

## 第2節 有機栽培の安定化に対応した生物的指標の抽出・策定

### 1. 課題の背景・目的

有機栽培は概して慣行栽培よりも低収であり、特に有機栽培期間が短い場合に顕著に低収であることが、既存論文のメタ解析により示されています(Seufert ら、2012)。

一方、有機栽培における生産性を制限する要因のひとつとして、窒素養分を指摘する声もあります(Clark ら、1999)。有機栽培においては、有機態窒素が無機化されて作物へ供給されます。そこで、施用した有機物からの窒素無機化を評価する方法の開発を目指しました。

また、有機態窒素の無機化には、土壤微生物が関与しています。特に、タンパク質分解を担う酵素であるプロテアーゼは、土壤中での窒素代謝を律速する酵素であると考えられています(早野、1995)。そこで、プロテアーゼ生産細菌群集を対象に、有機栽培開始に伴う経年変化や農法の影響を調査しました。

### 2. 試験方法

#### (1) 調査圃場概要

茨城県つくば市の有機栽培農家(C、D、E および F)から、有機栽培土壌を採取しました(表5-1)。農家 C および農家 D については、新たに有機栽培を開始した転換中土壌も採取しました。2015 年に新たに有機栽培を開始した農家 F も一部、調査対象に加えしました。なお、農家 C および農家 F は、農家 E の弟子に当たります。これら有機栽培土壌や転換中土壌の比較対照として、農家 E に近隣の慣行栽培農家 B、農家 D に近隣の慣行栽培農家 A からも土壌を採取しました。

表5-1 土壌採取圃場(茨城県つくば市)

農家	農法	概要
A	慣行	D農家近隣の慣行栽培農家。
B	慣行	E農家近隣の慣行栽培農家。
C	有機	E農家の弟子。耕作放棄地において、2011年に有機栽培を開始。
D	有機	ベテラン有機栽培農家。
E	有機	ベテラン有機栽培農家。
F	有機	E農家の弟子。休閑地(2年間)において、2015年に有機栽培を開始。

有機栽培と慣行栽培のプロテアーゼ生産細菌群集構造を比較するため、長野県塩尻市の有機栽培1農家・4圃場および慣行栽培2農家・各2圃場より土壌を採取しました。また、茨城県石岡市の農家 H の有機栽培5圃場および慣行栽培4圃場より土壌を採取しました。

#### (2) 米ぬか培養法

有機栽培、転換中、慣行栽培の土壌で、施用した有機物からの窒素の無機化に違いがあるかどうかを明らかにすることを目的に、つくば市内の露地野菜農家圃場から、有機栽培(農家 D、E)、転換中(農家 C、D)、慣行栽培(農家 A、B)の土壌を採取し、モデル有機物として米ぬかを添加する区と無添加の区を設けて、窒素の無機化量を経時的に調べました。

土壌に添加した米ぬかからの窒素の無機化量は、恒温器内で培養試験を行うことにより算出しました。培養試験は、荒巻ら(2007)の方法を一部改変した方法で行いました。すなわち、100 ml 容のガラス容器で、窒素で 10 mg 相当の米ぬかを土壌 20 g(生土)と混合し、畑状態(随時、水分が土壌の最大容水量の 60%となるよう調製)として、30°Cの恒温器内で、最長 8 週間、静置培養しました。培養は、そ

れぞれ3反復で行いました。用いた米ぬかは、水分 112 g kg<sup>-1</sup>、pH 6.26、全窒素 22.2 g kg<sup>-1</sup>、全炭素 407 g kg<sup>-1</sup>、C/N 比 18.3、全リン酸 45.4 g P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> kg<sup>-1</sup>、全カリウム 17.9 g K<sub>2</sub>O kg<sup>-1</sup>、全カルシウム 0.84 g CaO kg<sup>-1</sup>、全マグネシウム 14.2 g MgO kg<sup>-1</sup>でした。

培養後に無機化した窒素の評価にあたっては、まず、米ぬか添加の有無を変えて、0、4、8 週間培養した土壌 20 g に、80 ml の 2 N KCl 溶液を入れて 30 分間振とうしてろ過しました。このろ液に含まれる NH<sub>4</sub>-N と NO<sub>3</sub>-N は、オートアナライザ (QuAAtro2-HR, BL-TEC) で測定しました。

培養 4 週間後の米ぬかからの窒素無機化量は、米ぬかを添加して 4 週間培養した区の無機態窒素量から、無添加で 4 週間培養した区の無機態窒素量を差し引いた値としました。同様に、8 週間で米ぬかから無機化した窒素量は、米ぬかを添加して 8 週間培養した後の無機態窒素量から、無添加で 8 週間培養した土壌の無機態窒素量を差し引いた値としました。

本研究では、米ぬかで判定した土壌の窒素無機化能が、他の有機物を施用した場合の無機化の遅速の評価にも利用できるのかどうかを明らかにするために、米ぬかからの窒素の無機化が早かった有機栽培土壌 (農家 D の土壌) と遅かった慣行栽培土壌 (農家 A の土壌) に、様々な家畜ふん堆肥や有機栽培農家が施用しているボカシなどを添加して培養し、窒素の無機化を調べました。

茨城県つくば市内の有機栽培農家 D、E、F、茨城県市岡市内の有機栽培農家 H から、栽培に使用しているボカシの提供を受け、試験に使用しました。農家 E と農家 F のボカシは米ぬか、もみ殻、かつお節かす (または、魚かす)、糖蜜などから作ったものでした。農家 D のボカシは、鶏ふん主体の原料から、農家 H のボカシは、米ぬか、油かす、炭、苦土石灰から作ったものです。この他の有機質資材として、油かす、乾燥鶏ふん、豚ふん、牛ふんと米ぬかを供試しました。

この試験では、米ぬかの代わりに窒素で 10 mg 相当の各有機質資材を土壌 20 g (生土) と混和し、前述の米ぬか培養試験と同様の手順で無機化量を測定しました。

### (3) プロテアーゼ群集構造解析法

プロテアーゼ生産能を有する微生物のうち、ここでは、中性メタロプロテアーゼを生産する細菌を対象としました。Sakurai ら (2007) を参考に条件を検討し、土壌から抽出した DNA を鋳型として、中性メタロプロテアーゼ遺伝子を対象とした PCR-DGGE を行いました。得られた DGGE プロファイルに基づきクラスタ解析を行い、各土壌のプロテアーゼ生産細菌群集構造を比較しました。

## 3. 結果と考察

### (1) 有機物投入履歴の異なる現地圃場における米ぬか培養法を利用した窒素供給量評価

有機栽培、転換中、慣行栽培の土壌で、施用した有機物からの窒素の無機化に違いがあるかどうかを明らかにすることを目的に、つくば市内の露地野菜農家圃場から、有機栽培、転換中、慣行栽培の土壌を採取し、モデル有機物として米ぬかを添加する区と無添加の区を設けて、窒素の無機化量を経時的に調べました (唐澤ら 2018a, 唐澤ら 2018b)。

その結果、慣行農家 A、B の 3 圃場では、いずれも、米ぬかを添加して 4、8 週間培養した後、米ぬかから無機化した窒素の量は少ない一方、有機農家 D、E の 7 圃場では、いずれも、より多くの窒素が 4、8 週間で無機化することが示されました。さらに、有機栽培転換中の農家 C、農家 D の 2 圃場は、いずれも、慣行よりは無機化が早く、有機土壌よりは無機化が遅いことが示されました (図 5-1)。

このことから、慣行土壌に比べると、有機栽培を続けた土壌の方が、添加した有機物から、速やかに窒素が無機化、すなわち、有効化することが考えられました。

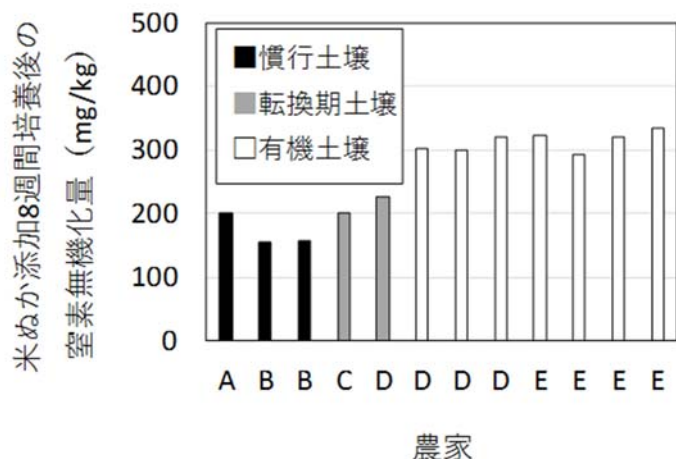


図5-1 土壌に添加した米ぬかから8週間で無機化した窒素量

米ぬかから無機化した窒素量は、米ぬかを添加して培養した土壌に含まれる無機態窒素量から米ぬかを添加せずに培養した土壌に含まれる無機態窒素量を差し引いた値

添加した米ぬかの全窒素量は、土壌 kg あたり 860 mg であり、米ぬかの窒素無機化率は、約 430 mg kg<sup>-1</sup> で 50%

米ぬかからの窒素無機化が早かった農家 D の有機土壌と、隣接する農家Aの慣行土壌(米ぬかからの窒素無機化が遅かった)に、米ぬかの他、各種ボカシや堆肥などを添加して培養した結果、米ぬかでは、図5-1の試験と同じように、有機土壌で無機化が早く進むことが再確認されました。さらに、実際の有機栽培で用いられるボカシや家畜ふん堆肥でも、米ぬかで窒素の無機化が早いと評価された土壌では、無機化が早く進み、米ぬかで無機化が遅いと評価された土壌では、無機化が遅いことが確認できました(図5-2)。

このことから、米ぬかなどをモデル有機物に、有機物からの窒素無機化の遅速を評価することで、実際に有機農家が使う有機物でも、その窒素が効きやすい土壌か、効きにくい土壌であるのかを評価できる可能性が示されました。今後、有機栽培転換初期に施用有機物からの窒素が効きにくい土壌かどうかを判定することにより、施用有機物から窒素が無機化しにくい土壌では、転換初期には分解しやすい有機物を利用するなど、転換初期の窒素不足による低収を軽減する技術につながることを期待されます。

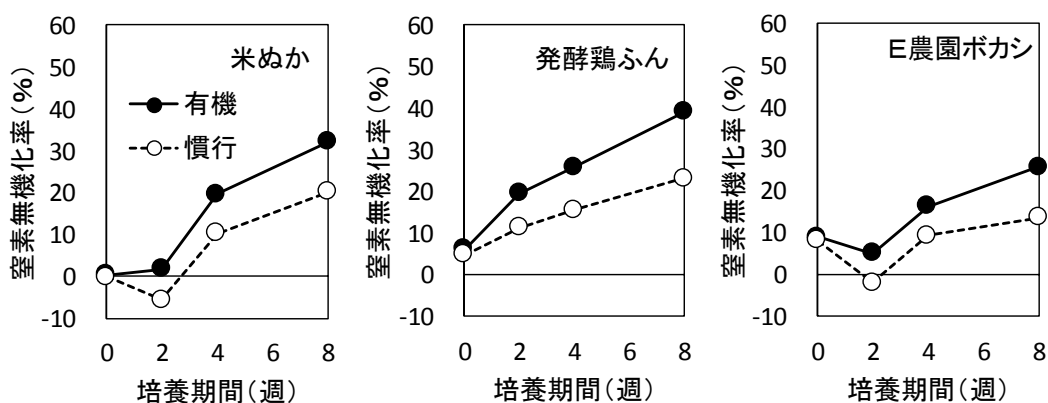


図5-2 有機および慣行栽培の土壌における各種有機質資材の窒素無機化率の経時変化

窒素無機化率は、施用した有機物に含まれる全窒素のうち、培養期間で無機化した割合

モデル有機物である米ぬか、1種類の発酵鶏ふん、1種類のボカシの例

有機土壌は、図5-1の農家 D、慣行土壌は農家Aの土壌

## (2) つくば市内露地野菜農家圃場における調査事例

農家 C、E および F の土壌について、プロテアーゼ生産細菌群集構造の経年変化を解析しました(図5-3)。クラスター解析の結果、大きくふたつのクラスターに分かれました。農家 E の土壌は長期間安定した栽培を行っている有機栽培圃場から採取した土壌ですが、ひとつのクラスターにまとまりました。もうひとつのクラスターは、農家 C と農家 F、すなわち近年有機栽培を開始した圃場より採取した土壌です。詳細に見てみると、農家 C については、有機栽培7年目になっても、農家Eの安定した有機栽培土壌とは群集構造は大きく異なっています。一方、農家 F については、有機栽培開始3年目で、群集構造は農家Eの土壌に近づいてきました。以上より、有機栽培開始に伴うプロテアーゼ生産細菌群集構造の変化は、土壌あるいは農家によって異なることが示唆されました。このことが有機栽培開始に起こりうる低収期間と関係があるのか、今後明らかにする必要があります。

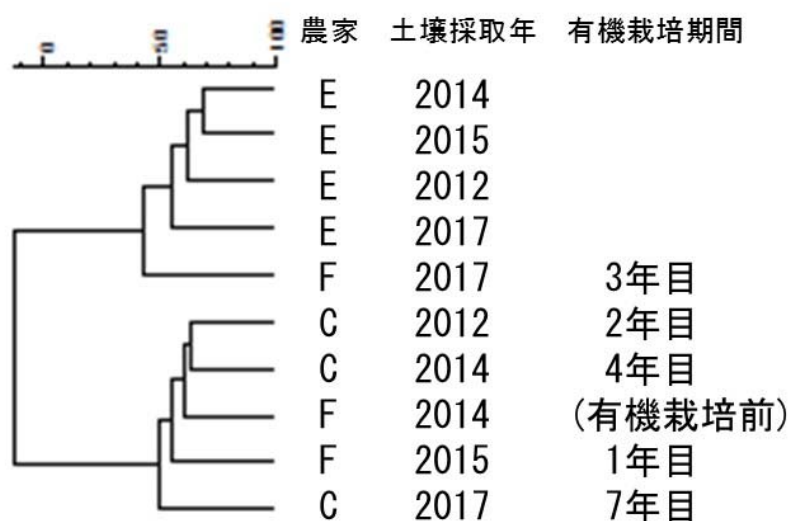


図5-3 有機栽培に伴うプロテアーゼ生産細菌群集構造の変化

## (3) 土壌管理履歴の異なる農家圃場における調査事例

長野県塩尻市および茨城県石岡市の土壌について、有機栽培と慣行栽培におけるプロテアーゼ生産細菌群集構造の比較を行いました。

クラスター解析の結果、有機と慣行で農家が異なる長野県塩尻市の場合、群集構造は農法で分かれる傾向がありました(図5-4左)。一方、同一農家の農法が異なる圃場より土壌を採取した茨城県石岡市の場合、群集構造に対する農法の影響は認められませんでした(図5-4右)。以上のことから、プロテアーゼ生産細菌群集構造は、有機と慣行といった農法ではなく、肥培管理により影響を受けることが示唆されました。

## 4. 要約

有機・慣行・有機転換中畑圃場のN無機化能を米ぬか添加培養実験等により評価しました。各種有機質資材からのN無機化能の評価については、米ぬかを添加した時のN無機化量に基づき概ね判定できます。

プロテアーゼ生産細菌群集、酵素活性、土壌理化学性等について、有機圃場と慣行圃場の比較や有機栽培期間との関係を解析しました。安定した有機栽培圃場の生物的指標については、安定した有機栽培圃場に特徴的なDGGEバンドの経年変化という指標候補を見出すことが出来ました。この指

標候補は限定された有機栽培農家圃場の調査より見出されたものであり、今後は、他地域等の調査を行うことにより、適用範囲を明らかにする必要があります。

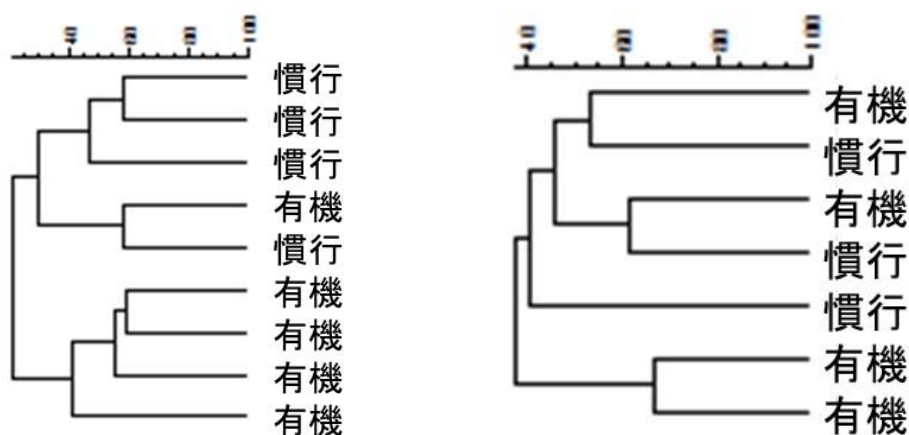


図5-4 有機栽培圃場と慣行栽培圃場におけるプロテアーゼ生産細菌群集構造の比較

左:有機栽培と慣行栽培で農家が異なる場合(長野県塩尻市)

右:同一農家が同等の肥培管理を行っている場合(茨城県石岡市)

## 5. 引用文献

- 荒巻幸一郎・山本富三・小山太・渡邊敏朗・荒木雅登・満田幸恵 (2007) 県内産家畜ふん堆肥の窒素無機化特性. 福岡県農業総合試験場研究報告, **26**,35-40
- Clark MS, Horwath WR, Shennan C, Scow KM, Lantni WT, Ferris H. (1999) Nitrogen, weeds and water as yield-limiting factors in conventional, low-input, and organic tomato systems. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **73**,257-270
- 唐澤敏彦・長岡一成・浦嶋泰文・橋本知義 (2018a) 有機栽培野菜畑土壌における施用有機物の窒素無機化特性 I. 有機栽培・転換中・慣行栽培の土壌に添加した米ぬかからの窒素無機化量の違い. 土肥誌 (印刷中)
- 唐澤敏彦・須賀有子・浦嶋泰文・橋本知義 (2018b) 有機栽培野菜畑土壌における施用有機物の窒素無機化特性 II. 有機・慣行栽培の土壌における窒素無機化量の資材間の比較. 土肥誌 (印刷中)
- 早野恒一 (1995) 耕地土壌の窒素地力とプロテアーゼ. 化学と生物. **33**,173-180
- Sakurai M, Suzuki K, Onodera M, Shinano T, Osaki M. (2007) Analysis of bacterial communities in soil by PCR-DGGE targeting protease genes. *Soil Biology & Biochemistry*, **39**,2777-2784
- Seufert V, Ramankutty N, Foley JA. (2012) Comparing the yields of organic and conventional agriculture. *Nature*, **485**,229-232

## 6. 執筆担当者一覧

長岡一成、唐澤敏彦、須賀有子、橋本知義

## 7. 問い合わせ先

農研機構中央農業研究センター Tel:029-838-8481