

# 作付履歴が暗所栽培した幼植物の自己溶解日数に及ぼす影響

誌名	北海道農業試験場研究報告 = Research bulletin of the Hokkaido National Agricultural Experiment Station
ISSN	03675955
著者	橋本, 知義
巻/号	164号
掲載ページ	p. 1-6
発行年月	1996年12月

## 作付履歴が暗所栽培した幼植物の自己溶解日数に及ぼす影響

橋本 知義<sup>1)</sup>

### I 緒 言

農薬や化学肥料を多用する農業技術への反省から、有機物施用による地力の活性化等の環境調和型農業技術の開発が強く求められている。このとき、作物を栽培する土壌の生物性を適切に評価することは、地力窒素の効率的利用等を図る技術開発に欠かせないものである。これまでも、土壌酵素活性を基にした土壌の生物性診断技術が提案されている(東田1995)。

新田(1989)は、作物根圏の糸状菌相を対象にした多様性指数を用いて生物性を評価している。この多様性指数は、輪作土壌と連作土壌の生物相の違いや有機質資材の施用による土壌生物相の健全化を総合的に判定する診断指標として有望である。しかし、単離した糸状菌の同定を必要とすることから多大な時間と専門の同定技術が求められる。

一方、久保田・鈴木(1974)は、陸稲とテンサイ圃場の連作土壌と非連作土壌を用いた暗所栽培法における自己溶解日数から障害要因を簡易に判定することを試み、土壌連作障害要因として糸状菌や線虫の関与を指摘している。この手法は簡易な診断技術として一定の可能性はあるが、久保田らは土壌の生物相を直接解析していないので、幼植物の自己溶解日数と土壌微生物相との関係について基礎データを蓄積することが必要である。本報告では、診断技術の実用化に向けて、検定植物の選定や土壌試料の採取時期について検討し、北海道道東地帯における基幹畑作物及び露地野菜の連輪作栽培土壌の生物性の違いと自己溶解日数との関係を調べたので報告する。

### II 試験方法

#### 1. 供試土壌

北海道農業試験場畑作研究センター試験圃場(褐色火山性土)の基幹畑作物長期連輪作圃場(MATSUZAKIら1993)及びブロッコリー栽培圃場について、作付期間は株間表層20cmから、収穫後は表層20cmから土壌試料を採取した。土壌試料はれきや粗大有機物等を取り除いた後、低温室(4℃)に保存し、適時実験に供した。

#### 2. 暗所栽培法

乾土あたり60%に水分を調整した供試土壌20gを滅菌大型試験管に入れ、次亜塩素酸ナトリウム溶液で表面殺菌した検定植物の種子2粒を播種した。27℃暗条件で栽培し、出芽した幼植物の生育を2~3日毎に観察し、正常、枯死や溶解等の異常(微)、同異常(激)の3段階に分けて記録した。異常(激)になるまでに要した日数を自己溶解日数とした。検定植物は、アズキ「宝小豆」、コマツナ「丸葉小松菜」、そしてブロッコリー「緑嶺」を用いた。20~40反復の結果を統計解析した。

#### 3. 微生物計数法

土壌中の細菌数は、100倍に希釈した肉汁培地を用いて、コロニー形成曲線解析法(橋本1992)により増殖の速い菌群と遅い菌群に分けて計数した。蛍光性シュードモナス数は、P-1培地(KATO & ITOH 1983)を用いて計数した。糸状菌孢子数は、ローズベンガル培地(MARTIN 1950)を用いて計数した。原生動物数は、マイクロプレートを用いたMPN法により計数した(ELLIOTT & COLEMAN 1977)。いずれも20℃で培養した。結果は3反復の平均値で示した。

#### 4. 無機態窒素定量法

土壌中の無機態窒素は、供試土壌5g湿土から50

平成7年7月26日原稿受理

1) 所属 旧:畑作研究センター環境制御研究チーム、現:農産園芸局農産課土壌保全班

mlの2N-KClで抽出し、竹迫の方法(1991a, b)で定量した。結果は3反復の平均値で示した。

### 5. 試験設計

#### 1) 検定植物の選定

久保田・鈴木(1974)は、陸稲及びテンサイの連輪作土壌を対象にそれぞれ陸稲、テンサイの種子を用いて暗所栽培を実施しているが、この検定植物の選択に関して根拠が示されていない。そこでまず、暗所栽培法における検定植物を検討した。アズキを10年間連作した長期連作圃場と輪作圃場から採取した土壌試料を用いて、アズキとコマツナを検定植物とした暗所栽培法を実施した。

#### 2) 自己溶解日数に及ぼす長期連作作物の影響

アズキ、コムギ、そしてテンサイを11年間連作した長期連作圃場と輪作圃場から収穫後(10月31日)に採取した土壌試料を用いて、コマツナを検定植物とした暗所栽培を実施した。

#### 3) 自己溶解日数に及ぼす土壌採取時期の影響

アズキを11年間連作した長期連作圃場と輪作圃場から、播種直後(5月31日)、開花期(7月23日)、そして収穫期(9月27日)に採取した土壌試料を用いて、コマツナを検定植物とした暗所栽培を実施した。

#### 4) 自己溶解日数及び土壌微生物相に及ぼす土壌消毒の影響

テンサイを14年間連作した長期連作圃場と、その連作圃場に過去2年間収穫後秋にクロロピクリンによる土壌消毒処理をした消毒圃場から、生育中期(8月28日)に採取した土壌試料を用いて、コマツナを検定植物とした暗所栽培を実施し、微生物相を調査した。

#### 5) 自己溶解日数及び土壌微生物相に及ぼすブロッコリー連作の影響

栽培初年度移植期(5月13日)、及び連作3年目収穫期(8月4日)に採取した土壌試料を用いて、ブロッコリーを検定植物とした暗所栽培を実施した。また、初年度移植期及び3年目移植期(5月18日)に採取した土壌試料を用いて、微生物相を調査した。

## Ⅲ 結 果

### 1. 検定植物の選定

いずれの植物を用いても、連作試料の自己溶解日数は輪作試料よりも短くなる傾向があったが、アズ

キを検定植物とした場合には土壌試料間に有意差がなく、コマツナを用いると5%の危険率で有意差が認められた(第1表)。

第1表 検定種子の違いが自己溶解日数に及ぼす影響

	アズキ	コマツナ
輪作	11.6	13.9b <sup>1)</sup>
連作 <sup>2)</sup>	11.1	10.4a

1) aとbの表示は、輪作区と連作区間に有意差があることを示す。

2) アズキ10年連作

### 2. 自己溶解日数に及ぼす長期連作作物の影響

アズキとコムギの連作と輪作との間には自己溶解日数に有意差が認められなかったが、テンサイでは連作により有意に減少した(第2表)。

第2表 作物種が収穫後土壌のコマツナ自己溶解日数に及ぼす影響

	アズキ	コムギ	テンサイ
輪作区	15.4	15.6	16.9b <sup>1)</sup>
連作区 <sup>2)</sup>	15.8	15.7	15.6a

1) aとbの表示は、輪作区と連作区間に有意差があることを示す。

2) いずれの作物も11年連作

### 3. 自己溶解日数に及ぼす土壌採取時期の影響

播種直後あるいは収穫期に採取した土壌を用いた場合には輪作区と連作区との間に自己溶解日数の有意差が認められなかったが、開花期の場合には連作区で有意に減少した(第3表)。

第3表 アズキ栽培土壌試料の採取時期がコマツナの自己溶解日数に及ぼす影響

	播種直後 5月31日	開花期 7月23日	収穫期 9月27日
輪作区	14.0	15.2b <sup>1)</sup>	14.6
連作区 <sup>2)</sup>	13.9	10.5a	14.7

1) aとbの表示は、輪作区と連作区間に有意差があることを示す。

2) アズキ11年連作

#### 4. 自己溶解日数及び土壌微生物相に及ぼす土壌消毒の影響

土壌消毒により細菌数や糸状菌数、硝酸態窒素等が有意に減少した(第4表)。このとき、自己溶解日数は有意に増加した。

第4表 土壌消毒がテンサイ栽培土壌中の微生物相に及ぼす影響

	連作区 <sup>2)</sup>	消毒区
コマツナ自己溶解平均日数	10.0a	14.3b <sup>1)</sup>
無機態窒素[mg(NH <sub>4</sub> -N)/kg乾土]	4.0	4.3
無機態窒素[mg(NO <sub>3</sub> -N)/kg乾土]	10.7b	5.9a
全細菌数[10 <sup>7</sup> /g乾土]	8.2b	3.1a
増殖の速い細菌数[10 <sup>7</sup> /g乾土]	6.3b	1.5a
増殖の遅い細菌数[10 <sup>7</sup> /g乾土]	1.9b	1.6a
蛍光性シュードモナス数[10 <sup>4</sup> /g乾土]	36.9	4.8
糸状菌胞子数[10 <sup>6</sup> /g乾土]	1.0b	0.2a
全原生動物数[10 <sup>6</sup> /g乾土]	11.9	11.8
鞭毛虫類数[10 <sup>5</sup> /g乾土]	1.0	0.5
繊毛虫類数[10 <sup>5</sup> /g乾土]	11.4	10.3

1) aとbの表示は、連作区と消毒区間に有意差があることを示す。

2) テンサイ11年連作

#### 5. 自己溶解日数及び土壌微生物相に及ぼすブロッコリー連作の影響

ブロッコリーの3年間連作により自己溶解日数が有意に減少した(第5表)。移植期に土壌中の微生物相を調査したところ、連作により、細菌数、糸状菌数、原生動物数が有意に増加した(第6表)。

第5表 ブロッコリーの連作がブロッコリー自己溶解日数に及ぼす影響

	初年移植期 5月13日	3年目収穫期 8月4日
初作	16.3	17.5b <sup>1)</sup>
連作 <sup>2)</sup>		14.7a

1) aとbの表示は、初作区と連作区間に有意差があることを示す。

2) ブロッコリー3年連作

第6表 ブロッコリー栽培土壌中の微生物相

	初年移植期 5月13日		3年目移植期 5月18日	
	初作	初作	連作 <sup>2)</sup>	
全細菌数[10 <sup>7</sup> /g乾土]	7.2	3.0a	4.1b <sup>1)</sup>	
増殖の速い細菌数[10 <sup>7</sup> /g乾土]	4.4	1.4a	1.8b	
増殖の遅い細菌数[10 <sup>7</sup> /g乾土]	2.7	1.6a	2.3b	
蛍光性シュードモナス数[10 <sup>4</sup> /g乾土]		4.9	12.4	
糸状菌胞子数[10 <sup>6</sup> /g乾土]		1.5a	3.3b	
全原生動物数[10 <sup>6</sup> /g乾土]		7.2a	13.3b	
鞭毛虫類数[10 <sup>5</sup> /g乾土]		4.2	4.7	
繊毛虫類数[10 <sup>5</sup> /g乾土]		3.5	4.2	
無機態窒素[mg(NH <sub>4</sub> -N)/kg乾土]		115	241	
無機態窒素[mg(NO <sub>3</sub> -N)/kg乾土]		3a	16b	

1) aとbの表示は、初作区と連作区間に有意差があることを示す。

2) ブロッコリー3年連作

## IV 考 察

アズキを検定植物とした場合には、アズキ栽培土壌の作付履歴の違いを自己溶解日数の差として検出できなかった(第1表)。暗所栽培では光合成が阻害されるために、初期生育は種子の貯蔵物質量に大きく依存する(鈴木・久保田 1971)。コマツナは、アズキに比べ発芽後早い時期に貯蔵栄養物が枯渇すると推定される。これによりコマツナ根への微生物群の感染が促され、自己溶解日数の有意差を生じたと思われる。そこで、本論文ではコマツナやブロッコリー等の種子の小さい植物を検定に用いることにした。

連作初期に甚大な被害を出した土壌病害が連作の継続により軽減、消滅するデクライン現象が知られている(本間 1984)。長期連作試験について連作10年目までの収量年次変動を調査したところ、アズキとテンサイ栽培圃場では連作により病害が発生し、収量も減少したが、コムギ栽培圃場では相対収量の回復傾向が見られ(MATSUZAKIら1993)、立枯病のデクライン現象が生じたと推定される。しかしこれまで、デクライン現象の発生を簡易に推定する手法は確立していない。アズキ、コムギ、テンサイ長期連作圃場から収穫後に採取した土壌を用いて自己溶解日数を調査した結果では(第2表)、コムギだけでなく、アズキについても有意差が認められず、暗所栽培法によるデクラインの発生推定は難しいことが明

らかになった。

久保田・鈴木 (1974) は、暗所栽培による自己溶解が糸状菌や線虫の寄生によると考察している。ブロッコリーやテンサイ栽培土壌の実験結果から、自己溶解日数が有意に減少した場合、いずれも糸状菌に限らず土壌生物相全般が有意に増加する傾向が認められた(第4, 6表)。根圏の細菌数は播種後開花期にかけて増加し、収穫期には減少する傾向がある。またテンサイ栽培土壌の微生物数は他の作物栽培土壌よりも多くなる傾向がある(橋本ら 1991)。これは、開花期に採取したアズキ連作土壌と輪作土壌の自己溶解日数に有意差が認められたが播種直後や収穫期には有意差が認められなかったこと(第3表)、テンサイ収穫後土壌で連作による自己溶解日数の減少を有意に検出できたこと(第2表)を微生物相との関係から説明できる。根圏細菌相は根の生育に伴い変化する(DELEIJら 1993)。すなわち、若い根圏には増殖の速い細菌群が優先し、時間が経つにつれ、増殖の遅い細菌群へと変化する傾向がある。また、コムギ連作土壌では、輪作土壌に比べ増殖の速い細菌群が増加する傾向がある(橋本ら 1991)。以上の結果は、連作土壌を供試した暗所栽培の幼植物根圏では、細菌群、特に増殖の速いグループの関与を無視できないことを示唆している。

今後は、各作物の連輪作栽培土壌について、増殖の速い細菌群等の各種微生物相を解析し、自己溶解日数に影響する微生物群を特定することが必要である。

## V 摘 要

検定植物の暗所栽培による自己溶解日数を指標として、作付履歴の異なる土壌の生物相の違いを検出することを試みた。土壌水分を調整した供試土壌に検定植物の滅菌種子を播種した後に27°Cで暗所栽培し、肉眼により自己溶解を経時的に観察した20~40反復の結果の平均値を自己溶解日数とした。アズキ長期連作圃場と輪作圃場を対象にアズキとコマツナを検定植物として自己溶解日数を比較調査したところ、コマツナを利用した場合に作付履歴の違いを有意に検出することができた。土壌試料の採取時期としては、アズキ播種期及び収穫期には両区の違いが認められなかったが、開花期には連作区で有意に減少した。土壌消毒処理をしたテンサイ栽培圃場と14年

間連作圃場から生育期に採取した土壌試料を用いて自己溶解日数と微生物相を調査すると、消毒処理により微生物相は有意に減少し、コマツナ自己溶解日数は有意に増加した。ブロッコリー栽培土壌の生物数は3年連作により有意に増加し、自己溶解日数は有意に減少した。以上の結果から、種子の小さいコマツナ等を検定植物として、作物生育期の土壌試料を用いた暗所栽培により、自己溶解日数を指標として作付履歴の異なる土壌の微生物相の違いを簡易に推定する可能性が示唆された。

## VI 謝 辞

本報告は特別研究「根圏環境」で開始した研究の成果であり、その機会を与えてくださった昆忠男前北方研究官と新田恒雄土壌微生物研究室長に感謝します。また、論文校閲の上、適切な助言をいただいた吉田英雄畑作研究センター長及び本間善久環境制御研究チーム長に謝意を表します。

## 引用文献

- 1) DE LEIJ, F. A. A. M., J. M. WHIPPS and J. M. LYNCH. (1993). The use of colony development for the characterization of bacterial communities in soil and on roots. *Microbial Ecol.* **27**: 81-97.
- 2) ELLIOTT E. T. and COLEMAN D. C. (1977) Soil protozoan dynamics in a shortgrass prairie. *Soil Biol. Biochem.* **9**, 113-118.
- 3) 橋本知義, 松崎守夫, 豊田政一 (1991) 各種土壌処理が畑土壌細菌群に及ぼす影響—コロニー形成曲線による解析—日本微生物生態学会講演要旨集 **7**, 88.
- 4) 橋本知義 (1992) コロニー形成過程の解析 土壌微生物研究会編 新編土壌微生物実験法 pp. 41-45. 養賢堂 東京
- 5) 東田修司 (1995) 微生物活性の診断に向けて 土と微生物 **45**, 70-71.
- 6) 本間善久 (1984) *Gaeumannomyces* (コムギ立枯病菌) 宇井格生監修 北海道畑作物の土壌病害 pp. 117-126. 北海道畑作物の土壌病害刊行会 北海道
- 7) KATO H. & ITOH K. (1983) New selective

- media for *Pseudomonas* strains producing fluorescent pigment. *Soil Sci. Plant Nutr.* **29**, 525-532.
- 8) 久保田勝, 鈴木達彦 (1974) 畑水稻の連作障害に関する研究 第3報 連作障害要因の判定法について 新潟県農業試験場研究報告 **23**, 37-49.
- 9) MARTIN J. P.(1950) Use of acid, rose bengal and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. *Soil Science* **69**, 215-232.
- 10) MATSUZAKI M., NITTA T., HASHIMOTO T., TOYODA M. (1993) Effect of continuous cropping on yield of field crops. *Proceedings of Crop Production and Improvement Technology in Asia* (1993) 17-25.
- 11) 新田恒雄 (1989) 有機物施用による微生物的地力の増進 農業および園芸 **64**, 235-239.
- 12) 鈴木達彦, 久保田勝 (1971) 暗所栽培による連作障害の判定法 土肥誌 **42**, 126-127.
- 13) 竹迫紘 (1991a) フローインジェクション分析法による土壌抽出液のアンモニア態窒素の定量法 土肥誌 **62**, 28-134.
- 14) 竹迫紘 (1991b) フローインジェクション分析法による土壌抽出液の硝酸態窒素の定量法 土肥誌 **62**, 135-140.

## Effect of Continuous Cropping on Autolysis Period of Darkness Seedling Test

Tomoyoshi HASHIMOTO

### Summary

To distinguish a microbial flora between continuous cropping soils and rotary cropping soils, an autolysis period of a darkness seedling test was examined. Soil water content was adjusted to 60%. Two surface-sterilized seeds were planted to 20 gram moist soil in sterilized test tubes. The tubes were incubated at 27 degree in darkness. Autolysis of seedling was checked at suitable time intervals. The average autolysis period was calculated from 20 to 40 replicates. *Brassica campestris* L. var. *perviridis* (Komatsuna; a kind of Chinese Cabbage) or *Brassica oleracea* L. var. *italica* Plenck (Broccoli) was used for the darkness seedling test. Eleven-

year continuous cropping of adzuki bean resulted in a significant shortage of the autolysis period of a soil sample collected on August, but neither those on May nor on October. Soil fumigation significantly decreased microbial population and elongated the autolysis period in a sugar-beet continuous cropping soil. Three-year continuous cropping of Broccoli resulted in shortening significantly the autolysis period and increasing in bacterial, fungal and protozoan populations. Above results suggest that an autolysis period of the darkness seedling test may be helpful to develop a biological soil test.