目　次

＜２０１９年度　総合研究所プロジェクト研究成果報告＞

●大学戦略研究プロジェクト

1. 植物病原菌の感染機構解明による安定した食料生産への貢献…… 1
研究代表者　生命科学部　分子微生物学科　齋藤　宏昌

2. 自然災害による農業基盤施設の復旧を目指した GIS 構築法の確立…… 12
研究代表者　地域環境科学部　生産環境工学科　関山　絢子

3.「農大版 A-STEM 教育プロジェクト」の研究・開発…… 22
研究代表者　教職課程　武田　晃治

4. 環境 DNA を用いた流行性病原体の自然環境下における感染経路ネットワーク推定…… 30
研究代表者　農学部　動物科学科　米澤　隆弘

5. 食用藍藻スピルリナが生産する細胞外高分子物質 EPS の機能評価と大量生産系の構築…… 33
研究代表者　生命科学部　バイオサイエンス学科　渡辺　智

6. カンボジア王国コンポンチャム州におけるバイオエネルギーを活用した農産物の加工条件
および加工システムの構築…… 39
研究代表者　地域環境科学部　生産環境工学科　村松　良樹

7. アジア地域産薬草が持つ機能性・安全性の網羅的評価法の確立…… 47
研究代表者　国際食料情報学部　国際食農科学科　山内　淳

8. 渡り鳥の生息環境を指標とした、日露陸海域の生態系保全を目指す研究…… 53
研究代表者　生物産業学部　北方圏農学科　白木　彩子

9. 植物・昆虫・動物の多様性を指標とした島嶼農業生態系の評価と保全…… 102
研究代表者　農学部　生物資源開発学科　小島　弘昭

10. サブサハラ・アフリカにおける都市－農村間連携の再構築と農業・栄養・健康・
自然資源の連環による持続型社会の構築…… 107
研究代表者　農学部　デザイン農学科　松田　浩敬

11. 異科属植物間での接木を志向した分子科学的アプローチ…… 112
研究代表者　生命科学部　分子生命化学科　斉藤　竜男

12. モンゴルにおける有機資材と耐乾燥性品種を活用した持続的農業技術の開発…… 116
研究代表者　生物産業学部　北方圏農学科　中丸　康夫

●学部長主導型研究プロジェクト

1. 農大型ケモバイオプロセスによる有用物質生産システムの開発および生体・環境への
影響評価系の確立 –農大リソースを活かしたグリーン・ライフイノベーション– …… 120
研究代表者　生命科学部　バイオサイエンス学科　矢嶋　俊介

2. 現代人の栄養代謝を改善する新しい「栄養強化米」の開発と実用化
– 東京農大独自のブランド米開発 – …… 130
研究代表者　応用生物科学部　栄養科学科　本間　和宏

3.「地域主体のアザラシの循環型順応的管理システムの構築を目指して
– アザラシの生態系サービスと有効利用の可能性を探る –」…… 146
研究代表者　生物産業学部　北方圏農学科　吉田　穂積

●農業 ICT プロジェクト

1. 宮古亜熱帯農場におけるＩＣＴを活用したヤムイモ生産システムの開発
–栽培管理記録システムを利用したヤムイモにおける Global G.A.P. 認証の取得–…… 156
研究代表者　国際食料情報学部　国際農業開発学科　杉原たまえ

2. NDVI 値による生育診断技術の開発
–秋播き小麦品種「きたほなみ」への新たな施肥技術の構築–…… 165
研究代表者　生物産業学部　北方圏農学科　伊藤　博武

●ゲノム育種プロジェクト

1. 未来を担う酒造好適米品種を生み出すための研究
–東京農業大学が新しい酒造好適品種を開発する–…… 168
研究代表者　応用生物科学部　醸造科学科　数岡　孝幸

2. 植物工場栽培に適したダイコン品種のゲノム編集育種に向けた基盤構築
– ゲノム編集個体の作成と評価 – …… 172
研究代表者　生命科学部　バイオサイエンス学科　松本　　隆

3. 穀類遺伝資源の全粒粉を利用した高機能性かつ嗜好性を併せ持つ国産食品の開発…… 176
研究代表者　農学部　農学科　西尾　善太

●ネパール共同研究プロジェクト

1. ネパールの中山間地域におけるオフシーズン野菜の増産と販売拡大による農家所得向上
–MSU ネパール農村開発プロジェクトのオフシーズン・トマト栽培の評価を中心に– …… 190
研究代表者　国際食料情報学部　国際農業開発学科　中曽根　勝重

●フィリピン共同研究プロジェクト
1. 東ミンドロ州におけるカラマンシー産業の発展に向けた研究と能力開発…… 200
研究代表者　農学部　農学科　馬場　　正

●ロシア共同研究プロジェクト
1. ロシアンミツバチとその生産物の特性に関する研究
－ミツバチによるポリネーションの持続と新たな食品開発を目指して－ …… 205
研究代表者　生物産業学部　食香粧化学科　丹羽　光一

2. ロシアにおける高品質イチゴのハウス栽培実証実験事業
－夏秋イチゴの安定生産に向けたセンサデータ活用－ …… 211
研究代表者　農学部　農学科　峯　洋子

●農研機構ＭＦ型共同研究プロジェクト
1. 日本のコムギコアコレクション由来の新規のコムギ縞萎縮病抵抗性の
最適 DNA 選抜マーカーの開発…… 219
研究代表者　農学部　農学科　西尾　善太

2. ゲノム編集技術を駆使した高葉酸含量・低シュウ酸含量ホウレンソウの育種…… 230
研究代表者　生命科学部　バイオサイエンス学科　太治　輝昭

3. 気象情報を利用した画像取得計画に基づく、オホーツク生産者圃場におけるドローン
および人工衛星画像によるセンシング手法の開発…… 233
研究代表者　生物産業学部　自然資源経営学科　松村　寛一郎

＜２０１９年度　大学院先導的実学研究プロジェクト研究成果報告＞
1. ヤムイモに内生する窒素固定細菌の解明と利用…… 237
研究代表者　農学研究科　国際農業開発学専攻　志和地　弘信

2. ウシの腸内細菌叢と miRNA を考慮した新規飼養基準による持続的な乳・肉生産体系の提案… 247
研究代表者　農学研究科　畜産学専攻　岩田　尚孝

3. 抗肥満作用を有する高機能性ブロッコリーの選別と農大発の高機能性野菜の開発…… 252
研究代表者　応用生物科学研究科　農芸化学専攻　井上　　順

4. アフリカ農業を救うストリゴラクトン高生産系の構築と、高活性類縁体の創出…… 255
研究代表者　農学研究科　バイオサイエンス専攻　坂田　洋一

＜研究所記事＞

●東京農業大学総合研究所研究会 平成３１年度事業報告 …… 260

２０１９年度 東京農業大学 大学戦略研究プロジェクト

研究成果報告書

研究代表者　　齋藤　宏昌

１．研究課題名および予算額

研究課題名	研究領域 （キーワード）	予算額(円)
植物病原菌の感染機構解明による安定した食料生産への貢献	食料生産	3,600,000

２．研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	齋藤　宏昌	生命科学部　分子微生物学科・教授	研究の総括・全般
研究分担者	清水　元樹	（公財）岩手生物工学研究センター・主任研究員	RNA-seq データの解析
	山本　紘輔	生命科学部　分子微生物学科・助教	共焦点レーザー顕微鏡観察
	對馬　誠也	生命科学部　分子微生物学科・教授	研究内容に対する助言
	川崎　信治	生命科学部　分子微生物学科・教授	研究内容に対する助言
	篠原　弘亮	農学部　農学科・教授	研究内容に対する助言

３．研究期間

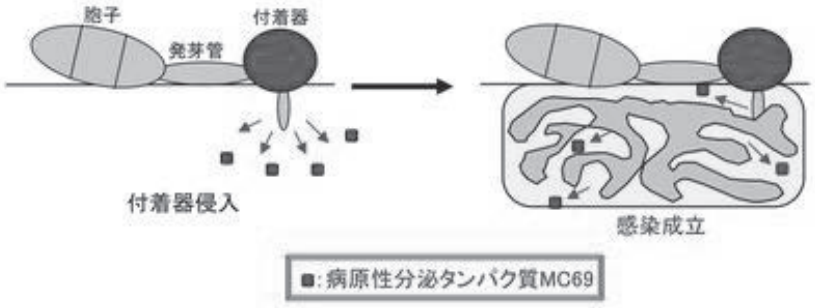
２０１９年４月１日～２０２０年３月３１日（３年計画の３年目）

４．研究の背景（当初）

いもち病菌によって引き起こされるイネの最重要病害であるイネいもち病は、世界の食料安全保障にとって脅威となっている。イネいもち病は毎年世界の６千万人以上分の食料となるイネの減収をもたらす原因となっている。イネといもち病菌の全ゲノム配列は両方とも既に公開されているため、イネいもち病は植物–病原糸状菌相互作用研究のモデルとなっている。いもち病菌の胞子は水滴の中で発芽し、発芽管の先端に形成された付着器から宿主組織に侵入後、侵入菌糸を形成する。その際に、いもち病菌は、エフェクターと呼ばれる低分子のタンパク質群を分泌して宿主の防御反応や生理機能を操作することでイネへの感染を成立し、大きな減収をもたらす。

研究代表者らは、イネいもち病菌由来エフェクターを探索するために SuperSAGE 解析によって感染初期に発現する遺伝子を選抜し、そのうち 78 個の推定分泌タンパク質遺伝子について大規模破壊解析を行った。大多数の遺伝子破壊はいもち病菌の病原性に影響を及ぼさなかった。一つだけ例外があり、その遺伝子を *MC69* と名付けた。*mc69* 変異株は、イネとオオムギへの病原性において著しい低下を示した。また、実際に、MC69 がいもち病菌から分泌されていたことから、MC69 はイネいもち病菌の病原性に必

須のエフェクターであることがわかった（挿入図参照: Saitoh *et al.*, 2012 *PLoS Pathogens*）。いもち病菌の病原性に必須のエフェクターは、今日までに MC69、Slp1、Iug6 および Iug9 の 4 個のみが同定されているが、その機能が明らかとなっているのは Slp1 のみである（Saitoh *et al.*, 2012; Mentlak et al., 2012 *Plant Cell*; Dong et al., 2015 *PLoS Pathogens*）。



５．研究目的

イネいもち病の防除といもち病抵抗性品種育成のためには、病原菌と宿主の間の遺伝子およびタンパク質相互作用の詳細を知ることが重要である。いもち病菌のイネへの感染機構を理解するためには、新奇病原性エフェクターを同定し、それらの機能を解明することが重要である。本研究は、いもち病菌の宿主感染時の網羅的な遺伝子発現解析を行い、病原性エフェクター候補遺伝子の同定を目的とする。

６．研究（実験）方法

（１）イネいもち病菌の RNA-seq 解析

感染植物サンプル中の宿主由来 RNA 量を減らすため、子葉裏面表皮を容易に剥ぐことが可能なオオムギ品種 Nigrate を宿主として供試し、Nigrate に感染するいもち病菌 Ina168 菌株を接種源として供試した。Ina168 菌株を Nigrate の子葉裏面に接種後 12（いもち病菌付着器侵入時）、24（付着器から宿主細胞に侵入後）、36（侵入した宿主細胞内における侵入菌糸進展時）、48（侵入菌糸の隣接細胞への進展後）時間目の裏面表皮および接種源の胞子から RNA 抽出を行った。その後、シークエンスライブラリーを作製し、Illumina 社の Nextseq500 によってシークエンスリードを獲得後、発現量（TPM; Transcripts Per Million）の算出を行った。さらに、遺伝子予測によって得られた予想タンパク質の内、細胞外分泌シグナルを保有するタンパク質を、SignalP プログラム（Nielsen *et al.*, 1997）を利用して選定した。次に、TM-HMM プログラム（Krogh *et al.*, 2001）を利用して、選定したタンパク質の中から予想細胞膜貫通タンパク質を取り除き、最後に TargetP プログラム（Emanuelsson *et al.*, 2000）により、ミトコンドリアへの局在が予測されるタンパク質を取り除いて予想分泌タンパク質を選定した。

（２）イネいもち病菌の遺伝子破壊株、*MoSVP* 相補株の作出と病原性試験

i）目的遺伝子破壊用ベクターの作製

目的の遺伝子 ORF の上流および下流の約 4 kbp の断片をそれぞれ増幅し、糸状菌形質転換用ベクター pCB1636（Sweigard *et al.*, 1997）のハイグロマイシン抵抗性遺伝子カセットの上流および下流にそれぞれクローン化して各目的遺伝子破壊用ベクターを作製した。

ii）*MoSVP* 相補用ベクターの作製

MoSVP 遺伝子を含む約 5.5 kbp の断片をそれぞれ増幅し、ビアラフォス抵抗性遺伝子を含む糸状菌形質転換用ベクターpCB1531（Sweigard *et al.*, 1997）のマルチクローニングサイトにクローン化して作製した。

iii）イネいもち病菌の形質転換

プロトプラストを調製するために、イネいもち病菌の菌糸片を 200 mL の YG 培地（5 g 酵母エキス、20 g グルコース / 1 L 蒸留水）に植菌し、25℃で 3 日間培養した。いもち病菌のプロトプラスト調製と形質転換は高野らの方法（Takano *et al.*, 1997）に従い、ハイグロマイシン（終濃度 300 µg/mL）またはビアラフォス（終濃度 250 µg/mL）を含む PDA 培地で形質転換体を選抜した。

iv）病原性試験

Tween20（終濃度 0.01%）を含む胞子懸濁液（5 × 10^4 胞子/mL）をオオムギ品種 Nigrate の子葉にスポットまたは噴霧接種し、湿室、27℃、暗黒下で 24 時間培養後、27℃、日長 16 時間に設定した人工気象器内で培養し、病徴を観察した。

７．研究成果

昨年度までに、イネいもち病菌の付着器侵入に関わる病原性分泌タンパク質遺伝子を同定するために、接種後 12 時間目に高度に発現上昇し、36 時間目には発現量の低下が認められるクラスターF または I に属する 1 個または 6 個の予想分泌タンパク質遺伝子について各々破壊したいもち病菌変異株を作出し、病原性試験を実施した（Fig. 1、Table 1）。その結果、クラスターF に属する遺伝子の破壊によっていもち病菌の病原性の著しい低下が認められ、その遺伝子（INA168_MGG_02778）を *MoSVP*（*Magnaporthe oryzae Secreted Virulence Protein*）と名付けた。*MoSVP* を再導入した *mosvp* 変異株（*⊿mosvp*+*MoSVP*）について、オオムギ子葉への胞子懸濁液のスポット接種と噴霧接種試験を行った結果、野生型イネいもち病菌 Ina168 分離株（Ina168 WT）と同等の病原性を示した（Fig. 2）。この結果から、クラスターF に属する遺伝子群の中には、病原性に関わる遺伝子が他にも存在する可能性が示唆された。そこで、クラスターF に属する 40 個の遺伝子の中で病原性機能未知の遺伝子のうち、接種後 24 時間目で高い発現量を示す 10 個の遺伝子に着目した（Table 2）。そのうち、Code No.1 の遺伝子は Lytic Polysaccharide Mono-Oxygenase, cellulose-degrading（LPMO）様配列をコードする領域を有しており、LPMO はセルロース分解酵素として働くという報告がある。Code No.4 の遺伝子は、Ligninase H2 様配列をコードする領域を有しており、ligninase はリグニンの分解を触媒する酵素として知られている。セルロースとリグニンは植物の細胞壁を構成する主要成分であることから、Code No.1 と 4 の遺伝子はいもち病菌の宿主植物への侵入時に高発現し、それらの翻訳産物が分泌され、植物の細胞壁を分解することにより、いもち病菌の侵入を助ける働きをする可能性が示唆される。Code No.3 の遺伝子は、Conserved Fungal-specific Extracellular Membrane-spanning（CFEM）様配列をコードする領域を有しており、いもち病菌において CFEM 領域を有する遺伝子群のうち、数個の遺伝子について病原性に関与するという報告があることから、Code No.3 の遺伝子もいもち病菌の病原性に関わる可能性が示唆される。Code No.9 の遺伝子は、Cutinase 様配列をコードする領域を有している。植物の地上部分の組織の表層はクチンでできたクチクラで覆われていることから、Code No.9 の遺伝子はいもち病菌の宿主植物への侵入時に高発現し、その翻訳産物が分泌され、植物組織の表層のクチクラ層を分解することにより、いもち病菌の植物への侵入を助ける働きをする可能性が示唆される。その他の遺伝子は、Uncharacterized protein をコードするか、またはコードするアミノ酸配列から推定される機能と病原性との関わりが不明なものであるが、いもち病菌の宿主植物への侵入時に高発現し、それらの翻訳産物が分泌されると推定できるので、新規の病原性分泌タンパク質遺伝子である可能性が考えられる。そこで現在、選抜した 10 個の遺伝子を各々破壊するためのプラスミドベクターを作製中である。Code No.2、6、8 の遺伝子破壊用プラスミドベクターについては作製済みで、これらのベクターでいもち病菌を形質転換し、各遺伝

子を破壊したいもち病菌変異株を作製中である。

*MoSVP*は、N 末端にシグナルペプチド、その後に HsbA（Hydrophobic surface binding protein A）領域、C 末端に機能未知の領域をコードする（Fig. 3A)。麹菌 *Aspergillus oryzae* 由来の HsbA は低分子量のタンパク質であり、疎水性固体の表面への溶解酵素の取り込みと疎水性物質の分解を促進すると報告されている（Ohtaki *et al.*, 2006)。しかしながら、いもち病菌由来の遺伝子にコードされている HsbA 領域の病原性への機能は未知である。MoSVP ホモログは他の病原糸状菌である芝のサマーパッチ病菌（Mp; *Magnaporthiopsis poae*)、コムギ立枯病菌（Ggt; *Gaeumannomyces gramminis* var. *tritici*）および様々な種の炭疽病菌（Cgl、Csa、Cf、Cn、Csi、Ch、Ci、Cgr; *Colletotrichum* 属菌）で見出された（Fig. 3B)。今後、MoSVP ホモログが様々な植物病原糸状菌の病原性に寄与するか否かを確かめることは興味深い。炭疽病菌の中で、ウリ類炭疽病菌に関する研究が最も進んでおり、遺伝子破壊用プラスミドベクターを用いて容易に本菌の目的遺伝子の破壊株を作出することが可能である。そこで、ウリ類炭疽病菌由来の *MoSVP* ホモログ遺伝子を *CoSVP*（*C. orbiculare Secreted Virulence Protein*）(Fig. 4）と名付け、*CoSVP* を破壊したウリ類炭疽病菌変異株を作製後、宿主植物であるキュウリへの接種試験を行い、*CoSVP* がウリ類炭疽病菌の病原性に重要であるかを確認する予定である。

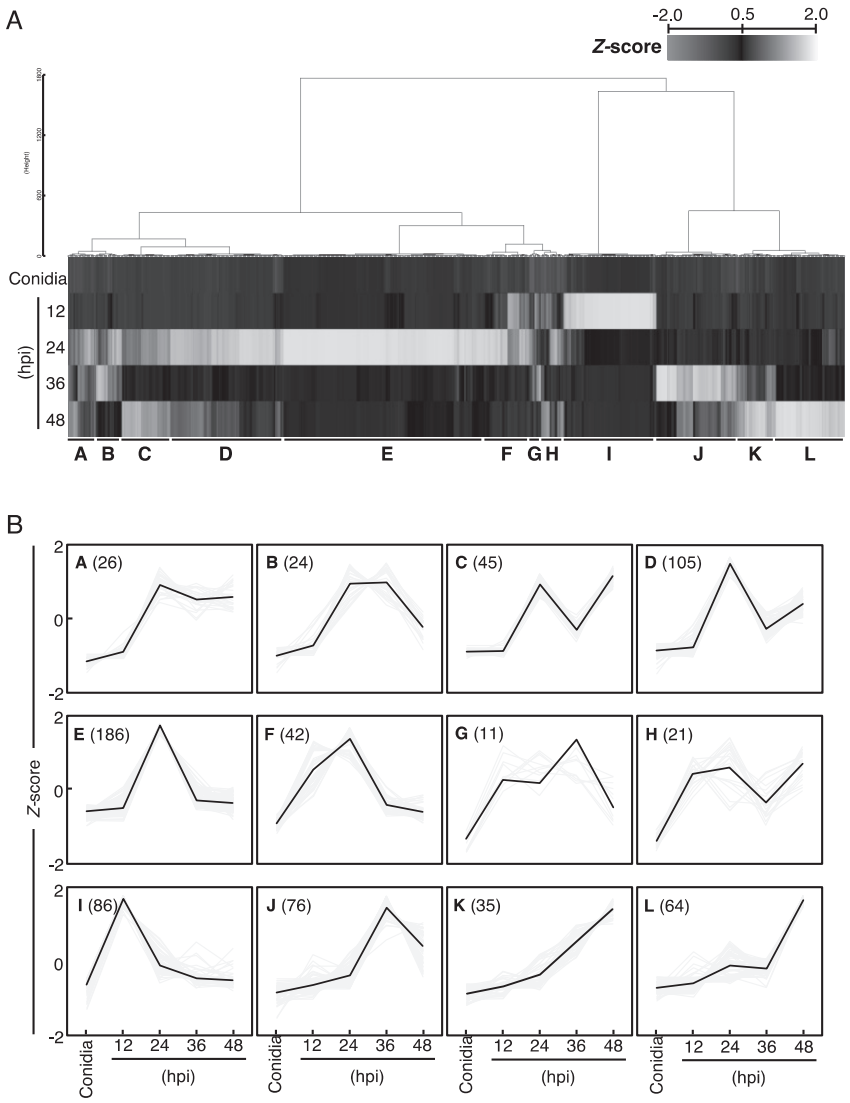


Figure 1 Transcriptome profile of *M. oryzae i*solate Ina168 during infection to barley. (A) A heat map showing the expression patterns of 721 DEGs encoding putative secreted proteins with more than 10-fold differences between conidia and the early infection stages. (B) Line plots showing the expression patterns of different gene clusters. The number of genes belonging to each cluster is shown in parentheses.

Table 1 Gene knockout analysis of seven putative secreted protein genes of *M. oryzae* isolate Ina168.

Cluster	Gene ID	Accession No. (70-15 isolate)	AA (Cys)	Description	IIW					Pathogenicity
					Conidia	12 hpi	24 hpi	36 hpi	48 hpi	WI
F	INA168_MGG_02775	MGG_02775	150 (1)	Hypothetical	1.5	1911.5	2907.3	141.9	15.0	
I	INA168_MGG_12247	MGG_12247	220 (2)	Hypothetical	6.6	4679.9	456.5	49.0	15.6	
I	INA168_MGG_02253	MGG_02253	330 (4)	Cell surface protein	9.7	2571.5	1533.5	55.9	17.0	
I	INA168_MGG_05053	MGG_05053	146 (10)	Hypothetical	64.1	1551.5	300.1	240.4	137.3	
I	INA168_MGG_09351	MGG_09351	430 (2)	Aspergillopepsin-F	6.2	1650.6	431.1	49.5	51.4	
I	INA168_MGG_01255	MGG_01255	406 (7)	Hypothetical	20.5	1194.0	294.4	39.5	19.2	
I	INA168_MGG_16125	MGG_16125	200 (2)	Hypothetical	2.2	1077.6	176.7	16.6	2.5	

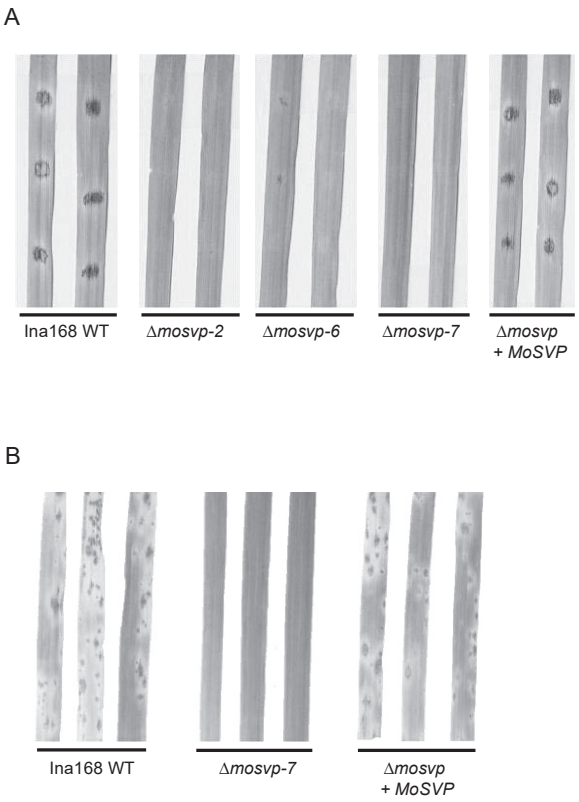


Figure 2 *MoSVP* is required for full virulence of *M. oryzae* isolate Ina168 on Ngt. Conidial suspension (1 x 10^4 conidia mL^{-1}) containing Tween 20 (0.01% in final concentration) was spotted (A) or sprayed (B) onto Ngt cotyledons. The inoculated plants were placed in a dew chamber at 27 °C for 24 h in the dark, and then transferred to the growth chamber with a photoperiod of 16 h. Conidial suspensions of Ina168 WT, *mosvp* mutant lines (Δ*mosvp-2*, *-6*, *-7*) and the *MoSVP*-reintegrated strain (Δ*mosvp* + *MoSVP*) were inoculated on Ngt leaves and incubated for 5 days.

Table 2 List of TPM values for all detected fungal genes in Cluster F in *M. oryzae* isolate Ina168.

Code No.	Row names (data)	Gene	Signal peptide	Cluster	TPM					AA	Description
					Conidia	12 hpi	24 hpi	36 hpi	48 hpi		
	MGG_02778	MoSVP	yes	F	1.80	1911.85	2907.30	141.88	14.96	180	Secreted pathogenicity protein (Shimizu et al., 2019)
	MGG_05608	MC56	yes	F	30.23	245.55	682.55	94.29	155.35	198	Non-pathogenic protein (Saitoh et al., 2012)
1	MGG_00245		yes	F	13.57	272.95	624.80	102.78	204.16	183	Lytic polysaccharide mono-oxygenase, cellulose-degrading
2	MGG_09842		yes	F	1.87	183.96	395.72	79.96	25.44	170	Uncharacterized protein
3	MGG_05456		yes	F	11.85	199.30	358.88	96.02	111.21	194	CFEM domain
4	MGG_07790		yes	F	4.20	313.84	316.38	80.33	86.45	474	Ligninase H2
5	MGG_08644		yes	F	8.72	174.29	234.21	63.19	6.36	195	DNase1 protein
6	MGG_03354		yes	F	7.30	69.52	195.14	54.45	69.04	209	Uncharacterized protein
7	MGG_07986		yes	F	0.00	64.49	165.60	6.64	0.42	113	Uncharacterized protein
8	MGG_08761		yes	F	0.31	68.79	142.16	6.66	1.44	893	Peptidase family S41
9	MGG_09100		yes	F	0.16	96.99	124.15	33.99	21.36	214	Cutinase
10	MGG_02645		yes	F	2.67	135.51	108.49	23.29	2.74	112	Uncharacterized protein
	MGG_02918		yes	F	2.09	43.49	107.86	24.22	5.36	114	Gamma-crystallin-like
	MGG_06169		yes	F	4.64	82.28	98.04	31.14	27.68	404	Common central domain of tyrosinase
	MGG_00084		yes	F	3.70	55.74	96.04	44.68	12.07	553	Glycosyl hydrolase family 47
	MGG_03946		yes	F	0.00	58.41	78.76	3.74	0.40	198	Uncharacterized protein
	MGG_13610		yes	F	2.38	89.66	77.83	10.74	11.53	643	Glycosyl hydrolases family 2
	MGG_16260		yes	F	5.60	97.55	72.90	29.70	4.20	126	Uncharacterized protein
	MGG_10282		yes	F	1.26	36.00	61.17	1.69	0.28	125	Uncharacterized protein
	MGG_02188		yes	F	0.00	57.50	56.33	15.48	4.72	559	Glutamyl-tRNA(Gln) amidotransferase subunit A
	MGG_01885		yes	F	1.77	29.74	54.78	17.27	12.68	797	Beta-glucosidase
	MGG_10993		yes	F	2.94	29.11	53.22	14.55	5.87	568	3-(3-hydroxy-phenyl)propionate hydroxylase
	MGG_08046		yes	F	2.31	36.27	52.77	9.45	5.21	620	Bilirubin oxidase
	MGG_03817		yes	F	0.66	31.01	51.57	8.13	5.21	300	Metalloprotease 1
	MGG_07868		yes	F	0.10	20.06	47.14	15.59	13.80	362	Glycosyl hydrolase family 10
	MGG_01863		yes	F	1.25	14.61	39.29	11.29	7.07	504	Aminopeptidase Y
	MGG_11651		yes	F	1.68	14.88	38.78	4.42	2.07	562	Uncharacterized protein
	MGG_06618		yes	F	0.67	39.27	36.83	1.76	2.46	353	Beta-lactamase domain-containing protein
	MGG_13116		yes	F	1.05	31.64	30.97	3.81	1.10	443	Uncharacterized protein
	MGG_03338	KY55	yes	F	0.15	21.13	29.39	10.68	2.13	231	Non-pathogenic protein (Saitoh et al., 2012)
	MGG_00815		yes	F	0.63	9.30	25.50	7.44	4.19	245	Uncharacterized protein
	MGG_00575		yes	F	0.46	26.22	24.67	8.81	3.54	550	Uncharacterized protein
	MGG_14711		yes	F	0.20	12.18	24.03	7.69	4.53	561	Uncharacterized protein
	MGG_07575		yes	F	0.00	28.42	23.29	1.34	0.65	303	Endoglucanase-4
	MGG_02168		yes	F	0.08	8.67	21.12	5.94	6.92	366	Uncharacterized protein
	MGG_07877	MC8	yes	F	0.29	12.52	20.08	10.05	4.10	718	Non-pathogenic protein (Saitoh et al., 2012)
	MGG_01655		yes	F	0.29	6.19	11.64	3.25	3.91	1003	Copper radical oxidase
	MGG_08774		yes	F	0.74	13.94	11.36	3.94	2.43	368	Chitin deacetylase
	MGG_10208		yes	F	0.00	3.03	5.87	1.92	1.36	378	Starch binding domain-containing protein
	MGG_02340		yes	F	0.00	1.91	5.25	1.50	0.20	405	Cell wall glycosyl hydrolase YteR

A

Signal peptide HsbA domain

MQLKTIFVQTLLVGAGLCQVQVINKALQDITQSLTQLDTSVKALQDAQSGVTLLQQSSAL

LDTIKNSTQAIQASSELTLQDALGLQATAQQLPAQAKTTMDDLVAKKSVLDQLGATQQAI

TSLKEQKAASQELGKVVVTKIPAVGQQIAQQQLDQISQTFDQGITGLGGQPGKRAVALVV

B

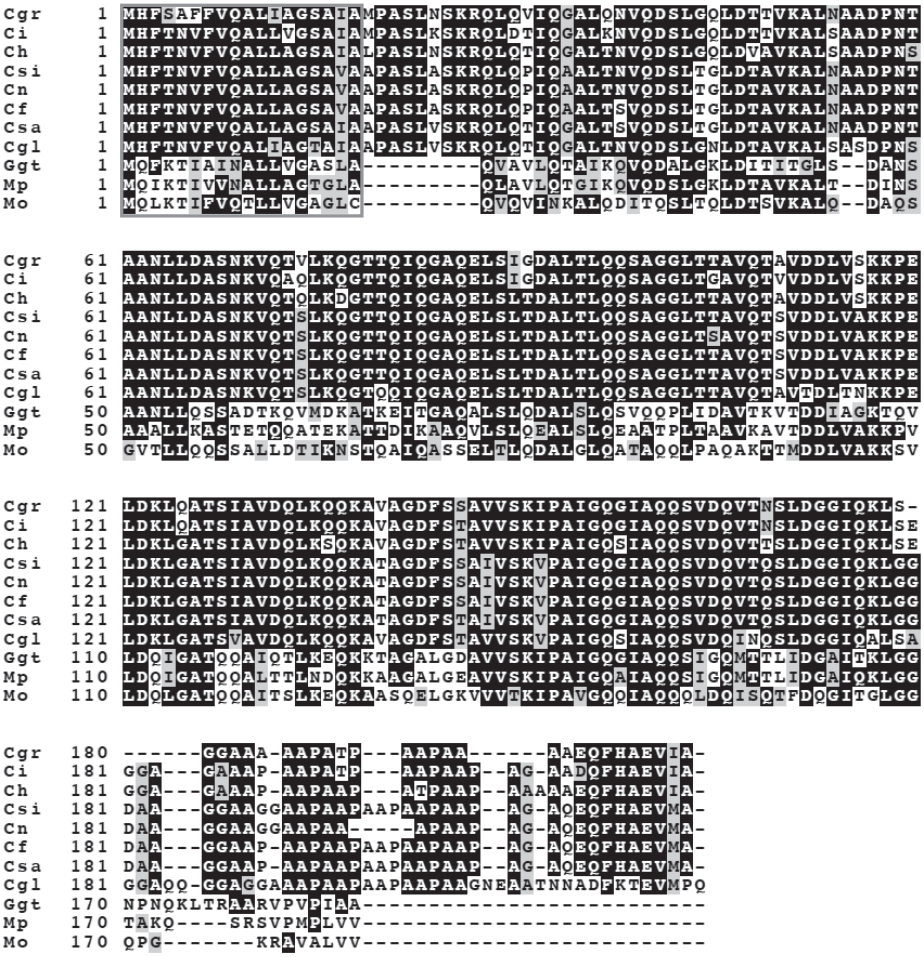


Figure 3 Amino acid sequence of MoSVP and the sequence alignment with putative homologs in other fungal pathogens. (A) The predicted signal peptide and the HsbA domain of MoSVP are indicated in red and blue, respectively. (B) Amino acid sequences of *M. oryzae* MoSVP (Mo), putative MoSVP homologs from *Colletotrichum simmondsii* (Csi), *C. nymphaeae* (Cn), *C. floriniae* (Cf), *C. salicis* (Csa), *C. gloeosporioides* (Cgl), *C. higginsianum* (Ch), *C. graminicola* (Cgr), *C. incanum* (Ci), *Magnaporthiopsis poae* (Mp) and *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* (Ggt), were aligned using the Clustal W program (Tompson *et al*., 1994). Identical amino acids are indicated as white letters on a black background, similar residues are indicated on a gray background, and gaps introduced for alignments are indicated by hyphens. The putative signal peptide sequence is indicated by a red open box.

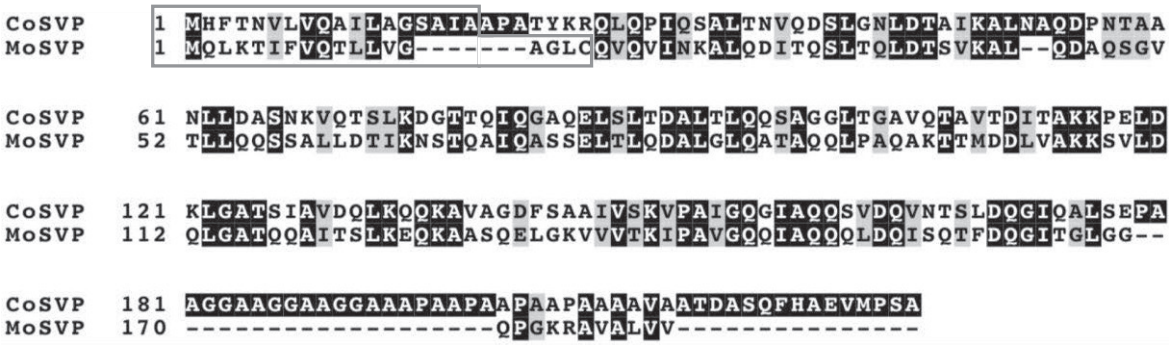


Figure 4 Amino acid sequence alignment between MoSVP and CoSVP using the Clustal W program (Tompson *et al*., 1994). Identical amino acids are indicated as white letters on a black background, similar residues are indicated on a gray background, and gaps introduced for alignments are indicated by hyphens. The putative signal peptide sequence is indicated by a red open box.

８．実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

本研究成果については、学術論文として 2019 年 11 月に Molecular Plant Pathology に掲載され（Shimizu *et al.*, 2019）、RNA-seq 解析の結果の一部が他の論文（Darino *et al.*, 2019）で引用されている。また、本研究成果であるイネいもち病菌の RNA-seq 解析の結果は、品種開発など実用化で実績のある研究分担者の所属機関において、いもち病菌非病原性エフェクター遺伝子（*AVR*）の探索などに活用されている。

９．残された問題点と今後の研究推進方策

（１）イネいもち病菌の病原性分泌タンパク質候補遺伝子破壊株の作出と病原性試験

（２）ウリ類炭疽病菌由来 *MoSVP* 相同性遺伝子破壊株の作出と病原性試験

（３）MoSVP タンパク質の機能解析

１０．公表した成果一覧

学術論文

1) Shimizu, M., Nakano, Y., Hirabuchi, A., Yoshino, K., Kobayashi, M., Yamamoto, K., Terauchi, R. and **Saitoh, H.（責任著者）**（2019）、RNA-Seq of *in planta*-expressed *Magnaporthe oryzae* genes identifies *MoSVP* as a highly expressed gene required for pathogenicity at the initial stage of infection.、Molecular Plant Pathology 20 (12), 1682-1695

その他（学会発表等）

1) **齋藤宏昌**（招待講演；2019 年 3 月 17 日）、エフェクター分泌によるいもち病菌の感染および抵抗性誘導機構、第 3 回植物病理を紡ぐ会セミナー（於：つくば大学）
2) **Saitoh, H.**（特別講義；20th August, 2019）、RNA-Seq of *in planta*-expressed *Magnaporthe oryzae* genes identifies *MoSVP* as a highly expressed gene required for pathogenicity at the initial stage of infection.、（於：Department of Genetics, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok, Thailand）
3) 清水元樹、平渕亜紀子、小林光智衣、山本紘輔、寺内良平、**○齋藤宏昌（発表者）**（みなし口頭発表；2020 年 3 月 20 日）、イネいもち病菌感染組織の RNA-seq 解析によって同定された新奇病原性遺伝子 *MoSVP*、令和 2 年度日本植物病理学会大会（みなし開催（新型コロナウイルスの感染拡大のため大会開催中止））
4) **Saitoh, H.**（招待講演（Video Presentation）；31st July~26th August, 2020~）、RNA-Seq of *in planta*-expressed *Magnaporthe oryzae* genes identifies *MoSVP* as a highly expressed gene required for pathogenicity at the initial stage of infection.、The 6th International Conference on Agricultural and Biological Sciences (ABS 2020)（新型コロナウイルスの感染拡大のため Online Conference として開催）

２０１９年度 東京農業大学 大学戦略研究プロジェクト

研究成果報告書

研究代表者　　関山　絢子

１．研究課題名および予算額

研究課題名	研究領域（キーワード）	予算額(円)
自然災害による農業基盤施設の復旧を目指したGIS構築法の確立	食料生産	1,000,000

２．研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	関山　絢子	地域環境科学部 生産環境工学科・准教授	リモートセンシングによる生産性評価法の検討、災害復旧を目的としたGISデータ整備の評価
研究分担者	江上　親宏	地域環境科学部・教養分野・教授	UAVの空撮画像を用いた画像診断技術の検討
	中島　　亨	地域環境科学部 生産環境工学科・准助教	土壌からみた生産基盤の診断調査
	岡澤　　宏	地域環境科学部 生産環境工学科・教授	災害を対象とした震災被害のデータベース構築
	久保寺　貴彦	大阪産業大学工学部 都市創造工学科・講師	UAVの空撮画像を用いた画像計測技術の検討、

３．研究期間

２０１９年４月１日～２０１９年８月３１日（３年計画の３年目）

４．研究の背景（当初）

近年、国内にとどまらず世界各地で地震、水害、干ばつ等の自然災害が頻発している。国連サミットで採択されたSDGs（持続可能な開発目標）に掲げられている13目標のなかでも防災は3つの目標(9、11、13）に該当しており、世界的にも防災に対する対策が急務であると認識されている。

防災に関する考え方の一つにレジリエンストライアングルがある（久米ら、2016）．時間軸に対して災害の程度となる指標をとると、災害時に災害指標が急激に低下する。その後の復旧対策によって時

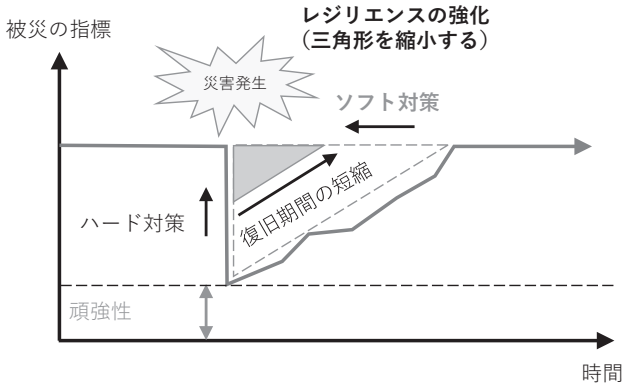


図１ レジリエンストライアングル

間経過とともに徐々に指標が回復する。このときに示される三角形をレジリエンストライアングルと呼び、このトライアングルの面積を如何に縮小するかが防災面で有効な対策であるとされている。すなわち災害復旧を迅速に行うことがトライアングルの面積を縮小する有効な手段となる。

一般的に、震災が発生すると災害査定のために現地調査が行われる。現地調査は災害直後の現場を踏査するため多大な労力と時間が費やされる。そこで、東日本大震災では現地調査の省力化のために航空写真、衛星画像を活用した被害把握が行われるようになった（千田ら、2013)。千田らは、災害復旧活動において農業基盤施設などを空間的に一元化できる GIS の活用は有効な復旧を迅速化する上で重要なツールであることを示したが、現状として、地方自治体では十分な情報整備と GIS を運用できる技術者の確保が現状の課題である。そこで本研究では、豪雨や地震災害による農業基盤施設の復旧を目指した GIS データベースの構築手法を確立することを目的とする．図 2 は本研究が提案する震災発生から復旧計画までのモデルであり、早期の復旧計画策定に向けた KUMAMOTO MODEL とし、どのような GIS データベースを整備すべきか検討する。

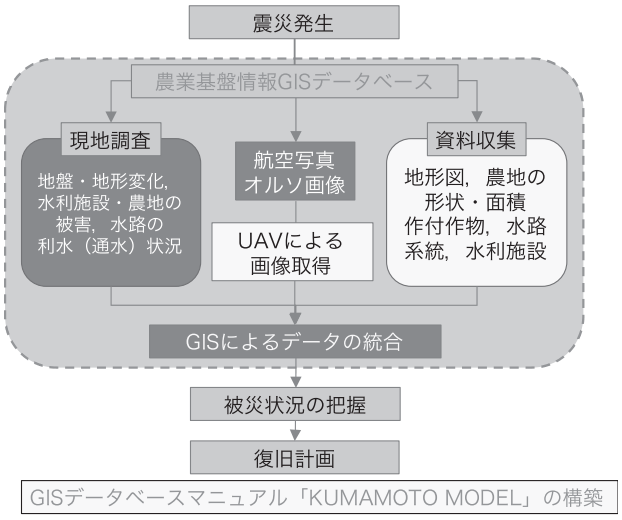


図 2　震災発生から復旧計画までの
コンセプトモデル（KUMAMOTO MODEL）

５．研究目的

本研究では 2016 年 4 月、6 月に発生した熊本地震・豪雨災害をケーススタディとして、農地と水利施設の被害状況を衛星画像、航空測量、UAV(無人航空機)を活用したモニタリング手法によって把握し、復旧に向けた農業基盤情報を GIS データベースとして蓄積するための手法構築を目指している。構築した手法を地方自治体の技術者に適用できるようなマニュアルを作成することを最終目標としている本研究では、既存の農業 GIS データベースの現状や、迅速な農地復旧のために必要なデータに関するアンケートを実施し、運用状況や問題把握を行う。次に、地割れ等の被害を受けた農地は、被害前と比較して生産性が変化することが予想されるが、被害前後および復旧工事後でどのような生産性の変化が起きるかについては明確でない。特に日本のような高い生産技術を用いた農業において、単に作物生産が可能な農地復旧を行うだけでなく、被害前の農業の維持・継続が必要であり、生産性評価が可能なデータを蓄積することが重要である。したがって、本研究では熊本地震の被害を受けた農地を対象に、現地調査および UAV などを用いて農地の被害状況、被害前後および復旧工事後における農地土壌の分析、作物の成長過程やばらつきについてモニタリングし、農地土壌と作物成長の関係を明らかにすることで、生産性評価を行う。UAV を用いた高精度画像データにより圃場単位での生産性評価が可能であり、被害後の作物栽培や農地復旧の技術における問題の整理も期待できる。収集データは既存の GIS データベースに統合し、日本における農業基盤施設の復旧を目指した GIS データベースモデルとすることを目的とする。

本年度は 8 月末までの半年の研究期間であった。したがって、これまでの成果の整理と、昨年度、解析中であったため報告書に記載できなかった農地の生産性評価について報告することとする。

６．研究（実験）方法

図 2 において UAV による画像取得と資料収集に記載したデータの GIS 整備状況について検討をした。UAV による画像取得は簡便で安価に画像取得が可能であるため、震災による被害状況の把握を目的とした UAV の活用法について検討をした。

まず GIS のデータ整備状況の把握を目的としたアンケート調査を実施し、震災後に必要なデータを抽出するとともに、それらの維持管理に関する問題点を抽出することとした。本年度は、日本の地方自治体においてアンケート調査を行い、災害復旧においてネックとなっている懸案事項を抽出することとした。31 都道府県の農業関連部署からアンケート結果を得ることができた．アンケートは地震災害と水害の 2 種類に分けて回答を得た。

また、熊本市東区秋津地区（秋津エリア）を対象に、UAV による生産性評価手法の検討を行った。UAV にスペクトルカメラを搭載させ（図 3)、ダイズ収量の優良地と不良地を撮影した。さらに、土壌診断による農業基盤施設の評価を実施した（図 4)。なお、秋津エリアではようやく農地の復旧工事が大々的に行われており、一部のエリアでしか農業生産が行われていなかった。

図 3　本研究で使用したスペクトルカメラ搭載の UAV

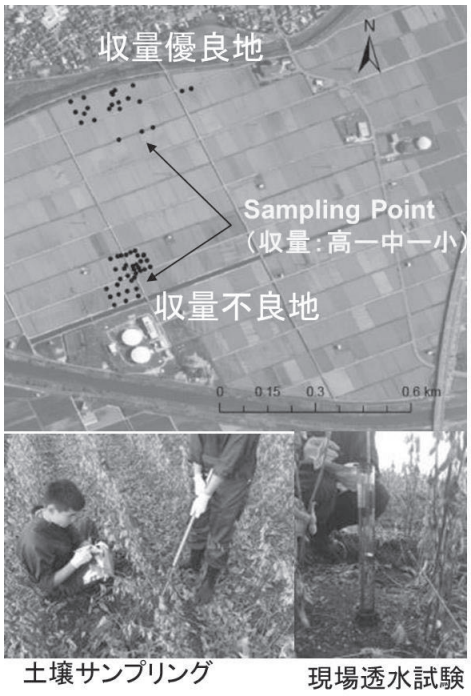


図 4　土壌調査地と調査の様子

７．研究成果

7.1 地方自治体を対象としたアンケート調査

アンケート調査は 31 道府県から回答があった（うち 1 県は土地改良区からの回答）．2000 年以降に災害復旧事業を伴う震災を経験したのは 19 県、水害は全 31 道府県であった。水土里情報システムが整備された 2011 年以降に震災を経験したのは 14 県、水害は全 31 道府県であった。

まず災害種別被害についてまとめると、震災・水害において農地被害の事業件数および被害が最大であった。その他、用排水路、農道、ため池、頭首工、揚水機等の施設被害が大きい事が示された（表 1)。次に災害復旧事業迅速性を調査するため、事業の開始時期を調査したところ、最初の事業への着手が災害発生後の数か月後であり、最後の事業については 6 カ月以上要していた。復旧事業全般が長期に及んでいることが考えられた（図 5)。これらの問題について、想定より時間を要した過程は主に災害情報の収集、査定設計書の作成、復旧工事の着工（発注可能な業者の労働力限界）であることが示され（図 6)、行政の人的なキャパシティ不足が最も影響していることが考えられた（図 7)。その他、農家との対応や余震・悪天候などの要因もあることが分かった。行政の人的キャパシティの問題について、具体的な内

容を調査したところ、多くの自治体で災害復旧事業のさらなる簡素化が最も高く挙げられた（図 8)。その他にも、農村計画の見直し、GIS・UAV の導入や職員の人材育成が挙げられた（図 9)。本課題で取り上げている GIS や UAV による災害復旧の妥当性を見いだすことができた。

表 1　災害種別の被害状況

災害の種類 (震災: n=19, 水害: n= 26)	経験した県の数		復旧事業件数		被害金額（円）		一件当たり平均被害額（円）	
	震災	水害	震災	水害	震災	水害	震災	水害
農地が被災	15	20	12,272	13,656	28,369,119,000	19,345,533,000	2,311,695	1,416,632
用排水路が被災	17	20	4,769	3,282	27,164,949,780	6,131,008,500	5,696,152	1,868,071
農道が被災	12	17	2,845	3,140	892,924,500	6,947,806,000	313,857	2,212,677
ため池が被災	13	13	545	263	767,100,000	2,013,595,000	1,407,523	7,656,255
頭首工が被災	5	16	281	252	3,527,653,000	3,757,867,000	12,553,925	14,912,171
農村生活環境施設が被災	4	1	19	3	314,212,900	154,200,000	16,537,521	51,400,000
農道橋が被災	5	1	15	2	61,225,000	56,000,000	4,081,667	28,000,000
津波による農地の塩害	1	-	13	-	98,086,000	-	7,545,077	-
揚水機が被災	10	7	8	73	598	1,584,274,000	75	21,702,384

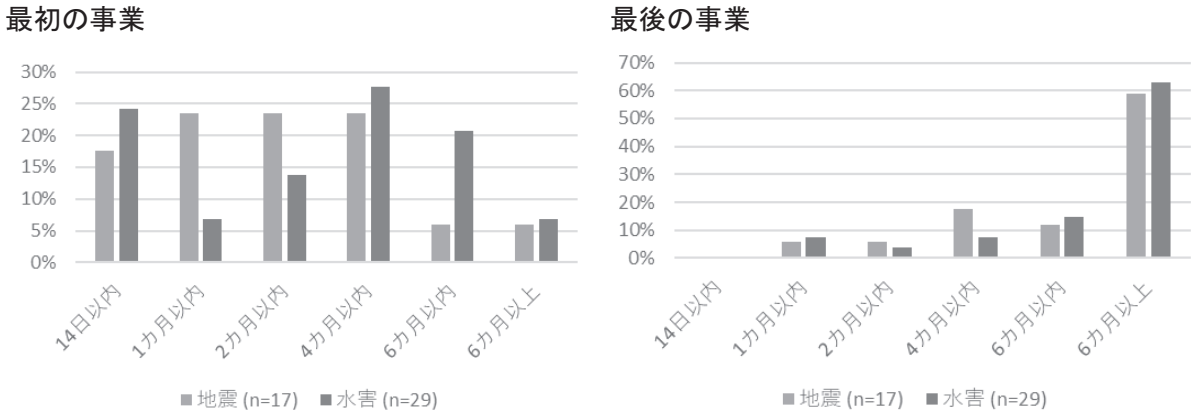


図 5　災害発生後からの復旧事業の開始時期

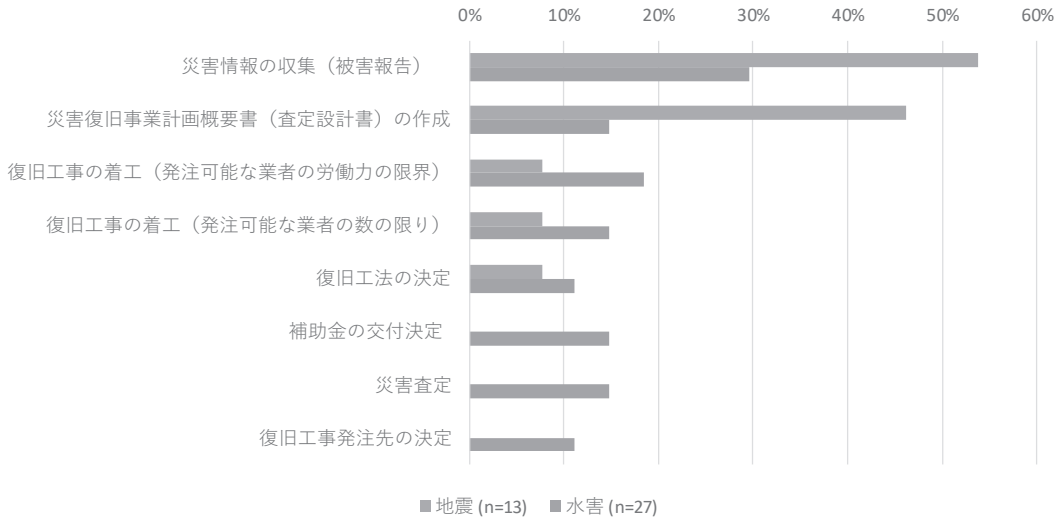


図 6　想定よりも時間を要した災害復旧事業の過程

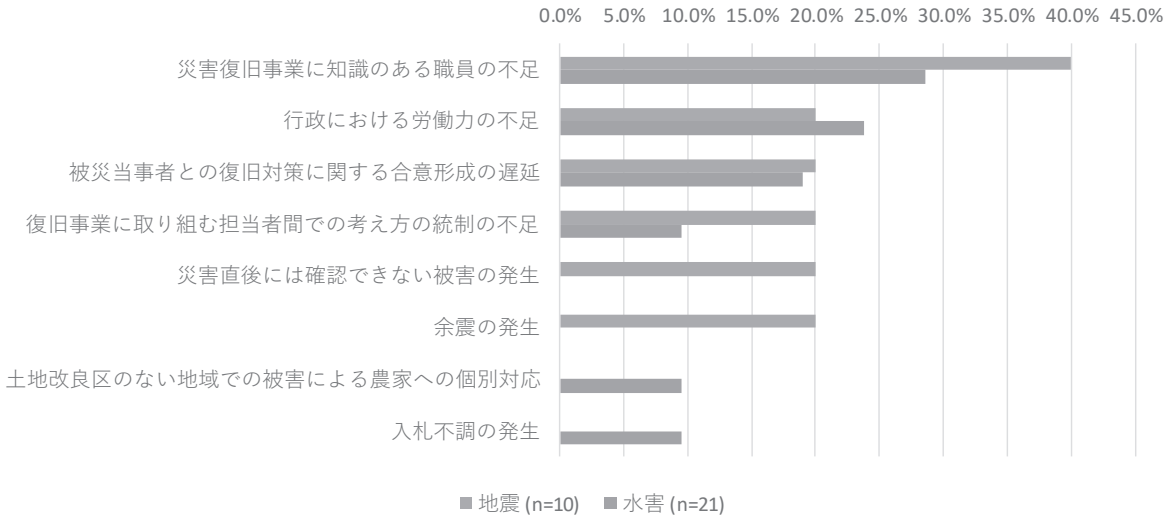


図 7　災害復旧事業が遅延した要因

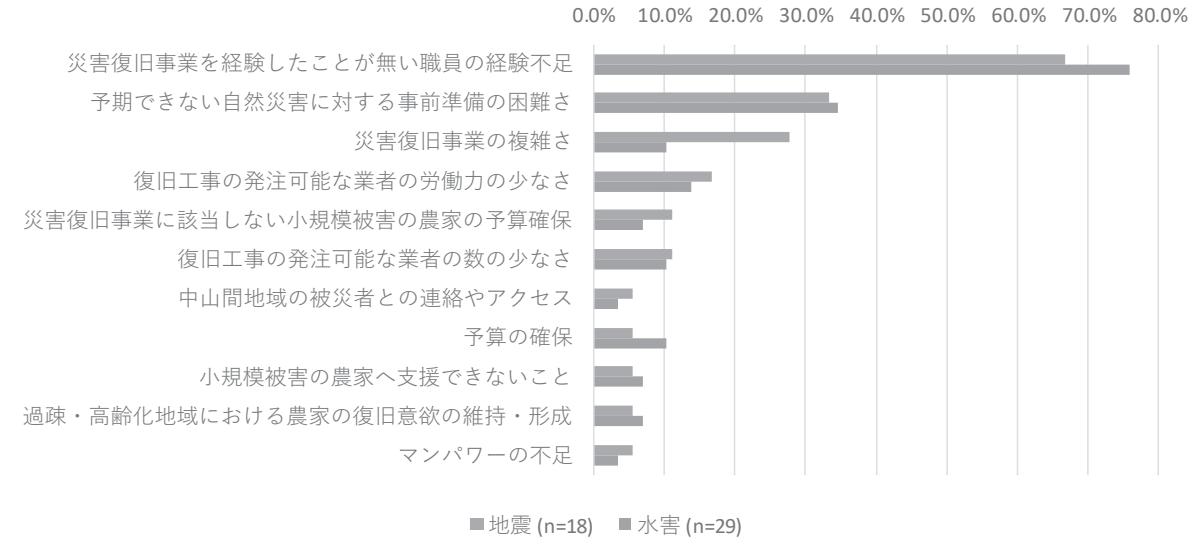


図 8　自治体として災害復旧における対応の困難な点

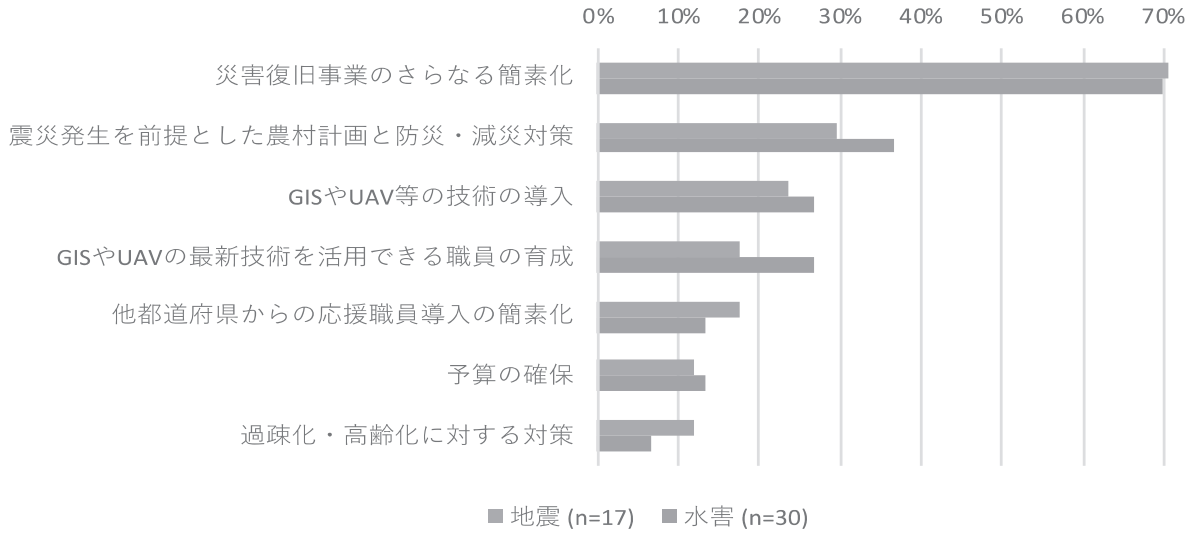


図 9　災害復旧事業の迅速化・円滑化に向けての課題

次に、GIS の活用状況について示す（図 10）。災害復旧事業における GIS の活用は、震災では 14 県中 6 県で活用しているがうち 2 県はほとんど活用していない。また、水害では 29 県中 19 県が活用しているがうち 7 県はほとんど活用していない。平常時にはほとんど GIS を活用していない県ほど、災害復旧事業での活用が限られている実態が明らかになった。

次に、災害復旧事業での GIS データ活用状況について示す（表 2）。一定以上の自然災害において、農地が原形をとどめないほど流失したほか、区画の境界線が不明になる場合があるため、圃場図や地籍図、農地所有者・耕作者、農地面積の情報データや地形図、航空写真の利用状況が高かった。また、震災前の平時からこれらのデータを収集することが迅速な災害復旧事業において重要と考えられる。また、震災前から収集しておくべきと認識されたデータには、農地傾斜度、農地整備状況、農業用水関連情報が挙げられ、これらに関連する施設の情報も平時から情報をデータ化することが重要であると認識されていることが明らかになった。

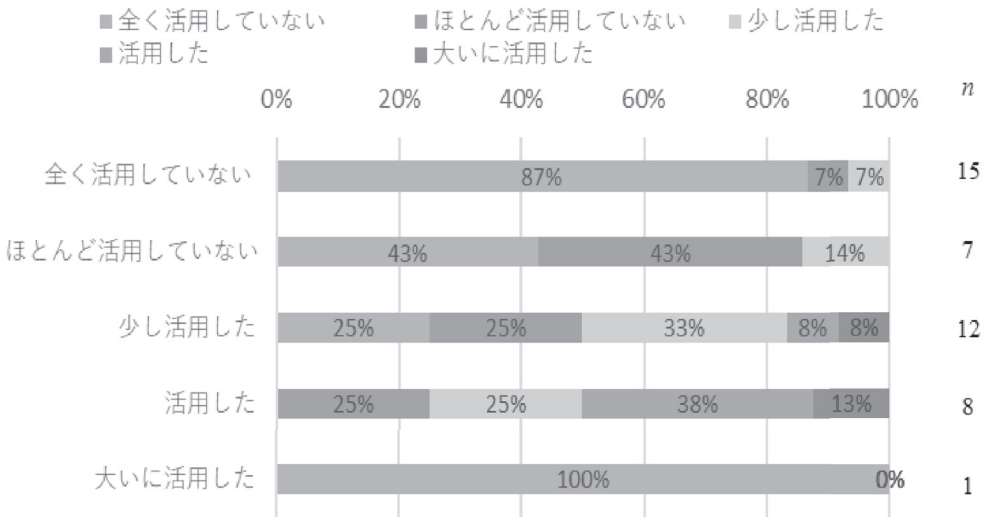


図 10　災害復旧事業での GIS の活用

表 2　災害復旧事業での GIS データ活用状況

	災害前から所有		災害情報の収集に活用		復旧・復興に活用		災害前に収集すべき		災害後すぐ収集すべき	
GISデータの種類	Eq (n=14)	Hy (n=30)	Eq (n=5)	Hy (n=12)	Eq (n=4)	Hy (n=7)	Eq (n=12)	Hy (n=20)	Eq (n=11)	Hy (n=21)
農地傾斜度	0%	3%	0%	0%	0%	0%	8%	10%	9%	14%
農地整備状況	7%	43%	20%	17%	25%	0%	25%	25%	27%	19%
農業用水関連情報	0%	23%	0%	8%	0%	14%	42%	55%	27%	29%
所有・耕作者情報	7%	13%	40%	8%	25%	14%	67%	50%	27%	29%
作付作物情報	0%	7%	0%	0%	0%	0%	33%	5%	9%	0%
営農履歴情報	0%	0%	0%	0%	0%	0%	8%	5%	0%	10%
圃場図・地籍図	21%	33%	80%	33%	75%	29%	42%	40%	18%	43%
農業用用排水施設	14%	60%	40%	25%	50%	14%	42%	30%	36%	29%
地形図	14%	60%	60%	50%	50%	43%	42%	45%	27%	33%
ハザードマップ	0%	13%	0%	0%	0%	0%	0%	10%	0%	10%
農地面積	14%	27%	40%	25%	50%	43%	42%	55%	18%	33%
地滑り防止区域	0%	17%	0%	0%	0%	0%	25%	15%	27%	14%
土地利用図	0%	17%	0%	8%	0%	14%	8%	15%	18%	19%
土壌図	7%	13%	20%	0%	0%	0%	8%	10%	9%	10%
衛生画像	7%	0%	0%	8%	0%	14%	0%	15%	9%	14%
航空写真	21%	57%	60%	67%	75%	71%	25%	45%	36%	43%
UAVによる取得画像	0%	3%	0%	17%	0%	14%	0%	10%	9%	24%
レーザープロファイラ測量データ	7%	0%	20%	0%	25%	0%	0%	5%	9%	5%
デジタルオルソ画像	7%	3%	20%	0%	25%	0%	0%	0%	0%	0%

7.2 UAV による地形把握、生産性評価手法の検討

秋津地区においてUAV による撮影を行った。また、UAV にマルチスペクトルカメラを搭載し、農地における植生の活性度を解析する方法を試みた。秋津地区では大規模な復旧工事が行われていたため、ダイズを生産していた一部の圃場でのみ撮影を行った(図 11)。植生の活性度の指標には NDVI(正規化差植生指数)を使用している。これは、地表からの赤色の反射光と近赤外線域の反射光から算出され、植物の活性度を可視できる数値である(赤色は植生の活性度が高いことを示している)。更に赤色の反射光とレッドエッジ(赤色と近赤外域の間)の反射光の比とダイズ重量との相関が認められた(図 12)。赤とレッドエッジの比を植生指数として、収量予測に利用できる可能性が示された。

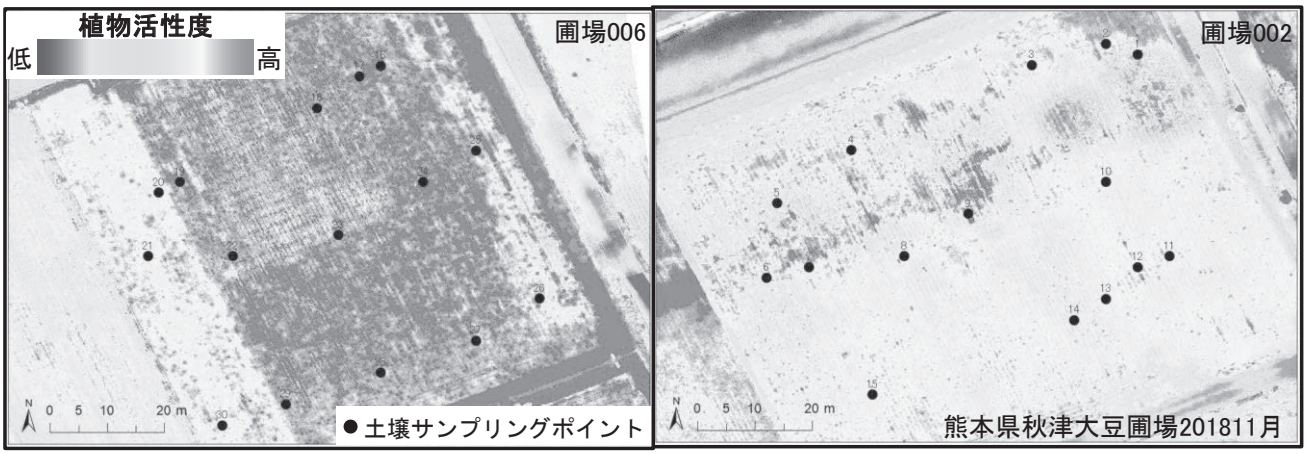


図 11　2018 年 10 月における UAV 空撮画像を用いた植物活性（NDVI）分布と土壌サンプリングポイント

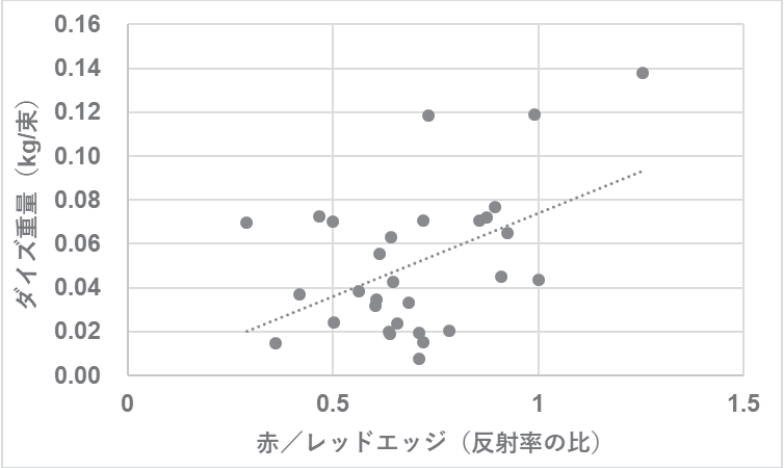


図 12　ダイズ重量と赤/レッドエッジの関係

7.3 生産基盤の被害診断

秋津地区において大豆栽培が行われた圃場内において計 30 地点の土壌サンプリングを行った。その際、圃場 A(15 サンプル)と圃場 B(15 サンプル)の 2 つの圃場を対象として、それぞれ土壌の物理性(土壌硬度、乾燥密度、生長友好水分量、平均重量直径、透水係数)、化学性(pH、電気伝導度)と生物性(土壌呼吸量)について比較を行った。そのほか、土壌サンプリングをした近くのダイズ株の収量も計測した。その結果、圃場 A の収量は 0 ~ 3,000 kg/ha、圃場 B の収量は 0 ~ 6,000 kg/ha の範囲でばらつきが認められた(図 13)．また圃場 A は圃場 B と比べて、収量が少ないことが示された。

次に、ダイズ収量と、各土壌特性との関係を把握するため、相関係数を求めた。その結果、収量に対して土

壌硬度、生長有効水分量、pH、電気伝導度に有意差が示された（図 14）。収量と土壌高度の関係では、負の相関が認められ、土壌硬度の増加に伴い収量が低下することを意味しており、高い土壌硬度はダイズの根系の発達が阻害されダイズの生長に影響を及ぼすことが考えられた。収量と生長有効水分量の関係では、強い正の相関が認められた。したがって成長有効水分量が小さい地点ではダイズの生長に大きく影響することが考えられた。収量と pH の関係では正の相関が示された。ダイズ栽培に最適な pH は 6.0~6.5 であることを示した既往の研究があるが、対象圃場において、この値に達してない地点が多く存在した。また、土壌の pH が高いほど根粒の窒素固定能力が増し、収量に影響を及ぼすことも知られているため、本研究においても同様の影響が考えらえた。収量と電気伝導度の関係においては、正の相関が認められた。農林水産省によると、ダイズ栽培の適正電気伝導度は 100 μ S/cm であるとされており、電気伝導度は土壌中の塩分濃度の指標となる。本研究の対象圃場における電気伝導度は 40~90 μ S/cm と、適正値を下回っていた。土壌中の水溶性塩類が少ないため、ダイズの生育に影響を及ぼした可能性が考えられた。

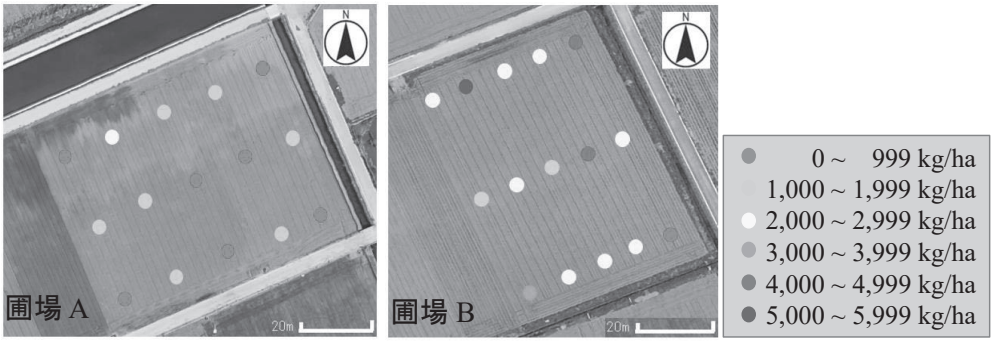


図 13　各圃場のダイズ収量分布

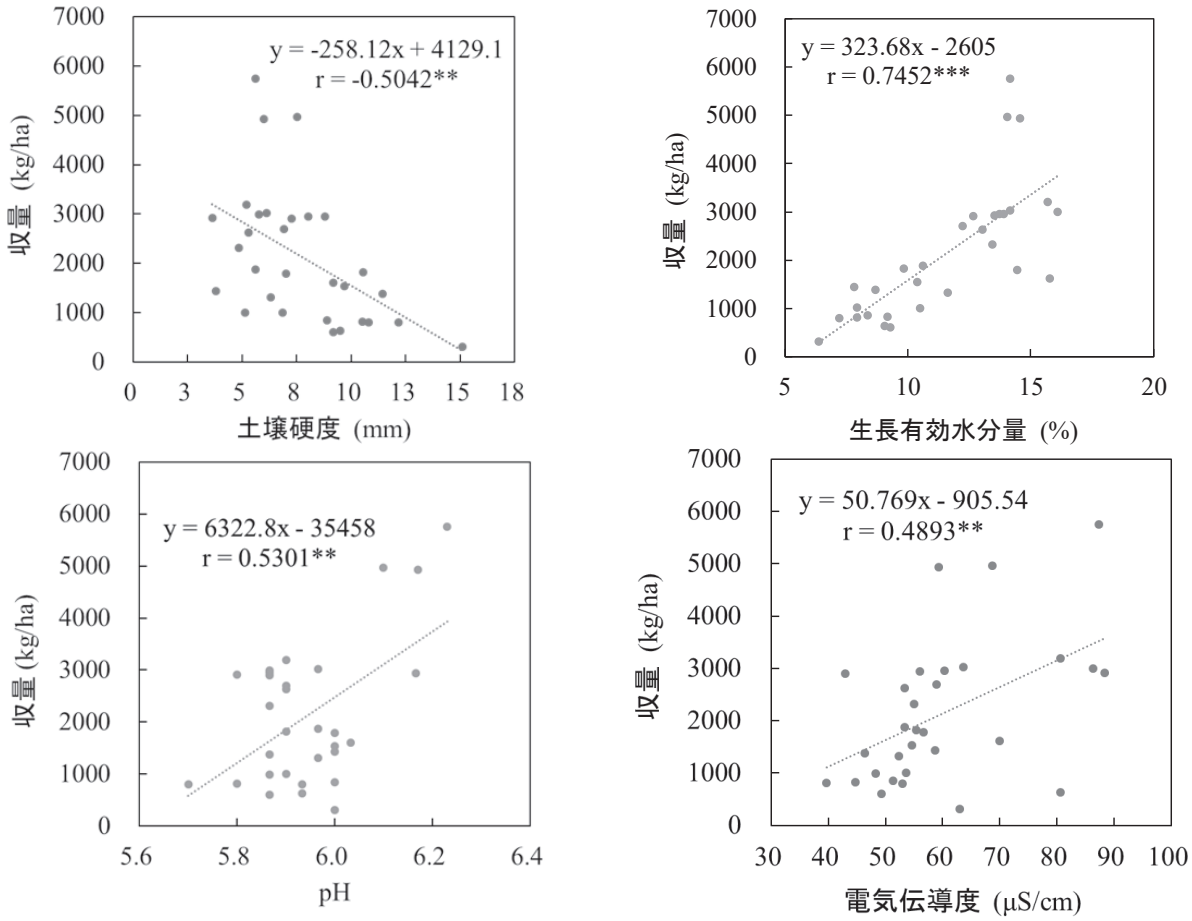


図 14　ダイズの収量と各土壌特性との関係

８．実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

研究成果の一部を招待講演として、第 3 回 東海大学農学部・東京農業大学農学部 ジョイントセミナー（2018 年 11 月 12 日厚木市）において公表をした。

９．残された問題点と今後の研究推進方策

GIS データベース整備については、全国の自治体や土地改良区の方々によるアンケートへの協力を賜り、災害前後で必要な情報について整理することができた．GIS データベースモデルとして学会などでの発表を行っていきたい。

UAV 空撮画像を用いた生産基盤としての農地の被害や生産性の評価について、現地調査が十分に行えなかった。そのため、対象圃場の経年変化解析を行うことができなかったが、土壌特性と収量の関係については明らかになった点があるため、論文にまとめる予定である。本研究の対象圃場は、既に復旧工事が終了し、地震前に行っていた水稲栽培が再開する予定である。一方で、熊本県内でも未だに復旧工事が終了していない農地もある。今後も機会を作ってそのような農地において現地調査を行っていくことで、被災した農地の生産性における UAV 空撮画像による評価を試みる予定である。

１０．公表した成果一覧

学術論文

1）Koji MIWA、 Ayako SEKIYAMA、 Toru NAKAJIMA、 Takahiko KUBODERA、 Chikahiro EGAMI、 Hiromu OKAZAWA、 Issues of Disaster Recovery Management and Application of GIS and UAV for Resilience in Agricultural Land and Facility (2018)、 Volume 9-2、 International Journal of Environmental and Rural Development、 pp.114 - pp.121

学会発表

1) Koji MIWA、 Hiromu OKAZAWA、 Ayako SEKIYAMA、 Machito MIHARA. Issues and Potential of Disaster Prevention for Small-scale farmers in Rural Area: Case of Kampong Cham、 Cambodia. The 10th International Conference on Environmental and Rural Development、 14th. Feb. 2019.

2) Toru Nakajima、 Ayako Sekiyama、 Hiromu Okazawa、 On-farm Assessment of Soil Health in Kumamoto Japan、 The 21st World Congress of Soil Science、 Aug. 2018 at Brazil.

3) Bim Prasad Shrestha and Hiromu Okazawa、 Field Survey and Development of GIS Database for Agricultural Infrastructure Information on Rural Areas Affected by the Kumamoto Earthquake 、 International Conference “ASIAN Community Knowledge Networks for the Economy、 Society、 Culture and Environmental Stability”、 8-12 July 2017、 Miyazaki、 Japan

4) Koji MIWA、 Ayako SEKIYAMA、 Toru NAKAJIMA、 Takahiko KUBODERA、 Chikahiro EGAMI、 Hiromu OKAZAWA、 Issues of Disaster Recovery Management and Application of GIS and UAV for Resilience in Agricultural Land and Facility、 The 9th International Conference on Environmental and Rural Development、 24th -25th February 2018、 Myanmar

5) Toru Nakajima、 Ayako Sekiyama、 Takahiko Kubodera、 Chikahiro Egami、 Koji Miwa、 and Hiromu Okazawa、 Soil Health Assessment of Soil under Miscanthus × giganteus Cultivation、 The 9th International Conference on Environmental and Rural Development (ICERD)、 at Yezin Agricultural University、 24th

-25th February 2018、 Myanmar

6) Ayako SEKIYAMA、 Takahiko KUBODERA、 Koji MIWA、 Hiromu OKAZAWA、 Toru NAKAJIMA、 Chikahiro EGAMI. Evaluation of Measurement Precision for UAV imagery based on structure from motion. Desert Technology 13、 Pondicherry、 11th – 17th March 2018、 India.

招待講演

1) 岡澤　宏・関山絢子： 農地の災害復旧に対するレジリエンスの強化と UAV による農地管理、第 3 回 東海大学農学部・東京農業大学農学部 ジョイントセミナー、2018 年 11 月 12 日、神奈川工科大学 IT エクステンションセンター

２０１９年度 東京農業大学 大学戦略研究プロジェクト

研究成果報告書

研究代表者　　武田　晃治

１．研究課題名および予算額

研究課題名	研究領域 （キーワード）	予算額（円）
「農大版 A-STEM 教育プロジェクト」の研究・開発	生物多様性、食の安全、地域、国際	1,930,000

２．研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	武田　晃治	教職課程・准教授	研究計画・教材開発・授業実践・渉外
研究分担者	緩利　真奈美	教職課程・助教	研究計画・プログラム・渉外
	實野　雅太	教職課程・助教	研究計画・教材開発
	古庄　律	国際食料情報学部 国際食農科学科・教授	研究計画・教材開発
	内野　昌孝	生命科学部　分子微生物学科・教授	研究計画・教材開発
	竹内　将俊	地域環境科学部 地域創成科学科・教授	研究計画・教材開発

３．研究期間

２０１９年４月１日～２０２０年３月３１日（３年計画の３年目）

４．研究の背景（当初）

2010 年頃から米国では STEM 教育が重視され、国家戦略として大学や学校との連携が広く進められている。STEM とは（科学：Science、技術：Technology、工学：Engineering、数学：Mathematics ）を指し、科学技術分野の人材育成に関連する教育・教員養成・職業指導等の充実を目指す多様なプロジェクトや活動の総称である。近年では東アジア・欧州諸国においても関心が寄せられ、高等教育機関を中心に研究が進められている。ただし、農学を基礎とした STEM 教育は前例がなく、本学は独創的な研究開発を行う素地を有していると考えた。

これまでの中等教育「理科」における生物の「色素」に関する教材では、色素の pH による色調変化や光合成色素の分離実験が行われてきたが、それら多くの教材研究は既存の教科書や指導書にある実験例の改善に留まっている。また、色素の光合成以外の機能やその存在意義に着目し、農学を基盤とした

STEM 教材は前例が見当たらない。そこで本研究では本学の強みを生かし、食と科学を扱う農学（Agriculture）を STEM 教育に融合した A-STEM 教育としての研究開発を教職課程と学科との「協働プロジェクト型研究」で展開し、身近な食材や生物の色素に着目した実験教材を開発し、色素の機能的な有用性からみた生物学的存在意義や栄養学的な面を考察できる教材・カリキュラム（単元）開発を行うこととした。研究の柱は基礎と応用に分かれ、基礎研究をベースとして研究開発したものを応用研究で発展させることを目指した。

５．研究目的

本研究の目的は、学校・社会の場で広く「科学的に探究する能力と態度」を育成するための農大版科学教育プロジェクトの立案・研究開発を行うことである。そのために本研究では近年の科学教育のキーワードのひとつである STEM 教育の知見を応用し、「農大版 A-STEM 教育プロジェクト」としての研究・開発を行いたいと考える。

＜基礎研究＞　　教材・カリキュラム（単元）の開発研究

＜応用研究＞（１）A-STEM 分野の教職を志望する本学学生への教員養成方法研究

（２）社会貢献活動としての地域・周辺学校との連携活動

（３）海外の先進事例校を対象とした国際比較研究　を行う予定である。

具体的には「生物色素」の色と機能の多様性に着目した研究テーマで「生物育成」と絡めた科学教育教材を開発する。それら教材を用いて理科教育・技術科教育・農業科教育における「生物飼育」・「食物連鎖」・「食育」を総合的に学ぶことができ、農大の独創的な科学研究の知見を生かした科学教育分野の発展的教材・カリキュラム（単元）として広く発信する。

６．研究（実験）方法

＜基礎研究＞　教材・カリキュラム（単元）の開発研究

本研究が着目する STEM 教育とは、米国で 20 世紀初頭に隆盛した進歩主義教育思想を哲学的背景とする教育プログラムである。進歩主義教育では子どもの「経験」を基礎に置き、子どもの学習過程における「発見」を特に重視した学習原理となっている。一時期、日本においても 1960 年代から 1970 年代のカリキュラムで具現化されている。教育方法として協働的に行う探究学習を重要視しているので、本研究においても、子どもの科学的思考の深まりを協働的に探究していくカリキュラム（単元）を開発する予定である。本研究が生み出す単元はそれぞれの分野（S：理科、T：技術、E：工学、M：数学）をコアとしており、それらを統合する学問として基軸となるのが農学である。

①　食物連鎖における色素の生物濃縮に着目した実験教材の開発（武田・古庄・内野・實野・竹内）

１）高速液体クロマトグラフィー（HPLC）による色素の同定

昨年度までに白色のアメリカザリガニを用いて、前年度までに行った色素の生物濃縮による体色変化の可視化に最適な色素として、アスタキサンチン、クチナシ黄色素、アナトー色素、パプリカ色素が明らかとなった。

そこで本年度は、アスタキサンチン色素含有餌により赤・青色に体色変化するアメリカザリガニと白色のままのアメリカザリガニ、３系統の脱皮殻および糞から色素の抽出を行い、HPLC によりアスタキサンチンの代謝産物の確認を行う。それらからの色素抽出はアセトンにて行い、ドラフト内にて気化させる。得られた色素をメタノールに溶解し、フィルター濾過後に HPLC にインジェクションを行う。分

離条件は、SenshuPak PEGASIL ODS SP100 4.6φ×150mm を用い、40℃、1 ml/ ml で 100%メタノールを一定送液で行い、470 nm の吸収波長で測定する。

2）遺伝子・タンパク質教材としての白色ザリガニの繁殖

赤・青・白系統ごとの純系ラインを作出し、遺伝子・タンパク質教材としての教材開発を行う。赤・青系統においては、アスタキサンチン結合タンパク質の発現の有無による体色の違いが考えられる。そこで純系ラインのそれぞれから遺伝子抽出を行い、アスタキサンチン結合タンパク質のゲノムでの有無もしくは発現に着目した教材開発を行う。白系統においては、アスタキサンチンの吸収に関わる遺伝子・タンパク質の異常が考えられる。そこで、白色系統の遺伝子・タンパク質の解析を行い、その要因に着目した教材開発を行う。

赤・青系統の見た目の表現型の違いを観察する教材として、赤・青系統同士の交配を試み、産まれてきた稚ザリガニにアスタキサンチン含有餌を給餌し、どちらが顕性・潜性かを推察する。

3）技術科領域の生物育成に関する飼育道具開発

技術科領域において、水生生物であるザリガニを対象とした生物育成教材とプログラミング教材の開発を行う。まず生物育成教材として、ザリガニの育成及び管理に必要な生育要素となる餌に着目し、飼育管理の中で手間となる給餌を一定時間間隔で行う自動給餌装置を作製する。自動給餌装置は校種による発達段階の違いを考慮し数種類のマイクロコンピューター(マイコン)の導入を検討する。また、自動給餌装置で使用する餌の成型も容易にできるよう成型器の製作も行う。

② 農大版 A-STEM 教育のカリキュラム開発（武田・緩利・實野・古庄・内野・竹内）

農大版 A-STEM 教育として、農学を基盤とした S（Science 生物・化学）T（Technology 技術）E（Engineering 工学）M（Mathematics 算数・数学）の教科領域を横断するカリキュラムを開発したいと考えている。学習内容は生物を対象とした食・環境に関連する内容とし、また単独のカリキュラムではなく数種類のカリキュラム（単元）を開発する。そのために、カリキュラム開発及び教育方法上の理論的基盤として、プロジェクトベースドラーニングの理論的検討を行う予定である。

＜応用研究＞

(1) STEM 分野の教職を志望する本学学生への教員養成方法研究（武田・緩利・實野）

教員養成における課題のひとつが学生による単元づくり、授業づくりをいかに教えるのかという方法論である。教職課程講義科目である「理科・技術科教育法」や「教育方法論」の場において、本研究の取り組みや開発教材を講義・解説することで、教職を志望する学生の学びに役立てる。

(2) 社会貢献活動としての地域・周辺学校との連携活動（武田・緩利・實野）

本研究で開発した単元や教材は本学の存する地域・周辺学校の授業の場で提供したいと考えている。その際には実際上の課題や困難点について分析し、どのような形式が最も地域の教育活動に資するのかについて考察を行う。

(3) 海外の先進事例校を対象とした国際比較研究（武田・緩利・實野）

昨年に引き続き、海外の先進事例を調査し、本プログラムの改善に示唆を得ることを目的とする。また、各国の科学教育の現状、特に大学と学校間における教育実践研究の現状について調査を行い日本との差異を比較検討する。

７．研究成果

① <u>食物連鎖における色素の生物濃縮に着目した実験教材を開発</u>（武田・古庄・内野・實野・竹内）

１）高速液体クロマトグラフィー（HPLC）による色素の同定

アスタキサンチンにより赤・青に体色変化させたザリガニおよび白色のままの３系統のアメリカザリガニの脱皮殻と糞を採取した。それらからアセトンにより色素抽出を行い、ドラフト内で気化させ、HPLC による殻と糞に含まれる代謝産物（アスタキサン）の観察を行った。

赤・青系統の脱皮殻においては、フリー体のアスタキサンチンのみが顕著に観察された。これは昨年度薄層クロマトグラフィー（TLC）で観察した実験データと同様であった。白いままのザリガニの脱皮殻からは見た目同様、アスタキサンチンはほぼ検出されなかった。一方で、赤・青・白系統の糞の分析では、どの個体由来からも同様にフリー体のアスタキサンチンが顕著に検出され、餌に多く含まれるアスタキサンチンモノエステル、アスタキサンチンジエステルのピークはほとんど検出されなかった（図1)。昨年度の TLC では、フリー体のアスタキサンチンだけでなく、アスタキサンチンモノエステル、アスタキサンチンジエステルも観察されていた。これは個体による餌の摂取量や消化量の違いで未消化のエステル体が排出された結果と考えられた。HPLC および TLC の脱皮殻と糞の解析により、3 系統の個体による消化は同様であるが、赤・青系統の体内へはフリー体のアスタキサンチンの形で吸収され、白系統はアスタキサンチンを吸収していないことが推察された。

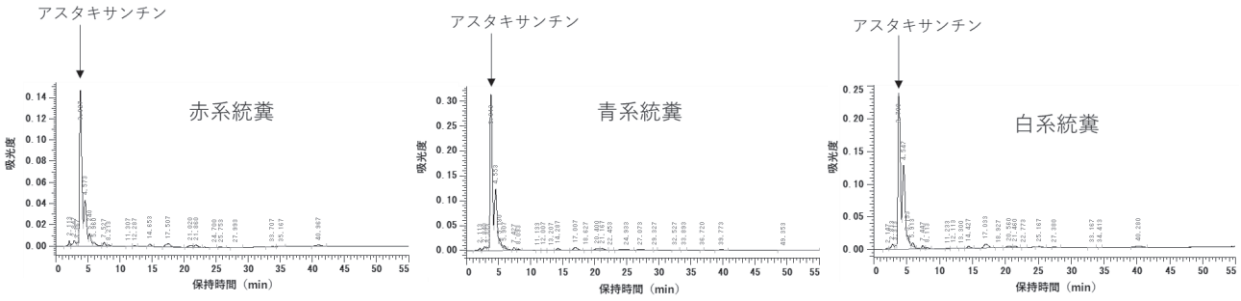


図 1．3 系統の糞に含まれる代謝産物（アスタキサンチン）

東北大学大学院の牧野教授との共同研究により、白色ザリガニのゲノム中にはヨーロピアンロブスターに見られるアスタキサンチン結合タンパク質（Crustacyanin-A1 subunit, Crustacyanin-C1 subunit）に相同性を有する配列の存在が確認された。また、青系等の脱皮殻をゆでると赤系統と同様の色に変化した。このことから、赤・青系統はアスタキサンチンを体内に吸収した後、アスタキサンチン結合タンパク質が発現している青系統は青くなり、発現していない赤系統は赤くなることが示唆された。よって、それぞれの系統群にはアスタキサンチン結合タンパクの有無や吸収機構に遺伝的な違いがあることが推察された。

２）遺伝子・タンパク質教材としての白色ザリガニの繁殖

赤・青・白系統の純系ラインを得るために繁殖を試みている。赤・青系統は昨年度までに繁殖に成功しており、現在も純系ラインの作出を行っている。しかしながら、白系統においては交尾までは成功しているが、産卵・孵化には至っていない。今後は、それぞれの系統を作出し、遺伝子・タンパク質教材開発の研究を行っていく。

今年度は、赤と青系統同士の交配を試みたところ、約 200 匹の稚ザリガニが孵化した。これらの中から無作為に 77 匹を選別しアスタキサンチン含有餌を与えたところ、飼育途中で死亡したものを除き、全ての個体において青系統の初期の特徴として観察されるハサミや節の箇所が青くなった。このことから、赤よりも青系統の方が顕性遺伝であることが示唆された。

3）技術科領域の生物育成に関する飼育道具開発

公立小中学校における実験教材としてのザリガニなどの生物を飼育・管理するために、初学者向きのマイクロコンピューター（マイコン）である micro:bit（マイクロビット）と MESH（メッシュ）を使った生物槽監視装置を考案した。マイコンの選定に関して、RaspberryPi や Arduino などはより高度な作業が可能であるが、公立小中学校での設定やセッティングの容易さ、ビジュアルプログラミング可能な点などから micro:bit と MESH が適していると考えたためである。各校種において授業実践を行う場合に適しているマイコンを分類すると以下の表のようになる。

校種	使用マイコン	理由
小学校	MESH	MESH の方がより直感的な操作が可能であるため、小学生に適している。
中学校	micro:bit・MESH	micro:bit は MESH よりも複雑な動作も可能なので、中学生以上の発想を活かしやすい。
高等学校	micro:bit	Python によるプログラミングでより高度な飼育装置の考案が可能である。

micro:bit と MESH は双方ともタブレット端末でもプログラミング可能であり、micro:bit はプログラミングをインターネット上で行えるのでソフトウェアのインストールが不要である。プログラムを hex ファイルで学校サーバー上に保存できることからも学校現場でも使用しやすい。さらに、高等学校のレベルにあっても micro:bit は JavaScript や Python という C 言語でプログラミング可能なので高等学校でも活躍出来うるものである。MESH はタブレット端末を介してデータをクラウド上に保存可能であることや、タブレット端末のカメラと連携することが可能で飼育の様子などを一定時間間隔で撮影することも可能である。ここでは micro:bit を用いた飼育装置(図 1 左)を紹介する。micro:bit が一定時間間隔でサーボモーターを回転させ、穴から餌を落とす仕組みとしている。PCA9865 搭載サーボモータードライバーボードによりサーボモーターを 16 個同時に制御でき、ザリガニの違いに応じた給餌タイミングを変更することが可能となっている。次に餌成型用のミンサー(図 1 右)を製作した。市販品のミンサーでは元々のプレートの穴では目標とする餌の太さや長さにできないことから、プレートに穴を小さくした追加プレートをエクステンションし、手動で任意の長さの餌を切り出すことが可能な装置とした。

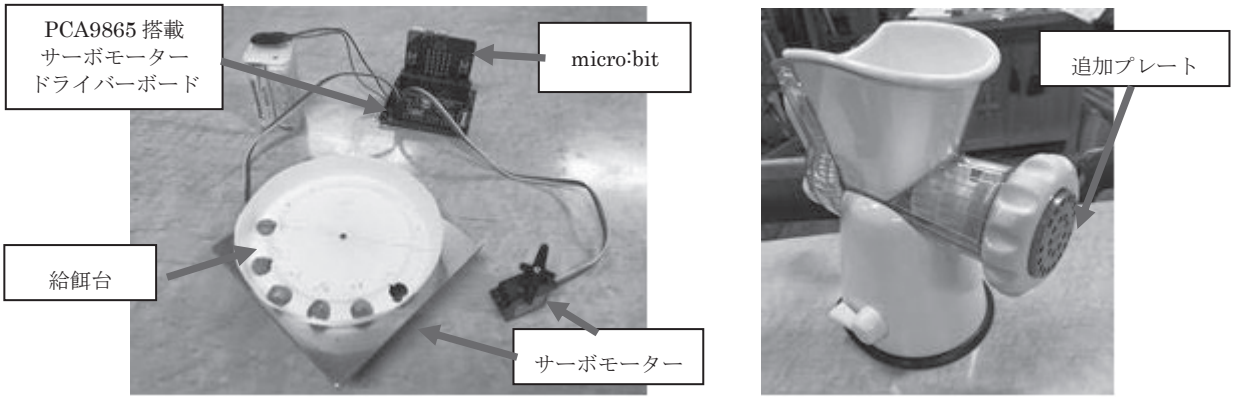


図 2.　左）micro:bit による自動給餌装置、右）餌成型用ミンサー

②　農大版 A-STEM 教育のカリキュラム開発（武田・緩利・實野・古庄・内野・竹内）

現在、S 分野の内容として、生物育成、化学・遺伝学的実験の教材開発および理科教育の単元作成が進んでいる。また TEM 分野に関わる生物育成装置の開発を試みている。以下に構想している授業テーマおよび内容について記載する（表 1)。

表 1　農大版 A-STEM 教育カリキュラム

A（農学領域）	対象生物	STEM 領域		授業
「生物の色」 カロテノイド色素	ザリガニ	生物育成	生態環境調査	身近な生き物
			遺伝実験（交配、PCR）	生き物の体色
			理科実験（色素の分離）	食物連鎖（生物濃縮）
			飼育装置開発	プログラミング
			調理・栄養	食育

＜応用研究＞

（1）　A-STEM 分野の教職を志望する本学学生への教員養成方法研究

教職課程講義科目である「理科教育法」の場において、具体的な色付きザリガニの作出方法や本教材を活用した授業内容についての解説を行い、農学を基盤とした教材開発の事例として活用した。

（2）社会貢献活動としての地域・周辺学校との連携活動

本研究で開発したアスタキサンチンなどの色素により体色変化したザリガニの紹介やその脱皮殻と餌からの色素抽出法や化学的に検出する実験手法について、教員免許状更新講習で紹介を行った。相馬市の子ども科学フェスティバルではカラフルザリガニの紹介、新・才能の芽を育てる体験学習ではカラフルザリガニの紹介や餌つくりを世田谷区の小学生 20 名を対象に実施した。

（3）海外の先進事例校を対象とした国際比較研究

昨年に引き続き、米国の教育制度と科学教育を中心に、STEM の推進方策についての調査を進めた。前年度の調査にご協力頂いたミシガン州立大学のクレイチェック教授が病気療養中のため、今年度は文献検索と解題を中心に行った。その結果、米国では STEM 教育の次のフェーズとして、芸術性を付加価値としておく観点が示されていることが明らかとなった。日本の場合は科学教育と芸術教育との領域間の明確な隔たりがあるため困難であるが、「工作やものづくりを通した感性教育」という点で新たな領域を開発する意義を整理している。

８．実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

・教員免許状更新講習（対象：中高教員 48 名、令和元年 8 月 7，8 日、実施者：武田）
　内容：色付きザリガニの作出法や紹介
・2019 相馬市子ども科学フェスティバル，いろいろな色の生き物　観察と実験
（対象：一般、令和元年 8 月 17 日、実施者：武田）内容：カラフルザリガニの紹介
・新・才能の芽を育てる体験学習「生き物の色や形の意味を考えよう！」
（対象：小学生 20 名、令和元年 9 月 15 日、実施者：武田）
　内容：カラフルザリガニの紹介・餌つくり

９．残された問題点と今後の研究推進方策

＜基礎研究＞

教材・カリキュラム（単元）の開発研究

① 食物連鎖における色素の生物濃縮に着目した実験教材を開発（武田・古庄・實野・内野・竹内担当）：

アスタキサンチン含有餌の給餌により 3 通りの色を示す白色ザリガニの遺伝学的アプローチの研究として、東北大学大学院生命科学研究科の牧野能士教授と本学農学部生物資源開発学科小松憲治先生と共同研究により要因遺伝子の発現解析を行い、遺伝分野の学術研究およびその知見を用いた新たな教材化を目指す。

色素の生物濃縮による体色変化を科学的に検証するための教材開発として、早い段階での色調変化の可視化に適した色素（クチナシ黄色素、アナトー色素）の脱皮殻の薄層クロマトグラフィー（TLC）および HPLC による最適な分離条件を確立する。また、本研究知見を基に、生物の色に着目した教材として、サケ科魚類や爬虫類など他生物へと展開していく。

② 農大版 A-STEM 教育プログラムの開発（武田・緩利・實野・古庄.・内野・竹内担当）：

ここでは上記教材を活用する教育プログラムの開発・検討を行う。教育プログラムのテーマは、「生物濃縮における色素の多様性や食における有用性・安全性の探究及び理解」である。各学校段階に応じた「問い」を生成し、観察・実験を通じて理解・探究する授業を構想する。

＜応用研究＞

(1) A-STEM 分野の教職を志望する本学学生への教員養成方法研究

教職課程講義科目である「理科教育法」や「教育方法論」の場において、本研究の取り組みや開発教材を講義・解説することを通じて、教職を志望する学生の学びに役立てる。

(2) 社会貢献活動としての地域・周辺学校との連携活動

本学の存する地域・周辺学校との連携に基づき、先述した農大版 A-STEM 教育プログラムの実践を行う。例えば高校生では「なぜザリガニは赤いのか」という問いを解決するために「飼育活動」、「体色変化の継時観察（餌由来の生物濃縮過程）」「脱皮殻の熱処理」「殻や肉から抽出した色素の TLC」などの実験活動をプログラムに配列し、問いについて多様な角度から探究させる。

(3) 海外の先進事例校を対象とした国際比較研究

計画では、アメリカに次ぐ科学教育の拠点としてシンガポールを想定していたが、現状では、アジア地域への渡航が難しいため、他の代替地を検討している。また、アメリカ国内でもミシガン州以外の地域について調査対象となる場を検討している。

色素を用いた農大版 A-STEM 教育プログラムとしての研究成果報告

「科学的に探究する能力と態度」を育成するための農大版 A-STEM 教育プログラムを提案する。開発した実験教材は各学校段階で独立・分離したものではなく、植物色素の抗酸化等の機能的な面で一貫性を有している。これらは学会発表及び学会誌への投稿等を通して成果報告を行う。

１０. 公表した成果一覧

著書

1）武田晃治（2019，分担執筆）「新指導要領対応　新訂　授業に活かす！　理科教育法ー中学・高等学校編ー」　6 章 5 節　教材開発物語 3 生物の色素に着目した生物濃縮，pp180-185．東京書籍

2）武田晃治（2019，分担執筆）「特別活動と総合的な学習」第 5 講　現代的な諸課題に対応する横断的・総合的な課題の授業事例ー環境と生物を探究課題とした授業の提案ー，pp128-133．大学図書

学術論文

1）武田晃治（2019），生物の色に着目した教材～カラフルザリガニの開発～，食農と環境 No.24，実践総合農学会，pp67-69.

その他（学会発表等）

1）蛍光様の色彩を有するアメリカザリガニの作出方法及び蛍光様の色彩を有するザリガニ作出用の飼料　武田晃治　特許公開中

2）武田晃治（2019）「教材カラフルザリガニを活用した産業への挑戦」革新的技術研究成果報告会

3）2020年3月15日 日本農業新聞 第1面 ［活写］ 偏食？→変色！ 教材にいかが

２０１９年度 東京農業大学 大学戦略研究プロジェクト
研究成果報告書

研究代表者　　米澤　隆弘

１．研究課題名および予算額

研究課題名	研究領域 （キーワード）	予算額（円）
環境 DNA を用いた流行性病原体の自然環境下における感染経路ネットワーク推定	SDGs　④生物多様性 ⑤地域 ⑥食料生産	2,000,000

２．研究組織

	氏名	所属・職名	個別研究課題名
研究代表者	米澤　隆弘	農学部　動物科学科・准教授	分子進化学的解析・総括
研究分担者	松林　尚志	農学部　生物資源開発学科・教授	ヌタ場の生態学的解析
	瀬川　高弘	山梨大学大学院　総合研究部・特任助教	環境 DNA による微生物解析
	石川　　聡	ミネソタ大学大学院・准教授	環境 DNA による微生物解析
	山田　恵佑	農学部　生物資源開発学科・大学院生	イノシシの DNA 解析
	大川　智也	農学部　生物資源開発学科・大学院生	ヌタ場の生態学的解析

３．研究期間

２０１９年４月１日～２０２０年３月３１日（３年計画の２年目）

４．研究の背景（当初）

ウイルスや細菌のなかには流行性感染症を引き起こすものがある。流行性病原体はひとたび発生すると急速に地域を超えて感染が拡大し世界的流行に繋がる可能性があるため、全頭殺処分等の措置が取られ地域の畜産業に大打撃を与える。安定した食糧生産のためには、こうした病原体の感染経路を経つことが、予防措置として必要不可欠である。しかしながら、こうした病原体の潜在的な発生源と考えられる自然環境下において、どのような野生動物を宿主として感染ネットワークを形成しているのかはっきりしたことは解っていない。複雑な生物多様性を内包する生態系の中でどのような感染経路をもっているのかその全貌が把握しにくいためである。

５．研究目的

自然環境下において野生動物を介して流行性病原体がどのように感染を拡大していくのか詳細は分かっていない。本研究では多くの野生動物が集まり水分摂取や水浴びを行う「ヌタ場」に着目し、ここを利用する動物種、特にイノシシの集団構造とヌタ場から検出されるウイルスおよび細菌類の多様性の変動を空間的・時間的に解析し、流行性病原体の感染拡大に関する基礎データを提供することである。

６．研究（実験）方法

1. 環境試料を用いた病原体の検出と遺伝的多様性の解析

東丹沢と西丹沢のヌタ場環境試料として水を採取した。また地理的に離れた小菅のヌタ場から採取した水も合わせて解析した。米国ミネソタ大学大学院土壌学・微生物生態学専攻の石井聡の研究室を訪問し、Fluidigm 社の流体集積回路と BioMark を用いて環境試料中のウイルス及び細菌の検出を行った。石井聡の研究室には各種のウイルスおよび細菌に特化してデザインされたプローブがあり、これらを用いた解析を行った。また環境試料中からゲノムライブラリーを作成し東京農業大学ゲノム解析センターで Illumina 社 Miseq を用いたシーケンシングを行った。

2. センサーカメラを用いた哺乳類および鳥類のヌタ場の利用に関する解析

西丹沢と東丹沢のヌタ場にセンサーカメラをそれぞれ 5 か所ずつ設置し、ヌタ場を利用する哺乳類と鳥類の撮影を 1 年間行った。撮影した画像を解析し動物種ごとのヌタの利用頻度の季節変化を調べた。

3.非侵襲的サンプリングによるヌタ場を利用する動物の DNA 解析

ヌタ場を高頻度で利用する大型動物、特にイノシシはヌタ場付近の木や石などに体を擦り付ける性質があり、その際、体毛が脱落することがある。そうした体毛を採取し DNA を抽出することでヌタ場を利用するイノシシの集団構造の解明を目指した。複数の個体がひとつのヌタ場を利用するためまとまって脱落した体毛であっても、1 本分の毛根から DNA を抽出し、ミトコンドリア DNA の解析を行った。特に遺伝的多型の多くみられる調節領域の超可変領域を対象に PCR 増幅を行い、シーケンシングを行った。先行研究での神奈川県のデータと比較し SAMOVA(Spatial Analysis of Molecular Variance: Dupanloup, Schneider and Excoffier 2002)法により県内での集団構造の解析を行った。

７．研究成果

西丹沢と東丹沢においてヌタ場を利用する動物についての解析を行った。センサーカメラによる解析では、地域間での共通性として年間を通して二ホンジカおよびイノシシが高頻度で利用していた。これらの種は秋季から冬季にかけて撮影頻度が上昇し、繁殖期にヌタ場を利用する頻度が上昇する可能性が示唆された。一方、フクロウは夏季に撮影頻度が上昇し体温調節などに利用している可能性が示唆された。カケスやハシブトカラスなどのカラス科の鳥類は５月に撮影頻度が上昇した。地域性の見られた点としてヌタ場を利用する中小動物（タヌキ、アナグマ、テン、ノウサギなど）の出現頻度に違いがみられほか、鳥類の多様性や両生類の産卵の有無などの違いがあった。

イノシシに関しては DNA による解析でこれまであまり研究の進んでいなかった神奈川県内の集団構造も解明されつつある。脱落毛からの DNA 抽出は当初難航したが、QIAGEN 社の REPLI-g Mini Kit による PCR の増幅や nested PCR のためのプライマー設計など実験系を改善していくことで各個体 1 本の脱落毛に由来する DNA 分析し、集団遺伝学的解析を行うことが可能となった。神奈川県西部において丹沢山地系の集団と箱根火山地系の集団とが存在することが明らかとなった。また両者は酒匂川低地付近で混在することが明らかとなった。すなわち今回は丹沢山の東部と西部で環境サンプリングを行っているが、前者は丹沢山地系の集団のみの影響を受けているのに対して、後者は両集団の影響を受けている可能性が高い。ミトコンドリアの解析では母系しかわからないため、集団全体の交流を調べるために今後は核遺伝子のマイクロサテライトによる解析を行う必要がある。環境 DNA に関しては、流体集積回路による BioMark の解析と次世代シーケンサーの大量データの解析も進めているが、小菅のヌタ場からは大腸菌がほとんど検出されなかったのに対して、丹沢では非常に多く検出されるなど地域性が高い

ことが判明した。

８．実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

なし

９．残された問題点と今後の研究推進方策

最終年度である 2020 年度は、ヌタ場で検出される病原体の季節変化に着目する。2 週間ごとに採取された環境試料から DNA を抽出し、フリューダイム社の流体集積回路を用いた BioMark を用いた病原体の検出と Illumina 社の次世代シーケンサーを用いた系統組成および遺伝的多様性の変動についての解析を行う。

ヌタ場を利用するイノシシの集団構造をさらに詳細に調べるためにミトコンドリアのみならずマイクロサテライト解析を行う必要がある。FAO/ISAC 推奨の 30 座位のマイクロサテライト領域を用いた解析を行う予定である。

１０．公表した成果一覧

学術論文

１）佐野千尋, 大川智也, 鹿島惇平, 米地梨紗子, 糟屋奈津実, 黒澤亮, 松林尚志（2019） 神奈川県東丹沢地域における中大型哺乳類のヌタ場利用. 哺乳類科学 59: 37-48.

２０１９年度 東京農業大学 大学戦略研究プロジェクト

研究成果報告書

研究代表者　　渡辺　智

１．研究課題名および予算額

研究課題名	研究領域 （キーワード）	予算額（円）
食用藍藻スピルリナが生産する細胞外高分子物質 EPS の機能評価と大量生産系の構築	国際、生物多様性、食料生産	4, 000, 000

２．研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	渡辺　　智	生命科学部 バイオサイエンス学科・准教授	研究統括、生体試料の作製
研究分担者	鈴木　伸治	地域環境科学部 生産環境工学科・教授	EPS の物性評価
	藤本　尚志	応用生物科学部　醸造科学科・教授	EPS 生産藻類の単離、解析
	谷岡　由梨	国際食料情報学部 国際食農科学科・准教授	EPS の栄養評価
	浦井　　誠	生命科学部 分子生命化学科・准教授	EPS の成分評価
	前田　海成	バイオサイエンス学専攻・博士研究員	EPS 形成過程の観察
	渡邉　俊希	東京農大三高附属中・教諭	EPS 簡易生産法の検討
	川澄　太一	東京農大一高・教諭	スピルリナの培養法の検討
	兼崎　　友	静岡大学・特任助教	EPS 生産の生理解析
	大森　正之	東京大学・名誉教授	EPS 生産藍藻の探索

３．研究期間

２０１９年４月１日～２０２０年３月３１日（３年計画の２年目）

４．研究の背景（当初）

植物と同様の酸素発生型光合成を行う藍藻は、様々な環境に生息し地球環境の維持に大きく貢献している。アフリカの塩湖であるチャド湖から単離された糸状性藍藻 *Arthrosphila platensis*（通称、スピルリナ）は、古くから現地で食されており現在では健康食品や色素の材料として産業的に生産されている。塩湖から単離されたスピルリナは好塩性、好アルカリ性形質を有しており、開放環境においても無菌的に大量培養することが可能である。

細胞外高分子物質（Extracellular Polymeric Substances: EPS）は微生物が細胞外へと分泌する高分子の総称で、主に多糖類とタンパク質から構成される。環境中では微生物の細胞を保護する役割を持つが、粘性、保水性を示すことから素材業界においても注目されている。特にスピルリナは EPS の一種であるスピルランを生産する。スピルランは免疫調節作用などヒトに対して健康機能性を有することが示されており、その安全性も含め関心を集めているが、スピルラン生産の分子機構に関しては不明な点が多い。

５．研究目的

研究代表である渡辺はこれまでに、強光ストレスに曝されることによってスピルリナが EPS 生産を促進することを見出した。スピルリナは強光ストレスによって生じた過剰な還元力を消費するために大量の糖を合成し、スピルランとして細胞外へ排出していると考えられる。本申請ではストレス時に生産されるスピルリナ EPS の機能性、生産メカニズムを解析すると共に、活発な研究活動を行っている農大付属高校、中学校生物部の生徒と連携し効率的かつ簡便な EPS 大量生産系を構築する。また、自然環境での応用展開を検討するためアフリカ・ジブチ国に生息するスピルリナについて調査する。

６．研究（実験）方法

スピルリナの各増殖相における遺伝子発現について解析し EPS 生産の分子メカニズムを解明する。本年度は強光ストレス下で生産された EPS について、昨年度に引き続き遺伝子発現の網羅解析を行うと共に、顕微鏡の観察を実施した。また、スピルリナの産生する EPS の保水機能の評価、および成分の分析を実施した。また一方、資源利用の更なる可能性を目指し、アフリカ・ジブチを対象に、アルカリ性水質の溜池に大量発生する藻類について、現地に赴き調査した。

研究項目 1. スピルリナ EPS 形成の分子メカニズムの解明と大量培養（渡辺、前田、渡邉、川澄、兼崎）

1-1. スピルリナの EPS 形成時の比較トランスクリプトーム解析
1-2. スピルリナ EPS に含まれる含硫アミノ酸成分の解析
1-3. スピルリナ EPS に共生するバクテリアの同定
1-4. スピルリナの増殖を促進する培養条件の検討

研究項目 2. スピルリナ EPS の物性試験（鈴木、渡邉、川澄）

2-1. スピルリナ EPS の保水性評価
2-2. スピルリナ EPS を用いた作物栽培試験

研究項目３. スピルリナ EPS の健康機能性評価（浦井、谷岡、渡邉、川澄）

3-1. スピルリナ EPS の構成成分評価
3-2. スピルリナ EPS の機能性評価

研究項目４. ジブチの溜池に発生した藻類の調査（藤本、渡辺、鈴木、大森）

4-1. ジブチに生息する藻類の観察
4-2. ジブチの水を用いたスピルリナ培養試験

７．研究成果

研究項目 1. スピルリナ EPS 形成の分子メカニズムの解明と大量培養（渡辺、前田、渡邉、川澄、藤本、兼崎）

初年度に取得したスピルリナの EPS 生産過程の遺伝子変動について、再現性の確認を行った。シーケ

ンスデータについて、機能別に詳細な解析を進めた結果、EPS 生産時には抗酸化作用を持つアミノ酸生合成遺伝子が応答することを見出した。またシーケンスデータにはスピルリナとは明らかに異なる GC 含量の配列が含まれていた。顕微鏡を用いた観察から EPS 形成時のスピルリナ細胞の表面に桿菌状のバクテリアが確認された。pH 10 のアルカリ性寒天培地上にて、スピルリナ EPS よりバクテリアを単離し 16 rRNA の配列を解析した結果、アルカリ性塩湖などの極限環境に生息する *Bacillus krulwichiae* と同属同種のバチルス属細菌であることがわかった。トランスクリプトーム解析から、ストレス付与時のスピルリナ細胞では抗菌ペプチドの遺伝子クラスターの発現量が顕著に減少することが示されており、スピルリナが生産する抗菌成分の低下が、前述のバチルス属細菌の増殖に関与すると考えられた。

また、スピルリナの遺伝子改変を目指し、選択マーカーとなる薬剤および最小発育阻止濃度（MIC）を検討した。スピルリナにはスペクチノマイシンが効果的であり、0.5 μg/ml が MIC であることが示された。一方、カナマイシン、ゲンタマイシンに対しては高い耐性を有することがわかった。

東京農大第三高校附属中学校（農大三中）生物部において、スピルリナ培養に関する研究を開始した。これまでの研究より、照射する光の色を変えることにより増殖速度が異なることを明らかにした。

研究項目 2. スピルリナ EPS の物性試験（鈴木、渡邉、川澄）

スピルリナの土壌に対する保水効果について再現性を確認した。無機質土である豊浦砂に対する乾燥スピルリナ粉末の保水性増強効果について確認できた。一方、豊浦砂に対するスピルリナ EPS の効果はスピルリナ粉末に比べて低く、土壌の保水にはスピルリナ粉末が効果的であることが示された。

研究項目３．スピルリナ EPS の健康機能性評価（浦井、谷岡、渡邉、川澄）

スピルリナ EPS に含まれる多糖の分析を試みた。熱水抽出により酸性多糖様物質が多く含む高分子画分の取得に成功した一方で、粘度が高く詳細な構造解析には至らなかった。またスピルランに特徴的なラムノースのシグナルが検出されなかったことから、EPS はスピルランとは異なる構造を持つことが示唆された。

研究項目 1 より含硫アミノ酸合成系の遺伝子の発現変動が確認されたため、硫化物のメタボローム解析（サルファーインデックス解析）を実施した。その結果、スピルリナ EPS にはグルタチオンやエルゴチオネインといった高い生理機能を有する含硫アミノ酸が多く含まれることが示された。

研究項目４．ジブチの溜池に発生した藻類の調査（藤本、渡辺、渡邉、鈴木、大森）

2018 年度のジブチにおける現地調査より、雨期である 12 月に藻類が発生することを確認した。今年度は渡辺智准教授（バイオ）と渡邉俊希教諭（農大三中）の二名が 2019 年 12 月 22 日から 28 日の期間でジブチに赴き、現地の藻類について調査した。昨年の調査で見つけた藻類が、今年も繁茂する様子を確認することができた。また、ジブチ・アルタ州のディキルの溜池水より螺旋状の形態の藻類を観察した。ジブチに生息するスピルリナであると期待されたが、冷暗所で保管したサンプルを数日後に再度調べると、この螺旋状藻類は消失しており以後の解析は行うことはできなかった。

昨年度、ジブチ農業省の許可を得て持ち帰ったジブチの水を用いてスピルリナの培養試験を実施した。オートクレーブにて無菌化した各地のジブチ水サンプルにスピルリナを植えて育てると、無機塩類を多く含むアッサル湖の希釈水を使用することで、スピルリナの成長促進効果が認められた。

８．実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

渡辺および鈴木は、昨年度より採択された SATREPS「ジブチにおける広域緑化ポテンシャル評価に基づいた発展的・持続可能水資源管理技術確立に関する研究」（代表：島田沢彦教授）の研究分担者である。SATREPS ではジブチにおけるスピルリナ培養、およびその利用を担当しており、本プロジェクトで得られた成果を活用できる。また、企業からの問い合わせもあり、本プロジェクトを推進することで企業との共同研究、特許出願が期待される。これまでに三井物産株式会社、DIC 株式会社、株式会社ユーグレナ、旭化成株式会社との研究打ち合わせを実施した。

スピルリナ研究のアウトリーチ活動の一環として、清田産業株式会社と共にスピルリナパウダーを用いた商品開発を開始した。現在、スピルリナ粉末を含有したフィナンシェを試作し商品化に向けて打ち合わせを進めており、メルカード東京農大を通じて販売できるよう調整を続けている。

９．残された問題点と今後の研究推進方策

スピルリナの基本的な解析環境が整備できた。これまでの成果は、プレリミナリーなものが多いため再現性を確認する必要がある。また企業との共同研究、大型外部資金の獲得も視野に入れて国内外から情報収集を進める。来年度の研究推進方策は以下の通りである。

研究項目 1. スピルリナ EPS 形成の分子メカニズムの解明と大量培養

今年度の研究より EPS には含硫アミノ酸が多く含まれていることを示す結果を得た。また EPS には好アルカリ性バチルス属細菌が多く存在し、スピルリナの抗菌ペプチドがバチルス細菌の増殖に関与すると考えられた。今後は、EPS および含硫アミノ酸生産と好アルカリ性バチルスとの関連性に関してより詳細に解析を行う必要がある。またバチルス属細菌の由来について、もともとスピルリナ細胞にコンタミしていたのか、それとも実験室や実験機器を介したコンタミネーションによるものかを明らかにする。極限環境に生息するバチルス属細菌はゲノム情報が限られているため、ゲノム解析を実施する。

また引き続き中学生、高校生との共同研究を推進し、スピルリナ EPS を簡便に誘導する培養条件を検討する。

研究項目 2. スピルリナ EPS の物性試験

乾燥させたスピルリナ粉末だけでなく生のスピルリナ細胞でも保水効果を比較する。またジブチの砂漠土を用いた試験も実施し、実用性があるか検証する。スピルリナは植物の成長に必要な成分を全て含んでおり、植物の成長促進作用が期待できる。そのため、スピルリナを含んだ土に植物を植えて栽培試験を実施する。

研究項目 3. スピルリナ EPS の健康機能性評価

再度、スピルリナ EPS に対しメタボローム解析を実施し再現性を確認する。特にスピルリナ EPS に含まれる含硫アミノ酸に着目し、健康機能食品としての安全性、価値を確認する。また EPS の糖組成解析を進め、糖の種類と割合を明らかにする。

研究項目 4. ジブチの溜池に発生した藻類の調査

今年度調査によって見つかった藻類を含む環境試料を再び採取し、特異的な藻類の単離、培養を試みる。特に、エチオピア側の池（アッベ湖、ディキル農場）での試料採取を実施する。来年度、ジブチ国内からの遺伝資源の持ち出しが可能となった場合、藻類の単離とゲノム解析に着手する。現在はコロナウィルス感染拡大防止措置のため、ジブチへの渡航は禁止されているが、許可が下りた時点で、速やかに実験を再開できるように計画立て、研究再開に備える。

１０．公表した成果一覧

学術論文

1) Watanabe, S. Cyanobacterial multi-copy chromosomes and their replication. Biosci Biotechnol Biochem., 2020. Jul;84(7):1309-1321.
2) Watanabe, S., Saito, S., Suezaki, Y., Seguchi, T., Ohbayashi, R. Specific binding of DnaA to the DnaA box motif in the cyanobacterium Synechococcus elongatus PCC 7942. J. Gen. Appl. Microbiol., 2020 Jun 17;66(2):80-84.
3) Saito, M., Watanabe, S., Nimura-Matsune, K., Yoshikawa, H., Nakamoto, H. Regulation of the groESL1 transcription by the HrcA repressor and a novel transcription factor Orf7. 5 in the cyanobacterium Synechococcus elongatus PCC7942. J. Gen. Appl. Microbiol., 2020 Jun 17;66(2):85-92.
4) Kashimoto, T., Miyake, K., Sato, M., Maeda, K., Matsumoto, C., Ikeuchi, M., Toyooka K., Watanabe S., Kanesaki Y., Narikawa, R. (2020). Acclimation process of the chlorophyll d-bearing cyanobacterium Acaryochloris marina to an orange light environment revealed by transcriptomic analysis and electron microscopic observation. J. Gen. Appl. Microbiol., 2020 Jun 17;66(2):106-115.
5) Shimizu T, Kacprzak SM, Mochizuki N, Nagatani A, Watanabe S, Shimada T, Tanaka K, Hayashi Y, Arai M, Leister D, Okamoto H, Terry MJ, Masuda T., The retrograde signaling protein GUN1 regulates tetrapyrrole biosynthesis. Proc Natl Acad Sci U S A. 2019 Dec 3;116(49):24900-24906.
6) Itaya M, Sato M, Watanabe S, Yoshikawa H, Tomita M, Sato R., Stable mutants of restriction-deficient/modification-proficient Bacillus subtilis 168: hub strains for giant DNA engineering. J Biochem. 2019 Sep 1;166(3):231-236.
7) Gärtner K, Klähn S, Watanabe S, Mikkat S, Scholz I, Hess WR, Hagemann M. Cytosine N4-Methylation via M.Ssp6803II Is Involved in the Regulation of Transcription, Fine- Tuning of DNA Replication and DNA Repair in the Cyanobacterium Synechocystis sp. PCC 6803. Front Microbiol. 2019 Jun 5;10:1233.
8) Abe K, Kanesaki Y, Abdel-Rahman MA, Watanabe S, Zendo T, Chibazakura T, Shimizu-Kadota M, Sonomoto K, Yoshikawa H. Complete Genome Sequence of Enterococcus faecium QU50, a Thermophilic Lactic Acid Bacterium Capable of Metabolizing Xylose. Microbiol Resour Announc. 2019 May 23;8(21). pii: e00413-19.
9) Nabeta K, Watanabe S, Chibazakura T, Zendo T, Sonomoto K, Shimizu-Kadota M, Yoshikawa H. Constitutive expression of phosphoketolase, a key enzyme for metabolic shift from homo- to heterolactic fermentation in Enterococcus mundtii QU 25. Biosci Microbiota Food Health. 2019;38(3):111-114.
10) Ohbayashi R, Nakamachi A, Hatakeyama TS, Watanabe S, Kanesaki Y, Chibazakura T, Yoshikawa H, Miyagishima SY. Coordination of Polyploid Chromosome Replication with Cell Size and Growth in a Cyanobacterium. mBio. 2019 Apr 23;10(2). pii: e00510-19.
11) Fujiwara T, Hirooka S, Mukai M, Ohbayashi R, Kanesaki Y, Watanabe S, Miyagishima SY. Integration of a Galdieria plasma membrane sugar transporter enables heterotrophic growth of the obligate photoautotrophic red alga Cynanidioschyzon merolae. Plant Direct. 2019 Apr 8;3(4):e00134.

学会、研究会発表

1) 坂巻裕、渡辺智、岩崎拓海、兼崎友、大森正之、食用藍藻スピルリナが生産する細胞外高分子物質 EPS の機能評価、日本地球惑星科学連合 2019 年大会、幕張メッセ、2019 年 5 月 26 日

2) Takeshi Kawaguchi, Maiho Koseki, Kaisei Maeda, Rei Narikawa, Mai Watanabe, Masayuki Ikeuchi, Satoru Watanabe, Artificial modification of cyanobacterial phycobilisome, The 10th International Symposium of Advanced Energy Science ～Beyond the Decade of Zero Emission Energy～、2019 年 9 月 4 日
3) 安田麟太郎、清水隆之、島田友宏、田中寛、増田建、渡辺智、単細胞性紅藻 Cyanidioschyzon merolae におけるヘム結合タンパク質のプロテオーム解析、日本植物学会第 83 回大会、東北大学、2019 年 9 月 16 日
4) 向井 瑞梨、兼崎 友、宮澤 和己、渡辺 智、紅藻 *Galdieria sulphuraria* の白化・再緑化機構の解析、日本植物学会第 83 回大会、東北大学、2019 年 9 月 16 日
5) 渡辺智、食用藍藻スピルリナが生産する細胞外高分子物質に関する研究、第八回植物二次代謝フロンティア研究会、長野県薬師平茜宿、2019 年 10 月 20 日
6) 渡辺智、坂巻裕、兼崎友、大森正之、食用藍藻スピルリナが生産する細胞外高分子物質 EPS の機能評価、宇宙科学技術連合講演会、アスティ徳島、2019 年 11 月 7 日
7) 渡辺智、山﨑脩平、青柳智大、松根（荷村）かおり、兼崎友、大林龍胆、DnaA-*oriC* に依存しないシアノバクテリアの DNA 複製機構、福岡国際会議場、2019 年 12 月 3 日
8) 渡辺智、合成生物シアノバチルスによる合成ゲノム再起動計画、第 4 回光合成細菌ワークショップ、大阪大学、2020 年 3 月 12 日

特許出願

1) 渡辺智、板谷光泰、単細胞性真核紅藻への遺伝子導入方法（ガルデリア）（特願 2020-076701）、2020 年 4 月 23 日

２０１９年度 東京農業大学 大学戦略研究プロジェクト

研究成果報告書

研究代表者　　村松　良樹

１．研究課題名および予算額

研究課題名	研究領域（キーワード）	予算額（円）
カンボジア王国コンポンチャム州におけるバイオエネルギーを活用した農産物の加工条件および加工システムの構築	食の安全，エネルギー関係，国際，地域，食料生産	2,550,000

２．研究組織

	氏名	所属・職名	個別研究課題名
研究代表者	村松　良樹	地域環境科学部 生産環境工学科・教授	加工条件の確立･システム化
研究分担者	岡　　大貴	応用生物科学部 農芸化学科・助教	加工食品の開発
	谷岡　由梨	国際食料情報学部 国際食農科学科・准教授	食品の成分特性と栄養評価
	内野　昌孝	生命科学部 分子微生物学科・教授	食品衛生の評価と指導
	関戸　元恵	山梨学院短期大学 食物栄養科・講師	食品衛生の評価と指導
	村松　朱喜	昭和女子大学 健康デザイン学科・講師	食品衛生と安全性の評価
	中村　貴彦	東京農業大学 生産環境工学科・准教授	バイオエネルギーの開発
	中島　　亨	東京農業大学 生産環境工学科・准教授	バイオエネルギーの開発
	三原 真智人	東京農業大学 生産環境工学科・教授	持続可能な農村開発

３．研究期間

２０１９年４月１日～２０２０年３月３１日（３年計画の２年目）

４．研究の背景（当初）

カンボジア王国は内戦の影響もあり東南アジア地域において開発が最も遅れている国の一つである。近年，国策のもと，外国資本の流入とともに経済成長を遂げてきた。しかし一方で貧富の差は拡大している上に，貧困層から脱した人々も農作物の不作や経済不況による影響で再び貧困層に戻る事例が多い。大多数の人々が農業セクターに従事しているため，農業分野，特に農産加工における技術協力に向けた農産物の加工条件の明確化と加工システムの構築に向けた応用研究は急務といえる。また，カンボジア国内にはこれらの研究に取り組む人材が不足しており，国際的な研究支援が不可欠となっている。

東京農業大学では，協定校であるカンボジア王立農業大学（RUA）および包括連携協定団体である特

定非営利活動法人環境修復保全機構の協力を得ながら，減化学肥料・減農薬の安全な農産物を生産できる持続可能な生産基盤づくりと人材育成に取り組んできた。しかし，制限された生鮮野菜の集出荷・輸送システムのため，多くの生鮮野菜が消費者に届かず廃棄されてしまう現状にある。そこで何とか生産地で農産物を加工して，減化学肥料・減農薬の安全な農産物を無駄なく有効利用し，現地農家の収入向上につなげることに対する現地の期待は大きい。またカンボジア王国では未だに女性の地位は男性よりも低く，特に農村におけるジェンダー問題は深刻である。本研究申請で取り上げる食品加工技術の導入は，農村の女性のエンパワメントにつながるものとして現地の女性省からの期待も大きい。

1)RUA の協力を得ながら地域に根ざした食品加工技術を適用して加工食品を開発すること，2)加工の際に必要となるエネルギー源も開発し，そのエネルギー産生量に見合った規模の加工システムを構築すること，3)加工食品や農産加工技術の開発ばかりでなく，それらの普及活動も行って収入増加や女性の経済的エンパワメントにつなげていくことに，本研究の大きな特徴と意義がある。

５．研究目的

本研究の目的は，地域の自然資源に基づいて開発したバイオエネルギーを活用しつつ，安全性と品質が保証された加工方法・条件を確立して，原材料生産地において加工システムを構築するとともに，加工食品を開発することである。

昨年度は現状把握と開発する加工食品およびバイオエネルギーの素材探索を主目的とし，食品衛生や食品加工，メタン発酵に関する研究に取り組んだ。2 年目の本年度は，乾燥食品に加え，瓶詰食品（ジャム）の開発と各加工操作条件の最適化，現地における食品衛生状態の継続的把握，現地におけるメタン発酵施設の現地調査とメタン発酵の適用可能性の検討を主として実施した。

６．研究（実験）方法

(1)食品加工

カシューアップルペーストおよびカシューアップルを原料としたジャムを試作した。なお，カシューアップルは，果皮を剥いた後，フードプロセッサーにて繊維質を破砕しペーストとしてジャムの試作に用いた。ペーストに水，砂糖，LM ペクチン，クエン酸を加え，ゲル状態および糖酸比のバランスを考慮し，それぞれの配合割合を調整した。その後，瓶にホットパック充填したものとホットパック充填後に加熱殺菌を施したものを試作した。2019 年 9 月に試作したジャムの試食会をプノンペン市内（RUA およびショッピングセンター）にて行った。評価項目は，色，甘さ，酸味，食感，香り，ゲル状態，滑らかさ，総合評価の 7 項目にて行い，嗜好型にて，良い(+2)，やや良い(+1)，どちらでもない(0)，やや悪い(-1)，悪い(-2)の 5 段階の採点法にて実施した。また，カシューアップルの有効利用を目的に，食物繊維を抽出し酸性糖，中性糖を測定した。その他，粘度や分子量分布なども測定した。

乾燥食品開発に関しては，昨年度に引き続き，青パパイヤの乾燥特性を測定した。本年度は昨年度とは測定条件が異なり，風速 1～3 m/s，温度 30～70℃，相対湿度 40%の条件下で乾燥試験を行った。試料として生のままのパパイヤと成型した後，ブランチング処理したものの 2 種類を用いた。乾燥青パパイヤを利用する際には，復水操作（水戻し）が必要となる。そのため，乾燥させた青パパイヤの復水特性も 20～40℃の温度で測定した。

(2)食品衛生

カンボジア国内で販売される漬物製品の衛生調査では，プノンペン市内の主要な 3 つのマーケットから 8 種の漬物製品を選択し，合計 24 サンプルを購入した。別日に同じマーケットの同じ店舗から同食品を購入し，合計 48 サンプルを実験に用いた。漬物製品の品質について調査するため，Brix 糖度，塩分濃度，pH について比較した。また，食中毒細菌などの微生物検査として，48 食品について，一般生菌，大腸菌群，真菌，*Salmonella* 属菌，*Staphylococcus aureus*，*Bacillus cereus* の検査を実施した。また，現地試験の迅速性ならびにコスト低減を目指して PCR 法の検討を行った。

(3)バイオエネルギー

2019 年 8 月 20 日～28 日において，現地（コンポンチャム州）で導入されているメタン発酵設備ならびにメタン発酵に用いる資源について現地調査を行って，メタン発酵施設の導入の可能性や導入規模などを検討した。

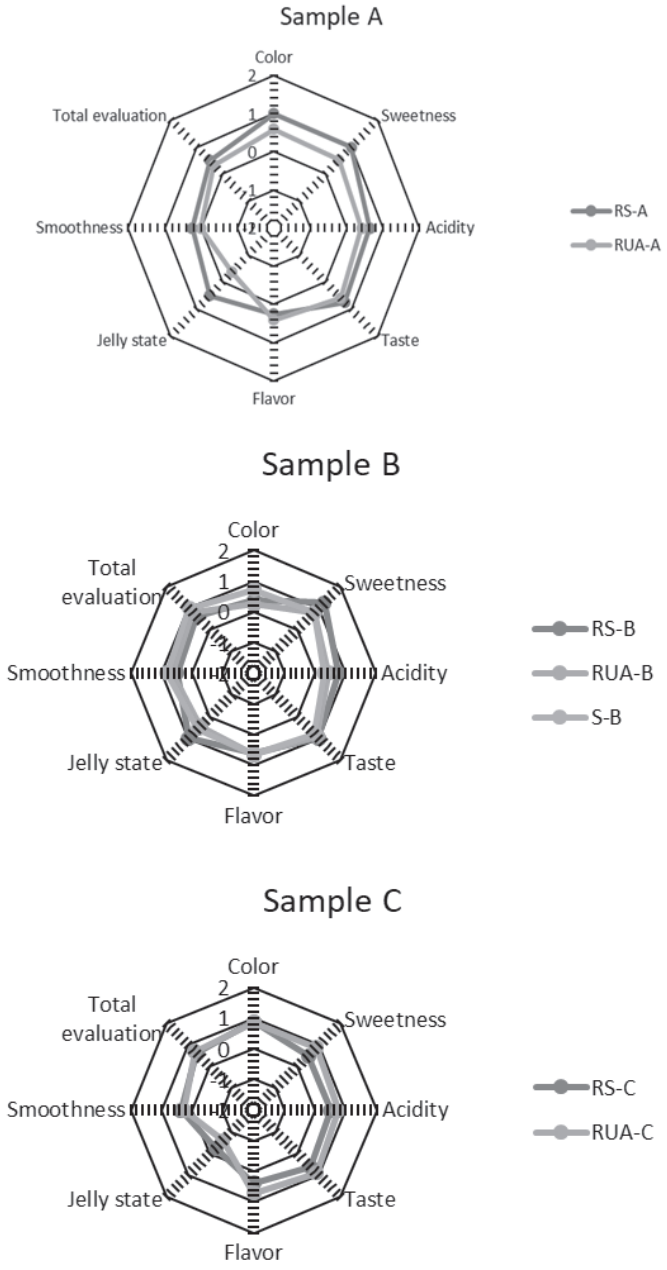


図 1　試作したジャムの試食結果

7 . 研究成果

(1)食品加工

1)ジャムの試作

カシューアップルジャム（ホットパック品，ホットパック後に加熱殺菌した試作品），カシューアップルペーストジャムの 3 種類を用いて，RUA の学生（27 名）および教職員（8 名）を対象として試食会を実施した。スーパーマーケットではカシューアップルジャムのホットパック品とホットパック後に加熱殺菌した試作品の 2 種類を用いて，30 名から試食評価データを得た。試食結果を図 1 に示す。図 1 において，Sample A：カシューアップルジャム（ホットパック品），Sample B：カシューアップルジャム（ホットパック後に加熱殺菌した試作品），Sample C：カシューアップルペーストジャム，RS : RUA のスタッフ，RUA : RUA の学生，S : ショッピングセンターでの一般の方である。概ね高評価が得られ，カシューアップルジャムが加工品の一つとして受け入れられる可能性が示された。

2)カシューアップルの理化学的特性（食物繊維，分子量，粘度）

カシューアップルジャムを製造する際，カシューアップルの果皮を除去した。果皮には水溶性食物繊維が豊富であると考えられるため，有効利用が可能であるかを検討するために，カシューアップル果皮から水溶性食物繊維を調整し，その特性を調べた。

カシューアップル果皮から水溶性食物繊維の抽出した結果，収率は，赤色カシューアップルで 1.4 %，黄色では 0.8 %であった。中性糖と酸性糖の定量結果を表 1 に示す。また，果皮から抽出した水溶性食

物繊維溶液および LM ペクチン溶液，HM ペクチン溶液（いずれも濃度は 0.5 %(w/v)）の粘度の測定結果を表 2 に示す。

表 1　中性糖と酸性糖の定量結果

	カシューアップル赤色	カシューアップル黄色
中性糖量(g/100g)	48.1±1.3	58.3±0.4
酸性糖量(g/100g)	42.2±4.3	59.6±12.4

表 2　水溶性食物繊維溶液の粘度

	平均 mPa·s
LMペクチン	1.83
HMペクチン	4.13
カシューアップル赤	1.07
カシューアップル黄	1.20

一般的に，水溶性食物繊維の分子量分布が小さいほど，粘性は低値を示す。しかし，カシューアップルの水溶性食物繊維の分子量分布は，LM ペクチンより小さかったにも関わらず，LM ペクチンと同程度の粘性を示した。カシューアップルの水溶性食物繊維に含まれる中性糖が関与している可能性が示唆された。水溶性食物繊維の分岐鎖に中性糖が結合していると水素結合を介した鎖－鎖結合がより強くなるため、粘性が増したと考えられる。

3)乾燥青パパイヤの開発

生試料とブランチングした試料のいずれも，乾燥特性や乾燥速度，含水率 15%以下にするために要する乾燥時間はほとんど変わらなかった。乾燥速度は，温度が高いほど，また風速が速いほど速かった。乾燥時における試料含水率は，乾燥初期の時間で直線的に減少し，その後，滑らかな曲線を描きながら減少した。いずれの試料，条件においても，試料の含水率経時変化は，初期含水率から含水率 500%までは式(1)，含水率 500%以下は式(2)で近似することができた。

$$M = -k_1 t + M_0 \qquad (1)$$

$$\frac{M - M_e}{500 - M_e} = \exp\left[-k_2\left(t - t_c\right)\right] \qquad (2)$$

ここで，M：含水率 %(d.b.)，M_0：初期含水率 %(d.b.)，M_e：平衡含水率 %(d.b.)，t：時間 (min)，t_c：含水率 500 %に到達した時間 (min), k_1：第一乾燥速度定数 (1/min), k_2：第二乾燥速度定数 (1/min)である。乾燥速度定数は温度と風速の関数とした以下の実験式で表された。

$$k_i = aTV + bT + cV + d \qquad (3)$$

ここで，k_i：乾燥速度定数 (1/min)，T：温度 (℃)，V：風速 (m/s)，a，b，c，d：パラメータ，i=1 or 2 である。

(2)食品衛生

1)プノンペンマーケットの漬物製品の衛生調査

2018 年の 8 月にコンポンチャムおよびプノンペンのマーケットで販売される食品（漬物）について細菌検査を実施した結果，日本の衛生基準では初期腐敗または腐敗と判断される食品が多数（調査食品の 5 割以上）存在していた。さらに大腸菌群陽性と判定される食品もあった。これよりカンボジアのマーケットで日常的に供される食品は衛生面に問題があると推測された。そこで，今回はプノンペンのマーケットで漬物製品を調達し、製品の品質や主要な食中毒細菌による微生物汚染の程度について調査し，カンボジアでの衛生管理の状況についてより詳細なデータを得ることを目的とした。

プノンペン市内の主要な 3 つのマーケット（Central market，Orussey market, Doeum kor market）から 8 種の漬物製品を選択し，合計 24 サンプルを購入した。別日に同じマーケットの同じ店舗から同食品を購入し，合計 48 サンプルを実験に用いた。マーケットで調達した漬物製品を表 3 に示す。

漬物製品の品質のばらつきについて明らかにするため，Brix 糖度，塩分濃度，pH について比較した。その結果，Brix 糖度においては，3 サンプルで 3 倍以上の差異が見られ，塩分濃度においては，7 サンプルで 1 %以上数値が異なっていた。pH においては，3 サンプルで pH 1.0 以上の違いが見られた。同じ販売店舗から 2 回にわたって同じ食品を購入したが，Brix 糖度，塩分濃度，pH に大幅な差異が見られる食品があった。これらの食品品質のばらつきは，加工工程が一定でないことや保存性が低いことが原因によるものと推測される。今回の 2 回にわたって調達した漬物製品は，新たに加工調理した食品が販売されているのか，以前の食品に継ぎ足されたものか，もしくは同じものが保管されているかが不明であった。

表 3　マーケットで調達した漬物製品

Market	Product name
C / O / D	Fermented papaya (sliced)
	Fermented cucumber
	Pickled young onion
	Pickled mustard (big)
	Pickled mustard (small)
	Pickled cucumber
	Sweet salty radish
	Kong chay

これらについて食中毒細菌などの微生物検査を実施した。48 食品について，一般生菌，大腸菌群，真菌，*Salmonella* 属菌，*Staphylococcus aureus*，*Bacillus cereus* の検査を実施した。漬物製品の微生物汚染率の結果を表 4 に示す。その結果，一般生菌数検査では，10 サンプルが日本では初期腐敗とされる 10^7 CFU/g，5 サンプルは 10^8 CFU/g の細菌数が検出された。

漬物の種類別では，Pickled onion と Mustard で 10^6~10^8 CFU/g の一般生菌数が検出され，他の漬物に比べて多い傾向が見られた。糞便汚染の指標となる大腸菌群検査では，48 サンプルのうち 58.3%が陽性と判定された。真菌は動植物や土壌，水など由来が幅広く，一般的に水分活性の低い環境下でも生育が可能である。真菌による汚染結果は，68.8%であり，漬物製造過程での微生物汚染もしくは保管中の汚染が疑われる。サルモネラ属菌は，世界的にも多くの健康被害が報告されるサルモネラ感染症を引き起こす食中毒細菌である。サルモネラ属菌は家畜やペット，野生動物などに広く生息する。今回のサンプルでは、41.7%がサルモネラ陽性であった。コンポンチャムでのマーケットの衛生調査の結果と併せると，店舗での販売時にクロスコンタミネーションが起こっていることが推測され，また，動物等との接触も汚染の原因の一つと考えられた。*Staphylococcus aureus* は，毒素を生産する食中毒細菌であり，増殖の温度範囲が 5~47℃と広く，ヒトの皮膚，鼻腔，頭髪に加えて自然界にも分布する。本調査では，83.3%が陽性と判定された。食品製造業での衛生管理では，食品の取扱者は手指の消毒の徹底や手指に傷を持つ場合の従事は避けるなどが求められる。しかし，マーケットの販売者は，食品を素手で取り扱うことが多く，調理器具なども放置されているのが常態化していたことから，食品の衛生的な取り扱いに対する知識不足が汚染率の高さの理由であると思われた。*Bacillus cereus* は土壌や水など自然環境に広く分布し，農産物，水産物，畜産物など様々な食品を汚染する。食品加工時に適切な洗浄，加工がなされていない場合は，セレウス菌食中毒を発症する場合がある。今回のサンプルでは，37.5 %がセレウス菌陽性と判定された。

表 4　漬物製品の微生物汚染率

Microbial sp.	Number of positive / Number of total		
	1st sample	2nd sample	Total (%)
Coliform	14/ 24	14 /24	58.3
Fungi	13 / 24	20 / 24	68.8
Salmonella	2 / 24	18 / 24	41.7
S. aureus	19 / 24	21 / 24	83.3
B. cereus	12 / 24	6 / 24	37.5

今回，実験に用いた漬物製品 48 サンプルの Brix 糖度は 3.6～52.4 %，塩分濃度は 1.2～12 %，pH は 3.3～4.92 であった。一般的に微生物の生育が抑制されると考えられる条件にある食品サンプルもあったが，食中毒菌は検出されており，保存効果が発揮されていない様子が見受けられた。しかし一方で，Brix，pH の変化については，汚染微生物が増殖した結果，変動した可能性も考えられる。また，一般生菌数

では，3 つのマーケットのうち，2 つのマーケットがやや高い傾向が見られたが，食中毒細菌の検査結果では、マーケットによる汚染状況に大きな差異は見られず，同程度の衛生状況と考えられた。

今回の調査の結果から，プノンペンのマーケットで販売されている漬物製品の衛生状態は極めて悪く，主要な食中毒細菌も多く検出された。プノンペンは地方都市に比べてインフラ設備が比較的整い，カンボジア国内では最も発展している都市である。そのためプノンペンでの調査結果は，カンボジア国内の衛生環境をおよそ反映していると考えられ，地方都市では，さらに劣悪である可能性も想定される。また，マーケットでの聞き取り調査から今回調達した食品の 83.3 %がホームメイドであることが分かった。コンポンチャムでの調査結果も踏まえると，食品の衛生管理に対する知識不足や意識の低さが大きな要因であると考えられる。現状を改善するためには，食品を販売する場合には，食品の適切な取扱い方法を学ぶ機会を持つなどの対策が必要であると考えられた。一方で，販売食品の汚染の経路や主要な原因については，今回検出された食中毒細菌が複数種にのぼったことから，特定することは困難であった。今後，食品加工の現場を中心に調査を進めることで衛生改善につながる知見が得られると考えている。

2)コンポンチャムマーケットで購入した漬物製品の衛生調査

2018 年 8 月および 2019 年 3 月に実施した漬物製品の衛生調査で用いたものと同様の漬物製品を, 2019 年 9 月コンポンチャム州のマーケットで購入し，試料として用いた。PCR 法については現地にて試料 DNA 抽出を行い，抽出後の DNA を乾燥し日本に輸送した。また，利用した DNA 抽出法が十分でない場合を想定し，植物防疫法および動物防疫法を遵守するために試料を，タノール処理し，乾燥したものを日本に輸送した。一部の DNA サンプルを PCR に供したが目的分子領域にバンドが検出されなかったため，現在改良を重ねている。

(3)バイオエネルギー

2019 年 8 月 20 日～28 日において，現地（コンポンチャム州）で導入されているメタン発酵設備ならびにメタン発酵に用いる資源について現地調査を行って，メタン発酵施設の導入の可能性や導入規模などを検討した。

視察結果を参考に，RUA 敷地内にメタン発酵槽（容量 1 m^3 × 3 槽）を設置した。毎日，家畜糞：5～10 kg，水：5～10 L の範囲内で，各々の発酵槽に等量投入し，ガス流量の経時変化とメタン，二酸化炭素，硫化水素の濃度を継続して測定した。その結果，家畜糞 1 kg 当たり日量約 40 L のバイオガスを発生させることが明らかとなり, そのうちメタンの占める割合が 50 %で, 硫化水素の濃度は 400～1000 ppm であることがわかった。2020 年度にその実験結果について解析を進めていく予定である。

８．実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

特になし

９．残された問題点と今後の研究推進方策

(1)食品加工

現地での加工施設（カシューアップルジャム加工施設など）の立ち上げを検討する。その際，容器や加工に必要な器具類，加工品を入れる容器などの入手ルートの調査も併せて必要となる。ジャムやピクルスの加工に関しては，一般的な加熱設備があれば可能である。ジャム容器となるビンはベトナム製品を調達できることが見込まれる。安全性に関しては，食品衛生担当メンバーと協力しながら検討する。

乾燥野菜や野菜チップスなど新たな加工品を提案するとともに，加工操作条件が品質に及ぼす影響を定性的かつ定量的に把握する。その他，提案する加工食品の現地での受け入れ度も調査して，開発の一

助とする。

(2)食品衛生

コンポンチャム州で実際に行われている漬物加工施設を見学，または聞き取り調査を実施して，加工法やレシピ，衛生状況などの調査・情報収集を行うことを検討する。これらの調査・情報収集により，カンボジア現地に必要な衛生改善策を提案し，衛生指導につなげていきたいと考えている。また，RUA など大学で運用可能な低コストで簡便な衛生状況把握試験を提案する。

(3)バイオエネルギー

引き続き利用可能なバイオマスの種類や量を現地調査結果に基づいて解析し，最適な規模・運転方法のメタン発酵施設を検討する。小型バイオガスプラントの設計や設計に向けた回文試験を実施する。

(4)持続可能な農村開発を目指して

カンボジア国内で販売される漬物製品の衛生調査の結果，糞便汚染の指標となる大腸菌群検査では，48 サンプルのうち 58.3%が陽性と判定され，真菌による汚染結果は 68.8%であり，漬物製造過程での微生物汚染もしくは保管中の汚染が生じている。サルモネラ属菌は，世界的にも多くの健康被害が報告されるサルモネラ感染症を引き起こす食中毒細菌であるが，今回のサンプルでは 41.7%がサルモネラ陽性であった。これらの微生物汚染の状況から，汚染源の特定と適切な農業生産基盤管理、集出荷体制、農産加工・販売過程の確立とその普及が，現地のカンボジア政府，特に農林水産省，環境省や商業省との連携のもと，進められることが期待される。

10. 公表した成果一覧

学会発表

1) Sokly SORM, Yoshiki MURAMATSU, Eiichiro SAKAGUCHI, Taro KAWAKAMI. Development of Dried Young Papaya - Moisture Content Prediction of Dried Young Papaya during Drying and Water Absorption -. The 11th International Conference on Environmental and Rural Development and 2nd Conference on Sustainable Agricultural Intensification and Nutrition (11th ICERD & 2nd SAIN Conference) February 28th –March 1st, 2020, Royal University of Agriculture, Siem Reap Province, Cambodia.
2) Shuki MURAMATSU, Masataka UCHINO, Yuri TANIOKA, Sokly SORM, Daiki OKA, Yoshiki MURAMATSU, Toru Nakajima, Motoe SEKIDO, Takahiko NAKAMURA and Machito MIHARA. Evaluation of Bacterial Contamination level in Pickles Sold at Wet Market in Cambodia - Part 1- in case of 17 samples from Kampong Cham and 3 samples from Phnom Penh. The 11th International Conference on Environmental and Rural Development and 2nd Conference on Sustainable Agricultural Intensification and Nutrition (11th ICERD & 2nd SAIN Conference) February 28th –March 1st, 2020, Royal University of Agriculture, Siem Reap Province, Cambodia.
3) Shuki MURAMATSU, Masataka UCHINO, Sokly SORM, Yuri TANIOKA, Daiki OKA, Yoshiki MURAMATSU, Toru Nakajima, Motoe SEKIDO, Takahiko NAKAMURA and Machito MIHARA. Evaluation of Bacterial Contamination level in Pickles Sold at Wet Market in Cambodia - Part 2- detection of several food poisoning bacteria of 48 samples from Phnom Penh. The 11th International Conference on Environmental and Rural Development and 2nd Conference on Sustainable Agricultural Intensification and Nutrition (11th ICERD & 2nd SAIN Conference) February 28th –March 1st, 2020, Royal University of

Agriculture, Siem Reap Province, Cambodia.

4) 村松良樹，岡　大貴，谷岡由梨，内野昌孝，関戸元恵，村松朱喜，ソムソクリ，中村貴彦，中島亨，三原真智人．カンボジア王国における 6 次産業化・農村開発に関する取り組み．2019 年農業食料工学会・農業施設学会・国際農業工学会第 6 部会合同国際大会 2019 年 9 月 3 日～6 日，北海道大学，札幌，日本.

２０１９年度 東京農業大学 大学戦略研究プロジェクト

研究成果報告書

研究代表者　　山内　淳

１．研究課題名および予算額

研究課題名	研究領域（キーワード）	予算額（円）
アジア地域産薬草が持つ機能性・安全性の網羅的評価法の確立	国際	2,400,000

２．研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	山内　　淳	国際食料情報学部 国際食農科学科・教授	総括・安全性評価（エストロゲン活性）
研究分担者	鈴木　　司	応用生物科学部 農芸化学科・助教	AMPK 活性評価
	菅谷　紘一	応用生物科学部 食品安全健康学科･助教	抗酸化活性
	藤巻　貴宏	応用生物科学部 農芸化学科・助教	チロシナーゼ阻害活性評価 脂肪細胞分化抑制評価

３．研究期間

２０１９年４月１日～２０２０年３月３１日（３年計画の２年目）

４．研究の背景

厚生労働省が推進する「21 世紀における国民健康づくり運動」は、生活習慣を改善し、健康を増進し生活習慣病等の発病を予防する“一次予防”を基本方針としており、健康寿命の延伸および生活の質の向上を実現する上で、食生活が果たす役割はますます重要となっている。このような情勢の下、消費者庁は 2015 年 4 月より、第 3 の保健機能食品として機能性表示食品制度を開始した。これは特定保健用食品、栄養機能食品以外のいわゆる健康食品をはじめとする保健機能を有する成分を含む加工食品および農林水産物について、機能性の表示を容認する新たな方策を検討したもので、米国のダイエタリーサプリメントの表示制度を参考にして企業責任で科学的根拠のもとに表示できるものである。制度開始から５年で製品の届出数が 3000 件を超える勢いである。機能別に分類すると、ダイエット、ストレス軽減、腸内環境の改善、肌の機能維持、記憶力の維持、抗酸化など多岐にわたっている。我が国の食品関連の研究の方向性は食品の新規の機能性の開発に向かっていると考えられる。すなわち機能性表示食品の開発を行うことが、本学が重点項目として挙げている食料、健康に関する研究に他ならない（図１）。

インド発祥のアーユルヴェーダは、スリランカの伝統医療と融合されて、現在のアーユルヴェーダと

なっている。スリランカには国の行政機関としてアーユルヴェーダ省があり、国として伝統医療を推進している。世界的にもアーユルヴェーダをはじめとする伝統医療が注目されており、現代医学を補完・代替する医療として利用されている。我々はすでに平成 29 年度スリランカ共同研究プロジェクト「南および東南アジア産薬草の機能性および安全性に関する研究」を行った。本プロジェクトは東京農業大学とスリランカペラデニア大学との共同研究を行うにあたり、基礎的研究体制を構築するための準備段階と位置づけられており、シナモンやショウガといった南および東南アジア産薬草を用いて、代表的な関与成分含量や、機能性評価および安全性評価を行った。

本研究はこれをさらに発展させ、アジアを中心とする世界各地から薬草を採取し、それらの抽出物の機能性・安全性について網羅的に評価することによって、将来的には新規の機能性表示食品の開発を目指す。

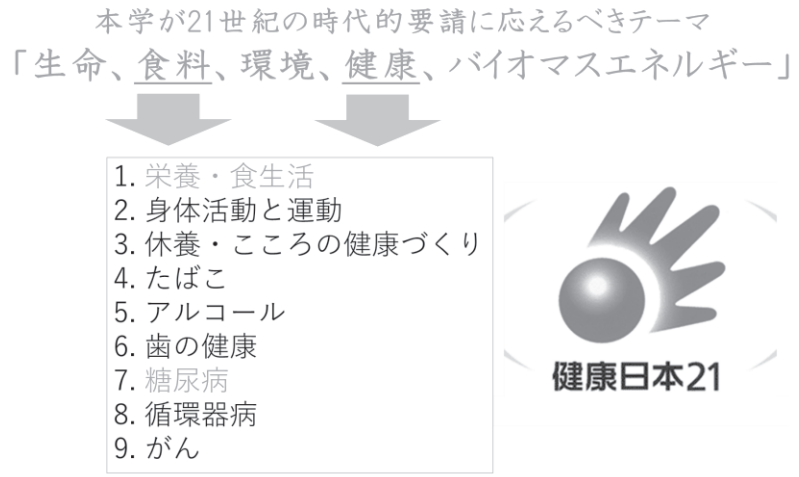


図 1

５．研究目的

アジアを中心とする世界各地から薬草を採取し、それらの抽出物の機能性・安全性について網羅的に評価することによって、将来的に新規の機能性表示食品の開発を目指す。

６．研究（実験）方法

チロシナーゼ阻害活性評価:チロシナーゼとその基質である L-ドーパを 96 穴プレート上で反応させ、生成されるドーパクロムを 492nm の吸光度で測定し、チロシナーゼ阻害率を算出した。試験試料として 50%EtOH で抽出した天然物スクリーニングソースを用いた。また種々のクロマトグラフィーにより活性成分の精製を行なった。

脂肪細胞分化抑制評価：今年度から新たに立ち上げた評価系である。前駆脂肪細胞である 3T3-L1 細胞を 24 穴プレートに播種し、翌日イソブチルメチルキサンチン（IBMX)、デキサメタゾン（DEX)、インスリンを含む培地に交換し、脂肪細胞への分化誘導を行った。またこの際 50%EtOH で抽出した天然物スクリーニングソースも同時に添加した。3 日間培養後、インスリンのみを含む培地に交換し、さらに 3 日間培養後、通常培地に交換して 3 日間培養した。細胞内に蓄積した脂肪滴を Oil Red O により染色し、イソプロパノールにより溶出し 492nm の吸光度で測定することで脂肪分化抑制率を算出した。また種々のクロマトグラフィーにより活性成分の精製を行なった。

AMPK 活性評価：AMPK は細胞内エネルギー恒常性に関与するキナーゼであり、試料における AMPK 活性化能を評価する。既存の AMPK 活性化剤を指標として、蛍光標識法による AMPK 活性評価法の確立を行った。培養細胞を固定化後、AMPK の基質である ACC のリン酸化抗体を用いて抗原抗体反応を行い、これを蛍光標識法による検出を試みた。この他に、50%EtOH にて抽出した各種試料を HEK293T 細胞に添加し、western blotting 法または蛍光標識法にて AMPK の活性状態を評価した。

抗酸化活性を用いたスクリーニング：96 穴プレートにて紫色の DPPH ラジカルが補足されると無色に退色することを利用し 517 nm の吸光度を測定し、ラジカル捕捉活性を測定し各サンプル 50 μg/mL の抗酸化活性スクリーニングを行った。プルメリア(花)、ムクナ(皮)、ムクナ(豆)、クロコショウ、ウコン、シュクシャ①、ノニおよびシュクシャ②のラジカル捕捉活性を測定し同様に希釈し抗酸化活性スクリーニングを行った。また、高い抗酸化活性を有するサンプルでは IC_{50} 値の算出を行った。

安全性評価（エストロゲン活性）：正常なエストロゲン受容体αを持つことが知られているヒト乳がん細胞株 MCF-7 細胞を用いた。上流にエストロゲン応答配列を持つルシフェラーゼレポーター遺伝子を細胞に導入した。培地に抽出物を添加し、一定時間培養した。細胞抽出液のルシフェラーゼ活性を測定することでエストロゲン活性を評価した。評価は 96 穴マルチウェルプレートで行った。

7．研究成果

チロシナーゼ阻害活性評価：昨年度シナモン抽出物由来の活性の見られた画分である fr4-6 に関して、精製及び量上げを行い、チロシナーゼ阻害試験を行ったが活性を確認できなかった。そこでこれまでとは異なる分画方法で、これまでのピーク情報を指標にするのではなくチロシナーゼ活性を指標に活性成分の単離を試みたところ、桂皮酸を含むいくつかの画分を取得した（図２）。またミャンマー由来の薬草 7 種類を評価したところムクナ（豆）、ウコン、シュクシャの抽出物にシナモンよりも強いチロシナーゼ阻害活性が確認できた。

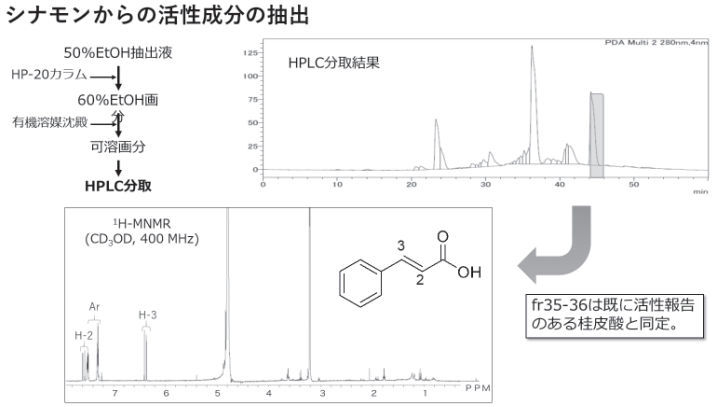


図２

脂肪細胞分化抑制評価：いくつかの天然物スクリーニングソースを試したところアボカドの種子及び皮、マンゴーの種子の抽出物に強い活性を見出した。その中で細胞毒性の低かったマンゴーの種子抽出物から活性成分の単離を試みた。その結果 HPLC 分取により 2 つの活性画分である fr43-44 及び fr51-52 を取得した。Fr43-44 に関しては ^{1}H-NMR により 1,2,3,4,5-penta-*O*-galloyl-β-D-glucose(PGG)だと同定した（図３）。

マンゴー種子からの活性成分の抽出

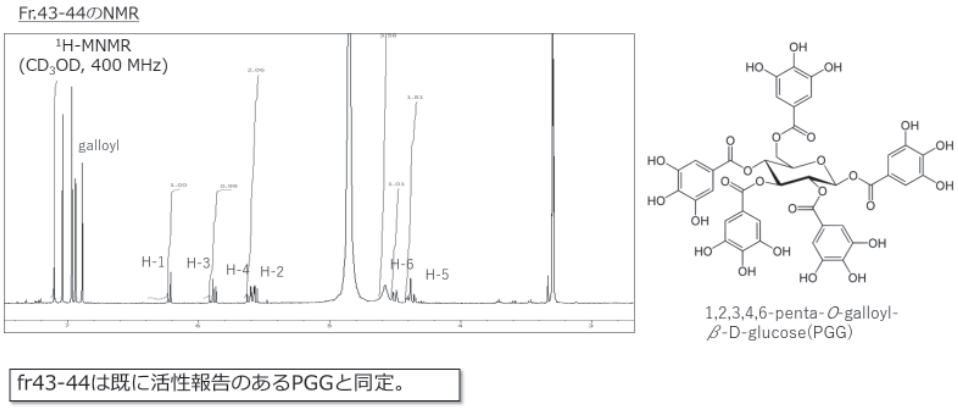


図３

AMPK 活性評価：昨年度に AMPK の活性化が認められた興津早生の皮から得た抽出物を HPLC にて分画し、AMPK 活性が確認された画分に含まれる化合物を解析した結果、ノビレチンの類縁体が得られた。また、複数の農産物や新たに入手したミャンマー由来の薬草 7 種類を評価したところ、ワサビ葉、プルメリアの花弁およびシュクシャの抽出物において強いAPMK活性化能を有することが確認できた(図４)。

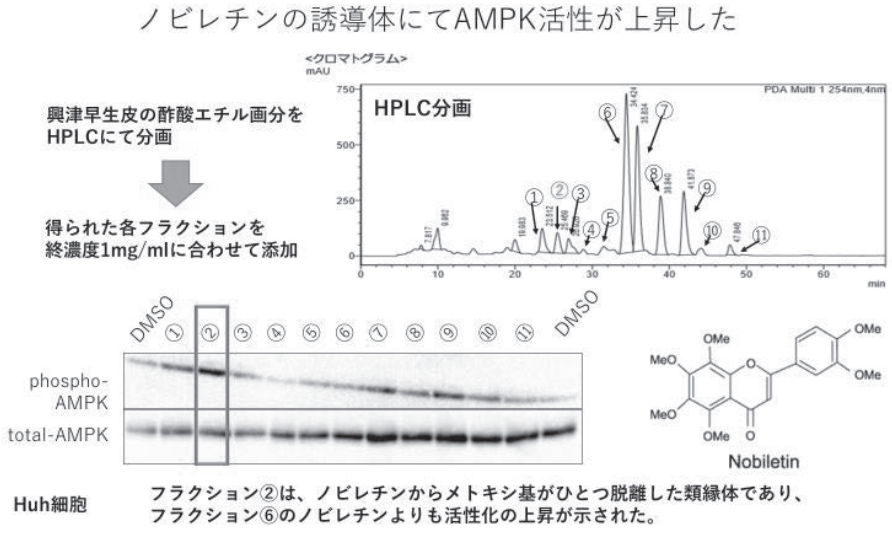


図４

抗酸化活性を用いたスクリーニング：DPPH ラジカル捕捉活性スクリーニングを行った結果、ムクナ(皮)、ムクナ(豆)およびウコンに抗酸化活性を有することが確認された（図５）。

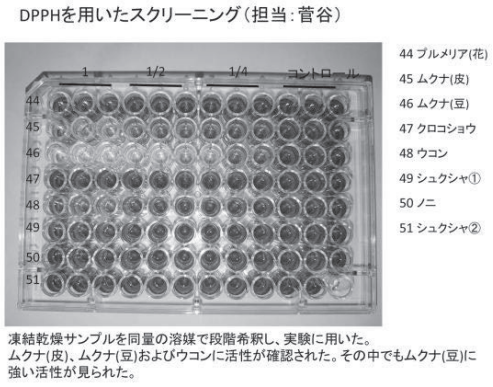


図５

安全性評価（エストロゲン活性）：調べたいずれの抽出物からもエストロゲン活性は検出されず、安全性が確認された（図６）。

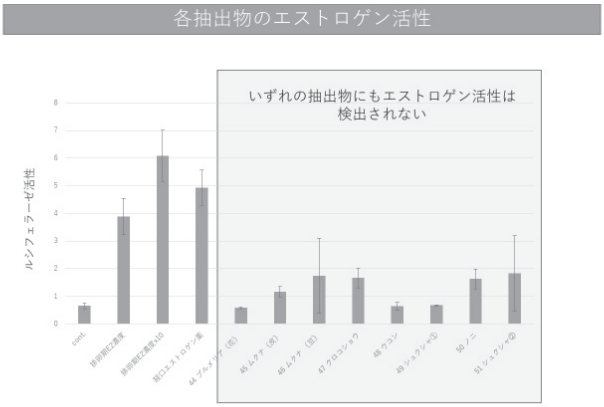


図６

８．実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

該当なし

９．残された問題点と今後の研究推進方策

チロシナーゼ阻害活性評価：今回単離した桂皮酸はすでにチロシナーゼ阻害活性が報告されているため、他の画分の単離と構造決定を行っていく。また、ミャンマー由来の薬草から見つかったムクナ(豆)、ウコン、シュクシャはいずれも昨年度から使用していたシナモン抽出物よりもチロシナーゼ阻害活性が強かったため、シナモンと並行して活性成分の単離を行っていく。

脂肪細胞分化抑制評価：今回単離した PGG は既に脂肪細胞分化抑制活性の報告はあるので fr51-52 の構造解析を行っていく予定である。また、ミャンマー由来の薬草を含めた他の抽出物のスクリーニングも並行して行っていく予定である。

AMPK 活性評価：ノビレチンにおいては、既に AMPK の活性化能を示すことが報告されているが、今回得られたノビレチンの複数の類縁体においては報告がない。そのため、今後はこの複数の類縁体において AMPK 活性化状態を比較することでより強い AMPK 活性化能を有するノビレチンの類縁体の同定を試みる。また、今年度に新たに AMPK 活性化を示すことが確認できた試料については、その活性成分の単離を試みる。

抗酸化活性を用いたスクリーニング：今回スクリーニングを行ったミャンマー由来薬草の中では、ムクナ(皮)、およびムクナ(豆)に強い抗酸化活性が認められた。今後はムクナの抗酸化活性だけでなく、βアミロイド（Aβ）ペプチド、の凝集阻害に関してもスクリーニングを行う。Aβの凝集がアルツハイマー発病の過程において重要な事象であることから、Aβの繊維化動態や Aβの凝集阻害剤の探索には非常に興味が持たれている。

安全性評価（エストロゲン活性）：引き続き安全性評価としてエストロゲン活性を評価する。

10. 公表した成果一覧

学術論文

1) Ishimi Y, Takebayashi J, Tousen Y, Yamauchi J, Fuchino H, Kawano T, Inui T, Yoshimatsu K, Kawahara N. 2019 Quality evaluation of health foods containing licorice in the japanese market. Toxicology Reports 6, 904 - 913.

2) 山内淳、小暮更紗、堀口俊英、米澤加代、谷岡由梨、古庄律、竹林純、東泉裕子、石見桂子 2019 エストロゲン活性を示す健康食品の検出 日本栄養・食糧学会誌 72, 159 - 163.

２０１９年度 東京農業大学 大学戦略研究プロジェクト
研究成果報告書

研究代表者　　白木　彩子

１．研究課題名および予算額

研究課題名	研究領域 （キーワード）	予算額（円）
渡り鳥の生息環境を指標とした、日露陸海域の生態系保全を目指す研究	国際 生物多様性	3,000,000

２．研究組織

	氏名	所属・職名	個別研究課題名
研究代表者	白木　彩子	生物産業学部 北方圏農学科・准教授	海ワシ遠隔追跡・包括生息環境解析
研究分担者	島田　沢彦	地域環境科学部 生産環境工学科・教授	陸域 GIS ベースマップ作成
	園田　　武	生物産業学部 海洋水産学科・助教	魚類・底生生物生息状況
	西野　康人	生物産業学部 海洋水産学科・教授	海域環境と一次生産
	舘山　一孝	北見工業大学 工学部 地球環境工学科・准教授	海域環境解析
	白岩　孝行	北海道大学 低温科学研究所 環オホーツク観測研究センター・准教授	アムール川・オホーツク海環境変動

３．研究期間

２０１９年４月１日～２０２０年３月３１日（３年計画の２年目）

４．研究の背景（当初）

渡り鳥の保護では、繁殖地と越冬地だけでなく両地を結ぶ渡り経路や途中の滞在地（以下中継地）を包括した生息環境の保全が求められる。多くの渡り鳥は越境的に生息するため、その保護管理には関係国間の協力が欠かせず、とくに高次捕食者種では餌生物を含む生態系保全が課題となる。一方、希少な渡り鳥の保全は国際的な同意を得やすいテーマでもあり、これを関係国間の共通目標とすることで、越境的な生態系保全という難しい環境問題の解決に貢献できる可能性がある。オジロワシやオオワシ（以下海ワシ類）は、主にロシア極東の森林地帯で繁殖する希少猛禽類で、

河川や湖沼などの内水域や海域の魚類、水禽類を主な餌とする最高次捕食者である。ロシア極東で繁殖する海ワシ類の多くはロシア極東南部や北海道で越冬する渡り鳥で、とまり場や餌場として海氷のある海域を利用することも報告されている。そのため海ワシ類の包括的な生息環境の保全は、森林と内水域を主体とする陸域生態系と、食物連鎖において頂点に位置する海域生態系との両方が対象となる。

極東最大の海ワシ類の繁殖地であるアムール川流域では、近年、伐採や土地利用による森林劣化、河川水質の悪化が報告されており、オホーツク海ではアムール川の水質変化や過度な漁獲、気候変動等による海洋環境や生物群集の変動が指摘されている。また、ロシアオホーツク沿岸の陸域では資源開発による環境改変が、北海道や北方四島では衝突事故などの悪影響を引き起こす大規模な風力発電事業が、それぞれ渡り鳥への新たな問題となっている。日露両国におけるこれらの環境変化は海ワシ類個体群に負のインパクトをもたらす可能性が高く、既にその悪影響も報告されている。

５．研究目的

先に述べた背景をふまえ、本プロジェクトは日露間の渡り鳥である海ワシ類の生息環境を指標として陸・海域生態系の構造の解明と保全を目指すものである。その達成に向け、以下の１）～５）の項目を主な目的として設定した。

１）遠隔追跡調査による、海ワシ個体の渡り移動経路と包括的生息地の特定

2019 年度の目的）前年度に開発した罠やモニターシステムを改善し、北海道で越冬する海ワシ類を捕獲してＧＰＳ送信機による遠隔追跡調査を行う。この結果と、ロシア極東の繁殖地で捕獲された巣立ち後幼鳥の渡り移動データを用い、GIS 地図上で海ワシ類の渡り移動経路および中継地や越冬地などの生息地を特定する。

２）陸域ベースマップ作成と陸海域の海ワシ類生息環境要件の抽出

2019 年度の目的）この項目では、1）で特定された陸海域の海ワシ類生息地の環境特性を解析して、広域的な潜在生息適地を推定することを目的としている。そのために、陸域においては解析に用いるロシア極東地域の広域的な GIS ベースマップが必要であり、まず、ベースマップの重要な要素である土地被覆図を作成する必要があった。そこで 2018 年度は、衛星画像をもとに、ロシア極東の一部地域を対象にした土地被覆図作成を試みたが、被覆分類の精度が低い項目もあったことなどから、2019 年度は分類手法をさらに改善し、より高精度で広域の土地被覆図の完成を目指す。

一方、オジロワシの生息地モデルに耐えうる土地被覆図のシステマティックな作成方法はまだ確立されていない。そこで、より広域を網羅するベースマップ作成に向け、MODIS の複数バンド画像をサンプルとしたディープラーニングによる土地被覆分類の作成法の検討を試みる。ディープラーニングはリモートセンシングの分野でも、特にマルチスペクトルやハイパースペクトル画像に対して多く活用されている。この手法により土地被覆分類図を作成できれば、土地被覆情

報の迅速な活用に非常に有効で、従来できなかった詳細な土地被覆図を広域において作成できる可能性がある。

海域については、2018 年度に調査した本プロジェクト実施期間に利用可能な海洋・海氷・気象情報の結果をもとに、海ワシ類の滞在地点と海氷・気象状況の関係について明らかにすることを目的とした。

3）潜在餌種の生息状況の把握と生息環境要件の抽出

2019 年度の目的）海ワシ類の餌場環境との対応関係の検討資材とするために、網走周辺の海ワシ類の生息地にある水域において、魚類や底生生物の採集調査により、また採集の困難な場所や時期においては環境 DNA 分析により、海ワシ類の潜在的な餌である魚類やその餌生物である底生生物などの生息分布を明らかにする。

4）海洋環境に基づく、オホーツク海域一次生産力の推定

2019 年度の目的）広範で精度の高いオホーツク海域の一次生産力データの推定を行うために、現場観測データと衛星データとの比較検討を行う。結氷した能取湖においてアイスアルジーならびに海氷下の植物プランクトンの生産力を実測し、クロロフィル a 濃度の動態を LANDSAT ETH+と SSM/I、SGLI の衛星データと比較し、衛星データによる広域的な一次生産力の推定手法を検討、確認する。

5）陸海域における海ワシ類の潜在的な生息環境の推定

2019 年度の目的）海域における物理環境特性や生産力に基づく餌生物群集および海ワシ類の生息地推定に向け、海氷の残る越冬期後期のオホーツク海沿岸で小型船舶を用いた海洋環境、プランクトン、魚類、海鳥、海ワシ類の同時調査を実施する。これらの項目ごとの調査結果を突き合わせ、海洋環境や各生物群の分布や密度との関係性を解析してそれぞれの対応関係を探ることを目的とする。

6．研究（実験）方法

1）遠隔追跡調査による、海ワシ個体の渡り移動経路と包括的生息地の特定

2019 年 8 月初旬から中旬に、ロシアマガダン自然保護区内のオオワシ営巣地で巣立ち直前のヒナ 3 個体を捕獲し、GPS データーロガー付き送信機を装着した。この現地調査は、旭硝子財団環境フィールド研究助成を受けて実施された。GPS 送信機を装着したヒナは巣の上に戻し、携帯電話回線（3G）を介して配信される個体の位置情報に基づく遠隔追跡調査を行った。この送信機のロガーには一定時間おきに個体の位置情報（緯度経度、高度）や移動速度などが蓄積され、対象個体が携帯電話圏内にいれば蓄積された情報がインターネット上で定時的に配信される。本調査では、2 時間おきの位置情報が 1 日 2 回配信されるプログラムとした。また、2018 年度にアムール川下流域の営巣地で送信機を装着したオジロワシ 2 個体についても、遠隔追跡調査を継続した。イン

ターネット上からこれらの海ワシ類の位置情報を入手し，GIS 地図上に展開して渡り移動経路や中継地、越冬地を特定した。

さらに、2020 年 2-3 月にかけて網走市八坂旧ゴミ処理場周辺および網走湖湖岸付近において、研究協力者の北見工業大学　長谷川稔技術員らと開発したネットランチャー罠を用いた海ワシ類の捕獲調査を実施した。その結果、2 月末にオオワシ成鳥 1 個体、3 月初旬にオジロワシ成鳥 1 個体をそれぞれ捕獲し、送信機を装着して遠隔追跡調査を実施した。

2）陸域ベースマップ作成と陸海域の海ワシ類生息環境要件の抽出

(1)　陸域における高精度な広域 GIS ベースマップ作成

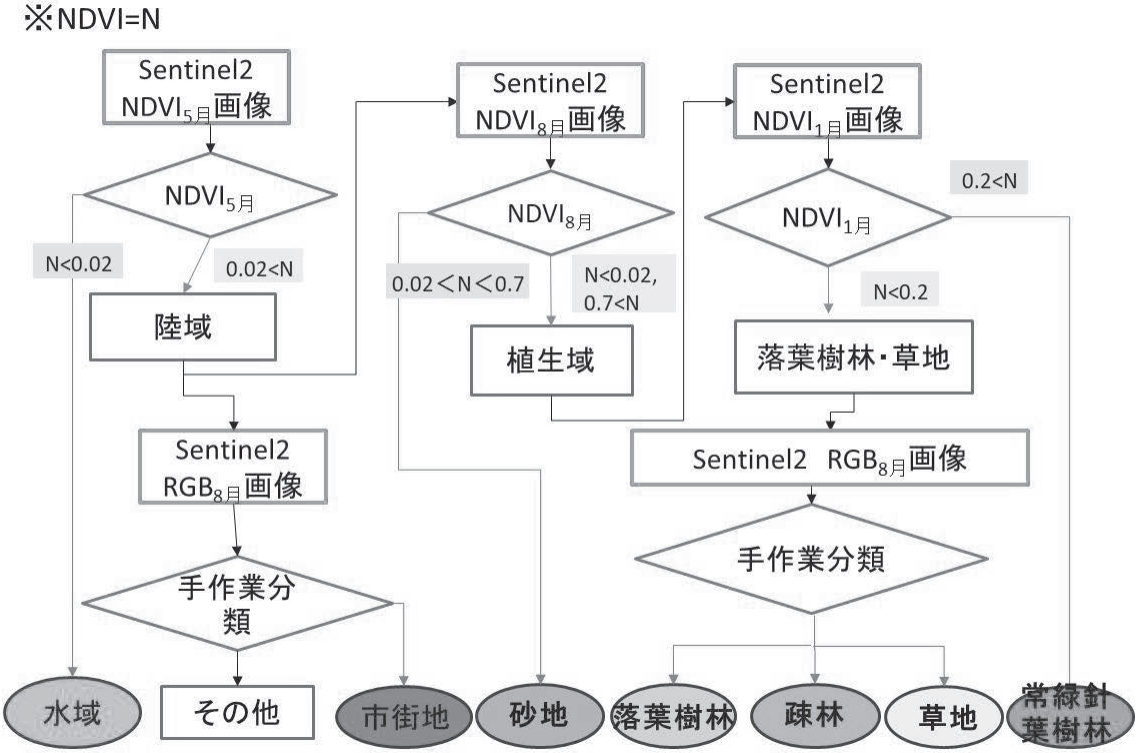


図 6-2)-1　2018 年度に本プロジェクトで作成した Sentinel2 衛星データを用いた土地被覆分類手法チャート

2018 年度に本プロジェクトで作成した、Sentinel2 の衛星画像をもとにした手法（図 6-2)-1）による土地被覆分類は、分類精度の低い項目もあり、海ワシ類の生息環境解析に十分な精度とはいえなかった。そのため 2019 年度はこの分類精度の向上を目指し、かつ、できるだけ海ワシ類の生息環境特性の解析に適したものとなるように、以下の作業を行った。

まず、8 月の NDVI 値に基づく砂地の分類では、全ての砂地が抽出される NDVI 値を設定すると、草地など他の分類項目が混在してしまうため、NDVI の最大値を低めに設定し、分類されなかった砂地は教師なし分類を行った。また、分類精度の低かった常緑針葉樹林については、生育地の山地斜面の影が正確な分類を行う上で問題となっていたことから、できるだけ影の影響がなくなるように、大気補正、地形補正のなされた L2A 画像を使って NDVI 値と教師なしにより分類した。一方、内水域については、増水時と渇水時では流域面積が大きく変化することから、通常は水量が最大になると考えられる雪解け時期の 5 月または 6 月の画像を使用して分類した。

今回の土地被覆分類法に基づいて作成予定の詳細な GIS 環境ベースマップの範囲は、ハバロフスク地方と沿海地方のうち、既知のオジロワシの営巣地周辺のほか、項目 1)の遠隔追跡調査によって特定されたオジロワシの中継地・越冬地周辺とした。海ワシの中継地と越冬地の条件は、Nemcek et al.(2016)に準じ、追跡個体が出生した営巣地に滞在中の当該個体の行動圏から移動し、

かつ前日の塒との距離が 10km 以内にありそれが連続して 5 日間以上続いた場合とした。これらの条件を満たす滞在地のうち、9 月～11 月の滞在地を秋の中継地、12 月～翌年 3 月までの滞在地を越冬地、4 月の滞在地を春の中継地とした。なお、それぞれの滞在地の行動圏はカーネル法 95%で抽出した。カーネル法は、対象種の分布に影響を与える空間スケールを考慮した解析方法で、行動や資源利用の範囲が対象地点の外側に及ぶような場合についても、有効に環境条件を考慮することができる(角谷 2010)。カーネル法の解析は、統計ソフト R3.6.1 の adehabitatHR パッケージを用いた。滞在地の行動圏内のポイントデータのうち、日の出 30 分後～日の入り 30 分前のポイントを日中の餌場やとまり場、日の入り 30 分後～日の出 30 分前のポイントを塒として扱った。塒地点は一晩のうち得られたポイントのうち、精度が高いと考えられる DOP 値が最も低いデータを使用した。作成した土地被覆分類手法に含まれないそのほかの地図情報として、道路と鉄道については、Open Street Map（以下 OSM http://download.geofabrik.de/russia.html （ダウンロード：2020 年 1 月 13 日)）をピクセル 20*20m のラスターに変換し、被覆図に挿入した。人間の居住地については、Sentinel-2、Google earth の衛星画像、Esri 衛星画像(http://www.arcgis.com/home/item.html?id=232727dda91d4978a3b1005bc45f8634)、Yandex 衛星画像(https://yandex.com/maps/213/moscow/?ll=37.588628%2C55.734046&z=10)を参照し、居住地や街全体の形に沿ってポリゴンを作成した。そして、これをラスターに変換して外挿した。また、作成した被覆図の水域は河川と湖沼、海を含むが水域タイプを区分していないため、これら 3 タイプの水域情報のラスターデータを含む ASTER Global Water Bodies Databas (ASTWBD)(https://lpdaac.usgs.gov/products/astwbdv003/)を追加した。

以上の作業により改善された土地被覆図分類の精度検証を、QGIS のプラグイン AcATaMa(https://smbyc.bitbucket.io/qgisplugins/acatama/)を用いて実施した。標準誤差の値は 0.005 として作成した土地被覆図上でポイントをランダムサンプリングし、ESRI 衛星画像、Google 衛星画像、Yandex 衛星画像を用い、目視でサンプル地点の土地被覆分類の正誤確認を行った。

次に、土地被覆図に標高や斜面方位、傾斜などの情報を盛り込んだ GIS ベースマップを作成した。標高は ASTER Global Digital Elevation Model(https://lpdaac.usgs.gov/products/astgtmv003/)を用い、ArcMap の[斜面方向]で斜面方位を、[傾斜角]で斜度を計算した。

一方、ディープラーニングを用いた土地被覆分類手法の検討において、広域教師データとして 2017～2018 年に撮影された Sentinel-2（分解能：10m）の衛星データのうち、NDVI(正規化植生指数)や RGB データを用いて分類された土地被覆分類図を用いた。教師画像は、学習画像に合わせて分解能を 250mにリサンプル処理を行った。学習データとしては、MODIS/Terra Vegetation Indices 16-Day L3 Global 250m SIN Grid V006 プロダクトで、h26v03, h26v04, h27v04 の 3 タイル範囲において、教師データの時期に合わせた 2017/06/27-07/11, 2017/12/03-12/18, 2018/07/28-08/12, 2018/12/03-12/18 の 4 時期をダウンロードした。学習データは全て、256×256 pixel の範囲に分割し 8 bit の画像に変換した。また、ディープラーニングパッケージソフトの関係上、夏季 NDVI・冬季 NDVI とプロダクト内 4 バンド（Red、NIR、Blue、MIR）の主成分分析から導出した第 1 主成分（PC1）の計 3 レイヤのみを使用した（図 X)。最終的に教師データ画像（Target Image)・学習

データ画像（Input Image）122 組のペア画像を作成し、これらを 4：1 でそれぞれ学習用、検証用とした。

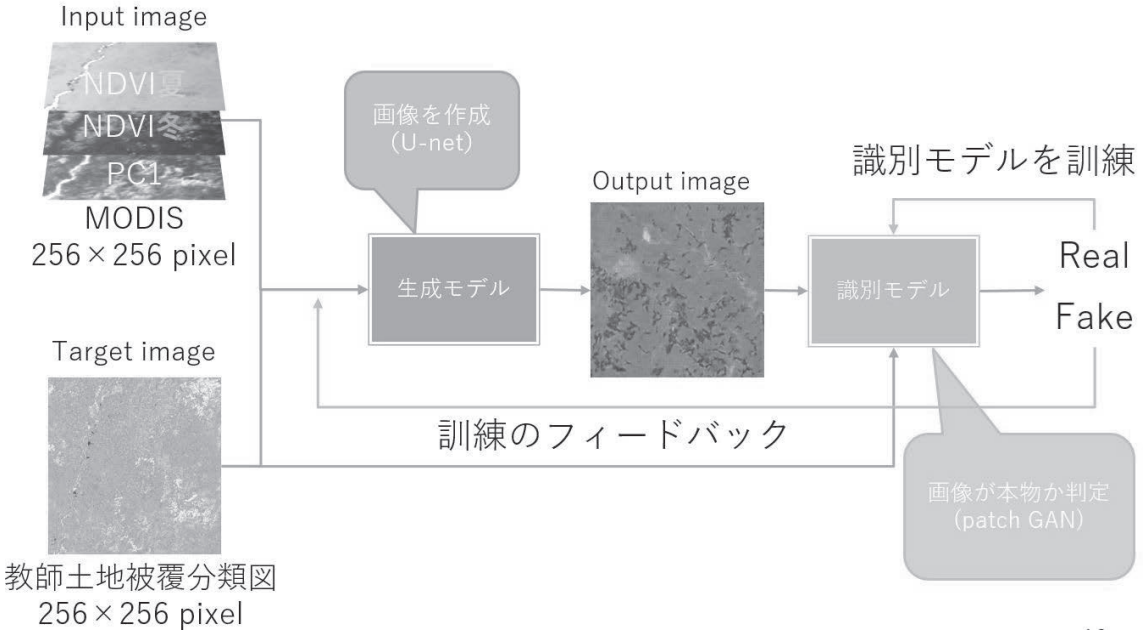


図 6-2)-2 ディープラーニング・トレーニングのアルゴリズム

ディープラーニングモデルの構築には「pix2pix-tensorflow」を使用した。pix2pix は敵対的生成ネットワーク(GAN ： Generative Adversarial Network)の技術を使用した汎用画像変換プログラムである。GAN とは生成器(generator)と識別器(discriminator)から構成されるモデル生成のための枠組みのことで、本物のデータと生成器が作成したデータのどちらが与えられたかを識別器が解答し、その正誤情報と、本物データと生成データの差をもとに識別器を改善する。更にその識別機に見破られないよう生成器も改善するという流れを繰り返すことで、共進化のように生成器と識別器の精度を上げていく手法である。pix2pix では、生成器にはセグメンテーションに適した CNN である U-net、識別器には一定のパッチ単位で識別する patch GAN が採用されている。Batch size は 4 に設定し、学習回数は 100，200，300 回として施行し、最適な学習回数を検討した（図 6-2)-2)。

(2)海域におけるワシの滞在地点と海氷・気象状況との関係

ワシの海域滞在地点とそのときの海氷および気象状況との関係を明らかにするために、ワシが移動した経路（緯度・経度・高度）に沿って衛星データおよび気象データの収集を行った。表 6-2)-1 に 2019 年度に解析したワシの移動データのサンプル数と、対応する衛星観測データ、気象データの収集・解析状況を示す。この表に示している衛星観測データの詳細は表 6-2)- 2 で、気象データの詳細は表 6-2)-3 でそれぞれ説明されている。

表 6-2)-1　2019 年度のワシのデータサンプル数と対応する衛星，気象データの収集・解析状況.

期間	ワシの移動サンプル数	進捗状況	衛星観測データ			気象データ
			ETM+	SSM/I	AMSR-E AMSR2	ERA5
1995 – 1998	34	収集状況	未	済	-	済
		解析状況	未	未		未
2002 – 2011	9	収集状況	済	-	済	済
		解析状況	済		済	未
2012 – 現在	4	収集状況	済		済	済
		解析状況	未		済	済

衛星観測データは、表 6-2)-2 に示す可視近赤外センサ 1 種類（LANDSAT 衛星 ETM+），マイクロ波センサ 3 種類（DMSP 衛星 SSM/I、Aqua 衛星 AMSR-E、GCOM-W 衛星 AMSR2）を使用した。ETH+のデータは米国地質調査所 USGS のデータ検索サイト「Earth Explorer」から、SSM/I のデータは米国雪氷データセンターNSIDC のデータ提供サイト「Earth data」から、AMSR-E と AMSR2 のデータは JAXA の地球観測衛星データ提供システム「G-portal」からそれぞれ入手した。ETH+のデータ形式は GeoTIFF であり、衛星データ解析ソフトウェア EISEI および Google Earth を用いた。SSM/I、AMSR-E、AMSR2 のデータ形式は HDF 形式であり、数値解析ソフトウェア MATLAB を用いて現地観測地点のデータを抽出した。

3 種類のマイクロ波放射計のうち SSM/I は 1987 年から現在まで 42 年間の長期データが利用可能であるが空間分解能が 25km と粗く、2002 年に打ち上げられた AMSR-E と 2012 年に打ち上げられた ASMR2 は空間分解能が 10km と SSM/I よりも高く、より正確な海氷分布を得ることができる。また、AMSR-E と AMSR2 については分担者の舘山が開発したアルゴリズムから推定した海氷厚の値を利用し、海ワシ類が活動する海域環境（面積、氷厚）の解析を行った。

表 6-2)-2　本研究で使用した衛星センサ

センサ名	機関 衛星名	期間	種別	情報	空間分解能
ETM+	USGS/NASA LANDSAT	1972 – 現在	可視・近赤外	海氷分布	30m
SSM/I	DoD DMSP	1987 – 現在	マイクロ波	海氷密接度	25km
AMSR-E	NASA Aqua	2002 – 2011 年	マイクロ波	海氷密接度 海氷厚	10km
AMSR2	JAXA GCOM-W	2012 – 現在	マイクロ波	海氷密接度 海氷厚	10km

気象データは、客観解析データと呼ばれる数値予報モデルの計算によって得られたデータ使用した。本研究で使用した客観解析データは、表 6-2)-3 に示すヨーロッパ中期予報センターECMWFが提供する再解析データ ERA5 を使用した。ERA5 は水平解像度 31km、地表から最高 80km の高さまで 37 層のデータが利用できる。本研究は地表面から 900hPa 面（高度約 1,000m）まで，250m 間隔で水平方向の風向・風速，鉛直方向の風速，気温データを使用した。

表 6-2)-3 本研究で使用した気象データ

センサ名	提供機関	期間	種別	気象要素	空間分解能
ERA5	ECMWF	1979 - 現在	hourly data on pressure levels	風向・風速 気温	30m

3）海ワシ類の主要餌種の生息状況の把握・推定

網走周辺水域において、以下の魚類調査を実施した。

（1）環境 DNA 分析による魚類調査

通常の採集調査が困難な冬季や沿岸域における生息魚類を推定するため、環境 DNA 分析による魚種推定をおこなった。採水は、網走湾で 2019 年 9 月 30 日に 2 地点（B3、D82）と、項目 5)の小型船舶を用いたオホーツク海生態系調査における 2020 年 3 月 19 日に 5 地点（St.1～5）でおこなった（図 6-3）-1)。採水は消毒したビニール袋を被せた採水用バケツで表層水 1 L をすくい取り、塩酸洗浄したサンプル瓶に保管した。一連の作業工程で DNA のコンタミが起こらないよう、注意して行った。採水サンプルの分析は専門業者へ委託しておこない、得られた結果と既往の知見等を踏まえて魚種を推定した。

（2）採集による魚類調査

非結氷期の網走湾周辺水域に生息する魚類について、捕獲採集による調査を実施した。

① 能取湖での刺網調査

能取湖の湖口において、2019 年 7 月と 10 月に農大調査船かいよう 2 を用いて刺網調査を実施した。刺網は 1 目 2 寸（約 6 cm）、長さ 50 m・縦 1 m で、水深約 3 m の場所に、概ね水深 1～2 m の間に張るよう 24 時間設置した。採集された魚類は東京農大オホーツク臨海研究センターへ持ち帰り、分類同定し、標準体長・体重を測定した。

② 網走湖での小型定置網調査

網走湖の大曲と女満別の湖岸において、2019 年 7 月と 10 月に小型定置網（ふくべ網）による調査を実施した。ふくべ網は湖岸に沿って移動する魚類の習性を利用したもので、湖岸に垂直になるよう網を設置して袋網の中へ誘導して捕獲する。網目合いは約 1 cm である。ふくべ網を 24 時間設置後、採集された魚類を東京農大オホーツク臨海研究センターへ持ち帰り、分類同定し、標準体長・体重を測定した。

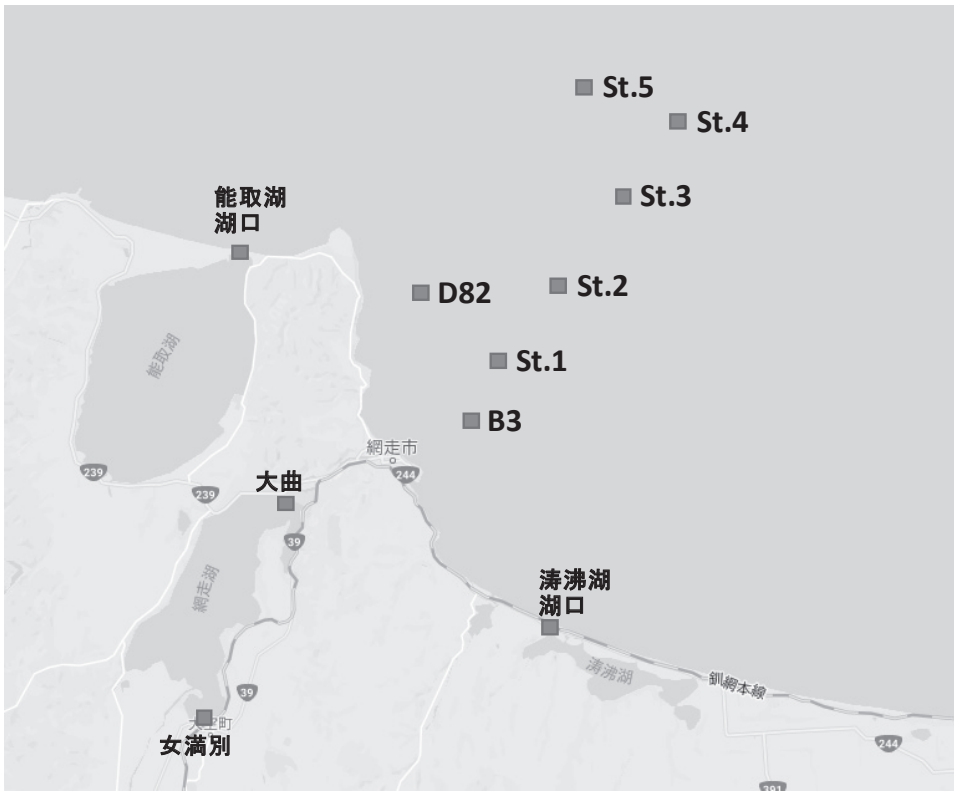


図 6-3）-1　調査地点

4）海洋の物理環境に基づくオホーツク海域の一次生産量の推定

（1）能取湖における一次生産力測定

植物による有機物生産は光合成と呼吸に基づく過程であり、nCO2 ＋ nH2O ⇔ (CH2O)n＋ O2　で表される。基本的には、固定される炭素量、発生する酸素量、消費される二酸化炭素量を測定することで、光合成速度を求めることができる。しかし、水圏では炭酸平衡がおこるため、二酸化炭素量の変動による一次生産力の測定は行えない。そのため海洋における一次生産量を測定する方法として、よく用いられているのが明暗瓶法である。この手法には、試水を一定時間培養し、培養開始時と終了時の酸素の増減を測定する酸素法がある。そのほか、同位体で標識された炭素の固定量を測定する同位体法がある。これら酸素法や同位体法は、一定時間培養し、その開始時点と終了時点での差、すなわち２点のデータより一次生産力を求める。そのため、始点と終点をどこに設定するかによって、一次生産力が異なる値を示すことになる。また培養時間中の太陽光の光量の変動による一次生産力の応答は不明である。培養時間中の一次生産力は、いわばブラックボックスといえる。培養時間中の一次生産力を測定することができれば、太陽光の動態に対する植物の応答を把握することが可能となる。すなわち、現場光量とクロロフィル a 量から一次生産力を推定する可能性がみえてくる。

この可能性を実現するためには、酸素法による一次生産力の測定が有効である。これまで溶存酸素濃度の測定は、滴定によるウィンクラー法、隔膜ガルバニ電極法が一般的であった。ウィ

ンクラー法は滴定による測定法のため、培養時間中にデータを取得するためには採水する必要があり、溶存酸素濃度の経時的動態を把握するのは困難である。隔膜ガルバニ電極法は経時的データの取得は可能であるが、膜式であるため、膜を透過する水流が必要であり、また膜が目詰まりをおこすため頻繁に洗浄する必要がある。そのため培養系が制限される。これら要因のため、一次生産力は始点と終点の差より求める方法が一般的であった。近年、光学式の溶存酸素計が開発され、高精度で溶存酸素濃度を測定し、長期間安定した連続測定を行うことも可能となってきた。

そこで本研究では、前述のブラックボックス、すなわち培養時間中の一次生産力の経時的測定の可能性を模索すべく、光学式溶存酸素センサーを用いて、現場における溶存酸素濃度の連続測定を行い、一次生産力ならびに呼吸量の評価を行った。

調査地点は、能取湖湖口である（図 6-4）-1)。能取湖はオホーツク海に開口し、潮汐に合わせ、オホーツク沿岸水塊と能取湖湖内水塊が流出入している。昨年度の研究結果より、上げ潮時にはオホーツク沿岸水が流入し、下げ潮時に能取湖湖内水が流出することが示された。この結果にもとづき、上げ潮時に湖口で採水し、一次生産力測定に供した。こうすることで、オホーツク沿岸水の一次生産力の評価を試みた。

調査は、CTD 観測（水温、塩分、蛍光値）を行ったのち、バンドーン採水器で採水した試水は、透明のポリカーボネートタンク（9 L）に入れ、小型メモリー溶存酸素計（RINKO I, JFE アドバンテック）をタンク内にセットした後、採水水深度に係留した。溶存酸素計はタンク内の溶存酸素濃度を 10 分ごとに測定する設定とした。また現場の光環境を測定するため、小型メモリ光量子計（DEFI2-L, JFE アドバンテック）を陸上に設置し、10 分ごとに現場環境の光量を測定した。タンクと光量子計は、現場に 24 時間以上設置した。

一次生産力の測定は、2019 年 6 月から月 1 度の頻度で行った。

一次生産力算出方法は、溶存酸素濃度の動態より、夜間は直線的に減少傾向を示す。この傾きより呼吸速度を算出する。日中は光合成により酸素濃度の増加が見られる。この増加は見かけの光合成量（純光合成量）を示す。呼吸は常に行われているので、呼吸により消費された分を加算することで、真の光合成量（総光合成量）を算出する。酸素による光合成量を炭素量に換算は、光合成の式　nCO2 ＋ nH2O ⇔ (CH2O)n ＋ nO2　より算出し、光合成商を 1 と仮定し、増加した酸素量（分子量 32）から取り込まれた炭素量（分子量 12）を算出した。

図 6-4)-1　能取湖湖口の観測定点

(2) 衛星観測による一次生産量の観測と現場データとの対応関係

現場観測データと衛星データとの組み合わせにより、広範で精度の高いオホーツク海域の一次生産力データの推定を行うため、今年度は以下を目的とする。まず、現場では結氷した能取湖においてアイスアルジーならびに海氷下の植物プランクトンの生産力データを取得する。それにより得られたクロロフィル a 濃度の動態を衛星データと比較し、衛星データによる一次生産力の推定手法を検討、確認する。

2018 年度に引き続き、表 6-4) -1 に示す衛星搭載海色センサ SGLI を使用した一次生産量の観測を行った。SGLI は、JAXA の GCOM-C 衛星に搭載されている多波長光学放射計(Second generation GLobal Imager) のことである。GCOM-C 衛星は北海道エリアを 1 日に 1～2 回の頻度で観測しており、SGLI は可視・近赤外放射計 11 チャンネルと赤外走査放射計 6 チャンネルから構成され、一次生産力の計算に必要なパラメータである海面温度 (SST)、クロロフィル a 濃度 (CHLA)、光合成有効放射 (PAR) を測定でき、さらに有色溶存有機物吸光係数 (CDOM)、懸濁物質濃度 (TSM)、結氷状態 (OKID) などの海洋情報も提供している。また、これまでの海色センサは沿岸や外洋のみ観測可能であったが、SGLI は空間分解能が高く初めて湖沼などの内水域でも CHLA 等のデータを提供している。本研究では現地観測された一次生産量と比較し, SGLI で観測された CHLA の妥当性の検証を行い、SGLI データを用いることで現地観測の補完が可能か検討した。

SGLI データは JAXA 地球環境モニター「JASMES (JAXA Satellite Monitoring for Environmental Studies) 」で公開され、2018 年度は衛星画像のみ公開されていたため定積的な観測に留まったが、2019 年 10 月から数値データが公開され利用可能となったため、現地観測と比較した定量的解析が可能となった。

表 6-4）-1　本研究で使用した衛星搭載海色センサ

センサ名	機関 衛星名	期間	種別	情報	空間 分解能
SGLI	JAXA GCOM-C	2018 - 現在	可視・近赤外	クロロフィル a 濃度 結氷状態	250m

5）陸・海域における海ワシ類の潜在的な生息環境の推定

2020 年 3 月 19、20 日に小型船舶を用い、網走沿岸から沖にかけて、海氷の状態や海水温や塩分などの海洋物理環境と、植物・動物プランクトン、魚類、海鳥類、海ワシ類の分布や密度の調査を実施した。

７．研究成果

１）遠隔追跡調査による、海ワシ個体の渡り移動経路と包括的生息地の特定

2017 年（図 7-1）-A）と 2018 年（図 7-1）-B）の 7 月に、ロシアのハバロフスク地方でオジロワシの巣内ヒナを、2019 年 8 月中旬（図 7-1）-C）にはマガダン国立自然保護区でオオワシの巣内ヒナをそれぞれ捕獲して GPS 送信機を装着し、遠隔追跡調査を行った。また、2020 年の越冬期には北見工業大学との共同研究で開発したネットランチャー式の罠を用い、網走湖でオオワシとオジロワシの成鳥各 1 個体を捕獲し、遠隔追跡調査を行った（図 7-1）-D)。

遠隔追跡により特定された滞在地点や移動経路を、図 7-1)-A～D に示した。2017 年度捕獲地のアムール川中流域や、2018 年度捕獲地調査のアムール川下流域に近いチュクチャギル湖で出生したオジロワシの当歳幼鳥あるいは 2 年目の若鳥は、それぞれ秋に南下を開始したが、日本に渡来することはなく、越冬地まで追跡された 3 個体すべてが北海道と同程度の緯度にある沿海地方の沿岸部で越冬した（図 7-1）-A, B)。

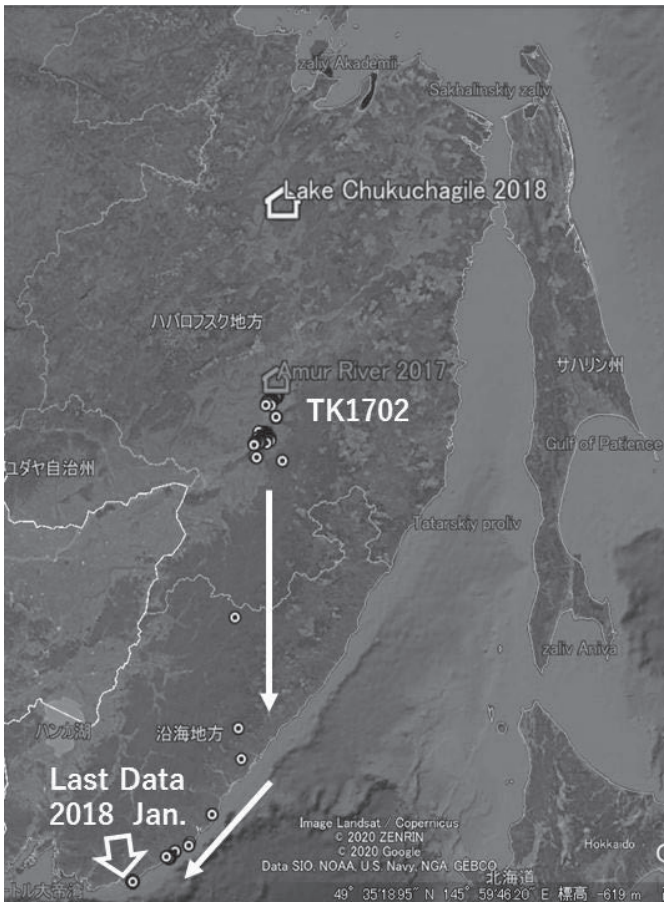


図 7-1)-A　2017 年 7 月にハバロフスク州アムール川中域の営巣地で捕獲したオジロワシ巣内ヒナ 1 個体の 2018 年 1 月までの移動経路. 白丸は得られた位置データを､赤の家マークは捕獲地点を、細い矢印は秋の移動経路を、白抜きの太い矢印は越冬地をそれぞれ示す.

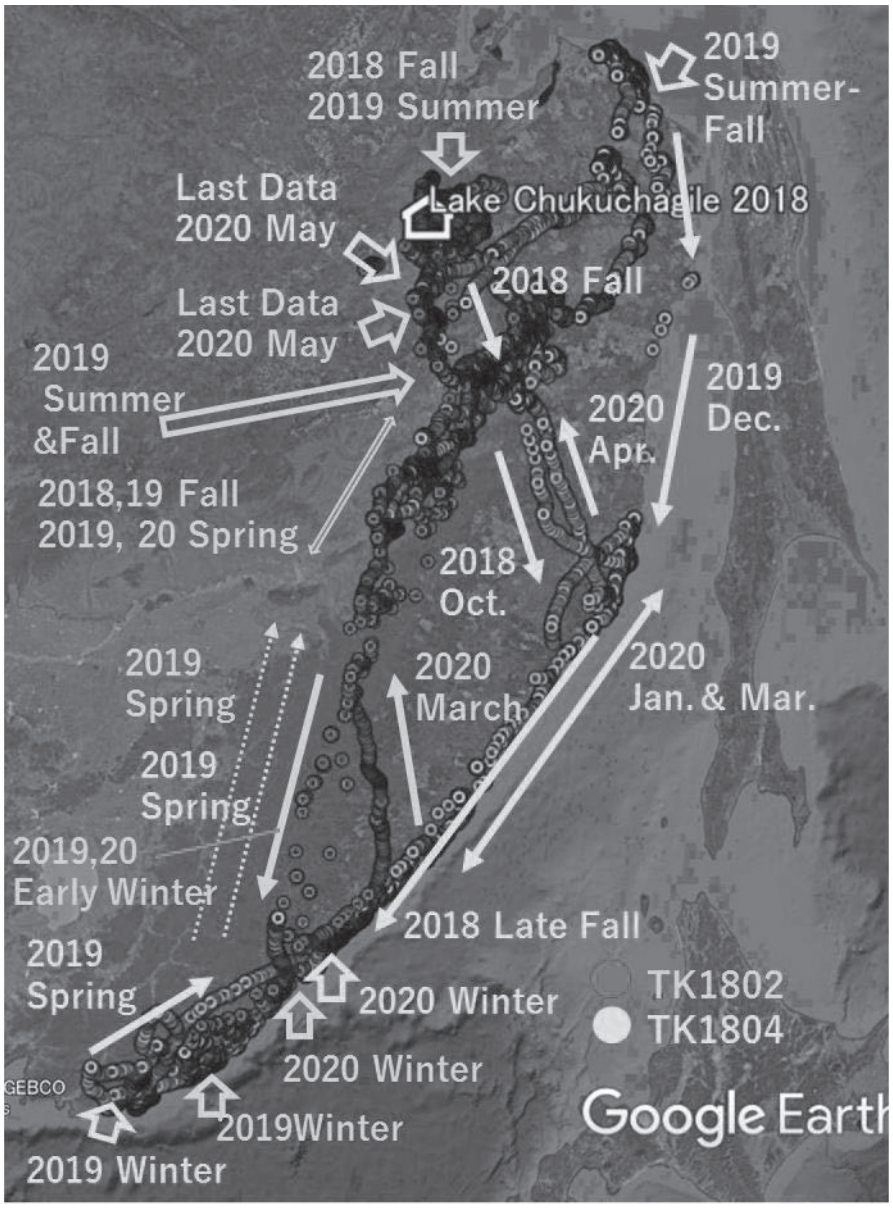


図 7-1)-B　2018 年 7 月にチュクチャギル湖の営巣地で捕獲したオジロワシ巣内ヒナ 2 個体（TK1802、TK11804）の、2020 年 5 月までの移動経路.　黄色の家マークは捕獲地点を、細い矢印は移動経路を、中抜きの太い矢印は滞在地あるいは滞在エリアをそれぞれ示す.

図 7-1)-A,B より、内陸の生息地から越冬地となった沿岸部に至る秋の移動経路として、2 つのフライウエイが確認された。ひとつは、TK1702 と TK1802（2019,20 Early Winter）でみられた、ハバロフスクからアムール川のやや下流付近から南下して沿岸部を目指すルートで、もうひとつは、さらにアムール川下流部（北部）に位置するアムールスク付近の北部から南東方向に沿岸に向かう TK1804 の利用したルート（2018 Oct.）である。さらに 2019 年度にマガダンで出生したオオワシ幼鳥 MG889 も TK1804 の 2018 年 10 月とほぼ同様な経路で沿岸部に達した（図 7-1）-C)。一方、TK1802 と TK1804 の 2020 年の春の渡りでは、それぞれ上記の秋の渡りで用いた経路のやや北側を北上した。これらの経路はすべて山岳地を超える必要があり、気象や地形の条件がその時

期の長距離飛行に適した場所である可能性が考えられる。

一方、2 年目となる 2019 年の夏を、出生地より北側のアムール川河口周辺のオホーツク海沿岸部で過ごしたオジロワシ若鳥 TK1802 は、2019 年の秋はそのままオホーツク海沿岸から間宮海峡沿岸を南下する、前年度と異なる経路を利用した。

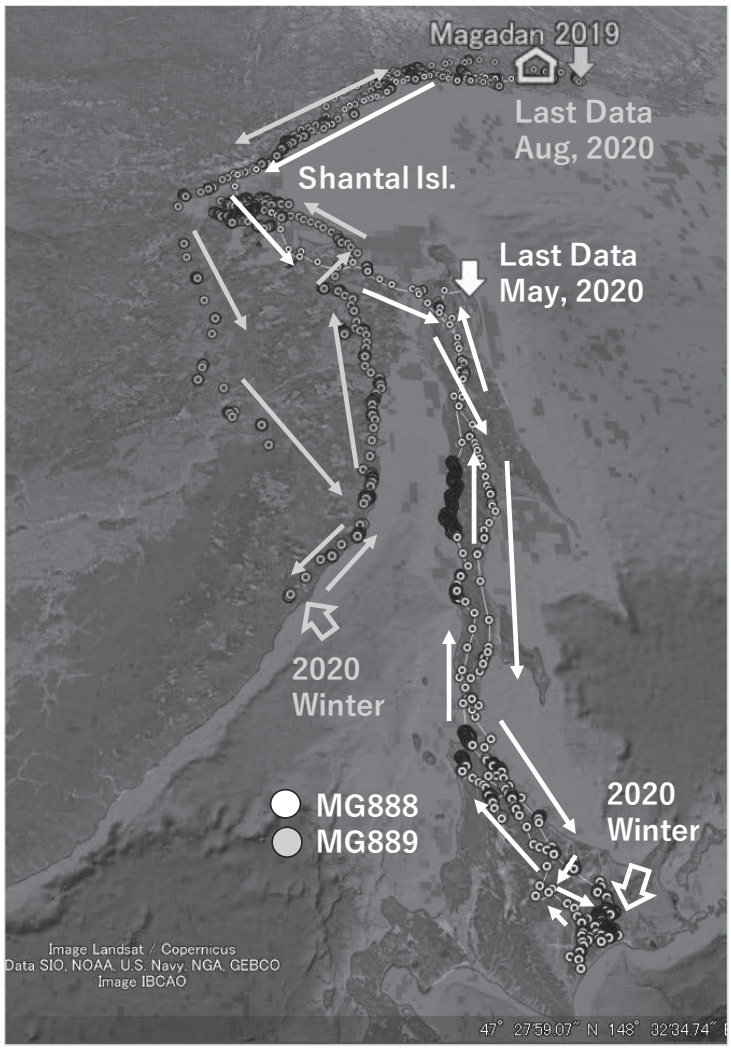


図 7-1)-C　2019 年 8 月にマガダン国立保護区内の営巣地で捕獲したオオワシ巣内ヒナ 2 個体（MG888、MG889）の 2020 年 8 月までに特定された移動経路.　黄緑色の家マークは捕獲地点を、細い矢印は移動経路を、中抜きの太い矢印は滞在地あるいは滞在エリアをそれぞれ示す.

マガダンで捕獲したオオワシの幼鳥 2 個体は、出生地から移動した秋にオホーツク海沿岸を西に向かったが、その後、異なる渡り経路をとった。MG888 はシャンタル諸島経由でサハリン西北端付近に渡り、サハリンを南下して宗谷岬よりやや東南部から北海道に渡来した（図 7-1）-C）。この個体は、北海道北部のサケ科魚類の遡上する河川に滞留した後、12 月に北海道東部の阿寒、釧路地方に移動して越冬した。3 月下旬に北上を開始し、宗谷岬からサハリンに渡り、サハリン北部に達した 2020 年 5 月以降は GPS データの配信が途絶えている。一方、MG889 はアムール川流

域を南下し、アムルスク周辺から山岳地を超えてハバロフスク地方の沿岸部に移動して越冬した。この個体は、春の移動では前年の秋のように山岳地を超えてアムール川流域にはいかず、越冬地から沿岸を北上してアムール川河口周辺に達した後、シャンタル諸島周辺で 6 月まで滞留し、その後、マガダンの出生地付近の河川で超夏したことが確認された。

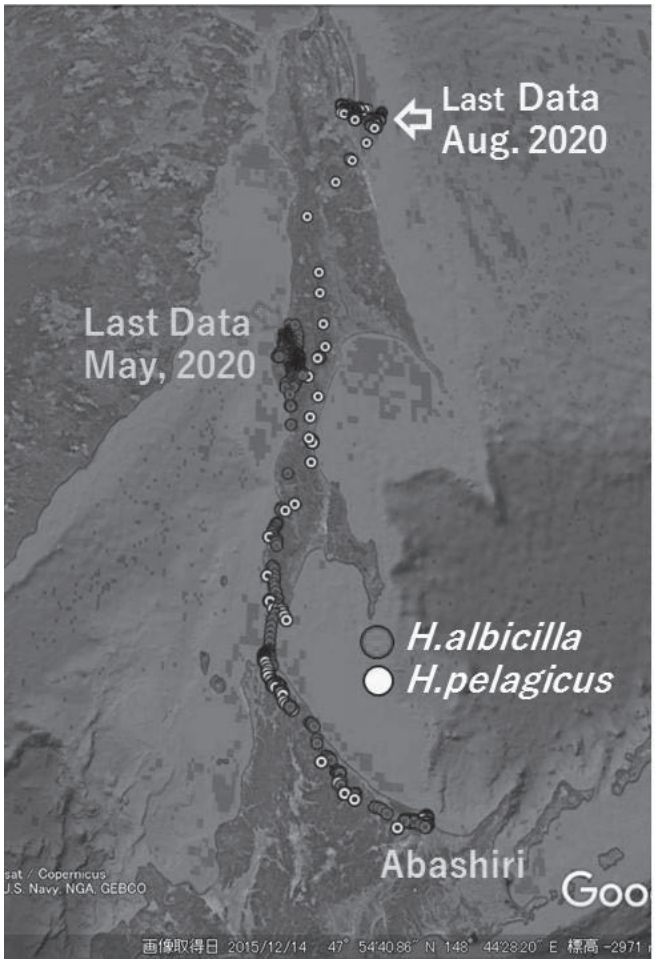


図 7-1)-D　2020 年の越冬期後期に、北海道網走市網走湖岸で捕獲したオジロワシ成鳥とオオワシ成鳥の 2020 年 8 月までの移動経路.　クリーム色の中抜きの太い矢印はオオワシの超夏地を示す.

ネットランチャーを用いた罠を用いた捕獲の試みにより、網走湖湖岸において、2 月 28 日にオオワシ成鳥 1 個体を、3 月 5 日にオジロワシ成鳥 1 個体をそれぞれ捕獲し、GPS 送信機を装着して捕獲地点から放鳥し、遠隔追跡調査を実施した。

放鳥後捕、両個体とも速やかに北上し、サハリンに渡った（図 7-1）-D)。オジロワシはサハリン南部に暫く滞在したことが確認されたが、5 月以降はデータの配信が途絶えた。オオワシの成鳥はサハリン北部のオホーツク海沿岸で 8 月まで滞在したことが確認されており、行動パタンから繁殖している可能性が高い。

2) 陸域における高精度な広域 GIS ベースマップ作成

方法で述べた手法に従い、2018 年度に作成した土地被覆分類手法を改善したチャート図を図 7-2)-1 に示す。

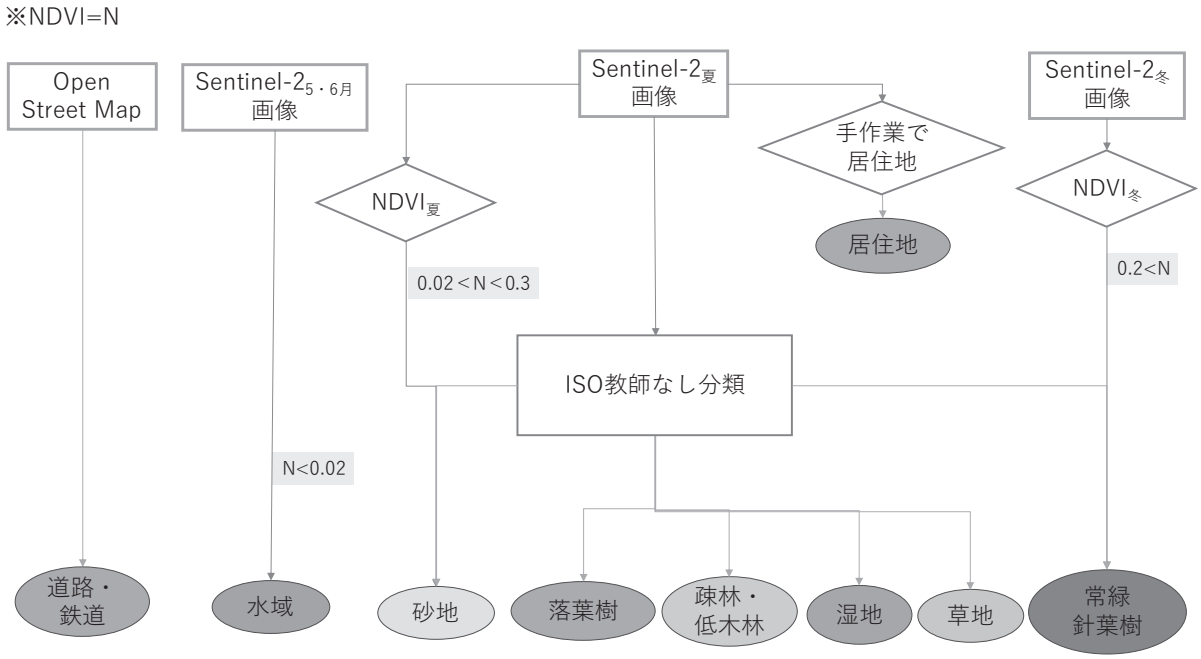


図 7-2)-1　Sentinel2 衛星データを用いた改善された土地被覆分類手法

＊2018 年度に本プロジェクトで作成した図を修正した。図中の N は NDVI 値を示す.

次に、ベースマップの作成範囲を決定するために、図 7-1)-A,B のうち、2017 年 9 月～2019 年 4 月および 2019 年 9 月から 2020 年 4 月までのオジロワシの位置情報を用い、方法で設定した条件に従って中継地・越冬地を特定した（図 7-2)-2)。これより中継地は 12 地点、越冬地は 10 地点特定された。

これらの中継地や越冬地、既知の営巣地を含む範囲を対象に、図 7-2)-1 のチャートに従って土地被覆を分類したほか、外挿データを挿入し(方法 6-2))、土地被覆分類図を作成した（図 7-2)-3)。

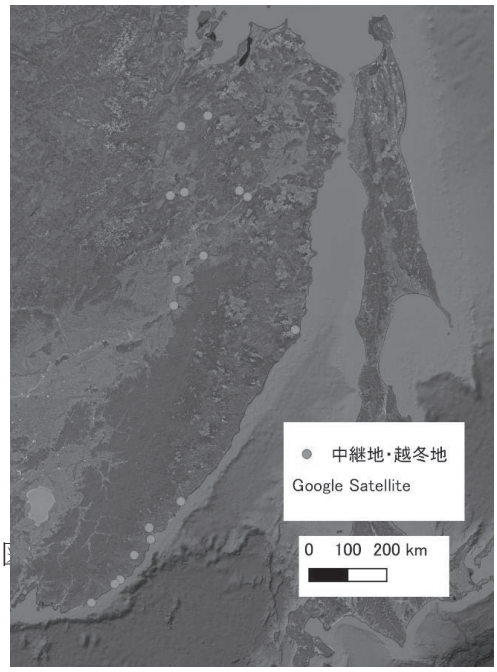


図 7-2)-2　オジロワシの中継地と越冬地

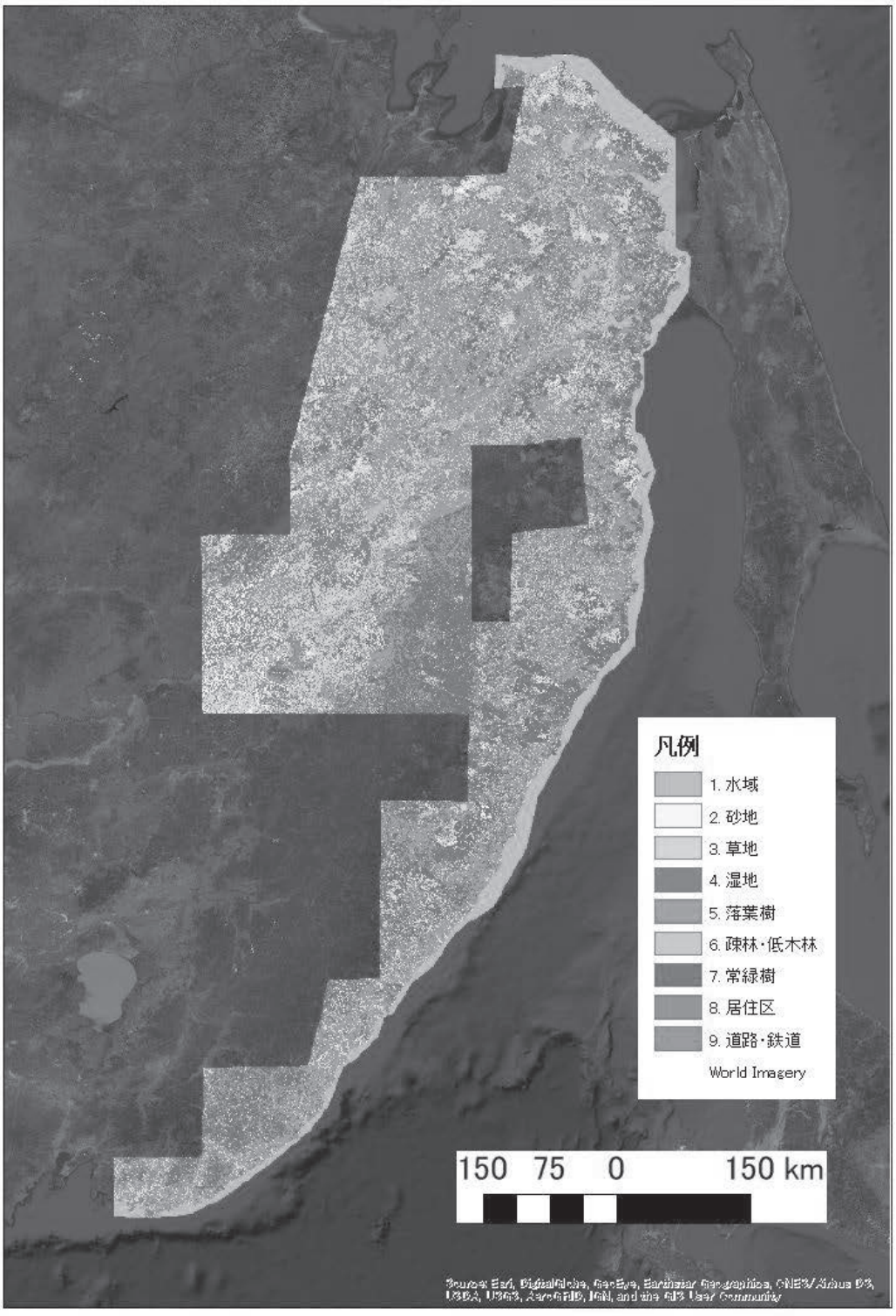


図 7-2)-3　作成した土地被覆図全域の縮小図．この土地被覆図に地形情報などを挿入し、生息環境解析に用いるベースマップを作成した。

次に、作成した土地被覆図の分類について、精度検証を行った(表 7-2)-1)。

表 7-2)-1　土改善した土地被覆分類の精度検証結果.　外挿データの居住区や道路は含まない.

分類	総地点数	正解数	正解率(%)
水域	617	601	97.4
砂地	70	50	73.4
草地	258	170	65.7
湿地	261	109	38.8
落葉樹林	1107	728	72.1
疎林・低木林	326	202	61.3
常緑針葉樹林	903	825	92.3
総合精度	3542	2685	75.8

検証の結果、水域や常緑針葉樹林は 9 割以上の高精度で分類された。常緑針葉樹林については、山の影の部分を修正するという方法により、改善したと考えられる。総合精度は約 76%で、比較的高い精度で分類できているといえるが、海ワシ類の生息に関連すると考えられる落葉樹林や疎林、低木林については 6〜7 割程度の正解率であり、さらなる改善が要される。最も精度の低い湿地は 4 割以下で、原因の特定と改善が求められる。

次に、ディープラーニングモデルの損失関数を図 7-2)-4 に示す。正解の乖離度を示す loss 値を確認すると、学習回数に関わらず step 数 1000 で極大を示し、3000 に 1.15 程度の値に収束する傾向が認められた。ただし学習回数 100 回においては、loss 値が収束する step 数まで学習ができていない。このことから、学習回数 200 回において、使用者精度（UA）, 作成者精度（PA）ともに向上し、それぞれ 67.9%, 69.0%と、高精度で抽出されるようになり、落葉樹林の UA はさらに精度が上がり 70.7%となった他、総合精度（OA）は 46.5%と学習回数 100 回よりも精度向上が認められた（表 7-2)-2)。しかし、学習回数 300 回の精度は 100 回よりは高いものの、200 回よりも下回る結果となった。これによる学習回数 200 回のディープラーニングモデルを採用し、このモデルによる土地被覆分類図（図 7-2)-5）を作成した。この分類図ではオジロワシ生息地モデル構築に重要な要素となる、カラマツなどの落葉樹林を約 70%の精度で分類出来ることにある。今後他の情報との組み合わせによる、総合精度の向上が課題である。

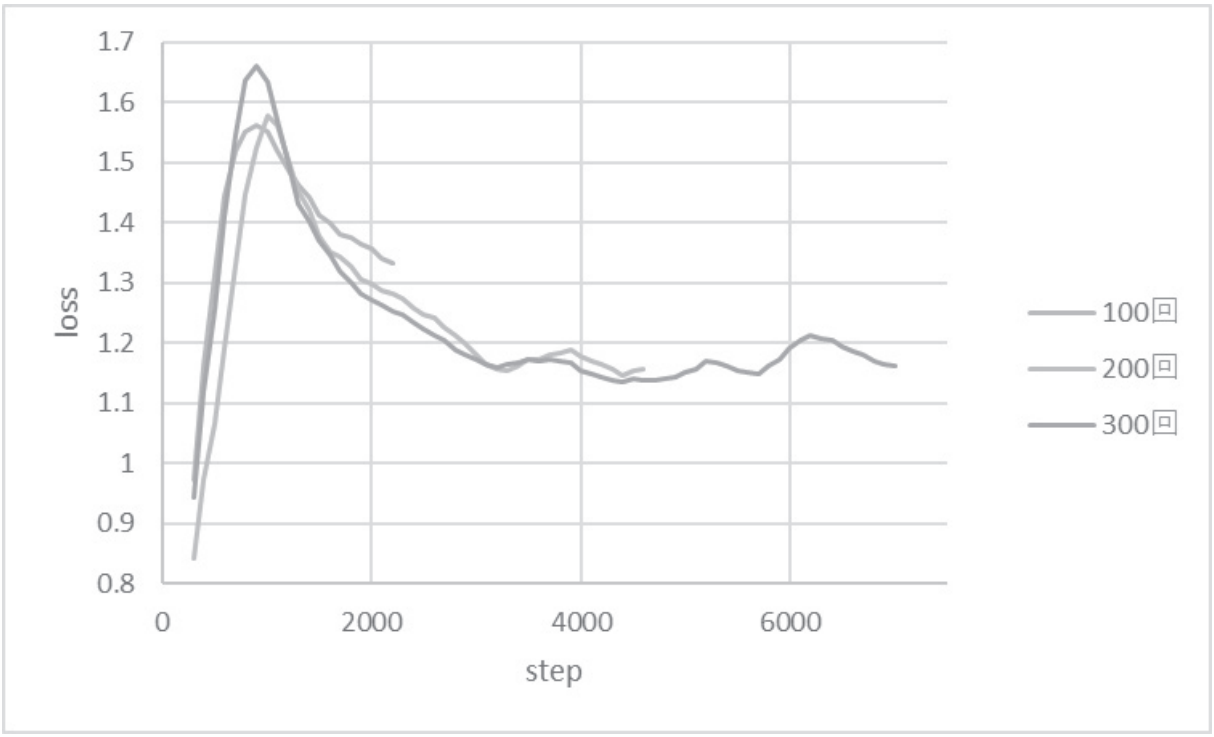


図 7-2)-4　ディープラーニング（100、200、300 回学習）モデルの損失関数

表 7-2)-2　学習回数 200 回の OA, UA, PA

教師/予測	水域	砂地	草地	湿地	落葉樹林	疎林	常緑樹林	居住区	道路	計	PA
水域	15754	1807	1481	1644	1605	391	109	32	16	22839	69.0%
砂地	316	599	1287	2155	3222	856	275	56	20	8786	6.8%
草地	1167	2316	7533	20928	40981	12121	3544	853	99	89542	8.4%
湿地	965	3383	10683	16287	11480	3640	1160	290	14	47902	34.0%
落葉樹林	3573	6189	17703	73120	358610	72054	16877	2492	272	550890	65.1%
疎林	500	974	3001	9781	31645	10298	2802	541	78	59620	17.3%
常緑樹林	867	1405	3614	13031	57301	26448	9285	1296	103	113350	8.2%
居住区	54	252	669	1206	1309	567	301	179	38	4575	3.9%
道路	14	41	100	386	1259	373	79	12	8	2272	0.4%
計	23210	16966	46071	138538	507412	126748	34432	5751	648	899776	
UA	67.9%	3.5%	16.4%	11.8%	70.7%	8.1%	27.0%	3.1%	1.2%		**OA** 46.5%

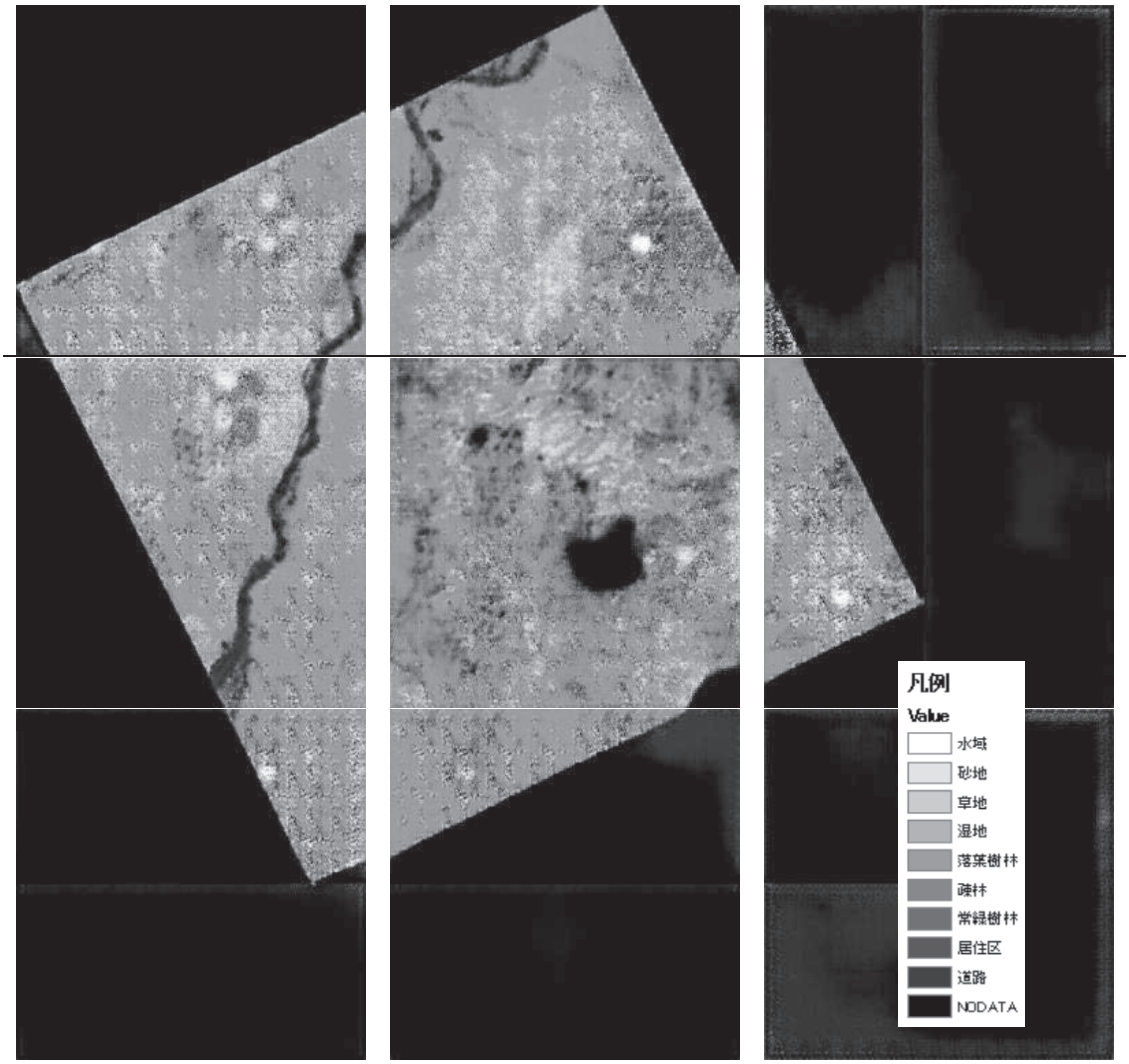


図 7-2)-5　学習回数 200 回のディープラーニングモデルによる分類図例

(2)海域における海ワシ類の海域滞在地点と海氷・気象状況との関係

2006 年 7 月から 2011 年 8 月までの海ワシ個体の飛行データと LANDSAT-7 ETM+の可視画像（空間分解能 30m）を比較し、ワシの移動と周辺の海氷分布や風向風速等の気象条件との関係を調査した．図 7-2)-6 は移動した軌跡と、ワシが海氷上で行動したマガダン沖、シャンタルスキー諸島周辺、間宮海峡周辺、北海道沿岸の ETH+可視画像を示している。ワシの軌跡と ETH+可視画像の撮影日時にずれがあるものの、流氷の動きが比較的小さいシャンタルスキー諸島周辺や北海道沿岸の知床半島に接岸した流氷の分布から、ワシは流氷の縁辺部で行動している特徴が見られた。このことからワシは開放水面付近に滞在して餌を摂取していることが推測される。

図 7-2)-7 はワシ 2 個体の飛行軌跡とワシの周辺の流氷環境の例を示している。この図から、ワシは流氷域では密接度が 60～100%の氷縁付近で、かつオホーツク海で平均的な 40～60cm 度の厚さの流氷上で活動していることがわかった。

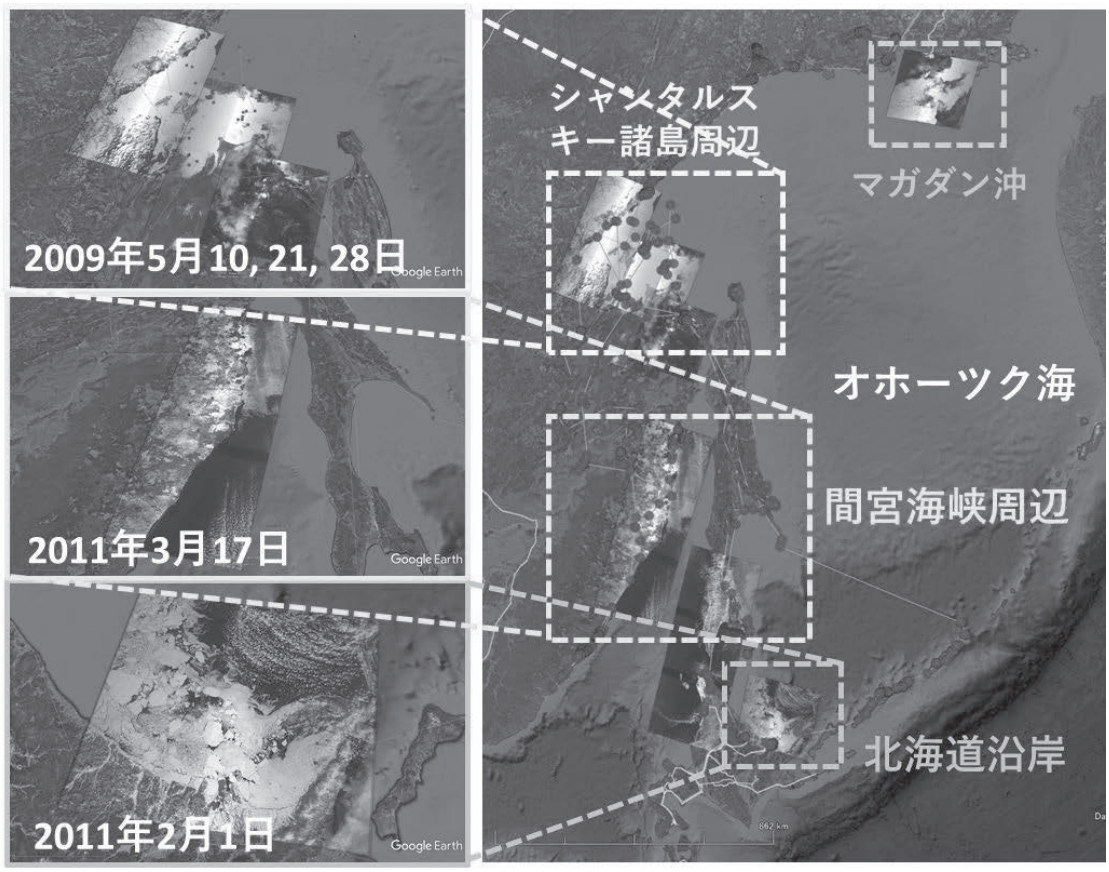


図 7-2)-6 ワシの飛行軌跡（2006 年～2011 年）とワシが海氷上で行動していたマガダン沖，シャンタルスキー諸島周辺，間宮海峡周辺，北海道沿岸の LANDSAT 可視画像を示す．

次に、このオオワシの滞在地周辺の流氷環境の例を図 7-2)-7 に示した。この図から、海ワシは流氷域では密接度が 60～100%の氷縁付近で、かつオホーツク海で平均的な 40～60 ㎝程度の厚さの流氷上に多く滞在していることがわかった。

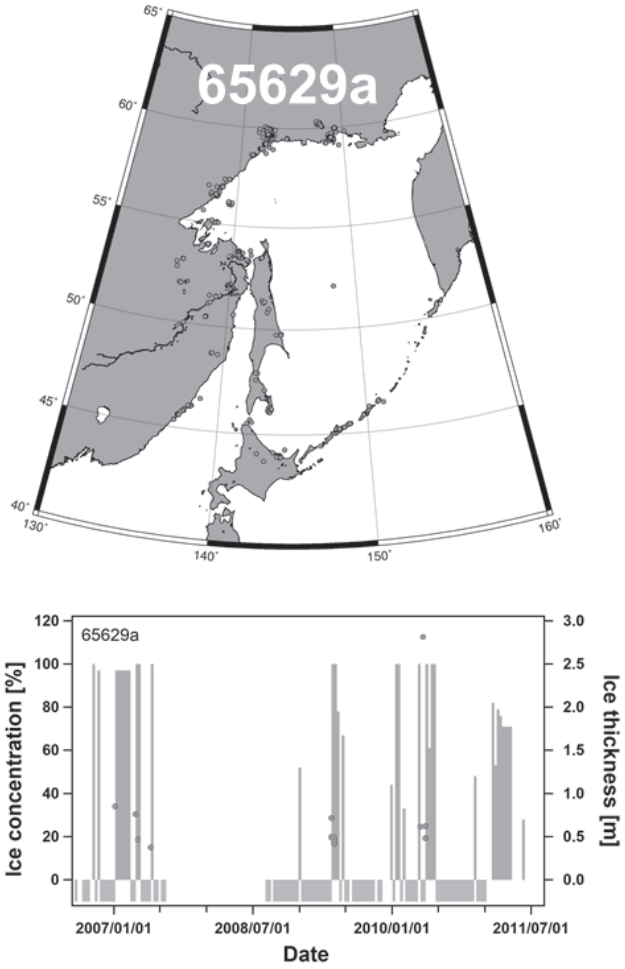


図 7-2)-7　ワシの飛行軌跡とワシの周辺の海氷環境の例. 上の図はワシの軌跡を丸マークで示し、下の図は海氷密接度（%）を青棒，陸地を緑棒，海氷の厚さ（m）を赤点で示している.

3）海ワシ類の主要餌種の生息状況の把握・推定

(1)環境 DNA 分析による魚類調査

これまでに実施した環境 DNA 分析による生息魚類の推定結果を表 7-3)-1 に示した。環境 DNA による魚類相推定は様々な場所で実施されており、推定精度が比較的高い手法として認知されている（山中ら　2016)。しかしながら、魚種の推定には既往の採集調査の知見と照らし合わせる必要があり、かつ現存量については推定困難など問題点も多いため、得られた結果の解釈には慎重さと採集調査による補完が必要である。

これまで計 13 種類の魚種が推定された。これらのうち寒冷耐性が強く冬季間に多いと推測されるのはタラ科で、スケトウダラ、マダラ、コマイなどが含まれる。特にスケトウダラは冬季産卵のために表層に移動するため海ワシ類に潜在的に狙われやすいと考えられる。また、コマイも資源量が多く、網走沿岸や北海道東部では冬季に漁獲される主な魚種の一つであり、潜在的餌種であろう。流氷が沖合にあった 2018 年及び 2019 年 3 月 19 日の調査結果では、タラ科魚類 DNA が得られ、おそらくスケトウダラと推定される。このことは海ワシ類が飛来する冬期間はスケトウダラなどのタラ科魚類が生息していることを表しており、スケトウダラの生態とも整合的である。2020 年 3 月 19 日の調査ではコマイが検出されていないが、能取湖内などでは生息しており生息量の年変動を反映している可能性がある。また、2020 年 3 月 19 日は全地点でニシンが検出された。近年北海道沿岸のニシン資源量は増加傾向にあり、調査時点でニシンの群れが存在していたことを表していると思われる。ニシンも表層を群れで動き回る魚で動物プランクトンを摂餌する。流氷存在下にはアイスアルジーを基点とする食物連鎖があり、ニシンもそうした連鎖に加わっていたかもしれない。一方非結氷期の 2019 年 9/30 の採水調査ではタラ科魚類は検出されず、代わりにサバ属（マサバ、ゴマサバなどを含む）が検出された。近年の海水温上昇で黒潮の分流である宗谷暖流にのって様々な南方系魚種がオホーツク海沿岸で漁獲されているが、非結氷期はこうした魚種も網走湾へ来遊する可能性があると考えられる。

タラ科以外では、サケ属（シロザケまたはギンザケの未成魚)、ギスカジカ属（シモフリカジカ、ギスカジカ)、メバル属（エゾメバル、クロソイなど)、ワカサギ属（チカなど）などが推定され、いずれもこれまでの採集調査で生息が確認されている。一方、ウグイ属にはマルタやウグイなど比較的大型で川と海の表層を群れで回遊する種が含まれており、潜在的な餌種と言える。一方、網走湾へ流入する河川は最大の網走川を始め複数あり、河川水に由来する汽水魚や淡水魚の DNA が網走湾の表層水中に多量に存在する可能性もある。ウグイ属は網走湾周辺河川で優占する魚種の一つであるが、その他の河川優占種の DNA は検出されていないので、そのことも含め今後の検討を要する。

これまでの海ワシ類の捕食行動観察から、餌となる魚類を視認するためには必ず留まる場所が必要であり、それは陸上または固定化した人工構造物や流氷である。海岸から視認できる範囲は限られており、捕獲する魚類は海岸沿いの浅場を利用する種類が多くなると考えられる。一方、結氷期には流氷をスタンドポイントとして、比較的沖合表層を遊泳する魚類を捕獲できる。環境 DNA 調査結果から推測された魚種は、以上の点を考慮しても十分潜在的な餌になる可能性があるといえる。

以上のように、環境 DNA 分析による魚類推定は手法の簡便さと冬季間のような通常調査が困難な場合の補助的手段として有効であるが、魚類の現存量推定は困難であり、かつ推定されたどの魚種が実際に海ワシ類に補食されているかどうかは不明である。そうした長短を踏まえながら引き続き有効に活用して結氷期における魚類の生息状況を推定し、海ワシ類との補食被食関係を調べていく必要があると思われる。

表 7-3)-1 環境 DNA 調査から推定された網走湾周辺の魚類

		採水場所										
		能取湖	涛沸湖	網走湾								
		湖口	湖口	ST1	ST4	B3	D82	ST1	ST2	ST3	ST4	ST5
推定魚種	水深（m）	7	2	38	131	35	82	38	57	104	160	131
サケ属	*Oncorhynchus* spp.		●	●	●			●				
ニシン	*Clupea pallasii*							●	●	●		●
タラ科	Gadidae spp.			●	●				●			
イカナゴ	*Ammodytes personatus*	●										●
ホテイウオ	*Aptocyclus ventricosus*	●						●				
ギスカジカ属	*Myoxocephalus* sp.	●		●	●					●		
カタクチイワシ	*Engraulis japonicus*		●									
マサバ	*Scomber japonicus*						●					
メバル属	*Sebastes* spp.		●									
コマイ	*Eleginus gracilis*		●		●							
ワカサギ属	*Hypomesus* spp.		●		●							
ジュウサンウグイ	*Tribolodon brandtii brandtii*		●		●							
ウグイ属	*Tribolodon* sp.					●						
アイナメ属	*Hexagrammos* sp.				●							
	採水日	2/20	2/20	3/19	3/19	9/30	9/30	3/19	3/19	3/19	3/19	3/19
		2019						2020				

(2)採集による魚類調査

①能取湖での刺網調査

能取湖での刺網調査結果を表 7-3)- 2 に示す。2 回のみの実施となったが、計 10 種が採集された。最も多かったのはクロガレイ、エゾアイナメでそれぞれ底生性、岩礁性の魚種である。これに次いで多かったのはマルタで、コマイやシモフリカジカなども採集された。刺網設置水深は調査許可と漁具の関係上深くできなかったが、海ワシが海岸から視認可能な範囲を遊泳する魚種としては、これらは十分餌となる可能性がある魚類だと考えられる。刺し網で採集さえた魚種で環境 DNA 調査と共通するのは、マルタ（ウグイ属）、コマイ（タラ科）、シモフリカジカ（ギスカジカ属）、エゾメバル（メバル属）であった。マルタ、コマイやシモフリカジカは能取湖内と外海を移動するものと思われ、周辺水域を広く遊泳していると考えられる。しかしながら、本調査はまだ調査地点や回数が限られているため、今後の継続調査でより正確なデータを収集し検討していきたい。

表 7-3)-2　能取湖湖口の刺し網調査（水深 3 m）で採集された魚類（個体数）

		7/11	10/25	合計
クロガレイ	*Pseudopleuronectes obscurus*	18	2	20
エゾアイナメ	*Hexagrammos stelleri*	20		20
マルタ	*Tribolodon brandtii*	15		15
コマイ	*Eleginus gracilis*	4	1	5
クロソイ	*Sebastes schlegelii*	2	3	5
シモフリカジカ	*Myoxocephalus brandti*	2	2	4
エゾメバル	*Sebastes taczanowskii*		2	2
スナガレイ	*Limanda punctatissima*	1		1
ヌマガレイ	*Platichthys stellatus*		1	1
クロガシラガレイ	*Pseudopleuronectes schrenki*		1	1
		62	12	74

② 網走湖での小型定置網調査

網走湖での小型定置網（ふくべ網）調査で採集された魚種を表 7-3)-3 に示す。

表 7-3)-3　網走湖の小型定置網調査で採集された魚類（個体数）

		7/11		10/16		
		大曲	女満別	大曲	女満別	合計
ワカサギ稚魚	*Hypomesus nipponensis* (juvenile)	2772	3060	350	114	6296
ワカサギ	*Hypomesus nipponensis*	61	65			126
ウグイ属稚魚	*Tribolodon* sp. (juvenile)				182	182
ウグイ属の1種	*Tribolodon* sp.	1	61	67	17	146
ヌマチチブ	*Tridentiger brevispinis*	6	2	134	3	145
トミヨ属の1種	*Pungitius* sp.		18	1		19
イトヨ日本海系	*Gasterosteus aculeatus*	6	10			16
ビリンゴ	*Gymnogobius breunigii*	2		5	2	9
アメマス	*Salvelinus leucomaenis leucomaenis*			1	4	5
ヨシノボリ属の1種	*Rhinogobius* sp.		5			5
アシシロハゼ	*Acanthogobius lactipes*		4			4
ヌマガレイ	*Platichthys stellatus*	1		1	1	3
キタドジョウ	*Misgurnus* sp.		1			1
シラウオ	*Salangichthys microdon*		1			1
		2849	3227	559	323	6958

7月と10月の2回2地点での調査の結果、計12種が確認された。最も多かったのはワカサギ、次いでウグイ属の1種、ヌマチチブであった。網走湖では約22種の生息が確認されており、おおよそ半数が採集されたことになる。網走湖は汽水湖で表層塩分は低く回遊魚、汽水魚、淡水魚が入り交じって生息している。これらの構成種にはワカサギやハゼ類、イトヨなど成魚サイズが小型の種が含まれ、個体数は多いものの、海ワシ類の餌にはなりにくい。一方、ウグイ属にはマルタ、ウグイ、ジュウサンウグイ、エゾウグイ、ヤチウグイなど複数種が含まれるが、成魚サイズも比較的大きく、群れで表層を遊泳することがあり、網走湖の魚類現存量の中で最大になると思われるので、潜在的な餌生物である。これらのうち環境DNA調査と共通するのは、ワカサギ（ワカサギ属）、ウグイ属であった。結氷期には厚さ40cm以上の氷に覆われる網走湖だが、オホーツク海と連絡する下流河川へつながる湖口周辺は水面が出ており、周辺樹木上には海ワシ類を見ることができる。中川（1990）によれば、海ワシの主な餌魚種はスケトウダラ、ホッケ、メバル、ウグイ、シロザケ、カラフトマスであり、今回の調査で確認されたウグイ属などの魚種がこうした海ワシに捕食されている可能性は十分考えられる。引き続き、調査データを収集するとともに、これまでの調査結果も整理し検討していきたい。

4）海洋の物理環境に基づくオホーツク海域の一次生産量の推定

(1)現地観測データによる一次生産力推定

6月に実施した一次生産力測定では、6月20日の19:00から21日の3:00までの溶存酸素の動態より呼吸速度を算出し、見かけの光合成速度がプラスの値を示した5:40−15:20の時間帯から光合成速度を算出した(図7-4)-1)。得られた呼吸速度は0.0029mgO2/L/h、みかけの光合成速度（純光合成速度）は0.3042 mgO2/L/dayであり、 ここから真の光合成速度（総光合成速度）は0.3323 mgO2/L/day と算出された。この値を炭素量に換算すると、1日の総炭素生成量は0.125mgC/L/dayとなった。このときの採水時のクロロフィa濃度は4.3μg/Lであった(表7-4)-1)。光環境は、6月20日は晴れ、6月21日は晴れときどき曇りの状況であったが、一次生産力を測定した水深の水中光量は想定される光量より低い値であり（図 7-4)-2)、光が透過しない何らかの要因があったものと推察される。

7月31日から8月2日にかけて実施した一次生産力測定では、6月20日の19:00から21日の4:00までの溶存酸素の動態より呼吸速度を算出し、見かけの光合成速度がプラスの値を示した8月1日の 8:20−13:30 の時間帯から光合成速度を算出した(図 7-4)-3)。得られた呼吸速度は0.0015mgO2/L/h、みかけの光合成速度（純光合成速度）は0.0744 mgO2/L/dayであり、 ここから真の光合成速度（総光合成速度）は0.0826 mgO2/L/day と算出された。この値を炭素量に換算すると、1日の総炭素生成量は0.31mgC/L/dayとなった。このときの採水時のクロロフィa濃度は1.7μg/Lであった(表7-4)-1)。光環境は、8月1日は午前中晴れたものの、午後から曇りであった（図7-4)-4)。8月2日は晴れときどき曇りの状況であった。一次生産力を測定した水深の水中光量は陸上光量が反映された結果であった（図 7-4)-4)。この期間の光環境は良好とは言えない状況であった。

8 月 31 日から 9 月 2 日にかけて実施した一次生産力測定では、9 月 2 日の 19:00 から 21 日の 4:00 までの溶存酸素の動態より呼吸速度を算出し、見かけの光合成速度がプラスの値を示した 8 月 31 日の 5:00−16:30、9 月 1 日の 5:50−17:00、9 月 2 日の 5:40−14:10 の時間帯から光合成速度を算出した(図 7-4)-5)。得られた呼吸速度はそれぞれ 0.0032mg02/L/h、みかけの光合成速度（純光合成速度）はそれぞれ 0.495 mg02/L/day、0.455 mg02/L/day、0.636 mg02/L/day であった。ここから真の光合成速度（総光合成速度）は 0.53 mg02/L/day、0.49 mg02/L/day、0.66 mg02/L/day と算出された。この値を炭素量に換算すると、1 日の総炭素生成量は 0.199mgC/L/day、0.184mgC/L/day、0.249mgC/L/day となった。このときの採水時のクロロフィ a 濃度は 6.0μg/L であった(表 7-4)-1)。光環境は、9 月 1 日は正午前後で曇りであったが、それ以外は良好な光環境にあった（表 7-4)-1)。9 月 2 日は曇りがちな状況であった。9 月 3 日は晴れであった。一次生産力を測定した水深の水中光量は、概ね陸上光量と同様の動態を示した（図 7-4)-6)。

11 月 22 日から 26 日にかけて実施した一次生産力測定では、11 月 24 日の 17:00 から 25 日の 4:00 までの溶存酸素の動態より呼吸速度を算出し、見かけの光合成速度がプラスの値を示した 11 月 25 日の 8:30−16:20、11 月 26 日の 8:00−16:00 の時間帯から光合成速度を算出した(図 7-4)-7)。得られた呼吸速度はそれぞれ 0.002mg02/L/h、みかけの光合成速度（純光合成速度）はそれぞれ 0.14 mg02/L/day、0.0037 mg02/L/day であった。ここから真の光合成速度(総光合成速度)は 0.156 mg02/L/day、0.019 mg02/L/day と算出された。この値を炭素量に換算すると、1 日の総炭素生成量は 0.058mgC/L/day、0.007mgC/L/day となった。このときの採水時のクロロフィ a 濃度は未測定である。光環境は、11 月 23 日は晴れであり、11 月 24,25 日は曇りがちな状況にあり、特に 11/25 は終日、曇りであった。図 7-4)-8)。一次生産力を測定した水深の水中光量は、陸上光量と同様の動態を示した（図 7-4)-8)。

12 月 19 日から 20 日にかけて実施した一次生産力測定では、12 月 19 日の 22:00 から 20 日の 3:30 までの溶存酸素の動態より呼吸速度を算出し、見かけの光合成速度がプラスの値を示した 12 月 20 日の 5:50−15:20 の時間帯から光合成速度を算出した(図 7-4)-9)。得られた呼吸速度は 0.0006mg02/L/h、みかけの光合成速度（純光合成速度）は 0.0337 mg02/L/day であり、 ここから真の光合成速度（総光合成速度）は 0.0384 mg02/L/day と算出された。この値を炭素量に換算すると、1 日の総炭素生成量は 0.014mgC/L/day となった。このときの採水時のクロロフィ a 濃度は 1.8μg/L であった（表 7-4)-1)。光環境は、12 月 20 日は曇りときどき晴れであり、12 月 21 日は晴れであった（図 7-4)-10)。一次生産力を測定した水深の水中光量は、概ね陸上光量と同様の動態を示した（図 7-4)-10)。

1 月 17 日から 20 日にかけて実施した一次生産力測定では、1 月 18 日の 0:50 から 6:00 までの溶存酸素の動態より呼吸速度を算出し、見かけの光合成速度がプラスの値を示した 1 月 18 日の 7:00−12:20、1 月 19 日の 7:10−13:30 の時間帯から光合成速度を算出した(図 7-4)-11)。得られた呼吸速度はそれぞれ 0.0019mg02/L/h、みかけの光合成速度（純光合成速度）はそれぞれ 0.0708 mg02/L/day、0.0839 mg02/L/day であった。ここから真の光合成速度（総光合成速度）は 0.0809 mg02/L/day、0.0959 mg02/L/day と算出された。この値を炭素量に換算すると、1 日の総炭素生成量は 0.030mgC/L/day、0.036mgC/L/day となった。このときの採水時のクロロフィ a 濃度は 1.1μg/L

であった(表 7-4)-1)。光環境は、1 月 18,19 日は晴れであり、1 月 20 日は曇りであった(図 7-4)-12)生産力を測定した水深の水中光量は、概ね陸上光量と同様の動態を示した（図 7-4)-12)。

本研究で得られた一次生産力の結果を比較すると、8/31-9/2 に実施した調査結果がもっとも高かい値を示した。このとき 9/1 は 0.184mgC/L、9/2 は 0.249 mgC/L と約 1.4 倍の差がみられた。このときの陸上光量、水中光量とも 9/1 の方が高い値を示していた。一次生産力は光量の影響を受けるが、かならずしも一次生産力を決定する要因となるわけではないことが示唆された。一方、実験開始時のクロロフィル a 濃度は、一次生産力が高い値を示した 8/31-9/2 と 6/19 の調査時で高い値を示し、一次生産力が比較的低い値を示した 8/1、12/20、1/18、19 では低い値を示した。光合成には光環境は重要な要因のひとつであるが、本研究の結果では、植物プランクトンの現存量の指標となるクロロフィル a 濃度がより強い影響を与えていたことが示唆された。この結果は海色によりクロロフィル a 濃度を評価できる衛星データとの比較検討を行う上で、有益な結果と推察される。

表 7-4)-1 溶存酸素濃度の動態より算出した、能取湖湖口における一次生産力（酸素生成量 mgO2/L/d、炭素生成量 mgC/L/d）と採水時のクロロフィル振 a 濃度（μg/L）

		6/19	8/1	8/31	9/1	9/2	11/25	11/26	12/20	1/18	1/19
純光合成量	酸素生成量 $mgO_2/L/d$	0.304	0.074	0.495	0.455	0.636	0.140	0.004	0.034	0.071	0.084
	炭素生成量 mgC/L/d	0.114	0.028	0.186	0.170	0.239	0.053	0.001	0.013	0.027	0.031
総光合成量	酸素生成量 mgO2/L/d	0.332	0.083	0.530	0.490	0.663	0.156	0.019	0.038	0.081	0.096
	炭素生成量 mgC/L/d	0.125	0.031	0.199	0.184	0.249	0.058	0.007	0.014	0.030	0.036
採水時のクロロフィルa濃度 μg/L		4.3	1.7		6.0			-	1.8	1.1	

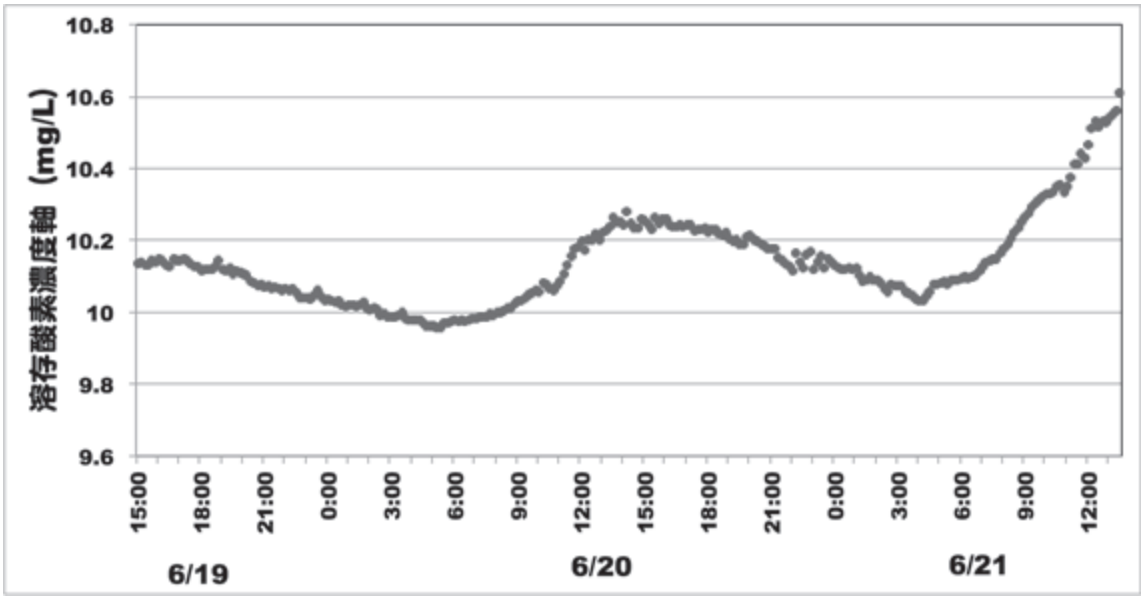


図 7-4)-1 能取湖湖口における溶存酸素濃度の動態（2019 年 6 月 21–22 日）

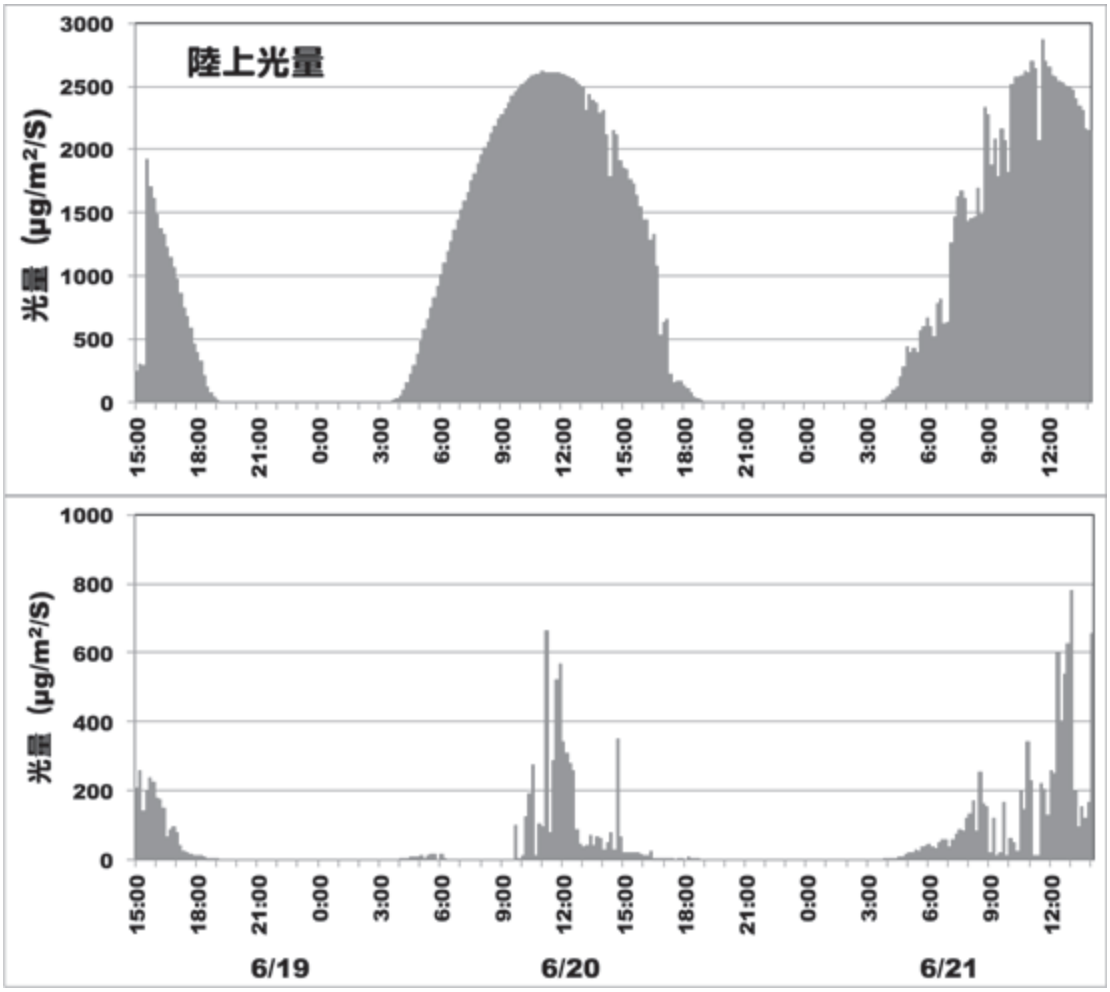


図 7-4)-2 能取湖湖口における陸上光量と水中光量の動態（2019 年 6 月 19–22 日）

上段：陸上光量　　下段：水中光量

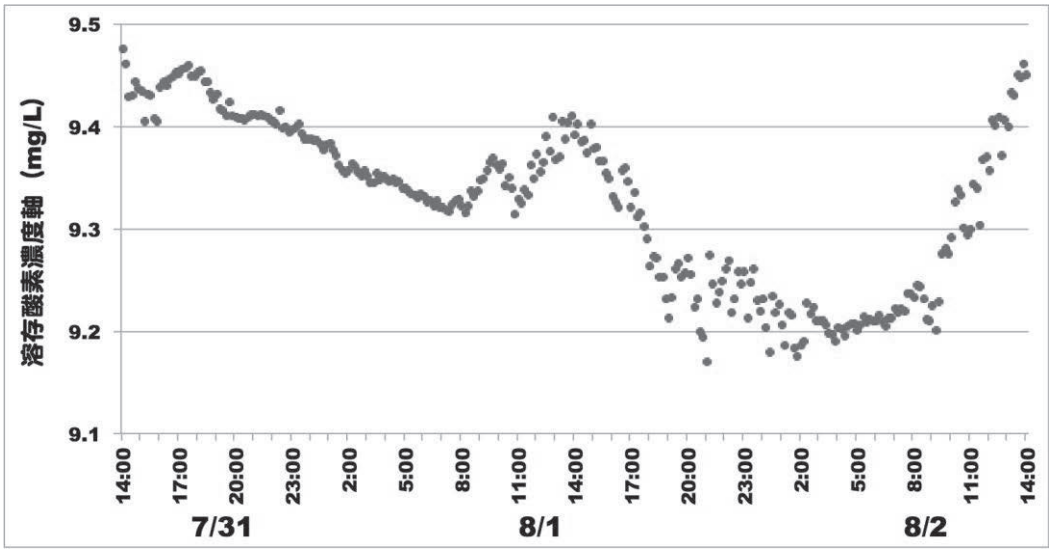


図 7-4)-3 能取湖湖口における溶存酸素濃度の動態（2019 年 7 月 31 日−8 月 2 日）

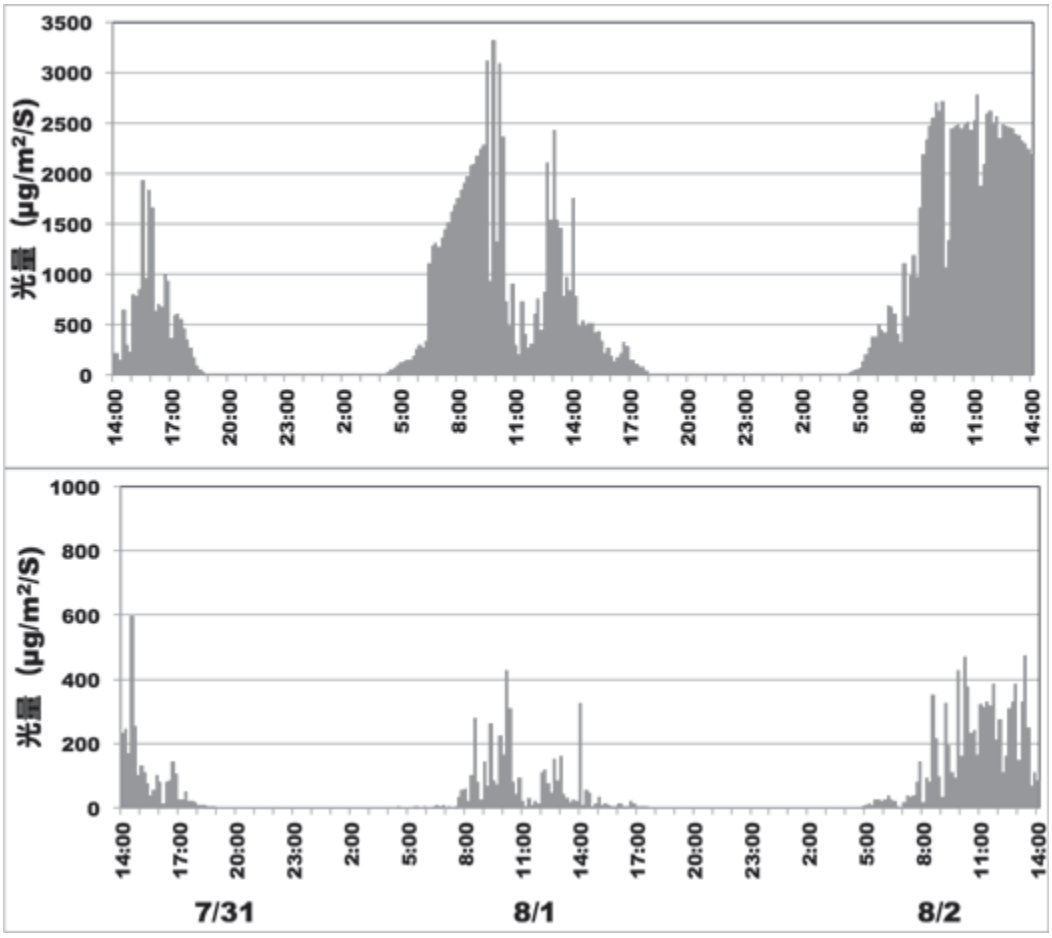


図 7-4)-4 能取湖湖口における陸上光量と水中光量の動態（2019 年 7 月 31−8 月 2 日）

上段：陸上光量　　下段：水中光量

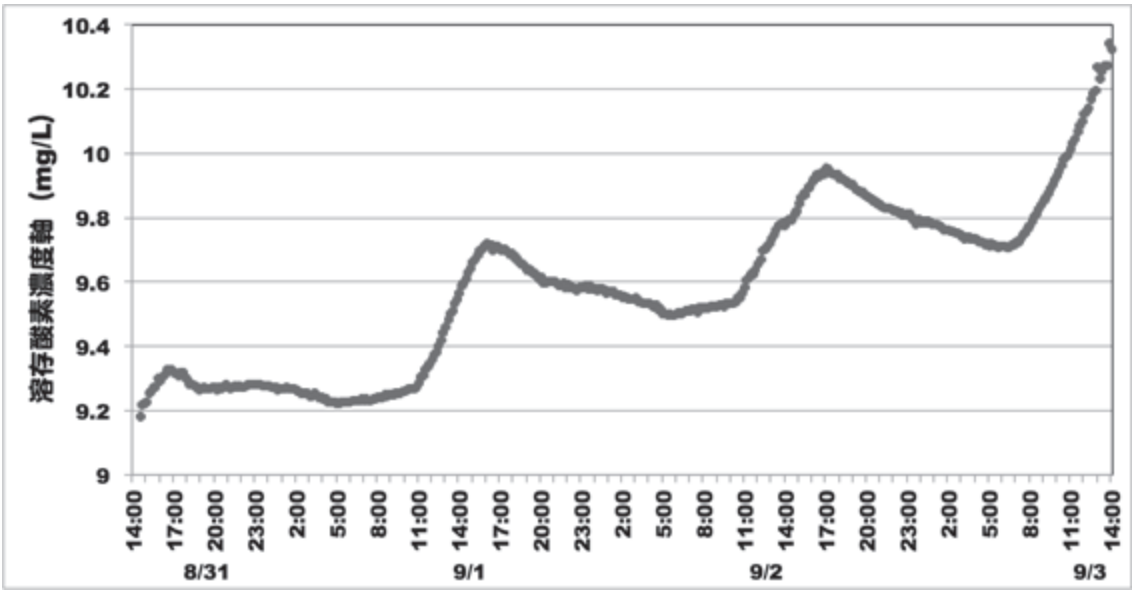


図 7-4)-5　能取湖湖口における溶存酸素濃度の動態（2019 年 8 月 31 日−9 月 3 日）

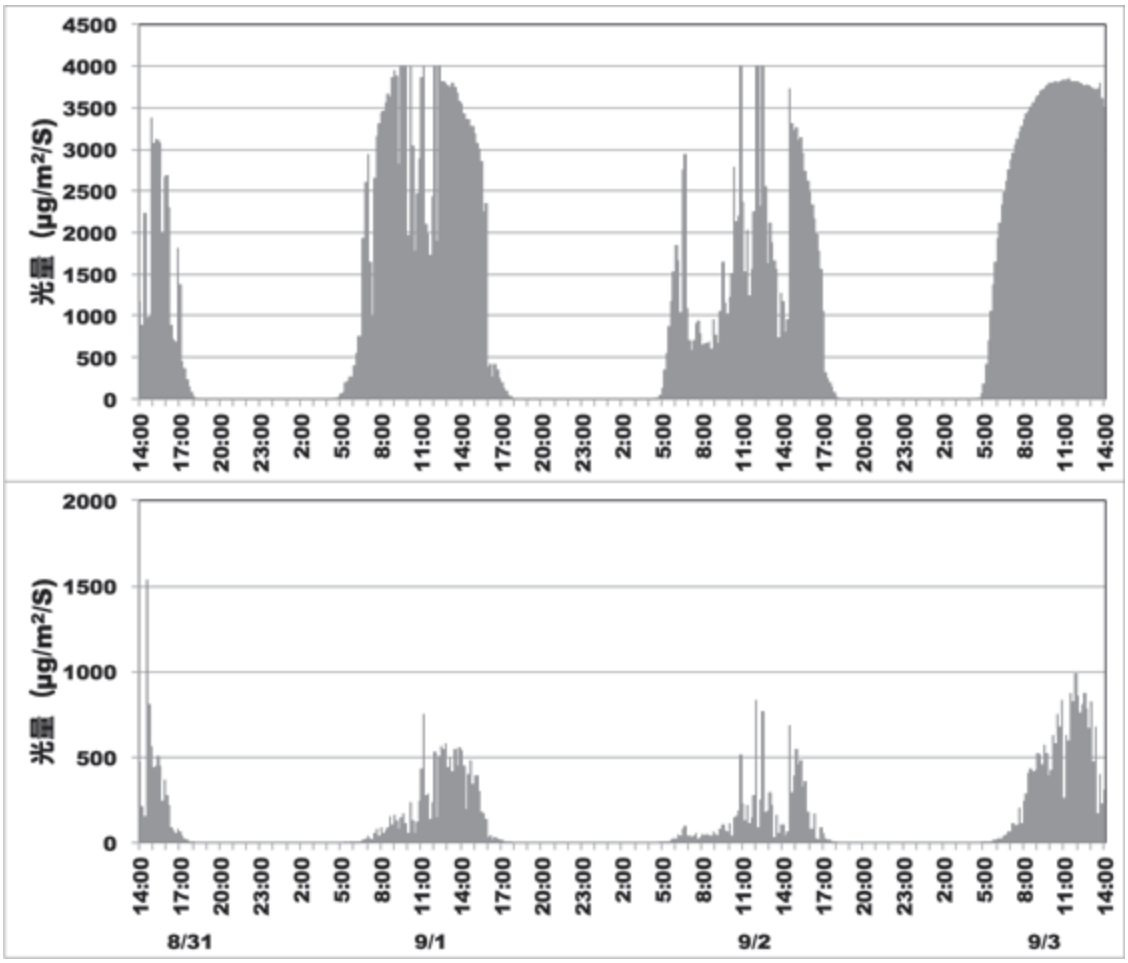


図 7-4)-6 能取湖湖口における陸上光量と水中光量の動態（2019 年 8 月 31 日−9 月 3 日）

上段：陸上光量　　下段：水中光量

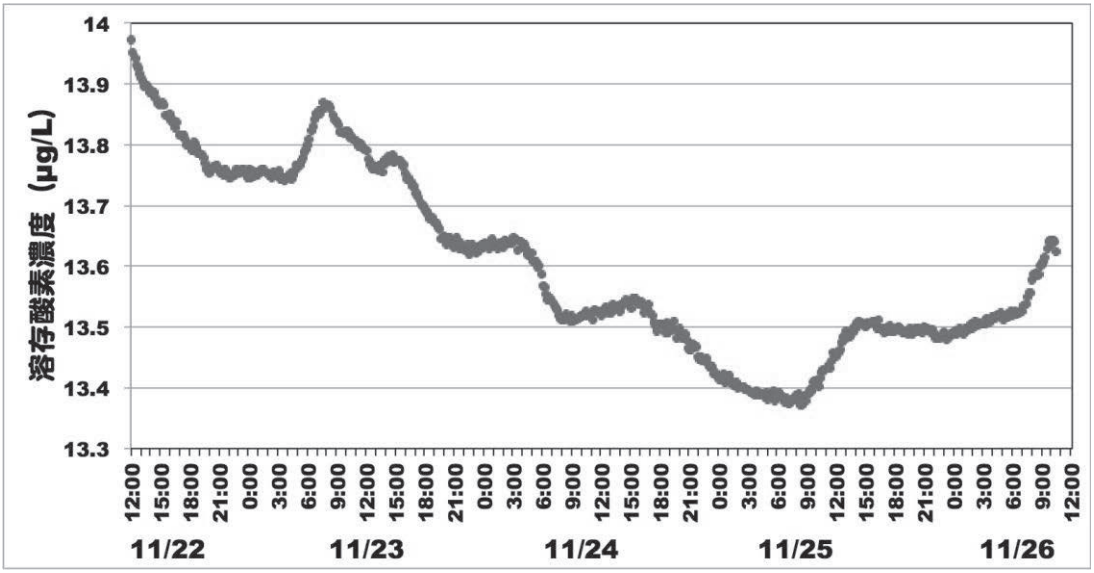


図 7-4)-7　能取湖湖口における溶存酸素濃度の動態（2019 年 11 月 22 日－26 日）

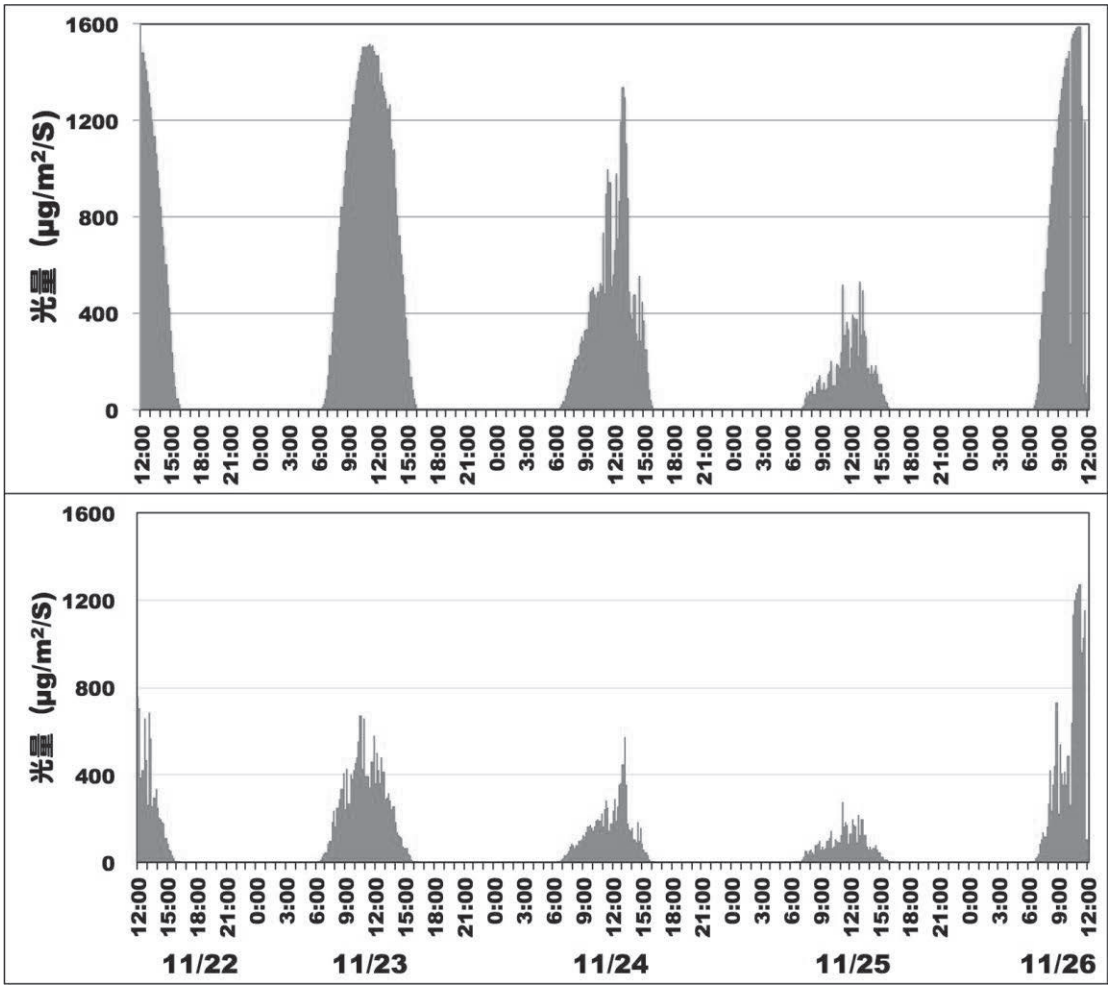


図 7-4)-8　能取湖湖口における陸上光量と水中光量の動態（2019 年 11 月 22 日－26 日）
上段：陸上光量　　下段：水中光量

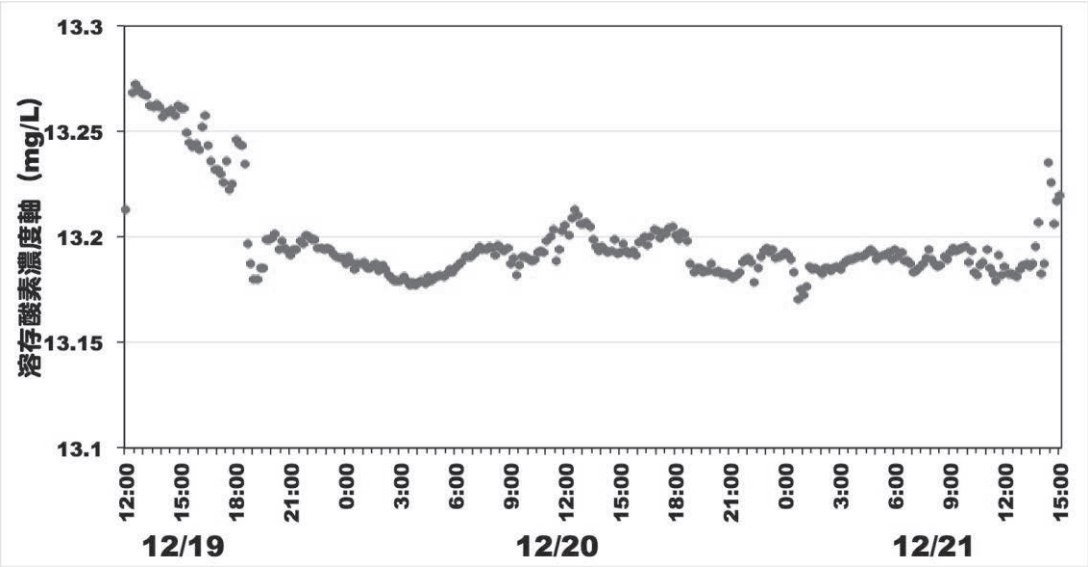


図 7-4)-9 能取湖湖口における溶存酸素濃度の動態（2019 年 12 月 19 日－21 日）

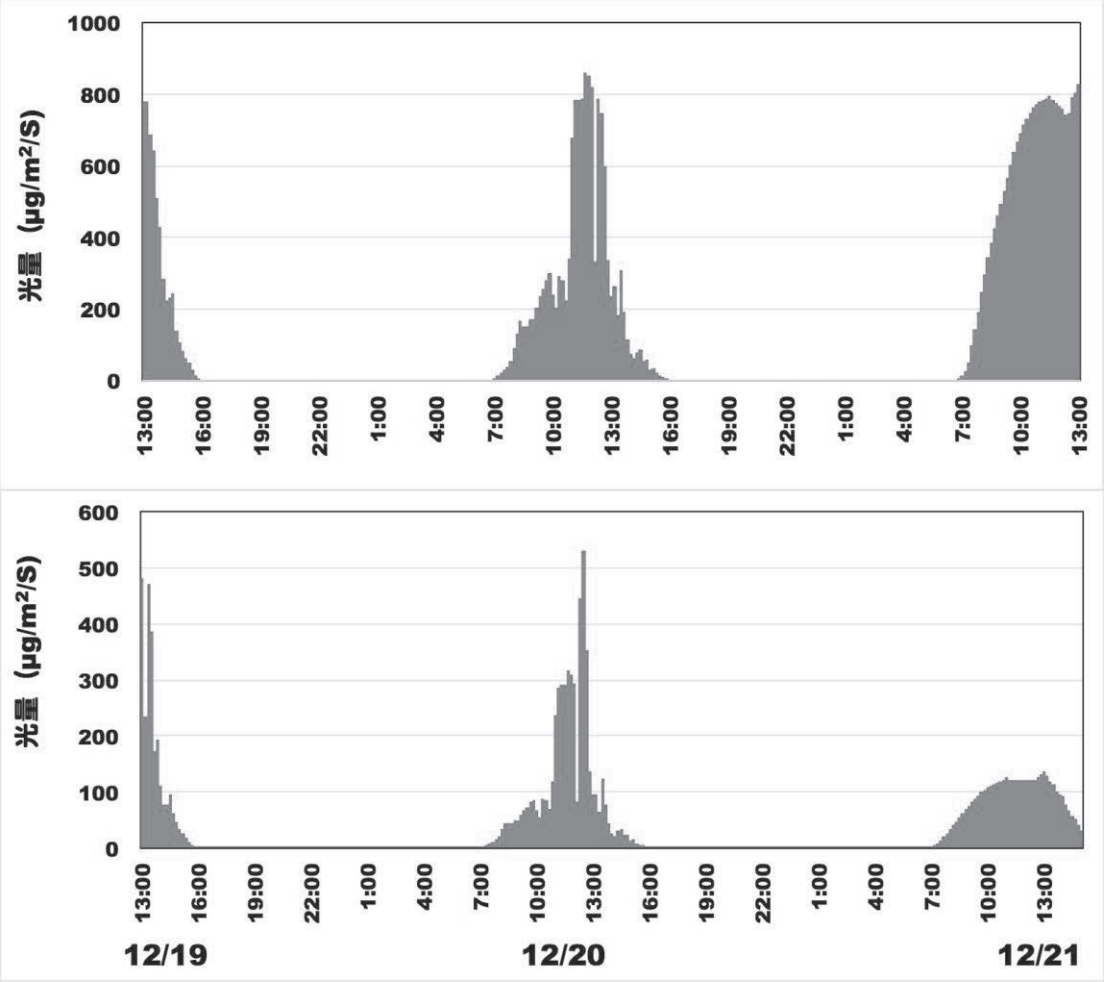


図 7-4)-10 能取湖湖口における陸上光量と水中光量の動態（2019 年 12 月 19 日－21 日）

上段：陸上光量　　下段：水中光量

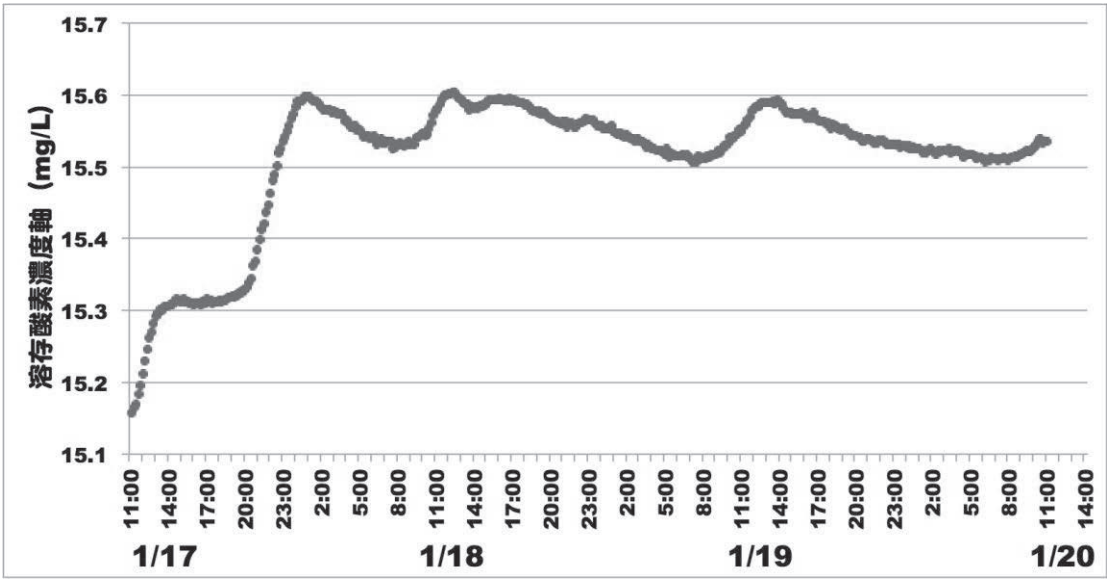


図 7-4)-11 能取湖湖口における溶存酸素濃度の動態（2020 年 1 月 17 日－20 日）

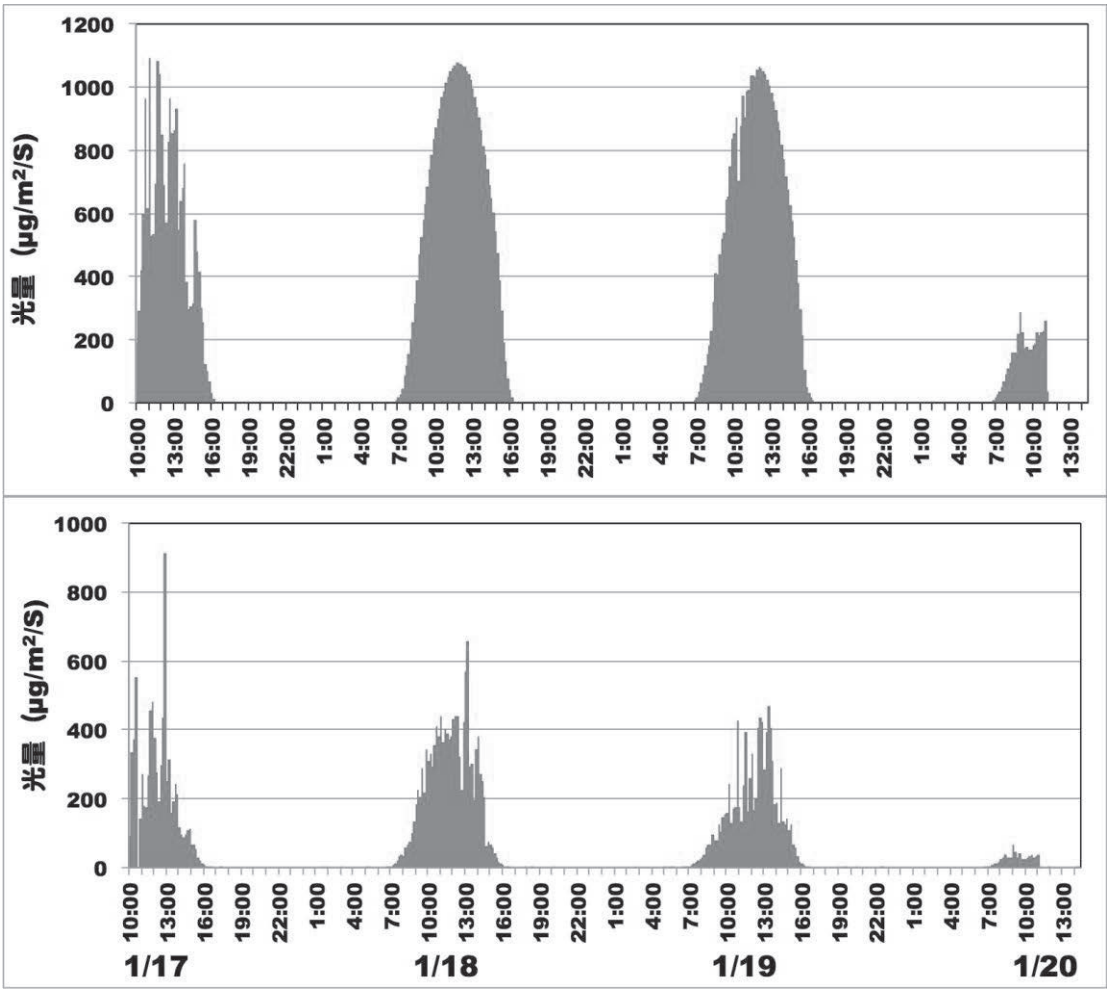


図 7-4)-12 能取湖湖口における陸上光量と水中光量の動態（2020 年 1 月 17 日－20 日）
上段：陸上光量　　下段：水中光量

(2)衛星データに基づく一次生産力推定

JASMES から入手した表 6-4) -1 に示すクロロフィル a 濃度（mg/m^3）と結氷状態（7 段階）の SGLI 準リアルタイムデータを使用した。これまでクロロフィル a 濃度のモニタリングに使用されていた衛星センサ MODIS と比較して高分解能・高頻度の SGLI センサを用いることにより、これまで得られることができなかった湖沼のような局所的な内水域のクロロフィル a 量と結氷状態を監視することが可能となった。JAXA によると、SGLI のクロロロフィル a 濃度プロダクトの精度を検証した結果、0.1 から 3mg/m3 の濃度範囲では平均絶対パーセント誤差で 31.86%であり、目標精度として-50～+100%と設定されている。

今年度は図 7-4)-13 に示す能取湖での 2019 年 6 月～2020 年 1 月に実施された一次生産量の現地観測データと SGLI で観測されたクロロフィル a 濃度の比較を行った。その結果を図 7-4)-14 に示す。現地で観測された一次生産力と衛星で観測されたクロロフィル a 濃度の変動傾向には差が見られた。原因として、現地観測はある特定の深さ（水深 5m）の実測値であるのに対し、衛星観測は太陽光が浸透する最大測定深度 Zmax から表面 Z0 までの積分値からモデル計算で求めた幅のある「表層」の値を推定している測定方法の違いがある。また、SGLI は季節や天気によって最大測定深度が異なるため、特定の深さで行う現地観測と差が生じると考えられる。また、今回比較した能取湖の観測点は湖口であるため、湖の中央部に比べて湖口は地形が複雑であり衛星観測では急激に値が変化する領域であった。加えて外洋に近いため潮汐による海水の流入の影響を受けやすいことが考えられ、現地と衛星観測の時間のずれのために値が異なる可能性も考えられる。

既往研究では SGLI のクロロフィル a 量の推定精度は約 32%であり、現地観測の隙間を埋まられる可能性がある。今後もデータの蓄積を行って比較を継続し、衛星観測の妥当性を検証したい。

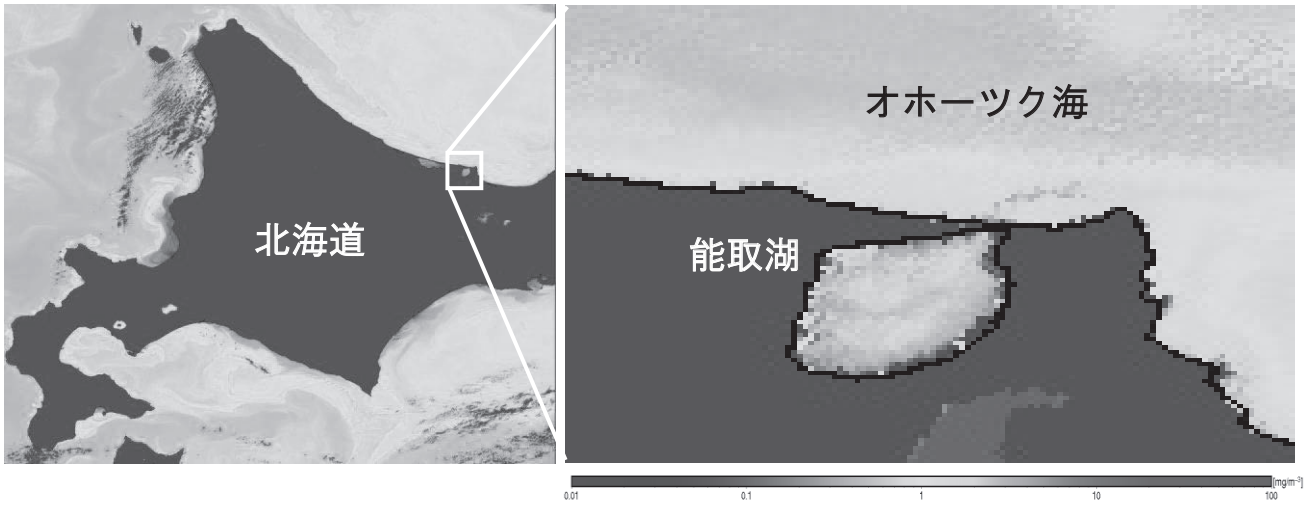


図 7-4)-13　SGLI 能取で観測された能取湖のクロロフィル a 量（mg/m^3）の例（2019 年 10 月 10 日）
（左）北海道全体エリア，（右）能取湖エリアを拡大した図

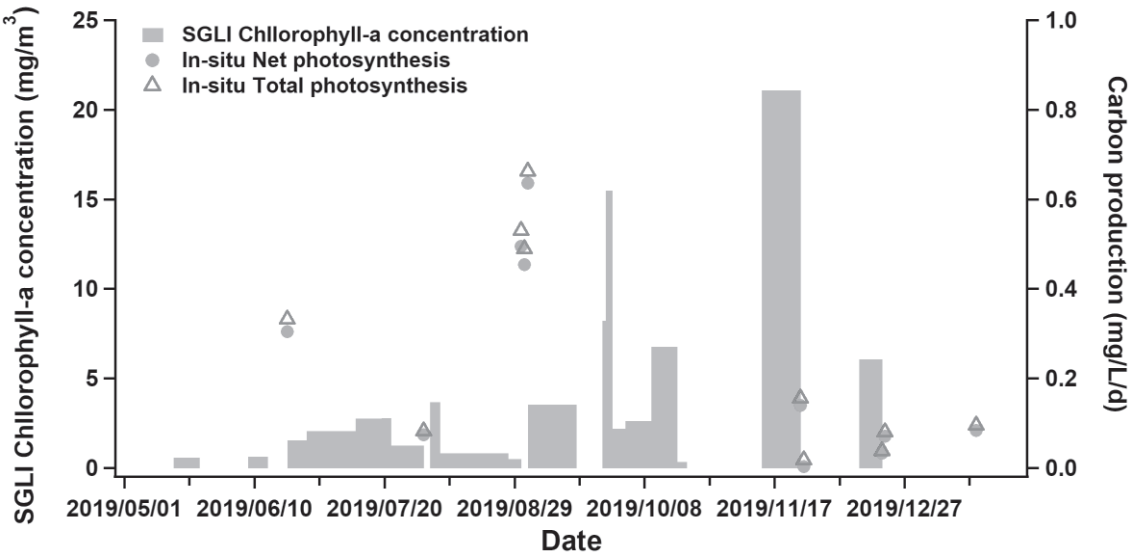


図 7-4)-14 SGLI で観測された能取湖・湖口におけるクロロフィル a 量と現地観測によって観測された純／総光合成量（炭素生成量）の季節変化 （2019 年 5 月～2020 年 1 月）

５）陸・海域における海ワシ類の潜在的な生息環境の推定

2020 年 3 月 19，20 日に小型船舶を用い、網走港沿岸において、海洋物理環境と植物/動物プランクトン、環境 DNA 解析による魚類相調査および目視観測による海鳥類と海ワシ類のセンサスを実施した。本報告書においては、海氷観測および CTD 観測の結果について記載する。

オホーツク海全体と網走周辺の海氷分布、結氷期間の長期変動を図 7-5)-1 に示す。気象庁から提供されているデータを使用した。オホーツク海全体の積算海氷面積の変動は 1970 年シーズンから 2020 年シーズンまで、網走周辺における流氷期間の変動は 1945 年シーズンから 2020 年シーズンまでを、それぞれ示している。オホーツク海全体では積算海氷面積が減少しており、海氷面積と結氷期間の両方が減少していることが示唆されている。網走周辺については、流氷初日から流氷終日までの日数を表す「流氷期間」の経年変動を表すグラフから、1940-1960 年代に比べて 2010 年代は流氷期間が約 15%短くなっていることが示されている。

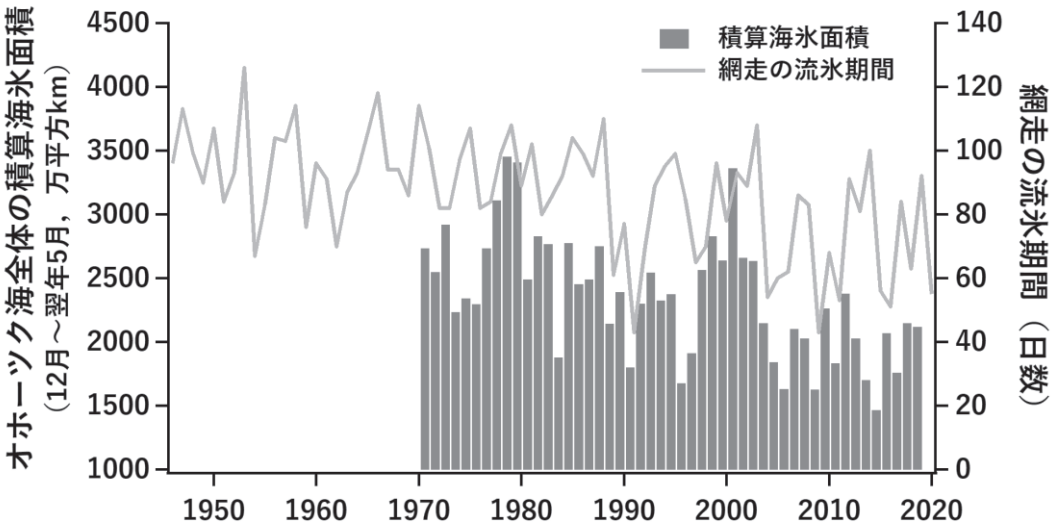


図 7-5)-1　オホーツク海全体の積算海氷面積の変動（1970 年～2020 年）と網走における流氷期間の変動（1945 年～2020 年）．気象庁のデータを使用.

本調査は、船舶の航行が可能になる 2020 年度の網走の海明け（3 月 16 日）直後の 3 月 19 日から 20 日に実施した。図 7-5)-2 は観測期間の AMSR2 によるオホーツク海全体の海氷密接度分布と、船舶観測を実施した網走沖の目視観測と比較した結果を示している。AMSR2 の海氷密接度は 0 から 100 まで百分率（%）の単位で示しており、目視観測の海氷密接度は 0 から 10 までの 11 段階で示している。今回の目視観測では海氷密接度の最大値が 5 であったため、0 から 5 までで最適化したカラースケールで示す。図 7-5)-3 は比較のため、第一管区海上保安本部海氷情報センターが提供している海氷速報図を示している。3 月 20 日は雲に覆われていたため、調査海域全体の海氷の様子は不明である。図 7-5)-2 で使用している AMSR2 は空間分解能が 10km と粗い欠点があるが、雲を透過するマイクロ波帯のセンサであるため、悪天候・夜間でも観測が可能であるという利点がある。

図 7-5)-2 の AMSR2 の海氷分布図から、オホーツク海全体および南部の北海道周辺の海域は多数の海氷によって覆われていたが、北海道沿岸は北部の稚内から紋別にかけて徐々に海氷が沖へ後退していた。図６の下段に示すように、3 月 19 日では網走沖に海氷が多数残っていたが、翌 3 月 20 日では海氷は大きく後退し、このエリアでは海氷がほとんど残っていなかった。衛星観測と目視観測の結果を比較すると､3 月 19 日では AMSR2 の海氷密接度が 20～40%を示していたのに対し、目視観測では 1～5 を示した。図 7-5)-4 に最も海氷密接度が高かった地点（密接度 5）の写真を示す。この写真のように小型船舶で航行が可能なエリアは海氷密接度が低く、小さいサイズに割れた氷盤の疎氷域であり、後退しつつある海氷域の縁辺部に相当する。3 月 20 日では AMSR2 の海氷密接度が 0%を示していたのに対し、目視観測では 0～1 を示した。AMSR2 の空間分解能が 10km という粗さを考慮すると、AMSR2 の海氷密接度は目視観測の結果とほぼ一致していると言える。

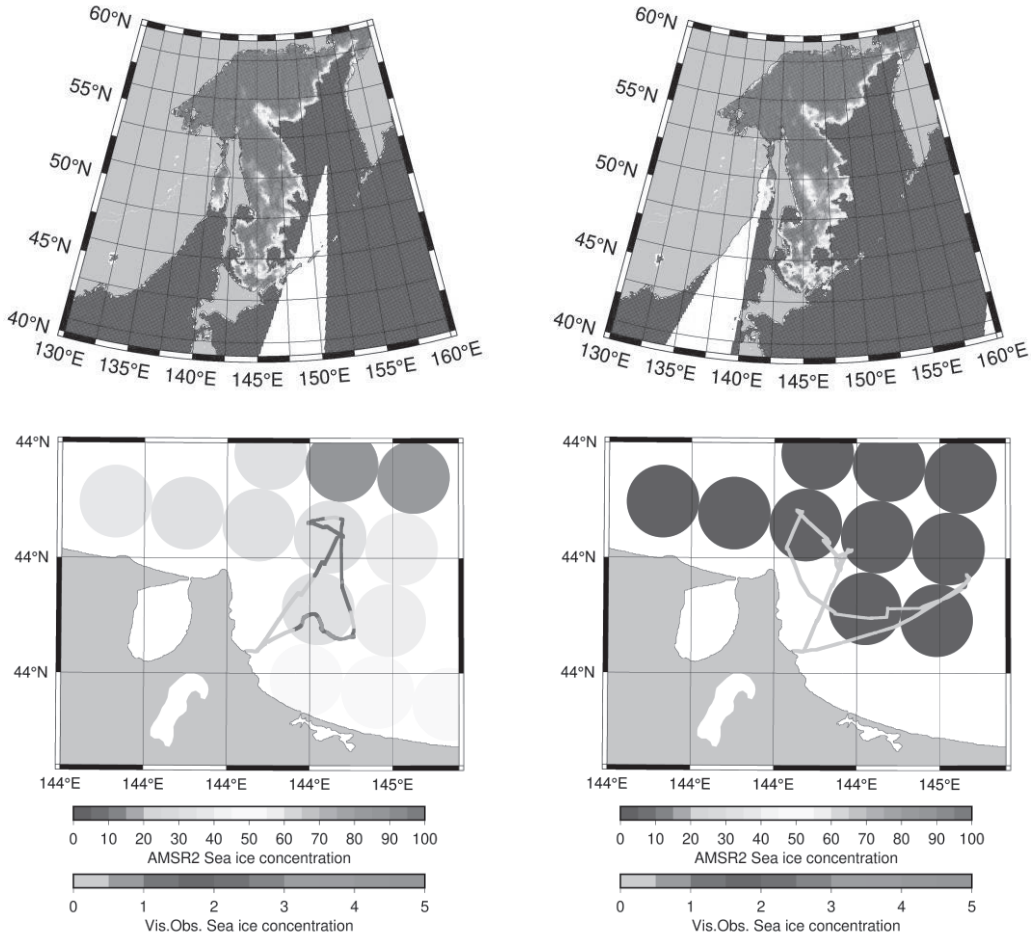


図 7-5)-2　小型船舶観測を実施した日（左：2020 年 3 月 19 日と右：2020 年 3 月 20 日）の AMSR2 海氷密接度分布（%）．上段はオホーツク海全体の海氷密接度分布，下段は小型船舶観測を実施した網走沖の AMSR2（大円）と目視（線）の海氷密接度分布を表している．

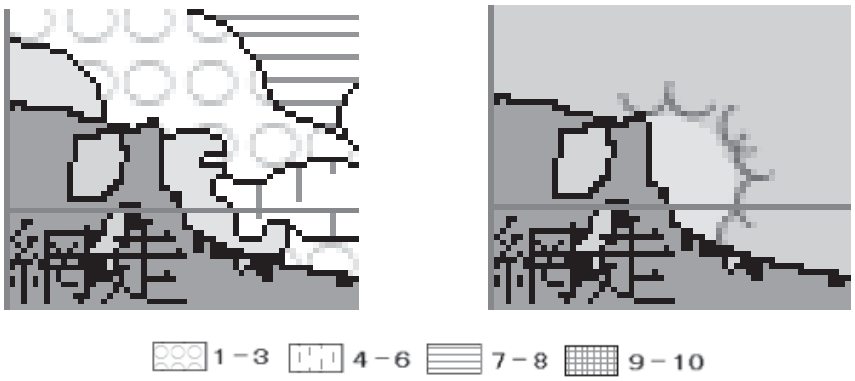


図 7-5)-3　小型船舶観測を実施した日（左：2020 年 3 月 19 日と右：2020 年 3 月 20 日）の海氷分布図．第一管区海上保安本部　海氷情報センターの海氷速報図を使用．

図 7-5)-4　小型船舶観測期間中，最も海氷密接度が高かった地点（3 月 19 日 13 時 1 分北緯 44.05 度，東経 144.39 度）の海氷の様子.

図 7-5)-5 は小型船舶で実施した CTD 観測のうち、表層の水温、塩分、クロロフィル a 量を示したものである。黒色線と灰色線は、それぞれは 3 月 19 日と 3 月 20 日の航跡を示している。表層水温は陸地に近い沿岸部で高く、沖で低い値を示した。表層塩分はそれとは逆に、陸地に近い沿岸部で低く、沖で高い値を示した。これは沿岸部では海氷が融解しながら後退するため塩分が低下し、海氷の後退によって開いた海面で太陽エネルギーを吸収するため、水温が上昇していることが考えられる。表層のクロロフィル a 量は海氷が去った 3 月 20 日の能取岬沖で高い値が観測された。

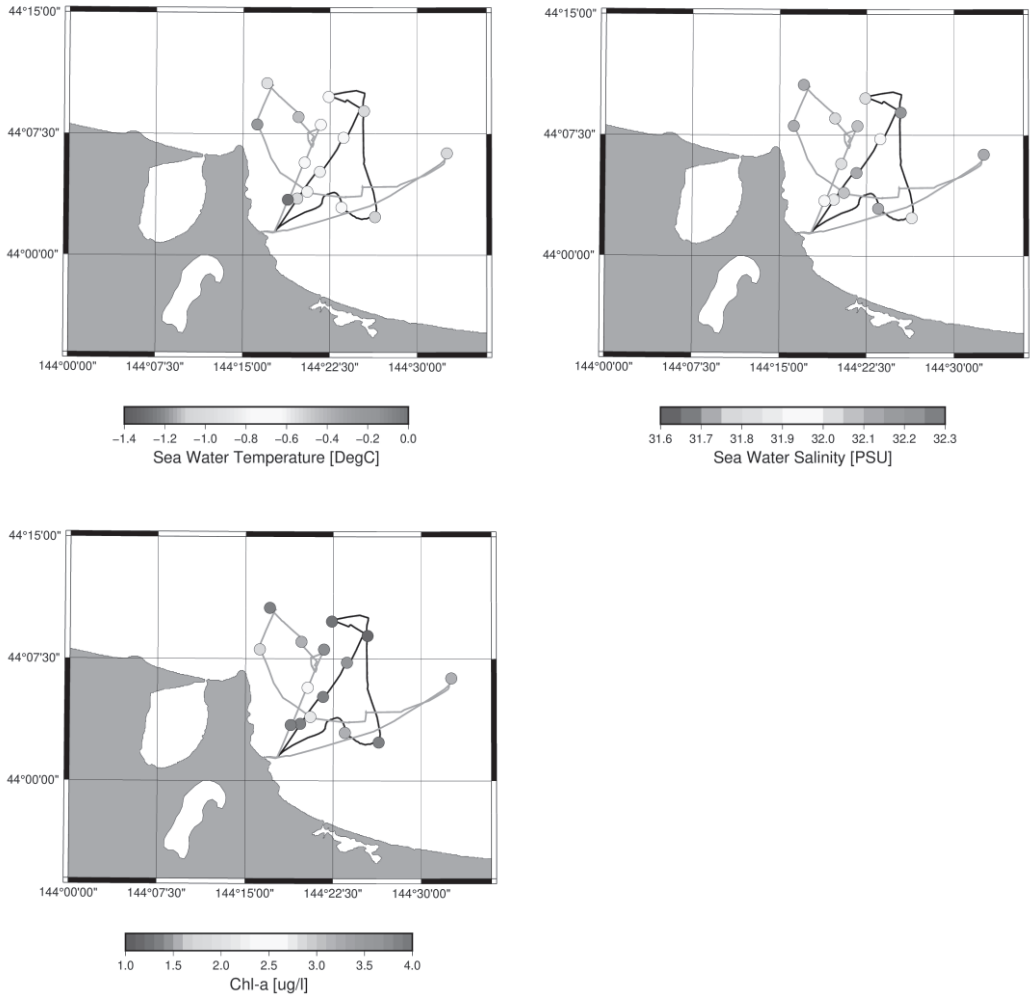


図 7-5)-5　小型船舶観測で実施した CTD 観測の結果．黒色線は 3 月 19 日，灰色線は 3 月 20 日の船舶の航跡．（左上）表層水温，（右上）表層塩分，（左下）表層クロロフィル a 量

図 7-5)-6 と図 7-5)-7 はそれぞれ 3 月 19 日と 3 月 20 日の CTD 観測から得られた水温､塩分､クロロフィル a 量の鉛直分布を示している。図 7-5)-6 の(1)~(5)のグラフは、網走港から氷縁まで直線的に観測した結果を示しており、図 7-5)-6 の(6)~(7)のグラフは南東部で観測した結果を示している。これらの結果から氷縁に近づくに連れてクロロフィル a 量のピークが見られ、北部の氷縁では水深 30～40m の層、東部の氷縁ではそれよりも浅い水深約 20m の層にピークが現れている。

海氷が去ったあとの図 7-5)-7 は、(1)~(4)のグラフが網走港から氷縁までを観測した結果を示しており (5)~(8)のグラフは能取岬周辺から小清水町沖まで東西方向に観測した結果を示している。クロロフィル a 量のピークは前日の図 9 よりも浅い 5～20m の水深に現れており、全体的に前日よりも高いクロロフィル a 量を示した。

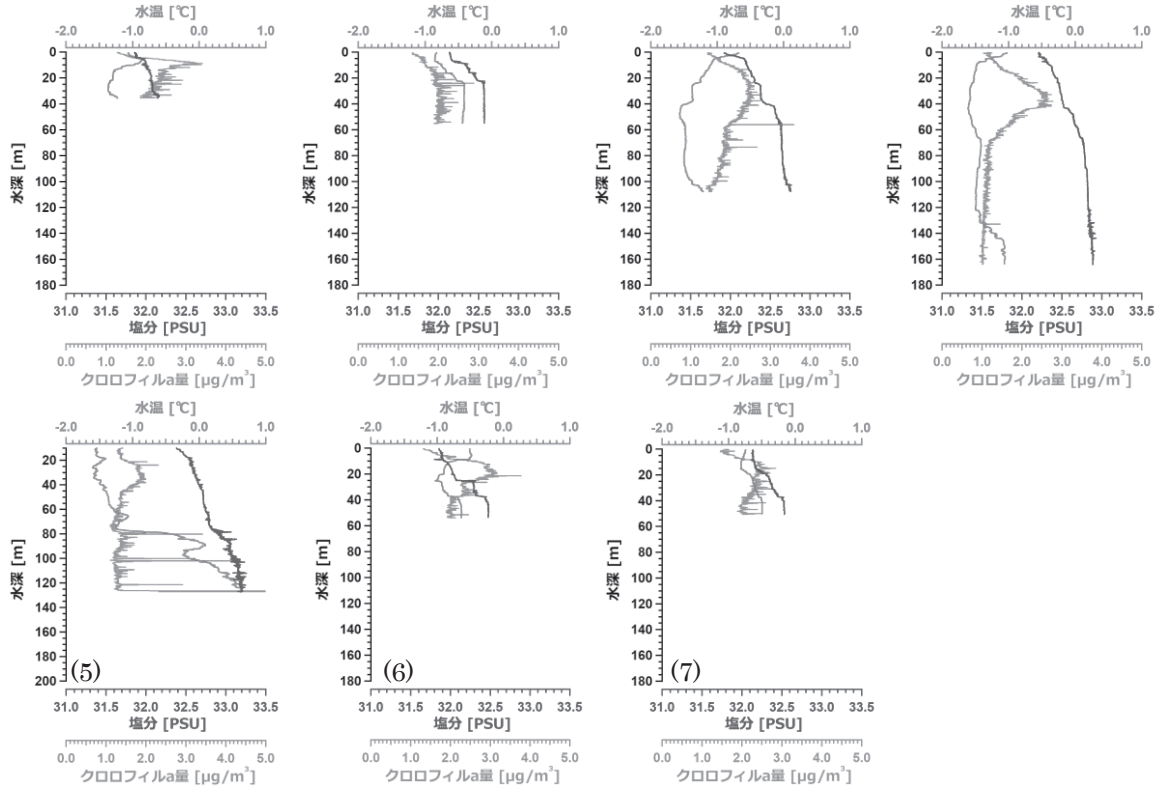


図 7-5)-6　3 月 19 日に実施した CTD 観測（水温、塩分、クロロフィル a 量）の結果

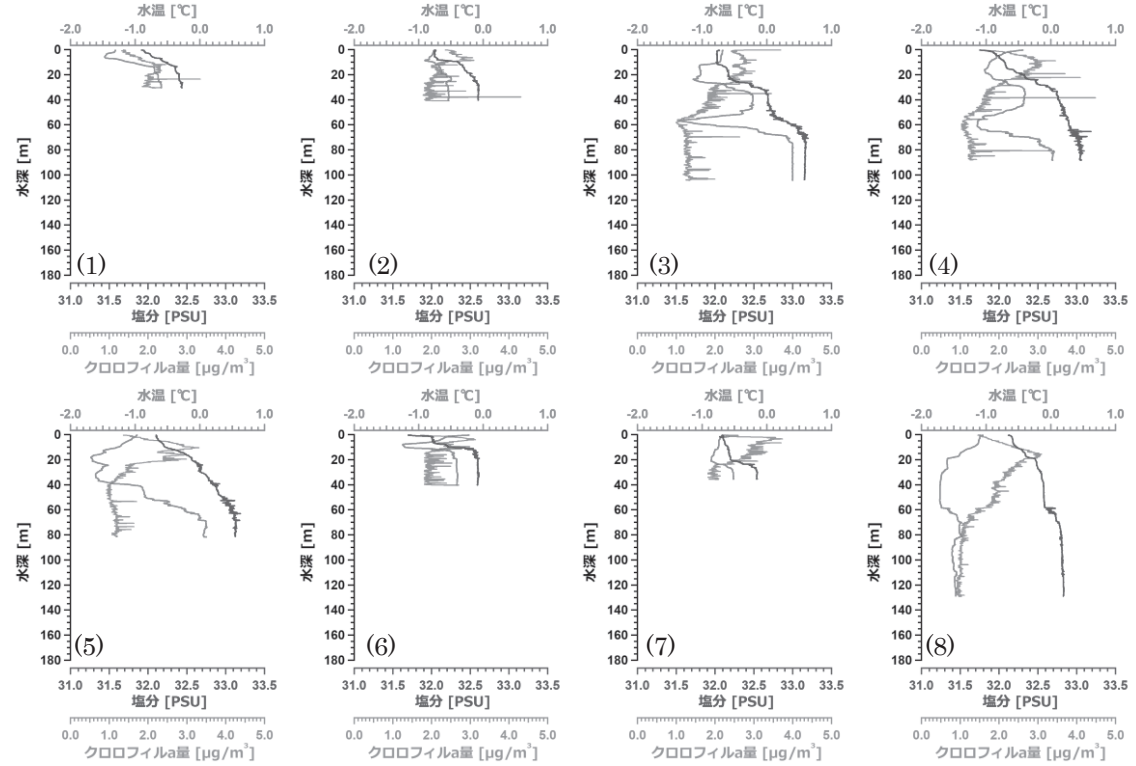


図 7-5)-7　3 月 20 日に実施した CTD 観測（水温、塩分、クロロフィル a 量）の結果

８．実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

研究項目 2)-(2)における、衛星搭載マイクロ波放射計による海氷密接度および海氷厚の推定技術および気象情報の抽出は、北極海航路などの氷海域を航行する船舶の最適航路探索や環境への影響評価にも利用され始めている。

９．残された問題点と今後の研究推進方策

１）遠隔追跡調査による海ワシ類個体の渡り移動経路と包括的生息地の特定

アムール川流域で生まれて遠隔調査されたオジロワシは、海を渡ることはなく大陸の沿岸部を南下して越冬しており、この地域で繁殖するオジロワシの多くは北海道に渡らない可能性が高いことが示された。一方、マガダン周辺で捕獲した 3 個体のうち越冬期まで追跡されたオオワシ 1 個体は北海道に渡来して越冬しており、もう 1 個体は沿海地方沿岸部で越冬していることから、同じ地域で出生したオオワシであっても越冬地は多様である可能性がある。そのため、主要な包括的生息地を把握するためには、できるだけ多くの個体の渡り移動データを取得する必要がある。

2020 年度に再度マガダンでオオワシを捕獲し、渡り移動経路を調べることができれば、カムチャッカ半島を除き、極東ロシアで繁殖する海ワシ類の主要な生息地についてはある程度把握できると考えられる。

２）陸域ベースマップ作成と陸海域の海ワシ類生息環境要件の抽出

(1) 陸域における高精度な広域 GIS ベースマップ作成

Centinel2 画像に基づく土地被覆分類手法については改善を試みたが、以前として精度の低い分類項目があった。被覆図の精度が低いと潜在生息地推定の精度も下がることが懸念されるため、さらなる改善が要される。特に湿地の精度が低いが、ISO クラスターの教師なし分類を行っている過程で、湿地の誤分類の多くが山間部に検出されており、湿地と山間部のスペクトルが似ていたために誤分類されたと考えられ、改善法の検討が必要である。砂地や湿地の精度については、NDVI だけでなく NDWI(Normalized Difference Water Index：正規化水指数)や NDSI(Normalized Difference Soil Index：正規化土壌指数)を利用して改善される可能性がある。

開発したディープラーニングモデルによる分類図ではオジロワシ生息地モデル構築に重要な要素となる、カラマツなどの落葉樹林を約 70%の精度で分類出来たことは成果であるが、未だに 46%と低い精度の向上を図るため、既存 GIS データ等の情報や Landsat 画像との組み合わせによるモデルの改良が課題である。

たとえば、草地・牧草地、湿地、落葉樹、疎林・低木林、針葉樹は ISO クラスターの教師無し分類を用いたが、この分類方法は、現地情報がない場合、分類結果の各クラスがどのように分類されたのかが不明であるという欠点がある(京田ほか　2013)。これにより、本来は区別して分類すべき被覆が同じクラスに分類される可能性がある。また、土地被覆図の作成に使用した衛星画像と、分類する際に参考にした ESRI・Google Earth の衛星画像の撮影日には、1 年～6 年間のず

れがあった。この期間に、森林の伐採や洪水等による土地被覆の改変が生じている可能性もあり、Google Earth を用いた精度評価が必ずしも妥当ではないことも考えられる。

一方、中緯度地域のアムール川は季節風の影響により、水位が大きく季節変化することが分かっており(Mokhov & Semenov 2015)、使用する衛星画像の撮影時期によって河川の氾濫などにより、水域面積も大きく異なる可能性がある。水域はオジロワシの主要な餌場環境であることから、実際に利用された時期の状況を生息環境モデルに反映することができれば、より正確に生息に必要な条件を明らかにできると考えられる。また、Sentinel-2 の画像では起伏のある山の斜面などが影になる場合があり、このような画像では正確な土地被覆分類ができなかった。改善策の検討がが要される。

(2)海域におけるワシの滞在地点と海氷・気象状況との関係

海ワシの海域滞在地点と海洋・海氷状況を調査するために使用している LANDSAT ETM+は、回帰日数が長いうえに可視近赤外センサのため、悪天候や夜間に観測が行えず、データの観測頻度が低く、ワシの滞在期間と乖離している。2020 年度はこの問題を解決すために、高分解能かつ全天候で観測できる欧州宇宙機関によって 2007 年に打ち上げられた地球観測衛星 Sentinel-1 の合成開口レーダ C-SAR のデータを導入し、高頻度の解析を行う。

ワシの海域滞在地点と海氷・気象状況との関係については、ワシの飛行経路沿いに流氷環境を抽出することは容易であるが、気象データについては位置と日付の両方が変化する場合のグラフ描画スクリプトが完成しておらず、時間を固定してある 1 日のワシの移動範囲における上空の風向風速・気温分布か、場所を固定してあるワシの移動範囲における上空の風向風速・気温の時間変化か、どちらかを表示することしかできておらず、全ての期間を解析するには作業量が膨大になってしまう問題がある。流氷環境と同様にワシの飛行経路沿いの上空のみの気象状況を表示できるスクリプトを改良し、流氷環境と気象状況を同時に示す図を作成できるようにすることが来年度の課題である。この解析が可能になることにより、ワシが渡りをする際にどの高度の風を利用して飛行し、どのような流氷域に滞在しているかなどを把握でき、総合的なワシの生息あ環境調査へ発展が期待できる。

3)海ワシ類の主要餌種の生息状況の把握・推定

①問題点：得られた結果を用いた広域推定

アムール川流域での現地調査は本研究プロジェクト期間中には諸事情から実施困難になった。したがって、ロシアを含む水域での餌生物の推定は、既存調査結果に関する情報収集とその分析、そして調査可能な網走周辺の水域をモデルとしての魚類現存量と水域環境との関係の分析に基づくしかない。しかしながら、ロシア側水域での調査結果は、昨年度の現地専門機関での調査からわかったように膨大な資料が存在するが、それらを利用する手段が無いため、用いることができない。よって、網走周辺水域での魚類調査結果に基づいて、ロシア側を含む広域スケールでの推測を行わざるを得ない。ここで問題なのは、地形構造など生物が生息して利用している空間スケールと、生息している魚類の多様性、そして人間による環境改変が及んでいる範囲やその履歴が、

モデルとなる北海道とロシアで全く異なることである。ある魚種にとって好適な生息環境（生活史で利用する空間スケールを含む）を検討して広域推定する上では、まずこれらの点について考慮する必要があると思われる。

②今後の方策

本プロジェクト最終年度の 3 年目は、引き続き環境 DNA と採集調査により網走周辺水域に生息する魚類調査を実施するとともに、魚類現存量の多少に影響する環境要因を分析するために、河川と湖沼を含む調査を実施していく。また、既往知見を整理しながら分布モデル等によって検討を進め、海ワシ類の潜在的餌生物である魚類の分布パターン形成要因を探求してこれまでの研究成果をまとめる。以上が当初の目標であったが、新型コロナウイルス感染予防対策のため 2020 年 6 月末まで研究活動が実施できなかったことと、本課題を分担する学生もコロナウイルスによる社会影響のため就職活動が延長するなど研究の実施にあたり様々な影響が出ている。したがって、得られる成果は当初目標より大幅に限定される見通しである。問題点として、得られた結果を用いた広域推定が挙げられる。アムール川流域での現地調査は本研究プロジェクト期間中には諸事情から実施困難になった。したがって、ロシアを含む水域での餌生物の推定は、既存調査結果に関する情報収集とその分析、そして調査可能な網走周辺の水域をモデルとしての魚類現存量と水域環境との関係の分析に基づくしかない。しかしながら、ロシア側水域での調査結果は、昨年度の現地専門機関での調査からわかったように膨大な資料が存在するが、それらを利用する手段が無いため、用いることができない。よって、網走周辺水域での魚類調査結果に基づいて、ロシア側を含む広域スケールでの推測を行わざるを得ない。ここで問題なのは、地形構造など生物が生息して利用している空間スケールと、生息している魚類の多様性、そして人間による環境改変が及んでいる範囲やその履歴が、モデルとなる北海道とロシアで全く異なることである。ある魚種にとって好適な生息環境（生活史で利用する空間スケールを含む）を検討して広域推定する上では、まずこれらの点について考慮する必要があると思われる。

今後の方策として、本プロジェクト最終年度の 3 年目は、引き続き環境 DNA と採集調査により網走周辺水域に生息する魚類調査を実施するとともに、魚類現存量の多少に影響する環境要因を分析するために、河川と湖沼を含む調査を実施していく。また、既往知見を整理しながら分布モデル等によって検討を進め、海ワシ類の潜在的餌生物である魚類の分布パターン形成要因を探求してこれまでの研究成果をまとめる予定である。

4）海洋の物理環境に基づくオホーツク海域の一次生産量の推定

2019 年度は、能取湖の湖口を中心として季節ごとに一次生産力の測定を行ってきた。一次生産力測定に際しては、上げ潮時に採水し、オホーツク沿岸域の水塊流入時のデータ取得につとめた。

2020 年度も湖口における調査を継続し、CTD 観測、採水、一次生産力の測定を行い、現場データを取得する。2019 年度、2020 年度と得られた現場データの結果と衛星データとの比較検討をおこない、オホーツク沿岸域の一次生産力推定に向けてまとめていく。これまでの一次生産力の測

定結果より、光量よりもクロロフィル a 濃度が指標の一つとして重要であることが示唆された。一次生産力測定には栄養塩濃度等も制限要因となるので、今後、栄養塩環境もデータとして加えた上で一次生産力の測定を継続する。

海域および湖沼の一次生産力の観測については、今年度の結果からは現地観測と衛星観測に相違が見られた。衛星観測によって得られたクロロフィル a 量の特徴や信頼性を明らかにするために、来年度は地形や潮汐等による影響を受けにくい湖中央において、複数の深度で一次生産力を観測して検証することが課題として挙げられる。

5）陸・海域における海ワシ類の潜在的な生息環境の推定

2020 年 3 月に小型船舶を用いたオホーツク海域の生態系総合調査を実施したが、コロナ感染拡大による影響を受け、予定通り解析が進まなかった。2020 年度はこの調査結果を用いて各項目間の関係性を解析し、オホーツク沿岸域における物理環境、生産力と餌生物群集や海ワシ類との対応関係の有無を明らかにする予定である。これらに関係性がみられれば、潜在的な生息環境推定の要素として用いることが可能になる。

１０．公表した成果一覧

学術論文

1) Katsuki K, K Seto, A Tsujimoto, H Takata and Sonoda S. 2019. Relationship between regional climate change and primary ecosystem characteristics in a lagoon undergoing anthropogenic eutrophication, Lake Mokoto, Japan. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 222:205-213.
2) Kitano M., M Ino, S Smallwood and Shiraki S. 2020. Seasonal Difference in Carcass Persistence Rates at Wind Farms with Snow, Hokkaido, Japan. Ornithological Science, 19: 63-71.
3) 照井雄大, 舘山一孝, 渡邊達也. 2019. UAV を用いた多視点ステレオ写真測量による海氷厚分布測定手法の開発, 北海道の雪氷, 38: 5-88.
4) Takata H, S Hasegawa and Sonoda T. 2019. Life history of Ammonia “beccarii” forma 1 (benthic foraminifera, Rhizaria) in Lake Saroma, northern Japan. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 229:106385.
5) Ito.Y, S. Matsui, S. Shiraki, Ueda K. 2020. Habitat selection of Skylarks during the breeding season on the volcanic slope of Mt.Tarumae. Ornithological Science 19:167-175.

その他（学会発表等）

1) 白木彩子. 2019. ロシアアムール川流域で繁殖するオジロワシの渡り移動経路と生息環境の保全. 公益財団法人自然保護助成基金主催. 北海道の環境保全活動データベース『きたマップ』公開記念シンポジウム. 北海道大学学術交流会館.

2) Koji SETO, Kota KATSUKI, Takeshi SONODA, Kazuyoshi YAMADA. 2019. Late Holocene paleoenvironmental history by High resolution analysis of clastic varves in the brackish Lake Mokoto, Hokkaido, Japan. 20th Congress of the International Union for Quaternary Research 2019, Dublin, Ireland.
3) Kota KATSUKI, Koji SETO, Hiroyuki TAKATA, Takuroh NOGUCHI, Akira TSUJIMOTO, Takeshi SONODA, Dong-Yoon YANG. 2019. Effects of short-term climate oscillation on ecosystem of eutrophic lagoons.20th Congress of the International Union for Quaternary Research 2019, Dublin, Ireland.
4) K. Seto, K. Katsuki, T. Sonoda, K. Yamada. 2019. Middle to Late Holocene paleoenvironmental history by High resolution analysis of clastic varves in the Lake Mokoto, Hokkaido, Japan. The 16th East Eurasia International Workshop, Ulaanbaatar, Mongolia.
5) 松田烈至, 園田　武, 瀬戸浩二, 香月興太. 2019. シブノツナイ湖及び藻琴湖における湖沼地形と環境の変化　汽水域研究会 2019 年（第 11 回）北潟湖大会.
6) 松田烈至, 園田　武. 2019. 2009 年から 2019 年におけるシブノツナイ湖のベントス群集構造の変化汽水域研究会 2019 年（第 11 回）北潟湖大会.
7) 松田烈至, 園田　武. 2019. 流域由来物質がヤマトシジミの生息環境に及ぼす影響　汽水域研究会 2019 年（第 11 回）北潟湖大会.
8) 園田　武, 大武　連, 大野翔太, 別所春輝, 池渕貴志, 松田烈至, 末沢海一, 川尻敏文. 2019.　網走湖産ヤマトシジミの 2019 年の産卵パターン（予報）汽水域研究会 2019 年（第 11 回）北潟湖大会.
9) 松田烈至, 園田　武.　2019. ヤマトシジミ *Corbicula japonica* に対する急性アンモニア毒性　汽水域研究会 2019 年（第 11 回）北潟湖大.
10) 園田　武, 石坂和也, 相田貴斗, 比嘉　匠, 瀬戸浩二, 阪口耕一, 松ヶ崎光悦. 2019. サロマ湖のベントス群集と底質環境：過去 40 年間の推移（予報）　汽水域研究会 2019 年（第 11 回）北潟湖大会.
11) Koji SETO, Kota KATSUKI, Takeshi SONODA, Kazuyoshi YAMADA. 2019. Paleoenvironmental and Climatic history in Common Era by High resolution analysis of clastic varves in the Subarctic brackish Lake, Hokkaido, Japan. American Geophysical Union Fall meeting 2019, San Francisco, USA.
12) 木村宏海, 八久保晶弘, 舘山一孝. 2019. 塩を含む積雪の含水率測定に関する考察, 雪氷研究大会, 日本雪氷学会・日本雪工学会.
13) 照井雄大, 舘山一孝, 渡邊達也. 2019.ドローンを用いた多視点ステレオ写真測量による海氷厚分布定手法の開発, 雪氷研究大会 2019. 日本雪氷学会・日本雪工学会
14) 照井雄大, 舘山一孝, 渡邊達也.2019. UAV を用いた多視点ステレオ写真測量による海氷厚分布測定手法の開発, 支部研究発表会, 日本雪氷学会北海道支部.
15) 西野康人、中川至純　2019　溶存酸素濃度の経時的動態による一次生産力測定法の検討、2019

生態工学会年次大会、(2019.6.28-29) 1. 西野康人、中川至純　2019　溶存酸素濃度の経時的動態による一次生産力測定法の検討、2019 生態工学会年次大会、(2019.6.28-29).

16) Tateyama, K., K., Izumiyama, Y. Watanabe, and K. Sato. 2020. Improvement of estimation algorithm for thickness of first-year ice in the Arctic using AMSR-E/AMSR2, The 35th International Symposium on Okhotsk Sea & Polar Ocean, The Okhotsk Sea and Polar Oceans Research Association.

17) 瀬戸浩二, 香月興太, 園田　武, 山田和芳. 2020. 北海道藻琴湖における砕屑性年縞堆積物分析による小氷期以降の古環境変遷. 汽水域合同研究発表会 2020 (島根大学松江キャンパス).

18) 松田烈至, 園田　武, 駒井克昭. 2020. 流域由来物質がヤマトシジミ Corbicula japonica の生息地及び生理耐性に及ぼす影響. 汽水域合同研究発表会 2020 (島根大学松江キャンパス).

２０１９年度 東京農業大学 大学戦略研究プロジェクト

研究成果報告書

研究代表者　　小島　弘昭

１．研究課題名および予算額

研究課題名	研究領域（キーワード）	予算額(円)
植物・昆虫・動物の多様性を指標とした島嶼農業生態系の評価と保全	生物多様性	3,500,000

２．研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	小島　弘昭	農学部　生物資源開発学科・教授	統括，調査，インベントリー
研究分担者	宮本　　太	農学部　生物資源開発学科・教授	調査，希少植物インベントリー
	田中　幸一	農学部　生物資源開発学科・教授	調査，昆虫・動物評価
	松林　尚志	農学部　生物資源開発学科・教授	調査，動物インベントリー，糞分析
	佐々木　剛	農学部　生物資源開発学科・教授	調査，魚・両爬類インベントリー
	石川　　忠	農学部　生物資源開発学科・教授	調査，水生昆虫インベントリー
	山田　　晋	農学部　生物資源開発学科・准教授	調査，植物・植生評価
	松嶋　賢一	農学部　生物資源開発学科・准教授	調査，雑草インベントリー

３．研究期間

２０１９年6月３日～２０２０年3月３１日（３年計画の１年目）

４．研究の背景（当初）

近年，生物多様性に配慮した農業生産が推進されていて，農業生態系における生物多様性調査が行われてきた（環境省，農水省）．しかし，これまでの調査はカエルや水生昆虫など一部の生物群を対象としたもので，健全な農地とそれを取り巻く里山環境に生息する生物多様性の実態は，昆虫を筆頭に，未だ未解明の状態にある．特に，これまでの調査は本土部を中心に行なわれており，島嶼部の農地生態系に着目した生物多様性調査は，害虫とその天敵を対象としたもの以外行なわれていなかった．

５．研究目的

これまで未解明であった島嶼部（ここでは南西諸島）の農地生態系における生物多様性の解明を目指すとともに，その保全のための基礎データを蓄積し，「生物多様性管理」と「農村ランドスケープ設計」

の視点から，持続可能な農地生態系モデルを提案する．

６．研究（実験）方法

・生物多様性のホットスポットとされる南西諸島を対象に調査を実施
・管理状況の異なる「環境保全型農地」と「生産効率型農地」における生物多様性の実態解明とその比較
・「環境保全型農地」では，特徴的な生物種を選定し，環境指標生物としての利用を検討
・「生産効率型農地」では，農地・里山に依存する希少種，絶滅危惧種を抽出し，保全策を検討
・「環境保全型農地」の調査は西表島で，「生産効率型農地」は石垣島・宮古島で実施

７．研究成果

・好適な調査地を選定（特に西表島の環境保全型水田；対象区としての石垣島の生産効率型水田）
・環境保全型農地には，多様な生物種が見られ，希少種，絶滅危惧種も少なくない（例：オオバコ科のスズメノハコベやミツガシワ科のヒメシロアサザ，ミズムシ類などの水生カメムシ類，ゲンゴロウ，ガムシなどの水生甲虫類など）
・生産効率型農地でも絶滅危惧種を確認（例:カヤツリグサ科のクロタマガヤツリやヤエヤマイシガメ，イシガキトカゲなど）
・上記結果は，農地が生物の生息地として重要であると同時に，指標生物種，保全対象種の候補となりうる種が含まれることを示唆している
・対象生物群によって農地の利用が異なる傾向が見られる．例えば，栽培管理法が重要な種、周辺環境が重要な種など
・昆虫類（とくにゾウムシ類とカメムシ類）・クモ類で分布新記録種，未記載種（新種）を含む，多数の新発見，新知見がもたらされ，学術論文で発表した
・水田雑草に依存していた半水生のゾウムシ類や，従来，水田の重要害虫種として知られていたイネゾウムシやイネミズゾウムシなどが，近年の育苗箱施用剤などの農薬の影響で激減していている実態を確認
・野生植物ならびに水生昆虫類，両生・爬虫類において，農地生態系が絶滅危惧種の生息環境として機能していることを確認
・農地とその周辺環境に生息するリュウキュウイノシシのヌタ場を確認し，希少種のモリモトケシカタビロアメンボやウエノケシカタビロアメンボを発見するとともに，環境 DNA などを用いた水生生物調査を実施した
・西表島における水稲耕作地において普通耕作地と有機耕作地における出現植物相の比較検討をした結果，有機耕作地には 11 種の絶滅危惧植物が生育すること，帰化植物の出現率が普通耕作地より低いことが明らかになった
・有機水稲耕作地における絶滅危惧植物の生育制限要因は，農閑期においても湿田が保たれる湧水源があり，年間を通じて湿田が保たれていることが重要である
・有機耕作地に生育する絶滅危惧種スイシャホシクサの生育環境及び生育要因を明らかにした
・普通水稲耕作地において除草剤の利用頻度により出現する植物種の種組成が異なることを明らかにした
・西表島の農業・水稲作の実態を把握する目的で統計情報を収集した

８．実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

西表島をはじめとする，自然度の高い島々のみならず，農地開発の進んだ宮古島などの南西諸島における農地生態系周辺の調査で，新種や新記録種，希少種の昆虫類が見つかっており，昆虫分類学上の成果として報告した（学術論文: 1,5,6,7,8）

９．残された問題点と今後の研究推進方策

・調査地点・調査回数を増やした調査の継続（ただし，沖縄県の緊急事態宣言発令等，コロナの影響が懸念される）
・西表島（環境保全型農地）を中心とした調査と，石垣島・宮古島（生産効率型農地）の補完的調査の実施
・環境保全型農地に特徴的な指標生物候補の選定
・生産効率型農地で保全すべき希少種候補の選定
・それらの種の生態的特性の調査
・それらの種の生息と環境条件（栽培管理、周辺景観など）との関係の調査・解析
・科研費等外部資金の積極的導入

１０．公表した成果一覧

学術論文

1) Kojima, H., S. Furuhashi, H. Yoshitake & F. Miyamoto, 2020. Weevils (Coleoptera, Curculionidae) associated with ferns in Japan. Elytra, n. ser., 10: 5-18.
2) 小島弘昭・藤澤侑典, 2020. トカラ列島のゾウムシ相. 昆虫と自然, 55(8): 13-16.
3) Kojima, H., 2020. Occurrence of the banana stem weevil, Odoiporus longicollis (Olivier) (Coleoptera, Dryophthoridae) from mainland Kyushu, Japan. Nodai Entomology, (2): 5-7.
4) Kojima, H., 2020. A new synonymy of the molytine weevil genus Seleuca Pascoe (Coleoptera, Curculionidae). Nodai Entomology, (2): 8-9.
5) Kojima, H. & Y. Fujisawa, 2020. First record of Allaeotes niger He, Zhang & Pelsue (Coleoptera, Dryophthoridae, Stromboscerinae) from Japan. Nodai Entomology, (2): 10-13.
6) Kojima, H. & H. Yoshitake, 2020. Four curculionid-beetles (Coleoptera) new to the fauna of the Miyako Islands, the Ryukyus, Japan. Nodai Entomology, (2): 14-18.
7) 小島弘昭・関東準之助・吉武　啓, 2020. 西表島からのヒメイカリゾウムシの記録と擬死行動. Sayabane, n. ser., (38): 40-41.
8) 加藤大樹・小島弘昭，2020．西表島からのコブアナアキゾウムシの記録．Sayabane, n. ser., (38): 36-37.
9) 小島弘昭・佐伯智哉, 2020．屋久島におけるサカグチクチブトゾウムシの加害植物記録．Sayabane, n. ser., (38): 41-42.
10) 嶋本習介・小島弘昭・長野宏紀，2020．薩摩黒島からの水生甲虫 5 種の記録．Sayabane, n. ser., (38): 38-40.

11) 小島弘昭，2020．口永良部島からのヒゲブトシギゾウムシの記録．Sayabane, n. ser., (38): 38.
12) 小島弘昭・宮本　太，2020．薩摩黒島におけるクニヨシシロオビゾウムシ（甲虫目オサゾウムシ科）の分布記録と生態的知見．Sayabane, n. ser., (38): 29-31.
13) Kojima, H. & T. Yôro, 2020. A new species of Amystax Roelofs, 1873 endemic to the mountainous area of the Yakushima World Natural Heritage site, Kyushu, Japan. Zootaxa, 4732: 495-500.
14) Kojima, H. & H. Nagano, 2019. Biological notes on threatened celeuthetine weevil, Torishimazo lineatus (Coleptera, Curculionidae), endemic to the Ogasawara Islands, Tokyo, Japan. Elytra, n. ser., 9: 391-394.
15) Kojima, H. & H. Nagano, 2019. Biological notes on celeuthetine weevils of the genus Ogasawarazo, subgenus Ogasawarazo (Colepotera, Curculionidae, Entiminae) endemic to the Ogasawara Islands, Tokyo, Japan. Elytra, n. ser., 9: 385-390.
16) 伊藤直哉・長野宏紀・小島弘昭，2019．薩摩黒島におけるケシキスイ科 5 種の記録. Sayabane, n. ser., (36): 16-18.
17) Kojima, H. & T. Yôro, 2019. A new plant host record for adult of Euphyllobiomorphus kurosawai Morimoto (Coleoptera, Curculionidae, Entiminae), endemic to Yakushima Island, Kyushu, Japan. Nodai Entomology, (1): 1-2.
18) Kojima, H., T. Saeki & T. Yôro, 2019. Four weevils of the subtribe Ochyromerina (Coleoptera, Curculionidae, Curculioninae, Tychiini) new to the fauna of Yakushima Island, Kyushu, Japan. Nodai Entomology, (1): 3-4.
19) Kojima, H., K. Suzuki & T. Yôro, 2019. Reconfirmation of presence of three pest weevils (Coleoptera, Dryophthoridae) on banana on Yakushima Island, Kyushu, Japan. Nodai Entomology, (1): 5.
20) Kojima, H. & T. Yôro, 2019. Confirmation of the presence of Anosimus decoratus Roelofs (Coleoptera, Curculionidae, Entiminae) on Yakushima Island, Kyushu, Japan. Nodai Entomology, (1): 6-8.
21) Kojima, H., N. Kaneko & S. Shimamoto, 2019. Record of four dryophthorid weevils (Coleoptera, Curculionoidea) new to the fauna of Satsuma-Kuroshima Island, the Ôsumi Islands, Kyushu, Japan. Nodai Entomology, (1): 9-10.
22) Ishikawa, T. & K. Takahata, 2019. Insect and mite pests of pepino (Solanum muricatum Ait.) in Japan. Biodiversity Data Journal, 7: e36453.
23) 石川　忠・守屋成一, 2019. 日本産チャバネアオカメムシ類の最新の分類. 植物防疫, 73 (4): 220-224.
24) 重藤裕彬・石川　忠・髙畑　健，2019．ムラサキアシナガトビハムシの南西諸島からの初記録．Sayabane, n. ser., (33): 25-27.
25) Du, Z., T. Ishikawa, H. Liu, S. Kamitani, O. Tadauchi, W. Cai & H. Li, 2019. Phylogeography of the assassin bug Sphedanolestes impressicollis in East Asia inferred from mitochondrial and nuclear gene sequences. International Journal of Molecular Sciences, 20: 1234.
26) Ishikawa, T. & S. Moriya, 2019. A review of the stink bug genus Plautia Stål from Japan (Hemiptera, Heteroptera, Pentatomidae). Zootaxa, 4564: 470-490.
27) 佐野千尋, 大川智也, 鹿島惇平, 米地梨紗子, 糟屋奈津実, 黒澤亮, 松林尚志, 2019. 神奈川県東丹沢地域における中大型哺乳類のヌタ場利用．哺乳類科学, 59: 37-48.
28) Yamada S. & M. Nemoto, 2020. Effects of weed abundance and frequency of hand weeding on the establishment of transplanted Imperata cylindrica. Landscape and Ecological Engineering, 16: 1-9.
29) 山田　晋・根本正之, 2020. 半自然草地の秋季刈り取り残渣の敷設時期と敷設厚が敷設地の群落種組成に及ぼす影響. ランドスケープ研究, 83: 731-736.
30) Miura, N., S.Yamada & Y.Niwa, 2020. Estimation of canopy height and biomass of Miscanthus sinensis in semi-natural grassland using time-series UAV data. ISPRS Annals of the Photogrammetry, Remote Sensing & Spatial Information Sciences, V-3: 497-503.
31) Miura. N., T. F. Koyanagi, S. Yokota & S. Yamada, 2019. Can UAV LiDAR derive vertical structure of herbaceous vegetation on riverdike? ISPRS Annals of the Photogrammetry, Remote Sensing & Spatial Information Sciences, IV-2 (W5): 127-132.
32) 山田　晋・白土晃一・根本正之・大黒俊哉, 2019. 貧栄養土壌におけるススキ群落の早期再生に向けたススキと群落従属種の初期生育の解明．ランドスケープ研究, 82: 691-696.
33) 松嶋賢一・山口　優・御手洗洋蔵，2019．ハマスゲ（Cyperus rotundus L.）の塊茎形成に対する土壌の種類と施肥の影響，薬用植物栽培研究 41: 1-9.

学会発表

1) 小島弘昭・養老孟司，2019．屋久島の山神，オビモンヒョウタンゾウムシ属の顕著な新種．第 10 回日本甲虫学会大会，九州大学.
2) 山田　晋・宮本　太・高岸　慧，2020．西表島において水稲非栽培期の圃場整備および未整備水田に出現する植物種の差異．日本雑草学会，信州大学.
3) 高岸　慧・宮本　太・内貴章世，2020．絶滅危惧種スイシャホシクサの生育環境．日本生態学会第 67 回大会，名城大学

２０１９年度 東京農業大学 大学戦略研究プロジェクト

研究成果報告書

研究代表者　　松田　浩敬

１．研究課題名および予算額

研究課題名	研究領域 （キーワード）	予算額 （円）
サブサハラ・アフリカにおける都市-農村間連携の再構築と農業・栄養・健康・自然資源の連環による持続型社会の構築	SDGs　①貧困、②飢餓、⑫生産・消費	4, 000, 000

２．研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	松田　浩敬	農学部　デザイン農学科・准教授	研究統括・個別研究課題（3）伝統的農産物に関するサプライチェーン構築と販売実験
研究分担者	入江　憲治	国際食料情報学部 国際農業開発学科・教授	個別研究課題（2）農業を含む遺伝資源利用と社会制度に関する分析
	日田　安寿美	応用生物科学部　栄養科学科・教授	個別研究課題（1）伝統的農産物の栄養・機能性評価

３．研究期間

２０１９年6月３日～２０２０年３月３１日（３年計画の１年目）

４．研究の背景（当初）

近年、同じ国家・地域あるいは家計に低栄養と過剰栄養が混在する「栄養障害の二重負荷（Double Burden of Malnutrition）」が認識され、これらの解決が国際的な農業・食料政策の中心となってきている。その特徴として、「農業・栄養・健康の連環（Agriculture- Nutrition-Health Nexus）」を考慮した政策介入の必要性を指摘していることが挙げられる。すなわち栄養不足とそれによる発育阻害等、および過剰栄養とそれに起因する非感染性疾患（NCDs：Non-Communicable Diseases）とを同時に解決しなくてはならないのである。これらの要因として、欧米型の食習慣の形成が頻繁に指摘されるが、そもそも食習慣の形成に大きな影響をおよぼす適切な栄養・食料摂取や健康状態に関する情報が与えられていない。また、都市 - 農村間で食料や農産物に関するサプライチェーンが長く複雑になったことにより、農産物の消費者、生産者それぞれがそれぞれの状況を認識していない。これは、一国内にかぎったことではなく、国際間でも同様であり、開発途上国の農業生産者との公正な貿易とされるフェア・トレードであっても先述のような情報の非対称性は生じている。

５．研究目的

本研究は、ケニア共和国キツイ郡およびビヒガ郡の農村部、および都市部を主な対象に、近年重要性が指摘される農業・栄養・健康の連環に加え、遺伝資源の多様性の維持を可能とする自然資源利用を明確に考慮した、i）人々の健康を基準とする適切な栄養・食料摂取体系、および ii）それを可能とする伝統的な社会制度等に依拠した農業・自然資源利用体系を提示するとともに、iii）都市-農村間の食料消費-生産に関する新たなサプライチェーンの構築を目的とする。

６．研究（実験）方法

本研究は、（1）伝統的農産物の栄養・機能性評価、（2）農業を含む遺伝資源利用と社会制度に関する分析、（3）伝統的農産物のサプライチェーン構築と販売実験、からなる。

（1）伝統的農産物の栄養・機能性評価

本サブテーマでは、まず、24 時間思い出し法、秤量記録法、食物摂取頻度法（FFQ：Food Frequency Questionnaire）等の食事調査法を組み合わせて i）個人・世帯の食料摂取の状況、を明らかにする。これらの結果を基に、調査対象コミュニティ内の個人・世帯に対する栄養摂取の改善に関する情報の提示を行う。また、ii）体格に関するデータ（身長・体重・上腕周囲径(MUAC: Mid-Upper Arm Circumference)・体脂肪等）および質問紙により健康状態の認識に関するデータを収集し、個人の健康状態を把握する。また iii）i）の分析に基づき、（3）の販売実験の候補となる農産物の選定、加工する場合その方法の提案と加工した際の栄養・機能性評価を行う。

（2）農業を含む遺伝資源利用と社会制度に関する分析

（1）と連携し、i）個人あるいは世帯が摂取している食物の入手先について、それぞれ、自給自足・近隣の自然資源に依存した採取・近隣者や近親者との交換（おすそ分け）・コミュニティ内での購入・コミュニティ外からの購入、に分類して把握し、個人・世帯の栄養状態と農業生産、および遺伝資源との関係を明らかにする。遺伝資源の把握に関しては、衛星画像や GIS データ等を用いた近隣の遺伝資源の把握や、質問紙調査と DNA シークエンサーを組み合わせ、雨乞いなど祭礼に際した種子の交換や、作付け直前の住民同士の種子の融通など、ソーシャルネットワークや伝統的儀礼に依拠した遺伝資源の維持について明らかにすることを試みる。

（3）伝統的農産物に関するサプライチェーン構築と販売実験

（1）、（2）で得られた知見を基に、ケニア都市部および日本での農産物に関するサプライチェーン構築と販売実験を行う。その際、i）販売する農産物に異なる情報を付加し、消費者の購買行動に与える影響を把握する。例えば、a）情報なしの場合、b）各流通段階のコストも含むトレーサビリティに関する情報を付加した場合、c）b）に（1）に基づく栄養および健康に関する情報を付加した場合、d）c）に（2）に基づく消費者自らが手にする農産物の農村部における「ストーリー」を付加した場合、の 4 つの異なる情報を与えた場合の消費者の購買行動の差異を分析する。

７．研究成果

今年度は、複数回にわたる各サブテーマによるフィールド調査を実施するとともに、各サブテーマ間の連携のための研究会や研究参加学生による報告会等を実施した。

まず、(1) 伝統的農産物の栄養・機能性評価については、基本的な食事、栄養摂取の状況を把握することを目的に、調査対象地であるキツイ郡の農村分（キツイ：Kitui）とビヒガ郡（ビヒガ：Vihiga）にて 1 週間程度のホームステイを通じた食事記録法による食事調査を実施した(2019 年 8 月)。図 1 に調査対象地を示した。取得したデータについては、現在、分析中であるが、対象となった家計のうち 6 家計に関して、ササゲ (Cowpea leaves)、アマランサス (Amaranth)、イヌホオズキ（Black nightshade)、カボチャ（Pumpkin)、トウガラシ（Green capsicum）といった伝統的に食されている植物の葉等が、複数回、食卓に供されており、摂取される食物の総頻度において、これらの伝統的野菜が摂取される頻度は 61.5%であった。その結果、同様に摂取頻度で見ると、鉄分（23.9%）やビタミン A（27.1%）等の栄養源となっていることが明らかとなった。図 2 はこれら伝統的野菜の写真を示したものである。

次に (2) 農業を含む遺伝資源利用と社会制度に関する分析について、両調査対象地にて、地域農業遺伝資源の種類・利用・管理状況および栽培方法、食卓へ上る頻度、季節性等の調査を行った。キツイの 11 の家庭では 66 種類の食材のうち 34 種類、ビヒガの 12 の家庭では 64 種類の食材のうち 32 種類の農業生物資源が栽培・飼育され、自家消費されていることが明らかとなった。そのうちのよく食べられている農業生物資源は 2 地域で異なるもの、共通するものもみられる。各月家庭で収穫されている作物数と種数を比較すると、作物数はビヒガの方が季節を通じ全体的に多いが, 種数は両地域間で年間を通してそれほど差はない。しかしながら、両地域で季節性の違いが明らかとなった。

またキツイを対象に、農産物の作付け体系や市場での販売等に関する概要の把握を行った。キツイは、半乾燥地帯であり、それへの対応が大きな課題となっている。対応としては主に、i) 耐乾性の作物を組み合わせる、ii) 水資源が利用可能な場合それを利用する、iii) コミュニティとしての対応、の三つに分けられる。i) については、伝統的に栽培されている乾燥に強い数種類のマメを植え付けることで、乾燥によるリスク対応を行っていた。図 3 に実際の土地利用の例を示す。ii) については、井戸水、河川の伏流水が利用できる場合、それらを利用する。中でも土壌水分の保持を目的に、ザイピッツ (20-30cm 区画の穴を掘

図 1 調査対象地

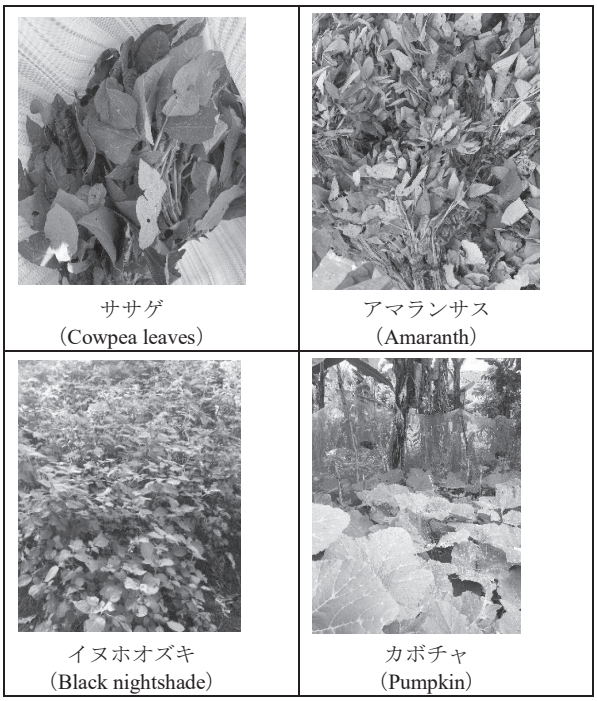


図 2 調査家計で観察された摂取野菜例

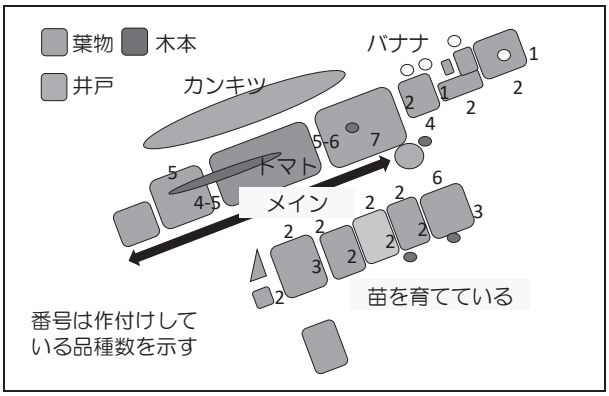


図 3 土地利用の例

り、その中で栽培)という乾燥に対応した栽培技術の採用が確認された。図 4 に、現地で観察されたザイピッツの写真を示す。また、iii）コミュニティとしての対応は、各農家が毎年変動する降水量を予測して、作付けを決定するが、経験等に応じて作付けする種や収量が異なる。しかしながらコミュニティ内でのソーシャルネットワークに基づいた、種子も含む収穫物の交換がなされコミュニティ全体でのリスク分散がなされている。

i)、iii）の対応については、複数の作物を栽培していることが前提であるが、市場での販売価格に応じて作付けする作物・品種を決定する傾向がみられ、結果として作付けする作物・品種数の減少が生じつつあることが示唆された。

サブテーマ（3）については、以下「８．残された問題点と今後の研究推進方策」でも述べるように、現地の農産物を加工し、販売することを進めている。具体的には日本の企業と連携し、その栄養成分の分析を行うとともに、ポン菓子へ加工し、日本およびケニアでの販売を検討し、適当な作物の選定を行っている。

図 4 ザイピッツ

８．実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

本年度は、3 年計画の 1 年目にあたる。「６．研究成果」からもわかるように、本年度は、基礎的なデータの収集と、（3）の販売実験の準備として企業連携を進めるなどした。次年度は、これらを踏まえ、さらに研究を進捗させる。

９．残された問題点と今後の研究推進方策

次年度は、以上の研究成果を踏まえ、まずこれまで取得した栄養摂取のデータに関する分析を進めるとともに、食物摂取頻度法（FFQ：Food Frequency Questionnaire）等による、より大規模な調査に向けた準備を行う。（2）については、実際の食料摂取と農業生産を含む自然資源利用との関係をさらに把握するとともに、市場対応による農業生産、さらには食料摂取、またコミュニティ内のソーシャルネットワーク等に反映された伝統的社会への影響等について調査を行う。さらに、（3）として、現在、企業と進めている現地の農産物を用いた加工食品の販売実験を推進していく予定である。

10. 公表した成果一覧

学術論文

1）木住野円華，日田安寿美，伏見和子，南保美奈，原健太，多田由紀，川野因，Patrick Maundu，入江憲治，森元康行（2019），「ケニア農村部 2 家庭の食習慣に関するケーススタディ」，ポスター発表，第 66 回日本栄養改善学会学術総会.

2）Kishino, M., Hara, K., Hida, A., Yamauchi, J., Tanioka, Y., Furusyo, T., Matsuda, H., Maundu, K., Morimoto, Y. and Irie, K. (2019), “Nutrition improvement through agrodiversity in rural areas of Kenya -Stimulating the use of local food resources in Africa to improve nutrition and livelihoods-,” Poster presentation, 126th Annual Meeting of Japanese Society for Tropical Agriculture (JSTA).

3）桐山大輝, 町井美月, 松田浩敬, パトリック・マウンドゥ, 森元泰行, 日田安寿美, 入江憲治（2019）, 「サブサハラ・アフリカ半乾燥地域における乾燥に対応した栽培技術-ケニア東部キツイ郡を事例に-」, ポスター発表, 日本熱帯農業学会第 126 回講演会.

２０１９年度 東京農業大学 大学戦略研究プロジェクト

研究成果報告書

研究代表者　　斉藤　竜男

１．研究課題名および予算額

研究課題名	研究領域 （キーワード）	予算額（円）
異科属植物間での接木を志向した分子科学的アプローチ	SDGs (2.飢餓、15.陸上資源)	3, 500, 000

２．研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	斉藤　竜男	生命科学部 分子生命化学科・准教授	研究統括、化合物合成
研究分担者	田崎　啓介	農学部　農学科・助教	遺伝子同定、アッセイ系確立
	石川　一憲	農学部・教授・農場長	接木効率の調査

３．研究期間

２０１９年6月３日～２０２０年3月３１日（３年計画の１年目）

４．研究の背景（当初）

人口の増加や食生活の変化に伴い、世界の食糧供給は未だ満足のいくものではなく、現在でも全世界の 9 人に 1 人は飢餓状態にあります。その主な理由として干ばつや塩害、生物多様性の損失など地球上で均しく食糧生産できない状況が大きな障害になっています。しかしながら、土壌や水の改良には莫大な環境整備投資が必要となり、未だコストに見合う解決法に至っていません。私たちは接ぎ木技術の革新がこれらの問題を解決する糸口と捉え、環境ストレス耐性を有する植物を台木に食料資源となる穂木を異科属植物間で接ぎ木することで荒漠地を利用した持続的な食糧生産が可能になることを期待しました。

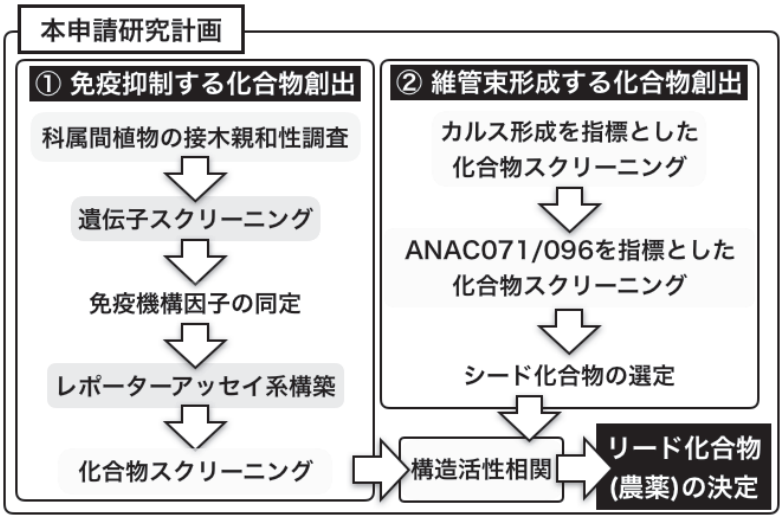
接ぎ木は、バラ・ボタン・サボテンなどの花卉類、トマト・キュウリなどの野菜類、そしてリンゴ・ブドウなどの果樹類といった園芸作物において収穫期間の短縮、収量増加、耐病性付与などを目的に活用されており、その成立は穂木と台木の “分類学的な近接”が条件と考えられています。例えばトマト（*Solanum lycopersicum L.*）とナス（*S. melongena L.*）の同属間接ぎ木は初期生存率が高く生育も良好で、さらに栽培ナスの台木品種にはヒラナス（*S.integrifolium*）といった同属別種のナスの仲間が用いられています。一方で、トマト（*Solanum*）とトウガラシ（*Capsicum*）のような異属間接ぎ木では初期生存率が低く、仮に活着してもその後の生育は弱く寿命短縮を引き起こします。このような穂木と台木の間に存在する“接ぎ木不和合性”は園芸生産の台木選定において見極めるべき最重要ポイントとな

っています。

接ぎ木に関する国内外の研究動向としてオーキシンを介した創傷回復を土台とした接ぎ木成立のメカニズムについて分子生物学的研究が報告されていましたが（Asahina *et al*, **2012**, *PCP*）、ごく最近、名古屋大学、理化学研究所のグループがタバコを中間台木にすることで異科接木に成功し、その接合部分では細胞接着に関与する酵素 β-1,4-グルカナーゼ (GH9B3) が多く発現していることが明らかになりました (Notaguchi *et al,* **2020**, *Science*) 。しかしながら GH9B3 を過剰発現させた系で接木接合面の癒合が起こるものの維管束形成まで至っていないこと、GH9B3 をノックアウトした系で接木成功率は低下するもののその効果は低いことから接木を決定する他の重要因子の存在が示唆されます。

５．研究目的

接木成立の可否が遺伝的距離に依存することから、私たちは細胞接着 (Notaguchi, 2020)、免疫機構、植物成長に関わる遺伝因子が存在し、それに由来する植物間コミュニケーション分子が介在していると予想しました。本研究では**免疫応答**と**維管束形成**に着目し、異科属間接木イベントにおける ① 免疫機構抑制、② 維管束形成亢進 する化合物創出を目的とします。私たちは交配で作出する接木和合系統－不和合系統間の比較を通して、免疫機構に関与する遺伝子 X を探索します。次に選抜した遺伝子 X を用いて *in vivo* **化合物レポーターアッセイ系を構築し、接木の免疫抑制剤となる化合物のスクリーニングを行います。**



６．研究（実験）方法

① 遺伝学的アプローチによる免疫機構関連遺伝子 X の探索（田崎・石川）

(1 年目)：ナス科植物を中心とした科属間植物の接木和合性調査（農大伊勢原農場利用）

本計画では遺伝子 X の候補探索は接ぎ木和合系統・不和合系統を作出し、これらのゲノム解析を通じて行います。本年は下記 3 点を実施しました。

＜実験 1. 接ぎ木苗養生条件の検討および接ぎ木和合性における遺伝的距離の検証＞

接ぎ木成功率を調査する環境条件を至適化するために接ぎ木苗の養生環境を検討しました。植物材料は収集した上記トマト原種等を含むナス科ナス属 (*Solanum*), トウガラシ属 (*Capsicum*), タバコ属 (*Nicotiana*), ペチュニア属 (*Petunia*), クコ属 (*Lycium*), ホオズキ属 (*Physalis*) の植物 43 系統とし、これらを用いて接ぎ木試験を行いました。接ぎ木苗は、ガラス温室内育苗ベッド区 (温度 20˚C～30˚C、自然光)、インキュベーター 28˚C 暗条件区、インキュベーター 26˚C 明 (24 時間, PPFD: 6.58 μmol・m^{-2}・s^{-1}) 条件区、インキュベーター 24˚C 暗条件区の 4 養生区を設けて接ぎ木苗の生存率を調査しました。またナス科の多様な系統を用いて接ぎ木試験を行うことで、遺伝的距離と接ぎ木の成功率について合わせて検証しました。

＜実験 2. トマト原種・栽培種を用いた接ぎ木試験および交配試験＞

接ぎ木和合系統・不和合系統の選抜・作出するために、通常交配あるいは胚培養技術で交雑可能なナ

ス科ナス属に分類されるトマト原種 （*L.peruvianum*, *L.pississi*, *L.glandulosum*, *L.hirsutum*, *L.chilense*, *L.pimpinellifolium*, *L. pennellii*) および, *Solanum lycopersicum* var. Micro-Tom (マイクロトム), トマト栽培種（*Solanum lycopersicum* var.フルティカ R（PVP））, *Solanum lycopersicum* var. Cerasiforme (セラシフォルム) を植物材料としました。最初にこれらトマト原種・栽培種間の接ぎ木の可否および成功率を調査しました。次に、これら系統の交配試験を行いました。

＜実験 3. 異科間接ぎ木の形態学的観察＞

伊勢原農場において 2019 年 3 月に実施したリンゴ（台木）とブルーベリー（穂木）を接ぎ木した枝について経過観察を行い、接ぎ木から 10 ヶ月後の 2020 年 1 月に接ぎ木部位の形態観察を行いました。

７．研究成果

＜実験 1. 接ぎ木苗養生条件の検討および接ぎ木和合性の遺伝的距離への依存の検証＞

収集したナス科 43 系統は発芽率や研究室環境における栽培適性などを調査し、生育に問題のない 20 系統を選抜して接ぎ木試験を実施しました。その結果、接ぎ木苗の養生環境は 26˚C 明条件でもっとも成功率が高く、セルフ接ぎ木 （個体を切断してそのまま接ぐ） においてはおよそ 80%、次いで育苗ベッドがおよそ 40%の成功率を示しました。

さらに本試験では播種して得た実生苗と、挿し芽繁殖した挿し芽苗を用いた接ぎ木成功率について合わせて調査を行いました。農業における接ぎ木は実生苗を用いることが一般的であり、挿し芽苗を用いた接ぎ木成功率の算出は未だ報告がありません。そこで接ぎ木成功率を一つの表現型として交配分離集団を作成するにあたり、接ぎ木成功率についてクローンを用いて算出する必要があると考察し調査を行いました。その結果、挿し芽苗同士の接ぎ木成功率は実生苗同士、あるいはこの両者を組み合わせた接ぎ木と比較して成功率は高く、26˚C 明条件下では最大で 83%の成功率を示しました。以上の結果により、「接ぎ木和合性の遺伝的距離への依存の検証」および「実験 2. 遺伝子 X の探索」を実施するための接ぎ木条件を整備することができました。

＜実験 2. 遺伝子 X の探索（予備試験：トマト原種・栽培種を用いた接ぎ木試験および交配試験）＞

トマト原種は南米を原産とし、トマト原種の栽培種との交雑の可否は、栽培種の祖先種とされる原種 *L. esculentum* の原産地である南米北部からおおむね地理的距離で大きく 2 つのグループ (栽培種と交雑可能な南米北部の *L. esculentum*-complex グループ、交雑できない南米南部に分布する *L. pervianum*-complex グループ) に分類することができます。本研究は遺伝子 X の選抜にあたり、本試験では *esculentum*-complex グループと *pervianum*-complex グループ間の接ぎ木成功率調査と交配試験を行いました。

接ぎ木成功率を調査した結果、同一グループ内とグループ間で成功率の違いを示すデータは不十分ではあるものの、少なくとも各原種間の接ぎ木成功率は 0〜100%の間で大きく差異が生じる可能性が示唆されました。一方、交配試験を行った結果、グループ間の交配は成立しなかったが、*pervianum*-complex グループに分類される *L. pennellii* は栽培種との交配可能との報告もあり、*L. esculentum*-complex グループに分類される *L. hirstum* との交配において結実を確認しました。この *L. pennellii* は現在、他の系統とも交配試験を実施している途中ですが、現段階において本研究に用いる親系統の有力な候補として検討中です。

＜実験 3. 異科間接ぎ木の形態学的観察＞

リンゴ台木へのブルーベリー穂木の接ぎ木からおよそ 10 ヶ月経過した 2020 年 1 月、接ぎ木したリンゴの枝を切り取り、接ぎ木部位の形態観察を行いました。リンゴ台木 3 箇所の接ぎ木のうち 2 箇所の穂木は活着が認められず枯死していましたが、1 箇所はカルス形成が認められました。この穂木の接ぎ木断面を観察したところ、リンゴ台木のカルス形成と、ブルーベリー穂木と合着したカルス部位（ブルーベリー側のカルスとは明確に区別できず）が確認されました。リンゴ台木のカルス形成は旺盛でしたが、大部分はブルーベリー穂木断面との合着は認められず独立していた一方で、枯死した穂木においてリンゴ台木のカルス形成は確認できませんでした。生存穂木の接ぎ木断面をわずかに削ったところ、枯死した枝の木化した断面と比較して緑がかった組織が確認できました。以上よりリンゴとブルーベリーは部分的に緩やかに合着することで、ブルーベリー穂木は生存していたと考えられたため、この生存したブルーベリー穂木を挿し木したところ、3 週間後に小さな側芽の出芽を確認しました。これらの結果から、異科間においても緩やかにカルス形成を介して台木・穂木の組織は合着可能であり生存可能であることが初めて明らかにすることができました。

８．実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

特にありません。

９．残された問題点と今後の研究推進方策

以下に本年度に実施した実験の残された問題点についてまとめます。

＜実験 1. 接ぎ木苗養生条件の検討および接ぎ木和合性の遺伝的距離への依存の検証＞

今後は接ぎ木和合性と遺伝的距離の関係性を明らかにするため今後も継続して接ぎ木試験を行う必要があります。最終的に植物材料に用いたナス科植物について分子系統樹を作成し、接ぎ木成功率との比較などを行う予定です。

＜実験 2. 遺伝子 X の探索（予備試験：トマト原種・栽培種を用いた接ぎ木試験および交配試験）＞

トマト原種間の交配試験は現在実施中です。今後は継続して通常の交配を行うとともに、交配困難な系統間においては胚培養技術を用いた後代の作出を試みます。

＜実験 3. 異科間接ぎ木の形態学的観察＞

予備試験では新しい知見が得られたものの形態学的観察を行うには不十分なデータ量でした。次年度も接ぎ木を実施し、組織間の合着部位における維管束やカルス形成について詳細な解析を行う予定です。

１０．公表した成果一覧

学術論文

1）Synthetic and Biological Studies of Juglorubin and Related Naphthoquinones
Kamo, Shogo; Saito, Tatsuo; Kusakabe, Yasuha; Tomoshige, Shusuke; Uchiyama, Masanobu; Tsubaki, Kazunori; Kuramochi, Kouji
The Journal of Organic Chemistry, **2019**, *84*, 13957-13966.

２０１９年度 東京農業大学 大学戦略研究プロジェクト

研究成果報告書

研究代表者　　中丸　康夫

１．研究課題名および予算額

研究課題名	研究領域（キーワード）	予算額（円）
モンゴルにおける有機資材と耐乾燥性品種を活用した持続的農業技術の開発	陸の豊かさ	3,000,000

２．研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	中丸　康夫	生物産業学部　北方圏農学科・教授	持続的農業の土壌学的評価
研究分担者	吉田　穂積	生物産業学部　北方圏農学科・教授	持続的農業の生物的評価
	伊藤　博武	生物産業学部　北方圏農学科・教授	耐乾燥性品種の形質評価
	笠島　真也	生物産業学部　北方圏農学科・准教授	耐乾燥性品種の形質評価

３．研究期間

２０１９年６月３日～２０２０年３月３１日（３年計画の１年目）

４．研究の背景（当初）

農地拡大による環境破壊は地球規模の問題であり、モンゴル国においても、過放牧、過耕作による草原劣化が、現在進行し問題となっている。申請者らは、Mongolian University of Life Science(以下 MULS)との共同研究において、2007 年よりこの問題に取り組んできた。モンゴル国では持続性の低い粗放的コムギ栽培が、農地の 98%を占める。さらに近年は地球環境の変動により、年々増大する干ばつ被害による収量の低下、耕作放棄、さらなる草地の開墾という悪循環により、土壌の劣化が急激に進行している。

５．研究目的

こうしたモンゴルにおける持続的でない農業システムへの対策として、有機物を補給し土壌乾燥ストレスを軽減するための土壌保全技術を確立することが本研究の目的である。またモンゴルのコムギ栽培は、耐乾燥性コムギ品種ダルハン 144 が作付けの 90%を占めるが、同品種の耐乾燥性をもたらす形質が何であるか不明である。そこでこの耐乾燥性品種の遺伝的特性を評価することにより、育種速度向上をはかる。また、これまでの共同研究では、土壌分析等を日本で行っており、研究の効率に問題があったが、現在は本学に留学していた Altansuvd 博士が、MULS において化学分析のできる研究室を運営しており、モンゴル国内の研究拠点が確立しつつある。そこで本研究の中心課題は以下の 3 点である。

課題１）モンゴルにおける土壌保全技術の評価：モンゴルにおけるもう一つの共同研究パートナーで

ある Institute of Plant and Agricultural Science(以下 IPAS)により、コムギ収穫後の作物残渣（刈り株）放置により、土壌有機物と土壌水分量を保全する技術が考案されたが、その有効性は実証されていない。そこで、この技術を評価・改良することにより、モンゴルに適した土壌保全技術を確立する。

課題 2）分析技術の現地移転：上記保全技術を科学的に検証するために、MULS の Altansuvd 博士の研究室において、一般的な土壌分析技術の移転を行い、モンゴルのフィールドから採取した土壌の理化学特性を評価できる体制を確立する。

課題 3）耐乾燥性品種の形質の評価： IPAS により育成されたモンゴル固有のコムギ品種のうち、特に乾燥ストレス耐性のあるとされる品種がダルハン 144 である。しかしながら、同品種における乾燥ストレス耐性がいかなる形質によるものか、よくわかっていない。そこで同品種における耐乾燥性に関わる形質を抽出することによって、耐乾燥ストレス品種の育種速度向上をはかる。

６．研究（実験）方法

課題 1 ）土壌保全技術の実証試験（ダルハン県 IPAS 附属農場）

1）現地における圃場試験の概要

圃場試験により、モンゴルにおいて開発された土壌保全技術（作物残さによる地表被覆）の有効性を検証する。以下の A)-B)の処理を設けた試験区を設け、コムギ作付けを行った。

A) コントロール（従来型の栽培）

B) 作物残渣（コムギ刈り株、わら）による地表被覆

同年 9 月に収穫を行い、収量調査を行うと同時に、10 月に土壌採取を行う。1)の処理 A)，B)区画における土壌を採取、分析することにより土壌保全効果を検証する。

2）研究のゴール：以上の試験により、土壌保全技術適用による作物の生育・収量および土壌の化学性、物理性の変化から技術の有効性を検証し、改良点を明らかにする。最終的にモンゴル独自の土壌保全技術を確立する。

課題 2）分析技術の現地移転：

1）土壌採取、分析：上記試験圃場の表層土壌 0〜10cm を 3-5 地点から採取する。土壌の物理特性として、ち密度および比重を測定する。土壌の化学性として pH、EC、硝酸イオン濃度、可給態リン酸量および交換性陽イオン組成を測定する。

2）研究のゴール：以上の分析を全て、Altansuvd 博士の MULS 土壌研究室において行うことのできる体制を整える。現地の分析技術改良に寄与するとともに、次世代の研究者を育成する。

課題 3）耐乾燥性品種の形質評価試験（ダルハン県 IPAS 附属農場）

1）耐乾燥性品種の形質評価試験の概要

IPAS 圃場でコムギ品種 20 種を栽培し、その収量、根系の発達特性、および地上部の発達特性からダルハン 144 の干ばつストレス耐性に寄与する形質の抽出を行う。

2）根系の発達特性の現地評価

一般に根の発達は乾燥ストレス耐性に関与すると見られる。ダルハン 144 を含む現地のコムギ品種について、現地において根の伸長速度、到達深度や貫入力を評価することにより、モンゴル国内品種の根の伸長特性を定量的に評価し、品種の育種目標とすることが可能となる。

3)-地上部発達（草型）の現地評価

北海道において、主力品種であるキタホナミの生産力は、葉が直立しており光合成効率が高いという形質によることが示された（笠島ら、2016）。IPAS において、同様にダルハン 144 を含む現地のコムギ品種について、同様に地上部の発達特性の評価を行う。地上部の発達特性と収量の関係から、モンゴル国内品種について、高い収量をもたらす地上部形質を抽出し、品種の育種目標とすることが可能となる。

4）研究のゴール：以上の試験により、モンゴルにおける耐乾燥性品種の育種速度を向上させる。

7．研究成果

ダルハン県 IPAS 附属農場において、上記の土壌保全技術実証試験の第一回目を 2019 年 5 月より行い、10 月に現地圃場にて土壌採取を行った。植物残渣（Plant residue）により土壌表面を被覆し、土壌保全を行う処理と無処理のコントロール区とで土壌の性質を比較し、土壌保全技術の評価を行った。MULS において土壌試料の分析を行った結果、土壌物理性について、土壌水分量の保持、仮比重の減少などの物理性改善効果については、土壌水分、土壌仮比重ともに、植物残渣処理区と無処理区との間に差がみられず、期待していたように土壌保全処理による水分の保持、土壌を軽くする等の物理性改善効果は認められなかった。

一方、土壌の化学性については、腐植（humus）含量,交換性 Ca,可給態リン含量などは植物残渣処理により増加し、植物養分環境は改善した。こうした評価が現地で行えるようになり、課題 1）土壌保全技術の実証試験、および課題 2）分析技術の現地移転については順調に進行中である。

8．実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

特になし

9．残された問題点と今後の研究推進方策

2020 年以降は、土壌保全技術の検証を、作物データの収集、解析も含めて継続するとともに、課題 3）耐乾燥性品種の形質評価試験を実施する予定である。ただし、不測の事態として、現在ウランバートルーダルハン間の高速道路が工事のため全面不通となっており、ウランバートルから草原地帯を走破して試験圃場に向かわねばならないという非常に困難な状況となっている。このことから、現地調査については実施頻度が限られる。そこで耐乾燥性品種の形質評価試験については、ウランバートルの MULS 内で行う方向で調整する予定である。そのために伊藤教授と笠島准教授が 2020 年 3 月に MULS に出張し、現地での打ち合わせを行う予定であったが、現在コロナウイルスのパンデミックにより、モンゴル日本間相互の研究者の移動交流が全くできない状況であり、両国の研究者ともに研究の遂行が非常に困難である。モンゴル国側の研究協力者は、できる範囲で圃場試験を継続しており、状況の改善とともに、徐々に研究を再開する予定である。

１０．公表した成果一覧

学術論文

1)　J Altansuvd, L　Davaa, G Solongo, YM Nakamaru †, S Kasajima, H Ito , H Yoshida.: Comparison of the effect of organic and chemical fertilizer on crop yield in Mongolian agriculture.東京農業大学集報,64, 33-41(Jul. 2019)

国際会議報告

1)　J Altansuvd, L　Davaa, G Solongo, YM Nakamaru †, S Kasajima, H Ito , H Yoshida.: Comparison of the effect of organic and chemical fertilizer on crop productivity in Mongolian agriculture ASA, CSSA, SSSA International Annual Meetings, San Antonio, TX (Nov. 2019)

２０１９年度 東京農業大学 学部長主導型研究プロジェクト
研究成果報告書

研究代表者　　矢嶋　俊介

１．研究課題名および予算額

研究課題名	予算額（円）
農大型ケモバイオプロセスによる有用物質生産システムの開発および生体・環境への影響評価系の確立　～農大リソースを活かしたグリーン・ライフイノベーション～	10,000,000

２．研究組織

	氏名	所属・職名	個別研究課題名
研究代表者	矢嶋　俊介	生命科学部 バイオサイエンス学科・教授	結晶構造解析に基づく酵素の立体化学選択性の検証
研究リーダー	田口　精一	生命科学部 分子生命化学科・教授	立体化学制御されたモノマー・オリゴマー・ポリマーの微生物合成
研究分担者	石井　大輔	生命科学部 分子生命化学科・准教授	微生物合成ポリマーのマイクロプラスチック・マルチフィルムへの部材
	廣江　綾香	生命科学部 分子生命化学科・助教	立体化学制御されたオリゴマーの微生物合成
	石神　　健	生命科学部 分子生命化学科・教授	微生物合成モノマーを基点とした有用生理活性物質の設計と化学合成
	勝田　　亮	生命科学部 分子生命化学科・准教授	微生物合成モノマーを基点とした有用生理活性物質の設計と化学合成
	尾畑　やよい	生命科学部 バイオサイエンス学科・教授	微生物合成オリゴマー・生理活性物質の生殖細胞形成促進作用の検証評価
	橋本　貴美子	生命科学部 分子生命化学科・教授	生殖細胞形成に関わるエストロジェン様物質の探索
	冨澤　元博	生命科学部 分子生命化学科・教授	化学合成物質による生殖毒性機序の解析
	藤田　信之	生命科学部 分子微生物学科・教授	生分解性プラスチックの環境中（海水・土壌）における分解性及びそれに伴う微生物フローラへの影響評価
	田中　尚人	生命科学部 分子微生物学科・教授	生分解性プラスチックの環境中（海水・土壌）における分解性及びそれに伴う微生物フローラへの影響評価

３．研究期間

２０１９年４月１日～２０２０年３月３１日（３年計画の３年目）

４．研究の背景（当初）

日本政府は「新成長戦略分野」の１つとして、「グリーン・イノベーションによる環境・エネルギー大国戦略」を位置付けている。優れた環境・エネルギー技術を活かし、国内外で低炭素型・循環型・自然共生型など、環境負荷の小さな社会を形成していくというものである。同時に、新たな産業を創出し、経済の発展や雇用の拡大に結びつけることが期待されている。また、石油資源の枯渇が予測され、再生可能なバイオマスへの原料転換が迫られている。それに伴い既往の製造プロセスを根幹から見直す必要がある。世界的な潮流として、生理活性物質・化学素材・高分子材料の合成を化学プロセスから一部生物プロセスへとパラダイムシフトしている。

このような背景の下、高付加価値物質生産を目指した「化石燃料からバイオマスへの原料変換」という大きなチャレンジに、農大内のリソース（原料：稲わら・木質廃材、施設：菌株保存室・生物資源ゲノム解析センターなど）を利活用することで貢献できると着想した。すなわち、今回提案する「農大型ケモバイオプロセスによる有用物質生産システムの開発研究および生体・環境への影響評価系の確立」である。物質生産のコアエンジンは微生物であり、酒・味噌・醤油など農大の主力ターゲットである醸造発酵食品の作り手として、また農大はリーディング大学として本産業分野を牽引してきた。

一方で、本プロジェクトでは、微生物合成ターゲットを新規の生理活性物質と生分解性プラスチックへ拡充し、３学科で分野横断的に推進する。本プロジェクトで最も重要な点は、単に有用物質の生産にとどまらず、合成したプロダクトの生体や環境への影響を評価することにより、生産系へフィードバックする包括的なプロセスを構築することにある。このように、生分解性プラスチックの生産・改良・評価を一貫して推進できる点は、生命科学部独自の特色と言える。

５．研究目的

本研究では、農大の豊富なリソースを利活用して、化学と生物が強力に融合した「農大型ケモバイオプロセス」の基盤を構築し、再生可能資源から有用物質を創製する一貫プロセスを開発し、かつ生体や環境への影響を評価する系を確立することを目的とする。

「農大型」とは、(1)再生可能な廃棄・未利用農業資源の有効活用、(2)微生物をプラットフォームとした新規の生分解性プラスチックと生理活性物質の創製、(3)創製した化合物の環境や生体内での影響評価系の確立、の３点に集約される。これらを有機的に連結し、包括型プロセスを確立する。

(1)再生可能な廃棄・未利用農業資源の有効活用（廣江・宮原・田口）

農林水畜産業において、副生あるいは未利用物として得られる多種多様なバイオマスを原料化する。本申請研究では、稲わら（棚沢圃場より調達）および木質廃材（奥多摩演習林より調達）を想定している。

(2)微生物をプラットフォームとした新規の生分解性プラスチックと生理活性物質の創製

（田口・廣江・宮原・矢嶋・石神・勝田）

・石油資源の枯渇及びその使用に伴う環境負荷（CO_2排出・環境汚染）を低減

・環境調和型グリーンケミストリー

・微生物の厳密な立体化学選択反応物を有効利用した有機化学合成への展開

・代謝・酵素の複合改変（ゲノム情報・酵素構造情報の利用）によりターゲット物質の生産力向上

・分子育種した微生物による多元ポリ乳酸の高機能部材化（各種成形加工品の提示）

(3)創製した化合物の環境や生体内での影響評価系の確立

（石井・宮原・藤田・田中・田口・尾畑・橋本・富澤・廣江・中村）

従来の医農薬品およびプラスチックに対してケアすべき課題として、生体に対する安全性や環境中の残留性がある。そこで、(1)生体への影響は、生殖細胞の試験管内での作出培養系に基づいた評価系、(2)環境への影響は、マイクロプラスチックの水系中での分解挙動評価系、をそれぞれ確立することを目的とする。これらの影響評価結果を効果的にモノ作りのデザインと合成にフィードバックすることで次世代型の物質生産系構築へと展開する。

６．研究（実験）方法

(1)農大が保有する再生可能な廃棄・未利用農業資源の有効活用

棚沢圃場より調達した稲わらを出発原料とした脱リグニン・ホロセルロースサンプルを原料化し、微生物工場へ供給して、アウトプットされるプラスチック素材（モノマー/オリゴマー/ポリマー）を積極的に共同研究先へ提供する体系を実質化した。

(2)微生物をプラットフォームとした生分解性プラスチック素材（モノマー/オリゴマー/ポリマー）生産系

最終年度は、高分子量の多元ポリ乳酸(P(LA-*co*-3HB))は主に機能部材化および生体・環境評価へ提供することに注力した。使用する微生物工場は、これまで分子育種した各種変異株（風船型大腸菌株、カタボライト抑制解除株、転写因子欠損株など）を目的に合った形で選定した。ポリマーの生産量およびモノマー分率はGC（ガスクロマトグラフィー）、分子量はGPC（ゲルろ過クロマトグラフィー）を用いて決定した。また、モノマーおよびオリゴマーの定量は、酵素アッセイ法を採用して実施した。さらに、乳酸をはじめとする有機酸の定量はHPLC（高速液体クロマトグラフィー）を用いて行った。オリゴマー末端の構造化学解析には、ESI-TOF-MS（共同研究先の東工大の施設利用）とNMRを主に利用した。オリゴマーの細胞内生成メカニズムの解明は、化学合成したモノマー基質を利用してインビトロ重合系を構築して行った。重合酵素の活性は、CoAの遊離を発色試薬でモニターする手法を主に採用した。ポリマーフィルムは、キャスト法で作製した。フィルムの透明性評価は、ヘーズメーターを用いて行った。このフィルムは、主に環境評価担当の田中グループに供してポリマー環境分解実験を行った（後述）。熱的物性は、DSC(示差走査熱量計)を用いて評価した。機械的物性は、引っ張り試験機を用いて測定した。細胞培養基材（２Ｄと３Ｄ）は、２Ｄに関しては電界紡糸法により独自に調製する方法を採用し、3Dに関しては専門の会社に発注して準備した。特に、３Ｄ基材は、尾畑グループの卵胞細胞の成熟化の実験に供した（後述）。

昨年度までに、後段の有機合成に利用する(*S*)-3HB モノマーの効率的分泌生産系確立を目指し、*Clostridium acetobutylicum* ATCC824 由来 3HB-CoA dehydrogenase (HBD)のＸ線結晶構造解析を行った。また､昨年度から継続している分解に関わる酵素(PhaZ)の立体構造解析を目指した｡N 末端に 6 x His-tag を付加した組換体酵素を発現させた。得られた蛋白質について、活性測定を行いながら、結晶化に適した蛋白質を探索するため、C 末端を短くしながら複数のコンストラクトを構築した。精製タンパク質を濃縮し、結晶化用溶液を用いてスクリーニングを行った。

微生物発酵によって選択的に作り分ける光学活性物質((*R*)-3HB と(*S*)3HB)を原料として、多様な骨格を有する生物活性天然有機化合物の立体選択的合成を行った。昨年度に引き続き、II 型ポリケチド合

成酵素により生合成されるテトラエン化合物 Ishigamide の合成研究を行うこととした。本化合物の光学活性体合成により未解明である天然物の絶対立体配置を決定する計画である。

(3)創製した化合物の環境や生体内での影響評価系の確立

環境における影響評価では、河川水からの生分解性プラスチック分解菌の分離・同定・分解能評価をするため、8 月 24 日から 10 月 19 日（8 週間）にかけて、成形した P(3HB) をビオトープ (幅 5m, 奥行 3m, 深さ 30cm) に漬け、1 週間毎に回収した水を試料としてメタゲノム解析し、微生物叢を調べた。なお、P(3HB) を漬けた周辺 (A 地点) の水とそこから 5m 離れた地点(B 地点)の水を解析の対象とした。水温は前半の週では 30 度前後、その後水温は下がり、後半の週では 20 度前後であった。
分離培地には 1% (w/v) エマルジョンパウダー含有 YE または 1/20 Marine 2216 寒天培地を用いた。コロニー周辺のハロー形成をスクリーニングの指標とした。分解株は 16S rRNA 遺伝子配列に基づいて簡易同定した。さらに乳酸と 3HB の重合体の生分解性プラスチックである P(LA-*co*-3HB) に対する分離株の分解能も P(3HB) と同じ方法でハロー形成を指標に評価した。

生体における影響評価では、乳酸オリゴマーが生殖細胞にどのような影響を及ぼすか解析することを最終目標として、3-ヒドロキシブタン酸および乳酸がマウス初期胚の発生に及ぼす影響を解析した。ICR 系統の受精卵を採取し、0~1 mM3-ヒドロキシブタン酸添加培地および 0~10 mM L-乳酸添加培地で 96 時間培養し、胚盤胞期および妊娠満期までの発生能を評価した。

牛胎子血清（FBS）には生殖細胞形成を促進する因子が含まれる一方で、卵胞形成を阻害しエストロジェン受容体に結合する未知因子が含まれる。昨年に引き続きこの未知因子の探索を実施した。FBS を活性炭処理し、非吸着部（#09a）、その活性炭の 50%エタノール溶離部（#09x）、さらにこれの 40%エタノール 10%ピリジン溶離部（#09y）、FBS を疎水性ポリマーHW40 で処理し、HW40 非吸着分（#10a）、その HW40 非吸着部エタノール溶離部（#10x）を候補因子とした。胎齢 12.5 日の BDF1 マウス胎仔生殖巣の器官培養培地に候補因子を添加し、培養 17 日目の二次卵胞の回収数で評価した。

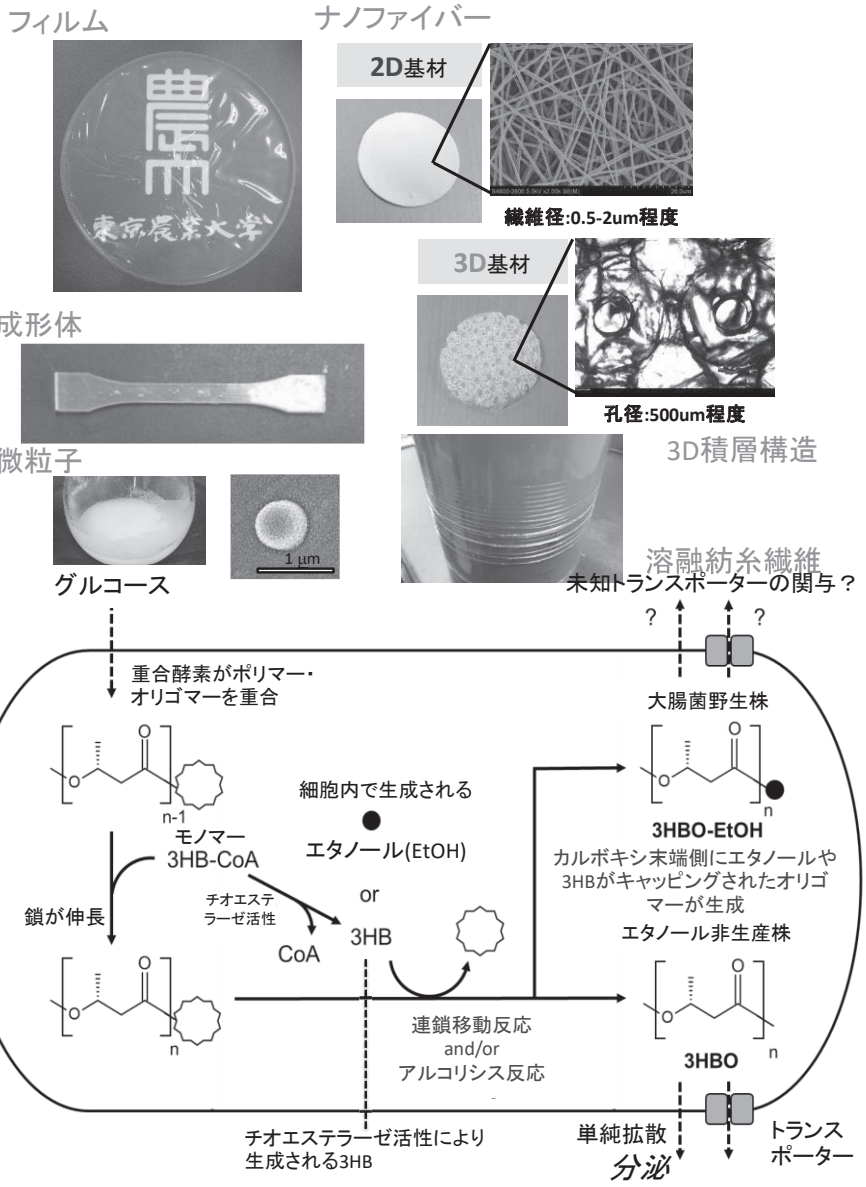
7．研究成果

(1)農大が保有する再生可能な廃棄・未利用農業資源の有効活用および(2)微生物をプラットフォームとした生分解性プラスチック生産系および生理活性物質合成系の構築

最終年度は、これまで分子育種してきた微生物工場を基盤に、多元ポリ乳酸の機能部材化およびオリゴマーの生産力向上に注力した。

ジャーファメンターを用いて微生物合成したポリマーサンプルを抽出精製した。特に、炭素源としてキシロースが化学量論的に効率よく、両モノマーを共重合化すのに有効であることが判明した。したがって、キシロースストランスポーターを共発現した株は、この仮説通りにキシロースの供給濃度に依存してポリマーの高生産をもたらした。また、酸素供給に強く相関する撹拌速度は微生物の高密度化をもたらす重要因子であることがわかった。こうして調製したポリマーは、P(45%LA-co-3HB)として各種成形品の加工に供した。

様々な加工法を駆使し、フィルム、成形体、微粒子、細胞培養基材用のナノファイバー（２Ｄと３Ｄ）、溶融紡糸繊維などを調製した（右図）。ポリマー素材として特筆すべきは、ヘーズ値の低いことから説明のつく透明性。硬質のポリ乳酸に対して柔軟性が付与され、石油系ポリプロピレンと同等の力学特性を発現する。機能としては、生体吸収性や生分解性が期待され、生体評価系および環境評価へ供することで裏付けられる。



一方、このような高分子量重合体に対して、低分子量オリゴマーはその走行性や屈曲性から生理活性物としてポテンシャルが期待される。乳酸や3HBのような有機酸のオリゴマーは広く分布し、植物成長促進や蜘蛛のフェロモンなど特有の生理活性を示すことが知られている。すでに私どもは、これらオリゴマーが大腸菌の菌体外へ分泌することを発見し、その生産量向上や膜輸送のメカニズム解明に着手していた。その過程で、オリゴマー化に有効な末端キャッピング化合物（連鎖移動剤）と使用する重合酵素の間に、特定の相関があることを見出しつつある。例えば、ジオール化合物であるDEG(Diethylene Glycol)は、*Bacillus* sp. YB4株の重酵素を使用した場合に、3HBホモオリゴマーの生成・分泌に顕著な効果を示した。オリゴマーの構造化学的解析から、細胞内在性のエタノールがある頻度で、オリゴマー末端に競合的に付加することが分かり、この問題はエタノール生産に関与している酵素遺伝子の破壊株を利用することで解決できた。以上の知見を総合的に考慮して、大腸菌細胞におけるオリゴマー生成のメカニズムおよび膜輸送ルートの推定に迫り、上手に示すような作業仮説を提案している。

分解酵素の立体構造解析を目指した実験では、酵素活性を有した組換体酵素を得ることには成功し、結晶化に向けてスクリーニングを行ったが、現在までに結晶を得るに至っていない。

モノマーを利用した有用化合物の合成では、微生物細胞内に蓄積する(*R*)-3HB ホモポリマーである P(3HB)より調製可能な(*R*)-3HB エチルをキラルビルディングブロックとして用い、昨年度に引き続き、II 型ポリケチド合成酵素により生合成されるテトラエン化合物 Ishigamide の全合成による天然物の絶

対立体配置決定を行った。光学活性体合成に関しては、昨年度まで化合物の主要骨格であるテトラエン部分の構築に成功しているので、本年度は主に保護基の除去条件を検討し、(*R*)-3HB エチルの有する不斉炭素を活かした合成経路で光学活性体合成を達成した。しかし、天然物と合成光学活性体との比旋光度や CD スペクトルの比較よる絶対立体配置決定は困難であることが判明した。そこで更にラセミ体を標品として合成し、キラル HPLC による分析により、天然物の絶対立体配置を *R* であると決定することに成功した。ラセミ体合成に関しても、ヨウ化ビニル、ジエニルスズ化合物、アミドを有するホスホニウム塩の三成分を順次結合させる手法を採用している。本研究により、天然物の未解明であった絶対立体配置を明らかにしただけでなく、微生物由来原料が天然物合成におけるキラルビルディングブロックとして汎用性が高いことが示すことが出来たと考える。

(3)創製した化合物の環境や生体内での影響評価系の確立

環境における影響評価では、メタゲノム解析の結果、実験期間を通してビオトープでの占有率が高い門は *Proteobacteria* 門と *Actinobacteria* 門であった。期間中の微生物叢の変動について調べたところ、A 地点では 5 週目までの微生物叢においてマイナーな門の占有率の変動が大きく、その中でも “Patescibacteria”門と *Verrucomicrobia* 門の占有率の増減幅が大きかった。しかし、その後 6-8 週目はこれらの門の占有率は初期状態へと戻る傾向が見られた。一方、B 地点では *Bacteroidetes* 門と *Chlamydiae* 門で変動はあったが、全体的に A 地点ほどの変動はなかった。実験期間中の水温変化も微生物叢に影響すると考えられるが、A 地点と B 地点での微生物叢の変化パターンに違いがあったことから、昨年度の結果同様に P(3HB) は水環境の微生物叢に影響することが推定された。

そこで、さらに詳細な科レベルの系統群の変動についても検討した。占有率が 0.1%以上の科を優勢科としたとき、*Rhodocyclaceae* 科（光合成細菌の 1 つ、*Proteobacteria* 門）のみが初期の優勢科であり期間中もほぼ優勢であった。しかし、A 地点では *Rhodocyclaceae* 科に加えて、3-5 週目では優勢科が最大 12 にまで増加した。その後は新たな優勢科が出現したものの、全体の優勢科の数は減少する傾向にあった。A 地点での優勢科のほとんどは水環境、地下水、土壌に棲息すると報告のある系統群で、これらが特に P(3HB) の影響を受けると考えられる。なお、これらの科は前述の変動した門に属する。一方、B 地点ではそのような大幅な優勢科の変動は見られなかった。先の門レベルの変動の結果と合わせて考えると、B 地点は科レベルでは 0.1% 未満の占有率の変動が起きているのではないかと考えられた。

前年度までに試験管レベルで検討した P(3HB) による河川水の微生物叢の影響は、P(3HB) を長期間漬けると分解菌の系統群に集約されることが明らかとなったが、今回のビオトープでの検討でも 5 週間目まではある系統群に偏る傾向が認められた。しかし、その後はその偏りが解消され、微生物叢が初期に回復するように見受けられた。両試験で用いた水試料の初発の微生物叢が異なるが、この結果は現在海に石油プラスチックが浮遊しているような状態が P(3HB) で起きても、分解が進むことによる環境微生物叢へのダメージは少ないと考えられた。また、プロジェクト期間中の結果からは病原性を有する可能性のある系統群が優勢になることは認められなかった。したがって、本プロジェクトの結果から P(3HB) は環境に対して害は少ないと評価できる。

生体における影響評価では、1 mM あるいは 10 mM L-乳酸添加培地で培養した ICR マウスの受精卵は 98~100%胚盤胞期へ発生したが、乳酸非添加培地では 31%しか胚盤胞期には発生しなかった。全ての培地で 2 細胞期までは発生していることから、乳酸はマウス胚が 4 細胞期以降へ発生するために必須であることがわかった。次に、0 mM、0.1 mM、0.5 mM あるいは 1 mM 3-ヒドロキシブタン酸添加培

地で培養したICRマウスの受精卵もまた97~100%胚盤胞期へ発生した。これらの胚盤胞をマウス子宮に移植した結果、55~63%がマウス個体へと発生した。乳酸非添加培地の胚を除く全ての試験区において発生能に有意差は無かった。以上の結果から、少なくとも血中の乳酸（およそ 1 mM）および3-ヒドロキシブタン酸（およそ0.1 mM）の10倍程度の濃度の範囲でマウス受精卵を4日間培養した場合、着床前後の発生能に影響しないことがわかった。

生殖細胞形成に関わるエストロジェン様物質の探索では、#09a添加培地で培養した卵巣から得られた二次卵胞は1卵巣あたり12.2個であったのに対し、#09xおよび#09y添加培地で培養した卵巣から得られた二次卵胞は1卵巣あたりそれぞれ5.2個および2.4個となった。このことから、卵胞形成を阻害する因子は活性炭に吸着していると考えられた。次に#10a添加培地で培養した卵巣から得られた二次卵胞は1卵巣あたり22.3個であったのに対し、#10x添加培地で培養した卵巣から得られた二次卵胞は1卵巣あたりそれぞれ6.3個となった。このことから候補物質は疎水性であると考えられ、候補物質がエストロジェンの類似物質であるとすると矛盾しない結果となった。

８．実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

本プロジェクトの成果を基盤に申請した、令和元年度からの科学技術振興機構プログラムであるA-STEP「機能検証フェーズ・実証型研究スタイル」に採択され、産学連携（東京農業大学田口グループ・田中グループ＋(株)カネカ）の共同体制で、新たに多元ポリ乳酸の実生産と物性・生分解性評価へとステージが移行している。

９．残された問題点と今後の研究推進方策

3年間のプロジェクト研究において、各テーマで緊密な連携と進捗がみられ、今後のさらなる展開が期待される。生分解性プラスチックでは応用への展開が期待される。問題点というよりも、むしろ発展的課題が生まれ、さらなる共同研究へと展開している。特に、最近話題の環境への影響評価においては、有用微生物の単離とその利用なども期待される。実際、丸ビルでの発表後に化成会社から声がかかり、後日研究の紹介をした。

１０．公表した成果一覧

学術論文

1) Y. Miyahara, A. Hiroe, T. Tsuge, S. Taguchi: Microbial secretion platform for 3-hydroxubutyrate oligomer and its end-capped forms using chain transfer reaction-mediated polyhydroxyalkanoate synthases., Biotechnol. J., 2019 Dec;14(12):e1900201. doi: 10.1002/biot.201900201. Epub 2019 Nov 21.
2) K. Matsumoto, J. Saito, T. Yokoo, C. Hori, A. Nagata, Y. Kudoh, T. Ooi, S. Taguchi: Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (RuBisCO)-mediated de novo synthesis of glycolate-based polyhydroxyalkanoate in *Escherichia coli*., J. Biosci. Bioeng., 128(3), 302-306 (2019).
3) S. Goto, A. Hokamura, H. Shiratsuchi, S. Taguchi, K. Matsumoto, H. Abe, K. Tanaka, H. Matsusaki: Biosynthesis of novel lactate-based polymers containing medium-chain-length 3-hydroxyalkanoates by recombinant *Escherichia coli* strains from glucose., J. Biosci. Bioeng., 128(2), 191-197 (2019).

4) S. Goto, N. Suzuki, K. Matsumoto, S. Taguchi, Tanaka, H. Matsusaki: Enhancement of lactate fraction in poly(lactate-*co*-3-hydroxybutyrate) synthesized by *Escherichia coli* harboring the D-lactate dehydrogenase gene from *Lactobacillus acetotolerans* HT., J Gen Appl Microbiol.., 65(4), 204-208 (2019).

総説・著書

1) J. M. Nduko, S. Taguchi: Microbial production and properties of LA-based polymers and oligomers from renewable feedstock: *Biofuels and Biorefineries*, Springer Nature, vol. 9, Zhen Fang et al. (Eds): Production of Materials from Sustainable Biomass Resources, pp 361-390, 978-981-13-3767-3, 465828_1_En, (12). (2019) Part of the Biofuels and Biorefineries book series (BIOBIO, volume 9)
2) 田口精一：第5編 バイオプラスチック 第28章「多元ポリ乳酸」生合成の新展開:オリゴマー分泌の発見によるプロセス革新、プラスチックの資源循環に向けたグリーンケミストリーの要素技術、シーエムシー出版、pp.312-326（2019）
3) 田口精一、松本謙一郎：第Ⅲ編 ポリ乳酸の高性能化と生分解性・第3章 多元ポリ乳酸の合成/分解の交差点:「オリゴマー」、生分解性プラスチックの環境配慮設計指針、シーエムシー出版（2019）
4) 松本謙一郎、田口精一：第Ⅱ編 微生物産生ポリエステルの生合成と生分解性・第2章 非天然型ポリヒドロキシアルカン酸の分解性とその評価方法、生分解性プラスチックの環境配慮設計指針、シーエムシー出版、 pp.291-（2019）
5) 田口精一、山田美和：「オリゴマー」が鍵：バイオプラスチックの生合成と生分解、生分解性プラスチックの素材・技術開発～海洋プラスチック汚染問題を見据えて～、エヌティーエス出版、pp.177-188（2019）
6) 田口精一：バイオプラスチック「多元ポリ乳酸」：生産プロセスから機能部材化・生分解性まで、特集プラスチック問題、包装食品技術協会（2020）印刷中
7) 田口精一：「多元ポリ乳酸」の生合成と生分解：メカニズム解明の鍵“オリゴマー”、化学と生物「セミナー室」、日本農芸化学会誌（2020）印刷中

その他（学会発表等）

招待講演

1) S. Taguchi: “Bio-oligomer” provides insights into secretion and mechanistic biodegradation of lactate-based polymers (Invited Lecture), The 7th International Conference on Bio-based Polymers 2019, Bangkok, Thailand, 12nd November (2019).
2) S. Taguchi: Synthetic biology for biocompatible and biodegradable polymers from renewable biomass (Invited Lecture), the 3rd International Biotechnology Congress (IBC-2019), Holiday Inn Singapore Atrium, Singapore, 26th October (2019).
3) S. Taguchi: Biocompatible and biodegradable PLA-copolymers biosynthesized by microbial platform from renewable feedstock (Keynote Lecture), 10th International Conference on Biopolymers and Bioplastics, Holiday Inn Singapore Atrium, Singapore, 29th May (2019).
4) 田口精一：バイオプラスチックの合成生物学＝生合成×高分子化学、技術セミナー、(公益社団法人)新化学技術推進協会のライフサイエンス技術部会・反応分科会・技術セミナー、(公益社団法人)新化学技術推進協会会議室、2019年4月19日
5) 田口精一：海洋分解など地球環境に貢献するバイオプラスチック、テーマ：海のゴミと食品ロス削

減～命を思いやる想像力を育てる～（海と日本2019）、（一般財団法人）日本海老協会、南青山リストランテ　アクアパッツァ、2019年6月27日

6) 田口精一：多元ポリ乳酸～基礎物性・機能部材化・生分解性～、テーマ<<海洋プラスチック問題解決に向けた>>生分解、バイオマスプラスチックの材料設計、将来展望、（株）技術情報協会、技術情報協会8階セミナールーム、2019年11月18日

7) 松本謙一郎、影山友基、堀千明、大井俊彦、磯野拓也、佐藤敏文、田口精一（依頼講演）：ブロックポリヒドロキシアルカン酸の微生物合成と構造・物性解析、第68回高分子討論会、福井大学 文京キャンパス、令和元年9月25日

8) 石神　健：有機合成を手段とした天然物化学――構造改訂と機能解析――、住友化学株式会社 健康・農業関連事業研究所 講演会、住友化学株式会社 健康・農業関連事業研究所、2019 年 9 月 20 日

9) 尾畑やよい：未分化なマウス生殖細胞から成熟卵を産生する培養技術の開発、講演会:「細胞・組織のインビトロ技術の最前線：生殖工学、臓器チップ、脱細胞化スキャホールド」、（公益社団法人）新化学技術推進協会のライフサイエンス技術部会・反応分科会、（公益社団法人）新化学技術推進協会会議室、2019年8月19日

一般講演

1) Y. Miyahara, A. Hiroe, T. Tsuge, S. Taguchi: 3-hydroxybutyrate oligomers secreted from recombinant *Escherichia coli* operated by various polyhydroxyalkanoate synthases, Bioplastic Global Joint Satellite Symposium, Philippine, 23rd July (2019).

2) S. Mizuno, T. Sakurai, A. Hiroe, S. Taguchi, T. Tsuge: Secretory production and structure analysis of diol type hydroxyalkanoate oligomers, The 7th International Conference on Bio-based Polymers 2019, Bangkok, Thailand, 12nd November (2019).

3) 宮原佑宜、廣江綾香、柘植丈治、田口精一:低分子量微生物プラスチックの菌体外生産、第8回JACI/GSCシンポジウム、東京国際フォーラム ホール B7、令和元年6月24日

4) 後藤早希、松崎弘美、田口精一、松本謙一郎、阿部英喜：新規乳酸ベースポリマーの微生物合成、第8回JACI/GSCシンポジウム、東京国際フォーラム ホール B7、令和元年6月24日

5) 水野匠詞、櫻井徹生、廣江綾香、田口精一、柘植丈治：ジオール末端修飾微生物オリゴエステルの分泌生産および構造解析、第8回JACI/GSCシンポジウム、東京国際フォーラム ホール B7、令和元年6月24日

6) 櫻井徹生、水野匠詞、廣江綾香、田口精一、柘植丈治：微生物産生オリゴエステルを用いたウレタン材料の合成と特性評価、第8回JACI/GSCシンポジウム、東京国際フォーラム ホール B7、令和元年6月24日

7) 水野匠詞、櫻井徹生、廣江綾香、田口精一、柘植丈治：オリゴエステル分泌生産における種々アルコール化合物の添加効果、第70回日本生物工学会大会、岡山大学津島キャンパス、令和元年9月6日

8) 櫻井徹生、水野匠詞、廣江綾香、田口精一、柘植丈治：微生物によるジオール型オリゴエステルの分泌生産とウレタン材料の合成、第68回高分子討論会、福井大学 文京キャンパス、令和元年9月25日

9) 宮原佑宜、廣江綾香、柘植丈治、田口精一：低分子量微生物プラスチックの菌体外生産、エコマテリアル研究会、東京大学農学部弥生講堂一条ホール、令和2年3月6日

10) 後藤早希、宮原佑宜、廣江綾香、山田麻里子、柘植丈治、田口精一：ポリエステル重合酵素の発現を向上させた組換え大腸菌による3-ヒドロキシブタン酸オリゴマーの分泌生産、エコマテリアル研究会、東京大学農学部弥生講堂一条ホール、令和2年3月6日

11) 水野匠詞、櫻井徹生、廣江綾香、田口精一、柘植丈治：微生物産生オリゴエステルの発酵生産および末端構造の解析、エコマテリアル研究会、東京大学農学部弥生講堂一条ホール、令和2年3月6日

12) 宮原佑宜、廣江綾香、柘植丈治、田口精一：低分子量微生物プラスチックの菌体外生産、日本農芸化学会2020年度福岡大会、九州大学伊都キャンパス、令和2年3月27日

13) 後藤早希、宮原佑宜、廣江綾香、山田麻里子、柘植丈治、田口精一：低分子量微生物プラスチックの菌体外生産、日本農芸化学会2020年度福岡大会、九州大学伊都キャンパス、令和2年3月27日

14) 水野匠詞、櫻井徹生、廣江綾香、田口精一、柘植丈治：オリゴエステル分泌生産における末端構造の制御および構造解析、日本農芸化学会2020年度福岡大会、九州大学伊都キャンパス、令和2年3月27日

15) 大潟祥梧、永田暁洋、齋藤樹理、横尾俊憲、工藤悠希、堀千明、大井俊彦、田口精一、松本謙一郎：Ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (RubisCO) 反応を経由したグリコール酸ポリマー生合成系とその応用、第71回日本生物工学会大会、岡山大学津島キャンパス、2019.9.16

16) S. Arai S, M. Iijima, C. Hori, C. Utsunomia, T. Ooi, S. Taguchi, K. Matsumoto: In vitro analysis of D-lactyl-CoA-polymerizing enzyme in lactate-containing polyhydroxyalkanoates synthesis, International Symposium on Biopolymer Synthesis and Degradation, Centennial Hall, Hokkaido University, Sapporo, 2019.7.29

17) C.A. Ezema, J. Sun, J.M. Nduko, T. Ooi, S. Taguchi, K. Matsumoto: Poly(enriched lactate-co-3-hydroxybutyrate) depolymerase from Variovorax sp. C34: isolation and characterization, International Symposium on Biopolymer Synthesis and Degradation, Centennial Hall, Hokkaido University, Sapporo, 2019.7.29

18) Y. Hosoe, S. Aoki, C. Hori, T. Ooi, S. Taguchi, K. Matsumoto: In vitro evolution of polyester synthase for enhanced production of 2-hydroxybutyrate-containing polymer, International Symposium on Biopolymer Synthesis and Degradation, Centennial Hall, Hokkaido University, Sapporo, 2019.7.29

19) 原駿平、門屋享介、石井大輔、志波優、藤田信之、田口精一、田中尚人：生分解性プラスチック（poly-3-hydrtobutyrate）分解菌の分離・同定、日本微生物資源学会26回大会、山梨大学大村記念ホールおよび大学会館、令和元年6月28日

２０１９年度 東京農業大学 学部長主導型研究プロジェクト
研究成果概要

研究代表者　　本間　和宏

１．研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
現代人の栄養代謝を改善する新しい「栄養強化米」の開発と実用化 －東京農大独自のブランド米開発－	10, 000, 000

２．研究組織

	氏名	所属・職名	個別研究課題名
研究代表者	本間　和宏	応用生物科学部　学部長、栄養化学科　教授	研究全体の総括
研究分担者	辻井　良政	応用生物科学部　農芸化学科　教授	栄養強化米の炊飯前後のメタボローム解析ならびにコメの理化学性試験
	鈴野　弘子	応用生物科学部　栄養科学科　教授	栄養強化米の炊飯による影響の評価ならびにヒトにおける栄養性の検討
	門倉　利守	応用生物科学部　醸造学科　教授	栄養強化米と麹菌を活用した発酵食品の検討
	梶川　揚申	応用生物科学部　農芸化学科　准教授	免疫活性化作用を有する乳酸菌の活用法の検討
	大島　宏行	応用生物科学部　農芸化学科　助教	栄養強化米の最適な肥培管理技術の検討
	鈴木　　司	応用生物科学部　農芸化学科　助教	肥満モデルラットにおける栄養強化米の効果
	井上　博文	応用生物科学部　食品安全健康学科　助教	鉄欠乏マウスにおける栄養強化米の効果
	岡　　大貴	応用生物科学部　農芸化学科　助教	栄養強化米の食品素材としての利用性の検討
	齋藤　彰宏	応用生物科学部　農芸化学科　助教	栄養強化米の開発ならびに鉄分増加に関わるイネの分子機構の解明
	相澤　有美	応用生物科学部　博士研究員	栄養強化米と実験動物のメタボローム解析

３．研究期間

平成３１年(令和元年) ４月１日～令和２年３月３１日（３年計画の２年目）

４．研究の背景（当初）

玄米にはミネラル、ポリフェノール、ビタミン類、GABA、γ―オリザノールなどを中心とした栄養成分と機能性成分が多く含まれる。本プロジェクトに先立ち、玄米が肝臓での脂質代謝を改善し、脂肪蓄積を顕著に低下させることを辻井、鈴木らを含む研究グループが見出した（日本食品保蔵科学会誌、2016, 42 巻, pp. 3-8)。しかしながら、現代の日本人の玄米摂取量は極めて少なく、玄米を主体とした食生活の実現は一般食用米では難しいという課題がある。一方、齋藤らは鉄欠乏性貧血を発症している現代人の鉄栄養状態の改善を目的に、イネの突然変異体集団から鉄分や微量必須ミネラルを高集積する系統を選抜した（東京農業大学総研戦略プロジェクト 2015 年)。さらに、これらの高ミネラル系統とポリフェノール、ビタミン、GABA 等の機能性成分を高集積する紫黒米「朝紫」を交配したところ、両親系統の特性を様々な割合で併せ持つ多数の後代を得ることに成功した。これらの選抜を繰り返すことで、目的に沿った「栄養強化米」が作出できると考えられた。

本プロジェクトで栄養強化米の開発が成功すれば、玄米の有効成分や鉄などの必須ミネラルをヒト体内に日々の食事からより効率的に摂取することが可能になる。これは、いわゆる「サプリ米」のように後からビタミンや鉄を精白米に添加するタイプの製品とは異なり、収穫した米そのものを加工食品や発酵食品へと直接利用することが可能であり、パックご飯、米粉パン、菓子、米発酵製品など多様な製品開発が実現できる。また、栄養強化米の品種化は交配した両親の持つ複数の有用形質を 1 つのイネに集約するような育種選抜で行っており、遺伝子組換操作を一切加えていないことからも、消費者へ受け入れやすい製品が開発できると考えられる。現在までに、我々のような非遺伝子組換えイネを用いて栄養強化米を開発したという例は、他大学、公的研究機関、ならびに一般企業のいずれからも報告されていない。本プロジェクトで農大と企業、さらに公的な農業試験場が連携することで、これまでになかった新規の栄養強化米を社会に送り出し、人々の健康に貢献する成果を得られることが大いに期待できる。

５．研究目的

本プロジェクトでは、微量ミネラルや玄米由来の機能性成分を高蓄積する栄養強化米の開発を目指している。さらに、応用生物科学部で独立に進められていた米に関連する幅広い研究分野を融合することで、栄養強化米を原料とする多様な加工食品、発酵食品、保存食、飼料といった製品開発まで見据えている。本プロジェクトで開発した栄養強化米やその関連製品は、生活習慣病や鉄欠乏性貧血の予防や改善に効果があることを検証した上で、東京農大ブランド製品として広く社会貢献に役立てることを最大の目標としている。

昨年プロジェクト１年目は、少量で玄米並みの代謝改善成分と鉄分などのミネラルを摂取できる新しい栄養強化米を確立することを目的とし、研究を遂行した。その結果、栄養強化米は一般品種と同等の収量性を持ち、かつ収穫した玄米の鉄含有量は通常玄米であるキヌヒカリに比し、2倍近いことを確認した。さらに本株は土壌条件や環境条件にほとんど左右されず、遺伝的に鉄やマンガンを高集積することも明らかにした。

以上より、２年目の研究目的は、水田圃場試験で生産性・品質の調査を引き続き行うことに加え、動物モデルを用いた栄養強化米による代謝改善効果、精米法・加工法の確立および様々な商品化戦略を同時に進めることとした。具体的には、1) 栄養強化米の水田圃場試験、2) 栄養強化米の調理法の検討、3) 栄養強化米の栄養代謝改善効果の検証、4) 栄養強化米を使った様々な食品・飲料の開発の4本を柱とし、研究を遂行した。

６．研究（実験）方法

〜Farm　to table 編：栄養強化米の生産性および品質の調査・確立(齋藤、大島、相澤)〜

昨年度までに、栄養強化米は一般品種と同等の収量性を持ち、且つ収穫した玄米の鉄含有量は通常玄米の2倍弱を示した。そこで本年度も継続して、栄養強化米のエリート系統の生産性および品質調査に加え、遺伝的背景からなぜミネラルを高蓄積するのかについて解析することを目的とした。

・栄養強化米*tetsu1*-BR系統で鉄高集積に関与する遺伝子の探索（齋藤）

tetsu1 変異体に由来する微量ミネラル高蓄積の原因遺伝子の特定に向けて、次世代シーケンサーを用いた全ゲノムシーケンス（WGS）解析およびジェノタイピング解析を行った。解析に用いたゲノムDNAは、イネ最新展開葉0.5gを採取し、液体窒素下で乳棒、乳鉢で粉砕し微粉末とした後、DNeasy Plant Mini kit（QIAGEN）にて抽出し、エタノール沈殿法により精製した。WGS解析には、親品種の台中65号野生株と*tetsu1*変異株の2系統間での解析を進めた。WGS解析はマクロジェン社に委託し、TruSeq DNA PCR-Free もしくは TruSeq DNA nano Kitでライブラリを調整した後、次世代シーケンサーNovaSeq6000（イルミナ社）により1サンプルにつき12Gbのデータを得た。リードを既知のイネデータベース情報をもとにマッピング後、野生型と*tetsu1*の間で異なるSNPsならびにIn/Delを探索した。ジェノタイピングはEurofins社に委託し、GRAS-Di解析にて実施した。このGRAS-Di解析には、*tetsu1*-BR雑種第二代の中から稲体の鉄濃度が低い系統（朝紫型）と鉄濃度が高い系統（*tetsu1*型）をそれぞれ個別に選定し、これらのゲノムDNAに対してランダムプライマーでPCRを行い、ゲノムワイドに増幅したアンプリコンをHi-Seq2500（イルミナ社）にて解読し、*tetsu1*型にのみ特徴的なアンプリコンのパターンを解析した。その後、GRAS-Di解析のデータで絞り込まれたQTL領域について、WGS解析により検出される遺伝子変異部位と比較し、原因遺伝子の候補を探索した。

・栄養強化米 *tetsu1*-BR 系統への鉄鋼スラグ資材の施用効果の検証（大島）

昨年度のポット栽培試験において*tetsu1*-BR I-6系統へ転炉スラグを施用した結果、ケイ酸吸収量が増加し、収量も増加した。本年度は長野県松川村において、新たに選抜された栄養強化米のエリート系統であるC-1（白米型）およびA-5系統（黒米型）を用いて現場レベルでの栽培試験を実施した。試験品種への製鋼スラグ100 kg/10aの施用が、水稲の収量、品質、無機成分含有量の及ぼす影響を調査した。そして、実用化に必要となる圃場栽培の基礎データを収集した。

・栄養強化米中のオミクス解析(相澤)

玄米の有用成分の含量や炊飯前後の損失について明らかにするため、CE-MS や LC-MS による分析を行った。簡易炊飯米の作製条件は、浸漬時間 6 時間、温度 25℃にて一定で行なった。その後、炊飯時の加水量として玄米重量の 1.8 倍（吸水量を引いて）の水を添加し、ヒートブロックにて、120℃、30 分で炊飯を行った。アルファー化玄米は、アルファー食品（株）にて作製されたものをジェット粉砕機（㈱セイシン工業）にて粒度 150μm（100 メッシュパス）に粉砕し、粉末化しものを用いた。成分の抽出方法は、玄米、簡易炊飯米、粉末化した α 化玄米をメタノール/クロロホルム/水=1:1:0.4 (v/v/v) にて抽出し乾燥を行った。これら試料は、共同研究先の慶應義塾先端生命科学研究所・若山正隆 特任講師により、CE-MS（イオン性化合物）、LC-MS（糖類）の分析を行なっていただいた。

～Table 編：栄養強化米の精米法・加工法の確立(辻井、鈴野、井上、相澤)～

米の炊飯調理は、洗米、加水、浸漬、加熱、蒸らしの操作に分けられる。一般に洗米は、炊飯における異臭および粘りや光沢を劣化させる諸成分の除去等、食味を良好にするために行われるが、この際にミネラルを含む栄養素がとぎ汁として流出することが分かっている。そこで２年目は、実際に通常玄米と栄養強化米を用いて浸水時間、洗米回数およびとぎ方の強度から適切な洗米方法を検討した。

・洗米行程における栄養強化米中ミネラル残存量に関する検討（井上）

洗米過程でミネラルを含む栄養素がとぎ汁として流出することが分かっていることから、洗米前と後でのミネラル残存量について比較検討を行うことを目的とした。具体的には、通常玄米および栄養強化米を各々50 g取り出し、ビーカーに加え、超純水を 100 mL 加え、一定回数かき回すことで洗米とした。その後、とぎ汁をメッシュにてろ過し、再度、超純水を 100 mL 加え、一定回数かき回した、本工程を５回繰り返し、最終的に残った各玄米を灰化し、原子吸光分光光度計にて残存鉄濃度を測定した。なお、本試験では一般水(水道水)ではミネラル変動が非常に大きく、実験結果が正しく判断できないため、ミネラル分を除去した超純水を用い洗米試験を行った。

～Table to body 編:栄養強化米投与による代謝改善効果の検証(鈴木、井上、相澤)～

この２年目は、２つの動物モデルを用いて栄養強化米の付加価値を見出すことを目的とした。具体的には、１）肥満の病態、または２）鉄欠乏性貧血を再現したモデル動物試験で、栄養強化米食と玄米食による病態の改善効果を比較することで高付加価値化を検証することとした。以下に詳細な実験方法を記載する。

・栄養強化米による肥満性脂質の改善効果の検証（鈴木、相澤）

生活習慣病、特に肥満による脂肪肝の予防効果を検討するために、肥満モデル動物としてレプチン受容体遺伝子の変異を起因とし、過食による肥満を示すZucker fattyラットを用いた。Zucker fattyラットに基準食であるAIN93Gを与えたCTL群、AIN93Gに含まれるコーンスターチをα化キヌヒカリに置き換えたキヌヒカリ(キヌ)群、同様にα化*tetsu1*-BRで置き換えたI-6群、さらに、Zucker fattyラットのコントロールとして、過食を示さないZucker leanにAIN93Gを与えたLean群を設定し、5週間飼育を行った。解析項目として肝臓中のトリグリセリドおよび総コレステロール、また肝障害マーカーとして血清中のASTやALTを解析した。また、肝臓中のメタボ―ローム解析においては、共同研究先の慶應義塾先端生命科学研究所・曽我朋義教授により、CE-MS（イオン性化合物）の分析を行なっていただいた。

・栄養強化米による鉄欠乏性貧血に対する改善効果の検証（井上、相澤）

ICR雄性マウスに基準食であるAIN93Gを与えたCTL群、鉄を含まない試料と与えたID群を設定し、３週間の飼育観察を行った。その後、ID群を３つのグループに分け、鉄を含まない試料を摂取したID群、α化キヌヒカリに置き換えたキヌヒカリ(キヌ)群、同様にα化*tetsu1*-BRで置き換えたI-6群を設定し、７日間または１０日間の栄養強化米による鉄レスキュー試験を行った(図1)。

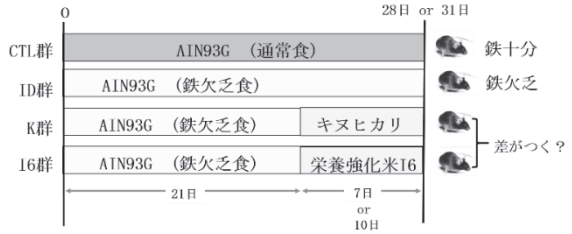


図1：実験デザイン

各群5～6匹となるように群分けを行った。飼育期間終了後の解析項目として、試料中の鉄含有量、最終体重および総摂食量に加え、鉄欠乏マーカーである血中ヘモグ

ロビン濃度、血清鉄、鉄結合能(TIBCおよびUIBC)、組織中鉄濃度(肝臓)、心臓重量および脾臓重量を測定した。これら鉄欠乏マーカーに対するパラメーターの変化から鉄欠乏性貧血が改善しているかを判断した。

～Develop products編:栄養強化米を使った食品・飲料の開発（辻井、門倉、梶川、岡）～

栄養強化米の栄養素(主にミネラル)を損失せずに、新たな菓子、米粉製品、お酒（酒・酒粕・甘酒といった麹発酵による各種製品）といった加工品の開発を行った。具体的には、揚げ煎餅(株式会社天乃屋の協力のもと)をはじめ、玄米粉を使用したパンとしてサワーブレッドの試作を行った。また、栄養強化米を用いて発酵させたお酒の施策を行った。加えて、奄美大島などで見られるコメの発酵食品ミキをモデルとし、ミキ由来乳酸菌株について、発酵性、保存性、健康に寄与する機能性を評価した。

・栄養強化米の熱風乾燥米製造の検討（辻井）

非常食や即席米として販売されている熱風乾燥米は保存性が良く、お湯を加えることで食することが出来るインスタントライスである。炊飯に比べ調理時間も早く、常食として普及できる可能性がある加工品である。一般的に熱風乾燥米は精白米を用いるが、栄養強化玄米(ウルチ米とモチ米の混米を用いた)を用いて製造方法について検討を行った。なお、熱風乾燥米を30kg作製することは、当研究室では不可能なため、試作条件検討と製造をアルファー食品株式会社に委託し、サンプルの確認を当研究室と共同で行った。I-6株およびF-4株の検討を行ったが、試作製造にはI-6株のみを用いた。

・栄養強化米を用いた揚げ煎餅およびサワーブレッドの試作に関する検討（辻井、岡）

玄米の特徴を活かした揚げ煎餅を株式会社天乃屋の協力のもと試作を行なった。玄米100%では揚げた後に脱粒が生じるため、精白米（うるち米）を主原料とし10%の栄養強化玄米を配合させ試作を行なった。なお、デンプンの性状、特に粘りを考慮し、炊飯米または蒸米で比較を行った。また、玄米パンに関しては、玄米臭を軽減させたサワーブレッドの試作を行うこととした。なお、玄米パンを製造するためには、米粉の性状が重要となるため、先ずは製パンに向く米粉の調製を行った。

・栄養強化米を用いた日本酒の試作に関する検討（門倉）

栄養強化米を用いた総米300gの水麹を用いた三段仕込を行った。麹歩合23%、汲水歩合128%、最高品温15℃とし、アルコール濃度15%を目処に上槽して、鉄分を含む玄米日本酒の製造が可能であるかを検討した。尚、掛米は栄養強化米の玄米を使用したが、麹については、精米歩合70%の美山錦を用いた。

・ミキ由来乳酸菌株を用いた健康機能性の検討（梶川）

市販あるいは製造者から提供されたミキから分離された乳酸菌40菌株について、アミラーゼ活性の検出を試みた。アミラーゼ活性はデンプン含有培地上でのヨウ素デンプン反応によるハロ形成を指標とした。また、潜在的な免疫調節作用を調べるため、マウス単球系株化細胞であるRAW264.7細胞と分離菌株を共培養し、当該免疫細胞により産生されるTNF-α量をELISAにより定量した。これらの結果を比較することで、栄養強化米を使用した新規コメ発酵飲料のスターターに用いる菌株を選抜する際の指標とした。

７．研究成果

～Farm　to table編：栄養強化米の生産性および品質の調査・確立(齋藤、大島、相澤)～

・次世代シーケンサーを用いたGras-Di解析ならびにWGSの解析結果（齋藤）

これまでの交配実験により、*tetsu1*変異体の原因遺伝子は単一の劣性遺伝子であることは判明している。そこで、本年度は次世代シーケンサーを用いた新規ジェノタイピング法であるGras-Di法を用いて、原因遺伝子の探索を進めることにした（図2)。

Gras-Di法はゲノム配列が読まれていない植物や品種に対しても、全ゲノムを網羅する高密度DNAマーカーを設定できる。初めに、ゲノムDNAに対してランダムプライマーでPCR反応を行い、増幅したDNA断片（アンプリコン）でDNAマーカーを設定する。本プロジェクトでは、Fe含量が正常な紫黒米「朝紫」とFe含量が高い「*tetsu1*突然変異体」の交配系統がすでに存在することから、この雑種第二世代（F2）を用いてGras-Di解析を行ったのち、このジェノタイピングデータをもとに連鎖解析を行った。

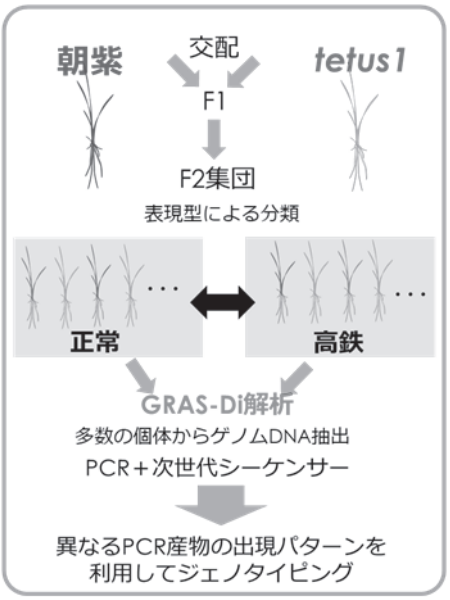


図2 ジェノタイピング解析の流れ

朝紫と*tetsu1*の間に十分な密度のDNAマーカーが設計できるか確認したところ、両者の全ゲノム間で20400個、1つの染色体につき2000個程度のDNAマーカーを設定できた。QTLを同定するのに十分な密度のDNAマーカーがあると言える。そこで、朝紫と*tetsu1*のF1植物に由来する14種類のF2個体を用いたGras-Di解析データで連鎖解析を行ったところ、第一染色体の長碗内の数Mb程度の範囲内に候補領域が選定できた。並行して行っていたtetsu1に対する全ゲノムリシーケンス解析（WGS）データを参照した結果、複数のSNPsやInDelを伴う変異個所が見られたため、それら周辺を候補遺伝子として多数ピックアップした（表１)。

これら候補遺伝子には、TCPファミリー（bHLH)転写因子、 タンパク質代謝、Auxin応答、ユビキチン関連遺伝子、エンドサイトーシス関連遺伝子などが含まれていた。また、興味深いことに、Os*HRZ1*（Kobayashi et at., 2013、Nature Comm. 4, 2792)や*IRON MAN*（Grillet et al 2018., Nature Plants 4, 953–963）として、近年発見された鉄センシングと鉄吸収のレギュレーターである遺伝子が、候補領域の近傍に位置することが分かった。ただし、これら既知遺伝子ならびにその調節配列には変異は確認できなかったことから、*tetsu1*遺伝子はこれら既知遺伝子とは別に鉄吸収・蓄積を調節する新規の因子であると予想される。

表1　GRAS-Di解析による*tetsu1*候補遺伝子

*tetsu1*候補遺伝子	変異部位
TCP family transcription factor	第一Exon、３′UTR
Glycine cleavage system P protein	第一Intron
Ribose-phosphate pyrophosphokinase 3	3′UTR
ABC transporter superfamily ABCB subgroup member 7	Promoter
Similar to ubiquitin domain containing 1.	第一Intron
Flavin monooxygenase-like enzyme （Auxin response）	最終Intron～3′UTR
ENTH/VHS domain containing protein	３′UTR末端から0.3～1.6kb下流

上記のように、今年度までのGras-Di解析で興味深い結果を得られているものの、現時点では候補領域が数Mbと広いため、原因遺伝子の特定には至っていない。このため、次年度にはF2集団の解析数を100個体あるいはそれ以上増やすことで、ファインマッピングを実施する必要がある。今年度のGras-Di解析で、朝紫と*tetsu1*の間で全ゲノムを網羅できるほど十分な量のマーカーが作成できたことから、次年度は多数のF2集団から高精度のジェノタイピングデータが得られると期待している。

また、次年度は上記のGras-Di解析に加えて、RNAseq解析を行うことで、この周辺の転写産物パターンやスプライシングバリアントについても調べていくことが必要であると考えている。これまでに、*tetsu1*に対するマイクロアレイ解析は行っているが、この第一染色体の候補領域内では気になる発現変動は見られていない。このことは、大きな発現変動を伴うような遺伝子変異ではなく、アミノ酸置換などによる小規模な変異が候補遺伝子の機能に影響している可能性もある。

・栄養強化米 *tetsu1*-BR 系統への鉄鋼スラグ資材の施用効果の検証（大島）

スラグ施用区の土壌中の遊離酸化鉄濃度に有意差が無かったが可給態ケイ酸濃度は増加していた。収量構成要素はコシヒカリで登熟歩合、栄養強化米白で穂数がスラグ施用区で増加したがA5栄養強化米黒では差は無かった。収量は全ての品種で差が無かった。止め葉中のSiO_2濃度はコシヒカリで増加したが栄養強化米では増加しなかった（図3）。登熟歩合がコシヒカリだけ増加したのは止め葉中のSiO_2濃度が上がったためと考えられる。品種間で比較すると、収量はコシヒカリと比べ栄養強化米白が70%程度、栄養強化米の黒で65%程度であった。栄養強化米玄米中の窒素濃度が高く、コシヒカリと比べ窒素要求量が高い可能性があり、コシヒカリと同様の肥培管理では窒素施肥量が足りず収量が低かった可能性が考えられる。

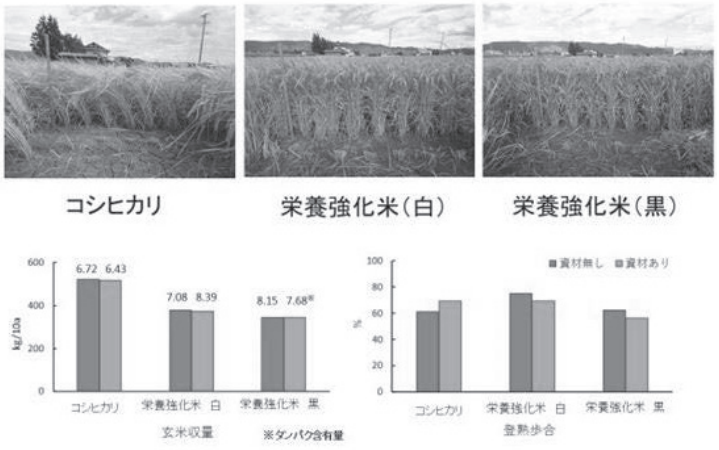


図３　栄養強化米への含鉄資材の施用が収量・品質に及ぼす影響

栄養強化米黒の玄米中の鉄濃度は19.3 mg/kgで、昨年度と比べて低かった（図4）。そこで部位別稲体部位別の鉄含有量を調べた結果、2019年度も対象品種のコシヒカリより玄米、止め葉、茎、葉では3〜13倍の鉄を蓄積していた（図5）。昨年度と比較しても玄米以外の茎、葉、止め葉、もみ殻には同濃度の鉄が含有されていた。すなわち、土壌から鉄は吸収されていたが玄米まで移行しなかったことが考えられる。2019年度は7月の日照が悪く登熟歩合も60%と低いことから、栽培条件や収穫時期も鉄含有量の高い米の栽培には重要であると考えられる。次年度は栄養強化米の適切な窒素施肥量の検討および収穫時期の違いが玄米の鉄含有量に及ぼす影響を検討する必要がある。

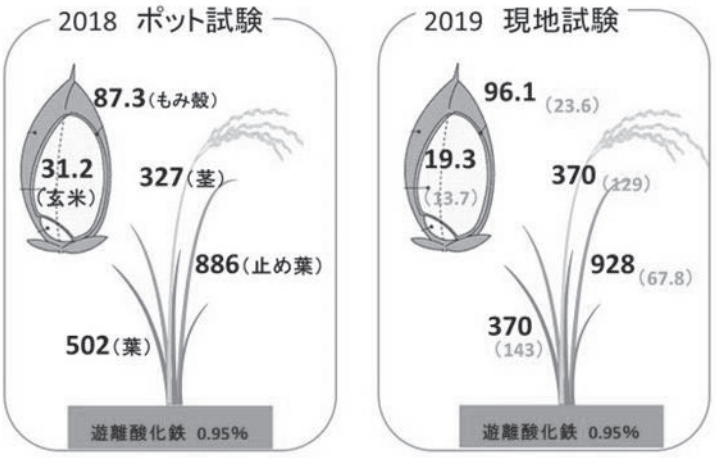


図４　植物体の部位別Fe含有量（mg／kg）

・栄養強化米中のオミクス解析（相澤）

まず CE-MS、LC-MS による分析の結果をクラスター解析（HCA）で評価した（図 5）。その結果、簡易炊飯米では、ロット間のばらつきが大きく、コメの種差による基質量の違いを判断することが難しいことが明らかになった。その要因として、使用した玄米の粒形が、大小様々であったため加熱特性が異なっていたことが原因になっている可能性が推察された。そのため、今後、簡易炊飯の条件、試料調製方法について検討を行っていく必要があると考えられる。

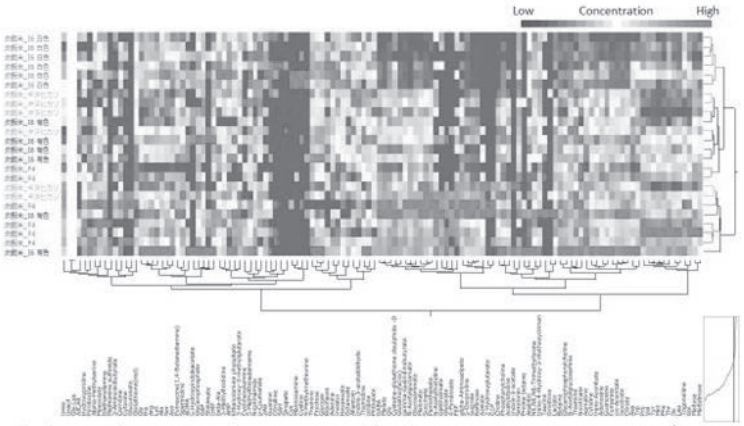


図5　クラスター解析（HCA)による評価（炊飯米）

次に、玄米及びα-化玄米に含まれる機能性成分の解析を行った。玄米の機能性成分として知られているγ-アミノ酪酸（GABA）は、α-化キヌヒカリと比較しα-化 I-6 で増加し、さらにα-化 F-4 ではα-化 I-6 より増加していた（図 6)。また、choline、spermidine は、玄米キヌヒカリと比較しα-化 I-6 で増加していた。また、ビタミン B 群のチアミンは、玄米キヌヒカリと比較し玄米 I-6 と玄米 F-4 でともに増加していた。同様にビタミン B 群のナイアシンは、α-化処理によりキヌヒカリ、I-6、F-4 で玄米時より増加が認められた。これは、粉体化により抽出効率が上がったためと推察される。興味深いことに、玄米 I-6、F-4 では、フィチン酸の基本骨格であるイノシトール濃度が、キヌヒカリと比較し低かった（図 7)。しかし、加熱加工を行ったα-化 I-6、F-4 ではキヌヒカリと同程度の濃度に増加していた。このことから、加熱処理によりフィチン酸の分解が生じたと考えられる。フィチン酸は、鉄などをキレートし生体内での利用を低下させるが、I-6 や F-4 玄米を加熱加工することによりフィチン酸の分解が可能であることが示唆された。

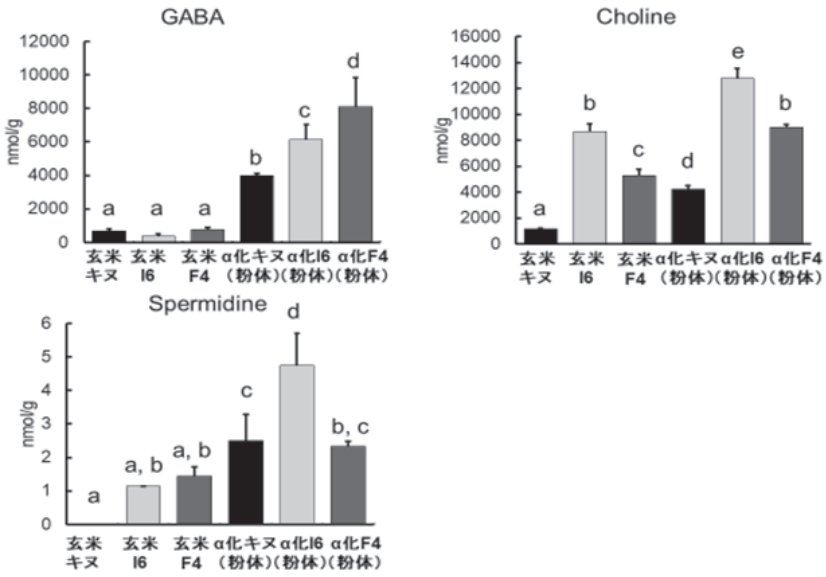


図６　玄米及びα-化玄米に含まれる機能性成分濃度

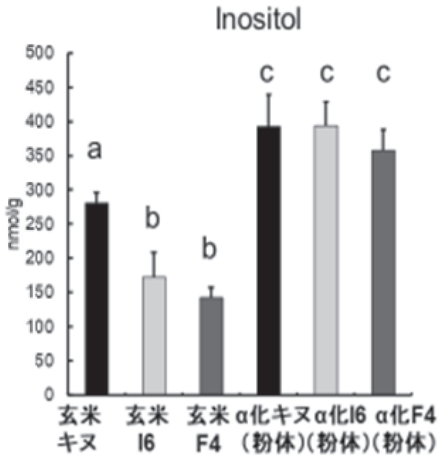


図７　玄米及びα-化玄米に含まれるイノシトール濃度

最後に、粉末化したα化玄米の呈味成分について、各成分の濃度を 100 分率に標準化しクラスター解析を行った。キヌヒカリと比較し、I-6 や F-4 では酸味を示す Citrate、Fumarate、Nicotinate や旨味を示すグルタミン酸、苦味・渋味を示す Glucosaminate が増加していた。しかし、これら呈味性物質の増減のみで、コメの味覚を判断することはできない。そのため、今後、ヒトによる官能試験が必要であると考えられる。

～Table 編：栄養強化米の精米法・加工法の確立(辻井、鈴野、井上、相澤)～

・栄養強化米の洗米によるミネラル残存量に関する検討（井上）

洗米前および５回洗米後の通常玄米(キヌヒカリ)および栄養強化米の鉄残存量を原子吸光高度計にて測定した (n=4)。その結果、洗米前の鉄濃度が通常玄米が 12.8 µg/g、栄養強化米が 24.5 µg/g であったのに対し、洗米後は通常玄米で 11.9 µg/g、栄養強化米で 18.6 µg/g となった（図 8)。以上の結果より、残存率は通常玄米で 92.9%、栄養強化米で 75.9%と残存率に差が出たが、洗米後も栄養強化米は通常玄米よりも 1.56 倍多く鉄を含有していることを確認した。

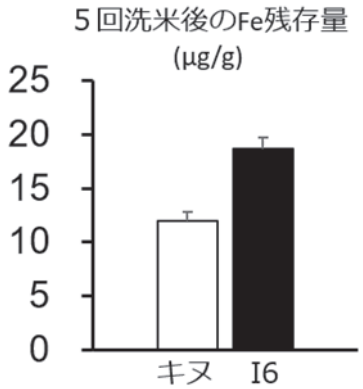


図８　洗米後の鉄残量

・栄養強化米投与による肥満誘導性脂肪肝に対する代謝改善効果の検証（鈴木、相澤）

肥満モデル動物を用いて飼育を行った結果、最終体重において Lean 群と比較して Zucker fatty ラットでは過食による体重の上昇が認められたものの、Zucker fatty ラット間で餌の違いによる体重の違いや脂肪組織の重量に変化は認められなかった。しかし、肝臓重量はキヌ群と I-6 群で低下しており、また、肝臓の組織切片の観察結果から肝臓中の脂肪滴の減少が観察されたことから、脂肪の減少により肝臓の重量が減少したことが示唆された(図 9)。

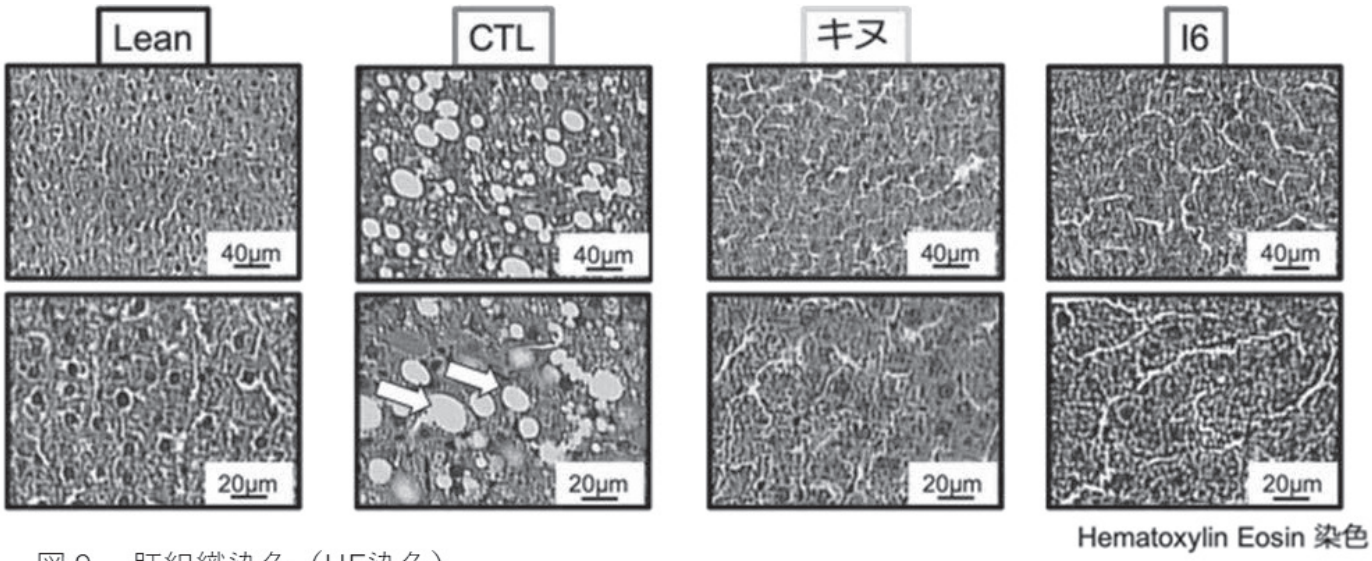


図９　肝組織染色（HE染色）

実際に、肝臓中のトリグリセリドと総コレステロール値を測定したところ、キヌ群と I-6 群の両者とも CTL 群と比較して低い値を示した。さらに血漿中の肝障害マーカーを測定したところ、CTL 群で示された高い値がキヌ群と I-6 群では有意に低下する結果となった。したがって、I-6 摂食は脂肪組織の重量には変化を示さないものの、一般的な玄米と同様に脂肪肝の抑制作用を示すことが明らかとなった（図 10）。

この他に、血漿中のメタボローム解析を行ったところ、アテローム性動脈硬化症の要因の一つとして知られている、トリメチルアミン-N オキシドの値が有意に低下することが新たに示された(図 11)。トリメチルアミン-N オキシドは、食事によって摂取したコリン等が腸内細菌によってトリメチルアミンへと変化し、肝臓中の FMO3 などの酵素によって生成される。肝臓中の FMO3 の遺伝子発現量を測定した結果、群間内で変化は認められなかったことや I-6 自体のメタボローム解析の結果からコリン等の減少は認められなかったことから、I-6 摂取による腸内細菌叢の変化によってトリメチルアミン-N オキシドが減少したことが推察された。

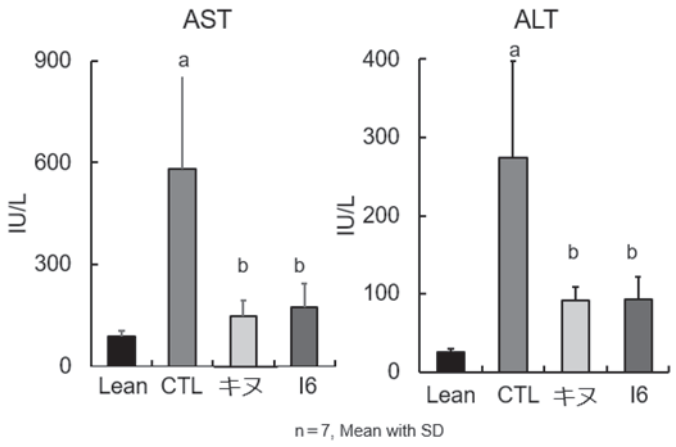


図10　肝障害マーカー（AST、ALT）

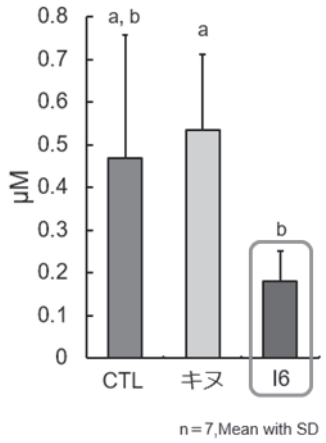


図11　血漿中のトリメチルアミン-Nオキシド濃度

・栄養強化米による鉄欠乏性貧血に対する改善効果の検証（井上、相澤）

まず初めに試料を灰化後、原子吸光度計にて鉄濃度を測定することで本試験計画が成立するのか否かについて検討を行った。その結果、CTL群は40.0 μg/g、ID群は4.0 μg/gとなり、鉄欠乏食であることを確認した。

また、鉄レスキュー試験に用いる鉄濃度はK群で12.7 μg/g、I-6群で24.5 μg/gとなり、鉄レスキュー試験が可能である鉄濃度と判断した(図12)。また、I-6群は混餌してもK群よりも約２倍弱の鉄濃度であることも確認した。本試験計画は、栄養強化米の鉄欠乏性貧血に対する鉄レスキュー試験であるため、7日間または10日間の2パターンの試験期間を設けた。以下、各々の投与期間ごとに結果をまとめる。

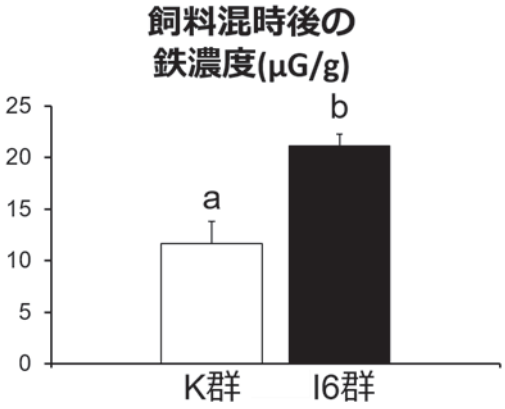


図12　飼料混合時の鉄濃度

1)鉄レスキュー７日間の試験結果

最終体重は各群間で有意差を示さなかった。また総摂食量はPair-feedを行っているため、有意差を示さなかったが、I-6群およびK群に置換後、摂食量が減少した。続いて、鉄欠乏マーカーである血中ヘモグロビン濃度はCTL群に比し、ID群で有意な低値を示した。一方、ID群に比し、I-6群において有意にヘモグロビン濃度が増加したがK群との間に有意差は示さなかった(図13)。血清鉄はCTL群に比し、ID群で著しい低下、また総鉄結合能(TIBCとUIBC)はCTL群に比し、ID群で有意に上昇したが、すべてのパラメーターにおいて、K群およびI-6群投与による影響はなかった。肝臓中鉄濃度も同様の結果であった。肝臓および腎臓重量は全群間で有意な差を示さなかったが、脾臓および心臓重量はCTL群に比し、ID群で有意な増加または傾向を示したが、K群およびI-6群投与による影響はなかった。

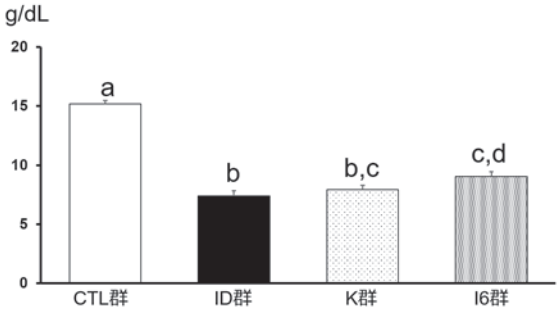


図13　栄養強化米7日投与による血中ヘモグロビン濃度への影響

2)鉄レスキュー１０日間の試験結果

最終体重は各群間で有意差を示さなかった。また総摂食量は Pair-feed を行っているため、有意差を示さなかったが、7 日間同様に I-6 群および K 群に置換後、摂食量が減少した。続いて、鉄欠乏マーカーである血中ヘモグロビン濃度は CTL 群に比し、ID 群で有意な低値を示し鉄欠乏状態であることを確認した。また ID 群に比し、K 群および I-6 群において有意なヘモグロビン濃度の増加を示し、且つ I-6 群は K 群に比し、有意な増加を示した(図 14)。

心臓重量および脾臓重量はCTL群に比し、他3群で有意な増加を示したが、K群およびI-6群投与による影響を示さなかった。続いて、血清鉄はCTL群に比し、ID群で有意な低値を示したが、K群およびI-6群投与による影響はなかった。一方、鉄結合能(TIBCとUIBC)は、CTL群に比し、ID群で有意な増加を示したが、I-6投与においてのみ有意な低下を示したが、K群との間に有意差はなかった。また肝臓中組織鉄濃度も同様にCTL群に比し、ID群で有意な低値を示したが、これはK群およびI-6群で有意に増加した。

以上の結果より、栄養強化米(I-6群)が通常玄米であるキヌヒカリ(K群)よりも鉄欠乏性貧血を改善することが明らかとなった。一方で、本結果は摂食期間を７日間から１０日間に延長したことで明確な差を得たことからも投与期間設定が重要であることも明らかとなった。

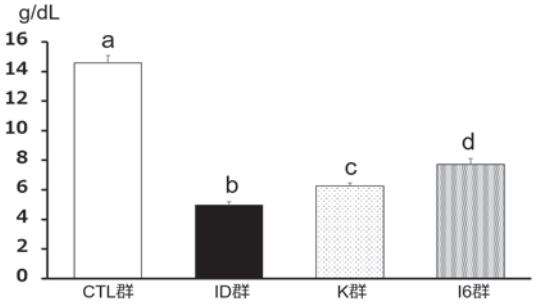


図14　栄養強化米10日投与による血中ヘモグロビン濃度への影響

・栄養強化米の熱風乾燥米製造の検討（辻井）

熱風乾燥米の基本製造工程は、コメを浸漬し、蒸煮もしくは炊飯後、熱風乾燥で水分だけを蒸発させ、水分含量15%以下まで乾燥させることで作製できる(図15)。その結果、即席性や保存性などを付与した熱風乾燥米ができる。今回の玄米加工は、浸漬時間、蒸煮工程および乾燥工程をすべて玄米に合わせた設定を確立した。

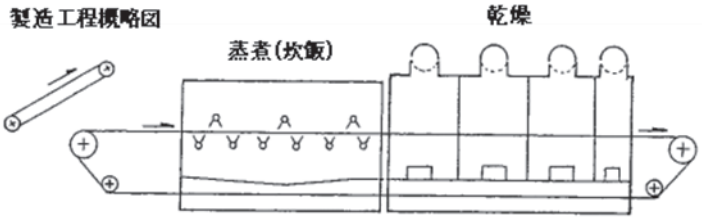


図15　熱風乾燥米製造工程の略図

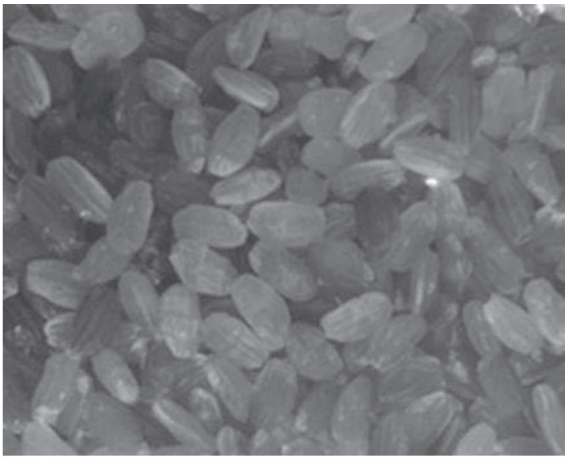


図16　栄養強化米の玄米を使った熱風乾燥米（協力：アルファ一食品株式会社）

また、ウルチ米とモチ米の混米の調整は、硬く粘りの少ないウルチ米の条件に合わせて製造した。通常であれば、モチ米が柔らかくなりすぎるのであるが、玄米で外皮が残っているため、デンプンの溶けだしや米粒の崩壊も抑えられ、図16のような熱風乾燥米を作製できた。サンプルに含まれる鉄含量は、加工前の玄米が28.6 mg/kgであり、加工後が24.3 mg/kgとなった。

～Develop products編:栄養強化米を使った食品・飲料の開発（辻井、門倉、梶川、岡）～

・栄養強化米を用いた揚げ煎餅およびサワーブレッドの試作に関する検討（辻井、岡）

まず、既存の揚げ煎餅で用いられている精白米（ウルチ米）を主原料として栄養強化玄米 10%を配合し試作を行なった結果、玄米の脱粒が僅かに生じたが、既存と同様の揚げ煎餅が調製できた（図 17)。そこで、さらに栄養強化米を増やした揚げ煎餅を作るために、90%に搗精した栄養強化米の精白米を 90%、玄米を 10%の配合で試作を行なったが、同様の炊飯方法では米飯の粘りが強すぎて成型が困難であった。また、生地乾燥で水分が蒸散しにくく、フライ時に生地膨化が良好とならなかったため食感が一部硬くなってしまった。この点に関して、炊飯工程を蒸しに変更し、同様の配合割合で試作を行なったところ、生地形成不良の原因となる粘性は軽減した。しかし、本栄養強化米はウルチ種とモチ種が混在していることから、蒸し後に硬い米飯が存在していた。

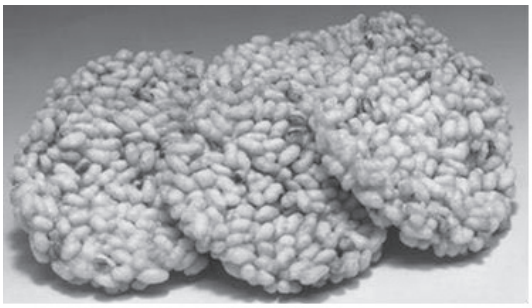


図17栄養強化米を用いた揚げ煎餅
（協力：株式会社天乃屋）

そこで、更なる改良を行ったところ、蒸し工程を二度行うことで、良好な生地となり目的とした揚げ煎餅の製造を行うことができた。出来た揚げ煎餅は、玄米特有の香りもなく、味付けのバリエーションも豊富のため、嗜好品として摂取が可能であることから、いつでも手軽に鉄分などの栄養素を取れる商品として期待できる（図 17)。

また、玄米パンに関しては、米粉の性状が製パンの良し悪しを左右することから、先ずは玄米粉の調製を行なった。今後、得られた玄米粉を使用し、玄米臭を軽減したサワーブレッドの試作を行なっていく。

・栄養強化米を用いた日本酒の試作に関する検討（門倉）

アルコール濃度15～19%の玄米日本酒の製造が可能であったが、栄養豊富な玄米を使用するため酵母による発酵が早く、日本酒度が＋となる辛い酒の作製に成功した。一方、栄養素(特に鉄)を保持できているのかについては現在、湿式灰化法にてミネラル抽出を終えている。今後、順次、ミネラル分の解析を行っていく予定である。また、辛い酒を改変するにあたり、甘酒四段などを行うことで改変可能であることから発酵日数の再検討を行い、甘酒四段を今後検討していく。

・ミキ由来乳酸菌株を用いた健康機能性の検討（梶川）

ミキ由来乳酸菌40菌株についてアミラーゼ活性の検出を試みたところ、15菌株においてアミラーゼによるものと思われるハロ形成がみられた。デンプンを主な糖源とする培養条件下において、これらの菌株の生育における優位性が示唆される。また、この特性はコメ発酵食品の製造において有用なものである可能性がある。マウス単球系RAW264.7細胞に対する免疫調節作用を調べたところ、菌株ごとに免疫学的活性の多様性がみられた。TNF-α誘導能が強い菌株においては免疫刺激作用が、TNF-α誘導能が低い菌株においてはアレルギー・炎症抑制作用がそれぞれ期待される。以上の結果を下記の表２に示す。これらの結果と今後行うコメ発酵性の評価を総合し、スターター菌株候補を選抜する。

表２　ミキ由来乳酸菌40菌株の特性・アミラーゼ活性

16S-based Identification	Strain	Relative TNF-a	Amylase
Lactobacillus paracasei subsp. *tolerans*	MKY11-1	0.966	－
	MKH3-1	0.854	＋
Lactobacillus plantarum subsp. *plantarum*	MKK11	0.635	＋
Lactococcus garviaea subsp. *garviaea*	MKT5	0.686	－
Lactococcus lactis subsp. *hordniae*	MKT6	1.294	－
Lactococcus lactis subsp. *lactis*	MKH1	1.672	－
	MKT12	0.478	－
Lactococcus raffinolactis	MKY7	0.769	＋
Leuconostoc citreum	Gen4	0.009	－
	Gen5	0.073	－
	Gen8	0.066	－
	MKY14-1	0.000	＋
	MKK13	0.021	＋
	MKH7	0.092	－
Leuconostoc holzapfelii	Gen2	0.000	＋
	SKK8	0.075	＋
	MKH7’	0.014	－
	MKH5	0.000	－
Leuconostoc lactis	MKTⅡ1	0.037	－
	MKTⅡ4	0.014	＋
	MKTⅡ5	0.026	－
	MKA3	0.030	＋
	MKA5	0.015	－
	MKY1	0.151	－
	MKY3	0.046	－
	MKY4	0.108	－
	MKY5	0.153	－
	MKY8	0.047	＋
	MKY10	0.046	＋
	MKK2	0.788	＋
	MKK3	0.019	＋
	MKK5	0.004	－
	MKT2	0.031	－
	MKT10	0.002	－
	MKT11	0.012	－
Leuconostoc mesenteroides subsp. *dextranicum*	SKK7	0.286	－

Leuconostoc mesenteroides subsp. *dectranicum*	MKY12-2	0.146	−
Leuconostoc pseudomesenteroides	SKK5	0.074	＋
weissella confusa	MKA6	0.718	＋
	MKT4	0.020	−

８．実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

本研究と関連する研究過程で栄養強化米中に含まれるアルカロイドの一種であるトリゴネリンが血中および肝臓中で検出されることを動物試験で得ている。一方、トリゴネリンはアルツハイマー病などに有効と言われているが、その詳細な機構については検討されていない。そこで我々は栄養強化米の更なる付加価値化を目指し、トリゴネリンが持つ抗酸化能に着目し、研究を並行して行っている。具体的には、トリゴネリンが大腸菌由来リポポリサッカライド(以下、LPS)処理による酸化ストレス(一酸化窒素量：NO を指標)を軽減でき得るか否かについて分子生物学的手法を用いた検討を引き続き行う。これまでに玄米抽出物およびトリゴネリンをマクロファージ様細胞に処理することで LPS 誘導性の NO 産生量を抑制する結果を得ている。その抑制メカニズムは NO 産生酵素である iNOS 遺伝子発現および酸化ストレスを惹起する細胞内シグナル分子 JNK1/2 の活性を抑制することであることも明らかにした。現在、詳細な細胞内シグナル伝達経路の特定を目指しており、年内の論文投稿を目指している（学会発表２）。

９．残された問題点と今後の研究推進方策

２年目は、栄養強化米の安定供給の他に、更なる高付加価値化を目指した研究を遂行してきた。その結果、栄養強化米の摂取が栄養代謝を改善することを明らかにしたが、課題点として、動物試験下において栄養強化米投与群の摂食量が減少する結果を得ている。一方で、初年度の研究成果から精米しても栄養強化米中の鉄濃度は 60%維持されていることを確認していることからも玄米食に拘らず、馴染みのある精白米での栄養学的試験が必要不可欠であると考える。そこで最終年度は精白米での検討を行い、玄米でも白米でも栄養代謝改善が可能であることを証明する試験を最終年度に設定することで解決を図る。これに並行して洗米によるミネラル分の流出量を踏まえ、適切な炊飯条件を設定することで、おいしくたべることができる調理および加工方法(長期保存などを含む)の確立を行う。さらに、栄養強化米の栽培において玄米へ鉄やマンガンなどのミネラル成分をより高濃度に移行させるためには、栽培方法や環境条件も大きく影響する可能性もあるため、高品質な栄養強化米の安定供給のための栽培方法のさらなる検討を実施する。

以上、多くの課題が残されているものの、本問題点を一歩一歩クリアすることで本プロジェクトの最終目標である新品種の確立から「Farm to Table」-「Table to Body」の全ステップを包括的かつ科学的知見に基づいた東京農大独自の栄養強化米の開発が可能となり、社会貢献につなげることが現実味を帯びてくると考える。

１０．公表した成果一覧

学会発表(口頭発表)

１）関本 純輝、井上 博文、斎藤 彰宏、大島 宏行、辻井 良政、本間 和宏、田中 未央里、高橋 信之、上原 万里子、新規栄養強化米投与による鉄欠乏性貧血の改善効果、第 59 回日本食生活学会　2019 年 12 月 1 日-2019 年 12 月 2 日

2）相澤 有美、齋藤 彰宏、井上 順、鈴木 司、本間　和宏、井上 博文、トリゴネリンによるLPS誘導性酸化ストレスの軽減作用の検討、第59回日本食生活学会　2019年12月1日-2019年12月2日

3）相澤 有美、曽我 朋義、佐藤 清敏、齋藤 彰宏、大島 宏行、井上 博文、辻井 良政、井上 順、鈴木 司、本間　和宏、メタボローム解析を用いた過食性肥満モデルZucker-Fattyラットに対する新規栄養強化米摂取の影響、第58回日本食生活学会　2019年5月25日

シンポジウム(招待講演)

1）井上博文、斎藤 彰宏、勝間田真一、本間和宏、 勝間田(坪井)理恵、田中未央里、高橋信之、上原万里子、鉄欠乏状態による骨脆弱化とビタミン類の体内変動、 レドックス・ライフイノベーション第170委員会20周年記念 若手シンポジウム　2020年1月 20日-21日

２０１９年度 東京農業大学 学部長主導型研究プロジェクト
研究成果報告書

研究代表者　　吉田　穂積

１．研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
「地域主体のアザラシの循環型順応的管理システムの構築を目指して ～アザラシの生態系サービスと有効利用の可能性を探る～」	11,900 千円

２．研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	吉田　穂積	生物産業学部　北方圏農学科・教授	総活
研究分担者	小林　万里	生物産業学部　海洋水産学科・教授	生態系サービス・有効利用
	相馬　幸作	生物産業学部　北方圏農学科・教授	有効利用（残滓）
	中丸　康夫	生物産業学部　北方圏農学科・教授	有効利用（残滓）
	和田　健太	生物産業学部　北方圏農学科・准教授	生態系サービス
	大久保　倫子	生物産業学部　北方圏農学科・准教授	生態系サービス
	丹羽　光一	生物産業学部　食香粧化学科・教授	有効利用（脂肪）
	南　　和広	生物産業学部　食香粧化学科・教授	有効利用（脂肪）
	笹木　　潤	生物産業学部　自然資源経営学科・教授	経済的評価
	菅原　　優	生物産業学部　自然資源経営学科・准教授	経済的評価

３．研究期間

２０１９年４月１日～２０２０年３月３１日（３年計画の１年目）

４．研究の背景（当初）

北海道の基盤産業は漁業である。しかし、漁業資源の衰退や燃料の高騰により、かつては遠洋漁業が主流でであったが、近年は沿岸における待受け漁業に変遷してきた。それにより、アザラシの生息場所と漁場がオーバーラップするようになった。さらに、人間によるアザラシ利用が激減したため、その生息個体数は増加傾向にあり、加えて、地球温暖化による流氷の減少により、アザラシの来遊域の南下拡大、来遊期間の長期化等が確認されており、北海道におけるアザラシによる漁業被害は年々、深刻化している。アザラシは、捕食可能な魚を何でも捕食する広食性（ジェネラリスト）であるため、待受けの漁網のような集魚性が高い場所は、容易に採餌できるため餌場と化してしまうのである。こ

のように、アザラシの個体数増加と漁業資源の衰退が相伴って、年間漁業被害額は 4 億円以上となっている。さらに、アザラシによる被害が激しく、漁業活動ができない地域も存在する。このことは、**北海道の社会問題となっているだけでなく、これは魚を食べる日本文化にも大きく影響している**。

以上のように、**北海道では、アザラシは漁網の魚を食い荒らす海の害獣**という位置づけであり、被害軽減のためには個体数管理は必要不可欠とされている。実際に、回遊性のゴマフアザラシにおいては、各地で漁業被害軽減を目的に有害駆除を行っているが、駆除効果検証や来遊個体数の動向等の生態的知見は乏しく、順応的（フィードバック）管理には結びついていない。一方、希少種であり定着性の高いゼニガタアザラシにおいては、生態的知見のもと試験的捕獲が行われているが、最終的な管理目標においては、「アザラシは害獣」という価値観しかない漁業者との間で意見の相違が存在している。さらに、これら駆除個体や捕獲個体は、一部研究用のサンプルとしているが、大部分は産業廃棄物となっているだけで、その有効利用の可能性も未知のままである。

５．研究目的

北海道では、アザラシは漁網の魚を食い荒らす「海の害獣」という位置づけになっている。漁業被害軽減のためには個体数管理は必要不可欠である。しかし、これら駆除個体は、現在、廃棄物となっているだけで、その有効利用の可能性も未知のままである。そこで、本プロジェクトでは、まずその有効活用を検討する。有効活用も含めた取り組みは、他の多くの野生動物管理でも実施されているが、本プロジェクトの特徴は、さらにアザラシのプラス面を追求するところにある。アザラシによる生態系サービス、つまり生態系の中でプラスになる役割を解明することである。一般に、アザラシの生息地は、昆布藻場の有名な地域と一致する。アザラシは沿岸生態系の高次捕食者であり、そのバイオマスが非常に大きいため、海水中のアザラシ由来の有機物が分解され、昆布藻場の繁茂に寄与している可能性が考えられる。もし、このことを実証できれば、アザラシは「海の害獣」という価値観を変えることができ、順応的管理に必要な管理目標を明確にすることが可能となる。最後に、アザラシがその地域にいることにより地域が活性化するかどうかや循環型順応的管理の経済的な評価を行うことによって、持続可能で実践的な管理であるかを評価する。

そこで本研究では、①アザラシの生態系の中の役割を明らかにすること（生態系サービス）、②脂肪と筋肉や骨などの残滓に注目したアザラシの有効利用の可能性を示すこと（有効利用）、さらに、③アザラシがその地域にいることの経済評価を行い、循環的に管理が回るシステムを構築すること（経済的効果）を目的とした。

６．研究（実験）方法

① 生態系サービス

「アザラシ由来の窒素が昆布の繁茂に寄与しているのか？」ということを証明するために、えりも地域をモデル地域に設定し、年間を通して、毎月海水を採取し、4 月と 6 月にはさらにコンブも採取する。

海水は、そこに含まれる窒素量（トータル窒素（TN）と NO_3、NO_2、NH_4）をオートアナライザーで計測、それらの周年変化を把握する。また、海水中の窒素が海由来か陸由来かを安定同位体比で調べる。さらに、海水中のアザラシ由来環境 DNA 量を qPCR で計測する。コンブは、その質を乾燥重量や長さ、色で評価し、そこに含まれる窒素が海由来か陸由来かを安定同位体比で調べる。これらの関係から、どれくらいの範囲でアザラシ由来の窒素がコンブの繁茂に貢献しているのかを検討する。

2019 年度の研究内容

▸本プロジェクトへの地元への協力依頼と採水ポイントおよび時期等の設定

▸アザラシ由来環境 DNA 量の検出方法の検討

▸ドローンによるアザラシの密度推定法の確立

2020 年度の研究内容

▸採水とコンブ採取の実施および窒素量や安定同位体、環境 DNA 検出の分析

▸アザラシの密度およびコンブの繁茂量との関係

2021 年度の研究内容

▸コンブの生育とアザラシの関係性の解析・結論

② 有効利用

本プロジェクトでは、かつてに利用の実績のある毛皮は除き、これまであまり検討されてこなかった、脂肪と筋肉や骨などの残渣に着目する。

有効利用を考える上では、アザラシ 1 個体あたりから脂肪や残渣の収量がどれだけあるか等の量の基礎情報を明らかにし、それらの量を推定できる換算式の算出を試みる。また、彼らは野生動物であるため、季節、地域、雌雄、成長段階で食性が異なるため、脂肪や残渣の質が異なる可能性がある。さらに、その質を踏まえた上で、脂肪では抗炎症作用や血管拡張機能の効果検証の結果から化粧品やサプリメントへ、残渣では発酵処理をして処理物の化学成分および植物バイオアッセイの結果から肥料への有用性を検討する。

2019 年度の研究内容

▸アザラシ 1 個体からの脂肪収量や残渣（筋肉&骨）収量の推定

▸アザラシの脂肪酸組成と他の動物との比較

▸発酵処理の方法検討

2020 年度の研究内容

▸アザラシ 1 個体からの脂肪収量や残渣（筋肉&骨）収量の推定（継続）

▸アザラシの食性の違いによる脂肪酸組成や筋肉組成の相違

▸発酵処理の実施

2021 年度の研究内容

▸アザラシの不飽和脂肪酸の効用（抗炎症作用＆血管拡張機能）の解明

▸発酵処理済み物質の化学成分分析および植物バイオアッセイ分析

③ 経済的効果

アザラシの被害量と観光等による利益の現状の聞き込み調査に加え、他の野生生物の価値を評価した文献調査等から、アザラシの未知な価値を含めた経済的評価を行う。

2019 年度の研究内容

▸アザラシの観光資源の実施把握

2020 年度の研究内容

▸えりも以外の地域でのアザラシツアーの実態調査（別海町、厚岸町など）

▸アザラシツアー参加者へアンケート調査

▸昆布漁師へのヒヤリング調査

▸自然科学分野の知見を活用した評価シナリオの検討

2021 年度の研究内容

▸自然科学分野の知見を活用したアザラシの経済的価値の評価

７．研究成果

① 生態系サービス

▸地元への協力依頼と採水ポイントおよび時期等の設定

「アザラシは害獣」という価値観の地域で、本プロジェクトを推進していくためには、地元の理解と協力が必要不可欠である。そのため、地元説明会を、7 月 30 日（火）は漁業協同組合の幹部職員（約 20 名）に対して行ったところ、本プロジェクトはアザラシの個体数管理を否定するものではないか？との意見や「アザラシ糞尿＝臭い」が、たとえコンブの成長を助けるとしても悪イメージでは？という否定的なご意見を頂いたが、一方できちんとした広域の調査をするべきではとの意見もあり、実際に浜の声を聞いて見ることになった。次に、10 月 1 日（火）に、漁業協同組合の昆布実行組合長（約 25 名）に対して行い、浜の声としてはむしろコンブの栄養素がいつ、どこに多く、それが何処由来かを知りたいと、理解と協力を得られることになった。

さらに、11 月 13 日（水）～11 月 15 日（金）に各実行組合長を回り、アザラシやコンブについての聞き取り調査を行い、アザラシによる生態系サービスのための採水およびコンブのサンプリング区画を、各地域 2～４ポイントで計 25 ポイント（図１）、岩礁帯は 10 ポイント（図２）を設定、2020 年 1 月～2021 年 3 月まで月 1 回のサンプリングを地元漁業者に船を出してもらい実施した。

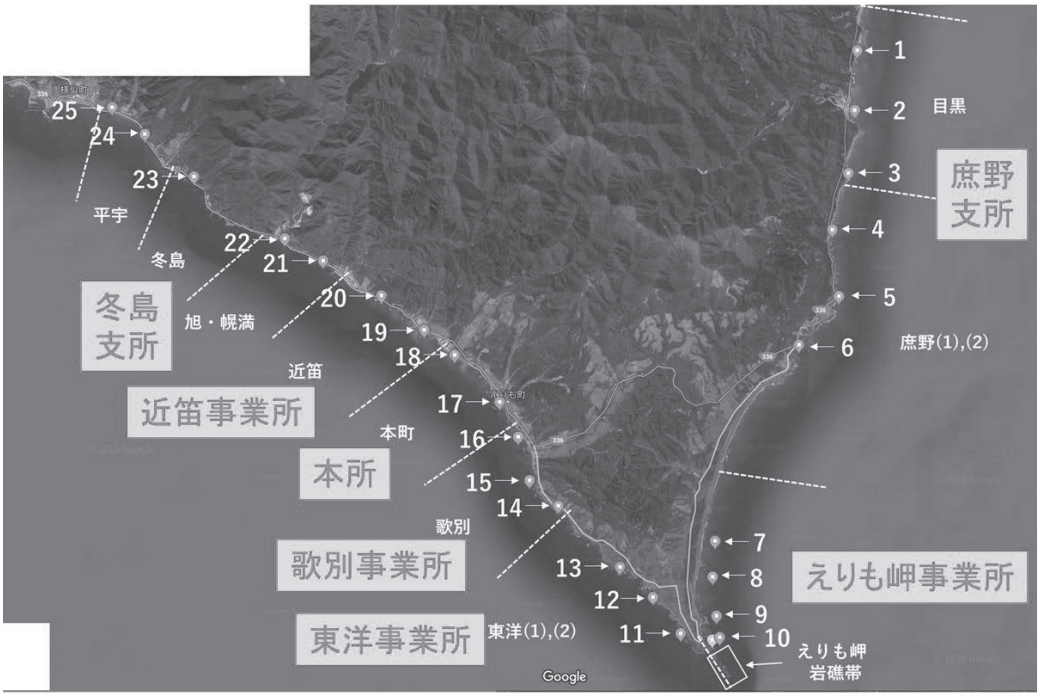


図１　各実行組合の採水およびコンブのサンプリングポイント（計 25 ポイント）

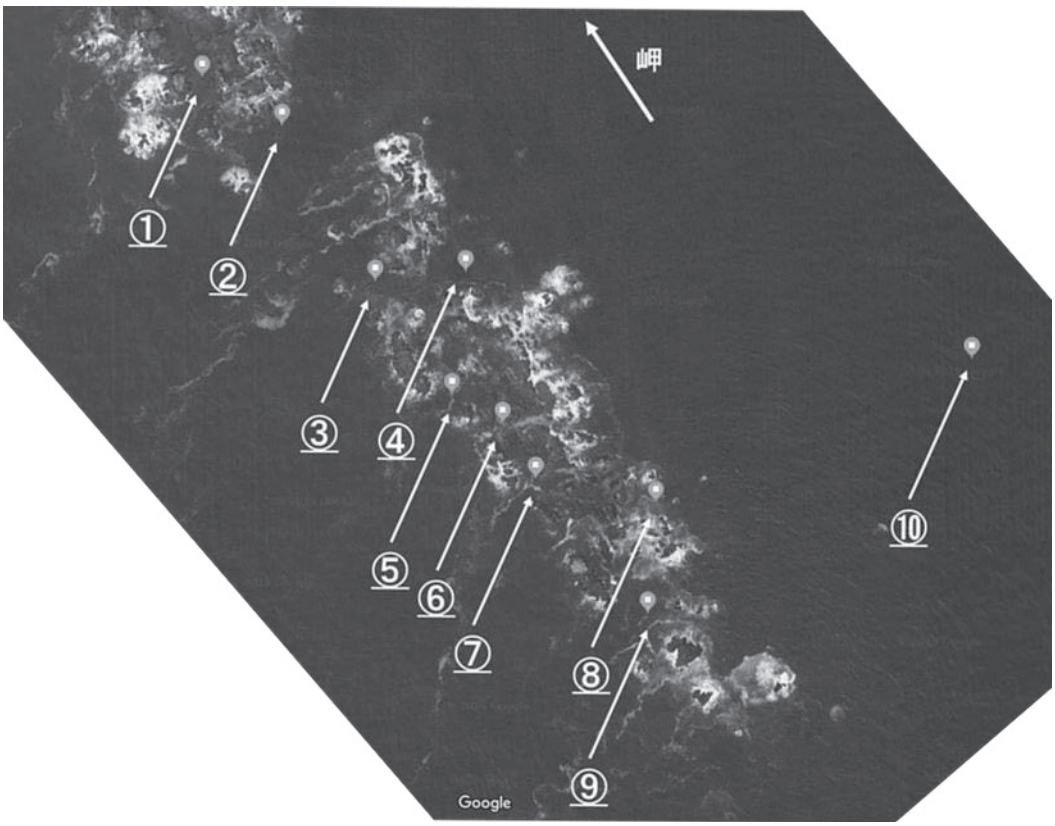


図２　えりも岬岩礁帯の採水およびコンブのサンプリングポイント（計 10 ポイント）

▸アザラシ由来環境 DNA 量の検出方法の検討

【方法】

アザラシ由来環境 DNA 量の検出方法は、各ポイントで１L ずつ 10 回水を汲み、良く混合したのちそこから１L を分取する。その水をステリベックスで濾過し、キアゲンキットで、カラムから DNA を抽出する。アザラシ特異的なプライマー・プローブを設計し、定量 PCR にて抽出した DNA 中のアザラシ由来配列のコピー数を計測する。

【プライマー・プローブの設計とアザラシ特異性】

プライマー・プローブは、データベースの配列をもとに、ミトコンドリア DNA の 12S（リボゾーム）rRNA 遺伝子領域の一部を捕捉するように設計した。このプローブ・プライマーの種特異性を確認するために、BLAST にてプローブとフォワードとリバースの両プライマーと 100%配列が一致するのは、ゼニガタとゴマフアザラシのみであることを確認した。また、このプライマーで、飼育水 DNA をテンプレートとして通常 PCR し配列を解読した結果、プライマーだけでもアザラシ DNA のみを特異的に増幅できた。さらにプローブを用いるため、種特異性は非常に高いと考えられた。

【実際の海水でのアザラシ由来 DNA の検出】

８月６日・7 日、９月３日にえりも岬の岩礁帯１３ヶ所（図３）から採取した実際の海水で実験を行なった。③と⑧のポイントでの採水は水深 1m で、その他のポイントでは表層水を採取した。その結果、ネガティブコントロール（テンプレートなし）である⑭以外で、アザラシ由来環境 DNA 量が検出された。今回、アザラシ由来環境 DNA が多く検出された場所⑦や⑧は、アザラシの存在が近くで確認できるところだった。アザラシの上陸場のあるえりも岬岩礁帯から少し沖に離れると、コピー数が極端に少なくなり検出が困難になった。環境 DNA は非常に分解されやすく、また、すぐに海水に拡散してしまうため、検出できるのは極めて限定的であることがわかった。さらに、今回岩礁帯の⑦と⑧では、⑧の方が圧倒的多くのアザラシ由来環境 DNA が検出されたことから、表層より

も水深 1m の海水の方が、本研究には適していることが示唆された(図 4)。

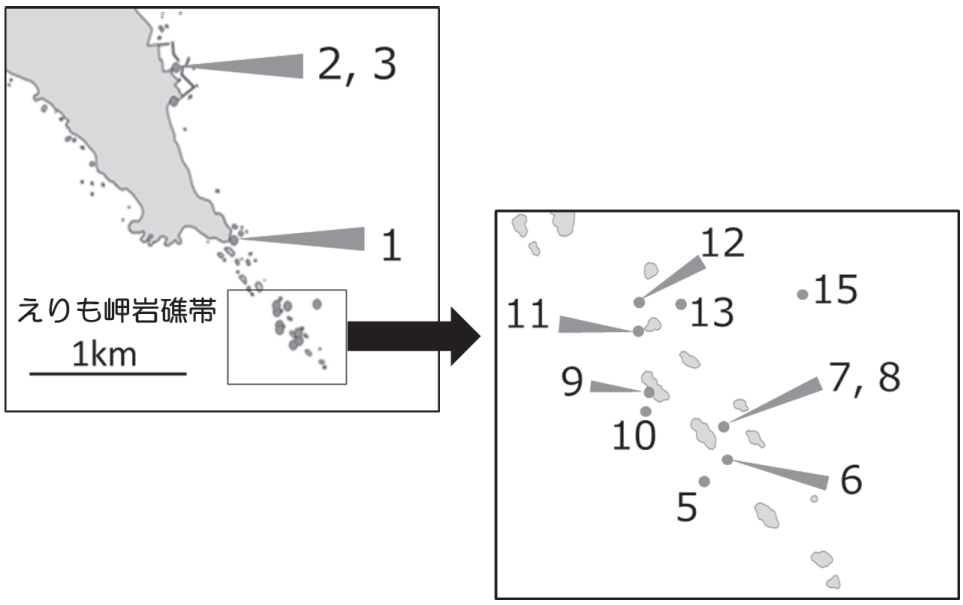


図３　アザラシ由来環境 DNA の検出を試みた採水地点（12 ポイント）
※３と８は水深 1m、その他は表層水、14 は欠番

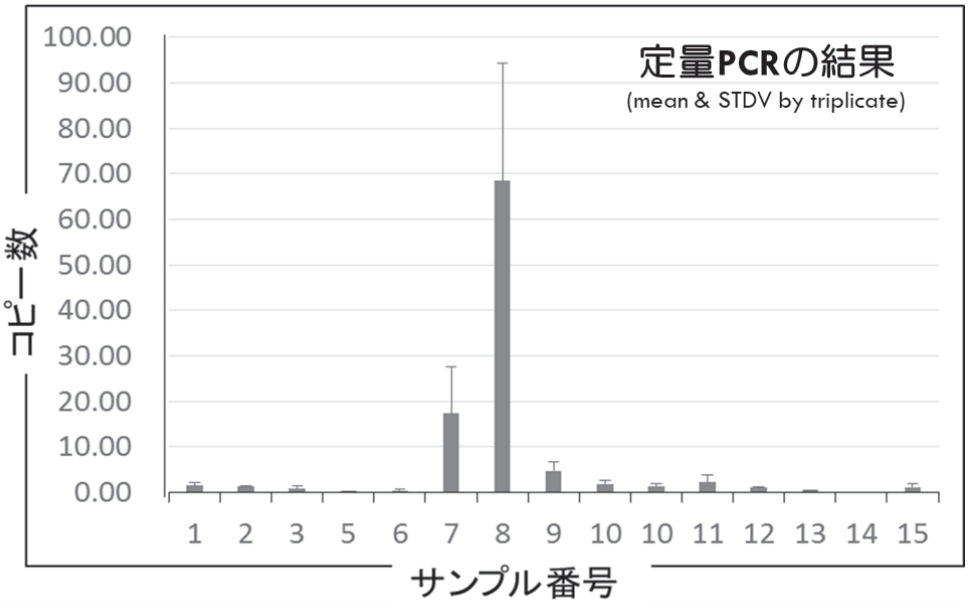


図 4　採水ポイントからの海水の定量 PCR のコピー数
※14 はネガティブコントロール（テンプレートなし）

【定量 PCR 法の評価】

はじめに、検量線を作成したところ、リファレンス DNA（通常の PCR により、10～10000 コピーのターゲット領域 DNA を準備し、リファレンス DNA とする）の相対量としてはほぼ正確に検量線が引けた（R^2=0.99)。また手技の確認として、ポジティブコントロールとして加えた飼育水由来環境 DNA では、アザラシ 由来 DNA は数千コピーと計測され、開放水面の海水よりずっと多かったこと、ネガティブコントロール（テンプレートなし）では増幅が見られなかったことから、DNA 抽出から定量 PCR の手技は誤りがないと考えられた。

表１　定量 PCR による測定結果（コピー数）

※14 はネガティブコントロール（テンプレートなし）、L21 はアザラシ飼育水

sample	1	2	3	5	6	7	8	9	10	10	11	12	13	14	15	L21
mean	1.43	1.24	0.92	0.23	0.46	17.34	68.43	4.75	1.90	1.35	2.33	0.98	0.50	0.00	1.12	2675.91
STDV	0.61	0.09	0.49	0.10	0.37	10.20	25.77	2.05	0.74	0.50	1.52	0.10	0.07	0.00	0.72	1452.61

▸ドローンによるアザラシの密度推定法の確立

海水の窒素量やアザラシ由来環境 DNA 量とアザラシの密度との関係性を調べるために、アザラシの密度の指標が必要である。そのためには、その時、そこにいるアザラシの数を把握する必要がある。すなわち、上陸個体と遊泳個体の合計を把握する必要があるが、遊泳個体は観察では把握が大変発見が困難である。そのため、ドローンで可能かを検証した。その結果、ドローンで撮影した動画およびドローンの写真から作成したオルソー画像で遊泳個体をカウントできることが確認できた。これらの成果から海水を採水する時に同時にドローンを飛ばすことにより、その時のアザラシの個体数密度を推定できると考えられた。

② 有効利用

▸アザラシ 1 個体からの脂肪収量や残渣（筋肉&骨）収量の推定

アザラシは野生生物であるため、季節や成長段階によって体重を変化させ、それに伴って脂肪量も変化させると考えられる。有効利用を考えるためには、アザラシ 1 個体からの脂肪や筋肉や骨などの残渣量を推定できる必要がある。そこで、本プロジェクトでは 2019 年に回収できた 42 個体について、解体時に毛皮、脂肪、残渣にわけて解剖し、それぞれの重量を計測した（表 2）。まだサンプル数が十分量でないが、体重と脂肪収量の関係を調べたところ、相関があり、種によって明確に差異があることが示された（図５）。今後サンプル数を増やして季節、性別、成長段階に分けて解析し、アザラシ 1 個体からの脂肪や残渣の収量を推定する換算式を作成する予定である。

表２　アザラシ 1 個体からの脂肪収量や残渣（筋肉&骨）収量の推定サンプル数

	メス			オス			総計
種別	1歳以上	当歳	小計	1歳以上	当歳	小計	
ゴマフ	5	1	6	8	2	10	16
ゼニガタ	2	9	11	7	8	15	26
総計	**7**	**10**	**17**	**15**	**10**	**25**	**42**

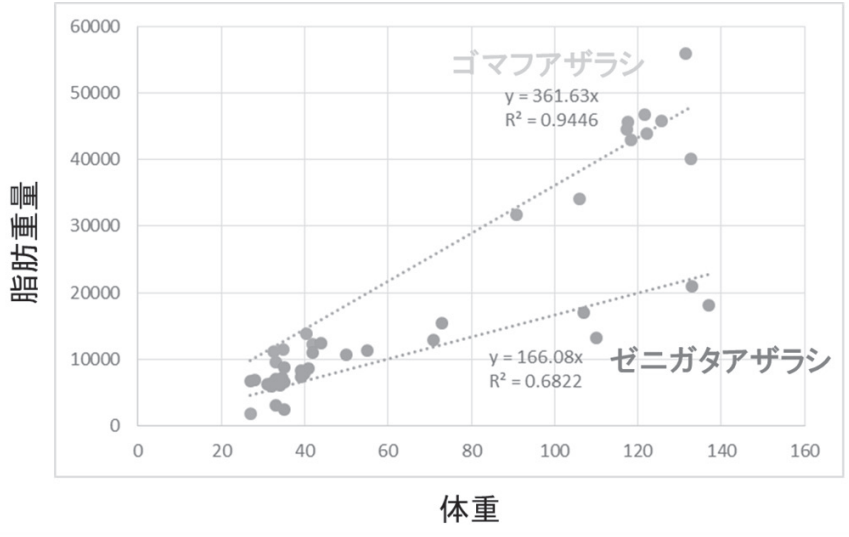


図５　種別の体重と脂肪重量との関係

▸アザラシの脂肪酸組成と他の動物との比較

野生個体のアザラシの脂肪の脂肪酸組成を調べ、他の動物種と比較した(図６)。その結果、飽和脂肪酸に対して不飽和脂肪酸の量が他の動物よりも圧倒的に多いこと、n-3（ω-3）系脂肪酸が他の種ではほとんどないのに対してアザラシでは、特にエイコサペンタエン酸が豊富に存在していた。一方、これまでの研究からアザラシは、場所や季節、雌雄で食性が異なることが知られている。そのため、脂肪に含まれる脂肪酸組成、注目している不飽和脂肪酸の組成も変わる可能性がある。これらのことから次年度に、食性による脂肪酸組成の差異を明らかにした上で、不飽和脂肪酸の効用（抗炎症作用＆血管拡張機能）の解明が必要であると考えられた。

(%)

	アザラシオイル	牛脂	オリーブオイル	エミューオイル	馬油	人の皮脂
ミスチリン酸	6.1	2.5	0	0.4	3	2.1
パルミチン酸	10.9	26.1	10.1	22	27	20.2
ステアリン酸	1.2	15.7	3.2	9.6	6	11.2
パルミトレイン酸	14.8	3	0	3.5	7	3.8
オレイン酸	23.5	45.5	73.8	47.4	35	30.8
リノール酸	1.5	3.7	11.1	15.2	15	15.1
α-リノレン酸	1	0.2	0.4	0.9	2	0.3
ドコサヘキサエン酸	11			<0.1		
エイコサペンタエン酸	7.6			<0.1		

図６　アザラシの脂肪酸組成と他の動物との比較

▸発酵処理の方法検討

通常、アザラシの駆除個体や有効活用後の残滓は、一般廃棄物の扱いとなる。このため、地方自治体の最終処分場が想定する運用年数の短縮などの影響が懸念されている。このため駆除個体や残滓について、減容化により処分場の供用年数の延命策を考える必要がある。先行するエゾシカでは残滓処理などで焼却処理や発酵処理が行われている。施設の維持費や処分費用を考慮すると、比較的安価に減容化できる発酵処理が有力と考えている（表３）。また、発酵処理後の残渣は、有機肥料としての活用も望める。このため。エゾシカ残滓の微生物処理を参考にして、アザラシの残滓処理の検討を始めた。まずは、微生物処理に必要な時間の検討や、処理後の有機肥料としての評価が必要になる。

表3　発酵処理施設(枝幸町、興部町)と焼却処理施設(和寒町)の主な運営費の比較

項目	主な内容	興部町（千円）	枝幸町（千円）	和寒町（千円）
設備費(A)	借用料	480	—	—
人件費(B)	施設運営	720	—	—
消耗品費(C)	木材チップ、焼却用燃料など	130	282	2,236
その他(D)	車両燃料、委託料(菌代も含む)、切り返し車借上料	1,235	2,701	3,967
1頭あたりの処理費用(E)*	E＝(A＋B＋C＋D)/予定処理頭数	8.55	8.52	20.68

*処理頭数は、両町の有害駆除頭数(枝幸町350頭、興部町および和寒町(剣淵町含む)300頭)で計算した.

③ 経済的評価

▸アザラシの観光資源の実施把握

2019 年度は、2020 年 2 月 3 日および 4 日にえりも地域に出向き、アザラシの観光資源としての価値について地元の方々にヒヤリングした。ヒヤリングは、えりも観光協会やえりも町産業振興課、また実際にアザラシウオッチングツアーをしている旅館を対象者とした。えりも町には年間約 15-16 万人の観光客がきており、その中でアザラシウォッチングのコンブボートツアーは年間 200 人の利用。申込数はその倍以上の 400 人だが風や波の関係で運行できない日が多い。20-30 代の女性客が多く、外国からの観光客も増えている。利用者の評価も高くアザラシツアーの需要はあるとのことであった。これらのヒヤリング調査結果から次年度は、えりも以外の地域でのアザラシツアーの実態調査（別海町、厚岸町など）やアザラシツアー参加者へアンケート調査をすることによって、アザラシの観光資源としてのニーズはあるのか？ツアー参加者からアザラシの観光アイテムとしての価値を検討する。

さらに、えりも漁業協同組合やコンブ漁業者に被害の現状やアザラシとコンブの関係についてヒヤリングしたところ、昔からアザラシによる漁業被害（とくにサケ定置網）はあったが、ここ 2〜3 年は不漁もあり漁獲高に対する被害額の割合が高くなっている（10 年前：5%　現在：15%）。一方で、アザラシがいることによる磯焼けの防止効果、昆布資源量の増加への影響はよくわからないという意見もあったが、昆布の漁獲量は場所によっては、年々採れなくなってきているが、アザラシのいるところに昆布が多いという印象はあるとの意見もあった。来年度は、昆布漁師へのヒヤリング調査を行い、本プロジェクトの生態系サービスの結果を踏まえ、自然科学分野の知見を活用した評価シナリオの検討を行う予定である。

８．実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

特になし

９．残された問題点と今後の研究推進方策

① 生態系サービス

2020 年度の研究内容

▸採水とコンブ採取の実施および窒素量や安定同位体、環境 DNA 検出の分析

▸アザラシの密度およびコンブの繁茂量との関係

2021 年度の研究内容

▸コンブの生育とアザラシの関係性の解析・結論

② 有効利用

2020 年度の研究内容

▸アザラシ 1 個体からの脂肪収量や残渣（筋肉&骨）収量の推定（継続）

▸アザラシの食性の違いによる脂肪酸組成や筋肉組成の相違

▸発酵処理の実施

2021 年度の研究内容

▸アザラシの不飽和脂肪酸の効用（抗炎症作用＆血管拡張機能）の解明

▸発酵処理済み物質の化学成分分析および植物バイオアッセイ分析

③ 経済的評価

2020 年度の研究内容

▸えりも以外の地域でのアザラシツアーの実態調査（別海町、厚岸町など）

▸アザラシツアー参加者へアンケート調査

▸昆布漁師へのヒヤリング調査

▸自然科学分野の知見を活用した評価シナリオの検討

2021 年度の研究内容

▸自然科学分野の知見を活用したアザラシの経済的価値の評価

１０．公表した成果一覧

学会発表等

１）高野延道・小林万里　2019. 北海道 3 地域に来遊するゴマフアザラシ(*Phoca largha*)の生態系変動による食性の影響評価. 日本哺乳類学会 2019 年大会，　9 月 15 日～18 日，　中央大学後楽園キャンパス

２０１９年度 東京農業大学 農業 ICT プロジェクト
研究成果報告書

研究代表者　　杉原　たまえ

１．研究課題名および予算額

研究課題名	予算額（円）
宮古亜熱帯農場におけるＩＣＴを活用したヤムイモ生産システムの開発 （栽培管理記録システムを利用したヤムイモにおける Global G.A.P.認証の取得）	1,200,000 円

２．研究組織

	氏名	所属・職名	個別研究課題名
研究代表者	杉原　たまえ	国際食料情報学部 国際農業開発学科・教授（宮古亜熱帯農場長）	研究総括
研究分担者	菊野　日出彦	宮古亜熱帯農場 教授（宮古亜熱帯農場副農場長）	生産管理システムの構築・実施・普及
	齋藤　修平	地域環境科学部 生産環境工学科・博士研究員	生産管理システムの構築
	友利　行男	宮古亜熱帯農場・技術職員	生産管理システム実施
	西川　真衣子	宮古亜熱帯農場・技術職員	生産管理システムの実施と普及

３．研究期間

２０１９年４月１日～２０２０年３月３１日（３年目）

４．研究の背景（当初）

近年、国内外の農産物市場において、安心・安全な農産物の生産や環境保全を担保する安全基準に則った認証取得が重視されている。例えば、2020 年に開催される東京オリンピックでは、Global G.A.P. 認証済み農産物がオリンピック選手村などで優先的に買い上げられる見込みであることなど、世界的に食の安全に対して高い基準が要求されている。

一方、日本全国の農村では、農地や生産物に対する鳥獣被害が大きな問題となっている。沖縄県宮古島でもイノシシやイノブタによる同様の被害が多く報告されるようになった。Global G.A.P.認証の取得および品質維持のためにも、こうした獣害被害軽減は喫緊の課題である。東京農業大学宮古亜熱帯農場では、1990 年代から東南アジアや南太平洋島嶼を中心に、数多くのヤムイモの遺伝資源（200 品種以上）を導入・保全している。ダイジョを中心としたヤムイモのコレクションは日本最大規模である。これらの貴重な遺伝資源を保全しかつ有効利用していくには、ICT 技術利用による獣害被害を回避した安定的生産と、G.G.A.P 認証取得による付加価値の創出をする必要がある。

５．研究目的

昨今、食品の安全性や安全基準に則った生産過程の管理、環境保全等を担保する認証制度がより重視されるようになった。東京農業大宮古亜熱帯農場（以下「本農場」）は、こうした消費市場での動向に先行し、2017 年 8 月に、私立農学系大学で国内初となる国際的農業生産工程管理の認証「Global G.A.P.」を、ヤムイモ生産で取得した。その取り組みはマスコミでも注目されるところとなった（2017 年 8 月 22 日付日本経済新聞朝刊ほか)。

2018 年度も 2017 年度に引き続き Global G.A.P 認証の審査(2018 年 8 月 24 日)を受け、審査の結果、GAP 認証を継続させることに成功した（2018 年 10 月 18 日、認証期限 2019 年 8 月 7 日)。審査結果の内容も向上しており、是正処置なしで認証獲得となった。この審査結果向上の要因を分析すると①HACCP システム導入による労働安全と食品衛生管理の向上、②品質マネジメントシステム（以下 QMS）による文書管理があげられる。これらの研究成果を基に、近隣農家の GAP 認証取得のための助言を行っている。また、沖縄県の農業普及や GAP 担当者と意見交換を行い、その普及に努めている。2019 年度についても引き続き HACCP システム導入による労働安全と食品衛生管理の向上と QMS による文書管理の改良を行った。

残された課題としては①HACCP システムや文書管理および入力の簡素化と②潅水のモニタリング方法の確立である。①については、本年度はマイクロソフトのワード、エクセル、パワーポイントを用いて作成したが、これらソフトウェアの扱いに慣れていない農家（とくに高齢の方）は作成が難しい。そのためそのような農家でも簡単に作成、管理できるような仕組みやアプリケーションの開発をする必要がある。②については、現行の基準書ではリコメンド（推奨）であるが、近い将来、潅水の判断基準の明確化と潅水記録（日付と潅水量）の提出が GAP において義務化される。潅水記録については現在でも行っているが、潅水の判断については目視で行っている。これを IoT などの技術を用いて、根拠のある潅水判断を行う必要がある。

そこで、本研究は **GAP と農業 ICT を活用したヤムイモ生産技術の確立を目的**として、第一に Global G.A.P.認証取得を維持し（課題①）、次に、国際基準に合致した農業生産工程管理技術の開発を行い（課題②）、得られた技術を社会実装として普及活動を行った（課題③）。

６．研究（実験）方法

研究対象として 3 つの研究課題を提示した（図 1）。課題①は Global G.A.P.認証を維持し、ICT 技術を用いてより効率的な経営管理のノウハウの蓄積を、これまで GAP 取得に関する技術的サポートをしている（株）ファームアライアンスなどの企業と連携して行った。課題②は、テンシオメーター（土壌水分計）や UAV（ドローン）を活用し、安定したヤムイモ生産技術の確立と国際基準の農業生産工程管理技術の開発を行った。そして、課題③として、Global G.A.P.認証取得に関して開発された技術を社会還元として普及活動を行った。

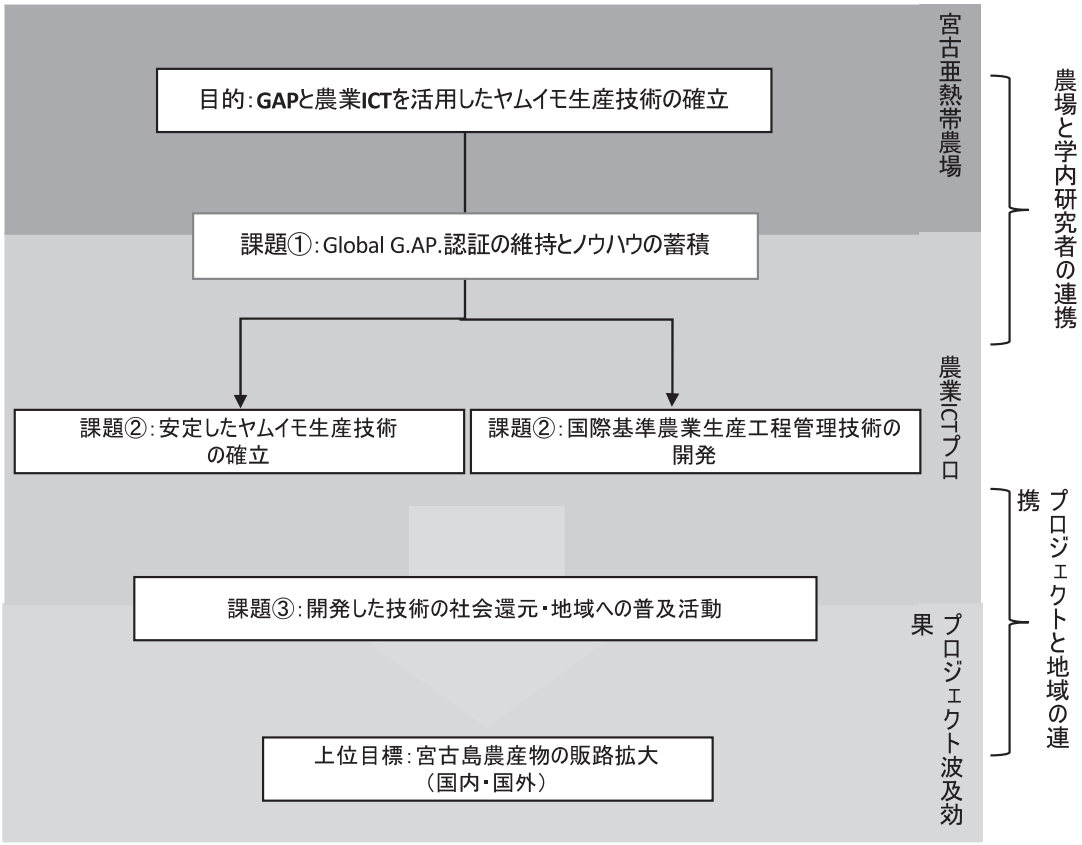


図１　研究計画・方法

７．研究成果

課題①：Global G.A.P.認証の維持と ICT 技術を用いたより効率的な経営管理のノウハウの蓄積

成果：宮古亜熱帯農場のヤムイモ生産における HACCP システムの導入及びその改良（安定したヤムイモ生産技術確立）

安定したヤムイモ生産技術の確立のため、特に生産物の安全性と労働安全を高めるために、ヤムイモ生産に HACCP システム を導入した。GAP 認証での生産物の衛生管理と労働安全は、生産工程でのリスクを事前に予期し、そのリスクへの対応が求められる。宮古亜熱帯農場でのヤムイモ生産の生産工程図（フローダイアグラム）である（図 2）。ヤムイモの全行程数は 88 工程であり、ハザード分析の結果（表 1）、生産物が生物的、化学的、物理的な汚染の恐れがある工程が 37 工程、作業者の事故や健康被害の恐れがある工程数が 31 工程あることを明らかにし、それらリスクのある工程すべてに対して、2018 年に標識設置、教育訓練の実施、ルールの文書化、手順書の作成などを行った。2019 年は PDCA サイ

クルに則り、すべての工程の見直し及び修正を行った。

その結果、コンサルタントによる Global G.A.P.の内部検査（2019 年 5 月 10 日）、そして Global G.A.P 認証の審査(2019 年 5 月 27・28 日)を受け、審査の結果、GAP 認証を継続させることに成功した（2019 年 6 月 26 日、認証期限 2020 年 8 月 7 日）。審査については年々審査項目の増加および厳格化が求められている。審査結果の内容は現状を維持しており、メジャー（必須）項目 は 91%→100%→98%、マイナー（選択必須）項目 は 89%→98%→93%、リコメンド（推奨）項目は 57%→87%→100%であり、一部是正処置があったが認証継続となった。メジャー及びマイナー項目は当然のことながら、リコメンド（推奨）項目の達成率が上がった。これは見直しによる項目カバー率の向上及び、教育訓練による農場関係者の理解・意識の向上があったと考える。

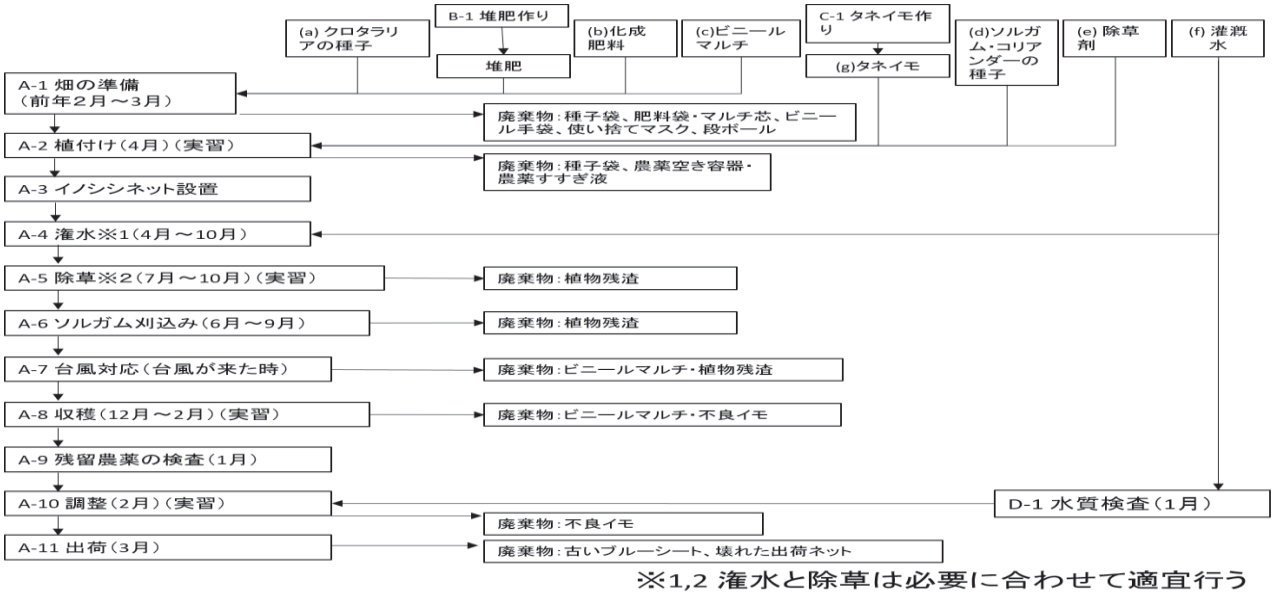


図 2　ヤムイモ生産の生産工程図の一部

出所）著者ら作成

表 1　ヤムイモ栽培におけるハザード分析表の一部

		圃場での作業者の労働衛生安全リスク			圃場での生産物の汚染（食品安全）リスク	
作業内容	場所	使用機械・道具・材料	考えられる事故・健康被害	対応策	考えられる生産物の汚染	対応策
A-1-1　耕耘	翌年の生産圃場	大型トラクター	・トラクターによる事故（労働安全）	・力量のある者以外使わない（力量表） ・使用前の安全点検（教育訓練E-2） ・使用後のメンテナンス（教育訓練E-2） ・定期的なメンテナンス ・ケガをしたら速やかに教職員か練習生に報告する（教育訓練E-1・手順書M-2）		
A-1-2-2 種子量計算・種子発注	管理棟					
A-1-2-3 クロタラリア種子受入れ	農具舎		・リフト操作による事故（労働安全）	・リフト下に注意喚起の標識設置（K-3） ・ケガをしたら速やかに教職員か練習生に報告する（教育訓練E-1・手順書M-2）	・保管場所での交雑汚染（物理・化学）	・決められた場所で保管する

出所）著者ら作成

課題②：安定したヤムイモ生産技術確立

成果：UAV を用いたヤムイモ畑の雑草管理技術の確立及び生育状況の把握

UAV（ドローン）を用いて、ヤムイモ畑の雑草繁茂の状況把握を行った（写真１）。上空から俯瞰してみることにより、現在どこにどれだけ雑草があるのか容易に確認することができ、除草の指示もピンポイントで行うことができる。また、飛行経路をプログラムした場合、見たい圃場を巡回するように飛行させることにより、見回りの時間を大幅に低減することが可能である。UAV を用いて雑草等の状況把握を行うことにより労働時間が大幅に低減さることが示唆された。

UAV の空撮で得られた画像を解析し、可視大気抵抗指数（VARI）を算出した（写真 2）。衛星画像で植生指数（植物の活性度）を解析する場合は正規化植生指数(NDVI)を用いる場合が多いが、今回使用した UAV では近赤外線での撮影ができないため、VARI で代用した。この指数を使うことにより作物の生育状況の把握ができ、無駄のない肥培管理や収量予測などを行うことが可能となる。また、写真 2 は品種保存用のヤムイモが栽培されており（3 番圃場）、品種間の指数の違いが確認できた。詳細な解析や実測データとの突合が必要であるが、ヤムイモの品種選抜や育種プログラムに UAV 画像の解析が利用できる可能性も示唆された。

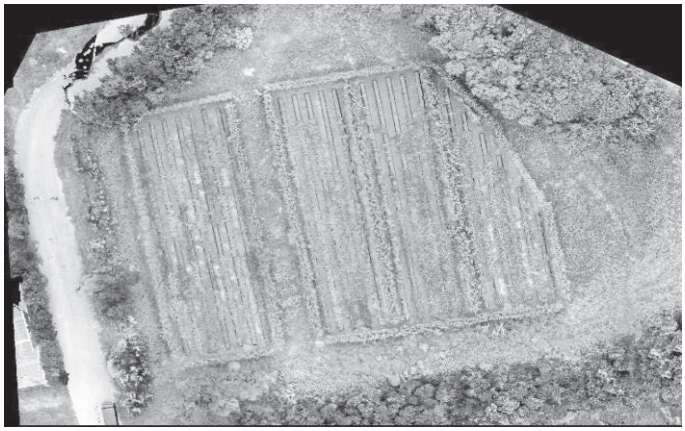


写真 1:3 番圃場（2019 年 7 月 8 日撮影）[1]

写真 2: 3 番圃場の VARI

[1] この写真は解析用にオルソ化（正射投影）したものなので見え方が実際の写真とは若干違うが、作業指示を出すだけならオルソ化する必要はない。

課題②：世界基準の農業生産工程管理技術の開発

成果：潅水のモニタリング方法の確立（世界基準の農業生産工程管理技術の開発）

これまで灌水のタイミングについては天気予報、圃場の植物体の観察によるものであり、作土中の土壌水分の状態については推測によるものであった。本課題では、これまで目視判断であったものから、客観的な判断指標として土壌水分計（テンシオメーター）を設置し、pF 値により表土から 40 cm 下の土壌水分の状態を判断し、灌水を行った。これまでの目視による判断では、植物体にある程度の水分ストレスがかかった状態で灌水を行っていたが、土壌水分計を用いた場合、pF 値の上昇から水分ストレスのかかる前に十分な灌水が出来、生育期間中、植物体に水分ストレスを与えることはなかった。

８．実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

課題③：開発した技術の社会還元・地域への普及活動

成果 1：東京農大国際食料情報学部における GAP を用いた OJT（on the job）トレーニング

Global G.A.P.認証取得から国際食料情報学部の国際農業開発学科の開発実習（必修）で Global G.A.P. 認証を取得したヤムイモの栽培で実践としての GAP を行っている。圃場の準備から植付け、管理作業、そして収穫から出荷までの工程について 1 年に 4 回（4 月・6 月・10 月・2 月）に分けて OJT 形式で GAP の論理から実際の圃場での細かい作業の注意点まで実習を行っている。今回からは国際食農科学科のフィールドスタディーツアーの中で、世田谷での GAP に関する実習前の事前授業を 1 回、12 月に実際の GAP による農業生産について OJT 形式で実習を行った。座学による理論と実際の生産現場での実践により、学生は GAP について深く理解できた。また、世田谷キャンパスにおいて教員 1 名、学生 1 名が自主的に講師を招き、JGAP 指導員資格を取得、他の教員も東京でグローバル GAP のインデユーサープログラムに自主的に参加し、グローバル GAP のインデユーサーの資格を取得した。これは上記の OJT による GAP に対する理解促進効果によるものと考えられる。このように実際に GAP 認証を取得している農場で実習を行うことにより GAP に関する理解やさらなる学習意欲に繋がっていると考えられる。今後は、本学の学生のみならず、地域の農業者や JA 職員、県職員への GAP 研修など発展していきたい。

成果 2：内閣官房オリンピック・パラリンピック推進本部事務局主催「GAP 食材を使ったおもてなしコンテスト」への参加と受賞

2019 年 8 月に内閣府沖縄総合事務局より「GAP 食材を使ったおもてなしコンテスト」の案内があった。本コンテストは、2020 年東京大会に向けて世界各国からホストタウンを訪問する各 国・地域の選手等に対して、全国の農業科のある高等学校や農業大学校とホストタウン自治体等が連携したプロジェクトチームで、「GAP 等の認証食材」を活用したおもてなしをする企画に取り組み、その取組を表彰することで日本の食材・おもてなしの心のすばらしさを発信することを目的として実施された。沖縄県においては、県内の農業高校や農業大学校を含む学校法人の中で東京農業大学宮古亜熱帯農場のみが GAP 認証を有していた。沖縄県で唯一の参加となり、9 月にコンテスト応募、1 次審査を通過し、2 次審査で全国に出場決定が公表された（写真３・４）。さらに 2020 年 2 月に全国から 40 の参加校の中から 9 校がコンテストにノミネートされ、東京農大宮古亜熱帯農場も選出された。授賞式が 3 月 8 日、東京白金台の「八芳園」で受賞式が開催される予定であったが、コロナの影響により中止となる。なお、受賞については「内閣官房東京オリンピック競技大会・東京パラリンピック競技大会推進本部事務局長賞」を受賞した。

写真３：おもてなしコンテストの料理。全ての料理にヤムイモが使われていた。

写真 4：おもてなしコンテストポスターおよび東京農大宮古亜熱帯農場の取り組み。

９．残された問題点と今後の研究推進方策

本研究は 3 年目でありプロジェクトとしては終了であるが、今後はこの Global G.A.P.認証取得と維持し、蓄積された成果の社会への実装化、普及活動を行う。

１０．公表した成果一覧

その他（Web コンテンツ）

1）GAP 食材を使ったおもてなしコンテスト（ヤムイモ食べて、いざ金メダルを！）、沖縄県宮古島市×東京農業大学 宮古亜熱帯農場、内閣官房東京オリンピック・パラリンピック推進本部事務局
https://gap.onsen-ouen.jp/teams/7

２０１９年度 東京農業大学 農業 ICT プロジェクト
研究成果報告書

研究代表者　　伊藤　博武

１．研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
NDVI 値による生育診断技術の開発（秋播き小麦品種「きたほなみ」への新たな施肥技術の構築）	800,000

２．研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	伊藤　博武	生物産業学部　北方圏農学科・教授	小麦調査・とりまとめ
研究分担者	松村　寛一郎	生物産業学部　自然資源経営学科・教授	NDVI 調査
	中丸　康夫	生物産業学部　北方圏農学科・教授	土壌調査
	笠島　真也	生物産業学部　北方圏農学科・准教授	小麦調査

３．研究期間

２０１９年４月１日～２０２０年３月３１日（３年目）

４．研究の背景（当初）

網走市周辺地域の秋播きコムギ品種「きたほなみ」の収量は、以前の主要品種である「ホクシン」よりも多収であると言われている。ただし、生産性が不安定で地域間や圃場間で品質と収量に大きな差がみられるなどの課題も残されている。秋播きコムギの高収量地帯である網走市音根内の第21 営農集団の秋播きコムギの作付面積は、組合全体で約40haで推移している。「きたほなみ」の栽培においては茎数過多を避け確実に追肥を実施する生育管理が求められる。NDVI 値の測定結果から生育の良好な場所と悪い場所が特定出来れば、安心で安全な窒素の施肥が可能になる。ただし、追肥の目安となる生育状況の把握には、地上からでは確実性と労働コストの低減に欠けると考えられる。

５．研究目的

本年度は，前年度と同じ農業者に研究の方向性を 2018 年の 8 月から説明し、9 月 27 日に播種を実施して頂くなど、また同一圃場内に慣行区（1.5 ha）と少量多回分肥区（2.5 ha）を設置した。そして、定期的にドローンを用いて NDVI 値を取得し、小麦の生育や単位面積当たりの収量との関係を検討した。

６．研究（実験）方法

調査圃場と品種：網走市平和地区のM氏圃場の秋播き小麦品種「きたほなみ」を用いた。

生育調査：最初の調査で平均的な地点を選び支柱を立て、そこから 5m四方の範囲内において畦幅 50 ㎝で草丈と茎数を各区 10 反復調査した。収量調査は収穫適期に各区の平均的な 7 ヶ所を選び、1 ヶ所当たり 1 平米分を収穫した。穂数と全重を測定した後に脱穀し、子実を 2.2 ㎜の篩に通して製品と規格外に分け、単位面積当たりに換算した。

７．研究成果

本研究に使用した圃場における茎数の推移を見ると、6 月 11 日以降から少多区が慣行区よりも 5%水準で有意に多くなり、少多区の穂数は慣行区よりも 5%水準で有意に多かったにも関わらず、整粒収量では有意な差が認められなかった（表１）。そこで、一穂粒重に着目すると、慣行区の方が少多区よりも 5%水準で有意に高かった。以上のことから、少多区は穂数が多いものの一穂粒重が低かったのに対し、慣行区は穂数が少なかったものの一穂粒重が高くなったことが分かった。

表1 18/19シーズンの収量構成要素

試験区	穂数	一穂粒重	千粒重	子実タンパク質含有率	整粒歩合	粗原収量	製粒収量
	本m^{-2}	(g)	(g)	(%)	(%)	(kg10a^{-1})	(kg10a^{-1})
慣行	610	2.18	47.9	12.1	99.2	748.5	742.2
少多	690	1.99	48.1	12.4	98.9	742.3	733.6
統計分析	※	※	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

※、※※およびn.s.は、それぞれ5%水準で有意差あり、1%水準で有意差あり、有意差なしを示す。

【18/19 シーズンについて】

日本農業新聞 2020 年 1 月 14 日の記事（荒木英晴，北海道農政部技術普及課）によれば、単位面積当たりの収量は平年比 21%増となった。多収の要因として、以下の 3 点が挙げられている。すなわち、「①越冬前の生育量が多く，生産性の高い頑健な茎を確保できた、②登熟期間中（出穂～成熟期）の日照時間が確保された地域が多かった、③起生期の茎数が多く追肥時期の遅延や追肥量を減らした、4～5 月の少雨により止葉が立ち受光態勢の良い草姿になった」の 3 点である。

【17/18 シーズンと 18/19 シーズンとの間の違いから見えること】

収量構成要素と整粒収量は、両シーズンとも慣行区と少多区との間に有意な差が認められなかった（表２）。シーズン間で比較してみると、18/19 シーズンの穂数、千粒重、整粒歩合および整粒収量は 17/18 シーズンよりも有意に高くなった。17/18 シーズンの穂数は 18/19 シーズンよりも有意に多かったのに対して、17/18 シーズンの千粒重は 18/19 シーズンよりも有意に小さく、整粒歩合も低くなった。荒木ら(2011)は、播種量を減らすことで越冬前茎数、成熟期穂数を減らすことができ、倒伏の軽減や整粒率の向上に有効だと報告し、成熟期の適正な穂数は 650 本/㎡であると主張している。本研究に使用した圃場の播種日は M 氏に確認したところ 2018 年 9 月 27 日であった。また、17/18 シーズンの起生期窒素施肥量は 8kg/10a であったのに対し、18/19 シーズンの起生期窒素施肥量は 4kg/10a であった。つまり、18/19 シーズンは前年度の指摘事項であった適期播種と適正な追肥量が M 氏によって実行されて適正穂数となり、過繁茂傾向に陥ることなく千粒重が大きく整粒収量も高くなった。

そして、穂数の決定に影響を及ぼす幼穂形成期から出穂期の NDVI 値に着目してみたところ、17/18 シーズンは約 0.4 から 0.6 へと推移し、18/19 シーズンは約 0.3 から 0.6 へと推移した（図 1）。17/18 シーズンの穂数は 18/19 シーズンよりも有意に多かった。一方、18/19 シーズンの起生期施肥量は 18/19 シーズンの半量として適性穂数となっている。以上の結果より、本研究では慣行法でも少量多回分肥法でも、起生期から幼穂形成期の NDVI 値が 0.3 程度に抑えられるような施肥管理が必要であると考えられた。

表2 17/18シーズンと18/19シーズンの収量構成要素と整粒収量

	栽培年次	試験区	穂数(本m^{-2})	千粒重(g)	整粒収量(kg $10a^{-1}$)	整粒歩合(%)
	17/18	慣行	899	41.8	635.8	95.6
	18/19	慣行	629	47.9	742.2	99.2
	17/18	少多	739	41.1	486.1	95.6
	18/19	少多	711	48.1	733.6	98.9
分散分析						
処理間			ns	ns	ns	ns
年次間			**	*	**	**
処理×年次			**	ns	ns	ns

**、*およびn.s.は、それぞれ5%水準で有意差あり、1%水準で有意差あり、有意差なしを示す。

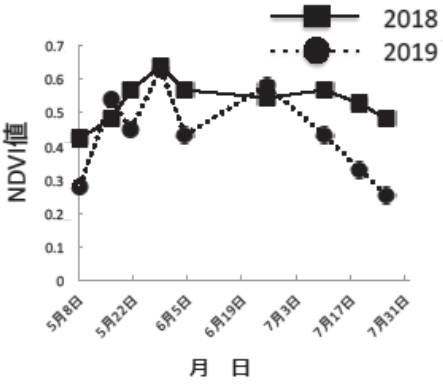


図1 慣行区におけるNDVI値の推移口

８．実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

９．残された問題点と今後の研究推進方策

１０．公表した成果一覧

その他

1） 松村寛一郎、高頻度・中分解能衛星を用いた小麦畑生育俯瞰手法の開発、アグリバイオ 12 月号、Vol3(14) ,2019

2） 松村寛一郎、高頻度・中分解能衛星を用いた小麦畑生育俯瞰手法の開発、第 53 回環境用水研究会、2020 年 1 月 11 日

２０１９年度 東京農業大学 ゲノム育種プロジェクト
研究成果報告書

研究代表者　　数岡　孝幸

１．研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
未来を担う酒造好適米品種を生み出すための研究 （東京農業大学が新しい酒造好適品種を開発する）	800,000

２．研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	数岡　孝幸	応用生物科学部 醸造科学科・准教授	育種のための小仕込み試験方法の確立
研究分担者	辻井　良政	応用生物科学部　農芸化学科・教授	酒造好適米の分析

３．研究期間

２０１９年４月１日～２０２０年３月３１日（３年目）

４．研究の背景（当初）

日本酒醸造に適する酒造好適品種は、山田錦や五百万石がよく知られ、これらはコシヒカリなどの主食用米とはその特性が大きく異なる。酒造好適品種は、タンパク質や脂肪を含んだ米表面を多く削り落とすことができるよう粒が大きく、胚乳組織細胞の発達に起因した米粒中心部の白色不透明な部分である心白の発現率が高く、麹菌が米の内部に入り込みやすいといった特徴がある。種々ある酒造好適品種の中でも山田錦は酒造米生産量の４割を占め、トップブランドであるが、その醸造適性は、米麹の酵素力価の大きさ、醪でのほどよい溶解速度など、杜氏の職人的な感覚で伝えられ、科学的な解明は進んでいない。本プロジェクト研究では、東京農業大学が新しい酒造好適品種を開発することを目標に、それを達成するために必要な基盤を構築することを目的としている。

５．研究目的

本プロジェクト研究は、東京農業大学が新しい酒造好適品種を開発することを目標に、それを達成するために必要な基盤を構築することを目的としている。具体的には、どのような品種を育種すると未来を担うことができるのか、またその育種の実現可能性の確認、そして、育種された酒造好適品種を評価する方法の構築である。

昨年度までの本プロジェクト研究において、184 銘柄の清酒の成分分析（アルコール度数、日本酒度、酸度、アミノ酸度、有機酸組成、香気成分組成、アミノ酸成分組成）を行うことで、清酒の品質低下の

要因の一つである“老ね”について、酒造好適品種の米中含硫アミノ酸量を減少させることで適えられる可能性が示したが、硫黄含量が異なる米で造られた清酒の老ねの進行速度の違いは確認されていない。また、同地域・同生産者によって育てられた酒造好適品種 4 品種を用いて、麹菌の生育、各種酵素生産量、デンプン分解性、デンプン構造などを調査し、多くの酒造業者に好まれ使用されている山田錦の特性の一端を明らかにした。本成果は、今後育種過程で得られると予想される多くの新品種候補を選抜することに役立つと予想されるが、実験に使用した山田錦の精米歩合が単一条件のものであり、その違いによる酒造への影響は未だ明らかになっていない。また、本プロジェクト研究を進展される過程で、県や企業の育種担当者から新規酒造好適米育種のスキームにおいて小規模・多種類同時仕込みの醸造技術がないため醸造試験が最後の一段階のみとなっている問題点が示された。

そこで、本年度の本プロジェクト研究では、硫黄含量が異なる米で造られた清酒の老ねの進行速度の違いを確認するための原料米の確保、山田錦の精米歩合と物性の関係、また、小規模・多種類同時仕込みの醸造技術の確立を目的とした。

６．研究（実験）方法

小規模・多種類同時仕込みの醸造技術確立と変異処理山田錦を用いた小仕込み試験

新規清酒製造用酵母の分離で培った小規模・多種類同時仕込みは、速醸酛をたてて総米 4〜5 kg 仕込む方法である。その方法をベースに、新規酒造好適米品種を選抜する際に必要な米違いの小規模・多種類同時仕込みの醸造技術の確立を試みた。詳細には、総米については、新規酒造好適米の育種過程に導入予定であることから、精米後の米を 4〜5 kg 準備できないことが予想される。そこで、総米 500 g での小仕込み方法の確立を試みることにした。また、米の種類が違っても酒母の完成度をできる限り均一にするため、一般的な速醸酛ではなく、高温糖化酛を採用することにした。

共同研究先であるヤンマー株式会社から入手した岡山、宮城、兵庫で収穫されたひとめぼれおよびその変異体 4 種、山田錦およびその変異体 1 種、交配育種系統 3 種の小仕込み試験醸造を実施した。また、山田錦および同じ圃場で栽培された変異山田錦 10 種の小仕込み試験も実施した。

精米歩合が異なる山田錦の特性

昨年度のプロジェクト研究で、麹菌の生育、各種酵素生産量、デンプン分解性、デンプン構造などを調査した 2017 年産山田錦を、研削式精米機(TM05 サタケ製)で搗精度 90〜30%(10%ごと)に精米した。蒸米物性を比較するため、同じ吸水歩合となるように浸漬し各精米歩合の蒸米を調製した。それらを用い、物性測定器（テンシプレッサー、タケトモ電気社製）の円柱型プランジャー(直径 30mm)を用いて低高圧縮法で物性を測定した。

７．研究成果

小規模・多種類同時仕込みの醸造技術確立と変異処理山田錦を用いた小仕込み試験

産地・品種が異なるコメおよびそれらの変異体を用いて小仕込み試験醸造を実施したところ、山田錦の製成酒で日本酒度がプラスまでキレ、順調に発酵が進んだことが確認された。同時に仕込んだ様々なコメからの製成酒は、日本酒度が山田錦の製成酒よりもキレているものからマイナスでとどまっているもの、アミノ酸度が山田錦の製成酒と同程度のものから高いものまで、様々な数値を示していた。酸度については、既報の論文で総米が少なくなると高くなることが報告されており、本試験醸造でも高い数値を示していた。本試験によって異なる原料米を使用することで、異なる製成酒ができることが示され

た。次に、山田錦とその変異体を用いた小仕込み試験を行った。本試験で用いたコメについては、タンパク含量がわかっている。製成酒の日本酒度、酸度、アミノ酸度を測定したところ、コメ中のタンパク含量と製成酒のアミノ酸度には強い正の相関（R=0.8072）があることが示された（図 1）。

本年度のプロジェクトにおける目的のひとつである小規模・多種類同時仕込みの醸造技術の確立について、12 本の仕込みを同時に行う技術基盤が確立できた。

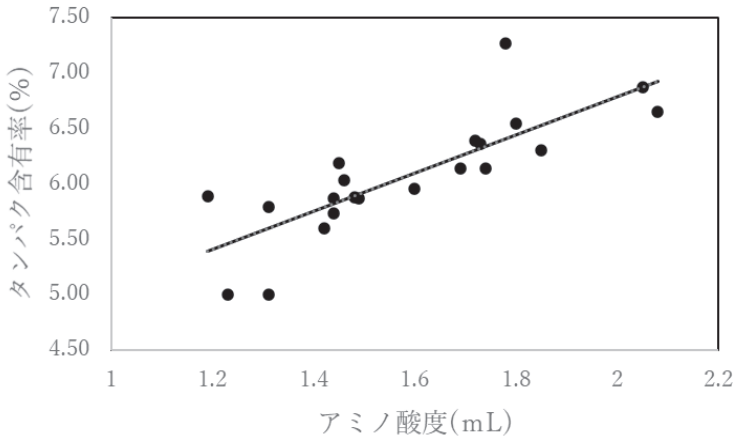


図 1　米中タンパク含有率と製成酒のアミノ酸度の関係

精米歩合が異なる山田錦の特性

昨年度のプロジェクト研究において、他の酒造好適米と比較し、外硬内軟な蒸米となりやすいことが示された。本年は、同じ山田錦を用いて異なる精米歩合・同じ吸水率で調製した蒸米の物性を測定した。表面の硬さ/全体の硬さを酒造適性である外硬内軟を表す指標として比較したところ、強い逆相関の関係（R=－0.9200）にあった（図 2）。この結果から、将来育種する酒造好適米の物性評価を行う際には、高精白の米を調製し実験する必要はなく、低精白の米での評価を実施できることが示された（図 3）。本結果から、本年度のプロジェクトの目的の一つである酒造好適米の精米歩合と物性の関係の一つを明らかにすることができた。また、昨年度までの研究成果とあわせると、低精白の米のアミロペクチン構造（a,b_2,b_3鎖の比率など）を分析することで、その品種の米における麹菌の生育、酵素活性、蒸米の外硬内軟、醪での溶解特性の度合いを推定できると期待される。

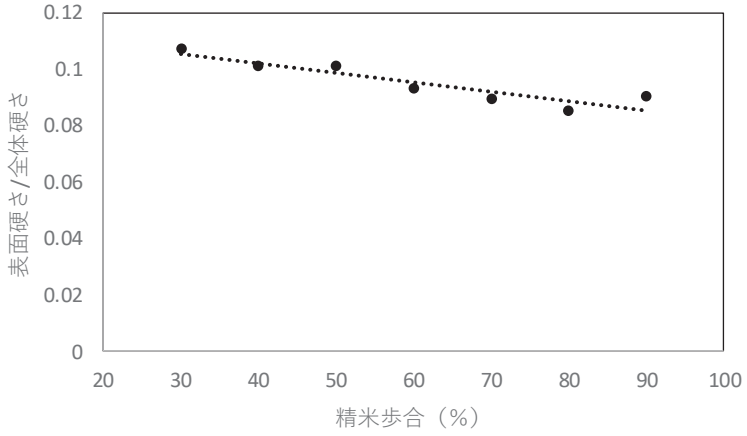


図 2　山田錦の精米歩合の外硬内軟度の関係

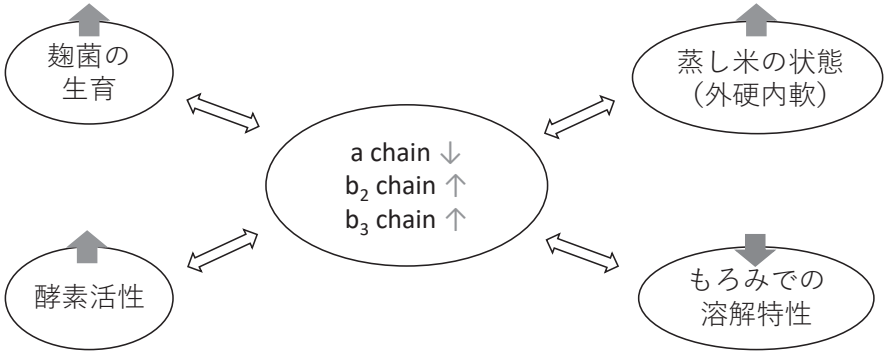


図 3　米のアミロペクチン構造の傾向と醸造特性の関係

８．実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

本プロジェクトで実施した小仕込み試験を、ヤンマー株式会社における新規酒造好適米育種への導入を試みている。また、来年度には北海道における新酒造好適米育種にも導入予定である。

９．残された問題点と今後の研究推進方策

新規酒造好適米育種のターゲットの一つを低硫黄含量米としている。その目的は清酒の老ねの抑止であるが、醸造特性が似ているが硫黄含量が異なる米を用いた醸造試験およびその老ねに関する実験を実施することができていない。現在、同じ品種ゆらいの硫黄含量が異なる変異体を、同じ圃場（同じ環境）で育成中であり、その米を取得することができれば、それらを用いた「硫黄含量がことなる米と製成酒の老ねの関係」に関する実験を実施予定である。

１０．公表した成果一覧

学会発表

1) Ryoka Tajima, Yuki Yajima, Yoshimasa Tsujii, Takayuki Kazuoka, Katsumi Takano: ISSAAS International Congress and General Meeting, Physicochemical analysis of the rice Yamada Nishiki used for sake.

２０１９年度 東京農業大学 ゲノム育種プロジェクト
研究成果報告書

研究代表者　　松本　隆

１．研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
植物工場栽培に適したダイコン品種のゲノム編集育種に向けた基盤構築 （ゲノム編集個体の作成と評価）	1,050,000

２．研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	松本　　隆	生命科学部　バイオサイエンス学科 植物分子育種学研究室　教授	全体統括
研究分担者	中村　進一	生命科学部　バイオサイエンス学科 植物分子育種学研究室　教授	人工気象条件下における栽培技術の開発
	伊澤　かんな	生命科学部　バイオサイエンス学科 植物分子育種学研究室　准教授	形質転換系の条件検討

３．研究期間

２０１９年４月１日～２０２０年３月３１日（３年目）

４．研究の背景（当初）

ダイコンはビタミン・ミネラルの供給源として活用されており、最近ではガンや生活習慣病の予防にも効能のある食材として注目されている。我が国の野菜の総消費量は減少傾向にある一方、サラダ等への健康増進食材への関心は高まっている。このためダイコンを含めた野菜類の加工・業務用の供給の強化が消費者・実需者から求められている。また、流通販売者にとって､植物工場を利用した加工用・業務用野菜の周年安定供給が求められている。すでに農大の研究者等によってダイコンのゲノム塩基配列の解明が行われ、ダイコンの農業形質に関する遺伝子の解明の端緒が開かれた。さらにこの数年、CRISPR/Cas9 等の酵素の遺伝子を細胞に導入してあらかじめ設計した通りにゲノムを改変する「ゲノム編集」技術が長足の進歩を遂げ、農業動植物の分野でも試験適用が開始されている。

５．研究目的

本プロジェクトでは植物工場におけるダイコンの周年生産に適した新品種を育成するため、ダイコンにおけるゲノム編集技術を開発する。平成 29 年度はゲノム編集の前提となるダイコンのカルス化-植物体再生系を構築し、30 年度はこの系にアグロバクテリウムによる形質転換系を適用させ、複数の品種を

材料に形質転換効率を調査した結果、ダイコンの形質転換効率には品種間差が大きいことが明らかになった。本年度は最終年度として、形質転換法のゲノム編集の系への適用を試みる。具体的にはゲノム情報を基にハツカダイコンの茎葉部分の可食利用を阻害している Trichome（毛耳）の除去を目的に Trichome 形成遺伝子を対象とする Cas ベクターを細胞に導入し、ゲノムが改変された植物体の作成を目指す。

６．研究（実験）方法

1．ダイコン形質転換系の効率化

昨年度、高効率な形質転換を目標に、ハツカダイコンの様々な固定種を胚軸からの再分化実験に供したところ、再分化率において品種間差が著しいことが明らかになった。最大の再分化率を示した品種ピラビックをもちいて形質転換の条件検討を行った。培養条件としては西尾らのコマツナの条件を改良したものを用いた。植物外殖片として、MS 培地・暗所で育成させた無菌幼植物の胚軸を 0.5～1cm 程度に細断してアグロバクテリウムと共存培養し、菌体除去後、植物ホルモン存在下カルス化・不定芽誘導させ、次いで発根培地で培養して形質転換体を得た。アグロバクテリウム法で植物に導入した Ti バイナリーベクターの薬剤抵抗性を指標に形質転換体候補となる植物体を選抜した。形質転換体の証明は、GUS(β-glucuronidase)の発現を PCR 及び GUS 染色で検出した。

2．GL1 遺伝子をターゲットにしたゲノム編集変異体の作出と変異の同定

ダイコンは根が生食されるが、葉や茎はトゲ（毛耳）による食感のため、可食部とならなかった。Arabidopsis においては Trichome の形成には多くの遺伝子が関わっており、その中で GL1（GRABRA1）遺伝子は MYB 転写因子として Trichome initiation に関わっていることが報告されている。ダイコンゲノム配列から、２つある GL1 遺伝子(GL1a,GL1b)の gRNA となる 20 塩基 および Protospacer Adjacent Morif(PAM)配列をデザインした Cas vector を構築して 1 で構築した形質転換の系によってゲノムに導入する。組換え体の GL1 遺伝子のターゲット部分を PCR で増幅し、サンガーシーケンスによって変異体の作成を調査する。形質転換体の形状から遺伝子変異の効果を評価するとともに、次世代（T1）におけるホモ変異個体を作出し、最終的な毛耳の形態を観察する。

以上の実験を通じて、ダイコンの Agrobacterium を用いた形質転換の系を拡張したゲノム編集個体を取得する。

７．研究成果

1．ダイコン形質転換系の効率化

昨年度の研究でダイコンの亜種・品種によって再分化能には大きな差があることが示された。最も高い再分化能はハツカダイコンの固定種「ピラビック（和名：時無し赤丸)」を用いて、アグロバクテリウム法でレポーター遺伝子（GUS）を含む Ti バイナリーベクターを導入した。組換え体の検証は、gDNA からの PCR,GUS 染色、GUS プローブを用いたサザンハイブリダイゼーションで検証した。その結果、組換えシュート形成を指標とする形質転換効率が最大（12. 5%）となった。これは既報にある価（0. 26%）より高く、実用的な水準の形質転換系を構築できたと考える。この小植物体を土植えによってさらに成長させ、抽台→開花を経て種子を得るところまで、個体差はあるものの成功している。

2．GL1 遺伝子をターゲットにしたゲノム編集変異体の作出と変異の同定

ゲノム編集のためには対象となるダイコン品種の正確な遺伝子配列が必須である。“ピラビック”のゲノム配列は明らかになっていないため“おそめ”の配列からプライマーを作成し、遺伝子のエキソン部分で NGG 配列を探索した。この際、ダイコンには 2 つの GL1 遺伝子（GL1a,GL1b）が存在し、どちらも偽遺伝子でないため、両方を同時に機能喪失させるために共通の 18mer（＋NGG 配列）を選びターゲットサイトとした。sgRNA および Cas ベクターは農研機構生物研遠藤氏より分譲いただいた。GL1 遺伝子で作成した 18mer を組み込んだ sgRNA と Cas 遺伝子を直結させ、アグロバクテリウム法でピラビックの胚軸に導入した。Hygromycin 選抜によって形質転換個体を得ることができた。GL1 遺伝子を PCR で増幅し、サンガーシーケンスによって配列を調べると両親由来の 2 つの遺伝子ともに欠損が起こったホモ個体は、GL1a,GL1b ともに得られなかったが GL1a,GL1b 両方ともヘテロ（両親由来の 2 つの遺伝子のどちらかに欠損が起こった）の個体が得られた。

個別の変異配列を大腸菌にクローニングして解析したところ、ゲノム編集で期待した通り、PAM(NGG)の手前 2－3 塩基における欠失または挿入変異が起こっていた。残念ながらヘテロ T0 の個体の葉の表面はトゲがあり、形質転換体当代で形質変異は見られなかった。

８．実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

今後､2 つの遺伝子(GL1a GL1b)ともに欠損が起こったヘテロ個体同士を交配し､次世代種子を栽培し､T1 世代でホモ欠損体を得て､毛耳の有無を調査する予定である。毛耳を人為的に変異させることによって可食部の拡張されたダイコンを育種できると考えられる。

3 年間の本研究でハツカダイコンの実用的な形質転換系が初めて構築された。現在、この系を活用して、ダイコンの別の形質（辛味、抽台性）を変える育種を目指した研究に進んでいる。また青首ダイコンでも同じように形質転換を促進する系の構築が行われている。

９．残された問題点と今後の研究推進方策

本研究で使用しているのは市販の固定種ハツカダイコンである。ダイコンには自家不和合性があるため open pollination で採種している。そのため遺伝子の固定が難しく、個体毎のばらつきが見られる。また、有名な Ogura 細胞質に由来する CMS（細胞質雄性不稔）が生じており、ゲノム編集個体を維持するのは簡単でない。実験的にはデータが不確実になるため、自家受粉等で遺伝子が固定された個体を得ることが必要である。また、ピラビックは必ずしも商品価値が高くないため、市販品種で人気の高い品種でゲノム編集ができるようにすることも重要である。最終的にはダイコンで自由自在に形質を操作できる育種を目指している。

１０．公表した成果一覧

学会発表

１）武藤ら、ダイコン（Raphanus sativas L.）における高効率な形質転換法の確立　2019　日本育種学会第 136 回講演会 P006 近畿大学

２）松本ら、ハツカダイコンの形質転換を目指した細胞培養系の開発とゲノム編集への取り組み　2019　第 37 回日本植物細胞分子生物学会シンポジュウム

3）武藤ら、CRISPR/Cas を用いたダイコン（Raphanus sativas L.）における *RsGL1* 欠損体の作出　2020 日本育種学会第 137 回講演会 121 東京大学

２０１９年度 東京農業大学 ゲノム育種プロジェクト
研究成果報告書

研究代表者　　西尾　善太

１．研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
穀類遺伝資源の全粒粉を利用した高機能性かつ嗜好性を併せ持つ国産食品の開発	3,500,000

２．研究組織

	氏名	所属・職名	個別研究課題名
研究代表者	西尾　善太	農学部　農学科・准教授	統括・穀類の全粒粉調製
研究分担者	谷口　亜樹子	農学部　デザイン農学科・教授	全粒粉パンの匂い成分分析
	野口　治子	農学部　デザイン農学科・准教授	全粒粉パンの匂い成分分析
	風見　真千子	農学部　デザイン農学科・助教	全粒粉パンの匂い成分分析
	河瀬　眞琴	農学部　農学科・教授	穀類の収集と栽培管理
	丹羽　克昌	農学部　農学科・准教授	穀類の収集と栽培管理
	吉田　実花	農学部　農学科・助教	全粒粉パンの匂い成分分析
研究協力者	大楠　秀樹	日本製粉(株)フードリサーチセンター・所長	全粒粉の調整および全粒粉パンの評価

３．研究期間

２０１９年6月３日～２０２０年3月３１日（１年目）

４．研究の背景（当初）

最近の日本では生活習慣病(がん、高血圧、心疾患、糖尿病等)の医療費に占める割合は 3 割を超え、死因に占める割合は 6 割を超えており(厚生労働白書 2014)、生活習慣病は日本人の健康長寿の最大の阻害要因となっている。生活習慣病の予防には、全粒穀物を食べると心臓病や糖尿病のリスクが低下することが分かっており、 ハーバード公衆衛生大学院が 1986～2010 年に米国で行った大規模調査では、全粒穀物を 1 日 28g 以上食べる人の死亡率は全粒穀物をほとんど食べない人より 5%低かった。

平成以降、我が国のカロリーベースの食料自給率は 40%前後と主要先進国の中で最低水準にあるが、第二の主食の小麦はパンや麺類、パスタ等の需要が堅調で、米との相対摂取量は増加している。小麦の外皮のふすまは、食物繊維が多く含まれ整腸作用があるのに加え、ビタミン B、ナイアシンなどのビタミン類、鉄、銅、マグネシウム、カリウム、リン、亜鉛などのミネラルが豊富に含まれる。また小麦胚芽はタンパク質、脂質、ビタミン、ミ

ネラル、食物繊維が豊富で栄養価が高い。このような状況の中、自給率が約 10%と低い国産小麦の利用拡大には、高品質化とともに生産コストに見合う高い付加価値の創出が求められている。しかし全粒粉パンは健康に良いという認識が広がっているものの、穀物特有の臭みがあるため万人受けするとは言い難く、市場が伸び悩んでいる。

５．研究目的

そこで本研究では、一部の穀類が持つとされる、特徴的で魅力的なパンの風味や香気に着目し、日本で過去に栽培されたり、育種に利用されたりした品種をほぼ網羅している日本の小麦コアコレクションを中心に、大麦やライ麦等、多様な穀類の遺伝資源から魅力的な風味・香気を持つ品種の探索・評価を行い、高い健康機能性と消費者の嗜好性を併せ持つ可能性のある全粒粉を用いた高付加価値の食品開発を行う。これらの知見を踏まえて、将来的にさらに改良を加えた国産農産物の開発が期待されることから、我が国の食品産業および農業の活性化に大きく貢献することが期待できる。

６．研究（実験）方法

【材料】

・日本のコムギコアコレクション 96 品種(2017, 2018, 2019 年の厚木産および筑後産)の全粒粉　30g
・北米産の輸入パン用コムギ「1CW」(対照)
・工場製粉にて得られた超強力コムギ「ゆめちから」の小麦粉(ロング粉)　70g
・グラニュー糖　5g
・食塩　2g
・ドライイースト　1g
・ショートニング　5g
・水　80ml

【方法】

1. 製パン試験

各コムギサンプルの全粒粉を得るため、フードミルサーを用いて全粒 30gをそれぞれ 30 秒間粉砕し、直ちに製パン試験に用いた。製パン試験の配合は、全粒粉30%と、工場製粉の「ゆめちから」の小麦粉70%とし、合計100gになるようにブレンドした。1回の製パン試験は4～8サンプルについて行い、毎回の製パン試験に必ず対照区の輸入小麦を加えた。前述の配合により、ホームベーカリー(パナソニック製 SD-MDX101)を用いて、「④食パンコース」にてパンを焼成した。全粒粉パンの焼成後、室温で1時間冷却し、ポリエチレン袋に密封して、室温で24時間保存した。

2. 官能評価

毎回の試験で「1CW」の全粒粉パンを対照とし、コムギコアコレクションの全粒粉パンのクラム(内相)の香気の官能評価を行った(図1)。

図１．香気の官能評価を行った全粒粉パンのクラム（内相）

3. GC/MS 分析

官能評価にて香気に有意な差異が見られた品種を選抜し、GC/MS 分析により全粒粉パンの嗜好性に関係している香気成分を解析した。また、全粒粉パンの GC/MS 分析と同時に臭気判定士による匂い嗅ぎ試験を実施した。匂いの強さの評価は、0…匂い無し、1…かすかに感じる、2…はっきりした匂い、3…匂いの質が分かる 4…匂い強い、5…かなり匂い強い、の６段階評価で行った。匂い嗅ぎ試験は、臭気判定士2名が各サンプルについて3回ずつ行い、計6回の測定の平均値を用いた。

７．研究成果

生産年および生産地の異なる日本のコムギコアコレクションと対照の輸入小麦（1CW）の全粒粉パンの匂いの官能評価の結果を表1に示した。表中の数字は全粒粉パンの官能評価における匂いの強さ（1～5）を表し、匂いの質の違いにより塗分けた。

表1. 生産地および生産年の異なる日本の小麦コアコレクション96品種および対照の輸入小麦（1CW）の全粒粉パンの匂いの官能評価の結果 （表中のタイトル行は生産地と生産年、色は匂いの質を、数字は匂いの強さを表す）

		2017 厚木		2018 厚木		2017 筑後		2018 筑後		2019 筑後	
No		最初	10分	最初	10分	最初	10分	最初	10分	最初	10分
対照	1CW	3	3								
1	赤皮赤	4	3								
2	白肌	3	1								
3	ドーソン1号		2								
4	札幌春小麦	2	1								
5	相州2号	2	1	2	1						
6	資選1号		4								
7	在来フルツ	1	1								
8	西村	2	1	3.5	1						
9	白荚	3	1	3	2						
10	富国	3	2	1	1						
11	赤稈茨城1号	3	1	3	1						
12	白三尺	3	2	1	1	2	1	3	2		
13	赤ポロ1号	1	1	1	1						
14	新田早生	3	2	5	3						
15	スネキリ15号	4	3	5	4	3	2	3	2		
16	赤坊主	2	2	4	2						
17	細稈	4	2	5	2	2	2	3	3		
18	白達磨	4	3	3	2						
19	赤達磨	3	1	1	1						
20	早生小麦	4	2	2	1	4	2	4	2		
21	赤小麦		5	3	2	4	2	4	2		
22	渋不知			4	3						
23	古志郡在来種			2	1						
24	白チャボ			1.5	1						
25	サコボレ	3	2								
26	新中長			2	1						
27	畠田小麦	4	3	3	2						
28	優勝旗347	2	1	3	2						
29	広島シプレー	4	3	5	4	4	2	4	3		
30	無芒珍子	3	3	4	3	3	2	4	3	3	2
31	ヒラキ小麦	4	2	4	3	4	2	3	3		
32	中相州	2.5	2	3	2						
33	宝満	1	1	3	2	2	2	2	1		
34	赤竹1号	5	3	4	2	4	2	4	3	4	2
35	江島神力	3	1	3	1	2	1	3	2		

表１．生産地および生産年の異なる日本の小麦コアコレクション96品種および対照の輸入小麦（1CW）の全粒粉パンの匂いの官能評価の結果 （続き）

36	伊賀筑後	4	3			2	2	3	2			
37	白小麦	3	3	3	1							
38	筑前	3	1	4	2							
39	1号早小麦	5	3	5	3	3	2	3	2			
40	白プンプ	2	1	3	2							
41	阿蘇在来（有芒褐ぷ）	3	2									
42	外海	3	2	2	1							
43	貞坊主			3	2							
44	延岡坊主小麦	4	4	3	2	4	2	4	2			
45	魁1号	4	2	3	2							
46	赤銹不知1号	4	4									
47	本系275号	4	4	2.5	2	3	2	2	1			
48	北海240号	3	2	3	2							
49	鴻巣25号	1	1	2	1	3	1	3	1			◎
50	埼玉27号	4	2	3	2	3	2					
51	関東107号	3	2	4	3	2	2					
52	伊賀筑後オレゴン	3	2	3	2							
53	極早生4-15	5	4	5	5	3	2	4	1			
54	小麦農林1号	4	2	2	2							
55	春播小麦農林3号	3	2	2	1	1	1	2	1			
56	小麦農林9号	4	3	5	4			3	2			
57	小麦農林10号	4	4	2	2							
58	小麦農林16号	3	3	3	2	3	2					
59	小麦農林26号	2	2	3	2	2	1	2	1			
60	小麦農林27号	3	2	2	1	2	1					
61	小麦農林39号	4	4	4	3							
62	硬質小麦農林42号	5	5	2	2							
63	小麦農林50号	4	2	4	3			4	2			
64	小麦農林53号	3	2	2	1	2	2	2	1			
65	小麦農林55号	4	2									
66	小麦農林61号	2	2	1	1							
67	小麦農林67号	1	1	1	1	1	1	2	1			
68	春播小麦農林75号	4	2	2	2							
69	北栄	2	2			2	2	2	1.5	2	1	◎
70	ムカコムギ	3	1									
71	ホロシリコムギ	4	3	3	2							
72	タクネコムギ	4	4	3	2							
73	ハルヒカリ	3	1	2	2							
74	アオバコムギ	2	1									

表１．生産地および生産年の異なる日本の小麦コアコレクション96品種および対照の輸入小麦（1CW）の全粒粉パンの匂いの官能評価の結果 （続き）

75	ヒツミコムギ	4	3	3	2						
76	フルツマサリ	3	3	3	3						
77	ユキチャボ	3	3	1	1	2	1	2	1	3	2
78	ヒカリコムギ	2	2	1	1	2	1	2	1	3	2
79	フクホコムギ	2.5	1	1	1						
80	フクワセコムギ	3	1	3	3						
81	アブクマワセ	3	2	3	2	2	2	3	2	3	3
82	ホクシン	2	1	3	1.5						
83	チホクコムギ	2	2	2.5	1						
84	ハルユタカ	3	2	1	1						
85	ナンブコムギ	3	2	3	2	2	2	2	1		
86	キタカミコムギ	3	3	3	1						
87	シラネコムギ	4	2	2	2						
88	バンドウワセ	1	1	3	1						
89	シロガネコムギ	3	2	1	1	3	3	3	2		
90	チクゴイズミ	2	1	1	1			1	1		
91	小麦農林20号	2	1.5	3	2						
92	フジミコムギ	3	2	3	2						
93	シラサギコムギ	3	2	2	1	2	1	3	2	2	2
94	ジュンレイコムギ	3	1	3	2						
95	ハチマンコムギ	5	4	1	1						
96	Chinese Spring	3	2	3	2						
97	ゆめちから			3.5	2						
98	きたほなみ			3	2						
99	ゆめかおり			2	2						
100	さとのそら			1	1						

特徴無し	湿布(スーとする)のにおい	ネガティブ
ふすま(穀物臭)のにおい	青草(ツンとする)のにおい	
鉄のにおい	渋いにおい	
パンのにおい	フルーティなにおい	ポジティブ
甘いにおい		

全粒粉パンの匂いの官能評価の結果は以下の通りであった。

【対照】輸入小麦（１ＣＷ）パンの切断直後は、優しい全粒粉の匂いがする。パンの切断後１分ほどすると全粒粉の匂いが感じられなくなり、さわやかでフレッシュなシトラスな匂いが強くなる。ローストしたナッツのような香ばしい匂いも少々する。

【ポジティブな全粒粉パンの匂いのするコムギコレクション品種】

１）JWC49 鴻巣 25 号　パンの切断直後は全粒粉の匂いはしない。対照と比べて全体的に匂いは弱いが、かすかに爽やかなシトラスのような匂いと、パンの匂いがする。

２）JWC69 北栄　パンの切断直後は全粒粉の匂いはしない。対照と比べて全体的に匂いは弱いが、かすかに爽やかなシトラスのような匂いと、パンの匂いがする。

３）JWC77 ユキチャボ　パンの切断直後は全粒粉の匂いはしない。全体的に匂いは弱いが、かすかに甘いパンのにおいがする。

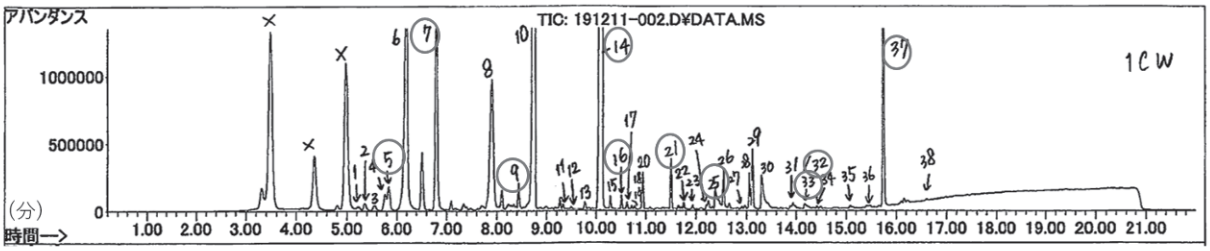
【ネガティブな全粒粉パンの匂いのするコムギコアコレクション品種】

１）JWC29 広島シプレー　パンを切断した直後、全粒粉のツンとする匂いと金属鉄のような匂いがする。全体にふすまの匂いが強く、ツンとする匂いが鼻に残る。パンの切断から 10 分後は匂いが弱まるが、鼻にツンとする匂いが少々残る。

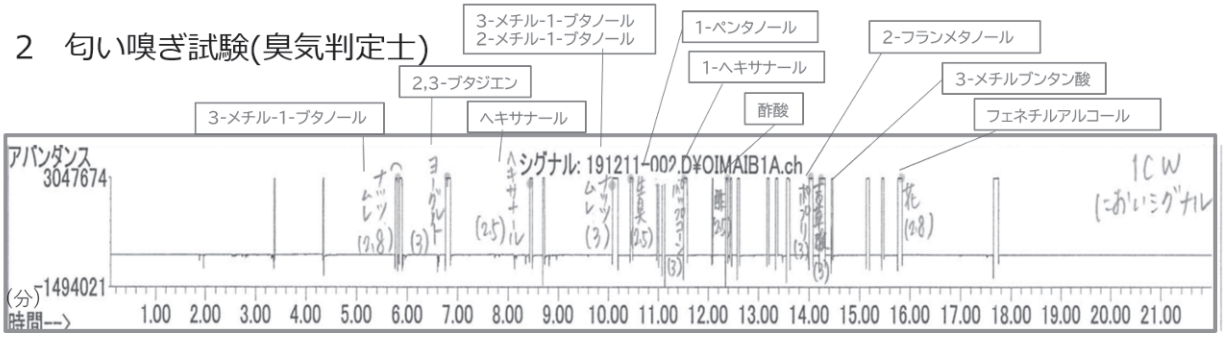
２）JWC81 アブクマワセ　パンの切断直後の匂いは対照と同程度に全粒粉パンの匂いが強い。ふすまの匂いとパンの匂いのバランスは、ふすまの匂いがやや強い。

日本のコムギコアコレクション 96 品種について、全粒粉製パン試験および匂いの官能評価を行った結果から、上述のポジティブな全粒粉パンの匂いのする品種３品種、ネガティブな全粒粉パンの匂いのする２品種を選抜した。GC/MS 分析および匂い嗅ぎ分析の流れと選抜したそれぞれ品種の全粒粉パンの匂いの分析チャートの結果を図２に、GC/MS 分析チャートの各匂い成分の面積の対照（１ＣＷ）比を表２に示した。同じく臭気判定士による GC/MS 分析匂い嗅ぎ試験の結果を図３、図４に示した。

1　GC/MS分析（機器分析）



2　匂い嗅ぎ試験(臭気判定士)



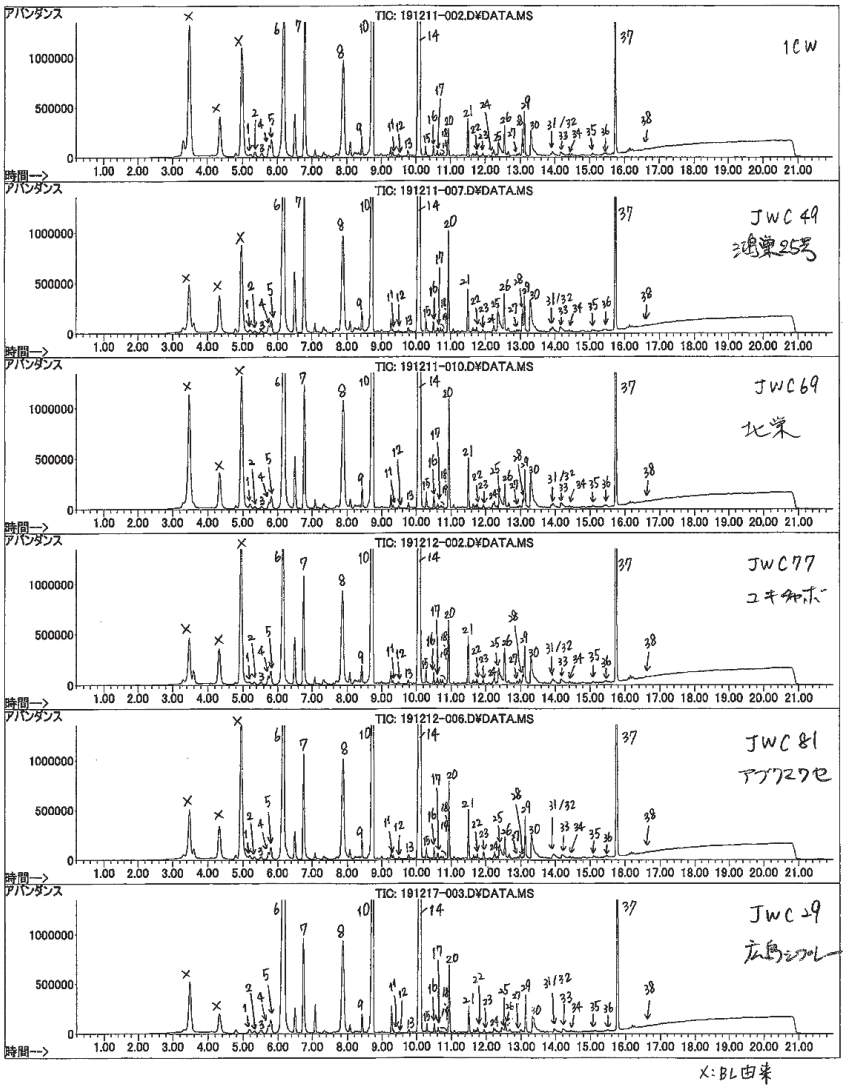


図２．GC/MS 分析および匂い嗅ぎ分析の流れと選抜したそれぞれ品種の全粒粉パンの匂いの分析チャート

表２．選抜した日本のコムギコアコレクションの全粒粉パンの GC/MS 分析チャートの各匂い成分の面積の対照（１ＣＷ）比

ピーク No.	min.	成分	匂いの質	各匂い成分の面積の対照（１ＣＷ）比				
				JWC49 鴻巣25号	JWC69 北栄	JWC77 ユキチャボ	JWC81 アブクマワセ	JWC29 広島シプレー
1	5.2	Methacrolein	—	1.5	2.6	1.4	1.9	1.6
2	5.4	Ethyl acetate	alcohol	0.5	0.6	0.7	0.6	0.4
3	5.5	2-Butanone	acetone	0.9	1.0	0.8	0.8	1.0
4	5.7	2-Methylbutanal	burnt	0.8	0.8	0.9	0.7	0.7
5	5.8	3-MethyIbutanal	acrid	0.9	1.0	0.9	0.8	0.9
6	6.2	Ethanol	alcohol	1.4	1.8	0.9	1.0	2.0
7	6.8	2.3-Butanedione (Diacetyl)	butter	0.9	0.9	0.8	0.8	0.7
8	7.9	1-Propanol	alcohol	1.2	1.4	1.1	1.2	1.1
9	8.4	Hexanal	apple	1.3	1.4	1.3	1.2	1.1
10	8.7	2-MethyI-1-propanoI	acid	1.3	1.6	1.2	1.3	1.2
11	9.3	1-Butanol b)	alcoholic	1.0	1.0	1.0	1.1	0.9
12	9.5	1-Penten-3-ol	boiled potatoes	1.2	1.3	1.5	1.1	0.6
13	9.8	Heptanal	aldehyde	1.0	1.3	0.9	1.0	0.7
14	10.1	3-Methy1-1-butanol and 2-Methy1-1-butanol	alcohol	1.2	1.5	1.2	1.4	1.2
15	10.3	2-Pentyl furan	balsamic	1.5	1.9	1.5	1.2	1.1
16	10.5	1-Pentanol	acid	1.1	1.3	1.2	1.2	1.0
17	10.6	1,3,5,7-CycIooctatetraene or Bycyclo[4. 2. 0] octa-1,3, 5-triene or Styrene	melted plastic	0.8	1.0	1.2	1.1	1.0
18	10.7	Dihydro-2-methyI-3 (2H)-furanone	bread	1.2	0.9	1.5	0.9	0.4
19	10.8	Methylpyrazine	boiled soybeans	1.1	0.7	1.7	0.8	0.4
20	10.9	3-Hyd roxy-2-butanone (Acetoin)	butter	2.8	3.0	1.8	1.8	2.1
21	11.5	1-Hexanol	alcoholic	1.3	1.6	1.4	1.4	0.9
22	11.8	3_Ethoxy-1-propanoI	fruity	1.0	1.1	1.1	1.1	1.1
23	11.9	NonanaI	aldehyde	0.9	1.2	1.5	2.3	1.2
24	12.2	Octanoic acid ethyl ester	apple	1.2	1.1	1.3	1.2	0.6
25	12.4	Acetic acid	acetic	1.7	0.8	1.0	0.8	0.3
26	12.5	Furfural	alcoholic	1.3	0.9	1.4	0.9	0.5
27	12.9	1-(2-furanyI)ethanone (Acetylfuran)	balsamic	1.1	0.8	1.4	0.8	0.3
28	13.1	2. 3-Butanediol	butter	0.9	0.5	0.3	0.1	-
29	13.1	Benzaldehyde	almond	1.0	1.2	1.1	1.2	1.0
30	13.3	2-MethyI propanoic acid	acid	1.1	1.3	1.1	1.0	0.8
31	13.9	Butanoic acid 5	aged cheese	1.3	1.2	1.2	1.0	0.3
32	13.9	2-Furanmethanol	burned	1.1	1.0	1.2	1.0	0.7
33	14.2	3-Methyl butanoic acid	acidic	1.2	1.2	1.2	1.0	0.9
34	14.4	3- (MethyIthio)-1-propanoI (MethionoI)	baked cabbage	1.0	1.2	1.3	1.1	0.9
35	15.1	(E. E)-2. 4-Decadienal	bread	1.0	1.4	1.2	1.0	0.7
36	15.5	Benzyl Alcohol	aromatic	1.4	1.8	2.0	1.4	1.0
37	15.7	Phenyl ethyl Alcohol	floral	0.9	1.1	1.1	1.2	0.9
38	16.6	Dihydro-5-pentyI-2(3H)-furanone (4-Nonanolide)	burnt caramel	0.5	0.7	0.7	0.6	0.5

同じ品種の中で青色は大きい数値、赤色は小さい数値、色の濃さは差異の程度を表す。

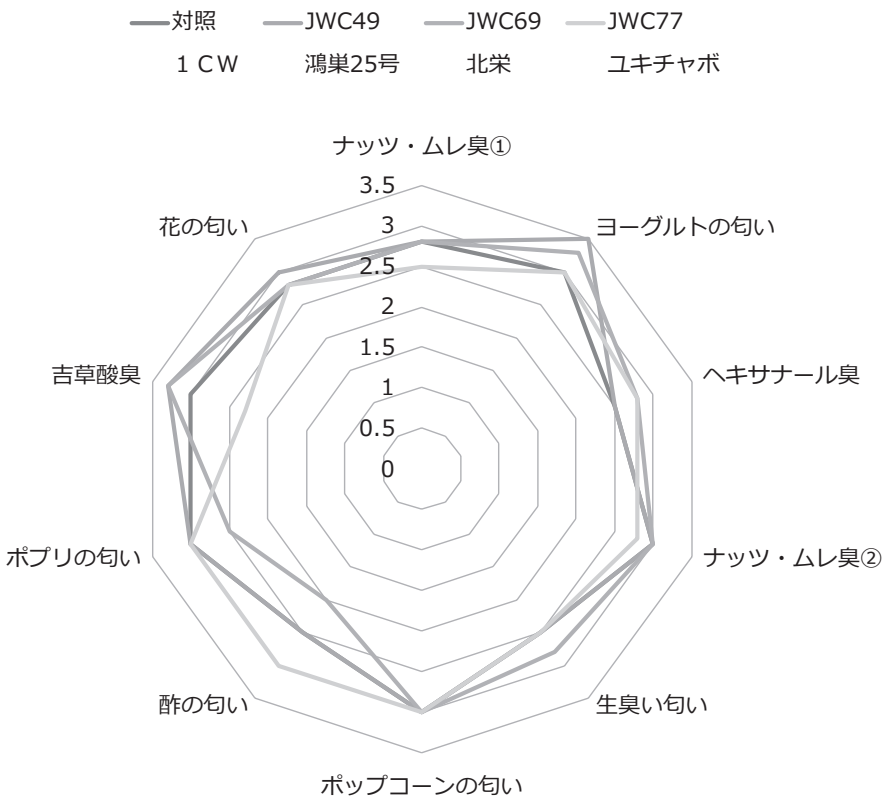


図３．全粒粉パンのポジティブな匂いを感じられた品種の匂い嗅ぎ試験結果

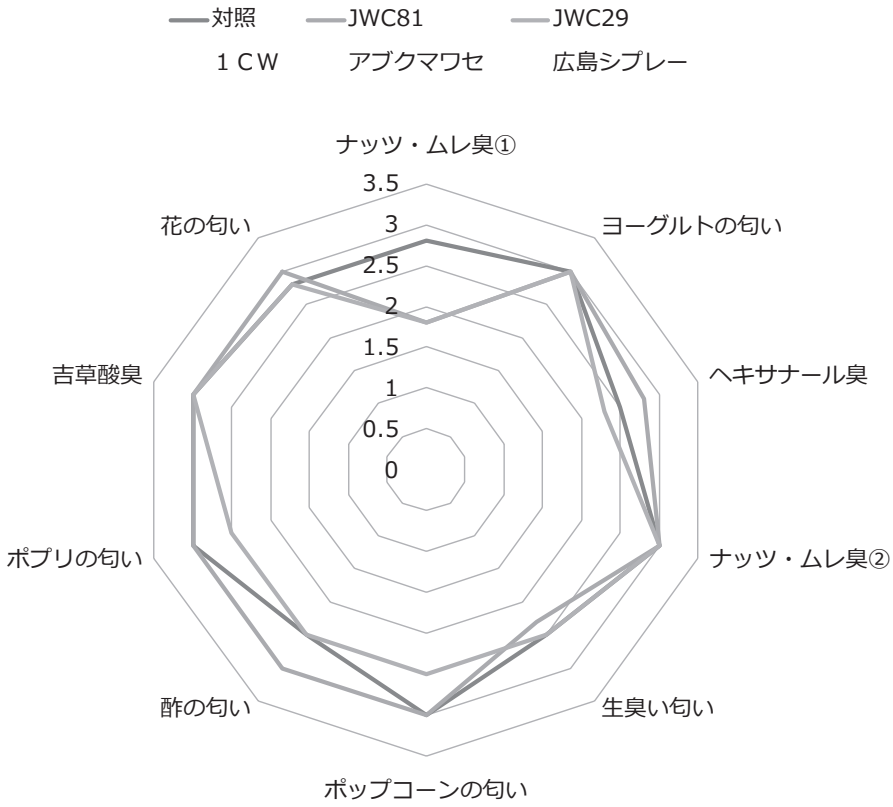


図４．全粒粉パンのネガティブな匂いを感じられた品種の匂い嗅ぎ試験結果

ポジティブおよびネガティブな全粒粉パンの匂いとして選抜した５品種の GC/MS 分析および匂い嗅ぎ試験の結果より、対照（１ＣＷ）と比較してコムギコアコレクションに共通して大きい傾向の成分（Methacrolein、Aceton）と、小さい傾向の成分（Ethyl acetate、2. 3-Butanediol、4-Nonanolide）が見られた（表１）。一方、全粒粉パンのポジティブな匂いの品種には「ヨーグルトの匂い」や「ポプリの匂い」が強めの特徴が見られ、ネガティブな匂いの品種には、「ナッツ・ムレ臭①」が弱く、各種の匂いの強さは対象と比べて全体に弱い傾向の特徴が見られた（図３、図４）。全粒粉パンのポジティブな匂いがする品種とネガティブな匂いがする品種の間で見られた匂いの特徴の差異は、嗜好性の高い全粒粉パンの適性のあるコムギ品種の選抜に有用である可能性が高い。

表３．コムギ全粒サンプルの栄養成分分析の結果（日本食品分析センター）

No.	サンプル名	産地	水分(%)	たんぱく質(%)	脂質(%)	灰分(%)	炭水化物(%)	糖質(%)	食物繊維(%)	エネルギー(kcal)	ナトリウム(mg)	食塩相当量(%)
1	１ＣＷ		11.9	14.7	2.6	1.5	69.3	57.7	11.6	336	2.0	0.0051
2	JWC29 広島シプレー	厚木産	10.5	14.3	2.8	1.8	70.6	57.0	13.6	338	1.6	0.0041
3	JWC29 広島シプレー	筑後産	10.4	11.0	2.6	1.6	74.4	60.0	14.4	336	1.9	0.0048
4	JWC49 鴻巣25号	厚木産	10.8	16.8	2.7	1.7	68.0	55.4	12.6	338	1.8	0.0046
5	JWC49 鴻巣25号	筑後産	10.6	12.3	2.9	1.5	72.7	59.2	13.5	339	2.2	0.0056
6	JWC69 北栄	厚木産	10.4	16.3	2.7	1.9	68.7	56.6	12.1	340	2.3	0.0058
7	JWC69 北栄	筑後産	11.0	11.2	2.7	1.7	73.4	62.5	10.9	341	1.5	0.0038
8	JWC77 ユキチャボ	厚木産	10.6	14.9	2.6	1.8	70.1	57.3	12.8	338	2.3	0.0058
9	JWC77 ユキチャボ	筑後産	10.8	13.5	2.7	1.6	71.4	58.1	13.3	337	1.7	0.0043
10	JWC81 アブクマワセ	厚木産	10.9	14.5	2.7	1.6	70.3	57.8	12.5	339	2.4	0.0061
11	JWC81 アブクマワセ	筑後産	11.1	12.8	2.8	1.7	71.6	59.5	12.1	339	2.3	0.0058
	方法		常圧加熱乾燥法	燃焼法	酸分解法	直接灰化法			酵素-重量法		原子吸光度法	
	注釈			注1			注2	注3		注4		注5

注1　窒素・たんぱく質換算計数 5.83
注2　食品表示基準(平成27年度内閣府令第10号)による計算式:100-(水分+たんぱく質+脂質+灰分)
注3　食品表示基準(平成27年度内閣府令第10号)による計算式:100-(水分+たんぱく質+脂質+灰分+食物繊維)
注4　食品表示基準(平成27年度内閣府令第10号)によるエネルギー換算計数:たんぱく質4:脂質9:糖質4:食物繊維2
注5　計算式:ナトリウム×2.54

同じ測定項目の中で青色は大きい数値、赤色は小さい数値、色の濃さは差異の程度を表す。

ポジティブおよびネガティブな全粒粉パンの匂いとして選抜した５品種と対照の輸入小麦（１ＣＷ）の栄養成分分析の結果より、ほとんどの国産小麦品種のサンプルは輸入小麦（１ＣＷ）より高い食物繊維含量および灰分を示し、全粒粉の健康機能性成分は輸入小麦以上に優れると考えられた。また、製パン性に大きな影響を与えるたんぱく含量については、生産地による変動が大きく、栽培法によるたんぱく含量の安定化が必要であると考えられた。

コムギ全粒サンプルの単一穀粒分析試験およびコムギα-アミラーゼ活性測定の結果を表４、表５に示した。

表４．単一穀粒分析試験（Single Kernel Characterization System）の結果（日本製粉（株））

No.	サンプル名	産地	硬度（平均）	硬度（標準偏差）	粒径（平均）(mm)	粒径（標準偏差）	粒重（平均）(mg)	粒重（標準偏差）
1	１ＣＷ		82.51	15.37	2.71	0.56	33.54	9.82
2	JWC29 広島シプレー	厚木産	19.85	15.48	2.50	0.48	32.79	10.16
3	JWC29 広島シプレー	筑後産	36.44	15.50	2.68	0.46	36.65	9.42
4	JWC49 鴻巣25号	厚木産	74.67	13.12	3.06	0.42	44.79	8.88
5	JWC49 鴻巣25号	筑後産	73.91	13.94	3.12	0.42	45.94	8.18
6	JWC69 北栄	厚木産	39.02	13.44	2.91	0.34	41.87	7.43
7	JWC69 北栄	筑後産	30.73	18.57	2.37	0.50	28.24	9.94
8	JWC77 ユキチャボ	厚木産	40.00	15.46	2.73	0.52	34.91	10.19
9	JWC77 ユキチャボ	筑後産	42.22	16.06	2.91	0.42	40.95	9.35
10	JWC81 アブクマワセ	厚木産	46.97	30.26	2.56	0.47	33.61	9.53
11	JWC81 アブクマワセ	筑後産	27.30	13.53	2.70	0.39	39.22	8.24

同じ測定項目の中で青色は大きい数値、赤色は小さい数値、色の濃さは差異の程度を表す。

表５．コムギ全粒サンプルのα-アミラーゼ活性測定の結果（日本製粉（株））

サンプル名	産地	1回目	2回目	平均値（U/L）
１ＣＷ		6.1	5.1	5.6
JWC29 広島シプレー	厚木産	6.8	7.4	7.1
JWC29 広島シプレー	筑後産	9.2	9.2	9.2
JWC49 鴻巣25号	厚木産	7.3	6.6	7.0
JWC49 鴻巣25号	筑後産	11.0	10.9	11.0
JWC69 北栄	厚木産	7.0	6.7	6.9
JWC69 北栄	筑後産	24.3	25.1	24.7
JWC77 ユキチャボ	厚木産	8.5	7.2	7.9
JWC77 ユキチャボ	筑後産	7.4	7.0	7.2
JWC81 アブクマワセ	厚木産	5.2	5.3	5.3
JWC81 アブクマワセ	筑後産	7.5	7.3	7.4

コムギαアミラーゼ用スライドを用いたドライケミストリー法（富士ドライケム）による測定。青色は大きい数値、赤色は小さい数値、色の濃さは差異の程度を表す。

単一穀粒分析試験（SKCS）の結果から、今回選抜したコムギ品種の中では「鴻巣 25 号」がパン用に適した硬質コムギで、他の品種はうどんや菓子等に適した軟質コムギであった（表４）。「鴻巣 25 号」

は穀粒のサイズが大きいことから、製粉適性も高いと考えられる。α-アミラーゼ活性の測定結果では、筑後産の「鴻巣 25 号」と「北栄」の活性が高い傾向が見られたため、収穫期の降雨が多い九州地方では穂発芽の被害に留意する必要がある（表５）。

８．実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

本プロジェクトとは別に、神奈川県伊勢原市を中心に活動している東京農業大学ＯＢの青沼一彦氏が中心に活動している「湘南小麦プロジェクト」の中で、予備的にコムギ品種「鴻巣 25 号」を用いた全粒粉パンの試作を行っており、これまでのところ比較的良好な評価が得られている（図５）。

図５．鴻巣 25 号の全粒粉によるバゲットの試作品

９．残された問題点と今後の研究推進方策

本年度の研究は、多数のコムギコアコレクションの中から優れた全粒粉パンの匂いを有する品種の選抜を研究目標として行い、いくつかの適性のある品種を選抜することができた。今回選抜した品種の中では「鴻巣 25 号」は最も製パン性に優れる可能性があり、全粒粉パンの匂いも優れていた。本年選抜した「北栄」、「ユキチャボ」などと合わせて、次年度は、選抜した品種を試験圃場で増殖して、テストミルによる製粉と、製パン試験を実施することにより、全粒粉パン適性や製粉性をさらに詳細に解析する。また、「鴻巣 25 号」等の優れた全粒粉パンの特性を活用するため、他のパン用品種との交配を行い、ゲノム情報を用いた解析を進める。

１０．公表した成果一覧

学会発表

1）伊藤愛実、風見真千子、野口治子、谷口亜樹子、西尾善太　「全粒粉パンの香味特性が優れる国産コムギ品種」日本食品科学工学会関東支部大会 2020 年 3 月 7 日 於東京農業大学厚木キャンパス

２０１９年度 東京農業大学 ネパール共同研究プロジェクト

研究成果報告書

研究代表者　　中曽根　勝重

１．研究課題名および予算額

研究課題名	予算額（円）
ネパールの中山間地域におけるオフシーズン野菜の増産と販売拡大による農家所得向上 （MSU ネパール農村開発プロジェクトのオフシーズン・トマト栽培の評価を中心に）	1, 500, 000

２．研究組織

	氏名	所属・職名	個別研究課題名
研究代表者	中曽根　勝重	国際食料情報学部 国際農業開発学科・准教授	流通・販売システム・農民組織化の把握と改善強化の検討
研究分担者	真田　篤史	国際食料情報学部 国際農業開発学科・助教	生産技術・貯蔵技術の改善と加工技術の検討
	パチャキル・バビル	国際食料情報学部 国際農業開発学科・助教	生産技術・貯蔵技術の改善と品質の向上
	寺田　順紀	国際食料情報学部 国際農業開発学科・助教	生産技術・貯蔵技術の改善 （土壌改良と生産性向上）

３．研究期間

２０１９年４月１日～２０２０年３月３１日（３年目）

４．研究背景（当初）

ミシガン州立大学（Michigan State University;以下、MSU）は、ネパール共和国中部のカスキ郡（Kaski District）ルパ村落開発委員会（Rupa Village Development Committee）のハンサプール地区（Word＃7; Hamsapur）において、小規模なパイプハウスを利用してオフシーズンの野菜栽培を行い、栄養豊富な農産物の利用拡大と農家の所得および生計を向上させる“Evaluating, Extending and Scaling Off-Season Tomato Production in Nepal”プロジェクトを実施している。本プロジェクトは、協定校 MSU と下記分野において本学教員が積極的に協力するするネパール農村開発プロジェクトであり、国際的な共同研究によって社会実装型の農村開発モデル構築を具現化しようとする。

５．研究目的

MSU が実施する“Evaluating, Extending and Scaling Off-Season Tomato Production in Nepal”プロジェクトは、2018 年度に同地域で実施された、ネパール政府環境省下の農村振興プロジェクト「Climate Smart Village」の一環により、MSU プロジェクトの取り組みが加速化され、地域内にはコーヒーの集荷・加工所や野菜の冷蔵保存施設なども建設された。上記のネパール政府が実施したプロジェクトには、本プロジェクトと MSU のプロジェクトも参画して実施された。

同地域では、MSU やネパール政府の取り組みにより農民組織化や所得向上に関わる施策が進められているなか、とくに当該地域での水源からのパイプ敷設やポンプの稼働、ソーラーシステムの導入、点滴灌漑施設の普及、強化プラスチックフィルムのパイプハウス用途等、不適環境対応型集落への脱皮に取り組むプロジェクトが継続的に進められており、本プロジェクトでは、これらの計画に共同参画している。すなわち、昨年度までの調査に加え、パイプハウスの本来的な目的である生産サイクルの効率化について、詳細にトマト果実品質に及ぼす栽培条件、生産性の向上、品質管理、などを調査し、今後のさらなる有利栽培・販路の確保に繋がる資料を作成すると同時に、農民組織の運営改善と農産物集荷・販売の効率化および促進の可能性を探る資料を作成したいと考えている。すでにオフシーズントマトの栽培化の成功により、当該地区では農家所得の増加（農家生計の安定）が期待されているが、この技術をさらに広い範囲まで普及・拡大するためには、生産技術・管理の精緻化、収穫後処理の改善、販売市場の開拓などといった主要コンポーネントの確立が必須である。東京農業大学が実施する活動内容は、MSU ネパール農村開発プロジェクトの研究代表者である Murai Suvedi 教授から共同プロジェクト実施の提案を受け、MSU サイドの脆弱分野を積極的にサポートすることにある。

本プロジェクトの継続段階として、これまでの経験を経た上で、将来的にネパールにおける栽培作物・農業技術・農業経営・流通販売などの問題改善を総合的に取り組むプロジェクト形成を目指して、社会実装型の農村開発モデルの構築を実現しようとする。

上記の脆弱な分野に該当する以下について研究活動を実施する。

① パイプハウスにおけるオフシーズン野菜の生産・加工技術の実態把握と技術改善
② 加工センター構築のための基礎資料の収集
③ オフシーズン野菜の流通・販売システムの把握および改善・強化の検討
④ 農民協同組合の現状把握と組織運営に関する改善の検討
⑤ 副収入雑業（養蜂・コーヒー栽培・ツーリズム等）との複合経営の改善・普及の検討
⑥ 有機農業の実態把握と展開の強化および普及の検討（現行技術の改善）

６．研究（実験）方法

ネパールにおける農村開発モデルの構築を実現することを狙いとし、協定校 MSU との大学間による国際的な共同研究によって社会実装型のモデルを提言・実践のための基礎資料を得ようとする。すなわち、作物栽培・農業技術・農業経営・流通加工・市場販売などの問題改善を総合的に取り組むアプローチによる農村開発プロジェクトを遂行しようとする。その開発手法は、多くの途上国における農村部で実施されてきたが、まだ明確な手法は確立されていない。それは、途上国における小農の多様性により、ある一定の方向性を見出せないためである。

そこで、本研究では MSU が実施するネパール農村開発プロジェクトの脆弱な分野に対し、本プロジェクトメンバーが積極的な協力を行いつつ、詳細な現地調査を実施・分析することで、ネパールの農村

部で行われている農業の生産・加工・流通・販売の実態と農家の生計を把握するとともに、生産技術の検討、貯蔵・加工技術の検討、流通販売の強化、そして農民協同組合の運営強化などの課題に取り組む実証的かつ実践的な研究としたい。

そのため、本研究では関連資料・文献の収集等による先行研究のサーベイを行いつつ、ネパールの現地調査が中心的な研究活動となる。加えて、トマト栽培の実態と問題点の把握を行い、現地でも容易に受け入れやすい問題改善の技術提案やトマト果実の付加価値付与に資する鮮度保持技術及び加工技術に関する試験を行い、技術普及への基礎資料とする。

現地調査に関しては、①パイプハウスにおけるオフシーズン野菜の生産・加工技術の実態把握と技術改善、②栽培特性・加工適性の科学的解明、③品種間比較調査、④コストパフォーマンス等の解析、⑤オフシーズン野菜の流通・販売システムの把握および改善・強化の検討、⑥農民協同組合の現状把握と組織運営に関する改善の検討、すなわち、農民協同組合の組織運営に関しては継続性の高い運営が実施されているとは判断しがたく、今年度は同組織における収入と支出の関係やマネージメント方法、そして組織メンバーへの利益還元に関する詳細な聞き取り調査を行うとともに、改善策について検討する。さらに、⑦副収入雑業の生産・加工・流通・販売の改善・普及と養蜂・コーヒー栽培・ツーリズム等との複合経営の検討、⑧有機農業の実態把握と展開の強化および普及の検討（現行技術の改善）の課題に対し、それぞれの課題ごとに必要な調査対象を抽出し、聞き取り調査を実施する。現地調査対象は課題に応じて、個別農家、農民グループ、関連諸機関、地場市場関係者、小売業者を選択し、面接およびアンケート調査を実施するとともに、現場視察によって情報収集を行う。

本年度はプロジェクトメンバーのうち、2019 年 11 月および 2020 年 2 月に中曽根・寺田の 2 名が現地に赴き、昨年度同様、カスキ郡ルパ村落開発委員会のハンサプール地区を中心に、2018 年にネパール政府環境省の下で実施された農村振興プロジェクト「Climate Smart Village」のフォローアップ、すなわちオフシーズントマト栽培の強化プラスチックフィルムのパイプハウス用途等、不適環境対応型集落への脱皮に向け各地区への資材の配布と、その利用に関しての助言、さらには農産物の生産性向上と品質の確立の可能性について調査を行った。特に、安定した品質を維持するために欠かせない土壌管理と病害虫管理に関しては、2 度のワークショップを実施し、現地でも入手可能な資材と簡易的技術の試験を行った上で、その技術について農民指導を実施した。

加えて、2018 年度に実施した、2 本整枝でハウス栽培しているトマト農家に対し、無整枝で株間を広く設定したソバージュ栽培の栽培試験について、2 年目の結果を聞き取りした。さらに農民組織運営に関しては、2018 年度に抽出された問題点をベースに、改善のアドバイスを提供するとともに再度聞き取り調査を実施し、またデータ収集を行った。

7．研究成果

2018 年 5 月の調査時に農民から相談のあった大規模な雹による被害の対策として、2019 年 11 月の調査時に調査協力農家に対して防護ネットを配布した（写真 1）。しかし、雹害は 3 月から 5 月に発生することが多く、2020 年 2 月の調査時点では、雹害の発生とその効果については、確認することができなかった。

パイプハウス内でのトマト栽培は、通常 2 本仕立てであるが、作業性を考慮して 2018 年以降、調査協力農家に依頼をしているネットまたは竹垣を用いたソバージュ栽培では、現地農民からそれぞれの方法において栽培にかかるコストと生産量（販売額）について回答が得られた。協力農家によると、2 棟のパイプハウスを建設する為には、整地（1,200 ルピー）、堆肥の投入（800 ルピー）、トンネル造成（3,200

ルピー)、苗の移植 (800 ルピー)、フェンス設置 (4,000 ルピー)、種子代 (850 ルピー) と合計で 10,850 ルピーのコストがかかる。それに対し、通常の栽培方法で収穫されたトマトは 5 回に分けて出荷され、合計で 24,000 ルピーの販売額であった。一方、ソバージュ栽培で収穫されたトマトの販売額は通常の栽培方法に比べ 8 割程度の販売額しか得られなかった。さらに作業効率に関してもソバージュ栽培の場合、無象に伸びたトマトの枝をよけながらの収穫作業葉手間がかかることから、生育期の作業が増加したとしても通常栽培の方がむしろ効率的ではないかという意見が聞かれた。この要因として、現地でのトマト栽培は、パイプハウス内に作られた背丈の低い棚 (150cm 程度) を利用しており、収穫は腰をかがめながらの作業になるため、無象に伸びた枝がむしろ収穫作業を困難にすることが考えられる。そのため、今後はパイプハウスの構造についても検討する必要があろう。

写真 1　防護ネットの配布

つぎに、トマトの生産性向上を検討する目的で、農家の施肥状況を把握するために 12 の農家の圃場を対象に土壌 pH、土壌 EC (電気伝導度)、を調査した。その結果、土壌 pH はやや酸性傾向であったものの適正範囲とされる 5.5-7.0 に収まっていた。EC については、概ね 0.1mS/cm を下回る低い値となった (表 1)。

表 1　調査圃場の土壌 pH および土壌 EC

地点	pH	EC (mS/cm)
1	6.4	0.019
2	6.2	0.017
3	6.6	0.038
4	6.5	0.024
5	7.2	0.126
6	6.5	0.04
7	6.6	0.02
8	6.9	0.067
9	6.9	0.054
10	6.7	0.015
11	6.5	0.059
12	6.6	0.015

土壌 EC は土壌中の塩類濃度の目安となり、塩類集積の発生していない通常の土壌では EC は硝酸態窒素含量との関わりが深いとされており、値が高いほど養分量が多くなる。一般的に葉菜類、根菜類には 0.1-0.3mS/cm、果菜類には 0.1-0.4 mS/cm ほどが作物生育の適正値とされているが、調査地の土壌は 0.1mS/cm を下回っているため肥料の投入量そのものが少ないことが示唆された。

以上の結果から収量および品質向上に伴う収益の増加には、基礎的な土壌養分の改善を目的とした肥料の投入が効果的であることが考えられた。しかし調査地である農村は山間部に位置し、化学肥料などの資材輸送コストが高価になるため、化学肥料の入手性および利用可能性は低い。そこで農村の棚田で生産されるイネから、精米過程で排出される米ぬかや籾殻を利用して作成できるボカシ肥料について着目した。ボカシ肥料は、米ぬかや籾殻などを主原料として、それらを適切な水分条件下で好気的に発酵させることで、肥料成分を無機化し、作物が利用しやすい状態にした肥料である。ボカシ肥料は発酵による肥料成分の無機化によって、ある程度の即効性と有機質肥料が持つ遅効性を兼ね備え、新鮮有機物を土壌中に施用した場合に見られる、分解する土壌微生物と、作物とのあいだに窒素をめぐっての競合が起こり、作物の生育が抑制される窒素飢餓が起きづらい性質がある。そこで現地で入手した米ぬか、籾殻を使用し、30 人の農家を対象にボカシ肥料作成のワークショップショップを行い、ボカシ肥料の作成とその技術普及を試みた (写真 2・3)。

写真 2・写真 3　ボカシ肥料作成のワークショップの様子

また実際にボカシ肥料を作成し、施用した農家の土壌をサンプリングし、土壌 pH、土壌 EC、硝酸イオン濃度を測定した。その結果、土壌 pH、土壌 EC、硝酸イオン濃度がいずれも増加し、適正範囲内に収まる結果となり、現地で入手できる資材で作成したボカシ肥料は、土壌養分および土壌の化学性の改善に寄与することが明らからとなった（図 1・2・3）。

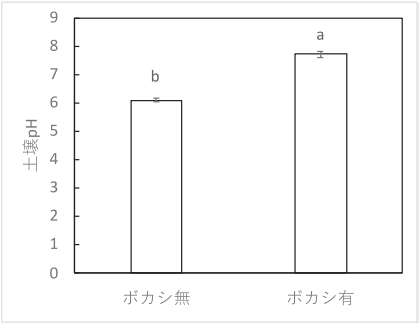


図 1 ボカシ肥料施肥が土壌 pH に及ぼす影響

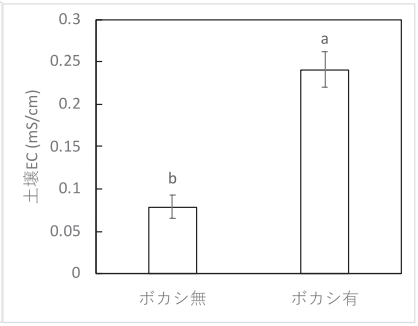


図 2 ボカシ肥料施肥が土壌 EC に及ぼす影響

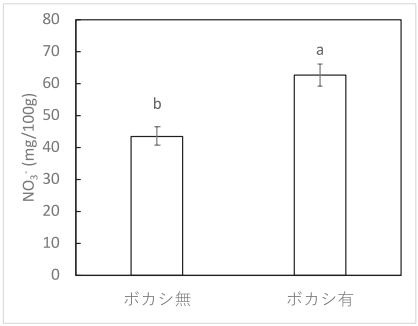


図 3 ボカシ肥料施肥が土壌の硝酸イオン濃度に及ぼす影響

課題としてはワークショップを行った日が、米の収穫期（繁忙期）と被ったこと、またワークショップの内容が作成過程だけであったため、どれだけ土壌養分が改善し、収量が向上するかを農家に示すことができなかったことによって、実践した農家が数名にとどまり普及に至らなかったことが挙げられる。今後、パイロットファームなどを通じてボカシ肥料の利用および技術を普及することによって、化学肥料の購入に頼ることなく収量増加が見込め、また山間の限られた農地の環境保全を目的とした循環型農業の強化、促進が期待できると考えられた。

さらに、トマトの安定した収量を維持するためには、病害虫の管理も欠かせないことから、現地の病害虫発生状況に関する聞き取りと観察による調査を行った。その結果、アブラムシ、ハダニ、うどんこ病の発生が頻繁に見受けられた（写真 4・5・6・7）。聞き取り調査では数名の農家から、病害虫の発生が見られない年と比較して収量が半減したとの情報も得た。このことからアブラムシ、ハダニ、うどんこ病の発生は作物栽培において大きな問題となっている可能性が考えられた。

写真 4・5　ハダニおよびうどんこ病に罹病したトマト

写真 6・7　アブラムシによる虫害が発生したトウガラシ

アブラムシ、ハダニ、うどんこ病などの病害虫への対策としては、農薬の散布が一番に挙げられるが、山間部の農村ということもあり、輸送コストなどが上乗せされ、頻繁に農薬を購入し使用することは現実的ではないと考えた。また現地では養蜂も盛んに行われ、大きな収入源の一つとなっているため、農薬の使用は影響をおよぼすリスクがあることが懸念される。そこで現地で手に入る資材で利用可能であり、環境負荷が低い防除資材を検討し、デンプン液剤の使用を考えた。デンプン液剤は化学殺虫成分を含まない、いわゆる「ソフト農薬」と呼ばれるものの一種で、微小な害虫に散布することで、粘性による虫体の捕捉、あるいは気門を塞ぐことによる呼吸阻害によって物理的に殺虫し、薬剤抵抗性を発達させることもないことが知られている。日本では「粘着くん」の商品名で住友化学によって製品化されており、散布後、10〜20 分でデンプン液剤が乾き、殺虫効果を発揮し、ミカンハダニやカンザワハダニ、ナミハダニなどのハダニ類をはじめ、オンジツコナジラミ、タバココナジラミ、ワタアブラムシ、モモアカアブラムシなどの難防除害虫やうどんこ病への有効性が確認されている。

そこで日本からデンプン液剤である「粘着くん」を持ち込み、現地で発生している病虫害への効果を確認した（写真 8・9)。その結果デンプン液剤の有効性を確認することができ（写真 10・11)、またその結果を見た農家の反応は良好であった。

写真 8　デンプン液剤「粘着くん」の希釈作業

写真 9　デンプン液剤を散布する様子

写真 10・11　ネパール農村におけるデンプン液剤散布の効果

また、日本から持参したデンプン液剤の代用として現地でも入手可能な原料によるデンプン液剤の利用可能性を探るため、現地で栽培されたコメを粉砕したうえでボイルし、粘性の高い溶液を水で希釈したものを試作し（写真 12・13）、デンプン液剤作成のワークショップを行った（写真 14・15）。

写真 12　コメを磨砕する様子

写真 13　磨砕したコメをボイルしたもの

写真 14　デンプン液剤のワークショップ

写真 15　作成したデンプン液剤の散布

現地では主食としてコメやミレットの栽培が広く行われているが、今後はそれらを使用した際の有効濃度の詳細な検討や、散布後の作物への影響などを調査、またデンプン液剤を使用することによる収益増加への寄与を明らかにすることによって、有機農業を主体とした山間部の農業に対して、きわめて環境負荷が低い病害虫管理技術の開発が期待できると考えられる。

農民協同組合の現状把握と組織運営に関する改善の検討については 2017 年より継続して調査を行っている。研究対象地域には、Bumekot Upahokta Sahakari と名付けられた農民協同組合が設置されている。この農業協同組合は、7 名の理事の下で 130 名の組合員が所属している（図 4）。調査開始時の聞き取りでは、組合の活動として、農業信用と農業技術訓練の 2 つに大きく分かれ、さらに組合で設置した農業集荷センターを中心に、①種子や資材などの投入材販売、②生産物の集荷と販売業務、③農業技術の教育・普及、などが行われていた。2018 年までは、①および②の活動に当たる農業集荷および生活協同組合の事業を 1 名のマネージャーがとりまとめていた。この運営管理に対し、本プロジェクトメンバーから組合の資金の流れに関して、1 人のマネージャーが農民への資材販売と農民への生産物買取を行うのは、お金の流れが不透明になると指摘していた。この指摘に対し、同農民組合でも農業資材の販売と生産物の集荷販売を 1 名で管理する場合、農民からの支払いと農民への支払いを同一人物が行うことになり、組織の運営上、資金の流れが不透明になることから、2019 年より農業集荷・販売部門と生活協同組合部門が分離されて、それぞれ 1 名のマネージャー職が設置された（図 4）。

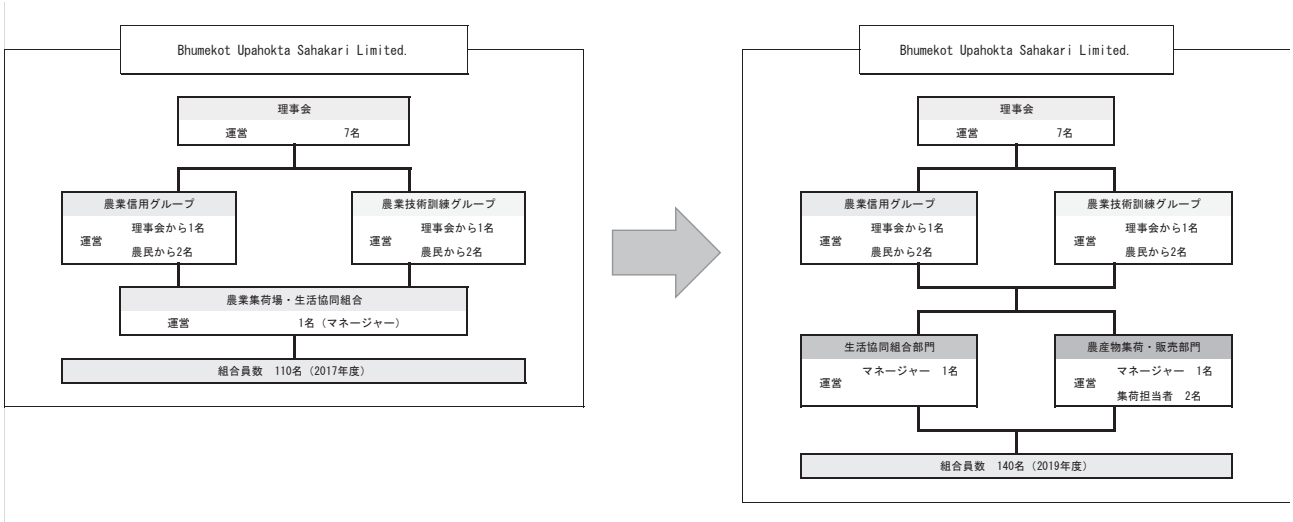


図 4　ハンサプール農民組織における運営の変更

この組織変更により、各部門のマネージャーが自身の担当する運営に集中することができ、また資金の流れの不透明性が解消されたことから、組合員も今まで以上に組織を利用するようになったようである。さらにこの組織変更により注目される点は、農産物集荷に関して、これまでは、農民個々人が集荷場まで持参する形をとっていたが、組合員が居住する地域は標高差が 600m、東西 2ｋｍ以上に広がっているため、農民によっては農産物を運搬するだけでも重労働を要していた。そこで、2019 年からは、マネージャーだけが農産物の買取を行うのではなく、集荷場以外に 2 カ所の買取場所を設け、集荷担当者を新たに 2 名任命した。2019 年に、それぞれの集荷場に農産物を持ち込んだ農民は、合計で 62 名（集落中央集荷場 45 名、集落西側集荷場 13 名、集落北側集荷場 4 名）となっており、組合員の 4 割以上が組合の集荷システムを利用して農産物の販売を行っていた。各農民の農産物販売については、農繁期に 15 回以上持参した農民もいれば、わずかに 1 度しか持参しなかった農民もいるが、2019 年の調査では、集荷場に持参された農産物データを入手し（写真 16）、現在、ネパール語から日本語への翻訳を依頼している。日本語によるデータ入手後には、随時データを入力し、持参された農産物の種類、取引量、販売価格などのデータ分析を行い、農産物の集荷状況や農民の集荷場利用などの実態把握し、今後の集荷場運営の改善点を探る予定である。

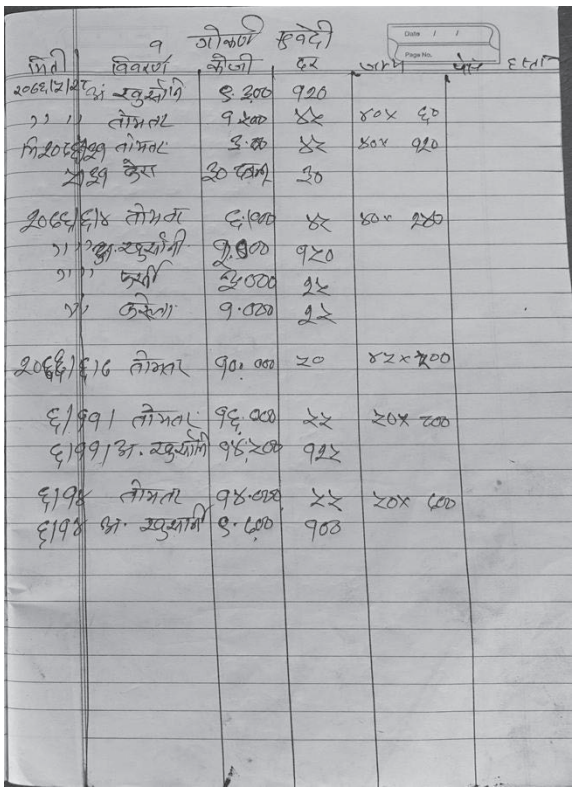


写真 16　集荷場で記録された販売データ

今後の課題としては、上記のデータ分析とこれまでの聞き取り調査結果から、2018 年度の調査で抽出された問題点のうち、①組合員が納める会費と農協での集荷・販売を利用できる回数の関係という問題点、②農産物 1kg あたり 2 ルピーのマネージメント費用と 3 ルピーの輸送費用の適格性、③モチベーションの高い農家と低い農家の意識の差の要因（集荷システムや集荷場への距離）、④今後の農産物の品質向上をどう進めていけば良いかという点（特に病害虫問題や輸送問題の対応）、⑤オフシーズントマト以外の収益性が高い農産物の導入と生産性向上、について、より明確な現状把握とその対応策を検討する必要がある。

なお、副収入雑業の生産・加工・流通・販売の改善・普及に関して 2018 年に実施した養蜂箱と養蜂種を配布した農家（30 戸）では、養蜂箱を設置した地域にかかわらず 1 養蜂箱あたり 1000 ルピーの収入増加を得たことが確認された。そのため、農家所得の向上を視野に入れた場合、オフシーズントマトを含めた作物栽培・生産性向上・品質向上・農産物販売に加え、養蜂などを導入することで調査対象地域の安定した貨幣稼得と所得向上につながることが明らかとなっている。

８．実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

先に述べたように、本プロジェクトは 2018 年に実施されたネパール政府環境省下の農村振興プロジェクト「Climate Smart Village」のコンセプトに共同して、強化プラスチックフィルムのパイプハウス用途等、不適環境対応型集落への脱皮に向け、2019 年度のフォローアップでも、各地区への資材の配布と利用に関しての助言を行うことができた。

また、今年度は、生産性向上に関わる土壌管理、農産物の生育に関わる病害虫管理の分野にも取り組み、農民が現地でも安価に入手できる資材によって、有機系肥料の生産と病害虫駆除に役立つ技術確立の可能性を見いだした。今後は、従来から焦点となっていない収穫技術、貯蔵技術、食品加工、消費形態、など持続的で安定した食料生産・供給システムの確立に資するプラットフォームの構築に向けて、一段階進捗したと評価できる。

さらに、本プロジェクト初年度に指摘した農民協同組合の活動において、活動内容が農業信用と農業技術訓練の 2 つに大きく分かれ、各部門の運営の合理化が図られ、資金の流れの不透明性が解消されたことは、大きな変化として評価できる。さらにこの組織変更により、農産物集荷活動でも合理化が図られ、農産物の販売に組合を利用する農家が増加したことは、今後の組合運営における資金面・活動面での安定化の一助になろう。

９．残された問題点と今後の研究推進方策

当該地域では、これまでにある程度の品質を保持した状態でトマトの栽培・販売を行っているが、病害虫問題や輸送問題はここ数年でやっと取り組み始めた段階である。そのため、これらの問題の改善に取り組むためには、さらなる情報収集と改善案を作り出す必要がある。

当該地域では、2019 年より地方政府の取り組みにより、周辺の道路拡張工事が進められている。この工事により、農産物の輸送時に起こる腐敗や減耗の縮小が期待されているが、本工事では舗装路までは視野に含まれていないため、輸送問題を改善していくためには、より効果的な取り組みが必要である。

また、2018 年度より現地の農民組織から、ルパ DVC マディーナディ川中流域に加工センター設置を検討することが提案されたが、急峻な谷を上下移動する必要があるため、指定された場所は現実的ではないと判断した。さらに本プロジェクトからは、現地から提案された地域より上流域で枯渇することない水源を確認し、農産物集荷場に近い場所でも加工場の設置が可能であることを提案した。これにより、ポンプ敷設の設置が必要となるが集選果・保蔵・加工・販売等を目的としたトマトをはじめとするミレット・ソバ・バナナ等の地産品利用が叶うセンターの将来展望が得られている。ただし、センターの具現化には、資金面や共同運営する上での組織体制を慎重に検討する必要がある。

１０．公表した成果一覧

特になし

２０１９年度 東京農業大学 フィリピン共同研究プロジェクト
研究成果報告書

研究代表者　　馬場　正

１．研究課題名および予算額

研究課題名	予算額（円）
東ミンドロ州におけるカラマンシー産業の発展に向けた研究と能力開発	800,000

２．研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	馬場　正	農学部　農学科・教授	研究総括
研究分担者	河合　義隆	農学部　農学科・教授	収穫時期の平準化のための栽培技術
	吉田　実花	農学部　農学科・助教	黄化したカラマンシー果実の評価と利用
	篠原　弘亮	農学部　農学科・教授	総合的ペストマネジメント技術の確立と普及
	小池　安比古	農学部・教授	総合的ペストマネジメント技術の確立と普及
	西尾　善太	農学部　農学科・准教授	総合的ペストマネジメント技術の確立と普及
	キムオッキョン	農学部　農学科・助教	総合的ペストマネジメント技術の確立と普及
	小松　憲治	農学部 生物資源開発学科・助教	総合的ペストマネジメント技術の確立と普及
	多田　耕太郎	農学部 デザイン農学科・教授	加工品製造と廃棄物の再利用
	入澤　友啓	農学部 デザイン農学科・准教授	加工品製造と廃棄物の再利用
	林田　まき	農学部 動物科学科・准教授	加工品製造と廃棄物の再利用

３．研究期間

２０１９年４月１日～２０２０年３月３１日（３年目）

４．研究の背景（当初）

2013 年から 3 年間、総合研究所戦略研究プロジェクトとして、インドネシアボゴール農科大学、フィリピン大学ロスバニオス校（UPLB）、マレーシアプトラ大学と共同で、「小規模農民の自立的発展を促す技術開発」に取り組んだ。その中で本プロジェクトの研究代表者は、UPLB の Postharvest Horticulture Training and Research Center （PHTRC）と、「Nueva Ecija 州におけるカラマンシー果実の生産力向上と収

穫後ロス軽減」を担当した。カラマンシー産業の発展に向けて技術的側面から成果を挙げたが、普及には至っていない。一方同時期に Southeast Asian Regional Center for Graduate Study and Research in Agriculture（SEARCA）が母体となって、フィリピンにおけるカラマンシーの最大産地である Oriental Mindoro 州において主として社会経済学的アプローチによるカラマンシー産業発展プロジェクトが取り組まれた。残念ながら、両プロジェクトとも社会実装には至っておらず、カラマンシー生産量は減少の一途をたどっている。そこで、2 つのプロジェクトの参画機関が集い、カラマンシー産業を再興するため、新たなプロジェクト（以下 SEARCA プロジェクト）の立ち上げを目指した。

５．研究目的

SEARCA プロジェクトの申請に先立ち、研究課題名を「東ミンドロ州におけるカラマンシー産業の発展に向けた研究と能力開発」として、課題の明確化と技術シーズの確立に取り組んだ。開始当初は、（１）栽培・収穫後技術、（２）ペストマネジメント、（３）加工品開発、の各分野から課題が抽出されていた。現地調査の結果、緊急性、実現可能性から、（１）、中でも「生食用果実のオフシーズン生産」と「ジュース用果実の長期貯蔵」の 2 テーマにしぼりこんだ。技術シーズの確立と並行して、SEARCA プロジェクトの申請書をまとめて、フィリピン農業省農業研究局（DA-BAR）にプロジェクト申請を行い、資金獲得を目指す。

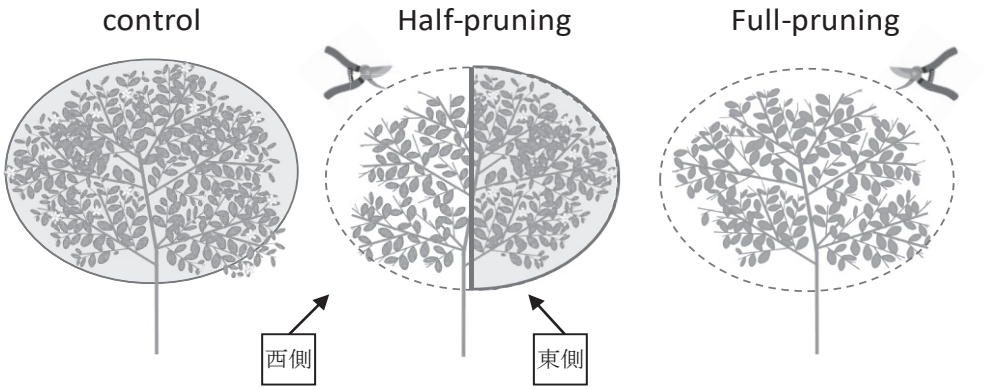
６．研究（実験）方法

（１）生食用果実のオフシーズン生産

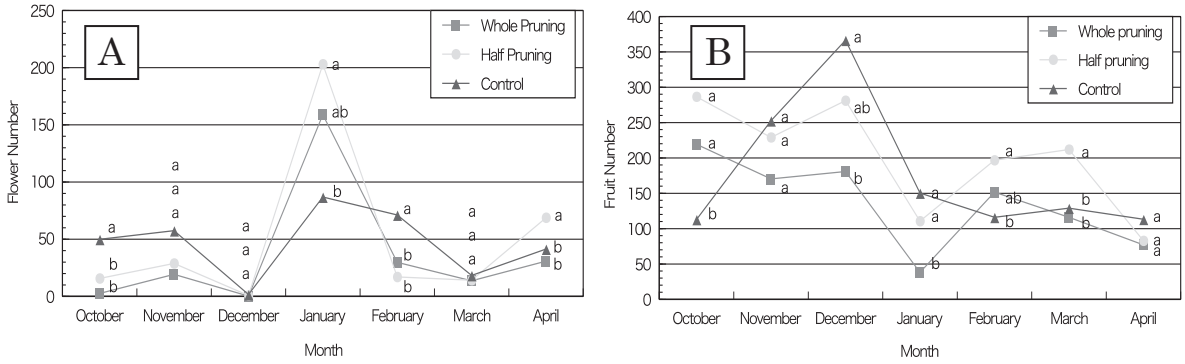
フィリピンのカラマンシー最大産地である東ミンドロ州の圃場において、高価格で取引できるオフシーズン生産に向けて、摘心、植物成長調節剤処理試験を行った。摘心については、収穫のピークシーズンである 8 月下旬に、樹全体を摘心する区（全摘心区）、樹の西側半分を摘心する区（半摘心区）、対照区（無摘心区）を設けた（第 1 図）。摘心は枝先 3～5cm を切除した。植物成長調節剤の試験については、ABA 処理区、ABA+施肥区、無処理区を設けた。ABA 処理濃度は 5ppm でそろえた。各試験区大きさの揃った 5 樹を用いた。測定は、花数、果実数については、処理 2 か月後の 10 月から翌 4 月まで 1 週間に 1 回行い、月ごとに集計した。また収量（全量）とそのうち商品になりうる果実量については、翌 1 月と 3 月に測定した。

（２）ジュース用果実の長期貯蔵

ジュース用のカラマンシー原料果実を 2 か月程度貯蔵できれば、安価な時期に購入し、順次ジュース加工することができる。そこで貯蔵温度（1℃～30℃）とフィルム包装法（無包装、ピンホール、パンチホール、無孔）をかえて、緑色果の長期貯蔵試験を行った。現地での実験環境に制限のあることから、日本国内（小笠原）で栽培されているカラマンシー果実を入手し貯蔵温度条件を検討したうえで、フィリピンではラージスケール（1kg/袋）での試験を行った。



第 1 図　摘心に関して設定した試験区の説明図（左：対照区、中：半摘心区、右：全摘心区）



第 2 図　8 月の摘心程度が花数（A）と果実数（B）に及ぼす影響

2018 年 10 月から 2019 年 4 月まで、各試験区 5 樹について 1 週間に 1 回測定し、月ごとにまとめた。
P<0.05 by the Tukey-Kramer's test

7．研究成果

（1）生食用果実のオフシーズン生産

1）摘心処理

無摘心区（慣行、対照区）と比較して、半摘心区において花数が 1 月に倍増した（第 2 図 A)。また果実数も 10 月と 2 月 3 月に倍増した（第 2 図 B)。今回の摘心は枝先 3〜5cm なので、摘心した部分（第 1 図 Half-pruning の西側）では、分化していた花芽はほぼすべて切り落とされている。半摘心区では、摘心しなかった樹体の半分（第 1 図 Half-pruning の東側）において、すでに花芽分化していた芽が複数伸びてきて 9 月の花数増加（測定開始前なので図にはデータなし）となり、その結果 10 月の果実数が増えたことが推察される。また 1 月の花数増加は、摘心によって新たに分化が誘導された花芽が複数伸びてきた結果で、それらの花芽が 2 月もしくは 3 月に果実数の増加となってあらわれたと考えている。

このように半摘心処理は花芽数、果実数の増加効果が認められた。この結果はオフシーズン生産の可能性を示している。一方 1 月と 3 月の収量をみたところ、無摘心区と同等であった（第 1 表)。このように花数、果実数の増加が、収量増に結びつかなかった。商品果についてみても量、率ともに無摘心区と比較して差はなかった。カラマンシーでは着花後収穫可能になるまで約 4 か月以上を要するため、9 月の花数増加（＝10 月の果実数増加）が年明け 1 月もしくは 3 月のオフシーズン生産につながることを期待したが、おそらく生理落果数の増加などが起こり、収量増には直結しなかった。

2）ABA 処理

ABA 処理区、ABA+施肥区ともに、無処理区と比較して、花数、果実数、収量（全量と商品化率）のいずれにおいても、差は認められなかった（データ省略)。

第 1 表　8 月の摘心程度が 1 月 3 月の収量、商品果率に及ぼす影響

測定日	処理	収量（kg）	商品果（kg）	商品果率（%）
2019年1月	全摘心区	0. 21 b[z]	0. 19 b	90. 3
	半摘心区	0. 68 a	0. 65 ab	95. 0
	無摘心区	0. 80 a	0. 78 a	97. 5
2019年3月	全摘心区	0. 10 a	0. 09 a	90. 0
	半摘心区	0. 18 a	0. 17 a	94. 4
	無摘心区	0. 30 a	0. 29 a	97. 3

このように、8 月下旬に、枝先 3～5cm を、樹の半分だけ摘心することで、収穫を年明けまで遅らせ、高単価で販売できる可能性が示されたものの、収量増を達成するには施肥や灌水などと組み合せないと難しいことがわかった。一方植物成長調節剤である ABA および ABA に施肥を組み合わせて花数、果実数、収量への影響をみたところ、その効果は認められなかった。

（2）ジュース用果実の長期貯蔵

小笠原産緑色果を、10 個のピンホールを開けた厚さ 0.03mm のポリエチレン袋（120 ㎜×230mm）に入れて各温度で 2 か月貯蔵したところ、主に腐敗と低温障害の発生によって商品性を失った（第 2 表）。貯蔵温度別にみると、10℃以上では腐敗が多発し、3℃以下では 1 週間以内に低温障害が発生した。5℃貯蔵ではわずかに低温障害がみられたが 2 か月の長期貯蔵には最適と判断した。

そこでフィリピンでは 5℃で貯蔵試験を行った。その結果、無包装では萎れで全果が商品性を失った（第 3 図左）。現地で容易に入手可能なフィルム（厚さ 0.06mm ポリエチレン袋）に孔をあけずに入れた場合、1 か月後にはガス障害による褐変がみられた（第 3 図右）。フィルムにピンホールまたはパンチホールを開けることで健全果率を高めることができ（第 3 図中左、中右）、とくにパンチホールを開けた場合には 2 か月後でも健全果率 93.0%を維持できた。

（3）SEARCA プロジェクトの申請

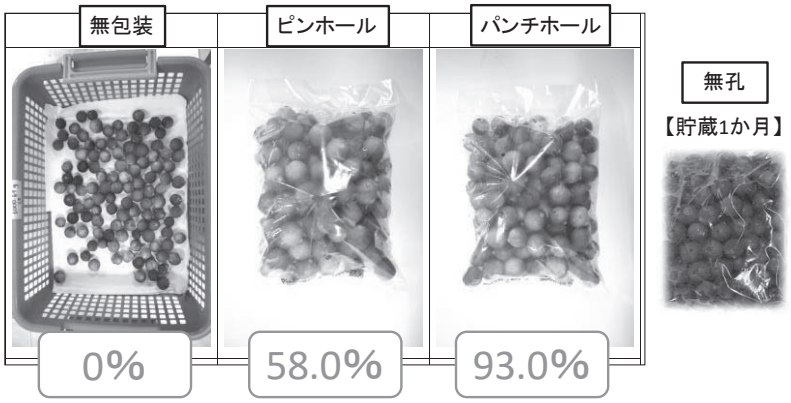
以上のような研究成果を盛り込み、フィリピン農業省農業研究局（DA-BAR）へのプロジェクト申請を行ったところ、2 年間総額 20,000 千円の研究計画が採択された。

第 2 表　小笠原産緑色果を各温度別に 2 か月貯蔵した場合の品質低下要因と発生率

	1℃	3℃	5℃	10℃	20℃	30℃
萎れ	NO	NO	NO	NO	NO	NO
腐敗	NO	NO	NO	33%	89%	100%
黄化	NO	NO	NO	―	―	―
低温障害	Severe	Severe	Slight	NO	NO	NO

※果実は 10 個のピンホールを開けた厚さ 0.03mm のポリエチレン袋（120 ㎜×230mm）に入れた

第 3 図　フィリピン産緑色果を各包装によって 5℃で 2 か月貯蔵した様子



（赤数字は健全果率を示す）

８．実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

「カラマンシー生果の収穫後ロス軽減技術」で開発したフィルム包装については、日本でも香酸カンキツ類の緑色保持技術として活用できる。小笠原・父島特産品のグリーンレモンの普及に向けた試験研究で、本成果を活用し、グリーンレモンの緑色保持効果を実証し、販売期間の延長に効果を示した。

９．残された問題点と今後の研究推進方策

課題ごとの残された問題点は以下の通りである。

（１）生食用果実のオフシーズン生産

適切な摘心程度がおおむね把握できたので、次は施肥と組み合わせて、収量増の効果を確認する。

（２）ジュース用果実の長期貯蔵

ジュース用果実の長期貯蔵条件を明らかにできたので、現地での普及に向けて動き出す。

１０．公表した成果一覧

講演

1)Yoshida, M., M. Nakata, T. Baba, Y. Kawai, J. U. Agravante (2019) Physico-chemical responses to storage temperature of calamondin (x *Citrofortunella microcarpa*) fruit packed in perforated polyethylene film. Proceedings of ISSAAS 2019. October 18-20, Universiti Putra Malaysia, Selangor, Malaysia.

２０１９年度 東京農業大学 ロシア共同研究プロジェクト
研究成果報告書

研究代表者　　丹羽　光一

１．研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
ロシアンミツバチとその生産物の特性に関する研究 （ミツバチによるポリネーションの持続と新たな食品開発を目指して）	1,500,000

２．研究組織

	氏名	所属・職名	個別研究課題名
研究代表者	丹羽　光一	生物産業学部　食香粧化学科・教授	研究総括
研究分担者	佐藤　広顕	生物産業学部　食香粧化学科・教授	試料調達、センサー解析、官能評価
	Yury Prikhodko	ロシア極東連邦大学　生物医学部・教授	試料・文献調達、ロシア側研究コーディネート
	吉田　穂積	生物産業学部　北方圏農学科・教授	花弁分析
	遠藤　明仁	生物産業学部　食香粧化学科・准教授	腸内細菌遺伝子解析
	内野　昌孝	生命科学部　分子微生物学科・教授	試料成分分析

３．研究期間

２０１９年４月１日～２０２０年３月３１日（２年目）

４.研究の背景（当初）

ミツバチは、蜂蜜の生産だけではなく、栽培植物のポリネーション（受粉）を担っている。近年、日本を含む各国で蜂群崩壊症候群(Colony Collapse Disorder, CCD)と呼ばれるミツバチの減少が報告されており、農業や環境への影響が懸念されているが、CCD はロシアでは報告されていない。この原因として、ロシア産ミツバチ(ロシアンミツバチ)はダニなどによる病気への耐性が強いことが考えられる。この病原耐性に腸内細菌が関与している可能性が示唆されているが、その詳細は不明である。ロシアンミツバチの病原耐性の原因が分かれば、これを利用してミツバチの減少を防ぐ対策を見出すことができる。

ロシアでは、ミツバチが作る蜂蜜の食文化が発達しており、古くから蜂蜜を医薬として使用するなど市民にとってハチミツは身近な存在である。ロシアは世界でも有数の蜂蜜産出国で、非常に多くの種類の蜂蜜が存在する。日本人が食した事の無い風味を持つ蜂蜜も数多くと考えられるが、それらが日本人の嗜好に合うかどうかは全く分かっていない。

５．研究目的

本研究では、ロシアンミツバチおよび日露のハチミツの特徴を調べる事によって、農業における懸念事項であるミツバチの減少に対する対策と新たな需要の掘り起こしに関する知見を得る事を目的とする。ミツバチの腸内細菌から抗病原性を持つ種が見出せれば、ミツバチのプロバイオティクスとして病原性に耐性のあるミツバチの育種に寄与できる。またロシア産ハチミツの特徴を調べる事は食品科学的に重要なだけでなく、日本人の嗜好性に合えば、これを日本に導入することで新たな食品開発・需要の掘り起こしにつなげる事ができる。

昨年までにロシアのミツバチの入手が困難である事がわかり、本年度は国内のミツバチの腸内細菌の解析を行い、病原耐性との関連を明らかにすることを目的とした。またハチミツについては、昨年ロシア産 26 種（研究分与品 5 種、市販品 21 種)、日本産 15 種（全て市販品）計 41 種を用いて、官能評価センサーによる香味解析を実施した。その結果ロシアでは香味に特徴のある濃厚タイプが好まれるのに対し、日本では逆に癖のないあっさりとしたタイプが好まれるなど日露では嗜好の相違が明確となった。そこで今年度は蜜源や採蜜地の異なる多様なハチミツと比較することでロシア産ハチミツの香味特性の相違を明確にすることを目的とした。

６．研究（実験）方法

1) ミツバチ腸内細菌の解析

ミツバチより乳酸菌を分離するため、網走市の養蜂家からミツバチを入手した。このミツバチより消化管を取り出し、生理食塩水にて希釈した。希釈液をフルクトース添加 MRS (FMRS) 培地に平板塗抹して一晩培養したのち、バクテリオシン高感受性菌 *Lactobacillus dextrinicus* を接種した MRS 軟寒天培地を重層し、さらに一晩培養した。培養後、クリアゾーンを形成したコロニーを取り出し、純粋分離を行った。純粋分離した分離株を FMRS 液体培地で培養し、培養後に遠心分離をすることで培養上清を調整した。この培養上清を 90 度で 10 分間熱することで殺菌し、バクテリオシン生産性試験のサンプルとした。また、調整したサンプルの一部をプロテアーゼ K、ペプシン、α-アミラーゼで処理し、同様に実験に用いた。バクテリオシン活性試験の指標菌には *L. dextrinicus* を用いた。また、分離株の同定をするため、ミツバチ消化管の優勢菌の一種である *Lactobacillus kunkeei* 特異的 PCR を行った。

2) ハチミツ性状の解析

試料のハチミツは、世界 12 ヶ国(イタリア産 17 種、ロシア産 15 種、日本産 12 種、スペイン産 11 種、ギリシャ産 7 種、フランス産 4 種、ニュージーランド産 4 種、台湾 2 種、ハンガリー産 3 種、オーストラリア産 2 種、エチオピア産 1 種、中国 1 種)で 2015～2019 年に掛けて採蜜された計 79 種のハチミツを使用した。センサー分析では、色彩を分光測色計 CM-3500d（コニカミノルタジャパン株式会社）にて、呈味を電子味覚システムα-ASTREE(Alpha M.O.S Japan 株式会社)にて、香気を匂い識別センサーシステムα-FOX(Alpha M.O.S Japan 株式会社)にてそれぞれ測定・解析した。

測定は呈味が 7 種（CTS：塩味、ANS：甘味、CPS：辛味、NMS：旨味、AHS：酸味、PKS：金属実、SCS：苦味)、香気は 18 種のセンサーに対する応答性の強弱を測定し、その結果を主成分分析にて解析し、相似性や異違性を解析した。味覚分析は、希釈試料を専用ビーカーに約 80ml 入れ、オートサンプラー (6.2041.320 Metrohm) にセットし、室温で撹拌しながらセンサー応答値が平衡に達する 120 秒後の電位差を測定した。測定は 5 回実施し、センサーの応答性が安定した後半 3 回分の測定値を使用した。香気分析は、希釈試料 5g を 10 ml 容バイアル瓶に採取、密閉後、オートサンプラー(Alpha M.O.S 社製, フ

ランス) のサンプルトレイにセット、2000 µl を注入した。分析条件は、香気生成条件 60℃,15 分、シリンジ温度 50℃、オーブン温度 40℃、注入速度 2000 µl/s とした。

なお成分はポケットハチミツ水分計にて水分、各種イオンメーターにて各ミネラル、*o*--フェナントロリン比色法にて鉄分をそれぞれ測定した。

7．研究成果

1) ミツバチ腸内細菌の解析

2 種類のミツバチ消化管サンプルを調整して重層寒天試験を行ったところ、幾つかのコロニーが周囲にクリアゾーンを形成した。そのクリアゾーン形成コロニーから合計 8 コロニーを選抜し、純粋培養後に調整した培養上清サンプルを用いて抗菌活性を行った。その結果、すべての菌株が *L. dextrinicus* に対して抗菌活性を有していることが明らかとなった。この抗菌活性は α-アミラーゼで処理をしても消失しない一方で、プロテアーゼ K 及びペプシンで処理をすると活性が消失したことから (Fig. 1)、タンパク質様の物質が抗菌活性に関与していると考えられた。

乳酸菌の産生する抗菌物質としては、乳酸、酢酸などの有機酸のほか、抗菌ペプチドであるバクテリオシンが知られている。バクテリオシは熱安定性の物質で、プロテアーゼ処理により活性が消失することが知られていることから、本分離株が生産する抗菌物質はバクテリオシンであると考えられた。乳酸菌が産生するバクテリオシンは広範な構造と抗菌スペクトルが知られており、これまでに 100 種類以上の乳酸菌由来バクテリオシンが報告されている。このバクテリオシン産生は菌種レベル及び菌株レベルで異なることが知られている。そこで分離株の同定を試みたところ、分離株は *L. kunkeei* 特異的 PCR に陽性反応を示したことから (Fig. 2)、全てのバクテリオシン産生菌を *L. kunkeei* として同定した。

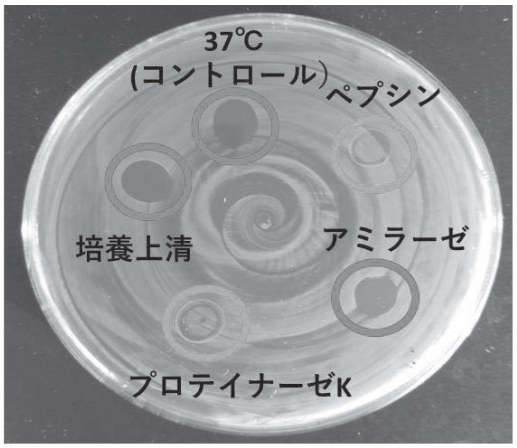


Fig. 1. ミツバチ由来 *Lactobacillus kunkeei*の培養上清による *Lactobacillus dextrinicus* の生育阻害

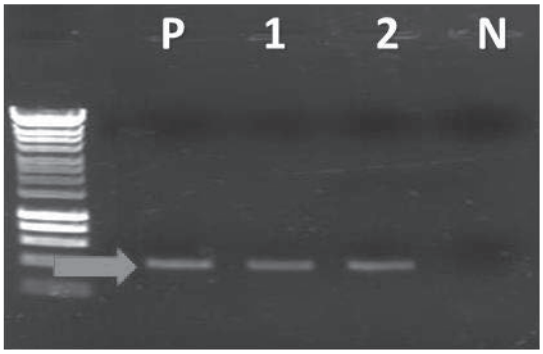


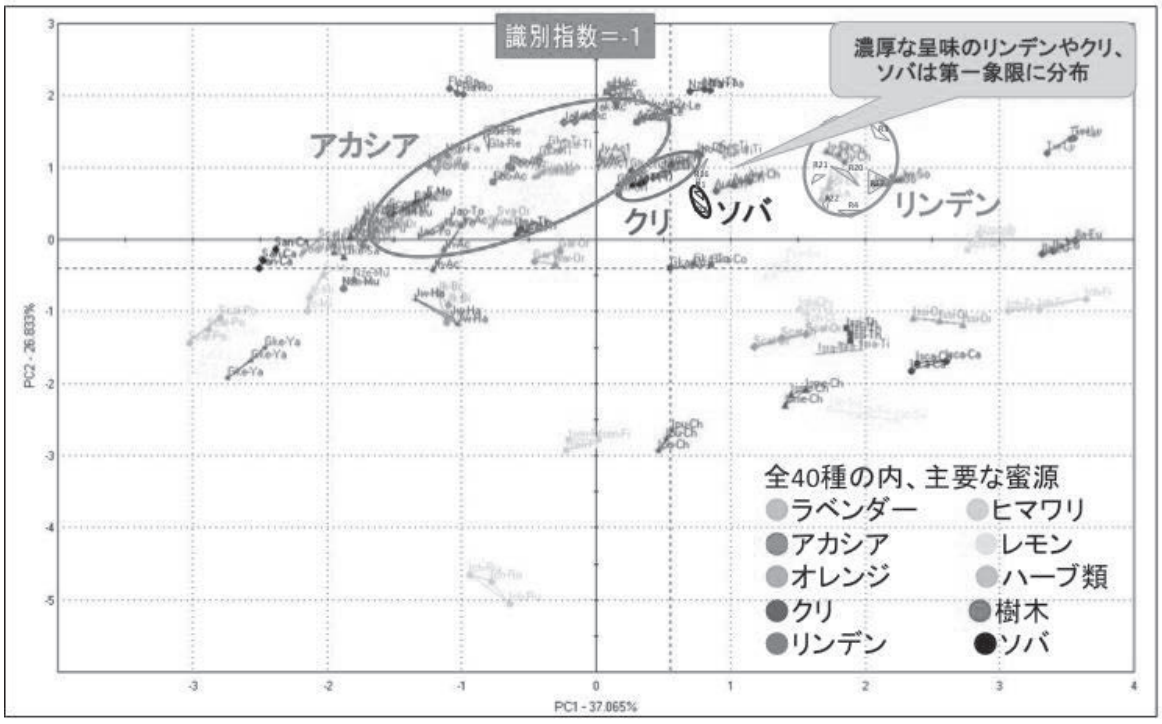
Fig. 2. *L. kunkeei* 特異的PCR

P, *Lactobacillus kunkeei*;
1, 分離株1-1; 2, 分離株 2-2;
N, negative control.

2) ハチミツ性状の解析

昨年は、研究初年度であったため、主にロシア産と日本産の両ハチミツの香味特性の比較並びに両国における嗜好性について解析した。その結果、ロシア産でもマーケットなどでは日本産と同様、淡色で癖のない香味のハチミツも流通していたものの、ロシア人が高値でも購入するのは、日本のクリやソバといった蜜源から採取した独特の香味を有するものであった。そこで今年度は、世界各地の種々の蜜源から採取したハチミツと比較することで、ロシア産ハチミツの香味特性の解析を試みた。約 40 種の蜜源から採取された 79 種のハチミツを主要な蜜源約 10 種に大別し、味覚センサーの呈味データを主成分分析にて解析・比較した。その結果 Fig.3 に示した様に、79 種のハチミツ全体では、グラフの第一象限から第四象限の広範囲に分散したものの、一部蜜源毎に重複が見られ、大別した 10 種間相互に相違は認められない結果となった。しかしロシアで好まれる濃厚で癖のあるリンデンは日本で好まれるさっぱりした香味が特徴のアカシアとは離れた第一象限にプロットされた。濃厚で癖のあるクリやソバも、リンデン同様第一象限にプロットされ、一部ハーブや樹木などの濃厚タイプも同じ象限にプロットされたことから、第一象限にプロットされたハチミツは濃厚な香味を有するタイプと推察され、センサーでの呈味測定結果からハチミツの香味特性を判断することが可能と考えられた。

Fig.3 α-ASTREEにて測定した各種ハチミツの呈味における主成分分析結果



またハチミツの色調は、濃厚色系では鉄分やミネラルが、それに対し淡色系では花粉やビタミン類がそれぞれ豊富と言われている。そこで各種ハチミツの Lab 表色系値と鉄分含量の相関について検討した。なおロシア産試料では、一部分析採取量に至らないものがあったため今回は、他国産 64 種の試料を対象に解析を試みた。資料ごとのミネラル量と b 値を Fig.4 に、鉄分含量と Lab 各値との相関を Fig.5 に示した。鉄分量と各値の相関係数は L 値（R^2=0.4454）＜a 値（R^2=0.5246）＜b 値（R^2=0.6715）となり、b 値が最も高い相関を示し、黄色味の強い濃厚色のハチミツほど鉄分が多い傾向であった。なお現在、残存するロシア産試料で一部解析を試みているが、ロシア産ハチミツは色調と鉄分含量の相関が他産地と異なる傾向で総じて上記相関計係数は低下する傾向であった。

Fig.4 ハチミツ中の各種ミネラル量並びにLab表色系のb値の比較

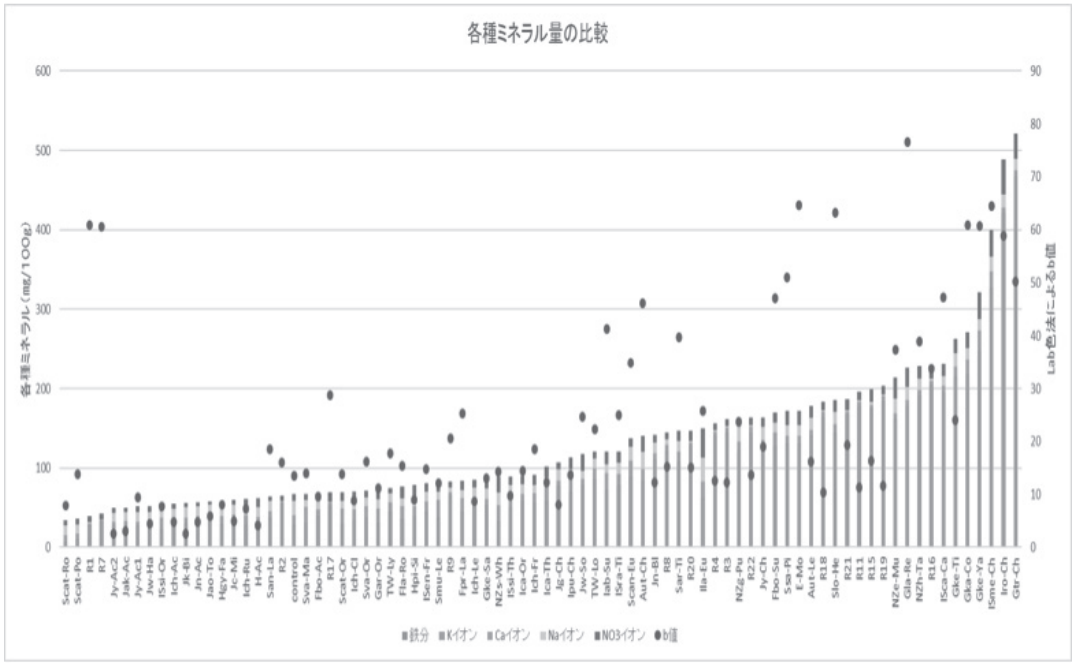
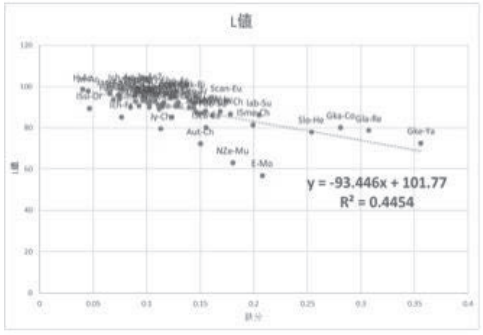
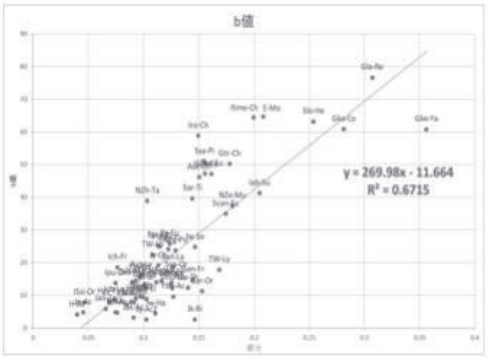
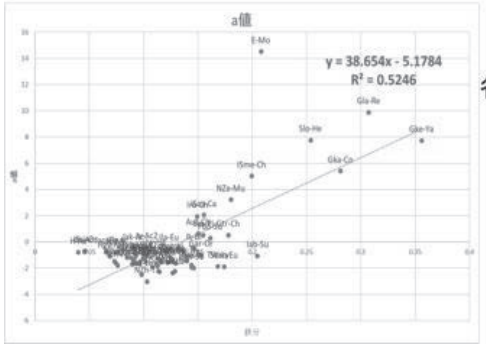


Fig.5 各種ハチミツにおける鉄分含量とLab色各測定値との相関検討







各値の相関係数

L値（R^2=0.4454）＜a値（R^2=0.5246）＜b値（R^2=0.6715）

黄色味の強い濃厚色のハチミツほど鉄分が多い傾向

８．実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

なし

９．残された問題点と今後の研究推進方策

ミツバチ腸内細菌の解析では、抗菌物質であるバクテリオシンを産生する乳酸菌として *L. kunkeei* を分離することができた。今後は産生されるバクテリオシンの抗菌スペクトル、構造や生合成遺伝子群の決定を明らかにするとともに、ミツバチ腸内に移入することで腐蛆病菌に対する耐性が向上するかどうかを検証してゆくことが必要である。

ハチミツの官能センサー解析では、世界各地における各種蜜源由来のハチミツと比較して、ロシアで需要の多いタイプは濃厚な香味特性を有することが明らかとなったものの、その成分特性については充分検証されていない。今回、色調とミネラル(鉄分)との相関を試みたが、ロシア産については一部充分量を確保できず、充分な検証が出来なかったため、改めて追加試験などで検証することが必要。

１０．公表した成果一覧

学会発表

１）前野慎太朗、遠藤明仁. フルクトフィリック乳酸菌がミツバチ消化管内細菌の生育に与える影響. 2019 年度日本乳酸菌学会 (7 月、岐阜).

２０１９年度 東京農業大学 ロシア共同研究プロジェクト
研究成果報告書

研究代表者　　峯　洋子

１．研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
ロシアにおける高品質イチゴのハウス栽培実証実験事業 ～夏秋イチゴの安定生産に向けたセンサデータ活用～	2,000,000

２．研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	峯　洋子	農学部　農学科・教授	栽培支援，データの解析
研究分担者	加藤　拓	応用生物科学部 農芸化学科・准教授	現地での試験実施の支援

３．研究期間

２０１９年４月１日～２０２０年３月３１日（１年目）

4. 研究の背景(当初)

ロシア極東地域・沿海地方の南部にある州都ウラジオストクは、人口 60 万人の軍港都市で、2012 年以降ロシア政府の極東開発政策によりインフラ整備が進み、中国・韓国からの距離も近いことから、近年経済発展が著しい。一方、ウラジオストクを含む極東地域の農業は、ソビエト連邦崩壊後、外国人労働力に頼った委託農業で成り立っており、今も休耕地が多いのが現状である。冬季における野菜・果物の供給はほぼ中国からの輸入ものとなっており、鮮度や安全性の面から住民の国産への要望は高い。ロシア政府は極東開発政策のひとつとして農業振興にも力を入れつつあり、日本からの農業技術・資本の導入を後押ししている。

極東ハバロフスク地方のハバロフスク市では既に、日本企業によるトマト・キュウリ生産温室が稼働し、同企業によるイチゴ温室生産も計画されている。しかしウラジオストクにおいては、大規模施設園芸は現在のところほとんど行われていない。ウラジオストクは 8 月でも月平均気温が約 20℃と冷涼で、気候の類似した北海道で夏季に有利に行われるイチゴ生産などの施設園芸に適した土地と考えられることから、日本型農業の適用性が十分に見込まれる。東京農業大学は 2017 年にロシア極東連邦大学(FEFU)との間に学術交流協定を締結しており、この協定のもとでウラジオストクのキャンパス内に最新素材の温室を建設して、夏秋イチゴ栽培の実証実験を行うプロジェクトが各方面の協力を得て立ち上げられた。

5. 研究目的

本研究は、ロシア極東地域での野菜のハウス生産に関わる日本型農業インフラの輸出およびビジネスモデルの構築に結びつけるために、ウラジオストクでの夏秋イチゴ実証栽培実験を実施するものである。現地でのイチゴ施設栽培の実績を積むとともに課題を洗い出し、日本型農業の実現可能性を評価することを本研究の目的とする。また夏秋イチゴ生産において、これまで経験や労力に頼っていた栽培管理技術を可視化することで、省力的に高品質作物の安定生産を行うための知見を得ることも、併せて目的とする。

6. 研究(実験)方法

＜日本型農業モデル導入による夏秋イチゴ実証栽培＞

ウラジオストクの極東連邦大学敷地内に、間口 7.2m 奥行 23m、面積 166m^2 の 50 坪ハウスを 2019 年 6 月に建設した（写真１）。これは地域創生学科・竹内康教授考案のトラス構造を、最新素材の炭素繊維強化プラスチック（サクラ化学工業）を骨材として組立てた耐候性軽量ハウスで、被覆資材は 0.15 mm 厚の農 PO 系フィルム（バツグン 5，シーアイ化成）とした。イチゴ栽培は株式会社ホーブ（北海道上川郡東神楽町）の方式を導入し、同社が育成し 2017 年に登録した四季成りイチゴ新品種‘ペチカほのか’を供試した。なお本実験における栽培と調査は、ホーブ中富良野研究農場で 3 か月間研修した学部生 2 名が交代で現地に滞在して担当した。北海道で行われる夏秋イチゴ栽培は通常、2 月下旬に冷蔵苗を鉢上げして育苗を開始し、3 月下旬に定植、3 週間ほど株養成したあと着花させ、5 月下旬～10 月末までの約 5 か月間収穫する。しかし本実証実験ではハウスの竣工が 6 月下旬となったことから、3 か月遅れの 5 月下旬に鉢上げし、6 月下旬に定植することとなった。

栽培システムはヤシ殻繊維を培地とした固形培地耕の養液栽培とし、培地を詰めた発泡スチロール製プランタ（27×120×12cm）を 3 列の架台に 19 個、22 個、22 個ずつ並べて高設ベッドを作製した（写真 2)。基肥として肥効調節型肥料（被覆燐硝安加里エコロング 413-40）をプランタあたり 10g ずつ混和し、プランタあたり 10 株ずつ、計 630 本の苗を 6 月 27 日に定植した。完成が遅れていた給液システムが始動して手灌水の必要がなくなった 7 月 4 日に､ベッド全面をシルバーのマルチフィルムで覆った。日々の給液は、当初ホーブオリジナルのイチゴ水耕専用液肥 1 号液（NPKMg=2:3:5:1%）と同 2 号液（NK=3:5%）の混合希釈液を用いる予定であったが、液肥がロシア税関を通過できなかったため、急遽現地の土耕用市販液肥（NPK＝3：3：5%）で代用することとなった。この液肥を水で 7 倍に希釈し、さらに比例式混入機（ドサトロン，サンホープ）で約 100 倍に希釈して電気伝導度（EC）を 0.8～1.5 dS/m に調整した培養液を、灌水チューブ（エバフロー，三菱ケミカルアグリドリーム）を通してかけ流しで 100L ずつ給液した。給液後にプランタ底から排出される余剰排液を容器に集め、排液量と排液 EC を毎回測定した。排液量が 50L（排液率 50%）に満たないときは、再度 100L 給液を繰り返した。また排液 EC が 1.0dS/m を超えていた場合には、培地 EC の上昇を防ぐために翌日は水のみ灌水した。なお、当初使用予定のホーブオリジナル水耕用液肥には、微量要素、水溶性マグネシウム、カルシウム（保証量記載の義務なし）も含まれるが、用いた土耕用液肥にはこれらが含まれないため、微量要素（OAT ハウス 5 号 5000 倍液）および塩化カルシウム 0.3%溶液を頻繁に葉面散布し、また硫酸マグネシウム四水和物を原水タンクに投入して補完した。

定植後ランナーおよび花房を除去して株を充実させ、3 週間後に花上げ（花房除去をやめて着花させ始める）とした。7 月 23 日から開花が始まり、現地の養蜂用ミツバチを用いた授粉を試みたが、ハウス外へ出ようとするだけで一向に授粉しなかったため、すべての花を筆で人工授粉した。蜂が授粉しなか

った原因としては、巣箱設置場所、ハウス内の高温、被覆資材の近紫外線透過率などが考えられたが、解明に至らなかった。病害虫防除は日本の殺虫剤および殺菌剤を使用できなかったため、重曹および現地で調達できた生物農薬（フィトスポリンM）アブラムシ剤（名称不明）ダニ剤（プロバイオティクスタール石鹸）を適宜散布した。スリップス剤や殺菌剤は最後まで入手できなかった。

収穫が始まった8月17日から試験終了の9月27日までの40日間、すべての株を対象に収量を毎日調査した。収穫果を階級（S・M・L）および等級（秀品・A品・外品）ごとに分け、果数と重量を記録した。各列10株の調査株については、すべての果実の開花日、花冠径、花房順位、花房内順位、成熟日数、一果重、果実径、糖度、酸度を記録した。糖度(Brix値)および酸度はデジタル糖酸度計(PAL-BX|ACID1, ATAGO) を用いて測定した。

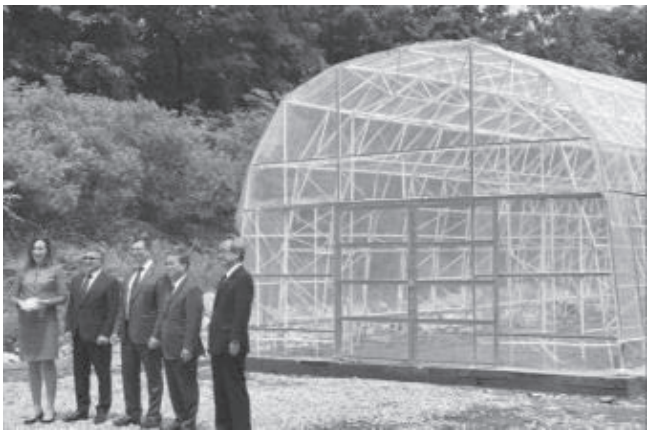


写真1　実証実験ハウスの外観

写真2　ハウス内部の様子

＜夏秋イチゴ生産の省力化のためのセンサデータ活用＞

培地の温度・体積含水率・バルクEC値を計測するための埋込み型センサ（TEROS12, METER）を、灌水チューブとプランタ側端との中間地点に深さ約10cmで埋設した。データロガー（ZL6, METER）にケーブルでつなぎデータを15分おきに取得した。週に一度、培地ECの実測値を生土1：2容積抽出法によりコンパクトECメータ（LAQUAtwinEC33B, HORIBA）で測定した。また週に一度、無作為に選んだ10株のイチゴ植物体から最下葉を採取し、葉柄汁液の硝酸イオン濃度をコンパクト硝酸イオンメータ（LAQUAtwinNO3-11, HORIBA）で測定した。

ハウス内気温・相対湿度・CO_2濃度の環境データは、クラウド型の計測・記録装置（スマートガーデナー、オネスト）で収集した。ハウス外の気象データは地域の公開気象データを利用した。

7. 研究成果

＜日本型農業モデル導入による夏イチゴ実証栽培＞

本実験での育苗は、適期を外れ不十分な設備・資材のもとでの管理となったものの、栽培者の努力とプロジェクト協力会社の支援により、定植までに必要な本数を準備することができた。6月27日の定植直後のハウスの環境は、最高室温15℃と、イチゴ適温（17～25℃）より低かったが、7月後半は適温となった。7月末から8月10日ごろまでは高温日が続き、8月2日の最高室温は38℃を記録した。8月中旬以降は試験終了までイチゴ生育適温の範囲となった(図1)。第1花房は7月23日から開花し始め、22～32日間で成熟して8月14～31日にかけて収穫された。第2花房は8月21日から開花し、23～30日間で成熟して9月17～27日に収穫された。蜂による授粉ができなかったため奇形果多発による摘果が増えたものの、総収量で約1700個、21kgの果実を収穫することができた（図2)。うち6割は果実うど

んこ病、灰色かび病などによる規格外品であったが、日本と同様の殺菌剤を使用できれば、これらの規格外品は可販果になり得ると考えられた。総収量を単収に換算すると 0.13t/10a となり、これは株式会社ホーブの北海道での‘ペチカほのか’収量 2.5～3t/10a と比べると 1/20 以下、日本の平均的な夏秋イチゴ単収と比べても 1/10 以下であった。しかし、適期を外れた育苗や定植、40 日のみの収穫期間であったことを勘案すると、相応の収量が得られたものと考えられる。果実サイズについては、夏秋イチゴでは希少な 15g 超えの大果が、第 1 果房・第 2 果房ともに 1 番果で多数収穫された（図 3)。果実糖度については、生育適温期に開花・成熟があたった第 2 果房において、平均糖度 10 度を超える高品質果実を多く収穫することができた（図 3)。

以上のことから、本実証実験においてロシア極東ウラジオストクにおける夏秋イチゴ生産の実現可能性が示されたと考えられる。

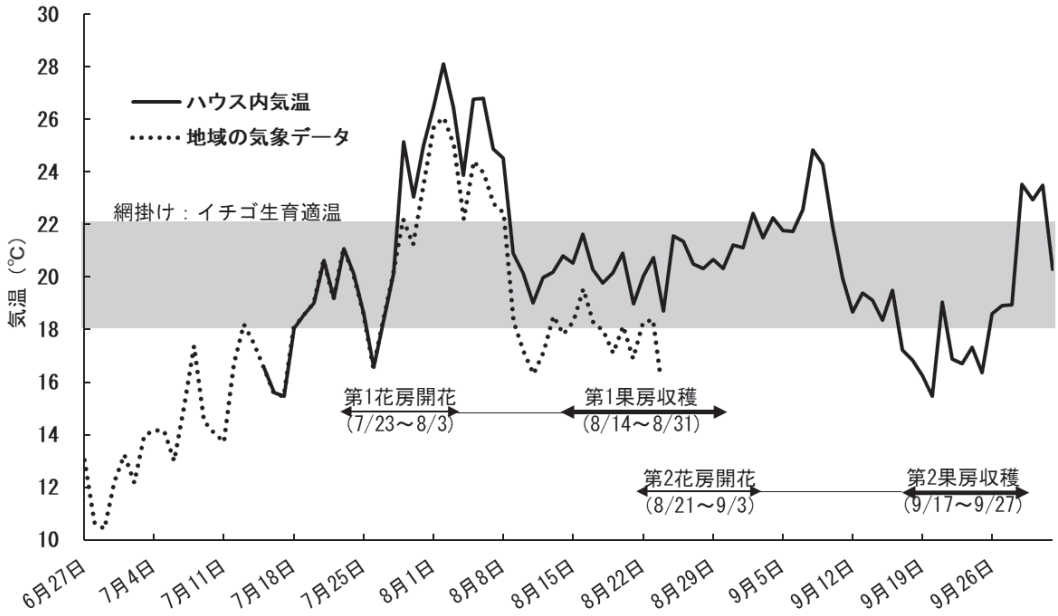


図 1　実験期間中の日平均気温の推移

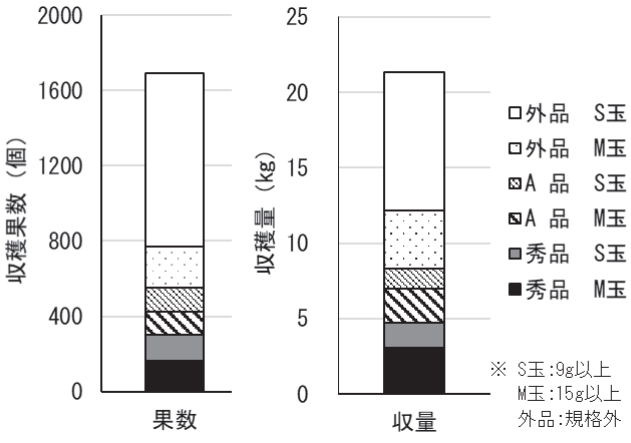


図 2　実証実験ハウス全体（630 株）の総収量

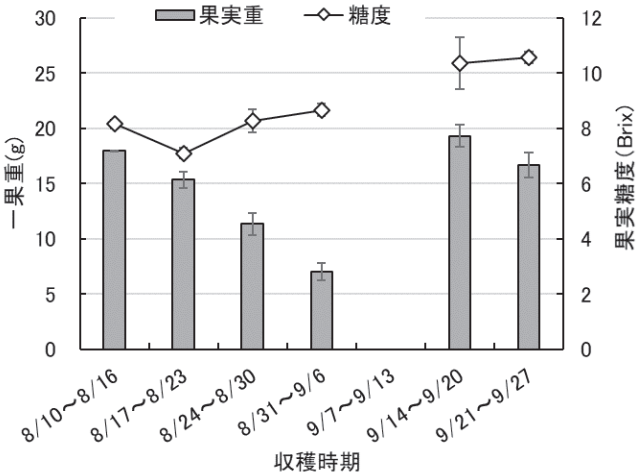


図 3　収穫時期別の一果重と果実糖度

＜夏秋イチゴ生産の省力化のためのセンサデータ活用＞

本実験における給液管理は、北海道で高品質イチゴ生産を実現している株式会社ホーブの方式が採られた。その給液管理法は毎日手動で培養液の給液ポンプを始動させ、プランタから排出される余剰排液の量と EC を記録する（図 4)。そしてその排液 EC 値を指標として、水のみ給液日を挟むあるいは給液 EC を上げるなどの調整を行い、さらに排液率 50%以上を保つことで、培地水分の過不足を防ぐというものである。このような管理により、本実験における期間中の総給液量は約 10ｔ、総排液量は約 6.4t となり（図 5)、給液量の半量以上が環境に廃棄された。今後、給液の自動化と、排液削減による環境負荷軽減を目指すために、培地センサデータを養水分管理の指標とすることを検討した。

まず、培地センサの含水率指示値を、ヤシ殻繊維培地における真の含水率値に変換するために、7 点校正で校正式を導き出した。ただしΘはヤシ殻繊維培地における体積含水率、θ はセンサ指示値とする。

$$\Theta=-0.012\theta^{2}+1.6498\theta+0.0418$$

この式を用いて校正した後の培地含水率の期間中の推移を図 6 に示す。毎日の給液直後にみられる最大含水率値を培地の飽和容水量とみなすと、本実験におけるヤシ殻繊維培地の飽和容水量は約 40%となった。8 月 8 日以降の最大含水率値が 44%に上昇したが、これは 8 月 8 日に 260L の大量灌水をしたあと間隙率が減って保水性が高まったためではないかと考えられる。

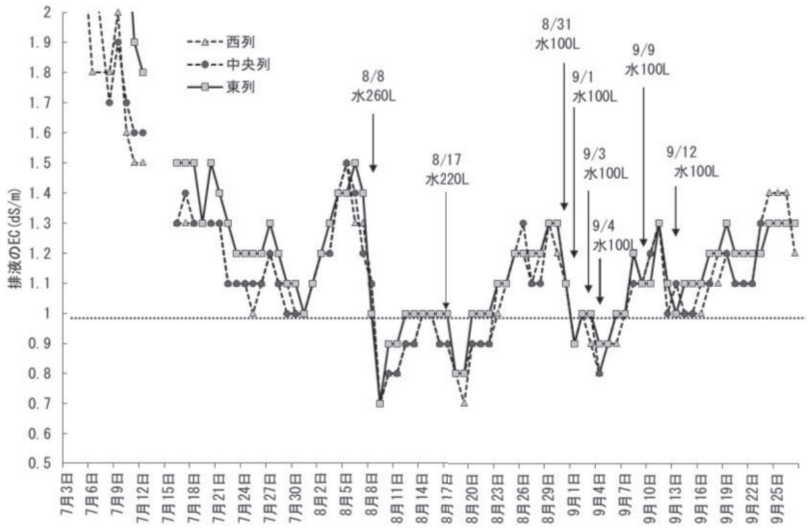


図 4　実験期間中の排液 EC と給水日

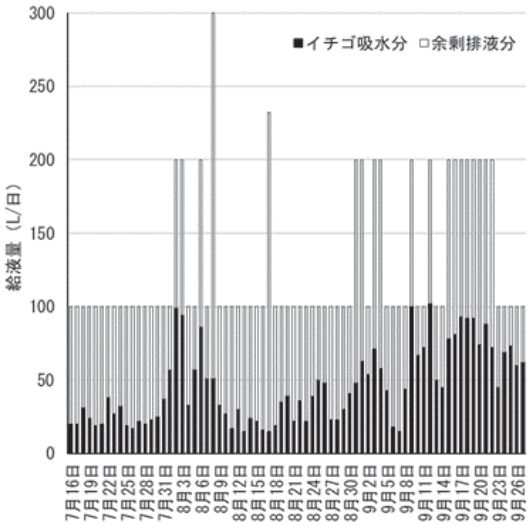


図 5　一日あたり給液量と排液量の推移

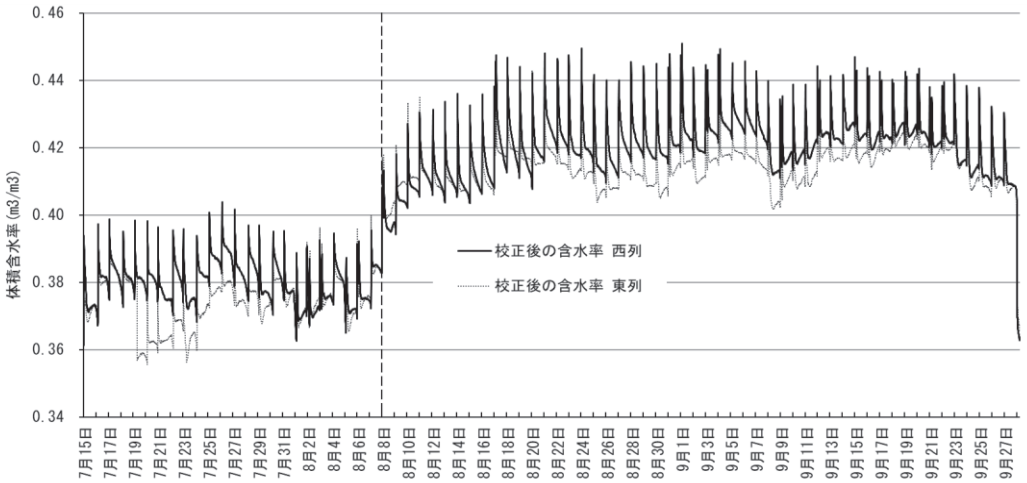


図 6　実験期間中の培地体積含水率の推移

培地センサで測定できる EC 値はセンサ周囲の気相・液相・固相すべて含めた全体の EC 値（図 7）であるが、養水分管理の指標値として用いるためにはこれを土壌間隙水 EC 値に変換する必要がある。バルク EC 値から間隙水 EC 値へ変換するために、Mualem and Friedman (1991)の示したモデルに従うと

$$\sigma_{pore} = \sigma_{bulk}\,\theta_{sat} / \theta^{2+n}$$

となる。ここで σ_{pore} は土壌間隙水 EC、σ_{bulk} はバルク EC、θ は体積含水率、θ_{sat} は飽和土壌含水率である。n は培地の種類によって変化する値で実測により導き出す。本実験において、n=0.5 を代入して推定した間隙水 EC 値は、排液 EC とほぼ同じレンジになることが明らかとなった（図 8)。

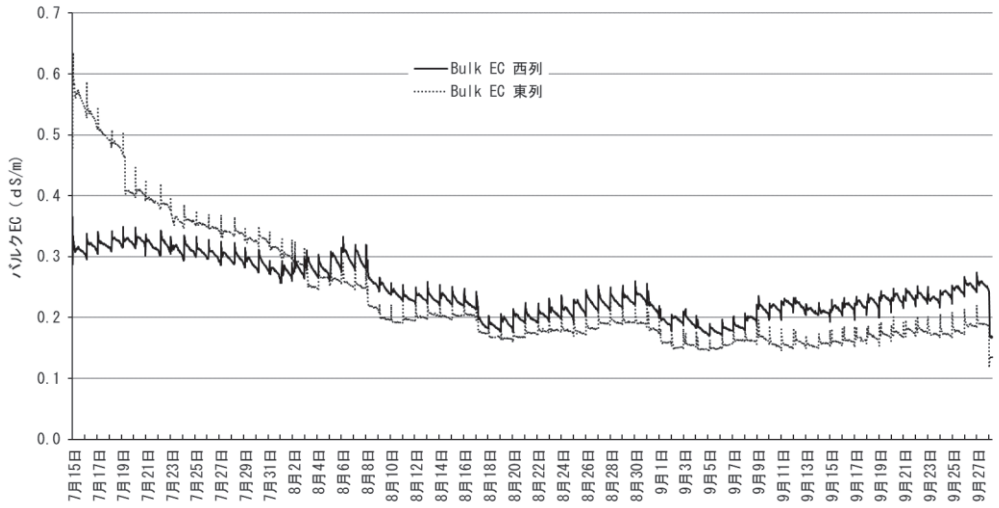


図 7　実験期間中のバルク EC 値の推移

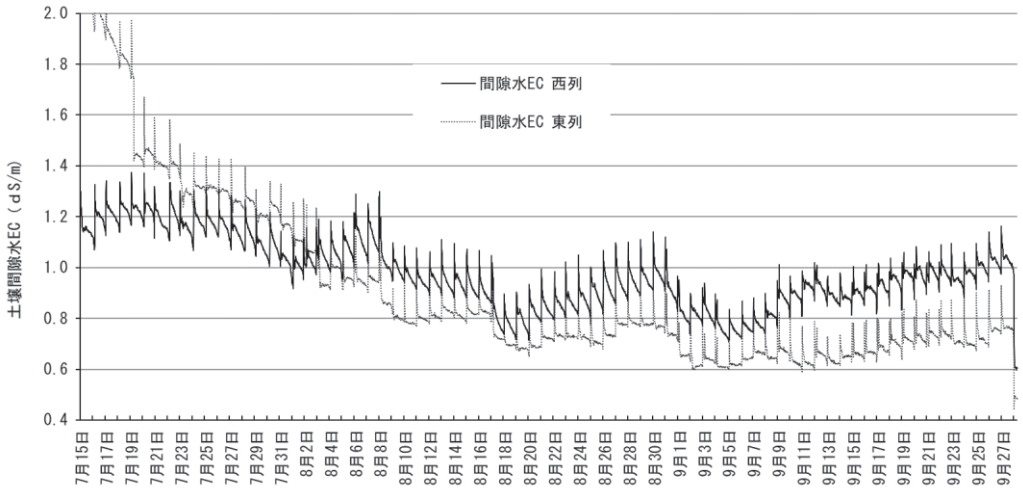


図 8　実験期間中の間隙水 EC 推定値

給液直後の間隙水 EC（推定）値と実測した排液 EC 値とを比較してみると、図 9 のようにほぼ一致した値が得られることが判明した。すなわち、センサで取得した体積含水率値とバルク EC 値から、間隙水 EC 値（排液 EC）を推定できることが示された。生土容積抽出法で実測した培地 EC 値（図 10）と間隙水 EC(推定)値との間にもやや対応関係が見られ、ともに 9 月に入って低下していく傾向が見られた。培地 EC 実測値と葉柄汁液 NO_3 の濃度（図 11）には対応関係は見られなかった

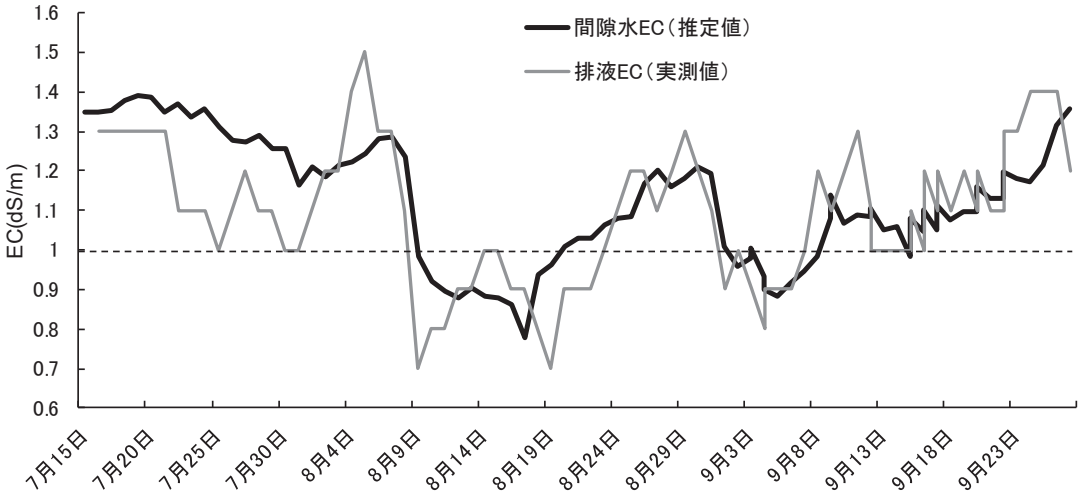


図 9　間隙水 EC 推定値と排液 EC 実測値の比較

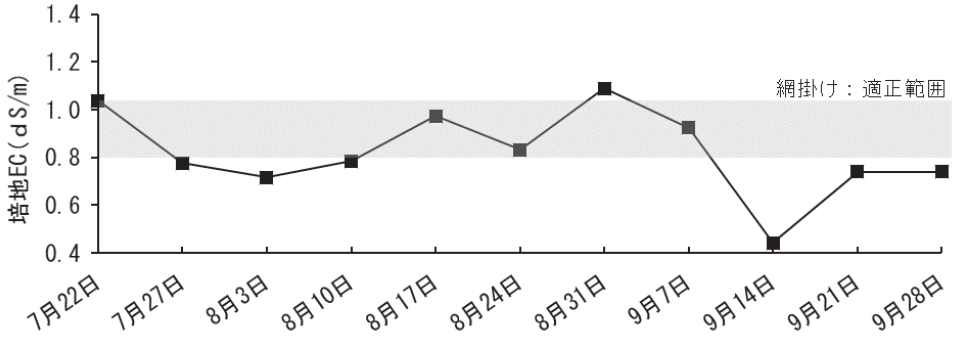


図 10　生土容積抽出法による培地 EC 実測値の推移

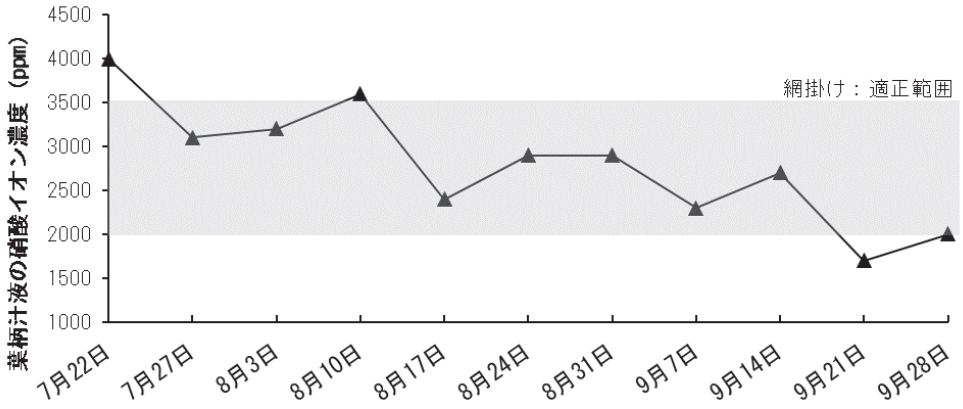


図 11　イチゴ葉柄汁液の硝酸イオン濃度の推移

以上により、現在手動での給液管理の指標としている排液 EC 実測値を、培地センサ値により推定できることが示された。この値の利用により、夏秋イチゴ生産現場における給液管理の自動制御が可能か検証することが求められる。

８．実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

なし

９．残された問題点と今後の研究推進方策

日本で用いられている栽培資材（液肥や農薬など）に近いものが現地で入手できない限り、日本型農業を実現することが難しいため、入手ルートを確保し、栽培適期に再度実証栽培を行うことが必要と考えられる。また、栽培担当者の確保が最も困難な事業であり、現地でのケア方法を含め、改善すべき点が多く残された。

１０．公表した成果一覧

なし

２０１９年度 東京農業大学と農研機構との MF 型共同研究プロジェクト
研究成果報告書

研究代表者　　西尾　善太

１．研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
日本のコムギコアコレクション由来の新規のコムギ縞萎縮病抵抗性の最適 DNA 選抜マーカーの開発	1,000,000

２．研究組織

	氏名	所属・職名	個別研究課題名
研究代表者	西尾　善太	農学部　農学科・准教授	研究総括・発病調査・最適 DNA マーカー開発
研究分担者	藤田　雅也	農研機構　次世代作物開発研究センター・ユニット長	研究総括・抵抗性系統の選抜
	小林　史典	農研機構　次世代作物開発研究センター・主任研究員	最適 DNA マーカー開発および解析・選抜効果の検証
	小島　久代	農研機構　次世代作物開発研究センター・研究員	発病調査・ウイルス定量・抵抗性系統の選抜

３．研究期間

２０１９年6月３日～２０２０年3月３１日

４．研究の背景（当初）

コムギ縞萎縮病は、コムギ植物体上で黄色のモザイクと矮化症状を引き起こし、収量の低下をもたらす土壌伝染性のウイルス病で、コムギ縞萎縮ウイルス *Wheat Yellow Mosaic Virus*（WYMV）により発生する。日本のコムギ縞萎縮ウイルスの病原型は３種類存在し、病原型Ⅰは本州、病原型IIは東北地方や北海道、病原型IIIは九州地方に分布し、全国で数千ヘクタール以上の被害をもたらしている（図１）。縞萎縮ウイルスを伝播させる菌類の *P. graminis* の休眠胞子は長期間土壌で生存するため、最も効果的な防除法は、本病に対する抵抗性遺伝子を持つ栽培品種の導入しかない。

図 1. コムギ縞萎縮病を発病したコムギ植物体の様子
左：「Chinese Spring」（罹病性品種）、右：「小麦農林 27 号」（抵抗性品種）
2017 年 3 月栃木県宇都宮市にて撮影

５．研究目的

本研究では、縞萎縮病抵抗性品種「ゆめちから」を開発した東京農大 西尾とウイルス定量および遺伝子解析の優れた技術を持つ農研機構 藤田・小林・小島らによるマッチングファンド型共同研究により、縞萎縮病抵抗性の改良のスピードをさらに加速（スマート育種の実現）するとともに、将来起こりうる縞萎縮ウイルスの突然変異によるコムギの抵抗性の崩壊現象に対して万全を期す。

応募者らはこれまでに日本のコムギコアコレクション（JWC 96 品種）におけるコムギ縞萎縮病抵抗性遺伝子の多型分析と発病圃場における各品種のウイルス量を解析し、それぞれの品種が持つコムギ縞萎縮病抵抗性遺伝子の効果を明らかにした結果、以下の抵抗性選抜用 DNA マーカーのセットを開発した。

1）I 型および III 型ウイルスの両方に対して効果を示す 2D 染色体の抵抗性マーカー
2）I 型ウイルスに対してのみ効果を示す 5A 染色体の抵抗性マーカー

さらに本マッチングファンド型研究では、コムギコアコレクションのうち、新たに応募者らが発見した非常に優れた抵抗性を持つ 5 品種の「古志郡在来」、「阿蘇在来」、「本系 275 号」、「小麦農林 1 号」、「小麦農林 50 号」が持つ新規の抵抗性遺伝子の選抜用の最適な DNA マーカーを開発する。これにより全国的な問題となっている縞萎縮病の解決を大幅に早めることができる。

６．研究（実験）方法

日本のコムギコアコレクション 96 品種は、1900 年代初めの在来品種もしくは純系選抜のみによる育成品種が 44 品種、近代の交配品種由来の育成品種が 51 品種に、ゲノム情報の利用を想定して遺伝学の標準系統である Chinese Spring を加えたものである。応募者らは昨年の本マッチングファンド型共同研究においてこの中から新規の縞萎縮病抵抗性遺伝子を持つ前述の 5 品種を発見した。このため、以下の実験により新規の抵抗性遺伝子の最適選抜 DNA マーカーを明らかにする。

１．コムギ縞萎縮病の抵抗性検定（東京農業大学・次世代作物開発研究センター）

植物材料を病原型の異なるコムギ縞萎縮病ウイルスが発生する発病圃場である栃木県宇都宮市と福岡県柳川市において、それぞれ播種する。それぞれの検定地におけるコムギ縞萎縮病原型はそれぞれ栃木県宇都宮市が病原型Ⅰ、福岡県柳川市は病原型Ⅲである。発病の最盛期である３月にそれぞれの検定地においてサンプリングと達観調査を行う。達観調査とサンプリングは栃木県宇都宮市、福岡県柳川市共に２反復で行う。また、各系統からサンプリングした葉について、次世代作物開発研究センターが中心となりエライザ法（酵素結合免疫吸着法）抗原抗体反応の組み合わせを利用しウイルスを検出する方法）を用いてコムギ葉に含まれるウイルス量を測定する。本研究では、エライザ法の結果で２反復のうち１反復でもコムギ縞萎縮ウイルス量がしきい値を超えているものはコムギ縞萎縮病に感染したと判断する。

２．次世代シークエンサーを用いたゲノムワイドの一塩基多型解析および最適な選抜用 DNA マーカーの選定（次世代作物開発研究センター・東京農業大学）

まず、コムギコアコレクションに近年開発された GRAS-Di 法（高濃度のランダムプライマーを用いた PCR 増幅産物を次世代シーケンサーで解読し、大量の一塩基多型情報を得る新手法）を実施し、各品種から数万箇所の一塩基多型情報を得る。この一塩基多型情報と各品種の複数年の縞萎縮ウイルス量のデータを用いてゲノムワイド関連解析（ゲノム全体をほぼカバーする数万以上の一塩基多型の遺伝子型情報と、縞萎縮病抵抗性の関連を統計的に調べる方法）により新規の縞萎縮病抵抗性遺伝子の座乗位置を速やかに特定する。さらに、次世代作物開発センターに蓄積する SNP 情報から当該遺伝子領域内に座乗するものを抽出し、抵抗性と強連鎖する多型調査を行い、2018 年にゲノム解読が達成されたコムギゲノムの参照配列を利用して、最も選抜効率の高い DNA マーカーを開発する。さらに、コムギ縞萎縮病ウイルスの異なる病原型が発生する検定地毎に解析を行うことにより、各地域のコムギ品種において必要な抵抗性遺伝子を解明し、昨年明らかにした抵抗性遺伝子を含めて最適な抵抗性選抜 DNA マーカーを開発する。

７．研究成果

GRAS-Di 法により得られたアンプリコンマーカーによるジェノタイピング結果を用いて ELISA 法で測定したコムギ縞萎縮ウイルスの吸光度のネガコン比に対するゲノムワイドアソシエーション解析を行った(図 2, 3)。縦軸は各アンプリコンマーカーが検出した SNP 座位の P 値を常用対数の負値で示し、値が高いほどコムギ縞萎縮ウイルス量との関連が高く、横軸には各アンプリコンマーカーの座乗染色体番号と物理位置を示した。栃木県宇都宮市において、ピークは染色体 2B, 5A, 7A 上に見られ（図 2)、福岡県柳川市において、ピークは染色体 2B, 2D, 3B, 5A, 6B, 7A 上に見られた（図 3)。

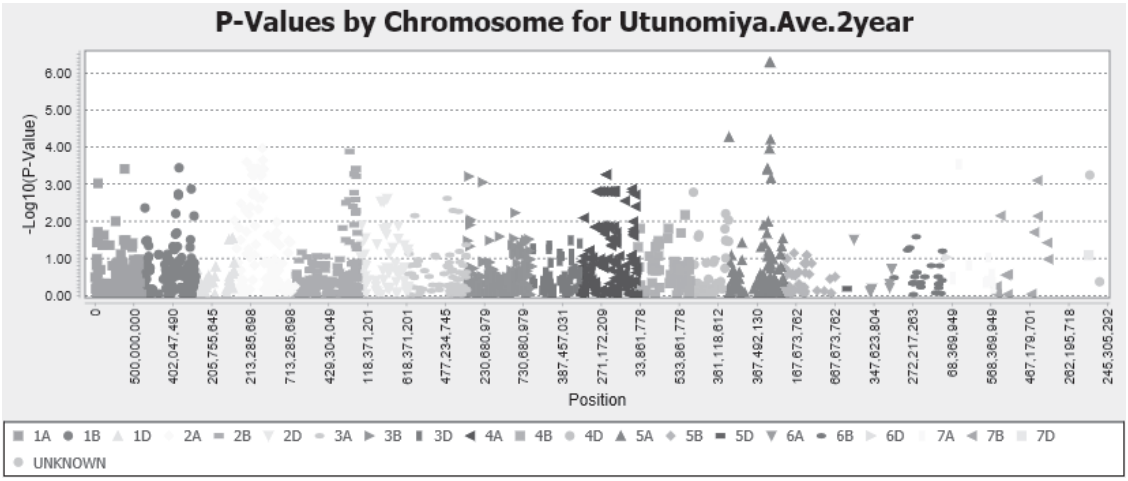


図 2. コムギコアコレクションの GRAS-Di 法によるジェノタイピング結果を用いた 2016-17, 2017-18 年の宇都宮市におけるコムギ縞萎縮病ウイルスの ELISA 吸光度のネガコン比のマンハッタンプロット

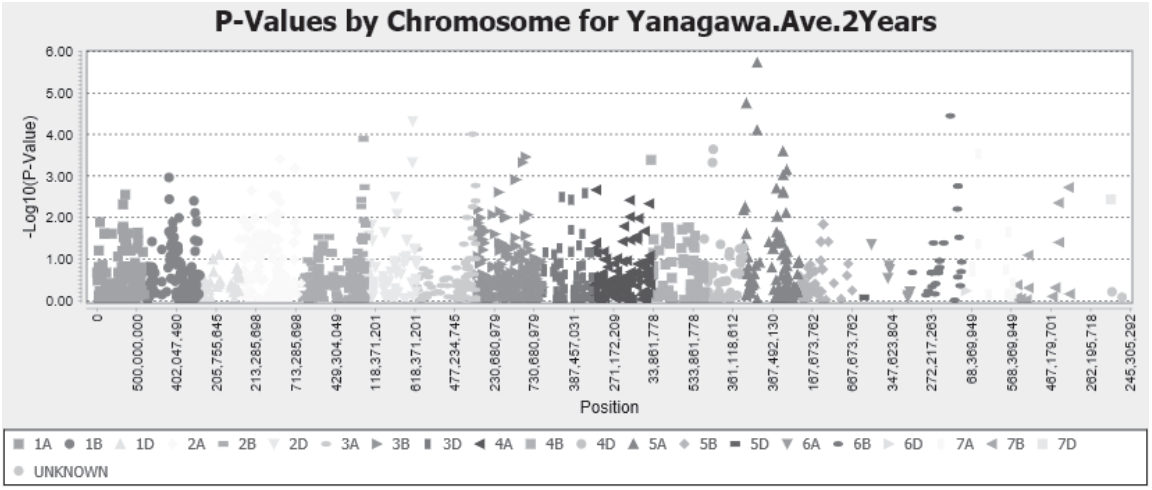


図 3. コムギコアコレクションの GRAS-Di 法によるジェノタイピング結果を用いた 2016-17, 2017-18 年の柳川市におけるコムギ縞萎縮病ウイルスの ELISA 吸光度のネガコン比のマンハッタンプロット

ゲノムワイドアソシエーション解析の結果、各試験地で－Log10＝3.0 以上のピークを示したアンプリコンマーカーの多型と ELISA 吸光度のネガコン比で t 検定を行い、有意差がみられたものを表 1 に示した。なお、GRAS-Di 法によるジェノタイピングの結果、それぞれのマーカーがコムギ縞萎縮病に罹病性である「Chinese Spring」と同じ多型を CS 型(C)、異なる多型を非 CS 型(N)とした。ELISA 吸光度のネガコン比が 2 以上を罹病性とみなした。

表 1. ゲノムワイドアソシエーション解析の結果から得られたコムギ縞萎縮ウイルスに対する抵抗性マーカー

染色体	マーカー名	抵抗性マーカーの染色体上の位置 (bp)	多型毎の品種数		ELISA吸光度の平均ネガコン比		有効なウイルスの病原型
			抵抗性	罹病性	抵抗性	罹病性	
2B	*AMP0030152*	778,979,553	**18**	78	**2.02****	7.07	I型
2B	*AMP0058085*	783,309,252	**11**	85	**4.68****	11.35	III型
2D	*AMP0056972*	588,373,184	**5**	91	**2.45****	11.03	III型
2D	*AMP0023308*	592,477,413	**8**	88	**4.12****	11.17	III型
3B	*AMP0030656*	589,314,512	**5**	91	**2.45****	11.03	III型
3B	*AMP0035919*	625,381,440	**6**	90	**3.12****	11.08	III型
4D	*AMP0034220*	104,578,629	**6**	90	**2.88****	11.10	III型
4D	*AMP0035861*	113,887,716	**5**	91	**2.26****	11.04	III型
5A-1	*AMP0022400*	172,905,274	**6**	90	**0.96****	11.23	III型
5A-2	*AMP0005679*	497,835,367	**49**	47	**3.77(8.33)****	8.57(12.93)	I型, III型
5A-3	*AMP0062445*	538,604,790	**31**	65	**1.26****	8.44	I型
6B	*AMP0086138*	507,756,130	**9**	87	**3.56****	11.31	III型
7A	*AMP0088872*	156,015,739	**28**	68	**2.45(6.26)****	7.63(12.37)	I型, III型

**は t 検定の結果、1%水準で有意差があったことを示す。5A-2, 7A のカッコ内は III 型の値を示す。

既報のコムギ縞萎縮病抵抗性遺伝子と本研究のゲノムワイドアソシエーション解析の結果から得られた抵抗性マーカーを比較した結果、染色体 2B, 3B, 4D, 5A, 6B, 7A 上に効果の高い新たなコムギ縞萎縮病抵抗性 DNA マーカーがあることが判明した（表 2)。染色体 5A, 7A 上の既報のコムギ縞萎縮病抵抗性遺伝子は座乗位置が不明なため、今後さらに調査する必要がある。

表 2. 既報のコムギ縞萎縮病抵抗性遺伝子と本研究のゲノムワイドアソシエーション解析により得られた抵抗性マーカーの染色体上の位置の比較

既報の抵抗性遺伝子					本ゲノムワイドアソシエーション解析により得られた抵抗性マーカー		
染色体	QTL	染色体上の位置(bp)*	抵抗性遺伝子を挟むマーカー名	文献	染色体	マーカー名	染色体上の位置(bp)*
2B	−	−	−	無し	**2B**	*AMP0030152*	778,979,553
						AMP0058085	783,309,252
2D	*Qym1*	515,208,778~632,629,752	*gwm539~gwm349*	Suzuki et al. (2015)	2D	*AMP0056972*	588,373,184
	Q.Ymym	564,215,295~632,629,752	*cfd233~gwm349*	Kobayashi et al. (2019)			
	YmYF	580,679,184~632,629,752	*wmc41~gwm349*	Liu et al. (2005)		*AMP0023308*	592,477,413
	Ym1b	585,561,938~ 596,681,638	*wmc181~cfd16*	Nishio et al. (2010)			
3B	*QYm.njau-3B.1*	22,210,342~38,582,606	*wmc754~wmc623*	Zhu et al. (2012)	**3B**	*AMP0030656*	589,314,512
	Qym2	12,421,814~38,582,606	*barc147~wmc623*	Suzuki et al. (2015)		*AMP0035919*	625,381,440
4D	*Qym3*	264,281,925 付近	*wmc457* 付近	Suzuki et al. (2015)	**4D**	*AMP0034220*	104,578,629
						AMP0035861	113,887,716
5A	*QYm.njau-5A.1*	配列不明～547,920,473	*CINAU151~wmc327*	Zhu et al. (2012)	**5A-1**	*AMP0022400*	172,905,274
					5A-2	*AMP0005679*	497,835,367
					5A-3	*AMP0062445*	538,604,790
6B	−	−	−	無し	**6B**	*AMP0086138*	507,756,130
7A	−	配列不明	不明	石川ら（2018）	**7A**	*AMP00888872*	156,015,739
	Qssm-mtpsa-7A	配列不明	不明	Holz et al. (2017)			

*IWSGC, Chinese Spring v.2.0 の BLAST 検索より
https://urgi.versailles.inra.fr/blast_iwgsc/blast.php)

既報の抵抗性遺伝子を持たないにもかかわらず、コムギ縞萎縮病に抵抗性を示す品種はいずれも染色体 5A 上（5A-2）のアンプリコンマーカー*AMP0005679* で N の多型を示していた。しかしその多型を持つだけではコムギ縞萎縮病に抵抗性を示さないため、アンプリコンマーカーの多型の組合せによる効果を比較した（表 3）。

染色体 5A 上のアンプリコンマーカー*AMP0005679* で N の多型を、染色体 6B 上のアンプリコンマーカー*AMP0086138* で N の多型を示すものには「古志郡在来」（JWC23）が含まれた。染色体 4D 上のアンプリコンマーカー*AMP0035861* で N の多型を、染色体 5A 上のアンプリコンマーカー*AMP0005679* で N の多型を示すものには「阿蘇在来（有芒褐ぷ）」（JWC41）が含まれた。染色体 5A 上のアンプリコンマーカー*AMP0005679* で N の多型を、染色体 7A 上のアンプリコンマーカー*AMP0088872* で N の多型を示すものには「本系 275 号」（JWC47）、「小麦農林 1 号」（JWC54）が含まれた。なお「小麦農林 50 号」（JWC63）は、コムギ縞萎縮病抵抗性を持たない可能性が高いことが判明したため、本研究で着目する品種から除外した。

表 3. 新規のコムギ縞萎縮病抵抗性遺伝子を持つとみられる 4 品種が持つ抵抗性マーカーの組合せ

抵抗性マーカーの組合せ	JWC No.	品種名	抵抗性マーカー 1		抵抗性マーカー 2	
			染色体(マーカー名)	多型	染色体(マーカー名)	多型
5A+6B	JWC023	古志郡在来	5A（*AMP0005679*）	N	6B（AMP0086138）	N
4D+5A	JWC041	阿蘇在来	4D（*AMP0035861*）	N	5A（*AMP0005679*）	N
5A+7A	JWC047	本系２７５号	5A（*AMP0005679*）	N	7A（AMP0088872）	N
〃	JWC054	小麦農林１号	〃	〃	〃	〃

次に、各抵抗性マーカーの組合せの効果を確認するため、各マーカーの多型の組合せごとの ELISA 吸光度のネガコン比の比較を行った。なお、Kobayashi et al.（2019）の染色体 2D 上の DNA マーカーは単独でコムギ縞萎縮病の病原型 I 型、III 型に高い効果を示すため、このマーカーで抵抗性型の多型を示した 5 品種、「ドーソン 1 号」、「伊賀筑後オレゴン」、「小麦農林 27 号」、「フルツマサリ」および「ハチマンコムギ」を除外した上で一元配置分散分析および Tukey-Kramer 法による多重比較を行った（表 4）。2 つの抵抗性マーカーの遺伝子型の組合わせが、グループ 1 は N、N、グループ 2 は N、C、グループ 3 は C、N、グループ 4 は C、C の品種群とした。

5A+6B の組合せについては、1 品種しかないグループが存在したためグループ 1、2、4 間で比較を行った。4D+5A の組合せについては、該当する品種が無いグループが存在したためグループ 1、2、3 間で比較を行った。4D+5A の組合せおよび 5A+7A の組合せではグループ 1 の ELISA 吸光度のネガコン比が最も低く、5A+6B の組合せではグループ 1-2、1-4、2-4 間で有意差が認められた。4D+5A の組合せではグループ 1-3、2-3 間で ELISA 吸光度のネガコン比に有意差が認められた。5A+7A の組合せではグループ 1-2、1-4、2-3、2-4、3-4 間で ELISA 吸光度のネガコン比に有意差が認められた。

表 4. 日本のコムギコアコレクションを各抵抗性マーカーの多型の組み合わせごとに分類したグループの ELISA 吸光度のネガコン比の比較

抵抗性マーカーの組み合わせ	グループ	品種数	マーカーの多型		栃木県宇都宮市のELISA吸光度のネガコン比(I型)			福岡県柳川市のELISA吸光度のネガコン比(III型)		
			5A	**6B**	平均値	標準偏差		平均値	標準偏差	
5A+6B	1	5	N	N	4.232	4.679	a	4.860	4.393	a
	2	40	N	C	4.006	4.199	a	9.319	4.727	b
	3	1	C	N	4.191	−	−	4.832	−	−
	4	45	C	C	8.844	3.669	b	13.381	2.725	c
			4D	**5A**	平均値	標準偏差		平均値	標準偏差	
4D+5A	1	2	N	N	0.763	0.023	a	4.176	4.481	a
	2	43	C	N	4.183	4.234	a	9.040	4.810	a
	3	46	C	C	8.742	3.692	b	13.195	2.974	b
			5A	**7A**	平均値	標準偏差		平均値	標準偏差	
5A+7A	1	6	N	N	1.416	1.416	a	6.379	6.379	a
	2	42	N	C	9.207	3.132	b	12.485	12.485	b
	3	17	C	N	3.291	4.119	a	7.334	7.334	a
	4	26	C	C	5.093	4.569	a	12.181	4.121	b

同じアルファベットは Tukey-Kramer 法により 5%水準で有意差がないことを示す。

日本のコムギコアコレクション 96 品種における 5A+6B、4D+5A、5A+7A のそれぞれの抵抗性マーカーの組合せで分類したグループ毎の I 型および III 型のコムギ縞萎縮ウイルスの ELISA 吸光度のネガコン比の分布を図 4, 5, 6 に示した。

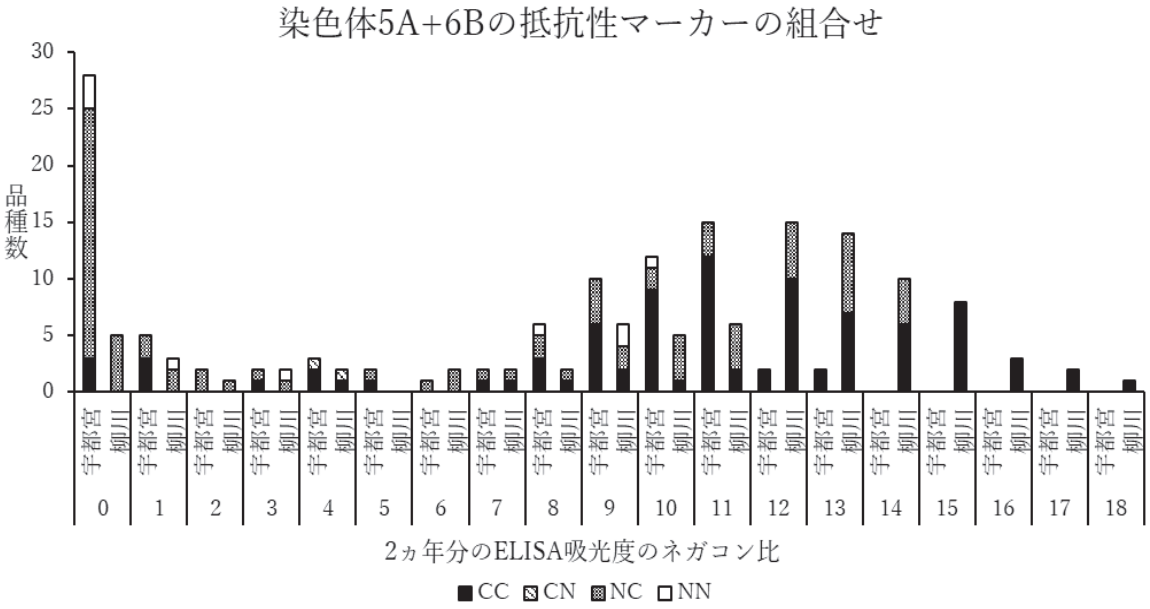


図 4. 日本のコムギコアコレクション 96 品種を染色体 5A+6B の抵抗性マーカーの組合せで分類した品種グループの I 型および III 型のコムギ縞萎縮ウイルスの ELISA 吸光度のネガコン比の分布

本研究ではコムギ縞萎縮ウイルスの ELISA 吸光度のネガコン比が 2 以上を罹病性型、2 未満を抵抗性型の品種とした。その結果、染色体 5A+6B の抵抗性マーカーで NC 型の多型を持つ品種は抵抗性型に多く分布していた。また、NN 型の多型を持つ品種は、2 カ年分の ELISA 吸光度のネガコン比 11 以上には分布していなかった（図 4)。染色体 4D+5A の組合せでは、CN 型の多型を持つ品種は抵抗性型に多く分布していた。また、NN 型のほとんどは抵抗性型の品種に分布し、ELISA 吸光度のネガコン比 9 以上には分布していなかった（図 5)。染色体 5A+7A の組合せでは、NN 型の多型を持つ品種が全ての組合せの中で最も抵抗性型の品種に多く分布し、ELISA 吸光度のネガコン比 13 以上には分布していなかった（図 6)。

染色体 4D、5A、6B 上の抵抗性マーカーで NN 型、NC 型、CN 型の多型を持つ品種は I、III 型の両方のウイルスに対して抵抗性型の品種に多く分布していた。一方で、染色体 5A+7A の抵抗性マーカーで NN 型の多型を持つ品種が抵抗性型の ELISA 吸光度のネガコン比 0 に集中して分布していたことから（図 9)、現時点では染色体 5A+7A の抵抗性マーカーの組合せが最も高い効果を発現していると考えられる。

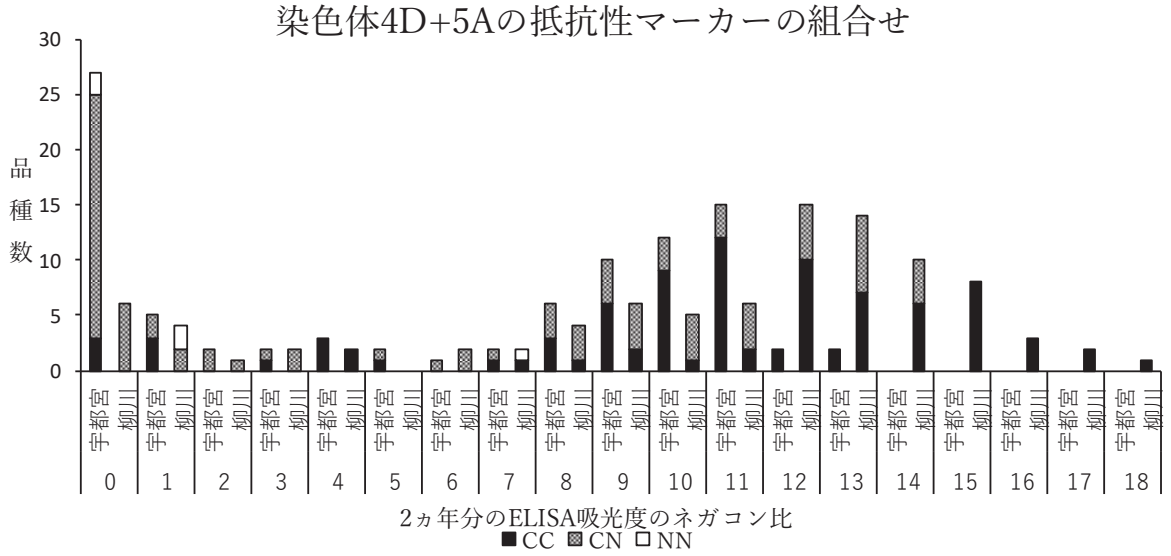


図 5. 日本のコムギコアコレクション 96 品種を染色体 4D+5A の抵抗性マーカーの組合せで分類した品種グループの I 型および III 型のコムギ縞萎縮ウイルスの ELISA 吸光度のネガコン比の分布

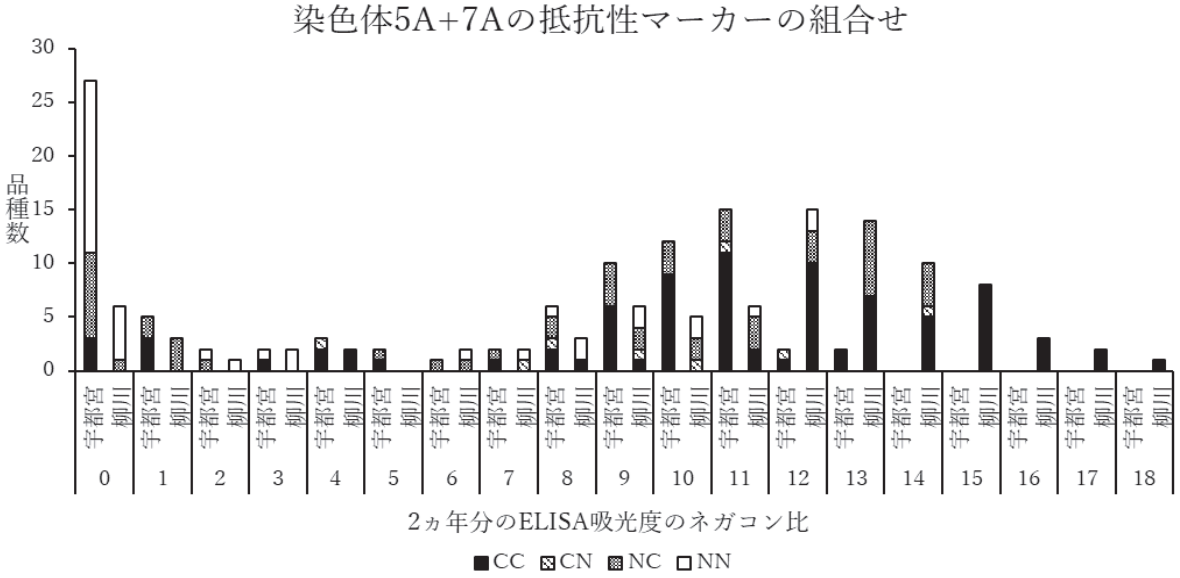


図 6. 日本のコムギコアコレクション 96 品種を染色体 5A+7A の抵抗性マーカーの組合せで分類した品種グループの I 型および III 型のコムギ縞萎縮ウイルスの ELISA 吸光度のネガコン比の分布

８．実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

今回の研究結果から、コムギ染色体 2A, 2B, 3B, 4D, 5A, 6B, 7A 上の DNA マーカーの抵抗性多型はコムギ縞萎縮病抵抗性の向上に効果があることが示された。特に、既報の抵抗性遺伝子を持たないにもかかわらずコムギ縞萎縮病に抵抗性を示す品種は染色体 4D, 5A, 6B, 7A 上の DNA マーカーの抵抗性多型を持つとⅠ型及び III 型の病原型に抵抗性を持つことが確認された。

一元配置分散分析および Tukey-Kramer 法による多重比較の結果、各染色体上の抵抗性マーカーの組合せによりコムギ縞萎縮ウイルス量に有意な差がみられた。染色体 6B と 7A 上のマーカーは特に III 型に有効であった。染色体 4D、5A、6B 上のマーカーは多く持つほど効果が示されたが、染色体 5A と 7A 上のマーカーでは染色体 7A 上の抵抗性遺伝子を持つことが抵抗性を付与するうえで重要である可能性がある。

染色体 7A 上の抵抗性マーカー*cfa2257, wmc83* の多型解析の結果、罹病性の多型（「古志郡在来」、「阿蘇在来（有芒褐ぷ）」、「小麦農林 50 号」）と抵抗性の多型（「本系 275 号」、「小麦農林 1 号」）を持つ品種が Kobayashi et al.(2016)の系統分類と同じ分かれ方をしたこと、GRAS-Di 法の結果から分類した結果、「本系 275 号」と「小麦農林 1 号」が染色体 5A と 7A 上のマーカーをもつことから、染色体 7A 上において「本系 275 号」、「小麦農林 1 号」は同じ抵抗性遺伝子を持つ可能性がある。本研究で明らかにした染色体 4D、5A、6B、7A 上の抵抗性遺伝子の効果をさらに明らかにするためには、本研究で着目した品種（「古志郡在来」、「阿蘇在来（有芒褐ぷ）」、「本系 275 号」、「小麦農林 1 号」）とコムギ縞萎縮病罹病性の品種を交配した後代の抵抗性を調査する必要がある。

９．残された問題点と今後の研究推進方策

今回の研究では、病原型Ⅱ型の調査結果が無いため、病原型Ⅰ型と病原型Ⅱ型の調査結果のみを用いた。病原型Ⅱ型の調査結果を加えることで、日本におけるすべての病原型に対する抵抗性遺伝子の効果を調査し、コムギ縞萎縮病に対してより優れる抵抗性品種の開発を行うことが出来ると考えられる。

１０．公表した成果一覧

学術論文

1）Kojima et al. (2020) Genome wide association study for wheat yellow mosaic resistance in wheat (*Triticum aestivum* L.) Breeding Science (in preparation)

２０１９年度 東京農業大学と農研機構との MF 型共同研究プロジェクト
研究成果報告書

研究代表者　　太治　輝昭

１．研究課題名および予算額

研究課題名	予算額（円）
ゲノム編集技術を駆使した高葉酸含量・低シュウ酸含量ホウレンソウの育種	1,000,000

２．研究組織

	氏名	所属・職名	個別研究課題名
研究代表者	太治　輝昭	生命科学部 バイオサイエンス学科・教授	形質転換系の確立と葉酸およびシュウ酸含量の測定
研究分担者	石橋　和大	農研機構・生物機能利用研究部門・主任研究員	候補遺伝子の発現抑制実験系の開発

３．研究期間

２０１９年6月3日～２０２０年3月３１日

４．研究の背景（当初）

ホウレンソウは葉酸などのビタミン類を多く含むなど、非常に栄養価の高い野菜であり、世界中で食されている重要な野菜である。一方、ホウレンソウは大部分の作物と比較してシュウ酸含量が高く、尿中のシュウ酸を増加させて腎結石形成に寄与する可能性がある食品として知られており、ホウレンソウの低シュウ酸含量化が望まれている。2016 年に米国農務省（USDA）より、310 品種のホウレンソウにおけるシュウ酸含量を調べられたところ、生重量ベースで 100 g あたり 647 mg から 1286 mg の多様性があることが報告された (Shi et al., 2016 *Euphytica*)。この結果は、ホウレンソウの低シュウ酸化に遺伝的多様性が利用できる可能性を示している。また興味深いことに最もシュウ酸含量が低い品種が日本原産のホウレンソウであった。低シュウ酸含量ホウレンソウについては、EMS や UV 照射による変異原処理により、変異株のスクリーニングが報告されているものの、そのスクリーニング規模は極めて小さく、実用化レベルに至っていない。シュウ酸、あるいは葉酸の生合成または分解経路については、モデル植物を中心にその経路で働く遺伝子がいくつか知られているものの、ホウレンソウにおける寄与度については不明である。

５．研究目的

本研究では、ゲノム編集による低シュウ酸含量ホウレンソウ、高葉酸ホウレンソウの育種を目的に、Virus-induced gene silencing (VIGS) 技術により標的遺伝子をノックダウンし、シュウ酸あるいは葉酸含量への影響を検証することでゲノム編集のターゲット遺伝子を決定する。VIGS 技術については、農研機構の石橋和大博士らのグループで研究されており、トマトやジャガイモをはじめとする様々な植物種へ応用されている。そこで農研機構グループでは、VIGS のホウレンソウへの応用、および標的遺伝子のノックダウンの検証を行う。なお、ゲノム編集についても同グループにおいて植物種ごとのベクター最適化などの研究が進められている。東京農大グループでは、シュウ酸および葉酸の HPLC による定量系を確立しており、ノックダウンを示した葉試料を用いてそれらの定量を行う。また、ホウレンソウの形質転換系の確立も担当する。

６．研究（実験）方法

形質転換系の確立（東京農大・農研機構担当）

将来的にホウレンソウのゲノム編集を行うためには、再分化・形質転換系の確立が必要となる。ホウレンソウについては極めて少ないものの形質転換の報告例がある。そこで報告例を参考に、カルス化を介した形質転換系を検討・確立する（東京農大：太治）。また、ウイルスベクターを介したゲノム編集技術の確立を検討する（農研機構：石橋）。

VIGS 実験系の確立と低シュウ酸および高葉酸ホウレンソウの作出（農研機構担当）

ホウレンソウに感染するウイルスとして、VIGS によく用いられるタバコ茎えそウイルス（TRV）やタバコモザイクウイルス（TMV）が報告されている。そこで、本研究ではこれらのウイルスベクターおよび手元にある VIGS 用ベクターであるジャガイモ X ウイルス（PVX）ベクターなどを用いてホウレンソウの *Phytoene desaturase*（*PDS*）遺伝子の発現抑制を試み、白化が起こるかどうかを指標に条件検討を行うことにより、VIGS 実験系を確立する。また、将来的にウイルスベクターを用いたゲノム編集を行うことを見据えて、蛍光タンパク質を発現する種々のウイルスベクターを接種し、全身感染するウイルスベクターを得るとともに、ウイルス感染域が経時的に拡大する様子を視覚化する。ウイルスベクターの感染性や VIGS の起こりやすさには品種間差がある可能性を考慮し、これらの実験は複数の品種を用いて行う。効率よく VIGS を誘導可能なウイルスベクターが得られたら、葉酸およびシュウ酸の生合成あるいは代謝関連遺伝子の発現を抑制したホウレンソウを作出する。

遺伝子発現抑制ホウレンソウのシュウ酸および葉酸含量測定（東京農大担当）

シュウ酸については、陰イオン交換樹脂カラム（SAX）、葉酸については、OASIS カラムと Sep-PakC18 カラムの組合せにより、ホウレンソウより抽出・精製を行う。特に葉酸については植物体内に類似化合物が多く存在するため、単一ピークを得るのが難しいことが知られているが、葉酸・シュウ酸ともに既に HPLC にて単一ピークを得る条件を確立している。VIGS により目的遺伝子のノックダウンが確認されたホウレンソウについて、シュウ酸・葉酸含量の測定を行う。

７．研究成果

１）ホウレンソウにおける VIGS 系の確立（農研機構：石橋）

ホウレンソウに感染するウイルスベクターを検討し、タバコ茎えそウイルス（TRV）およびトマトモザイクウイルス（ToMV）が利用可能であることを見出した。TRV ベクターを用いて、カロテノイド合成酵素をコードする *Phytoen desaturase*（*PDS*）遺伝子を標的とする VIGS を誘導したところ、*PDS* 遺伝

子の発現抑制に伴う植物体の白化が観察され、VIGS 実験系の確立に成功した。

２）低シュウ酸含量ホウレンソウ作出に向けたターゲット遺伝子の検討（東京農大：太治）

シュウ酸は、Isocitrate から Isocitrate lyase により Glycolate が、Glycolate が Glycolate oxidase により Glyoxylate からシュウ酸になる経路と、Ascorbate から Ascorbate oxidase によりシュウ酸になる経路が知られている。モデル植物により報告されているシュウ酸生合成遺伝子のホウレンソウホモログを調べたところ、Isocitrate lyase をコードする遺伝子が 1 遺伝子（*ICL*）、Glycolate oxidase をコードする遺伝子が 4 遺伝子（*GOX1*, *GOX2*, *GOX3*, *HAOX1*）、Ascorbate oxidase をコードする遺伝子が 2 遺伝子（*ASO1*, *ASO2*）存在することが明らかとなった。また動物においては、Glycolate が Lactate dehydrogenease によりシュウ酸になる経路が知られているが、ホウレンソウゲノムには Lactate dehydrogenease をコードする遺伝子が 2 遺伝子（*D-LDH*, *LDH*）存在していた。そこでこれらの遺伝子をターゲットと決定した。

３）VIGS によるターゲット遺伝子のノックダウン（農研機構：石橋）

上記ターゲット遺伝子について、それぞれ 2～9 系統を作出してターゲット遺伝子の発現解析を行った。その結果、供した複数遺伝子について、発現量が低下した系統を得ることに成功した。

４）VIGS 系統におけるシュウ酸含量の測定（東京農大：太治）

VIGS に供した全てのホウレンソウ系統について、シュウ酸含量の測定を行った。その結果、1 遺伝子の複数 VIGS 系統においてシュウ酸含量が低下する傾向が認められた。

５）形質転換系の検討（東京農大：太治、農研機構：石橋）

カルスを介した形質転換系の確立、ウイルスベクターを用いたゲノム編集技術の確立については、現在検討中であり、ここまでに目立った成果は得られていない。

６）水耕栽培の施肥に関する検討（東京農大：太治）

シュウ酸の生合成については、上記のシュウ酸生合成経路の前段階として硝酸からグルタミンが合成される経路が関与することが知られているため、肥料として用いる硝酸態窒素量について検討した。具体的には硝酸態窒素を通常施肥量の 1/10 まで低減させて生育させたホウレンソウについてシュウ酸含量を調べたものの、シュウ酸含量の低下は認められなかった。

８．実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

特になし。

９．残された問題点と今後の研究推進方策

ホウレンソウ個体での遺伝子発現抑制に成功した。この技術を活かすことで、今後、ホウレンソウ個体での遺伝子機能解析が可能となった。また本研究において、供した遺伝子の VIGS 系統にシュウ酸含量が低下する傾向が認められたものの、作出した系統数が少なく、今後系統数を増やして慎重に評価する必要がある。

１０．公表した成果一覧

特になし。

ただし、本申請課題の続きを推進するため、科研費（挑戦的萌芽研究）に申請するとともに、2020 年度東京農業大学と農研機構との MF 型共同研究プロジェクトに再申請中。

２０１９年度 東京農業大学と農研機構とのMF型共同研究プロジェクト
研究成果報告書

研究代表者　　松村　寛一郎

１．研究課題名および予算額

研究課題名	予算額（円）
（和文）気象情報を利用した画像取得計画に基づく、オホーツク生産者圃場におけるドローンおよび人工衛星画像によるセンシング手法の開発 （英文）Development of sensing method on Okhotsk farmer's field by drone and satellite image acquisition schedule using meteorological information	1,000,000

２．研究組織

	氏名	所属・職名	個別研究課題名
研究代表者	松村　寛一郎	生物産業学部 自然資源経営学科・教授	ドローン・人工衛星による画像取得および解析
研究分担者	井上　　聡	農研機構　北海道農業研究センター 生産環境研究領域・上級研究員	気象データに基づく画像取得計画手法の開発および画像解析協力

３．研究期間

２０１９年6月3日～２０２０年3月３１日

４．研究の背景（当初）

北海道内の地方における農業人口減少は著しく、少人数で農地状況を効率的にモニタリングする仕組みの構築が重要である。研究チームは、科研費（JP16K00658，2016～2018）等を獲得し、オホーツクにある酪農家の全面的な協力を得て、牧草地について回転翼・固定翼ドローンおよび人工衛星データによる植生指数データを取得・蓄積し、解析を進めてきた。今年、研究対象の牧草地はデントコーン畑に切り替わり、今までのデントコーン畑は牧草地に切り替わる。雑草が繁茂した牧草地における植生改善として草地更新が行われるが、草地から草地ではなくデントコーン栽培を挟み雑草を根絶する手法が注目されている。今回、まさにこの牧草地、デントコーン畑の切替え初年度の観測を行うことが出来る。得られる観測結果は、持続可能な牧草地の在り方を検討する上で、重要な知見となる。

５．研究目的

東京農業大学

衛星画像データは、米国のスタンフォード大学発祥のベンチャー企業が打ち上げたプラネット衛星データをスペースアグリ社の協力により情報提供を受けている。プラネット衛星画像データは、3 メートルの空間解像度で毎日朝 9 時過ぎに可視光と植物の活動強度を示す植生指数のデータが提供されるが、雲によって地上観測画像が影響を受ける。特に、2018 年 6 月は曇天日が多く、衛星画像データの取得が困難であった。研究チームは、回転翼型に加えてより広範囲を効率よく撮影できる固定翼ドローンを用いて、自動飛行ソフト（ミッションプランナー）による定期飛行経路を設定して多時期撮影を行い、デントコーン畑と牧草地についての観測を遂行し、オルソ化された画像と衛星データを取得・蓄積してその比較を行う。また、農研機構メッシュ農業気象データよりドローンおよび人工衛星画像の取得確率を推定し、生育ステージを考慮した最適な画像取得計画法を開発する。

農研機構

オリジナルデータである農研機構メッシュ農業気象データを用いて対象地点での各種気象データを通年で取得する。可視～近赤外光の人工衛星画像取得は現地上空が晴天でなければ取得できないが、気象データを用いてその晴天確率を計算することにより衛星データ取得可能性を評価する。ドローンに関しては雨天および強風時は飛行できないため画像取得できないが、気象データを用いて飛行可能確率を計算することによりドローン画像データの取得可能性を評価する。それらの解析によって、現地の時期別の人工衛星データ取得可能性およびドローン飛行可能性を確率的に評価し、対象地点での作物生育時期との総合評価より、取得データの質・量の多面的評価を行う。

６．研究（実験）方法

米国のスタンフォード大学のベンチャー企業であるプラネット社は、地球上のどのような地点においても毎日､晴天であれば 3m の分解能で可視光および植物の活性化指標である植生指数を提供している。帯広にあるスペースアグリ社の協力を得て、ほぼ毎日、定時に衛星画像データを入手した。入手したデータはシェープファイル形式であるので、ラスター形式への変換処理を行うことで加減乗除ができるように加工した。衛星画像データの解析は、地理情報システムを活用した講義で、学生の実習用素材としての提供を行った。マルチスペクトラルカメラを UAV に搭載するにあたって必要な工作手法を習得した。2019 年に新たに牧草地になった箇所にてマルチスペクトラルカメラを用いた撮影を行った日と同日のスペースアグリ社を通じた衛星画像データを用いて両者の比較を行った。

７．研究成果

プラネット社の衛星により撮影された植生指数をシェープファイル→ラスター→ポイントデータへの変換を行った。ポイントデータへの変換したものを空間情報に基づいて関連付けを行った。複数時点の空間的な情報を持つ植生指数の時系列変化を把握することで、一目で、どの箇所が成長過多であるか否かを判断することができ、畑全体の様子を俯瞰することが可能となった。空間情報を定量的に把握するための応用範囲の広い手法を開発した。

高頻度・中分解能衛星の植生指数は 0～20000 までの整数値で提供されているので、植生指数に変換する際には、10000 で除してから 1 をひいたものが植生指数になる。高頻度・中分解能衛星の植生指数

は 0〜20000 までの整数値で提供されているので、植生指数に変換する際には、10000 で除してから 1 をひいたものが植生指数になる。2019 年 9 月 10 日に UAV により取得された植生指数は、0〜1 の範囲になっており、この数字に 1 を加算して 10000 を乗じた植生指数（整数値）を求めた。高頻度・中分解能衛星と UAV により取得された植生指数を空間的に除したものを求めた。その範囲は-6272 から 3825 までの値。10000 で除して 1 を引くと-1.62 から-1.38 の値になっており、両者の値はほぼ等しいことを確認した。

人工衛星画像データの時系列データに対して教師なし学習の手法を適用することで自動的に分類する仕組みを開発した。畑の所有者にしか気が付かない情報が提供されている可能性が高い。教師付き学習を使うことで、収穫がよいとされる成長パターンを学習させることで、そのパターンとの乖離をみることで、対象とする畑の収穫をある程度把握できる可能性がある。

日本における多くの気象観測所は、観測所の移転により整合性のとれたデータを取得できていない。網走の気象観測所は、設置された当初から場所を移転しておらず、貴重な長期時系列データを提供している（網走気象台長へのヒアリング）。能取湖の観測サイトの気象情報を網走気象台の情報と仮定する。アメダスによる網走の 2009 年 1 月 1 日から 2019 年 12 月 12 日までの日平均気温データを利用。2009〜2018 年を学習用データとして学習させて、2019 年をテストデータとする。6 日間の過去データをいれると翌日の気温を予測する機械学習の手法を習得した。機械学習および深層学習の手法は、統計データのみならず、画像認識分野においてめざましい進化を遂げており、衛星データと UAV により撮影されたデータの融合において、これらの手法を適用することで、あらたな空間情報を創り出せる可能性を確認した。

農研機構メッシュ農業気象データを用いて、センシング画像取得率計算プログラムを開発した。職務作成プログラム登録 P 第 11041 - 1。任意の地点について、衛星画像およびドローン空撮画像の取得率を通年で計算できる。安価な衛星画像と人件費・機材費が必要なドローン空撮画像のベストミックスを検討し、年間の画像取得計画を策定できる。気象データの閾値を変更できるため、ドローン機体や衛星の変更にも対応できる。教育・研究・開発・試用に限り、メッシュ農業気象データはだれでも無料で利用できる。以上より、日本が目指す Society 5.0、スマート農業の推進に大いに貢献する。

８．実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

日射計を搭載したマルチスペクトラルカメラの運用ノウハウ、および Pix4DMapper の導入によるデータ解析手法、自作固定翼機材の運用ノウハウの蓄積。保険会社との交渉により保険を獲得できたことが何よりも意味がある。海上保安庁が世界で大きなシェアを持つ中国製のドローンの運用を禁止することになり、国産ドローンの運用が一層期待されている。日本が目指す Society 5.0、スマート農業の推進に大いに貢献する。

９．残された問題点と今後の研究推進方策

UAV で取得された植生指数を被説明変数として、衛星で取得された植生指数、地形の斜度、斜面方向を説明変数とした関係式の算出を試行している。UAV による観測が行われておらず、衛星画像のみが提供されている牧草地において、取得された関係式を用いて、対象地において解像度の高い植生指数を生み出せる可能性がある。空間情報をポイントデータに変換する際に、衛星画像データをポイントデータに変換できたが、UAV のデータをポイントデータに変換する際に多大な時間が必要とされ、より高性能な PC の導入が必要となったために、解析を中断。同じく、地表面の Digital Elevation Model

から斜度および斜面の方向データを作成したが、ポイントデータへの変換に多大なる時間が必要とされたために解析を中断。より高性能な PC の導入が期待される。継続してデータ収集を行い深層学習に必要とされるデータの蓄積を行う。固定翼機材の活用、映像配信のためのアマチュア無線免許の取得および放送局の開設、農薬散布用ドローンの積極的な運用を行い、学生教育にも積極的に活用している。

１０．公表した成果一覧

学術論文

1) Matsumura, Kanichiro., Inoue, Satoshi "Developing a method for understanding pasture and forage crop conditions (Comparing Satellite obtained NDVI data with UAVs obtained data)." Medical Research Archives 7.12 (2019).

その他

１）松村寛一郎、衛星とドローンの融合、アグリバイオ 4 月号、Vol 4 No.4

２）松村寛一郎、高頻度・中分解能衛星を用いた小麦畑生育俯瞰手法の開発、アグリバイオ 12 月号、Vol 3 (14) ,2019

３）松村寛一郎、UAV を用いた精度向上の試み、第 51 回環境用水研究会、2019 年 7 月 6 日

４）長瀬督哉、松村寛一郎、ドローンの観光事業への適用可能性、農業農村計画学会年会、2019 年 9　月

５）一ノ瀬俊明、松村寛一郎、農業と漁業の相互作用を把握するためのリモートセンシング手法開発、環境共生学会年会、2019 年 9 月

６)松村寛一郎,杉本賢治、一ノ瀬俊明、RamAvtar、井上聡、高頻度中分解能衛星による植生指数の UAV を用いた精度向上に関する研究、環境科学会年会、2019 年 9 月

７）松村寛一郎、Applying a drone for agriculture and dairy 2017, 2018, 2019、第 52 回環境用水研究会、2019 年 10 月 5 日

８） Kanichiro Matsumura, Applying a drone for agriculture and dairy (2016 -2019) Japan-India-Russia Symposium on Geospatial data for Environmental Monitoring (JIRSGEM)-2019、October,2019

９）松村寛一郎、高頻度・中分解能衛星を用いた小麦畑生育俯瞰手法の開発、第 53 回環境用水研究会、2020 年 1 月 11 日

２０１９年度 東京農業大学 大学院先導的実学研究プロジェクト
研究成果報告書

国際農業開発学　専攻
研究代表者　　志和地　弘信

１．研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
ヤムイモに内生する窒素固定細菌の解明と利用	2,800,000

２．研究組織

	氏名	所属（専攻）・職名	研究の役割
研究代表者	志和地　弘信	農学研究科 国際農業開発学専攻・教授	総括
研究分担者	田中　尚人	農学研究科 バイオサイエンス専攻・教授	窒素固定細菌の同定とデータベース作成
	菊野　日出彦	国際食料情報学部 宮古亜熱帯農場・教授	窒素固定細菌の窒素生産性の解析
	パチャキル バビル	国際食料情報学部 国際農業開発学科・助教	ヤムイモの生理生態の解析と育種
	志波　　優	生命科学部 分子微生物学科・准教授	共生細菌のメタゲノム解析
	山本　紘輔	生命科学部 分子微生物学科・助教	細菌の共生メカニズムの解明
	Ouyabe Michel	農学研究科 国際農業開発学専攻・博士後期３年	ヤムイモの生育と窒素固定細菌の共生解析
	高田　花奈子	農学研究科 国際農業開発学専攻・博士後期２年	アフリカ原産ヤムイモに共生する窒素固定細菌の解析
	朱　　家成	農学研究科 国際農業開発学専攻・博士前期２年	共生細菌のメタゲノム解析
	Liswadiratanakul Smetee	農学研究科 国際農業開発学専攻・博士前期２年	窒素固定細菌の共生メカニズムの解明
	Ayodeji Peter Idowu	農学研究科 国際農業開発学専攻・博士前期１年	共生細菌のメタゲノム解析
	松本　　亮	CGIAR・国際熱帯農業研究所（IITA・ナイジェリア）・博士研究員	ヤムイモの生理生態

	Asrat Asfaw Amele	CGIAR・国際熱帯農業研究所・シニア研究員	ヤムイモの育種

３．研究期間

２０１９年４月１日～２０２０年３月３１日（３年計画の３年目）

４．研究の背景（当初）

本研究はヤムイモに共生する窒素固定細菌を次世代の農資源と捉え、農業革新と食料増産による国際協力を目標としたものである。ヤムイモとはヤマノイモ科の植物の食用種を指す。世界で約 7000 万トン生産（2018 年）されるヤムイモは、その 96 %がアフリカで生産されており、地域の食料として重要な作物である。ヤムイモは厳しい環境でも生育することが知られており、その生産性の向上は人口増加が急速に進む開発途上国の食料増産に期待されている。しかし、これまで熱帯地域におけるヤムイモの研究は非常に限られた予算・人員で行われてきた。これは、主食作物としてのヤムイモの重要性が熱帯地域以外では適切に認識されておらず、特に欧米においてこの作物に馴染みがないなどの理由から、長い間、共同研究や品種改良の対象とされなかったことによる。志和地らは科学研究費の助成（2006～2015年）を受けて国際熱帯農業研究所（International Institute of Tropical Agriculture : IITA ナイジェリア）とヤムイモの生産性改善に関する共同研究を行い、これまでに新しい増殖方法や栽培技術などを開発してきた。そして、高収量品種の育成過程で窒素がほとんどない土壌でも良く生育するダイジョ（ヤムイモの一種）系統を発見した。このダイジョ系統は平成 27-29 年挑戦的萌芽研究「ヤムイモ(*Dioscorea* spp.)の窒素固定細菌との共生に関する研究」において、根粒菌などの窒素固定細菌と共生していることが世界で初めて確認された（高田ら　熱帯農業研究 9(1):20-21. 2016, Takada et al, 2017）。その窒素固定寄与率は 38%と非常に高いことが明らかになった。また、ダイジョと異なるヤムイモ種（トゲイモ）にも窒素固定細菌が発見され、2 種合わせて 3 属の根粒菌と 8 属の窒素固定細菌が分離された（Rezaei *et al,* 2017）。ヤムイモの生育に窒素固定細菌が関与することはこれまでに報告がなく、また、マメ科以外に内生するこれらの細菌の生態や能力に関する報告は少ない。ヤムイモの経済的な栽培種は 10 種ほどあるが、多くの種及び系統で窒素固定細菌が内生する可能性が考えられた。そこで本応募では、東京農業大学宮古亜熱帯農場（約 100 系統）、国際熱帯農業研究所（約 3000 系統）が有する数多くの熱帯産ヤムイモについて窒素固定細菌を探索するとともに、分離された細菌の能力や特性を明らかにして、ヤムイモ生産における窒素固定細菌の利用を確立する。

５．研究目的

研究代表者らは科学研究費の助成（2006～2015 年）を受けて **CGIAR** の国際熱帯農業研究所（IITA：ナイジェリア）とヤムイモの生産性改善に関する研究（東京農大と MOU 締結済み）を本学の宮古亜熱帯農場やナイジェリアで行い、これまでに新しい増殖方法や機械化栽培技術などを開発し、技術移転を行ってきた。そして、新品種の育成過程でダイジョの N511 品種（ヤムイモの一種）は窒素肥料が全くない土壌でも良く生育することが明らかになって、根粒菌などの窒素固定細菌と共生していることが世界で初めて確認された（高田ら 2017）。その窒素固定寄与率は 38%と非常に高いことが明らかになった。DNA 解析で特定されたダイジョの窒素固定細菌は根粒菌の *Rhizobium*、*Ralstonia* 属の他、*Bacillus*、*Azospirillum*、*Pantoea*、*Shinella*、*Kosakonia* 属や最近サツマイモから見つかった *Pantoea* 属であった。また、トゲイモ（ヤムイモの一種）からも根粒菌の *Devosia* 属や *Azospirillum*, *Klebsiella*, *Xanthomonas* 属が

見つかり、ヤムイモの多くの種・品種には窒素固定細菌が内生することが示唆された（Rezaei *et al,* 2017）。しかし、ヤムイモの生育に窒素固定細菌が関係することはこれまでに報告がなかった。本研究では、宮古亜熱帯農場に継代保存している100系統のヤムイモについて窒素固定細菌を探索したところ、ダイジョ16系統とトゲイモ3系統からも多くの窒素固定細菌が分離された。今後には、分離された細菌の能力や特性を明らかにして、施肥における窒素固定細菌の利用を確立する。ヤムイモから分離した窒素固定細菌は菌株保存室に登録し、本学の遺伝資源として活用をめざす。また、IITA の 3000 系統のヤムイモについても窒素固定細菌との共生関係を調査することを目的とする。

６．研究（実験）方法

本研究は 3 カ年計画とし、東京農業大学、国際熱帯農業研究所（International institute of Tropical Agriculture; IITA：本部ナイジェリア）との連携協力によって実施する。東京農業大学宮古亜熱帯農場（沖縄県）に継代保存してある 100 系統のダイジョについて窒素固定細菌の探索を開始し、共生生態を明らかにする。次に、分離された細菌のヤムイモ植物体内での動態と窒素固定能力を確認する。また、大学院生 2 名を IITA に派遣し、IITA のヤムイモ遺伝資源（3000 点以上有する）についても窒素固定細菌との共生生態を調査する。分離された窒素固定細菌は東京農大に保管し、ジーンバンク化をめざす。なお、東京農大と IITA は MOU により、研究材料の交換を可能としている。

2 年目の研究では、宮古亜熱帯農場のダイジョ 16 系統とトゲイモ 3 系統を用いて窒素固定細菌の分離を試みた。その結果、いずれの系統からも窒素固定細菌が分離され、19 属が推定された。また、ナイジェリアの IITA で栽培されたホワイトヤム（*D. rotundata*）にも窒素固定細菌が共生していることが確認された。窒素固定細菌とホワイトヤムの生育の関連について圃場試験を開始した。さらに、ヤムイモと共生する細菌の 16S メタゲノム解析をゲノムセンターの次世代シーケンサーMiSeq を利用して行った。その結果、バルク土壌・根圏土壌・根・茎・葉の部位ごとに特有の菌叢構造があることを明らかにした。

３年目の研究：

（１） 窒素固定細菌の能力検定（２年目からの継続）

ダイジョから単離した窒素固定細菌を用いて、ダイジョおよびトゲイモにおける窒素固定細菌の窒素固定能力を調べる。それぞれのヤムイモ種の幼植物に緑色蛍光タンパク質で標識した窒素固定細菌を感染させ、共生の確認とバイオマス生産量の変化を解析する。特に、*Rhizobium* などを人工的に接種した植物体は根などが増加したことから、細菌が固定する空中窒素だけでなく内生ホルモンへの影響が考えられる。内生ホルモンの定量を行う。また、共生度合いの大きい細菌を推定し、最終的には窒素固定能力の高い細菌を確定する。トゲイモの研究については、引き続き鹿児島大学の遠城教授に委託する。

（２） ヤムイモの細菌フローラの解析（２年目からの継続）

ヤムイモと共生する細菌のメタゲノム解析方法が確定した。共生細菌を濃縮し DNA 抽出を行うプロトコルを検討することで、解析の精度をあげてヤムイモの細菌フローラを解析する。

（３） 窒素固定細菌と共生するホワイトヤム品種・系統の探索と選抜（2 年目からの継続）

IITA で栽培されているホワイトヤムについて、生育量並びに生育に伴って推移する植物体中の窒素同位体 δ 15N 量を測定し、窒素固定細菌が共生する品種を推定する。また、植物体のメタゲノム解析を行って、共生細菌の推定を行う。最終的には、窒素固定細菌が共生する品種群を確定する。

（４） ヤムイモの生態的特性の解析（２年目からの継続）

IITA で栽培されているホワイトヤムについて、窒素固定細菌と共生するヤムイモの品種特性と関連形質の相関を解析する。最終的には、少ない肥料で栽培できる品種の開発などヤムイモ育種に寄与することを目指す。

７．研究成果

（１）窒素固定細菌の能力検定

１）*Agrobacterium* sp. Strain 343 の接種がダイジョの生育に及ぼす影響

インキュベータで栽培したダイジョ A-19 系統に *Agrobacterium* sp. Strain 343 を接種し、生育に及ぼす影響を 30、60、90 日後に測定した。バクテリアの接種濃度は 10^{+4} CFU.ml^{-1}（T1）と 10^{+6} CFU.ml^{-1}（T2）とした。その結果、地上部の形質に違いがなかったが、接種処理植物体（T1 と T2）の塊茎重、葉緑素指標（SPAD）、葉の窒素含有量が大きくなった（Table 1）。*Agrobacterium* sp. Strain 343 の共生が生育に作用したものと考えられた。

Table 1 Effect of *Agrobacterium* sp. Strain 343 inoculation on the growth and nutrients uptake of water yam cv A-19

DAI	Treatment	Number of Leaves	Leaf area (cm^2)	Stem length (cm)	Leaf Dry weight (g)	Stem Dry weight (g)	Root Dry weight (g)	Tuber Dry weight (g)	Total N leaf (%)	Total N Uptake (mg N plant^{-1})	SPAD
30	T0	27.00$^{ns\ 1)}$	885.8^{b}	101.6^{ns}	2.65^{ns}	1.19^{b}	0.09^{b}		2.70^{ns}	86.93^{ns}	26.94^{b}
	T1	22.00	1556.0^{a}	113.0	2.73	1.62^{a}	0.15^{a}		2.61	92.44	36.79^{a}
	T2	24.00	1340.6^{ab}	141.0	3.30	1.42^{ab}	0.12^{ab}		2.50	96.65	37.65^{a}
60	T0	27.00^{ns}	1116.5^{ns}	114.4^{b}	3.7^{b}	1.45^{ns}	1.83^{a}	4.37^{b}	1.75^{b}	154.11^{b}	27.31^{b}
	T1	32.33	1406.5	141.0^{a}	5.11^{a}	1.76	1.81^{a}	7.91^{a}	2.40^{a}	239.61^{a}	39.79^{a}
	T2	30.00	1737.7	154.0^{a}	5.41^{a}	1.96	1.61^{b}	5.57^{ab}	2.80^{a}	244.59^{a}	44.77^{a}
90	T0	22.67^{b}	850.7^{b}	105.3^{b}	2.80^{c}	1.16^{b}	1.67^{ns}	10.32^{b}	1.36^{b}	161.40^{b}	25.78^{b}
	T1	35.50^{a}	1933.5^{a}	162.0^{a}	6.56^{a}	2.24^{a}	2.05	16.08^{a}	2.18^{a}	330.92^{a}	45.58^{a}
	T2	26.67^{ab}	1512.0^{ab}	141.7^{ab}	4.50^{b}	1.63^{ab}	1.84	15.63^{a}	1.90^{a}	241.48^{ab}	41.22^{a}

1) All values represent the mean with the different letters in superscript indicating significant differences. “ns” shows no significant differences on the same sampling date according to Duncan test (P = 0.05).

２）窒素固定細菌の能力

これまでの実験において分離された 50 株の窒素固定細菌を用いて、細菌のインドール酢酸の生成並びに鉄及び難溶態リン酸カルシウムの可溶化活性について調べた。その結果、インドール酢酸の生成及びリン酸カルシウム可溶化活性を持つそれぞれ 30 株の窒素固定細菌が明らかになった。また、21 株がキレート鉄を生成し、9 株が３つの生成能力を合わせ持つことが明らかになった（Table 2）。これらの細菌は植物生育促進細菌として特許申請を行った。

Table 2 In vitro assessment of plant growth promoting traits in endophytic bacterial strains isolated from yam plants.

Bacterial genus and strain code	ARA	IAA		PS		SP	
		React.	Conc. (ug/ml)	React.	Index	React.	Index
***Achromobacter* sp.**							
E-2T0RMR-150-124	+	-	-	+	1.6±0.1	+	2.6±0.3
A-18T2RMR-180-312	+	-	-	-	-	-	-
***Acinetobacter* sp.**							
E-1T0SJNFb-180-413	+	-	-	+	2.0±0.1	-	-
E-3T2SMR-180-507	+	-	-	+	2.5±0.8	+	3.8±0.1
E-2T1LMR-180-524	+	nd	nd	-	-	+	2.1±0.3
E-2T1LMR-180-471	+	nd	nd	+	2.8±0.5	+	1.8±0.2
***Agrobacterium* sp.**							
A-19T2RJNFb-180-343	+	+	120.0±1.0	+	1.5±0.1	+	1.4±0.1
A-18T1RJNFb-180-333	+	+	32.9±0.4	+	1.5±0.1	+	1.7±0.1
***Bacillus* sp.**							
A-19T2SMR-150-53	+	nd	nd	+	1.5±0.1	+	1.7±0.0
A-133T1RJNFb-180-362	+	-	-	+	1.6±0.1	-	-
***Bosea* sp.**							
A-133T0SJNFb-180-360	+	-	-	-	-	-	-
E-3T1RMR-150-146	+	+	11.1±0.4	-	-	-	-
***Burkholderia* sp.**							
A-18T0TJNFb-180-601	+	-	-	+	4.9±0.7	+	3.3±0.5
***Chitinophaga* sp.**							
A-19T1RMR-150-40	+	+	171.2±2.1	-	-	-	-
A-19T2RMR-150-44	+	-	-	+	1.7±0.2	-	-
***Cronobacter* sp.**							
E-1T2SMR-150-119	+	+	189.8±3.8	-	-	+	1.3±0.1
***Devosia* sp.**							
A-19T0TMR-180-604	+	-	-	-	-	-	-
***Ensifer* sp.**							
E-1T0LJNFb-180-414	+	+	48.5±2.5	-		-	-
***Enterobacter* sp.**							
E-3T0TMR-180-611	+	+	45.5±0.7	+	1.4±0.1	+	3.0±0.3
***Klebsiella* sp.**							
E-1T0RMR-60-168	+	+	41.1±1.3	+	1.4±0.1	+	3.1±0.3
***Leifsonia* sp.**							
A-133T2LMR-180-407	+	+	67.1±0.5	+	2.0±0.1	-	-
***Lelliottia* sp.**							
A-133T1SMR-180-394	+	+	396.9±2.0	+	1.4±0.1	+	1.3±0.0

Table 2 ***(continued)***

Bacterial genera and strains codes	ARA	IAA		PS		SP	
		React.	Conc. (ug/ml)	React.	index	React.	index
Lysobacter sp.							
A-18T2RMR-180-316	+	+	37.2±0.4	-	-	-	-
***Mesorhizobium* sp.**							
A-18T0RMR-150-7	+	+	176.4±7.1	+	2.7±0.3	+	1.6±0.1
A-19T0RMR-180-318	+	-	-	-	-	-	-
A-133T0RMR-180-381	+	-		-	-	-	-
Microbacterium sp.							
A-62T2RMR-180-378	+	-	-	+	1.4±0.1	-	-
Neorhizobium sp.							
A-62T0RMR-150-60	+	+	93.9±2.2	-	-	-	-
Ochrobactrum sp.							
A-18T1RMR-180-308	+	+	24.8±0.4	+	2.0±0.4	-	-
E-3T0RMR-150-140	+	+	41.8±0.9	+	1.4±0.2	-	-
E-1T2LMR-60-174	+	+	30.1±2.3	-	-	-	-
***Pantoea* sp.**							
E-3T0LMR-180-499	+	+	27.9±0.4	+	2.6±0.1	+	2.7±0.0
E-1T0TMR-180-536	+	+	71.8±8.3	+	2.6±0.3	+	2.4±0.4
Paraburkholderia sp.							
A-133T0TJNFb-180-607	+	-	-	+	1.9±0.5	-	
A-133T0TMR-180-609	+	-	-	+	1.7±0.2	+	1.6±0.1
Pseudoxanthomonas sp.							
A-19T2RMR-150-47	+	+	41.6±0.4	-	-	-	-
***Ralstonia* sp.**							
A-133T1SMR-180-393	+	+	149.1±2.0	+	1.6±0.3	+	2.3±0.3
Rhizobium sp.							
E-1T0RMR-150-93	+	+	43.5±1.4	nd		+	3.2±0.5
A-19T0RMR-60-158	+	+	17.6±1.1	+	1.4±0.1	-	
A-133T1RMR-150-84	+	+	55.5±1.1	+	1.4±0.1	-	-
A-19T1RMR-180-320	+	+	31.0±0.5	+	1.4±0.0	-	-
A-18T0SMR-150-9	+	+	116.9±2.9	+	1.3±0.1	nd	nd
A-62T1RMR-150-62	+	+	51.4±3.3	+	1.5±0.1	-	-
Sphingomonas sp.							
E-1T2LMR-180-448	+	-	-	-		+	1.7±0.1
Staphylococcus sp.							
A-133T0TJNFb-180-608	+	-	-	+	2.3±0.1	-	-

Stenotrophomonas sp.							
A-133T1SJNFb-180-365	+	+	12.0±0.9	-	-	+	1.4±0.0
Streptomyces sp.							
E-3T0RMR-180-484	+	-		+	1.9±0.3	-	-
Xanthomonas sp.							
A-133T2LMR-180-410	+	+	27.3±0.2	-	-	+	2.0±0.3
E-3T0RMR-60-181	+	+	28.3±0.6	-	-	+	1.5±0.0
E-1T2RJNFb-180-440	+	+	16.4±1.3	-		-	-

ARA denotes the acetylene reduction assay, IAA the indol-acetic acid, PS phosphate solubilization and SP siderophore production. Means are followed by the standard deviations from an *in vitro* experiment conducted in three analytical replications. ND denotes not determined.

3）*Agrobacterium* sp. S-343 への GFP 付与

ヤムイモに内在する窒素固定細菌として分離した *Agrobacterium* sp. S-343 に緑色蛍光タンパク質 GFP を発現させるため、*gfp* 遺伝子を保持する 3 つのプラスミド (pMP2463, pMP4516, pMP4518, いずれも Addgene 社製) の S-343 株への導入をそれぞれ試みた。形質転換は S-343 株のコンピテントセルを 300 mM sucrose を用いて調製後、Gene Pulser Xcell エレクトロポレーションシステム (BioRad 社製) を用いて 25□F, 1.8kV, 200Ω の条件下で行った。S-343 株の形質転換は pMP2463 と pMP4518 のプラスミドにおいて成功し、蛍光顕微鏡観察により形質転換体の蛍光が確認できた。形質転換体の S-343 株はヤムイモやイネに接種を行い、共生の作用を明らかにする。

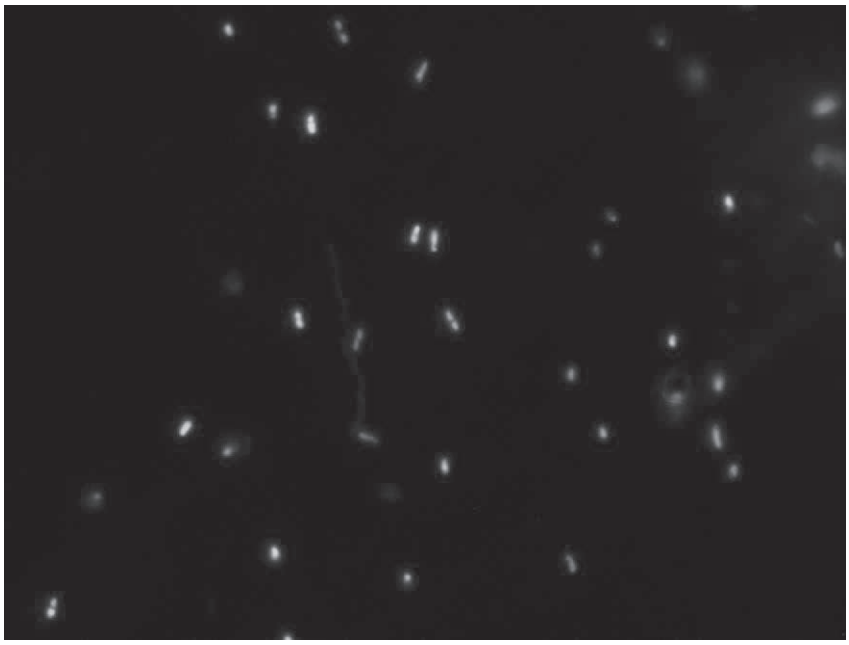


写真　*Agrobacterium* sp. S-343 の蛍光形質転換体

（2）ヤムイモの細菌叢の解析

2年目の研究で確立したメタゲノム解析の手法を用いて、宮古亜熱帯農場のダイジョ並びに IITA で栽培されているホワイトヤムのメタゲノム解析を行った。

1）ダイジョの細菌叢

ダイジョ A-19 系統を無施肥および施肥(尿素 30kgN10a^{-1})条件で栽培し、それぞれ葉, 茎, および根, 土壌および根圏土壌を採取した。抽出した DNA を用いて 16S rRNA 遺伝子の V5-V7 領域を PCR で増幅し、MiSeq によるアンプリコンシーケンスを行い、得られたシーケンスデータをメタ 16S 統合解析ソフトウェア QIIME2 で解析を行った。ダイジョの細菌叢は Proteobacteria に属する５属の存在量が多く、それは Allorhizobium – Neorhizobium – Pararizobium - Rhizobium 系統群、Bulkholderia – Caballeronia - Paraburkholderia 系統群、 *Bradyrhizobium*、 *Pseudomonas* 及び *Stenotrophomonas* であった。これまでの知見から、これら５属が窒素固定能を持ち, ダイジョの生育促進に寄与していると考えられた。

2）ワイトヤムの細菌叢

サンプルは 6 品種、2 条件（施肥・無施肥）、3 部位（バルク土壌・根圏土壌・根）、3 反復の計 108 サンプルを用いた。主座標分析の結果から、バルク土壌・根圏土壌・根の各部位で特有の菌叢を有していることが確認された。引き続き品種ごとの多様性や菌叢の差異等について詳細な解析を行っている。

（3）窒素固定細菌と共生するホワイトヤム品種・系統の探索と選抜

ナイジェリアの IITA においてホワイトヤムのうち 6 系統を圃場で無施肥栽培し、窒素安定同位体自然存在比（δ ^{15}N）を用いて系統間の窒素固定能の比較を行った。茎葉繁茂期にあたる 9 月における葉の δ ^{15}N は DrDRS074 で特に低い値を示し、対照作物との比較による窒素固定寄与率および窒素固定由来の吸収窒素量についても系統間に有意な差を示した。以上のことから、ホワイトヤム種内における窒素固定能の系統間差異を確認することができた。

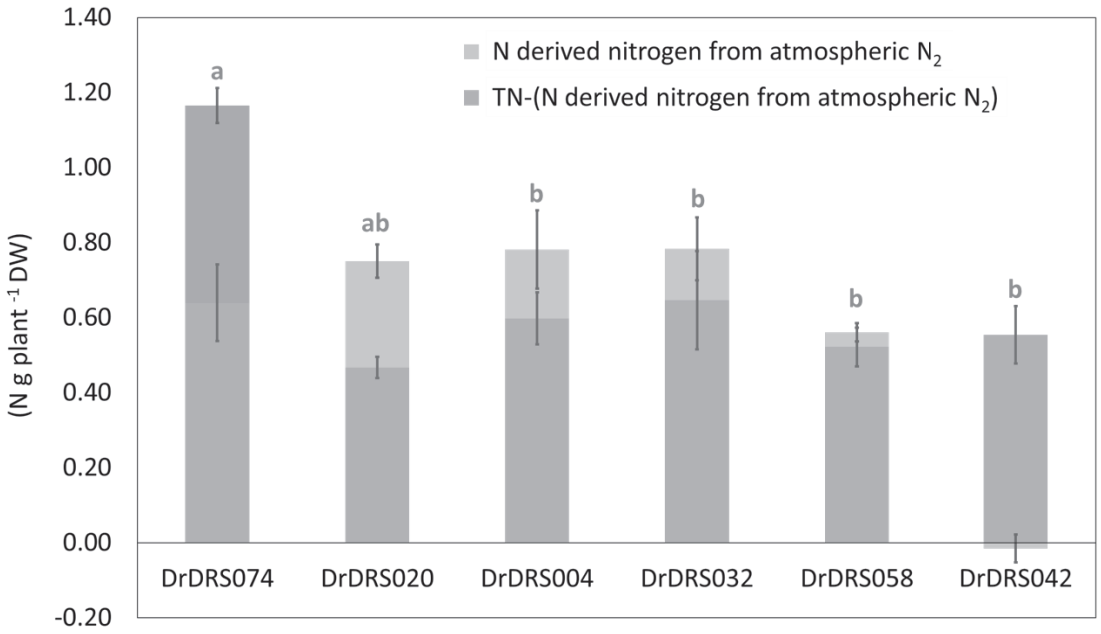


Fig. 2 Comparison between amount of nitrogen in the N derived from atmospheric N_2, and N amount by subtracting the N derived from atmospheric N_2 from total N of white yam leaf calculated in 2018. Vertical bars are standard errors of the mean. Means with the same letter at data in N_2 derived N are not significantly different at $P < 0.05$ according to Tukey's multiple comparison-test. The TN-(N derived nitrogen from atmospheric N_2) values of six white yam cultivars showed no significant difference.

８．実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

植物生育促進細菌として７個体の細菌の特許申請を行った。（特願 2019-209500）

９．残された問題点と今後の研究推進方策

細菌を用いた Bio-fertilizer の実用化。

実用化に向けた実証試験を行うパートナー（企業）を探したい。

１０．公表した成果一覧

学術論文

1) Hironobu Shiwachi, Natsumi Miwa, Kanako Takada, Michel Ouyabe, Babil Pachakkil, Hidehiko Kikuno, and Naoto Tanaka. 2020. Infection Route of Endophytic Nitrogen-fixing Bacteria in Water Yam (*Dioscorea alata* L.). Tropical Agriculture and Development. 64 : 1-6.
2) Michel Ouyabe, Hidehiko Kikuno, Naoto Tanaka, Pachakkil Babil, and Hironobu Shiwachi. 2019. Contribution of Biological Nitrogen Fixation in Lesser Yam (*Dioscorea esculenta* L.) Associated with Endophytic Diazotrophic Bacteria. Tropical Agriculture and Development. 63: 131 – 139.
3) Michel Ouyabe, Hidehiko Kikuno, Naoto Tanaka, Pachakkil Babil, and Hironobu Shiwachi. 2019. Endophytic Nitrogen-Fixing Bacteria of Water Yam (*Dioscorea alata* L.) in Relation with Fertilization Practices. Tropical Agriculture and Development. 63: 122 – 130.
4) Michel Ouyabe, Hidehiko Kikuno, Naoto Tanaka, Pachakkil Babil, Hironobu Shiwachi. 2019. Isolation and identification of nitrogen-fixing bacteria associated with *Dioscorea alata* L. and *Dioscorea esculenta* L. Microbial Resources and Systematics. 35:3-11.
5) Kanako Takada, Naoto Tanaka, Hidehiko Kikuno, Pachakkil Babil, Michio Onjo, Byoung-Jae Park, and Hironobu Shiwachi. 2019. Isolation of nitrogen-fixing bacteria from water yam (*Dioscorea alata* L.). Tropical Agriculture and Development. 63: 198 – 203.

学会発表

1) Kanakko Takada, Ryo Matsumoto, Haruki Ishikawa, Asrat Asfaw, Pachakkil Babil, Hidehiko Kikuno, Hironobu Shiwachi. 2019. Nitrogen Fixation in White Yam (*Dioscorea rotundata*) Using Naturally Abundant 15N. Tropentag 2019. Universities of Kassel and Coettingen, Germany. 2019 年 9 月 18 日-20 日
2) Sumetee Liswadiratanakul, Michel Ouyabe, Hideki Hinomisu, Kanako Takada, Hidehiko Kikuno, Pachakkil Babil and Hironobu Shiwachi. 2019. Inoculation effects of a plant growth-promoting *Agrobacterium* sp. S-343 on water yam (*Dioscorea alata* L.). 日本熱帯農業学会第 126 回講演会(アトールエメラルド宮古島).2019 年 11 月 22―23 日
3) 朱 家成、山本紘輔、志波優、Michel Ouyabe、高田花奈子、パチャキル バビル、菊野日出彦、田中尚人、志和地弘信. 2019. メタ 16S 解析法によるダイジョ共生細菌叢の解明. 日本熱帯農業学会第 126 回講演会(アトールエメラルド宮古島).2019 年 11 月 22―23 日
4) 髙田 花奈子・松本 亮・石川 春樹・パチャキル バビル・菊野 日出彦・志和地 弘信 ^{15}N 希釈法によるホワイトギニアヤムの窒素固定量の推定.日本作物学会第 249 回講演会 筑波産学連携支援センター（つくば市）2020 年 3 月 26 日～27 日
5) Sumetee Liswadiratanakul, Michel Ouyabe, Kodai Mori, Kanako Takada, Hidehiko Kikuno, Pachakkil Babil and Hironobu Shiwachi. Effects of Agrobacterium sp. Strain 343 Inoculation on the Growth of Water Yam

(*Dioscorea alata* L.) under Greenhouse Conditions. 日本熱帯農業学会第 127 回講演会(東京農工大学府中キャンパス).2020 年 3 月 17−18 日

２０１９年度 東京農業大学 大学院先導的実学研究プロジェクト
研究成果報告書

畜産学　専攻
研究代表者　　岩田　尚孝

１．研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
ウシの腸内細菌叢と miRNA を考慮した新規飼養基準による持続的な乳・肉生産体系の提案	4,500,000

２．研究組織

	氏名	所属・職名	個別研究課題名
研究代表者	岩田　尚孝	農学研究科　畜産学専攻・教授	研究統括･卵子のエピジェネティック解析
研究分担者	庫本　高志	農学部　畜産学科・教授	ラット用いた栄養学的試験および脂質代謝解析
	白砂　孔明	農学部　畜産学科・准教授	免疫学的機能・発現解析
	宗像　祥久	農学研究科　畜産学専攻・後期３年	次世代シーケンサー網羅的解析および評価
	石黒　　愛	農学研究科　畜産学専攻・前期２年	体外培養系を用いた試験解析
	相澤　琢朗	農学研究科　畜産学専攻・前期２年	体外培養系を用いた試験解析
	伊藤　　洵	農学研究科　畜産学専攻・前期２年	腸内細菌叢解析
	佐野　宙矢	農学研究科　畜産学専攻・前期２年	子宮内環境の網羅的解析
	舟島　なつみ	農学研究科　畜産学専攻・前期２年	サイトカイン・免疫系解析
	市川　佳奈	農学研究科　畜産学専攻・前期１年	栄養環境の生殖細胞への影響の解析
	谷　久美子	農学研究科　畜産学専攻・前期１年	栄養環境の子宮環境への影響の解析
	立松　　薫	農学研究科　畜産学専攻・前期１年	生殖細胞系のエピジェネティック解析
	Hoang Trung Hieu	農学研究科　畜産学専攻・前期１年	脂質代謝関連因子の発現解析

３．研究期間

２０１９年6月３日～２０２０年3月３１日（３年計画の１年目）

４．研究の背景（当初）

日本の畜産業は国民へのタンパク源の供給だけでなく、耕畜連携による持続的な農業に必須であり、日本の農を世界に発信する一翼を担っている。現代の乳牛・肉牛ともに高泌乳や霜降りを維持するために高栄養飼料給餌が常態化している。しかし、乳牛では泌乳量増加に伴う受胎率低下と早期廃用の増加が問題となり、肉用牛では高級牛肉の霜降り偏重からの脱却と多様な肉生産が求められつつある。さらに、これらの飼育環境ではウシの代謝機能障害や関連疾患が多発することから、飼養体系の抜本的な見直し必要となってきた。

日本では家畜繁殖技術が進んでおり、優秀な次世代を得るために優良な高泌乳牛や肥育牛の卵巣卵子が利用され、体外受精ー受精卵移植で年間数万頭が生産されている。近年、栄養（食事）が環境要因としてエピジェネティクスに影響することが大きな注目を集めている。すなわち、栄養不足（低栄養）や高脂質環境（高栄養）が生殖細胞のエピジェネティクス異常を導き、癌・老化・メタボリックシンドローム等を導くことが分かってきた。さらに、栄養環境によって腸内細菌叢が変動し、それに伴う miRNA の変化が内分泌、妊孕性、免疫応答や生殖細胞の質に作用する知見が集まりつつある。これらの変化は、子牛が将来に遭遇する高栄養という負荷への応答性に影響し、次世代の形質（生産性・健常・繁殖性）を決定し得る可能性がある。一方で従来の粗飼料中心と高栄養穀物中心の飼養条件が腸内細菌叢や miRNA に及ぼす影響、それらが子宮や生殖細胞の質に及ぼす影響ついては不明である

５．研究目的

研究では、ウシにおいて栄養環境に左右される脂質代謝、子宮環境、飼料に起因する腸管微生物の変化が惹起する miRNA や代謝物の変化が、妊孕性を支える内分泌、生殖器官の細胞機能、卵子質を低下させることに加え、これらの変化が miRNA を介して卵子のエピミューテーションを惹起しているという仮説を検証し、そのメカニズム解明と制御方法を確立することで、次世代形質に最良な新規飼養方法の基板となる知見を見つける。

６．研究（実験）方法

卵子や胚が遭遇する体液である卵胞液、卵管液の smallRNAseq を行った。細胞から分泌される可能性を考えて卵子顆粒層細胞複合体や卵管細胞を体外で培養し培養液のエキソソーム分画の回収しこれを SmallRNAseq に供した。また血液（穀物食・牧草食のウシ）のエキソソーム分画の smallRNAseq と逆転写 PCR を行った。さらに卵管液の miRNA を対象に逆転写 PCR を行った。

細胞や卵子および胚の培養液に miRNA の mimic・mimic-control の添加を行い細胞、卵子や胚の状態を検討し miRNA の効果を検証した。想定される代謝物、酢酸・βヒドロキシ酪酸・エクオール・胆汁酸の細胞や胚の培養液への添加を行い細部と胚の状態を検討した。miRNA とは別に培養液や卵胞液に分泌される細胞外核酸の卵子の質やウシの生理状態との関係性について検討した。

脂肪食と通常食のラットの血漿やそれらの子供のグルコース耐性と卵子の状態を検討し、母体の影響状態が子供のどのように影響するのかを検討した。脂肪食・通常食のラット、穀物食・牧草食のウシの糞便の細菌叢の解析を行った。

７．研究成果

飼養条件が異なるウシ（穀物食・牧草食）から血漿を採取した。卵子の脂質含量や卵胞液の遊離脂肪酸寮は穀物食において牧草食に比べて著しく高くなった。全兄弟由来の血漿(1 頭ずつ)からエキソソーム分画を取り出して miRNA を測定した。牧草食に多い miR-145、miR-143、let-7c、let7-7g などを選び出し肥育牛と繁殖牛４頭ずつの血漿を用いて RT-PCR を行ったところ同様に有意な差や傾向が観察できた。さらに卵胞液の miRNA を、smallRNAseq を用いて肥育牛と繁殖牛間で比較し両者に差がある可能性のある miRNA を同定できた。

卵子や胚は卵胞や卵管内で発育する。そこで次に卵子の発育や胚の発育に miRNA が影響するのかどうかを検証した。先行して行ったブタの卵胞液中に含まれるエキソソーム分画の miRNA を small-RNAseq にて決定しこれらを比較することで卵胞液に大量に含まれるものを同定した。また同時に採取した顆粒層細胞の RNAseq を行い小卵胞から大卵胞に移行する上で重要な上流因子を解析した。さらに発育能力が高い卵子と低い卵子を内包していた顆粒層細胞を RNAseq して比較することでその上流因子を比べた。これらを比較して候補となる miRNA を推定した。同時に卵子と顆粒細胞を培養して得られた培養液中の miRNA を解析し、卵胞液中の候補 miRNA は細胞から分泌されうることを示した。この候補 miRNA は miR17,27,92a,そして 145 であるが、これらを卵子顆粒層細胞複合体の体外培養液に添加しコントロール mimic 添加に比べることで、卵子の体外発育を促し、卵子の H4K12 のアセチル化状態やクロマチンの凝集を亢進させることが明らかになった。

次に胚の発育に影響する miRNA を同定するために卵管液中の miRNA を smallRNAseq で同定し、これらの頻度が発情期によって影響されるのかを性周期が異なるウシの卵管液を用いて逆転写 PCR を行いて比較し、黄体期で著しく濃度上昇が見られることが明らかになった。

さらに卵管細胞を体外培養しその培養液を解析することで卵管細胞が分泌する可能性のある miRNA を同定した。次に体外で培養した胚盤胞と体内から回収した胚盤胞を RNAseq に供し、発現変動遺伝子から上流因子を解析することで候補 miRNA を同定しこれらと卵管に存在する miRNA を比較することで候補となる miRNA を同定した。この miRNA としては miR-17 等があり現在添加試験を行っている。

次に上記と同様飼養条件の異なるウシの糞便を採取し細菌叢の比較を行うと、細菌叢が異なっていた。エッピゲネテクックな変化が飼養条件で惹起するのかをラットを用いて検証した。雌ラットを肥満食と通常食で飼養し、肥満状態と正常な生理状態の差を確認したうえで、産子を得た。産子には生後の発育に若干の差が見られ、グルコースへの反応性には有意な差があった。また回収した卵子の脂質量に有意な差があることも見いだした。これらのラットの糞便の細菌叢も検討したところ両者に大きな差があった。腸内細菌によって変動しうる代謝物については現在添加試験中である。

miRNA とは別に血液や卵胞液中に大量の DNA を見いだした。これらの DNA の量とウシの生理状態を比較すると､ウシの生理状態の指標である LDH やトリグリセライドと相関がある事が明らかとなった。また、卵胞液、胚の培養液、細胞の培養液中のこれらの量が卵子の質や胚の質そして細胞の状態と関連性がある事を明らかにした。

８．実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

９．残された問題点と今後の研究推進方策

ウシでは胚の発育に影響する miRNA 候補の検証作業を胚やターゲットのタンパクを念頭に検討する必要がある。また卵子発育に影響することを明らかにした卵胞液中の miRNA については、ウシの母体の生理状態が卵胞液中の miRNAs の頻度にどのように影響するのか、またその miRNA の卵子の体外発育に及ぼす影響について検討する必要がある。ウシについては飼養条件によって変化する血漿の代謝物の変化を調べ、それらが細胞や卵子に与える効果をより詳細に検討する。また世代を超えた影響については miRNA 添加や腸内の代謝物添加が引き起こす卵子のクロマチン修飾とエピゲネティックな変化の分子背景を調べる必要が有る。産子に及ぼす影響を調べるためにラットなどを用いた卵子の体外発育系を構築中であり、母体の生理条件が産子に与える影響を検討する。

１０．公表した成果一覧

学術論文

1）血液中の DNA を用いたウシ胚子の性判別 日本胚移植雑誌 41,19-23,2019. 野口龍生　**相澤拓朗**　岩田尚孝

2）Comparison of Gene Expression and Mitochondria Number Between Bovine Blastocysts Obtained in Vitro and in Vivo. J Reprod Dev 2019 [Online ahead of print] Tatsuo Noguchi, **Takuro Aizawa**, Yasuhisa Munakata, Hisataka Iwata

3）Cell-free DNA Content in Follicular Fluid: A Marker for the Developmental Ability of Porcine Oocytes. Reprod Med Biol 19, 95-103 2019. **Kana Ichikawa**, Hidenori Shibahara, Komei Shirasuna, Takehito Kuwayama, Hisataka Iwata

4）Cell-free DNA in medium is associated with the maturation ability of in vitro cultured oocytes. **Munakata Y**, Shirasuna K, Kuwayama T, Iwata H. J Reprod Dev. 2019 ;65:171-175.

5）Mitochondrial Cell-free DNA secreted from porcine granulosa cells. **Kansaku Kazuki**, **Yasuhisa Munakata**, Koumei Shirasuna, Takehito Kuwayama, Hisataka Iwata Zygote. 2019 27:272-278.

6）Follicular factors determining the developmental competence of porcine oocyte Hidenori Shibahara, **Ai Ishiguro**, Koumei Shirasuna, Takehito Kuwayama, Hisataka Iwata. Reprod Med Biol. 2019;18:256-262.

7）Modifying the medium volume and gel substrate in in vitro culture conditions improves growth of porcine oocytes derived from early antral follicles. Shibahara H, **Munakata Y**, **Ishiguro A**, Koumei S, T Kuwayama, H Iwata.J Reprod Dev. 2019;65:375-379.

8）Preeclamptic Patient-Derived Circulating Cell-Free DNA Activates the Production of Inflammatory Cytokines via Toll-Like Receptor 9 Signalling in the Human Placenta. Ayae Ozeki , **Kumiko Tani**, Hironori Takahashi, Hirotada Suzuki, Shiho Nagayama, Chikako Hirashima, Hisataka Iwata, Takehito Kuwayama, Akihide Ohkuchi, Koumei Shirasuna Journal of Hypertension. 2019 ;37:2452-2460.

9）S100A8, Which Increases With Age, Induces Cellular Senescence-Like Changes in Bovine Oviduct. **Yuki Nakamura** , Hisataka Iwata, Takehito Kuwayama, Koumei Shirasuna Epithelial Cells Am J Reprod Immunol. 2019 ;82:e13163.

10）Olive Leaf Extract (OleaVita) Suppresses Inflammatory Cytokine Production and NLRP3 Inflammasomes in Human Placenta. Yasuaki Kaneko, **Michiya Sano**, Kotomi Seno, **Yuka Oogaki**, Hironori Takahashi, Akihide Ohkuchi, Miki Yokozawa, Ken Yamauchi, Hisataka Iwata, Takehito Kuwayama and Koumei Shirasuna,

Nutrients. 2019 11(5). pii: E970.

11） Prediction of major microRNAs in follicular fluid regulating porcine oocyte development.
Inoue Y, Munakata Y, Shinozawa A, Kawahara-Miki R, Shirasuna K, Iwata H. J Assist Reprod Genet. 2020 Aug 11. doi: 10.1007/s10815-020-01909-0. Online ahead of print.

学会発表

第 112 回　日本繁殖生物学会　北海道大学　2019 年 9 月 2〜5 日

1）MicroRNA-92a は顆粒層細胞の代謝を変化させブタ未発育卵子の体外発育を改善する
宗像 祥久，柴原 秀典，白砂 孔明，桑山 岳人，岩田 尚孝

2）miR-92a がウシ初期胞状卵胞由来卵子の体外発育に及ぼす影響
立松 薫，永田 修大，白砂 孔明，桑山 岳人，岩田 尚孝

3）ブタ卵胞液中の cell-free DNA 量と卵子の能力の関係
市川 佳奈，柴原 秀典，白砂 孔明，桑山 岳人，岩田 尚孝

4）加齢がウシ胚の発生培地中ミトコンドリア由来 cfDNA 量に及ぼす影響
青木 漱吾，白砂 孔明，桑山 岳人，岩田 尚孝

5）パルミチン酸は胎盤において免疫細胞を動員し NLRP3 inflammasome の活性化を介して流産を引き起こす
佐野 宙矢，金子 泰昭，嶋崎 沙也華，唐澤 直義，高橋 将文，岩田 尚孝，桑山 岳人，白砂 孔明

6）老化関連因子 IL-1α や IL-1β がウシ卵管上皮細胞の炎症応答に及ぼす影響
中村 悠稀，野口 龍生，坂上 信忠，岩田 尚孝，桑山 岳人，白砂 孔明

7）ウシの免疫細胞および子宮における NLRP3 インフラマソーム機構の検討
石田 大樹，舟島 なつみ，坂上 信忠，野口 龍生，岩田 尚孝，桑山 岳人，白砂 孔明

8）加齢による妊娠マウスの胎盤老化と免疫細胞の関係
平田 良樹，勝倉 祐介，谷 久美子，岩田 尚孝，桑山 岳人，白砂 孔明

第 64 回　日本生殖医学会　神戸国際会議場　2019 年 11 月 7〜8 日

9）加齢がウシ卵胞液の miRNA 組成に及ぼす影響
永田 修大，岩田 尚孝

10）発育ステージの異なる卵胞由来の凍結融解顆粒層細胞追加が卵子の体外発育に及ぼす影響
石黒 愛，岩田 尚孝

第 9 回　日本 DOHaD 学会　コングレスクエア日本橋　2019 年 8 月 9〜10 日

11）妊娠中の母体の炎症環境が産仔の炎症応答性に与える影響
近藤理沙、谷川奈央、岩田尚孝、桑山岳人、白砂孔明

第 3 回　日本胚移植研究会　和歌山　2019 年 8 月 28〜30 日

12）母牛の生理状態と血漿中ミトコンドリア由来細胞外 DNA の関係
相澤拓朗　野口龍生　岩田尚孝

２０１９年度 東京農業大学 大学院先導的実学研究プロジェクト
研究成果報告書

農芸化学　専攻
研究代表者　　井上　順

１．研究課題名および予算額

研究課題名	予算額（円）
抗肥満作用を有する高機能性ブロッコリーの選別と農大発の高機能性野菜の開発	4,500,000

２．研究組織

	氏名	所属・職名	個別研究課題名
研究代表者	井上　　順	応用生物科学研究科 農芸化学専攻・教授	研究の統括とSREBP活性抑制とSFaN存在量の相関分析
研究分担者	阿部　尚樹	応用生物科学研究科 食品安全健康学専攻・教授	SFaN類縁体のSREBP活性抑制効果に対する構造活性相関
	正路　健太	農学研究科 農芸化学専攻・博士前期２年	SREBP活性を低下させるブロッコリー抽出物の *in vitro* 評価系を用いた選別
	鵜飼　亮伍	農学研究科 食品安全健康学専攻・修士課程１年	ブロッコリー抽出物におけるSFaN類縁体を中心としたSREBP活性抑制物質の探索
研究協力者	古木　利彦	株式会社サカタのタネ	ブロッコリーの提供

３．研究期間

２０１９年6月３日～２０２０年3月３１日（３年計画の１年目）

４．研究の背景（当初）

研究代表者はこれまでに、抗メタボリックシンドローム作用を有する食品成分の同定を目指し、*in vitro* 評価系（SREBP(Sterol regulatory element-binding protein)活性の評価系）を用いて探索を行い、ブロッコリーに含まれるスルフォラファン（SFaN）を見出すことに成功した。SFaN は脂質代謝を包括的に制御する転写因子 SREBP の活性を阻害することで脂質の生合成を抑制すること、肥満モデルマウスへの投与により抗肥満や抗脂肪肝作用を発揮することを明らかにしてきた。

５．研究目的

本研究プロジェクトでは、以下の 2 点について検討を行う。

① 高い SREBP 抑制活性能を有するブロッコリー品種および部位の選別と抽出方法の確立

SREBP 活性の抑制能を指標にして、抗肥満作用を示すブロッコリーの品種やその部位（茎や葉）を選別し、SREBP 活性抑制物質の最適な抽出法を確立する。「サカタのタネ」が所有する約 30 品種のブロッコリーを対象とする。

② 選別したブロッコリーの抗肥満作用の検討

選別したブロッコリー破砕物や抽出物を肥満モデルマウスに摂食させ、抗肥満や抗脂肪肝作用等について検討する。

これらの結果を基に、今後、ヒトでの効果の検証を行い、農大発の高機能性野菜開発につなげることを本プロジェクトの目的とする。

６．研究（実験）方法

１．高い SREBP 抑制活性能を有するブロッコリー品種・部位の選別と抽出方法の確立

「サカタのタネ」が所有する約 30 品種のブロッコリーを茎と葉に分け、活性成分の抽出効率を検討し、SREBP 活性抑制物質の最適な抽出法を確立する。

得られた標品について、in vitro 評価系を用いて SREBP 活性を最も強く抑制する品種・部位・抽出法を選別する。評価系には SREBP の代表的な標的遺伝子である、脂肪酸合成酵素遺伝子プロモーター領域によるルシフェラーゼレポーターアッセイを用い、標品は終濃度 0.1～0.01mg/ml で処理を行う。

初年度は抽出方法を確立し、その方法を用いてブロッコリー品種の選別をできる限り進める。それぞれの抽出サンプルについては、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）分析に供し、SFaN の含有量を測定する。

７．研究成果

ブロッコリー（一般の販売店から購入）をフリーズドライし、フードプロセッサーで粉砕したサンプルを用いて抽出条件を検討した結果、以下のように条件を決定した。

2.5g/150m で超純水に懸濁 → 室温で 2 時間攪拌 → 酢酸エチルに溶解した画分をサンプルとした。次に前処理の条件を検討し、60℃, 5 分 or 前処理なしの二つの条件で検討を行うことに決定した。今回決定した抽出方法では、低濃度（0.01mg/ml）の処理で SREBP 抑制能が観察されており、ブロッコリー品種の選別に使用できる抽出方法の確立に成功した。

現在、14 品種の検討を終えており、今後残り 15 品種について検討を行う。

また、抽出サンプル中の SFaN 含有量と SREBP 活性の抑制能の相関を検討したところ、60℃, 5 分で前処理することで SFaN 含有量が低いにも関わらず、強い SREBP 抑制能を有するサンプルが得られており、SFaN 以外の活性成分が存在すると考えられる。

８．実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容：

該当なし

９．残された問題点と今後の研究推進方策

残り 15 品種について検討を行う。強い活性をもつ品種 3 種類程度を選別し、再度前処理の条件を検討する。すでに予備的な検討で、前処理によって SFaN 以外の活性成分が生じることが示されているので、来年度はその成分の精製・単離を目指す。

10. 公表した成果一覧：

学会発表

１）SFaN による転写因子 SREBP 活性抑制機構の解析

正路 健太、宮田 慎吾、鈴木 司、山本 祐司、井上 順

第 73 回日本栄養・食糧学会大会／2019 年 5 月

２）スルフォラファンの肥満抑制効果に対する腸内細菌叢の変化の解析

小高 愛未、正路 健太、松谷 峰之介、志波 優、松本 雄宇、鈴木 司、山本 祐司、井上 順

日本農芸化学会 2020 年度大会／2020 年 3 月

２０１９年度 東京農業大学 大学院先導的実学研究プロジェクト
研究成果報告書

バイオサイエンス　専攻
研究代表者　　坂田　洋一

１．研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
アフリカ農業を救うストリゴラクトン高生産系の構築と、高活性類縁体の創出	4,500,000

２．研究組織

	氏名	所属（専攻）・職名	研究の役割
研究代表者	坂田　洋一	農学研究科 バイオサイエンス専攻・教授	研究統括、植物におけるストリゴラクトン 化合物の活性評価
研究分担者	伊藤　晋作	生命科学部 バイオサイエンス学科・助教	ストリゴラクトンの分析、合成、構造決定
	渡辺　　智	生命科学部 バイオサイエンス学科・准教授	シアノバクテリアを用いたストリゴラクトン生産系の確立
	橘　　隆一	地域環境科学部 森林総合科学科・准教授	ジブチにおけるストライガ汚染調査
	大島　宏行	応用生物科学部 農芸化学科・助教	ジブチにおける土壌調査
	對馬　誠也	生命科学部　分子微生物学科・教授	微生物を用いたストリゴラクトンの活性評価
	川田　紘次郎	農学研究科 バイオサイエンス専攻・後期２年	ストリゴラクトンの分析、合成、構造決定
	坂巻　　裕	農学研究科 バイオサイエンス専攻・後期１年	シアノバクテリアを用いたストリゴラクトン生産系の確立

３．研究期間

２０１９年6月３日～２０２０年3月３１日（３年計画の１年目）

４．研究の背景（当初）

根寄生雑草ストライガは、アフリカ全域で主要作物に寄生し、生育不良、収量の減少を引き起こす。被害額は 100 億ドルと試算されており、エイズやマラリアと並ぶアフリカの重要問題として認識されている。植物ホルモンであるストリゴラクトン（SL）はストライガの発芽誘導物質として知られており、宿主作物非存在下で SL を散布することで自殺発芽を誘導する。SL を用いた自殺発芽の誘導

によるストライガ防除はスーダンやブルキナファソの圃場で試験が行われており一定の効果が認められている。一方、気候や土壌条件も多様なアフリカでは地域により天然 SL の安定性や効果にばらつきがあり駆除効果が認められない場合も多い。加えて、実験室レベルでも天然 SL は分解されやく、土壌散布するには合成コストが高いため SL による防除には、安価かつ大量に生産する系の確立と、地域特性に適合した高安定性、高活性 SL の創出が必要である。

５．研究目的

上記の背景のもと、本研究では SL 生産のホストとして葉緑体の祖先生物であるシアノバクテリアに着目した。SL はβカロテンを原料として 4 酵素（D27、CCD7、CCD8 および P450 酵素である MAX1）により葉緑体で合成されるため、本菌が最適である。更に光合成により CO_2 を有機化合物に変換でき、安価な培地で合成可能である。申請者らは SL 生合成遺伝子の 3 種類を導入する事で SL 前駆体であるカーラクトン（CL）を作物の 100 倍以上高濃度で蓄積する株の取得に成功している。これまで有機合成でしか生産できなかった CL の高効率な醗酵生産は、産業化への可能性を示す大きな成果である。

以上を基盤に、本研究ではストライガ防除を目指し、ストリゴラクトン（SL）のシアノバクテリアによる新規大量生産系の確立、P450 酵素の機能改変による高活性型 SL（スーパーSL、SSL）の創製を行う。またスーダンとは異なる気候、土壌条件のアフリカ地域としてジブチを例にストライガ被害および分布状況、土壌環境の調査を行うことで SL によるストライガ防除可能性を検討する。

６．研究（実験）方法

１、シアノバクテリアへの SL 生合成遺伝子導入と、代謝経路を改変した高生産株の作出（渡辺、伊藤、坂田、坂巻、川田）

1-1. カーラクトン生産系の評価

1-2. カーラクトン活性の評価

1-3. ストリゴラクトン生産系の構築

２、ジブチにおけるストライガ汚染状況、土壌性質の調査（橘、大島、渡辺）

2-1. ジブチ土壌における根寄生植物の調査

2-2. ジブチ土壌に含まれる栄養成分の分析

７．研究成果

１、シアノバクテリアへの SL 生合成遺伝子導入と、代謝経路を改変した高生産株の作出（渡辺、伊藤、坂巻、川田）

1-1. カーラクトン生産系の評価（渡辺、伊藤、坂巻）

これまでに構築したカーラクトン生産株に関して、シアノバクテリア細胞内および培地中に放出されるカーラクトン量の精密な定量を行なった。カーラクトン標準物質と共に LC-MS/MS 解析を実施した結果、菌体 1g あたり合計 80 ng のカーラクトンが生産されていることが示された。先行研究（Seto et al., PNAS 2014）ではシロイヌナズナ Col-0 では約 300 pg/gFW、イネ Shiokari では約 100 pg/gFW のカーラクトンを生産することが示されており、これらと比較するとシアノバクテリアのカーラクトン生産系はシロイヌナズナの 250 倍、イネと比べると 800 倍の生産量であることがわかった。上記の成果に関して、本学より特許を申請した（特願 2020-22999）。

1-2. カーラクトン活性の評価（伊藤、坂田、川田、坂巻）

シアノバクテリアで合成されたストリゴラクトン類縁体の活性を評価するため、Striga hermonethica (Striga) および Orobanche minor (Orobanche) を用いて発芽試験系の構築を行った。Striga と Orobanche はそれぞれ 0.1 nM、10 nM の GR24 (合成ストリゴラクトン) で十分な発芽が観察された。カーラクトン生産株はおよそ 100 nM のカーラクトンを培地中に放出していること、実際にカーラクトン生産株を用いた発芽試験では Orobanche の発芽を観察できたことから、簡便にス

トリゴラクトン活性を評価できる系を確立することができた。また、ストリゴラクトンの植物ホルモン活性の評価系もイネおよびシロイヌナズナにおいて確立できた。

1-3. ストリゴラクトン生産系の構築（渡辺、伊藤、坂巻）

カーラクトン生産株において、さらに P450 ファミリー酵素であるイネの Os0900 を発現させた。Os0900 の膜貫通ドメインを除去し、シアノバクテリアゲノム上のニュートラルサイトにおいて、IPTG 依存性プロモーターの下流に HA タグを付加した Os0900 を配置した。IPTG 依存的に HA-Os0900 の発現を確認することはできたが、生成物である 4-deoxyorobancol（4-DO）は検出できなかった。一般に P450 酵素はレダクターゼからの還元力の供給が必要であることが示唆されており、4-DO 生産には Os0900 の発現だけでは不十分であると考えられた。そこで Os0900 へ還元力を供給するために、レダクターゼである ATR を共発現させる発現系を新たに構築した。今後、4-DO 生産への効果を解析する。

2、ジブチにおけるストライガ汚染状況、土壌性質の調査（橘、大島、渡辺）

2-1. ジブチ土壌における根寄生植物の調査（橘、渡辺）

ジブチに赴き、アルタ州や農業省保有の試験圃場より土壌サンプルを採取した。これらの土壌サンプルについて、ストライガ感受性陸稲 IAC-165 を用いて根寄生植物の有無の調査を開始した。IAC-165 の発芽を確認することはできたが、土壌の栄養成分が乏しく、根寄生植物が現れるまでイネが十分に生育しなかった。根寄生植物の有無の判定には、さらに栽培条件の検討が必要である。

2-2. ジブチ土壌に含まれる栄養成分の分析（大島、伊藤、渡辺）

試験圃場の土壌サンプルの一部を、ジブチ政府の許可を得て持ち帰った。オートクレーブにより無菌化した土壌成分に関して無機成分の分析を実施中である。これまでにリン酸についての分析を実施し、採取した試験圃場の土壌は無機リン酸の含有量が少ないことがわかった。土壌中の無機リンが少ない場合、植物体はストリゴラクトン化合物を多く生産することが知られているため、根寄生植物の調査を合わせてストライガ汚染のリスクを調べる必要がある。

８．実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

橘および渡辺は、昨年度より採択された SATREPS「ジブチにおける広域緑化ポテンシャル評価に基づいた発展的・持続可能水資源管理技術確立に関する研究」（代表：島田沢彦教授）の研究分担者である。SATREPS ではジブチにおける有用植物の調査、およびその利用を担当しており、本プロジェクトで得られた成果を活用できる。

シアノバクテリアを用いたカーラクトン生産に関しては本学より特許を申請した（特願 2020-22999）。また、企業からの問い合わせもあり、本プロジェクトを推進することで企業との共同研究が期待される。これまでに株式会社マイクロバイオファーマ、株式会社カネカとの研究打ち合わせを実施した。

９．残された問題点と今後の研究推進方策

ストリゴラクトン活性評価の基本的な解析環境が整備できた。これまでの成果は、プレリミナリーなものが多いため再現性を確認する必要がある。また企業との共同研究、大型外部資金の獲得も視野に入れて国内外から情報収集を進める。来年度の研究推進方策は以下の通りである。

1、シアノバクテリアへの SL 生合成遺伝子導入と、代謝経路を改変した高生産株の作出（渡辺、伊藤、坂巻、川田）

1-1. カーラクトン生産系の評価

カーラクトン生産時はシアノバクテリアの生育阻害が起こる。カーラクトン生産の律速要因を明ら

かにするため、NGS を用いた RNA-seq により発現量が変動する遺伝子を同定する。要因が絞り込まれた場合、律速段階と考えられる代謝反応の強化、または阻害因子の排除を行い、さらなるカーラクトン生産量増加を目指す。

1-2. カーラクトン活性の評価

今後創製予定の新規ストリゴラクトン類縁体は根寄生雑草発芽活性の他に、植物における植物ホルモン活性を評価する必要がある。これまでに構築したカーラクトン生産シアノバクテリアを用いて植物ホルモン活性を確認するとともに、より簡便な評価系の確率を目指す。また 1-3 で 4-DO 生産シアノバクテリアを構築できた場合はその活性を評価する。

1-3. ストリゴラクトン生産系の構築

Os0900 とレダクターゼである ATR の共発現により、シアノバクテリアを用いた 4-DO の一括生産を試みる。ATR の共発現でも 4-DO 生産が達成できなかった場合、Os0900 をチラコイド膜上に局在させ、光化学系からの還元力供給による 4-DO 生産を検討する。本手法は、すでに別の P450 酵素において実施されており、Os0900 でも利用可能かどうか調べる。

1-4. 土壌微生物に対するストリゴラクトンの影響調査

ストリゴラクトン化合物が土壌中の微生物叢に与える影響を解析する。微生物叢の解析には NGS を利用したメタ 16S rRNA 解析を実施する。

２、ジブチにおけるストライガ汚染状況、土壌性質の調査（橘、大島、渡辺）

2-1. ジブチ土壌における根寄生植物の調査

現地の状況を踏まえながら、ストライガ感受性陸稲 IAC-165 を用いたジブチ土壌のストライガ汚染状況調査を進める。IAC-165 の生育を補助するための施肥量や栽培環境について、複数の条件で検討する。

2-2. ジブチ土壌に含まれる栄養成分の分析

圃場の土壌成分の調査を実施する。エチオピアでは根寄生植物の被害が報告されている。今年度はよりエチオピアに近いジブチ西部を訪問する計画があるため、土壌についても採取し、成分を解析する。

本研究項目ではジブチに赴き、現地で試験を実施する必要がある。コロナウィルス感染拡大防止措置のため、現時点（2020 年 8 月 21 日）では渡航が禁止されているが、ジブチへの渡航許可が下りた時点で、速やかに実験を再開できるように計画立て、研究再開に備える。

１０．公表した成果一覧

学術論文

1) Watanabe, S. Cyanobacterial multi-copy chromosomes and their replication. Biosci Biotechnol Biochem., 2020. Jul;84(7):1309-1321.

2) Watanabe, S., Saito, S., Suezaki, Y., Seguchi, T., Ohbayashi, R. Specific binding of DnaA to the DnaA box motif in the cyanobacterium *Synechococcus elongatus* PCC 7942. J. Gen. Appl. Microbiol., 2020 Jun 17;66(2):80-84.

3) Saito, M., Watanabe, S., Nimura-Matsune, K., Yoshikawa, H., Nakamoto, H. Regulation of the *groESL1* transcription by the HrcA repressor and a novel transcription factor Orf7. 5 in the cyanobacterium *Synechococcus elongatus* PCC7942. J. Gen. Appl. Microbiol., 2020 Jun 17;66(2):85-92.

4) Kashimoto, T., Miyake, K., Sato, M., Maeda, K., Matsumoto, C., Ikeuchi, M., Toyooka K., Watanabe S., Kanesaki Y., Narikawa, R. (2020). Acclimation process of the chlorophyll d-bearing cyanobacterium *Acaryochloris marina* to an orange light environment revealed by transcriptomic analysis and electron microscopic observation. J. Gen. Appl. Microbiol., 2020 Jun 17;66(2):106-115.

5) Gärtner K, Klähn S, Watanabe S, Mikkat S, Scholz I, Hess WR, Hagemann M. Cytosine N4-Methylation via M.Ssp6803II Is Involved in the Regulation of Transcription, Fine- Tuning of DNA Replication and DNA Repair in the Cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. Front Microbiol. 2019 Jun 5;10:1233.
6) Ohbayashi R, Nakamachi A, Hatakeyama TS, Watanabe S, Kanesaki Y, Chibazakura T, Yoshikawa H, Miyagishima SY. Coordination of Polyploid Chromosome Replication with Cell Size and Growth in a Cyanobacterium. mBio. 2019 Apr 23;10(2). pii: e00510-19.
7) Kawada K, Takahashi I, Arai M, Sasaki Y, Asami T, Yajima S, Ito S. Synthesis and Biological Evaluation of Novel Triazole Derivatives as Strigolactone Biosynthesis Inhibitors. J. Agric. Food. Chem. 2019 67, 6143-6149.
8) Yasui R, Deto Y, Ito S, Kawada K, Itto-Nakama K, Mashiguchi K, Yamaguchi S. Chemical Screening of Novel Strigolactone Agonists that Specifically Interact with DWARF14 protein. Bioorg. Med. Chem. Lett. 2019, 29(7):938-942.

学会発表

１）坂巻裕、シアノバクテリアをホストとした有用物質生産、第八回植物二次代謝フロンティア研究会、長野県薬師平茜宿、2019 年 10 月 21 日

２）坂巻裕、伊藤晋作、渡辺智、シアノバクテリアを用いたストリゴラクトン 生産系構築の試み、カロテノイド研究会、千葉大学、2019 年 9 月 23 日

３）Ito S, Hanawa K, Takahashi I, Sasaki Y, Asami T, Yajima S. Progesterone regulates strigolactone biosynthesis. The 23rd International Conference on Plant Growth Substances, Paris, June 25-29 2019

４）Kawada K, Arai M, Takahashi I, Sasaki Y, Asami T, Yajima S, Ito S. Synthesis and biological evaluation of novel triazole deriveatives as strigolactone biosynthesis inhibitors. The 23rd International Conference on Plant Growth Substances, Paris, June 25-29 2019

５）川田紘次郎、小野田聡、野村崇人、佐々木康幸、矢嶋俊介、伊藤晋作、カーラクトンアナログ型新規ストリゴラクトン生合成阻害剤の開発、植物化学調節学会第５４回大会、とりぎん文化会館、2019 年 11 月 15 日

６）川田紘次郎、内田裕也、野村崇人、佐々木康幸、浅見忠男、矢嶋俊介、伊藤晋作、新規複素環ストリゴラクトン生合成阻害剤の探索、日本農薬学会第 45 回大会、大阪府立大学、2020 年 3 月 9 日

７）川田紘次郎、内田裕也、小野田聡、佐々木康幸、野村崇人、矢嶋俊介、伊藤晋作、基質アナログ型ストリゴラクトン生合成阻害剤の探索、日本農芸化学会 2020 年度大会、九州大学、2020 年 3 月 27 日

特許出願

１）渡辺智、伊藤晋作、坂巻裕、カーラクトン生産能を有するシアノバクテリアおよびそれを用いたカーラクトンの生産方法（特願 2020-22999）、2020 年 2 月 14 日

研究所記事
東京農業大学総合研究所研究会　平成 31 年度事業報告

（平成 31 年 4 月 1 日～令和 2 年 3 月 31 日）

１．概要

１）フォーラム

総研フォーラムとして令和 2 年 3 月に開催予定だった講演会を、新型ウイルス感染症拡大防止のため、延期とした。

２）研究会事務

総合研究所スタッフのうち事務局担当者により業務を遂行した。

２．会員数の状況

	H31.3.31 時点	入 会	退 会	R02.3.31 現在
顧　　問	2			2
名誉会員	9		1	8
法人会員	183	11	7	187
個人会員	87	11	3	95
特別会員（A）：総研職員(客員を含む)	98	3	1	100
特別会員（B）：東京農大教職員	178	20	2	196
合　　計	557	45	14	588

※種別変更による変動あり

３．諸会議の開催

１）理事会

開催日：令和元年 7 月 12 日（金）
会　場：東京農業大学農大アカデミアセンター8 階会議室 C

２）第 38 回 通常総会

開催日：令和元年 7 月 12 日（金）
会　場：東京農業大学農大アカデミアセンター横井講堂

３）特別講演会

開催日：令和元年 7 月 12 日（金）（第 38 回 通常総会時に実施）
会　場：東京農業大学農大アカデミアセンター横井講堂
テーマ：「日本における地域創生の歯車が回るために」
パネリスト：相馬市長（全国市長会長）　立谷 秀清 氏
　　関東学園大学 経済学部経済学科　教授　中村 正明 氏
　　ブルーファーム株式会社　代表取締役／プロデューサー　早坂 正年 氏

４）常任理事会

事業計画及び今後の事業方針等を検討した。
開催日：令和元年 5 月 16 日（木）
会　場：東京農業大学 15 号館 2 階　新ミーティングルーム
出席者：常任理事等 6 名

５）部会企画の特別活動

令和元年度に部会の特別活動として実施された事業は以下のとおり。

・芝草部会

「ゴルフ場コース管理のための技術支援」

伊香保カントリー倶楽部において研究セミナーを開催する計画により承認を得ていたが、内容を部会で再検討した結果、伊香保カントリー倶楽部ゴルフ場コース内の芝草育成管理

に関する技術支援を行うこととし、部会員を中心としたメンバーによる可日照時間算出と樹木伐採および土壌微生物施用による芝草と土壌づくりの助言等を実施した。

・就農者推進教育研究部会

「教職員・部会員・学生（院生含む）を対象としたトークセッション」

令和元年 12 月 7 日（土）、第 15 回新規就農推進フォーラム「新規就農への道のり～農大卒業後、新規就農した 2 人に、それぞれの道のりを訊く～」を開催した。

・大学所有遺伝資源保全・利用研究部会

「東京農業大学教職員および学生向け名古屋議定書対応パンフレット」の作成をめざしていたが、遺伝資源の取得の機会及びその利用から生じる利益の公正かつ衡平な分配（ABS）に関連する情報の収集と執筆者の選定に時間を要したため、パンフレットの内容の検討と執筆者への依頼に留まった。

４．フォーラムの開催

「佐々木卓治先生 文化功労者顕彰記念講演会」を令和 2 年 3 月 9 日(月)に開催するため準備を進めていたが、新型ウイルス感染症の国内における感染状況等を勘案して延期した。

５．「東京農業大学総合研究所　紀要　第 30 号」の刊行

１）内　容：研究所記事として、総合研究所研究会平成 30 年度事業報告を掲載

２）発行日：令和元年 12 月 1 日

６．部会活動報告（32 部会）

◆部会名：稲・コメ・ごはん部会

◇部会長：佐々木　卓治　　連絡幹事：辻井　良政

◇令和元（2019）年度 活動報告

１．第８回セミナー

日時：2019 年 9 月 25 日（水）

場所：セミナー会場　東京農業大学 アカデミアセンター B1 階 横井講堂

（〒156-8502　東京都世田谷区桜丘 1-1-1）

情報交換会　egg 東京農大世田谷通り店　東京農業大学「食と農」の博物館１F

（〒158-0098　東京都世田谷区上用賀 2-4-28）

講演者および演題：

・「北海道の気候変動と稲作」

講師：濱嵜　孝弘　国立研究開発法人　農業・食品産業技術総合研究機構

北海道農業研究センター　生産環境研究領域　寒地気候変動グループ　上級研究員

・「温暖化に対応した水稲品種育成の現状と展望」

講師：前田　英郎 国立研究開発法人　農業・食品産業技術総合研究機構

次世代作物開発研究センター　稲育種ユニット長

・「水不足と闘う水稲品種開発のこれから」

講師：宇賀　優作 国立研究開発法人　農業・食品産業技術総合研究機構

次世代作物開発研究センター　上級研究員

２．佐々木卓治先生　文化功労者顕彰記念講演会

※新型ウイルス感染症の国内における感染状況等を勘案し、講演会は延期した。

日時：2020 年 3 月 9 日（月）

場所：セミナー会場　東京農業大学 アカデミアセンター B1 階 横井講堂

（〒156-8502　東京都世田谷区桜丘 1-1-1）

情報交換会　egg 東京農大世田谷通り店　東京農業大学「食と農」の博物館１F

（〒158-0098　東京都世田谷区上用賀 2-4-28）

記念講演者および演題：

・小林 和人先生（福島県立医科大学　医学部　生体機能研究部門 教授）

行動の学習や機能回復を司る脳内メカニズム：遺伝子改変技術から神経回路解析へ

・新美 輝幸先生（自然科学研究機構 基礎生物学研究所 進化発生研究部門 教授）
Evo-Devo で探る昆虫の多様性：テントウムシの斑紋とカブトムシの角
・芦刈 基行先生（名古屋大学　生物機能開発利用研究センター 教授）
植物は何故伸びるのか？新しいメカニズムの発見

◆部会名：榎本・横井研究部会
◇部会長：杉原　たまえ　　連絡幹事：安井　和男
◇令和元（2019）年度 活動報告
○第 50 回研究会
日　時：令和元年 11 月 21 日（木）16：30～18：00
場　所：横井記念講堂
テーマ：「令和に継ぐ　実学と魂」
講演Ⅰ「子孫が語る榎本武揚　その人物像」
講師：榎本　隆一郎（榎本武揚直系子孫　玄孫）
講演Ⅱ「実学的農学者　横井時敬―その生涯と業績―」
講師：友田　清彦（本学教授）
参加者：54 名
○第 51 回研究会は、新型ウイルス感染拡大防止のため延期。

◆部会名：おいしさ研究部会
◇部会長：松本　信二　　連絡幹事：阿久澤　さゆり
◇令和元（2019）年度 活動報告
2018 年 7 月 12 日に「おいしさ研究部会」の発足が承認され、活動概要を「セミナーの開催などを通じ、情報交換を行い、産官学連携によるおいしさに関する啓発教育を推進する」とした。
運営方法は、部会長（松本信二）および学内企画委員（阿久澤、岩槻、前橋（3 名共に東京農業大学教員））を組織し、学外アドバイザー（山野善正：一般社団法人おいしさの科学研究所理事長、川原均：千葉県 6 次産業化プランナー）と共同運営において開催する企画の相談を行うべく、企画会議を開き、下記の内容で開催することとなった。
１．企画の相談：9 月・10 月にメール会議および電話連絡を中心に意見交換を行った。
２．開催企画の内容
１）開催日時（11 月 15 日金曜 13 時～17 時、情報交換会 17:30～）
２）場所：小田急複合施設「世田谷代田キャンパス」
３）参加費：無料
４）開会・閉会の挨拶
東京農業大学　学長　高野　克己
東京農業大学総合研究所　おいしさ研究部会長　松本　信二
「知」の集積と活用の場　おいしさ評価･分析プラットフォーム　プロデューサー　川原　均
５）講演者：
①おいしさ研究の動向　（一社）おいしさの科学研究所　理事長　山野　善正
②東京農業大学におけるおいしさの研究
東京農業大学　教授　阿久澤　さゆり、教授　前橋　健二、准教授　岩槻　健
③鏡の前で食べるとおいしい　名古屋大学大学院　特任講師　中田　龍三郎
④加齢とおいしさ　京都大学大学院　准教授　林　由佳子
⑤特別講演　江戸懐石近茶流嗣家　柳原　尚之
６）情報交換会　　カフェレストラン「CAFE HELLO」（会費　5,000 円）
（小田急複合施設「世田谷代田キャンパス」1 階）
３．参加者　講演会：一般 56 名（運営委員 9 名含む）、学生約 10 名
懇親会：一般 31 名

◆部会名：応用微生物部会
◇部会長：鈴木　健一朗　　連絡幹事：細田　浩司

◇令和元（2019）年度 活動報告

本年度は新規に設立申請し、承認された。設立の趣旨として、

「近年の技術的発展により、ゲノム解析や各種オミックス分析が比較的容易にできる時代となり、生物で最もシンプルな微生物研究の進捗が際立っている。微生物は食品や素材生産、エネルギー生産など幅広い分野で利用されており、研究の応用および実用化もしやすい領域である。上述の現状を踏まえ、微生物利用研究および産業のさらなる発展を目指して情報共有、具現化などの場を提供することを目的とする。」とした。

設立にあたり、企画委員会では、部会の活動として微生物に関連した部会間で共通の関心となる話題でセミナーやシンポジウムを企画し、効率的に新しい知識や技術に触れる機会を設けることとした。微生物に関連する部会は直接的に微生物を扱うものだけでもきのこ研究部会、醸造食品部会、食の安全と安心部会、生物的防除部会、大学所有遺伝資源保全・利用研究部会、バイオマスエネルギー研究部会の6部会がある。企画委員間の意見交換を行い、これら部会の共通の話題として微生物の分類学、検出・識別技術、データベースの利用などの科学技術分野のほか、知的財産権の保全、感染症法などの法規制への遵守、生物多様性条約に準拠した微生物資源の国際移転などがあげられた。

令和元年度には部会としての実際のイベントを行うことはできなかったが、関連のある内容のシンポジウム「生物資源の観点から食の未来について考える」を本学と平成31年1月9日に包括連携協定を締結した経済産業省所管の独立行政法人製品評価技術基盤機構（NITE）と共催で7月5日に横井講堂において開催した。この機会にNITEに本部会の趣旨を説明し、賛同をいただくとともに、部会への入会と今後の共同での行事の開催について協議している。

そのほか、本分野に関連の深い民間企業に参加を呼びかけ、1社から加入の回答をいただいた。

企画委員：内野昌孝、川崎信治、田中尚人

◆部会名：環境緑化部会

◇部会長：鈴木　誠　　連絡幹事：田丸　敬三

◇令和元（2019）年度 活動報告

1．「リカレントスクール・造園・2019」の開催・運営

（造園CPD認定プログラム）

●メインテーマ：造園の生業に希望を

・第1回：令和元年9月10日（火）

「ランドスケープと植栽　―これがコツなのだー」

株式会社愛植物設計事務所　代表取締役会長・RLAフェロー　山本　紀久　氏

・第2回：令和元年10月8日（火）

「「緑の導入」におけるエビデンスを科学する」

東京都市大学　環境学部　環境創生学科　教授　飯島　健太郎　氏

・第3回：令和元年11月12日（水）

「樹木医の資格と活用・活躍の実際」

（一財）日本緑化センター　緑化事業部　主幹　藤井　孝信　氏

・第4回：令和元年12月10日（火）

「植物導入と種の錯乱　―造園植栽における生物多様性の視点―」

東京農業大学　地域環境科学部　地域創成科学科 教授　亀山　慶晃　氏

・第5回：令和2年1月14日（火）

「都市緑化推進計画から33年、今最大の課題と対策」

東京農業大学 地域環境科学部　造園科学科　客員教授　濱野　周泰　氏

開催場所：東京農大世田谷キャンパス　1号館　1F　131教室

開催時間18時30分～20時00分

※東京農業大学緑友会（全国）（主管：東京緑友会）・東京農業大学造園科学科・大学院造園学専攻との共催

2．「東京農大　緑のフォーラム　2019」の共催（造園CPD認定プログラム）

令和元年5月18日（土）13：00～16：30　世田谷キャンパス　百周年記念講堂

●MLA Award　受賞者講演

・「安行の植木生産業における文化的景観の景観構造の解明」　奥泉　由有　氏
●第 44 回造園大賞受賞者講演
・「加賀の伝統造園手法の継承と活用による現代庭園の創作」
株式会社野々与造園　野々市　芳朗　氏
・「造園建設業界における女性活躍推進への貢献」
株式会社淡窓庵　酒井　一江　氏
・「赤坂 BeeTown プロジェクトによる地域おこしへの活動実績」
株式会社 TBS テレビ　総務局　CSR 推進部　高橋　進　氏
（主催：東京農業大学造園科学科・大学院造園学専攻　共催：東京農業大学緑友会）
３．「緑の技術発表会「ポスターセッション 2019」」の共催（造園 CPD 認定プログラム）
令和元年 5 月 18 日（土）13：00～16：30　世田谷キャンパス　百周年記念講堂
※14：30～15：00（休憩時間）にはポスターセッションコアタイム（討論の時間）
（主催：東京農業大学緑友会　共催：東京農業大学造園科学科・大学院造園学専攻）
４．時代の要望に合わせた講演会、研究会、シンポジューム・共同研究の開催・参加協力
令和元年 5 月 25・26 日「2019 年度日本造園学会全国大会」（筑波大学）等に参加
５．幹事会、委員会の開催
平成 31・4/8、令和元・5/18、6/14、7/12・26、8/1・6、9/7・10・24・28、10/8、11/12、12/10、令和 2・1/14、2/1（農大造園科学科レクチャールーム他）

◆部会名：きのこ研究部会
◇部会長：江口　文陽　　連絡幹事：吉本　博明
◇令和元（2019）年度 活動報告
①サイエンス・カフェ
－きのこ研究を探る 2019－
講師　江口　文陽　東京農業大学教授、きのこ研究部会長
宮澤　紀子　女子栄養大学専任講師、きのこ研究部会員
内容「きのこの加工および調理が機能性に及ぼす影響」について講演会・討論を実施した。
日時　2019 年 6 月 7 日（金）13：00～16：00
会場　東京農業大学 7 号館製図室
参加人数　28 名
②きのこ勉強会
第 1 部『きのことその関連領域を考える研究講座 2019』
講師　江口　文陽　東京農業大学教授、きのこ研究部会長
「きのこを素材とした産学連携研究の今後」
吉本　博明　第一工業大学教授、きのこ研究部会幹事
「きのこを素材とした六次産業化の具体例」
第 2 部『きのこ研究に関するジュニア科学者プレゼンテーション』
発表者:「石垣島産ハーブときのこの機能特性」　川村　礼華
「ヤマブシタケの成分がもたらす神経変性疾患に対する可能性」　川野　文香
日時　2019 年 8 月 22 日(木)
会場　東京農業大学化学第四実験室等
参加人数　42 名
③きのこ料理講習会
(エクステンションセンター公開講座と共催により研究会を広く周知することをねらいとして共同事業とした。さらにきのこ研究部会の会員以外の参加者募集を効率的に行うことを意図した。なお、きのこ研究部会からはきのこと健康に関する情報発信と農大のきのこ研究の今を紹介することを分担担当した。)
講演会タイトル『きのこでお肌と体を整える』
料理提案:木田　マリ　料理研究家・フードコーディネーター
《調理した料理の種類》
◆バイリングと鶏肉のオイスター炒め

◆ナメコとメカブのトロトロ甘酢あえ
◆干しきのこの炊き込みごはん
◆えのきネギだれ
◆◆◆おすすめの天日干しの方法を科学的に紹介◆◆◆
食べやすい大きさにきったり、ほぐしたりしたきのこをザルなどに広げ、天日に干す。
天気にもよるが 30 分～半日ほど干す。表面が乾いて、縮んだようになれば OK。干し加減は好みでよいが、(天気が良ければ) 15 分ほどでも味わい、食感に変化が出ることについてデータを活用して解説した。
日常生活に役立つきのこの活用術に関する講演：江口　文陽　きのこ研究部会長
日時　2019 年 10 月 22 日(火)13 時 00 分～16 時 30 分
会場　東京農業大学「食と農」の博物館
参加人数　30 名

④公開講座「特用林産物としてのきのこおよびバイオマス変換資源としてのきのこの酵素利用」
講師　鮫島　正浩　東京大学名誉教授
日時　2019 年 10 月 23 日(水)14 時 40 分～16 時 30 分
会場　東京農業大学「食と農」の博物館
参加人数　30 名

⑤幹事会　2019 年 6 月 7 日(金)10 時から 12 時、2020 年 2 月 17 日(月)14 時から 16 時に開催した。
その他：きのこ観察会は天候の関係で実施を断念した。さらに「きのこの生産と研究に関わる女性の活躍」は、３月に予定していたが、新型ウイルス感染症対策の観点から中止した。

◆部会名：グローバル情報研究部会

◇部会長：立岩　寿一　　連絡幹事：武原　タイ
◇令和元 (2019) 年度 活動報告
－GIA サイト寄稿テキスト－
03/29/19 ネパール最新情報１「パーニー」 タイ　タケハラ
04/02/19 ネパール最新情報２「ポカラ」 タイ　タケハラ
04/19/19 ネパール最新情報３「ネパール農業」 タイ　タケハラ
05/02/19 第１回 GFVC 勉強会「ミャンマー農業の現状と課題」　大門　龍博
06/18/19 ネパール最新情報４「マンパワー」タイ　タケハラ
10/12/19 豚肉とコーヒーにみる世界の食料不安　板垣　啓四郎
11/20/19 SGDs と家族農業　板垣　啓四郎
12/14/19 アグリビジネススタートアップ-ag/sum　タイ　タケハラ
01/18/20 薬用植物による国際協力支援に挑む！　板垣　啓四郎
02/15/20 QR コードを使った集客方法-paypay 秋丸　剛志
03/01/20 五十而立「エジプト旅行記」塙　健
03/31/20 情報 x 健康　タイ　タケハラ
－イベント開催－
4/23/19 第１回 GFVC 勉強会「ミャンマー農業の現状と課題」
5/18-19/19 第５回 GIA アルコー会 佐久穂パート２
11/18-20/19 日経 ag/sum 農大アイデアソンに GIA でメンターとして参加
03/22-25/20 第６回 GIA アルコー会 in 九州
03/27/20 第４回 GIA コラボ「SDGs スタートアップ起業セミナー@農大」(延期)

◆部会名：昆虫バイテク部会

◇部会長：長島　孝行　　連絡幹事：櫻井　健志
◇令和元 (2019) 年度 活動報告
昨年度は、部会長と連絡幹事が交代して新体制になったことから、次年度からの検討課題検討や準備の期間とすることになっていた。そこで検討した結果、今年度は時代の流れをみてもう少し検討を続けることとした。

◆部会名：沙漠緑化研究部会

◇部会長：豊田　裕道　　連絡幹事：鈴木　伸治

◇令和元（2019）年度 活動報告

【幹事会】

令和元年 5 月 6 日、7 月 29 日、8 月 27 日（計 3 回）

【平成 30 年度活動報告会および令和元年度定時総会】

令和元年 6 月 28 日、於東京農業大学（1 号館 441 教室）

① ジブチ・ディキル農園におけるソーラーポンピングシステムの効率に関する研究の調査奮闘記：篠崎　誠（大学院農学研究科　農業工学専攻　博士前期課程２年）

②アフリカ・ジブチに生きる藻類たち：渡辺　智（バイオサイエンス学科）

【地球規模課題対応国際科学技術協力プログラム（SATREPS）の申請に向けた諸活動の支援】

本研究部会のメンバーの多くが参加している、SATREPS プロジェクトの申請について、研究部会として支援を行った（主に情報提供）。

令和元年 9 月、令和元年 12 月、令和 2 年 2 月に、本研究部会のメンバー（複数名）が SATREPS の枠組みでジブチ国に派遣された。

【講演会】

令和 2 年 2 月に講演会を行う予定であったが、新型ウイルス感染予防のため、開催を見送った。

【その他：JICA カウンターパート研修生受入れ支援など】

特になし。研修生の受け入れについては、依頼・要請がなかった。

◆部会名：GIS 研究部会

◇部会長：鈴木　充夫　　連絡幹事：畑中　勝守、下嶋　聖

令和元（2019）年度 活動報告

１．幹事会の開催：令和元年 5 月、6 月、10 月に開催。

２．第 12 回シンポジウムの開催：令和元年 11 月 8 日（金）に東京農業大学世田谷キャンパス 1 号館で「ICT・GIS、スマート農業技術の動向をふまえた”農業・農村の課題解決の先導的担い手づくり”と“農協の戦略的ガバナンス・事業経営の新展開”」をテーマに、シンポジウムを総研研究会農協研究部会、GIS 研究部会が連携して開催した。

第１報告「“農業・農村の課題解決の先導的担い手づくり”と“農協の戦略的ガバナンス・事業経営の新展開”」白石　正彦（東京農業大学 名誉教授、総研研究会農業協同組合研究部会長）

第２報告「農業・農村の課題解決の先導的担い手グループづくりと農協の ICT・GIS、スマート農業技術を活用した営農経済事業の新展開」鈴木　充夫（東京農業大学 客員教授、総研研究会 GIS 研究部会長、（株）協同経済経営研究所所長）、堀部　篤（東京農業大学 国際食料情報学部准教授）、山下 剛史（株式会社ローリス代表取締役）

第３報告「農協グループの創造的自己改革の現段階と展開方向―秋田県の農協グループの実践事例を中心に―」船木　耕太郎（秋田なまはげ農協会長、秋田県農協中央会会長）

第４報告「生産緑地制度の見直しと農協グループの新たな都市農業づくりの展開―東京都農協グループの実践事例を中心に―」榎本　輝夫（東京都農協中央会専務理事）

第５報告「農業・農村の課題解決の先導的担い手づくりと総合農協の戦略的ガバナンス・事業経営の新展開―岐阜県ぎふ農協の実践事例を中心に―」岩佐　哲司（ぎふ農業協同組合専務理事）

コメンテーターは、堀田亜里子（全国農協中央会くらし・高齢者対策課課長）、馬場利彦（日本協同組合連携機構　代表理事　専務）、谷口信和（東京大学　名誉教授）が担当。

３．一般社団法人 JET 経営研究所設立シンポジウムの共同開催

■日　時　2019 年 8 月 30 日（金）　13 時～17 時

■主　催　一般社団法人 JET 経営研究所

■会　場　東京農業大学農大アカデミーセンター地下 1 階　横井講堂

■対　象　JA の役職員・研究者等（50 名参加）

■後　援　東京農業大学総合研究所　GIS 研究部会・農協研究部会

■協　賛　全国共同出版株式会社

４．①東京都農協中央会と日本ユニシス株式会社との共同研究
5 月に東京農業大学で「都市農業勉強会」を開催した（現在も進行中)。
②㈱パスコとの共同研究の実施
農大との包括連携協定に基づき、8 月に島田教授、関山准教授、下嶋准教授への寄付研究「衛星データの農業分野等への先進事例調査」を実施した（現在も進行中)。
５．ドローン研究会との情報共有に向けてのキックオフの実施
7 月 27 日の実践総合農学会において、ドローン研究会の下嶋准教授に「UAV を用いた農域空間における利活用法とその課題」について報告してもらい情報共有を行った。

◆部会名：芝草部会
◇部会長：高橋　新平　　連絡幹事：大橋　邦雄
◇令和元（2019）年度 活動報告
◎第 1 回セミナー(現地)開催(東京農業大学グリーン研究会合同開催)参加者 40 名
日時：令和元年 9 月 2 日（月）13：00～
場所：ミルフィーユゴルフクラブ
内容：①「芝生のための健康な土作り（その３）リサイクル土壌改良資材と肥料の活用」
（東京農業大学名誉教授　全国土の会会長　後藤逸男先生）
②「最難関管理グリーンの克服法」
（ミルフィーユゴルフクラブ　グリーンキーパー　川嶋弘幸先生）
③「芝草管理の省力化と機器の応用」
（東京農業大学地域環境科学部造園科学科教授　日本芝草学会会長　高橋新平先生）
④「ここまで進化した産業用ドローン」
（MAC-FACTORY　代表取締役　伊尾木浩二先生）
◎現地コース視察（東京農業大学グリーン研究会合同開催）
日時：令和元年 9 月 3 日（火）7：25
場所：ミルフィーユゴルフクラブ　アウト・インコース
内容：①東京農業大学グリーン研究会会員、総合研究所芝草部会会員によるコース視察
②コース内の芝草生育診断と樹木管理の実態(現地調査)
③コース実態(芝草と樹木)の視察確認と各人の所見
対応や管理技術についての意見交換会(同クラブハウス内にて)
◎第２回セミナー（令和 2 年 3 月 30 日（月）開催を予定）
※コロナウイルスの感染拡大防止緊急事態中における開催を延期した
（令和 2 年 4 月 10 日にコアメンバーのみにて現地研究会を実施した）
（令和 2 年度活動計画書参照）
◎ゴルフ場コース管理のための技術支援（特別活動補助金として申請）
①伊香保カントリー倶楽部コース内日照環境管理への技術支援
魚眼レンズによる天空写真撮影による可照時間算出結果と樹木の特定と伐採に関する技術的支援
②伊香保カントリー倶楽部コース内における土壌微生物施用による、秋季から冬期の凍結しにくい芝草と土壌づくりの助言と技術支援
春期フェアウェイのノシバ出芽と「分けつ」の劇的回復とその成果確認。
※①と②については現地にて東京農業大学濱野周泰先生より協力を得た。
※本項目内容は当初の予定では研究セミナーとして「特別活動補助金申請」した内容であるが、申請後に検討し、技術支援を行うこととなった。

◆部会名：就農者推進教育研究部会
◇部会長：平野　繁　　連絡幹事：大渕　純子
◇令和元（2019）年度 活動報告
＜幹事会＞　場所:学科研究棟 2F　園芸科学実験室
第１回:4/5(金) 第２回:5/30(木) 第３回:7/30(火) 第４回:11/28(木) 第５回:3/24（火）
＜就農研修受入先実地調査＞　現地との日程調整が不調の為、やむなく中止とした。

＜総研研究会就農部会主催トークセッション＞　場所:第二講義棟 2301 教室　参加者:27 名
12/7(土)9:30～11:30『震災復興ボランティアから定住へ』
～東日本大震災のボランティアから南三陸町に定住した卒業生にその道のりを訊く～
≪司会≫平野　繁　≪パネラー≫佐藤　茜(旧姓：宮岡)
＜第 15 回新規就農推進フォーラム＞　場所:第二講義棟 2301 教室　参加者:46 名
12/7(土)13:00～19:00『新規就農への道のり』
～農大卒業後、新規就農した 2 人に、それぞれの道のりを訊く
◎基調講演(13:00～15:30)
・講演①春田　耕平(2005 年農学科卒　神奈川県相模原市にて就農)
・講演②穂坂　紘志(2014 年農学科卒　神奈川県厚木市にて JA 厚木のサポートを受け就農)
・講演③井萱　諭(JA 厚木　厚木市都市農業支援センター長)
◎討論会(15:50～17:00)　コーディネーター:平野　繁　コメンテーター:春田・穂坂・井萱
◎情報交換会(17:20～19:00)　場所:レストラン「けやき」
＜農業体験研修・農業応援ツアー・ファームステイ＞
第１回　ツアー　9/12(木)～15(日)　福島県北塩原村　参加者:13 名　引率:宮田・増田
第２回　ツアー　2/8(土)～10(月)　福島県北塩原村　参加者:23 名　引率:宮田・増田
第３回　研修　2/15(土)～21(金)　沖縄県宮古島市　参加者:6 名　引率:篠原
第４回　研修　2/25(火)～3/3(火)　愛媛県、高知県　参加者:21 名　引率:高畑・宮田
第５回　ファームステイ　2/23(日)～3/3(火)　高知県　参加者:1 名
＜農業インターンシップ(一)＞（授業)時間…16:20～17:50　教室…1103 教室
第１回:4/11(木)　第２回:4/18(木)　第３回:4/25(木)　第４回:5/9(木)　第５回:5/16(木)
第６回:5/23(木)　第７回:5/30(木)　第８回:6/6(木)　第９回:6/13(木)　第 10 回:6/20(木)
第 11 回:6/27(木)　第 12 回:7/4(水)　第 13 回:7/11(木)　第 14 回:7/18(木)
第 15 回:7/25(木)
＜農業インターンシップ(一)＞（実習)
第１回:8/6(火)～11(日)　長野県下高井郡木島平村　参加者:８名　引率:高畑
＜農業インターンシップ(二)＞（授業)時間…16:20～17:50　教室…1103 教室
第１回:9/26(木)　第２回:10/3(木)　第３回:10/10(木)　第４回:10/17(木)
第５回:10/24(木)　第６回:11/7(木)　第７回:11/14(木)　第８回:11/21(木)
第９回:11/28(木)　第 10 回:12/5(木)　第 11 回:12/12(木)　第 12 回:12/19(木)
第 13 回:1/9(木)　第 14 回:1/16(木)　第 15 回:1/23(木)
＜農業インターンシップ(二)＞（見学会)
第１回:2/3(月) JA あつぎ「夢未市」　第２回:2/4(火) 神奈川県農業技術センター
第３回:2/5(水) 北興化学工業株式会社　第４回:2/6(木) 全農営農技術センター
第５回:2/7(金) 大田市場・京橋千疋屋以上

◆部会名：醸造食品部会

◇部会長：舘　　博　　連絡幹事：穂坂　賢
◇令和元（2019）年度 活動報告
１．第９回部会総会の開催
令和元年 6 月 28 日（金）13：00 より、横井講堂（東京農業大学アカデミアセンター内）にて開催した。
議題　１）平成 30 年度活動報告、２）令和元年度活動（案）について行った。
２．第９回講演会の開催
令和元年 6 月 28 日（金）13：30 より、横井講堂（東京農業大学アカデミアセンター内）にて開催した。
講演者：
① 肥土　伊知郎（株式会社ベンチャーウイスキー秩父蒸溜所　代表取締役社長）
「ウイスキー業界の現状について」
② 般若　攝也（一般財団法人　日本醤油技術センター　専務理事）
「醤油業界の現状と課題」

③ 浅野　高幸（エバラ食品工業株式会社　経営企画本部　顧問）
「－焼き肉のたれ黄金の味－　誕生の秘話」
３名の方よりご講演を戴いた。参加者は、165 名であった。

３．第９回研修会（工場見学会）の開催
2019 年 10 月 18 日（金）、10 月 19 日（土）の 1 泊 2 日、
見学先：マンズワイン小諸ワイナリー、アトリエ・ド・フロマージュ（チーズ工房；東御市）、浅間酒造（株）を見学した。34 名の参加で実施した。
宿泊先：草津温泉　ホテル櫻井（群馬県草津町）

４．幹事会の開催
１）令和元年度第１回幹事会（第 22 回）の開催
令和元年 5 月 9 日（木）18:00～、醸造科学科会議室にて
① 令和元年度総会および講演会の開催について
② 令和元年度研修会について　③ その他
出席者：舘博部会長、茂木浩介（学外）、松本浩明（学外）、松本秀樹（学外）、塚田　孝（学外）、小島　賢（学外）、穂坂賢（学内）、門倉利守（学内）、前橋健二（学内）以上 9 名
２）令和元年度第 2 回幹事会（第 23 回）の開催
令和元年 9 月 20 日（火）17:30～、日本酒造組合中央会会議室にて
① 令和元年度研修会実施について　② その他
出席者：舘博部会長、茂木浩介（学外）、松本浩明（学外）、松本秀樹（学外）、塚田　孝（学外）、小島賢（学外）、穂坂賢（学内）　以上７名
３）令和元年度第３回幹事会（第 24 回）の開催（開催中止）
Web 回覧方式で実施
① 令和元年度活動報告
② 令和２年度活動計画について
（令和２年度総会および講演会の開催について、令和２年度研修会について）
③ その他

５．親睦会の開催
6 月 28 日（金）17:30 より、「1 号館 6F　多目的ホール」にて開催した。

６．海外食品・酒類工場視察
令和元年 12 月 3 日から 12 月 6 日（3 泊 4 日）、舘部会長と穂坂連絡幹事 2 名にて、台湾の金蘭食品（桃園）、日清商会（台北）、穀盛（淡水）、カバランウイスキー（宜蘭県）の工場視察を行った。

◆部会名：食育研究部会

◇部会長：中村　靖彦　　連絡幹事：上岡　美保
◇令和元（2019）年度 活動報告
令和元年度「食材の寺小屋」講座
2019 年
✤4 月 18 日　「平成の食とは何だったのか？」　講師：阿古　真理氏（生活史研究家）
✤5 月 10 日　「知っているようで知らない豆腐の話」　講師：青山　隆氏（㈱いずみや店主）
✤6 月 14 日　出前講座「日本のオーガニックレストラン」於：南青山アクアパッツァ
講師：水野　葉子氏（(有)リーファース代表取締役）
日良　実氏（リストランテ アクアパッツァ　オーナーシェフ）
✤6 月 18 日　「種子法廃止は食生活を変える？」
講師：鈴木　宜弘氏（東京大学大学院農学生命科学研究所教授）
✤7 月 9 日　「話題のスーパーフード、もち麦の魅力」　講師：林　恵子氏（大麦料理研究家）
✤ 7 月 23 日　「大豆ミートを見直そう」　講師：坂東　万有子氏（大豆ミート研究家）
✤8 月 28 日　「美味しくなった豆乳に注目！」　講師：牧野　直子氏（管理栄養士・料理研究家）
✤9 月 15 日　「認知症を防ぐ食」　講師：朝野　隆氏（メモリークリニックお茶の水 院長）
✤9 月 27 日　「食べる食材・抹茶が面白い」
講師：村上　宏亮氏（京都府農林水産技術センター　主任研究員）

✤10 月 11 日「アスリートの食ってどんなもの？」講師：橋本　玲子氏（㈱FoodConnection 代表）
✤11 月 6 日　「なぜ鎮まらない豚コレラ」　講師：高橋　慶氏（(有)環境テクシス代表）
✤11 月 21 日「梅干しの効果効能が凄いっ！～ダイエットからガン予防まで～」
講師：宇都宮　洋才氏（和歌山県立医大准教授）
✤12 月 7 日　「空前絶後の料理教室へ！～分子ガストロノミーの世界～」
講師：山田　チカラ氏（料理家）※実演、実食あり
2020 年
✤1 月 10 日　「人生 100 年時代の栄養」　講師：中村　丁次氏（神奈川県立保健福祉大学学長）
✤2 月 14 日　「ロングライフ食品」　講師：増田　敏郎氏（増田食品開発コンサルティング代表）
✤2 月 25 日　「話題の腸内フローラ」　講師：戸塚　護氏（日本獣医生命科学大学教授）
※3 月 3 日　「低カロリーで栄養満点！海藻を食べよう！」講師：丸山　弘子氏（北里大学教授）
※3 月 24 日　「今年もか、気候変動」　講師：山本　良一氏（東大名誉教授）
※の２講座はコロナウイルス感染拡大に伴う自粛要請を受け、延期とした。

◆部会名：食と農の環境工学部会
◇部会長：中村　好男　　連絡幹事：藤川　智紀
◇令和元（2019）年度 活動報告
１．幹事会
・令和元年 8 月 20 日
令和元年度セミナー開催企画案の検討
・令和元年 10 月 15 日
セミナー実行案の検討
・令和元年 12 月 9 日
セミナーの事前打ち合わせ
・令和 2 年 1 月 31 日
当年度の活動の総括
２．情報収集（計画していた現地検討調査は現地担当者との日程調整がつかなかったことから関係部署にて情報収集を行った。）
・目的：伝統的農業生産システムと多面的機能を支える環境工学の役割の情報収集
・場所および実施日：
１）埼玉県農林部農村整備課：令和元年 7 月 16 日
２）農林水産省農村振興局農村政策部地域振興課・同局整備部地域整備課：令和元年 8 月 20 日
３）農林水産省農村振興局整備部農地資源課：令和元年 10 月 11 日
４）滋賀県農政水産部農村振興課：令和元年 11 月 28 日
３．セミナー開催
・日時：令和元年 12 月 11 日（水）　14:30～17:00
・場所：東京農業大学世田谷キャンパス 1 号館 2 階・244 教室
・講演：
挨拶　食と農の環境工学部会部会長　中村 好男
世界農業遺産・日本農業遺産制度について
農林水産省農村振興局農村政策部　課長補佐　大曲 幸代
世界農業遺産「大崎耕土」を基軸とした地方創生の取組
宮城県大崎市役所産業経済部　技術補佐 渡邉　真
日本型直接支払の概要と多面的機能支払の全国の取組について
農林水産省農村振興局整備部　農水技官　田中 聡至
魚のゆりかご水田プロジェクト
滋賀県農政水産部農村振興課　室長　田中 茂穂
・総合討論
・総括：東京農業大学地域環境科学部　教授　藤川　智紀

・司会：東京農業大学地域環境科学部　教授　川名　太
・参加者数　約 70 名

◆部会名：食の安全と安心部会

◇部会長：五十君　靜信　　連絡幹事：美谷島　克宏、煙山　紀子、田村　倫子

◇令和元（2019）年度 活動報告

【年間イベント】

（1）第２回シンポジウムの開催

日　時：2019 年 12 月 6 日（金）13：00〜17：00

場　所：東京農業大学世田谷キャンパス　百周年記念講堂

テーマ：食の安心，世界の食習慣をむかえ入れるために
〜食の国際化 2020 年東京オリンピック・パラリンピックに向けて〜

参加費：食の安全と安心部会会員および学生無料、非会員 2,000 円

内　容：2020 年東京オリンピック・パラリンピックに向けて、世界の食習慣の多様性について学び、食の安心を得るためにはどのような対応が必要であるかを考える。世界の食習慣の多様性について総括後、外国人の方々に安心して食事を提供するためのピクトグラムを活用する試み、日本の食文化を理解してもらう試み、実際にこのような問題に直面する機内食の実情などに関する情報提供を通じ、外国人が日本で安心して食の提供を受けるにはどのような対応が必要かについて理解を深める。

一般参加者 29 名、農大関係者(学生を含む)560 名の計 589 名が参加した。

（2）情報交換会の開催

日　時：2019 年 12 月 6 日（金）17：30〜20：00

場　所：東京農業大学世田谷キャンパス　レストランすずしろ

参加費：3,000 円

（1）の第２回シンポジウム終了後、情報交換会を開催し、スタッフを含め 27 名が参加し交流を深めた。

【会議】

（1）部会運営会議

３回開催し、令和元年度の活動方針と第２回シンポジウムの開催とその反省を総括した。

4 月 15 日・・・本年度の活動方針の確認

5 月 30 日・・・シンポジウム開催を検討

1 月 10 日・・・シンポジウム後開催報告と反省会

◆部会名：植物工場研究部会

◇部会長：山中　宏夫　　連絡幹事：小野瀬　淳一

◇令和元（2019）年度 活動報告

１．次世代育種研究棟　検討委員会への出席（月 1 回）
研究内容、維持管理、計画コンセプト協議

２．次世代育種研究棟報告書作成（2019 年 6 月 1 日〜2020 年 2 月 28 日）
上記に加え、コストシミュレーション、レンタルラボ調査、配置案、イメージパースを作成

３．施設見学会実施（2019 年 8 月 1 日実施）
神奈川県横浜市戸塚区名瀬町 344-1 大成建設株式会社技術センター
検討委員メンバー出席（山本所長、坂田先生、松本先生、佐々木先生、霜鳥様）
※P1 レベル実験室、温室型および閉鎖型の実験室を実装

４．銀座伊東屋ファーム(完全閉鎖型植物工場)見学会は未実施
（当初、次世代育種研究等内に計画予定であった量産実証エリアが無くなった為。）

◆部会名：森林文化研究部会

◇部会長：佐藤　孝吉　　連絡幹事：吉野　聡

◇令和元（2019）年度 活動報告

１．総会の開催
2020 年 3 月 31 日にメール上で実施した。2019 年度の活動状況と取りまとめについて確認を行った。

２．活動報告

１）長野県木祖村で生産された箸（2018 年 4 月と 2019 年 4 月に教育後援会より新入生に贈呈されたもの）についてのリーフレットの作成、配布を行った。
・関東森林学会 2019 年 10 月（栃木県）でその成果について発表を行った。
・農大学報に 2020 年 1 月号に掲載された。

２）群馬県高崎市倉渕の「くらぶち英語村」に使用されている木材についてのリーフレットを作成および配布を行った。
・作成したものをくらぶち英語村の小中学生に説明の上、配布した。
・作成したリーフレットを増刷し寄贈した。
・関東森林学会 2019 年 10 月（栃木県）でその成果について発表を行った。同時に論文を投稿した。

３）2018 年に調査を行った国営武蔵丘陵森林公園の里山林の新しい利活用について取り纏め、日本熱帯農業学会（2020 年 3 月）に発表した。

４）森林文化に関連する資料作成、共同セミナーの開催など
・尾鷲林業の現状と課題について、調査を実施した。
・東京都における薪ビジネスと広葉樹林利用について、日本森林学会で発表した。
・共同セミナーやツアーは実施しなかった。

５）予算は、印刷のためのトナーおよび記録媒体、三重県の調査に使用した。

６）「農大アカデミアセンターに使用されている木材の魅力」というリーフレットを活用したツアーやセミナーについては、学生実習や講義の中で説明を行うにとどめた。学会の研究会（林業経済学会）時にもリーフレットやサンプルを配布して紹介した。

◆部会名：生物的防除部会

◇部会長：河津　圭　　連絡幹事：足達　太郎

◇令和元（2019）年度 活動報告

Ⅰ　広報事業

① 講演会の開催：農業病害虫の生物的防除などに関連する講演会を 3 回開催

第１回（2019/6/18）

１．「全国の虫塚の歴史的背景と変遷－害虫･益虫･ただの虫－」
昆虫芸術研究家　（東京農業大学生物的防除部会幹事）　柏田　雄三　氏

２．「微生物農薬による病害虫デュアルコントロールの可能性」
独立行政法人　農研機構　野菜花き研究部門　主任研究員　飯田　祐一郎　氏

第２回（2019/11/12）

演題１「大型園芸施設でのイチゴ栽培の IPM 技術」
株式会社 GRA　菅野　亘　氏

演題２「IPM におけるフェロモン利用－貯穀害虫モニタリングを中心に－」
富士フレーバー株式会社　エコモン事業統括部　中川　りき　氏

演題３「バイオマス発電と連動したトリジェネレイション型メガ温室における天敵利用と IPM 防除について」
サラ菜薗　技術アドヴァイザー　（非常勤取締役）　和田　哲夫　氏

第３回（2020/2/18）

演題１「ナシ園のカブリダ二種の置換に関与する要因を探る」
流通経済大学　経済学部　後藤　哲雄　氏

演題２「天然からの抵抗性誘導物質の探索とその作用機作」
独立行政法人農業･産業技術総合研究機構　生物機能利用研究部門　瀬尾　茂美　氏

② 生物的防除部会ニュース発行：
68 号、69 号、70 号　ペーパーレス化を実施　印刷物を郵送（約 20 件）

③ ホームページの管理運営：ニュースレターのバックナンバーをホームページに掲載
http://www.ipm-bio.jp/bukai_news.html

Ⅱ　情報収集及び交流事業

① 学会・研究会へ参加して情報収集及び交流

Ⅲ　会議

① 通常幹事会（6/18、11/12、2/18）
→　講演会の演者選定、会則の改定など

② 総会（6/18）

◆部会名：生命科学研究部会

◇部会長：角谷　直人　　連絡幹事：太治　輝昭

◇令和元（2019）年度 活動報告

・幹事会開催：年２回

第１回幹事会
日時：令和元年 10 月 15 日

第２回幹事会
日時：令和 2 年 2 月 25 日

・講演会開催

講演内容：ゲノム編集作物の開発と社会実装

講師：筑波大学　生命環境系　教授、つくば機能植物イノベーション研究センター長
江面　浩

日時：2019 年 12 月 13 日（金）16：30～18：00

場所：東京農業大学世田谷キャンパス　1 号館 633 教室

参加者：100 名

マスコミでも注目されているゲノム編集作物の開発から実用化までの課題での講演であったため、多数の方に参加していただき大盛況であった。

◆部会名：大学所有遺伝資源保全・利用研究部会

◇部会長：豊原　秀和　　連絡幹事：入江　憲治、菊野　日出彦

◇令和元（2019）年度 活動報告

１．幹事会開催

メール上にて幹事会を行った。

２．講演会開催

2019 年度は、講演会を開催予定であったが、講演者の都合がつかず未開催となった。

３．大学所有遺伝資源保全・利用活動

宮古亜熱帯農場にてタロイモ遺伝資源 200 点およびヤムイモ遺伝資源 100 点の保存に取り組んでいる。平成 30 年度から農研機構ジーンバンク事業の遺伝資源の増殖および特性評価を受託し、イネおよびマメ類遺伝資源の増殖・評価を実施している。

４．特別事業

2019 年度に「東京農業大学教職員および学生向け名古屋議定書対応パンフレット」の作成を予定していたが、ABS 関連の情報収集不足および執筆遅延により、発行できなかった。2020 年度発行に向けて進める。

◆部会名：地域再生研究部会

◇部会長：宮林　茂幸　　連絡幹事：栗田　和弥、柴田　和也

◇令和元（2019）年度 活動報告

１．令和元度活動報告（幹事会：５回、セミナー：１回、その他：５回）

２．分科会（幹事会・会議に相当）の開催　・令和元年５月から令和２年３月、「地域資源の利活用方策について」、「里山の環境保全と活用方策について」、「地元報告会・講演会について」、「ワークショップについて」開催

３．『湘南ひらつか・ゆるぎ地区』活性化に向けたフォーラム（セミナーに相当）の開催：３回開催（２回は COVID－19 のため中止）

４．地域再生研究部会　フォーラム　2020 年２月 15 日（土）14：00～17：30

テーマ：「里山再生と SDGｓ（持続可能な開発目標）」

2015 年の国連サミットで採択された「持続可能な開発目標(SDGs)」に焦点を当て、「里山再生と SDG‘S」をテーマに、持続可能な里山と私たちの新しい関係性、暮らしのデザインを議論した。

里山は、農地、竹林、雑木林等の多様な環境にあって、人々は、その里山を大切に利用し、管理し、保全し、自然と共生した暮らしや豊かな生物多様性を育んできた。しかし、高度経済成長期以降、急速な社会経済の発展にともなって、生活様式が急激に変化し、里山の資源利用は大きく崩れるとともに、適正な維持管理が滞り、かつてトンボが飛び交う里山は荒廃が目立つようになっている。さらに、最近の異常気象による局地的豪雨や大型台風の襲来などから国土保全機能の低下が深刻な問題となっている。

そこで、自然と共生する持続可能な里山再生を実現するため、SDG‘S の潮流を踏まえながらワークショップ形式で SDG‘S の理解を深めた。さらに、身近な里山との新しいかかわり、暮らしについて、行政、民間、市民、学生と共に、明日から始める SDG‘S のアクションプランを提案した。

プログラム：

14:00～14:30　フォーラム趣旨説明　里山再生と SDG‘S の可能性について」

東京農業大学総合研究所地域再生研究部会長　東京農業大学教授　宮林茂幸

14:30～15:30　「森・緑を対象とした SDG‘S の取組と方向について」

株式会社トゥリー代表取締役　CEO 水野 雅弘

15:30～15:45　休憩・ワークショップ準備

15:45～16:00　ワークショップの説明　（町田）

16:00～17:00　SDG‘S　ワークショップ　「里山と SDG‘S（持続可能な開発目標）

参加者：45 名

SDGｓは、2015 年に国連が定義した国際的な課題であり、地球レベルで議論になっているとともに、あらゆる分野において検討・議論する必要がある課題であることから多様な分野とも

連携を企画した。本研究部会と農村計画研究部会が共催、他の分野は後援・協力という体制で開催した。

◆部会名：地域連携推進研究部会

◇部会長：水庭　千鶴子　　連絡幹事：秋山　聡子

◇令和元（2019）年度 活動報告

本部会は、2020 年 2 月 23 日に ㈱ヰセキ関東甲信越本社（研修棟）にて開催された、茨城県阿見町における産学官連携事業の紹介および結果報告を行うシンポジウムである「令和元年度産学官連携事業報告会」を共催した。

事業報告会は、本学自然資源経営学科　小川繁幸氏が進行役となった連携事業実績紹介では、本学と茨城大学による地域づくり・産地振興に関しての連携事業の説明を行った。さらに、具体的な事業報告では、本学多摩川源流大学事務室　杉野卓也氏により「阿見町におけるグリーンツーリズム受入地域における課題」が、本学栄養科学科　秋山聡子（本部会連絡幹事）により「地域資源の機能性を活用した飲食メニューの提案」が発表された。報告会への参加者は、茨城県、美浦村・稲敷市・河内町・牛久市・龍ヶ崎市、JA 水郷つくば、阿見町商工会、阿見町農業委員会、阿見サンクラブ、阿見町認定農業者連絡協議会、茨城大学農学部、その他関係団体であり、幅広い業種の方々との意見交換をすることができた。

◆部会名：農業協同組合研究部会

◇部会長：白石　正彦　　連絡幹事：堀部　篤

◇令和元（2019）年度 活動報告

１．幹事会の開催：令和元年 5 月、6 月、10 月に開催。

２－１．第 12 回シンポジウムの開催：令和元年 11 月 8 日（金）に東京農業大学世田谷キャンパス 1 号館で「ICT・GIS、スマート農業技術の動向をふまえた”農業・農村の課題解決の先導的担い手づくり”と“農協の戦略的ガバナンス・事業経営の新展開”」をテーマに、シンポジウムを総研研究会農協研究部会、GIS 研究部会が連携して開催した。

第１報告「“農業・農村の課題解決の先導的担い手づくり”と“農協の戦略的ガバナンス・事業経営の新展開”」白石　正彦（東京農業大学 名誉教授、総研研究会農業協同組合研究部会長）

第２報告「農業・農村の課題解決の先導的担い手グループづくりと農協の ICT・GIS、スマート農業技術を活用した営農経済事業の新展開」鈴木　充夫（東京農業大学 客員教授、総研研究会 GIS 研究部会長、（株）協同経済経営研究所所長）、堀部　篤（東京農業大学国際食料情報学部准教授）、山下 剛史（株式会社ローリス代表取締役）

第３報告「農協グループの創造的自己改革の現段階と展開方向―秋田県の農協グループの実践事例を中心に―」船木　耕太郎（秋田なまはげ農協会長、秋田県農協中央会会長）

第４報告「生産緑地制度の見直しと農協グループの新たな都市農業づくりの展開―東京都農協グループの実践事例を中心に―」榎本　輝夫（東京都農協中央会専務理事）

第５報告「農業・農村の課題解決の先導的担い手づくりと総合農協の戦略的ガバナンス・事業経営の新展開―岐阜県ぎふ農協の実践事例を中心に―」岩佐　哲司（ぎふ農業協同組合専務理事）

コメンテーターは堀田亜里子（全国農協中央会くらし・高齢者対策課課長）、馬場利彦（日本協同組合連携機構 代表理事　専務）、谷口信和（東京大学　名誉教授）が担当。その後、一般討論・交流会を行った。

２－２．GAP を活用した農業労働安全対策の組織的・戦略的展開に関するシンポジウムを令和元年 5 月 17 日（金）東京農業大学世田谷キャンパスで総研研究会（農業協同組合研究部会、労災対策研究部会、就農者推進教育研究部会の 3 研究部会）、日本農業労災学会が連携して開催。座長は白石正彦（東京農業大学名誉教授、農業協同組合研究部会長）・鈴木泰子（社会保険労務士法人リライアンス所長）。

第１報告は、「GAP による安全な労働環境整備の戦略的な実践方法」門間敏幸（東京農業大学名誉教授・日本農業労災学会会長）、第２報告は、「第三者認証による GAP の現況と労働安全」荻野宏（一財・日本 GAP 協会事務局長）、 第３報告は、「団体での GAP の取組と農作業安全対策の実

践」城向孝洋（JA 全中 JA 支援部営農担い手支援課）、第４報告は「福島県における GAP の推進と農作業安全」半杭真一（東京農業大学国際食料情報学部准教授）、第５報告は、「JA いわて平泉 ASIAGAP ブランド米部会による ASIAGAP 団体認証の取得と農作業安全対策の取り組み」小野正一（JA いわて平泉、金色の風栽培研究会会長）。コメンテーターは森田裕之（一財・日本 GAP 協会チーフテクニカルオフィサー）、伊藤隆弘（神奈川県秦野市：秦野いとう農園）。その後、一般討論・交流会を行った。

２－３．国際農業農村協同組合学会（The International Society for Agricultural and Rural Co-operative Studies）第 4 回大会を、令和元年 11 月 24 日（日）に福岡市（大会実行委員長は、九州大学福田晋農学部長）で開催し、日本・中国・韓国・台湾・東南アジア・欧米の農協研究者が研究発表を行った。東京農業大学総研農協研究部会の白石部会長は本学会の会長として「The Present Characteristic, Challenge and Model Change Direction about Governance, Management and Audit of the Multi-purpose Agricultural Co-operatives and the Federations in Japan」をテーマにシンポジウムで基調研究報告を行った。

◆部会名：農業生産工程管理（GAP）研究部会

◇部会長：入江　憲治　　連絡幹事：齋藤　修平

◇令和元（2019）年度 活動報告

１．幹事会の開催：３回

第一回幹事会　4 月 31 日

第二回幹事会　7 月 5 日

第三回幹事会　2 月 10 日

２．講演会の開催

講演会タイトル：「農産物の国際認証と農業ビジネス」

日時：令和元年 7 月 9 日（日）16：00～18：00

会場：東京農業大学世田谷キャンパス　１号館

目的：Global G.A.P. は GFSI が承認した国際認証であり、農産物の国際認証としては世界中でその取り組みが広がっています。他方で、日本国内では、G.A.P. という言葉が一人歩きし、数多くの G.A.P. が乱立している状況にあり、国際的な農産物の安全管理における考え方とは異なった理解が進んでいるのが実情です。

今回の講演では、正しい G.A.P. の捉え方を伝えるとともに、単なる農産物の安全管理ではなく、経営ツールとしても有効な Global G.A.P. の活用方法の理解を深めます。さらには、SDGs や ESG とシンクロした企業 IR への取り組み、フードチェーン全体を捉えた安定調達網の構築にまで波及しつつある現状を解説し、G.A.P. について様々な視点からとらえることを目的とします。

２－１．講演内容

（講演１）

講演者：今瀧　博文（一般社団法人 GAP 普及推進機構　専務理事）

演題：「Global G.A.P 概要」

（講演２）

講演者：松本　武（株式会社ファーム・アライアンス・マネジメント　代表取締役）

演題：「国際認証制度と国内農業ビジネスー食の安全のトレンドー」

主催：東京農業大学総合研究所　農業生産工程管理（GAP）研究部会

後援：株式会社ファーム・アライアンス・マネジメント

参加者：20 名

３．東京農業大学宮古亜熱帯農場の「内閣府主催 GAP 食材を使ったおもてなしコンテスト」参加への助成

３－１．コンテストの概要

GAP 食材を使ったおもてなしコンテストは、世界各国からホストとタウンを訪問する各国・地域の選手に対して、高校生などによる GAP 食材を使ったおもてなしによって、日本の食材・おもてなしのすばらしさを伝えることを目的としている。宮古島市のホストタウン相手国であるオーストラリア人に馴染みあるパンを中心に惣菜やスープなど好みに応じて、同農

場職員と技術練習生がメニューを考えた。ヤムイモと沖縄県産全粒小麦粉を使ったパン、ヤムイモの宮古牛包み焼きクレソン添え、宮古そばのそばに40%ヤムイモを練り込んだ宮古ヤムそばなどがある。東京農大宮古亜熱帯農場では、2017年にヤムイモのグローバルGAP認証を取得している。コンテストの結果、宮古亜熱帯農場は内閣官房東京オリンピック競技大会・パラリンピック競技大会推進本部事務局長賞を受賞した。
本部会は宮古亜熱帯農場がコンテスト参加に係る費用の一部を助成した。

４．勉強会の開催

外部講師を招きJGAPの勉強会を４月に開催した。結果、教員１名、学生５名がJGAP指導資格を得た。

◆部会名：農村計画研究部会

◇部会長：宮林　茂幸　　連絡幹事：入江　彰昭、栗田　和弥

◇令和元（2019）年度 活動報告

研究部会フォーラム　２回、（１）伊那・鮫川、（２）第６回農業文化フォーラムを実施した。

（１）伊那・鮫川

フォーラムテーマ：産・官・学・民連携による地域振興のあり方　－如何に里山文化資源を活かし、磨き、どう市場展開に結びつけるか－
開催日時：令和元年7月18日（木）14：00～17：30
場所：東京農業大学世田谷キャンパス10号館　２階
趣旨説明　地域創成科学科　教授　宮林 茂幸
長野県伊那市高遠町における事例報告
① 「伊那市50年の森林ビジョン」　伊那市農林部長　富山　祐一　氏
② 平成30年度農産漁村６次産業化対策事業補助金「地域資源を活用した『炭・アロマ多機能　空調器』事業化可能性調査事業」報告
伊那東部山村再生支援研究会　小池　守男　氏
福島県鮫川村の事例報告「大学と地域との連携による里山自然を生かした地域づくり」
農林商工課長　星　徹　氏
農政係長　矢吹　智広　氏
コメント　地域創成科学科　准教授　入江　彰昭
参加者数：約20名

（２）第６回農業文化フォーラム

フォーラムテーマ：「交流・連携でつながるフードコミュニティづくり」
開催日時：令和２年２月１日（土）15:00～17:45
場所：東京農業大学世田谷キャンパス１号館１階113教室
主旨説明　地域環境科学部　准教授　入江 彰昭
報告「流域・都市農村交流のコミュニティづくりの意義」
地域環境科学部　教授　宮林 茂幸
事例紹介
事例１「小菅村の食のコミュニティツール郷土料理レシピ本の開発」
合同会社流域共創研究所だんどり　矢野　加奈子　氏
事例２「食と農をつなぐルーラル電子図書館を活用したコミュニティづくり」
一般社団法人 農山漁村文化協会　能勢　裕子　氏
事例３「故郷への思いでつながるエゴマ生産」　石井農園（浪江町）　石井　絹江　氏
パネルディスカッション「交流・連携つながるフードコミュニティづくりの構築に向けて」
コーディネーター　地域環境科学部　准教授　町田　怜子
パネリスト　宮林 茂幸、矢野 加奈子　氏、能勢 裕子　氏、石井 絹江　氏
閉会挨拶　国際食料情報学部　准教授　大久保　研治
参加者数：約40名

なお、当初計画していた以下のセミナーは別途開催した。

（１）群馬県川場村セミナーは、総研・エクステンション主催の産官学意見交流会（2019年10月9日開催）にて群馬県川場村副村長・宮内実氏に「地域資源を活用した元気なふるさとづく

りへの取り組み」を事例発表いただいた。
（2）高知県津野町セミナーは、津野町関係人口創出事業にて、「関係人口セミナー（2019年7月31日世田谷代田キャンパス)」、「関係人口現地説明会（2019年8月6日津野町)」、「関係人口フィールドワーク（2019年8月21日津野町)」、「関係人口創出事業ワークショップ（2019年9月12日食と農の博物館)」、「棚田の里の管理計画ワークショップ（2019年9月31日津野町貝ノ川集落)」、「棚田のお米講座棚田米について学ぼう（2019年12月1日食と農の博物館)」を行った。

◆部会名：農薬部会

◇部会長：本山　直樹　　連絡幹事：薮田　五郎、松島　芳隆
◇令和元（2019）年度 活動報告
会員数（令和元年度）　法人会員：24社
個人会員：45名

1）会議
総　会：令和元年5月17日（金）
幹事会：第130回（令和元年5月17日）
第131回（令和元年7月19日）
第132回（令和元年9月13日）
第133回（令和元年11月15日）

2）部会セミナー
1．第114回：令和元年7月19日（金）　出席者：60名
新農薬の開発戦略（61）
『殺虫剤創製研究の動向』
講師：中野　元文 氏　（日本農薬（株）研究本部　総合研究所）
『松くい虫防除のネオニコチノイド散布が周辺住民に及ぼす曝露の実態
～曝露評価・健康影響評価・毒性評価の視点から』
講師：池中　良徳 氏（北海道大学大学院　獣医学研究院　准教授）
（North-West University（South Africa）Extraordinary Professor）
2．第115回：令和元年9月13日（金）　出席者：30名
新農薬の開発戦略（62）
『トマトの原種，野生種トマトの保有する様々な機能性と，その利用の可能性について』
講師：田淵　俊人 氏（玉川大学農学部　先端食農学科　園芸植物学分野）
『ゲノム編集技術による品種改良　－可能性と利用のルール－』
講師：笠井　美恵子 氏（千葉大学環境健康フィールド科学センター）
3．第116回 :令和元年11月15日（金）　出席者：30名
新農薬の開発戦略（63）
『薬剤抵抗性管理を見据えた殺ダニ剤開発とハダニ類防除技術の最近の動向』
講師：山本　敦司 氏（日本曹達（株））
『第14回IUPAC作物保護化学国際会議参加報告』
講師：塚本　正満 氏（石原産業（株））
4．賀詞交換会:令和2年1月17日（金）　出席者：33名
特別講演：『農業産業のイノベーションと社会貢献』
講 演 者：西本　麗 氏（住友化学（株）代表取締役副社長執行役員）
3）令和元年度総会　出席者：38名
令和元年5月17日（金）東京農業大学校友会グリーンアカデミーホール３Ｆ
特別講演：『最近の創農薬の動向　―安全で環境にやさしい農薬開発―』
講 演 者：梅津　憲治 氏（吉備国際大学客員教授／OATアグリオ（株）顧問）

◆部会名：バイオビジネス部会

◇部会長：大久保　研治　　連絡幹事：鈴木　充夫
◇令和元（2019）年度 活動報告

１．共催フォーラムの開催

１）農村計画部会、地域デザイン学会との共催フォーラム

日程：2020 年 2 月 1 日、場所：東京農業大学１号館 113 教室

フォーラムテーマ「交流・連携でつながるフードコミュニティづくり」

開会の挨拶とフォーラムの主旨説明　東京農業大学地域環境科学部　准教授　入江　彰昭

報告「流域・都市農村交流のコミュニティづくりの意義」

東京農業大学地域環境科学部教授　宮林　茂幸

事例１「小菅村の食のコミュニティツール郷土料理レシピ本の開発」

合同会社流域共創研究所だんどり　矢野　加奈子氏

事例２「食と農をつなぐルーラル電子図書館を活用したコミュニティづくり」

一般社団法人農山漁村文化協会　能勢　裕子氏

事例３「故郷への思いでつながるエゴマ生産」　石井農園（浪江町）　石井　絹江氏

パネルディスカッション「交流・連携つながるフードコミュニティづくりの構築に向けて」

コーディネーター　東京農業大学地域環境科学部准教授　町田　怜子

パネリスト　宮林　茂幸、矢野　加奈子、能勢　裕子氏、石井　絹江氏

閉会の挨拶　東京農業大学国際食料情報学部准教授　大久保　研治

懇親会（10 号館４階　地域デザイン学研究室）

２）地紅茶学会との共催フォーラム

日程：2019 年 9 月 14 日（土）、場所：東京農業大学１号館 113 教室

日本においても茶産地で紅茶の生産が行われるようになり、その地紅茶愛好者が増加している。本部会では、昨年発足した地紅茶学会と共催フォーラムを開催し、日本における茶ビジネスの新たな潮流を捉え、その方向性を広く発信していくことをねらいとした。当日は 48 人が参加した。

（１）研究者発表会 14:05～15:10

１ テーマ:「国産紅茶生産の現状と展望:全国紅茶生産者アンケート結果より」

講師:金間　大介　准教授・高野　里紗氏(金沢大学 人間社会環境研究科経済学専攻)

２ テーマ:「新たな食文化の創造に向けた産地と大学の連携」

講師:大久保　研治　准教授(東京農業大学 国際食料情報学部国際食農科学科)

（２）会員発表会（分野別発表） 15：25～16：10

１（栽培・生産分野）テーマ:「循環する農業の在り方と紅茶づくり」

発表者:杵塚　歩氏(ちぃっとらっつ農舎)

２（地域づくり分野）テーマ:「下田開国紅茶のいま」　発表者:森　享子氏(下田紅茶の会)

３（文化分野）　テーマ:「スコットランドで始まる地紅茶への挑戦」

発表者:佐々木　智子氏(地紅茶愛好家・通訳)

（３）意見交換会 16:10～17:00

・地紅茶学会についての意見交換会 ・まとめ ・今後の活動予定など

２．地域食農ビジネスとの連携プロジェクト

会津坂下町の食や農に関する地場産業との連携プロジェクトとして、会津坂下町の食農資源を活用した新商品を開発するための調査、研究を下記の通り実施した。

１）市場調査

ふくしま応援企業ネットワーク参画企業を対象としたマーケティング調査と分析

（１）グループインタビューの実施

協力企業：日立システムズ株式会社（4 月 24 日)、鹿島建設株式会社（5 月 15 日）

（２）Web アンケート調査　協力企業：ふくしま応援ネットワーク事務局（東京電力）

２）地域食農ビジネスと連携した新商品開発

猪俣徳一商店、五ノ井商会、竹原肉店、曙酒造など、会津坂下町の地場産業と連携し、会津坂下町の食農資源を活用した新商品の開発を行った。

３）商品化・販売

（１）ブレンド米「米田輪（マイダーリン)」：猪俣徳一商店から発売。

（２）馬タンの味噌粕漬け：竹原肉店で発売。

◆部会名：バイオマスエネルギー研究部会
◇部会長：大西　章博　　連絡幹事：中村　貴彦
◇令和元（2019）年度 活動報告
（新型ウイルス感染症の拡大防止のため開催中止）
【共催企画】
3 月 27 日 第４回 GIA コラボ「スタートアップ起業セミナー＠農大」
（グローバル情報研究部会との共催）
起業を目指す学生のための情報交換会を担当
【幹事会】
2 月 25 日に開催した。

◆部会名：人と生物圏研究部会
◇部会長：濱野　周泰　　連絡幹事：中村　貴彦
◇令和元（2019）年度 活動報告
会　議：平成 31 年 4 月、人と生物圏研究部会の活動について打ち合わせ（メール・TEL）
幹事会：令和 2 年 1 月、明治神宮社叢観察、森林科学園サクラ見本園観察の打ち合わせ
観察会：令和 2 年 3 月 28 日（土）に予定した明治神宮社叢観察会は、新型ウイルス感染症の影響で中止した。

◆部会名：みどりの環境創造研究部会
◇部会長：中村　幸人　　連絡幹事：鈴木　伸一
◇令和元（2019）年度 活動報告
本研究部会は、「みどりの環境デザイン」を基礎理念において、在来植物の有効利用による自然再生とその管理方法の研究・普及を目的としている。その一環として、同じ目的で実務的活動を行い、本学 OB も多く所属する日本植木協会との連携による、植生学を基軸とした研修講座「植生アドバイザー」を開催している。さらにその普及効果向上を図るために、環境省と農林水産省共管の「人材認定等事業」に参画し「植生管理士」の資格認定事業や、実力アップのためのスキルアップセミナーを実施している。以上に基づいて、昨年度は以下の行事を行った。
【セミナー】
開催日：令和元年 6 月 30 日～7 月 1 日（1 泊 2 日）
テーマ：「植生調査士」スキルアップセミナー
場　所：静岡県伊豆半島の海岸植生から天城山周辺ブナ林等の調査
参加者：25 名
【幹事会】
開催日：令和元年 7 月 30 日
テーマ：令和元年度「植生アドバイザー」育成講座の実施詳細と「植生管理士」認定試験実施について
場　所：東京農業大学・森林総合学科会議室
参加者：11 名
【セミナー】
開催日：令和元年 8 月 31 日～9 月 3 日（3 泊 4 日）
テーマ：「植生アドバイザー」育成講座
場　所：「世田谷区民健康村」群馬県川場村
参加者：41 名
【認定試験】
開催日：令和元年 10 月 20 日
テーマ：「植生管理士」認定試験・筆記
場　所：東京農業大学・1 号館 111 教室
受験者：６名
【幹事会】
開催日：令和元年 11 月 6 日

テーマ：令和元年度「植生アドバイザー」育成講座の反省、翌年度に向けた修正内容について
場　所：日本植木協会・会議室
参加者：10 名
【認定試験】
開催日：令和元年 11 月 17 日
テーマ：「植生管理士」認定試験・実技
場　所：「横浜自然観察の森」横浜市栄区上郷町
受験者：応募者がなく、未実施

◆部会名：労災対策研究部会

◇部会長：北田　紀久雄　　連絡幹事：半杭　真一
◇令和元（2019）年度 活動報告
１．シンポジウムの開催
日本農業労災学会、労災対策研究部会、就農者推進教育研究部会、農業協同組合研究部会の共催で以下のシンポジウムを開催した。
このシンポジウムは、労災対策研究部会と日本農業労災学会が主に企画・運営を担当し、問題意識を一部共有する就農者推進教育研究部会、農業協同組合研究部会にご協力していただき、開催したものである。
テーマ：GAP を活用した農業労働安全対策の組織的・戦略的展開
日　時：2019 年 5 月 17 日（金）　10：30～17：30
会　場：東京農業大学・世田谷キャンパス・農大アカデミアセンター　横井講堂
座長解題：白石　正彦（東京農業大学名誉教授・総研農業協同組合研究部会長）
鈴木　泰子（社会保険労務士法人リライアンス　所長）
基調報告：
第１報告「GAP による安全な労働環境整備の戦略的な実践方法について」門間　敏幸（日本農業労災学会会長・東京農業大学名誉教授）
第２報告「第三者認証による GAP の現況と労働安全」荻野　宏（(一財）日本 GAP 協会事務局長）
第３報告「団体での GAP の取組と農作業安全対策の実践」城向　孝洋（JA 全中 JA 支援部営農担い手支援課）
第４報告「福島県における GAP の推進と農作業安全」半杭　真一（東京農業大学国際食料情報学部准教授）
第５報告「JA いわて平泉のブランド米「金色の風」栽培研究会による「ASIAGAP 団体認証」取得と農作業安全対策の取り組み」小野　正一（JA いわて平泉「金色の風」栽培研究会会長）
コメント：
コメント１「企業の実践から学ぶことは」森田　裕之（(一財）日本 GAP 協会チーフテクニカルオフィサー）
コメント２「農家の実践と課題から」伊藤　隆弘（神奈川県秦野市：秦野いとう農園）
全体討論
２．JA 奨励研究（特別研究課題）のとりまとめと成果報告
2018 年度に研究助成が決定した JA 奨励研究（研究代表者：北田紀久雄）のとりまとめを行い、その成果を以下の通り報告した。
期日：2019 年 12 月 15 日（日）　日本協同組合研究機構　大会議室
研究メンバー：北田　紀久雄、門間　敏幸、半杭　真一、他 2 名
テーマ：JA グループにおける GAP 推進による農業者所得拡大と労働安全確保に関するビジネスモデルとその戦略的実践システムの開発－農業者の所得拡大・地域活性化と安全を目指して－
公表：2020 年 5 月印刷発行予定

東京農業大学総合研究所紀要　第 31 号

令和 2 年 11 月 24 日　印刷
令和 2 年 12 月 1 日　発行

発行人　山本　祐司
発行所　東京農業大学農生命科学研究所
〒156-8502 東京都世田谷区桜丘1-1-1