

氏 名(本籍) 　　むら　　やま　　しげ　　とし
村　　山　　重　　俊

学 位 の 種 類 　　農　　学　　博　　士

学 位 記 番 号 　　農　　第　　289　　号

学位授与年月日 　　昭和60年7月18日

学位授与の要件 　　学位規則第5条第2項該当

学 位 論 文 題 目 　　土壌の糖質，特に中性糖の動態に関する
研究

論 文 審 査 委 員 (主 査)

教授 大平幸次

教授 松田和雄

教授 庄子貞雄

論文内容要旨

I 緒言

土壌には植物遺体が絶えず加わり、また、農耕地では、土壌の理化学性と生物性の改善や肥沃度の維持増進のために、作物残渣や堆肥が加えられる。土壌中では、これら有機物に含まれる植物糖質の受け入れと分解、微生物糖質の合成と分解、さらに、それぞれの糖質の部分的蓄積などの動的諸過程が繰り返えされている。

本研究では、農耕地に有機物を加える意義や、土壌および土壌-植物系における糖質の機能を解明するための基礎的知見を得ることを目的に、土壌中における糖質、特に中性糖の合成、分解、存在様式、量、組成および起源を検討した。

II 土壌中における微生物糖質の合成、植物糖質の分解および中性糖の起源

II-1 土壌中で合成される微生物糖質

平塚灰色低地土壌、宇都宮黒ボク土壌、岩美砂丘未熟土壌を供試し、Glc を基質として微生物がどのような中性糖成分を合成するかを¹³Cトレーサー法により検討した。

(1) いずれの土壌でも非セルロース型Glc, Gal, Man, Rha, Fuc, Rib が合成された。平塚、宇都宮両土壌ではセルロース型Glcの合成が認められ、特に宇都宮土壌での合成が顕著であった。Ara およびXylはいずれの土壌でも合成が極微量であるか、あるいは合成が検出されなかった (Table 1)。

(2) 微生物合成の糖質の一部は基質の消費・枯渇に伴い減少したが、一部は比較的安定的に存在することが示唆された。

II-2 土壌中におけるわら糖質の分解と微生物糖質の合成

水田および畑圃場の土壌中における稲わらおよび大麦わらの中性糖成分の3年間にわたる変動を解析した。

(1) わらの分解過程で微生物によるMan, Rib, Fuc, Rhaの合成が認められ、また、Galの合成が示唆された (Fig. 1)。

(2) わらの主要成分であるセルロース型Glc, Xyl, Araの分解は初期の急速な分解とその後の極めて緩慢な分解とからなる (Fig. 1)。各成分は易分解性画分(C₁)と非易分解性画分(C₂)とからなり、それぞれの分解速度定数がk₁, k₂である並列型

Table 1 Incorporation of ¹³C into saccharides by incubation of ¹³C-labelled glucose with soil (after 56 days incubation)

	Hiratsuka soil						Utsunomiya soil						Iwami soil					
	amounts of components		¹³ C		amounts of components		¹³ C		amounts of components		¹³ C		amounts of components		¹³ C			
	mg/100g	%	atom % excess	mg/100g	relative proportion* %	mg/100g	atom % excess	mg/100g	relative proportion* %	mg/100g	atom % excess	mg/100g	relative proportion* %	μg/100g	atom % excess	mg/100g	relative proportion* %	
Glucose (a) *	52	5.3	1.10	49.2	535	9.0	19.4	56.5	6.8	12.4	336	39.5						
Glucose (b) **	32	1.3	0.16	7.3	94	16.0	6.0	17.5	5.6	0.7	15	1.8						
Glucose (a) + (b)	84		1.26	56.5	629		25.4	74.0	12.5		351	41.3						
Galactose (a)	32	2.3	0.29	13.1	189	2.7	2.0	5.9	3.7	8.9	134	15.8						
Mannose (a)	33	1.4	0.18	8.1	341	3.1	4.2	12.3	3.1	11.8	148	17.4						
Arabinose (a)	23	0.2	0.02	0.9	89	0	0	0	3.3	1.1	15	1.8						
Xylose (a)	23	0	0	0	88	0	0	0	3.5	0.8	12	1.4						
Ribose (a)	2.3	9.5	0.09	4.0	10	8.0	0.3	0.9	0.30	20.1	24	2.8						
Fucose (a)	7.4	3.8	0.12	5.5	68	3.5	1.0	3.1	0.86	12.8	48	5.7						
Rhamnose (a)	14	4.2	0.27	11.9	73	4.1	1.3	3.8	1.6	16.6	118	13.9						
Total (a) + (b)	219		2.23	100	1487		34.2	100	28.8		850	100						
Saccharides- ¹³ C																		
Total- ¹³ C																		

*Distribution of ¹³C among the components. *(a) : Non-cellulosic. (b) : Cellulosic.
 Incubation conditions: temperature: 28°C, moisture content: 70% of water holding capacity of soil, under dark.
 Amounts of materials: Hiratsuka soil: soil 10g. ¹³C-glucose 50 mg. (NH₄)₂SO₄-N 2 mg.
 Utsunomiya soil: soil 5 g. ¹³C-glucose 150 mg. (NH₄)₂SO₄-N 6 mg.
 Iwami soil: soil 50 g. ¹³C-glucose 100 mg. (NH₄)₂SO₄-N 3.8 mg.

一次反応モデル（次式）
 によって分解が進行する
 ことが示された（Fig.
 2）。

$Y_t = C_1 e^{-k_1 t} + C_2 e^{-k_2 t}$
 Y_t は t 時間後の残存率
 である。稲わら糖質の方
 が大麦わら糖質よりも初
 期分解速度が大きいこと、
 また、畑よりも水田で分
 解が速いことを認めた。

II-3 土壌中の中性糖 の起源の考察

土壌中に存在する糖質
 の土壌の理化学性や生物
 性に関する機能は植物に
 由来する糖質と、土壌中
 で微生物により合成され
 た糖質では異なると思え
 られ、両者を識別してお
 くことが必要である。そ
 こで、本研究の結果を総
 合的に考察し、土壌中
 の中性糖成分の起源を原
 則的に次のように結論した。

土壌中の Gal, Man,
 Rib, Fuc, Rha は主に
 微生物起源、Ara, Xyl
 は主に植物起源、Glc は
 両者に由来する。この原

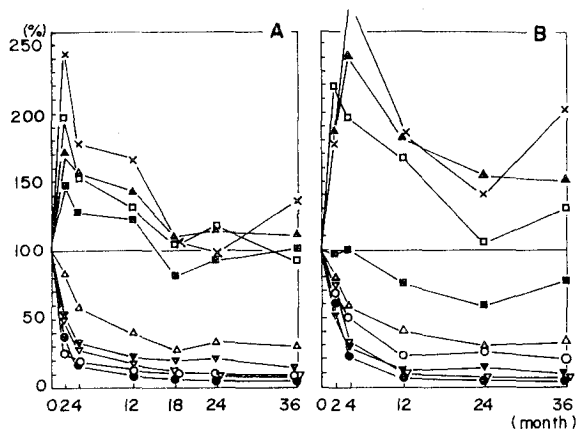


Fig.1 Changes in amounts of saccharides during the decomposition of rice straw (A) and barley straw (B) in the upland field. Amounts of materials used: (A) rice straw; 4.51g, soil; 16.57g. (B) barley straw; 3.68g, soil; 16.57g. Hemicellulosic glucose (○), cellululosic glucose (●), galactose (△), mannose (▲), arabinose (▼), ribose (×), xylose (▽), fucose (□), rhamnose (■).

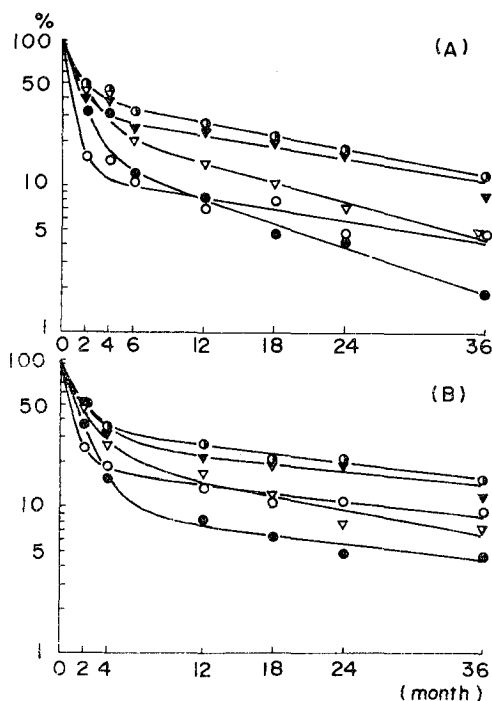


Fig.2 Percentage of components remaining during the decomposition of rice straw in the paddy field (A) and in the upland field (B); observed (points), and the decomposition course (line) predicted by a double exponential model. Hemicellulosic glucose (○), cellululosic glucose (●), arabinose (▼), xylose (▽), total carbon (■).

則は森林土壌や未耕地土壌よりも農耕地土壌において一般性が高い。

III 土壌糖質の存在様式と分解性

III-1 土壌中で合成された微生物糖質の希アルカリ抽出性と存在様式

¹³C 標識 Glc 培養土壌 (II-1) を 0.5M-Na₂SO₄, 0.1M-Na₄P₂O₇ (pH 10.3), および 0.5M-NaOH (90°C) によって逐次抽出した。

(1) 新しい微生物合成糖質は土壌に既存の糖質よりも 0.5M-Na₂SO₄ 抽出性が高いが、その多くの部分は非遊離形で存在している

(Fig. 3)。

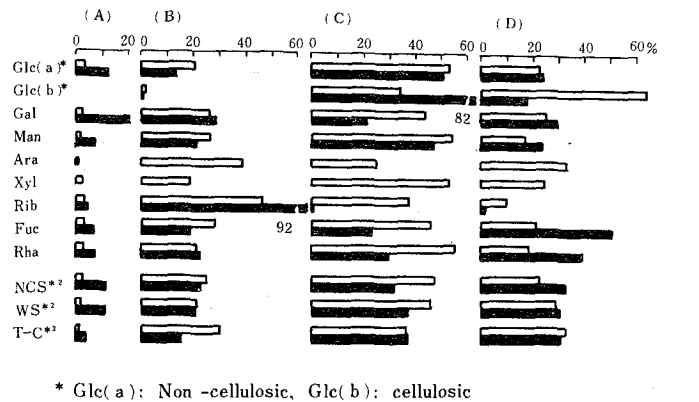
(2) Na₄P₂O₇ 抽出性は微生物糖質全体としては低く、Rib の高

い抽出性と対照的であり、Rib 以外の糖質の多くは菌体の構造成分として存在していることが示唆された (Fig. 3)。

(3) 微生物合成のセルロース型 Glc は土壌のセルロース型 Glc と異なり、加温希 NaOH に高い抽出性を示した (Fig. 3)。土壌中のセルロース型 Glc の多くは微生物起源ではなく、植物起源と考えられる。

III-2 土壌の軽画分、重画分の中性糖と土壌糖質の存在様式

母材や理化学性の異なる水田土壌を供試し、プロモホルム-クロロホルム混液の重液を用い、軽画分と重画分に分画した。



* Glc(a): Non-cellulosic, Glc(b): cellulosic

**2 NCS: Sum of non-cellulosic components. WS: Sum of all components. T-C: Total carbon.

Fig.3 Extractability of new microbial saccharides by the sequential alkaline extraction of Hiratsuka soil incubated with ¹³C-labelled glucose for 56 days.

(A) 0.5M-Na₂SO₄ (20°C, shaking for 2h, twice) extractable
 (B) 0.1M-Na₄P₂O₇ (20°C, shaking for 16h, twice) extractable
 (C) 0.5M-NaOH (90°C, 15min, once) extractable
 (D) Unextractable

□ soil saccharides. ■ new microbial saccharides (calculated on ¹³C)

(1) 埴壤土ではその糖質の2/3～4/5は重画分に分布し、粘土鉱物や無機化合物に結合、あるいは吸着されて存在していると考えられた (Fig. 4)。砂質で腐植含量の少ない土壌では軽画分に分離しやすい形で存在する糖質の割合が埴壤土にくらべて大きい。岩沼泥炭土壌では極めて多くの部分が軽画分に分離され、糖質の多くは土壌の無機成分よりも有機成分と結合して存在している。宇都宮土壌では軽画分に分離される糖質の割合は小さく、この黒ボク土の糖質の多くは粘土鉱物やその他の無機物、あるいは有機無機複合体に結合、あるいは吸着されて存在していることが示唆された。

(2) 糖質の中でその起源が主に微生物と考えられる Gal, Man, Rib, Rha は、主に植物起源と考えられる Ara, Xyl に比較して、重画分に分布する割合が大きく、土壌の無機物に結合、あるいは吸着されている割合が植物起源糖質よりも大きいと考えられた (Fig. 4)。

Ⅲ-3 圃場条件における土壌中の糖質の分解性と存在様式

平塚水田土壌、畑土壌 (いづれも灰色低地土) および宇都宮土壌 (黒ボク土) をガラス繊維濾紙袋に入れ、それぞれの土壌を採取した圃場に埋設、土壌糖質の *in situ* な状態での分解性を2年あるいは3年間にわたり追跡した。

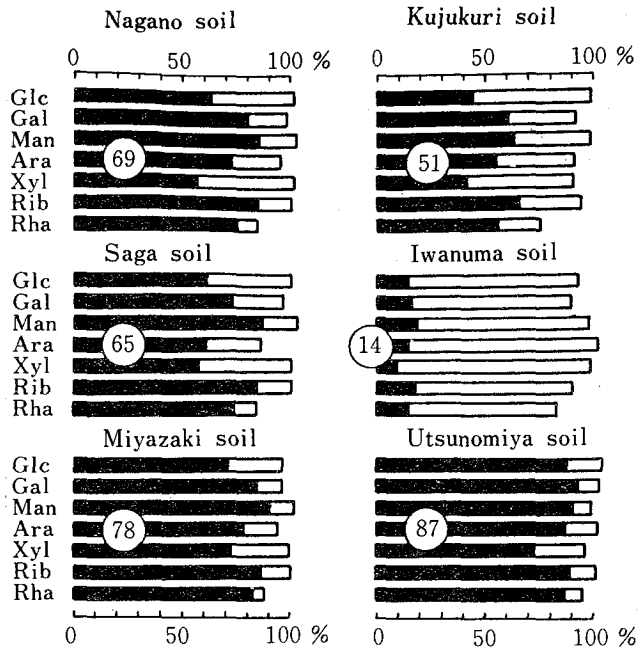


Fig. 4 Distribution of saccharides between the heavy and light fractions of soil.

■ heavy fraction, □ light fraction. Value in circle is percentage of amount of saccharides in the heavy fraction in the total amount of the whole soil. Utsunomiya soil was separated by the specific gravity of 1.8, others by s.g. 2.0. Soil sample suspended in the heavy liquid was subjected to sonic disintegration treatment.

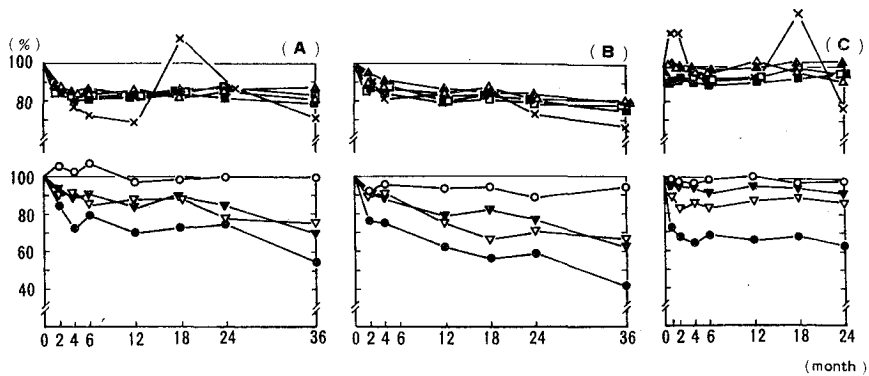


Fig. 5 Changes in amounts of saccharides in soil by incubation of soil under field conditions. (A) Hiratsuka soil incubated in paddy field, (B) Hiratsuka soil incubated in upland field, (C) Utsunomiya soil incubated in upland field.

Non-cellulosic glucose (○), cellulosic glucose (●), galactose (△), mannose (▲), arabinose (▼), ribose (×), xylose (▽), fucose (□), rhamnose (■).

(1) 畑圃場では、その起源が主に微生物と考えられる非セルロース型 Glc, Gal, Man, Fuc, Rha の減少割合が、主に植物起源と考えられるセルロース型 Glc, Ara, Xyl の減少割合よりも小さい (Fig. 5)。微生物起源糖質の方が植物起源糖質よりも分解抵抗性を獲得して安定的に存在している割合が大きいとみられる。

(2) 同一成分でも易分解性の部分と非易分解性の部分が存在することが認められた (Fig. 5)。非易分解性の部分は物理的に、あるいは化学的に微生物の攻撃を受けにくい形で存在していると考えられる。そこで、土壌中の糖質をその主要起源により二大別し、さらに、それぞれを存在様式によって三群に細分類した (Table 2)。

Table 2 Broad classification of soil saccharides by their origins, forms of existence in soil, and their decomposability.

Soil saccharides

Plant origin (mainly, Glc,* Xyl, Ara)

- (i) Free saccharides (extractable with water, easily decomposable)
- (ii) Saccharides of plant fragments newly added to soil and/or partially decomposed plant fragments which still have rigid shape (neither well mixed nor associated with other soil components, exposing to microbes as substrate, non-extractable with water, decomposable)
- (iii) Plant saccharides other than (i) and (ii) (associated with other soil components, non-extractable with water, fairly undecomposable)

Microbial origin (mainly, Glc, Gal, Man, Rib, Fuc, Rha)

- (iv) Free saccharides (extractable with water, decomposable)
- (v) Saccharides in live microorganisms (non-extractable with water, undecomposable)
- (vi) Microbial saccharides other than (iv) and (v) (associated with other soil components, non-extractable with water, fairly undecomposable)

* Particularly of cellulosic Glc.

Ⅳ 土壌の中性糖含有量と中性糖組成

我国の耕地，未耕地を含む7つの土壌群に属する26点の作土あるいは表層土の中性糖の量と組成を検討した。

(1) 供試土壌の中性糖含有量は28~3656 mg/100g 乾土の範囲にあり，砂丘未熟土で少なく，黒ボク土で多い。土壌の炭素含有率(X%)と中性糖含有量(Ymg/100g)の間には次式の関係が認められた(n=26, r=0.984), (Fig. 6)。

$$Y = 213 X^{0.879}$$

(2) 土壌有機物に占める中性糖の割合は4.4~13.1%であり，黒ボク土で小さく，非黒ボク土で大きい。この割合は土壌腐植の中で腐植酸の占める割合の大きい土壌ほど小さい傾向が認められた(Fig. 7)。

(3) 土壌統群が同じに属する土壌間でも，さらに，黒ボク土と多湿黒ボク土，灰色低地土と黄色土や褐色低地土の間のように，土壌分類上大きく異なる土壌群の間でも中性糖組成に大きな相違は認められなかった。しかし，黒ボク土と非黒ボク土ではその中性糖組成が

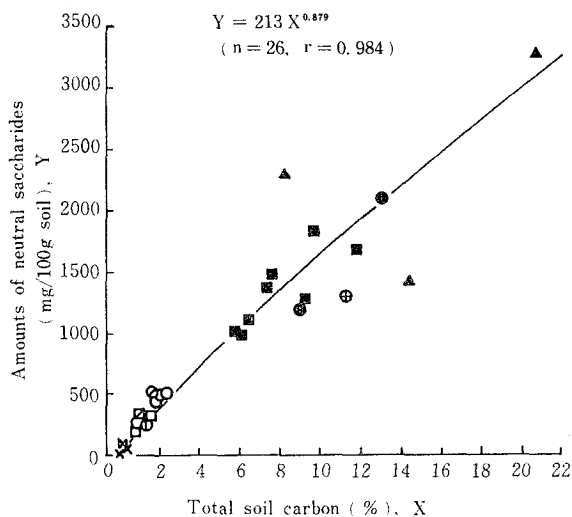


Fig. 6 The relationship between the amounts of neutral saccharides and the total carbon content of soil.

- × Dune-sand Regosols (upland field)
- ◇ Dune-sand Regosols (uncultivated land)
- Andosols (upland field)
- ▲ Andosols (uncultivated land)
- Wet Andosols (paddy field)
- Yellow soils (upland field)
- Yellow soils (paddy field)
- ⊙ Brown Lowland soils (paddy field)
- Gray Lowland soils (upland field)
- Gray Lowland soils (paddy field)
- ⊕ Peat soil (paddy field)

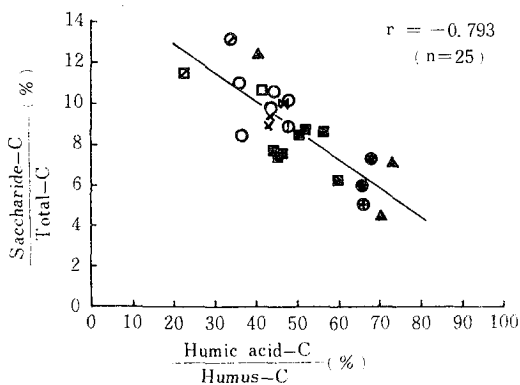


Fig. 7 The relationship between the percentage of neutral saccharide carbon in the total soil carbon and the proportion of humic acid in soil humus extracted by 0.1M-NaOH (legends as in Fig. 6).

大きく異なり、前者は後者に比べて、非セルロース型 Glc, Man の割合が顕著に大きく、Fuc の割合も相対的に大きい反面、セルロース型 Glc, Ara, Xyl の割合が顕著に小さい (Fig. 8)。黒ボク土には非黒ボク土に比較して微生物起源糖質が多量に蓄積していると考えられた。また、中性糖組成は黒ボク土と非黒ボク土の識別指標の一つとなる。

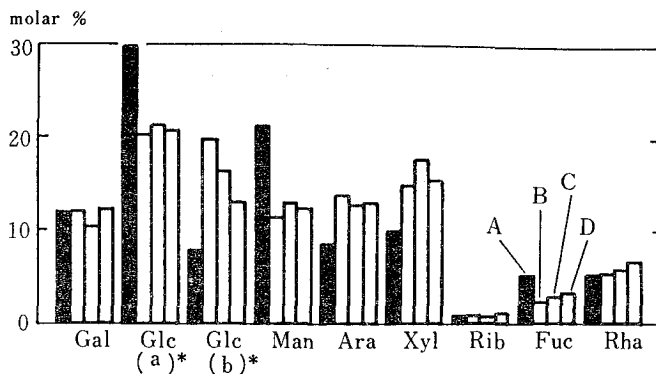
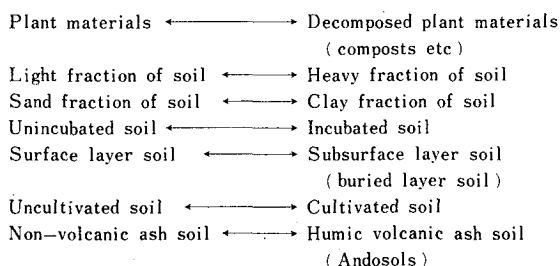


Fig. 8 Comparison of the monosaccharide composition of soil among the different soil types (mean value).
 A: Andosols and Wet Andosols (n=13), B: Sand-dune Regosols (n=2), C: Yellow soils (n=2), D: Gray Lowland soils (n=6)
 * Glc (a): Non-cellulosic, Glc(b): cellulosic

(4) 土壤の中性糖組成は土壤に固有のものであり、比較的安定な値である。しかし、土壤に植物体加わらない場合や土壤を培養した場合にはセルロース型 Glc, Xyl, Ara の割合の減少と Gal, Man, Fuc, Rha, Rib の割合の増大の方向に漸変する。また、未耕地の耕地化や、堆肥あるいは化学肥料の施用の有無によっても、長期的には土壤の中性糖組成に差異を生じる。土壤の糖組成の変化の方向、土壤の画分や土壤間の組成の比較を Table 3 に示した。

Table 3 Comparison of molar ratios in the monosaccharide composition

molar ratios	comparison	
Xylose/Mannose	large	small
<u>Non-cellulosic glucose</u> Cellulosic glucose	small	large
Hexoses/Pentoses	small	large
Deoxyhexoses/Pentoses	small	large
<u>Non-cellulosic saccharides</u> Cellulosic saccharides	small	large



V 総合考察

本研究の要約を模式的に Fig. 9 に示した。作物残渣や堆肥などの構成成分として土壌中に加えられる植物糖質は、微生物の基質として土壌の生物性に関わる他は特に化学的機能をもたない。この Glc, Xyl, Ara を主成分とする植物糖質は土壌中に加わるとその大部分は急速に分解される。同時に、Glc, Gal, Man のすべて、あるいはいくつかを主成分とし、Fuc, Rha, Rib を含む微生物糖質が合成される。

この微生物糖質の一部は、土壌の塩基、遊離酸化物、腐植、粘土鉱物などに結合、あるいは吸着されるなどの相互作用をもち、分解抵抗性を獲得して存在する。この相互作用は、また、糖質の理化学性に関わる機能で

もある。例えば、易分解性有機物を含む植物遺体や Glc などを土壌に加えた場合にみられる団粒の生成はこの相互作用の発現の一つである。

農耕地に作物残渣や堆肥などの有機物を加えることの一つの意義は、土壌の微生物相を豊かにし、活性を高めると同時に、理化学性の改善や肥沃度の維持増進にあるとされている。これらの効果は施用された有機物の分解に伴って合成される糖質などの微生物産生物によるのである。

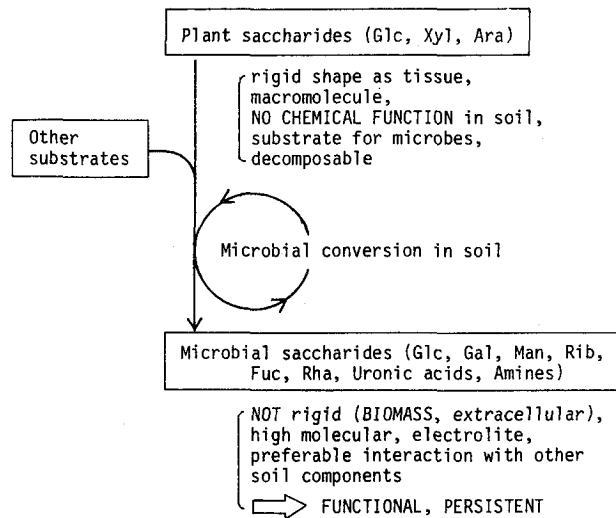


Fig. 9 Microbial conversion and production in soil of saccharides, in relation to origins, decomposability and monosaccharide composition of soil.

審 査 結 果 の 要 旨

土壌中の有機物は、土壌の理化学性および生物性に強く関係し、農耕地ではその肥沃度の維持増進のため植物遺体や堆肥が施用される。土壌有機物の研究は、腐植とくに腐植酸の面から多くなされているが、土壌糖質の変動についての解析は遅れている分野である。

本研究は、土壌糖質の機能を解明するための基礎的知見を得ることを目的として、土壌中における中性糖の組成とその合成・分解・存在様式などを検討した。

数種類の土壌を供試し¹³Cトレーサー法によってグルコースを基質とした場合の土壌中の各種中性糖の量的変動をまず調べた。また、水田および畑圃場に埋設した稲わらと大麦わらの糖質成分の変動を3年間にわたって追跡し、わらの各糖質成分は易分解性および非易分解性の二画分よりなり、並列型一次反応モデルにより分解が進行することを明らかにし、稲わら糖質の方が大麦わらのそれよりも初期分解速度の大きいこと、さらに水田の方で分解が速いことを認めた。

これらの結果より、土壌中に存在する中性糖を、微生物起源のものと植物起源のものに二大別しうることを考察した。

他方、土壌中で合成された微生物糖質の存在様式を各種溶液による溶出性から解析した。また、土壌を重画分および軽画分に分けてその糖質組成を検討した結果、微生物起源の糖質は植物起源のそれよりも重画分に存在する割合が多く土壌無機物に結合ないし吸着されて存在することを示唆した。また、中性糖含量とその組成は、黒ボク土と非黒ボク土では大きく異なるが、土壌に固有のもので比較的安定な値であることなどから、土壌中での糖質の変動を総合的に考察した。

以上の研究結果は、土壌糖質とくに中性糖の変動を明らかにし、地力問題解析のための重要な知見を与えた。よって、審査員一同は著者に農学博士の学位を授与するに充分値するものと認定した。