

# 土 壤 病 原 菌 の 腐 生 生 活 に 関 す る 研 究

## 第 3 報 土 壤 殺 菌 剤 施 用 に よ る 土 壤 微 生 物 相 の 変 化

小 倉 寛 典 ・ 森 本 徳 右 衛 門 ・ 竹 谷 宏 二

(農学部植物病理学研究室)

### Studies on saprophytic behaviour of soil borne pathogenic fungi.

#### III. On the change of microflora in soil treated with soil fumigants.

by

Hirosuke OGURA, Tokueemon MORIMOTO and Koji TAKETANI

(Laboratory of Phytopathology, Faculty of Agriculture)

#### Summary

Changes of microorganisms in soil treated with 2-, 3-dibromopropionitril 20% and trichloronitroethylene 20% mixture or chloropicrin 80% were observed.

Number of microorganisms in soil treated with both fumigants decreased rapidly, and bacteria began to increase about 1 week after but fungi and actinomycetes did more slowly. In treated soil, microorganisms distributed unequally, and then their increased ratio were different each other. Microflora were more simply in treated soil than in original soil, and many of fungi appeared in early period after treatment had fungicidal tolerance or were stimulated their mycelial growth in lower concentration of fumigants. Some of fungi appeared only in short duration. *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporum* were considerable tolerant in these fumigants, but *Pythium aphanidermatum* was not so. In some cases, damped seedlings of cucumber increased in treated soil than in no treatment, when soil infested by these pathogens was fumigated in lower concentration. When *R. solani* was inoculated in soil after treatment, mycelial growth of this fungus was as usual as in no treated soil but mycelial density and damped ratio of cucumber seedlings were more increased in this soil than in no treated one. And the damage was more increased when plant debris was added in these soils.

It is considered from these results, that soil sterilizers change the soil microflora temporarily, but when these chemicals do not extend to the pathogens or when recolonizers do not inhibit the growth of pathogens after soil treatment, crops are infected by pathogens in severe.

土 壤 は 病 原 菌 を も 含 め て 多 くの 微 生 物 が 固 有 の 微 細 な 社 会 を 形 成 し て い る 。 こ の 社 会 で 病 原 菌 が 優 位 を 占 め る 時 に 病 害 が 発 生 す る 。 我 々 は こ れ ら 土 壤 病 害 の 防 除 , あ る い は 予 防 を 目 的 と し て 一 般 に 薬 剤 の 灌 注 を 行 な う が , 薬 剤 の 施 用 は 病 原 菌 の み で な く 土 壤 微 生 物 集 団 に 大 き な 影 響 を 与 え , 薬 剤 量 が 大 な る 場 合 に は 投 与 域 の 大 多 数 の 微 生 物 の 致 死 を , 薬 剤 量 が 小 な る 場 合 に は 一 部 の 微 生 物 の 致 死 を ま ね く 。 し か し , 土 壤 は 開 放 系 で あ り , ま た 平 衡 復 元 性 を も っ て い る の で , こ の よ う な 部 分

殺菌効果は時間的な差異はあるがやがて消滅するものと考えられている。土壤殺菌剤には燻蒸効果や接触効果などの作用をもつが、土壤中に施用した場合の微生物相の変動についての報告は薬剤の種類、土壤要因などにより差が認められる<sup>1,3,7,21,22,23</sup>。

本報告は畑地土壤を対象として2種の土壤燻蒸剤、クロロピクリンあるいは2-,3-dibromopropionitril 20%および trichloronitroethylene 20%混液を用いて土壤施用後の微生物相の変動、病原菌の消長などについて検討した。

### 実験1 薬剤処理による土壤微生物数の変動

土壤に薬剤を灌注した場合に起る微生物の数的な減少ならびにその後の菌数の回復の様相について、寒天平板法を用いて1965年8月より3カ月間、および1966年5月より2カ月間観察した。すなわち、処理10日前に起耕した圃場に2-,3-dibromopropionitril (DBPN) および trichloronitroethylene (TCNE) 各20%混合液、あるいはクロロピクリン80%液を30cm間隔に3mlずつ27ml/m<sup>2</sup>の割合に表土下5cmの位置に注入したのち適時灌水した。各区は16m<sup>2</sup>で、各区二連制とした。処理1,3,7,14,21,28,35,42,49,56,70,84日目に薬剤注入地点をさけて表土下5cmの土壤約200gを4,5地点より採取し、よく混和したのちにその20gを供試した。微生物の分離、検出には寒天平板法を用い、細菌にはブイヨン培地、糸状菌および放線菌には信夫の培地<sup>18)</sup>(ジャガイモ100g/lの煎汁に peptone 2g, MgSO<sub>4</sub> 0.5g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.5g, NaCl 0.5g, glycerol 5ml, 寒天25gを添加)を用い、糸状菌の分離に際しては eptomycin および rosebengal 各30ppmを添加した。各区は10ペトリ皿を用い、25°Cに静置し、細菌は2~3日、糸状菌は4~6日、放線菌は8日後に出現する菌数を調査し、乾土1gあたりに存在する菌数に換算した。細菌の変動は第1図、糸状菌の変動は第2図、放線菌の変動は第3図に示す通りである。

細菌では両薬剤とも処理7日後には菌数は次第に増加の傾向を示し、21日をすぎれば無処理区との差は認め難く、その後の増加はDBPN+TCNE区において著しい。しかし、糸状菌、放線菌の回復はおそく、処理後56日頃からようやく菌数の増加が始まるようである。しかし、1965年の観察ではDBPN+TCNE区において28~35日頃に糸状菌の急激な増加が認められ、またクロロピクリン区において28日後に放線菌の急増が認められる。これは土壤の採取にあたって局在する菌の集団をとりだしたためと考えられる。

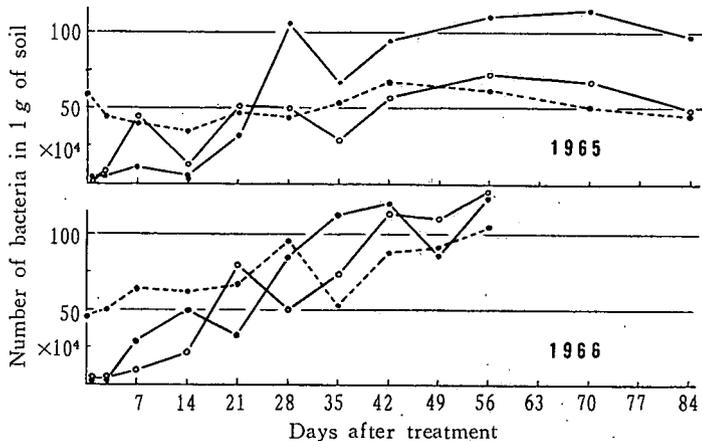


Fig. 1 Change of bacterial flora in soil treated with fumigants.  
 ●—● DBPN+TCNE ○—○ Chloropicrin - - - ● Not treated

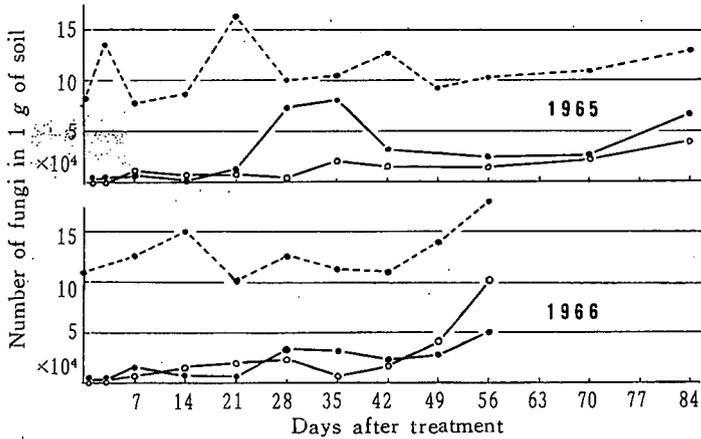


Fig. 2 Change of fungal flora in soil treated with fumigants.  
 ●—● DBPN+TCNE ○—○ Chloropicrin - - - ● Not treated

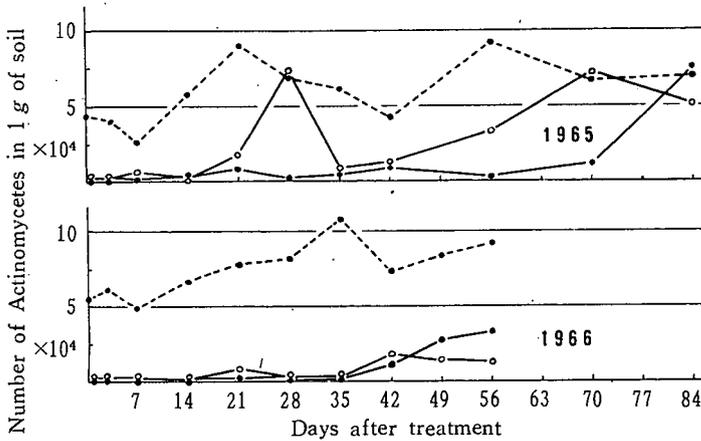


Fig. 3 Change of Actinomycetes flora in soil treated with fumigants.  
 ●—● DBPN+TCNE, ○—○ Chloropicrin - - - ● Not treated

この点をさらに検討するために土壤採取位置を限定して土壤中の菌の分布について調査した。すなわち、圃場の起耕後、薬剤の施用量をなるべく一様にするように500倍に希釈したDBPN, TCNE各20%混液を地表に全面灌注した。施用量はDBPN, TCNEをそれぞれ1.25 g/m<sup>2</sup>の割合である。処理面積は25m<sup>2</sup>で、その中央部1m<sup>2</sup>を供試した。土壤採取位置は第4図に示すように20cm間隔に36カ所で、処理7, 14日後に表土下.5cmの土壤約20gを採取し、前記同様に平板法により菌密度を計測した(第4図, 第1表)。

処理土壤中の糸状菌は不均一な分布を示し、処理7日後にはある地点でかなりの菌

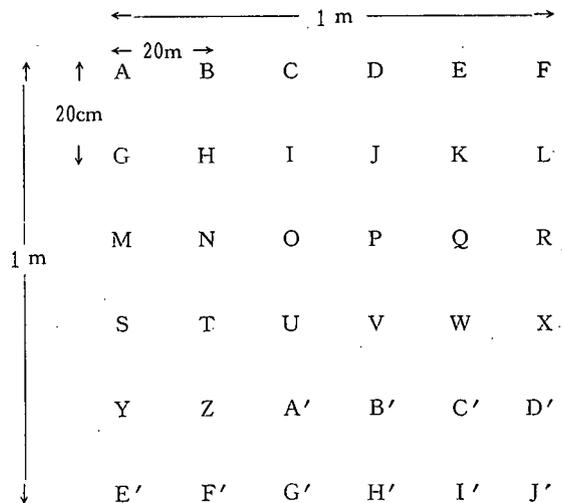


Fig. 4 Soil sampling plots for investigating the fungal distribution in soil treated with fumigant.

Table 1. Distribution of fungi in soil treated with DBPN and TCNE mixture.

Soil plot	<sup>a</sup> Number of fungi		<sup>c</sup> Increase ratio (times)
	<sup>b</sup> 7 days	14 days	
A	4	10	2.5
B	4	6	1.5
C	3	3	1.0
D	3	6	2.0
E	21	19	0.9
F	70	136	1.9
G	8	36	4.5
H	3	11	3.6
I	2	12	6.0
J	5	35	7.0
K	16	23	1.4
L	21	38	1.8
M	11	48	4.4
N	35	65	1.9
O	8	39	4.9
P	35	60	1.7
Q	28	90	3.2
R	37	102	2.8
S	15	45	3.0
T	33	52	1.6
U	10	42	4.2
V	20	38	1.9
W	352	394	1.1
X	13	138	10.6
Y	4	71	17.8
Z	7	42	6.0
A'	4	13	3.3
B'	1	43	43.0
C'	4	25	6.3
D'	6	44	7.1
E'	4	57	14.3
F'	3	74	24.3
G'	3	24	8.0
H'	6	25	4.1
I'	1	19	19.0
J'	4	15	3.8

a. Fungi in 1/20 g of dried soil.

b. Duration after treatment.

c. Fungal number at 14 days/Fungal number at 7 days after treatment.

数が認められる。さらに処理14日後ではこの分布範囲は拡大され、菌の増加の割合は土壤採取地点によりかなり相違が認められる。本実験において糸状菌数が前記の実験より多いのは供試薬量の差により生残る割合が大であったものと思われる。しかし、菌の種類は大多数が *Trichoderma*, *Penicillium* であり、その他 *Aspergillus*, *Rhizopus* などが散見されるにすぎない。

また、処理濃度の相違および処理時期の相違は第2表、第3表に示す通りである。すなわち、薬剤を100倍あるいは1000倍に稀釈し、DBPN, TCNE がそれぞれ  $5 \text{ g/m}^2$  あるいは  $0.5 \text{ g/m}^2$  の割合になるように全面灌注した。各区は  $6 \text{ m}^2$  とし1区2連制で7月22日あるいは12月1日より実験を開始し、処理後1, 2, 4, 8, 15日に表土下5, 10, 20 cm の土壤を採取し、平板法で菌数を観察した。

本剤は土壤表面灌注で地下20 cm においても処理1日後にはすでに菌数は急に減少し、細菌では約1%, 糸状菌では約26%以下、放線菌では約0.3%以下に低下する。しかし、細菌では4日、糸

Table 2. Change of microorganisms in soil treated with fumigant \* in warm season.

	Concentration (times)	Soil depth (cm)	Number of microorganisms <sup>a</sup>					
			<sup>b</sup> 0	1	2	4	8	15
Bacteria	100	5	428010	2725	2925	67855	397991	765388
		10	426755	2422	2976	81224	400581	767435
		20	310056	3189	3085	44356	108756	362357
	1000	5	428010	3672	2844	85536	425310	589751
		10	426755	2385	2785	107734	563225	703142
		20	310056	3791	3662	104534	170856	334387
Fungi	100	5	32188	68	120	179	528	9785
		10	30851	1781	1799	3222	7560	11227
		20	19925	3219	3004	8587	8219	8879
	1000	5	32188	175	210	198	1038	11754
		10	30851	942	1334	4285	5229	17225
		20	19925	5261	4985	9507	10023	9736
Actinomycetes	100	5	29807	119	106	171	184	919
		10	27645	213	266	476	521	552
		20	20021	437	360	1029	755	1125
	1000	5	29807	142	152	118	233	717
		10	27645	116	347	531	468	1221
		20	20021	743	618	962	1074	1347

\* DBPN 20% and TCNE 20% mixture.

a. Number of microorganisms in 1 g. of dried soil.

b. Days after treatment (0 : Before treatment).

Table 3. Change of microorganisms in soil treated with fumigant\* in cold season.

Microorganism	Concentration (times)	<sup>a</sup> Number of microorganisms				
		<sup>b</sup> 0	1	2	4	8
Bacteria	500	216511	3522	2656	9855	52671
	1000		3367	2996	10577	54557
Fungi	500	9851	851	977	1611	1415
	1000		1031	992	1275	1721
Actinomycetes	500	18772	475	411	482	451
	1000		621	396	414	621

\* DBPN 20% and TCNE 20% mixture.

a. Microorganisms in 1 g. of dried soil at 5 cm of soil depth.

b. Days after treatment (0 : Before treatment).

状菌では深層で4日, 5 cmの位置で8日, 放線菌では深層で4日, 浅層で15日頃から菌数は回復しはじめる。また, 細菌では深層よりも浅層の方が菌数の回復率は大きく, 15日後には無処理区よりも増加するが, 糸状菌, 放線菌では15日後でも菌数は元に復さない。冬期における処理効果は夏期にくらべて減少し, また, 処理2日後に最低菌数を示す場合が多い。これは土壤中の菌は休眠期のものが多く, 薬剤の効果があらわれ難いと考えられる。また, 減少した菌数は復活がおくれるようである。

## 実験2 薬剤処理による糸状菌相の変動

薬剤を土壤に処理すると土壤微生物数は急激に減少するが, その後の回復時期における菌相の変



Group	Genus	a Number of fungi										
		b0*	1	3	7	14	21	28	35	42	56	71
C	<i>Pullularia</i>	0	1	6						35		
	<i>Coniothyrium</i>	0		15								
	<i>Phoma</i>	0					60					
	<i>Tetracoccusporium</i>	0						20				
	<i>Synsporium</i>	0							50			
	<i>Acrocylindrium</i>	0									5	
	<i>Mucor</i>	0										5
D	<i>Acremonium</i>	70										
	<i>Spicaria</i>	50										
	<i>Sporotrichum</i>	50										
	<i>Torula</i>	50										
	<i>Cephalosporium</i>	40										
	<i>Hormodendrum</i>	40										
	<i>Humicola</i>	10										
	<i>Monilia</i>	10										
	<i>Mycogone</i>	10										
	Unknown	120	3	40	20	90	55	20	50		15	

a. Fungal number in 1/50 g. of soil.

b. Days after treatment.

\* Before treatment.

両薬剤の土壤糸状菌相に対する効果にはほとんど差が認められない。すなわち、土壤中の糸状菌には4型が認められる。第1は処理後7日前後にすでに存在が確認される群で、第4、5表中のA群に属するものである。第2は処理後かなりおそく出現するもので、表中のB群に属する。第3は処理前に存在を確認し得たが処理後に出現するもので、表中のC群に属する。これらには処理後の早い時期に出現するものと、かなりおそく出現するものが認められるが、いずれも菌数は多くなく、しかも一時的に出現し連続的には存在を確認し得なかった。第4は処理後には存在を確認し得ないD群に属する群である。

これらの菌群の薬剤耐性を知るために土壤カラムを用い各深度における菌の生死を判定した。径6.5 cmの塩化ビニール円筒に殺菌した壤土をつめ、土壤深度0, 5, 10, 20 cmの位置にあらかじめジャガイモ煎汁寒天培地に培養した各菌の菌そう(径10 mm)を置き、DBPN, TCNE混液を27, 18, 9 ml/m<sup>2</sup>の割合になるようにそれぞれの円筒の土壤表面に滴下した。この円筒を28°Cで24時間静置したのち、各菌そうを取出して水洗後ジャガイモ煎汁培地上で生死を判定した。供試菌は上記各群のほか、キュウリより分離した*Rhizoctonia solani* (RS 508号菌), *Pythium aphanidermatum* (P 502号菌), *Fusarium oxysporum* (F 507号菌)を用いた(第6表)。

土壤処理後かなり早く出現するA群およびC群の一部の菌は他に比して耐薬性のものが多く、27 ml/m<sup>2</sup> 灌注区でも地下20 cmでは生存するものが多いが、薬剤濃度が小になればさらに生存菌株は増加する。処理後おそく出現する菌株は耐性が少なく、処理後に出現を認めなかったD群は供試薬剤濃度の範囲では薬剤耐性がほとんどなく、9 ml/m<sup>2</sup> 灌注区でも地下20 cmで辛うじて生存するものが多い。病原菌のうちでは*F. oxysporum*がもっとも薬剤耐性が強く、次いで*R. solani*が強いが、*P. aphanidermatum*は耐薬性はあまりなく、B群とD群の中間的存在のように考えられる。

これらの菌株のうち、薬剤処理後7日以内に出現する菌そうを取出してジャガイモ煎汁培地上での菌糸の伸長を28°Cに置いて検討した(第7表)。

薬剤処理1, 3日後に出現する菌株はいずれも菌糸の伸長はおそいが、処理濃度が薄い場合にはかえって菌糸の伸長は促進される傾向を示す。しかし、処理7日後に出現する菌株はほとんどの

Table 6. Fungicidal tolerances of soil fungi in soil.

Concentration <sup>a</sup> (ml/m <sup>2</sup> )	9				18				27			
	0	5	10	20	0	5	10	20	0	5	10	20
Soil depth (cm)	<sup>b</sup>											
<i>Penicillium</i> - a	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+
" - b	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+
<i>Gliocladium</i>	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	±
<i>Trichoderma</i> - a	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+
" - b	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	±
<i>Chaetomium</i> - a	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	±
" - b	-	-	±	+	-	-	-	+	-	-	-	±
<i>Fusarium</i> - a	-	-	±	+	-	-	-	±	-	-	-	±
" - b	-	-	±	+	-	-	-	±	-	-	-	±
<i>Cladosporium</i> - a	-	-	-	+	-	-	±	+	-	-	-	-
" - b	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
Unknown - a	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	±
" - b	-	-	±	+	-	-	-	+	-	-	-	±
" - c	-	-	-	+	-	-	-	±	-	-	-	-
<i>Aspergillus</i> - a	-	-	±	+	-	-	-	±	-	-	-	-
" - b	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
<i>Rhizopus</i>	-	±	±	+	-	-	±	±	-	-	-	±
<i>Monosporium</i>	-	-	-	+	-	-	-	±	-	-	-	-
<i>Glomastix</i>	-	-	-	+	-	-	-	±	-	-	-	-
<i>Phycomycetes</i> - a	-	-	-	+	-	-	-	±	-	-	-	-
" - b	-	-	-	+	-	-	-	±	-	-	-	-
" - c	-	-	-	+	-	-	-	±	-	-	-	-
Unknown - d	-	-	±	+	-	-	-	±	-	-	-	±
" - e	-	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	-
<i>Fusidium</i>	±	±	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
<i>Epicoccum</i>	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
<i>Pullularia</i>	-	-	±	+	-	-	-	+	-	-	-	-
<i>Coniothyrium</i>	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
<i>Phycomycetes</i> - d	-	-	+	+	-	-	-	±	-	-	-	-
<i>Phoma</i>	-	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	-
<i>Papularia</i>	-	-	-	+	-	-	-	±	-	-	-	-
<i>Acrocyndrium</i>	-	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	-
<i>Tetracoccusporium</i>	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Synsporium</i>	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Mucor</i>	-	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	-
<i>Alternaria</i>	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Acremonium</i>	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Spicaria</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Sporotrichum</i>	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Torula</i>	-	-	-	+	-	-	-	±	-	-	-	-
<i>Hormodendrum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Cephalosporium</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Humicola</i>	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Monilia</i>	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Mycogone</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>R. solani</i>	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
<i>F. oxysporum</i>	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	±
<i>P. aphani dermatum</i>	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-

a. DEPN 20% and TCNE 20% mixture.

b. + : existence, ± : existence occationally, - : death

ものが供試濃度の範囲では菌糸の伸長が多少とも阻害されるようである。そして、*R. solani*, *F. oxysporum* はいずれも後者の群に属するものと思われる。

### 実験3 薬剤処理土壌における病原菌の行動

前述のように土壌に薬剤処理を行なった場合、何らかの原因で特定菌が生残ることがある。この

Table 7. Mycelial growth of soil fungi after fungicidal treatment in soil.

	Non treatment	a 9 ml		18 ml		27 ml	
		b 10cm	20	10	20	10	20
<i>Cladosporium</i> - a	c 1.5		1.9		1.0		
" - b	3.8		3.4		0.5		
<i>Epicoccum</i>	2.2		3.4		1.5		
<i>Fusidium</i>	1.0	2.5	3.1		0.5		
<i>Pullularia</i>	0.6		1.7		1.0		
<i>Coniothyrium</i>	5.8		4.7		3.0		
<i>Gliocladium</i>	5.8		1.5		1.0		
<i>Fusarium</i>	6.2		3.0		6.0		
<i>Chaetomium</i> - a	5.2	4.5	4.8		4.5		2.0
" - b	4.0	4.5	2.7		2.8		
<i>Trichoderma</i> - a	12.2	10.5	12.0		9.0		8.0
" - b	14.2	9.0	13.0	11.0	14.0		13.5
<i>Penicillium</i> - a	10.0	2.5	2.0		0.5		6.0
" - b	4.3	0.6	0.6		1.2		1.0
<i>Phycomycetes</i>	5.0	1.5	2.5		1.8		
Unknown - a	0.3		0.3				
" - b	6.2		5.3		6.0		
" - c	2.7		3.8		2.0		
<i>R. solani</i>	19.2		9.3		22.0		
<i>F. oxysporum</i>	6.3	2.5	4.0		2.4		
<i>P. aphanidermatum</i>	18.3		8.0				

a. DBPN 20% and TCNE 20% mixture (ml/m<sup>2</sup>).

b. Soil depth (cm).

c. Mycelial growth (mm/24 hrs.). Mycelia grew only a little or none were not written in this table.

特定菌が病原菌である場合、病害発生の様相について検討した。

土壤に薬剤処理を行なった場合の病原菌の残存およびその後の増加を知るために、あらかじめイネわらに10日間培養した *R. solani*, *P. aphanidermatum*, *F. oxysporum* を 1l/m<sup>2</sup> の割合に表土下 5~10 cm に接種したのち10日後に DBPN, TCNE 各20%混液の100, 500, 1000, 2000 倍液を 2.5 l/m<sup>2</sup> の割合に全面灌注した。薬剤処理後10日および30日にキュウリ(四葉)を各区約200粒ずつ播種し、10日後に罹病歩合を調査した(第8表)。

処理10日後に播種した場合、罹病率は *R. solani*, *F. oxysporum* とも 2000 倍液灌注区でやゝ多くなるが、*P. aphanidermatum* は供試濃度の範囲ではきわめて低い。しかし、30日後に播種した場合、低濃度区における被害は急激に増大し、*R. solani*, *F. oxysporum* による被害は1000倍、2000倍区では無処理と同等あるいはそれ以上になることがある。この場合、病害の発生は *R. solani* では局所的に起るのに対し、*F. oxysporum* ではかなり均一に被害があらわれるが、立枯症状を呈する率は *R. solani* よりも少ない。また、実験を行なった時期あるいは実験場所においても罹病率にかなりの差が認められた。

つぎに土壤処理後における病原菌の土壤中での拡りについて検討した。すなわち、ガラス室内で径 110 cm, 高さ 40 cm のセメント円筒枠内に壤土を入れ、DBPN, TCNE 混液を 27 ml/m<sup>2</sup> の割合に灌注し、処理10日後に枠の中央にイネわらに培養した *R. solani* を約 100 ml 埋めて接種源とした。これより15, 30cmはなれた位置への菌糸の伸長を contact slide 法によって検討した(第9表)。

*R. solani* が接種源より 15 cm の距離に到達するのは7日前後のようであり、30 cm に到達するのは21日以内である。しかもこの速度は土壤処理の有無にあまり左右されないようである。土壤中の菌糸は 15 cm の位置では21日頃から、30 cm の位置では28日前後でかなり一様に分布するものと思われる。しかし、各 slide glass 上の菌糸数は21日あたりでは少なく、処理の有無による差は認

Table 8. Relation between damped ratio of cucumber seedlings and planting periods after fungicidal treatment\* into soil.

Pathogen	Concentration (times)	Susceptible ratio %	
		<sup>a</sup> 10 days	30 days
<i>R. solani</i>	2000	<sup>b</sup> 27.4	12.4 - 61.3
	1000	2.0	23.0 - 46.5
	500	3.5	2.7 - 4.5
	100	0	0
	Not treated	91.5 - 97.2	62.3 - 65.3
<i>F. oxysporum</i>	2000	15.4 - 22.5	48.0 - 52.0
	1000	0	41.6 - 67.5
	500	0.5	0
	100	0	0
	Not treated	67.4 - 72.0	60.0 - 62.0
<i>P. aphanidermatum</i>	2000	1.5	8.8 - 10.5
	1000	0	7.2 - 10.5
	500	2.5	6.5
	100	0	0
	Not treated	71.1 - 85.5	17.5 - 21.7

\* DBPN 20% and TCNE 20% mixture.

a. Duration after treatment.

b. Pre-emergence and slight diseased seedlings are contained.

Table 9. Extension of mycelia of *R. solani* in soil.

Distance from inoculum	Soil treatment	Frequency of mycelia appeared on slide glass				
		<sup>b</sup> 7	14	21	28	35
15 cm	<sup>a</sup> Sterilization	6.7	0	53.3	93.3	93.3
	Non sterilization	6.7	6.7	40.0	73.3	80.0
30 cm	<sup>a</sup> Sterilization	0	0	20.0	66.6	80.0
	Non sterilization	0	6.7	40.0	86.7	80.0

a. DBPN 20% and TCNE 20% mixture were treated in soil at 10 days before inoculation of *R. solani*.

b. Days after inoculation.

c. Number of slide glasses observed mycelia of *R. solani* / total glasses in soil × 100.

め難いが、それ以後になると処理土壌中では多くなるのに対し、無処理土壌中ではあまり増加が認められない。

また、上記のセメント枠内で指標植物の罹病度により病原菌の土壌中の拡りを観察した。土壌を上記と同様に処理し、*R. solani* 接種と同時に接種源から15, 30 cm の位置に催芽させたキュウリ(四葉)を1週間ごとに播種し、1週間後に抜取って罹病度を調査した(第10表)。

キュウリ幼苗は接種後21日ですずれの区にも発病するが、薬剤処理区では接種源から15 cm の距離以外には立枯症状が認められない。このことは処理区15 cm の位置にはかなりの菌糸がすでに存在しているものと思われる。その後は各地点とも次第に罹病率は増すが、薬剤処理区では無処理区よりも罹病率は大きく、また、35日に到れば各区とも15 cm と30 cm の位置での被害は大差がなく、菌糸は土壌中に一様に分布しているものと思われる。

上述のように *R. solani* は薬剤処理土壌では無処理土壌よりも被害を増加させるが、土壌中に有機質が存在する場合の *R. solani*, *P. aphanidermatum*, *F. oxysporum* によるキュウリ幼

Table 10. Relation between appearances of diseased cucumber seedlings and distances from inoculum of *R. solani*.

Distance from inoculated point	soil treatment	Degree of disease	a Susceptible ratio %				
			b 7	14	21	28	35
15 cm	° Sterilized	Damping-off*	0	0	20.0	34.0	27.8
		Slight	0	0	25.0	25.0	38.9
		Total	0	0	45.0	59.0	66.7
	Not sterilized	Damping-off*	0	0	0	18.5	12.0
Slight		0	0	10.5	15.5	20.0	
Total		0	0	10.5	34.0	32.0	
30 cm	° Sterilized	Damping-off*	0	0	0	10.0	27.8
		Slight	0	0	50.0	25.0	33.3
		Total	0	0	50.0	35.0	61.1
	Not sterilized	Damping-off*	0	0	0	0	10.0
Slight		0	0	5.3	21.1	15.0	
Total		0	0	5.3	21.1	25.0	

a. Number of diseased seedlings / all seedlings × 100.

b. Days after inoculation.

c. DBPN 20% and TCNE 20% mixture were treated in soil at 10 days before inoculation of *R. solani*.

\* Contained pre-emergence damped seedlings.

苗木枯病の発生について調査した。上記のセメント枠内の壤土にイネわらを混和し、1週間後にDBPN, TCNE 各20%混液の500倍液を27 ml/m<sup>2</sup>の割合に全面灌注して2週間放置した。この枠の中央部にイネわらに培養した3病原菌を接種し、同時に接種源から5, 10, 20 cmの位置に催芽させたキュウリを播種して幼苗の被害歩合を調査した。その後1週間ごとにキュウリを播種して被害率の増減を検討した(第11表)。

3病原菌は薬剤処理の有無にかかわらずいずれも混入区の方がキュウリ幼苗の被害が大であり、しかも発病時期が早くなる。この傾向は処理土壌よりも無処理土壌で明らかである。これは病原菌が土壌中の有機質を利用して生育を促進させ、菌密度が大になるためであろう。しかも、多くの微生物の競合する無処理土壌では有機質の存在はこれら病原菌の生育に大きな影響を与えていると考えられる。3菌のうちでは *P. aphanidermatum* の伸長がもっとも早く、接種後7日で20cm距った位置でもかなりの被害を与えているが、無処理区では28日後には被害は減少の傾向を示している。また、*F. oxysporum* の土壌中での拡りはおそく、20 cmはなれた位置への到達は添加の場合で接種後21日、無添加の場合には28日である。なお、薬剤処理を行わずイネわら添加を行なった *F. oxysporum* 接種区の20 cmの位置において、7日あるいは14日に発生した苗倒伏はすべて土壌中に混在した *Pythium* によるものであり、同様の現象が *R. solani* 接種区にも認められるが、接種菌株との区別はなし得なかった。

### 考 察

土壌に農薬を施用する場合、その薬剤の効果は対象とする病原菌のみでなく一般土壌微生物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の変動もやがては復元するものと思われるが、個々の種、あるいは群の復元力にはかなりの差がある。このため、薬剤施用直後における微生物の不均衡な分布はい

Table 11. Relation between fungicidal treatment addition of arganic matter in soil and appearances of susceptible cucumber seedlings.

Soil treatment	Organic mater in soil	Distance from inoculum	° Degree of disease	<i>R. solani</i>				<i>F. oxysporum</i>				<i>P. aphanidermatum</i>			
				<sup>b</sup> 1 week	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
° DBPN + TCNE	Non	5 cm	Damped	85%	100	100	95	0	20	30	35	5	15	55	45
			Slight	10	0	0	5	10	70	50	45	15	55	35	10
			Total	95	100	100	100	10	90	80	80	20	70	90	55
	Non	10	Damped	0	95	100	100	0	0	5	10	5	20	50	30
			Slight	0	5	0	0	0	5	55	60	5	5	10	10
			Total	0	100	100	100	0	5	60	70	10	25	60	40
	Non	20	Damped	0	20	40	80	0	0	0	40	0	30	35	50
			Slight	0	0	20	20	0	0	10	30	5	25	0	0
			Total	0	20	60	100	0	0	10	70	5	55	35	50
Rice Straw	5	Damped	60	100	100	100	20	15	20	35	55	40	80	60	
		Slight	35	0	0	0	70	75	55	65	30	55	10	40	
		Total	95	100	100	100	90	90	75	100	85	95	90	100	
	Rice Straw	10	Damped	70	100	100	100	0	20	20	20	85	30	80	80
			Slight	20	0	0	0	35	20	25	60	0	60	15	15
			Total	90	100	100	100	35	40	45	80	85	90	95	95
	Rice Straw	20	Damped	5	40	65	90	0	0	40	20	35	65	60	55
			Slight	20	10	25	10	0	5	10	45	50	20	40	30
			Total	25	50	90	100	0	5	50	65	85	85	100	85
Non	5	Damped	45	40	55	60	0	0	15	20	20	40	50	45	
		Slight	20	40	10	30	0	30	45	65	10	5	10	0	
		Total	65	80	65	90	0	30	60	85	30	45	60	45	
	Non	10	Damped	0	15	45	30	0	0	0	0	0	40	45	30
			Slight	5	30	40	35	0	0	25	70	0	5	5	20
			Total	5	45	85	65	0	0	25	70	0	45	50	50
	Non	20	Damped	0	0	15	70	0	0	0	0	0	30	30	40
			Slight	0	20	5	15	0	0	0	15	0	5	20	5
			Total	0	20	20	85	0	0	0	15	0	35	50	45
Rice straw	5	Damped	35	75	100	85	5	25	15	20	75	60	80	10	
		Slight	60	10	0	10	40	30	60	45	25	25	10	30	
		Total	95	85	100	95	45	55	75	65	100	85	90	40	
	Rice straw	10	Damped	60	60	45	65	0	20	15	15	70	90	75	10
			Slight	10	30	20	30	35	30	40	40	15	10	0	30
			Total	70	90	65	95	35	50	55	55	85	100	75	40
	Rice straw	20	Damped	80	25	70	75	60	75	15	25	45	80	80	50
			Slight	15	10	10	20	0	0	15	30	15	10	20	10
			Total	95	35	80	95	60	75	30	55	60	90	100	60

- a. Damped : Damping-off and pre-emergence of cucumber seedlings.  
Slight : A part of root was infected.
- b. Duration after inoculation.
- c. Fumigant was treated on surface of soil (added straw) at 10 days before inoculation.
- d. Susceptible ratio.

ろいろ問題となるであろう。

土壌をクロルピクリンおよび DBPN, TCNE 混液で処理すると、いずれもまず細菌が処理後 1 週間あたりから菌数増加の傾向を見せ、その後かなり急激に増加する。糸状菌および放線菌はいずれも処理後 6, 7 週間あたりから菌数の回復が認められるが、その回復に要する時間は長い。同様の報告は多くの研究者が指摘している<sup>5,7,13,14,19,21,23)</sup>。しかし、石沢<sup>8)</sup> は土壌平板法では孢子をとら

えるため、糸状菌の回復の遅延はもっと短縮されているものと考えている。また、処理による微生物の減少、回復時期、増加の割合は薬剤濃度、処理方法、処理時期および土壌深度によってもかなり異なるので、殺菌の対象となる病原菌の生活史に注目すべきであろう。さらに、処理後の菌数の変動は土壌の採取場所によって多少異なり、同一圃場でも局部的な菌の増加をとらえる危険性がある。本報告における第2図の糸状菌の一時的な増加もこのように局在する *Trichoderma* をとらえたものであろう。日高<sup>6)</sup> はクロロピクリン処理土壌での特定細菌の生存を報告し、津山<sup>20)</sup> も同じ現象を見ているが、糸状菌でも薬剤処理により特定菌が生残るとの報告は多い<sup>9,18,21,22)</sup>。Burges<sup>4)</sup> は土壌処理により微生物は急激に減少し、以後緩慢な増大を示すが、これは殺菌剤の消失するのに要する時間であろうと述べているが、供試した2種の薬剤で微生物の出現様相にあまり差を認めないのは薬剤処理後の残存特定菌が類似し、かつ、その増殖によるためと考えられる。

薬剤処理により微生物相が質的に変化することは多くの報告があるが、Martin<sup>14)</sup> らは、蒸気殺菌後の菌の種類は無処理の約半になり、相は単純化することを報告し、Warcup<sup>21)</sup> も相の単純化とともに一時的に未発見種が出現すると報告しているが、鑑谷・赤井・鈴井・北沢<sup>1)</sup> や Kreutzer<sup>10)</sup> も土壌殺菌による微生物相の変動に言及している。本実験では土壌微生物を薬剤処理による変動から4群に分けうと考える。すなわち、(A). 処理直後に存在が確認される群、(B). 処理後にかかりおこれて出現する群、(C). 処理前には確認出来ないが、処理後の一時期に出現する群で、このうち、処理直後に出現する群とかなり時間が経過してから出現する群に分けられる。(D). 処理前には確認されるが、処理後全く検出されない群に大別される。これら4群のうち、A群の多くは薬剤耐性が大きく、これらの菌株は土壌中で生残るものが多いと考えられる。しかし、これらの菌株は薬剤処理によりいずれも生育速度は無処理に比して低下するが、*Cladosporium* sp. および処理直後の一時期に出現するC群のうち、*Epicoccum* sp., *Fusidium* sp., *Pullularia* sp., *Coniothylium* sp. などは低濃度の薬剤処理でかえって生育は促進される。このように処理後はやくから出現する菌群は何らかの条件により処理土壌中で生残り、他の微生物の存在しない土壌空間に局部的に自己の生存域を拡げるものと考えられる。処理土壌における新定着菌の条件としては、耐薬性および生育速度が大きく、この条件を満たすものとしては *Trichoderma*, *Penicillium* などであるとの報告は多い<sup>5,9,13,21)</sup>。しかし、Lily<sup>11)</sup> は高生育能力が必ずしも新定着地において優勢となるとは限らないと述べている。本実験においても初期に出現する優勢菌は生育速度のはいものが多いが、*Fusarium* や *Gliocladium* などのように生育のやゝおそい菌株も認められる。また、B群に属する菌は薬剤濃度の小さい場合に出現し、しかも、後期に出現するが、これらは薬剤効果の低い下層土壌あるいは隣接地域からの侵入と見られる。D群に属する菌は耐薬性が小さく、処理によりほとんど死滅すると考えられる。供試した3病原菌の薬剤耐性は *F. oxysporum*, *R. solani*, *P. aphanidermatum* の順に低下し、前2者はA群とB群の中間的存在であり後者はD群と同様であると考えられる。

燻蒸剤による土壌殺菌は作物の植付前に行われるが、上述のように菌相は単純化され、しかも殺菌処理が一樣に行なわれ難い場合には *R. solani* や *F. oxysporum* などは生残る可能性が高い。また、苗の定植などで外部からの病原菌の移入なども考えられる。病原菌汚染土壌を薬剤処理すると、低濃度処理では時間の経過とともに被害は増加し、時には無処理以上の被害を生ずる。この場合、罹病率は実験のたびごとにかなり変動する。この現象は病原菌と他の recolonizer との間の競合によるものと思われる。

Lily<sup>11)</sup> は土壌処理後の新定着菌の中には他菌に拮抗するものが多いと述べ、小倉・赤井<sup>15)</sup> は拮抗菌の活性は、土壌中での菌量、栄養源の利用による菌糸の活力など病原菌に対する拮

抗菌の相対的な均衡により決定されると報告している。また薬剤処理後に *R. solani* を接種すると無処理のまゝ接種した場合よりも罹病率は大になる。さらに土壤に有機質を添加するとその被害は一層増大する。鑑谷・北沢<sup>2)</sup> は *F. solani* f. *phaseoli* の被害は殺菌土壤中よりも無殺菌土壤を混入した場合の方が低下することを観察し、小倉<sup>10,17)</sup> は幼苗立枯病は土壤中に腐生的に生存する病原菌の量および質によるとし、また、病原菌により腐生期に長短があると報告している。Maloy & Burkholder<sup>12)</sup> も土壤条件、土壤添加物により微生物相は質的に変化し、*F. solani* の発病様相が異ると報告している。

以上の諸結果より、土壤を薬剤処理する場合、土壤微生物相は処理濃度、処理時期等により一時的にも大きく変動し、一部の微生物が死滅するために残存菌あるいは周辺よりの侵入菌の生育が空間的あるいは養分的に有利となり、その場における新定着菌として優位に立つ。これが病原菌である場合には寄主植物ははげしく侵されるものと考えられる。その後、次第に菌数が増すにつれて腐生的に競合を繰返しながらやがて微生物相は安定するものと考えられる。

稿を終えるにあたり、薬剤供与を頂いた日本農薬株式会社矢野文雄氏、本橋義久氏、ならびに本実験に御助力頂いた当研究室永野律氏に謝意を表する次第です。

## 要 約

土壤を 2-, 3-dibromopropionitril 20% および trichloronitroethylene 20% 混液あるいはクロルピクリンで処理して微生物相の変動について調査した。

而薬剤の処理により土壤微生物数は急激に低下する。細菌は 1 週間前後から回復しはじめるが、糸状菌、放線菌は回復がおそい。しかし、処理後の土壤中では微生物は不均一な分布を示し、またその後の菌数の増加の割合もかなり相違がある。糸状菌では相は単純化し、処理直後から出現する菌群は耐薬性を有する菌株、低濃度の薬剤処理で生育が促進される菌株などが多い。また、処理後一時的に出現する菌群も見られる。*Rhizoctonia solani* や *Fusarium oxysporum* はかなりの薬剤耐性をもつが、*Pythium aphanidermatum* の薬剤耐性は小さい。これら病原菌による汚染土壤を低濃度の薬剤で処理するとかえって幼苗立枯病が増加する場合がある。*R. solani* を薬剤処理後に接種すると、土壤中での菌糸の伸長は無処理の場合と差はないが、菌密度は無処理の場合よりも大になる。また幼苗立枯率も増大する。この場合、土壤に植物残渣を加えておくと被害はさらに増大する。

以上の結果、土壤殺菌は土壤微生物相を一時的に大きく改変するが、殺菌効果が病原菌を死滅させるに到らない場合、あるいは病原菌が recolonizer より優位に立つ場合にはかえって作物は被害をうけるものと考えられる。

## 文 献

1. 鑑谷大節・赤井 純・鈴木孝二・北沢健治 (1965) 北海道農試彙報. 88 : 53—64
2. 鑑谷大節・北沢健治 (1963) 北海道農試彙報. 81 : 33—42
3. Bollen, W. B. (1960) Ann. Rev. Microbiol. 15 : 69—92
4. Burges, A. (1958) Microorganisms in The soil. (London) 149—158
5. Evans, E. (1955) Tran. Brit. mycol. Soc. 38 : 335—346
6. 日高 淳 (1963) 土と微生物 5 : 17—25
7. 飯田 格・篠田辰彦・太田 庸 (1963) 東北農試年次報告. 55—93

8. 石沢修一 (1961) 土と微生物 2 : 9—12
9. Jensen, H. L. (1960) Tidsskr. Planteavl. 65 : 185—198
10. Kreutzer, W. A. (1965) in Ecology of soil-borne plant pathogens *edited by* Baker, K. F. and Snyder, W. C. (Los Angeles) 495—507
11. Lily, K. (1965) Jour. Indian Bot. Soc. 69 : 107—122
12. Maloy, O. C. and Burkholder, W. H. (1959) Phytopath. 49 : 583—587
13. Martin, J. P. (1950) Soil Sci. 69 : 107—122
14. Martin, J. P., Baines, R. C. and Ervin, J. O. (1957) Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 21 : 163—166
15. 小倉寛典・赤井重恭 (1965) 日植病報. 30 : 219—224
16. 小倉寛典 (1965) 高知大農紀. 15 : 1—60
17. ——— (1966) 高知大学研報. 15. 自然科学 II
18. 信夫隆治 (1958) Memo. Osaka Univ. Lib. Art and Edu. 7 : 1—76
19. 鈴木孝仁 (1964) 植物防疫 18 : 411—414
20. 津山博之 (1965) 土と微生物 7 : 23—27
21. Warcup, J. H. (1951) Trans. Brit. mycol. Soc. 34 : 519—532
22. ——— (1952) Ibid. 35 : 248—262
23. 渡辺文吉郎・高木文男 (1956) 九州農試彙報. 4 : 107—120

(昭和41年9月28日受理)

