

国際科学技術共同研究推進事業  
地球規模課題対応国際科学技術協力プログラム（SATREPS）

研究領域「生物資源分野」

研究課題名「バナナ萎凋病の診断・警戒システムと発病制御戦略の構築  
と実装」

採択年度：令和4年（2022年）度/研究期間：5年/

相手国名：ペルー共和国

## 令和5（2023）年度実施報告書

国際共同研究期間<sup>\*1</sup>

2023年 6月 1日から2028年 5月 31日まで

JST側研究期間<sup>\*2</sup>

2022年 4月 1日から2028年 3月 31日まで

（正式契約移行日 2023年 4月 1日）

\*1 R/Dに基づいた協力期間（JICAナレッジサイト等参照）

\*2 開始日=暫定契約開始日、終了日=JSTとの正式契約に定めた年度末

研究代表者：有江 力

東京農工大学大学院農学研究院・教授

# I. 国際共同研究の内容 (公開)

## 1. 当初の研究計画に対する進捗状況

### (1) 研究の主なスケジュール

| 研究題目・活動   | 2022 年<br>度<br>(10 月) | 2023 年<br>度         | 2024 年<br>度 | 2025 年<br>度        | 2026 年<br>度  | 2027 年<br>度<br>(12 月) |
|---|-----------------------|---------------------|-------------|--------------------|--------------|-----------------------|
| <b>1. 圃場レベルおよび分子レベルのバナナ萎凋病診断・警戒システムの確立と実用化【成果 1】</b><br>1-1 対象地域に適した圃場レベルの診断技術の確立【活動 1-1】<br>1-2 分子診断クリニック (仮称) の設置【活動 1-2】<br>1-3 分子レベルの特異識別 (検出) 技術の構築【活動 1-3】<br>1-4 診断・警戒システムのマニュアル化【活動 1-4】  |                       |                     |             |                    |              |                       |
|   |                       | 画像解析によるマクロ診断技術の確立↓  |             |                    |              |                       |
|   |                       |                     |             | ラボの整備完了↓           |              |                       |
|   | ゲノム情報の収集↓             |                     |             | PCR 等による精密診断技術の確立↓ |              |                       |
|   |                       |                     |             | 診断・警戒システムのマニュアル化↓  |              |                       |
| <b>2. 萎凋病耐病性バナナアクセッションの選抜、および、突然変異誘発による萎凋病抵抗性バナナ系統の選抜【成果 2】</b><br>2-1 萎凋病耐性バナナアクセッションの選抜【活動 2-1】<br>2-2 突然変異誘導に使用するアクセッションの選抜【活動 2-2】<br>2-3 突然変異誘発条件の設定【活動 2-3】<br>2-4 変異誘発処理【活動 2-4】<br>2-5 萎凋病抵抗性変異株の選抜【活動 2-5】<br>2-6 遺伝的安定性の確認【活動 2-6】<br>2-7 選抜系統の農学的形質の確認【活動 2-7】<br>2-8 萎凋病耐病性／抵抗性系統の圃場実証【活動 2-8】<br>2-9 耐病性／抵抗性系統のカタログ化【活動 2-9】 |                       |                     |             |                    |              |                       |
|   |                       | 52 のアクセッションから選抜↓    |             |                    |              |                       |
|   |                       | 突然変異誘導に使用するアクセッション↓ |             |                    |              |                       |
|   |                       |                     | 変異誘発条件の確定↓  |                    |              |                       |
|   |                       |                     |             | 変異誘発処理↓            |              |                       |
|   |                       |                     |             |                    | 抵抗性系統選抜↓     |                       |
|   |                       |                     |             | 抵抗性系統の遺伝的安定性の確認↓   |              |                       |
|   |                       |                     |             | 抵抗性系統の農学的形質の確認↓    |              |                       |
|   |                       |                     |             |                    | 圃場実証結果↓      |                       |
|   |                       |                     |             |                    | 抵抗性系統のカタログ化↓ |                       |

|   |  |  |  |  |  |  |
|---|--|--|--|--|--|--|
| <p><b>3. 病原フリー苗生産および頒布システムの構築【成果3】</b></p> <p>3-1 病原フリー親植物の維持【活動3-1】</p> <p>3-2 メリクローン病原フリー苗植物の増殖【活動3-2】</p> <p>3-3 病原フリー苗生産拠点の整備【活動3-3】</p> <p>3-4 病原フリー苗の農家への頒布【活動3-4】</p> <p>3-5 専門家のトレーニング【活動3-5】</p> <p>3-6 専門家による農家指導【活動3-6】</p>                                      |  |  |  |  |  |  |
| <p><b>4. 病害発病抑止土壌を構成する有効な微生物エコシステムの解明【成果4】</b></p> <p>4-1 発病抑止土壌の探索と移植性の確認【活動4-1】</p> <p>4-2 発病抑止土壌の物理性／化学性／生物性調査【活動4-2】</p> <p>4-3 発病抑止土壌微生物エコシステムの解析【活動4-3】</p> <p>4-4 発病抑止性に関わる微生物の分離【活動4-4】</p> <p>4-5 微生物エコシステムへの改良資材の影響【活動4-5】</p>                                    |  |  |  |  |  |  |
| <p><b>5. 微生物あるいは微生物エコシステム等を活用した環境への影響が少ない生物農薬あるいはバイオスティミュラント等の開発と導入【成果5】</b></p> <p>5-1 非病原性フザリウム菌やその他の微生物を成分とする生物農薬あるいはバイオスティミュラント等の開発【活動5-1】</p> <p>5-2 非病原性フザリウム菌や他の微生物を成分とする生物農薬あるいはバイオスティミュラント等の実装【活動5-2】</p> <p>5-3 微生物エコシステムを成分とする生物農薬あるいはバイオスティミュラント等の開発【活動5-3】</p> |  |  |  |  |  |  |

|   |  |  |  |                       |  |  |
|---|--|--|--|-----------------------|--|--|
| <p>5-3】<br/> 5-4 微生物エコシステムを成分とする生物農薬、バイオスティミュラント等の実装【活動 5-4】<br/> 5-5 低環境負荷型防除技術（プラントアクチベーター等）の検討、圃場での使用技術の確立【活動 5-5】<br/> 5-6 低環境負荷型防除技術（プラントアクチベーター等）の実装【活動 5-6】<br/> 5-7 開発した防除資材等を統合したバナナ萎凋病低環境負荷防除法の提案【活動 5-7】<br/> 5-8 バナナ萎凋病防除担当者のトレーニング【活動 5-8】</p> |  |  |  |                       |  |  |
|   |  |  |  | 微生物エコシステムを成分とする生物農薬等↓ |  |  |
|   |  |  |  | 低環境負荷型防除技術の圃場での使用技術↓  |  |  |
|   |  |  |  | プラントアクチベーター等↓         |  |  |
|   |  |  |  | 低環境負荷防除技術の提案↓         |  |  |
|   |  |  |  | トレーニングされた防除担当者↓       |  |  |

(2) プロジェクト開始時の構想からの変更点(該当する場合)

1-4 診断・警戒システムのマニュアル化【活動 1-4】について、1-3 分子レベルの特異識別（検出）技術の構築【活動 1-3】が予想以上に進捗していること、全体マニュアルのサンプルとなることを踏まえ、計画と目標を前倒しし、当初 2025 年度から開始する予定であったマニュアルの作成を 2023 年度から開始、2026 年度前期で完了することとし、すでに一部日本語版とスペイン語版をホームページで公開済みである。

その他、変更点など特になし。

2. 計画の実施状況と目標の達成状況 (公開)

(1) プロジェクト全体

ペルー中央セルバ地域のバナナ (banana および plantain) 生産における萎凋病診断・警戒システム、抵抗性系統開発、健全苗生産技術、および微生物叢を活用した新規生物農薬技術等を「萎凋病総合制御パッケージ」として確立・実装、さらにそのパッケージが中央セルバのバナナ栽培地域において普及技術として採用され、農家に活用される計画である。

2022 年度には、共同研究の本格実施に向け、全体計画の策定、CRA 等の作成等準備を実施した。2023 年 8 月には、現地 (ティンゴマリアおよびリマ) においてキックオフシンポジウムを実施、共同研究を開始した。2023 年 8 月には日本側研究者 7 名および大学院生 5 名が、2023 年 12 月には日本側研究者 4 名および大学院生 3 名が、2024 年 3 月には日本側研究者 1 名がペルーを訪問、2023 年 8 月と 12 月には作成したマニュアル (日本語版、スペイン語版) に基づき研究題目 1 に関する実験デモンストレーションによるトレーニングを、また、12 月には同様に研究題目 4、5 に関するトレーニングを実施した。また、2024 年 1 月には短期招聘者 3 名が来日、研究題目 2、3、4、5 に関する研修を行っている。概ね 2 週間に一度、zoom による研究推進会議を開催し、プロジェクトの

進行状況の確認や課題把握に努めている。また、本プロジェクトの HP (<http://web.tuat.ac.jp/~satrepsbanana/>) を立ち上げ、マニュアルや活動状況などの情報を公開している。

当初研究計画では初年度のマイルストーンは設定されていないが、研究自体は順調に進捗している。特に研究題目・活動 1-3-1 では、バナナ萎凋病菌 (*Foc*) とそのレースを特異的に診断するための LAMP プライマーを設計、マニュアルを整備、圃場由来の試料を用いて実証実験を行っている。*Foc* とそのレースの特異診断用 LAMP プライマーセットは、近日中に日本で製品化される予定で、当初計画以上の進展状況である。

渡航、招聘およびそれらに伴う人的交流も順調に推移している。特に、学生等の若手を多く派遣、現地でのデモンストレーション実験を担当し、現地の若手との交流をも促進でき、人材育成やグローバル化にも貢献できているものと考えている。

共同研究運営体制については問題ないと考えている。2 週間ごとに開催している web での研究推進会議を活用、課題を解決していくなど有効に機能している。

本プロジェクトの目標は、有用な技術として「バナナ・プランテーションの萎凋病総合防除パッケージ」を提案することである。私たちは現在、この目標に向かって順調に進んでいると考える。

## (2) 各研究題目

### (2-1) 研究題目 1 : 「圃場レベルおよび分子レベルのバナナ萎凋病診断・警戒システムの確立と実用化」

研究グループ A (リーダー: 柏 毅)

研究グループ B (リーダー: Liliana Maria Aragon Caballero)

#### ① 研究題目 1 の当初計画 (全体計画) に対する実施状況 (カウンターパートへの技術移転状況含む)

- ドローンの使用方法、セルバ地域のバナナ圃場の大きさ等に関する議論を重ね、機種の選定を完了した (成果 1-1-1)。
- 2023 年 8 月に 5 圃場、2023 年 12 月に 1 圃場で、圃場データを収集するとともに、罹病植物組織と根圏土壌を採取した。罹病植物組織から、選択培地などを用いて病原菌を分離、分離株は品種「島バナナ」と「キャベンディッシュ」への接種試験と、分子系統解析に基づいて *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (*Foc*) レース SR4 であると診断した (Fig. 1-1-2-1 および 2) (1-1-2)。

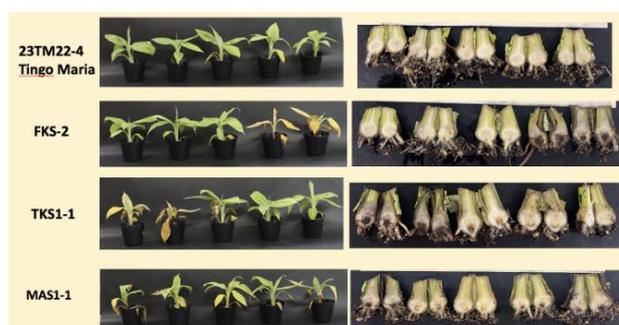


Fig. 1-1-2-1. Inoculation test of banana cv. Cavendish with a *Tingo Maria* isolate (23TM22-4). FKS-2, TKS1-1 and MAS1-1 are race TR4 isolates as controls. 23TM22-4 presented slight symptoms with browning of the center of the corms.

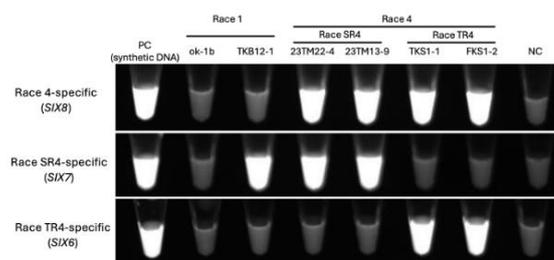


Fig. 1-1-2-2. LAMP reaction for *Tingo Maria* isolate (23TM22-4) with the race 4-, race SR4- and race TR4-specific primer sets. 23TM22-4 and 23TM13-9, both are *Tingo Maria* isolates, presented positive reactions with Race 4- and Race SR4- specific primer sets and are determined to be race SR4.

- ・ UNALM の植物病院における病害分子診断技術を強化するため、分析用機器の選定・確認を完了、発注・設置を開始した (1-2-1)。
- ・ UNAS に新設する植物クリニック (仮称) の建物および部屋が決定、施設の整備計画を確認した。2024 年度前期に整備が完了する予定である。また、UNAS に導入する分析用機器の選定・確認を概ね完了、発注・設置を開始した (1-2-2)。
- ・ *Foc* とその品種特異性 (レース 1、レース 4、レース SR4) を診断するための特異 LAMP プライマーセットの設計が完了した (図 1-1-2-2 で使用したもの)。2024 年度前期にレース TR4 を診断するための特異 LAMP プライマーセットの設計を完了する予定である (1-3-1)。
- ・ 選択培地を用いて罹病植物組織から病原体を分離する方法と、そこから DNA を抽出する方法を実験プロトコールの提示などによって、UNALM、UNAS の研究者、テクニシャン、学生などに提示した。現在マニュアルを作成中である (1-3-2)。
- ・ 2023 年 8 月、12 月、2024 年 3 月に UNALM、UNAS、INIA の研究者、テクニシャン、学生などを対象とした LAMP 法および病原菌分離法、DNA 抽出法等の実験デモンストレーションによるトレーニングを実施した (1-3-3)。
- ・ バナナ圃場におけるサンプリング、サンプルからの DNA 抽出、LAMP に関するマニュアル (日本語、スペイン語) を作成し、HP で公開した (1-4)。

## ② 研究題目 1 の当該年度の目標の達成状況と成果

現地銀行口座の設置遅延等によって、機材の導入に遅れが生じたが、ドローンは 2024 年 5 月に導入を完了したほか、他の実験機材も順次導入しており、2024 年度中に概ね納入が完了、達成する見込みである。機材の導入にあたっては、機能等を精査し最新機種を導入できるように選定しているため、策定調査時点と変更が生じたものもあるが、プラスの方向の変更である。

日本側で取得した病原菌ゲノム情報等に基づき、PCR/LAMP による精密診断技術 (分子レベルの特異識別技術) の開発を進めており、2026 年度までに技術確立、マニュアル化、マニュアルの公開、技術移転、特異プライマーセットの製品化を完了する予定である。すでにプライマーセットの設計やマニュアルの作成は進んでおり、予定よりも早く、2024 年度前期に、LAMP 用キットの製品化が完了する見込みである。

## ③ 研究題目 1 の当初計画では想定されていなかった新たな展開

病原菌ゲノム情報等に基づき日本側で開発を進めた LAMP による精密診断技術 (分子レベルの特異識別技術) 用のプライマーセット (バナナ萎凋病菌用、レース 1、レース SR4、レース TR4 用各セット) の製品化がまもなく完了し、2024 年度に株式会社ニッポンジーンから販売される予定である。

## ④ 研究題目 1 の研究のねらい (参考)

マクロ (画像解析) からミクロ (分子生物学的手法) までを統合的に診断に活用することで、的確に萎凋病の発生を認知し、対策につなげる。また、この診断をペルーで実施可能な体制とマニュアルを作成する。

## ⑤ 研究題目 1 の研究実施方法 (参考)

ドローン画像を用いた画像解析および PCR/LAMP による萎凋病およびそのレースの診断の技術を構築、普及するとともに、マニュアルを作成、UNALM および UNAS に設置するラボ (仮称) で診断サービスを行う環境および体制を整える。

(2-2)研究題目 2：「萎凋病耐病性バナナアクセションの選抜、および、突然変異誘発による萎凋病抵抗性バナナ系統の選抜」

研究グループ C (リーダー：佐々木信光)

研究グループ D (リーダー：Dina Lida Gutierrez Reynoso)

① 研究題目 1 の当初計画 (全体計画) に対する実施状況 (カウンターパートへの技術移転状況含む)

- ・ バナナ/プランテーションの 52 の INIA アクセションが培養され、そのうち 49 アクセションが生存可能であった。モキチヨは Foc に対して比較的耐性であることがわかった。そのうちの 3 つアクセション (Isla, Bellaco Harton, Bellaco Plantano) をさらなる分析および変異源処理のために選抜した (2-1; 2-2)。
- ・ SENASA 及び INIA (2-3-1, 2-4-1) において、1 品種 (Isla) を用いてガンマ線による変異誘発の条件検討を開始した。
- ・ 2023 年 9 月 22 日と 12 月 18 日、理化学研究所 (仁科センター) において、組織培養培地で生育したバナナの苗木 (品種：キャベンディッシュおよびシマバナナ) を用いて、重粒子線の予備照射実験を 2 回実施した。突然変異誘発に最適な線量を決定するために、バナナの苗に異なる線量を照射して生存率を調べた (2-3-2)。
- ・ 予備照射実験の結果を踏まえて、2024 年 3 月 27 日に理化学研究所において、ペルーから輸入された 3 アクセション (Isla, Bellaco Harton, Bellaco Plantano) の組織培養苗に 20、30、40Gy の線量を照射した。これらの照射苗では変異がキメラ状態であることが想定されたため、茎頂を分割して組織培養を行い、第 3 世代の子孫まで作出することにした。第 3 世代の子孫を用いてフザリウムの接種試験を行う計画である (Fig. 1-2-4) (2-4-2)。

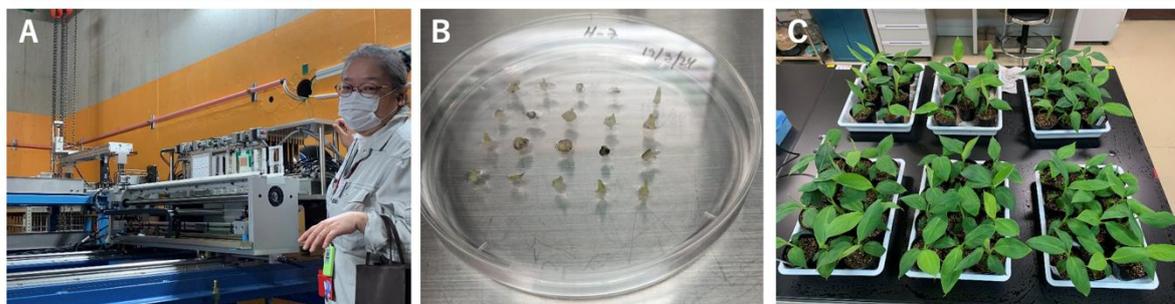


Fig. 1-2-4 A, RIKEN's heavy particle beam irradiation facility and Professor Abe. B, Banana culture before heavy particle irradiation (cv. Bellaco Harton). C, Irradiated banana seedlings (Cavendish) used for selection for Foc-resistance.

② 研究題目 2 の当該年度の目標の達成状況と成果

2023 年度に予定していた実験はすべて計画通りに実施できた。萎凋病耐性バナナアクセションの選抜 (2-1) では、Foc に対する耐性品種としてモキチヨが候補となることがわかった。突然変異誘導に使用するアクセションの選抜 (2-2) では、経済的な価値が高い 3 アクセション (Isla, Bellaco Harton, Bellaco Plantano) を選抜した。突然変異誘発条件の設定 (2-3) では、ペルーでは Isla、日本ではキャベンディッシュとシマバナナを用いて、ガンマ線と重粒子線の照射条件をそれぞれの照射実験施設にて検討した。変異誘発処理 (2-4) では、ペルー産

【令和 5 年 / 2023 年度実施報告書】【240531】

バナナ 3 品種に対して重粒子線照射実験を行い、照射苗の組織培養を開始した。

- ③ 研究題目 2 の当初計画では想定されていなかった新たな展開  
特になし

- ④ 研究題目 2 の研究のねらい (参考)

「ペルーの栽培バナナから Foc に対する耐病性を評価し、高耐病性アクセッションを選抜して利用促進を図る」こと、また、「ペルーにおいて経済的価値の高い品種を選んで、突然変異誘発 (ガンマ線や重粒子線処理) により Foc 抵抗性バナナを創出して実用化する」ことにより、ペルーで発生しうるバナナ萎凋病による被害を低減させることを目指す。

- ⑤ 研究題目 2 の研究実施方法 (参考)

ペルーにおいて、萎凋病耐性バナナアクセッションの評価やガンマ線による突然変異誘導と抵抗性系統の選抜を行い、日本では重粒子線による突然変異誘導と抵抗性系統の選抜を行う。萎凋病耐性/抵抗性系統の遺伝子的安定性や形質の確認は両国で行い、圃場実証やカタログ化はペルー側が実施する。

(2-3) 研究題目 3 : 「病原フリー苗生産および頒布システムの構築」

研究グループ C (リーダー: 野村義宏)

研究グループ D (リーダー: Oscar Esmael Cabezas Huayllas)

- ① 研究題目 3 の当初計画 (全体計画) に対する実施状況 (カウンターパートへの技術移転状況含む)

- INIA にて組織培養室及び組織培養苗増殖用温室の位置と稼働状況を確認した (3-1)。
- 病原フリー苗であることを検定する手法の検討を行った (Fig. 1-3-1) (3-1)
- INIA が所有する耐性候補品種の 52 アクセッションのうち、49 アクセッションが組織培養で生育できることが確認され、INIA はそれらのメリクローナル実生を維持および増殖している (3-1; 3-2)。
- UNAS で温室候補地の現地調査を実施し (2023 年 12 月)、最終的 (2024 年 3 月) にメインキャンパス内に温室を建設することを決定した (3-3)。

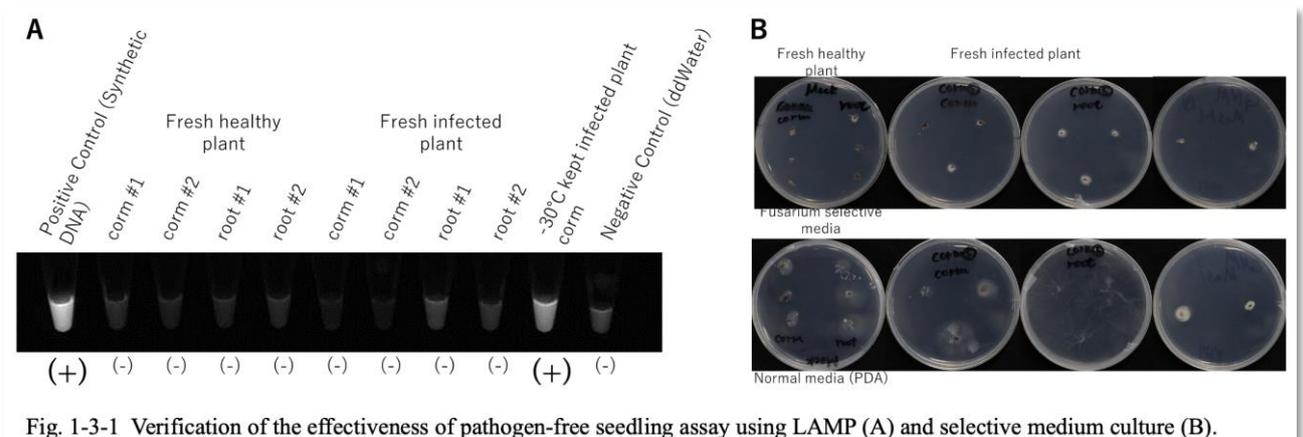


Fig. 1-3-1 Verification of the effectiveness of pathogen-free seedling assay using LAMP (A) and selective medium culture (B).

② 研究題目 3 の当該年度の目標の達成状況と成果

2023 年度に予定していた項目はすべて計画通りに実施できた。萎凋病耐性候補アクセションの選抜 (3-1) では、病原フリー苗を維持している。また、病原フリー苗の頒布用の増殖のための温室建設の目処を立てた。

③ 研究題目 3 の当初計画では想定されていなかった新たな展開

UNAS が当初想定していた温室設置場所が、UNAS メインキャンパスから離れていた。温室では病原フリー苗を増殖し、栽培者などに頒布することが目的であるため、現地調査の結果バナナ圃場が周囲に無いティンゴマリアの UNAS キャンパスに温室を設置することが好ましいと考えられた。それに基づき、UNAS メインキャンパス内に温室を設置することとした。メインキャンパス内に設置するため、目が行き届き、病原フリーな絵の増殖にも適している。

④ 研究題目 3 の研究のねらい (参考)

病原フリー苗の栽培者への頒布によって、病原フリー苗の栽培の重要性の意識づけを行う。

⑤ 研究題目 3 の研究実施方法 (参考)

INIA において、病原フリー苗を維持・増殖、病原フリーであることを確認し UNAS に移譲、UNAS による病原フリー苗維持・配布によって、栽培者に病原フリー苗を届け、病原フリー苗の栽培の重要性を理解してもらう。

(2-4) 研究題目 4 : 「病害発病抑止土壌を構成する有効な微生物エコシステムの解明」

研究グループ C (リーダー : 児玉基一朗)

研究グループ D (リーダー : Liliana Maria Aragon Caballero)

① 研究題目 4 の当初計画 (全体計画) に対する実施状況 (カウンターパートへの技術移転状況含む)

- ・萎凋病発病抑止土壌の探索と同定を進めた。暫定的に萎凋病発生率が低い可能性が認められたペルー国内 10 箇所の対象バナナ圃場より、土壌サンプルを採取し (UNALM エリア / 5 サンプル、UNAS エリア / 5 サンプル)、マイクロバイームおよび微生物叢解析の目的で日本 (TUAT) に正式に輸出した (4-1)。
- ・上記 10 箇所の暫定的発病抑制土壌サンプルの物理的・化学的性状を分析した (4-2)。
- ・メタゲノム解析に関しては、各土壌からの DNA 抽出後の外部委託を予定しているが、外部委託先、条件、解析後のデータの取扱い等については現在検討中である (4-3)。
- ・各土壌サンプルから細菌株を中心として約 100 菌株の微生物 (細菌類および菌類) 株を分離した。これら分離株は、順次分子同定による種名同定を進めている。さらに、萎凋病菌増殖を抑制する微生物株の検出同定を進め、抑制活性を有する候補細菌株を見出した (4-4)。

② 研究題目 4 の当該年度の目標の達成状況と成果

2023 年度に予定していた計画は予定通りに進行し、ほぼ目標を達成できたと考えている。

(4-1) では、暫定的に 2 エリアの計 10 箇所の圃場から候補となる土壌サンプルを採取し、(4-2) 以降の分析対象とした。現在、ポット試験により抑止土壌の移植性の検討を進めている。今後さらに候補土壌の探索と選抜を進め、確実な発病抑止性を有する土壌を同定する予定である。(4-2) では、前項で候補とした土壌サンプルの物理的・化学的性状分析データを取得した。(4-

3) については、微生物を含む土壌サンプルのペルーからの輸出と日本への輸入に関して、特にペルー国内の手続きに時間を要したが、予定した土壌サンプルの日本国内 (TUAT) への輸出を果たすことが出来た。現在、目的である発病抑止土壌微生物エコシステムの解析のため、マイクロバイームおよび微生物叢解析の準備を進めている。(4-4) では、ペルー国内機関において、萎凋病抑制活性を有する微生物の選抜を進めており、約 100 株の分離微生物中から抑制活性を有する候補細菌株を見出した。今後さらに候補株の選抜と同定を進め、実際の発病抑止性に関わる微生物の分離同定を達成する。これらの検討の結果、発病抑止土壌微生物エコシステムの解析が進んだ段階で、(4-5) のエコシステムへの改良資材の影響を検討する予定である。

③ 研究題目 4 の当初計画では想定されていなかった新たな展開

ペルー国内のバナナ栽培圃場における本計画に加え、同時進行で、国内 (沖縄県) バナナ圃場を材料として萎凋病菌抑制活性を有する微生物同定のモデル実験を進めた。その結果、強い萎凋病菌抑制活性を有する細菌株を複数見出し、種名を同定した (日本植物病理学会において報告済)。これらのデータは、ペルー国内圃場サンプルにおける候補微生物株の選抜と同定作業を、効率的に進めることの一助となることが期待される。

④ 研究題目 4 の研究のねらい (参考)

本題目「病害発病抑止土壌を構成する有効な微生物エコシステムの解明」は、次の題目 5 における社会実装の基盤となる研究項目である。ペルー国内の対象地域におけるバナナ栽培環境、萎凋病菌の伝搬・発病特性、さらにコスト面等から鑑みて、本病の一般的な化学農薬による防除は極めて困難で現実的ではない。一方、同国内バナナ圃場において、発病抑制に有効な微生物あるいは微生物エコシステム等を活用した防除法は、現実的かつ合理的で、多数の利点を有する戦略である。同国内のバナナ圃場の微生物あるいは微生物エコシステムを活用することは、現地の生物多様性の保全と生態系の保持にもつながる。さらに、化学農薬不使用という農産物への付加価値付与に貢献できるため、製品の競争力増大を通じた現地関係者の生活向上も期待できる。

⑤ 研究題目 4 の研究実施方法 (参考)

「病害発病抑止土壌を構成する有効な微生物エコシステムの解明」のため、①発病抑止土壌の探索と移植性の確認、②発病抑止土壌の物理性/化学性/生物性調査、③発病抑止土壌微生物エコシステムの解析、④発病抑止性に関わる微生物の分離、および⑤微生物エコシステムへの改良資材の影響の各検討項目を、ペルーおよび日本両国の参画機関において同時進行で実施する。本題目で達成された成果を現地に還元し、研究題目 5 における社会実装に繋げる。

(2-5) 研究題目 5 : 「微生物あるいは微生物エコシステム等を活用した環境への影響が少ない生物農薬あるいはバイオスティミュラント等の開発と導入」

研究グループ C (リーダー : 有江力)

研究グループ D (リーダー : Liliana Maria Aragon Caballero)

① 研究題目 5 の当初計画 (全体計画) に対する実施状況 (カウンターパートへの技術移転状況含む)

- ・ 農工大でのポット圃場試験において、非病原性 *F. commune* W5 を発生土壌に導入し、萎凋

病の抑制効果を認めた(5-1)。微生物資材のペルーへの輸入に困難が予想されること、かつ外来微生物よりもペルー産微生物の使用が望まれるため、研究題目4と連動し、研究題目4の中で分離される非病原性フザリウムなどを用いてペルーにおける生物防除試験を行う。

- ・ 土壌中に微生物を導入し定着させる技術の検討を開始した(5-2)。
- ・ 研究題目4でTUATに輸入した土壌中の微生物の抗菌活性やバナナ萎凋病発病抑制効果などの検定を開始した(5-3)。
  - ・ UNALMにおいて、植物活性剤の一つと考えられているバリダマイシンAをバナナの葉面に散布して萎凋病を抑制するかどうかを試験するポットテストを開始した(5-5)。バリダマイシンAはペルー国内で農薬登録があるため、バナナへの適用拡大などを検討することとした。

## ② 研究題目5の当該年度の目標の達成状況と成果

ペルー国内のバナナ栽培圃場における本計画に加え、同時進行で、国内ポット試験および国内(沖縄県)バナナ圃場で非病原性フザリウム菌W5を用いたバナナ萎凋病の発病抑制試験を行ない、生物防除効果を認めた。当初非病原性フザリウム菌W5を生物農薬としてペルーで登録する予定であったが、非病原性フザリウム菌W5を含めペルーへの微生物の輸出が容易でないことが判明したため、ペルーのバナナ圃場で採取した土壌から分離した微生物(研究題目4)の中から非病原性フザリウムなどの非病原菌を選抜、生物防除効果検定、生物農薬としての登録をペルーサイドで検討することとした。また、国内ポット試験で植物活性剤の一つと考えられているバリダマイシンAのバナナ葉面散布の萎凋病に対する効果を確認、ペルー側でも萎凋病の発病抑制試験についてポットテストを開始した(5-5)。バリダマイシンAはペルー国内で農薬登録があるため、5-5の結果が良好であればバナナへの適用拡大などを検討することとした。

## ③ 研究題目5の当初計画では想定されていなかった新たな展開特になし

## ④ 研究題目5の研究のねらい(参考)

環境負荷の少ない萎凋病防除技術として、生物農薬(非病原性微生物剤、研究題目4の成果として得られる微生物エコシステムを成分とする)、プラントアクチベーターの効果を確認するとともに導入を図る。

## ⑤ 研究題目5の研究実施方法(参考)

生物農薬(非病原性微生物剤、研究題目4の成果として得られる微生物エコシステムを成分とする)、プラントアクチベーターなどの萎凋病防除効果をポット試験で検定、スクリーニングし、その後圃場試験を行う。

## II. 今後のプロジェクトの進め方、およびプロジェクト/上位目標達成の見通し(公開)

プロジェクトはほぼ計画通り進んでおり、現時点で計画変更や軌道修正の必要はないと考えている。上位目標を達成、社会に貢献できるよう、相手国研究機関とも連携、協議を深めながら研究を推進する予定である。

・上位目標は以下のように掲げており、それを達成するために研究を推進している。

バナナ／プランテン萎凋病の総合防除パッケージを構築し、ペルーセルバ地域で普及することを目的にしている。このため、この総合防除パッケージが地方自治体等栽培者団体に採用され、栽培者によって使用されることを目指している。このために、

(1) このパッケージが、バナナ／プランテン栽培地域であるセルバ（ワヌコ州、サン・マルティン州、ウカヤリ州、フニン州、パスコ州）等の少なくとも5つの州で、バナナ／プランテン栽培の推奨技術として地方自治体に採用されることを目指す。

(2) このパッケージが、少なくとも上記の5州のバナナ／プランテン農家によって使用されることを目指す。

また、このパッケージは、萎凋病の診断／警告、耐性／抵抗性系統、健全な苗木の供給、生物農薬、栽培方法を含む、環境負荷の少ない総合病害防除の統合マニュアルであり、かつパッケージに基づいて栽培者を教育するための人材（技術スタッフ）の育成用テキストでもある。

・研究題目1の病原菌およびレースの特異識別のためのLAMPプライマーセットについては、株式会社ニッポンジーンから発売予定である。

・円安の影響が大きく、当初申請に比べて2/3になってしまった関係で、ペルー側に供する機材が減少する結果になりつつある。また、旅費も同様に高騰しており、渡航回数を減少し、減少分をzoomに置き換えるなどの工夫が必要になる。

### Ⅲ. 国際共同研究実施上の課題とそれを克服するための工夫、教訓など（公開）

・相手国側研究機関との情報交換などが時差の関係で困難であったが、様式02に記入したように、隔週実施しているzoomを使った研究推進会議が非常に良く機能しており、研究の推進に役立っている。渡航、招聘に際してもその準備、打ち合わせをzoomで行えたことから大変有効である。

・支払用の現地銀行口座の開設に時間がかかったこと等の理由から、機材や一部の試薬等の入手が若干遅れている。また、本邦購入機材の輸出手続きに想定以上の時間がかかった点、UNASに設置予定の実験室と温室の場所等に変更があった点など、当初の想定よりも時間を要する事柄が生じたが研究の進展に大きな影響はない。UNALMに派遣された現地調整員や現地研究者が、UNASを訪問して学長室と調整し、実験室設置場所の変更等の問題に対応していただいている。

・ペルー側への供与機材の本邦調達について、手続き、時間、手数料など非常に煩雑であり、全てを日本の理化学機器業者に任せることが可能な場合以外、現地調達が好ましいことが判明。当初携行を予定していたが、以下のように、時間と労力の負担が多。さらに、ペルーの場合は、無税対応が携行では不可のため、輸出業者をつかわざるを得ず、かつペルーでの輸入時に数ヶ月の期間と費用がかかり、相手機関側にも負担となってしまった。

輸出手続きを自分で行う場合：輸出手続きのための書類（該非判定、領収書、インボイス・輸出書類など）を揃え、概ね渡航前日に空港に持ち込み、有料の保税区域に預けた後、税関に出向き、書類手続きを行なう。出発時に、保税区域に税関職員に来てもらい、税関職員立会の上で

預託荷物として預ける。

輸出入業者に輸出をお願いする場合：輸出手続きのための書類の準備はこちら側で行う。インボイス・輸出書類は、業者あるいは業者 HP などで作成可能であるが、料金がかなり異なる（重量数キロ、購入価格 100 万円強のもので、ヤマト運輸は 40 万円、DHL や Fedex は 20 万円、郵便局（EMS）は 2 万円程度）。EMS は積載航空機がわからないため（秘密情報とのこと）、ペルー税関へ到着日時などの情報を伝えるににくい。

ペルー税関で 2 ヶ月ほど止められ、免税対応にするために、相手機関が費用（どの程度だったのか教えてもらっていない）を負担する必要があった。

日本国内での消費税の還付：日本の研究機関事務に対応していただくことになり、仕事を増やすことになった。このために、輸出許可証（税関あるいは業者からもらえる）が必要になる。

- ・円安の影響が大変大きく（申請時は 1 USD=100 円程度だったものが、策定調査直前に 1 USD=120 円程度、現在は 1 USD=150 余円で推移している）、購入できる物品の減少、旅費の高騰など、影響が大きい。
- ・日本側とペルー側で綿密な連携を図る上で大変有効なため、隔週で開催しているメンバー内でのグループ web 会議を継続する。すでにいくつかの研究項目で始まっているが、研究項目担当グループ内での web 会議も有効であると考えます。

#### IV. 社会実装に向けた取り組み（研究成果の社会還元）（公開）

- ・研究題目 1 で作成したマニュアル（日本語、スペイン語）について、本プロジェクトホームページ（<http://web.tuat.ac.jp/~satrepsbanana/>）にて公開中である。
- ・研究題目 1 で開発した、萎凋病菌およびそのレース特異識別用 LAMP プライマーセットについては、開発を共同で行っていただいた株式会社ニッポンジーンから販売予定であり、予告されている（<https://www.nippongene.com/kensa/info/topics/20231102.pdf>）。
- ・2023 年 8 月にフランスリヨンでの国際植物病理学会で本プロジェクトに関する発表を行なった（様式 2 VI(2)学会発表 1 学会発表（相手国側研究チームと連名、参照）を行なったところ、世界規模のバナナ生産・貿易企業が研究題目 4 および 5 の手法に関心を示し、フィリピンにも展開したいとの申し入れを受けている。

#### V. 日本のプレゼンスの向上（公開）

特になし。

以上