

平成 26 年 6 月 6 日現在

機関番号：32658

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23405017

研究課題名(和文) アフリカにおける稲栽培の安定化に関する研究

研究課題名(英文) Studies on stabilization of rice cultivation in Africa

研究代表者

池田 良一 (Ikeda, Ryoichi)

東京農業大学・農学部・教授

研究者番号：50564465

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,700,000円、(間接経費) 4,410,000円

研究成果の概要(和文)：RYMV抵抗性中の両親から高度抵抗性系統を育成し、遺伝解析を開始した。既知抵抗性遺伝資源から水稻品種への抵抗性の導入を継続している。数種雑草がRYMV伝染源となりうること、土壌伝搬も確認した。ウガンダ各地から採取したRYMVの塩基配列から血清型を推定した。RYMV外被タンパクのアミノ酸配列情報から、ペプチド抗体作成に必要な情報を集め、RYMV抗体の作成を可能にした。ケニアの*S. helmontica*の葉緑体DNA変異から、本種の他殖性を推定した。抵抗性の日本晴と*O. rufipogon*の雑種後代を用いて葉緑体DNAによるQTL解析を行い、第9染色体上RM242近傍に抵抗性QTLを見出した。

研究成果の概要(英文)：Highly RYMV resistant lines were bred from the cross of the lower resistant parents, and started the genetic analysis. The introduction of resistance to rice varieties from the known resistance genetic resources is being continued. By artificial inoculation, a few weeds in Uganda were found to be possible hosts of RYMV. Soil transmission via soil with debris of RYMV infected rice roots was also confirmed experimentally. By sequencing of RYMV DNAs of several isolates from Uganda, their serotypes and location of epitopes were estimated. A study conducted microsatellite markers or SSRs, showed high variations within the population and were genetically different and outcrossing in western Kenya. We infected 159 BC2F10 recombinant inbred lines derived from a cross between *Oryza sativa* Nipponbare (*Striga hermonthica* resistance), and an accession *Oryza rufipogon* W630 with *S. hermonthica* from Alupe, Kenya. The QTL for *S. hermonthica* resistance was detected on chromosome 9 (RM242).

研究分野：農学A

科研費の分科・細目：育種学、病理学、生態学

キーワード：RYMV 抵抗性育種 系統解析 伝播様式 *Striga*類 根寄生雑草

1. 研究開始当初の背景

Rice yellow mottle virus (RYMV)は、1966年にケニアで発見後、東～西アフリカにかけて広く発生が確認された。主な病徴として、イネの葉身に黄変や斑点を生じ、分けつが抑制され稲株が委縮する。生育初期に罹病した株は出穂しないか、出穂しても不稔となる。陸稲より水稲栽培で、また直播より移植栽培で多く発生する。稲を食害するハムシ類がウイルスを媒介すると見られているが、圃場での媒介昆虫の密度は低く、その伝搬の寄与率は低い。一方、機械的な伝搬(汁液感染)が可能であり、実際に罹病葉に少量の水を加えて磨り潰した液を健全株に擦りつけるだけで伝染する。坪井(2000)は、日本型およびジャワ型の数品種に RYMV 抵抗性を見出した。陸稲 NERICA は数品種が抵抗性を示すが、水稲 NERICA はいずれも感受性であるため、抵抗性の付与が強く望まれている。

英名で witch weed「魔女の雑草」と呼ばれる *Striga* は、サブサハラアフリカ(SSA)の穀物栽培における最重要害草である。痩せた農耕地におけるソルガム、トウジンビエ、シコクビエ、トウモロコシ、陸稲やササゲなどの根に寄生し、養水分を吸い、穀類を枯らしてしまう恐ろしい寄生植物の一群である。一度、この雑草に畑が汚染されてしまうと穀物の収量が70～80%も減少するといわれている。*Striga* の生活環は、穀物のそれに同調し、穀物の根が近くに伸びてくると発芽し、吸器を着けて養分を吸い続け、穀物が収穫期を迎える前に開花結実する。複数の種が入り混じってアフリカ全体に分布していること、穀物だけでなく、ササゲなどマメ科作物、一年生や多年生のイネ科雑草など宿主範囲が広いといわれる。

2. 研究の目的

アフリカにおける稲栽培には、多くの生産不安定要因がつきまとうが、本研究では、



RTMV および根寄生雑草 *Striga* を対象にして、ウガンダを中心とする主に東アフリカにおいて各々の発生と被害の機構を明らかにするとともに、抵抗性の遺伝様式を解明し、イネの RYMV および *Striga* に対する抵抗性稲品種育成に資することを目的とする。また、RYMV については、その発生生態の解明とともに、採集地域の異なる罹病株からのウイルスを DNA レベルで比較して、遺伝的多型性からウイルスの分化を明らかにする。

RTMV および根寄生雑草 *Striga* を対象にして、ウガンダを中心とする主に東アフリカにおいて各々の発生と被害の機構を明らかにするとともに、抵抗性の遺伝様式を解明し、イネの RYMV および *Striga* に対する抵抗性稲品種育成に資することを目的とする。また、RYMV については、その発生生態の解明とともに、採集地域の異なる罹病株からのウイルスを DNA レベルで比較して、遺伝的多型性からウイルスの分化を明らかにする。

3. 研究の方法

RYMV および *Striga* は、いずれもアフリカに特有の病害および雑草であることから、植物防疫上、圃場試験を日本で行うことができない。そのため、RYMV の抵抗性検定ならびに *Striga* の発生生態の調査および抵抗性の判定は、ウガンダを中心に、アフリカで行う。一方、RYMV の検出や抵抗性の遺伝解析に用いるイネの交配操作は、東京農大でも実施する。このように、ウガンダを中心として、アフリカと日本(東京農大と神戸大)が分担・協力しつつ、ウイルスと寄生雑草に対するイネの抵抗性反応を今後3年間観察しつつ、解析する。特に、海外調査では東アフリカでは研究例の少ない RYMV の地域によって異なる系統の分化や、*Striga* の種間あるいは種内のレースと抵抗性との相互関係に着目して研究を進めるため、必要に応じてそれらの発生地であるタンザニア、マラウイ、ケニア、マダガスカルでの調査と小規模な実証試験を行う。

4. 研究成果

(1) RYMV 抵抗性系統の育種

劣性抵抗性遺伝子 *rymv1-2* を持つ Gigante および抵抗性中程度の Moroberekan を RYMV 抵抗性の遺伝資源として、系統育種法、集団育種法あるいは戻し交雑育種法を用いて、毎世代の抵抗性検定と選抜を繰り返し、抵抗性系統の育成を継続している。

陸稲 NERICA 品種を用いた交配組合せの内、両親がいずれも中～やや弱程度の抵抗性を示す NERICA4 と WITA9 の交配組合せ F₂ 集団(約 250 個体)から、抵抗性を示す 9 個体を得た。しかし、この F₂ 集団における抵抗性個体の出現頻度が極めて低く、RYMV 接種漏れによる罹病回避の疑いもあったので、後代検定によってそれらの抵抗性を確認するため、これら F₂ の 9 個体に由来する F₃ 系統の抵抗性検定を始め、F₄ 系統群系統、F₅ 系統群系統と、毎世代の抵抗性検定と選抜を繰り返し、ほぼ抵抗性が固定したと思われる F₆ 系統を選んだ。

表1. 接種4週間後の達観観察による系統の抵抗性

	達観による抵抗性判定基準									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
NERICA4				3	30	1				
WITA9				4	26	5				
F ₆ 9	7	7								
F ₆ 10	15	13	8	1						
F ₆ 14	14	31	8							
Gigante	35	3	3							
IR64							12	29		

表1に、各 F₆ 系統における RYMV 抵抗性の程度を、病徴の達観観察による頻度分布で示した。F₆ 9、F₆ 10 および F₆ 14 は、高度抵抗性の固定系統と思われる。これら 3 系統は、いずれも前世代 F₅ 25 に由来する姉妹系統であり、ELISA による吸光度も抵抗性品種 Gigante とほぼ同じように低かった。

これら F₆ 系統における抵抗性の遺伝解析を開始するため、感受性品種 IR64 に交配した。これらは、両親より明らかに高い抵抗性を示し、しかも F₂ 集団において極めて低率で出現したため、その RYMV 抵抗性は、少なくとも 2 対の劣性補足遺伝子によるものではないかと思われるが、その詳細については、今後の遺伝解析を待ちたい。

RYMV 抵抗性の簡易的検定法として、葉鞘に鉢で接種する方法を試したところ、接種時期と抵抗性判定までの期間を考慮すれば、従前の擦り付け法とほぼ同じ結果が得られることが分かった。さらに詳細な検討を行い、この葉鞘接種法を簡易検定法として確立させたい。

(2) RYMV の病理学的研究

RYMV について、ウガンダで複数回の発生調査を行い、採集した全ての水稻栽培地域から、DAS-ELISA 法および RT-PCR 法によって RYMV が検出された。

14 分離株について塩基配列を調べ、系統解析を行った結果、CP 領域においてマダガスカル分離株とアミノ酸配列で 97-100% と最も高い相同性を示した。また、2006 年に報告されているウガンダ分離株 (Pinel and Fargette, 2006) ともアミノ酸配列で 90% 以上の高い相同性を示し、保存性の高いウイルスであることが示された。

また、Fargette ら(2002)の報告に従い、CP 領域のアミノ酸配列から血清型を検討したところ、採集したウガンダ分離株は Serotype 4 (Ser 4) に分類された。

ハサミによる切り付け試験、数種昆虫の感染株摂食試験、および、感染株のひこばえや根に由来する汚染土壌・水の混和試験のいずれによっても、RYMV が健全イ

ネに伝搬されたことから、圃場における農機具を介した伝搬やイネ摂食性昆虫による媒介、さらには、水田内に放置された感染株が感染源となる可能性を実験的に示した。

FTA カードを用いたサンプリング方法がRYMV でも有用であることを示し、また、ペプチド抗体をデザインして抗体の安定供給を可能にした。

(3) Striga 2 種の防除学研究

ケニア東部での圃場試験では、*S. hermonthica* の寄生に対する抵抗性程度に差があることが分かった。また、*S. hermonthica* を、採種場所と寄主別に分け、核ゲノム由来のマイクロサテライトマーカーを用いて分析し、遺伝的変異の大きい種であることを確認した。

Striga 抵抗性の栽培品種「日本晴」と感受性でイネ近縁野生種の 1 系統 *O. rufipogon* W630 の雑種後代を用いて、*S. hermonthica* の抵抗性に関する QTL 解析を行った結果、第 9 染色体上の分子マーカー RM242 近傍に、*S. hermonthica* の抵抗性に関する QTL が推定された。この QTL は、分離集団における形質分散の 6.6% を説明できた。

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 7 件)

池田良一、アフリカ稲作の現況、農業、査読無、1538 号、2014 年、45 - 50、:DOI 無し

Atera E.A., Ishii T., Onyango J.C., Itoh K. & Azuma T., Striga infestation in Kenya: status, distribution and management options., Sustainable Agriculture Research、査読有、2 巻、2013 年、99 - 108

DOI:10.5539/sar.v2n2p99

Atera E. A., Ishii T., Onyango G. C., Itoh K. & Azuma T., Striga Infestation in Kenya: Status, Distribution and Management options, Sustainable

Agriculture Reserch、査読有、2 巻、2013 年、99 - 108

DOI:10.5539/sar.v3n2p99

Evans Atuti Atera, Kazuyuki Itoh, Tetsushi Azuma, and Takashige Ishii, Farmers' perception and constraints to the adoption of weed control options: the case of *Striga asiatica* in Malawi, Journal of Agricultural Science、査読有、4 巻 5 号、2012、41~50

DOI: 10.5539/jas-v4n5p41

Evans Atuti Atera, Kazuyuki Itoh, Tetsushi Azuma, and Takashige Ishii, Farmers' perceptions on the biotic constraints of *Striga hermonthica* and its control in western Kenya, Weed Biolog and Management、査読有、12 巻、2012、53~62

DOI:10.1111/j-1445-6664.2012.00435.x

Atera E. A., Kondo F. and Itoh K., Evaluation of intercropping and permaculture farming system for control of *Striga asiatica* in maize, Malawi, Tropical Agriculture and Development Journal、査読有、57 巻、2012、114 119、DOI 無し

Evans Atuti Atera, Kazuyuki Itoh, and John C. Onyango, Evaluation of ecologies and severity of *Striga* weed on rice in sub-Saharan Africa, Agriculture and Biology Journal of North America、査読有、2 巻 5 号、2011、752~760

DOI:

10.5251/abjna.2011.2.5.752.760

[学会発表](計 11 件)

鵜家綾香、夏秋啓子、抗ペプチド抗体を用いた Rice yellow mottle virus の検出、日本植物病理学会、2014 年 6 月 4 日、札幌コンベンションセンター

滝沢真紀、池田良一、夏秋啓子、志和地弘信、入江憲治、鵜家綾香、小島伸幾、後藤明生、Rice yellow mottle virus の簡易検定法について、日本熱帯農業学会、2014 年 3 月 28 日、東京大学

池田良一、小島伸幾、M. Nsengiyunva、滝沢真紀、宮城琴音、夏秋啓子、鵜家綾香、後藤明生、松本俊輔、坪井達史、Rice yellow mottle virus 抵抗性イネ系統の育成、日本熱帯農業学会、2014 年 3 月 28 日、東京大学

鵜家綾香・Ochola Dennis・吉田沙樹・坪井達史・夏秋啓子、ウガンダ共和国における Rice yellow mottle virus の発生と検出。平成 2013 年 3 月 30 日 日本植物病理学会大会(東京)

藤家梓・Michel H. Otim・時田邦浩・坪

井達史・後藤明生・松本俊輔・大井田寛・鵜家綾香・夏秋啓子. 東アフリカ、ウガンダにおけるイネ害虫の発生状況. 2013年 3月30日、熱帯農業学会、茨城大学
鵜家綾香・Tibanyendela Naswiru Twahiri・Godfrey Asea・大泉暢章・夏秋啓子. 東アフリカに発生するRice yellow mottle virusの分子系統解析と伝搬. 2013年 3月29日日本植物病理学大会、岐阜大学
Tibanyendela, N.T., Kurosawa, C., Oizumi, H., Sekiya, N., and Natsuaki, K.T., Emergence of rice yellow mottle virus in Tanzania, 2012 TUA-FFTC International Seminar on Emerging Infectious Diseases of Food Crops in Asia, 2012年10月20日、東京農業大学
N. Tibanyendela, C. Kurosawa, N. Oizumi, N. Sekiya, and K.T. Natsuaki, Occurrence and characterization of Rice yellow mottle virus in Tanzania, 平成24年度日本植物病理学大会、2012年3月28日、福岡市
鵜家綾香、松本俊輔、Pyton Serumaga Julius、夏秋啓子、ウガンダ共和国に発生するRice yellow mottle virusの分子系統解析、平成24年度日本植物病理学大会、2012年3月28日、福岡市
伊藤一幸・エバンスアテラ・近藤史・モーゼスムンタリ・シペリアンマワレ、マラウイのマメ科作物に寄生する雑草*Alectra vogellii*について、日本熱帯農業学会第110回講演会、2011年9月17日、信州大学農学部
小野口拓真、池田良一、夏秋啓子、吉田沙樹、Dennis Ochola、松本俊輔、坪井達史、陸稲 NERICA における RYMV 抵抗性の解析、日本熱帯農業学会第 109 回講演会、2011 年 9 月 17 日、信州大学農学部

〔その他〕

ホームページ等

院生（博士後期1年）1名が、本件に関わるRice yellow mottle virusの実験補助のため、国際協力事業団青年海外協力隊隊員（短期派遣）のためウガンダ派遣（平成26年3月17日より同年5月9日まで）

東京農業大学のHPにおいてウガンダでの調査に参加した大学院生の紹介「アフリカ地域特有のイネのウイルス病(RYMV)を調査研究」
<http://www.nodai.ac.jp/checkweb/int/interview9.html>

オーストラリア。クィーンズランド大学において visiting student としてセミナー発表
“Characterization and field transmission of Rice yellow mottle virus in Uganda”

(Ayaka Uke)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

池田 良一 (IKEDA, Ryoichi)
東京農業大学・農学部・教授
研究者番号：50564465

(2) 研究分担者

夏秋 啓子 (NATSUAKI, T. Keiko)
東京農業大学・国際食料情報学部・教授
研究者番号：80164482

(3) 連携研究者

伊藤 一幸 (ITO, Kazuyuki)
神戸大学・大学院・農学研究科・教授
研究者番号：80355271