土壌の熱処理時における土壌温度の実態と処理効果¹⁾

高木 康至*・草刈 真一**・金関 四郎*

大阪府立大学農学部農業気象環境学研究室*

大阪府立大学農学部植物病理学研究室**

ワグナーポット (1/5000 a) に満たした土壌をオートクレーブにより、115°C で加熱処理したときの土壌温度の実態と、熱処理による滅菌効果を調べた。熱はポットの外部から中心部に向けて伝導し、中央部の土壌温度は100分間の継続処理により100°C に到達した。また、ポット中央部の土壌温度が約70°C 以下の時点でオートクレーブ処理を停止した場合、ポット中央部の土壌温度は引き続き上昇するが、ポット中央部の土壌温度が100°C 以上の時点で加熱を停止すると、中央部の土壌温度はほとんど上昇せず徐々に下降する。ポット中央部土壌中の糸状菌は30分間の処理で、タバコモザイクウイルスは60分間の処理で、またバクテリアは132分間の処理でそれぞれ死滅した。

(昭和47年8月15日受付)

緒 言

土壌の滅菌処理は、土壌微生物の研究はもとより、土壌伝染性病害の防除という農業上の実際面からも重要である。土壌の滅菌法には、薬剤処理、熱処理、放射線処理などが知られている⁽¹⁾が、薬剤による方法では残留毒性と薬害の問題が未解決であり、放射線による方法ではその性質上おのずから利用に制約がある。そこで筆者らは、オートクレーブによる熱処理に注目し、より効果的な処理を行なうための基礎的な問題を検討中であり、その結果の一部は先に報告した⁽²⁾。

オートクレーブによる土壌の熱処理は、乾熱、火炎など他の熱処理方法に比べ土壌への作用が温和であるといわれるが、オートクレーブ処理の植生への悪影響を指摘した報告⁽⁴⁾もある。したがって農業上の実用的見地からは、土壌の理化学的性質の変化を防ぐため、熱処理時間を必要最少限にとどめることが望ましい。一方、土壌微生物の研究においては、自然土壌と対比するために、完

全に微生物フリーな土壌がしばしば要求される。したがって、このような種々の条件を満たすことのできる熱処理土壌を得るためには、オートクレーブ処理途中における土壌温度のさらに詳しい実態と処理効果を調査し、適切な熱処理方法を確立しなければならない。

今回は、土壌を満たしたポットをオートクレーブにより処理したときの土壌中での熱の移動、ならびに処理時間を変えたときの土壌温度変化の実態とその場合の処理効果について報告する。

実 験 方 法

オートクレーブ、ワグナーポット (1/5000 a) および土壌は既報⁽²⁾と同一のものを供試し、土壌温度の測定も既報⁽²⁾と同じ方法によった。ただし、今回の実験ではオートクレーブ内蒸気の最高温度を115°C (1.5 atm) とした。

土壌中の熱移動：土壌を満たしたポット (飽水状態にしたのち、ポット下部から自然脱水した状態のもの) 内の11点 (Fig. 1 の×印) に銅・コンスタンタン熱電対の感部を設け、オートクレーブ内の蒸気温度が100°C に達したときにポットをオートクレーブ内に設置し、以降11点の温度を電圧計を用いて測定した。

熱処理時間を変えた場合の土壌温度特性および処理効果：土壌を満たしたポット (前述と同じ状態のもの) の熱処理時間を、オートクレーブ内の蒸気温度が所定の115°C に達してから10分、30分、60分、120分および

¹⁾ Yasushi TAKAGI*, Shin-ichi KUSAKARI** and Shiro KANESEKI*: Temperature of Soil during Steam Treatment and Effect of the Treatment on Soil Microorganisms.

* Laboratory of Agrometeorology.

** Laboratory of Plant Pathology, College of Agriculture, University of Osaka Prefecture, Sakai, Osaka

Fig. 1 Vertical section of used pot (1/5000 a).
×: stations for measurement of temperature.

土壌中央部の温度がオートクレーブ内の蒸気温度に近接するまでの5段階に調節し、これらポット中央部の土壌温度変化の実態を調べた。また、このときの熱処理効果を調べるため、処理を停止してから約12時間後、すなわち土壌温度が降下してほぼ室温に等しくなる時点で、ポット中央部の土壌各 10 g を無菌的に採取し、希釈平板法⁽¹⁰⁾により土壌微生物の生存を調べ、同時に、あらかじめポット中央部に埋没したタバコモザイクウイルス (TMV) に感染したタバコ (*Nicotiana tabacum* L. var. Xanthi) の葉組織 200 mg を回収して TMV の活性を調べた。土壌微生物検定のための希釈平板用培地は Thornton medium, Martin medium の2種で、微生物コロニーの計測は 28°C で4日間培養した後に行なった。TMV の活性は、回収した葉組織に 1 ml の 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) を加えて磨砕して、これを *N. tabacum* L. var. Xanthi-nc の葉にカーボランダム塗抹接種し、ここに形成される局部病斑数を計測することにより調べた。

実験結果

土壌中の熱移動

Fig. 1 に示したポット内土壌中の 11 点での温度の測定値から、各点の土壌温度が 100°C に達するまでに要する時間を求めることができる。Fig. 2 は熱処理開始後それぞれ 40 分、80 分、95 分、100 分後における 100°C の等温線を、ポットの縦断面について描いたものであるが、図のように熱はほぼ同心円状等温線を描いてポット周辺

Fig. 2 Diagram of the diffusion of heat through soil, showing 100°C isotherms at various periods of time after beginning of steam treatment.

部から中心部に向かって伝導される。加熱初期には、直接 115°C の蒸気に接する土壌上層部のほうが下層部よりも早く昇温する。しかし、40 分を過ぎると逆にポット下層部のほうが上層部より早く昇温する。これは、下層部土壌の含水量が上層部より大であることが考えられるので、下層部の熱伝導が良好であることによるものであろう。また、ポット中央部の土壌中の温度が 100°C に達するまでには 100 分を要することがわかる。

さらに、ポット土壌表面の中央部からポット中心部の深さ 9 cm までの土壌温度の垂直分布の経時変化を見るために、処理開始後 10 分から 130 分まで 10 分間隔で描いた分布曲線を Fig. 3 に示す。図で明らかなように、土壌表面とポット中心部間の温度傾度は、加熱開始後急速に減少し 130 分後にはほとんど等温状態、すなわち土壌各部の温度は 115°C の蒸気温度に接近する。

熱処理時間を変えた場合の土壌温度特性および処理効果

オートクレーブ内蒸気温度が 115°C に達してから 5 種の異なった熱処理時間後にオートクレーブの加熱を停止し、ポットをオートクレーブ外に取り出した場合の、ポット中央部深さ 9 cm の土壌温度の測定結果が Fig. 4 である。図に見られる通り、ポット中央部の土壌温度が 70°C 以下の時点でオートクレーブの加熱を停止しポットをオートクレーブ外にとり出した場合、土壌温度は引き続き上昇を続け、加熱停止時の温度より 24~38°C 高くなる (Fig. 4, A, B, C)。これに対し、土壌中の温度が 100°C を越えたのちにオートクレーブの加熱を停止

Fig. 3 Temperature gradient in soil at various periods of time after beginning of steam treatment.

した場合には、土壤温度はそれ以上上昇しない (Fig. 4, D, E). このような差異は Fig. 3 から定性的に理解することができよう。

一方、これら熱処理時間を異にするポットについて、中央部土壤中の土壤微生物の生存を希釈平板法により調べた結果は、Table 1 および Fig. 5 に示す通りである。糸状菌は蒸気温度が 115°C に達してから 30 分間の処理 (最高温度 80.0°C) で死滅し、バクテリアは処理時間が長くなるにつれて減少し、132 分間の処理最高温度 (112.5°C) でほぼ完全に死滅する。また、土壤中にあらかじめ埋没した MTV を回収し、その活性を生物検定で調べた結果は Table 2 および Fig. 5 に示す通りで、蒸気温度が 115°C に達してから 60 分間の処理 (最高温度 95.3°C) で TMV は失活する。これは一般にいわれている TMV の不活化条件 88~93°C 10分⁽⁶⁾に合致する。

Table 1 Effect of steam treatment on soil microorganisms.

Time of treatment with steam	Maximum temperature in soil (°C)	Number of soil microorganisms* ($\times 10^4/\text{g}$)	
		Bacteria	Fungi
10 min	67.0	382.3	7.7
30 min	80.0	264.0	0
60 min	95.3	458.0	0
120 min	108.8	45.0	0
132 min	112.5	0	0

* Number of soil microorganisms was measured with dilution plate method.

考 察

土壤の諸性質になるべく変化を与えることなく、土壤

Table 2 Recovery of infectious tobacco mosaic virus from soil treated with steam for various periods of time.

Time of treatment with steam	Maximum temperature in soil (°C)	Number of local lesions*		Recovery (%)
		Treated	Control	
10 min	67.0	704	732	96.2
30 min	80.0	354	421	84.1
60 min	95.3	0	613	0
120 min	108.8	0	587	0

* Total number of lesions produced on 3 half-leaves of *Nicotiana tabacum* L. Xanthi-nc.

中の微生物を制御することは、研究上はもとより、農業技術上の強い要請である。クロールピクリン、メチルプロマイドなどのくん蒸剤やその他薬剤による処理は、残留毒性および薬害の問題があり、ガンマ線による放射線処理^(3,9)は多くのすぐれた点を備えているが、実際の農業への利用にはなおいくつかの制約がある。したがって現時点では、蒸気による熱処理がなお有効な方法の一つであり、土壤微生物の研究に用いる滅菌土壤の調整もオートクレーブを用いた高圧蒸気処理によることが多い。BAKER⁽²⁾は特別な蒸気噴射装置を試作し圃場での実用化を目指しているが、既製のオートクレーブでもかなりの量の土壤処理が可能であり、これで熱処理した土壤を、近年急速に普及してきた小規模な施設園芸あるいは育苗用の土壤として実際の農業に利用することも不可能ではない。しかしながら、オートクレーブ処理した土壤のマンガン過剰⁽⁴⁾、土壤含水量の減少⁽⁵⁾、可給態成分の増加⁽⁷⁾など、理化学的性質の変化が知られており、必要以上の長時間処理は極力避けなければならない。そのためには、オートクレーブ処理途上における土壤温度変化の

Fig. 4 Soil temperature at the center of pot (1/5000 a) during various steam treatment. Soil in pot was treated with steam (115°C) for 10 min (A), 30 min (B), 60 min (C), 120 min (D) and 132 min (E).
i: heater off, ii: opened valve, iii: took out pot.

Fig. 5 Effect of steam treatment of soil at various periods of time on soil microorganisms and infectivity of tobacco mosaic virus (Bacteria-1, Fungi-2, Virus-3). Soil in pot was treated with steam (115°C) for 10 min (a), 30 min (b), 60 min (c), 120 min (d) and 132 min (e). Virus infectivity was assayed by halh-leaf method: right-half of leaves were inoculated with untreated sample for a control.

実態とその処理効果を詳しく調査する必要がある。

土壌を満たしたワグナーポット (1/5000 a) を蒸気温度 115°C に調整したオートクレーブで処理したときの土壌中での熱の移動は、Fig. 2 に示した通りほぼ同心円状の等温線を描いて外部から中心部に向い、中心部の土壌温度が 100°C に達するまでに約 100 分を要する。この図に見られる通り、土壌の上層と下層とで熱の伝導速度が若干異なるが、これは土壌の含水状態および容器の性質に起因するものと考えられる。したがって、これらの点もある程度考慮する必要がある。また、ポットでの処理では、土壌温度が中心部ほど長時間低温であるため、ポット中心部の土壌に着目すると、周辺部の土壌は処理過剰になりかねない。土壌全体を完全に同じ条件で処理するには、ポットは不適当であり、土壌を薄い層にするなど特別な工夫が必要となろう。

ポット内土壌の中央部の温度が 70°C 以下のときにオ

ートクレーブ処理を停止した場合、土壌温度は停止時より高くなる。しかし、ポット中央部の土壌温度が 100°C 以上になった後に処理を停止しても土壌中の温度は停止時より高くない。これは土壌の深さによる温度傾度 (Fig. 3) と関係するものと思われる。したがってポット内の土壌をオートクレーブ処理するときには、場合によっては処理終了後の温度上昇も考慮する必要がある。

オートクレーブ処理を中断することにより処理時間を変えた場合の処理効果を糸状菌、バクテリアの分離とウイルスの回収をもとにして調査した。糸状菌はオートクレーブ内の蒸気温度が 115°C に達してから 30 分間の処理で死滅するが、バクテリアを死滅させるには 132 分間またはそれ以上の処理が必要である。また、土壌中に埋没した TMV は 60 分間の処理で不活化される。このようにワグナーポット (1/5000 a) で土壌を処理する場合でも、特定の土壌微生物のみをある程度選択的に除く

ことが可能である。土壌を薄い層にするなど適当な工夫をすれば、さらに厳密な選択的処理が可能であろう。

また、土壌微生物の研究に用いる完全な殺菌土壌の調整には、ワグナーポット (1/5000 a) を用いると、蒸気温度 115°C で 132 分間またはそれ以上の処理が必要である。したがって、これ以上の容量のポットで殺菌土壌を調整するとなれば、さらに長い時間の処理が必要となるであろう。直径 30 cm のポットで 25 psi (115°C) 120 分間の処理で調整した土壌を、殺菌土壌として土壌微生物の研究に供している例⁽¹⁾もあるが、本実験の結果から考えると、これが殺菌土壌といえるか否か疑問である。このように殺菌土壌として土壌微生物の研究に供試する場合には、あらかじめ処理条件を確立することが望ましいが、少なくとも供試前に微生物の存否を調査しておくことが必要である。

以上述べた点に留意すれば、オートクレーブによる土壌の熱処理の欠点がある程度補うことができ、植生への悪影響も軽減されるものと思われるが、植生への影響については後日検討する予定である。

文 献

- 1) ALICBUSAN, R. V., ICHITANI, T. and TAKAHASHI, M. 1965 Ecology and taxonomic studies on *Pythium* as pathogenic soil fungi. Bull. Univ. Osaka Pref., Ser. B, **16**: 59-64.
- 2) BAKER, K. F. 1962 Principles of heat treatment of soil and planting material. J. Australian Inst. Agr. Sci. **28**: 118-126.
- 3) BOWEN, H. J. M. and CAWSE, P. A. 1964 Effects of ionizing radiation on soils and subsequent crop growth. Soil Sic. **97**: 252-259.
- 4) BOYD, H. W. 1971 Manganse toxicity to peanuts in autoclaved soil. Plant Soil. **35**: 133-134.
- 5) ENO, C. F. and POPENOE, H. 1964 Gamma radiation compared with steam and methyl bromide as a soil sterilizing agent. Soil. Sci. Soc. Amer. Proc. **28**: 533-535.
- 6) 日高醇 1960 タバコモザイク病. 「植物ウイルス病」 321-325 頁, 朝倉書店, 東京.
- 7) 小島懋・堀土郎・虎谷博一・藤本弘 1972 ガンマ線照射した土壌に関する研究 (その 1) 可溶性成分について. 土肥学会講演要旨集, 18, Part 1: 18.
- 8) 高木康至・草刈真一・金関四郎 1972 土壌の熱処理時における土壌温度の実態. 生物環境調節 **10**: 118-121.
- 9) 天正清 1972 土壌-植物系の研究における放射線照射土壌の利用. Radioisotopes **21**: 374-382.
- 10) TUIITE, J. 1969 Methods of isolation. In "Plant Pathological Methods," Burgess Publishing Co., Minnesota, pp. 97-99.

Summary

The mode of diffusion of heat in soil in pot (1/5000 a) during steam treatment by autoclave at 115°C was investigated. In addition, the soil temperature at the center of pot during steam treatment for various periods of time was measured and the effect of these various treatments on soil microorganisms was investigated.

1) Heat diffused innerward in soil drowing nearly cocentric circle, then the soil temperature at the center of pot reached 100°C after continuous steam treatment for 100 min.

2) Soil temperature kept on rising continuously in some degree after stopping steam treatment at the time soil temperature was still below 100°C.

3) Fungi, virus and bacteria in soil at the center of pot were killed by steam treatment for 30 minutes, 60 min and 132 min respectively.

(Received August 15, 1972)