

氏 名 (本籍)	ひ とうら こういちろう 樋 浦 康 一 郎 (宮城県)
学位の種類	農 学 博 士
学位記番号	農 博 第 1 5 1 号
学位授与年月日	昭和 4 9 年 1 1 月 1 4 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当
研究科専攻	東北大学大学院農学研究科 (博士課程) 農芸化学専攻
学位論文題目	土壤有機態窒素の無機化の微生物学的研究 —すりつぶし効果を中心として—

(主 査)

論文審査委員	教授 古坂澄石 教授 高橋 甫
	助教授 山根 一郎

論文内容要旨

土壌中に存在している多くの有機窒素化合物は、そこに棲息している微生物群によって、アンモニア、または硝酸として無機化され、植物の栄養としてきわめて重要な役割を果たしている。そのため、土壌有機態窒素の無機化は、土壌の肥沃性を支えるものとして、すでに19世紀から注目されてきた。とくに、わが国では、水稻生育の合理的な土壌管理技術を確立する立場から、水田土壌の窒素経済性に関する多数の研究が行なわれてきた。このような研究の中から土壌有機態窒素の無機化を促進させる種々の土壌前処理が見出された。その一つとして土壌のすりつぶしによって、有機態窒素の無機化が促進されるという現象が報告されている(RoviraとGreacen, 1957; WaringとBremner 1964; 原田, 林, 近本, 1964; CraswellとWaring, 1972)。土壌は有機物および無機物が結合した団粒構造からなっており、この団粒構造はまた微生物の棲息場所としても重要な意味をもっている(服部, 1965)。ところで、土壌構造の破壊により土壌微生物の棲息環境にどのような変化が生じ、そこで働く微生物フロラにどのような影響をおよぼしているのであろうか? また、これらの諸結果が土壌有機態窒素の無機化とどのような関連をもっているのであろうか? 本研究では、土壌すりつぶし処理を行った水田土壌を試料として、これらの問題の解明を試みた。

I. 実験方法

性質の異なる5種の土壌(第1表)の風乾土を、一方は通常 of 土壌実験に用いられている2-1 mmの粒径に篩別調整して対照区の試料とした。他方は、対照区の試料をボールミルで3-5時間破碎し、粒径を<0.127 mmに篩別調整して“すりつぶし”処理区の試料とした。両者の試料を試験管に採り、湛水状態で30℃の静置培養を行った。そして、経時的にアンモニア化成量(マイクロケルダール法)、並びに増殖した細菌数(希釈平板法、ロールチューブ法)を、定量および計測した。また、湛水後10日目の嫌気性細菌を単離し、形態を中心として検討を加えた。

II. 土壌の“すりつぶし”効果

土壌を“すりつぶす”ことによって、(i) 有機物の分解および、(ii) 細菌の棲息環境にどのような変化が起るであろうか? まずこの問題を検討した。す

なわち(i)については、アンモニア生成量を指標として、(ii)については、細菌数の計測におよぼす音波処理の影響を中心に、それぞれ検討を加えた。その結果、1) アンモニア生成量は、どの土壌でも“すりつぶし”処理区の方が高かった(第2表)。2) “すりつぶし”処理による増大率は、土壌のもつ、腐植/粘土比と逆比例の関係が認められた(第4図)。3) 音波処理によって計数された細菌数は対照区では、風乾土の場合は数倍、湛水後でも主として好氣的計数値が増大した。一方、処理区では細菌の計数値におよぼす音波効果は認められなかった。

ところで、土壌の団粒構造はさまざまな大きさの閉鎖的または半閉鎖的な孔隙からなっており、土壌有機物や細菌の多くはこうした孔隙中に存在しているものと思われる。上記の結果 1) は孔隙内部に閉じ込められて微生物分解をうけにくくなっている有機物が、団粒構造の破壊によって微生物分解を受け易くなることを示している。また、有機物量に対して粘土量が多い土壌ほど、孔隙内部に閉じ込められている有機物の割合が多いことが期待されるが、結果 2) はこの期待を支持しているものと思われる。結果 3) は、団粒構造の孔隙内には、多くの好氣的細菌が分布していることを示している。このように土壌の“すりつぶし”処理によって団粒構造が破壊され、それにもない有機物の状態変化ばかりでなく細菌の棲息環境にもかなり重要な変化もたらされることが示された。

III. 無機化量と細菌数の関係

1) 湛水後の細菌数の変動。まず、各区の土壌を湛水静置培養することによって、細菌群の変動がどうなるかを、アンモニアの集積量を測定したと同時期に調べた。その結果、好氣的計数では対照区、処理区ともほぼ類似した増大傾向を示したが、嫌氣的計数では対照区に較べて、処理区の方がより急速な増大を示した。また、増大の割合も処理区の方が高かった(第1図)。この結果は、処理区の方が対照区に較べて嫌氣性細菌の生育により好ましい条件をつくりやすいことを意味している。このことは、“すりつぶし”処理によって、遊離状酸素を保持しやすい孔隙が破壊されたためだと考えられる。

2) 細菌数と無機化量：次に湛水後のアンモニア生成量と細菌数との間の関係について検討した。その結果、湛水後の無機化量は嫌氣性細菌との間に有意な相関が認められた。その中でとくに“すりつぶし”処理区の嫌氣性細菌数と

の間で有意性が高かった(第2図)。一方、好気性細菌数との間にはそのような関係は認められなかった(第2図)。これらの結果から、本実験系では、主として嫌気性細菌が、窒素の無機化に主要な役割を果しており、好気性細菌は主要でないと推定される。

3) 嫌気性細菌の種類と無機化量: 2)の結果に注目して、各土壌より嫌氣的に細菌を単離した。そして形態を中心にグループ分けし、それぞれのグループの細菌数を算出した。これをもとにして無機化量と各グループの細菌数との関係を調べた。その結果、グラム陽性の桿菌の細菌数と無機化量との間に有意な相関が認められた(第3図)。その他のグループではそのような関係は認められなかった。なお、無機化量と有意な関係が認められたグループの細菌群のなかには、形態観察によると、ClostridiumおよびActinomycetesに属する細菌がかなり存在していた。こうした結果より、本実験では、無機化に主要な役割を果していると推定される嫌気性細菌のなかでもとくに、特定のグループの細菌群がより密接な関係をもっていると推定される。

IV. “すりつぶし”処理と細菌フロラ

ここで細菌フロラ全体として見た場合、“すりつぶし”処理はどのような意味を持っているであろうか。本研究では、一応嫌気性細菌に限ってこの問題を検討してみた。細菌の単離は、清原土壌を除く4種類の土壌の対照区および処理区より行った。本実験では嫌氣的に単離した細菌の中、保存中に死滅するものが多く詳細な検討を困難にした。ところで、各土壌より単離した嫌気性細菌は、形態的性質を中心として、9のグループに分け、各々のグループの細菌数を求めて、土壌間および各区間相互の関連性を類似性指数(S.I.)をもとにして調べた(第5図)。求め方は以下の如くである。すなわち、比較すべき2つの土壌試料をxとyで表わし、それぞれの土壌に存在していたi番目の細菌グループの細菌数を x_i 、 y_i で表わすと、S.I.は次のように定義される。

$$S.I. = \frac{\sum_i |x_i - y_i|}{\sum_i (x_i + y_i)} \times 100$$
、すなわち両フロラは、全く同じである時S.I.=0 全く異なるときS.I.=100となる。ここでは、両者の細菌フロラはS.I.<30の場合ほぼ同じであり、S.I.>70の場合きわめて異なることとする。ところで本研究に用いた4土壌の処理区、対照区合わせて、8試料の間の嫌気性細菌フロラのS.I.は第5図のように求められる。図にみられるように、大部

分のSIは30より大きく70より小さい値を示した。とくに、処理区、対照区それぞれの間に、または同一土壌の間に類似性が強いといった傾向はまったく見られなかった。さらに、窒素の無機化量の異なる試料の間、または小さい試料同志の間に類似性があるという傾向も見出されなかった。恐らく、本実験系の細菌フロアは、有機態窒素の無機化とも密接な関連を持ちつつも、他のさまざまな要因とも関連しながらその構成内容を成立させているものと考えられる。

V. ま と め

1) 土壌の“すりつぶし”によって、湛水条件下でおこる有機態窒素の無機化が促進された。無機化促進の割合と土壌の腐植/粘土比とが逆比例の関係にあった。このことは、団粒内にとじ込められている有機物が、団粒破壊によって外部に放出され、分解菌の攻撃を受けやすくなったためであると考えられる。

2) 土壌の“すりつぶし”処理はまた、湛水培養下での嫌気性細菌がすみやかに増大した。これは団粒内に保持されていた分子状酸素が“すりつぶし”によって失われ、還元条件がより成立しやすくなったためと考えられる。

3) 有機態窒素の無機化量と好気性細菌数との間には相関は認められなかったが、嫌気性細菌数との間には有意の相関が認められた。また嫌気性細菌をグラム染色(陽性、陰性、Variable)と形態(桿菌、Filament状、多形状菌群)の性質から9つのグループに分けてそれぞれのグループの細菌数と無機化量との関係をしらべてみると、グラム陽性桿菌群のグループでのみ両者の間に有意な相関が認められた。

4) 4種の土壌の対照区“すりつぶし”処理区の嫌气的細菌フロアを類似性指数によって比較すると、これらのすべてが互いにかなり異った細菌フロアからなっており、同一土壌間、または無機化窒素量の似た試料の間にも、細菌フロアの類似性がとくにあるという傾向は認められなかった。

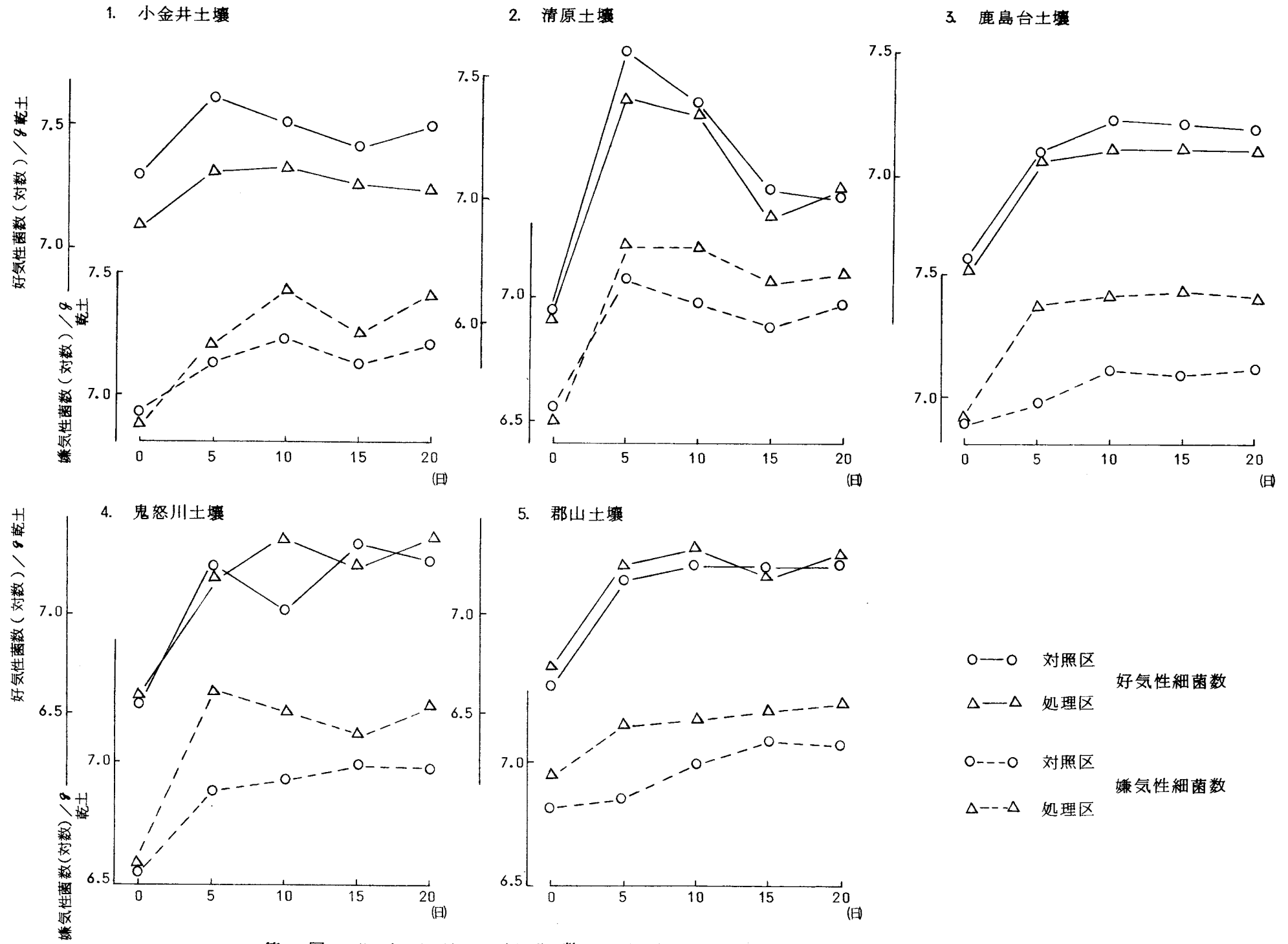
第 1 表 供試土壤の理化学的性質

No.	土壤	pH(H ₂ O)	T-C (%)	T-N (%)	C/N	Clay(%)	Tex.
1	小金井	6.26	5.20	0.64	8.1	41	LiC
2	清原	5.76	6.20	0.71	8.7	31	LiC
3	鹿島台	5.11	3.62	0.35	10.3	35	SiC
4	鬼怒川	6.35	3.70	0.43	8.6	24	CL
5	郡山	5.40	1.52	0.12	12.7	26	LiC

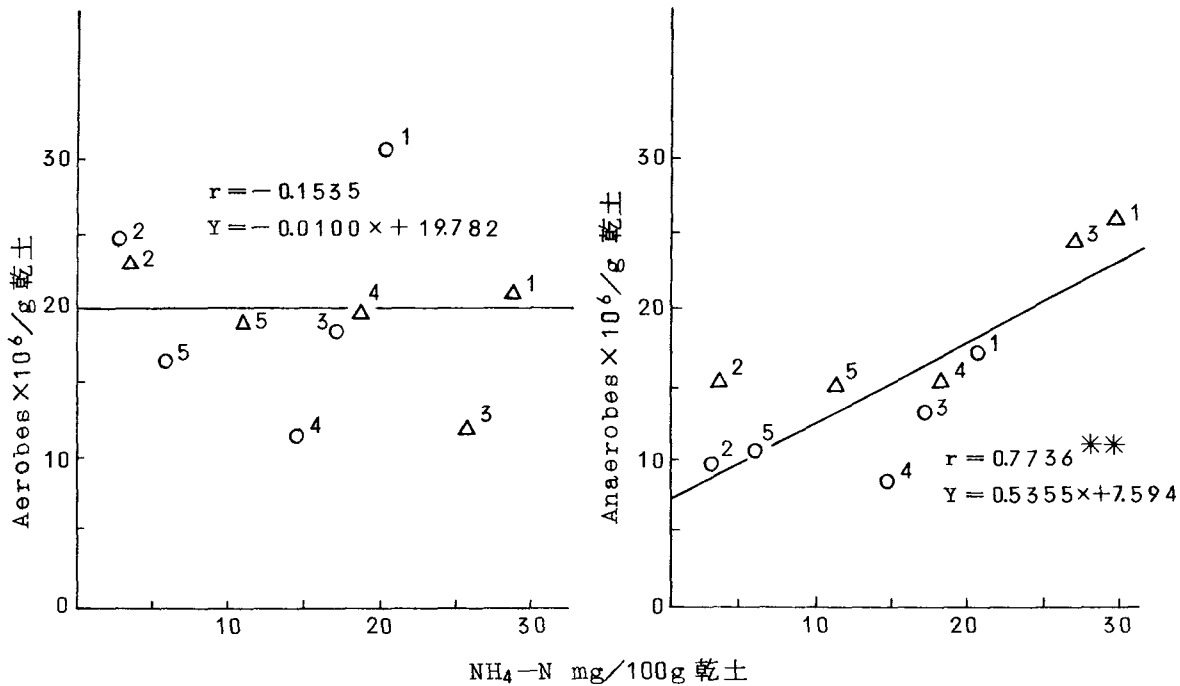
第 2 表 湛水に伴う NH₄-N 量の経時的变化

区 土壤	0		5		10		15		20	
	对照	処理	对照	処理	对照	処理	对照	処理	对照	処理
小金井	2.27	1.85	17.08	21.96	20.48	29.16	19.73	27.52	20.69	30.81
清原	1.85	2.13	2.43	2.37	3.32	3.54	3.55	3.76	4.96	5.44
鹿島台	1.57	2.41	12.45	17.45	17.43	26.02	18.35	26.48	19.16	26.77
鬼怒川	0.71	1.13	9.20	16.09	15.05	18.53	15.97	19.65	16.68	23.67
郡山	0.78	1.27	3.83	9.16	5.89	11.16	6.03	10.58	6.71	14.39

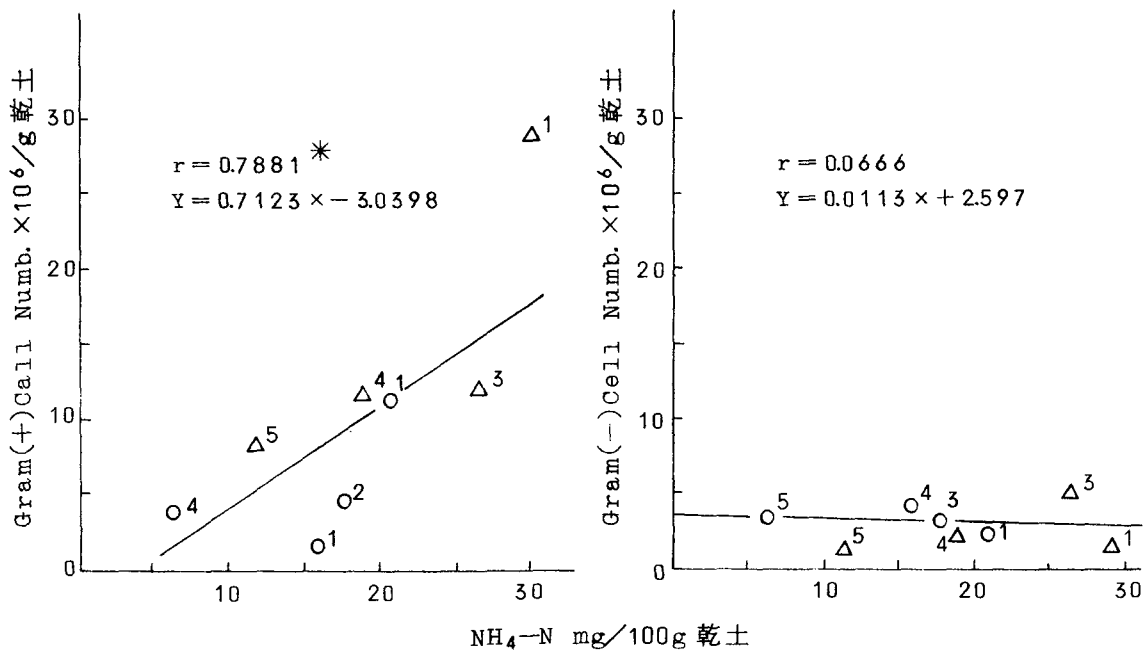
(NH₄-N mg/100g 乾土)



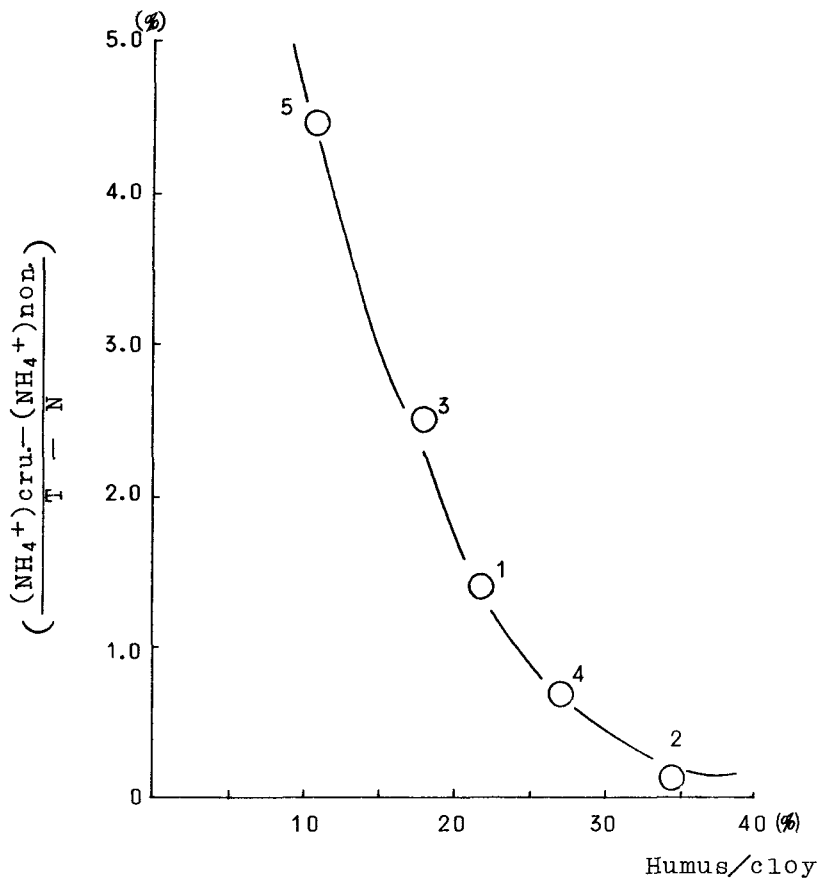
第1図 湛水土壤の細菌数の変動



第2図 無機化量と細菌数



第3図 グラム陽性および陰性細菌数と無機化量



第4図 腐植，粘土比と無機化率

	U ₁	U ₂	U ₃	U ₄	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	
U ₁									U ₁ : 小金井対照区
U ₂	40								U ₂ : 鹿島台 "
U ₃	73	50							U ₃ : 鬼怒川 "
U ₄	39	41	47						U ₄ : 郡山 "
C ₁	40	67	81	69					C ₁ : 小金井処理区
C ₂	21	44	60	41	40				C ₂ : 鹿島台 "
C ₃	37	48	66	47	39	40			C ₃ : 鬼怒川 "
C ₄	34	49	77	49	52	43	60		C ₄ : 郡山 "

第5図 細菌フロラと類似性指数

審査結果の要旨

土壌を耕起すると圧縮による土壌構造の破壊が起ることは良く知られた事実である。そして、その結果として土壌有機態窒素の無機化が促進されることが知られている。

本研究は土壌構造を破壊した際、微生物の棲息環境にどのような変化が生じ、また微生物フロラにどのような影響があらわれるか、そして、それらが土壌有機態窒素の無機化とどのような関連をもっているかの検討を“すりつぶし”によるモデル実験により行ったものである。

性質の異なる5種類の風乾土壌を2~1mmの粒径に篩別し、それを2分して、一方はそのまゝで対照区の試料とし、他方はボール・ミルで3~5時間破碎して、粒径を0.127mm以下にして“すりつぶし”処理区の試料とした。両試料を試験管にとり、湛水、保温(30℃)して静置培養を行い、経時的にアンモニア化成量、好気性および嫌気性細菌数を測定した。また、湛水後10日目の嫌気性細菌を単離し、その分類の検討を行い、無機化に関与する特定細菌群やそれら細菌群が全細菌相中に占める位置等について検討を加えた。

土壌を“すりつぶす”ことによって、有機物の分解および棲息環境にどのような変化が起るのかをまず検討した。その結果“すりつぶし”によって何れの土壌でもアンモニア生成の増大率は土壌のもつ粘土/腐植比と比例すること、および嫌気性細菌が絶対数の上からも好気性細菌との割合の面からも増大し、有機物の状態変化のみでなく、細菌の棲息環境にもかなり重要な変化が生ずることを明らかにした。

ついで、窒素化合物の無機化量と細菌数の変動との関係を検討し、無機化量と好気性細菌数との間には相関関係は認められないが、嫌気性細菌との間には有意の相関が認められ、しかも処理区の方が有意性が高かった。したがって嫌気性細菌が窒素の無機化に重要な役割を演じていることを推定した。ついで、その構成菌群を追究した結果 Clostridium 属菌および Actinomyces 属菌が主役をなしていることを明らかにした。ついで、嫌気性細菌フロラ全体として“すりつぶし”に対応した特定のフロラを形成するか否かを Similarity Difference Index を用いて検討した。処理区一対照区間およびそれぞれの間、無機化量の大きな試料間、小さな試料間等何れの組合せにおいても高い類似性があると云う結果は得られなかった。したがって細菌フロラは有機態窒素の無機化とも密接な関連をもちながらも、他の要因とも関連しつつその構成内容が決定されるものと推定した。

以上の結果は、就中有機態窒素の無機化に主として関与する微生物の内容を明らかにした点において博士の学位を与えるにふさわしいものと判定した。