

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/m³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/m³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、臭化メチルやクロル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ル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^{2,9)}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50cm³に9.5mlの10⁶ 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/m³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1cm³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/m³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/m³, 2.85L/min, 20min/カ所と 45.2±0.2 g/m³, 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

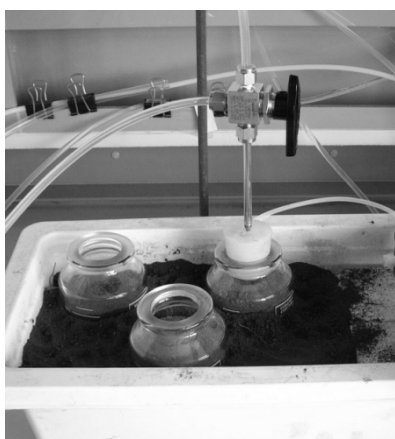
(1) 土壌中のサツマイモネコブセンチュウに対する殺虫効果および防除効果

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/m³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反復の土壌は、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。

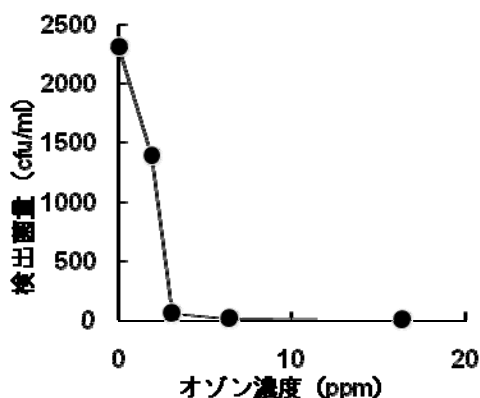
処理区の深さ5cmおよび15cm、無処理区の深さ5cmの土壌を採取し、ベルマン法でセンチュウ類を分離、生物顕微鏡下でネコブセンチュウ二期幼虫数とその他センチュウ数を計数した。12月19日、処理区および無処理区に3.5葉期のキュウリ（品種：スーパーラックス）を定植した。定植後、摘心した2月27日まで概ね10日間隔で展葉数および草丈を、3月4日から4月22日まで1～3日間隔で収量を調査した。また、定植59日後に3株を抜き取り、ネコブ指数および根重あたりにネコブ数を調査した。

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。

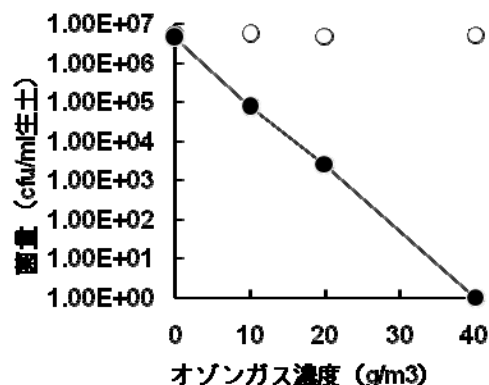
III 結果

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/m³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/m³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/m³以下の濃度で殺菌効果は認められなかったが、40g/m³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/m³で比較した。30g/m³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/m³、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/m³および45.2g/m³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/m³処理の草丈は45.2g/m³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/m³のオゾンガスを2.8±0.0L/minで5min以上処理することで、

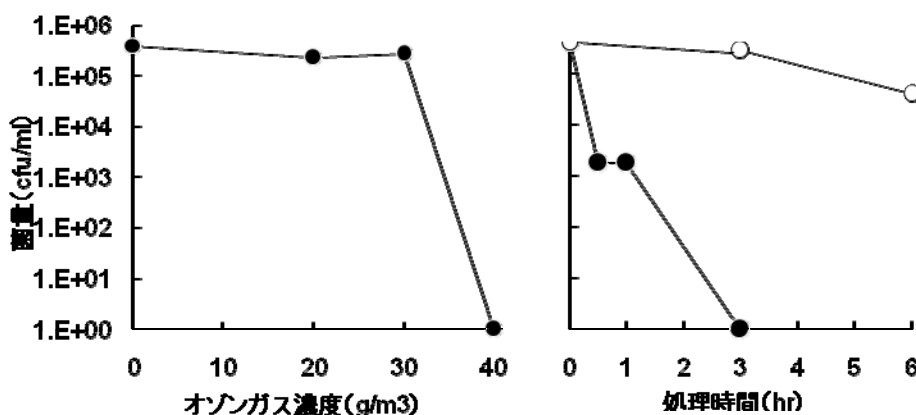
サツマイモネコブセンチュウおよびその他のセンチュウ密度は低下した。生存個体数は、オゾンガスの注入場所に近い上層で最も少なく、中層から下層へと離れるにしたがい増加した。特に、5min処理の下層における二期幼虫数は、処理前と差が認められなかった。また、サツマイモネコブセンチュウとその他センチュウ類で処理前後の検出個体数の割合を比較すると、その他センチュウの減少割合が低かった。ネコブの発生は、定植した全てのメロン株で認められた。しかし、ネコブ指数は、20min処理2.0±0.0、10min処理3.0±0.3、5min処理3.3±0.3、無処理3.8±0.3と、処理時間が長いほど低く、20min処理と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/m³, 流量 0.65L/min 処理, ●: 濃度 40g/m³, 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 ³)	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^{a)}の効果

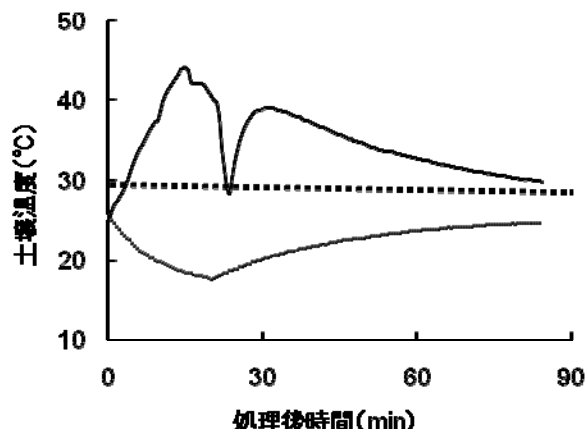
処理時間	ネコブセンチュウ二期幼虫数 ^{b)}			その他センチュウ類二期幼虫数		
	上部 ^{c)}	中部	下部	上部	中部	下部
20min	0.0±0.0	0.0±0.0	11.5±7.5	0.0±0.0	1.5±1.5	108.5±2.5
10min	1.5±0.5	5.0±1.0	407.0±11.0	8.5±3.5	78.5±10.5	218.0±28.0
5min	1.0±0.0	21.3±11.5	465.0±155.0	59.5±22.5	249.0±91.0	329.5±37.5
処理前	539.3±76.5			378.2±50.3		

a)濃度 43.2±0.2g/m³、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 ^{a)}	葉数(枚)	草丈(cm)	地上部重量(g)	ネコブ指数 ^{b)}
20min	12.5±0.4a ^{c)}	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/Nm³、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/Nm³、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

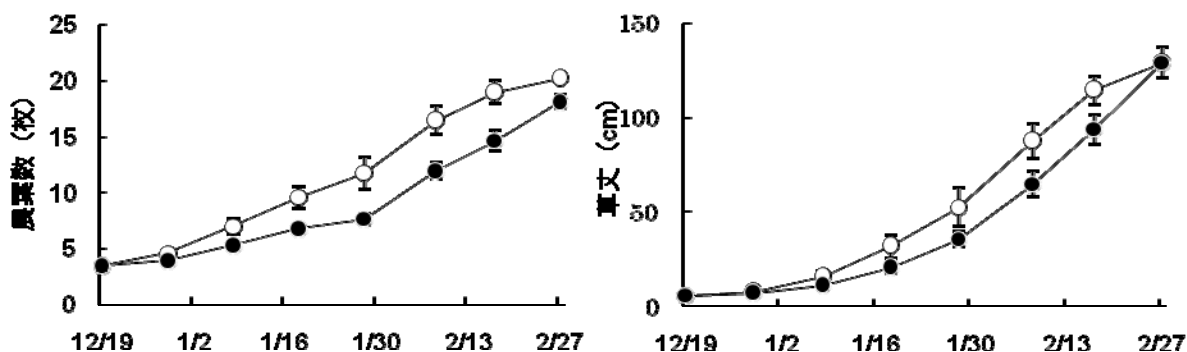
項目	葉数(枚)	草丈(cm)	地上部重量(g)	ネコブ数/株	萎凋株数 ^{b)}
処理区 ^{a)}	12.8±0.9	62.2±4.2	46.0±9.8	80.3±5.0	0/4
無処理区	8.3±0.6	26.3±2.0	16.0±0.4	124.7±43.1	2/4

a)オゾン濃度 43.4±0.2g/m³, 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

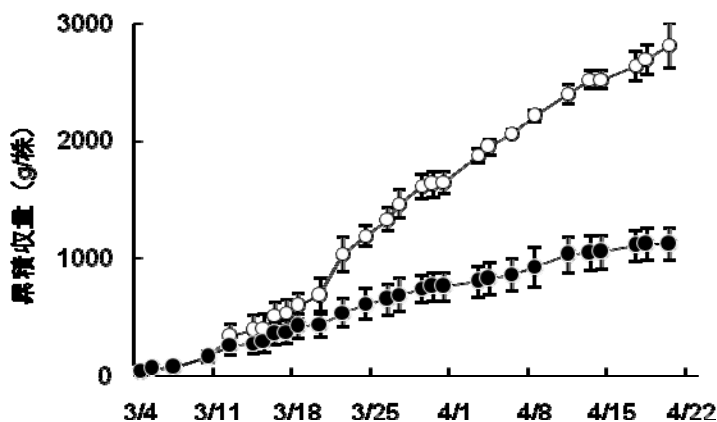
項目	土壌採集位置	ネコブセンチュウ数 ^{a)}	その他センチュウ数 ^{a)}	ネコブ指数	ネコブ数 ^{b)}
処理区 ^{c)}	深さ 5cm	0.0±0.0	5.2±1.4	1.3	3.9±1.6
	深さ 15cm	1.2±1.0	23.8±17.3		
無処理区	深さ 5cm	215.2±100.0	150.8±17.8	2.7	29.4±7.0

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/m³, 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/m³, 流量 2.4±0.0L/min, 20minで処理.

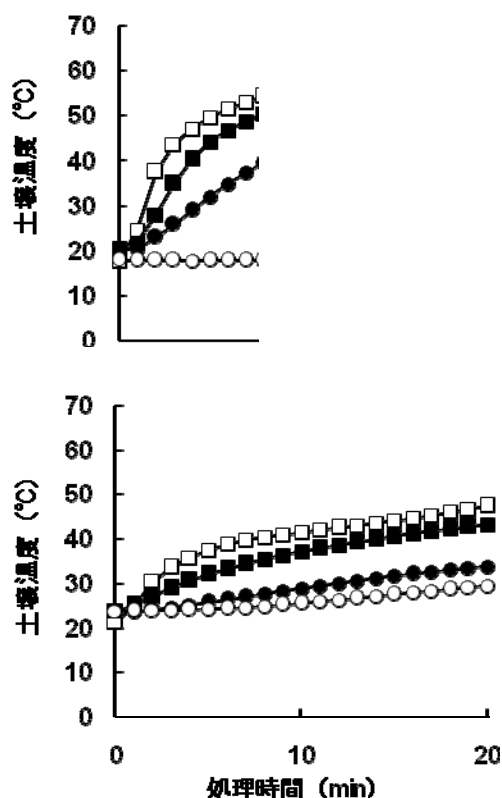
●：無処理区，図中のバーは標準誤差.



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^{2,9)}。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/m³(1g/m³≒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/m³で半径4cmの球状であった⁴⁾。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/m³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/m³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/m³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/m³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¹⁾。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/m³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¹¹⁾。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⁸⁾。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/m³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/m³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³⁾。今回の土壌消毒試験において、40g/m³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/m³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⁴⁾。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℃30min⁷⁾、メロン黒点根腐病の65℃30min⁶⁾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⁹⁾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/m³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/m²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/m³ for 10min, and became below detectable limit by 40g/m³ for 10min. We prepared the infested soils of *Ralstonia solanacearum* and *Meloidogynes incognita*, and injected ozone gas of 40g/m³ 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/m³ 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.