

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 9 日現在

機関番号：12605

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2014

課題番号：23405046

研究課題名(和文) ミャンマー国の主要な農作物における植物寄生性線虫の生息状況と被害度調査

研究課題名(英文) Major plant parasitic nematodes in major crop fields in Myanmar and possible damage to yield

研究代表者

豊田 剛己 (Toyoda, Koki)

東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・教授

研究者番号：30262893

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,600,000円

研究成果の概要(和文)：ミャンマーのコメ年間生産量は世界第7位であるが、面積当たりの収量は3.7t/haと高くない。その原因として、本研究では植物寄生性線虫による影響に注目した。ミャンマー水田の約8割でイネネモグリセンチュウ *Hirschmanniella oryzae*、約6割にイネネコブセンチュウ *Meloidogyne graminicola* が生息しており、殺線虫剤の使用で収量が約3割増加した。本研究により、ミャンマーのイネ生産において植物寄生線虫が重要な影響を及ぼしていることが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Myanmar is the 7th largest rice producing country in the world, but its yield per unit area is not high. We focused on the possible contribution of nematode damage to rice yield. Rice rot nematodes *Hirschmanniella oryzae* and root-knot nematodes *Meloidogyne graminicola* were detected in 80% and 60% of rice fields, respectively, surveyed in this study. Nematicide application increased the rice yield by 30% in average. This study revealed a significant yield loss in rice production by plant-parasitic nematodes.

研究分野：土壌学

キーワード：植物寄生性線虫 リアルタイムPCR イネネモグリセンチュウ イネネコブセンチュウ 殺線虫剤 ゴマシストセンチュウ イネクキセンチュウ

1. 研究開始当初の背景

ミャンマーは輸出金額の5割以上を農産物が占める農業大国である。主要な輸出作物はマメ類、油糧作物(ゴマなど)、コメであり、これらの安定かつ持続的な生産がミャンマー国の発展には欠かせない。ところが、これらのいずれの作物においても植物寄生性線虫の被害が生じ始めている。近年、応募者らは各種の植物寄生性線虫を土壌から直接定量する方法を確立し、それにより正確・迅速な線虫定量が可能となった。

2. 研究の目的

マメ類、ゴマ、イネにおいて植物寄生性線虫の生息状況と作物被害の程度を見積もる。

3. 研究の方法

1) 土壌中における植物寄生性線虫密度の定量: この目的のために、まず土壌中のイネネモグリセンチュウ(*Hirschmanniella oryzae*)ならびにイネネコブセンチュウ(*Meloidogyne graminicola*)密度を定量するための検量線を作成した。現地土壌をオートクレーブ殺菌し、既存のDNAを消滅させた後、土壌10gあたりに2頭ないし10頭のネモグリセンチュウおよび4頭ないし20頭のイネネコブセンチュウを接種後、ボールミル(Retsche、ミキサール MM400)により土壌を微粉碎処理した。よく攪拌後、微粉碎土壌0.5gからMin et al. (2012)の方法を用いてDNAを抽出後、リアルタイムPCRによりCt値を求めた。

2) 殺線虫剤処理によるイネ収量に対する線虫被害の評価

図1のように水田圃場に2m×2mのプロットを設定し、殺線虫剤(ネマトリネース)を1m²当たり20g(10アール当たり20kgの慣行施用量に相当)を添加し、シャベルで軽く混和した。翌日水稻苗を移植し、通常通り栽培した。殺線虫剤を処理しない対照区も設け、収穫時にプロット内のイネをすべて収穫し、玄米収量を評価した。玄米収量は収穫した玄米を天日で十分に乾燥後に求めた。

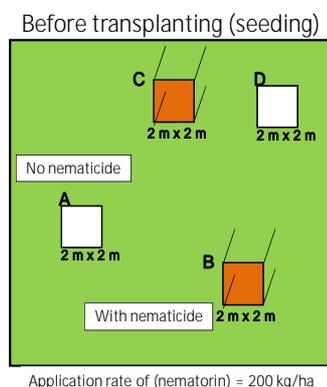


図1 殺線虫剤処理区の設定の様子

3) Nai Pyi Taw 周辺のイネ - マメ(-ゴマ)圃場に生息する植物寄生性線虫

2015年3月に採取した28圃場のイネネモグリセンチュウおよびイネネコブセンチュウ密度を1)で作成した検量線を用いて求めた。また、別途開発したプライマーを用いてシストセンチュウ(*Heterodera cajani*)ならびにジャワネコブセンチュウ(or アレナリアネコブセンチュウ)の存在も調べた。

4) 緑肥栽培による線虫密度低減効果の検証

農薬の代替となる植物寄生性線虫防除法として、輪作に着目した。ミャンマー中央部および北部の水田では、一般的にイネ-マメ科作物の輪作が行われている。Maungら(2010)によれば、イネ-Black gramの輪作を行っている水田では、土壌中の*H. oryzae*密度がイネ連作水田の半分であった。そこでBlack gram(*Vigna mungo*)およびネコブセンチュウ、ネグサレセンチュウ、ダイズシストセンチュウの対抗植物として販売されている緑肥クロタラリア(*Crotalaria spectabilis* 商品名ネマックス)、ミャンマーで生産されているマメの代表としてChickpea(*Cicer arietinum*)の栽培および土壌への混合による*H. oryzae*と*M. graminicola*の密度への影響を検証した。

2種の線虫の汚染土壌をピニールポットに150g充填し、発芽処理した3種の作物を播種、水分含量を最大容水量の60%に維持し人工気象機内(28℃、明:暗=12h:12h)で栽培した。播種から2か月後、各ポットから土壌を一部採取し、引き抜いた3種の作物の根、地上部を細かく刻み土壌に混合した。各処理5反復、何も栽培しないcontrolのポットも同様に留意した。2か月間の栽培終了時に採取した土壌からDNAを抽出しreal-timePCRにより各線虫の密度を測定した。

4. 研究成果

1) 検量線の作成

添加したイネネモグリセンチュウ数およびイネネコブセンチュウ数とCt値の間には有意な相関関係が見られた(図2)。傾きは理論値1.0とは少し外れたが、R²値は0.86を超えたため、この検量線を用いて未知サンプル中のイネネモグリセンチュウならびにイネネコブセンチュウ密度は推定可能と考えられる。イネネモグリセンチュウ*H. oryzae*はCt値=-1.149×log₂(頭数/10g soil)+32.142、イネネコブセンチュウ*M. graminicola*はCt値=-0.8638×log₂(頭数/10g soil)+34.999という式が得られた。イネネコブセンチュウでは標的DNAを含まないサンプルでもCt値が37回程度で得られるため、10g土壌当たり1頭以下の密度は定量できない。

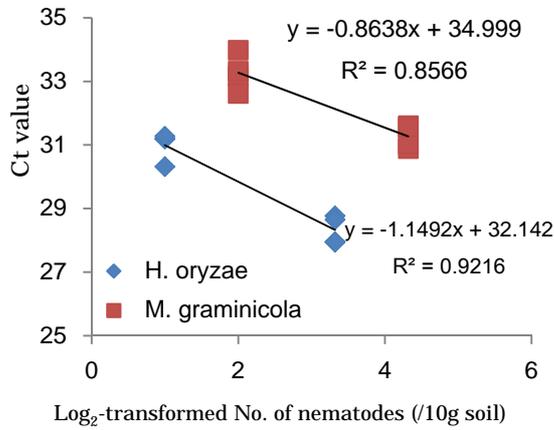


図2 接種したセンチュウ数と Ct 値との関係

2) ミャンマー水田土壌の植物寄生性線虫の生息状況

これまでに分析した 2012 年度サンプル中の密度を求めた(表 1)。数頭レベルの圃場から、最大で 6000 頭を超える圃場も存在した。26 圃場の平均値は 20g 土壌当たり 376 ± 1200 頭と圃場によりかなり大きな偏りが認められた。

2014 年度サンプルにおいても、イネネモグリは 64%に相当する 18 圃場で確認され、最大値は 124 頭/20g 土壌、検出された圃場の平均値は 40.7 ± 45.8 頭/20g となった(表 2)。イネネコブは 61%に相当する 17 圃場で検出され、最大値 2480 頭/20g 土壌、検出された土壌の平均値 408 ± 679 頭/20g となり、いずれの線虫もミャンマー圃場の広範囲に生息していることがわかった。

また、イネネコブでもなく、アレナリアネコブ、ジャワネコブでもないネコブセンチュウが高密度で生息している圃場が 2 圃場見つかった。これらの圃場ではイネには生育障害は見られないと予想されるが、マメあるいはゴマで線虫害が見られる可能性がある。また、別の 2 圃場ではシストセンチュウが見つかり、マメあるいはゴマに収量減をもたらしている可能性が高い。

その他にも、ネグサレセンチュウ (*Pratylenchus* spp.)、ラセンセンチュウ (*Helicotylenchus* spp.) に属する線虫が見つかった。ネグサレセンチュウは最近縁種 *P. delattrei* と 96%の相同性であった。また、ラセンセンチュウも最近縁種 *H. broadbalkiensis* と 97%の相同性であったことから、これらの線虫は新種である可能性がある。

表3 殺線虫剤使用による玄米収量の増収効果 (対照区と 100 とした相対値)

Field ID	2012 2 nd	2013 1 st	2013 2 nd	2014 1 st	2014 2 nd
D	122	115	130	106	132
H	115	239	172	113	120
M	102	100		119	105

表1 ミャンマー水田土壌のセンチュウ密度 (2012 年度サンプル、数字は 20g 土壌当たり)

地点名	イネネモグリ	イネネコブ
NPT1	42	1
NPT2	30	29
NPT3	31	2
NPT4	10	21
NPT5	2	0
NPT6	9	0
NPT7	13	23
NPT8	8	144
NPT9	1	0
NPT10	5	0
NPT11	1	0
NPT12	0	0
NPT13	3	2076
M 1	787	0
M 2	45	1
M 3	214	0
M 4	9	1
Y 1	26	0
Y 2	23	1
Y 3	28	1
Y 4	36	4779
Y 5	63	5
検出割合	21/22 (95%)	14/22 (64%)

計 50 圃場における調査結果では、約 8 割の圃場でネモグリセンチュウが検出され、イネネコブセンチュウは約 6 割の圃場で検出されたことから、両線虫がミャンマー水田における主要な植物寄生性線虫であると考えられる。さらには、イネクキセンチュウ (*Ditylenchus angustus*)、イネシンガレセンチュウ (*Aphelenchoides besseyi*) もイネに寄生していることを明らかにできた。

3) 殺線虫剤処理によるイネ収量に対する線虫被害の評価

2012 年度に実施した 3 つの圃場でそれぞれ 1 回の合計 3 回に加え、2013 年度は 3 つの圃場で計 5 回、2014 年度は 3 つの圃場で計 6 回の試験を実施できた。その結果、M 圃場で実施した 2012、2013 年の試験では、殺線虫剤の影響は見られなかったが(図 3)、その他の試験では概ね、殺線虫剤処理区で収量が高くなった。対照区を 100 とした時の処理区の収量平均値は 128 ± 37 となった。1 回のみ収量比が 2.4 倍と著しく高くなったため(図 4)、この回を除いて平均値を取ると 119 ± 19 となり、殺線虫剤施用により平均して約 2 割増収すると推察される(表 3)。今回の調査結果ではミャンマーの水田の 6 割以上の圃場で線虫が生息していたことから、これらの圃場では線虫による収量減少がもたらされている可能性がある。

表2 ミャンマー水田土壌のセンチュウ密度
(2014年度サンプル、数字は20g 土壌当たり)

地点名	イネネモグリ	イネネコブ
M	16	36
1A	123	1
2B	124	0
3C	23	569
4DAR	1	8
5DAR	3	102
6DAR	0	1513
7DAR	0	0
8DAR	0	0
9D	57	463
10D	116	5
11D	43	0
12E	33	2
13F	73	4
14G	1	249
15G	107	108
16G	15	644
17H	15	237
18I	37	131
19DAR	1	0
20DAR	0	0
21J	2	1
22K	0	0
23L	0	0
24L	0	0
26DAR	0	0
27DAR	0	2483
28Min	0	0
検出割合	18/28 (64%)	14/22 (61%)

殺線虫剤処理によりもっとも収量が増加した際には、土壌中のイネネモグリセンチュウ密度を測定できなかったが、72%増加したときでは、初期密度が223頭/20g土壌とかなり高密度で存在し、殺線虫剤処理により2割程度密度が減少していた(図4)。

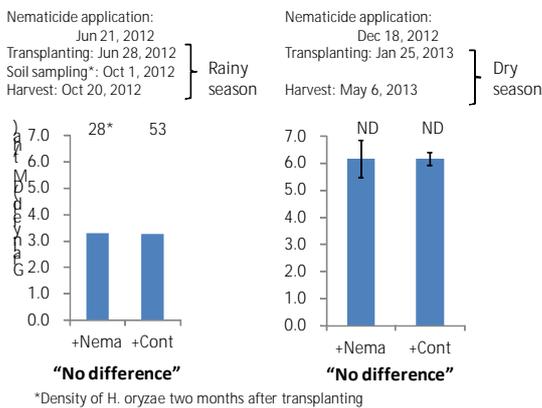


図3 水田圃場 M における殺線虫剤処理がイネの玄米収量に及ぼす影響

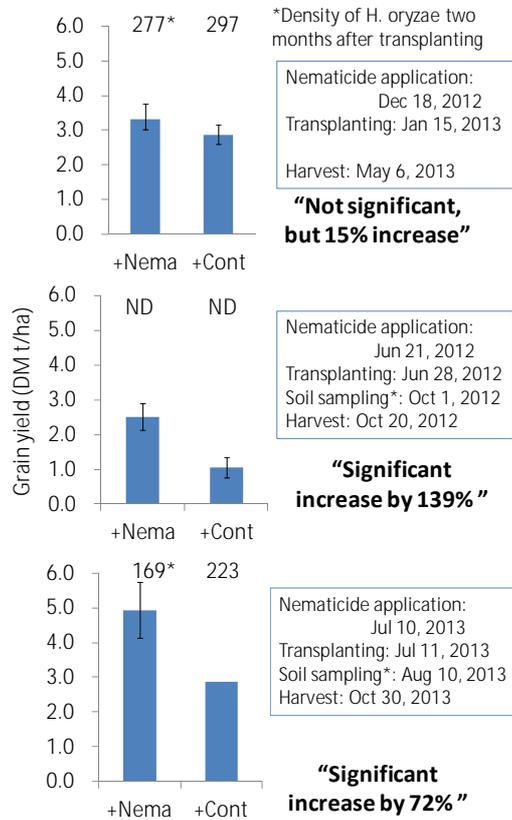


図4 水田圃場 H における殺線虫剤処理がイネの玄米収量に及ぼす影響

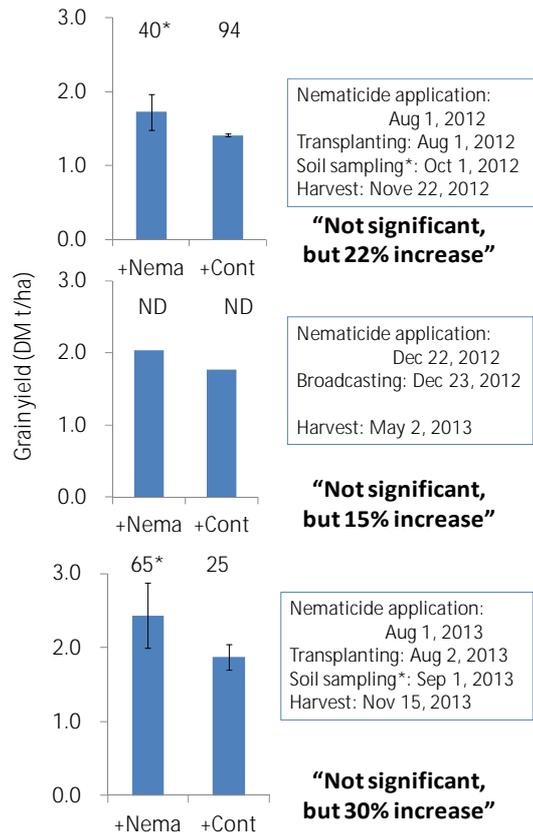


図5 水田圃場 D における殺線虫剤処理がイネの玄米収量に及ぼす影響

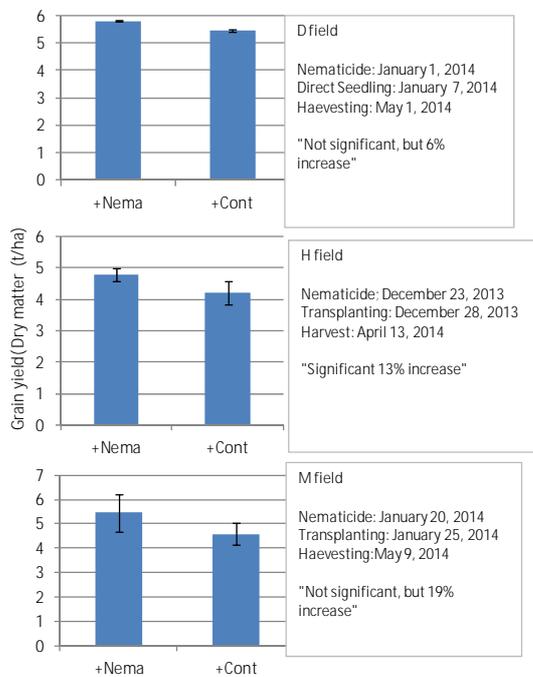


図6 水田圃場 D,H,M における殺線虫剤処理がイネの玄米収量に及ぼす影響-2014 年一作目-

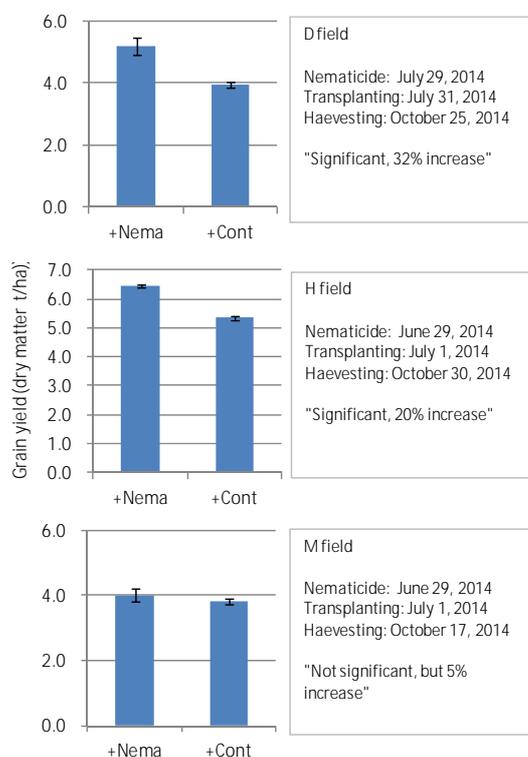


図7 水田圃場 D,H,M における殺線虫剤処理がイネの玄米収量に及ぼす影響-2014 年二作目-

そこで、各種植物寄生性線虫密度とイネの収量増加効果との関係を見た(表3)。イネクキセンチュウはいずれにも生息しておらず、イネネコブセンチュウがもっとも高密度で存在した圃場では、殺線虫剤処理によりまったく収量は増加しなかった。そのため、こ

れら2種の収量への影響は少ないと判断された。

表3 殺線虫剤処理による収量増加効果と各種植物寄生性線虫の生息状況

Field ID, year	Yield increase (%) by nematocide application	Hirschmanniella oryzae	Meloigodyne graminicola	Ditylenchus angustus
H 2013-2	72	++	+	-
D 2013-2	30	+	+	-
H 2012	15	++	-	-
D 2012	22	+	-	-
M 2012	0	+	++	-

ついで、イネネモグリセンチュウ密度との関係を見たが、明瞭な関係は見られなかった(図8)。

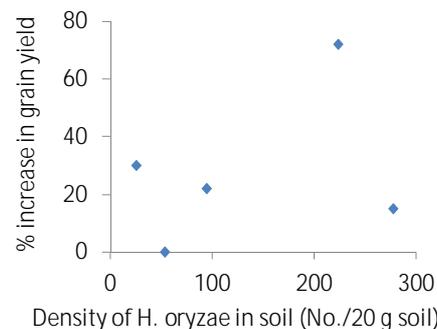


図8 殺線虫剤処理によるイネの収量増加と作付け時のイネネモグリセンチュウ密度との関係

4) 緑肥栽培による密度低減効果

ポット試験2か月栽培後、採取した土壤の線虫密度は、*M. graminicola*、*H. oryzae* 両方において、対照区(緑肥栽培なし)、クロタリア、Black gram、chickpea栽培のいずれの処理区間にも線虫密度の差は見られなかった。この際、*M. graminicola*が対照区でも10倍以上密度が減少しており、実験条件が適切でないと考えられたため、ポットのサイズや水分量などを検討し、再試験する必要がある。

今後の課題として2点挙げることができる。1つは緑肥を用いたミャンマーで実施可能な現実的な線虫対策技術の確立である。本研究では、殺線虫剤の使用によりイネの収量が平均2割改善されることを明らかにしたが、高価な殺線虫剤の使用は費用対効果の面で現実的ではない。イネマメの輪作体系が確立されているミャンマーで、新たに緑肥を導入することは容易ではないが、線虫による深刻な被害が見られる圃場を診断するという技術開発、ならびに、効果の高い緑肥の選抜を進めていく。もう1つは、ミャンマーにおける植物寄生性線虫の同定である。概要で示した線虫種以外に、*Helicotylenchus*、*Pratylenchus*などの線虫が見つかったが、データベース上の再近縁種の登録配列と3%以上異なり、新種の可能性が高い線虫個体も複数確認できた。イネやマメの根で選択的に増殖し、収量に対する被害が大きい線虫群から

同定していく必要がある。

表3 本研究で開発したミャンマー産主要植物寄生性線虫に対する特異プライマー

<i>Meloidogyne graminicola</i> イネネコブセンチュウ F: 5' -ATTTAATCGCAGTGGCTTGAAC-3' R: 5' -AGCAACACCTAGACACCCAGTGAG-3'
<i>Hirschmanniella oryzae</i> イネネモグリセンチュウ F: 5' - GCTGTGATGAGGCAGCATGTTA-3' R: 5' - AAATGTTGGCGCCTTGAG-3'
<i>Heterodera cajani</i> ピジョンピーシストセンチュウ F: 5' - ACATTGCGCCATTGGAGTTACA-3' R: 5' - CACACAGCCGGGCTTACTCA-3'

5. 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計2件)

1. Koki Toyota and Yu Yu Min: Development of real-time PCR primers for major plant parasitic nematodes in rice fields in Myanmar. 第6回国際線虫学会、ケープタウン(南アフリカ)、2014年5月4日~9日
2. 豊田剛己・Yu Yu Min: Major plant parasitic nematodes in rice fields in Myanmar and possible damage to yield. 日本線虫学会、唐津市民交流プラザ(佐賀県唐津市)、2013年9月5日~6日

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕
出願状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

豊田 剛己 (Toyota, Koki)
東京農工大学・大学院農学研究院・教授
研究者番号: 30262893