

# オゾンガスを利用した土壤消毒が土壤の化学性および作物の生育に及ぼす影響 Effect of Soil Disinfections Using Ozone Gas on Chemical Properties of Cultivated Soil and Growth of Vegetables

宮崎裕子・水上浩之・行徳 裕・郡司掛則昭\*

Hiroko MIYAZAKI, Hiroyuki MIZUKAMI, Yutaka GYOUTOKU and Noriaki GUNJIKAKE

## 要 約

臭化メチルに代わる新しい土壤消毒法として、オゾンガスによる消毒法について検討した。オゾンガスによる土壤処理は、濃度17,500mg/L、流量3L/分、供給時間15分間の条件で、土壤中に生存する病原微生物に対して殺菌効果が得られた。オゾンガス処理土壤では、土壤の種類や栽培来歴を問わず土壤 pH が低下し、EC は上昇した。また、土壤中のアンモニア態窒素は処理直後急増したが、1週間程で低下した。オゾンガス処理土壤で好硝酸性野菜であるホウレンソウを栽培しても生育および収量への影響はなく、トマトの促成栽培においても安定した生育や収量が得られた。以上の結果から、オゾンガスによる土壤消毒は、ホウレンソウやトマトなどの野菜栽培土壤の化学性だけでなく野菜の生育および収量に影響しないことから、有効な消毒技術であると推察された。

キーワード：オゾンガス、土壤消毒、窒素、硝酸化性能

## I 緒言

熊本県における農業算出額は野菜が最も多く、全体の約3割を占めている。そのなかでも主要品目として挙げられるのが、トマトやメロン、イチゴ、スイカといった施設野菜であり野菜の産出額の7割近くを占める<sup>1)</sup>。こうした施設野菜の栽培では、作業の集約化を図るため同一ハウスで連作されることが多く、土壤病害防除のための土壤消毒は不可欠なものとなっている。

臭化メチルは、ウイルスをはじめとする多くの病害虫に対して殺菌・殺虫効果があり、処理が簡便で安価であることなどから県内でも広く使用されてきた土壤消毒剤である。しかし、オゾン層を破壊する物質に関するモントリオール議定書において、臭化メチルがオゾン破壊物質に指定されたことを受け、2005年に全廃されることとなり代替技術の確立が急務となった。

現在、イチゴなどの果菜類で多く認められる土壤病害はクロルピクリン等の代替剤や太陽熱消毒等の技術を組み合わせることで防除が可能となっているが、一部の土壤伝染性ウイルス病では臭化メチルに替わる有効な代替技術が確立されていない<sup>2)</sup>。

そこで、新たな土壤消毒法として、医療分野や食品分野で広く殺菌剤として利用されているオゾンガスに着目し、その利用を試みた。オゾンガス生成の原料は酸素であり、紫外線により光分解された後は自発的に酸素分子

に戻るため<sup>3)</sup>残留農薬の心配がない。最近では農業分野でも種子殺菌や水耕栽培における水耕液の殺菌方法とし実用化に向けた検討が行われている。しかし、これまでにオゾンガスを土壤消毒に適用した事例はなく、処理後の土壤化学性や作物の生育に及ぼす影響については不明である。

このため、本研究では臭化メチルに替わる新しい土壤消毒法を開発することを目的として、オゾンガスによる土壤消毒後の土壤化学性およびオゾンガス処理土壤における野菜の生育や収量に及ぼす影響について評価した。

## II 材料および方法

### 1 土壤のオゾンガス処理方法

オゾンガス発生装置は、コフロック(株)製の PZ-1C および岩崎電気(株)製の OP-20W を用いた。

土壤のオゾンガス処理方法は、土壤を均一に処理するため、12cm 径ポリポットに土壤約700ml を充填し、土壤表面から3cm の深さにガス噴口ノズル(ニードル管φ1mm)を挿入し、オゾンガスを土壤中に直接噴射する土中ノズル供給方式で行った。

処理条件は、一部のウイルス病を除く土壤病害虫に有効なガス濃度17,500mg/L、流量3L/分、供給時間15分間の条件で行った。

※：熊本県茶業研究所

## 2 オゾンガス処理土壌の化学性

### 1) オゾンガス処理が土壌の化学性に及ぼす影響

オゾンガスは強力な酸化作用により殺菌剤として広く利用されているが、その酸化作用は土壌中の微生物のみならず、粘土鉱物や土壌有機物など土壌を構成する様々な要因へ影響を及ぼすことが考えられる。

そこで、露地畑から採土した県内の代表的な土壌タイプである黒ボク土（厚層多腐植質黒ボク土）と灰色低地土（細粒灰色低地土）を供試し、オゾンガス処理による化学性の変化を調査した。また、土づくり対策として野菜栽培で一般的に行われている有機物施用に対するオゾンガス処理の影響を調査するため、所内の圃場から採土した牛ふん堆肥を18年間連用した土壌と堆肥施用歴のない土壌（いずれも厚層多腐植質黒ボク土のメロン作跡地土壌）を供試し、併せて検討を行った。

土壌養分のうち、無機態窒素の測定はオゾンガス処理翌日の未風乾土を用い、10%KCl液で浸出後、微量拡散分析法で定量した。その他の分析には風乾細土を使用し、塩基置換容量は Schollenberger 法、可給態リン酸は Truog 法で行った。また、交換性カリウムやカルシウム、マグネシウムおよびマンガンは酢酸アンモニウム抽出、遊離酸化鉄は  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ -EDTA 抽出、ホウ素は熱水抽出を行い、それぞれ原子吸光光度法および ICP 発光分析法で測定した。

### 2) オゾンガス処理が土壌中の窒素の形態変化に及ぼす影響

一般的に行われている薬剤や太陽熱利用による土壌消毒では、有機態窒素の無機化が起ることはよく知られている<sup>4)</sup>。そこで、オゾンガス処理土壌についても土壌中の窒素無機化や硝酸化成能など最も重要な肥料成分である窒素の形態変化に及ぼす影響について検討した。

分析には、無処理土壌およびオゾンガス処理翌日の未風乾土の黒ボク土を供試した。窒素の無機化特性は、土壌水分を最大容水量の60%に調整後30℃で4週間培養し、コンウェイ微量拡散分析法で経時的に測定した。

また、硝酸化成力の測定はビーカー培養法で行い、土壌に乾土100g 当たり23mg 窒素相当量の硫酸アンモニウムを添加した後30℃で1週間培養し、発生する硝酸態窒素とアンモニア態窒素量を測定した。

## 3 オゾンガス処理土壌が野菜の生育に及ぼす影響

### 1) ホウレンソウ栽培

オゾンガス処理土壌が作物の生育に及ぼす影響を明らかにするため、コンテナ（高さ20cm × 縦55cm × 横25cm）による栽培試験を行った。

横半分仕切ったコンテナに、II-1) に示した条件

で処理した翌日のオゾンガス処理土壌と無処理土壌（厚層多腐植質黒ボク土、仮比重0.6）を充填し、両処理土壌に  $\text{N} : \text{P}_2\text{O}_5 : \text{K}_2\text{O} = 20 : 20 : 20 \text{ kg}/10\text{a}$  となるよう CDU 化成を全層施肥後、ホウレンソウ（品種：プラトン）を播種し、昼温26℃に設定されたファイトトロン内で栽培した。播種日は平成16年7月12日、収穫日は8月23日であった。

### 2) トマトの隔離床栽培

ビニルハウス内にドレンベッドを設置し、促成トマトの隔離床栽培を行った。

ドレンベッド（縦200cm × 横85cm）に露地畑から採土した厚層多腐植質黒ボク土を充填し、CDU 化成肥料と苦土重焼燐を  $\text{N} : \text{P}_2\text{O}_5 : \text{K}_2\text{O} = 12 : 20 : 20 \text{ kg}/10\text{a}$  となるよう全層施肥した後、縦半分の面積をオゾンガス消毒し、促成トマト（品種：桃太郎8）を栽培した。オゾンガス処理条件は、0.5㎡あたりガス濃度20,000~25,000mg/L、流量3L/分、供給時間20分とし、土壌表面および土壌中からの2段階でガス処理を行った。処理期間は平成17年10月19日から11月16日である。トマトは同年12月5日に定植し、収穫は平成18年2月2日から3月末日の第4果房まで行った。栽植様式は、株間40cm、条間30cm、2条植えとし、黒マルチを行った。

## III 結果および考察

### 1 オゾンガス処理土壌の化学性

オゾンガス処理直後の土壌化学性は、土壌の種類や有機物施由来歴に拘わらず、いずれにおいても pH が低下し EC は上昇した（第1表）。土壌養分では、無機態窒素および可給態リン酸が増加し、なかでもアンモニア態窒素は処理前の約10~30倍と著しい増加が認められた。

これらの窒素やリン酸の増加は、オゾンガスで死滅した微生物バイオマスに由来するものと考えられる。ただし、この無機態窒素の増加において、堆肥連用土壌では化肥単用土壌に比べ硝酸態窒素の発生量が多くアンモニア態窒素量が低い傾向が見られた。これは、有機物を多く含む堆肥連用土壌では化肥連用土壌よりも脱窒が起りやすいことから<sup>5)</sup>、硝化や脱窒の過程で生成される一酸化窒素や亜硝酸イオンが化肥単用土壌よりも多く存在し、オゾンと反応したためではないかと推察される。

一方、オゾンガス処理によって、ガス注入と同時に地温の上昇が起り、15分程で最高45℃程度に達する現象が確認された<sup>6)</sup>。オゾンの分解には発熱反応を伴うが、鉄やマンガンなどの金属酸化物と接触するとそれらが触媒となり分解が促進されることが分かっている<sup>7)</sup>。地温が最も上昇していたのはガス噴口付近で、その周囲では土壌の乾燥も見られており、土壌へのガスの直接噴射に

第1表 オゾンガス処理が土壌の化学性に及ぼす影響

処理法	pH(H <sub>2</sub> O)	EC mS/cm	無機態N	形態別N		可給態 P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	交換性				遊離 酸化Fe	熱水 抽出性B	CEC me/100g	
				NO <sub>3</sub> -N	NH <sub>4</sub> -N		K <sub>2</sub> O	CaO	MgO	Mn				
				mg/100g 乾土										
黒ボク土	無処理	6.1	0.08	1.2	1.1	0.1	9.6	64	494	70	0	1945	0.02	36.1
	オゾン	5.5	0.18	4.3	1.4	2.8	11.2	63	487	69	2	2261	0.09	38.2
灰色低地土	無処理	5.7	0.09	3.6	3.5	0.1	65.6	21	242	38	0	471	0.11	14.0
	オゾン	4.8	0.20	5.2	3.8	1.4	75.1	21	244	38	5	491	0.08	14.0
堆肥連用	無処理	6.4	0.19	1.3	1.1	0.2	23.3	65	835	145	1	2346	1.34	46.0
	オゾン	6.0	0.25	5.5	3.8	1.8	26.1	66	801	144	5	2241	1.33	46.3
化肥単用	無処理	6.5	0.16	1.1	1.0	0.1	14.6	33	861	131	1	2423	0.98	45.0
	オゾン	6.2	0.22	5.1	1.7	3.4	17.3	33	852	131	5	2389	1.32	45.5

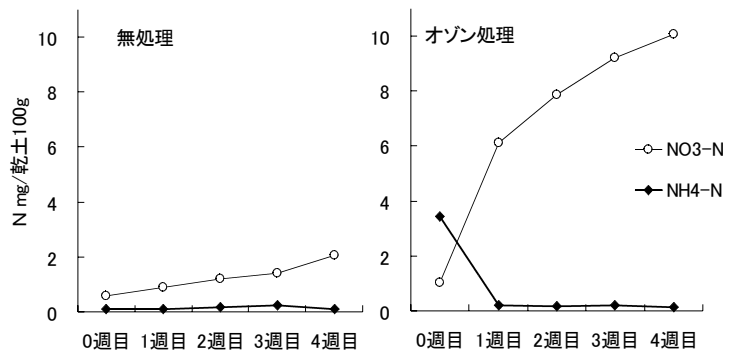
よりオゾンが粘土鉱物と激しく反応したものと推測された。

また、土壌 pH はオゾンガス処理後に大きく低下したが、これは土壌中に多く存在するアルミニウムなどの水酸化物がオゾンによる酸化を受けたためではないかと推察された。

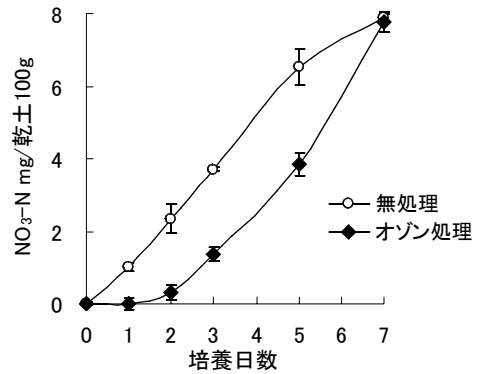
土壌中の主要な重金属類に対する影響では、交換性マンガンはオゾンガス処理で増加したが、遊離酸化鉄は土壌によるバラツキが見られ、オゾンガス処理の影響が判然としなかった。その他の成分では、オゾンガス処理で交換性カルシウムはやや減少する傾向にあったが、交換性マグネシウムやカリウム、熱水抽出性ホウ素および土壌の塩基置換容量はオゾンガス処理の前後で差はほとんど認められなかった。このため、土壌のマグネシウムやマンガン、ホウ素など微量元素へのオゾンガス消毒の影響は小さいと考えられた。

窒素については、オゾンガス処理後に土壌中のアンモニア態窒素が急増するなど他の化学成分とは異なる挙動が認められたことから、オゾンガス処理が土壌中の窒素無機化や硝酸化成能など窒素の形態変化に及ぼす影響についてもさらに検討した。

オゾンガス処理翌日のアンモニア態窒素は、処理前に比べ大きく増加したが1週間後には大きく減少していた(第1図)。一方、このアンモニア態窒素の消長とは反対に、硝酸態窒素は増加する傾向が認められた。このことから、土壌の硝酸化成力は比較的速やかに回復することが推察された。また、オゾンガス処理直後の土壌に基質として硫酸アンモニウムを添加し硝酸態窒素の生成量は無処理土壌と比較したところ、硝酸態窒素の生成が起るまでの日数は無処理土壌より遅かったが、1週間後



第1図 オゾンガス処理土壌の無機化特性



第2図 オゾンガス処理土壌の硝酸化成能

注) 図中のバーは標準偏差を示す

には無処理土壌と同程度の硝酸態窒素量を生成するまで回復した(第2図)。

一般的にクロルピクリン等による土壌消毒では硝化菌が死滅しやすく<sup>8)</sup>、回復には40~150日程の時間を要することが報告されている<sup>9,10)</sup>。しかし、この試験で明らかになったように、オゾンガス処理直後はアンモニア態窒素が急増するが、その後は硝化作用が起りアンモニ

ア態窒素が速やかに低下した。これらのことから、オゾンガス処理による土壌消毒では土壌の硝酸化成能への影響は比較的小さいと考えられた。

## 2 オゾンガス処理土壌が作物の生育に及ぼす影響

### 1) ホウレンソウ

無機態窒素の増加は作物の増収をもたらすことが多いが、作物によっては過剰なアンモニア態窒素は生育阻害を引き起こす要因となりうる。そこで、好硝酸性野菜<sup>11)</sup>であるホウレンソウをオゾンガス処理翌日の土壌に播種し、生育に及ぼす影響を調査した。

播種後1週間後に行った発芽調査では、オゾンガス処理区と無処理区で差は見られず、発芽率はほぼ同等であったが、初期生育は草丈や株重などオゾンガス処理区でやや劣った。しかし、後半はオゾンガス処理区の生育が無処理区を上まわり収穫物の株重は増加した(第3図)。

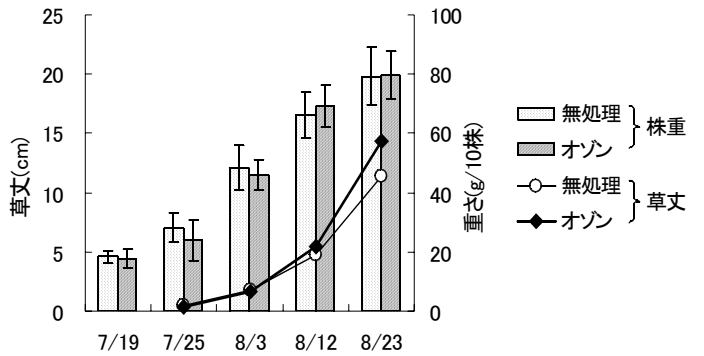
これは、オゾンガス処理直後は増加したアンモニア態窒素によりホウレンソウの生育が抑制されたが、その後硝化作用を受けて増加した硝酸態窒素を吸収し増収に転じたものと考えられる。また、収穫したホウレンソウ地上部の養分濃度や吸収量は、オゾンガス処理区で窒素が高かったものの、それ以外の成分では両者に大きな差は見られず(第2表)、栽培終了後の土壌化学性は無処理区とほぼ同程度であった(第3表)。

### 2) 促成トマト

葉菜類であるホウレンソウで認められたオゾンガス処理の影響を果菜類については現場レベルで確認するため、新しく開発されたオゾンガス処理装置で施肥後の土壌を処理し、促成トマトの生育や収量に対する影響について検討した。

トマトの生育は、無処理区とオゾンガス処理区で、草丈や葉色に差は見られなかったが、オゾンガス処理区では無処理区に比べ開花が早く、果実収量が増加した(第4図)。作物体地上部の養分濃度や吸収量は、果実部および茎葉部ともにオゾンガス処理区で窒素がやや高くなる傾向にあり(第4表)、オゾンガス処理で増加した土壌中の窒素やリン酸が定植後の花芽形成に大きく寄与したのと考えられた。

定植時の土壌化学性は、オゾンガス処理終了時から定植時まで3週間程経過しており、作土のpHやECは両処理区で同程度であった(第5表)。しかし、無機態窒素やリン酸およびカリウムはオゾンガス処理区で高くなった。特に無機態窒素濃度は高く維持され、この傾向は追肥を行う6週間後まで継続した(第5図)。窒素を形態別に見ると、オゾンガス処理土壌では定植時に高かったアンモニア態窒素は、1週間後には減少傾向が見られ、3



第3図 オゾンガス処理土壌がホウレンソウの生育に及ぼす影響

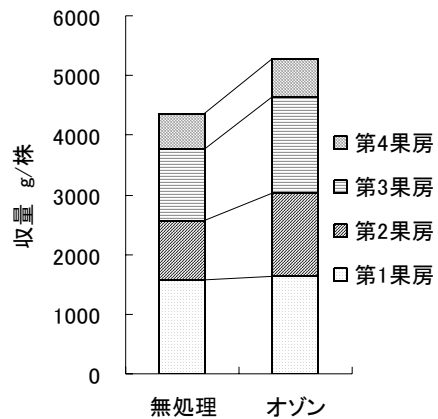
注) 図中のバーは標準偏差を示す

第2表 ホウレンソウ地上部の養分濃度および養分吸収量

	重さ/10株	養分濃度% (乾物あたり)					養分吸収量g (乾物10株あたり)				
		N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	CaO	MgO	N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	CaO	MgO
無処理	45.6	2.9	0.8	7.3	1.0	1.5	0.17	0.05	0.12	0.15	0.03
オゾン	57.3	3.5	0.9	7.4	0.9	1.6	0.24	0.06	0.12	0.14	0.03

第3表 ホウレンソウ栽培土壌の化学性

		pH	EC mS/cm	NO <sub>3</sub> -N	NH <sub>4</sub> -N	可給態 P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	交換性			
							K <sub>2</sub> O	CaO	MgO	
栽培前	無処理	6.1	0.1	1.1	0.1	9.6	64	494	70	
	(H16.7.11) オゾン	5.6	0.2	1.4	2.8	11.2	63	487	69	
栽培時	無処理	5.9	0.1	4.2	0.1	10.4	41	273	44	
	(H16.8.23) オゾン	5.9	0.1	4.3	0.2	13.3	38	263	41	

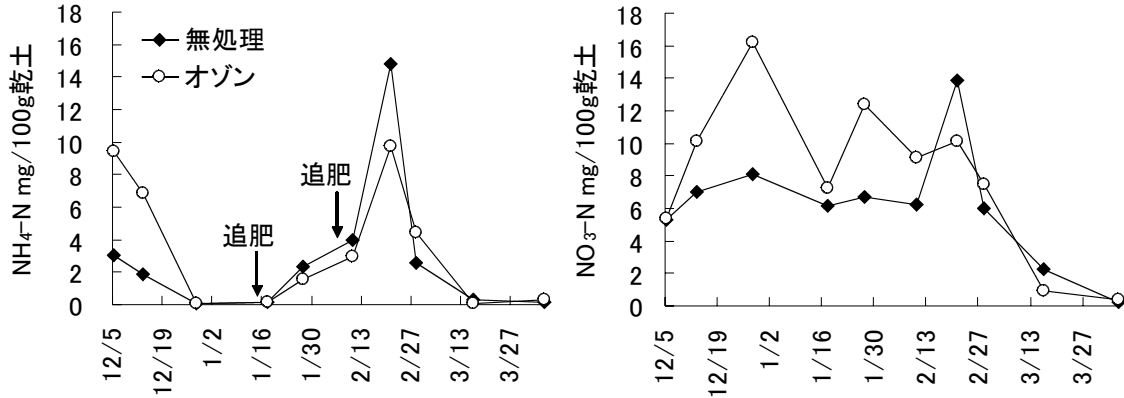


第4図 オゾンガス処理土壌がトマトの収量に及ぼす影響

第4表 トマト地上部の養分濃度および養分吸収量

処理区	重さ kg/10株	養分濃度% (乾物あたり)					養分吸収量g (乾物10株あたり)					
		N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	CaO	MgO	N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	CaO	MgO	
果実	無処理	4.4	1.66	0.38	2.82	0.08	0.12	9.2	2.2	16.0	0.5	0.7
	オゾン	5.3	1.72	0.34	2.83	0.08	0.10	10.1	2.1	17.0	0.5	0.6
茎葉	無処理	11.1	1.48	0.24	2.52	5.18	1.45	35.3	5.6	60.3	144.9	40.2
	オゾン	11.0	1.61	0.24	2.42	5.74	1.62	36.7	5.5	53.7	147.2	40.2

注) 果実収量および茎葉重は第4果房までの調査である



第5図 トマトの栽培土壌の無機態窒素量の推移

週間後には無処理土壌と同程度まで低下し、同時に硝酸態窒素が増加していた。このことから、圃場で行ったオゾンガス処理土壌においても比較的速やかに硝酸化成が行われていることが確認された。

以上のことから、促成トマトの栽培においてもオゾンガス処理の影響はないかむしろプラスの効果があることが実証された。

て、オゾンガスによる土壌消毒法は、一部のウイルス病を除く土壌病害虫に対して有効であるとともに、葉菜類や果菜類栽培においても何ら問題なく適用できる新しい土壌消毒法として実用化が可能な技術であると結論される。

IV 引用文献

- 1)熊本県農政部：くまもとの農業2010
- 2)農林水産省：不可欠用途臭化メチルの国家管理戦略改訂版, 2008
- 3)中山繁樹ら：OH ラジカル類の生成と応用技術3-4, 49-51, NTS
- 4)渡辺巖：植物防疫18, 406-410, 1964
- 5)長坂克彦・中村保一・松野篤：山梨県総合農業試験場研究報告, 9, 1999
- 6)行徳裕・横山威：熊本県農業研究センター研究報告, 18, 2011
- 7)中辻忠夫：利用分野広がるオゾン分解触媒 JETI, 39 [11]98-101, 1991
- 8)西尾道徳：土壌微生物の基礎知識29-31, 養賢堂
- 9)鈴木達彦・渡辺巖：日本土壌肥科学雑誌37, 579-584, 1966
- 10)鈴木達彦・徳永美治・渡辺巖：日本土壌肥科学雑誌, 39, 224-227, 1968
- 11)日本土壌肥科学会編：養液栽培と植物栄養, 34-43, 博友社

第5表 トマトの栽培土壌の化学性 mg/100g 乾

		pH	EC mS/cm	NO <sub>3</sub> -N	NH <sub>4</sub> -N	可給態			交換性	
						P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	CaO	MgO	
栽培前	無処理	5.9	0.2	5.3	3.0	3.3	60	375	37	
(H17.12.5)	オゾン	5.8	0.2	5.4	9.4	4.3	64	375	37	
栽培跡	無処理	5.7	0.1	0.2	0.2	2.5	33	151	22	
(H17.4.5)	オゾン	5.6	0.1	0.4	0.3	3.1	38	281	22	

3 オゾンガスを利用した土壌消毒法の効果

オゾンガスを土壌に直接注入する土壌消毒法では、処理直後の土壌は種類や栽培来歴を問わず化学性が大きく変化することが明らかとなった。特に、主要な土壌養分である窒素が大きく形態変化する。すなわち、オゾンガス処理直後に急増したアンモニア態窒素は、比較的速やかに硝化作用を受け硝酸態窒素へと1週間程度で変化することが認められ、オゾンガス処理の場合土壌の硝酸化成の回復は比較的早いと推察される。このため、オゾンガス処理土壌でアンモニア耐性の小さいハウレンソウを栽培した場合でも発芽などの生育や収量に対する影響はほとんど認められなかったと考えられる。また、ハウレンソウと生育特性が異なるトマトの促成栽培試験においても安定した生育や収量が得られており、オゾンガスを用いた土壌消毒の果菜類栽培に対する影響はほとんどないと推察される。

以上の結果ならびに行徳らによる既往の成果からみ

## Summary

### Effect of Soil Disinfestation using Ozone Gas on Chemical Properties of Cultivated Soils and Growth of Vegetables.

Hiroko MIYAZAKI, Hiroyuki MIZUKAMI, Yutaka GYOUTOKU and Noriaki GUNJIKAKE

A series of investigations concerning about a new soil disinfestation substituting ozone gas for methyl bromide were carried out. Ozone gas was radiated at ozone concentration of 17,500mg/L, gas flow of 3L/min, supplying time of 15min, at which pathogenic microbe in soil was sterilized enough. By ozone gas radiation, soil pH decreased and soil EC increased irrespective of kind of soil and cultivation history. On the other hand, ammonium nitrogen increased just after ozone gas radiation, and thereafter decreased rapidly within one week. In cultivation experiments on treated and nontreated soils by ozone gas, growth and yield of spinach, which was nitrate-dependent plant, on soil treated by ozone gas were comparable to that on nontreated soil, and moreover all the same result was obtained to those of tomato under forcing cultivation. From the results obtained, it was suggested that soil disinfestation using ozone gas was an available method, which almost never affected not only the chemical properties of cultivated soils but also the growth and yield of spinach and tomato.

# オゾンガスの土壌病害虫に対する効果

## Effect of Soil Disinfection Using Ozone Gas on Soil-borne Pathogens and Nematode

行徳 裕・横山 威

Yutaka GYOUTOKU and Takeshi YOKOYAMA

### 要 約

オゾンは高い酸化能力により広範な微生物に対して殺菌あるいは死滅効果を有する元素であり、医療分野や食品製造分野で広く利用されている。しかし、農業分野での試験例は少なく、土壌消毒への利用については検討されていない。そこで、重要な土壌病害虫である*Fusarium oxysporum*, *Ralstonia solanacearum*および*Meloidogyne incognita*を供試し、オゾンガスの防除効果について検討した。*F. oxysporum*の菌量はオゾンガスに暴露した場合、16.4ppmで検出限界以下となった。しかし、汚染土壌に注入した場合、土壌中の病害虫密度を検出限界以下あるいは被害防止効果が確認可能な密度に抑制するには、40g/m<sup>3</sup>以上が必要であり、流量 3L/minにおける処理可能域は半径 5~7cmと狭かった。これは、オゾンが土壌中の有機物や金属等と非選択的に反応し、ガス濃度が急速に減衰することが原因と考えられた。試験結果をもとに、金属容器で処理土壌を限定し、地表面および地中の 2カ所から処理する方法を考案し、深さ 20cmの*M. incognita*汚染土壌を充填した栽培用隔離床で防除効果を検証した。その結果、60g/m<sup>3</sup>の全面処理により、*M. incognita*に対する密度抑制効果および被害防止効果が認められた。以上の結果から、オゾンガスが土壌消毒に有効な素材であることが明らかとなった。

キーワード：オゾンガス、土壌消毒、土壌病害虫、*Fusarium oxysporum*, *Ralstonia solanacearum*, *Meloidogyne incognita*

### I 緒言

熊本県はトマト、メロン、ナスなどの施設野菜の主要な生産地域である。施設栽培はほ場の移動が困難であり、連作による土壌病害虫の被害が問題となるため、栽培の継続には土壌消毒が不可欠である。これまで、臭化メチルやクロロピクリンなど広範囲な土壌病害虫に効果が高く、安価な土壌消毒剤が広く利用されてきた。しかし、オゾン層破壊物質である臭化メチルは、モントリオール議定書の決定に基づき 2013 年に一部の例外を除き使用が禁止される。また、農地と住宅地域の混在化が進み、危害防止に面からガス化を伴うクロロピクリン等の土壌消毒剤の使用も困難となりつつある。このため、既存の土壌消毒剤に替わる安全で広範囲の病害虫に効果の高い、防除技術、資材の開発が必要となっている。

オゾンは強い酸化作用によりウイルスを含むあらゆる生物を短時間で不活化あるいは死滅させる効果を持つ気体であり、医療器具や食品製造分野、カット野菜等の消毒に広く利用されている。農業分野においても、種子消毒や栽培用の培地、養液、資材の消毒<sup>2,9)</sup>について試験が実施されており、植物病原菌に対する効果が確認されている。しかし、土壌消毒において検討された事例はない。そこで、オゾンの土壌消毒剤の代替資材としての実用性について評価するため、施設栽培で問題となる数種土壌病害虫に対

するオゾンガスの殺菌および防除効果、処理方法について検討した。

### II 材料および方法

#### オゾンガス供給装置

コフロック(株)製の GN-300, PZ-1C および岩崎電気(株)製の OP-20W, OP-30W で酸素から生成したオゾンガスを使用した。

#### 1. トマト萎凋病菌に対する効果

##### 1) 供試病原体

熊本県農業研究センターで保存しているトマト萎凋病菌レース2 *Fusarium oxysporum* Race2を供試菌株とした。

##### 2) 試験方法

##### (1) 培地上のトマト萎凋病菌に対する効果

トマト萎凋病菌の分生子懸濁液100μlを9cm滅菌シャーレ内のPDA平板培地に塗布接種した。シャーレはふたを外して容積11Lのガラスデシケーターに充填、オゾンガスを5min通気させた。処理後、シャーレにふたをし、25℃で72時間培養、コロニー数を計数して菌量を求めた。なお、試験は各濃度3反復した。

##### (2) 土壌中のトマト萎凋病菌に対する効果

生産環境研究所で採取、滅菌した黒ボク土壌50cm<sup>3</sup>に9.5mlの10<sup>6</sup> conidia/mlに調整したトマト萎凋病菌分生子

懸濁液を混和し、300mlのガラス製フィルターホルダーに充填した。なお、充填された土壌の厚さは約2.5cmであった。中央に1/8inchステンレス管を貫通させたゴム栓またはシリコン栓でフィルターホルダーにふたをした。10~40g/m<sup>3</sup>のオゾンガスをステンレス管から4L/minで10分間菌混和土壌の表面へ供給し、底部のガラスベースから排出した(第1図)。処理前および処理後に採取した土壌1cm<sup>3</sup>を9mlの滅菌水に混和、PDA培地に100μlを塗布したあと、25°Cで72時間培養しコロニー数を計数、菌量を求めた。なお、試験は3反復で行った。

## 2. ナス科青枯病菌に対する効果

### 1) 供試病原体

感染株の細根内に残存する青枯病菌 *Ralstonia solanacearum* に対する殺菌効果には、熊本県農業研究センター内(熊本県合志市)のナス栽培ほ場で発生したナス青枯病罹病株の細根を、土壌中の青枯病菌に対する殺菌効果には、熊本県農業研究センター内のトマト栽培ほ場で発生したトマト青枯病罹病株から分離した菌株を培養し、供試した。

### 2) 試験方法

#### (1) 感染株の細根内に残存する青枯病菌に対する殺菌効果

罹病株の根部を水洗し、室内で風乾した。直径1mm以下の細根を10mm以下に切断した供試検体0.5gを第1図に示した処理装置に充填し、20~40g/m<sup>3</sup>のオゾンガスを流量0.65L/minで1hr処理した。処理前および処理後の検体は、滅菌水で磨砕し、PDA培地に塗布、25°Cで24時間培養しコロニー数を計数し、菌量を求めた。

#### (2) 土壌中の青枯病菌に対する殺菌効果および防除効果

発泡スチロール容器にトマト青枯病菌汚染土壌を深さ10cmとなるように充填した。300mlのフィルターホルダーの下部を取り外し、1/8inchステンレス管を貫通させた

シリコン栓でその開口部を塞ぎ処理容器とした。処理容器の上部開口部を土壌に差し込み、土壌表面からオゾンガスを処理した(第2図左)。処理土壌は、処理容器とともに抜き取り、そのままの状態直径9cmのポットに充填した。処理3日後に本葉2葉期のトマト苗(品種:ハウス桃太郎)を定植、17日後に葉数および草丈を測定したあと、1/5000aワグネルポットに移植した。鉢上げ後、概ね5日間隔で萎凋および枯死の有無を調査した。処理は 97.8±0.4g/m<sup>3</sup>, 2.85L/min, 20min/カ所と 45.2±0.2 g/m<sup>3</sup>, 3L/min, 20min/カ所の2条件でおこなった。なお、無処理を設定し、各処理3反復とした。

### 3. サツマイモネコブセンチュウに対する効果

#### 1) 供試個体群

抵抗性打破系統のサツマイモネコブセンチュウ *Meloidogynes incognita* が発生している熊本県農業研究センター内のトマト栽培ハウスから汚染土壌を採取し、供試した。

#### 2) 試験方法

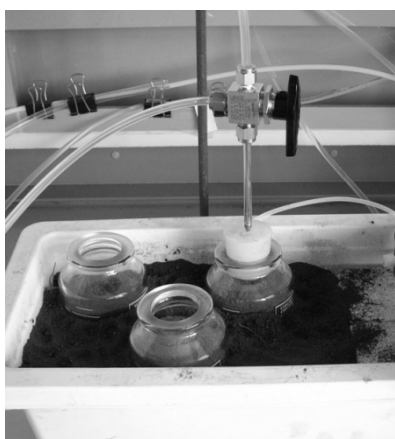
##### (1) 土壌中のサツマイモネコブセンチュウに対する殺虫効果および防除効果

長さ60cm幅18cmのプランターにサツマイモネコブセンチュウ汚染土壌を深さ10cmとなるよう充填し、処理土壌とした。第2図左に示した処理容器を土壌に差し込み、43.4±0.2 g/m<sup>3</sup>のオゾンガスを流量2.8±0.0L/minで20min, 10minおよび5min処理した。処理土壌の中央部に自動温度測定装置(おんどとり)のセンサーを埋め込み、処理時および処理後の温度を測定した。また、土壌表面から放出されるオゾンガス濃度もあわせて測定した。なお、各処理とも6反復した。

6反復のうち4反復の処理土壌は、フィルターホルダーとともに抜き取り、そのままの状態直径9cmのポット



第1図 フィルターホルダーを用いたオゾン試験装置  
上部からオゾンを通気させ、下部のベース部分から排気する。



#### 第2図 オゾンガスの土壌処理法

左: フィルタホルダーの上部を土壌に差し込み、底部からオゾンガスを注入。

右: 底部にステンレス管を挿入した鉄製の直方体容器を土壌の差し込み、オゾンガスを注入。





に充填し、2葉期のメロン苗（品種：アールスメロン秋冬Ⅱ）を定植した。20min 処理は処理当日および5日後に、10min および5min 処理は処理1日後に定植した。葉数、草丈、地上部重量およびネコブ指数は、20min 処理が処理30日後、10min および5min 処理が処理31日後に調査した。残り2反復の土壤は、上部（土壌表面から2.5cmまで）、中部（同2.5～5cm）、下部（同5～7.5cm）に3分割し、ベルマン法でセンチュウ類を分離、生物顕微鏡下でネコブセンチュウ二期幼虫数および総センチュウ数を計数した。

(2)プランターにおける小規模試験

長さ60cm幅18cmのプランター2台にサツマイモネコブセンチュウ汚染土壌を深さ10cmとなるように充填した。一方のプランターは第2図左に示した処理装置を用い、濃度 $43.7 \pm 0.2 \text{g/m}^3$ 、流量 $2.7 \pm 0.0 \text{L/min}$ で処理時間20min/カ所で全面処理し、一方は無処理とした。

処理終了後、処理および無処理プランターの各3カ所から土壌を採取し、ベルマン法でセンチュウ類を分離、生物顕微鏡下でネコブセンチュウ二期幼虫数を計数した。また、各プランターに2葉期のメロン苗（品種：アールスメロン秋冬Ⅱ）を7株定植した。定植19日後に3株を抜き取り、葉数、草丈、重量およびネコブ指数を調査した。残った4株については、定植52日後に萎凋の有無を調査した。

(3)隔離床栽培キュウリにおける防除効果

長さ3.6m、幅0.85mのプラスチック製の隔離床にサツマイモネコブセンチュウ汚染土壌を深さ20cmとなるよう充填した。隔離床を畦波シートで長さ1.8m、幅0.85mに二分割し、一方をオゾンガス処理区、他方を無処理区とした。処理には、鉄製で上面が開いた直方体の容器（幅7cm、奥行き7cm、高さ15cm）の底面中央に1/8inchステンレス管を貫通させた処理容器を使用した（第2図右）。なお、処理容器として、ステンレス管の開口部を底面から1cm

および12cmとした2種類を用意した。各処理容器は、開口面を下にし、底面が土壌表面から2cmの高さとなるように挿入した。すなわち、ステンレス管の開口部は、土壌表面から高さ1cm、または11cmの深さになるように設定した。同一土壌は、2種類の処理容器で各1回、未処理土壌が発生しないように容器を7cm間隔で移動しながら処理した。なお、処理濃度は $63.6 \pm 0.8 \text{g/m}^3$ 、流量は $2.4 \pm 0.0 \text{L/min}$ 、1カ所あたりの処理時間は20minとした。

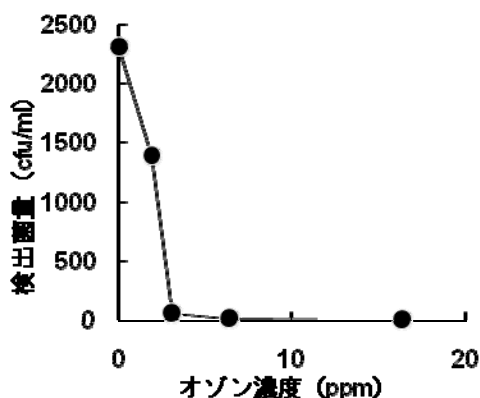
処理区の深さ5cmおよび15cm、無処理区の深さ5cmの土壌を採取し、ベルマン法でセンチュウ類を分離、生物顕微鏡下でネコブセンチュウ二期幼虫数とその他センチュウ数を計数した。12月19日、処理区および無処理区に3.5葉期のキュウリ（品種：スーパーラックス）を定植した。定植後、摘心した2月27日まで概ね10日間隔で展葉数および草丈を、3月4日から4月22日まで1～3日間隔で収量を調査した。また、定植59日後に3株を抜き取り、ネコブ指数および根重あたりにネコブ数を調査した。

土壌温度の変化を測定するため、土壌表面処理容器では土壌表面から1、2.5、4cmの深さに、土壌中処理容器ではステンレス管の開口部から1、3.5、5cmの位置に自動温度測定装置（おんどとり）のセンサーを埋設した。

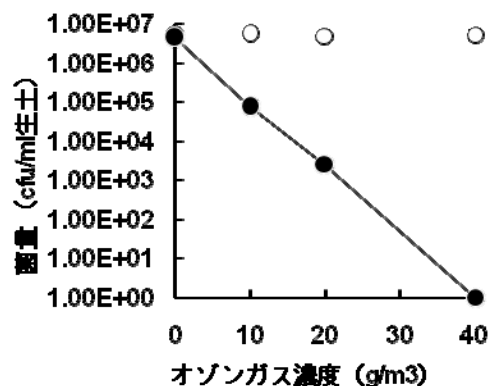
III 結果

1. トマト萎凋病菌に対する殺菌効果

培地上に塗布したトマト萎凋病菌に対するオゾンガスの濃度別殺菌効果を第3図に示した。各濃度で72時間後形成されたシャーレ当たりコロニー数は、16.5ppm 1.3、6.4ppm 15、3.07ppm 60.0、1.92ppm 1386であった。コロニー数は無処理の2310に比べていずれの処理濃度とも少なく、オゾンガスの濃度が高いほど減少率（処理区/無処理×100）は高かった。



第3図 オゾンガスのトマト萎凋病菌 *Fusarium oxysporium* Race2 に対する殺菌効果  
分生子懸濁液を塗布したPDA培地にオゾンガスを流量4L/min、時間5minで処理、25°Cで72時間培養し、形成されたコロニー数を計数した。



第4図 土壌中のトマト萎凋病菌 *Fusarium oxysporium* Race2 分生子に対するオゾンガスの殺菌効果  
分生子懸濁液を混和し、流量3L/min、時間10minでオゾンガスを処理した土壌から再分離されたコロニー数。○：処理前の菌量，●：処理後の菌量。

土壌中のトマト萎凋病菌に対するオゾンガスの処理濃度別の殺菌効果を第4図に示した。3L/minで10min通気させた場合、検出菌量は10g/m<sup>3</sup>で無処理の1/10以下となった。再分離される菌量は処理濃度が高いほど減少し、40g/m<sup>3</sup>で検出限界以下となった。

2. ナス科青枯病菌に対する効果

ナスの細根内に生存する青枯病菌に対するオゾンガスの濃度別処理効果を第5図に示した。3L/minの3時間処理において、30g/m<sup>3</sup>以下の濃度で殺菌効果は認められなかったが、40g/m<sup>3</sup>で検出限界以下となった。処理時間が殺菌効果に与える影響を30および40g/m<sup>3</sup>で比較した。30g/m<sup>3</sup>のオゾンガスを0.65L/minで通気させた場合、処理時間を延長することで菌量が減少する傾向は認められなかった。これに対して、40g/m<sup>3</sup>、流量0.65L/minでは、菌量は1時間処理で無処理の約1/100に減少し、3時間で検出限界以下となった。

土壌中のトマト青枯病菌に対する防除試験の結果を第1表に示した。無処理では定植40日後に全ての株が萎凋または枯死したが、濃度97.8g/m<sup>3</sup>および45.2g/m<sup>3</sup>処理では萎凋、枯死ともに認められなかった。移植19日後の葉数に処理による差は認められなかった。しかし、97.8g/m<sup>3</sup>処理の草丈は45.2g/m<sup>3</sup>処理および無処理に比べて有意に低かった (Turky test, p<0.01)。

3. サツマイモネコブセンチュウに対する効果

(1) 土壌中のサツマイモネコブセンチュウに対する殺虫効果および防除効果

サツマイモネコブセンチュウに対するオゾンガスの処理時間別効果を第2および3表に示した。43.2±0.2g/m<sup>3</sup>のオゾンガスを2.8±0.0L/minで5min以上処理することで、

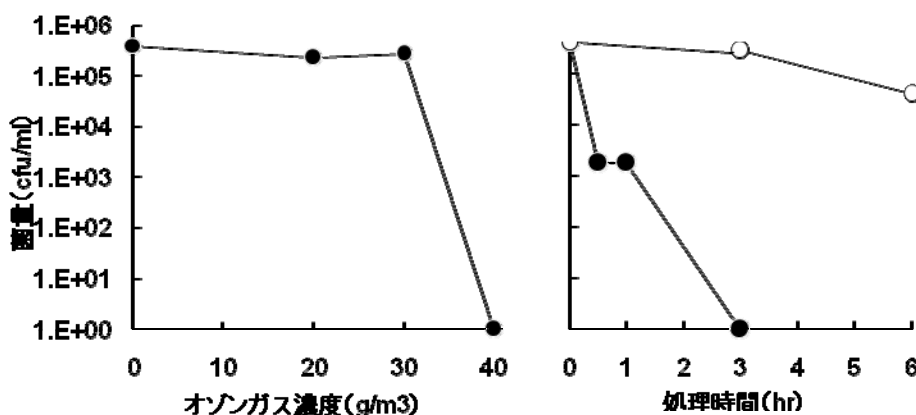
サツマイモネコブセンチュウおよびその他のセンチュウ密度は低下した。生存個体数は、オゾンガスの注入場所に近い上層で最も少なく、中層から下層へと離れるにしたがい増加した。特に、5min処理の下層における二期幼虫数は、処理前と差が認められなかった。また、サツマイモネコブセンチュウとその他センチュウ類で処理前後の検出個体数の割合を比較すると、その他センチュウの減少割合が低かった。ネコブの発生は、定植した全てのメロン株で認められた。しかし、ネコブ指数は、20min処理2.0±0.0、10min処理3.0±0.3、5min処理3.3±0.3、無処理3.8±0.3と、処理時間が長いほど低く、20min処理とその他の処理および無処理、10min処理と無処理の間に有意差が認められた (Turky test, p<0.05)。

各処理および無処理土壌に定植したメロン株の生育を第3表に示した。20min処理は他の処理および無処理に比べて葉数、草丈および地上部重量等の生育量が大きく、有意差が認められた (Turky test, p<0.05)。

処理時の温度変化を第6図に示した。オゾンガスの通気を開始すると処理土壌の温度は徐々に上昇し、処理終了時には処理開始時に比べて15℃高くなった。一方、対照とした酸素ガスでは通気中に処理土壌の温度が5℃低下した。終了後は徐々に地温は低下し、処理終了60分後には処理前温度に戻った。なお、地表面から放出されるオゾンガス濃度は地表面で概ね0.55±0.04ppmであった。

(2) プランターにおける小規模試験

試験結果を第4表に示した。処理土壌の20g生土当たりサツマイモネコブセンチュウ二期幼虫数は0.3頭と、無処理の180.7頭に比べて明らかに低かった。定植したメロン株



第5図 ナス罹病株の細根内に生存する青枯病菌 *Ralstonia solanacearum* に対するオゾンガスの濃度 (左) 処理時間別の殺菌効果  
 左: 流量 3L/min, 時間 3hr で処理し, 細根中から菌を分離。  
 右: ○: 濃度 30g/m<sup>3</sup>, 流量 0.65L/min処理, ●: 濃度 40g/m<sup>3</sup>, 流量 0.65L/min処理し, 細根中から菌を分離。

における処理19日後のネコブ数は、処理80.5±5.0個/株、無処理124.7±43.1個/株と、処理の有無で明瞭な差は認められなかった。ただし、無処理のネコブが株元から根の先端まで認められたのに対して、処理のネコブは根の先端のみ認められた。また、定植52日後に無処理株で萎凋が観

察された。処理19日後の生育量は葉数、草丈、地上部重量ともに処理土壤に定植した株で優った。

(3)隔離床栽培キュウリにおける防除効果

隔離床における密度抑制効果を第5表に示した。オゾンガス処理直後の深さ5cmの土壤からサツマイモネコブセ

第1表 土壤中の青枯病菌 *Ralstonia solanacearum* に対するオゾン処理の効果

処理量 (g/m <sup>3</sup> )	流量 (L/min)	葉数 (葉)	草丈 (cm)	萎凋枯死株
97.8 ±0.4	2.85	6.7 ±0.4	19.6 ±2.0a	0/5
45.2 ±0.2	3.00	7.5 ±0.2	28.0 ±1.5b	0/6
0 ±0	-	6.3 ±0.3	26.8 ±1.4b	6/6

供試作物はトマト'ハウス桃太郎'。生育量は移植17日後、萎凋枯死株は移植40日後に調査した。生育の数値の±は標準誤差。異なる英小文字間には有意差がある (Turkey test, p<0.05)。萎凋枯死株の表中の数字は、萎凋枯死株数/供試株数。

第2表 土壤中のサツマイモネコブセンチュウ *Meloidogynita incognita* に対するオゾン処理<sup>a)</sup>の効果

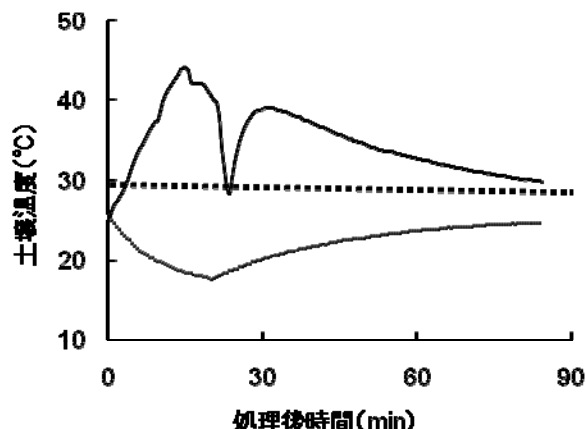
処理時間	ネコブセンチュウ二期幼虫数 <sup>b)</sup>			その他センチュウ類二期幼虫数		
	上部 <sup>c)</sup>	中部	下部	上部	中部	下部
20min	0.0±0.0	0.0±0.0	11.5±7.5	0.0±0.0	1.5±1.5	108.5±2.5
10min	1.5±0.5	5.0±1.0	407.0±11.0	8.5±3.5	78.5±10.5	218.0±28.0
5min	1.0±0.0	21.3±11.5	465.0±155.0	59.5±22.5	249.0±91.0	329.5±37.5
処理前	539.3±76.5			378.2±50.3		

a)濃度 43.2±0.2g/m<sup>3</sup>、流量 2.8±0.0L/minで処理した。b)生土 20gあたり二期幼虫数。c)深さ 10cmの土壤を処理した上部から3当分測定した。

第3表 オゾン処理土壤におけるサツマイモネコブセンチュウ *Meloidogynita incognita* のネコブ形成状況およびメロンの生育に与える影響

処理時間 <sup>a)</sup>	葉数(枚)	草丈(cm)	地上部重量(g)	ネコブ指数 <sup>b)</sup>
20min	12.5±0.4a <sup>c)</sup>	66.8±3.9a	51.9±3.0a	2.0±0.0a
10min	9.0±0.3b	34.5±3.4b	22.2±2.7b	3.0±0.4b
5min	8.8±0.8b	31.7±2.3b	18.6±4.3b	3.3±0.3bc
無処理	7.3±0.7b	25.8±2.4b	17.2±2.9b	3.9±0.1c

a)オゾンは濃度 43.2±0.2g/Nm<sup>3</sup>、流量 2.8±0.0L/minで処理した土壤でメロン'アールスメロン'を栽培。b)ネコブ指数は、0:発生なし、1:わずかに発生、2:根全体に散見される、3:根全体に発生し数も多い、4:肥大したネコブが全体に発生の5段階で判断。c)異なる英小文字間には有意差 (Turkey test, p>0.05) があることを示す。



第6図 オゾン処理土壤における温度推移

実線: オゾン処理区。濃度 43.2g/Nm<sup>3</sup>、流量 2.8±0.0L/min で20min 処理した後、酸素を5min 通気した。点線: 対照区。酸素を0min から20min まで通気した。

ンチュウ二期幼虫は分離されなかった。また、深さ15cmからは1.2±1.0頭/20g生土が分離されたが、無処理土壌の215.2±100.0頭/20g生土に比べて明らかに少なかった。定植59日後のネコブ指数は、オゾンガス処理土壌が1.3、無処理土壌が2.7と差が認められた。また、根重あたりのネ

コブ数はオゾンガス処理土壌が3.9±1.6個であり、無処理土壌の29.4±7.0個に比べて少なかった。

展開葉数と草丈の推移を第7図に示した。オゾンガス処理土壌に定植したキュウリは、定植20日以降、無処理土壌に比べて展葉数が2~4葉多く推移した。草丈も定植20

第4表 プランターを用いた小規模モデル試験におけるサツマイモネコブセンチュウ *Meloidogynita incognita* に対するオゾン処理の効果およびメロンの生育

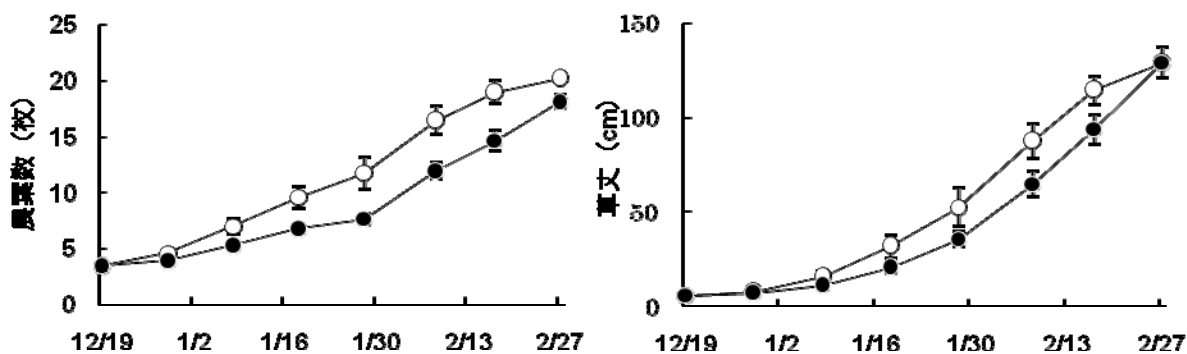
項目	葉数(枚)	草丈(cm)	地上部重量(g)	ネコブ数/株	萎凋株数 <sup>b)</sup>
処理区 <sup>a)</sup>	12.8±0.9	62.2±4.2	46.0±9.8	80.3±5.0	0/4
無処理区	8.3±0.6	26.3±2.0	16.0±0.4	124.7±43.1	2/4

a)オゾン濃度 43.4±0.2g/m<sup>3</sup>, 流量 2.7±0.0L/min, 20minで処理. b)萎凋株数/定植株数.

第5表 隔離床栽培キュウリにおけるオゾン処理のサツマイモネコブセンチュウ *Meloidogynita incognita* に対する防除効果

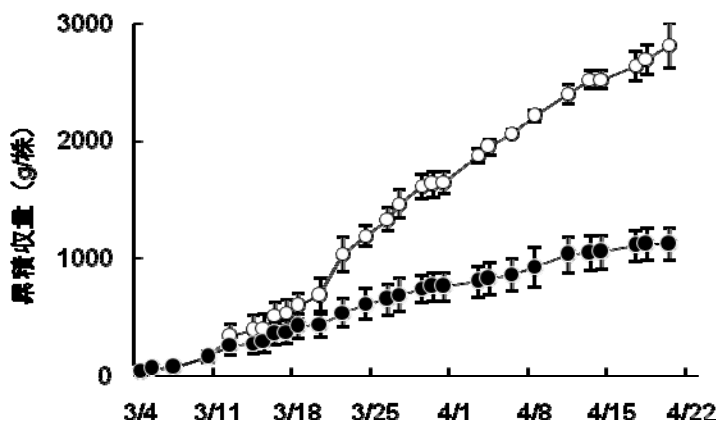
項目	土壌採集位置	ネコブセンチュウ数 <sup>a)</sup>	その他センチュウ数 <sup>a)</sup>	ネコブ指数	ネコブ数 <sup>b)</sup>
処理区 <sup>c)</sup>	深さ 5cm	0.0±0.0	5.2±1.4	1.3	3.9±1.6
	深さ 15cm	1.2±1.0	23.8±17.3		
無処理区	深さ 5cm	215.2±100.0	150.8±17.8	2.7	29.4±7.0

a)定植前の生土 20gあたり二期幼虫数. b)根重 1g当たりネコブ数. c)オゾン濃度 63.6±0.8g/m<sup>3</sup>, 流量 2.4±0.0L/min, 20minで処理



第7図 オゾン処理したサツマイモネコブセンチュウ *Meloidogynita incognita* 土壌で栽培したキュウリの生育  
○：オゾン処理区，濃度 63.6±0.8g/m<sup>3</sup>, 流量 2.4±0.0L/min, 20minで処理.

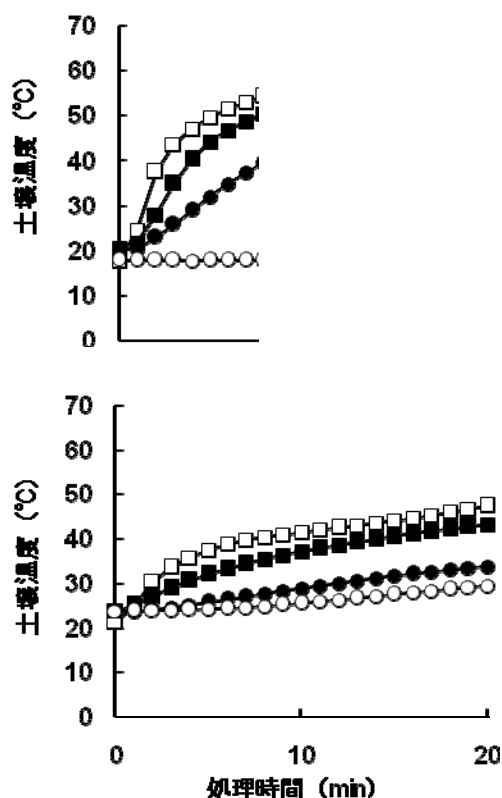
●：無処理区，図中のバーは標準誤差.



第8図 オゾン処理したサツマイモネコブセンチュウ *Meloidogynita incognita* 土壌で栽培したキュウリの累積収量推移  
処理条件および図中の記号は第7図と同じ.

日後から10~15cm高く推移し、摘心は10日早かった。収量の推移を第7図に示した。収穫開始直後の収穫量に差は認められなかった。しかし、3月中旬からオゾンガス処理土壤に定植したキュウリ株の収量が無処理に比べて常に高く推移し、収穫終了時における累積収量の差は、処理土壤2813.9±190.4g/株、無処理土壤1119.2±138.3g/株と2倍以上となった。

オゾンガス処理時の土壤温度を第8図に示した。土壤表面からオゾンガスを注入した土壤では、土壤表面から1cmの位置の温度は、処理前の17.5℃から20分後に58.7℃まで上昇した。周辺土壤も表面土壤における温度上昇の影響を受け、土壤表面から4cmの深さまで50℃以上の温度となった。11cmの深さに差し込んだノズルでは、表面処理と同様に周辺土壤の温度上昇が観察された。しかし、処理前と処理後の温度差は小さく、概ね20℃程度であった。また、ノズルの開口部から5cm離れた位置では、明瞭な温度上昇は認められなかった。



第9図 地表面(上)および土中からのオゾン処理が処理土壤の温度に与える影響

処理条件は第7図と同じ

上図は地表面から1cm(□), 2.5cm(■), 4cm(●)の深さ, 下図はノズル開口部から1cm(□), 3cm(■), 5cm(●)離れた位置の土壤温度. ○は無処理土壤の温度.

### III 考察

オゾン水あるいはオゾンと混和した水は、*Ralstonia solanacearum*, *Erwinia carotovora*, *Botrytis cinerea*, *Pythium aphanidermatum*など広範囲の植物病原細菌および糸状菌の分生子や遊走子に対して0.5~1.0ppmの低濃度で殺菌効果を持つことが報告されている<sup>2,9)</sup>。今回、直接暴露する条件でトマト萎凋病菌の分生子に対するオゾンガスの殺菌効果を検討したが、3ppmで効果が認められ、16.4ppmで検出限界以下となった。気中濃度と水中濃度を直接比較できないが、オゾンはいずれの処理方法においても、植物病原微生物に対し、低濃度で高い殺菌効果を示した。

3種土壤病害虫を供試し、感染株の残渣および汚染土壤における殺菌および殺虫効果を検討した。厚さ約2.5cmのトマト萎凋病菌分生子懸濁土壌をフィルターホルダーに充填しオゾンガスを処理した場合、菌密度を検出限界以下に抑えるためには、40g/m<sup>3</sup>(1g/m<sup>3</sup>≒510ppm:25℃条件)のオゾンガスを10min通気する必要がある。この結果は、直接暴露試験で得られた、16.4ppmという値と大きく異なった。

オゾンガスは、接触する物質を非選択的に酸化するため、急速に減衰する。土壤中の到達距離は、処理濃度に依存することが知られている。模擬土壤にシリカゲルを用いた試験における到達距離は、濃度15g/m<sup>3</sup>で半径4cmの球状であった<sup>4)</sup>。土壤中には模擬土壤に比べて多量の反応物質が存在し、オゾンガス濃度は急速に減衰することが予想される。トマト萎凋病菌の試験で得られた結果は、オゾンガスを2.5cmの距離に16.4ppm以上の濃度で到達させるためには、40g/m<sup>3</sup>以上の処理濃度が必要であることを示している。

今回、トマト萎凋病菌以外にナス科青枯病菌およびサツマイモネコブセンチュウで試験を実施したが、密度を検出限界以下に抑えるためには、それぞれ40g/m<sup>3</sup>の高濃度で3hr, 20min処理する必要がある。これらの結果は、土壤消毒にオゾンガスを使用する場合は、土壤を通過する際に消費される量を考慮し、40g/m<sup>3</sup>以上の濃度で処理する必要があることを示している。

土壤消毒の効果を高めるには、未処理部分を発生させないことが重要である。しかし、ノズルを土壤中に挿入しオゾンガスを処理した場合、球状の処理土壤の周りが無処理土壤として残る。境界が球面となり、処理土壤と無処理土壤の境界面を特定することが困難である。また、土壤表面からオゾンガスが放出されるため、オゾンガスの環境基準である0.1ppmを確保することも困難である。そこで、処理範囲の特定を容易にし、かつ地表面からのオゾンガス放出を抑制するため、第2図に示した処理装置を考案した。処理装置を使用し、土壤表面から40g/m<sup>3</sup>のオゾンガスを処理した場合、5minで深さ5cm, 20minで7.5cmまでサツマイ

モネコブセンチュウに対する殺虫効果が認められた。

殺虫効果が得られた距離は、模擬土壌のモデル試験で予想される距離より長くなった。オゾンガスの処理体積はその濃度と流量の積に依存する<sup>1)</sup>。第2図に示す処理装置では、オゾンガスの流れる範囲が制限されるため、ノズルのみで処理する方法に比べ、処理土壌を通過するオゾンガスの流量が増加する。この結果、殺虫効果が得られる土壌の範囲が拡大したと考えられる。また、容器内の処理むらも認められなかったことから、処理範囲の特定にも有効であった。

栽培用の容器に充填した深さ10cmの汚染土壌に対してフィルターホルダーを用いた方法で40~50g/m<sup>3</sup>のオゾンガスを2~3L/min, 20minで処理することで、ナス科青枯病およびサツマイモネコブセンチュウに対する被害防止効果が認められ。この結果は、第2図に示した処理方法が、殺虫、殺菌に有効であることを示している。ただし、サツマイモネコブセンチュウに対する効果試験において、根の先端部分にネコブが確認された。このため、10cmを超える土層を処理する方法が必要となった。そこで、サツマイモネコブセンチュウ汚染土壌を深さ20cmに充填した隔離床の実証試験では、同一土壌を表面および土中から処理する二段階処理で行った。その結果、サツマイモネコブセンチュウの密度を深さ5cmで検出限界以下に、15cmで無処理の1/100以下に抑制した。また、根に形成されたネコブ数も少なく防除効果が認められた。この結果は、隔離床栽培ではあるが、実際の栽培ほ場においてオゾンガス処理の防除効果が確認された初めての事例である。なお、病原菌が生息する土壌の深さは、種類によって異なるが、概ね30~40cmである<sup>11)</sup>。今回の二段階処理で処理が可能な深さは20cmである。地床栽培で使用する場合は、30cm以上の深さの土壌を処理するノズルを追加する必要がある。

オゾンガス処理によって、土壌のpHが一時的に低下し、アンモニア態窒素が増加すること、処理1週間でアンモニア態窒素が硝酸態窒素に変化することが明らかになっている<sup>8)</sup>。また、高濃度のアンモニア態窒素や低pHは、作物の生育に悪影響をあたえることが知られている。今回、97.8g/m<sup>3</sup>処理土壌に定植したトマトで無処理に比べ生育が劣る事例が確認された。オゾンガスの酸化能力、すなわち濃度が高いほど、処理後のアンモニア態窒素濃度は高まり、pHは低下すると考えられる。97.8g/m<sup>3</sup>処理は、一連の試験で最も高い処理濃度であった。確認された生育抑制は、オゾンガス処理によるアンモニア態窒素の増加やpHの低下が原因と推測された。また、生育あるいは収量が無処理に比べて優る事例が多く確認された。病害虫に対するオゾンガスの防除効果が主な原因であるが、土壌中の硝酸態窒素量も一因と考えられた。

オゾンの分解には、発熱反応を伴い、鉄やマンガンなど

の金属酸化物が触媒となり、分解が促進されることが知られている<sup>3)</sup>。今回の土壌消毒試験において、40g/m<sup>3</sup>以上のオゾンガス処理で土壌温度の上昇が観察された。また、63.6±0.8g/m<sup>3</sup>でオゾンガスを処理した隔離床試験では、ノズル開口部周辺を中心に約60℃まで温度が上昇した。供試した黒ボク土壌に多く含まれる鉄あるいはマンガンが触媒として作用し、土壌温度が高まったと考えられる。サツマイモネコブセンチュウの二期幼虫および卵嚢は45℃1時間で死滅することが知られている<sup>4)</sup>。土壌に保温効果があり、土壌温度の低下に1時間程度を要することから、隔離床の実証試験における温度はサツマイモネコブセンチュウを殺虫するのに、十分な温度、時間であったと考えられる。また、病原菌の死滅条件として、トマト青枯病菌の55℃30min<sup>7)</sup>、メロン黒点根腐病の65℃30min<sup>6)</sup>などが知られている。今回の試験で確認された温度は、これらの病害に対しても効果を示す温度であった。以上の結果は、オゾンガスによる殺菌作用として、酸化による細胞膜構造や表皮組織の破壊<sup>9)</sup>だけでなく、オゾンガス分解に伴う地温の上昇が含まれることを示している。

オゾンガスを40g/m<sup>3</sup>以上の濃度で土壌処理することで、直接的な酸化および間接的な温度上昇効果により、複数の土壌病害虫に防除効果を示すことが明らかになった。新たな土壌消毒素材として期待できることから、他の土壌病害虫に対する効果について検討が必要である。また、現在は土壌消毒用のオゾンガス発生装置は開発されていない。今回の試験で使用した実験用オゾンガス製造装置の処理能力は3.5hr/m<sup>2</sup>と小さく、実用化を進めるには処理能力が高い専用の大型機械の開発が不可欠である。さらに、オゾンガスは分解が早いものの、直接被曝すると人間に対して低濃度かつ短時間で健康被害をあたえる物質である。開発にあたっては、大気中にオゾンガスを排出しない処理装置の開発も求められる。

#### 謝辞

本研究は、平成17年度先端技術を利用した農林水産研究高度化事業「オゾン・一酸化窒素ラジカル種を利用した土壌殺菌法の実用化」で実施した。また、国立大学法人熊本大学の蛭原健治名誉教授と高山正広氏、同仁グローカル(株)立花賢浩氏など多くの方々の協力で行った。関係各位に厚くお礼申し上げる。

#### 引用文献

- 1) 蛭原健治・高山正広・H. D. Stryczewska・池上知頭・行徳裕・立花賢浩: 電機学会論文誌A 126: 963-969, 2006.
- 2) 草刈眞一・岡田清嗣・川端利昭・岡村昭・圓藤英雄: 大阪農技セ研報 31: 15-22, 1995.

- 3)中辻忠夫 : JETI 39 : 98-101, 1991.  
4)下元満喜 : 高知県農技セ研報15 : 25-32, 2006.  
5)Takayama, M., Ebihara, K., Stryczewska, H., Ikegami, T., Gyoutoku, Y., Kubo, K. and Tachibana, M. : Thin Solid Films 506-507 : 396-399, 2006.  
6)竹内繁治・下元満喜・森田泰彰 : 植物防疫61 : 79-83, 2007.  
7)竹内妙子・福田寛 : 千葉県試験報34 : 89-99, 1994.  
8)歌野裕子・行徳裕・郡司掛則昭 : 熊本農研報 : (印刷中) 2011.  
9)Yamamoto, H., Terada, T., Naganawa, T. and Tatsuyama, K. : Ann. Phytopath. Soc. Japan 56 : 250-251, 1990.  
10)山吉孝雄 : 食品加工技術18 : 23-27, 1997.  
11)日本植物防疫協会編 : 新版土壌病害の手引き pp349, 1982.

#### Summary

### Effect of the Soil Disinfection Using Ozone Gas on Soil-borne Plant Pathogens and Nematode

Yutaka GYOUTOKU and Takeshi YOKOYAMA

Methyl bromide was frequently used as a soil disinfectant. But the use of this chemical which has been identified as an atmospheric ozone depleting substance on Montreal Protocol will be prohibited in 2013. It is necessary to develop new soil sterilization method. Ozone has been recognized as the effective sterilization agent and used on medical and food processed. Accordingly, we investigated the soil sterilization using ozone gas. The infested soil of *Fusarium oxysporum* was sterilized by varying ozone concentrations. The density of fungus was decreased from 10g/m<sup>3</sup> for 10min, and became below detectable limit by 40g/m<sup>3</sup> for 10min. We prepared the infested soils of *Ralstonia solanacearum* and *Meloidogynes incognita*, and injected ozone gas of 40g/m<sup>3</sup> for 10min. High effect were confirmed from no detection of bacterium and nematode in treated soil. We prepared the container(L180×W85×D20cm) with infested soil of *M. incognita*, and treated soil by ozone gas of 63.6g/m<sup>3</sup> for 20min. We cultivated cucumber with treated and untreated soil and measured injury (root-knot index) and yield. The root-knot index of treated decreased to 1/2 compared with untreated and yield increased to the twice. These results suggest that ozone treatment is effective for sterilization of the soil pests.