

灰色カビ病菌における殺菌評価方法の検討

西村 豪志* 富永 大* 土田 潤一郎* 迫田 達也* 溝口 則和** 櫛間 義幸** 永谷 雅子**
(宮崎大学*) (**宮崎県総合農業試験場)

1 はじめに

宮崎県は、農畜産業が盛んであり、農業産出額全国 5 位を誇り、代表的な農産物の一つにスイートピーがある。宮崎県のスイートピーは、全国の約 50 % のシェアを誇り、海外輸出が期待されている品目であるが、一方で灰色かび病等が原因とされる花卉の花シミ発生が問題になっており、市場などからの信頼性の低下が懸念されている。

我々は、放電プラズマにより生成される O_3 や O , OH ラジカル等の活性種を用いて灰色かび病菌の殺菌を目指している。これまで殺菌評価方法としてコロニーカウント法を用いていたが、同法では菌糸の伸びが著しく、コロニー各々の区別ができないという問題があった。そこで本報では、灰色かび病菌の新しい評価方法を検討するために、プラズマ殺菌での効果を実体顕微鏡を用いた菌糸長及び孢子生存率によって評価した。

2 実験方法及び実験装置

本実験では、灰色かび病菌を供試し、CT 値を変化させた場合の耐オゾン性について実験を行った。次に、実体顕微鏡を用いた菌糸長及び孢子生存率による評価を行った。

図 1 に本研究で使用する実験装置の概略を示す。 O_2 ガスをデジタル流量計に通し、放電源の入った容器に流入させ O_3 を発生させる。なお、オゾナイザは 6.25 kHz の高周波電源で駆動した。その後、攪拌用ポンプ、アクリルボックスを介して排出した。各流量は図 1 に示すとおりである。また、 O_3 濃度は処理部において UV オゾン計 (EG-2001B) を用いて 100 ppm とし、処理開始前に濃度を測定した。

灰色かび病菌は、充分培養した培地から分生孢子塊を採取し、孢子が 25×10^4 個/ml の密度になるよう滅菌水量を調節した。その後、直径 12 mm の PDA (Potato Dextrose Agar) 培地に 5 μ l 塗布し、処理開始と同時に培地をグローブボックス内の所定の位置に設置した。処理時間は、 O_3 の曝露量を表す CT 値 (Concentration multiplied by Time) を採用し、無処理 (= 0 ppm \cdot min) のものに加え、100 ppm \cdot min, 200 ppm \cdot min とし、反復数は 1 とした。処理後は 23 $^{\circ}$ C に設定したインキュベーターで培養し、任意の孢子 20 個を 6 時間ごとに 24 時間後まで経過観察し、菌糸長を測定した。また、24 時間後に各条件において 100 個の孢子に対し、菌糸の有無を確認した。

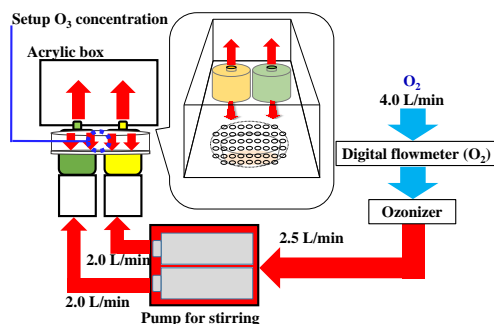


図 1 実験装置

3 結果及び考察

各条件において菌糸が確認された孢子の平均菌糸長の時間変化を図 2 に示す。同図より、各条件で平均菌糸長に差がないことが分かった。この結果より、菌糸が確認されなかった孢子を死滅したとすると、菌糸長は O_3 の曝露量に依存しないことが分かった。この原因として、 O_3 は核を溶かす殺菌原理であるため、核が溶かされなかった孢子は死滅せず、また菌糸を伸ばす器官には影響を与えないからだと考えられる。そのため、菌糸長による評価は不適切であると考えられる。

次に、24 時間後における、無処理の生存した孢子数を 100 % とした孢子生存率を図 3 に示す。CT 値の増加に伴い指数関数的に減少していることが分かった。この結果は、コロニーカウント法で評価した時の結果と同じ特徴である。よって孢子の生存率による評価は適切であると考えられる。

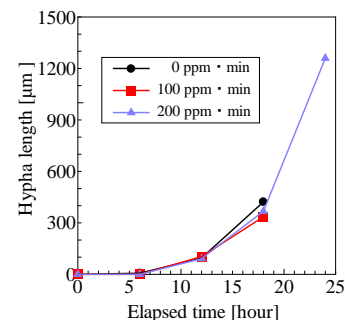


図 2 各条件における平均菌糸長の時間変化

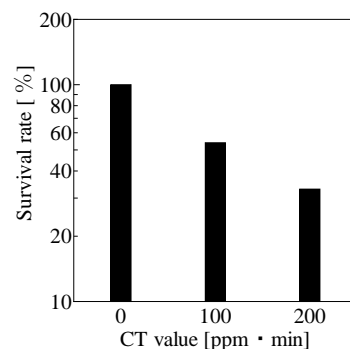


図 3 各条件における 24 時間後の孢子生存率

4 まとめ

本報では、実体顕微鏡を用いた灰色かび病菌の殺菌評価方法を検討するために、プラズマ殺菌での効果を、菌糸長及び孢子生存率によって評価した。その結果、菌糸長は O_3 の曝露量に依存せず、孢子生存率は CT 値の増加に伴い指数関数的に減少していることが分かった。この結果から、孢子の生存率を見ることで灰色かび病菌の殺菌評価が可能であると考えられる。今後、CT 値をさらに増加した場合で孢子の生存率に対する影響を検討する。