

中国における有用微生物の長期適用による小麦生育促進および収量・養分増加に与える影響

要約

1993 年以降、中国衢州実験場では 11 年間に渡る土壌産出力および作物生産の改善のための長期フィールド実験を実施してきた。フィールド実験では、有用微生物（effective microorganisms: EM）堆肥処理、従来の堆肥処理、そして肥料なしコントロールの 3 処理を行った。その結果、長期にわたって EM 堆肥を適用することで測定した変数の最高値が得られ、またコントロール区からは最低値が得られた。EM と堆肥を組み合わせることで適用することにより、麦稈バイオマスや粒収量、麦藁や粒養分が従来の堆肥やコントロール処理と比較して有意に増加した。麦稈バイオマス、粒収量、麦藁および粒養分は、未処理の土壌と比較して堆肥土壌で有意に高かった。本研究により、EM の適用することで有機養分源の効率が有意に増加することが示された。

1. 序文

小麦は中国の重要な作物の一つであり、主に華北平原で栽培される。華北平原は 178,700km² の面積からなり、そのうち 88,500km² が農耕地である (Lin et al., 2000)。この地域は中国の主な食物生産地域であり、高投入、高産出の典型的な農業として特徴づけられる。主な農耕システムは、冬コムギと夏トウモロコシの輪作であり、これがこの地域の耕地の 60% を占める。この地域の農耕地の継続可能な利用と土壌産出力の維持により、中国の食物需要することは可能であろう。従来、農民は肥料や作物残滓などの有機物を用いることで土壌の産出力を維持してきた (Gong et al., 2009a)。しかし、1990 年代以降の高度経済成長により、この地域でミネラル肥料や有機成分の少ない肥料が用いられるようになった (Gong et al., 2009b)。作物の最高収量を達成するため、ミネラル肥料が過剰にかつ無分別に用いられており、これは資源を無駄にするだけでなく環境の汚染にもつながる。食用穀物生産の需要を満たし中国の食物を確保するためには、適度で最適化された肥料の投与や土壌産出力の維持もしくは改善、そして環境保護が必要とされる (Mial et al., 2011)。

近年、合成農薬の副作用を最低限に抑えるため、一部の化学物質が天然物質で代替されるなどの努力がなされ成功を収めている (Javaid, 2006, Singh et al., 2011)。成功の一例は

Higa (1996) によって報告されている。Higa は、土壌から有用微生物を単離し、これを有用微生物 (effective microorganisms; EM) と名付けた。EM は 80 種ほどの微生物を含み、この中には光合成微生物、乳酸菌、酵母、放線菌、そして *Aspergillus* や *Penicillium* などの発酵性菌類が含まれる (Higa and Parr 1994)。Daly と Stewart (1999) により、光合成の上昇やホルモンや酵素などの生活性物質の生産、土壌疾患の制御や土壌中のリグニン類の分解促進などを通して、有用微生物が作物生育や収量を増加させることが報告された。

いくつかの研究により EM の適用による作物生育や収量の増加が報告されている (Daly and Stewart, 1999, Yan and Xu, 2002, Khaliq et al., 2006, Javaid 2011)。しかし、EM の適用が作物生育や収量にもたらす効果に懐疑的な報告も見られる (Formowitz et al., 2007, Daiss et al., 2008)。研究によっては、EM の作物生育や収量、さらに品質があまり明白ではないとされる (Formowitz et al., 2007, Daiss et al., 2008)。しかしこれらの研究では、作物生育や収量に対する EM の影響が短期間 (1 作期のみ) 扱われた。他の研究によると、有用微生物を繰り返し適用することでこのような欠点は補われることが示されている (Javaid, 2006)。しかし、作物生育および収量に対する EM の長期にわたる効果はあまり調べられていない。そのため我々は、11 年に渡るフィールド実験により、作物生育や収量に対する堆肥適用の効果を調べることとした。本研究の結果により、作物生育や土壌特質に対する EM 適用の長期的な効果が明らかとなり、土壌の産出力や高い作物収量を維持するための最適な肥料の選択に役立つことが期待される。

2. 材料および手法

2.1. 実験場所および設計

11 年間におよぶ長期フィールド実験は、中国河北省にある衡水実験場で 1993 年に開始された (華北平原中央部に位置する) (東経 115 度 01 分、北緯 36 度 52 分 海拔 40m)。実験場は大陸の穏やかなモンスーン気候地域に位置し、気候は温かくやや湿り、夏は降水が見られ冬は乾燥する。年間の平均気温は 13.2 度であり、最低気温は 1 月のマイナス 2.9 度、最高気温は 7 月の 26.8 度である。年間の平均降雨量は 542.7mm であり、そのうちの 60% は 7 月から 9 月にかけて見られ、一年間を通して霜の降りない期間が 201 日間ある。この地域のシルト質粘土ローム土壌は、FAO/WRB にしたがってカンビソルとして分類される (FAO, 1998)。

11 年にわたるフィールド実験は 3 処理および 3 複製からなり、完全無作為法により 9 区画 (各区画 3m×10.5m) で長期間 2 作期連作が行われ、この地域では典型的な農耕システムである冬

はコムギ (*Triticum aestivum* L.)、夏はトウモロコシ (*Zea mays* L.) を栽培した。コムギは 10 月に植えて 6 月に刈り入れ、つづいて 6 月にトウモロコシを植え 10 月に刈り入れた。

1993 年以降の処理は、有用微生物の適用 (1ml 有用微生物濃縮物は、*Streptomyces albus*、*Propionibacterium freudenreichii*、*Streptococcus lactis*、*Aspergillus oryzae*、*Mucor hiemalis*、*Saccharomyces cerevisiae* および *Candida utilis* の微生物生菌を少なくとも 10^5 含む。また濃度指定のない *Lactobacillus* sp., *Rhodopseudomonas* sp. および *Streptomyces griseus* も含まれる。) および 1 ヘクタールあたり 15 トンの堆肥、従来の堆肥処理 (traditional compost treatment: TC) (1 ヘクタールあたり 15 トン)、そしてコントロール (土壌改良なし) からなる。従来の堆肥は 60% が麦藁、30% が家畜からの肥やし、5% が綿種子圧縮廃棄物、5% が糠 (平均養分含量は、1 ヘクタールあたり窒素 100.5kg、 P_2O_5 36kg、 K_2O 196.2kg を含む) からなり、EM 堆肥は従来の堆肥 50kg に 200ml の有用微生物および 1kg の赤糖が添加されている。各肥料処理は、年に 2 度、6 月と 10 月の冬コムギと夏トウモロコシを播く前に施した。肥料を添加しなかった区域でも、添加した区域と同様にコムギとトウモロコシの栽培および刈り入れを行った。肥料を施した区域と施さなかった区域の耕地は類似している。上記の土壌作物は刈り取りののち、麦藁は土壌に戻した。3 種の肥料処理以外の他の農業管理は全く同等に行った。

2.2 土壌および植物サンプリング

コムギの収穫が終了し、トウモロコシの播種前の 2004 年 6 月 8 日に、実験場の土壌表層から 0~20cm の位置から土壌サンプルを回収した。各土壌サンプルは 15 コア (直径 2.5cm×深度 20cm) からなり、混合サンプルになるよう混ぜ合わせ、サンプルは各区域から採取した。土壌サンプルはビニール袋の口を縛って密封し研究所まで輸送した。すべての土壌解析は、土壌サンプル採取の一週間以内に完了させた。

コムギは節間伸長開始期の苗木 15 株を引き抜き、洗浄ののち根、茎、葉に分離した (2004 年 11 月 22 日)。また成熟期のコムギ 10 株を引き抜き、洗浄ののち根、茎、葉、および穂に分離した (2005 年 6 月 10 日)。植物サンプルは採取と同日に解析した。

2.3 土壌および植物解析

充填密度は、コア体積と乾燥土壌重量を用い、乾燥土壌重量をコア体積で割ることで算出した (直径および高さ 5cm のステンレス鋼シリンダー)。土壌サブサンプルは、14 日間室温で空気乾

燥したのち 1mm 網目のふるいにかけて混合し、アルカリ加水分解窒素 (N)、利用可能なリン (P)、利用可能なカリウム (K)、および土壌の pH を測定した。空気乾燥させたサブサンプルは 0.25mm のふるいを通過するようすりつぶし、土壌の有機物および総窒素含量を調べた。重クロム酸カリウム外部加熱法により、土壌有機物含量を決定した (Blakemore et al., 1972)。セミクロケルダール法およびアルカリ加水分解拡散法により、総窒素およびアルカリ加水分解窒素含量を決定した (Bremner, 1996)。土壌中の利用可能なリンは、 0.5molL^{-1} の NaHCO_3 (土壌 : 溶液 = 1:20) を用いて抽出し、オルセン法により測定した (Blakemore et al., 1972)。土壌中の利用可能なカリウムは、 1molL^{-1} の NH_4Ac (土壌 : 溶液 = 1:10) を用いて抽出し、炎光法により測定した (Blakemore et al., 1972)。土壌 pH は、 0.01molL^{-1} の CaCl_2 懸濁液中でガラス電極を用いて測定した (土壌 : 溶液 = 1:2.5)。

麦粒は区画脱穀機を用いて麦藁から分離した。粒重量は空気乾燥ののちに計測し、全区画のものを記録した。コムギは、2005 年 6 月 10 日に地上部分を鎌により手作業で収穫した。作物の成熟期には根、茎、葉および穂のサブサンプルを各区域から回収し、オープンで 65°C 、72 時間乾燥させた。サンプルは 0.5mm のふるいを通過するようすりつぶし、総窒素含量をマイクロケルダール法により測定した (Bremner and Mulvaney, 1982)。リン濃度は、植物組織を HNO_3 および HClO_4 を用いて消化し、モリブデン酸アンモニウム法 (Olsen and Sommers, 1982) により決定し、カリウムに関しては炎光法により測定した。データはすべて乾燥質量を基準に表示した。

2.4 統計学解析

得られたデータはすべて、SPSS11.5 ソフトウェアパッケージを用いて、分散分析 (ANOVA) を統計学的に行い、それぞれの平均値差を評価した。LSD 検定 (最小有意差) により $p < 0.05$ 差が見られた場合に統計学的に有意な差であるとした。

3. 結果

3.1 土壌の物理化学的特性

長期にわたる土壌の改良は、土壌の物理化学的性質に顕著な変化をもたらした (表 1)。土壌の充填密度および pH は、コントロール区と比較して肥料を与えた 2 区で有意に低かった ($p < 0.05$)。さらに EM 堆肥区では、従来の堆肥区域と比較して土壌 pH が有意に低かった ($p < 0.05$)。土壌の有機物、総窒素、アルカリ加水分解窒素、そして利用可能なカリウム含量は、コントロール区と比較して堆肥を与えた 2 区で有意に高かった ($p < 0.05$)。また土壌中の利用できるリンおよびカリウム含量は、従来の堆肥区よりも EM 堆肥区で有意に高かった

($p < 0.05$)。

3.2 生育期におけるコムギの植物高とバイオマス

長期にわたる土壌改良の結果、生育期におけるコムギの植物高とバイオマスが有意に増加した（表 2-4）。コムギの幼苗期および節間伸長開始期では、コムギの茎および葉のバイオマスと植物全体のバイオマスが、コントロール区と比較して堆肥を与えた 2 区で有意に高かった ($p < 0.05$)。またコムギの茎と葉のバイオマスと植物全体のバイオマスは、EM 堆肥を与えた区が従来の堆肥区と比較して高かったが、コムギの幼苗期および節間伸長開始期では、有意差は見られなかった。コムギの成熟期では、植物高、根のバイオマス、そして茎と葉のバイオマスは、コントロール区と比較して堆肥を与えた 2 区で有意に高かった ($p < 0.05$)。またコムギの成熟期において、コムギの穂のバイオマスと植物全体のバイオマスは、EM 堆肥を与えた区で従来の堆肥区と比較して高く ($p < 0.05$)、従来の堆肥を与えた区でコントロール区と比較して有意に高かった ($p < 0.05$)。

3.2 コムギの収量および収量成分

1 ヘクタールあたり実をつけた穂、1000 粒重量および粒収量は、コントロール区と比べて堆肥を与えた 2 区で有意に高かった ($p < 0.05$)（表 5）。さらに、ヘクタールあたりの実をつけた穂と粒収量は、EM 堆肥を与えた区で従来の堆肥区と比較して高かった ($p < 0.05$)。

3.4 コムギ植物中の窒素・リン・カリウム含量

長期にわたる肥料の適用により、コムギ植物組織の養分含量が変化した（表 6）。茎、葉、穂、そして麦粒における窒素含量は、コントロール区、従来の堆肥区、そして EM 堆肥区の順で有意に増加した ($p < 0.05$)。リン含量は、茎、葉、穂でコントロール区と比較して堆肥を与えた 2 区で有意に高かった ($p < 0.05$)。さらにリン含量は、葉と麦粒で従来の堆肥区と比較し EM 堆肥区で有意に高かった ($p < 0.05$)。カリウム含量は、葉や麦粒でコントロール区と比較して堆肥を与えた 2 区で有意に高かった ($p < 0.05$)。さらにカリウム含量は、従来の堆肥区と比較して EM 堆肥区で有意に高かった ($p < 0.05$)。

4. 考察

本研究において、土壌の有機物、総窒素および利用可能なカリウムは、土壌の改良により顕著な影響を受けることが明らかとなった。これは長期にわたる肥料適用実験で有機肥料を与えることで土壌の有機物や総窒素や利用可能なカリウム含量が顕著に増加することを示した Chu ら（2007）による先行研究の結果と一致する。この主な理由は、有機肥料が土壌へ養分を遊離することによる

(Zhao et al., 2009)。本研究同様に Gami ら (2001) によっても、長期にわたる肥料の適用が利用可能なリン含量を増加させることが報告されている。肥料適用実験の 8 年後に、ミネラル窒素存在、もしくは非存在下において Olsen リンが飛躍的に増加したことが報告されている (Singh et al., 2007)。生理食塩水・アルカリ土壌が有機肥料により改良可能だと示されている通り (Marinari et al., 2000, Hati et al., 2006)、我々の研究でも生理食塩水・アルカリ土壌 pH が有機肥料の適用により減少した (Gong et al., 2009a, Lee et al., 2007)。土壌中の有機物、総窒素、アルカリ加水分解窒素、利用可能なリンおよびカリウム含量は、従来の堆肥区よりも EM 堆肥区で高く、また利用可能なリンおよびカリウム含量には有意差が見られた。このことから、EM 堆肥による土壌産出力の向上は、従来の堆肥と比べ明らかに高いことがわかる。その原因としては、EM 堆肥中には土壌から養分の遊離を促し (Higa and Parr, 1994) 有機物の分解を促進させる (Javaid 2011) 微生物が多く含まれていることが考えられる。

コムギ生育は土壌の長期改良により顕著な影響を受け、これは Hati ら (2006) の結果と一致する。作物の茎および葉のバイオマスは、コムギの生育期において堆肥により有意に増加し、類似した結果は先行研究からも得られている (Wang et al., 2004)。コムギの茎や葉のバイオマスや穂のバイオマス、そして植物全体のバイオマスは、コムギの成熟期において、未処理土壌よりも肥料を与えた土壌で有意に高かった。例えば、Rasool ら (2007) によると、コムギやトウモロコシ藁の収量は、未処理区と比較して農場肥料を用いた区域で有意に増加した。同様に、Marinari ら (2000) は、未処理土壌と比べて有機肥料を与えた土壌でトウモロコシの生産量が有意に増加することを報告している。コムギの成熟期において、コムギの穂のバイオマスおよび植物全体のバイオマスは、従来の堆肥区と比べ EM 堆肥区で有意に高かった。同様に Javaid および Mahmood (2010) は、農場肥料改良に EM を適用することでダイズ芽のバイオマスが顕著に向上することを見だし、また Javid (2011) は、農場肥料改良による EM のコメ芽バイオマスへの影響は生育期の 90 日および 120 日ではまだはっきりとしないことを明らかにした。しかし生育期 150 日になると、EM 適用によるコメ芽バイオマスの増加は顕著なものとなった。さらに、Javaid と Bajwa (2011) は、農場肥料改良に EM を適用したところ、リュウズ芽のバイオマス有意に増加することを報告している。コムギ生育の促進は、EM 溶液に含まれる *Rhodopseudomonas palustris* や *Rhodobacter sphaeroides* などの独立栄養微生物に属する光合成細菌の活性に起因する可能性がある (Javaid and Bajwa, 2011)。これら微生物は、土壌の有機物や植物根から分泌される有機物から有用物質を合成することができる。これら微生物により生産される有用物質にはアミノ酸や核酸、糖、多糖、そして生物活性物質などがあり、これらはすべて作物成育を促進する (Javaid and Bajwa, 2011)。

本研究により、穂あたりのコムギ粒および1000粒は、コントロール区と比べて堆肥の適用により有意に増加した。それにもかかわらず、本研究におけるEM適用では、穂あたりのコムギ粒および1000粒に有意な増加は見られなかった。またEMがコムギ1000粒重量に有意な影響をもたらさないことがJavaid (2011) によっても観察された。

コムギ粒収量は堆肥の適用により有意に増加した。同様に、コムギおよびコメ収量も長期にわたる有機肥料の適用により増加を示した (Gu et al., 2009)。Blaise ら (2005) は、農場肥料を適用したところ研究の1年目において実綿収量が増加したことを報告した。コムギ粒収量は未処理区と比べて堆肥区で有意に高く、これは長期にわたる肥料適用実験により未処理区と比べて堆肥区でコムギとトウモロコシ収量が増加することを示したRasool ら (2007, 2008) の報告と一致する。コムギ粒収量は、従来の堆肥区と比較してEM堆肥区で有意に高かった。これらの結果は、ダイズやリョクズの粒収量が、EMを適用した農場肥料改良により有意に増加することを報告したJavaid および Mahmood (2010) や Javaid および Bajwa (2011) の結果を支持する。同様に、EMを適用することで、緑肥改良によるコメ粒収量が46%増加した (Javaid, 2011)。Khaliq ら (2006) は、有機物と組み合わせたEM適用により、綿収量が有意に向上したことを報告している。また同様に、Hussain ら (1999) は、農場肥料にEMを加えて適用したところ、コムギおよびコメの粒収量が増加したことを報告している。EMを有機物と組み合わせて適用することにより、作物粒収量が高まることが本研究および先行研究により示され (Hussain et al., 1999, Javaid and Mahmood, 2010)、これは主に導入された外来の有用微生物の活性により、有機物分解および植物吸収につながる養分の遊離が促進されたためだと考えられる (Javaid and Bajwa, 2011)。

コムギの茎、葉、穂、および粒における窒素、リン、カリウム含量は、有機肥料の適用により有意に向上した。また同様に、農場肥料を長期間にわたって適用したところ、コムギおよびトウモロコシの窒素、リンおよびカリウムの吸収が有意に改善された (Rasool et al., 2008)。コムギの茎、葉、粒における窒素・カリウム含量は、未処理区と比べ堆肥区で有意に増加し、同様に Blaise ら (2005) は、綿においても窒素やリン、カリウムの吸収が農場肥料を用いることで未処理区と比べて増加することを報告した。コムギの茎や葉、穂や粒における窒素、リン、カリウム含量は、従来の堆肥区よりEMを加えた堆肥区で高かった。また同様に、EM適用した農場肥料改良により、開花期のリョクズが有意に高い窒素、リン、カリウム濃度を示し (Javaid and Bajwa, 2011)、EMを有機物と組み合わせて適用することで、綿における窒素やリン、カリウム含量が有意に増加した (Khaliq et al., 2011)。有用微生物は有機物の分解を促し、有機物のミネラル化を促進し (Hussain et al.,

1999)、土壤中に植物が吸収できる養分を遊離させる (Daly and Steward, 1999)。土壌の有機改良において、EM 適用による同様の効果がコムギやコメ、綿、リョクズやササゲ、トウガラシにおける窒素、リン、カリウムで報告されている (Hussain et al., 1999, Khaliq et al., 2006, Javaid and Bajwa, 2011)。

5. 結論

本研究における結果に基づき、長期間にわたる EM の適用と堆肥の組み合わせがコムギの麦藁バイオマスや粒重量、麦藁や粒の養分を向上させることが結論づけられた。EM 堆肥処理により植物組織に最高値の窒素・リン・カリウム含量が得られたことから、有機物および微生物の適用により、養分遊離の効率が上がることが示された。その結果、土壌の産出力は堆肥のみの適用と比較し、EM を添加することでより高い効果が得られると結論づけられた。

表 1

土壌の物理化学的特性

- 処理
- EM
- TC
- コントロール
- 土壌中有機物
- 総窒素 (g/kg)
- アルカリ窒素 (mg/kg)
- 利用可能カリウム (mg/kg)
- pH
- 充填密度 (g/cm³)
- EM : EM 堆肥処理、TC : 従来の堆肥処理、コントロール : 土壌改良なし。異なる文字 (a, b, c) は、LSD 複数比較による処理間における有意差 ($p < 0.05$) を示す。

表 2

幼苗期におけるコムギ植物高およびバイオマス

- 処理
- EM
- TC
- コントロール
- 植物高 (cm)
- 根乾燥バイオマス (g)
- 茎および葉乾燥バイオマス (g)
- 根、茎および葉乾燥バイオマス (g)
- EM : EM 堆肥処理、TC : 従来の堆肥処理、コントロール : 土壌改良なし。異なる文字 (a, b, c) は、LSD 複数比較による処理間における有意差 ($p < 0.05$) を示す。

表 3

節間伸長開始期におけるコムギバイオマス

- 処理
- EM
- TC
- コントロール
- 根乾燥バイオマス (g)
- 茎および葉乾燥バイオマス (g)
- 根、茎および葉乾燥バイオマス (g)
- EM : EM 堆肥処理、TC : 従来の堆肥処理、コントロール : 土壌改良なし。異なる文字 (a, b, c) は、LSD 複数比較による処理間における有意差 ($p < 0.05$) を示す。

表 4

成熟期におけるコムギ植物高およびバイオマス

- 処理
- EM
- TC
- コントロール
- 植物高 (cm)
- 根乾燥バイオマス (g)
- 茎および葉乾燥バイオマス (g)
- 穂乾燥バイオマス (g)
- EM : EM 堆肥処理、TC : 従来の堆肥処理、コントロール : 土壌改良なし。異なる文字 (a, b, c) は、LSD 複数比較による処理間における有意差 ($p < 0.05$) を示す。

表 5

コムギの収量および収量成分

- 処理
- EM
- TC
- コントロール
- 実をつけた穂 ($\times 10^4/\text{ha}$)
- 粒/穂
- 1000 粒重量 (g)
- EM : EM 堆肥処理、TC : 従来の堆肥処理、コントロール : 土壌改良なし。異なる文字 (a, b, c) は、LSD 複数比較による処理間における有意差 ($p < 0.05$) を示す。

表 6

コムギ植物組織における窒素、リン、カリウム濃度

- 処理
- EM
- TC
- コントロール
- 茎 (g/kg)
- 葉 (g/kg)
- 穂 (g/kg)
- 粒 (g/kg)
- EM : EM 堆肥処理、TC : 従来の堆肥処理、コントロール : 土壌改良なし。異なる文字 (a, b, c) は、LSD 複数比較による処理間における有意差 ($p < 0.05$) を示す。