

栽培管理の異なるジャガイモの根部に生息する微生物相の特徴

誌名	土と微生物
ISSN	09122184
著者	田淵, 浩康 内藤, 智子 小杉, 明子 ほか1名,
巻/号	54巻1号
掲載ページ	p. 41-49
発行年月	2000年4月

報 文 栽培管理の異なるジャガイモの根部に生息する微生物相の特徴*

田淵浩康¹⁾・内藤智子¹⁾・小杉明子¹⁾・仁王以智夫²⁾

¹⁾ 財団法人微生物応用技術研究所
〒 413-0033 静岡県熱海市熱海若林 1767-15
²⁾ 静岡大学農学部
〒 422-8529 静岡県静岡市大谷

²⁾ 現在：財団法人微生物応用技術研究所
〒 413-0033 静岡県熱海市熱海若林 1767-15

Characteristics of microflora in the root zone of potato plants
as affected by field management

Hiroyasu Tabuchi¹⁾, Tomoko Naitoh¹⁾, Akiko Kosugi¹⁾ and Ichio Nioh²⁾

¹⁾ Institute for Agro-Microbiology,
1767-15, Atami-Wakabayashi, Atami, Shizuoka, 413-0033, Japan
²⁾ Faculty of Agriculture, Shizuoka University, Ohya, Shizuoka, 422-8529, Japan

²⁾ Present address: ¹⁾ Institute for Agro-Microbiology,
1767-15, Atami-Wakabayashi, Atami, Shizuoka, 413-0033, Japan

We compared the bacterial and fungal flora in the root zone of potato plants cultivated under Nature-Farming systems (NF) which are similar to organic farming systems, with those under conventional farming systems (CF). The fields under NF and CF were adjacent to each other in Mishima city, Shizuoka, Japan, and managed by different farmers. There was no appreciable difference between both systems in the number of aerobic bacteria and actinomyces in the potato roots and soils. The number of fluorescent *Pseudomonas* in the samples from NF was higher than that of CF. MIS (Microbial Identification System, MIDI Inc.) was used to identify the aerobic bacteria isolated from the roots. MIS indicated that the same bacterial species were isolated from both samples as the most abundant species. Based upon MIS analysis, the diversity of the root-colonizing bacteria of potato under NF was higher than that under CF. The bacteria showing an antifungal activity against a phytopathogen, *Rhizoctonia solani*, were isolated from the NF potato roots rather than from the CF roots. Comparison of the root fungal flora by the root-washing technique showed that *Fusarium* sp. and *Trichoderma* sp. were isolated from NF roots and CF roots, respectively, as the main fungi. The diversity of the root fungi under NF was higher than that under CF.

Key Words : Root-inhabiting microflora, Nature-Farming, MIS (Microbial Identification System), Microbial diversity, Antifungal activity

*本研究の一部は、平成9年度日本土壌肥料学会静岡大会および平成10年度日本土壌肥料学会大阪大会において口頭発表した。

* 1999年7月16日受理

はじめに

近年農業生産現場では、自然農法や有機農法に代表されるように、化学肥料や農薬に依存せず有機物の利用による作物生産を行い、環境への負荷軽減や安全性を意識した環境保全型農業が、注目を集めるようになってきた^{1,2)}。施肥管理や土壌消毒など個別の栽培管理が土壌の微生物相に及ぼす影響については幾つかの検討がなされているが³⁻⁵⁾、このような環境保全型農業における栽培管理方法が土壌微生物相に及ぼす影響については検討されている例は未だ少ないと思われる。

本論文では、このような栽培管理方法の生産現場における評価手法の確立を目指し、化学肥料や農薬に依存せず、堆肥や有機質肥料のみで栽培管理を行う自然農法⁶⁾と、従来の栽培管理を行う慣行農法の二箇所（ともに静岡県三島市）から得られたジャガイモ根部及び非根圏土壌の細菌相、及び糸状菌相について比較した。根部の一般細菌については MIDI 微生物同定システム (MIS) により単離菌株の同定を試み、マイクロフロラについて比較し、糸状菌については根連続洗浄法⁷⁾により単離を行い、そのフロラについて比較した。非根圏土壌の蛍光性 *Pseudomonas* 密度は土壌の理化学性との関連性について解析を試みた。また、単離した好気性一般細菌株のキャベツ株腐病菌 *Rhizoctonia solani* に対する抗菌活性を調べ、農法間の差の有無についても検討した。

実験材料および実験方法

1. 供試根および供試土壌

供試したジャガイモ（品種：メークイン）根と土壌は、静岡県三島市の自然農法実施農家（実施暦3年）⁶⁾とそれに隣接する慣行農法農家の栽培圃場から採取した。自然農法区（以下 N 区とする）と慣行農法区（以下 C 区とする）のそれぞれの栽培管理内容を表 1 に示した。N 区の栽培管理の特徴は、化成肥料、農薬を使わず、堆肥と有機質肥料（N：100, P₂O₅：170, K₂O：60 kg/ha）のみで栽培することである。一方、C 区では複化成肥料（N：240, P₂O₅：240, K₂O：210 kg/ha）に加え、牛糞堆肥も施用している。これらはいずれも基肥として3月中旬に施用している。また、C 区では3月にクロロピクリンによる土壌消毒を行っているが、N 区では行っていない。1996年6月11日に両区から根を3株、非根圏土壌を3箇所ずつ採取し、一般細菌、放線菌、そして蛍光性 *Pseudomonas* の検出に用いた。1997年は6月18日に根を各区4株ずつ採取し、その内3株ずつを蛍光性 *Pseudomonas* の検出に、4株ずつを糸状菌相の解析に用いた。供試根はいずれもジャガイモ収穫直前の採取となった。非根圏土壌は5月14日、6月24日、7月24日に各区4箇所ずつ採取した。非根圏土壌はいずれも畝間の深さ5~15 cmの土壌とした。

土壌の理化学分析は、常法に従って行った⁸⁾。

2. 細菌の計数および単離

根部の各種菌数については、採取した新鮮根を殺菌水でよく洗浄した後、18000 rpm で3分間吸込み式ホモゲナイザー (POLYTRON PT 10-35, KINEMATICA 社) により均質化し、この浮遊液を用い希釈平板法により菌数の測定を行った。一般細菌と放線菌には、1/10濃度の肉汁寒天培地

表 1. 栽培管理内容

	自然農法(N)	慣行農法(C)
施肥管理 (N, P ₂ O ₅ , K ₂ O; kg/ha)	有機質肥料 (市販) (100, 170, 60)	複化成肥料 (240, 240, 210)
	牛糞堆肥(28 t/ha)	牛糞堆肥(15 t/ha)
施肥時期	3月中旬	3月中旬
前作作物	ニンジン	ハクサイ
栽培期間	3月~6月	3月~6月
土壌消毒	—	年1回(3月下旬)
液剤, 粒剤	—	殺菌剤, 殺虫剤 (7-10日間おき)
その他の散布資材	木酢液, キトサンなど	—
収量 (t/ha)	34-38	約 40

(Difco, 0.01%シクロヘキシミド添加)を用い、蛍光性 *Pseudomonas* には、King's B, P-1, P-2, および P-3 培地を用いた。一般細菌については、コロニー数を測定後、計数に用いた 48~99 個のコロニーを有する寒天平板より各区 40 個のコロニーをランダムに釣菌し、同じ培地上で純化して単離株を得た。非根圏土壌の細菌は上記と同様な培地を用い、常法により計数した⁹⁾。

3. 単離菌株の同定と類別化

単離菌株の同定は菌体脂肪酸の測定によった。各菌株を TSBA (Trypsicase soy broth agar, BBL) 培地で培養後、けん化、メチル化し、Hewlett Packard Model 5890 ガスクロマトグラフで脂肪酸組成を測定し、MIDI 微生物同定システム (MIS) のデータベースと比較して同定した^{10,11)}。類別化した菌群の多様性は、Brillouin の多様性指数 (H) から求めた¹²⁾。

4. 抗菌活性試験

抗菌活性試験に用いたキャベツ株腐病菌 *Rhizoctonia solani* ON 001 菌株は、後藤正夫博士 (MOA 自然農法大学校講師、静岡大学名誉教授) より供与された。単離された一般細菌株の *R.*

solani に対する抗菌活性は、阻止円測定法により行った¹³⁾。阻止円の大きさにより、++++, ++++, ++, +, - の五段階で評価した。

5. 糸状菌フロア解析

根部の糸状菌フロア解析は糸状菌の孢子数に依存しない Harley & Waid の根連続洗浄法⁷⁾により菌の分離を行った。培地は根部からの分離にローズベンガル培地を用い、その後の継代培養による単一株の分離には PDA 培地を用いた。各区 345~414 個の菌株を単離した。糸状菌の分類は Domsch ら¹⁴⁾、渡邊¹⁵⁾、宇田川ら¹⁶⁾の方法によった。糸状菌の多様性も細菌群の場合と同様に、Brillouin の多様性指数 (H) から求めた¹²⁾。

結果

1. 土壌の理化学性

採取した土壌の理化学分析値を表 2 に示す。N 区と C 区とでは、隣接しているため土壌型及び土性は同一であるが化学性が大きく異なっていた。特に pH や EC 値で明瞭な違いがみられ、C 区では EC 値が収穫期にもかかわらず、0.44 mS/cm

表 2. 対象圃場の土壌の理化学性*1

土壌型	土性	T-C*2 (g/kg)	T-N*2 (g/kg)	C/N	CEC*2,*3 (cmol(+)/kg)	リン酸吸収係数*2,*3 (P ₂ O ₅ g/kg)
N 区 黒ボク土	壤土	23.2	2.0	11.4	30.3	16.8
C 区 黒ボク土	壤土	29.0	2.3	12.5	30.8	18.5
pH (H ₂ O)	EC (mS/cm)	有効態リン酸*2 (P ₂ O ₅ mg/kg)	NH ₄ -N*2 (mg/kg)	NO ₃ -N*2 (mg/kg)	CaO*2 (mg/kg)	MgO*2 (mg/kg)
N 区 6.6	0.09	283	9.6	7.1	4360	605
C 区 4.7	0.44	262	89	37.2	1970	258

*1: *3 以外は 1997.7.24 採取, *2: 乾土当り, *3: 96.6.11 採取分

表 3. N 区と C 区におけるジャガイモ根部および非根圏土壌の細菌密度*1

	N 区	C 区
根部		
好気性細菌 (CFU×10 ⁶ g ⁻¹ dry root)	211 -819	367 -782
放線菌 (CFU×10 ⁶ g ⁻¹ dry root)	10.9- 39.7	11.7 - 27.5
蛍光性 <i>Pseudomonas</i> *2 (CFU×10 ⁵ g ⁻¹ dry root)	72.9-166	5.21- 20.8
非根圏土壌		
好気性細菌 (CFU×10 ⁶ g ⁻¹ dry soil)	174 -237	198 -235
放線菌 (CFU×10 ⁶ g ⁻¹ dry soil)	20.2- 22.2	14.2 - 15.5
蛍光性 <i>Pseudomonas</i> *2 (CFU×10 ⁵ g ⁻¹ dry soil)	16.9- 32.8	0 - 8.66

*1: 1996.6.11. 数値は蛍光性 *Pseudomonas* は 3 反復, その他は 2 反復内の最大値と最小値を示す。

*2: King's B 培地を使用。

と高い値を示したが、N区では0.09 mS/cmと約5分の1であった。pH値もEC値を反映し、N区では6.6であるのに対し、C区では4.7と低かった。また、硝酸態窒素量もEC値と同様な傾向を示したが、アンモニア態窒素は畑地にもかかわらず、C区で89 mgN/kg 乾土と高い値を示した。

2. 細菌密度

1996年の根および土壌の細菌密度を表3に示す。好気性細菌と放線菌の生菌密度は根部、非根圏土壌ともに、農法間による明確な違いはみられなかった。しかし、蛍光性 *Pseudomonas* の生菌密度は根部と非根圏土壌ともにN区で高く、特に根部では3.5~32倍高かった。

1997年は前年度の蛍光性 *Pseudomonas* の生菌密度の結果を確認するために、加藤らの選出培地¹⁷⁾を用い蛍光性 *Pseudomonas* 密度を再度調査した。その結果、根部の蛍光性 *Pseudomonas* 密度はC区に比べN区で高く、特に *P. putida* に選択性の高いP-2培地上で $1.5 \times 10^5 \sim 1.3 \times 10^6$ 倍の生菌密度の差がみられた(図1)。非根圏土壌では、全調査期間にわたりC区に比べN区で高く、特に栽培中期の5月頃よりも、収穫期の6月やその1ヶ月後の7月頃にその差が大きくなった。また、*P. fluorescens* に選択性の高いP-3培地を用いた場合、7月頃のC区の生菌密度は検出限界近くまで減少した(図2)。

3. 蛍光性 *Pseudomonas* 密度と土壌の理化学性との相関

97年に採取した非根圏土壌については、採取地点ごとに土壌の理化学性分析を行い、蛍光性

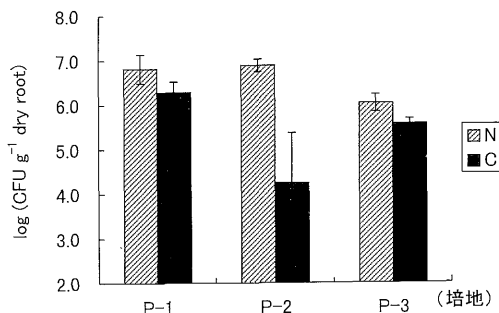


図1 ジャガイモ根部の蛍光性 *Pseudomonas* 密度 (1997.6.18. 採取。垂直線は3反復の標準誤差。P-2, P-3培地ではそれぞれ *P. putida*, *P. fluorescens* が、P-1培地では両者が多く検出される¹⁷⁾。N: 自然農法, C: 慣行農法)

Pseudomonas 密度との相関について検討した。その結果、図3に示すようEC値, pH値, CaO値, MgO値と蛍光性 *Pseudomonas* 数の対数値との間には、明確な相関関係はみられなかった。

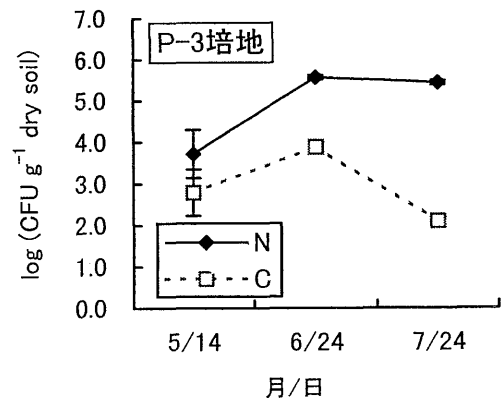
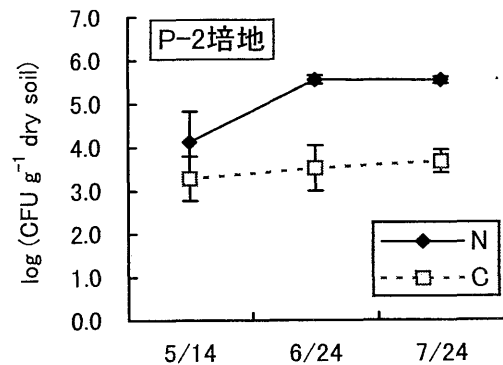
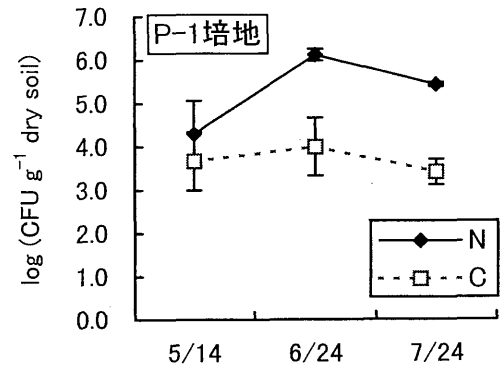


図2 非根圏土壌の蛍光性 *Pseudomonas* 密度の経時変化 (1997年)

(垂直線は4反復の標準誤差。
◆ N: 自然農法, □ C: 慣行農法)

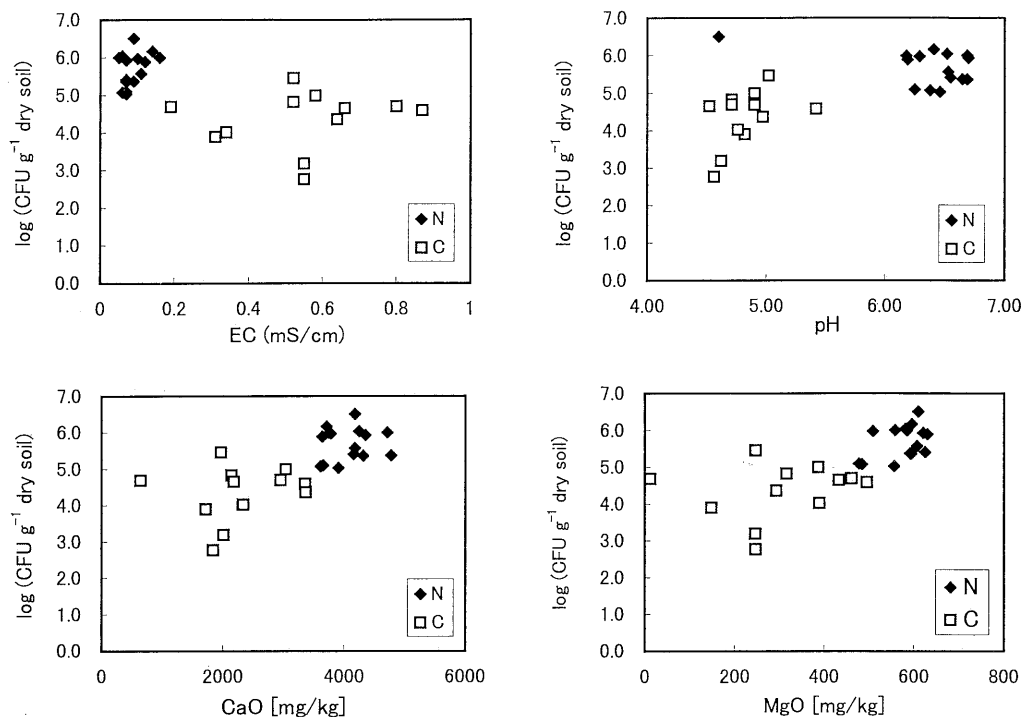


図3 蛍光性 *Pseudomonas* 密度と土壌の化学性との関係 (P-1 圃地) (1997 年, 非根圏土壌)
 (◆N: 自然農法, □C: 慣行農法)

表4. ジャガイモ根部より単離した好気性細菌の脂肪酸組成による同定, 相対出現頻度, 及び各区の多様性

No.	N 区	%	No.	C 区	%
1	<i>Aureobacterium</i> spp. / <i>Micrococcus</i> spp.	27.5	1	<i>Aureobacterium</i> spp. / <i>Micrococcus</i> spp.	50
2	<i>Curtobacterium</i> spp.	10	2	<i>Stenotrophomonas</i> spp.	7.5
3	<i>Paracoccus</i> spp.	10	3	<i>Pseudomonas</i> spp.	5
4	<i>Arthrobacter</i> spp.	7.5	4	<i>Erwinia</i> spp.	2.5
5	<i>Sphingomonas</i> spp.	7.5	5	GC similarity group 4	7.5
6	<i>Pseudomonas</i> spp.	5	6	GC similarity group 13	7.5
7	<i>Sphingobacterium</i> spp.	2.5	7	GC similarity group 7	5
8	GC similarity group 4	5	8	GC similarity group 2	2.5
9	GC similarity group 1	2.5	9	GC similarity group 5	2.5
10	GC similarity group 3	2.5	10	GC similarity group 6	2.5
11	GC similarity group 5	2.5	11	GC similarity group 8	2.5
12	GC similarity group 7	2.5	12	GC similarity group 10	2.5
13	GC similarity group 9	2.5	13	GC similarity group 15	2.5
14	GC similarity group 10	2.5		Total	100
15	GC similarity group 11	2.5		多様性指数 H (Brillouin)*	0.73
16	GC similarity group 12	2.5			
17	GC similarity group 13	2.5			
18	GC similarity group 14	2.5			
	Total	100			
	多様性指数 H (Brillouin)*	0.98			

* $H = 1/N \cdot \log(N!/N_1!N_2! \dots N_s!)$,
 (Nn: 個体数, N: その合計)

**GC similarity group: 菌体脂肪酸組成に
 基づくグループ

4. 単離細菌の同定

菌体脂肪酸パターンから単離細菌株の類別化を行った。単離した各区 40 株を類別したところ、表 4 に示すように N 区で 18 菌群、C 区で 13 菌群に分けられ、両土壌合わせると 24 の異なる菌群が出現した。各菌群の代表株について MIS により同定を行った。N 区と C 区由来で多数を占めた菌群はともに *Aureobacterium* spp. か *Micrococcus* spp. の可能性が示唆され、N 区では全体の 28%、C 区では全体の 50% を占めていた。N 区では、その他 *Curtobacterium* spp., *Paracoccus* spp., *Arthrobacter* spp., *Sphingomonas* spp., *Pseudomonas* spp., そして *Sphingobacterium* spp. と推定される菌群がみられた。また、属名の推定に至らなかった菌群が 11 群存在した。一方、C 区では *Stenotrophomonas* spp., *Pseudomonas* spp., そして *Erwinia* spp. と推定される菌群と、属名の推定に

至らなかった菌群が 9 つみられた。N 区と C 区の構成菌群の多様性について Brillouin の多様性指数 (H) で両区間を比較したところ、N 区で 0.98、C 区で 0.73 となり、C 区に比べ N 区で一般細菌相の多様性が高いことが示された。

5. 糸状菌フロラ解析

根連続洗浄法によりジャガイモ根から単離された糸状菌名と相対出現頻度、及び各区の多様性指数を表 5 に示した。N 区では *Fusarium* sp. 1 が、C 区では *Trichoderma* sp. 1 が優占菌であり、それぞれ全体の約 47% と約 88% を占めていた。N 区では、その他 *Mucor circinelloides*, *Fusarium* sp. 2, *Macrophomina* sp., *Trichoderma* sp. 1, *Mucor* sp. 1, *Sordaria* sp., *Aspergillus* sp. 1 と推定される菌群の他 20 群、合計 28 群の糸状菌が単離された。その中には、属名の推定に至らなかった菌群が 4 群存在した。一方、C 区では *Trichoderma* sp. 1 の

表 5. ジャガイモ根部より単離した糸状菌名、相対出現頻度、及び各区の多様性指数

No.	N 区	%	No.	C 区	%
1	<i>Fusarium</i> sp. 1	46.8%	1	<i>Trichoderma</i> sp. 1	88.2%
2	<i>Mucor circinelloides</i>	15.3%	2	<i>Fusarium</i> sp. 1	4.3%
3	<i>Fusarium</i> sp. 2	13.6%	3	<i>Trichoderma</i> sp. 2	2.4%
4	<i>Macrophomina</i> sp.	6.1%	4	<i>Sordaria</i> sp.	1.9%
5	Unidentified 2	5.8%	5	<i>Mortierella humilis</i>	1.0%
6	<i>Trichoderma</i> sp. 1	2.3%	6	<i>Gliocladium virens</i>	0.7%
7	<i>Mucor</i> sp. 1	1.7%	7	Unidentified 2	0.5%
8	<i>Sordaria</i> sp.	1.7%	8	<i>Fusarium</i> sp. 3	0.2%
9	<i>Aspergillus</i> sp. 1	1.4%	9	<i>Mucor plumbeus</i>	0.2%
10	<i>Aspergillus</i> sp. 2	0.6%	10	<i>Penicillium janthirellum</i>	0.2%
11	<i>Fusarium</i> sp. 3	0.6%	11	<i>Trichocladium asperum</i>	0.2%
12	<i>Mucor plumbeus</i>	0.6%	12	Unidentified 1	0.2%
13	<i>Penicillium</i> sp. 1	0.6%		Total	100.0%
14	<i>Alternaria</i> sp.	0.3%		多様性指数 H (Brillouin)*	0.19
15	<i>Aspergillus</i> sp. 3	0.3%			
16	<i>Botrytis</i> sp.	0.3%			
17	<i>Gliocladium</i> sp. 2	0.3%			
18	<i>Mortierella</i> sp. 1	0.3%			
19	<i>Mortierella</i> sp. 2	0.3%			
20	<i>Papulaspora pallidula</i>	0.3%			
21	<i>Papulaspora pannosa</i>	0.3%			
22	<i>Rhizoctonia</i> sp.	0.3%			
23	<i>Trichocladium asperum</i>	0.3%			
24	<i>Trichoderma</i> sp. 2	0.3%			
25	<i>Trichoderma</i> sp. 3	0.3%			
26	Unidentified 3	0.3%			
27	Unidentified 4	0.3%			
28	Unidentified 5	0.3%			
	Total	100.0%			
	多様性指数 H (Brillouin)*	0.62			

* $H = 1/N \cdot \log(N! / N_1! N_2! \dots N_s!)$,
(N_n : 個体数, N : その合計)

他に *Fusarium* sp.1, *Trichoderma* sp.2, *Sordaria* sp., *Mortierella humilis*, *Gliocladium virens* と推定される菌群の他6群, 計12群が単離された。その中には属名の推定に至らなかった菌群が2つみられた。各地点別の糸状菌相の多様性を Brillouin の多様性指数 (H) により求めたところ, N 区で平均0.62, C 区で平均0.19 となり, C 区に比べN 区で糸状菌相の多様性が高いことが示された。

6. 単離菌の抗菌活性

単離したすべての一般細菌株について, キャベツ株腐病菌 *R. solani* ON 001 菌株に対する抗菌活性をみたところ, N 区では,++++が1菌株, +++が2菌株, ++が4菌株, +が8菌株, そして-が23菌株存在した(表6)。一方, C 区では++++と++++が0菌株, ++が1菌株, +が6菌株, そして-が32菌株存在した。この結果は, *R. solani* に対する抗菌活性を有する菌株が, C 区に比べN 区において多く存在することを示唆している。

考 察

N 区とC 区とでは, 隣接しているため土壌型及び土性は同一であるが他の理化学性に違いがみられ, 特にpHやEC値が大きく異なっていたこと

は, 施用している肥料の種類や施用量の違い, またはクロルピクリン剤による土壌消毒の部分殺菌効果等に起因すると推察された。また, アンモニア態窒素は畑地にもかかわらず, C 区で高い値を示していた。小野ら⁵⁾は土壌消毒が堆肥施用以後に行われると土壌硝酸化成活性が低下することを報告しているが, C 区においても堆肥は施用されているが, その後に土壌消毒が行われているため, 硝酸化成活性が低下し, その結果高いアンモニア態窒素値が得られたものと推測された。このようにN 区とC 区の対象圃場では, 土壌の理化学性に大きな違いがみられ, さらに前作の作目が異なっているため, 両区から得られた試料の比較を単純に農法の差と理解することはできないかもしれない。しかし, 両試料間には, 根部・非根圏微生物の菌密度, 構成菌群, 及びその抗菌活性に関して幾つかの特徴が存在することが示された。

ジャガイモ根部や非根圏土壌の好気性細菌密度や放線菌密度は, 両農法区間で明瞭な差はみられなかったが, 蛍光性 *Pseudomonas* 密度に違いが認められたことは, 栽培管理の内容によって根部, あるいは非根圏の細菌種の構成が変化する可能性を示唆している。このことは, 表4の農法別単離細菌同定リストの結果からも支持される。特に蛍光性 *Pseudomonas* 密度については年次を変えて

表6. ジャガイモ根部より単離した好気性細菌の *Rhizoctonia solani* ON 001 菌株に対する抗菌活性

N 区	菌株数*2					Total
	No.*1	-	+	++	+++	
1	11					11
2		2	1			3
3	1	3				4
4		2		1		3
5	3					3
6			1		1	2
7	1					1
8	2					2
9	1					1
10	1					1
11			1			1
12						0
13			1			1
14	1					1
15				1		1
16		1				1
17	1					1
18	1					1
Total	23	8	4	2	1	38

C 区	菌株数*2					Total
	No.*1	-	+	++	+++	
1	20	1				21
2		3				3
3		1	1			2
4						0
5	3					3
6	3					3
7	1					1
8	1					1
9		1				1
10	1					1
11	1					1
12	1					1
13	1					1
Total	32	6	1	0	0	39

*1: 表4の菌群 No.と対応する。

*2: 「-」: 活性なし, 「+」: 非常に弱い, 「++」: 弱い, 「+++」: 強い, 「++++」: 非常に強い。

も同様な傾向が得られており(表3, 図1), さらに時期によっても菌密度が異なることが示唆された(図2)。また図1から, ジャガイモ根部においては蛍光性 *Pseudomonas* のなかでも *P. putida* 密度が栽培管理によって大きく変動する可能性が示唆された。図3の結果から, 土壤の理化学性, 特に土壤 EC, pH 値, CaO 量, そして MgO 量と, 蛍光性 *Pseudomonas* 密度との間には, それぞれの区由来のプロットに重なる領域を持たなかったため統計的な相関関係を求めるのは不相当と考えられた。しかし堀ら¹⁸⁾は, 作物が生理障害を受けず収量が増加する程度の低レベルの肥料由来の塩類集積条件においては, 土壤溶液濃度の上昇に伴って蛍光性 *Pseudomonas* 密度が低下することを報告しており, 同菌密度が土壤の健全性の指標となり得ることを提案している¹⁹⁾。これらのことから, C区に比べN区では低EC, 高pH, 高CaO, そして高MgO値の傾向を示したことと, N区で高い蛍光性 *Pseudomonas* 密度が得られたこととの関連性については, 土壤の理化学性をコントロールした栽培を行う等, さらなる検討の余地が残されていると考えられる。

表4から, 両農法区のジャガイモ根に共通する根圏細菌は脂肪酸分析から *Aureobacterium* spp. か *Micrococcus* spp. であるとの結果が得られた。施肥形態が大きく異なるにも関わらず優占菌が同一であったことは, 本菌とジャガイモ根が密接に関係していることを示唆している。しかしながら, グラム染色, 形態観察, 運動性, カタラーゼ, オキシダーゼ, 孢子形成能, O-Fテストによる部分的な確認では, MISの結果と矛盾する点も残り, 今回の同定結果については, 他の菌群の同定も含めてさらなる検討が必要である。

C区に比べN区で一般細菌相の多様性が高かったことについては, 小杉らによるイネの根圏細菌相²⁰⁾, および最美・仁王によるチャの根圏細菌相の比較²¹⁾において, 有機物資材を投入する自然農法・有機農法の圃場では一般細菌相の多様性が高くなる結果が得られている。本実験においてもC区に比べN区の一般細菌相の多様性が高いとの傾向がみられたが, その原因の一つは, 有機物由来による基質の種類の多様性がN区で高かったためと推察された。

根部の糸状菌相についてはN区で優占種であった *Fusarium* sp. 1 は, 同属の *Fusarium* sp. 2 や *Fusarium* sp. 3 を含めても全体の61%であり,

C区の優占菌である *Trichoderma* sp. 1 の88%には及ばず, 他に単離された菌の種類からも明らかにN区で糸状菌の多様性が高いことが伺えた。既に新田らは土壤管理と糸状菌の多様性の関係について報告しており⁴⁾, それらの結果からクロルピクリンによる土壤消毒がC区で糸状菌相の多様性が低くなる主な原因の1つになっていると推測された。

さらに任意に単離した細菌株について, キャベツ株腐病原菌 *R. solani* に対する抗菌活性をみたところ, 農法間で単離株の抗菌活性に違いが認められた点については, 宿主植物の種類の違いはあるものの, 土壤の健全性の指標づくりの観点から興味深い。

以上, 栽培管理が大きく異なる二種類の隣接した生産圃場においてジャガイモの根部及び非根圏微生物相の比較検討を行ったところ, 細菌密度や放線菌密度などでは大きな差異がみあたらなかったものの, 蛍光性 *Pseudomonas* 数のようにある特定の菌群密度や, 細菌・糸状菌のマイクロフロラ, そして細菌・糸状菌の多様性に違いが見い出された。施用する肥料の種類の違いや土壤消毒の有無が土壤微生物相や根圏微生物相へ及ぼす影響については, 先に述べたように既に幾つか報告がなされ, 蛍光性 *Pseudomonas* 密度や糸状菌の多様性を土壤の健全性の指標とする提案がなされている^{4,18,19)}が, 今回の研究により, 実際の生産現場でもこれらの測定項目が土壤の生物性診断指標となりうるということが示唆された。しかし, これらの指標が実際の生物性診断指標として利用できるか否かは, さらに多くのデータの蓄積が必要であると思われる。

要 旨

化学肥料や農薬を使用せず, 堆肥や有機質肥料のみで栽培管理を行う自然農法圃場(N区)と, 従来の栽培管理を行う慣行農法圃場(C区)の互いに隣接した二圃場(ともに静岡県三島市)から供試根や非根圏土壌を採取し, これら二つの異なった農法で栽培されたジャガイモの根部と非根圏細菌相, および根部糸状菌相について調べた。一般細菌密度と放線菌密度は, 両区間において明瞭な差異は認められなかったが, 蛍光性 *Pseudomonas* 密度は根部, および非根圏土壌においてともにN区で多く, 特にジャガイモ収穫期以降で顕著で

あった。根部より単離した好気性一般細菌を MIS (Microbial Identification System, MIDI Inc.) により同定, または類別した。両区のジャガイモ根部には同一種の細菌が優占していた。また, 細菌群の多様性については N 区で高い傾向がみられた。単離した好気性一般細菌株の植物病原菌 *Rhizoctonia solani* に対する抗菌活性試験では C 区に比べ N 区で高い活性を示す菌株が多くみられた。根連続洗浄法により根部糸状菌相を比較したところ, N 区で *Fusarium* sp. 1 が, C 区では *Trichoderma* sp. 1 が優占しており, 糸状菌の多様性は根部細菌相と同様に N 区で高かった。

謝 辞

本研究の遂行にあたり貴重なご助言を賜りました中国農業試験場畑土壌管理研究室堀兼明室長, 微生物同定システムについてお世話になりました静岡県農業試験場病虫害部伊代住浩幸氏に対しまして深謝いたします。また, *R. solani* 株を供与していただきました MOA 自然農法大学校後藤正夫博士, 土壌の理化学性分析をしていただきました全国 MOA 自然農法産地支部連合会技術委員会の皆様に対しまして感謝申し上げます。

引用文献

- 1) 西尾道徳 (1998) 有機栽培の基礎知識, 289 p, 農文協, 東京
- 2) 宇田川武俊 (1998) 自然農法への転換技術, 全国 MOA 自然農法産地支部連合会編, 農文協, 184 p, 東京
- 3) 西尾道徳 (1996) 畑の物質変化と微生物, 新・土の微生物(1), p. 25~58, 博友社, 東京
- 4) 新田恒雄・昆忠男・片岡健治・松口龍彦 (1989) 畑作物の根圏微生物相に対する作付体系と有機物施用の影響, 土と微生物, **34**, 41~49
- 5) 小野忠・矢野輝人 (1993) 土壌消毒が土壌微生物相と野菜の生育に及ぼす影響, 大分県農業技術センター研究報告, **23**, 89~114
- 6) 全国 MOA 自然農法産地支部連合会編 (1994) MOA 自然農法ガイドライン, 全国 MOA 自然農法産地支部連合会, 静岡
- 7) Harley, J. L. and Waid, J. S. (1955) A method of studying active mycelia on living root and other surface in the soil. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, **38**, 104-118
- 8) 東京農業大学土壌研究室編 (1990) 土壌分析マニュアル第一版, 68 p, 東京農業大学土壌研究室, 東京
- 9) 加藤邦彦 (1997) 第 2 章土壌細菌の計数, 分離, 同定, 2.1 好気性細菌, 土壌微生物実験法, 土壌微生物研究会編, p. 15~23, 養賢堂, 東京
- 10) Welch, D. F. (1991) Applications of cellular fatty acid analysis. *Clinical Microbiology Reviews*, **4**(4), 422-438
- 11) MIDI Inc. (1996) Sherlock Microbial Identification System Operating Manual, Version 6, 226 p, Newark, Delaware
- 12) Pielou, E. C. (1977) Ecological diversity and its measurement, *In* Mathematical Ecology, p. 299-307, Wiley-Interscience Pub., New York
- 13) 本間善久 (1997) 第 12 章拮抗関係検出法, 12.1.1 拮抗作用の測定法, 土壌微生物実験法, 土壌微生物研究会編, p. 191~192, 養賢堂, 東京
- 14) Domsch, K. H. Grams, W. and Anderson, T.-H. (1993) Compendium of Soil Fungi, Vol. I, 859 p, IHW-Verlag, Eching
- 15) 渡邊恒雄 (1993) 土壌糸状菌, 培養株の検索と形態, 392 p, ソフトサイエンス社, 東京
- 16) 宇田川俊一・椿啓介・堀江義一・三浦宏一郎・箕浦久兵衛・山崎幹夫・横山竜夫・渡辺昌平 (1978) 菌類図鑑 (上) (下), 1321 p, 講談社, 東京
- 17) Katoh, K. and Itoh, K. (1983) New selective media for *Pseudomonas* strains producing fluorescent pigment, *Soil Sci. Plant Nutr.*, **29**, 525-532
- 18) 堀兼明 (1991) 畑地の根圏微生物相に及ぼす土壌処理の影響 (根圏環境) (2) 肥料塩類の多量施用が蛍光性シュードモナス菌数に及ぼす影響, 研究成果, V-7~10, 農業研究センター土壌肥料部, つくば
- 19) 堀兼明 (1992) 生物性診断技術の開発—微生物的緩衝能を指標とした根圏環境の診断, 根圏環境の動態解明と制御技術の開発, p. 192-194, 農林水産技術会議事務局, 東京
- 20) 小杉明子・平野清・杉山智子・仁王以智夫・中井弘和 (1995) 自然農法におけるイネ品種の根内細菌の多様性, 植物微生物研究会第 5 回研究交流会講演要旨集, 90
- 21) 最美あかね・仁王以智夫 (1996) 農法の異なるチャの根圏細菌の特徴, 静岡大学農学部研究報告, **46**, 1~9