

砂丘地畑圃場における微生物的特徴 (第1報) 土壌酵素

金沢晋二郎*・松本 聰**

Microbiological Characteristics of Sand Dune Fields (I) Soil Enzymes

Shinjiro KANAZAWA* and Satoshi MATSUMOTO**

Summary

In order to clarify the microbiological characteristics of sand dune fields, the authors investigated the effect of management practices on soil enzymes participating in carbon and nitrogen metabolism in the experimental fields (soybean, alfalfa, yam, sweet-potato and grape plots) of the Sand Dune Research Institute of Tottori University.

The results obtained are summarized as follows:

- 1) Enzyme (β -glucosidase, β -xylosidase, phosphomonoesterase and phosphodiesterase) activities and soil organic matter content increased remarkably in all the plots of the experimental fields in response to long-term management practices. However, the extent of this increase differed according to the plant species. Soil organic matter content, and β -glucosidase, β -xylosidase and phosphomonoesterase activities increased in order as follows: alfalfa > grape > soybean > sweet-potato > yam, while phosphodiesterase activity was alfalfa > sweet-potato > soybean > grape > yam.
- 2) Comparing β -glucosidase activity to β -xylosidase activity of soil enzymes participating in carbon metabolism, β -glucosidase activity was higher than β -xylosidase activity, and the ratio of β -glucosidase activity to β -xylosidase activity did not differ according to the plant species. On the other hand, comparing phosphomonoesterase activity to phosphodiesterase activity participating in phosphate metabolism, phosphomonoesterase activity was higher than phosphodiesterase activity, and the ratio of both activities was remarkably different according to the plant species.

*東京大学農学部

**1988, 1989年度乾地農学(客員)部門(東京大学農学部)

**Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, The University of Tokyo*

***Division of Arid Land Agro-science (Visiting Staff) in 1988 and 1989 (The University of Tokyo)*

はじめに

砂丘地土壤に関する研究の大部分は物理性及び化学性¹⁰⁾についてのもので、生化学的あるいは微生物学的な見地から解析した研究は極めて少ない。特に砂丘地圃場の物質代謝の特徴を土壤酵素の立場から調べた研究は皆無に等しい。

土壤酵素は微生物の代謝活動あるいは死んだ微生物体から供給される遊離酵素以外に、植物根や土壤動物からも土壤へ絶えず分泌され、その種類も多様^{3,7)}である。これらの土壤酵素は、土壤の物質代謝を考える場合、極めて重要である。何故なら土壤有機物の多くは、絶えずこれら土壤酵素群の働きによって作物が吸収出来得る低分子の有機化合物あるいは無機成分に変化させているからである。そのため、土壤中の酵素活性を測定することによって、土壤中でのその酵素に対応した物質の代謝速度に関する重要な情報を得ることが出来ると予想される。

そこで、鳥取大学農学部付属砂丘利用研究施設(鳥取市)の実験圃場から大豆及びアルファルファ栽培区、生産圃場からナガイモ、サツマイモ及びブドウ栽培区を選び、炭素代謝に関与する β -グルコシダーゼ²⁾及び β -キシロシダーゼ活性⁶⁾、及びリン代謝に関与するフォスフォモノエステラーゼ¹¹⁾及びフォスフォジエステラーゼ活性⁴⁾などを測定した結果を報告する。

また、本研究で得られた結果を対比するために、日本の畑圃場の主要な土壤である火山灰土壤の中から関東ローム層からなる東京大学農学部付属田無農場の熟畑化試験圃場の化学肥料区を選び、上記の酵素活性を測定した。

なお、ここで測定した土壤酵素は、畑および水田土壤にごく普通に存在する酵素である。

1. 実験方法

1) 供試土壤

供試土壤は、鳥取県鳥取市にある鳥取大学農学部砂丘利用研究施設構内の次に示す実験圃場から採取した。すなわち、実験圃場の中でライシメーター実験を実施している大豆及びアルファルファ栽培区を選び、対照区(対照区-1と称する)は実験圃場の

上部に位置する砂丘地斜面とした。他方、生産圃場の中で自然砂丘を昭和42年に開畑したナガイモ栽培区(三年輪作体系:ナガイモ→チューリップ→休閒)及びサツマイモ栽培区、及び昭和49年に開園したブドウ栽培区を選んだ。対照区(対照区-2と称す)は生産圃場と日本海の間に位置する自然砂丘地の頂上部とした。

供試土壤の採取に際し、500ml容(直径8cm、高さ10cmの円筒)の大型ステンレス製コアサンプラーを用い、各圃場の作土層深さ10cmの土壤を2点ずつ採取した。供試土壤の採取は昭和63年10月18日に行った。これらの供試土壤の諸性質は、以下の方法で測定し、第1表に示した。

水分量:常法に従って測定した。

pH値:2.5倍容の蒸留水あるいはIN塩化カリウム溶液を湿潤土試料に加え、ガラス電極(Expandomatic SS-2, Beckman-Toshiba Ltd.)を用いて測定し、それぞれpH(H₂O)、pH(KCl)とした。

全炭素量:C-Nコーダー(MT-600s, Yanagimoto Co., Ltd.)を用いて測定した。

全窒素量:マイクロケルダール法¹⁾を用いて測定した。

2) 酵素活性

酵素活性を測定するに際し、新鮮湿潤土を2mmの篩を通して用いた。

β -グルコシダーゼ活性は、HAYANOの方法²⁾を用いて測定した。

β -キシロシダーゼ活性は、金沢の方法⁶⁾を用いて測定した。

フォスフォモノエステラーゼ活性は、TABATABAIらの方法¹¹⁾を用いて測定した。

フォスフォジエステラーゼ活性は、石井・早野の方法⁴⁾を用いて測定した。

なお、上記の砂丘地圃場の対比として供試した火山灰畑土壤は、東京都田無市にある東京大学農学部付属田無農場で昭和50年に開始された関東ローム層からなる熟畑化試験圃場の化学肥料区から採取した。本圃場の作付体系はトウモロコシ、大麦、大豆、大麦の2年輪作をとっている。

第1表 供試土壌の理化学性

供 試 土 壌		湿润土水分 %	pH		全炭素 %	全窒素 %	土性	
			H ₂ O	KCl				
砂 丘 地	実験圃場	対 照 区 - 1	2.0	5.93	4.87	0.021(1.0)	0.0038(1.0)	S
		大 豆 区	2.1	7.03	6.80	0.100(4.8)	0.0175(4.8)	S
		アルファルファ区	3.5	6.22	5.78	0.219(10.4)	0.0346(9.1)	S
	生産圃場	対 照 区 - 2	8.0	6.33	5.80	0.018(1.0)	0.0018(1.0)	S
		ナ ガ イ モ 区	3.5	5.98	5.28	0.022(1.2)	0.0067(3.7)	S
		サ ツ マ イ モ 区	3.0	5.24	4.57	0.029(1.6)	0.0073(4.1)	S
		ブ ド ウ 区	4.5	7.32	7.30	0.307(17.1)	0.0294(16.3)	S
火山灰畑地 (化学肥料区)		37.9	5.98	5.30	6.01	0.452	L	

() : 対照区を1.0とした場合の相対値

結果及び考察

1) 理化学的特性

(1) pH値

実験圃場のpH値は、両pH (H₂O及びKCl抽出) 値とも対照区-1よりも大豆及びアルファルファ区の方が著しく高かった。特に大豆区で顕著であった。またpH (H₂O) 値とpH (KCl) 値の差も大豆及びアルファルファ区で小さくなっていた。これは栽培圃場にはH⁺及びAl⁺⁺⁺以外のK⁺, Ca⁺⁺, Mg⁺⁺等の陽イオンの集積量が増大していることを示唆している。

他方、生産圃場のpH値は、実験圃場と異なり、両pH (H₂O及びKCl抽出) 値を比べると、ブドウ区は対照区-2よりよりも高いが、ナガイモ及びサツマイモ畑では低かった。またpH (H₂O) 値とpH (KCl) 値の差をみると、ナガイモ及びサツマイモ区は対照区よりも多少とも大きかった。一方ブドウ区のみが極端に小さかった。このように生産圃場で21年間の長期に渡って肥培管理がなされた作物栽培圃場で、何故対照区に比べてpH値が低く、pH (H₂O) 値とpH (KCl) 値の差も大きいのかは不明であるが、ここで用いた対照区-2は日本海を望む頂上付近に位置しているため、海水の飛沫によるNa⁺, Mg⁺等のカチオンの補充を常に受け、pHを高めていることが考えられる。何故なら生産圃場はその砂丘の内側の谷に位置しており、海水の影響を直接受けにくいからである。また対照区同士を比べると、生産圃場と同様

に内陸部にある対照区-1はpHが低く、かつpH (H₂O) 値とpH (KCl) 値の差が大きき、その差はナガイモ及びサツマイモ区よりも大きいこともこの推定を支持していると考ええる。一方、ブドウ区は著しくpH値が高く、かつpH (H₂O) 値とpH (KCl) 値の差がほとんど認められない。このことは他の栽培畑と異なり、土壌がH⁺やAl⁺⁺⁺イオン以外のカチオンで飽和されていることを意味している。従って永年作物の果樹と単年作物の根菜類とでは、土壌に対する肥培管理の差が土壌のpH値に明瞭に反映することを示唆している。

なお、これら砂丘地圃場のpH値は火山灰畑土壌と比べると、大豆、アルファルファ及びブドウ区では高く、ナガイモ区ではほぼ同程度、サツマイモ区では低いことが示された。

2) 全炭素及び全窒素量

実験圃場における全炭素及び全窒素量は、対照区-1に比べて大豆及びアルファルファ区ともに著しく多く、たとえば大豆区ではそれぞれ4.8及び4.6倍、アルファルファ区では10.4及び9.1倍にも達していた。

他方、生産圃場における全炭素及び全窒素量は、実験圃場と同様に対照区-2に比べていずれの栽培区ともに著しく増加しており、特にブドウ区での増加率が高く、たとえば全炭素で17倍、全窒素で10倍にも達していた。また作物種の中でその増加率が最も低かったのは根菜類のナガイモ及びサツマイモ区

であった。これらの結果は、長期に渡る肥培管理によって土壤有機物量が明瞭に増大すること、さらにその増加率は作物種で明瞭に異なることを示唆している。

また、日本の畑生産の主要な土壤である火山灰畑土壤の全炭素及び全窒素量に比べて、本砂丘地土壤のそれらは極端に少ないことがわかる。

3) 土壤酵素活性

(1) β -グルコシターゼ及び β -キシロシダーゼ活性

砂丘地圃場の土壤 β -グルコシダーゼ及び β -キシロシダーゼ活性は、第2表に示した。ここ示した両酵素活性は次のような特徴を持っている。すなわち、 β -グルコシダーゼは植物遺体（作物残渣、残根、堆肥等々）の主要構成成分であるセルロースやセロピオースのような β -グルコシド化合物を加水分解する酵素で、その生成物は土壤生物のエネルギー源となる。他方 β -キシロシダーゼも植物遺体の主要構成成分であるキシランやキシロピオースのような β -キシロシド化合物を加水分解する酵素で、その生成物も土壤微生物のエネルギー源の一つとなる。

実験圃場における β -グルコシダーゼ活性は、対照区-1に比べて、栽培区で著しく高く、たとえば大豆区で670倍、アルファルファ区で1839倍にも達した。一方生産圃場においても対照区-2に比べて、

栽培区で著しく高く、たとえば最も高いブドウ区で448倍、次に高いサツマイモ区で215倍、最も低いナガイモ区でさえも42倍も高かった。これらの両圃場の結果は、 β -グルコシダーゼ活性が全炭素及び全窒素量（第1表）と同様に栽培種により明瞭に異なり、かつその活性の大小は土壤炭素量すなわち土壤有機物量の大小によく対応していた。

β -キシロシダーゼ活性は、実験圃場及び生産圃場ともに β -グルコシダーゼ活性と同様な結果が示された。すなわち、両圃場の対照区の活性は栽培区に比べて極端に低く、実験圃場の栽培区でのその活性は対照区に比べて最も高いアルファルファ区で614倍、大豆区で338倍であった。一方生産圃場では最も高いブドウ区で151倍、それに次ぐサツマイモ区で61倍、最も低いナガイモ区でも17倍高かった。この活性は有機物量（第1表）とよく対応していた。

上述したように、砂丘地圃場においても両酵素活性が土壤有機物量とよく対応することは、土壤酵素活性がその酵素に対応する基質量と深い関係があるとした金沢・高井⁸⁻⁹⁾及びKANAZAWA⁹⁾の知見とよく一致する。また金沢⁹⁾は β -グルコシダーゼ活性と微生物バイオマスとの間にも有意な相関関係を見出している。従って、本実験の結果から次のようなことが推定できる。すなわち、両酵素の基質である β -グルコシド及び β -キシロシド化合物の蓄積量、及び微生物バイオマスは、アルファルファ区>ブド

第2表 砂丘地土壤の β -グルコシダーゼ及び β -キシロシダーゼ活性

供試土壤		β -グルコシダーゼ (G) n mole/g/min (30°C)	β -キシロシダーゼ (X)	$\frac{G}{X}$ 比	
砂丘地	実験圃場	対照区-1	0.0033±0.0009 (1.0)	0.0029±0.0004 (1.0)	1.1
		大豆区	2.21 ±0.11 (669.7)	0.98 ±0.09 (337.9)	2.3
		アルファルファ区	6.07 ±0.26 (1839.4)	1.78 ±0.12 (613.8)	3.4
	生産圃場	対照区-2	0.0062±0.0011 (1.0)	0.0051±0.0007 (1.0)	1.2
		ナガイモ区	0.26 ±0.01 (41.9)	0.086 ±0.006 (16.9)	3.0
		サツマイモ区	1.33 ±0.02 (214.5)	0.311 ±0.008 (61.0)	4.3
		ブドウ区	2.78 ±0.09 (448.4)	0.769 ±0.010 (150.8)	3.6
	火山灰畑地 (化学肥料区)		12.75 ±0.27	3.93 ±0.02	3.2

() : 対照区を1.0とした場合の相対値

ウ区>大豆区>サツマイモ区>ナガイモ区の順であることが予想される。

次に両酵素活性の活性比をみると、G/X比から明らかなように栽培区の β -グルコシダーゼ活性は β -キシロシダーゼ活性よりも2倍以上も高い。従って、両圃場のいずれの栽培区とも β -グルコシド化合物は β -キシロシド化合物よりも蓄積量が多く、かつ活発に分解されていることが推定される。またこの活性比G/Xは、栽培種間で大きな差が認められないことから、この両酵素活性は作物栽培の結果、圃場に還元される植物遺体(作物残渣及び残根)やそれ由来の土壤有機物に支配されいるとの推定を支持している。

砂丘地に作物を栽培することによってどちらの酵素活性の増加率が大きいかを対照区を基に比べると、いずれの栽培区ともに β -グルコシダーゼ活性の方が β -キシロシダーゼ活性よりも著しく大きいことが示された。このことは、砂丘地では作物を栽培すると、 β -グルコシド化合物の方が β -キシロシド化合物よりも相対的に蓄積される割合が高いことを示唆している。

ここで得られた砂丘地の両圃場の β -グルコシダーゼ及び β -キシロシダーゼ活性を、我国の一般的な畑である火山灰畑土壤のそれらと比べると、砂丘地の両酵素活性はいずれの栽培圃場とも火山灰畑圃場よりも著しく低いことが示された。

(2) フォスファターゼ活性

砂丘地圃場の土壤フォスフォモノエステラーゼ及

びフォスフォジエステラーゼ活性は、第3表に示した。両酵素の特徴は次に示すとおりである。すなわち、フォスフォモノエステラーゼはイノシトールリン酸やグリセロリン酸等の種々のフォスフォモノエステル化合物を加水分解する酵素である。一方フォスフォジエステラーゼはリボ核酸やデオキシリボ核酸を含む核酸類の種々のフォスフォジエステル化合物を加水分解する酵素である。両酵素活性の生成物は作物や土壤微生物のエネルギー代謝や主要な体構成成分の一つである。

実験圃場におけるフォスフォモノエステラーゼ活性は、対照区-1に比べて栽培区で著しく高く、たとえば大豆区で15倍、アルファルファ区で30倍も高かった。一方生産圃場でのその活性も実験圃場と同様に対照区-2に比べていずれの栽培区ともに著しく増加しており、最も高いブドウ区で7.8倍、次に高いサツマイモ区で5.2倍、最も低いナガイモ区でさえも2.6倍も高かった。

これらの結果から、この酵素の基質である種々のフォスフォモノエステル化合物の蓄積量はアルファルファ区>大豆区>ブドウ区>サツマイモ区>ナガイモ区の順であることが予想される。またフォスフォモノエステラーゼ活性は、全炭素及び全窒素量(第1表)、及び β -グルコシダーゼ及び β -キシロシダーゼ活性(第2表)等とよく対応する結果を示した。

実験圃場におけるフォスフォジエステラーゼ活性は、フォスフォモノエステラーゼ活性と同様に対照区

第3表 砂丘地土壤のフォスファターゼ活性

供試土壤		フォスフォモノエステラーゼ (Pm) n mole/g·min (30°C)	フォスフォジエステラーゼ (Pd)	Pm/Pd比	
砂 丘 地	実験圃場	対 照 区 - 1	0.96±0.17(1.0)	0.077±0.017(1.0)	12.5
		大 豆 区	14.34±2.02(14.9)	1.69 ±0.30 (21.9)	8.5
		アルファルファ区	28.38±2.98(29.6)	2.55 ±0.19 (33.1)	11.1
	生産圃場	対 照 区 - 2	0.76±0.04(1.0)	0.064±0.016(1.0)	11.9
		ナ ガ イ モ 区	1.95±0.24(2.6)	0.31 ±0.03 (4.8)	6.3
		サ ツ マ イ モ 区	3.95±0.22(5.2)	2.37 ±0.14 (37.0)	1.7
ブ ド ウ 区		5.94±0.24(7.8)	0.40 ±0.07 (6.3)	14.9	
火山灰畑地(化学肥料区)		439.5 ±6.3	11.94 ±0.33	36.8	

(): 対照区を1.0とした場合の相対値

—1に比べて著しく高く、たとえば大豆区で22倍、アルファルファ区で33倍にも達した。一方生産圃場においても対照区—2に比べて栽培区その活性は著しく高かった。しかしながら、栽培区の本酵素活性はフォスフォモノエステラーゼ活性と異なり、サツマイモ区が対照区—2に比べ37倍と最も高く、次いでブドウ区の6倍、ナガイモ区が5倍と最も低かった。このように栽培種によってフォスフォモノエステラーゼ活性とフォスフォジエステラーゼ活性が異っていた。このことを反映して、 β -グルコシダーゼ(G)と β -キシロシダーゼ(X)との活性比G/X(第2表)と異なり、フォスフォモノエステラーゼ(Pm)とフォスフォジエステラーゼ(Pd)は栽培種によって両圃場とも大きく異なっていた。とくに生産圃場ではその栽培種によってフォスフォモノエステル化合物とフォスフォジエステル化合物の蓄積量が異なっていることが推定される。たとえば、ブドウ区ではPm/Pd比が著しく高いことから、この区ではフォスフォモノエステル化合物の蓄積量が多く、かつその分解活性も相対的に大きいことを示している。Pm/Pd比の小さいサツマイモ区ではそれとは逆に他の栽培区に比べて相対的に核酸類の蓄積量が多く、かつその分解活性も大きいことを示唆している。

砂丘地に作物を栽培することによってどちらの酵素活性の増加率が大きいかを対照区を基に比べると、ブドウ区を除いていずれの栽培区ともにフォスフォジエステラーゼ活性の方がフォスフォモノエステラーゼ活性よりも高かった。この結果はブドウ区を除き、砂丘地に作物を栽培すると相対的に核酸のようなフォスフォジエステル化合物の方がモノエステル化合物よりも蓄積する傾向があることを示唆している。

砂丘地の両圃場のフォファターゼ活性を火山灰畑圃場のそれと比較すると、フォスフォモノエステラーゼ活性は砂丘地圃場の方が火山灰畑圃場よりも極端に低い、フォスフォジエステラーゼ活性の方はそれ程低くはなく、たとえばアルファルファ区ではほぼ同程度の活性を示した。この結果も砂丘地に作物を栽培することにより、核酸のようなフォスフォジエステル化合物が蓄積され易いことを示唆し

ている。

要 約

砂丘地畑圃場の微生物的な特徴を知るために、鳥取大学農学部附属砂丘地研究施設内の実験圃場から大豆及びアルファルファ栽培区、生産圃場からナガイモ、サツマイモ及びブドウ栽培区をそれぞれ選び、土壌の炭素代謝に関与する β -グルコシダーゼ及び β -キシロシダーゼ活性、リン代謝に関与するフォスフォモノエステラーゼ及びフォスフォジエステラーゼ活性を調べた。得られた結果を要約すれば次の如くである。

1) 土壌有機物量及び各酵素活性は、実験及び生産圃場とも長期に渡る肥培管理により顕著に増大し、その増加の程度は作物種により著しく異なっていた。たとえば土壌有機物量、 β -グルコシダーゼ、 β -キシロシダーゼ及びフォスフォモノエステラーゼ活性はアルファルファ区>ブドウ区>大豆区>サツマイモ区>ナガイモ区の順であるが、フォスフォジエステラーゼ活性はアルファルファ区>サツマイモ区>大豆区>ブドウ区>ナガイモ区の順であった。

2) 炭素代謝に関与する β -グルコシダーゼと β -キシロシダーゼ活性を比べると、各栽培区ともに β -グルコシダーゼ活性の方が高く、その活性比は栽培種により大きな差が認められなかった。一方リン代謝に関与する両フォスファターゼ活性を比べると、各栽培区ともにフォスフォモノエステラーゼ活性の方が顕著に高いが、その活性比は栽培種によりかなり異なっていた。

文 献

- 1) BREMNER, J.M. 1966. Total Nitrogen, in Methods of Soil Analysis. Part 2. ed. C.A. BLACK et al. p. 1149. American Society of Agronomy. Inc. Publisher Madison. Wisconsin.
- 2) HAYANO, K. 1973. A method for the determination of β -glucosidase activity in soil. Soil Sci. Plant Nutr. 19 : 103—108.
- 3) 早野恒一・金沢晋二郎・都留信也. 1981. 土壌酵素II. 存在状態とその起原. 化学と生物, 19 : 330—334.

- 4) 石井忠雄・早野恒一. 1974. 土壌のフォスフォ
ジエステラーゼ活性の測定法. 土肥誌. 45 :
505-508.
- 5) KANAZAWA, S. 1987. Amino sugar content,
fungal biomass, and β -acetylglucosaminidase
activity in forest soils. Soil Sci. Plant Nutr. 33 :
398-398.
- 6) 金沢晋二郎. 1989. 土壌中の β -キシロシダー
ゼ活性の測定法. 土肥要旨 (関東支部大会). 35.
- 7) 金沢晋二郎・早野恒一・都留信也. 1981. 土壌
酵素 I. 土壌の炭素・窒素・磷循環. 化学と生物.
19 : 235-242.
- 8) 金沢晋二郎・高井康雄. 1976. 土壌中における
 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.
- 9) 金沢晋二郎・高井康雄. 1977. 亜高山帯針葉樹
林下の土壌有機物の性状と分解過程 (第5報). 本地
域の土壌中の β -グルコシダーゼおよびプロテアー
ゼ活性について. 48 : 534-539.
- 10) 松本聰. 1983. 砂丘研究の現状と動向. 砂丘地
の理化学性と動植物. 砂丘研究. 30 : 52-57.
- 11) TABATABAI, M.A. and BERMNER, J.M. 1969.
Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil
phosphatase activity. Soil Biol. Biochem. 1 :
301-307.