

環境保全型農法による土壌微生物群集が多摩川梨の
品質と収量に与える土壌の好条件の解明

2022年

甲斐 貴光

目次

序論	1
1. 緒言	3
2. 実験材料および方法	8
2.1 調査圃場の概要	8
2.2 土壌の化学的分析方法	10
2.3 土壌の生物的分析方法	16
3. 結果	18
3.1 環境保全型農業と慣行農業で多摩川ナシを栽培した土壌の化学性	18
3.2 環境保全型農業と慣行農業で多摩川ナシを栽培した土壌の生物性	19
4. 考察	22
5. 今後に向けての課題	24
6. 要約	25
参考文献	25
本論文に関する報告	27
謝辞	27

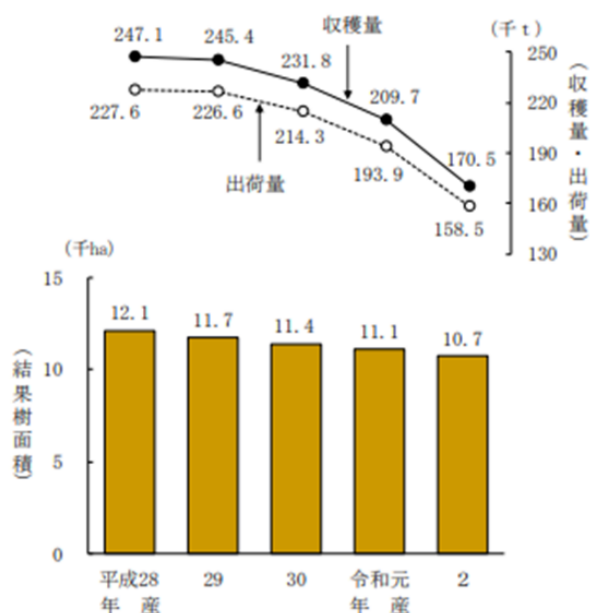
序論

ナシ（梨）は、ニホンナシ（*Pyrus pyrifolia* (Burm.f) Nakai (=P.serotina Rehder)、チュウゴクナシ（*Pyrus bretschneideri* Rehder (=P. ussuriensis Maxim.)、セイヨウナシ（*Pyrus communis* L.）の主なものとして3種類があり、食用として世界中で栽培されている（Potter et al., 2007）。日本語で単に「梨」と言うと、一般的にはこのうちのニホンナシを指し、本報告書でもニホンナシについて説明する。ナシはバラ科ナシ属の木になる果実であり、中国が原産とされ、日本の本州、四国、九州、中国や朝鮮半島、台湾島に生育する野生種ニホンヤマナシ（*Phrus pyrifolia* var. *pyrifolia*）を基本種とする栽培品種群のことである。ニホンヤマナシは、直径が2～3 cm程度と小さく、果肉が硬く味も酸っぱいため、あまり食用には向かないとされる（農文協，2000）。このニホンヤマナシは、本来日本になかった種であり、日本には弥生時代に広まったと考えられている。現在では様々な品種改良が行われており、ニホンナシの種類も数多く沖縄を除き、日本全国で栽培されている。

ニホンナシは、高さ15メートルほどの落葉高木である。葉は長さ12 cm程度の卵形で、縁に芒状の鋸歯がある。ニホンナシの花期は4月頃で、葉の展開とともに5枚の白い花弁からなる花を付ける。8月下旬から11月頃にかけて、黄褐色または黄緑色でリンゴに似た直径10～18 cm程度の球形の果実になる。果肉は白色で、甘く果汁量（水分量）が多い。ニホンナシはリンゴやカキと同様に、軸側（芯の部分）よりも尻側の方が糖度が高めの傾向にあるため甘みが強い。その一方で、軸側は酸味が強いのであまり甘くはない。シャリシャリとした独特の食感がナシの特徴であり、これは石細胞と呼ばれるものによる。石細胞とは、ペントサンやリグニンという物質が果肉に蓄積することで細胞壁が厚くなったものである。セイヨウナシは、ニホンナシと比較して石細胞の量が少ないため、セイヨウナシとニホンナシとでは食感に大きな差が生じる。

2020年産のニホンナシの結果樹面積は、1万700ha、前年産と比較して400ha減少した（図-1）。また、ニホンナシの収穫量は17万500t、出荷量は15万8,500tで、前年産と比較してそれぞれ3万9,200t、3万5,400t減少した（農林水産省，2021）。この理由のひとつとして、茨城県、栃木県及び千葉県において、開花受粉期の低温により着果数が減少したことに加えて、夏季の天候不順により生育障害（みつ症）が多発したことが挙げられる。都道府県別のニホンナシの収穫量は千葉県が全国第1位（18,200t、都道府県別収穫量に占める割合約11%）であり、東葛飾地域を中心に生産が盛んである。第2位が長野県（13,700t、同8%）、第3位が茨城県（13,500t、同8%）となっている。ニホンナシ栽培の品種をみていくと、江戸時代には栽培技術が発達し、100を超す品種がナシ園で栽培

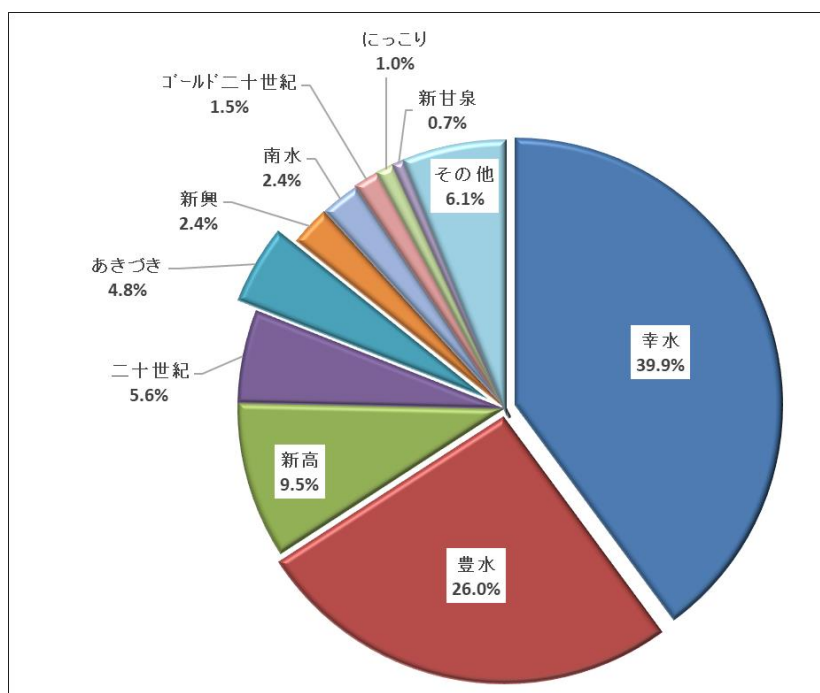
されていた。明治時代になると、現在の千葉県松戸市において二十世紀が、また神奈川県川崎市で長十郎がそれぞれ発見され、その後 20 世紀前半まで、長らくナシの代表格として盛んに生産されるようになった。しかし、太平洋戦争後の 1959 年に幸水、1965 年に新水、1972 年に豊水の 3 品種（この 3 品種をまとめて「三水」と呼ぶこともある）が登場し普及した。2018 年産のニホンナシの品種別の収穫量の全国第 1 位が幸水（約 39.9%）、第 2 位が豊水（約 26.0%）、新高（約 9.5%）第 4 位が二十世紀（約 5.6%）であり、それまで晩生種ばかりだったのニホンナシ栽培だったが、多くの早生種を含む優良品種が多数発見され、盛んに品種改良が行われた（図－2）。現在では長十郎の生産はかなり少なくなっている。



図－1 ニホンナシの結果樹面積、収穫量および出荷量の推移（農林水産省ホームページ「統計情報」（2021 年）を一部改変

1. 緒言

多摩川流域では、ナシの本格的な栽培は今から約 250 年前の江戸時代中期の寛政時代からといわれている。大正時代には多摩川流域では関東におけるニホンナシの一大産地となった(川崎市, 2017)。しかし大正末期から昭和にかけて、多摩川流域は工業都市として発展し、ナシ園は姿を消していく。そして第二次世界大戦中の影響でナシの木は伐採され、終戦後はナシ園の面積は減少した。そのため川崎市では”多摩川梨”を復興させようと 5 ヶ年計画を作成して果樹苗導入に助成をした結果、昭和 38 年には栽培面積は 125ha まで伸びた。しかし、高度経済成長により減少して、現在は中原区、高津区、宮前区、多摩区、麻生区の約 30ha で栽培されている。多摩川地域では、現在、多摩(たま)、幸水(こうすい)、清玉(せいぎょく)、二十世紀(にじゅっせいき)、豊水(ほうすい)、新高(にいたか)や、東京都のみで栽培される稲城(いなぎ)などたくさんのニホンナシの品種が栽培されている(稲城市, 2016)。多摩川梨(たまがわなし)は、神奈川県川崎市、東京都稲城市・日野市・多摩市で栽培されるナシの総称として使用されている。



図ー2 農林水産省生産局園芸作物課「平成 30 年産（2018 年産）特産果樹生産動態等調査」を一部改変

世界の食料情勢をみると、世界人口の増加、開発途上国の経済発展によって所得向上に伴う食文化の変化による畜産物等の需要増加、バイオ燃料の需要増加、

異常気象の頻発および水資源の制約による農業生産量の減少など不安定な状況にあり、将来、食料が逼迫する可能性があることが指摘されている（農林水産省、2021）。このような世界情勢の下で、日本の農業に目を向けると我が国の農業農村を取り巻く状況は、食料自給率の低迷、基幹的農業従事者の高齢化の進行や耕作放棄地の増加および農業所得の減少など様々な問題を抱えている。特に食料の安定確保、食の安全安心の確保および消費者の信頼確保に向けた取り組みは、緊喫な課題となっている。

1961 年に農業基本法が制定されてから、化学肥料や化学合成農薬の使用が推進された。そのため、多くの農作物の栽培は化学肥料や化学合成農薬が利用され、農地の単位面積当たりの収穫量を増大させることができた。化学肥料の投入は、作物の成長に必要な栄養分のみを土壌中に補給することができ、しかも化学肥料の多くは、水に溶けやすく即効性があるため、効果的な土壌への栄養分の供給が可能となった。そのため、肥料散布の労働時間の減少や、農地の単位あたりの収穫量を大幅に増大させることができた。これらのことから、化学肥料や化学合成農薬の使用によって、食料増産が可能となり、一定の成果がもたらされた。

しかしながらその反面、化学肥料の使用は、土壌の団粒構造の減少、土壌侵食、貧栄養化、土壌の硬質化による大気と土壌内とのガス・溶質移動の遮断、塩類集積による作物の生育障害といった土地生産性の低下や、化学肥料の土壌中への残留、地下水汚染、土壌中の微生物の減少といった自然環境や生態系の破壊などの問題を引き起こした。無機物である化学肥料の連用は、有機物が不足し始めるため、それを栄養源とする土壌中の微生物が減少し始める。やがては、無機物を好む嫌気性微生物が土壌中に繁殖しやすくなることから、植物は病気にかかりやすくなり、その対処のために農薬の使用を増やさざるを得なくなり、ますます土壌環境を悪化させるという悪循環に陥ってしまうことが考えられる。

また、化学肥料の原料は、尿素、リン鉱石および塩化カリのほぼ全てを輸入に頼っている。しかも、その輸入先は特定の国に依存している状況である（農林水産省、2021）。また、尿素、リン鉱石および塩化カリの輸入単価は、平成 19 年（2007 年）から平成 20 年（2008 年）にかけて原料の需給が逼迫したことから、一時的に価格が高騰した。近年の価格水準は、平成 19 年（2007 年）以前と比較して高い傾向にある。2016 年現在の世界人口は約 73 億人であり、2050 年までには約 97 億人になり、2100 年までには 100 億人を越えることが予想されている（総務省 2016）。今後も世界人口は増加することが考えられていることから、農業生産の拡大に伴い、化学肥料の需要が更に増加することが考えられる。

生産者や消費者は、食の安全安心の指向、化学肥料を不安定な輸入に頼ることや、化学肥料の高騰などから、化学肥料や農薬を使用した慣行農法に問題を提起し始めた。2006 年には有機農業推進法が成立された。これにより、生産者が有

機農業に取り組めるよう国や地方自治体に支援が義務づけられた。化学的に合成された肥料と農薬を使わず、また遺伝子組み換え技術を利用しないことを基本として、農業生産による環境負荷をできる限り減らした農業を「有機農業」と定義された（農林水産省，2021）。日本の有機農業の取り組みは広がっているものの、栽培面積は有機 JIS 認定を受けていないものを含めても約 23,700 ha である。2018 年の日本の農地面積が約 4,372,000 ha であることから、有機農業は農地全体の約 0.5%とわずかである。世界の有機農業の割合は、イタリアが 10%を超え、ドイツ約 6%、フランス約 4%、韓国約 1%となっている。このように国際的にもみても、日本の有機農業は低い水準にあり、そのため国は 2018 年度までには概ね農地面積の約 1%を有機農業による農地にする目標を設定した。生産者や消費者は、堆厩肥、緑肥等の有機質肥料を土壌へ投入による土づくりに注目し、土壌微生物を中心とした土壌生態系の保全と健全な食料生産を目指す有機農法に目を向け始め、有機農業が少しずつ広がっている。土壌中の微生物は、落ち葉、枯れ枝や樹皮、小動物の排泄物や死がいなどの有機物を餌とし、無機物に分解して生きている。また、有機物を施すことで多様な機能をもつ微生物群が増加し、単一の菌群、病原菌の増大を防ぐといわれている。植物は微生物の代謝によってもたらされた無機物を吸収することで成長し、光合成によって栄養分である有機物を合成する。土壌微生物は、このような生態系の物質循環の中心を担っている。また、有機質肥料の多くは、農産廃棄物、畜産廃棄物、林産廃棄物などの産業廃棄物である。この産業廃棄物を熟成させ、発酵させたものが有機肥料であり、ゴミの減量と併せて物質循環の促進が可能となり意義深いと考える。しかしながら、化学肥料や農薬などを使用しない有機農業にも欠点がないわけではない。それは、有機農法の土づくりは生産者である農家の長年の経験や勘に頼り、収穫量が十分に得られず安定的な生産ができない、再現性が低い等の問題である。

土壌の性質には、土壌の物理性、化学性および生物性がある。土壌の診断技術は多くの場合、土壌の化学的性質のみ行われているのが現状である。本研究では、土壌微生物の働きによって土壌中の環境を知るため、土壌中の生物的特性の把握に重点をおいた。土壌中の微生物の数は、生細胞、死細胞および鉱物粒子の識別が困難なため、正確な数字はわかっていないが、一般的には土壌 1g あたり約数十億個（cell g⁻¹）の微生物がいて考えられている（Faegri et al., 1977）。これらの土壌中の微生物の総数を測定する代表的な方法には、平板培養法と DAPI 染色による顕微鏡観察法がある。しかしながら、平板培養法と DAPI 染色による顕微鏡観察法には、次のような問題点がみられる。平板培養法では、培地成分や培養条件に適した微生物のみがコロニー形成されることや、生育の遅い微生物は生育の速い微生物から物理的・化学的な影響によりコロニー形成ができない。また土壌中の微生物を培養する場合には、培地の基質を低濃度にする事で多数

の微生物を培養できる (Hattori et al., 1980)。さらに、土壌中で死滅した菌体が活動している微生物によって、急速に分解されることが報告されている (Jenkinson, 1966)。増殖の極めて遅い微生物を培養する場合には、更に培養時間がかかる等の問題がある。このように、培養できない微生物は測定できないことや培養時間がかかることから、正確で迅速な土壌中の微生物数を示しているとはいえない。DAPI 染色による顕微鏡観察法では、土壌環境の生菌の数を正確に測定できるものの、実験作業が煩雑であるという問題点がある。

そこで、正確で迅速に土壌中の微生物の数を把握する方法として、土壌中から微生物の DNA を抽出し、この DNA 量を指標として簡便に微生物数を測定可能にし、eDNA 解析法を用いた土壌の肥沃度評価指標 (SOFIX : Soil Fertile Index) 技術がある (Aoshima et al., 2006 ; 久保ら, 2012)。この SOFIX 技術は、農家の長年の経験や勘に頼らない、有機栽培の実現を目指した科学的な土壌診断であり、有機栽培に望ましい土壌成分量とバランスを数値化する技術手法である。また、循環型農業の推進を目指した技術である。この土壌肥沃度診断 SOFIX の研究実績として、実験農地でトマトの実証実験が行われた。農家の経験や勘に頼らずに農作物の作付け前に、SOFIX 技術を用いて、土壌肥沃度を診断し、その結果に応じて投入する有機堆肥が決められた。SOFIX 診断結果から、馬糞などの堆肥で土づくりをした有機区と、慣行の化学肥料による化学区に分けてトマトが栽培された。収穫量が落ちるとされる有機栽培でも慣行の化学栽培と同程度の収穫量が確保された。その上、有機栽培のトマトの糖度が 1 度高まるなど、収穫量と生育の違いが検証され、SOFIX 診断の効果が実証された。また、イチゴ、カボチャや白菜なども SOFIX 技術の有効性が確認された。

以上のことから、本研究では土壌の肥沃度評価指標 SOFIX 技術を用いて、神奈川県川崎市、東京都稲城市・日野市・多摩市で栽培され特産品でもある多摩川梨栽培をモデルとして、有機肥料と減農薬の環境保全型農法 (資源循環型農業) と、化学肥料と農薬を使用する慣行農法 (普通栽培) の土壌肥沃度を比較検討した。ナシ栽培の野外調査は、丘陵地、谷戸地形、平坦といった様々なナシ園で実施した。一般的に土壌中の環境は、複雑な要素が組み合わされて形成されている。そのため、ナシ園の土壌環境の特徴を解明するため、土壌の物理性、化学性および生物性の分析から総合的な解析をした。特に土壌の生物性の分析では、SOFIX 技術の診断結果から、土壌肥沃度とリンゴ生育への影響を解析した。また、肥料の三大要素である窒素、リン酸、カリウムの循環系における律速物質を把握した (Horie et al., 2013 ; Matsuno et al., 2013)。無機質窒素は、農作物にとって必要不可欠である。農作物が無機態窒素を吸収・利用できるようになるには、土壌に投入された肥料 (窒素有機物) が硝酸態窒素 (NO_3^-) に分解される必要がある。土壌中に施肥されたタンパク質などの窒素有機物は、微生物によってタンパク質

→ ペプチド → アミノ酸と低分子化が進んだ後、アンモニア態窒素 (NH_4^+) → 亜硝酸態窒素 (NO_2^-) → 硝酸態窒素 (NO_3^-) と分解されることが知られている。これらの過程で、アンモニア酸化活性 ($\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NO}_2^-$)、亜硝酸酸化活性 ($\text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$) および微生物量を測定した。アンモニア酸化活性、亜硝酸酸化活性および微生物量の値から三角形のレーダーチャートで定量化し、土壌が持つ窒素有機物を硝酸態窒素に変換する力を評価した。これにより、三角形の面積が大きいほど土壌中の窒素循環が活発であることを示し、逆に三角形の面積が小さいほど微生物数が少なく、肥料の分解が進んでいないことを示した。また、リン酸も農作物にとって必要不可欠である。農作物がリン酸を吸収できるようになるには、フィチン酸 (有機態リン酸) からリン酸へ分解される必要がある (フィチン酸分解活性)。そこで、フィチン酸と呼ばれる有機態リン酸を変換する力をリン循環活性として評価した。

これらのことから、総細菌数と窒素循環活性、リン循環活性を判断し土壌環境を明らかにする判定指標とした。野外調査と室内実験から土壌環境のアプローチを実施し、論点を導き出した。2016 年から 2020 年までのニホンナシの 10 a 当たりの収量は、それぞれ約 $2,040 \text{ kg } 10\text{a}^{-1}$ 、 $2,100 \text{ kg } 10\text{a}^{-1}$ 、 $2,030 \text{ kg } 10\text{a}^{-1}$ 、 $1,890 \text{ kg } 10\text{a}^{-1}$ 、 $1,590 \text{ kg } 10\text{a}^{-1}$ であった。川崎市が目標とするナシ (幸水) の 10a 当たりの収量は、樹齢 15 年、栽植様式 10a 当たり 18~33 本で、 $3,000 \text{ kg}$ と設定されている。そのため、ニホンナシの栽培は、まだ改善の余地が残っている状況である。

我が国の食料・農林水産業は、気候変動やこれに伴う大規模自然災害、生産者の高齢化や減少等の生産基盤の脆弱化、新型コロナを契機とした生産・消費の変化への対応など大変厳しい課題に直面している。また、SDGs や環境への対応が重視されるようになり、的確に対応していく必要があること、さらには、国際的な議論の中で、新しい食料システムを提案していく必要があることから、農林水産業や地域の将来も見据えた持続可能な食料システムの構築が急務の課題となっている。このため、食料・農林水産業の生産力向上と持続性の両立をイノベーションで実現するため、「みどりの食料システム戦略」が策定された。この「みどりの食料システム戦略」では、2050 年までに目指す姿として、①農林水産業の CO_2 ゼロエミッション化の実現、②化学合成農薬の使用量をリスク換算で 50 % 低減、③化学肥料の使用量を 30 % 低減、④耕地面積に占める有機農業の取り組み面積を 25%、⑤100 万 ha に拡大などの目標が掲げられている。本研究では、これまでの知見を足掛かりとして、環境保全型農法 (資源循環型農業) と慣行農法 (普通栽培) のナシ栽培において、土壌微生物の挙動分析の解析から現在の土壌条件を解析した。最後に総括と展望では、本論文を総括し、その成果に基づいて今後の課題をまとめた。

2. 実験材料および方法

2.1 調査圃場の概要

本研究では、川崎市のナシ栽培で、自然農法（無施肥、無農薬、無耕起）、環境保全型農法（有機肥料と化学肥料の併用、減農薬）と、化学肥料と農薬を使用する慣行農法の合計 12 箇所で、礼肥（れいごえ）前の 2020 年と 2021 年の 7 月上旬～8 月下旬に土壌を採取した（表－1）。地表面から最大深度 15cm までの土壌を採取した。土壌中に含まれる石礫、落ち葉や根を除去し、2mm の篩をかけた後、土壌の化学性と生物性の分析を実施した。

川崎市の環境保全型農業推進方針では、達成すべき目標を次のとおり示している。技術目標として、①化学合成農薬の使用は慣行レベルの 70%以下、②肥料は、土壌診断結果を活用し過剰な成分を是正することにより、適正化を図る、③土づくりは、堆肥等有機質資材や緑肥作物を積極的に利用すること。また、生産目標として、収量及び品質は、慣行栽培と同等であること。

川崎市内のナシ栽培の環境保全型農法では、ナシの害虫であるナシヒメシンクイやハマキムシ、ナシの果実に被害を与えるシンクイムシ類の被害を軽減するため、雄を誘引する性フェロモンを空气中に揮散し、雌雄間の交信を攪乱させることで産卵密度を低下させる資材（コンフューザー）を活用した「性フェロモン剤の利用」が取り組まれている（写真－1）。具体的には、ナシ園内に害虫の雌の匂い（性フェロモン）を染み込ませた針金状のもの（コンフューザー）を設置して、雄が本物の雌の居場所がわからないようにして交尾を阻害し、幼虫を減らす方法である。この方法には殺虫効果はないが、害虫の発生数を減らすことができると言われている。また、効果は害虫だけに特異的に効くため、天敵など他の虫や動物に影響はないと言われている。これらのことから、化学合成農薬の散布回数を減らすことを目指している。この性フェロモン剤を利用したナシの栽培は、平成 13 年度頃から川崎市内の一部ではじまり、平成 15 年度頃から川崎市のほぼ全域に広がっている。ナシの減農薬栽培は非常に難しい技術であるが、より安全なナシを生産するため、化学合成農薬の散布回数を減らす取り組みがはじまっている。

また、ハダニの天敵であるカブリダニを増やして防除する取り組みが見られる（写真－2）。化学合成農薬の使用回数低減と労力軽減が期待される。天敵放飼資材（バンカーシート）は、害虫の天敵を増やして防除する資材であり、耐水性のある紙袋に、天敵パック製剤、産卵用のフェルト、保湿資材を入れて天敵が増殖しやすい環境を作り、ここから増殖した天敵が放出され、害虫を減少させる仕組みである。ハダニは 5 月から 10 月にかけて、気温が 25 度以上で乾燥時に大量発生しやすく被害を受けると葉がカスリ状になり、激発すると褐変または黒変して落葉してしまい、果物の生育に影響を及ぼす。また、同じ系統の農薬を使

い続けると、ハダニは薬剤抵抗性を持って、防除が難しくなるため、薬剤抵抗性の影響がない天敵資材であるバンカーシートを使って、ハダニ被害の軽減を目指す。なお、神奈川県川崎市、東京都稲城市・日野市で推奨されているナシ栽培の慣行農法における施肥基準は、10a 当たり窒素量 (N) が 9kg、リン酸量 (P_2O_5) が 6kg、カリウム量 (K_2O) が 9kg である。また、化学合成農薬の使用成分回数が 26 回を基準としている。

表－1 調査圃場地点の概要

調査地点	都道府県	市町村		栽培方法	耕地面積（㎡）
①	神奈川県	川崎市	菅稲田堤	自然	1,000
②	神奈川県	川崎市	菅仙谷	環境保全型	3,000
③	神奈川県	川崎市	中野島	環境保全型	6,800
④	神奈川県	川崎市	中野島	環境保全型	2,000
⑤	神奈川県	川崎市	中野島	環境保全型	1,000
⑥	神奈川県	川崎市	黒川	環境保全型	3,500
⑦	神奈川県	川崎市	中野島	慣行	1,000
⑧	神奈川県	川崎市	黒川	慣行	2,300
⑨	神奈川県	川崎市	黒川	慣行	700
⑩	東京都	稲城市	東長沼	慣行	1,700
⑪	東京都	稲城市	東長沼	慣行	1,000
⑫	東京都	日野市	宮	慣行	500



写真－1 性フェロモン剤の利用
果実の右側の赤い針金状のものが
コンフューザー



写真－2 天敵を利用したハダニ類の
防除技術

2.2 土壌の化学的分析方法

調査圃場で地表面から約 2～3 cm の土壌を取り除き、深さ約 15 cm までの土壌を中央と対角線の 5 箇所から均等混合し 1 検体とした。調査試料から、植物成長に関する成分として硝酸態窒素、アンモニア態窒素、水溶性リン (P_2O_5)、水溶性カリウム (K_2O) を分析した。また、物質循環に関する成分として C/N 比、C/P 比、全炭素 (TC)、全窒素 (TN)、全リン (TP)、全カリウム (TK)、pH、EC を求めた (表-2)。分析方法は、下記のとおりである。

1. 無機態窒素抽出

1-1-1 無機態窒素抽出の準備

試料約 4.0 g を 50 ml 遠心管に量り取り、実験に使用する試薬を調整した。1 M 塩化カリウム溶液 40 ml を加え、振とう (100 rpm, 60 min) した。2 ml エッペンチューブに試料溶液 1.5 ml を加え、遠心分離 (10,000 rpm, 5 min) して沈殿物を浮遊させた後、得られた上澄み 1 ml を新しい 2 ml エッペンチューブに量り取った。遠心分離 (10,000 rpm, 5 min) して浮遊物を沈殿させた。得られた上澄液を無機態窒素抽出液として、以下のアンモニア態窒素、亜硝酸態窒素、硝酸態窒素の定量に使用するため、使用分量を作製した。

1-1-2 アンモニア態窒素の定量 (インドフェノール青法)

上記 1-1-1 で調整した無機態窒素抽出液を 9-1 アンモニア態窒素の検量線に従い希釈した。希釈溶液 1.0 ml を試験管に入れ、フェノールニトロプルシッド溶液 400 μ l を加えて静かに攪拌した。次亜塩素酸ナトリウム溶液 600 μ l を加えて静かに攪拌し、静置 (25 °C, 45 min) した。吸光度 (Abs (635) nm) を測定し、アンモニア態窒素の定量を行い、9-1 アンモニア態窒素の検量線を用いて濃度を算出した。

1-1-3 亜硝酸態窒素の定量 (ナフチルエチレンジアミン法)

上記 1-1-1 で調整した無機態窒素抽出液を 9-2 アンモニア態窒素の検量線に従って希釈した。希釈溶液 1.0 ml を試験管に入れ、スルファニルアミド溶液 (ジアゾ化剤) 100 μ l を加えて攪拌し、静置 (25 °C, 3 min) した。ナフチルエチレンジアミン溶液 (カップリング剤) 100 μ l を加えて攪拌し、静置 (25 °C, 20 min) した。吸光度 (Abs(540)nm) を測定し、亜硝酸態窒素の定量を行い、9-2 アンモニア態窒素の検量線を用いて濃度を算出した。

1-1-4 硝酸態窒素の定量 (ブルシン・スルファニル酸法)

上記 1-1-1 で調整した無機態窒素抽出液を 9-3 硝酸態窒素の検量線に従って希

積した。希釈溶液 200 μl を試験管に入れ、ブルシン・4-アミノベンゼンスルホン酸溶液 100 μl を加えて攪拌した。硫酸 (H_2SO_4) 1.0 ml を加えて攪拌し、静置 (4 $^{\circ}\text{C}$, 暗所, 10 min) した。蒸留水 1.0 ml を加えて攪拌し、静置 (4 $^{\circ}\text{C}$, 暗所, 30 min) した。吸光度 (Abs(410)nm) を測定し、硝酸態窒素の定量を行い、9-3 硝酸態窒素の検量線を用いて濃度を算出した。

1-2 全窒素

1-2-1 全分解抽出液 (ケルダール全分解)

試料調整前にケルダール装置の電源を入れて温度を上げておき、試料約 0.5 g を量り取り、ケルダールチューブに入れる。試料がケルダールチューブの器壁に当たらないように注意して入れた。ただし、困難な場合は試料を薬包紙に包んでチューブに入れた。チューブに硫酸銅 5 水和物 ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 0.5 g を入れ、濃硫酸 (H_2SO_4) 5.0 ml、過酸化水素水 (H_2O_2) 5.0 ml を加えた。ケルダール装置で 420 $^{\circ}\text{C}$ 、1~1.5 hrs (全て分解するまで) 加熱し、ケルダール装置のスイッチを切り、スタンドに乗せて (加熱部から離す)、冷却した (30 min 以上置く)。ケルダールチューブに蒸留水約 50 ml を加えてチューブ内の試料を溶出させた。ろ紙 (125 mm) を乗せたロート (75 mm) を、100 ml メスフラスコにセットし、溶液をろ紙でろ過した。2~3 回蒸留水をケルダールチューブに加え、サンプルが全てろ過されるようにすすいだ。そして、蒸留水をメスフラスコに注ぎ、100 ml にメスアップした。50 ml 遠心管に 40 ml 程度分取し、全分解溶液とし、以下の全窒素の定量に用いた。

2) 全窒素の定量 (インドフェノール青法)

アンモニア態窒素の定量と同様の方法である。全分解溶液を 9-1 アンモニア態窒素の検量線に従い希釈した。希釈溶液 1.0 ml を試験管に入れ、フェノールニトロプルシッド溶液 400 μl を加えて静かに攪拌した。次亜塩素酸ナトリウム溶液 600 μl を加えて静かに攪拌し、静置 (25 $^{\circ}\text{C}$, 45 min) した。吸光度 (Abs(635) nm) を測定し、全窒素の定量を行う。9-1 アンモニア態窒素の検量線を用いて濃度を算出した。

1-3 窒素循環活性

1-3-1 土壌の準備

あらかじめ、含水率の測定をしておき、基質添加直後 (0 日目) と静置後 (3 日目) に測定した。1 試料あたり遠心管 6 本分を調製した。約 30 g (湿重量) の試料土壌に蒸留水を加えて、土壌は 60% に含水率を調整した。50 ml 遠心管 6 本に含水率を調整した試料土壌 4.0 g を量り入れた。その際、試料が器壁につかな

いように注意した。以下の対照実験（1-3-2）、アンモニア酸化活性（1-3-3）、亜硝酸酸化活性（1-3-5）に使用した。

1-3-2 対照実験の準備

1-3-1 で調製したうちの遠心管の 2 本に、蒸留水 100 μl を（対照として）添加した。このうち 1 本の遠心管は 0 日目（基質添加直後）のアンモニア態窒素および亜硝酸態窒素の定量に使用し、速やかに 1-3-4 へ進んだ。もう 1 本の遠心管は蓋をして、3 日目のアンモニア態窒素および亜硝酸態窒素の定量のために、静置（25 $^{\circ}\text{C}$, 3 days）し、1-3-4 に進んだ。

1-3-3 アンモニア酸化活性（反応）

1-3-1 で調製したうちの遠心管の 2 本に基質として 0.085 M 硫酸アンモニウム水溶液 100 μl を添加した。このうち 1 本の遠心管は 0 日目（基質添加直後）のアンモニア態窒素の定量に使用し、速やかに 1-3-4 に進んだ。もう 1 本の遠心管は蓋をして、3 日目のアンモニア態窒素の定量のために、静置（25 $^{\circ}\text{C}$, 3 days）し、1-3-4 に進んだ。

1-3-4 アンモニア酸化活性（測定）

1-3-2 の調整溶液、1-3-3 の調整溶液の遠心管に 1 M 塩化カリウム溶液 40 ml を加え、振とう（100 rpm, 60 min, 25 $^{\circ}\text{C}$ ）した。対照サンプルは 1-3-6 と同時にできる。2 ml エッペンチューブに各サンプル 1.5 ml を量り取り、遠心分離（10,000 rpm, 5 min）した。得られた上澄液 1 ml を新しい 2 ml エッペンチューブに量り取り、1-1-2 に従い、アンモニア態窒素の定量を行った。

1-3-5 亜硝酸酸化活性（反応）

1-3-1 で調製したうちの遠心管の 2 本に基質として 0.168 M 亜硝酸ナトリウム水溶液 100 μl を添加した。このうち 1 本の遠心管は 0 日目（基質添加直後）の亜硝酸態窒素の定量に使用し、速やかに 1-3-6 に進んだ。もう 1 本の遠心管は蓋をして、3 日目の亜硝酸態窒素の定量のために、静置（25 $^{\circ}\text{C}$, 3 days）し、1-3-6 に進んだ。

1-3-6 亜硝酸酸化活性（測定）

1-3-2 の調製溶液、1-3-5 の調製溶液の遠心管に 1 M 塩化カリウム溶液 40 ml を加え、振とう（100 rpm, 60 min, 25 $^{\circ}\text{C}$ ）した。対照サンプルは 1-3-4 と同時にできる。2 ml エッペンチューブに各サンプル 1.5 ml を量り取り、遠心分離（10,000 rpm, 5 min）し、得られた上澄液 1 ml を新しい 2 ml エッペンチューブ

に量り取った。1-1-3 に従い、亜硝酸態窒素の定量を行った。

窒素循環活性の原理：試料土壌の最大保水量を測定し、畑土壌は最大保水量の60%に含水率を調製後、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ （硫酸アンモニウム）あるいは $\text{NO}_2^-\text{-N}$ （亜硝酸ナトリウム）を終濃度 $60\ \mu\text{g-N/g-soil}$ となるように試料土壌に投与し、含水率一定で静置（ 25°C , 3 days）し、投与した基質の減少率から $\text{NH}_4^+\text{-N} \rightarrow \text{NO}_2^-\text{-N}$ の変換および $\text{NO}_2^-\text{-N} \rightarrow \text{NO}_3^-\text{-N}$ の変換の活性を解析した

2. リン関連分析

2-1 水溶性リン

2-1-1 水溶性溶液の抽出

試料約 1.0 g を 50 ml 遠心管に量り取った。蒸留水 20 ml を加え、振とう（100 rpm, 60 min）し、2 ml エッペンチューブに試料溶液 1.5 ml を加え、遠心分離（10,000 rpm, 5 min）した後、得られた上澄液 1 ml を新しい 2 ml エッペンチューブに量り取った。水溶性溶液抽出液として以下の水溶性リン酸の実験に使用する。以下の実験での使用量分を作製し、この溶液は水溶性カリウムの定量にも使用できる。廃液は水溶性廃液である。

2-1-2 水溶性リン酸の定量

実験に使用する試薬を調整した。エッペンチューブもしくは遠心管に、モリブデン酸アンモニウム（ $100\ \mu\text{l} \times \text{サンプル}$ ）とアスコルビン酸（ $20\ \mu\text{l} \times \text{サンプル}$ ）を加えてよく混合する。水溶性溶液抽出液 1 ml を試験管に入れ、①のモリブデン酸アンモニウム-アスコルビン酸（5:1）混合溶液 $100\ \mu\text{l}$ を添加して攪拌後、静置（ 30°C , 30 min）した。9-4 に従い、サンプルを希釈した。吸光度（Abs(710)nm）を測定し、リン酸の定量を行った。9-4 の検量線を用いて濃度を算出した。

2-2 全リン

2-2-1 全分解抽出液（ケルダール全分解）

試料調整前にケルダール装置の電源を入れて温度を上げておく。試料約 0.5 g を量り取り、ケルダールチューブに入れる。試料がケルダールチューブの器壁に当たらないように注意して入れた。チューブに硫酸銅 5 水和物（ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ）0.5 g を入れる。濃硫酸（ H_2SO_4 ）5.0 ml、過酸化水素水（ H_2O_2 ）5.0 ml を加える。ガラスピペットを使い、ケルダール装置で 420°C , 1~1.5 hrs（全て分解するまで）加熱する。ケルダール装置のスイッチを切り、スタンドに乗せて（加熱部から離す）、冷却した（30 min 以上置く）。ケルダールチューブに蒸留水約 50 ml を加えてチューブ内の試料を溶出させる。ろ紙（120 mm、No. 6）を乗せた

ロート (75 mm) を、100 ml メスフラスコにセットする。バランスが不安定なので倒れないように注意した。溶液をろ紙でろ過する。2-3 回蒸留水をケルダールチューブに加え、サンプルが全てろ過されるようにすすぐ。蒸留水をメスフラスコに注ぎ、100 ml にメスアップする。50 ml 遠心管に 40 ml 程度分取し、全分解溶液とし、以下の全カリウムの定量に用いた。この全分解溶液は、全窒素、全カリウムの定量にも使用できる。

2-2-2 全リン酸の定量

実験に使用する試薬を調整した。全分解溶液を 9-1 に従い希釈する。希釈溶液 1.0 ml を試験管に入れる。エッペンチューブもしくは遠心管に、モリブデン酸アンモニウム ($100\ \mu\text{l} \times \text{サンプル}$) とアスコルビン酸 ($20\ \mu\text{l} \times \text{サンプル}$) を加えてよく混合する。試験管に調整したモリブデン酸アンモニウム-アスコルビン酸 (5:1) 混合溶液 $100\ \mu\text{l}$ を添加し攪拌後、静置 ($30\ ^\circ\text{C}$, 30 min) する。吸光度 (Abs(710)) を測定し、リン酸の定量を行い、9-4 の検量線を用いて濃度を算出した。

2-3 リン循環活性

2-3-1 土壌の準備

基質添加直後 (0 日目) と静置後 (3 日目) に測定した。1 試料あたり遠心管 4 本分を調製した。50 ml 遠心管 4 本に試料 1.0 g を量り入れた。

2-3-2 対照実験の準備

2-3-1 で調製したうちの遠心管の 2 本に、蒸留水 $150\ \mu\text{l}$ を (対照として) 添加した。②このうち 1 本の遠心管は 0 日目 (基質添加直後) のリン酸の定量に使用し、速やかに 2-3-4 に進んだ。もう 1 本の遠心管は蓋をし、3 日目のリン酸の定量のために、静置 ($25\ ^\circ\text{C}$, 3 days) し、2-3-4 に進んだ。

2-3-3 リン循環活性 (反応)

2-3-1 で調製したうちの遠心管の 2 本に基質としてフィチン酸 ($\text{C}_6\text{H}_{18}\text{O}_{24}\text{P}_6$, 3.3 g / 30 ml, pH7.0) $150\ \mu\text{l}$ を添加する。

②このうち 1 本の遠心管は 0 日目 (基質添加直後) のリン酸の定量に使用する。→速やかに 2-3-4 に進んだ。

③もう 1 本の遠心管は蓋をして、3 日目のリン酸の定量のために、静置 ($25\ ^\circ\text{C}$, 3 days) し、2-3-4 に進んだ。

2-3-4 リン循環活性 (測定)

2-3-2 の調製溶液、2-3-3 の調整溶液の遠心管に水 20 ml を加え、振とう (100 rpm, 60 min, 30 °C) する。2 ml エッペンチューブに 1.5 ml を量り取り、遠心分離 (10,000 rpm, 5 min) し、得られた上澄液 1 ml を新しい 1.5 ml エッペンチューブに量り取った。2-1-2 に従いリン酸を測定した。9-4 の検量線を用いて濃度を算出した。

3. カリウム関連分析

3-1 水溶性カリウム

3-1-1 水溶性溶液の抽出

試料約 1.0 g を 50 ml 遠心管に量り取る。蒸留水 20 ml を加え、振とう (100 rpm, 60 min) する。2 ml エッペンチューブに試料溶液 1.5 ml を加え、遠心分離 (10,000 rpm, 5 min) した後、得られた上澄液 1 ml を新しい 2 ml エッペンチューブに量り取った。水溶性溶液抽出液として以下の水溶性カリウムの実験に使用した。以下の実験での使用量分を作製する。この溶液は水溶性リン酸の定量にも使用できる。廃液は水溶性廃液である。

3-1-2 水溶性カリウムの定量 (原子吸光光度法)

原子吸光光度計 (Z-2300, HITACHI) で測定した。9-5 に従い、サンプルを希釈する。10 ml 程度用意する。原子吸光光度計により測定する。アセチレンガスのバルブを開いて、二次圧が 0.11 MPa になっていることを確認した。エアーコンプレッサーの電源を入れた (0.8 MPa になる)。機械の電源を入れ、パソコン (以下、「PC」) の電源を入れる。PC 上の「原子吸光光度計」のソフトウェアを立ち上げる。PC 上の矢印 (→) を選択する。PC 上、分析したい成分 (K/Ca/Fe/Mn etc.) を選択する。ランプの番号と合っていることを確認する。PC 上の矢印 (→) を 2 回選択して、スタンダード (標準) を選択する。PC 上検量線を確認した後、「確定」 (小さい緑の矢印) をクリックする。

PC 上「はい」をクリックする。PC 上、結果のデータを保存するフォルダを決める。PC 上の画面左側の Ready ボタンをクリックする。水道の蛇口をひねり、水を供給する (下のホースから水が出ていれば良い)。コンプレッサーのダイヤルを S (stop) から O (open) に回して空気を供給する。PC のディスプレイが "ready" になるまで待つ。ガスをチェックして、(PC 上)「はい」をクリックする。機械本体の "FLAME" を押す (火がつくまで数分待つ。つかなければやり直す)。チューブの先をイオン交換水に浸して機械本体の "AUTO ZERO" を押す。チューブの先端をスタンダードとサンプルの入った試験管に浸し、溶液を吸水させて測定した。吸いきらないようにすばやくスタートする。9-5 の検量線を用いて濃度を算出した。

3-2 全カリウム

3-2-1 全分解抽出液（ケルダール全分解）

試料調整前にケルダール装置の電源を入れて温度を上げておく。試料約 0.5 g を量り取り、ケルダールチューブに入れる。その際、試料がケルダールチューブの器壁に当たらないように注意して入れた。チューブに硫酸銅 5 水和物 ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 0.5 g を入れ、濃硫酸 (H_2SO_4) 5.0 ml、過酸化水素水 (H_2O_2) 5.0 ml を加える。ケルダール装置で 420 °C, 1–1.5 hrs（全て分解するまで）加熱し、ケルダール装置のスイッチを切り、スタンドに乗せて（加熱部から離す）、冷却し、30 min 以上置いた。ケルダールチューブに蒸留水約 50 ml を加えてチューブ内の試料を溶出させる。ろ紙（120 mm、No.6）を載せたロート（75 mm）を、100 ml メスフラスコにセットする。溶液をろ紙でろ過する。2–3 回蒸留水をケルダールチューブに加え、サンプルが全てろ過されるようにすすぐ。蒸留水をメスフラスコに注ぎ、100 ml にメスアップし、50 ml 遠心管に 40 ml 程度分取し、全分解溶液とし、以下の全カリウムの定量に用いた。この全分解溶液は、全窒素、全リンの定量にも使用できる。

3-2-2 全カリウムの定量

全分解溶液を 9-5 に従い希釈する。希釈溶液 1.0 ml を試験管に入れ、試料溶液を原子吸光光度計で測定する。9-5 の検量線を用いて濃度を算出した。

4. 炭素関連分析

4-1 全炭素

全炭素量は、全有機体炭素系（TOC-V5000、島津製作所、京都）で定量する。PC、TOC-V および TOC 分析器（SSM-5000A、島津製作所、京都）の電源を入れる。SSM の温度が 900 °C になるまで待つ。酸素のバルブ（2 か所）を開ける。天秤にサンプルボートを載せ、土壌サンプルは 0.6～1.0 g 程度、有機資材および堆肥サンプルは 0.05～0.1 g 程度を量り取る。

5. EC、pH

50 ml 遠心管に試料 10 g を量り取り、25 ml（2.5 倍量）の蒸留水を入れる。振とう（100 rpm, 1 hr）する。浮遊物が沈殿するまで待つ。専用の機器で EC、pH をそれぞれ測定する。

2.3 土壌の生物的分析方法

調査圃場で地表面から約 2～3 cm の土壌を取り除き、深さ約 15 cm までの土

壤を中央と対角線の 5 箇所から均等混合し 1 検体とした。調査試料から、また、物質循環に関する成分として、総細菌数、アンモニア酸化活性、亜硝酸酸化活性、リン循環活性評価値を求めた（表-2）。土壌中の窒素循環は、植物成長と密接に関連している。窒素循環活性評価値は、土壌微生物による硝化や脱窒作用によるものである。土壌微生物の活性を正確に把握するため、総細菌数、亜硝酸酸化活性、アンモニア酸化活性の 3 要素から、窒素循環活性の評価図を作成した。分析方法は、下記のとおりである。

6. 総細菌数解析法（eDNA 法）

6-1 eDNA の抽出液

実験前に試薬を調整しておく。オートクレーブ滅菌（121°C, 15 min）した 50 ml 遠心管に試料 1.0 g（1.0 ml）を量り取り、DNA 抽出緩衝液を 8.0 ml、20 % ドデシル硫酸ナトリウム（SDS）溶液を 1.0 ml 加える。攪拌機に遠心管をセットし、攪拌（1,500 rpm, 20 min）する。遠心管から滅菌した 2.0 ml エッペンチューブにサンプル 1.5 ml を分取し、遠心分離（8,000 rpm, 20 °C, 10 min）する。水層を新たな有機溶媒耐性のある 1.7 ml エッペンチューブに 700 μ l 分取し、クロロホルム・イソアミルアルコール（24 : 1, v/v）を 700 μ l 加えて、緩やかによく上下に混和させて攪拌する。遠心分離（14,000 rpm, 20 °C, 10 min）する。水層を新たなエッペンドルフチューブに 500 μ l 分取し、2-プロパノールを 300 μ l 加えて緩やかに攪拌する。遠心分離（14,000 rpm, 20 °C, 20 min）する。エッペンチューブを素早く下に向けて水層を除去し、70 %（v/v）エタノールを 1.0 ml 加える。その後、遠心分離（14,000 rpm, 20 °C, 5 min）する。エッペンチューブを素早く下に向けて水層を除去し、アスピレーターで 30 min 減圧乾燥する。10 : 1 TE 緩衝液を 50 μ l 加え、乾燥したサンプルをよく懸濁・溶解させ、これを eDNA 抽出溶液とする。

6-2 eDNA の定量

eDNA 抽出溶液 5 μ l に dye 4 μ l（bromophenol blue, 3X）を混合し、全量 9 μ l をアガロースゲルにアプライする。追加のサンプルは、10 μ l（全量）をアプライする。既知量の DNA を含む smart ladder（NIPPON GENE, 富山）1.5 μ l と 10 : 1 TE 緩衝液 4.5 μ l を混合し、アガロースゲルにアプライする。アガロースゲル電気泳動を 100V で約 30 分間行った後、アガロースゲルに UV 照射を行い、KODAK 1D Image Analysis software（KODAK, USA）によってエチジウムブロマイドを標識とした DNA バンドの蛍光強度測定を行い、アガロースゲル上の DNA 量を測定する。下記の計算式によって得られた eDNA 量を、eDNA-微生物数検量線に当てはめ、微生物数に換算する。

$$\text{微生物数 (cells/ mg)} = \text{eDNA 量 (}\mu\text{g/ ml)} \times 1.70 \times 10^8 \text{ [R}^2=0.96\text{]}$$

$$\text{eDNA 量} = \text{ゲル DNA 量 (ng)} \times \frac{10 : 1\text{TE 緩衝液全量 (}\mu\text{l)}}{\text{eDNA 溶液のアプライ量 (}\mu\text{l)}} \times \frac{\text{全溶液量 (}\mu\text{l)}}{\text{分取した水層の量 (}\mu\text{l)}} \times 10^{-3}$$

表ー2 土壌の化学的分析方法

土壌の化学性	方法
1.全炭素(TC)	TOC計(燃焼触媒酸化方式)
2.全窒素(TN)	ケルダール全分解 → インドフェノール青法
3.全リン酸(TP)	ケルダール全分解 → モリブデンブルー法
4.全カリウム(TK)	ケルダール全分解 → 原子吸光光度法
5.硝酸態窒素(NO ₃ ⁻ -N)	ブルシン法
6.水溶性リン酸(SP)	モリブデンブルー法
7.水溶性カリウム(SK)	原子吸光光度法
8.pH	1:2.5 with H ₂ O

表ー3 土壌の生物的分析方法

土壌の生物性	方法
1.総細菌数	総細菌数解析法 (eDNA法)
2.窒素循環活性	総細菌数、アンモニウムイオン及び亜硝酸イオンの減少量の測定値から算出
3.リン循環活性	フィチン酸からの遊離リン酸量の測定値

3. 結果

3.1 環境保全型農業と慣行農業で多摩川ナシを栽培した土壌の化学性

表ー4 に土壌の化学性分析結果を示す。土壌の化学性において、環境保全型農業と慣行農業で栽培されたナシ畑の土壌において、どの項目も有意な差はみられなかった。環境保全型農業の一部である自然栽培では、全炭素量 (TC)、全窒素量 (TN)、全リン酸の各含量が環境保全型農業と慣行農業の土壌と比較して、小さかった。これは、自然農業を実施している生産者が約 10 年以上ナシ園に施肥をしていないことが原因として挙げられる。また、聞き取り調査か

ら自然農業の 10 a 当たりの収量は、約 500 kg 10a⁻¹ であり、環境保全型農業（約 1,500～2,000 kg 10a⁻¹）と慣行農業（約 2,000 kg 10a⁻¹）と比較して、1/3～1/4 の収量になっている。環境保全型農業の全炭素量（23,900～67,100 mg kg⁻¹）は、自然農業（19,600 mg kg⁻¹）と慣行農業（17,100～48,200 mg kg⁻¹）と比較して大きかったが、有意差が認められなかった。

表－4 土壌の化学的分析結果

No	処理区	TC (mg kg ⁻¹)	TN (mg kg ⁻¹)	TP (mg kg ⁻¹)	TK (mg kg ⁻¹)	C/N ratio	NO ₃ ⁻ -N (mg kg ⁻¹)	NH ₄ ⁺ -N (mg kg ⁻¹)	SP (mg kg ⁻¹)	SK (mg kg ⁻¹)	pH	EC (mS cm ⁻¹)
1	自然農業	19,600	2,350	2,890	15,400	8.3	0	0	2,410	819	6.3	0.08
2	環境保全型農業	63,500	9,010	9,140	3,520	7.0	488	5	5,110	2,950	5.9	1.08
3	環境保全型農業	67,100	9,240	6,930	3,590	7.3	685	5	4,410	2,690	5.5	1.80
4	環境保全型農業	31,300	3,800	3,430	9,380	8.2	100	3	1,210	746	5.9	0.57
5	環境保全型農業	23,900	6,550	3,140	24,800	3.6	0	1	1,120	1,240	6.0	0.08
6	環境保全型農業	35,600	3,700	3,400	3,950	9.6	29	0	1,107	1,178	5.9	0.20
7	慣行農業	31,900	3,670	3,780	6,410	8.7	8	1	1,510	2,000	6.1	0.18
8	慣行農業	48,200	5,570	5,470	5,570	8.7	72	2	3,290	5,400	6.3	0.46
9	慣行農業	17,100	2,460	4,550	6,280	7.0	16	7	1,090	1,380	4.5	0.18
10	慣行農業	44,900	6,840	5,090	6,020	6.6	99	2	3,360	4,440	6.2	0.58
11	慣行農業	17,400	2,510	3,000	37,500	6.9	14	0	1,120	1,270	6.6	0.11
12	慣行農業	23,200	2,610	5,180	5,830	8.9	0	0	1,350	1,500	4.2	0.25

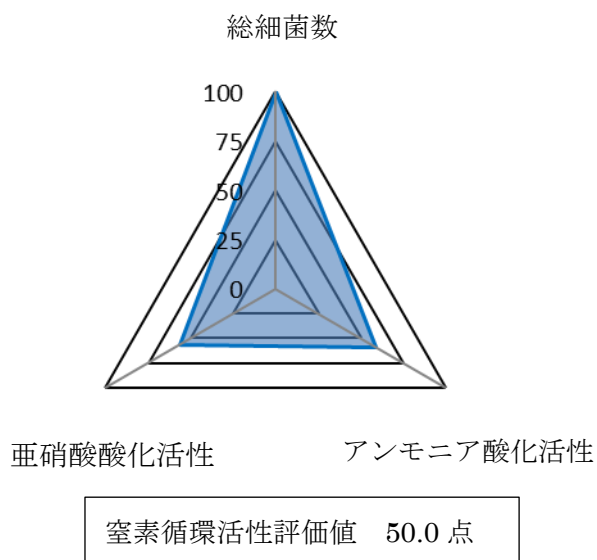
3.2 環境保全型農業と慣行農業で多摩川ナシを栽培した土壌の生物性

表－5 に総細菌数、窒素循環活性評価値およびリン循環活性評価値を示す。土壌の生物性においては、環境保全型農業で栽培された土壌の総細菌数（5.1～18.6 億個 g⁻¹）と窒素循環活性評価値（15～81 点）が、慣行農業の総細菌数（2.4～3.9 億個 g⁻¹）と窒素循環活性評価値（15～32 点）と比較して、有意に大きかった。これは、土壌微生物の餌となる有機資材（牛糞や堆肥）や堆肥（米ぬか）を投入していることから、土壌中の総細菌数が多いと考えられる。また、窒素循環活性においても、総細菌数が多いことから土壌中の窒素循環が慣行農業よりも活発であることが考えられる。自然農業（No.1）の化学的分析結果では、各肥料成分の含量は少なかったが、その一方で、総細菌数は 16.9 億個 g⁻¹、窒素循環活性評価値が 50.0 点、リン循環活性評価値が 26.0 点で慣行農業と比較して大きかった。これは、慣行農業でみられるような化学合成農薬の標準的な使用成分回数の散布や、減農薬といえども環境保全型農業でみられる化学合成農薬の散布が全くないことから、土壌微生物が死滅せずに多く生存していることが考えられる。図－3、図－4、図－5 に自然農業（No.1）、環境保全型農業（No.2～No.6）、慣行農業（No.7～No.12）の平均化した窒素循環活性評価値のレーダーチャートを示す。自然農業（50.0 点）≧環境保全型農業

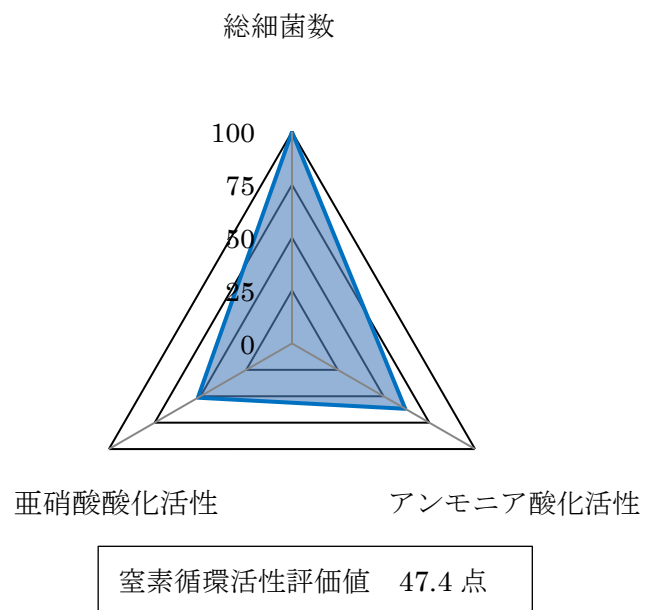
(47.4 点) ≥ 慣行農業 (23.4 点) であった。

表一5 総細菌数、窒素循環活性およびリン循環活性

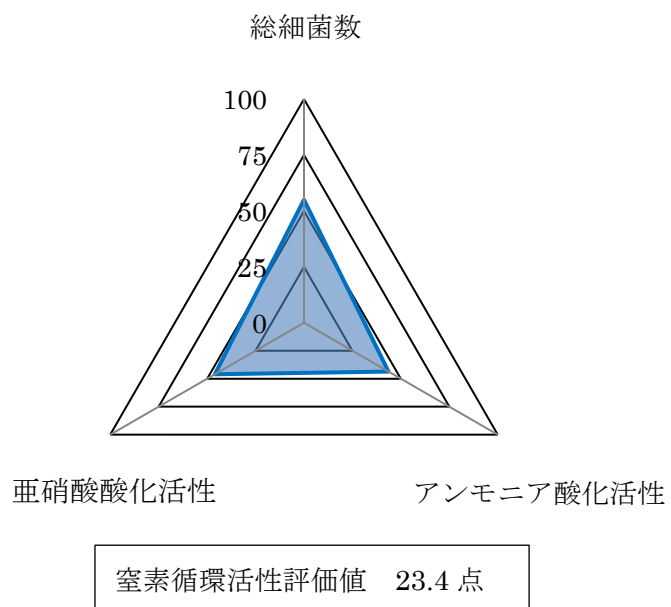
No	処理区	総細菌数 ($\times 10^4$ 個 g^{-1})	アンモニア酸化活 性 (点)	亜硝酸酸化活 性 (点)	窒素循環活性評 価値 (点)	リン循環活性評 価値 (点)
1	自然農業	16.9	59	56	50	26
2	環境保全型農業	14.2	100	31	54	9
3	環境保全型農業	17.7	73	0	24	7
4	環境保全型農業	5.1	18	27	15	7
5	環境保全型農業	6.1	23	100	48	29
6	環境保全型農業	18.6	100	72	81	9
7	慣行農業	17.0	60	74	60	13
8	慣行農業	3.4	81	14	22	22
9	慣行農業	3.3	0	94	31	11
10	慣行農業	2.4	81	10	15	21
11	慣行農業	3.5	56	16	17	39
12	慣行農業	3.9	0	96	32	20



図一3 窒素循環活性評価値のレーダーチャート（自然農業）



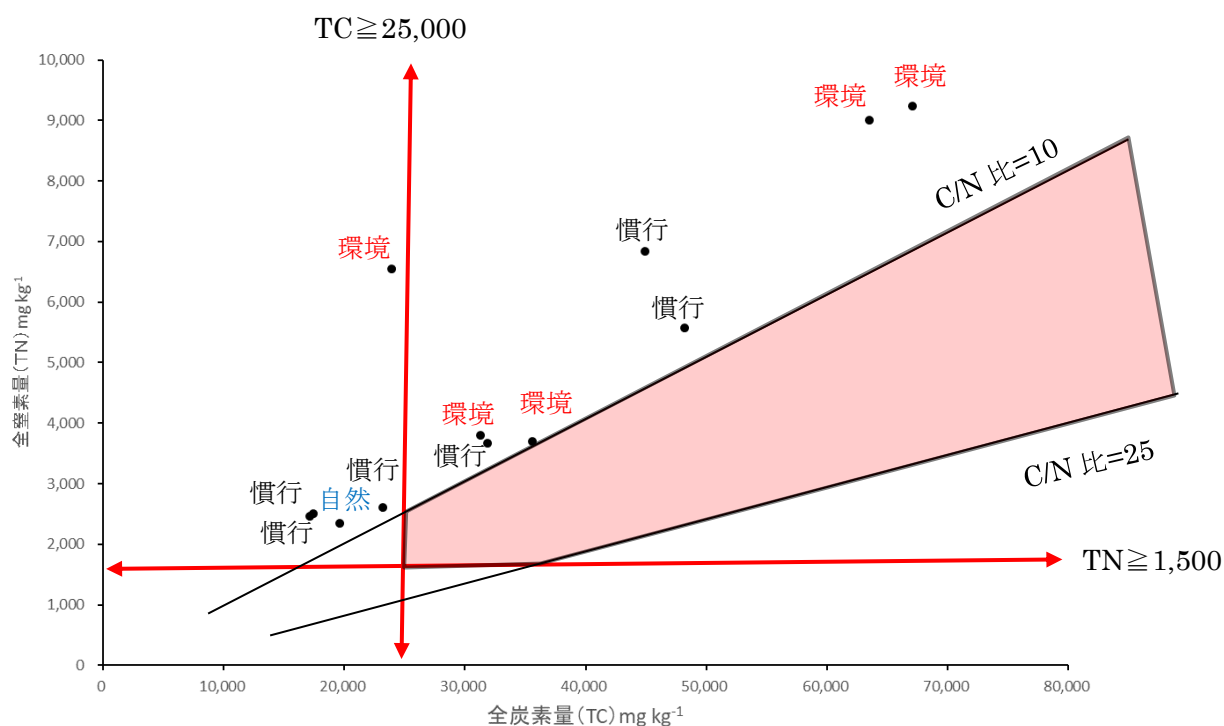
図ー4 窒素循環活性評価値のレーダーチャート（環境保全型農業）
ただし、自然農業の圃場を除く



図ー5 窒素循環活性評価値のレーダーチャート（慣行農業）

4. 考察

図－6 は、全窒素量（TC）と全炭素量（TN）の関係を示した図である。（久保ら、2017）によると、リンゴ畑における土壌の TC と TN の含量、および C/N 比が、それぞれ $TC \geq 25,000 \text{ mg kg}^{-1}$ 、 $TN \geq 1,500 \text{ mg kg}^{-1}$ 、C/N 比：10-25 の時に、もっとも土壌微生物が活発化すると報告されている。本研究においては、自然農業、環境保全型農業と慣行農業で、全窒素量（TN）については、すべて推奨値を充たしているが、全炭素量（TC）については推奨値を充たしている、充たしていないに分かれた。また、TC と TN の推奨値を充たしていても C/N 比 10-25 を充たしていないため、土壌微生物が活発化する範囲（赤い範囲）には入っていなかった。



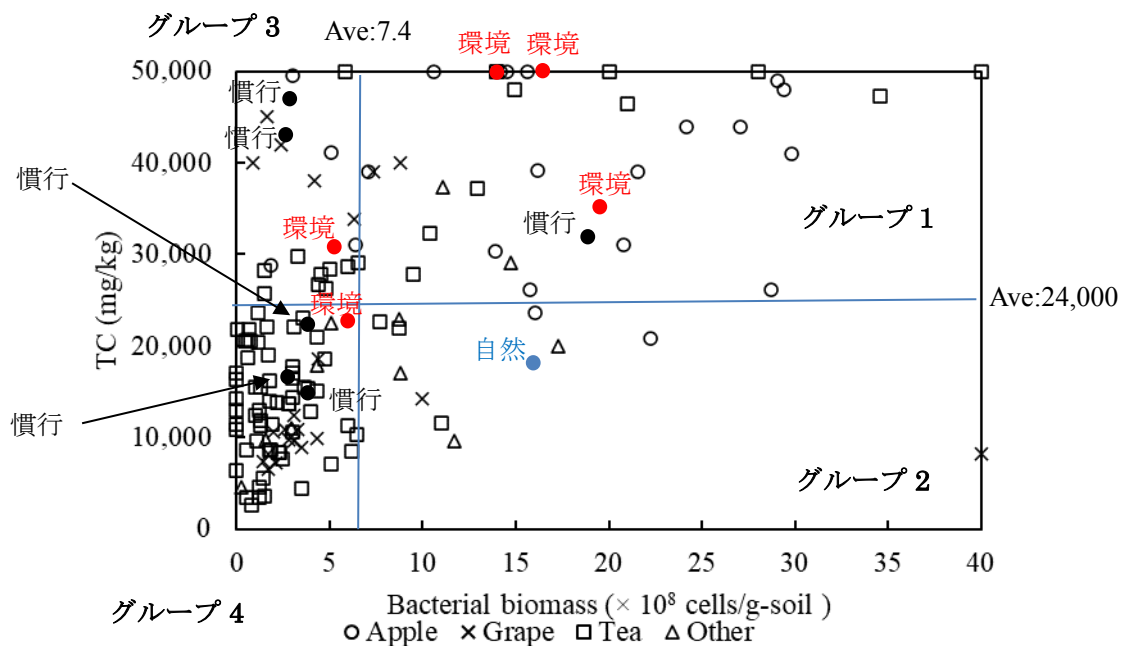
図－6 TC と TN の関係

さらに樹園地の特徴を知るため、平均値（総細菌数：7.4 億個 g^{-1} ）、全炭素量（ $24,000 \text{ mg kg}^{-1}$ ）で 4 つのグループに分けて解析した。まずグループ 1 は、総細菌数が高く炭素量が多い土壌である。堆肥などの有機物が理想的に施肥されていて、化学合成農薬など微生物を脅かすものがない圃場である。これに対して、グループ 2 は、総細菌数が高く炭素量が高い土壌である。主に科学肥料などを使用しており、有機肥料の使用が少ないが、化学合成農薬などの使用も

少ない土壌である。さらに開発されたばかりの樹園地や、あまり施肥の必要が無い整った圃場なども含まれる。

グループ3は、炭素量は高いが、総細菌数が低い土壌である。有機物を投入しているが、その施肥が適切でないことにより微生物が少ない、もしくは化学合成農薬などの使用により微生物が死滅していることが考えられる。このような樹園地では、いくら堆肥を投入しても微生物による有機物の分解がなかなか進まないの、有機物が作物の使える養分となっていない。最後にグループ4は、総細菌数と有機物がともに低い土壌である。このグループの樹園地では、主に化学肥料を使用し、かつ土壌燻蒸のような微生物に直接影響する化学合成農薬などを使用していることが考えられる。特に微生物が検出されないところでは、長期にわたり化学肥料や化学合成農薬を連用している可能性が高い。

樹園地では、炭素量が多い傾向にある。これは、水田や畑地では、定期的に農作物を収穫し、植物体を農地から取り除くのに対して、樹園地では、摘果や樹木の葉が落葉し、土壌に堆積するためである。今回の調査圃場では、自然再農業がグループ2（1箇所）であった。環境保全型農業がグループ1（3箇所）、グループ3（1箇所）、グループ4（1箇所）であり、未だナシ栽培の環境保全型農業（資源循環型農業）は確立されていないと言える。また慣行農業がグループ1（1箇所）、グループ3（2箇所）、グループ4（3箇所）であったことから、収量は得られても土壌微生物が少ない土壌環境であることがわかった。今後、SDGs、みどりの食料システム戦略といった環境を重視する国内外の動きが加速していくと見込まれ、持続可能な食料供給システムを構築し、国内外を主導していくことが急務となると考える。そのためにも持続可能な食料供給システムである有機農業や環境保全型農業に近づける農法の確立が必要である。



図ー7 総細菌数と全炭素量の関係

5. 今後に向けての課題

今回の調査圃場では、全炭素量（TC）が $\geq 25,000 \text{ mg kg}^{-1}$ 、全窒素量（TN）が $\geq 1,500 \text{ mg kg}^{-1}$ 、CN比が10～25の土壤環境がみられなかった。今後、ナシ栽培の環境保全型農業を持続するには、有機物を分解する土壤微生物が鍵を握ると考えられる。また、土壤微生物の数、窒素循環活性評価、リン循環活性評価は必要不可欠である。そのため、ナシ栽培の収穫終了後に土壤分析を行い、その結果、足りない肥料成分をどの程度堆肥や有機資材で投入することが必要かを把握しながら投入する「科学的で有機的な土づくり」を行っていくことが大切である。そうすることで、再現性の高いナシの環境保全型農業（資源循環型農業）を実施することができると考える。

また、ナシ園では耕起の頻度が少ないこと、栽培期間中にスピードスプレヤーによる薬剤防除を月に数回行うため、土壤が圧密を受ける機会が多いことが考えられる。大気と土壤中の疎通がなくなると、土壤微生物に必要な酸素の供給が滞ることが考えられる。そのため、土壤中の微生物が増えずに、微生物に多様性がなくなることが考えられる。

さらに、ナシ栽培の天敵利用は、天敵の使用タイミングが難しいことや併用可能な化学合成農薬に限られることが課題として挙げられる。実証試験として、ハ

ダニの天敵の効果が本当に得られているのか、バンカーシートを取り付けていないナシ園と比較した。現時点では、両果樹園ともにハダニの発生は見られないが、今後、梅雨明けから徐々にハダニが増えると推測されるため、どのような効果が得られるのか、検証を続けたい。

持続可能な食料供給システムである有機農業や環境保全型農業において、根圏環境が最も重要な部分であるにもかかわらず、十分なデータの蓄積や知見がない部分でもある。今後は、光合成など物質生産的なアプローチと組み合わせ、生産性向上を目指したい。また、土壌分析を反映した肥培管理技術を確立して、根圏環境の最適化を目指したい。

6. 要約

- ① 環境保全型農業でナシを栽培した土壌は、慣行農業と比較して総細菌数が多く、窒素循環活性が活発であることがわかった。
- ② 環境保全型農業と慣行農業でナシを栽培した土壌は、いずれも全炭素量（TC）と全窒素量（TN）の値が推奨値の範囲外であった。特に環境保全型農業では、ナシ園によって土壌の化学性（無機態成分）に大きな差が見られた。これらのことは、環境保全型農業を実施するナシ栽培の生産者が経験と勘に頼っていることが想定され、再現性の乏しい農業形態であることが想定される。そのため、ナシ栽培の収穫終了後に土壌分析を行い、その結果、足りない肥料分を投入することで再現性の高いナシの環境保全型農業を実施できると考える。

参考文献

- Aoshima, H., Kimura, A., Shibutani, A., Okada, C., Matsumiya, Y. and Kubo, M. (2006) Evaluation of Soil Bacterial Biomass Using Environmental DNA Extracted by Slow-Stirring Method, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 71, 875–880.
- Faegri A., Torsvik V., Goksoyr J. (1977) Bacterial and fungal activities in soil: Separation of bacteria and fungi by a rapid fractionated centrifugation technique, *Soil Biology and Biochemistry*, 9, 105-112.
- Hattori, R. and Hattori, T. (1980) Sensitivity to salts and organic compounds of soil bacteria isolated on diluted media, *J. Gen. Appl. Microbiology*, 26, 1-14
- Horii, S., Matsuno, T., Tagomori, J., Mukai, M., Adhikari, D. and Kubo, M. (2013)

Isolation and Identification of Phytate-Degrading Bacteria and Their Contribution to Phytate Mineralization in Soil, *The Journal of General and Applied Microbiology*, 59, 353–360.

Jenkinson, D.S. (1966) Studies on the decomposition of plant material in soil, II. Partial sterilization of soil and the soil biomass, *J. Soil Science*, 17, 280-302.

Kai, T., Kubo, M. (2020) Chemical and Biological Properties of Apple Orchard Soils under Natural, Organic, Hybrid, and Conventional Farming Methods, *Journal of Agricultural Chemistry and Environment*, 9, 134-146.

Matsuno, T., Horii, S., Sato, T., Matsumiya, Y. and Kubo, M. (2013) Analysis of Nitrification in Agricultural Soil and Improvement of Nitrogen Circulation with Autotrophic Ammonia-Oxidizing Bacteria, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 169, 795–809.

Pholkaw, P., Tran, T.Q., Kai, T., Kawagoe, T., Kubota, T., Araki, S.K., Kubo M. (2020) Characterization of Orchard Fields Based on Soil Fertility Index (SOFIX), *Journal of Agricultural Chemistry and Environment*, 9, 159-176.

Potter, D., T. Eriksson, R. C. Evans, S.-H. Oh, J. E. E. Smedmark, D.R. Morgan, M. S. Kerr and C. S. Campbell. (2007) Phylogeny and classification of Rosaceae, *Plant Systematics and Evolution*, **266**: 5-43.

稲城市（2021）稲城市の特産品「梨」，稲城市ホームページ，2021年4月12日閲覧

川崎市（2017）ナシの話，川崎市ホームページ，2017年5月2日閲覧.

久保幹，森崎久雄，久保田謙三，今中忠行（2012）環境微生物学，化学同人，2-164.

総務省統計局（2016）世界の統計 2016.

農文協（2000）果樹園芸大百科 4 ナシ編，農山漁村文化協会，1-1021.

農林水産省（2021）令和 2 年産日本ナシ・ぶどうの結果樹面積，収穫量及び出荷量，農林水産省統計情報ホームページ，2021 年 2 月 18 日閲覧.

農林水産省 (2021) 令和 2 年版食料・農業・農村白書.

本論文に関する報告

令和 3 年 12 月 18 日(土)、川崎市麻生区の黒川公会堂にて、ナシ生産者へこれまでの研究成果を発表した。

謝辞

本研究の遂行にあたり、快く実験に参加頂いた生産者の皆様に感謝いたします。本論文の作成にあたり、公益財団法人東急財団から研究費を助成して頂き、ご指導ご鞭撻を賜りました。厚く御礼申し上げます。最後に、私の仕事に理解を示してくれて、忍耐強く、かつ温かく見守り支えてくれた妻と子供達に、心から感謝を捧げます。

環境保全型農法による土壌微生物群集が多摩川梨の
品質と収量に与える土壌の好条件の解明

(研究助成・学術研究 VOL. 51—NO. 366)

著 者 甲斐 貴光

明治大学黒川農場・特任講師(採択当時)

発行日 2022年10月

発行者 公益財団法人 東急財団

〒 150-8511

東京都渋谷区南平台町5番6号

TEL (03) 3477-6301

<http://foundation.tokyu.co.jp>