

博士論文

自然栽培水田における
窒素循環と収量成立機構

Nitrogen cycling and yield determination mechanism
in no-input paddy fields

岩手大学大学院連合農学研究科

寒冷圏生命システム学専攻

2017年3月

細谷啓太

目次

第一章 背景と目的	1
1-1 近代農業の課題.....	1
1-2 自然栽培の意義と可能性.....	2
1-3 自然栽培稲作の課題.....	4
1-4 作物生産における窒素の重要性.....	6
1-5 水田における窒素循環.....	7
1-6 本研究の目的.....	9
第二章 自然栽培水田における収量の地域間変異とその寄与要因	15
2-1 緒言.....	15
2-2 実験方法.....	16
1) 聞き取り調査と調査水田の選定.....	17
2) 収量と収量構成要素.....	17
3) 土壌の化学分析および雑草発生量の調査.....	17
4) 窒素無機化力.....	18
5) 気象要因の解析.....	18
6) 移植日を変えたポット栽培試験.....	18
2-3 結果と考察.....	19
1) 農家自然栽培水田の収量性の実態と収量形成要因.....	19
2) 穂数に寄与する栄養成長期の諸要因.....	21
3) 気温がイネの分けつ生長に及ぼす効果.....	22
第三章 自然栽培水田における雑草群集構造と収量への影響	39
3-1 緒言.....	39
3-2 実験方法.....	40
1) 調査水田.....	40
2) 雑草群集の解析.....	41
3) 環境要因.....	42
4) 統計解析.....	42
3-3 結果と考察.....	42
1) 自然栽培水田の雑草群集構造.....	42
2) 雑草種と環境要因.....	44
3) イネ減収におよぼす雑草種の影響.....	44

第四章	窒素収支からみる自然栽培水田の高収量成立原理	54
4-1	緒言	54
4-2	実験方法	56
	1) 調査地およびサンプリング方法	56
	2) 植物体の元素分析	56
	3) 土壌の化学分析	57
	4) 稲藁分解試験	57
4-3	結果と考察	58
	1) イネの養分吸収量の推移	58
	2) 雑草の養分吸収量の推移	59
	3) 土壌の養分供給力	60
	4) 稲藁の分解にともなう窒素富化	60
	5) 高収自然栽培水田の窒素収支	62
第五章	自然栽培水田における生物的窒素固定の活性化	76
5-1	緒言	76
5-2	実験方法	79
	1) 自然栽培水田と慣行栽培水田のイネ根内細菌群集構造のメタゲノム解析	79
	2) 自然栽培水田と慣行栽培水田の窒素固定能の比較	80
	3) 室内培養実験による土壌窒素固定活性の比較	80
4-3	結果と考察	81
	1) イネの生長	81
	2) イネ根内の共生細菌微群集構造	81
	3) 水田土壌のアセチレン還元活性	82
	4) アセチレン還元活性と窒素固定細菌の関係	83
	5) 窒素固定活性を促進させる環境要因	83
第六章	総合考察	100
6-1	研究目的と概要	100
6-2	自然栽培水田において地域間で収量差が生じやすい理由	100
6-3	自然栽培水田で低収をもたらす雑草種	102
6-4	自然栽培水田において低収を打破するために	104
6-5	自然栽培水田における高収量成立の条件	107
6-6	なぜ自然栽培で高い生産性が維持するのか	108
6-7	今後の研究課題	110

摘要.....	112
Summary	115
参考文献.....	118
謝辞.....	128

第一章 背景と目的

1-1 近代農業の課題

近年、農業を巡る状況は社会や環境の急速な変化にともなって大きく変わりつつある。世界的にみると、発展途上国の経済発展・肉食増加・人口増加に伴って穀物需要が増大しており（農林水産政策研究所，2016）、先進諸国は大資本を背景とした大規模集約化によって単収の最大化を図っている。しかし一方で、近年 50 年では異常気象の頻度が増加しており、それが原因で穀物生産量は年間平均で 9～10%と大きく減少してもいる（Lesk *et al.*，2016）。穀物需要の増加や不安定な気象条件は今後も継続すると考えられることから、新しい食糧需給システムの再構築が迫られている。また、そもそも異常気象は温暖化に大きく由来しており、農地から放出される CH₄ や N₂O 等のガスは、人為的な温室効果ガス発生量全体の 13.5%を占めると指摘されてもいることから（IPCC，2007）、環境低負荷な農業システムの開発が世界的な課題ともなっている。特に米は、世界の主要穀物の一つであり、生産面積の 90%がアジアに集中していることから（Toriyama *et al.*，2005）、アジアにおいて環境低負荷な水稻生産システムを開発する意義は大きい。

一方で国内に目を向けると、日本は 1962 年には年間 1 人当たり 118kg の米を消費する世界でも有数の米消費大国の一つだったが、戦後の食文化の多様化によって 2013 年には 57kg にまで米消費量は半減し（農林水産省，2015）、その結果米価の下落は進み日本農業の主幹だった水稻農家の収入は大幅に減少している。この問題は、農業従事者の高齢化・後継者不足の問題をより深刻にしている。加えて、日本に比べ農家一戸当たりの農地面積が極めて大きい農業大国はスケールメリットを活かした大規模効率化を進めることで米の低価格化を実現しており、2016 年現在では 778%に設定されている米への関税が撤廃された場合、補助金に

よる保護政策で支えられている水稻農家は壊滅的な被害を受けることが予想される。このような状況の中で、国内では生産コストを下げるための規模拡大や集約化、海外の富裕者をターゲットにした高品質米の販売戦略、あるいは安心・安全な食を確保するための新しいネットワーク作りに活路を見出そうとする動きが見られている。特に環境保全や健康への意識向上が高まっている世界的な潮流の中で、有機農業を始めとする自然調和型の農業にも関心が集まり始め、政府も2006年に有機農業推進法を制定し認証制度を設けるなど、生産者数と生産量の増大を図ってきた。しかし現時点では、技術的ハードルが高いことや販路確保の困難さが普及のネックとなっており、有機農業の面積、農家数は農業全体に対し0.4%、0.5%と他の有機農業先進国に比べ普及が進んでいるとは言えない（農林水産省、2016）。したがって消費者・生産者の潜在的な関心はあるものの、有機農業等の環境低負荷な農業は現時点では慣行栽培を代替する役割を十分に果たせていない、というのが現状である。

1-2 自然栽培の意義と可能性

1-1 で示したように、化学肥料や合成農薬の使用が農業の前提となっている現代では、既に生産・流通・消費システムが近代農業の特性に合わせて整備されており、環境低負荷な新しい農業が割って入りシェアを高めてゆくには困難さを伴う。しかし一方では、化学肥料や農薬を使用した一般栽培で十分な収益を出せる稲作農家が日本国内で極めて少数になっていること、また世界的に環境低負荷な農業システムの確立が課題となっていることも事実である。そうした歴史的経緯の中で、近年「自然栽培」と呼ばれる栽培方法に注目が集まる新しい流れがある。

自然栽培とは、1988年に初めて無肥料・無農薬・無除草剤によるリンゴ栽培に成功した木村秋則氏によって提唱された無肥料・無農薬・無除草剤による栽培方法である。有機栽培のような法的な定義は確立されていないが、「外部から化学肥

料、合成農薬、除草剤などの資材を投入せず、自然が持っている力を最大限引き出して栽培を行う農業が自然栽培」と定義されている(木村興農社ホームページ, 2016)。しかし、水稻の自然栽培では、刈株以外をすべて圃場外に搬出する有機物還元量が極めて少量の栽培から、圃場内で生産された作物残渣や雑草枯死体を積極的に圃場へ還元を行う栽培まで、有機物の投入に関して異なる方法が提唱されている。外部資材を投入しないという点においては、岡田茂吉氏や福岡正信氏らが提唱した自然農法とも類似するが、自然栽培では「作物が生育しやすい環境を整える」という観点から、施肥や農薬散布以外の農業管理を積極的に行ってゆく点で特徴があり、農地や作物の特性に合わせて栽培法を変えてゆくべきと考える柔軟性にも大きな特徴がある(図 1.1)。自然栽培に転換してから何年目で自然栽培と定義できるのか等の、栽培方法の定義には様々な議論が必要だが、注目されるべきは自然の生態系を最大限利用し、外部資材に依存せず生産性を高めようというアプローチ自体にある。このアプローチは、自然栽培のみならず、省資源が求められているあらゆる栽培方法において応用可能な視点であると考えられる。

自然栽培の栽培原理は当初は話題となったリンゴ栽培で特に注目されたが、現在では他の作物にも応用され、リンゴ以外の果樹品目、野菜、水稻とほとんどの作物種に及んでいる。特に比較的栽培技術のハードルが低かった水稻栽培では急速に技術確立が進み、「水稻栽培マニュアル」がJAや市レベルで作製される段階にまで至っている(羽咋市, 2012)。肥料・農薬の生産コストがかからないが食味が高く、自然栽培をPRする木村氏の認知度も高いことから買い取り価格も一般栽培の2~3倍と高く、安定して一定収量を得ることが出来れば十分に収益を上げることが可能である。若い技術であるため地域内で理解が得られるまで時間を要する等の諸々の問題もあるが、こうした肥料や農薬に拠らず食料需給システムを構築しようという動きが現場レベルから勃興してきたことは、日本国内のみな

らず、環境低負荷な農業の確立が喫緊の課題となっている世界に対しても大きな示唆を与えるものと思われる。また、主に欧州で発展してきた有機農業は外部から有機資材を投入することで生産性を高めてきたが、自然栽培はむしろ外部資材を投入しないことで生態系機能を高め、生産性向上につなげるという大きく異なった考え方をもっている。この独自性の強い考え方・栽培アプローチは、環境負荷を飛躍的に低減させることのみならず、市場における農産物への高い付加価値の付与にもつながり、近年日本農業が目標としている高い国際競争力をもった農作物の生産拡大、という方向性とも合致している。

1-3 自然栽培稲作の課題

1-2 で述べたように、自然栽培のアプローチは国内・国外の農業が抱える問題に対して解決策としての大きな可能性を示す栽培方法であるが、他の作物種に比べマニュアル化が進み、栽培の要点が絞られてきた稲作においてもまだ解決すべき問題は多い。

最も大きな課題は、多くの自然栽培稲作農家に見られる低い収量性である。自然栽培では作物が低窒素条件で栽培されることが多く農産物中の硝酸態窒素含量が低い傾向にあり（杉山, 2015）、あっさりとした良食味である場合が多いと経験的に知られているが、収量性においては様々な情報が溢れており客観的な評価がほとんど見当たらない。特に生産現場レベルでは、慣行栽培に対し十分な収穫量を得られないと考える向きが強く、また実際に著しい雑草の繁茂や極めて低収の水田もみられることから、「奇跡のリンゴ」ブームにより一般市民に広く知られるようになった「自然栽培」のイメージが、却って一般生産者や学識者の反感を煽る結果ともなっている（農業経営者, 2010, 2013）。特に、安定した農業経営を行う上で収量性は極めて重要な指標だが、一般に自然栽培稲作ではどの程度の収量が見込め、どのように収量向上を目指してゆくべきかの具体的な指針がないこと

は、自然栽培に関心のある生産者にとっても大きな不安要素であり、また自然栽培に疑念をもっている農業関係者との議論材料の不足を招いている。

これまで、自然栽培水田に該当する無施肥・無農薬水田の収量性に関する研究では、京都大学と近畿大学のグループが滋賀県栗東市の長期無施肥・無農薬水田を対象に行ったものが最も詳細に解析されている。この当該水田では、刈株以外の作物残渣および雑草もすべて系外に搬出する栽培管理が 1951 年以来厳格に続けられてきた（奥村，1988）。栽培開始当初は、200kg/10a の低収で推移したが、徐々に増加し、1975 年から 1998 年に行われた収量調査では 400kg/10a 程度の収量が安定的に得られている（Okumura, 2002）。この水田のイネの生育パターンには慣行水田と比べ特徴があり、生育初期は生長が緩慢だが、後期に葉の窒素含有率および籾/わら比が向上する後期生育型を示し、吸収窒素の玄米生産効率が約 50%も向上していた。この要因としては、1) 高い平均地温、2) 土壌特性として窒素無機化が後期にかけて指数関数的に増加を示すこと、3) 灌漑水のかけ流しによって常時供給されるアンモニア態窒素がプライミング効果を誘引して土壌中窒素の無機化を促進していることが示唆されており、これらの要因がイネの秋勝り的な生育を助長していると考えられた。

またこの滋賀県栗東市の水田の報告のみならず、東北地方の生産現場でも自然栽培ながら 420kg~480kg/10a の収量が安定的に達成されており、農業経営にも成功している水田も散見されている。特に本研究で注目した宮城県涌谷町K氏の水田では、30年に渡り無肥料・無農薬栽培を継続しているが近隣の慣行栽培収量に匹敵する 480kg/10a の収量を毎年安定的に生産している。したがって、自然栽培稲作で低収水田が多く見受けられることも確かではあるが、自然栽培＝低収量という図式は必ずしも当てはまらない。これらの実例は、何らかの条件下では自然栽培でも高い収量も安定的に得ることが可能であることを示しているが、これ

まで異なるバックグラウンドをもつ様々な多数の水田についての調査は行われてこなかったため、自然栽培水田の収量性を決定している一般的な要因については不明だった。これに加え、なぜ長期的に外部から栄養塩を投入していないのに高い生産性が維持されているのか、という栄養塩のミッシングリンクの謎についても、可能性は指摘されてきたものの詳細は不明だった。

これらの謎を解明することは、自然栽培稲作に取り組もうとする生産現場に客観的な情報を提供する意義のみならず、地力窒素発現の最大化と省資源化を目指す農学および一般的な栽培方法に対しても、重要な示唆を与えるものと考えられる。

1-4 作物生産における窒素の重要性

作物生産において窒素は、生産および環境レベルにおいて最も重要視される元素である。イネは生育過程において窒素、リン酸、イオウ、カリウム、石灰、カルシウム、ケイ酸、鉄、マンガン、ホウ素など様々な元素を吸収するが、出穂期までにはほぼ吸収を完了する窒素は幼穂形成期においては穂数、出穂期においては籾数との間に高い相関があり（松尾ら，1990）、収量性への寄与が最も大きい元素として知られている。窒素が欠乏すると、イネの葉身は黄化し正常な光合成が阻害され、イネの収量形成において重要な分げつ発生が抑制される。しかし逆に過剰な窒素は過繁茂になりやすく、倒伏および玄米タンパク質含有量の増加に伴う食味低下等の問題が生じる。このように窒素にはジレンマがあるため、水稻作において高品質高収量を実現するには、イネの窒素需要に対し適切な量の窒素を供給する必要がある。

一方、近年の農業において特に窒素が注目されるもう一つの理由に環境への窒素負荷の問題が挙げられる。過剰な施肥によって農地からの放出量が増大する一酸化二窒素（ N_2O ）は、二酸化炭素に比べ約 296 倍の熱吸収効率をもつ強力な温室

効果ガスである。N₂O の濃度は農業生産の増大によって過去 100 年間で上昇しており、N₂O の分解産物である NO および NO₂ はオゾン層を破壊することで知られている (WMO, 2014)。更には、窒素肥料の製造には現在ハーバーボッシュ法による大気窒素の化学的固定が通常利用されるが、この化学的固定には臨界状態(500°C, 1000 気圧)が必要であるため多くのエネルギーコストを要し、更には製造された窒素肥料運搬の CO₂ コストや施肥における人的コストなど、窒素肥料の施用に至るプロセスで様々な環境への負荷やコストが生じている (図 1.2)。

したがって農業において窒素を有効に活用することは、生産コスト削減や低タンパク米生産といった生産現場レベルでの課題解決のみならず、環境への窒素負荷低減を達成する上でも重要な意味をもっている。

このように、作物生産において窒素は生産および環境レベルにおいて重要な元素であるが、窒素施肥を行わない自然栽培では、通常窒素欠乏に陥りやすいと考えられるため環境レベルのリスクはほとんど無視できる。一方で問題となるのは生産における低収のリスクである。したがって自然栽培稲作では、低窒素条件下で生育するイネにいかにか収量向上に直結する効果的な窒素吸収を実現するかが焦点となる。

1-5 水田における窒素循環

1-4 で述べたように、窒素は作物生産に不可欠だが、窒素施肥を行わずに安定して高い作物生産を行う場合どのようなアプローチが必要であるだろうか。そのためには、長期無施肥条件で水田に生じている窒素循環を定量的に把握し、その情報を基に、土壌中の窒素フローを活性化させ、イネが吸収できる無機態窒素の割合を高めていく必要がある。

水田生態系において窒素は、他の必須元素であるリンやカリウムとは異なり空中の窒素ガス、土壌中の無機態窒素、植物や腐食に含まれる有機態窒素の異なる形

態の間で複雑でダイナミックな循環をしている。まず、前年の稲わらなどに由来する土壌中の有機態窒素は微生物作用による無機化を経てアンモニア態窒素となりイネに吸収されるが、収穫によって籾中の窒素は水田系外へ搬出される。この系外に搬出される窒素が水田における窒素ミッシングとなる。一方、水田土壌中は酸化層、還元層およびその境界という異なる酸化還元状態が垂直軸に沿って共存しており、それぞれの酸化還元環境に適応して硝化菌、脱窒菌、窒素固定菌などの窒素循環に関与する多様な微生物種が共存している。土壌中に存在するアンモニア態窒素は、硝化と脱窒のプロセスを経て大気中に窒素ガスとして放出される(図 1.3)。また同時に、窒素固定酵素ニトロゲナーゼが機能する還元状態では、大気中の窒素ガスは窒素固定細菌によりアンモニア態窒素に固定され、イネが利用可能な形態で土壌に蓄えられる。加えて、雨水や灌漑水あるいは乾性沈着によっても窒素は外部から水田に流入している。このように、水田生態系内では自然からの窒素のインプット、アウトプットの両方向の動きがあるが、収穫を通じた籾による窒素の持ち出しが 5kg/10a 程度と大きいいため総体的にはアウトプットの量が大きく、したがって窒素無施肥で栽培を続けると地力窒素が漸減し、生産性が減少すると考えられるのが一般的である。

西尾(1997)は、窒素無施肥で水稻栽培が長期的に行われた場合の窒素収支を試算し、窒素無施肥 20 年目の玄米収量は慣行栽培の約 1/2 の 250kg/10a で平衡に達すると論じた(図 1.4)。しかし、前述した水田系内の各空間にける窒素動態は、どの水田でも同程度の活性ということではなく、特に生物的窒素固定は環境条件に敏感に反応し、CO₂ 濃度や土壌窒素レベルによって変動すること(Hoque *et al.*, 2001)や、窒素固定細菌の活性に影響を及ぼす温度や光、稲藁添加によって大きく変動することが指摘されている(兪ら, 1984a, 1984b; 安田, 2000)。したがって、自然栽培のような恒常的に窒素が不足する栽培管理を継続している水田

では、優占する微生物群集も大きく変異していると考えられ、推定されている以上の窒素循環の活性化が生じている可能性がある。実際、日本の各農業試験場では長期的に三要素試験区が継続されているが、無窒素区で収量減が認められない事例も多く、石川県農試の試算では年間約 20kg/ha の窒素が水田に自然富化されていると推定されている（小西・清野，1961）。また、フィリピンでも長期無窒素栽培区で収量低下がほとんど起きていないことが複数報告されており（Yoshida and Rinaudo, 1982 ; Barraquio and Watanabe, 1981）、水田の生産性維持において生物的窒素固定が大きな貢献を果たしている可能性は極めて高い。

これらの過去の研究報告とも符合して、宮城県涌谷町の K 氏水田では長期的に窒素を投入していないにも関わらず高い収量が維持されている。この現象は、玄米収穫による水田からの窒素損失を水田の複雑な窒素循環を構成しているどこかの部分でなんらかの補填が生じ、一作期において大きく変動するイネの窒素需要に対して十分量の窒素を供給できているシステムが自律的に生じていることを意味している。また、除草剤を使用していないにも関わらず雑草との窒素競合にイネが優位に立ち、十分なイネの窒素吸収量が実現していることも収量の高い自然栽培水田の特徴である。したがって窒素需給の一致や雑草との窒素競合においても、高収自然栽培水田で生じている窒素循環を解明する必要があるが、これまでこの現象を解析した例はなく、なぜ長期無施肥に関わらず高い収量性が維持されているのかは不明であった。

1-6 本研究の目的

以上の事柄を背景に、本研究では自然栽培水田の窒素循環と収量成立機構について解析を行い、肥料や農薬を使わずとも高い収量を安定的に得る上で重要な条件を明らかにすることを目的とした。

まず、一般的な収量制限要因を明らかにするために、北日本地域の 16 の農家自

然栽培水田を対象に収量解析および収量と環境要因との関係を解析し、低い収量から脱する上で重要なアプローチが何かを明らかにしようと試みた（第二章）。次に、生産現場では雑草害が深刻な問題となり生産者の関心も高いことから、各水田で形成される雑草群集の形成プロセスおよび収量への影響を解析することで、雑草管理を構築する上で優先すべきターゲットを明らかにすることを試みた（第三章）。

第二章、第三章では自然栽培水田の一般的な収量制限要因が明らかになるが、一部の長期自然栽培水田で高収量が安定して維持されるメカニズムは不明だった。そのため、収量性が異なる長期自然栽培水田の窒素収支、および理論上では低収が算出されていた既存の無施肥水田の窒素収支モデルと比較し、自然栽培水田の高収量成立原理を窒素収支の観点から明らかにしようと試みた（第四章）。第四章の結果から、長期自然栽培水田の高収量が安定するメカニズムには、生物的窒素固定の活性化が大きな鍵となっていることが示唆されたことから、アセチレン還元法や窒素固定遺伝子の定量を通じて、自然栽培水田において生物的窒素固定が活性化していることの実証を目指した（第五章）。

最後に、本研究で得られたデータを基に、自然栽培水田内の窒素循環と収量成立機構を総合的に考察し、作物学および地球生化学的観点からみた自然栽培稲作の可能性と今後の研究課題を論じた（第六章）。

	慣行栽培	有機栽培	自然栽培	自然農法
合成農薬	○	×	×	×
化学肥料	○	×	×	×
有機肥料	○	○	×	×
作物残渣の 鋤き込み	○	○	○	×

図 1.1 自然栽培の位置付け.

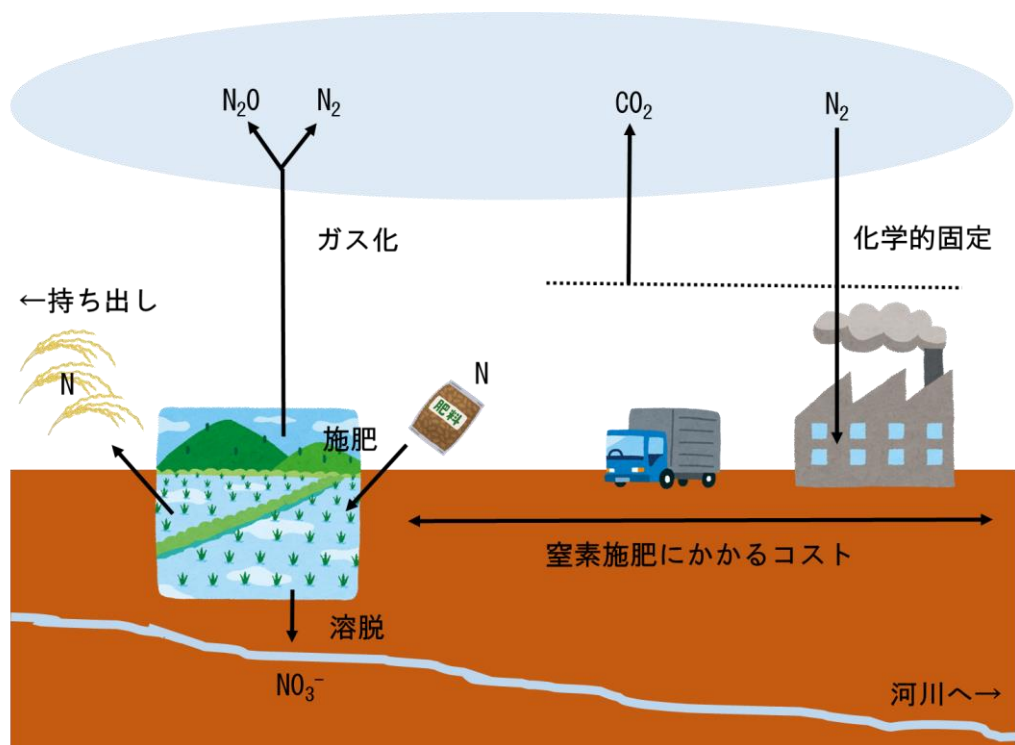


図 1.2 水田における窒素循環.

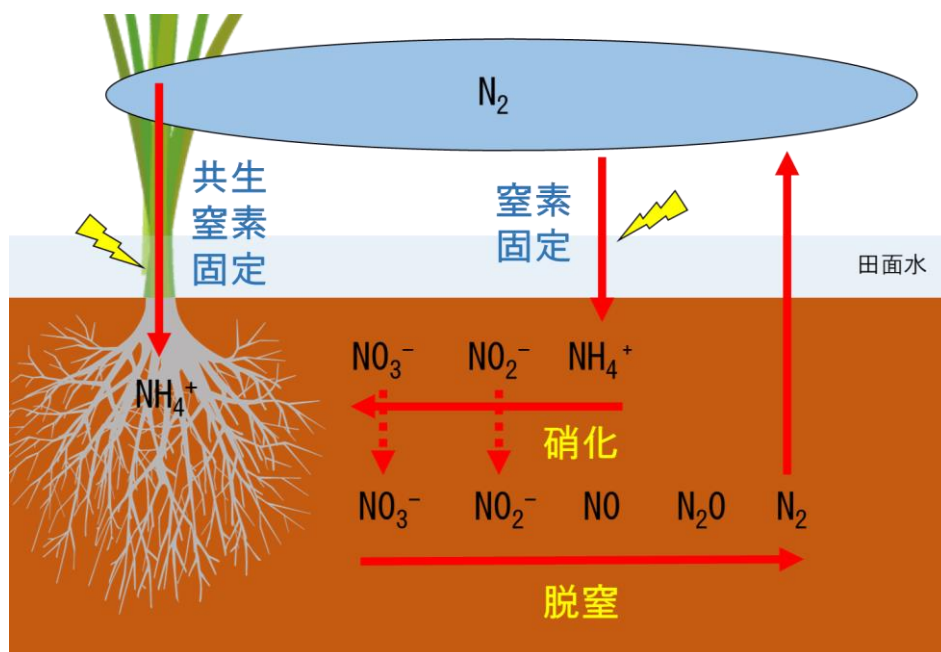


図 1.3 水田における微生物プロセスの窒素循環.

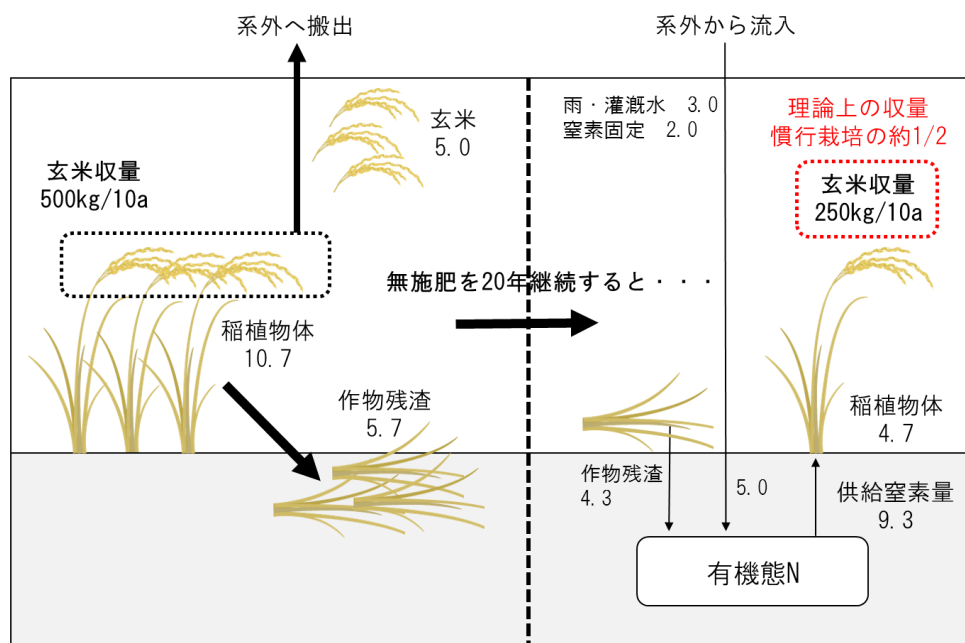


図 1.4 西尾による無施肥水田の窒素収支モデル。

第二章 自然栽培水田における収量の地域間変異とその寄与要因

2-1 緒言

無肥料で水稻栽培を行うと著しい低収になる、あるいは地力が高い水田では一時的に高収が得られても、無施肥連用が長期化すれば地力は減衰し最終的には低収になる、と考えるのが一般的である。西尾（1997）は粳による水田からの窒素収奪と雨水や灌漑水などの外部からの窒素供給の収支を試算して、無施肥連用 20 年目の水田で得られる玄米収量は 250kg/10a 程度に下がると推定している。この予想収量は現在の水稻平均収量に比して 50%以下と極めて低く、各研究機関で長期的に行われている肥料三要素試験の無肥料区でもこれを下回る 100kg/10a 程度の極めて低い収量値が実際に報告されている（佐川，1999）。しかしここで示した無肥料区の収量値や収量予測値は、生産性を高めるための積極的な栽培管理を行わなかった場合のものであり、肥料三要素試験の無肥料区も窒素・リン・カリウムの施用効果を検証するための対照区としての性質が強いため、収量ポテンシャルが最大限発揮された結果とは言えない点を考慮する必要がある。

一方、積極的に収量向上を目指した栽培管理を実践する生産現場レベルでは、長期自然栽培水田において 250kg/10a を大きく上回る収量を安定的にあげている事例が報告されている。例えば、滋賀県栗東町（現栗東市）の水田では 27 年間継続した無施肥栽培にもかかわらず 400kg/10a 程度の収量が安定的に得られており（Okumura, 2002）、また粳・稻藁を含む作物残渣すべてを水田外に搬出しているにもかかわらず土壤中の全窒素量の減少が認められていない（川村・中島，1979）。長期無施肥でも地力が減少せず、高い収量が維持される要因としてはかけ流しを行っているため灌漑水由来の窒素供給が多いことや（長谷川ら，1979）、イネが吸収した窒素の大部分が土壌由来であること（Okumura, 2002）などが指摘されてい

る。また、水稻以外でも、雑草や落葉を含めて圃場で生産された植物性有機物を圃場外に搬出している無施肥桑園では、19年にわたり慣行栽培と同等でかつ安定した収量を記録しており、土壌炭素・窒素量もおおむね平衡に保たれていた（栗田ら，2006）。また、埼玉県の実験栽培農家では地上部作物残渣を全て持ち出しながら慣行栽培と同等のトマトの出荷量を実現しており、更には葉身の $\delta^{15}\text{N}$ 値は土壌に比較して低い値であることから、大気窒素の固定による作物の窒素吸収の可能性が示唆されている（小田，2011）。このように、現時点ではソースは明らかとされていないが、天然由来の養分供給によって自然栽培でも圃場の生産性が高く維持されている事例が散見される。

これらの事例は、自然栽培においても安定して高い作物生産が可能であることを示す事例ではあるが、あくまでも特定の水田・畑に限定した報告であり、すべての自然栽培が高い収量を達成できているわけではない。特に、自然栽培では農家間の栽培技術や地力などの差が収量に直接反映しやすいため、農家間に大きな収量差が出やすい特徴がある。しかしながら、種々の背景をもった多数の農家水田を対象として収量性を決定している一般的な要因を明らかにした研究報告はこれまで行われていない。

そこで本研究では、自然栽培水田の収量性に寄与する要因を明らかにすることを目的として、(1)北日本の自然栽培水田農家に対する収量性の聞き取り調査、(2)青森、岩手、宮城、新潟の計16の自然栽培水田の収量と収量形成要因の現地調査、(3)自然栽培水田土壌を用いた分けつ成長に対する気温の寄与率を調査したポット栽培試験を行い、無施肥水稻栽培の収量レベルと収量制限要因を解析した。

2-2 実験方法

1) 聞き取り調査と調査水田の選定

自然栽培農家水田の収量の実態把握は 2014 年に生産者へのアンケート調査により実施した。自然栽培の開始当初は、前年に施肥した肥料の残効があり無施肥の影響が不鮮明となるため、本研究では自然栽培歴が 3 年以上の水田を自然栽培水田と定義した。また、現地調査水田の選定において、同時期の調査が可能な北日本地域の自然栽培歴 3 年以上の水田 16 筆および近隣の慣行水田 2 筆を選抜し(表 2.1)、その後の解析対象とした。

2) 収量と収量構成要素

収量と収量構成要素の解析は下記の通り実施した。2014 年 9 月末に各水田から生育が中庸なイネを成熟期に 6 株刈り取り、自然乾燥により十分に乾燥させた。それぞれの稲株の穂数を数え、6 株の平均値を各水田の穂数とした。その後、1 株毎にすべての穂重を測定し、1 株の平均穂重に最も近い 3 穂を選抜した。3 穂の 1 穂粒数を数え、平均値を 1 株の 1 穂粒数、6 株の平均値を水田の 1 穂粒数とした。選抜した各株の平均的な 3 穂に着生する粒を穂から外し、ランダムに 100 粒選抜して比重 1.06 の塩水で水選し、沈んだ粒の割合を登熟歩合とした。登熟歩合の測定に用いなかった残りの粒をすべて粒摺りし、ランダムに玄米を 100 粒選抜して 100 粒重を測定した後、10 を掛けて 1000 粒重の値とした。登熟歩合、1000 粒重いずれも 6 株の平均値を各水田の値とした。また、玄米収量は各水田の株当たりの玄米収量(穂数×1 穂粒数×登熟歩合×1000 粒重)の値に栽植密度を掛け、 m^2 当たりの玄米収量を求めた。加えて収量データの精度を確認するため、水田間の収量差の傾向が収量データと実収量でほぼ一致していることを生産者への聞き取り調査により確認した。

3) 土壌の化学分析および雑草発生量の調査

土壌サンプルは 2014 年 4 月中旬から下旬にかけて、湛水前の水田における作

土層 (0 - 10cm) をコアサンプラーにより採取し、無機態窒素量、可溶性リン量を測定した。無機態窒素量は、アンモニア態窒素量および硝酸態窒素量の和とし、アンモニア態窒素量はインドフェノール法、硝酸態窒素量はサリチル硫酸法を用いていずれも比色法によって測定した。可溶性リン量は、トルオーグ法を用いた比色法によって測定した。微生物バイオマス炭素・窒素量は、クロロホルム燻蒸一抽出法 (Brookes *et al.*, 1985 ; Vance. E. D. *et al.*, 1987) に準じて土壌から溶液を抽出し、全有機体炭素計 (TOC-L, 島津製作所, 京都) により測定した。雑草の調査は、水稻の穂孕み期に当たる 7 月下旬に 20cm×20cm のコドラート内に生育しているすべての雑草を刈り取り、その総乾物量を雑草発生量とした。反復はいずれも 3 とした。

4) 窒素無機化力

各水田土壌の窒素無機化力を評価するため、土壌培養試験を行った。4 月に採集した土壌を 1/5000a ワグネルポットに充填し、ポット中央に同土壌を充填した試験管を埋設した。ポットを湛水して培養後 4 週目、8 週目に試験管内土壌を採集し、土壌は 3) と同様の方法で無機態窒素量を測定した。

5) 気象要因の解析

気象データは各調査水田に最も近い青森、深浦、八戸、弘前、遠野、古川、大衝、石巻、新潟、巻の気象観測値を用いた (気象庁, 2014)。収量解析の結果、収量への穂数の寄与率が高かったこと、および穂数が決定する時期はおよそ出穂前 43 日と言われている (松島, 1973) ことから、降水量、日射量、気温をいずれも各水田の移植日から出穂 43 日前までの期間における積算量を日数で割って日平均量として求め、穂数への気象要因の影響を解析した。

6) 移植日を変えたポット栽培試験

2015 年の 4 月に、青森県青森市の自然栽培歴 6 年の水田土壌を 1/5000a ワグナ

一ポットに充填し、使用するまで遮光条件で保管した。セル育苗によって育てた稚苗「つがるロマン」を、2015年5月5日、5月15日、5月25日、6月4日に1ポット当たり2本移植し、2個体の平均値を各ポットの値として茎数の推移を測定した。反復ポット数は3とした。移植日を異にする土壌の窒素無機化速度とイネの分けつ増加速度の関係を明らかにするため、吉野・出井（1977）の湿潤土湛水静置法を応用し、試験管に土壌を充填した後、移植日と同日からポット内の土壌に試験管を埋め込んでイネが窒素を吸収できない隔離空間を試験管内に作り、それ以外はポット内土壌と同じ環境条件で常時湛水で静置培養した。湛水開始後0日目、20日目、30日目に土壌を採集し、3)と同様の方法で無機態窒素量を測定し、日平均無機態窒素供給量を求めた。試験は弘前大学構内で行い、気温は弘前市における気象庁の観測データを用いた。分けつ増加速度に対して生育期間の平均気温と土壌窒素無機化率を従属変数とする重回帰分析を行い、得られた結果をもとに3変数間のパス分析を行った。回帰分析とパス分析は、いずれも統計ソフト（R ver. 3.1.2）を用いて行った。

2-3 結果と考察

1) 農家自然栽培水田の収量性の実態と収量形成要因

聞き取り調査による全国の自然栽培水田農家の2011年から2013年までの3年間の玄米収量のヒストグラムを図2.1に示した。各年の自然栽培水田全体の平均収量は2011年で278.6、2012年で316.5、2013年で307.1kg/10aとおおよそ300kg/10aを前後した。これは、西尾（1997）が示した窒素収支モデルにおける無施肥水田の予想収量250kg/10aと50kg/10a程度の誤差があった。本研究で対象とした16農家自然栽培水田の聞き取り調査による収量データ（2009～2013年の平均値）と収量解析による収量データ（2014年）の比較を図2.3に示した。例年

同程度の収量が得られている慣行水田では、聞き取り調査と収量調査の間で誤差は 58kg/10a 程度だったが、自然栽培水田では 2014 年が好適な気象条件であったため、聞き取り調査に比べ 96kg/10a 多い収量値だった。次に、収量の変動パターンが異なる 5 農家 (N3, N5, N7, N8, N9) の 2009 年から 2013 年の 5 年間にわたる収量の年次変化を図 2.2 に示した。N3、N5、N7 のように収量の年次変化が大きく常に 400kg/10a 以下の低収量水田がある一方で、N8、N9 の水田のように 480、420kg/10a の収量が 5 年間にわたり安定的に得られている水田も見られた。この傾向は現地の収量解析によっても確認された。無施肥でも長期的に 400kg/10a 程度の収量が得られているこの事例は、長谷川ら (1979) や奥村 (1988) によって報告された滋賀県栗東市の長期無施肥水田の報告と類似している。

収量解析および収量形成要因の解析を行った自然栽培水田 16 の概要を表 2.1 に、出穂期と収穫期のバイオマス量を表 2.2 に、収量と収量構成要素の結果を表 2.3 に示した。玄米収量が最も高かった新潟の水田 N15 ($687\text{g}/\text{m}^2$) と、最も低かった岩手の水田 N6 ($125\text{g}/\text{m}^2$) との間には $562\text{g}/\text{m}^2$ の収量差があった。県別にみると収量は新潟、宮城、青森、岩手の順で高い傾向が認められた。2014 年以前の聞き取り調査と 2014 年の現地調査の収量は、16 水田中 12 水田でおおむね一致したが、新潟の 4 水田に限り現地調査の収量が聞き取り調査に比べ著しく高かった。収量と収量構成要素間の相関係数は、穂数、1 穂粒数、登熟歩合、1000 粒重がそれぞれ 0.92^{***} 、 0.72^{***} 、 0.11^{ns} 、 -0.27^{ns} を示し (図 2.3)、収量と穂数、1 穂粒数との間には有意な高い正の相関関係が認められた。したがって収量には m^2 当たり粒数が大きく寄与していることが分かった。このことは、 m^2 当たり粒数が決定する栄養成長期の段階で各水田の収量性がおおむね決定していることを示す。また、出穂期と収穫期のバイオマス量の間には強い正の相関関係 ($r=0.94$) があり、この結果も出穂前の段階で各水田の生産性の差異が既に生じていることを示して

いる。特に収量と穂数の間には $r=0.92***$ の有意な高い正の相関関係が認められたことから(図 2.3)、穂数の制限が自然栽培水田の一般的な収量制限要因であることが示された。

2) 穂数に寄与する栄養成長期の諸要因

穂数生産に寄与した要因として、栄養塩の投入がない自然栽培水田では各水田の地力が大きな影響力を有すると考えられたことから、地力に関連するパラメータである微生物バイオマス窒素量、窒素無機化速度と、穂数との関係を解析した。表 2.4、表 2.6 にそれぞれ各水田における 4 月と 7 月の土壌中微生物バイオマス炭素・窒素量、土壌培養試験による窒素無機化量を示した。また、表 2.5 に実際の水田における栽培前、出穂期、収穫期の土壌中の無機態窒素量を示した。土壌中のバイオマス炭素・窒素量は、湛水前の 4 月では 24.6~111.4、1.1~6.0mg/乾土 100g の範囲で変動し、水田間の傾向は 4 月中旬と 7 月下旬でほぼ同じだった。同一条件下で培養した場合の各水田土壌から供給される無機態窒素量は、8 週間培養した場合 0.78~10.41g/100g と水田間で大きく変動した。しかし各水田土壌が有する窒素無機化力と、実際の水田における土壌中無機態窒素量との間に有意な相関関係は認められず、気象要因やイネ・雑草の窒素吸収による影響が大きいことが示唆された。これらの地力関連要因と穂数の関係を図 2.4 に示した。土壌中微生物バイオマス量、窒素無機化速度と穂数との間には有意な相関関係は認められず、土壌単体での地力は穂数生産力に大きな影響を及ぼしていないことが示唆された。

次に、穂数と地力以外の要因との関係を図 2-4 に示した。穂数形成にかかわる要因として、土壌の栄養状態(湛水前の土壌中の無機態窒素量、可溶性リン量、自然栽培年数)、雑草による生育抑制(穂孕み期の水田の雑草乾物重)、気象要因(緯度、移植日から出穂 43 日前までの日平均降水量、日平均日照時間、日平均気

温) の 4 要因、計 8 変数について解析した。その内、穂数との間に有意な相関関係が認められたのは緯度、日平均降水量、日平均気温という気象要因だった。特に、穂数と日平均気温の間には、1%水準で有意な正の相関関係が認められた。収量の形成過程は穂数、1 穂粒数、登熟歩合、1 粒重の順に決定する(松島, 1957)ことは広く知られており、穂数が決定する時期はおおよそ出穂 43 日前までとされている(松島, 1973)。したがって、土壌の栄養状態や雑草による生育抑制よりも、特にイネ生育初期の気温が穂数生産の制御を通じて自然栽培水田間の収量差に最も強く影響を与えていたことが分かった。

3) 気温がイネの分けつ生長に及ぼす効果

日平均気温が分けつ増加速度に与える影響には、(1)積算気温としてイネの生育を促進する直接効果と、(2)土壌有機物の分解を通じて窒素無機化を促進させる間接効果の 2 つが関与しているものと考えられる。そこで、日平均気温がどのように穂数形成過程に影響しているかを直接効果と間接効果に分けて、その相対的影響力を評価した。生育期間の日平均気温、分けつ増加速度(直接効果)、土壌窒素無機化速度(間接効果)の 3 変数間の相関関係を図 2.5 に示した。移植日が遅れるにつれて日平均気温は増加し、日平均気温と分けつ増加速度の間には有意な正の相関関係($r=0.92^{**}$)が認められた。同時に、日平均気温と窒素無機化速度の間にも有意な正の相関関係($r=0.79^{**}$)が認められた。また、直接効果を表す分けつ増加速度と間接効果を表す窒素無機化速度の間にも有意な相関関係($r=0.90^{**}$)があるため、両効果の相対的大きさを相関係数からは評価できない。そこで、この 2 つの効果の相対的な影響を明らかにするためにパス解析を行った(図 2.6)。その結果、日平均気温が分けつ増加速度に及ぼした総合効果の内、57%が直接効果で、残りの 43%が土壌の窒素無機化を介した間接効果であることが明らかとなった。すなわち、高緯度地域における自然栽培水田の収量低下の主要因

は、イネ生育初期の低温による地力窒素の供給不足により、イネが十分に窒素を吸収できず、分げつ発生が抑制されることで生じた穂数減少が稔数制限につながったためだと考えられた。逆に低緯度地域では、イネ生育初期の高温による地力窒素の発現度が高く、無施肥ながら土壌から供給される窒素量が高かったことが高収量の要因となったと考えられた。したがって自然栽培水田農家間の収量性の差異には、地力窒素の発現を規定する気象地理的な要因が強く関与していることが示唆された。

表 2.1 調査対象とした慣行水田と自然栽培水田の概要.

栽培方法	調査地域	水田名	土壌	無施肥歴 (年)	品種	移植日	出穂期	栽植密度 (株/m ²)	
慣行栽培	宮城	F1	中粗粒灰色低地土、灰褐色(13E)	0	ササニシキ	-	8月上旬	18.1	
	新潟	F2	細粒強グライ土(14A)	0	コシヒカリ	-	8月上旬	11.2	
自然栽培	青森	N1	泥炭土(16A)	30	あねこもち	5月25日	7月下旬	18.1	
		N2	礫質灰色低地土、灰色系(13C)	3	こまの舞	6月10日	8月中旬	15.1	
		N3	灰色低地土、下層有機質(13H)	6	ほっかりん	6月10日	8月中旬	15.1	
		N4	腐植質黒ボクグライ土(05B)	21	あきたこまち	6月1日	8月上旬	18.1	
	岩手	N5	礫質褐色低地土(12C)	7	ササシグレ	5月25日	8月上旬	15.1	
		N6	礫質褐色森林土(06C)	5	ササシグレ	5月25日	8月上旬	16.6	
	宮城	N7	中粗粒灰色低地土、灰褐色(13E)	7	ササシグレ	5月25日	8月上旬	15.1	
		N8	細粒灰色低地土、灰褐色(13D)	30	亀の尾	5月5日	7月下旬	9.1	
		N9	細粒灰色低地土、灰褐色(13D)	8	ササニシキ	5月24日	8月中旬	15.1	
		N10	細粒灰色低地土、灰褐色(13D)	7	みやこがねもち	5月30日	8月中旬	18.1	
		N11	中粗粒灰色低地土、灰褐色(13E)	10	ササニシキ	6月1日	8月中旬	18.1	
		N12	泥炭土(16A)	8	ササニシキ	5月25日	8月中旬	15.1	
		新潟	N13	細粒強グライ土(14A)	3	コシヒカリ	6月8日	8月中旬	16.6
			N14	細粒強グライ土(14A)	7	コシヒカリ	6月5日	8月中旬	15.1
	N15		細粒グライ土(14D)	3	コシヒカリ	5月6日	8月中旬	16.6	
	N16		細粒強グライ土(14A)	3	コシヒカリ	6月3日	8月中旬	19.7	

土壌分類は農業環境技術研究所, 土壌情報閲覧システムに拠った.

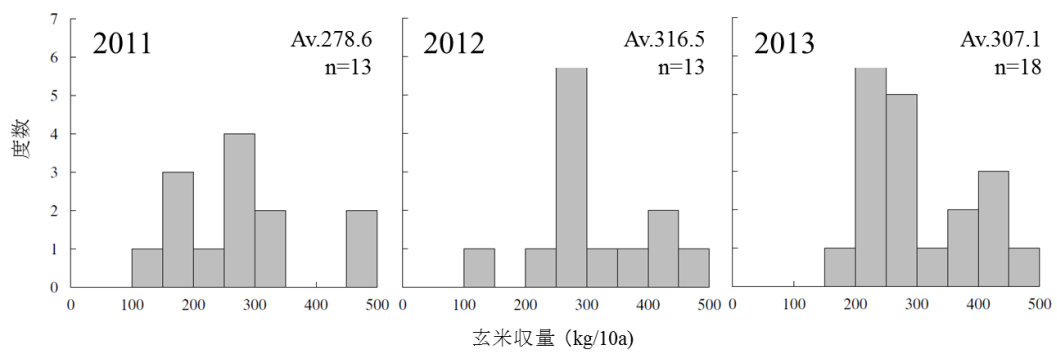


図 2.1 2011, 2012, 2013 年の自然栽培水田の玄米収量.

対象水田はいずれも自然栽培歴が 3 年以上の水田とした。Av は全体の平均収量を、n は水田数を示す。

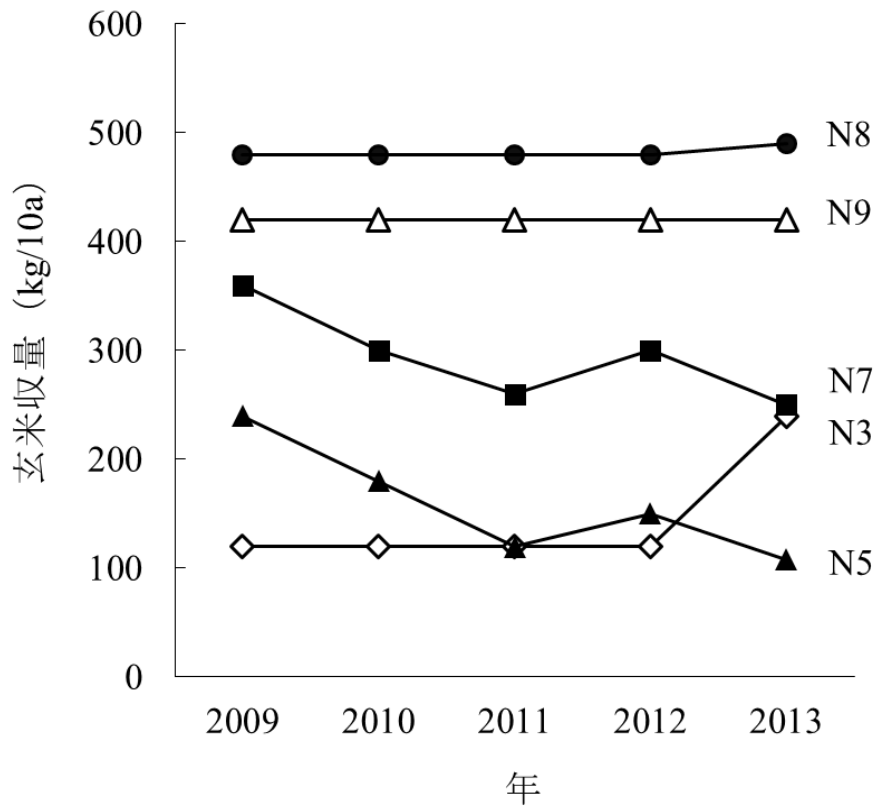


図 2.2 収量の変動パターンが異なる 5 自然栽培水田の過去 5 年間の玄米収量の推移.

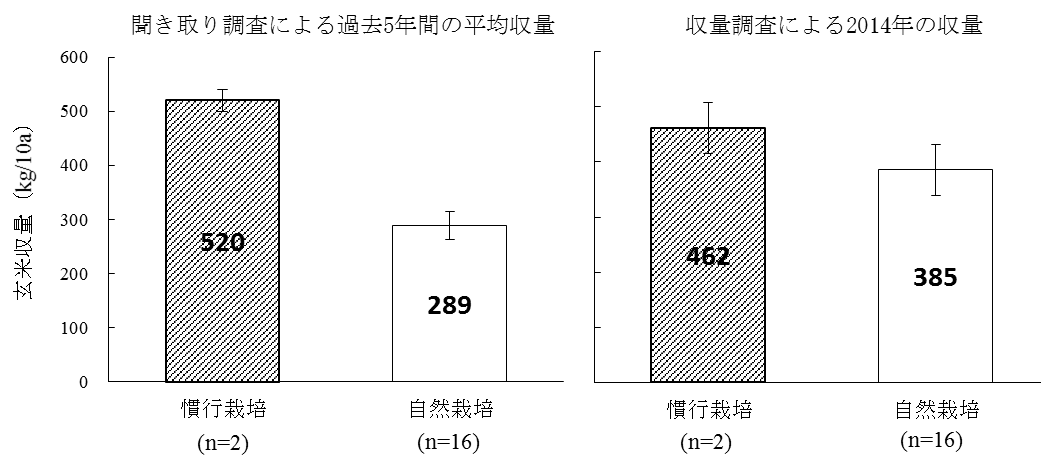


図 2.3 慣行栽培と自然栽培の収量比較.

表 2.2 各自然栽培水田の出穂期と収穫期の稲バイオマス量.

調査地域	水田	バイオマス量 (g/m ²)	
		出穂期	収穫期
青森	N1	711 ± 59	1197 ± 59
	N2	234 ± 20	732 ± 47
	N3	231 ± 49	644 ± 54
	N4	418 ± 29	939 ± 51
岩手	N5	259 ± 15	581 ± 32
	N6	123 ± 10	528 ± 46
宮城	N7	435 ± 17	972 ± 60
	N8	664 ± 186	1167 ± 80
	N9	488 ± 34	1402 ± 54
	N10	382 ± 30	909 ± 74
	N11	136 ± 47	773 ± 61
	N12	649 ± 161	1540 ± 64
新潟	N13	919 ± 68	1708 ± 211
	N14	639 ± 44	1351 ± 121
	N15	1067 ± 96	1708 ± 121
	N16	1168 ± 181	1871 ± 72

表 2.3 各自然栽培水田の収量と収量構成要素.

調査地域	水田	面積当たり玄米収量 (g/m ²)		面積当たり穂数 (本/m ²)		1 穂粒数 (粒)		登熟歩合 (%)		1000 粒重 (g)	
青森	N1	354.2 ± 48	cdefg	233.3 ± 22.7	bcde	79.2 ± 4.0	def	84.8 ± 3.2	abc	22.2 ± 0.16	abc
	N2	255.5 ± 25	cdefg	151.5 ± 10.4	efg	78.2 ± 3.4	def	95.3 ± 0.7	a	22.5 ± 0.39	ab
	N3	157.2 ± 23	fg	113.6 ± 11.6	fg	67.4 ± 3.1	f	88.8 ± 2.0	ab	22.8 ± 0.24	a
	N4	248.3 ± 27	defg	193.9 ± 11.2	cdef	90.5 ± 1.9	cdef	69.2 ± 3.7	def	20.3 ± 0.27	f
岩手	N5	145.2 ± 17	fg	111.1 ± 7.5	fg	75.2 ± 4.3	ef	75.8 ± 3.2	bcde	22.4 ± 0.24	ab
	N6	124.9 ± 15	g	97.2 ± 9.0	fg	84.1 ± 3.1	def	69.7 ± 3.4	def	21.9 ± 0.08	abcd
宮城	N7	400.0 ± 51	bcdef	202.0 ± 10.1	bcdef	98.8 ± 7.6	bcde	86.2 ± 2.9	abc	22.7 ± 0.22	ab
	N8	481.7 ± 43	abcd	183.3 ± 18.1	defg	149.3 ± 4.6	a	79.5 ± 1.6	bcd	22.4 ± 0.28	ab
	N9	518.9 ± 24	abc	275.3 ± 9.1	abcd	101.7 ± 3.7	bcde	87.5 ± 1.3	ab	21.2 ± 0.22	def
	N10	248.9 ± 25	defg	178.8 ± 15.9	efg	109.6 ± 10.7	bcd	61.5 ± 4.3	f	21.3 ± 0.13	cdef
	N11	301.3 ± 30	cdefg	175.8 ± 15.3	efg	91.3 ± 2.5	cdef	84.3 ± 2.9	abc	22.3 ± 0.05	abc
	N12	444.1 ± 49	abcde	315.7 ± 19.3	ab	100.0 ± 5.1	bcde	64.0 ± 1.8	ef	21.7 ± 0.18	bcde
新潟	N13	619.6 ± 94	ab	283.3 ± 29.5	abc	118.5 ± 9.3	abc	81.5 ± 2.4	bcd	22.3 ± 0.21	abc
	N14	509.7 ± 74	abc	275.3 ± 18.1	abcd	105.8 ± 8.0	bcde	84.0 ± 2.0	abc	20.4 ± 0.18	ef
	N15	686.6 ± 128	a	363.6 ± 39.6	a	127.9 ± 9.4	ab	74.5 ± 2.2	cdef	20.9 ± 0.14	def
	N16	670.8 ± 43	a	381.8 ± 29.0	a	108.6 ± 8.6	bcd	81.8 ± 1.8	bcd	21.7 ± 0.31	abcd

表中の数値は平均値±標準誤差を示す.

同一アルファベットは Tukey の多重検定により水田間に 5%水準で有意差がないことを示す.

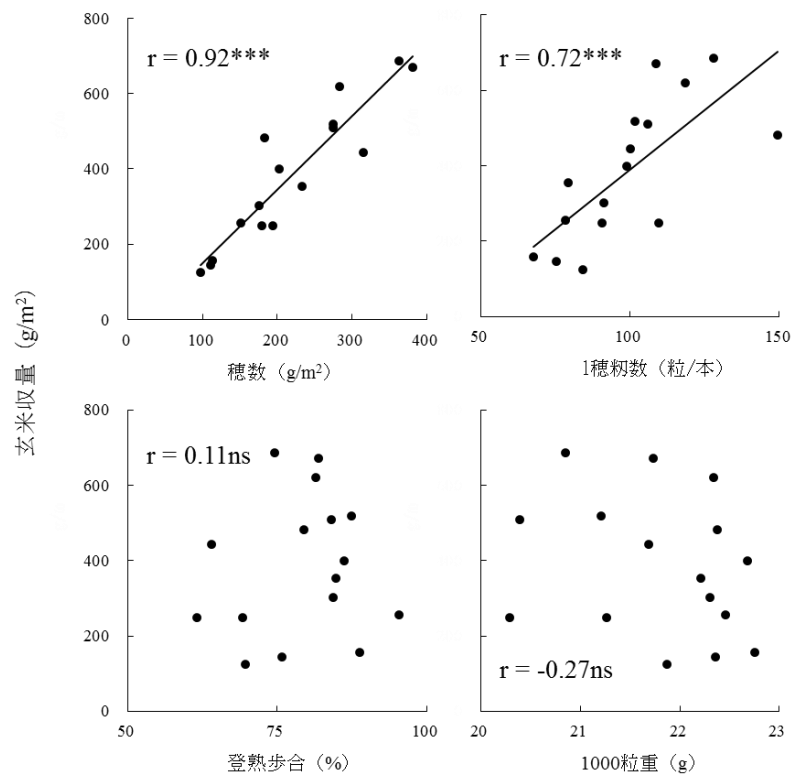


図 2.3 収量と収量構成要素の関係.

表 2.4 各自然栽培水田の土壌中の微生物バイオマス炭素・窒素量.

調査地域	水田	バイオマス炭素量(mg/乾土 100g)		バイオマス窒素量(mg/乾土 100g)	
		4月中旬	7月下旬	4月中旬	7月下旬
青森	N1	65.7 ± 3.7	50.0 ± 15.8	2.2 ± 1.1	1.9 ± 0.6
	N2	65.8 ± 2.0	39.4 ± 20.1	4.4 ± 0.9	1.8 ± 1.1
	N3	44.7 ± 4.0	39.0 ± 9.6	3.6 ± 1.2	1.6 ± 0.9
	N4	85.3 ± 2.3	80.9 ± 15.4	4.8 ± 0.2	3.1 ± 1.2
岩手	N5	102.9 ± 9.7	76.3 ± 9.3	5.0 ± 0.7	2.5 ± 0.7
	N6	76.7 ± 2.7	58.5 ± 13.2	5.1 ± 0.4	3.3 ± 0.8
宮城	N7	67.2 ± 5.9	58.4 ± 13.9	4.0 ± 0.8	1.7 ± 0.8
	N8	56.8 ± 7.4	28.2 ± 3.1	4.0 ± 0.8	0.9 ± 0.8
	N9	24.6 ± 1.7	19.9 ± 1.7	1.1 ± 0.3	-0.4 ± 0.2
	N10	111.4 ± 5.0	121.7 ± 13.8	2.7 ± 0.6	2.8 ± 0.1
	N11	31.7 ± 5.3	29.7 ± 8.4	1.6 ± 0.8	1.2 ± 0.6
	N12	74.7 ± 13.7	57.6 ± 12.7	3.8 ± 1.9	1.9 ± 0.7
新潟	N13	96.9 ± 7.6	80.6 ± 18.5	6.0 ± 0.8	3.7 ± 1.3
	N14	101.2 ± 4.5	95.6 ± 8.0	5.8 ± 0.2	4.3 ± 0.4
	N15	60.0 ± 7.9	53.3 ± 7.7	4.8 ± 0.8	2.5 ± 0.6
	N16	56.4 ± 4.7	59.6 ± 21.5	4.4 ± 0.1	2.4 ± 0.9

表 2.5 各自然栽培水田の土壌中無機態窒素量の推移.

調査地域	水田	硝酸態窒素量 (mg/乾土 100g)			アンモニア態窒素量 (mg/乾土 100g)		
		4月中旬	7月下旬	9月中旬	4月中旬	7月下旬	9月中旬
青森	N1	0.6 ± 0.1	0.7 ± 0.01	0.5 ± 0.1	1.5 ± 0.3	2.0 ± 0.3	2.1 ± 0.3
	N2	1.0 ± 0.2	0.8 ± 0.03	0.8 ± 0.2	4.8 ± 0.9	2.9 ± 0.5	3.7 ± 1.5
	N3	0.5 ± 0.1	0.6 ± 0.01	0.4 ± 0.1	4.5 ± 0.4	3.5 ± 0.6	3.7 ± 0.7
	N4	0.4 ± 0.1	0.6 ± 0.02	0.5 ± 0.0	6.9 ± 0.7	3.8 ± 0.6	4.8 ± 1.5
岩手	N5	0.6 ± 0.1	0.7 ± 0.04	0.4 ± 0.1	1.8 ± 0.0	2.0 ± 0.1	2.5 ± 0.3
	N6	0.8 ± 0.1	0.6 ± 0.01	0.5 ± 0.1	1.3 ± 0.2	1.8 ± 0.3	3.4 ± 0.8
宮城	N7	0.5 ± 0.1	0.6 ± 0.01	0.5 ± 0.2	2.0 ± 0.0	1.9 ± 0.1	1.4 ± 0.1
	N8	0.7 ± 0.1	0.9 ± 0.06	0.7 ± 0.0	2.7 ± 0.2	3.9 ± 0.4	2.1 ± 0.1
	N9	0.8 ± 0.1	1.0 ± 0.08	0.6 ± 0.1	1.6 ± 0.1	3.1 ± 0.5	1.5 ± 0.0
	N10	1.3 ± 0.2	1.9 ± 0.26	0.7 ± 0.1	1.7 ± 0.2	2.6 ± 0.1	1.8 ± 0.1
	N11	1.1 ± 0.1	0.9 ± 0.05	0.6 ± 0.1	1.8 ± 0.2	1.8 ± 0.0	1.5 ± 0.1
	N12	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.09	0.5 ± 0.1	2.6 ± 0.2	2.5 ± 0.6	2.0 ± 0.1
新潟	N13	0.7 ± 0.1	0.7 ± 0.00	0.5 ± 0.0	3.4 ± 0.5	2.8 ± 0.2	3.0 ± 0.4
	N14	1.0 ± 0.1	0.7 ± 0.02	0.7 ± 0.0	3.9 ± 0.2	3.8 ± 0.4	3.6 ± 0.6
	N15	0.8 ± 0.1	0.6 ± 0.02	0.4 ± 0.1	2.0 ± 0.2	3.2 ± 0.3	2.1 ± 0.3
	N16	0.6 ± 0.1	0.7 ± 0.02	0.5 ± 0.1	3.8 ± 0.5	1.9 ± 0.6	2.7 ± 0.6

表 2.6 各自然栽培水田土壌の窒素無機化量.

水田	窒素無機化量 (mg/100g 乾土)				
	4 週			8 週	
N1	4.18	± 0.47	abc	7.25	± 0.70 abc
N2	6.69	± 1.00	ab	10.41	± 1.66 a
N3	1.62	± 0.61	cdef	5.58	± 0.60 abcde
N4	-3.79	± 0.24	g	0.78	± 0.42 e
N5	-0.26	± 0.13	efg	2.32	± 0.18 cde
N6	-1.02	± 0.34	fg	1.03	± 0.42 de
N7	1.08	± 0.63	cdef	5.43	± 1.05 abcde
N8	1.57	± 0.41	cdef	5.48	± 1.61 abcde
N9	1.11	± 0.30	cdef	3.24	± 0.37 bcde
N10	3.92	± 0.34	abcd	7.21	± 0.77 abc
N11	1.92	± 0.18	bcdef	6.21	± 0.09 abcd
N12	3.12	± 0.35	abcde	7.10	± 0.39 abc
N13	4.67	± 1.12	abc	8.34	± 1.55 ab
N14	2.61	± 1.60	bcde	7.89	± 1.72 ab
N15	3.81	± 0.98	abcd	7.98	± 1.82 ab
N16	0.50	± 1.00	cdef	4.80	± 1.16 bcde

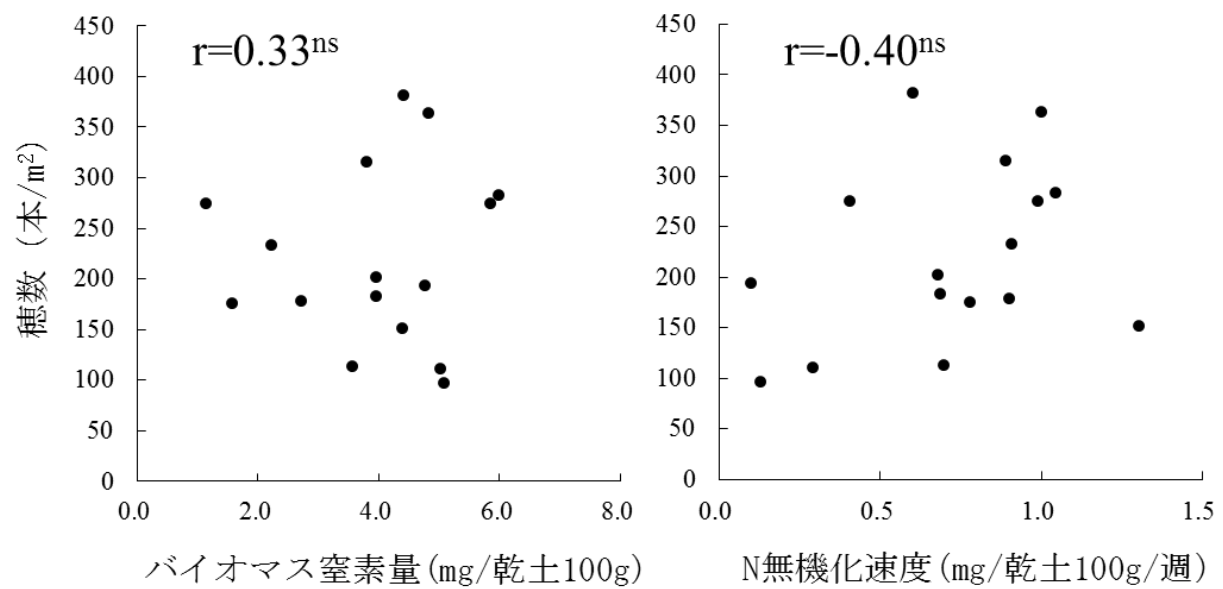


図 2.4 穂数と地力関連要因の関係.

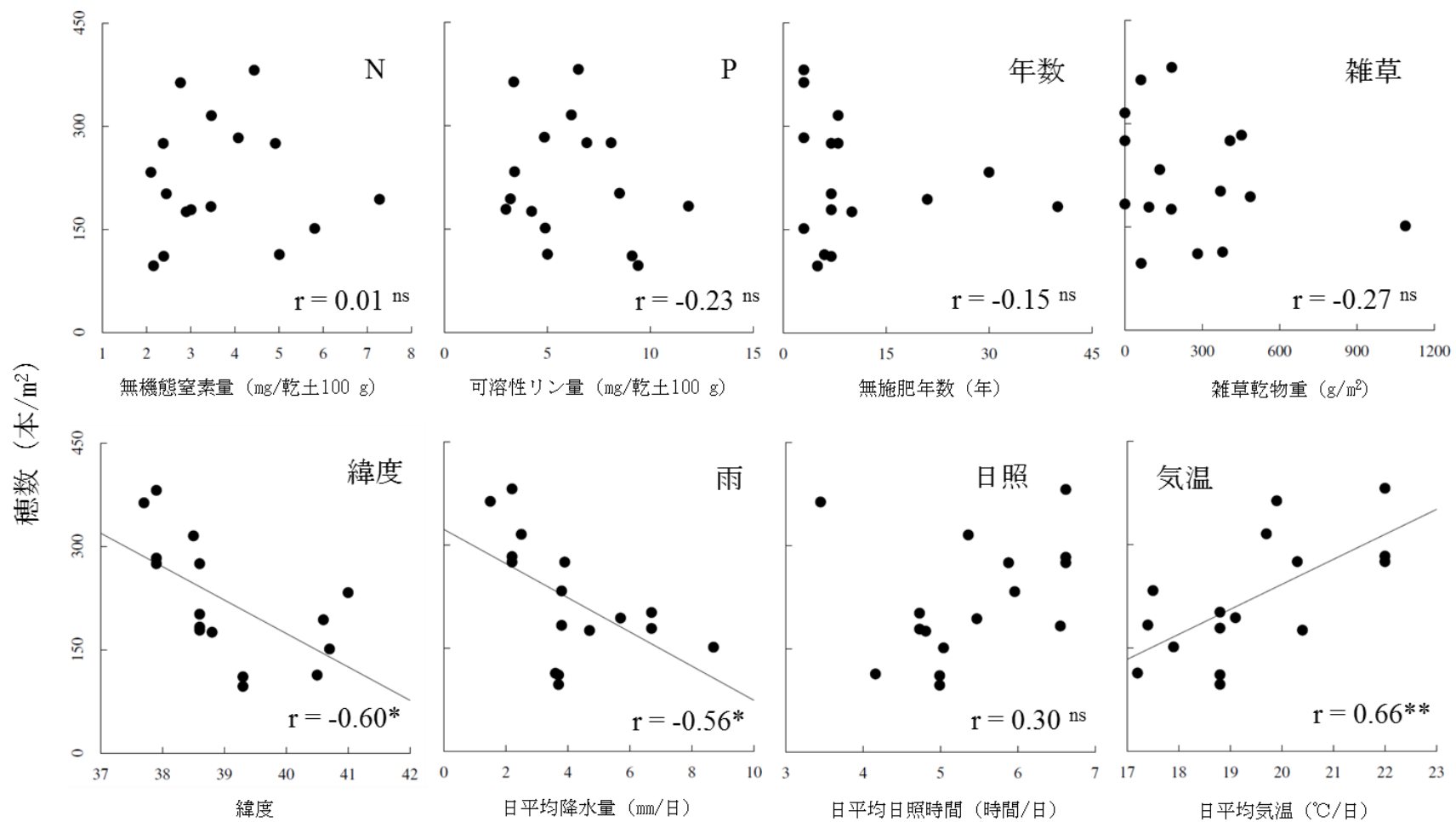


図 2.5 穂数と穂数形成要因の関係.

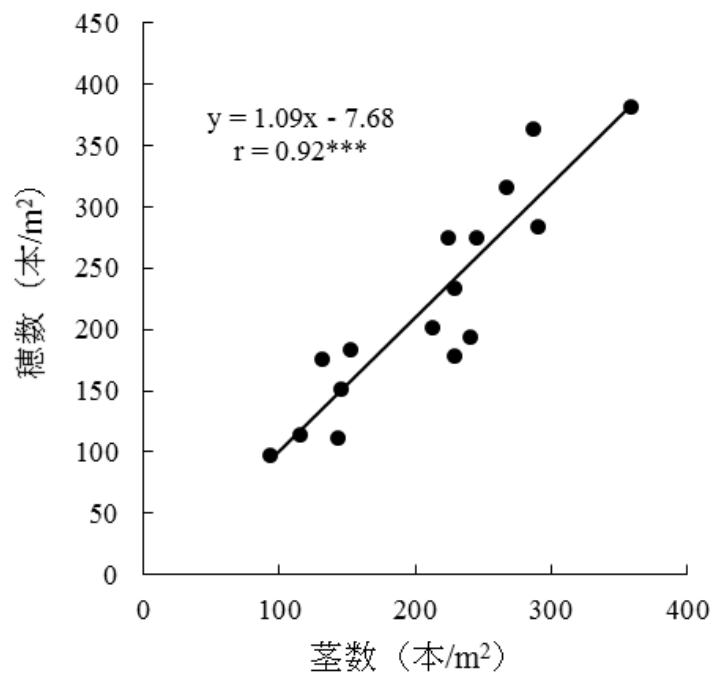


図 2.6 茎数と穂数の関係.

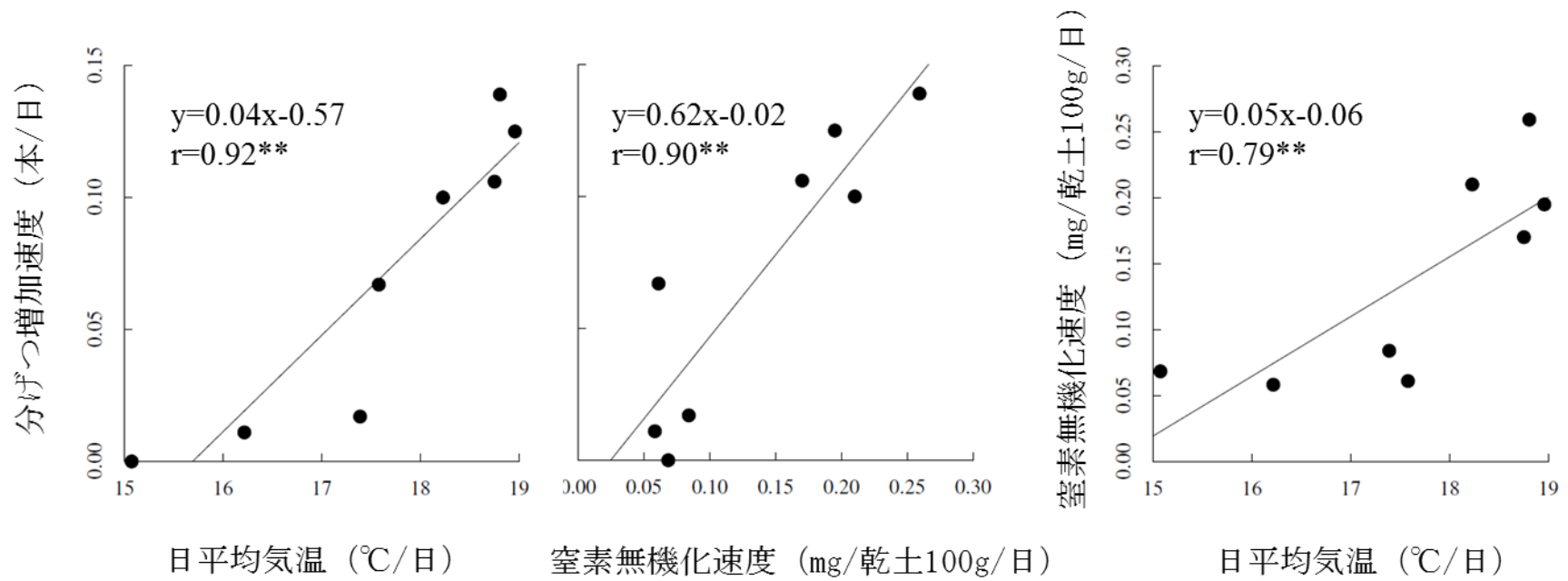


図 2.7 分げつ増加速度，日平均気温および土壌中の窒素無機化速度の関係。

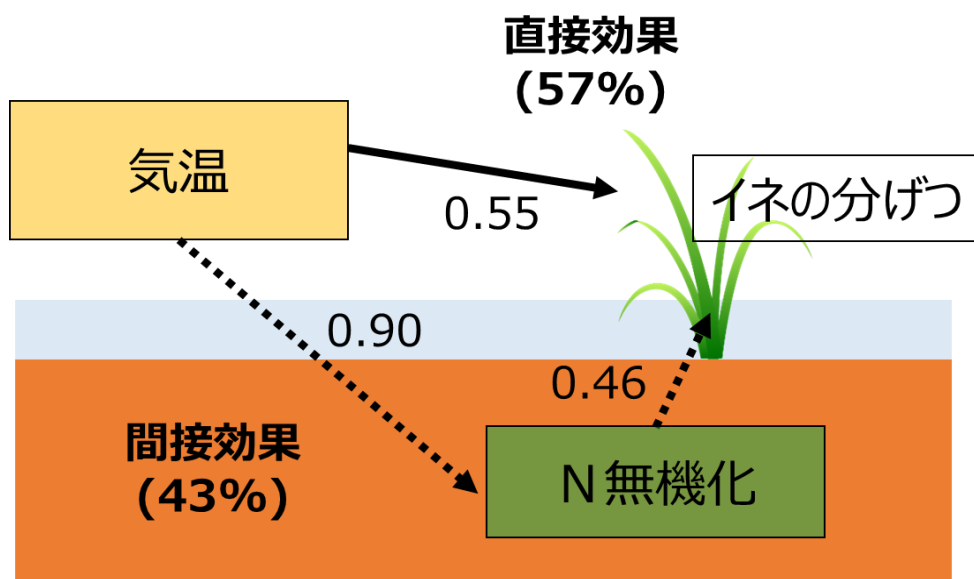


図 2.8 分けつ増加速度，日平均気温および土壌中の窒素無機化速度の関係．
 図中の数値は各要因間の標準偏回帰係数 β 値を示し，() 内の % は気温が分けつ増加速度を 100% とした時の直接効果，間接効果それぞれの割合を示す．

第三章 自然栽培水田における雑草群集構造と収量への影響

3-1 緒言

水田は作物生産の場であると同時に、野生生物の貴重な生息地でもある。したがって作物生産を高めるための過剰な合成農薬の投入や栽培管理による攪乱は、生態系サービスの低下を招き、水田の生物多様性を著しく低下させる。一方、化学肥料や合成農薬を使用しない有機栽培水田は、相対的に野生生物に対し安全な生態系サービスを提供するが、一方で害虫や病原菌、雑草の優占を許し、著しい収量減を引き起こすリスクを孕んでいる。特に自然栽培水田では、外部から栄養塩を投入しないためイネの生育が緩慢であることが多く、雑草の繁茂は深刻な減収を引き起こす主要因の一つとなっている。Smith (1983) による試算では、雑草管理をまったく行わなかった場合、収量は最大で 80%減少すると見積もられている。しかし、第二章で示したように、北日本地域の 16 の自然栽培水田をみると雑草発生量と収量は水田間で大きく異なっており (図 2.4)、必ずしも全雑草発生量と収量との間に強い負の相関関係がある訳ではない。慣行栽培では種特異的な効果をもつ除草剤によって雑草防除に成功していることが多いが、除草剤を使わない自然栽培水田において効果的な雑草管理戦略をたてるためには、雑草群集構造の形成プロセスおよび収量への強い影響をもつ優占雑草種を明らかにすることが必要である。

水田における雑草群集構造は、発芽から物質生産に至るまでの異なる生育ステージにおいて、多数の要因によって決定付けられている。そのプロセスにおいて、シードバンク群集は雑草群集構造に寄与する最初の重要な要因である。ほとんどの雑草種子は不適な環境条件下では土壤中で休眠状態を維持しているが、環境が好適になると休眠を打破し発芽する (Merritt *et al.*, 2007 ; Vdzquez-Yanes and

Orozco-Segovia, 1993)。しかし、雑草シードバンクの群集構造は、水田で形成される雑草群集構造を必ずしも反映しない。なぜなら、雑草は温度や光、土壌養分等の非生物的要因に反応し発芽するが、この反応には種間で差異があり (Long *et al.*, 2015)、それぞれの水田環境に適した雑草種のみが発芽し植物体を生産してゆくためである。発芽した後の雑草種には、生産者による雑草管理や、作物や他の雑草種との光や養分競合等、様々な選択圧がかけられ (Long *et al.*, 2015; Fried *et al.*, 2008)、淘汰されなかった雑草種のみが水田で雑草群集を形成することができる。雑草が光や養分の競合を通じてイネの収量に深刻な被害を与えることはよく知られているが、雑草群集がどのように形成され、どのようなプロセスで収量減少に関与するのかはほとんど明らかとなっていない。もし、雑草の種構成ではなく雑草群集全体の発生量がイネ収量に影響を及ぼすなら、雑草防除の主要ターゲットは全体の雑草発生量を減少させることになる。もし、雑草種間でイネ収量への影響が異なるなら、収量を減少させる特定の雑草種を優先的に防除する必要がある。

本研究では、第二章と同様に北日本地域の 16 の自然栽培水田を対象とした。自然栽培水田における適切な雑草防除システムを明らかにするため、どのように雑草群集が形成され、どのようにイネ収量に影響を及ぼすかを解析した。そのため本研究では、以下の三つの論点に焦点を当てた。(1) 雑草群集構造は、シードバンクの雑草群集構造からどの程度の影響を受けるのか？ (2) 土壌化学性、栽培管理、気象要因はどの程度雑草群集構造の形成に影響を及ぼすのか？ (3) 雑草発生量のイネ収量への影響は雑草種間で変わらないのか？

3-2 実験方法

1) 調査水田

第二章と同様の北日本地域の 16 の自然栽培水田を対象とした (表 3.1)。これらの水田は南北 400km に渡って緯度 37° 45' から 40° 57' の範囲に位置しており (図 3.1)、最低でも 3 年以上の自然栽培管理が継続されている。地理情報、栽培水稻品種、自然栽培歴、除草方法および除草回数を表 3.1 に示した。すべての水田では 5 月上旬から 6 月上旬中にイネが移植され、主に除草機による雑草管理が移植後 0 回から 10 回実施された。

2) 雑草群集の解析

土壌の雑草種子群集構造は、弘前大学構内で行われた自然発芽-生育試験によって調査した。2014 年 4 月に湛水前の各水田 3 地点から表層 15cm の土壌を採取し、それぞれの土壌をプラスチック製のシードリングケース (長さ 10cm x 幅 5.5cm x 深さ 15cm, 東京硝子機器, 東京) に充填した。シードリングケースは湛水した大きなボックス (65cm x 30cm x 16cm) に沈め、発芽と生育を促すため 6 月上旬から 8 月上旬まで湛水静置した。湛水後 8 週目に、すべての雑草種を土壌表面から刈り取り、地上部を採集し、雑草種ごとに同定・選別した。採取した雑草植物体は 70°C の恒温機で 48 時間乾燥され、それぞれの雑草種の乾物重を測定した。本研究では、カヤツリグサ科に属する 4 つの雑草種 (クログワイ (*Eleocharis kuroguwai* Ohwi)、タマガヤツリ (*Cyperus difforis* L.)、サンカクイ (*Schoenoplectus triqueter*)、ホタルイ (*Scirpus hotarui*)) が認められたが、地上部形質のみでの同定が困難だったため、これら 4 種はカヤツリグサ科雑草として同種として分類した。

現地水田で形成した雑草群集は水稻の出穂期 (7 月 28 日-8 月 4 日) に採集した。各水田の条間に 20cm 四方のコドラートを 3 箇所設置し、コドラート内のすべての雑草地上部を採集した。採集された雑草地上部は自然発芽-生育試験と同様に種レベルで同定し、70°C の恒温機で 48 時間乾燥後、乾物重を測定した。全雑草

乾物重に対する各雑草種乾物重の比を各雑草種の相対優占度として算出した。

3) 環境要因

湛水前に採取された各水田土壌の pH、全炭素、全窒素、C/N 比、アンモニア態窒素、硝酸態窒素、可溶性リン量を測定した。土壌 pH は湿潤土 10g に対し 50ml の蒸留水を加えよく振とうした後、pH メーターによって培養液を測定した。全炭素および全窒素は、乾燥土を用いて CN アナライザー (Varil EL cube, Elementar, Germany) によって測定した。CN 比は全窒素に対する全炭素の割合とした。アンモニア態窒素、硝酸態窒素、可溶性リン量の測定方法は第二章と同様である。いずれの土壌化学性も 3 反復で測定した。また、気象データは各水田に近い気象観測所のデータから取得した (気象庁, 2014)。

4) 統計解析

16 水田間の有意差検定のために Tukey-Kramer HSD 検定が行われた。自然発芽-生育試験で生じた雑草種子群集および実際の水田圃場での雑草群集の構造は、相対優占度を基にした主成分分析によって解析された。各雑草乾物重に及ぼす環境要因の影響を明らかにするため、変数の標準化後、重回帰分析が行われた。土壌化学性 (pH、全炭素、全窒素、C/N 比、アンモニア態窒素、硝酸態窒素、可溶性リン)、栽培管理 (自然栽培歴、移植から雑草採取日まで日数、除草回数)、環境 (移植から雑草採取日までの積算気温、積算日照時間) の 3 つのカテゴリから 13 の環境変数が選ばれた。以上のすべての統計解析は統計ソフト R (ver. 3.1.2) によって実施された。

3-3 結果と考察

1) 自然栽培水田の雑草群集構造

16 自然栽培水田土壌を用いた自然発芽-生育試験から、8 種の雑草種、コナギ

(*Monochoria vaginalis*)、カヤツリグサ科(*Cyperaceae*)、ウリカワ (*Sagittaria pygmaea*)、オモダカ (*S. trifolia*)、キカシグサ (*Rotala indica*)、ヒエ (*Echinochloa oryzicola*)、アゼナ (*Lindernia procumbens*)、シャジクモ (*Chara braunii*) が観察された (表 3.2)。コナギは、15 水田で観察された最も共通した雑草種だった。カヤツリグサ科、キカシグサ、ヒエは多くの水田で観察された (13、13、7 水田) が、一方で他の 4 種は 3 水田以下でしか観察されなかった。自然発芽-生育試験から推定される雑草種子群集の中で、ヒエが全雑草乾物重の中で 40%の最も大きな比率を占め、次いで優占した雑草種はコナギ (27%)、キカシグサ (16%)、カヤツリグサ科 (14%)、アゼナ (3%) だった。他の 3 種の優占度は 1%以下だった。

一方、現地水田の雑草群集は、あらゆる雑草が観察されなかった 3 水田 (8、9、12 ; 表 3.3) を除き、4 種のみ (コナギ、カヤツリグサ科、ウリカワ、オモダカ) で構成されていた。種子群集では優占度が高かったヒエとキカシグサは、いずれの水田でも観察されなかった。その他 2 つの雑草種であるアゼナとシャジクモもいずれの水田でも観察されなかった。全雑草乾物重は 16 水田間で 0~1088g/m² の範囲で変動し、コナギとカヤツリグサ科はそれぞれ全雑草乾物重の 59%、25%を占め、2 種を合わせた優占度は 84%に達した。

図 3.2 は、主成分分析による土壌種子群集と水田の雑草群集構造の座標付けを示す。主成分分析の第一軸と第二軸は、それぞれ変動全体の 23.1%と 19.5%を説明している。水田と土壌種子の雑草群集構造は明確に分離した。この明確な分離は、自然発芽試験では 8 種の雑草が観察されたが、水田では 4 種の雑草種しか観察されなかったことに由来する。更に、水田の雑草群集はコナギ優占とカヤツリグサ科優占の 2 つのグループに分類された。したがって自然栽培水田における雑草群集は、埋土種子集団には 8 種以上の雑草種が存在しているが、その後の発芽、生育プロセスにおける選択圧によって、コナギ、カヤツリグサ科優占の 2 つのパタ

ーンに大別されることが示された。

2) 雑草種と環境要因

表 3.4 は、重回帰分析で全雑草乾物重および各雑草乾物重に有意な影響を及ぼしていた環境変数を示した。全雑草乾物重はアンモニア態窒素、自然栽培歴、積算日照時間および積算気温に有意な影響を受けた。すなわち、移植後の気温が高いが日照時間は少なく、かつ自然栽培歴が長くて土壌中のアンモニア態窒素含量が低い水田では雑草乾物重は小さくなる傾向があった。一方、それぞれの雑草乾物重は異なる環境要因によって影響を受けた。コナギの乾物重は土壌中の硝酸態窒素量と積算日照時間に有意な正の影響を受けたが、一方で自然栽培歴と積算気温からは有意な負の影響を受けた。オモダカは土壌全窒素量に有意な正の影響を受けたが、ウリカワは移植日による有意な負の影響を受けた。一方で、カヤツリグサ科の乾物重はいずれの環境要因からも有意な影響を受けなかった。これらの結果は、各雑草種の発生量は異なる環境要因によって抑制・促進されているが、カヤツリグサ科雑草は発芽から植物体形成のプロセスにおいて環境からの影響を受けにくいことを示している。

3) イネ減収におよぼす雑草種の影響

図 3.3 にイネ減収におよぼす全雑草乾物重、および優占種だったコナギ、カヤツリグサ科 2 種の乾物重の影響を示した。水田 6 は土壌肥沃度が低いためイネおよび雑草のバイオマスがいずれも極端に低かった（表 3.4）ことから、この水田を除外して解析を行った。イネ収量は、緩やかな近似直線（全雑草：-0.16；コナギ：-0.10）で示されたように、全雑草乾物重あるいはコナギ乾物重からも有意な負の影響を受けなかった。一方で、カヤツリグサ科雑草の乾物重の増加は、イネ収量を有意に抑制していた（傾き=-0.54）。これらの結果は、自然栽培水田で発生した雑草全体の内、カヤツリグサ科雑草の割合はコナギ（59%）に対し約 25%と

小さかったが、同じ 1g の乾物が生産された場合のイネ減収に対する寄与率はコナギよりも大きかったことを示している。したがって自然栽培水田において収量向上を達成するための雑草管理においては、カヤツリグサ科雑草のような特定の雑草種を優先的に抑制することが重要であることが示された。しかし表 3.4 で示されたように、カヤツリグサ科雑草の生育は環境条件に対し鈍感であることから、防除の難しい雑草であることも同時に示唆されている。

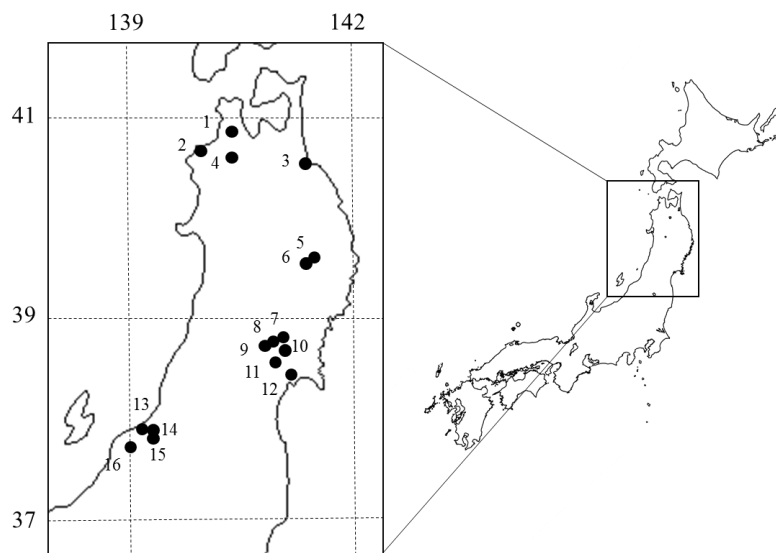


図 3.1 調査した自然栽培水田の位置情報.

表 3.1 調査対象とした自然栽培水田の概要.

水田	経度 (°N)	緯度 (°E)	栽培水稻品種	自然栽培歴	移植日	除草手法	除草回数
1	140.43	40.97	あねこもち	30	5月25日	機械	2
2	140.00	40.73	こまの舞	3	6月10日	N.A.	0
3	141.47	40.53	ほっかりん	6	6月10日	機械	3
4	140.39	40.62	あきたこまち	21	6月1日	機械/手取り	2
5	141.57	39.31	ササシグレ	7	5月25日	機械	3
6	141.45	39.33	ササシグレ	5	5月25日	機械	2
7	140.82	38.58	ササシグレ	7	5月25日	機械	5
8	141.19	38.57	亀の尾	40	5月5日	機械	3
9	141.16	38.64	ササニシキ	8	5月24日	機械/手取り	3
10	140.82	38.58	みやこがねもち	7	5月30日	機械	3
11	140.91	38.77	ササニシキ	10	6月1日	機械	5
12	141.22	38.52	ササニシキ	8	5月25日	機械	4
13	139.21	37.89	コシヒカリ	3	6月8日	機械	3
14	139.22	37.88	コシヒカリ	7	6月5日	機械	6
15	138.92	37.75	コシヒカリ	3	5月6日	機械	10
16	139.18	37.92	コシヒカリ	3	6月3日	機械	1

表 3.2 調査した 16 自然栽培水田土壌の化学性.

水田	pH	全炭素 (%)	全窒素(%)	CN 比	アンモニア態窒素 (mg/100g 乾土)	硝酸態窒素 (mg/100g 乾土)	全無機態窒素量 (mg/100g 乾土)	可溶性リン量 (mg/100g 乾土)
1	5.6 ± 0.1	2.3 ± 0.2	0.17 ± 0.02	12.9 ± 0.7	1.5 ± 0.3	0.6 ± 0.1	2.1 ± 0.2	3.4 ± 0.4
2	5.3 ± 0.1	4.2 ± 0.2	0.36 ± 0.02	11.7 ± 0.0	4.8 ± 0.9	1.0 ± 0.2	5.8 ± 1.0	4.9 ± 0.6
3	5.7 ± 0.1	5.0 ± 0.3	0.38 ± 0.02	13.0 ± 0.2	4.5 ± 0.4	0.5 ± 0.1	5.0 ± 0.5	5.0 ± 0.3
4	5.9 ± 0.0	5.1 ± 0.2	0.47 ± 0.02	10.9 ± 0.1	6.9 ± 0.7	0.4 ± 0.1	7.3 ± 0.6	3.2 ± 0.1
5	6.1 ± 0.0	5.4 ± 0.5	0.46 ± 0.03	11.6 ± 0.2	1.8 ± 0.0	0.6 ± 0.1	2.4 ± 0.1	9.1 ± 0.8
6	5.8 ± 0.0	3.7 ± 0.3	0.34 ± 0.02	10.8 ± 0.1	1.3 ± 0.2	0.8 ± 0.1	2.2 ± 0.3	9.4 ± 0.2
7	5.6 ± 0.1	1.9 ± 0.1	0.18 ± 0.00	10.3 ± 0.0	2.0 ± 0.0	0.5 ± 0.1	2.5 ± 0.1	8.5 ± 0.2
8	5.4 ± 0.1	2.2 ± 0.1	0.19 ± 0.01	11.5 ± 0.0	2.7 ± 0.2	0.7 ± 0.1	3.5 ± 0.3	11.9 ± 0.8
9	5.6 ± 0.1	1.6 ± 0.1	0.15 ± 0.01	10.8 ± 0.1	1.6 ± 0.1	0.8 ± 0.1	2.4 ± 0.2	6.9 ± 0.6
10	5.2 ± 0.1	2.1 ± 0.1	0.22 ± 0.01	9.7 ± 0.1	1.7 ± 0.2	1.3 ± 0.2	3.0 ± 0.2	3.0 ± 0.2
11	5.4 ± 0.1	1.3 ± 0.1	0.13 ± 0.01	9.8 ± 0.1	1.8 ± 0.2	1.1 ± 0.1	2.9 ± 0.2	4.2 ± 0.2
12	5.5 ± 0.1	4.8 ± 0.2	0.34 ± 0.02	14.3 ± 0.4	2.6 ± 0.2	0.9 ± 0.1	3.5 ± 0.2	6.2 ± 0.2
13	5.5 ± 0.0	3.8 ± 0.3	0.34 ± 0.02	11.0 ± 0.3	3.4 ± 0.5	0.7 ± 0.1	4.1 ± 0.4	4.9 ± 0.4
14	5.4 ± 0.0	4.5 ± 0.1	0.37 ± 0.01	12.2 ± 0.5	3.9 ± 0.2	1.0 ± 0.1	4.9 ± 0.2	8.1 ± 0.8
15	5.4 ± 0.2	2.9 ± 0.2	0.24 ± 0.01	12.2 ± 0.3	2.0 ± 0.2	0.8 ± 0.1	2.8 ± 0.1	3.4 ± 0.3
16	5.8 ± 0.2	4.2 ± 0.1	0.31 ± 0.00	13.5 ± 0.3	3.8 ± 0.5	0.6 ± 0.1	4.4 ± 0.5	6.5 ± 0.5

表中の数値は平均値±標準誤差を示す.

表 3.3 自然発芽-生育試験によって記録された各水田土壌から発生した雑草種の乾物重.

水田	乾物重 (g/m ²)									
	合計	コナギ	カヤツリグサ科	ウリカワ	オモダカ	キカシグサ	タイヌビエ	アゼナ	シャジクモ	
1	1209.1 b	238.2 a	42.1 ab	0.0 a	0.0 a	158.3 abc	770.5 b	0.0 b	0.0 a	
2	2100.1 a	305.6 a	0.0 b	0.0 a	0.0 a	0.0 c	1794.5 a	0.0 b	0.0 a	
3	574.7 bc	319.0 a	198.6 ab	0.0 a	2.4 a	57.1 b	0.0 b	0.0 b	0.0 a	
4	476.2 bc	63.2 a	47.1 ab	0.0 a	0.0 a	363.5 a	0.0 b	0.0 b	0.0 a	
5	450.6 bc	73.6 a	157.5 ab	1.4 a	0.0 a	218.1 abc	0.0 b	0.0 b	0.0 a	
6	283.1 c	6.1 a	2.7 b	9.4 a	0.0 a	117.2 b	147.7 b	0.0 b	0.0 a	
7	151.1 c	108.5 a	31.1 ab	0.0 a	0.0 a	11.5 c	0.0 b	0.0 b	0.0 a	
8	430.1 bc	155.3 a	0.0 b	0.0 a	0.0 a	16.0 c	0.0 b	258.8 a	0.0 a	
9	236.8 c	0.0 a	131.3 ab	0.0 a	0.0 a	57.1 b	0.0 b	48.4 b	0.0 a	
10	178.5 c	5.5 a	66.1 ab	0.0 a	0.0 a	106.8 b	0.0 b	0.0 b	0.0 a	
11	630.4 bc	65.3 a	295.0 a	4.0 a	0.0 a	266.1 ab	0.0 b	0.0 b	0.0 a	
12	782.8 bc	167.6 a	97.0 ab	0.0 a	0.0 a	14.9 c	503.3 b	0.0 b	0.0 a	
13	639.7 bc	82.3 a	0.0 b	0.0 a	0.0 a	103.7 b	449.2 b	0.0 b	4.5 a	
14	911.9 bc	429.2 a	105.3 ab	0.0 a	0.0 a	157.6 abc	219.8 b	0.0 b	0.0 a	
15	398.2 bc	59.7 a	222.7 ab	0.0 a	0.0 a	0.0 c	115.8 b	0.0 b	0.0 a	
16	666.8 bc	641.1 a	12.4 ab	0.0 a	0.0 a	0.0 c	0.0 b	13.3 b	0.0 a	
平均	632.5	170.0	88.1	0.9	0.2	103.0	250.1	20.0	0.3	
相対値	1.00	0.27	0.14	0.0015	0.0002	0.16	0.40	0.03	0.0004	

同一アルファベットは Tukey の多重検定により水田間に 5%水準で有意差がないことを示す.

表 3.4 現地自然栽培水田で観察された雑草種の乾物重およびイネ平均収量.

水田	平均水稻収量 (g/m ²)	雑草乾物重 (g/m ²)				
		合計	コナギ	カヤツリグサ科	ウリカワ	オモダカ
1	360	135.2 b	46.4 b	54.6 bc	33.8 a	0.4 b
2	264	1088.2 a	946.9 a	0.0 c	141.3 a	0.0 b
3	160	486.4 ab	362.9 b	123.6 bc	0.0 a	0.0 b
4	240	378.9 ab	0.0 b	330.5 a	0.0 a	48.4 a
5	120	282.1 b	81.7 b	196.2 ab	0.0 a	4.3 b
6	120	63.1 b	32.0 b	1.3 bc	29.9 a	0.0 b
7	290	370.8 ab	95.3 b	179.5 abc	96.0 a	0.0 b
8	490	0.0 b	0.0 b	0.0 c	0.0 a	0.0 b
9	420	0.0 b	0.0 b	0.0 c	0.0 a	0.0 b
10	280	77.9 b	10.8 b	56.0 bc	2.6 a	8.5 b
11	240	179.5 b	10.6 b	1.6 bc	166.2 a	1.2 b
12	402	0.0 b	0.0 b	0.0 c	0.0 a	0.0 b
13	270	452.2 ab	375.3 b	16.0 bc	53.9 a	7.0 b
14	360	407.6 ab	322.1 b	11.0 bc	37.6 a	37.0 ab
15	300	62.0 b	36.8 b	25.2 bc	0.0 a	0.0 b
16	310	181.6 b	146.7 b	34.9 bc	0.0 a	0.0 b
平均	289.1	260.4	154.2	64.4	35.1	6.7
相対値		1.00	0.59	0.25	0.13	0.03

同一アルファベットは Tukey の多重検定により水田間に 5%水準で有意差がないことを示す.

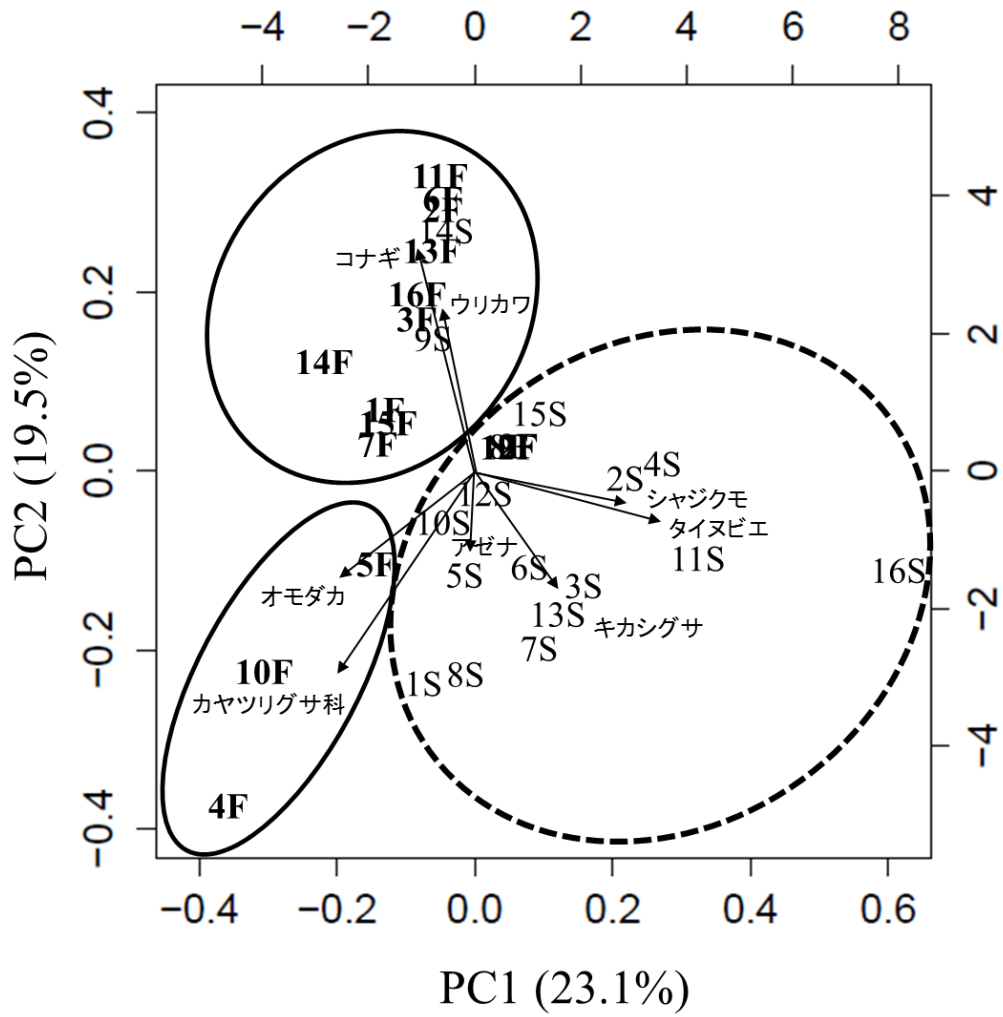


図 3.2 相対優占度を基にした雑草種子群集(S)と雑草群集(F)の主成分分析.
矢印は各雑草種の貢献の方向と度合いを示す.

表 3.4 全雑草乾物重および各雑草種乾物重に有意な影響を及ぼした環境要因.

説明変数/応答変数	標準化偏回帰係数 ± 標準誤差				
	全雑草乾物重	乾物重			
		コナギ	カヤツリグサ科	ウリカワ	オモダカ
(切片)	-2.3.E-10 ± 0.12	-2.4.E-10 ± 0.14	1.5.E-09 ± 0.14	-9.7.E-10 ± 0.13	-2.1.E-10 ± 0.23
pH					
全炭素					
全窒素					0.62 ± 0.27 *
C/N					
NH ⁴ -N	0.43 ± 0.17 *				
NO ³ -N		0.45 ± 0.19 *			
P					
イネ収量					
自然栽培年数	-1.45 ± 0.44 *	-1.71 ± 0.51 **			
移植日				-0.91 ± 0.25 *	
除草回数					
気温	-2.20 ± 0.48 **	-2.08 ± 0.49 **			
日照	1.99 ± 0.67 *	1.98 ± 0.68 *			

表中の数値は標準化重回帰分析における有意性を示した偏回帰係数±標準誤差を示す. *,**はそれぞれ 5%, 1%水準で有意であることを示す. 気温, 日照は移植日から雑草採集日までの積算気温, 積算日照時間を示す.

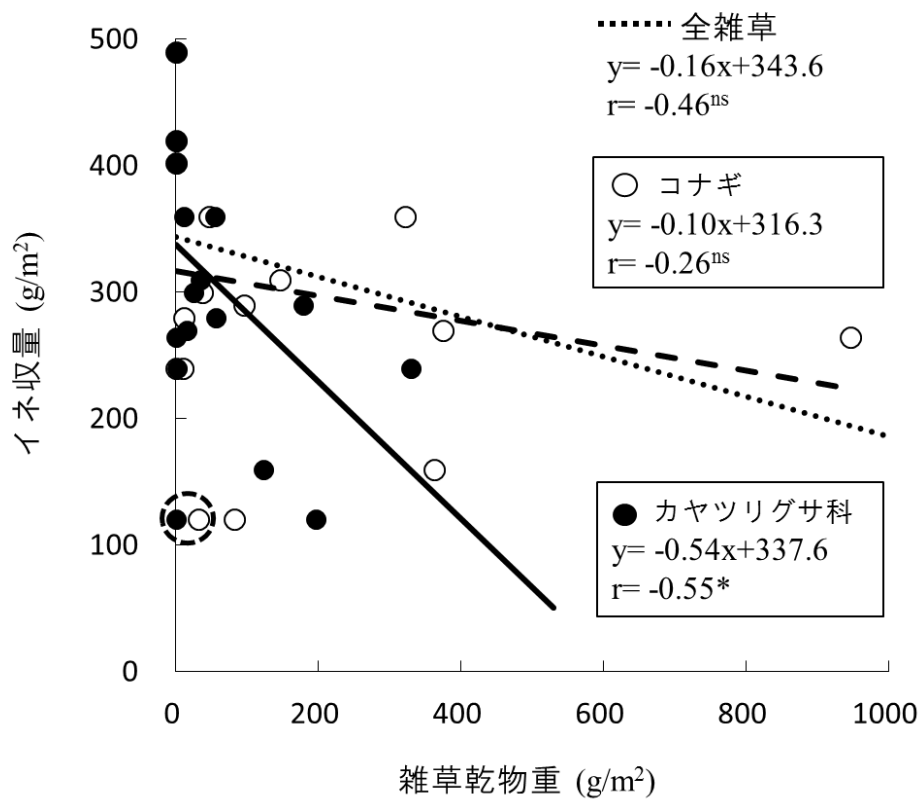


図 3.4 水稻収量に対する全雑草乾物重および各雑草種の影響.

円で囲んだ1サイトは、土壌肥沃度が異常に低く、バイオマス(イネおよび雑草)が極端に低かったため回帰分析から除外した。

第四章 窒素収支からみる自然栽培水田の高収量成立原理

4-1 緒言

北日本地域の自然栽培水田では水田間の収量差が大きく、一般に地力窒素の発現を規定する気象地理的な要因や(第二章)、イネの生育を阻害するカヤツリグサ科雑草の優占が収量を強く制限している(第三章)ことが明らかとなった。一方、自然栽培では玄米収穫により水田から持ち出された栄養塩を施肥を通じて人為的に補填しないにもかかわらず、一部の自然栽培水田では高い収量が長期的・安定的に得られているが、長期無施肥で高収量が達成されているメカニズムについてはほとんど明らかとなっていない。

西尾(1997)は、無施肥で水稻栽培が長期的に行われた場合の窒素収支を試算し、水田土壌の窒素供給力の経年的な減少にともなって、無施肥20年目の玄米収量は慣行栽培の約1/2、250kg/10a程度で平衡に達すると論じた。つまり、水田には雨や灌漑水、生物的窒素固定による天然の窒素供給があるものの、その量は毎年玄米によって搬出される5kg/10aの窒素よりもかなり低く、自然からの窒素供給だけでは250kg/10a程度の収量にとどまると結論づけた。しかしながら、日本各地の水田では大きな差異はないと考えられる雨や灌漑水由来の窒素供給とは異なり、水田土壌の生物的窒素固定能力は各水田の栽培条件に大きく左右されることが知られている。例えば、生物的窒素固定量はCO₂濃度や土壌窒素レベルによって変動すること(Hoque *et al.*, 2001)や、温度増加や受光量(兪, 1984a, 1984b)、稲藁添加処理(安田, 2000)によって増大することが知られている。特に、長期的に化学肥料を投入しておらず土壌が窒素欠乏にある栽培管理条件下では、土壌中の微生物群集が大きく変化すること(Okabe *et al.*, 2000)、自然栽培水田土壌の表層2mmでは光照射条件では遮光条件に比べ全窒素量の有意な増加が認められ

ている（荒生ら，2016）ことから、自然栽培水田土壌では窒素固定に関する微生物群が優占しやすく、慣行栽培水田よりも窒素富化機能が促進されている可能性がある。

このことに加え、土壌の無機態窒素供給に依存する自然栽培において高収量を実現するためには、作物残渣を含め土壌に保持されている有機態窒素がイネの窒素需要に応じて無機化され、イネに吸収利用されることが不可欠である。西尾は、無施肥 20 年後に土壌に蓄積された有機物から放出される無機態窒素量は $9.3\text{kgN}/10\text{a}$ /年程度で、その内半分の $4.7\text{kgN}/10\text{a}$ 程度の窒素がイネに吸収利用されると仮定している。仮に、土壌有機物から放出される無機態窒素が $9.3\text{kgN}/10\text{a}$ より多くなるか、イネの窒素吸収効率が $4.7\text{kgN}/10\text{a}$ より高くなれば、西尾により算出された予想収量 $250\text{kg}/10\text{a}$ を上回ることが可能である。有機物の分解と窒素の無機化および水稻の窒素吸収効率は、土壌の性質や有機物現存量、地温などの環境条件に大きく影響されるため（高橋ら，1976）、これらパラメータ値は実際の水田で計測することが望ましい。実際、本研究で対象とした 30 年間無肥料栽培を継続している宮城県涌谷町の K 氏水田では $480\text{kg}/10\text{a}$ の収量を安定して得ており、西尾の窒素収支モデルで用いたパラメータ値が K 氏の水田の値と大きく乖離していることを示唆している。しかし、これまで長期無肥料条件で高収量を支える水田の窒素収支を測定した研究はほとんどないため、どのパラメータが西尾モデルと異なっているかは分かっていない。

本研究では、収量レベルの異なる自然栽培水田を対象に、栽培期間を通じたイネー雑草ー土壌間における窒素動態、土壌中における稲藁の分解と無機窒素供給力、および土壌微生物による窒素富化機能について慣行栽培水田と比較することで、高収量成立機構を窒素収支から解明することを試みた。

4-2 実験方法

1) 調査地およびサンプリング方法

東北地方の収量性の異なる 4 箇所の自然栽培水田と 1 箇所の慣行水田で調査を行った（表 4.1）。4 つの自然栽培水田はいずれも 6 年以上の自然栽培歴があり、平均収量は 120kg/10a から 480kg/10a まで異なる。一方、比較対象とした慣行栽培水田（CF）は、青森県青森市の H 農事法人組合の水田で、県の稲作改善指導要領に準じて化成肥料で窒素、リン、カリウムが例年それぞれ 7~8kg、9~12kg、8~9kg/10a 施用されており、600kg/10a 程度の収量が得られている。

圃場調査は、湛水前（5 月 17 日）、幼穂形成期（7 月 1 日）、穂孕み期（7 月 15 日）、出穂期（7 月 31 日）収穫期（9 月 21 日）の計 5 回行った。各調査時に直径 5cm×長さ 5cm のステンレス製の試料コアを用い、稲の条間中央地点で表層 5cm の深さの土壌を採取した。同時に、各圃場で生育しているイネと雑草の地上部のサンプリングを、湛水前の 5 月 17 日を除き 4 時期に行った。イネは各水田において生育が中庸な個体を 3 個体選抜し地上部を地際で刈り取った。雑草はイネ条間中央に 20cm×20cm のコドラートを設け、その内部に生育するすべての雑草種の地上部を採集した。反復はいずれも 3 とした。収集した植物体は、実験室に持ち帰り、48 時間 70°C の恒温器で乾燥させた後、乾物重を測定した。雑草は種の分別は行わずまとめて重さを計測した。

2) 植物体の元素分析

イネと雑草の植物体の元素分析は、次のように行った。まず、植物体の乾燥試料を、粉砕機で粉砕後、0.2g の粉末試料を硫酸によって分解した。その後、分解溶液中の窒素を全有機体炭素計（TOC-L、島津製作所、京都）、リンをモリブデン比色法、交換性陽イオン 3 種（Ca²⁺、Mg²⁺、K⁺）を原子吸光光度計（Z-2000、日立、東京）でそれぞれ測定した。交換性陽イオン 3 種は、分解溶液：塩化ランタン

(50,000ppm) : 蒸留水=5 : 1 : 46 で 50ml 溶液を作製し、溶液中の濃度を測定することによって求めた。測定はいずれも 3 反復とし、値は mg/乾物重 g で算出した。イネと雑草の栄養塩吸収量は各時期の乾燥重量に元素濃度をかけることで求めた。

3) 土壌の化学分析

土壌の化学性としてアンモニア態窒素 ($\text{NH}_4\text{-N}$)、硝酸態窒素 ($\text{NO}_3\text{-N}$)、可溶性リン (P)、交換性陽イオン 3 種 (Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 K^{2+})、バイオマス炭素・窒素量を測定した。乾土 5g を 2M 塩化カリウム溶液 50ml で抽出後、アンモニア態窒素と硝酸態窒素をそれぞれインドフェノール法、カタルド法で発色後分光光度計によって濃度を測定した。アンモニア態窒素と硝酸態窒素の和を無機態窒素量とした。可溶性リンは乾土 1g を 0.002N 硫酸 50ml で抽出後、分光光度計によって測定した。交換性陽イオン 3 種は、1M 酢酸アンモニウム溶液 (pH7.0) による抽出後、原子吸光光度計で測定した。バイオマス炭素・窒素量の測定においては、クロロホルム燻蒸抽出法を用い、全有機体炭素計 (TOC-L, 島津製作所, 京都) で測定した。測定はいずれも 3 反復とし、値は mg/乾土 100g で算出した。

4) 稲藁分解試験

1/5000a ワグナーポットに各水田土壌を充填し、数日間湛水後の 2013 年 5 月 26 日に稲藁 1g を入れたリターバック (網目 1mm、5cm x 8cm) を、深さ 5cm に埋設した。ポットは太陽光の直射による土壌の温度変化を避けるために、水をいれたプラスチックボックス (65cm x 30cm x 16cm) 内に静置した。また、ポット内に雨水や光が入らないように実験期間中上部をベニヤ板で覆った。実験に用いた稲藁は、前年秋に弘前市の自然栽培水田で収穫後に放置されていたものを収集し、冬期間ガラス室で乾燥保存した。培養後 4 週 (6 月 26 日)、6 週 (7 月 12 日)、8 週 (7 月 26 日)、12 週 (8 月 29 日)、16 週 (9 月 30 日) にポット内の土壌の攪乱を避け

るために静かにリターバックを回収し、水道水で表面を慎重に洗浄した後、48時間70°Cの恒温機で乾燥させ、乾物重を測定し稲藁残存率を算出した。その後乾燥させた稲藁リターを硫酸で分解し、分解溶液を全有機体炭素計で測定し稲藁中窒素量 (mg/乾物重 g) を求めた。培養8週目には稲藁リターバックに付着している土壌およびポット内の稲藁埋設地点から離れた場所にある土壌を採取し、48時間70°Cの恒温機で乾燥させた後、CNアナライザー (Vario EL cube, Elementar, Germany) で全窒素量を測定した。反復はいずれも3とした。

4-3 結果と考察

1) イネの養分吸収量の推移

自然栽培水田は生育初期のイネの養分吸収において慣行水田と異なるパターンがみられた。図4.1に各水田のバイオマス量、窒素濃度、イネ窒素吸収量の推移を示した。慣行水田のイネは7月上旬から収穫期まで1.1g/m²/週で窒素をほぼ直線的に吸収したが、自然栽培水田のイネは収量性の高い順に0.2、0.3、0.5g、0.6g/m²/週と慣行水田の約1/5~1/3の速度に留まった。各水田のイネの窒素濃度は7月上旬時点では土壌中の窒素レベルを反映して水田間の差がみられたが、その後1カ月で差は急速に縮まり、7月下旬以降はいずれの水田でも約1%で推移した。一方、イネのバイオマス量は7月上旬では水田間の差がほぼなかったが、その後徐々に差が広がった。このことから、各水田のイネの窒素吸収量は植物体の窒素濃度ではなく、バイオマス生産量と比例関係にあることが分かった。高収自然栽培水田(NF4)では、7月中旬時点までは慣行水田の窒素吸収量と同等レベルにあったが、8月以降は高収量自然栽培水田でも慣行栽培に比べイネの窒素吸収量は大きく低下した。また、低収自然栽培水田では、7月中旬時点で既に慣行水田のバイオマス量との間に大きな差が生じており、その後も加速度的にバイオマス

生産量および窒素吸収量の差が拡大した。イネの窒素吸収量は分けつ盛期までは葉身の窒素含量に依存する光合成能の促進を通じて指数関数的に進むことから、自然栽培水田において全体に窒素吸収量が低い原因は、生育初期の段階で何らかの要因によって窒素吸収および生育が抑制されたことによることが分かった。また、他の元素 P、 K^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} においても、慣行水田、低収自然栽培水田、高収自然栽培水田の吸収量の推移パターンは類似しており、7月中旬時点までは慣行栽培水田と高収自然栽培水田間で有意な差はなかった（図 4.2）。したがって高収自然栽培水田のイネは、生育初期の7月中旬時点までは慣行栽培並みの高い養分吸収力を有していたことが示された。

2) 雑草の養分吸収量の推移

自然栽培水田の高収 2 水田（NF3, NF4）では雑草が生じなかったが、低収 2 水田（NF1, NF2）は雑草が繁茂する。図 4.3 に各水田の雑草のバイオマス量、窒素濃度、窒素吸収量の推移を示した。雑草植物体の窒素濃度は 0.13~0.22% の範囲内で変動し水田間・時期間の差は小さかったが、バイオマス生産量の増加速度は水田間で差があり、これが主要因となって雑草の窒素吸収量に違いが生じていた。また、窒素以外の元素吸収量においても、7月上旬から収穫期につれて吸収元素量が徐々に増加する傾向は窒素と同様だった（図 4.4）。雑草が吸収した窒素量は収穫期では 2.5~4.7g/m² で、7月中旬時点でも 1.1~1.8g/m² とイネが吸収した窒素量 0.8~1.1g/m² よりも多かった。7月中旬の NF1、NF2 において雑草およびイネが吸収した窒素量を併せると、2.1~2.7g/m² に達した。

自然栽培水田において収量への寄与率が高い茎数は、7月中旬時点の窒素吸収量との間に 0.1%水準で有意な強い正の相関関係（ $y=64.98x+142.52$ $r=0.96$ ）がある（図 4.5：左図）。この回帰式に、7月中旬の NF1、NF2 において雑草およびイネが吸収した窒素量の和を当てはめると、NF1 で 320 本/m²、NF2 で 282 本/m² の値

が得られ、実際のイネの茎数よりもそれぞれ 123 本、77 本/m² 多い値となる。更に茎数と玄米収量の回帰式 ($y=1.69x-119.4$ $r=0.98$) に当てはめると、これは 420g、356g/m² の玄米収量に相当する (図 4.5 : 右図)。したがって雑草が吸収した窒素をイネに配分することができた場合、理論的には、250kg/10a 以下の低収の 2 水田においても 350kg/10a 以上の収量ポテンシャルあると考えられる。

3) 土壌の養分供給力

図 4.6 に各水田の土壌中養分量の推移を示した。無機態窒素量は、湛水前の 5 月 17 日時点では水田間の差がほぼなかったが、高収自然栽培水田 (NF4) では湛水後著しく増加し、7 月上旬時点では慣行水田 (CF) とほぼ等しい値となった。出穂後の 8 月以降は、CF では急速に減少し低収の自然栽培水田と大差ない値となったが、NF4 では出穂後も高い値を維持していた。また、P、K²⁺、Ca²⁺、Mg²⁺ 含量の他の元素量においても、時間経過に伴う増減パターンの違いは多少あるものの、NF4 の土壌で生育期間を通じ高い養分レベルが維持されていたことは一致していた。

4) 稲藁の分解にともなう窒素富化

各自然栽培水田土壌の稲藁分解試験における稲藁残存率の推移を図 4.7 に示した。いずれの水田土壌でも培養 6 週目までに約 30%の稲藁が分解され、この時点では水田間に有意差は認められなかった。しかし培養 6-8 週目にかけて水田間に有意な差が生じ、NF4 では残存率が最も小さい 51%、培養 8-12 週目でもその傾向は維持され 65%まで分解された。その後の分解速度は緩慢になり、最後のサンプリング時となった培養 16 週目では再度水田間の有意差はなくなった。

培養 8 週目における稲藁中 K²⁺と窒素の増加量を表 4.2 に示した。稲藁に含まれる K²⁺はいずれの水田土壌においても顕著に減少し、これは稲藁中の K²⁺は培養後すぐに放出される (Li *et al.*, 2014) という報告と類似していた。一方で稲藁含有

窒素量は、湛水前に比べいずれの水田土壌でも 2.1~3.1mg/g 増加し、この増加量に水田間の有意差は認められなかった。稲藁分解過程では K^{2+} と同様に稲藁中有機態窒素も微生物による無機化を通じて減少することが予想されたが、逆に増加したことは窒素では有機物分解-窒素無機化にともなう窒素放出というプロセス以外に窒素が増える別の反応が働いていることを示している。考えられるプロセスとして稲藁分解過程での呼吸エネルギーを利用した窒素固定があげられる。生物的窒素固定に関与するニトロゲナーゼは細菌と古細菌の広いグループに存在することが知られている。ニトロゲナーゼは周辺に酸素分子とアンモニア態窒素が存在すると活性が阻害されるため、好気条件にある畑作や化学肥料を施与する水田では通常窒素固定は起こりにくいと考えられる。しかし、両阻害要因が排除される長期の無肥料栽培水田では窒素固定が起こりやすい条件が揃う。したがって、水田に投与された稲藁は、無機化を通じて放出される窒素の供給源としての役割以外に、微生物へのエネルギー供与を通じた生物的窒素固定を促進する役割も果たしていることが考えられる。

表 4.3 に培養 8 週目における稲藁周辺土壌の窒素の増加量を示した。稲藁を添加しない土壌では、土壌中窒素は 1.51g~3.12mg/乾土 100g 増加したが、稲藁を添加した土壌では、4.8~11.0mg/乾土 100g の窒素量が分解試験中に増加しており、特に高収自然栽培水田 (NF4) で顕著に高い値が認められた (表 4.3)。NF4 の土壌では、コントロールとして用いた近隣に稲藁のない土壌の窒素増加量が 2.0mg/乾土 100g なので、稲藁分解を通じた窒素の増加は最大約 5.5 倍と著しく大きい。本試験ではポット外からの雨水や培養水の流入を遮断しているため、増加した窒素の経路は窒素固定によると考えられる。この結果は、いずれの水田土壌でも湛水培養によって全窒素量は窒素固定により増加するが、NF4 の高収水田土壌においては特に炭素源となる稲藁を施用したことで窒素固定が飛躍的に促進

されたことを示唆している。

高収自然栽培水田において稲藁の分解力、窒素富化機能が高いことは微生物機能が高まっていることを示すが、この微生物機能が微生物量に由来するのか、特定の微生物組成に由来するのかが定かではない。図 4.8 に微生物量の指標となる各現地水田の土壌中バイオマス炭素・窒素量の推移を示した。湛水前の 5 月 17 日時点でバイオマス炭素・窒素量はいずれも水田間で大きな差が認められ、NF4 では顕著に低かった。湛水後は徐々に増加傾向があり、7 月中旬～下旬のバイオマス窒素量は他水田の値に近づいたが、栽培期間を通じて NF4 のバイオマス炭素・窒素量はいずれも低く推移した。すなわち NF4 では他水田に比べ土壌微生物量が低く推移していることが分かる。したがって高収自然栽培水田において活性化している稲藁分解・窒素固定等の微生物機能は、微生物量によるものではなく、特定の微生物組成によるものであることが示唆された。

5) 高収自然栽培水田の窒素収支

表 4.4 において、本研究によって推定された各自然栽培水田の窒素収支および西尾（1997）の窒素収支モデルを比較した。NF4 では玄米および稲藁生産力が他の自然栽培水田よりも大きく、玄米収穫により搬出される窒素量が $4.65\text{g}/\text{m}^2$ 、稲藁鋤き込みにより土壌に還元される窒素量が $3.2\text{g}/\text{m}^2$ だった。これは、西尾モデルにおける $500\text{kg}/10\text{a}$ の玄米生産がされた場合の搬出窒素量 $5.0\text{g}/\text{m}^2$ と還元窒素量 $3.4\text{g}/\text{m}^2$ とほぼ一致している。

一方、西尾は生物的窒素固定による水田への窒素固定を $2\text{g}/\text{m}^2$ 程度と概算したが、本研究の稲藁分解試験と還元稲藁量を基に算出した NF4 の推定窒素固定量は $4.69\text{g}/\text{m}^2$ で西尾モデルよりも 2.3 倍高かった。また、この窒素固定量は NF4 の玄米収穫による窒素搬出量 $4.65\text{g}/\text{m}^2$ とほぼ同じだった。現地水田では、更に雨水や灌漑水による窒素供給もあることから、NF4 では玄米によって持ち出される窒素

量以上の天然の窒素供給がある計算になる。これらの結果は、高収の自然栽培水田では稲藁を基質とした生物的窒素固定が促進されることによって、水田内の窒素循環が活性化し、玄米収穫にともなって生じる窒素ミッシングを十分に補っていることを示唆している。また、同じ自然栽培でも水田によって窒素富化量が異なること（表 4.3）、高収自然栽培水田では土壤中バイオマス炭素・窒素量が低く推移していることから（図 4.6）、稲藁をエネルギー源とする高い窒素富化機能は微生物量によるものではなく、高収自然栽培水田において優占した特定の微生物種か、特定の微生物群のコンソーシアム形成によって促進されたことが考えられた。

表 4.1 調査対象とした自然栽培水田および慣行水田の概要.

調査地域	水田名	平均収量 (kg/10a)	土壌	無施肥歴 (年)	品種	栽植密度 (株/m ²)
青森県青森市	CF	600	中粗粒強グライ土 (14B)	0	つがるロマン	18.1
岩手県遠野市	NF 1	120	礫質褐色低地土 (12C)	6	ササシグレ	15.1
青森県弘前市	NF 2	240	腐植質黒ボクグライ土 (05B)	20	あきたこまち	18.1
青森県青森市	NF 3	360	中粗粒強グライ土 (14B)	6	つがるロマン	18.1
宮城県涌谷町	NF 4	480	細粒灰色低地土、灰褐系(13D)	30	ひとめぼれ	9.1

土壌分類は農業環境技術研究所, 土壌情報閲覧システムに拠った.

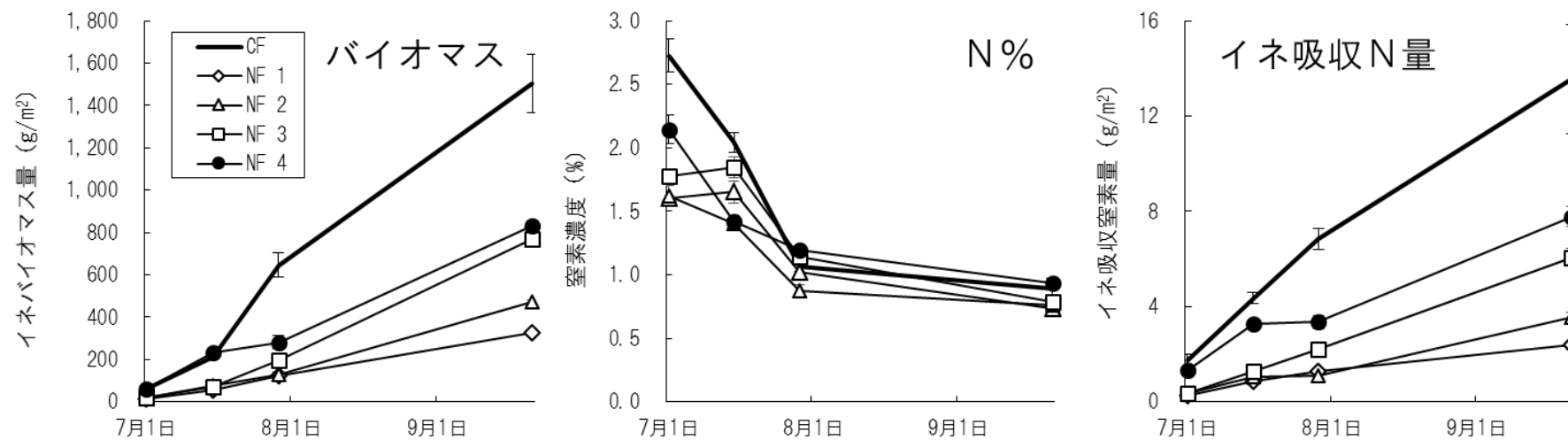


図 4.1 各水田におけるイネのバイオマス量，窒素濃度，窒素吸収量の推移.

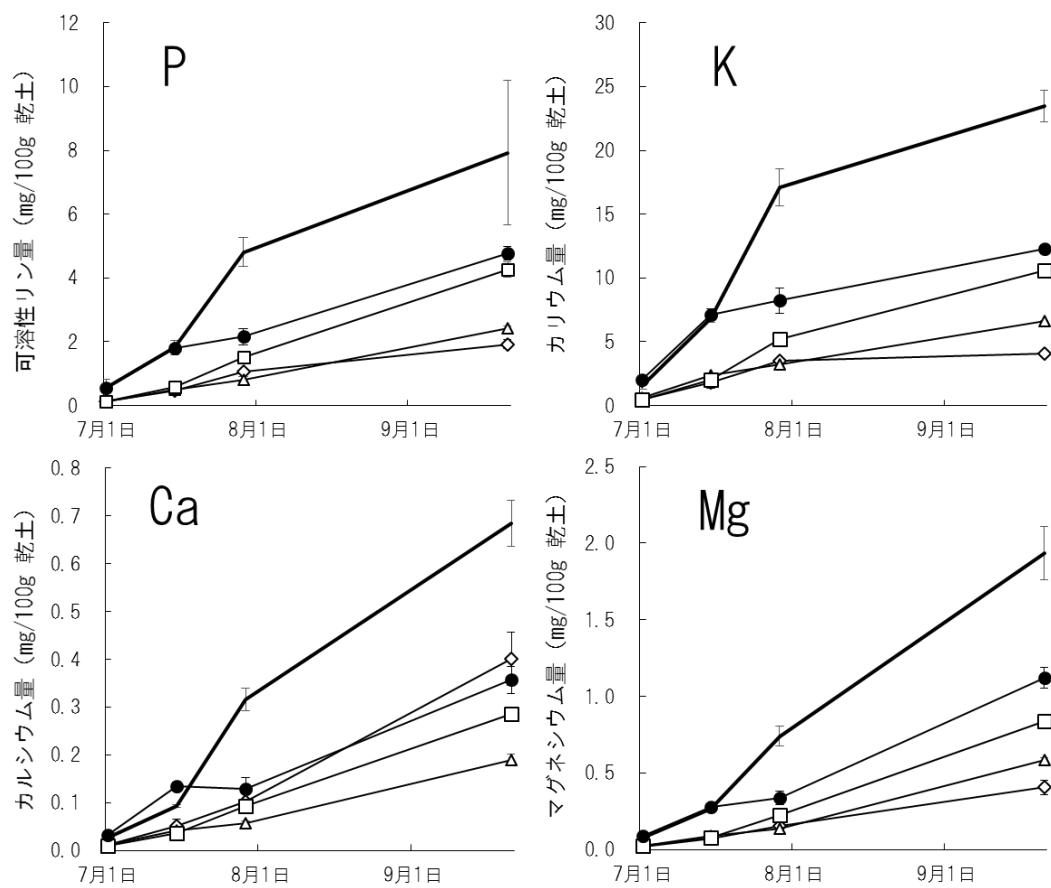


図 4.2 各水田におけるイネのリン，カリウム，マグネシウム，カルシウム吸収量の推移.

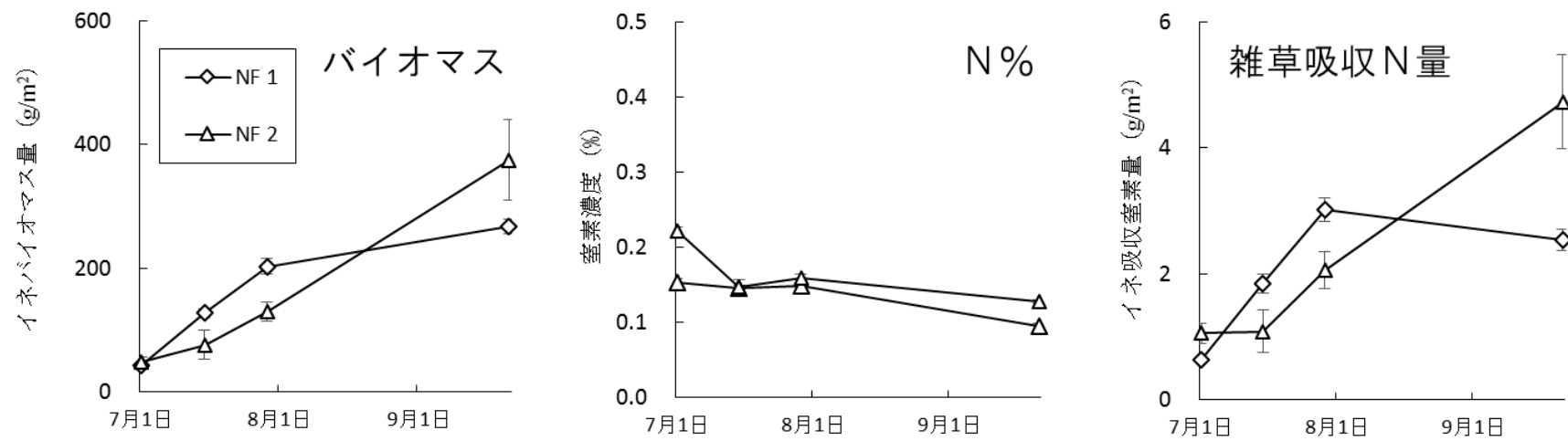


図 4.3 各水田における雑草のバイオマス量，窒素濃度，窒素吸収量の推移.

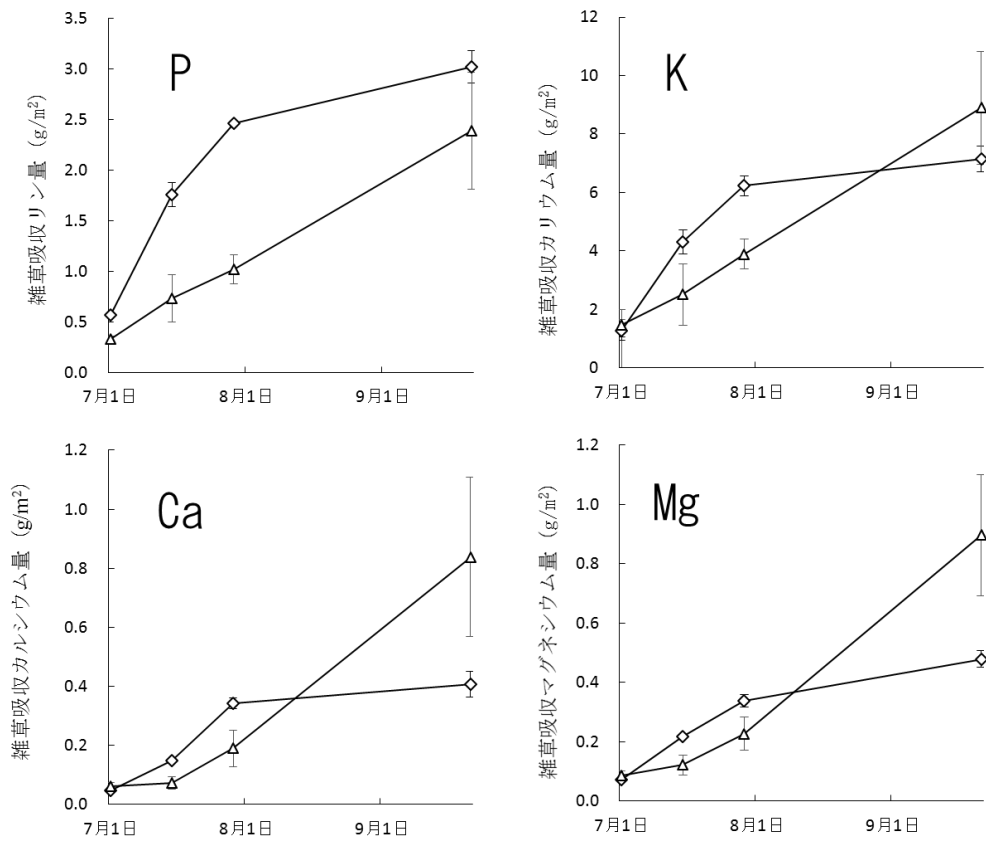


図 4.4 各水田における雑草のリン，カリウム，マグネシウム，カルシウム吸収量の推移.

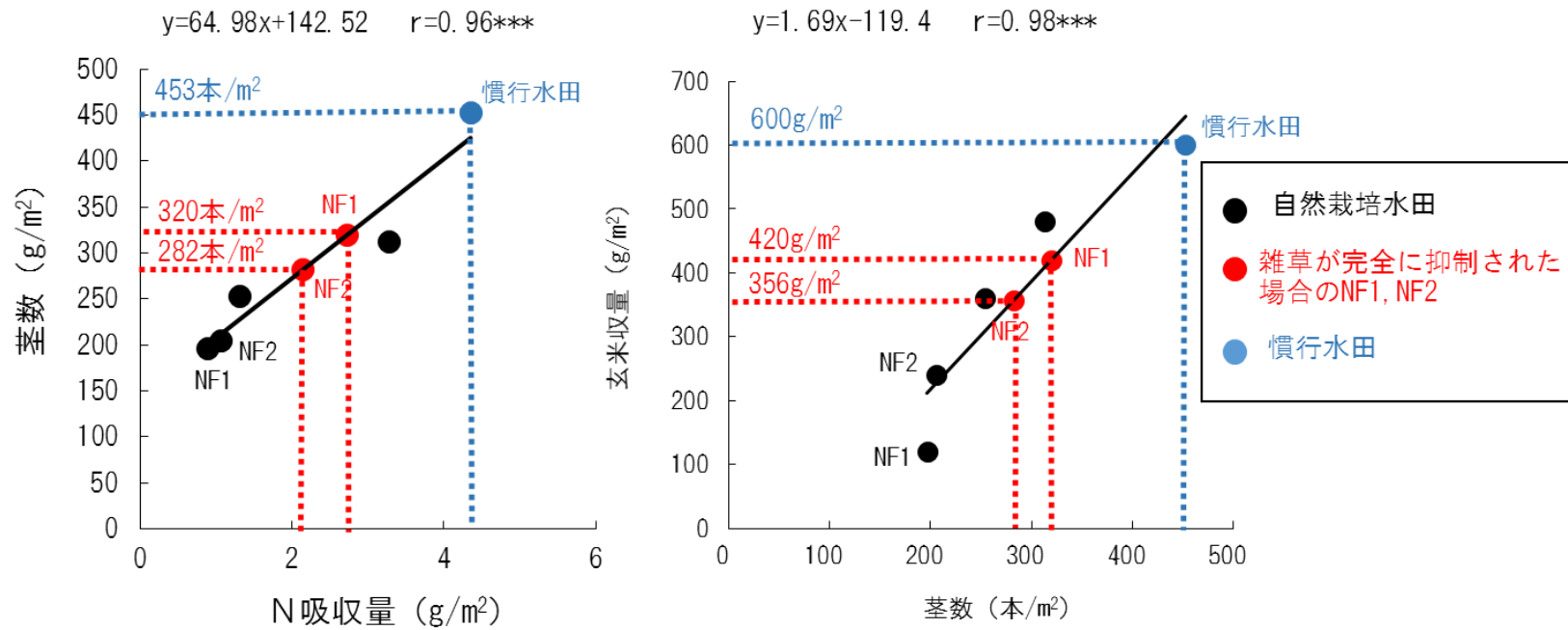


図 4.5 イネ窒素吸収量と茎数、茎数と玄米収量の関係。

黒、赤、青プロットは、それぞれ自然栽培水田、雑草が完全に抑制された場合の NF1・NF2 の推定値、慣行水田を示す。

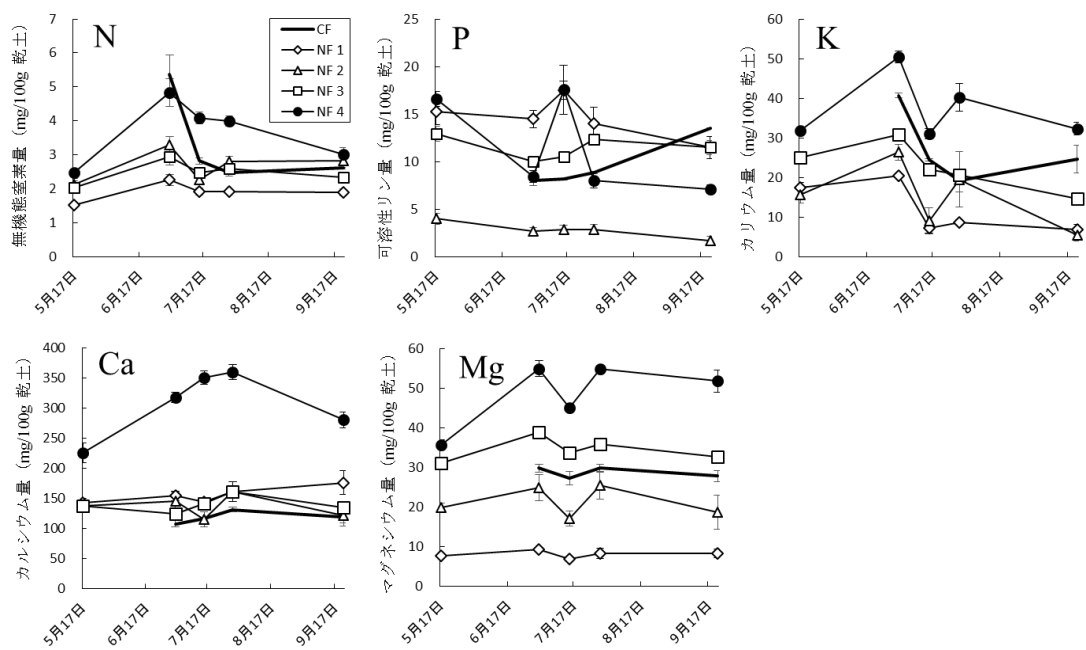


図 4.6 各水田における土壌中の養分含量の推移.

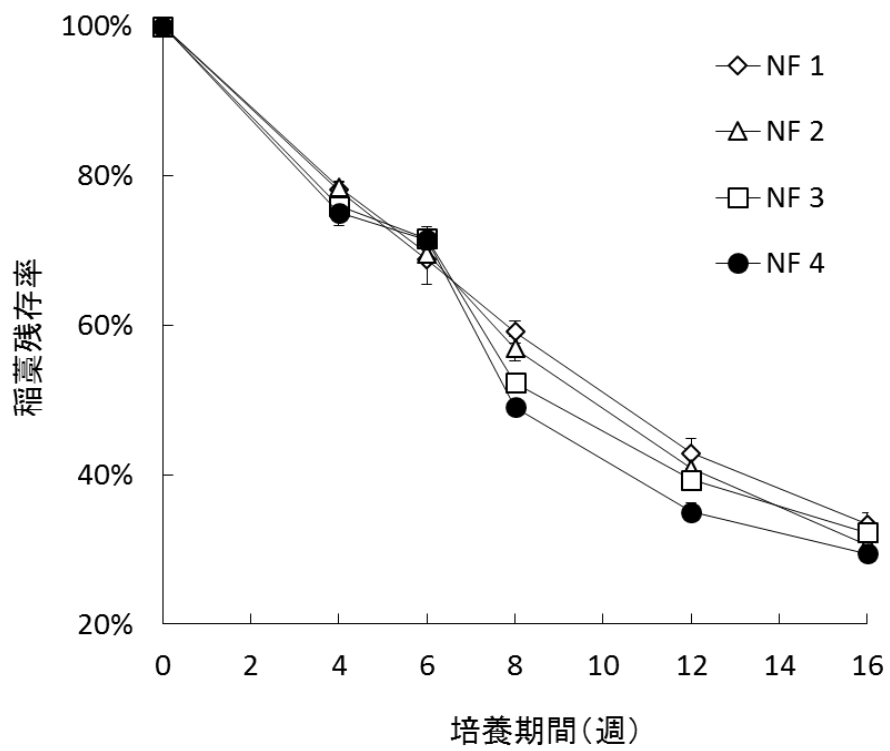


図 4.7 リターバック試験における各自然栽培水田土壌の稲藁残存量の推移.

表 4.2 稲藁分解試験における湛水 8 週目の稲藁中 K^{2+} および窒素増加量.

水田	培養によるリター中元素の 増加量 (mg/g)			
	K		N	
NF1	-4.05	± 0.15	a	2.11 ± 0.57 a
NF2	-4.20	± 0.16	a	2.78 ± 0.10 a
NF3	-4.25	± 0.13	a	3.08 ± 0.42 a
NF4	-4.03	± 0.17	a	2.65 ± 0.27 a

表 4.3 稲藁分解試験における湛水 8 週目の土壌中全窒素増加量への稲藁添加の効果.

水田	培養による土壌中窒素(mg/100g)の増加量			
	稲藁なし		稲藁あり	
NF1	2.39	± 0.1 b	4.77	± 0.53 b
NF2	3.12	± 0.1 a	7.01	± 0.88 b
NF3	1.51	± 0.1 c	6.44	± 0.30 b
NF4	2.02	± 0.2 bc	10.98	± 0.62 a

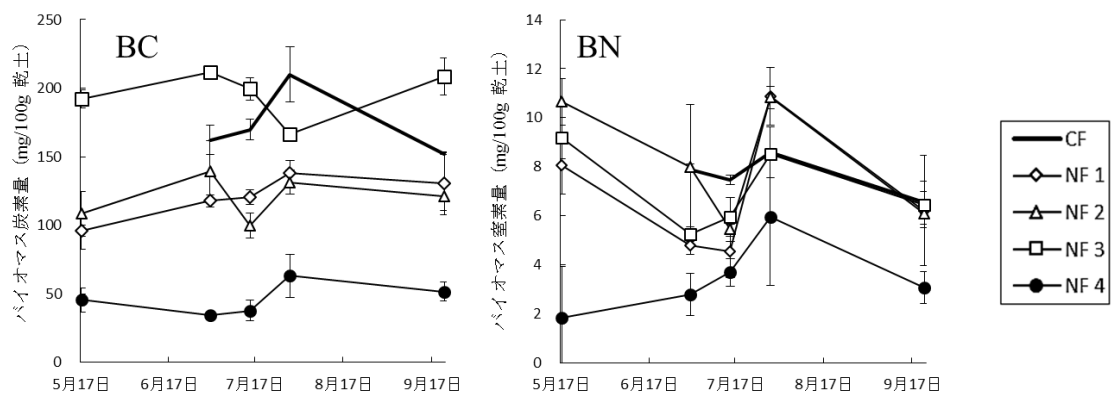


図 4.8 各水田における土壤中微生物バイオマス炭素(BC)・窒素量(BN)の推移.

表 4.4 稲藁を土壌還元した場合に推定される各自然栽培水田の窒素収支.

水田	系外に搬出される窒素量 (g/m ²)	還元される稲藁量 (g/m ²)	稲藁窒素濃度 (mg/g)	還元される窒素量 (g/m ²)	土壌の推定窒素固定量 (g/m ²)	稲藁効果による土壌の推定窒素固定増加量 (g/m ²)	推定窒素固定総量 (g/m ²)
NF1	1.98 ± 0.2	142.6 ± 3.4	4.3 ± 0.4	0.6 ± 0.1	1.20 ± 0.1	0.34 ± 0.1	1.54 ± 0.0
NF2	2.31 ± 0.0	204.0 ± 4.3	4.0 ± 0.4	0.8 ± 0.1	1.56 ± 0.0	0.79 ± 0.2	2.35 ± 0.2
NF3	3.97 ± 0.2	370.0 ± 32.6	4.6 ± 0.3	1.7 ± 0.2	0.75 ± 0.1	1.80 ± 0.0	2.56 ± 0.1
NF4	4.65 ± 0.3	411.3 ± 0.6	7.7 ± 0.7	3.2 ± 0.3	1.01 ± 0.1	3.69 ± 0.2	4.69 ± 0.3
西尾試算 (1997)	5.00	500	6.8	3.4			2.00

第五章 自然栽培水田における生物的窒素固定の活性化

5-1 緒言

生物的窒素固定は、窒素固定酵素のニトロゲナーゼの働きにより窒素ガスをアンモニアに変換するプロセスである。この作用は、大気中で 80%を占める窒素ガスを植物が利用可能な無機態窒素に変換することで植物の一次生産に大きな影響を与え、陸域生態系内の炭素と窒素循環において重要な役割を担っている。ニトロゲナーゼは酸素に接触すると構造が変化するため、畑のような酸化的条件では酵素活性が制限される。しかし、水田のように湛水状態によって土壌が還元化する条件ではニトロゲナーゼが活性化され、潜在的に高い生物的窒素固定が生じていることが知られている (Yoshida and Ancajas, 1973)。

水稻栽培において窒素肥料は生産性を向上させる上で重要な要素だが、同時に窒素肥料の製造には窒素ガスからアンモニアを生産する過程で大量の化石エネルギーが投入され、肥料の運搬や農地への散布にも多大なエネルギーを必要とする。加えて、農地に施肥された窒素の多くは植物に吸収利用されずに、硝酸イオンとして農地から系外に溶脱して湖水や沿岸海域の富栄養化を引き起こしたり、微生物による脱窒過程で強力な温室効果ガスである亜酸化窒素の大気中への放出等により、環境への大きな負荷の原因となっている (図 1.2)。このため、水田における生物的窒素固定を増大させ、施肥窒素を削減することは陸域生態系内の窒素負荷を抑え、持続的な生産環境をつくる上で重要である。

窒素の投入のない自然栽培水田では環境への窒素負荷は低下するものの、窒素欠乏による作物生産性の低下は必然的に生じる。このジレンマを解決する上で生物的窒素固定の活性化は必須であるが、生物的窒素固定でどれだけイネが必要とする窒素をまかなえるかが大きな課題である。第四章では、持続的に 480kg/10a

の高収量を達成している自然栽培水田土壌では前年に投入された稲藁をエネルギー源とした生物的窒素固定が活性化している可能性を示す結果が得られた。そこで、本研究では、高収自然栽培水田における窒素固定に係わる細菌の群集構造と窒素固定能力の評価を行い、第4章で示唆された結論を実験的に証明することを試みた。

水田における生物的窒素固定には大きく分けて二つの種類がある。一つは植物体と共生関係を構築しているエンドファイトによる共生的窒素固定、他は土壌や田面水中に存在する細菌や古細菌による独自の窒素固定である。

イネ植物体と共生する窒素固定細菌の存在については古くから報告があり、Elbeltagy *et al.* (2001) は野生イネの茎内に棲息するエンドファイトが窒素固定を行っていることを窒素安定同位体 ^{15}N を用いて初めて実証している。また、イネ根内においても表皮細胞と維管束環にメタン酸化細菌が局在し (Bao *et al.*, 2014a)、メタンをエネルギー源として窒素固定を行っていることが明らかとされている (Bao *et al.*, 2014b)。更に圃場実験においては、土壌の窒素環境が変化することでイネ根内微生物群集構造が大きく変化することが報告されている。通常の施肥条件ではイネ根内ではメタン生成などの還元的代謝が活性化するが、低窒素条件では逆に酸化的代謝が活性化し、メタン酸化をエネルギー源とする *Methylosinus* 属細菌が窒素固定を行っていることが明らかとなっている

(Ikeda *et al.*, 2014)。これらの報告は、水田における生物的窒素固定の潜在的な貢献を示唆している。特に、窒素施肥の制限が水田土壌の窒素固定機能をもつ微生物群集の変化を誘引して、イネが吸収した窒素の12%程度を共生窒素固定が担っているという定量的な推定もある (Minamisawa *et al.*, 2016)。

一方で土壌や田面水には、単独で窒素固定を行う様々な窒素固定細菌が存在している。窒素固定の生合成反応には多大なエネルギーを必要とする。実験室条件

では窒素固定には 1mol のアンモニアを合成するために 16mol の ATP が必要とされるが、自然条件下では 30mol の ATP が必要であるという報告もある (Hill, 1976)。したがって水田内の生物的窒素固定量は、窒素固定をになう細菌がどれくらいのエネルギー源を獲得できるかが鍵となる。窒素固定細菌のエネルギー産生代謝には様々なものがあり、好気性および嫌気性従属栄養 (化学有機栄養)、酸素発生型光栄養 (シアノバクテリアのみ)、嫌氣的酸素非発生型光栄養、あるいは化学無機栄養といった種類がある (Kirchman, 2016)。水田では、特に光合成を利用する光栄養と稲藁等の有機物をエネルギー源とする化学有機栄養が中心となると考えられる。兪ら (1984a) は、水田土壌における窒素固定が稲藁添加や露光によって増加したこと、また荒生ら (2015) は、自然栽培水田土壌を遮光条件と露光条件で培養し、光照射下で土壌表層 2mm の全窒素量が有意に増加したことを報告している。生物的窒素固定反応は周辺の酸素分子とアンモニア分子の存在で制限されるため、還元的かつ低窒素の自然栽培水田土壌は窒素固定が活性化される条件を満たしており、一般施肥田に比べ窒素固定活性が増大している可能性が考えられる。しかし、実際に窒素固定活性を測定し、自然栽培水田において窒素固定細菌による窒素固定が活性化していることを実証した例はない。

本章では、自然栽培水田と慣行栽培水田における生物的窒素固定に係わる微生物群集と窒素固定能力の差を明らかにすることを目的におこなった。2015 年には慣行栽培水田と自然栽培水田の細菌群集構造の違いを明らかにするためイネ根内の細菌をメタゲノム解析によって比較した。施肥と無施肥水田の細菌群集の差は土壌よりも根で生じるとの報告があり、本研究ではイネの根に棲息する細菌群集を比較した。次に 2016 年には、自然栽培水田 5 カ所、慣行栽培水田 3 カ所について土壌の窒素固定活性をアセチレン還元活性法によって測定し、土壌に存在する窒素固定遺伝子のコピー数との関係を調べた。加えて、土壌の窒素固定活性がど

のような条件に規定されているかを明らかにするため、稲藁添加および光処理による室内培養実験を行い、同様にアセチレン還元活性を測定した。

5-2 実験方法

1) 自然栽培水田と慣行栽培水田のイネ根内細菌群集構造のメタゲノム解析

2015年7月30日、イネの出穂期に宮城県涌谷町の高収自然栽培水田と隣接する慣行栽培水田からイネの根を採取した。その後、冷蔵条件下で実験室に持ち帰り、水道水で根を洗浄した後、CTAB法によりDNA抽出を行った。

細菌群集のメタゲノム解析は16SリボソームRNA遺伝子のV4領域を515Fと806Rプライマーにより増幅した。この領域のPCRでは、細菌の遺伝子以外にイネの細胞に含まれる葉緑体とミトコンドリア由来のオルガネラ遺伝子も増幅するため、これら遺伝子に特異的に結合しPCRを阻害するペプチド核酸(PNA)を2.5pmol/ul加え、オルガネラ遺伝子の増幅を抑えた(Lundberg DS *et. al.*, 2013)。用いたPNAの配列は葉緑体(pPNA)がGGCTCAACCCTGGACAG、ミトコンドリア(mPNA)がGGCAAGTGTTCCTTCGGAである。試料の1st PCRの反応条件は

[94°C-2min]×1→[94°C-30sec, 50°C-30sec, 72°C-30sec]×20→[72°C-5min]×1→[4°C-∞]

であり、PCR終了後PCR精製キット(Agencourt AMPure XP)によりアンプリコンの精製を行った。その後両端にサンプル識別用のタグのついた2ndPCR用プライマーで増幅したPCR最終産物を次世代シーケンサー(Miseq, Illumin Inc, Sandiego)にかけ、塩基配列を解析した。解析された膨大な塩基配列データは、キメラチェックの後、メタゲノム解析用のソフトウェア群であるQIIMEにより、リボソーム遺伝子データベースとの照合によりOUT(Operating Taxonomic Unit)を同定した。なお、PCRからOTU解析までは外注(FASMAC, Inc. 厚木)で

行った。

2) 自然栽培水田と慣行栽培水田の窒素固定能の比較

2016年には宮城県内の慣行栽培水田3箇所、自然栽培水田5箇所を対象に調査を行った(図5.2、表5.1)。湛水前の4月下旬に8水田の表層および下層から土壌を採集し、無機態窒素量を測定した。無機態窒素の測定は前章と同じ方法を用い、アンモニア態窒素($\text{NH}_4\text{-N}$)、硝酸態窒素($\text{NO}_3\text{-N}$)に分けて測定した。測定はいずれも3反復とし、値はmg/乾土100gで算出した。

8月上旬に各水田から連結コアサンプラーにより全長15cmの円筒土壌を表層(0-5cm)と下層(10-15cm)に分け採集し(図5.9)、24時間以内に冷蔵状態で弘前大学まで運び、冷蔵庫で保存した。その後、20mlバイアルチューブに乾土当たり5gの生土を詰め、窒素ガスを充填後、バイアル内の気相10mlをシリンジで吸引した後、同体積のアセチレンガスを加え、25°Cで24時間培養した。培養後バイアル内のガスをシリンジで取り、エチレン分離用カラム(HP-AL/S、内径0.25mm、長さ2m、Agilent)を装着したガスクロマトグラフィー(GC-2014、島津製作所、京都)にかけ、エチレン発生量を測定した。アセチレンガスから還元されたエチレンガス量を土壌の窒素固定活性(ARA:アセチレン還元活性)として評価した。

3) 室内培養実験による土壌窒素固定活性の比較

慣行栽培水田(CF)、低収量自然栽培水田(NF1)、高収量自然栽培水田(NF5)の3種類の土壌を無施用区、稲藁施用区、光処理区、稲藁および光処理区の4処理区を設け、エネルギー源の変化に対する窒素固定能を比較した。各水田の生土(乾土当たり5g)を20mlバイアルに入れ、稲藁施用区は、兪ら(1984a)の方法と同様に、乾土に対し1%重量になるよう施用した。光処理は、兪ら(1991)の方法に倣い、明期30°C、 $300\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ の光量子束密度で14時間、暗期25°C、10時間の条件をチャンバーで設定した。バイアル瓶は2週間、4週間、6週間培養後、

アセチレン還元活性を測定した。反復はいずれも3とした。

土壌の窒素固定遺伝子の存在量を推定するためにリアルタイムPCR法を用い土壌中の *nifH* 遺伝子コピー数を測定した。用いたプライマーは Po1F/Po1R プライマーペア (TGC GAY CCS AAR GCB GAC TC/ATS GCC ATC ATY TCR CCG GA) で検出には SYBER Green (iQ SYBR Green SuperMix) を用いた。PCR 反応液の組成は以下の通りである。①DNA 溶液を 20-40ng/ μ l に濃度調整し 0.5 μ l、②iQ SYBER Green SuperMix : 5 μ l、③Forward Primer : 0.5 μ l、④Reverse primer : 0.5 μ l、④滅菌水 : 3.5 μ l で計 9.5 μ l。用いられたプライマー配列と PCR 条件は表 5.3 に示した。

4-3 結果と考察

1) イネの生長

図 5.2 に、2015 年と 2016 年の各水田のイネの茎数を示した。いずれの年においても、高収自然栽培水田の NF4 では 264~307 本/ m^2 程度で、慣行水田と大きな差がなかった。一方、2016 年に調査した宮城県内の 5 自然栽培水田では出穂期時点でのイネの生育に大きな差があり、NF1、NF2 では 212.1、227.2 本/ m^2 と少なかったが、NF3、NF4、NF5 では 280 本/ m^2 以上と 50 本/ m^2 以上の差があった。このイネの生育の差異は、土壌表面への日照率にも影響を及ぼしていた。

2) イネ根内の共生細菌微群集構造

図 5.3 および図 5.4 に、慣行水田と自然栽培水田のイネ根内から観察された細菌ゲノムの門および綱の相対比を示した。*Proteobacteria* 門が両水田で約 31% を占め、最も支配的な門であった (図 5.3)。*Proteobacteria* 門は、主に 4 つの綱 (*Alphaproteobacteria*、*Betaproteobacteria*、*Deltaproteobacteria*、*Gammaproteobacteria*) で構成され、慣行水田に比べ自然栽培水田で *Betaproteobacteria* 綱が 9% 増加していた (図 5.4)。*Proteobacteria* 門の優占お

よび *Betaproteobacteria* の自然栽培水田における増加は、Ikeda ら (2014) が報告した窒素無施肥水田のイネ根微生物群集の特徴と一致する。図 5.5、図 5.6、図 5.7、図 5.8 に、*Alphaproteobacteria*、*Betaproteobacteria*、*Deltaproteobacteria*、*Gammaproteobacteria* それぞれの属構成比を示した。水田間で 2%程度の小さな差異しかなかった *Alphaproteobacteria* と *Deltaproteobacteria* の属構成比に大きな差異は認められなかった (図 5.5、図 5.7) が、一方で *Betaproteobacteria* と *Gammaproteobacteria* では属構成比に差異が認められた (図 5.6、図 5.8)。*Gammaproteobacteria* においては、Methylococcales 属が慣行水田で 85%の高い優占を示したが、自然栽培水田では優占率が 8%まで著しく減少し、また他の属がそれぞれ優占率を高め多様性の高い属構成となった。また、水田間で最も構成比に差があった *Betaproteobacteria* においては、自然栽培水田では細菌種 *Sbla14* が約 4 倍増加している特徴が認められた (図 5.6) が、この細菌種の生態的機能等は現時点で明らかとなっておらず、イネに対しどのような役割を果たしているかは明らかではない。また、Ikeda et al (2014) が報告した無施肥水田で増加した 3 属の細菌種 (メタン酸化により窒素固定を行う *Methylosinus* 属、根粒菌である *Bradyrhizobium* 属、非芽胞形成好気性桿菌である *Burkholderia* 属) においては、本研究で存在は観測されたものの相対比は水田間で有意差がなく、施肥の有無による影響は認められなかった。

3) 水田土壌のアセチレン還元活性

図 5.10 に、2016 年 8 月 10 日の慣行水田および自然栽培水田の土壌表層および下層の窒素固定活性を示した。3 慣行水田の平均値は、下層では 51.2 nmol/h/g 乾土、表層では約 2.5 倍の 123.1 nmol/h/g 乾土の値が認められた。一方で 5 自然栽培水田の平均値は、下層では 81.5 nmol/h/g 乾土、表層では約 2.4 倍の 195.0 nmol/h/g 乾土の値が認められた。したがって慣行栽培と自然栽培の違いに関わら

ず窒素固定活性は下層よりも表層で著しく高く、特に自然栽培水田で高いことが明らかとなった。

4) アセチレン還元活性と窒素固定細菌の関係

図 5.11 に、慣行水田および自然栽培水田の土壌表層および下層の窒素固定遺伝子のコピー数を示した。自然栽培水田表層で最も高かった窒素固定活性とは対照的に、*nifH* 遺伝子コピー数は最も少なかった。図 5.12 に、すべてのサンプルを含んだアセチレン還元活性と窒素固定細菌のコピー数の相関関係を示した。両者の間には有意な相関関係は認められず、土壌中の *nifH* 遺伝子のコピー数が少なくても高い窒素固定活性があることが示された。すなわち、窒素固定活性には必ずしも窒素固定細菌の量が重要ではなく、窒素固定機能が発現する環境条件が重要であることが示唆された。

5) 窒素固定活性を促進させる環境要因

図 5.13 に、室内培養実験における慣行水田 (CF2)、低収自然栽培水田 (NF1)、高収自然栽培水田 (NF4) の 3 水田間の培養 6 週間のアセチレン還元活性の推移を示した。慣行水田 (CF2) においては、光処理区を除いて 2 週目でピークに達した。特に稲藁×光処理区においては最も高い窒素固定活性が認められた。一方、2 つの自然栽培水田土壌においては、無処理区と稲藁区では 2 週目がピークだったが、光処理区と光×稲藁区では 4 週目がピークだった。特に高収自然栽培水田 (NF4) の 4 週目では、遮光条件に比べ光および光×稲藁区で著しく高い窒素固定活性が認められた。しかし窒素固定活性のピークを比較すると、低収自然栽培水田でやや低いものの、慣行水田と高収自然栽培水田間ではほとんど変わらなかった。

したがっていずれの水田土壌においても稲藁添加や光によって窒素固定活性は増加する傾向にあったが、土壌間の差異は明瞭には認められなかった。また反復間の値の変動も大きかったことから、正確な土壌窒素固定活性の測定には実験手

法の改良も含め更なる検討が必要であると考えられる。

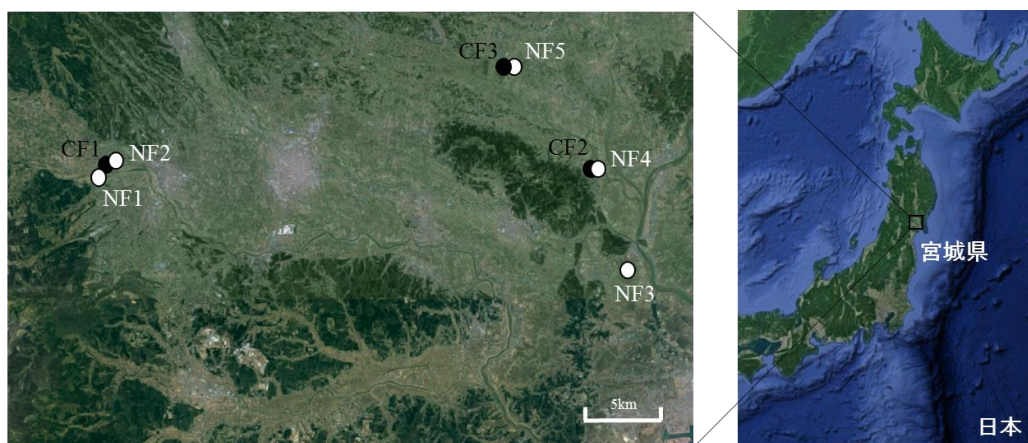


図 5.1 調査水田の位置.

表 5.1 調査水田の概要.

調査地域	水田名	平均収量	土壌	無施肥歴(年)	品種
宮城県加美町	CF1	480	中粗粒灰色低地土、灰褐色系(13E)	0	ひとめぼれ
宮城県加美町	NF1	180	中粗粒灰色低地土、灰褐色系(13E)	10	ささしぐれ
宮城県加美町	NF2	300	中粗粒灰色低地土、灰褐色系(13E)	10	ささしぐれ
宮城県涌谷町	CF2	480	細粒灰色低地土、灰褐色系(13D)	0	ひとめぼれ
宮城県栗原市	NF3	300	泥炭土(16A)	10	ササニシキ
宮城県涌谷町	NF4	480	細粒灰色低地土、灰褐色系(13D)	40	ひとめぼれ
宮城県登米市	CF3	480	細粒灰色低地土、灰褐色系(13D)	0	ひとめぼれ
宮城県登米市	NF5	420	細粒灰色低地土、灰褐色系(13D)	11	ひとめぼれ

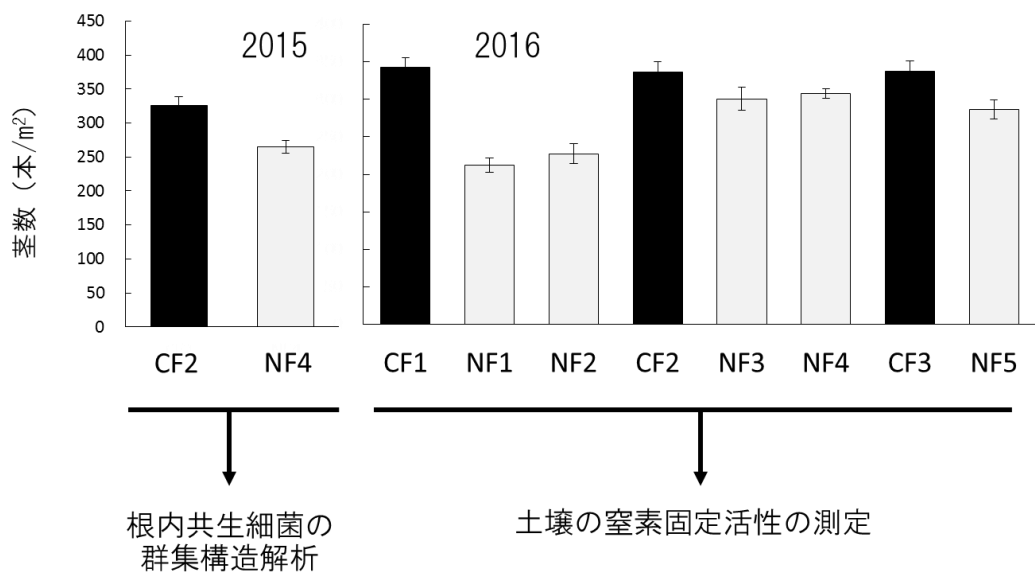


図 5.2 各水田のイネの茎数.

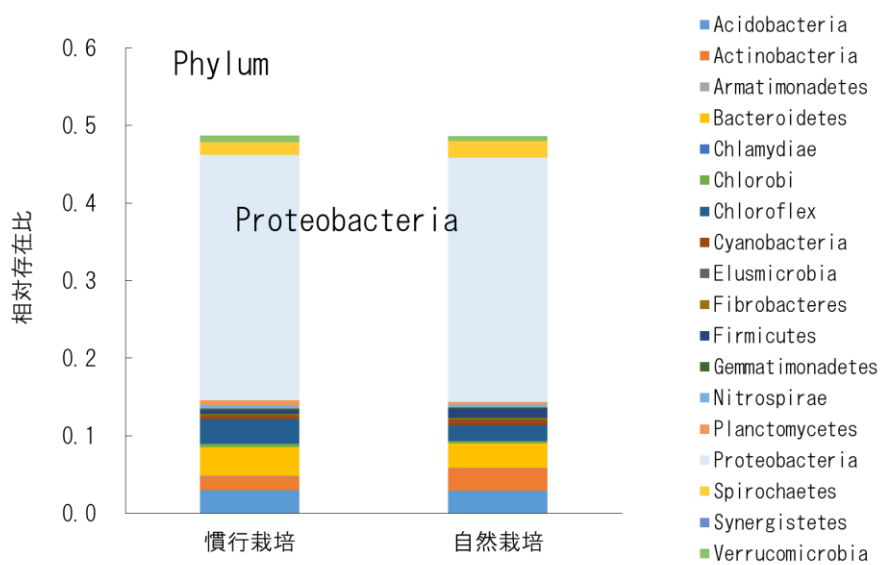


図 5.3 各水田のイネ根内の細菌ゲノムにおける門構成比.

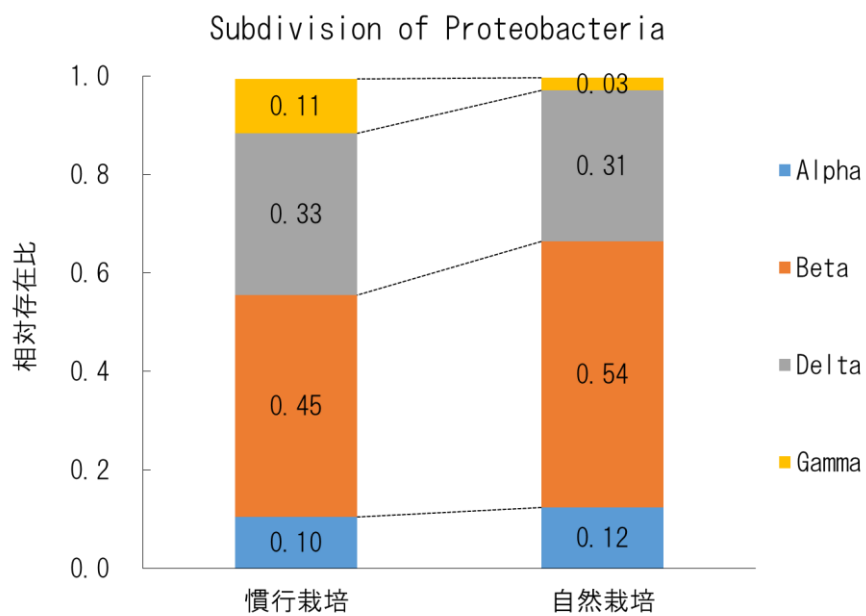


図 5.4 各水田のイネ根内の細菌ゲノムにおけるプロテオバクテリア門の鋼構成比.

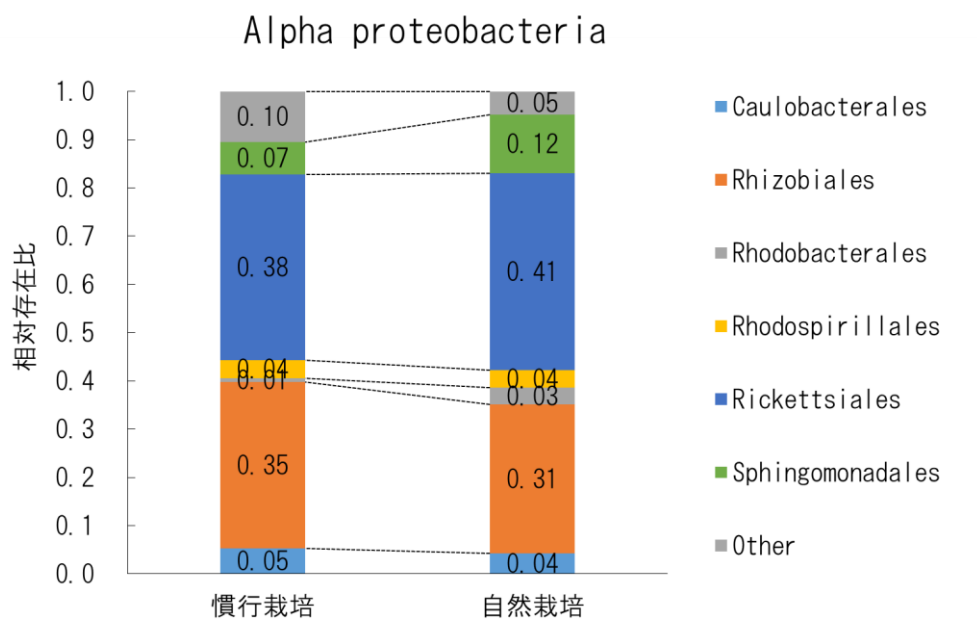


図 5.5 各水田のイネ根内の細菌ゲノムにおける α プロテオバクテリア綱の目構成比.

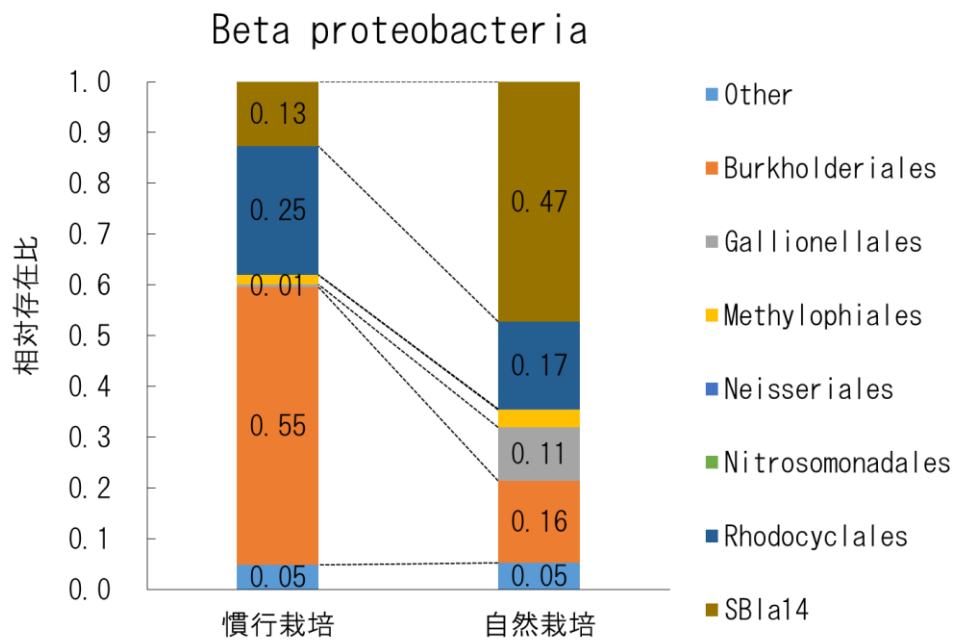


図 5.6 各水田のイネ根内の細菌ゲノムにおける β プロテオバクテリア綱の目構成比.

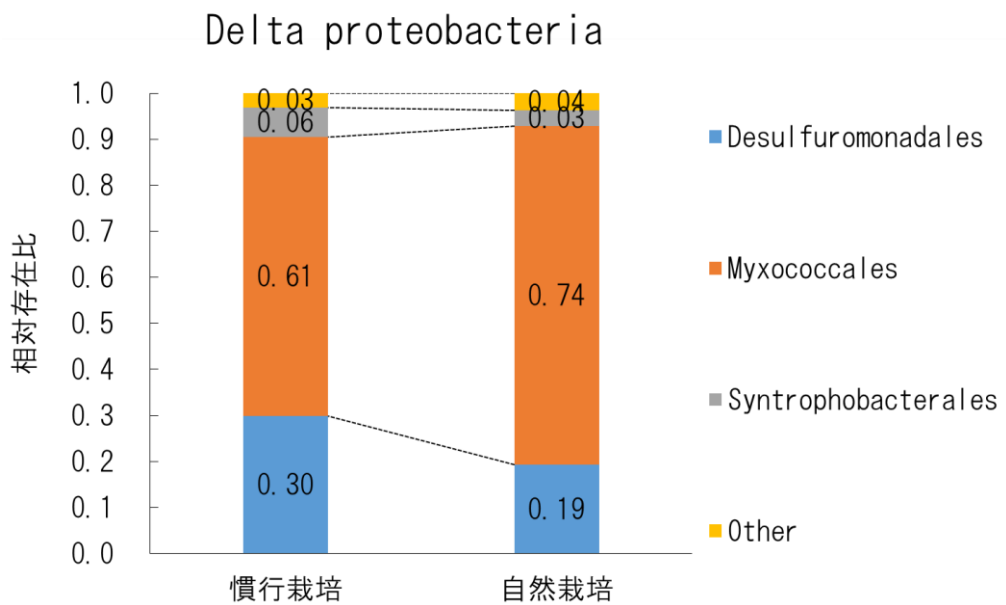


図 5.7 各水田のイネ根内の細菌ゲノムにおける δ プロテオバクテリア綱の目構成比.

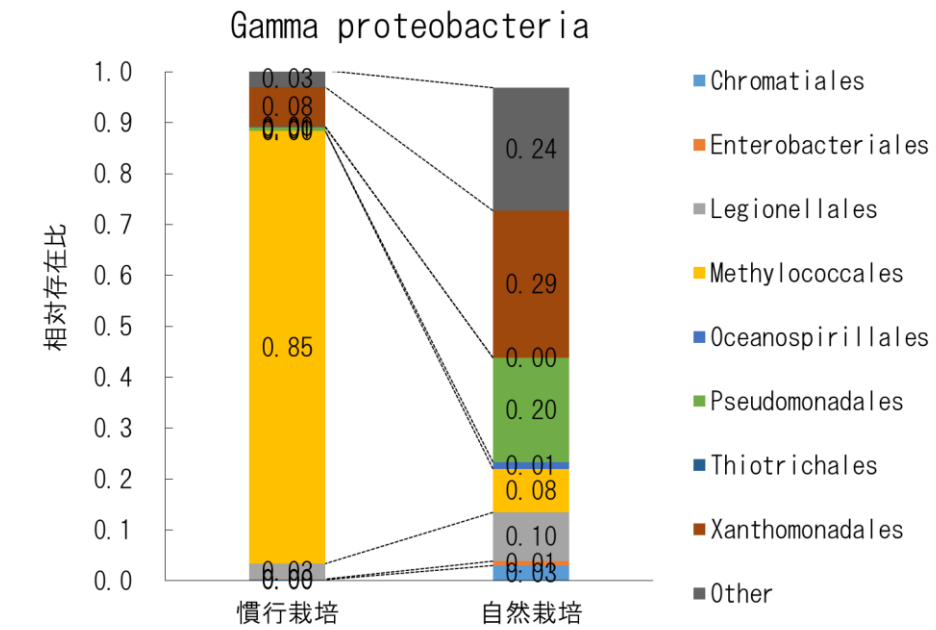


図 5.8 各水田のイネ根内の細菌ゲノムにおけるγプロテオバクテリア綱の目構成比.

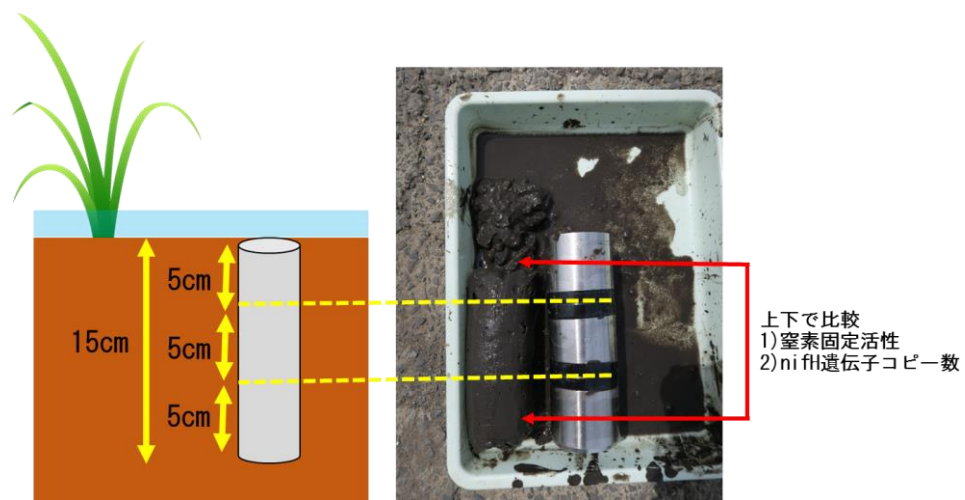


図 5.9 土壌サンプリングの様子.

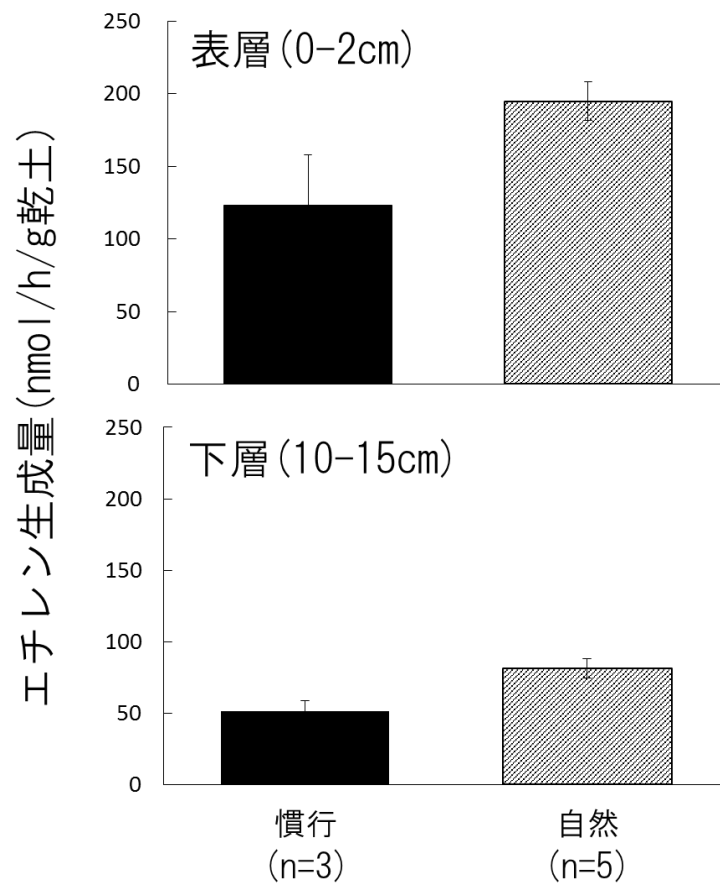


図 5.10 8月10日の水田土壌表層および下層のアセチレン還元活性.

表 5.3 プライマー配列と PCR 条件.

微生物	プライマー	配列	断片長	参照
窒素固定細菌	PoIF	TGC GAY CCS AAR GCB GAC TC	115	Poly. et. al. 2001
	PoIR	ATS GCC ATC ATY TCR CCG GA	457	
プライマー	PCR 条件		参照	
PoIF/PoIR	1) 95°C 10 分		Collavino. et. al. 2014	
	2) 95°C 15 秒			
	3) 55°C 20 秒			
	4) 72°C 20 秒			
	×4 サイクル			
5) 1 分				

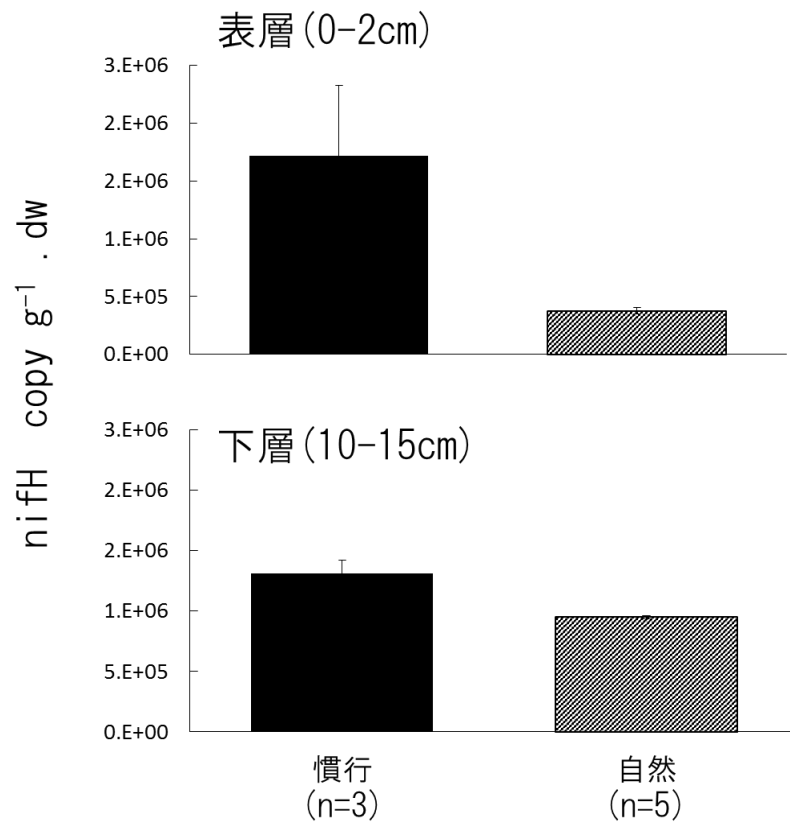


図 5.11 水田土壌表層と下層の *nifH* 遺伝子コピー数.

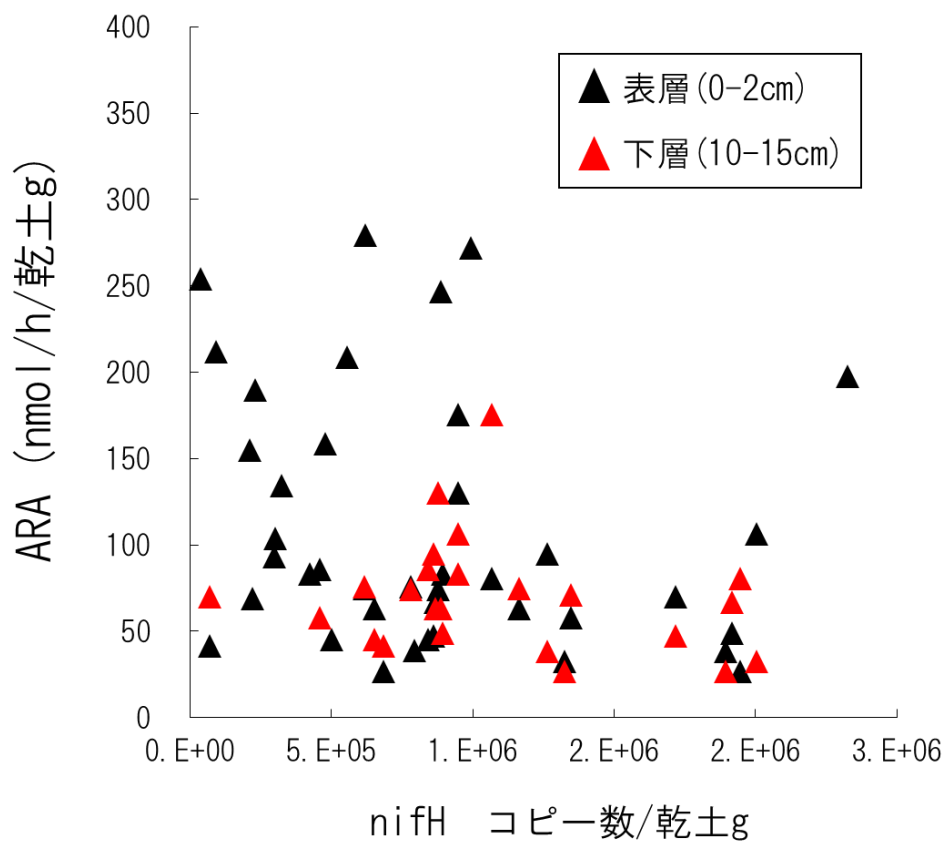


図 5.12 水田土壌のアセチレン還元活性と nifH コピー数の関係.

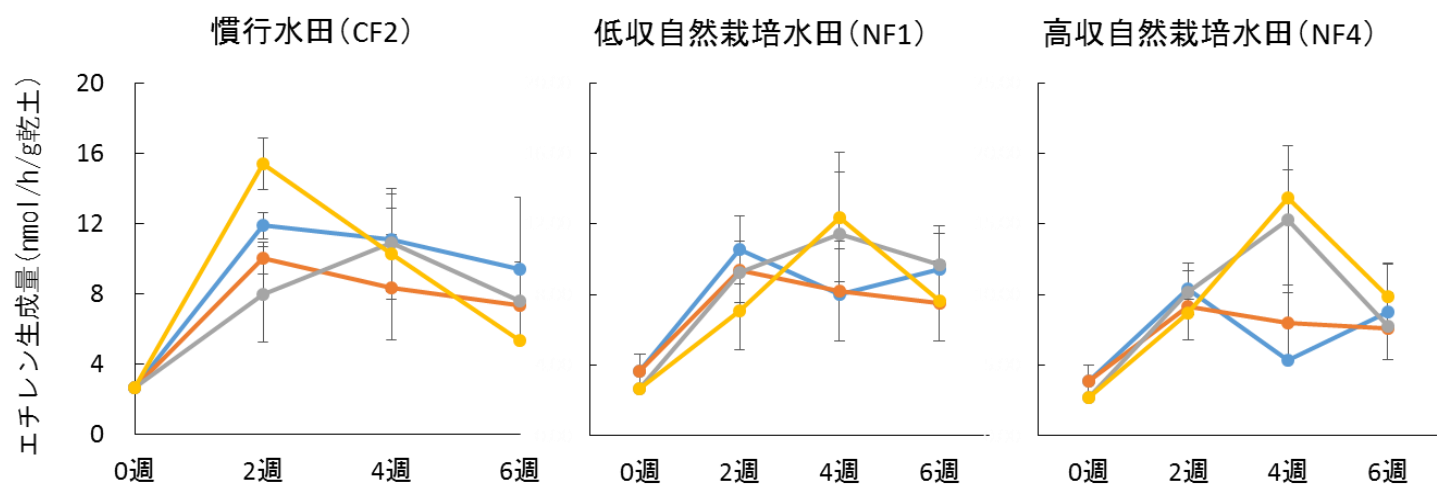


図 5.13 各水田土壌における各処理区のアセチレン還元活性の推移.

第六章 総合考察

6-1 研究目的と概要

これまで、自然栽培は肥料や農薬をまったく使わないという理念そのものが強調されることが多く技術的検証が進んでこなかったが、近年生産者数が増加するにつれて農業経営の観点から安定生産の重要性が指摘されるようになった。特に北日本地域では、水稻作の経営面積が大きく収量性が農家収入に直結する。水稻作では畑作や果樹作に比べ作物種が同じで作業管理も類似する点が多いことから、生産現場における技術の共有がしやすく、多くの情報交流や相互刺激を経て生産現場レベルでの技術は年々高まっているが、それでも水田間や生産者間で収量差は大きく、これが一般に何によってもたらされるのかを客観的に評価する研究がこれまで行われてこなかった。また、特定の水田や生産者においては、慣行水田に匹敵する収量を長期的に得ている驚異的な事例も散見されているが、なぜ外部資材を投入しないのに高い生産性が維持されているのか、このメカニズムは長い間不明のままだった。本研究では、まず北日本地域における様々な異なるバックグラウンドをもつ多数の農家自然栽培水田を対象に、収量性に寄与する一般的な要因を明らかにするための研究を行った。次に、高収量自然栽培水田の高収量成立原理と長期的な安定高生産のメカニズムを解明するため、長期自然栽培水田の土壌－雑草－イネ間の窒素動態および窒素収支を詳細に解析した。最後に、一連の研究で自然栽培水田の生産性維持には生物的窒素固定の活性化が強く示唆されたことから、慣行水田と自然栽培水田の窒素固定活性について比較し、自然栽培水田の窒素循環と収量成立機構について総合的に考察した。

6-2 自然栽培水田において地域間で収量差が生じやすい理由

第二章では、北日本地域の16の農家自然栽培水田を対象に収量解析を行い、収

量に対して地理・気象・土壌・雑草・管理要因がどのように影響を及ぼしているかを解析した。収量は穂数、1穂粒数、登熟歩合、粒重の順に決定する(松島 1957)が、本研究の収量解析の結果、自然栽培水田の収量は穂数に強く制限されており、穂数が決定するイネ栄養成長期の段階(穂揃い期)で各水田の収量性はおおむね決定されていたことが分かった。一般に、イネの初期生育は気温や日射量、土壌養分、雑草、病害等により影響を受け、特に肥料を投入しない自然栽培水田では土壌養分の影響を強く受けると当初は考えられたが、予想に反して低収水田でも土壌の全炭素・全窒素量および微生物バイオマス窒素量は高く、収量ポテンシャル自体は高いが発揮されていないことが収量制限要因であることが示唆された。一方で、イネの初期生育は緯度や気温に有意な影響を受け、移植後の気温が低く経過する高緯度地域でイネの分けつが進みにくく、一方で移植後の気温が高い低緯度地域ではイネの分けつ生長が旺盛で十分な分けつ数・穂数が確保される傾向にあった。イネの生育の地域間差について慣行栽培と比べると、本研究が実施された2014年の慣行栽培法による地域別の平均収量は青森610、岩手562、宮城559、新潟547kg/10a(農林水産省, 2014)と、全国平均536kg/10aに対し高緯度地域でより高くなり、自然栽培水田の収量差の地域間変異とは逆の傾向を示していた。慣行栽培では高緯度地域の方で収量性が高いという傾向は化成肥料が普及した1960年頃から認められており、この要因は主に8~9月の日射量(村田, 1964)、日照時間の長さ(福罵ら, 2015)といった気象的要因が指摘されている。すなわち、肥料の施用によって土壌に十分な養分がある場合には、移植から出穂前後の日照が好適な高緯度地域において収量の有利性がある。

では、自然栽培水田では気温とイネ初期生育の間にどのような関係性があるのだろうか。気温と分けつ発生との関係を確かめるため、移植日を変えてイネのポット栽培試験を行った結果、予想通り移植日を遅らせてイネ初期生育の気温を高め

ると分けつ増加は有意に高まった。更に重回帰分析に基づいてパス解析を行った結果、気温がイネの生育に対し直接的 (57%) に正の効果をもつ他、土壌中の窒素無機化の促進を介して間接的 (43%) にも正の効果をもっていることが明らかとなった。土壌からの無機態窒素の供給については、地力窒素の発現は温度への依存性が極めて高く (Hasegawa and Horie, 1994)、早植の場合は低温の影響で地力の発現が小さく肥料への依存度が高まるが、晩植の場合は高温の影響で肥料より地力依存度が高まると論じられており (佐本ら, 1966)、本研究の結果とも一致している。加えて、イネの生育適温は 18~33°C であるため、この範囲外では同化産物量が不足し分けつの増加が抑制されることが知られている (後藤・星川 1989)。したがって自然栽培水田の低収は、主に移植後の気温が低いことで生じる光合成抑制と土壌窒素供給不足による分けつ制限を通じて、十分に穂数が確保されないことが主要因であることが示された。

6-3 自然栽培水田で低収をもたらす雑草種

第三章では、第二章では詳細に解析できなかった雑草と収量の関係を更に掘り下げて解析するため、第二章と同様の 16 の農家自然栽培水田を対象に雑草群集構造の形成プロセスと収量の影響を解析した。一般に、水田土壌には膨大な雑草種子が休眠状態で存在しているが、地上部に群集構造を形成するのはその内極一部でしかないことが知られている (Wilson *et al.*, 1985)。すなわち、我々が水田で観察できる雑草群集は、様々な環境ストレスに対しての耐性をもった雑草種 (Long *et al.*, 2015) と言い換えることが出来る。具体的に言えば、雑草は発芽後、土壌特性や気象条件 (Dale *et al.*, 1992)、作物や他雑草種との競合 (Caussanel, 1989) (Fried *et al.*, 2008)、除草管理 (Andreasen *et al.*, 1991; Smith *et al.*, 2010)、景観構造 (Boutin *et al.*, 2008) 等の様々な要因に影響を受け、選択を受ける。本研究では、自然発芽-生育試験の結果 8 種の雑草が観察されたが、実際の

水田では様々な選択圧の結果、タイヌビエ、キカシグサ、アゼナ、シャジクモは観察されず、4種のみ雑草（コナギ、カヤツリグサ科、オモダカ、ウリカワ）が観察された。自然発芽試験で観察されたタイヌビエ以外の3種の雑草は、タイヌビエ（250g/m²）に比べバイオマス生産量は小さく（103.0, 20.0, 0.3g/m²）、水田では発芽後すぐに淘汰されたことが考えられる。

タイヌビエが属するヒエ属は、世界中の水田で最も観察される雑草種の一つであり（Kraehmer *et al.*, 2016）、日本の慣行水田においては特にタイヌビエが大きな収量減をもたらす雑草種として知られている（Chisaka, 1966）。自然栽培水田を対象にした本研究においてもタイヌビエは自然発芽試験で高い割合で観察されたが、実際の水田においてはまったく観察されなかった。肥料は、雑草と作物間の競争に影響を及ぼすため、雑草種の群集形成に対し強い選択圧として機能する。タイヌビエは、高い養分レベルに適合する雑草種子だが（Kabaki and Nakamura, 1984a）、長期的に施肥をおこなっていないため低養分状態にある自然栽培水田ではその有利性が失われ、成熟個体の群集が形成されなかったことが考えられる。

雑草種はそれぞれ異なる環境への反応性を有しており、その反応性が水田で形成される雑草群集を決定付ける。本研究においては重回帰分析の結果、自然栽培水田において最も優占率が高かったコナギ発生と気温との間には有意な負の関係があり、低温がコナギの発生を促進していることが示された。コナギは低窒素条件下で繁茂しやすく（Kabaki and Nakamura, 1984a, 1984b）、高緯度地域に位置する自然栽培水田では移植後の気温がイネの生育適温を下回っていた。すなわち、高緯度地域の自然栽培水田においてはコナギが低温と低養分状態に適合し、イネとの生育競争において有利にたったことが考えられる。一方で、二番目に優先したカヤツリグサ科雑草はいかなる環境要因からも有意な影響を受けなかった。カヤツリグサ科雑草の一部は多年生で、地下茎や塊茎などの栄養器官により土壤中で

繁殖することが可能である。本研究で観察された4種のカヤツリグサ科雑草の内、2種がクログワイとシズイで多年生であった。Kabaki and Nakamura (1984a, 1984b)によれば、カヤツリグサ科雑草は一般に土壌中での繁殖が可能のため、遮光ストレスに対し耐性があることが知られており、自然栽培水田においても環境ストレスへの耐性は強いことが考えられる。

第二章でも示したように、雑草全体の乾物重は収量に対し有意な影響を及ぼしていない。しかしコナギ (Breen *et al.*, 1999) やクログワイ (Inamura, 1992)、オモダカ (Itoh and Miyahara, 1988) 等、特定の雑草種が収量に対し有意な負の影響を及ぼすことが一般的に知られている。本研究では、主成分分析の結果、自然栽培水田の雑草群集はコナギ優占とカヤツリグサ科優占の2グループに大別されたが、収量に対しては異なる影響を有していた。コナギ発生量は全雑草発生量と同様に、収量に対し有意な負の影響を及ぼさなかったが、カヤツリグサ科雑草発生量は収量に対し有意な負の影響を及ぼしていた。すなわち、カヤツリグサ科雑草の発生量はコナギに対し42%程度でしかなかったが、イネの収量に対しては大きな影響力をもっていることが示唆された。慣行水田では種特異性の除草剤が開発されているためカヤツリグサ科雑草は深刻な問題とならないが (Kraehmer, 2016)、除草剤を使用しない自然栽培水田では大きな問題となる。したがって、自然栽培水田における雑草防除においては、全体の雑草発生よりも、カヤツリグサ科雑草等の収量に影響を及ぼす特定の雑草種の防除に注力されるべきことが示唆された。

6-4 自然栽培水田において低収を打破するために

6-2、6-3章で議論したように、自然栽培水田において低収を打破するためには、移植後の気温を高めることや、カヤツリグサ科雑草等の特定の雑草種の繁茂を抑制し、イネの初期生育を促進させることで十分な穂数を確保することが絶対条件となる。そのためにはまず、移植日を遅らせる晩植が最も簡便で効果的な対策と

思われる。

晩植には主に、1)乾土効果、2)地温の増加による地力窒素発現の増大、3)気温の増加による光合成促進の3つのメリットが挙げられる。1)乾土効果とは、湛水前の土壌の乾燥によって土壌微生物が死滅し、菌体内のタンパク質が窒素源となって湛水後の地力窒素の発現が増大し(丸本, 1997)、イネの窒素吸収が高まる(安藤ら, 1985)現象のことである。施肥によって窒素量を人為的に調整できる慣行栽培に比べて、自然栽培では土壌の地力窒素発現がイネの生育を大きく左右する。現状では、近隣の慣行栽培の栽培スケジュールに合わせ土壌が十分に乾いていない段階で田起こしや湛水を行う生産者もみられるが、自然栽培における地力依存度の高さを考慮すると、土壌が十分に乾いたタイミングで耕起や湛水を行う方がイネの窒素吸収量の向上において妥当性があると考えられる。2)地温の増加による地力窒素発現の増大と、3)気温の増加による光合成促進は、第二章における移植日を変えたイネの栽培試験で示されたように、移植後の気温が高くなることでイネの生長に対し直接的・間接的にもたらされる正の効果である。

上述したように、晩植には移植後のイネの生育を促進させるプラスの影響があるが、一方で過度の晩植は出穂まで日数の短縮化による栄養成長力不足と、登熟期の日射量不足による登熟不良のマイナスの影響が懸念される。ここでは更に、高緯度地域における自然栽培の晩植が収量性に及ぼす影響について、プラス・マイナスの両面から考察し、適切な移植時期について検討したい。

丸山・田中(1985)は、新潟県内の北陸農試内で4月16日から7月23日までの期間に8つの移植日を設け、それぞれの移植日における環境条件の変化とイネの生育収量への影響について解析した。その結果、4月15日植えに対して5月28日、6月11日、6月25日と遅れるにつれて面積当たり籾数の減少が生じ、それぞれ6%、15%、25%の収量減が生じた。更に遅れた7月9日植えでは登熟歩合の減少

によって54%の収量減、それ以降の7月23日植えでは出穂不能になりそもそも収量が成立しなかった。すなわち、6月25日植えの晩植までは出穂日の遅延による登熟障害のリスクは小さいが、移植日が遅れるにつれ出穂まで日数が減少し面積当たり籾数が減少すると推測される。しかしこの試験ではいずれの移植日でも十分な肥料が施され養分ストレスのない状態であるため、自然栽培では晩植により窒素供給増加効果等が増加する前述した3つの正の効果が期待でき、無施肥・早植に比べ m^2 当たり籾数は増加すると予想される。実際、本試験で調査した新潟のN13の水田は6月6日植えと最も晩植だったが、 $619\text{g}/\text{m}^2$ の高い収量が得られており登熟歩合も81.5%と相対的に不良とは言えなかった。また、その他にも6月中旬頃の移植でも十分な茎数と収量が確保できている事例が複数あることから、少なくとも6月10日頃までの晩植ではプラスの効果の方が大きいと考えられる。しかし灌漑水利用や気象条件は各地域の特性に拠るため、どの程度の晩植が適当であるかは地域毎に検討する必要があると思われる。

自然栽培における晩植は、移植後のイネの初期生育をスムーズに進めることを目的とした工夫であるが、この効果を助長するためのものとして健苗の育成や植え痛みの少ないポット苗の利用などが推奨される。また、地温を増加させる試みとしては水管理において水深を浅く保つ等の工夫もあるが、土壌表面への日照が増えると雑草の発芽も促されるため除草管理と合わせて考慮する必要がある。これらの工夫によりイネの初期生育がスムーズに進めば、イネの移植のアドバンテージを最大化することができ日照や養分競合の点でイネに有利に働き、雑草抑制にも大きな効果をもつ。第三章で示したように、コナギ等の雑草種は過剰に繁茂しない限りイネの収量には深刻な被害をもたらさないため、イネの初期生育促進と数回の除草作業で大きな被害は回避できると考えられるが、カヤツリグサ科雑草の収量への影響は大きく、また環境要因による影響も受けにくいいため、可能な

限り塊茎を増やさない対策が必要である。

6-5 自然栽培水田における高収量成立の条件

第四章では、宮城県涌谷町の自然栽培水田において高収量が成立する原理を明らかにするため、土壌－雑草－イネ間の窒素動態を経時的に解析した。第二章の結果からも示されているように、高収量が成立するには土壌から窒素供給が豊富であることが重要だが、そのことに加えて、土壌と作物間の窒素需給が一致することが重要である。Baresel *et al.* (2008) の報告では、生育初期の窒素需要が少ないコムギの場合、土壌から初期に窒素供給があっても出穂期頃に窒素供給が減少してくるため、結果的には収量が減少することが報告されている。Tanaka *et al.* (2012) は、農家有機水田の窒素動態のモニタリングから、易分解性有機物の米糠の施用量を調整することでこの窒素需給一致の問題を解決できるのではないかと論じた。その点、本研究で解析した高収自然栽培水田では稲藁還元のみが人為的な窒素供給だが、7月中旬までは窒素需給が一致し、慣行水田に匹敵するイネの窒素吸収が得られていた。また、この水田土壌の特性として、稲藁の分解速度が速く、稲藁周辺の土壌における窒素富化機能が著しく高いこと、また水田土壌中では微生物バイオマス量は低く推移したことが示されている。Yoneyama and Yoshida (1977) は、¹⁵N 標識試験によって施用される稲藁中窒素の 25%がその年のイネに吸収され、72%が土壌に蓄積されることを、Roper and Ladha (1995) は、稲藁の鋤き込みによって窒素固定活性が増加することを報告している。本研究の結果およびこれらの先行研究から推察するに、長期的に自然栽培管理を行っている高収自然栽培水田では特異的な微生物群集、特に稲藁分解能に優れ、稲藁をエネルギー源として窒素固定を行う特定の微生物種、あるいは複数の微生物によって構成された特定のコンソーシアムが優占しており、イネの窒素需要が高まる生育初期の段階で土壌の窒素レベルを高く維持できている可能性が考えられる。こ

の土壌からの十分な窒素供給がイネの初期生育を著しく促進させ、雑草の発生をほとんど許さない栽培管理の実現に寄与しているものと考えられる。また、現時点では低収の自然栽培においても、雑草の吸収窒素量がイネの2倍以上あるため、土壌の潜在的窒素供給力は高く、理論上ではこの窒素量がイネに配分されれば収量は現在の2倍以上のものになることが期待される。

6-6 なぜ自然栽培で高い生産性が維持するのか

水稲栽培における窒素施肥には、短期的と長期的な観点の2点から重要な意義をもつ。短期的には6-5で示した栽培年における水稲の窒素需要に対し十分量の窒素を供給する点、長期的には玄米収穫による栄養塩の持ち出しを補填し水田の生産力を保つ点である。外部からの人為的操作のない自然生態系では、植物体の枯死、分解、無機養分の放出、新たな植物体による吸収というように系内で窒素は循環するが、農地では生産された玄米を収穫物として農地外に持ち出すため、窒素収支としては無施肥栽培を繰り返す度にマイナスが生じ生産性が減少すると考えるのが一般的である。西尾（1997）は、無施肥で水稲栽培が長期的に行われた場合の窒素収支を試算し、水田土壌の窒素供給力の徐々な減少にともなって生産力が減少し、無施肥20年目の水田で得られる玄米収量は慣行栽培の約1/2、250kg/10a程度に達すると論じた。しかし第四章で研究対象とした宮城県涌谷町の水田では、自然栽培を40年近く継続しているにも関わらず480kg/10aの高収量が安定的に得られており、長期的に調査が行われた滋賀県栗東市の水田でも400kg/10aの収量が安定的に得られている（Okumura, 2002）。これらの現象は、既存の無施肥水田の窒素収支モデルでは説明がつかず、既存の窒素収支モデルのパラメーターのいずれかが、特定の自然栽培水田では著しく異なっている可能性を示している。実際、第四章において得られた各データから窒素収支を試算した結果、高収自然栽培水田では稲藁施用による窒素富化機能の増加が著しく、結果的

に西尾が試算したよりも 2.3 倍高い窒素固定があることが分かった。推定された生物的窒素固定量は 4.69g/m^2 で、この量だけでも玄米収穫により系外に搬出される窒素量 4.65g/m^2 を補填できている計算になる。実際の水田では、更に灌漑水や雨による窒素流入もあることから、この高収自然栽培水田と同様の生物的窒素固定の活性化が生じれば、地力窒素はまったく減少しないことが考えられる。実際、生産現場における事例において、無施肥でも稲藁還元を長期的に継続すると窒素過多でイネの生育が過繁茂になり、窒素過多で発生しやすいいもち病被害が生じ、稲藁を還元せず圃場外に搬出することで水田系内の窒素量を低下させる生産者も存在する。これらのことから、稲藁還元には生産された有機態窒素を土壌に戻す以上の効果があり、稲藁施用により生物的窒素固定のエネルギー源が供給され反応の活性化が生じれば、水田の窒素における生産性は低下しないことが考えられた。

水田土壌に窒素固定微生物が生息していることは昔から知られており（金澤, 1982）、本研究においても窒素固定を制御する *nifH* 遺伝子は水田土壌表層下層いずれからも検出された。この生物的窒素固定機能がどのような環境条件で活性化するかは長い間興味の対象となってきたが、一般には従属栄養生物と光栄養生物による窒素固定はそれぞれ有機物 (CH_2O)、光の影響を受ける (Kirchman, 2016)。また、ニトロゲナーゼ遺伝子群 (*nifH*, *nifD*, *nifK*) の発現はアンモニウムによる負の制御を受ける他、ニトロゲナーゼ自体は酸素で不活化する性質をもつ。これらの窒素固定機能が発揮される条件を整理すると、還元的で低アンモニウム状態の土壌に光や有機物が供給された状態が窒素固定の活性化には最適の条件だが、これは自然栽培水田の湛水された土壌条件に当てはまる。兪ら (1984a) は、有機物の施用や光が窒素固定活性の増加に寄与していることを明らかにしており、本研究でも高収自然栽培水田で同様の結果が得られた。また、実際の水田における

窒素固定活性においても、自然栽培水田の土壌表層で特に窒素固定活性が高く、慣行水田よりも高い値が認められた。慣行水田よりも自然栽培水田で窒素固定活性が高くなる要因としては、土壌窒素レベルや還元状態、イネの生育状況とも関連する光環境、土壌の有機物量などの様々な要因が考えられ、また特定の除草剤施用下では窒素固定活性の低下が生じる（蒲田，1987）こと等も報告されていることから、様々な可能性について今後も詳細な解析が必要であると考えられる。

6-7 今後の研究課題

本研究の成果により、農学の理論上では著しい低収が予想される自然栽培水田においても、土壌の窒素供給量の増加や移植後気温の増加、カヤツリグサ科雑草の抑制などによりイネの生育を抑制する要因を排除して収量を高めることが出来ること、更に十分量の稲藁を水田に還元することで土壌の生物的窒素固定を活性化させ慣行栽培に匹敵する収量を安定的に得ることが出来るメカニズムを明らかにすることが出来た。

一方で、自然栽培水田の難防除雑草であることが示されたカヤツリグサ科雑草の具体的な対策については検討することが出来なかった。岩手県農試ではクログワイに対しての耕種的防除法を検討した結果、秋起こしによる冬期間の乾燥・凍結により塊茎の枯死をはかるプラウ耕の効果が大きいこと、晩植・密植によりイネとの競合を激しくすることで塊茎形成量を減少できること、その他にも中干し・間断灌漑・田畑輪換・冬作導入の効果を報告している。これらはクログワイの防除にのみ焦点を当てているため、自然栽培では各作業がイネの生育に及ぼす影響と併せて考慮する必要があると考えられる。

また、本研究では長期自然栽培水田の生産性が維持される謎について窒素の観点からは説明することが出来たが、リンやカリウム等の他の元素については検討できなかったため課題を残した。リンについては、近年の研究で植物体と共生す

るエンドファイトが菌糸ネットワークを形成し、土壤中に豊富に蓄積している難溶性リンの可溶化や植物体へのリン供給に関与している (Mikkelsen *et al.*, 2008 ; Jentschke *et al.*, 2000) ことが分かっており、微生物ゲノム解析を中心とした共生微生物解析により、低リン条件下における作物のリン吸収メカニズムの解明やその機能の活用方法の開発が期待される。

摘要

1) 近年の世界的な課題である環境低負荷な水稻生産技術の開発にあたり、肥料や農薬を使用しない自然栽培は大きな可能性をもつ。しかし外部から窒素を投入しない自然栽培では、収量性が低く農業経営を行うには課題が大きいとの指摘がある。本研究で調査対象とした北日本地域の自然栽培水田では生産者・水田・地域間で収量差が大きく、極めて低収の水田から、長期的に自然栽培を継続しているが慣行栽培に匹敵する収量を安定的に得られている高収水田まで幅広いケースが見られる。しかしこれらの収量差がどのようなメカニズムで生じているか、なぜ特定の水田では窒素を投入しないのに高い生産性が維持されるのかは明らかではなかった。本研究は、これらの課題を明らかにするため、北日本地域の農家自然栽培水田を対象に、収量に寄与する一般的な要因および特に窒素循環との関係を解析した。

2) 北日本地域の 16 自然栽培水田の収量解析の結果、自然栽培の収量は穂数に大きく依存しており、生育初期のイネの生育が最終的な収量に強く反映されていることが明らかとなった。また収量には地理的な変異があり、高緯度地域で低く、低緯度地域で高い傾向にあった。この現象は、移植後の気温が直接的・間接的にイネの分げつ発生に大きな正の効果をもつことに由来した。

3) 北日本地域の 16 自然栽培水田の雑草群集形成プロセスを解析した結果、潜在的には 8 種以上の雑草種が生育するが、実際の水田ではコナギ、カヤツリグサ科、オモダカ、ウリカワの 4 種の雑草のみが自然栽培水田で群集を形成していた。乾物重ベースでみると、特にコナギ、カヤツリグサ科の優占率が高かった。また、

収量への影響は雑草種間で異なっており、雑草全体とコナギの発生量は収量に深刻な害をもたらさないが、カヤツリグサ科雑草の発生は収量を有意に制限した。環境要因を説明変数とした重回帰分析の結果、コナギは等の様々な環境要因によって発生量が規定されているが、カヤツリグサ科雑草の発生量はいかなる環境要因からも有意な影響を受けなかったことから、自然栽培水田においては最も注意すべき雑草種であるが、同時に防除の難しい雑草であることが示された。

4) 収量性が異なる4長期自然栽培水田と1慣行水田の窒素動態を解析した結果、高収自然栽培水田では移植後のイネの窒素吸収量が他の自然栽培水田に比べ大きく、7月中旬までは慣行水田と同等であった。この結果は土壌の窒素供給力が高く、雑草が繁茂しないことでイネに十分量の窒素が供給されたことに由来した。稲藁分解試験の結果、高収自然栽培水田の土壌は湛水後すみやかに稲藁を分解し、稲藁周辺土壌の窒素量を飛躍的に高める特徴があった。このメカニズムとして、稲藁をエネルギー源とする微生物の窒素固定が高収自然栽培水田土壌では活性化している可能性が示唆されたが、現地水田土壌の微生物バイオマス量は低く推移していたことから、この微生物機能は微生物量によるのではなく、特定の微生物種や微生物コンソーシアムによることが考えられた。また、既存の無施肥水田の窒素収支と比較して、稲藁施用による窒素固定が活性化された場合、玄米収穫により搬出される窒素が十分に補われることが試算された。

5) 自然栽培水田における生物的窒素固定の活性化を実証するため、アセチレン還元法と窒素固定遺伝子の定量を行った。その結果、一般に水田土壌表層では下層よりも窒素固定活性が高く、慣行水田よりも自然栽培水田で高いことが示された。しかし窒素固定遺伝子のコピー数と窒素固定活性の間に有意な関係性は認め

られなかったことから、土壌の窒素固定活性は特定の微生物コンソーシアムによって活性化する可能性が示唆された。また、稲藁添加と光処理による室内実験の結果、窒素固定には特に光が大きな鍵要因となっていることが示唆されたが、土壌中窒素濃度や微生物組成との関係は不明のため、どのような環境要因が生物的窒素固定を制御しているかについては課題を残した。

6) 以上の結果から、自然栽培水田においても特定の条件を満たすことで高い収量を安定的に得ることは可能であり、同時に生物的窒素固定の活性化を通じて環境への窒素負荷を飛躍的に抑えることが可能であることを明らかにした。

Summary

No-input farming, the cultivation system without any chemical and organic fertilizer as well as agrochemicals such as herbicides, pesticides and fungicides, is believed to result in a large reduction of crop yields, because a fixed amount of nitrogen is taken out of fields as harvested brown rice every year, leading to nitrogen deficiency in paddy soil. However, it is known that some rice farmers employing no-input farming in Japan have achieved comparable yield to conventional farming even after 30 year of cultivation. In this study the mechanisms in which high yield is achieved in no-input paddies were investigated from a view point of nitrogen cycling.

First, yield and its components were compared among sixteen no-input farmer's paddies having different level of yields in northern part of Japan. The yield was significantly correlated with the grain number per m², which also showed a high correlation with the panicle number per m². This result implies that yield difference between no-input paddies is mainly determined by panicle formation that occurs during vegetative growth stage. The panicle number showed a significant correlation with the average air temperature during a period from transplanting to 43 days before heading ($r=0.66^{**}$). The pot experiment with different transplant dates and pass analysis showed that the air temperature during early vegetative growth stage had similar degree of positive effects on tillering rate by two way: directly from accelerating tiller formation (57%) and indirectly from increasing nitrogen mineralization in the soil (43%) by increased temperature. These results indicate that ensuring sufficient accumulated temperature during the early vegetative growth is crucial for the success of no-input farming in the northern Japan.

Secondaly, we investigated how weed species were established in paddy fields, and

their influence on rice yield, by comparing 16 no-input paddy. The seeds of the weed communities in paddy soils, before transplant, were analyzed using a spontaneous germination test, whereas the adult weed communities in the fields were examined at the full heading stage. Although eight weed species germinated from the soil, only four weed species were observed in the fields at the full heading stage. The two dominant weed species, *Monochoria vaginalis* and *Cyperaceae*, accounted for 84% of the total weed biomass in the field. The multiple linear regression analysis revealed that during the period of no-input farming, soil NO₃ content, air temperature, and sunlight hours had significant effect on the mass of *M. vaginalis*, but not on *Cyperaceae*. Moreover, the two dominant weed species had different impact on rice yield; *Cyperaceae* had a greatly negative effect on rice yield, whereas *M. vaginalis* did not. These results indicated that weed management in no-input farming paddy should be directed towards the control of specific weed species such as *Cyperaceae sp.*, rather than the entire weed community.

Thirdly, nitrogen cycling between soil and aboveground plants was examined by comparing four no-input paddies with different yield level including one conventional paddy. Nitrogen uptake by rice during early vegetative growth was greatly higher in the no-input paddy with high yield than in those with low yield. This difference between high and low yield paddies was resulted from the difference in availability of mineralized nitrogen from soil. Furthermore, the low yield in no-input paddies was caused by the competition for nitrogen absorption with weeds. The weeds had similar amount of nitrogen within their shoot, which brought the reduction of panicle number of rice to half of the potential number without any absorption by weeds. Decomposition experiment of rice straw using litter bag revealed that there was the significant differences in decomposition rate and in nitrogen mineralization rate between soils of four no-input paddies. While

nitrogen contents of decomposed litter as well as of soil around the straw increased at eight weeks after the start of decomposition, the degree of the increase in nitrogen was largely higher in soil of high yield paddy than in soil of low yield paddy. The nitrogen increase during the straw decomposition was probably caused by biological nitrogen fixation using rice straw as energy source and the amount of increased nitrogen during decomposition amounted to the nitrogen taken out of the paddy as brown rice in the paddy with high yield. These results suggest that high ability of biological nitrogen fixation in soil enable sustainable high yield in no-input paddy.

Finally, the activities of biological nitrogen fixation estimated from the acetylene reduction activity (ARA) and the copy number of *nifH* gene were compared between no-input paddies and conventional paddies. The acetylene reduction activity (ARA) was higher in the surface soil layer (0-2cm) than in the deep layer (10-15cm) and in the no-input soil than in the conventional soil. However, ARA did not show any significant correlation with the copy number of the *nifH* gene, which suggested that the difference in nitrogen fixing activity was related to the composition of nitrogen fixing bacterial community not to the quantity of nitrogen fixing gene existing in the soil. In addition, the laboratory experiments suggested that light is a major factor for nitrogen fixation activity.

In conclusion, this study demonstrated the importance of nitrogen cycling in the success of no-input farming. To achieve sustainable high yield in no-input paddy, the following cultivation managements and soil condition are required: (1) ensuring an adequate accumulated temperature during the early vegetative growth period, (2) complete removal of harmful weed species such as *Cyperaceae* sp. and (3) increased activity of biological nitrogen fixation in soil.

参考文献

- Andreasen, C., Streibig, J.C., Haas, H., 1991. Soil properties affecting the distribution of 37 weed species in Danish fields. *Weed Research* 31, 181-187.
- Bao, Z., Okubo, T., Kubota, K., Kasahara, Y., Tsurumaru, H., Anda, M., Ikeda, S., Minamisawa, K., 2014a. Metaproteomic Identification of Diazotrophic Methanotrophs and Their Localization in Root Tissues of Field-Grown Rice Plants. *Applied and environmental microbiology* 80, 5043-5052.
- Bao, Z., Watanabe, A., Sasaki, K., Okubo, T., Tokida, T., Liu, D., Ikeda, S., Imaizumi-Anraku, H., Asakawa, S., Sato, T., Mitsui, H., Minamisawa, K., 2014b. A Rice Gene for Microbial Symbiosis, *Oryza sativa* CCaMK, Reduces CH₄ Flux in a Paddy Field with Low Nitrogen Input. *Applied and environmental microbiology* 80, 1995-2003.
- Baresel, J.P., Zimmermann, G., Reents, H.J., 2008. Effects of genotype and environment on N uptake and N partition in organically grown winter wheat (*Triticum aestivum* L.) in Germany. *Euphytica* 163, 347-354.
- Barraquio, W.L., Watanabe, I., 1981. Occurrence of aerobic nitrogen fixing bacteria in wetland and dryland plants. *Soil Science and Plant Nutrition* 27, 121-125.
- Boutin, C., Baril, A., Martin, P., 2008. Plant diversity in crop fields and woody hedgerows of organic and conventional farms in contrasting landscapes. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 123, 185-193.
- Breen, J.L., Hill, J.E., Kusanagi, T., 1999. *M. vaginalis* affect rice yield in water seeded rice.
- Bulgarelli, D., Rott, M., Schlaeppi, K., Ver Loren van Themaat, E., Ahmadinejad, N., Assenza, F., Rauf, P., Huettel, B., Reinhardt, R., Schmelzer, E., Peplies, J., Gloeckner,

- F.O., Amann, R., Eickhorst, T., Schulze-Lefert, P., 2012. Revealing structure and assembly cues for Arabidopsis root-inhabiting bacterial microbiota. *Nature* 488, 91-95.
- Caussanel, J.P., 1989. Nuisibilité et seuils de nuisibilité des mauvaises herbes dans une culture annuelle : situation de concurrence bispécifique. *Agronomie* 9, 219-240.
- Chikasa H. 1966. Competition between rice plants and weeds. *Weed Res Jpn* 5:16-22.
- Collavino, M. M., Tripp H. J., Frank, E. I., Vidoz, M. L., Calderoli, P. A., Donato, M., Zehr, J. P. and Aguilar, O. M., 2014. *nifH* pyrosequencing reveals the potential for location-specific soil chemistry to influence N₂-fixing community dynamics. *Environmental microbiology* 16(10), 3211-3223.
- Dale, M.R.T., Thomas, A.G., John, E.A., 1992. Environmental factors including management practices as correlates of weed community composition in spring seeded crops. *Canadian Journal of Botany* 70, 1931-1939.
- E. D. Vance, P. C. Brggke and D. S. Jenkinson 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry* 19, 703-707.
- Elbeltagy, A., Nishioka, K., Sato, T., Suzuki, H., Ye, B., Hamada, T., Isawa, T., Mitsui, H., Minamisawa, K., 2001. Endophytic colonization and in planta nitrogen fixation by a *Herbaspirillum* sp. isolated from wild rice species. *Applied and environmental microbiology* 67, 5285-5293.
- Fried, G., Norton, L.R., Reboud, X., 2008. Environmental and management factors determining weed species composition and diversity in France. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 128, 68-76.
- Hasegawa, T. and Horie, T. 1994. A simplified model for estimating nitrogen mineralization in paddy soil. *Plant Prod. Sci.* 63: 496-501.

- Hideo, C., 1966. Competition between Rice Plants and Weeds. *Weed Research Japan* 5, 16-22.
- Hill, S., 1976. The apparent ATP requirement for nitrogen fixation in growing *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of General Microbiology* 95, 297-312.
- Hoque, M.M., Inubushi, K., Miura, S., Kobayashi, K., Kim, H.-Y., Okada, M., Yabashi, S., 2001. Biological dinitrogen fixation and soil microbial biomass carbon as influenced by free-air carbon dioxide enrichment (FACE) at three levels of nitrogen fertilization in a paddy field. *Biology and Fertility of Soils* 34, 453-459.
- Ikeda, S., Sasaki, K., Okubo, T., Yamashita, A., Terasawa, K., Bao, A., Liu, D., Watanabe, T., Murase, J., Asakawa, S., Eda, S., Mitsui, H., Sato, T. and Minamisawa, K., 2014. Low Nitrogen Fertilization Adapts Rice Root Microbiome to Low Nutrient Environment by Changing Biogeochemical Functions.
- Inamura, T., 1992. Tolerable growth level of *Eleocharis kuroguwai* Ohwi in rice fields. *Weed Research, Japan* 37, 290-295.
- IPCC, 2007. Changes in atmospheric constituents and in radiative forcing.
- Itoh, K., Miyahara, M., 1988. Damage caused by an arrowhead (*Sagittaria trifolia* L.), a perennial paddy weed to rice cultivated under ordinary conditions. *Weed Research, Japan* 33, 49-54.
- Jentschke, G., Brandes, B., Kuhn, A.J., Schröder, W.H., Becker, J.S., Godbold, D.L., 2000. The mycorrhizal fungus *Paxillus involutus* transports magnesium to Norway spruce seedlings. Evidence from stable isotope labeling. *Plant and Soil* 220, 243-246.
- Kabaki, N., Nakamura, H., 1984a. Differences in nutrient absorption among paddy weeds, Growing process and response to light and temperature. *Japanese Weed Science* 29, 153-158.

- Kabaki, N., Nakamura, H., 1984b. Differences in nutrient absorption among paddy weeds, nitrogen absorption in mixed planting. Japanese. Weed Science 29, 147-152.
- Kraehmer, H., Jabran, K., Mennan, H., Chauhan, B.S., 2016. Global distribution of rice weeds – A review. Crop Protection 80, 73-86.
- Lesk, C., Rowhani, P., Ramankutty, N., 2016. Influence of extreme weather disasters on global crop production. Nature 529, 84-87.
- Li, J., Lu, J., Li, X., Ren, T., Cong, R., Zhou, L., 2014. Dynamics of Potassium Release and Adsorption on Rice Straw Residue. PloS one 9, e90440.
- Long, R.L., Gorecki, M.J., Renton, M., Scott, J.K., Colville, L., Goggin, D.E., Commander, L.E., Westcott, D.A., Cherry, H., Finch-Savage, W.E., 2015. The ecophysiology of seed persistence: a mechanistic view of the journey to germination or demise. Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society 90, 31-59.
- Lundberg DS, Yourstone S, Mieczkowski P, Jones CD, Dangl JL. 2013. Practical innovations for high-throughput amplicon sequencing. Nat Meth. 10, 999-1002.
- Merritt, D., Turner, S., Clarke, S., Dixon, K., 2007. Seed dormancy and germination stimulation syndromes for Australian temperate species. . Australian Journal of Botany 55, 336-344.
- Mikkelsen, B.L., Rosendahl, S., Jakobsen, I., 2008. Underground resource allocation between individual networks of mycorrhizal fungi. New Phytologist 180, 890-898.
- Minamisawa, K., Imaizumi-Anraku, H., Bao, Z., Shinoda, R., Okubo, T., Ikeda, S., 2016. Are Symbiotic Methanotrophs Key Microbes for N Acquisition in Paddy Rice Root? Microbes and environments 31, 4-10.
- Okabe, A., Toyota, K and Kimura, M., 2000. Seasonal variations of phospholipid fatty acid composition in the floodwater of a Japanese paddy field under a long-term

- fertilizer trial. *Soil Science and Plant Nutrition* 46, 177-188.
- Okumura, T., 2002. Rice Production in Unfertilized Paddy Field -Mechanism of grain production as estimated from nitrogen economy-. *Plant Production Science* 5, 83-88.
- P.C. Brookes, Andrea Landman, G. Pruden, D.S. Jenkinson., 1985. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: A rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 17, 837-842.
- Poly, F., Monrozier, L.J., and Bally, R., 2001. Improvement in the RFLP procedure for studying the diversity of *nifH* genes in communities of nitrogen fixers in soil. *Res Microbiol* 152: 95–103.
- Roper, M.M., Ladha, J.K., 1995. Biological N₂ fixation by heterotrophic and phototrophic bacteria in association with straw. In: Ladha, J.K., Peoples, M.B. (Eds.), *Management of Biological Nitrogen Fixation for the Development of More Productive and Sustainable Agricultural Systems: Extended versions of papers presented at the Symposium on Biological Nitrogen Fixation for Sustainable Agriculture at the 15th Congress of Soil Science, Acapulco, Mexico, 1994*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 211-224.
- Smith, R., 1983. Weeds of major economic importance in rice and yield losses due to weed competition. *Proceedings of the Conference on Weed Control in Rice*. IRRI, Los Banos, 19-36.
- Smith, R.G., Mortensen, D.A., Ryan, M.R., 2010. A new hypothesis for the functional role of diversity in mediating resource pools and weedâ€™ crop competition in agroecosystems. *Weed Research* 50, 37-48.
- Tanaka, A., Toriyama, K., Kobayashi, K., 2012. Nitrogen supply via internal nutrient

- cycling of residues and weeds in lowland rice farming. *Field Crops Research* 137, 251-260.
- Toriyama, K., Heong, K., Hardy, B., 2005. Rice is life: scientific perspectives for the 21st century. Proceedings of the World Rice Research Conference held in Tokyo and Tsukuba, Japan, 4-7 November 2004., 1-590.
- Vdquez-Yanes, C., Orozco-Segovia, A., 1993. Patterns of seed longevity and germination in the tropical rainforest. *Annual Review of Ecology and Systematics* 24, 69-87.
- Wilson, R.G., Kerr, E.D., Nelson, L.A., 1985. Potential for Using Weed Seed Content in the Soil to Predict Future Weed Problems. *Weed Science* 33, 171-175.
- WMO, 2014. Scientific Assessment of Ozone Depletion:2014, Global Ozone Research and Monitoring Project-Report No.55.
- Yoneyama, T., Yoshida, T., 1977. Decomposition of rice residue in tropical soils. *Soil Science and Plant Nutrition* 23, 33-40.
- Yoshida, T., Ancajas, R.R., 1973. Nitrogen-Fixing Activity in Upland and Flooded Rice Fields1. *Soil Science Society of America Journal* 37, 42-46.
- Yoshida, T., Rinaudo, G., 1982. Heterotrophic N₂ fixation in paddy soils. In: Dommergues, Y.R., Diem, H.G. (Eds.), *Microbiology of Tropical Soils and Plant Productivity*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 75-107.
- 荒生秀紀・粕渕辰昭・安田弘法 2015. 湛水下の水田表層土における太陽光の透過性と全窒素量の変動. *土壌の物理性* 131 : 23-27.
- 安藤豊・丸本卓哉・和田源七・中村勉 1995. 乾燥期間が土壌有機態窒素の無機化, 水稻の窒素吸収に及ぼす影響について. *土肥誌* 66 : 499-505.
- 奥村俊勝 1988. 水稻の窒素栄養の動態からみた無施肥田と施肥田の比較栽培学

- 的研究. 京都大学博士論文 (国立国会図書館, 博士論文目録 89-A-86) .
- 小田正人 2011. 無施肥圃場で栽培したトマトの吸収した窒素の $\delta^{15}\text{N}$ 分析による由来推定. 日作紀 80 : 457-461.
- 蒲田昌治・甲斐秀昭・河口定生・河内埜一之 1987. 除草剤施用による水田土壌の遊離窒素固定微生物相と窒素固定能の変動. 土肥誌 58 : 517-527.
- 金澤晋二郎 1982. 水田土壌の生物, 水田土壌学, 山根一郎編. 農村漁村文化協会. 1-348.
- 川村三郎・中島照夫 1979. 長期無施肥水田土壌における二三の植物養分の動態について. 近畿大学農学部紀要 12 : 157-169.
- 気象庁 2014. 気象統計情報 (青森・深浦・八戸・弘前・遠野・古川・大衝・石巻・新潟・巻). <http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/index.php> (2015年10月8日閲覧) .
- 木村興農社 2016. <http://www.akinorikimura.net/ak-method/method.html#01> (2016年12月1日閲覧)
- 栗田光雄・白岩立彦・堀江武 2006. 長期無施肥栽培桑園の土壌全窒素含量および全炭素含量と収量の推移. 日作紀 75 : 28-37.
- 小西千賀三・清野馨 1961. 自然界における水田の地力維持に関する研究. 北陸農業試験場報告 2 : 41-138.
- 後藤雄佐・星川清親 1989. 水稻の分けつ性に関する研究. 第4報 分けつ性に及ぼす温度の影響. 日作紀 58 : 68-73.
- 斎藤訓之 2010. 「奇跡のリンゴ」は、なぜ売れたのか. 農業経営者 2010年11月号.
- 佐川了・坂本甚五郎・西政佳 1999. 水稻の収量・収量構成要素に及ぼす施肥成分と気象要因. 日作紀 68(4) : 519-523.

- 佐本啓智・杉本勝男・山川勇・鈴木嘉一郎・宇田昌義 1966. 栽培時期を異にする
水稲の生育経過に関する研究. 日作紀 35 : 54-58.
- 杉山修一・遠嶋凧子 2015. 自然栽培と慣行栽培野菜の化学成分の比較. 弘前大学
農学生命科学部学術報告 18 : 1-6.
- 高橋重郎・和田源七・庄子貞雄 1976. 水田における窒素の動態と水稲による窒素
吸収について. 第 6 報 温度が水稲の窒素吸収および土壌中のアンモニア態窒
素の消長におよぼす影響. 日作紀 45(2) : 213-219.
- デイビッド・L・カーチマン 2016. 微生物生態学 ―ゲノム解析からエコシステ
ムまで. 京都大学学術出版界.
- 西尾道徳 1997. 有機栽培の基礎知識. 農村漁村文化協会. 1-289.
- 農林水産政策研究所 2016. 世界の食料需給の動向と中長期的な見通し. ―世界食
料需給モデルによる 2025 年の世界食料需給の見通し―.
http://www.maff.go.jp/j/zyukyu/jki/j_zyukyu_mitosi/pdf/2025_bunseki.pdf
(2016 年 12 月 1 日閲覧).
- 農林水産省 2014. 平成 26 年産水陸稲の収穫量. <http://www.e-stat.go.jp/SG1/estat/List.do?lid=000001129556> (2015 年 10 月 8 日閲覧).
- 農林水産省 2015. 米をめぐる状況について.
http://www.maff.go.jp/j/seisan/kikaku/pdf/0628_meguji.pdf (2016 年 12 月
1 日閲覧)
- 農林水産省 2016. 環境保全型農業の推進について.
http://www.maff.go.jp/j/seisan/kankyo/hozen_type/pdf/suisin_280401.pdf
(2016 年 12 月 1 日閲覧) 長谷川浩・竹内史郎・奥村俊勝 1979. 長期無施肥田
における水稲諸形質の位置的変動 (II). 近畿大学農学部紀要 12 : 109-115.
- 羽咋市農林水産課 2012. 木村式自然栽培水稲マニュアル.

- 長谷川利拡・近藤始彦 2007. 日本における水稻の収量ポテンシャルの推定. -生育モデルからのアプローチ- 日作紀 76 (別 2) : 166-167.
- 福嶋陽・太田久稔・梶亮太・津田直人 2015. 生産力検定試験成績を利用した水稻の収量形成要因の解析. 日作紀 84 : 249-255.
- 丸本卓哉 1997. 土壤微生物バイオマス窒素の動態に関する研究. 土肥誌 68 : 229-232.
- 丸山幸夫・田中孝幸 1985. 水稻の作期が生育収量に及ぼす影響. 北陸農業試験場報告 27 : 80-99.
- 松尾孝嶺・清水正治・蓬原雄三・角田重三郎・星川清親・平田熙・熊沢喜久雄・石原邦・石井龍一・村田吉男 1990. 稲学大成 (生理編). 農村漁村文化協会. 1-970.
- 松島省三 1957. 水稻収量の成立と予察に関する作物学的研究. 農技研報 A5 : 1-271.
- 松島省三 1973. 稲作の改善と技術. 養賢堂. 1-393.
- 水木たける 2013. 『奇跡のリンゴ』ブームに違和感. 農業経営者 2013 年 8 月号.
- 村田吉男 1964. わが国の水稻収量の地域性に及ぼす日射と温度の影響について. 日作紀 33 : 59-63.
- 安田道夫・岡田泰明・野副卓人 2000. 東北地域における汎用水田の窒素富化機能の特徴. 土肥誌 71 : 849-856.
- 兪益東・木村真人・和田秀徳・高井康雄 1984a. 異なる種類の稲わらの施用が生物的窒素固定におよぼす影響. 土肥誌 55 : 455-459.
- 兪益東・木村真人・和田秀徳・高井康雄 1984b. 各種環境条件が生物的窒素固定におよぼす影響. 土肥誌 55 : 460-464.
- 兪益東・木村真人・和田秀徳・高井康雄 1991. 生物的窒素固定に関する稲わらの

有機成分—モデル実験. 土肥誌 62 : 219-225.

吉野喬・出井嘉光 1977. 土壤窒素供給力の有効積算温度による推定法について.

農事試験場研究報告 25 : 1-62.

謝辞

本論文は、著者が岩手大学大学院連合農学研究科寒冷圏生命システム学専攻博士課程における研究成果をまとめたものである。

指導教員である杉山修一教授には、本研究の遂行および研究成果の取りまとめにあたり、多くのご指導とご助言を頂きました。特に筆者は、修士課程まで異なる専門領域を専攻していたため、生態学的なアプローチや統計手法、論文執筆等において博士課程では新たに学ばなければいけないことが多く苦勞した時期もありましたが、3年に渡る杉山教授のご指導により研究者としての幅を大きく広げることが出来たと実感しています。ここに深い謝意を表します。また、岩手大学の下野裕之准教授、弘前大学の山尾僚助教には本論文の作製にあたり的確なご助言を頂き、研究室の先輩であった劉広成氏には実験手法を一から丁寧に教えて頂きました。ここに謝意を表します。

また、農業が実際に行われている農村で暮らしたいという筆者の我儘を受入れてくれ、3年間に渡り様々な経験をさせて頂いた大家の前田尚人氏にも深い謝意を表します。研究が行き詰った時や研究課題の意義に対し手厳しい批判を受けた時等は心苦しくなることもありましたが、研究の意義を理解し応援してくれる方が近くにおり、様々な話ができる存在がいたことは大きな支えとなりました。

また、自然栽培に取り組まれている多くの生産者の方にも多くの協力や支援を頂きました。調査においては、宮尾浩史氏、上野晃氏、長谷川真也氏、高橋正氏、長沼太一氏、木村純氏、黒澤重雄氏、伊藤丈夫氏、佐藤重雄氏、成澤之男氏、佐々木正幸氏、伊勢崎克彦氏、福士英雄氏、三上真一氏、田村真裕美氏、栗木政明氏、遠藤勝敦氏、阿部千里氏等にご協力頂きました。また、情報交流においては、NPO無施肥無農薬栽培調査研究会、京都大学作物学研究室にも貴重な情報を頂きました。また、特に成澤之男氏には、本来は企業秘密である栽培技術の細かいポイントの情報まで惜しみなく提供して頂き、具体的な栽培技術を考察する上での大きな参考となりました。また、比較対象として慣行栽培に取り組まれている生産者の方々にも研究に協力して頂きました。ここに謝意を表します。

最後に、本研究のきっかけを与えてくれた木村秋則氏に深い謝意を表します。困難に常に立ち向かってきた木村さんの人生そのものが、研究に取り組む上での大きな原動力と勇気を与えてくれました。そして、自然栽培という革新的な農業の考え方をこの時代に残しておいてくれたことに深く感謝しています。

また、本研究の一部は日本科学協会の笹川科学研究助成（研究番号 28-533）の助成を受けました。ここに記し謝意を表します。