

N-3 バチルス優占化余剰汚泥とセルロースを原料とし中低温で醗酵させた自活性線虫増殖型土壌改良資材の開発

○小林彩乃^{1*}・林恵里香¹・青井 透¹

¹群馬工業高等専門学校・専攻科環境工学専攻(〒371-0845群馬県前橋市鳥羽町580)

* E-mail: aoi@cvt.gunma-ct.ac.jp

1. はじめに

群馬県の農業生産は、こんにゃく芋や高原キャベツ・ヤマト芋・ハウスキュウリ等が国内有数のシェアを占めている。これらの農作物では連作障害を抑止するために、農家では広く土壌に農薬を散布している。農薬の散布は、土壌中の生態系を破壊し、広大な範囲に被害をおよぼすことにつながりかねない。昨今では、メタミドホスやアセタミプリド汚染米の不正食用転用が報道されていることから、農薬の使用は極力抑止する必要があると思われる。

東工大正田教授は、「土壌中にバチルス菌が優占化すると土壌生態系が安定し、乾燥質量1g当たり 10^7 個程度存在すれば、連作障害を抑えられる¹⁾」と報告している。そこで、本研究室では、バチルス属細菌を優占種として運転するし尿処理施設の、バチルス属細菌の胞子を大量に含む乾燥汚泥、浄水場の上水汚泥、県内の主要産業の1つであるキノコ産業の廃菌床の三種類の廃棄物を、発酵温度を抑えて培養して連作障害抑止型土壌改良資材を試作し、実ヤマト芋畑に投入して効果の検証を行っている。この結果、バチルス属細菌優占化土壌改良資材を投入することで、土壌殺菌(マルチをかけて有機塩素系土壌燻蒸剤で殺菌する)の対照区に対して、ほぼ同等の連作障害抑止効果が得られ、その土壌を調査してみると、線虫が多く含まれていることが分かった。

作物の連作障害は、その原因が主に細菌によるもの、カビ(菌類)によるもの、線虫によるものの3つに分類される。バチルス属細菌の代表は納豆菌でもある*Bacillus subtilis*であり、抗生物質の分泌により、カビやバクテリア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ので、微生物農薬であるBt殺虫剤として市販されている。このように、既にバチルス属細菌は病原細菌やカビに対しては効果があると報告されているが、線虫への効果は報告されていない。

そこで本研究では、バチルス優占化した余剰汚泥と剪定枝(一般廃棄物として処理されるが、温暖化

防止の観点からも焼却ではない利活用が望まれている)や廃菌床などのセルロース系廃棄物を原料として中低温で醗酵させ、バチルス優占化と線虫生息数が多い土壌改良資材を試作したので、これらの関係について報告する。

2. バチルス属細菌とは

バチルス属細菌は、病原性のない安全性の高い細菌であり、特に*Bacillus subtilis*は枯草菌と呼ばれている。枯草、土壌、空気中など自然界に汎生し、乳酸菌や麹菌などの異種有用微生物と共存する能力を持っている。体長は $2\sim3\mu\text{m}$ 、幅 $0.7\sim0.8\mu\text{m}$ 程度の両端鈍円の桿菌であり、増殖時期によっては、単在または連鎖状を呈している。生存に不適な環境になると芽胞を作って休眠するので、環境変化に強い特徴がある。培地によく発育し、白色のコロニーを形成する。写真1はバチルス属細菌種とコロニー形状の関係である。曝気槽中で優占化するのは、必ず*B. subtilis*であるが、固体醗酵(中低温での堆肥化)では、写真1に示すような多くのバチルス種が発生した。写真1に示したコロニー形状とバチルス種の関係は、本研究室で単離したコロニーを、東京農工大学大学院応用化学専攻細見研究室でDNA解析して頂

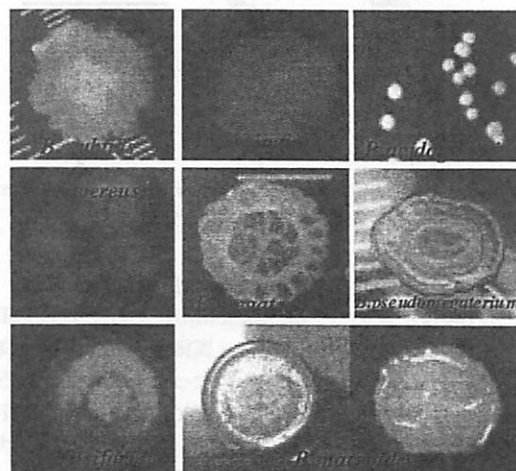


写真1 バチルス属細菌の種とコロニーの形状

き、作成したものである。

3. 線虫とは

(1) 線虫の種類

線虫は、その食性から、他の線虫や小ミミズ等の小生物、微生物や原生動物等を捕食して生活する捕食性線虫、

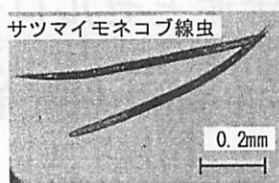


写真2 線虫の顕微鏡写真

虫、動植物の遺骸を食べて生活する腐生性線虫、一生の一時期を、高等植物の根等に寄生して生活する寄生性線虫に大別できる。捕食性線虫と腐生性線虫をあわせて自活性線虫と呼ばれている。植物寄生性の線虫は口針の強大なものが多く、三大寄生性線虫として、ネコブ線虫類、シスト線虫類、ネグサレ線虫類がいる。線虫の大きさは様々で、自活性線虫や植物寄生性線虫の大部分は、成虫の体長が0.5から1.5mmの非肉眼的微小動物である。写真2は、三大寄生性線虫の根瘤線虫類の仲間であるサツマイモネコブ線虫である。

(2) 線虫害

一般的には、自由生活をする自活性線虫が圧倒的に多いが、農業上ほとんど注目されておらず、線虫で最も問題視されるのが寄生性線虫である。寄生性線虫は一般にその宿主（作物）が決まっており、近縁の作物以外の植物には寄生しない。従って特定の作物を連作すると、単一の寄生性線虫の数が次第に増加し、寄生性線虫を抑える自活性線虫や線虫に寄生する細菌、線虫を捕食する放線菌や糸状菌等の数が少なくなると線虫害が激発するとされている。そのため、従来の線虫に対する調査・研究は、寄生性線虫に対するものが大部分を占め、自活性線虫に関する報告は皆無に等しい。



出典：http://www.dj.dicn.ne.jp/~touyou/douyou-tisiki.htm
図1 線虫の食性による分類

4. 実ヤマト芋畑における土壌改良資材投入試験

2006年度に初めて、群馬県太田市にあるヤマト芋畑に農家の協力を得て、バチルス属細菌優占土壌改良資材を投入し、実施用試験を行なった。初年度である2006年は、試験区を土壌殺菌を行わずに土壌改良資材の配分を変えて投入した4試験区と、通常通りに土壌蒸気殺菌を行った対照区の5種類の区域に区切り、土

壌改良資材が農作物に及ぼす影響を観察した。その試験の結果、土壌改良資材投入区のネコブ線虫罹患率は約3%、対照区

ネコブ線虫罹患率は1%であり、土壌改良資材を土壌と十分混合すれば、土壌殺菌を行なうのと同様の抑止効果があることが分かった³⁾。2007年度は、土壌改良資材の投入量を低減させて、再度栽培試験を実施した。土壌改良資材の投入量(10a当り)と根瘤線虫罹患率の関係を図2に示したが、投入量が多いほど罹患率は低減し、有意の差が認められた。この原因としては、土壌改良資材中に多く含まれる自活性線虫が、土壌中で優占化することにより、動きの遅い寄生性線虫を淘汰したことが考えられる。

この調査は継続して今年も実施しているが、もし効果が認められる場合には、改良資材生産量の増産が必要となるが、その場合には経済性から、利用する畑の近隣で土壌改良資材を製造する必要がある、小規模下水処理場をバチルス優占化し、その余剰汚泥と剪定枝等のセルロース資材を原料として、土壌改良資材を製造することが、最も適した方法と考えられるので、バチルス汚泥、剪定枝および腐菌床などを配合して、試作試験を行った。

5. 新配合土壌改良資材の特性調査

(1) 土壌改良資材の新しい配合 今回の土壌改良資材の原料は余剰汚泥1、腐菌床4、剪定枝5の割合で製造した。製造は、実験室内の生ゴミ処理機を用いて行ない、乾燥重量10kgで混合発酵させた。実規模のヤマト芋畑で試験を行う場合は、一定量の試作品が必要となるの

で、キノコ製造会社に土壌改良資材の試作を依頼した。また今回は線虫数を増加させることを目指すため、醗酵温度は40℃を超えないように調節した。この40℃とは、温度

試験により、線虫が生存可能な温度が40℃以下であると判断したためである(図3参照)。醗酵温度の変

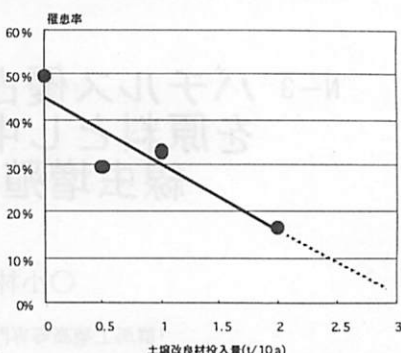


図2 土壌改良資材の投入量と罹患率の関係

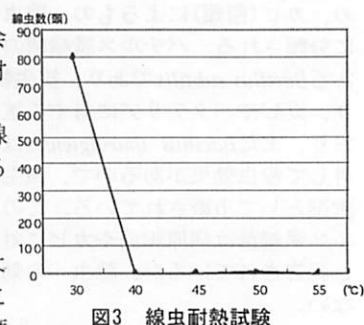


図3 線虫耐熱試験

化の一例を図4に示す。

また、今回の配合の他にも、バチルス汚泥、剪定枝、腐菌床、上水汚泥、わら、牛糞肥等を用いた土壌改良資材を試作している。今回は代表的な一例

(配合が余剰汚泥1、腐菌床4、剪定枝5の割合)を紹介する。

(2)顕微鏡による線虫の観察および測定 線虫の検出には、ベルマン法を用いた。取り出した試料水を熱殺(60℃で50秒間)し、位相差顕微鏡を使用して60倍で計測、150倍で種の識別を行い、確認できる線虫を計測した。スライドガラスは、1mm×1mmで1000分割されたものを使用することで、測定を容易にした。線虫は、自活性線虫・ネコブ線虫・ネグサレ線虫の三種で識別した。

(3)新配合試料における線虫数測定結果 運転開始から毎週、生ゴミ処理機より試料を取り出して線虫数とバチルス数をカウントした。図4に線虫数の変化を示す。識別は自活性線虫・ネコブ線虫・ネグサレ線虫の三種で行ったが、ネコブ線虫及びネグサレ線虫は検出されなかったため、自活性線虫数の変化のみ示してある。醗酵当初は大きく変動していたが、醗酵が落ち着いてくると1万～2万頭で推移している(一般の畑地土壌線虫数は数百頭を過ぎない)。

通常の堆肥では高温醗酵が継続し、線虫が死滅してしまうため、線虫による健全な土壌生態系の形成効果は期待できないが、本土壌改良資材では醗酵温度を抑えているため、10g当たり1万～2万頭の間

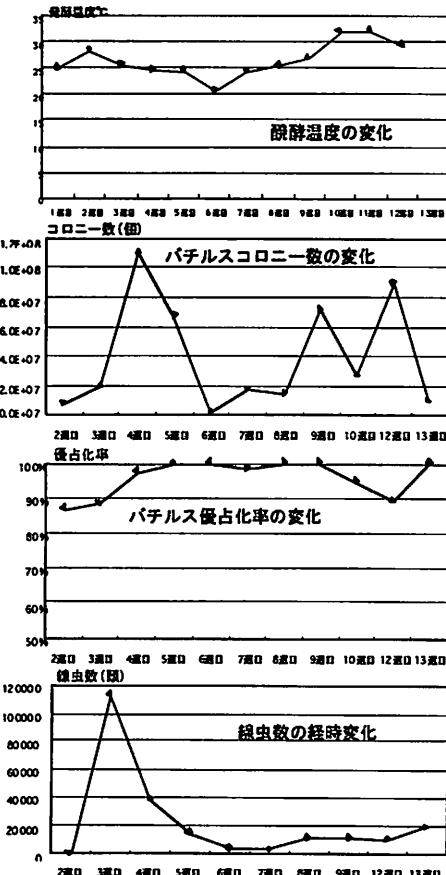


図4 バチルス優占余剰汚泥、腐菌床、剪定枝を原料として中低温醗酵させた場合の各項目の経時変化

活性線虫が存在し、土壌改良材由来の線虫による健全な土壌生態系の形成効果があると考えられる。

(4)新配合におけるバチルス属細菌優占化速度結果

図4にバチルスコロニー数の変化、バチルス優占化率の変化を示す。6週目でコロニー数が大きく減少しているが、これは培地の状態が悪かったためである。また、醗酵の比較的速い時期でバチルス優占化率が90%以上になっていることが分かる。このことから、新配合はバチルス属細菌にとって増殖しやすい配合だったことが分かる。

5. まとめ

バチルス優占化土壌は、バチルス属細菌の分泌する抗生物質により、カビや細菌による連作障害に効果があることは分かっているが、線虫害に対しての効果は従来不明であった。ところが土壌改良資材の実ヤマト芋畑投入試験より、ネコブ線虫を原因とする連作障害においても、土壌改良資材を投入することは土壌殺菌を行なうことと、ほぼ同様の抑止効果があることが分かった。この理由としては、バチルス優占化により線虫数も増加することから、バチルスが線虫の餌となり線虫の増殖を促すことが考えられる。そのため、バチルス属細菌が優占化し線虫数も多いこの土壌改良資材は、さまざまな連作障害に効果がある可能性が考えられる。

また、土壌改良資材新配合の試験結果より、バチルス属細菌の優占化した下水処理場余剰汚泥や剪定枝が利用可能であることが分かったため、地域毎にこれらの素材を有効利用した、資源循環型農業の成立が可能になると予測される。

謝辞

本研究では多くの方々に協力を頂きました。線虫の検出および観察方法については、群馬県農業技術センターの矢田主任研究員と藍澤独立研究員にご指導頂きました。ヤマト芋畑での施用試験は木村農場の協力によるものです。バチルスの培養は岸分析主任の協力を頂きました。全ての方にこの場を借りて厚く御礼申し上げます。

参考文献

- 1) HP「枯草菌を用いた微生物農薬の開発：東京工業大学 正田・阿野研究室
<http://www.res.titech.ac.jp/documents/rescurrent/0508/index-j.html>
- 2) 吉田智明、青井 透(2007)曝気槽汚泥のバチルス優占化実験と優占化汚泥の土壌改良材種菌としての資源利用、第44回下水道研究発表会講演集、pp13-15
- 3) 青井 透、宮里直樹(2007)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、第62回土木学会学術講演会講演集(CD)
- 4) 小林彩乃(2008)バチルス優占化下水汚泥を菌種に用いて製造した土壌改良資材の連作障害抑止効果、第45回下水道研究発表会講演集、pp1-3
- 5) 三枝敏郎(1993)センチチュウおもしろ生態とかしい防ぎ方、農文協
- 6) 西澤務(1994)土壌線虫の話、タキイ種苗株式会社
- 7) 真宮昭治(2004)線虫学実験法、日本線虫学会

問合わせ先：群馬高専環境都市工学科 青井透、〒371-0845 前橋市鳥羽町580 TEL:027-254-9271, aoi@cvt.gunma-ct.ac.jp