

数種の微生物資材の特性と トマト根腐萎ちょう病抑止効果の検討

藤原俊六郎・折原紀子

Shunrokuro FUJIWARA and Noriko ORIHARA

The Characteristics of Microbe Improvement Materials and Ability to Suppress Tomato Disease (Crown and Root Rot by *Fusarium*).

I 緒 言

「環境保全型農業」など環境に優しい農業が求められている今日、農業の使用を抑制する意味から微生物資材に深い関心がよせられている。微生物資材の定義はあいまいであるが、一般には「作物生産や地力維持に効果の期待できる有用微生物を、有機物や鉱物またはその混合物に添加したもの」と考えられる。しかし、中には「特別な微生物は添加せず、有用微生物群が増殖可能な栄養源を含んだ資材」も微生物資材とされている場合もあるなど、その定義はあいまいである。そのため、生産現場では使用方法をめぐる混乱がみられている。

微生物資材は、一般には、堆きゅう肥などの有機物の持つ効果のうち、微生物の機能を強化したものと考えることができるが、さまざまな効果がうたわれている。その効果は、大きく分けて「有機物分解促進効果」、「連作障害回避効果」、「地力増進効果」であり、一つの資材には単独の効果を表示してあるものから、複数の効果を表示してあるものまで様々である。このうち、病害抑止に

効果があるとされるものだけでも、数十の製品が市場に流通している。

微生物を保持するためには、有機物や無機物が使われている。有機物としては、堆きゅう肥、米ヌカ、油カス類、カニガラ、汚泥類等、鉱物としてはパーミキュライト、ゼオライト、ケイソウ土等が、単独または混合して使われている。しかし、微生物の種類は明らかなものは少なく、その病害抑止効果が不明な点が多いことから、微生物資材についての評価は定まっていない。微生物資材の病害抑止に対する試験例は、全農の委託試験⁹⁾や野口の試験³⁾などがあるが、数多い種類の資材の効果は不明な点が多い。そこで7種類の微生物資材について、その化学的及び微生物的特性とトマト根腐萎ちょう病に対する抑止効果を総合的に検討した。

II 材料及び方法

1. 微生物資材：供試した資材は、鉱物質資材が3種、有機質資材が2種、嫌気性微生物資材とキチン類似物質各1種の計7資材である。その概要は第1表に示した。

第1表 供試微生物資材の概要

資材名	資材の区分	資材の内容 (メーカー表示)
V S B M A T	鉱物質資材 鉱物質資材 鉱物質資材	パーミキュライトに有用菌添加 パーミキュライトにCDU分解菌添加 パーミキュライトに細菌と放線菌添加
A C O G	有機質資材 有機質資材	90種以上の好気性微生物培養 共生SNKD菌群を動植物性有機質と混合
C R S C	嫌気性資材 キッチン資材	特殊腐植剤, 無機・有機活性化剤 放線菌添加キッチン類縁物質

2. 微細形態観察法: 試料をアルコール, アセトン置換後, 風乾させたものを金蒸着し, 走査電子顕微鏡(日立明石 MSM4C-101)で観察した.

3. 化学成分分析法: 風乾した後, 有機物分析方法4)に準じて分析し, 乾燥物あたりの含量で表示した.

4. 微生物調査法: 希釈平板法1)によった. 細菌及び放線菌の計数はアルブミン培地, 糸状菌はローズベンガル培地を使用し, 28℃で培養した. *Fusarium* 菌の計数は駒田培地2)を使用した.

5. *Fusarium* 菌抑止力調査法: 微生物資材水抽出物をPDA培地, NA培地及びNo.3寒天培地6)でトマト根腐萎ちよう病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*)と対峙培養した.

6. 栽培試験法: トマト根腐萎ちよう病自然汚染土を1/2000aワグネルポットに詰め, ガラス温室内でトマト(品種ほまれ114)を栽培した. 作型は促成栽培とし, 9月下旬播種, 11月下旬定植, 翌年2~4月収穫で, 1990~92年にかけて2作栽培した. ポットのため, 第3果房までの収穫とした. 夏作は, 5月に資材100gを施用した後, 無肥料でクロタラリア(品種タヌキマメ)を9月まで栽培し, 作物体は除去した. 1ポットあたり3株とした.

資材の施用量は, 育苗時に育苗用ポット(1ℓ容)に20g,

定植時にはワグネルポットに100g全層混合したが, これは育苗培土の2%, 定植ポットでは200g/m²に相当する. なお, SC資材については新鮮有機物の施用が指定されていたため, ワグネルポットに資材50gと稲ワラ50gを施用した. 定植時に, 全てのポットにバーク堆肥100gとCDU複合燐加安S555を15g(N2.25g相当)をそれぞれ施用した.

各処理区について5連で実施し, 結果は平均値で表示した.

7. 土壌成分分析法: 風乾土壌を常法5)により分析し, 乾燥物あたりの含量で表示した.

III 結果及び考察

1. 微生物資材の形態

市販されている微生物資材の中から, 病害防除に効果があるとされるもの7資材について試験を実施した. 供試した資材の外観は, 写真1に示した. 鉱物質資材は黄褐色のパーミキュライトであり, 有機質資材は粒径の小さい暗褐色の顆粒状, 嫌気性資材とキッチン資材は黄白褐色の微粉状をしている. これを走査電子顕微鏡で観察した結果を写真2に示した.

第2表 微生物資材の化学的特性

(成分は乾物含量)

資材略称	水分 %	pH (H ₂ O)	E C mS/cm	T-N %	P ₂ O ₅ %	CaO %	MgO %	K ₂ O %	Na ₂ O %
V S	3.7	5.84	1.17	0.47	0.32	1.5	1.23	2.54	0.02
B M	59.5	7.03	0.12	2.09	0.12	4.6	0.57	2.54	0.17
A T	28.7	6.35	0.97	3.47	0.17	1.4	0.84	5.04	0.07
A C	16.9	8.88	3.99	3.38	2.60	31.6	1.75	2.12	0.34
O G	56.7	8.07	2.67	7.39	3.83	25.0	4.25	3.70	1.87
C R	8.7	9.35	1.93	0.15	0.67	12.9	0.28	0.56	0.10
S C	16.0	7.16	5.97	0.12	2.35	28.6	1.48	1.97	0.30

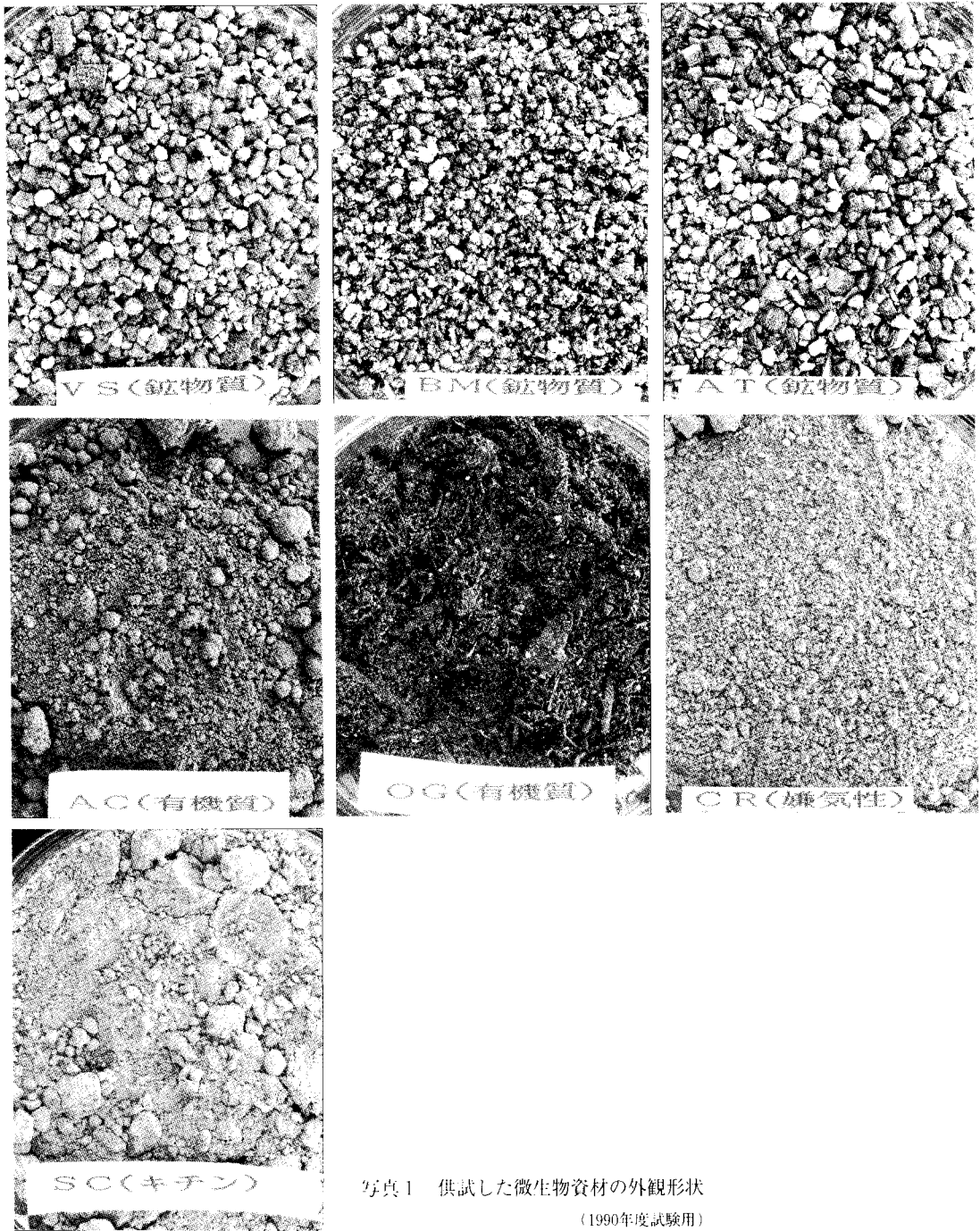


写真1 供試した微生物資材の外観形状
(1990年度試験用)

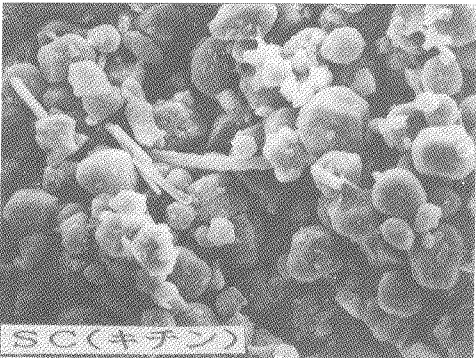
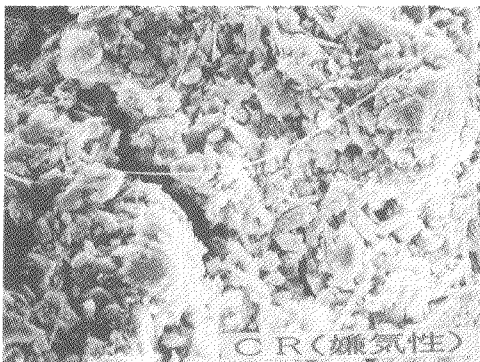
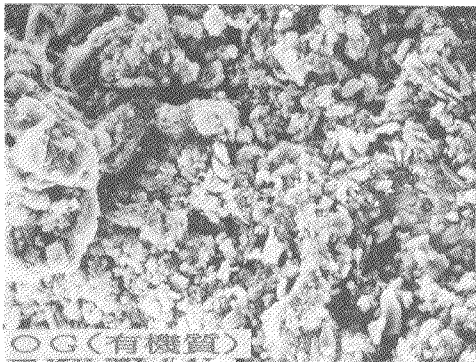
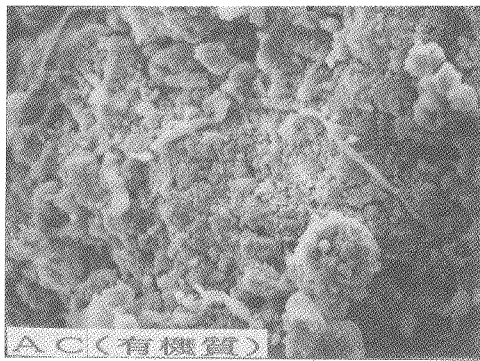
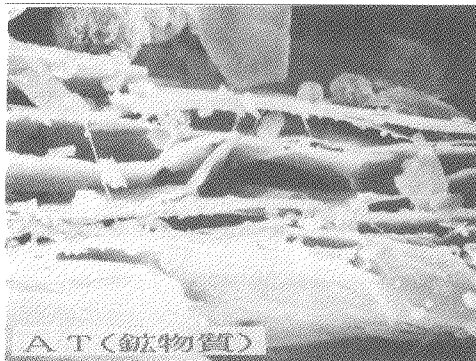
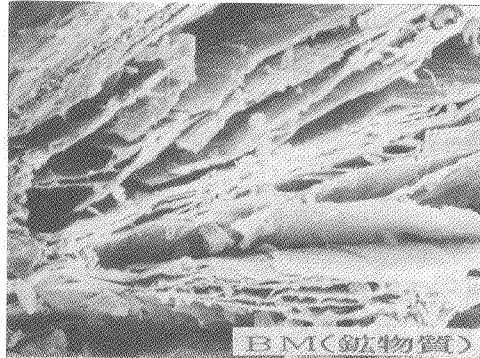
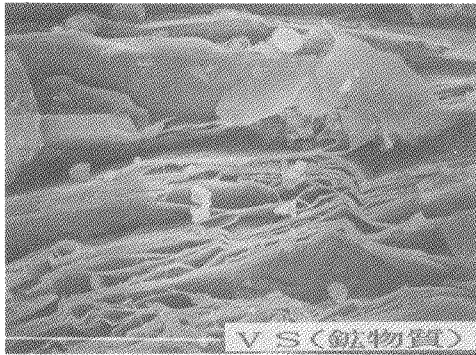


写真2 SEMによる微生物資材外観の比較
(BMは200倍、それ以外は1,000倍で撮影)

鉱物質資材は3資材ともにパーミキュライト主体で構成されていることが明らかであり、その表面には放線菌と考えられる菌糸と糸状菌の胞子がみられた。有機質資材では有機物の比較的大きな粒子と土壌様の小粒子が混合しており、それらの表面に糸状菌の菌糸や胞子、放線菌、細菌などがみえる。嫌気性資材は有機質資材とほぼ同様であり、土壌類似物質が主体であると考えられた。キチン類似物質は顆粒状の物質で構成されていた。キチン類似物質には放線菌添加と記載されていたが、写真にはそれらしい菌糸の破片がみえる。

このように、走査電子顕微鏡による微細形態観察は、微生物資材の構成資材や微生物の含まれる状態を観察する場合に非常に有効な手段といえる。できるだけ生に近い状態で観察するために、乾燥させないで生体走査電子顕微鏡(NSEM)による観察をあわせて検討したが、解像度が劣り、期待した効果が得られなかった。

2. 化学的性質

資材の化学成分を分析した結果を、第2表に示した。水分はふれが大きく、VSやCRのように10%以下の乾燥状態のものから、BMやOGのように50%をこえるものまであった。これは乾燥状態にして微生物の動きを抑制しようとする資材と、積極的に水分を添加し流通中の微

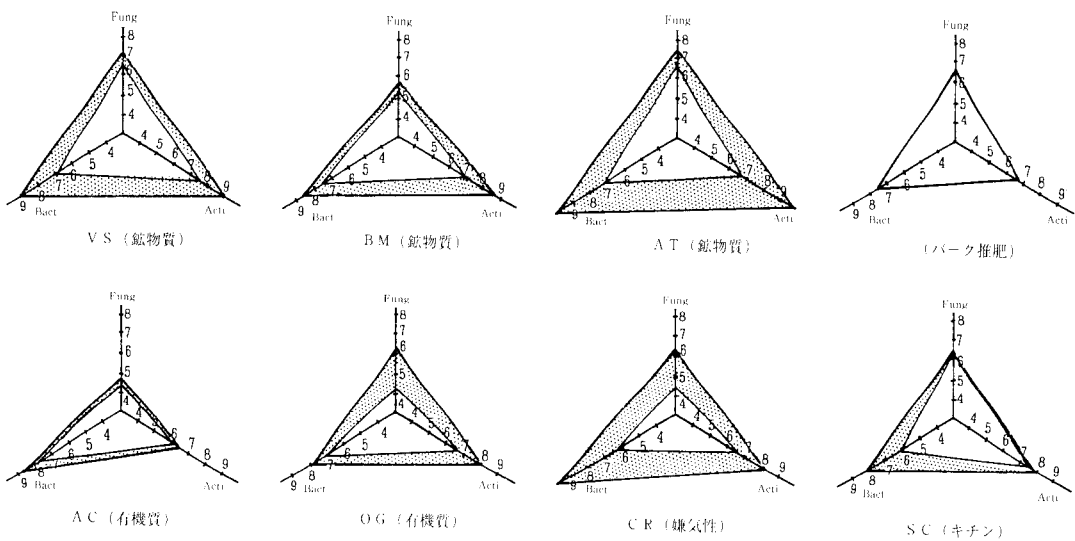
生物の生存をはかろうとする資材があるためと考えられる。pHは、鉱物質資材は中性からやや酸性であるが、他の資材は塩基性であり、CRでは9以上もあった。

鉱物質資材は、全体に肥料成分が少ないが、BMとATでは全窒素含量が高くECもやや高い傾向がみられた。これらはパーミキュライトに肥料成分を添加したためと考えられる。これに対し有機質資材は肥料成分が多く、窒素やリン酸、塩基成分含量が高く、ECも高い傾向がみられた。嫌気性資材はpHとECが高いが、肥料成分は多くない。キチン類似物質は、全窒素が少ないにもかかわらずECが極めて高い傾向がみられ、また石灰は多いが他の塩基性は少ないなど、他の資材と異なる性質がみられた。

3. 微生物的性質

異なる生産ロットの資材及び異なる条件で保存した資材を用いて数回の微生物分析を行い、乾物1gあたりの生菌数の指数値をとり、レーダチャートを作成したものを第1図に示した。図中の線で囲まれた点で表示した範囲は、その分布範囲を示している。参考としてパーク堆肥の分析結果も併せて示したが、パーク堆肥は1試料しか分析していないため分布幅は表示していない。

資材により微生物数は大きく異なり、VS, AT, CRな



第1図 微生物資材等の微生物特性
 (糸状菌、放線菌、細菌は乾物1gあたりの生菌数の指数値、点で囲まれた部分は分布域)

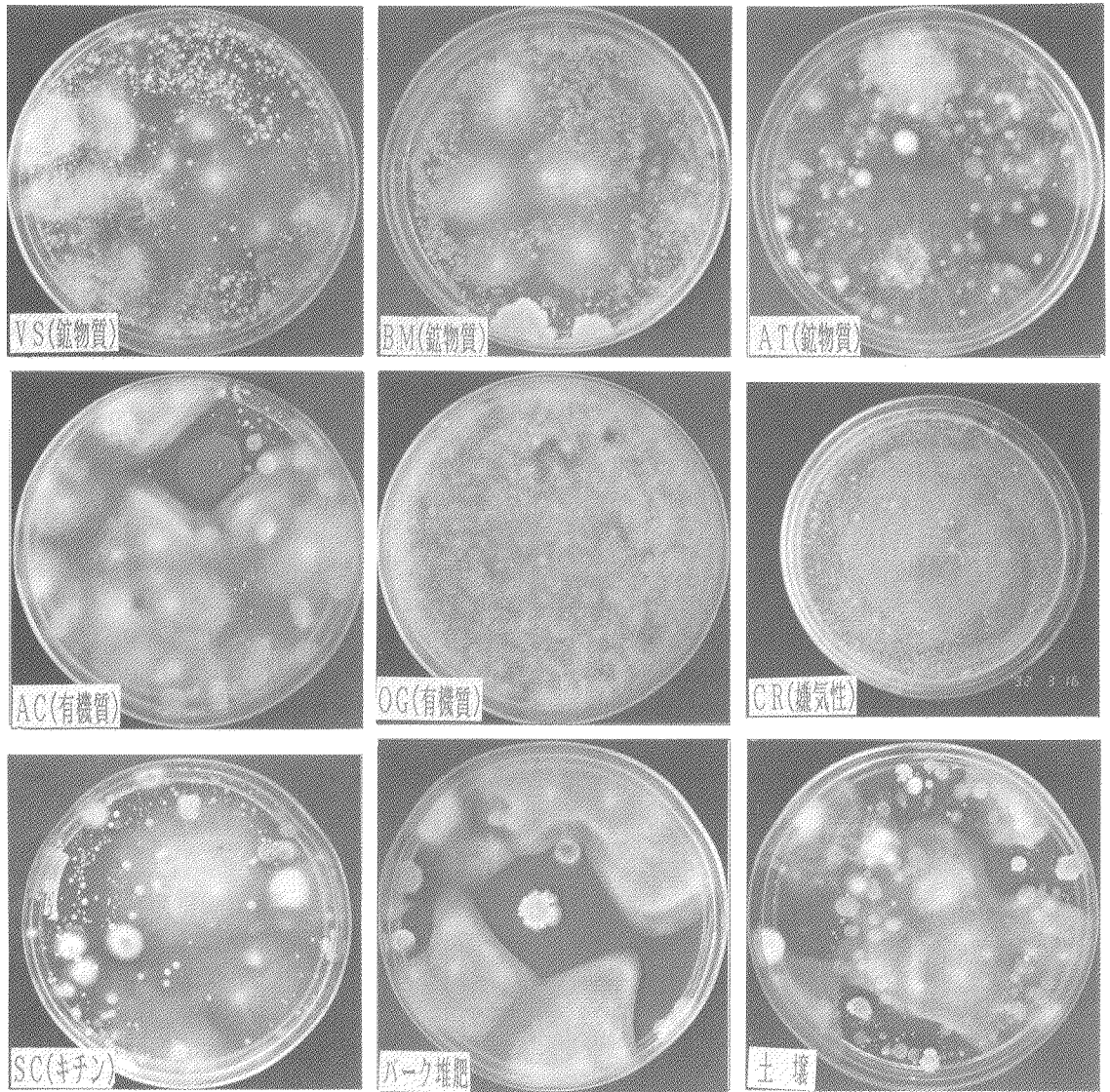


写真3 微生物資材抽出液による *Fusarium* 対峙培養
 使用菌株 *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* Y31
 培地 細菌用No. 3培地
 培養条件 28℃, 8日間

どの資材は多くの微生物を含み、ACやOGなど有機質資材は微生物数が少ないなどの特徴があるが、いずれの資材もバーク堆肥と同等あるいはそれ以上の微生物が含まれており、微生物を添加していることがうかがえる。また、ほとんどの資材が放線菌の量が多く、抗生物質を生産する菌の多い放線菌を各資材ともに強化していることがうかがえる。希釈平板上にみられる菌の種類は、肉眼的には資材による明確な特徴を示さなかったが、資材SCの放線菌については、肉眼的にはほぼ同じコロニーが認められ、単独種の培養放線菌を添加していると考えられた。

各資材の微生物数について調査時のばらつきを見ると、資材ATとCRは他の資材に比べ分布幅が大きく、資材BM, AC, SCは分布幅が小さかった。これは製造者の製品管理の違いではなく、当場における保管中に乾燥あるいは変質した資材を用いたために生菌数が減少した結果と考えられる。通常の流通ではこのような大幅な減少はないであろうが、微生物資材は保管条件により菌数が大きく変り得る可能性のあることを、これらの結果は示している。

4. *Fusarium* 菌抑止力

資材の水抽出液を用いて、トマト根腐萎ちょう病の病原菌 *Fusarium oxysporum* と対峙培養を行った。培地としてPDA培地及び細菌用のNA培地1)とNo.3寒天培地6)を用いた結果を第3表に示した。糸状菌の培養に適したPDA培地では *Fusarium* が優勢に生育し、阻止帯を持つコロニーは認められなかった。細菌用のNA培地でも同様の傾向がみられたが、土壤抽出液からは拮抗性をもつ細菌が検出された。これに対し、No.3寒天培地では拮抗性を持つ細菌が 10^5 レベルで検出された。

No.3寒天培地での拮抗性は、写真3に示したように資材OGとCRでは拮抗作用は認められず、*Fusarium* が全

第3表 微生物資材中の拮抗菌数
(乾物1gあたり)

資材	PDA 培地	NA 培地	No.3 培地
V S	0	0	0
B M	0	0	37×10^4
A T	0	0	0
A C	0	0	26×10^4
O G	0	0	0
C R	0	0	0
S C	0	0	12×10^4
堆肥	0	0	500×10^4
土壤	0	14×10^4	14×10^4

面に生育したが、それ以外の資材では阻止帯が認められた。BM, AC, SCからは 10^5 レベルで拮抗微生物が検出され、VSとATは阻止帯を持つ微生物の計数はできなかったものの、多くの細菌群により *Fusarium* の生育が阻害されていた。また、土壤では少数の拮抗菌がみられたが、バーク堆肥からは極めて多くの拮抗性を持つ細菌が検出され、微生物資材よりも1桁多く、写真3に示したように大きな阻止力をもつ細菌(*Bacillus*)もみられた。

このように、培地により拮抗作用が異なり、適切な培地を選択すれば拮抗性的の判定が可能ながうかがえた。ここで用いたNo.3寒天培地は *Bacillus* の増殖に適した培地7)であるため、*Bacillus* を多く含むバーク堆肥から多くの拮抗菌が検出されたと考えられる。この培地では放線菌による拮抗力は測定困難なため、資材全体の評価はできないが、ここで用いた微生物資材には、*Fusarium* 菌に拮抗性を持つ微生物群はあまり多く存在していないと考えられる。

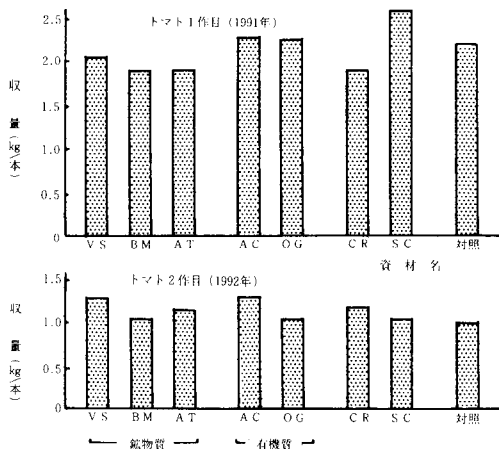
5. 栽培試験

栽培条件における病害抑止作用をみるために、トマト根腐萎ちょう病の自然汚染土壤を用いて促成トマトの栽培試験を試みた。資材は育苗用ポットに20g混合し、さらに定植用ポットには100gを全層混合したため、1株あたり計120gの資材を使用したことになる。

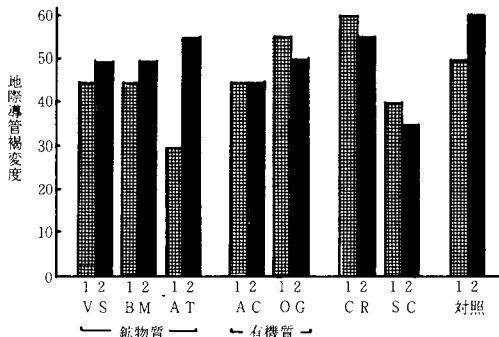
トマトの収量調査結果は第2図に示した。1作目では有機質資材(AC, OG)とキチン質資材(SC)は増収したが、その他の資材はやや減収した。2作目では全体に低収量であったが、全ての区で増収効果が認められた。これら収量の増減は資材の持つ肥料成分に由来していると考えられるが、株あたり120gの施用を2年継続したにもかかわらず、それほど大きな差にはならなかった。

トマト根腐萎ちょう病の発病は全株に認められたが、比較的軽度であり枯死に至る株はみられなかった。地際導管褐変度を調査した結果を、1作目と2作目を併せて第3図に示した。1作目では対照区の褐変度50%に対し、資材OGとCRは対照区より褐変度が5~10%高かったが、その他資材は発病が抑止されていた。とくにATとSCは、それぞれ20%、10%と高い抑止効果がみられた。2作目では対照区は褐変度60%と、1作目よりも10%高くなっていたが、資材を施用した区は全て対照区より褐変度が低く、資材の連用により発病が軽減されることがうかがえた。とりわけ、SCでは対照区よりも25%も褐変度が低下したが、ATでは1作目よりも発病が助長されていたなど、資材による違いもみられた。

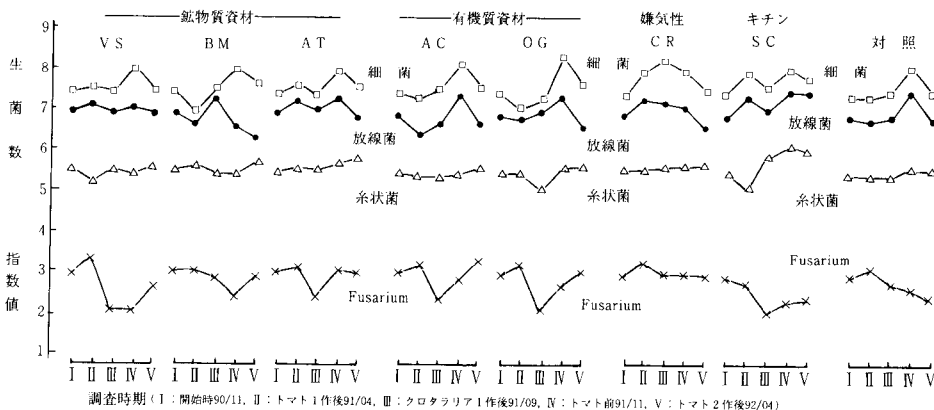
2作を通してみると、資材ATを除き、連用による抑



第2図 トマトの収量に及ぼす影響
(1/2000aワグネルポットに1株栽培, 5反復)



第3図 トマト根腐萎ちょう病への影響
(1:1991年, 2:1992年,
地際導管褐変度は大きいほど発病が著しい)



第4図 資材連用による土壌微生物数の変化

表4 トマト栽培跡地(2作後)土壌の化学性

(成分は乾物含量)

資材 略称	pH (H ₂ O)	EC mS/cm	Truog P ₂ O ₅	置換性塩基(mg/100g)			CEC (meq)	塩基飽 和度%
				CaO	MgO	K ₂ O		
VS	6.91	0.22	45.1	691	180	23	39.5	86.2
BM	6.88	0.15	42.5	753	187	28	43.5	84.4
AT	6.89	0.15	46.4	697	173	26	35.1	96.9
AC	7.55	0.17	86.7	1,025	179	38	46.4	99.7
OG	7.09	0.41	98.4	803	228	48	41.3	99.2
CR	7.24	0.26	62.4	922	173	31	40.3	104.5
SC	6.50	0.18	61.7	655	167	21	38.3	83.8
対照	6.87	0.14	51.4	708	178	21	38.1	90.6

止効果がみられた。資材別にみると、資材 AC と SC は抑止効果が期待できたが、OG と CR では抑止効果は期待できないといえる。とりわけ資材 SC の効果は安定しているものと考えられた。

栽培土壌の微生物性の経時変化を、開始時、トマト1作後、夏作(クロタラリア)栽培後、トマト定植直前、トマト2作後の計4回調査した結果を第4図に示した。糸状菌は変化が緩やかであるが、他の菌は不規則に変化している。細菌は、クロタラリア栽培後(Ⅲ)からトマト定植前(Ⅳ)の間に増加している場合が多いが、この間は作物を栽培しないで土をやや乾燥気味にしたため、植物遺体等の有機物分解促進により細菌が増加したと考えられる。資材施用の影響はあまり明確ではないが、SC 施用は細菌、放線菌、糸状菌ともに増加させる傾向がみられた。*Fusarium* は、クロタラリア栽培の間(Ⅱ～Ⅲ)に減少している場合が多くみられた。

トマトを2作栽培した跡地の土壌分析結果を第4表に示した。資材を多量施用したため、施用資材の特性がそのまま土壌に現われている。すなわち、pH が高く肥料成分の多い有機質資材(AC, OG)は、跡地土壌の pH やリン酸及び塩基含量が高く CEC も高い。また、嫌気性資材 CR は pH が高くなる傾向がみられた。このように資材により違いはあるが、全体に極度な過剰養分にはなっていない。

Ⅳ 総合考察

現在流通している微生物資材は数多く、全国土壌改良資材協議会の資料8)によれば67資材が紹介されている。しかし、一般に流通している資材はさらに多く、100以上の種類があると考えられる。微生物資材の効果は、①広範な意味をもつ地力を増進する効果をもつもの、②土壌病害を抑止する効果をもつもの、③堆肥化や土中の稲ワラ分解を促進するなどの有機物分解促進効果をもつもの、の3つに分類できるが、ここでは土壌病害を抑止する資材についての調査を行った。

供試した資材は7種類であるが、鉱物が主体のものや有機質が主体のものなど多様な資材を選定した。資材の特性は分析による方法もあるが、走査電子顕微鏡による微細形態観察が資材の特性や微生物の種類判定に有効な方法であることが明らかになった。しかし、病害抑止能力の検定はこの方法では不可能なため、微生物性の検定が必要である。

希釈平板法による一般微生物の調査では、これらの資材は全て放線菌を中心として微生物が添加されていることが明らかになった。しかし、トマト根腐萎ちょう病の原因菌である *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* に対して拮抗性を持つ微生物を含む資材は少なく、しかもそれらの資材の拮抗菌数はバーク堆肥より少なく、土壌よりやや多い程度であった。そのため、促成トマトを用いた栽培試験結果も病害の抑止性は弱く、安定して抑止したのは AC と SC の2資材だけであった。

Fusarium 菌と対峙培養した結果、No.3 寒天培地の使用により拮抗菌が検出されなかった資材 OG と CR は、栽培試験においても強い発病抑止性が認められなかったことから、No.3 寒天培地による対峙培養は、*Fusarium* 菌による病害抑止の簡易判定法として利用可能と考えられた。現在流通している微生物資材は種類が多く、土壌病原菌の種類も多いことから、適切な効果の得られる資材の選択のためには、この方法が使える可能性が示唆された。しかし、No.3 寒天培地による方法では *Bacillus* の効果のみが強調され、放線菌の効果の検定が困難である等の問題が残るため、異なる培地についての検討も必要であろう。

微生物資材の効果は、本試験においても農業のような強力な効果は期待できなかった。微生物資材による土壌病害抑止の体系的な試験としては全農の委託試験9)があるが、この試験では微生物資材の効果は不明という結論になっている。微生物資材による土壌病害抑止の成功例では、長野県の高橋ら7)の事例がある。その他の事例からみても成功している事例は、土壌消毒を行ったあとに微生物資材を使用している例や3年以上の長期間にわたって連用している例が多い。このことは資材の能力を過信せず、健全な土壌管理のもとで使用することが必要であることを示している。

Ⅴ 摘要

1. 数多く流通している微生物資材の中から土壌病害を抑止する可能性のある7資材について、資材の特性とトマト根腐萎ちょう病の発病抑止効果を検討した。供試した7種類の微生物資材は、無機質資材3資材、有機質資材2資材、嫌気性資材とキチン質資材各1種類であった。
2. 資材の性質は、走査電子顕微鏡による微細形態観察、理化学成分分析、微生物調査などについて検討した。走査電子顕微鏡による微細形態観察や微生物調査から、全ての資材で放線菌を中心とした微生物が添加されている

ことが明らかになった。また、理化学成分は有機質資材で多い傾向がみられた。

3. PDA 及び NA, No.3 寒天培地の3種類の培地による *Fusarium* 菌(トマト根腐萎ちょう病菌)との対峙培養結果、細菌用の No.3 寒天培地による培養により *Fusarium* 菌に対する拮抗菌が検出された。しかし、その菌数は少なく、パーク堆肥のほうが多くの拮抗菌が検出された。

4. 促成栽培トマトを温室内で2作栽培した結果、2種類の資材にトマト根腐萎ちょう病の発病抑止効果が得られたが、その効果はあまり大きくなかった。また、土壤微生物に及ぼす影響などから考えると、キチン質資材は土壤微生物相を変え、発病抑止に効果があると考えられた。

5. 以上の結果、拮抗微生物と栽培試験による発病との間には関連性が認められ、病害抑止簡易検定の可能性があること、微生物資材による病害抑止効果は小さいこと、などが明らかになった。

VI 引用文献

1. 土壤微生物研究会編. 1977. 土壤微生物実験法. 養

賢堂

2. 松尾卓見・駒田H・松田明. 1980. 作物のフザリウム病. 全国農村教育協会:207~208
3. 野口勝憲. 1992. 片倉チッカリン KK 筑波総合研究所特別研究報告
4. 農水省農産園芸局農産課編. 1979. 堆きゅう肥等有機物分析法
5. 農水省農産園芸局農産課編. 1979. 土壌・水質及び作物体分析法
6. Phae, C. G., Shouda, M. and Kubota, H.. 1990. Suppressive effect of *Bacillus subtilis* and its products on phytopathogenic microorganisms. J. Ferment. Bioeng.69:1~7
7. 高橋正輝ら. 1986~1989. 長野県野菜花き試験場環境部成績書
8. 全国土壌改良資材協議会編. 1990. 全国土壌改良資材協議会会員要覧
9. 全農肥料農薬部肥料技術普及課. 1989. 露地野菜の土壌病害に対する微生物関連資材の施用効果 委託試験成績

Summary

1) Many materials are commercialized for soil microbe improvement, generally termed "Microbe Improvement Material". Seven of these materials were selected according to their contents and were examined for chemical and microbial characteristics and inhibition of *Fusarium*. The materials selected were classified as those of inorganic materials (a total of 3), those consisting of organic materials (2) and those of anaerobic microbe materials and chitin materials (2).

2) The characteristics of these microbe improvement materials were examined by micromorphological observation with a scanning electron microscope (SEM), chemical analysis and microbiological observation. The micromorphological observation by the SEM and the microbiological observation showed that all microbe improvement materials added some kind of microbe, mainly actinomycetes. The chemical analysis showed that the chemical components in organic materials tend to be more than in other microbe improvement materials.

3) An extract of these microbe improvement materials were cultivated with *Fusarium* in PDA for fungi, NA for

bacteria and No. 3 agar culture medium for bacteria. The results showed that a comparative competitive inhibition of *Fusarium* appeared in the No.3 agar culture medium. However, the number of antagonist bacteria in bark compost was greater than those of these microbe improvement materials.

4) Tomatoes were cultivated for two successive years in a greenhouse for tests of suppression of crown and root rot. As a result, two microbe improvement materials showed a slight suppression of crown and root rot.

This result and changes in the microbes in the soil of the tomato plantings showed that chitin materials could inhibit crown and root rot.

5) From the above, it appears that there is a relationship between the number of antagonist bacteria and the diseases of tomatoes. Therefore, the cultivation of No.3 agar medium has the possibility of easily inhibiting *Fusarium*. In addition, it could also be seen that the microbe improvement materials did little to suppress tomato crown and root rot.