

令和 3 年 6 月 14 日現在

機関番号：21401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K08171

研究課題名(和文) イネ・ダイズの土壤病害を予防するための病原菌モニタリング法の確立

研究課題名(英文) Development of monitoring the pathogen of rice and soybean for prevention of soilborne diseases

研究代表者

戸田 武 (Toda, Takeshi)

秋田県立大学・生物資源科学部・准教授

研究者番号：00506529

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：土壤伝染性の植物病害を予防するために、本研究では植物根から菌類を網羅的に検出して被害想定する方法「群集解析法」を開発した。同法によって秋田県11地域の水田土壌でイネの芽や根から土壤伝染性のPythium属菌を各地域で50株ほど採取し、少なくとも合計16種以上存在することが明らかになった。また、各地の種割合は大きく異なるとともに、種ごとにイネへの病原性に様々な強弱を示した。これらのことから、各地域で土壤病原菌によって発生する被害を想定するには、採取土壌で生育したイネなどの植物根から50菌株前後分離し、群衆解析法による分離菌の種割合を明らかにすることで可能になると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

様々な地域における水田や農地におけるPythium属菌の種割合を群集解析法によって調査する方法が、イネやダイズのような主要作物や野菜類の栽培の被害を想定することができると期待される。土壤伝染性病害は予防することが理想である。Pythium属菌を含めて他の土壤伝染性菌であるPhytophthora、Fusarium、Rhizoctonia属菌など群衆解析法の実用化は、各地域の栽培適性や病害予防対策を確立できると期待される。

研究成果の概要(英文)：This study aimed the prevention of occurring soilborne plant diseases by development of the fungal community analysis for detecting pathogenic fungi and Oomycetes from the plant roots comprehensively. This analysis clarified the existence of 16 Pythium species at 11 rice fields in Akita Prefecture by isolating approximately 50 samples of Pythium species in each field. The ratio of this species showed variations among these rice fields. The virulence of each species to rice was also various. These results suggested that assuming the occurrence of soilborne diseases could be done based on the fungal community analysis with clarification of the species ratio using approximately 50 isolates of fungi and Oomycetes in each field.

研究分野：植物病理学

キーワード：イネ ダイズ 土壤伝染性病害 群衆解析法 栽培適正

## 1. 研究開始当初の背景

イネ、ダイズ、野菜類、果樹類など主要な作物に起こる病害は、土壌伝染性の病害だけでも世界中で毎年のように報告され、原因不明の病害も多い。主な病原菌は *Pythium* 属、*Phytophthora* 属、*Fusarium* 属菌などが多いが、症状から病原菌を判定するまでに 1 ヶ月以上の時間を要し、病害の発生生態も分からない場合が多いため、予防が極めて難しい。病害の予防のために、土壌の病原菌をモニタリングする方法が強く望まれる。実際に、病害の原因が「現地の菌の増殖」または「外部からの菌の侵入」によるか、何れかを明らかにするだけでも、病原菌のモニタリング方法の確立に近づき、事前に病害を予防できる。土壌から微生物の DNA を検出する研究は盛んであるが、土壌には 1g に一万種類以上の微生物が混在するので病原菌を特定するには効率が悪い。それに対し、申請者は植物の根に侵入した菌が、植物に直接的に影響することに着目し、根から病原菌の DNA を網羅的に検出する群集解析法を開発した。

本研究では、群集解析法によって栽培圃場の植物の根から主な土壌伝染性の病原菌である *Pythium* 属と *Phytophthora* 属、*Fusarium* 属の DNA を効率よく検出する方法を確立している。特に、ダイズでは群集解析法によって秋田県沿岸中央部のダイズ栽培地域に存在する *Pythium* 属菌の種類と分布を明らかにした。さらに、秋田県内のイネ科雑草（メヒシバ、エノコログサ）からイネの病原菌である *Pythium* 属菌を、マメ科雑草（シロクロバー）の根からも、ダイズの病原菌である *Pythium* 属菌を検出した。これらのことから、申請者は、群集解析法によってイネ・ダイズの病原菌を雑草から検出でき、病原菌が雑草を伝染源として作物に病害を起こす可能性が極めて高いことを明らかにした。さらに、土地によってイネまたはダイズの病原菌が存在する割合が異なることも明らかになっている。これらのことから、群集解析法に栽培作物および周辺雑草の根を利用することが、病原菌の分布を効率良く調査し、モニタリング法を確立できることが考えられた。

## 2. 研究の目的

本研究では群集解析法を使用して、土壌伝染性病原菌のモニタリング法を確立し、病害発生環境の解析を目的とした。秋田県の各地に存在する病原菌の種類を明らかにするため、県内 30 カ所の圃場から栽培作物（イネ、ダイズ）および周辺の雑草（イネ科、マメ科雑草）を採取し、群集解析法によって根から病原菌を検出する。結果から、各地域の病原菌をモニタリングできるか検討する。検出された病原菌（主に重要な *Pythium* 属、*Phytophthora* 属および *Fusarium* 属菌）をモニタリングしたデータを主成分分析に使用し、各地域の土性、水分含量、排水性、地温が各種病原菌の存在との関係を比較する。その関係性から、「病原菌が存在しやすい環境」および「病害の発生しやすい環境」を明らかにする。

## 3. 研究の方法

秋田県の栽培現場の合計 30 地域を選抜する。各地域で栽培作物イネ・ダイズを採取し、周辺のイネ雑草（メヒシバ・エノコログサ）およびマメ科雑草（クロバー）を採取する。採取後、地下部を DNA 抽出するまで保存する。可能な限り、根から実物の病原菌 *Pythium* 属、*Phytophthora* 属、および *Fusarium* 属菌を培養して、顕微鏡などで形態を観察するとともに保存する。全サンプルを DNA 抽出後、群集解析法に使用して検出された種を判別する（図 3）。病原菌は植物根から得られた結果との比較のために、群集解析法に使用して検出された種を記録

する。*Phytophthora* および *Fusarium* 属菌においても同様の解析を行う。

検出された病原菌の種数を計数し、各採取地における種の割合を明らかにするとともに、*Phytophthora* 属と *Fusarium* 属を合わせた 3 種類の菌類の検出割合を総合する。図 3 のように、それぞれの栽培作物および雑草から検出された主な種を記録する。サンプルを採取した地点における病原菌の検出率を算出し、成分分析に使用するために、各地点における土壌の環境(土質、作物の栽培歴、使用された肥料、降水量、気温など)の情報を収集し、検出された種の傾向を明らかにする。

#### 4. 研究成果

秋田県内 8 地域のイネ科雑草から検出された *Pythium* 属菌の種を群集解析法によって調べたところ、イネ科雑草からはイネの病原菌 *Pythium arrhenomanes* が主に検出され、マメ科雑草からは同種が検出されなかった。*P. arrhenomanes* が存在する地域では、イネ科雑草に同種が優先的に寄生していることが明らかになった。一方、マメ科雑草から検出された種は、優先的な種は複数あるが、種を特定することは難しいと思われた。また、*P. arrhenomanes* 以外では、イネ科雑草から検出された種とマメ科雑草から検出された種は共通すると考えられた。*Phytophthora* 属菌は検出されなかった。1 地域においてイネから分離した *Pythium* 属菌 130 菌株の種の割合を調べたところ、少なくとも 13 種が存在し、イネ科雑草の群集解析法によって検出された種と類似していたが、雑草から分離されない種も 4 種ほど存在した。そのうち、イネの苗に病原性を示す *Pythium arrhenomanes* が 4%ほどであった。これらのことから、土壌病原菌のモニタリングには、雑草の根を調べることもある程度効果があるが、その前に、採取した土壌でイネやダイズを生育させて分離した菌の種を調べることが必要と考えられた。

秋田県の合計 11 地域の水田土壌で播種/生育後のイネの芽/根から *Pythium* 属菌を合計 556 菌株を分離した。各地域の *Pythium* 属菌は群集解析法によって少なくとも 16 種が存在した。これらの 16 種はイネ科雑草の根から群集解析法によって *Pythium* 属菌の種とはかなり異なっていた。各地域の水田における種の割合は異なっており、イネ苗に強い病原性を示す種 *P. arrhenomanes* および *P. irregulare* が多く含まれた水田で 2 地域のみであった。その他の 9 地域の水田では、病原性が中程度の種の割合が多いことが明らかになった。畑状態に設定した接種試験では、*P. arrhenomanes* および *P. irregulare* は強い病原性であり、その他の種は低-中程度であったが、湛水状態に設定した接種試験では、他の 14 種も強い病原性を示した。イネで分離された 16 種の *Pythium* 属菌はダイズから分離され、生育に影響を及ぼす種が少なくとも 4 種類含まれていた。

これらのことから、イネおよびダイズの土壌病原菌のモニタリングには、採取土壌でイネ・ダイズを生育させて *Pythium* 属菌を 50 菌株前後分離し、群集解析法による分離菌の種割合を明らかにすることが、各地域に発生する被害を想定可能と考えられた。今後、広い地域における水田や農地における *Pythium* 属菌の種割合を群集解析法による調査が有効と考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 戸田 武, 藤 晋一, 古屋廣光
2. 発表標題 秋田県 5 地域の水田土壌で生育したイネ苗から分離された Pythium 属菌におけるイネの生育への影響
3. 学会等名 日本植物病理学会東北部会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 戸田 武, 奈良知春, 藤 晋一, 古屋廣光
2. 発表標題 秋田県10地域の水田土壌から採取されたPythium属菌における種の比較
3. 学会等名 日本植物病理学会大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------