

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 徳田進一

現代の食料生産において、高い生産性を維持するためには窒素肥料の利用が必要不可欠であるが、窒素肥料の過剰施用は温室効果ガスである亜酸化窒素 ( $\text{N}_2\text{O}$ ) の生成を増加させる。そのため、農地からの  $\text{N}_2\text{O}$  発生量の把握と発生機構の解明、発生抑制技術の開発が急務となっている。一方、施肥窒素の収支を検討した結果、茶園からの  $\text{N}_2\text{O}$  発生の可能性が示唆されていたが、これまで茶園からの  $\text{N}_2\text{O}$  発生について検討した報告はほとんどない。本論文は、茶園土壌から  $\text{N}_2\text{O}$  が生成しているかどうかの実態調査と、 $\text{N}_2\text{O}$  発生機構の解明を、圃場レベルから微生物レベルまでの幅広い視点から検討したものである。

最初に土壌の  $\text{N}_2\text{O}$  生成能の評価方法を確立し、典型的な窒素多肥・酸性の茶園土壌の大気条件における  $\text{N}_2\text{O}$  生成能を評価したところ、 $\text{N}_2\text{O}$  生成能は  $3.8 \mu\text{g N}_2\text{O} \cdot \text{N g}^{-1} \text{d}^{-1}$  となり、これまで報告されている一般の畑土壌等の値に比べて 3 倍以上高いことを明らかにした。次に、国内の茶園から 21 種類の土壌を採取し、 $\text{N}_2\text{O}$  生成能と土壌の理化学性や肥培管理との関係を検討した。その結果、茶園土壌の  $\text{N}_2\text{O}$  生成能と土壌 pH には負の指数関数的相関が認められ、土壌 pH が低くなるほど  $\text{N}_2\text{O}$  生成能が高まった。また、相関関係からはずれて著しく高い  $\text{N}_2\text{O}$  生成能を有していた 3 種類の土壌は、これら土壌を採取した茶園の窒素施肥量が  $1,000 \text{ kgN ha}^{-1} \text{ y}^{-1}$  を越えていた。さらに、異なる肥培管理を長期継続している施肥試験圃場から採取した土壌の  $\text{N}_2\text{O}$  生成能を比較したところ、窒素多肥が原因となって酸性化した土壌の  $\text{N}_2\text{O}$  生成能は非常に高かった。以上の結果から、長期にわたる窒素多肥によって土壌 pH が低下することにより、茶園土壌の  $\text{N}_2\text{O}$  生成能が高まると結論づけた。

茶園土壌が高い  $\text{N}_2\text{O}$  生成能を持つという知見を確かなものとするために、施肥試験圃場からの  $\text{N}_2\text{O}$  発生量を 2 年間にわたって野外において測定した。その結果、室内培養試験の結果と同様に、窒素施肥量が多く、土壌 pH が低い圃場ほど  $\text{N}_2\text{O}$  放出量は多かった。また、 $\text{N}_2\text{O}$  発生量の変動要因を統計解析したところ、従来報告されている降雨や施肥ではなく、土壌の  $\text{N}_2\text{O}$  生成能の影響が最も強かった。以上の結果から、窒素施肥量が多く、土壌 pH が低い茶園から多量の  $\text{N}_2\text{O}$  が発生することを、圃場においても確認した。また、圃場から

の  $\text{N}_2\text{O}$  放出は土壌の  $\text{N}_2\text{O}$  生成能、すなわち土壌中の  $\text{N}_2\text{O}$  生成に関与する微生物の数や活性によって強く支配されている可能性を示した。

次に、茶園土壌の  $\text{N}_2\text{O}$  生成機構を検討した。酸性条件で起こりうる化学的脱窒による  $\text{N}_2\text{O}$  生成は、土壌全体の  $\text{N}_2\text{O}$  生成量に比べてわずかであり、主に生物反応によって  $\text{N}_2\text{O}$  が生成した。土壌中で  $\text{N}_2\text{O}$  を生成する生物反応は硝化と脱窒であるが、硝化による  $\text{N}_2\text{O}$  生成を選択的に阻害する硝化抑制物質（ニトラピリン）の添加によって 23.7%減少したが、抑制できない  $\text{N}_2\text{O}$  は脱窒由来と考えられ、茶園土壌では主に脱窒から  $\text{N}_2\text{O}$  が生成すると考えられた。以上の結果から、強酸性化した茶園土壌は好気条件であるにも関わらず、脱窒が  $\text{N}_2\text{O}$  の主な生成反応であると結論づけた。

次に、茶園土壌における好氣的脱窒による  $\text{N}_2\text{O}$  生成に関与する微生物を検討した。細菌と糸状菌の生育を選択的に阻害する抗生物質を添加したところ、抗真菌剤であるシクロヘキシミドによる阻害割合が大きかった。このことから、茶園土壌からの脱窒による  $\text{N}_2\text{O}$  生成には糸状菌が関与する割合が大きいと考えられた。そこで、茶園土壌から 82 株の糸状菌を分離して  $\text{N}_2\text{O}$  生成能を評価したところ、74 株が  $\text{N}_2\text{O}$  生成能を有していた。分離株のうち、最も  $\text{N}_2\text{O}$  生成量が多かった菌株について、純粋培養時の培養フラスコ気相の  $\text{N}_2\text{O}$  濃度と酸素濃度の変化を詳細に測定した。その結果、この糸状菌はフラスコ気相中の酸素濃度が大気レベルから低下し始めると同時に  $\text{N}_2\text{O}$  を生成し始めた。また、この糸状菌の純粋培養における  $\text{N}_2\text{O}$  生成活性は、培地 pH が低いほど、また、培地の硝酸態窒素が高いほど、高まった。この、培地の pH と硝酸態窒素濃度に対する反応は、茶園土壌の  $\text{N}_2\text{O}$  生成の特徴に類似するものであった。

本研究においては、圃場試験レベルと室内培養試験レベルの両方によって、茶園土壌から多量に  $\text{N}_2\text{O}$  が生成し、生成量は窒素施肥量が増えるほど、また、土壌 pH が低いほど増加することを明らかにした。このことは、茶園からの  $\text{N}_2\text{O}$  生成量を削減するためには、窒素施肥量を減らし、極端な土壌の酸性化を避けることが重要であることを示している。また、好気条件における糸状菌による脱窒が茶園土壌の主要な  $\text{N}_2\text{O}$  生成反応であることを、土壌レベルと微生物レベルで明らかにしたが、これらの知見はこれまで知られている土壌の  $\text{N}_2\text{O}$  生成の特徴と大きく異なるものであった。

以上、本研究は、茶園土壌の  $\text{N}_2\text{O}$  生成の特徴を解明するとともに、農耕地からの  $\text{N}_2\text{O}$  生成制御技術の開発への展開に繋げ得るものであり、学術的、応用的意義は大きい。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。