リンゴ青かび病菌およびイチゴ灰色かび病菌 に対する ^{60}Co - γ 線照射

照井 陸 奥 生*・原 田 幸 雄

Mutsuo TERUI and Yukio HARADA : Gamma irradiation
on *Penicillium expansum* and *Botrytis cinerea*.

最近放射線を利用して農産食品を貯蔵しようとする研究が相ついで行なわれるようになり、その一部は実用に供されるに至っているが、果実に関しては ^{60}Co による γ 線を用いたレモン、オレンジ、リンゴ、イチゴ、ブドウ、モモおよびトマトについて^{1,2,3,4,5}、また ^{235}U による γ 線を用いたイチゴおよびサクランボについての⁷照射研究がある。

これらの研究により、放射線の致死線量は微生物の種類^{3,4,5}によつて差があるほか、同一種類でも照射時の菌の状態⁴（孢子、菌糸など）および培地^{4,5}などによつてかなり変化することが明らかにされているが、線量率についてはあまり論議されていない。

青果物の放射線による殺菌貯蔵の実用化の段階においては、短時間に大量の照射処理が要求され、かつ線源を有効に活用するため、線源からの距離と照射時間によつて決定された各線量を同時照射する方法がとられなければならない。さらに線量が等しくても異なつた線量率のときに微生物に対して同一照射効果をおよぼすかどうかが問題となる。

著者らはリンゴ果実の放線線照射とその貯蔵性の関係を究明するための基礎的研究として、リンゴ青かび病菌およびイチゴ灰色かび病菌に対して ^{60}Co - γ 線の照射実験を行ない、線量および線量率と殺菌効果などについて多少の知見を得たのでその結果を報告する。

本研究の一部は文部省科学研究費によるもので、実施に当り本学部堀津圭佑氏には東海村原子力研究所における照射実験にご援助をたまわつた。また東京都立アイソトープ総合研究所における照射実験に際しては、同研究所化学生物部飯塚義助部長および岡充主任研究員はじめ部員各位のご協力を仰いだ。ここに記して謝意を表する。

実験材料および方法

供試リンゴ青かび病菌(*Penicillium expansum* Link)

およびイチゴ灰色かび病菌 (*Botrytis cinerea* Pers.) はそれぞれ罹病果から 1962 年に分離されたものである。

照射は *P. expansum* と *B. cinerea* の菌糸および *P. expansum* の分生孢子に対して行なわれた。

菌糸は供試菌をジャガイモ煎汁（2% 蔗糖添加）中で 25°C、3 日間振とう培養後これを取り出し、殺菌蒸留水で十分洗滌し、あらかじめ綿栓殺菌した試験管（径 10 mm、高さ 100 mm、厚さ 1 mm）内の蒸留水中に懸たくさせ照射した。各区 1~2 試験管を用い、照射後菌糸を各試験管から取り出し、それぞれ 4~5 個に分けジャガイモ寒天上に移植し、25°C の恒温器中で 3 週間培養して生育を観察した。

P. expansum の分生孢子は、ジャガイモ寒天上で 10 日間培養された菌そう上のものを白金線でかきとり、あらかじめ綿栓殺菌された管びん（径 12 mm、高さ 40 mm、厚さ 1 mm）壁に付着させて照射した。各区 1~2 管びんを用い、照射後ジャガイモ寒天上に移植、25°C 恒温器中で 3 週間培養して生育を観察した。また一部は懸滴培養による発芽試験を行ない、照射による死滅程度を調べた。

第 1 表 照射実施日時および場所

照 射	日 時	場 所	線 源
第 1 回	1963年 5 月 21~22 日	茨城県東海村 原子力研究所	^{60}Co : 1.6 万 C
第 2 回	1963年 5 月 27~29 日	東京都立アイソト ープ総合研究所	^{60}Co : 0.3 万 C
第 3 回	1963年 12 月 2~4 日	同 上	同 上

これら照射材料はすべて照射 2 日前に弘前市で準備され、線源所在地で照射 1~2 日後弘前の実験室で培養された。

供試放射線は ^{60}Co - γ 線で、照射は上記の研究所で都合 3 回行なわれた。

* 弘前大学農学部

第 2 表 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 線照射 7 日後の *P. expansum* および *B. cinerea* の生育

区	線 量 (万 ラド)	線 量 率 (万ラド/時)	<i>P. expansum</i>				<i>B. cinerea</i>	照 室 射 温 ($^{\circ}\text{C}$)
			分 生 胞 子		菌 糸		菌 糸	
			生 育 ^a	胞子形成	生 育	胞子形成	生 育	
1	0	0	+(24 mm)	+	+(55 mm)	+	+(80 mm)	22~24
2	29.1	24.9	-(0 ヶ)	-	+(30 ヶ)	+	+(52 ヶ)	
3	45.5	39.0	-(0 ヶ)	-	+(25 ヶ)	+	+(45 ヶ)	
4	82.8	71.0	-(0 ヶ)	-	-(3 ヶ)	-	±(5 ヶ)	

^a + は生存, - は死滅を表す。() 内は培養 4 日後の菌そう直径。

実 験 結 果

第 1 回照射

照射は東海村原子力研究所で行なわれた。線量 20 万, 40 万および 80 万ラドを目標に, 装置の可能な範囲で高線量率の照射を行なつた。これら線量は線源からの距離によつて決定し, 全線量区 70 分間の同時照射を行なつた。照射室温は $22^{\circ}\sim 24^{\circ}\text{C}$ であつた。各区における実質照射線量および実験結果を第 2 表に示した。

第 2 表にみられるように *P. expansum* の分生胞子は無照射の第 1 区において菌そう形成および分生胞子形成がみられたが, 照射区ではいずれの線量においても生育がみられなかつた。これに対して菌糸は無照射, 29.1 万および 45.5 万ラド照射区において生育がみられたが, 培養 4 日後の菌そう直径はそれぞれ 55 mm,

30 mm, および 25 mm で, 照射線量に反比例した。82.8 万ラド照射では培養 7 日後においても全く生育の徴候を示さなかつた。*B. cinerea* の菌糸は無照射, 29.1 万および 45.5 万ラド照射区において生育がみられたが, 各区における菌そう直径は *P. expansum* の場合と同様に, 照射線量に反比例した。また 82.2 万ラド照射では移植源上にわずかに伸長が認められたが, 以後培地上には伸展しなかつた。

第 2 回照射

照射は東京都立アイソトープ総合研究所で行なわれた。第 1 回照射と同線量を目標に全区 47 時間の同時照射を行なつた。その各区における線量率は第 1 回照射時の約 $1/40$ で, 照射室温は $21^{\circ}\sim 22^{\circ}\text{C}$ であつた。

各区における実質照射線量および実験結果を第 3 表に示した。

第 3 表 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 線照射後 21 日の *P. expansum* および *B. cinerea* の生育

区	線 量 (万 ラド)	線 量 率 (万ラド/時)	<i>P. expansum</i>				<i>B. cinerea</i>	照 室 射 温 ($^{\circ}\text{C}$)
			分 生 胞 子		菌 糸		菌 糸	
			生 育 ^a	胞子形成	生 育	胞子形成	生 育	
1	0	0	+	+	+	+	+	21~22
2	26.3	0.56	+	+	+	+	+	
3	44.7	0.95	-	-	+	+	+	
4	82.8	1.76	-	-	+	+	+	

^a +, - は第 2 表に同じ。

第 3 表に示したように無照射区および 26.3 万ラド照射区で *P. expansum* の分生胞子の形成がみられた。*P. expansum* および *B. cinerea* の菌糸はいずれの区においても生育がみられた。なお, *B. cinerea* においては, 培養 3 週間後無照射区で多数の菌核形成が認められたが, 他の照射区においてはその形成は少数で著しくまばらであつた。

第 3 回照射

照射は東京都立アイソトープ総合研究所で行なわれた。線量は 5 万, 10 万, 20 万, 40 万, 80 万, および 160 万ラドが用いられた。前 2 回の照射実験から *P. expansum* および *B. cinerea* の菌糸の致死線量はほぼ 80 万ラドであるが, これは線量率に影響されると考えられたので, 目標 40 万および 80 万ラド区は

第4表 線量率を異にした $^{60}\text{Co}-\gamma$ 線照射後7日の *P. expansum* および *B. cinerea* の生育

区	線 量 (万ラド)	線 量 率 (万ラド/時)	P. expansum				B. cinerea		照 射 室 温 (°C)
			分 生 胞 子		菌 糸		菌 糸		
			生 育 ^a	胞子形成	生 育	胞子形成	生 育	胞子形成	
1	0	0	+(95%)	+	+	+	+	+	19~21
2	5.1	10.6	+(50%)	+	+	+	+	+	
3	9.5	19.6	+(2%)	+	+	+	+	+	
4	19.6	40.5	—(0%)	—	+	+	+	+	
5	39.9	2.1	—(0%)	—	+	+	+	+	
6	40.1	130.0	—(0%)	—	+	+	+	+	
7	79.8	2.1	—(0%)	—	+	+	+	+	
8	80.3	130.0	—(0%)	—	—	—	—	—	
9	160.0	64.7	—(0%)	—	—	—	—	—	

^a 十, — は第2表に同じ。() 内は懸滴培養による48時間後の発芽率。

それぞれ低線量率と高線量率の2区を設けた。その他については線量率による区分けをしなかつた。照射室温は19~21°Cであつた。

各区における実質照射線量および実験結果を第4表に示した。

第4表に示されたように *P. expansum* の分生胞子は無照射, 5.1万および9.5万ラド照射区で菌そう形成および分生胞子形成がみられたが, 19.6万ラド以上の照射区では生育が起らなかった。また発芽試験の結果では無照射の第1区で95%, 5.1万ラド照射区で50%, 9.5万ラド照射区で2%の発芽率を示し, 19.6万ラド以上の照射区においては全く発芽をみなかった。

次に *P. expansum* および *B. cinerea* の菌糸は無照射区および5.1万~40.1万ラド照射区において生育がみられた。線量率2.1万ラド/時で39.9万ラド照射された第5区と線量率130万ラド/時で40.1万ラド照射された第6区における菌の生育の間に, 肉眼的に著しい差はみられなかつた。目標80万ラド照射の場合には, 低線量率(2.1万ラド/時)の第7区では両菌共生し菌糸の伸長および分生胞子形成がみられたが, 高線量率(130万ラド/時)の第8区では両菌共その生育はみられなかつた。160万ラド照射区においても両菌の生育は認められなかつた。

考 察

P. expansum を接種したリンゴ(品種「紅玉」)の感染を6日間遅延または抑制するためには10万レ

ップ*の照射が必要であり, またブドウに接種した *B. cinerea* は50万および100万レップ照射したとき, 以後10日間は腐敗を進展しなかつたとの報告²があるが, 接種病原菌が完全に死滅したかどうかは明らかでない。このときの線量率は最低100万レップ/時であつた。

また各種の植物病原菌に対する γ 線の致死線量に関する報告⁵⁾によれば *P. expansum* の胞子発芽後の若い菌糸に対する致死線量は枳内寒天培地上では13.5万~14万ラド, Czapek 寒天培地上では19.5万~25.2万ラド, リンゴ果実上では18.2万~27.4万ラドであり, また *B. cinerea* ではそれぞれ9.5万~18.6万ラド, 9.5万~18.6万ラド, および27.4万~45.6万ラドであつた。この実験においては若い菌糸が用いられており, 寒天培地あるいは果実上で照射されていることなどから, 著者らの実験と直接の比較はできないが, 致死線量は一般に著者らのそれよりも低くなっている。これは100万~200万ラド/時の高線量率で照射が行なわれたことがその原因の一つと考えられる。

次に線量率を異にした一定線量照射の場合における照射効果の差異については, *Penicillium italicum* を接種したオレンジに対して18万ラド/時の線量率で18.2万ラドの γ 線を照射したときには発病を12日間完全に抑制することはできなかったが, 同じ線量を線量率120万ラド/時で照射した場合には有効であつたとの報告⁶⁾がある。著者らの実験において, *P. expansum* の分生胞子は第1回照射では線量率24.9万ラド/時で29.1万ラド照射されたとき, 菌そう形成はみられなかつたが, 第2回照射において線量率0.56万ラド/時で26.3万ラドを照射すると, 菌そう形成がみられた。ま

* 1レップはほぼ1ラドに等しい。

た第3回照射において線量率 40.5 万ラド/時で 19.6 万ラド照射すると菌そう形成能力は失なわれた。すなわち前後3回の照射を通じて、照射後の菌そう形成能力を失なわせる最小線量は高線量率照射の場合ほど小さかった。

従来放射線照射による殺菌あるいは静菌効果を論ずるに当たつて、照射時の線量率は重要視されていないように見うけられるが、以上の実験結果から考慮する必要があるものと考えられる。

摘 要

放射線照射による青果物貯蔵研究の基礎資料をうるため、リンゴ青かび病菌 (*Penicillium expansum* Link) の菌糸と分生孢子およびイチゴ灰色かび病菌 (*Botrytis cinerea* Pers.) の菌糸を用いて ^{60}Co - γ 線照射を行なった。

実験結果の概要は次のとおりである。

1. *P. expansum* および *B. cinerea* の菌糸は高線量率 (約 100 万ラド/時) で 80 万ラド照射されると死滅したが、同線量の低線量率 (約 2 万ラド/時) による照射では死滅しなかった。

2. *P. expansum* の分生孢子の菌そう形成能力は、低線量率 (約 1 万ラド/時) のときは 40 万ラド、高線量率 (約 40 万ラド/時) では 20 万ラド照射で失なわれた。

3. *P. expansum* および *B. cinerea* の菌糸に対する 5 万~40 万ラドの照射は以後の菌糸伸長、菌そう形成、分生孢子形成、および菌核形成 (*B. cinerea*) を若干遅らせた。

4. 放射線照射による殺菌あるいは静菌効果を論ずるに当たつては、照射線量のみならず照射時の線量率も考慮に入れる必要がある。(1964. 4. 30 受理)

引用文献

1. Beraha, L. et al. (1957). Phytopath. 47: 4 (Abst.).
2. Beraha, L. et al. (1957). Phytopath. 47: 4 (Abst.).
3. Beraha, L. et al. (1959). Phytopath. 49: 91-96.
4. Beraha, L. et al. (1959). Phytopath. 49: 354-356.
5. Beraha, L. et al. (1960). Phytopath. 50: 474-476.
6. Beraha, L. (1962). Phytopath. 52: 3 (Abst.).
7. Cooper, G.M. et al. (1963). Food Technology 17: 123-126.
8. Truelsen, T.A. (1963). Food Technology 17: 100-103.

Summary

Mycelia of *Penicillium expansum* Link and *Botrytis cinerea* Pers., and also conidia of the former were irradiated with Cobalt-60 gamma radiation. The irradiation took place at Tokaimura Atomic Center (Cobalt source: 1.6×10^4 C), Ibaragi prefecture and Tokyo Metropolitan Isotope Center (Cobalt source: 0.3×10^4 C), Tokyo.

The original cultures of *P. expansum* and *B. cinerea* used were isolated from affected apples and strawberries, respectively.

The mycelium samples to be irradiated were prepared by removing the mycelia shake-cultured in potato decoction media (with 2 % of saccharose) for 3 days at 25°C, washing them with sterile distilled water, and then suspending them in sterile distilled water in Pyrex tubes. The conidium samples to be irradiated were prepared by obtaining conidia with a sterile needle from a well-sporulating 10-day old culture and putting them in small Pyrex tubes.

After the irradiation, the samples were transferred to potato saccharose agars, being incubated for 7 days at 25°C. The survival of the irradiated samples transferred was confirmed by their resumed growth on the medium. The temperatures during the irradiation were 19°-24°C.

The results obtained are summarized below:

1. The mycelia of *P. expansum* and *B. cinerea* irradiated with the dose of 80×10^4 rad at a high dose rate (approximately 100×10^4 rad/hr.) were almost completely killed, while the samples irradiated with the same dose at a low dose rate (approximately 2×10^4 rad/hr.) showed resumption of mycelial growth.

2. The minimum doses that lost the conidia of *P. expansum* the ability to form colony were 40×10^4 rad at a low dose rate (approximately 1×10^4 rad/hr.), and 20×10^4 rad at a high one (approximately 40×10^4 rad/hr.), respectively.

3. The irradiation with the doses of $5-40 \times 10^4$ rads on the mycelia of *P. expansum* and *B. cinerea* delayed their growth and the conidial formation. The sclerotial formation of *B. cinerea* was also suppressed by the above doses.

4. It should be concluded that the dose rate as well as the dose in the irradiation is one of the factors in determining the sterilizing or fungistatic effect of gamma radiation.

(Faculty of Agriculture, Hirosaki University, Hirosaki, Japan)

文 献 紹 介

他の農薬と混用した場合のストレプトマイシンの吸収の増減

Shaffer, W. H. Jr., and R. N. Goodman Compatibility with some fungicides and insecticides. Pl. Dis. Repr. 48 (3): 180—181, 1964.

アメリカでは最近リンゴの火焼病 (*Erwinia amylovora*) の防除にストレプトマイシンの散布が普通に行なわれているが、省力的な意味でも他の病虫害との同時防除が可能であればそれに越したことはない。本実験はリンゴ品種“Jonathan”にストレプトマイシンと各種殺菌、殺虫剤を混合して散布後 24 時間経過した葉の中に含まれるストレプトマイシンの量を生物検定法によつて定量し、薬剤の混用が茎

葉へのストレプトマイシンの吸収に対してどのような影響を及ぼすかを検討したものである。その結果殺菌剤では硫黄と PMA は吸収にあまり影響を与えなかつたが、キャブタン、ジネブの混用は吸収を著しく減少させた。また殺虫剤では逆に吸収を増加させるものが多く、エンドリンではわずかに吸収が減じたが、DDT での 1.7 倍をはじめとしてカルバリル、パラチオン、砒酸鉛などは吸収を 1.3 倍～1.1 倍に増加させた。本病に対するストレプトマイシンの効果を考える際、殺虫剤との混用はむしろ有利になる場合があるが、殺菌剤では効果を減ずることが多いので注意を要する。

(寺中 理明)