

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 24 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、アフリカにおけるソルガムやミレットなどの主要作物の生産を阻害する最大の生物的要因である。本プロジェクトは、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 24 年度上半期には延べ 12 人の日本人研究者が 246 日間、下半期には延べ 8 人が 156 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および作物学実験を行うとともに、ガダーレフ州の農民学校（FFS）実施地域において栽培学実験および農業経営経済学的な視点からの調査を実施した。中間レビュー・評価に合わせて滞在し、評価団員とともに SUST の実験室・実験圃場およびガダーレフ州の FFS の視察を行い、プロジェクトの進捗や問題点、今後の方向性等について討議した。視察に先立ち情報共有を目的として 9 月 23 日に SUST で国際セミナーを行った。日本人研究者から 5 題、スーダン人研究者から 9 題の発表が行われた。スーダンからは上半期に 1 人の研究者を延べ 89 日間招聘し、共同研究を通して技術の移転を図った。また、下半期に 1 人の研究者を 6 日間招聘し、共同研究の今後の方向性を議論した。スーダン側ではローカルコンポーネントにより新たな建物が SUST 敷地内に建設中であり、完成後は分子生物学実験室が従来のストライガ実験室から独立・移転する予定である。
- ・プロジェクト成果：前年度にポット試験で合成発芽刺激物質 T-010 にストライガ自殺発芽誘導効果が認められた。そこでより実践的な評価をするために、農薬開発に実績のある企業の協力を得て製剤化し、SUST でポット栽培個体を用いて有効性の検証を行った結果、ストライガの被害を軽減する効果が認められた。圃場試験に用いるのに十分な製剤量が確保できたことから、平成 25 年度には最適な施与量や施与方法、宿主への影響の有無等を調査し、応用に向けての知見を深めていく予定である。また、ポット試験で微生物によるストライガ防除の効果も認められた。ガダーレフ州の Allam 地区および Tilfa 地区ではストライガ防除に対するチゼル耕を利用した集水技術の有効性が検証され、ソルガムの収量が向上することが確認できた。さらに、ライゾトロン法を用いた試験でストライガ抵抗性を示したイネ品種について、ポットおよび圃場試験でも有意にストライガの出芽が減ることを確認した。
- ・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整備された。一部の利用率の低い装置が有効に活用されるように、スーダン側研究者の努力を促すとともに日本側による支援を続けていく。中間レビュー時の話し合いで、スーダン側からは技術職員の交流および研究者の国際学会への派遣に対する支援を求められた。これに応じて、日本側から技術職員を平成 24 年 12 月に SUST に派遣し、ストライガの種子滅菌やライゾトロンへの接種技術について、効率的な方法をスーダン側へ伝えた。その結果、SUST の技術職員や学生の技術が向上し、コンタミネーションの減少や発芽率を向上させることができるようになった。現在、平成 25 年度にスーダン側の若手技術職員

を日本で研修させる準備とスーダン側研究者を国際学会に派遣する準備を進めている。また、前年度の報告書に記載した機材の保守・管理体制整備の必要性について、中間評価団と認識を共有した。FFSについては、ガダーレフ州の農業研究者や普及員の協力により順調に運営されている。活動を持続させるために、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

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。これらを推進するために個別課題1～8を実施した。

- 課題1 新規自殺発芽誘導物質の開発
- 課題2 ストライガ防除微生物の探索
- 課題3 選択的除草剤の探索
- 課題4 宿主養水分収奪機構の解析
- 課題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
- 課題6 抵抗性/耐性作物の選抜と新規輪作体系の考案
- 課題7 新技術受容性と生産者・消費者の嗜好の調査
- 課題8 ストライガ対処法の共有に向けた農民学校の実施

②研究実施方法

課題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。ストライガ発芽刺激活性を有する化合物を製剤化し、スーダンでポット試験を実施している。スーダン側研究者を日本に招聘して、発芽刺激物質取り扱いに関わる基本的技術を伝達した。また、日本側研究者がSUSTでスーダン側研究者にクロマトグラフィーの原理と基本的な操作法を伝達した。

課題2 萎凋したストライガ個体から単離した *Fusarium* 属菌のうち、室内試験でストライガ発芽抑制効果を確認した菌株を用いてポット試験を行い、菌によるストライガ発芽抑制効果を野外条件下でも確認した。また、ストライガ抑制に効果が期待される6株のアーバスキュラー菌根菌（AM菌）の培養を進めた。

課題3 発芽時に特異的な代謝産物を標的とした寄生雑草の防除法の開発を目指している。発芽時にエネルギー源として代謝される寄生雑草に特徴的な三糖の構造解析を行った。また、この代謝経路を解析し、ノジリマイシンが阻害する酵素反応の同定を行った。また、ESTライブラリーの情報を用いて、発芽時に発現している糖加水分解酵素遺伝子について、クローニングおよび当該遺伝子の大腸菌での発現を行なうことでその機能を解析した。

課題4 スーダンでポット試験を行い、異なる土壌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の活性と光合成速度、呼吸速度、蒸散速度、気孔コンダクタンス、気孔開度・密度、内生アブシジン酸（ABA）濃度を調べた。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 $^{13}\text{CO}_2$ を使って予備的に調べている。

課題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および圃場試験を行った。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。

課題6 日本でのトレーニングにより、ゴマの根浸出物からストライガ発芽刺激物質を単離する技術を習得した。スーダンでも抽出作業を行うため、ゴマの水耕栽培系の確立を目指している。また、ソルガム、ササゲ、イネの植物体の乾燥物がストライガの発芽に及ぼす影響についてサンドイッチ法により調査した。同様の実験をワタについても行うため、ワタを圃場で栽培し植物体の乾燥物を得た。輪作候補作物であるコムギのストライガに対する感受性を評価するためにポット試験を行った。

課題7 FFSおよび展示圃場が実施されているガダーレフ州内において、小規模農業者を対象に作付け品目、品目毎の費用および収入に関する聞き取り調査を行った。併せて、品目選択におけるリスクの受容力に関するアンケート調査を行い、小規模農業者による新技術の受容力を分析するためのデータ収集を行った。

課題8 FFSの開催場所であるガダーレフ州の農業省普及局、農民連盟、農業研究機構（Agricultural Research Corporation、ARC）支所等の関係機関に対する聞き取り調査を行い、小規模農業者が新技術を習得するための条件整備に関する意見交換を行った。とくに、新技術の受容力が高いと考えられる女性農業者の経営環境の実態および新規技術の受容のための条件の把握を行うとともに、FFSにおけるカリキュラムのあり方に関する意見交換を行った。

③当初の計画（全体計画）に対する現在の進捗状況

課題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を実験室レベルとしては多量に合成し製剤化するなど、概ね当初計画通りに進捗している。

課題2 ストライガの発芽に影響を及ぼすいくつかの微生物を発見した。さらに有益な微生物の発見を目指して探索を継続する。微生物の培養方法および土壌への混入方法を確立し、2012年には予定通り、土壌への微生物混入によるストライガ発芽抑制の有用性についてポット試験で検証をした。その結果、ストライガの発芽抑制とそれに伴うソルガムの生育促進が野外でのポット試験でも確認できた。今後は再現性の確認および圃場試験への拡大を目指している。微生物由来の有用物質の解明は予定より遅れているものの、神戸大学やSUSTでの研修を通して、技術の修得は進んでいる。

課題3 発芽時にエネルギー源として代謝される寄生雑草に特徴的な三糖の構造を決定した。その代謝経路を解析し、これを決定した。さらに、その代謝経路中でノジリマイシンが阻害する酵素反応を明らかにした。ノジリマイシンの阻害する酵素反応が明らかになったことで、その阻害剤の探索

を進めることが可能となった。EST ライブラリーの情報より、発芽中に発現している糖加水分解酵素遺伝子の全長 cDNA をクローニングし、大腸菌で発現させた結果、この酵素が β -マンノシダーゼであることを明らかにした。

課題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、気孔コンダクタンス、気孔開度および光化学系 II の活性を異なる土壤水分条件下で測定した。また、ストライガはソルガムに比べて土壤乾燥条件および外生 ABA に対して気孔が閉鎖しにくく、蒸散速度を高く維持していたことから、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。

課題5 概ね、当初の計画通り進捗している。ライゾトロン、ポット、圃場のいずれにおいても安定したストライガ抵抗性を示すイネ品種を複数確認した。その中には、スーダン現地での陸稲栽培条件下で 3 t ha^{-1} 以上の収量を得られる多収性品種があった。各品種とも今後の圃場試験に必要な種子量も確保でき、抵抗性品種と肥培管理を組み合わせた総合的なストライガ防除方法の検討が可能となった。また、日本側の技術職員の指導により、これまで困難であったライゾトロン内でのストライガ種子発芽も可能となり、ソルガム品種の様々なストライガ感受性の評価方法が利用できるようになった。

課題6 ライゾトロン法、サンドイッチ法、水耕栽培法といったインビトロでの評価技術を習得し、ストライガの寄生成立を抑制するゴマ品種、植物体乾燥粉末が高いストライガ発芽活性を持つソルガム品種やササゲ品種の選抜が終了した。スーダンでの輪作に組み入れられる可能性があるミレットやコムギについては、ポット試験でストライガへの感受性の評価を開始した。圃場での輪作試験で、ヒマワリおよびゴマ栽培によるストライガ発芽抑制効果の高さを確認した。概ね計画通りに進行しており、選抜した作物・品種のストライガ発芽抑制効果の再現性を確認し、最終年度には新規輪作体系の公開を目指す。

課題7 FFS を実施しているガダーレフ州において、小規模農業者を対象とした聞き取り調査およびアンケート調査の結果から、とくに女性農業者における新技術導入の可能生と受容性が高いことが明らかとなった。その要因として、銀行による女性グループへの信用供与、経営面積の小規模性、家計面への影響の低位性があることを把握した。

課題8 FFS の運営およびカリキュラムに関して、ガダーレフ州の関係機関（農業省普及局、農民連盟、ARC）と意見を交換を行い、安定生産につながる技術の受容促進に向けてのカリキュラムの設計に関する検討を行った。普及員は展示圃場を利用して、播種技術と除草技術に関する FFS を開催した。前年度に引き続き 24 年度も、スーダン人研究者が FFS 運営に関わる助成金をスーダン政府から獲得したことにより、事業の持続性についての意識が高まりつつある。

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経路の解明に貢献している。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ゾ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、ポット試験により出芽したストライガ個体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。スーダン側技術職員や学生に対して、日本側技術職員が効率的な操作方法を直接指導したことで、ライゾトロン法に

関係する技術の向上が見られた。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。さらに、日本での研修を通して、分子生物学的手法の基礎をスーダン側研究者に伝授した。スーダン側はストライガ実験室に近隣の研究機関から講師を招き、PCR、電気泳動装置、ゲル観察装置等これまでに導入した機器を実際に使用した研修を続けている。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。技術や手法だけでなく、学術講演を行うことで、ストライガ防除に関する体系的な知識の共有を図った。

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が円滑に進むように、日本人研究者と ARC ガダーレフ支所の研究者が共同研究体制を確立した。この体制により、また、スーダン側研究代表者がスーダン政府からの助成金を確保できたことにより、平成 24 年度も展示圃場の運営は滞りなく進んだ。展示圃場への訪問者や FFS への参加者への調査を通して、課題 7 において日本側とスーダン側研究者の共同研究が進行している。

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）

20 年来の謎であった、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、有機合成・生物活性試験・化学分析を駆使して証明し、真の構造を明らかにした。同種子が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を明らかにした。さらに、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。この知見は発芽阻害剤による新たな防除法の開発につながることで期待されることから、特許を申請した。

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 5 件）

② 本プロジェクト期間累積件数（国内 0 件、海外 12 件）

③ 論文詳細情報

12. Inoue, T., Yamauchi, Y., Eltayeb, A. H., Samejima, H., Babiker, A. G. T., Sugimoto, Y.: Photosynthetic capacity and stomatal response of root hemi-parasite *Striga hermonthica* and sorghum under short-term soil water stress, accepted for publication in *Biologia Plantarum*.

11. Nomura, S., Nakashima, H., Mizutani, M., Takikawa, H., Sugimoto, Y.: Structural requirements of strigolactones for germination induction and inhibition of *Striga gesnerioides* seeds, accepted for publication in *Plant Cell Reports*.

10. Motonami, N., Ueno, K., Nakashima, H., Nomura, S., Mizutani, M., Takikawa, H., Sugimoto, Y.: Bioconversion of 5-deoxystrigol to sorgomol by the sorghum, *Sorghum bicolor* (L.) Moench, accepted for publication in *Phytochemistry*.

9. Tanaka, M., Sugimoto, Y., Kuse, M., Takikawa, H.: Synthesis of 7-oxo-5-deoxystrigol, a 7-oxygenated strigolactone analog, accepted for publication in *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*.

8. Sawada, R., Yamauchi, Y., Sugimoto, Y.: Germination response of *Striga hermonthica* and *Orobanche minor*

seeds pre-treated with the synthetic strigolactone GR24, Recent Res. Devel. Phytochem.,10, 1-12, 2012.

(前年度まで)

7. Ueno, K., Nomura, S., Uemura, K., Mizutani, M., Takikawa, H. and Sugimoto, Y.: *Ent-2'-epi-Orobanchol* and Its Acetate, as Germination Stimulants for *Strigatesnerioides* 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*, J. Agric. Food Chem., 59, 9226-31, 2011 Aug.
5. Kitahara, S., Tashiro, T., Sugimoto, Y., Sasaki, M., Takikawa, H.: First synthesis of (\pm)-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 1 件、海外 2 件、特許出願した発明数 3 件)
- ② 本プロジェクト期間累積件数 (国内 2 件、海外 2 件)

4. プロジェクト実施体制

ストライガ防除法の開発と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： 杉本 幸裕 (神戸大学・教授)

② 研究項目

- 課題 1 新規自殺発芽誘導物質の開発
- 課題 2 ストライガ防除微生物の探索
- 課題 3 選択的除草剤の探索
- 課題 4 宿主養水分収奪機構の解析
- 課題 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
- 課題 6 抵抗性/耐性作物の選抜と新規輪作体系の考案
- 課題 7 新技術受容性と生産者・消費者の嗜好の調査
- 課題 8 ストライガ対処法の共有に向けた農民学校の実施

以上