

始される時期は各土壌共に第 2 鉄の還元がかなり進行し Eh が  $-0.15$  V 附近に降下した後である。即ち猿投 6 日、長野 12 日及び矢代田 4 日以後であり、矢代田では 23 日以降特に著しい生成増加がみられる。S<sup>96</sup> を含む硫酸根を用いる別の実験によれば、これらの硫化物の大部分は硫酸還元由来すると考えられるが、矢代田の湛水初期における生成硫化物の 1 部は有機硫黄化合物の分解生産物である可能性が大きい。

### 総 括

湛水下水田土壌の還元進行にあずかる微生物代謝過程において第 2 鉄並びに有機物の果たす役割を理解するために、これら両因子の含量をそれぞれ異にする 3 種土壌をえらび湛水静置実験を行った。即ち猿投 (鉄、有機物共に少い)、長野 (鉄多く、有機物中量) 及び矢代田 (鉄、有機物共に多い) の 3 土壌の風乾細土を注射筒に湛水静置し、Eh, pH の変化、第 2 鉄の還元、窒素代謝、硫黄代謝の過程をしらべた。得られた結果は次の如くである。

1) 湛水後 Eh の降下は猿投は急速、長野は極めて緩慢であるが、矢代田はこれらの中間形態をとる。各土壌共に pH 上昇は Eh と対照的に進行し、両者の密接な関連を示唆する。

2) 孔隙水に溶存する Fe<sup>II</sup> 量、0.2 N 硫酸可溶 Fe<sup>II</sup> 量及び 3 N 硫酸加温浸出 Fe<sup>II</sup>/Fe<sup>II</sup>+Fe<sup>III</sup> % は湛水後一定期間急速な増大を示す。第 2 鉄の還元が活発に進行する期間は各土壌により異なり、猿投短く 2 日、長野長く 15 日、矢代田は中間で 5 乃至 10 日である。その還元量の大きさは矢代田 > 長野 > 猿投の順で、遊離鉄量の傾向とよく一致している。これらの事実から、湛水当初において一定期間第 2 鉄還元の活発に進行する過程が存在すると考えられる。なお第 2 鉄還元は Eh, pH の変化と極めて対照的であり、Eh, pH の変化にさいして Fe<sup>II</sup> の果たす役割は大きいものと考えられる。

3) 硝酸は湛水後 1 乃至 3 日以内に殆ど消滅する。

アンモニア生成は湛水初期において猿投、長野は 12 日間、矢代田は 15 日間活発に進行するが、その後緩慢な過程に移り湛水静置終了迄続く。アンモニア生成量は矢代田 > 長野 > 猿投の順で各土壌の有機物量の大きさを反映している。第 2 鉄は O<sub>2</sub>、硝酸と同様に生物的乃至化学的 oxydant として作用すると予想されるから、アンモニア生成過程において第 2 鉄の還元と併行せる期間は恐らくかなり酸化的に推移するものと考えられる。かかる第 2 鉄還元と併行せるアンモニア生成過程は長野が最も長く 15 日間続き、この期間に全生成量の 73% が生成している。猿投は本期間短く 2 日間で、全生成量の 18%、矢代田は中間で 6 日間 61% の生成を示している。

4) 硫化物が旺盛に生成する段階は各土壌共に第 2 鉄の還元がかなり進行し、Eh が低下した後である。

- |   |   |
|---|---|
| (1) 高井康雄：土肥誌, 23, 37 (1952).                      | (7) 熊田恭一, 浅見輝男：土肥学会講演要旨第 2 集, 7 (1956).                               |
| (2) 高井康雄, 小山忠四郎, 加村崇雄：本誌, 29, 697 (1955).         | (8) B. A. Fry: The Nitrogen Metabolism of Micro Organisms, 39 (1955). |
| (3) 高井康雄：土肥誌, 26, 467 (1956).                     | (9) E. J. Jones: Soil Sci., 71, 193 (1951).                           |
| (4) B. C. Deb: J. Soil Sci., 1, 212 (1949).       | (10) 山根一郎, 佐藤郁生：東北大農研彙, 7, 239 (1956).                                |
| (5) 農業改良局研究部：土壌分析法, 45 (1955).                    |   |
| (6) R. P. Bartholomew: Soil Sci., 25, 393 (1928). |   |

## 水田土壌の微生物代謝に関する研究 (第 4 報)<sup>†</sup>

### 各種水田土壌における還元状態の発達について (その 2)

高井康雄\*, 小山忠四郎\*, 加村崇雄\*, (\*名古屋大学農学部, \*\*名古屋大学理学部)

昭和 31 年 10 月 19 日 受理

前報<sup>(1)</sup>において、鉄と有機物との含量をそれぞれ異にする 3 種の水田土壌風乾細土を湛水状態にした場合の

<sup>†</sup> Microbial Metabolism of Paddy Soils. Part IV. Effect of Iron and Organic Matter on the Reduction Process (2).

By Yasuo TAKAI\*, Tadashirō KOYAMA\*\* and Takao KAMURA (\*Faculty of Agriculture and \*\* Faculty of Science, Nagoya University)

Eh, pH の変化, 第 2 鉄の還元, 窒素代謝及び硫黄代謝について報告した. 本報では前報と同一の湛水土壤について生成されるガス及び有機酸成分の変遷をしらべ, 水田土壤の還元過程における鉄と有機物の意義を検討した.

## 実 験 の 部

### 1. 供 試 土 壤

前報<sup>(1)</sup>と同一の猿投, 長野及び矢代田の水田土壤風乾細土を供試した.

### 2. 実 験 方 法

湛水静置実験の方法は前報<sup>(1)</sup>の通りである.

ガス成分の定量: CO<sub>2</sub> は H<sub>2</sub> で駆出して Ba(OH)<sub>2</sub> に吸収させる容量法で分析し, 他のガスは CO<sub>2</sub> で追出して NaOH をぐくらせビュレットにガスを集め, O<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, H<sub>2</sub> 及び N<sub>2</sub> の定量を行った<sup>(2)</sup>.

有機酸成分の分離定量: 湛水土壤を遠心分離 3000 回転30分間処理で得られる上澄液並びに 2 倍容の蒸溜水で 2 回遠心洗滌した液を合せて, 硫酸酸性下24時間液体エーテル抽出を行い有機酸を分離した. 猿投土壤の一部試料については遠洗残滓土壤の風乾物を24時間固体エーテル抽出を行い, 水溶性劃分と不溶性劃分の比率を検討した. なお土壤に酪酸, 酢酸, 蟻酸の既知量を添加して本法による回収率を調べた所, その 90% 以上が水溶性劃分のエーテル抽出部に捕捉されることが分った.

かくして分離された有機酸はシリカゲル・クロマトグラフィー<sup>(3)</sup>で分析し, 得られた各ピークについては更にペーパークロマトグラフィー<sup>(4,5)</sup>並びに特異な定性反応(酢酸 — Lanthanum 反応, 蟻酸 — Chromotrope 反応等)<sup>(6)</sup>で確認した.

### 3. 実 験 結 果

#### 1) ガ ス 成 分

分析結果は第 1, 2, 3 表及び第 1, 2, 3 図に示した.

第 1 表 猿投土壤の O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>+CH<sub>4</sub>+H<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> 及び H<sub>2</sub>  
(乾土 100 g 中 ml)

湛水期間 の目数	O <sub>2</sub>	N <sub>2</sub> +CH <sub>4</sub> +H <sub>2</sub>	N <sub>2</sub>	H <sub>2</sub>
0	1.4	4.0	4.0	0.0
1	0.0	4.2	4.2	0.0
2	0.0	3.9	—	—
5	0.0	7.3	5.8	0.0
9	0.0	13.2	6.3	0.6
19	0.0	26.3	5.9	2.7
20	0.0	23.5	6.0	2.4
22	0.0	38.8	7.5	1.5
25	0.0	36.0	—	—
28	0.0	39.0	13.0	0.3
30	0.0	53.0	28.0	0.0
33	0.0	38.9	8.6	0.0
53	0.0	68.1	10.7	1.4

O<sub>2</sub>: 湛水時に存在した O<sub>2</sub> は 3 土壤共に湛水静置後 1 日以内に完全に消失した.

第 2 表 長野土壤の O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>+CH<sub>4</sub>+H<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> 及び H<sub>2</sub>  
(乾土 100 g 中 ml)

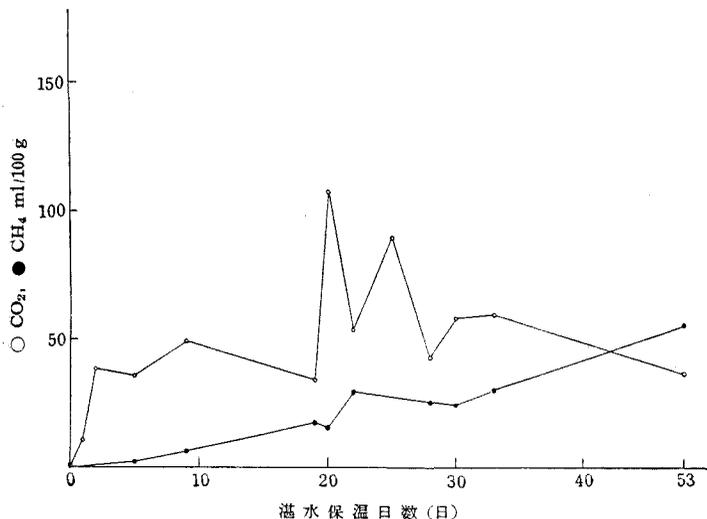
湛水期間 の目数	O <sub>2</sub>	N <sub>2</sub> +CH <sub>4</sub> +H <sub>2</sub>	N <sub>2</sub>	H <sub>2</sub>
0	2.4	5.0	5.0	0.0
1	0.0	4.9	4.9	0.0
4	0.0	5.4	—	—
5	0.0	5.9	—	—
6	0.0	5.6	—	—
7	0.0	5.7	5.7	0.0
10	0.0	5.0	5.0	0.04
13	0.0	6.5	6.3	0.04
14	0.0	5.7	5.7	0.0
15	0.0	6.7	—	—
16	0.0	7.4	7.0	0.0
17	0.0	8.0	—	—
18	0.0	7.7	—	—
20	0.0	12.0	6.1	3.6
22	0.0	16.0	—	—
24	0.0	18.4	8.0	0.6
27	0.0	22.2	11.8	0.0
29	0.0	23.2	—	—
31	0.0	29.8	7.4	3.0
33	0.0	30.8	18.4	0.0
40	0.0	47.1	—	—
41	0.0	49.8	—	—

第 3 表 矢代田土壤の O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>+CH<sub>4</sub>+H<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> 及び H<sub>2</sub>  
(乾土 100 g 中 ml)

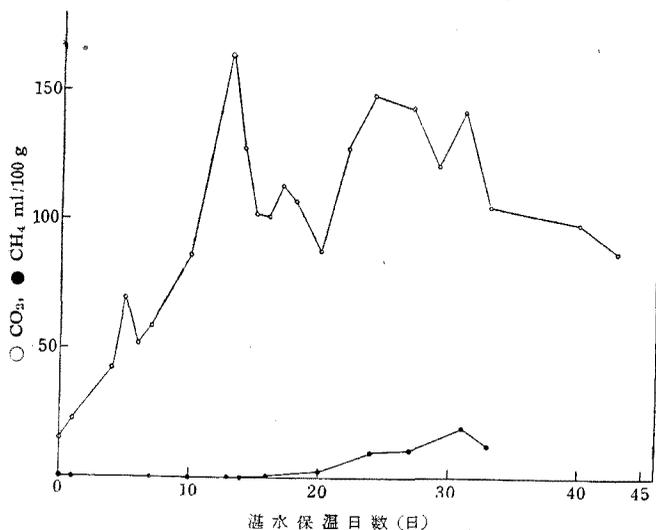
湛水期間 の目数	O <sub>2</sub>	N <sub>2</sub> +CH <sub>4</sub> +H <sub>2</sub>	N <sub>2</sub>	H <sub>2</sub>
0	3.4	10.9	10.9	0.0
1	0.0	12.4	12.4	0.0
2	0.0	13.2	—	—
3	0.0	13.0	13.0	0.0
4	0.0	14.4	—	—
5	0.0	15.4	11.3	0.0
6	0.0	17.7	—	—
7	0.0	21.8	14.9	0.0
9	0.0	35.6	26.4	0.1
10	0.0	44.3	16.6	3.0
12	0.0	50.7	24.6	0.0
16	0.0	66.7	34.4	3.4
24	0.0	95.0	28.3	5.5
30	0.0	114.8	22.5	6.7
36	0.0	122.7	—	—
38	0.0	127.8	—	—
44	0.0	158.1	50.3	3.8

CO<sub>2</sub>: 湛水初期に CO<sub>2</sub> の急速な増大がみられる. 猿投土壤では 2 日後一旦停滞するが再び増大して 20 日目極大値に達した後, 実験終了迄減少を続ける. 長野土壤では 13 日目に極大値に達するが, その後増減をくりかえし 31 日以降は逐次減少の一途を辿る. 矢代田土壤では当初 6 日間に大量の生成集積がみられ 10 日目に極大値に達し, その後 6 日間減少した後実験終了迄再び増大する.

湛水当初における急速な CO<sub>2</sub> 生成の時期は 3 土壤共に第 2 鉄の還元が活潑に行われる期間に相当し, 又長野.



第 1 図 猿投土壤の CO<sub>2</sub> と CH<sub>4</sub>



第 2 図 長野土壤の CO<sub>2</sub> と CH<sub>4</sub>

矢代田土壤ではアンモニアの最も旺盛な生成と併行している (第 3 報 第 4 ~ 7 図参照). 従ってこの時期における CO<sub>2</sub> 生成は有機窒素化合物の分解と第 2 鉄の還元のプロセスに密接な関連を有するものと考えられる. 次いで CO<sub>2</sub> 集積量が停滞或は減退し始めると同時に CH<sub>4</sub> 生成が開始されるのは前報の実験と同様であるが, その CO<sub>2</sub> の増減はかなりの変動を示して嫌気菌による CO<sub>2</sub> 固定の機作は複雑である. しかしながらこれらの成績から, 湛水下還元状態の或る程度発達した後に嫌気菌による著しい CO<sub>2</sub> 固定 (例えば *Methanobacterium*, *Clostridium acetivum* 等の活動)<sup>(8,9)</sup> の可能性が予想される. 全湛水期間における CO<sub>2</sub> 生成量の土壤間の厳密な比較は CO<sub>2</sub> 固定量が不明の為に困難であるが, 大体の傾向としては矢代田 > 長野 > 猿投の大きさの順であると考えられる.

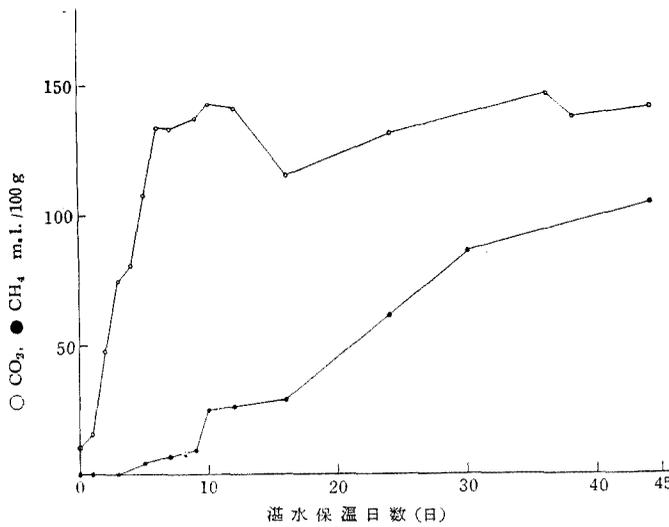
CH<sub>4</sub>: 湛水後 CH<sub>4</sub> の生成が開始される時期は第 2 鉄の還元が進行し Eh がかなり低下した後で, 猿投 5 日目, 長野 16 日目及び矢代田 5 日目である. メタン菌の代謝活動に還元状態の発達が前提となることを示している.

土壤有機物の分解生産物であるアンモニアと CO<sub>2</sub> の生成量から各土壤の可分解性有機物量を推定する

と, 矢代田に最も多く, 長野では中量, 猿投に最も少いと考えられる. 従って CH<sub>4</sub> 生成量が矢代田において著しく大きいのは当然であるが, 可分解性有機物量の比較的多い長野においてはその半分以下の猿投に比してはるかに少い事実は興味深い. かかる CH<sub>4</sub> 量の違いは恐らくメタン菌の代謝基質<sup>(8,9)</sup>, 特に醗酵生産物たる H<sub>2</sub>, 有機酸等の生成集積の多少に由来するものと考えられる. 即ち長野土壤では有機物の分解過程の大部分がかなり好氣的に進行してメタン菌の基質の生成が少ないのに比して, 猿投土壤では大半の有機物の分解が嫌氣的過程をとって醗酵生産物の集積著しく, メタン菌の代謝活動を促進するものと考えられる.

H<sub>2</sub>: H<sub>2</sub> の生成は CH<sub>4</sub> と同じく Eh が低下し還元状態が或る程度発達した後に始めて認められる. その生成量は CH<sub>4</sub> に比べてはるかに少く, 又量的変動著しく集積消失をくりかえすが, これは嫌気菌, 恐らくメタン菌, 硫酸還元菌等の hydrogenase によって H<sub>2</sub> が利用されているものと考えられる.

N<sub>2</sub>: N<sub>2</sub> の分析値はかなりの変動を示すが, 傾向としては各土壤共に Eh が低下して CH<sub>4</sub>, H<sub>2</sub> 等の生成が認められるにいたって増大しており, 猿投 5 日, 長野 16 日及び矢代田 7 日以降それぞれ湛水当初の数倍に近い集積量が示される. 湛水時における N<sub>2</sub> の大部分は気泡或いは溶存の形態で存在する空気由来のものと考えられるが, 還元状態の或る程度発達した後増大した N<sub>2</sub> 部分の起源は興味ある問題である. N<sub>2</sub> 分析値は筆者等の



第3図 矢代田土壤の CO<sub>2</sub> と CH<sub>4</sub>

分析法によれば (N<sub>2</sub>+CH<sub>4</sub>+H<sub>2</sub>) の全量からそれぞれ個別に定量した CH<sub>4</sub> と H<sub>2</sub> の含量を控除して得られるものでその精度は低く、これらの問題の検討は更に精密な実験の結果にまちたい。

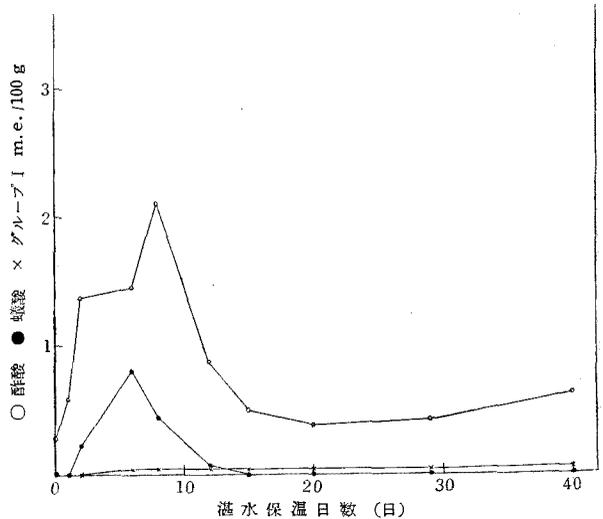
2) 有機酸成分

24時間エーテル連続抽出により分離された有機酸の定量結果は第4表, 第4, 5, 6図に示した。

第4表 猿投土壤の有機酸成分

(乾土 100 g 中 m.e.)

灌水期間 の日数	グループ I**)	酢酸**)	蟻酸**)	グループ II
a) 水溶性劃分				
0	0.00	0.29	0.00	0.00
1	0.00	0.59	0.00	0.00
2	0.00	1.37	0.23	0.00
6	0.04	1.45	0.80	0.00
8	0.04	2.10	0.44	0.00
12	0.04	0.87	0.07	0.00
15	0.03	0.50	0.00	0.00
20	0.03	0.38	0.00	0.00
29	0.04	0.42	0.00	0.00
40	0.05	0.62	0.00	0.00
b) 不溶性劃分				
0	0.02	0.06	0.00	0.04
1	0.02	0.09	0.02	0.00
2	0.03	0.31	0.18	0.03
6	0.06	0.44	0.28	0.09
12	0.02	0.17	0.06	0.01



第4図 猿投土壤の水溶性有機酸

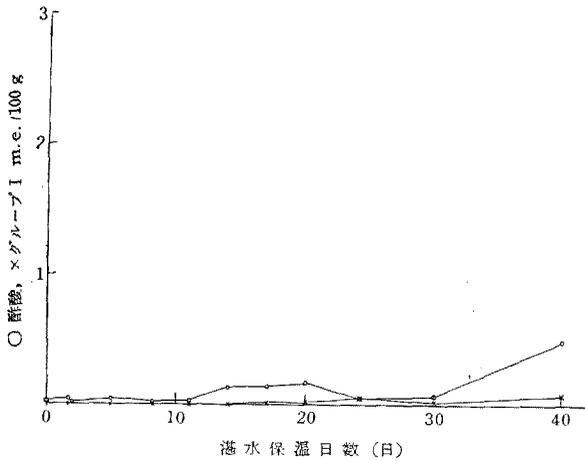
\*) ペーパークロマトグラフィにより大部分酢酸と定性  
 \*\*) 酢酸は lathanum 法 蟻酸は chromotropic 法により定性

第4表によれば土壤中の有機酸, 特に生成変化の著しい酢酸はその大部分が水溶性劃分に捕捉されることがわかる。従って

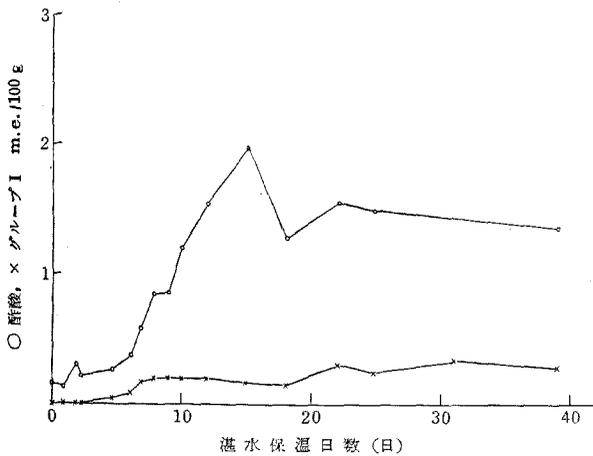
第4~6図においては各土壤共に水溶性劃分に得られた有機酸量の変遷を示した。

第4図の猿投土壤は灌水後1日以降蟻酸, 酢酸の生成が増大し6日乃至8日目に極大量に達するが, その後急速に減少して蟻酸は15日目に全く消失し, 酢酸は20日以降8日目極大量の1/4乃至1/5にいたる。これらの減少は水田土壤中における有機酸の嫌気菌による利用を示唆している。グループI (大部分は酢酸と定性) は6日目から少量が集積する。

第5図をみると長野土壤にあっては灌水後11日目迄有機酸の集積は全くみられず, 14日以降少量ながら酢酸



第 5 図 長野土壤の水溶性有機酸



第 6 図 矢代田土壤の水溶性有機酸

この段階は $O_2$ を電子受容体として好気菌或は通性嫌気菌による有機物の好氣的分解が進められると考えられる<sup>(11)</sup>。

灌水当初、硝酸の減少著しく、3日目には殆んど消失している。この過程には分子状酸素の代りに硝酸を電子受容体として用いる「硝酸呼吸」<sup>(12,13)</sup>或は「脱窒」作用<sup>(10,14,15)</sup>が関与していると予想される。

以上の2過程と同時或は若干遅れて第2鉄の還元が開始する。即ち猿投、矢代田は灌水当初からそれぞれ2日及び6日にいたる迄、長野は灌水後2日から15日にわたりそれぞれ活潑な第2鉄還元が進行する。かかる第2鉄の還元過程は恐らく細菌の作用に基因するものであろうが、その機作については二つの可能性が考えられる。Bloomfield<sup>(16)</sup>は醱酵した草の殺菌液及び樹葉の水抽出物が第2鉄を溶出し且つ還元することを明らかにして、細菌による第2鉄の還元は醱酵の副次反応にすぎないと主張している。これに対して Bromfield<sup>(17,18)</sup>は第2鉄が細菌の呼吸の電子受容体として利用されるとの立場から研究を進めている。果して灌水土壤における第2鉄の還元が前者の化学的過程をとるか、或は後者の細菌呼吸説によるか誠に興味ある問題であるが、その機作の解明は今後の研究にまたねばならない。

これら酸素と硝酸の消失及び第2鉄の還元が行われる過程において Eh の下降、pH の上昇は大略終了し、又 $CO_2$ とアンモニアの旺盛な生成が行われるが、一方硫化物、 $H_2$ 、 $CH_4$ 、有機酸等の生成集積は殆んど認められない。以上の3過程における有機物の分解形式は醱酵生産物( $H_2$ 、有機酸等)を集積せず、厳正嫌気菌たる硫酸還元菌、メタン菌の代謝を許さない点において以降の段階とかなり明確に区別できる。従ってこれら3過程を一応第1段階に総括する。

の生成が始まり、20日以降になってわずかにグループ I (大部分酢酸と定性)が集積する。猿投に比べ長野の有機酸集積時期がきわめておそく、又集積量が著しく少いのは、長野における有機物の分解が灌水後長期間醱酵生産物を集積しないような過程を経過することに因ると考えられる。一方猿投においては灌水後かかる過程が経過する期間が短い、それは有機物の分解形式が速かに醱酵過程に移行することを示すものであろう。第3報、第5図をみると長野における有機酸の集積しない段階に第2鉄の還元が進行しつつある期間とよく一致しており、醱酵生産物を集積しない有機物分解過程と第2鉄の還元との密接な関連を示唆している。

第6図に示す如く、矢代田土壤においても灌水後第2鉄の還元が急速に進行する5乃至6日間(第3報 第6図参照)は酢酸、グループ I の集積を殆ど認めないが、6日以降酢酸は著しく増大し15日目に極大値に達した後減少している。グループ I (大部分酢酸と定性)は6日以降実験終了迄漸増を示し、供試土壤中その集積量最も多い。

### 考 察

第3報並びに第4報の実験結果を微生物代謝の観点から検討すると、灌水下水田土壤中における還元状態発達迄の総過程は次のように考えられる。

灌水後1日以内に $O_2$ が完全に消失している。

第1段階の経過後、硫化物、 $H_2$ 、 $CH_4$ 、有機酸の生成集積が開始される。これらの中  $H_2$ 、有機酸は一旦生成した部分が再び消失或は減少しているが、一方硫化物、メタンは増加の一途を辿る。従って第2段階においては先の過程における Eh の著しい低下により嫌気菌の生育する電位が与えられて嫌気菌の代謝が支配し、有機物の分解は醗酵形式をとり、生成する醗酵生産物はメタン菌、硫酸還元菌等の代謝基質として利用されるものと考えられる。長野、矢代田において  $CH_4$  の生成開始と同時期に  $CO_2$  が減退し始める事実は第1報<sup>(7)</sup>と同じく  $CO_2$  の  $CH_4$  への転化が考えられるが、その後  $CO_2$  量は再び増大しており、その関係は複雑である。

秋落ち水田における「根腐れ」の原因と考えられる異常還元は、第2段階の発達に伴う硫化水素及び有機酸の生成とその集積量が問題となるであろう。著者等の実験によれば、これらの嫌氣的過程には常に第1段階の進行、Eh の低下を先行条件とする。従って第1段階が湛水後長期間続いて大部分の可分解性有機物の分解はその期間に行われ、全湛水期間中に第2段階のめざましい発達をみない場合も予想され、第1段階の内容の解析は実用的観点からも興味が深い。これらの点について以下本実験の分析結果に即し若干の考察を試みたい。

長野土壌の第1段階は15日間も続き、湛水長期にわたるも  $CH_4$ 、有機酸等の還元生成物の集積は少ないが、猿投は3日以降すでに第2段階に入り、土壌の可分解性有機物量の大きさを一応示すと考えられるアンモニア及び  $CO_2$  の生成量は長野に比してはるかに少いにもかかわらず、 $CH_4$ 、有機酸等の生成はきわめて旺盛である。又矢代田の第1段階は6日間、第2段階において大量の  $CH_4$ 、有機酸の生成集積をみる。これらの違いは第1段階を規定する因子と著者等が推定している土壌の酸化力（土壌中における呼吸の電子受容体及び酸化剤の総量）と可分解性有機物量の相互の関係に由来するものと考えられる。そこで湛水時における土壌の酸化力について、 $O_2$ 、硝酸、0.2N  $H_2SO_4$  可溶の被還元性第2鉄及び易還元性マンガン量を夫々乾土 100 g 当り  $O_2$  ml に換算して比較すれば右表の如くなる。

これらの値の中で、酸化力として量的に最も大きく且又土壌間の差異を明確に示しているのは第2鉄であって、猿投に比して長野は15倍に相当する第2鉄量を

試料	$O_2$	硝酸	第2鉄	マンガン
猿投	1.4	0.8	4.6	0.2
長野	2.4	1.0	70.0	0.7
矢代田	3.4	1.9	78.5	0.9

保持しており、これが両者の第1段階の期間の違いを決定する重要な因子であると考えられる。矢代田は長野より若干多い第2鉄量を有するが、その可分解性有機量ははるかに多く、従って第1段階は6日で大略終了するものと考えられる。仮に土壌 100 g 中に還元される第2鉄が 1 g あれば  $O_2$  100 ml, 空気 477 ml に相当しており、湛水土壌中の有機物分解過程における第2鉄の酸化力としての意義は大きい。

本研究を行うにあたり多大の援助と助言を賜った名古屋大学徳岡松雄教授、東京大学弘法健三教授並に試料採取に際し協力頂いた長野農業試験場上郷千春技師、新潟農業試験場井利一技師に厚く御礼申し上げる。

- |  |  |
|--|--|
| (1) 高井康雄, 小山忠四郎, 加村崇雄: 本誌, 31, 211 (1957).                         | (11) E. F. Gale: The Chemical Activities of Bacteria, 148 (1951).                            |
| (2) T. Koyama: <i>J. Earth Sci., Nagoya Univ.</i> , 1, 107 (1953). | (12) J. H. Quastel et al.: <i>Bioch. J.</i> , 19, 304 (1925).                                |
| (3) W. A. Bulen et al.: <i>Analy. Chem.</i> , 24, 187 (1952).      | (13) E. Aubel, F. Egami: <i>C. R. Acad. Sci.</i> , 202, 675 (1936).                          |
| (4) F. Brown: <i>Bioch. J.</i> , 47, 598 (1950).                   | (14) S. Yamagata: <i>Acta Phytochim.</i> , 11, 145 (1939).                                   |
| (5) J. B. Stark et al.: <i>Analy. Chem.</i> , 23, 413 (1951).      | (15) H. Iwasaki et al.: <i>J. Biochem. (Japan)</i> , 42, 375 (1955).                         |
| (6) F. Feigl: <i>Spot Tests</i> , Vol. II (1954).                  | (16) C. Bloomfield: <i>J. Soil Sci.</i> , 2, 196 (1951); 4, 5 (1953); 5, 39, 46, 50, (1954). |
| (7) 高井康雄, 小山忠四郎, 加村崇雄: 本誌, 29, 967 (1955).                         | (17) S. M. Bromfield: <i>J. Soil Sci.</i> , 5, 129 (1954).                                   |
| (8) H. A. Barker: <i>Arch. Mikrobiol.</i> , 7, 420 (1936).         | (18) S. M. Bromfield: <i>J. Gen. Microb.</i> , 11, 1 (1954).                                 |
| (9) S. R. Elsdon: <i>The Enzyme</i> , II, 807 (1952).              |  |
| (10) F. E. Allison: <i>Adv. in Agronomy</i> , VII, 235 (1955).     |  |