浄水ケーキに混入する *Pythium aphanidermatum* の発酵熱による殺菌

大志万浩一^{1*}・東條 元昭²・佐藤 裕隆¹・角田 真一¹・小堀 英和¹

ABSTRACT

OSHIMAN, K.^{1*}, TOJO, M.², SATO, H.¹, KAKUTA, S.¹ and KOBORI, H.¹ (2000). Elimination of *Pythium aphanidermatum* in water clarifier sludge by heat generated during composting of the sludge. Jpn. J. Phytopathol. 66: 205-213.

Pythium aphanidermatum in sludge from a drinking-water plant was eliminated by heat generated during composting of the sludge for horticultural use. The minimum level of heat treatment to eliminate *P. aphanidermatum* in the sludge in a laboratory incubator was 45°C for 7 days. Fifty m³ of the sludge in a 2.5-m high pile was mixed with a shovel loader at 3-week intervals for field tests. Inoculum of *P. aphanidermatum* encapsulated in a nylon screen and buried in the pile was eliminated if temperature exceeded 44°C for more than 7 days. *P. aphanidermatum* in naturally infested sludge was not detected 3 months after composting. Although the fungus was occasionally not eliminated because of low temperature in the sludge caused by rainfall and air temperature, covering the sludge pile with a plastic sheet maintained a high temperature in the pile. Incorporating of bark compost into the sludge (1 : 2, v/v) also maintained a high temperature in the pile.

(Received February 25, 2000; Accepted April 24, 2000)

Key words: composting, damping off, drinking-water plant, *Pythium aphanidermatum*, thermal death, sludge.

緒 言

浄水場では、河川から取水した水を上水に精製する過程で硫酸アルミニウムやポリ塩化アルミニウム等を添加して水中の土壌粒子などを沈降させ、スラッジと呼ばれる沈殿物が大量に発生する。スラッジは脱水処理されて浄水ケーキと呼ばれる固形物となる¹⁵⁾。浄水ケーキは、従来、産業廃棄物として処理されることが多かったが、藻類や細菌などの微生物由来の有機物と粘土粒子を主成分とし、窒素分に富み、保肥力、保水性、排水性に優れることから、近年、園芸用培土として利用されている²¹⁾。浄水ケーキの園芸用培土としての適性を、その化学性や物理性から調べた例は多いが^{2, 14, 15, 27)}、植物病原菌の混入とその対策についての報告はこれまでにない。著者らは、東京近郊の浄水場から排出された直後の浄水ケーキ中に、キュウリ等に苗立枯れを起こす *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp. が、低密度で混入していることを明らかにした²⁴⁾。浄水ケーキ

を園芸用培土として用いるためには、このような病原菌を完全に殺菌する必要がある。ここでは、浄水ケーキを大量に堆積させると発酵し発熱することを利用し、浄水ケーキ中の *P. aphanidermatum* を殺菌するための堆積発酵の温度条件を調べ、殺菌効果を高めるための方法を検討した。

実験材料および方法

試験地 東京近郊の浄水場から上水精製時に発生する浄水ケーキを用いて全ての実験を行った。また、屋外実験と同じ浄水場の敷地内で行った。

供試菌 上述の浄水ケーキから1996年7月に分離された *P. aphanidermatum* 1 菌株 (OPU431 = IFO33107, MAFF237927)²⁴⁾ を供試菌とした。

接種源の調整 供試菌を 300 ml の平底フラスコ内の10 % V8 ジュース液体培地 (pH 6.0) 50 ml に接種し、25°C で1か月間培養した。得られた菌そうを家庭用ジューサーミキサーで破碎し、予め *P. aphanidermatum* が混入して

¹ 住友林業株式会社筑波研究所 (〒300-2646 つくば市緑ヶ原3-2) Tsukuba Research Institute, Sumitomo Forestry Co., Ltd., Midorigahara 3-2, Tsukuba, Ibaraki 300-2646, Japan

² 大阪府立大学大学院農学生命科学研究科 (〒599-8531 堺市学園町1-1) Graduate School of Agriculture and Biological Sciences, Osaka Prefecture University, Gakuen-cho 1-1, Sakai, Osaka 599-8531, Japan

* Corresponding author (E-mail: ohshiman@sfc.co.jp)

いないことを確認した浄水ケーキ（以下、非汚染試料）約10 kgに加えた。これをガラス温室内（25～35℃、自然光）においた縦60 cm×横30 cm×深さ3 cmの育苗箱に入れ、キュウリ（*Cucumis sativus* L., 品種：四葉）を播種した。出芽直後に透明のポリエチレンフィルムで育苗箱上部を被覆し、供試菌による苗立枯れを誘起した。発病がみられた植物体を *Pythium* 属菌選択培地（VP₃ 培地）¹⁾ に置床し、供試菌が分離されることを確認した。この土壌を風乾し、遠心粉碎器（Retsch, 三田村理研製）で粉碎した後に篩別（目の開き 860 μm ）し、乾燥粉末状の接種源を得た。接種源中の *P. aphanidermatum* の菌密度を以下の方法で測定した。接種源 20 ml と 0.35% 素寒天水溶液 80 ml を家庭用ジューサーミキサーで混合し、その 1 ml を VP₃ 培地¹⁾ に滴下してガラス棒を用いて培地上に均一に塗布した。37℃ で 24 時間培養後、培地上の土壌粒子を水道水で洗い流し、培地上に現れているコロニー数を測定し、乾土 g 当たりの菌密度を求めた。

***P. aphanidermatum* の死滅温度** 非汚染試料で上述の接種源を希釈して滅菌蒸留水を加え、菌密度が 100 cfu/g、含水比が 65% (w/w) の *P. aphanidermatum* 汚染試料（以下、汚染試料）を作製した。これを 50 g ずつポリエチレン製の袋に密封し、20, 25, 30, 35, 40, 45 および 50℃ の各恒温器内に 7 日間静置後、上述の土壌希釈平板法により供試菌の菌密度を測定した。また、処理後の汚染試料のキュウリ幼植物に対する病原性の有無を以下の方法で調べた。カイワレ大根栽培用のポリスチレンの角形ポット縦 85 mm×横 85 mm×深さ 140 mm に、パーライト（5 号、芙蓉パーライト製）75 ml を敷いた。その上に、汚染試料 100 ml を置き、これに滅菌水 40 ml を加え、下層のパーライト部分に深さ 5 mm 程度の自由水が残る状態にした。キュウリ（同上）種子を 1 ポット当たり 5 粒ずつ播種し、透明のポリエチレンフィルムで蓋をした後、植物育成チャンパー内（30℃、明期 12 時間、91 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ）に静置し、播種後 14 日目までの立枯れの発生の有無を調べた。実験は 5 反復で行った。

浄水ケーキの堆積発酵 発生直後の浄水ケーキ約 50 m³ を高さ約 2.5 m に積み上げて堆積山を作り、ショベルローダーによる切返し操作を約 3 週間間隔で行った（Plate I-1）。全ての屋外実験の堆積発酵は、この操作を基本とした。

***P. aphanidermatum* が死滅する堆積山内部の深さと温度** 1996 年 3 月 6 日に堆積山を作製した。上述の方法で *P. aphanidermatum* の菌密度が 2.8×10^2 cfu/g、含水率が 65% (w/w) の汚染試料を作製した。この試料約 2 g をナイロンスクリーン（目の開き 100 μm 、NBC 工業製）に封

入し、堆積山の深さ 2, 20, 60 および 150 cm に埋没した。埋没 3 日後に試料を取り出して、室温に 3 日間静置後、上述の土壌希釈平板法により試料中の菌密度を測定した。試料を埋没した各深さの温度を熱電対とデータロガー（サーモダック EF, 江藤電気製）で記録した。同じ深さに 3 個の試料を埋没し 3 反復とした。

浄水ケーキに自然混入する *P. aphanidermatum* の堆積発酵による殺菌効果 1997 年 6 月～11 月の 1～2 日毎に、発生の直後と堆積発酵後約 3 か月の浄水ケーキを 1 kg ずつ採取した。試料をポリ袋に入れてできるだけ均一になるように振り混ぜ、上述と同様の希釈平板法で *Pythium* 属菌を分離した。得られた分離株を既報²⁴⁾ の方法で培養し、Van der Plaats-Niterink²⁵⁾ に従って種を同定した。*P. aphanidermatum* およびその他の *Pythium* 属菌種が検出された浄水ケーキの試料数およびそれぞれの種の分離株数を求めた。得られた全ての分離株について、上述の方法でキュウリ幼植物に対する病原性を調べた。

堆積山のビニールシート被覆が *P. aphanidermatum* の菌密度低下に及ぼす影響 1996 年 7 月 25 日に堆積山 2 つを互いに隣接して作製し、一方の堆積山の表面をビニールシートで覆った（Plate I-2）。上述と同様の方法により供試菌の菌密度が 1.2×10^3 cfu/g、含水比が 65% の汚染試料を作製した。この試料 2 g をナイロンスクリーンに封入後、堆積山中の深さ 2, 20, 40 および 60 cm に埋没し、6 日後に取り出し、*P. aphanidermatum* の菌密度を測定した。同じ深さに 15 個の試料を埋没し 15 反復とした。同時に供試菌を埋没した各深さの温度を記録した。また、供試菌を埋没した各深さの浄水ケーキを約 1 kg ずつ採取し、その水素イオン濃度、含水率、電気伝導度、C/N 比を、それぞれ常法⁷⁾ により測定した。

バーク堆肥の混合が *P. aphanidermatum* の菌密度低下に及ぼす影響 1999 年 5 月 14 日と同年 9 月 27 日に堆積山をそれぞれ 2 つずつ互いに隣接して作製した。2 つの内の一方に、バーク堆肥（pH 6.4、電気伝導度 0.62 dS/m、C/N 比 74.7）を、浄水ケーキに対して 1:2 (v/v) になるように混合した。汚染試料を上述と同様の方法で調整した。埋没前の菌密度は 5 月と 9 月の実験でそれぞれ 7.5×10^3 cfu/g と 3.0×10^3 cfu/g であった。汚染試料 2 g を堆積山の深さ 60, 100 および 150 cm に埋没し、5 月の実験では 27 日後、9 月の実験では 7 日後の菌密度を測定した。同じ深さに 15 個の試料を埋没し、それぞれを反復とした。試料を埋没した各深さの温度を上述と同様にして記録した。1999 年 10 月 19 日に、約 80 cm の深さの土壌中の酸素濃度を土壌ガス採取管付き土壌酸素計（大起理化工業、

DIK-500A) を用いて測定した。

統計解析 各実験の処理区間で認められた *P. aphanidermatum* の菌密度の差について、Kruskal-Wallis test による分散分析を行い、Scheffe *F*-test による多重比較検定により有意差を検出した²⁶⁾。

実験結果

P. aphanidermatum の死滅温度

45°C 以上、7 日間の条件で汚染試料を処理すると、*P. aphanidermatum* は試料から分離されなくなり、キュウリ幼植物に対する病原性は消失した (Fig. 1)。40°C では菌密度は 100 cfu/g から 8 cfu/g に減少したが ($P < 0.05$)、キュウリ幼植物に対する病原性は消失しなかった。35°C 以下では、菌密度の減少は全く認められなかった。

P. aphanidermatum が死滅する堆積山内部の深さと温度

ナイロンスクリーンに封入した汚染試料を堆積山に 3 日間埋没して取り出したところ、深さ 2 および 20 cm に埋没した試料では、*P. aphanidermatum* の菌密度に変化がみられなかったのに対し、60 および 150 cm に埋没した試料からは、*P. aphanidermatum* が全く分離されなくなった (Fig. 2)。各埋没部位における実験期間中の最高温度を調べたところ、2 および 20 cm ではそれぞれ 20 および 26°C であったのに対し、60 および 150 cm ではそれぞれ 54 および 49°C であった。

浄水ケーキに自然混入する *P. aphanidermatum* に対する堆積発酵の殺菌効果

発生直後の浄水ケーキの計 116 試料の内、7 試料から *P. aphanidermatum* が計 12 菌株分離された (Table 1)。いずれの菌株も接種試験でキュウリ幼植物に立枯れを起こした。同じ試料から *Pythium* F-group と *Pythium* G-group が計 8 菌株分離されたが、これらはいずれもキュウリ幼植物に病原性を示さなかった。一方、3 か月以上堆積発酵させた後の浄水ケーキからは、*P. aphanidermatum* を含む *Pythium* 属菌が全く検出されなかった。

堆積山のビニールシート被覆が *P. aphanidermatum* の密度、堆積山内部の温度および浄水ケーキの化学性に及ぼす影響

ナイロンスクリーンに封入した汚染試料を堆積山に 6 日間埋没して菌密度を測定したところ、シートで被覆した堆積山では、深さ 2 cm に埋没した試料から *P. aphanidermatum* が分離されず、深さ 20, 40 および 60 cm に埋没した汚染試料で菌密度の有意な低下がみられた (Fig. 3)。試料の埋没部位における最高温度は深さ 2, 20, 40 および 60 cm の各部位でそれぞれ 60, 40, 40 および 46°C であった。一方、シートで被覆しなかった堆積山ではいずれの深さでも菌密度に有意な変化が認められず、堆積山内部の温度もほとんど上昇しなかった。

深さ 60 cm における最高温度は堆積山を作製した時期により変化したが、シート被覆区が無被覆区よりも常に高かった (Table 2)。また、温度変動の幅もシート被覆区の

Fig. 1. Effect of temperature on *Pythium aphanidermatum* population in sludge from a drinking-water plant in an incubator. Fifty g of the sludge sample infested with *P. aphanidermatum* was exposed to each temperature for 7 days. The fungal population density after the treatment was estimated by soil-dilution plating on VP₃ medium¹⁾. Pathogenicity of the fungus in infested sludge to cucumber seedlings was tested on five plants for each sample in a growth chamber with a 12-hr photoperiod (91 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) at 30°C. Each column shows the mean $\pm$ SE of three experiments. Data are compared by Kruskal-Wallis test, and significance was evaluated with the Scheffe *F*-test. *: $P < 0.05$ vs. before burying, **: $P < 0.01$ vs. before burying.

Fig. 2. Population changes of *P. aphanidermatum* (column) and maximum temperatures (●) at different depths in pile of sludge from drinking-water plant. Two g of the sludge sample infested with *P. aphanidermatum* was encapsulated in a nylon screen and buried at 2, 20, 60 and 150-cm depths in the sludge. The population was estimated by dilution plating (described in Fig. 1), 3 days after burying the inoculum. Each bar is the mean $\pm$ SE of 15 experiments. Data were compared by Kruskal-Wallis test, and significance was evaluated with the Scheffe *F*-test. *: $P < 0.05$ vs. before burying.

Table 1. Isolation frequency of *P. aphanidermatum* in sludge from water purification plant before and after industrial-scale composting^{a)}

Month sampled (1997)	Isolation frequency of <i>P. aphanidermatum</i> ^{b)}	
	Before composting	After composting
June	1/19	0/19
July	0/20	0/20
August	2/17	0/17
September	2/19	0/19
October	1/21	0/21
November	1/20	0/20
Total	7/116	0/116

a) Fifty m³ of the sludge was piled 2.5-m high for composting in a field, then mixed with a shovel loader at 3-week intervals.

b) Number of samples from which *P. aphanidermatum* was isolated per number of samples examined. The fungus was isolated from the sludge before and after about 3 months of composting by a soil-dilution plating on VP₃ medium.

方が無被覆区よりも小さかった。最高温度に達するまでの時間は、シート被覆区で3～19日（平均9.6日）、無被覆区で1～19日（平均10.4日）であり、シート被覆の有無による違いはみられなかった。

堆積山のビニールシート被覆が、浄水ケーキの化学性に及ぼす影響を Table 3 に示す。無被覆区では、深さ2および20 cm の表層部の水素イオン濃度は、7.0～7.2と深さ60, 100および150 cm の深層部の7.4～7.5よりも低かつ

た。含水率は、表層部で49.4～56.4%と深層部の57.9～59.3%より低かった。逆に C/N 比は、表層部では9.6～9.7と深層部の8.9～9.1より高かった。これに対し、シート被覆区では、電気伝導度が表層部で0.74～0.75 dS/mと深層部の0.52～0.60 dS/m よりも高かったことを除き、pH, 含水率, C/N 比の値は、表層と深層の間に大きな相違がなかった。

バーク堆肥の混合が *P. aphanidermatum* の菌密度と堆積山内部の温度に及ぼす影響

1999年5月の実験では、バーク堆肥非混合区ではいずれの深さにおいても、試料中の *P. aphanidermatum* の菌密度が減少しなかった。これに対し、バーク堆肥混合区では、深さ60 cm で本菌の密度が埋設前の30分の1 (233 cfu/g) 以下に低下し、100および150 cm では本菌が全く検出されなかった (Fig. 4A)。堆積山内部の最高温度は、非混合区では60, 100, 150 cm でそれぞれ33, 31, 32°Cであったのに対し、混合区ではそれぞれ42, 50, 44°Cであった。同年9月の実験でも非混合区では、菌密度が低下しなかったが、混合区では、本菌が全く検出されなかった (Fig. 4B)。堆積山内部の最高温度は、非混合区では深さ60, 100, 150 cm でそれぞれ33, 38, 39°Cであったのに対し、混合区ではそれぞれ44, 48, 48°Cであった。堆積山内部の100 cm の部分の温度を Fig. 5 に示す。混合区では44°C以上の最高温度が7日以上継続した。10月19日に土壌温度の一時的な低下がみられたが、これは試料を取り出す作業を同日に行ったためと考えられる。深さ80 cm 部位での酸素濃度を調べたところ、非混合区では13～16%であった

Fig. 3. Effect of plastic-sheet cover on *P. aphanidermatum* population and maximum temperatures at different depths in pile of sludge from drinking-water plant. Two g of the sludge sample infested with *P. aphanidermatum* was encapsulated in a nylon screen and buried in 2, 20, 40 and 60 cm depth of the sludge. The population was estimated 6 days after burying using soil-dilution plating (described in Fig. 1). Each bar is the mean $\pm$ SE of 15 experiments. Data were compared by Kruskal-Wallis test, and significance was evaluated with the Scheffe *F*-test. *: $P < 0.05$ vs. before burying, **: $P < 0.01$ vs. before burying.

Table 2. Effect of plastic sheet-covering on maximum temperature and number of days required to attain maximum temperature in 60-cm depth of pile of water clarifier sludge

Pile No.	Date piled (1996)	Maximum temperature (°C)		Number of days required to attain maximum temperature	
		Covered	Not covered	Covered	Not covered
1	Mar. 6	50	42	10	10
2	Mar. 21	53	47	19	19
3	Apr. 9	51	48	10	10
4	Apr. 23	49	43	14	14
5	Jun. 3	54	— ^{b)}	3	— ^{b)}
6	Jun. 4	58	52	14	14
7	Jul. 3	47	37	5	5
8	Jul. 8	61	35	7	1
9	Jul. 25	57	55	4	10
Max.		61	55	3	1
Min.		47	35	19	19
Av.		53.3	44.9	9.6	10.4

a) Fifty m³ of the sludge was piled 2.5-m high for composting in a field, then mixed with a shovel loader at 3-week intervals.

b) Not recorded.

のに対し、混合区では0～2.5%であった。

考 察

浄水ケーキは園芸用培土として広く利用されつつあるが²¹⁾、植物病原菌の混入とその対策についてはこれまでに

報告がない。本研究により、浄水ケーキに混入する *P. aphanidermatum* の発酵熱による殺菌条件が明らかになった。*P. aphanidermatum* が殺菌される最低の温度条件は、インキュベーター内の実験では45°C、7日間、実際の堆積発酵では44°C、7日間であった。いずれの実験でも、

Table 3. Effect of plastic sheet-covering a pile of water clarifier sludge on chemical characteristics of the sludge at different depths in the pile after 19 days composting^{a)}

Depth in the pile (cm)	pH		Water content (%)		Electrical conductivity (dS/m)		C/N ratio	
	Not covered	Covered	Not covered	Covered	Not covered	Covered	Not covered	Covered
2	7.0	7.4	49.4	54.8	0.29	0.74	9.7	8.3
20	7.2	7.4	56.4	59.0	0.36	0.75	9.6	8.7
60	7.4	7.5	59.3	56.6	0.47	0.56	8.9	8.8
100	7.4	7.5	59.1	56.6	0.45	0.52	8.9	8.6
150	7.5	7.5	57.9	59.3	0.33	0.60	9.1	8.9
Before composting	7.4	—	58.8	—	0.36	—	9.6	—

a) Fifty m³ of the sludge was piled 2.5-m high for composting in a field.

Fig. 4. Effect of bark-compost amendment on *P. aphanidermatum* population and maximum temperature at different depths in pile of sludge from drinking-water plant. Two g of the sludge sample infested with *P. aphanidermatum* was encapsulated in a nylon screen and buried 60, 100 and 150 cm deep in the sludge pile on May, 1999 (A) and September, 1999 (B). The population was estimated by soil-dilution plating (described in Fig. 1), 27 days and 7 days after burying on May and September, respectively. Each bar is the mean $\pm$ SE of 15 experiments. Data were compared by Kruskal-Wallis test, and significance was evaluated with the Scheffe *F*-test. *: $P < 0.05$ vs. before burying, **: $P < 0.01$ vs. before burying.

Fig. 5. Effect of bark-compost amendment and air temperature on temperature at 100-cm depth in pile of sludge from drinking-water plant.

40°Cで菌密度の低下がみられたが、35°C以下では菌密度の低下がみられなかった。堆積山内部の温度が46°Cに達しているにも関わらず *P. aphanidermatum* が生存している場合があったが (Fig. 3), この実験では温度が46°Cに達した直後に切返しを行い、46°C以上の温度の持続期間が1日間以下であったことが原因と考えられた。これらの結果から、堆積発酵によって浄水ケーキ中の *P. aphanidermatum* が殺菌される主因は熱であり、殺菌に必要な最低の温度条件は44°C、7日間であることがわかった。有機物の堆積発酵によって *Pythium* 属菌を殺菌した例は少なく、殺菌条件には不明な部分が多い。田上・重永¹⁹⁾ は、ショウガ根茎腐敗病菌の罹病残さを用いた堆積発酵で、44~46°Cの温度が数日間持続すると病原菌 (*P. zingiberum* Takahashi) が不活化することを報告している。本研究の結果とはほぼ一致することから、44°Cで数日間の発酵熱処理は、*P. aphanidermatum* や *P. zingiberum* などの高温生育性 *Pythium* 属菌に共通する殺菌の最低条件であることが示唆された。

発生直後の浄水ケーキから *P. aphanidermatum* と非病原性 *Pythium* 属菌が検出されたのに対し、3か月以上堆積発酵させた同じ浄水ケーキからはこれらが全く検出されなかった。この結果から、浄水ケーキ中の *Pythium* 属菌に対する堆積発酵の殺菌効果を、実際の現場で確かめることができた。病原性の *Phytophthora* 属菌^{12, 13, 16, 18, 22, 23)} と *Pythium* 属菌^{8, 18, 20)} が河川やため池の水から検出された例は多い。浄水ケーキは河川水中の微粒子の凝集物であるため、*P. aphanidermatum* 以外にもこれらの植物病原菌が浄水ケーキに混入する可能性は否定できない。しかし、本研究で堆積発酵後の浄水ケーキから *Pythium* 属菌が全く検出されなかったこと、また、*Phytophthora* 属菌と *Pythium*

属菌の熱に対する感受性が同じ程度であることから^{3, 4)}、これらの病原菌が浄水ケーキに混入した場合にも、所定の温度域に達した発酵熱により殺菌されるものと考えられた。

屋外での堆積発酵は風雨や気温の影響を受ける。特に表層ではその影響が大きく、本研究の結果からも、深さ2~20 cmでは温度が十分に上昇せずに *P. aphanidermatum* が殺菌されない場合があった。そこで堆積山の表面をビニールシートで被覆したところ、堆積山全体の温度が上昇し、被覆しない場合に比べて *P. aphanidermatum* の菌密度が有意に低下した。特に堆積山の表層部の測定点では、日射と発酵熱の両方の効果によって温度が上昇し、*P. aphanidermatum* が完全に殺菌された。また、浄水ケーキの湿度が維持され、電気伝導度が高まり、C/N比が低下したことから、シート被覆によって浄水ケーキの発酵が促進されることが明らかとなった。

浄水ケーキにバーク堆肥を予め混合してから堆積させると、混合しない場合に比べて温度が上昇し、*P. aphanidermatum* の殺菌が促進された。これは、バーク堆肥の混合によって発酵に関与する微生物の栄養源が確保され、増殖が促進されるためと考えられた。このような微生物の増殖は、バーク堆肥の混合によって堆積山内部の酸素濃度が著しく低下したことから推察された。有機質廃棄物の発酵の進行は有機物の形態とC/N比に大きく依存するとされ⁶⁾、バークに鶏ふんと尿素を加えてC/N比を40程度にすると発酵が進行しやすいことが知られている¹¹⁾。本研究では、バーク堆肥のC/N比が74.7、浄水ケーキでは9.6であったことから、浄水ケーキの発酵促進はC/N比が調節されたことに関係していると考えられた。しかし、六本木¹⁷⁾ は、浄水ケーキ単独で発酵温度が上がりにくい場合に、鶏ふんを10%混合すると、発酵が促進され温度が上昇することを報告している。鶏ふんのC/N比は浄水ケーキと同じ程度に低いことから⁶⁾、鶏ふんと浄水ケーキの混合による発酵促進をC/N比の変化から説明することはできない。このように、浄水ケーキと他の有機質廃棄物の混合による発酵促進効果は不明な点が多く、除菌手段として応用するためには、さらに詳細な調査を要する。

Bollen⁵⁾ は、堆肥化によって植物体に残存する植物病原菌が殺菌される要因として、1) 発酵に伴う熱、2) 毒性の分解産物、3) 嫌気条件、4) 拮抗微生物の増加を上げている。本研究では、浄水ケーキ中の *P. aphanidermatum* の菌数が発酵熱によって低下することを明らかにしたが、他の要因の関与が示唆される結果も得られた。汚染された浄水ケーキを堆積発酵させると、温度が44°Cに達していな

いにも関わらず本種を含む *Pythium* 属菌が全く検出されない場合があったことから、*P. aphanidermatum* の殺菌には嫌気条件が関与していることが示唆された。本研究でも、バーク堆肥を混合した浄水ケーキの堆積山では、混合しなかった場合に比べて内部の酸素濃度が大幅に低下していた。萩原ら^{9,10)} は、罹病植物残さのビニール被覆による嫌氣的発酵により、ダイコン萎黄病菌 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani*) が 30°C でも不活化されることを報告している。今後、堆積発酵による病原菌の抑制について、熱以外の要因を明らかにすることにより、浄水ケーキの農業利用がさらに広がると考えられる。

摘 要

河川から取水した水を上水に精製する過程で発生する沈殿物（以下、浄水ケーキ）を園芸用培土として利用するために、浄水ケーキ中の *P. aphanidermatum* が殺菌される堆積発酵の温度条件を調べ、殺菌効果を高めるための方法を検討した。*P. aphanidermatum* が死滅する最低限の熱処理条件をインキュベーターを用いて調べたところ、45°C、7日間であった。屋外実験では、50 m³ の浄水ケーキを 2.5 m に積み上げて堆積山を作り、3週間間隔の切返し操作を行って発酵させた。*P. aphanidermatum* を接種した浄水ケーキをナイロンスクリーンに封じて堆積山の内部に埋没したところ、44°C 以上の温度が7日間以上持続した部位で本菌が殺菌された。*P. aphanidermatum* が自然に混入した発生直後の浄水ケーキを切返し操作のみの管理で約3か月間発酵させたところ、*P. aphanidermatum* が全く検出されなくなった。ビニールシートによる堆積山の被覆は、風雨の影響による温度低下を防ぎ、発酵による温度上昇を促進して本菌の殺菌効果を高めた。また、浄水ケーキへのバーク堆肥の混合によっても発酵による温度上昇が促進され、*P. aphanidermatum* の殺菌効果が高まった。

謝 辞

本研究を行うに当たり協力いただいたスミリン農産工業株式会社の皆様に厚くお礼申し上げる。

引用文献

1. Ali-Shitayeh, M.S., Len, L.-H.C. and Dick, M.W. (1986). An improved method and medium for quantitative estimates of populations of *Pythium* species from soil. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 86: 39-47.
2. 麻生末雄・麻生昇平・武長 宏・吉羽雅昭・米安 晟・狩俣貴清 (1982). 浄水場発生ケーキの農業利用. *農業及び園芸* 57: 221-227.

3. Baker, K.F. and Cook, R.J. (1974). *Biological Control of Plant Pathogens*, p. 113, W.H. Freeman and Company, San Francisco.
4. Bollen, G.J. (1969). The Selective effect of heat treatment on the microflora of a greenhouse soil. *Neth. J. Pl. Path.* 75: 157-163.
5. Bollen, G.J. (1993). Factors involved in inactivation of Plant Pathogens during composting of crop residues. *In Science and Engineering of Composting: Design, Environmental, Microbiological and Utilization Aspects*, (Hoitink, H.A.J and Keener, H.M., eds.), pp. 301-318, Renaissance Publications, Worthington, Ohio.
6. 茅野充男・森 忠洋 (1987). コンポスト. *微生物* 3: 602-607.
7. 土壤環境分析法編集委員会 (1997). *土壤環境分析法*, pp. 195-197, 202-204, 222-226, 博友社, 東京.
8. Gill, D.L. (1970). Pathogenic *Pythium* from irrigation ponds. *Pl. Dis. Reptr.* 54: 1077-1079.
9. 萩原 廣・竹内昭士郎 (1982). 罹病残渣の好氣的または嫌氣的発酵処理によるダイコン萎黄病菌の不活化. *日植病報* 48: 688-690.
10. 萩原 廣・竹内昭士郎 (1983). 罹病残渣の嫌氣的発酵によるダイコン萎黄病菌の不活化に対する発酵時の温度の影響. *日植病報* 49: 713-715.
11. 河田 弘 (1985). バーク・オガクズのコンポスト化. 有機質廃棄物のコンポストに関するシンポジウム講演集. pp. 25-31, 下水汚泥資源利用協議会, 東京.
12. MacDonald, J.D., Ali-Shitayeh, M.S., Kabashima, J. and Sities, J. (1994). Occurrence of *Phytophthora* species in recirculated nursery irrigation effluents. *Plant Dis.* 78: 607-611.
13. McIntosh, D.L. (1966). The occurrence of *Phytophthora* spp. in irrigation systems in British Columbia. *Can. J. Bot.* 44: 1591-1596.
14. 村田 博・岩間清内・武井譲二・小堀英和・佐藤裕隆・菊本定美 (1997). 浄水場発生土の園芸培養土としての利用. *工業用水* 472: 14-24.
15. 日本土壤肥料学会編 (1983). 浄水処理ケーキ特性と農業利用上の問題点一. pp. 1-146, 博友社, 東京.
16. Pittis, J.E. and Colhoun, J. (1984). Isolation and identification of Pythiaceae fungi from irrigation water and their pathogenicity to *Antirrhinum*, tomato and *Chamaecyparis lawsoniana*. *Phytopath. Z.* 110: 301-318.
17. 六本木和夫 (1993). 糞がら, 家畜ふん堆肥を混合した浄水ケーキの園芸培土としての適用性. *日土肥学誌* 64: 385-392.
18. Shokes, F.M. and McCarter, S.M. (1979). Occurrence, dissemination, and survival of plant pathogens in surface irrigation ponds in southern Georgia. *Phytopathology* 69: 510-516.
19. 田上俊太郎・重永知明 (1979). ショウガ根茎腐敗の茎葉残さ処理について. 第1報 堆肥発酵熱による本菌の滅菌. *九病虫研会報* 25: 47-49.
20. 高橋 実 (1952). 水生 *Pythium* 属菌 2 種, *P. aphanidermatum* 及び *P. monospermum* の病原性に就いての比較研究. *日植病報* 16: 19-22.
21. 高谷幸秀・岩間清内・松田博章・武井譲二 (1996). 千葉

- 県工業用水道の浄水発生土と資源化製品の開発. 工業用水 449: 14-29.
22. Taylor, P.A. (1977). *Phytophthora* species in irrigation water in Goulburn Valley, Victoria. Aust. Pl. Pathol. Soc. Newsletter 6: 41-44.
 23. Thomson, S.V. and Allen, R.M. (1974). Occurrence of *Phytophthora* species and other potential plant pathogens in recycled irrigation water. Pl. Dis. Repr. 58: 945-949.
 24. Tojo, M. and Oshiman, K. (2000). Detection of *Pythium aphanidermatum* in sludge from drinking-water plant. J. Gen. Plant Pathol. 66: 285-288.
 25. Van Der Plaats-Niterink, A.J. (1981). Monograph of the genus *Pythium*. Stud. Mycol. 21: 1-242.
 26. 柳井久江 (1998). 4 steps エクセル統計. pp. 121-124, OMS, 所沢.
 27. 吉田重方・堀 達雄・松浦大介・鬼頭 誠 (1992). 浄水場より発生する水処理廃棄物の芝草床土としての利用法についての考察. 芝草研究 21: 13-22.

Explanation of plate

Plate I

1. Mixing and piling of sludge from drinking-water plant with shovel loader.
2. Plastic sheet covering (arrow) pile of sludge from drinking-water plant.

Plate I