

平成 22 年度 成績概要書

研究課題コード： 214184 (公募型研究)

1. 研究成果

- 1) 研究成果名：飼料用とうもろこしにおけるデオキシニバレノールとゼアラレノンの複合汚染実態およびデオキシニバレノール高濃度汚染要因
(予算課題名：粗飼料のカビ毒汚染メカニズムの解明及び汚染低減化技術の開発 214184)
- 2) キーワード：飼料用とうもろこし デオキシニバレノール (DON) ゼアラレノン (ZEN)
- 3) 成果の要約：とうもろこしサイレージ(CS)の ZEN 濃度は前処理カラムの使用により ELISA キットで測定できる。DON と ZEN の複合汚染が見られたが、許容値 1ppm 以上の ZEN は検出されなかった。抽糸期～10 日間の降雨が産生菌感染を促し、その後の湿潤が DON 汚染を助長する。雌穂の物理的損傷や品種の感受性の違いが高濃度汚染要因となる。

2. 研究機関名

- 1) 担当機関・部・グループ・担当者名：畜試・基盤研究部・飼料環境 G・飯田憲司
- 2) 共同研究機関 (協力機関)：農林水産消費安全技術センター

3. 研究期間：平成 18～21 年度 (2006～2009 年度)

4. 研究概要

1) 研究の背景

道内で生産されるところもろこしサイレージにおいてデオキシニバレノール (DON) 汚染が問題となっているが、汚染要因については不明な点が多い。また、DON を産生する赤かび病菌は DON 以外にもゼアラレノン (ZEN) も産生することが知られており、DON と ZEN の複合汚染が懸念されている。さらに、これらの汚染実態の把握には、ELISA キットによる簡易分析法の活用が望まれるが、サイレージ中の ZEN の測定精度は十分な検証がなされていない。

2) 研究の目的

CS 中の ZEN 濃度測定に対する ELISA キットの適用性を明らかにするとともに、CS における DON と ZEN の複合汚染状況を明らかにする。さらに DON が高濃度になる要因を明らかにする。

5. 研究方法

1) CS における ZEN 濃度の測定と根釧地域の CS における DON と ZEN の複合汚染実態

- ・ねらい：ELISA キットによる ZEN 測定精度、CS における DON と ZEN の複合汚染実態を明らかにする
- ・試験項目等：

①公定法 (機器分析) により ZEN 濃度が明らかな CS10 点を用い、ELISA キット (Veratox for Zearalenon, Neogen 社) によって ZEN 濃度を測定した。その際、前処理用カートリッジカラム (Autoprep MF-2, Romer Labs 社) の有無による測定精度を検証した。②2006～2008 年に根釧地域で生産された CS62 点について DON および ZEN 濃度を測定し、複合汚染実態を調査した。

2) 飼料用とうもろこしにおける DON 高濃度汚染要因

- ・ねらい：栽培条件や気象条件、品種などが DON 汚染に及ぼす影響を明らかにする。
- ・試験項目等：

①降雨および連作が DON 濃度に及ぼす影響、赤かび病罹病雌穂の DON 濃度②雌穂の形態的特徴 (先端露出) や損傷が DON 濃度に及ぼす影響③飼料用とうもろこしにおける赤かび病罹病の品種間差とその DON 濃度

6. 研究の成果

- 1)-① カートリッジカラムを用いることにより公定法との間に相関 ($R^2=0.96$) が得られ、ELISA キットが CS 中の ZEN 濃度のスクリーニング検査に使用できることを確認した (データ省略)。
- 1)-② 根釧地域の CS からの DON と ZEN の複合検出率は 3 年間で 33.3～96.0% であり、年次により汚染状況は大きく異なった (表 1)。暫定許容値 4ppm を大きく上回る高濃度の DON が検出されることはあるものの許容値 1ppm を上回る ZEN は検出されず、また、それらの濃度間に相関は認められなかった。
- 2)-① DON 産生菌 (*F. graminearum*) の孢子飛散数は降雨や湿度の影響を受けて増加し、抽糸期前後の孢子飛散数の増加が本菌の感染リスク増大に寄与し、抽糸期～10 日間の降雨とその後の湿潤条件が菌の増殖を促して DON 汚染を助長することが示唆された (表 2)。連作圃場は 1 年目圃場 (前作草地) に比べ、抽糸期前後の本菌孢子飛散数が多くなる傾向がみられたが、DON 汚染に及ぼす影響は判然としなかった。赤かび病罹病雌穂からは極めて高濃度 (527～2826ppm) の DON が検出された。
- 2)-② 非先端露出雌穂から DON は検出されなかった一方で、先端露出く折損く食害く傷つけの順で DON 濃度が高くなったことから、雌穂の物理的損傷が DON 汚染リスクを高めることが示唆された (表 3)。
- 2)-③ 「ばびりか」では他の品種に比べて顕著な赤かび病の罹病傾向が認められ、外観上健全と見られた個体からも他の品種に比べ高い濃度の DON が検出された。一方、「たちびりか」に「ばびりか」と同様の顕著な赤かび病罹病性は認められなかった。これらのことから、赤かび病の罹病および DON の蓄積には品種間差があると判断された。

表 1 根釧地域の CS における DON および ZEN の検出状況

年次	n	DON					ZEN					複合検出率 (%)
		検出数	検出率 (%)	濃度(ppm)			検出数	検出率 (%)	濃度(ppb)			
				平均	最小	最大			平均	最小	最大	
2006年産	21	21	100.0	4.5	1.1	15.1	7	33.3	67.3	<60.0	101.2	33.3
2007年産	16	7	43.8	0.7	<0.5	1.5	11	68.8	73.7	<60.0	131.1	37.5
2008年産	25	24	96.0	4.0	<0.5	20.8	25	100.0	409.0	160.6	847.0	96.0

*<0.5、<60.0: 定量限界未満

表 2 降雨量、連続無降雨日数とサイレージ原料中 DON 濃度との関係(畜試場内)

調査年次	抽糸期(day1)からの日数(日目)						最長連続 無降雨日数 (day1~30)	サイレージ原料中 平均DON濃度	
	-10~-1	1~10	11~20	21~30	31~40	41~50		圃場数	ppm,風乾物
	---- 降雨量(mm) ¹⁾ ----								
2007	77	51	27	17	148	89	10	2	0.4
2008	40	12	71	17	7	33	6	3	1.8
2009	15	82	18	66	2	20	3	3	4.2
2010	96	203	122	17	55	49	5	4	6.2
DON濃度との 相関係数	0.15	0.87	0.60	0.27	-0.47	-0.52	-0.76		

1) 9時~翌8時

表 3 雌穂の損傷等と DON 濃度(2009 年、畜試場内)

表記 DON濃度\圃場名	無処理		雌穂先端露出		雌穂折損		雌穂傷つけ		食害(参考)	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
0.5ppm ¹⁾	0	0	2	3	3	4	9	9	7	6
4ppm ²⁾	0	0	0	1	2	0	6	4	4	4
平均(ppm)	<0.5	<0.5	0.3	0.8	3.8	0.6	10.1	6.4	4.5	6.5
最大(ppm)	<0.5	<0.5	1.7	4.2	20.7	1.8	30.0	31.7	17.2	29.3

¹⁾各処理においてDONが検出された雌穂の本数(10本中) ²⁾4ppmを超えるDONが検出された雌穂の本数(10本中)
 <0.5: 定量限界(0.5ppm)未満、平均値の算出の際は検出限界(0.1ppm)未満を0、検出限界以上定量限界未満を0.2とした
 雌穂先端露出、雌穂折損および雌穂傷つけの各処理は9/8に行い、食害および無処理とともに10/7に採取した

表 4 DON 濃度の品種間差(2009 年および 2010 年、根釧地域)

品種	2009年					2010年				
	圃場名	乾雌穂重 割合(%)	DON濃度(ppm)			圃場名	乾雌穂重 割合(%)	DON濃度(ppm)		
			茎葉	雌穂	総体			茎葉	雌穂	総体
ばびりか	C	45.4	<0.5	9.6	4.5	C	52.2	1.7	15.8	9.1
	D	49.8	14.7	21.3	18.0	F	55.9	0.6	1.0	0.8
	E	53.2	3.7	<0.5	1.8	G	49.3	3.7	<0.5	1.9
たちびりか	C	46.0	<0.5	<0.5	<0.5	C	57.5	<0.5	2.4	1.5
	D	47.0	<0.5	<0.5	<0.5	F	57.1	<0.5	<0.5	<0.5
	E	50.9	<0.5	<0.5	<0.5	G	54.6	<0.5	<0.5	<0.5
X	C	38.1	1.3	<0.5	0.9	C	45.5	<0.5	<0.5	<0.5
	D	42.1	2.4	<0.5	1.5	F	54.0	7.9	<0.5	3.6
	E	50.4	1.3	<0.5	0.6	G	46.9	0.4	<0.5	<0.5
Z	C	45.7	4.4	<0.5	2.5	C	57.3	4.2	0.6	2.1
	D	48.2	<0.5	<0.5	<0.5	F	58.2	2.1	<0.5	1.0
	E	53.6	<0.5	<0.5	<0.5	G	55.7	<0.5	<0.5	<0.5
ばびりか	平均	49.5	6.2	10.4	8.1		52.5	2.0	5.6	3.9
たちびりか	平均	48.0	<0.5	<0.5	<0.5		56.4	<0.5	0.8	0.6
X	平均	43.5	1.7	<0.5	1.0		48.8	2.8	<0.5	1.3
Z	平均	49.2	1.6	<0.5	0.9		57.1	2.2	<0.5	1.1

2009年: 1区5本×3反復をまとめて1サンプル

2010年: 1区10本で1サンプル C,F圃場: 3反復 G圃場: 2反復

<0.5: 定量限界未満、検出限界(0.1ppm)未満を0、検出限界以上定量限界未満を0.2として各値を算出

7. 成果の活用策

1) 成果の活用面と留意点

- ・デオキシニバレノール汚染検査を検討する際の参考となる。
- ・ゼアラレノンのスクリーニングは特定の ELISA キットによる結果であり、他メーカーのキットを用いる際は公定法との相関を確認する必要がある。

2) 残された問題とその対応

- ・赤かび病抵抗性検定法の確立
- ・根釧地域以外のゼアラレノン汚染実態
- ・簡易耕起や連作がデオキシニバレノール汚染に及ぼす影響