

微生物の中鎖脂肪酸生産能を利用した 革新的な土壌消毒法

千葉大学 大学院園芸学研究院 園芸環境化学講座
教授 天知誠吾

土壌病害

■ 植物病原菌

連作による土壌障害の一つ
植物病原菌の約80%は糸状菌

Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici (Fol)

トマト萎凋病を引き起こす
分生子や厚膜胞子など耐久器官を形成

■ くん蒸剤を用いた土壌消毒

一般に利用されている消毒法
強力な殺菌効果を持つ（クロルピクリン、D-D剤）一方で、
環境や人体へ高負荷 → 使用に対して厳しい規制
「みどりの食料システム戦略」2050年までに化学農薬50%低減

環境保全型の土壌消毒法が求められている

土壤還元消毒法 (Anaerobic Soil Disinfestation)

① 有機物の混和



② 灌水



③ プラフィルムで被覆



土壤病原菌

土壤還元消毒法 (ASD)

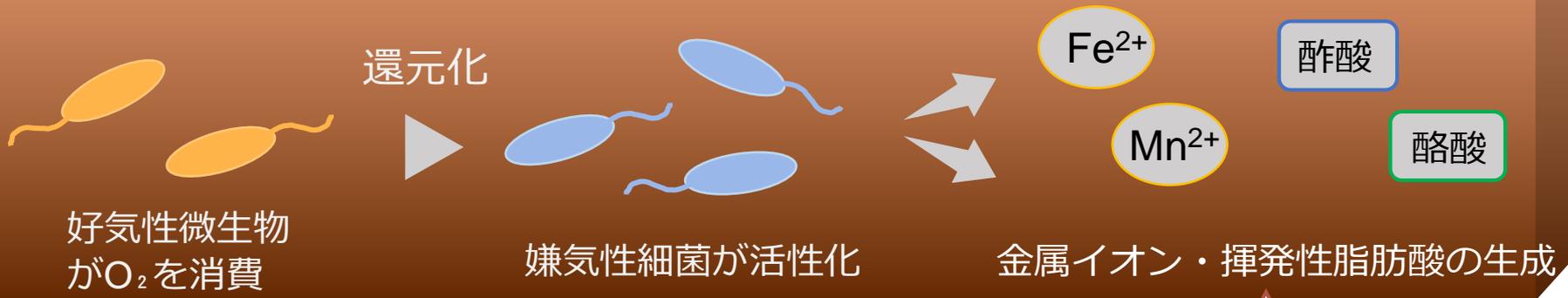
① 有機物の混和



② 灌水



③ プラフィルムでの被覆



植物病原菌を消毒！！

土壌還元消毒法（ASD）

■ 課題点

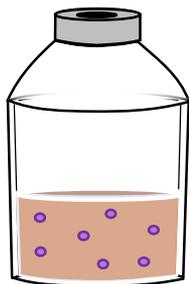
低温条件（冷涼地域）で効果が不安定
施用にコストがかかる（15万円/10 a）
消毒因子・消毒メカニズムが不明

■ 本研究の目的

ASDで優占する嫌気性細菌を分離し、その消毒因子を特定する

1. ASD再現実験
2. ASDで優占する細菌の純粹分離
3. 消毒能力の調査及び消毒因子の特定
4. 特定した因子の消毒効果の検証

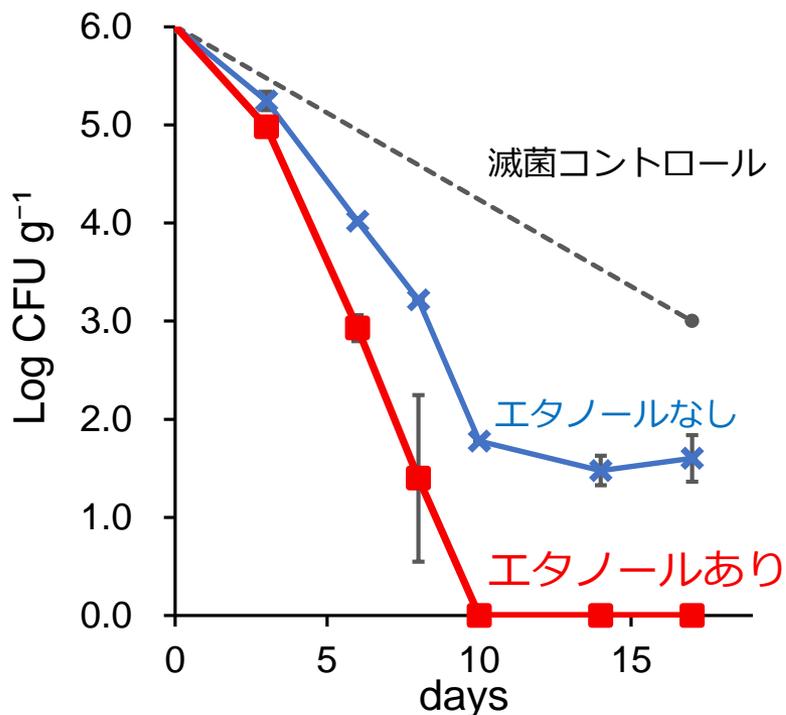
ASD再現実験



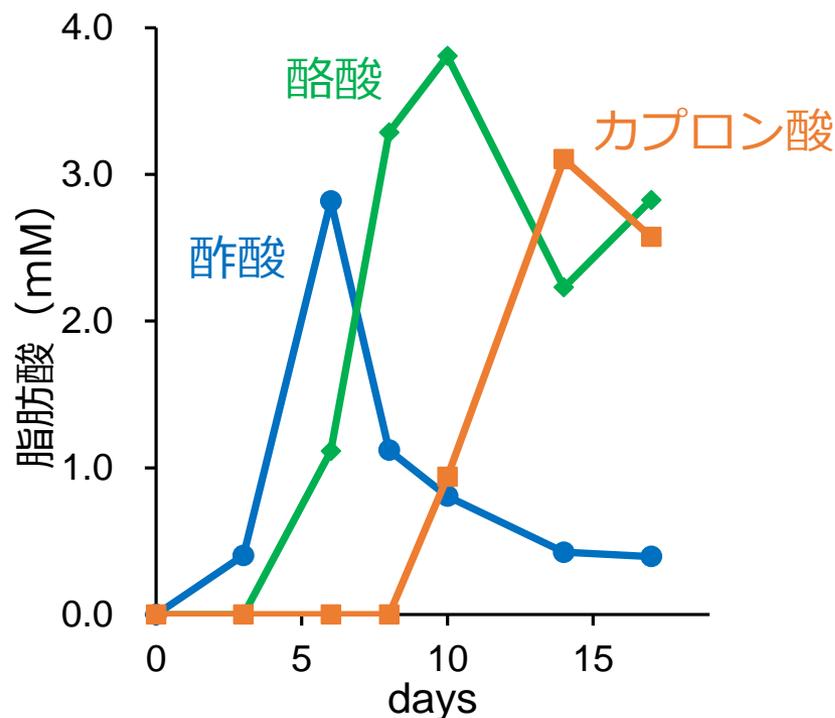
60 mL容バイアル瓶

土壌：ヤシ殻培地（ココピート）
炭素源：1% エタノール
植物病原菌：Fol分生子

Fol生菌数

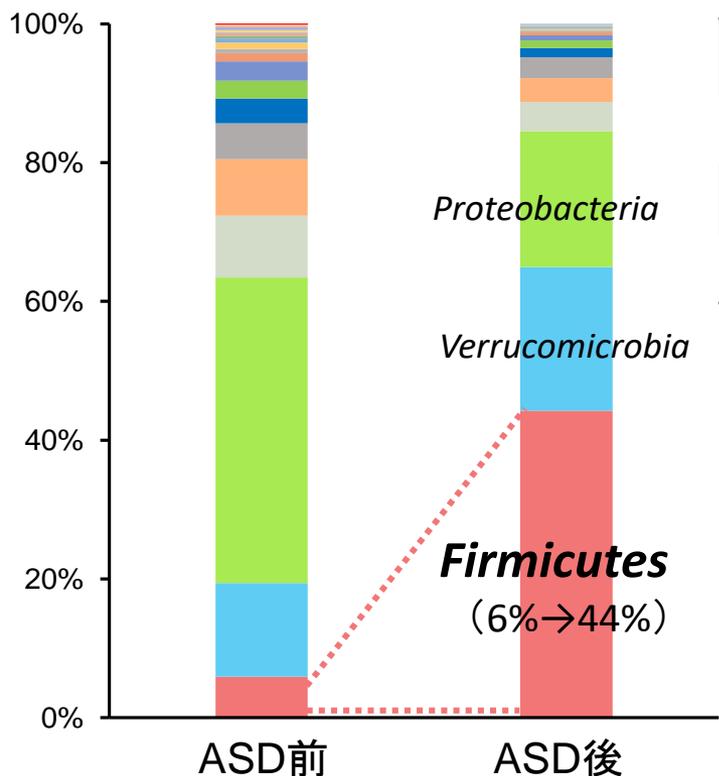


揮発性脂肪酸の生成



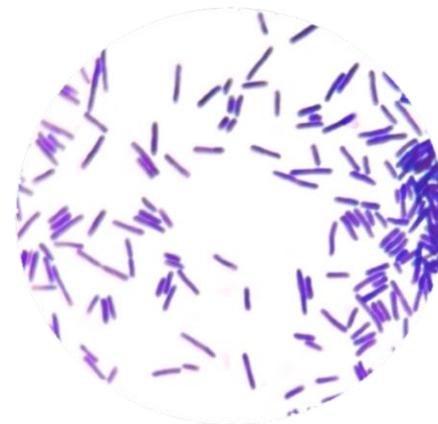
ASD再現実験

■ 次世代シーケンサーによる細菌群集構造解析



ASD前	ASD後	門	近縁種
-	22%	<i>Firmicutes</i>	<i>Clostridium kluveri</i>
9.7%	12%	<i>Verrucomicrobia</i>	<i>Erebonobus luteus</i>
-	5.7%	<i>Firmicutes</i>	<i>Clostridium swelfunianum</i>
0.3%	4.7%	<i>Verrucomicrobia</i>	<i>us terrae</i>

C. kluveri と近縁な
Clostridium sp. E801の単離に成功！



E801株の培養上清がFolに与える影響

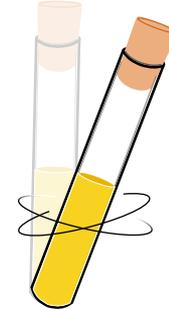
E801株



酢酸 10 mM
EtOH 25 mM



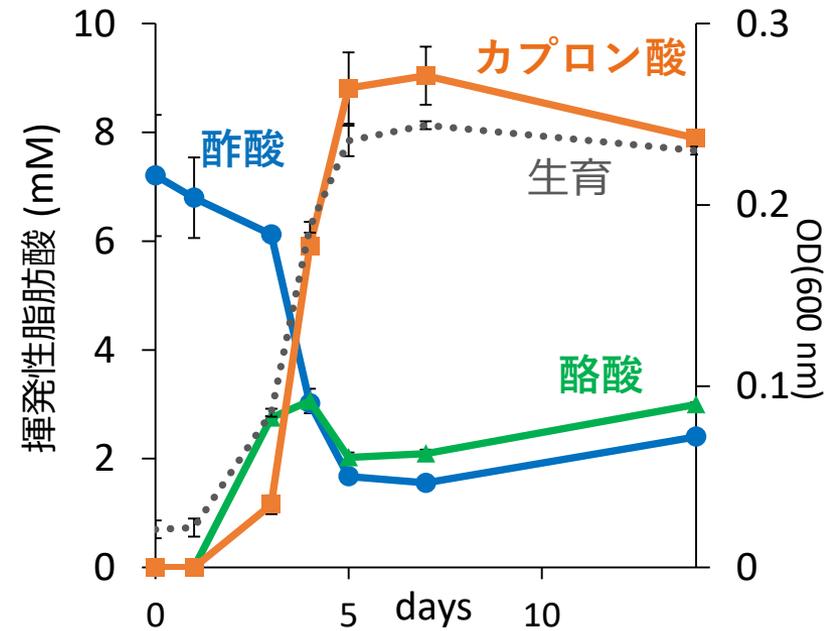
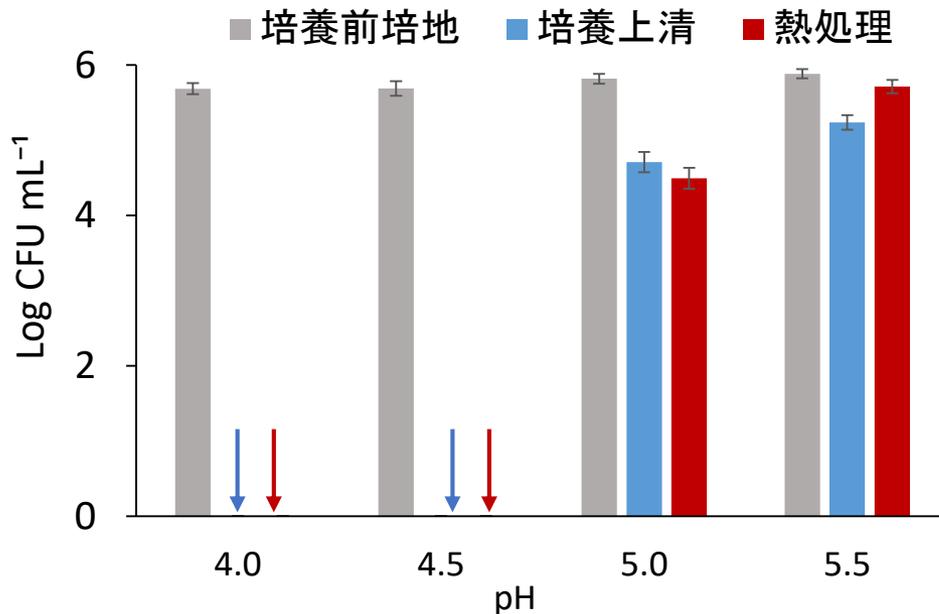
培養前培地
培養上清 (菌体除去)
熱処理 (酵素失活)



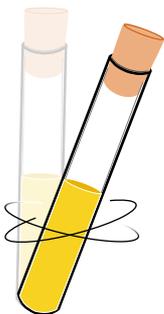
Fol

GYP培地 (pH4.0-5.5)

Fol 生菌数



生育阻害活性をもつ脂肪酸の特定



GYP培地 (pH4.0-5.5)

Fol分生子

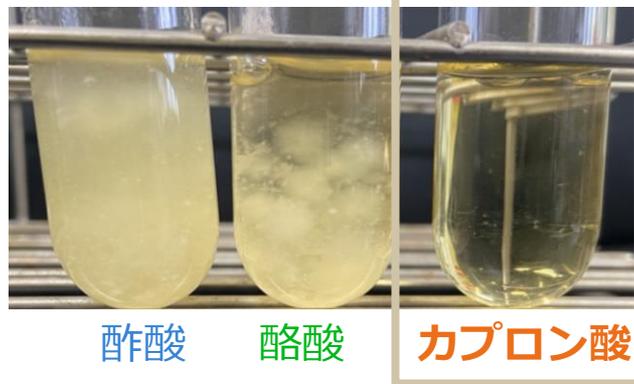
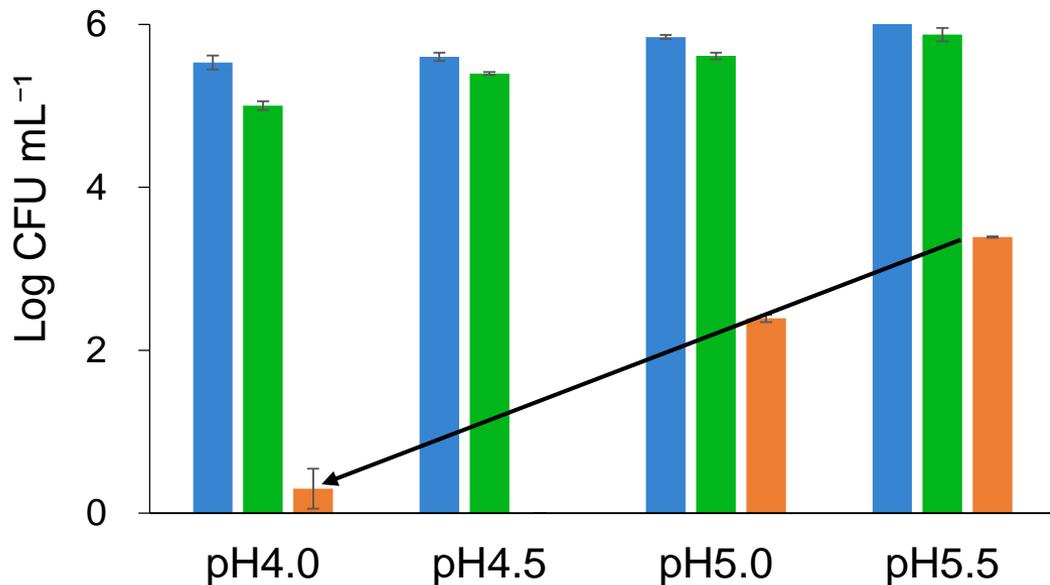
酢酸 or 酪酸 or カプロン酸 (1 mM)

Fol生菌数

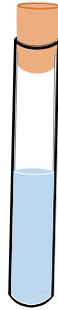
■ 酢酸

■ 酪酸

■ カプロン酸



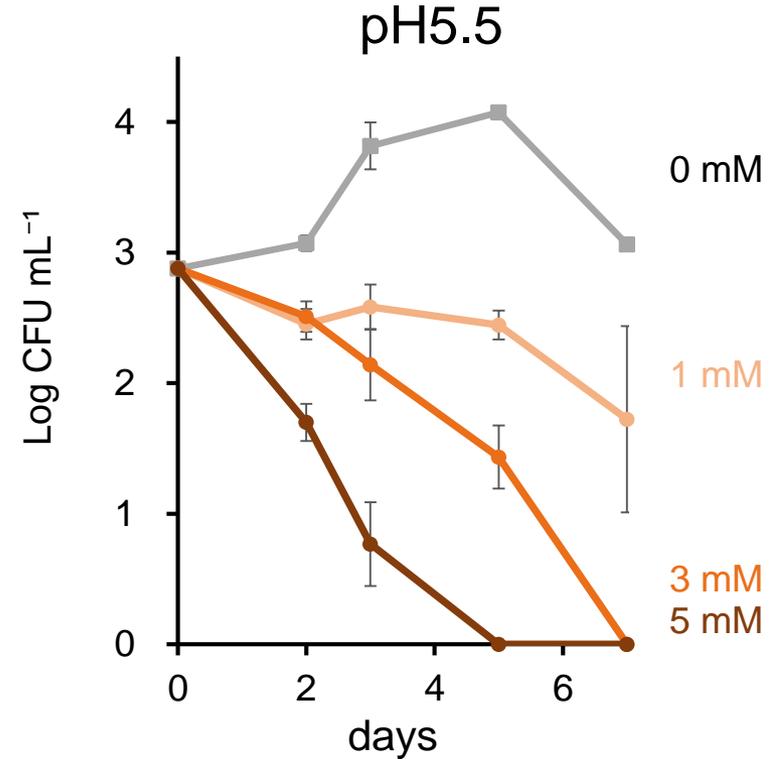
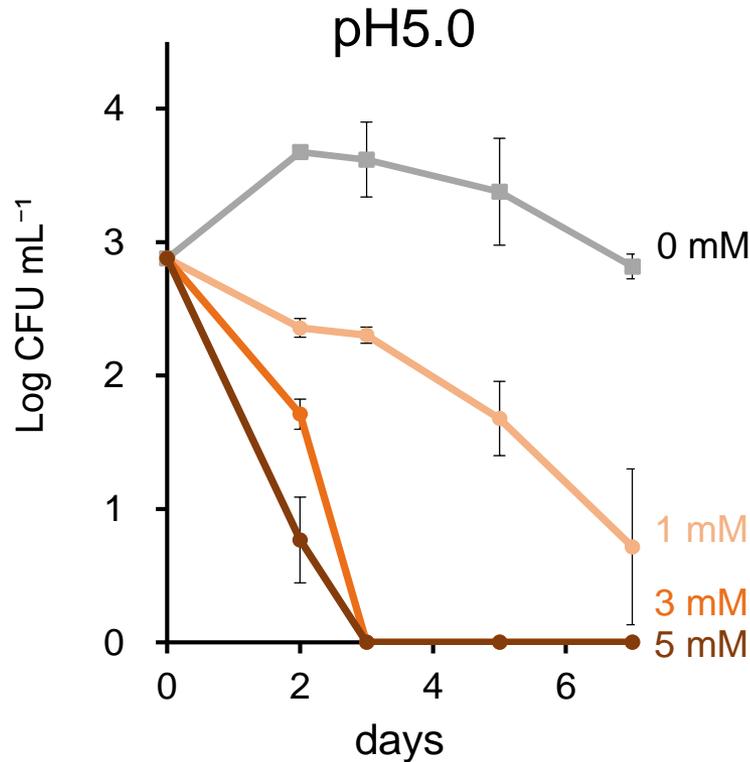
カプロン酸のFol消毒能力



MES 緩衝液 (pH5.0, 5.5)

Fol分生子

カプロン酸 (0-5 mM)



カプロン酸の青枯病菌消毒能力



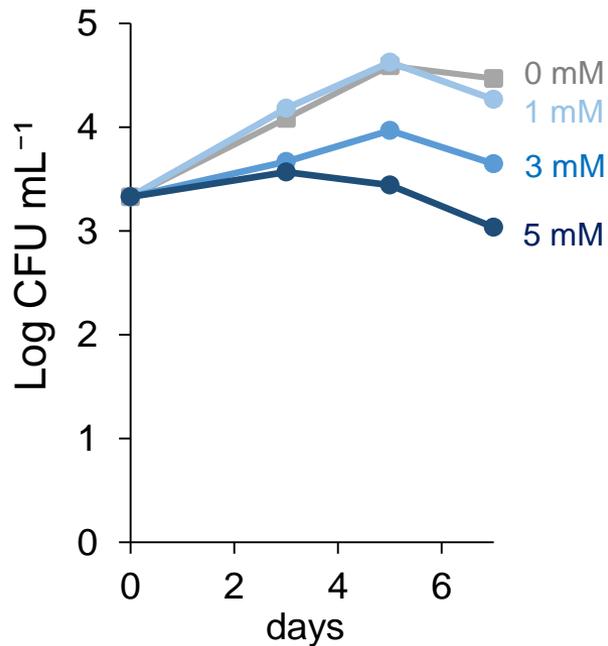
MES 緩衝液

Ralstonia solanacearum

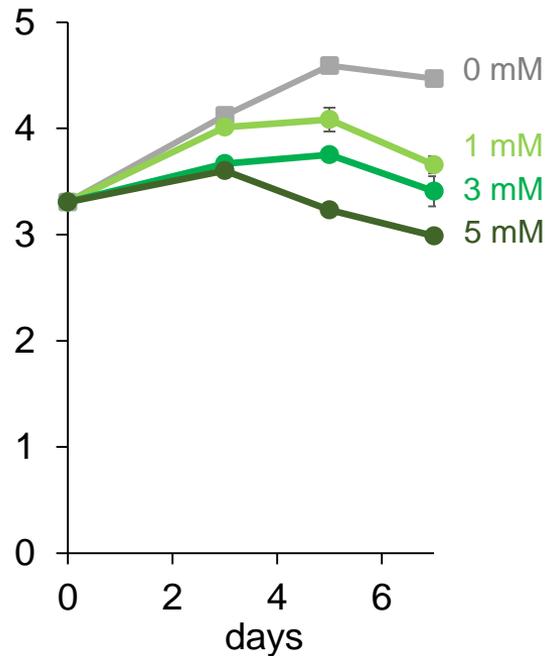
酢酸 or 酪酸 or カプロン酸 (0-5 mM)

青枯病や立枯病を引き起こす
植物病原性の細菌

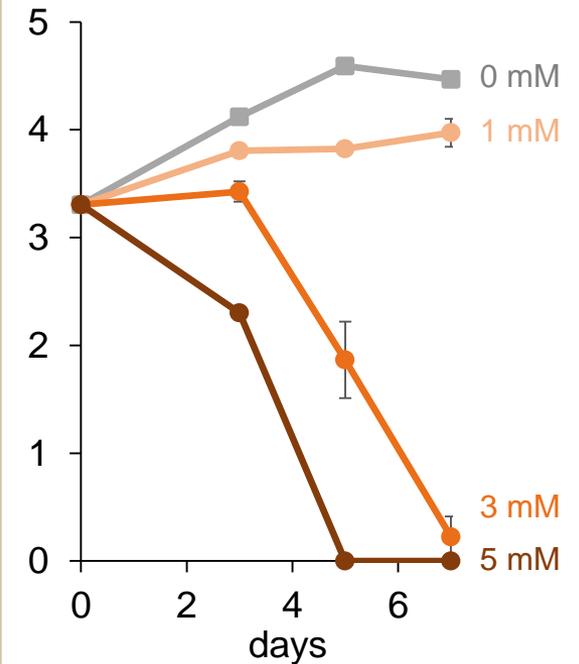
酢酸



酪酸



カプロン酸

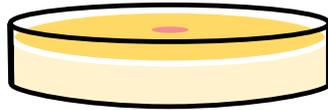


低温下(15°C)でのカプロン酸の消毒効果

GYP培地 (pH4.0-5.5)

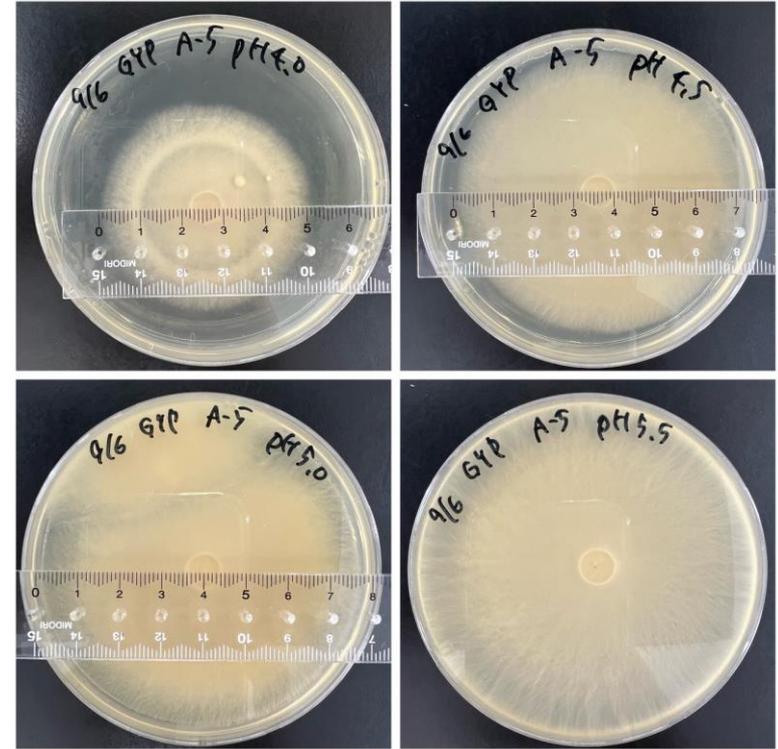
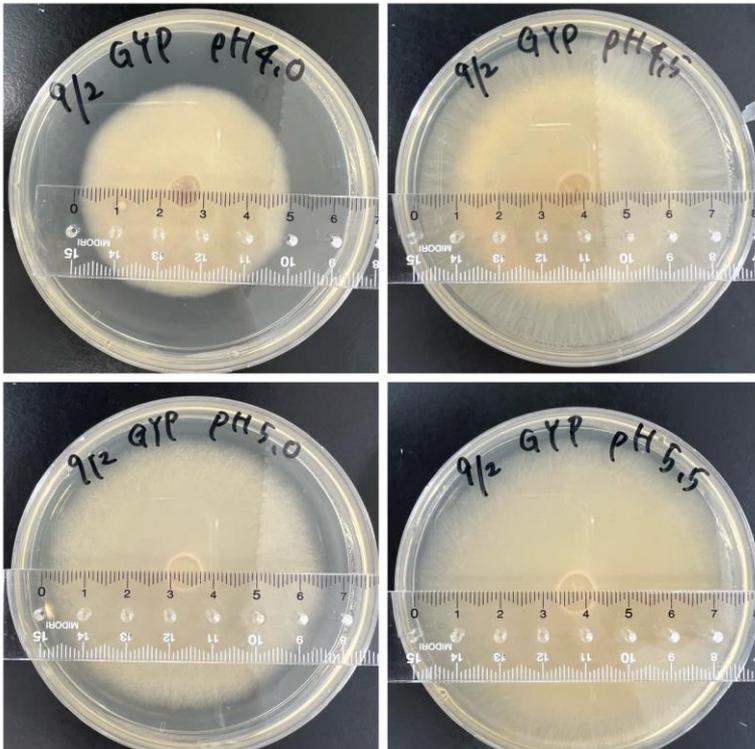
Fol 培養液

酢酸 or 酪酸 or カプロン酸 (5 mM)



脂肪酸添加なし

酢酸

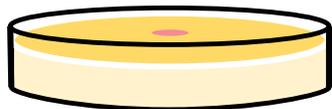


低温下(15°C)でのカプロン酸の消毒効果

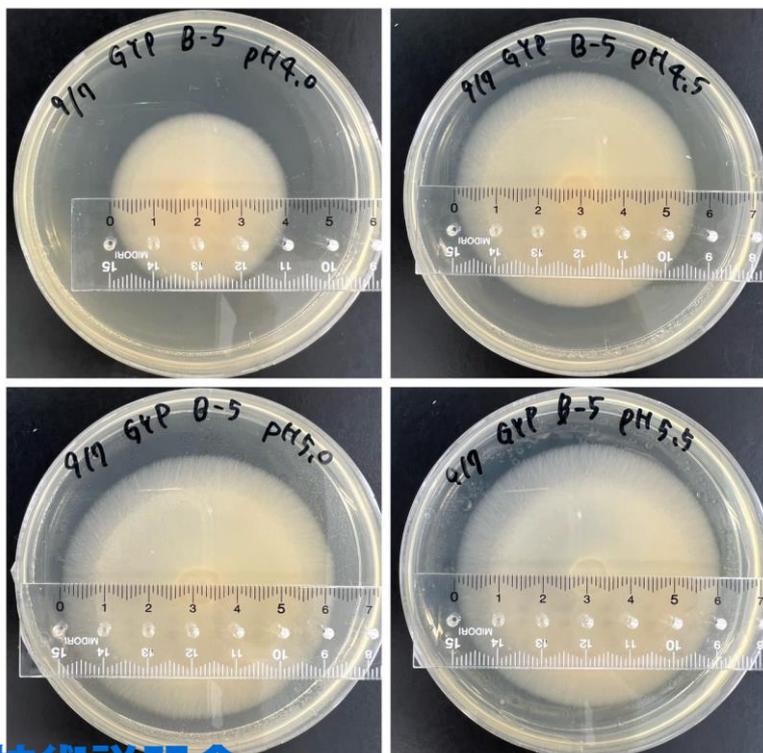
GYP培地 (pH4.0-5.5)

Fol 培養液

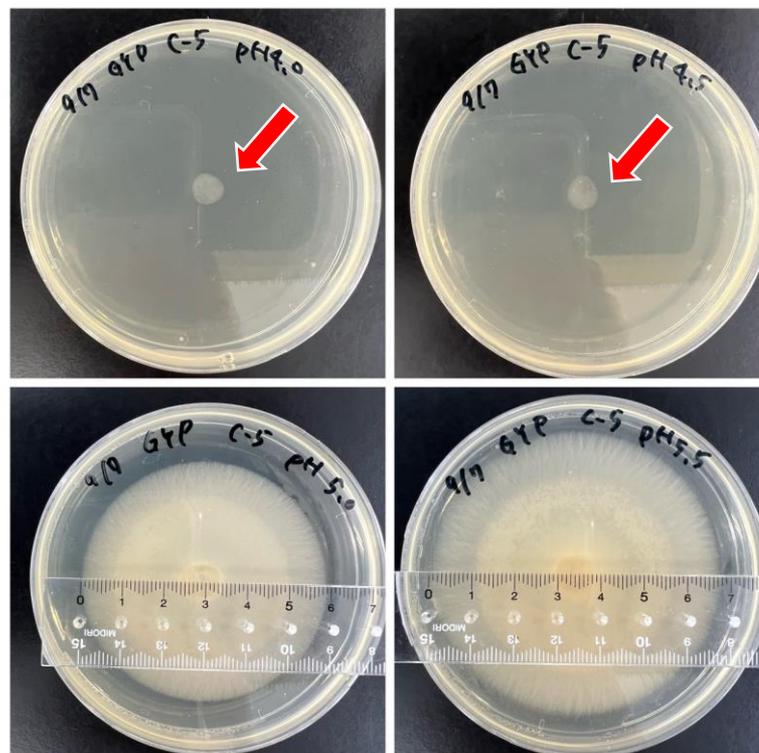
酢酸 or 酪酸 or カプロン酸 (5 mM)



酪酸



カプロン酸



土壌中におけるカプロン酸の消毒能力



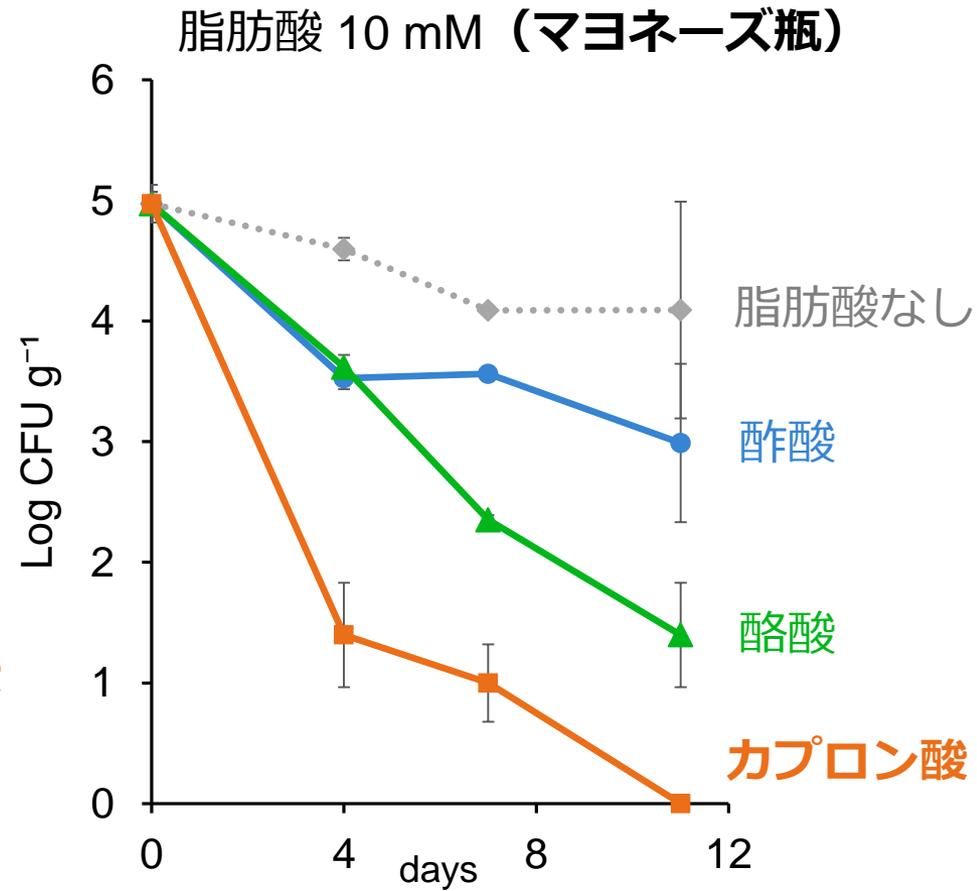
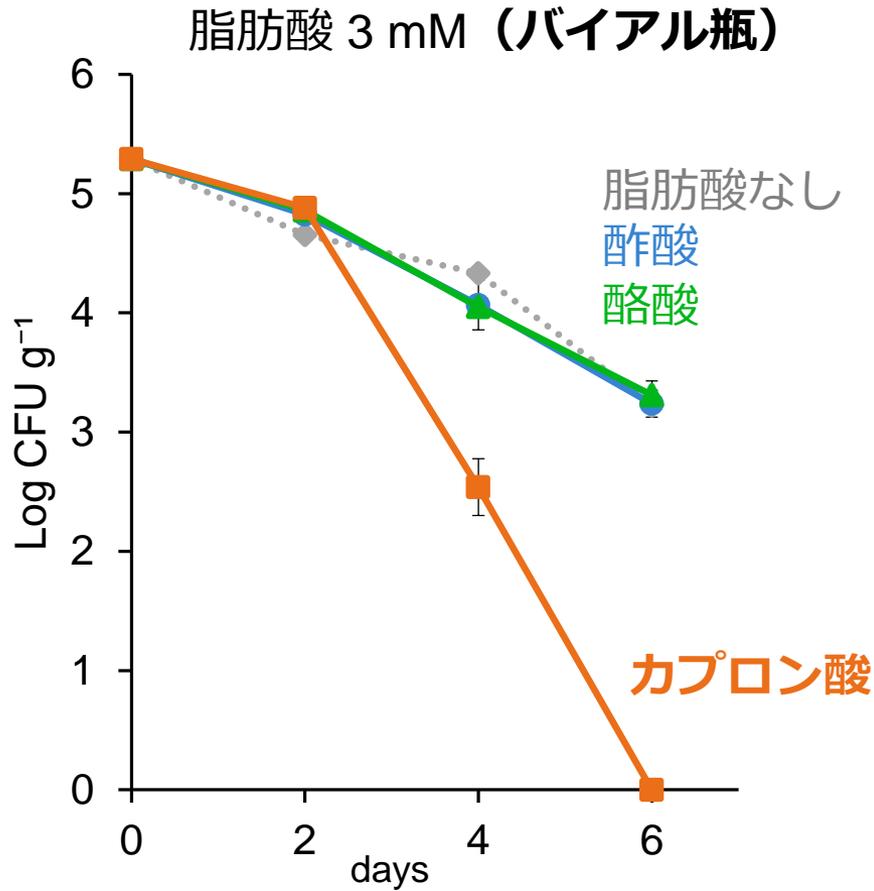
黒ボク土

Fol分生子

酢酸 or 酪酸 or カプロン酸

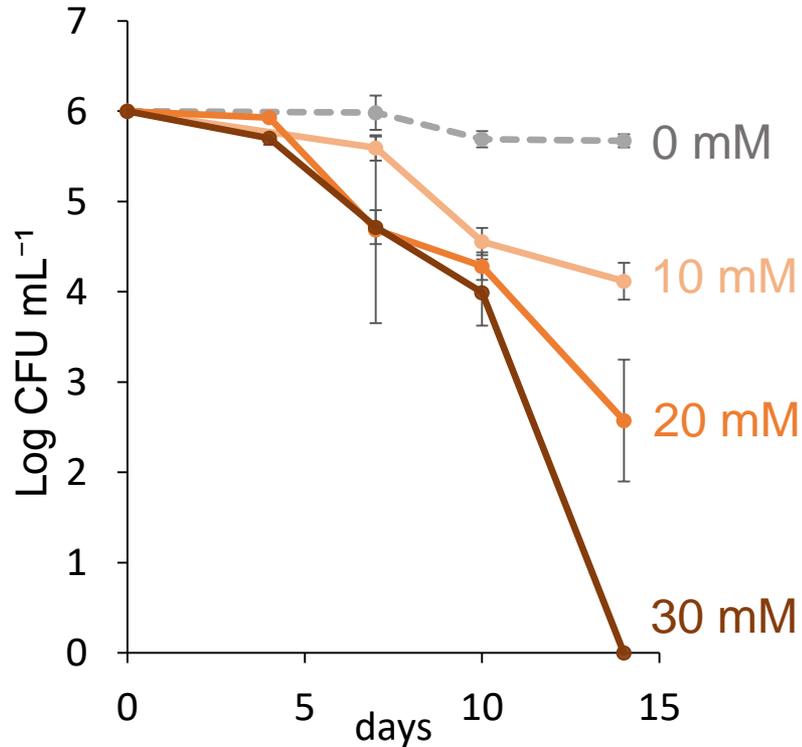
30°Cまたは15°Cで実施

土壌中におけるカプロン酸の殺菌能力(30°C)

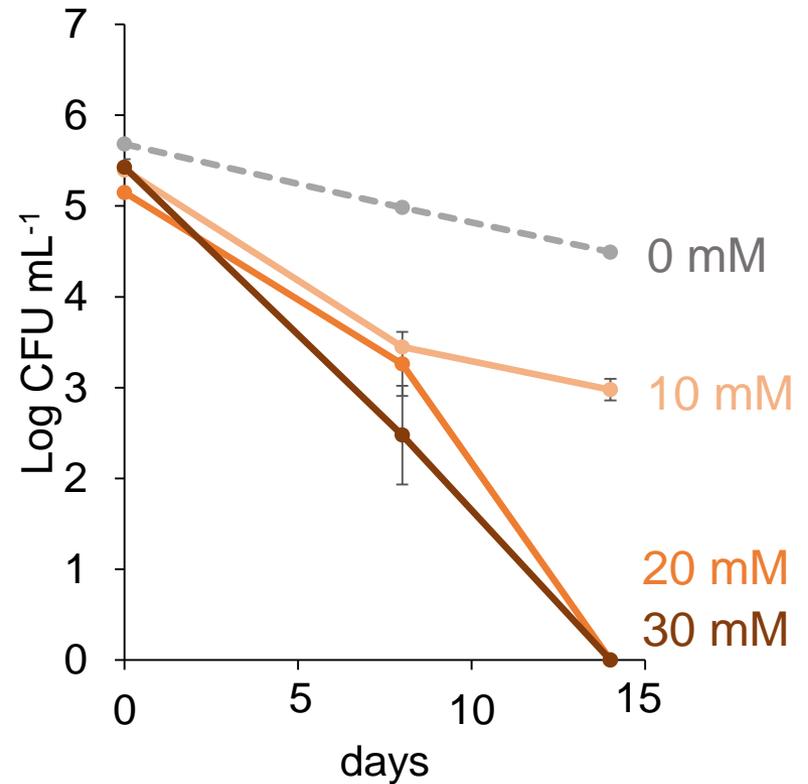


土壌中におけるカプロン酸の殺菌能力(15°C)

(バイアル瓶)



(マヨネーズ瓶)





無処理土壤



カプロン酸処理土壤

新技術の特徴・従来技術との比較

- ASDでは土壌中の嫌気性細菌を活性化するために、炭素源の混和、灌水、被覆の3ステップが必要であった。
- 低温下では土壌の還元化が十分に進行せず、効果が安定しなかった。
- 嫌気性細菌が生産する脂肪酸（カブロン酸）を直接土壌に混和することで、**低温下でも安定的に効果を発揮できる。**
- カブロン酸を用いることで、**処理プロセスの簡便化も期待できる**（灌水、被覆が必要ないかも？）
- E801株によりカブロン酸を安価に発酵生産できれば、**ASDよりも安価な土壌消毒も期待できる。**

実用化に向けた課題

- ラボレベルでの実験ではなく、今後はチャンバーレベル、フィールドレベルでの植物病害防除試験が必要
- 安価に大量のカプロン酸を生産するシステムの構築が必要（未利用バイオマスを用いた発酵生産）
- 植物病原菌に対する作用メカニズムが不明（細胞膜脂肪酸の攪乱効果？）
- カプロン酸のヒトへの安全性は担保されているのか？（令和元年に新たに劇物に指定、ただし11%以下は除く）

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称：土壤消毒剤および土壤消毒方法
- 出願番号：特願2022-171835
- 出願人：千葉大学、
公益財団法人園芸植物育種研究所
- 発明者：天知 清吾

お問い合わせ先

千葉大学 学術研究・イノベーション推進機構
産学官連携推進部

TEL 043-290-3048

FAX 043-290-3519

E-MAIL ccrcu@faculty.chiba-u.jp