

植物検疫上重要な種子伝染性病原菌

3種に対する乾熱殺菌効果*

高野 利達・高山 睦雄・萩原 潤

横浜植物防疫所

The Disinfecting Effectiveness of Dry Heat on 3 Species of Seed-Borne Pathogens of Quarantine Significance. Toshitatsu TAKANO, Mutsuo TAKAYAMA and Jun HAGIWARA (Yokohama Plant Protection Station). *Res. Bull. Pl. Prot. Japan* 21: 1-9 (1985).

Abstract: Dry-heat treatment on 3 species of seed-borne pathogens, *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae*, *Verticillium tricorpus* and *Colletotrichum capsici*, was studied. Complete control of *F. solani* f. sp. *cucurbitae* was obtained by the treatment for 3 days at 75°C or for 2 days at 80°C without significant loss of germinability of cucumber seed, a host plant of the pathogen. The infection of *V. tricorpus* was eliminated completely by the treatment for 6 days at 75°C or for 5 days at 80°C. By the same treatments, there was no serious loss of germinability of seed of tomato that is one of host plants of *V. tricorpus*, some adverse effects on initial growth, however, were observed. The treatment at a temperature of 85°C for 5 days gave complete control of *C. capsici*, but impaired the germination of seed of red pepper that is one of host plants of the pathogen.

The specially designed dry-heat chamber equipped with a turning drum to stir seeds during treatment was found available for disinfection of large amount of cucumber seeds infected with *F. solani* f. sp. *cucurbitae*.

ま え が き

最近の種子輸入量の増加により、種子検疫の重要性が一段と高まりつつある。ことに輸入検査時に我が国未発生の種子伝染性病原菌の発見事例が増えており、これら病原菌に対する消毒を含めた種子検疫体制の強化を図る必要がある。

我が国では、種子の消毒に従来多く用いられていた有機水銀剤が使用を規制されて（1973年）以来、乾熱処理は重要な種子消毒法のひとつに数えられ、諸研究機関によって実用化に向けて実施された試験の報告例もいくつか見られる。筆者らはこの方法の植物検疫における利用の可能性について検討するため、植物検疫上重要な3種の種子伝染性病原菌（糸状菌）に対する殺菌試験及び種子の耐熱性についての試験を行ったので報告する。

本試験を実施するにあたり、当所調査研究部病菌課の諸氏から有益な御助言、御協力を戴いた。ここに厚く御礼申し上げる。

I 基礎試験

材料及び方法

1. 殺菌試験

1) 供試病原菌

供試菌は、我が国への侵入が警戒されている種子伝染性の特定重要病原菌 *Fusarium solani* (MARTIUS) APPEL et WOLLENWEBER f. sp. *cucurbitae* SNYDER et HANSEN, *Verticillium tricorpus* ISAAC, *Colletotrichum capsici* (SYDOW) BUTLER et BISBY の3種で、*F. solani* f. sp. *cucurbitae* は ATCC 18280 株（農林水産省指令53横植第1397号）、*V. tricorpus* は CMI 71799 株（同指令53横植第2194号）、*C. capsici* は北朝鮮産トウガラシからの分離株（同指令53横植第2195）を供試した。

2) 汚染種子の調製法

本試験に供した汚染種子は実験室内で人工的に病原菌に汚染させたものであり、その調製法を下記に示した。

(1) 供試種子

供試した種子は *F. solani* f. sp. *cucurbitae* の寄主で

* 本報告の概要は、昭和59年度日本植物病理学会大会（1984年4月）で発表した。

あるキュウリ（品種不明）、*V. tricolor* の寄主のトマト（品種：栗原）、*C. capsici* の寄主のトウガラシ（品種不明）とした。これらの種子は70% アルコールに30秒間、さらに1% 次亜塩素酸ナトリウム溶液に10分間浸漬して表面殺菌を行った後、25℃ の定温器に放置（キュウリ及びトマトは3日間、トウガラシは2日間）して風乾した。

(2) 供試菌の培養法

各供試菌はPDA 斜面培地で25℃、ブラックライト照明と暗黒との12時間周期下で所定期間培養した。

(3) 汚染種子の調製法

① *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae*

供試菌を18日間培養した後、殺菌水を加えて分生胞子を懸濁し、胞子濃度を 4.2×10^5 個/ml に調整した。この分生胞子懸濁液中にキュウリ種子を25℃ 下で2日間浸漬した後、ベトリ皿内に敷いた乾燥ろ紙上に置床し、25℃ で4日間風乾して汚染種子を得た。

この方法で汚染させた種子では、検鏡により種皮と胚乳の間に分生胞子の存在が確認され、また一部の種子では胚乳に菌糸の発育が観察された。

② *Verticillium tricolor*

供試菌を63日間培養した後、殺菌水を加えて分生胞子を懸濁し、胞子濃度を 2.8×10^4 個/ml に調整した。この分生胞子懸濁液中に、トマト種子を室温（約20℃）下で10分間浸漬した後、ベトリ皿内に敷いた湿潤なろ紙上に置床し、25℃ で3日間培養した。その後、これらの種子をベトリ皿内の乾燥ろ紙上に移し、25℃ で4日間風乾して汚染種子を得た。

この方法で汚染させた種子では、検鏡により発根部に本菌の付着が観察された。

③ *Colletotrichum capsici*

供試菌を28日間培養した後、殺菌水を加えて分生胞子を懸濁し、胞子濃度を 9.7×10^4 個/ml に調整した。

トウガラシ種子はベトリ皿内に敷いた湿潤なろ紙上に移して1日間置いた後に、分生胞子懸濁液中に室温（約20℃）下で10分間浸漬し、以下 *V. tricolor* の場合準じて汚染種子を得た。

この方法で汚染させた種子では、その表面に多数の分生胞子層の形成が観察された。

調製後の汚染種子は、それぞれ200 ml の三角フラスコ内にゴム栓で密閉し、試験に供するまで4℃ の冷蔵庫内に保管した。

3) 試験方法

乾熱処理には熱風循環式電気乾熱器（入江商会製、DEK—60型、庫内寸法60×50×50 cm）を使用し、処理温度を70、75及び80℃（*Colletotrichum* 菌につい

ては85℃でも試験を行った）、処理時間を各処理温度ごとに1日単位で1～6日間とした。供試汚染種子数は各区30粒とし、対照区として無処理区を設けた。処理に当っては、アルミ箔をカップ状に成形したもの（直径4.5 cm、深さ約4 cm）に、汚染種子が重なり合わないように入れて処理した。

乾熱器の庫内温度は、CA 熱電対の先端を処理種子から数 cm 上に設置し、基準温度計で校正した温度記録計によって記録した。

各温度区での処理が全て終了するごとに、ベトリ皿内のPDA培地（ストレプトマイシン200 mg/l 添加）上に処理した種子を置床した後、25℃ の暗黒下で10日間培養し、菌糸の発育の有無を観察した。

4) 殺菌効果の判定法

殺菌効果の判定は、菌糸の発育が観察されなかった種子を完全に殺菌されたものとみなし、殺菌率は供試汚染種子数に対する殺菌された種子数の百分率で表わし、それぞれの菌の各処理における殺菌率を求めた。

2. 種子の耐熱性試験

乾熱処理が種子の発芽に及ぼす影響を調査した。種子は殺菌試験に供試したものに準じて、キュウリ（アメリカ合衆国産、品種不明）、トマト（品種：栗原耐病）及びシントウガラシ（品種：改良）を用いた。処理前にこれらの種子の含水率を赤外線水分計によって測定した。測定は3回反復し、その平均含水率を求めた。

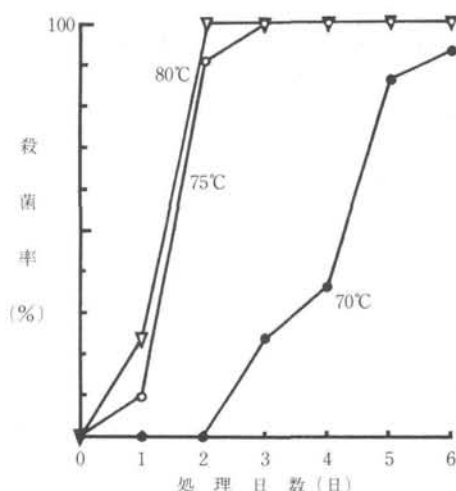
処理温度は70、80及び90℃とし、処理日数は1、2、4、6及び8日間とした。対照として無処理区を設けた。その他の処理方法及び温度測定方法は殺菌試験の場合と同様とした。

供試種子数は各処理区に対して800粒とし、そのうち400粒は処理直後に、残りの400粒は処理後6ヶ月目に、それぞれの発芽率を国際種子検査規程(1983)に定められた方法に準じて調べた。なおキュウリ種子については、処理直後及び6ヶ月後の発芽勢も調査した。

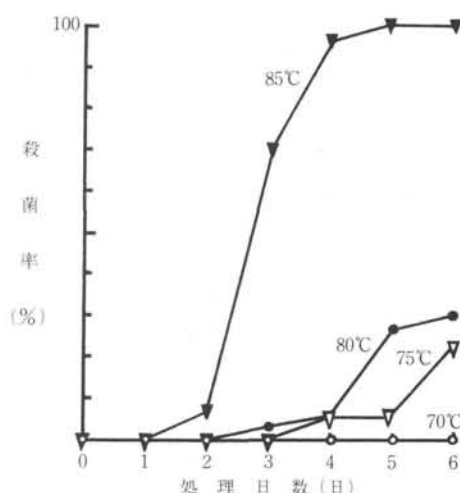
結 果

1. 殺菌試験

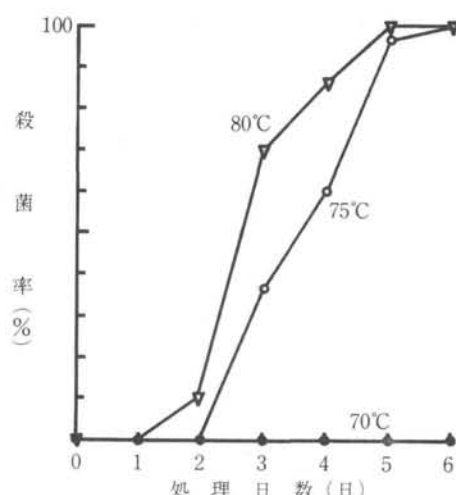
3種の菌に対する乾熱殺菌効果を第1～4図に示した。*F. solani* f. sp. *cucurbitae* の場合、70℃では6日間の処理でも100%の殺菌効果は得られなかったが、75℃・3日間及び80℃・2日間の処理で殺菌率100%を得た。*V. tricolor* に対しては、70℃で6日間までの処理では処理効果が全く見られなかったが、75℃・6日間及び80℃・5日間の処理で100%の殺菌率を得た。



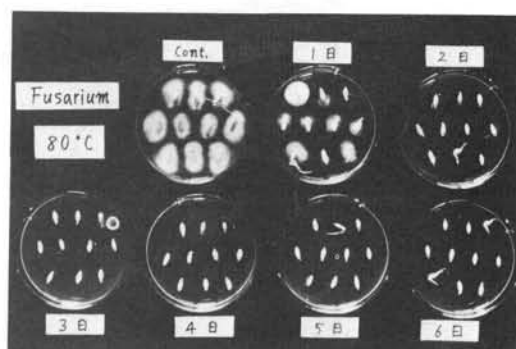
第1図 キュウリ種子の *Fusarium solani* f. sp. *Cucurbitae* に対する乾熱殺菌効果



第3図 トウガラシ種子の *Colletotrichum capsici* に対する乾熱殺菌効果



第2図 トマト種子の *Verticillium tricorpus* に対する乾熱殺菌効果



第4図 *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* 汚染キュウリ種子に対する乾熱処理 (80°C) の日数と菌の発育

C. capsici に対する 70, 75 及び 80°C でそれぞれ 6 日間までの処理では殺菌効果は低く、85°C・5 日間の処理で 100% の殺菌率を得た。

2. 種子の耐熱性試験

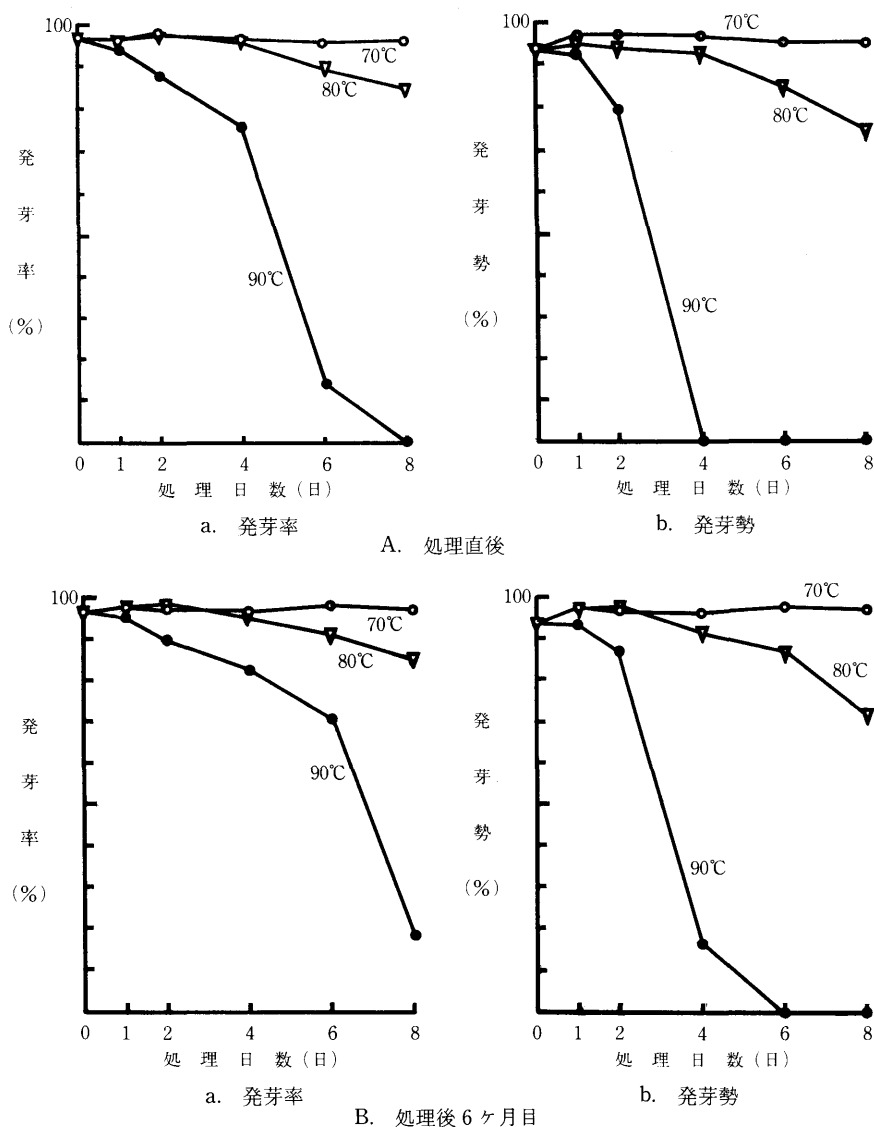
発芽試験の結果を第5～7図に示した。

キュウリ種子の場合、処理直後の発芽率は 70°C で 8 日間及び 80°C で 4 日間までの処理では無処理区との有意差 (5% 水準、以下同様) は認められなかったが、80°C で 6 日間及び 8 日間の処理ではやや低下し、90°C では処理日数が長くなるに従って低下し、8 日間処理

で種子の発芽は見られなくなった。発芽勢も発芽率とはほぼ同様の傾向を示した。処理後 6 ヶ月を経た種子では、発芽勢及び発芽率ともに処理直後のそれとはほぼ同様の値を示した。90°C の 4, 6 及び 8 日間処理での発芽率は処理直後より高い結果となった。

トマト種子では処理直後の発芽率はキュウリの場合と同様の傾向が見られたが、処理後 6 ヶ月を経た種子では、80°C・1, 2, 4 日間及び 90°C・1 日間の処理を除き発芽率は処理直後より低下した。

シントウガラシ種子の場合、処理直後の発芽率は 70°C では無処理区との有意差は認められなかったが、80°C でやや低下し、90°C では発芽がほとんど見られなかった。処理後 6 ヶ月を経た種子の発芽率は、全ての温度区で著しく低下した。



第5図 キュウリ種子の発芽に及ぼす乾熱処理の影響

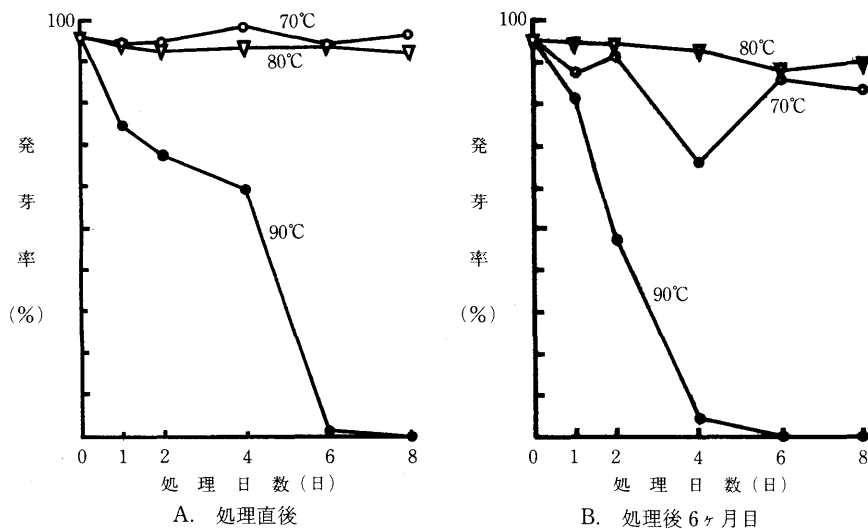
なお処理前の各種子の含水率はキュウリ 6.8%, トマト 7.6%, シシトウガラシ 7.2% であった。

殺菌及び種子の耐熱性試験の結果から、キュウリ種子の *F. solani* f. sp. *cucurbitae* 及びトマト種子の *V. tricoloris* に対する乾熱処理での殺菌法は、これらを 100% 殺菌できる温度及び時間の条件では種子の発芽に悪影響はほとんどないので、実用化の可能性が考えられる。トウガラシ種子の *C. capsici* に対する 100% 殺菌の条件では、種子の発芽に悪影響があったことから、実用化は困難と思われる。

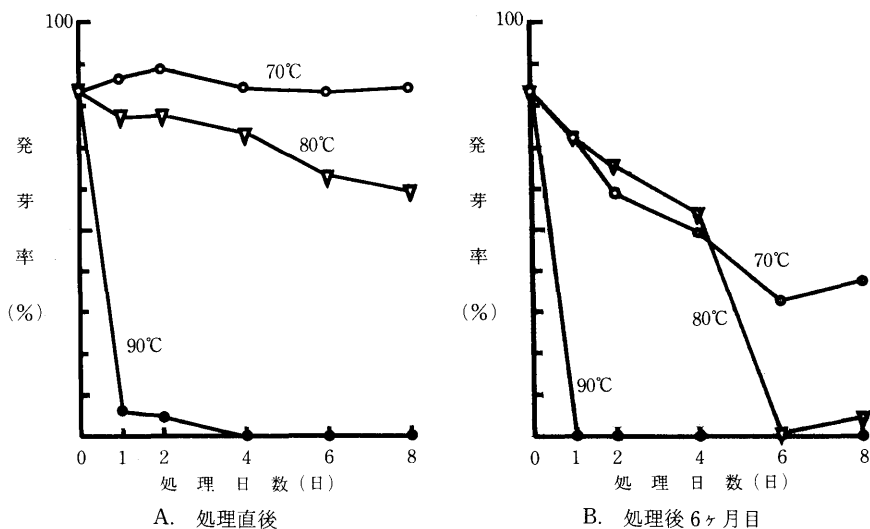
II 実用化試験

種子に対する乾熱消毒法を実用化するためには、一度に大量の種子を処理する必要がある、これを均一に加熱する方法として、機械的に種子を攪拌しながら加熱する方法が考えられる。この方法について小規模な実用化試験を試みた。

なお、汚染種子の調製法、乾熱処理による殺菌効果の判定、種子の含水率の測定及び乾熱器内の温度測定法は、基礎試験の方法に準じて行った。



第6図 トマト種子の発芽率に及ぼす乾熱処理の影響



第7図 シントウガラシ種子の発芽率に及ぼす乾熱処理の影響

材料及び方法

1. 殺菌試験

1) 供試病原菌及び種子

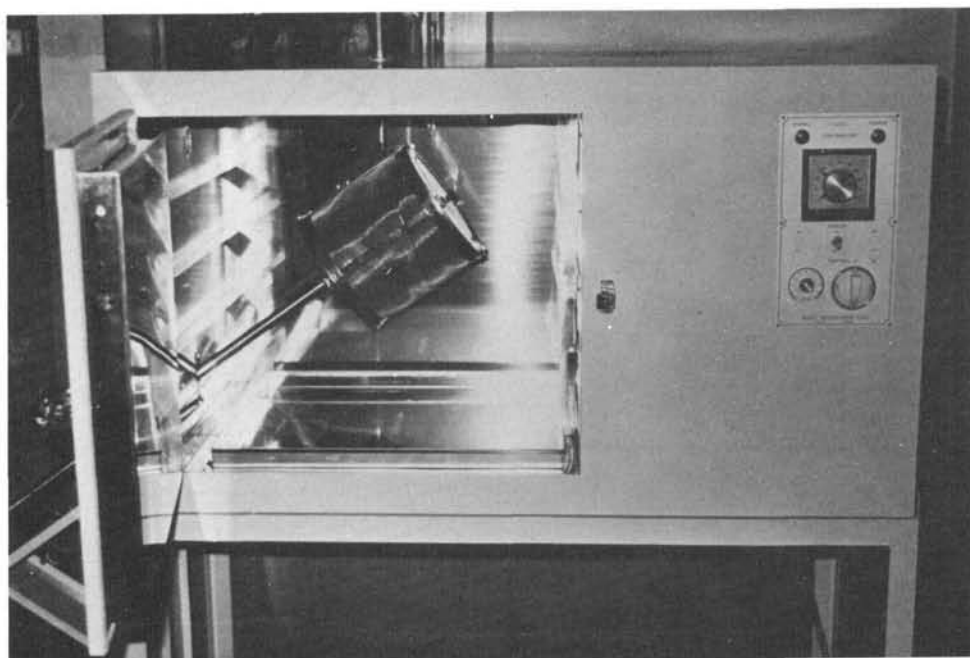
基礎試験において実用化の可能性が認められた *F. solani* f. sp. *cucurbitae* 汚染のキュウリ種子及び *V. tricorpus* 汚染のトマト種子を供試した。

2) 乾熱装置

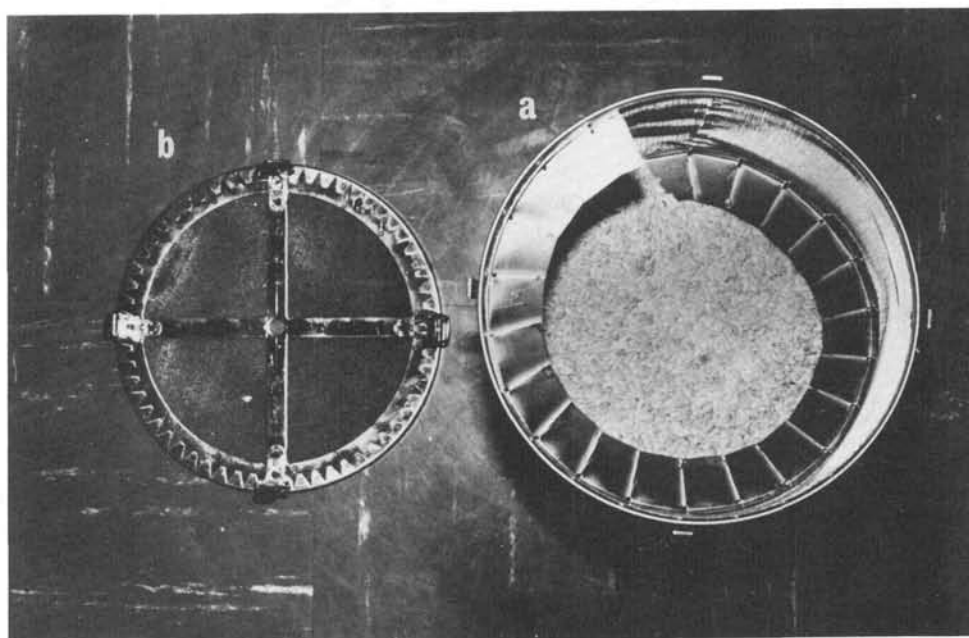
試験に使用した熱風循環式電気乾熱器 (いすず製作

所製, SF-16AS 特型, 庫内寸法 60×55×50 cm) は, 数 kg までのまとまった種子を均一に加熱するため, ステンレス網 (35 メッシュ) を張った円筒状のドラム (直径 20 cm, 高さ 20 cm) を回転させながら処理できるように改良したものである (第8図)。

ドラム (第9図) の内壁には, 種子を攪拌するための羽根 (巾 2.5 cm, 傾斜角度約 18.5°) を取り付けてある。ドラムに種子を入れた後, ドラムと同様のステンレス網を張った蓋をして, 庫内の回転軸に取り付けて処理を行う。蓋の中央にはドラム内の温度を測定する



第8図 回転ドラムを取り付けた熱風循環式電気乾熱器



第9図 回転ドラム

- a: 本体を上から見たところ。内側に攪拌のための羽根が取り付けられている。
b: 蓋。中心に温度測定用の孔を開けている。

熱電対挿入のための孔を開け、ドラムの回転数は0～30回転/分に調節できるようにした。

3) 試験方法

汚染種子各30粒に油性インクまたは水性ペイントで印をつけた後、健全種子500g（キュウリ種子約17,000粒、トマト種子約250,000粒）に混入して供試した。対照として無処理区を設け、これらの種子にも印をつけた。

処理温度及び処理日数は、基礎試験においてそれぞれの菌に対し100%の殺菌率が得られた処理条件、すなわちキュウリ種子に対しては80℃・2日間、トマト種子に対しては80℃・5日間とした。乾熱器の庫内温度が80℃に達した時点で、種子を入れたドラムを回転軸に取り付け、処理を開始した。ドラムの回転数は毎分18回転とした。

2. 種子の耐熱性試験

基礎試験において乾熱処理が種子の発芽に及ぼす影響を調べたが、実用化に当たっては発芽以降の生育についても調査する必要がある、以下の試験を行った。

供試種子は健全なキュウリ種子（アメリカ合衆国産、品種不明）及びトマト種子（フィリピン産、品種不明）とした。

処理温度及び処理日数は、キュウリ種子に対しては *F. solani* f. sp. *cucurbitae* が100%殺菌された条件である75℃・3日間及び80℃・2日間とし、トマト種子に対しては *V. tricolor* が100%の殺菌率を示した条件、すなわち75℃・6日間及び80℃・5日間とした。

供試種子数は、各処理区当たり400粒とし、対照として無処理区を設けた。

処理後直ちに、種子を50.5×34×7.5cmの播種箱の土壌床に100粒づつ播種し、温室内（20～27℃）でその後の生育状況を観察した。

生育状況を評価する指標として、子葉の展開が見られた個体数、生育の著しい遅延または葉に奇型が認められた個体数及び生体重を調査した。

子葉が展開した個体数は、キュウリについては播種後4, 6, 8及び11日目に、トマトについては5, 8, 11, 14及び17日目に調査した。生育の著しい遅延または葉に奇型が見られた個体数については、子葉展開個体数の最終調査日に調べた。生体重については、キュウリでは播種後15日目に、トマトでは33日目に植物体を掘り取り、水洗した後24時間目に、播種した種子100粒当たりの生体重を調べた。

結 果

1. 殺菌試験

供試したそれぞれの菌に対して100%の殺菌効果が得られた。

2. 種子の耐熱性試験

試験の結果を第1～2表に示した。キュウリでは75℃・3日間処理による悪影響は全く見られなかったが、80℃・2日間処理によって生育の著しい遅延または葉に奇型を生じた個体が無処理区より多かった。子葉の展開が見られた個体数は、播種後4日目では無処理区との間に有意差が認められたが、6日目以降では差は認められなかった。生体重では無処理区との差は見られなかった。

トマトに対する75℃・6日間処理では、無処理区に比べ子葉の展開がやや遅れたが、生育の著しい遅れまたは葉に奇型が見られた個体数においては有意差はなく、生体重は無処理区よりむしろ重かった。80℃・5日間処理では、播種後11日目までに子葉が展開した個体数は、無処理区に比べて少なかったが、14日目以降では差は認められなかった。生育の遅延や葉に奇型が見られた個体数は、無処理区との間に有意差が認められた。処理区での生体重の測定結果は、処理によって生育量が有意に減少したことを示している。

処理前の各種子の含水率は、キュウリで6.6%、トマトで8.7%であった。

III 考 察

基礎試験及び実用化試験の結果から、*F. solani* f. sp. *cucurbitae* に汚染されたキュウリ種子に対する乾熱処理は、実用化の可能性がかなり高いことが示唆された。特に75℃・3日間処理では、種子の発芽及び土壌床による生育に悪影響がなかったことから、実用化が有望である。

キュウリ種子に対する80℃・2日間処理では、土壌床による生育試験において、無処理区に比べて子葉の展開がやや遅れ、生育の著しい遅延・葉の奇型個体数が多い結果となった。しかし、生体重は無処理区と有意差がなかったので、この条件で処理した種子を圃場に播種し、収穫まで実際に栽培を行って、生育状況を調査した上で、改めて実用化の可能性について判断するのが妥当であろう。

本試験においては各菌の分生孢子懸濁液に種子を浸漬する方法によって汚染種子を調製したが、野村ら

第1表 種子の乾熱処理がキュウリの生育に及ぼす影響^a

処 理 条 件		反復	子葉が展開した個体数				生育遅延・葉の奇型がみられた個体数	生体重(g) ^b
			播種後4日目	播種後6日後	播種後8日目	播種後11日目		
75℃・3日	処 理	1	0	76	86	91	12	143
		2	0	81	94	94	7	151
		3	0	81	88	94	8	159
		4	0	82	93	93	8	146
		平均	0	80	90.3	93	8.8	149.8 ^c
	無 処 理	1	0	3	91	97	2	173
		2	0	0	79	96	9	134
		3	0	0	82	94	6	144
		4	0	16	86	93	7	170
		平均	0	4.8	84.5	95	6	155.3 ^d
	80℃・2日	1	41	84	84	92	19	231
		2	57	96	96	97	13	275
		3	46	88	94	94	19	254
		4	47	90	91	94	17	220
		平均	47.8*	89.5	91.3	94.3	17*	245 ^e
	無 処 理	1	81	93	94	96	3	299
		2	78	97	97	99	11	301
		3	80	98	99	96	6	290
		4	80	92	93	93	5	247
		平均	79.8	95	95.8	96	6.3	284.3 ^e

^a 各反復ごとに種子100粒を土壌床に播種した結果^b 播種後16日目^c 1984年4月25日播種, 5月10日堀取^d 1984年4月26日播種, 5月11日堀取^e 1984年6月5日播種, 6月20日堀取

* 無処理区と有意差あり(5%水準)

(1977)は、この方法によって得たユウガオつる割病菌の人工汚染種子では、果実腐敗種子に比べて短時間で殺菌効果が現われることを報告している。しかし本試験のキュウリ種子では、分生孢子懸濁液に種子を浸漬した場合であっても、向ら(1975)がキュウリつる割病菌による果実腐敗種子で観察したのと同様に、*Fusarium* 菌が胚乳部に菌糸の状態で潜伏しているのを確認しており、自然汚染種子の汚染状態に近いものと判断した。

しかし *V. tricolor* 汚染のトマト種子の場合、種子の発根部に本菌の付着が認められたが、種子の他の部分で菌の存在が確認できず、汚染状態は自然汚染種子と異なっていたことも考えられる。従って *V. tricolor* に対する乾熱処理の実用化については、本試験で用いた汚染種子における病原菌の存在状態をさらに調査した上で、検討することとしたい。

種子乾熱消毒の実用化に当たって、解決しなければならない最も大きな問題は、大量の種子をいかに効率的かつ均一に加熱するかという点である。本実用化試

験で用いた、種子の機械的攪拌による方法の他に、種子を熱風で吹き上げる方法(流動層加熱法)が考えられる。この方法の特徴は処理対象物が均一かつ迅速に加熱されることにあり、Evans ら(1983)はこの方法によって、大量の穀物(毎時50t)の貯蔵害虫を殺虫する技術を確立している。これを病原菌汚染種子の消毒に利用することも考えられる。

摘 要

植物検疫上特に重要な種子伝染性病原菌である *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae*, *Verticillium tricolor* 及び *Colletotrichum capsici* に対する乾熱殺菌効果を調べた。

各菌の分生孢子懸濁液にそれぞれ浸漬風乾して得たキュウリ、トマト及びトウガラシ種子に対して乾熱処理を行った結果、*Fusarium* 菌は75℃・3日間及び80℃・2日間の処理で、*Verticillium* 菌は75℃・6日間及び80℃・5日間の処理で、また *Colletotrichum* 菌は85℃・5日間の処理でそれぞれ100%の殺菌効果が得

第2表 種子の乾熱処理がトマトの生育に及ぼす影響^a

処 理 条 件		反復	子 葉 が 展 開 し た 個 体 数					生育遅延・葉 の奇型が見ら れた個体数	生体重(g) ^b
			播種後 5日目	播種後 8日目	播種後 11日目	播種後 14日目	播種後 17日目		
75℃・6日	処 理	1	0	47	93	93	94	3	181
		2	0	34	90	94	94	1	236
		3	0	29	97	100	100	0	174
		4	0	35	94	96	96	5	245
		平均	0	36.3*	93.5	95.8	96	2.3	209 ^c
	無 処 理	1	0	41	84	97	97	6	102
		2	0	94	98	97	97	0	170
		3	0	91	97	97	97	2	132
		4	0	93	99	99	99	0	148
		平均	0	79.8	94.5	97.5	97.5	2	138 ^d
80℃・5日	処 理	1	0	52	91	96	96	5	148
		2	0	61	90	96	96	6	125
		3	0	69	96	99	99	10	140
		4	0	44	90	97	97	3	128
		平均	0*	56.5*	91.8*	97	97	6*	135.3 ^e
	無 処 理	1	17	98	98	98	98	0	225
		2	16	97	97	97	97	1	193
		3	37	98	98	98	98	1	185
		4	6	98	99	99	99	2	190
		平均	19	97.8	98	98	98	1	198.3 ^e

^a 各反復ごとに種子100粒を土壌床に播種した結果^b 播種後34日目^c 1984年4月25日播種, 5月28日掘取^d 1984年4月26日播種, 5月29日掘取^e 1984年6月6日播種, 7月9日掘取

* 無処理区と有意差あり(5%水準)

られた。さらに乾熱処理が各種子の発芽に及ぼす影響を調べた結果, キュウリ及びトマト種子の発芽に対する悪影響が少なかったことからこれらの種子を用いて, 種子を攪拌しながら加熱できるように改良した乾熱器による *Fusarium* 菌及び *Verticillium* 菌の殺菌試験を行った。また土壌床におけるキュウリ及びトマトの生育試験も実施し, 種子消毒法として乾熱処理が実用上利用可能かどうかを調べた。

この小規模な実用化試験により, *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* に汚染されたキュウリ種子に対する乾熱処理は, その殺菌効果が十分であったこと及び種子の発芽・生育への影響が少なかったことからみて, 実用化できると考える。

引用文献

- International Seed Testing Association (1980) [渡辺 諭, 歌田明子訳, 1983] 国際種子検査規程, 農林水産省農蚕園芸局種苗課, 150 p.
- 野村良邦・竹内昭士郎 (1977) 作成方法を異にするユウガオつる割病菌人工汚染種子の種子消毒効果, 関東病虫研報, 24: 36-37.
- 向 秀夫・鍵渡徳次・陶山一雄・湯沢久男 (1975) キュウリつる割病菌の種子伝染に関する2, 3の知見, 関東病虫研報, 22: 40.
- EVANS, D. E., G. R. THORPE and T. DERMOTT (1983) The disinfestation of wheat in a continuous-flow fluidized bed. J. stored Prod. Res. 19 (3): 125-137.