

## エチレンオキサイドくん蒸による 植物病原菌類の殺菌試験

川 上 房 男\*

神戸植物防疫所

The Sterilizing Effectiveness of Ethylene Oxide Fumigation on Plant-Pathogens. Fusao KAWAKAMI (Kobe Plant Protection Station). *Res. Bull. Pl. Prot. Japan* **22**; 123-128 (1986).

**Abstract:** Ethylene Oxide (EO) fumigation was carried out in order to sterilize various species of plant-pathogens in the desicator of 22.45 l capacity at normal atmospheric pressure (NAP). EO dosage-exposure time and temperature of the fumigation for complete sterilizing on plant-pathogens were as follows: (1) Fungal conidia on the filter paper disks, Ergot and Sclerotia in the petri dishes: EO 40 g/m<sup>3</sup>-24 h at 20-23°C, (2) Bacteria on the filter paper disks: EO 40 g/m<sup>3</sup>-48 h at 20-23°C, (3) Fungi in dry plants: EO 40 g/m<sup>3</sup>-48 h at 20°C and (4) Rhizosphere micro-organisms in dry soils: EO 200 g/m<sup>3</sup>-72 h at 20-25°C, respectively. Fruit body of wood decay fungi, however, was not completely sterilized within the dose-exposure range of up to EO 200 g/m<sup>3</sup>-96 h or 300 g/m<sup>3</sup>-48 h at 20-25°C.

### はじめに

学術研究のため農林水産大臣の特別輸入許可を得て外国から導入されている輸入禁止品には、土壌が付着したせんたい類・地衣類・人骨、風乾り病植物、木材腐朽菌など植物病原菌が対象となっているものが非常に多い。

これらの輸入禁止品は、植物病原菌類の散逸を防止する必要性から、その輸入時あるいは研究後に速やかにオートクレーブ殺菌処理（120°C・20分間以上）を行うことが義務付けられているが、この処理によって利用しようとする輸入禁止品の状態が変化して資料的価値が消失したり、その後の保存が困難であるなどの問題が生じている。

そこで、医療・畜産・食品製造などの領域ですでに実用化されているエチレンオキサイド（以下「EO」という）くん蒸（長野，1971；長野ら，1977）が、植物検疫の分野でみられる植物などに寄生あるいは付着している微生物や木材腐朽菌（キノコ）のように菌体そのものが病原体であるような微生物に対しても殺菌効果が得られ、オートクレーブ殺菌代替法として採用が可能かどうか検討したので報告する。

本試験を実施するにあたり、木材腐朽菌の採集にご協力いただいた滋賀大学教育学部横山和正助教授に厚くお礼申し上げる。

### 材料および方法

#### 1. 供試菌および試料の調整法

(1) 表面に付着した糸状菌および細菌

当所で保存中の糸状菌15属22種および細菌4属15種を供試した。

糸状菌は27°Cで7日間PDA培地で、細菌は30°Cで5日間肉汁寒天培地でそれぞれ試験管培養した後殺菌水10 mlを加えて懸濁液を作り、この菌液中に径5 mmの濾紙ディスクを浸した。次いでスライドグラス上に並べて無菌箱内で24時間自然乾燥させたものをそのまま供試した。麦角菌は小麦に混入していた麦角を採集し、*Corticium* 属および *Sclerotinia* 属の菌核は27°Cで30日間PDA平板培地で培養して形成させた菌核をそれぞれペトリ皿に入れて供試した。

(2) 風乾り病植物

病斑が認められるブロムグラス (*Bromus unioloides*)、ギンギン (*Rumex japonica*)、カラスノエンドウ (*Vicia sativa*) など8種の植物の茎葉を採集し、2～3週間実験室に放置して自然乾燥させたものを供試した。

\* 現在 横浜植物防疫所調査研究部調査課

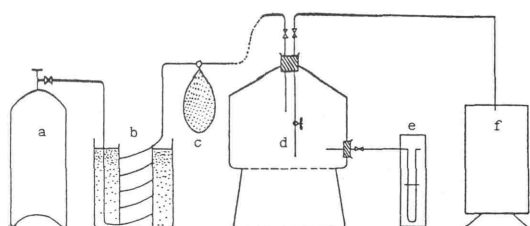


Fig. 1. Diagrammatic representation of an ethylene oxide sterilizer

- a: E.O. Gas Container
- b: Evaporator (60°C)
- c: Expansion Bag
- d: Desiccator (22.45 l)
- e: Manometer
- f: Vacuum Pump

### (3) 植物に付着した土壌

水稻、芝および苔を根まわり土壌が付着したまま採集し、35°Cの定温乾燥器で8~12時間乾燥させたものをそのまま供試した。

### (4) 木材腐朽菌（キノコ）

カワラタケ (*Coriolus versicolor*)、コフキサルノコシカケ (*Ganoderma applanatum*)、マンネンタケ (*Ganoderma lucidum*) など10種のキノコを採集し、植物に付着した土壌と同様の方法で乾燥させたものをそのまま供試した。

## 2. 供試薬剤

液化炭酸社製のエボン12（成分： $C_2H_4O$  12wt%,  $CCl_2F_2$  88wt%）を使用した。

## 3. くん蒸装置およびくん蒸方法

エボン12を用いて投薬する場合は、EOを単体で使用する場合に比べて8倍強の投薬量になるので、図に示した減圧投薬装置を使用して投薬した（福島ら、1977）。各供試材料を22.45 lのデシケーターに入れ密閉して、容器内を投薬量に相当する水（水銀）柱圧まで水流ポンプで減圧した。次いで容器内の圧力が元に戻るまで60°Cの気化器を通してガスを導入し一定時間くん蒸した。くん蒸は各試験区ともに3回反復した。くん蒸温度20°C、25°Cおよび28°C区はデシケーターを定温器に入れ、その他の区は室温でくん蒸した。ガス濃度はデシケーター内のガスを注射器で一定量採取し、希釈してEO用の検知管で測定した。

## 4. くん蒸基準

各試験の結果の表に示した投薬量、時間、温度の組み合わせでくん蒸した。

## 5. 殺菌効果の調査

くん蒸後は直ちに水流ポンプを使用して高濃度ガスを排出し供試材料を取り出した。濾紙ディスク付着糸状菌はそのまま、麦角・菌核は半分に切断し、風乾り病植物は病斑部を1~2 cm大に切り取り、それぞれ1試験区当たりPDA平板培地3枚に10個体を置床し、27°Cで7日間培養して菌糸の発育の有無を調査した。培養後に菌糸の発育が認められなかった場合に殺菌されたものとした。

濾紙ディスク付着細菌および植物の根まわりに付着した土壌については、くん蒸処理により菌数が大幅に減少した場合に信頼度が低くなることが考えられたため、ディスクは3枚、土壌は2 gを用い、それぞれ殺菌水で10倍段階希釈してその1 mlを肉汁寒天平板培地5枚に広げて30°Cで5日間培養しコロニーの発育数を調査し、結果としては処理を行ったディスク1枚当たり、または土壌1 g当たりの細菌数を算出した。木材腐朽菌は子実体の中心部を切り取って $\alpha$ -ナフトール加用PDA平板培地3枚に10個体を置床し、27°Cで7日間培養してラッカーゼ反応および菌糸の発育の有無を調査した。

各試験の対照区は処理区とすべて同様に取り扱った。

## 結果および考察

### (1) 表面に付着した糸状菌および細菌

温度20~23°Cにおける濾紙ディスク付着糸状菌胞子、麦角・菌核に対するくん蒸結果を表1-1に、濾紙ディスク付着細菌に対するくん蒸結果を表1-2にそれぞれ示した。

糸状菌はEOを1 m<sup>3</sup>当たり10 g投薬して24時間くん蒸した区（以下「10 g-24 h」と略記。）では殺菌効果はまったく認められないが、20 g-24 h区で55.7%、30 g-24 h区で71.6%が殺菌され、40 g-24 h区および50 g-24 h区で完全殺菌された。供試菌のEOに対する感受性の傾向をみると、麦角・*Corticium rolfii*の菌核が最も低く、次いでDematiaceae科の*Alternaria*・*Curvularia*・*Helminthosporium*属の菌、そしてMucedinaceae科の*Botrytis*・*Penicillium*・*Verticillium*属の順であった。

細菌では、投薬量が多くなるにつれて全供試菌ともに生存菌数が徐々に減少しており、40 g-48 h区で生存菌は検出されなくなった。各供試菌について、生存菌数平均値の対数値を縦軸に、濃度・時間積を横軸にとっ

て生存曲線を作成したところ直線があてはめられ、EO くん蒸に対し細菌は対数的に死滅することが確認された（芝崎，1977）。

(2) 植物に寄生あるいは付着した糸状菌

風乾植物の種類、分離菌および 20°C におけるくん蒸結果は表 2 のとおりである。

30 g-48 h 区で 70%，30 g-72 h 区で 80.8% それぞれ殺菌されたものの、かなりの生存菌がみられたが、40 g-48 h 区では対照区の風乾植物から分離される 12 属

の糸状菌はすべて殺菌された。殺菌効果に及ぼす温度の影響をみるため設けた 28°C・40 g-24 h 区では 99% 以上の殺菌率が得られ、温度が高くなれば殺菌効果は顕著であることがわかった。

(3) 植物に付着した土壌中の細菌・糸状菌

くん蒸温度 20~25°C における土壌中の細菌・糸状菌に対するくん蒸結果の表 3 のとおりで、土壌の種類、処理区ごとの細菌の全菌数の計数値を示した。土壌からは主として *Bacillus* 属が検出されたほか多種類の

**Table 1-1.** Effect of sterilizing fungal conidia<sup>a)</sup>, ergot and sclerotia with ethylene oxide fumigation under NAP at 20-30°C

| Fungi                                         | Dosage (g/m <sup>3</sup> )-Exposure Time (h) |                         |                         |                         |                         | Control |
|-----------------------------------------------|----------------------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|---------|
|                                               | 10 g-24 h <sup>e)</sup>                      | 20 g-24 h <sup>o)</sup> | 30 g-24 h <sup>g)</sup> | 40 g-24 h <sup>h)</sup> | 50 g-24 h <sup>i)</sup> |         |
| <i>Alternaria kikuchiana</i>                  | 30/ 30 <sup>b,c)</sup>                       | 30/ 30                  | 13/ 30                  | 0/ 30                   | 0/ 30                   | 30/ 30  |
| <i>Alternaria solani</i>                      | 30/ 30                                       | 30/ 30                  | 21/ 30                  | 0/ 30                   | 0/ 30                   | 30/ 30  |
| <i>Aspergillus niger</i>                      | 30/ 30                                       | —                       | —                       | 0/ 30                   | 0/ 30                   | 30/ 30  |
| <i>Botrytis cinerea</i>                       | 30/ 30                                       | 14/ 30                  | 5/ 30                   | 0/ 30                   | 0/ 30                   | 30/ 30  |
| <i>Botrytis allii</i>                         | 30/ 30                                       | 5/ 30                   | 2/ 30                   | 0/ 30                   | 0/ 30                   | 30/ 30  |
| <i>Colletotrichum atramentarium</i>           | 30/ 30                                       | 7/ 30                   | 2/ 30                   | 0/ 30                   | 0/ 30                   | 30/ 30  |
| <i>Curvularia lunata</i>                      | 30/ 30                                       | 30/ 30                  | 23/ 30                  | 0/ 30                   | 0/ 30                   | 30/ 30  |
| <i>Curvularia nodulosus</i>                   | 30/ 30                                       | 30/ 30                  | 19/ 30                  | 0/ 30                   | 0/ 30                   | 30/ 30  |
| <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp.cucumerinum    | 30/ 30                                       | 3/ 30                   | 1/ 30                   | 0/ 30                   | 0/ 30                   | 30/ 30  |
| <i>Fusarium moniriforme</i>                   | 30/ 30                                       | 14/ 30                  | 0/ 30                   | 0/ 30                   | 0/ 30                   | 30/ 30  |
| <i>Fusarium roseum</i> Graminearum            | 30/ 30                                       | 7/ 30                   | 4/ 30                   | 0/ 30                   | 0/ 30                   | 30/ 30  |
| <i>Helminthosporium monocerus</i>             | 30/ 30                                       | 30/ 30                  | 21/ 30                  | 0/ 30                   | 0/ 30                   | 30/ 30  |
| <i>Helminthosporium spiciferum</i>            | 30/ 30                                       | 30/ 30                  | 23/ 30                  | 0/ 30                   | 0/ 30                   | 30/ 30  |
| <i>Penicillium italicum</i>                   | 30/ 30                                       | 1/ 30                   | 0/ 30                   | 0/ 30                   | 0/ 30                   | 30/ 30  |
| <i>Phoma citricarpa</i>                       | 30/ 30                                       | 3/ 30                   | 0/ 30                   | 0/ 30                   | 0/ 30                   | 30/ 30  |
| <i>Rhizopus stolonifer</i>                    | 30/ 30                                       | 1/ 30                   | 0/ 30                   | 0/ 30                   | 0/ 30                   | 30/ 30  |
| <i>Trichoderma viride</i>                     | 30/ 30                                       | 3/ 30                   | 0/ 30                   | 0/ 30                   | 0/ 30                   | 30/ 30  |
| <i>Verticillium albo-atrum</i>                | 30/ 30                                       | 0/ 30                   | 0/ 30                   | 0/ 30                   | 0/ 30                   | 30/ 30  |
| <i>Verticillium dahliae</i>                   | 30/ 30                                       | 0/ 30                   | 0/ 30                   | 0/ 30                   | 0/ 30                   | 30/ 30  |
| <i>Claviceps purpurea</i>                     | 30/ 30                                       | 30/ 30                  | 30/ 30                  | 0/ 30                   | 0/ 30                   | 30/ 30  |
| <i>Corticium rolfsii</i>                      | 30/ 30                                       | 30/ 30                  | 30/ 30                  | 0/ 30                   | 0/ 30                   | 30/ 30  |
| <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> <sup>d)</sup> |                                              |                         |                         |                         |                         |         |
| 1                                             | 30/ 30                                       | 2/ 30                   | 0/ 30                   | 0/ 30                   | 0/ 30                   | 30/ 30  |
| 2                                             | 30/ 30                                       | 3/ 30                   | 0/ 30                   | 0/ 30                   | 0/ 30                   | 30/ 30  |
| 3                                             | 30/ 30                                       | 6/ 30                   | 2/ 30                   | 0/ 30                   | 0/ 30                   | 30/ 30  |
| Total                                         | 720/720                                      | 309/690                 | 196/690                 | 0/720                   | 0/720                   | 720/720 |

<sup>a)</sup> Test sample with Fungal conidia 10<sup>2-4</sup> on the filter paper disks were used.

<sup>b)</sup> Number of paper disks survived was counted from mycelial growth on PDA after incubation for 7 days at 27°C.

<sup>c)</sup> Number of paper disks survived/Total number of paper disks tested.

<sup>d)</sup> The cultures were isolated from following original host plants, 1: Kidney bean, 2: Pumpkin seed, 3: Radish seed.

<sup>e, f, g, h, i)</sup> Gas concentration after fumigation is 5.6, 14.2, 21.5, 27.8 and 34.8 mg/l, respectively.

Table 1-2. Effect of sterilizing bacteria<sup>a)</sup> with ethylene oxide fumigation under NAP at 20-30°C

| Bacteria                            | Dosage (g/m <sup>3</sup> )-Exposure Time (h) |                         |                         |                         |                         | Control             |
|-------------------------------------|----------------------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------|
|                                     | 10 g-24 h <sup>c)</sup>                      | 20 g-24 h <sup>d)</sup> | 30 g-24 h <sup>e)</sup> | 40 g-24 h <sup>f)</sup> | 40 g-48 h <sup>g)</sup> |                     |
| <i>Corynebacterium michiganense</i> |                                              |                         |                         |                         |                         |                     |
| pv. michiganense                    | 0.8×10 <sup>4b)</sup>                        | 7.5×10 <sup>3</sup>     | 4.1×10 <sup>2</sup>     | 2.5×10 <sup>1</sup>     | 0                       | 9.5×10 <sup>5</sup> |
| pv. sepedonicum                     | 0.6×10 <sup>4</sup>                          | 8.6×10 <sup>3</sup>     | 7.0×10 <sup>2</sup>     | 4.0×10 <sup>1</sup>     | 0                       | 2.6×10 <sup>5</sup> |
| pv. rathayi                         | 1.4×10 <sup>4</sup>                          | 2.1×10 <sup>3</sup>     | 1.6×10 <sup>2</sup>     | 1.5×10 <sup>1</sup>     | 0                       | 1.5×10 <sup>5</sup> |
| <i>Erwinia carotovora</i> subsp.    |                                              |                         |                         |                         |                         |                     |
| atroceptica                         | 4.4×10 <sup>5</sup>                          | 1.3×10 <sup>4</sup>     | 4.0×10 <sup>3</sup>     | 1.6×10 <sup>2</sup>     | 0                       | 5.6×10 <sup>7</sup> |
| <i>Pseudomonas cichorii</i>         | 1.2×10 <sup>4</sup>                          | 1.2×10 <sup>3</sup>     | 0.8×10 <sup>2</sup>     | 0.5×10 <sup>2</sup>     | 0                       | 3.1×10 <sup>5</sup> |
| <i>Pseudomonas syringae</i>         | 0.6×10 <sup>4</sup>                          | 8.1×10 <sup>3</sup>     | 4.8×10 <sup>2</sup>     | 5.0×10 <sup>1</sup>     | 0                       | 1.5×10 <sup>5</sup> |
| pv. lachrymans                      | 0.6×10 <sup>4</sup>                          | 9.2×10 <sup>3</sup>     | 3.0×10 <sup>2</sup>     | 1.5×10 <sup>2</sup>     | 0                       | 2.1×10 <sup>5</sup> |
| pv. maculicola                      | 1.1×10 <sup>4</sup>                          | 4.5×10 <sup>3</sup>     | 6.5×10 <sup>2</sup>     | 3.5×10 <sup>1</sup>     | 0                       | 4.2×10 <sup>5</sup> |
| <i>Xanthomonas campestris</i>       |                                              |                         |                         |                         |                         |                     |
| pv. campestris                      | 0.7×10 <sup>4</sup>                          | 1.2×10 <sup>3</sup>     | 1.8×10 <sup>2</sup>     | 1.0×10 <sup>2</sup>     | 0                       | 4.5×10 <sup>5</sup> |
| pv. carotae NEC 806                 | 1.5×10 <sup>4</sup>                          | 0.2×10 <sup>3</sup>     | 0.5×10 <sup>2</sup>     | 1.5×10 <sup>2</sup>     | 0                       | 3.3×10 <sup>5</sup> |
| pv. carotae C 230                   | 1.4×10 <sup>4</sup>                          | 6.3×10 <sup>3</sup>     | 1.5×10 <sup>2</sup>     | 1.6×10 <sup>1</sup>     | 0                       | 4.5×10 <sup>5</sup> |
| pv. citri                           | 0.6×10 <sup>4</sup>                          | 6.5×10 <sup>3</sup>     | 3.1×10 <sup>2</sup>     | 1.0×10 <sup>1</sup>     | 0                       | 4.8×10 <sup>5</sup> |
| pv. hyacinthi                       | 1.7×10 <sup>4</sup>                          | 2.5×10 <sup>3</sup>     | 5.6×10 <sup>2</sup>     | 1.5×10 <sup>1</sup>     | 0                       | 2.5×10 <sup>5</sup> |
| pv. pruni                           | 1.8×10 <sup>4</sup>                          | 4.8×10 <sup>3</sup>     | 6.1×10 <sup>2</sup>     | 6.0×10 <sup>1</sup>     | 0                       | 3.1×10 <sup>5</sup> |
| pv. vesicatoria                     | 0.8×10 <sup>4</sup>                          | 8.0×10 <sup>3</sup>     | 5.0×10 <sup>2</sup>     | 1.5×10 <sup>2</sup>     | 0                       | 2.5×10 <sup>5</sup> |

a) Test sample with 10<sup>5-7</sup> Bacteria on the filter paper disks were used.

b) Number of bacteria per one disk were calculated from the serial dilution tests.

c,d,e,f,g) Gas concentration after fumigation is 5.6, 14.2, 21.5, 27.8 and 27.4 mg/l, respectively.

細菌・糸状菌が検出されたが、これらの菌は薬量の増加とともに徐々に菌数が減少し、糸状菌は 60 g-48 h 区でごくわずかに認められたものの 80 g-48 h 区では認められなくなった。

細菌は 150 g-48 h 区で *Bacillus* 属だけが検出され、この *Bacillus* 属も 200 g-27 h 区ではまったく検出されなかった。

供試した 3 種類の土壌のうち *Bacillus* 属細菌の検出菌数が多かった稲株付着土壌について、完全殺菌に要する EO 濃度・時間積を生存曲線から計算すると、くん蒸温度 20~25°C において約 10,000 gh/m<sup>3</sup> と推定された。土壌中に生息する細菌の殺菌は、表面に付着した細菌に比べて極めて多くの薬量と時間を要することがわかった。

#### (4) 木材腐朽菌 (キノコ)

木材腐朽菌に対するくん蒸結果は表 4 のとおりであり、殺菌効果の判定は、ラッカーゼ反応が認められないものを完全殺菌されたものとみなした。ラッカーゼ

反応はすべての供試菌および処理区においても認められ、200 g-96 h 区および 300 g-48 h 区の高濃度または長時間のくん蒸においても殺菌効果は認められず、キノコのような肉厚の菌体の殺菌は難しいと考えられる。ただ、ラッカーゼ反応は薬量および時間が多くなるにつれて鮮明な濃い紫色からぼやけた淡い紫色に変わっており反応の程度に差がみられること、および 200 g-96 h 区・300 g-48 h 区においては一部の菌には菌糸の発育が認められなくなっていることから、くん蒸温度を上げたり、減圧くん蒸を行うなどのくん蒸方法を採用すれば殺菌効果が得られる可能性がある。

以上の結果から、EO くん蒸により完全殺菌が得られる薬量、時間および温度は、表面に付着した糸状菌が 40 g-24 h (20-23°C)、表面に付着した細菌が 40 g-24 h (20-23°C)、植物に寄生あるいは付着した糸状菌が 40 g-24 h (20°C) および植物に付着した土壌中の細菌・糸状菌が 200 g-72 h (20-25°C) であることがわかった。

**Table 2.** Effect of sterilizing fungi infected dry plants with ethylene oxide fumigation under NAP at 20-30°C

| Dry Plants               | Fungi isolated     | Dosage (g/m <sup>3</sup> )-Exposure Time (h) |                         |                         |                           | Control |
|--------------------------|--------------------|----------------------------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------------|---------|
|                          |                    | 30 g-48 h <sup>d)</sup>                      | 30 g-72 h <sup>e)</sup> | 40 g-48 h <sup>f)</sup> | 40 g-24 h <sup>a,g)</sup> |         |
| Bromus unioloides        | Colletotrichum sp. | 8/ 30 <sup>b,c)</sup>                        | 5/ 30                   | 0/ 30                   | 0/ 30                     | 30/ 30  |
|                          | Alternaria sp.     |                                              |                         |                         |                           |         |
| Cinnamomum japonicum     | Pestalotia sp.     | 15/ 30                                       | 13/ 30                  | 0/ 30                   | 0/ 30                     | 30/ 30  |
|                          | Colletotrichum sp. |                                              |                         |                         |                           |         |
| Citrus sp.               | Alternaria sp.     | 3/ 30                                        | 0/ 30                   | 0/ 30                   | 0/ 30                     | 30/ 30  |
|                          | Phyllosticta sp.   |                                              |                         |                         |                           |         |
| Phyllostachy bambusoides | Mycosphaerella sp. | 5/ 30                                        | 3/ 30                   | 2/ 30                   | 0/ 30                     | 30/ 30  |
|                          | Phyllosticta sp.   |                                              |                         |                         |                           |         |
|                          | Aspergillus sp.    |                                              |                         |                         |                           |         |
| Quercus acutissima       | Pestalotia sp.     | 4/ 30                                        | 1/ 30                   | 0/ 30                   | 0/ 30                     | 30/ 30  |
|                          | Apiosporium sp.    |                                              |                         |                         |                           |         |
|                          | Aspergillus sp.    |                                              |                         |                         |                           |         |
| Rumex japonicus          | Alternaria sp.     | 10/ 30                                       | 6/ 30                   | 0/ 30                   | 0/ 30                     | 30/ 30  |
|                          | Cladosporium sp.   |                                              |                         |                         |                           |         |
|                          | Exsobasidium sp.   |                                              |                         |                         |                           |         |
| Vicia sativa             | Ascochyta sp.      | 8/ 30                                        | 8/ 30                   | 1/ 30                   | 0/ 30                     | 30/ 30  |
|                          | Botrytis sp.       |                                              |                         |                         |                           |         |
| Vitis vinifera           | Elsinoe sp.        | 19/ 30                                       | 15/ 30                  | 0/ 30                   | 0/ 30                     | 30/ 30  |
| Total                    |                    | 72/240                                       | 46/240                  | 3/240                   | 0/240                     | 240/240 |

<sup>a)</sup> Fumigation temperature was 28°C.<sup>b,c)</sup> Number of uncontrolled/Number of treated

Number of infected tissues was counted from mycelial growth on PDA after incubation for 7 days at 27°C.

<sup>d,e,f,g)</sup> Gas concentration after fumigation is 18.4, 18.1, 24.8 and 25.5 mg/l, respectively.**Table 3.** Effect of sterilizing rhizosphere microorganisms from soils of paddy stump, lawn and moss with ethylene oxide fumigation under NAP at 20-25°C

| Soil               | Dosage (g/m <sup>3</sup> )-Exposure Time (h) |                         |                         |                         |                          | Control               |
|--------------------|----------------------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|-----------------------|
|                    | 60 g-48 h <sup>b)</sup>                      | 30 g-48 h <sup>c)</sup> | 30 g-72 h <sup>d)</sup> | 40 g-48 h <sup>e)</sup> | 200 g-72 h <sup>f)</sup> |                       |
| Soil (paddy stump) | —                                            | 2.5 × 10 <sup>5a)</sup> | 3.2 × 10 <sup>4</sup>   | 1.3 × 10 <sup>3</sup>   | 0                        | 3.2 × 10 <sup>7</sup> |
| Soil (lawn)        | 5.1 × 10 <sup>4</sup>                        | 8.0 × 10 <sup>3</sup>   | 4.5 × 10 <sup>3</sup>   | 8.0 × 10 <sup>1</sup>   | 0                        | 4.2 × 10 <sup>6</sup> |
| Soil (moss)        | 1.3 × 10 <sup>3</sup>                        | 1.6 × 10 <sup>2</sup>   | 3.2 × 10 <sup>1</sup>   | 1.2 × 10 <sup>1</sup>   | 0                        | 1.6 × 10 <sup>4</sup> |

<sup>a)</sup> Number of Bacteria per one gram of dry soils was calculated from the colonies formed on Beef Extract Agar after incubation for 5 days at 30°C.<sup>b,c,d,e,f)</sup> Gas concentration after fumigation is 42.7, 58.8, 73.5, 112.0 and 152.8 mg/l, respectively.

Table 4. Effect of sterilizing wood decay fungi with ethylene oxide fumigation under NAP at 25°C

| Wood decay Mu9hrooms    | Dosage (g/m³)-Exposure Time (h) |                 |                          |   |                          |   |                          |   | Control |   |
|-------------------------|---------------------------------|-----------------|--------------------------|---|--------------------------|---|--------------------------|---|---------|---|
|                         | 200 g-48 h <sup>c)</sup>        |                 | 200 g-72 h <sup>d)</sup> |   | 200 g-96 h <sup>e)</sup> |   | 300 g-48 h <sup>f)</sup> |   |         |   |
|                         | L <sup>a)</sup>                 | M <sup>b)</sup> | L                        | M | L                        | M | L                        | M | L       | M |
| Coriolus versicolor     | ++                              | +               | ++                       | + | +                        | + | +                        | — | ++      | + |
| Elfvigia applanata      | ++                              | +               | ++                       | + | ++                       | + | +                        | + | ++      | + |
| Ganoderma lucidum       | ++                              | +               | ++                       | + | ++                       | + | +                        | + | ++      | + |
| Gloeophyllum saepiarium | ++                              | +               | ++                       | + | +                        | + | +                        | — | ++      | + |
| Lenzites betulina       | ++                              | +               | ++                       | + | +                        | + | +                        | — | ++      | + |
| L. edodes               | ++                              | +               | ++                       | + | +                        | — | +                        | — | ++      | + |
| Onnia orientalis        | ++                              | +               | ++                       | + | +                        | + | +                        | — | ++      | + |
| Poria vesipora          | ++                              | +               | ++                       | + | +                        | + | +                        | — | ++      | + |
| Suillus aeruginascens   | ++                              | +               | ++                       | + | +                        | — | +                        | — | ++      | + |
| Trametes sanguinea      | ++                              | +               | ++                       | + | ++                       | + | +                        | + | ++      | + |

a,b) The degree of Laccase reaction (L) and Mycelial growth (M) were graded from L++ : Clear, L+ : Not clear, M+ : Growth, M- : No growth.

a) The degree of Laccase reaction on  $\alpha$ -naphthol PDA medium was compared with that of the untreated control after incubation for 7 days at 27°C.

c,d,e,f) Gas concentration after fumigation is 148.5, 147.7, 147.3 and 234.2 mg/l, respectively.

## 引用文献

- 福島 満・俣木利昭・大久保邦彦・宮田 茂・伊藤 登・  
吉田 隆・楠田義彦 (1977) 酸化エチレンのナタネ  
菌核病菌に対する殺菌効果と実用化への検討, 植防  
研報 14: 71-77.  
米虫節夫・三浦喜温 (1977) 諸環境空間の防菌防黴処  
理に関する研究, 防菌防黴誌 5(11): 11-15.

- 長野整一 (1971) 畜産領域への EO ガス実用化と指  
針, pp. 4-33, 液化炭酸株式会社.  
長野整一・東 量三・鎌田信一・内田和夫・井上市郎・  
宮地宏幸 (1977) *Bacillus larvae* の芽胞細菌に対  
するエチレンオキシドガスの殺菌作用について,  
日獣会誌 30: 554-558.  
芝崎 勲 (1977) 滅菌法, 消毒法第1集 (綿貫 詰・  
實川佐太郎・榊原欣作編), 文光堂 pp. 64-182, 211-  
229.