of glucose uptake by soil microorganisms. *Soil Biol. Biochem.*, **18**, 283-289
- 15) Dalenberg JW and Jager G (1981) Priming effect of small glucose additions to ^{14}C - labelled soil. *Soil Biol. Biochem.*, **13**, 219-223
- 16) de Graaff MA, van Groenigen KJ, Six J, Hungate BA and van Kessel C (2006) Interactions between plant growth and nutrient dynamics under elevated CO_2 : a meta analysis. *Global Change Biol.*, **12**, 1-15
- 17) De Nobili M, Contin M, Mondini C and Brookes PC (2001) Soil microbial biomass is triggered into activity by trace amounts of substrate. *Soil Biol. Biochem.*, **33**, 1163-1170
- 18) Demetz M and Insam H (1999) Phosphorus availability in a forest soil determined with a respiratory assay compared to chemical methods. *Geoderma*, **89**, 259-271
- 19) Dilly O and Zyakun A (2008) Priming effect and respiratory quotient in a forest soil amended with glucose. *Geomicrobiol. J.*, **25**, 425-431
- 20) Dorodnikov M, Blagodatskaya E, Blagodatsky S, Fangmeier A and Kuzyakov Y (2009) Stimulation of r - vs. K - selected microorganisms by elevated atmospheric CO_2 depends on soil aggregate size. *FEMS Microbiol. Ecol.*, **69**, 43-52
- 21) Drobni J (1960) Primary oxidation of organic matter in the soil. I. The form of respiration curves with glucose as the substrate. *Plant Soil*, **12**, 199-211
- 22) Ehlers K, Bakken LR, Frostegård Å, Frossard E and Bünemann EK (2010) Phosphorus limitation in a Ferralsol: Impact on microbial activity and cell internal P pools. *Soil Biol. Biochem.*, **42**, 558-566
- 23) Fontaine S, Barot S, Barré P, Bdioui N, Mary B and Rumpel C (2007) Stability of organic carbon in deep soil layers controlled by fresh carbon supply. *Nature*, **450**, 277-280
- 24) Fontaine S, Henault C, Aamor A, Bdioui N, Bloor JMG, Maire V, Mary B, Revallot S and Maron PA (2011) Fungi mediate long term sequestration of carbon and nitrogen in soil through their priming effect. *Soil Biol. Biochem.*, **43**, 86-96
- 25) Fontaine S, Mariotti A and Abbadié L (2003) The priming effect of organic matter: a question of microbial competition? *Soil Biol. Biochem.*, **35**, 837-843
- 26) Friedlingstein P et al. (2006) Climate - carbon cycle feedback analysis: Results from the C^4 MIP model intercomparison. *J. Climate*, **19**, 3337-3353
- 27) Fujii K, Hayakawa C, van Hees PAW, Funakawa S and Kosaki T (2010) Biodegradation of low molecular weight organic compounds and their contribution to heterotrophic soil respiration in three Japanese forest soils. *Plant Soil*, **334**, 475-489
- 28) Garcia - Pausas J and Paterson E (2011) Microbial community abundance and structure are determinants of soil organic matter mineralisation in the presence of labile carbon. *Soil Biol. Biochem.*, **43**, 1705-1713
- 29) Giesler R, Satoh F, Ilstedt U and Nordgren A (2004) Microbially available phosphorus in Boreal forests: effects of aluminum and iron accumulation in the humus layer. *Ecosystems*, **7**, 208-217
- 30) Gnankambary Z, Ilstedt U, Nyberg G, Hien V and Malmer A (2008) Nitrogen and phosphorus limitation of soil microbial respiration in two tropical agroforestry parklands in the south - Sudanese zone of Burkina Faso: the effects of tree canopy and fertilization. *Soil Biol. Biochem.*, **40**, 350-359
- 31) Gunnarsson S, Marstorp H, Sigrun Dahlin A and Witter E (2008) Influence of non - cellulose structural carbohydrate composition on plant material decomposition in soil. *Biol. Fertil. Soils*, **45**, 27-36
- 32) Hamer U, Marschner B, Brodowski S and Amelung W (2004) Interactive priming of black carbon and glucose mineralization. *Org. Geochem.*, **35**, 823-830
- 33) Hartley IP, Hopkins DW, Sommerkorn M and Wookey PA (2010) The response of organic matter mineralisation to nutrient and substrate additions in sub - arctic soils. *Soil Biol. Biochem.*, **42**, 92-100
- 34) Hayakawa C, Fujii K, Funakawa S and Kosaki T (2011) Biodegradation kinetics of monosaccharides and their contribution to basal respiration in tropical forest soils. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **57**, 663-673
- 35) Hill PW, Farrar JF and Jones DL (2008) Decoupling of microbial glucose uptake and mineralization in soil. *Soil Biol. Biochem.*, **40**, 616-624
- 36) Hoyle F, Murphy D and Brookes P (2008) Microbial response to the addition of glucose in low - fertility soils. *Biol. Fertil. Soils*, **44**, 571-579
- 37) IPCC 編 (2007) IPCC 第4次評価報告書第3作業部会報告書
- 38) Ilstedt U and Singh S (2005) Nitrogen and phosphorus limitations of microbial respiration in a tropical phosphorus - fixing acrisol (ultisol) compared with organic compost. *Soil Biol. Biochem.*, **37**, 1407-1410
- 39) Ilstedt U, Giesler R, Nordgren A and Malmer A (2003) Changes in soil chemical and microbial properties after a wildfire in a tropical rainforest in Sabah, Malaysia. *Soil Biol. Biochem.*, **35**, 1071-1078
- 40) Ilstedt U, Nordgren A, Malmer A (2006) Soil chemical and microbial

- properties after disturbance by crawler tractors in a Malaysian forest plantation. *Forest Ecol. Manag.*, **225**, 313-319
- 41) Jenkins SN, Rushton SP, Lanyon CV, Whiteley AS, Waite IS, Brookes PC, Kemmitt S, Evershed RP and O'Donnell AG (2010) Taxon - specific responses of soil bacteria to the addition of low level C inputs. *Soil Biol. Biochem.*, **42**, 1624-1631
 - 42) Jones DL and Edwards AC (1998) Influence of sorption on the biological utilization of two simple carbon substrates. *Soil Biol. Biochem.*, **30**, 1895-1902
 - 43) 片山新太・山本広基 (1999) 農薬と微生物, 新土と微生物 (4) 環境と微生物, p.29-69. 博友社, 東京
 - 44) Kouno K, Wu J and Brookes PC (2002) Turnover of biomass C and P in soil following incorporation of glucose or ryegrass. *Soil Biol. Biochem.*, **34**, 617-622
 - 45) Kuzyakov Y (2010) Priming effects: interactions between living and dead organic matter. *Soil Biol. Biochem.*, **42**, 1363-1371
 - 46) Kuzyakov Y, Friedel JK and Stahr K (2000) Review of mechanisms and quantification of priming effects. *Soil Biol. Biochem.*, **32**, 1485-1498
 - 47) Kuzyakov Y, Subbotina I, Chen H, Bogomolova I and Xu X (2009) Black carbon decomposition and incorporation into soil microbial biomass estimated by ^{14}C labeling. *Soil Biol. Biochem.*, **41**, 210-219
 - 48) Ladd JN, Jocteur - Monrozier L and Amato M (1992) Carbon turnover and nitrogen transformations in an Alfisol and Vertisol amended with [^{14}C] glucose and [^{15}N] ammonium sulfate. *Soil Biol. Biochem.*, **24**, 359-371
 - 49) Lal (2004) Soil carbon sequestration impacts on global climate change and food security. *Science*, **304**, 1623-1627
 - 50) Lees H and Porteous JW (1950) The release of carbon dioxide from soils percolated with various organic materials. *Plant Soil*, **2**, 231-24
 - 51) Marschner B and Kalbitz K (2003) Controls of bioavailability and biodegradability of dissolved organic matter in soils. *Geoderma*, **113**, 211-235
 - 52) 中元朋実・三浦 史 (2006) 基質誘導呼吸 (SIR) 法による微生物活性の測定. 土と微生物, **60**, 17-27
 - 53) Neill C and Gignoux J (2006) Soil organic matter decomposition driven by microbial growth: a simple model for a complex net work of interactions. *Soil Biol. Biochem.*, **38**, 803-811
 - 54) Nordgren A (1992) A method for determining microbially available N and P in an organic soil. *Biol. Fertil. Soils*, **13**, 195-199
 - 55) Nordgren A, Baath E and Soderstrom B (1988) Evaluation of soil respiration characteristics to assess heavy metal effects on soil microorganisms using glutamic acid as a substrate. *Soil. Biol. Biochem.*, **20**, 949-954
 - 56) Nottingham AT, Griffiths H, Chamberlain PM, Stott AW and Tanner EVJ (2009) Soil priming by sugar and leaf - litter substrates: a link to microbial groups. *Appl. Soil Ecol.*, **42**, 183-190
 - 57) Panikov NS and Sizova MV (1996) A kinetic method for estimating the biomass of microbial functional groups in soil. *J. Microbiol. Methods*, **24**, 219-230
 - 58) Potter CS and Klooster SA (1998) Interannual variability in soil trace gas (CO_2 , N_2O , NO) fluxes and analysis of controllers on regional to global scales. *Global Biogeochem. Cy.*, **12**, 621-637
 - 59) Ryan PR, Delhaize E and Jones DL (2001) Function and mechanism of organic anion exudation from plant roots. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **52**, 527-560
 - 60) 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
 - 61) Saggar S, Tate KR, Feltham CW, Childs CW and Parshotam A (1994) Carbon turnover in a range of allophanic soils amended with ^{14}C - labelled glucose. *Soil Biol. Biochem.*, **26**, 1263-1271
 - 62) Sakamoto K and Hodono N (2000) Turnover time of microbial biomass carbon in Japanese upland soils with different textures. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **46**, 483-490
 - 63) Sawada K, Funakawa S and Kosaki T (2009) Different effects of pH on microbial biomass carbon and metabolic quotients by fumigation extraction and substrate induced respiration methods in soils under different climatic conditions. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **55**, 363-374
 - 64) Sawada K, Funakawa S and Kosaki T (2010) Simulating short - term dynamics of non - increasing soil respiration rates by a model using Michaelis - Menten kinetics. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **56**, 570-578
 - 65) 沢田こずえ・舟川信也・小崎 隆 (2011) 土壌微生物のグルコース利用効率に関する要因の検証. 土と微生物, **65**, 41-48
 - 66) 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
 - 67) Shen J and Bartha R (1997) Priming effect of glucose polymers in soil - based biodegradation tests. *Soil Biol. Biochem.*, **29**, 1195-1198
 - 68) Sikora LJ and McCoy JL (1990) Attempts to determine available carbon in soils. *Biol. Fertil. Soils*, **9**, 19-24
 - 69) Stenström J, Stenberg B and Johansson M (1998) Kinetics of Substrate - Induced Respiration (SIR): Theory. *Ambio*, **27**, 35-39
 - 70) Stenström J, Svensson K and Johansson M (2001) Reversible transition between active and dormant microbial states in soil. *FEMS Microbiol. Ecol.*, **36**, 93-104
 - 71) Stotzky G and Norman AG (1961) Factors limiting microbial activities in soil. *Arch. Microbiol.*, **40**, 341-369
 - 72) 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
 - 73) van Hees PAW, Johansson E and Jones DL (2008) Dynamics of simple carbon compounds in two forest soils as revealed by soil solution concentrations and biodegradation kinetics. *Plant Soil*, **310**, 11-23
 - 74) 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
 - 75) van Veen JA, Ladd JN and Amato M (1985) Turnover of carbon and nitrogen through the microbial biomass in a sandy loam and a clay soil incubated with [^{14}C (U)]glucose and [^{15}N](NH_4) $_2\text{SO}_4$ under different moisture regimes. *Soil Biol. Biochem.*, **17**, 747-756
 - 76) Vesterdal L (1998) Potential microbial nitrogen and phosphorus availability in forest floors. *Soil Biol. Biochem.*, **30**, 2031-2041
 - 77) Wardle DA (1993) Changes in the microbial biomass and metabolic quotient during leaf litter succession in some New Zealand forest and scrubland ecosystems. *Funct. Ecol.*, **7**, 346-355
 - 78) Wright RT and Hobbie JE (1966) Use of glucose and acetate by bacteria and algae in aquatic ecosystems. *Ecology*, **47**, 447-464
 - 79) Wu J, Brookes PC and Jenkinson DS (1993) Formation and destruction of microbial biomass during the decomposition of glucose and ryegrass in soil. *Soil Biol. Biochem.*, **25**, 1435-1441