

学 位 論 文 題 名

水田土壌中における有機酸の集積及び
メタン生成機構とその抑制方策に関する研究

学位論文内容の要旨

昭和 40 年代後半からのコンバインの普及は水田土壌への稲わらの施用を一般化させた。水田土壌に施用された稲わらは水稻の栄養供給源となる一方、中間分解生成物である酢酸、プロピオン酸、*n*-酪酸などの揮発性有機酸（以下有機酸）が水稻の生育を抑制する。また、水田から発生するメタンは温室効果ガスとして地球環境に大きな影響を与えているが、有機酸はメタン生成の基質となっている。そこで本研究は水田土壌中における有機酸の集積及びメタン生成機構とその制御方策を解明することを目的として実施した。実験は圃場から採取した土壌試料を嫌氣的に培養して行った。

1. 水田土壌中における有機酸の集積

- 1) 湛水土壌に稲わらを添加することによって有機酸の集積量が増加した。稲わらを添加しない場合有機酸はほとんど集積しなかったことから、稲わらが有機酸生成のための主な基質となっていると考えられた。集積量は酢酸が最大でプロピオン酸、*n*-酪酸（以下酪酸）がそれに次いだ。
- 2) 酢酸及びプロピオン酸の集積量は高温になるほど増加したが、集積期間は短かった。プロピオン酸は酢酸より遅れて集積し、これらの有機酸の集積時期は重ならなかった。酪酸と酢酸の集積時期は重なるため、温度が高く酢酸の集積量が多くなるほど酢酸が酪酸の生成と分解を抑制した。その結果、酪酸の集積量は高温になるほど減少し、集積期間は長期間にわたった。以上の結果から、有機酸集積パターンに対する温度の影響は、酢酸、プロピオン酸で酪酸とは異なることを明らかにした。
- 3) 実験に用いた土壌の風乾期間が長くなると、湛水後の有機酸集積量は上昇した。また、同じ土壌でも、前作が水田作の場合より畑作の場合に有機酸集積量は上昇した。これらの結果は、湛水前の土壌が酸化している場合には、稲わらを添加して湛水した後の有機酸の集積量が増加することを示している。この原因として、湛水前に酸化している土壌の期間が長いほど乾土効果によって易分解性の有機物量が増加し、これによって有機酸を生成する通性嫌気性菌が増加したことが考えられた。稲わらを連用することにより有機酸の集積量は減少したが、これは連用により有機酸分解菌が増加するためであると推察された。
- 4) 硝酸塩の添加により有機酸の集積量が増加し、非晶質酸化鉄や、硫酸塩の添加により有機酸の集積量が減少した。このことは、硝酸還元は有機酸生成に、鉄還元と硫酸還元は有機酸分解に関与していることを示す。

2. 酢酸、プロピオン酸、酪酸の分解機構及びメタンの生成機構

- 1) 風乾土を嫌氣的に培養した場合には水素の存在はメタン生成を抑制せず、酢酸の分解を抑制した。これはメタン生成において二酸化炭素+水素が酢酸に優先して利用されることに起因すると考えられた。
- 2) 風乾土を嫌氣的に前培養した土壤に酢酸を添加して再び嫌氣的に培養すると、水素の添加がメタンの生成と酢酸の分解を抑制した。このことはメタン生成を伴う酢酸の分解が、①酢酸の二酸化炭素と水素への分解、②二酸化炭素と水素からメタン、の生成の二つの反応により構成されていることを示している。反応①は自由エネルギー増加の反応であるため、生成物の水素がこの反応を抑制している。反応②においてメタン生成に水素が利用され、水素分圧を低く保つことによって酢酸の分解反応を可能にしている。これらのことから、水素分圧を低く保てば、酢酸の分解が促進すると考えられた。
- 3) これらの結果から、以下のことが明らかになった。培養初期の水素が豊富な条件下では二酸化炭素+水素から優先的にメタンが生成されるが、水素が消費され、不足すると酢酸から直接メタンを生成する反応に切り替わる。さらに培養期間が長くなると酢酸は一度二酸化炭素+水素に分解された後、その二酸化炭素+水素を基質としてメタンが生成する。培養期間中の水素の存在は酢酸の分解を抑制する。
- 4) プロピオン酸は酢酸に分解した後、ただちにメタン及び二酸化炭素に分解した。従って、プロピオン酸由来の酢酸はほとんど集積しなかった。プロピオン酸は硫酸イオンが存在しない条件下ではメタン生成を伴うプロピオン酸酸化により酢酸に分解された。プロピオン酸酸化菌によるプロピオン酸分解は自由エネルギー増加の反応であるため水素利用メタン生成菌が水素分圧を低く保つことによってプロピオン酸の分解を可能にしていると推察された。また、硫酸イオン存在条件下ではプロピオン酸は硫酸還元により酢酸に分解した。従って、硫酸塩の添加によりプロピオン酸の分解は促進された。硫酸イオン存在下でプロピオン酸は硫酸還元菌によって分解され、その結果生成した酢酸はメタン生成を伴い分解される。プロピオン酸が存在している間は硫酸還元とメタン生成との間で基質に対する競合は起こらなかった。
- 5) 酪酸は鉄還元に伴って酢酸に分解され、生成した酢酸は分解されメタンを生成した。ただし、易還元性の酸化鉄が十分に存在する条件下では酢酸は鉄還元を利用され、二酸化炭素を生成した。

3. 鉄資材と、硫酸塩の添加による有機酸とメタンの生成抑制作用

稲わらが土壤中で分解する際、有機酸の他に水素も中間生成物として生成された。水素はメタン生成の基質となるとともに、酢酸やプロピオン酸の分解を抑制した。鉄還元や硫酸還元において水素が電子供与体として使われる性質を利用し、鉄資材や硫酸塩の添加によるメタン生成と有機酸の集積の抑制方策を検討した。

- 1) 非晶質酸化鉄及び硫酸塩の添加によって有機酸の集積量は低下した。
- 2) 非晶質酸化鉄添加は稲わら存在下で二価鉄の生成を増加させ、メタン生成量を減少させた。非晶質酸化鉄はそのまま鉄還元菌に利用されるわけではなく、有機物とキレート複合体を形成して利用された。添加した稲わらは鉄還元の電子供与体を提供するだけでなく、この複合体を作るための有機物を提供していると考えられた。
- 3) 水素の添加によって硫酸イオンの還元は促進された。すなわち、水素が硫酸還元で電子供与体として利用されることを実験的に確認した。
- 4) 硫酸塩の添加によって水素が利用され、その結果水素量が減少し、二酸化炭素+水素からのメタン生成が抑制された。また、水素による酢酸分解の抑制が解除され、酢酸分解が促進した。

5) 以上の結果により、非晶質酸化鉄または硫酸塩の添加は有機酸の集積とメタン生成を抑制する有効な手段であると考えられた。

水田から発生する温室効果ガスであるメタンは、湛水条件という水稻を長期的、安定的に生産する条件下で有機物の分解最終産物として生成される。もしメタン生成を阻害すれば水稻生育に有害な有機酸が集積するため、メタン発生は一種の避けがたい必要悪と考えられてきた。本研究では水田土壌中における有機酸集積とメタン生成のメカニズムを明らかにし、鉄資材と硫酸塩資材の施用によってメタン生成と有機酸の集積を同時に抑制できることを明らかにした。

学位論文審査の要旨

主 査	教 授	但 野 利 秋
副 査	教 授	生 越 明
副 査	教 授	波多野 隆 介
副 査	助教授	山 口 淳 一

学 位 論 文 題 名

水田土壌中における有機酸の集積及び メタン生成機構とその抑制方策に関する研究

本論文は図59、表16、引用文献159を含み、6章からなる総頁数103の和文論文である。別に11編の参考論文が添えられている。

水田土壌に施用された稲わらは水稻の栄養供給源となる一方、中間分解生成物である酢酸、プロピオン酸、*n*-酪酸などの揮発性有機酸（以下有機酸）が水稻の生育を抑制する。また、有機酸は水田から発生する温室効果ガスであるメタンの基質となる。本研究は、水田土壌中における有機酸の生成・集積・分解とメタン生成の機構を解明して、これらの集積・生成を抑制する技術を確認することを目的として実施されたものである。得られた成果の概要は以下の通りである。

1. 水田土壌中における有機酸集積の特徴

1) 湛水土壌に稲わらを添加することによって有機酸の集積量が増加した。集積量は酢酸が最大でプロピオン酸、*n*-酪酸（以下酪酸）がそれに次いだ。

2) 湛水前の土壌の風乾期間が長くなると、湛水後の有機酸集積量は増加した。この結果は、湛水前の土壌が酸化した場合に、稲わらを添加して湛水した後の有機酸集積量が増加することを示している。

3) 硝酸塩の添加により有機酸の集積量が増加し、非晶質酸化鉄、硫酸塩の添加により有機酸の集積量が減少した。このことから、硝酸還元は有機酸生成に、鉄還元と硫酸還元は有機酸分解に関与していると推察された。

2. 酢酸、プロピオン酸、酪酸の分解機構及びメタンの生成機構

1) 風乾土を嫌氣的に培養することによって生成する水素の存在はメタン生成を抑制せず、酢酸の分解を抑制した。この結果はメタン生成において二酸化炭素+水素が酢酸に優先し

て利用されることを示す。

2) 培養期間が長くなると、酢酸は、①二酸化炭素と水素に分解され、同時に、②生成した二酸化炭素と水素からメタンが生成された。反応①は自由エネルギー増加の反応であるため、生成物の水素がこの反応を抑制する。反応②においてメタン生成に水素が利用され、水素分圧を低く保つことによって酢酸の分解反応を可能にしている。

3) これらの結果から、以下のことが明らかになった。培養初期の水素が豊富な条件下では二酸化炭素+水素から優先的にメタンが生成されるが、水素が消費され、不足すると酢酸からのメタン生成に切り替わる。さらに培養期間が長くなると酢酸は一度二酸化炭素+水素に分解された後、その二酸化炭素+水素を基質としてメタンが生成する。培養期間中の水素の存在は酢酸の分解を抑制する。

4) プロピオン酸は酢酸に分解した後、ただちにメタン及び二酸化炭素に分解した。従って、プロピオン酸由来の酢酸は集積しなかった。プロピオン酸は硫酸イオンが存在しない条件下ではメタン生成を伴うプロピオン酸酸化により、硫酸イオン存在条件下では硫酸還元によりいずれも酢酸に分解した。プロピオン酸の分解は硫酸塩の存在下でより促進された。

5) 酪酸は鉄還元に伴って酢酸に分解され、生成した酢酸は分解され二酸化炭素とメタンを生成した。ただし、易還元性の酸化鉄が充分に存在する条件下では酢酸は鉄還元を利用され、メタンを生成することなしに二酸化炭素を生成した。

3. 鉄資材と硫酸塩の添加による有機酸集積とメタン生成の抑制作用

稲わらが土壌中で分解する際、有機酸の他に水素も中間生成物として生成された。水素はメタン生成の基質になるとともに、酢酸やプロピオン酸の分解を抑制した。鉄還元や硫酸還元には水素が電子供与体として使われる性質を利用し、鉄資材や硫酸塩の添加による有機酸集積とメタン生成の抑制作用を検討した。

1) 非晶質酸化鉄及び硫酸塩の添加によって有機酸の集積量は低下した。

2) 非晶質酸化鉄添加は稲わら存在下で二価鉄の生成を増加させ、メタン生成量を減少させた。非晶質酸化鉄はそのまま鉄還元菌に利用されるわけではなく、有機物とキレート複合体を形成して利用された。添加した稲わらは鉄還元の電子供与体を提供するだけでなく、この複合体を作るための有機物を提供すると考えられた。

3) 水素の添加によって硫酸イオンの還元は促進された。すなわち、水素が硫酸還元には電子供与体として利用されることを実験的に確認した。

4) 硫酸塩の添加によって水素が利用され、その結果水素量が減少し、メタン生成が抑制された。また、水素による酢酸分解の抑制が解除され、酢酸分解が促進された。

5) 以上の結果より、非晶質酸化鉄または硫酸塩の添加は有機酸の集積とメタン生成を抑制する有効な手段であると考えられた。

以上のように、本研究はこれまで不明な点が多かった水田土壌中における有機酸の生成・集積・分解とメタン生成の機構を明らかにするとともに、鉄資材と硫酸塩資材の施用によっ

てメタン生成と有機酸の集積を同時に抑制できることをはじめて示したものである。したがって、得られた知見は学術的に高く評価される。さらに、鉄資材と硫酸塩資材の施用は実際の農家レベルで既に有機酸集積とメタン生成の抑止技術として利用されており、水稻生産及び環境保全に対して大きな貢献をしている。

よって、審査員一同は、野副卓人が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。