

氏名（本籍・生年月日）	諸 人誌(埼玉県・昭和 62 年 12 月 29 日)
学位の種類	博士（理学）
学位記番号	甲 第 1 0 7 号
学位授与の日付	平成 2 7 年 3 月 2 0 日
学位授与の要件	信州大学学位規程 第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	土壌酵素を用いた土壌の養分利用性評価
論文審査委員	主査 准教授 國頭恭 教授 戸田任重 教授 朴虎東 准教授 宮原裕一 准教授 大塚 重人(東京大学)

## 論 文 内 容 の 要 旨

土壌中の栄養素の中でもリン(P)は、植物の三大栄養素の一つとして知られており、窒素 (N) やカリウム (K)と同様に、一次生産の主軸を担っている。しかし近年、採掘可能である良質なリン資源の枯渇が懸念されてきており、現実には肥料価格の高騰、産出国による輸出制限などの事態も起こっている。また、日本の農地の約半分は火山灰由来の黒ボク土であるため、多くの P が土壌中の活性アルミニウム (Al) や活性鉄 (Fe) に吸着され、難溶性の P となっている。このように、リン資源を取り巻く状況はかなり逼迫しており、リン資源の保全は、持続可能な農業を行う上で解決しなければならない喫緊の課題である。これら背景のもと、P 資源問題への対処法は、主に、再利用と効率的な利用の 2 つであると考えられる。本論文では、特に農地での P 効率の利用を目指し、過剰な P 施肥を避けるため、土壌中の正確な生物学的 P 利用性の把握に関する研究を行った。また、土壌中の有機態リン (Po) の有効利用にも関わる土壌微生物の群集構造と、肥培管理、酵素活性などの機能の三者の関係性の研究も行い、P の有効利用に向けた基礎的知見の提供を試みた。

第 I 章では、生物学的な P 利用性を把握するため、微生物や植物が栄養素獲得のために放出する細胞外酵素の活性比を用いた資源配分モデルに注目した新たな P 利用性の評価法を検討した。このモデルは、例えば、炭素 (C) 獲得系酵素であるグルコシダーゼの活性に対する P 獲得系酵素であるホスファターゼの活性比を計算し、その値が大きければよりホスファターゼ生産に資源を配分しており、P 利用性は相対的に低いと推察される。得られた結果より、 $\beta$ -D-グルコシダーゼ活性に対する酸性及びアルカリホスファターゼ活性の比を用いた P 利用性の評価は、化学的抽出法の評価 [Truog 法、Bray 第二法 (準法)、Hedley 法] と有意な相関を示した。また、作物体の P 濃度とも有意な負の相関を示したことから、微生物の分泌する酵素を対象とした P 利用性の評価法でありながらも、植物の P 利用性の指標にもなり得ることが示唆された。これらの結果から、資源配分モデルを用いた新たな評価法は生物学的なリン利用性の指標として有用であることが示唆された。

第 II 章では、I 章で P 制限がみられなかった土壌の制限因子を明らかにするため、微生物の K

要求性について調査した。対象とした長期連用圃場において、植物に K 欠乏症が生じている区において、土壤微生物が K 制限の状態である可能性を検討した。栄養添加実験により、植物が K 制限である土壌であっても、微生物は K 制限ではなく、 $C > N > K$  の順に要求性が高いことが示唆された。また、C + N 添加に対する C + N + K 添加のデヒドロゲナーゼ活性の比は、交換態 K 濃度が低い地点で最も高くなっていたものの、その反応は閾值的であった。このことから、栄養素添加によるデヒドロゲナーゼ活性比を用いた養分利用性の評価では、二次的な結果しか得られず、また他の栄養素の制限に左右されてしまうと予想された。一方で、I 章で示した資源配分モデルによる P 利用性の評価は、化学的抽出法や植物体 P 濃度とも有意な相関が得られており、土壌中の養分利用性を相対的に評価することが可能であると考えられた。

第III章では、土壤微生物群集と、酵素活性などの機能、養分利用性の三者の関係性を調査した。アルカリホスファターゼ産生細菌(PhoD 生産菌)では、クラスター解析による群集構造の評価より P 施肥を行っていない、または非常に少ない区において、他の区と異なる群集構造を示した。また、その P 施肥が非常に少ない区では  $\beta$ -D-グルコシダーゼ活性に対するアルカリホスファターゼ活性の比が他の処理区に比べて大きく、アルカリホスファターゼ生産に優占的に資源を配分している可能性も示唆されていた。他方、PhoD 生産菌の多様性は、堆肥由来の P 施与量とアルカリホスファターゼ活性の両者と有意な負の相関を示した。これらの結果より肥培管理による養分量などの土壌特性の変化が機能遺伝子を保有する微生物群集の組成や多様性を変化させ、同時に微生物群集の酵素生産への資源配分や酵素活性も変化させる可能性が示唆された。

第IV章では、酵素添加法を用いて作物根圏の土壌中 Po プールの重要性を評価した。作物根圏において、 $\text{NaHCO}_3$  および  $\text{NaOH}$  抽出される加水分解性フィチン酸様 P の減少が確認され、現在まで化学的抽出法のみで利用性が高いと判断されていた Po の重要性を生物的に確認できた。また、黒ボク土において潜在的に利用される可能性のあるフィチン酸様 P が、処理区や区画によっては易分解性モノエステル P に匹敵またはそれを上回る量存在することが示された。

以上の研究より、土壤酵素を用いて生物的なリン利用性を評価する方法を提案し、さらに分子生物学的手法と組み合わせることにより、土壌の養分利用性と微生物群集構造、機能の関係性を、従来より詳細に評価することに成功した。さらに、生物的な手法を用いて、作物根圏における Po プールの重要性を確認できた。得られた成果は、微生物や植物を介した土壌中 Po の有効利用技術の開発にも有用な知見を提供するものと考えられる。