

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 27 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23580089

研究課題名(和文) 水田における有機栽培が土壌微生物群集に及ぼす影響の解明と評価

研究課題名(英文) Estimation and evaluation of effects of organic farming on microbial communities in paddy field soil

研究代表者

浅川 晋 (ASAKAWA, SUSUMU)

名古屋大学・生命農学研究科・教授

研究者番号：50335014

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000 円、(間接経費) 1,230,000 円

研究成果の概要(和文)：有機栽培・冬期湛水が土壌微生物群集に及ぼす影響を明らかにするため、冬期湛水を含む有機栽培試験水田圃場を対象に、土壌微生物群集を分子生態学的手法により解析した。水田作土中の土壌微生物(細菌、糸状菌、メタン生成古細菌)の群集構成と存在量は有機栽培と冬期湛水により大きな影響を受けなかった。これらは水田生態系の持続性や恒常性を土壌生物性の面から示唆する知見であり、環境保全や生物多様性の保全といった水田の機能を維持するという視点からは望ましいと考えられた。

研究成果の概要(英文)：Effects of organic farming with winter flooding on microbial communities were investigated in an experimental paddy field by molecular ecological techniques. Compositions and abundances of the bacterial, fungal and methanogenic archaeal communities in plow layer soil of the paddy field were not influenced conspicuously by the organic farming and winter flooding treatments. These findings indicate the sustainable and homeostatic features of paddy field ecosystem on the microbial aspects, which may contribute to the functions of paddy field such as conservation of environments and biodiversity.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学、植物栄養学・土壌学

キーワード：微生物 土壌学 水田 有機栽培 環境調和型農林水産

1. 研究開始当初の背景

水田は日本人の主食コメを生産する重要な農耕地であり、水田は我が国の耕地の約半分を占める。水田稲作は連作障害がない上、土壌の流亡が少ないなど、持続可能性が高く、加えて、灌漑水などからの天然の養分供給が多いことなどにより土壌の肥沃度が維持され、高い生産性を持つ優れた農業形態である。また、水田は洪水防止、水涵養、水質浄化、気温緩和、景観維持など環境保全に関わる多面的な機能を有する。さらに最近では、種々の水生生物や水鳥の多様性を保全する湿地としての重要性が認められている。一方、水田は二酸化炭素よりも温室効果活性の高い地球温暖化ガスであるメタンの主要な発生源でもあり、地球環境に負荷を与える側面も持つ。

水田のこれらの種々の機能には、水田に生息する微生物の働きが様々な形で関わっている。例えば、土壌中における有機物の分解、各種養分や元素の形態変化と物質循環など、水稻の生育や土壌肥沃度および水田環境の維持に、微生物の活動が果たす役割は大きい。また、種々の水生生物の多様性を支える食物連鎖の出発点は田面水中の藻類などによる光合成であり、その他の様々な微生物等の働きが加わって食物連鎖が維持され、生態系が成り立っている。このため、これらの微生物の働きと役割を明らかにすることは重要である。

有機栽培は、農薬と化学肥料を使用せず、堆肥などの有機質資材を活用することにより作物を栽培し、有機物の循環利用、生物多様性の向上、環境の保全を目指す「人と生き物に優しい」農法であり、水田では水鳥の保全に役立つ湿地の機能を期待し、冬期湛水（ふゆみずたんぼ）と組み合わせられて行われることが多い。有機栽培では、化学肥料の代替として各種の有機質肥料が複数回施用され、除草剤や殺菌剤などの農薬の散布がないため、土壌の物理性・化学性のみならず生物性にもそれらの影響が及び、土壌微生物群集の構造や微生物が関わる様々な機能に慣行栽培下とは違いが生じることが考えられる。また、我が国の有機栽培水田では冬期湛水が組み合わせられるため、年間にわたって土壌の還元的な状態が維持され、メタンの生成と分解に関わる微生物にも大きな影響を与えることが予想される。しかし、水田における有機栽培が土壌微生物群集に及ぼす影響を調べた研究はなかった。

有機農業が施策として推進され、その技術の科学的解明が求められている社会的背景のもと、東北大学大学院農学研究科齋藤雅典教授より、同研究科附属の複合生態フィールド教育研究センター複合陸域生産システム部（川渡農場、宮城県大崎市）において、水田における有機栽培と冬期湛水の圃場試験が開始され、土壌微生物性調査の依頼を受けたため、本研究に着手した。

2. 研究の目的

有機栽培は土壌微生物を含む生物あるいは環境に優しい農法であると一般に考えられているが、その科学的裏付けは未だ十分ではない。本研究により、水田における有機栽培が土壌微生物に与える影響とその評価を科学的裏付けのあるデータとして示し、土壌の生物性の面から技術としての科学的に適正な評価を提供することを目的とする。

具体的には、有機栽培・冬期湛水水田、有機栽培・冬期非湛水水田および対照の慣行水田のそれぞれの圃場より経時的に土壌を採取し、細菌、糸状菌、メタン生成古細菌等について、群集構成と存在量を分子生態学的手法により解析することにより、有機栽培・冬期湛水がそれらの群集構造に及ぼす影響を明らかにする。また、水田の持続性や生産性、環境保全との調和や生物多様性の保全などの面からその影響を評価する。

3. 研究の方法

(1) 供試圃場と試料採取

東北大学大学院農学研究科附属複合生態フィールド教育研究センター（宮城県大崎市）の有機栽培試験水田圃場を対象とした。本圃場では12月から4月の冬期の湛水処理と組み合わせた有機栽培試験が行われている。有機冬期湛水区、有機冬期非湛水区、慣行区（それぞれ2連）より、水稻移植前、生育中、収穫後の作土層（深さ5~10cm）の土壌を2年間に渡り採取した。また、一部収穫後には、表層部（深さ0~5cm）の土壌についても採取した。

(2) 微生物の群集構成と存在量の解析

採取した土壌試料よりDNAを抽出し、細菌、糸状菌およびメタン生成古細菌群集を対象に、変性剤濃度勾配ゲル電位泳動（DGGE）法により解析した。糸状菌およびメタン生成古細菌については、主要なDGGEバンドの塩基配列解析を行い、群集を構成する微生物の種類を推定した。さらに、real-time PCR法によりメタン生成古細菌の16S rRNAおよび*mcrA* 遺伝子の定量を行った。また、クロロホルム燻蒸抽出法により、土壌微生物バイオマス炭素および窒素を定量した。

4. 研究成果

(1) 水田土壌の細菌、糸状菌、メタン生成古細菌の群集構成に及ぼす有機栽培および冬期湛水の影響

細菌群集のDGGEバンドパターンには有機冬期湛水区、有機冬期非湛水区、慣行区の間で差は見られず、時期による顕著な変動も認められなかった。

糸状菌群集のDGGEバンドパターンについては圃場の湛水・落水の影響があり変動が見られたが（図1）、細菌群集と同様に有機冬期湛水区、有機冬期非湛水区、慣行区の間でパターンに大きな差は認められなかった。主

要な DGGE バンドの配列解析の結果、糸状菌では子囊菌類サッカロマイセス綱が優占する菌群と考えられた。

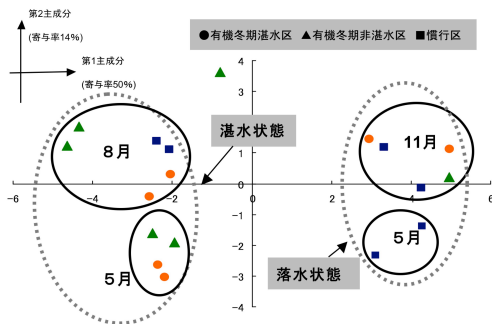


図 1. 糸状菌群集の DGGE バンドパターンに基づく主成分分析。

メタン生成古細菌群集の DGGE バンドパターンには、有機冬期湛水区、有機冬期非湛水区、慣行区の間および時期により大きな違いは見られなかった。メタン生成古細菌では、DGGE バンドの配列解析により、メタノサルシナ目が主要な菌群と考えられた。

(2) 水田土壌微生物の存在量に及ぼす有機栽培および冬期湛水の影響

メタン生成古細菌の 16S rRNA および *mcrA* 遺伝子数には有機冬期湛水区、有機冬期非湛水区、慣行区の間で有意な差は認められなかった (図 2)。

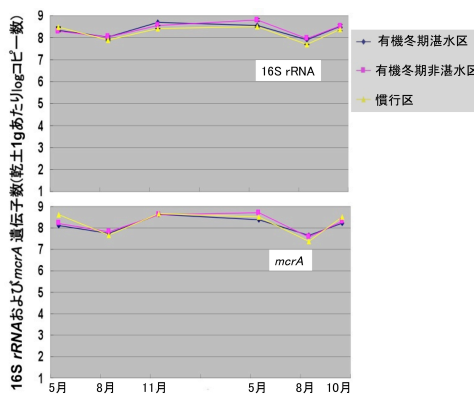


図 2. real-time PCR 法によるメタン生成古細菌の 16S rRNA および *mcrA* 遺伝子数の定量。

冬期湛水末期 (4 月) に採取した試料の土壌微生物バイオマス炭素および窒素量は有機冬期非湛水区で若干高い傾向にあったが、3 区の間で有意な差はなかった (表 1)。

表 1. 土壌微生物バイオマス炭素および窒素量 (乾土 1kg あたり mgC あるいは mgN)

処理区	バイオマス C	バイオマス N
有機冬期湛水	83.9±17.0	10.5±0.50
有機冬期非湛水	125±16.0	20.0±1.0
慣行	95.5±15.7	17.0±1.6

(3) 特徴的な部位における微生物群集の解析
作土層土壌では有機栽培と冬期湛水が水田の土壌微生物群集に及ぼす影響は小さいことが明らかになったため、特徴的な微生物の生息部位として、土壌表層と水稲根圏に注目して解析を行った。

落水後に採取した表層部 (深さ 0~5cm) の土壌について、細菌、糸状菌およびメタン生成古細菌群集の DGGE 解析を行い、次表層 (5~10cm) の土壌におけるパターンと比較した。有機冬期湛水区の糸状菌およびメタン生成古細菌群集の DGGE バンドパターンには表層と次表層との間で若干の違いが見られた。しかし、長期間の湛水により表層には細粒質の粘土画分が多く、次表層には粗粒質の砂画分が多くなっており、冬期湛水はこれらの土性の変化を介し、間接的に微生物群集の違いに影響を与えたと推察された。

水稲根圏については、非根圏土壌の影響を排除し、根圏微生物群集に対し水稲根が及ぼす影響をより明確化するため、有機物を分解する微生物生態系を養液中に構築する有機質肥料活用型養液栽培法を水稲栽培に適用し、水稲根圏微生物群集の解析が可能かどうかの検討を行った。その結果、本養液栽培システムによる水稲の栽培が可能であること、水稲根に付着したバイオフィルムの細菌群集は、水田圃場で生育した水稲根圏の細菌群集と比較し、DGGE バンドパターンが単純化され解析容易な群集構成であることが示された (図 3)。本システムは、有機栽培水稲の根圏微生物群集の解析のための有用なモデル系として利用できることが示唆された。

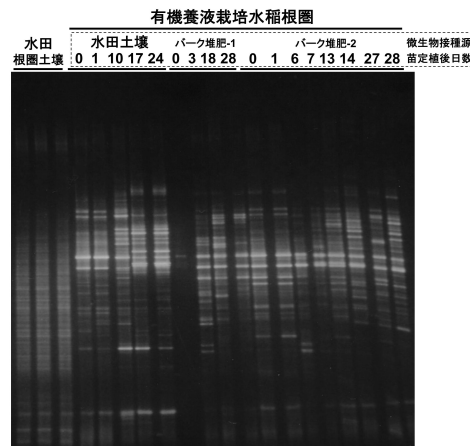


図 3. 有機養液栽培水稲根圏および水田根圏土壌の細菌群集の DGGE バンドパターン。

(4) まとめと今後の展望

有機栽培と冬期湛水は、水田作土中の土壌微生物 (細菌、糸状菌、メタン生成古細菌) の群集構成と存在量に大きな影響を及ぼさないことが明らかになった。これは、水田生態系の持続性や恒常性を土壌生物性の面から示唆している知見ではないかと考えられ、環境保全や生物多様性の保全といった水田の機能を維持するという視点からは望まし

いと評価できよう。ただし、今回の結果は開始後3年程度の試験圃場で得られたものであり、さらに長期間にわたり、影響のモニタリングを続ける必要がある。また、土壌表層や水稲根圏などの微生物の生息部位に注目することにより、今回有用性が示唆された水稲根圏微生物解析のためのモデル系も利用しながら、それぞれの部位に有機栽培で特徴的に生息する微生物群を明らかにできるのではないかと思われる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計3件)

(1) 浅川晋・渡邊健史、水田からのメタン発生とメタン生成古細菌、遺伝、査読無、67、2013、579-585.

(2) Dongyan Liu, Chika Suekuni, Kazunori Akita, Toyoaki Ito, Masanori Saito, Takeshi Watanabe, Makoto Kimura, Susumu Asakawa, Effect of winter-flooding on methanogenic archaeal community structure in paddy field under organic farming, Soil Science and Plant Nutrition, 査読有, 58, 2012, 553-561. DOI: 10.1080/00380768.2012.726598

(3) 浅川晋、酸化還元研究の新展開 -土壌の酸化還元がもたらす現象を追う- 2. 水田の湛水・落水に伴う土壌微生物群集の変化 -分子生物学的手法による解析-、日本土壌肥料学雑誌、査読有、82、2011、428-433.

[学会発表] (計14件)

(1) 赤木美咲・米田恒明・服部亜紀・篠原信・木村真人・浅川晋、有機質肥料活用型養液栽培法を用いた水稲根圏微生物群集解析の試み、日本農芸化学会2014年度大会、2014年3月30日、川崎市

(2) 山下昂平・西田瑞彦・秋田和則・伊藤豊彰・齋藤雅典・本庄弘樹・篠原信・木村真人・浅川晋、土壌微生物バイオマスに含まれる無機養分の定量と評価、日本土壌肥料学会中部支部第93回例会、2014年3月11日、名古屋市

(3) Susumu Asakawa, Chika Suekuni, Dongyan Liu, Hiroki Ishikawa, Mizuhiko Nishida, Kazunari Tsuchiya, Kazunori Akita, Toyoaki Ito, Masanori Saito, Takeshi Watanabe, Makoto Kimura, Effects of winter flooding and paddy-upland rotation on microbial communities in paddy field soil, 11th Conference of the East and Southeast Asian Federation of Soil Science, 2013年10月21~22日、ボゴール

(4) 山下昂平・本庄弘樹・西田瑞彦・木村真人・浅川晋、水田土壌におけるバイオマスKの評価、日本土壌肥料学会2013年度名古屋大会、2013年9月13日、名古屋市

(5) 赤木美咲・服部亜紀・篠原信・木村真人・浅川晋、有機質肥料活用型養液栽培を利用した水稲根圏微生物群集解析の試み、日本土壌肥料学会2013年度名古屋大会、2013年9月13日、名古屋市

(6) 李哲揆・小木曾拓也・上野千穂子・Dayéri Dianou・木村真人・浅川晋、水稲根圏土壌からの新規 TypeI メタン酸化細菌の分離、日本農芸化学会2013年度大会、2013年3月25日、仙台市

(7) 浅川晋、Organic hydroponics による水稲根圏微生物の解析の試み、日本化学会第93春季年会(2013)、2013年3月22日、草津市

(8) Susumu Asakawa, Molecular biological approach to microbial ecology: investigation of methanogens and methanotrophs in rice paddy field, International Colloquium of the West African Network on Biotechnologies (RABIOTEC), 2012年11月6~9日、ワガドゥグゥ

(9) Dayéri Dianou, Chihoko Ueno, Takuya Ogiso, Tran Van Huy, Arata Katayama, Makoto Kimura, Susumu Asakawa, Diversity of methan-oxidizing bacteria in rice paddy field ecosystem: investigation by cultivation method and fluorescence in situ hybridization, 14th International Symposium on Microbial Ecology (ISME 14), 2012年8月19~24日、コペンハーゲン

(10) 服部亜紀・篠原信・木村真人・浅川晋、有機養液栽培を利用した水稲根圏微生物群集解析の試み、日本土壌微生物学会2012年度大会、2012年6月23日、神戸市

(11) 浅川晋・末國千佳・劉冬艶・渡邊健史・木村真人・秋田和則・田島亮介・伊藤豊彰・齋藤雅典、冬期湛水・有機栽培が水田土壌の微生物群集に及ぼす影響 -細菌、糸状菌およびメタン生成古細菌群集の DGGE 解析-、日本土壌微生物学会2011年度大会、2011年11月25~26日、大崎市

(12) 末國千佳・劉冬艶・秋田和則・田島亮介・伊藤豊彰・齋藤雅典・渡邊健史・木村真人・浅川晋、冬期湛水・有機栽培が水田土壌の一般微生物群集に及ぼす影響、日本土壌肥料学会中部支部第91回例会、2011年11月10日、金沢市

(13) 劉冬艶・末國千佳・秋田和則・田島亮介・伊藤豊彰・齋藤雅典・渡邊健史・木村真人・浅川晋、Effect of winter-flooding on methanogenic archaeal community in paddy field soil、日本土壌肥料学会2011年度つくば大会、2011年8月8~10日、つくば市

[図書] (計3件)

(1) 渡邊健史・浅川晋 (分担執筆)、養賢堂、土壌微生物実験法第3版 (メタン生成菌)、2013年、375(262-268)。

(2) 浅川晋・渡邊健史 (分担執筆)、養賢堂、土壌微生物実験法第3版 (メタン酸化菌)、

2013年、375(268-273).

(3) Makoto Kimura, Susumu Asakawa (分担執筆), CRC Press, Handbook of Soil Sciences: Properties and Processes, Second Edition (Anaerobic microbially mediated processes), 2011年, 26-32~26-41 (掲載ページ) .

6. 研究組織

(1) 研究代表者

浅川 晋 (ASAKAWA SUSUMU)

名古屋大学・大学院生命農学研究科・教授
研究者番号：50335014

(2) 連携研究者

齋藤 雅典 (SAITO MASANORI)

東北大学・大学院農学研究科・教授
研究者番号：40355079