

簡易型反射式光度計とコムギ種子根を用いたバイオアッセイによる堆きゅう肥の診断 —観賞植物に対する生育阻害性の検定—

前田 茂一

Diagnosis of Compost Using Handy Reflecting Photometer and Bioassay with Wheat Seedling Root
—Examination of Growth Inhibition Level for Ornamental Plants—

Shigeichi MAEDA

Summary

Key words : handy reflecting photometer, bioassay, wheat seedling, compost, growth inhibition

畜産堆肥等の堆きゅう肥（以下堆肥と略す）を鉢花・花壇苗等の培養土の一部として利用すると、しばしば定植後に生育障害などのトラブルが発生する場合がある。これら生育障害の主要因は堆肥中の窒素化合物等の変質に起因するpHや塩類濃度の植物生育への不適合、あるいは水分調整等のために混合された木質廃材の分解過程で生じる生育阻害物質等であるとされ⁵⁾、植物を健全に育成するには、利用に際して対象植物の生育に及ぼす影響を予見しておく必要がある。本研究では、簡易型反射式光度計（RQフレックス計、以下RQと略す）による水溶性イオン濃度の測定とコムギ種子根を用いたバイオアッセイを行い、鉢花・花壇苗等の観賞植物の培養土に供する際の堆肥等の安全性を比較的簡便に事前評価する方法について検討した。

堆肥の製造段階と種類の違いによる生育阻害性の評価

腐熟程度の進んだ堆肥ほど、植物に対する生育阻害性が減少することは、経験的に既知ではあるが、腐熟程度を外観や臭気等から正確に判断するのは困難であり不確実でもある。そのため、堆肥を植物栽培にとって安全に利用するための客観的判断基準の作成が必要とされてきたが、現場でも簡便に利用できる判定方法はいまだ確立されていない。

本試験では堆肥化の製造段階（期間）が比較的明確で、堆肥化処理方法の異なる牛糞堆肥を3戸の畜産農家より採取し、それら乾燥牛糞と2種類の発酵牛糞堆肥（菌体利用の有無で分別した）を、第1表に示した通り製造段階別に4区分し、それぞれの性質を下記に述べた方法で測定した。また、第3表に示した通り製品として流通段階にある堆肥化処理法が異なる4種類の堆肥も同様に供試し

第1表 使用した堆肥の製造段階と種類(1)

Table 1. Production stage and type of compost used in the experiment(1)

使用した堆肥 の製造段階	製 品 区 分 (生産者別)					
	A		B		C	
原料状態	製造日数	0日	製造日数	0日	製造日数	0日
堆肥化初期		7日		30日		8日
堆肥化中期		14日		75日		60日
堆肥化終期		>30日		>180日		>180日
使用した堆肥 の種類		乾燥牛糞 (風乾)		おがくず等量混合発酵 牛糞 (菌体利用: 無)		おがくず等量混合発酵 牛糞 (菌体利用: 有)

第2表 各堆肥の製造段階別の化学性・コムギ種子根伸長程度と供試植物の生育状況との関連性(1)

Table 2. Relations among chemical property on each production stage of compost, growth inhibition level from wheat root's elongation in compost extract and growth condition of plant in tested medium(1)

供試堆肥の 種類	供試堆肥の 製造日数	pH	EC	イオン濃度(ppm)					アンモニア/ 硝酸比	コムギ種子根伸長 根長(mm)	test	生育指標**
				NH ₄ ⁺	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	K ⁺	Ca ²⁺				
乾燥牛糞 A	0日	7.6	2.7	157	3	32	620	20	52.3	0	>1000	1 (100%)
	7日	9.7	2.1	43	5	102	660	15	8.6	66	100	2 (79%)
	14日	9.5	3.1	38	35	112	900	15	1.0	37	> 200	3 (42%)
	>30日	9.5	4.4	62	5	76	1260	16	12.5	33	> 200	2 (94%)
発酵牛糞 B	0日	7.9	3.2	82	4	41	570	31	20.5	0	>1000	1 (100%)
	30日	9.4	1.1	67	10	79	400	18	6.7	75	100	3 (0%)
菌体利用 :無	75日	9.3	1.3	79	41	78	400	15	1.9	98	< 50	4 (0%)
	>180日	8.9	1.9	42	55	24	530	15	0.8	92	< 50	4 (0%)
発酵牛糞 C	0日	7.8	2.4	80	2	51	450	26	40.0	0	>1000	1 (100%)
	8日	9.2	1.0	38	4	60	330	22	9.5	67	100	3 (0%)
	60日	9.4	1.5	29	393	47	370	13	0.1	82	< 50	4 (0%)
菌体利用 :有	>180日	8.6	1.5	27	133	68	410	14	0.2	104	0	5 (0%)

注) 堆肥のサンプリング時期：1998/May/18

化学調査開始時期：1998/May/20

* : ヒドロキシプロリン相当濃度(ppm)

** : キンギョソウの生育阻害程度 1 (劣) ~ 5 (優)

第3表 供試堆肥の製造段階と種類(2)

Table 3. Production stage and type of compost used in the experiment (2)

製品区分	堆肥の製造段階		使用した堆肥の種類
A'	製造日数	21日	乾燥牛糞
B'		120日	おがくず等量混合, 発酵牛糞
C'		120日	おがくず等量混合, 発酵牛糞, オーレスC使用
D'		12日	急速発酵, 密閉型コンポスト, EM菌使用

た。さらに、堆肥中に含まれる水溶性イオン濃度比や、堆肥抽出液中でのコムギ種子根伸長量の測定値より判断した阻害性と、実際にこれらの堆肥を使用してポット栽培したキンギョソウ(第2表)およびパンジー(第4表)の生育状況を比較することにより、相互の関連性を考慮した上で、堆肥の生育阻害性に対する総合的な評価を行った。

pH、ECならびに水溶性イオン濃度の測定

通常、生糞を除き未熟な堆肥ほどアンモニア態窒素の量が多く、腐熟化と共に硝酸化成が進むに従ってpH値はアルカリ性側から中性側へと傾き、EC値もそれにともなって上昇に転じていく。

そのため、堆肥の腐熟度や化学性を表示する際の最も簡便な方法として、堆肥抽出水溶液のpHとECの測定がある。ところが、実際の堆肥には堆積層位ごとに腐熟程度のムラがあり、窒素以外の成分によるpH値やEC値への影響も無視できない。また、幾度も切り返しを加えられ、腐熟過程

がかなり進んだ堆肥であれば、それらの影響は軽微だろうが、未熟であるほど、栽培植物の生育に及ぼす影響は大きくなる。

そこで、腐熟程度の判定に際しては、補足的に堆肥抽出液中の水溶性イオン濃度を測定し、実際に硝酸化成がどの程度進行しているのかを調べる必要がある。また、水溶性イオン濃度の測定により、堆肥中に含まれ、pH、ECに影響を及ぼすカリ、リン酸、カルシウムなどの存在量を知ることができる。本試験では、pH、ECならびに水溶性イオン濃度を測定するにあたり、牛糞堆肥1に対し純水を体積比で5の割合で混合し、pHとECについては30分間振とう後抽出液を直接測定し、水溶性イオン濃度はさらに抽出液をNo6の濾紙を用いて濾過後、RQで測定した。それぞれの測定は採取部位を変えた試料を用い3回行った。

コムギ種子根伸長量の違いによる阻害性の判定

多量施用による生育障害がなく、持続的に安定

第4表 堆肥の製造段階別の化学性、コムギ種子根伸長程度及び供試植物の生育状況との関連性(2)

Table 4. Relationships among the chemical properties on each production stage of compost, growth inhibition level from wheat root's elongation in compost extract and growth condition of plant in tested medium(2)

製品区分	pH	EC	イオン濃度 (ppm)					アンモニア/ 硝酸比	コムギ種子根 伸長量 (mm)	阻害程度 (ppm)相当*	生育指標 パンジーの生育程度
			NH ₄ ⁺	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	K ⁺	Ca ²⁺				
A	9.5	4.5	53	3	85	1300	14	17.7	103	< 50	3 (25%)
B	9.2	1.7	71	42	49	530	17	1.7	162	0	5 (5%)
C	9.4	1.4	29	30	48	360	13	0.9	136	0	5 (5%)
D	9.2	4.5	109	6	224	1270	14	18.1	66	100	1 (100%)

注) 堆肥のサンプリング時期：1998/Sept/11

化学調査開始時期：1998/Sept/22

*：ヒドロキシプロリン相当濃度

生産を図ることのできる堆肥があれば理想的だが、農業・園芸分野で利用される堆肥は必ずしも腐熟程度が均一ではなく、一度に多量に用いた場合、生育にばらつきが生じることがある。また腐熟判定に際しても、実際に堆積状態にある堆肥から、完全な代表的試料を採取することは困難であり採取誤差を生じやすいのが現状である。

さらに、木質廃材などを混合した堆肥は腐熟過程で様々な微生物活動による有機物生産が行われるため、pH・EC測定やRQなどによる化学性の分析だけでは予見し得ない生育阻害物質が生産されている可能性もある。

そのため、生育阻害物質の影響を受けやすい植物に対しても安心して利用できる堆肥であるかどうかを判定するには、実際に植物をそれらの堆肥を用いて栽培し、生育に及ぼす影響を観察するのがより確実な判定方法であるといえるが、このような方法で行った場合、判定の結果が出るまでにはかなりの時間を要する。

そこで、植物反応による判定に要する時間を短縮するため、発芽後のコムギ種子根に、生育阻害性の高い物質が一定濃度以上含まれる寒天培地中で伸長生長が抑制される性質があることを利用し^{4) 3)}、根の伸長量の測定値から間接的に堆肥の阻害性を予見するバイオアッセイを使用した。

コムギ種子は入手しやすく、発芽後の根の伸長速度や伸長量も一定条件下では比較的安定しており、バイオアッセイに利用しやすいといえる³⁾。本試験では、水溶性イオン濃度の測定に用いた抽出液を15cmの試験管にとり、ステンレス性の金網を試験管の開口部に設置し、この金網上にあらかじめ発芽させたオマセコムギの種子を置き、人工

気象器内に25℃の暗黒条件下で生育させ、5日後の根の伸長量を最長根の長さの平均値(10-15個体)で算出し、「コムギ種子根伸長量」とした。

さらに、生育阻害性判定のための標準液には、木質廃材等の分解時に生成するとされるアミノ酸の一種であるヒドロキシプロリン⁵⁾を用い、濃度を0、50、100、200、1000ppmの5段階に設定し、コムギ種子根伸長量をそれぞれ比較した。ヒドロキシプロリンの濃度勾配がコムギ種子根伸長抑制量と平行な関係にあることは、過去に行われた寒天培地を用いた試験管での実験ですでに確かめられている³⁾。また、コムギ種子根伸長量は設定条件により微妙に異なるため、標準曲線は生育阻害性の検定を行うごとに作成し、阻害性を検定する際の目安とした。なお、「阻害程度」は標準曲線上のコムギ種子根伸長量に相当するヒドロキシプロリンの濃度(ppm)で示した。

キンギョソウの生育の違いによる阻害性の判定

ピートモスとパーライトの等量混合用土に腐熟程度と堆肥化処理法の異なる牛糞堆肥を体積比で20%ずつ混合した。これらの用土に、あらかじめプラグトレイに播種後、生育させておいたキンギョソウ苗を定植し、定植後の生長に及ぼす堆肥の影響を調査した(ガラス温室内で栽培、播種日：1998年5月19日、鉢上日：1998年6月4日、調査期間：1998年6月12日～7月21日)。なお、供試したキンギョソウの耐塩性は中程度であるが、生育阻害の状況に応じた生育反応が比較的明確である植物のひとつである^{1) 2)}。また、表中の「生育指標」は堆肥20%混合時の草丈、株幅、新鮮重等の測定項目から生育を5段階に分類し、生育障害株の発生率を加味して総合的に評価した(劣1

～優5)。さらに()内には「生育障害発生率 (%)」を示した。

パンジーの生育の違いによる阻害性の判定

ピートモスとパーライトの等量混合用土に堆肥化処理法の異なる、製品段階にあたる牛糞堆肥を体積比で20%ずつ混合した。これらの用土に、あらかじめプラグトレイに播種後、生育させておいたパンジー苗を定植し、定植後の生長に及ぼす堆肥の影響を調査した(ガラス温室内で栽培、播種日:1998年9月14日、鉢上日:1998年10月9日、調査期間:1998年10月9日～1998年12月8日)。なお、供試したパンジーの耐塩性は低く、キンギョソウと同様、生育阻害の状況に応じた生育反応が明確である^{1) 2)}。なお、表中の「生育指標」等についてはキンギョソウの阻害性判定に用いた判断基準をそのまま適用した。

堆肥の生育阻害性の総合的な判定

堆肥抽出液成分をRQを用いて測定したところ、堆肥の腐熟程度が進むにつれ相対的にアンモニウムイオンの濃度が減少し、硝酸イオンの濃度が上昇する傾向が見られた(第2表)。堆肥の抽出液に浸漬したコムギ種子根伸長量は、発酵堆肥では未熟なほど小さく、腐熟程度が進むにつれ増加する傾向が見られ、ヒドロキシプロリン標準液の各濃度勾配に相当する伸長量を示した。

乾燥牛糞では抽出液中のリン酸およびカリの濃度が高く、EC値も高いため、製造日数を経ても高い塩類濃度による生育阻害性があまり低下せず(第2表)、乾燥状態が進むにつれ当初行われていた微生物活動が弱まり、腐熟化も停止状態に移行する。ところが、植物を栽培する際に培養土に混合されると、微生物活動が再開され、一時的に窒素飢餓や培養土中での酸素欠乏状態が生じることによって、植物の生育をいっそう阻害するものと考えられ、生育障害発生率が他の発酵堆肥に比較して高くなっていることがわかる(第2表)。

キンギョソウの生育指標からは、ECやアンモニア/硝酸比の高い堆肥、抽出液中のコムギ種子根伸長量が小さい堆肥を使用すると、生育が抑制される傾向が示された(第2表)。

各製造段階にある堆肥を培養土に混合し、キンギョソウを実際に栽培したときの生育は、製造日数の経過していない堆肥ほど生育阻害を受けやす

く、堆肥抽出液のアンモニア/硝酸比の数値やコムギ種子根伸長量によるバイオアッセイの判定結果と高い関連性が見られることが判明した(第2表)。

さらに、流通段階にある堆肥に対してパンジーを用いた試験では、生育との関連性をアンモニア/硝酸比で判定するよりも、コムギ種子根伸長量から判断した阻害程度で判定した方が実際の生育指標との符合性が高くなっており(第4表)、生育阻害判定への信頼性はバイオアッセイを併用すればより高くなるものと思われる。

試験全般を通じ、アンモニア/硝酸比が2以下で、ヒドロキシプロリンによる阻害程度が50以下の数値のときに、生育指標は栽培植物が健全に生育する4以上の数値を示し、これらの数値が当面の判定基準になるものと考えられる。

以上の試験結果は、通常の発酵堆肥等ではpH・EC、あるいはRQ単独で行ったNH₄⁺、NO₃⁻の測定値に基づく生育阻害性の判定でもある程度の信頼性を有するものの、乾燥堆肥や密閉型コンポストによる急速発酵堆肥等の特殊な製法による堆肥を判定する場合には、両判定基準を併用することにより、栽培に対する堆肥の安全性を示す指標として信頼性が増すことを示している。

化学分析とバイオアッセイ併用による判定は、どのような腐熟過程を経てきたのかが不明な堆肥や、培養土に用いようとする堆肥以外の有機質素材への利用も有効であると考えられる。

引用文献

1. ARMITAGE, A. M. 1993. Bedding plants: Prolonging Shelf Performance. Ball Publishing, Batavia, IL.
2. ARMITAGE, A. M. 1994. Ornamental bedding plants. CAB INTERNATIONAL
3. 長村智司. 1987. 鉢物用培養土の標準化と根圏の物理的条件に関する研究
4. 滝島康夫. 1960. 種子根試験法の応用とその陰画記録法. 農業および園芸. 35: 1973-1975
5. 植村誠次. 1965. 廃材堆肥. その製法と使い方. 全国林業改良普及協会.