

森林土壌A₀層およびA層における中性糖組成

伊月 亜有子

Composition of Neutral Sugar Contents in the A₀ and A Layer of the Forest Soils

Ayuko Itsuki

In the present study, the soil (L, F, H and A horizons) under the Laurel-leaved forest (B_{B-1}), Natural Cryptomeria japonica (B_{B-2}) and Hideyoshi Cryptomeria japonica (Pw) forests were selected to examine the neutral sugar contents in The Kasuga-yama Hill Primeval Forest, to clarify the source of the neutral sugar and the relationship between the neutral sugar and the microbial biomass. The neutral sugars were one factor of increasing the fungal and bacterial biomass in the laurel-leaved forest soil (B_{B-1}). The more neutral sugar contents in the Natural Cryptomeria japonica forest soil (B_{B-2}) contributed to the growth of the bacteria and fungi than those of in the Hideyoshi Cryptomeria japonica forest soil (Pw). The neutral sugars had higher correlation with the numbers of bacteria and fungi counted by the dilution plate method than by the direct count method by microscopy. The numbers of fungi had higher correlation with those of bacteria by the dilution plate method.

1. はじめに

奈良盆地の春日山天然林は約300haの広さを有する。本林は、都市部に隣接しているにもかかわらず1,160年以上も自然の状態が保たれた関西唯一の天然林である。本天然林内の動・植物に関する研究は古くから行われている。しかしながら、本天然林の土壌調査はほとんどなされておらず、特に微生物生態に関する調査は皆無である。そこで、本天然林土壌の微生物生態等に関する一連の研究を開始した。

前報^[1]では、春日山天然林を代表する照葉樹林 (B_B型)、天然杉林 (B_B型) および秀吉杉林 (Pw型) のL層からC層までの土壌について、培養法および直接検鏡法による微生物数を調べ、以下の情報が得られた。すなわち、(1) 直接検鏡法による微生物数は有機物層および鉱質土層のA層で多く、特に有機物層の全細菌数は乾物1g当たり2.9~57.4×10⁶個および糸状菌菌糸長は2~15kmにも達していること、(2)細菌および糸状菌の総存在量は照葉樹林の方が天然杉林よりも多く、両杉林の比較では秀吉杉林の方が多いこと、(3)本天然林土壌は農耕地土壌と比べ培養不可能な細菌が多く存在していること、(4)H層はF層に比べて富栄養条件の培養法では生育できない細菌および糸状

菌が多く存在していること、等が見出された。

土壌糖類は土壌有機物の5~25%を占め、土壌微生物の基質やエネルギー源として重要である^[2]。森林において、層位別土壌の糖組成を調べ、微生物バイオマスとの関係を検討することにより、土壌糖類の起源および土壌微生物による土壌有機物の分解・集積過程についての情報を得ることができると考えられる。

ところで、土壌中の炭水化物は存在形態が複雑であるため、土壌糖類を分析する際にその抽出方法が重要な意味を持つ。森林土壌中の糖類は植物遺体に代表されるように高分子化合物の状態では存在するため、硫酸による加水分解が有効であると考えられる。加水分解により得られた土壌糖類の定量は、これまで滴定法や比色法により評価されてきた^[3]。中性糖組成を測定した例として菅家^[4]の研究が挙げられるが、研究対象は水田土壌のみであり、森林土壌についてのデータは皆無である。

以上の観点から、春日山天然林の層位別土壌について中性糖量を調べ、中性糖の起源および微生物バイオマスとの関係について検討した。

2. 供試土壌および実験方法

2.1 供試土壌

春日山天然林の概要は前報^[1]に詳細に示している。実験は前報^[1]と同じく、春日山天然林内の代表的な3地点(図1)で行った。すなわち、タブノキ (*Machilus thunbergii*) およびイヌガシ (*Neolitsea aciculata*) 等の高木林からなる乾性褐色森林土(照葉樹林と称する)、高木スギ (*Cryptomeria japonica*) 林からなる乾性褐色森林土(天然杉林と称する)、同じく高木スギ (*Cryptomeria japonica*) 林からなる湿性ポドゾル(秀吉杉林と称する)下の土壌を有機物層のL、F、H層および鉱質土層のA層に分けて、平成13年4月に採取した。各地点ともに数断面観察を行い、様相が最も平均的であるところを選定した。土壌は直ちに実験室に持ち帰り、2mm以下に調整した。風乾した土壌を粉碎(WB-1, 大阪ケミカル)し、0.5mmの篩を通して風乾微細土試料とした。



図1 春日山天然林の概要

2.2 実験方法

有機物の抽出は二段階加水分解法を用いた。すなわち、風乾微細土試料1gに12M硫酸2.5mLを加え、室温で16時間静置後、硫酸を0.5M相当に希釈し、100℃で5時間還流した。加水分解液を1M水酸化カリウム水溶液でpH8.0に調整し、ディスパーザブルメンブレンフィルターユニット(DISMIC-25CS045AN, ADVANTEC)を用いてろ過した。中性糖の分析にはリン酸-フェニルヒドラジン法^[5, 6]を用いた。ろ液を高速液体クロマトグラフィー(L-7100, 日立)に供し、糖をカラム(Asahipak NH2P-50 4E, Shodex)で分離(移動相: 0.5%リン酸含有75%アセトニトリルおよび0.5%リン酸含有90%アセトニトリル)後、リン酸-酢酸-フェニルヒドラジン試薬(110:90:3)と反応させて蛍光検出(励起波長(Ex) 330nm, 蛍光波長(Em) 470nm)した。

本天然林土壌におけるF~A層の各中性糖量と培養法および直接検鏡法による微生物数^[1]との相関係数を算出した。L層は組織が堅く微生物の侵入が少ない^[1, 7]と考えられ

るので、除いて算出した。

3. 結果

3.1 中性糖量

各天然林土壌における各中性糖量を図2に示した。

中性糖含量はL層: 209~318mg g⁻¹、F層: 103~156mg g⁻¹、H層: 42~107mg g⁻¹、A層: 12~33mg g⁻¹と、層位が深くなるにつれて減少した。

中性糖含量を同じ土壌型の照葉樹林と天然杉林と比較すると、各天然林ともに照葉樹林の方が著しく多かった。土壌型の異なる両杉林を比較すると、L層では天然杉林の方が多かったが、F、HおよびA層では逆に秀吉杉林の方が多かった。

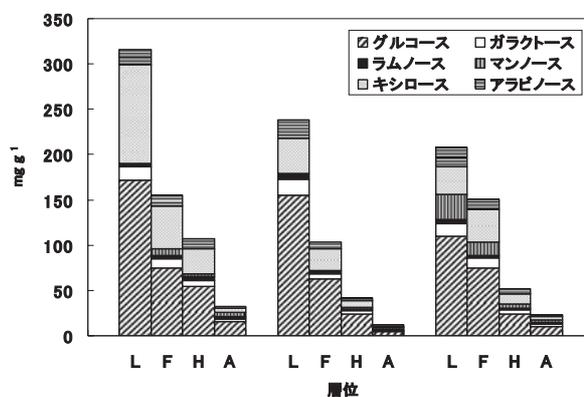


図2 各天然林土壌における各中性糖量

構成糖はグルコース(5~172mg g⁻¹)、キシロース(1~109mg g⁻¹)、マンノース(0~28mg g⁻¹)、アラビノース(1~21mg g⁻¹)、ガラクトース(1~17mg g⁻¹)、ラムノース(2~6mg g⁻¹)、フルクトース(0~2mg g⁻¹)、リボース(0~1mg g⁻¹)と、各天然林および各層位ともにグルコースが最も多かった。

ガラクトース、アラビノースおよびラムノース量はF層以下の層位で、グルコース、キシロースおよびマンノース量は各層位ともに照葉樹林の方が天然杉林よりも多かった。特に、照葉樹林のL層のキシロース量とHおよびA層のグルコース量が天然杉林に比べ著しく多かった。

グルコース、ガラクトース、ラムノース、アラビノースおよびキシロース量はL層では天然杉林の方が、F層以下の層位では逆に秀吉杉林の方が多かった。

主に植物起源の中性糖量(アラビノースとキシロースの含量^[8])と微生物起源の中性糖量(リボース、ラムノース、ガラクトースおよびマンノースの含量^[8])を比較すると、各天然林ともにL、FおよびH層では植物起源の中性糖の方が、A層では微生物起源の中性糖の方が多かった。また、層位が深くなるにつれて微生物起源の中性糖量の

割合が高くなっていった。照葉樹林と天然杉林で微生物起源の中性糖量を比較すると、L層は大きな差が認められなかったが、F、HおよびA層では照葉樹林の方が多かった。両杉林で微生物起源の中性糖の割合を比較すると、各層位ともに秀吉杉林の方が多かった。

3.2 各中性糖量と微生物数量との関係

本天然林土壌における各中性糖量と培養法および直接検鏡法による微生物数^[1]との関係を表1に示した。

個々の中性糖量は培養法で求めた微生物数との間に直接検鏡法で求めた微生物数よりも高い相関係数を示す傾向が認められた。また、培養法では糸状菌数の方が細菌数よりも高い相関係数を示した。この結果は、森林土壌では糸状菌バイオマスが優占しているという報告^[1]と符合している。

表1 本天然林土壌における中性糖量と微生物数との相関係数 (r)

中性糖 (mg g ⁻¹)	培養法		直接法	
	細菌数	糸状菌数	細菌数	糸状菌数
キシロース	0.721*	0.759*	0.694*	0.402**
アラビノース	0.751*	0.868**	0.526**	0.350**
ラムノース	0.444**	0.775**	0.694*	0.402**
マンノース	0.814**	0.566**	0.055**	0.148**
ガラクトース	0.855**	0.851**	0.439**	0.230**
グルコース	0.716*	0.848**	0.447**	0.215**
合量	0.768*	0.842**	0.445**	0.194**

(注1) * 5%有意水準 ** 1%有意水準 *** 5%有意水準において有意な相関関係は認められなかった (n=9)
(注2) 微生物数は本研究の第1報 (金澤ら, 2005) による

4. 考察

中性糖量および微生物数量の結果^[1]から、L層では新鮮な植物遺体が多量に供給されるため、易分解性有機物が多いのにも関わらず、組織が硬く微生物の進入が少ない^[1,7]が、F層では分解が進み組織の崩壊に伴ってそれらの養分を利用できる微生物が多くなった。H層に至ると有機物の腐朽化がさらに進み栄養要求の高い微生物よりも培養不可能な極貧栄養で生育できる微生物が相対的に増加する状況が明らかになった。

春日山天然林のA₀層およびA層の中性糖合量は照葉樹林の方が天然杉林よりも著しく多いことと、照葉樹林の微生物数量が天然杉林よりも多いという結果^[1]から、中性糖は照葉樹林土壌の微生物数およびバイオマス量を増大させた^[1]要因の一つであると推察された。

植生の違いによる中性糖組成の違いが微生物バイオマスに影響を与えた。すなわち、照葉樹林のL層のキシロース量は両杉林に比べて著しく多かった。また、照葉樹林ではF層以下の層位でラムノースおよびマンノース量が増加していることから、微生物菌体由来のラムノースおよびマンノースが集積したと推察された。

照葉樹林のHおよびA層のグルコース量が天然杉林よりも多いのは、照葉樹林の方がA層に至るまで根量が多い、

土壌動物の攪乱作用等による下層へのセルロースの補給が活発である^[9]ためと報告されており、本結果と対応していた。

土壌型の異なる天然杉林と秀吉杉林では、秀吉杉林の方が微生物由来の中性糖量が天然杉林よりも多いことと、秀吉杉林の培養法による微生物数が天然杉林よりも多いという結果^[1]から、秀吉杉林の方が微生物の生育しやすい過湿な環境で^[1]かつ微生物の基質となる中性糖が多いため、これらが微生物の増殖に寄与している^[1]ことが明らかとなった。

本天然林土壌における各中性糖量と培養法および直接検鏡法による微生物数量^[1]との関係から、培養法で生育できる栄養要求性が高く生育速度の速い微生物が各中性糖の分解に寄与していると考えられた。また、培養法では糸状菌が各中性糖の分解に大きく寄与していると推察した。

5. おわりに

春日山天然林土壌の有機物を構成する中性糖の起源および微生物バイオマスとの関係を明らかにするために、本天然林を代表する照葉樹林 (BB型)、天然杉林 (BB型) および秀吉杉林 (Pw型) 下土壌のA₀層およびA層について中性糖組成を調べた。

- 1) 中性糖は照葉樹林土壌の微生物数およびバイオマス量を増大させた要因の一つであると推察された。
- 2) 秀吉杉林の方が天然杉林よりも微生物の基質となる中性糖が多く、微生物の増殖に寄与していることが推察された。
- 3) 培養法で生育できる栄養要求性が高く、生育速度の速い糸状菌が各中性糖の分解に寄与していると考えられた。

参考文献

- [1] 金澤晋二郎・伊月亜有子・河越幹男 (2005) 世界遺産奈良県春日山における天然林土壌の特性解明 (第1報) 天然林土壌における培養法および直接検鏡法による微生物数量, 土肥誌, 76: 459-470.
- [2] 村田智吉・田中治夫・坂上寛一・安積大治・浜田龍之介 (1997) 麦かん・堆肥の連用が土壌微生物バイオマス・可給態窒素量および中性糖組成に及ぼす影響, 土肥誌, 68: 249-256.
- [3] 菅家文左衛門 (1990) 土壌炭水化物の分析方法, 福島農短大報, 1: 42-48.
- [4] 菅家文左衛門 (1987) ワックスマン分画の土壌糖類の

分析への応用, 土肥誌, 58:556-560.

- [5]浜野吉政・百日鬼秀子・鷹野重成・阿部修三 (1990) リン酸フェニルヒドラジンを用いたHPLCによる糖の分析, 第7回液体クロマトグラフィ 春季討論会要旨集, 25.
- [6]日立製作所 (1999) 糖類の分析方法及び分析装置, 特許公報 (B2), 第2846059号.
- [7]金沢晋二郎・高井康雄 (1977) 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.
- [8]村山重俊 (1984) 土壤糖の起原, 分解性, 糖組成と土壤微生物. (土壤のバイオマス, 博友社, 東京). 65-114.
- [9]金沢晋二郎・高井康雄・竹島征二・和田秀徳 (1976) 亜高山帯針葉樹林下の土壤有機物の性状と分解過程 (第2報) 本地帯の土壤有機物の近似組成分とその存在量について, 土肥誌, 47:307-313.