

平成26年度 成績概要書

課題コード（研究区分）： 6101-624521 （公募型（委託プロ）研究）

1. 研究課題名と成果の要点

- 1) 研究成果名：飼料用とうもろこしの赤かび病抵抗性検定法と早生品種の抵抗性評価
（研究課題名：寒地における飼料用とうもろこしのかび毒汚染リスク低減技術の開発）
- 2) キーワード：飼料用とうもろこし、赤かび病、*Fusarium graminearum*、デオキシニバレノール
- 3) 成果の要約：赤かび病に弱い品種を検出できる絹糸束注入法、および強い抵抗性をもつ育種素材の選抜に利用できる有傷接種法を確立した。絹糸束注入法による“極弱”の基準品種に「ぱぴりか」を選定し、早生の早～中の15品種の抵抗性を評価した結果、基準品種以外に“極弱”に判定された品種はなかった。

2. 研究機関名

- 1) 担当機関・部・グループ・担当者名：畜産試験場基盤研究部飼料環境G 主査 湊 啓子
- 2) 共同研究機関（協力機関）：

3. 研究期間：平成22～26年度（2010～2014年度）

4. 研究概要

1) 研究の背景

平成21年、道東地域でとうもろこしサイレージから基準値を大幅に上回るデオキシニバレノール（DON）が検出され、飼料生産販売に影響を及ぼす事例が発生した。特定品種での赤かび病の発生がこの事例の主要因と推察され、赤かび病抵抗性検定法の確立と市販品種の抵抗性評価が喫緊の課題となった。

2) 研究の目的

飼料用とうもろこしの赤かび病抵抗性検定法を確立し、早生の早～中の品種の抵抗性を明らかにする。

5. 研究内容

1) 赤かび病抵抗性検定に用いる接種法の開発

(1) 有傷接種法および絹糸束注入法

- ・ねらい：品種間差異の検出に適した接種条件を明らかにする。
- ・試験項目等：接種菌量、接種時期、調査時期、灌水の有無、試験場所および病原菌株の影響

(2) 噴霧接種法

- ・ねらい：より自然発病条件に近い、絹糸に胞子を噴霧する接種法での最適接種条件を明らかにする。
- ・試験項目等：袋掛け手法、接種時期

2) 3つの接種法による早生品種の赤かび病抵抗性評価

- ・ねらい：早生の早～中の品種を対象に3つの接種法による接種試験を実施し、接種法間および自然発病（無接種）と比較する。・試験項目等：発病面積率（%）、苞葉を除く雌穂のDON濃度（ELISA法）

6. 成果概要

- 1)-(1)-ア 有傷接種法では、絹糸抽出10~15日後に $1\sim5\times 10^5$ 個/mlの分生子懸濁液0.5mlを雌穂中腹部に注射接種することで品種間差異を検出できた。絹糸束注入法では、絹糸抽出5~7日後に 1×10^7 個/mlの分生子懸濁液0.1mlを絹糸束に注入接種することで品種間差異を検出できた。発病調査時期は接種4~6週後が適していた。
- 1)-(1)-イ 有傷接種法、絹糸束注入法ともに品種間差異の検出に灌水や試験場所の影響は見られなかった。接種試験に用いる病原菌株の影響は有傷接種法では見られなかったが、絹糸束注入法では病原性が弱い菌株で品種間差異が不明瞭となり、病原性の強い菌株を用いる必要性が明らかになった。
- 1)-(2) 噴霧接種法では、絹糸抽出5~7日後の絹糸に 5×10^5 個/mlの分生子懸濁液約4mlを噴霧接種し、調査時期まで交配袋で被覆する手法が適当と考えられた。
- 2)-(1) 接種法間で発病面積率を比較すると、絹糸束注入法と噴霧接種法との間に有意な相関（ $r=0.74^{**}\sim 0.90^{**}$ ）がみられた。自然発病の発病面積率との比較では、有傷接種法との間に相関は見られなかったが、絹糸束注入法との間には平成24~26年の3カ年で各々 $r=0.73, 0.46, 0.67^{**}$ 、噴霧接種法との間には平成25~26年の2カ年で各々 $r=0.61^*, 0.63^{**}$ の相関が得られた。絹糸束注入法および噴霧接種法と自然発病の発病面積率の高低は概ね一致した。交配袋による被覆等の煩雑な作業を要する噴霧接種法より絹糸束注入法が実用的であった。
- 2)-(2) 有傷接種法では発病面積率60%以上で急激にDON濃度が高まる傾向が見られた（図1）。発病面積率60%未満の品種「B」、「H」、「P」は、他の品種と比較して複数年で有意に低い値を示したことから、それらを中程度抵抗性（MR）、61%以上を感受性（S）品種として評価した（図1）。有傷接種法は自然発病との相関が見られないため、自然発病条件下での抵抗性評価には適さないが、感染後の菌の進展抵抗性を有する品種を選定できるため、強い抵抗性を持つ育種素材を選抜する場面での利用が有効と考えられた。
- 2)-(3) 絹糸束注入法では品種「A」と「B」の発病面積率が他品種に比べ高かったが、DON濃度は「B」の方が顕著に低かった（図2）。これは、有傷接種法における「B」の進展抵抗性を反映した結果と推察され、子実や穂軸内部への菌の浸潤が抑制された可能性が示唆された。なお、「A」は無接種でも発病面積率・DON濃度ともに試験年次を通して最も高かった。以上より、品種「A（ぱぴりか）」を早生の“極弱”の基準品種として選定し、発病面積率が「A」比70%以上を“弱”、発病面積率が「A」比70%以上かつDON濃度が「A」比50%以上を“極弱”とする判定基準を提案し、この基準に基づき早生の早～中の15品種を判定した。その結果、“極弱”と判定された品種は見られず、品種「B」のみが“弱”と判定された（表1）。
- 3) 有傷接種法と絹糸束注入法による赤かび病抵抗性検定法を表2に示した。

< 具体的なデータ >

表 1 絹糸束注入法における早生品種の赤かび病発病面積率と DON 濃度および抵抗性評価

記号 ¹⁾	平成24年			平成25年			平成26年			累年判定 ⁵⁾
	発病面積率 ²⁾	DON濃度 ³⁾	判定 ⁴⁾	発病面積率	DON濃度	判定	発病面積率	DON濃度	判定	
A (44)	(154)	極弱	(64)	(349)	極弱	(50)	(254)	極弱	極弱	
B	92	40	弱	90	44	弱	88	56	極弱	弱
C	59	33	≧中	42	22	≧中	38	21	≧中	≧中
D	26	13	≧中	21	12	≧中	30	14	≧中	≧中
E	20	12	≧中	17	6	≧中	8	4	≧中	≧中
F	— ⁶⁾	—	—	28	10	≧中	0	2	≧中	≧中
G	—	—	—	48	24	≧中	6	2	≧中	≧中
H	—	—	—	16	6	≧中	3	4	≧中	≧中
I	—	—	—	19	5	≧中	6	4	≧中	≧中
J	—	—	—	25	11	≧中	6	2	≧中	≧中
K	—	—	—	40	21	≧中	2	0	≧中	≧中
L	—	—	—	30	21	≧中	0	1	≧中	≧中
M	—	—	—	13	1	≧中	4	1	≧中	≧中
N	—	—	—	40	17	≧中	4	2	≧中	≧中
O	—	—	—	11	2	≧中	0	0	≧中	≧中
P	—	—	—	18	6	≧中	6	3	≧中	≧中

1) A~J: 早生の早, K~P: 早生の中. 品種「A」は「極弱」の基準品種「ばびりか」.
 2) 「A」は実数(%), 他は「A」比(%), 3) 「A」は実数(ppm), 他は「A」比(%),
 4) 発病面積率が品種「A」比で70%以上を「弱」, 70%以上かつDON濃度が「A」比で50%以上を「極弱」と区分した. 発病面積率が「A」比70%未満の品種は自然発病での発病面積が小さく品種間差異が不明瞭であったため区分は設けず、「≧中」と暫定表記した. 5) 2年以上出現した判定を累年判定とする. 6) -: 未実施

表 2 飼料用とうもろこしの赤かび病抵抗性検定法

接種法	有傷接種法	絹糸束注入法
適用場面	赤かび病抵抗性を持つ育種素材の選抜	品種選定時における抵抗性「弱」以下品種の検出
接種菌株	<i>Fusarium graminearum</i> s.str. (DON 産生・強病原性株)	
接種時期	絹糸抽出 10~15 日後	絹糸抽出 5~7 日後
接種方法	4本針(18G,横穴)が付いた接種器具を用いて、5×10 ⁵ 個/mlの分生子懸濁液0.5mlを雌穂中腹部の3~4粒の子実に傷付け接種	1×10 ⁷ 個/mlの分生子懸濁液0.1mlを、ピペットを用いて雌穂先端の苞葉内の穂芯上部の絹糸束に注入
処理・反復	10 雌穂/区×3 反復	
発病調査	時期: 病原菌接種 4~6 週後 方法: 発病面積率(0,1,3,5,10%以降は 10 ポイント刻み)を雌穂毎に評価し、10 雌穂の平均値を算出	
評価法	発病面積率 20%以下: 「R(抵抗性)」, 21~60%: 「MR(中程度抵抗性)」, 61%以上: 「S(感受性)」	・「ばびりか」を早生品種の「極弱」の基準品種とし、発病面積率が「ばびりか」比70%以上を「弱」と判定。さらに、発病面積率が「ばびりか」比70%以上かつDON濃度が「ばびりか」比50%以上を「極弱」とする
備考	・子実に傷を付けて接種。傷口から感染が広がる進展抵抗性を評価 ・本検定法で選抜された抵抗性品種は絹糸束注入法により侵入・進展抵抗性を評価して選抜を進める	・絹糸束に胞子を接種。絹糸を介して感染する経路での侵入・進展抵抗性を評価 ・発病程度が低いいため、進展抵抗性の強い品種の選抜には適さない

7. 成果の活用策

1) 成果の活用面と留意点

- (1) 本成果は赤かび病抵抗性が弱い品種のスクリーニングおよび抵抗性品種の育種研究に活用する。
- (2) 本試験で開発した接種法は早生品種以外の熟期帯にも適用可能であるが、絹糸束注入法の基準品種については別途検討が必要である。

2) 残された問題とその対応

8. 研究成果の発表等

・湊啓子・飯田憲司・山川政明 (2014) 有傷接種法を用いた *Fusarium graminearum* s.str.による飼料用トウモロコシ (*Zea mays* L.) の赤かび病抵抗性検定法. 日草誌 60(3): 193-199

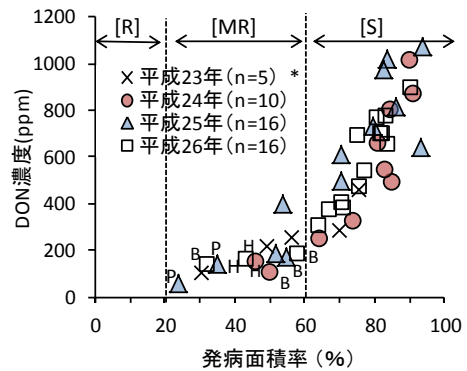


図 1 有傷接種法における早生品種の赤かび病発病面積率と DON 濃度の関係 データラベルは品種記号 (表 1 と共通), *括弧内の数字は供試品種数, 発病面積率 0~20%: [R] (抵抗性), 21~60%: [MR] (中程度抵抗性), 61%以上: [S] (感受性)

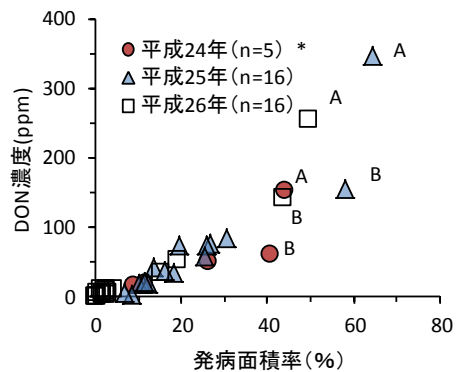


図 2 絹糸束注入法における早生品種の赤かび病発病面積率と DON 濃度の関係 データラベルは品種記号 (表 1 と共通), 括弧内の数字は供試品種数