

西日本における赤かび病自然発生圃場のコムギ試料における粒厚、赤かび粒率およびマイコトキシン汚染度の関係

中島 隆¹⁾・草原 典夫²⁾・坂田 智子³⁾・吉田めぐみ¹⁾

(¹⁾九州沖縄農業研究センター・²⁾長崎県島原農業改良普及センター・³⁾九州三共)

Relation among thickness of grain, percentage of *Fusarium* damaged kernels and mycotoxin contamination level in wheat samples from naturally infested field in the western part of Japan. Takashi Nakajima¹⁾, Norio Sobaru²⁾, Tomoko Sakata³⁾ and Megumi Yoshida¹⁾ (¹⁾ National Agricultural Research Center for Kyushu Okinawa Region, Nishigoshi, Kumamoto 861-1192, Japan. ²⁾ Shimabara Agricultural Extension Center, Shimabara, Nagasaki 855-0835, Japan. ³⁾ Kyushu Sankyuu, Tosu, Saga 841-0023 Japan)

Key words : deoxynivalenol, *Fusarium graminearum*, gravity sorting, nivalenol, sieve sorting

緒 言

厚生労働省は平成14年にコムギのデオキシニバレノール (DON) に関する暫定基準を設定した。その基準に対応するためマイコトキシン低減技術の開発が早急に求められている。FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議のレポート (JECFA, 2002) において、粒厚選別および比重選別機等による選別調整が赤かび粒の混入程度を軽減し、DON 濃度の低減に効果があるとする記述がある。しかし、現段階において我が国ではその効果は実証されていない。さらに、ニバレノール (NIV) 汚染試料での有効性は全く検討されていない。このため、NIV 産生菌が分布する西日本地域から自然感染の試料を収集し、粒厚別の赤かび粒の混入割合と DON および NIV の汚染程度の違いを調べ、マイコトキシン低減選別技術の基礎資料とすることを目的とした。本研究の実施に当たり、コムギ試料の提供にご協力いただいた関係各位にお礼申し上げる。

材料および方法

1. 赤かび病自然発生圃場からのコムギ試料の収集

2003年度に赤かび病の自然発生が認められた西日本の4県10地点より、1地点当たり4~5 kgのコムギ試料の送付を受けた。品種は「チクゴイズミ」が5点、「農林61号」が3点、「シロガネコムギ」が2点であった。送付された試料は実験室内で十分乾燥させ、水分含量を12% (w/w) 以下にして実験に供した。

2. 粒厚選別と赤かび粒率の測定

1.6mm, 1.8mm, 2.0mm, 2.2mm, 2.4mm, 2.6mm, 2.8mmの7種の縦目ふるい(直径12.5cm:不二金属工業製)を使用し、1つの篩につき約5分間ずつ手で振とうし、ふるい分けを行った。各粒厚別のコムギ粒の重量を測定した後、赤かび粒と健全粒に選別し、各々の粒数および重量を測定した。赤かび粒の判定基準は Compendium of Wheat Diseases (Wiese, 1987) の記載に従い、脱色して白くなるか、表面にしわがある粒(同時にしくは単独)を赤かび粒とした。

3. 外観健全コムギ粒からの赤かび病菌の分離

粒厚2.6~2.8mmの外観健全粒を対象に赤かび病菌の分離率を調べた。均一に混合した試料から100粒を選び、50mlのコニカルチューブに1回20粒ずつ入れ、70%エタノールを約20ml加え、試験管ミキサーで約30秒攪拌した。70%エタノールを流し出し、有効塩素濃度1%に希釈した次亜塩素酸ナトリウム水溶液を約20ml加え、軽く攪拌後、1~3分間浸漬した。上清を捨て、滅菌水を約20ml加え攪拌しながら洗浄する操作を3回繰り返した。表面殺菌したコムギ粒を滅菌濾紙上に取り出し、水分を除去し、*Fusarium graminearum*の選択分離用のFG培地(外側, 1994)上にシャーレ当たり4粒ずつピンセットを用いて置床した。自然光の差し込む実験室内で7~10日間培養した後に鮮紅色のコロニーが出現した場合を赤かび病菌が保菌されていたと判定した。

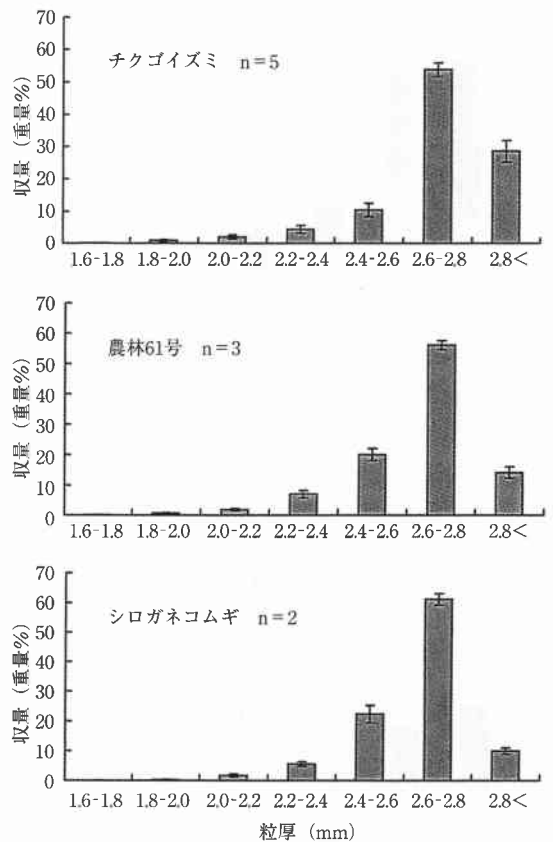
4. マイコトキシンの抽出・定量

選別した各試料を65℃で一晩乾燥させ、ワーリングブレンダー(Waring commercial社製:7012S型)で約3

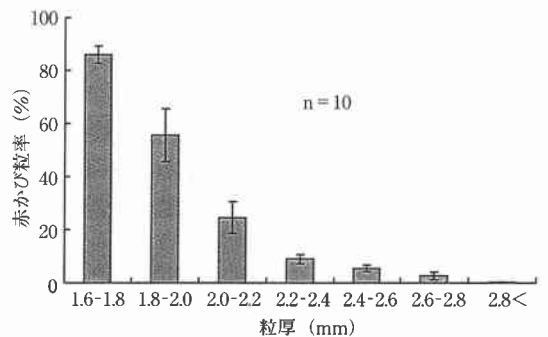
分間粉碎し、1 mm 以下の粒子径にした。粉碎試料 5 g (5 g 以下の試料は 1 g) を 50 ml のコニカルチューブに秤量し、85% アセトニトリル 40 ml を加え、振盪機 (Yamato MK200D) を用いて 90 分間 200 rpm の回転振とうで激しく攪拌した。2000 rpm で 5 分間遠心し、上清を抽出液とした。DON および NIV の定量は協和メデックス社の ELISA キットである FA マイコトキシン (DON + NIV) および FA マイコトキシン (NIV) を用いてマニュアルに従いアセチル化後 ELISA 反応を行った。発色の測定は Thermo Labsystems 社のマイクロプレートリーダーを用いて測定波長 450 nm, 対照波長 630 nm で行った。本キットの定量下限は 0.1 ppm であり、測定値が 2.0 ppm 以上となった場合は抽出液を 10 倍希釈して再度 ELISA 反応を行った。

結 果

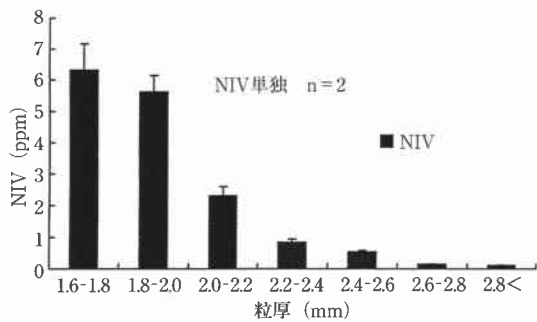
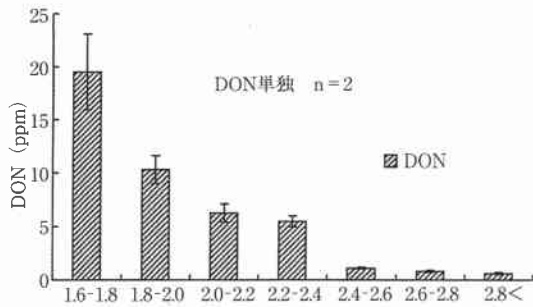
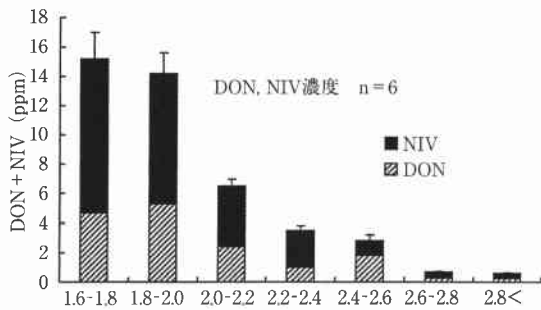
第 1 図に品種別に整理した収量と粒厚の関係を示した。送付を受けた 3 品種とも粒厚 2.6–2.8 mm の粒が最も多く、全体の約 6 割を占めた。粒厚が小さくなるにしたがい赤かび粒率が高くなり、2.6–2.8 mm では平均 2.6% であるのに対して 2.0–2.2 mm では 24.5% と急に上昇し、1.6–1.8 mm では 86.0% とそのほとんどが赤かび粒で占められた (第 2 図)。第 3 図に粒厚とマイコトキシン汚染量の関係を示した。10 地点より採集した試料のうち 6 地点は DON と NIV の混合汚染であり、2 地点が DON 単独汚染、残りの 2 地点が NIV 単独汚染であった。粒厚が小さくなるとマイコトキシン汚染濃度が高くなった。この関係は DON または NIV の混合汚染でも単独汚染でも共通して認められた。第 4 図は整粒 (粒厚 2.2 mm 以上) を対象にそれ以上の粒厚選別を行わずに赤かび粒と健全粒に仕分けた試料を ELISA により分析したものである。外観健全粒からも 10 地点中 7 地点から 0.1 ppm 以上のマイコトキシン (DON + NIV) が検出された。また、赤かび粒のみのマイコトキシン濃度は I 地点が 2.3 ppm であったのに対して A 地点は 10.3 ppm となり、汚染濃度の違いが認められた。外観健全粒への赤かび病菌の感染率を調べるために粒厚 2.6–2.8 mm の健全粒各 100 粒を FG 培地に置床し病原菌の分離率を調べたところ、12%–60% の分離率となった (第 5 図)。粒厚と千粒重の関係調べたところ、赤かび粒は健全粒と比較して千粒重が軽く、2.8 mm より大きい粒厚の粒では 30% の差があり、粒厚が小さくなるにしたがいその差は縮まり 1.6–1.8 mm では 14% の違いとなった (第 6 図)。



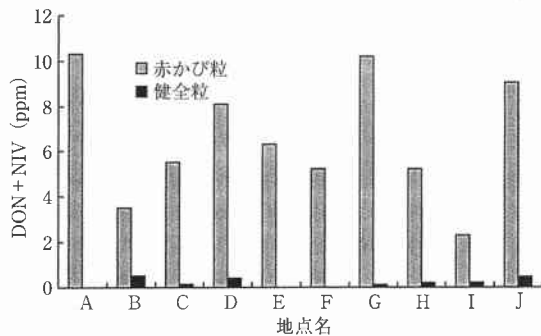
第 1 図 西日本の赤かび病自然発生圃場から採取したコムギ試料の品種別の粒厚分布。n は地点数、棒グラフは各品種の地点による平均値を示し、縦のバーは標準誤差を示す。



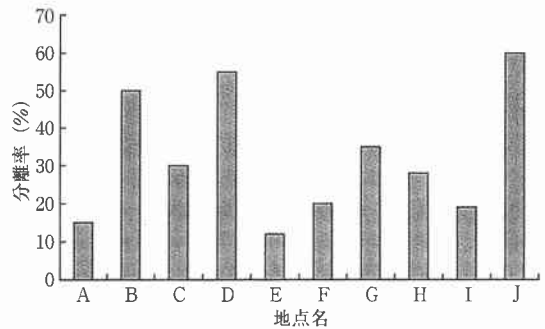
第 2 図 西日本の赤かび病自然発生圃場から採取したコムギ試料の粒厚と赤かび粒率の関係。n は地点数、棒グラフは地点による平均値を示し、縦のバーは標準誤差を示す。



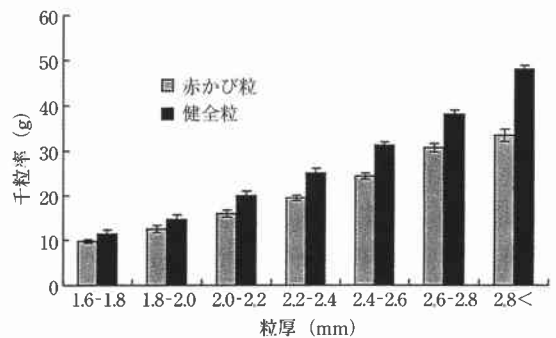
第3図 西日本の赤かび病自然発生圃場から採取したコムギ試料の粒厚とマイコトキシン汚染量の関係。nは地点数、棒グラフは地点による平均値を示し、縦のバーは標準誤差を示す。



第4図 西日本の赤かび病自然発生圃場から採取したコムギ試料における粒厚2.2mm以上の赤かび粒と健全粒のマイコトキシン濃度の違い。



第5図 西日本の赤かび病自然発生圃場から採取したコムギ試料における粒厚2.6-2.8mmの外観健全粒からの赤かび病菌の分離率の違い。



第6図 西日本の赤かび病自然発生圃場から採取したコムギ試料における粒厚と千粒重の関係。棒グラフは10地点の平均値を示し、縦のバーは標準誤差を示す。

考 察

コムギ産地では各農家がカントリーエレベーター等の集団乾燥施設に収穫物を持ち込み、選別・調整が行われる。第1図に示したような粒厚分布曲線は品種・栽培・気象条件等により変化し、出荷と廃棄を区別する節目はその都度判断されている。この判断基準を今後はマイコトキシン汚染量を最優先にして決定する必要がある。

今回調査した10地点の結果では、粒厚2.6-2.8mmの粒が最も多く、2.6mm以上の粒厚では各地点ともDON + NIVが1.1ppm以下となった。しかしながら、今回の事例では2.6mm以下を全て廃棄すると収量の3割以上を失うことから、粒厚による選抜のみでは不十分である。自然発生圃場の赤かび粒と外観健全粒のマイコトキシン濃度を比較すると7~20倍の違いがあったことから、赤かび粒の除去は試料全体の汚染低減に大きな効果がある。また、赤かび粒は健全粒と粒厚が同じであっても千粒重

が軽い。以上のことから、赤かび粒の除去は粒厚選別に比重選別を併用することで、より効果的になると結論できる。

赤かび粒と健全粒の千粒重の違いについて、西門(1958)は粒厚が小さいほど千粒重の割合の差が大きいと筆者とは逆の報告している。この原因は品種や栽培体系が現在とは大きく異なることと、赤かび病菌の感染時期の差によって生じたものと推察している。

赤かび粒について農産物規格規程では赤かび病菌等に侵されて赤色を帯びた粒をいい、粒の赤色を帯びた部分が粒平面の1/4以上のものと定義されている。小泉ら(1993)は赤かび病菌の接種により粒にしわまたは褐変が生じるとしているが、論文に掲載されている写真では褐変粒よりも脱色粒が多い。西門(1959)は被害麦粒は一般に狭薄で、表面にはしわがあつて菌叢も肉眼で容易に認められる場合が多いと述べているが赤かび粒の色については明確な記載がない。本研究で定義した脱色・しわ粒(同時もしくは単独)はマイコトキシン濃度の高さから判断して、妥当な基準と考えられる。平成15年産麦から農産物検査規格が改正され、赤かび粒の混入が0.05%を超えると規格外となることから、赤かび粒の定義についても再検討し、必要とあれば修正を求めていくべきである。

しかし、外観症状は観察されなくても赤かび病菌はかなりの高率で感染していることが明らかになり、外観健全粒もマイコトキシンに汚染している事実が確認された。つまり、外観健全粒の汚染濃度が高い場合は基準値以下に選別することが困難な場合も想定される。赤かび粒のみのマイコトキシン濃度が地点による差が大きいことか

ら、赤かび粒の混入割合からマイコトキシン汚染濃度を正確に推定するのは困難と考えられる。その原因として西日本における赤かび病菌のマイコトキシン産生型と産生能は多様性が高い(吉田ら2004)ことが推察される。以上のことから、今後は本研究事例を参考に、地域ごとのデータを蓄積し、発病程度・品種・栽培条件および気象の年次変動に対応した選別調整技術の構築が必要となる。

引用文献

- JECFA(2002) Report of the 34th session of the codex committee on food additives and contaminants. 1-141.
- 小泉信三・加藤 肇・吉野嶺一・駒田 旦・一戸正勝・梅原吉広・林 長生(1993) ムギ類赤かび病の病原学的・疫学的研究。農業研究センター研究報告 23: 1-114.
- 西門義一(1958) コムギのアカカビ病防除に関する研究。農業技術改良資料 97: 1-162.
- 外側正之(1994) *Fusarium graminearum* 分離のための選択培地。土と微生物 44: 77-88.
- Wiese, M. V. (1987) Compendium of wheat diseases 2nd ed. APS press (St.Paul), pp. 112.
- 吉田めぐみ・中島 隆・荒井治喜・鈴木文彦(2004) 西日本に分布する麦類赤かび病菌のマイコトキシン産生能とニバレノール産生菌の病原力。日植病報(講要) 70: 27.

(2004年4月30日受領; 9月6日受理)