

## 依頼検査技術マニュアル

	頁
1 発芽検査 .....	1
2 純潔度合検査 .....	11
3 含水量検査 .....	12
4 異種の粒数検査 .....	17
5 病害検査 .....	18
6 被覆種子の検査 .....	33
7 放射性物質検査 .....	35

## 1 発芽検査

### 1-1 一般原則

発芽検査には純潔種子分画の種子を用いる。種子には勧告されたもの以外の発芽促進処理を施してはならない。種子は反復区を設け、適切な方法、好適な水分条件下で検査する。検査期間後にその反復区を検査し、報告に必要な正常芽生、異常芽生、硬実、新鮮種子、死滅種子の各区分に属する種子数及び芽生数を数える。

### 1-2 材 料

一般的には発芽床として紙又は砂を用いる。土壌や培土は一次検査用の発芽床としては一般的に適当ではない。

### 1-3 方 法

100粒ずつの反復の400粒の種子を無作為に採り、水分を与えた発芽床に均等かつ適当な間隔を空けて並べる。種子の大きさ及び必要な間隔によっては、反復を50粒又は25粒の小さい区に更に分割してよい。種類別発芽検査法は第1表に従って行うが、以下に述べる場合には検査結果を不満足なものとして報告せず、同一又は別の方法で再検査を行う。

- ・ 休眠が疑われるとき（新鮮不発芽種子）。
- ・ 対植物毒性又はカビ若しくは細菌の蔓延によって結果が信頼できないとき。
- ・ 多くの芽生に対して正確な評価が困難なとき。
- ・ 検査条件、芽生の評価又はカウントに誤りのあることが明白なとき。
- ・ 反復区間の差が大きいとき。
- ・ 試料が選択した方法に対して満足な反応を示さなかったとき。

### 1-4 結果の計算と表現

結果は整数の百分率で表す。検査の反復区の平均値が依頼検査報告書及び国際種子検査証明書に報告すべき発芽率である。平均発芽率を計算して、近似の整数にする。

## 第1表 種類別発芽検査法

本表は用いてよい発芽床、温度及び検査期間並びに休眠種子に対して勧告される追加処理を指示している。ただし、国際種子検査証明書を求めない依頼検査で、本表にない種類の種子は、適切な方法で検査してよい。

発芽床 : 選び得る発芽床は表全体を通じて一定の順で示したが、この順序は発芽床の好ましさを示すものではない。

(例) TP ; BP ; S。(BPはTPと同様に、PPに代えてよい。)

温度 : 選び得る温度は表全体を通じて一定の順(変温では最も高い組み合わせを最初に、恒温では最も高い温度を最初に)で示したが、この順序は好ましさを示すものではない。

算定開始 : 算定開始時期はおよそのものであり、選び得る最高の温度条件下で紙を用いて発芽検査を行った場合のものである。低い方の温度を選ぶか、又は砂を用いて検査を行った場合には、算定の開始を遅らせることになる。7~10(14)日目が締切りのものにおいて、砂を用いて検査を行った場合には第1回の算定を省略してよい。

光 : 検査期間中の照明は、芽生の発達をより良くするために一般に望ましいことである。

休眠種子の発芽の促進のために必要である、又は光が発芽を阻害し、発芽床を暗黒下に置くことが必要である、といった特定の場合のことは末尾の欄に示した。

休眠打破 : 1つ以上の休眠打破法が示されている場合、選択可能な方法の順番は好ましさを示すものでなく、1つの方法あるいは組み合わせを用いることができる。

略語の意味は以下のようなものである :

TP 紙の上

BP 紙の間

PP 襞を付けた紙

TPS 砂で覆った紙の上

S 砂の中

TS 砂の上

$\text{KNO}_3$  水の代わりに0.2%の硝酸カリウム溶液を使用

$\text{GA}_3$  ジベレリン溶液を水の代わりに使用

$\text{H}_2\text{SO}_4$  発芽検査の前に濃硫酸に浸漬

$\text{HNO}_3$  水の代わりに1モル硝酸を使用

CCP クレープセルローズ紙

種		規定				6: 休眠打破のための推奨事項 <7: 追加指示> [8: 追加推奨]
		発芽床	温度(°C)	算定日(日)		
				開始	締切	
1		2	3	4	5	6, <7>, [8]
<i>Abelmoschus esculentus</i>	okra	TP;BP;S	20<=>30	4	21	—
<i>Achillea umbellata</i>	アキレアウンベルータ	TP ; BP	20<=>30 ; 20	5	14	光
<i>Ageratum houstonianum</i>	アゲラタム	TP	20<=>30 ; 20	3-5	14	—
<i>Agrostis capillaris</i>	コニアルベントグラス	TP	20<=>30 ; 15<=>25 ; 10<=>30	7	28	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Agrostis gigantea</i>	レットトッパ	TP	20<=>30 ; 15<=>25 ; 10<=>30	5	10	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Agrostis stolonifera</i>	クレーピングヘントグラス	TP	20<=>30 ; 15<=>25 ; 10<=>30	7	28	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Allium cepa</i>	タマネギ	TP ; BP ; S	20 ; 15	6	12	予冷
<i>Allium fistulosum</i>	ネギ	TP ; BP ; S	20 ; 15	6	12	予冷
<i>Allium porrum</i>	リーキ	TP ; BP ; S	20 ; 15	6	14	予冷
<i>Allium schoenoprasum</i>	チャイブ、アサツキ、エゾネギ	TP ; BP ; S	20 ; 15	6	14	予冷
<i>Allium tuberosum</i>	ニら	TP	20<=>30 ; 20	6	14	予冷
<i>Alysicarpus vaginalis</i>	アリスクロハー	BP	35	4	21	21 日目に、吸水した種子の種皮を針で穿孔し、35 日目まで試験を継続。吸水した種子を 2 日間 20°C、その後 30°C に 3 日間置いてもよい。
<i>Antirrhinum majus</i>	キンギョソウ	TP	20<=>30 ; 20	5-7	21	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Apium graveolens</i>	セロリ	TP	20<=>30	10	21	KNO <sub>3</sub> ; 予冷 ; 光
<i>Arachis hypogaea</i>	アサゲ	BP ; S	20<=>30 ; 25	5	10	殻を除去 ; 予熱 (40±2°C)
<i>Arrhenatherum elatius</i>	トルオートグラス	TP	20<=>30	6	14	予冷
<i>Artemisia vulgaris</i>	ヨモギ	TP	20<=>30	4-7	21	—
<i>Asparagus officinalis</i>	アスパラガス	TP ; BP ; S	20<=>30	10	28	—
<i>Aster alpinus</i>		TP	20<=>30 ; 20	3-5	14	予冷
<i>Avena sativa</i>	エンバク	BP ; S	20	5	10	GA <sub>3</sub> ; 予熱 (30~35°C) ; 予冷
<i>Avena strigosa</i>	セイヨウチャビキ	BP ; S	20	5	10	GA <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Avenella flexuosa</i>	コムススキ	TP	20<=>30 ; 20	7	16	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Axonopus fissifolius</i>	コモンカーベットグラス	TP	20<=>35	10	21	KNO <sub>3</sub> ; 光
<i>Bellis perennis</i>	ヒナギク (デージー)	TP	20<=>30 ; 20	4-7	14	予冷
<i>Beta vulgaris</i>	フタソウ、ビート (テンサイ) 類	TP ; BP ; S	20<=>30 ; 15<=>25 ; 20	4	14	予備浸漬 (2 時間 ; 100 粒あたり 250mL)。 予洗 (多発芽性 : 2 時間 ; 遺伝的単発芽性 : 4 時間)。 最高 25°C で再乾燥。
<i>Brassica carinata</i>	アヒンシアガラシ	BP	20 ; 20<=>30	5	7	
<i>Brassica juncea</i>	カラシナ類	TP	20<=>30 ; 20	5	7	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Brassica napus</i>	ナタネ	BP ; TP	15<=>25 ; 20	5	7	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Brassica napus var. napobrassica</i>	ルタバガ (スウェーデンカブ)	BP ; TP	20<=>30 ; 20	5	14	予冷

<i>Brassica nigra</i>	クロガレシ	BP ; TP	20<=>30 ; 20	5	10	KN0 <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Brassica oleracea</i>	キャベツ(類)	BP ; TP	20<=>30 ; 20	5	10	KN0 <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Brassica rapa</i>	カブ (含むハクサイ、タイサイ類)	BP ; TP	20<=>30 ; 20	5	7	KN0 <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Bromus carinatus</i> var. <i>marginatus</i>	マウンテンブローム	TP	20<=>30 ; 15<=>25	7	14	KN0 <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Bromus catharticus</i>	レスクグラス(イヌキ)	TP	20<=>30	7	28	KN0 <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Bromus hordeaceus</i>		TP	20<=>30	7	14	予冷
<i>Bromus inermis</i>	スムースブロームグラス(スズメノチヤビキ)	TP	20<=>30 ; 15<=>25	7	14	KN0 <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Cajanus cajan</i>	キマメ(リュウキュウマメ)	BP ; S	20<=>30 ; 25	4	10	—
<i>Calendula officinalis</i>	キンセンカ	TP ; BP	20<=>30 ; 20	4-7	14	予冷 ; KN0 <sub>3</sub> ; 光
<i>Callistephus chinensis</i>	アスター(エゾギク)	TP	20<=>30 ; 20	4-7	14	光
<i>Campanula medium</i>	フウリンソウ	TP ; BP	20<=>30 ; 20	4-7	21	予冷 ; 光
<i>Capsicum</i> spp.	トウガラシ属	TP ; BP ; S	20<=>30	7	14	KN0 <sub>3</sub>
<i>Carthamus tinctorius</i>	ヘニハナ	TP ; BP ; S	20<=>30 ; 25	4	14	—
<i>Celosia argentea</i>	ノグイトウ	TP	20<=>30 ; 20	3-5	14	予冷
<i>Centaurea cyanus</i>	ヤクシクマソウ(ヤクシクマキ)	TP ; BP	20<=>30 ; 20 ; 15	4-7	21	予冷 ; 光
<i>Chenopodium quinoa</i>	キノア	TP ; BP	20	4	7	—
<i>Chloris gayana</i>	ローズグラス	TP	20<=>35 ; 20<=>30	7	14	KN0 <sub>3</sub> ; 予冷 ; 光
<i>Cicer arietinum</i>	ヒヨコマメ	BP ; S	20<=>30 ; 20	5	8	—
<i>Cichorium endivia</i>	エンターイブ	TP	20<=>30 ; 20	5	14	KN0 <sub>3</sub>
<i>Cichorium intybus</i>	チコリー	TP	20<=>30 ; 20	5	14	KN0 <sub>3</sub>
<i>Citrullus lanatus</i>	スイカ	BP ; S	20<=>30 ; 25	5	14	[PP 推奨]
<i>Coix lacrymajobi</i>	ハトムギ	BP	20<=>30	7-10	21	—
<i>Convolvulus tricolor</i>	ナンシキアサガオ	TP ; BP	20<=>30 ; 20	4-7	14	種子を穿孔するか、外種皮の断片を切り取る又は削り取る
<i>Corchorus capsularis</i>	ジュート(コウマ)	TP ; BP	30	3	5	—
<i>Corchorus olitorius</i>	モロヘイヤ(タイワツナリ)	TP ; BP	30	3	5	—
<i>Coreopsis basalis</i>	キンケイギク	TP ; BP	20<=>30 ; 20	4-7	14	KN0 <sub>3</sub> ; 予冷 ; 光
<i>Coreopsis lanceolata</i>	オオキンケイギク	TP ; BP	20<=>30 ; 20	4-7	14	KN0 <sub>3</sub> ; 予冷 ; 光
<i>Coreopsis tinctoria</i>	ハルシヤギク	TP	20<=>30 ; 20	4-7	14	KN0 <sub>3</sub> ; 予冷 ; 光
<i>Coriandrum sativum</i>	コリアンダー(コアントロ)	TP ; BP	20<=>30 ; 20	7	21	—
<i>Cosmos bipinnatus</i>	コスモス	TP ; BP	20<=>30 ; 20	3-5	14	KN0 <sub>3</sub> ; 予冷 ; 光
<i>Cosmos sulphureus</i>	キハナコスモス	TP ; BP	20<=>30 ; 20	3-5	14	KN0 <sub>3</sub> ; 予冷 ; 光
<i>Crotalaria brevidens</i>	クロタリヤ	BP	20<=>30	4	10	—
<i>Cucumis</i> spp.	キュウリ属	BP ; S	20<=>30 ; 25	4	8	[PP 推奨]
<i>Cucumis melo</i>	メロン	BP ; S	20<=>30 ; 25	4	8	[PP 推奨]
<i>Cucumis sativus</i>	キュウリ	TP ; BP ; S	20<=>30 ; 25	4	8	[PP 推奨]
<i>Cucurbita</i> spp.	カボチャ属	BP ; S	20<=>30 ; 25	4	8	[PP 推奨]
<i>Cucurbita hybrids</i>		BP ; S	20<=>30 ; 25	4	8	[PP 推奨]
<i>Cucurbita maxima</i>	セイヨウカボチャ	BP ; S	20<=>30 ; 25	4	8	[PP 推奨]
<i>Cucurbita moschata</i>	ニホンカボチャ	BP ; S	20<=>30 ; 25	4	8	[PP 推奨]
<i>Cucurbita pepo</i>	ペポカボチャ	BP ; S	20<=>30 ; 25	4	8	[PP 推奨]
<i>Cuminum cyminum</i>	クミン	TP	20<=>30	5	14	—

<i>Cyclamen persicum</i>	シクラメン	TP ; BP ; S	20 ; 15	14-21	35	KNO <sub>3</sub> ; 水に 24 時間浸漬
<i>Cynodon dactylon</i>	ハニミューターグラス(キョウキシハ)	TP	20<=>35 ; 20<=>30	7	21	KNO <sub>3</sub> ; 予冷 ; 光
<i>Cynoglossum amabile</i>	シノグロッサム	TP ; BP	20<=>30 ; 20	4-7	14	KNO <sub>3</sub> ; 予冷 ; 光
<i>Dactylis glomerata</i>	オチヤートグラス(カモカヤ)	TP	20<=>30 ; 15<=>25	7	21	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Dahlia pinnata</i>	(タリア)テンジクホタン	TP ; BP	20<=>30 ; 20 ; 15	4-7	21	予冷
<i>Daucus carota</i>	ニンジン	TP ; BP	20<=>30 ; 20	7	14	—
<i>Delphinium × belladonna</i>	デルフィンウムベラドンナ	TP ; BP	20<=>15 ; 10	7-10	21	予冷 ; 光
<i>Delphinium × cultorum</i>	デルフィンウム	TP ; BP	20 ; 15 ; 10	7-10	21	予冷 ; 光
<i>Dianthus barbatus</i>	ヒゲナデシコ(アメリカナデシコ)	TP ; BP	20<=>30 ; 20	4-7	14	予冷
<i>Dianthus caryophyllus</i>	カーネーション	TP ; BP	20<=>30 ; 20	4-7	14	予冷
<i>Dianthus chinensis</i>	セキチク	TP ; BP	20<=>30 ; 20	4-7	14	予冷
<i>Dianthus deltoides</i>	ヒメナデシコ	TP ; BP	20<=>30 ; 20	4-7	14	予冷
<i>Dianthus plumarius</i>	タツタナデシコ	TP ; BP	20<=>30 ; 20	4-7	14	予冷
<i>Dichondra micrantha</i>	ディコントラ(アオイコケ)	TP	20<=>30	7	21	—
<i>Dimorphotheca ecklonis</i>	オステオスペルマム	TP ; BP	20<=>30 ; 20	4-7	14	KNO <sub>3</sub> ; 予冷 ; 光
<i>Echinochloa crus-galli</i>	ヒエ	TP	20<=>30 ; 25	4	10	予熱(40±2℃)
<i>Eragrostis curvula</i>	ウイヘンクグラブグラス	TP	20<=>35 ; 15<=>30	6	10	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Erysimum cheiri</i>	ウォールフラワー	TP	20<=>30 ; 20 ; 15	4-5	14	KNO <sub>3</sub> ; 予冷 ; 光
<i>Erysimum × marshallii</i>	チェレンサス	TP	20<=>30 ; 20 ; 15	4-7	14	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Eschscholzia californica</i>	ハナビシソウ(カリフォルニアホトヘ)	TP ; BP	15 ; 10	4-7	14	KNO <sub>3</sub>
<i>Eustoma exaltatum</i>	ユーストマ エグザルタトゥム	TP	20<=>30 ; 20	4-7	21	光
<i>Fagopyrum esculentum</i>	ソバ	TP ; BP	20<=>30 ; 20	4	7	—
<i>Festuca arundinacea</i>	トールフェスク(オウシノケグサ)	TP	20<=>30 ; 15<=>25	7	14	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Festuca ovina</i>	シープフェスク(ウシノケグサ)	TP	20<=>30 ; 15<=>25	7	14	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Festuca pratensis</i>	メドウフェスク(ヒロハノウシノケグサ)	TP	20<=>30 ; 15<=>25	7	14	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Festuca rubra</i>	レッドフェスク(オウシノケグサ)	TP	20<=>30 ; 15<=>25	7	14	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Foeniculum vulgare</i>	フェンネル(ウイキョウ)	TP ; BP ; TS	20<=>30	7	14	—
<i>Fragaria spp.</i>	オランダイチゴ属	TP	20<=>30 ; 20	7	28	—
<i>Freesia refracta</i>	フリージア	TP ; BP	20 ; 15	7-10	35	種子穿孔 ; 又は外種皮の断片を切取る又は削り取る ; 予冷
<i>Gaillardia aristata</i>	オステニンギク	TP ; BP	20<=>30 ; 20	4-7	21	予冷 ; 光
<i>Gaillardia pulchella</i>	テンニンギク	TP ; BP	20<=>30 ; 20	4-7	21	予冷 ; 光
<i>Gazania rigens</i>	ガザニア	TP ; BP	20<=>30 ; 15	4-7	21	予冷
<i>Gentiana acaulis</i>	チョボリントウ	TP	20<=>30 ; 20	7-14	28	予冷
<i>Gerbera jamesonii</i>	ガーベラ	TP	20<=>30 ; 20	4-7	14	—
<i>Glebionis coronaria</i>	シュンギク	TP ; BP	20<=>30 ; 15	4-7	21	予冷 ; 光
<i>Glebionis segetum</i>	アラゲシュンギク	TP ; BP	20<=>30 ; 15	4-7	21	予冷
<i>Glycine max</i>	大豆	TP ; BP ; TPS ; S ; 0	20<=>30 ; 25	5	8	<TP では CCP を使うこと>
<i>Gomphrena globosa</i>	センニチコウ	TP ; BP	20<=>30 ; 20	4-7	14	KNO <sub>3</sub>
<i>Gypsophila elegans</i>	カスミソウ	TP ; BP	20 ; 15	4-7	14	光
<i>Gypsophila paniculata</i>	シュツコンカスミソウ	TP ; BP	20 ; 15	4-7	14	光

<i>Gypsophila repens</i>	ヒメワカ <sup>スミ</sup>	TP ; BP	20 ; 15	4-7	14	光
<i>Helianthus annuus</i>	ヒマワリ	BP;TPS ; S ; 0	20<=>30 ; 25 ; 20	4	10	予熱、予冷
<i>Helianthus debilis</i>	ヒメヒマワリ	TP ; BP ; S	20<=>30 ; 20	3-5	14	予冷
<i>Hibiscus trionum</i>	キンセンカ	TP ; BP	20<=>30	4-7	21	—
<i>Hordeum vulgare</i> subsp. <i>Vulgare</i>	オオムギ <sup>キ</sup>	BP ; S	20	4	7	予熱 (30~35℃) ; GA <sub>3</sub> ;KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Iberis amara</i>	キャンテ <sup>イ</sup> イタフト	TP ; BP	20<=>30 ; 20 ; 15	4-7	14	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Impatiens balsamina</i>	ホウセンカ	TP ; BP	20<=>30 ; 20	4-7	21	KNO <sub>3</sub> ; 予冷 ; 光
<i>Impatiens walleriana</i>	(インパ <sup>チ</sup> ェンス)アフリカホウセンカ	TP ; BP	20<=>30 ; 20	4-7	21	KNO <sub>3</sub> ; 予冷 ; 光
<i>Ipomoea alba</i>	ヨルカ <sup>オ</sup>	TP ; BP ; S	20<=>30 ; 20	4-7	21	種子を穿孔するか外種皮の断片を切取る又は削り取る
<i>Ipomoea aquatica</i>	エンサイ(ヨウサイ、カンコン)	BP ; S	30	4	10	—
<i>Ipomoea tricolor</i>	ソライロサカ <sup>オ</sup> (セイヨウアサカ <sup>オ</sup> )	TP ; BP ; S	20<=>30 ; 20	4-7	21	種子を穿孔するか外種皮の断片を切取る又は削り取る
<i>Lablab purpureus</i>	フジ <sup>マメ</sup> 、ラフ <sup>ラフ</sup> ビ <sup>ーン</sup>	BP;S	20<=>30;25	4	10	—
<i>Lactuca sativa</i>	レタス	TP ; BP	20	4	7	予冷
<i>Lagenaria siceraria</i>	ヒョウタン、ユウカ <sup>オ</sup>	BP ; S	20<=>30	4	14	[PP 推奨]
<i>Lathyrus odoratus</i>	スイートビ <sup>ーン</sup>	TP ; BP ; S	20	5-7	14	予冷
<i>Lavandula angustifolia</i>	ラバン <sup>ダー</sup>	TP ; BP ; S	20<=>30 ; 20	7-10	21	GA <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Lavatera trimestris</i>	ラバ <sup>テ</sup> ラ(ハナアオイ)	TP ; BP	20<=>30 ; 20	4-7	21	予冷
<i>Lespedeza juncea</i>	カラフト <sup>ハキ</sup>	BP	20<=>35	7	21	—
<i>Linum grandiflorum</i>	ペ <sup>ニ</sup> バ <sup>ナ</sup> ア <sup>マ</sup>	TP ; BP	20 ; 15 ; 10	4-7	21	KNO <sub>3</sub>
<i>Linum usitatissimum</i>	ア <sup>マ</sup>	TP ; BP	20<=>30 ; 20	3	7	予冷
<i>Lobularia maritima</i>	スイートアリッサム(ニワナス <sup>ナ</sup> )	TP	20<=>30 ; 20 ; 15	4-7	21	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Lolium × hybridum</i>		TP	20<=>30 ; 15<=>25 ; 20	5	10	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Lolium multiflorum</i>	イタリアンライク <sup>ラス</sup> (ネス <sup>ミ</sup> ムキ <sup>キ</sup> )	TP	20<=>30 ; 15<=>25 ; 20	5	10	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Lolium perenne</i>	ペ <sup>レ</sup> ニア <sup>ル</sup> ライク <sup>ラス</sup> (ホソムキ <sup>キ</sup> )	TP	20<=>30 ; 15<=>25 ; 20	5	10	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Lotus corniculatus</i>	ハ <sup>ース</sup> フットレ <sup>フ</sup> ォイル	TP ; BP	20<=>30 ; 20	4	12	予冷
<i>Luffa aegyptiaca</i>	ハ <sup>チ</sup> マ	BP ; S	20<=>30 ; 30	4	14	—
<i>Lupinus hybrids</i>	ルビ <sup>ナス</sup>	TP ; BP ; S	20<=>30 ; 20	4-7	21	—
<i>Lupinus polyphyllus</i>	ワシントンルビ <sup>ナス</sup> (シュッコルビ <sup>ナス</sup> )	TP ; BP ; S	20<=>30 ; 20	4-7	21	—
<i>Lysimachia arvensis</i>	ルリハコ <sup>ベ</sup>	TP	20<=>30 ; 15	7-10	21	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Matthiola incana</i>	ストック(アラセイトウ)	TP	20<=>30 ; 20	4-7	14	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Matthiola longipetala</i>	イ <sup>ブ</sup> ニ <sup>ン</sup> ク <sup>ス</sup> ストック	TP	20<=>30 ; 20 ; 15	4-7	14	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Medicago sativa</i>	アルファル <sup>ファ</sup>	TP ; BP	20	4	10	予冷
<i>Megathyrsus maximus</i>	キ <sup>ニ</sup> ア <sup>グ</sup> ラス	TP	20<=>30 ; 15<=>35	10	28	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Momordica charantia</i>	ツルレイシ(ニガ <sup>ウ</sup> リ)	BP ; S	20<=>30 ; 30	4	14	—
<i>Nasturtium officinale</i>	クレソン(ウオーター <sup>ク</sup> レス)	TP ; BP	20<=>30	4	14	—
<i>Nemophila maculata</i>	ネモフィ <sup>ラ</sup> ・マク <sup>ラ</sup> ータ	TP ; BP	15 ; 10	5-7	21	予冷
<i>Nemophila menziesii</i>	ネモフィ <sup>ラ</sup> ・メンシ <sup>エ</sup> シー	TP ; BP	15 ; 10	5-7	21	予冷
<i>Nicotiana tabacum</i>	タバ <sup>コ</sup>	TP	20<=>30	7	16	KNO <sub>3</sub>
<i>Nierembergia hippomanica</i>	ニ <sup>レン</sup> バ <sup>ル</sup> キ <sup>ア</sup>	TP	20<=>30 ; 20	5-7	21	—
<i>Nigella damascena</i>	クロタネ <sup>ウ</sup>	TP ; BP	20<=>30 ; 20 ; 15	7-10	21	KNO <sub>3</sub> ; 予冷 ; 15℃・暗黒下に14日置いた後、20-30℃に移す
<i>Ocimum basilicum</i>	バ <sup>ジ</sup> ル(メ <sup>ホ</sup> ウ <sup>キ</sup> )	TP	20<=>30	4	14	KNO <sub>3</sub>
<i>Origanum majorana</i>	マ <sup>ジ</sup> ョ <sup>ラ</sup> ム(マヨ <sup>ラ</sup> ナ)	TP	20<=>30 ; 20	7	21	—

<i>Origanum vulgare</i>	オレガノ(ハナハッカ)	TP	20<=>30 ; 20	7	21	—
<i>Oryza sativa</i>	イネ	TP ; BP ; S	20<=>30 ; 25	5	14	予熱(50±2℃) ; 水又はHNO <sub>3</sub> への浸漬(24時間)
<i>Panicum miliaceum</i>	キビ	TP ; BP	20<=>30 ; 25	3	7	—
<i>Papaver nudicaule</i>	アイスランドポピー	TP	15 ; 10	4-7	14	KNO <sub>3</sub> ; 光
<i>Papaver orientale</i>	オリエンタルポピー(オニゲシ)	TP	20<=>30 ; 20	4-7	14	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Papaver rhoeas</i>	ヒナゲシ	TP	20<=>30 ; 20 ; 15	4-7	14	KNO <sub>3</sub> ; 予冷 ; 光
<i>Paspalum notatum</i>	パニアグラス(キシユウスメノヒエ)	TP	20<=>35 ; 20<=>30	7	28	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ; KNO <sub>3</sub>
<i>Pennisetum clandestinum</i>	キクユグラス(Kikuyugrass)	TP	20<=>35 ; 20<=>30	7	14	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Pericallis cruenta</i>	シネリア	TP	20<=>30 ; 20	4-7	21	予冷
<i>Perilla frutescens</i>	シソ	TP ; BP	20<=>30 ; 20	5-7	21	予冷
<i>Petroselinum crispum</i>	パセリ	TP ; BP	20<=>30 ; 20	10	28	—
<i>Petunia × atkinsiana</i>	ペチュニア	TP	20<=>30 ; 20	5-7	14	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Phacelia tanacetifolia</i>	ハゼリソウ	TP ; BP	20<=>30 ; 20 ; 15	5	14	予冷, <暗黒>
<i>Phalaris arundinacea</i>	リートカナリーグラス(クサヨシ)	TP	20<=>30	7	21	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Phaseolus coccineus</i>	ベニバナインゲン	BP ; S	20<=>30 ; 20	5	9	—
<i>Phaseolus vulgaris</i>	インゲン	BP ; TPS ; S ; 0	20<=>30 ; 25 ; 20	5	9	—
<i>Phleum pratense</i>	チモシー(オアワカゲリ)	TP	20<=>30 ; 15<=>25	7	10	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Phlox drummondii</i>	フロックス	TP ; BP	20<=>30 ; 20 ; 15	5-7	21	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Physalis alkekengi</i>	ホオズキ	TP	20<=>30	4-7	28	KNO <sub>3</sub> ; 予冷 ; 光
<i>Physalis pubescens</i>	食用ホオズキ (Barbados Gooseberry)	TP	20<=>30	7	28	KNO <sub>3</sub>
<i>Pisum sativum</i>	エンドウ	BP ; TPS ; S	20	5	8	—
<i>Plectocephalus americana</i>	アサミヤグルマ	TP ; BP	20<=>30 ; 20 ; 15	4-7	21	水に24時間浸漬 ; 予冷 ; 光
<i>Plectocephalus scutellarioides</i>	(コリウス)キンランジソ	TP ; BP	20<=>30 ; 20	5-7	21	光
<i>Poa annua</i>	スズメノカタビラ(Annual Bluegrass)	TP	20<=>30 ; 15<=>25	7	21	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Poa pratensis</i>	ケンタッキーブルーグラス(ナカハグサ)	TP	20<=>30 ; 15<=>25 ; 10<=>30	10	21	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Poa trivialis</i>	オオスズメノカタビラ(Rough Bluegrass)	TP	20<=>30 ; 15<=>25	7	21	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Portulaca grandiflora</i>	マツボタ	TP ; BP	20<=>30 ; 20	4-7	14	光 ; 予冷 ; KNO <sub>3</sub>
<i>Portulaca oleracea</i>	スベリヒユ	TP ; BP	20<=>30	5	14	予冷
<i>Primula auricula</i>	プリムラ・オーリクラ(アツハサクラソウ)	TP	20<=>30 ; 20 ; 15	7-14	28	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Primula denticulata</i>	プリムラ・デンティクラータ(タマサキサクラソウ)	TP	20<=>30 ; 20 ; 15	7-14	28	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Primula elatior</i>	プリムラ・エラチオール	TP	20<=>30 ; 20 ; 15	7-14	28	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Primula japonica</i>	クインソウ	TP	20<=>30 ; 20 ; 15	7-14	28	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Primula × kewensis</i>	プリムラ・キューエンス(ヤケラサクラ)	TP	20<=>30 ; 20 ; 15	7-14	28	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Primula malacoides</i>	プリムラ・マラコイデス(ケショウサクラ)	TP	20<=>30 ; 20 ; 15	7-14	28	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Primula obconica</i>	プリムラ・オブコニカ(トキワサクラ)	TP	20<=>30 ; 20 ; 15	7-14	28	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Primula praenitens</i>	チュウカサクラソウ(カンサクラ)	TP	20<=>30 ; 20 ; 15	7-14	28	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Primula veris</i>	キハナクリンサクラ	TP	20<=>30 ; 20 ; 15	7-14	28	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Primula vulgaris</i>	イチゲサクラソウ	TP	20<=>30 ; 20 ; 15	7-14	28	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Psophocarpus tetragonolobus</i>	シカマメ(トウサイ)	BP ; S	20<=>30 ; 30	4	14	—
<i>Raphanus sativus</i>	ダイコン	TP ; BP ; S	20<=>30 ; 20	4	10	予冷 [休眠時には20<=>30を推奨]
<i>Rudbeckia fulgida</i>	ルトヘギア	TP ; BP	20<=>30 ; 20	4-7	21	予冷 ; 光
<i>Saintpaulia ionantha</i>	(セントポールア)アフリカスミレ	TP	20<=>30 ; 20	7-14	28	—
<i>Salvia coccinea</i>	ベニバナサルビア	TP	20<=>30 ; 20	4-7	21	予冷

<i>Salvia farinacea</i>	ブルーサルビア	TP	20<=>30 ; 20	4-7	21	予冷
<i>Salvia hispanica</i>	チア	TP	20<=>30 ; 20	4-7.	14	—
<i>Salvia officinalis</i>	セージ	TP	20<=>30 ; 20	4-7	21	予冷
<i>Salvia splendens</i>	サルビア	TP	20<=>30 ; 20	4-7	21	予冷
<i>Sanguisorba minor</i>	オランダワレモコウ (Little Burnet)	TP ; BP	20<=>30 ; 20	7	28	—
<i>Secale cereale</i>	ライムギ	TP ; BP ; S	20	4	7	予冷 ; GA <sub>3</sub>
<i>Sesamum indicum</i>	ゴマ	TP	20<=>30	3	6	—
<i>Setaria italica</i>	アワ	TP ; BP	20<=>30	4	10	—
<i>Silene pendula</i>	オオマンテマ (フクロナデシコ)	TP ; BP	20<=>30 ; 20	7-14	28	KNO <sub>3</sub>
<i>Sinapis alba</i>	シロガらし	BP ; TP	20<=>30 ; 20	3	7	予冷
<i>Solanum</i> (sect. <i>Lycopersicon</i> ) hybrids		TP ; BP ; S	20<=>30	5	14	KNO <sub>3</sub>
<i>Solanum</i> (sect. <i>Lycopersicon</i> ) spp.		TP ; BP ; S	20<=>30	5	14	KNO <sub>3</sub>
<i>Solanum lycopersicum</i>	トマト	TP ; BP ; S	20<=>30	5	14	KNO <sub>3</sub>
<i>Solanum melongena</i>	ナス	TP ; BP ; S	20<=>30	7	14	—
<i>Solanum nigrum</i>	イヌホウズキ	TP	20<=>30	7	14	—
<i>Sorghum bicolor</i> subsp. <i>bicolor</i>	ソルガム (モロコシ)	TP ; BP	20<=>30 ; 25	4	10	予冷
<i>Sorghum bicolor</i> subsp. <i>drummondii</i>	スーダソルガム	TP ; BP	20<=>30	4	10	予冷
<i>Sorghum bicolor</i> × <i>S. sudanense</i>		TP ; BP	20<=>30	4	10	予冷
<i>Spinacia oleracea</i>	ホウレンソウ	TP ; BP	15 ; 10	7	21	予冷 [低水分量推奨]
<i>Tagetes erecta</i>	アフリカンマリーゴールド	TP ; BP	20<=>30 ; 20	3-5	14	光
<i>Tagetes patula</i>	フレンチマリーゴールド	TP ; BP	20<=>30 ; 20	3-5	14	光
<i>Tagetes tenuifolia</i>	メキシカンマリーゴールド	TP ; BP	20<=>30 ; 20	3-5	14	光
<i>Taraxacum officinale</i>	ショクヨウタンポポ	TP	20<=>30 ; 20	7	21	—
<i>Thinopyrum intermedium</i>	インターメディウムキエイトホイトグラス	TP	20<=>30 ; 15<=>25	5	28	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Thymus serpyllum</i>	タイム	TP ; BP	20<=>30 ; 20 ; 15	7	21	光
<i>Thymus vulgaris</i>	タイム (タチシヤコウソウ)	TP	20<=>30 ; 20	7	21	—
<i>Torenia fournieri</i>	トレニア	TP	20<=>30	5-7	14	KNO <sub>3</sub>
<i>Trifolium hybridum</i>	アルサイクローパー	TP ; BP	20	4	10	ポリエチレン袋に封入 ; 予冷
<i>Trifolium incarnatum</i>	クリムソクローパー	TP ; BP	20	4	7	ポリエチレン袋に封入 ; 予冷
<i>Trifolium pratense</i>	アカクローパー	TP ; BP	20	4	10	予冷
<i>Trifolium repens</i>	シロクローパー	TP ; BP	20	4	10	ポリエチレン袋に封入 ; 予冷
× <i>Triticosecale</i>	ライコムギ	TP ; BP ; S	20	4	8	予熱 (30~35℃) ; GA <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Triticum aestivum</i> subsp. <i>aestivum</i>	コムギ	TP ; BP ; S	20	4	8	予熱 (30~35℃) ; GA <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Triticum aestivum</i> subsp. <i>spectabile</i>	スヘルトコムギ	BP ; S	20	4	8	予熱 (30~35℃) ; GA <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Triticum turgidum</i> subsp. <i>dicoccum</i>	エンマコムギ	TP ; BP ; S	20	4	8	予熱 (30~35℃) ; GA <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Triticum turgidum</i> subsp. <i>durum</i>	デュラムコムギ (マカロニコムギ)	TP ; BP ; S	20	4	8	予熱 (30~35℃) ; GA <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Vaccaria hispanica</i>	トウカンソウ	TP ; BP	15<=>10	4-7	21	予冷 ; 光
<i>Valerianella locusta</i>	コンサリタ (ノヂシヤ)	TP ; BP	20 ; 15	7	28	GA <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Vicia faba</i>	ソラマメ	BP ; S ; 0	20	4	14	予冷
<i>Vicia narbonensis</i>	ナルボンヘツチ	BP ; S	20	5	10	—
<i>Vicia sativa</i>	コモンヘツチ (ナローリーフヘツチを含む)	BP ; S	20	5	14	予冷

<i>Vicia villosa</i>	ヘアリーベッチ(ウーリーボットヘアッチを含む)	BP ; S	20	5	14	予冷
<i>Vigna angularis</i>	アズキ	BP ; S	20<=>30	4	10	—
<i>Vigna radiata</i>	リョクトウ	BP ; S	20<=>30 ; 25	5	7	—
<i>Vigna unguiculata</i>	ササゲ	BP ; S	20<=>30 ; 25	5	8	—
<i>Vinca minor</i>	ヒメツルニチニチソウ	TP	20<=>30 ; 20	4-7	14	—
<i>Viola odorata</i>	ニオイシレ	TP	20 ; 10	4-7	21	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Viola tricolor</i>	パンジー	TP	20<=>30 ; 20	4-7	21	KNO <sub>3</sub> ; 予冷
<i>Zea mays</i>	トウモロコシ	TP;BP;TPS;S	20<=>30 ; 25 ; 20	4	7	〈TP では CCP を使うこと〉
<i>Zinnia elegans</i>	ヒヤクニチソウ(シニア)	TP ; BP	20<=>30 ; 20	3-5	10	予冷 ; 光
<i>Zoysia japonica</i>	ノシバ	TP	20<=>35	10	28	KNO <sub>3</sub>

## 2 純潔度合検査

### 2-1 一般原則

検査試料は、純潔種子、異種種子及び夾雑物の3つの組成分に分け、それぞれの重量百分率を測定する。すべての種子の種と夾雑物の種類はできる限り同定し、報告を求められる場合にはその重量百分率を測定する。純潔種子とは依頼者によって表示されている種、又は検査において卓越して認められる種であって、その種のすべての植物学的変種及び栽培品種を含めたものである。異種種子とは、純潔種子の種以外のあらゆる植物種の種子である。夾雑物とは、純潔種子又は異種種子と定義されない種子単位及び他のあらゆる構造物である。

### 2-2 方法

純潔度合検査は送付試料から採られた検査試料について行う。検査試料は秤量後、各組成分に分離する。一般に分離は試料中の粒子を調べることを基に行う。分離後、各組成分及び百分率を報告すべき種子のあらゆる種とその他の物質の種類は、小数第1位までの百分率を計算するのに必要な小数位まで、グラム単位で秤量する。

### 2-3 結果の計算と表現

分画全部の百分率を合計する。Trace (痕跡)と報告すべき分画はこの計算から除外する。その他の組成分は合計して100.0%となる。合計が100.0%にならない場合(99.9%あるいは100.1%)には、最も大きい数値(通常は純潔種子率)に対して0.1%を加減する。

注：0.1%を超える補正值が必要となった場合には、計算の誤りを調べる。

### 3 含水量検査

#### 3-1 一般原則

規定の方法は可能な限り多くの水分の除去を確実にする一方で、酸化、分解又は揮発性物質の消失を抑えるように設計されている。含水量測定用試料は破損していない防湿容器に入れられ、可能な限り空気が排除されていなければならない。

#### 3-2 方法

試料は受理後できるだけ速やかに測定を開始する。測定中は試料が室内の空気に触れるのを最小限に抑える。秤量は小数第3位まで、グラム単位で行う。測定は別々に抽出した2個の試料について行うが、その重量は使用する容器の直径によって次のとおりとする。

- 直径5 cm 超、8 cm未満……………4.5±0.5 g
- 直径8 cm以上……………10.0±1.0 g

#### 3-2-2 粉砕

大粒種子及び種子から水分がなくなることを妨げる種皮がある種子は乾燥の前に粉砕するが、脂肪含量が高くて粉砕が困難な場合又は（特にヨード価の高い脂肪を含む *Linum* アマ属のような種子で）酸化によって重量が増加する恐れのある場合を除く。

#### 3-2-3 切断

油脂含量の高い種では、粉砕を行う代わりに7 mm以下の小片へ切断するべきである。切断は送付試料から抽出した10粒の完全な種子の重さにはほぼ等しい試料に対して行う。

種子を迅速に切断し、合わせ、スプーンで混合したのち、2反復に分割し、秤量済みの容器に入れる。4分以上空気にさらさないようにする。

#### 3-2-4 予乾

予乾の必要な種は第3表のとおり。

非常に多くの水分を含んだ *Zea mays* トウモロコシ種子（含水量25%以上）の場合、20 mm以上の厚さにならないように種子を広げ、65~75°Cで、予乾前の含水量によって2~5時間乾燥する。含水量が30%を超える他の種子の場合には、暖かいところで一晩乾かす。その他の場合、130°Cの乾燥器内で、予乾前の含水量によって5~10分間予乾する。幾分か乾燥した材料はその後2時間実験室内にさらしておく。

#### 3-2-5 低恒温乾燥器法

測定用試料を容器の表面に均等に広げる。容器とその蓋は試料を入れる前と後に秤量する。蓋を取ってその上に容器を載せ、素早く101~105°Cの温度に保たれている乾燥器に入れて17±1時間乾燥する。乾燥の開始時点は乾燥器内が必要な温度に戻った時とする。規定時間に達したら容器に蓋をし、デシケータに移して放冷する。放冷後、試料の入った容器を蓋をしたままで秤量する。

#### 3-2-6 高恒温乾燥器法

低恒温乾燥器法と同じであるが、異なる点は乾燥器内を130~133°Cの温度に保つこと、試料の乾燥時間を種類により、1時間、2時間、4時間とすることである。

#### 3-3 結果の計算

含水量は重量百分率で表し、次式によって小数第3位まで算出する。

$$(M_2 - M_3) \times \frac{100}{M_2 - M_1}$$

$M_1$  : 乾燥容器とその蓋の合計重量 (g) ( $M_2 - M_3$ )

M<sub>2</sub> : 乾燥容器とその蓋、及び乾燥前の内容物の合計重量 (g)

M<sub>3</sub> : 乾燥容器とその蓋、及び乾燥後の内容物の合計重量 (g)

予乾した場合は次式によって算出する。

$$(S_1 + S_3) - \frac{S_1 \times S_3}{100}$$

S<sub>1</sub> : 予乾で失った水分

S<sub>2</sub> : 本乾燥で失った水分

### 3-4 許容誤差

小数第1位で四捨五入した2反復の測定値の差が0.2%を超えなければ、この2つの測定値の算術平均値を結果とする。そうでない場合は測定を繰り返す。

第3表 含水量測定方法の詳細

この表に明示された低温乾燥法 (Low) または高温乾燥法 (High) の方法を用いなければならない。

種		粉碎/切断	乾燥温度 High: 130℃ Low: 103℃	乾燥 時間 (h)	反復の 許容誤差	予乾の必要性/備考
1		2	3	4	5	6
<i>Agrostis</i> spp.	コスガサ属	No	High	1	0.2%	—
<i>Allium</i> spp.	ネギ属	No	Low	17	0.2%	—
<i>Apium graveolens</i>	セロリ	No	High	1	0.2%	—
<i>Arrhenatherum</i> spp.	オカヅリ属	No	High	1	0.2%	—
<i>Asparagus officinalis</i>	アスパラガス	No	High	1	0.2%	—
<i>Avena</i> spp.	カラスムギ属	粗挽き	High	2	0.2%	水分含量 17%、もしくはそれ以下へ
<i>Beta vulgaris</i>	ブドウサウ、ビート(テンサイ)類 (全変種)	No	High	1	0.2%	—
<i>Brassica</i> spp.	アブラナ属	No	Low	17	0.2%	—
<i>Bromus</i> spp.	スズメノチヤビキ属	No	High	1	0.2%	—
<i>Capsicum</i> spp.	トウガラシ属	No	Low	17	0.2%	—
<i>Chloris gayana</i>	ホースグラス	No	High	1	0.2%	—
<i>Cicer arietinum</i>	ヒヨコマメ	粗挽き	High	1	0.2%	水分含量 17%、もしくはそれ以下へ
<i>Cichorium</i> spp.	キクニガナ属	No	High	1	0.2%	—
<i>Citrullus lanatus</i>	スイカ	粗挽き	High	1	0.2%	水分含量 17%、もしくはそれ以下へ
<i>Cucumis</i> spp.	キュウリ属	No	High	1	0.2%	—
<i>Cucurbita</i> spp.	カボチャ属	No	High	1	0.2%	—
<i>Cuminum cyminum</i>	クミン	No	High	1	0.2%	—
<i>Cynodon dactylon</i>	パーミューダグラス(キョウキシハ)	No	High	1	0.2%	—
<i>Dactylis glomerata</i>	オーチャートグラス(カモカヤ)	No	High	1	0.2%	—
<i>Daucus carota</i>	ニンジン	No	High	1	0.2%	—
<i>Deschampsia</i> spp.	コメスキ属	No	High	1	0.2%	—
<i>Elymus</i> spp.	エゾムギ属	No	High	1	0.2%	—
<i>Fagopyrum esculentum</i>	ソバ	粉碎	High	2	0.2%	水分含量 17%、もしくはそれ以下へ

<i>Festuca</i> spp.	ウシノグサ属	No	High	1	0.2%	—
<i>Glycine max</i>	ダイズ	粗挽き	Low	17	0.2%	水分含量 12%、もしくはそれ以下へ
<i>Helianthus annuus</i>	ヒマワリ	No	Low	17	0.2%	—
<i>Hordeum vulgare</i> subsp. <i>vulgare</i>	オムギ	粉碎	High	2	0.2%	水分含量 17%、もしくはそれ以下へ
<i>Lactuca sativa</i>	レタス	No	High	1	0.2%	—
<i>Lathyrus</i> spp.	ソリソリ属	粗挽き	High	1	0.2%	水分含量 17%、もしくはそれ以下へ
<i>Linum usitatissimum</i>	アマ	No	Low	17	0.2%	—
<i>Lolium</i> spp.	ドクムギ属	No	High	2	0.2%	103°C17h でも可
<i>Lotus</i> spp.	Lotus 属	No	High	1	0.2%	—
<i>Medicago</i> spp.	ウマコヤシ属	No	High	1	0.2%	—
<i>Megathyrsus maximus</i>	ギニアグラス	No	High	2	0.2%	—
<i>Nicotiana tabacum</i>	タバコ	No	High	1	0.2%	—
<i>Oryza sativa</i>	イネ	粉碎	High	2	0.2%	水分含量 13%、もしくはそれ以下へ
<i>Panicum</i> spp.	キビ属	No	High	2	0.2%	—
<i>Paspalum</i> spp.	スズメノヒエ属	No	High	1	0.2%	—
<i>Pennisetum</i> spp.		No	High	1	0.2%	—
<i>Petroselinum crispum</i>	パセリ	No	High	1	0.2%	—
<i>Phacelia tanacetifolia</i>	ハゼリソウ	No	High	1	0.2%	—
<i>Phalaris</i> spp.	クサヨシ属	No	High	1	0.2%	—
<i>Phaseolus</i> spp.	インゲンマメ属	粗挽き	High	1	0.2%	水分含量 17%、もしくはそれ以下へ
<i>Phleum</i> spp.	アワガエリ属	No	High	1	0.2%	—
<i>Pisum sativum</i>	エンドウ	粗挽き	High	1	0.2%	水分含量 17%、もしくはそれ以下へ
<i>Poa</i> spp.	ナカハグサ属	No	High	1	0.2%	—
<i>Raphanus sativus</i>	ダイコン	No	Low	17	0.2%	—
<i>Secale cereale</i>	ライムギ	粉碎	High	2	0.2%	水分含量 17%、もしくはそれ以下へ
<i>Sesamum indicum</i>	ゴマ	No	Low	17	0.2%	—
<i>Setaria</i> spp.	エノコログサ属	No	High	1	0.2%	—

<i>Sinapis</i> spp.	シロカ <sup>ラシ</sup> 属	No	Low	17	0.2%	—
<i>Solanum lycopersicum</i>	トマト	No	High	1	0.2%	—
<i>Solanum melongena</i>	ナス	No	Low	17	0.2%	—
<i>Sorghum</i> spp.	モロコシ属	粉碎	High	2	0.2%	水分含量 17%、もしくはそれ以下へ
<i>Spinacia oleracea</i>	ホウレンソウ	No	High	1	0.2%	—
<i>Thinopyrum</i> spp.		No	High	1	0.2%	—
<i>Trifolium</i> spp.	シヤジ <sup>クワ</sup> 属	No	High	1	0.2%	—
<i>Triticum</i> spp.	コムギ <sup>属</sup>	粉碎	High	2	0.2%	水分含量 17%、もしくはそれ以下へ
× <i>Triticosecale</i>	ライコムギ <sup>属</sup>	粉碎	High	2	0.2%	水分含量 17%、もしくはそれ以下へ
<i>Valerianella locusta</i>	コンサリタ <sup>属</sup> (ナチ <sup>シヤ</sup> )	No	High	1	0.2%	—
<i>Vicia</i> spp.	ソラマメ属	粗挽き	High	1	0.2%	水分含量 17%、もしくはそれ以下へ
<i>Vigna</i> spp.	ササガ <sup>属</sup>	粗挽き	High	1	0.2%	水分含量 17%、もしくはそれ以下へ
<i>Zea mays</i>	トウモロコシ	粉碎	High	4	0.2%	水分含量 17%、もしくはそれ以下へ

## 4 異種の粒数検査

### 4-1 一般原則

異種種子の検査は、完全検査とする。完全検査とは検査試料の全部について、すべての異種種子を捜査するものである。本検査は調査した量のうちに見出された種子の粒数を数え、その学名とともに、報告することによって行う。見出された種子の種名が明確に同定できない場合には属名のみを報告してよい。

### 4-2 方法

検査試料は、少なくとも 25,000 粒の種子単位を含むと見積もられる重量、又は異種粒数検査用試料の最小限数量に指示された重量以上とする。検査依頼者の申請に従い、すべての異種種子を検査試料中に探す。見出された各々の種の種子数を数える。

### 4-3 結果の計算と表現

結果は実際に検査した重量中に見出された各々の異種又は部類に属する種子の数で表す。単位重量当たり（例：キログラム当たり）の粒数を計算しても良い。

## 5 病害検査

### 5-1 一般原則

依頼者によって指定された病原体の有無を判定し、試料中の、それらの影響を受けた種子の数を、用いる方法が許す限りの正確さで推測する。結果の評価には、適用した方法に関する知識と経験とが必要である。農作物種子検査依頼書 (B)による依頼について、送付試料は、国際種子検査協会が規定する処理方法の種子のみとする。農作物種子検査報告書(A)による依頼についても、判定は種子荷口に施した処理によって影響を受ける可能性があるため、送付試料は無処理の種子が望ましい。ただし、処理が施されていれば、依頼者は処理方法、処理薬剤名、処理濃度等を明らかにする必要がある。なお、判定に影響を受ける可能性がある場合は、その旨を報告書に明記する。

### 5-2 方法

検査の方法により送付試料全部又は一部を検査試料とする。使用する方法は検査対象の病原体の種類及び状態並びに種子の種、検査の目的によって異なり、試料を培養したり、生育中の植物体を調査することもある。病害別の検査の方法は以下に示す。

#### 5-2-1 ニンジンの *Alternaria radicina* の検査

- 1) 対象作物：ニンジン
- 2) 病名：黒斑病
- 3) 検査試料：400粒
- 4) 前処理：なし
- 5) 方法：凍結ブロッター法。  
プラスチック製ペトリ皿にろ紙を3枚敷き、1皿に10粒を置床する。ろ紙は滅菌蒸留水に浸し、余分な水を切る。
- 6) 培養：20℃、3日間、暗黒下に置く。その後、-20℃で24時間凍結する。さらに、20℃、12時間周期の暗黒・近紫外線照明下に6日間置く。
- 7) 鑑定：各種子を倍率30～80倍で観察し、分生子を探す。分生子は普通単一又は2～3個の集団を形成し、楕円形あるいは樽型をしている。嘴部（ビーク）はなく、大きさは75 μmまでである。オリーブ色を帯びた褐色ないし黒色で、特徴的な光沢がある。普通、分生子柄は種子の表面から単生するが、気中菌糸や匍匐菌糸、菌糸束から生じる場合が多い。

#### 5-2-2 ニンジンの *Alternaria dauci* の検査

- 1) 対象作物：ニンジン
- 2) 病名：黒葉枯病
- 3) 検査試料：400粒
- 4) 前処理：なし
- 5) 方法：凍結ブロッター法。

プラスチック製ペトリ皿にろ紙を3枚敷き、1皿に10粒を置床する。ろ紙は滅菌蒸留水に浸し、余分な水を切る。

- 6) 培養：20℃、3日間、暗黒下に置く。その後、-20℃で24時間凍結する。さらに、20℃、12時間周期の暗黒・近紫外線照明下に6日間置く。
- 7) 鑑定：各種子を倍率30～80倍で観察し、分生子を探す。分生子はオリーブ色～褐色を呈し、長い逆棍棒状や長楕円形の本体に細長い糸状の嘴部（ビーク）を持ち、嘴部（ビーク）を含む大きさは450 μmに達する。嘴部（ビーク）は1本のもものと2本に分枝するものがあり、その長さは本体の3倍に達するものも観察される。分生子は種子表面上又は気中菌糸上から生じる短い分生子柄に単生し、種子表面や幼根に数個又は小さな固まりとなって観察される場合が多く見られる。

#### 5-2-3 ユウガオの *Fusarium oxysporum* f. sp. *lagenariae* の検査

- 1) 対象作物：ユウガオ
- 2) 病名：つる割病
- 3) 検査試料：400粒
- 4) 前処理：なし
- 5) 方法：培養法。  
駒田培地又はFo-G2培地に10粒ずつ種子を置床する。
- 6) 培養：25℃、12時間周期の暗黒・蛍光照明下で10日間培養する。
- 7) 鑑定：肉眼で種子の周囲に生育するコロニーの有無を調査する。*Fusarium oxysporum* の気中菌糸は白色の綿毛状で、寒天培地上では赤紫色の色素を産生し、しばしば桃色～赤紫色に見える。小型分生胞子は楕円形又は長楕円形、卵形であり、擬頭状に形成される。このようなコロニーのうち、ユウガオに明瞭な病原性が認められたものをユウガオつる割病菌とする。

#### 5-2-4 インゲンマメの *Colletotrichum lindemuthianum* の検査

- 1) 対象作物：インゲンマメ
- 2) 病名：炭疽病
- 3) 検査試料：400粒
- 4) 前処理：次亜塩素酸ナトリウム
- 5) 方法：ブロッター法。  
湿らせた2枚重ねのペーパータオルに種子50粒を置床する。この上にペーパータオルを1枚被せ、種子とペーパータオルを密着させる。このペーパータオルを2度折り返し、プラスチック箱やポリエチレン袋に入れてフタをする。
- 6) 培養：20℃、暗黒下に7日間置く。
- 7) 鑑定：置床7日後、種皮を除去し、子葉や胚軸上に明瞭な縁のある黒色凹陷没斑を探す。実体顕微鏡で25倍に拡大し、鮭肉色の分生子盤や黒色

の剛毛が認められる種子数を記録する。分生子盤をかき取り、光学顕微鏡下で分生胞子を確認する。

#### 5-2-5 エンドウの *Ascochyta pisi*

及び *Didymella pinodes* (*Mycosphaerella pinodes*) の検査

- 1) 対象作物：エンドウ
- 2) 病名：褐斑病、褐紋病
- 3) 検査試料：400粒
- 4) 前処理：次亜塩素酸ナトリウム
- 5) 方法：培養法。  
PDA培地に種子を10粒置床する。
- 6) 培養：20℃、12時間周期の暗黒・近紫外線照明下に7日間置く。
- 7) 鑑定：各種子を肉眼で検査し、白色～淡灰色の菌糸をもち、置床した種子周辺が淡褐色～淡橙色に着色した菌叢を探す。着色部の培地内及び培地上には柄子殻が形成される。菌叢や柄子殻、孢子塊の性状を比較するとともに子のう殻の形成の有無を調べ、*A. pisi* と *D. pinodes* を判別する。

#### 5-2-6-1 アブラナ科野菜の *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* の検査

(洗浄液培養法)

- 1) 対象作物：アブラナ科野菜（アブラナ属及びダイコン）
- 2) 病名：黒腐病
- 3) 検査試料：30,000粒（種子重量換算）
- 4) 前処理：なし
- 5) 方法：洗浄液培養法。  
10,000粒（種子重量換算）のサブサンプルに分け、各サブサンプルに Tween 20 加用滅菌生理食塩水を加えて振とう洗浄する。洗浄液の原液、10倍希釈液及び100倍希釈液を黒腐病菌選択培地に塗布する。
- 6) 培養：28℃または30℃で3～4日間培養する。
- 7) 鑑定：肉眼あるいは低倍率の実体顕微鏡下でコロニーを観察する。黒腐病菌は、デンプン加水分解によるハローを伴った、黄色（培地によっては薄緑色）で光沢のある粘性コロニーを形成する。このようなコロニーが認められたら、YDC培地上でコロニー形態を調査し、対象作物の幼苗へ接種を行う。YDC培地で粘性があり、黄色色素を産生するもののうち、アブラナ属野菜に対して病原性が認められたものを黒腐病菌とする。

#### 5-2-6-2 アブラナ属野菜の *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* の検査

(種子磨砕液培養法)

- 1) 対象作物：アブラナ属野菜
- 2) 病名：黒腐病

3) 検査試料：30,000 粒（種子重量換算）

4) 前処理：なし

5) 方法：種子磨砕液培養法。

10,000 粒（種子重量換算）のサブサンプルに分け、各サブサンプルに Tween 20 及び食塩加用リン酸緩衝液を 100 ml 加えて振とう洗浄した後、種子を磨砕する。磨砕液の原液、10 倍濃縮液及び 10 倍希釈液を黒腐病菌選択培地に塗布する。

6) 培養：28℃または 30℃で 4～6 日間培養する。

7) 鑑定：肉眼あるいは低倍率の実体顕微鏡下でコロニーを観察する。黒腐病菌は、デンプン加水分解によるハローを伴った、黄色（培地によっては薄緑色）で光沢のある粘性コロニーを形成する。このようなコロニーが認められたら、YDC 培地上でコロニー形態を調査し、対象作物の幼苗へ接種を行う。YDC 培地で粘性があり、黄色色素を産生するもののうち、アブラナ属野菜に対して病原性が認められたものを黒腐病菌とする。

#### 5-2-6-3 アブラナ科野菜の *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* の検査

(Seed Wash-PCR 法)

1) 対象作物：アブラナ科野菜（アブラナ属及びダイコン）

2) 病名：黒腐病

3) 検査試料：10,000 粒（種子重量換算）

4) 前処理：なし

5) 方法：Seed Wash-PCR 法。

検査試料を最大 5,000 粒（種子重量換算）のサブサンプルに分け、各サブサンプルに Tween 20 加用滅菌生理食塩水を加えて振とう洗浄する。洗浄液から DNA 抽出を行い、得られた鋳型 DNA 及び本菌に特異的なプライマーを用いてリアルタイム PCR を行う。

6) 判定：リアルタイム PCR 法において特異的な遺伝子増幅が認められたものを黒腐病菌とする。

#### 5-2-7 トマトの Tobamoviruses (*Tomato mosaic virus* (ToMV), *Tobacco mosaic virus* (TMV), *Pepper mild mottle virus* (PMMoV), *Tomato brown rugose fruit virus* (ToBRFV)) の検査

1) 対象作物：トマト

2) 病名：モザイク病

3) 検査試料：3,000 粒

4) 前処理：なし

5) 方法：汁液接種法。

200 粒ずつのサブサンプルに分け、それぞれ磨砕し、タバコ葉に汁液接種する。

- 6) 鑑定：接種3日後から接種葉を検査する。接種葉にえそ斑点が現れたものを陽性と判定する。

#### 5-2-8 レタスの *Lettuce mosaic virus* の検査

- 1) 対象作物：レタス
- 2) 病名：モザイク病
- 3) 検査試料：3,000粒
- 4) 前処理：なし
- 5) 方法：実生苗-ELISA法。

検査種子を100粒のサブサンプルに分け、プラスチック箱に設置したプリーツ状のろ紙に置床する。ろ紙を湿らせた後、箱の蓋を閉じ、15℃の暗黒下に2日間、その後20℃、12時間周期の暗黒・蛍光照明下で4日間以上置く。発芽した実生苗を磨砕し、その磨砕液をELISA法で調べる。

- 6) 判定：ELISA法で陽性反応が認められたものを陽性と判定する。

#### 5-2-9 ウリ科野菜の *Kyuri green mottle mosaic virus* (KGMV) の検査

- 1) 対象作物：ウリ科野菜
- 2) 病名：緑斑モザイク病
- 3) 検査試料：9,400粒又は2,000粒（検査試料数は依頼者が選択）
- 4) 前処理：なし
- 5) 方法：種子-ELISA法。

検査種子を100粒のサブサンプルに分け、それぞれミルで粉砕する。種子粉砕物0.5gに対してPBS-Tweenを5ml加えてよく混和し、5分以上静置する。得られた上清液をELISA法で調べる。

- 6) 判定：ELISA法で陽性反応が認められたものを陽性と判定する。

#### 5-2-10 トウガラシの Tobamoviruses (ToMV, TMV, PMMoV) の検査

- 1) 対象作物：トウガラシ
- 2) 病名：モザイク病
- 3) 検査試料：3,000粒
- 4) 前処理：なし
- 5) 方法：汁液接種法。

250粒ずつのサブサンプルに分け、それぞれ磨砕し、タバコ葉に汁液接種する。

- 6) 鑑定：接種3日後から接種葉を検査する。接種葉にえそ斑点が現れたものを陽性と判定する。

#### 5-2-11-1 アブラナ属野菜の *Plenodomus lingam* (*Leptosphaeria maculans*) の検査

- 1) 対象作物：アブラナ属野菜
- 2) 病名：根朽病
- 3) 検査試料：400 粒又は 1,000 粒
- 4) 前処理：なし
- 5) 方法：凍結ブロッター法又はブロッター法。

#### 凍結ブロッター法

プラスチック箱又はペトリ皿に滅菌蒸留水を含んだろ紙を 3 枚敷き、種子を置床する。20℃、1 日間、暗黒下に置く。その後、-20℃で 24 時間凍結する。さらに、20℃、12 時間周期の暗黒・近紫外線照明下に 14 日間置く。

#### ブロッター法

プラスチック箱又はペトリ皿に 0.2% 2,4-D 溶液を含んだろ紙を 3 枚敷き、種子を置床する。20℃、12 時間周期の暗黒・近紫外線照明下に 11 日間置く。

- 6) 鑑定：培養 6 日後に倍率 25 倍程度の実体顕微鏡下で観察し、種子上及びろ紙上に不規則に伸長する銀白色の菌糸と分生子殻を探す。11 日後に種子上又はその周囲のろ紙上に分生子殻が形成されているか再度観察する。凍結ブロッター法の場合は 14 日後にも再度観察する。分生子殻の大きさは直径約 250 μm と比較的大きく、しばしば頸状となる乳頭状突起を有する。分生子殻から滲出する孢子粘塊はアメジスト色を呈する。このような分生子殻が生じた種子を罹病種子として記録する。

### 5-2-1 1-2 ダイコンの *Plenodomus lingam* (*Leptosphaeria maculans*) の検査

- 1) 対象作物：ダイコン
- 2) 病名：(和名なし)
- 3) 検査試料：400 粒
- 4) 前処理：なし
- 5) 方法：凍結ブロッター法又はブロッター法。

#### 凍結ブロッター法

プラスチック箱又はペトリ皿に滅菌蒸留水を含んだろ紙を 3 枚敷き、種子を置床する。20℃、1 日間、暗黒下に置く。その後、-20℃で 24 時間凍結する。20℃、12 時間周期の暗黒・近紫外線照明下に 14 日間置く。

#### ブロッター法

プラスチック箱又はペトリ皿に 0.2% 2,4-D 溶液を含んだろ紙を 3 枚敷き、種子を置床する。20℃、12 時間周期の暗黒・近紫外線照明下に 11 日間置く。

- 6) 鑑定：培養 6 日後に倍率 25 倍程度の実体顕微鏡下で観察し、種子上及びろ紙上に不規則に伸長する銀白色の菌糸と分生子殻を探す。11 日後に種子上又はその周囲のろ紙上に分生子殻が形成されているか再度観察する。凍結

ブロッカー法の場合は 14 日後にも再度観察する。分生子殻の大きさは直径約 250  $\mu\text{m}$  と比較的大きく、しばしば頸状となる乳頭状突起を有する。分生子殻から滲出する孢子粘塊はアメジスト色を呈する。このような分生子殻が生じた種子を罹病種子として記録する。

#### 5-2-12 ニンジンの *Xanthomonas hortorum* pv. *carotae* の検査

- 1) 対象作物：ニンジン
- 2) 病名：斑点細菌病
- 3) 検査試料：10,000 粒（種子重量換算）
- 4) 前処理：なし
- 5) 方法：洗浄液培養法。  
5,000 粒（種子重量換算）のサブサンプルに分ける。  
各サブサンプルに Tween 20 加用滅菌生理食塩水を種子 1,000 粒あたり 10 ml 加え、4~7℃で 16~18 時間静置する。その後、室温で 5 分間振とうする。洗浄液の原液、10 倍、100 倍及び 1,000 倍希釈液を斑点細菌病菌選択培地に塗布する。
- 6) 培養：28℃で 4~8 日間培養する。
- 7) 鑑定：斑点細菌病菌のコロニーを対照にして出現コロニーを観察する。類似したコロニーを YDC 培地に移植し、コロニー形態を観察する。YDC 培地上の斑点細菌病菌は、平滑で黄色を呈する。このようなコロニーが認められたら、本菌に特異的なプライマーを用いた PCR を行って特異的バンドを確認する。特異的バンドが認められたものを斑点細菌病菌とする。

#### 5-2-13 エンドウの *Pea seed-borne mosaic virus* (PSbMV) の検査

- 1) 対象作物：エンドウ
- 2) 病名：モザイク病
- 3) 検査試料：2,000 粒
- 4) 前処理：なし
- 5) 方法：種子-ELISA 法。  
検査種子を 100 粒のサブサンプルに分け、それぞれミルで粉砕する。  
種子粉砕物 0.5 g に対して PBS-Tween を 5ml 加えてよく混和し、5 分間以上静置する。得られた上清液を ELISA 法で調べる。
- 6) 判定：ELISA 法で陽性反応が認められたものを陽性と判定する。

#### 5-2-14 ウリ科野菜の *Paracidovorax citrulli*

(*Acidovorax citrulli*) の検査

- 1) 対象作物：ウリ科野菜
- 2) 病名：果実汚斑細菌病
- 3) 検査試料：10,000 粒（種子重量換算）

- 4) 前 処 理：なし
- 5) 方 法：Sweat-bag seedling 法。  
作物の種類により、下記のようにサブサンプルを作る。
- ①スイカ、メロン、キュウリ等：作物又は種子の大きさにより 3,340 粒（種子重量換算）ずつの 3 サブサンプル、または 5,000 粒（種子重量換算）ずつの 2 サブサンプルとする。
- ②カボチャ、ユウガオ、ニガウリ、トウガン等：作物又は種子の大きさにより 1,670 粒（種子重量換算）ずつの 6 サブサンプル、2,000 粒（種子重量換算）ずつの 5 サブサンプル、又は 2,500 粒（種子重量換算）ずつの 4 サブサンプルとする。
- ③ペーパータオル上に供試種子を置床し、その上から防かび剤を添加したイオン交換水を散布する。ポリエチレン袋に入れ、空気の注入後、密封する。28℃で 8～11 日間静置後、ポリエチレン袋にイオン交換水を加えて混和する。この混和液を用い、選択培地での培養及び遺伝子診断等を行う。
- 6) 鑑 定：選択培地での出現コロニーを観察するとともに遺伝子診断（LAMP 法）の結果を確認する。選択培地で本病原細菌に類似したコロニーが観察された場合、又は遺伝子診断で陽性反応を示した場合は、本病原細菌の分離を行う。  
分離菌の病原性試験、血清反応、性状試験等により本病原細菌と認められたものを果実汚斑細菌病菌とする。  
菌の分離が出来なかった場合は、LAMP 法とは異なる領域のプライマーを用いた PCR 法による遺伝子診断を行い、陽性反応を示した場合を汚染種子とする。

#### 5-2-15-1 アブラナ属野菜の *Alternaria brassicicola* の検査

- 1) 対象作物：アブラナ属野菜
- 2) 病 名：黒すす病
- 3) 検査試料：400 粒
- 4) 前 処 理：なし
- 5) 方 法：凍結ブロッター法。  
プラスチック製ペトリ皿にろ紙を 3 枚敷き、1 皿に 25 粒を置床する。ろ紙は滅菌蒸留水に浸し、余分な水を切る。
- 6) 培 養：20℃、24 時間、暗黒下に置く。その後、-20℃で 24 時間凍結する。さらに、20℃、12 時間周期の暗黒・近紫外線照明下に 6 日間置く。
- 7) 鑑 定：各種子を倍率 30～80 倍で観察し、分生子を探す。分生子は長く連鎖し嘴部（ビーク）は短く球状を呈する。横隔壁部でのくびれが大きく、団子型に見える。分生子は種子の表面から出現し、種子全面を覆い、濃褐色となる。菌糸はみられない。

ペトリ皿ごとに汚染種子数を記録する。

#### 5-2-15-2 ダイコンの *Alternaria brassicicola* の検査

1) 対象作物：ダイコン

2) 病名：黒斑病

3) 検査試料：400 粒

4) 前処理：なし

5) 方法：凍結ブロッター法。

プラスチック製ペトリ皿にろ紙を3枚敷き、1皿に25粒を置床する。ろ紙は滅菌蒸留水に浸し、余分な水を切る。

6) 培養：20℃、24時間、暗黒下に置く。その後、-20℃で24時間凍結する。さらに、20℃、12時間周期の暗黒・近紫外線照明下条件下に6日間置く。

7) 鑑定：各種子を倍率30～80倍で観察し、分生子を探す。分生子は長く連鎖し、嘴部（ビーク）は短く球状を呈する。横隔壁部でのくびれが大きく、団子型に見える。分生子は種子の表面から出現し、種子全面を覆い、濃褐色となる。菌糸はみられない。

ペトリ皿ごとに汚染種子数を記録する。

#### 5-2-16 ウリ科野菜の *Cucumber green mottle mosaic virus* (CGMMV) の検査

1) 対象作物：ウリ科野菜

2) 病名：緑斑モザイク病

3) 検査試料：9,400粒又は2,000粒（検査試料数は依頼者が選択）

4) 前処理：なし

5) 方法：種子-ELISA法。

検査種子を100粒のサブサンプルに分け、それぞれミルで粉碎する。種子粉碎物0.5gに対してPBS-Tweenを5ml加えてよく混和し、5分以上静置する。得られた上清液をELISA法で調べる。

6) 判定：ELISA法で陽性反応が認められたものを陽性と判定する。

#### 5-2-17-1 アブラナ属野菜の *Alternaria brassicae* の検査

1) 対象作物：アブラナ属野菜

2) 病名：黒斑病

3) 検査試料：400 粒

4) 前処理：なし

5) 方法：凍結ブロッター法。

プラスチック製ペトリ皿にろ紙を3枚敷き、1皿に25粒を置床する。ろ紙は滅菌蒸留水に浸し、余分な水を切る。

6) 培養：20℃、24時間、暗黒下に置く。その後、-20℃で24時間凍結する。さら

に、20℃、12時間周期の暗黒・近紫外線照明下に8日間置く。

- 7) 鑑 定：各種子を倍率30～80倍で観察し、分生子を探す。分生子はほとんどが単生で、稀に3、4個まで鎖生する。分生子は倒棍棒状で真直又は僅かに湾曲し、10前後の横隔壁を持ち、ビークが分生子の全長の1/3～1/2を占める。分生子は種子の表面から出現し、種子全面を覆い、オリーブ色～褐色となる。菌糸はあまりみられないが、中には種子の表面を菌糸が覆い、分生子が形成されることもある。

ペトリ皿ごとに汚染種子数を記録する。

#### 5-2-17-2 ダイコンの *Alternaria brassicae* の検査

- 1) 対象作物：ダイコン
- 2) 病 名：黒斑病
- 3) 検査試料：400粒
- 4) 前 処 理：なし
- 5) 方 法：凍結ブロッター法。

プラスチック製ペトリ皿にろ紙を3枚敷き、1皿に25粒を置床する。ろ紙は滅菌蒸留水に浸し、余分な水を切る。

- 6) 培 養：20℃、24時間、暗黒下に置く。その後、-20℃で24時間凍結する。さらに、20℃、12時間周期の暗黒・近紫外線照明下に8日間置く。

- 7) 鑑 定：各種子を倍率30～80倍で観察し、分生子を探す。分生子はほとんどが単生で、稀に3、4個まで鎖生する。分生子は倒棍棒状で真直又は僅かに湾曲し、10前後の横隔壁を持ち、ビークが分生子の全長の1/3～1/2を占める。分生子は種子の表面から出現し、種子全面を覆い、オリーブ色～褐色となる。菌糸はあまりみられないが、中には種子の表面を菌糸が覆い、分生子が形成されることもある。

ペトリ皿ごとに汚染種子数を記録する。

#### 5-2-18 ウリ科野菜の *Squash mosaic virus* (SqMV) の検査

- 1) 対象作物：ウリ科野菜
- 2) 病 名：モザイク病
- 3) 検査試料：9,400粒又は2,000粒（検査試料数は依頼者が選択）
- 4) 前 処 理：なし
- 5) 方 法：種子-ELISA法。

検査種子を100粒のサブサンプルに分け、それぞれミルで粉砕する。種子粉砕物0.5gに対してPBS-Tweenを5ml加えてよく混和し、5分以上静置する。得られた上清液をELISA法で調べる。

- 6) 判 定：ELISA法で陽性反応が認められたものを陽性と判定する。

#### 5-2-19-1 アブラナ属野菜の *Alternaria japonica* の検査

1) 対象作物：アブラナ属野菜

2) 病名：黒斑病

3) 検査試料：400 粒

4) 前処理：なし

5) 方法：凍結ブロッター法。

プラスチック製ペトリ皿にろ紙を3枚敷き、1皿に25粒を置床する。ろ紙は滅菌蒸留水に浸し、余分な水を切る。

6) 培養：20℃、24時間、暗黒下に置く。その後、-20℃で24時間凍結する。さらに、20℃、12時間周期の暗黒・近紫外線照明下に8日間置く。

7) 鑑定：各種子を倍率30～80倍で観察し、分生子を探す。分生子はほとんどが単生で、稀に2、3個まで鎖生する。分生子は倒棍棒状又は楕円形で、一般に短いビークがあり、2～7の横隔壁といくつかの縦や斜めの隔膜があり、大きさは50～130×14～30 μm くらいである。分生子の側面がでこぼこで、ふくれて見えることがある。これは厚膜胞子を形成するためである。

ペトリ皿ごとに汚染種子数を記録する。

#### 5-2-19-2 ダイコンの *Alternaria japonica* の検査

1) 対象作物：ダイコン

2) 病名：黒斑病

3) 検査試料：400 粒

4) 前処理：なし

5) 方法：凍結ブロッター法。

プラスチック製ペトリ皿にろ紙を3枚敷き、1皿に25粒を置床する。ろ紙は滅菌蒸留水に浸し、余分な水を切る。

6) 培養：20℃、24時間、暗黒下に置く。その後、-20℃で24時間凍結する。さらに、20℃、12時間周期の暗黒・近紫外線照明下に8日間置く。

7) 鑑定：各種子を倍率30～80倍で観察し、分生子を探す。分生子はほとんどが単生で、稀に2、3個まで鎖生する。分生子は倒棍棒状又は楕円形で、一般に短いビークがあり、2～7の横隔壁といくつかの縦や斜めの隔膜があり、大きさは50～130×14～30 μm くらいである。分生子の側面がでこぼこで、ふくれて見えることがある。これは厚膜胞子を形成するためである

ペトリ皿ごとに汚染種子数を記録する。

#### 5-2-20 ウリ科野菜の *Melon necrotic spot virus* (MNSV) の検査

1) 対象作物：ウリ科野菜 (メロン)

2) 病名：メロンえそ斑点病

3) 検査試料：9,400 粒又は2,000 粒 (検査試料は依頼者が選択)

4) 前処理：なし

5) 方法：種子-ELISA 法。

検査種子を 100 粒のサブサンプルに分け、それぞれミルで粉砕する。種子粉砕物 0.5 g に対して PBS-Tween を 5 ml 加えてよく混和し、5 分間以上静置する。得られた上清液を ELISA 法で調べる。

6) 判定：ELISA 法で陽性反応が認められたものを陽性と判定する。

5-2-2 1-1 トマト・ナスの *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Cmm) の検査 (洗浄液培養法)

- 1) 対象作物：トマト、ナス
- 2) 病名：かいよう病
- 3) 検査試料：10,000 粒 (種子重量換算)
- 4) 前処理：なし
- 5) 方法：洗浄液培養法。

検査試料を、最大 5,000 粒 (種子重量換算) のサブサンプルに分け、各サブサンプルに種子洗浄液を添加し、一晩冷蔵する。2,000 粒/サブサンプルの場合は、この種子洗浄液の原液、10 倍濃縮液、10 倍希釈液を、2,000 粒未満/サブサンプルの場合は、原液、10 倍希釈液、100 倍希釈液を選択培地に塗布する。

- 6) 培養：26℃または 28℃で 7~10 日間培養する。
- 7) 判定：培養 7 日目から、肉眼で選択培地上のコロニーを観察する。陽性試料 (かいよう病参照菌株) と同様のコロニーが認められた場合、YDC 培地に分離する。YDC 培地上でも陽性試料と同様のコロニーが形成された場合、PCR (Taqman-Probe 法) または病原性試験を行う。その結果、遺伝子増幅または病徴が確認された場合にトマトかいよう病菌とする。

5-2-2 1-2 トマト・ナスの *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Cmm) の検査 (Seed Wash-PCR 法)

- 1) 対象作物：トマト、ナス
- 2) 病名：かいよう病
- 3) 検査試料：10,000 粒 (種子重量換算)
- 4) 前処理：なし
- 5) 方法：Seed Wash-PCR 法

検査試料を、最大 5,000 粒 (種子重量換算) のサブサンプルに分け、各サブサンプルに種子洗浄液を添加し、一晩冷蔵する。胚が露出する程度に種子を磨砕し、その磨砕液から DNA 抽出を行い、得られた鋳型 DNA 及び本菌に特異的なプライマーを用いてリアルタイム PCR を行う。

- 6) 判定：リアルタイム PCR 法において特異的な遺伝子増幅が認められたものをかいよう病菌とする。

5-2-2 2 アブラナ科野菜の *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* (Psm)

及び *Pseudomonas cannabina* pv. *alisalensis* (Pca) の検査

- 1) 対象作物：アブラナ科野菜（アブラナ属及びダイコン）
- 2) 病名：黒斑細菌病
- 3) 検査試料：30,000 粒（種子重量換算）
- 4) 前処理：なし
- 5) 方法：洗浄液培養法。  
検査試料を最大 10,000 粒（種子重量換算）のサブサンプルに分け、各サブサンプルに Tween 20 加用滅菌生理食塩水を加えて振とう洗浄する。洗浄液の原液、10 倍希釈液及び 100 倍希釈液を選択培地に塗布する。
- 6) 培養：25℃で 2～4 日間培養する。
- 7) 判定：培養 2 日目から実体顕微鏡下でコロニーを観察する。陽性試料（黒斑細菌病参照菌株）と同様のコロニーが認められた場合、King's B 培地に分離する。King's B 培地上でも陽性試料と同様のコロニーが形成された場合、PCR または病原性試験を行う。その結果、遺伝子増幅または病徴が確認された場合に黒斑細菌病菌とする。

5-2-23 カボチャの *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* の検査

- 1) 対象作物：カボチャ
- 2) 病名：果実斑点細菌病
- 3) 検査試料：10,000 粒（種子重量換算）
- 4) 前処理：なし
- 5) 方法：洗浄液培養法。  
検査試料を最大 5,000 粒（種子重量換算）のサブサンプルに分け、各サブサンプルに Tween 20 加用滅菌生理食塩水を加えて振とう洗浄する。洗浄液の原液、10 倍希釈液及び 100 倍希釈液を選択培地に塗布する。
- 6) 培養：25℃で 2～3 日間培養する。
- 7) 判定：培養 2 日目から実体顕微鏡下でコロニーを観察する。陽性試料（果実斑点細菌病参照菌株）と同様のコロニーが認められた場合、King's B 培地に分離する。King's B 培地上でも陽性試料と同様のコロニーが形成された場合、本菌に特異的なプライマーを用いた PCR を行う。その結果、特異的な遺伝子増幅が認められたものを果実斑点細菌病菌とする。

5-2-24 カボチャの *Stagonosporopsis cucurbitacearum*

(*Didymella bryoniae*) の検査

- 1) 対象作物：カボチャ
- 2) 病名：つる枯病
- 3) 検査試料：400 粒
- 4) 前処理：なし
- 5) 方法：ブロッター法及び PCR 法

プラスチック箱に滅菌水を含んだろ紙を3枚敷き、種子を置床する。20°C、12時間周期の暗黒・近紫外線照明下に11日間置く。

- 7) 判定：培養6日目に倍率25倍程度の実体顕微鏡下で観察し、種子上及びろ紙上に形成される分生子殻または偽子嚢殻の有無を確認する。11日目に種子上又はその周囲のろ紙上に分生子殻及び偽子嚢殻が形成されているか再度観察する。分生子殻の色は褐色から黒色、球形で、その内部に多量の分生子を形成する。偽子嚢殻は黒色、球形で、子嚢を内包する。観察後、分生子殻及び偽子嚢殻から核酸を抽出し、PCRを行う。その結果、特異的な遺伝子増幅が認められたものをつる枯病菌とする。

#### 5-2-25-1 トマト・ナスの *Xanthomonas* 属2種の検査（洗浄液培養法）

- 1) 対象作物：トマト、ナス
- 2) 病名：斑点細菌病
- 3) 検査試料：10,000粒（種子重量換算）
- 4) 前処理：なし
- 5) 方法：洗浄液培養法。

検査試料を、最大5,000粒（種子重量換算）のサブサンプルに分け、各サブサンプルに種子洗浄液を添加し、一晩冷蔵する。胚が露出する程度に種子を磨砕し、その磨砕液の原液、10倍希釈液、100倍希釈液を選択培地に塗布する。

- 6) 培養：26°Cまたは28°Cで4~7日間培養する。
- 7) 判定：培養4日目から実体顕微鏡下でコロニーを観察する。陽性試料（黒斑細菌病参照菌株）と同様のコロニーが認められた場合、YDC培地に分離する。YDC培地上でも陽性試料と同様のコロニーが形成された場合、PCRまたは病原性試験を行う。その結果、特異的な遺伝子増幅または典型的な病徴を示したものを斑点細菌とする。

#### 5-2-25-2 トマト・ナスの *Xanthomonas* 属2種の検査（Seed Wash-PCR法）

- 1) 対象作物：トマト、ナス
- 2) 病名：斑点細菌病
- 3) 検査試料：10,000粒（種子重量換算）
- 4) 前処理：なし
- 5) 方法：Seed Wash-PCR法

検査試料を、最大5,000粒（種子重量換算）のサブサンプルに分け、各サブサンプルに種子洗浄液を添加し、一晩冷蔵する。胚が露出する程度に種子を磨砕し、その磨砕液からDNA抽出を行い、得られた鋳型DNA及び本菌に特異的なプライマーを用いてリアルタイムPCRを行う。

- 6) 判定：リアルタイムPCR法において特異的な遺伝子増幅が認められたものを斑点細菌とする。

### 5-3 結果の報告

結果には病原体の学名とともに、適用した検査方法及び検査対象とした試料の量、並びに種子処理についての記述を添えるものとする。特に、試料の量及び種子処理の内容が以下に該当する場合は、結果にその旨を追記するものとする。

- ・ 試料の量が規定量に満たない場合、「提供された試料は○粒のみであり、当該粒数は種苗管理センター依頼検査技術マニュアルに合致していない。」と追記する。ただし、国際種子検査及び登録検査機関検査については規定量の検査が義務づけられている。
- ・ 種子処理が施されている場合、「提供された試料は種子処理が施されており、種子処理が病原体の検出に影響を及ぼすことがある。」と追記する。ただし、アブラナ属野菜の黒腐病（磨砕液培養法）等については除外する。

なお、種子の健康状態に関する記述がないことが、健康状態が満足すべきものであることを必ずしも意味するものではない。

## 6 被覆種子の検査

### 6-1 純潔検査

#### 6-1-1 一般原則

ペレットの検査試料は純潔ペレット、非ペレット種子、きょう雑物の3つの組成成分に分け、各区分の重量百分率を測定する。純潔ペレットとは、種子を含むか否かに関わらず完全な形をしているペレットと、破損したペレットで種子表面の半分以上がペレット形成材料に覆われているものである。非ペレット種子とは、あらゆる種の裸種子、依頼者によって表示された種とは異なると判定できる種子を含む破損ペレット、依頼者によって表示された種の種子を含む破損ペレットのうち純潔ペレットの区分に入らないものである。きょう雑物とは、ペレット形成材料、種子が存在しない破損ペレット、2-1の純潔検査できょう雑物と定義されたその他あらゆる物質である。

報告を求められる場合は、存在していた種子のすべての種及びきょう雑物の種類を可能な限り同定し、その百分率を算出する。

#### 6-1-2 方法

送付試料から採られた検査試料を用いてペレット種子についての純潔検査を行う。検査試料は秤量後、各組成成分に分離する。分離後各組成成分の百分率を小数第1位まで求めるのに必要な小数位まで、グラム単位で秤量する。

#### 6-1-3 結果の計算と表現

各組成成分の重量百分率を小数第1位まで算出する。全ての組成成分の合計は100%になる。0.05%に満たない組成成分はTrace(痕跡)とする。

農作物種子検査報告書(A)には、純潔ペレットの重量百分率を純潔度合の欄に記載する。農作物種子検査報告書(B)には、純潔ペレットの重量百分率を純潔種子率、きょう雑物の重量百分率をきょう雑物率の欄に記載する。

国際種子検査報告書には、純潔ペレットの重量百分率をPure seeds、きょう雑物の重量百分率をInert matter、非ペレットの重量百分率をOther seedsの欄に記載する。

### 6-2 発芽検査

#### 6-2-1 一般原則

ペレット種子の発芽検査は、純潔ペレット分画を用いる。ペレットは受理したときの状態で発芽床上に置床する。シードテープではテープ材料から種子を取り出したり前処理を施すことなく発芽検査を行う。

#### 6-2-2 方法

純潔ペレットは、無作為に採った400粒を100粒ずつの反復にする。シードテープの

検査試料は、テープの小片を無作為に採り、種子を少なくとも 100 粒含んだ 4 反復を作る。種類別検査法は第 1 表に従って行うが、規定の発芽床で満足すべき結果が出ない場合、ペレット種子は P P 法、シードテープは B P 法を用いる。

### 6-2-3 結果の計算と表現

結果は、整数の百分率で表す。加えてシードテープでは発芽検査に用いたテープの全長(又はマットの面積)を測定して単位長さ(面積)当たりの正常芽生数を算出する。

### 6-3 異種の粒数検査

#### 6-3-1 一般原則

検査は依頼者によって表示された種の種子を数えることにより行う。

#### 6-3-2 方法

検査ペレット種子及びシードテープは、7,500 粒より少なくてはならない。ペレット形成材料又はテープ材料を除去し、すべての異種種子を探す。見出された各々の種の種子数を数える。

#### 6-3-3 結果の計算と表現

結果は、ペレット種子については検査を行った実際の重量及びペレット数、シードテープについては検査した長さ(マットでは面積)中に含まれる各々の種の種子数で表す。単位重量、単位長さ、単位面積当たりの粒数を計算してもよい。

## 7 放射性物質検査

### 7-1 一般原則

放射性物質依頼検査は農作物（飼料作物を除く。）の種苗及びその栽培ほ場の土壌を対象とし、ゲルマニウム半導体ガンマ線検出装置をもってそれら検査試料の放射能を測定する。

### 7-2 方法

文部科学省放射能測定法シリーズ7「ゲルマニウム半導体検出器によるガンマ線スペクトロメトリー」（令和2年改訂）による。なお、試料の調製は文部科学省放射能測定法シリーズ29「緊急時におけるガンマ線スペクトル解析法」（平成16年制定）による。

#### （1）簡易放射能検査

検査依頼者から提供のあった試料を受理する際、ガイガーカウンターを用いて試料表面の放射性同位元素の密度を測定し、 $4\text{ Bq}/\text{cm}^2$ を超えないことを確認する。

#### （2）検査試料

##### ①種子

大粒種子である場合等、必要に応じて粉碎を行う。

##### ②苗及び球根等

生鮮物とする。

必要に応じて粉碎又は細断を行う。

##### ③土壌

試料の一部を採取し、乾燥器内で乾燥させ、乾土率を算出する。

#### （3）放射能の測定

測定に必要な量の試料を充てんした測定用容器をゲルマニウム半導体ガンマ線検出装置に装てんし、ヨウ素-131、セシウム-134及びセシウム-137の放射能を測定する。

### 7-3 結果の計算及び表現

（1）核種ごとの測定結果を単位重量（1 kg）当たりの放射能（ベクレル）に換算し、放射能濃度（ $\text{Bq}/\text{kg}$ ）とする。

（2）放射能濃度を試料受理日時点の濃度に減衰補正したものを検査結果とする。

（3）測定結果がゲルマニウム半導体検出器の検出限界を超えなかった場合には、「検出せず」と報告する。