



土壌還元消毒の消毒 メカニズムと実践事例

門馬 法明

園芸植物育種研究所
研究開発部 研究員



講演内容

1. 還元作用研究の歴史

2. 土壌還元消毒のメカニズム

生物的要因

化学的要因

3. 技術開発と普及

日本国内の事例

海外の事例

4. 今後の展望

1. 還元作用研究の歴史

還元作用研究の歴史

渡辺文吉郎(1973) 有機物・湛水処理の併用による*Rhizoctonia solani*の防除

孫工弥寿雄・喜多孝一(1979) 土壌Ehの低下と病原菌の抑制効果の関係

小玉孝司(1979) 病土への有機物の添加と湛水の組合せによる病原菌の抑制

岡崎博(1984) グルコース添加湛水処理によるフザリウム病の抑制

・
・

新村昭憲(1999) 土壌還元消毒法(Reductive soil disinfestation, RSD)の開発

Blok W.J. ら(2000) Anaerobic soil disinfestation(ASD)の開発

・
・

植松清次ら(2007)・小原裕三ら(2007) **低濃度のエタノール**で土壌還元消毒が可能

↓

「低濃度エタノールによる土壌還元消毒法の開発(実用化技術開発事業, 農水省)」

当時は土壌くん蒸剤の全盛時代で、お天気任せの不安定要素の多い
土壌消毒法は、同業者からは余り信頼されていなかったように思う。

小玉孝司 (2015) [夏の風物詩“イチゴの空毛ハウスの密封”] 植物防疫69号 p. 63

土壌還元消毒法の種類

有機物添加・湛水・被覆

有機物	施用量 (乾燥重 or L/m ²)	処理期間	文献
小麦フスマ 米糠、糖蜜	0.9-1.8 kg (小麦フスマ)	2-3週間	新村(2000)
エタノール (0.25~0.5%)	50-100 L	2-3週間	Kobara et al. (2007) Uematsu et al. (2007)
アブラナ科植物 ・緑肥など	0.5 kg (ブロッコリー)	15週間	Blok et al. (2000)

オランダ球根生産圃場における湛水処理



線虫等の対策のため、球根を採集した後8～12週間湛水する。

対馬淳一 氏より提供

小麦フスマによる土壌還元消毒



小麦フスマの混和



被覆



湛水処理

低濃度エタノールによる土壌還元消毒



灌水チューブの敷設



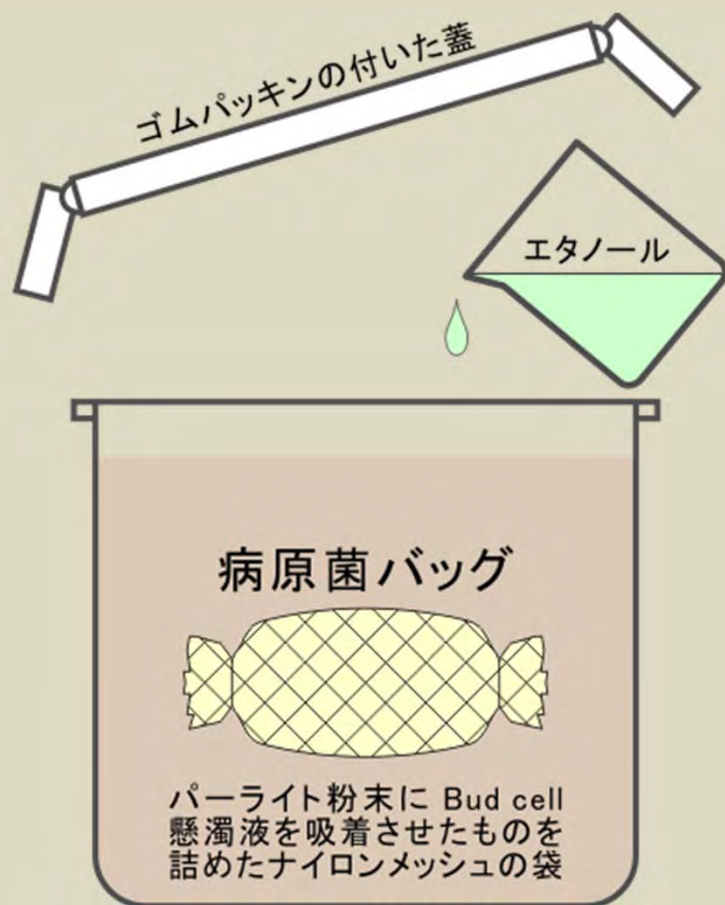
被覆



エタノールの添加
(動力噴霧機 etc...)

2. 土壤還元消毒のメカニズム 生物的要因

箱試験によるエタノール処理の効果の確認



プラスチックボックス (17×17×15 cm)

※) 生土4kgにエタノール水溶液1Lの割合

処理温度: 30°C, 期間: 15日

無処理区

水処理区

エタノール区 (0.5, 1.0, 2.0%)

生土4kg + 1Lエタノール or 水



病原菌バッグ

パーライトの粉末に病原菌のBud cell懸濁液を吸着させたものが入っている。

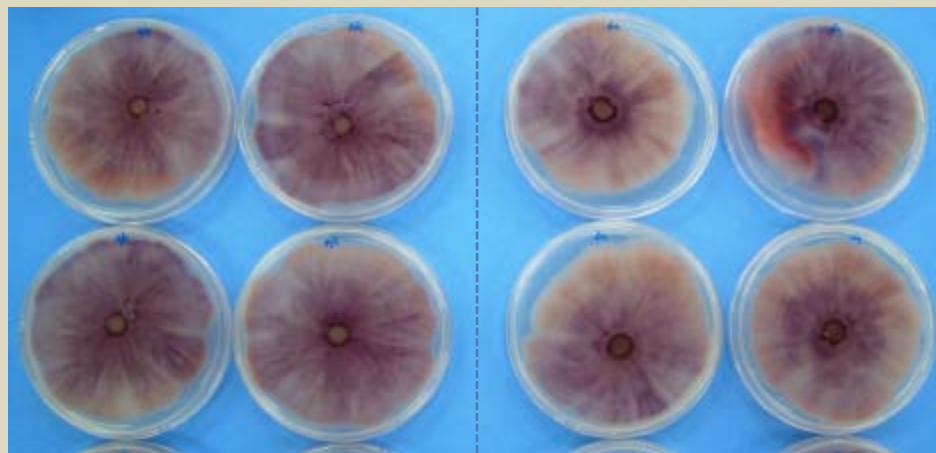
還元消毒作用への土壌微生物群の関与

還元消毒を行う前に滅菌・蒸気消毒を施した土壌では還元化が起こらず、病原菌も抑制されない。

前処理	土壌処理	病原菌数
オートクレーブ (121°C 60分)	無処理	5.2 (0.1)
	水処理	4.3 (0.1)
	2.0% EtOH	4.6 (0.0) →還元化しない
なし	2.0% EtOH	ND →還元化
なし	無処理	6.4 (0.0)
	水処理	4.9 (0.1)
	フスマ湛水	ND →還元化
蒸気消毒 (80°C 2時間)	フスマ湛水	4.9 (0.0) →還元化しない

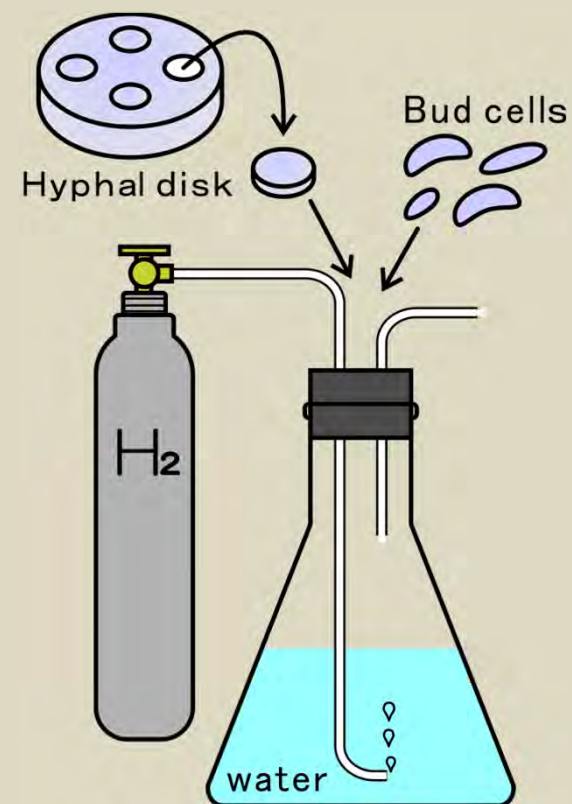
単位: Log CFU/g dry soil (± S.E.)

還元水中における トマト萎凋病菌の動態



H₂

Control



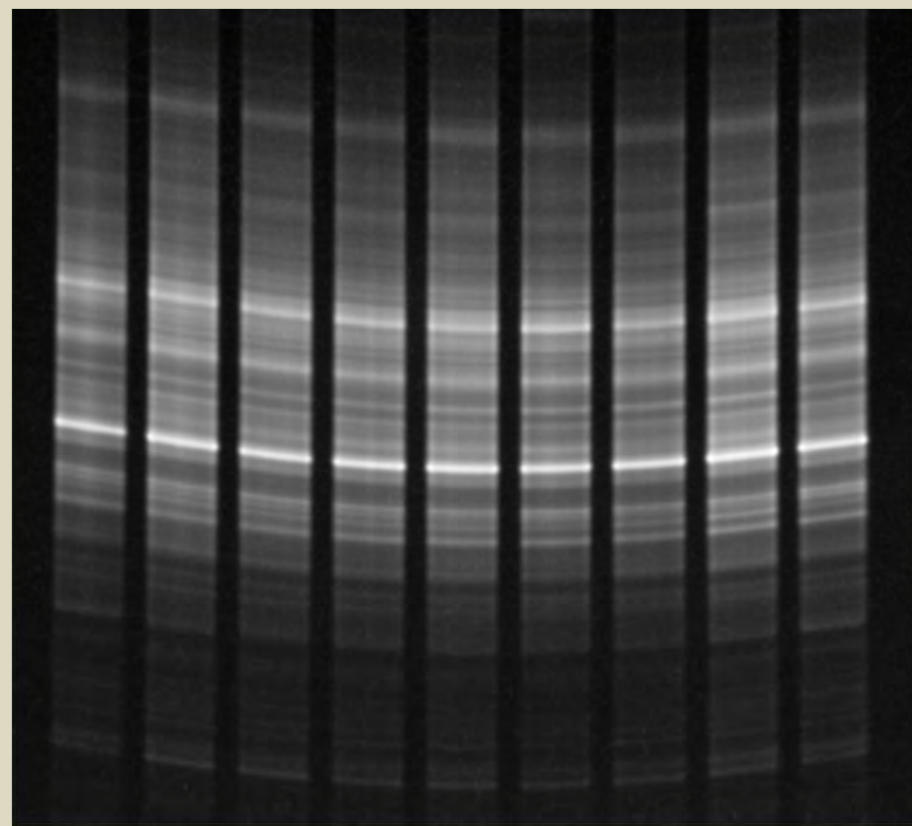
処理区	生存菌数 {log CFU/ml (±SE)}		平均Eh (mV)
	7 日目	14 日目	
水素ガス	6.0 (0)	5.6 (0)	-234
無処理	5.9 (0)	5.5 (0)	260

エタノール処理の影響(病原菌 & 嫌気性細菌)

処理区	Log CFU/g dry matter				
	3日目	6日目	9日目	12日目	15日目
トマト萎凋病菌数 (厚膜孢子)					
無処理	—	—	—	—	5.0
水処理	3.1	2.6	3.1	4.0	3.7
0.5% EtOH	3.0	3.5	ND	ND	ND
1.0% EtOH	1.4	ND	ND	ND	ND
2.0% EtOH	ND	ND	ND	ND	ND
嫌気性細菌					
無処理	—	—	—	—	5.7
水処理	6.0	6.1	6.2	6.2	5.6
0.5% EtOH	6.7	7.4	6.8	7.1	5.8
1.0% EtOH	6.7	7.4	6.6	7.5	5.9
2.0% EtOH	7.3	6.2	6.5	6.4	5.9

PCR-DGGE法による細菌群集構造解析

水処理区

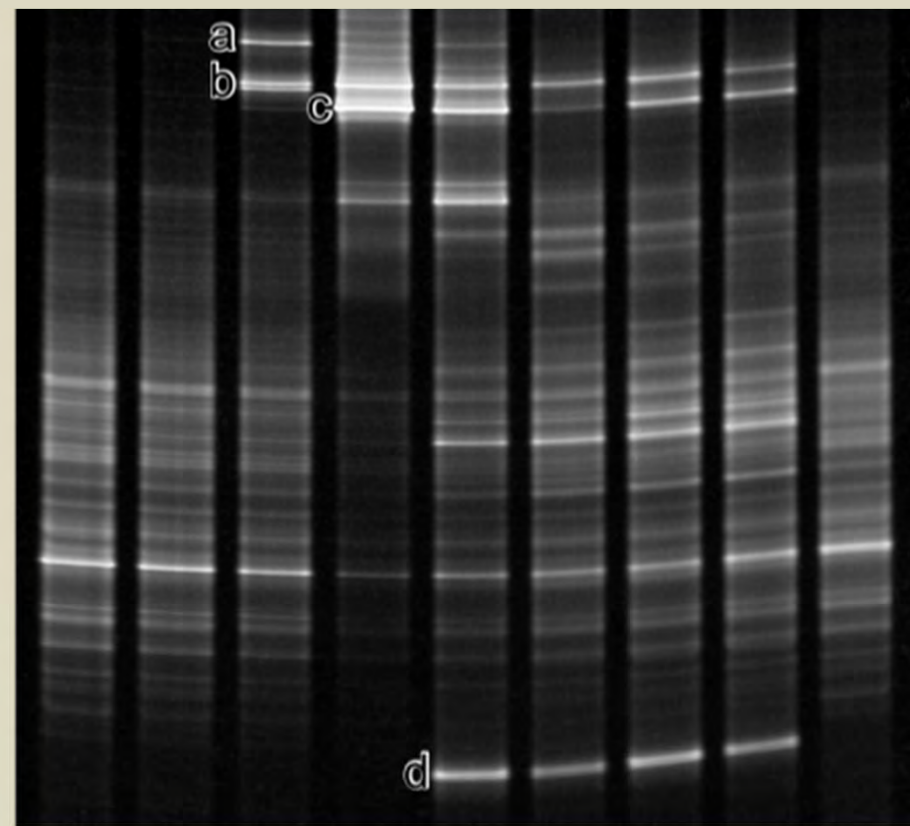


無処理区

1 2 3 6 9 12 15
Incubation period (day)

無処理区

1% エタノール



無処理区

1 2 3 6 9 12 15
Incubation period (day)

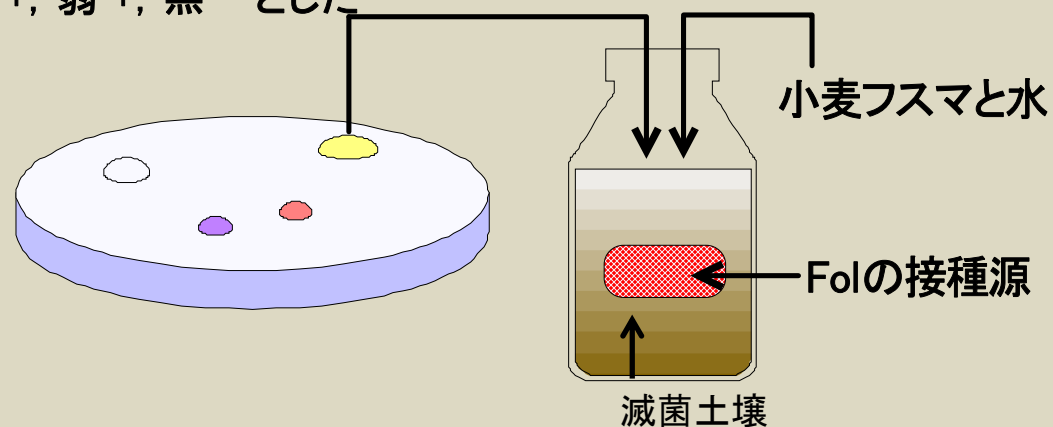
無処理区

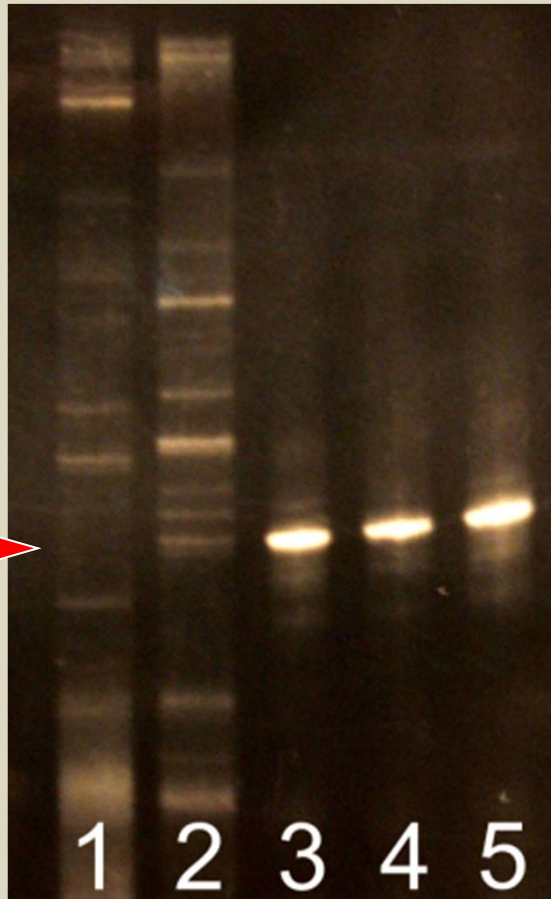
還元消毒に関与する細菌の探索

菌株	分離条件	Fol生菌数	還元臭
An	還元	ND	++
Bn	嫌気	ND	++
Cn	嫌気	ND	++
Da	好気	3.56	+
En	嫌気	5.37	-
Fa	好気	5.49	-

還元臭: その強さに応じて、強 ++, 弱 +, 無 - とした

単位: Log CFU/g dry perlite



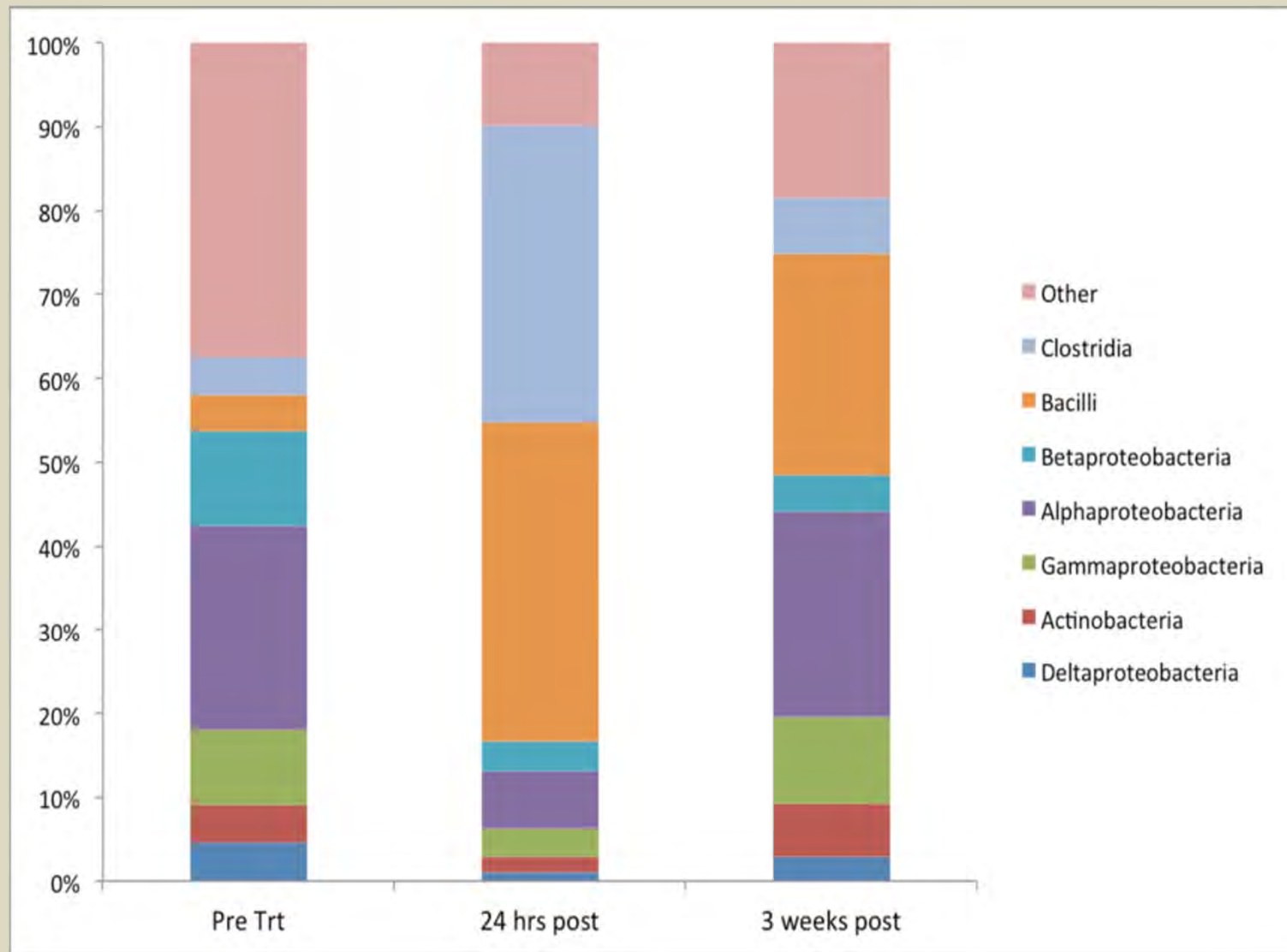


Lane 1: フスマ, 2: フスマ還元
3: An, 4: Bn, 5: Cn

***Clostridium* sp. (100%)**

有機物の発酵の過程において酢酸
や酪酸を産生する種が存在する。

例) *C. acetobutylicum*

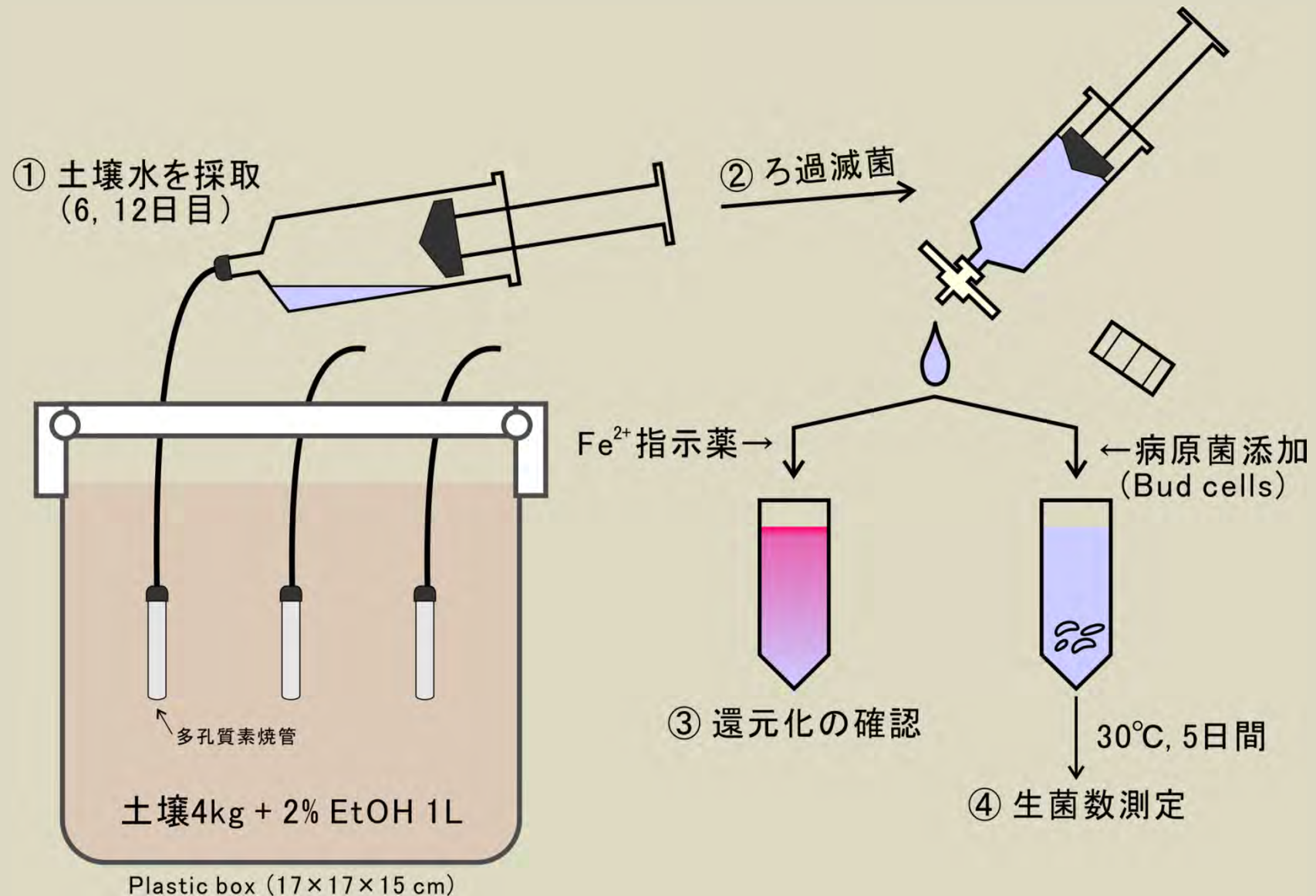


2. 土壌還元消毒のメカニズム 化学的要因

土壌還元消毒による病原菌の抑制には土壌微生物の働きが必須である。

物理的な接触が必要か？

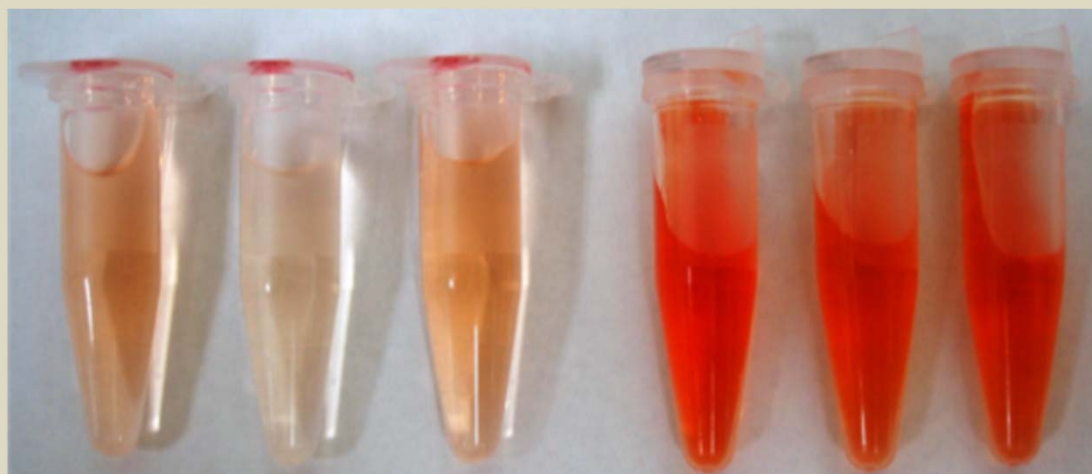
土壌抽出液中でのトマト萎凋病菌の抑制



土壌抽出液中での病原菌の抑制

土壌処理	土壌抽出液採取日	
	6日目	12日目
水処理	5.1 (0.1)	5.4 (0)
2% EtOH	4.2 (0.1)	0

Log CFU/ml ($\pm$ SE)



6日目

12日目

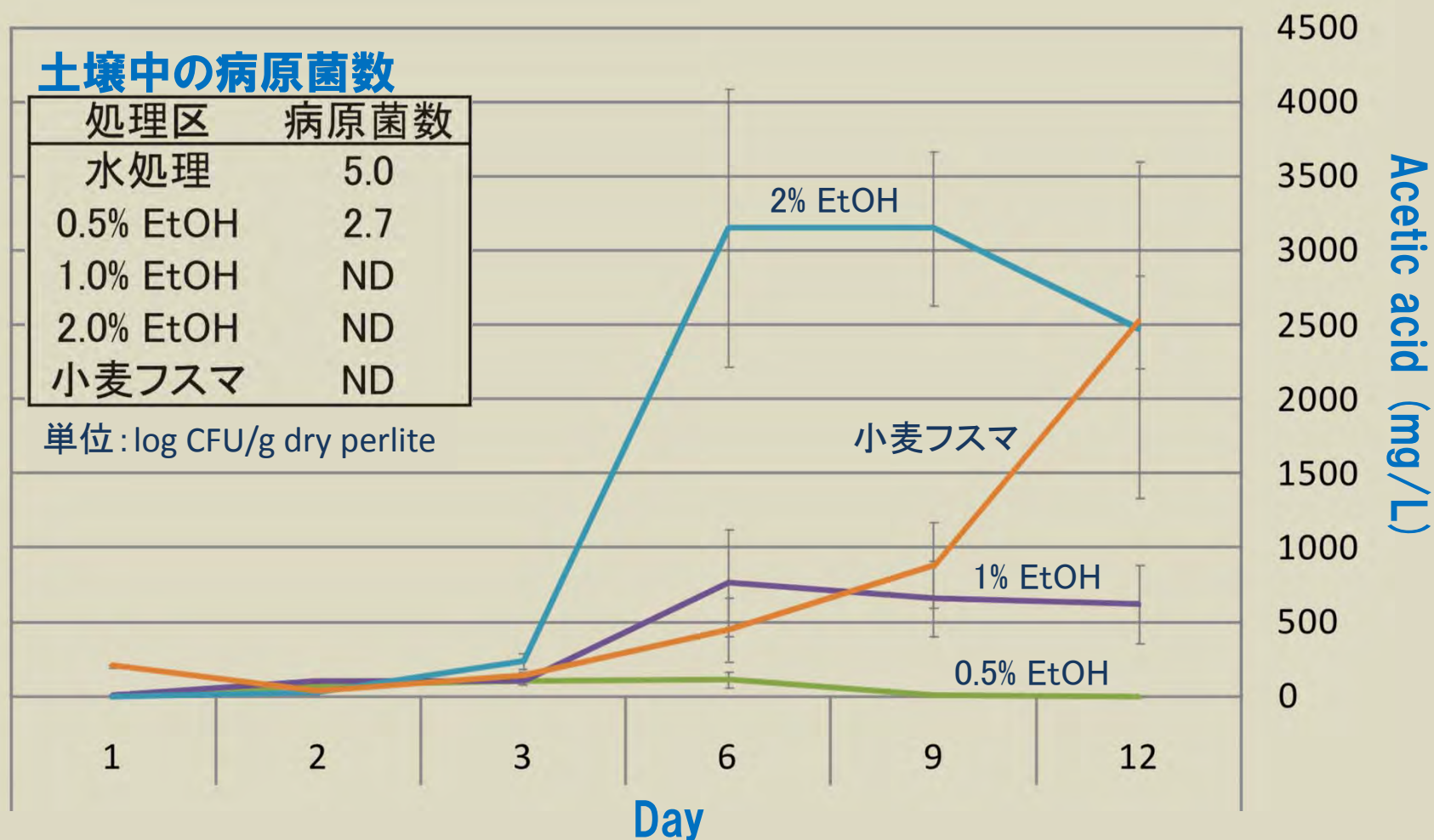
土壌の還元化の確認(2% EtOH区)

土壌還元消毒による病原菌の抑制には土壌微生物の働きが必須である。

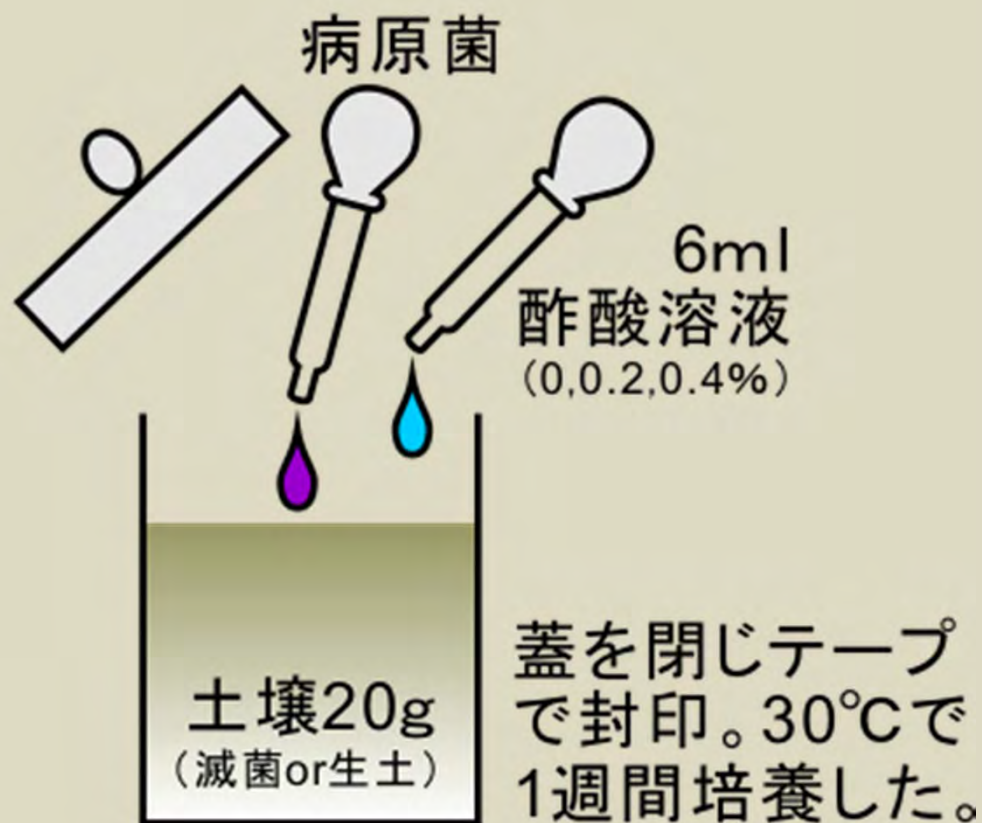
しかし、病原菌と土壌微生物との物理的な接触は必須ではない。

土壌還元消毒の殺菌作用には物質的な要因の関与が大きい。

還元処理土壌における酢酸の蓄積



土壌還元消毒における酢酸の役割①



土壌還元消毒における酢酸の役割①

酢酸添加土壌でのトマト萎凋病菌の生存

処理区	土壌滅菌	
	なし	あり
無処理	5.9 (0.1)	6.0 (0.0)
水処理	5.4 (0.1)	6.5 (0.1)
0.2% 酢酸	4.0 (0.2)	6.9 (0.1)
0.4% 酢酸	3.8 (0.1)	7.0 (0.1)

単位 : log CFU/g dry soil ($\pm$ SE)

**滅菌しておいた土壌では
酢酸をエサに病原菌が増殖？**

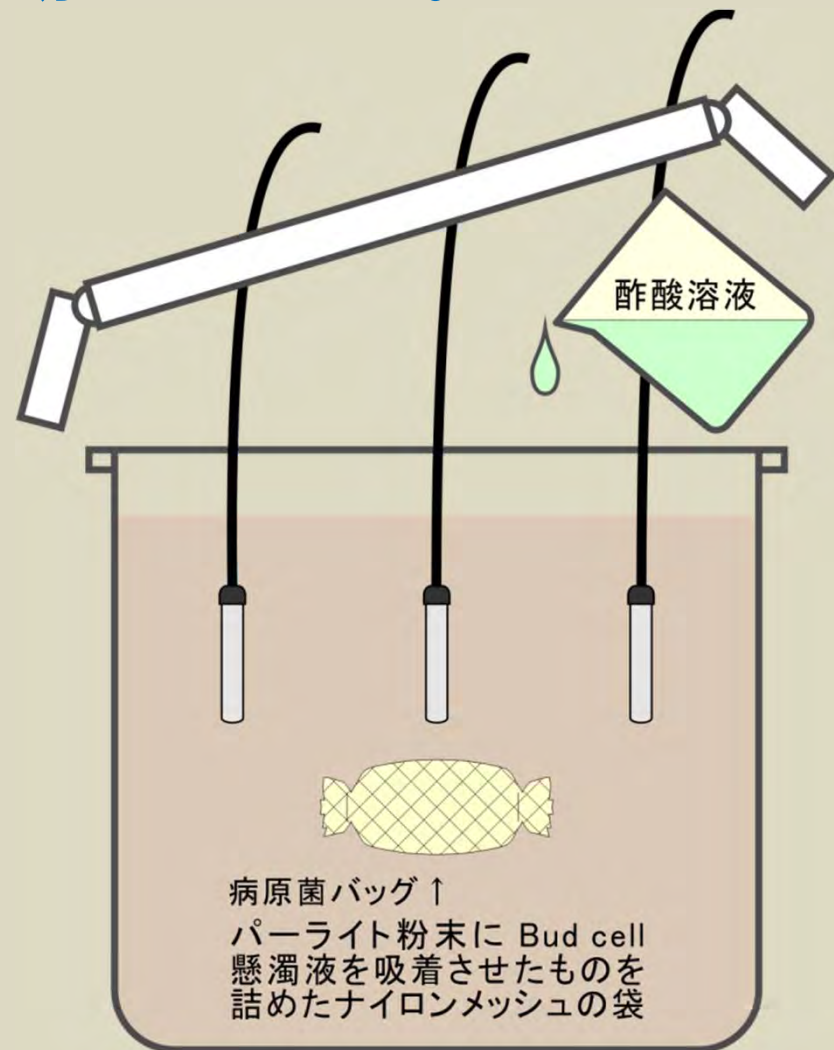
土壌還元消毒における酢酸の役割①

より高濃度の酢酸を添加してみた。

生土4kg＋酢酸溶液1L
土壌水が0.4%の割合で酢酸を含むように処理して30℃で培養。

調査項目

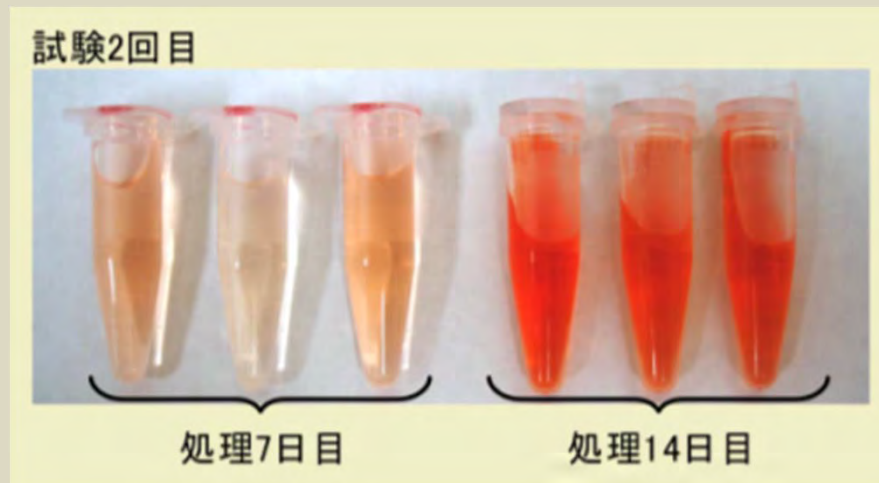
- ・土壌還元の確認(7,14日目)
- ・病原菌生存数(14日目)



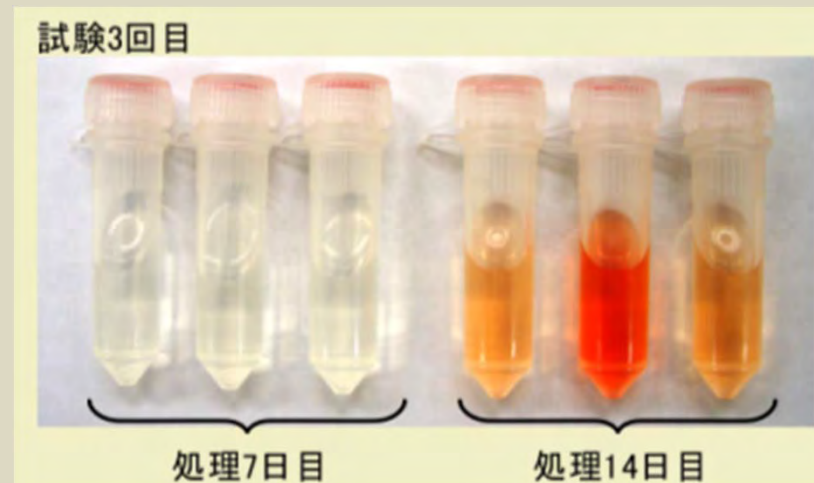
酢酸添加土壌での病原菌の抑制と還元化

	1回目	2回目	3回目
酢酸添加	ND	ND	3.8 (0.0)
水処理	2.9 (0.0)	4.2 (0.1)	4.8 (0.1)

単位: log CFU/g perlite soil ($\pm$ SE)



試験2回目(消毒効果:強)
土壌還元→早期に進行・均一



試験3回目(消毒効果:弱)
土壌還元→進行が遅く・不均一

生土へ酢酸を添加することで土壤の還元化が促進され病原菌が抑制。

このような抑制作用は滅菌土壌では誘導されない。

還元化の程度と殺菌作用に相関？

※この実験結果は、土壤還元消毒の殺菌作用における酢酸の関与を否定するものではない。

Katase et al. (2009)は、還元処理時のpHは酢酸の殺線虫効果が極めて低くなる値であったが、有機物周辺では局所的なpHの低下が起こり、酢酸の活性が高い状態となっている可能性を考察している。

土壌の還元化が殺菌効果の必要条件となっている土壌処理・消毒法がある。

例) 低濃度エタノール処理
土壌還元消毒
糖の添加+湛水処理
酢酸の土壌添加
田畑転換 など



土壌の還元化の判定

・ORPメーター

・土壌断面の色相
・二価鉄指示薬

二価鉄の生成で判断

二価鉄イオンや
二価マンガンが
殺菌作用に関与？

二価鉄イオンは植物種子や
細菌を阻害 (Foy 1978, Fakih 2008)



湛水土壤中における還元過程

土壌還元消毒法によるトマトの土壌病害虫防除
(千葉県および千葉県農林技術研究会議)より改変抜粋

金属イオンが病原菌におよぼす影響

Treatment _※	%	Fol		
		1d	4d	7d
Water	–	–	–	4.8 (0.0)
MgSO ₄ [SO ₄ ²⁻]	1.0	–	–	4.8 (0.0)
FeSO ₄ [Fe ²⁺]	1.0	2.6 (0.0)	ND	ND
	0.1	1.9 (0.1)	ND	ND
	0.01	3.5 (0.0)	ND	ND
	0.001	4.2 (0.0)	2.1 (0.1)	ND
Fe ₂ (SO ₄) ₃ [Fe ³⁺]	1.0	2.6 (0.1)	ND	ND
	0.1	3.6 (0.0)	1.6 (0.0)	ND
	0.01	4.0 (0.0)	3.8 (0.0)	3.8 (0.0)
	0.001	4.2 (0.0)	4.3 (0.0)	4.3 (0.0)
MnSO ₄ [Mn ²⁺]	1.0	2.4 (0.0)	ND	ND
	0.1	2.5 (0.0)	ND	ND
	0.01	2.6 (0.0)	ND	ND
	0.001	3.5 (0.0)	2.6 (0.0)	1.9 (0.1)

Fol: *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*,
unit: log CFU/ml (±SE)

酢酸による二価鉄の殺菌作用の増大

	FeSO ₄	MnSO ₄	酢酸	生菌数	
	0.0001%	0.0001%	0.001%	4日目	8日目
蒸留水	—	—	—	4.8 (0.2)	5.0 (0.0)
Fe	+	—	—	4.7 (0.0)	4.6 (0.0)
Mn	—	+	—	4.9 (0.0)	5.1 (0.1)
酢酸	—	—	+	5.0 (0.0)	4.9 (0.2)
Fe+酢酸	+	—	+	3.2 (0.1)	0.8 (0.8)
Mn+酢酸	—	+	+	4.7 (0.1)	4.7 (0.0)
Fe+Mn+酢酸	+	+	+	3.8 (0.1)	3.2 (0.4)

単位 : log CFU/ml (±SE)

土壌還元消毒の効果の選択性

消毒作用の認められている病原

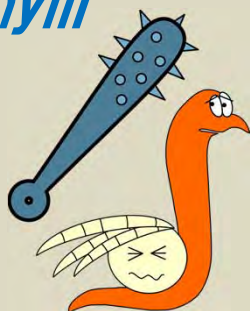
病原糸状菌

Fusarium oxysporum
Phomopsis sclerotioides
Phytophthora palmivora
Monosporascus cannonballus
Pyrenochaeta lycopersici
Plasmidiophora brassicae

病原細菌

Ralstonia solanacearum
Burkholderia caryophylli

寄生性センチュウ 雑草類



還元処理後の糸状菌密度

	糸状菌	<i>Fusarium oxysporum</i>
無処理	5.00 (0.01)	3.74 (0.04)
水処理	4.94 (0.01)	3.01 (0.09)
0.5% EtOH	4.76 (0.03)	ND
1.0% EtOH	4.73 (0.00)	ND
2.0% EtOH	4.61 (0.07)	ND

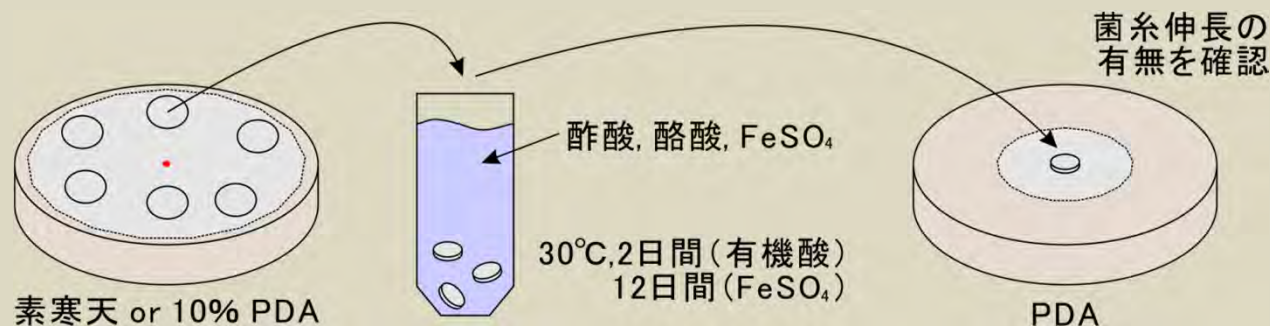
単位: Log CFU/g dry soil 培養条件: 30°C, 14日間

どんな特性の糸状菌群
が生き残っている？

Fe²⁺および有機酸が病原菌におよぼす影響

供試菌	蒸留 水	0.1% Fe ²⁺	酢酸(%)		n-酪酸(%)	
			0.04	0.08	0.04	0.08
前培養:素寒天						
<i>Fusarium oxysporum</i>	+	—	—	—	+	—
<i>Phomopsis sclerotioides</i>	+	—	±	—	—	—
前培養:10% PDA						
<i>Fusarium oxysporum</i>	+	—	+	+	+	+
<i>Phomopsis sclerotioides</i>	+	—	—	—	+	—
<i>Phytophthora palmivora</i>	+	+	—	—	—	—
<i>Monosporascus cannonballus</i>	+	—	—	—	—	—

+: 3/3が生存(耐性有り)、±: 一部生存、—: 0/3が生存(感受性)



エタノール還元が糸状菌群集構造におよぼす影響

相同性 (%)		菌密度 (CFU/g dry soil)	
		水処理	エタノール
Group I	<i>Lomentospora prolificans</i> (100%)	2,980	182
Group II	<i>Fusarium oxysporum</i> (100%)	1,324	ND
Group III	<i>Bionectria ochroleuca</i> (100%)	497	ND
	<i>Myrothecium sp.</i> (100%)		
	<i>Hypocreales sp.</i> (100%)		
Group IV	<i>Taifanglania major</i> (100%)	ND	199
	<i>Lasiosphaeris hispida</i> (100%)		
	<i>Aporothielavia leptoderma</i> (100%)		
Group V	<i>Aspergillus clavatus</i> (100%)	ND	50
	<i>A. fumigates</i> (100%)		
	<i>Neosartorya fischeri</i> (100%)		
Group VI	<i>Penicillium oxalicum</i> (100%)	ND	99
	<i>P. corylophilum</i> (100%)		
	<i>Eupenicillium javanicum</i> (100%)		
Group VII	Fungal sp. (100%)	ND	66

Fe²⁺および有機酸が土壌糸状菌におよぼす影響

供試菌	蒸留水	0.1% Fe ²⁺	酢酸(%)		n-酪酸(%)	
			0.04	0.08	0.04	0.08
Group I	+	+	+	+	+	+
Group II	+	—	+	—	+	—
Group III	+	—	+	—	+	+
Group IV	+	+	+	—	+	—
Group V	+	+	+	+	+	+
Group VI	+	+	+	+	+	+
Group VII	+	+	+	+	+	+

+: 3/3が生存(耐性有り)、±: 一部生存、—: 0/3が生存(耐性無し)

水・エタノール処理共通

エタノール処理区分離群

水処理区分離群

→Fe²⁺や有機酸に強い。

→Fe²⁺や有機酸に弱い。

還元消毒後に検出される糸状菌群では、 Fe^{2+} や有機酸に強いものが多い。

一方で、抑制効果の認められている病原菌や非還元処理土壌から検出される糸状菌群では、 Fe^{2+} や有機酸に弱いものが多い。

金属イオン説、有機酸説を支持する結果？