マイクロ波誘電加熱による植物病原菌の駆除

北本　奈央　　京嶋　紗夕　　柴田　芽依　　廣瀬　佑吾　　横田　悠人
兵庫県立神戸高等学校　総合理学科２年

マイクロ波による植物病原菌の駆除に関して研究は進められているが,まだ研究段階であり,方法や条件などの確立には至っていない.そこで菌が死滅する条件を確立し,その条件のもとで感染した植物にマイクロ波を照射することで菌のみを駆除できるのではないのかと考えた.しかしマイクロ波照射では植物への影響が大きく感染した植物へのマイクロ波照射は困難であったため今回の研究ではマイクロ波照射を菌のみに限定した.その結果,湿熱殺菌を行った際に菌が死滅し,その条件を確立することができた.

1.　はじめに

1.1.　動機

現在,世界人口の増加に伴い食糧不足が懸念されている.この現状を深刻にしている要因として植物病原菌による病害が挙げられる.実際,世界の農業生産の約15%が病害の被害に遭っているというデータがある.そしてこれらの病害のうち,80%以上は糸状菌(カビ・菌類)によって引き起こされている.

そこで我々は糸状菌の一種である植物炭疽病菌を標的とし,マイクロ波を用いた殺菌を試みた.

1.2.　目的

本研究の目的は植物中に存在する病原菌をマイクロ波加熱によって死滅させることであった.しかし,予備実験の結果,植物(シロイヌナズナ)がマイクロ波加熱により枯死したため,菌のみを死滅させることを目的とした.

1.3.　本研究の特徴

・マイクロ波照射は電子レンジ(Ｐａｎａｓｏｎｉｃ ＮＥ－ＭＳ231－W)(2450MHｚ)で行う.

・糸状菌は植物炭疽病菌［Colletotrichum gloeosporioides (NBRC 番号 104617)］を使用する.

2.　実験Ⅰ

2.1.　目的

菌が死滅するW数と秒数の組み合わせの範囲を求める.

2.2.　方法

電子レンジの中央に菌をのせたホールスライドガラスをおき,以下の 30 通りの組み合わせでマイクロ波をそれぞれ 1 回ずつ照射する.

800W：10 秒,20 秒,30 秒,40 秒,50 秒,60 秒
600W：10 秒,20 秒,30 秒,40 秒,50 秒,60 秒
500W：10 秒,20 秒,30 秒,40 秒,50 秒,60 秒
300W：10 秒,20 秒,30 秒,40 秒,50 秒,60 秒
150W：10 秒,20 秒,30 秒,40 秒,50 秒,60 秒

2.3.　仮説

W数,秒数ともに増加すればするほど菌が死滅しやすくなる.

2.4.　結果

全てのW数と秒数の組み合わせで菌が生長し,それぞれの組み合わせにおいて生長速度に差は見られなかった.

2.5.　考察

マイクロ波を照射するだけではほとんど菌に影響がない.その理由として菌が胞子を持っていることが挙げられる.乾熱の場合,カビの菌糸は約 50℃でほとんどが死滅するのに対し,胞子は死滅させるのに 120℃以上で 60～120 分程度の加熱を必要とする.実際に使用した菌を電子顕微鏡で観察したところ胞子が見られた.(図１)

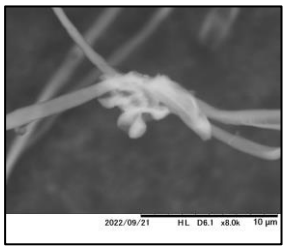

図 1 胞子

また, 電子レンジは物体の中にある水分子をマイクロ波のエネルギーで振動･回転させ, 発生した摩擦熱によって物体の温度を上昇させる. そのため, 水分子を持たない物体を加熱することはできない. 乾熱の状態では菌の胞子を死滅させる温度に達するのに十分な水分子がないと考えられる. そこで, 実験Ⅱでは定量の滅菌水を加えて湿熱殺菌の実験を行うこととした.

3. 実験Ⅱ

3.1. 目的

湿熱殺菌を行うことで乾熱殺菌に比べて温度を上昇させ, 菌を死滅させる.

3.2. 方法

逆さにした蒸発皿を電子レンジの中央に置き, その上に菌をのせたホールスライドガラスをのせる. (図 2) そこに菌が完全に覆われるようにマイクロピペットではかりとった滅菌水(①35 μℓ②70 μℓ)を滴下する.

図 2 実験装置の様子

マイクロ波照射は以下のように行う.

①滅菌水 35 μℓ

800W : 0 秒, 10 秒, 20 秒, 30 秒, ･･･, 90 秒, 100 秒

②滅菌水 70 μℓ

800W : 0 秒, 10 秒, 20 秒, 30 秒, ･･･, 90 秒, 100 秒

マイクロ波照射前, 照射後の滅菌水付近の温度を放射温度計(ＡＤ-5616)により測定する.

マイクロ波照射の翌日を 1 日目とし, 6 日目まで観察する.

撮影した画像をドット絵ナニカ (http://dot-e-nanika.com/index_en.html)を用いて処理し, 菌のシャーレに対する割合を計算することにより生長速度を比較する.

3.3. 仮説

乾熱殺菌ではマイクロ波を吸収する物質がない. その為, マイクロ波を吸収しやすい水を導入することで, 温度の上昇が期待できる.

3.4. 結果

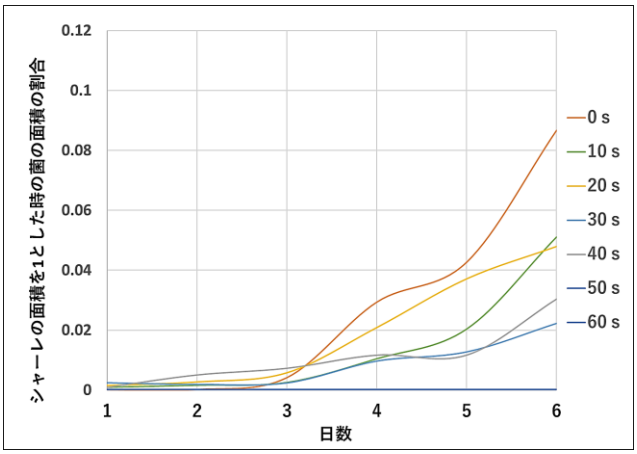

図 3 菌の面積と経過日数の関係(35 μℓ)

表 1 マイクロ波照射時の温度変化(35 μℓ)

秒数	セット	照射前	照射後	変化量	変化量の平均
0	1	21.3	21.3	0	0
	2	20.8	20.8	0	
	3	21.1	21.1	0	
10	1	22.2	38.6	16.4	14.5
	2	20.2	33.4	13.2	
	3	20.8	34.7	13.9	
20	1	20.6	49.9	29.3	26.7
	2	20.8	42.1	21.3	
	3	20	49.5	29.5	
30	1	21.6	68	46.4	45.7
	2	20.9	65.6	44.7	
	3	21.2	67.1	45.9	
40	1	21.5	79.1	57.6	53.7
	2	22.2	71.5	49.3	
	3	20.4	74.6	54.2	
50	1	20.8	53.8	33	37.2
	2	21.3	61.1	39.8	
	3	20.6	59.4	38.8	
60	1	21.4	61.8	40.4	40.5
	2	21.1	59.4	38.3	
	3	21.1	63.8	42.7	
70	1	20.3	64.4	44.1	50.6
	2	21.7	76.9	55.2	
	3	20.8	73.2	52.4	
80	1	20.5	67.4	46.9	45.8
	2	21.1	64.8	43.7	
	3	20.6	67.5	46.9	
90	1	21.3	71.7	50.4	51.7
	2	20.1	74.9	54.8	
	3	21.1	71	49.9	
100	1	20.4	72.9	52.5	53.6
	2	20.4	71.8	51.4	
	3	20.6	77.5	56.9	

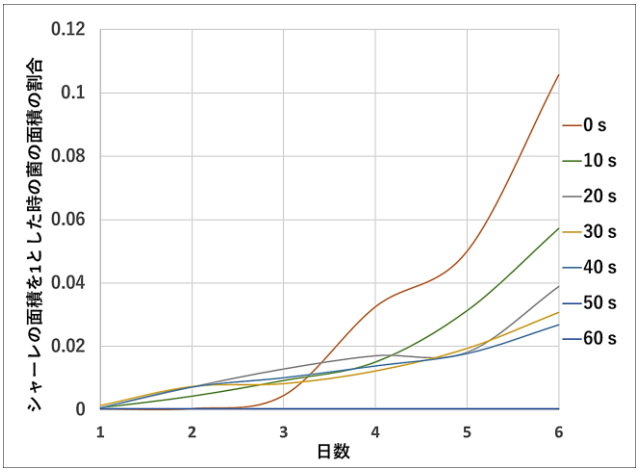

図 4 菌の面積と経過日数の関係(70 $\mu\ell$)

表 2 マイクロ波照射時の温度変化(70 $\mu\ell$)

秒数	セット	照射前	照射後	変化量	変化量の平均
0	1	20.8	20.8	0	0
	2	20.8	20.8	0	
	3	20.5	20.6	0.1	
10	1	21.6	38	16.4	16.6
	2	20.8	40.6	19.8	
	3	20.8	34.5	13.7	
20	1	21.8	54.9	33.1	30
	2	21.9	47.1	25.2	
	3	22.3	53.9	31.6	
30	1	20	62.8	42.8	42.3
	2	20.8	68.9	48.1	
	3	20.5	56.5	36	
40	1	20.3	76.4	56.1	54.9
	2	22.3	73.1	50.8	
	3	21.4	79.3	57.9	
50	1	21.5	47.8	26.3	32.6
	2	15.6	55.5	39.9	
	3	18.3	49.8	31.5	
60	1	22.2	53.3	31.1	36.3
	2	18.4	60.6	42.2	
	3	18.3	53.8	35.5	
70	1	21.5	63.2	41.7	42.7
	2	18.8	63.9	45.1	
	3	17.4	58.6	41.2	
80	1	21.7	62.2	40.5	42.8
	2	16.9	58.7	41.8	
	3	18.4	64.6	46.2	
90	1	21.6	68.2	46.6	48.7
	2	18.3	70.9	52.6	
	3	18.9	65.8	46.9	
100	1	22.5	66.6	44.1	47.6
	2	18.3	64.6	46.3	
	3	17.8	70.1	52.3	

ⅰ)照射後の温度は30秒, 40秒の方が高いのに対し, グラフの傾きは 50 秒, 60 秒の方が緩やかである.

ⅱ)35 $\mu\ell$, 70 $\mu\ell$ともに加熱秒数を 50 秒以上にした菌は全て死滅した. また, グラフから分かるように加熱秒数が 0 秒, すなわち加熱していない菌の面積は 4 日目前後に急激に増加するが, 加熱した菌は緩やかに増加した. また, 0 秒において 1, 2 日目は菌がほとんど生長しない.

ⅲ)50 秒以降では, 菌の増殖はほとんど見られていない. この根拠はグラフの傾きが限りなく 0 に近いことである. この結果から, 生存している菌の数が大幅に減少していることが確認された.

3.5. 考察

水を加えた時のマイクロ波照射による菌への影響は, 以下の 3 点であると考えられる. (以下図 3, 図 4 と表 1, 表 2 の照射後の温度を参照)

ⅰ) 殺菌される要因はマイクロ波が過熱する水の温度上昇によるもののみではない. この根拠は 30 秒, 40 秒照射後の温度は 50 秒, 60 秒よりも高かったが, 50 秒, 60 秒照射後の方が殺菌効果を確認できたことである.

ⅱ) マイクロ波による効果は殺菌のみでなく増殖が誘導されている可能性がある. この根拠は 0 秒のグラフは菌の増殖開始まで数日かかっている (遅滞期が約 60 時間である) のに対し, マイクロ波を照射した他のグラフでは菌の増殖がすぐに開始されている (遅滞期が約 24 時間である) ことである.

ⅲ) 50 秒以降では, 菌の増殖はほとんど見られていない. この根拠はグラフの傾きが限りなく 0 に近いことである.

4. 結論

マイクロ波を照射するだけではほとんど菌に影響がなく, 乾熱殺菌では菌の胞子を死滅させる温度に達するのに十分な水分子がないと考えられる.
また, 菌の 800W湿熱殺菌においては, 50 秒の加熱が最小秒数である.

5. 今後の展望

本研究の結果より, 湿熱殺菌をおこなった際に菌が死滅し, その条件を確立することができた. しかし, 今回の研究では菌のみにしかマイクロ波照射を行うことができなかった為, マイクロ波加熱を植物に応用したい. 例えばW数や秒数, 照射回数を変えることで菌を導入した植物にマイクロ波を照射し, その場合での, 菌は死滅し植物は死滅しない条件を確立し

たい.また,単純加熱ではなくマイクロ波を用いた加熱を行うことによる菌への影響についても解明したい.

6. 謝辞

本研究を行うにあたり,研究方針や方法についてのご助言をいただいたサイエンスアドバイザーの方々,75回生の先輩方,担当の山根先生をはじめとした先生方に深く感謝します.

［参考文献・参考URL］

[1] マイクロ波による微生物殺菌の基礎実験
https://www.jstage.jst.go.jp/article/aije/76/667/76_667_793/_pdf
[2] 細胞胞子の感熱殺菌効果
https://www.jstage.jst.go.jp/article/jbrewsocjapan1915/63/2/63_2_123/_pdf/-char/ja
[3] 細胞胞子の熱死滅性特性
https://agriknowledge.affrc.go.jp/RN/2010793431.pdf
[4] 簡易滅菌法としてのマイクロ波照射応用の試み
https://www.jstage.jst.go.jp/article/joma1947/93/9-10/93_9-10_941/_pdf