

# 土壤微生物相の変動に及ぼす2,3の殺菌剤の影響

下長根 鴻・松田 明・渡辺 文吉郎

## I はしがき

近年、土壤病害防除のため、各種農薬の土壤施用が盛んに行なわれるようになった。しかし、土壤は生物的に非常に複雑であり、土壤施薬には多くの問題点があることは筆者の一人渡辺(1965)が指摘している通りである。すなわち、村田ら(1936)、神奈川農試(1963)、岩手農試(1965)はクロールピクリン消毒区において、ウリ類つる割病の発生が却って無処理より多くなった事例を報告し、水銀剤処理においても同様な結果が森ら(1964)神奈川農試(1963)などで認められている。また、渡辺ら(1961)はクロールピクリンを無被覆で処理すると *Rhizoctonia solani* によるサトウダイコン苗立枯病が無処理よりも多くなることを報じた。更に GIBSON ら(1961)は PCNB 剤を処理すると *Pythium* 菌の対抗菌である *Penicillium paxilli* を殺滅するため、*Pythium* 菌によるパインの苗立枯病がむしろ無処理区よりも多くなったことを認め、これを薬剤の変則的効果 (anomalous effect) とした。同様に筆者ら(1963)、山田ら(1965)も PCNB 剤の土壤施用は *Pythium* 菌による苗立枯病を多発することを報じた。PARTYKA ら(1958)によれば D・D 処理はレタス菌核病を増加させる。これらとは逆に、RICHARDSON (1954) はサーラム剤を処理すると根圏微生物を変動させて苗立枯病菌の侵入を防止し、発病が少なくなることを述べ、HORST ら(1962) は尿素を葉面散布すると土壤中の拮抗的放線菌が増加したことを報告した。このように土壤施薬は直接的な殺菌効果以外に間接的効果が認められる。一方、自然土壤には微生物の集団によって発揮される soil fungistasis (土の静菌作用) がある (Lockwood 1964)。上述のように、自然土壤に薬剤を処理すると、対象病原菌のみならず、土壤中の他の生物相も攪乱される。この生物的環境変化は病原菌に対する soil fungistasis に作用し、農薬の種類、施用法、土壤の種類などによって発病助長、変則的効果、間接的効果が生ずるものと考えられる。これらの現象解明には、農薬の直接的殺菌効果の検討はもとより土壤施薬後の土壤中における病原菌の復活と同時にこれらに関与する微生物相の変動およびこれに伴う soil fungistasis の消長を究明しなければならぬ。このような立場から、先ず筆者らは農

薬の土壤施用に伴う微生物相の変動について実験を行ないつつあるが、本報告では、水銀剤、PCNB 剤、EDB 剤およびクロールピクリン剤の土壤施用が土壤微生物相に及ぼす影響、フザリウム菌の復活などについて的一面がわかったのでこの結果の概要を報告する。本実験実施にあたり、いろいろ御教示、御援助をいただいた当場平野喜代人博士、西野新次氏に深く感謝の意を表する。

## II 実験方法

1 薬剤の処理法：薬剤処理後の土壤微生物および病原菌の変動をみるため、1 m × 1 m コンクリート框 (無殺菌土、野外に設置) にキュウリつる割病菌 (*Fusarium oxysporum f. cucumerinum*) の麦粒培養菌 (28°C, 30日間培養) 1 框当たり 200 g を 20 cm の深さまでよく混和接種した。菌接種月日：1965年4月15日。土壤の種類は褐色火山灰性洪積土、表層 20 cm は土色 5.0 YR 3/2, 土性 SCL, 20 cm 以下が下層土となり、土色 5.0 YR 3/2, 土性 SL であった。なお供試薬剤は次の通りである。(1) 有機水銀剤 (有効成分：MMI 2.0%, EMP 1.0%, Hg として 1.9%) 1,000 倍液 3.3 m<sup>2</sup> 当り 10 ℓ 灌注。(2) PCNB 剤 (有効成分：Pentachloronitrobenzene 75%) 750 倍液 3.3 m<sup>2</sup> 当り 17 ℓ 灌注。(3) EDB 油剤 (有効成分：Ethylene dibromide 30%) 1 穴 2 cc 深さ 10 cm に注入。(4) ドジョウピクリン 80% (有効成分：Chloropicrin 80%) 1 穴 3 cc, 深さ 10 cm に注入。水銀剤および PCNB 剤処理区では框中央に径 20 cm, 高さ 10 cm のトタン製無底の円筒容器を地表上に置き、その周囲へ薬剤が逸散しないように灌注した。EDB 剤、クロールピクリン処理区では框中央に注入し、5 日間被覆を行ない、ガスぬきのための耕起は行なわなかった。薬剤処理月日：1965年6月15日。2 反復でなお、框内は作物を栽培せず、裸地状態であった。

### 2 土壤微生物の測定法

(1) 採土および採土月日：薬剤処理部分の中央部において深さ 1 ~ 3 cm の土壤を薬剤処理直前 (6月15日)、処理後 1 週間 (6月22日)、3 週間 (7月6日) および 7 週間 (8月3日) 目に採取し微生物の測定に供試した。  
(2) 微生物の測定：供試土壤 10 g を 90 cc 殺菌水入り 200 cc 容三角フラスコに入れ、これを原液としこの液を

振盪器で10分間攪拌した後、直ちに殺菌ピペットで10ccをとり90cc容三角フラスコに入れ、 $10^{-2}$ 希釈液とした。同様に $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ の希釈液を作成した。培地はCONTROIS法(1953)に準拠し、PS, B, CV, FA, RBS各培地を用い、*Fusarium* 菌については酸性ジャガイモ煎汁寒天変法培地 (PP) を使用した (駒田1964)。PS, B, CV, FA培地では $10^{-5}$ , RBS, PP培地では $10^{-3}$ の希釈液を1ccずつ殺菌シャーレにとり、 $48^{\circ}\text{C}$ に溶解した培地約10ccを流しこんだ。各培地ともに3シャーレとし、 $28^{\circ}\text{C}$ で培養した後、細菌については7日後、放線菌では5日後、糸状菌および *Fusarium* 菌では3日後にそれぞれシャーレ内のコロニー数を調査し、乾土1g当りのコロニー数を算出した。なお、本実験においてPP培地 (*Fusarium* 菌用培地) 上に形成された桃色色素を呈する綿毛状のコロニーはキュウリ (品種: 青長地這キュウリ) の幼芽検定の結果、100%発病し、全て *Fusarium oxysporum f. cucumerinum* と認められた。以下 *Fusarium* 菌と記したものは特に述べない限りこの菌をさすものとする。

(3) 供試培地の組成

(i) B培地 (基本培地, 細菌および放線菌用培地)

glucose 1.0 g,  $\text{CaCl}_2$  0.1 g,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  1.0 g,  $\text{FeCl}_3$  0.5 g,  $\text{KNO}_3$  0.5 g,  $\text{MgSO}_4$  0.2 g, agar 20 g water 1,000cc, PH6.8

(ii) P S培地 (細菌用培地)

B培地1,000cc当り Peptone 10 g, yeast 1.0 g, waterの代りに soil extract を用いた。なお soil extract は土壌1kgを水1ℓに入れ15ポンドで30分間蒸気殺菌をした後、濾過したもので以下同様である。

(iii) C V培地 (色素耐性細菌用培地)

glucose 1.0 g, Crystal Violet 1/80,000, soil extract 1,000cc, agar 15 g

(iv) F A培地 (通性嫌気性細菌用培地)

glucose 10.0 g, soil extract 1,000cc, agar 2.0 g

(v) R B S培地 (糸状菌用培地)

glucose 10.0 g,  $\text{NaNO}_3$  1.0 g,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  1.0 g, Rose Bengal 1/15,000 soil extract 1,000cc, agar 20 g

(vi) P P培地 (*Fusarium* 菌用培地)

glucose 4.0 g, Potato extract 5倍希釈液1000cc, agar 20 g, P C N B (75%水和剤) 1/1,000。使用前にINHCL溶液でPH4.0~4.2にし、300ppmのジヒドロストレプトマイシンを加えた。

III 実験結果

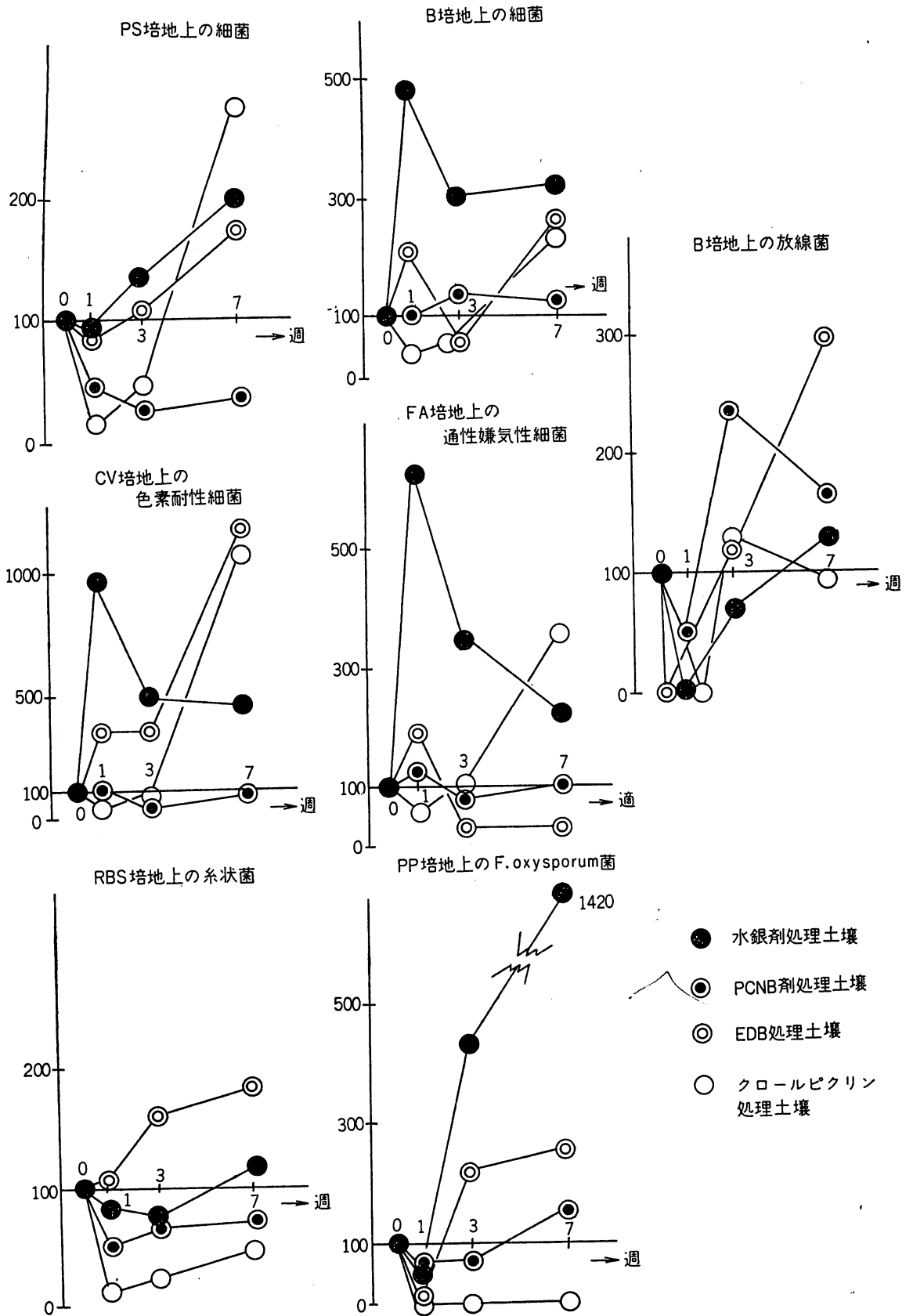
第1表 土壌殺菌剤施用後の土壌微生物相の変動

処 理	処 数 理 後 (週 日)	細菌		放線菌	色素耐性	通性嫌気性細菌	Fusarium	糸状菌 (RBS) $\times 10^3$			F.oxysporum PP $\times 10^3$	
		PS $\times 10^5$	B $\times 10^5$	B $\times 10^5$	CV $\times 10^5$	FA $\times 10^5$		P.	T.	その他		計
水 銀 剤	0	39.9	74.8	3.7	24.0	77.2	31.0	10.0	14.0	126.0	181.0	0.9
	1	37.0	359.6	0	232.0	477.1	10.0	0	4.0	131.0	145.0	0.4
	3	54.4	228.4	2.5	90.4	264.9	15.0	0	25.0	98.0	138.0	3.9
	7	79.1	241.6	4.7	82.8	171.2	29.0	4.0	47.0	131.8	211.8	12.8
P C N B 剤	0	186.3	177.0	0.8	132.2	318.1	47.0	0	24.0	269.0	340.0	6.7
	1	78.6	185.5	0.4	133.9	361.5	4.0	10.0	10.0	154.0	178.0	0.4
	3	42.1	247.4	1.9	51.7	258.6	10.0	48.0	4.0	169.0	231.0	4.3
	7	61.9	235.9	1.3	110.4	313.7	40.0	34.0	4.0	154.0	233.0	10.0
E D B	0	130.4	317.0	2.7	88.7	424.9	68.0	0	27.0	0	181.0	3.1
	1	117.5	678.8	0	226.8	816.7	66.0	0	0	130.0	196.0	0.4
	3	140.1	183.7	3.3	229.0	146.7	4.0	19.0	183.0	68.0	274.0	6.8
	7	224.3	831.1	8.0	1060.1	161.5	17.0	4.0	80.0	229.0	330.0	8.0
ク ロ ピ ク ル ン	0	106.0	188.3	5.8	81.9	225.9	58.0	90.0	0	337.0	485.0	5.4
	1	15.5	77.6	0	3.2	126.5	0	4.0	0	56.0	60.0	0
	3	49.3	113.6	7.7	52.2	246.1	0	0	4.0	102.0	106.0	0
	7	295.1	450.0	5.5	888.5	784.6	0	0	183.0	30.0	213.0	0

注: 数値は乾土1g当りのコロニー数, 3シャーレ平均

P...Penicillium菌, T...Trichoderma菌

土壤微生物相の変動に及ぼす2, 3の殺菌剤の影響



第1図 土壤殺菌剤施用後の土壤微生物相の変動  
(処理前の菌数を100とした場合の指数)

## 1 水銀剤処理土壌

PS培地上の細菌は本剤の灌注によって一時減少した。その後徐々に増加するが変動の幅は小さい。B培地上の細菌は処理後1週間目頃急速に増加した後直ちに減少した。CV培地上の色素耐性細菌およびFA培地上の通性嫌気性細菌も同様の傾向を示した。放線菌は処理によって急減し、その後徐々に増加したが処理前の菌数にもどるまでに長期間を要した。糸状菌は処理により多少減少したが、後徐々に増加し処理後7週間目には処理前とほぼ同じ菌数を示した。*Fusarium* 菌は処理後一時減少したがその後増加し処理後7週間目には処理前よりもむしろ菌数が多くなった。

## 2 PCNB剤処理土壌

細菌についてみると、PS培地上のものは処理により一時減少し、その後の増加が少なかった。B, CV, およびFA培地上の細菌は処理による変動は小さかった。糸状菌は処理によって減少し、その後の増加が少なかった。*Fusarium* 菌は処理直後分離された菌数が少なかったが処理後3~7週間目では処理前とほぼ同じ菌数が分離された。

## 3 EDB剤処理土壌

細菌の変動は著しく、特にB, CVおよびFA培地上の細菌の変動が顕著であり変動の幅も大きかった。これらの細菌は処理後1週間目に急増した後減少し、7週間目になり再び急速に増加した。一方PS培地上の細菌は処理直後は減少し3~7週間目になると急速に増加した。しかし、その変動の幅は他の細菌群と比較して小さかった。放線菌は処理により一時減少する傾向を示したが3週間後は急速に増加した。糸状菌も同様の変動を示した。*Fusarium* 菌は処理直後一時菌数が少なくなるが処理後3週間目から急増した。

## 4 クロールピクリン処理土壌

PS, B, CVおよびFA培地上のすべての細菌が処理により減少した。その後増加し始め3週間目から急速な増加を示した。放線菌は処理後1週間目は全く認められなかったが3週間後には処理前とほぼ同じ菌数が分離された。しかし、細菌の変動とは異なり、その後の増加は認められず、むしろ減少する傾向を示した。糸状菌では処理直後減少するが3週間後から徐々に増加した。特に*Trichoderma* 菌が多かった。*Fusarium* 菌は処理により減少し7週間目にも全く分離されなかった。

## IV 考 察

本実験の結果、土壌微生物および病原菌に及ぼす薬剤

の影響はその種類によってかなりの差がみられた。即ち水銀剤、クロールピクリン処理は概して土壌微生物に対する影響が大きく、EDB剤処理はある種の細菌に対して著しい影響を及ぼした。しかし、PCNB剤処理の影響は小さかった。細菌についてみると、水銀剤処理土壌ではペプトン無加用培地(B)上の細菌と色素耐性細菌および通性嫌気性細菌が同じような消長を示したことから、水銀剤処理によって特異的に増殖する細菌は栄養源として無機源培地(B)でも生育し、グラム陰性であり通性嫌気性の細菌であろうと推察される。EDB剤およびクロールピクリン処理で異常に増殖する細菌も同様の性質を有する細菌群ではないかと考えられる。水銀剤、EDB剤、およびクロールピクリン処理によって細菌が増加することはすでに渡辺ら(1956)、石沢ら(1961)鈴井ら(1964)、篠田ら(1964)、筆者ら(1964)および多川ら(1965)によって報告されているが、本実験の結果もほぼ同一の傾向を示している。放線菌が水銀剤およびクロールピクリン処理で激減することは渡辺ら(1956)、鈴井ら(1964)、篠田ら(1964)により報告されていることと同様であった。しかし、処理前の菌数に復活するまでにかなり長期間を要し、クロールピクリン処理後97日(鈴井1964)、186日(篠田ら1964)でも依然として菌数が少ないと言われるが、本実験では水銀剤で7週間目、クロールピクリンで3週間目頃に処理前の菌数に達し、渡辺ら(1956)が先に行なった結果とほぼ一致する。一方TAMら(1943)はクロールピクリンによって一時、放線菌が増加することを認めており、また石沢ら(1964)が述べているようにクロールピクリン処理後の放線菌の増加は土壌の種類によって多少異なることなどから処理薬剤の量および濃度、処理時期、土壌の種類などによって処理後の菌数変動が違ふことが考えられる。糸状菌に対する薬剤の影響をみると水銀剤では処理直後減少し漸次増加した。PCNB剤、EDB剤処理でもほぼ同じ傾向を示したがその変動幅は小さかった。クロールピクリンによる減少が著しく、処理後の*Trichoderma* 菌の増殖が顕著であったことは、渡辺ら(1956)、鈴井ら(1964)の報告とも一致した。*Fusarium* 菌の再汚染(recolonization)についてみるとクロールピクリン処理では処理後7週間目にも菌数が測定されなかったが、水銀剤では急激な菌数の増加を示した。クロールピクリン処理土壌はコンクリート枠中央に一点のみ3cc注入したのであるから、枠内には当然無消毒部分があり、この残存している*Fusarium* 菌は消毒部分へ recolonization してくるものと考えられる。しかし、上述のように、クロ

ールピクリン注入点において7週間後にも *Fusarium* 菌が検出されなかったことは *Fusarium* 菌自体の腐生相における伸長距離が非常に短いのではないかと考えられる。しかし、作物が栽植された場合は根が汚染土へ到達するのが早く、この根が却って菌の伸長を促進するものと推察される(筆者ら1965)。

以上の結果からわかるように、自然土壌では微生物が相互にいわゆる動的平衡状態(Dynamic equilibrium)を保ちつつ生息しているので、このような土壌に薬剤を処理するとあたかも部分殺菌という現象が起り、土壤微生物は量的にも質的にも著しく変動し、それに伴って土壌中に生息する病原菌の活動に対しても影響を及ぼすものと考えられる。本実験では薬剤処理後の土壤微生物相と病原菌の菌数変動の一面についてはわかったが、今後更に、薬剤処理後の土壌の生物的抗菌力の変動、処理土壌中における病原菌の増殖機構および、薬剤の殺菌効果範囲などについて究明して行きたいと思う。

## V 摘 要

本報告には、水銀剤、PCNB剤、EDB剤およびクロールピクリンの土壤施用が腐生相において土壤微生物相およびキュウリつる割病菌の消長に及ぼす影響に関する実験結果を記述した。

1) 水銀剤処理では処理直後一時的にある種の細菌(グラム陰性細菌)が増加したが、処理後3週間目以降になるとこの細菌は急激に減少した。放線菌は処理によって急減したが、7週間後には処理前と同じ菌数まで復活した。糸状菌は処理後期間がたつに従い増加した。*Fusarium* 菌は処理後一時減少するが、その後急速に増加し無処理より増加した。

2) PCNB剤処理では、細菌、放線菌、糸状菌ともにあまり大きな変動を認めなかった。

3) EDB剤処理では処理後1週間目に細菌(グラム陰性細菌)が増加し、その後の変動も顕著であった。放線菌は処理により減少したが徐々に復活し処理後7週間目にはかなりの菌数を認めた。糸状菌は処理によって増えて増加した。

4) クロールピクリン処理では処理直後、細菌、放線菌、糸状菌、ともに著しく減少したが、通性嫌気性細菌と放線菌は3週間目より、グラム陰性細菌および糸状菌特に *Trichoderma* 菌は7週間目より著しく復活した。*Fusarium* 菌は処理7週間後でも注入点付近からは検出されなかった。

5) 以上のように薬剤の土壤微生物および病原菌に及

ぼす影響は、その種類によってかなりの差がみられた。水銀剤、EDB剤、クロールピクリンは概して、土壤微生物に及ぼす影響が大きく、PCNB剤処理の影響は小さいようである。

## IV 引用文献

- 1) 茨城県農業試験場：昭和37年度畑作病害に関する試験成績書, 126—129 (1963)
- 2) 岩手県農業試験場：昭和39年度病害虫防除に関する試験成績書, 61—64 (1965)
- 3) 神奈川県農業試験場：昭和37年度病害関係試験成績書, 67—70 (1963)
- 4) CONTOIS, D.E.: Microflora of the rhizosphere of the pineapple plant. *Soil Sci.* **76**, 256—271 (1953)
- 5) GIBSON, A. S., M. LEDGER and E. BOEHN: An anomalous effect of Pentachloronitrobenzene on the incidence of damping-off caused by a *Pythium* spp. *Phytopath.* **51**, 531—533 (1961)
- 6) HORST, R. K. and L. J. HERR: Effects of foliar urea treatment on numbers of actinomycetes antagonistic to *Fusarium roseum* f. *cerealis* in the rhizosphere of corn seedlings. *Phytopath.* **52**, 423—426 (1962)
- 7) 石沢修一：農薬の施用と土壤微生物, 土と微生物 **2**, 9—13 (1961)
- 8) 石沢修一・松口竜彦：湛水下土壌の微生物に及ぼす Chloropicrin 処理の影響, 土壤殺菌剤特殊委託試験成績 **41—54** (1964)
- 9) 駒田且：土壤病害の手引き(II) **5—7** (1964)
- 10) LOCKWOOD, J. L.: Soil Fungistasis. *Ann. Rev. Phytopath.* **2**, 341—362 (1964)
- 11) 森喜作・牧野秋雄・森田壽：キュウリ苗立枯に対する有機水銀剤の土壤消毒効果, 関東東山病虫研年報 **11**, 31—33 (1964)
- 12) 村田寿太郎・大原清：西瓜蔓割病(萎凋病)に関する研究成績, 奈良県立農試臨時報告 第6号, 1—16, (1936)
- 13) PARTYKA, R. E. and W. F. MAI: Nematodes in relation to sclerotial germination in *Sclerotinia sclerotiorum*. *Phytopath.* **48**, 519—520 (1958)
- 14) RICHARDSON L. T.: The persistence of thiram in soil and its relationship to the microbiological balance and damping-off control. *Canad. J. Bot.* **32**: 335—346 (1954)

15) 篠田辰彦・太田備・飯田格：土壤病害に関する研究，第5報 薬剤処理土壤における microflora について，日植病会報 29, 93—94 (1964)

16) 下長根鴻・松田明・渡辺文吉郎：土壤殺菌剤の圃場適用に関する研究，第3報 薬剤施用による土壤微生物相と土壤抗菌力の変動，日植病会報 29, 294(1964)

17) 下長根鴻・松田明・渡辺文吉郎：土壤殺菌剤の圃場適用に関する研究，第4報 クロールピクリン処理後の *Fusarium* 菌の復活について，日植病会報 30, 103 (1965)

18) 鈴木孝仁・赤井純・鏡谷大節：薬剤処理による Soil microflora の変異と *H. mompa* 菌の伸長，日植病会報 29, 92 (1964)

19) 多川閃・都丸敬一・日高醇：クロールピクリン処理による春～秋期の土壤微生物相の変動，日植病会報

30, 103 (1965)

20) TAM, R. K. and H. C. CLARK : Effect of chloropicrin and other soil disinfectants on the nitrogen nutrition of the pineapple plant. Soil Sci. 56 : 245—261 (1943)

21) 渡辺文吉郎・高木文男：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(1956)

22) 渡辺文吉郎・松田明・朝日秀雄：土壤伝染性病害の生態的研究，(第11報) クロールピクリンの圃場施用に関する試験(その1)，日植病会報 26, 241 (1961)

23) 渡辺文吉郎：土壤病害，化学的土壤処理，日本植物病理学会シンポジウム講演要旨集，95—98 (1965)

24) 山田保雄・竹内庸・矢作鉄太郎：土壤消毒剤の選択的効力と苗立枯病発生の一場面，関東東山病虫研年報 12, 34—35 (1965)