

# キャピラリー電気泳動法による ダイズ根粒レグヘモグロビン成分の定量

佐藤 孝\*・西脇俊和\*\*・大竹憲邦\*・大山卓爾\*

**キーワード** キャピラリー電気泳動法, ダイズ, 根粒, レグヘモグロビン

## 1. はじめに

マメ科植物は根に根粒菌との共生器官である根粒を形成し、大気中の分子状窒素をアンモニアに固定して利用することができる。根粒中央に位置する感染域内の感染細胞には赤色のタンパク質であるレグヘモグロビン (Lb) が存在し、酸素と結合 ( $\text{LbO}_2$ ) して共生状態の根粒菌 (バクテロイド) へ呼吸に必要な酸素を効率良く供給するとともに、感染域内を低酸素分圧に保ち、酸素によるニトログナーゼの失活を防ぐ役割を果たしている<sup>1~3)</sup>。ダイズの根粒中の Lb は Native-PAGE により Lba, Lbc の 2 本のバンドに分離することができる。Lba は単一成分であるが、Lbc は等電点電気泳動によりさらに 3 本のバンドに分離され、 $\text{Lbc}_1$ ,  $\text{Lbc}_2$ ,  $\text{Lbc}_3$  の 3 成分が含まれている<sup>4)</sup>。これらダイズ Lb の 4 つの成分は異なる遺伝子にコードされているが、いずれも分子量約 15 kD の单量体でアミノ酸配列もわずかしか違わない<sup>5)</sup>。Lb のヘム鉄は二価 ( $\text{Fe}^{2+}$ ) または三価 ( $\text{Fe}^{3+}$ ) の状態をとることがあり、二価鉄を含む ferrous Lb が酸素結合活性を持っている。さらに根粒内の Lb は酸素結合型 ( $\text{LbO}_2$ ) と非結合型、ニコチン酸や酢酸と結合する等、多様な形態で存在している可能性がある<sup>6)</sup>。根粒中の Lb 含有量や成分比は植物の齢、品種、生育条件、また根粒の粒径などによって変化する可能性があるため、各 Lb 成分濃度を正確に測定することは根粒形成と窒素固定の研究において重要である。一般に全 Lb 含有量の測定にはピリジンヘモクロム法<sup>6)</sup>が使われており、また、Lb を Native-PAGE で分離後、泳動バンドをデンシトメーターで測定することにより Lba と Lbc を分離定量することができる<sup>7)</sup>。しかし、これらの方法では  $\text{Lbc}_1$ ,

$\text{Lbc}_2$ ,  $\text{Lbc}_3$  を含む 4 成分を分離測定することはできない。

近年、分離能ならびに操作性の高いキャピラリー電気泳動装置 (CE) が開発され、核酸<sup>8)</sup>、タンパク質<sup>9)</sup>、糖質<sup>10)</sup> 等の分析に応用されつつある。CE とはフューズドシリカ管等のキャピラリー内に緩衝液を満たし、その中で試料の電気泳動を行い、各種成分の電気的性質や分子サイズ等の違いによる泳動速度の違いにより分離測定する装置である<sup>11)</sup>。

本報ではダイズ根粒中から Lb を抽出後、粗精製した試料中の Lb 各成分を CE を用いて定量する方法、ならびにその方法を用いて測定した Lb 成分含有量の品種間差について検討した結果を報告する。

## 2. 材料および実験方法

### 1) 実験材料ならびに栽培条件

実験材料としてダイズ品種 Williams, エンレイ, T 202 を用いた。0.7 L L<sup>-1</sup> エタノールと次亜塩素酸ナトリウム希釈溶液 (有効塩素 100 g L<sup>-1</sup> 未満の次亜塩素酸ナトリウム溶液を 20 倍希釈した溶液) で種子を滅菌し、洗浄した後に根粒菌 (*Bradyrhizobium japonicum* USDA 110) を接種してバーミキュライトに播種した。人工気象装置 (BIOPHOTOCHAMBER LX 3000 TAITEC) 内で、昼 25°C 16 時間、夜 18°C 8 時間の条件で栽培し、播種後 10 日目に上部にバーミキュライト、下部に培養液を満たした二段重ねの栽培ポットに移植した。同条件で 30 日間栽培し、バーミキュライト中の根に着生した粒径 3 mm から 5 mm の根粒を採取して、直ちに液体窒素中で凍結した後、凍結乾燥を行った。

### 2) レグヘモグロビンの抽出方法

1.8 mL 容マイクロ遠心管に凍結乾燥したダイズ根粒の粉末 20 mg を取り、0.1 M リン酸カリウム緩衝液 (pH 6.8) を 1 mL 加え、ボルテクスミキサーでよく攪拌した。凍結、融解を 3 回繰り返した後に、12 000 rpm で 15 分間遠心分離した上澄液を Lb 抽出液とした。

\* 新潟大学農学部 (950-21 新潟市五十嵐 2-8050)

\*\* 同上 (現在、新潟県食品研究所 959-13 加茂市新栄町 2-25)

1996 年 10 月 17 日 受付・受理

日本土壤肥料雑誌 第 68 卷 第 5 号 p. 521~526 (1997)

### 3) レグヘモグロビン抽出液の粗精製

Lb 抽出液をそのまま CE で泳動すると Lb 以外のタンパク質等の影響でバックグラウンドノイズが高くなり、また Lb 成分の分離能が低下するため、Lb 抽出液の粗精製を行った。フィルター付遠沈管（みずぶとりくんカップ、ATTO）に、10 mM リン酸カリウム緩衝液 (pH 6.8) で平衡化したヒドロキシアバタイト（ファーストフロータイプ、和光純薬）をカップの4分の1程度（約 200  $\mu$ L）充填し、Lb 抽出液 50  $\mu$ L および 10 mM リン酸カリウム緩衝液 (pH 6.8) 50  $\mu$ L を注入してよく攪拌した。30 分静置後、5 000 rpm で 10 分間遠心分離し、溶離液を回収した。ヒドロキシアバタイト充填カラムに再び 10 mM リン酸カリウム緩衝液 (pH 6.8) を 50  $\mu$ L 注入して攪拌した後に、同様に遠心分離した溶出液を前の溶出液と合わせて粗精製液とした。

### 4) キャピラリー電気泳動分析のための試料調整

粗精製液中に各種の形態で存在する全ての Lb を  $Fe^{3+}$  ニコチン酸結合型に変換するために、粗精製液 25  $\mu$ L にフェリシアン化カリウム・ニコチン酸溶液（フェリシアン化カリウム 10 mg、ニコチン酸 10 mg を 0.1 M リン酸カリウム緩衝液 (pH 6.8) 1 mL に溶解したもの）を 5  $\mu$ L 添加した。さらに 2 g L<sup>-1</sup> アジ化ナトリウム水溶液 20  $\mu$ L を加え、混合して CE 分析試料とした。

### 5) キャピラリー電気泳動法によるダイズレグヘモグロビン各成分の分析条件

キャピラリー電気泳動装置は Quanta 4000 E (Waters) を使用した。キャピラリーには長さ 100 cm、内径 75  $\mu$ m のフェーズドシリカ管を用い、泳動用緩衝液として 75 mM リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 2.0) を使用した。試料注入は落差法で 90 秒間注入し、電極は試料側を陽極、検出器側を陰極にして、印加電圧 25 kV で 45 分間泳動した。分析中はキャピラリーの温度を 20°C に維持し、検出は波長 185 nm における吸光度を測定した。キャピラリー内を洗浄するために、試料の分析ごとに 0.1 M 水酸化ナトリウム溶液、純水、泳動緩衝液の順に各 3 分間ずつ吸引して、キャピラリー内壁に付着したタンパク等の不純物を除去した。

### 6) レグヘモグロビン成分の精製とキャピラリー電気泳動分析における各成分ピークの同定

水耕栽培したダイズの根粒（生体重約 30 g）から、硫安分画（55~80%飽和）、Sephadex G-15（ファルマシア）によるゲルろ過、DEAE-Sephacel（ファルマシア）によるイオン交換クロマトグラフィーを用いて Lb の精製を行い、Lba と Lbc の画分を分取した<sup>7)</sup>。Lba、Lbc に相当する溶出液の画分を用いて等電点電気泳動

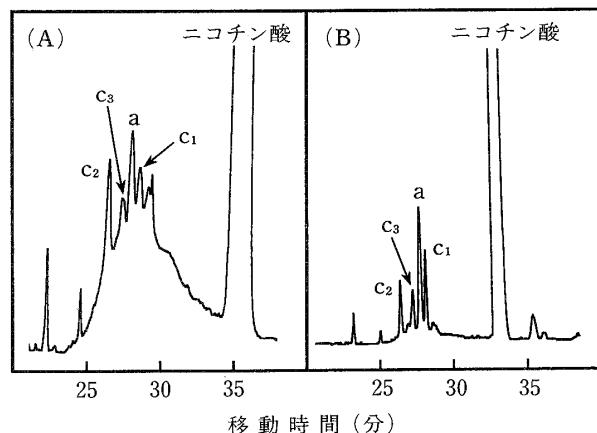
(IEF-PAGE) を行った。Lba, Lbc<sub>1</sub>, Lbc<sub>2</sub>, Lbc<sub>3</sub> を含む 4 本のバンドをゲルから切り取り、核酸蛋白回収器（マックスイールド、ATTO）を用いてゲルからタンパク質を抽出した後、それぞれ CE で測定した。

### 3. 結果および考察

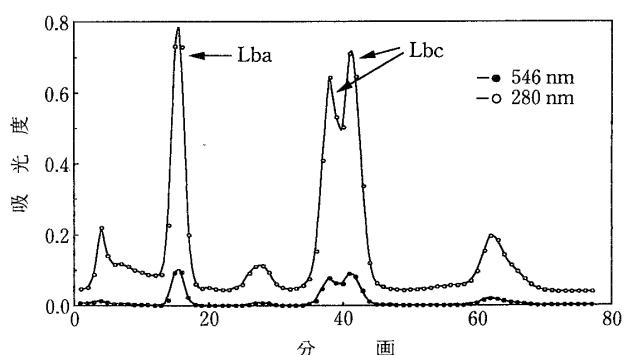
#### 1) キャピラリー電気泳動分析におけるレグヘモグロビン各成分のピークの同定

ダイズ根粒抽出液を直接上記の条件で測定すると第 1 図-A のようなチャートが得られた。移動時間 20~30 分前後にいくつかのピークが確認された。移動時間 35 分の最大ピークは試料に添加したニコチン酸である。ここで移動時間 25~35 分付近のベースラインは緩やかに上昇した後に下降し、各ピークのベースライン位置の判定が困難であった。

ダイズ根粒から抽出したタンパク質の DEAE-



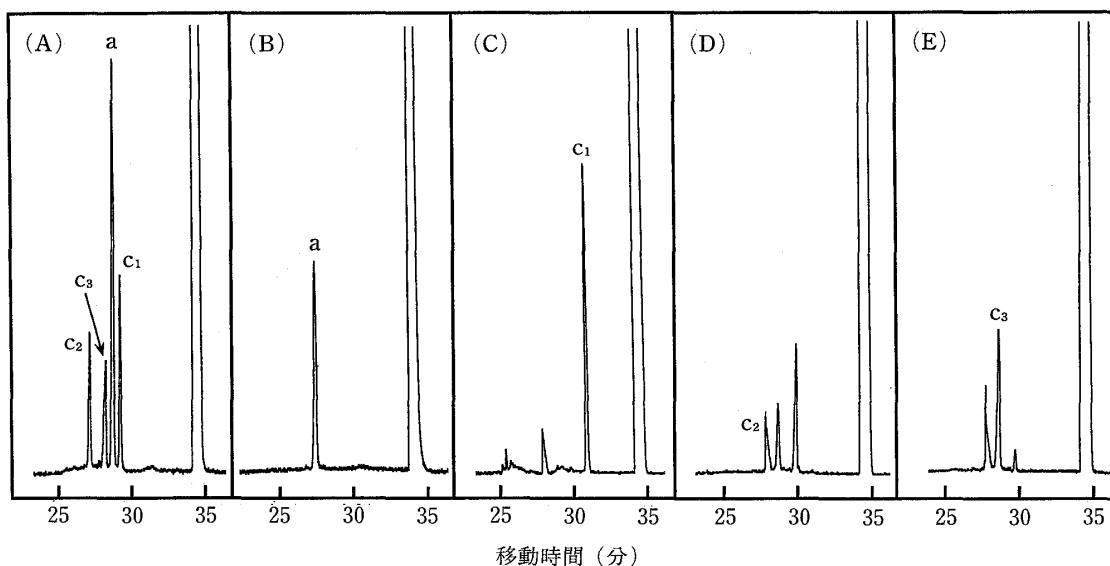
第1図 Lb 抽出液および粗精製液 CE チャート  
キャピラリー：フェーズドシリカ素管（内径 75  $\mu$ m、全長 100 cm）、泳動液：75 mM リン酸緩衝液 (pH 2.0)、印加電圧：25 kV、試料注入：落差法 90 秒、検出：紫外部吸収 (185 nm)。  
(A) Lb 抽出液 (B) 粗精製液。a : Lba, c<sub>1</sub> : Lbc<sub>1</sub>, c<sub>2</sub> : Lbc<sub>2</sub>, c<sub>3</sub> : Lbc<sub>3</sub>。



第2図 イオン交換クロマトグラフィー (DEAE-Sephacel) による Lb の溶出パターン

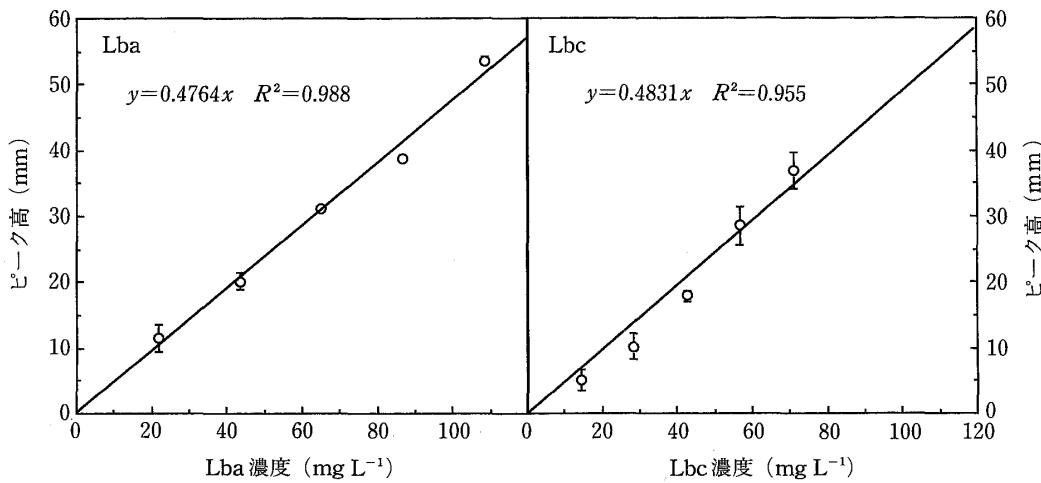
Sephacel によるイオン交換クロマトグラフィーの溶出パターンを第2図に示す。Lba と Lbc は完全に分離することができたが、Lbc 各成分は分離分画することはできなかった。精製した Lba と Lbc を混合して CE で分析した結果を第3図-A に示す。図のように 4 本のピークが確認され、それぞれが Lba, Lbc<sub>1</sub>, Lbc<sub>2</sub>, Lbc<sub>3</sub> のいずれかに相当するピークであると推察した。IEF-PAGE の Lba, Lbc<sub>1</sub>, Lbc<sub>2</sub>, Lbc<sub>3</sub>、各バンドを含むゲルから抽出した試料をそれぞれ泳動した結果を第3図-B, C, D, E に示す。Lba, Lbc<sub>1</sub> はほぼ单一ピーク

を示したことから、Lba, Lbc<sub>1</sub> のピークであることが確認された。Lbc<sub>2</sub>, Lbc<sub>3</sub> バンドを含むゲルより抽出した試料は、IEF-PAGE による分離が不完全でピークがそれぞれ 3 本存在した。しかし Lbc<sub>3</sub> のバンドから抽出した試料は、3 本のうち中央のピークが他のピークよりも高くなっていたことから（第3図-E），中央のピークが Lbc<sub>3</sub>，左のピークが Lbc<sub>2</sub> であると考えられた。したがって本分析条件では Lb 各成分のピークは移動時間の速い順に Lbc<sub>2</sub>, Lbc<sub>3</sub>, Lba, Lbc<sub>1</sub> であると判断された（第3図-A）。



第3図 CE 分析チャート

キャビラリー：フューズドシリカ素管（内径 75 μm, 全長 100 cm), 泳動液：75 mM リン酸緩衝液 (pH 2.0), 印加電圧：25 kV, 試料注入：落差法 90 秒, 検出：紫外外部吸収 (185 nm). (A) Lb 精製液 (B) IEF-PAGE Lba バンド抽出液, (C) IEF-PAGE Lbc<sub>1</sub> バンド抽出液, (D) IEF-PAGE Lbc<sub>2</sub> バンド抽出液, (E) IEF-PAGE Lbc<sub>3</sub> バンド抽出液. a : Lba, c<sub>1</sub> : Lbc<sub>1</sub>, c<sub>2</sub> : Lbc<sub>2</sub>, c<sub>3</sub> : Lbc<sub>3</sub>.



第4図 Lb 濃度とピーク高の関係

## 2) Lba を標準試料に用いるレグヘモグロビン成分の定量法

精製したLba ( $542 \text{ mg L}^{-1}$ ) とLbc ( $356 \text{ mg L}^{-1}$ ) を段階的に希釈して検量線を作成した。第4図にLbaとLbcの濃度とピーク高の関係を示す。試料溶液のLb濃度と対応するピーク高には高い相関が認められた。ピークの積分値を利用することも検討したが、ピーク高と比較してばらつきが大きく、また相関係数も低くなる傾向にあったので、ピーク高を利用する方が、正確であると判断した。さらに希釈をすすめた溶液を測定した結果、検出感度の限界は約 $3 \text{ mg L}^{-1}$ であった。またLbaとLbcのピーク高を比較したところLbaは $10 \text{ mg L}^{-1}$ 当たり平均 $5.04 \text{ mm}$ 、Lbcは平均 $4.96 \text{ mm}$ であり、Lb成分濃度当たりのピーク高は同様であることが確かめられた。したがって、精製が容易なLbaを標準試料としてLbc<sub>1</sub>、Lbc<sub>2</sub>、Lbc<sub>3</sub>の定量を行った。

分析試料の量が少なく長時間に及ぶ場合には、試料溶液の蒸発量などが問題になることもあるので、試料調整時に添加するニコチン酸を内部標準として利用してもよい。ただし、試料の蒸発による誤差を検討した結果、試料溶液が $50 \mu\text{L}$ 以上あれば24時間以内の測定においては、蒸発による液量の減少で生じる誤差は無視できた。

## 3) キャピラリー電気泳動分析のためのレグヘモグロビン粗精製法

第1図-Aに示すように根粒抽出液をそのままCEで分析すると、バックグラウンドノイズが高くなりベースラインの判定が困難であった。そこで方法3)に示したヒドロキシアパタイトミニカラムを用いた一段階の簡易な粗精製法を用いてバックグラウンドノイズを除去した。粗精製した抽出液の分析例を第1図-Bに示す。本精製法により、バックグラウンドノイズによるベースラインの変化が小さくなり、ピーク相互の分離能も向上した。また、粗精製による回収率を検討した結果、Lbのほぼ全量が回収できることが確認された。

## 4) キャピラリー電気泳動法によるダイズ3品種のレグヘモグロビン成分濃度の測定結果

上述の方法でダイズ品種エンレイ、Williams、T 202における根粒のLb成分濃度を測定した結果を第1表に示す。全Lb濃度はエンレイが最も高く、他品種の2倍以上の値を示した。各Lb成分を比較すると、エンレイではLbaが半分近くを占め、つづいてLbc<sub>1</sub>、Lbc<sub>2</sub>、Lbc<sub>3</sub>の順に減少した。一方、WilliamsとT 202においてはLbaの割合は40%未満にとどまり、Lbc各成分濃度についても、Lbc<sub>1</sub>よりもLbc<sub>2</sub>の方が高い値を示し、エンレイの根粒におけるLb成分比とは異なっていた。

第1表 レグヘモグロビン濃度の品種間差

品種	レグヘモグロビン濃度 ( $\text{g kg}^{-1}$ )				
	a	c <sub>1</sub>	c <sub>2</sub>	c <sub>3</sub>	合計
Williams	3.80	1.94	3.30	1.81	10.85
エンレイ	10.99	5.43	4.40	2.80	23.62
T 202	4.64	2.38	2.71	2.02	11.75

品種	成分比 (%)			c/a 比*	
	a	c <sub>1</sub>	c <sub>2</sub>		
Williams	35.02	17.88	30.41	16.68	1.86
エンレイ	46.53	22.99	18.63	11.85	1.15
T 202	39.49	20.26	23.06	17.19	1.53

\* c/a 比 : Lbc (Lbc<sub>1</sub>, Lbc<sub>2</sub>, Lbc<sub>3</sub> の合計) と Lba の比率。

さらに、WilliamsではLbc<sub>2</sub>の割合が比較的高くLbaと同程度含まれていた。T 202においてはLbc<sub>1</sub>、Lbc<sub>2</sub>、Lbc<sub>3</sub>の成分濃度にあまり差はなかった。Lbc/Lba成分比はWilliamsが最も高く、次いでT 202、エンレイの順となり、3品種間で類似した値は得られなかった。このようにLb濃度および成分比は品種により差がある可能性が示唆されたが、この違いは遺伝的形質によるのか、もしくは環境要因や根粒の生理的状態などの差異によるのかは、今後検討すべき課題である。

以上のようにダイズレグヘモグロビンの4種の成分であるLba、Lbc<sub>1</sub>、Lbc<sub>2</sub>、Lbc<sub>3</sub>のキャピラリー電気泳動法による定量方法を確立した。キャピラリー電気泳動は分析試料の量が約 $3 \mu\text{L}$ であるので、微量な試料でも測定が可能である。また、プログラムを入力しさえすればキャピラリーの洗浄、緩衝液の注入、試料の注入、電気泳動が自動的に行われる所以、非常に簡便である。

キャピラリー電気泳動装置はLb各成分の迅速かつ精度の高い測定を可能にした。CEは分離能が良いためLbに限らず、各種タンパク質の分離定量に有効な分析法である。

## 4. 要 約

分子量とアミノ酸組成が類似しているダイズ根粒レグヘモグロビン(Lb)の4つの成分(Lba、Lbc<sub>1</sub>、Lbc<sub>2</sub>、Lbc<sub>3</sub>)のキャピラリー電気泳動法による定量方法を検討し、3品種のダイズにおけるLb成分含有量と存在割合を比較した。

根粒の凍結乾燥試料粉末 $20 \text{ mg}$ を $1 \text{ mL}$ の $0.1 \text{ M}$ リン酸カリウム緩衝液(pH 6.8)で抽出した。夾雑物質を除去するために、ヒドロキシアパタイトのミニカラムで粗精製を行った。粗精製液 $25 \mu\text{L}$ にフェリシアン化

カリウム・ニコチン酸溶液を  $5 \mu\text{L}$  と  $2 \text{ g L}^{-1}$  アジ化ナトリウム溶液  $20 \mu\text{L}$  を加え分析に供した。キャピラリー電気泳動分析では、キャピラリーは長さ  $100 \text{ cm}$ 、内径  $75 \mu\text{m}$  のフェーズドシリカ管を用いた。電気泳動用緩衝液は、 $75 \text{ mM}$  リン酸緩衝液 ( $\text{pH } 2.0$ ) を用い、印加電圧  $25 \text{ kV}$ 、温度  $20^\circ\text{C}$  の条件で泳動し、 $185 \text{ nm}$  の吸光度を検出した。

上記の条件で分析した結果、ダイズ根粒のレグヘモグロビンの各成分は完全に分離できた。精製したレグヘモグロビンを用いて、ピークの同定を行ったところ、移動時間の早い順に、 $\text{Lbc}_2$ ,  $\text{Lbc}_3$ ,  $\text{Lba}$ ,  $\text{Lbc}_1$  が溶出した。また、ヒドロキシアパタイトにより夾雜成分が除去されバックグラウンドノイズが減少した。さらに、等濃度の  $\text{Lba}$  と  $\text{Lbc}$  では吸光度に差がないことから、定量の標準物質としては、精製した  $\text{Lba}$  を使用した。

播種後  $40$  日目のダイズ品種、Williams, エンレイ, T 202 の根粒 (粒径  $3\sim 5 \text{ mm}$ ) のレグヘモグロビン各成分を分析したところ、全  $\text{Lb}$  含有量は、エンレイが最も高く、他の 2 品種の約 2 倍込んでいた。エンレイでは、 $\text{Lba}$  が半分近くを占め、 $\text{Lbc}_1$ ,  $\text{Lbc}_2$ ,  $\text{Lbc}_3$  の順に減少した。Williams と T 202 では、 $\text{Lba}$  の割合が  $40\%$  以下であり、 $\text{Lbc}_1$  よりも  $\text{Lbc}_2$  を多く含んでいた。

## 文 献

- 1) APPLEBY, C.A. : Leghemoglobin and rhizobium respiration. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **35**, 443~478 (1984)
- 2) BECANA, M. and SPRENT, J.I. : Effect of nitrate on components of nodule leghemoglobins. *J. Exp. Bot.*, **40**, 725~731 (1989)
- 3) UEDA, E. and SYONO, K. : Effects of leghemoglobin components on nitrogen fixation and oxygen consumption. *Plant Cell Physiol.*, **23**, 85~90 (1982)
- 4) FUCHSMAN, W.H. and APPLEBY, C.A. : Separation and determination of the relative concentration of the homogeneous components of soybean leghemoglobin by isoelectric focusing. *Biochim. Biophys. Acta*, **579**, 314~324 (1979)
- 5) APPLEBY, C.A. : Leghemoglobin ; in *The biology of nitrogen fixation*, ed. A. QUISPEL, p. 521~554, North-Holland Publishing Co., Amsterdam (1974)
- 6) DILWORTH, M.J. : Leghemoglobin ; in *Methods in enzymology*, Vol. 69, p. 812~823, Academic Press, New York (1980)
- 7) 西脇俊和・大山卓爾：ダイズ根粒レグヘモグロビンの精製と  $\text{Lba}$ ,  $\text{Lbc}$  成分比の測定法, 新潟大学農学部研究報告, **47**, 85~92 (1995)
- 8) 馬場嘉信：核酸のキャピラリー電気泳動、蛋白質核酸酵素, **38**, 2243~2253 (1993)
- 9) 真鍋 敬：蛋白質キャピラリー電気泳動、同上, **38**, 2254~2260 (1993)
- 10) 酒井恒行：キャピラリー電気泳動、化学と生物, **32**, 456~462 (1994)
- 11) 本田 進・寺部 茂：キャピラリー電気泳動基礎と実際, p. 142~155, 講談社, 東京 (1995)

## Determination of Concentration of Soybean Nodule Leghemoglobin Components by Capillary Electrophoresis

Takashi SATO, Toshikazu NISHIWAKI<sup>1</sup>, Norikuni OHTAKE and Takuji OHYAMA\*

(Fac. Agric., Niigata Univ., \* Corresponding author, present address ; <sup>1</sup> Niigata Pref. Food Res. Inst.)

Soybean nodule contains four leghemoglobin components,  $\text{Lba}$ ,  $\text{Lbc}_1$ ,  $\text{Lbc}_2$  and  $\text{Lbc}_3$ , whose molecular weights and amino acid sequences are similar to each other. An analytical method for determining the concentrations of the four  $\text{Lb}$  components was developed using capillary electrophoresis, and the concentrations of each component were compared among three soybean cultivars.

Soybean nodules were freeze-dried and ground into fine powder. Twenty milligrams of sample powder was extracted with  $1 \text{ mL}$  of  $100 \text{ mM}$  potassium phosphate buffer ( $\text{pH } 6.8$ ). The extract was passed through a hydroxyapatite mini column to eliminate the interfering substances. Twenty five microliters of the partially purified solution was mixed with  $5 \mu\text{L}$  of a potassium ferricyanide ( $10 \text{ g kg}^{-1}$ ) and nicotinic acid ( $10 \text{ g kg}^{-1}$ ) solution, plus  $20 \mu\text{L}$  of a sodium azide ( $2 \text{ g kg}^{-1}$ ) solution. For analysis, we used a fused-silica capillary with a  $1 \text{ m}$  length and  $75 \mu\text{m}$  internal diameter.  $75 \text{ mM}$  sodium phosphate buffer ( $\text{pH } 2.0$ ) was used as the electrolyte and charged with  $25 \text{ kV}$  at  $20^\circ\text{C}$ . Leghemoglobin components were detected by optical density at  $185 \text{ nm}$ .

The  $\text{Lb}$  components were purified and migration time of each  $\text{Lb}$  component identified. By the

analytical conditions described above, four peaks were completely separated and the migration times of Lbc<sub>2</sub>, Lbc<sub>3</sub>, Lba, Lbc<sub>1</sub> were faster in this sequence. The peak heights of each Lb component was the same, so we used purified Lba as the standard for calibration.

The concentrations of each Lb component in nodules with diameters 3–5 mm were analyzed for soybean cultivars "Williams", "Enrei" and "T202" at 40 d after planting. The Enrei nodules contained a higher concentration of total Lb components than the other two cultivars. The relative compositions of the four components were different among the cultivars.

*Key words* capillary electrophoresis, leghemoglobin, nodule, soybean

(Jpn. J. Soil Sci. Plant Nutr., 68, 521–526, 1997)

## 書評

### Fauna in Soil Ecosystem; Recycling Processes, Nutrient Fluxed, and Agricultural Production

Gero BENCKISER 編

B5判, 400 pp., \$150.00

ISBN # 0-8247-9786-8

Marcel Dekker, Inc. (New York), 1997年

土壤肥料学の分野では、土壤動物の知識は微生物ほど一般的ではない。それは、従来出版された土壤動物についての書物があまり多くない上に、そのほとんどが土壤動物の分類、生理生態や環境との関連のように、比較的狭い範囲に限られていたためであろう。その点、本書はかなり特徴的な書物である。副題にも表されているが、編者のG. BENCKISERは本書出版の主旨について、冒頭で「本書の主要な目的のひとつは、土壤動物を微生物や農業生産あるいは物質循環との関連で扱うことによって、それぞれの分野の専門家に情報とアイデアを提供することである」と述べている。化学肥料や合成有機物など化学技術に負うところが多い現代農業においても、土壤生物やその機能についての知識なしには永年にわたっ

て地力を維持させることは難しいといわれる。本書は原生動物からミミズ、クモに至るまでの各種の土壤動物の基本的な性質の解説から実験方法、農業生態系における役割や微生物を含めた他の土壤因子との関連、養分循環など、農業生産や環境保全との関係など、常に広い視点から土壤動物を扱っているので、どのような専門分野の研究者、技術者でもそれぞれの立場から興味深く読むことができ、その結果土壤生物に対する理解を深めることができるとと思われる。

内容は土壤の主要な代謝、環境汚染など一般的な解説に続いて原生動物、センチュウ、ヒメミミズ、ミミズ、トビムシ、ダニ、ヤスデ、ムカデ、陸生貝類、クモなど微小から大型までの動物を3章から9章までの各章で扱っている。これらの各々で上記の各側面からの立場が鮮明に現れている。それに続く第10章は "Soil Food Web Interactions and Modeling" と題する章で、有機物の無機化や元素循環におけるこれら動物相互の関係をモデル的に扱っている。

専門家以外の読者を意識したせいでもないであろうが動物のスケッチや写真も鮮明で楽しく、さらに引用文献も豊富で、近頃読んだ本の中でも傑出したものの一つであった。

(静岡大学農学部 仁王以智夫)