

# 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 原 田 直 樹

農地における生物的窒素固定の効率的利用は、土壌や水、天然資源などを消費させることなく土地生産性の向上に寄与する方法の一つとして期待されている。水田は酸化的状態と還元的状態を繰り返す独特の栽培方式の為に多様な窒素固定生物を育むが、なかでも光合成細菌は水田へ稲わらを施用した際にその窒素固定増大効果が認められており、水田の土壌肥沃度の維持・増進に寄与している。しかしながら、その微生物生態学的な側面には不明な点が多く、特に他の微生物との相互作用に関する知見はほとんどない。このような背景から本研究では稲わら施用水田土壌での光合成細菌と還元状態の発達に携わる微生物の関わりを検討したもので、次の6章により構成されている。

第I章は水田土壌に稲わらを加えて湛水した室内モデルを用いて、光合成細菌の増殖並びに窒素固定活性及び土壌の還元状態の発達について経時的な変化を検討したものである。ここで土壌中での光合成細菌数の推移と窒素固定活性のそれは必ずしも一致しておらず、菌数がある程度維持されている状態ではその他の因子によってニトロゲナーゼ活性が制御されていることを示した。また光合成細菌の存在下ではメタン発生量が減少することを見出し、これは光照射下での光合成細菌のメタン菌に対する優位性を示しているものとして注目された。

第II章では光合成細菌と硫酸還元菌の関係について述べている。これは、一般的に硫酸還元菌が水田土壌の表層など酸化的部位にも多く見られることから、外部より硫酸イオンを添加して硫酸還元を活性化させた土壌での光合成細菌の窒素固定の発現を検討したものである。その結果、硫酸還元菌の活性化は窒素固定活性の抑制を招くことを明らかとなり、これによって硫黄酸化物が十分供給される環境では光合成細菌はその窒素固定能の発現において硫酸還元菌と競合関係にあることが示された。

第III章では光合成細菌とメタン菌の関係を特異的メタン生成阻害剤を用いての阻害実験において検討している。その結果、メタン生成の阻害は光合成細菌の菌数には影響しないが、その窒素固定活性を著しく増大させることを明らかにした。また、この際の酢酸等の低分子有機酸の挙動から、光合成細菌の窒素固定は基質の利用性に大きく左右されており、メタン菌は基質の消費を通して影響を与えていることが明らかとなった。

前章においてメタン生成抑制時に光合成細菌由来の窒素固定活性が顕著に増大したことから、第IV章では阻害剤添加土壌及び未添加土壌から光合成細菌を単離・同定して優占種を比較している。その結果、単離菌株のほとんどが *Rhodopseudomonas palustris* と同定され、これらの株は同程度の窒素固定能を有していることがわかった。この結果は、阻害剤の添加が光合成細菌の生育に影響しないことを示すものであり、また同時に行われた水田土壌への単離菌株の接種実験ではメタン発生量が減少し、光合成

細菌の存在がメタン生成に対して抑制的に働くことを裏付けている。

水田に生息している光合成生物がメタン発生に果たしている役割については研究例が少なく、特にメタン生成の促進が見られる稲わら施用水田においては全く研究されていない。この点を明らかにするために、第V章では異なる稲わら施用条件（無施用、混合施用及び表面施用）の元でのポット実験を敢行している。その結果、稲わら無施用及び混合施用では光合成生成物の存在はメタン発生量へほとんど影響せず、表面施用した場合でのみ水稻栽培初期のメタン発生量を減少させることがわかった。この原因を、稲わら表面施用では土壌表層付近にメタン生成が開始され易い還元的な環境が形成されるが光合成生物がこれを抑制しているためと考察している。またこの従来酸化的とされていた土壌表面付近におけるメタン生成の開始を小ポット実験でも検討し、粗大有機物の存在がメタン菌に活動部位を与えることを明らかにした。

第VI章ではより意欲的な試みとして光合成細菌の接種を稲わら施用の有無と組み合わせてポット試験にて検討している。結果的に光合成細菌の接種は、メタン発生量や土壌及び施用稲わらに由来する窒素固定活性に影響を与えなかったが、稲わら施用時に施用稲わら及びその直下の土壌が光合成細菌の生育に好適なハビタットとなるものの、光合成細菌を過剰に接種しても菌数の増大が起こらないことが明らかとなり、これらハビタットの微生物保持能の上限を示すものとして注目されるものであった。

以上を要するに本論文は稲わら施用水田土壌における光合成細菌と還元状態の発達に携わる微生物の関わりを検討し、稲わら施用時に施用稲わらおよびその直下の土壌が光合成細菌の生育に好適なハビタットとなるものの光合成細菌を過剰に接種しても菌数の増大にはつながらないなど光合成細菌の生態的特徴を明らかにしたもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。