



(独)農業環境技術研究所公開セミナー

農業生産を支える土の中の小さな生物

開催日時：2015年3月17日（火）13:00－17:00

開催場所：秋葉原コンベンションホール

主催：(独)農業環境技術研究所

**後援：日本土壌肥料学会
日本土壌微生物学会
日本土壌動物学会
日本線虫学会**



農業環境技術研究所公開セミナー

「農業生産を支える土の中の小さな生物」

開催趣旨

普段目にする機会は少ないが、畑の土壌には多種多様な動物や微生物が生息している。農作物に害をもたらすものもいるが、良い働きをするものや、機能がよくわかっていないものも多い。果樹園や自然栽培の畑など、耕うんを減らした圃場では、特にこうした土壌生物の多様性が変化し、様々な機能を発揮していることが明らかになりつつある。今日、こうした土壌生物の機能を利用し、環境に優しい低投入・持続的農業生産への移行が叫ばれるようになり、さまざまな生物が有する有用機能を農薬や肥料の代替物として活用して、減化学農薬・減化学肥料のために役立てるための研究が、盛んに進められるようになってきた。

農業環境技術研究所では、環境に優しい農業技術の開発のための基礎技術として農耕地に生息する微生物・小動物の多様性や機能を長年研究してきた。このセミナーでは、この分野で先進的な成果をあげている研究者を招き講演をいただくとともに、農業環境技術研究所で得られた研究成果を交えて、それらの機能や多様性を明らかにするための研究や、土壌生物の機能を持続的な農業に生かすための研究について紹介する。

開催日： 平成 27 年 3 月 17 日（火）（13 時 00 分～17 時 00 分）

開催場所： 秋葉原コンベンションホール

主催： （独）農業環境技術研究所

後援： 日本土壌肥料学会、日本土壌微生物学会、日本土壌動物学会、日本線虫学会

プログラム

- 13:00～13:10 開会挨拶 (独) 農業環境技術研究所 理事長 宮下 清貴
- 13:10～13:40 やっぱりミミズのいる土は良い土だったー土壌生物が植物の生長を支えるしくみー
横浜国立大学 金子 信博
- 13:40～14:10 農地におけるミミズの役割 (独) 農業環境技術研究所 金田 哲
- 14:10～14:40 カバークロップ利用と不耕起栽培による炭素蓄積と土壌生態系応答
茨城大学 小松崎 将一
- 14:40～15:10 農耕地土壌における線虫の生態とその利用の可能性 (独) 農業環境技術研究所 岡田 浩明

休憩

- 15:30～16:00 農法が土壌線虫の多様性に及ぼす影響 (独) 農業環境技術研究所 荒城 雅昭
- 16:00～16:30 農業における植物内生菌の可能性 弘前大学 杉山 修一
- 16:30～17:00 微生物相解析結果を用いた土壌病害の診断 (独) 農業環境技術研究所 對馬 誠也

やっぱりミミズのいる土は良い土だった — 土壤生物が植物の生長をささえるしくみ —

横浜国立大学
大学院環境情報研究院
金子 信博

土壌は、私たちが食べる食物のほとんどを生産してくれており、土壌を大切にすることは、私たちの食の安全にとって、きわめて重要である。残念ながら、現在では、世界中で農地土壌の健康状態はあまりよくなく、今後、これまでと同じような食料生産が維持できるか、危惧されている。土壌には微生物や、トビムシやダニといった小型の節足動物、そして、ミミズやモグラといった様々な生物が暮らしており、その多様性や生息量は、同じ面積で比較すると地上の動物よりはるかに多い。土壌劣化は、農地におけるこのような生物多様性が失われることと密接に関連している。一般に森林を切り開いて農地に転換すると、土壌中の有機物の分解が進み、やがて土壌中の炭素量が減少していく。土壌炭素量は、土壌中の微生物やその他の生物の量を左右しており、炭素を減らすことは、土壤生物を減らすことになる。

土壤生物のなかで、微生物は植物に病気を起こす種類がある一方、動物が持たない酵素を使い、有機物を分解し、植物の生長を助ける重要な働きを担っている種類も多い。有機物の分解により、有機物に含まれていた窒素などの栄養塩類が無機態になり、水に溶けて植物の根から吸収可能な形になる。それでは、土壤動物にはどんな役割があるのだろうか？ミミズを例にとって、植物の生育を助ける仕組みを考えてみよう。ミミズは、土壤生物の中では大型で、だれでも一度は見たり、触ったりしたことのある動物であろう。ミミズは、一般に落ち葉や土を食べて暮らしている。また、ミミズ堆肥（ミミズコンポスト）といって残飯処理にミミズを使うと、その糞が良質な堆肥になることもある。

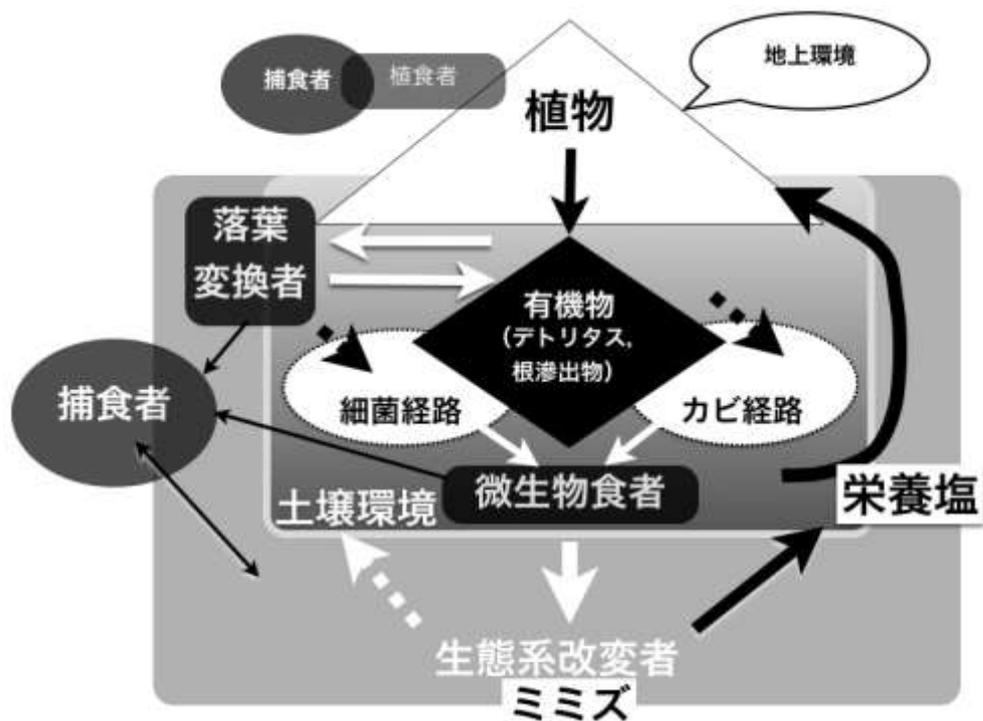
ミミズは一見、土壌をそのまま食べているように見えるが、種類によって落葉と土壌を混合して食べたり、土壌のなかでも有機物の多い部分を食べたりするため、排泄された糞には有機物が多い。また、ミミズから排泄された窒素は、アンモニア態の窒素で、糞のなかで微生物の働きで急速に硝酸態の窒素に変わる。これは窒素の無機化と呼ばれ、無機態の窒素は植物の根から直接吸収される。ミミズに限らないが、土壤動物はこのように有機物を食べて排泄することで、有機態の窒素を無機態の窒素に転換し、植物に利用できるようにしている。森林や、自然の草原ではだれも肥料をやらないが、このような自然の土では微生物と土壤動物の共同作業で、植物が利用したい栄養塩が供給されている。

ミミズを初めとする土壤動物は、微生物にはない機能も持っている。動物たちは微生物より動きが速く、力も強い。そのため、土壌中の有機物を移動させたり、粉碎したり、土壌の物理構造を変えたりする能力は微生物よりはるかに大きい。ミミズは窒素の無機化を促進するが、一方で糞は団粒構造の一部となり、土壌に蓄積される炭素量を増やしている。このような変化にともなって、土壌は隙間が多く、柔らかくなり、水分を適度に保持し、同時に排水性も高まる。したがって、ミミズが生息することにより、植物の利用可能な無機態の窒素が増えると同時に、土壤微生物を増やす炭素の蓄積が増え、耕さなくても柔らかい土になる。やはり、ミミズのいる土は良い土だったのだ。

現在、世界中で農法と土壌劣化の関係を探る研究が盛んに行われている。その結果、土壌の機能が高いところには、ミミズを初めとする豊かな土壤生物相が見られることが明らかになってきた。不思議なことに、土壌を熱心に耕したり、化学肥料をしっかり使ったりする農地には、ミミズはあまり生息していない。一方、農地のまわりの畦や、休耕地、堆肥置き場など、土壌の攪乱が少なく、雑草のような植

物が生えているところには、夏になるとたくさんのミミズをみかける。ミミズは、土壤動物のなかでは攪乱にもっとも敏感な動物である。どうやら、近代農法はミミズにとってはとても住みにくい環境を作り出してきたようだ。

土壤劣化を防ぎ、将来にわたって食料生産を続けるには、土壤生物相が豊かな農地を維持できるように農法を変えていく必要がある。ミミズは過去、延々と化学肥料や耕耘機の替わりをしてきた。保全型の農業を考えると、省耕起や不耕起、有機農業といった管理方法が有効であると考えられている。そうになると、ミミズに働いてもらって、作物をうまく育てることが、これからの農業技術の主要な部分を占めるようになるかもしれない。



金子 (2007) を改変

農地におけるミミズの役割

(独) 農業環境技術研究所
生物生態機能研究領域
金田 哲

昔からミミズがいる土は良い土だと言われており、ミミズが農業生産に影響を及ぼすことは古くから知られている。植物生育への効果は、ミミズが有機物を摂食し分解することで有機物中の養分を植物が利用できる無機態にする養分循環機能、土壌の透水性、通気性を高める団粒構造を発達させる団粒形成機能によるものと考えられている。これらミミズの機能を利活用するために、ニュージーランドでは牧草地にミミズが導入され、草の生産性が増加する結果が得られている。また、ミミズはトキなどの鳥や地表徘徊性の昆虫など多くの動物に摂食されることで、これら捕食生物の生命を支えている。このようにミミズは植物の生育や生物多様性に影響を及ぼすことが明らかになっているが、実は日本においては農地におけるミミズの研究は欧米と比較し遅れている。近年少しずつ明らかにされつつあるが、農地にどれくらいのミミズが生息しているのか、どういった農法でミミズが多いのかといった農地でのミミズ群集（種組成や個体数）に関する情報は十分には蓄積されていない。ミミズの役割については、団粒を形成し養分循環を促進することは明らかになっているものの、それぞれの農地においてミミズの団粒形成や養分循環機能がどの程度期待できるのか、またこれらの機能を利活用するにはどのようにすれば良いか明らかになっていない。欧米ではミミズの研究が進められているが、欧米と日本では優占しているミミズの種が科のレベルで異なり、優占している農地土壌の種類や気候も異なることから、欧米での研究結果が日本で適用出来るかどうか評価する必要がある。ミミズの機能を活用するには、農地にどの程度ミミズが生息しているのか、慣行栽培から草生栽培や有機栽培など農法を変えた時にミミズ群集がどのように変化するのかを明らかにする必要がある。さらにミミズによる団粒形成速度や養分循環速度が、土壌の温度、水分、有機物量などの要因とどういった関係があるのかを評価する必要がある。こういった研究を進めることで、ミミズの個体数を増やし機能を発揮させる農法が明らかになり、ミミズの機能を利活用する農法が開発出来るようになる。そこで、ミミズの機能を利活用する農法の開発に向けて、畑地において農法とミミズ群集の関係解明、ミミズの団粒形成機能の定量化に関する研究を進めている。農法とミミズ群集の関係を評価する研究では、有機栽培、カバークロープ栽培、自然草生栽培がミミズ群集に及ぼす影響を評価した。その結果カバークロープ栽培と自然草生栽培においてミミズの種数、生息密度を増加させる効果があることを明らかにした。ミミズの団粒形成機能を評価する研究では、サラミミズをミミズの代表種として実験に用い、団粒形成に最適な温度と水分条件を評価した。本セミナーでは、ミミズの機能や現在進めている研究について紹介する。

カバークロープ利用と不耕起栽培による炭素蓄積と土壤生態系応答

茨城大学農学部
小松崎 将一

地域に広がるカバークロープの利用

近年、農業生産由来の環境負荷の増大と農業生産の持続性確保の視点から、総合的な土壌管理について注目が集まる中で、カバークロープのもつ多面的な効果が期待されるようになってきました。大規模農業が中心の欧米では省労力・土壌保全の観点から古くから導入されており、北米では多くのトウモロコシやダイズ栽培体系においてライムギやクローバーといったカバークロープが導入されています。一方、日本では、循環型農業に取り組む農家を支援する方法の一つとして平成 23 年度から「環境保全型農業直接支払制度」が始まり、減農薬・減化学肥料と併用したカバークロープの利用や堆肥の施用などの制度を利用する農家は毎年増加し、平成 25 年度には日本の半数の自治体・20 万戸（約 10%）の農家が参加するに至っており、一般農家にも広く普及しています。

カバークロープは圃場で有機物を生産し、耕うんなどを通じて土壌に還元することで、農地の持続的生産に必要な土壌有機物を涵養する優れた効果があります。しかしながら、この効果は、どのような耕うん方法によってカバークロープを圃場に還元するのかによって大きく異なります。筆者らは茨城大学附属フィールドサイエンス教育研究センターの圃場を利用して、様々な耕うん方法とカバークロープ利用の組み合わせが、長期的な土壌炭素蓄積に及ぼす影響とそれに伴う土壌生態系の変化について調査を行っています。ここでは、耕起および不耕起圃場でのカバークロープ利用や草生栽培を対象として、土壌炭素を蓄積し、豊かな土壌生態系を形成する農法について考えてみます。

不耕起で土壌の何がかわるのか？

2002 年秋から、耕うん方法を 3 水準（プラウ耕、ロータリ耕および不耕起）、冬作カバークロープの種類を 3 水準（ヘアリーベッチ、ライムギおよび裸地）さらに施肥量を 2 水準（無施肥と慣行施肥）を組み合わせた試験区を 4 反復で設置しました。最初の数年は、作物の収量および土壌炭素量について処理間では有意な差がありませんでした。しかし、継続 3 年目からは不耕起区の表層で土壌中の炭素が増加する傾向が認められ、継続 8 年後には不耕起区では耕うん区（プラウ耕とロータリ耕）に比べて 10~21%増加しました。

もっとも大きな変化が認められたのは土壌炭素の分布構造です（図 1）。プラウ耕を実施している圃場では、土壌炭素が 0 から 30 cm の層ではほぼ均一に分布するのに対し、不耕起栽培では、土壌表

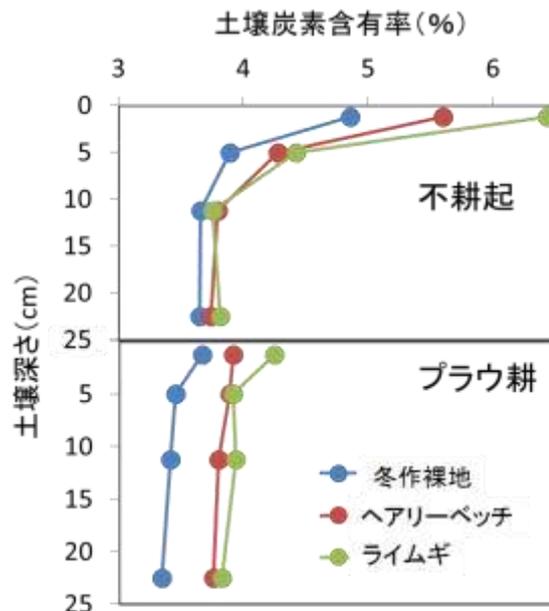


図1 不耕起および耕起(プラウ耕)の継続とカバークロープ利用の有無が土壌炭素分布に及ぼす影響 (Higashi et al. 2014 Soil & tillage Res.)

層に炭素が集積することが認められます。不耕起栽培での土壤炭素の分布は、森林や草地に近い構造となっています。また、冬作にカバークロップを栽培してプラウ耕ですき込むと、作土層全体にカバークロップ由来の炭素が分布するのに対し、不耕起栽培ではこれらの残渣も土壤表層に集積しています。土壤に有機物を還元する場合、その埋設する深さによって分解する速度が異なります。ロータリ耕やプラウ耕などで残渣を土壤中に埋設した場合には比較的速やかに分解されるのに対し、不耕起栽培のように圃場表面に残渣を置いた場合にはゆっくり分解していきます。有機物がゆっくり分解することで、炭素の集積や土壤生物相の構造に影響を与えていることが考えられます。

その影響が顕著に認められるのが土壤中の微生物バイオマスの分布です。図2に、10月における耕うん方法別のカビ（糸状菌）の分布を示しました。ここではカビのバイオマスをカビがもつ特有の物質であるエルゴステロール量で表しています。カバークロップ残渣をすきこんだのが5月ですので、10月になるとカバークロップ残渣の影響は耕うん区では認められません。しかし、不耕起栽培では圃場表層に残存している残渣が炭素を供給し続けることで、カビのバイオマスを高く維持しています。とくにカビなどの好気性微生物の増加は、地表面の有機物供給とともに好気的環境が支えているものと考えられます。これらの結果、表に示すように、不耕起土壤ではカビが優占する微生物相を示し、土壤団粒の発達していきます。

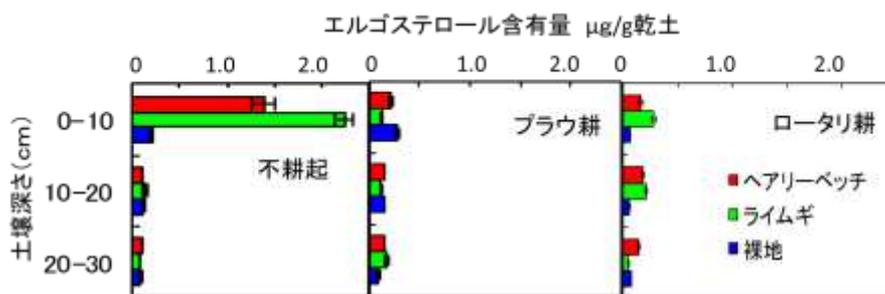


図2 カバークロップの利用と耕うん方法別の土壤糸状菌バイオマス(エルゴステロール含量)の差異。(Zhaorigetu 2008 in Micro. & Environ.)

有機物循環と土の生き物たち

不耕起栽培を継続すると、トビムシ、ダニなどの中型土壤動物やミミズやイシムカデなどの大型の土壤動物が増えていくことが認められます。不耕起栽培を継続して4年目にハンドソーティング法にて大型の土壤動物を採取した結果、不耕起圃場では9~12科・目、ロータリ耕では9~10科・目、プラウ耕では7~9科・目が観察されました。このデータを用いて、青木(1985)による「自然の豊かさ指数」を計算すると、不耕起栽培とカバークロップ利用の組み合わせで非常に高い値となりました。また、土壤動物バイオマスは、ロータリ耕の冬期裸地に比べて不耕起とライムギカバークロップの組み合わせでは約11倍増加していることが認められました。

不耕起栽培での土壤生物は、有機物の循環にどのような影響をもたらしているのでしょうか？ライムギに重窒素(15N)を吸収させ不耕起圃場とロータリ耕の圃場に設置し、土壤微生物や土壤動物及びオカガの重窒素の吸収率を調査しました。設置1ヶ月後のライムギ由来窒素の土壤動物への吸収率をみると、

不耕起区のミミズと土壤線虫、ダニ類およびトビムシ類で吸収率が有意に高くなりました。その結果、後作のオカボのライムギ由来の窒素の吸収量は不耕起区で高くなりました (Komatsuzaki 2007)。

もし、有機物供給に伴って土壤中で微生物のみが増加したならば、土壤中の可給態窒素を微生物増殖に利用され、いわゆる窒素飢餓が生じてしまいます。しかし、土壤中に生息するミミズやトビムシあるいは菌食性の線虫は、これらの微生物を食べて排ふんし、有機物の無機化を促進することで窒素飢餓を回避しています。不耕起圃場では、CN比の高い有機物が投入されても菌食性の土壤動物たちの働きにより、カビの増殖→土壤動物による摂食・排ふん→可給態養分の供給→植物の吸収という循環を作り上げています。農耕地での虫たちを“害虫”“天敵”“ただの虫”“とわけてとらえる人たちもいますが、不耕起栽培での多様な土壤動物たちをみていると、”ただの虫“たちの多くは微生物と協力し合いながら、有機物由来の養分循環に大きく役立っていることが理解できます。

土壤線虫相と作物生産性

耕うん栽培と不耕起栽培との作物生産性の比較については多くの報告があります。それらの結果をみると不耕起と耕うん栽培との作物収量差はほとんどないという報告が多く認められます。筆者らの試験においても、耕うん区と不耕起区では収量に有意な差が認められませんでした。

しかし、不耕起を継続した結果、不耕起区で作物収量が有意に高くなることが認められました。本学の長期試験圃場では、最初の5年間はオカボの連作を行いました。その結果、連作4年目において、不耕起区で耕うん栽培区に比べて有意に作物収量が向上することが認められました。耕うん区での減収の原因には植物寄生性のイネシストセンチュウの影響が認められました。イネシストセンチュウなどの *Heterodera* 属線虫の密度をみると、耕うん区で高いのに対し、不耕起区ではほとんど検出されませんでした。不耕起栽培では、土壤攪乱が少ないために体長の大きな捕食性線虫が増加することが認められます。これらの捕食性線虫の増加や糸状菌の働きにより植物寄生線虫の増殖を抑制することが期待されます。

現在、同圃場では有機ダイズの栽培を行っています。

いまのところダイズシストセンチュウの被害は認められませんが、不耕起区で収量がやや高くなることが認められています。

また、土壤中の炭素蓄積に伴って、土壤線虫の多様性が増加し、土壤線虫群集の生態系構造が発達することが認められています。特に、不耕起栽培とライムギカバークロップの組み合わせ、土壤線虫からみた生態系構造が最も発達することが認められています (Ito et al. 2015)

不耕起でもやわらかい土に

不耕起栽培で問題となるのは土壤硬度の上昇です。しかし、不耕起栽培でも冬作カバークロップを利用することで土壤硬度が有意に低下することが認められます (図7)。冬作のライムギやヘアリーベッチ

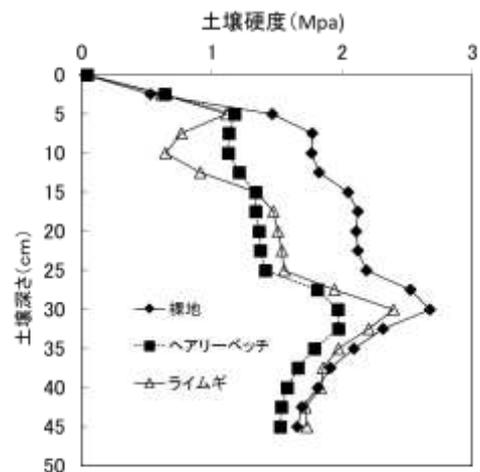


図4 不耕起栽培圃場でのカバークロップ利用の有無と土壤硬度分布(牟ら 2007 農作業研究)

の根は土壌深さ 1m以上にわたって深く張り巡らせることが知られています。作物の根はC/N比が低いいためカバークロップが枯死した後、速やかに分解されますが、土壌中では空隙が残り、土壌中の水の流れを確保すると同時に土壌硬度を低下させることができます。

不耕起栽培とカバークロップなどの有機物の表面施用を継続すると、土壌の団粒が進むことで、土壌の空隙率が増加し、いわゆる“ふかふかの土”へと変化していきます。圃場表面の空隙率の増加は、好気性微生物であるカビの増殖を促し、菌食性の土壌生物の増加につながります。

不耕起栽培の機能を発揮させる有機物マルチとしては、C/N比の高いものが優れていると思います。カバークロップの利用でみるとC/N比の低いヘアーベッチは圃場表面で早期に分解されてしまい夏季以降はマルチが消失することで土壌表層の乾燥が進むのに対し、C/N比の高いライムギでは秋季まで土壌表面被覆が維持されることで、炭素源の供給の持続と適度な土壌水分の保持により土壌生物たちの適度な住処を提供することができます。

農家に推奨できる不耕起・草生栽培

私たちの 10 年間にわたる圃場試験での結論の一つとして、不耕起栽培単独で土壌を改善することはできませんが、不耕起栽培にカバークロップ利用などの有機物の表面施用を組みあわせることで土のもつ機能が劇的に向上することが認められます。そのカバークロップは、購入種子を毎年播種するものでなくても、圃場にある自然植生（雑草）を利用しても効果が期待できます(Yagioka et al. 2015)。

不耕起・草生栽培は、雑草と一緒に作物栽培を行うものであり、作物と草の生育のバランスを取ることが難しいのですが、雑草の生育力がやや低下する秋季以降に栽培する作物には、比較的簡単に適用できるようです。不耕起・草生圃場（イタリアンライグラスの自生化圃場）と慣行圃場（毎年 1 回ロータリ耕うんし、雑草防除を行う）において、ダイコンやカブなどを栽培しました。どちらの圃場のダイコン播種時に殺虫剤の施用を行わなかったのですが、耕うん圃場ではネキリムシの被害が多発したのに対し、不耕起・草生圃場では被害がほとんどありませんでした。不耕起で無農薬、そして省有機肥料の施用でも立派なダイコンが収穫できました。不耕起・草生区のダイコンやカブは、耕起区にくらべて硝酸含有量が著しく低いことも大きな特徴です (Yagioka et al. 2014) 。

自然との共生を目指す農作業システムは？

いま、農業をめぐる状況としては国際競争がさらに激化する中で、いままで以上の低コスト化が求められています。一方で、石油資源の長期的な供給への不安から化学肥料などの農業資材の高騰が危惧されます。また、今後の消費税増税に伴い、資材購入に過度に依存する農家経営では限界がみえつつあります。この中で、農業の規模を拡大してさらに高能率な生産システムを模索するとすれば、農業機械のさらなる大型化による土壌踏圧の著しい増加により、土壌生物相の貧困化に伴う土壌の長期的劣化が危惧されます。

米国での不耕起栽培は、除草剤耐性GM作物の利用による大規模・効率的栽培によって支えられています。これに対し、日本の不耕起栽培の取り組みは、“自然との共生”に根差した新しい農法としてユニークな展開を見せつつあります。ここでは、土のもっている機能を最大限に生かす、という発想から改めて農作業システムを考えていく必要があると思います。

文献

- 青木淳一. 1985. 土壤動物、日本自然保護協会編指標生物—自然をみるものさし、252-257、思索社.
- Higashi,T., Y. Mu, M. Komatsuzaki, S. Miura, S. Hirata, H. Araki, N. Kaneko, H. Ohta. 2014. Tillage and cover crop species affect soil organic carbon in Andosol, Kanto, Japan. *Soil & Tillage Research* 138:64–72.
- Komatsuzaki, M. 2007. Ecological significance of cover crop and no tillage practices for ensuring sustainability of agriculture and eco-system service. In “Ecosystem Ecology Research Trends” eds. Chen, J.,and Guo, C.,Nova Science Publishers (New York, USA), 177-207.
- Ito,T.,M. Higashi, T., Araki,M. Komatsuzaki,N. Kaneko, and H. Ohta. Responses of soil nematode community structure to soil carbon changes due to different tillage and cover crop management practices over a nine-year period in Kanto, Japan *Applied Soil Ecology*. 89;50-58.
- Yagioka, A, M. Komatsuzaki, and N. Kaneko. 2014. The effect of minimum tillage with weed cover mulching on organic daikon (*Raphanus sativus* var. *longipinnatus* cv. Taibyousoufutori) yield and quality and on soil carbon and nitrogen dynamics." *Biological Agriculture & Horticulture*. 30(4): 228-242.
- Yagioka, A., M. Komatsuzaki, H. Ueno, and N. Kaneko. 2015. Effect of no-tillage with weed cover mulching versus conventional tillage on global warming potential and nitrate leaching. *Agriculture, Ecosystems and Environment*.200:42–53.
- Zhaorigetu, Komatsuzaki, M., Sato, Y., Ohta, H. 2008. Relationships between fungal biomass and nitrous oxide emission in upland rice soils under no tillage and cover cropping systems. *Microbes and Environments*, 23:201-208.

農耕地土壌における線虫の生態とその利用の可能性

(独) 農業環境技術研究所
生物生態機能研究領域
岡田 浩明

農耕地の線虫といえば、作物の根にこぶを作るネコブセンチュウなど、植物寄生性の線虫を浮かべる人が多い。しかし線虫は多様であり、様々な性質を持つ種が土壌中に生息している。例えば、コガネムシの幼虫体内に侵入、増殖することでそれを殺す昆虫病原性線虫の存在は19世紀より知られ、現在では生物農薬として市販されている。本講演では、植物寄生性以外の線虫の性質を紹介すると共に、演者が関わってきた、こうした線虫の利用に関する研究について紹介する。

土壌に生息する線虫（土壌線虫）の多くは動植物に寄生しないため、自由生活性線虫と呼ばれる。手足や羽が無く、せいぜい体長数ミリメートルなので肉眼では見にくいですが、顕微鏡で観察すると、右図のように内部形態、特に口器の形が様々であることがわかる。これは食物のタイプの違いを反映すると言われ、これにより肉食性、雑食性、細菌食性、糸状菌（カビ）食性などと分けられる。

演者は初め糸状菌食性線虫を研究した。これを生物防除資材として利用し、野菜の苗立ち枯れ病などの土壌病害の抑制を試みた。病原菌を接種した土壌にニセネグサレセンチュウという種を大量に投入すると、ポット試験規模では病害の発生を抑えることができた。土

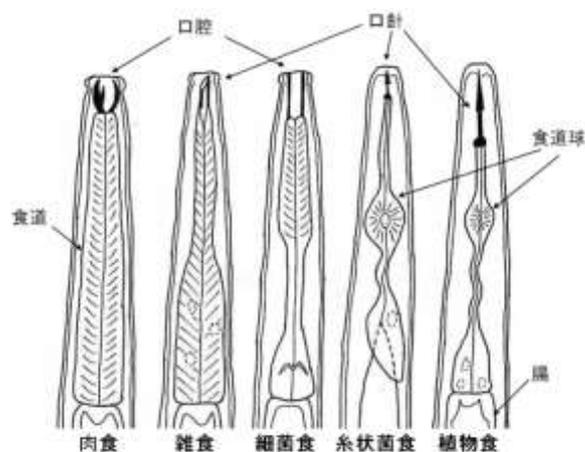


図 植物食線虫(右端)と自活線虫の前半身

壌線虫には性質が未知の種が多い。新たな資材候補を探すべく、土壌線虫の探索とスクリーニングを行った。その結果、農耕地や森林土壌に普通に生息しているが、従来は植物寄生性と考えられていたグループの線虫が、実は糸状菌の菌糸をも摂食することを見出した。この線虫はニセネグサレセンチュウとは異なり、子のう菌や担子菌でよく増殖した。果樹の土壌病害の研究者と共同で調べた結果、この線虫はまた、子のう菌の1種である白モンパ病菌の菌糸を摂食しても増殖することがわかった。この性質を利用した白モンパ病菌防除のための基礎研究が続けられている。

土壌の健全性（病害虫の発生が少なく、肥沃で、有機物量が維持されることなど）のモニタリングや保全のため、理化学性と並んで生物性が調べられることがある。欧米では健全性の評価のために土壌線虫群集が利用されている。先述したように土壌線虫には食物のタイプが異なる種が含まれ、土壌食物網において様々なニッチを占めている。また、生活史戦略も種によって異なり、頻繁に耕起されるような環境に生息できる種もあれば、安定した森林のような環境でないと生息できない種もいる。こうした生活史戦略と食物のタイプの違いの組合せによって線虫を「機能群」に分け、その組成を、土壌の健全性の評価の1つに用いている。具体的には、有機物分解の主役（糸状菌なのか細菌なのか）、有機物分解の遅速の程度、食物網構造の発達程度などの評価である。演者が国内のダイズ圃場で調査したところ、耕起の有無が土壌生態系に及ぼす影響については、線虫群集により妥当に評価できた。また、トマトの

有機栽培農家の圃場では慣行栽培農家の圃場に比べ、食物網構造の発達程度を示す指数の値が高く、有意ではないものの植物寄生性線虫の密度が低いことを見出した。現在は果樹園などにおいても線虫群集を調べている。

農法が土壤線虫の多様性に及ぼす影響

(独) 農業環境技術研究所
生物生態機能研究領域
荒城 雅昭

食料・農業・農村基本計画に基づいて、地球温暖化防止や生物多様性保全に効果の高い営農活動の普及拡大を目指し、いわゆる環境保全型農業の推進が図られている。地球温暖化防止を目的とした、カバークロップ栽培や炭素貯留効果の高い堆肥の水質保全に資する施用は、化学肥料及び化学合成農薬の5割低減と併せ行った場合、農地土壌への炭素貯留に効果の高い営農活動や生物多様性保全に効果の高い営農活動として、環境保全型農業直接支援対策の対象となっている。これらの他、土壌侵食や化石燃料の投入を減らす不耕起栽培、耕作放棄地の永年性カバークロップによる保全管理なども、同様に地球温暖化防止や生物多様性保全の効果が期待できるであろう。

農環研構内には1981年以来本年で35年間、不耕起で落葉堆肥だけを施用しながら、夏季にダイズ（初期は陸稻）、冬季にオオムギを継続して栽培してきた圃場がある。隣接して35年間同様の作物を慣行栽培してきた圃場もあって、これら圃場の土壤線虫相を比較すると、不耕起堆肥連用圃場からはこれまでに、75種（慣行圃場は51種）と多種類の線虫が記録され、多様度指数や土壌の攪乱の程度を示すMaturity Indexなどで比較しても、慣行栽培圃場に比べ線虫相が多様で環境が安定していることが推察された。不耕起堆肥連用圃場では珍しくない細菌食性線虫、Acrobeles 属、Teratocephalus 属、Geomonhystera 属、Wilsonema 属、Rhabdolaimus 属、Bastiania 属、Achromadora 属などは、慣行栽培圃場ではほとんど全く検出されず、安定した環境に特徴的な線虫であると考えられた。

上記例では、反復は設けられていない上、土壤線虫が多様になるまでに必要な期間が明らかではない。そこで2007年4月より、60cm四方の大型ポット80個を用いて購入した黒ボク畑土壌を詰め、4反復20処理で、耕起・不耕起と冬作園芸作物・冬作緑肥の組合せや、カバークロップと裸地管理・雑草繁茂などを比較する試験を開始した。試験開始時のポットごとの線虫相が均一にできずポットごとの線虫相がまちまち、一部カバークロップが消滅したなど紆余曲折があったが、試験開始後5年辺りから、処理の間で線虫相や分離される線虫の総個体数に差が見られるようになってきた。特に作物（夏作オクラ・ゴマ）栽培区でAcrobeloides 属など細菌食性線虫が多く、耕起がその傾向を助長すること、その結果多様度指数が低下すること、ただし同じ細菌食性線虫でもProdesmodora 属線虫はごく少ないことなどが認められた。コウライシバやリッピア、シバザクラなどのカバークロップは、雑草繁茂区や裸地区と同様押しなべて土壤線虫の多様度が高く、特に裸地にしている区ではMaturity Indexが高いことが明らかになってきた。不耕起堆肥連用圃場を特徴付け、指標種になるのではないかと期待されたWilsonema 属やGeomonhystera 属線虫は一部のポットで検出され始めたが個体数はごく少なく、このような線虫が多くなるにはまだ時間がかかるものと考えられた。



農環研構内不耕起堆肥連用圃場



農環研線虫環境制御実験棟東側野外ポット置場

農業における植物内生菌の可能性

弘前大学
農学生命科学部
杉山 修一

内生菌,あるいはエンドファイトとは植物の体内に生息して害を与えない微生物の総称である。内生菌と病原菌の違いは,植物の体内に入った後に植物に害を与えるどうかで決まる。内生菌は,イネ科植物にだけ感染する麦角菌のグループとその他のグループの2つのタイプに分けられる。前者の内生菌は,(1)一度植物に感染すると親から子(種子)に内生菌が世代を超えて伝わる(垂直感染),(2)内生菌が害虫などを殺す有毒なアルカロイドを生産する,(3)感染する植物がイネ科という狭い植物グループに制限される,という点で後者のタイプの内生菌とは異なる。前者の内生菌は,害虫の被害を軽減できるので,ゴルフ場の芝草などで実際に利用が行われている。しかし,農業的利用の可能性が広いのは後者のタイプの内生菌であり,カカオなどの一部の作物で内生菌が病害を抑えるという研究はあるが,その農業への利用については世界的にも研究が後れている現状である。

私の研究室では,内生菌を利用することで農薬を使わずに作物を栽培する技術について研究している。本発表では,最近得られた成果として,(1)リンゴの無農薬栽培で葉の内生菌が病害を抑える能力をもつこと,(2)キャベツなどアブラナ科野菜の重要土壌病害であるネコブ病が野菜の根に内生菌が増えることで抑えられること,について紹介したい。

(1) リンゴの無農薬栽培における葉の内生菌の役割

リンゴを無農薬で栽培すると病害虫が大発生し,害虫に葉が食べられ,病気で葉が落ち,リンゴの収穫はできないと言われてきた。青森県と岩手県に無農薬でリンゴを栽培しているリンゴ園がいくつかある。あるリンゴ園は無農薬にもかかわらず10a当たり2tと全国平均の収量をあげている一方,他のリンゴ園では病害虫の被害で収穫皆無となっている。



成功しているリンゴ園(左)とうまくいっていないリンゴ園(右)の写真。左のリンゴは,葉に多くの病斑は見られるが葉はあまり落ちていない。右のリンゴは多くの葉が落ちリンゴもほとんど実っていない。

この差は、特にリンゴの重要病害である褐斑病に対する抵抗性で顕著に表れる。褐斑病に感染すると 9 月にリンゴの葉が落ちるが、成功しているリンゴ園では感染しても一部の葉しか落ちないが、うまくいっていないリンゴ園ではほとんどの葉が落ちる。

この違いが生じる原因を調べるために、褐斑病による落葉率と葉の内生菌群集を 7 つの無農薬リンゴ園で比較した。その結果、葉の内生菌の多いことが褐斑病による落葉を抑える主要な原因となっていることが分かった。

(2) ネコブ病害の抑制と根の内生菌の役割

アブラナ科野菜を畑で連作するとネコブ病が発生しやすくなることはよく知られている。この原因は、連作することで土壌の微生物相が変わりネコブ菌が増えることにあると考えられている。そこで、私たちはネコブ菌に感染させた土壌を最初にアブラナ科野菜を含む 12 の異なる作物を育て、その後キャベツを育てることで疑似輪作（連作）条件をつくり出し、ネコブ病の発生がどのように変わるかを調査した。その結果、ネコブ病害の大きさは、土壌のネコブ菌の密度ではなく、根に感染したネコブ菌の密度と関係すること、そして土壌のネコブ菌密度が多くても必ずしも根のネコブ菌密度が増えるわけではないことが分かった。つまり、土壌にネコブ菌が増えても野菜の根に侵入しない条件をつくれればネコブ病の被害を抑えることができる。そこで、処理間でキャベツの根の微生物群集（細菌と真菌）とネコブ菌密度を調査し、両者の関係を調べた。すると、細菌と真菌の一部の種類が根に多く含まれるとネコブ病菌の密度が抑えられることが分かった。このことは、ネコブ菌の根への侵入を抑える微生物（内生菌）が土壌に存在し、それらの菌を根の中あるいは表面に増やすことで、ネコブ病の発病が抑えられることを意味している。



ネコブ病に感染し、根にこぶ（赤い円）ができたキャベツ(左)。感染土壌を入れたポットに作物種子を播いているところ(右)

微生物相解析結果を用いた土壌病害の診断

(独)農業環境技術研究所
農業環境インベントリーセンター
對馬 誠也

1. はじめに

地球上の植物、土壌には膨大な数の微生物が棲息し、様々な機能を発揮して生態系の維持に大きな役割を果たしていると言われていた。また、そうした機能の一部は、古くから農業、医療等の分野で広く利用されている。こうした経緯からか、農業分野でも、古くから病害防除、作物生育促進、土づくり等に関して、生産者らの微生物への期待は大きい。しかしながら、これら環境中の微生物についてはまだまだ不明な点が多い。

講演者らは、農業環境技術研究所の「微生物インベントリー（環境中の微生物情報の蓄積）の構築」という中期計画の課題で2001年から植物及び土壌棲息微生物の収集、解析、データベース化を行ってきた。また、最近では、農環研が主査となり、農林水産省委託プロジェクト「土壌微生物相の解明による土壌生物性の解析技術の開発（2006~2010）」（以下、eDNAプロジェクトと称す）の中で、全国の研究者とともに、土壌DNA情報のデータベース化や土壌、栽培条件および微生物相と作物の生育、病害発生との関係について解析を行ってきた。eDNAプロジェクトの成果は、さらに複数の農林水産省委託プロジェクト（後述）で推進されている土壌病害診断・対策支援技術の開発等の中で、その活用法が検討されている状況にある。ここでは、特に、これらのプロジェクトの研究を中心に、土壌微生物相解析の成果を用いた土壌病害の診断に関する研究の現状と今後の課題について紹介する。

2. 土壌微生物相の解析

1) 各種土壌の細菌、糸状菌相

前述のeDNAプロジェクトにおいて、国内初のDNAを用いた土壌微生物の標準化手法が開発され1, 2)、その技術を用いて全国の農耕地土壌で土壌微生物相の解析がされた3, 4, 5)。なお、ここで開発され、全国の土壌DNA解析に用いられた手法は、PCR-DGGE（変成剤濃度勾配電気泳動法）という手法で、コスト、簡便性などから、農業現場での普及を考え選定された。このプロジェクトの成果の特徴は、①細菌、糸状菌、線虫相の解析マニュアルを作成し、必ずしも専門家でない人でも解析できるようにしたこと、②従来の培養法では解析できなかった培養不可能菌も解析できるようにしたこと、③DNAマーカーを用いることにより、異なる時期に得られた解析結果をいつでも比較できるようにしたこと、④DNA抽出が難しかった日本に特に多い黒ボク土の解析もできるようにしたこと、が挙げられる。

さらに、本プロジェクトでは、全国の研究者が得た土壌微生物相のデータを蓄積し、誰でも利用できる農耕地eDNAデータベース（eDDASs：eDNA Database for Agricultural Soils）を公開した。eDDASsは、DNA解析による土壌生物性情報に加え、畑の栽培条件、物理化学性、肥料（有機、無機）、農薬等の情報（最大約60項目）を登録したものである。これにより、複雑系である土壌のデータを多くの研究者が知恵を結集して対応することができるようになるとともに、従来、得られた微生物の解析データの多くを他の研究者が共有できるようになった。eDDASsにはこれまで解析した約3,000件の土壌サンプルのデー

タ（1 サンプル 30～60 情報）が納められ、国内外の誰もが使えるようになっている。このような成果は、eDNA プロジェクト参画者（総勢 46 名）が一丸となって取り組んだ結果であるが、同時に、このことは、膨大な土壤微生物を対象にその環境中での役割を解析し、それを農業に利用することために研究には多くの関係者の協力が必要であることを示している。

3. eDNA プロジェクトおよび後継プロジェクトで得られた成果

全国の圃場での PCR-DGGE で得られた成果からは 2 つの指標を基にした利用法が考えられる (5, 6, 7)。一つは特定バンドの有無や強度（バンドの濃さ）を指標として利用する方法であり、二つ目は DNA バンドパターン（多様性）の比較を行うものである。それら成果の一部を紹介する。

1) 特定バンドの検出：診断と拮抗菌の探索に有効

A. トマト褐色根腐病

北海道において、トマト褐色根腐病の 30 年間未発生圃場と発病歴のある圃場における糸状菌群集構造を比較した結果、病害未発生土壌に特徴的な 2 つの DNA バンドとそれに相当する微生物を分離することに成功している（図 1）。そのバンドに相当する微生物を特定した結果、発病抑制効果を示すことを確認した 7)。

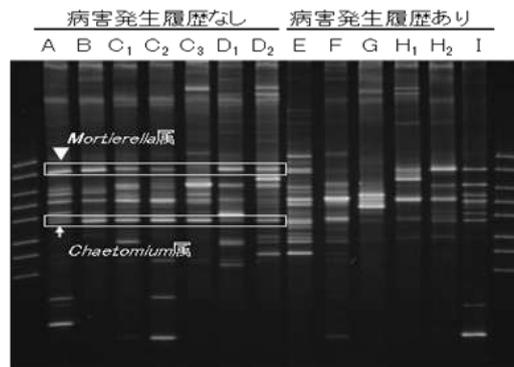


図 1. トマト褐色根腐病の発病歴の違いと DGGE パターン
（図：関口氏提供、「植物防疫 65:465-468, 2011 より」）

B. 土壤衰退現象

特定の病原菌を連続的に処理すると病気が減少する病害衰退機構を示す土壌について、百町らは PCR-DGGE で診断した結果、衰退土壌において、病原菌の拮抗菌である糸状菌（Trichoderma 属菌）2 種のバンドが特徴的に現れた 8)。この試験の結果から、特徴的なバンドを発病抑止性の評価の指標として用いることや、逆にこの成果を利用して発病抑止土壌の作出を効率的に行うこと利用できるのではないかと考えている。

2) 微生物多様性の評価：病害防除手段の意志決定に活用

A. 多様性の解析：農薬の残効性を評価

アブラナ科野菜根こぶ病対策に利用されているフルスルフアミド粉剤は次作にも防除効果があることが考えられた。そこで、本剤を連用している圃場で微生物の多様性を調べたところ、村上らは、糸状菌群集構造が本剤の影響を受けており、根こぶ病の発病との関連が認められた。土壌条件や環境条件による変動はあるものの、薬剤の残存効果の評価に多様性の解析が有用である可能性が示された 6)。

B. 圃場の発病しやすさを診断

長野県では、土壌消毒したセルリー圃場のうちクロルピクリン処理をした畑で、しばしばフザリウム病が多発する現象がみられた。藤永らは、様々な圃場でPCR-DGGE解析をした。その結果、土壌消毒後の土壌の「発病しやすさ」を土壌微生物相の変化で捉えることができた。このことから、この診断法は、土壌消毒処理した圃場での作付前の病害対策作りに役立つと考えている 9)。本研究は引き続き後継プロジェクトで作物を変えて検討されている。

4. 土壌 DNA 解析を用いた土壌病害診断・対策支援技術の開発

病気を抑制する環境中に棲息する微生物をうまく活用したいというニーズは極めて高いが、そのためには、著者らのこれまでの経験から、「激発した畑での微生物の利用は控える必要がある」と考えられた。しかし、その後、この考え方は、微生物の活用に限らず、他の防除技術についても同様ではないかと考えるようになった。このことから、従来の『カレンダー防除』、すなわち病気を確認してから広域に対策を講ずる方法ではない、新しい防除対策が必要と考えた。以下にその取り組みを紹介する。

eDNA プロジェクト後に、農林水産省「レギュラトリーサイエンス新技術開発事業：【ハクサイ土壌病害虫の総合的病害虫管理（IPM）体系に向けた技術確立】、2010-2012」、「気候変動に対応した循環型食料生産等の確立のための技術開発：【土壌病害虫診断技術等の開発】、2011-2013」（以下、土壌病害管理プロ）と生物農薬利用プロ（前述）、「農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業：【次世代型土壌病害診断・対策支援技術の開発】2013-」（以下、次世代型土壌病害診断・対策支援プロと称す）が推進され、各地で問題となっている土壌病害をモデルケースとしてその診断・対策支援システムの開発を進めている。

その中から、土壌病害管理プロについて紹介する。本プロジェクトは、独法（農環研、近中四農研セ）、県（高知、兵庫、長野、富山、香川、三重）の参画により実施された。その中で、著者らは、新しいシステム「健康診断に基づく土壌病害管理（ヘソディム）」（HeSoDiM：Health checkup based Soil-borne Disease Management）10, 11）を提案した（図2）。HeSoDiM（ヘソディム）は、「診断」・「評価」・「対策」の3つの要素から構成されたシステムである。各要素の概要は以下のとおりである（図3）。

- (1)「診断」：病害ごとの診断票にある診断項目（土壌の物理化学性、DNA診断等による生物性、栽培履歴等）について調べ、記録する。
- (2)「評価」：診断結果を基に総合評価し、畑の発病しやすさのレベルを判定する。レベルは、原則、軽度・中度・重度の3段階で評価する。
- (3)「対策」：レベルごとに用意された防除技術メニューから、コストや作業効率を考慮して最適な防除技術を選抜する。

この結果、たとえば、レベル1（軽度）の場合には、農薬処理は不要などと指導することにより、圃場によってはカレンダー防除により「過剰な散布」となっていた農薬を削減することができる。なお、土壌生物性については、長野県でレタス根腐病でセルリー病害（eDNAプロジェクト）の研究成果を進展させ、土壌の微生物多様性評価を圃場の発病しやすさの指標として診断項目に入れている（藤永、2013）。なお、このプロジェクトの成果は「指導者向けマニュアル」12）として全国に配布している。さらに、現在は、次世代型土壌病害診断・対策支援プロの中で、さらに「普及マニュアル」の作成を目指して取

り組み中である。

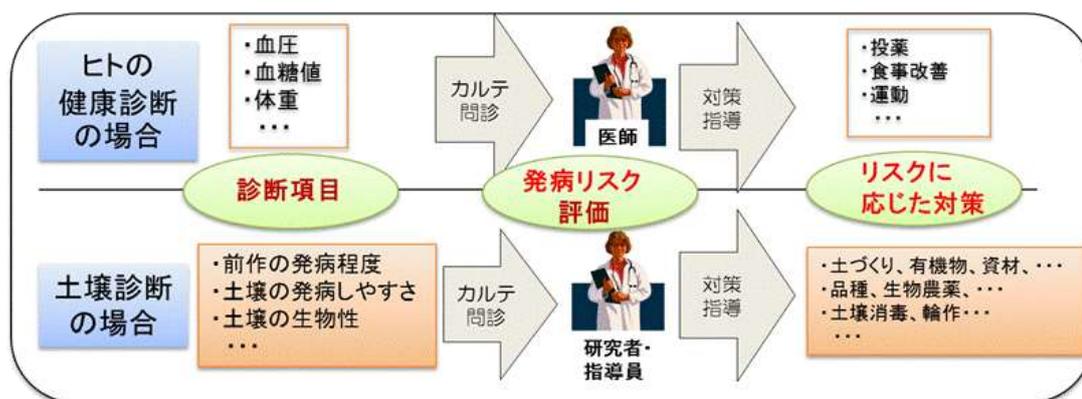


図2. 「健康診断に基づく土壌病害管理」
HeSoDiM(ヘソディム)の考え方

- 診断: 「全病害に共通の診断項目」と「各病害に特徴的な診断項目」から構成されています
ポイント: コストを考慮し、最小限の項目を設定します
- 評価: 診断項目毎の基準値をもとに、畑の「発病しやすさ」を総合評価します
ポイント: レベル1(軽度)~3(重度)の3段階で評価します
- 対策: 「発病しやすさ」のレベルに応じて実際の対策を求めます。
ポイント: レベル3では効果が低くとも、1では有効という場合があります。対策の判断基準として使えます。



図3. ヘソディムの手順

なお、これまで、上記プロジェクトにおいて、この共通マニュアル（農環研作成）を基に、複数の県で実証試験が進められ、対象病害ごとのヘソディムマニュアル（指導者用マニュアル）が作成された。同プロジェクトの終了後も、さらに多くの県で病害別マニュアルの作成が進められている。

5. 最後に

土壌の微生物相の解析結果を用いた土壌病害の診断の研究はまだ始まったばかりと言える。今後実施すべき課題は山積しているが、これまでの著者の経験から以下のようなことが進められることを期待したい。

- 1) 微生物相の研究ではしばしば「微生物コミュニティを構成する種」や「多様性の程度」が強調されるが、病害抑制を考えた時には、「微生物の量」を常に意識する必要がある。対象とする土壌がどのくらいの微生物を棲息させられるかは病気の「感染閾値」（病気を引き起こす菌量）の把握と同様に重要である。
- 2) PCR-DGGE はあくまでも DNA 解析技術の一つである。今後もコスト、迅速性等を考えながら、常に新しい技術（DNA 解析、RNA 解析、次世代シーケンサー利用など）の実用化を目指すことも重要である。一方で、これまで蓄積した PCR-DGGE の情報の活用も同じように重要であり、活用する必要がある。
- 3) 土壌物理性と化学性に土壌 DNA を用いた生物相解析が加わったことにより、ヘソディムによる土壌病害の診断に大きな貢献をしている。しかし、この診断の普及には、生産者に診断結果を説明し、対策を支援する「指導員の養成」、DNA 診断が必要な時に迅速に対応できる「受託企業の育成」、など多くの環境整備が今後必要である。

参考文献

1. M. Hyakumachi, M. Nishimura, T. Arakawa, S. Asano, S. Yoshida, S. Tsushima, H. Takahashi (2013) *Bacillus thuringiensis* suppresses bacterial wilt disease caused by *Ralstonia solanacearum* with systemic induction of defense-related gene expression in tomato. *Microbes Environ.*, 28, 128.
2. 森本 晶・星野（高田）裕子（2008）PCR-DGGE 法による土壌生物群集解析法（1）一般細菌・糸状菌. *土と微生物* 62, 63-68.
3. 大場広輔・岡田浩明（2008）PCR-DGGE 法による土壌生物群集解析法（2）土壌線虫相の解析. *土と微生物* 62, 69-74.
4. 妹尾啓史・對馬誠也（2009）土壌の生物性の遺伝子診断－現状と将来展望－. *圃場と土壌* 41（4）：6-10.
5. 對馬誠也（2010）eDNA による農耕地土壌の生物性解析・評価手法の開発. *土と微生物* 64 :64-69.
6. 對馬誠也（2011）ミニ特集：新たな土壌診断技術 総論 —eDNA プロジェクトの成果と PCR-DGGE 法による土壌診断— *植物防疫* 65: 1-6.
7. 村上弘治・仲川晃生・百町満朗・岡紀邦・浦上敦子（2012）土壌病害防除における最近の知見と動向. *土肥学誌* 83, 69-73.
8. 関口博之（2011）ミニ特集 新たな土壌診断技術 トマト褐色根腐病発病履歴が異なる土壌における微生物群集の PCR-DGGE 法による評価. *植物防疫* 65, 465-468.
9. 村上弘治・仲川晃生・百町満朗・岡紀邦・浦上敦子（2012）土壌病害防除における最近の知見と動向. *土肥学誌* 83, 69-73.
10. 藤永真史（2013）eDNA 情報等に基づく土壌消毒処理後の土壌病害発生危険度予測法の開発. 「土壌微生物相の解明による土壌生物性の解析技術の開発」研究成果 494, 127-130.
ハクサイ黄化病の次世代土壌病害診断マニュアル（2013）独立行政法人農業環境技術研究所. 1-16.
11. Tsushima S, Yoshida S (2012) A new health-checkup based soil-borne disease management (HeSoDiM) and its use - Introduction of MAFF project (2011-2013) -. TUA- FFTC international seminar on emerging infectious diseases of food crops in Asia. Abstract, 204.
12. Tsushima, S (2014) Integrated control and integrated pest management in Japan: the need for various strategies in response to agricultural diversity. *JGPP* 80:389-400.
13. 健康診断に基づく土壌病害管理（ヘソディム）マニュアル（2014）、農業環境技術研究所、1-122.
14. ナス科作物の土壌病害に対する *Bacillus* 属等微生物の効果的活用マニュアル（2014）、農業環境技術研究所、1-29.



独立行政法人 農業環境技術研究所

〒305-8604 茨城県つくば市観音台3-1-3

Tel:029-838-8148 Fax:029-838-8199

<http://www.niaes.affrc.go.jp>

E-mail: www@niaes.affrc.go.jp

National Institute for Agro-Environmental Sciences

3-1-3 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki, 305-8604, Japan

Tel: +81-29-838-8148, Fax: +81-29-838-8199

http://www.niaes.affrc.go.jp/index_e.html