

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 8 日現在

機関番号：12605

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K05991

研究課題名(和文) 農薬を用いない種子温湯消毒法を多様な作物に適用するための基盤研究

研究課題名(英文) Basic study on hot water disinfection method without using chemical pesticide for seeds of various crops

研究代表者

金勝 一樹 (KANEKATSU, Motoki)

東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・教授

研究者番号：60177508

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：我々はこれまでに、農薬を用いない水稻種子の温湯消毒法において、種物の水分含量を10%未満まで落とす(事前乾燥処理)と高温耐性が強化できることを見出し、防除効果の高い温度で処理できる消毒法を確立している。事前乾燥処理による高温耐性強化機構を解明するために、遺伝学的な解析(QTL解析)を行った結果、この機構に関わる遺伝子は第1染色体上に座落することが明らかとなった。また事前乾燥の処理条件としては、40～50℃程度で12～24時間加温して乾燥させる方法が実践的であることも示された。さらに、大麦の種子でも事前乾燥の効果が認められ、温湯消毒は麦芽製造過程でも有効な消毒法になり得ることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々が開発した「事前乾燥処理」を組み込んだ高温温湯消毒法は、防除効果が高く、農薬による種子消毒法に置き換えることができる優れた技術である。本研究では、事前乾燥処理による高温耐性強化機構に関する知見が得られ、生産現場で実用的な「事前乾燥処理法」も確立できた。さらに水稻以外の作物種の大麦でも事前乾燥処理の効果があることが示された。これにより、種子消毒においては農薬を大幅に削減でき、クリーンな農業の実現が可能になる。

研究成果の概要(英文)：We have previously found that reducing the moisture content of the seed to less than 10% (pre-drying treatment) can enhance the tolerance to high temperature in the hot water disinfection of rice seeds without using pesticides. And then we have also established the method for treating rice seeds at high temperatures that are highly effective for pest control. To elucidate the mechanism by which this pre-drying treatment enhances high temperature tolerance, genetic analysis (QTL analysis) has been carried out. It was revealed that the gene involved in this mechanism is located on chromosome 1. The results also indicated that drying at 40-50 °C for 12-24 hours is practical for pre-drying treatment conditions. Furthermore, the effect of pre-drying was also detected in barley seeds, suggesting that hot water disinfection can be an effective disinfection method in the malting process.

研究分野：発芽生理学、植物育種学

キーワード：種子温湯消毒 水稻 大麦 減農薬 病害防除 遺伝解析

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

#### (1) 水稲種子の温湯消毒の現状と課題

種子消毒は、種子伝染性の病害虫を防除するために多くの作物の栽培において重要な工程となっている。一般には農薬で消毒を行うことが多いが、その場合には、大量に出る廃液の処理や、薬剤抵抗性を獲得した病原菌への対応等に課題がある。また消費者は農薬の使用を好まない傾向があり、持続可能な農業の実現のためにも農薬を使用しない消毒法が望まれている。水稲栽培では、農薬を使わずに60のお湯に種籾を10分間浸漬する温湯消毒法が実用化されている。この消毒法では廃液処理の問題がなく、熱で防除を行うので薬剤耐性菌にも効果がある。さらに、薬剤処理と比較してコストも半分で収まるとの試算もある。しかしながら「60・10分」の条件では防除できない病害があり、特に「ばか苗病」の防除には「63以上の温度が必要」とされており、温湯消毒が普及している地域では「ばか苗病」が蔓延している例もある(藤 2013)。一方、種籾の高温耐性が低く「60・10分」で処理した場合に発芽能が著しく低下する品種もある(早坂ら 2001)。特に飼料米やインド型品種、モチ品種の種子は、主食米よりも温湯消毒における高温耐性が低い傾向がある(福嶋ら 2015)。また、温湯消毒を実施すると、苗の根張りが不良になることもある。温湯消毒法を安定した技術として普及させるためには、解決すべき課題が多く残されている。

#### (2) 「事前乾燥処理」を組み込んだ新たな温湯消毒法

我々は、種子の水分含量を消毒前に10%未満に低下させる「事前乾燥処理」を行うと、温湯消毒時の種子の高温耐性が著しく向上することを見出した(金勝ら 2013)。このことを踏まえて「事前乾燥処理」を組み込んで「65・10分」の厳しい処理条件で温湯消毒を行う技術(高温温湯消毒法)を確立した。これまでにモチ品種や飼料米を含む国内の主要な品種の種籾で、「高温温湯消毒法」を適用しても実用的な発芽率・出芽率を確保できることを確認している。さらにこの消毒法によりばか苗病だけでなく、もみ枯細菌病、苗立枯細菌病、いもち病(苗いもち)に対しても高い防除効果があることを示している(伊賀ら 2020)。

#### (3) 水稲以外の作物における温湯消毒

種子の温湯消毒は、水稲以外の作物種でも実施されている。例えば穀類では小麦で、野菜類ではトマト、キュウリ、カボチャ等々、花卉類でも温湯消毒に関する報告がある。しかしながらこれらの作物種では、温湯処理の条件として水稲よりも低い温度域(45~55程度)で消毒されていることが多く、「防除効果」の面では課題が残されている。水稲以外のこれらの種子においても、「事前乾燥処理」によって温湯消毒時の高温耐性を向上できれば、多くの作物種で防除効果の高い種子温湯消毒が可能になり、農薬を大幅に削減した農業を実現できる。また、種子は作物栽培に用いられるだけでなく、ビール製造時の麦芽のように、発芽させたものが食品の原材料となる場合もある。麦芽製造の過程ではカビの発生が見られることがあるが、ヒトが直接摂取する食品の原材料であるので、薬剤による消毒は適用しにくい。ビールの原材料となる大麦の種子でも防除効果の高い温湯消毒が可能になれば、この問題は解決できる。

#### (4) 事前乾燥の処理条件

水稲をはじめ多くの作物種では、温湯消毒そのものの処理作業はすでに実用的におこなわれている実績がある。一方、事前乾燥処理は生産者にとって新たな作業工程となるので、「高温温湯消毒法」を安定して普及させるためには、事前乾燥処理の条件を詳細に検討して実的に使用可能な技術とする必要がある。この点については、まずは水稲で確立すべきである。

#### (5) 事前乾燥処理によって高温耐性が強化される機構

「事前乾燥+高温での温湯消毒法」を多くの作物で安定して実用化するためには、「事前乾燥処理」によって高温耐性が強化される機構を明らかにしておくことが重要であるが、未だ不明なままである。水稲では事前乾燥の効果の「程度」には品種間差があり、この形質が遺伝することも示されており、遺伝学的な手法でこの機構を解析することが可能である。農業生物資源ゾーンバンクが確立したNARO世界のイネコアコレクションを用いた解析では、事前乾燥処理の効果が著しく高い品種として「Jinguoyin」が、一方低い品種として「Kalo Dhan」が見出されている。両品種間で交配した後代系統を用いれば、「事前乾燥処理」の効果に関わる遺伝子について、QTL解析を行うことができる。

### 2. 研究の目的

本研究では、水稲以外の多様な作物の種子においても「事前乾燥を組み込んだ高温温湯消毒法」を実用化して、農薬を大幅に削減した農業を実現することを最終的な目的として、生産現場で実践可能な「事前乾燥処理法」をまずは水稲で確立し、遺伝学的な手法を用いて水稲種子において「事前乾燥処理」で温湯消毒時の高温耐性が強化される機構を明らかにし、さらに多様な作物のモデルケースとして大麦の種子に対する「事前乾燥処理」の効果を検証した。

### 3. 研究の方法

水稻における事前乾燥処理条件の確立には、「日本晴」と「コシヒカリ」の種籾を用いた。事前乾燥処理の効果に関わる遺伝子の QTL 解析については、乾燥の効果が高い「Jinguoyin」と、低い「Kalo Dhan」の間で交配した後代を実験に供試した。水稻以外の作物種としては、麦芽製造に用いる大麦品種の「サチホゴールドン」<sub>1</sub>、「ミカモゴールドン」<sub>2</sub>、「アスカゴールドン」の種子を供試材料とした。事前乾燥処理は、熱風循環型の乾燥器を用いて行い、種子の水分含量は「新鮮重」と、120 で 48 時間乾燥させた後の「乾物重」を比較することにより求めた。温湯処理は、種子をネットで包み、55~72 の温湯に 10 分間浸漬した後、ただちに冷水で 5 分間冷却して行った。温湯処理装置は、小型恒温水槽(温度調節範囲：室温 + 5~90、温度調節精度：± 0.3) を使用し、水槽内の温湯の温度は防水型デジタル温度計を用いて常時モニタリングして調整した。

### 4. 研究成果

#### (1) 水稻における実践的な「事前乾燥処理条件」の確立

温湯消毒時の高温耐性が低い「日本晴」の 2018 年度、および 2019 年度産の種子を用いて 40~60 で最長 72 時間加温して事前乾燥処理を行い、発芽能への影響や温湯消毒時の高温耐性について解析した。その結果、温度が高い方が短時間で効率的に乾燥でき、40 の乾燥では水分含量を 10%以下にするまでには 12 時間要する場合があること、40~50 の乾燥では水分含量 8%程度までは急激に乾燥するが、その後の水分の減少は緩やかになり、50 で 24 時間乾燥させても 7%以下にはならないこと(図 1)、水分含量が 7%を下回っても発芽能に影響はなく、高温耐性は強化されることなどが明らかになった。また 60 で乾燥させた場合には一部の試験区(72 時間乾燥)で発芽能の低下が見られたが、その他の試験区ではいずれも 95%を超える高い発芽率となった。したがって 60 近くの高温でも乾燥時間が短ければ、発芽能が維持できることが示された。さらに温湯消毒時の高温耐性が高い「コシヒカリ」の種籾を 50 で水分含量 9.5%以下まで乾燥させた場合には、72・10 分間の温湯処理でも、90%以上の発芽率を確保できた。以上の結果から、「日本晴」と「コシヒカリ」の種子の高温温湯消毒を生産現場で実施するための実践的な事前乾燥処理の条件としては、「40~50 の温度で 12~24 時間乾燥処理して水分含量を 7~9.5%とすること」が最も適していると結論付けた。

一方、高温で温湯消毒を行うと苗の「根張り」が低下することが指摘されており、根張りが十分でないと、育苗箱で育苗した苗を田植え機に積載する際のマット苗が瓦解することがある。そこで「日本晴」の種子を 67 という高温で温湯処理した時の苗の根の発達を詳細に観察したところ、温湯処理により側根形成の不良が起こることが明らかになった。しかしながら、本研究で確立した条件で事前乾燥処理をしたところ、高温で温湯消毒しても側根発達への影響は見られず、十分な「根張り」が得られた。このことから温湯消毒に事前乾燥処理を組み込むことは、根張りの確保の点でも有効であることが示された。

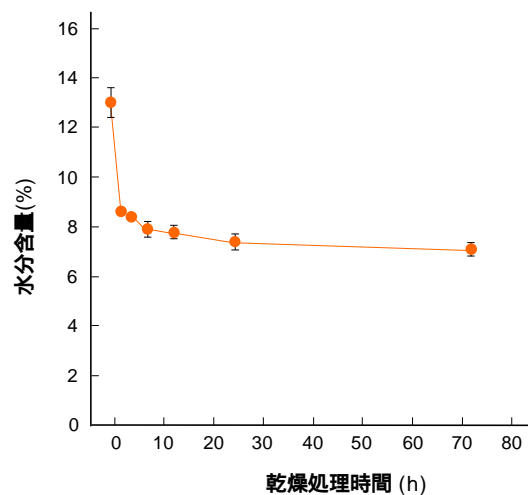


図 1. 50 で 2~72 時間乾燥させた 2019 年度産の「日本晴」の種籾の水分含量の変動

#### (2) 遺伝学的な手法を用いた「事前乾燥処理」によって高温耐性が強化される機構の解析

NARO 世界のイネコアコレクションの種子を用いて温湯消毒時における事前乾燥処理の効果を評価した。その結果、インドイネの品種の「Jinguoyin」とネパールイネの品種「Kalo Dhan」の種子は、「70 で 10 分」処理するとどちらも発芽率が 10%に満たなかったが、事前乾燥すると「Kalo Dhan」では 30%の発芽率であったのに対して、「Jinguoyin」は 80%以上となった。この「Jinguoyin」における高温耐性の向上効果は、生産年度の異なる種子でも安定して確認できた。

「Jinguoyin」×「Kalo Dhan」の交配を行い、F<sub>1</sub> に結実した種子に対する事前乾燥処理の効果を評価した。その結果、F<sub>1</sub> の種子でも事前乾燥処理による高温耐性の向上効果が認められ、「Kalo Dhan」よりも有意に高い発芽率を示し、「Jinguoyin」と同程度となることが示された。したがって、「Jinguoyin」における事前乾燥処理による効果は、優性の遺伝形質であることが示唆された。

「Jinguoyin」×「Kalo Dhan」の F<sub>2</sub> 集団に結実した種子を用いて、QTL 解析を行った。まず、QTL 解析に用いる SSR マーカーの整備を行った。全染色体について、512 個の SSR マーカーを用いて両親間の多型を調査したところ、「Jinguoyin」と「Kalo Dhan」の間に 235 個の SSR マーカーで多型が検出された。このうち 90 個の SSR マーカーを選び、全染色体についてほぼ均等にマーカーを配置し、連鎖地図を作成することとした。F<sub>2</sub> の 50 系統を無作為に選び、事前乾燥した場合と、しない場合の種子について「70・10分」の条件で温湯消毒を行った。消毒後の種子の発芽率のデータを用いて QTL 解析を行った結果、第 1 染色体上の RM3252 ~ RM6324 間(0.3~2.4Mbp)に事前乾燥処理に関与する QTL が検出された(図 2)。さらに、F<sub>2</sub> を自殖させ得られた F<sub>3</sub> 集団に結実した種子を用いた解析でも、同じ位置に QTL が検出された。以上の結果から、「Jinguoyin」の第 1 染色体に事前乾燥により温湯消毒時の高温耐性を向上させる機構に関わる遺伝子が座乗していることが強く示唆された。

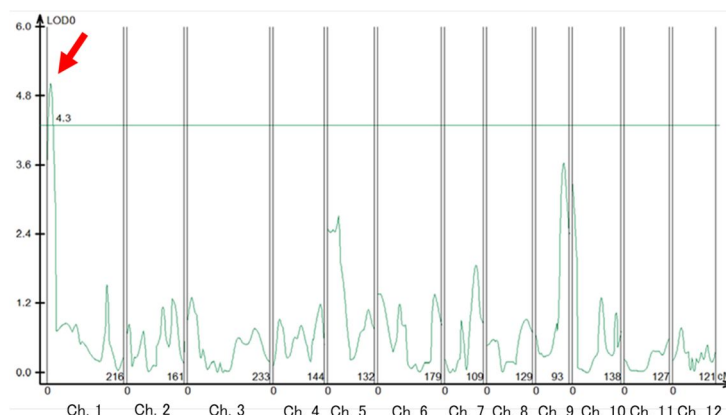


図 2 . Jinguoyin / Kalo Dhan の F<sub>2</sub> における QTL 解析

国際稲研究所(IRRI)で作成したゲノムワイド関連解析(GWAS)用の温帯/熱帯ジャポニカ品種集団(225品種)の種子を入手できたので、これらを用いて温湯消毒時の高温耐性に関する GWAS を行った。その結果、事前乾燥処理の効果に関わる有意な QTL の検出には至らなかった。これに対して、事前乾燥を行わずにそれぞれの種子が潜在的に持つ高温耐性に関する遺伝子は、第 2、第 4、および第 5 染色体にあることが示唆された。

### (3) 大麦種子の温湯消毒時における「事前乾燥処理」の効果の解析

麦芽製造に用いられる大麦品種の「サチホゴールドン」,「ミカモゴールドン」,「アスカゴールドン」の種子に対して温湯消毒を行うことを試みた。その結果、大麦の種子は水稻と比較して温湯消毒時の高温耐性が低く、「55・10分」の条件で温湯消毒しても発芽率が 90%を下回る品種があった。しかしながら、事前乾燥処理を行うと 3 品種とも高温耐性が向上することが明らかになった。さらに、「58・10分」の条件で温湯消毒すれば、消毒しなかった場合と比較して高い防除効果が得られることも示された。今後、事前乾燥処理を組み込んだ温湯消毒の処理条件について詳細な検討を行えば、大麦種子でも、発芽能を維持しつつ高い防除効果もあり、さらに農薬も用いない消毒法を確立できることが期待される。

#### <引用文献>

藤晋一 2013. 化学農薬を用いない水稻種子消毒法の普及による諸問題とその対策. 植物防疫 67: 223-227.

福島陽・大田久稔・梶亮太・津田直人 2015. 東北地域の飼料用水稻品種における温湯消毒および低温浸種が種子の発芽率に及ぼす影響. 日作紀 84: 439-444.

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: 26-32.

伊賀優実・戸田武・古屋廣光・金勝一樹・藤晋一 2020. 事前乾燥を取り入れた水稻温湯種子消毒のイネ種子伝染性病害に対する効果. 日植病報 86: 1-8.

金勝一樹・三田村芳樹・岡崎直人・佐野直人・山田哲也・村田和優 2013. 水稻種子の水分含量を低下させることによる温湯消毒時の高温耐性の向上. 日作紀 82: 397-401.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 金勝一樹	4. 巻 1667
2. 論文標題 事前乾燥処理により高温（65 ）で処理できる水稲種子温湯消毒法の開発	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 農業	6. 最初と最後の頁 37-46
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 柏木 めぐみ, 大石 千理, 村田 和優, 尾崎 秀宣, 山田 哲也, 金勝 一樹	4. 巻 91
2. 論文標題 水稲種籾を65 以上の高温域で温湯消毒するための事前乾燥処理法の確立	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 日本作物学会紀事	6. 最初と最後の頁 120-128
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1626/jcs.91.120	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 山崎 若菜, Jae-Sung Lee, 桂 圭佑, 金勝 一樹
2. 発表標題 ゲノムワイド関連解析を用いた温湯消毒法における水稲種子の高温耐性に関するQTLの探索
3. 学会等名 一般社団法人日本育種学会 第139回講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岩崎信隆、村田和優、尾崎秀宣、山田哲也、金勝一樹
2. 発表標題 高温域での水稲種子温湯消毒法による根系発達への影響の解析
3. 学会等名 日本作物学会第248回講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 柏木 めぐみ, 大石 千理, 村田 和優, 尾崎 秀宣, 山田 哲也, 金勝 一樹
2. 発表標題 水稻種籾を65 以上の高温域で温湯消毒するための事前乾燥処理法の確立
3. 学会等名 日本作物学会第253回講演会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 村田 和優	4. 発行年 2022年
2. 出版社 農山漁村文化協会	5. 総ページ数 6
3. 書名 最新農業技術 作物vol.14「事前乾燥を組み合わせた65 10分間温湯消毒法」	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	村田 和優  (MURATA Kazumasa)  (80500793)	富山県農林水産総合技術センター・農業研究所・副主幹研究員   (83207)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------