

太陽熱とハウス密閉処理による土壌消毒法について

Ⅲ. ハウス密閉処理が土壌微生物数およびイチゴ萎黄病菌の行動に及ぼす影響

小玉 孝司・福井 俊男・松本 恭昌

Solar Heating Sterilization in the Closed Vinyl House against Soil-Borne Diseases

III. Influence of the treatment on the population level of soil microflora and on the behavior of strawberry yellows pathogen, *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae*.

Takashi KODAMA, Toshio FUKUI and Yasumasa MATSUMOTO

諸 言

筆者らは1974年来、夏季のハウス内の高温条件に着目し、栽培休閑期のハウス密閉と太陽熱を有効に利用した土壌消毒法の実用化試験を行ってきた。

前報^{13, 14)}において土壌伝染性病原菌の死滅条件を設定し、40°C前後の土壌温度と一時湛水処理などにより、イチゴ萎黄病ほか土壌伝染性病害を有効に防除し、気象の年次変動などに対応した処理期間の設定指標を明らかにした。

一般には場における土壌消毒は耕土全層から病原菌を零にするのは至難であり、発病レベル以下に菌数を低下させる部分殺菌である。Baker ら^{3, 4, 5, 24)}の aerated steam treatment は病原菌を選択的に殺滅し、耐熱性菌類の残存が消毒効果を安定したものにするとしており、土壌消毒後の残存する土壌微生物の役割に注目する必要がある。そこで本報においては、まずハウス密閉処理による土壌中の糸状菌、細菌類に与える影響について経時的に調べるとともに、熱処理後の土壌中でのイチゴ萎黄病菌の形態変化および生存などその行動を明らかにし、各種の土壌消毒とこの処理法を比較検討しようとした。

実験材料および方法

ハウス密閉処理の方法 供試ビニールハウスは鉄骨ハウス（間口10m, 奥行40m, 2連棟）を用い、ハウス密閉期間は1977年7月18日～8月7日、1978年7月15日

～8月7日、1979年7月11日～8月1日までとし、前報^{10, 11, 12, 13, 14)}に準じて処理した。試験区は1区9.8㎡, 2連制とし、有機物資材、石灰窒素の施用量は標準処理および多量施用区は10a 当り稲わら2t, 青刈トウモロコシ1t, 石灰窒素100kgをハウス密閉前に耕土全層に混和した。多量施用区は上記のほかにオガクズ堆肥17tを施用し、トウモロコシを5月末に播種し、青刈りすき込みを行った。標準無処理区は系外有機物資材、石灰窒素は無施用とし、湛水処理は処理区と同様に実施した。また、同一ハウス内に発泡スチロール板の仕切板と地表面の被覆により周辺からの影響を軽減した。

土壌微生物数の測定法 採土は一般的な土壌の採取方法に従い、殺菌したスバチュラを用い、地表下5～15cm層から行った。微生物分析は第1表に示す項目、方法について適宜実施した。

土壌の高温処理および薬剤処理 高圧蒸気消毒は畑土壌を布袋につめ、オートクレーブ(120°C, 30分間)処理し、放冷後使用した。恒温処理は恒温水槽(田葉井製TS-11)を用い、磁器製ポット(径12×高さ15cm)に土壌を充填し、上部をアルミホイルで覆って所定時間処理した。湛水処理は水深2～3cmに常時保った。

薬剤による土壌消毒はポリプロピレン製コンテナ(645×385×147H)に土壌を充填し、クロルピクリン油剤、臭化メチル剤を処理し、ビニール被覆5日後、ガス抜きを行った。ハウス密閉処理は上記コンテナ土を土壌中に設置し慣行に従い21日間処理した。すべての処理土は上部をアルミホイルで覆い外部からの汚染を最少限にした。

第1表 微生物分析の項目と方法

分析項目	方 法	培 地
細菌	平板法	Waksman アルブミン寒天
放線菌	"	"
色素耐性細菌	"	クリスタル紫アルブミン寒天
糸状菌	"	Martin ローズベンガル寒天
<i>F. oxysporum</i> 菌	"	駒田氏選択分離培地 ¹⁵⁾
セルロース分解菌	稀釈頻度法	Dubos の 培 地
脱窒菌	"	Giltay の 培 地
アンモニア酸化細菌	"	計 数 培 地 ⁶⁾
亜硝酸酸化細菌	"	計 数 培 地 ⁶⁾

イチゴ植栽および発病調査 各処理土壌のコンテナーにイチゴ子苗を15株植付け、1区2連制で実施した。萎黄病は程度別基準(0~4, 0:健全株, 4:枯死株)により5~7日間隔で発病株を調査し発病株率を求めた。

イチゴ萎黄病菌の調整法と鏡検方法 供試菌はイチゴ萎黄病菌(当時保存No S-11)を用い、ツアベック・ドッグ液に5~7日間、25℃で振とう培養して得られた分生胞子を2重ガーゼでろ過し、滅菌蒸留水で3回以上遠沈法で洗浄したものを接種源とした。大型分生胞子はシャーレ内のV-8寒天培地上に供試菌の分生胞子、菌糸片を1~2ml接種し、25℃ブラックライト(東芝FL-203BLB)照明下で4~7日後に形成したものを遠沈洗浄後に供試した。菌量はトーマ血球計および*F. oxysporum* 選択分離培地¹⁵⁾を用い計数した。土壌中での病原菌の形態観察は接触スライド法¹⁵⁾に従ってスライドガラス面に供試菌を発育させ、供試土壌中に垂直に埋没した。埋没7日後、スライドガラスを静かに掘り上げ、風乾、火焰固定後、石炭酸ローズベンガル液にて染色した。染色された菌体の形態変化を任意の400視野(15×40倍率)について分生胞子、厚膜胞子数を計数した。その他特記しない限り前報^{13,14)}の方法に従った。

実 験 結 果

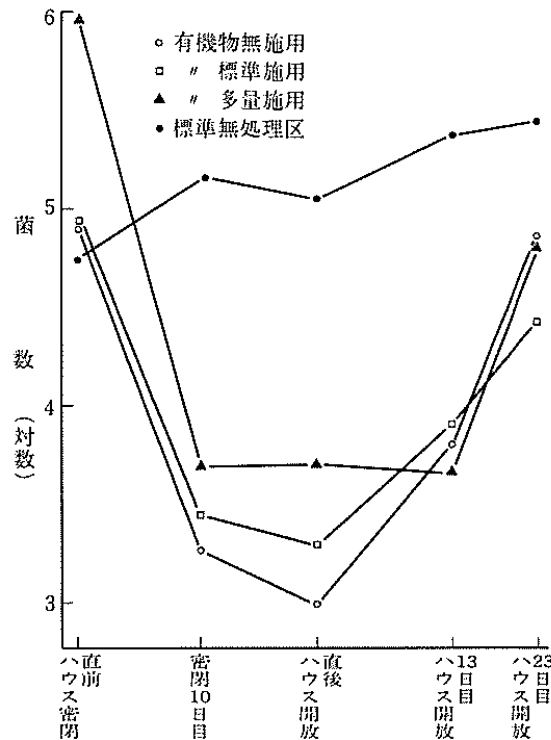
1. ハウス密閉処理が土壌微生物相に及ぼす影響

1-1 糸状菌数の経時的な推移

ハウス密閉処理による高温、湛水条件下では、これらによって導かれる土壌環境の急激な変化によって、第2表、第1図に示すように、糸状菌数は処理10日後には兩年次ともに激減し、処理期間中は低密度で推移した。

処理終了後(ハウス開放後)は菌数の増加傾向に転じ、ハウス開放22~23日後には処理前と同程度に検出され、糸状菌の復活が認められた。ハウス開放後短期間のうちに、施用した稲わらなど粗大有機物に多くの菌糸片が観察され耐熱性菌類の残存と早期の復活がしばしば観察された。

実験的に恒温処理した土壌中の糸状菌を単離し、処理温度別の糸状菌数と構成菌種を比較した(第3表)。処理前土壌では *Penicillium* spp., *Trichoderma* spp., *Acrophialophora* sp. の検出頻度が高く、検出菌数、



第1図 ハウス密閉処理と有機物資材の施用による糸状菌数の推移(1978)。

第2表 ハウス密閉処理による糸状菌数の経時的な推移(1977)

	糸状菌数 $\times 10^3/g$ 乾土				
	処理直前	10日後	21日後 ^{a)}	終了後22日	36日後
有機物無施用	220.0	6.5	2.0	52.0	43.0
“ 標準施用	230.0	2.0	0.3	72.7	23.6
“ 多量施用	167.0	1.0	0.3	88.3	113.3
標準無処理	303.0	94.0	41.3	61.3	21.6

a) ハウス密閉処理終了直後

菌種ともに多くなっている。一方、処理温度が高くなるに従い検出菌数は減じ、構成菌種も *Talaromyces flavus*, *Thielavia terricola*, *Humicola fuscoatra*, *Eupenicillium javanicum* などの子う、厚膜胞子などの耐久体形成菌の検出頻度が高くなった。イチゴ栽培は場の病土中の *Fusarium oxysporum* 菌は40°C以上

で検出されず、前報¹³⁾の病原菌の死滅条件と一致し、フザリウム菌などの植物病原菌の死滅後にも耐熱性糸状菌の残存が証明された。なお、有機物の種類、量と糸状菌数との関係はハウス密閉期間中およびハウス開放後の短期間には明らかな差を認めなかったが、オガクズ堆肥の施用により増加傾向を認めた(第2表)。

第3表 熱処理土壌中から検出された糸状菌の構成菌種^{a)}

菌種	処理前土壌	処理温度		
		35°C	40°C	45°C
<i>Penicillium</i> spp.	14	4	1	0
<i>Trichoderma</i> spp.	4	3	0	0
<i>Acrophialophora fusispora</i>	4	0	0	0
<i>Humicola fuscoatra</i>	3	0	1	4
<i>Phoma</i> sp.	2	0	0	0
<i>Myrothecium cinctum</i>	3	1	0	0
<i>Gliocladium virens</i>	2	0	0	0
<i>Papulaspora</i> sp.	2	2	1	1
<i>Emericellopsis microspora</i>	1	0	0	0
<i>Coniothyrium</i> sp.	1	3	1	0
<i>Chaetomium olivaceum</i>	0	4	0	0
<i>Aspergillus terreus</i>	0	0	2	2
<i>Talaromyces flavus</i>	0	0	0	12
<i>Eupenicillium javanicum</i>	0	0	0	3
<i>Thielavia terricola</i>	0	0	10	6
<i>Fusarium oxysporum</i>	3	4	0	0
<i>Fusarium</i> spp.	2	2	0	0
その他	3	0	1	1
分離菌株数	44	23	17	29
構成菌種	15	8	7	7
糸状菌数 $\times 10^3/g$ 乾土	101.5	12.5	7.5	1.0

a) 灌水条件で7日間熱処理を行った。

1-2 細菌数の経時的な推移

処理土壤中からの細菌の検出数は第4表、第2図に示すように、総細菌数は処理10日後にはわずかに減少するが、その変動は糸状菌に比べ少なかった。1978年の調査結果からクリスタル紫耐性細菌は処理期間中に検出数が激減し、見かけ上の総細菌数の変動は少ないが、構成菌種は色素耐性細菌から耐熱性細菌への変遷が推定された。両年次ともに処理終了後の細菌の復活は極めて短期間に起こることが明らかになった。

有機物資材の分解過程に関与するセルロース分解細菌数は好氣的条件下でのろ紙(7×1cmの小片)の崩壊を

観察し、セルロース分解能を判定した。処理期間中は標準無処理区に比べやや抑制されるが、処理終了後の復活はすみやかで、その菌数は有機物資材の施用量と同一傾向を示し、多量施用区で検出菌数が多かった(第3図)。

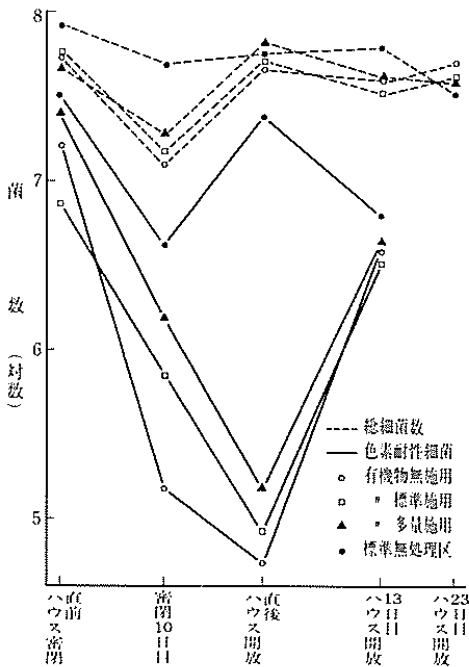
放線菌数は処理により減少するが、なお多数の耐熱性菌の生存がみられ、処理終了後の復活は細菌に比べ遅延し、糸状菌と類似した増加傾向を示し、23日後には定常状態に回復した。

1-3 窒素の動態に関与する微生物数の推移

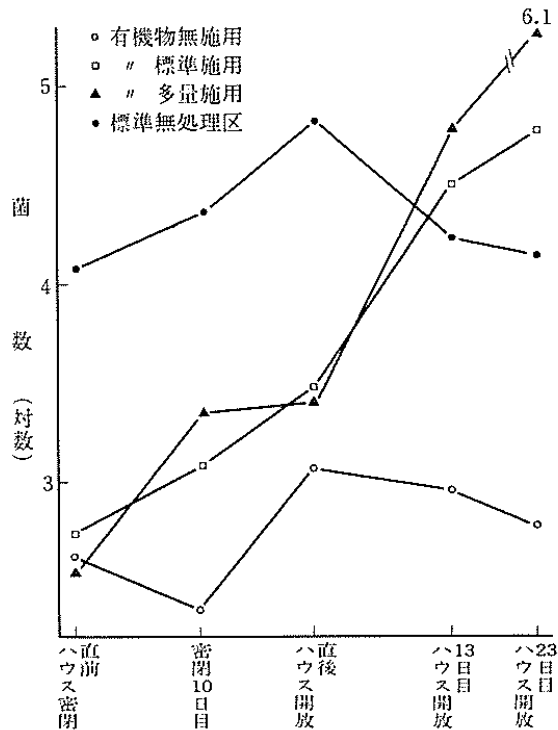
土壌中の窒素の動態に関与するアンモニア酸化細菌、亜硝酸酸化細菌、脱窒菌数の推移は第5表に示すように、

第4表 ハウス密閉処理による細菌数の経時的な推移(1977)

	細菌数 ×10 ⁶ /g 乾土				
	処理直前	10日後	21日後	終了後22日	36日後
有機物無施用	25.7	10.3	27.0	110.0	40.0
〃 標準施用	114.7	22.7	35.3	156.0	64.3
〃 多量施用	126.7	22.3	15.3	217.3	55.0
標準無処理	201.3	22.0	54.3	109.3	66.0



第2図 ハウス密閉処理と有機物資材の施用による細菌数の推移(1978).



第3図 ハウス密閉処理と有機物資材の施用によるセルロース分解細菌数の推移(1978).

第5表 窒素の動態に關与する微生物の推移

分析項目	試験区 ^{a)}	ハウス 密閉直前	12日目	ハウス 開放直後	開放 13日目	開放 23日目
脱窒菌 ×10 ³ /g 乾土	1	3.8	0.2	0.6	1.9	0.1
	2	2.6	0.5	1.0	0.4	2.0
	3	0.7	1.8	1.1	0.9	7.4
	4	1.6	57.0	19.8	5.4	0.6
アンモニア 酸化細菌 ×10 ³ /g 乾土	1	1.0	10 ³ 以下	10 ² 以下	10 ³ 以下	0.5
	2	3.9	10 ² 以下	10 ² 以下	10 ³ 以下	1.8
	3	4.0	10 ³ 以下	10 ² 以下	10 ³ 以下	0.9
	4	1.8	2.9	6.7	10 ³ 以下	3.7
亜硝酸 酸化細菌 ×10 ⁵ /g 乾土	1	7.3	0.03	0.01	103.6	—
	2	6.4	0.03	0.01	61.6	—
	3	10.2	0.03	0.01	10 ⁷ 以上	—
	4	2.5	7.1	11.4	59.6	—

a) 1 : 有機物無施用, 2 : 有機物標準施用, 3 : 有機物多量施用
4 : 標準無処理 (ハウス密閉処理をしない区)

この処理により菌数の減少が顕著にみられた。

脱窒菌は標準無処理区では常温湛水により増加し、処理終了後には減少するのに対し、処理区では処理開始12日目には減少しており、処理期間中の大幅な増減は認めなかった。従って処理期間中に脱窒作用が起こるとすれば、湛水処理直後の比較的早い時期と推定された。

アンモニア酸化細菌は処理により激減し、処理期間中は低密度で推移し、処理終了後の復活も他の微生物に比べ遅延することからアンモニアから亜硝酸への移行は抑制されると推定された。

亜硝酸酸化細菌は、アンモニア酸化細菌と同じく処理期間中は減少するが、処理終了後13日には急激に増殖するのが認められ、亜硝酸から硝酸への移行はすみやかに行なわれるが、全体の硝化作用は処理期間中から終了後2週間前後は抑制されると考えられた。

2. 熱処理後の土壌中でのイチゴ萎黄病菌の行動

2-1 熱処理後の土壌中でのイチゴ萎黄病菌の消長

熱処理の条件を変えて処理した土壌は、殺菌した腰高ベトリ皿(9×13cm)に移し、ほ場容水量の約50%に調整した。菌接種は大型分生胞子の一定菌量(4.8×10⁶/g土)を処理直後と28日後に行ない、20日間25℃で培養したもののについて *F. oxysporum* 菌の検出を行った(第6表)。

熱処理直後の土壌では湛水の有無にかかわらず、35℃処理では標準無処理と検出菌数に差を認めないが、45、50、120℃処理では高温になるほど検出菌数が多くなった。

熱処理後28日保置した土壌では50℃以下の熱処理土壌では標準無処理と検出菌数の差が少なく、高圧蒸気消毒(120℃, 30分間)に比べイチゴ萎黄病菌に対し抑止型土壌であった。

次に実際のハウス密閉処理した土壌に処理終了直後と23日後に菌接種を行ない、前試験に準じ10、20日後に菌の検出を行ったところ、処理直後の土壌では標準無処理土に比べ検出数が多く、高圧蒸気消毒土と大差がなかった。一方、処理23日後の土壌では、直後の土壌に比べ検出数は減少するが、標準無処理土に比べなお高率に検出された。この結果は供試土壌が表層土(5~15cm)であることから、ハウス密閉処理期間中に60℃前後に昇温しており部分的に土壌の静菌作用が減じたものと推定された。

2-2 熱処理を異にした土壌中でのイチゴ萎黄病菌の形態の経時的変化

埋没時のスライドガラス上の病原菌体は大半が菌糸で構成され、ところどころに擬頭状に分生胞子の形成がみ

第6表 処理条件の異なる土壤に接種したイチゴ萎黄病菌の検出数

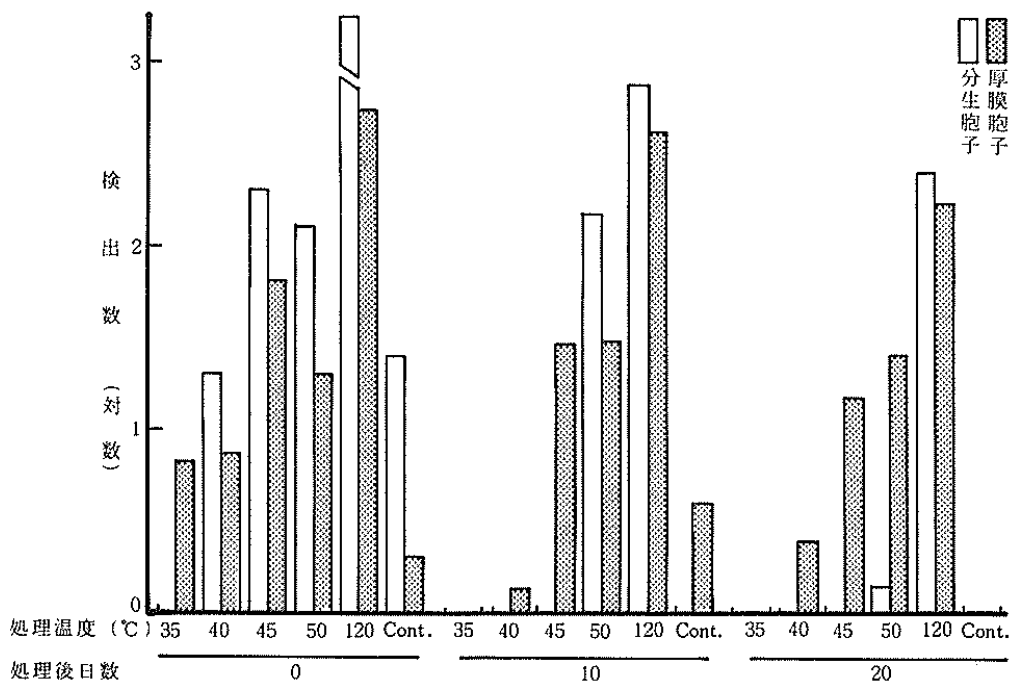
処 理 温 度	土 境 条 件	<i>F. oxysporum</i> 菌数 (×10 ² /g 乾土)	
		処理直後	28日後
35°C	畑 土	43.4	4.3
40	"	71.2	3.5
45	"	78.0	9.0
50	"	133.5	12.8
120°C, 30分	"	1655.0	46.3
35	灌 水	37.2	11.5
40	"	41.2	7.3
45	"	95.2	7.3
50	"	121.7	14.4
120°C, 30分	"	2157.0	101.3
標準無処理		50.2	7.8

られ、まれに厚膜胞子が菌糸上に間生していた。

埋没後の菌体変化は第4図に示すように、熱処理直後の土壤では40°C以上の処理区で分生胞子、厚膜胞子の形成量が多く、標準無処理および35°Cなど低温処理土で厚膜胞子数が減少した。高温(120°C)処理土では分生胞子

の発芽、菌糸伸長および多くの厚膜胞子の形成が観察された。菌糸は低温処理土および標準無処理土では大半が原形質を消失し、しばしば溶菌がみられローズベンガル不染色となり、調査対象にならないほど減少した。

熱処理後に10、20日間の保置期間を経た土壤では、こ



第4図 熱処理条件の違いが埋没スライド上のイチゴ萎黄病菌の形態におよぼす影響

これらの現象がより明確に観察され、45℃以下の熱処理土壌では菌糸、分生胞子は消失し、いずれの菌体から由来した厚膜胞子であるか区別できなくなった。厚膜胞子数は低温処理で保置期間が長いほど減少し、本病原菌の土壌中での生存は抑制された。

2-3 土壌消毒法の違いによるイチゴ萎黄病の発病差

ハウス密閉処理土壌と薬剤による土壌くん蒸および高圧蒸気消毒土壌について、消毒直後の残存する微生物数

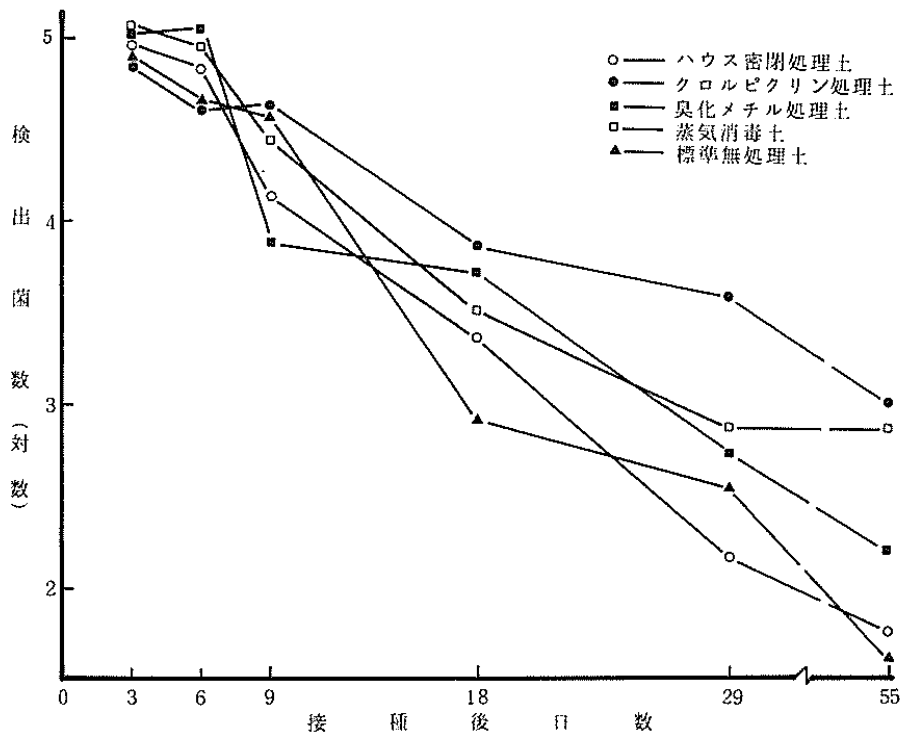
を比較したのが第7表である。

ハウス密閉処理土は他の消毒法に比べ細菌類の残存が多く、放線菌、糸状菌は標準無処理土に比べ減少するが、なお残存を認めた。この結果は前述の微生物測定結果と同一傾向を示すものであった。土壌微生物への影響が最も強かったのは高圧蒸気消毒土で、これに次いでクロルピクリン剤、臭化メチル剤、ハウス密閉処理の順で標準無処理土に比べ、とくに糸状菌数に与える影響が各処理ともに大きかった。

次に各処理土壌にイチゴ萎黄病菌の一定菌量 (2.3×

第7表 土壌消毒法の違いによる処理直後の微生物数

	細菌数 ×10 ⁵	グラム陰性細菌数 ×10 ⁴	放線菌数 ×10 ⁵	糸状菌数 ×10 ²
ハウス密閉処理土	144.7	125.0	14.0	4.1
クロルピクリン処理土	51.0	58.3	4.2	0.1
臭化メチル処理土	70.7	132.0	9.0	0.2
オートクレーブ処理土	4.3	0.3	0.3	0.2
標準無処理土	320.0	497.0	50.0	2650.0



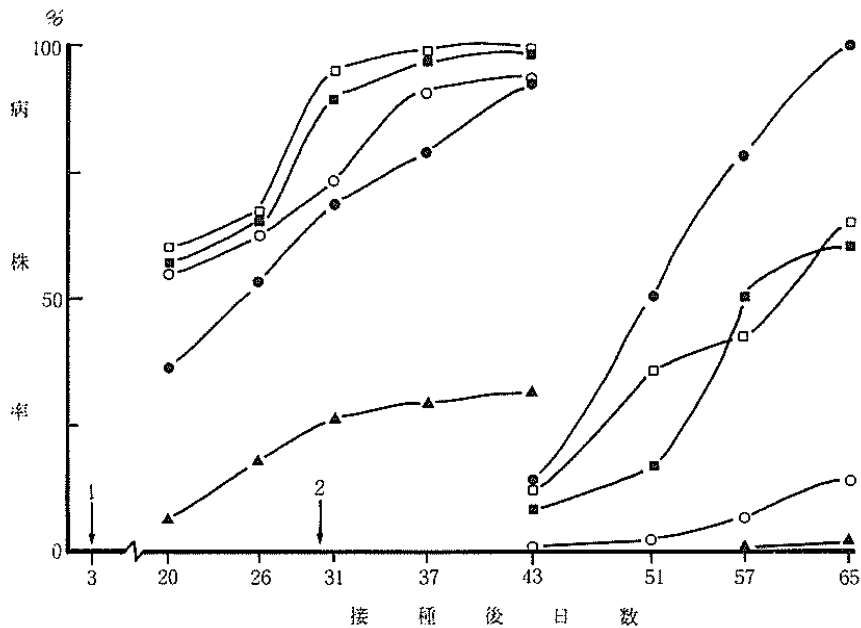
第5図 土壌消毒法の異なる土壌に接種したイチゴ萎黄病菌の検出数の推移

10⁶/ml) をコンテナ (645×385mm) 当り15ml地表面に噴霧接種し, *F. oxysporum* 菌数を接種後経時的に調べたのが第5図である. 接種菌量が高く接種後6~9日には消毒法の違いによる検出菌数に差を認めなかったが, その後は漸次差が大きくなり, 接種18日目以降にも標準無処理土, ハウス密閉処理土の菌数が下降線をたどるのに対し, クロルピクリン剤などでは検出数が多くなり, この傾向は接種後29日, 55日と日数の経過とともに大きくなった.

前試験と同じく菌接種したコンテナに菌接種後3日

および30日後に植栽したイチゴ子苗の萎黄病の発生推移をみたのが第6図である. 接種3日後の植付ではすべての消毒土は発病が激しく消毒法による差は明らかでなく, 標準無処理のみ発病抑制効果がみられた.

菌接種30日後の植付では消毒法による差が大きく, 標準無処理土, ハウス密閉処理土が発病を抑制するのに対し, クロルピクリン剤処理土は激しい発病を認め, 高圧蒸気消毒土および臭化メチル剤消毒土は前二者の中間的な発病を示した. これらの結果は *F. oxysporum* 菌の検出数と同一傾向を示すものであった.



第6図 土壤消毒法および菌接種後の保置期間の違いによるイチゴ萎黄病の発病差
○—ハウス密閉処理土, ●—クロルピクリン処理土, ■—臭化メチル処理土,
□—蒸気消毒土, ▲—標準無処理土, ↓—イチゴ定植.

考 察

前報^{11, 12, 13, 14)}において夏期のハウス密閉, 地表面のビニールまたはポリエチレンフィルムの被覆と湛水処理による土壌温度の上昇と, その副次的な効果をねらった土壌消毒法がイチゴ萎黄病など各種の土壌伝染性病害を有効に防除し, 適用拡大の可能性のあることを明らかにした²⁵⁾.

一般に土壌消毒は, 対象とする病原菌のみでなく, 土壌棲息菌に対しても何らかの影響を与えている. 土壌の微生物集団は環境の変化に対してかなり可変性をもち, 一時的な環境の変化による微生物もやがては復元するが, 個々の種, あるいは群の復元力にはかなりの差がある²⁾.

5, 7, 18, 23, 27) 殺菌土では静菌作用を減じ, 不完全な消毒や, 消毒後の外部からの病原菌の移入により時には無処理以上の被害を生ずる^{1, 5, 20, 23)}. この現象について, 小倉ら²³⁾は病原菌と他の recolonizer との間の競合によるものと推定し, 土壌中の他の微生物の活動に密接な関係にあることは多くの報告により明らかにされている^{1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 23, 24, 26, 27, 28)}.

そこで, この処理による処理前からの経時的な微生物数の推移をみたところ, 糸状菌数は処理直後から激減し, 一部の耐熱性菌類が残存するに止まった (第1図, 第2, 3表). クロルピクリンなど薬剤処理による土壌微生物変動については多くの報告があり^{2, 7, 18, 23, 27, 28)}, Martin ら¹⁸⁾, Warcup²⁷⁾は出現する菌の種類を減じ, 相の単純化するのを報じている. 糸状菌の復活は処理終了後22~23日には無処理土壌と同程度に認められ, 鏡谷ら²⁾が薬剤

処理による菌類の復活は処理後100日位までは無処理とかなり異なっていたとしている点とかなりの違いがあった。

細菌数は処理直後から一時減少傾向を認めるが、総細菌数の変動はそれほど大きくなかった。しかし、*Pseudomonas* 属菌が大半と考えられる色素耐性細菌は処理期間中に減少することから、見かけ上の細菌数の変動は少ないが、高温、酸化還元電位の低下した条件下では細菌菌種の変遷が推定され、土壌中では新たな細菌相の成立が想定された。また、Baker ら^{4,5)}は60°C前後の熱処理により休眠状態の細菌孢子が増殖することを認めており、日高ら⁸⁾もクロロピクリン処理土壌での *Bacillus subtilis* の生存を報告し、この処理期間中にも芽胞性細菌の生存増殖が菌数に関係したものとされた。

放線菌数は処理期間中に減少するが、なお一部の耐熱性菌の残存があり、菌の復活は細菌よりやや遅延し、糸状菌より回復が早いようであった。

これらの処理期間中および処理後の微生物の残存と短期間の復活は、Baker ら^{3,4,5,24)}の aerated steam treatment により *Rhizoctonia solani* を死滅させ、病原菌に拮抗する細菌、放線菌を土壌中に生存増殖させ、その後の病原菌の侵入、増殖を抑制するのと類似した有益な効果が期待された。また、Katan ら⁹⁾は露地条件での地表面ポリエチレンマルチングによる土壌消毒の中で、その殺菌機作について熱処理効果と同時に生物的防除との併用効果を指摘し、とくに多くの病原菌は他の腐生菌に比べ一般的に耐熱性が劣り、病原菌の死滅後に新たに成立する耐熱性菌類を中心とした微生物相が、残存あるいは外部からの病原菌の移入を防止する効果を想定している。

筆者らの熱処理条件を変えた土壌中でのイチゴ萎黄病菌の行動は高圧蒸気消毒土では埋没した菌体は新生分生孢子と厚膜孢子の形成が進み、一定菌量の接種後の検出数も多くなった。熱処理温度35~50°Cの間においても高温ほど標準無処理土に比べ検出数が多くなるが、高圧蒸気消毒に比べ少なく、処理後の保置期間を経ることにより検出数が減少する傾向を認めている。すなわち、低温処理土では埋没した菌糸はすみやかに溶菌され、わずかに残存する分生孢子、発芽管もローズベンガル不染色となり、いずれの菌体から由来したか判明できない厚膜孢子が散見され、高圧蒸気消毒土とは明らかにその様相を異にしており、土中での生存形態である厚膜孢子数は減少するのを認めた。

自然土がフザリウム菌に対しても静菌作用を有し、分生孢子、厚膜孢子および発芽管の溶解する現象は、既に

Lockwood ら^{16,17)}、Mitchell ら²¹⁾、駒田¹⁵⁾、松田¹⁹⁾および竹内²⁶⁾により観察され、土壌微生物群とくに放線菌の作用および自己消化が単独あるいは複合して起こると報告されている。この試験では経時的な変化を観察しなかったが、熱処理条件の違いによるイチゴ萎黄病菌の形態変化と検出数に明らかな差を認めた。

土壌消毒法の違いによっても差を認め、ハウス密閉処理土は処理直後には薬剤による土壌くん蒸、高圧蒸気消毒土と病原菌の検出数、発病株率ともに大差がないが、処理終了後の保置期間および菌接種後の期間により病原菌数は漸減し、発病株も標準無処理土に近似する値となった。処理終了後の30日目に植付けたイチゴでは萎黄病の発病程度と検出菌数との関係が密接で、クロロピクリン剤処理では検出菌数も多く、植付33日目には全株発病するのに対し、ハウス密閉処理土では14.3%と処理間に有意な差がみられた。

ハウス密閉処理土においても処理直後の表層土は土壌温度が50~70°Cに連日さらされ、部分的な静菌作用の低下が想定された。松田ら²⁰⁾が畑に転換して間もない水田土壌は土壌微生物相の発達が畑状態に比べ不十分のため、病原菌の侵入に対する抵抗力が弱いと述べているように、ハウス密閉処理直後の土壌はフザリウム菌などが侵入した場合にはその定着が容易であった。したがって、この処理においても微生物相が回復するまでの期間はとくに種々の経路からの汚染に対しては注意を要すると考えられた。

つぎに施用した有機物資材の分解に関与するセルロース分解細菌は処理期間中に減少するが、その程度は他の微生物に比較して少なく、処理終了後の急激な環境変化と菌の増殖により分解が進むものと推定されるが、有機物の種類と分解についてはなお詳細な調査を要する。また、有機物資材、石灰窒素の施用と土壌消毒効果については前報^{13,14)}で明らかにしたように、殺菌作用を補完することは想定されるが必要不可欠のものでなく、土壌改良の面で生かされるものであった。この試験においても有機物資材の種類、施用量による微生物相の影響は熱処理により打消され、処理期間中およびハウス開放後の短期間にはその差が明らかでなかった。

土壌の硝化作用に関与するアンモニア酸化細菌、亜硝酸酸化細菌は処理開始直後から激減し、処理期間中は極めて低密度で推移することから通常の土壌に比べ硝化作用は抑制されると考えられた。

水田²²⁾が同一は場において行った形態別窒素の分析結果からも処理期間中にアンモニア態窒素が集積する現

象を認めており、硝化細菌の検出数との間に密接な関係がみられた。この現象は Martin ら¹⁸⁾も土壌消毒後に硝化細菌が死滅しアンモニア態窒素の蓄積するのを報じ、日高ら⁹⁾はクロロピクリンによって死滅しない細菌として *Bacillus subtilis* などを分離し、これらは極めてアンモニア化能力が強くアンモニア態窒素の蓄積をこれらの細菌の存在に求めている。

処理終了後の硝化細菌の復活は亜硝酸酸化細菌がハウス開放13日目には急増してくるのに対し、アンモニア酸化細菌は遅延し、23日後の調査で処理前に近い値まで回復がみられた。このことは無機態窒素の分析によってアンモニア態窒素から硝酸態への移行がハウス開放後に徐々に進み、30日後には通常の畑状態の形態別窒素量に移行する結果からも証明された。

脱窒菌は処理期間中の湛水条件により標準無処理土(地表面を発泡スチロール被覆)では急増するのに対し、処理区では期間中は低密度で推移した。したがって、脱窒能を有する細菌数は減少し、河森¹⁰⁾は実験的に恒温処理条件での施用した石灰窒素の28~49%の脱窒量を推定しているが、密閉ハウス内の土壌中でこの現象が起こりうるのは処理開始直後から比較的短期間あるいは土壌温度の上がり難い深層部で起こりうるものと推定された。

これらの結果から、この処理による土壌消毒は土壌微生物の平衡を一時的に乱すものであるが、その復活が比較的早い時期に起こることが証明され、アンモニア過剰症ほか生育障害物質の産生は認められなかった。しかしながら、この処理がいかに低温消毒であっても処理期間を長くすれば高圧蒸気消毒に類似した処理となり、土壌微生物相を極端に破壊することにつながる。したがって、対象病害虫別の適正な処理期間を定め、過度な消毒に注意するとともに、処理終了直後の外部からのあらゆる経路による病原菌の移入を防止することがとくに必要である。

摘 要

1. ハウス密閉処理が土壌微生物に与える影響について調べたところ、糸状菌数は処理直後から急激に減少し、一部の耐熱性菌を残存させた。熱処理土壌中から高頻度に検出される菌種は *Talaromyces* sp., *Thielavia* sp., *Humicola* sp., *Eupenicillium* sp. などであった。

2. 細菌類はわずかに減少するが、その程度は糸状菌に比べ変動が少なかった。しかしながら、色素耐性細菌は激減した。処理終了後の細菌の復活は極めて短期間に起こった。

3. 処理期間中のアンモニア酸化細菌、亜硝酸酸化細菌、脱窒菌数は激減し、硝化作用は抑制された。しかし、亜硝酸酸化細菌の復活は極めて早く、やや遅延してアンモニア酸化細菌が復活した。

4. 熱処理後の土壌中でのイチゴ萎黄病菌の行動について調べたところ、高圧蒸気消毒土壌でのイチゴ萎黄病菌は厚膜化がすみやかで安定した生存をするのに対し、比較的高温の40~50℃の熱処理土壌での生存は発芽管、分生胞子の溶菌が起こり検出数も減少した。

5. ハウス密閉処理土壌はクロロピクリン剤、臭化メチル剤および高温消毒土に比べ残存する微生物数、とくに細菌類の残存が多かった。*F. oxysporum* 菌の一定菌量の接種による経時的な検出数は標準無処理土、ハウス密閉処理土が少なく、臭化メチル剤、高圧蒸気消毒土およびクロロピクリン剤処理土の順に多かった。

6. 各処理土壌に菌接種3日後に植付けたイチゴ子苗の萎黄病の発病には差を認めなかったが、菌接種30日後に植付けたイチゴでは発病差が大きく、標準無処理およびハウス密閉処理土では極めて低率の発病に止まるのに対し、クロロピクリン剤消毒土などではなお高率に発病した。

7. これらの結果から、この処理による土壌消毒は耐熱性菌類の残存と土壌微生物の早期の復活による病原菌への好影響が推定された。

本研究を実施するにあたり、その端緒を与えられ貴重な助言を賜った電力中央研究所生物環境技術研究所宮川逸平氏、天理農業改良普及所宮本重信技師、また、発酵研究所横山竜夫博士には土壌糸状菌の分類同定を願った。試験当初より共同研究の任に当られた当場技術課各位に対し併せて深謝の意を表する。

引用文献

1. 鎌谷大節・北沢健治 1963. 菜豆根腐病に関する研究 第3報土壌微生物の本病々勢におよぼす影響について. 北海道農試彙報 81: 33-40.
2. ———・赤井純・鈴木孝仁・北沢健治 1965. 畑作物の土壌病害に関する研究 II 畑土壌微生物相に及ぼす土壌殺菌剤の影響. 北海道農試彙報 88: 53-64.
3. BAKER, K. F., N. T. FLENTJE, C. M. OLSEN, and H. M. STRETTON 1967. Effect of antagonists on growth and survival of *Rhizoctonia solani* in soil. *Phytopathology* 57: 591-597.

4. ——— 1970. Selective killing of soil microorganisms by aerated steam. pages 234—239 in T. A. Toussoum, R. V. BEGA, and P. E. NELSON, eds. Root diseases and soil borne pathogens. 252p. Univ. California Press.
5. ———, and R. J. COOK 1974. Biological control of plant pathogens. 433p. W. H. Freeman, San Francisco.
6. 土壌微生物研究会編 1975 土壌微生物実験法. P. 467. 養賢堂.
7. GARRETT, S. D. 1970. Pathogenic root-infecting fungi. 294p. Univ. Cambridge press.
8. 日高 醇・清水忠夫 1951. 1 クロールピクリンによる土壌消毒の病害防除の効果. 秦野たばこ試報 37 : 1—23.
9. KATAN, J., A. GREENBERGER, H. ALON, and A. GRINSTEIN 1976. Solar heating by polyethylene mulching for the control of diseases caused by soil-borne pathogens. Phytopathology 66 : 683—688.
10. 河森 武 1978. 施用した肥料成分の揮散について. 太陽熱と石灰窒素利用による土壌消毒と土づくり. 62—65. 全野連編.
11. 小玉孝司・宮本重信・宮川逸平・志賀陽一 1976. 夏期の温室密閉による土壌消毒法. 農および園 51 : 889—894.
12. ——— 1979. 太陽熱利用によるハウス土壌消毒. 農および園 54 : 193—196., 277—281.
13. ———・福井俊男 1979. 太陽熱とハウス密閉処理による土壌消毒法について I. 土壌伝染性病原菌の死滅条件の設定とハウス密閉処理による土壌温度の変化. 奈良農試研報 10 : 71—82.
14. ———・———・中西喜徳 1979. 太陽熱とハウス密閉処理による土壌消毒法について II. イチゴ萎黄病ほか土壌伝染性病害に対する土壌消毒効果と効果判定基準の設定. 奈良農試研報 10 : 83—92.
15. 駒田 且 1976. 野菜のフザリウム病菌, *Fusarium oxysporum*, の土壌中における活性評価技術に関する研究. 東近農試研報 29 : 132—269.
16. LLOYD, A. B. and J. L. LOCKWOOD 1966. Lysis of fungal hyphae in soil and its possible relation to autolysis. Phytopathology 56 : 595—602.
17. LOCKWOOD, J. L., and B. T. LINGAPPA 1963. Fungitoxicity of sterilized soil inoculated with soil microflora. Phytopathology 53 : 917—920.
18. MARTIN, J. P., R. C. BAINES, and A. L. PAGE 1963. Observations on the occasional temporary growth inhibition of citrus seedlings following heat or fumigation treatment of soil. Soil Sci. 95 : 175—184.
19. 松田 明・尾崎克己・下長根 鴻・渡辺文吉郎 1967. 土壌中におけるフザリウム菌の発芽について. 土と微生物 9 : 30—40.
20. ———・———・——— 1972. 田畑輪換に伴う土壌の拮菌作用およびキュウリつる割病の発生の変動 (講要). 日植病報 38 : 190.
21. MITCHELL, R. and M. ALXANDER 1963. Lysis of soil fungi by bacteria. Can. J. Microbiol. 9 : 169—177.
22. 水田昌宏 1978. 太陽熱利用と有機物, 石灰窒素施用による土壌の理化学的改善. 太陽熱と石灰窒素利用による土壌消毒と土づくり. 41—47. 全野連編.
23. 小倉寛典・森本徳右衛門・竹谷宏二 1966. 土壌病原菌の腐生生活に関する研究 第3報 土壌殺菌剤施用による土壌微生物相の変化. 高知大学研報 15 : 101—115.
24. OLSEN, C. M., and K. F. BAKER 1968. Selective heat treatment of soil, and its effect on the inhibition of *Rhizoctonia solani* by *Bacillus subtilis*. Phytopathology 58 : 79—87.
25. 志賀陽一・宮川逸平 1970. 温室の夏期の保温性にもとづく土壌消毒法について (講要). 日植病報 36 : 194.
26. 竹内昭士郎 1976. 走査型電子顕微鏡によるダイコン萎黄病菌胞子の土壌中における形態変化の観察. 日植病報 42 : 49—52.
27. WARCUP, J. H. 1951. Effect of partial sterilization by steam of formalin on the fungus flora of an old forest nursery soil. Trans. Brit. mycol. Soc., 34 : 519—532.
28. 渡辺文吉郎・高木文男 1956. クロールピクリンによるラミー白紋羽病の防除. 九州農試彙報 4 : 107—120.

Summary

The soil temperatures increase remarkably in a closed vinyl house without any planting especially in midsummer in southwestern area in Japan. Application of natural heating was effective against diseases caused by soil-borne pathogens. This paper deals with some investigations of soil sterilization by solar heating in closed vinyl house for a practical use.

1. There was rapid reduction of resident fungi in population immediately after the start of treatment. From the soil treated, however, *Talaromyces* sp., *Thielavia* sp., *Humicola* sp., *Eupenicillium* sp., and so forth were most frequently isolated.

2. Although the bacteria and actinomycetes were less affected by such treatment than are fungi, they were reduced in some degree. But gram-negative bacteria markedly reduced whereas they increased again in a short time after opening of the vinyl house.

3. The nitrification was inhibited by reduction of nitrite and nitrate bacteria during the treatment, but nitrate-forming bacteria increased again immediately after the treatment, and nitrite-forming bacteria were somewhat delayed in recolonizing.

4. Soil microflora were remarkably eliminated by exposure at 120°C for 30 min., and a great deal of chlamydospore of *F. oxysporum* were readily formed and remained in the soil for a long time. On the other hand, lysis of both germ-tubes and conidia occurred rapidly when introduced into the soil of 40—50°C treated, and propagules of *Fusarium oxysporum* were markedly reduced.

5. Heat treatment of the soil in this method, as compare with chemical fumigation etc., has beneficial side effects. One of the effects is, for example, that it does not destroy some of the resident saprophytes, particularly spore-forming bacteria and actinomycetes. The population of *Fusarium oxysporum*, when a fixed inoculum was introduced into various treated soil, apparently decreased both in the heat-treated soil and in non-treated one, but soil fumigation, application chloropicrin or methyl bromide, and autoclaved treatment were usually less reduced.

6. The rate of disease development of strawberries which had been planted on the third day after inoculation of *F. oxysporum* f.sp. *fragariae* made little difference from that rate in various soil treated. On the 30th day, however, strawberry yellows occurred extremely less by this treatment than by fumigation of chloropicrin, methyl bromide and by autoclaved treatment.

7. These results suggested that most of thermal-tolerant fungi, bacteria and actinomycetes survived by the soil sterilization with natural heating in closed vinyl house, and that the newly established microflora prevented reinfestation in an extensive way.