トマト青枯病菌に対する糖含有珪藻土と糖蜜吸着資材を用いた 土壌還元消毒の処理条件の検討

大 谷 洋 子

Yoko Otani: Effective conditions for anaerobic soil disinfection of *Ralstonia solanacearum*
using sugar-containing diatomite and dried molasses

Abstract

Conditions for effective anaerobic soil disinfection (ASD) using sugar-containing diatomite and dried molasses were investigated. In the laboratory, ASD using diatomite and dried molasses (1% [w/w]) were more effective for disinfection of *Ralstonia solanacearum* compared with use of the control molasses. At 20–50°C, oxidation-reduction potential of soil after ASD decreased with increasing temperature. In addition, *R. solanacearum* population in soil decreased to a level below the detection limit at 30°C when sugar-containing diatomite was used and no *R. solanacearum* were detected from untreated soil after 14 days incubation at 40 and 50°C. During soil disinfection in the summer greenhouse in Wakayama prefecture, soil temperature at 30 cm depths was maintained above 40°C for 12 days. Soil temperature at 40 cm depth was maintained above 40°C or did not reach 40°C depending on the field. From the above, in the shallower layer than 30 cm underground, *R. solanacearum* population is assumed to decrease due to the high soil temperature. On the other hand, in the deep layer than about 30–40 cm underground, it is expected that *R. solanacearum* population decrease due to ASD caused by eluted component of sugar-containing diatomite and dried molasses.

Key words: anaerobic soil disinfection, sugar-containing diatomite, dried morasses, bacterial wilt, *Ralstonia solanacearum*

緒 言

トマト青枯病は、感染すると植物全体が急速に萎凋し、枯死に至る土壌伝染性の病害であり（堀田・土屋, 2012）、病原細菌は土壌深層にまで分布する（小玉ら, 1984）。和歌山県の促成栽培ミニトマトでは、本病の防除対策として、抵抗性台木の利用や、改植時期の7～8月に太陽熱土壌消毒あるいは小麦ふすまを用いた土壌還元消毒が行われている。しかし、太陽熱土壌消毒や小麦ふすまを用いた土壌還元消毒では土壌深層まで消毒できないため（山口ら, 1987；桑原ら, 2011）、青枯病が発生した圃場から病原細菌を完全に除去することは難しい。

廃糖蜜や低濃度エタノールを用いた土壌還元消毒は土壌深層の消毒のために開発され（新村, 2003）、適切な条件で実施すればトマト青枯病に対して効果が高い（前田ら, 2006；金田ら, 2011）。しかし、廃糖蜜やエタノールは資材が重いことや処理に液肥混入器を要することが普及の妨げとなっている。そこで、これらの問題点を解

決し、より簡便に下層土消毒を行うため、水溶性有機物を多く含む有機質資材である「糖含有珪藻土」や「糖蜜吸着資材」に着目した。これらの資材を用いた土壌還元消毒は、資材に含まれる水溶性有機物が溶出することによって耕耘した深さよりも深くまで還元させることができる（前田ら, 2017）。また、固体であるため廃糖蜜やエタノールなどの液体資材を用いる方法に比べ消毒作業を軽労化できる利点がある。しかし、新規資材であるため適切な処理量や温度の影響はわかっていない。防除法を確立するためにはこれらを明らかにする必要がある。

本研究では、糖含有珪藻土や糖蜜吸着資材を用いた土壌還元消毒の効果および適切な処理量を明らかにすることを目的として、30°Cの一定条件で処理量を変えて室内試験を実施した。さらに、処理量を一定条件とし、20, 30, 40, 50°Cの各条件で同様の室内試験を行い、糖含有珪藻土と糖蜜吸着資材を用いた土壌還元消毒に対する温度の影響を調べた。これらの結果と、和歌山県で

慣行的に実施される7～8月の土壤消毒時の地温から、本県における糖含有珪藻土と糖蜜吸着資材を用いた土壤還元消毒の有効性を考察した。

なお、本研究は、内閣府戦略的イノベーション創造プログラム(SIP)「次世代農林水産業創造技術」(管理法人：国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構生物系特定産業技術研究支援センター)によって実施された。本文に入るに先立ち、土壤還元消毒資材の分析データを提供して頂いた国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構九州沖縄農業研究センターの井原啓貴氏に厚くお礼申し上げる。

材料および方法

汚染土の作成

和歌山県日高郡印南町のミニトマト由来青枯病菌(2015年3月分離)のリファンピシン耐性株「和R-1株」を蒸留水に懸濁し、紀の川市の農業試験場内露地圃場から採取して2 mm目篩いを通した土壌(黄色土)に混和して汚染土を作成した。

供試資材および対照資材の概要

供試した糖含有珪藻土、糖蜜吸着資材および対照資材の概要を第1表に示した。

試験1 処理量の検討

両供試資材は汚染土(含水率14.0%)100 gに重量比で1または2%相当量を混和してバイアル瓶(容量100 ml, 日電理化硝子株式会社)に充填し、蒸留水を最大容水量(61%, 乾土当たり重量%)加えた。対照の廃糖蜜は新村(2003)を参考に、バイアル瓶に充填した汚染土100 gに0.6%水溶液を最大容水量添加した。また、無処理として汚染土に資材も水も加えない区を設けた。各処理

につき、2バイアル瓶を供試した。30℃で13日間培養後に、土壤酸化還元電位と青枯病菌の菌密度を調査した。酸化還元電位は卓上型pH・水質分析計F-74BWに複合型ORP電極9300-10D(いずれも株式会社堀場製作所)を接続して測定した。青枯病菌の菌密度はリファンピシンを50 ppmとなるよう加用した改変SMSA培地(Elphinstone et al., 1996)を用いた土壤平板希釈法で調べた。希釈段階は4, 40, 400, 4,000倍で行い、各希釈段階につき0.1 mlを培地1枚に塗布した。

試験2 温度の影響

両供試資材は汚染土(含水率16.3%)100 gに重量比で1%となるよう混和してバイアル瓶に充填し、蒸留水を最大容水量加えた。無処理区は試験1と同様に行った。20, 30, 40および50℃で14日間培養した。各処理につき、3バイアル瓶を供試した。土壤酸化還元電位の調査は試験1と同様に行った。青枯病菌の菌密度は試験1と同じ培地を用いた土壤平板希釈法で調べた。希釈段階は2.8, 28, 280, 2,800倍で行い、各希釈段階につき0.1 mlを培地2枚に塗布した。

試験3 夏季の施設内における土壤消毒時の地温測定

地温測定の概要を第2表に示す。和歌山県紀の川市の農業試験場内ガラス温室において、2016年7～8月に、太陽熱土壤消毒を実施し、消毒期間中の地下15 cmおよび30 cmの地温を温度測定データロガー(おんどとり Jr. TR-52, 株式会社ティアンドデイ)を用いて観測し、10分間隔で記録した。また、2017年7～8月に、海南市のビニルハウスでふすまを用いた土壤還元消毒、日高郡みなべ町のビニルハウスで太陽熱土壤消毒を実施し、消毒期間中の深さ40 cmの地温を同様に観測、記録した。

第1表 供試資材および対照資材の概要

資材 ^{*1}	内容	状態	資材含水率 ^{*2} (%)	液比重 ⁻¹ (g mL ⁻¹)	全 COD ^{*3}	水溶性 COD ^{*3}	全炭素	全窒素
					(mg-O ₂ /資材乾物 g, ただし廃糖蜜は現物重量あたり)	(mg-O ₂ /資材乾物 g, ただし廃糖蜜は現物重量あたり)	(乾物重量あたり%, ただし廃糖蜜は現物重量あたり)	(乾物重量あたり%, ただし廃糖蜜は現物重量あたり)
糖含有珪藻土	アミノ酸を生成する際のタピオカスターチの糖化ろ過助剤であり、珪藻土を主体とする	粉状	31.7	—	207	159	12	0.4
糖蜜吸着資材 (オマラス95)	大豆皮に糖蜜を吸着させたもの	粒状	6.2	—	424	357	41	1.4
(対照) 廃糖蜜	サトウキビから砂糖を精製する時に発生する、粘状で黒褐色の液体	液状	—	1.35	597	396	31	1.2

資材の分析データは国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構九州沖縄農業研究センターの井原啓貴氏からご提供頂いた。

^{*1} 糖含有珪藻土は味の素株式会社製、糖蜜吸着資材は Westway Feed Products LLC 製、廃糖蜜は有限会社サンジェットアイ製。

^{*2} 含水率＝水分重量÷現物(乾物＋水分)重量×100

^{*3} COD：化学的酸素要求量。被酸化性物質を酸化するために必要とする酸素量で示したもの。CODが高いほど有機物量が多いといえる。水溶性 COD はかん水時に下層土へ浸透しやすい有機物量の指標として計測した。

第2表 夏季の施設内における土壌消毒時の地温測定の概要

場所	土壌消毒の種類	処理期間	地温測定期間	測定深さ
紀の川市	太陽熱土壌消毒	2016年7月29日～8月19日	7月30日～8月19日	地下15, 30 cm
海南市	土壌還元消毒（ふすま）	2017年7月7日～7月31日	7月16日～7月31日	地下40 cm
みなべ町	太陽熱土壌消毒	2017年7月11日～8月14日	7月19日～8月14日	地下40 cm

第3表 各資材を用いた 30°C、13日間の土壌還元消毒処理による土壌酸化還元電位とトマト青枯病菌密度の変化

供試資材	混和量または添加濃度 (重量%)	反復	酸化還元電位 (mV)	菌密度 (cfu/g 乾土)
糖含有珪藻土	1%	I	-105	N.D.
		II	-113	N.D.
		平均	-109	N.D.
	2%	I	-82	N.D.
		II	-76	N.D.
		平均	-79	N.D.
糖蜜吸着資材	1%	I	-232	N.D.
		II	-213	N.D.
		平均	-223	N.D.
	2%	I	-154	N.D.
		II	-163	N.D.
		平均	-158	N.D.
(対照) 廃糖蜜	0.6%	I	-100	128
		II	-136	256
		平均	-118	192
無処理		I	218	640
		II	215	576
		平均	217	608

2 反復

処理前の菌密度： 1.1×10^3 cfu/g 乾土

N.D.：検出限界（64 cfu/g 乾土）未満

結 果

試験1 処理量の検討

各資材を用いて土壌還元処理を行った場合の土壌酸化還元電位と青枯病菌の分離について第3表に示す。30°Cで13日間培養した後の酸化還元電位は、いずれの供試資材処理も無処理区に比べ低下し、還元状態となった。培養後の菌密度は、糖含有珪藻土の1および2%，糖蜜吸着資材の1および2%処理で検出限界未満となった。廃糖蜜0.6%処理は無処理区に比べ菌密度がやや低減したが、その低下幅は小さかった。

試験2 温度の影響

いずれの供試資材も20～50°Cの範囲では温度が高いほど14日間処理後の土壌酸化還元電位が低かった（第1図）。青枯病菌に対して、糖含有珪藻土処理は30°C以上

第1図 各資材を用いた14日間の土壌還元消毒処理における処理温度と酸化還元電位の関係
エラーバーは標準誤差を示す。

で菌密度が検出限界未満となった（第4表）。糖蜜吸着資材は 30℃ で無処理区に比べ菌密度が低減し、40℃ 以上で菌密度が検出限界未満となった。無処理区においても 40℃ 以上のときに検出限界未満となった。

試験3 夏季の施設内における土壌消毒時の地温測定

2016年の紀の川市における地下 15 cm, 30 cm の地温は消毒期間後半には 40℃ を超え、最高地温はそれぞれ 49.2℃, 43.3℃ に達した（第2図）。2017年の海南市、みなべ町における地下 40 cm の地温は消毒期間後半にはそれぞれ 35.7~39.7℃, 39.9~44.2℃ で推移した。

考 察

予備試験として、バイアル瓶で糖含有珪藻土および廃糖蜜を処理して 30℃ で 7, 15 または 21 日間培養したところ、7~15 日後に両資材とも菌密度が検出限界未満となったことから、試験 1 および 2 では、培養期間を 13~14 日間とした。

試験 1 において 30℃ で 13 日間培養した後の菌密度は、糖含有珪藻土の 1 および 2%, 糖蜜吸着資材の 1 および 2% 処理で検出限界未満となったのに対し、廃糖蜜 0.6% 処理では低減はしたものの検出された。このことから、

第4表 各資材を用いた14日間の土壌還元消毒処理における処理温度とトマト青枯病菌密度の関係

資材	菌密度 (cfu/g 乾土)			
	20℃	30℃	40℃	50℃
糖含有珪藻土	27,526 (3,974)	N.D.	N.D.	N.D.
糖蜜吸着資材	4,060 (1,298)	194 (194)	N.D.	N.D.
無処理	45,811 (11,308)	21,778 (5,565)	N.D.	N.D.

表中の数字は3反復の平均（標準誤差）を示す。

処理前の菌密度： 1.4×10^5 cfu/g 乾土

N.D.：検出限界（23 cfu/g 乾土）未満

第2図 夏季の和歌山県内の施設における土壌消毒時の地温

A：2016年に紀の川市の農業試験場内ガラス温室において太陽熱土壌消毒を実施。

B：2017年に海南市およびみなべ町の現地ビニルハウスにおいてふすまを用いた土壌還元消毒あるいは太陽熱土壌消毒を実施。両端矢印は土壌消毒の実施期間を表す。

糖含有珪藻土および糖蜜吸着資材は1%処理で対照の廃糖蜜0.6%処理に優る消毒効果があると示唆された。

試験1では廃糖蜜処理の菌密度低減効果が低かった。第1表から算出した糖含有珪藻土1%と廃糖蜜のバイアル瓶あたりの全COD量は141.4 mgと142.3 mg、全炭素は80 mgと70 mgであり、両者に大きな差はなく、処理後の酸化還元電位も-109 mVと-118 mVと同等であった。このことから、全COD量や全炭素量は菌密度低減効果の差の原因ではないと考えられた。土壤還元消毒の効果には土壤の還元以外に金属イオンや有機酸の生成等が複合的に作用していると言われていることから(Momma et al., 2011)、本試験における資材間の菌密度低減効果の差も土壤の還元以外の要因が作用している可能性がある。また、各資材の濃度が低い方が酸化還元電位が下がる現象が認められたが、原因は不明である。

本研究では試験1と2で土壤酸化還元電位の低下程度が異なった。例えば、糖蜜吸着資材1%処理の30°C 13~14日間培養の酸化還元電位は、試験1では-223 mV、試験2では-81 mVであった。村田ら(2011)は水田などの湿潤土壌における酸化還元電位測定は、再現性のある測定値が得られにくいことを指摘している。その理由として、同じ圃場内であっても、土壌微細構造やpH、水分量が異なることを挙げている。本試験では、供試土壌を試験ごとに圃場から採取しており、採取時期や前作のすき込みの有無等で土壌中の有機物量が異なると推察され、それらが試験ごとの酸化還元電位の低下程度に影響したと考えられる。

土壤還元消毒には嫌気性の微生物が関与しているため(Momma et al., 2010)、微生物群の活性が低下するような低温条件では十分な消毒効果が得られないことが懸念される。一方、7~8月に施設内で土壤消毒を実施すると、土壤表層は高温になるため、当初は還元に関わる微生物の活動が阻害され、還元が進まないことが懸念された。しかし、試験2により、20~50°Cの範囲では温度が高いほど還元が進みやすいことが明らかとなった。また、40°C以上では無処理区でも菌密度が検出限界未満となった。青枯病菌は、土壌における45°C、12時間処理および40°C、3日間処理で著しく減少すること(伊達ら, 1993)から、本試験において無処理区の40および50°C処理で青枯病菌が検出されなかったのは、高温で死滅した、あるいは損傷菌となったためと考えられた。

和歌山県で7~8月に施設内で土壤消毒を実施すると地下30 cmの地温は処理開始9日後に40°Cを超え、40°C以上を12日間維持できた。このことと試験2の結果を照合すると、地下30 cmより浅い層では高地温によ

り青枯病菌密度を低減できると考えられる。一方、地下40 cmの地温は、みなべ町では処理開始13日後以降40°C以上を維持したが、海南市では処理開始9日後以降35.7~39.7°Cで推移し、40°Cに達することはなかった。伊達ら(1993)は、38°Cの細菌懸濁液中では、21日後も青枯病菌が生存していたことを報告している。これらのことから、地下40 cmの温度帯では高地温による菌密度低減効果は不安定であると考えられる。したがって、実際の夏季の土壤還元消毒時には、地下30 cmより浅い層では高温による菌密度低減と還元による菌密度低減が併せて起こり、地下30~40 cmより深い層では糖含有珪藻土や糖蜜吸着資材の溶出した成分による還元が起こって菌密度が低減することが期待される。青枯病菌は深さ100 cmの土壌からも検出される(小玉, 1984)。前田ら(2017)は糖含有珪藻土による土壤還元消毒の効果が深さ60 cmまで認められたと報告している。両資材を用いた土壤還元消毒により、60 cmより深い層の青枯病菌は残存するかもしれないが、太陽熱のみを利用した土壤消毒より高い防除効果が得られるであろう。

以上のことから、糖含有珪藻土、糖蜜吸着資材とも土壌に1% (w/w) 以上混和して土壤還元消毒処理すると、青枯病菌に対して廃糖蜜0.6%処理に優る効果が得られることが示唆された。また、20~50°Cの範囲では温度が高いほど還元が進んだ。本県で7~8月に両資材を用いた土壤還元消毒を実施すると、トマト青枯病防除に有効であると考えられた。今後は、圃場における効果の確認が必要である。

摘 要

トマト青枯病菌に対する土壤還元消毒の新規資材として、糖含有珪藻土または糖蜜吸着資材を用いた場合の処理条件について検討した。両資材とも、土壌に対して重量比で1%以上混和して土壤還元消毒処理すると、青枯病菌に対して対照の廃糖蜜0.6%処理に優る効果が得られることが示唆された。また、20~50°Cの範囲では温度が高いほど還元が進んだ。和歌山県で7~8月に施設内で土壤消毒を実施すると、地下30 cmでは40°C以上を12日間維持できた。一方、地下40 cmでは、みなべ町では処理開始13日後以降40°C以上を維持したが、海南市では40°Cに達することはなかった。これらのことから、地下30 cmより浅い層では高地温による菌密度低減と還元による菌密度低減が併せて起こり、地下30~40 cmより深い層では溶出した糖含有珪藻土および糖蜜吸着資材の成分による還元が起こって菌密度が低減することが期待される。

引用文献

- 伊達寛敬・那須英夫・畑本 求 (1993) 日植病報 59 : 709-713.
- Elphinstone, J., J. Hennessy, J. K. Wilson and D. E. Stead (1996) EPPO Bulletin 26: 663-678.
- 堀田光生・土屋健一 (2012) 微生物遺伝資源利用マニュアル(12) 改訂第2版. (独) 農業生物資源研究所, 茨城, pp. 1-32.
- 金田真人・小河原孝司・鹿島哲郎 (2011) 関東東山病虫研報 58 : 111. (講要)
- 小玉孝司・岡山健夫・堀本圭一 (1984) 関西病虫研報 26 : 61.
- 桑原克也・高橋まさみ・大堀智也・三木静恵 (2011) 関東東山病虫研報 58 : 85-89.
- 前田征之・太田沙由理・古川勇一郎・白鳥 豊・原澤良栄・中保一浩 (2017) 日植病報 83 : 212. (講要)
- 前田征之・関口博之・浅野英明・白鳥 豊・峯村 晃・森川千春・吉田清志・橋本好弘・横山和成 (2006) 土と微生物 60 : 130. (講要)
- Momma, N., M. Momma and Y. Kobara (2010) JGPP 76: 336-344.
- Momma, N., Y. Kobara and M. Momma (2011) JGPP 77: 331-335.
- 村田光明・池田貴昭・三枝正彦・石田 誠・澤田和明 (2011) 分析化学 60 : 499-506.
- 新村昭憲 (2003) 日植病報 69 : 78. (講要)
- 山口純一郎・浦田丈一・管 正道 (1987) 九病虫研会報 33 : 45-47.