

公開シンポジウム

微生物を利用した農業資材の現状と将来

地球規模の食糧・環境問題が顕在化している中で、地球生態系の物質循環の要の役割を果たしてきた土壌微生物を、さらに人類の手によって積極的に利用するための評価法について土壌肥料学の立場から提言する。

講演資料

日時: 1996年8月23日 10:00~17:30

場所: 東京農業大学 100周年記念講堂

主催: (社) 日本土壌肥料学会

共催: 日本学術会議・土壌肥料植物栄養学研究連絡委員会

目 次

開催にあたって - 序論 -	1
茅野 充 男(微生物資材専門委員会委員長) (東京大学農学生命科学研究科教授)	
Thailand Collaborative Reserch on Evaluation of EM and EM Products ,Their Feasibility Testing and Effects of their Uses on Agriculture and Environment-----	5
(EM 及び EM 資材の有効性の評価とその農業及び環境に与える影響)	
Dr . NapavarnNoparatnaraporn (Thailand Kasetsart Univ .)	
微生物資材の生産現場での利用可能性-----	12
藤原 俊 六 郎(神奈川県農業総合研究所)	
微生物資材に関する試験の現状と評価-----	23
丸 本 卓 哉(山口大学農学部教授)	
微生物資材検定法の現状と展望-----	47
金 沢 晋 一 郎(鹿児島大学農学部助教授)	
微生物資材評価法に関する提言;専門委員会のまとめ-----	69
吉 田 富 男(東京農業大学総合研究所教授)	
総合討論	
座長	茅野 充 男 (前出)
コメンテーター	佐藤 匡(東北大学追伝生態学研究所助教授)
	宮下 清 貴(農水省農業環境技術研究所)
	木村 真 人(名古屋大学農学部教授)

開催にあたって

所謂、「微生物資材」は古くから販売されまた使用されている。その種類は現在、我が国だけでも 200 種類を越す。いずれも、ある程度の効果を期待して販売されているのであろうが、すべてが期待通りの効果を示すというものでもない。肥料や農薬などとしての規制を受けない隙間商品として安易に販売されているものもある。中には、外国へ輸出され、それが日本製品であるゆえに広く使用されるに至っているものもある。十分に我が国での試験がなされないまま外国へ輸出されている恐れもある。外国の友人から日本ではあのようなものの効果をどのように実証しているのかと質問され面食らうこととなる。これは日本商品への信頼性を、日本の科学への信頼性を傷つける事になりかねない。最近タイでは日本製微生物資材の有効性を巡って研究者間で議論があり、タイ政府は独自の研究費と人員を使って、研究組織を構成し、多面的な研究を行なった。

このようなことが背景にあって、微生物資材を正面から取り上げ、その効果を正当に評価する手法を考える時期に来たと判断した。折しも、土壤肥料学会を舞台にして、ある微生物資材の有効性に関する科学的かつ熱心な討論があった。このことから、土壤肥料学会がこの問題を取り上げる場として相応しいものと判断した。そこで、平成 7 年度に土壤肥料学会では、当時の会長、茅野充男(東京大学農学生命科学研究科)を委員長とする下記の微生物資材専門委員会を組織して微生物資材評価法に対する検討を開始した。本シンポジウムはこの問題に関する各委員および関連する研究者による検討結果や各研究者の見解を公開するためのものであるが、幸い、先に紹介したタイでの研究において研究組織の副委員長を勤められた、ナパーワン教授(カセサート大学)が来日されるということで、タイでの研究成果の主要な部分を研究実施に至った経緯も含めてここに講演して頂くこととした。

微生物資材専門委員会委員の構成は以下の 5 名である。

吉田富男(東京農業大学農学部総合研究所教授)、佐藤 匡(東北大学遺

伝生態学研究所助教授)、木村真人(名古屋大学農学部教授)、丸本卓哉(山口大学農学部教授)、金沢晋二郎(鹿児島大学農学部助教授)、吉羽雅昭(東京農業大学農学部教授)。

また、この委員会をサポートしたメンバーは以下の5名である、。

宮下清貴博士(農林水産省農業環境技術研究所)、藤原俊六郎博士(神奈川県農業総合研究所)、伊達昇土壤肥料学会副会長、鬼鞍豊土壤肥料学会前常務理事、嶋田典司土壤肥料学会常務理事

畑に微生物をパラパラと散布したら作物の生育が促進され、収穫が格段に増大するという夢は多くの人が考えることである。微生物はたしかに有用である。人類は古くから微生物の力を借りて、酒、みそ、醤油、チーズ、ヨーグルトなどを生産してきた。近年は抗生物質等の医薬農薬品からアミノ酸等の有機化学薬品、栄養剤までも微生物によって生産している。微生物はまさに奇跡の生物と言って良い。多大の恩恵を施してくれる微生物であるから、畑の作物もその力を借りて、大きくしようという試みは古くからなされている。しかし、作物生産という点では微生物は我々の期待するような奇跡をもたらさない。作物生産に関する生理学的な研究が進むにつれ、作物生産における微生物の機能は間接的なものでしかないことも明かにされている。

しかし、微生物が全く作物生産に関与していないわけではない。いい例が根粒菌を初めとする窒素固定微生物である。窒素肥料の不十分な状態ではこの種の菌の働きは誠にめざましく、これによって作物生産は高く維持されている場合も多い。なまじの窒素肥料よりも有効で、作物生産を増大する。その力の偉大さは、かのリービッヒをして作物生産のための肥料として窒素は不要で、自然循環でまかなえるとまでいわしめ、有名なローザムステッド試験場の創始者ローズに批判されてしまった。これほど有能な根粒菌でも畑にパラパラとまいた程度では殆どの場合効果はない。有用な微生物を土壤中で機能させるための手法はまだ確立していない。土壌には多くの微生物が環境に適応して生息しているので、人為的に繁殖させた微生物を土壌に添加しても

その環境に順応するまでに大半死滅してしまうと予測される。

先日、イギリスに出張したおり上記のローザムステッド試験場に立ち寄った。ちょうど日曜日で2年に一度の試験場の公開日ということで試験場の研究成果を見学できた。その中で、微生物の遺伝子工学に取り組んでいるグループの研究が興味深かった。それはエンドウマメ根粒菌に GUS 遺伝子を導入した形質転換根粒菌を利用したものである。この形質転換根粒菌は導入した遺伝子の生産する α -グルクロニダーゼ酵素活性により適当な基質があるとそれを分解して、青色物質を形成するため他の根粒菌と識別でき、数も数えられる。この菌を土壌に添加したところ、一年後には 1000 分の 1 以下にその数は減少していた。しかし、ある土壌では嬉しいことにその減少が 100 分の 1 程度であった。この場合でもエンドウの根粒、21000 個のうち、この菌を含有しているものは一つも発見されなかった。この実験は土壌に添加した微生物を機能させることの難しさを物語る一方、遺伝子工学の手法を使って微生物がより多く土壌に生き残れるような技術の解明が進みつつあることを期待させる。少なくともある条件では減少は 100 分の 1 程度で留まりうることが示されたのである。若い実験者はその成果を誇らしげに私に説明してくれた。私も微生物資材の明るい将来を見た気がして嬉しくなった。地道に研究していけばきっと微生物資材が有効に利用される日がくると思えたからである。

微生物資材を畑で生かす技術が十分には確立されていないのに、この種の資材が数多く市販されているというのは販売する側の意欲だけではなく、農家からの需要というか期待というか夢があるためと考える。これを機会に微生物資材の研究が進展し、農家の期待に十分に応える微生物資材が世に多く市販されるようになることを祈念して、本シンポジウム開会の序としたい。

平成 8 年 8 月 23 日

土壌肥料学会微生物資材専門委員会委員長
茅野充男(東京大学農学生命科学研究科)

Thailand Collaborative Research on Evaluation of EM and EM Products, Their Feasibility Testing and Effects of Their Uses on Agriculture and Environment

****Napavarn Noparatnaraporn¹ and Yenjai Vasuvat²***

1 Kasetsart University Research and Development Institute, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand.

2 Departments of Agriculture, Ministry of Agriculture and Cooperative, Bangkok 10900, Thailand

ABSTRACT

The Research Project on evaluation of the product known as "Effective Microorganisms-EM". and its related products, testing of their feasibility and effects on agriculture and environment in Thailand, was an intensive collaborative research work between Kasetsart University and The Department of Agriculture, Ministry of Agriculture and Cooperative. It was a priority pilot project generated from resources and budget pooling of the two institutions. The joint research was driven from the fact that the said products were indicated to be those of soil improving agent, thus not being subject to a declaration of their components or to inspection or certification by the relevant government agency, and from the poor and unbelievable informations of the said products and their application which were advertised to possess multi-purpose properties, ranging from being used as an additive for the production of composts; application for plant diseases and pest control; utilization for livestock development; waste water treatment and waste deodorization and in addition as a human health-drink.

The Project was started in April 1994 and was completed in fourteen months. Two closed seminars were held consequently among all researchers and the final seminar was held opened to public. The Project consisted of 4 major projects divided into 39 subprojects in which a total of as many as nearly 100 faculty members and researchers from both agencies participated. (Excluding laboratory workers and field personnels.)

The results of the first major project on Surveying and Collecting Data on EM and Its Use revealed that from questionnaire surveying, among the three groups surveyed, the group of individual in general was the group with least number of people having knowledge about EM or even fewer number who ever use it. The group of academics was the highest percentage group of people knowing EM while farmers, The third group surveyed, was found that rather few persons know EM. Results of seven categories of documents collection locally and internationally indicated that there were very few technical reports about EM and its use, especially about technical matters in the aspects of

Microorganisms and agriculture applications.

The results of the second major project on Properties of EM started with The Chemical and Biochemical Properties of EM and EM Products concluded that Super EM has an acidic pH between 2.25-3.63 with lactic acid content of 0.87-1.16% (w/v); total volatile fatty acid (VFA.) content of 0.11-0.13% (w/v) consisted of acetic acid, propionic acid and butyric acid; 3% w/v polar component and 0.3% w/v of non-polar component (after drying); the contents of N, P and K did not quantify to use as liquid fertilizer; no glucose, fructose, sucrose, arabinose, maltose, xylose, xylitol and erythritol were found while a low content of 11.33 mg/g dry weight of para-gibberellic acids (GA) was found to increase to a maximum quantity of 28.98 mg/g dry weight when stored for 30 days at room temperature. The supernatant of super EM was found to contain 0.25% w/v alcohol, protein 0.25% w/v and a low content of cellulase enzyme 0.005 U/mg protein while no activities of chitinase and xylanase were found. As for pesticidal properties of EM products, namely Sutoju and Bogashi, the two pesticide formulas, revealed that super EM in Sutoju did not have the effect of preventing and eliminating pests and that Bogashi had its properties not different from those of the general composts.

The investigation of microbial components of super EM revealed that the total aerobic bacterial counts were ranged from 10^6 - 10^8 cfu/gram while total anaerobic bacterial counts were ranged from 10^4 - 10^9 cfu/gram. Various specific groups of bacteria were found just mostly the same as contained in soil sample. The bacterial genera found were *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Alcaligenes* and some unknown colonies. The total fungal counts of super EM were ranged 2.5×10^4 to 9.6×10^4 cfu/ml. They were identified as *Aspergillus niger*, *Penicillium* (darkgreen), *Penicillium* (grey) and *Penicillium* (green wrinkly), whereas *Asp. flavipes*, *Rhizopus*, *Asp. flavus*, *Asp. fumigatus*, *Emericella* (white), *Emericella* (cream) and *Fusarium*. were found in some EM samples. The total yeast counts indicated the range of 10^5 - 10^6 cfu/ml which were identified to Genera *Candida*, *Kloeckera* and *Rhodotorula*. The survivals of bacteria, fungi and yeast in super EM after storing at room temperature were also investigated. The detection of some specific group of bacteria revealed that lactic acid bacteria contents were ranged 6.6×10^5 to 9.9×10^6 cfu/ml, they were identified as *Lactobacillus plantarum*, (as majority), *L. casei* and *L. rhamnosus*. *Streptomyces* were found 8.5×10^3 cfu/ml with only two isolates possess the cellulose digestibility. Two important groups of bacteria which were not found in any EM samples were photosynthetic bacteria. (both green and purple groups) and actinomycetes. In addition, DNA was not detected in any super EM samples indicating that genetic

transformation of microorganisms in soil was almost impossible as well as there was no anti-microbial growth effect of all EM samples.

The results of the third major project on EM and EM Products Applications for Agricultural and Environmental Purposes concluded that: As pesticidal effect, There was no effect on growth inhibition of phytopathogenic bacterial and fungal pathogens. As insect pesticidal effect, there were no effects on controlling Chinese Kale insect pests; rice insect pests; cotton bollworm; Asian citrus psyllid on Tangerine; leaf roller in mungbean; African red mite, citrus rust mite and citrus yellow mite. There were no antifeeding effect, oviposition deterrence and stomach poison on *Heliothis armigera* larvae as well as no effect as contact poison on *H. armigera*, *Spodoptera litura*; *S. exigua* larvae and as repellent effect on *Epilachna* spp. As fertilizer agent, the compost made from super EM was the worst compared to those made from two local commercial fertilizer agents and even fresh cattle manure. The efficiencies of super EM on increasing crop production were investigated in rice, corn, sorghum, tomato, yard long bean, similar results were obtained that there were no significant positive effect on growth of the above crop plants. Studies on EM effect on soil enzyme activities concluded that application of chemical fertilizer associated with compost was already good enough to obtain the sufficiency of natural soil microorganisms reaction and organic matter decomposition. Effects of EM on soil microorganisms were studied and indicated that growth and nitrogen fixation efficiency of blue green algae were induced at optimal EM concentration but reduced at higher concentration of EM, as well as reduction of VA mycorrhiza content in soil after EM treatment. As for effects on pig performance and feed digestibility, no significant effect was found. In culture of hybrid catfish, no significant difference in the water quality as well as no effect on survival rate, growth rate and total production of hybrid fish. As aerobic-wastewater treating agent, EM showed the same efficiency as the mixed cultures from the domestic oxidation pond whereas in anaerobic treatment and biogas production from swine manure, treatments with EM and manure from EM-fed swine showed lower efficiencies. Studies on EM-treated swine wastewater as fertilizer on vegetables revealed that kale growth yields were significant lower than those from chemical fertilizer while in Chinese radish and chilli, yields from EM-treated wastewater were not significant different from chemical fertilizer. Only in marigold flower that gave the positive result. It was very interesting to prove that hydrogen sulfide production (H₂S) was inhibited by acid produced during fermentation of molasses by some acid forming microorganisms in EM as well as microbe contaminated in molasses.

The results of the fourth major project on Environmental

Impacts of EM Application concluded that there was no significant difference on the average of water quality parameters for both agricultural purpose and sanitary aspects of the water treated with EM or chemical compounds. In addition, EM did not have the property to decompose residual toxic substances in soil like methyl parathion and carbofuran.

In overall conclusion, these reports were the first technical data documents for the preliminary decisions of those who are in consideration of utilizing these products and particularly to provide a reliable scientific results to the laying of measures to control the import of microbial products into the country in the future.

EM 及び EM 資材の有効性を評価するためのタイ国内共同研究， その実用性試験と施用の農業及び環境に与える影響

* ナパバーン・ノパラットナラポーン¹， イエンチャイ・ヴァスパート²
1 カセットサート大学研究開発研究所，カセットサート大学，バンコク 10900，
タイ
2 農業部，タイ国農務省，バンコク 10900，タイ

要旨

「有効な微生物，EM」として知られている資材とその関連資材の有効性を，タイの農業や環境に対する実用性と影響とを試験することにより評価しよう，という当研究計画は、カセットサート大学とタイ国農務省農業部との集中的共同研究である。当研究計画は、二つの研究機関の資源と予算を利用した、優先的な試験研究として行われた。この共同研究は、先の資材が土壌改良資材とされていることに起因するものであり、その内容構成物は公表されておらず、関連政府機関による検閲や証明を経ていない。また研究は、さる資材のわずかな、また信じがたい情報と、コンポスト生産時の添加物としての利用から、植物の病害や害虫の駆除を目的とした使用・家畜の生育への利用、下水処理と廃棄物の脱臭、さらには人間の健康飲料としての使用にまで至る、その広告されている使用目的の多様性にも起因する。

この計画は 1994 年の 4 月から開始され、14 カ月間で終了した。この間に 2 回の全研究者を対象とした非公開のセミナーが催され、また最終セミナーは一般に公開された。計画は 39 の小プロジェクトに分けられる、4 つの主だった計画から構成されており、総勢 100 人近い双方の職員と研究者とを動員して行われた(研究技術者と圃場職員を除く)。

第 1 計画、EM とその使用法に関する調査と資料の収集では、3 つの集団に対して調査が行なわれた。一般の人々の集団には EM に関する知識を持つ人は少なく、また EM を使用したことのある人はさらに少なかった。大学人からなる集団には、EM を知るものが最も多かった。第 3 の集団である農業従事者の集団では、これよりは少なかった。国内で、また国際的に集められた 7 種類の報告書によると、EM とその使用法については、特に土壌微生物や農業への適応という面においては技術情報が非常に乏しいことが判明した。

第 2 計画、EM と EM 資材の化学的、生物化学的性質に関する調査の結果からは、スーパーEM は pH2.25-3.63 という酸性 pH を持ち、この中で乳酸含量が 0.87-1.16% (W/V)・酢酸とプロピオン酸・ブチル酸からなる総揮発性脂肪酸含量が 0.11-0.13%(W/V)、乾物中の極性物質量は全体の 3%(W/V)で、非極性物質量は 0.3%(W/V)・N-P-K 量は液体肥料として使用する程は含まれておらず、グルコース、フルクトース、スクロース、アラビノース、マルトース、キシロース、

キシリトール、エリスリトール、といった糖類も含まれず、一方で室温に30日間保存することでパラジベレリン酸は乾物中濃度で28.9 µg/gにまで増加するといったことが判明した。スーパーEMの上清中には0.25%(W/V)のアルコール、0.25%(W/V)のタンパク質、また少量のセルラーゼ酵素(0.005U/mg タンパク質)の存在が確認されたが、キチナーゼとキシラナーゼ活性は確認されなかった。EM資材、すなわちストジュウとボカシという2種類の資材の農薬としての性質に関しては、ストジュウに含まれるスーパーEMには特に害虫を駆除する効果は認められず、またボカシは一般のコンポストと何ら差異は認められなかった。

スーパーEMに含まれている細菌を調査したところ、好気性細菌の総数は 10^6 - 10^8 cfu/gであり、嫌気性細菌の総数は 10^4 - 10^9 cfu/gであった。いくつかの特定種の細菌が観察されたが、これは通常の土壤試料中のそれとほぼ同様であった。観察された細菌種は、*Bacillus*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Alcaligenes*, 及びいくつかの不明な菌であった。スーパーEM中のカビの総数は 2.5×10^4 から 9.6×10^4 cfu/mlであった。これらは、主に*Aspergillus niger*, *Penicillium* (深緑), *Penicillium*(灰色), *Penicillium*(緑色しわ)であり、いくつかのEM試料では*Asp. . flavipes*, *Rhizopus*, *Asp. flavus*, *Asp. fumigatus*, *Emericella*(白色), *emericella*(クリーム色), *Fusarium*といった種も観察された。試料中の総酵母数は 10^5 - 10^6 cfu/mlで、これらは*Candida*, *Kloeckera*, *Rhodotorula*属と同定された。スーパーEMを常温で長期保存した時のこうした細菌やカビ、酵母の菌叢の変化を調査したところ、乳酸発酵細菌が 6.6×10^5 から 9.9×10^6 cfu/ml含まれるようになった。これらは*Lactobacillus plantarum*(これが大半), *L. casei*, *L. rhamnosus*と同定された。*Streptomyces*は 8.5×10^3 cfu/ml含まれていたが、この内、セルロース消化能を持つものは2種類しか単離されなかった。

どのEM試料にも存在が認められなかった重要な細菌が2種類あり、これらは光合成細菌(緑色と紫色)と*Actinomyces*であった。さらに、どのスーパーEM試料にもDNAは含まれておらず、土壤中における微生物の形質転換はほとんど起こりえないと考えられた。また、EM試料には抗微生物活性は認められなかった。

第3計画、農業や環境的な用途へのEM及びEM資材の実用性、の調査結果によると、農薬としての効果という面では、植物に病原性のある細菌やカビに対する生長抑制効果は認められなかった。害虫に村しては、中国キャベツの害虫、イネの害虫、綿の実につく蛾の幼虫、タンジェリンにつくアジアミカンキジラミ、ヤエナリにつくハマキムシ、アフリカアカハダニ、ミカンサビダニ、ミカンキハダニといった害虫には全く効果がなかった。*Heliothis armigera*の幼虫に対しては、食害の予防効果も、産卵の抑制も、消化器系への毒性も観察されず、また*H. armigera*と*Spodoptera litura*, *S. exigura*の幼虫に村しての接触毒性や、*Epilachna spp.*に対しての忌避薬としての効果も認められなかった。肥料としては、スーパーEMを用いて作られたコンポストは、同時に試験した2種類の市販されている肥料資材から作成したコンポストや厩肥に比べて一番効果が少なかった。スーパーEMの作物収量を増量させる効

果に関しては、イネ、トウモロコシ、ソルガム、トマト、ヤードロングビーン、を用いて試験が行われたが、成長に対する明確な効果は特に見られなかった。土壤中の酵素活性に対する EM の効果については、化学肥料をコンポストと共に与えるだけでも、既に十分な自然の土壤微生物活性があり、有機成分分解も進むと結論された。また EM の土壤微生物に対する効果も試験されており、それによると藍藻の成長と窒素固定効率は適度な EM 濃度においては増加するが、それよりも高い場合には減少することが判明した。また EM 処理によって、土壤中の VA 菌根量が減少することが観察された。豚の性質と飼料の消化性への効果という点に関しては、特に効果は認められなかった。雑種のナマズ養殖では、水質には特に変化もなく、生存率、生育率、総生産量にも差はなかった。好気性の汚水処理剤としては、EM は国内の酸化状態にある池から採取された混合培養液と同様の効果があったが、豚の糞による嫌気的処理と生物ガス生産では、EM 処理と EM を餌に混ぜて育てた豚の糞による処理とでは低い効果しか見られなかった。EM 処理をした豚の汚水を野菜類に対する肥料として利用することに関する研究からは、キャベツにおいては、化学肥料と比べて収量が著しく低くなり、中国ラディッシュとトウガラシにおいては化学肥料とほとんど収量に差異はなかった。唯一、マリゴールドの栽培においてのみ、成長を促進する効果が見られた。興味深いのは、硫化水素の生成が、糖蜜の発酵時に EM 中の、もしくは糖蜜に含まれていた酸生成性微生物によって形成された有機酸によって抑えられたことである。

第 4 計画、EM の施用による環境への影響の調査では、EM と化学物質とで処理された水とは、平均して農業目的や公衆衛生上の水質という点ではそれほどの違いがないことが判明した。加えて、EM にはメチルパラチオンやカーボフランといった土壤中に残存する毒性物質を分解する能力は認められなかった。

全般的な結論としては、これらの報告は、こうした資材を使用するか否かを考慮中の人々に予備的な判断を下すための材料となる最初の技術資料文書であり、将来的には、特に国内への微生物資材の輸入を管理するための基準を提示するための、信頼性のある科学的な結果を示したものであると言えるであろう。

微生物資材の生産現場での利用可能性

神奈川県農業総合研究所 藤原 俊六郎

1. 微生物資材に期待するもの

生態系を活かした環境保全型農業が推進されている今日、微生物資材に熱い目が注がれている。とりわけ、現行農法に飽きたらない、あるいは疑問を感じる熱心な農業生産者ほど熱意が高い。農家を訪問してみると、肥料庫や軒先で容易に微生物資材を発見することができ、微生物資材に興味を持つ人では数多くの資材を使用した経験を持っている。このように一般化している資材であるが、その効果については賛否両論があり、公的機関あるいは研究機関からの評価が聞かれないとの声が高い。このため、農家は、販売者の魅力的な話や、雑誌の記事を参考にして購入し、使用することが多い。

微生物資材は、「土壌等に施された場合に、表示された特定含有微生物の活性により、用途に記載された効果をもたらす資材」と定義できる。この微生物の中には菌根菌や根粒菌のように、機能が明確なものもあるが、大部分の微生物資材では、効果の明確でない「有用微生物」を用いている。この有用微生物という言葉に限りない可能性を見いだす要因があり、現在、商品として流通している微生物資材には、利用者からみれば魅力的な、さまざまな効果が表示されている。この効果中には、現代科学では理解できない表現もなされているものがあり、このことが良識ある研究者から評価されない要因となっている。

微生物資材については、農業生産現場での事例が先行している場合が多く、厳密な試験研究例は少ないが、ここでは、農業生産現場に近い、各自治体の公設研究機関における試験例を紹介し、生産現場での利用の可能性を考えてみたい。また、VAMや根粒菌のように機能が明確な資材は除外して、一般的な資材を対象とした。

(1) 微生物資材効果の表示内容

微生物資材に表示されている効果には、有機物の分解促進、連作障害抑止、土壌の理化学性改善、土壌の微生物性改善、作物の生産性向上、作物の品質向上、汚水浄化等の環境保全などがあり、農業生産阻害要因に関わる多くの問題が含まれている。このうち、生ワラの分解促進や堆肥化促進等の有機物分解促進と、土壌病害虫の抑制や防止等の連作障害防止については目的が明確であるが、その他の項目は漠然としており、有機物の分解促進、連作障害抑止、地力増進の3区分が妥当であるといえる。

現在、流通している微生物資材 19 社 37 品目を全国土壌改良資材協議会の資料¹⁾から選び、それに表示されている効果をとりとまとめたものを、図1に示した。有機物分解

促進に効果のあるとするもの 18 資材、連作障害抑止は 22 資材、地力増進は 25 資材である。このうち、単独効果を表示しているものは 16 資材であり、他は複数の項目に効果があるとしているが、うち 7 資材には 3 つの効果すべてが表示されている。

このように、微生物資材は、その効果の表示からみる限り、農家に夢を与える万能薬的の感じがする。他方、微生物資材の内容は明らかでなく、効果は不確定なものが多いことが、微生物資材の評価をめぐって農家に多くの混乱を引き起こす原因となっている。

(2)微生物資材の微生物的性質

微生物資材と称するからには、微生物が添加されている必要があるが、資材に含まれる微生物名が記載されている例は少数であり、多くが有用菌(群)と表示してあることが多い。市販されている微生物資材に含まれる微生物数を希釈平板法により測定した結果を図 2 に示した。図は、糸状菌を縦軸、放線菌を右下軸、細菌を左下軸に取り、菌数は指数で表示してある。分布域が示されているのは、資材のロット間の差や資材を開封して数か月放置した場合等の分析値等から求めて示した。

図によれば資材の種類により微生物数にかなりの違いがみられるが、資材 1g あたり、糸状菌が $10^5 \sim 10^6$ 、放線菌が $10^6 \sim 10^8$ 、細菌が $10^5 \sim 10^8$ である。一般に、土壌 1g あたりには糸状菌が 10^5 、放線菌が 10^6 、細菌が 10^7 程度であり、土壌に比べると微生物資材には 10 倍程度の菌数が含まれている。とりわけ放線菌の比率が高い特徴があり、微生物が人為的に添加されているように見える。しかし、堆肥中には微生物資材と同程度の微生物が含まれており、総数からみれば資材に特別に多くの微生物数が含まれているということはない。

ここでは、微生物の特定の種類についての調査は行っていないが、微生物資材に表示されている種類はバチラスとかアクチノミセテスとかあいまいな表現しかなく、特定の機能を持った微生物が含まれていることを表示してある資材は極めて少ない。これらのことから、一般の微生物資材の微生物性は堆肥と大差ないともいえる。

2. 有機物分解促進効果の試験例

有機物分解促進効果としては、堆肥化における有機物分解促進の機能を持つものと、土壌中にすき込まれた稲ワラや緑肥などの分解を促進する資材がある。また、土壌中の有機物分解促進のなかには、水田の嫌気状態における稲ワラの分解を目的にしている資材もある。有機物分解のためには、生産現場では数多くの微生物資材が使われているが、正確な試験を行った事例はほとんどみられない。新井ら²⁾の微少熱量計による測定方法の検討のように測定方法論を提案した事例もあるが、実際は有機物分解の簡易な測定方法がないことが、微生物資材の効果判定を困難にしている。

(1) 土壌中における稲ワラ分解試験

土壌中における稲ワラ分解に対する微生物資材の効果をみるために、市販の微生物資材 10 種類の調査を実施した例がある³⁾。方法は、淡色黒ボク土 50g に稲ワラ粉碎物 5g と微生物資材 1g を混合し、C/N 比を 20 になるように硝酸アンモニウムを加え、20 で培養し、二酸化炭素発生量を測定した。微生物資材は、資材に含まれる微生物の効果をみるために、現物とともにオートクレーブで殺菌した資材を使用した。対照区として無添加区とともに米ヌカ 0.5g を混合した区を設定した。

20 で 30 日間培養した場合に発生する二酸化炭素量を積算した結果を、表 1 に示した。これによると、殺菌区ではすべて対照(無添加)区を上回ったが、非殺菌の現物区では対照区を下回ったものもあった。殺菌区の発生量が多いのは、資材に含まれる微生物遺体からの発生が多いためと考えられる。

このように、稲ワラ分解促進に効果のある資材もみられたが、殺菌・非殺菌の差からみる限り、微生物資材に含まれる微生物の働きは小さいと考えられた。また、米ヌカ添加のほうが効果が大きい傾向がみられたため、微生物資材を購入するよりは、米メカを添加した方が経済的であり効果が大きいといえる。

(2) 食品カスの堆肥化促進試験

微生物資材の堆肥化促進効果を調査するために、密閉型発酵槽を用いてオカラを単独で堆肥化する実験がある⁴⁾。密閉型発酵槽は、通風装置の付いた容量 80L の実験用発酵槽により、4 種類の微生物資材を用いて堆肥化における有機物分解効果を検討した結果、80L の小さい発酵槽であるが、品温は、一次発酵では 70 以上に温度が上昇した。

オカラの堆肥化における微生物資材の効果を、図 3 に比較を示した。市販の微生物資材をそのまま混合した場合は、対照区(切り戻し品混合)より効果が劣ったか、それぞれの資材を混合して発酵した切り戻し品(一次発酵物)を添加すると、資材 BD を除いた全ての資材では効果が増大した。とくにこの傾向は資材 NK と資材 KR に強くみられ、対照区を上回る分解率を示した。

このように、連続して使用すると堆肥化に適した微生物が優先するため、より効果が高くなることが明らかとなった。このことから、微生物資材は常に新しいものを添加するのではなく、一度微生物資材を添加し、一次発酵を行った後、それを切り戻し品として利用することが、堆肥化を促進する上では効果が高いといえる。

(3) 有機物分解における微生物資材の役割

有機物分解は、有用な単一微生物だけで行われず、非常に多種類の微生物が関与することにより効率よく行われる。そのため、個々の微生物の特性把握ではなく微生物の集合体として把握することが必要である。

土壌中で稲ワラなどの有機物分解を促進する微生物資材については、一般的な好

気条件においては、その効果に疑問がもたれる。土壌中には微生物の種類や量が多く、土壌微生物のフロラを大きく変えることは困難と考えられる。むしろ、堆肥を積極的に使用することの方が意味が大きいといえる。

堆肥化における有機物分解促進のための微生物資材は、切り出し品を種菌として利用することがより高い効果を発揮する場合がある。すなわち、特定の資材を購入して毎回投入することはあまり意味がなく、切り出し品を使用すれば、分解に適した微生物が増殖し、有機物分解が促進されると考えられる。

3. 連作障害抑止の試験例

連作障害、とりわけ土壌病害の抑止対策として微生物資材は期待されている。農薬取締法とのかねあいで直接的な表現はとられていないが、多くの資材には病原菌を抑制する機能があるかのような記載がなされている。このため、栽培者の使用意欲が最も高く、ひとつの成功例が過剰に宣伝され、過剰な期待に基づく失敗例もある等、多くの問題を引き起こす原因となっている。

(1) 微生物資材によるフザリウム病抑止の可能性

土壌病害抑止の多くの事例を調査するために、5年間にわたる病理及び土壌肥料の試験研究成績書から、トマト根腐萎ちょう病(病原菌 *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici*)の抑止効果を試験した事例をまとめたものを、図4に示した。この図は対照区の病害発病度を3とし、対照区と比べ効果があったものを4、大きな効果があったものを5、逆に対照区より激しく発病したものを2として表示した。また微生物資材は、堆きゅう肥等の有機質資材と混合したもの、パーミキュライト等の鉱物に吸着させたもの、キチン類似物質含有資材に分類して集計した。

資材により効果にばらつきがみられるか、発病を軽減させる効果がみられるものがある。なかでもキチンを含むものは効果が高い傾向にあり、それを含めた3つの資材は、実験例すべてで効果ありと判定されており、病害抑止効果が期待される。しかし、これら成績書には、結果が良いものだけが記載される危険性があるため、より多くの使用例を含めて効果を判定することが必要である。

(2) トマト根腐萎ちょう病の試験例

神奈川園試ではトマト根腐萎ちょう病の抑止のために、2年間連続して資材を施用した栽培試験を実施した³⁾。自然汚染土を1/2,000aワグネルポットに詰め、促成トマトを栽培した。資材はポットあたり100gの資材を混合した。有機物の影響を除外するため微生物資材のみの施用としたが、嫌気性資材CRについてはワグネルポットに資材50gと稲ワラ50gを施用した。

トマト根腐萎ちょう病は全区で発病したが、発病程度は弱く枯死するものは1株もなかった。発病度の指標として、地際導管褐変度を図5に示した。1作目では対照区の50%に対し、資材OGとCR以外では抑止効果がみられた。2作目では対照区の60%に

対して全ての区で発病が低い傾向がみられた。2作をあわせてみると、資材 AT のように 1 作目では抑止したが 2 作目では抑止効果が大きく減少した資材もあるが、全体に鉍物質資材では 2 作目の発病度が高く、それ以外の資材では連用によりわずかに抑止効果が高まる傾向がみられた。供試した資材の中ではキチン類似物質である SC が最も発病抑止効果が高い傾向が認められた。

他に、自然汚染圃場を用い、植物だけでなく人間にも効く万能薬的な宣伝がなされている資材 EI を用いた実験結果を、第 2 表に示した。ボカシの施用により発病が軽減したが、微生物資材を混合して指定どおり製造したボカシと資材を混合しないで製造したボカシの間では差は認められず、添加された有用微生物の働きというよりも、ボカシに含まれている米ヌカ等の副資材の効果であると考えられた。

(3)ハクサイ萎黄病の試験例

長野県のハクサイ黄化病多発地帯において、微生物資材により発病を抑止する試験が長野県野菜花き試験場の高橋ら⁶⁾により 1986 年から 1990 まで実施され、成果をあげている。現地の発病圃場(表層腐植質黒ボク土)に、OG, BM, BY の 3 種の資材をそれぞれ、1 作 10a あたり 200kg, 600kg, 500kg 全面施用し、ハクサイを年 2 回作付けして、その間の発病の推移を克明に調査している。4 年間 8 作の平均発病度は、対照区 57.6、OG 連用区 23.4、BM 連用区 24.9、BY 連用区 29.9 であり、抑制効果は顕著であった。

その資材の中から資材 OG の例を図 6 に示した。これによると、4 作目までは効果が小さかったが、4 年目以後効果が顕著になり、微生物資材の有効性が認められている。同時に実施した、定植 30 日目の土壤微生物調査結果からは、資材施用区の放線菌と糸状菌の増加傾向がみられ、微生物資材(OG)の施用か、土壤微生物数を増加させていることが示されている。

(4)土壤病害抑止に及ぼす効果

微生物資材による病害抑止効果は、農薬のように完全なものではなく、病気を軽減することはできても絶滅することは困難である。病気の抑止効果については各地域の試験研究機関で実施されているが、効果が安定しているものは少ない。有機物や微生物資材は農薬ではないため、土壤病原菌を殺す能力は極めて低い。発病の著しい圃場では、土壤消毒を行なったあとに微生物資材を堆肥とともに施用するなど、土壤管理を確実にしたうえで使用することが必要であると考えられる。

また、副資材としてキチンを含む資材にはフザリウム病に対して効果がみられるものが多いが、他の病害には効果がない場合もあるので、目的に応じた資材の選択が必要である。また、ただ 1 回の施用では効果が小さくても、連用することにより効果が期待できることがある。さらに、地下部を利用する根菜類では、病害のかなりの部分が抑制されても根部表面にわずかに残る障害で商品価値が無くなるなどの問題があり、利用に問題が残る。

4. 地力増進の試験例

地力増進として土壌の理化学性や微生物性の改善効果等土壌環境に関わること、作物の生産性向上や品質向上等作物自体に関わることをまとめた。土壌環境の改善は作物の生産性と安定栽培を目的としたものであり、地力増進については作物生産性を評価すれば良いことになる。しかし、地力増進という言葉の内容があいまいなため、多くの資材が地力増進効果を明記しているにもかかわらず、その試験例は少ない。

(1) 資材連用試験事例

数少ない試験のうち、東京都農試の加藤⁷⁾が2年間3作の連用試験を実施した試験結果を、表3に示した。東京農試内の施設畑においてミニトマト、ニンジン、チンゲンサイを連続して栽培した。資材はミニトマトとチンゲンサイ栽培時に施用し、資材とともに落葉堆肥を混合している。堆肥の混合にあたっては、未熟有機物と併用を前提とする資材 VS と CR にはやや未熟な堆肥を、その他は完熟堆肥を施用している。

第3表は、資材無施用区の収量を100とした指数で表示してある。いずれの作物も資材無施用に比較して堆肥施用区では増収し、平均では未熟堆肥10%、完熟堆肥14%の増収になっている。作物別にみれば違いはあるが、3作平均値では、堆肥施用区を上回る区は認められず、BMとACは無施用区より減収した。また、跡地土壌の理化学性を調査した結果も大きな違いは認められなかった。

(2) EM 農法に関する試験事例

有効微生物群を用いたEM農法が広くマスコミでとりあげられているか、研究事例は少ない。ここでは表4,5に東京農業大学の後藤らの試験結果⁸⁾を引用した。

これは農大圃場で行われた試験であり、EM農法は少量の肥料で高い収益が得られるとされているが、表に示したように窒素固定ができるエダマメを除き、収量は低い。さらに後藤らは、ボカシを多量に施用し窒素レベルを合わせた試験においても高い収量の得られないことを報告している。

(3) 微生物資材の地力増進に及ぼす効果

地力増進は、単に資材の施用だけで解決する問題ではなく、物理性、化学性、微生物性の全般に関わる問題であるため、微生物資材施用によってのみ改善される問題ではないため、使用には問題がないといえる。微生物資材の施用効果は効果ありとするものも効果なしとするものもあり、判然としないが、よほど誤った使い方をしない限り、微生物資材を施用する事により土壌環境が改悪されることはない。

微生物資材を地力増進に使用するにあたっては、大きな期待をしないで使用することが必要である。また、微生物資材は一般に、有機物との併用がなされているが、物理的あるいは化学的手法に基づく土壌改良を実施したうえで、良質の有機物と微生物資材を併用することが必要である。

5. 微生物資材の利用の可能性

土壌中には数多くの微生物が存在し、作物に肥料成分を供給したり、土壌環境を保護しているように、また多種類の微生物の働きにより堆肥ができるように、農業生産においては、微生物は重要な働きをもっている。このように大切な微生物であるが、それらは直接目で視ることはできないため、ややもすると過剰な期待をすることがある。

土壌微生物は、その環境条件に適応した状態に保たれるよう働くため、有機物中や土壌中に単一種類の微生物を高いレベルで生存させることは困難である。したがって、微生物資材等で外部から導入した微生物資材による効果に過剰な期待をすることは、失敗の原因になりかねない。微生物ですべてが解決するわけではないため、目的とする環境条件を整えたうえで、補助的に資材を利用するという考えが基本になる。

(1) 有機物分解促進に使用する場合の注意

有機物分解は、有用な単一微生物だけで行われず、非常に多種類の微生物が関与することにより効率よく行われる。そのため、個々の微生物の特性把握ではなく微生物の集合体として把握することしかできないことが、土壌病害抑止のための拮抗微生物を含む微生物資材と考え方が大きく異なる点である。その意味では、現状の微生物資材の表示ように漠然とした表現しかできないといえる。

土壌中で稲ワラなどの有機物分解を促進する微生物資材については、一般的な好気条件においては、その効果に疑問がもたれる。土壌中には微生物の種類や量が多く、1gあたり 10^7 程度の多様な微生物が生息している。これは1aあたりの土壌量の10tには、 10^{14} の微生物が生息していることになる。これに1gあたり 10^8 の微生物を含む微生物資材を10kg施用しても 10^{12} であり、土壌中の微生物の1%にしか過ぎず、土壌微生物のフロラを大きく変えることは困難と考えられる。

このように、利用にあたっては限界があると考えられるが、使用上の注意をすれば、次のとおりになる。

資材を施用することで悪影響はないので積極的に施用してよい。しかし、米ヌカや堆肥を積極的に使用すれば、同等の効果が発揮できると考えられる。

堆肥化における有機物分解促進のための微生物資材は、発酵槽を使用する方法では効果が高いが、切り出し品を種菌として利用することがより高い効果を発揮する場合がある。発酵槽を用いないで野積みによる堆積発酵を行う場合は、微生物資材の投入による影響はより小さいと考えられ、発酵初期の分解促進程度しか意味がないと考えられる。

(2) 連作障害防止及び地力増進に使用する場合の注意

多種類の微生物が働き堆肥ができるように、自然界では微生物は環境に適応した

状態に常に変化している。このため、有機物中や土壌中に単一種類の微生物を高いレベルで生存させることは困難である。したがって、微生物資材による土壌病害抑止は、拮抗微生物による静菌作用、溶菌作用などの直接効果よりも、間接効果によるものが大きいと考えられる。間接効果には、作物の健全生育を促すことにより病害に対する抵抗性をもたせるもの、多種多量の微生物が存在し、微生物が多様化することによる微生物どうしの競合作用が考えられる。

微生物資材による病害抑止効果は、農薬のように完全なものではなく、病気を軽減することはできても絶滅することは困難である。長野県野菜花き試験場におけるハクサイ黄化病の試験⁶⁾は貴重な成功例のひとつであり、連用3年目から顕著な効果がみられている。これらの事例を参考にして考えれば、微生物資材を土壌病害抑止のために利用するうえでの注意点は次のものがあげられる。

微生物資材の働きに過剰な期待をすることなく、土壌診断を行い、土壌の物理性、化学性を改善したうえで使うことが基本になる。

微生物資材は農薬ではないため、土壌病原菌を殺す能力は極めて低い。発病の著しい圃場では、土壌消毒を行なったあとに微生物資材を堆肥とともに施用する。また1回の施用では効果が小さくても、連用することにより効果が期待できることがある。

果菜類のように地上にできる果実を利用したり、栄養生長期に収穫する葉菜類では利用の可能性は大きい。地下部を利用する根菜類では、病害のかなりの部分が抑制されても根部表面にわずかに残る障害で商品価値がなくなるなどの問題があり、利用に問題が残る。

微生物資材は万能ではないため、病害抑止に適した資材の選定が必要である。しかし、現在流通している微生物資材の種類と病害の種類が非常に多いため、適切な組み合わせを検索することが必要である。

微生物資材を地力増進に使用するにあたっては、良質の有機物と微生物資材を併用し、長期間使用することが必要である。

引用文献

- 1) 全国土壌改良資材協議会編：全国土壌改良資材協議会会員要覧(1990)
- 2) 新井重光：農林水産技術会議事務局編，研究成果 282，微生物利用土壌改良資材の効果，p16-24，1993
- 3) 神奈川県園芸試験場試験環境関係研究成績書，1990-1994
- 4) 神奈川県農業総合研究所試験研究成績書(農業環境)，1995
- 5) 地域農試編：北海道，東北，北陸，関東東海，近畿中国，四国，九州各農業試験研究成績・計画 概要集-病害-，-土壌肥料-，1985～1989
- 6) 高橋ら：長野県野菜花き試験場環境部成績書，1986～1989
- 7) 東京都試験環境部成績書，1992-1994
- 8) 農業研究センタ-編：平成7年度関東東海農業「微生物機能活用の展開方向」，1995

資材	商品形態	メーカー表示の効果	
		有機分解	殺菌力
NK	錠剤	○	○
NO	錠剤	○	○
CS	錠剤	○	○
KG	錠剤	○	○
HF	錠剤	○	○
MI	錠剤	○	○
E4	錠剤	○	○
KO	錠剤	○	○
VT	錠剤	○	○
NT	錠剤	○	○
NY	錠剤	○	○
VK	錠剤	○	○
HS	錠剤	○	○
OG	錠剤	○	○
E3	錠剤	○	○
BR	錠剤	○	○
NB	錠剤	○	○
CR	錠剤	○	○
ST	錠剤	○	○
FA	錠剤	○	○
OH	錠剤	○	○
DL	錠剤	○	○
BS	錠剤	○	○
VN	錠剤	○	○
SS	錠剤	○	○
KB	錠剤	○	○
FF	錠剤	○	○
SC	錠剤	○	○
E2	錠剤	○	○
GU	錠剤	○	○
KR	錠剤	○	○
VA	錠剤	○	○
AT	錠剤	○	○
EH	錠剤	○	○
RI	錠剤	○	○
AC	錠剤	○	○

図1 微生物資材の商品形態と表示効果
(全国土壌改良資材協議会会員要覧, 1995より作成)

表1 微生物資材の稲ワラ分解力
評価(CO₂-Cmg/kg77) (藤原, 1989)

資材	現物A	殺菌B	差A-B
BS	110.1	98.8	11.3
OG	142.5	135.5	7.0
BF	128.4	134.6	-6.2
HS	94.4	102.8	-8.4
AC	115.7	126.3	-10.6
VS	91.6	104.6	-13.0
FA	98.3	115.7	-17.4
CR	112.4	132.0	-19.6
BM	81.1	107.8	-26.7
AT	84.1	116.7	-32.6
無添加	96.0		
米糠添加	140.0		

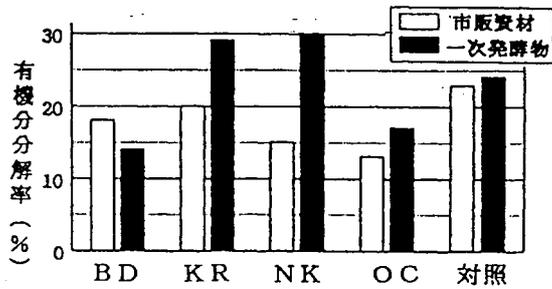


図3 オカラ堆肥化の有機物分解率
(藤原, 1994)

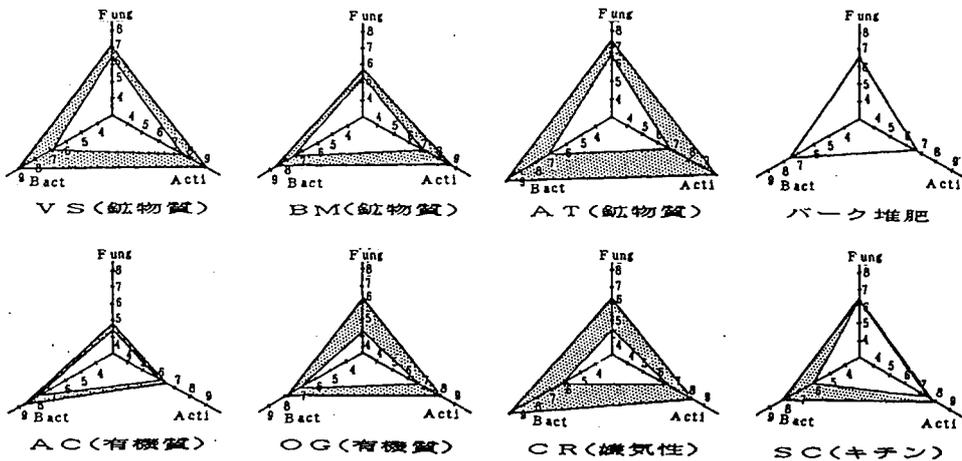


図2 微生物資材の微生物特性調査結果 (藤原, 1991)
(生菌数は乾物1gあたりの指数値で表示, 点で囲まれた所は分布域)

資材名 (件数)	--2-----3-----4-----5	
有機質と 混合した 資材	A (3件)	○ (平均) 最低 最高
	B (3件)	○ (平均) 最低 最高
	C (2件)	○ (平均) 最低 最高
	G (3件)	○ (平均) 最低 最高
	I (6件)	○ (平均) 最低 最高
鉱物に 吸着した 資材	H (3件)	○ (平均) 最低 最高
	V (7件)	○ (平均) 最低 最高
キチン 質・ 浮 遊 資 材	R (5件)	○ (平均) 最低 最高
	S (4件)	○ (平均) 最低 最高

図4 トマト根腐萎ちょう病抑止効果試験事例まとめ(藤原,1991)

(注1) 1984~89年度の全国の病理・土壌肥料成績報告書より作成。
(注2) 評価は、発病率が対照区と同等の場合を3とし、やや抑制効果の認められたものを4、抑制効果の大きいものを5、やや病害を増加させたものを2とした。平均値と最低、最高評価を明示した。

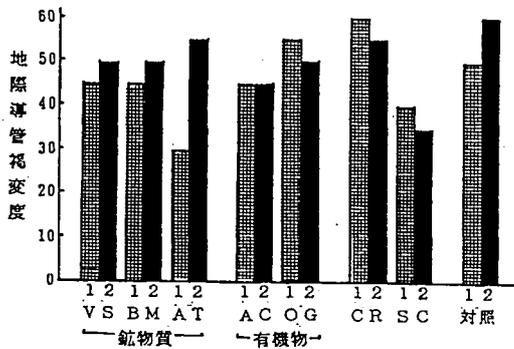


図5 トマト根腐萎ちょう病抑止効果
ポット試験(藤原,1993)

(1:1991年, 2:1992年, 地際導管変度は大きいほど発病が著しい)

表2 ポカシ肥によるトマト根腐萎ちょう病抑止効果(藤原,1994)

処理区	収量(株)	発病度	土壌pH
NB22バーク糞	3.46kg	36.2	5.84
NB22ポカシ肥	4.35kg	32.9	5.41
E1ポカシ肥	4.15kg	37.9	5.34
対照区	3.48kg	38.3	5.31

(注)NB22:拮抗菌, E1:微生物資材

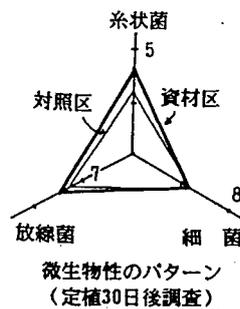
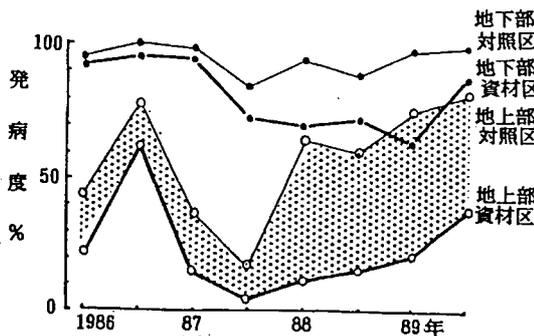


図6 微生物資材のハクサイ黄化病抑止効果
(資材はOG, 長野野菜花き試, 高橋,1990)

表3 資材による野菜栽培試験結果 (東京都農試, 1992-94)

資材名	ミニトマト	ニンジン	チンゲンサイ	3作平均
V S+未熟堆肥	113.3	118.6	81.1	104.3
B M+完熟堆肥	98.7	70.7	107.1	92.2
A T+完熟堆肥	92.3	116.2	124.9	111.1
A C+完熟堆肥	105.1	96.8	92.5	98.1
O G+完熟堆肥	99.4	98.2	103.3	100.3
C R+未熟堆肥	93.3	112.1	121.3	108.9
S C+完熟堆肥	118.0	101.1	90.7	103.3
資材無施用	100.0	100.0	100.0	100.0
未熟落葉堆肥	102.4	122.8	105.6	110.3
完熟落葉堆肥	104.1	124.1	114.0	114.0

表4 農大の有機農法試験の施肥設計8) (後藤ら, 1995)

試験区	ジャガイモ			ホウレンソウ			エダマメ			備考
	窒素	リン酸	カリ	窒素	リン酸	カリ	窒素	リン酸	カリ	
速効性化肥	15	20	20	25	20	20	15	20	20	尿素
緩効性化肥	15	20	20	25	20	20	15	20	20	被覆尿素
有機物施用	15	28	20	25	28	20	15	28	20	豚糞堆肥他
E M 農法	4	4	1	5	3	2	4	3	2	E1ボカシ100kg

ソルゴー、ライムギは全区無肥料

表5 農大の有機農法試験の収量調査結果8) (後藤ら, 1995)

作物	部位	速効性化肥	緩効性化肥	有機物施用	E M農法
ジャガイモ	塊茎部	100	116	117	52.9
ソルゴー	地上部	100	99.7	126	83.1
ホウレンソウ	地上部	100	109	98.2	54.6
ライムギ	地上部	100	110	117	68.6
エダマメ	莢実部	100	106	98.6	95.2
平均		100	108	111	70.9

収量は速効性化学肥料を100とする指数で表示した。

微生物資材に関する試験の現状と評価

丸本卓哉(山口大学農学部)

1.はじめに

近年、微生物資材についての関心が高まり、数多くの製品が市場に出回っているが、その品質や効果には不明瞭なものが多い。本来、土壌微生物は作物生産にとって極めて重要な役割を担っているが、外部で培養した微生物を土壌に施用して、定着、増殖させたり、その機能を発揮させるには、解決しなければならない問題点が多く、簡単にはいかないのが現状である。しかしながら、土壌改良資材として市販されている微生物資材は増加の傾向にあるものの、肥料取締法や農薬取締法などの法的規制がなく、現実には野放しの状態にあって、販売者と使用者との間で、微生物資材の品質や効果について多くのトラブルが生じている。このような状況の中で、農業用微生物資材について正確な評価を行なうことは極めて難しいことであるが、微生物資材の有効な活用と正しい評価を行なうために、まず我国および近畿・中四国地区における微生物資材に関する研究報告や試験の現状調査およびアンケート調査を行なった。本報告はその調査結果を中心に微生物資材に関する試験の現状と評価について述べる。

また、参考資料として筆者らが取り組んできた拮抗微生物資材^{1~5)}の研究開発過程と最近話題になっている「EM 農法⁶⁾」のEMおよびEMボカシの微生物性とその効果について検討した結果を付した。

2. 我国における微生物資材関連研究報告の現状

我国における微生物資材関連の研究報告^{7~10)}は、1985年から1995年の10年間に約70近くあるが(第1表、第1図)、それを内容別にみると、病害虫抑制に関するものが半数以上を占めている。その他は、有機物の分解促進:約16%、EMおよび土壌環境の改善に関するもの:それぞれ約11%、検定および評価:約10%、肥料効果:約5%である。これらの研究報告の中で、効果が認められたものは半数近くあるが、含有微生物の効果によるものか、その他の含有成分によるものかはっきりしないものも、かなり認められる。

3. 近畿・中四国地区における微生物資材試験研究の現状

近畿・中四国地区での微生物資材に関する試験研究を調査し、資材名、目的(対象作物)、効果判定について大まかに分別した(第2表)。また、関係者に対して、アンケート調査を行なった。試験項目は多岐にわたっているが、それらの効果については、効果のないものや、判定不能のものがかかなり多く、製品の品質や効能に疑わしいものが多いことがわかる。しかしながら、公的農業研究機関における研究者の微生物資材に対する関心は、アンケート調査結果に示すように高く、その有用性についても一応の評価がなされている。

4. 微生物資材に関するアンケート調査結果

中四国の公的農業試験場に対して行なったアンケート調査の結果をまとめると、以下のようである。回答率は 83%であった。

Q1. 現在、微生物資材は土壌改良資材の一部として用いられており、法律的にも曖昧な製品となっていますが、今後の微生物資材の取り扱いについて、どのようにお考えですか？

A-1)微生物資材、微生物名、材料組成を明記した上での公用を示すべきである。また、どのような土壌環境条件において効果を発揮するのかも示すべきである。効果については、公的機関で有効性を確認して記入すべきである。

A-2)常時効果があるのか、一定条件下で効果があるのか不明なものが多い。使用条件や何と比較してどのような効果があるのか基礎データがないと利用者の混乱を招く。

A-3)現在流通している微生物資材がうたっている効果について、科学的評価基準を設定することは、極めて困難であると思うが、地力増進法施行令に基づく政令指定を行うことが望ましい。

A-4)病害虫防除目的:農薬(殺菌剤、殺虫剤)、作物生育促進目的:農薬(植物生長調節剤)、肥効目的:肥料(有機質肥料、緩効性肥料)、土壌物理性改良目的:土壌改良剤に分類して論議する必要がある。

A-5)農水省によるガイドラインの作成(製品の試験を含む)が必要である。

A-6)含有されている微生物の種類や微生物の添加によってもたらされる効果、その持続期間等を記載するように規定するべきである。

A-7) 微生物資材に含まれている微生物群が抽象的で、具体的な標示がなく、微生物面の品質が不明である。したがって、特定の資材の施用効果を他の資材への適応が困難である。

資材中の各々の微生物および施用による土壌微生物相の変化についての同定が困難で、効果の解析が難しい。

これまでの施用事例では、有機物としての効果を上回る微生物効果はなく従来の堆肥中にも多量の微生物(優良)が存在していると理解している。

A-8)普及現場からの要望も多くあり、平成 8 年度から「土壌微生物資材の土壌改良効果の判定および施用法の確立」という研究課題で実施する。対象資材については、有用微生物が数十種類含まれているという曖昧なものではなく、できるだけシンプルで菌の種類がはっきりとしているものを使用する。

A-9)法的規制はしない方がよい。

A-10)近年、微生物資材の使用目的や効能が、従来の土壌改良資材と一律に称するにふさわしくない場面が急増しており、今後は微生物資材単独で何らかの取り締まりや法的規制を行うべきである。

Q2. わが国においても、作土の浅層化、地力窒素の低下、野菜畑での塩類集積化等土壌の劣悪化が問題となっています。それらの解決のために微生物資材の需要が今後増加していくと考えられますが、それに関してどのようにお考えですか？

A-1)今後、微生物資材の需要や期待は増していくと考えられる。また、微生物の活用によって、自然の生態系に近づけ、土の生物相(微生物相)を豊かに保っていくことは、重要なことだと考えている。

A-2)上記3つの土壌劣悪化にはそれぞれの対応が取られるべきであり、直接に微生物資材とは関係ないと思われる。強いて言えば地力窒素低下を招かないための良質有機物の腐熟促進や良質堆肥、堆厩肥、コンポスト化へ利用していくべきだと考える。

A-3)土壌中での微生物の多様な働きを考えれば、土壌の劣悪化対策としての微生物資材に期待が寄せられていることは理解できる。ただ、明確な根拠があるわけではないので、まず土壌劣悪化の要因と土壌微生物の関係を明らかにし問題解決に微生物がどこまで関与できるかを示す必要がある。

A-4)土壌病害発生抑制に利用(病原菌拮抗微生物等単独または複数の特定有用微生物)、作物生育促進として利用(リン溶解微生物、生育促進物質放出微生物等単独または複数の特定有用微生物)、有機質肥料として利用(N、P、K 微量元素供給源および general antagonism として多量の有機物と共に、不特定多種類混合微生物としての利用)、土壌物理性改良として利用(土壌の団粒化、膨軟化等のために多量の有機物と共に、不特定多種類混合微生物としての利用)

A-5)畜産廃棄物の処理や環境保全に役に立つ。

A-6)化学肥料や堆肥一辺倒のこれまでの施肥と異なり、有機物と微生物を合理的に組み合わせる方法は重要と思う。ただ、どのような微生物をどのような資材と組み合わせるかは、長期に渡った実証試験の繰り返しによって、明らかにしていくべきである。現在市販されているものの多くは、そのような実験を経て開発されたものとは思えない。

A-7)農業者の高齢化・担い手不足・機械化の中で、化学肥料の多投による地力の低下、

塩類の集積・アンバランス、土壌反応の不良環境負荷等問題はある。土づくりには家畜糞尿等未利用有機物の堆肥化、流通システム組織化によって有効利用を図れば環境保全面でも望ましいと考える。

A-8)基本的な解決策は、有機物の施用、適正な施肥等によって行う。有機物資材は、あくまでも補助的なものとする。

A-9)微生物資材よりは、畜産廃棄物の有効利用が重要で効果的とする。

A-10)微生物資材等の全てを否定するのではなく、効果の再現性、安全性が確認された資材は使用を推進しても良いと考えている。そのためにも、土壌の劣悪化が微生物相に及ぼす影響について、そのメカニズムを含めて明らかにすることが急務である。

Q5. 微生物資材の適正な使用には、まず評価基準の作成が必要と思われます。ご意見があれば、お聞かせ下さい。

A-1)微生物は自然界に多数存在しており、同一製法で微生物無添加のものと比較したり類似品による対照と比較した生育、収量その他評価対象の数値が必要である。試験に当たっても、土質、水分条件等栽培環境の多角的検討が必要である。腐熟品については、腐熟度を指数化して標示する。病虫害防除には農薬取締法に関する試験も必要になるが、この面の評価も合わせて行うことが必要であると思われる。

A-2)現場に近い立場の者としては、早急な評価基準の作成を望みたい。また、評価基準作成のためには、多くのデータが必要になると思うが、データを有効なものとするためにも、微生物機能(有機物の腐熟化促進、分泌物を含めた根発達促進機能等)や活性の評価手法の確立が重要だと思う。

A-3)農薬の効果や安全性判定試験のような試験成績に基づく判定と評価が必要である。試験の方法、調査項目として下記のような条件等を求めるべきだと思う。

試験区は最少3区(無堆肥区、慣行堆肥区、当該資材区)

肥料成分の調整(N, P, K, Ca, Mg, pH等の供給量を揃えたと共に測定する。)

生育、収量の把握(品質)

病虫害発生状況調査

生理障害等の有無の確認

環境への影響(方法論として困難)

安全性(人畜、野性動植物に対する毒性または病原性等)

A-4)公的試験機関による圃場での評価を実施し、それに基づいて販売する。

A-5)微生物の種類と土壌への定着性、その効果が実際に資材中に含まれている微生物に

関係しているのか等を示す実験的裏付けが記載されているべきである。土壌によって当然その効果も変わるはずなので、どのような土壌で効果が出やすいのか等も重要と思われる。

A-6)微生物資材は、基本的には効果のあるものが極めて少ないと考えているので評価基準の作成の必要性は小さいものとする。

A-7)微生物資材の微生物を含めた品質評価基準の作成、標示の法的な義務づけが是非とも必要である。

A-8)平成8年度から実施する研究において、評価をどのようにしたら良いか検討中である。良い方法があれば教えてほしい。土壌理化学性の変化、主として土壌養分(N P)の有効化の測定、植物体の養分吸収量の測定等を考えている。

A-9)資材の効能が発揮されやすい条件、そうでない条件を明確にするようメーカー側に働きかけることが先決と考える。詳細な条件設定を行わないと、微生物資材の評価は困難と思う。

A-10)微生物資材中の主な微生物について、最も効果が得やすい土壌環境条件を求めるべきである(土壌中の菌密度との関係、土壌水分等)。

以上のアンケート調査によると、微生物資材に対する品質とその効果について、十分な評価をなし得る現状になく、一部の微生物資材を除いては、ほとんどはっきりしない状況である。農業従事者の誤解や被害を防ぐためにも、微生物資材の正しい評価法の基準作りや、それらの公的評価機関の設置などが早急に必要と思われる。

微生物資材の検定法や評価法については、次の金沢、吉田両微生物資材専門委員によって詳しく報告されるので、ここでは省略する。微生物そのものが目に見えない場合が多いことや、微生物資材が基本的に持つ影響力の曖昧さのために、商品に表示されているまことしやかな嘘を、簡単に見破れないという困難さがある、正しい評価を難しくしているのも事実である。しかしながら、少なくとも科学的に納得のできる必要最小限の実験データがない資材や、過大表示の資材については、一度その効果について疑ってみる必要がある。

5. 参考資料 1: EM および EM ボカシの微生物性と EM ボカシのハウレンソウに対する効果 (1995.7~12: 山口大学農学部)

「EM 農法」⁶⁾で述べられている EM には、光合成細菌、放線菌、乳酸菌等 10 属 80 種以上微生物が存在し、農作物の生育や収量に有効であり、以下に述べる ~ の効果があるとされている。

農産物の増収・品質向上 発芽・開花・結実・登熟の促進 作物の生理障害抑制
土壌養分の有効利用、肥料節約 未分解有機物(緑肥等)の有効利用 光合成能力
の向上 連作障害の軽減 病害虫の発生、農薬使用量の軽減 土壌団粒化の促進
種子、地下茎の発芽発根促進(雑草対策) 有害微生物の繁殖抑制

しかしながら、それらの微生物の属や種を科学的に確認した証拠はなく、また EM の品質や効果について科学的に議論できるデータもほとんどないため、その評価については疑問が多い。本試験は、EM および EM ボカシの微生物性と EM ボカシのハウレンソウに対する効果について試験したものである。

EM としては救世 EM-1 を用い、比較微生物資材(接種源)として、EM 同様に沖縄で製造されている微生物資材 A および資材 A の濾過液(有)スイジン社製)、山口大学農学部附属農場畑土壌を用いた。微生物資材 A は糖蜜を光合成細菌で粗発酵した液である。ボカシの作り方は、救世 EM-1 の製造元である(財)自然農法国際研究開発センターの方法¹¹⁾に従って調製した。

試験結果(資料 1-表 1、2、図 1~5)から要約すると、

- 1)EM 資材から、細菌、糸状菌、乳酸菌は検出されたが、放線菌、光合成細菌は検出されなかった。
- 2)それぞれのボカシから検出された微生物の種類には大きな差がなかったが、EM-1 ボカシの細菌数は他のボカシよりも 100 倍以上多かった。また、土ボカシの細菌数、乳酸菌数は他のボカシより極端に少なかった。
- 3)EM ボカシ区のハウレンソウ新鮮重、乾物重、N、P、K の吸収量いずれについても、他の処理区と統計上の有意差はなかった。つまり EM および EM ボカシ中の微生物は、他の接種源と差が認められたものの、ハウレンソウの生育や収量には影響しなかったことが示され、EM の微生物的効果は認められなかった。

参考資料 2: 拮抗微生物資材の研究開発過程例(1982~現在:山口大学農学部、フマキラ一(株))

植物病害を拮抗微生物の生態学的機能を利用して制御する目的で、拮抗微生物資材の研究開発を 1982 年以来進めてきた。試行錯誤や再試験等によるロスタイムも含まれるが、試験開始以来既に 14 年が経過しようとしている。本年どうにかその拮抗作用機作の解明が終了しようとしている現状であり、多大の時間と労力が必要であることが明らかである。

- 1.有用拮抗微生物の選抜(昭和 57 年~59 年)
 - 1-1 培地上での拮抗菌株選抜
 - 1-2 選抜微生物が植物生育に与える影響の調査
 - 1-3 病害抑制効果の高い菌株の選抜
 - 1-4 選抜菌株の同定
- 2.担体としての有機物の選抜と調製(昭和 57 年~60 年)
 - 2-1 土壌微生物相に与える各種有機物の影響の調査および選抜
 - 2-2 各種有機物の組合せおよび混合比の調査

3. 拮抗資材の調製(昭和 58 年～61 年)
 - 3-1. 微生物添加条件の検討
 - 3-2 微生物増殖条件の検討
 - 3-3 添加菌の増殖および資材中の拮抗菌数の調査
 - 3-4 資材の品質管理条件の検討

- 4 資材の特性についての調査(昭和 59 年～62 年)
 - 4-1 物理化学性および生物性調査(重金属等)
 - 4-2 植物に対する影響調査(肥効試験、植害試験、連用試験)
 - 4-3 土着の土壤微生物(微生物フロラ)に与える影響調査
 - 4-4 資材の効果維持期間についての調査(経時変化 3 年間)

5. 資材の効果確認(昭和 59 年～平成 3 年)
 - 5-1 殺菌土壌、現地土壌を使用したポット試験(昭和 59 年～現在)
 - 5-2 現地土壌を使用した枠試験(昭和 62 年～平成 3 年)
 - 5-3 現地圃場試験:20 地域、49 力所(昭和 59 年～平成 3 年)

6. 拮抗作用機作の解明(平成 3 年～現在)

おわりに

農業用微生物資材の利用に関する試験や研究報告、アンケート調査等を通して、微生物資材の現状についての認識が不十分ながらも得られたと考えられる。全国および地域的に微生物資材への関心は高いものの、その評価法や検定法がないために、品質や効果の曖昧な資材が多いことも明らかとなった。当検討委員会としても、評価法についての基本的考え方を早急に提出することが求められている。本報告が、農業用微生物資材の評価基準の作成に役立ては幸甚である。

文 献

- 1)高木滋樹・北村 章・丸本卓哉,平成 4 年(1992):拮抗能を持つ放線菌を利用したフザリウム病害の抑制.第 1 報:拮抗放線菌のスクリーニング.土と微生物.39,35-40
- 2)高木滋樹・北村 章・丸本卓哉,平成 4 年(1992):拮抗能を持つ放線菌を利用したフザリウム病害の抑制.第 2 報:有機物の選抜と拮抗放線菌利用資材の調整.土と微生物.39,41-48
- 3)高木滋樹・北村 章・丸本卓哉・石田大作・田中秀平,平成 8 年(1996):拮抗能を持つ放線菌を利用したフザリウム病害の抑制.第 3 報:異なる土壤環境条件における微

生物資材の土壌微生物相への影響とダイコン萎黄病に対する効果的施用法の検討.
土と微生物 47, 51-58

- 4)丸本卓哉・高木滋樹・北村 章・石田大作・田中秀平,平成 8 年(1996):拮抗能を持つ放線菌を利用したフザリウム病害の抑制.第 4 報:土と微生物(投稿中)
- 5)高木滋樹・北村 章・丸本卓哉・石田大作・田中秀平,平成 8 年(1996):拮抗能を持つ放線菌を利用したフザリウム病害の抑制.第 5 報:土と微生物(投備中)
- 6)比嘉照夫,平成 7 年(1995):EM 環境革命.総合ユニコム,東京
- 7)土壌改良資材(微生物資材)の現状と問題点.昭和 61 年(1986)日本土壌協会
- 8)微生物資材の効果について-連作障害.土壌病害の視点からの問題点.昭和 62 年(1987):(財)日本土壌協会
- 9)微生物資材の評価について.昭和 62 年(1987):(財)日本土壌協会
- 10)微生物資材に関する試験成績について.平成 1 年(1988):(財)日本土壌協会
- 11)救世自然農法.講習会テキスト.平成 7 年(1995):(財)自然農法国際研究開発センター

第1表. 微生物資材に関する報告書（一部重複も含む）

報告書表題(対照作物)	報告者	効果	
		+ : 効果あり, ± : 不明 - : 効果なし	年
(EM関連)			
1) 微生物を利用した早春キャベツの品質向上 (キャベツ)	佐久農業改良普及センター (長野県)	+	1994
2) 自然農法における微生物資材の利用 とくにEMに対する見解(コマツナ)	(財)自然農法国際開発セン ター	±	,
3) 微生物利用A資材の施用効果試験	(財)日本土壌協会	±	,
4) 微生物利用A資材(A資材2号液剤)の土壌 施用効果試験	(財)日本土壌協会	±	,
5) EMに関する試験成績概要 (水稲・野菜・果樹)	(財)自然農法国際開発セン ター	+	,
6) 有効微生物群(EM)の特徴と使用法		±	,
7) 微生物資材を使用し熟成したボカシ肥がキ ャベツの生育の及ぼす影響(キャベツ)	東京農業大学 太田保夫・新川秀人	±	,
8) メロンの連作障害対策(メロン)	横須賀農業改良普及所 (神奈川県)	±	,
(肥料効果)			
1) 微生物資材の評価について	(財)日本土壌協会		1987
2) アローゼン・アローゼンCの各種試験成績 集をよんで	(株)開発肥料販売 立谷寿雄		,
3) アローゼンCの肥効試験	千葉農業試験場		1982
(病害虫抑制効果)			
1) 微生物利用土壌改良資材の効果判定技術の 開発	農林水産技術会議事務局		1993
2) 土壌病害抑制効果	農林水産技術会議事務局	+	,
3) 微生物土壌改良資材・バスターリア資材の 施用効果検定法策定等の調査	(財)日本土壌協会	+	1994
4) 微生物資材の効果について—連作障害、土 壌病害の視点からの問題点	(財)日本土壌協会		1987
5) 微生物資材に関する試験成績について 有効成績例からみた効果の可能性	(財)日本土壌協会 伊達昇	±	1988
6) 露地野菜の土壌病害に対する微生物関連資 材の施用効果 委託試験成績(1986-1988) (キュウリ・ハクサイ等)	全農 肥料農薬部	+	1989
7) アーゼロン・アーゼロンCの各種試験成績 集をよんで	(株)開発肥料販売 立谷寿雄	+	1989
8) 芝地の葉枯病防除に関するアーゼロンCの 施用効果について(芝)	西日本グリーン研究所	+	,
9) 放線菌の増殖基材SYC	(株)林化学工業		,

10) 有機物分解剤(NK-52)の実用化試験成績 概要 野菜関係(1981~1983)	農業生産工学研究会	+	1984
11) 平成3年度 新しく普及に移す農業技術	長野県野菜花卉試験場		1991
12) カルスNC-R展示試験の結果と考察	リサール酪産(株)	+	1990
13) スミリンユーキデルマとその関連商品の病 害抑制効果試験結果(キュウリ・トマト等)	住友林業(株) 京大農学部他	+	'
14) ミニトマトの青枯れ病防除に関する試験 微生物資材の効果(ミニトマト)	鶴岡農業改良普及所 (山形県)	+	1989
15) 微生物資材の施用効果に関する試験 メロンの壞疽斑点病対策(メロン)	鶴岡農業改良普及所 (山形県)	+	'
16) 土壌活性剤 VS_{14} および VS_{14x} の併用に よる抑制メロンのつる枯病防除試験 (メロン)	山形県酒田農業改良普及所	+	1981
17) 微生物資材の特性とフザリウム病抑制効果	神奈川県園芸試験場 藤原俊六郎	+	1990
18) VA菌根菌 土壌病害発病抑制について	野菜茶試久留米支場	+	1991
19) 土壌病害に対する微生物資材「バイオマザ ー1号」の抑制効果(キュウリ・メロン等)	窒素肥料研究所	+	1988
20) ナガイモの褐色腐敗病に対する微生物資材 「バイオマザー2号」の効果(ナガイモ)	十和田市農協 (青森県)	+	1987 1990
21) イチゴ萎黄病に対する施用効果(イチゴ)	静岡県農業試験場	+	1988
22) イチゴ連作障害に対するバイオマザーの効 果確認テスト(イチゴ)	長崎県総合農林試験場	+	1990
23) バイオマザーのサヤエンドウに対する効果 (サヤエンドウ)	鹿児島県農業試験場		1991
24) 白菜に対するH2-N(CDU分解菌入り 資材)の施用効果試験(ハクサイ)	長野県中信農業試験場		1989 1990
25) メロンの連作障害対策(メロン)	横須賀農業改良普及所	+	1994
26) 微生物資材のハウレンソウ萎ちょう病に対 する影響(ハウレンソウ)	岩手県農業試験場環境部	±	'
27) 数種の微生物資材の特性とトマト根腐れ萎 ちょう病抑止効果の検討(トマト)	神奈川県園芸試験場 藤原俊六郎・牛山欽司	+	1990
28) 有機物及び微生物資材によるトマト根腐れ 萎ちょう病抑止効果 微生物資材による農 家圃場試験(トマト)	神奈川県園芸試験場 藤原俊六郎・小川潤子 青島信男	+	'
29) 圃場段階での効率的な実用技術の開発 各種資材による半促成栽培トマト根腐萎ち ょう病抑止効果(トマト)	神奈川県園芸試験場 折原紀子・藤原俊六郎 佐々木昭二	+	1992
30) 圃場段階での効率的な実用化技術の開発 数種の微生物資材によるトマト根腐萎ち ょう病抑止効果(トマト)	神奈川県園芸試験場 藤原俊六郎・折原紀子 竹本稔	+	'
31) 土壌改良資材等の利用による病害虫の発生 抑制 ラージパッチに対する土壌改良資材 等の施用効果(コウライシバ)	千葉県農業試験場	+	1990 1991

32) 土壤改良資材等の利用による病害虫の発生抑制 サンドグリーンに対する土壤改良資材等の施用効果(ペントグラス)	千葉県農業試験場	+	1990 1991
33) 土壤改良資材等の利用による病害虫の発生抑制 コウライシバ接種したにラージパッチに対する土壤改良資材等の施用効果(コウライシバ)	千葉県農業試験場	-	1993
34) 微生物資材の特性調査 フザリウムに対する拮抗性	神奈川県園芸試験場 藤原俊六郎・小川潤子	+	1992
35) 有機物及び微生物資材によるトマト根腐萎ちょう病抑止効果 炭とVA菌による病害抑止効果(トマト)	神奈川県園芸試験場 藤原俊六郎・小川潤子 青島信男	±	1990
36) 圃場段階での効率的な実用化技術の開発 (1)各種拮抗微生物の促成栽培トマト根腐萎ちょう病抑止効果(トマト)	神奈川県園芸試験場 折原紀子・小川潤子 竹本稔・藤原俊六郎	±	1992
37) 圃場段階での効率的な実用化技術の開発 (2)キチン・キトサン・VA菌のトマト根腐萎ちょう病抑止効果(トマト)	神奈川県園芸試験場 折原紀子・小川潤子 竹本稔・藤原俊六郎	±	,
38) 土壤中における安定した定着技術の開発 (3)各種拮抗微生物の半促成栽培トマト根腐萎ちょう病抑止効果(トマト)	神奈川県園芸試験場 藤原俊六郎・折原紀子 佐々木昭二	±	,
39) 拮抗微生物を利用した土壤病害虫抑止技術の開発 (1)拮抗微生物によるトマト根腐萎ちょう病抑止効果(トマト)	神奈川県園芸試験場 藤原俊六郎・竹本稔 折原紀子	±	1993
40) 拮抗微生物を利用した土壤病害虫抑止技術の開発 (2)キチン・キトサンのトマト根腐萎ちょう病抑止効果(トマト)	神奈川県園芸試験場 藤原俊六郎・竹本稔 折原紀子	+	,
(有機物分解促進効果)			
1) 微生物利用土壤改良資材の効果判定技術の開発	農林水産技術会議事務所		1990 ~93
2) 有機物分解促進効果判定技術の開発	農林水産技術会議事務所		,
3) 土壤改良資材品質表示制度推進事業報告書 微生物利用土壤改良資材による有機物分解促進効果を判定するための簡易分析法の開発	(財)日本土壌協会		1994
4) 微生物資材に関する試験成績について	(財)日本土壌協会 伊達昇	±	1988
5) 畜ふん発酵処理装置(笠原式KL-1型)性能試験	埼玉県養鶏試験場	+	1975
6) 有機物分解剤(NK-52)の実用化試験成績概要 その1野菜関係(トマト・キュウリ)	農業生産工学研究会	+	1984

7) 有機物分解剤(NK-52)の実用化試験成績概要 その2水稲麦類関係(水稲・稲)	農業生産工学研究会	+	
8) カルスNC-Rの未熟有機物分解促進及び水稲に対する生育効果確認試験	長野県農業試験場 土壌肥料部	+	1989
9) 複合微生物サルバーSに対する各種有機物の混用効果試験	森町森林課	+	1992
10) 各種土壌土壌改良資材等の特性調査 稲わら分解微生物資材の効果確認	神奈川県園芸試験場 藤原俊六郎・牛山欽司	+	1989
11) 育苗床土及び各種有機質資材等の特性調査試験	神奈川県園芸試験場 藤原俊六郎・折原紀子	+	1990
(土壌環境改善効果)			
1) 微生物利用土壌改良資材の効果判定技術の開発	農林水産技術会議事務局		1990 ~93
2) 土壌環境改善効果判定技術の開発	農林水産技術会議事務局		
3) アーゼロン、アーゼロンCの各種試験成績集を読んで(キャベツ)	(株)開発肥料販売 立谷寿雄	+	
4) アーゼロンCの植物に対する害に関する栽培試験(コマツナ)	(財)日本肥糧検定協会	±	1986
5) 土壌改良資材等の利用による病害虫の発生抑制 ラージパッチに対する土壌改良資材等の施用効果(コウライシバ)	千葉県農業試験場	+	1990 1991
6) 土壌改良資材等の利用による病害虫の発生抑制 サンドグリーンに対する土壌改良資材等の施用効果(ベントグラス)	千葉県農業試験場	+	1990 1991
7) 土壌改良資材等の利用による病害虫の発生抑制 コウライシバ接種したにラージパッチに対する土壌改良資材等の施用効果(コウライシバ)	千葉県農業試験場	-	1993
(評価、検定)			
1) 微生物利用土壌改良資材(微生物資材)を進めるにあたって何が必要か。	農業研究センター 河本征臣		1995
2) 土壌改良資材(微生物資材)の現状と問題点	(財)日本土壌協会		1986
3) 微生物資材の評価について	(財)日本土壌協会		1987

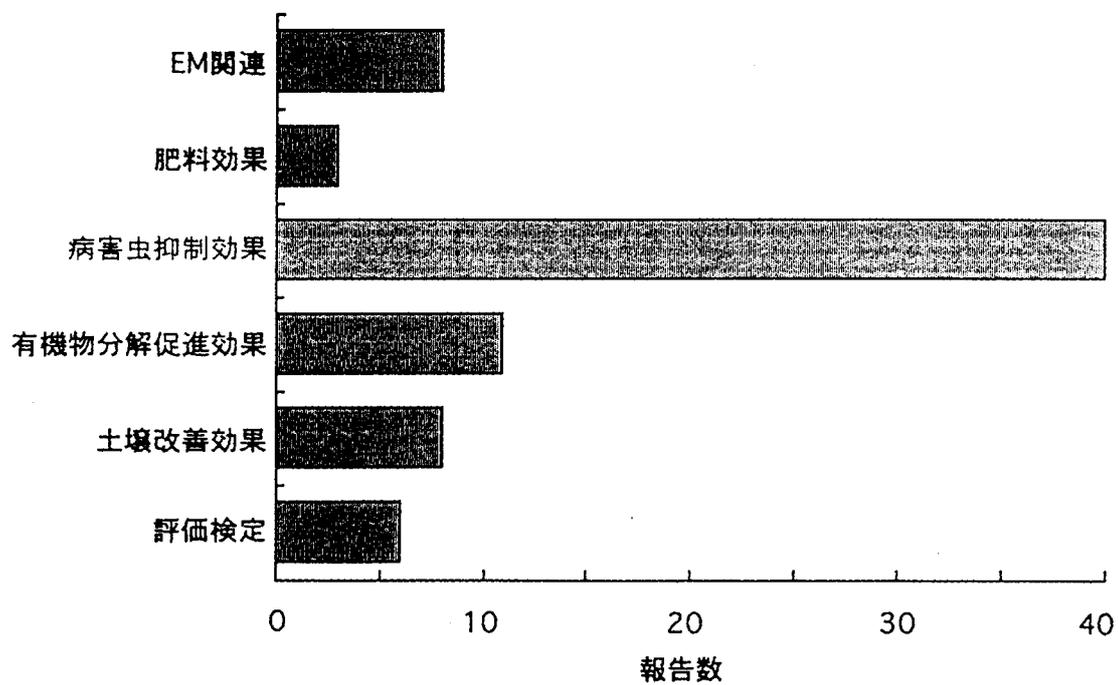
第2表. 近畿・中四国地区での微生物資材に関する試験の現状(1994~95)

微生物資材名	目的(対象作物)	効果判定
		++:効果あり, +:多少効果ありそう ±:効果なし, ?:判定不能あるいは不明
(滋賀県農業試験場)		
バイオグリーン	定植時の活着促進(トマト)	++
バイオソイル	土壌改良(ホウレンソウ)	?
ピカコー	アブラムシ防除(水耕イチゴ)	+
(海藻抽出物)	ウドンコ病防除(イチゴ)	+
バイネキトン	株の活性化(水耕イチゴ)	+
キトサン	健全株の育成(シクラメン)	?
	うどんこ病防除(イチゴ)	?
微粉炭	減農薬(土耕イチゴ)	±
島本微生物堆肥	土壌微生物相の改良(キュウリ、トマト)	?
PSB(光合成細菌)	登熟向上(水稲)	?
アグリキット	アブラムシ、うどんこ病防除(イチゴ)	+
木酢液	黒星病防除(ナシ)	+
アースロン	土壌物理性、微生物相改善	+
EM菌	各種病害の予防(軟弱野菜)	?
	特栽米の生産(水稲)	?
	土壌微生物相の改良(水稲)	?
ジャット	土壌微生物相の改良(トマト)	?
(京都府農業総合研究所)		
キレーゲン	軟腐病、疫病の防除(カラー)	±
(兵庫県立中央農業技術センター)		
VA菌根菌(<i>Gigaspora</i>)	養分吸収促進、生育促進(トマト)	++
VA菌根菌(<i>Glomus</i>)	養分吸収促進、生育促進(トマト)	+
デルマ有機	生育・収量増加、褐色腐敗病の抑制(ナス)	+
ポーマンP	生育・収量増加、褐色腐敗病の抑制(ナス)	±
(鳥取県農業試験場)		
木酢液	馬鹿苗病防除(イネ)	+
	胡麻葉枯病防除(イネ)	±
	粉枯細菌病(イネ)	+(±)
	いもち病防除(イネ)	+(±)
	紋枯病防除(イネ)	±
キトサン	馬鹿苗病防除(イネ)	+
	いもち病防除(イネ)	±

SKS菌	肥料代替、病害虫防除(イネ)	±
EM菌	雑草抑制、肥料代替(イネ)	±
(鳥取県園芸試験場)		
アグロミックSK5-5	葉腐病防除(シバ)	+
VA菌根菌	蔓割病防除(スイカ)	±
	生育促進(シロネギ)	?
IK-105	蔓割病防除(スイカ)	±
KH菌	錆病防除(ネギ)	?
	紋羽病防除(ナシ)	±
PMトリコ	紋羽病防除(ナシ)	±
木酢液	うどんこ病防除(キュウリ)	±
	紋羽病防除(ナシ)	±
キトサン	葉腐病防除、疑似葉腐病防除(シバ)	+
シンピオン	蔓割病防除(スイカ)	±
碧露	ワタアブラムシ防除(キュウリ、カボチャ)	±
花蓮花	ワタアブラムシ防除(キュウリ、カボチャ)	±
EM1号	生育促進(ダイコン、ニンジン)	±
バイオレント	糖度向上(スイカ)	+
ニューバイオレント	根張り促進、急性萎凋症軽減(スイカ)	±
SEIBU	収量増加(ダイコン)	++
(鳥根県農業試験場)		
救世EM1	収量増加・品質向上(ホウレンソウ、メロン)	±
アガリエ菌	収量増加・品質向上、連作障害の軽減	試験中
バイオキトサン	収量増加・品質向上、連作障害の軽減	試験中
(岡山県立農業試験場)		
カルスNCR	白紋羽病防除(施設ブドウ)	±
	土壌微生物相の改善(キャベツ、ハクサイ)	±
ネオヤング	白紋羽病防除(施設ブドウ)	±
ダルマ菌	幼苗期立枯対策(野菜全般)	+
	アブラムシ防除(サトモ、トマト、ナス、キュウリ)	+
	土壌微生物相の改善(キュウリ、メロン)	±
	堆肥発酵促進(作物全般)	+
EM菌	土壌病害対策(野菜全般)	±
	生育促進(野菜全般)	±
	土壌改良(ナス)	±
ライブユーキ	土壌微生物相の改善(イネ、キュウリ)	±
セラキンコン	健全苗の生産(リンドウ、ウド)	+
	健全苗の生産(イネ、モルセラ)	±
	球根肥大促進(オリエンタル系ユリ)	+

	生産物の品質向上(アスター、トコネウ、トマト、キュウリ、ウリ)	±
かっきん	土壌改良、根部生育促進(イチジク)	++
息吹	根部生育促進(キュウリ、ダイコン、エンドウ)	±
万田酵素	生育促進(イネ)	±
	品質向上、生育促進(ブドウ)	±
グリーンジューパー	生産物の品質向上(ニンジン)	++
バウムフード	土壌微生物相の改善(ナス)	±
	ボカシ肥作成(野菜全般)	+
リーワン	ボカシ肥作成(イチゴ)	+
豊土サングリーン	有機物腐熟促進(水稻)	±
Dr. キンコン	黒点根腐病の発病抑制(メロン)	±
VAM協和1号菌	黄化病の発病抑制(ハクサイ)	±
トリコデルマ生菌	黄化病の発病抑制(ハクサイ)	±
	立枯病の発病抑制(カボチャ)	±
(広島県立農業技術センター)		
放線菌含有	茎枯病防除(アスパラガス)	+
パーク堆肥	立枯病防除(アスパラガス、ホウレンソウ)	±
	土壌微生物相の改善(トマト、アスパラガス、ホウレンソウ)	±
	生育促進、収量増加、若葉数・土壌pH・ECの改善(アスパラガス)	±
	生育促進、収量増加、糖度、クエン酸の増加(トマト)	±
	育苗期の生育促進(ヒマワリ、ハボタン)	±
	挿し穂の発根促進	±
OKY-500	茎枯病防除(アスパラガス)	+
	立枯病防除(アスパラガス、ホウレンソウ)	±
	馬鹿苗病防除(イネ)	±
	土壌微生物相の改善(トマト、アスパラガス、ホウレンソウ)	±
	生育促進、収量増加、若葉数・土壌pH・ECの改善(アスパラガス)	±
	生育促進、収量増加、糖度、品質の向上(メロン)	+
	育苗期の生育促進(イネ、ナス、キュウリ、ヒマワリ、ハボタン)	±
	挿し穂の発根促進(シュウコンカスミソウ、ラベンダー、ワックスアザミ、 フィスカベンジャミアナ、ステビア等花壇用草花)	±
万田酵素	茎枯病防除(アスパラガス)	+
	立枯病防除(アスパラガス、ホウレンソウ)	±
	馬鹿苗病防除(イネ)	±
	土壌微生物相の改善(トマト、アスパラガス、ホウレンソウ)	±
	生育促進、収量増加、若葉数・土壌pH・ECの改善(アスパラガス)	±
	生育促進、収量増加、糖度、クエン酸の増加(トマト)	±
	生育促進、収量増加、糖度、品質の向上(メロン)	+
	育苗期の生育促進(イネ、ナス、キュウリ、ヒマワリ、ハボタン)	±

	挿し穂の発根促進(シュコンカスミソウ、ラベンダー、ワックスフラワー、 フイスカベンジャミアナ、ステビア等花壇用草花)	±
放線菌培養液	馬鹿苗病防除(イネ)	+
	育苗期の生育促進(キュウリ)	±
(愛媛県農業試験場)		
EM菌	収量増加、連作障害防止、品質向上等	試験中
神ボカシ	土壌病害抑制、連作障害防止、団粒化形成等	試験中
VA菌	生育促進、収量増加、連作障害の抑制等	試験中



第1図. 我が国における農業用微生物資材に関する報告書
(1995,12現在,一部重複も含む)

(資料1-表1.) ボカシの調製

ボカシの種類	材料	接種微生物
水ボカシ	米糠 4kg、油粕 1.5kg、魚粕 1.5kg 脱イオン水 1000ml	なし
土ボカシ	米糠 4kg、油粕 1.5kg、魚粕 1.5kg 糖蜜 10ml、脱イオン水 1000ml	生土壌*10g
EM-1ボカシ	〃 (土ボカシに同じ)	救世EM-1**10ml
資材Aボカシ	〃 (土ボカシに同じ)	微生物資材A***10ml
資材A濾液ボカシ	〃 (土ボカシに同じ)	資材Aの濾液 10ml
滅菌EM-1ボカシ	〃 (土ボカシに同じ)	オートクレーブで滅菌したEM-1 10ml

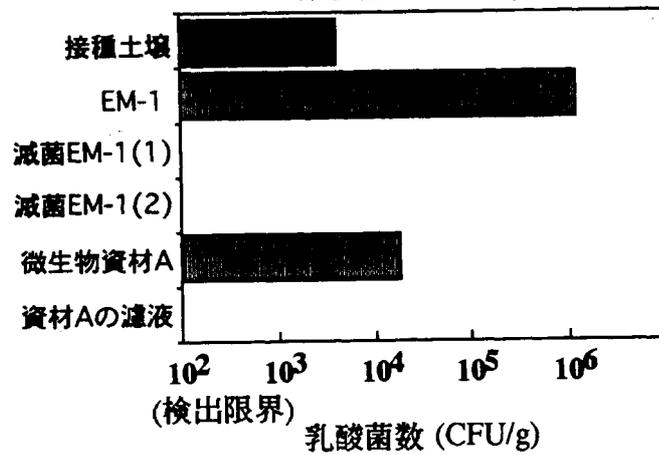
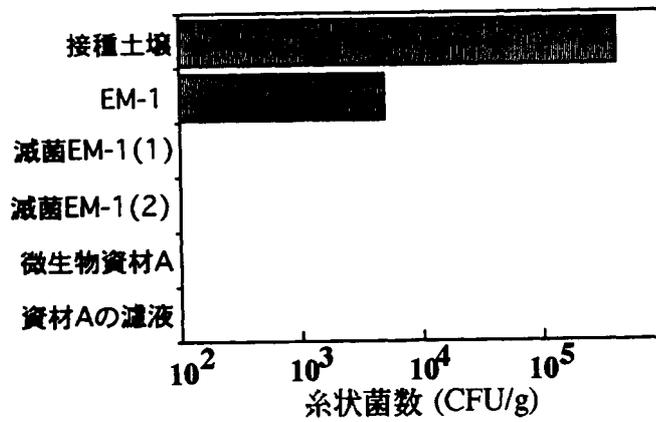
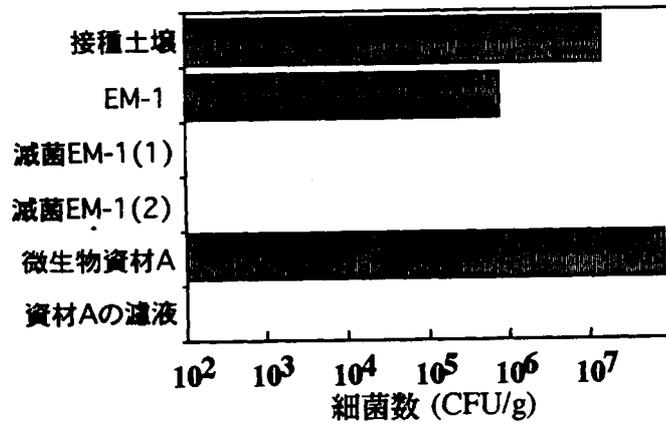
* 山口大学農学部附属農場畑土壌

** (財)自然農法国際研究センター(1995.5)

*** (有)スイジン(1995.5)

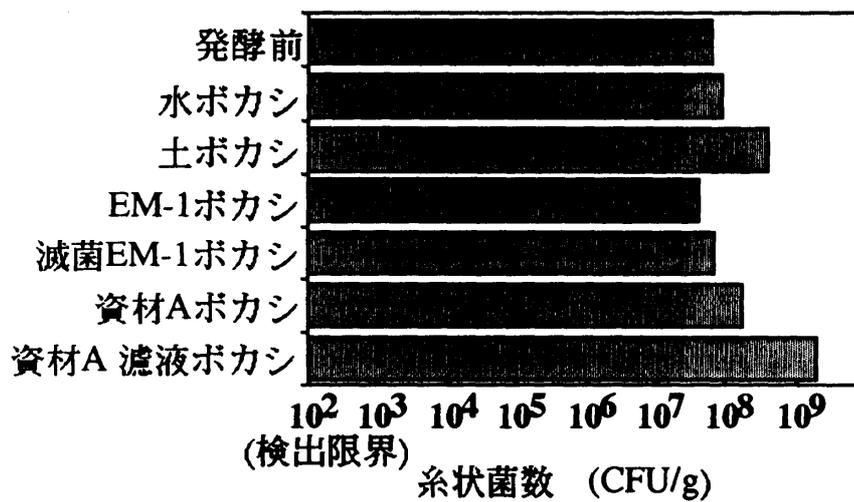
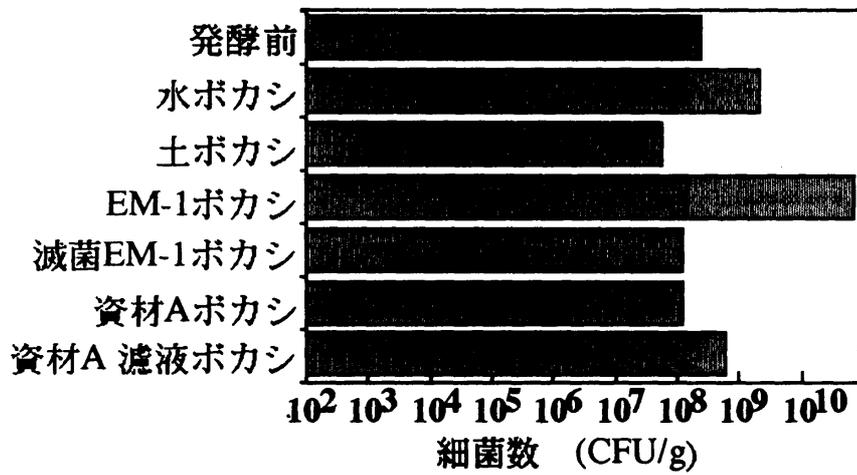
(資料1-表2) 選択培地の種類

種類	培地
細菌	YG培地
糸状菌	ローズベンガル寒天培地
放線菌	アスパラギン・グリセロール寒天培地 可溶性デンプン寒天培地 グルコース・デンプン・アスパラギン培地 素寒天培地
光合成細菌	SA培地 Na ₂ S培地
乳酸菌	アジ化ナトリウム・ブドウ糖培地 アセテート培地

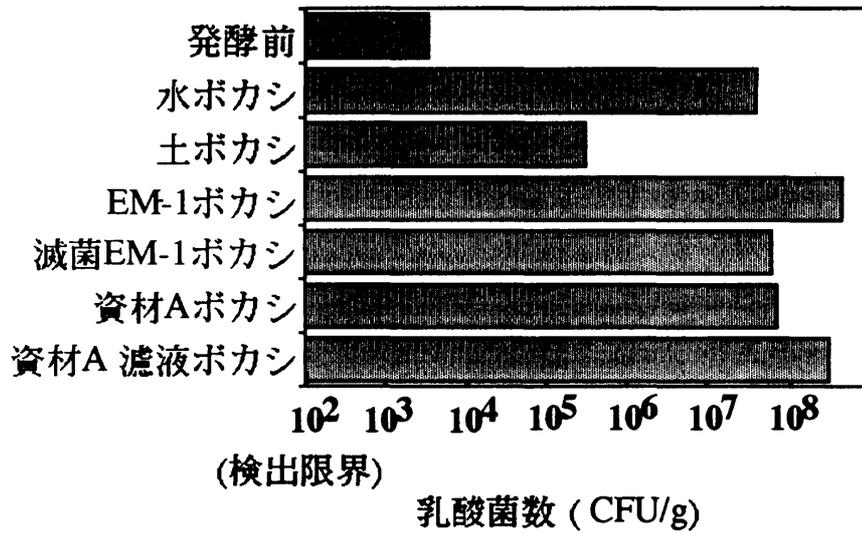
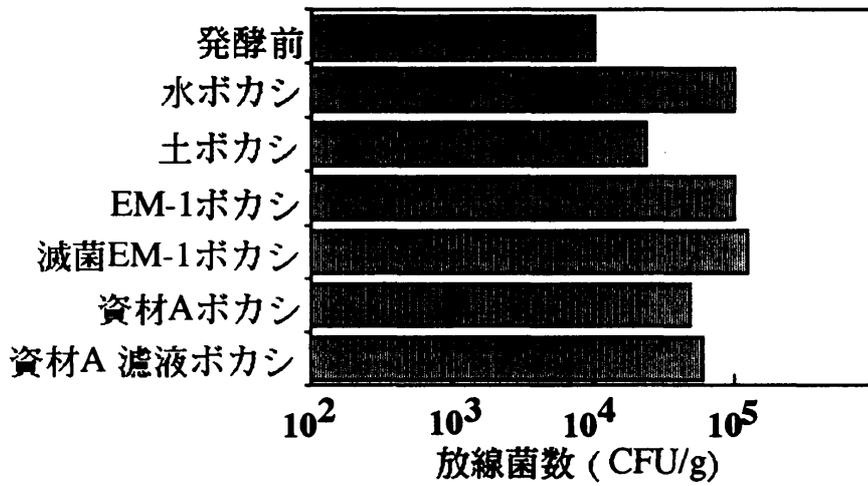


資料1-図1. EM液および接種土壌の細菌数、
糸状菌数、乳酸菌数 (AZD培地)

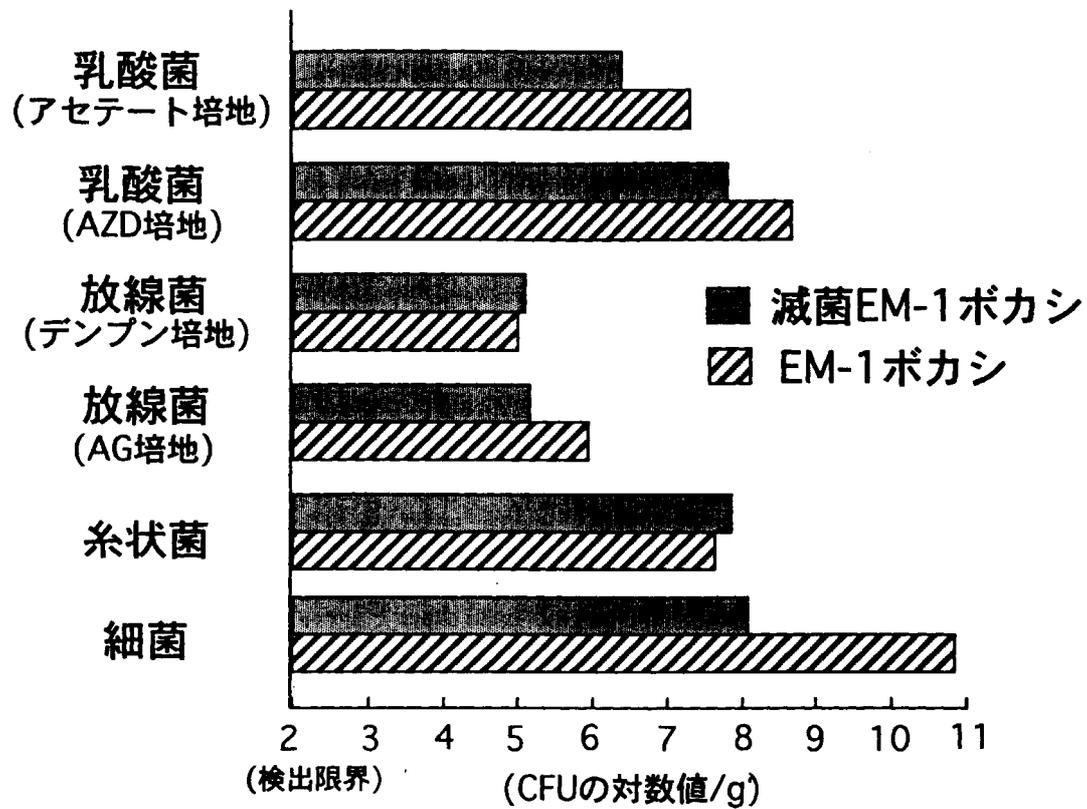
滅菌EM-1(1) EM-1をウォーターバスで60分煮沸滅菌したもの
滅菌EM-1(2) EM-1をオートクレーブで20分滅菌したもの



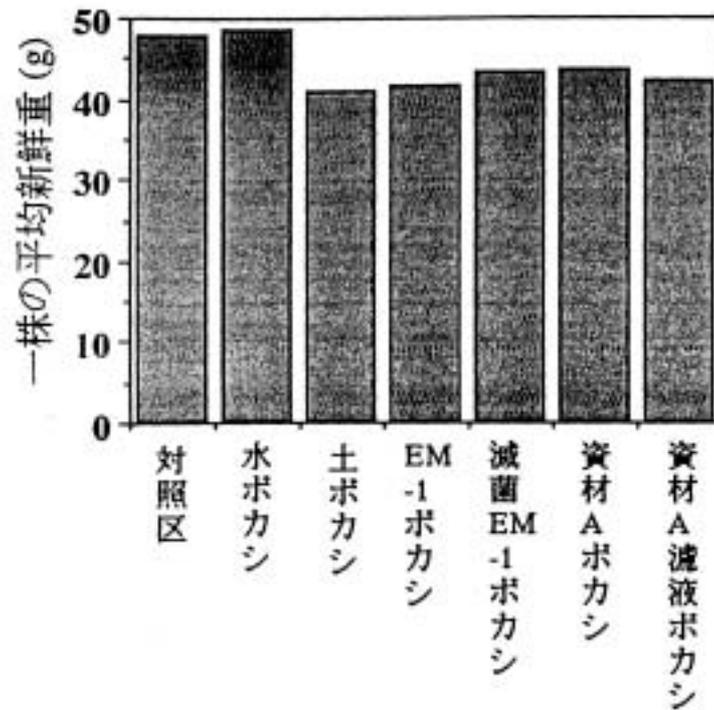
資料1-図2. ボカシの細菌数および糸状菌数



資料1-図3. ボカシの放線菌数 (デンプン培地)
および乳酸菌数 (AZD培地)



資料1-図4. EM-1および滅菌EM-1ボカシの微生物フロラの比較



資料1-図5. ホウレンソウの成育に及ぼす各種ボカシの影響

微生物資材検定法の現状と展望

金沢晋二郎(鹿児島大学農学部)

はじめに

微生物資材の使用目的は、有機物の分解促進、土壤病害虫の防除、土壤改良、土壤微生物相の改善、作物の生育促進などで、この中で最も多いのはとであり、大部分の資材は複数の効果を表示している。そのような表示とは裏腹に効果が認められないことが多く、その理由としては、もともと表示内容の効果が期待出来ない資材である、資材の保管方法や使用期限切れにより変質、施用方法が不適切、対象にした作物または障害が資材に適さない、微生物資材に化学農薬なみの速効性や大きな効果の期待、などが指摘¹⁾されている。しかしながら、土壤微生物学の見地から土壤に施用された微生物資材を考察すると、次のようになる。土壤中には微小な膨大な数の極めて多様な環境が存在し、それぞれその微環境に適応した微生物が生息している。例えば、1グラムの土壤に数万種類の微生物が生息し、その総数はゆうに1億を超える。従って、施用あるいは接種された微生物はこのような土壤環境で土着の微生物に抗して生き抜き、増殖することは極めて困難であることが容易に予想できる。土壤に施用された微生物資材が効能通りの効果が現れ難い本当の理由はここにある。

ここでは、微生物資材の使用目的として上記した有機物の分解促進、土壤病害虫の防除、土壤改良、土壤微生物相の改善、作物の生育促進、などの5項目を中心に、その検定法の現状とその展望について述べる。

・背景

驚異的な効能を唱いあげるミラクルな微生物資材が多数販売されている背景には、次に述べる土壤微生物学の現状を巧みに利用している。現在の土壤微生物の技術的レベルでは、土壤に施用あるいは接種した微生物種の検出や追跡は、極めて難しいと言わざるをえない。現在行われている方法としては、接種微生物種の特異的な性質、例えば農薬 BHC 分解能や重金属耐性能の利用による検出や追跡、あるいは遺伝子組換えにより抗生物質や重金属耐性能、蛍光発生能などを付与してそれを目印にしての検出や追跡、また遺伝子解析 DNA プローブおよび PCR 法²⁵⁻²⁹⁾による検出

など、極めて専門的な知識と技術が要求される。加えて、微生物の同定には、その道の専門家でも多くの時間と労力を必要とし、簡単にはできない微生物資材中、あるいは土壌や他の環境中の微生物資材由来の微生物の同定の難しさがある。

他方、微生物の持つ分解、変換、蓄積などの諸機能は古くから人類によって活用され、現在では伝統的な発酵工業はもとより、食品、医薬品及び化学工業などの分野で飛躍的な発展を遂げてきた。微生物の持つ多様な機能は、このような工業的利用のみならず、近年大きな問題として対策が求められている環境問題解決のための有力な手段として期待され、種々の研究がなされている。現在、遺伝子工学の発展により、さらに大きな効果が期待できることもこの期待に拍車をかけている。

微生物の優れた環境保全機能や潜在的情報の多くは、機能発現のメカニズムにおいて分子レベルでの解明がなされていないこと、現在の分離・培養技術では微生物機能の利用は10%にも満たないと推定されていること、などからも明かなように、その機能の多くが未開発のまま残されており、今後の飛躍的な発展が予想されている。即ち、この微生物に対する期待の延長上に、今日新聞や雑誌紙上に種々取り上げられ、一部社会問題化している微生物資材がある。

・微生物資材の効果と検定方法

微生物資材の主要な効果とそれに対応した現在用いられている検定法、および将来用いられるであろう検定法について、表1にまとめた。

1. 有機物の分解促進効果の検定法

微生物資材の多くはワラなどの土壌施用あるいは堆肥化に際し、分解・腐熟の促進を目的として使用されている。また、畜産の悪臭防止にも使用されている。

ここでは、分解促進効果の検定法(表1)として、従来行われていて最も有用な炭酸ガス発生量やワラ分解率、既に検討はされているが普及していない方法の微小熱量、有機酸やセルロース分解菌、および新しい方法としてセルロース分解活性(セルラーゼ)や微生物バイオマス量、プロテアーゼ活性、デヒドロゲナーゼ活性、および堆肥化過程を総合的に判定するあたらし堆肥化装置、などについて述べる。

1) 微生物代謝促進

(1) 炭酸ガス発生量

資材を土壌に添加し、一定温度の培養に伴う炭酸ガス発生量の増加で検定する。対照は、同量の殺菌資材とする。効果の判定は、次式のようにして行う。

$$\text{分解促進効果(\%)} = \frac{(\text{資材添加の CO}_2 \text{ 総量}) - (\text{殺菌資材の CO}_2)}{(\text{殺菌資材の CO}_2 \text{ 総量})} \times 100$$

CO₂ 発生量の測定には、図 1 に示のように密封系で CO₂ を吸収したカセイソーダを塩酸で逆滴定する方法と、圃場やポット実験などで多用されている流動法で土壌表面上の空気を吸引して CO₂ 発生量を赤外線ガス分析計で測定する方法とがある。特に前者は炭酸ガス専用の機械がいないため、広く使われている。

樋浦³⁾によれば、この方法は資材および資材にグルコース等の基質を添加して代謝活性や資材の性状を知るのによい方法であるとしている。

(2)微小熱量計

微生物の増殖に伴って発生する熱量を微小熱量計を用いて測定する方法で、発熱の変化を示す曲線(サーモグラム)の形状(図 2)を解析することにより微生物資材の有機物促進効果を判定するものである。金野⁸⁾によれば、熱発生速度と炭酸ガス発生速度との間に高い相関関係がある。そのため、熱測定法は今後多くの微生物資材の性状、土壌有機物およびワラなどの有機物分解能を短時間に知るのに有効な手法となるものと思われる。

(3)有機酸生成量

有機酸は有機物の嫌氣的分解過程の中間生成物で、微生物資材添加により土壌溶液中の酢酸濃度が増加すれば、有機物の分解が促進されているとみなすことができる。微生物資材の添加により有機酸の生成が促進³¹⁾されていることから、本法も有機物物の分解促進を確認する有効な手法である。

(4)セルロース分解菌数およびその分解活性

有機物の主成分はセルロースである。そのため有機物分解を促進するような資材ではセルロース分解菌数あるいはセルラーゼ活性が有効な指標となる。

(a)MPN(最確値)法

最もよく汎用されている方法で、図 3 に示したように液体培地に入れた濾紙の崩壊(分解)を指標にしてセルロース分解菌の存在を検出し、最確値法で菌数を求める方法である。この方法は平板法に比べて簡便ではあるが精度が低く、また菌数が得られるまで 4~7 週間と時間がかかる難点がある。

(b)CMC 平板法

CMC(カルボキシメチルセルロース)の分解能、即ちエンドセルラーゼ活性を寒天平板上で検出する方法である。CMCを白濁沈澱させる試薬セチルトリメチルアンモニウムブロマイドを寒天にかけ流し、CMCの分解により生じた透明帯(クリアゾーン)計数する。検出は7日と短く、精度が高い。

(c)セルラーゼ活性

酵素セルラーゼはエンドセルラーゼ、エキソセルラーゼおよび α -グルコシダーゼからなる複合酵素で、この三者の作用で高分子のセルロースがグルコースまで加水分解される。微生物資材を施用した土壌あるいは有機物資材中のセルロースの分解促進効果を、エキソセルラーゼおよび α -グルコシダーゼ活性を測定することで検定が可能である。エキソセルラーゼはp-ニトロフェノール-D-セロビオシド、 α -グルコシダーゼはp-ニトロフェノール-D-グルコシドの人工基質を用いることで、反応時間が1~2時間で終了する迅速・簡便な方法である。

(5)ATP(微生物バイオマス)量

微生物資材を添加した土壌あるいはワラなどの有機物資材中のアデノシン5'リン酸(ATP)を抽出し、ルシフェリン・ルシフェラーゼ反応による蛍光発光の強さで微生物バイオマス量を測定する。微量な発光を高感度に測定するATPフォトメーターを用いて、極めて迅速・簡便にバイオマスを定量できる。この方法により、有機物を基質にして増殖した微生物が測定される。

その他の簡便なバイオマスの測定法としては、クロロホルム燻蒸抽出法がある。この方法は、クロロホルム燻蒸により死滅したバイオマスに由来する菌体C、N、P、Sを燻蒸後直ちに適当な抽出液を用いて土壌から抽出し定量する。本測定法はATP法に比べて多少とも時間がかかるが、特別な装置を必要としないのでどこでも使える利点がある。

(6)デヒドロゲナーゼ

基質としてグルコース、電子受容体としてトリフェニルテトラゾリウムクロライド(TTC)、または2-(p-ヨードフェニル)-3-(p-ニトロフェニル)-5-フェニルテトラゾリウムクロライド(INT)が用いられる。反応によって生じたトリフェニルフォルマザンおよびヨードニトロフェニルフォルモザンなどの還元型色素を吸光度で測光して測定する。本法の反応時間は6時間程度なので迅速に測定できる。また特別な装置を必要としない簡便な方法³⁵⁾でもある。

2)ワラや家畜糞尿等の腐熟促進効果の判定

ワラ(稲ワラ、麦ワラ)や家畜糞は、農業における有機物資材として代表的なも

のである。その他の有機物資材としては、下水汚泥や都市ゴミ等がある。微生物資材の腐熟促進効果の判定のためには、資材をワラや家畜糞に添加して一定期間培養して、重量、炭素率、有機物組成、温度、炭酸ガス、アンモニア等の変化を指標とする。その他にも、微生物数、微生物バイオマス、およびデヒドロゲナーゼ、セルラーゼ、プロテアーゼ等の酵素活性の変化も良い指標になると思われる。堆肥化過程における種々の変化(5)は、図4および5に示す。これらの指標の中で、残存量と炭素率、および昇温については、既に検定法として使われて、特に温度が最も良好な指標となっている。

ここでは従来法としてワラ分解率、炭素率、昇温など、新しい方法として総合的に判定できる判定装置、酵素活性の中からプロテアーゼ活性などについて述べる。

(1)ワラ分解率

ワラの分解率は、表2に示すように既に日本土壤協会で行った事例がある。この方法は、無添加の対照区との差が小さく、かつ検定の期間が長い等の欠点がある。また、炭素率も分解の結果を反映しているとは思われず、指標とはなりにくい。

(2)昇温テスト

図6に示すような保温槽に微生物資材とワラや家畜糞を入れ、下方から通空して温度センサーにより温度の変化を記録する。数日で温度がピークに達し、検定が終了する。本法は簡便で短期間に結果が得られるため、極めて有効な判定法と判断される。

(3)判定装置の開発

図7に示すような小型発酵槽を試作して実際の分解・腐熟条件に近い系での微生物資材の効果を見る試みが、荒井⁴⁾によってなされている。その結果、4種類の市販微生物資材のうち牛糞堆肥よりも優れているものは見いだせず、その中の1つはほとんど効果はないと判定している。この発酵槽を改良して種々のセンサーを取り付けると、より多くのファクターで総合的に微生物資材を検定できる可能性を有する。

(4)プロテアーゼ活性

プロテアーゼはタンパク質のペプチド結合を加水分解する酵素である。プロテアーゼ活性は、基質のタンパク質から遊離するアミノ酸をニンヒドリン法で定量することによって測定³⁵⁾する。基質として、合成ペプチドの人工基質ベンジルオキシカルボニルフェニルアラニルロイシン(ZFL)を用いると反応時間は1~2時間程度で終了する迅速、かつ簡便に測定できる。

2. 微生物フロアの改善

微生物資材の土壌病害発病軽減効果は、資材自体の直接的な作用ではなく、土壌微生物フロアの改善に伴う土壌の病原菌や障害に対する抵抗力の向上の期待として捉えることができる。現在のところ病害虫の軽減効果を検定する方法は用意されていない。従って、病原菌に対して抵抗性をもつ微生物の能力を評価する方法^{6,23)}を記す。

1) 競合的腐生能力(ケンブリッジ法)

病原菌におかされていない土壌(自然土壌)に、病原菌を 100 : 0, 98 : 2, 90 : 10, 50 : 50, 10 : 90, 2 : 98, 0 : 100 の割合で加える。これに微生物資材を添加し、一定期間培養後、病原菌の生育割合を調べる。

2) 拮抗菌数および作用の測定

拮抗微生物は、土壌病原菌に対して殺菌や活性低下などの機能を有する微生物のことで、病害を軽減する効果がある。そのメカニズムは、寄生(糸状菌の巻き付きや侵入)、競合(生息部位や餌の奪い合い)、捕食(アメーバによる食菌)、抗生(抗菌性物質の生産)、溶菌(細胞壁分解酵素の分泌)、干渉などの拮抗作用が単独または複数関与する。拮抗微生物を生物的防除に利用しようとする場合、どこから、どのような方法で探索・分離し、どのように評価するのが先決問題となる。

(1) 拮抗作用(阻止円測定法)の測定

拮抗作用は、培地上で病原菌と微生物との対峙培養や噴霧接種によって容易に検出できる。この方法は培地上の一次スクリーニングではあるが、拮抗能の評価判定に使用できる事例が多い。図8に示すように、拮抗能の強さは、対象菌の生育ゾーン(y)に対する阻止円(x)の大きさ(m)の相対的關係によって6段階に評価できる。0 : 阻止しない、1 : $x < y$ 、2 : $2 < x < y$ 、3 : $2 < x > y$ 、4 : $y = 2x$; 阻止円が重なる、5 : $y = 0$; 生育は完全に阻止される、

(2) 三層寒天平板法

素寒天(第一層)の上に調べたい微生物資材あるいは土壌を添加した懸濁寒天を重層(第二層)し、25℃ 2日間培養して細菌や放線菌のコロニーの出現を待つ。コロニーが出現したら病原菌の懸濁寒天(第三層)をその上に流し込む。評価は病原菌の発育阻止帯の形成により行う。本法⁷⁾は *Fusarium roseum*、*Pythium ultimum*、*B. solani*、*V. albo-atrum* を対象に、拮抗性の放線菌の菌数を測定するために開発

されたものであるが、その後種々の病原菌を対象として、拮抗微生物の菌数の測定に応用されている。

(3) 通気蒸気部分滅菌法

土壌の拮抗作用推定法の一つで、加熱蒸気に空気を送り込み、その割合によって一定温度を得て、土壌を部分殺菌する²³⁾。例えば、病原性糸状菌の菌糸は60 30分で死滅、藻菌類はもっと低温で死滅する。Bacillus sp.は80 10分でも生存、Streptomyces spp.は60 10分で死滅、Pseudomonas spp.は50 10分で死滅する。

(4) 抗生物質生産による拮抗微生物の検出

土壌病害の生物抑止に拮抗微生物による抗生作用の関与を検定するために、抗生物質フェナジン^{9、10)}、ピロールニトリン¹¹⁻¹²⁾、ピオールテオリン¹¹⁻¹²⁾、グリオビリン¹³⁾、などが用いられている。この方法も極めて有効である。

3) 静菌作用の判定

寒天フィルム覆ったスライドガラスに病原菌の胞子を付着させ、それを土壌の中に埋設して発育状況を観察する。即ち、病原菌の発育に対する微生物の抑止能力を検定する。また、病原菌をセロファンやメンブランフィルターなどに付着させて包み込み、土壌に触れないように土中に埋設する間接法もある。

4) 病原菌密度の計数

病原菌抑制効果を見るために栽培試験を行って、土壌や根面(連続洗浄法により菌を分離)あるいは根内(粉碎処理)の病原菌密度を計数する。土壌からの検出には選択培地を使用することが多い。

5) 発病指数

病害虫の検診によく用いられる方法で、栽培試験の発病程度を5段階に区分し、次式から発病度(%)を表す。

$$\text{発病度}(\%) = \frac{(1 \cdot n_1 + 2 \cdot n_2 + 3n_3 + 4n_4 + 5n_5)}{N} \times 100$$

$n_1、n_2、\dots、n_5$ ：それぞれの症状を示した個体数。N：全個体数

3. 有用微生物の安定性

微生物資材として使用されている微生物種は、図9に示めすように極めて多種類にのぼる。現在のところ、微生物資材自体およびそれが土壌や堆肥製造のために添加された後の微生物の検定は、全細菌、放線菌および糸状菌などの計数が大部分で、まれにセルロース分解菌や硝化菌が調べられている程度で、最も弱い部分となっている。微生物資材と唱えている以上、そこに存在する微生物種の検定は極めて重要である。土壌中のこれらの菌を種レベルで同定するには、分離から始まり、形態観察、生理試験、および遺伝子解析による塩基配列の決定、など専門的知識が強く要求される。しかしながら、属レベルでの検定は、種々の選択培地が開発されていて、そう難しくはない。

そこで、ここでは微生物の属レベルを中心に新しく提案する検定法として、嫌気性細菌、光合成細菌、窒素固定活性、脱窒菌、脱窒活性、VA菌根菌、乳酸菌、などの測定法の概要について述べる。

1) 好気性微生物の検定

好気性細菌は土壌をはじめ、あらゆる環境に生息し、数と種類が著しく多く、活性も高い重要な微生物である。これらの菌数は、土壌あるいは微生物資材を分散懸濁(分散には土壌構造を破壊し植物遺体を細粉する超高速ホモジナイザーが最も有効²¹⁾)させた希釈液を調整し、図10のように調整し、それをそれぞれの目的に応じた寒天培地に接種して、所定の温度と日数培養して、生成したコロニー数を計数する。ここでは、簡便な希釈平板法による細菌、放線菌および糸状菌数の測定法²⁸⁾について述べる。

(1) 好気性細菌・放線菌の検定

土壌細菌を非選択的に培養できるアルブミン寒天培地が常用されている²⁸⁾。殺菌した10枚のシャーレに2段階の希釈液(細菌、放線菌では五次、六次の希釈液)1mlを入れ、そこに約10mlの約50に保温した培地を加え混和する。培地が固化した後、28の定温器で7~14日間培養し、生育したコロニーを計数して乾土g当りに換算して表示する。また、菌を分離する場合はシャーレにあらかじめ培地を固化させ、その上に接種する塗抹平板法を用いる。

(2) 糸状菌の検定

糸状菌数の測定には、普通細菌と放線菌の生育を抑制するためにストレプトマイシンを添加したローズベンガル寒天培地(Martin培地)を用いる。図10のように調

整した希釈液(畑土壌では三次および四次希釈液、水田土壌では二次および三次希釈液)を用いる。操作は細菌の計数法に準じ、3~5日間培養し、生育したコロニーを計数する。

2)嫌気性細菌の検定

嫌気性細菌は、酸素に対する感受性の違いに基づいて、(1)空気中で死滅するもの、(2)空気中で生育しないもの、(3)空気中でも僅かに生育するもの、と三つのグループに大別されるが、いずれも酸素の存在がその生育を阻害する。その検定方法には、嫌気ジャーおよびロールチューブ法がある。ここでは簡便な嫌気ジャー法について記す。

(1)嫌気ジャー法

図 11 に示すように、資材あるいは土壌をそれぞれ希釈段階に応じた懸濁液をシャーレに入れ、そこに寒天培地を流し込み混合する。それを嫌気ジャーに入れて、ジャーの中の酸素を除去する触媒と気相へ CO_2 と H_2 を放出させるガス発生試薬とを働かせ、30℃で15~30日間の培養後、計数する。

3)硝酸菌および亜硝酸菌の検定

微生物資材のなかには、硝化促進効果を表示しているのが多い。硝酸化成はアンモニウムから亜硝酸(亜硝酸菌：ニトモロソモナス属)を経て硝酸(硝酸細菌：ニトロバクター属)になる反応で、これには2つのグループの無機栄養細菌が関与する。従って、資材中のこれらの細菌群の存在を確認する方法が判定法となる。硝化菌計数培地は、アンモニウム塩あるいは亜硝酸塩を添加した2種類からなるが、検定は、後半の亜硝酸から硝酸への反応に関与する細菌群をみるだけでよい。判定は亜硝酸イオンの消失をもって行い、計数は最確値法から計算する。

4)脱窒菌および脱窒活性の検定

脱窒とは、 NO_3^- 、 NO_2^- 、 N_2O などの窒素化合物が N_2O 、 N_2 等のガス態の窒素に脱窒菌によって還元される過程のことで、生物圏から大気圏へ放出される窒素の主要な経路である。ここに、簡便な脱窒菌数と脱窒活性の測定法について述べる
14-15)

(1)脱窒菌(Giltay¹⁴⁾培地を用いた計数法)

脱窒菌を測定するにあたり、倒立させた Durham 管に(一方を封じた小型ガラス管)を入れた試験管に Giltay の培地を加えて殺菌する。Durham 管に気泡が入っていない

いことを確認して接種し、30℃で7日間培養する。プロムチモールブルーが濃青色に変色(NO₃-の消失によりアルカリ性に)し、かつ気泡がDurham管に溜った試験管を数え、最確値法により脱窒菌を計数する。

(2)脱窒活性(アセチレン阻害法)

この方法はアセチレン(C₂H₂)がNO₃-からN₂に至る脱窒の最終の還元段階のであるN₂Oのみを阻害する性質を利用したもので、脱窒をN₂Oの生成量として測定する。N₂Oの生成量は熱伝導度(TCD)またはエレクトロンキャプチャー(ECD)検出器で測定する¹⁶⁾。三角フラスコに湿潤土にNO₃-溶液を加えHe, Ar, N₂ガスに置換した後C₂H₂を注入する。保温静置後生成するN₂Oを測定する。

5)窒素固定菌および固定活性の検定

窒素固定菌は、菌体内のニトロゲナーゼにより、1分子のN₂を2分子のNH₃に還元する。窒素固定菌は好気性から嫌気性のもまで存在し、プロテオバクテリア、シアノバクテリア、グラム陰性細菌および古細菌の5グループに大別され、現在までに約100属が報告されている。ここでは窒素固定細菌および活性の簡便あるいは迅速な検定法につき述べる。

(1)窒素固定菌(最確値法-MPN法)

試験管に単生窒素固定細菌用の液体培地を入れて殺菌した後、微生物資材もしくは土壌の懸濁希釈液を接種し、気相の15%(v/v)をアセチレンで置換し培養する。(3)の項に述べたアセチレン還元法により窒素固定活性の有無を判定した後、最確値法により菌数を求める。

(2)光合成細菌

光合成細菌(紅色、緑色イオウ細菌など)は光エネルギーを利用して炭酸同化作用を行い、窒素固定能も有する。普通、水田・河・湖・海底土等の湛水土壌に生息する。嫌気ジャーに光合成用培地に微生物資材あるいは土壌の希釈液を接種した寒天の入ったシャーレを入れ、脱気した後無菌濾過したN₂またはArガスの交換をする。残存O₂をピロガロール(g当りで100mlのO₂を吸収する能力をもつ)で完全に取り除き、嫌気条件状態にして光照射培養を行い、増殖した紅色及び緑色を呈するコロニーを計数する。

(3)根粒菌(植物感染-MPN法)

根粒菌は豆科植物を宿主とし、その根粒を形成して共生する細菌の総称である。根粒菌は有機栄養、好気性、グラム陰性の短桿菌でRhizobium属, Bradyrhizobium属およびAzorhizobium属、などが知られている。ポット等で目的とする植物を栽培し

て、形成された根粒を採取する。根粒菌用の完全な選択培地はないので、間接法の植物感染-MPN(最確値)法で計数する²⁴⁾。計数に際して、種子をエタノール及びH₂O₂で表面殺菌を行い、寒天上で発芽させる。それを無窒素水耕液を入れた滅菌シードバックに移植する。土壌あるいは微生物資材からの懸濁希釈液[3・-1]の項、図10)をシードバックに接種し、光条件下で培養した後、根粒の有無を観察する。それらの行程は、図12に示した。その結果から最確値法で土壌あるいは資材g当りの根粒菌数を求める。

その他、純粋培養した根粒菌あるいは高濃度抗生物質耐性変異株は、通常の希釈平板法またはドロッププレート法で計数する。

(4)窒素固定活性(アセチレン還元法)

微生物の窒素固定活性の測定には、アセチレン還元法が広く用いられている。本法は窒素ガスをアンモニアに還元する窒素固定酵素ニトロゲナーゼ活性の測定による間接法である。本酵素がアセチレン(C₂H₂)を定量的にエチレン(C₂H₄)に還元するが、窒素ガスの還元を阻害することによる。アセチレン及びエチレンともに水素炎イオン化検出器(FID)付のガスクロマトグラフィーにより迅速、簡便に測定できる¹⁵⁾。

6)VA菌根菌の検定³²⁾

VA菌根菌(Vesicular-Arbuscular Mycorrhiza)は宿主植物根内にもう状体(vesicle)、樹枝状体(arbuscule)という特殊な器官を形成する。菌根菌(Mycorrhiza)は土壌中に菌糸を伸ばして無機栄養分を吸収し、それを宿主である植物に供給する。このような共生関係によって植物の生育が良好になるため、農業上注目を集めている。

(1)VA菌根菌の観察および感染率の測定

根を洗い出すことにより、根から土壌中に伸びている菌糸に胞子の形成が、根をNaOH溶液で加熱して透明化することで観察できる¹⁷⁾。感染率の測定は、感染している根の長さの全根長に対する比率を感染率として求める。方眼の目盛の付きシャーレに染色根を広げて、実体顕微鏡によりシャーレ底の直線と根の交差を観察し、感染の有無を計数する。

$$\text{感染率(\%)} = [(\text{感染の認められた交差数}) / (\text{全交差数})] \times 100$$

(2)VA菌根菌胞子の計数

VA菌根菌は直径50~500μmの大型の胞子を土壌あるいは感染している根内に形成する。胞子の比重は水とほぼ同じか、やや重たいので土壌中より胞子を含む画分を洗別し、実体顕微鏡下で胞子を集める¹⁸⁾か、あるいは蔗糖液¹⁹⁾に分散させ遠沈

し上澄液に胞子を集め、それを洗浄して実体顕微鏡で計数する。VA菌根菌の胞子は、図13に示す。

7) 乳酸菌の検定

乳酸菌は狭義には、酪農製品製造などに用いられ、グラム陽性で糖を資化して最終代謝産物の50%以上の乳酸を生成する細菌をさす。Lactobacillus plantarum, Lactobacillus lactis, Streptococcus lactis、などが知られている。生化学的性状が極端に特殊分化しているため、特有な自然環境に限って見られる。例えば、サイロ発酵させた牧草、牛乳、および動物の体の正常フローラの一部を形成する鼻咽頭・腸管・幅にかなりの数が存在する。図10のように調整した土壌及び微生物資材の希釈液をCaCO₃粉末を添加した平板寒天培地(LCM培地)に接種する²²⁾。乳酸生成によりコロニー周囲に透明帯が生じた菌を計数する。競合微生物は、乳酸が蓄積し、強酸性を呈するためほぼ完全に排除される。

・微生物の追跡法

微生物の検出法としては、選択培地法や免疫学的手法²⁵⁾、遺伝子組替えにより重金属や抗生物質耐性能、および蛍光発生能を付与しそれを目印にして追跡、などがある。しかしながら、これらの方法は高感度検出および培養不能な微生物の検出にかならずしも有効ではない。分子生物学の進歩により、現在土壌に放出された微生物(組換え体微生物)の検出にDNAプローブ法が利用されている。何故ならば、DNAプローブを用いてRFLP(識別したい2個体間で異なるDNA断片のこと)解析を行えば、同じ遺伝子や配列をもつ菌株間の識別ができるからである。PCR(Polymerase Chain Reaction)法を併用することで、土壌1g当り1~10個レベルの微生物を検出できる。PCR法とは耐熱性DNAポリメラーゼを用い、特定配列のDNAを試験管内で対数的に増幅できるため、検出感度を飛躍的に増加させることが可能である。以前は、土壌DNA中の不純物によるPCR阻害のため、PCR法による目的DNA断片の増幅量が少なく、アガロースゲル電気泳動で確認するのが難しかったが、今日では改良されて短時間で精度よく検出できるようになっている²⁶⁻²⁸⁾。例えば、PCRの感度は、間接抽出法ではハイブリダイゼーションで1個/g土壌およびアガロースゲル上で10個/g、直接抽出法ではアガロースゲル上で70個/g土壌などの菌数で検出できるほど、精度が高まっている²⁹⁾。

上述したように、PCR高感度検出技術の開発により土壌グラム当り約1個まで目的DNAをもつ細菌の追跡が可能となりつつある。土壌やその他の環境に放出さ

れた微生物の追跡が近い将来、簡便で迅速な技術が開発されるものと思われる。従って、微生物資材の検定が極めて簡単に出来る日も近いと考察できる。

・まとめ

微生物資材の検定法について種々述べたが、簡便でかつ迅速に使える方法をまとめると次のようになる。

1) 有機物の分解促進に関しては、微生物の代謝促進：CO₂発生量、デヒドロゲナーゼ、セルラーゼ、プロテアーゼ、ATP量、バイオマス炭素、堆肥の腐熟促進：昇温テスト、ATP量、などがある。

2) 微生物フロラの改善に関しては、競合的腐生能力テスト、阻止円測定、三層寒天平板法などがある。

3) 有用微生物の安定性に関しては、一般微生物：希釈平板法による細菌・放線菌・糸状菌、嫌気ジャー法による嫌気性細菌、窒素代謝に関与する微生物：硝酸菌、脱窒菌、光合成細菌、窒素固定活性、脱窒活性、根粒菌(植物感染-MPN法)、VA菌根：孢子、感染率、その他：乳酸菌、などがある。

4) 微生物の追跡法に関しては、添加微生物に抗生物質耐性能、あるいは蛍光発生能の付与がある。

・おわりに

野菜産地や畑作地帯では、産地化により輪作体系がくずれ土壤病害菌による連作障害が顕在化して久しいが、農薬、土壤消毒その他諸々の最先端技術を駆使しているにもかかわらず、一向の鎮静化する様子はない。そのため、ミラクルな作用を有すると信じられている微生物資材を多用する場面が多くなっている。しかしながら、それを検定する有効な技術が欠如したまま今日に至っているため、農業の現場に混乱をきたし、一部社会問題化している。この混乱の責任の一端は、我々土壤微生物学者にもある。何故なら、学术研究のみに始終し、現在我々の持っている技術でも十分に微生物資材の検定が出来るにもかかわらず、真剣に対処してこなかったことにある。

ここでは、上記の反省に立ち、微生物サイドに立脚した微生物資材の検定法について、現在行われている検定法、現在の技術で充分可能な検定法、将来可能となる検定法、について述べた。残念ながら紙面の都合上、微生物資材による植物

の生育促進、品質の向上、健康増進、などの植物側の応答に関する評価の検定については述べる事が出来なかった。植物の応答に対する検定には、ポットもしくは圃場試験が必要で、しかも統計検定のため複数の試験^{33・34}が求められる。農業の現場では、このデータが最も必要なものであろう。今後、大学、農林水産省、都道府県のおよび民間などの各研究機関で、微生物資材に対する研究が活発に開始され、そのあらゆる角度からその実体が解明される日も近いと思われる。

なお、最後に微生物資材に具備しなければならない条件を表3にまとめた。

参考文献

- 1) 日本土壌協会(1984)昭和58年度土壌改良資材等品質管理事業報告書
- 2) 堀 兼明(1986)農業技術体系、7巻、 p. 67-74
- 3) 樋浦康一郎(1986)農業技術体系、7巻、 p. 83-91.
- 4) 荒井重光(1992)微生物利用土壌改良資材の効果判定技術の開発、農林水産技術会議事務局 p. 21~24.
- 5) 金沢晋二郎(1986)水質汚濁研究、9. p. 260-267
- 6) 沢田泰男(1985)土壌・水質・農業資材の保全、p. 155-169、博友社
- 7) Herr. L. J. (1959) : *Phytopathology* , 49. 270-273 .
- 8) 金野隆光、1984. 土肥学会編、土壌のバイオマス、p. 45-64、博友社、
- 9) Thomashow, L. S. and Weller, D. M. (1988) *J. Bacteriol* 170, 3499-3508 .
- 10) Weller, D. M and Cook, R. J. (1983) *Phytopathology* , 73. 463-469 .
- 11) Howell. C. R. and Stipanovic, R. D. (1979) *Phytopathology* . 69, 480-482 .
- 12) Howell. C. R. and Stipanovic, R. D. (1980) *Phytopathology* . 70, 712-715 .
- 13) Howell, C. R. and Stipanovic, R. D. (1983) *Can. J. Microbioal.* , 29, 321-324 .
- 14) Alexander, M. (1965) *Denitrifying Bacteria*. In *Methods of soil analysis*, part 2. Ed. Black, C. A. et al., p. 1484-1486. American Society of Agronomy Inc Wisconsin.
- 15) 吉田富男(1975)土壌微生物研究会編、土壌微生物実験法、P. 302-308. 養賢堂
- 16) 西尾隆(1992)土壌微生物研究会編、土壌微生物実験法、p. 215-222, 養賢堂
- 17) Phillips, J. M. and Hayman. D. S. (1970) *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 55. 158-161.
- 18) Schenek, N. C. (Ed.)(1982) *Methods and Principles of Mycorrhizal Research*.

- American Phytopathological Society, p. 244. St. Paul.
- 19)西尾道徳(1987)土と微生物、30, 55-58. 土壤微生物研究会編
 - 20)加藤邦彦(1992)土壤微生物実験法、15-54. 養賢堂
 - 21)Kanazawa . S . , Takesbima . S . and Ohta . K . (1986)Soil Sci . Plant Nutr . , 32 .
81-89 .
 - 22)門多真理子(1989)新生化学実験講座、p . 382-385 , 日本生化学会編
 - 23)本間善久(1992)土壤微生物実験法、p . 191-198 , 養賢堂
 - 24)浅沼修一(1992)土壤微生物実験法、p . 270-273 , 養賢堂
 - 25)Pickup , R . W . (1995)Population genetics of bacteria , Ed . S . Baumberg et al
p . 295-315 . Cambridge University Press . London .
 - 26)長谷部、対馬誠也、河本征臣(1991)第7回日本生態学会講演要旨集、p . 109
 - 27)Tsushima , S . , Hasebe , A . , Romoto . Y . , Carter . J . P . , Miyashita , K . and
Pickup , R . W . (1995)Soil Biol . Biochem . , 27 , 219-227 .
 - 28)Picard , C . , Ponsonnet , C . , Paget . E . , Nesme , . and Simonet , P . (1992)
Appl . Environ . Microbial . , 58 , 2717-2722 .
 - 29)対馬誠也(1995)土と微生物、No . 46 , p . 33-40
 - 30)妹尾啓史・西山雅也(1995)土と微生物、No . 45 , p . 41-50 . 土壤微生物研究会編
 - 31)新松智子・樋口太重(1992)微生物利用土壤改良材の効果判定技術の開発、
p . 6-16 . 農林水産技術会議事務局、
 - 32)斉藤雅典(1992)土壤微生物実験法、p . 297-310 . 養賢堂
 - 33)茅野充男(1996)下水汚泥分析方法、p . 149-151 , 下水汚泥資源利用協議会
 - 34)吉葉雅昭(1990)植物栄養実験法、p . 1-20、博友社
 - 35)早野恒一(1992)土壤微生物実験法、p . 366-376、養賢堂

表 1 微生物資材の検定法

【効果】	【検定法】	
	従来法	新しい方法
有機物分解促進		
1) 微生物代謝促進:	CO ₂ 発生量、酸素吸収量、 化学的活性	ATP含量、デヒドロゲナーゼ” バイオマス炭素・窒素・リン
2) わら腐熟促進:	わら分解率、昇温テスト、 有機物組成量、炭素率	中性糖組成、アミノ酸組成 酵素活性、微生物相の変化
3) セルロース分解促進:	セルロース分解菌、	セルラーゼ活性、
4) 硝酸生成促進:	亜硝酸菌、硝酸菌	
5) 脱窒促進		脱窒菌、脱窒活性
6) 窒素固定促進		窒素固定菌、窒素固定活性
7) 蛋白質分解促進:		プロテアーゼ活性、デアミナーゼ活性
8) 磷酸化合物分解促進:		リン溶解菌、フォスファターゼ活性、
微生物フロアの改善と安定生		
1) 微生物の改善 (病原菌の生物的防除)		競合的腐生能力、拮抗作用 拮抗菌数、静菌作用、病原菌数、 発病指数、病原菌密度
2) 微生物の安定性	好気性細菌、放線菌 糸状菌、	嫌気性細菌、VA菌根菌、乳酸菌 根粒菌、有用菌の分離、生理活性
3) 微生物の追跡法		PCR法、重金属耐性能、蛍光発生能

表 2 わら腐熟試験成績
(日本土壌協会, 1984)

資材	稲わら (20g, 炭素率43.9)			麦稈 (20g, 炭素率120.0)		
	残存重	D(%)	炭素率	残存重	D(%)	炭素率
対照	19.8±0.72	—	14.0±0.32	19.9±0.21	—	13.7±1.12
1	18.9±0.10	4.5	15.4±0.32	19.8±0.20	0.5	11.5±1.04
2	18.8±0.31	5.6	14.8±0.15	19.5±0.29	2.0	11.5±0.67
3	18.2±1.23	8.0	14.0±2.76	19.6±0.59	1.5	12.3±1.70
4	18.1±0.87	8.6	20.3±1.14	19.1±0.50	4.0	9.8±0.11
5	18.9±0.35	4.5	16.0±0.26	18.8±0.55	5.5	10.3±2.04
6	17.5±0.62	11.6	14.1±1.84	19.6±0.36	1.5	13.7±4.88
7	18.3±0.17	7.6	12.9±1.07	18.8±0.95	5.5	11.8±1.97
8	18.3±0.15	7.6	13.7±1.08	19.1±0.81	4.0	11.4±0.75
9	18.0±0.65	9.1	12.5±1.16	19.4±1.39	2.5	9.9±1.28
10	18.6±0.33	6.1	13.7±1.44	19.5±0.44	2.0	10.7±0.72

注 D=分解率

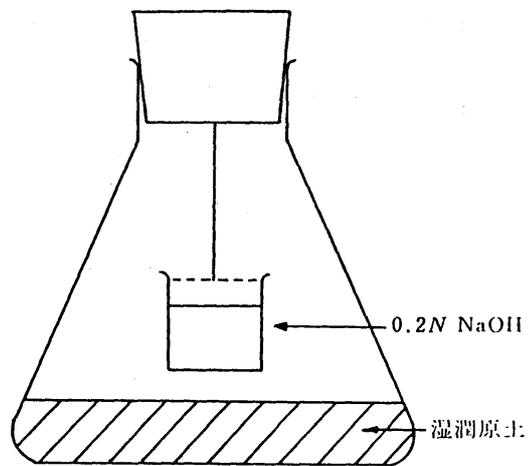


図1 密閉箱法による炭酸ガス測定装置

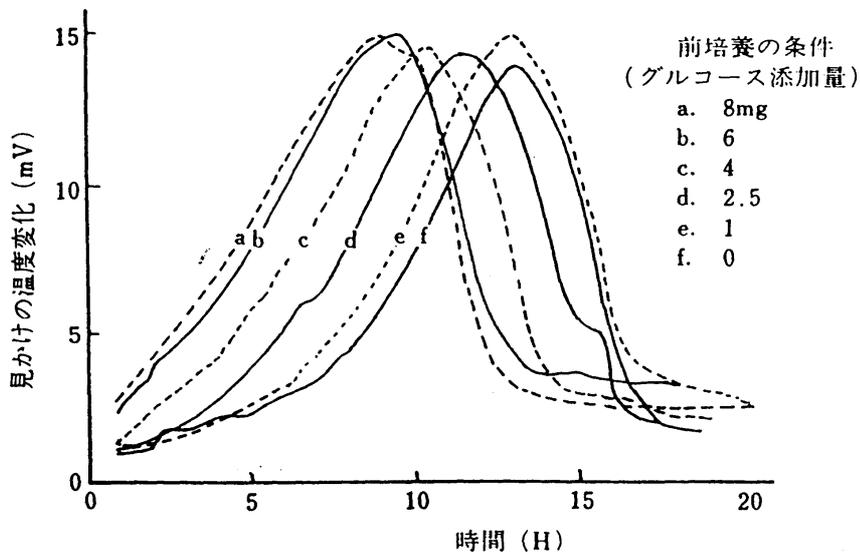


図2 微小熱量計における増殖サーモグラム (金野 1976)

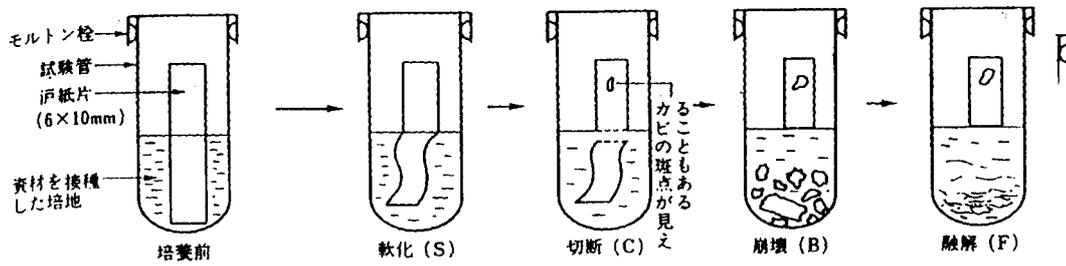


図3 セルロース分解菌によるろ紙片の崩壊 (樋浦 1986)

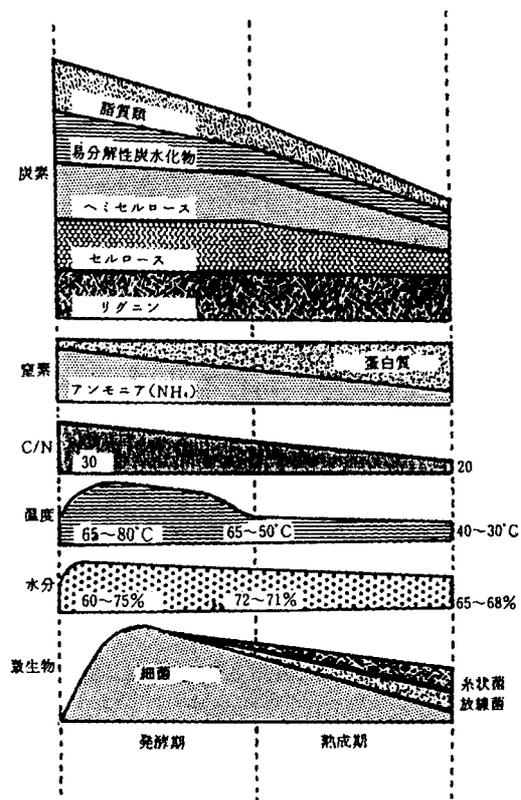


図4 堆肥化過程における有機組成および微生物相の変化の模式図(金沢原図)

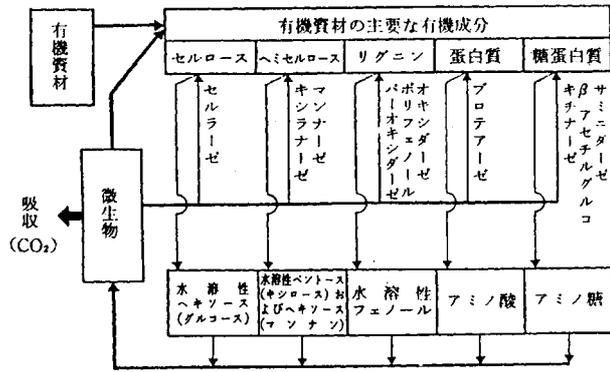
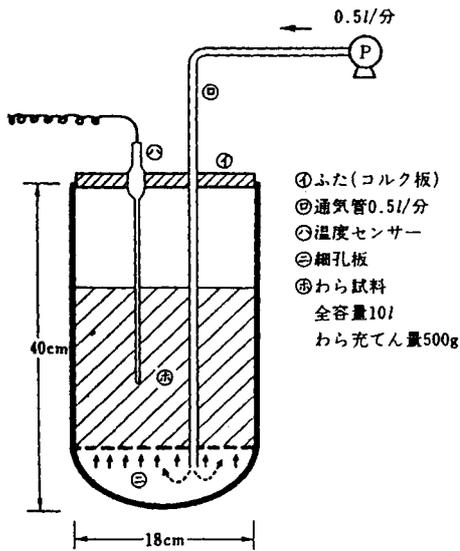


図5 堆肥原料資材の有機成分の分解に関する酵素の役割 (金沢原図)



6 昇温テスト用保温ジャー (樋浦 1986)

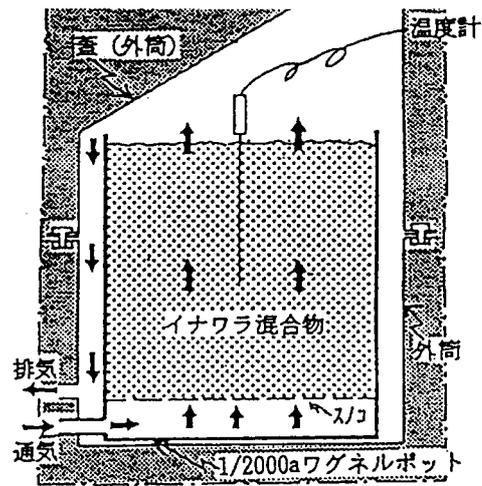


図7 小型発酵槽 (荒井 1992)

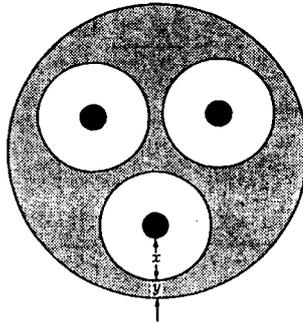


図 8 病原菌に対する拮抗微生物の拮抗能の測定法

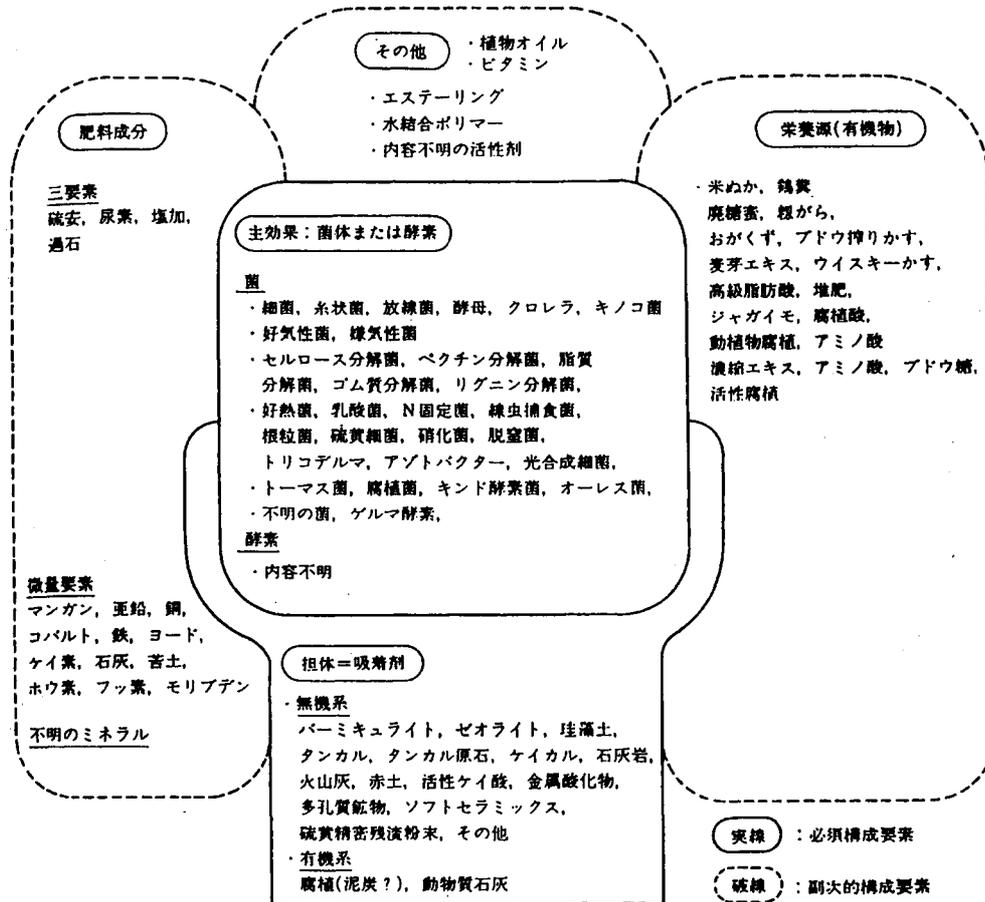


図 9 微生物資材の原料構成 (堀 1986)

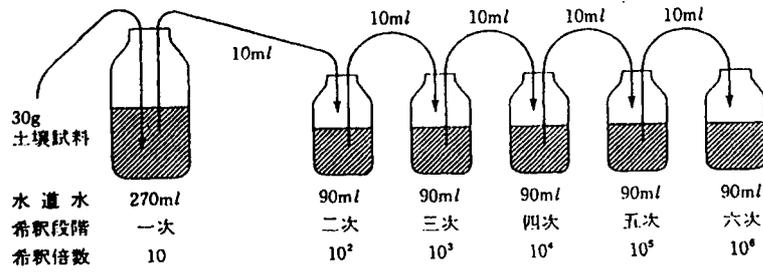


図10 希釈液の作り方 (加藤 1992)

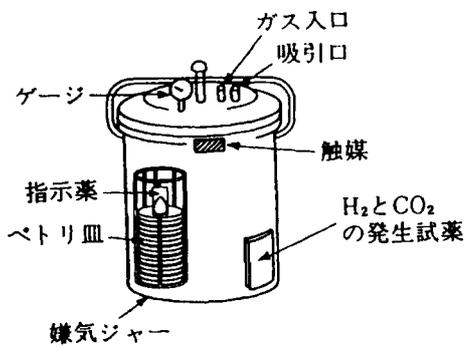


図11 嫌氣的培養法 (加藤 1992)

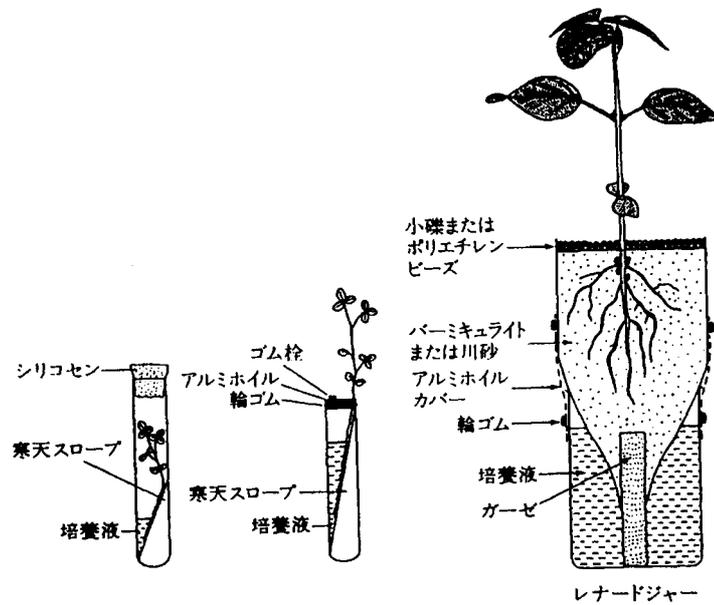


図12 根粒菌の接種試験に用いられる種々の培養方法 (浅沼 1992)

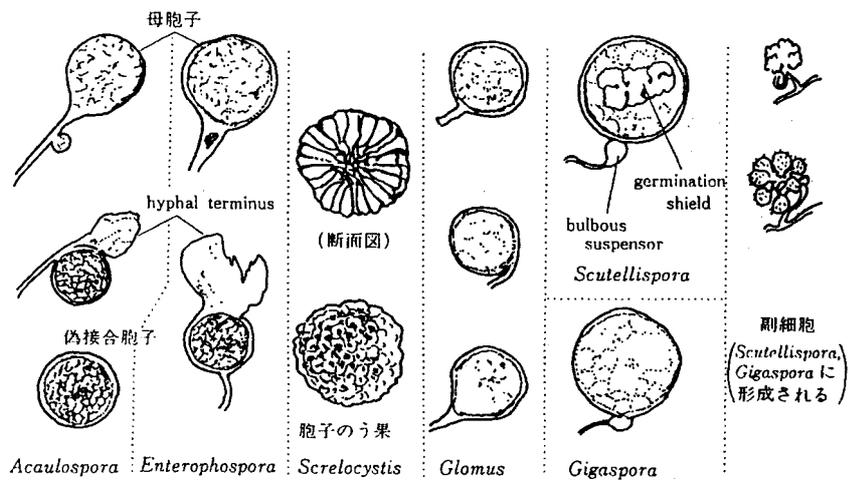


図 13 VA 菌根菌各属の形態的特徴 (齊藤 1992)

表 3 微生物資材の品質の保証

- 1) 有効菌量と資材中に含まれる菌量 (最小保証菌量)
- 2) 導入微生物の分離源、種類や生活環の表示
- 3) 保存条件 (温度、湿度条件など) の表示
- 4) 効果の有効期限の表示
- 5) 代表的な施用方法 (適応土壌の種類、施用時の温度条件、施用部位、時期など) の記載
- 6) 対象作物の表示性
- 7) 担体の種類と特
- 8) 人畜に対する安全性
- 9) アフターケア
- 10) 土壌環境中での挙動
- 11) 緊急時の封じ込め法
- 12) 検出とモニタリング手法

微生物資材評価に関する提言

(学会委員会のまとめ)

吉田富男(東京農業大学)

来る 21 世紀へ向けての著しい地球人口増加予測によって、さらなる食糧生産が必要になってきた。しかしながら、今後の食糧生産は、過去の化石エネルギー利用型農業生産によってもたされた環境破壊の反省に基づいて、環境保護を重視した持続的農業生産を目標としている。我々人類は近い将来のうちに、地球上のかぎられた土地面積に現在の 2 倍量の農業生産をあげなければならない。環境破壊をもたらさずにこの目標を達成するには、生物資源利用型農業技術の発展は必須の条件となろう。土壌中の微生物は元来、地球生態系における生物元素の循環の要(かなめ)の役割を果たしてきたが、今後さらに人類の手によってより積極的な土壌微生物の活用を図らなければならない。そして微生物資材がその役割の一端を担うことが期待されるようになってきた。

1.自然界の有用微生物とその活用

人類で初めて微生物を発見したのは、17 世紀、オランダのレーベンフックであった。その後の日ざましい微生物学の発展によって農、医、理、工学の分野で数多くの種類の微生物が分離、利用されてきた。土壌微生物の分野では 19 世紀から 20 世紀にかけて、特定の生理作用もつバクテリアが数多く発見された。戦後、ワックス

マンはストレプトマイシン生成放線菌の発見により、1952年、ノーベル賞を授賞したが、医学分野での貢献であった。最近の土壌微生物学研究の進歩によって、土壌圏と呼ばれる地球表層の薄い層には、グラム当り数千種類、数億個の微生物がいて、絶えず有機・無機物の代謝、炭素や窒素などの生物元素の循環、植物への養分供給、環境汚染物質の浄化作用などにより、地球生態系の調和を保つため役だっていることが明らかにされてきた。

土壌中のもつ機能で、植物の生育、土壌改良、環境浄化などのうち最も古くから研究されているのは、植物と共生体を作り、空中窒素固定する根粒菌、植物のリン吸収を促進する菌根菌がある。両者はいずれも古くから微生物資材として実用化されている。最近注目されている有用微生物の例として、共生より緩い宿主 - 微生物関係(共同)にある有用根圏微生物である。植物生育促進性根圏細菌(PGPR)、共同窒素固定菌、リン溶解菌、病害虫抑止菌などがあげられる。植物と関係のない単生有用微生物には、空中窒素固定菌、硝酸化成菌、団粒形成促進微生物、残留農薬分解菌などがあげられるが、複雑な土壌中で単独で定着・増殖しなくてはならないという難点がある。

土壌中の微生物利用と最も関係の深いのは有機物資材であろう。従来、有機物の土壌施用による地力の向上、それに伴う植物の生育促進については広く認識されているところである。その要因として、土壌の物理・化学性に加えて土壌の微生物相の改善があげられている。有機物資材の添加が土壌微生物相に与える効果としては、既存(土着)微生物の活性、有用土壌微生物相の増加が証明されている。その例として、有機物資材の土壌添加による土壌バイオマス量、空中窒素固定能、菌根菌孢子数の増加についての報告がある。硝酸化成菌のような無機栄養性細菌においても、有機物資材の添加がこの菌の基質としてのアンモニアの供給量を増加するために、菌数や活

性が増加することも明らかにされている。

土壤中に分布している、多種多様の有用土壌微生物を探索、分離、同定し、あるいはさらに改良を加えて、微生物資材の原料微生物として利用することは今後とも重要な課題となることは必須である。しかしながら、通常、人工的に培養、増殖した微生物菌体を自然土壌に定着させることはきわめて難しく、その原因として土壌の物理、化学ないしは生物的性質によるが、とくに土着微生物相との競合が主たる原因と考えられる。微生物資材の含有微生物が宿主植物と共生や共同関係であろうと単生系であろうと、自然土壌中に定着させる技術の開発は再重要課題となる。それに加えて、接種有用微生物の土壌中での追跡手法の確立が行われなければ、良質の微生物資材の開発は望めないだろう。

2. 市販微生物資材の定義について

地力増進法によれば、土壌改良資材の定義は「植物の栽培に資するため、土壌の変化をもたらすことを目的として土地に施されるもの」である。しかし、微生物資材の原料は、生きた特定の微生物とその微生物の活性化をもたらす添加物とからなり、微生物資材の主な効果(用途)を示す有用微生物が効果発現のための基準量含まれていなければならない。微生物資材はその効果の判定方法が確立されていないことから、土壌改良資材としての政令指定からはずされているため、製品の表示義務のないままに市販されている現状である。そのため、市販微生物資材には、含有微生物や添加物、具体的効果についての明確な情報が得られないものがある。

日本土壌肥料学会微生物資材専門委員会では、微生物資材とは土壌などに施された場合に、表示された特定含有微生物の活性により

用途に記載された効果をもたらす、最終的に植物栽培に資する効果を示す資材」と定義する。つまり、微生物資材は通常、 生きた有用微生物と、場合によっては、 接種菌を吸着した担体、 接種菌活性化のための有機栄養基質、 その他の補助剤で構成されているが、効果をもたらす主たる成分は資材原料に表示された微生物であり、他の添加剤とともに資材の表示基準を設定することが急務である。そして、微生物資材の検定・評価基準を決めるにあたっては、原料中の微生物の機能による効果発現を示す点に特に留意すべきである。

3. 微生物資材の表示

3- . 品質基準(含有微生物)

微生物資材として最も重要なことは、主たる効果を発現すべき含有菌株の戸籍とその利用する機能の明示である。

微生物名：原料中の菌株の由来と属種名の記載

例」 Nitrosomonas europaea

註」一般微生物名(細菌、放線菌、糸状菌など)や特定微生物名(硝化菌、脱窒、窒素固定菌など)は原則的に微生物名として取り扱わない。最低限属名と効果に関連する作用の記載。

菌数と有効期限：上記微生物の原料中の菌数とその有効期限

註」菌数測定方法と最少保証菌数の記載をする。

3-2 . 微生物以外の含有物

接種菌の土壌中での保護、定着化、増殖を目的とした有機・無機物質からなる添加剤。

添加剤の種類：担体(キャリアー、有機・無機栄養源、その他の微生物以外の材料の名称)

添加剤の量と成分：担体、微生物栄養源などの含有量と成分表

3-3 . 用途(目的とする効果)

有用土壌微生物の種類は多種多様であるが、一般的にある種類の微生物のもつ利用可能な機能は限られている。微生物資材の用途は主たるものに絞って具体的に記載し、表示された含有微生物のもつ機能に起因するものでなくてはならない。要するに、含有微生物のもっている機能が目的とする資材の効果(用途)と結びつかなければならぬ。資材の用途の分類例として、以下に示すようなものがある。

資材の用途(効果)	含有微生物の機能
有機物分解促進 土壌改良 植物栄養分的効果	堆肥化促進、土壌中での分解能 土壌団粒形成促進、土壌 pH 矯正 窒素固定、有機態窒素の無機化 硝化活性、バイオマス N、P 蓄積 リンの収集・運搬、リンの可溶化
植物の生育促進	植物ホルモン、ビタミンなどの生成
土壌病虫害防除	土壌病原菌・線虫の抑止作用

註) 微生物相の改善や連作障害の防除などの記載は、具体性に欠け、特定の微生物の機能との関連性をつけがたい。

3-4 . 効果を確認した試験結果

主たる用途に関する県または国、大学などの公的研究機関の試験結果が望ましい。

3-5 . その他の必要事項

4. 微生物資材の検定と評価

4-1. 表示記載事項

以下の点に関して科学的な記載が行われること。

含有微生物：微生物種(同定試験の結果)、機能と効果および
その測定方法、含有微生物菌数及びその測定方法

微生物以外の含有物：添加剤の種類と量

主たる用途：目的とする効果が確認できる条件・場面

その他の必要事項：製造方法の概略や使用方法に関する事項、
使用方法の記載、保存・取扱に関する注意事項、
製造年月日と効果の有効期間など

4-2. 資材原料の検定

微生物資材の商品としての品質基準について原料の一般理化学性、
原料中の微生物属種名、効果発現に関する微生物活性の有無など
について製造業者が資料をそろえて提出し、公的機関の評価を受ける。

含有微生物の検定：種類、菌数、機能(活性)

微生物以外の含有物：有機・無機添加物の種類、組成の判定

資材の一般理化学性：pH、水分、T-C、T-N、T-P
など

4-3 . 微生物資材の効果の検定

製造業者が提示した資材の用途に関連した微生物作用と、その効果の確認試験を人工培地もしくはポット栽培試験で行う。ただし、含有微生物のいない資材もしくは資材を滅菌処理した原料を対照とすることが必須の条件となる。資材の効果と判定方法の例を以下に示す。

資材効果	効果確認のための測定方法
堆肥化促進	有機物含量、リグニン含量、腐熟度
団粒形成	土壤団粒分析
窒素固定	アセチレン還元能 N-15 分析
硝化促進	硝化活性、硝化菌数
リンの収集・運搬	菌根菌の感染率、植物体リン分析
土壤病害虫の軽減	拮抗・競合・寄生・交叉性、発病指数
植物ホルモン形成	植物生育、収量調査
根の健全性	総根長、根重、根毛の観察

4-4 . 微生物資材の評価試験(圃場試験)

微生物資材の最終的な評価は、圃場試験に委ねられることになる。信頼のおける微生物資材の、野外圃場試験における効果確認のためには、以下の点について充分留意すべきであろう。

有微生物のいない、もしくは殺菌処理した資材を必ず対照区として設ける。

圃場試験は必ず乱塊法による統計処理を行い、三連制以上で行う。

二ヶ所以上の試験地において、異なる土壌条件下で行う。一種類の土壌の場合には、三か年くらいの期間継続して行う。

公的機関に圃場試験結果を提示し、評価を受ける。

5 . 微生物資材に関する今後の基礎的研究課題

有用微生物の探索と機能の強化

- スクリーニング方法の開発やバイオテクノロジーの応用 -

接種菌の土壌環境への適応力の強化

- 各種土壌の物理・化学・生物的特性への適応機構の解明 -

効果的な有用微生物接種技術の開発

- 植物根内、根圏、団粒における定着化技術の確立 -

接種菌の機能(効果)判定方法の確立

- 資材原料微生物の土壌中における分布、活性測定法の研究 -