

キュウリモザイクウイルスおよびラッカセイわい化ウイルス感染種子に対する乾熱処理の治療効果

黒田 智久・名畑 越夫

Tomohisa KURODA and Koshio NABATA :

Dry-heat treatment for soybean seeds infected with *Cucumber mosaic virus* and *Peanut stunt virus*

ダイズにおけるキュウリモザイクウイルス (*Cucumber mosaic virus*, CMV) とラッカセイわい化ウイルス (*Peanut stunt virus*, PSV) の種子伝染率低減をねらい、種子乾熱処理条件を検討した。その結果、種子の子実水分を7%未満に調整し、70℃で12~48時間の乾熱処理を行うことにより、70%以上の発芽率を確保しつつ、両ウイルスの種子伝染率を半減させることができた。

Key words : ダイズ, 乾熱, 種子伝染, *Cucumber mosaic virus*, *Peanut stunt virus*

緒 言

種子伝染性病害を防除するには、生育期に徹底して病害防除を行い生産された健全種子を用いること、種子消毒を実施することが重要である。ダイズの種子伝染性糸状菌病害の防除には、立毛中の殺菌剤散布のほか、殺菌剤による種子消毒も行われている。一方、種子伝染性ウイルス病に対しては、媒介虫防除を目的とした殺虫剤散布や感染株抜き取りは行われているが、種子消毒法は確立されていない。

近年、環境保全の観点や消費者ニーズから農業での減農薬志向が強まっており、化学農薬によらない種子消毒法の開発が急務となっている。これらの情勢を受けて、水稻においては生物農薬処理や温湯処理、電解水処理等の種子消毒法の研究が盛んに行われ、実用的な技術が開発されてきた^{1,16)}。特に水稻の温湯消毒は、いもち病、ばか苗病、苗立枯細菌病、もみ枯細菌病等の種子伝染性病害に対して効果が認められ³⁾、近年急速に普及している。水稻以外の作物においては、ウリ科、ナス科、マメ科を中心に、乾熱、ソフトエレクトロン、温湯、熱した植物油等を利用した種子消毒法が報告されている^{6,9,13-15,17)}。これらの技術は、種子に侵入した伝染源を熱によって不活化する、治療的な効果を期待して開発されている。しかし、ダイズでは種子を温湯に浸漬すると、種子が膨潤し種皮が脱落することから、水を媒体に

した消毒は用いることができない。Pyndjiらは、水の代わりにトウモロコシ、パームやし、ダイズ、ヒマワリ由来の植物油を媒体に用い、90±2℃で2.5~10分間の浸漬処理をすることにより、*Alternaria* spp., *Phomopsis* spp., *Cercospora kikuchii*を不活化できることを報告している¹⁵⁾。ただし、発芽率が低下する場合があります、操作も煩雑なことから大量の種子処理には工夫が必要である。また、贅田らは、ダイズ種子を70℃で6~24時間の乾熱処理をすることで、ウイルス病や紫斑病に対し種子消毒効果があることを報告している^{13,14)}。しかし、この乾熱処理法は発芽障害が著しく、供試種子の子実水分を調整した上に、圃場の排水や湿害対策が重要であると述べている。湿害対策のうち、低水分種子の播種直後の急激な吸水による物理的損傷は、調湿種子を作製することで軽減できる⁷⁾。このことから、種子伝染病の防除効果と高い発芽率を両立させるために、供試種子や播種前の種子の子実水分調整を含めた、新たな乾熱処理法を確立することが課題であった。

本研究では、ダイズ生産物にわずかに混入することで著しく商品価値を低下させる褐斑粒の原因ウイルスで、新潟県の重要なダイズの病原ウイルスであるキュウリモザイクウイルス (*Cucumber mosaic virus*, CMV) とラッカセイわい化ウイルス (*Peanut stunt virus*, PSV)^{10,11)} の感染種子の無毒化を目標とし、子実水分等の適用条件を含めた乾熱種子消毒法を検討したので報告する。

材料および方法

1. 供試ウイルス、供試種子

CMVおよびPSVは、それぞれS-2分離株⁸⁾とN89分離株⁵⁾を用いた。ダイズ健全種子は、新潟県農業総合研究所作物研究センター内の圃場で栽培した品種「エンレイ」の原種を用いた。ウイルス感染種子は、CMVまたはPSVを接種した原種由来のダイズ株を、防虫網を張った農業用ハウス内で栽培し、収穫物を7.9mm目のふるいで調整し作製した。

2. 子実水分の測定と調整

子実水分は、20gのダイズ種子を105℃で24時間乾燥した後に重量を測定し、元の種子重量から乾燥後の重量を差し引いて求めた水分量をパーセンテージで表した。子実水分を調整するための種子の乾燥は、40℃の定温器内または12℃の種子庫内に静置して行った。種子の子実水分を13%程度に上昇させる調湿操作は、十分に吸水させた高分子ポリマーを含む紙オムツとともに密閉容器内に静置し行った。

3. 種子発芽率調査

種子の発芽率は、清浄な水稲用粒状培土に播種する方法で調査した。水稲用粒状培土(育苗床土、ホーネンアグリ社)に、乾熱処理した種子100粒を子実水分13%程度に加湿調整し、チウラム・ベノミル水和剤100倍液に30秒間浸漬、風乾した後に播種した。さらに、ガラス温室内で栽培管理し、播種10~12日後に初生葉まで生育しているものを正常な発芽個体とした。また、蒸留水で湿らせた2枚のペーパータオルの間に種子を25粒並べて棒状に丸めたものを4本作製(計100粒)し、25℃の恒温器内に6日間静置し、発芽個体を調査する方法を簡易法として用いた。

4. 子実水分および種子の貯蔵期間が乾熱処理後の発芽率に及ぼす影響

子実水分の影響を明らかにするため、貯蔵期間1年未満の健全種子を供試し、40℃で0~120時間乾燥させて子実水分を調整した。さらに、70℃で48時間の乾熱処理を行い、水稲用粒状培土に播種して発芽率を調査した。

種子の貯蔵期間の影響を明らかにするため、12℃の種子庫での貯蔵期間が1年未満の健全種子(以下、当年産

種子と記述する)、または1~2年間貯蔵した健全種子(以下、貯蔵種子と記述する)を供試し、70℃で48時間の乾熱処理を行なった後、簡易法で発芽率を調査した。いずれの供試種子も、子実水分は7%であった。

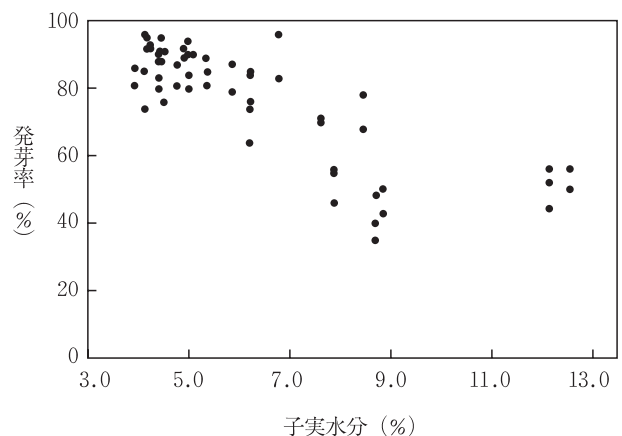
5. 乾熱処理によるCMVおよびPSV感染種子の種子伝染率低減効果

供試種子として、当年産のCMVまたはPSV感染種子を用いた。これを40℃で48時間乾燥して水分を調整し、続いて70℃で48時間の乾熱処理を行なった。ウイルスの種子伝染率は、100~200粒の種子を水稲用粒状培土に播種してガラス温室内で育成し、第一本葉の感染の有無をDIBA法⁹⁾で検定し算出した。

結果および考察

1. 乾熱処理の発芽への影響

贅田らは、70℃の乾熱処理でウイルス感染種子が無毒化されるが、供試種子の子実水分が高いほど発芽障害を起こしやすく、湿害によってさらに助長されることを報告している^{13,14)}。そこで、70℃の乾熱処理における発芽障害を軽減するために、供試種子の適正な子実水分と乾熱処理後の調湿方法を検討した(第1図)。その結果、子実水分が4.9%以下の種子を用いた場合、全ての試験において70%以上の発芽率が確保できた。子実水分が5.0~6.9%の種子では、4.9%以下の場合よりやや発芽率が低下し、発芽率のばらつきも大きくなるが、64%の

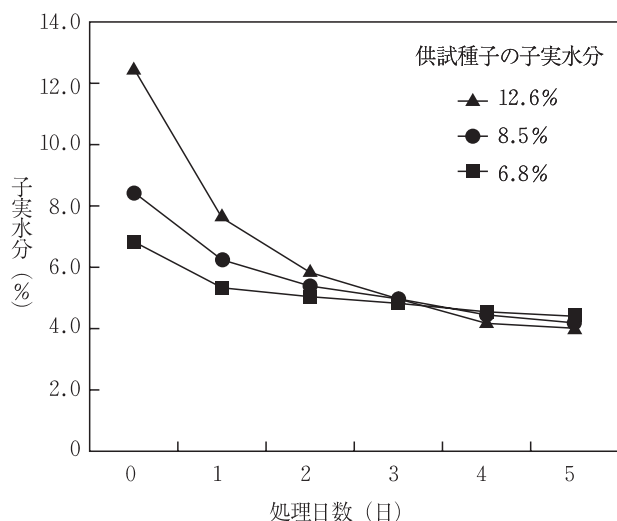


第1図 乾熱処理に供試した種子の子実水分と処理後の発芽率との関係

注) 乾熱処理は70℃で48時間行い、培土に播種し発芽率を調査した。

発芽率であった1事例を除き、70%以上の発芽率が得られた。一方、子実水分が7.0%以上の種子では、多くの場合において発芽率が60%以下となった。特に子実水分が12%を超える種子に乾熱処理した場合、発芽した植物個体には子葉の一部に変色や亀裂が認められ、子葉が脱落した個体も見られた。このことから、乾熱処理を行う場合、予め子実水分を7%未満に調整する必要があると考えられた。そこで、乾熱処理前の種子の予備乾燥条件を明らかにするために、一般に種子の乾燥目的で行われる40℃の処理日数と処理後の子実水分との関係を、子実水分の異なるダイズ種子を用い調査した(第2図)。実験には、種子庫における保存期間を変え、子実水分が12.6%、8.5%、6.8%の種子を作製し供試した。その結果、40℃の1日間処理では12.6%の種子のみが目標とする子実水分7.0%以下とならなかったが、2日間処理ではいずれの種子も6.0%を下回った。しかし、3日間以上の乾燥処理では、子実水分に大きな変化が認められなかった。このことから、子実水分が高い種子でも、40℃で2日間の予備乾燥処理を行なうことで、乾熱処理に供試可能な子実水分に達すると考えられた。

種子は貯蔵期間が長くなると、活力が減衰し発芽率が自然に低下する。また、活力の低い種子は、過湿等のストレス条件下で著しく発芽率が低下する²⁾。そこで、当年産種子と貯蔵種子を用い、70℃で乾熱処理後の発芽率を調査した。その結果、貯蔵種子は当年産種子に比べて発芽率の低下が顕著で、乾熱処理には適さないと考えられた(第1表)。



第2図 予備乾燥 (40℃) の処理日数と子実水分との関係

ダイズ種子を70℃で48時間乾熱処理すると、処理前の子実水分にかかわらず、子実水分が3.0%以下に低下した。これらの種子をそのまま播種した場合、著しく発芽率が低下した。また、発芽した個体では子葉に亀裂が入り、個体によっては子葉が脱落していた。低子実水分の種子が急激に吸水すると、種子が崩壊し出芽率が低下することから^{7,12)}、乾熱処理後の子実水分調整は発芽率低下の緩和に有効と考えた。そこで、70℃で12時間または24時間乾熱処理後、子実水分を13%程度に調整して播種した。その結果、12時間処理区では、無処理の発芽率57%に対して82%に、24時間処理区は62%が82%に改善され、子葉の損傷も軽減された。

以上の結果から、貯蔵期間の短い種子を用い、子実水分を7%未満に調整し、さらに乾熱処理後の子実水分を13%程度に調整した上で播種することにより、乾熱処理が及ぼす発芽への悪影響を緩和できると考えられた。

2. 乾熱処理によるCMVおよびPSVの種子伝染の低減効果

贅田らは、70℃で6時間から24時間処理を行った場合、圃場における栽培試験で褐斑粒率の低下を認めている^{13,14)}。加熱処理のためにソフトエレクトロン[®]や植物油^{15,17)}を用いる他の方法に比べ、操作性、機器の普及性や大量種子への適用面から、乾熱による加熱処理が優れる。しかし、贅田らの報告では発生ウイルスが特定されていないこと、圃場試験のため、アブラムシによるウイルスの二次伝染の影響が排除されていないことから^{13,14)}、乾熱処理の効果を正確に評価することはできない。そこで、CMV感染種子(種子伝染率26.8%)とPSV感染種子(種子伝染率26.4%)を用い、70℃の乾熱

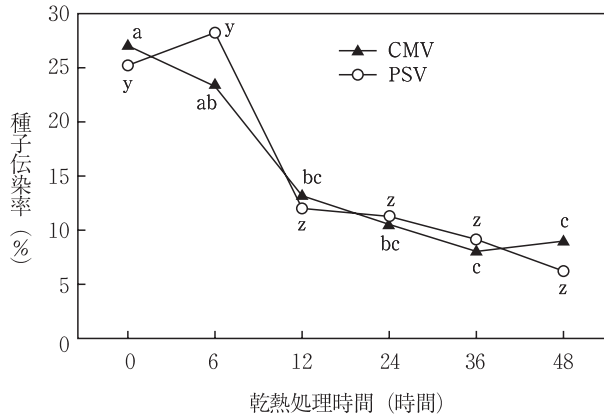
第1表 乾熱処理における種子貯蔵期間と発芽率との関係^{a)}

処理時間 (時間)	発芽率 (%)	
	貯蔵種子 ^{b)}	当年産種子
無処理	99	100
1	95	99
6	88	100
12	87	97
24	50	88
48	49	75

a) 発芽率は、簡易法で播種10~12日後に調査した。

b) 使用種子は、12℃、湿度23%で1~2年間貯蔵したものを貯蔵種子、1年未満貯蔵したものを当年産種子とした。なお、子実水分はいずれの種子も7%とした。

引用文献



第3図 ウイルス感染種子の乾熱処理後の種子伝染率 (%)

注) CMVまたはPSV感染種子を、40℃で2日間処理後、70℃の乾熱処理を行った。乾熱処理時間0は、40℃で2日間処理のみを行った。同一の英小文字を付与したマーカーは、数値間に統計的有意差 (Tukey WSD法, $\alpha=0.05$) が無いことを示す。

処理時間の長さとの関係を調査した (第3図)。両ウイルスの種子伝染率は、70℃で6時間処理までは低下しなかったが、12時間処理では無処理と比較して有意に低下した (Tukey WSD法, $\alpha=0.05$)。さらに、70℃で12~48時間の処理で、種子伝染率は緩やかに低下した。以上の結果から、70℃で12~48時間の種子乾熱処理は、CMVとPSVの種子伝染率低減に有効であり、ウイルス感染種子に対する治療効果が期待できると考えられた。

本研究では、新潟県におけるダイズ褐斑粒の主要因であるCMVやPSVを用い、ウイルス感染種子の乾熱種子消毒条件を検討し、種子の貯蔵期間、処理前後の子実水分調整に留意することで発芽率の低下を最小限にとどめ、ウイルスの種子伝染率を低減させる技術を開発した。すなわち、当年産種子を子実水分7%以下に調整し、70℃で12~48時間の乾熱処理を行った後、子実水分を13%程度に調整して播種する方法である。本研究における乾熱処理条件の検討では、汎用の定温乾燥機を用いたが、今後専用の種子乾熱処理機が開発され、技術の普及が図られることを期待したい。また、種子伝染性ウイルス病の防除は、種子消毒の対応だけで十分とはいえない。従来から行われている立毛中の媒介虫防除や感染株の抜き取りと本技術を組み合わせ、総合的な防除体系を構築することが重要と考えられる。

- 1) 相野公孝 (2008) 生物農薬 (殺菌剤) の現状. 関西病虫研報 50: 33~34.
- 2) 千田 洋・国立卓生 (2008) 加齢処理法による大豆種子活力の推定. 日作東北支部報 51: 63~64.
- 3) 早坂 剛・石黒清秀・渋谷圭治・生井恒雄 (2001) 数種のイネ種子伝染性病害を対象とした温湯種子消毒. 日植病報 67: 36~42.
- 4) 日比忠明 (1984) DIBA法による植物ウイルスの検出法. 植物防疫 38: 380~384.
- 5) 石川 寛・守屋 透・原澤良栄・小島 誠 (1991) 新潟県におけるダイズウイルス病の研究 (第6報) ラッカセイわい化ウイルスの分離. 北陸病虫研報 39: 79~82.
- 6) Jolicœur, G., Hackam, R. and Tu, J. C. (1982) The selective inactivation of seed-borne soybean mosaic virus by exposure to microwaves. J. Microwave Power 17: 341~344.
- 7) 国立卓生・堀金明美・吉田 充・島田信二 (2009) ダイズ吸水障害回避に関する研究 (第1報) -吸水障害の発生条件の検討. 農機誌 71: 115~120.
- 8) 越水幸男・飯塚典男 (1963) ダイズのウイルス病に関する研究. 東北農試研報 27: 1~103.
- 9) 国安克人 (1982) 熱による野菜の種子消毒. 植物防疫 36: 447~451.
- 10) 黒田智久・名畑越夫 (2007) ダイズ褐斑粒の発生実態・対策と研究の現状. 農業技術62: 325~330.
- 11) 黒田智久・名畑越夫・堀 武志・石川浩司 (2005) 逆転写PCRを用いたダイズからの *Cucumovirus* 属ウイルスの検出. 北陸病虫研報 54: 39~43.
- 12) 中山則和・橋本俊司・島田信二・高橋 幹・金 榮厚・大矢徹治・有原丈二 (2004) 冠水ストレスが発芽時のダイズに及ぼす影響と種子含水率調節による冠水障害の軽減効果. 日作紀 73: 323~329.
- 13) 賛田裕行・林 宣夫 (1980) ダイズ紫斑病及びウイルス病に対する乾熱種子消毒. 関東東山病虫研報 27: 37~39.
- 14) 賛田裕行・林 宣夫 (1983) ダイズのウイルス病に対する乾熱種子消毒の効果. 関東東山病虫研報 30: 39~40.
- 15) Pyndji, M. M., Sinclair, J. B. and Singh, T. (1987) Soybean seed thermotherapy with heated vegetable

- oils. *Plant Dis.* 71 : 213~216.
- 16) 鈴木芳人・石黒 潔・横須賀知之・堀 武志
(2005) IPMマニュアルー環境負荷低減のための病虫害総合管理技術ー (梅川 学ほか編). 117~130, 中央農業総合研究センター, つくば.
- 17) Zinnen, T. M. and Sinclair, J. B. (1982)
Thermotherapy of soybean seeds to control seedborne fungi. *Phytopathology* 72 : 831~834.
(2010年12月8日受理)
-