

# 地球規模課題対応国際科学技術協力

(生物資源研究分野「生物資源の持続可能な生産・利用に資する研究」領域)

## 根寄生雑草克服によるスーダン乾燥地農業開発

(スーダン)

平成 23 年度実施報告書

代表者：杉本 幸裕

神戸大学 大学院農学研究科・教授

<平成 21 年度採択>

## 1. プロジェクト全体の実施の概要

- ・プロジェクトのねらい:根寄生雑草ストライガは、アフリカにおける農業生産を阻害する最大の生物的要因である。ストライガの被害が最も大きい国の一つであるスーダンでストライガの防除研究に長年取り組んでいるスーダン科学技術大学(SUST)の研究者と協力して、新たな防除技術を開発するとともに伝統的知識・技術と融合することにより、有効なストライガ防除法の確立を目指す。
- ・プロジェクトの概要:化学物質に依存するストライガの発芽の特殊性に着目して、発芽を制御する薬剤や微生物を探索する。また、宿主作物とは異なるストライガに特異的な代謝に着目して、選択的な除草効果を有する薬剤を探索する。これらの新規技術の受容性や圃場での有効性を検討しつつ、ストライガに抵抗性を示す作物品種の選抜、適切な水分管理の検討、伝統的なストライガ防除法の体系化およびその改良等を通して、総合的なストライガ防除法の確立を目指す。さらに、現地のネットワークを活かして有効な防除法を普及する方策の確立を目指す。
- ・進捗状況:平成 22 年度に、業務調整員・長期滞在専門家を中心として、プロジェクト車輛の導入、オフィス・実験室の整備等環境の充実が図られ、さらに、SUST の研究者と協力してガダーレフ州で農民学校(Farmers Field School)と展示圃場(Demonstration Farm)の開設準備が進められた。これらを基盤として、平成 23 年度は科学技術協力が軌道に乗り始めた。平成 22 年 12 月に開催された JCC での議論を踏まえて、プロジェクト開始時に SUST 側から提供された実験室が拡張された。これにより平成 22 年度の汎用的な実験機材、植物生理解析機器、代謝産物分析機器の導入に続いて、平成 23 年度には分子生物学および細胞構造学関連の機材が導入された。上半期には延べ 12 人の研究者が 330 日間、下半期には延べ 3 人が 134 日間スーダンに滞在し、SUST の圃場、実験室でストライガ防除に関連した生理生化学、作物学、天然物化学実験を行うとともに、農民学校実施地域において栽培学実験および文化人類学調査を実施した。9 月 15 日にはスーダン農業研究機構(ARC)ガダーレフ支所で州農業大臣らの列席のもと、農民学校に必要なモーターバイクの贈呈式を行った。スーダンからは上半期に 3 人の研究者を延べ 108 日間招聘し共同研究を通して技術の移転を図った。下半期には 2 人を延べ 20 日招聘し、研究成果のとりまとめ、今後の事業運営に関する討議等を行った。この他、2 月に科学研究費で 1 人を 6 日招聘した際に、事業運営に関わる様々な討論を行うとともに、第 2 回 SATREPS 写真展およびトークセッションに日本側研究者とともに参加した。8 月に平成 23 年度第 1 回 JCC が開催され、SUST 研究者の育成、農民学校の円滑な運営に必要なローカルコンポーネント(スーダン側で負担する経費)の確保、研究参加者の入れ替え等が議論された。研究参加者の入れ替えに伴い研究課題と研究者配置の見直しの必要性も議論された。JCC に併せてセミナーを開催しスーダン側から 4 題、日本側から 2 題の発表が行われた。12 月に第 2 回 JCC が開催され、平成 24 年度以降のプロジェクト実施体制が議論され決定された。
- ・プロジェクト成果:特筆すべき成果として、20 年来の謎であった、*Striga gesnerioides* の発芽を誘導する物質の構造を解明した。また、ポット試験で合成発芽刺激物質にストライガ防除の効果を認めたので、より実践的な評価をするために、農薬関連企業の支援を得て製剤化した。
- ・今後の見通しについて:プロジェクト開始時にスーダン側研究者が要望していた機材はほぼ整備された。日本側研究者にとってもスーダンでの調査・研究環境が飛躍的に改善され、さらなる成果につながる事が期待される。科学技術協力の面からは、スーダン側研究者によって実験機材が有効に活用されるよう、スーダン側研究者の努力とともに日本側による支援が必要である。機材の使用に伴い必要となる保守、補修の体制が未整備なことが顕在化し、対応のための体制作りが必要である。併せて、保守経費や消耗品費の確保等、本事業終了後の SUST の自立的な実験室運営の基盤づくりを促す時期を迎えている。農民学校は、ガダー

レフ州の農業研究者や普及員の協力を得て順調に運営されており、文化人類学および社会経済学調査の拠点としても機能している。この活動を維持するために引き続きスーダン側で予算を確保することが必要である。

## 2. 研究グループ別の実施内容

### 課題1. ストライガ防除法の開発(植物科学グループ)

#### ①研究のねらい

根寄生雑草ストライガはスーダンにおける農業生産を阻害する最大の生物的要因である。化学物質に依存するストライガの発芽の特殊性を利用して、発芽を制御する薬剤や微生物を探索する。また、宿主作物とは異なるストライガ特異的な代謝に着目して、選択的な除草効果を有する薬剤を探索する。得られた知見の有効性を検証するべく、スーダンで実証試験を行う。さらに、ストライガに抵抗性を示すイネやソルガムの品種を選抜するとともに、養水分収奪機構の理解に基づく適正な栽培管理および発芽刺激物質生産性に基づく輪作体系の改良を通して、ストライガの被害を容認できる程度に抑える栽培学的方法を確立する。これらを実施するために個別課題 1-1～6 を実施した。

- 1-1) 自殺発芽誘導物質の開発
- 1-2) ストライガ防除微生物の探索
- 1-3) 選択的除草剤の探索
- 1-4) 宿主養水分収奪機構の解析
- 1-5) イネ・ソルガムの環境適応性の検討とストライガ抵抗性評価
- 1-6) 抵抗性／耐性作物の選抜と新規輪作体系の考案

#### ②研究実施方法

個別課題 1-1 天然より新奇な発芽誘導物質を探索し、単離構造決定を進めている。天然物をリードとして、構造を簡略化した発芽誘導物質をデザイン・合成し、活性を評価している。顕著な活性を有する化合物を用いてポット試験を実施し、一定の有効性を確認した。また、スーダン側研究者を招聘して、発芽誘導物質の抽出と精製に必要な基本的技術を伝達した。

個別課題 1-2 スーダン現地環境下でのポット試験において、土壌微生物・窒素施肥・除草剤・作物生育促進効果を持つと期待される微生物をそれぞれ単独で、もしくは組み合わせで使用し、ストライガ被害の抑制効果を調査した。さらに萎凋したストライガ個体から *Fusarium* を単離し、ストライガの発芽に及ぼす影響の調査を開始した。また、スーダン側研究者を日本に招聘して、分子生物学的手法の基本的技術を伝達した。

個別課題 1-3 昨年度までにノジリマイシンが根寄生雑草の種子発芽阻害活性を示すことを明らかにした。その作用点である糖加水分解酵素の単離精製を試みた。

個別課題 1-4 スーダンでポット試験を行い、異なる土壤水分条件で栽培したストライガとソルガムの上位完全展開葉の光化学系Ⅱの活性と光化学系特性、蒸散速度、気孔コンダクタンス、気孔開度・密度を調べた。また、ABA を葉面散布し、ソルガムとストライガの外生 ABA に対する気孔反応の差異を調査した。ソルガムとストライガの間の同化産物の転流を  $^{13}\text{CO}_2$  を使って調べた。現在、データの解析およびサンプルの分析を行っている。

個別課題 1-5 ライゾトロン法を用いた1次スクリーニングにおいて高いストライガ抵抗性を示した陸稲品種について、スーダン現地環境下での生育およびストライガ抵抗性を調査するためのポット試験を行った。ライゾトロン上でイネの根に寄生したストライガの生育を観察することで、イネのストライガ抵抗性を詳細に分析した。ソルガムについてもライゾトロン法および水耕栽培法によりストライガ抵抗性の品種間比較を継続している。

個別課題 1-6 ライトロン内でソルガムとゴマを同時栽培し、根圏に接種したストライガ種子の生育を観察した。ストライガの生育に影響を及ぼすことが認められたゴマ品種を選抜し、新規輪作体系への組入れの可能性を評価する実験に必要なサンプルの確保を目指した。スーダンの圃場において、国際熱帯農業研究所 (IITA) から入手したストライガ抵抗性トウモロコシ品種のストライガ感受性を評価した。

#### ③当初の計画(全体計画)に対する現在の進捗状況

個別課題 1-1 構造を簡略化しつつも高い発芽刺激活性を有する類縁体の合成を進めている。ポット試験の結果を受け、さらなる評価を行うために合成発芽刺激物質の製剤をするなど、概ね当初計画通りに進捗している。

個別課題 1-2 ストライガの生育に影響を及ぼす微生物を探索した。また、アーバスキュラー菌根菌 (AM 菌) を、肥料・除草剤および作物生育促進効果を持つと期待される微生物と組み合わせでポットに施与し、野外環境下でストライガ抑制効果を調査した。さらに、日本での研修を通して、微生物の遺伝子解析に必要な分子生物学的手法をスーダン側研究者に伝授した。

個別課題 1-3 発芽種子より調製した細胞壁および細胞膜結合タンパク質画分の SDS-PAGE を行い、発芽の進行に伴って一過的に発現量が増加する 53 kD のバンドを検出した。また、同画分を陽イオン交換カラムクロマトグラフィーに供し、糖加水分解活性を調べた結果、複数の活性ピークを検出した。現在、カラムに保持される活性画分についてさらなる精製を行っている。

個別課題 1-4 ストライガとソルガムの呼吸速度、光合成速度、蒸散速度、気孔抵抗、気孔開度および光合成活性を、異なる土壤水分条件下で測定し、土壤が乾燥するほどストライガはソルガムの同化産物への依存を高めると考えられる知見を得た。また、ストライガはソルガムに比べて土壤乾燥条件下でも気孔が閉鎖しにくく、蒸散速度を高く維持していた。これらの事実から、水分管理によるストライガ防除が合理的であることの裏付けを得た。

個別課題 1-5 ポット試験において、高いストライガ抵抗性を持ち、スーダン現地での生育が可能な陸稲品種を確認した。さらに、同品種を圃場で栽培し肥培管理指針作成のための知見を収集するとともに、今後の栽培試験に必要な種子量を確保した。ソルガムのストライガ抵抗性評価のため、これまでに用いてきたライトロン法に加えて、水耕栽培したソルガムの根滲出物を回収し、ストライガ種子発芽活性を調査する手法をスーダンに導入した。

個別課題 1-6 ライトロン法で、ストライガの幼根伸長を抑制するゴマ品種を確認した。選抜された品種の新規輪作体系での利用可能性を探るため、ゴマ乾燥植物体の収集とサンドイッチ法と呼ばれる評価技術の修得を完了した。IITA から入手したストライガ抵抗性トウモロコシ品種の圃場での評価が終了した。

#### ④カウンターパートへの技術移転の状況(日本側および相手国側と相互に交換された技術情報を含む)

スーダン側から日本側に提供された様々なソルガム品種について、ストライガ感受性および発芽刺激物質生産性を評価した。刺激物質高生産品種は発芽刺激物質の代謝研究に利用されている。一方、日本側からスーダン側に設備、消耗品とともに導入されたライトロン法は多くの研究者に取り入れられスーダン側の研究の様相を一変させた。従来、ポット試験により地上部に出現したストライガを計数することが中心であった宿主植物のストライガ感受性に関する評価が、寄生初期の根系での相互作用の観察に基づくようになり、さらなる理解を目指して細胞構造学的な解析へと発展しつつある。発芽刺激物質の生産性を評価する生物試験技術はすでにスーダン側と共有しており、宿主植物根分泌物から発芽刺激物質を粗精製する技術も移転しつつある。光合成蒸

散測定装置、ポロメーター、葉面積計等が導入されたことにより、ストライガに寄生された宿主植物およびストライガの生理生態応答にも関心が集まり始めている。また、無菌操作技術が日本から移転され、スーダンでストライガのカルスや独立個体の作成が可能になった。これらを利用した実験も始まっている。

⑤当初計画では想定されていなかった新たな展開があった場合、その内容と展開状況(あれば)

ササゲが生産する *Striga gesnerioides* 種子の発芽を誘導する物質 alectrol の構造を完全に解き明かした。同種子は発芽刺激物質に対してきわめて厳格な立体構造要求性を有することが明らかになったほか、要求性を満足しない物質によって発芽が阻害されるという、ストライガの発芽阻害に関する世界初の知見を得た。この知見は新たな防除法の開発につながる事が期待されることから、特許を申請した。一連の研究にはポスドクの能力とプロジェクトに導入された高精度の分析機器が多いに貢献した。

課題2. ストライガ防除に資する知見の集約と普及(文化人類学グループ)

①研究のねらい

文化人類学・社会経済学・農学を専門とする日本とスーダンの研究者が協力しておこなう現地調査を通して、現地住民が有するストライガに対処するための伝統的知識を収集し、地域の自然環境に応じて培われてきた在来の農業システムの特質を体系的に明らかにする。並行して、植物科学グループが開発・確立を目指す技術パッケージの現地生産者の受容性について経済的、社会的、文化的側面から調査し、農民学校や展示圃場などを通じてその技術パッケージが普及する可能性を検証する。以上の研究成果を現地共通語であるアラビア語により出版し、その出版物を研究者が村落に実際に赴くアウトリーチ活動で活用することにより、生産者・受容者を含む現地住民一般と知識を共有する。これらを達成するために個別課題 2-1~4 を実施する。

- 2-1) 伝統的知識および新技術受容性の調査
- 2-2) 生産者・消費者の嗜好調査
- 2-3) 発芽刺激物質生産性に基づく輪作体系の改良
- 2-4) 農民学校の計画、実施、運営管理

②研究実施方法

スーダンにおける研究として、文化人類学を専門とする日本側研究者と社会経済学・農業経済学を専門とするスーダン側研究者が、農民学校と展示圃場が実施されたガダーレフ州の諸地域で聞き取り調査を行った。すなわち、異なる農業システムを採用している各地域で、伝統的知識・新技術受容性・嗜好性をインタビューやアンケート調査により収集した。また、新技術受容性に関する今後の調査で活用するため、展示圃場内で栽培学的データを収集した。

③当初の計画(全体計画)に対する現在の進捗状況

調査は計画通り、農民学校と展示圃場が実施されたガダーレフ州 6 地域 (Tirfa, Umm Shinabra, Kajara, Ganan, Tawariit, Allam) を中心に行われた。日本側研究者の調査には全行程を通してカウンターパートあるいはプロジェクト関係者である Dr. Mutasim, Mr. Elsir, Mr. Mussab, Mr. Samir のいずれかが同行した。調査結果の報告書(暫定版)は、12 月に開催された JCC で業務調整員を通じて配布された。それぞれの課題の進捗状況は以下の通りである。

課題 2-1 に関して、伝統的なストライガ対処法として、手作業による除草、塩水の散布、深耕、休閑、在来で発達したサルワラ農法などが採用されていることが明らかになった。また、新技術受容性に関する今後の調査で活用するため、展示圃場で栽培学的データを収集した。調査方法や時期を記載したマニュアルを作成し、データ収集担当者の理解を促進したことで、設定した項目のほぼ全てについてデータを収集できた。これにより、既存の農法と新技術パッケージの差異を数値化できる体制が整備できた。平成 23 年度は早魃の影響で栽培技術間の差異は認められなかったが、確立した方法を活かして平成 24 年度以降に有益なデータが収集されることが期待される。数値化したデータは農民学校参加者へのインタビューやアンケート調査の際に示し、社会・文化・経済面からの新技術受容性の判断材料とする予定である。

課題 2-2 現地生産者・消費者の作物に対する嗜好性調査に関しては、特に小規模機械化天水農業を営む農民が好んで選択する作物種/品種に着目し、ストライガ被害程度、土壌肥沃度、気象条件、市場価格等に基づいた選択が行われていることを把握した。

課題 2-3 発芽刺激物質生産性に基づく輪作体系の改良に関して、農家への聞き取り調査を行い、ガダーレフ州ではソルガムとゴマの輪作や混作が行われていることを明らかにした。現地農家は、ミレットはソルガムと比較してストライガの被害を受けにくいと認識し、被害が深刻になった場合にミレットを選択するケースがあった。また、現地農家は休閑による土壌肥沃度の向上とそれに伴うストライガ被害の軽減についても理解している。しかし、利用可能な土地が限られているため休閑が行えない農民が存在した。以上のことから、輪作がガダーレフ州の農家の用いている主要なストライガ対処法であると考えられた。

課題 2-4 農民学校の計画、実施、運営管理に関しては、必要機材の購入と運営・管理体制の構築を行った。運営・管理体制の強化の一環として、農民学校の運営を担うファシリテーターに任命されたガダーレフ州農業省普及局職員に対し、Training of Trainers (ToTs)を開催した。同時に普及局の 1 名に、JICA トレーニングコース“Upland Cereal Crops Management for Extension Officers”に参加する機会を提供した。ガダーレフ州 6 地域において、6 月上旬から圃場整備を行い、7 月には農民学校と展示圃場における活動を開始した。9 月にはガダーレフ州農業省に対して自動二輪を寄贈し、ファシリテーターの活動のさらなる活性化を図った。展示圃場では、ARC ガダーレフ支所の職員がソルガムとストライガの生育調査を行った。平成 23 年度は早魃の影響により、栽培技術の違いによるソルガム収量の差は認められなかったものの、次年度以降の栽培学的データ収集体制が機能することを確認できた。

#### ④カウンターパートへの技術移転の状況(日本側および相手国側と相互に交換された技術情報を含む)

文化人類学を専門とし、豊富な現地調査経験を有する日本側研究者(縄田・石山)が実施した現地調査にスーダン大学の Teaching Assistant (TA)を同伴させた。日本人研究者 2 名が行う調査に同行することで、大学では学ぶ機会がなかった調査方法を実践を通して修得することができた。講義・学務等のためにスーダン側研究者が長期的な現地調査に参加できない場合、TA の貢献が必要とされるので、今後の研究遂行のための人材を育成する良い機会となった。

日本人研究者が常駐していないガダーレフ州に設置された展示圃場での栽培学的調査に際して、日本人研究者とスーダン人研究者の間で理想的な共同研究体制を確立した。日本人研究者の鮫島と ARC ガダーレフ支所の Dr. Ayman が密接な意見交換を通して、調査内容について意思の統一を図った。これに基づき、鮫島が調査項目・方法・時期を記載した簡易マニュアルと記録用紙を作成し、Dr. Ayman がデータ収集を担当する ARC

職員のトレーニングと監督を行った。この体制により、予定されていた調査項目のほぼ全てが記録され、来年度以降も信頼できる栽培学的データの蓄積が期待できる。

⑤当初計画では想定されていなかった新たな展開があった場合、その内容と展開状況(あれば)特記なし

### 3. 成果発表等

#### (1) 原著論文発表

① 本年度発表総数(国内 0 件、国際 2 件)

② 本プロジェクト期間累積件数(国内 0 件、海外 7 件)

③ 論文詳細情報

7. Ueno, K., Nomura, S., Muranaka, S., Mizutani, M., Takikawa, H., Sugimoto, Y.: *Ent-2'-epi-orobanchol* and its acetate, as germination stimulants for *Striga gesnerioides* seeds, isolated from cowpea and red clover, J. Agric. Food Chem., 59, 10485–90, 2011 Sep.

6. Ueno, K., Fujiwara, M., Nomura, S., Mizutani, M., Sasaki, M., Takikawa, H., Sugimoto, Y.: Structural requirements of strigolactones for germination induction of *Striga gesnerioides* seeds, J. Agric. Food Chem., 59, 9226–31, 2011 Aug.

(前年度まで)

5. Kitahara, S., Tashiro, T., Sugimoto, Y., Sasaki, M., Takikawa, H.: First synthesis of (±)-sorgomol, the germination stimulant for root parasitic weeds isolated from *Sorghum bicolor*. Tetrahedron Letters, 52, 724–726, 2011 Jan.

4. Ueda, H., Sugimoto, Y.: Vestitol as a chemical barrier against intrusion of the parasitic plant *Striga hermonthica* into *Lotus japonicus* roots. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 74, 1662–1667, 2010 Aug.

3. Takikawa, H., Imaishi, H., Tanaka, A., Jikumaru, S., Fujiwara, M., Sasaki, M.: Synthesis of optically active strigolactones: Enzymatic resolution and asymmetric hydroxylation. Tetrahedron Asymmetry, 21, 1166–1168, 2010 May.

2. Takikawa, H., Jikumaru, K., Sugimoto, Y., Xie, X., Yoneyama, K., Sasaki, M.: Synthetic disproof of the structure proposed for solanacol, the germination stimulant for seeds of root parasitic weeds. Tetrahedron Letters, 50, 4549–4951, 2009 May.

1. Jumtee, K., Okazawa, A., Harada, K., Fukusaki, E., Takano, M., Kobayashi, A.: Comprehensive metabolic profiling of *phyAphyBphyC* triple mutants to reveal their associated metabolic phenotype in rice leaves. Journal of Bioscience and Bioengineering, 108, 151–159, 2009.

#### (2) 特許出願

① 本年度特許出願内訳(国内 2 件、海外 0 件、特許出願した発明数 2 件)

② 本プロジェクト期間累積件数(国内 2 件、海外 0 件)

2. 杉本幸裕、滝川浩郷、佐々木満、根寄生植物発芽阻害剤及びそれを用いる根寄生植物の防除方法、特許

出願 2012-061700

1. 杉本幸裕、滝川浩郷、佐々木満、根寄生植物発芽調節剤及びそれを用いる根寄生植物の防除方法、特許

出願 2011-111819

#### 4. プロジェクト実施体制

(1)「植物化学」グループ(ストライガ防除法の開発)

①研究者グループリーダー名： 杉本 幸裕 (神戸大学・教授)

②研究項目

- 1) 自殺発芽誘導物質の開発
- 2) ストライガ防除微生物の探索
- 3) 選択的除草剤の探索
- 4) 宿主養水分収奪機構の解析
- 5) イネ・ソルガムの環境適応性の検討とストライガ抵抗性評価
- 6) 抵抗性／耐性作物の選抜と新規輪作体系の考案

(2)「文化人類学」グループ(ストライガ防除に資する知見の集約と普及)

①研究者グループリーダー名： 縄田 浩志 (総合地球環境学研究所・准教授)

②研究項目

- 1) 伝統的知識および新技術受容性の調査
- 2) 生産者・消費者の嗜好調査
- 3) 発芽刺激物質生産性に基づく輪作体系の改良
- 4) 農民学校の計画、実施、運営管理

以上