

各種土壤消毒法による青枯病菌密度抑制効果の事例解析

井上 康宏*¹・中保 一浩*²

目 次

I はじめに	1	V 摘要	5
II 材料および方法	2	VI 謝辞	8
III 結果	3	引用文献	8
IV 考察	3	Summary	10

I はじめに

青枯病は *Ralstonia solanacearum* によって引き起こされる土壤伝染性の病害であり、100以上の植物種で知られている。日本においてもトマト、ナス、ピーマン、ジャガイモなどのナス科作物、ショウガ、ミョウガ、ウコンなどのショウガ科作物、キク、トルコギキョウ、クルクマなどの花きなどで発生しており、特にトマトでは施設栽培の普及による連作から、甚大な被害をもたらしている。本病の病原細菌は土壤の深い層まで侵入し、長期間にわたって生存する (Coutinho, 2005)。青枯病菌は植物の根の傷や自然開口部から侵入、導管に移行して内部で増殖し、これを詰まらせることで植物を萎凋させ、ついには枯死させる (Peeters et al., 2013)。また、発病株からは大量の病原細菌が土壤に移行し、青枯病菌汚染の状況を悪化させる (Inoue et al., 2018, 井上・中保, 2018)。土壤中の青枯病菌密度抑制のた

め、様々な土壤消毒方法が開発され、生産圃場で利用されている。クロルピクリンやダズメットなどの化学くん蒸剤は比較的安価で、処理方法が簡便であり、低温期にも一定の効果が得られるため、広く利用されている。しかし、これらは揮発した有効成分が浸透する範囲のみを消毒するため、深い層の消毒効果は低いとされている。一方で水溶性の有機物を用いた還元消毒では、処理費用は高額となるが、土壤の深い層まで消毒効果があるとされている。しかし、実際の圃場でそれぞれの方法がどの程度の土壤深度まで青枯病菌の殺菌効果を発揮するか詳細に調査した研究はない。そこで本研究では、全国の現地圃場を対象として、各種土壤消毒の効果を土壤深度別に調査した。なお、本稿の一部は関東東山病害虫研究会で発表した (井上・中保 2017)。

II 材料および方法

1. 調査土壌

2012年4月から2018年7月にかけて、全国で行われた各種消毒の前後の土壌を収集した。

1) クロルピクリン処理圃場

2012年4月に茨城県筑西市のトマト青枯病発生圃場において、圃場3地点からスコップを用いて10cm毎の深さで60cmまでの土壌を採集し、深さ毎に混合した。クロルピクリンを農薬登録上の使用方法に従い処理（処理量は10aあたり20～30L）後3週間以上被覆を行い、消毒後の6月に消毒前と同様に土壌を採集し調製した。

2013年7月に静岡県浜松市のミニトマト青枯病発生圃場において、圃場の3地点からスコップを用いて10cm毎の深さで60cmまでの土壌を採集した。クロルピクリンを農薬登録上の使用方法に従い処理（処理量は10aあたり25L）後3週間被覆を行い、消毒後の8月に処理前と同じ位置の土壌を同様に採集した。

2) クロピクフロー処理圃場

2014年3月に広島県神石郡神石高原町のトマト青枯病発生圃場において、圃場の3地点から土壌を10-20cm, 20-30cm, 30-45cm, 45-60cmの層毎に採集した。クロピクフローを農薬登録上の使用方法に従い処理（処理量は10aあたり27L）後3週間以上被覆を行い、消毒後の4月に処理前と同じ位置の土壌を同様に採集した。

3) ダゾメット処理圃場

2015年7月に鹿児島県薩摩郡さつま町のトマト青枯病発生2圃場において、それぞれ圃場の2地点から土壌を10-20cm, 20-30cm, 30-45cm, 45-60cmの層毎に採集した。ダゾメット粒剤を農薬登録上の使用方法に従い処理（処理量は10aあたり30kg/10a）後2週間以上被覆を行い、消毒後の8月に処理前と同じ位置の土壌を同様に採集した。

4) 米ぬかを用いた還元消毒圃場

2017年6月に静岡県伊豆の国市のミニトマト青

枯病発生圃場において、圃場の3地点からルートオーガーを用いて土壌を0-30cm, 30-60cmの2層で採集した。米ぬか（処理量は10aあたり2t）をロータリーで約20cmまで鋤き込んだ後湛水状態にし、3週間被覆して還元消毒を行った後の7月に処理前と同じ位置の土壌を同様に採集した。

2018年6月に同じ圃場において、圃場の3地点からルートオーガーを用いて土壌を0-30cm, 30-60cmの2層で採集した。前年と同様に米ぬかを処理（処理量は10aあたり1t）し、3週間被覆して還元消毒を行った後、7月に処理前と同じ位置の土壌を同様に採集した。

5) 糖蜜を用いた還元消毒圃場

2015年6月に佐賀県唐津市のトマト青枯病発生圃場において、圃場の2地点から土壌を採集し、糖蜜（処理量は10aあたり900kg）を処理して湛水状態にし、4週間被覆した。消毒後の8月に処理前と同じ位置の土壌を同様に採集した。

6) エタノールを用いた還元消毒圃場

2017年7月に静岡県浜松市のミニトマト青枯病発生圃場において、圃場の3地点からルートオーガーを用いて土壌を0-30cm, 30-60cmの2層で採集し、エタノール（処理量は10aあたり60%のエタノール1000L、灌水量は推計で1m²あたり105L）を用いた還元消毒を行った後、8月に処理前と同じ位置の土壌を同様に採集した。なお、本圃場は2012年にクロルピクリン消毒の調査を行っている。

2. 青枯病菌密度調査

土壌中の青枯病菌密度はMPN-PCR法（Inoue and Nakaho, 2014）を用いた。本方法は研究成果情報としても報告している（http://www.naro.affrc.go.jp/project/results/laboratory/narc/2014/narc14_s24.html）。青枯病菌検出用のPCRのプライマーはInoue et al. (2018)を用いた。本研究においては土壌100mg相当、10mg相当、1mg相当からの抽出液各3本ずつを培養し、培養された青枯病菌の有無の組み合わせ

せにより1gあたり3~2400個の範囲で菌密度の推定を行った。検出できなかった土壌については3個/g未満(<3),定量できる範囲以上は2400個/g以上(≥ 2400)とした。また、抽出時に上清への土壌

微粒子の混入が多いときは20% (w/v) のNaClを終濃度0.2% (w/w)を超えない範囲で加えた。それでも濁りが収まらない場合は赤玉土を、5% (w/w)を超えない範囲で加えた。

III 結果

1. クロルピクリンによる消毒効果

クロルピクリンの溶剤を用いた消毒の結果を表1に示す。本剤を用いた消毒では深さ40cmまで青枯病菌密度の抑制が認められ、消毒効果が及ぶことが示された。しかし、汚染度のひどい部分では深さ40cmでは十分な効果が得られなかった。また、40cmよりも深い部分では青枯病菌密度の抑制が認められず、ほぼ消毒効果がないことが示された。

2. クロピクフローによる消毒効果

クロルピクリンの溶剤を用いた消毒の結果を表2に示す。本剤を用いた消毒では地下60cmまで青枯病菌密度の抑制効果が認められた。しかし、深くなるごとにその効果は減少していた。

3. ダゾメットによる消毒効果

ダゾメットを用いた消毒の結果を表3に示す。本剤を用いた消毒では深さ45cmまで青枯病菌密度の抑制が認められ、消毒効果が及ぶことが示された。

しかし、30cmおよび45cmでは若干の青枯病菌の生存が認められ、深い層では消毒効果に不均一な部分が生じる可能性が示唆された。また、45cmよりも深い部分では青枯病菌密度の抑制がほぼ認められなかった。

4. 米ぬかを用いた還元消毒による消毒効果

米ぬかを用いた還元消毒の結果を表4に示す。2017年の処理では深さ30-60cmの層で1桁程度の青枯病菌密度の低減効果が認められた。一方で2018年の処理では0-30cmの部分でも青枯病菌の残存が確認され、30-60cmの部分でも調査地点ごとで青枯病菌密度低減効果に違いがみられた。

5. 水溶性の有機物を用いた還元消毒による消毒効果

糖蜜を用いた還元消毒の結果を表5、エタノールを用いた還元消毒の結果を表6に示す。いずれの方法でも地下60cmまでの青枯病菌密度を検出限界以下まで減らすことができた。

IV 考察

本研究では1事例の処理も含むが、各種土壌消毒がどの程度の深さまで青枯病菌に対する殺菌効果を発揮するか示され、その効果の範囲が概ね推測された。

クロルピクリンやダゾメットの化学くん蒸剤は、有効成分が揮発・浸透した範囲に生息する菌を殺菌するため、処理した深さ、すなわち耕起のおよぼ深さ20cm周辺までの殺菌効果は高いが、それより深い部分へは効果が及びにくいとされる。今回の結果からはいずれの剤もおよそ40cm程度の深さまでは青枯病菌を殺菌するのに十分な揮発成分が浸透して

いることが示された。ただし、汚染度の高い部分では消毒効果が不十分な場合や、効果のムラが生じることがあった。深い部分への消毒効果を高めるために開発されたクロピクフローでは期待通り地下60cmでも青枯病菌密度の抑制効果が認められた。しかし今回の事例では青枯病菌密度の高い圃場では検出限界以下まで減らすことはできず、深い部分ほど消毒効果が弱い傾向が見られた。一方で今回示した事例の消毒時期は3月であり、低温期に行う消毒として有効と思われた。また、今回調査を行っていない砂地などのガスの拡散性の良い土壌においてはより

表1 クロルピクリン処理による土壌の青枯病菌密度抑制効果

試験地	土壌深度	消毒前		消毒後		
		MPN値 ^{a)}	菌密度 ^{b)}	MPN値	菌密度	
茨城県 筑西市	10-20cm	0,0,0	<3	—	0,0,0	<3
	20-30cm	0,0,0	<3	—	0,0,0	<3
	30-40cm	1,0,0	3.6	—	0,1,0	3
	40-50cm	1,0,0	3.6	—	3,0,0	23
	50-60cm	2,2,1	28	—	3,1,0	43
静岡県 浜松市	10-20cm	3,3,3	≧2400	—	0,0,0	<3
	20-30cm	0,0,0	<3	—	0,0,0	<3
	地点1 30-40cm	0,0,0	<3	—	0,0,0	<3
	40-50cm	1,0,0	3.6	—	3,3,1	460
	50-60cm	3,3,1	460	—	3,3,1	460
静岡県 浜松市	10-20cm	3,3,3	≧2400	—	0,0,0	<3
	20-30cm	1,2,0	12	—	0,0,0	<3
	地点2 30-40cm	3,3,3	≧2400	—	0,0,0	<3
	40-50cm	3,3,3	≧2400	—	3,1,0	43
	50-60cm	3,3,3	≧2400	—	3,2,2	210
静岡県 浜松市	10-20cm	3,3,3	≧2400	—	0,0,0	<3
	20-30cm	3,3,3	≧2400	—	3,0,1	38
	地点3 30-40cm	3,3,3	≧2400	—	3,3,3	≧2400
	40-50cm	3,3,3	≧2400	—	3,3,3	≧2400
	50-60cm	3,3,3	≧2400	—	3,3,2	1100

a) 三本法による100mg, 10mg, 1mgでの各検出数

b) 1gあたりの青枯病菌密度の推定値, <3は検出限界未満、≧2400は定量できる範囲以上を示す

深い層の消毒も可能と考えられる。

米ぬかを用いた還元消毒では、地下30-60cmの部分の効果は低かった。米ぬかは固形物であり、鋤込みされた部分で微生物からの分解を受けて効果を発揮する。地下30-60cmの部分で青枯病菌密度の低下が認められたのは、上層部で作られた有機酸等の殺菌作用を持つ物質 (Momma, 2008) が下方に浸透した可能性が考えられる。一方で、糖蜜やエタノールを用いた還元消毒では、地下60cmの部分まで青枯病菌密度の抑制効果が認められた。これらは水に溶けた状態で土壌のより深い部分まで浸透するため、地下60cmでも還元化が起こり青枯病菌密度の低減

につながったと考えられる。糖蜜還元による消毒は、その他の地域の圃場で行った調査でも同様の結果を得ている (未公表データ)。また、2018年の米ぬか還元消毒では同一圃場内でも場所によって効果に差が認められたが、還元消毒においては処理時の気温や灌水量によって効果に差が出ることが知られている (小松, 2008)。これは糖蜜を用いた還元消毒でも同様である (小松ら, 2006)。

どの消毒方法を採用するかは、土壌の汚染程度と共に、作型や経済性を考慮する必要がある。夏秋作の前後の3月や11月に還元消毒を行うことは温度が十分でなく難しい。このような場合は化学くん蒸

表2 クロピクフロー処理による土壌の青枯病菌密度抑制効果

試験地	土壌深度	消毒前		消毒後			
		MPN値 ^{a)}	菌密度 ^{b)}	MPN値	菌密度		
広島県神 石高原町	地点1	10-20cm	3,3,2	1100	—	0,0,0	<3
		20-30cm	3,2,0	93	—	1,0,0	3.6
		30-45cm	3,3,3	≧2400	—	3,1,2	120
		45-60cm	3,3,3	≧2400	—	3,3,0	240
	地点2	10-20cm	3,1,0	43	—	0,0,0	<3
		20-30cm	1,0,0	3.6	—	0,0,0	<3
		30-45cm	1,0,0	3.6	—	0,0,0	<3
		45-60cm	0,0,0	<3	—	0,0,0	<3
	地点3	10-20cm	3,2,1	150	—	0,0,0	<3
		20-30cm	3,3,0	240	—	0,0,0	<3
		30-45cm	3,3,1	460	—	3,0,0	23
		45-60cm	3,3,3	≧2400	—	3,1,1	75

a) 三本法による100mg, 10mg, 1mgでの各検出数

b) 1gあたりの青枯病菌密度の推定値, <3は検出限界未満、≧2400は定量できる範囲以上を示す

剤で処理することが有効であろうし、場合によっては1作休んで夏季に還元消毒を行うことが必要であろう。また、青枯病菌の土壌中の存在位置と発病の関係については不明であったが、我々のこれまでの研究から、抵抗性台木を用いた促成長期取り栽培では耕盤層より深い層の菌密度が発病に重要であることが判明してきている（未公表データ）。その意味では糖蜜やエタノールを用いた還元消毒は手法とし

て有用と考えられる。一方でこれらの処理は10aあたり10万円以上の費用が掛かるため、経済的な負担が大きい（農業環境技術研究所, 2012）。しかし、糖蜜還元消毒をきちんと効かせることで青枯病の発生を2作程度抑えられる事例もあり（未公表データ）、今後は手始めとして水溶性の有機物を用いた還元消毒を基幹とした促成長期取り栽培での青枯病防除体系の構築を進めていきたいと考えている。

V 摘要

各種土壌消毒がどの程度の深さまで青枯病菌に対する殺菌効果を持つか調査を行った。クロルピクリンおよびダゾメットによる化学くん蒸では地下40cmまで青枯病菌を殺菌したが、地下60cmでは効果が見られなかった。米ぬかを用いた還元消毒でも深い部分の青枯病菌に対する殺菌効果は低かった。一方で糖蜜やエタノールを用いた還元消毒では地下

60cmまで青枯病菌に対する高い殺菌効果が認められた。クロピクフローでは低温期の処理でも地下60cmまで青枯病菌に対する殺菌効果が認められたが、深い部分ほど消毒効果が弱かった。どの消毒方法を採用するかは、土壌の汚染程度と共に、作型や経済性を考慮する必要がある。

表3 ダゾメット処理による土壌の青枯病菌密度抑制効果

試験地	土壌深度	消毒前		消毒後			
		MPN値 ^{a)}	菌密度 ^{b)}	MPN値	菌密度		
鹿児島県 さつま町 圃場1	地点1	10-20cm	1,0,0	3.6	—	0,0,0	<3
		20-30cm	3,3,3	≧2400	—	0,0,0	<3
		30-45cm	3,1,0	43	—	0,0,0	<3
		45-60cm	2,1,0	15	—	0,0,0	<3
	地点2	10-20cm	3,3,3	≧2400	—	0,0,0	<3
		20-30cm	3,3,3	≧2400	—	0,0,0	<3
		30-45cm	3,3,3	≧2400	—	0,0,0	<3
		45-60cm	3,2,0	93	—	3,3,0	240
鹿児島県 さつま町 圃場2	地点1	10-20cm	3,2,0	93	—	0,0,0	<3
		20-30cm	1,0,0	3.6	—	0,0,0	<3
		30-45cm	3,0,0	23	—	1,0,0	3.6
		45-60cm	2,1,0	15	—	3,1,0	43
	地点2	10-20cm	0,0,0	<3	—	0,0,0	<3
		20-30cm	0,0,0	<3	—	0,0,0	<3
		30-45cm	0,0,0	<3	—	0,0,0	<3
		45-60cm	0,0,0	<3	—	1,0,0	3.6

a) 三本法による100mg, 10mg, 1mgでの各検出数

b) 1gあたりの青枯病菌密度の推定値, <3は検出限界未満、≧2400は定量できる範囲以上を示す

表4 米ぬかを用いた還元消毒による土壌の青枯病菌密度抑制効果

試験地	土壌深度	消毒前		消毒後			
		MPN値 ^{a)}	菌密度 ^{b)}	MPN値	菌密度		
静岡県	地点1	0-30cm	0,0,0	<3	—	0,0,0	<3
		30-60cm	1,0,0	3.6	—	0,0,0	<3
伊豆の 国市	地点2	0-30cm	0,0,0	<3	—	0,0,0	<3
		30-60cm	3,3,3	≧2400	—	3,3,0	240
2017	地点3	0-30cm	0,0,0	<3	—	0,0,0	<3
		30-60cm	3,3,0	240	—	3,0,0	23
静岡県	地点1	0-30cm	3,3,1	460	—	1,0,0	3.6
		30-60cm	3,3,3	≧2400	—	3,2,0	93
伊豆の 国市	地点2	0-30cm	3,3,1	460	—	0,0,0	<3
		30-60cm	3,3,2	1100	—	3,3,3	≧2400
2018	地点3	0-30cm	0,0,0	<3	—	1,0,0	3.6
		30-60cm	3,2,1	150	—	0,0,0	<3

^{a)} 三本法による100mg, 10mg, 1mgでの各検出数

^{b)} 1gあたりの青枯病菌密度の推定値, <3は検出限界未満、≧2400は定量できる範囲以上を示す

表5 糖蜜を用いた還元消毒による土壌の青枯病菌密度抑制効果

試験地	土壌深度	消毒前		消毒後			
		MPN値 ^{a)}	菌密度 ^{b)}	MPN値	菌密度		
佐賀県	地点1	10-20cm	0,0,0	<3	—	0,0,0	<3
		20-30cm	3,2,0	93	—	0,0,0	<3
		30-45cm	3,3,1	460	—	0,0,0	<3
		45-60cm	3,3,1	460	—	0,0,0	<3
唐津市	地点2	10-20cm	0,0,0	<3	—	0,0,0	<3
		20-30cm	1,0,0	3.6	—	0,0,0	<3
		30-45cm	2,0,1	14	—	0,0,0	<3
		45-60cm	3,1,0	43	—	0,0,0	<3

^{a)} 三本法による100mg, 10mg, 1mgでの各検出数

^{b)} 1gあたりの青枯病菌密度の推定値, <3は検出限界未満、≧2400は定量できる範囲以上を示す

表6 エタノールを用いた還元消毒による土壌の青枯病菌密度抑制効果

試験地	土壌深度	消毒前		-	消毒後	
		MPN値 ^{a)}	菌密度 ^{b)}		MPN値	菌密度
静岡県 浜松市	0-30cm	0,0,0	<3	-	0,0,0	<3
	30-60cm	0,0,0	<3	-	0,0,0	<3
	0-30cm	0,0,0	<3	-	0,0,0	<3
	30-60cm	3,3,0	240	-	0,0,0	<3
	0-30cm	0,0,0	<3	-	0,0,0	<3
	30-60cm	3,1,0	43	-	0,0,0	<3

a) 三本法による100mg, 10mg, 1mgでの各検出数

b) 1gあたりの青枯病菌密度の推定値, <3は検出限界未満、≧2400は定量できる範囲以上を示す

VI 謝辞

本研究を行うにあたり、北海道、青森県、岩手県、宮城県、栃木県、群馬県、茨城県、千葉県、神奈川県、新潟県、富山県、石川県、静岡県、岐阜県、愛知県、三重県、和歌山県、広島県、山口県、佐賀県、長崎県、熊本県、沖縄県の公設農業試験場および普及所の方々に土壌採集のご協力をいただいた。本稿ではその一部のみ紹介させていただいたが、皆様のご協力によりデータの蓄積と本稿の取りまとめができた

ことに深く感謝申し上げます。本研究の一部は新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業「新規接ぎ木法による地域条件に適応したトマト土壌病害総合防除技術の開発」(21009)および農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業「革新的接ぎ木法によるナス科野菜の複合土壌病害総合防除技術の開発」(25062C)により実施した。

引用文献

- Coutinho T.A. (2005) Introduction and prospectus on the survival of *R. solanacearum*. In: Bacterial wilt disease and the *Ralstonia solanacearum* species complex (Allen, C., P. Prior and A.C. Hayward eds.). APS Press, St Paul, pp. 9-28.
- Inoue, Y., Kawaguchi, A., Nakaho, K. (2018) Bacterial wilt-resistant tomato rootstock suppresses migration of *Ralstonia solanacearum* into soil. *Journal of General Plant Pathology*, 84, 118-123.
- Inoue, Y., Nakaho, K. (2014) Sensitive quantitative detection of *Ralstonia solanacearum* in soil by the most probable number-polymerase chain reaction (MPN-PCR) method. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98, 4169-4177.
- 井上康宏・中保一浩 (2017) 各種土壌消毒による青枯病菌殺菌効果. 関東東山病害虫研究会報, 64, 148 (講演要旨).
- 井上康宏・中保一浩 (2018) 圃場での青枯病発症トマトを介した土壌の病原細菌汚染. 関東東山病害虫研究会報, 65, 16-18.
- Momma, N. (2008) Biological soil disinfestation (BSD) of soilborne pathogens and its possible mechanisms. *JARC*, 42, 7-12.
- 小松勉 (2008) 北海道における土壌還元消毒の処理時期拡大. 北日本病害虫研究会報, 59, 33-37.

- 小松勉・松澤光弘・堀田治邦 (2006) 糖蜜還元消毒と抵抗性台木によるトマト青枯病の防除効果. 北日本病虫研報, 57, 38-41.
- 農業環境技術研究所 (2012) 低濃度エタノールを利用した土壤還元作用による土壤消毒実施マニュアル. 農業環境技術研究所, 8p <http://www.naro.affrc.go.jp/archive/niaes/techdoc/ethanol/>
- Peeters, N., Guidot, A., Vaillieu, F., Valls, M. (2013) *Ralstonia solanacearum*, a widespread bacterial plant pathogen in the post-genomic era. *Molecular Plant Pathology*, 14, 651-662.

Case studies of various soil disinfection methods on *Ralstonia solanacearum* population reduction in soil

Yasuhiro Inoue^{1*}, Kazuhiro Nakaho^{2*}

Summary

Various soil disinfectants were analyzed on their ability to decrease the density of the bacterial wilt pathogen, *Ralstonia solanacearum*. For chemical fumigants such as chloropicrin and dazomet, *R. solanacearum* was sterilized up to 40 cm below ground, but no effect was observed at 60 cm below ground. Soil reduction using rice bran was also not able to sufficiently reduce the population of *R. solanacearum* in deep soil. On the other hand, soil reduction using molasses or

ethanol led to high suppression of the *R. solanacearum* population up to 60 cm underground. Chlopic flow, a method of irrigation using chloropicrin, achieved a bactericidal effect against *R. solanacearum* up to 60 cm depth, even at low temperatures. However, disinfecting effect was negatively correlated with depth. The choice of disinfection method should be based on the degree of contamination in the soil, cultivation time, and economic costs.