

硝酸発酵…土壌というカオスの解体

篠原 信

農学では、重要性が分かっているが解析が難しいために残されてきた研究テーマがある。本稿で紹介するのは、それらの研究テーマを一気に解明してくれるかもしれない、ブレイクスルーについてである。

模倣できない土壌 人間に都合のよい微生物の分解を発酵、都合が悪いのを腐敗と呼ぶならば、土壌中での有機物の分解は発酵と呼ぶべきだろう。動植物の遺体や糞尿など、さまざまな有機物を土壌は適切に分解し、植物の養分に変えてくれる。そんなことができるのは土壌しかない。水の中、コンクリートの上に生ゴミを放置しても腐敗するだけである。腐敗した有機物に植物を植えてもたいてい枯れてしまう。土壌があればこそ有機物はいつしか分解され、植物の養分となり、陸上動物が生きていける。土壌は地上最大の発酵媒体だといえるだろう。

だが、土壌ではごく自然に進行する「発酵」が、人類にはなかなか模倣することができなかつた。もっとも精神的に土壌を「模倣」しようとしたのがNASAケネディ宇宙センターである。90年代に宇宙での食糧生産を目指し、土壌を使わずに有機質肥料による水耕栽培（養液栽培）の研究を行った。地球から化学肥料（無機肥料）を運び込むのは現実的ではなかつたためである。

土壌の「発酵」を真似るには有機物に含まれる有機態窒素を分解し硝酸イオンを生成しなければならない。多くの植物は好硝酸性植物であり、健全な生育には硝酸イオンが不可欠なためである。いわば「硝酸発酵」が土壌では自然に進行するのだが、これを人工的に模倣することは、困難をきわめた。土壌ではアンモニア化成（有機態窒素からアンモニアを生成する作用）と硝酸化成（アンモニアから硝酸イオンを生成する作用）の2段階で硝酸イオンが生成するので、彼らも二つの反応タンクを用意して実験したのだが、有機物が硝化菌（アンモニア酸化菌、亜硝酸酸化菌の総称）の活性を落とし、硝酸イオンの生成効率が悪化したのである。結局、彼らのプロジェクトは失敗に終わった。

その他の研究者も、硝酸発酵を再現することはできなかつた。農耕開始から1万年以上になるが、人類は土壌を模倣することができなかつたのである。

「カオス」の土壌 土壌微生物の99%以上は培養不能とされ、しかも再現性のあるデータを取得するのが難

しい。土壌サンプルの採取場所が1 cm違うだけで含まれる土壌鉱物の種類も異なり、大きさなどもバラバラ、土壌微生物も物理的環境の影響を受けるので、土壌はまさにカオスである。土壌は農学における最重要課題だが、あまりの渾沌ぶりに攻めあぐねてしまう。そんな渾沌としたものなのに、なぜか有機物から硝酸イオンを生成する基本機能を失うことがない。土壌はなぜカオスなのに硝酸発酵を進めることができるのだろうか？ なぜカオスの土壌ができることなのに人間は模倣できないのだろうか？

「ブラックボックス」の根 土壌はあらゆる有機物を分解する力があるにもかかわらず、柔らかな根がその分解作用を受けつけることはない。その驚異的な機能がなぜ発揮されるのだろうか。

根もまた、非常に研究が難しい対象である。土壌粒子の下に隠れて観察したり、サンプルを採取したりすることが難しい。根圏構造を一度破壊すると元に戻せない。「問題の根っこ」「根源」という言葉からも根は植物の最重要器官として認識されているが、「問題の根は深い」といわれるように、根は「見えない」。根はブラックボックスであり続けた。

.....

筆者が研究に着手した当初は、以上のような研究課題を解決しようなどと大それたことは考えていなかった。ただ当時は、「水耕栽培（養液栽培）で有機質肥料が使えないなら、それを研究してみよう」と思っただけのことである。

有機質肥料を使った養液栽培（有機質肥料活用型養液栽培）は、そうして誕生した¹⁾。その後、この技術の誕生が農学上の懸案だったさまざまな研究テーマのブレイクスルーになりそうだとすることに気がついた。

まずは有機質肥料活用型養液栽培について紹介しよう。

有機質肥料活用型養液栽培

この栽培技術は、世界で初めて有機質肥料を使って野菜などの養液栽培ができる実用的生産技術である。筆者はこの研究に着手する際、NASAやさまざまな研究機関などの研究事例を集めた。その結果、過去の研究は二つのトラブルのうちどちらかに見舞われていることがわ

かった。

不安定な硝酸発酵：硝化菌（アンモニア酸化菌，亜硝酸酸化菌の総称）は有機物の存在を嫌い，硝酸イオンの生成効率が低下してしまう²⁾。有機物の大量曝露を受けると活動を完全に停止してしまうこともある³⁾。アンモニア化成は問題なく進行するので，アンモニアは大量に生成するが，植物の生育に必要な硝酸イオンを回収できない。

脱窒による硝酸イオン喪失：硝酸化成がうまく進んだとしても脱窒によって硝酸イオンが窒素ガスとして失われてしまう。脱窒菌は有機物をエネルギー源，硝酸イオンを酸素源として利用し，窒素ガスに変換する。有機物の添加は脱窒菌にエネルギーを与えることになりかねない。

したがって，硝酸発酵を成功させるには硝酸化成を安定化し，脱窒を抑える必要がある。しかし有機物を原料とする以上，硝酸化成は不安定化し脱窒は活性化しやすくなる。この矛盾を解決する必要があった(図1)。

種々の検討の結果，次の三つの注意点を守れば水中で硝酸発酵が可能であることが明らかとなった。

- ①生物源として土壌を5 g/L程度加える。
- ②有機態窒素の豊富な有機物を0.1～1.0 g/L/day加える。亜硝酸イオンが検出され始めたら有機物の添加を停止する。
- ③2～4週間以上曝気する。

有機物の添加量を1.0 g/L/day以下に抑えることで硝化菌へのダメージを減らし，馴化培養した。また，亜硝酸イオンが検出され始めた時点で有機物の添加を止めることで，硝酸イオンが生成する所には有機物が分解されて残り少なくなるようにする。このように脱窒菌のエネルギー源を奪っている。いわば有機物と硝酸イオンが同時併存しないように時間的に隔離することで，脱窒を抑えているのである。

この方法はアンモニア化成と硝酸化成を同時並行的に

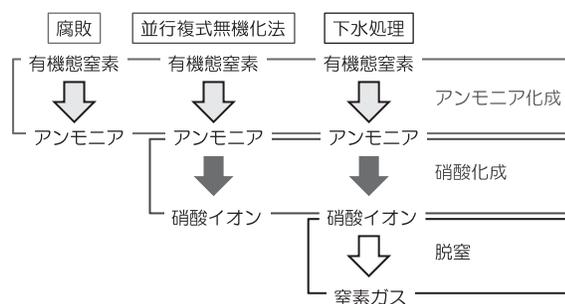


図1. 硝酸発酵とその他の窒素分解。硝酸発酵を行うにはアンモニア化成，硝酸化成の2段階を進め，脱窒を抑える必要がある。

同じ培養液内で進めることから，並行複式無機化法と呼んでいる。余談になるが，この名称は日本酒の醸造法である並行複式発酵法から採っている。日本酒を醸すにはコメのでんぷんを糖に変える糖化，糖をエタノールに変えるエタノール発酵の2段階を経る。さらに「酒が酔になる」場合は酢酸発酵となる。酒を醸すには3段階目の酢酸発酵を抑え，糖化とエタノール発酵を進める必要がある。硝酸発酵も同様に，脱窒を抑えながらアンモニア化成と硝酸化成の2段階の反応を進めなければならない。醸造学の知識があったことで，どうにかなるという確信を持って研究できたことは大きい。

さて，こうして培養した微生物群を養液栽培の装置の中に加えると，養液中に有機質肥料を随時加えながら栽培が可能で有機質肥料活用型養液栽培が可能になる。CaやMgなどの養分はカキ殻などで補えば，トマトやイチゴ，ミツバ，ミズナなどのさまざまな作物の栽培が可能である。

このように，本栽培技術は有機質肥料の利用を可能にした新しい養液栽培技術として注目を集めているが，このほかにも学術的に興味深い知見が得られている。

根部病害抑止効果

有機質肥料活用型養液栽培では，青枯病菌や病原性フザリウム菌による根部病害を抑止する効果がある。これは実用面でも価値があるだけでなく，学術的にも興味深い現象である。

根部病害は効果的な農薬もなく，深刻な被害をもたらす難防除病害として知られる。いったん土耕栽培や化学肥料の無機養液栽培で発生すると被害は甚大であり，いったん土壌に病原菌が棲みつくと消毒しきれず，根絶は困難である。拮抗菌は十分な効果を示すものが得られていない。ほぼ打つ手なし，といった状況である。

有機質肥料活用型養液栽培は栽培するだけで根部病害を抑えることができる。高菌密度(10⁵ cfu/mL)の青枯病菌や病原性フザリウム菌を接種すると慣行の無機養液栽培では野菜苗が枯死するが，本栽培技術では罹病株が認められない(図2)⁴⁾。接種10日後には養液から青枯病菌が検出されなくなり，病原性フザリウム菌は厚膜胞子と呼ばれる耐久体に変化し，菌糸伸長が阻害されている。

なぜ有機質肥料活用型養液栽培だと，根部病害を抑止することができるのだろうか。栽培装置のフタを開けると，非常に興味深いものが目に飛び込む。

根の可視化

根を観察すると，非常によく発達した根毛とその表面

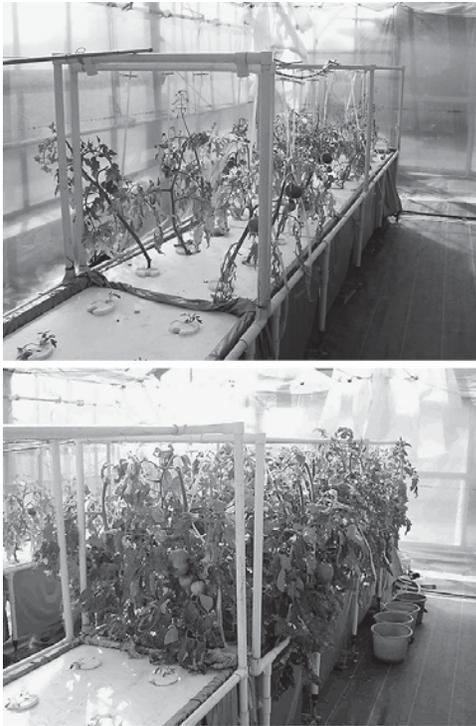


図2. 病原性フザリウム菌による根腐萎凋病。化学肥料を用いた無機養液栽培（上）ではトマトがすべて枯死した。有機質肥料活用型養液栽培（下）はすべて健全に生育した。

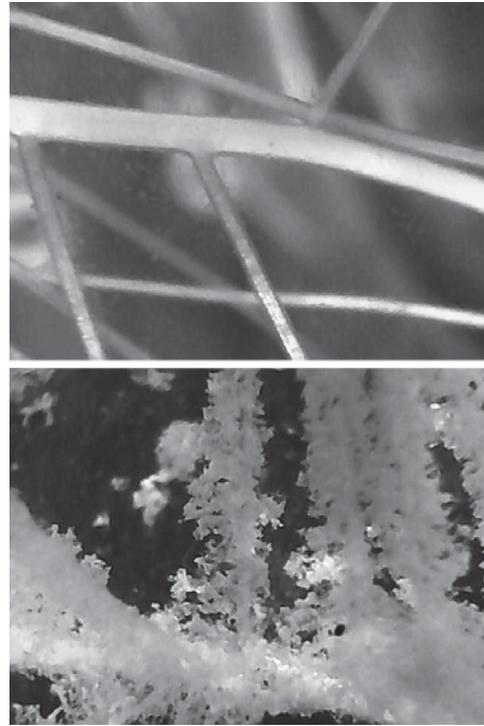


図3. 根の構造。化学肥料を用いた無機養液栽培（上）では水中根（水に浸漬した根）に根毛は認められない。有機質肥料活用型養液栽培（下）は根毛が密生し、その表面をバイオフィームが被覆している。

を被覆するバイオフィーム（微生物群集構造）が観察される（図3）。栽培装置のフタを開けるだけで根と根圏微生物の相互作用を観察でき、サンプル採取も容易である。このような栽培技術は過去に例がない。既述のように、根は土壌粒子の下に隠れて見えないのが普通であり、無機養液栽培は根の観察が容易でも微生物との相互作用を観察することができない（注・無機養液栽培の場合は養液内に $10^4 \sim 10^5$ cfu/mL程度しか微生物が息しない）。有機質肥料活用型養液栽培は根と根圏微生物の相互作用を可視化し、解析を容易にするこれまでにない栽培技術である。

この栽培技術が確立したことで、根の奇妙な性質に気づかされることになる。上述のように、根は土壌の強力な分解作用をはねのける力を備えながら、化学肥料しか用いない無機養液栽培で栽培すると根の強靱さはまったく失われ、根は有機物の曝露や微生物によって容易に傷んでしまう。養液を頻繁に更新したり、紫外線殺菌したりするなどの対策が必要となる。無機養液栽培だと、養液を「無機的」で「無菌的」な状態に保たないといけないほど、根は脆弱になる。

しかし、有機質肥料活用型養液栽培では大量の微生物が根の表面にバイオフィームを形成しているのに異常を

示さない。それどころか、根は乾燥重量で無機養液栽培のほぼ倍近くになる。また、有機質肥料を毎日養液内に加えるので、常に根は有機物の曝露を受けているが、根は傷害を受けない。

なぜ無機養液栽培だと根は脆弱になり、有機質肥料活用型養液栽培だと根の強靱さが取り戻せるのだろうか。無機養液栽培では化学肥料の形で硝酸イオンを与えているので、養分バランスは問題ない。なのに、根は有機物や微生物に対して脆弱になる。「硝化菌が硝酸イオンを生成する」ことが根の強靱さを取り戻す条件のように見えるが、なぜそうなるのかは不明である。

もう一つ奇妙なことは、硝化菌も有機質肥料活用型養液栽培の養液内では有機物の曝露を受けても硝酸化成が阻害されなくなることである。硝化菌を単独で培養しているときに有機物を加えたり、並行複式無機化法で培養する前に大量の有機物を加えたりする場合には硝化菌はダメージを強く受けるが、並行複式無機化法で培養した後だと5 g/L/dayという非常に高濃度の有機物を加えてもダメージを受けなくなる。他の微生物と関係を構築し生態系を構成できると、硝化菌は有機物の曝露に対して強くなるようである。これも興味深い現象である。

なぜ、硝酸発酵が成立すると根は微生物や有機物の接

触に強くなるのか？ なぜバイオフィーム内では硝化菌は有機物によって阻害を受けなくなるのか？ これらの謎はまだ未解明であるが、今後「根を可視化」したメリットを活かし、解明していきたいと考えている。

土壌の創造

並行複式無機化法はいわば水を「土壌化」する方法だが、この方法で培養した微生物をウレタンなどの人工樹脂やヤシ殻などの木質チップ、ロックウールやパーライトなどの鉱物質の人工培地に固定化すると、あたかも土壌と同じように有機物を分解し、硝酸イオンを生成するようになる。これまで不可能だった、「土壌の創造」が可能である⁶⁾。

写真はウレタンを土壌化し、鰹煮汁などの有機物を加えてトマトを栽培している様子を示したものである(図4)。土壌以外の培地に有機物を肥料として加えて栽培が可能なのは、これが世界で初めてである。

土壌を「創造」できるようになったことで、土壌の研究に画期的な手法を提供することになるだろう。土壌はこれまで多様な鉱物で構成されるため再現性のあるデータを取得することがきわめて困難だったが、カオリナイトやパーミキュライトといった単一種の鉱物を「土壌化」すれば、鉱物種ごとに微生物生態系に与える影響を解析することなどが可能になる。土壌の成り立ちを解明する上で、強力な研究手法を提供することができる。

無機肥料の製造

並行複式無機化法は硝酸発酵を可能にしたものの、このままでは得られる硝酸イオンの量もわずかであり、分解に2週間以上かかってしまう。これでは硝酸発酵ができるといっても効率が悪すぎる。

そこでもっと大量の有機物を迅速に分解し、硝酸イオンを生成する技術を開発しようと試みた。それがカラム法である。

上述の「土壌化」と同様にウレタンやロックウールに並行複式無機化法で培養した微生物群を固定化し、これを硝酸発酵の触媒カラムとして用いる。上から有機物を加えて、翌日水で洗うと、無機イオンが溶解した無機肥料を回収することができる⁴⁾。

これまでも下水汚泥を焼いて無機リン酸を回収する技術などがあったが、大量のエネルギーを必要とし、窒素成分など他の肥料成分は回収できないなどの欠点があった。しかし、カラム法では、有機物を加えて翌日水で洗うだけの操作で硝酸イオンやリン酸イオンなどの無機イオンを回収することができる。しかも室温で放置す



図4. 土壌化した人工樹脂。並行複式無機化法で培養した微生物群をポリウレタンに固定化することで土壌化(上)後、有機質肥料(鰹煮汁)を加えてトマトを栽培した。

るだけなので特にエネルギーを必要としない。

現在、無機肥料のほとんどが化学合成で製造されており、その際に大量のエネルギーを消費する(窒素肥料1 kgあたり17,600 kcal, リン3190 kcal, カリウム2200 kcal)。これまでは生ゴミや畜産廃棄物などから無機肥料を製造する技術がなく、無機肥料といえば化学肥料を使うしかなく、有機質資源は有機質肥料として使うしか方法がなかった。

しかし有機質資源から無機肥料を製造する本技術が登場したことで、「有機由来の無機肥料」という、新しいカテゴリの無機肥料を提供することができる。エネルギーを使わずに1日で有機物から無機肥料に変換することができることもメリットが大きい。現在、メーカーと共同で製品化に向けた研究を進めている。

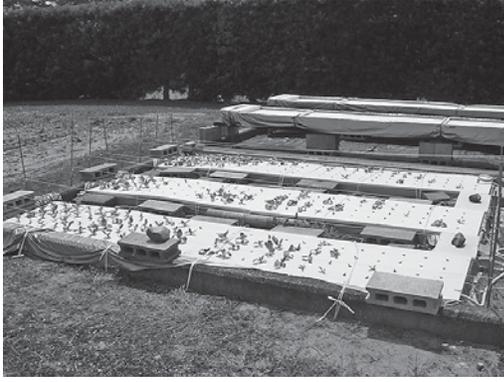


図5. 屋外での養液栽培. 屋外の青枯病激発圃場で行った有機質肥料活用型養液栽培.

屋外型植物工場

近年、植物工場が新しい食料生産技術として注目を集めているが、そのほとんどが従来の無機養液栽培を採用しているため、病原菌に対して脆弱である。外界から異物の侵入を防ぐため閉鎖系にしなければならず、閉鎖系にすると太陽光では内部が暑くなりすぎるので人工光を採用せざるを得ず、そうなるとう電力コストの負担が発生するなど、生産コストの重さが課題となっている。また、培養液内に病原菌が増殖することを恐れて頻りに養液の廃棄と交換を行う実態があるなど、コストと環境負荷の点でも見直されなければならない点がある。

これに対し有機質肥料活用型養液栽培は、養液に青枯病菌などの病原菌の侵入があっても根部病害の恐れがなく、多少のホコリが培養液に入っても問題はないので、屋外のような開放系で栽培することができる(図5)。また、培養液を廃棄せずに循環させても何の問題もない。

まだ技術が未熟だが、将来的にはダム湖や学校のプールなどでも栽培できる「屋外型植物工場」が実用化できたらと考えている。

世界には塩害などで栽培できなくなった耕地が広がっており、そうした場所で本栽培技術を導入すれば、低コストで食料生産を再開することができるかもしれない。本栽培技術は培養液を廃棄しないので、土耕栽培が灌水の6割を地下に流亡するのと比べ大幅に節水型の栽培となる。水資源の枯渇が懸念される中、この点でも本栽培技術はユニークであるといえる。

土壌微生物エレメント

土壌微生物で培養可能なものは1%に過ぎないといわれる。メタゲノム解析でかなりのことがわかるようになったものの、自然土壌は上述のように採取した場所が

少し違うだけで微生物組成が大きく異なり、再現性のあるデータを取得するのは困難である。

これまでに述べてきたように、土壌の本質的機能とは硝酸発酵(有機物から硝酸イオンなど無機養分を生成する機能)であるといえる。この硝酸発酵をメルクマールにして微生物を選抜するならば、土壌の機能を果たすのに最低限必要な微生物種の構成(土壌微生物エレメント)が明らかになるかもしれない。

もし土壌微生物エレメントを選抜することができれば、土壌を単純化したモデルとして扱うことができ、土壌を解析可能な研究対象にすることができるだろう。

現在、この「土壌微生物エレメント」を選抜すべく、名古屋大学、京都大学、富山県立大学、慶應義塾大学、茨城大学などと連携して研究を進めている。

おわりに

「硝酸発酵」の成功は不可視だった根の世界、カオスだった土壌の世界に光を当てる可能性がある。当初、「水耕栽培で有機質肥料を使えたらそれでよい」という程度の着想で始めた研究であったが、筆者の予想を超えてさまざまなブレイクスルーをもたらす可能性が見えてきた。「根」と「土壌」は農学における枢要の位置にありながら、容易に解明を許さぬ厄介な研究対象であった。それが研究のまな板の上に乗ったことで、画期的な食料生産技術が今後誕生してくるかもしれない。筆者も、やや興奮を禁じ得ない。

ただ、他方で心配もある。土壌という「カオス」を解体して本当に大丈夫だろうか? 中国の古典「荘子」には、目・鼻・口・耳の七孔がない渾沌に、目鼻の孔をあけたとたん死んでしまう話がある。カオスはカオスのまま扱うからこそ、その生命力を失わずに済む、というたとえなのだろう。だとすれば、土壌を解体することは土壌の生命力に致命的な打撃を与えてしまうことになるのだろうか。

「土壌をいくらダメにしても人工的に創造できるのだから大丈夫」など場当たりの考えになってしまわないだろうか。もしそうなるとしたら、それは筆者の願いとは裏腹になってしまう。筆者の懸念が将来、杞憂と嗤われることを期待している。

文 献

- 1) 篠原 信: 農業および園芸, **81**, 753 (2006).
- 2) Stutte, G. W.: *Life Support Biosph. Sci.*, **3**, 64 (1996).
- 3) Shinohara, M. et al.: *Soil Sci. Plant Nutr.*, **57**, 190 (2011).
- 4) Fujiwara, K. et al.: *J. Gen. Plant Pathol.*, **78**, 217 (2012).
- 5) 篠原 信: 特願2008-262385 (2008).