

圃場・種イモの診断に基づく ショウガ青枯病防除 標準作業手順書 (別冊)



目次

(別冊)	
免責事項	1
参考情報	2
1. 選択培地の作成と青枯病菌の分離方法	2
(1) 選択培地（改変 SMSA 寒天平板培地）の作成方法	2
(2) 青枯病菌の分離培養	4
2. Bio-PCR 法による青枯病菌の検出・定量法	5
(1) 前培養・DNA 抽出	5
(2) PCR	7
(3) アガロースゲル電動泳動	9
(4) MPN 法による定量	11
3. 土壌還元消毒による還元状態の確認方法	12
(1) 酸化還元電位の低下	12
(2) 金属イオン（2 価鉄）の検出法	14
土壌消毒実施事例集	15
1. 低濃度エタノール土壌還元消毒	19
・ 実施事例 No.1 土佐市（壤土、赤黄色土）	19
・ 実施事例 No.2 土佐市（壤土、赤黄色土）	24
・ 実施事例 No.3 土佐市（壤土、低地水田土）	25
・ 実施事例 No.4 土佐市（壤土、灰色低地土）	25
・ 実施事例 No.5 土佐市（壤土、赤黄色土）	32
・ 実施事例 No.6 土佐市（壤土、灰色低地土）	35
・ 実施事例 No.7 土佐市（壤土、褐色低地土）	39
・ 実施事例 No.8 土佐市（壤土、灰色低地土）	42
・ 実施事例 No.9 土佐市（壤土、褐色低地土）	45
2. 石灰窒素を用いた太陽熱土壌消毒	47
・ 実施事例 No.1 土佐市（壤土、赤黄色土）	47
・ 実施事例 No.2 土佐市（壤土、赤黄色土）	49
参考資料	52
担当窓口、連絡先	53

■ 免責事項

- 農研機構は、利用者が本手順書に記載された技術を利用したこと、あるいは技術を利用できないことによる結果について一切責任を負いません。
- 本手順書は営農指導員、普及員、公設試験場研究員など専門的な知識を有する指導者向けとなっています。参考情報に記載された病原の分離・検出・定量方法や還元状態の確認方法を実施する場合は必ず上記の指導者にご相談ください。
- 本手順書に記載した「低濃度エタノール土壌還元消毒」、「石灰窒素を用いた太陽熱土壌消毒」に関する試験結果は、あくまでも高知県内において実施した例を示しています。これら技術の効果は、地域、気候条件、実施時期、実施条件などに左右されるものであり、本手順書内に示した収量や経済効果が得られることを保証するものではありません。

参考情報

1. 選択培地の作成と青枯病菌の分離方法

選択培地を用いた分離方法は、ショウガ以外の作物の青枯病菌にも利用可能です（堀田・土屋、2012）。

（1）選択培地（改変 SMSA 寒天平板培地）の作成方法

使用する試薬、資材、機材

- ・下記の**培地組成**に記載の試薬を、作成時に溶解して使用
- ・抗生物質は、下記の**抗生物質添加量**に記載の濃度で溶解し、（クリスタルバイオレットおよびクロラムフェニコール以外は）孔径が 0.22 μm 以下のメンブレンフィルターと注射器シリンジを用いてろ過し、冷蔵庫（4℃）に保存（1年保存可）
- ・1 M 水酸化ナトリウム、1 M 塩酸（市販）
- ・三角フラスコ、ビーカー、遠沈管（15 ml、50 ml 容量）
- ・薬さじ、薬包紙
- ・天びん（0.01～20 g の範囲でひょう量可能なもの）
- ・スターラー、スターラーバー
- ・孔径が 0.22 μm 以下のメンブレンフィルター
- ・注射器シリンジ
- ・冷蔵庫（4℃）
- ・マイクロピペット、ピペットチップ（20～200 μl、200～1000 μl 用）
- ・pH メーターまたは pH 試験紙
- ・オートクレーブ
- ・滅菌済プラスチックシャーレ（径 90 mm）

寒天と抗生物質以外の試薬を蒸留水に溶解し、1 M 水酸化ナトリウムと 1 M 塩酸を用いて pH を 7 に調整後、寒天を加えてオートクレーブ（121℃、20 分）します。50～60℃ に冷ました後、個別に準備した抗生物質をマイクロピペットを用いて加え、よく混合した後、滅菌シャーレに 15～20 ml ずつ分注して寒天が固まるまで冷まします。添加した抗生物質が分解しやすいため、作成後 1 ヶ月以内に使用します。

培地組成

ペプトン	10 g	
カザミノ酸（カゼイン加水分解物）	1 g	
ぶどう糖	5 g	
寒天	18 g	
蒸留水	1,000 ml	(pH 7)

抗生物質添加量（最終濃度）

バシトラシン（10 mg/ml 蒸留水）	2.5 ml	(25 ppm)
ポリミキシン B 硫酸塩（50 mg/ml 蒸留水）	2 ml	(100 ppm)
クロラムフェニコール（10 mg/ml エタノール）	0.5 ml	(5 ppm)
ペニシリン G（1 mg/ml 蒸留水）	0.5 ml	(0.5 ppm)
クリスタルバイオレット（10 mg/ml エタノール）	0.5 ml	(5 ppm)
2,3,5-トリフェニル テトラゾリウムクロライド（TTC） （10 mg/ml 蒸留水）	1 ml	(10 ppm)
シクロヘキシミド（10 mg/ml 蒸留水）	5 ml	(50 ppm)

(2) 青枯病菌の分離・培養

使用する試薬、資材、機材

- ・70% (v/v) エタノール
- ・0.5% (w/v) スキムミルク水溶液 (スキムミルク 5 g を 1,000 ml 蒸留水に溶解後、115℃、10 分オートクレーブして使用)
- ・ハサミ、ナイフ
- ・遠沈管 (15 ml、50 ml 容量)
- ・葉さじ、葉包紙
- ・天びん (0.01~20 g の範囲でひょう量可能なもの)
- ・マイクロピペット、ピペットチップ (20~200 μ l、200~1000 μ l 用)
- ・振とう機またはタッチミキサー
- ・コンラージ棒
- ・恒温培養器

発病した植物やイモから青枯病菌を分離・培養する場合は、サンプルを 70%エタノール等で消毒したハサミやナイフ等で切断後、滅菌蒸留水中に浸し、10 分以上室温で静置。その後、上澄みを上記の寒天培地にマイクロピペットを用いて 0.1~0.2 ml 滴下、コンラージ棒で塗抹し、恒温培養器を用いて 30℃で培養します。

土壌から青枯病菌を分離・培養する場合は、土壌 (10 g 以下) を 5~10 倍量の 0.5%スキムミルク水溶液または滅菌蒸留水と混合し、20 分以上振とう機で激しく振とう (>150 rpm)、またはタッチミキサー等で攪拌し、30 分以上静置後、上澄みを上記の寒天培地に 0.1~0.2 ml 滴下、塗抹し、30℃で培養します。

青枯病菌は培養 3 日目以降に乳白色で内部に輪紋状模様を呈する流動性コロニーとして検出されます (Ⅲ章 図Ⅲ-6 (p.10) 参照)。

2. Bio-PCR 法による青枯病菌の検出・定量法

土壌から青枯病菌を検出する場合、検出感度・検出精度を高めるため、PCR の前に、前培養および培養菌体からの DNA 抽出操作を行います。

(1) 前培養・DNA 抽出

使用する試薬、資材、機材

- ・0.5% (w/v) スkimミルク水溶液 (上記)
- ・1 M HEPES 緩衝液 (HEPES 23.5 g を 100 ml の蒸留水に溶解後、121℃、20 分オートクレーブ)
- ・改変 SMSA 液体培地 (堀田・土屋、2012)
上記の、改変 SMSA 寒天平板培地 (p.2~4) から寒天、TTC を除いたもの
- ・培養緩衝液 (農研機構中央農業研究センター、2019)
蒸留水 1,000 ml 当たり、1 M HEPES 緩衝液 1 ml、バシトラシン (10 mg/ml) 5 ml、TTC (10 mg/ml) 1.5 ml、ペニシリン G (1 mg/ml) 0.5 ml、クロラムフェニコール (10 mg/ml) 25 μ l 添加 (抗生物質は上記 (p.2~3) のものを使用)
- ・試験管、シリコン栓 (径 18 mm)
- ・遠沈管 (15 ml、50 ml 容量)
- ・孔径が 0.22 μ m 以下のメンブレンフィルター
- ・フィルターホルダー
- ・注射器シリンジまたは吸引ろ過器
- ・マイクロピペット、ピペットチップ (20~200 μ l、200~1000 μ l 用)
- ・振とう機
- ・タッチミキサー
- ・ヒートブロック
- ・恒温培養器

土壌 (10 g 以下) に 0.5% スキムミルク水溶液を加えて 5~10 倍量にする

↓

20 分以上激しく振とう (>150 rpm)、30 分以上静置

↓

土壌懸濁液の上澄みを 9 倍量の培養緩衝液 (遠沈管) または改変 SMSA 液体培地 (試験管) と混合

↓

35℃、一晩静置培養 (培養緩衝液) または 32℃、一晩振とう (150 rpm) 培養 (改変 SMSA 液体培地)

↓

孔径が 0.22 μm 以下のメンブレンフィルターをホルダーに設置し、培養液の一部 (沈殿物は除く) を加える

↓

注射器シリンジや吸引ろ過器を用いてフィルターろ過し、下に貯まった液を捨てる

↓

滅菌蒸留水を加えてフィルターろ過し、下に貯まった液を捨てる (2 回以上)

↓

メンブレンフィルターを別の遠沈管に移し、用いた培養液と同量の滅菌蒸留水を加え、タッチミキサー等を用いて混合することで、フィルター上に残った菌体を懸濁

↓

懸濁液をヒートブロックを用いて 98℃、2 分以上加熱

↓

DNA 抽出液として PCR 反応に使用。残りは 4℃で保存

(2) PCR

ここでは、ショウガ青枯病菌を特異的に検出する条件について説明します。本病原菌は宿主範囲や遺伝的な違いにより2つの系統 (type I、type II) に分けられます。Type I はショウガの他、ショウガ科のウコン、ミウガ、クルクマ等にも強い病原性を示し、国内各地で分離されます。Type II は基本的にショウガにのみ強い病原性を示し、主に高知県で分離されます (堀田ら、2014 ; 矢野ら、2011)。

使用する試薬、資材、機材

・PCR 酵素キット

Takara *ExTaq* Hot start version (*ExTaq* HS)、10×Buffer、dNTP

・プライマーセット (下記)

・牛血清アルブミン (Bovine Serum Albumin、BSA) PCR 用

・滅菌超純水 (市販)

・PCR チューブ (0.2 ml 容量)

・マイクロピペット、ピペットチップ (0.1~3 μ l、2~20 μ l、20~200 μ l 用)

・サーマルサイクラー (ABI9700 (アプライドバイオシステム) 等)

(PCR 反応液)*¹

(プライマーセット) 混合して添加

10×Buffer (付属)	2.0 μ l	contig5-F1	1 pmol/ μ l (1 μ M)
dNTP (付属)	1.6 μ l	contig5-R4	1 pmol/ μ l
プライマーセット	4.0 μ l	contig3-F1	1 pmol/ μ l
BSA* ²	0.5 μ l	contig3-R1	1 pmol/ μ l
<i>ExTaq</i> HS* ²	0.2 μ l		
DNA 抽出液	3.0 μ l		
滅菌超純水	8.7 μ l		
計	20.0 μ l		

- * 1 PCR 反応液は氷や保冷剤等を用いて、常に冷却した状態で作成、準備します。
- * 2 BSA および *ExTaq* HS の使用により、擬陽性・擬陰性反応が減り、検出精度が向上します。

(反応条件)

95℃ 3分

95℃ 30秒、60℃ 30秒、72℃ 45秒 (15回)

95℃ 30秒、58℃ 15秒、72℃ 15秒 (30回)

72℃ 5分

(プライマー配列)

contig5-F1: ATG GCG CAT GGA CAA GTT GTT (type I 検出用、769 bp)

contig5-R4: TCG TTG TCT TCG GCT CGG TAT

contig3-F1: GAT ATG GTG CGA GGA CTC TGT (type II 検出用、977 bp)

contig3-R1: GCG CCA CGG TTA TGG TTT ATT

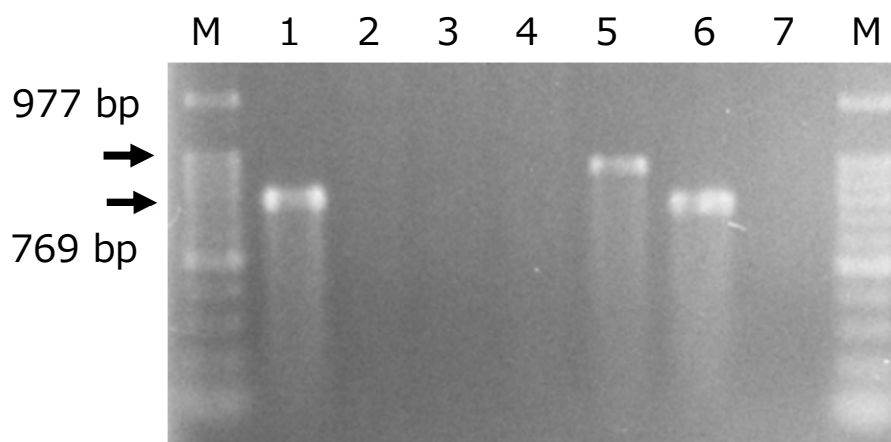
(3) アガロースゲル電気泳動

使用する試薬、資材、機材

- ・アガロースゲル電気泳動用色素（市販）
- ・DNA マーカー（100 bp DNA Ladder (Toyobo))
- ・アガロース（生化学用）
- ・50×Tris-酢酸-EDTA（TAE）緩衝液（市販）
- ・DNA 染色液（市販）
 - エチジウムブロマイド (Ethidium Bromide) (10 mg/ml、4℃保存)
 - またはサイバーグリーン (SYBR Green) (-20℃保存)
- ・三角フラスコ（100 ml、200ml 容量）
- ・マイクロピペット、ピペットチップ（2～20 μ l 用）
- ・タッパー
- ・微量遠心分離機（ちびタン（アズワン）等）
- ・電子レンジ
- ・水平型電気泳動装置（ミューピッド（フナコシ）等）
- ・UV トランスイルミネーター
- ・ゲル撮影装置

PCR 終了後、PCR チューブに全液量の 1/5～1/10 程度の電気泳動用色素を加え、微量遠心分離機で遠心（1,000 rpm、数秒）して混合します。その後、アガロースを 1.5%（w/v）濃度になるよう 0.5×TAE 緩衝液（50×TAE を超純水で 100 倍に薄めて使用）に加熱溶解（三角フラスコ、電子レンジ使用）し、水平型電気泳動装置付属のゲルトレー中に流し込んでゲルを作成し、これと電気泳動装置を用いて電気泳動（100V、30 分程度）を行います。電気泳動後のゲルを DNA 染色液（0.5×TAE 緩衝液中で 1

万倍に希釈したもの、タッパー使用) に 30 分程度浸漬後、UV トランスイルミネーターとゲル撮影装置を用いて撮影し、バンドの有無やバンドの長さを DNA マーカー (100 塩基 (base pair, bp) 単位で DNA の長さを表示) と比較して確認します (図 1)。バンドの濃度が極端に薄かったり、バンドの位置が不明瞭な場合は、用いる前培養液の量を増やして、再度 DNA 抽出液を作成し、PCR を行います。



**図 1 Bio-PCR 法による土壌からの青枯病菌の検出
(アガロースゲル電気泳動)**

矢印先はショウガ青枯病菌に特異的なバンドを示す (上は type II、下は type I に特異的)

レーン 1-4: 土壌からの検出 (1: ショウガ青枯病菌汚染土壌、2: ナス青枯病菌汚染土壌、3、4: 非汚染土壌)、レーン 5、6: ショウガ青枯病菌 (type II、type I) 培養液から抽出した DNA 溶液を PCR に使用、7: 水、M: 100 bp DNA マーカー

(4) MPN 法による定量

MPN 法 (Most Probable Number Method、最確数法) は、確率論に基づいた微生物濃度の推定方法です。MPN 法では通常の寒天培地を用いた方法よりも低濃度の微生物が定量できます (井上・中保、2015)。

ここでは、土壌懸濁液全量の 1/10、1/100、1/1000 量を各 3 反復用い、前培養して PCR を行った場合について示します。

PCR 陽性数が 1/10 量使用で 3 反復中 3 つ、1/100 量使用で 3 反復中 1 つ、1/1000 量使用で 3 反復中 0 [(3, 1, 0) と表記] の場合の菌数の推定値は MPN 法で 43 個となります (井上・中保、2015)。3 g の土壌を使用している場合は、 $43/3 = 14.3$ 個/g 土と計算されます。同様に PCR 陽性数が 1/10 量使用で 1 つ、1/100、1/1000 量使用で 0、(1, 0, 0) の場合は、 3.6 個/3 g 土 = 1.2 個/g 土となります。

3. 土壤還元消毒による還元状態の確認方法

(1) 酸化還元電位の低下

低濃度エタノール土壤還元消毒および石灰窒素を用いた太陽熱土壤消毒では、土壤表面を被覆して空気を遮断することで還元状態になり、病原菌が死滅する要因になると考えられています。処理中の還元状態の確認には、酸化還元電位 (Eh) 計 (図 2) のセンサーを土壤中に差し込み、測定します。青枯病菌は土壤の深層部 (30 cm 以下) まで生存しているため、できるだけ深いところまで差し込んで調査します (図 3 の圃場試験例の場合、深さ 20 cm、50 cm で調査)。通常、灌水、被覆後、数日中に酸化還元電位が 0 mV 以下に低下して還元状態となり、その後 2 週間以上 0 mV 以下に維持される場合が多いです。



図 2 携帯型酸化還元電位計 (東亜 DKK)

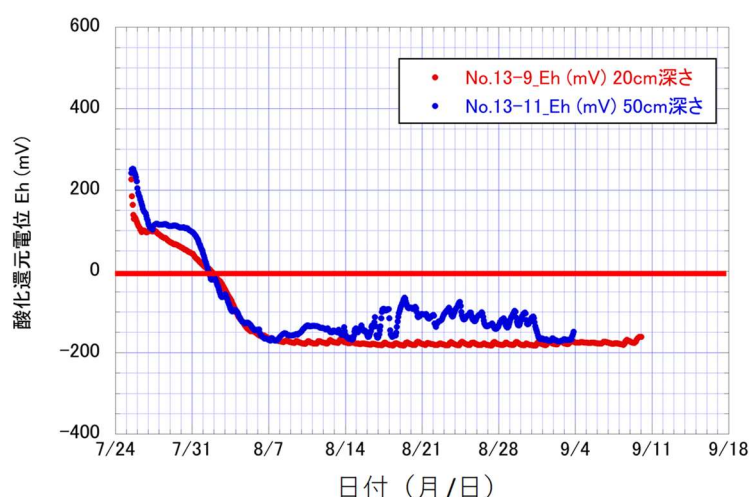


図 3 還元消毒処理中の土壤中の酸化還元電位 (Eh) の推移 (試験例)

酸化還元電位計には、温度センサー機能が付いている場合が多く、土壌中の温度も同時に測定可能です（図4）。

土壌還元消毒では、地温が25℃以上（できれば30℃以上）確保できないと安定した消毒効果が得られない場合があります（土壌消毒実施事例集 低濃度エタノール土壌還元消毒実施事例 No.3 (p.25～31) 参照）。

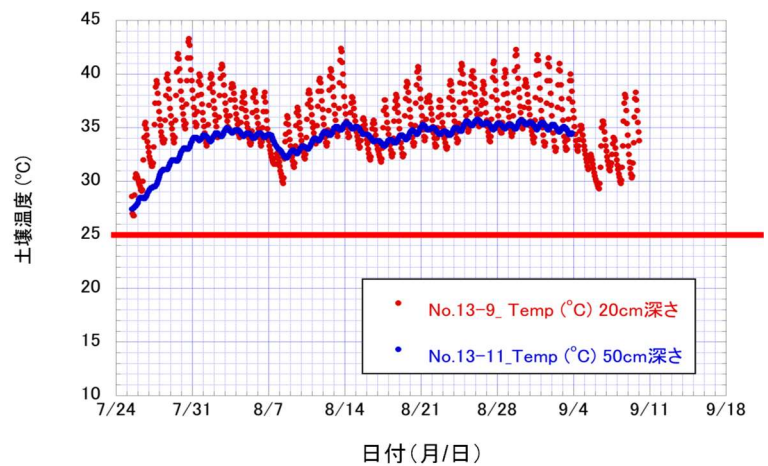


図4 還元消毒処理中の土壌温度の推移（試験例）

(2) 金属イオン (2 価鉄) の検出法

酸化還元電位計は高価 (7 万円以上) なため、設置できる数も限られてきます。土壌が還元状態になると、酸化還元電位の低下とともに、土壌中から金属イオンである 2 価鉄 (Fe^{2+}) が溶出してきます。そこで、処理後の土壌を、2 価鉄を検出するための染色液と反応させて、その発色程度で還元状態を判定する方法が (安価かつ簡便なため) よく用いられています (農研機構、2020)。

調査方法

還元消毒処理後の土壌を土壌採取器を用いて深層まで採取します (IV章 圃場の聞き取り調査・土壌採取 (p.17) 参照)。採取直後の土壌の表面を、ヘラを用いて平らにならした後、上にティッシュペーパーをかぶせて (または直接) 土壌染色液*を、霧吹きを用いて吹きかけると、2 価鉄と反応して赤く染まります (図 5)。採取してから長時間放置すると、土壌が酸化して 2 価鉄が消えてしまい、染まりませんので注意してください。

* 土壌染色液組成 : α , α' -ジピリジル (2, 2'-dipyridyl) またはフェナントロリン (phenanthroline) 1 g を 10% (v/v) 酢酸溶液 500 ml に溶解



図 5 還元化土壌のジピリジル反応

赤く染まった箇所に 2 価鉄が存在

土壌消毒実施事例集

我々は、圃場対策として、低濃度エタノール土壌還元消毒法および石灰窒素を用いた太陽熱土壌消毒法を開発するとともに、これらについて実証試験を行っています。本別冊では、生産現場でこれらの方法を実施する際の参考となるよう、処理条件、試験結果等について示しています（表1、表2）。これらの消毒法は、圃場の状態、処理条件や処理時期、使用する機材、資材等が原因で、うまくいかない場合もあります。失敗した事例については、それら原因の考察を含めて、記述しております。

なお、p.21～22、30、51 に記載の機材や資材の価格は 2020 年時点の情報に基づいて記載しています。

表 1 土壤消毒実施事例（低濃度エタノール土壤還元消毒）

No. (掲載ページ)	1 (p.19)	2 (p.24)	3 (p.25)	4 (p.25)	5 (p.32)
場所 (土壤条件)	高知県土佐市 (壤土、赤黄色土)	高知県土佐市 (壤土、赤黄色土)	高知県土佐市 (壤土、低地下水田土)	高知県土佐市 (壤土、灰色低地土)	高知県土佐市 (壤土、赤黄色土)
面積	10 a	4 a	10 a	17 a	6 a
処理日	2016/7/27	2016/9/9	2017/3/10	2017/8/23	2018/7/17
終了日	2016/12/21 (調査日)	2016/12/21 (調査日)	2017/5/2	2017/10/19	2018/10/5
灌水チューブ	エバフロー A-100	スミサンスイ	エバフロー	エバフロー	エバフロー A-100
チューブの間隔	1.7 m	0.7 m	0.9 m	0.9 m	2.5 m
エタノール混入方法	動力噴霧器	不明	動力噴霧器	動力噴霧器	動力噴霧器
エコジアル (L) ^{*1}	600	280	600	1,000	480
事前灌水量 (L)	18,400	不明	24,000	40,000	1,500
エタノール水灌水量 (L)	44,000	24,000	53,000	90,000	41,715
総灌水量 (L)	62,400	24,000	77,000	130,000	43,215
総灌水量 (L/m ²)	62.4	60	77	77	72
エタノール濃度 (%) ^{*2}	0.63	0.76	0.51	0.50	0.72
所要時間 (含事前灌水)	5	不明	3.5	6	6
エタノール水灌水	被覆前	被覆後	被覆後	被覆後	被覆前
被覆資材 (厚さ)	農ビ (0.075 mm)	農ポリ	農ビ (0.05 mm)	農ポリ (0.05 mm)	農ビ
Eh 計データ	有	無	有	有	有
菌数測定	有	有	有	有	有
備考	被覆は 12 月以降も継続。消毒後に 4 作栽培 (2017-20) するが、青枯病は未発生	被覆は 12 月以降も継続。消毒後の栽培で、定植直後に根茎腐敗病 (1 株) 発生するが、青枯病は未発生	菌が死滅しなかったため、栽培中止。8 月に再試験 (No. 4)	消毒後の栽培で、定植直後 (5 月) に青枯病発生 (1 株)。その後、2 作栽培 (2019-20) するが、青枯病は未発生	消毒後の 2 作栽培 (2019-20) で青枯病は未発生

*1 土壤還元消毒用資材 (日本アルコール産業、エタノール濃度 65% (v/v))

*2 エタノール濃度 (%) = ((エコジアル (L) × 0.65) / 総灌水量 (L)) × 100

表 1 土壌消毒実施事例（低濃度エタノール土壌還元消毒）つづき

No. (掲載ページ)	6 (p.35)	7 (p.39)	8 (p.42)	9 (p.45)
場所 (土壌条件)	高知県土佐市 (壤土、灰色低地土)	高知県四万十町 (壤土、褐色低地土)	高知県土佐市 (壤土、灰色低地土)	高知県四万十町 (壤土、褐色低地土)
面積	8 a	10 a	14 a	17 a
処理日	2018/7/25	2018/8/7	2019/8/9	2019/8/22
終了日	2018/12/11	2018/10/3	2019/10/16	2019/11/1
灌水チューブ	エバフロー A-100	エバフロー A-100	エバフロー A-100	エバフロー A-100
チューブの間隔	1.3-1.7 m	0.9 m	1.2 m	0.9 m
エタノール混入方法	液肥混入器	液肥混入器	液肥混入器	液肥混入器
エコジアル (L)* ¹	800	800	1,120	1,360
事前灌水量 (L)	48,500	19,723	49,000	0
エタノール水灌水量 (L)	26,380	60,171	33,000	82,700
総灌水量 (L)	74,880	79,894	82,000	82,700
総灌水量 (L/m ²)	93.6	79.9	58.6	48.6
エタノール濃度 (%) ^{*2}	0.72	0.65	0.89	1.07
所要時間 (含事前灌水)	8.5	6	10.5	6.5
エタノール水灌水	被覆後	被覆後	被覆後	被覆後
被覆資材	農ポリ (6 m 幅)	農ポリ (6 m 幅)	農ポリ (5.4 m 幅)	農ポリ (8 m 幅)
Eh 計データ	有	有	有	有
菌数測定	有	有	有	有
備考	消毒後の2作栽培 (2019-20)で青 枯病は未発生	消毒後の栽培 (2019)で青枯 病は未発生	消毒後の栽培 (2020)で青枯 病は未発生	菌が完全に死滅 しなかったため、再 試験

*1 土壌還元消毒用資材 (日本アルコール産業、エタノール濃度 65% (v/v))

*2 エタノール濃度 (%) = ((エコジアル (L) × 0.65) / 総灌水量 (L)) × 100

表 2 土壤消毒実施事例（石灰窒素を用いた太陽熱土壤消毒）

No. (掲載ページ)	1 (p.47)	2 (p.49)
場所 (土壤条件)	高知県土佐市 (壤土、赤黄色土)	高知県土佐市 (壤土、赤黄色土)
面積	6 a	6 a
処理日	2018/7/15	2019/7/27
終了日	2018/10/9	2019/10/10
灌水チューブ	エバフロー A-100	エバフロー A-100
石灰窒素 (kg)	120	120
石灰窒素 (kg/10a)	200	200
灌水量 (L)	15,600	24,000
灌水量 (L/m ²)	26	40
所要時間 (灌水・被覆)	2	4
灌水	被覆前	被覆前
被覆資材	農ビ (1枚)	農ビ (1枚)
Eh 計データ	温度データあり	有
菌数測定	有	有
備考	ソルゴの地上部を刈り倒し、深耕ローターで2~3回耕うん。石灰窒素を散布後、深耕ローターで2~3回、30~35cmの深さを耕うん。消毒後の2作栽培(2019-20)で青枯病は未発生	ソルゴの地上部を刈り倒し、深耕ローターで2~3回耕うん。石灰窒素を散布後、深耕ローターで2~3回、30~35cmの深さを耕うん。消毒後の栽培(2020)で青枯病は未発生

1. 低濃度エタノール土壌還元消毒

No. 1

<試験内容>

場所（土壌条件）：高知県土佐市（壤土、赤黄色土）

面積：露地 10 a

処理日：2016/7/27 調査日：2016/12/21

灌水チューブ：エバフロー-A-100、チューブ間隔：1.7 m

エタノール混入方法：動力噴霧器

エコロジアル使用量：600 L（エタノール濃度 0.63% × 62.4 L/m²）

事前灌水量：18.4 t、エタノール水灌水量：44 t、総灌水量：62.4 t

エタノール水灌水：被覆前、被覆資材：農ビ（1枚、厚さ 0.075 mm）、所要時間：5 時間

試験担当者：ショウガ生産者、JA とさし、高知県中央西農業振興センター、高知県農業技術センター、農研機構

<結果概要>

(1) 背景、目的

土佐市は露地ショウガの産地であり、JA とさし管内の栽培面積は約 30 ha に達する。近年、青枯病や根茎腐敗病といった土壌病害が深刻な問題になっているが、ショウガを栽培できる圃場が限られているため輪作することができず、土壌病害が発生してしまうと、休耕せざるを得ない状況である。特に、青枯病菌は土壌深部まで生息しており、従来の土壌消毒法では防除が困難であった。そこで今回、低濃度エタノールによる土壌還元消毒試験を実施し、効果の検証を行った。



No : 酸化還元電位・地温測定、
土壌採取地点

No.19 A, B: 青枯病多発生

No.3 : 青枯病少発生

No.4, 18 : 青枯病未発生

図 7 試験ほ場

(2) 結果及び考察

1) 青枯病菌密度

試験ほ場（図 7）の土壌中の青枯病菌密度を測定したところ、消毒前の 2016/6/3 では、No.19 B 点において、表層から深度 60 cm の間で検出された（表 3）。消毒後の 2016/12/21 の調査では青枯病菌が検出されなかったことから、2017/4/15 に定植を行った。栽培が終了し、収穫後の 2017/12/21 に菌密度を測定したが、どの地点からも青枯病菌は検出されなかった（表 4）。

2) 地温及び酸化還元電位

地温は被覆下 20 cm において、約 1 ヶ月間 30℃を上回り、還元消毒に適した温度帯であった（図 8）。また、土壌中の酸化還元電位は、エタノール水灌水・被覆後すぐに最大-300 mV まで低下し還元状態となり、8 月中旬には 200 mV となった（図 9）。

表 3 土壌中の青枯病菌密度 (2016/6/3~2016/12/21)

調査地点	消毒前 (2016/6/3)		消毒後 (2016/12/21)	
	A	B	A	B
No.19 のみ				
10	検出限界以下	1.7×10^4	検出限界以下	検出限界以下
20	30	4.9×10^4	検出限界以下	検出限界以下
30	検出限界以下	5.2×10^4	検出限界以下	検出限界以下
40	70	7.0×10^4	検出限界以下	検出限界以下
50	30	2.2×10^4	検出限界以下	検出限界以下
60	未調査	3.7×10^4	検出限界以下	検出限界以下

菌密度: 個数/g 土、検出限界以下: <1 個/g 土

表 4 ショウガ栽培後の土壌中の青枯病菌密度 (2017/12/21)

調査地点	青枯病菌密度 (個数/g 土)	
	0-30 cm	30-60 cm
No. 3	検出限界以下	検出限界以下
No. 4	検出限界以下	検出限界以下
No. 18	検出限界以下	検出限界以下
No. 19	検出限界以下	検出限界以下

検出限界以下: <1 個/g 土

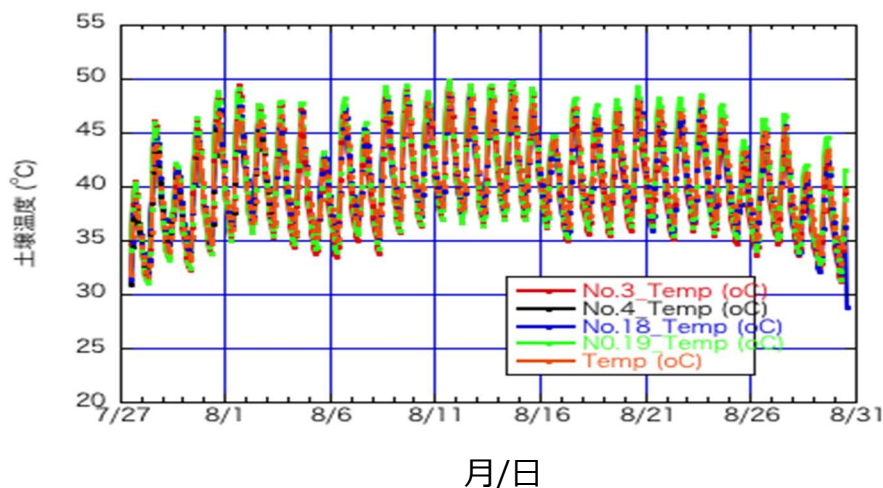


図 8 還元消毒中の地温の推移（深さ 20 cm）

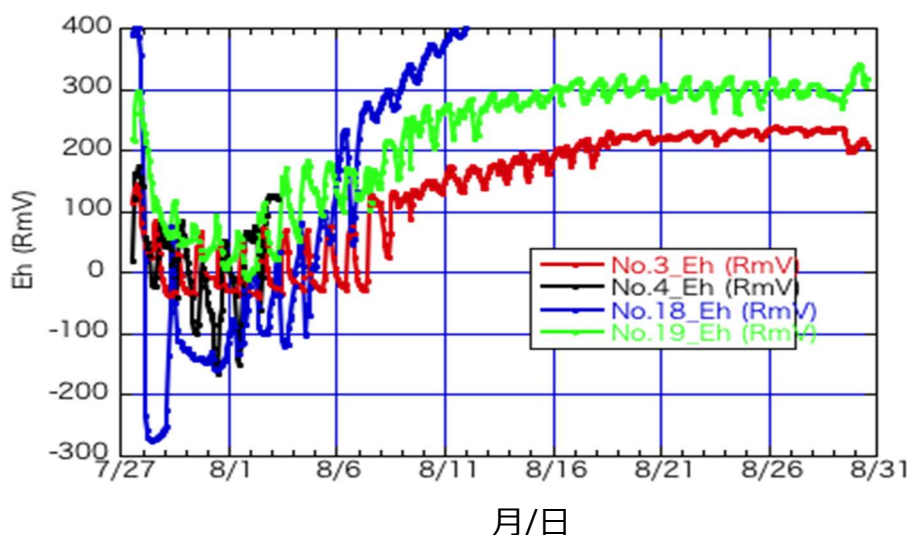


図 9 還元消毒中の酸化還元電位の推移（深さ 20 cm）

3) 必要経費

今回の試験では、夏の高温時に本消毒を行った結果、土壤中の病原菌密度は検出限界以下となり、その消毒効果が確認された。必要経費について計算した結果（表 5）、低濃度エタノール（エコロジール）資材費（約 11 万円/10a）は糖蜜資材と同程度と試算され、クオルピクリン剤などくん蒸剤処理（6 万円/10a 程度）を実施する場合と比べて 5 万円/10a 程度の追加負担が必要となるが、十分な効果が得られる結果となった。

表 5 必要経費（円、10 a 換算）

エコロジアル	110,250
被覆資材	119,929（農ビ1枚）
エバフロー	17,820
水枕	3,674
塩ビ管	49,299
機械レンタル	—
合計	300,972

4) 今後の課題

夏場に還元消毒するためにはショウガ栽培を1作休まなくてはならないため、収穫後または植え付け前の処理が可能か検討する必要があると考えられた。また、管内の露地ショウガ栽培地域では、灌水設備が整っておらず、灌漑水の確保が困難な農家もいるため、本法以外の消毒方法も検討する必要があると考えられた。

<留意点>

本圃場の試験（図 10）では、被覆前にエバフローでエタノール水を灌水したため、蒸発したエタノール臭が周囲に拡散して近隣から苦情が寄せられたが、被覆後に灌水することで、ある程度抑制できるものと考えられた。エタノールを用いた還元消毒では、フスマや米ぬかを資材として使った場合に比べ還元臭（どぶ臭いにおい）が大幅に抑制され、他県の実施例ではほとんど問題になっていない。



灌水チューブ（エバフロー）敷設



灌水中の様子



フィルム被覆、水枕設置



還元消毒後のショウガ栽培（2017/7/27 撮影）

図 10 試験圃場の様子

<処理後の状況>

病原菌密度が検出限界以下となったため、2017年にショウガ栽培を再開した。圃場外縁から目視で青枯病発生状況を複数回確認した結果、栽培期間中に発病は認められなかった。また、農家への聞き取りでも土壌病害の発生は確認されなかった。2018～2020年もショウガ栽培を行っているが、青枯病の発生は報告されていない。

No. 2

<試験内容>

場所（土壌条件）：高知県土佐市（壤土、赤黄色土）

面積：露地 4 a

処理日：2016/9/9 調査日：2016/12/21

灌水チューブ：スミサンスイ、チューブ間隔：0.7 m

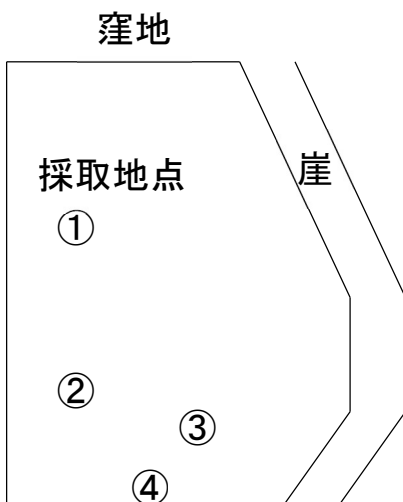
エタノール使用量：280 L（エタノール濃度 0.76% × 60 L/m²）

総灌水量：24 t

エタノール水灌水：被覆後、被覆資材：農ポリ

試験担当者：ショウガ生産者、JA とさし、高知県中央西農業振興センター、高知県農業技術センター、農研機構

<結果概要>



土壌採取：4 地点（発病株が見られた地点）

消毒前 2016/8/26

消毒後 2016/12/21

上層（0-20 cm）と下層（20-45 cm）
に分けて採取

図 11 試験圃場

試験圃場（図 11）では、前作（2015 年）で青枯病が発生しているが、土壌消毒前、消毒後ともに、いずれの地点も青枯病菌は検出限界以下（<1 個/g 土）であった。消毒中の酸化還元電位を測定した結果、エタノール水灌水・被覆直後から電位が低下し、還元状態となっていた（データ省略）。

<処理後の状況>

消毒後に病原菌が検出されなかったため、翌年（2017 年）にショウガ栽培を行った。その結果、種イモ由来と考えられる根茎腐敗病が 1 株発生したが、青枯病の発生はみられなかった。

No. 3 (春処理区)

<試験内容>

場所(土壌条件) : 高知県土佐市(壤土、低地水田土)

面積 : 露地 10 a

処理日 : 2017/3/10 終了日 : 2017/5/2

灌水チューブ : エバフロー、チューブ間隔 : 0.9 m

エコジアル使用量 : 600 L (エタノール濃度 0.51% × 77 L/m²)

事前灌水量 : 24 t、エタノール水灌水量 : 53 t、総灌水量 : 77 t

エタノール水灌水 : 被覆後、被覆資材 : 農ビ (2枚、厚さ 0.05 mm)、所要時間 : 3.5 時間

試験担当者 : JA とさし、高知県中央西農業振興センター、高知県農業技術センター、農研機構

No. 4 (夏処理区)

<試験内容>

場所(土壌の種類) : 高知県土佐市(壤土、灰色低地土)

面積 : 露地 17 a

処理日 : 2017/8/23 終了日 : 2017/10/19

灌水チューブ : エバフロー、チューブ間隔 : 0.9 m

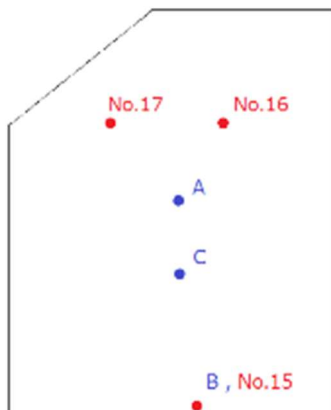
エコジアル使用量 : 1,000 L (エタノール濃度 0.5% × 77 L/m²)

事前灌水量 : 40 t、エタノール水灌水量 : 90 t、総灌水量 : 130 t

エタノール水灌水 : 被覆後、被覆資材 : 農ポリ (厚さ 0.05 mm)、所要時間 : 6 時間

試験担当者 : JA とさし、高知県中央西農業振興センター、高知県農業技術センター

<結果概要>



測定位置

A、B、C : 春処理区における調査位置

No. : 夏処理区における調査位置

※A 地点を中心に青枯病、根茎腐敗病が多発生
(前作、2016 年)

図 12 試験圃場

(1) 青枯病菌密度

試験圃場（図 12）では、還元消毒を行う前の調査（2016/12/21）で、土壌深度 10-40 cm の間で青枯病菌が検出された（表 6）。春先に還元消毒を行った後（2017/4/5）の調査では、A、C の地点で青枯病菌が検出されたため（表 7）、栽培を中止するとともに、夏場に再度還元消毒を行うこととした。

夏場の消毒前調査（2017/6/20）の時は、No. 16 地点で表層から土壌深度 40 cm の間で青枯病菌が検出された（表 8）。消毒後の調査（2017/12/21）では、青枯病菌はいずれの地点からも検出されなかった（表 9）。

(2) 地温及び酸化還元電位

春処理区では、地温は被覆下 50 cm で最高 20℃までしか上昇せず、本消毒法に必要な温度帯に達しなかった（図 13）。土壌中の酸化還元電位は、施用後すぐに還元状態になり、処理期間を通して電位が 200 mV 以下であった（図 14）。

以上のことから、春処理区で青枯病菌の菌密度が下がらなかった原因として、①3 月の地温が十分に上がらなかった時期に処理したため、本消毒に必要な温度域（地温 25℃以上）を確保できなかったこと、②このほ場では多少の傾斜があり、春処理区では傾斜の下から灌水を行ったため、傾斜の上部で灌水にムラがあったこと、が考えられた。傾斜の上部では、エタノール水灌水後の被覆中に雑草が繁茂する様子が確認されている。

これらを考慮し、地温を十分確保できる夏場に傾斜の上から灌水を行う処理を同一圃場で実施した。

夏処理区の地温はエタノール水灌水・被覆後から 2 週間、測定したすべての地点で 30℃を越えた。その後は緩やかに低下するが 20℃を下回ることはなかった。特に土壌深度 50 cm でも地温を維持できていた（図 15）。土壌の酸化還元電位は、エタノール水灌水・被覆後すぐに還元状態になり、その後、No. 15 の地点で酸化還元電位の上昇がみられた（図 16）。

表 6 土壌中の青枯病菌密度（2016/12/21）春処理前

調査地点	土壌深度 (cm)					
	0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60
A	検出限界以下	8.3×10^2	1.3×10^3	6.0×10^2	検出限界以下	検出限界以下
B	検出限界以下	検出限界以下	検出限界以下	検出限界以下	検出限界以下	検出限界以下

菌密度：個数/g 土、検出限界以下：<1 個/g 土

表 7 土壌中の青枯病菌密度 (2017/4/5) 春処理後

調査地点	土壌深度 (cm)					
	0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60
A	1.7×10^3	1.3×10^3	2.3×10^2	検出限界以下	3.3×10^2	検出限界以下
B	検出限界以下	検出限界以下	検出限界以下			
C	3.3×10^2	6.7×10^2	検出限界以下			

菌密度: 個数/g 土、検出限界以下: <1 個/g 土

表 8 土壌中の青枯病菌密度 (2017/6/20) 夏処理前

調査地点	土壌深度 (cm)					
	0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60
No.16	3.0×10^2	2.0×10^3	検出限界以下	6.7×10^1	検出限界以下	検出限界以下
No.17	検出限界以下	検出限界以下	検出限界以下	検出限界以下	検出限界以下	検出限界以下

菌密度: 個数/g 土、検出限界以下: <1 個/g 土

表 9 土壌中の青枯病菌密度 (2017/12/21) 夏処理後

調査地点	土壌深度 (cm)					
	0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60
A	検出限界以下	検出限界以下	検出限界以下	検出限界以下	検出限界以下	検出限界以下
No.16	検出限界以下			検出限界以下		
C	検出限界以下			検出限界以下		

菌密度: 個数/g 土、検出限界以下: <1 個/g 土

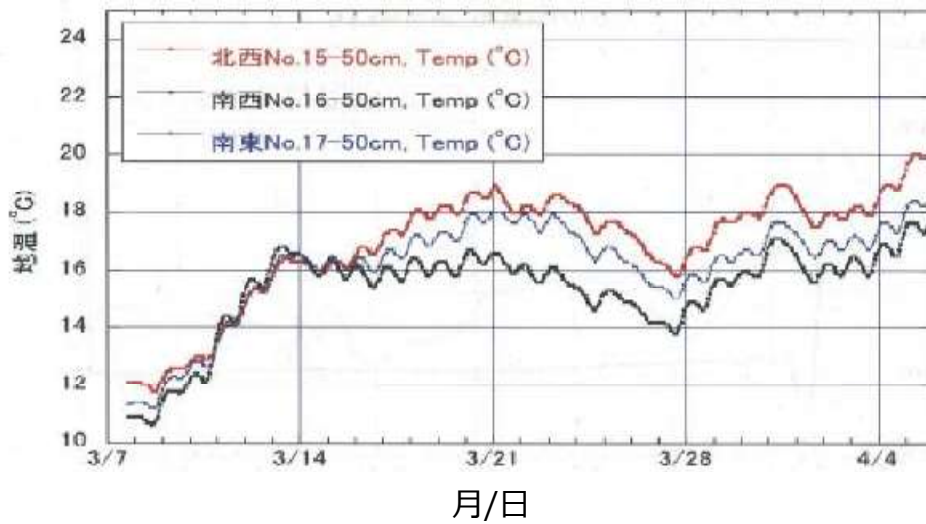
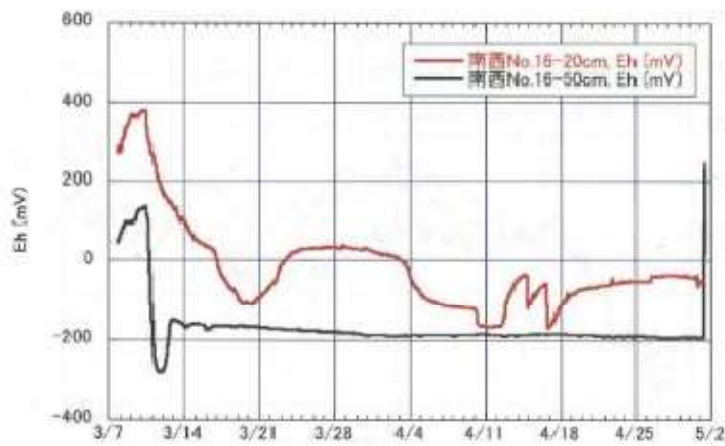
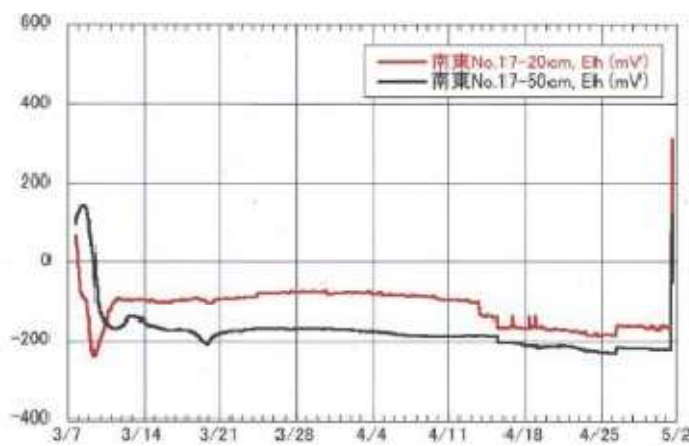


図 13 還元消毒中の地温の推移 (春処理区)



月/日



月/日

図 14 還元消毒中の酸化還元電位の推移 (春処理区)

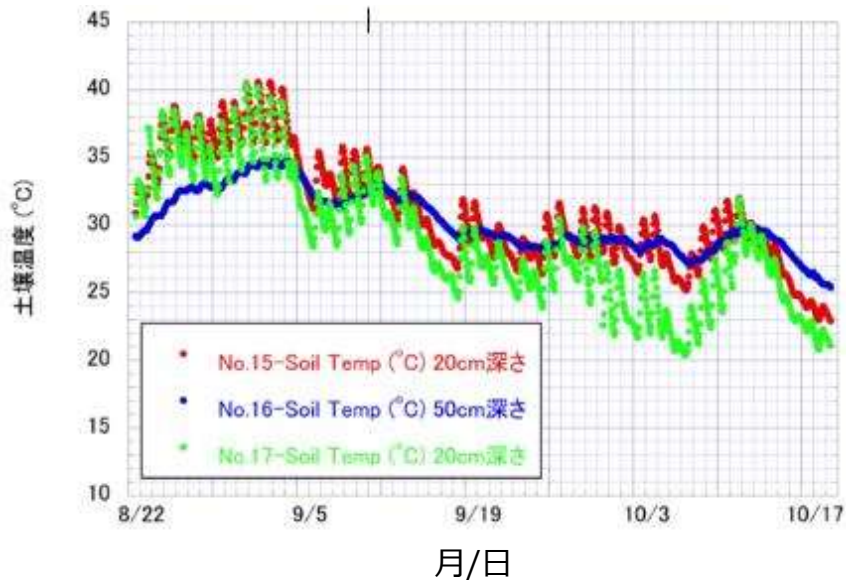


図 15 還元消毒中の地温の推移 (夏処理区)

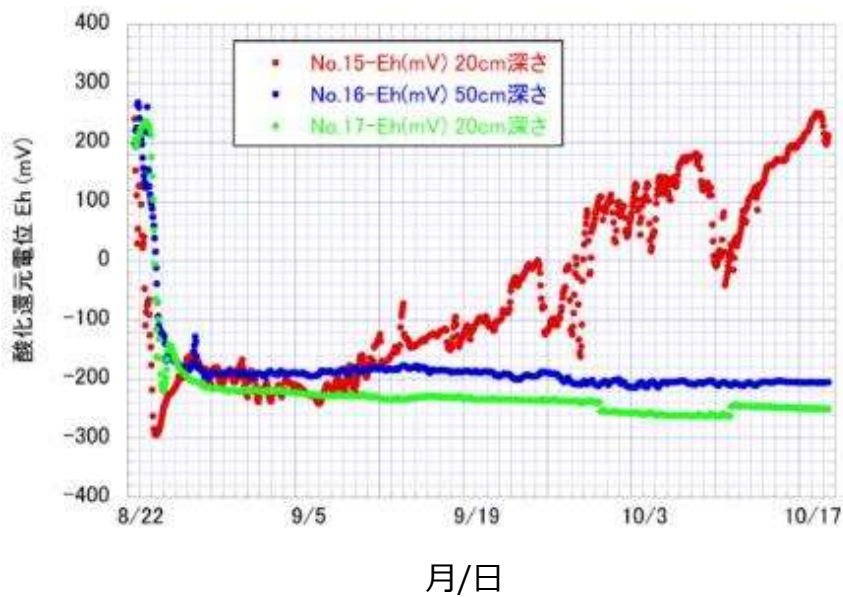


図 16 還元消毒中の酸化還元電位の推移 (夏処理区)

必要経費について算出した結果を表 10 に示した。今回の試験（No. 3、4）では動力噴霧器をレンタルしており（図 17）、また、被覆資材の種類や形状を変えたことにより、費用に差がみられた。

表 10 必要経費（円、10 a 換算）

試験区	No. 1（参考）	No. 3	No. 4
		春処理区	夏処理区
エコロジアル	110,250	110,250	110,250
被覆資材	119,929 （農ビ 1 枚）	124,515 （農ビ 2 枚）	38,119 （農ポリ）
エバフロー	17,820	67,929	67,929
水枕	3,674	7,348	7,348
塩ビ管	49,299	49,299	—
機械レンタル	—	35,640	35,640
合計	300,972	394,981	259,286

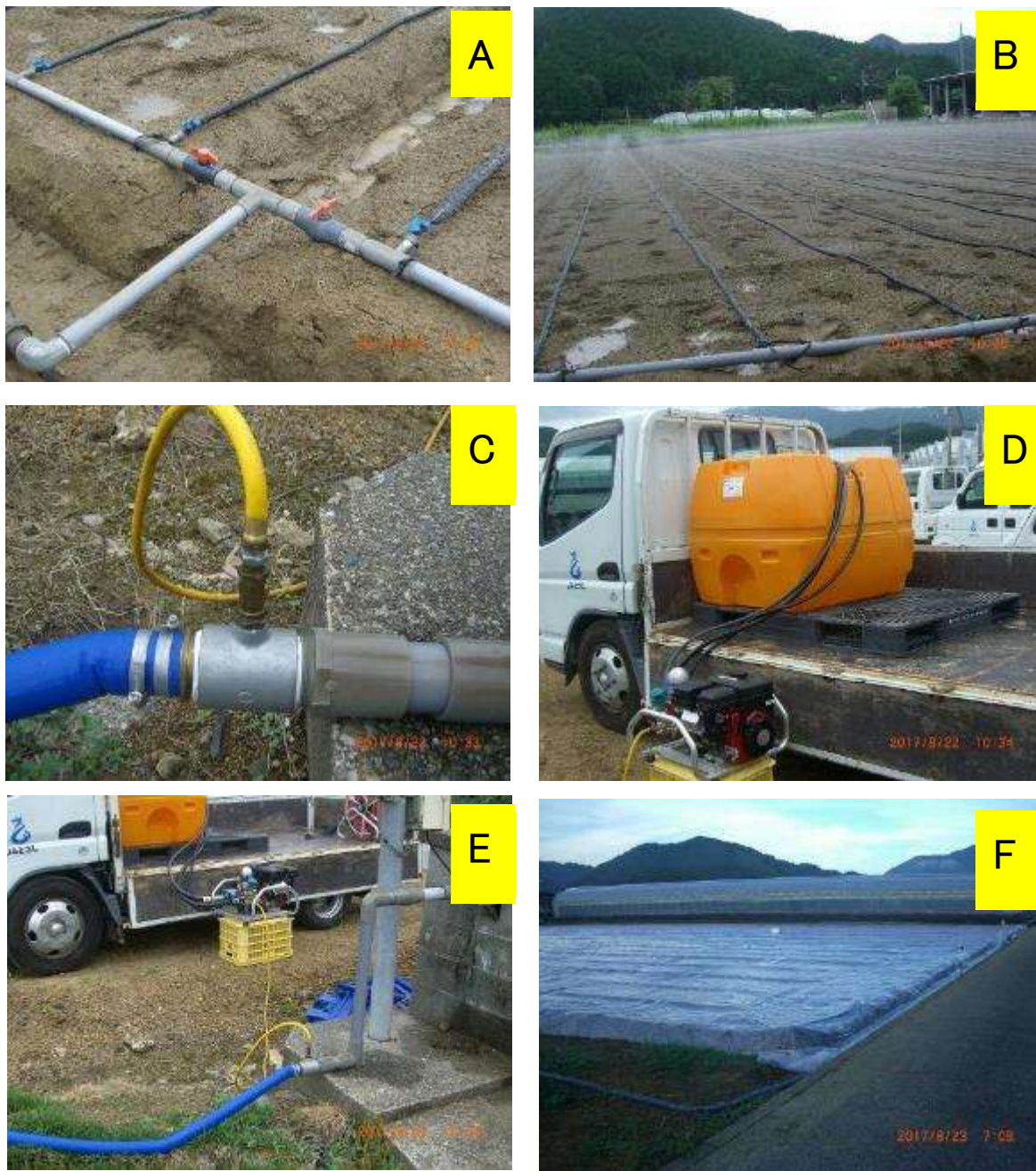


図 17 試験圃場の様子

A：配管、灌水チューブ設置、B：事前灌水、C、D、E：動力噴霧器を用いたエタノールの希釈、灌水、F：被覆

<処理後の状況>

夏処理後に病原菌が検出限界以下となり、翌年ショウガ栽培（2018年）した結果、定植直後（5月）に青枯病が1株発生し、周辺株と一緒に抜き取り、上にビニルを被せた。発生時期が早かったため、圃場由来ではなく、使用した種イモが原因と考えられた。2019、2020年の栽培でも青枯病の発生はみられていない。

No. 5

<試験内容>

場所（土壌条件）：高知県土佐市（壤土、赤黄色土）

面積：露地 6 a

処理日：2018/7/17 終了日：2018/10/5

灌水チューブ：エバフロー-A-100、チューブ間隔：2.5 m

エタノール混入方法：動力噴霧器

エコロジアル使用量：480 L（エタノール濃度 0.72% × 72 L/m²）

事前灌水量：1.5 t、エタノール水灌水量：41.7 t、総灌水量：43.2 t

エタノール水灌水：被覆前、被覆資材：農ビ（1枚）、所要時間：6時間

試験担当者：ショウガ生産者、高知県中央西農業振興センター、高知県農業技術センター

<結果概要>

（1）青枯病菌密度

土壌中の青枯病菌密度について調査（3地点）した結果、消毒前は、表層、深層いずれも青枯病菌が検出された。消毒後の調査では、1点（深層）からのみ検出された（表11）。

表 11 青枯病菌密度調査結果

調査地点		消毒前	消毒後
		(個数/g 土)	(個数/g 土)
①	表層	2.7×10^3	検出限界以下
	深層	3.3×10^1	検出限界以下
②	表層	2.3×10^2	検出限界以下
	深層	<33	検出限界以下
③	表層	1.6×10^4	検出限界以下
	深層	1.0×10^2	<33

表層：0～30 cm、深層：30～60 cm、検出限界以下:<1 個/g 土

(2) 地温、酸化還元電位

地温は被覆下 20 cm、50 cm において、約 2 ヶ月間 30℃を上回り、還元消毒に適した温度帯であった（図 18 上段）。酸化還元電位は被覆下 20 cm、50 cm において、処理期間中 0 mV 以下で、還元状態が維持されていた（図 18 下段）。

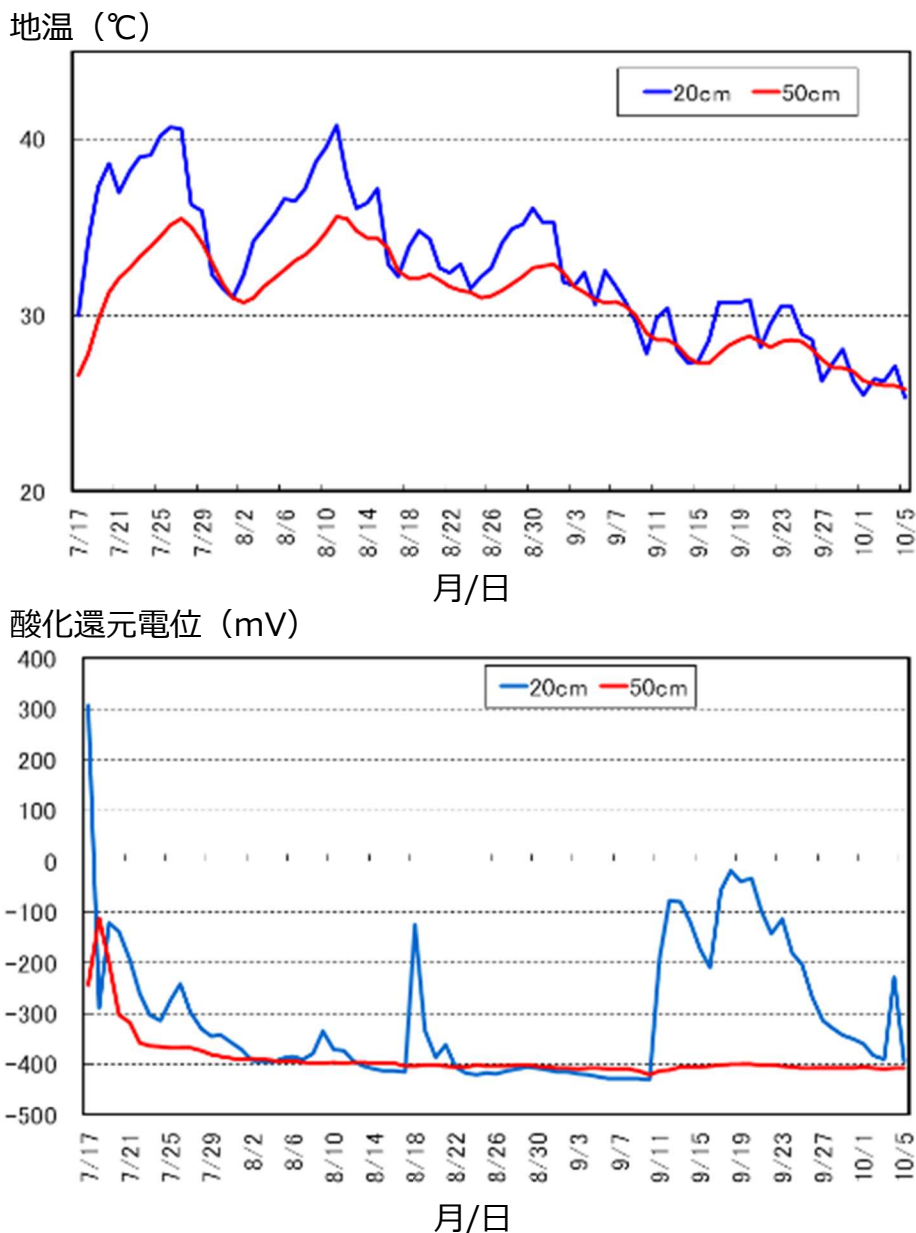


図 18 還元消毒中の地温と酸化還元電位の推移

<留意点>

エタノール水灌水中に周辺住民から苦情（エタノール臭）あり。被覆前に灌水しており、今後、現地では被覆後に灌水する方が良いと考えられた。

＜処理後の状況＞

処理後に1地点（深層）から病原菌が検出されたが、それ以外は検出限界以下となり、翌年2019年4月にショウガを定植した。圃場外縁から目視で青枯病発生状況を複数回確認した結果、栽培期間中に発病は認められなかった。また、生産者への聞き取りでも土壌病害の発生は確認されなかった。2020年の栽培でも青枯病未発生。

No. 6

<試験内容>

場所（土壌条件）：高知県土佐市（壤土、灰色低地土）

面積：露地 8 a

処理日：2018/7/25 終了日：2018/12/11

灌水チューブ：エバフロー-A-100、チューブ間隔：1.3～1.7 m

エタノール混入方法：液肥混入器

エコロジアル使用量：800 L（エタノール濃度 0.72% × 93.6 L/m²）

事前灌水量：48.6 t、エタノール水灌水量：26.3 t、総灌水量：74.9 t

エタノール水灌水：被覆後、被覆資材：農ポリ（6 m 幅）、所要時間：8.5 時間

試験担当者：ショウガ生産者、高知県中央西農業振興センター高知農業改良普及所、高知県農業技術センター

<結果概要>

（1）青枯病菌密度

土壌中の青枯病菌密度について調査（4 地点）した結果、消毒前は、表層、深層いずれも青枯病菌が検出された。消毒後の調査では、いずれの地点からも検出されなかった（表 12）。

表 12 土壌中の菌密度調査

調査場所	消毒前（5/30）	消毒後（10/9）	
	（個数/g 土）	（個数/g 土）	
①	表層	3.3×10 ²	検出限界以下
	深層	1.0×10 ²	検出限界以下
②	表層	<33	検出限界以下
	深層	検出限界以下	未調査
③	表層	1.3×10 ³	検出限界以下
	深層	3.3×10 ¹	検出限界以下
④	表層	2.7×10 ²	検出限界以下
	深層	1.1×10 ³	検出限界以下

表層：0～30 cm、深層：30～60 cm、検出限界以下:<1 個/g 土

(2) 地温、酸化還元電位

地温は被覆下 20 cm、50 cm において、約 2 ヶ月間 30℃を上回り、還元消毒に適した温度帯であった (図 19 上段)。酸化還元電位は処理後 0 mV 以下に低下した (図 19 下段)。

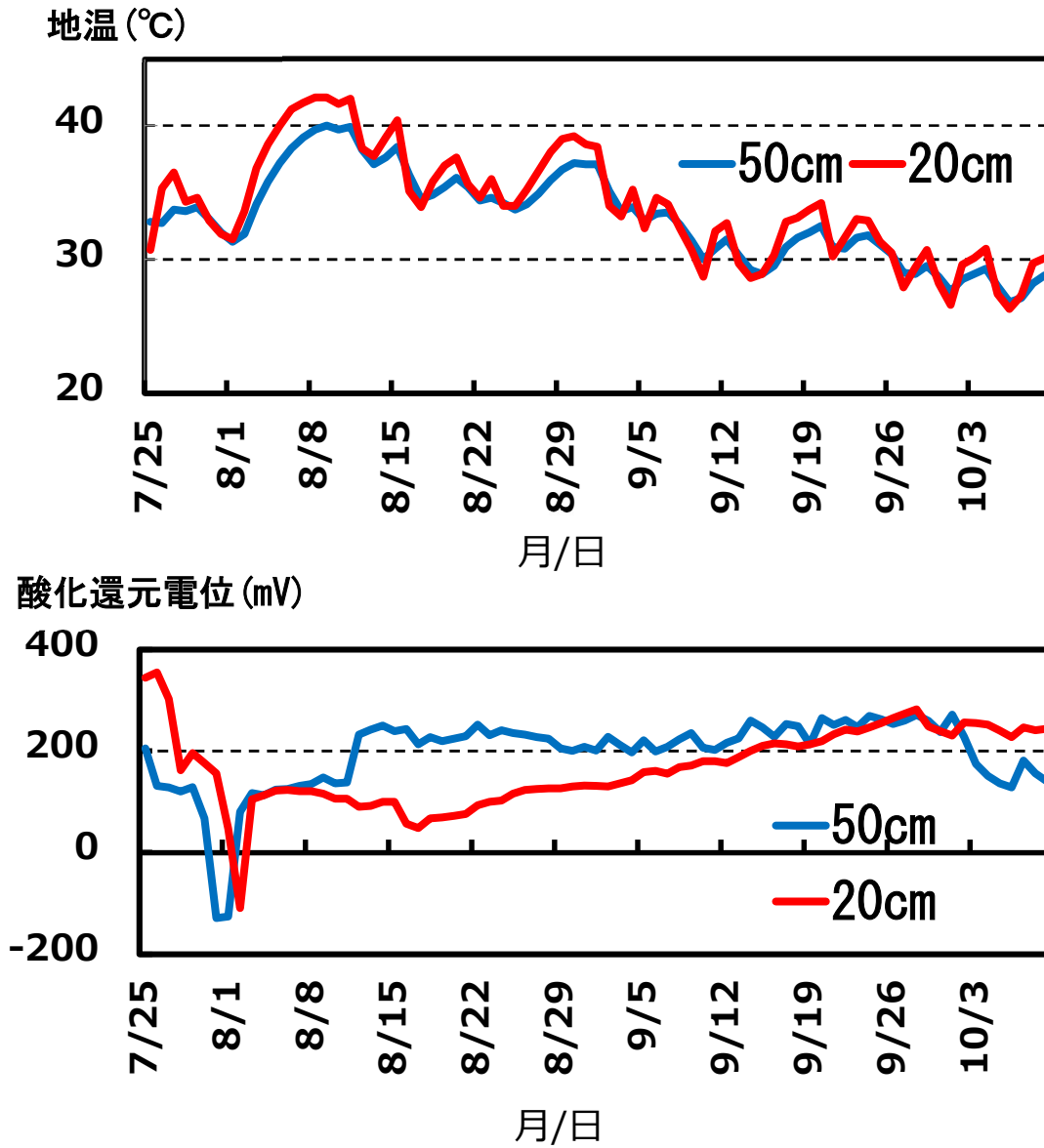


図 19 還元消毒中の地温と酸化還元電位の推移

＜処理後の状況＞

本圃場では青枯病と根茎腐敗病が混発（2016年）し、1年休耕（ソルゴー栽培）。還元消毒（2018年）後に病原菌が検出されなかったため、翌年（2019年4月16日）にショウガを定植した。圃場外縁から目視で青枯病発生状況を複数回確認した結果、栽培期間中に発病は認められなかった（図20、図21）。2020年の栽培でも青枯病未発生。

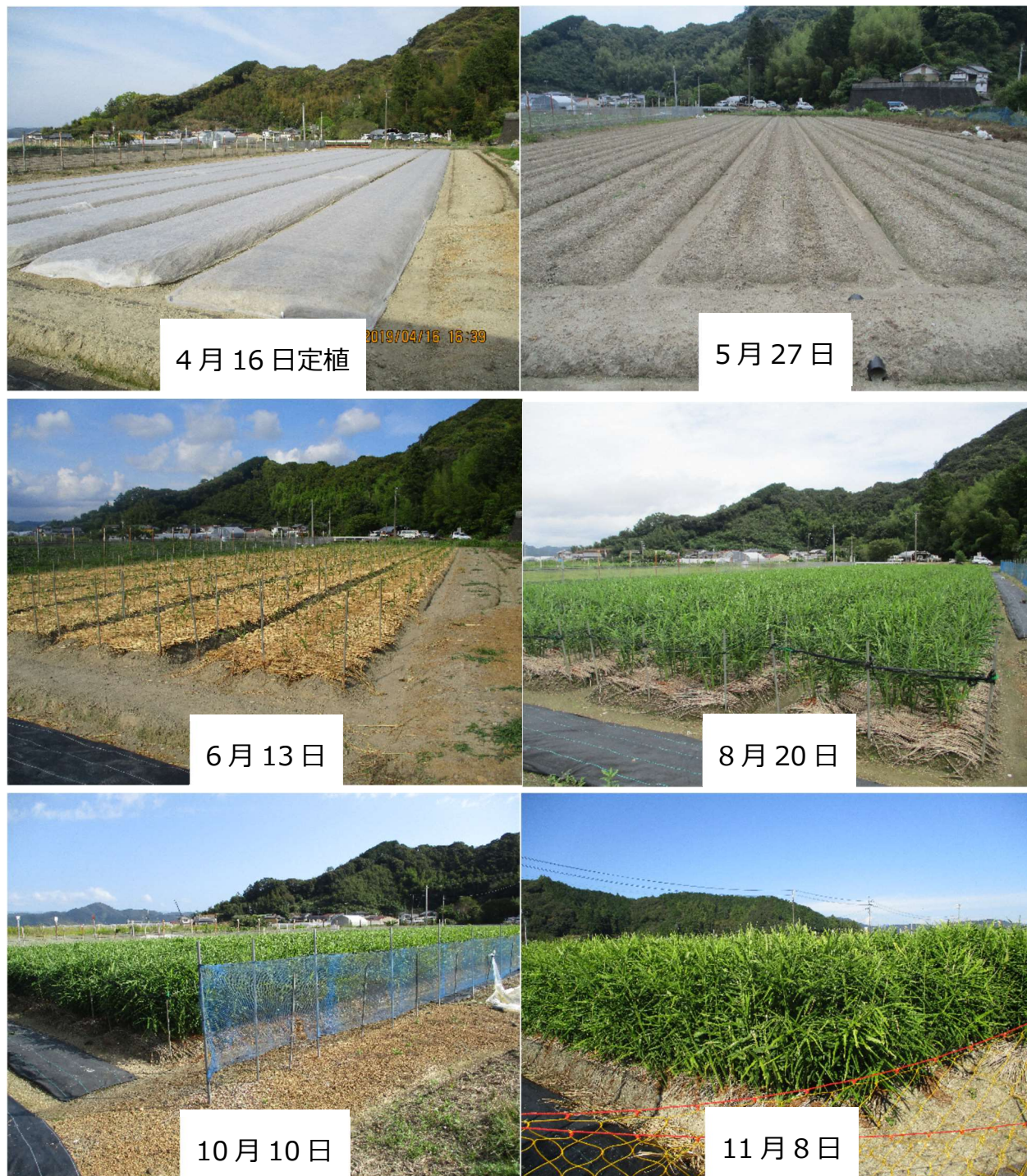


図20 還元消毒後のショウガ栽培状況



土が除きやすい



根が少なく、収穫しやすい



太りが良い

図 21 ショウガ収穫時の状況（農家の声）

No. 7

<試験内容>

場所（土壌条件）：高知県四万十町（壤土、褐色低地土）

面積：露地 10 a

処理日：2018/8/7 終了日：2018/10/3

灌水チューブ：エバフローA-100、チューブ間隔：0.9 m

エタノール混入方法：液肥混入器

エコロジアル使用量：800 L（エタノール濃度 0.65% × 79.9 L/m²）

事前灌水量：19.7 t、エタノール水灌水量：60.2 t、総灌水量：79.9 t

エタノール水灌水：被覆後、被覆資材：農ポリ（6 m 幅）、所要時間：6 時間

試験担当者：ショウガ生産者、高知県農業技術センター

<結果概要>

（1）青枯病菌密度

土壌中の青枯病菌密度について調査（4 地点）した結果、消毒前は、表層、深層から青枯病菌が検出された。消毒後の調査では、いずれの地点からも検出されなかった（表 13）。

表 13 土壌中の菌密度調査

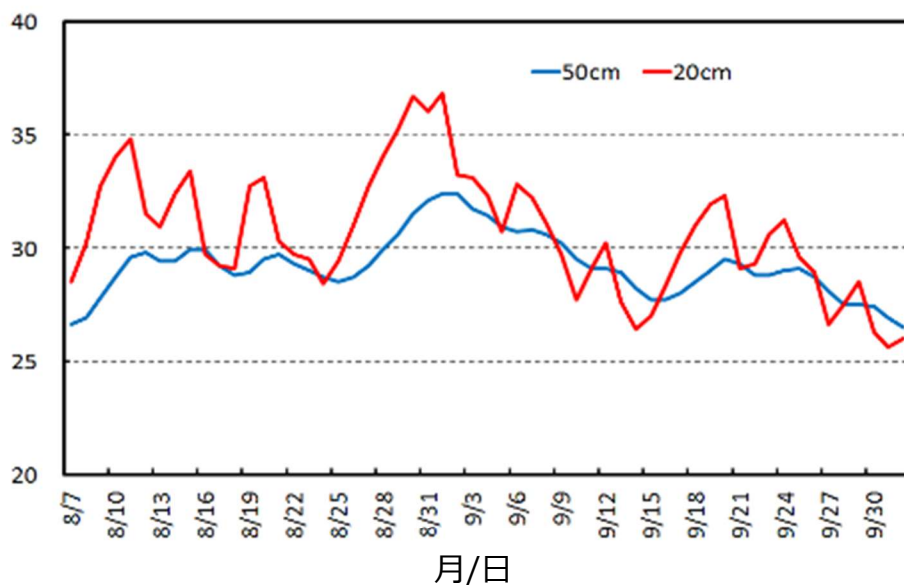
調査地点		消毒前	消毒後
		(個数/g 土)	(個数/g 土)
①	表層	3.3×10^2	検出限界以下
	深層	3.3×10^2	検出限界以下
②	表層	<33	検出限界以下
	深層	未調査	検出限界以下
③	表層	6.7×10^2	検出限界以下
	深層	未調査	検出限界以下
④	表層	<33	検出限界以下
	深層	未調査	検出限界以下

表層：0～30 cm、深層：30～60 cm、検出限界以下:<1 個/g 土

(2) 地温、酸化還元電位

地温は被覆下 20 cm、50 cm において、消毒期間中 25℃を上回った（図 22 上段）。酸化還元電位は被覆下 50 cm において、消毒開始数日後から 0 mV 以下となり、還元状態が維持されていた（図 22 下段）。

地温(℃)



酸化還元電位(mV)

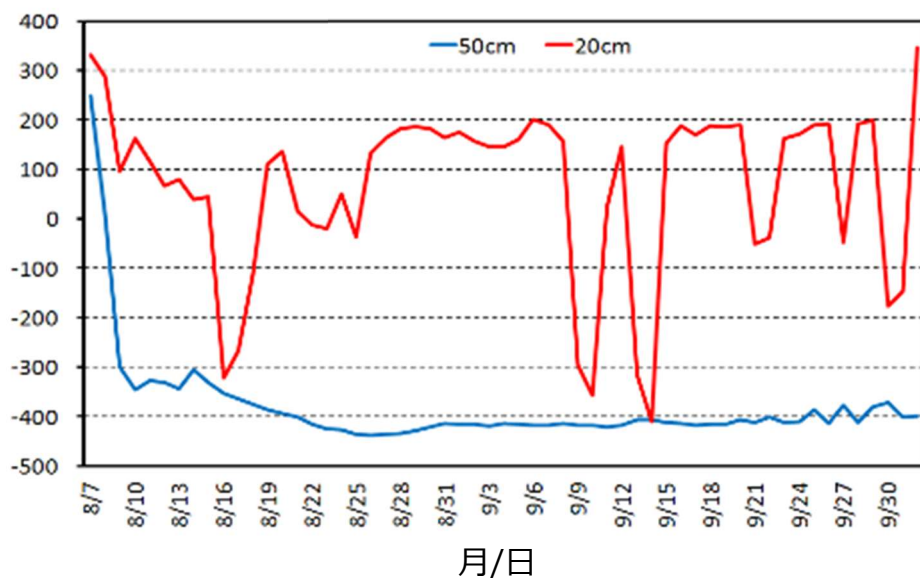


図 22 還元消毒中の地温と酸化還元電位の推移

<処理後の状況>

還元消毒後に病原菌が検出されなかったため、翌年（2019年）4月にショウガを定植した。圃場外縁から目視で栽培状況を確認した結果、栽培期間中に発病は認められなかった。

No. 8

<試験内容>

場所（土壌条件）：高知県土佐市（壤土、灰色低地土）

面積：露地 14 a

処理日：2019/8/9 終了日：2019/10/16

灌水チューブ：エバフロー-A-100、チューブ間隔：1.2 m

エタノール混入方法：液肥混入器

エコロジアル使用量：1,120 L（エタノール濃度 0.89% × 58.6 L/m²）

事前灌水量：49 t、エタノール水灌水量：33 t、総灌水量：82 t

エタノール水灌水：被覆後、被覆資材：農ポリ（5.4 m 幅）、所要時間：10.5 時間

試験担当者：ショウガ生産者、高知県中央西農業振興センター高知農業改良普及所、高知県農業技術センター

<結果概要>

（1）青枯病菌密度

土壌中の青枯病菌密度について調査（4 地点）した結果、消毒前は、2 地点から青枯病菌が検出された。消毒後の調査では、いずれの地点からも検出されなかった（表 14）。

表 14 土壌中の菌密度調査

調査場所		消毒前（5/27）	消毒後（10/10）
		（個数/g 土）	（個数/g 土）
①	表層	検出限界以下	検出限界以下
	深層	検出限界以下	検出限界以下
②	表層	検出限界以下	検出限界以下
	深層	検出限界以下	検出限界以下
③	表層	検出限界以下	検出限界以下
	深層	<33	検出限界以下
④	表層	<33	検出限界以下
	深層	<33	検出限界以下

表層：0～30 cm、深層：30～60 cm、検出限界以下：<1 個/g 土

(2) 地温、酸化還元電位

地温は被覆下 20 cm、50 cm において、消毒期間中 30℃を上回った（図 23 上段）。酸化還元電位は被覆下 50 cm において、消毒開始数日後から 0 mV 以下となり、還元状態が約 2 週間維持されていた（図 23 下段）。

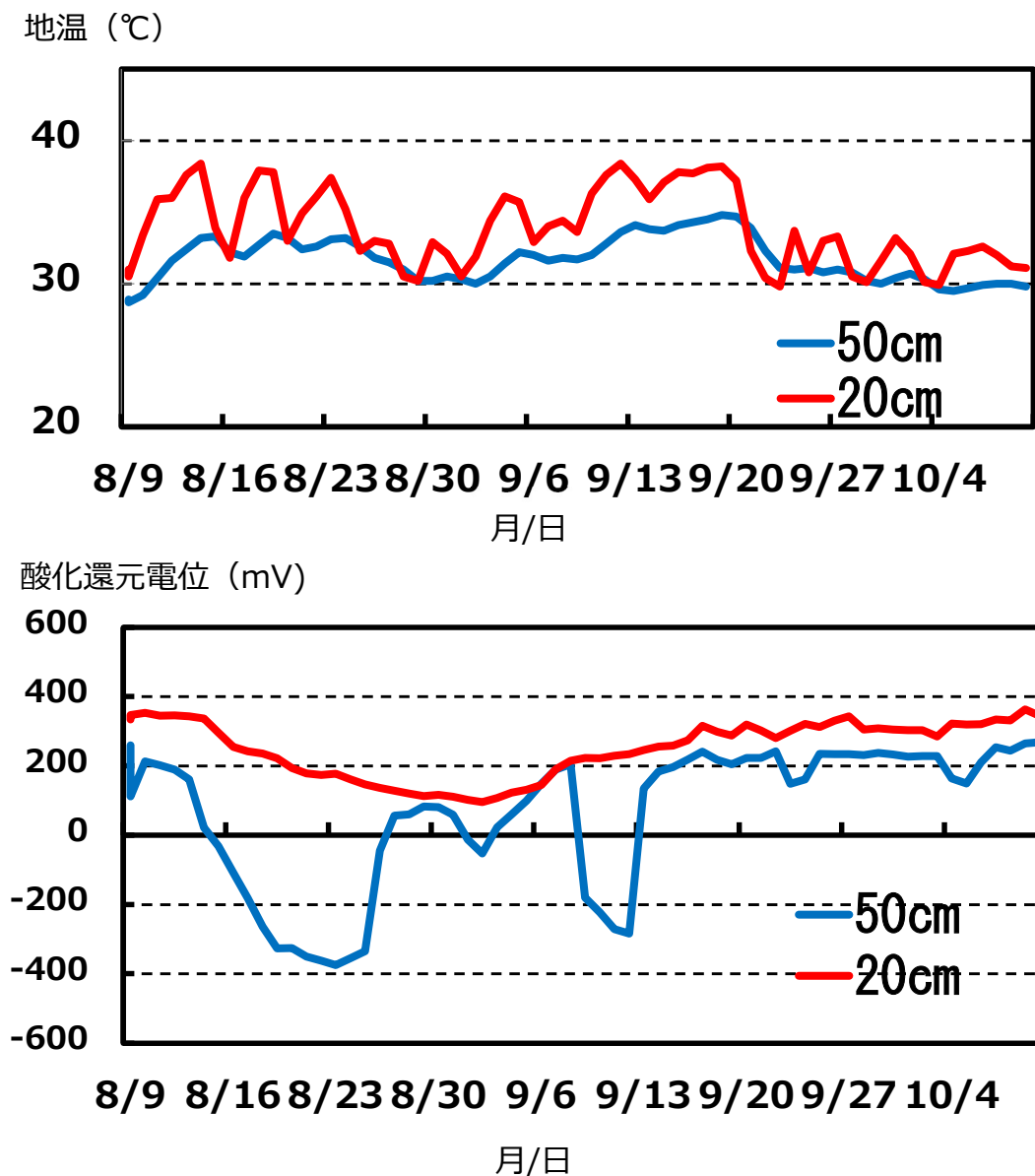


図 23 還元消毒中の地温と酸化還元電位の推移

＜処理後の状況＞

本圃場では、2015年に青枯病発生、2016～2017年にソルゴー栽培・休耕、2018年にクロルピクリン処理、2019年低濃度エタノール土壌還元消毒。

試験圃場の様子を図24に示した。還元消毒後に病原菌が検出されなかったため、翌年（2020年）にショウガを栽培した結果、栽培期間中に発病は認められなかった。



図24 試験圃場の様子（ビニル被覆）

No. 9

<試験内容>

場所（土壌条件）：高知県四万十町（壤土、褐色低地土）

面積：露地 17 a

処理日：2019/8/22 終了日：2019/11/1

灌水チューブ：エバフロー-A-100、チューブ間隔：0.9 m

エタノール混入方法：液肥混入器

エコロジアル使用量：1,360 L（エタノール濃度 1.07% × 48.6 L/m²）

総灌水量：82.7 t

エタノール水灌水：被覆後、被覆資材：農ポリ（8 m 幅）、所要時間：6.5 時間

試験担当者：ショウガ生産者、高知県農業技術センター

<結果概要>

（1）青枯病菌密度

土壌中の青枯病菌密度について調査（3 地点）した結果、消毒前は、全ての地点から青枯病菌が検出された。消毒後の調査では、検出される地点が複数あった（表 15）。

表 15 土壌中の菌密度調査

調査地点		消毒前	消毒後
		(個数/g 土)	(個数/g 土)
①	表層	1.3×10^3	<33
	深層	1.7×10^2	<33
②	表層	3.3×10^1	検出限界以下
	深層	2.3×10^2	検出限界以下
③	表層	1.7×10^2	検出限界以下
	深層	未調査	<33

表層：0～30 cm、深層：30～60 cm、検出限界以下：<1 個/g 土

(2) 地温、酸化還元電位

地温は被覆下 20 cm、50 cm において、処理後 2 ヶ月間 25℃を上回ったが 30℃を越える日は少なかった（図 25 上段）。被覆後、酸化還元電位の低下が見られた（図 25 下段）。

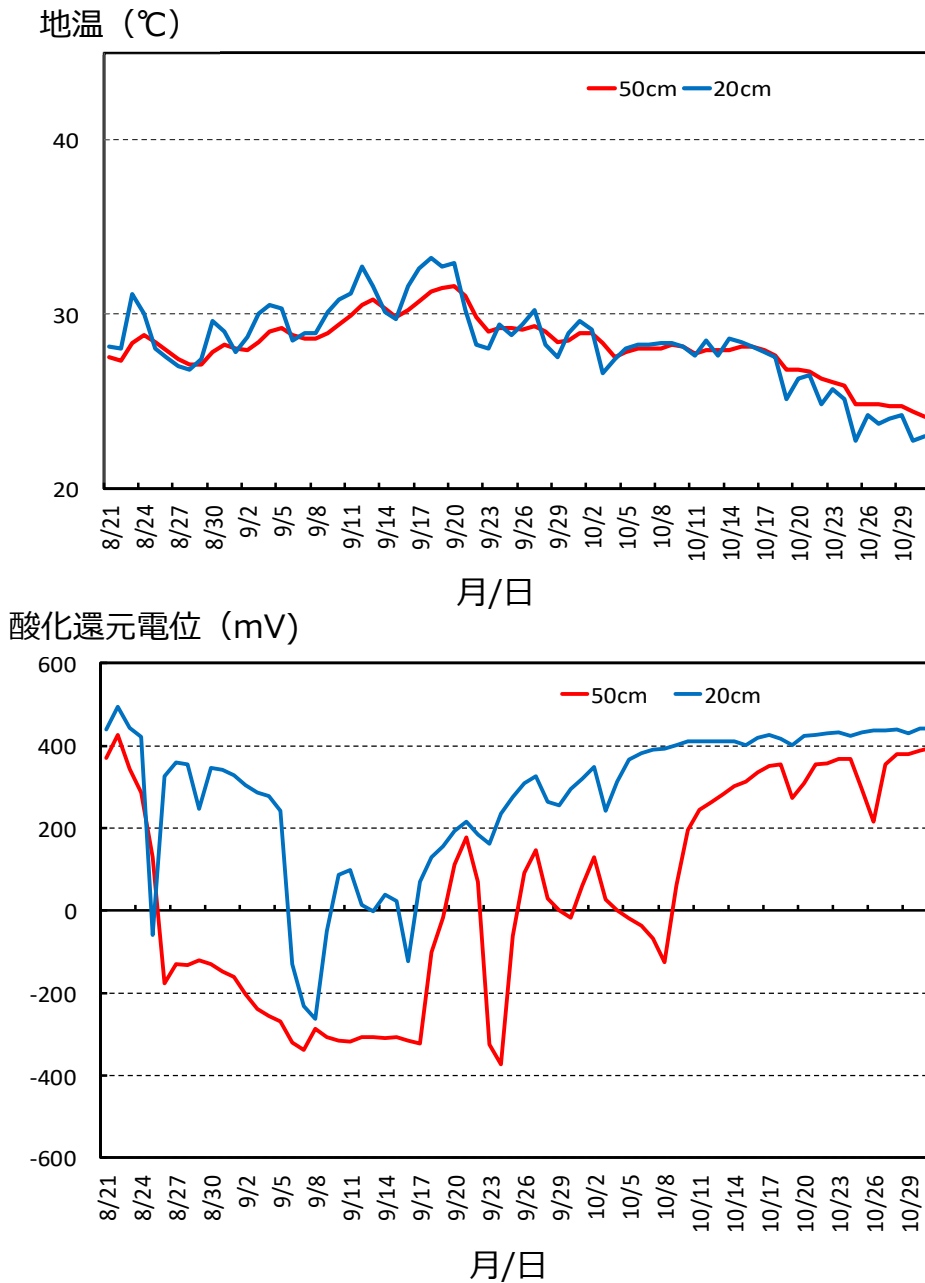


図 25 還元消毒中の地温と酸化還元電位の推移

<処理後の状況>

処理後に病原菌が複数箇所から検出されたため、発病リスクを考慮して、ショウガ栽培の回避を生産者に提言し、次年度に再度還元消毒を行うこととした。

2. 石灰窒素を用いた太陽熱土壤消毒

No. 1

<試験内容>

場所（土壤条件）：高知県土佐市（壤土、赤黄色土）

面積：露地 6 a

処理日：2018/7/15 終了日：2018/10/9

灌水チューブ：エバフロー-A-100

石灰窒素使用量：120 kg（200 kg/10 a）

その他：栽培（5～7月）していたソルゴの地上部を刈り倒し、深耕ローターで2～3回耕うん。石灰窒素を散布後、深耕ローターで2～3回、30～35 cmの深さを耕うんし、灌水、被覆。

総灌水量：15.6 t（26 L/m²）

灌水：被覆前、被覆資材：農ビ（1枚）、所要時間：2時間（灌水）

試験担当者：ショウガ生産者、高知県農業技術センター

<結果概要>

(1) 背景、目的

ショウガ科作物青枯病菌は土壤深層まで生息しており、防除が困難である。低濃度エタノール施用による土壤還元消毒法は、安定した効果が得られているが、多量の灌水を行う必要があり、また傾斜地では実施できない等の制限がある。そこで、同法を代替、補完する技術として、石灰窒素を用いた太陽熱土壤消毒法について検討し、その消毒効果の検証を行った。

(2) 結果と考察

1) 青枯病菌密度

土壤中の青枯病菌密度について調査（3地点）した結果、消毒前は、表層、深層いずれも青枯病菌が検出された。消毒後の調査では、青枯病菌はいずれの地点からも検出されなかった（表16）。

2) 地温

地温は被覆下20 cm、50 cmにおいて、約2ヶ月間30℃を上回り、処理に適した温度帯であった（図26）。

以上の結果から、夏場の消毒で地温30℃以上を長期間確保できたことで、土壤中の青枯病菌密度を下げる事ができたと考えられた。

表 16 青枯病菌密度調査結果

調査地点	深度別	消毒前	消毒後 (10/9)
		(個数/g 土)	(個数/g 土)
①	表層	2.7×10^3	検出限界以下
	深層	3.3×10^1	検出限界以下
②	表層	2.3×10^2	検出限界以下
	深層	<33	検出限界以下
③	表層	1.6×10^4	検出限界以下
	深層	1.0×10^2	検出限界以下

表層 : 0~30 cm、深層 : 30~60 cm、検出限界以下: <1 個/g 土

地温 (°C)

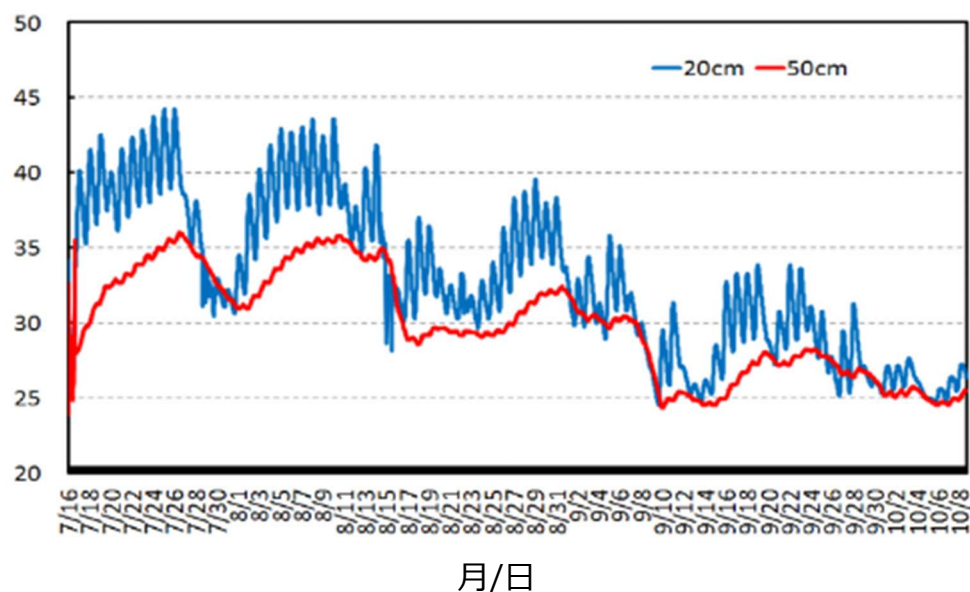


図 26 消毒中の地温の推移

<処理後の状況>

消毒後に病原菌が検出されなかったため、2019 年にショウガを栽培した。栽培中に圃場外縁から目視で生育状況を確認した結果、栽培期間中に発病は認められなかった。また、生産者への聞き取りでも土壌病害の発生は確認されなかった。2020 年の栽培でも青枯病未発生。

No. 2

<試験内容>

場所（土壌条件）：高知県土佐市（壤土、赤黄色土）

面積：露地 6 a

処理日：2019/7/27 終了日：2019/10/10

灌水チューブ：エバフロー-A-100

石灰窒素使用量：120 kg（200 kg/10 a）

その他：栽培（5～7月）していたソルゴーの地上部を刈り倒し、深耕ローターで2～3回耕うん。石灰窒素散布後、深耕ローターで2～3回、30～35 cmの深さを耕うんし、灌水、被覆。

総灌水量：24 t（40 L/m²）

灌水：被覆前、被覆資材：農ビ（1枚）、所要時間：4時間

試験担当者：ショウガ生産者、高知県農業技術センター

<結果概要>

（1）青枯病菌密度

土壌中の青枯病菌密度について調査（2地点）した結果、消毒前は、2地点とも青枯病菌が検出された。消毒後の調査では、青枯病菌はいずれも検出されなかった（表17）。

（2）地温、酸化還元電位

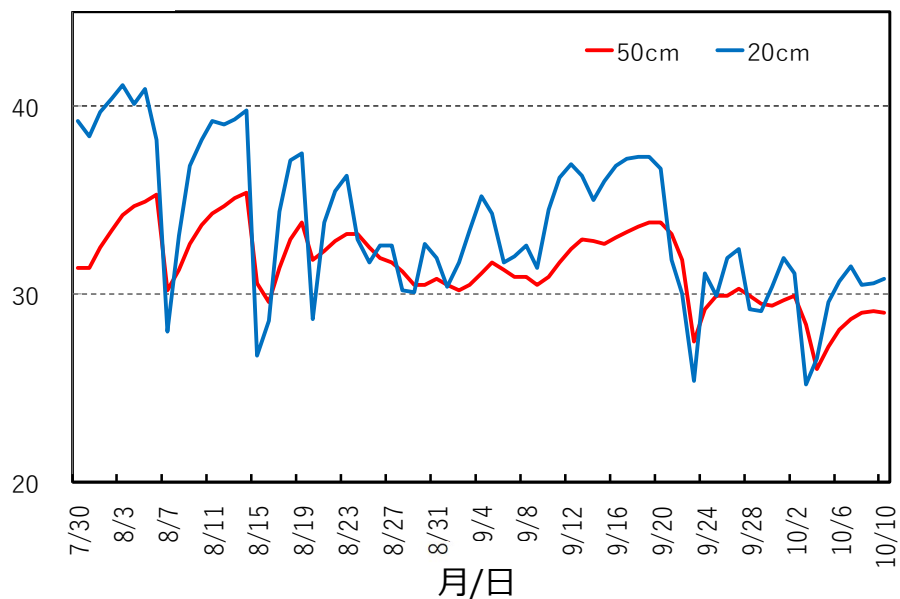
地温は被覆下20 cm、50 cmにおいて、約2ヶ月間30℃を上回り、消毒に適した温度帯であった（図27上段）。酸化還元電位は、被覆下50 cmにおいて、約2ヶ月間0 mVを下回り、還元状態が長期間維持されていた（図27下段）。

表 17 青枯病菌密度調査結果

調査地点	深度別	消毒前	消毒後（10/10）
		（個数/g 土）	（個数/g 土）
①	表層	<33	検出限界以下
	深層	3.3×10^1	検出限界以下
②	表層	検出限界以下	検出限界以下
	深層	<33	検出限界以下

表層：0～30 cm、深層：30～60 cm、検出限界以下：<1 個/g 土

地温 (°C)



酸化還元電位 (mV)

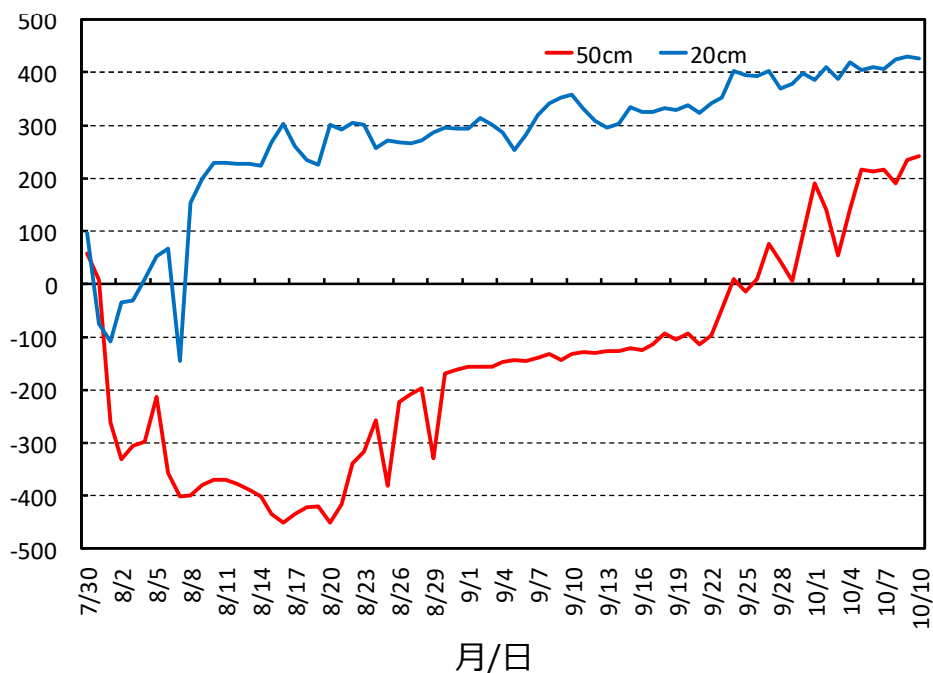


図 27 消毒中の地温と酸化還元電位の推移

石灰窒素 No.1 の試験結果と合わせると、いずれも消毒後に深層部の青枯病菌が死滅していたことから、低濃度エタノール土壌還元消毒と同様な消毒効果が期待できると考えられた。本試験の必要経費について、低濃度エタノール（試算）と比較した結果（表 18）、エタノールよりも資材費が安価であり、同消毒法は今後実証試験を積み重ね、灌水設備や灌水量を確保できない圃場での利用を検討していくこととした。

表 18 必要経費（円、10 a 換算）

試験区	石灰窒素 (200kg/10a)	(試算) 低濃度エタノール (0.75%×70L/m ²)
資材費	34,340	180,680
被覆資材 (農ビ1枚)	70,740	70,740
灌水チューブ	17,820	17,820
水枕	8,400	8,400
塩ビ管他	49,800	49,800
合計	181,100	327,440

<消毒後の状況>

消毒後に病原菌が検出されなかったことから、翌年（2020年）ショウガ栽培を再開した。栽培中に圃場外縁から目視で生育状況を確認した結果、栽培期間中に発病は認められなかった。

参考資料

1. 井上康弘・中保一浩 (2015) 最確数 (Most Probable Number) とBio-PCR法を応用した, MPN-PCR 法による青枯病菌の高感度定量検出法. 植物防疫 69 : 439-443
2. 堀田光生・土屋健一 (2012) 微生物遺伝資源利用マニュアル (12) 青枯病菌 *Ralstonia solanacearum*.
<https://www.gene.affrc.go.jp/pdf/manual/micro-12.pdf>
3. 堀田光生・土屋健一・菅 康弘・矢野和孝・和氣貴光・黒瀬大介・古屋成人 (2014) 青枯病菌 *Ralstonia solanacearum* の分類の現状と日本産株の遺伝的多様性. 日本植物病理学会報 (特集号) 80 : 87-97
4. 農業環境技術研究所 (2012) 低濃度エタノールを利用した土壌還元作用による土壌消毒技術 技術資料.
https://www.naro.go.jp/publicity_report/publication/pamphlet/tech-pamph/080354.html
5. 農研機構 (2021) 新規土壌還元消毒を主体としたトマト地下部病害虫防除体系標準作業手順書. Version 1.1
https://www.naro.go.jp/publicity_report/publication/laboratory/naro/sop/137330.html
6. 農研機構中央農業研究センター (2019) 新規土壌還元消毒を主体としたトマト地下部病害虫防除体系マニュアル.
https://www.naro.go.jp/publicity_report/publication/pamphlet/tech-pamph/130490.html
7. 農研機構農業環境変動研究センター (2021) 低濃度エタノールを利用した土壌還元作用による土壌消毒実施マニュアル (第1.2版).

https://www.naro.go.jp/publicity_report/publication/pamphlet/tech-pamph/080354.html

8. 矢野和孝・川田洋一・堀田光生・曳地康史・土屋健一（2011）ショウガ科植物から分離された青枯病菌の系統とそれらの寄主範囲. 日本植物病理学会報 77 : 88-95

担当窓口、連絡先

外部からの受付窓口：

農研機構 農業環境研究部門 研究推進部 研究推進室 推進チーム
niaes_manual@ml.affrc.go.jp



「農研機構」は、国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構のコミュニケーションネーム（通称）です。