

土壤の易分解性有機物に対する微生物体 およびその細胞壁の寄与について(第1報)

ライグラスの分解に伴う土壤有機態窒素のアミノ酸およびアミノ糖化合物の動向

丸本卓哉*・古川謙介**・吉田 堯*

甲斐秀昭*・山田芳雄*・原田登五郎*

1. 緒 言

土壤有機態窒素のうち年間作物に利用される窒素は、わずか1~5%できわめて難分解性であるが、土壤に適当な前処理、たとえば乾燥^{2,3,10,19,20)}、地温上昇²⁰⁾、反応変換⁹⁾、機械的粉碎^{11,20)}、粗大有機物添加¹⁶⁾などの前処理を施すと、難分解性有機物の一部が土壤微生物により分解されやすくなり、無機化が促進されてくることが明らかにされている。このように、土壤を前処理することによってその無機化が促進される有機物を総称して土壤の易分解性有機物と呼んでいる。作物に対するCO₂およびNの給源の大部分は、この土壤の易分解性有機物であり、作物の多収穫を得るために地力保持の点からも、土壤に易分解性有機物を多量に蓄積することが必要であり、これに関しては、最近吉田・甲斐・原田^{38,39)}によって一連の研究が行なわれている。

従来、土壤の易分解性有機物の本質や給源については多くの研究者^{2,3,9,11,30)}によって述べられているが、いずれも推測の域を出でていない。しかしながら、それらの報告を基に考察すると、土壤の易分解性有機態窒素の主体はアミノ酸態窒素とアミノ糖態窒素であり、その給源は種々の微生物体、微生物の代謝産物、植物遺体や微生物体の分解産物、タンパク質と有機・無機コロイドとの複合体などが考えられる。土壤に植物残渣が添加されると、土壤微生物による分解作用を受けて変化しながら土壤有機物の一部として蓄積されるが、その際の土壤有機態窒素中のアミノ酸およびアミノ糖化合物の動向を知ることは、前記の易分解性有機態窒素の給源と関連して非常に興味ある問題であると思われる。

また、土壤中のアミノ酸やアミノ糖に関する報告は、多数行なわれている。BREMNER⁴⁾、DAVIDSON⁷⁾、SOWDEN⁵⁾と PARKER²⁴⁾らは、土壤の酸加水分解物中のアミノ酸組成をペーパークロマトグラフィーを用いて分析した。そして、BREMNER が10種の土壤について分析した結果は、

いずれの土壤においても下記の20種のアミノ酸が共通に存在することを示した。すなわち、Phe, Leu, Ileu, Val, Ala, Gly, Thr, Ser, Asp, Glu, Lys, Arg, His, Pro, Tyr, Hpr, α , ϵ -Diaminopimelic acid, β -Ala, α -Amino-n-butyllic acid, および γ -Amino-butyllic acidであった。その後、STEVENSON^{25,26,27)}、SOWDEN^{21,23)}、WANG ら³⁴⁾、HAYASHI と HARADA¹²⁾らは、土壤酸加水分解物中の個々のアミノ酸およびアミノ糖をイオン交換クロマトグラフィーを用いて分離同定した。YAMASHITA と AKIYA³⁷⁾は、土壤有機物をフルボ酸、腐植酸、ヒューミンの3つの画分に分画し、それら3つの画分中の個々のアミノ酸を定量した。彼らのデータを基に考察してみると、それら3つの画分中のアミノ酸組成は相対的に非常に類似していることがわかる。

以上述べて来た研究報告によれば、一般に耕地土壤中の主要なアミノ酸は、Gly, Ala, Asp, Glu, Thr, Ser, Val, Lys および Leu などである。さらに、全アミノ酸に対する個々のアミノ酸の割合についてみれば、Gly, Ala > Glu, Asp, Thr, Ser, Lys > Val, Leu の順を示す傾向があるようと思われる。

土壤中のアミノ糖に関する研究は、BREMNER と SHAW⁵⁾、STEVENSON^{28,29,30)}、STEVENSON と BRAIDS³¹⁾、SOWDEN²²⁾、HAYASHI と HARADA¹²⁾らによって報告されている。それらの結果によると、アミノ糖態窒素の含量は土壤有機態窒素の5~10%を占め、その主要なものはグルコサミンとガラクトサミンである。

WAGNER と MUTATKAR³³⁾は、土壤に ¹⁴C ラベルのグルコースを添加し、これが有機化される過程で形成される有機物のアミノ酸組成について研究した。そして ¹⁴C の活性が Ala, Gly, Glu, Glucosamine, Asp, Thr, Ser および Lys 中で高かったと報告している。この種の研究報告はまだ非常に少なく、なかでも植物体の分解過程に伴う土壤有機態窒素中のアミノ酸およびアミノ糖化合物の動向に関する研究はまだない。

以上のような観点から、土壤有機物の主要な材料である植物体が土壤に添加された場合、これらが分解代謝されてゆく過程で土壤のアミノ酸組成およびアミノ糖含量

* 九州大学農学部(福岡市東区箱崎 3575-1)

** 九州大学農学部(現在、工業技術院微生物工学技術研究所)
昭和48年3月10日受理

日本土壤肥料学会誌 第45巻 第1号 p.23~28(1974)

にどう影響するかを明らかにする目的で、¹⁴C で均一にラベルしたライグラスを用いて実験した。

2. 実験方法

(1) 供試土壌および砂：供試土壌は富山県農業試験場の水田作土層より採取した。採取後、湿潤のまま 2 mm の篩を通過させ、ポリエチレン袋に入れ輪ゴムで口を封じ、使用するまで 4°C にて貯蔵した。乾土当たりの全炭素および全窒素含有率は、それぞれ 2.34 と 0.18% であった。また土性は砂壤土 (SL) であった。ケイ砂 (米山薬品工業社製) は乳鉢で粉碎したのち 32~60 メッシュに調製し、水洗後風乾した。

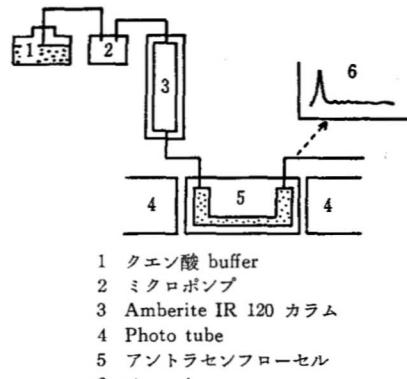
(2) ¹⁴C-ラベルのライグラス：¹⁴C で均一にラベルしたライグラス³⁵⁾を風乾し、粉碎後供試した。ライグラス風乾物当たりの炭素および窒素の含有率は、それぞれ 35.0% と 0.6% であった。C/N 比は約 58 である。

(3) インキュベーションの方法：50 ml 容の三角フラスコに湿潤土を乾物当たり 10 g 入れ、それに 400 mg の ¹⁴C-ライグラスを添加混合した。水分含量を最大容水量の 50% になるように蒸留水で添加し、ポリエチレンフィルムで蓋をしたのち、30°C の恒温室に 6 か月間インキュベイトした。対照として、ライグラスを添加しない土壌を同様にインキュベイトした。

さらに、50 ml 容の三角フラスコに、10 g の砂を取り、400 mg の ¹⁴C-ライグラスを添加し、イノキュラムとして富山土壌の水懸濁液 (1:5) を 0.8 ml 添加した。水分含量は最大容水量の 50% に調節し、同様に 30°C の恒温室にインキュベイトした。インキュベーション期間中の水分蒸散量は、三角フラスコの全容の重量減少分を測定し、蒸留水で補足調節した。

(4) アミノ酸およびアミノ糖の定量法：供試ライグラス (以下「供試ライグラス」と表示)、供試土壌 (以下「対照土壌 0」と表示) およびインキュベイトして 6 か月後の試料 (以下「対照土壌 6」、「砂+ライグラス」と表示) を、6 N 塩酸、105°C で還流冷却器をつけて 20 時間加水分解し、アミノ酸画分をイオン交換クロマトグラフィーによって分離した。個々のアミノ酸は、KLA-2 型日立アミノ酸自動分析計を用い、ニシヒドリン比色法¹⁷⁾によって定量した。アミノ糖の定量は、試料を 6 N 塩酸、100°C で還流冷却器をつけて 6 時間加水分解したのち、上記と同様の操作を行ない、溶液中のアミノ糖を STEVENSON³⁰⁾ によって改良された ELSON-MORGAN の方法⁸⁾によって定量した。なお、個々のアミノ酸およびアミノ糖の溶離位置は標品を用いて確認した。

アミノ酸およびアミノ糖画分中の ¹⁴C 活性は、第 1 図



第 1 図 ¹⁴C-アミノ化合物の分析概略図

に示したようにアントラセンフローセルを用いたシンチレーションカウンター³⁶⁾ (神戸工業社製、GSL-151 型) で測定した。試料の全 ¹⁴C 活性は、KOSAKA 法¹⁵⁾による湿式分解法を用い、放出される ¹⁴CO₂ をアルカリ溶液に吸収させ、その一定量をシンチラント (トルエン/PPO/POPOP) に加え溶液中の ¹⁴C 活性を液体シンチレーションカウンターで測定した。

3. 実験結果および考察

(1) アミノ酸およびアミノ糖の ¹⁴C 活性

<供試ライグラス>、培養 6 か月後の<砂+ライグラス>および<土壌+ライグラス>の集積全 ¹⁴C およびアミノ化合物の ¹⁴C カウント数を第 1 表に示した。全 ¹⁴C カウント数についてみると、<供試ライグラス>の $231.0 \times 10^4 \text{ cpm}$ が、6 か月後の<砂+ライグラス>および<土壌+ライグラス>でそれぞれ $56.7 \times 10^4 \text{ cpm}$ と $58.5 \times 10^4 \text{ cpm}$ に減少し、両区とも添加ライグラスのほぼ 75% が CO₂ として無機化したことを示している。アミノ化合物の ¹⁴C カウント数は、<供試ライグラス>、

第 1 表 <供試ライグラス>、<砂+ライグラス>および<土壌+ライグラス>の ¹⁴C カウント数

試験区	全カウント数 ($\times 10^4 \text{ cpm}$)	アミノ化合物 カウント数 ($\times 10^4 \text{ cpm}$)	アミノ化合物 (μmol)
<供試ライグラス>	231.0 (100.0)	12.9 (5.6)	121.0
<砂+ライグラス>	56.7 (100.0)	12.5 (22.0)	132.7
<土壌+ライグラス>	58.5 (100.0)	13.5 (23.1)	500.0

() 内の数字は、各区の全カウント数を 100 とした割合

(1) アミノ酸+アミノ糖

(2) 第 2 表参照

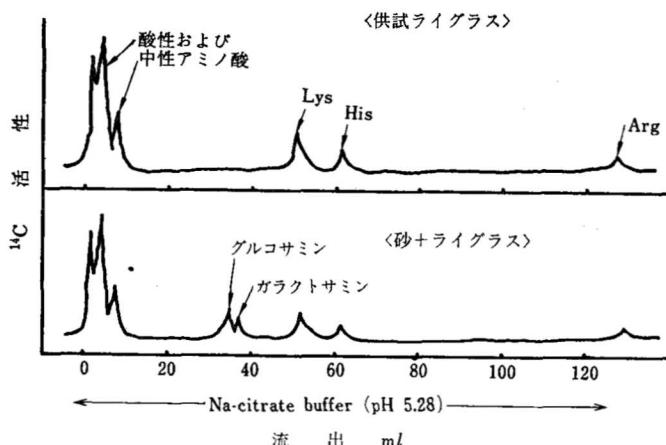
(3) 400 mg ライグラス

(4) 10 g 砂+400 mg ライグラス

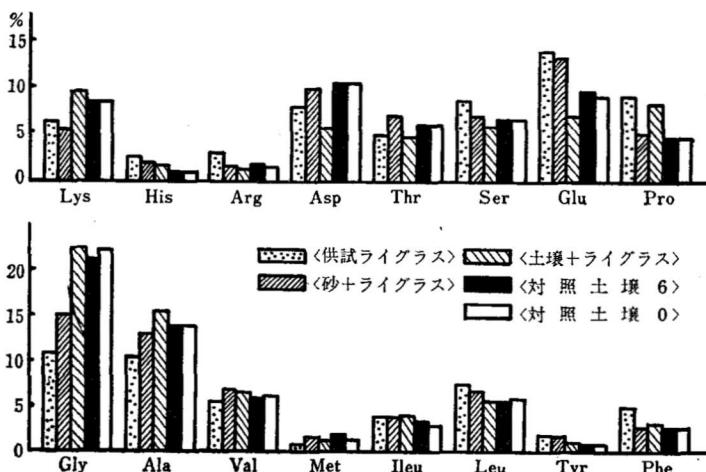
(5) 10 g 土壌+400 mg ライグラス

<砂+ライグラス>および<土壤+ライグラス>でそれぞれ 12.9×10^4 cpm, 12.5×10^4 cpm および 13.5×10^4 cpm であった。これらのデータは、添加したライグラスの ^{14}C が 6か月のインキュベーション期間に、砂および土壤中のアミノ化合物にとり込まれたことを示している。そして、とり込まれた ^{14}C の量は砂と土壤で大差なかった。

<供試ライグラス>および<砂+ライグラス>のアミノ酸およびアミノ糖の ^{14}C 活性を第2図に示した。これによると、<供試ライグラス>でみられなかった2つのアミノ糖のピークが<砂+ライグラス>で認められた。これらはグルコサミンとガラクトサミンである。このことは、添加したライグラスの分解過程において、アミノ糖が土壤微生物により合成されたことを示している。<土壤+ライグラス>においても<砂+ライグラス>と同



第2図 <供試ライグラス>および<砂+ライグラス>のアミノ酸とアミノ糖の ^{14}C 活性



第3図 各区における個々のアミノ酸のモルパーセント

様にアミノ糖の2つのピークが認められた。

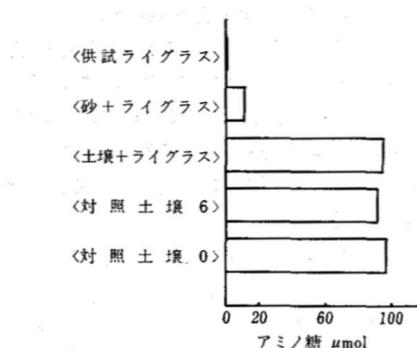
(2) 個々のアミノ酸およびアミノ糖の含量

各区試料中の個々のアミノ酸およびアミノ糖の含量は、それぞれニンヒドリン比色法¹⁷⁾と ELSON-MORGAN 法⁸⁾を用いて定量し、10 g の砂あるいは土壤当たりの μmol として求めた。第3図は、その結果に基づいて各区の個々のアミノ酸のモル割合を示したものである。

まず第一に、アミノ酸およびアミノ糖の含量についてみれば、<供試ライグラス>では 400 mg のライグラス当たりアミノ酸が $120.2 \mu\text{mol}$ およびアミノ糖が $0.8 \mu\text{mol}$ であった。<砂+ライグラス>、<土壤+ライグラス>、<対照土壤 0>、および<対照土壤 6>では、それぞれ 10 g の砂あるいは土壤当たりアミノ酸が $120.0 \mu\text{mol}$, $405.5 \mu\text{mol}$, $425.0 \mu\text{mol}$ および $411.7 \mu\text{mol}$ で、アミノ糖は $12.7 \mu\text{mol}$, $94.5 \mu\text{mol}$, $96.4 \mu\text{mol}$ および $91.3 \mu\text{mol}$ であった。本実験におけるアミノ化合物の分析実験誤差は、約 $\pm 5\%$ 程度であるから、<土壤+ライグラス>、<対照土壤 0>および<対照土壤 6>のアミノ化合物含量は、ほぼ等量であったと考えられる。

<砂+ライグラス>のアミノ化合物の集積についてみると、各アミノ酸およびアミノ糖はすべて添加ライグラスに由来していると考えられるが（全窒素を定量した結果、増減は認められなかった）、それらは最初の添加ライグラス中に含まれていたアミノ酸およびアミノ糖と同一のものではなく、それらのアミノ酸およびアミノ糖は、添加ライグラスの分解過程を通して土壤微生物によって新たに合成されたものと考えられる。このことは、<供試ライグラス>と<砂+ライグラス>のアミノ酸のモル組成およびアミノ糖含量（第4図参照）に大きな差のあることから明らかである。すなわち、砂に添加されたライグラスが分解される過程で<砂+ライグラス>中のアミノ化合物の組成は、土壤微生物による新たなアミノ酸とアミノ糖の合成を通して組み換えられたことを示している。

第4図に、各区のアミノ糖含量を示した。これによると、アミノ糖含量は、<供試ライグラス><<砂+ライグラ



第4図 各区のアミノ糖含量

ス><<対照土壤 6>>=<土壤+ライグラス>=<対照土壤 0>の順に増加している。次項に述べる<土壤+ライグラス>のアミノ化合物の消長と合わせ考えると、土壤中のアミノ糖態素含量の高い原因はつぎのように考えられる。添加ライグラスにはほとんど含まれていなかつたアミノ糖化合物が、ライグラスの分解過程を通して土壤微生物により新たに合成され、それが土壤中で比較的難分解性の形で存在するためであろうと思われる。

次に、<土壤+ライグラス>のアミノ化合物の分解および合成について考察する。実験開始時の<土壤+ライグラス>のアミノ化合物含量は $642.4 (=521.4 + 121.0)$ μmol であったが、6か月のインキュベーション後には $500.0 \mu\text{mol}$ となった。この $500.0 \mu\text{mol}$ のなかには、添加したライグラスに由来する ^{14}C が第1表で示したように $13.5 \times 10^4 \text{ cpm}$ 存在している。いま、<砂+ライグラス>中のアミノ化合物の ^{14}C 活性とアミノ化合物含量が比例関係にあり、この関係が<土壤+ライグラス>にも当てはまると仮定すれば、ライグラス由來のアミノ化合物量は、計算上 $143.0 (=132.7 \times 13.5 / 12.5) \mu\text{mol}$ となる。したがって、もともとの土壤に由來するアミノ化合物はおよそ $357 (=500 - 143) \mu\text{mol}$ となり、これは<土壤+ライグラス>のアミノ化合物中の $71.4 (=357 / 500 \times 100)\%$ に相当する。そして、ライグラス由來のアミノ化合物 $143.0 \mu\text{mol}$ は、実験開始時の<対照土壤 0>中に存在していたアミノ化合物の $27.2 (=143 / 521.4 \times 100)\%$ に相当し、もともと土壤中に存在していたアミノ化合物のおよそ 27.2% が、6か月間に土壤微生物によって新たに合成されたアミノ化合物と置換されたことになる。

また、前述のように、<土壤+ライグラス>と<対照土壤 6>のアミノ化合物含量はほぼ等しかった。このことは、6か月のインキュベーション期間に、添加したライグラス中に含まれていたアミノ化合物態素量にはほ

等しい量が、ライグラスの添加によって土壤のアミノ化合物から無機化されたことを示している。これは、宮口と原田¹⁶が報告しているように、土壤にオキシ酸のようなキレート物質を含む粗大有機物が添加されれば、もともと土壤中に存在する有機物の分解が促進されるという現象と一致している。

第二に、第3図に示した各区の個々のアミノ酸の割合について考察する。<供試ライグラス>は Glu の含量が著しく高く、次に Gly, Ala, Pro, Ser および Asp が続き、さらに Leu, Lys の順に少なくなっている。しかしながら、<砂+ライグラス>、<土壤+ライグラス>、<対照土壤 0>および<対照土壤 6>においては、すべて、個々のアミノ酸含量は次のような傾向を示している。Gly, Ala が最も多く、両者を合わせると全アミノ酸量の約 $1/3$ を占め、Lys, Glu および Asp が続き、さらに Ser, Thr および Leu の順になっている。このことは、土壤微生物のアミノ酸代謝を通して、添加ライグラス自身のアミノ酸組成とは異なるアミノ酸組成に組み換えられたことを示唆している。すなわち、<砂+ライグラス>においては、添加ライグラスのアミノ酸のうち最も多かった Glu が6か月のインキュベーション期間に、徐々に減少し、Pro, Ser, Leu, Phe, Arg および His も同様に減少した。逆に、Gly, Ala および Asp が増加した。さらに、<砂+ライグラス>のアミノ酸組成は<対照土壤 6>のアミノ酸組成に非常に類似しており、このことは、添加ライグラスのアミノ酸組成が、土壤微生物によるアミノ酸の組み換えを通じて土壤のアミノ酸組成に近づく傾向にあることを示している。<土壤+ライグラス>においても同様に、そのアミノ酸組成は<対照土壤 6>のそれと非常に類似しており、Gly, Ala の含量が著しく高く、Lys, Glu および Asp が続き、さらに Ser, Thr および Leu の順に続いている。以上のようなアミノ酸組成の動向については第3図から明らかのように、Glu, Pro, Ser, Leu, Phe, Arg, His および Tyr の含有割合は、<供試ライグラス>><砂+ライグラス>><土壤+ライグラス>><対照土壤 6>><対照土壤 0>の順に減少する傾向がうかがわれ、なかでも Glu の減少が著しい。逆に、Gly, Ala, Lys および Asp は増加しており、なかでも Gly が著しく増加し、Ala の増加もまた大きい。

ここに示された対照土壤のアミノ酸組成は特殊な値ではなく、緒言でも述べたように、多くの研究者によって報告されている土壤のアミノ酸組成と非常によく似ている。そこで、本実験で得られた結果は、ライグラスのような植物残渣が土壤に添加されると、それらが分解され

てゆく過程で、そのアミノ化合物の組成は、土壤微生物による新たなアミノ酸およびアミノ糖の合成を通して組み換えられ、6か月という比較的短期間のうちに、もともと土壤が有しているアミノ酸組成に近づくことを示している。また、新しく合成されたアミノ糖化合物は、比較的難分解性で土壤中に集積されることも示されている。さらに、土壤有機態窒素のアミノ酸組成についてみると、本実験でも示されているように、一般に Gly, Ala の含量が著しく高く、次に Glu, Asp および Lys が続き、さらに Val, Thr, Ser および Leu の順になっている。このようなアミノ酸の組成は、バクテリアやカビの細胞壁のアミノ酸組成^{6, 13, 32)}や生体膜構造タンパク質のアミノ酸組成¹⁸⁾と比較した場合、それらに非常によく似た傾向を示している。また、<砂+ライグラス>および<土壤+ライグラス>で検出されたアミノ糖は、微生物細胞壁の主要な成分であることが知られている。

WAGNER と MUTATKAR³³⁾は、¹⁴C でラベルしたグルコースを2種の土壤に添加し、畑状態で6か月間インキュベイトし、その間に有機化された土壤有機物の酸加水分解物について分析した。その結果は、2種の土壤間のグルコース-¹⁴C 由来のアミノ酸およびアミノ糖の組成は非常に類似しており、土壤有機物中に入り込まれた ¹⁴C の 17~22% は主要な 13 種のアミノ酸に含まれていた。そして、¹⁴C 活性の高いアミノ酸は Asp, Lys, Gly, Ala, Glu, Thr および Ser などで、アミノ糖も ¹⁴C 活性が高かった。そして、これら ¹⁴C 活性の高いアミノ酸やアミノ糖は、バクテリアやカビの細胞壁に含まれているものと同種のものであり、このことは、おそらくグルコースを利用した土壤微生物の細胞壁が分解に対して抵抗性を示すものであろうと報告している。

ここでは、集積有機物中の易分解性窒素または炭素の測定は行なわなかったが、当研究室における実験で、林¹¹⁾は、土壤中におけるライグラスの分解過程で、易分解性有機物の集積が認められ、しかも土壤中すでに存在している有機物の易分解性有機物の割合よりも、ライグラスの分解過程で新たに集積された有機物の易分解性有機物の割合が大きいことを示している。また、原田ら¹⁰⁾、KAI ら¹⁴⁾および AHMAD ら¹¹⁾は、土壤中での窒素の有機化・無機化過程における化学的形態別窒素の動向を明らかにする目的で、¹⁵N を用いて追跡実験を行なった。その結果、アミノ酸態窒素画分が無機化窒素の主要な給源であるが、土壤が乾燥、なかでも加熱乾燥された場合は、アミノ糖態窒素画分もまた無機化窒素に著しく寄与していることを明らかにし、易分解性窒素の給源として微生物体とりわけ細胞壁中のムコペプタイド化合物

の寄与を示唆している。これらのことより、本実験においても、ライグラスの分解過程に易分解性有機物の集積が行なわれたことは間違いないと思われる。そして、第3図および第4図に示した結果から、ライグラスの分解過程で新たに集積された有機物の給源として、微生物体、なかでも細胞壁物質が寄与していることが推察される。易分解性有機物の集積に対する微生物体および細胞壁物質の寄与については統一して報告する予定である。

4. 要 約

本報の実験結果から次のことが推論される。すなわち、ライグラスのような植物残渣が土壤に添加されると、それが分解される過程で、植物残渣のアミノ化合物は土壤微生物による新しいアミノ酸およびアミノ糖の合成を通して組み換えられ、その結果、植物残渣添加土壤のアミノ酸組成は、6か月位の比較的短期間に、もともとの土壤固有のアミノ酸組成に近づく。さらに、土壤有機物のアミノ酸組成中、その主要なアミノ酸が微生物細胞壁のアミノ酸と近似していること、および土壤中に集積して来るアミノ糖は微生物細胞壁の主要な成分であることなどから、植物残渣の分解過程で増殖した微生物の細胞壁部分は比較的難分解性で、土壤中に集積されるものと推察される。

文 献

- AHMAD, Z., YAHIRO, Y., KAI, H. and HARADA, T.: *Soil Sci. Plant Nutr. (Tokyo)*, 19, 287 (1973)
- 高峰重範: 暗渠排水と乾土効果, p. 1, 河出書房 (1949)
- BIRCH, H. F.: *Plant Soil*, 10, 9 (1958)
- BREMNER, J. M.: *Biochem. J.*, 47, 538 (1950)
- BREMNER, J. M. and SHAW, K.: *J. Agr. Sci.*, 44, 152 (1954)
- CROOK, E. M. and JOHNSTON, I. R.: *Biochem. J.*, 83, 325 (1962)
- DAVIDSON, D. I., SOWDEN, F. J. and ATKINSON, H. J.: *Soil Sci.*, 71, 347 (1951)
- ELSON, L. A. and MORGAN, W. T. J.: *Biochem. J.*, 27, 1824 (1933)
- 原田登五郎: 農技研報 B, 9, 123 (1959)
- HARADA, T. and HAYASHI, R.: *Soil Sci. Plant Nutr. (Tokyo)*, 14, 13 (1968)
- 林 竜三: 九大農化肥料研報告, 第3号, p. 1 (1965)
- HAYASHI, R. and HARADA, T.: *Soil Sci. Plant Nutr. (Tokyo)*, 15, 226 (1969)
- HUNGERER, K. D. and TIPPER, D. J.: *Biochemistry*, 8, 3577 (1969)
- KAI, H., AHMAD, Z. and HARADA, T.: *Soil Sci. Plant Nutr. (Tokyo)*, 19, 275 (1973)
- KOSAKA, J., HONDA, C. and ISEKI, A.: *Soil Plant Food (Tokyo)*, 5, 77 (1959)
- 宮口伊男・原田登五郎: 佐賀大学農学部彙報, 第28号, 1 (1969)
- MOORE, S. and STEIN, W. H.: *J. Biol. Chem.*, 192, 663 (1951)
- 小田琢三・佐藤 了・中尾 真編集: 生体膜の生化学,

- p. 18, 朝倉書店 (1969)
- 19) RUSSELL, E.J. and RUSSELL, E.W. : Soil Conditions and Plant Growth, 9th ed., Longmans, Green & Co., Ltd., London, p. 222 (1961)
- 20) 塩入松三郎 : 土肥誌, 16, 104 (1942)
- 21) SOWDEN, F.J. : *Soil Sci.*, 80, 181 (1955)
- 22) SOWDEN, F.J. : *ibid.*, 88, 138 (1959)
- 23) SOWDEN, F.J. : *ibid.*, 102, 202 (1966)
- 24) SOWDEN, F.J. and PARKER, D.I. : *ibid.*, 76, 201 (1953)
- 25) STEVENSON, F.J. : *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 18, 373 (1954)
- 26) STEVENSON, F.J. : *ibid.*, 20, 201 (1956)
- 27) STEVENSON, F.J. : *ibid.*, 20, 204 (1956)
- 28) STEVENSON, F.J. : *ibid.*, 21, 283 (1957)
- 29) STEVENSON, F.J. : *Soil Sci.*, 83, 113 (1957)
- 30) STEVENSON, F.J. : *ibid.*, 84, 99 (1957)
- 31) STEVENSON, F.J. and BRAIDS, O.C. : *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 32, 598 (1968)
- 32) TIPPER, D.J. and BERMAN, M.F. : *Biochemistry.*, 8, 2183 (1969)
- 33) WAGNER, G.H. and MUTATKAR, V.K. : *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 32, 683 (1968)
- 34) WANG, T.S.C., YANG, T.K. and CHENG, S.Y. : *Soil Sci.*, 103, 67 (1967)
- 35) 山田芳雄・高田 穂 : 土肥要旨集, 9, 11 (1963)
- 36) 山田芳雄・白石 淳・池田元輝 : 第9回日本アソートープ会議報文集, 417 (1969)
- 37) YAMASHITA, T. and AKIYA, T. : *Soil Sci. Plant Nutr. (Tokyo)*, 12, 31 (1966)
- 38) 吉田 喬・甲斐秀昭・原田登五郎 : 九大農芸誌, 26, 67 (1972)
- 39) 吉田 喬・甲斐秀昭・原田登五郎 : 九大農芸誌, 27, 221 (1973)