

バチルス菌優占連作障害抑止型土壌改良材の試作と実農地への適用

群馬高専 正会員 ○青井 透
群馬高専 正会員 宮里 直樹

1.はじめに 枯草菌(*Bacillus subtilis*:その名のとおりに稲ワラなどに付着する、以下バチルス菌と称す)は、代表的な土壌細菌の一つであるが、環境悪化時に胞子を作って生き延びる特性があり、最近では連作障害を生じさせる病原菌に対する拮抗菌として用いる生物防除法としても注目されている。また一方では、下水やし尿などの生物処理にバチルス菌が優占すると、臭気発生が抑えられ余剰汚泥発生率が低下する等の利点が認められ、シリカ(Si)やマグネシウム(Mg)などの鉱物粉末を添加して、意図的にバチルス菌を優占化させる運転方法(新活性汚泥法と云われる)が普及しつつある。

東京工業大学資源化学研究所の正田誠教授は、土壌中の枯草菌の菌数を1g当たり 10^7 個以上に高めれば、多くの植物病菌を抑止出来るとしている¹⁾。バチルス菌の代表は納豆菌でもある*Bacillus subtilis*であり、カビに対する抗菌効果が知られており、また*Bacillus thuringiensis*は、

蛾や蝶の幼虫に対して殺虫効果があるとされ、微生物農薬であるBt殺虫剤として市販されている。これらのバチルス菌微生物農薬が市販されている具体的な例では、出光石油や明治製菓の製品などがあるが、1kg10万円程度と高価なのが難点である。

群馬県は、高原キャベツ・コン

ニャク・ヤマト芋などの商品作物栽培が盛んであるが、連作障害防止のために徹底した土壌消毒を行っており、土壌生態系は破壊され、残留農薬の自然水域への流出や農作業者の健康被害も懸念されている。そこで本研究室では、新活性汚泥法で運転されているし尿処理施設乾燥汚泥、PACを凝集剤として用いている浄水汚泥およびキノコ産業廃菌床(広葉樹オガクズにフスマ・ヌカを配合した廃培地)の三種類の廃棄物を混合醗酵させ、バチルス菌が優占化した良質の土壌改良材を試作し²⁾、実際のヤマト芋畑(根瘤線虫病に罹患しやすい)に施用して、連作障害抑止効果について検討し良好な結果を得たので、以下に概要を報告する。

2.市販堆肥及び土壌のバチルス菌分布調査

ホームセンター等で入手できる培養土や堆肥類を幅広く購入し、バチルス菌数のカウント(平板寒天培地)を実施した結果を表1に示した。堆肥の殆どは高温醗酵された畜糞堆肥であるが、バチルスが優占化したものは見当たらず菌数も 10^6 個/g程度が多く、バチルスが優占化していたのは1.の培養土のみであった。また群馬県内畑地や原料に用いた各汚泥等のバチルス菌数を表2に示したが、バチルス菌原料の2.3は優占化しており、キャベツ畑やコンニャク畑で殆ど検出されなかったのは土壌消毒の結果と思われる。高専内ため池浚渫泥(好気化後)は、腐植質とシルトが主成分であるが、好気化して間もないにも係らずバチルス菌濃度は比較的高かったことは、腐植とシルトが生育に適していることを示唆している。

3.実験方法

バチルス優占化した西吾妻衛生センターし尿乾燥汚泥、浄水汚泥、廃菌床の配合を変化させ、生ゴミ処理機を用いて中温で醗酵させ、適宜試料を採取してバチルス菌の測定を行った²⁾。また実際の堆肥工場でも、配合を変化させ容量 $1m^3$ の孔開き鋼板製醗酵槽を用いて醗酵温度が $50^\circ C$ 以上にならないように切返し

表1 市販されている各培養土・堆肥類中バチルス菌数計測結果

No.	区分	試料	バチルス菌数	特記事項	備考	単価
1	培養土	プランター培養土	2.5×10^7		ホームセンター	28
2		種まき培土	1.2×10^5		種苗メーカー製	29
3		花と野菜培養土	8.5×10^5		ホームセンター	29
4		良質粉砕黒土	$< 10^5$		ホームセンター	22
5		プランターの土	$< 10^5$		ホームセンター	40
6	堆肥類	野菜倶楽部	1.4×10^7		ホームセンター	52
7		ファームグリーン堆肥	1.2×10^5		ホームセンター	78
8		牛ふん堆肥	3×10^5		ホームセンター	35
9		良質牛ふん堆肥	2×10^6		直売	30
10		有機質肥料堆肥	$< 10^5$		ホームセンター	40
11		し尿処理コンポスト	1.2×10^5		ウッドチップを循環担体にキルン型醗酵	10

注記:単価は購入価格を2リットル=1kgと換算して計算したもので円/kg、バチルス測定は群馬高専で乾燥1g当り

表2 群馬県内農地・対象原料等中バチルス菌数計測結果

No.	試料名	バチルス数	備考
1	上水汚泥	5.0×10^5	県央第一浄水場
2	西吾妻乾燥汚泥	1.0×10^7	乾燥ケーキ
3	西吾妻生汚泥	1.0×10^8	脱水汚泥
4	コンニャク畑	5.0×10^5	子持村
5	キャベツ畑1	$< 10^4$	北軽井沢
6	キャベツ畑2	$< 10^4$	嬬恋村姥ヶ原1
7	キャベツ畑3	$< 10^4$	嬬恋村姥ヶ原2
8	キャベツ畑4	$< 10^4$	嬬恋村田代
9	黒土1	7.0×10^7	ホームセンター
10	黒土2	3.0×10^6	ホームセンター
11	ため池底泥浚渫物1	1.5×10^6	高専内BOX泥
12	ため池底泥浚渫物2	2.5×10^6	高専内水路泥

注記:バチルス数は乾燥1g当り、測定は群馬高専衛生工学研究室

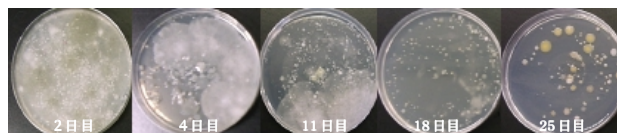


写真1 実際の製造設備における経過日数とバチルス優占化の一例

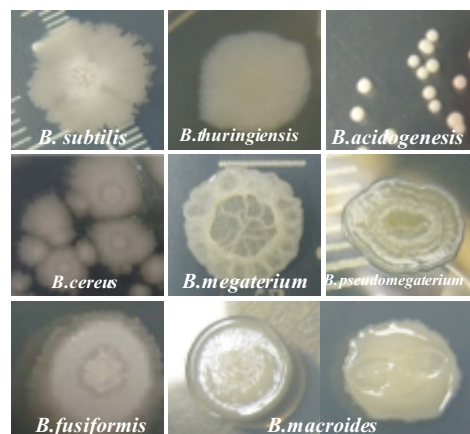


写真2 単離後DNA解析により判別したバチルス種とコロニー形状の関係(DNA解析は東京農工大学細菌研究室による)

を行い、同様に定期的にバチルス菌の測定を実施した²⁾。

4. 実験結果

生ゴミ処理機でのベンチスケール製造試験のバチルスコロニー数を表3に示した。殆どのRUNでバチルス菌が優占化したが、最適な配合はし尿汚泥1:浄水汚泥5:廃菌床4であり、バチルス菌数は 10^8 個/gに増加した。実際の工場での試作は、温度条件の調整が難しく当初は優占化ができなかったが、条件の調整に工夫してほぼ同様の配合でバチルス菌が優占化し菌数は 10^8 個/gに増加した。バチルス菌の平板培養で発生した各コロニーを単離し、DNA解析により種を同定してコロニー形状と種の関係を明確にした結果を写真2に示した。表4RUN3の試作土壌改良材を実際のヤマト芋畑に2006年5月に施用し、ヤマト芋を栽培した。対象として通例の土壌消毒(マルチでソイリン注入)区を設けた。1月に試験区を $3\text{m} \times 3\text{m}$ に100分割し、各1株のヤマト芋をサンプリングして線虫罹患率を調査したところ、隣地境界部を除いた罹患率は2~3%(消毒区は1%程度)で根瘤線虫被害は殆ど出でならず、土壌改良材の連作障害抑止効果が認められた(図1参照)。写真3には線虫に罹患したヤマト芋とコブ内線虫の顕微鏡写真を示した。

5. まとめ

試作したバチルス優占土壌改良材は、実際に線虫に対して抑止効果を発揮することがわかった。どのバチルス種がどのような作用で線虫の繁殖を阻害しているか等の具体的な課題を今後解明して行くとともに、他の作物に対する連作障害抑止効果を引き続き検討する予定である。

表3 生ゴミ処理機を用いた連作障害対策型土壌改良材試作試験の原料配合とバチルス菌数

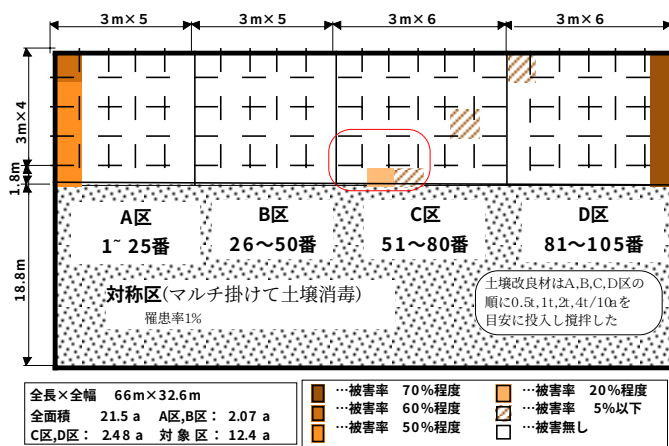
試料	混合発酵期間	配合(乾燥重量kg)			バチルスコロニー数(個/g)
		し尿汚泥	浄水汚泥	その他	
RUN 1	05/5/12-7/12	5	5	ヤマト芋 0.55	$2.0\text{E}+07$
RUN 2	05/4/28-7/12	5	5	ヤマト芋 2	$1.0\text{E}+07$
RUN 3	05/4/18-7/12	5	5	ヤマト芋 2	$4.0\text{E}+06$
RUN 4	05/3/28-7/12	5	5	焼酎糟 3.6	$2.0\text{E}+07$
RUN 5	05/7/12-8/2	5	5	ヤマト芋 0.55	$1.1\text{E}+08$
RUN 6		2.5	7.5	ヤマト芋 0.55	$1.4\text{E}+08$
RUN 7	05/8/2-10/4	2	2	廃菌床 6	$1.0\text{E}+07$
RUN 8		2	5	廃菌床 3	$1.5\text{E}+07$
RUN 9		2	6	ヤマト芋 0.45 焼酎糟 2.5	$1.0\text{E}+06$
RUN 10		1	6	ヤマト芋 0.55 焼酎糟 2.5	$3.0\text{E}+05$
RUN 11	05/10/4-11/16	2.5	7.5	ヤマト芋 0.5	$8.0\text{E}+07$
RUN 12		2.5	7.5	ヤマト芋 0.5 ミネラル 0.45	$1.4\text{E}+08$
RUN 13		2	5	廃菌床 3	$1.3\text{E}+08$
RUN 14		2	5	廃菌床 3 ミネラル 0.45	$1.1\text{E}+08$
RUN 15	05/11/18-12/16	2	5	廃菌床 3	$1.4\text{E}+08$
RUN 16		2	3	廃菌床 5	$1.5\text{E}+08$
RUN 17		1	5	廃菌床 4	$1.0\text{E}+08$
RUN 18		1	6	廃菌床 3	$1.1\text{E}+08$
RUN 19	06/10/4-10/28	1	6	廃菌床 3	$6.5\text{E}+07$
RUN 20		1	5	廃菌床 4	$1.1\text{E}+08$
RUN 21		1	4	廃菌床 5	$5.5\text{E}+07$
RUN 22		1	3	廃菌床 6	$9.0\text{E}+07$
RUN 23	06/12/6-07/1/15	1.3	4	廃菌床 4.7	$8.5\text{E}+07$
RUN 24		5.2	4.8	0	$1.7\text{E}+08$
RUN 25		1.4	6.1	廃菌床 2.5	$1.8\text{E}+08$
RUN 26		1.1	1.4	廃菌床 7.5	$1.4\text{E}+08$

注記:バチルス菌数は乾燥重量1g当りの個数またミネラルとしてブルーミネラルを用いた

表4 コンポスト工場で作した本土壌改良材の原料配合とバチルス菌数

	配合比				バチルスコロニー数	最終測定日	優占化
	西吾妻	浄水	廃菌床	ブレンド焼酎糟			
RUN1		5	2	3	$1.6\text{E}+07$	2006.3.16	△
RUN2			7	3	$4.1\text{E}+07$	2006.4.10	△
RUN3			6	4	$4.0\text{E}+07$	2006.4.27	○
RUN4			7	3	$1.0\text{E}+07$	2006.3.20	×
RUN5			7	3	$5.5\text{E}+07$	2006.4.10	○
RUN6			7	3	$3.5\text{E}+07$	2006.4.27	○
RUN7	1	5	4		$1.4\text{E}+08$	2006.5.18	◎
RUN8	1	5	4		$7.3\text{E}+07$	2006.7.6	◎
RUN9	1	5	4		$4.8\text{E}+07$	2006.9.1	◎
RUN10	1	5	4		$2.0\text{E}+07$	2006.11.6	○
RUN11	1.2	4.9	3.9		$6.5\text{E}+07$	2006.12.24	◎
RUN12	1.2	4.9	3.9		$9.5\text{E}+07$	2006.12.24	◎
RUN13	1.2	4.9	3.9		$1.0\text{E}+08$	2007.1.13	◎
RUN14	1.2	4.9	3.9		$1.1\text{E}+08$	2007.1.13	◎
RUN15	1.2	4.9	3.9		$4.5\text{E}+07$	2007.1.31	○

注記:バチルスコロニー数は乾燥1g当り個数



※ メッシュは $3\text{m} \times 3\text{m}$ メッシュ無い部分は被害無し、区画数は全110区画だが両端10区画を除くと、調査対象は100区画

図1 実施試験を行ったヤマト芋畑の仕様と連作障害抑止結果(根瘤線虫被害率)

参考文献

- 1) www.geocities.jp/aoiyamanonaka/farm/bacillus.htm
- 2) 青井 透(2006)バチルス菌優占余剰汚泥・上水汚泥およびキノコ廃菌床を原料とする連作障害対策型土壌改良材の開発、第14回北海道大学衛生工学シンポジウム講演集、pp183-186

る。

謝辞 廃菌床の提供および実験試験は(株)横堀キノコ殿に協力いただいた。ヤマト芋畑での施用試験は太田市新田地区木村克巳殿の農地を提供頂いた。バチルス菌の培養方法については中央バチルワルドの青木殿に御指導を受けた。またバチルス菌種のDNA解析は東京農工大学大学院応用化学専攻細見研究室に協力頂いた。尚本研究の一部は新活性汚泥技術研究会助成・群馬県産学官連携推進補助金および文部科学省科学研究費により実施した。実作業は群馬高専青井研究室の竹渕和範、吉田智明、塩沢大樹、井上敦氏君等多くの学生に協力頂いた。各位に厚くお礼申しあげる。



写真3 施用試験で根瘤線虫に罹患したヤマト芋外観と内部に生息する線虫