

タンパク物質・コロイド複合体の無機化に及ぼす乾燥の影響

丸本卓哉*・甲斐秀昭**

1. 緒言

土壌に加えられた有機物は、中小動物および微生物による分解過程を通して大部分は炭酸ガスやアンモニアなどの簡単な無機物になるが、残りは分解に関与した微生物体、その代謝産物および分解残渣になる。そして、これらの物質は種々の微生物作用と化学作用によって腐植物質へと変化してゆく。著者らは、これら有機物の分解過程で生成集積される微生物体、なかでもその細胞壁部分は、乾燥、反応変換などの土壌前処理によって無機化が促進される土壌の有機物画分、いわゆる易分解性有機物の主要な給源の一部であることを報告してきた¹⁻⁷⁾。一方、動植物遺体あるいは微生物遺体中のアミノ酸、タンパク質および細胞質物質のような本来容易に微生物によって分解されるものであっても、微生物分解を受ける前に土壌中の粘土、遊離の酸化鉄やアルミナなどの無機コロイドやリグニン、種々のポリフェノール化合物などの有機コロイドなどと結合して複合体を形成すれば、微生物分解に対する抵抗性が増し、それらの複合体が土壌中に残留集積することが推察される。

腐植や複合体の生成については、WAKSMAN⁸⁻¹⁰⁾、KONONOVA¹¹⁾、FLAIG¹²⁾、MARTIN および HAIDER¹³⁻¹⁶⁾の報告が、また、それらの無機化についても多くの報告¹⁷⁻²⁰⁾があるが、それら複合体の易分解性有機物に対する寄与についての報告はない。

そこで、タンパク質および微生物細胞質物質を用いて、これらと粘土あるいはリグニンなどの複合体を調製し、それらの無機化と乾燥前処理による無機化促進効果についての室内モデル実験を行なった。そして、得られた結果より、土壌の易分解性有機物に対するこれら複合体の寄与について考察した。

2. 実験方法

1) セラチン・粘土複合体の調製

200 ml 容三角フラスコに 1.0, 3.0, 5.0% のセラチン溶液（メルク社製セラチン粉末、C/N≒3 を 0.01 N の水酸化ナトリウム溶液に溶解したもの）をそれぞれ

100 ml 採取し、これに長野県農試水田土壌より採取した土壌粘土（主要粘土鉱物：モンモリロナイト，CEC 82.8 me/100 g）10 g をおのおの添加混合した。トルオールを数滴加え、ゴム栓をしたのち、往復振盪機にて 2 時間振盪した。その後、0.1 N の塩酸で pH を 6.5 に調整し、形成されたセラチン・粘土複合体を吸引濾過して集め、蒸留水にて十分洗浄した。この複合体を湿潤のまま（水分含量約 50%）2 g を採取し、9 g の砂（粒径 0.25~0.50 mm）に添加混合した。添加した複合体の全炭素および全窒素量は第 1 表に示すとおりである。以下、粘土 10% の砂培地を G-0 とし、セラチンの 1.0, 3.0, 5.0% 溶液で調製した複合体を各々 G-1, G-2, G-3 と表示する。

2) 微生物細胞質・粘土複合体の調製

Saccharomyces cerevisiae の水懸濁液に超音波処理（19.5 kHz, 25 分）を施したのち、10,000 rpm で 10 分間遠沈し、その上澄液を微生物細胞質物質として用いた。この細胞質溶液のそれぞれ 20, 50, 200 ml に対し、1) と同様に長野のモンモリロナイト粘土 5 g を添加混合した。この際の混合液中の pH は 6.5~7.0 であった。トルオールを数滴加え、往復振盪機で 2 時間振盪したのち、形成された複合体を吸引濾過して集め、蒸留水で洗浄した。1) と同様に湿潤状態の複合体 1 g を、過酸化水素処理して調製した後川内土壌⁵⁾ の 9 g に添加混合した。添加した複合体の全炭素および全窒素量は第 2 表に示すとおりである。以下、複合体を粘土に対する窒素吸着量の少ない方から C-1, C-2, C-3 と表示する。

3) 微生物の細胞質・リグニン、微生物細胞質・カテコール複合体の調製

2) で調製した *S. cerevisiae* の細胞質物質と試薬リグニン粉末およびカテコール粉末（米山薬品社製）を用いて複合体を調製した。調製条件は第 3 表に示すとおりである。細胞質物質、リグニンまたはカテコールおよびフェノラーゼの混合液を一夜振盪後、蒸留水中にて 3 日間透析を行なってからロータリーエバポレーターにて減圧濃縮した。得られた濃縮物について、ディスク電気泳動法を用いて検討した結果、細胞質およびフェノラーゼにはないバンドが認められ、また、濃縮液に塩酸を加えたときに、前者には生じない沈殿物が生じたことから、複合体の生成されていることが確認された。ディスク電

* 山口大学農学部（山口市吉田 1677-1）

** 九州大学農学部（福岡市東区箱崎 6-10）

昭和 52 年 11 月 7 日受理

日本土壤肥科学雑誌 第 49 巻 第 5 号 p. 372~377 (1978)

第1表 供試ゼラチン・粘土複合体

複合体	粘土に対するゼラチンNの吸着量 (mg/g 乾物)	添加複合体のCおよびN量 (mg/100g 培地)	
		C	N
G-0*	0	73	14.0
G-1	12.5	448	144.0
G-2	19.5	658	213.0
G-3	25.2	829	266.0

* 粘土

第2表 供試微生物細胞質・粘土複合体

複合体	粘土に対する細胞質Nの吸着量 (mg/g 乾物)	添加複合体のCおよびN量 (mg/100g 培地)	
		C	N
G-0*	0	36	7.0
C-1	1.4	90	17.2
C-2	3.2	133	25.3
C-3	9.4	285	54.0

* 粘土

第3表 微生物細胞質とリグニンまたはカテコールを用いて作った複合体の調製条件*

複合体	細胞質物質		リグニンまたはカテコール (mg)	フェノラーゼ (μ g)	pH**
	液量 (ml)	N量 (mg)			
L-1	50	90	280	200	8.0
L-2	50	90	560	400	8.0
Ca-1	150	270	1680	600	8.0

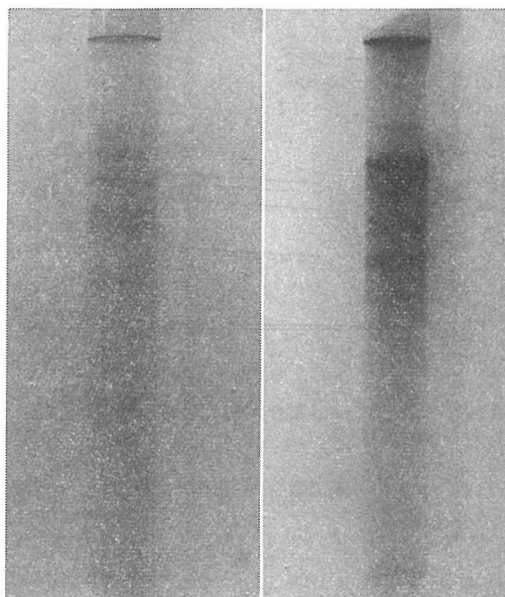
* 100 ml あるいは 200 ml 容の三角フラスコにそれぞれ採取した上記の混合液に、トルオール数滴を加え、ゴム栓をしたのち 30°C の恒温器内にて一夜振盪した。

** 0.1N KOH 溶液にて調整。

気泳動の1例を写真1に示した。以下、リグニンとの複合体を L-1, L-2, カテコールとの複合体を Ca-1 と表示する。

4) インキュベートおよび定量法

1) および 2) における粘土との複合体の場合、CO₂-C 定量用のコック付きの 500 ml 容ビン⁵⁾に海砂 9g と一定量の複合体との混合培地 (約 10g) を入れた。3) のリグニンおよびカテコールとの複合体の場合、100 ml の三角フラスコに海砂 5g を入れ、これに複合体 1 ml を加えた。それぞれに、九州大学附属農場水田土壌より調製したイノキュラムと無機栄養液⁴⁾を加え、水分を最大容水量の 60% に調整したのち、30°C の恒温器中にインキュベートした。これを対照区とする。乾燥区は 80°C で2時間乾燥処理したのち、対照区と同様にイノキュラムと無機栄養液を加え、水分含量を調整してイ



反応前の細胞質とフェノラーゼ 細胞質, カテコール, フェノラーゼの反応後の生成物
写真1 反応前の *S. cerevisiae* 細胞質物質およびカテコールと反応後の生成物のディスク電気泳動写真

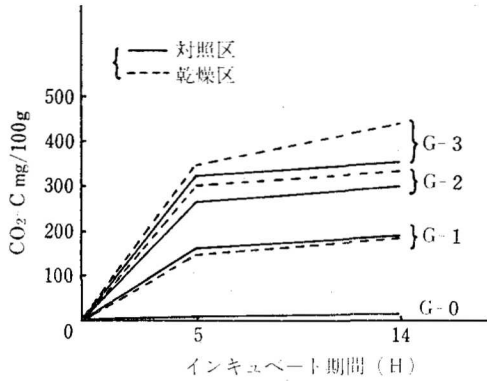
* 供試試料の5倍希釈液を用いた。

ンキュベートした。そして、インキュベート2週間に無機化された炭素あるいは窒素量を定量した。無機化したCO₂は既報⁵⁾の方法、全炭素はチューリン法¹¹⁾で、また、無機化した窒素はコンウェイの微量拡散法²¹⁾、全窒素はセミマイクロケルダール法²²⁾で定量した。なお、乾燥処理中の粘土によるNH₄⁺の固定は、本実験条件においては認められなかった。

3. 実験結果および考察

1) ゼラチン・粘土複合体の無機化に及ぼす乾燥の影響

ゼラチン・粘土複合体のインキュベート2週間の無機化と乾燥処理による無機化の促進状況を第1図に示し、複合体の無機化に及ぼす乾燥効果を第4表に示した。これによると、まず、用いた粘土 G-0 の炭素および窒素の無機化は認められたが、その量はわずかであった。また、乾燥処理による無機化促進は認められなかった。ゼラチン自身に乾燥処理の効果がないことは先に報告した⁴⁾が、本実験においても第7表に示すように認められなかった。砂培地におけるゼラチン自身の炭素無機化率は2週後78%であるのに対し、ゼラチン・粘土複合体の場合は約40%であった。このように、ゼラチン・粘土複合体の無機化は、ゼラチン自身に比著しく抑制された。第4表から複合体の無機化をみると、対照区およ



第1図 セラチン・粘土複合体の炭素の無機化に及ぼす乾燥の影響

第4表 セラチン・粘土複合体の無機化に及ぼす乾燥の影響 (C または Nmg/100g)

複合体	添加量 (1)	2週間の無機化量		乾燥効果 (3)-(2)	
		対照区 (2)	乾燥区 (3)		
C	G-0	73	18	18	0
	G-1	521	194	181	-13
	G-2	731	300	337	37
	G-3	902	352	441	89
N	G-0	14.0	0.1	0	-0.1
	G-1	144.0	72.9	68.2	-4.7
	G-2	213.0	94.5	97.7	3.2
	G-3	266.0	98.0	112.4	14.4

び乾燥区ともに粘土に対するセラチンの吸着量の多いほど、炭素および窒素の無機化量は多かった。また、乾燥処理による無機化促進の効果(乾燥効果)は、粘土に対するセラチンの吸着量が最も少ないG-1では認められなかったが、それより吸着量の多い場合は、吸着量の多いほど乾燥効果は高くなる傾向が示された。

2) 微生物細胞質・粘土複合体の無機化に及ぼす乾燥の影響

セラチンの場合と同様に、微生物細胞自身の無機化に対する乾燥効果のないことは既報⁵⁾と同様、本実験でも確かめられた。また、ここで用いた後川内の過酸化水素処理土壌については、インキュベート2週間に少量の炭素および窒素の無機化は認められるが、乾燥効果は認められないことが確かめられている⁵⁾。第5表には、培地である過酸化水素処理土壌から無機化した炭素および窒素は、それぞれ差引いた値を示した。第7表に示すように、微生物細胞自身の炭素無機化率は約86%であるのに対し、複合体の場合は平均約40%であり、微生物細胞質と粘土との複合体は無機化が著しく抑制された。ま

第5表 微生物細胞質・粘土複合体の無機化に及ぼす乾燥の影響

(C または Nmg/100g)

複合体	添加量 (1)	2週間の無機化量		乾燥効果 (3)-(2)	
		対照区 (2)	乾燥区 (3)		
C	C-1	90	41	41	0
	C-2	133	48	55	7
N	C-1	17.2	10.1	9.8	-0.3
	C-2	25.3	12.3	12.7	0.4
	C-3	54.0	23.5	24.5	1.0

た、第5表に明らかなように、微生物細胞質・粘土複合体の無機化はセラチンの場合と同様に、粘土に対する微生物細胞質の吸着量が多いほど、炭素および窒素の無機化量は多く、乾燥効果も高い傾向が認められた。微生物細胞質の吸着量の少ないC-1は乾燥効果がほとんど認められなかった。なお、1)および2)において乾燥効果の割合が炭素と窒素で異なり、炭素の場合に高い値が得られたが、これは、窒素の場合、一旦無機化した窒素の一部が分解菌に吸収利用されて再有機化されるためであろうと推察される。

3) 微生物細胞質・リグニン、微生物細胞質・カテコール複合体の無機化に及ぼす乾燥の影響

第6表に、微生物細胞質・リグニン、微生物細胞質・カテコール複合体の窒素の無機化に及ぼす乾燥効果を示した。インキュベート2週間の複合体の無機化率は、第7表に示すように、リグニンおよびカテコールのいずれの場合も著しく低く、その無機化率は前者との複合体の場合平均約22%、後者との複合体の場合約15%であった。そして、微生物細胞質とリグニンまたはカテコールとの複合体の無機化率は、粘土との複合体の場合よりもさらに約30~40%低かった。このことは、微生物細胞質との複合体の性質は生成条件によってかなり異なり、いちがいにはいえないが、おそらくリグニンやカテコールと複合体を作る場合には、粘土との複合体に比べてその無機化がより抑制されることを示唆するものと思われる。

第6表 微生物細胞質とリグニンまたはカテコールとの複合体の無機化に及ぼす乾燥の影響

(Nmg/100g)

複合体	添加量 (1)	2週間の無機化量		乾燥効果 (3)-(2)
		対照区 (2)	乾燥区 (3)	
L-1	33.2	8.4	9.6	1.2
L-2	27.9	5.0	5.6	0.6
Ca-1	21.2	3.2	3.4	0.2

る。

乾燥効果はいずれの複合体でも認められた。また、リグニンとの複合体の場合には、粘土の場合と同様に、リグニンに対する微生物細胞質の量が相対的に多い方(L-1)が無機化量、乾燥効果ともに高かった(第6表)。

4) 土壌の易分解性有機物に対するこれら複合体の寄与について

第7表に、ゼラチン、微生物細胞質およびそれらの複合体の無機化率と乾燥効果の割合をまとめて示した。先に述べた結果と併せて、土壌の易分解性有機物に対するこれら複合体の寄与について考察すると以下のとおりである。

土壌に動植物遺体のタンパク質が添加されたり、また、その分解に関与した微生物体由来する細胞質物質が存在すると、それらは速やかに土壌微生物による分解作用を受け、2週間で炭素の78~86%が無機化される。しかしながら、これらの本来分解されやすい物質が微生物分解を受ける前に、土壌中の粘土やリグニンあるいはポリフェノールなどの無機有機のコロイドに吸着あるいは結合されて一種の複合体を形成すれば、その無機化は著しく抑制されて約40~60%のものが土壌中に残留する。これら残留したものは土壌中でゆっくりと無機化されるものと思われるが、土壌が一旦乾燥したのち湿潤状態に戻れば、その一部の無機化が促進され、いわゆる土壌の易分解性有機物の給源になることが示唆される。その際、複合体を形成するタンパク質や微生物細胞質物質

と無機あるいは有機のコロイド物質との吸着または結合の量比によって複合体の微生物分解性は異なり、コロイド物質に対するタンパク質あるいは微生物細胞質物質の吸着量の多いほど、無機化量および乾燥効果の高い傾向が認められる。一方、コロイド物質に対するこれら有機物の吸着量の少ない場合には、乾燥効果はゼロあるいはマイナスとなる。このように、複合体中のタンパク質あるいは細胞質物質と無機あるいは有機のコロイド物質との量比関係によって、複合体の無機化ならびに無機化に及ぼす乾燥効果が異なる機作については今後の検討を要する。

JENKINSON ら²³⁾は土壌および堆肥から ligno-protein を分離した。その後、SIMONART ら²⁴⁾によって腐植酸からタンパク質が単離され、それが humo-protein の形で土壌中に存在することが示された。また、PINCK ら¹⁷⁾、ENSMINGER ら¹⁵⁾および ESTERMAN ら¹⁹⁾は、タンパク質と粘土あるいはリグニンとの複合体は土壌中での無機化が抑制されることを報告し、BIRCH²⁰⁾はモンモリロナイトとゼラチンを用いた実験で、粘土・タンパク質複合体のタンパク質が可分解性に変わることを報告している。原田²⁵⁾は、土壌のいわゆる易分解性有機物は膠質複合体として存在しており、その給源はタンパク様物質あるいはタンパク質の分解中間産物であろうと推察している。そして、土壌の膠質群がタンパク質の無機化を抑制することを示し、この分解抑制によって、土壌中に蓄積されたタンパク質は易分解性有機物の給源になるだろうと推察している。また、著者ら^{7,26,27)}は、易分解性有機物の大部分は土壌のコロイド画分に存在しており、易分解性有機態窒素の主要なものはアミノ酸態およびアミノ糖態窒素であって、微生物体由来のものが多いことを推察した。

本報における実験の範囲内では、複合体の形成によりその無機化が抑制される程度は、粘土よりもリグニンあるいはカテコールとの複合体形成の場合に大きく、また、乾燥効果による複合体の窒素の無機化促進も、リグニン、カテコールの場合に大きいことが示唆された。

粘土とリグニンが共存するときの影響については、以

第7表 セラチン、微生物細胞質およびそれら複合体の無機化率と乾燥効果の割合 (%)

C または N	複合体	2週間の無機化率		乾燥効果の割合 (2)-(1)	
		対照区 (1)	乾燥区 (2)		
ゼラチン	C	78.0	74.0	-4.0	
ゼラチン・粘土複合体	C	G-1	37.2	34.7	-2.5
		G-2	41.0	46.1	+5.1
		G-3	39.0	48.9	+9.9
	N	G-1	50.6	47.4	-3.2
		G-2	44.4	45.9	+1.5
		G-3	36.8	42.3	+5.5
細胞質	C	85.7	82.0	-3.7	
細胞質・粘土複合体	C	C-1	45.6	45.6	0
		C-2	36.1	41.4	+5.3
		C-3	58.7	57.0	-1.7
	N	C-1	48.6	50.2	+1.6
		C-2	43.5	45.4	+1.9
		C-3	25.3	28.9	+3.6
細胞質・リグニン、細胞質・カテコール複合体	N	L-1	17.9	20.1	+2.2
		L-2	15.1	16.0	+0.9
		Ca-1			

第8表 A. niger の培養液組成

グルコース	30.0 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	1.55 g
KH ₂ PO ₄	0.088 g
K ₂ HPO ₄	1.168 g
MgSO ₄ ·7 H ₂ O	0.5 g
FeSO ₄ ·7 H ₂ O	0.01 g
蒸留水	1 l
pH	6.5

第 9 表 *A. niger* 代謝産物と粘土またはリグニン・粘土との複合体の無機化に及ぼす乾燥の影響

複 合 体	添 加 量 (1)	2 週間の無機化量		乾燥効果 (3)-(2)	乾燥効果の割合 $\frac{(3)-(2)}{(1)} \times 100$ (%)
		対照区 (2) (Nmg/100 g)	乾燥区 (3)		
粘 土*	10.8	0.1	0	-0.1	—
代謝産物・粘土 複 合 体	35.9	16.0 (44.6)**	18.4 (51.3)	2.4	6.7
代謝産物・リグニン・粘土 複 合 体	40.0	15.8 (39.5)	18.6 (46.5)	2.8	7.0

* 複合体中の粘土に相当する量を砂と混合したもの。

** () 内の数値は無機化率 (%) を示す。

下に述べるような室内モデル実験を行ない、若干の検討を加えた。500 ml 容振盪培養ビンに、第 8 表に示す培養液 50 ml を入れ、*Aspergillus niger* を接種し 1 カ月間培養した。培養後遠沈し、菌体部分を除いた *A. niger* 分解代謝産物溶液 50 ml に対し、長野のモンモリロナイト粘土 10 g を添加混合した。この際の混合液中の pH は 6.5~7.0 であった。2 時間往復振盪後に形成された *A. niger* 分解代謝産物・粘土複合体を集めたのち、蒸留水で洗浄した。別に、*A. niger* 振盪培養後 1 週目にリグニン粉末 500 mg を添加し、培養を続けた。1 カ月後、上記と同様の方法で、*A. niger* 分解代謝産物・リグニン・粘土複合体を調製した。これら湿潤状態の複合体 2 g を 9 g の海砂と混合し、前述と同様の実験条件 (実験方法の 1) あるいは 2) 参照) で 2 週間インキュベートした。その結果を示したのが第 9 表である。これによると、対照区の複合体の窒素無機化率は *A. niger* 代謝産物・粘土複合体よりも、*A. niger* 代謝産物・リグニン・粘土複合体の方が低かった。乾燥区の場合、わずかながら同様の傾向が認められたが、いずれの複合体も対照区より無機化量は多く、乾燥効果が認められた。そして、乾燥効果の割合は後者の方がいくぶん高かった。このことは、複合体の形成に際し、リグニンが共存するときにできた複合体は、粘土のみの場合に比べてその無機化はより抑制されるが、乾燥処理によって無機化が促進される部分が多いことを示唆するものと考えられる。

最近、VERMA ら²⁹⁾は、ポリフェノール化合物を用いて調製した藻類の細胞質と細胞壁の複合体の無機化が著しく抑制されることを報告している。著者らも、リグニン共存下で調製した菌体分解残渣 (その主体は細胞壁部分であると推察される) の複合体の無機化は抑制されるが、乾燥前処理によりその無機化が促進されるという結果を得ている。これらのことは、リグニンやポリフェノール化合物は、微生物菌体分解残渣や細胞質の無機化や複合体の形成に著しい影響を及ぼし、それらの土壤中における集積と分解に大きく関与していることを示唆して

いる。

複合体の形成される条件と無機化の難易などについては、まだ不明な点が多く、今後の検討課題である。

4. 要 約

タンパク質や微生物細胞質物質を用いて、粘土やリグニンなどの無機および有機コロイドとの複合体を人工的に調製し、その無機化と無機化促進に及ぼす乾燥処理の影響について検討し、以下の結果を得た。

- 1) ゼラチンおよび微生物細胞質物質は粘土と複合体を形成すると、その無機化が大きく抑制されるが、乾燥-湿潤処理を受けるとその無機化が促進された。
- 2) 微生物細胞質物質とリグニンまたはカテコール、あるいは微生物代謝産物と粘土およびリグニンとの複合体についても 1) と同様の傾向が認められた。
- 3) これら複合体の無機化とその無機化促進に及ぼす乾燥効果は、複合体中の無機あるいは有機のコロイドと有機物との量比に影響され、コロイドに対する有機物の割合が高いほど、乾燥効果は大きい傾向が得られた。
- 4) 以上の結果より、タンパク質や微生物細胞質物質などの本来分解されやすい有機物であっても、微生物分解を受ける前に土壤中の無機や有機のコロイドと結合して複合体を形成すれば、その無機化が抑制されて土壤中に残留集積するが、土壤に乾燥-湿潤処理が加わると、その無機化が促進されることが推察された。すなわち、これらの複合体は土壤の易分解性有機物の給源となることが示唆された。

謝 辞 本実験を行なうにあたり御指導たまわった、故九州大学名誉教授原田登五郎博士に謹んで深謝する。また、親切なる御助言をいただいた、九州大学山田芳雄教授に感謝の意を表する。

文 献

- 1) KAI, H., AHMAD, Z. and HARADA, T.: Factors Affecting Immobilization and Release of Nitrogen in

- Soil and Chemical Characteristics of the Nitrogen Newly Immobilized, III. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 19, 275~286 (1973)
- 2) AHMAD, Z., YAHIRO, Y., KAI, H. and HARADA, T.: Factors Affecting Immobilization and Release of Nitrogen in Soil and Chemical Characteristics of the Nitrogen Newly Immobilized, IV. *ibid.*, 19, 287~298 (1973)
 - 3) 丸本卓哉・古川謙介・吉田 堯・甲斐秀昭・山田芳雄・原田登五郎：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），土肥誌，45，23~28（1974）
 - 4) 丸本卓哉・甲斐秀昭・吉田 堯・原田登五郎：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2報），土肥誌，45，239~246（1974）
 - 5) 丸本卓哉・甲斐秀昭・吉田 堯・原田登五郎：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3報），土肥誌，45，332~340（1974）
 - 6) 丸本卓哉・甲斐秀昭・吉田 堯・原田登五郎：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4報），土肥誌，45，395~402（1974）
 - 7) 甲斐秀昭・河口定生・丸本卓哉：D-アミノ酸の土壤中分布とその土壤窒素代謝における意義，土と微生物，18，27~41（1976）
 - 8) WAKSMAN, S. A. and IYER, K. R. N.: Contribution to Our Knowledge of the Chemical Nature and Origin of Humus, I. *Soil Sci.*, 34, 43~69 (1932)
 - 9) WAKSMAN, S. A. and IYER, K. R. N.: Contribution to Our Knowledge of the Chemical Nature and Origin of Humus, II. *ibid.*, 34, 71~79 (1932)
 - 10) WAKSMAN, S. A. and IYER, K. R. N.: Contribution to Our Knowledge of the Chemical Nature and Origin of Humus, IV. *ibid.*, 36, 69~82 (1933)
 - 11) コノノワ, M. M. 著・菅野一郎他訳：土壤有機物，新科学文献研究会，米子（1966）
 - 12) FLAIG, W., BEUTELSPACHER, H. and RIETZ, E.: Chemical Composition and Physical Properties of Humic Substances, Soil Components, Vol. 1, Organic Components, ed. J. E. GIESEKING, p. 4~211, Springer-Verlag, Berlin (1975)
 - 13) HAIDER, K., FREDERICK, L. R. and FLAIG, W.: Reactions between Amino Acid Compounds and Phenols during Oxidation. *Plant Soil*, 22, 49~64 (1965)
 - 14) MARTIN, J. P., RICHARDS, S. J. and HAIDER, K.: Properties and Decomposition and Binding Action in Soil of "Humic Acid" Synthesized by *Epicoccum nigrum*. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 31, 657~662 (1967)
 - 15) HAIDER, K. and MARTIN, J. P.: Synthesis and Transformation of Phenolic Compounds by *Epicoccum nigrum* in Relation to Humic Acid Formation. *Soil. Sci. Soc. Am. Proc.*, 31, 766~772 (1967)
 - 16) BONDIETTI, E., MARTIN, J. P. and HAIDER, K.: Stabilization of Amino Sugar Units in Humic-Type Polymers. *ibid.*, 36, 597~602 (1972)
 - 17) PINCK, L. A., DYAL, R. S. and ALLISON, F. E.: Protein-Montmorillonite Complexes, Their Preparation and the Effects of Soil Microorganisms on Their Decomposition. *Soil Sci.*, 78, 109~118 (1954)
 - 18) ENSMINGER, L. E. and GIESEKING, J. E.: Resistance of Clay-adsorbed Proteins to Proteolytic Hydrolysis. *ibid.*, 53, 205~210 (1942)
 - 19) ESTERMAN, E. F., PETERSON, G. H. and McLAREN, A. D.: Digestion of Clay-Protein, Lignin-Protein and Silica-Protein Complexes by Enzymes and Bacteria. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 23, 31~36 (1959)
 - 20) BIRCH, H. F.: The Effect of Soil Drying on Humus Decomposition and Nitrogen Availability. *Plant Soil*, 10, 9~31 (1958)
 - 21) 甲斐秀昭・原田登五郎：Devarda 合金を還元剤とする Conway の微量拡散分析法による硝酸態窒素の定量，九大農芸誌，26，61~66（1972）
 - 22) 石沢修一他：土壤養分分析法，p. 171~176，養賢堂，東京（1970）
 - 23) JENKINSON, D. S. and TINSLEY, J.: A Comparison of the Ligno-Protein Isolated from a Mineral Soil and from a Straw Compost. *Sci. Proc.*, p. 141~147, A Royal Dublin Soc. (1960)
 - 24) SIMONART, P., BATISTIC, L. and MAYAUDON, J.: Isolation of Protein from Humic Acid Extracted from Soil. *Plant Soil*, 27, 153~161 (1967)
 - 25) 原田登五郎：水田土壤の有機態窒素の無機化とその機構に関する研究，農技研報，B 9，123~199（1959）
 - 26) 丸本卓哉・進藤晴夫・東 俊雄：土壤の易分解性有機物に対するコロイド画分中の窒素の寄与とその組成について，土肥誌，49，111~115（1977）
 - 27) 久保研一・渡辺弘道・甲斐秀昭・山田芳雄：易分解性有機物と土壤膠質物画分との関係について，土肥要旨集，23，100（1977）
 - 28) VERMA, L. and MARTIN, J. P.: Decomposition of Algal Cells and Components and Their Stabilization through Complexing with Model Humic Acid-Type Phenolic Polymers. *Soil Biol. Biochem.*, 8, 85~90 (1976)