

---

# 目 次

---

## <2021年度 農生命科学研究所プロジェクト研究成果報告>

### ●大学院先導的実学研究プロジェクト

1. 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…………… 1  
研究代表者 畜産学専攻 岩田 尚孝
2. 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  
研究代表者 バイオサイエンス専攻 坂田 洋一
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…………… 9  
研究代表者 農芸化学専攻 井上 順
4. 日本ブランドエミューの創出を目指した遺伝・繁殖・栄養学的研究…………… 13  
研究代表者 生物生産学専攻 和田 健太

### ●農生命科学研究所プロジェクト

1. miRNA に着目した高機能性トマトの開発…………… 20  
研究代表者 四井 いずみ
2. 農大和牛の作成と肥育を介した新しい農大ブランドの作成…………… 24  
研究代表者 山本 祐司
3. ゲノム編集ダイコンの育種利用を目指した温室栽培…………… 26  
研究代表者 松本 隆
4. ウラジオストク地域における農業ビジネスモデルの構築…………… 29  
研究代表者 山本 祐司
5. 代替タンパク質創出のための機能性付与アメリカザリガニ飼料の開発…………… 32  
研究代表者 武田 晃治

### ●学部長主導型研究プロジェクト

1. 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～…………… 38  
研究代表者 吉田 穂積

### ●大学戦略研究プロジェクト

1. 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…………… 56  
研究代表者 松田 浩敬
2. 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…………… 63  
研究代表者 小島 弘昭

3. 異科属植物間での接木を志向した分子化学的アプローチ……………	76
研究代表者 齊藤 竜男	
4. 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……………	89
研究代表者 中丸 康夫	
5. 産官学連携による迅速なレタス新品種育成の核となるゲノム育種技術の開発……………	94
研究代表者 小松 憲治	
6. 生物多様性レジリエンスを踏まえた半自然草地の保全・再生手法の開発……………	97
研究代表者 今井 伸夫	
7. 気候変動に伴う降雨パターンの変化が農地と作物に与えるリスクの評価と適応農法の 確立に関する研究……………	106
研究代表者 鈴木 伸治	
8. 新たな肉用牛「無角黒毛」の創出 —生産性とアニマルウェルフェアの向上を目指して—……………	119
研究代表者 庫本 高志	
9. 玄米摂取が非アルコール性脂肪肝に及ぼす影響の分子機序の解析……………	122
研究代表者 山本 祐司	
10. 動物個体生産向上を目指した胚の着床能獲得を支持する子宮液内因子の解明……………	126
研究代表者 小川 英彦	
11. With/After COVID-19の持続可能な Food Supply Chain に向けたシナリオ分析 ……	130
研究代表者 佐藤 みずほ	

●海外協定校との共同研究プロジェクト

1. アジア・モンスーン地域におけるグリーンインフラの実態と枠組みに関する研究……………	136
研究代表者 鈴木 貢次郎	
2. ネパール・ヒマラヤにおける気候変動及び生活様式の変化による災害リスクと 生物多様性への環境インパクトの包括的評価……………	141
研究代表者 下嶋 聖	
3. 熱帯地域への生物的土壌物理性改良システムの普及に向けた下層土の団粒化機構の解明……………	157
研究代表者 中塚 博子	

●博士支援テーマ重点化 プロジェクト

1. オオムギ耐病性化合物グラミンの生合成に関する研究……………	165
研究代表者 須恵 雅之	
2. 除草活性を有する抗生物質 Phosphonothrixin の合成研究 ……	169
研究代表者 松島 芳隆	

3. ソーシャル・メディア上の農業者ネットワークを活用した女性活躍推進に関する研究……………	173
研究代表者 原 珠里	

●持続可能な農業研究プロジェクト

1. 有機栽培における微生物燃料電池技術効果の検証……………	182
研究代表者 トウ ナロン	
2. 機能性付与アメリカザリガニの代替タンパク質創出……………	187
研究代表者 武田 晃治	

●ポストコロナ社会対応・研究開発プロジェクト

1. 屋内栽培環境データ収集に基づいた適正植物種と管理スケジュールの提案による 豊かな屋内緑化の実現……………	193
研究代表者 杉山 立志	
2. 船を利用した持続参加・体験型観光のモデル構築に関する研究……………	199
研究代表者 上田 智久	

●東京農業大学と東京情報大学との共同研究プロジェクト

1. うつ病患者における食事によるセロトニン量の変化と抑うつ症状の変化の検証……………	207
研究代表者 若菜 宣明・大山 一志	
2. Society5.0社会におけるレジリエンス農業の確立に向けた多様な人々の能力を発揮する ロボティック・プロセス・オートメーション (RPA) 実装の加速化 ……………	212
研究代表者 町田 怜子・朴 鍾杰	

●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

1. コムギコアコレクションおよび国内外の遺伝資源を利用した巨大胚コムギの探索と その選抜に最適な DNA マーカーの開発……………	226
研究代表者 西尾 善太	
2. “地域適応型根系” 大麦の開発にむけた根系の環境ストレス応答の研究 ……………	239
研究代表者 伊藤 博武	
3. 窒素施肥方法の改善による穂数コントロールを活用したパン用小麦品種の 高品質・多収栽培技術の確立……………	247
研究代表者 笠島 真也	
4. 香り豊かな高品質ソバ創出に向けた重要香気成分の解析……………	251
研究代表者 妙田 貴生	

<研究所記事>

●東京農業大学総合研究所研究会 令和3年度事業報告 ……………	257
---------------------------------	-----



# 2021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	4,000,000

## 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	個別研究課題名
研究代表者	岩田 尚孝	農学研究科 畜産学専攻・指導教授	研究統括・卵子の解析
研究分担者	庫本 高志	農学研究科 畜産学専攻・指導教授	ラットを用いた栄養学的試験
	白砂 孔明	農学研究科 畜産学専攻・指導教授	免疫学的機能・発現解析
	佐野 宙矢	農学研究科 畜産学専攻・博士後期課程 2年	子宮内環境の解析
	Hoang Trung Hieu	農学研究科 畜産学専攻・博士後期課程 1年	脂質代謝関連因子の発現解析
	青木 漱吾	農学研究科 畜産学専攻・博士後期課程 1年	miRNA の胚への影響
	永田 修大	農学研究科 畜産学専攻・博士前期課程 2年	miRNA の卵子への影響
	井上 裕貴	農学研究科 畜産学専攻・博士前期課程 2年	次世代シーケンサー網羅的解析
	小澤 廉	農学研究科 畜産学専攻・博士前期課程 1年	ケトン体の機能解析
	山口 仁希	農学研究科 畜産学専攻・博士前期課程 1年	低級脂肪酸の解析

## 3. 研究期間

2021年4月1日～2022年3月31日（3年計画の3年目）

#### 4. 研究の背景（当初）

日本の畜産業はタンパク源の供給だけでなく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が問題となり、肉用牛では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。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。

近年、栄養（飼料・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、子の生産性に影響することが分かってきた。ウシの場合では、肥育されたウシの卵巣卵子を胚生産に使うため、肥満による生理状態の変化や、乳牛では分娩後の泌乳開始による過度な脂肪動員が卵子に大きく影響することが想定される。またこの影響は、産子にエピジェネティックな差を惹起すると考えられる。さらに、肥満は血液中の脂肪酸量の増加だけでなく腸内細菌叢の変動から細胞外小胞内の miRNA の変化を起こす知見が集まりつつある。

#### 5. 研究目的

今年度の研究では、miRNA が卵子や胚の発育を左右しうる因子なのかどうかを検討し、栄養状態の差が卵子の発育の場である卵胞液の miRNA の組成を変化させるのかを明らかにする。また、卵子の遺伝子発現や DNA のメチル化状態を把握する。さらに、母親の栄養状態が子供の糖耐性や卵子のメチル化状態に影響するのかを検討する。短鎖脂肪酸である酢酸に着目しこれが卵や次世代に対する肥満の影響に介入できるのかを検討する。

#### 6. 研究（実験）方法

卵管内や卵胞液中の miRNA の外挿試験を行い、初期胞状卵胞由来の卵子と体外受精由来の胚の体外発育が miRNA に影響されるのかどうかを明らかにすることを目的とした。ラットをモデルに用いて肥満と通常食、肥満食に酢酸を添加した 3 種類の飼養条件で、卵胞液中の miRNA の組成変化を比較する 3 種の栄養条件で卵子の遺伝子発現と DNA のメチル化状態を比較した。また、産仔を得てそれらの糖耐性や卵子の DNA のメチル化状態の差を検討した。

#### 7. 研究成果

卵胞液中の miRNA も卵管液中に見い出された miRNA も、卵子の体外発育や胚の体外発育を有意に改善し、その効果はタンパク発現解析の結果に加え、miRNA 添加によって引き起こされた卵や胚の変動遺伝子を用いたインシリコの解析結果からも確認された。さらに、肥満が卵胞液中の miRNA の組成を変化させることが明らかになった。それらの miRNA は、肥満が卵子の遺伝子発現に起こす変化からインシリコで推測した上流因子としての miRNA と重複していた。また、肥満は卵子のメチル化状態を低下させることが明らかになった。子の糖耐性やその卵子の DNA メチル化状態が、母親の肥満により低下することや酢酸の飲水がこの変化を低減することが明らかになった。

#### 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

本研究では、細胞外小胞に含まれる miRNA が卵子や胚の性状を変えることが明らかになり、細胞外小胞は発育環境を考える上で考慮すべき因子であることが明らかになった。また、加齢や肥満などで影

響されるバイオマーカーとしての miRNA を提案することができた。酢酸の摂取は、母親の栄養状態が卵子や胚に引き起こす世代を超えた影響を緩和する効果があることを示唆することができた。腸内細菌から生ずる低級脂肪酸や経口的な摂取が生殖細胞の質に影響する事が示唆された。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

肥満が卵子の DNA の低メチル化を惹起する背景として、DNMT3A の低発現や miR-30 の高発現が推定されたが、DNA のメチル化変動の背景を明らかにする必要がある。

## 10. 公表した成果一覧

### 学術論文

- 1) Nagata S, Inoue Y, Sato T, Tanaka K, Shinozawa A, Shirasuna K, Iwata H. Age associated changes in miRNA profile of bovine follicular fluid. *Reproduction*. 2022 Aug 1:REP-22-0036.
- 2) Aoki S, Inoue Y, Shinozawa A, Tanaka K, Shirasuna K, Iwata H. miR-17-5p in bovine oviductal fluid affects embryo development. *Mol Cell Endocrinol*. 2022;551:111651.
- 3) Onizawa Y, Katoh T, Miura R, Konda K, Noguchi T, Iwata H, Kuwayama T, Hamano S, Shirasuna K. Acetoacetate is a trigger of NLRP3 inflammasome activation in bovine peripheral blood mononuclear cells. *Vet Immunol Immunopathol*. 2022;244:110370.
- 4) Hirata Y, Shimazaki S, Suzuki S, Henmi Y, Komiyama H, Kuwayama T, Iwata H, Karasawa T, Takahashi M, Takahashi H, Shirasuna K.  $\beta$ -hydroxybutyrate suppresses NLRP3 inflammasome-mediated placental inflammation and lipopolysaccharide-induced fetal absorption. *J Reprod Immunol*. 2021 Nov;148:103433.
- 5) Nagata S, Tatematsu K, Yamaguchi H, Inoue Y, Tanaka K, Tasaki H, Shirasuna K, Iwata H. Effect of docosahexaenoic acid on in vitro growth of bovine oocytes. *Reprod Med Biol*. 2021;20(4):485-493.
- 6) Aoki S, Ito J, Hara S, Shirasuna K, Iwata H. Effect of maternal aging and vitrification on mitochondrial DNA copy number in embryos and spent culture medium. *Reprod Biol*. 2021;21:100506.

### その他（学会発表等）

- 1) 日本繁殖生物学会 2021、9月、京都 優秀発表賞  
ウシ卵管液中の miRNA が胚発育に及ぼす影響  
青木 漱吾, 井上 裕貴, 石田 大樹, 田中 啓介, 野口 龍生, 白砂 孔明, 岩田 尚孝
- 2) 日本繁殖生物学会 2021、9月、京都 口頭発表  
加齢で変動するウシ卵胞液中の miRNA とそれらの卵子発育に及ぼす影響  
永田 修大, 山口 仁希, 井上 裕貴, 田中 啓介, 白砂 孔明, 岩田 尚孝
- 3) 日本繁殖生物学会 2021、9月、京都 口頭発表  
腸内細菌叢や子宮内細菌叢からみた長期不受胎牛の特徴の検討  
加藤大雅, 三浦亮太郎, 福間直希, 吉村格, 柳沼日佳里, 宮村元晴, 鬼頭武資, 岩田尚孝, 桑山岳人, 白砂孔明
- 4) 日本繁殖生物学会 2021、9月、京都 主催校企画シンポジウム 招待講演  
卵子や胚の発育に影響を及ぼす miRNA の同定  
岩田 尚孝

# 2021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	4,000,000

## 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	生命科学部 バイオサイエンス学科・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・准教授	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・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・博士後期課程3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・博士後期課程2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

2021年4月1日～2022年3月31日（3年計画の3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 は分解されやすく、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

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  $\beta$  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  $\text{CO}_2$  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シアノバクテリア SL3 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、對馬、坂田、坂巻、川田)

- 1-1. D27 活性評価系の確立と新規 D27 遺伝子の探索
- 1-2. 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、對馬、坂田、坂巻、川田)

#### 1-1. D27 活性評価系の確立と新規 D27 遺伝子の探索

昨年度までの研究から、シアノバクテリアは D27 非依存的にカーラクトンを生産できることがわかった。D27 は  $\beta$  カロテンから 9-*cis*- $\beta$  カロテンの異性化を担う酵素であるが、 $\beta$  カロテンは光照射でも 9-*cis* 異性化が起こることも知られている。したがって、シアノバクテリア SL3 株では D27 に依存せず 9-*cis*- $\beta$  カロテン、およびその下流のカーラクトンを合成していると考えられる。D27 を機能化することで、カーラクトン合成のさらなる強化が見込まれるため、今年度は D27 活性を評価する実験系を確立すると共に、これを用いて新規 D27 活性を有するタンパク質を探索した。

$\beta$ -carotene 生合成経路を付与した大腸菌に D27、CCD7 を導入し、両酵素が機能した際に生産され

る物質 9-*cis*- $\beta$ -apo10'-carotenal の生産量を指標として D27 の活性を評価できる解析系を新規に構築した。一方、D27 に保存されたドメイン構造に着目し、植物と藻類より同様のドメインを持つタンパク質を探索した結果、植物だけでなく複数のバクテリア種にも D27 ドメインを有するタンパク質が見出された。

### 1-2. ストリゴラクトン生産系の構築

P450 ファミリー酵素であるイネの Os900 を発現させた酵母はカーラクトンをストリゴラクトンへと変換することがわかっている (Yoneyama et al., 2018)。カーラクトンを生産する SL3 株に対し、さらに Os900 発現系を導入し、シアノバクテリア細胞内での SL 一括合成経路の構築を試みた。Os900 の誘導発現に成功したものの、ストリゴラクトンの生産は確認できなかった。P450 酵素である Os900 を活性化させるため、P450 レダクターゼである ATR の追加発現や、光合成電子伝達から Os900 への電子供給を目的としたチラコイド膜上への Os900 の局在化も試みたが、どちらの方法においてもストリゴラクトンは生産されなかった。そこでカーラクトン生産株と Os900 発現酵母を用いた 2 菌株によるストリゴラクトン生産系の構築を試みた。カーラクトン生産株の培養液を含む培地にて Os900 発現酵母を培養し、Os900 の代謝産物であるストリゴラクトン (4-deoxyorobanchol) 生産を確認したところ、カーラクトン生産株培養液の濃度依存的に 4-deoxyorobanchol の生産を確認できた。生産量を定量したところ、培養液 1 mL あたりおよそ 1200 pg の 4-deoxyorobanchol を生産していることが明らかとなった (特願 2021-164871)。イネの根から抽出されるストリゴラクトン量は 1g あたり 10 pg 程度である。1 mL のシアノバクテリア-酵母培養液からは 9 mg 程度の菌体が得られることから、本手法により得られるストリゴラクトン量はイネの根から抽出される量の 1 万倍以上である。さらに生産したストリゴラクトンが根寄生雑草の発芽刺激活性を有するかを検討したところ、本培養系で得られた培養液を処理することでストライガの発芽を確認できた。

## 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

ストライガ感受性陸稲 IAC-165 を用いてジブチ土壌のストライガ汚染状況を調査中である。ジブチの土壌をそのまま使用した試験では IAC-165 の生育が遅く、ストライガの有無を判断できなかった。そのため、現地で肥料を調達し、ジブチ土壌に施肥することで、IAC-165 の生育改善を試みている。

### 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した。未耕地である A1 試料と畑から採取した A2 試料を比較した場合、A1 に比べ A2 の方が炭素含有量は増えているにも関わらず、リン酸肥沃度は明らかに低下していた。これは、日本の土壌調査とまったく逆の結果である。この結果は、作物を栽培することでリン酸の吸収量が施肥量を大きく上回ることを示しており、このままの施肥ではリン酸肥沃度がどんどん下がり、収量が下がる可能性が考えられる。A2 では塩類の含有量が増加していることも示されており、畑地化により蒸散量が増えることが原因であると考えられる。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

橘および渡辺は、一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：島田彦彦教授) 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一昨年度、本学より特許を申請し（特願 2020-22999）、シアノバクテリア-酵母によるストリゴラクトン生産については今年度特許を申請した（特願 2021-164871）。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

シアノバクテリア単独でのストリゴラクトン生産は実現できていないが、シアノバクテリアと酵母を用いることによりストリゴラクトン生産に成功し、特許を出願した。今後、さらにデータを集め学術雑誌に論文としてまとめて発表する予定である。新型コロナウイルスの影響で本年度はジブチでの調査が進められなかったが、土壌の調査情勢を確認しながら進める必要がある。

## 10. 公表した成果一覧

### 学術論文

- 1) Bairagi N, Watanabe S, Nimura-Matsune K, Tanaka K, Tsurumaki T, Nakanishi S, Tanaka K. Conserved Two-Component Hik2-Rre1 Signalling is Activated Under Temperature Upshift and Plastoquinone-Reducing Conditions in the Cyanobacterium *Synechococcus elongatus* PCC 7942. *Plant Cell Physiol.* 15:63(2):176-188. 2021
- 2) Takahashi S, Okubo R, Kanesaki Y, Zhou B, Takaya K, Watanabe S, Tanaka K, Imamura S. Identification of Transcription Factors and the Regulatory Genes Involved in Triacylglycerol Accumulation in the Unicellular Red Alga *Cyanidioschyzon merolae*. *Plants (Basel).* 10(5):971.2021
- 3) Akanuma G, Kawamura F, Watanabe S, Watanabe M, Okawa F, Natori Y, Nanamiya H, Asai K, Chibazakura T, Yoshikawa H, Soma A, Hishida T, Kato-Yamada Y. Evolution of Ribosomal Protein S14 Demonstrated by the Reconstruction of Chimeric Ribosomes in *Bacillus subtilis*. *J Bacteriol.* 203(10):e00599-20.2021
- 4) Okazaki K, Watanabe S, Koike I, Kawada K, Ito S, Nakamura H, Asami T, Shimomura K, Umehara M. Strigolactone signaling inhibition increases adventitious shoot formation on internodal segments of ipecac. *Planta* 253(6):123. 2021
- 5) Tsai AY, Iwamoto Y, Tsumuraya Y, Oota M, Konishi T, Ito S, Kotake T, Ishikawa H, Sawa S. Root-knot nematode chemotaxis is positively regulated by L-galactose sidechains of mucilage carbohydrate rhmnogalacturonan-I. *Science Advances* 7(27):eabh4182. 2021
- 6) Kawada K, Sasaki Y, Asami T, Yajima S, Ito S. Insect growth regulators with hydrazide moiety inhibit strigolactone biosynthesis in rice. *J. Pestic. Sci.* 47(1):43-46. 2022

### 学会発表

- 1) 渡辺 智、シアノバクテリアの非典型的なゲノム構造と複製開始機構、日本遺伝学会第 93 回年会（東京・オンライン）
- 2) 山本圭一、荷村（松根）かおり、板谷光泰、朝井計、渡辺智、枯草菌細胞における広宿主域接合伝達ベクターの発現解析、日本遺伝学会第 93 回年会（東京・オンライン）

- 3) 神戸博江、吉川佳奈子、堀米心香、田中寛、渡辺智、真核紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* における自律複製配列の探索、日本遺伝学会第 93 回年会（東京・オンライン）
- 4) 渡辺智、前田海成、河野暢明、石崎楓佳、志波優、荒川和晴、荷村（松根）かおり、リシーケンスにより示された藍藻 *Synechocystis* sp. PCC 6803 実験室株のゲノム構造多様性、第 16 回日本ゲノム微生物学会年会（東京・オンライン）
- 5) 大串航世、末崎裕寛、荷村（松根）かおり、大林龍胆、渡辺智、藍藻 *Synechocystis* sp. PCC 6803 への *DnaA-oriC* システムの導入、第 16 回日本ゲノム微生物学会年会（東京・オンライン）
- 6) 坂巻裕、高市真一、梅野太輔、千葉櫻拓、伊藤晋作、渡辺智、シアノバクテリアー酵母を用いたストリゴラクトンの効率的生産プラットフォームの構築、日本農芸化学会 2022 年度大会（京都・オンライン）
- 7) 佐藤瑞穂、川口毅、前田海成、渡辺麻衣、成川礼、池内昌彦、渡辺智、シアノバクテリアの集光アンテナ色素改変による利用光波長の拡張、日本農芸化学会 2022 年度大会（京都・オンライン）

# 2021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	3,800,000

## 2. 研究組織

	氏名	所属（専攻）・職名	研究の役割
研究代表者	井上 順	応用生物科学部 農芸化学科・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	応用生物科学部 食品安全健康学科・教授	SFaN 類縁体の SREBP 活性抑制効果に対する定量的構造活性相関
	藤巻 貴宏	応用生物科学部 農芸化学科・助教	SFaN の定量と活性成分の構造決定
	鵜飼 亮伍	農学研究科 食品安全健康学専攻・博士課程1年	ブロッコリー抽出法の確立と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
	二瓶 遥	農学研究科 農芸化学専攻・博士前期課程1年	SREBP 活性を低下させるブロッコリー抽出物の <i>in vitro</i> 評価系を用いた選別と動物実験

## 3. 研究期間

2021年4月1日～2022年3月31日（3年計画の3年目）

## 4. 研究の背景（当初）

近年、食品成分の機能性を利用した製品が特定保健用食品（いわゆるトクホ）や機能性表示食品として開発・販売され、健康増進に寄与していることを背景として、国民の機能性食品への関心が高まっている。

研究代表者はこれまでに、新たな機能性をもつ食品成分の探索を目指し、抗メタボリックシンドローム作用を有する成分の同定を試みてきた。その結果、*in vitro* 評価系を用いた探索により、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。

SFaN は親電子物質として作用することで Keap1-Nrf2 経路を活性化し、抗酸化作用や抗がん作用を発揮することが知られているが、これまでに SREBP 活性制御に関する報告はなく、研究代表者は SFaN の新たな作用点を発見したといえる。また、SFaN 以外のイソチオシアネート類も SFaN と同様の SREBP 活性抑制作用を有することを見出していることから、ブロッコリーに含まれる SFaN 類縁体に同様の作用を有する化合物の存在が期待される。

## 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（花蕾、花茎、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 活性抑制能を有するブロッコリー品種・部位の選別

昨年度の選別には 29 品種のブロッコリーを用い、それぞれ花蕾、花茎、葉に分けて抽出し、合計 87 検体をサンプルとした。上位 12 検体に含まれる 9 品種（3 品種は花蕾と花茎が両方が含まれていた）を新しく栽培し、SREBP 活性抑制能について再現性を取得した。

### 2. SREBP 活性抑制能を有する成分の同定

これまでの検討から、ブロッコリー抽出物には、スルフォラファン以外にも SREBP 活性抑制能を有する成分が存在することを明らかにした。特に品種番号 27 花茎の抽出物はスルフォラファン含量が低いにもかかわらず強い SREBP 活性抑制能を示すことから、この品種に着目して成分の同定を目指している。本年度は品種番号 27 を 100 株栽培し、現在抽出作業を行っている。

## 7. 研究成果

### 1. 高い SREBP 活性抑制能を有するブロッコリー品種・部位の選別

結果を図 1 に示した。品種番号 9 花茎は 2019 年および 2020 年栽培のいずれにおいても最も強い SREBP 活性抑制能を示した。品種番号 13 花茎は 2020 年栽培で 1 位にランクされた。これらの結果から、品種番号 9 花茎および品種番号 13 花茎を高い SREBP 活性抑制能を有する品種として選別した。

次に、選別した 2 品種（品種番号 9 および 13）をそれぞれ 100 株ずつ栽培し、現在抽出作業を行って

いる。

## 2. SREBP 活性抑制能を有する成分の同定

LC/MS の結果を用いて、レポーターアッセイの処理濃度 (0.1 mg/ml) での SFaN 濃度を算出し、SREBP 活性抑制能と SFaN の存在量の相関分析を行った(図 2)。また、SFaN の精製標品 (10, 30, 100  $\mu$ M) での SREBP 活性抑制能との比較を行った。

その結果、多くの検体で SFaN の存在量と SREBP 活性抑制能の強い相関が観察された。一方で、それらの活性を SFaN の精製標品と比較すると、SFaN の存在量から想定されるよりも高い活性が観察されたことから、ブロッコリー抽出物には SFaN 以外にも活性成分が含まれていると考えられる。特に品種番号 27 花茎の抽出物は、SFaN がほとんど存在しないにも関わらず強い抑制能を持っていた。

また、品種番号 9, 13, 27 花茎抽出物に含まれる化合物について、HPLC を用いて測定したところ、9 と 13 抽出物は類似の傾向を示す一方で、27 抽出物は特異的なパターンを示した (図 3)。現在、27 花茎サンプルを分画し、活性測定を行い、成分の同定を試みている。

図1. 品種・部位別のSREBP活性抑制能の順位

	2019年栽培 順位	2020年栽培 順位
9 花茎	1	1
24 花茎	2	3
26 花蕾	3	6
13 花茎	4	1
23 花蕾	4	4
26 花茎	6	5
25 花蕾	7	10
12 花茎	8	8
27 花茎	9	7
9 花蕾	10	10
13 花蕾	11	9
5 花茎	12	12

図2. SREBP活性抑制能とスルフォラファン存在量の相関解析

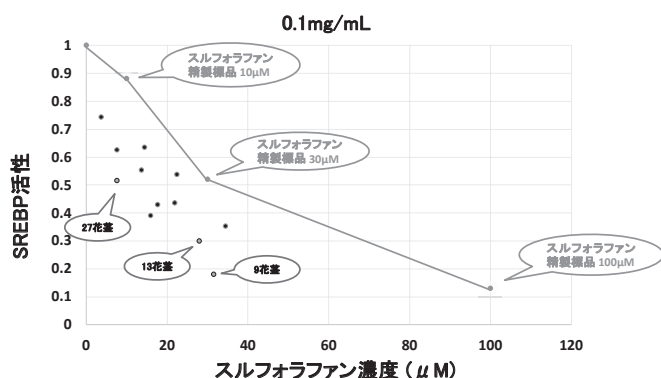
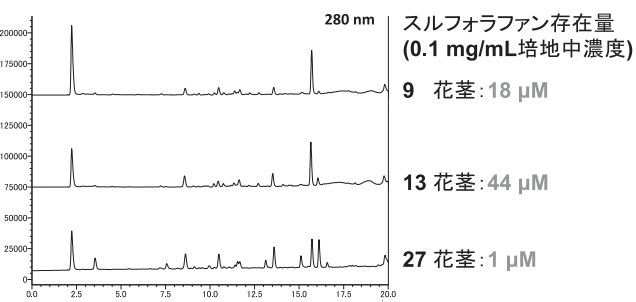


図3. 選別した品種由来抽出物のHPLCチャート(280nm)



## 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

- ・本研究により、SREBP 活性を抑制する成分を多く含むブロッコリー品種の選別を行った。
  - 当該品種に科学的根拠に基づいた価値を付与したことになる。
  - これまで一般にその機能性が知られているブロッコリースプラウトだけでなく、成体のブロッコリーにも効果があることが認知されることが期待される。
  - これまで廃棄されることの多かった茎部分の有用性を示したことになり、ブロッコリーの農産物としての価値を高めることにつながる。
- ・スルフォラファン以外の活性成分の存在を示し、現在同定を目指している。
  - ブロッコリーの新たな機能性を示すことにつながる。

→ ブロッコリーに含まれる新たな機能性成分として研究対象となることが想定される。  
→ 培養細胞を用いた作用機序の解明により、これまで明らかになっていなかった標的因子の同定につなげていきたい。

・ブロッコリーは秋作のため収穫が12月～1月になり、課題期間の終了までに動物試験を終えることが出来なかった。本課題は本年で終了するが、外部資金を獲得し、今後も引き続き検討を行っていききたい。また、ブロッコリー抽出物に含まれる SFaN 以外の活性成分の同定は、ブロッコリーの機能性研究に新たな課題を提案することにつながることを期待され、応用面・学術面の両方に貢献できる可能性を秘めている。

## 10. 公表した成果一覧

### 学術論文

- 1) Miyata S, Kodaka M, Kikuchi A, Matsunaga Y, Shoji K, Kuan Y-C, Iwase M, Takeda K, Katsuta R, Ishigami K, Matsumoto Y, Suzuki T, Yamamoto Y, \*Sato R, and \*Inoue J. (2022) Sulforaphane suppresses the activity of sterol regulatory element-binding proteins (SREBPs) by promoting SREBP precursor degradation. *Sci Rep* 12:8715.

### 学会発表

- 1) 二瓶 遥、兼行 紗矢、箕浦 花菜子、小高 愛未、藤巻 貴宏、鈴木 司、山本 祐司、井上 順  
＜ブロッコリー抽出物の SREBP 活性抑制能の解析＞  
第75回日本栄養・食糧学会大会／東京（Web） 2021年7月
- 2) 小高 愛未、鈴木 司、山本 祐司、井上 順  
＜スルフォラファンによってユビキチン化される新規タンパク質の探索＞  
第75回日本栄養・食糧学会大会／東京（Web） 2021年7月
- 3) 小高 愛未、川上 優花、吉良 早由里、松本 雄宇、鈴木 司、山本 祐司、井上 順  
＜スルフォラファンが腸内細菌叢に及ぼす影響と肥満抑制効果の解析＞  
日本農芸化学会 2022年度大会／京都（Web） 2022年3月



# 2021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

生物生産学 専攻

研究代表者 和田 健太

## 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
日本ブランドエミューの創出を目指した遺伝・繁殖・栄養学的研究	2,700,000

## 2. 研究組織

	氏名	所属（専攻）・職名	研究の役割
研究代表者	和田 健太	生物産業学研究科 生物生産学専攻・教授	研究総括・遺伝学
研究分担者	平山 博樹	生物産業学研究科 生物生産学専攻・教授	繁殖学：精管由来および射出精液の凍結保存・人工授精法の確立
	相馬 幸作	生物産業学研究科 生物生産学専攻・教授	栄養学：機能性自給飼料の栄養学的評価
	大久保 倫子	生物産業学研究科 北方圏農学科・助教	栄養学：機能性自給飼料の屠畜形質における効果
	輿石 雄一	生物産業学研究科 生物産業学専攻・博士後期課程3年	生産形質と関連する遺伝子多型の同定・NGS解析に基づくSNPマーカーの開発
	落合 弘光	生物産業学研究科 生物生産学専攻・博士前期課程2年	生産形質と関連する遺伝子の機能解析
	高橋 諒	生物産業学研究科 生物生産学専攻・博士前期課程2年	日本国内におけるエミューの遺伝資源の探索
	目黒 国光	生物産業学研究科 生物生産学専攻・博士前期課程1年	採精時期および凍結保護剤の違いが融解後の精子生存性に及ぼす影響

## 3. 研究期間

2021年4月1日～2022年3月31日（3年計画の2年目）

## 4. 研究の背景（当初）

エミューは食肉、卵およびオイルを生産する新規有用動物資源として注目されている。このため、我が国で唯一、エミューを大規模に研究できる本学オホーツクキャンパスは、産・学・官の連携により、エミューを活用した新規産業の創出による網走市の活性化を目指している。しかしながら、エミューの生産物を効率的に供給できるシステムは構築されていない。その原因は、エミューが現存家畜と異なり、遺伝的に未改良の状態で飼育されていること、寒冷地に適した飼料が開発されていないのに加えて、世界的な飼料高騰のために牧場経営が逼迫されていることである。

## 5. 研究目的

エミューは新規有用動物資源として注目されているものの、エミューの生産物を効率的に供給できるシステムは構築されていない。本研究の目的は、エミューの遺伝子多型情報の応用と人工授精の開発による育種改良の基盤を形成すること、地場産の規格外野菜などの未利用資源を活用したエミューの機能性生産物を開発することである。前年度までに我々は、99種のSNPsマーカーの候補を選出し、SCD多型が脂肪酸組成に関連することを見出し、エミュー特異的な転写産物が存在することを明らかにした。加えて、精子活性を測定するシステムの開発、ならびに射出精液の回収に成功し、凍結保護剤の濃度が精子の生存性に影響することを明らかにした。さらに、高栄養価およびビタミンA誘導体を含むことが期待される自給飼料の開発に成功し、それらを給餌したエミュー脂肪中のリノレン酸含有率は有意に高いことを示した。本年度は、SNPsマーカーの開発とその評価、生産形質に関連する遺伝子多型のさらなる探索、ならびに人工授精法の確立を目指し、本研究により開発された新たな自給飼料による生産物へのビタミンA誘導体の移行を検証する。

## 6. 研究（実験）方法

### ①遺伝学：遺伝マーカーの開発と、遺伝子多型を利用したマーカーアシスト選抜への応用

#### 1) 新規 SNP マーカーの開発

申請者らは前年度までに、100個体のエミューを対象としたRAD-seq解析によって、10,000か所を超えるSNPsを同定している。従って、2021年度はこれらSNPsを対象としたマーカー開発を試みた。SNPマーカーの選抜は約10,000か所から、100個体のエミューにおいてアレル頻度が0.45-0.55、かつ同一のscaffoldのSNPsを除き、形質と関連するものを選抜した。その結果、13箇所のSNPsは有意に生産形質と関連することを確認した。次に、選抜されたSNPsの前後500-bpを抽出し、Primer3ウェブツールを用いてPCRプライマーを設計した。本年度におけるSNPの多型性は、これらのプライマーにより増幅されたPCR産物のダイレクトシーケンシングにより検証した。

#### 2) 国内エミュー集団の系統遺伝学的研究

これまでの網走、東北および基山 (Koshiishi et al. 2020. *Mol Biol Rep*; Koshiishi et al. 2020. *J Vet Med Sci*)に加えて、山口県蓋井島（蓋井）、静岡県富士花鳥園（富士）および掛川花鳥園（掛川）のそれぞれ10、25および14個体から羽軸を採取した。フラグメント解析によるジェノタイプリングは、我々が以前の研究において開発した10種のマイクロサテライトマーカーを対象として行った。ミトコンドリアDNA解析は約6-kbを増幅するLA-PCRおよびD-loop領域における707-bpのDNAシーケンシングにより行った。

### 3) 産脂肪形質に関連する遺伝子多型の検索

生産形質は 210 個体の網走産エミューの体重、脂肪量および産肉重量のデータを使用した。ゲノム DNA は、これら個体の肝臓から ISOGENOME を用いて抽出した。PLINI の SNP ジェノタイプピングは、エキソン 3 を増幅させるプライマーセットを用いて PCR を行い、DNA シークエンシングにより実施した。統計解析は、一元配置分散分析により行った。

### 4) 生産形質と関連する遺伝子の機能解析

前年度は、RNA-seq 解析によって検出された他種生物にホモログが存在しない転写産物 (Non-annotated Emu Lipid's Transcripts; NELTs) の一つ、NELT1 において RACE-PCR による完全長 cDNA 配列を決定した。本年度は、その cDNA 配列をもとにアミノ酸配列を推定し、その一部をウサギに免疫して抗 NELT1 ポリクローナル抗体を作製した。抗 NELT1 ポリクローナル抗体は脂肪組織における免疫組織染色に用い、その局在を推定した。加えて、DsRed-NELT1 融合タンパク質を発現するコンストラクトを HEK293T にトランスフェクションし、培養細胞内における NELT1 の局在を調べた。

## ② 繁殖学：屠畜個体から回収した精子を用いた人工授精による優良個体の増殖

凍結精液作製方法の検討を目的に、繁殖期を通した射出精液の採取および精液性状の調査を行った。採取した精液は、7.5%および 18%メチルアセトアミド (MA) を耐凍剤とした急速ストロー法によって凍結保存した。新鮮精液および凍結融解精液の生存精子率および先体膜正常率は PIPNA 染色法を用いて評価した。凍結融解前後の精子運動性は、コンピューター精子運動性解析 (CASA) システムを用いて評価した。

## 7. 研究成果

### ① 遺伝学：遺伝マーカーの開発と、遺伝子多型を利用したマーカーアシスト選抜への応用

#### 1) 新規 SNP マーカーの開発

前年度、RAD-seq により同定された 16,960 箇所 の SNPs のうち、100 個体におけるアレル頻度が 0.45-0.55 であったものは 167 SNPs であった。次に 167 のうち、同一の scaffold に存在するものを除いた結果、99 SNPs が抽出された。これらの SNPs はエミュー集団においてアレル頻度に偏りなく、連鎖関係にある可能性が低い有用な多型マーカーとなることが期待された。そのうち、13 SNPs は脂肪重量に有意に関連することが示唆された。本年度は、それら 13 SNPs について、サンガー法による DNA シークエンシングにより検証を行った。その結果、13 のうち 11 種は PCR 増幅および DNA シークエンシングが可能であった。しかし、RAD-seq により検出された SNP の位置とは一致せず、さらに 8 個体のエミューにおいて多型が認められたものは、5 種に留まった。そのため、今後は他の SNPs について網羅的なスクリーニングを進める。

#### 2) 国内エミュー集団の系統遺伝学的研究 (Koshiishi et al. *Anim Sci J*, Under review)

これまで我々は、本研究により開発したマイクロサテライトマーカーと、ミトコンドリア DNA (mtDNA) 多型に基づいて網走、東北および基山のエミュー集団の系統遺伝学的解析を行ってきた (Koshiishi et al. 2020. *Mol Biol Rep*; Koshiishi et al. 2020. *J Vet Med Sci*)。本年度はそれに加えて、静岡県の富士花鳥園、掛川花鳥園、および山口県蓋井島の集団を含めて再度の解析を行った。

#### D) マイクロサテライト解析：

網走、東北、基山、蓋井、富士および掛川の6集団におけるヘテロ接合率の期待値および実測値 ( $H_E/H_O$ ) は、それぞれ 0.58/0.44、0.62/0.44、0.64/0.55、0.57/0.59、0.60/0.55、および 0.53/0.52 であった。以上の結果から、基山の集団は最も高いヘテロ接合率を示した。一方、 $F_{IS}$  は、網走、東北、基山、蓋井、富士および掛川において、それぞれ 0.24、0.30、0.13、-0.04、0.09、および 0.02 であり、解析個体数が少ない蓋井を除いて正の値を示した。この結果は、日本の主要なエミュー集団のほとんどが近交化の傾向にあることを示唆した。次に、遺伝子頻度に基づいて集団間の遺伝的関係を推定した。その結果、集団間の  $F_{ST}/D_A$  は 0.02/0.07 (掛川-富士) ~0.17/0.29 (東北-掛川) であった。アレル共有度 (ASD) に基づいて作成した系統樹は、日本の主要な集団が網走・基山・蓋井集団、富士・掛川、東北の3つのグループに分かれることを示唆した。その中で、富士・掛川および東北はそれぞれ網走・基山・蓋井とは大きく分岐した。また、STRUCTURE 解析は東北、富士・掛川が他の集団とは明確に異なる遺伝的組成であることを示した。

## II)mtDNA 解析：

網走、東北、基山、蓋井、富士および掛川の6集団において、本研究は a-d の4種の mtDNA ハプロタイプを検出した。そのうち、網走、東北および基山集団では a ハプロタイプがそれぞれ 84.4%、68.4% および 79.3% と大部分を占めた。しかし、東北は網走および基山でほとんど検出されない c ハプロタイプが 31.6% と比較的高頻度に検出された。また、蓋井はハプロタイプ a および b の割合がそれぞれ 40.0% および 60.0% であった。一方、富士および掛川のハプロタイプ組成は多様であり、b、c および d ハプロタイプはそれぞれ富士で 36.0%、20.0% および 40.0% であり、掛川でそれぞれ 69.2%、23.1% および 7.7% であった。東北、富士および掛川において検出された c ハプロタイプ、ならびに富士および掛川にのみ検出された d ハプロタイプは、オーストラリアにおいて低頻度に検出され、我が国におけるこれら集団は、希少なハプロタイプを保有することが明らかとなった。

以上の系統遺伝学的解析は、日本におけるエミュー集団が異なる遺伝的組成を有することを示唆し、ほとんどの集団においてみられた遺伝的多様性の減少は、これらの間の遺伝的交流を進めることにより防止することが可能であると推測された。

## 3) 産脂肪形質に関連する遺伝子多型の検索

前年度、RNA-seq において検出された脂肪組織高発現遺伝子および脂質合成に関与する遺伝子のうち、Fatty acid binding protein (*FABP*)、Retinoid binding protein 7 (*RBP7*)、Perilipin 1 (*PLIN1*)、Mid1 interacting protein 1 (*MID1P1*)、Stearoyl CoA desaturase (*SCD*)、Peroxisome proliferator activated receptor  $\gamma$  (*PPARG*)、CCAAT/enhancer binding protein  $\alpha, \beta, \delta$  (*C/EBP $\alpha, \beta, \delta$* ) および Sterol regulatory element binding protein (*SREBP1*) の計 10 種類について cDNA シークエンシングを行い、遺伝子多型を検索した。その結果、アミノ酸配列の置換を伴う多型の存在を *PLIN1* (p.Asn87Ser および p.Lys196Met) および *SCD* (p.Leu89Phe) において確認した。本年度は、*PLIN1* 多型と産脂肪形質との関連を検証した。210 個体において *PLIN1* のエキソン 3 をジェノタイプングした結果、c.260G>A における遺伝子型頻度は、AA 型、AC 型および CC 型でそれぞれ 0.96 (66 個体)、0.01 (1 個体) および 0.03 (2 個体) であり、著しい偏りが観察された。一方、c.270C>T の遺伝子型頻度は TT 型、TC 型および CC 型でそれぞれ 0.45 (93 個体)、0.42 (88 個体) および 0.13 (27 個体) であった。従って、屠体形質との関連解析は c.270C>T の SNP において実施した。また、この SNP はハーディー-ワインベルグ平衡から有意に逸脱した ( $P < 0.05$ )。このことは、*PLIN1* 多型が中立変異でなく、何らかの選択圧が存在することを示唆した。関連解析の結果、*PLIN1* の c.270C>T は体重に遺伝子型間の有意な差異は認められなかった。一方、体重 1 kg あたりの脂肪重量は、

TT型に比べてCC型において有意差に高い値が認められた ( $P<0.05$ )。それとは逆に、体重1kgあたりの産肉重量はTT型に比べて、CC型に有意な低い値が観察された ( $P<0.05$ )。さらに、雌雄別に同様の解析を行った結果、雄の体重1kgあたりの脂肪重量、体重1kgあたりの産肉重量の双方においてTC型およびCC型間に有意に差異が認められ、脂肪重量はTC型が低い値を、産肉重量はCC型が低い値を示した ( $P<0.05$ )。以上の結果は、*PLINI* 遺伝子多型が *SCD* に加えて、エミューの産脂肪形質に関与することを示唆しており、本 SNP はそれを標的としたマーカーアシスト選抜に有用となることが期待された。

#### 4) 生産形質と関連する遺伝子の機能解析

前年度、我々は *NELTs* の組織特異性を検証するために、エミューの脂肪組織をはじめとして脳、肺、腎臓、肝臓および生殖器等に由来する cDNA を用いた RT-PCR 解析を行った。その結果、*NELTs* は脂肪組織だけでなく、様々な組織において mRNA の発現が確認された。特に *NELT2*、*NELT3* および *NELT5* は供試したすべての組織においてバンドが検出された。RACE-PCR によって *NELT1* の完全長 cDNA 配列を決定した結果、*NELT1* の CDS は 309-bp であり、5'UTR および 3'UTR はそれぞれ 451-bp および 408-bp であった。加えて、決定された 5'UTR を対象として TFBIND(<http://tfbind.hgc.jp/>)による *NELT1* のシス配列を探索した結果、興味深いことに脂肪酸の合成に機能する複数の転写因子の結合モチーフが検出された。

本年度は、*NELT1* 特異抗体を作製し、脂肪組織における免疫組織化学的解析に用いた。その結果、*NELT1* は脂肪細胞の細胞膜周辺に局在した。しかし、成熟脂肪細胞は脂肪滴によりオルガネラが細胞膜周辺に偏って存在するため、次に *NELT1* 強制発現細胞において、その局在を調べた。その結果、DsRed-*NELT1* は HEK293T 細胞において細胞質に検出された。以上の結果は、*NELT1* が脂肪細胞において細胞質に局在し、何らかの機能を有することを示唆した。

#### ②繁殖学：屠畜個体から回収した精子を用いた人工授精による優良個体の増殖

エミューの平均射出精液量は  $0.74\pm 0.42$  ml、平均精子濃度は  $32.0\pm 23.6$  億個/ml、平均総精子数は  $17.2\pm 7.5$  億個であった。この値は、オーストラリアで飼育されるエミューの報告とよく一致した (Sood et al. 2011)。凍結融解後の精子生存率および先体膜正常率は、新鮮精子に比較して有意に低下した。精子生存率および先体膜正常率は、いずれも 7.5%MA に比較して 18%MA で高い傾向を示したが、MA 濃度間に有意差は認められなかった。射出精液の平均運動精子率および平均前進運動精子率は、それぞれ  $23.5\pm 11.5\%$  および  $13.3\pm 12.2\%$  であり、既報 (Sood et al., 2012) の運動精子率 ( $70.8\pm 2.9\%$ ) に比較して低い値を示した。凍結融解精子の運動精子率および前進運動精子率は、メチルアセトアミド濃度に関わらず有意に低下したが、新鮮時の精子運動性が低いことが要因である可能性が考えられた。現在のところ、2021年度の運動精子率 ( $35.9\pm 10.6\%$ ) は、2020年度の運動精子率 ( $18.2\pm 7.2\%$ ) に対して有意に高い値を示している。エミューの繁殖期は12月から3月の冬期間であるため、2021年度の調査を継続して精子運動性の年度間差を調査するとともに、新鮮精子の運動性が凍結融解後の精子運動性に及ぼす影響を解析する。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

現時点ではないが、本年度に明らかとなった国内エミュー集団における遺伝的構造の差異は、それらの遺伝的交流による遺伝的多様性の拡大において足掛かりとなる情報となることが期待できた。加えて、*PLINI* 多型にみられた産脂肪形質との関連は、それを標的としたマーカーアシスト選抜に応用可能であ

ると考える。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

予想外にも、RAD-seqにより検出された SNPs とサンガーによる結果には相違がみられた。しかし、解読された DNA 断片のいくつかに RAD-seq とは異なる多型が検出されたため、今後は 13 種類以外の SNPs についてサンガー法による大規模な多型検索を進める。

エミューの *PLINI* は対象としたエキソン 3 に加えて、エキソン 5 においても非同義置換を保有する。今後は、この SNP を対象として、産脂肪形質との関連を明らかにしたい。また、*PLINI* の遺伝子発現量を脂肪生産の高低群間および遺伝子型間において比較し、その発現量と形質との関連についても明らかにしたい。

*NELTs* について、本年度は主に *NELT1* の細胞内における局在について取り組んだ。しかし、他の *NELTs* においては全長 cDNA 配列が不明のままである。そこで、次年度はそれら *NELTs* を対象とした RACE-PCR により全長 cDNA 配列を明らかにし、発現コンストラクトの構築を行う。また、本年度は脂肪組織のパラフィン包埋切片およびヒト培養細胞における *NELT1* の局在を調べた。パラフィン包埋組織切片は抗原性の保持に乏しく、ヒト培養細胞は鳥類細胞との相違があることも予測される。そこで次年度は、脂肪組織の凍結切片における免疫組織染色を行うとともに、ニワトリ株化細胞、ニワトリおよびエミュー脂肪の初代培養細胞を用いて *NELT1* の細胞内における局在を検証したい。また、それに成功した場合は、過剰発現細胞およびノックダウン細胞間における表現型および遺伝子発現解析について取り組みたい。

人工授精法の確立については、本年度は採精した個体が少なかった。エミューの繁殖期は 3 月まで継続するため、引き続き採精してその性状について解析を進める。現在は繁殖期間に屠畜された個体の精管由来灌流精液について解析中である。また、本年度は麻酔法の開発およびニンジンサイレージの給餌効果を担当する大久保助教が産休・育休のために、研究を進めることができなかった。次年度は、ケタミンを用いた麻酔法の不動化への有効性を検証する。これに成功した場合は、屠畜個体および生個体から採取した新鮮および凍結精液を用いた人工授精を試みるとともに、ニンジンサイレージの給餌が生産物（飼料は調整済み、生産物は既に回収済みであるものの未分析）に及ぼす影響を検証したい。

## 10. 公表した成果一覧

### 学術論文

- 1) [Koshiishi Y](#), [Okubo MM](#), Nakajyo H, Machida R, Yamamoto T, Myoda T, Kameyama Y, [Hirayama H](#), [Souma K](#), Yokohama M, [Wada K](#). 2022. Carcass traits and fat quality of breeding emu (*Dromaius novaehollandiae*) in northern Japan. *Poult Sci*. 101: 102050.

### 学会発表

- 1) [目黒国光](#)・[奥石雄一](#)・山沢文也・鈴木美玲・藤井貴志・[大久保 倫子](#)・[相馬幸作](#)・[和田健太](#)・[平山博樹](#). 北海道網走市で飼養されるエミュー(*Dromaius novaehollandiae*)の造精能力解析凍結精液作製の試み. 第 114 回日本繁殖生物学会大会. 2021 年 9 月. 京都 (web 開催).
- 2) [奥石雄一](#)・[大久保 倫子](#)・[相馬幸作](#)・下井 岳・[亀山祐一](#)・[平山博樹](#)・[和田健太](#). エミュー脂肪組織における新規遺伝子、*NELT1*. 第 44 回日本分子生物学会. 2021 年 12 月. 横浜.

講演

- 1) 和田健太. 東京農大オホーツクキャンパス エミュー研究の今. エミュー座談会 in 九州. 2022 年 1 月. 熊本県菊池市. (<https://www.city.kikuchi.lg.jp/q/aview/358/27804.html>).
- 2) 相馬幸作. 東京農大オホーツクキャンパス エミュー研究の歴史. エミュー座談会 in 九州. 2022 年 1 月. 熊本県菊池市. (<https://www.city.kikuchi.lg.jp/q/aview/358/27804.html>).

# 2021年度 東京農業大学 農生命科学研究所プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 四井 いずみ

## 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
miRNA に着目した高機能性トマトの開発	1,000,000

## 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	四井いずみ	生命科学部 バイオサイエンス学 科・助教	miRNA の解析
研究分担者	山本 祐司	応用生物科学部 農芸化学科・教授	植物 miRNA の動物細胞への取 り込み実験
	伊澤かんな	生命科学部 バイオサイエンス学 科・准教授	トマトゲノム編集技術支援
	太治 輝昭	生命科学部 バイオサイエンス学 科・教授	トマト形質転換技術支援

## 3. 研究期間

2021年4月1日～2022年3月31日（3年計画の2年目）

## 4. 研究の背景（当初）

近年、植物由来の miRNA が摂取を介して人間の血中に残存し、ヒトの遺伝子発現および関連するネットワークを変化させ、その生体機能に対して正負の影響を与える可能性を示す研究例が報告されつつある。食品由来の植物 miRNA が人間の生体機能に作用することを明らかにすることができれば、ゲノム編集を通じて、miRNA に着目した新規機能性を付与した作物を育種し、ガンや生活習慣病等の予防・治療、アンチエイジング等、ヒトの生体機能向上に向けた新たなアプローチが可能となる。

これまでの研究報告では、血中に、ヒト遺伝子を標的とし得る植物 miRNA がヒト由来の miRNA と同等レベルの量で存在することは明確に示されているが、これら植物由来の miRNA が実際にヒトの遺伝子発現に作用し、ヒトの生体機能に変化を与えうるのか、またその場合どのような効果が現れるのか、など、未だにこれから明らかにすべき点が多く残されている。さらに、食品として摂取された miRNA がどのようにヒト消化器官の酸性環境、消化作用からその構造や機能を維持しているのかということも十分に解明されていない。



## 5. 研究目的

本研究は以下の点について解析を進める。

- 1) トマト果実から単離した miRNA をマウスに食餌由来、あるいは消化系への直接投与により摂取させ、血中に現れる miRNA の網羅的解析を行い、どのようなトマト miRNA がヒトへの機能性（正負を含む）を有する可能性があるのかを調査する。また、マウス遺伝子を標的とする人工 miRNA を合成し、人工マイクロソームに封入し、上記と同様の方法で投与し、標的マウス遺伝子の発現変化を調査することで、食餌由来の miRNA の機能性を評価する。
- 2) 上記において可能性が示されたトマト miRNA の発現を変化させたゲノム編集トマトの作出を試みる。同時に、これら miRNA の発現に影響を与える環境要因（温度、光質、栄養条件等）を特定し、機能性を高めたトマトの栽培方法の確立を試みる。

## 6. 研究（実験）方法

### トマト miRNA の機能性評価

1. 本プロジェクトはロシア海外協定校である極東連邦大学（FEFU）との国際共同研究プロジェクトとして進めている。FEFU 側はヒトの健康に影響を与えうる miRNA の解析を担当し、その結果に基づいて農大側でそれらをゲノム編集で改変、もしくは通常の形質転換により過剰発現させた Micro-Tom を作出する予定であった。解析担当者が惜しくも一昨年 12 月に逝去されていることが明らかとなったため、本プロジェクトの前提であるトマト miRNA の人における標的遺伝子解析を担当できる研究者を新たに検討し、機能性 miRNA の探索を行う。
2. イネの種子（可食部）で高蓄積している miR168a が血中の脂質代謝に関わる遺伝子の発現制御の関わるものがこれまでに報告されている。1) においてヒトの健康に影響を与えうる miRNA の解析が遂行できない場合はマイクロトムの成熟果実で蓄積量が多い miRNA を探索する。まずは果実由来の miRNA の網羅解析結果について文献検索する。文献情報が乏しい場合は RNAseq 解析により果実で高蓄積している miRNA を探索する。その後、トマト高蓄積 miRNA の中からヒトにおけるターゲット遺伝子候補を miRDB によるデータベース検索により、遺伝子の絞り込みを行う。
3. miRNA の選定後は、植物 miRNA の動物細胞への取り込みを検証する。農芸化学科の山本祐司教授の協力のもと、まずは培養細胞を用いて取り込み実験を行なう。

### ゲノム編集および栽培条件による高機能性トマトの作出の試み

4. これまで、トマトの形質転換（遺伝子導入）およびゲノム編集に関わる研究報告がなされているものの、本研究室においては、過去に試みたものの、形質転換そのものが成功していない。そこで、トマトの形質転換およびゲノム編集の世界的な権威である筑波大学の江面研究室でポストドク経験のある伊澤准教授の技術協力のもと、モデルトマトで栽培スペースが節約できる矮性トマト Micro Tom を用いて、東京農大におけるトマトゲノム編集技術を確立する。その上で、人の機能性に関わる miRNA のゲノム編集を行い、高機能性トマトの作出を試みる。上述の機能性 miRNA の探索と並行してトマト形質転換技術のトマトの形質転換およびゲノム編集技術の確立に注力する。
5. ゲノム編集と並行して、遺伝子操作を経ないで、栽培条件を通じて、高機能性トマトの作出を試みる。トマト果実における低分子 RNA の蓄積量が成熟に伴い減少する傾向にあることを昨年度見出ししている。miRNA の発現に影響を与え得る栽培条件を、温度、光の質、栄養分に絞って変化させ、

その影響を調査する。このため、温度や光をコントロールしやすい、水耕栽培と LED を用いた栽培方式をとる。これまでの当研究室の研究で、耐熱性を付与した遺伝子組み換えトマトが作出されている。このトマトを用いることで、実験的にトマトを高温に暴露した際に、ダメージを受けにくいことが想定される。

## 7. 研究成果

6. 研究方法の内、これまでに実施した 6-1、-2、-4 について報告する。

研究方法 6-1 におけるトマト miRNA の人における標的遺伝子解析を担当できる研究者は未だ見つけられていない。そこで研究方法 6-2 において、TOMATO FUNCTIONAL GENOMICS DATABASE ([http://ted.bti.cornell.edu/cgi-bin/TFGD/sRNA/miRNA\\_list.cgi](http://ted.bti.cornell.edu/cgi-bin/TFGD/sRNA/miRNA_list.cgi)) および miRBase (<https://www.mirbase.org>) を用いて Micro-Tom の成熟果実で蓄積量が多い miRNA を探索した結果、miR164a および miR166b を同定し、これらの ssRNA 及びネガティブコントロールとして逆鎖の ssRNA を人工合成した。

本年度は 6-4 の Micro-Tom 形質転換系の確立および次世代育種センターでの Micro-Tom 水耕栽培の条件検討ならびに水耕栽培した Micro-Tom における miRNA 解析に注力した。

トマトの形質転換（遺伝子導入）およびゲノム編集に関わる研究報告がなされているものの、本研究室においては、過去に試みたものの形質転換そのものが成功していない。形質転換体を効率的に得るためにはカルスからの個体の再生が高効率で起こることが必須である。目的遺伝子である miR164a および miR166b のアグロバクテリウムを介した導入前にカルスからの個体再生の条件検討を行った。その結果、Micro-Tom の子葉に由来する組織からカルスを誘導し、36 のカルスから 32 個体について shoot 誘導に成功した。さらにその内、24 個体においては root 誘導にも成功し、高効率で個体再生する条件を確立することに成功した。植物種ごとに使用されるアグロバクテリウムのストレインは様々である。そこで本研究室における形質転換に最適のアグロバクテリウムの検討を行うために、C58C1、GV2260、EHA105、AGL-1 の 4 種類のストレインを用いて GFP 蛍光を指標に形質転換の有無を確かめることとした。結果として、感染後の選抜培地上で白色化もしくは褐変し形質転換体の獲得には至らなかった。

今年度から次世代育種センターを使用することが可能になったので、10 月からセンターでの Micro-Tom の水耕栽培条件の検討を行った。センターに設置してあるドームは薄型プラスチック板で構成され、また小型であるため開閉時の温度変動が大きい。そこで冷暖房の温度設定を 26 度から 30 度とやや高めに設定し室内温度が 25 度程度になるようにした。水耕培養棚は 3 段から成り全ての棚を水耕液が循環する構造である。中段、下段は LED ライトによる照度と照射時間の調節が可能であり、上段は自然光での培養が可能である。研究室内の培養ユニットで 1 ヶ月程度土植えした苗を LED 水耕栽培した結果、研究室内ユニットでの成長と比較すると遅く、葉が展開せず縮れる傾向があった。また着果率も低かった。生育条件については季節ごとの温度、照度条件について今後検討していく必要がある。

次にドームで水耕栽培した植物体から果実を生育段階に分けてサンプリングし、RNA 抽出、small RNA の分画を経て 6-2 で同定した miR166b の発現を qRT-PCR により解析した。内部標準としては U6 遺伝子を用いたが、U6 遺伝子は成熟するにつれ発現量が高くなり変動性があることが示された。そのため miR166b を定量することは出来なかったが、等量の small RNA を逆転写して合成した cDNA を用いた qRT-PCR により得られた miR166b 遺伝子の Cq 値が葉と成熟段階ごとの果実でほぼ同様であった。そのことから成熟過程を通して高発現していることが考えられた。今後、small RNA の内部標準遺伝子として適したものを探索・発現の安定性を確認することで miR164a および miR166b の成熟過程での発現量の定量をする予定である。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

なし

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

Micro-Tom で高蓄積する miR164a および miR166b を同定したが、実際の動物細胞への取り込み試験には至らなかった。今後は、ヒトの生体機能向上を評価する指標として脂質代謝やインスリン抵抗性に関わる遺伝子の発現調節にこれら miRNA が関わるかを動物細胞の取り込み実験により明らかにしていく。

今年度、形質転換系の確立のために注力したが、結果として形質転換体を得ることは出来なかった。植物の形質転換は、植物病原菌の一種であるアグロバクテリウムを改変、無病化し、植物へ接種して利用するのが一般的である。その際に植物ホルモンのエチレンや低分子アミノ酸の一種である  $\gamma$  アミノ酪酸 (GABA) などの病害菌抵抗物質が合成され、形質転換を妨げることが知られている。実際にアグロバクテリウム感染させた組織が選抜培地上で褐変化していることから植物の免疫応答が活性化していることが考えられた。近年報告されたエチレンの前駆物質や GABA の分解活性を持たせたスーパーアグロバクテリウムを来年度は使用し形質転換体の獲得を目指す。また、形質転換実験方法の見直しのため、トマトの形質転換およびゲノム編集の世界的な権威である筑波大学の江面研究室にて形質転換技術を学びに行く計画である。

## 10. 公表した成果一覧

学術論文

- 1) Fukuda N. et al. *ECERIFERUM 10* Encoding an Enoyl-CoA Reductase Plays a Crucial Role in Osmotolerance and Cuticular Wax Loading in Arabidopsis. *Front. Plant Sci.*, 23;13:898317 (2022)
- 2) Kajino T. et al. *KLU/CYP78A5*, a cytochrome P450 monooxygenase identified via FOX hunting, contributes to cuticle biosynthesis and improves various abiotic stress tolerances. *Front. Plant Sci.*, 23;13:904121 (2022)
- 3) Uchida, K. et al. MAP kinase phosphatase 1 promotes osmotolerance in Arabidopsis by suppressing PAD4-independent immunity. *Plant Physiol.* 189(2): 1128-1138 (2022).
- 4) Tsukimoto, R. et al. Mitochondrial fission complex is required for long-term heat tolerance of Arabidopsis. *Plant and Cell Physiology* 63(3): 296-304 (2022)
- 5) Toriyama, T. et al. Sensor histidine kinases mediate ABA and osmostress signaling in the moss *Physcomitrium patens*. *Current Biology* 32:1 164-175 (2022).
- 6) Islam, M. et al. Activation of SnRK2 by Raf-like kinase ARK represents a primary mechanism of ABA and abiotic stress responses. *Plant Physiol.* 185, 533-546 (2021).
- 7) Ono, M. et al. *CATALASE2* plays a crucial role in long-term heat tolerance of Arabidopsis thaliana. *Biochem Biophys Res Commun* 534, 747-751 (2020).
- 8) Isono, K. et al. An ER-Golgi Tethering Factor SLOH4/MIP3 Is Involved in Long-term Heat Tolerance of Arabidopsis. *Plant Cell Physiol* (2020).
- 9) Katsuta S. et al. Arabidopsis Raf-like Kinases Act as Positive Regulators of Subclass III SnRK2 in Osmostress Signaling. *Plant J.* 103(2): 634-644.

# 2021年度 東京農業大学 農生命科学研究所プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 山本 祐司

## 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
農大和牛の作成と肥育を介した新しい農大ブランドの作成	800,000

## 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	山本 祐司	応用生物科学部 農芸化学科・教授	研究総括
研究分担者	岩田 尚孝	農学部 動物科学科・教授	農大和牛作成、育成全般
	堀田 和彦	国際食料情報学部 食料環境経済学科・教授	和牛販売など助言

## 3. 研究期間

2021年4月1日～2022年3月31日（1年目）

## 4. 研究の背景（当初）

大学発のブランド農産物の生産は大学の知名度を上げるだけでなく生産に関わる学生に生産から販売までの実学を体験させる良い機会になる。農大では広大な草地を持つ牧場を持っており牧草による牛の飼養が可能である。日本では脂肪交雑の特徴がある黒毛和種の生産が主であるが、粗飼料利用効率の良い和牛としては褐毛和種がいる。この両品種の特徴を併せ持つ交雑種は、体外受精胚を介して行うことができる。胚作成は実験室の研究で日々改良している対象であり、学生は胚作成からウシ作成を介して実学が体験できる。また牧草を利用するウシは近年の穀物価格高騰、健康志向、温暖化ガス排出削減の見地からも価値が高い。

## 5. 研究目的

ウシの生産を通して研究と産業の結びつきを実感すると共に農大の和牛ブランドとして農大の知名度向上に資する。また牧草食という輸入飼料に頼らずメタン排出の少ない飼料形態のウシ生産の可能性を検討する。胚生産と移植においては、近々の学生の研究成果を用いて体外受精胚を作成し、移植することによって子牛を作成する。子牛は富士農場にて牧草食で肥育し出荷する。子牛の肥育期間を2年と3年に設定しており飼養経費などを明らかにする。またブランド牛を認知させる販売方法を検討する。

## 6. 研究（実験）方法

新しい胚の作成方法の開発

胚が存在するとき、しないときの子宮上皮を回収し遺伝子発現を調べ胚が存在するときの上流因子を同定する。また DDBJ に登録した体内発育胚と体外発育胚の発現変動遺伝子から体内胚の上流因子を同定し、両者を比較して重なり合う上流因子から胚の発育と妊娠成立に有用な分子を絞り込み同定する。またこの因子を添加して発育が改善するのか調べる。

この数年で開発した良質な胚を作成できる培養系を介して生産した胚を用いて仔牛を作成する。

子牛の生産を行い育成しつつ、経費などを計算すると共に、販売先や恒常的な生産体系構築のための検討を行う。

## 7. 研究成果

胚と子宮の遺伝子発現の照らしあわせから TGFB1 など 5 つの因子を同定した。TGFB1 添加も胚発育を有意に促した。多糖ゲルは卵子の減数分裂への利用は胚発生を大きく促進した。卵子発育に関する応用は論文発表した。多糖類ゲル上で作成した胚を用いて胚を移植し、子牛を 5 月 27 日に双子で得た（杏華、杏雅）。11 月末で雌（杏華）184.5 kg、雄（杏雅）216 kg は現在育成中である。また現在妊娠中のウシが一頭いる。育成済みのウシ販売などについては企業からも問い合わせを受けている（株式会社セントラルフーズ、トヨタ等）。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

培養実験において胚のヘピゲネティックな変化が体内に近い胚を得られるヒントを得た。これまで体外で作成した胚の DNA のメチル化変化が体内で発育したものと異なることが大きな問題になっていたが、今回作成した培養条件はこのメチル化状態を体内胚のそれに近づける効果があることがわかり、あらたな研究対象としている。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

また移植時に今回見いだした条件がさらに受胎率を改善するのか検討したい。

育成中のウシの販売方法として効果的なものを検討中である。また胚生産を常時行い、大規模に生産できる連携先を検討中である。

## 10. 公表した成果一覧

学術論文

- 1) Sugimoto A, Inoue Y, Tanaka K, Sinozawa A, Shirasuna K, Iwata H. Effects of a gel culture system made of polysaccharides (xanthan gum and locust bean gum) on in vitro bovine oocyte development and gene expression of the granulosa cells. *Mol Reprod Dev.* 2021 Jul;88(7):516-524.
- 2) Noguchi T, Hayashi T, Inoue Y, Hara S, Shirasuna K, Iwata H. Predicting of molecules mediating an interaction between bovine embryos and uterine epithelial cells. *J Reprod Dev.* 2022;68(5):318-323.

# 2021年度 東京農業大学 農生命科学研究プロジェクト 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)
ゲノム編集ダイコンの育種利用を目指した温室栽培	1,000,000

## 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・教授	全体統括
研究分担者	武藤 直氣	農学研究科 バイオサイエンス専 攻・博士後期課程2年	毛耳欠失ダイコンの作出と管 理

## 3. 研究期間

2021年4月1日～2022年3月31日

## 4. 研究の背景（当初）

本課題は 2017～2019 年に行われた総研プロジェクト（ゲノム育種プロジェクト「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」）の課題を継承したものである。3 年間の上記プロジェクト期間で、遺伝子導入（形質転換）が難しいダイコンにおいて植物ゲノム編集の基盤となる効率の高いカルスからの植物体への再分化→形質転換に成功した。我々はこの結果を受けて、*Arabidopsis* において Trichome 形成に関わる Myb 転写因子である GL1 のダイコンホモログ(RsGL1)のゲノム編集による無毛ダイコンの育種研究を進めた。その結果ダイコンに 2 つある RsGL1 遺伝子の両方に変異が生じた個体（Double Knockout=DKO）の T<sub>1</sub> 個体が得られ、これらの中に期待していた通り毛耳を欠失した個体が得られた。一般にダイコンの形質転換効率は低く、過去において形質転換個体の中からさらにゲノム編集個体を選択する事は困難であった。今回の成果は、ハツカダイコンを用いた初めてのゲノム編集の成果といえる。

## 5. 研究目的

上記の RsGL1 遺伝子変異体では、ユビキチンプロモーターによって CRISPR/Cas9 遺伝子と sgRNA をドライブしているため、両遺伝子は脱分化カルス以降でも恒常的に発現し、遺伝子を編集していることが推定された。また実際、T<sub>1</sub> 世代においても T<sub>0</sub> 個体では見られなかった変異が起こっていることから世

代を超えて遺伝子編集活性を保持していると期待される。そこで本課題においては、実験室で育成したゲノム編集ダイコンをゲノム育種センターのドームで栽培し、ゲノム編集ダイコンを温室や圃場で栽培するための基礎データを得る。また、本ゲノム編集ダイコンを形質転換の効率が低い青首ダイコンと交配して、ゲノム編集された実用に用いられるダイコンの作製を目指す。

## 6. 研究（実験）方法

”ピラビック DKO”に組み込まれた Cas 遺伝子が F<sub>1</sub> 個体の核において trans に我が国において主要品種である”耐病総太り”の GL1 遺伝子を切断して修飾することを期待した。CRISPR/Cas9 によって 2 つの GL1 遺伝子(GL1a, GL1b)を欠損した 2 重変異体であるハツカダイコン “ピラビック” (DKO : Cas 遺伝子残存) と市販の青首ダイコン品種”耐病総太り” (毛耳あり : GL1 遺伝子野生型) を次世代育種センター研究棟ドームにて栽培し、”ピラビック DKO”の花粉を”耐病総太り”の柱頭に散布して交配し、F<sub>1</sub> 種子を得た。ダイコンは他殖性のため自家受粉は起こりにくい。種子を播種して得られた F<sub>1</sub> 個体について T-DNA の存在の確認を行い、また”ピラビック “ゲノム・”耐病総太り”ゲノムの両方の RsGL1 遺伝子 (2 遺伝子) のゲノム編集ターゲット部位の配列を調査した。同時に F<sub>1</sub> 個体の葉表面の毛耳の有無を観察した。

## 7. 研究成果

”耐病総太り”と”ピラビック DKO”の F<sub>1</sub> 個体の葉について毛耳あり : 無毛の個体を調べたところ 7 : 1 の割合で無毛個体が得られ、このうち無毛個体ではすべて Cas を含む T-DNA 領域が挿入されていた。RsGL1 形質は優性のため、無毛個体は “ピラビック” だけでなく “耐病総太り” を含めた両染色体の 4 つの RsGL1 に変異が生じた biallelic and heterozygous 変異体であった。さらに無毛 F<sub>1</sub> 個体の “耐病総太り” 側の GL1 遺伝子をクローン化して塩基配列を調べたところ、交配した “ピラビック” の変異型 GL1 遺伝子とは異なる Insertion または Deletion が検出された。この結果は、Cas 遺伝子が交配相手の “耐病総太り” の GL1 遺伝子をも trans に働いて改変しうる事を意味する。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

前回のプロジェクトで、ハツカダイコン “ピラビック” を用いて実用に供する程度の効率で形質転換が可能になった。続いて “ピラビック” を用いたゲノム編集も可能となった。しかし我が国で生産されるダイコンの中心は普通ダイコン (青首ダイコン) である。他の植物においても見られる現象であるが、”ピラビック “と同様な方法を使っても、組織培養特性には大きな品種間差があり、普通ダイコンの形質転換は容易ではなく、先端技術であるゲノム編集を我が国のダイコン育種に展開するには時間がかかる。本研究ではハツカダイコンと普通ダイコンは比較的交配しやすいことを利用して、まず形質転換可能なハツカダイコンで CRISPR-Cas を用いてゲノム編集を行い、得られた変異体と市販ダイコンを交配することで、普通ダイコンの遺伝子を変異させるという 2 段階の方法で普通ダイコンのゲノム編集にたどり着く実験を企画した。本研究の結果はこのような実験が少なくとも”ピラビック・耐病総太り・GL1 遺伝子 “という組み合わせでは可能であることを示したことで意義がある。大学と企業の連携という観点で言えば、大学の基礎研究で “ピラビック” を用いたゲノム編集個体を作成し、高い交配技術を有する種苗会社等が、次世代育種センター研究棟等の施設を活用して自社の品種改良に取り組むことが可能である。また現在 2 つのゲノム育種プロジェクトで開発したハツカダイコン “ピラビック” ゲノム編集体の作成法を活用して、農林水産省戦略的プロジェクト研究推進事業「ゲノム編集技術を活用した農作

物品種・育種素材の開発」において、様々なダイコンの形質に関わる遺伝子機能の改変を通じてゲノム育種に資する素材の育成を目指して学内および他機関との共同研究を進めている。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

本年度の研究により、ゲノム編集体の栽培、交配を見据えた育成技術を構築することが出来た。また今回行った手法により、実用的な普通ダイコン品種の効率的なゲノム編集の可能性が見えてきた。しかし同時に、本方法はゲノム編集の最大の利点である“ピンポイントの突然変異”においては“ピラビック”とのF<sub>1</sub>育種を経ることによってすでに確立しているダイコン品種の遺伝子構成を破壊することとなり、遺伝子の再固定には多くのバッククロスが必要となる。また、世代毎に変異が拡大する事は問題であるため、どの段階かでCas 遺伝子を除去した null segregant line を作成する必要もある。このため、ゲノム編集-異種交配によって生成したF<sub>1</sub>の利用法としては、1) 青首ダイコンに遺伝的背景に近い、形質転換可能なダイコンの遺伝資源の探索、2) F<sub>1</sub> 品種（無毛ダイコンだけでなく様々な遺伝子のノックアウトライン）を交配母本に用いて、育種プログラムに組み込むことで、linkage-drag の少ない品種育成を可能とすることが考えられる。

## 10. 公表した成果一覧

### 学術論文

- 1) Muto et.al, Efficient Agrobacterium-mediated genetic transformation method using hypocotyl explants of radish (*Raphanus sativus* L.) *Plant Biotechnology*/Volume 38 (2021) p457-461.
- 2) Muto et.al, CRISPR/Cas9-Mediated Genome Editing of RsGL1a and RsGL1b in Radish (*Raphanus sativus* L.) *Frontiers in Plant Science*(2022),doi:10.3389/fpls.2022.951660

### 実験プロトコル

- 1) 武藤直氣, 小松憲治, 松本隆 ひとりではじめる植物バイオテクノロジー入門 ～組織培養からゲノム編集まで～（日本植物バイオテクノロジー学会 40 周年記念プロトコール集）ダイコン（ハツカダイコン）の形質転換（2022）

### 学会発表

- 1) 武藤 直氣, 小松 憲治, 松本 隆 CRISPR/Cas9 を用いたダイコン (*Raphanus sativus* L.) における RsGL1 欠損体の作出 日本育種学会第 137 回講演会(2020:中止) 121
- 2) 武藤 直氣, 小松 憲治, 松本 隆 CRISPR/Cas9 を用いたダイコン (*Raphanus sativus* L.) における RsGL1 欠損体の作出 日本育種学会第 138 回講演会(2020: on line) p042-B
- 3) 武藤直氣, 松本隆 ダイコン(*Raphanus sativus* L.)の毛茸形成遺伝子 *RsGL1a* と *RsGL1b* の CRISPR/Cas9 を用いたゲノム編集 日本育種学会第 142 回講演会(2022)401



# 2021年度 東京農業大学 農生命科学研究所プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 山本 祐司

## 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
ウラジオストク地域における農業ビジネスモデルの構築	1,000,000

## 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	山本 祐司	応用生物科学部 農芸化学科・教授	研究の統括
研究分担者	内田 一彦	農生命科学研究所・客員教授	ロシア国内の調査

## 3. 研究期間

2021年4月1日～2022年3月31日

## 4. 研究の背景（当初）

2019年、東京農業大学（農大）はロシアの提携校である極東連邦大学（ウラジオストク）との間で日本の高品質なイチゴを先端的ハウスで栽培する実験的プロジェクトを産学連携プロジェクトとして実施した。極東連邦大学はウラジオストクの対岸に位置するルースキー島に広大なキャンパスを有するが、その一面に日本企業の協力を得て約200平米の炭素強化プラスチックを骨材とするトラス構造のハウスを建設した。栽培する品種は北海道のHOB社から大粒で糖度が高く香りの強い「ペチカホノカ」（夏イチゴ）の提供を受けた。苗の搬入に際して最大のハードルはロシア検疫当局（「ロスセリホスナツゾール」）の許可を得ることであった。これまで多くの日本企業がこの壁に跳ね返されてきたが、ロシア地元企業の協力によって検疫官の訪日検査を含めこの複雑な手続きを極めて短期間にクリアすることができた。また、イチゴ栽培は極めて繊細であり経験とノウハウが不可欠であるため苗の定植から収穫に至る約5カ月の間、HOB社及び農大の専門家と学生が交代で常駐し栽培を指導した（写真）。このプロセスには極東連邦大学、地元企業、学生も参加し栽培技術を移転することができた。ロシア側からは現地で調達可能な肥料、農薬などについて貴重なアドバイスをいただいた。プロジェクトの成果は9月の東方経済フォーラムにおいて収穫されたイチゴとともに披露され、ロシアの要人にもハウスを視察していただいた。

## 5. 研究目的

日本の農業はその国土の特徴から、狭い面積で個人事業主、もしくは少人数で、高品質、付加価値の

高い品種を生産するスタイルが主である。特に地域性や味覚に特徴的な品種が多く「甘み」の強い品種の改良に重点がおかれ、国内外で日本の品種は評価が高い。また、これらの品種の栽培に適した栽培システムが発展してきた。それとともに、施設園芸設備も独自の開発が進められ、これらの特徴を生かした日本型農業モデルが発展した。したがってこのシステムを導入することにより多くの日本の企業が関わり、技術革新とともに産業の活性化が見込まれる。また、栽培方法は厳密な管理が必要であり、栽培技術者の育成が鍵となる。本プロジェクトではこの地域の農業の活性化を究極の目的とし、東京農業大学および FEFU による栽培指導とロシアサイドではイノベーション 社による商業化にむけた許可申請、知財と栽培設備の整備を行いながらプロジェクトを遂行する。

## 6. 研究（実験）方法

新潟県の越後姫の栽培について 4 月 21 日に現地視察を行った。また、ハウスの構造や施設管理に関する聞き取りを行った。また苗の国外への輸出の際には土壌を取り除く必要があり、ニノ土壌を洗ったが完全に取り除くには至らなかったため、根を切った状態で再び生育するか調べることにした。

## 7. 研究成果

越後姫の栽培管理についてのノウハウについて聞き取りを行い、ロシア（ウラジオストク地域）でのイチゴ栽培が可能であることがわかった。

（左図：イチゴ栽培 中央：暖房機 右図：ハウス全体図）



また、苗の輸出を想定し、根っこを切った状態で生育が可能か調べた結果

（左図：根を切った苗 左図：定植初日 右図：定植 2 週間後 右図：根を切っても実がなる）



## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

苗の効率的な輸出方法がわかった。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

コロナにより、人流が制限されている中で、栽培技術を教える方法が必要である（ビデオやマニュアルの作成など）。

## 10. 公表した成果一覧

その他

12月8日 日露ラウンドテーブルにおいて成果の発表を行った。

# 2021年度 東京農業大学 農生命科学研究所プロジェクト 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	予算額(円)
代替タンパク質創出のための機能性付与アメリカザリガニ飼料の開発	300,000

## 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・教授	研究統括・餌作成・給餌試験・教育実践
研究分担者	高橋 信之	応用生物科学部 食品安全健康学科・教授	栄養成分分析
	美谷島克宏	応用生物科学部 食品安全健康学科・教授	安全性試験
	加藤 拓	応用生物科学部 農芸化学科・准教授	肥料成分分析
	浅井 俊光	地域環境科学部 地域創成科学科・准教授	水質分析・生態調査
	黒澤 亮	動物科学科・助教	餌の設計

## 3. 研究期間

2021年4月1日～2022年3月31日

## 4. 研究の背景（当初）

研究代表者はこれまで、東京農業大学戦略プロジェクトや科研費研究を通じて、アメリカザリガニの体色変化を観察する実験教材の開発に取り組み、その知見を活用した科学教育実践を行ってきた。

アメリカザリガニ（以下ザリガニ）は、環境省・農林水産省により生態系被害防止外来種リストの緊急対策外来種に指定されている通り、在来の水生昆虫や水草群落など生態系への影響や稲苗の食害、水田の畔の崩壊など農業被害の要因でもあり、対策の緊急性が高く、積極的に防除を行う必要のある生物である。また現在、特定外来生物としてのあり方についても検討されている。このような状況下で、ザリガニは有志団体により駆除されているが、その後の資源としての活用はほとんどされていないのが現状である。一方、欧米や中国ではザリガニは食用（タンパク源）として利用されている。

すなわち日本におけるザリガニの駆除とその活用は、その地域環境や他の地域資源を守るだけでなく、持続可能な新たな資源開発にもつながると考えられる。

## 5. 研究目的

本プロジェクトは、持続可能な農業研究プロジェクトと並行して、機能性付与アメリカザリガニの餌の開発を目的としている。本学の主軸となる環境や食料に対する専門性を活かし、未来の食料問題解決に向けた環境負荷低減の有用資源として、環境教育を通じて駆除する一般的な赤いザリガニを活用し、給餌により機能性や栄養価の高いザリガニの作出を行う。その際、水の循環を通じてザリガニと葉物野菜の水耕栽培とを組み合わせたアクアポニックスにおいて、両者を同時に育成することのできる餌の開発を試み、栽培・養殖を目指す。

そこで本研究では、そのための基礎的研究課題として、①アクアポニックス用のザリガニ飼養餌の開発と②食用アメリカザリガニ（生冷凍）の栄養価分析に取り組むこととした。

## 6. 研究（実験）方法

### ① アクアポニックス用のザリガニ飼養餌の開発

餌の原料は、実用化を目指したコスト削減のため、飼料レベルや規格外品を活用し、地域で身近に手に入るものとする。餌の成分は、炭水化物源として米粉、タンパク質源として大豆粉、豚骨、脂質として大豆油、イワシ油を用い、カロテノイド色素フリーの餌を作製する。

作製した餌を用いて、1) 大豆油、イワシ油による水質と嗜好性の検討、2) カロリーベースを合わせた餌による水質の検討を行い、水耕栽培に向けた基礎実験を行う。

#### 1) 大豆油、イワシ油による水質と嗜好性の検討

炭水化物としてコメ、脂質として大豆油もしくはイワシ油をベースに、タンパク質として動物性タンパク質（豚骨）もしくは植物性タンパク質（大豆）の6通りの餌を（炭水化物：脂質：タンパク質=1：0.2：1の割合（重量））作製し、適度な大きさに分割した後、乾燥させてから給餌試験に用いる。

- ①米粉、大豆粉、大豆油
- ②米粉、豚骨粉、大豆油
- ③米粉、大豆粉、イワシ油
- ④米粉、豚骨粉、イワシ油
- ⑤米粉、大豆粉+豚骨粉（0.5,0.5）、イワシ油
- ⑥米粉、大豆粉+豚骨粉（0.5,0.5）、大豆油

給餌試験では、直径7cmのプリンカップに高さ3cmの水を入れ、各容器に1匹ずつアメリカザリガニ（TL2.5~3 cm）を入れる。1種類の餌ごとに3匹のザリガニを用意し、6種類の餌を1か月間給餌（2日に1回0.2g給餌）する。給餌して次の日の見た目の水の状態、生存数、嗜好性を観察する。また、生存している個体に対し、餌に対する嗜好性は3段階の+で表記する。なお、給餌前に毎回水替えを行う。

#### 2) カロリーベースを合わせた餌による水質への影響

##### 餌の作製

餌組成：①米粉、大豆粉、イワシ油      ②米粉、大豆粉+豚骨粉、イワシ油

上記2種類の餌に対し、表1に示した割合で各成分を混合し、カロリーベースを揃えた餌を作製する。

表1 餌の組成表

①							②						
原料値			CP	熱量	Ca	P	原料値			CP	熱量	Ca	P
	米粉		5.20	3620	0.05	0.38		米粉		5.20	3620	0.05	0.38
	大豆粉		38.50	4460	0.18	0.57		大豆粉		38.50	4460	0.18	0.57
	豚骨		18.52	2051	22.40	15.50		豚骨		18.52	2051	22.40	15.50
	イワシ油		0.0	40220	0.00	0.00		イワシ油		0.0	40220	0.00	0.00
設計値		配合割合	CP	熱量	Ca	P	設計値		配合割合	CP	熱量	Ca	P
	米粉	45.45	2.36	1645	0.02	0.17		米粉	23.91	1.24	866	0.01	0.09
	大豆粉	45.45	17.50	2027	0.08	0.26		大豆粉	32.65	12.57	1456	0.06	0.19
	豚骨		0.00	0	0.00	0.00		豚骨	32.65	6.05	670	7.31	5.06
	イワシ油	9.09	0.00	3656	0.00	0.00		イワシ油	10.79	0.00	4340	0.00	0.00
	合計	100.00	19.86	1752	0.10	0.43		合計	100.00	19.86	1752	7.38	5.34

### 飼育条件

縦 17 cm×横 21 cm×高さ 15 cm の水槽に約 5.5 L の水を入れ、その中に TL 約 5 cm のアメリカザリガニを 1 匹入れ、エアレーションをして飼育する。なお、1 種類の餌ごとに 3 匹のザリガニを用いて実験を行う。餌は毎日給餌し、初日、3 日後、7 日後、14 日後の飼育水のサンプリングを行う。

### 水質分析

分析装置である「ことり e-HPLC」を用いて、サンプリングした水に含まれる硝酸、亜硝酸イオンを検出する。分離条件は、カラム TSKgel IC-Anion-PW (φ4.6 x 50 mm) を 1.2 ml/min の流速にて溶離液 (1.5 mM グルコン酸カリウム、1.1 mM ホウ砂、30 mM ホウ酸、15%アセトニトリル、0.5%グリセリン) による平衡化を行い、0.45 μm のフィルターで濾過したサンプル 100 μl を打ち込み、電気伝導度検出器を用いて、硝酸、亜硝酸の検出を行う。

### ② アメリカザリガニの栄養価分析

本学醸造科学科鈴木敏弘助教との共同研究により、アメリカザリガニに含まれる栄養成分の網羅的解析を行う。サンプルとして、茨城県小貝川で採集された食品用アメリカザリガニを凍結死させたものを購入する。凍結ザリガニを解凍後、可食部を少量採取し、凍結乾燥させる。凍結乾燥させたサンプル 10 mg から親水性化合物を溶媒抽出し、サンプルを揮発性化合物に誘導体化 (オキシム化、TMS 化) した後、島津製作所 トリプル四重極型ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/MS) にて網羅的データ解析を行う (n=4)。

## 7. 研究成果

### ① アクアポニックス用のザリガニ飼養餌の開発

1) 大豆油、イワシ油による水質と嗜好性の検討

表2 餌による水の状態と、生存数、嗜好性

	①	②	③	④	⑤	⑥
水質	カビ、濁り、油膜	濁り、油膜	カビ、濁り	濁り	濁り	濁り、油膜
生存数	0 匹	1 匹	2 匹	3 匹	3 匹	2 匹
嗜好性	++	+	++	++	+++	++

表2より、大豆粉と豚骨粉に対する嗜好性に大きな差は見られなかったが、大豆粉の量が多い (①、③) とカビが生えやすい傾向が見られた。また、大豆油では油膜を張りやすい傾向が見られた。一方、

イワシ油の方が食いつきがよく、油膜も張りにくいことから、以降はイワシ油を用い、さらにカビの繁殖を防ぐためと水中での餌の崩れやすさを改善するために餌の製造過程に蒸す工程を入れることとした。また、豚骨粉の粗タンパク量が大豆粉の半分であることが判明したため、以降はカロリーベースを合わせた餌の作製を行うこととした。

## 2) カロリーベースを合わせた餌による水質への影響

人工飼料①、②それぞれの給餌試験により、野生ザリガニは成長し、白色化した。またこれら餌に、クロシン、アナトーを添加した色素含有餌を給餌することで、ザリガニを黄色、オレンジ色に着色することが確認できた。以上のことから、試作した飼料はザリガニの成長に十分な栄養成分は含まれていると考えられる。しかしながら、より早く成長させるためには、さらに高カロリーの飼料が良いのではないかと考えられる。今後は高カロリーの餌を作成し、成長度合いを検討していく。

飼育水質の分析については、e-HPLCを用いた陰イオン濃度の測定結果を以下の表3に示した(左：飼料①、右：飼料②)。

表3 各餌の給餌における陰イオン濃度の変化

飼料①(大豆)		Cl <sup>-</sup>	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	飼料②(混合)		Cl <sup>-</sup>	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>
初日	平均値 (mg/L)	22.62	N.D.	6.39	N.D.	31.82	初日	平均値 (mg/L)	21.9	N.D.	6.39	N.D.	30.30
	標準偏差	1.22	N.D.	0.40	N.D.	0.00		標準偏差	0.33	N.D.	0.40	N.D.	2.14
3日後	平均値 (mg/L)	19.17	N.D.	3.70	N.D.	30.30	3日後	平均値 (mg/L)	18.54	N.D.	4.07	N.D.	31.81
	標準偏差	4.34	N.D.	1.05	N.D.	5.67		標準偏差	1.64	N.D.	0.52	N.D.	0.00
7日後	平均値 (mg/L)	18.28	46.67	4.14	N.D.	30.16	7日後	平均値 (mg/L)	20.01	46.67	4.14	N.D.	42.26
	標準偏差	0.62	23.57	0.67	N.D.	6.25		標準偏差	0.65	9.43	0.86	N.D.	2.70
14日後	平均値 (mg/L)	16.82	33.33	3.51	N.D.	36.11	14日後	平均値 (mg/L)	18.89	N.D.	6.00	N.D.	29.76
	標準偏差	4.16	9.43	0.497	N.D.	10.93		標準偏差	2.79	N.D.	1.63	N.D.	3.37

7日後では①、②のどちらの飼料を給餌した水槽からもNO<sub>2</sub><sup>-</sup>が確認された。一方、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>は初日から14日後までほぼ一定量が検出された。水耕栽培においてNO<sub>3</sub><sup>-</sup>は、植物の必須元素の一つである窒素成分として作物に吸収されるが、植物に必要な濃度としては低いことが推察される。14日後では②のNO<sub>2</sub><sup>-</sup>が検出されなかった。このことから、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>への変換が考えられ、①、②の飼料で飼育した14日後の水質に含まれる陽イオン濃度を測定した。

e-HPLCにおける陽イオン濃度の測定結果は以下の表4に示した(左：飼料①、右：飼料②)。

4 各餌の給餌における陽イオン濃度の変化

飼料①(大豆)		Na <sup>+</sup>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	K <sup>+</sup>	飼料②(混合)		Na <sup>+</sup>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	K <sup>+</sup>
14日後	平均値 (mg/L)	18.22	N.D.	7.20	16.39	10.87	14日後	平均値 (mg/L)	14.58	N.D.	4.78	16.99	10.33
	標準偏差	1.73	N.D.	1.83	1.17	1.32		標準偏差	3.83	N.D.	0.84	3.79	0.47

実験開始から2週間後、どちらの飼料を給餌した水槽からもNH<sub>4</sub><sup>+</sup>は検出されなかった。この結果から、①の飼料を用いたザリガニ飼育では2週間でNH<sub>4</sub><sup>+</sup>の検出はできなかった。②の飼料を用いた飼育ではNH<sub>4</sub><sup>+</sup>が発生していないにも関わらずNO<sub>2</sub><sup>-</sup>も検出されなかったため、何らかの要因で、硝化が促進したか、他の何らかの物質に変換されている可能性も考えられる。

①、②の飼料から溶出するイオン濃度は、全体的に水耕栽培に必要な濃度としては低いことが推察される。実際に水耕栽培をして生育可能かどうかを検討し、生育がうまくいかない場合、餌を多くするのか、足りないイオンをどのように補うのかについて検討していく予定である。

今回の実験を通じて、①、②の飼料を比べると②の大豆、豚骨混合飼料はより餌食いが良い傾向が

確認できたため、成分的にも、嗜好性的にも最適な分量比率を検討していく。

## ② ザリガニの栄養価に関する分析

GC/MS の結果、生（処理前）のアメリカザリガニには、アスコルビン酸、タウリンなどの機能性物質、トレハロース、グルコースなどの糖類、イノシン酸などの核酸関連物質、グルタミン酸やアスパラギン酸などのうま味関連物質も多く含まれていることが明らかとなった。なお、検出総ピーク数 957 のうち、データベースによる同定化合物数は 74 化合物であった。塩茹で（加熱処理）したアメリカザリガニとの比較に関しては、持続可能な農業研究プロジェクトの報告書に記載した。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

アメリカザリガニの体色変化を観察できる餌を活用した教育実践を行った（成果参照）。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

GC/MS による栄養成分の網羅的解析の結果、アメリカザリガニには核酸系や糖類が多いことが明らかとなった。これまでは、体を大きくするために餌の原料であるタンパク質量に着目していたが、今後はエネルギー源のもととなる炭水化物量や脂質量を増やした高カロリーな餌の開発に取り組む。

最近、自然界で見つかった巨大なアメリカザリガニの地理的環境から、ザリガニの巨大化には餌以外に水質や土壌に含まれるミネラルが関係しているのではないかと考察している。そこで餌や飼育水にミネラルを含ませることでザリガニがどのような成長をするのかを今後検討していく。

さらに、餌による水質が植物の水耕栽培に適するかどうかを水質の元素分析などで明らかにするとともに、アメリカザリガニと植物が同時に育つ最適な条件を検討していく。

## 10. 公表した成果一覧

### 学術論文

- 1) 武田晃治・関正貴（2022）「地域創生・SDGs、人財養成の実学研究-『五感六育』の実践事例-」外来種アメリカザリガニの教育資源から地域創生への有効活用 ―ザリガニを用いた SDGs の取り組み― 第1巻 pp.13-26. 五感六育文庫 東京農業大学出版会

### その他

- 1) J-WAVE TOKYO MORNING RADIO（令和3年5月5日）
- 2) Takeda, k. et.al.（令和3年6月）An impact of biological pigments as teaching material. pp.262-263. OPEN ACCESS GOVERNMENT
- 3) 県立荃崎高校から発信！「カラフルザリガニ」で地域創生・SDGs ～小中高大と地域の連携で人材育成～ 茨城県教育委員会フォトニュース（令和3年7月19日）
- 4) 渋谷クロス FM（令和3年8月19日）
- 5) エフエム世田谷（令和3年9月17日）
- 6) 武田晃治（令和3年10月23日）「アクアポニックスによるザリガニ飼養に関する研究」日本地域創生学会発表
- 7) 東京 FM あぐりずむ（令和3年11月30日）



- 8) Takeda, K., Jitsuno, M and Akaishi, Y. (令和4年1月) Utilisation of crayfish (*Procambarus clarkii*) in integrated inquiry activities. pp.218-219. OPEN ACCESS GOVERNMENT
- 9) 茨城新聞 (令和4年1月28日)
- 10) 武田晃治ら (令和4年2月) 今こそ知ってほしい アメリカザリガニのおはなしーアメリカザリガニから考える環境科学教育ー 絵本冊子 pp.1-8.

# 2021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～	8,000,000

## 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	個別研究課題名
研究代表者	吉田 穂積	生物産業学部 北方圏農学科・教授	総括
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・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・助教	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・教授	経済的評価
	相根 義昌	生物産業学部 食香粧化学科・教授	研究業務推進支援

## 3. 研究期間

2021年4月1日～2022年3月31日（3年計画の3年目）

## 4. 研究の背景（当初）

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、とくに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。

## 5. 研究目的

そこで本研究では、①アザラシの生態系の中で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

本プロジェクトでは、えりも地域に生息するゼニガタアザラシが、同地域の特産であるミツイシコンブの繁茂にどの程度寄与しているのかを検討するために、海水の栄養塩である窒素量を測定した。海洋の窒素量は季節変動することが知られており、春から夏にかけて一次生産に使われるので枯渇し、そこから秋口にかけて増加する。また、無機態溶存窒素の組成を調べれば、その窒素の由来を推定できる。例えば、 $\text{NH}_4$ が多ければ動物由来、 $\text{NO}_3$ が多ければ海底からの窒素の供給が考えられる。また、海水からアザラシ由来環境 DNA を測定した。アザラシ由来環境 DNA があれば、その海水の  $\text{NH}_4$  がアザラシ由来であることが推定できる。さらにコンブの安定同位体の  $\delta^{15}\text{N}$  を測定することにより、コンブが高次捕食者の窒素を同化しているのかを推定できる。これら 3 つの手法を用いて、「えりも地域を利用するゼニガタアザラシが同地域のミツイシコンブに対し、どれくらいの範囲でどのように影響を与えているかを把握した。

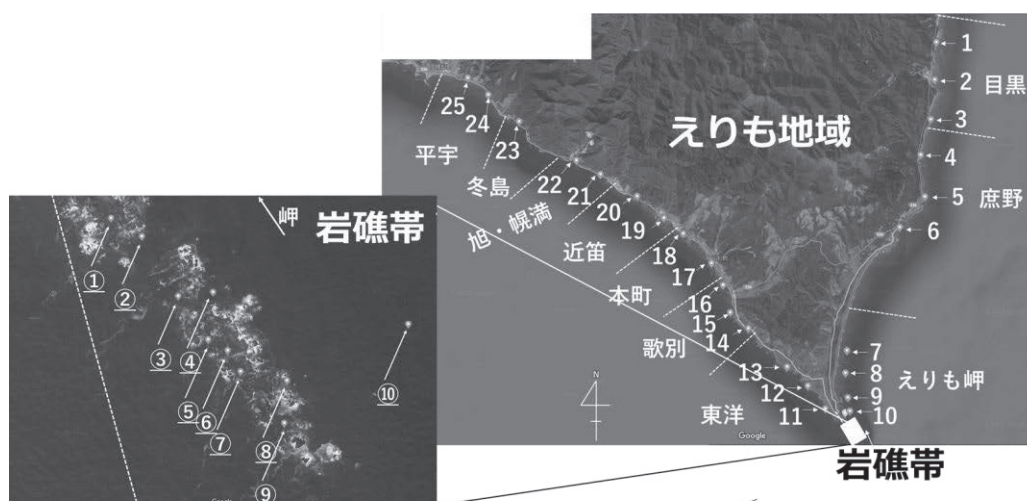


図1 サンプルング地点

### サンプリング

海水のサンプリングはえりも地域全域の 25 点と岩礁帯 10 点で、2020 年度の 2 月、3 月、6 月、8 月、

12月におこなった。環境DNA用に1L、窒素測定用に500mlに分注、実験まで冷凍保存した。サンプリングした位置は図1に示す。また、コンブは6月と8月に、えりも地域全域で25点、岩礁態で5点にて、各点で3本ずつ採取した。

## 分析方法

### 1) 海水の窒素量の測定

オートアナライザを使用し、全窒素(TN)、溶存無機物窒素である $\text{NH}_4$ 、 $\text{NO}_2$ 、 $\text{NO}_3$ の量を測定した。

### 2) 海水の環境DNA量の測定

海水1Lをガラスろ過し、キアゲンキットでDNA抽出し、定量PCR、CFX Connectで、Flashアザラシ由来環境DNA量を定量した。本研究で使用したプライマーおよびプローブは表1に示し、種特異性をNCBI BLASTで確認済みである。

表1 本研究で使用したプライマーおよびプローブ

	配列
Forward	GATTATACATGCAAGCCTCCGC
Reverse	ATAGCTTAGTCAAACCTTTCGTTTCATAG
プローブ	GAAAATGCCCTCCAATCCCAATAACCGAT

### 3) コンブの安定同位体比分析

コルクボーダーでコンブの藻体基部に穴をあけ、それを一日凍結乾燥、その後、砕いてアルミ箔に包み、安定同位体比分析した。使用した機器は、サーモフィッシャーサイエンティフィック社製、Flash EL-emental analyzer 1112 Series-Delta V plusを使用した。

### 4) 6月から8月にかけてのコンブのサイズの変化

6月および8月に採取したコンブの長さと同最大幅を計測し、また乾燥させて重量も測った。それらの6月から8月の変化量について、8月>6月を+、8月<6月を-として各サンプリング地点で示し、安定同位体の値からアザラシ由来か海・河川由来の栄養塩であるかも示した。

## 解析方法

一般化線形モデルを使って要因解析をした。海水の $\text{NH}_4$ は動物由来の窒素であるため、目的変数を $\text{NH}_4$ とし、説明変数には地域・月・海水の栄養塩(Chl,  $\text{SiO}_2$ )を入れ、 $\text{NH}_4$ 量がどの要因で説明できるのかを調べた。また、コンブの $\delta^{15}\text{N}$ 量がどのような要因によって説明できるのかを説明変数に、地域・月・塩分・コンブ外部形態(乾燥重量、面積)・海水の栄養塩( $\text{NH}_4$ ,  $\text{NO}_3$ ,  $\text{NO}_2$ , DIN, TN, Chl,  $\text{SiO}_2$ )を入れて要因解析した。さらに、アザラシ由来環境DNA量を目的変数、地域・水温・塩分・海水の栄養塩( $\text{NH}_4$ ,  $\text{NO}_3$ ,  $\text{NO}_2$ , DIN, TN, Chl,  $\text{SiO}_2$ )を説明変数に入れて要因解析した。

## ②有効利用

<脂肪>

2020年度の研究により、アザラシの皮脂から精製されるアザラシオイルは、 $\omega$ -3脂肪酸であるDHAやEPAを豊富に含むことが明らかになった。これらの脂肪酸は抗炎症効果があることがわかっている。2021年度は、アザラシオイルの抗炎症作用を検証するため、培養細胞を用いて炎症性サイトカインの産生に対するアザラシオイルの影響を調べた。

## 方法

マウスマクロファージ株化細胞であるRAW 264をCO<sub>2</sub>インキュベーター内で培養して実験に使用した。培養プレート(96 well)に細胞を播種して一晩培養したのち、アザラシオイルあるいはデキサメタゾン(20  $\mu$ M)を添加してさらに48時間培養した。リポポリサッカリド(LPS; 1000 ng/mL)とインターフェロン $\gamma$ (IFN- $\gamma$ ; 20 ng/mL)を添加して24時間培養した後、上清を回収した。上清中のインターロイキン6(IL-6)と腫瘍壊死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )はELISAキットにより測定した。細胞をTriton-Xで可溶化してBCA法にてタンパク量を測定し、サイトカインの量をタンパク量で除して正規化した。アザラシより採取した脂肪塊から油分を搾油し、精製した。搾油と精製は(株)鈴木油脂および横関油脂工業(株)に委託して行った。

## <残滓>

事故や駆除の対象となって死亡した大型野生動物の遺体は、市町村などの自治体が焼却あるいは埋め立てによって処分する。特に北海道においては、エゾシカの個体数が多いが、大型のためその処分は大きな負担となっている。そこで北海道におけるエゾシカ遺体の処分方法として、微生物による好気性分解を活用し、減量化する方法が開発されている(枝幸町, 2013; 北海道, 2014)。北海道では、年間100頭程度のアザラシが漁網に混獲され、また200頭程度のアザラシが害獣として駆除され、その質量は20,000kg程度にもなる。このアザラシについても、同様の処理が可能かどうか、また堆肥として農業に活用する可能性について、検討を行った。エゾシカの場合2001年に国内で牛海綿状脳症(BSE)が発生して以来、エゾシカを原料とする肥料および飼料の製造および出荷は農林水産省による一時停止要請が継続している(枝幸町, 2013)。また人獣共通感染症として、過熱不十分なエゾシカ肉を食用とした場合のE型肝炎に感染する事例等の報告もある(Matuda et al., 2003)。こうしたことから、エゾシカの好気性分解を行った廃棄物は堆肥としての農業利用は行われていないが、アザラシの場合そうした規制の対象とはなっておらず、農業利用も可能である。ここでは、エゾシカの事例に準じてアザラシ遺体を好気性分解し、堆肥化を行った。アザラシは脂肪が多いことから、分解するアザラシ個体は脂肪および毛皮を除去したものとそうでないものを使用し、その分解速度を測定し、毛皮と脂肪の有無が分解過程に与える影響を評価した。さらに分解後の堆肥成分を測定し、農業利用する際の特性および問題点を考察した。

## 方法

堆肥化する処理を2021年9月28日より開始した。使用した資材としては、分解促進を行う活性堆肥として、汚泥堆肥(発酵開始後3週間)を使用した。これは網走市水道部下水道課が下水処理汚泥および麦悍を堆肥化したものである。網走市では下水処理汚泥:麦悍:石炭灰=10:1:0.5の比率で混合し、発酵させたものが年間3,000t程度生産され、農地に施用されている。アザラシは2個体を使用した。個体NG2001は20.0kg、NG2002は21.6kgである。NG2001は毛皮脂肪分7.6kgを除去したものであり、NG2002は毛皮、脂肪のある状態で使用した(図2a)。

活性堆肥(汚泥堆肥)150kgにアザラシ1個体(20kg)を埋設したものをNG2001およびNG2002の

それぞれについて作成した（図 2b, c, d）。自動記録温度計（おんどとり TR52i）を各堆肥に 2 個埋設し、温度を記録した。アザラシを埋設した堆肥は以後 1 週間に 1 回攪拌を行い、これを 5 回繰り返した時点（分解開始 6 週間後）で NG2001 および NG2002 を混合した堆肥をそれぞれ 2 点採取し、試料とした。これと比較する試料として、分解に使用した物と同じ汚泥堆肥 4 試料、網走市内の 5 地域の農家から 2 点ずつ採取した堆肥（牛糞、麦悍、汚泥堆肥を混合したもの）計 10 試料を一般農家堆肥の試料として使用した他、豚ふん 2 試料も同様に比較のため分析した。

各堆肥試料は pH をガラス電極法により 120°C で 24 時間乾燥した後、含水率を測定した。乾燥後の堆肥は粉碎し、蛍光 X 線分析により、肥料認証標準物質（汚泥発酵肥料）FAMIC-C-12 を標準試料として元素含量（N, P, K, Ca, C, O, B, S, Cl, Br, Na, Mg, Al, Si, Cu, Zn, As, Cd, Hg, Ni, Cr, Pb, Ti, Mn, Fe, Sr, Zr, Ba, W, Co, Rb, Y）を測定した。



図 2 使用した NG2001 および NG2002 個体(a)とその埋設時の状態 (b, c)、および分解時の状態 (d)

### ③経済効果

#### 評価設計と評価方法

アザラシは、特に漁業において食害被害を発生させる「害獣」として考えられており、漁業被害を軽減する対策は取られている。一方で、人間活動や地域生態系にとって便益を持つ可能性があることが、本研究プロジェクトでの研究成果で示唆されている。これらの便益は、アザラシの生態系サービスとしてとらえることができる（図3）。

- 供給サービス：資源（食料、肥料、化粧品、薬 etc）としての利用
- 調整サービス：昆布の生育にかかわる栄養供給
- 生息・生育地サービス：昆布の生育からもたらされる他の生物の生息環境の提供
- 文化的サービス：レクリエーション・エコツーリズムなど観光資源としての利用

図3 アザラシの生態系サービス

ただし、アザラシの肥料や化粧品への活用や昆布の生育にかかわる栄養供給については可能性の段階であり、観光資源としても積極的に活用しているとはいえない状況がある。今後、捕獲されたアザラシの活用やアザラシの地域生態系に対する評価に係る研究の進展や観光資源とするコンテンツが開発されることで、アザラシの生態系サービスの社会的な認知も広がり「アザラシと人間の共生」、「アザラシと地域社会の共生」が進むことが期待される。

そこで、本研究では、アザラシの生態系サービスを向上させることを目的とする「アザラシと地域社会の共生を進める取り組み」に対する価値を経済学的に評価した。

評価方法は、自然環境の持つ価値評価でも良く利用されている仮想評価法（CVM; Contingent Valuation Method）を用いた。アンケート調査から、多くの人々の間で価値観が共有されている貨幣、つまり金額によって評価する方法である。

#### アンケート調査

アンケート調査は、インターネットによる Web アンケートで実施した。調査範囲は全国で、地域、性別、職業の限定はしていないが、年齢は20歳～70歳とした。

アンケートは、回答者の環境保全活動への参加状況やアザラシが漁業被害を発生させていること、そして現在実施されている個体調整（捕獲）の認知度などの質問をしたあと、価値評価のための質問に回答してもらった。なお、分析に利用した回答数は1081である。

価値評価のための質問は、アザラシの有効活用する取り組みを進めるため「アザラシと地域が共生するための基金をつくる」という仮定の話を設定し、回答者に、その基金に対して何円まで支払う意思があるかという支払い意思額（WTP: Willingness to Pay）を回答してもらった（図4）。

現在、えりも地域では環境省と関係機関が連携して、「環境省えりも地域ゼニガタアザラシ管理事業実施計画」を策定して、個体数の調整、被害防除装置の設置、モニタリングという、アザラシ被害の軽減対策を実施しています。

Q11.下の仮定の話にある『アザラシと地域が共生するための基金』について、あなたは、この基金に年間「500円」の寄付をしても良いと考えますか。

必須

----- ここからは仮定のお話として考えてください -----  
地域では、より一層「アザラシと地域社会の共生」を進めるために、現在おこなっているアザラシ被害の軽減対策だけでなく、ほとんど実施されていないアザラシの有効活用への取り組みもおこなうことになりました。

具体的には、

・ 個体数調整のため捕獲されたアザラシの活用

毛皮、油、肉を使った商品が考えられます

・ アザラシを観光資源としたコンテンツ開発

例えば、アザラシウォッチングツアーは、観光や環境学習としての活用が期待されます

・ 科学的調査によるアザラシの地域生態系に対する評価

海水温の上昇などが原因と考えられる昆布の漁獲量減少の問題が生じていますが、アザラシの生息数が多い場所ではアザラシ由来の窒素が利用されて昆布が繁茂する、という研究事例があります。昆布が繁茂するとそこに稚魚が成育できたり、昆布を餌とするウニも身入りが良くなるのではないかと考えられています。

図4 「アザラシと地域社会の共生を進める取り組み」に対する価値評価のための質問  
注) 金額は500円その他、1,000円、3,000円、7,000円の4種類を提示した。

本調査では、初期提示額を500円、1,000円、3,000円、7,000円の4種類とした。例えば、初期提示額として500円が提示されたとき、回答者は、その金額を「支払う」か「支払わないか」を選択する。ここで、「支払う」を選択した場合は、次に「1,000円」を提示し、支払う意思があるかを確認する。反対に、「支払わない」と回答した場合は、次に「100円」を提示し、回答者に支払う意思があるかを確認する（初期提示1,000円の場合は、2回目は3,000円もしくは500円を提示した。初期提示3,000円の場合は、2回目は7,000円もしくは1,000円を提示した。初期提示7,000円の場合は、2回目は15,000円もしくは3,000円を提示した。）

## 7. 研究成果

### ①生態系サービス

#### 海水のNH<sub>4</sub>量

GLMの結果、地域と月が選択された。その要因とNH<sub>4</sub>の関係を調べた結果を図5に示した。その結果、岩礁帯がほかの地域より有意にNH<sub>4</sub>の量が高かった。NH<sub>4</sub>の量に、岩礁帯とそれ以外で差があったため、月の効果は、岩礁帯とそれ以外にわけて示したのが図6である。その結果、6月の岩礁帯がそれ以外の月の岩礁帯およびそれ以外の地域よりも有意にNH<sub>4</sub>の値が高かった。さらに、6月、8月、12月における岩礁帯はそれ以外の地域よりも有意にNH<sub>4</sub>の値が高かった。以上のことから、岩礁帯はそれ以外の地域よりも海水の動物由来のNH<sub>4</sub>が高く存在しており、季節で見ると本来窒素が枯渇するといわれている春の終わりから秋にかけて岩礁帯では、動物由来の窒素が海水に他の地域よりも多く存在していることが明らかになった。



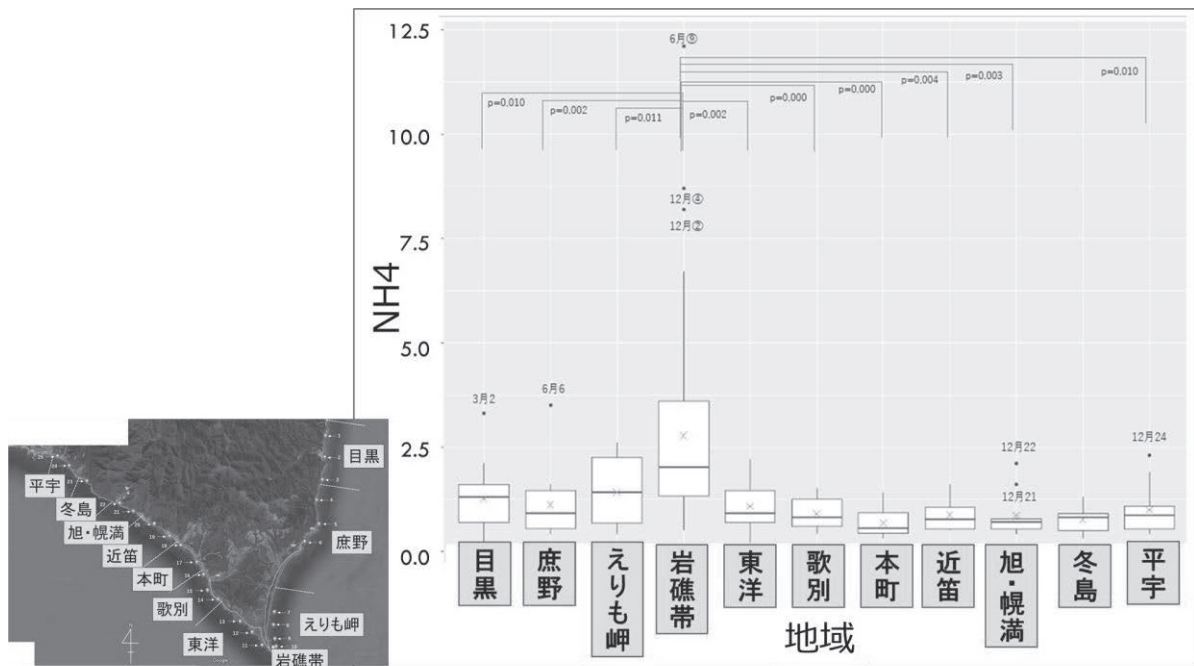


図5 地域別の海水のNH<sub>4</sub>量の関係

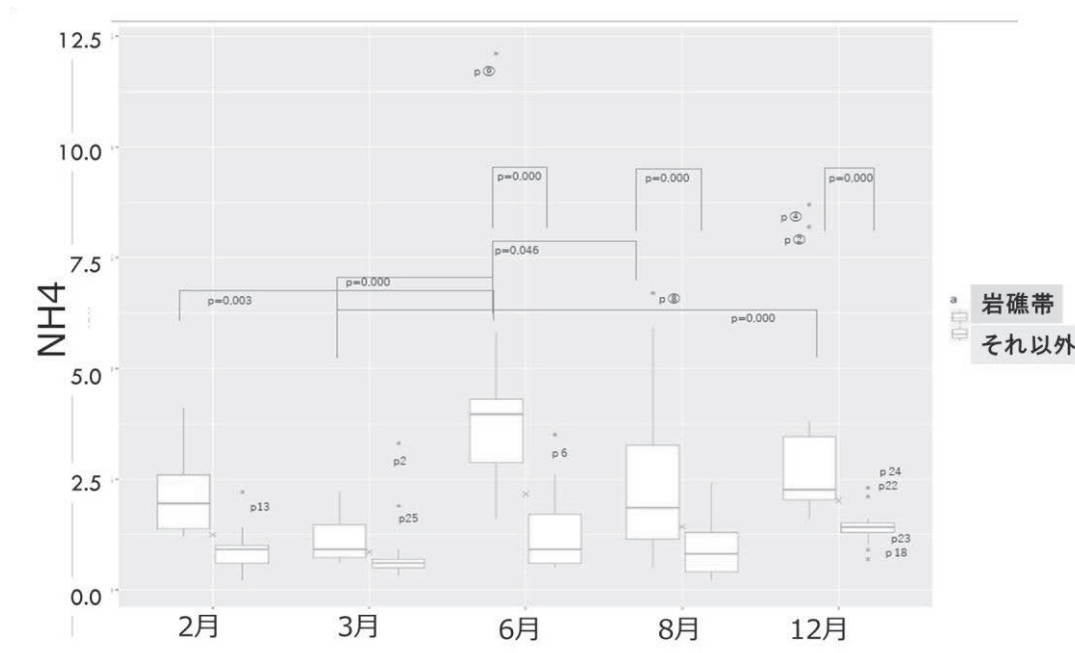


図6 月別・地域別の海水のNH<sub>4</sub>量

### 海水の環境DNA量

GLMの結果、地域とNH<sub>4</sub>の量が選択された。環境DNAの測定は、岩礁帯およびその近隣地域の西側の東洋、東側のえりも岬と庶野、ほとんどアザラシの利用がないと考えられる近笛の海水で行った。その結果、図7で示したように、ほぼ岩礁帯でのみ、アザラシ由来環境DNAの検出がみられた。また、同様に図7に示したように、NH<sub>4</sub>と環境DNA量の間には弱い相関がみられた。

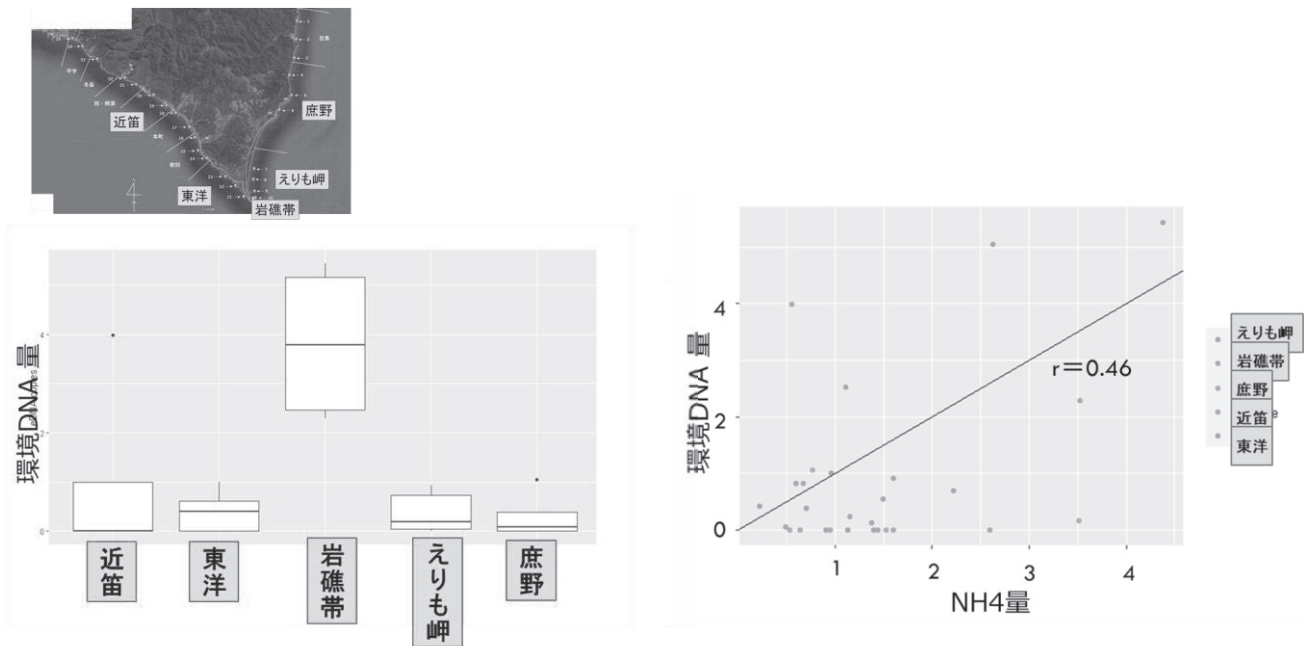


図7 地域およびNH<sub>4</sub>の量と環境DNA量の関係

### コンブの $\delta^{15}\text{N}$ 量

GLMの結果、地域のみが選択されたため、地域ごとにコンブの $\delta^{15}\text{N}$ の関係を示した(図8)。その結果、コンブの $\delta^{15}\text{N}$ の値は、岩礁帯で最も高く、東洋とえりも岬でもそれ以外の地域と比較して高い値となった。

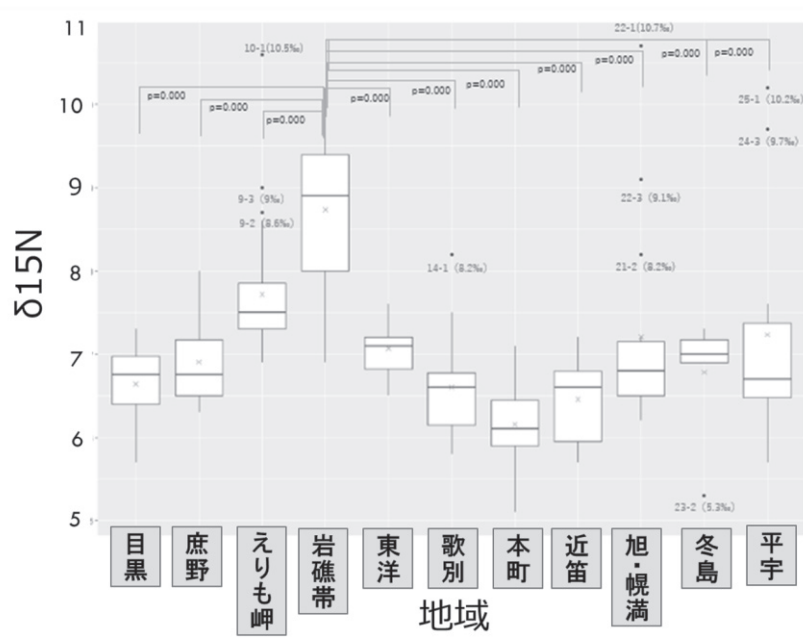


図8 地域とコンブの $\delta^{15}\text{N}$ の関係

### 6月から8月にかけてのコンブのサイズの変化

全体的には、葉体の成長が8月に減少する地点が多い中、コンブの安定同位体が高い、つまりアザラシ由来の栄養塩を多く取り込んでいる岩礁地帯の地点ほど、6月から8月にコンブの成長が増加する傾向が見られた(図9)。

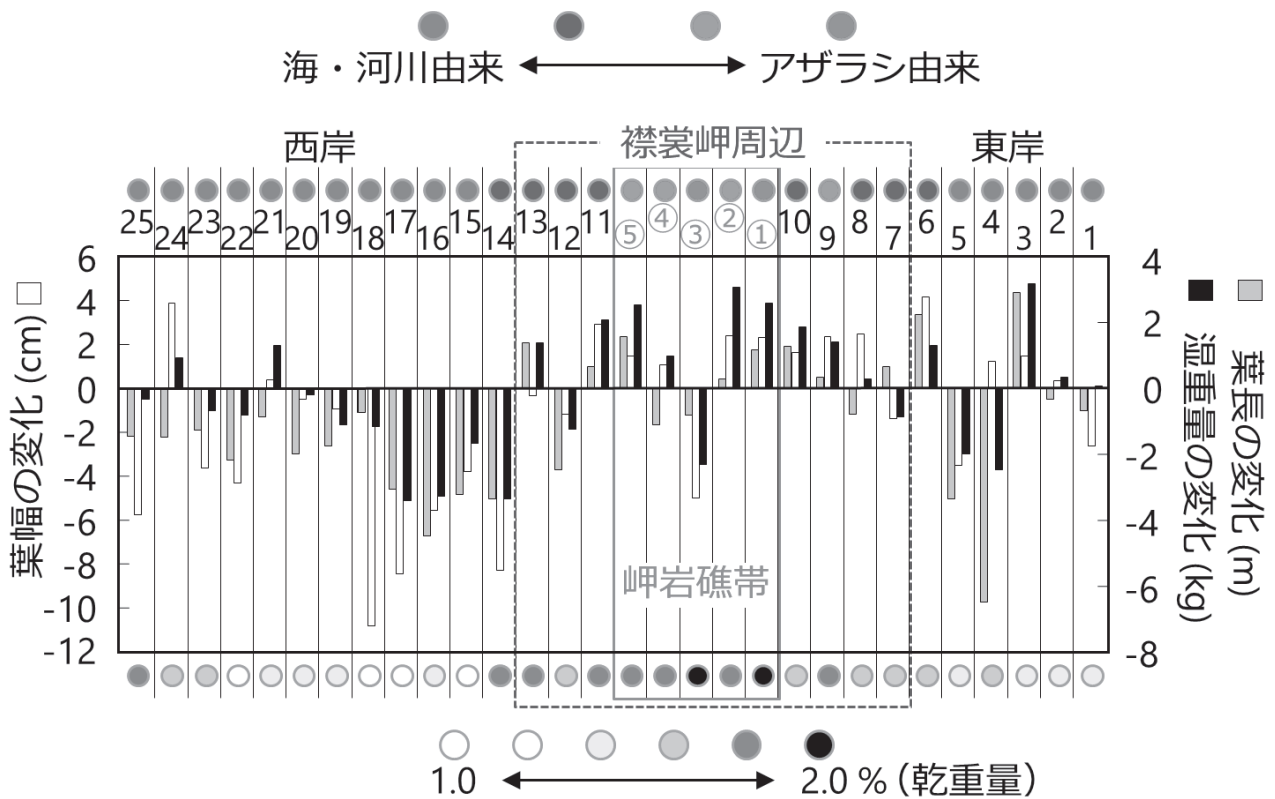


図9 6月から8月へのコンブサイズの変化（8月>6月：+，8月<6月：-）

### 考察

以上の結果から、えりも地域では、上陸場のある岩礁帯にはアザラシ由来の  $\text{NH}_4$  が多く海洋に存在し、その値は他の地域と比べて周年高い傾向がみられた。また、コンブの  $\delta^{15}\text{N}$  も岩礁帯で最も高くなり、このことからアザラシ由来の窒素がコンブに同化されていると考えられた。さらに、コンブの  $\delta^{15}\text{N}$  値が、岩礁帯の近隣の東洋やえりも岬でも他の地域よりも高い値を示したことは、コンブが長い年月をかけて窒素を蓄積していることに起因しており、コンブのような大型藻類にアザラシ由来の窒素が広範囲に長期的に利用されていることが示された。

### ②有効利用

#### <脂肪>

LPS/IFN の刺激により、マウスマクロファージからの IL-6 および TNF- $\alpha$  の産生は大きく増加した (図 10, 11)。アザラシオイルで細胞を処理しておくこと、これらのサイトカインの増加は濃度に依存して抑制される傾向が認められた。本実験では、未だ例数が少ないこととバラツキが大きかったことから、有意な抑制は認められていないが、例数を増やすことで間違いなく有意な結果が得られると考えられる。また、図には示していないが、アザラシオイルによるサイトカインの抑制の程度は、抗炎症作用があることがわかっているエミューオイルよりも大きかった。以上のことから、アザラシオイルは抗炎症作用を持つことが明らかとなり、化粧品や医薬品の素材として有用な自然資源であることが強く示唆された。

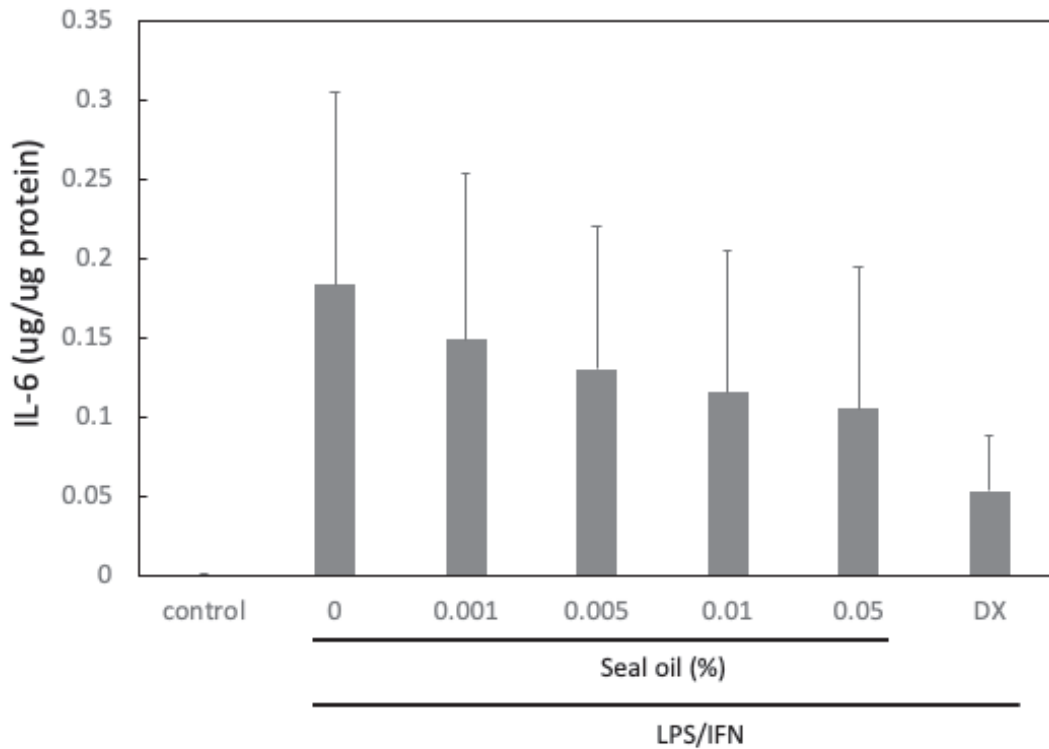


図 10 マウスマクロファージの IL-6 産生に対するアザラシオイルの効果

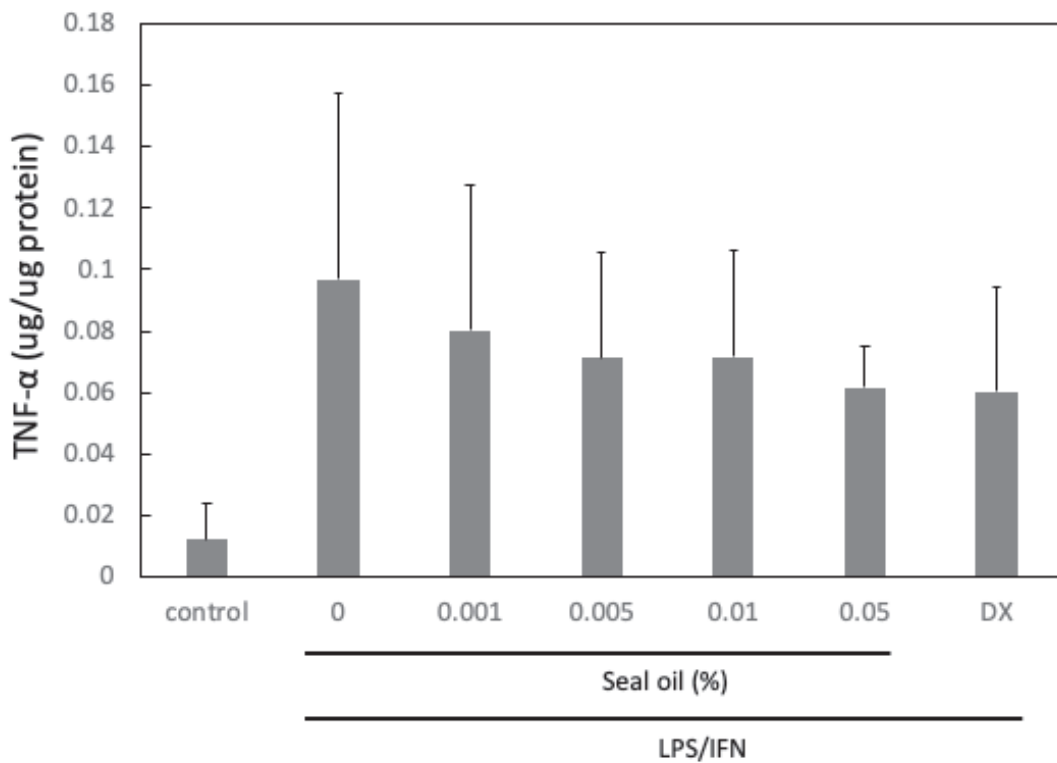


図 11 マウスマクロファージの TNF-α 産生に対するアザラシオイルの効果

<残滓>

1) アザラシの分解過程

皮と脂肪を除去した NG2001 個体は 2 週間後にはほぼ原型をとどめない状態まで分解していたが、

NG2002 については、同様の状態となるのに 3 週間を要した (図 12)。これらは 3 週間後までは強いアンモニア臭を示したが、分解開始 5 週間後にはそれぞれ悪臭はほとんど無くなった。温度変化について、図 13 に示した。毛皮および脂肪を除去した NG2001 個体については、NG2002 個体に比べ、分解開始 1 週間後の温度は高く、3 週間から 4 週間後には逆に低く推移した。このことは、NG2001 個体の好気性分解が開始 1 週間で急速に進行し、高温となり、3 週間後には堆肥の熟成に伴い温度が低下していったことを示す。毛皮および脂肪を除去していない NG2002 個体では、この過程が 1 週間程度遅れて進行したと考えられた。



図 12 分解開始 1 週間後 (a) および 2 週間後 (b) の切り返し時の状態。2 週間後に NG2001 個体 (写真下側) はほぼ原型を残さなくなった。

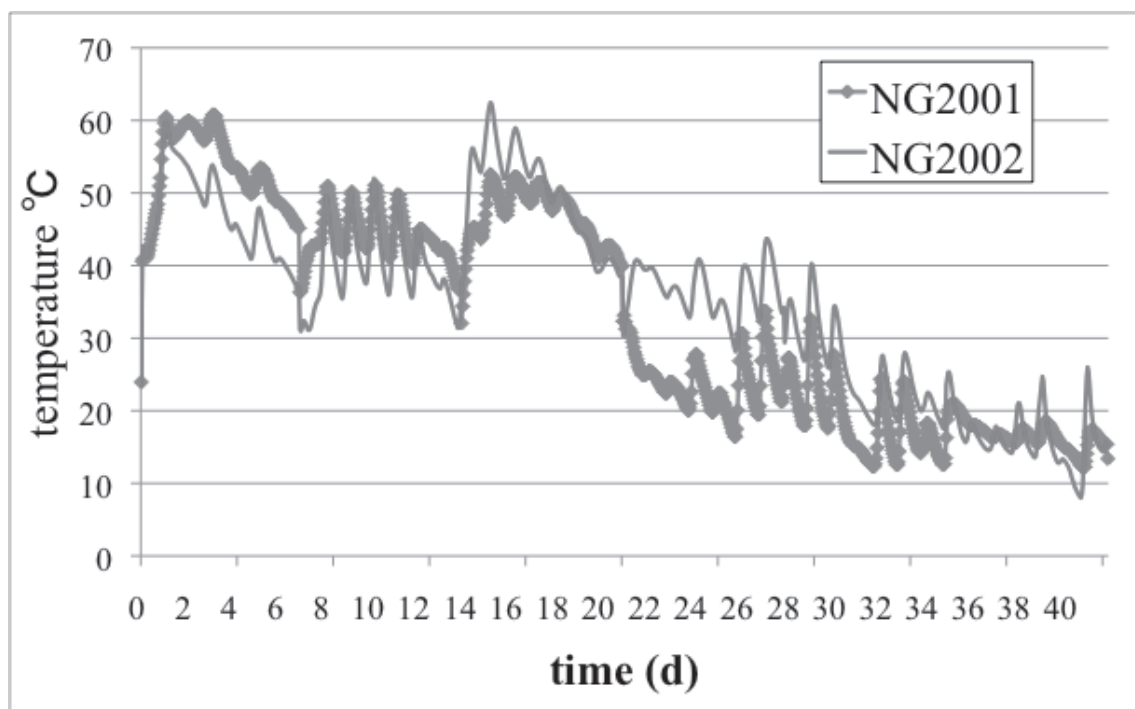


図 13 分解過程における温度変化

## 2) アザラシ分解堆肥の成分

各堆肥試料の含水率および pH について、表 2 に示した。豚ふんを除き堆肥の含水率は大きく異ならなかったが、pH は汚泥堆肥や一般農家堆肥が 8 前後で弱塩基性であったのに対し、アザラシ分解堆肥では中性から弱酸性を示した。分解速度の早かった NG2001 は NG2002 に比べやや pH が低い傾向であった。

各堆肥試料の多量元素含量について、表 3 に示した。肥料成分として重要な植物多量要素である窒素(N)、リン(P)、カリウム(K)について、アザラシを分解した堆肥は、汚泥堆肥と比較して N、P 含量は同等であったが、K 含量がやや高い傾向であった。他の多量成分については、アザラシを分解した堆肥について、他の堆肥と比べて特に大きく異なる成分は見られなかった。各堆肥試料の多量元素含量について、表 2 に示した。肥料成分として重要な植物多量要素である窒素(N)、リン(P)、カリウム(K)について、アザラシを分解した堆肥は、汚泥堆肥と比較して N、P 含量は同等であったが、K 含量がやや高い傾向であった。他の多量成分については、アザラシを分解した堆肥について、他の堆肥と比べて特に大きく異なる成分は見られなかった。

表 2 アザラシ分解堆肥および比較のための汚泥堆肥（発酵床として使用）、市内の一般農家堆肥、および豚ふんの含水率および pH. 算術平均値および±標準偏差を示した

	汚泥堆肥 (N=4)	アザラシ分解 堆肥平均 (N=4)	N2002 堆肥 (皮あり) (N=2)	N2001 堆肥 (皮なし) (N=2)	市内 5 地域の農 家堆肥 (N=10)	豚ふん (N=2)
含水率%	73.21 ± 0.72	70.24 ± 2.55	70.33 ± 0.52	70.15 ± 4.38	65.64 ± 13.50	24.19 ± 0.63
pH	8.03 ± 0.46	6.86 ± 0.21	7.03 ± 0.11	6.69 ± 0.01	7.96 ± 0.44	

各堆肥試料の重金属および微量元素含量について、表 4 に示した。特に動植物に有害な成分であるヒ素(As)、鉛(Pb)、水銀(Hg)、カドミウム(Cd)について、As は全ての堆肥に含有されたものの微量であり、アザラシを分解した堆肥については、汚泥堆肥と比較して特に高い傾向はみられなかった。Pb、Hg、Cd は全ての堆肥について検出限界以下であった。ただし重金属類の中で銅(Cu)および亜鉛(Zn)について、アザラシを分解した堆肥について、汚泥堆肥と比較して高い傾向がみられ、特に Zn については 1000mg/kg を超える値が示された。汚泥堆肥は一般に Zn を多く含有し、これを施用している農地については、Zn 含量が土壤中基準値である 120mg/kg を超える値を示す土壌もあり、施用時に注意が必要となっている。アザラシを分解した堆肥はさらに多くの Zn を含む傾向があり、従って Zn については、農業利用する上で注意が必要となる。他の重金属、微量元素については、汚泥堆肥や市内の一般農家堆肥と比べ、特に大きく異なる成分は見られなかった。

表3 アザラシ分解堆肥および比較のための汚泥堆肥（発酵床として使用）、市内の一般農家堆肥、および豚ふんの多量元素含量。算術平均値および±標準偏差を示した。NDは検出限界以下を示す

元素	単位	汚泥堆肥 (N=4)	アザラシ分解堆肥 平均 (N=4)	N2002 堆肥 (皮あり) (N=2)	N2001 堆肥 (皮なし) (N=2)	市内5地域の農家 堆肥 (N=10)	豚ふん (N=2)
N	%	3.95 ± 0.21	3.09 ± 0.31	3.03 ± 0.49	3.14 ± 0.20	2.29 ± 0.50	3.15 ± 0.91
P	% P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	5.31 ± 0.69	4.90 ± 0.45	4.76 ± 0.59	5.04 ± 0.43	2.73 ± 1.82	8.20 ± 1.49
K	% K <sub>2</sub> O	0.97 ± 0.29	1.35 ± 0.11	1.33 ± 0.08	1.37 ± 0.17	2.97 ± 1.22	2.10 ± 0.26
Ca	% CaO	2.38 ± 0.20	2.30 ± 0.16	2.23 ± 0.12	2.37 ± 0.21	3.13 ± 1.51	6.46 ± 0.90
C	%	23.44 ± 0.83	24.83 ± 0.80	25.41 ± 0.75	24.26 ± 0.09	22.50 ± 1.64	25.91 ± 2.25
O	%	25.8 ± 0.7	25.6 ± 0.5	25.3 ± 0.6	25.9 ± 0.1	25.8 ± 1.8	25.5 ± 0.1
B	%	0.27 ± 0.54	0.31 ± 0.62	0.6 ± 0.9	ND	1.31 ± 0.93	ND
S	%	1.25 ± 0.35	1.45 ± 0.20	1.3 ± 0.3	1.6 ± 0.0	0.38 ± 0.16	1 ± 0.12
Cl	%	0.24 ± 0.06	0.33 ± 0.06	0.30 ± 0.00	0.30 ± 0.10	0.63 ± 0.25	1 ± 0.13
Br	%	0.0024 ± 0.0008	0.0030 ± 0.0004	0.0030 ± 0.0006	ND	0.0014 ± 0.0012	0.002 ± 0.0004
Na	%	0.12 ± 0.05	0.13 ± 0.02	0.12 ± 0.01	0.14 ± 0.02	0.50 ± 0.18	0.29 ± 0.08
Mg	%	0.41 ± 0.02	0.36 ± 0.02	0.34 ± 0.01	0.38 ± 0.00	0.56 ± 0.28	1.02 ± 0.17
Al	%	2.09 ± 1.26	0.68 ± 0.08	0.63 ± 0.03	0.74 ± 0.06	1.29 ± 0.91	0.21 ± 0.05
Si	%	3.72 ± 1.56	1.79 ± 0.15	1.66 ± 0.05	1.91 ± 0.03	5.44 ± 2.90	0.61 ± 0.22

### 結論

結論として、アザラシを分解した堆肥について、成分について、農業利用上大きく問題となる点は認められなかった。汚泥堆肥と同様、N、P含量が堆肥としては多く含有され、高い肥効が期待される。また、熟成に必要となる期間は4-5週間であり、毛皮や脂肪を除去した場合1週間程度熟成期間が短縮されることが示された。

表4 アザラシ分解堆肥および比較のための汚泥堆肥（発酵床として使用）、市内の一般農家堆肥、および豚ふんの重金属および微量元素含量。算術平均値および±標準偏差を示した。NDは検出限界以下を示す

元素	単位	汚泥堆肥 (N=4)	アザラシ分解堆肥平均 (N=4)	N2002 堆肥 (皮あり) (N=2)	N2001 堆肥 (皮なし) (N=2)	市内5地域の農家堆肥 (N=10)	豚ふん (N=2)
Cu	mg/kg	342 ± 61	396 ± 33	386 ± 9	405 ± 54	70 ± 67	249 ± 14
Zn	mg/kg	883 ± 239	1076 ± 80	1067 ± 55	1084 ± 126	291 ± 282	2907 ± 31
As	mg/kg	8.7 ± 7.6	5.5 ± 6.4	5.0 ± 7.1	6.0 ± 8.5	1.0 ± 3.2	ND
Cd	mg/kg	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Hg	mg/kg	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ni	mg/kg	34 ± 10	36 ± 6	39 ± 9	33 ± 1	23 ± 4	25 ±
Cr	mg/kg	57 ± 14	55 ± 8	48 ±	58 ± 7	154 ± 98	ND
Pb	mg/kg	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ti	mg/kg	1794 ± 983	795 ± 83	734 ± 25	855 ± 72	601 ± 374	45 ± 64
Mn	mg/kg	240 ± 56	273 ± 25	260 ± 23	286 ± 25	389 ± 140	324 ± 74
Fe	mg/kg	19928 ± 3389	21102 ± 1967	20389 ± 1684	21815 ± 2595	5854 ± 3036	2446 ± 529
Sr	mg/kg	118 ± 52	45 ± 23	48 ± 25	41 ± 30	21 ± 7	15 ± 1
Zr	mg/kg	55 ± 56	45 ± 36	41 ± 38	48 ± 48	65 ± 32	51 ± 47
Ba	mg/kg	1299 ± 525	634 ± 716	683 ± 940	585 ± 802	27 ± 24	47 ± 66
W	mg/kg	75 ± 39	ND	0 ±		95 ± 169	210 ± 297
Co	mg/kg	43 ± 39	ND	ND	ND	133 ± 174	ND
Rb	mg/kg	6 ± 6	ND	ND	ND	3 ± 10	ND
Y	mg/kg	55 ± 64	ND	ND	ND	ND	ND

### ③経済効果

#### 「アザラシと地域社会の共生を進める取り組み」の価値評価

本研究では、モデルへの適応度が高くなったワイブル生存分析による WTP の推定を採用することにした。表5に、表4に、推定結果を示した。

表5 ワイブル生存分析による WTP の推定結果

変数	係数	t 値	p 値
Location	5.27	22.56	0.00***
Scale	1.96	26.16	0.00***
n	1081		***：1%有意
対数尤度	-1393.91		



推定結果から「アザラシと地域社会の共生を進める取り組み」に対する、1世帯当たり年間のWTPを求めた(表6)。その結果、WTPの中央値では776円となった。これは、この取り組みに対する基金に支払う意思のある人と、支払う意思のない人が、それぞれ50%になっているときの金額である。また、この取り組みに対する基金へ支払う意思のある人の平均金額は、2555円になった。

表6 1世帯当たり年間WTP

中央値	平均値
776円	2,555円

注) 平均値は最大提示額で裾切りして算出している

これを日本全体で評価した場合、野生動物や環境共生に関心を持っている人を考慮して考えると、中央値で約433億2400万円となった(プレ調査より得られた、動物への関心もしくは環境共生への関心を持っている人の割合0.79と令和2年国勢調査で示された日本の世帯数55,830,154とWTP中央値をかけ合わせて算出)。

なお、2013年に環境省で実施された、ツシマヤマネコの生息数を回復させることに対する経済的な価値評価では、中央値1015円、平均値(最大提示額で裾切り)2790円と推計され、日本全国での年間支払い意思額は、中央値で約527億3,000万円と推計されている。

#### 「アザラシと地域社会の共生を進める取り組み」への支払いの要因分析

「アザラシと地域社会の共生を進める取り組み」に対する基金への支払いに影響を及ぼす要因を検討した。はじめに、影響を及ぼすと思われる要因(変数)をすべてモデルに入れて推定し、その後、符号条件が満たさない変数や有意ではない変数を取り除き再推計した。最終的な推定結果は表7である。

各変数の説明は次のとおりである。「提示額」は、係数の符号はマイナス、1%で有意となった。これは、提示額が高くなるほどその提示金額を支払う意思を示す(成功)確率が低くなることを意味する。

「年収」は、回答者の世帯年収を200万円単位で8階級に分けて回答してもらっており、それを1から8と、高い年収ほど大きくなるようにしている。「年収」の係数の符号はプラス、1%で有意となった。

したがって、年収が高くなるほど、成功確率が高くなることを意味する。「環境保全活動/寄付の実績がある」は、回答者が環境保全活動への参加もしくは活動への寄付をした経験を回答してもらっており、活動もしくは寄付の経験をしている場合は1とするダミー変数である。係数の符号はプラス、1%で有意となった。

したがって、環境保全活動への参加もしくは活動への寄付をした経験があると成功確率は高くなることを意味する。「アザラシが保護対象になっていることの認知」は、ゼニガタアザラシが保護対象になっていることを知っている場合は1とするダミー変数である。係数の符号はプラス、1%で有意となった。

したがって、アザラシが保護対象になっていることを知っている人は成功確率が高くなることを意味する。「アザラシ観察ツアーへの参加希望あり」は、仮にアザラシ観察ツアーがあった場合に参加したいと回答した場合は1とするダミー変数である。係数の符号はプラス、1%で有意となった。

したがって、アザラシ観察ツアーに参加したいと思う人は成功確率が高くなることを意味する。「アザラシによる漁業被害が発生していることの認知」は、アザラシによる漁業被害が発生していることを知っている場合は1とするダミー変数である。係数の符号はプラス、1%で有意となった。

したがって、アザラシによる漁業被害の発生を知っている人は成功確率が高くなることを意味する。「アザラシの捕

獲に反対」は、現在実施されているゼニガタアザラシの個体数調整について、漁業被害があったとしても個体調整をすることに否定的な回答をした場合は 1 とするダミー変数である。係数の符号はプラス、1%で有意となった。したがって、個体調整をすることに否定的な人は成功確率が高くなることを意味する。

表 7 WTP 決定要因の推定結果

変数	係数	t 値	p 値
constant	4.606	16.115	0.00***
ln(提示額)	-0.908	-23.790	0.00***
年収	0.109	3.376	0.01***
環境保全活動/寄付の実績がある	1.043	8.424	0.00***
アザラシが保護対象になっていることの認知	0.387	2.767	0.01***
アザラシ観察ツアーへの参加希望あり	1.116	5.008	0.00***
アザラシによる漁業被害が発生していることの認知	0.884	3.940	0.00***
アザラシの捕獲に反対	0.432	2.560	0.01***
n	1081		***：1%有意
対数尤度	-1317.68		

係数の大きさは、「アザラシによる漁業被害が発生していることの認知」「環境保全活動/寄付の実績がある」「アザラシ観察ツアーへの参加希望ある」の順で大きくなった。このことから、アザラシの生態についての情報発信を広くおこなったり、現地での環境教育の一環としてアザラシウォッチングツアーを開催したりすることが、「アザラシと地域社会の共生を進める取り組み」が評価されることにつながると考えられた。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

北海道において実用化されているエゾシカなどの大型動物残滓を減容化するための好気性分解技術を用いて海棲ほ乳類であるアザラシ残滓を分解する技術基盤を確立した。また、好気性分解を進めるための発酵床として、網走市で下水処理汚泥から製造されている汚泥堆肥を活用する技術も実用化した。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

アザラシ残滓の好気性分解産物である堆肥を農地に施用した場合の効果、副作用等についての検討が今後必要となる。

## 10. 公表した成果一覧

### 学術論文

- 1) T. Kuribayashi, S. Taguchi, N. Azuma, S. Ikuta, M. Kobayashi. 2022. Contribution of harbor seal derived nutrients to Saccharina beds using <sup>15</sup>N natural abundance. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, under review
- 2) N. Takano, M. Kobayashi, M. Kanaiwa. 2022. Estimation of feeding strategies of spotted seals (*Phoca largha*) migrating to three regions in Hokkaido, Japan. *Marine ecology*, revised

### 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
- 2) 丹羽光一 2022. エミューオイル・アザラシオイル・馬油の抗炎症/抗老化作用. 第12回化粧品開発展, 1月12日~14日, 東京ビッグサイト
- 3) 小林万里・田口翔太・栗林貴範・東典子・生田駿 2022. えりも地域におけるゼニガタアザラシによるコンブ繁茂への寄与度. 日本哺乳類学会 2022年度大会, 8月26日~29日, 三重大学

### その他

- 1) 栗林貴範 2021. コンブを育てるアザラシ-栄養塩としての隠れた役割-, 資源管理・海洋環境シリーズ. 北水研だより, 103:9-11.

# 2021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	自然資源、農業、栄養、健康	3,000,000

### 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・サブテーマ(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	サブテーマ(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	サブテーマ(1) 伝統的農産物の栄養・機能性評価

### 3. 研究期間

2021年4月1日～2022年3月31日（3年計画の3年目）

### 4. 研究の背景（当初）

近年、「栄養障害の二重苦」が認識され、国際的な農業・食料政策の中心の一つとなっている。食習慣がこの大きな要因とされており、現状を改善するには、その形成に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る必要がある。また、都市-農村間の食料・農産物に関するサプライチェーンが複雑化したことにより、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、国際間でも同様である。

### 5. 研究目的

以上を背景に、本研究は、ケニア共和国キツイ郡（Kitui County）およびビヒガ郡（Vihiga County）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

### (1) 伝統的農産物の栄養・機能性評価

本サブテーマでは、今年度は、ビヒガ郡で過去に実施された 24 時間思い出し法による食事調査結果から食物摂取頻度調査票（FFQ：Food Frequency Questionnaire）を検討・作成し、その調査票の妥当性の検証を進める予定としていた。しかしながら COVID-19 の影響により調査を実施することができなかつたため、今年度は、昨年度に引き続き、現地カウンターパートが収集したデータ、および 2019 年度の調査時に収集したデータを用い分析を行った。また、以下のサブテーマ (2)、(3) とともに、現地カウンターパートを通じた調査を実施しているところである。

現地カウンターパートが収集したデータに関して、Dietary Diversity Score (DDS ; 以下 DDS とする) を用いて食料摂取の現状を把握した。DDS を求めるにあたって、本研究では FAO に従い、食品グループを 16 に分類する。すなわち穀物、ビタミン A が豊富な野菜及び塊茎 (vitamin A rich vegetables and tubers)、白色塊根・塊茎 (white roots and tubers)、濃緑色葉菜類 (dark green leafy vegetable)、その他野菜、ビタミン A が豊富な果物 (vitamin A rich fruits)、その他果物、内臓肉 (organ meats)、生鮮肉、卵、魚介類、豆・ナッツ・種子、牛乳・乳製品、油脂、菓子類 (sweets)、調味料・スパイス・飲料からなる。本研究では、Bioversity international がケニア共和国キツイ郡の農村部の農家世帯 297 戸を対象に行った家計調査の Data を利用する。各世帯の DDS を計算するとともに食料の入手経路にも注目する。各世帯が作付けする農地からの農産物で食料を自給することと、食料を購入することの観点から DDS に及ぼす影響を分析する。

また、世帯内の消費水準、労働力、農地の保有と DDS との関係を明らかにすることを目的に、チャヤーンフ法則の検証に利用される世帯内指標である消費力指数 (C)、労働力指数 (W)、世帯農業生産量 (P) を推計する。

以上を用いて、単位労働力指数(W)あたりの世帯の消費力 (C : C/W)、単位労働力指数あたりの農地面積(P : P/W)が DDS に及ぼす影響を分析するために、DDS を被説明変数、C/W、P/W、さらに P/W の 2 乗項を説明変数とする回帰分析を行う。C/W は各家計内の単位労働力あたりの扶養すべき消費力 (家計内の労働力の労働負担) であり、DDS に対しては負の相関を示すと考えられる。P/W は単位労働力あたりの農業生産量または耕作面積 (農業労働に関する家計の労働力の労働負担) であり、ある一定水準までは DDS と正の相関を示すものの、ある一定水準を超えると負の相関を示す U 字型の関係にあると考えられる。これを把握するため二乗項を設定する。

### (2) 農業を含む遺伝資源利用と社会制度に関する分析

本サブテーマは、現地調査による遺伝資源用の状況や家計調査を基本とする社会経済指標を用いて、世帯における栄養摂取や農業を含む遺伝資源利用との関係を分析することとしているが、サブテーマ (1) 同様、現地調査を実施することができなかつたため、これまで取得した Data 等による分析を実施するとともに、現地カウンターパートに依頼し、調査を実施しているところである。

次に、サブテーマ (1) 同様、Bioversity International がケニア共和国キツイ郡の農村部の世帯を対象に、

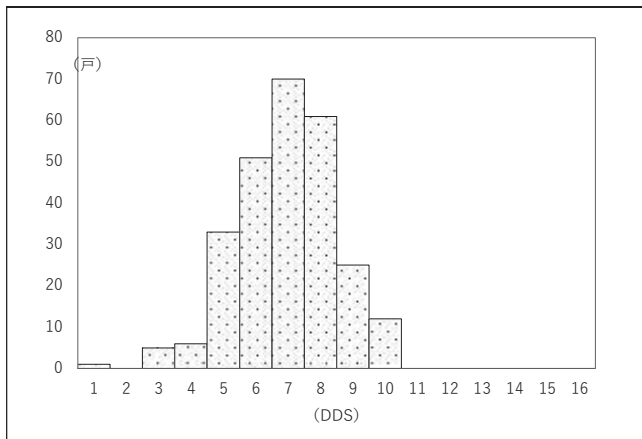


図1 世帯ごとの Dietary Diversity Score (DDS) の分布

出所：家計調査の Data をもとに筆者作成

註：摂取して食料の取得方法について 90%以上捕捉されている世帯のみを対象

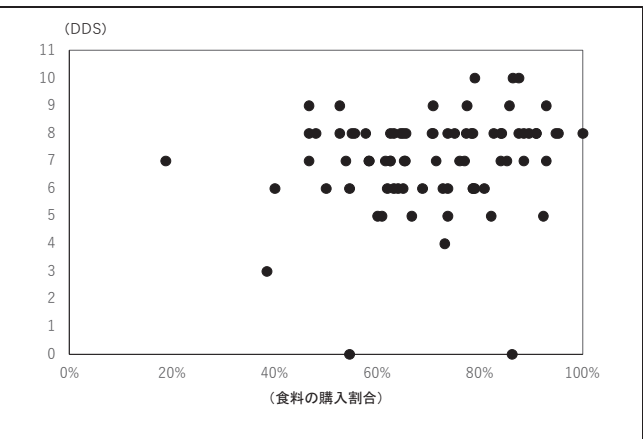


図2 世帯ごとの食料の購入割合と DDS の関係

出所：家計調査の Data をもとに筆者作成

註：摂取して食料の取得方法について 90%以上捕捉されている世帯のみを対象。DDS は Dietary Diversity Score を示す。

2009年に実施した家計調査のデータを利用し、家族構成を踏まえた世帯内の労働の状況や、作付けしている作物の品目名、および品目数を把握する。これにより作付品目と作付面積や世帯内の家族構造に密接に関連する労働力との関係を検証する。サンプル数は220である。世帯の労働力については、サブテーマ(1)同様チャヤノフ法則の検証に用いられる労働力指数を推計する。

以上を踏まえたうえで、保有する総農地面積と労働力指数を制約とした、栽培品目数の生産による効率性の世帯間の差異を数理最適化により明らかにする。

### (3) 伝統的農産物のサプライチェーン構築と販売実験

本サブテーマでは、本年度は販売実験のための試作品の作成を予定していた。試作品の作成にあたっては、候補となる食品の選定、現地農産物の利用可能性を検討するが、サブテーマ(1)、(2)同様、現地における原料候補の選定や購入等ができなかったため、日本側で候補食品の選定を行うとともに、日本の企業との連携を模索した。

## 7. 研究成果

### (1) 伝統的農産物の栄養・機能性評価

図1は、世帯ごとの DDS の分布を示しており、最小値が1、最大値が10であり、最頻値は7という結果となった。また、平均値は6.75である。

次に、摂取されている食料の入手経路をみると自分の農地から入手している場合と購入している場合の2つに大別される。多くの世帯が、食料を自分の農地から入手、すなわち自給している割合が0%~約50%の間に分布しており農村地域でありながら自給率はそれほど高くない。図2より世帯ごとの食料の購入割合と DDS の関係を見ると、食料の自給率が0%から20%の間に DDS が高い世帯が多く分布している。また、1日に摂取した食料のうち購入している食料の割合と DDS の関係を見ると、購入した食料の割合が40%以上のところに多くの世帯が分布しており、農村地域ではあるにも関わらず大半の食料を購入で賄っていることがわかる。また、食料の購入率が100%に近づくほど DDS が高くなる傾向にある。自分の農地以外から食料を入手している、つまり必ずしも食料の自給が高ければ DDS も高くなるというわけではないことがわかる。また、自分の農地からの食料自給率が低くても高い DDS を得られることが示唆される。これは各世帯が保有する農地面積との関係でも確認され、必ずしも農地が小さく

とも DDS が低いとは限らないことが指摘できる。

以上を踏まえて、DDS を被説明変数、C/W (単位労働力指数(W)あたりの世帯の消費力 (C))、P/W (単位労働力指数あたりの農地面積 (P))、さらに P/W の 2 乗項を説明変数とする以下の (1) 式を最小二乗法により推計を行った。

$$DDS = \beta_0 + \beta_1 CW + \beta_2 PW + \beta_3 PW^2 \quad (1)$$

推計仮説として、これまでの考察から CW は負、PW は正かつ PW<sup>2</sup> は負であり一定程度までは DDS に対して正の影響をもつものがある一定水準を超えると負の影響を持つと設定する。β<sub>i</sub> (0, 1, 2) はパラメータを示す。また推計に用いた世帯間で、食料の自給に関する捕捉率に差があることからその影響を考慮して食料の自給に関する捕捉率が 80~100% の世帯に関するダミー変数を用いた。

表 1 は推計結果を示す。符号については全て仮説どおりであった。しかしながらそれぞれの変数について信頼区間をみると 0 を含むことから必ずしも推計結果は頑健ではない。それぞれのパラメータについて 10% 水準を最大として t 値による仮説検定を実施すると、CW については 0 と統計的有意差が認められなかった。PW、PW の 2 乗項については 0 と統計的有意差が認められた。符号についても推計仮説通り、PW が正、PW の 2 乗項が負で逆 U 字型の関係にあることがわかる。すなわち PW はある一定数の水準までは DDS に正の相関を持つものに対して、ある一定水準を超えると DDS に対して負の相関を持つ。これは、労働力指数 1 単位あたりの農地面積が増大すると、ある一定水準までは、自給される農作物の種類・量ともに増大することから DDS に対して正の影響を持つ、ある一定水準を超えると農地の管理が難しいといった理由から DDS に対して負の影響を持つようになることを示していると考えられる。

以上より DDS が元々低い世帯では、農地を増やして食料を自給することが DDS の向上につながるが、必ずしも全ての世帯で農業生産を増やすことが適切であるとは限らないことが示唆される。食料の購入による DDS の向上を考えると、農外収入を増やすことも有効である。

表 1 DDS と CW、PW に関する推計結果

	Estimate	Std. Error	95% Confidential Interval	
			Lower	Upper
Intercept	8.130	1.140	5.864	10.395
CW	-1.143	0.695	-2.525	0.239
PW	0.596	0.345	-0.090	1.282
PW <sup>2</sup>	-0.055	0.033	-0.120	0.010
Dummy 80-100	0.040	0.486	-0.927	1.007
Observation	76			
Adjusted R-squared	0.022			
F-statistic	1.490			

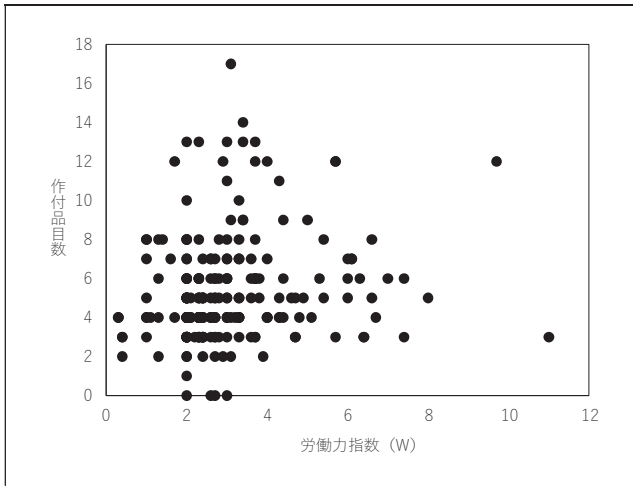


図3 世帯ごとの労働力指数と作付品目数の関係

出所：家計調査の Data をもとに筆者作成

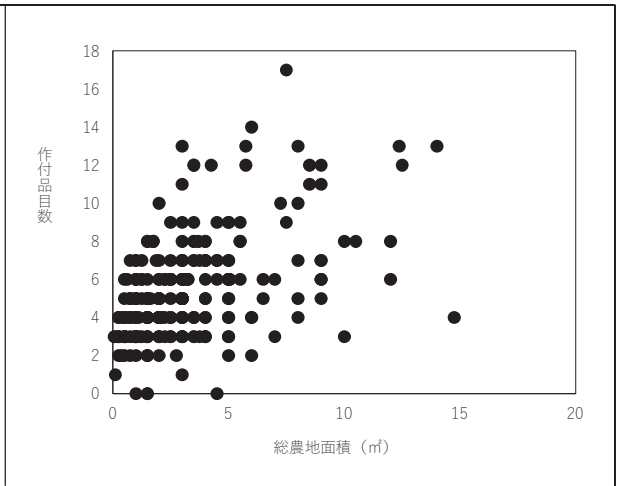


図4 総農地面積と作付品目数の関係

出所：家計調査の Data をもとに筆者作成

## (2) 農業を含む遺伝資源利用と社会制度に関する分析

図3、4はそれぞれ世帯ごとの労働力指数、および総農地面積と作付品目数の関係を示したものである。労働力指数と作付品目数の間にそれほど相関は見られず、同様の労働力指数を示す世帯であっても作付品目数が異なっていた。また、世帯ごとの総農地面積と作付品目数についても、労働力指数の場合と同様、作付品目数に関して分散が大きく、同じ総農地面積であっても作付品目数に差があることが明らかとなった。以上より、ケニア・キツイ郡の世帯が食料・栄養摂取の多様性を依存する作付品目数は、同じ労働力指数、総農地面積を保有する世帯であっても異なる。これは、換言すると少ない品目数を作付する世帯が同様の労働力指数、総農地面積を有し多い品目を作付する世帯と同様に作付品目数を増加させることができる可能性があることを示唆する。

以上を検証するため、以下のように労働力指数、総農地面積を制約に、作付品目数を目的関数とする数理最適化による世帯間の効率性の差異を推計した。

$$\theta^* = \min \theta \quad (2)$$

$$\text{s.t. } \sum_{j=1}^n \lambda_j x_{ij} \leq \theta x_{i0}, \quad i = 1, 2, \dots, m$$

$$\sum_{j=1}^n \lambda_j y_{rj} \geq y_{r0}, \quad r = 1, 2, \dots, s$$

$$\sum_{j=1}^n \lambda_j = 1, \quad \lambda_j \geq 0, \quad j = 1, 2, \dots, n$$

$x_{i0}$ は*i*番目の入力で労働力指数・総作付面積、 $y_{r0}$ は*r*番目の出力で作付品目数を、 $\lambda_j$ は未知のウェイトで*j*=1,2,・・・,*n*は世帯に、それぞれ対応する。

図5は、推計結果、すなわち世帯間の作付品目数と労働力指数、総作付け面積に関する効率性の差異を示したものである。1が最も効率的な世帯を示し、0.067～1と世帯間での効率性に差異があることが明らかとなった。またまた図6は、作付品目数1単位生産するのに必要な総農地面積、および労働力指数の世帯間で比較したものであり、原点に近い方が、少ない総農地面積と労働力指数で同様の作付品目数が達成できると解釈される。効率性の最も高い世帯5位と、最も低い世帯5位について、労働力指数を



比較すると、効率性の高い世帯では、0.3~2.0、効率性の低い世帯で2.0~11であった。総農地面積についても同様の比較を行うと、効率性の高い世帯は、0.06~1.5a、効率性の低い世帯は3~9aであった。作付品目数に関しては、効率性の高い世帯が3~7品目、効率性の低い世帯が1~5品目であった。具体的に作付けしている品目をみると、効率性の高い世帯、効率性の低い世帯共に、主食であるトウモロコシなどが栽培されている傾向が強くなり、作付けしている品目に大きな差はない。

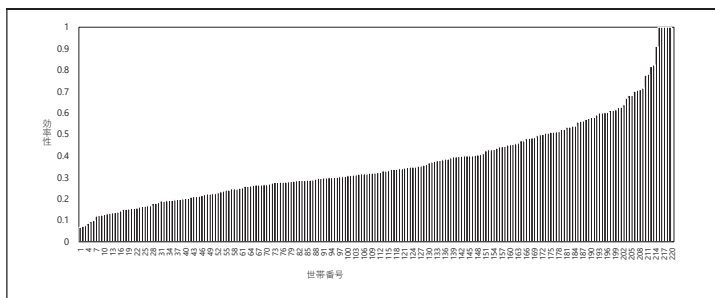


図5 世帯間の作付品目数と労働力指数、総作付け面積に関する効率性の差異  
出所：筆者作成

以上より、効率性の高い世帯と効率性の低い世帯との間で作付体系に大きな差異はなく、作付品目数の差異は、労働力指数、総農地面積の二つの投入に起因すると考えられる。これを考慮すると、同様の労働力指数、総農地面積であっても効率性の高い農家を指針に、効率性の低い農家が作付品目数を増やすことが可能であると考えられる。

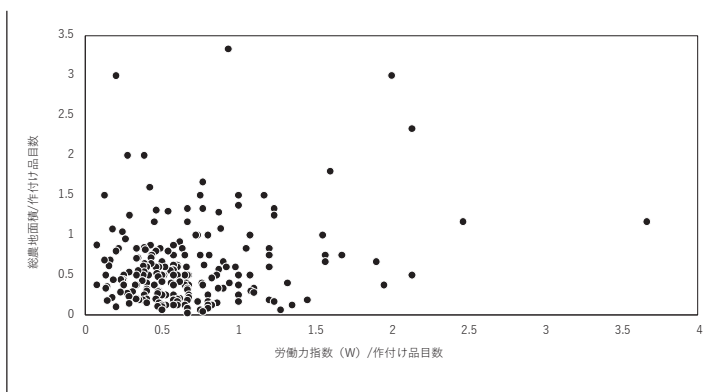


図6 作付品目数1単位生産するのに必要な総農地面積、および労働力指数の世帯間比較  
出所：筆者作成

### (3) 伝統的農産物のサプライチェーン構築と販売実験

販売実験のための試作品として、ポン菓子候補の一つとし、日本の企業との連携を模索した。小サンプルではあるが、試作品を作成した。また、その他の候補として電気パン（食品に電気を流して調理するジュール加熱製法によるパン）、および南部せんべいを検討している。電気パンについては現地協力機関が試作したものを検証している。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

本研究を通じて作成された、食事評価のシステムに関して、現在、現地カウンターパート機関であるカウンターパート（The Alliance of Bioesrity International and CIAT）と連携し、現地での利用のテスト、評価、および他国・他地域への適用をについて検討しているところである。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

### (1) 伝統的農産物の栄養・機能性評価

本研究で用いた家計調査の Data では、食料摂取の自給率、購入率のデータで欠損が多くみられるとともに、回答者の記憶に依存するリコールバイアスがあることから、より詳細なデータを得ることが期待されるとともに、季節性なども考慮する必要がある。また、現在、現地カウンターパート機関である The Alliance of Bioesrity International and CIAT を通じて、現地調査を実施しているところであり、これまでの研究成果とそれらを比較し、食料の自分の農地への依存度や世帯の農外収入、母親の時間配分の変化等を明らかにしていく。

## (2) 農業を含む遺伝資源利用と社会制度に関する分析

本研究から、必ずしも全ての世帯で農業生産を増やすことが適切であるとは限らず、食料の購入による DDS の向上を考えると、農外収入を増やすことも有効であり、作付品目数に関する効率性の観点からもそれらが可能であることが示唆された。今後、これらを元に、世帯内での農業生産や農外収入への労働力の配分等を明らかにしていく。

## 10. 公表した成果一覧

### 学術論文

- 1) Kishino, M., Hida, A., Hara, K., Mungai, D. M., Opiyo, R. O., Matsuda, H., Tada, Y., Ishikawa-Takata, K., Irie, K. and Morimoto, Y. “High Adherence to the Food Pyramid's Recommendations Avoids the Risk of Insufficient Nutrient Intake among Farmers in Peri-Urban Kenya,” *Nutrients*, 13(12):4470. doi: 10.3390/nu13124470.
- 2) 有吉星南「サブサハラ・アフリカにおける食料摂取の多様性と世帯構造・農業生産の関係」東京農業大学農学部デザイン農学科卒業論文
- 3) 南雲夏希「サブサハラ・アフリカにおける栄養強化作物の普及可能性」東京農業大学農学部デザイン農学科卒業論文

# 2021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	2,100,000

### 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、昆虫インベントリー
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、哺乳類インベントリー
	佐々木 剛	農学部 生物資源開発学科・教授	調査、両爬虫類インベントリー
	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・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・教授	調査、雑草インベントリー

### 3. 研究期間

2021年4月1日～2022年3月31日（3年計画の3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おり、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育・生息する植物や動物の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、島嶼部の農業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。農地における生物多様性の豊かさは、農産物の安全性の指標となるとともに、ブランド化にもつながり、近年その重要性が増している。

### 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）の農業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、「総合的生物多様性管理」の視点から、指標種を利用した島嶼農業生態系の評価と持続可能な農業生態系の保全策を提言する。

## 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のうち、世界自然遺産にも指定され、環境保全型農地を有する西表島の水田環境を中心に、植物、昆虫、動物を対象とした調査を実施した（図1）。また、西表島と同様、先島諸島に含まれ、生産効率型農地を有する石垣島と宮古島の水田や畑地（サトウキビ）とその周辺環境においても、生物多様性の実態を比較する目的で補完的調査を実施した。

・「環境保全型農地」では、環境指標生物としての利用が考えられる、特徴的な生物種を探索した。

・「生産効率型農地」では、保全策を検討する必要がある農地・里山に依存する希少種、絶滅危惧種を探索した。



図1. 西表島の調査地風景（写真上段：干立地区の環境保全型農地；写真下段：白浜地区の生産効率型農地）。

## 7. 研究成果

### 7-1. 植物

西表島の水田における植物の多様性

・西表島における農法が異なる水田の調査で、計109種の植物を確認した。その内訳は、環境保全型農地で77種（希少種21種；帰化種14種）、生産効率型農地で52種（希少種4種；帰化種21種）であった。

表 1. 西表島の水田で確認された希少植物種.

科名	種名	環境保全型	生産効率型	環境省	沖縄県	竹富町
デンジソウ科	<u>ナンゴクデンジソウ</u>		●	IB		◎
サンショウモ科	アカウキクサ	●		IB		◎
トチカガミ科	<u>マルミスブタ</u>	●		II	II	◎
タヌキアヤメ科	タヌキアヤメ	●		準		
ミズアオイ科	ミズアオイ	●			II	◎
ホシクサ科	<u>スイシャホシクサ</u>	●		IA	IB	
	オオシラタマホシクサ*	●				
イグサ科	コウガイゼキショウ	●			II	
カヤツリグサ科	ミスミイ	●		IB	II	◎
	ハリイ	●			II	
	トクサイ	●			II	◎
	<u>ハナシテンツキ</u>	●		IB	IB	◎
	クロタマガヤツリ	●			IB	◎
	ホタルイ	●	●		IB	◎
	ヒロハクロタマガヤツリ*	●				
イネ科	シマカモノハシ	●		IB		
	タイワンアシカキ	●	●	準		◎
タデ科	ナツノウナギツカミ	●			準	◎
サクラソウ科	<u>リュウキュウコザクラ</u>		●			◎
オオバコ科	エナシソクサ	●		IB	II	◎
ハエドクソウ科	スズメノハコベ	●		II	II	◎
タヌキモ科	タヌキモ	●		準		◎
ミツガシワ科	<u>ヒメシロアサザ</u>	●		II	II	◎

\*: 分布・生育が少ない種；IA: 絶滅危惧 IA 類；IB: 絶滅危惧 IB 類；II: 絶滅危惧 II 類；準: 準絶滅危惧；下線: 環境保全型農地の指標種または生産効率型農地の保全対象種。



図 2. 環境保全型農地の指標種スイシャホシクサ（写真左）と生産効率型農地の保全対象種ナンゴクデンジソウ（写真右）。

・環境保全型農地で特異的に見られた希少種は 13 科 19 種で、このうち環境保全型農地で比較的安定して確認されたマルミズブタ、スイシャホシクサ、ハナシテンツキ、ヒメシロアサザの 4 種を指標種として選定した（表 1、図 2）。

・生産効率型農地では、帰化種が多く確認された一方で、希少種 4 種を確認した。このうち環境保全型農地では見られなかった 2 種（ナンゴクデンジソウ、リュウキュウコザクラ）を生産効率型農地の保全対象種として選定した（表 1、図 2）。

・希少種（計 23 種）は、リュウキュウコザクラを除き湿地性植物群であり、特にホシクサ科およびカヤツリグサ科に含まれる希少植物群は、調査地以外では確認できなかった。なかでも、ホシクサ科植物の生育環境は極めて重要で、オオシラタマホシクサは町・県・国の希少種としての指定を受けていないが、国の絶滅危惧 IB 類に指定されているスイシャホシクサを含めて、これらの生育環境は沖縄県全体で見ても極めて少ない。また、減反政策による水田から畑地への耕作転換や暗渠の設置による排水改良が、これらの植物群の生育環境を減少させている。現在、これらの植物群の生育が確認されている環境においても耕作放棄が進み、植物遷移が進む中、個体数の減少が危惧される。

#### 圃場管理条件が水田の植物多様性に及ぼす影響

・西表島 30 ヶ所、石垣島 50 ヶ所、計 80 ヶ所の水田において、休閑期のイネ以外の高等植物を記録した。各調査地点について、圃場の水分条件（湿田かそうでないか）および耕起頻度（二期作あるいは一期作後に耕起を実施するか、そうでないか）を調べるとともに、衛星画像と空中写真のアーカイブデータから、1960 年以降の土地改良事業（圃場整備、用排水施設整備、農道整備）の実施の有無を把握した。それらの結果をもとに、個別種の出現状況および出現種数とそれら圃場の属性との対応関係を解析した。

・水田に生育する植物種は、圃場の水分条件および耕起頻度によって大きな差異が生じたが（図 3）、土地改良事業の有無による植物種の差異は小さかった。

・湿田かつ耕起頻度が低い水田における調査区画 5m<sup>2</sup>あたりの出現種数は、乾田かつ耕起頻度が高い立地と比べて有意に多かった。

・湿田かつ耕起頻度が低い水田に特異な種として、イヌホタルイ、クサネム、コアゼガヤツリ、コウキヤガラ、シソクサ、スズメノハコベが挙げられたが、乾田かつ耕起頻度が高い立地に特異な種は存在しなかった。



図 3. 圃場管理条件の異なる水田。一期作後に未耕起の湿田（写真左）と一期作後に耕起した乾田（写真右）。

## 7-2. 昆虫・クモ

### 水生・湿地性カメムシ類

・西表島の環境保全型農地ならびに生産効率型農地（水田；計3ヶ所）においてカメムシ類の調査を行い、環境保全型農地において新たに2種（マダラミズカメムシとトカラコミズムシ）の生息を確認した。

・環境保全型農地で確認されたカメムシ類は計28種となり、生産効率型農地の4種と比べて明らかに多かった（表2）。また、生産効率型農地から確認された種は、すべて環境保全型農地でも確認されている普通種であり、個体数は生産効率型農地でも環境保全型農地でも多かった。さらに、環境保全型農地の特徴として、複数種のみズムシ科やマツモムシ科が確認されていることが挙げられる。

表2. 西表島の水田で確認された水生・湿地性カメムシ類。

科名	種名	環境保全型	生産効率型
ケシミズカメムシ科	ケシミズカメムシ	●	
イトアメンボ科	オキナワイトアメンボ	●	
ミズカメムシ科	マダラミズカメムシ	●	
カタビロアメンボ科	ケシカタビロアメンボ	●	●
アメンボ科	セスジアメンボ	●	
みズムシ科	ツヤみズムシ	●	
	エサキコミズムシ	●	●
	ミゾナシミズムシ	●	
	ケチビみズムシ	●	
	ハイイロチビみズムシ	●	●
	トカラコミズムシ	●	
メみズムシ科	メみズムシ	●	
マツモムシ科	クロイワコマツモムシ	●	●
	ヒメコマツモムシ	●	
	オオコマツモムシ	●	
	イシガキコマツモムシ	●	
	ハナダカコマツモムシ	●	
マルみズムシ科	マルみズムシ	●	
みズギワカメムシ科	トゲみズギワカメムシ	●	
サシガメ科	キベリユミアシサシガメ	●	
	ススユミアシサシガメ	●	
	クロアシナガサシガメ	●	
	ヒメトビサシガメ	●	
	トゲサシガメ	●	
マキバサシガメ科	キボシアシブトマキバサシガメ	●	
カスミカメムシ科	アカツヤハシリカスミカメ	●	
ホソメダカナガカメムシ科	オオスカシホソメダカナガカメムシ	●	
カメムシ科	イネクロカメムシ	●	

・環境保全型農地の水源となる近傍の水域（溪流やヌタ場など）から、計9種の水生カメムシ類を確認した。このうち前年度にモリモトケシカタビロアメンボとした種が未記載種（新種）であることが判明した（図4）。農地に隣接する水辺で希少種のイリオモテケシカタビロアメンボや未記載種が発見されたことから、農地周辺の環境も保全していく必要がある。

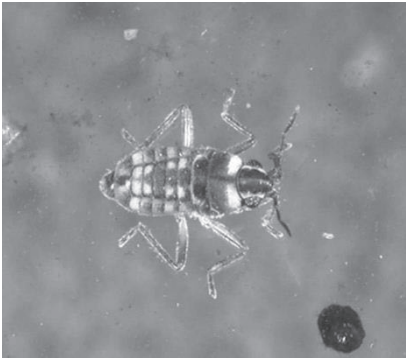


図4. 環境保全型農地の水源となる近傍の水域から得られた未記載種のケシカタビロアメンボ。

#### チョウ・トンボ類

・西表島の環境保全型農地ならびに石垣島の生産効率型農地（水田とその周辺；それぞれ2ヶ所、計4ヶ所）において、計51種のチョウ類（表3）および計16種のトンボ類を確認した。チョウ類、トンボ類ともに生産効率型農地（石垣島）に比べ、環境保全型農地（西表島）で種数が多かった。また、チョウ類の種多様度指数（Shannon-Wiener 指数）も、生産効率型農地（2.05～2.11）に比べ、環境保全型農地（2.70～2.92）で高いことが示された。

・チョウ類では、幼虫と成虫の生息場所により生息環境を類型化し、農地依存種が多く見られることを確認した。両島合わせて、農地性が22種（43%）、樹林+農地性が19種（37%）であった（表3）。農地と周辺（樹林）の環境が保全されることによって、多種のチョウ類の生息を可能にしていると考えられた。また、トンボ類について、西表島では収穫後の湛水水田や周囲の小水路が生息場所となり、休閑期にも多種のトンボの生息を可能にしていると考えられた。

表3. 西表島（環境保全型農地）および石垣島（生産効率型農地）で確認されたチョウ類とその生息環境。

科名	種名	西表島		石垣島		生息環境
		干立	大浜農園	宮良	平得	
セセリチョウ科						
	コウトウシロシタセセリ	●	●			2
	クロセセリ	●	●			3
	オオシロモンセセリ		●		●	3
	クロボシセセリ	●			●	1
	ネッタアカセセリ	●				1
	チャバネセセリ	●	●	●	●	1
	ヒメイチモンジセセリ*	●	●			1
アゲハチョウ科						
	ジャコウアゲハ	●			●	1
	クロアゲハ	●	●	●	●	3
	シロオビアゲハ		●			1
	ヤエヤマカラスアゲハ	●	●		●	2
	アオスジアゲハ	●	●	●	●	3
	ミカドアゲハ	●	●			3
シロチョウ科						
	ミナミキチョウ	●	●	●	●	3
	モンキチョウ	●	●	●	●	1



科名	種名	西表島		石垣島		生息環境
		干立	大浜農園	宮良	平得	
	ウスキシロチョウ	●	●			1
	ツマベニチョウ	●	●			3
	ナミエシロチョウ	●	●			3
	モンシロチョウ	●	●	●	●	1
シジミチョウ科						
	ウラギンシジミ	●	●		●	3
	ウラナミシジミ	●			●	1
	オジロシジミ	●		●	●	1
	ヒメウラナミシジミ	●	●	●	●	1
	ルリウラナミシジミ	●	●		●	3
	ヤマトシジミ	●	●	●		1
	ヒメシルビアシジミ				●	1
	タイワンクロボシシジミ	●	●	●	●	2
	ヤクシマルリシジミ			●		1
	クロマダラソテツシジミ	●	●	●	●	1
タテハチョウ科						
	ツماغロヒョウモン	●	●			1
	ヤエヤマイチモンジ	●	●			2
	リュウキュウミスジ	●	●	●	●	2
	イシガケチョウ	●	●	●	●	2
	ルリタテハ	●				3
	アカタテハ	●			●	1
	ヒメアカタテハ			●	●	1
	タテハモドキ	●	●	●	●	1
	アオタテハモドキ	●	●	●	●	1
	コノハチョウ	●				2
	リュウキュウムラサキ			●		1
	ヤエヤマムラサキ	●				3
マダラチョウ亜科						
	リュウキュウアサギマダラ	●	●	●		2
	スジグロカバマダラ	●	●	●	●	3
	ヒメアサギマダラ		●			3
	アサギマダラ	●	●			3
	ツمامラサキマダラ	●	●			3
	オオゴマダラ	●	●			3
ジャノメチョウ亜科						
	<u>マサキウラナミジャノメ**</u>	●	●			3
	シロオビヒカゲ**	●	●			2
	リュウキュウヒメジャノメ	●	●	●	●	2
	ウスイロコノマチョウ	●	●	●		3
種数	51	44	38	22	26	
		47		31		

\*：絶滅危惧Ⅱ類；\*\*：準絶滅危惧種；生息環境1：農地（住宅地を含む）、2：樹林（主に林縁）、3：樹林＋農地（幼虫：樹林；成虫：農地）；下線：環境保全型農地の指標種。

・西表島の環境保全型農地では、環境省指定絶滅危惧種のチョウ類3種が確認された(表3)。このうち、マサキウラナミジャノメは西表島・石垣島の固有種で成虫は農地周辺で見られ、調査において毎回確認されたことから、環境保全型農地における指標種として選定した(表3、図5)。



図5. 環境保全型農地の指標種マサキウラナミジャノメ。

#### 水生甲虫(ゲンゴロウ、ガムシ)類

・西表島の水田およびその周辺環境において、42種のゲンゴロウ、ガムシ類の生息を確認した。環境省絶滅危惧Ⅱ類に指定されているコガタノゲンゴロウやオキナワスジゲンゴロウをはじめ、町・県・国指定の希少種11種が確認できた。調査区ごとの種数は、環境保全型農地で39種、生産効率型農地で34種であった(表4)。特に、環境保全型農地ではトビイロゲンゴロウが多く生息しており、生産効率型農地では少なかった。また、ゴマフガムシ類が生産効率型農地に多く生息しており、低い水位とイネ以外の草本層の被度が低い開放的な環境を好むためと考えられる。水生甲虫相としては農法による大きな差は確認されなかったが、個体数には差が認められた。

表4. 西表島の水田で確認されたゲンゴロウ、ガムシ類の種数。

科名	環境保全型	生産効率型	種数
コガシラミズムシ科	1	1	1
コツブゲンゴロウ科	3	2	3
ゲンゴロウ科	18	13	18
ガムシ科	17	18	20
種数	39	34	42
竹富町指定希少種	9	8	9
沖縄県指定希少種	6	7	7
環境省指定希少種	8	7	8
希少種数	10	10	11

#### ゾウムシ類

・種多様性の解明が遅れているゾウムシ類を対象に、農地とその周辺環境における調査を実施し、これまでに西表島から148種、石垣島から171種、宮古島から43種の生息を確認した。生態的知見が乏しかったメダカアシブトゾウムシ(石垣島、西表島; 寄主植物: リュウキュウコクタン)をはじめ、イシガキサラクチカクシゾウムシ(石垣島、西表島; 寄主植物: ヌマノオ)、シロオビクチカクシゾウムシ(石垣島; 寄主植物: リュウキュウガキ)、テナガクチカクシゾウムシ(西表島; 寄主植物: オヒルギ)各種の加害植物を明らかにするとともに、バナナの重要害虫として知られるオサゾウムシ科3種(バナナツヤオサゾウムシ、バショウオサゾウムシ、バショウコクゾウムシ)の生息を西表島から、うち1種

(バショウコクゾウムシ) を石垣島から新たに確認した (一部発表済み ; 学術論文 : 1)。いずれの種も農地とその周辺環境の調査で新たな分布や生態が確認され、これまでそのような環境における調査が十分に行われていなかった実態が明らかとなった。

・水田雑草に依存する既知の半水生ゾウムシ類 5 種 (リュウキュウチビゾウムシ、ハスオビチビゾウムシ、カギアシゾウムシ、リュウキュウカギアシゾウムシ、オオミズゾウムシ) に加え、カギアシゾウムシ属の 1 種と旧世界からこれまで記録のなかったサルゾウムシ亜科の 1 属 (*Perigaster*) の 1 種 (いずれも未記録種もしくは未記載種) を確認した。このうちカギアシゾウムシ属は、近年、西表島干立地区の環境保全型水田のみで生息が確認されていて、生息環境が極めて狭い。また、イネの重要害虫とされていた 3 種 (イネミズゾウムシ、イネゾウムシ、ヒメイネゾウムシ) のうち、イネゾウムシとヒメイネゾウムシは、育苗箱施用剤などの影響で個体数が減少している。

#### クモ類

・西表島の環境保全型農地ならびに石垣島の生産効率型農地 (水田とその周辺 ; それぞれ 2 ヶ所、計 4 ヶ所) において、計 58 種のクモ類を確認した。環境保全型農地では 14~23 種、生産効率型農地では 12~15 種と、環境保全型農地でより多くの種を確認した。

・西表島でナルコグモ属の 1 種 (カラカラグモ科)、石垣島でシコクアシナガグモの近縁種 (アシナガグモ科) が採集された。それぞれ、ナルコグモおよびシコクアシナガグモと形態などが少し異なること、ナルコグモおよびシコクアシナガグモは沖縄県未記録であることから、両種とも日本未記録種または未記載種の可能性がある。このように、農耕地においても、日本未記録種または未記載種と思われる種が生息することから、これらの生息環境を保全する必要がある。

### 7-3. 動物

#### 両生・爬虫類

・西表島ならびに石垣島の農業生態系 (おもに水田 ; 環境保全型農地 3 ヶ所と生産効率型農地 5 ヶ所、計 8 ヶ所) において、ヤエヤマハラブチガエルやヤエヤマイシガメをはじめとする絶滅危惧種や八重山諸島固有種を含む計 23 種の両生・爬虫類を確認した (表 5)。この地域に生息するとされる両生・爬虫類 (計 37 種) の約 6 割が農地で確認されたことになる。このうちキシノウエトカゲと今年度新たに確認されたヤエヤマセマルハコガメは国の天然記念物にも指定されていて、農地が希少種や貴重種の生息環境としても機能していることを確認した。また、大半の種が森林をおもな生息環境としていて、特に森林に隣接する水田は、自然湿地の代替地となっていると考えられた (学術論文 : 2)。

・確認された種の内訳は、環境保全型農地で 19 種、生産効率型農地で 20 種であった。環境保全型農地では生産効率型農地に比べ希少種が多く (7 種 vs 6 種)、外来種が少なかった (3 種 vs 5 種)。

・ヤエヤマハラブチガエルは、環境省レッドリスト絶滅危惧Ⅱ類に指定されていて、森林性種であるが、環境保全型農地で平均確認個体数が多かった。本種は、水際の泥地にドーム状の巣穴を掘り産卵する習性があり、環境保全型水田の畔がその生息環境に適していると考えられ、環境保全型農地における指標種として選定した。また、ヤエヤマイシガメは、農業形態 (環境保全型、生産効率型) に関わらず、全ての水田で生息を確認できた。本種は絶滅危惧Ⅱ類に指定されていて、2014 年の環境省による生息状況調査では、「好適環境は水田であり、その他の土地利用がなされている箇所にはほぼ生息しない」とされ、水田は本種の生息に欠かせない環境であることが示された。このことから生産効率型農地における保全対象種として選定した (図 6)。

表 5. 石垣島、西表島の農業生態系から確認された両生・爬虫類。

分類群	種名	生息環境	固有種	外来種	環境省	
カエル	オオヒキガエル	森林性		○	II	
	ヤエヤマハラブチガエル	森林性	○			
	サキシマヌマガエル	森林性				
	ヤエヤマアオガエル	森林性	○			
	シロアゴガエル	森林性		○		
	アイフィンガーガエル	森林性				
	ヤエヤマカジカガエル	記述無	○			
	ヤエヤマヒメアマガエル	記述無	○			
カメ	ヤエヤマイシガメ	記述無	○		II	
	ヤエヤマセマルハコガメ*	森林性	○			
	スッポン	非森林性		○		
ヤモリ	ミナミヤモリ	森林性				
	オンナダケヤモリ	非森林性				
	ホオグロヤモリ	非森林性		○		
トカゲ	サキシマキノボリトカゲ	森林性	○		NT	
	キシノウエトカゲ*	森林性	○		II	
	イシガキトカゲ	森林性	○		NT	
	サキシマカナヘビ	森林性	○		II	
ヘビ	ブラーミニメクラヘビ	森林性		○		
	サキシママダラ	森林性	○			
	サキシマバイカダ	森林性	○			NT
	ヤエヤマヒバァ	森林性	○			
	サキシマハブ	森林性	○			

\* : 天然記念物 ; II: 絶滅危惧 II 類 ; NT : 準絶滅危惧種。

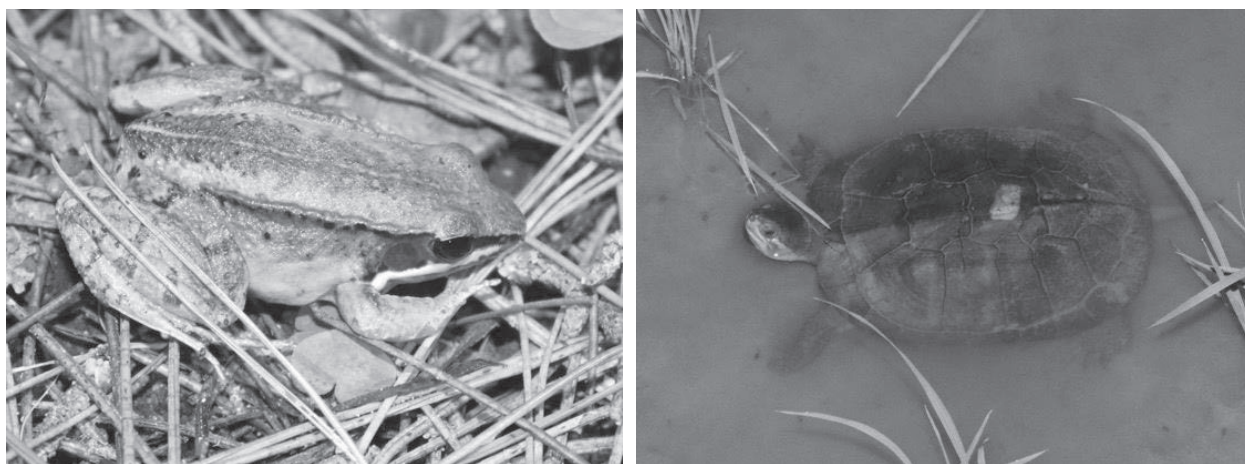


図 6. 環境保全型農地の指標種ヤエヤマハラブチガエル（写真左）と生産効率型農地の保全対象種ヤエヤマイシガメ（写真右）。

#### 哺乳類

・西表島の農地とその周辺で、リュウキュウイノシシ（以下イノシシ）と国の特別天然記念物に指定されているイリオモテヤマネコ（以下ヤマネコ）を確認するとともに、その獣害の実態を調査した。

・イノシシについては、捕獲個体の胃内容物ならびに農地に隣接した山林内のヌタ場利用の実態を調べた。2021年11月に捕獲された2個体の胃内容物は、8割以上が植物質を占めていた。2021年4月20日から11月25日までのヌタ場利用は、7時台をピークに昼間の利用割合が高く、夜間ヌタ場を訪問するニホンイノシシとは異なっていた。

・ヤマネコについては、有機栽培農園内の鶏舎において、少なくとも2個体を確認した。その内の1頭は首輪装着した環境省の調査個体であった。訪問頻度は2～3日に1回程度で、鶏舎利用はエサ資源の乏しい時期（春）に限られることが示唆されたため、この時期の鶏舎への侵入防止策の必要性を提案した（学会発表：1）。



図7. 農地周辺の林内で確認されたイリオモテヤマネコ。

#### 7-4. まとめ：島嶼農業生態系の評価と保全

・植物、昆虫、動物を対象に南西諸島（西表島と石垣島、一部、宮古島）の農業生態系における生物多様性の実態を解明する目的で調査を実施した。その結果、これら島嶼部の農業生態系が天然記念物を含む貴重種や多数の固有種、希少種の生息場所として機能していることを明らかにした。特に、西表島などに残されている環境保全型農地は、生産効率型農地に比べ多くの生物群で種数や個体数が多かった。また、昆虫類やクモ類では、農地とその周辺環境から未記載種や未記録種が確認されるなど、生物多様性保全の観点からも、島嶼農業生態系の重要性が明らかとなった。これまで南西諸島における生物多様性の保全は、自然生態系が中心であったが、今後は自然生態系のみならず農業生態系も含めて考える必要がある。

表6. 西表島、石垣島の環境保全型農地の指標種と生産効率型農地の保全対象種。

分類群	環境保全型農地：指標種	生産効率型農地：保全対象種
植 物	マルミズブタ	ナンゴクデンジソウ
	スイシャホシクサ	リュウキュウコザクラ
	ハナシテンツキ	
	ヒメシロアサザ	
昆 虫	マサキウラナミジャノメ	
動 物	ヤエヤマハラブチガエル	ヤエヤマイシガメ

・今回調査対象とした西表島と石垣島の島嶼農業生態系（おもに水田）を評価、保全する上で、環境保全型農地ではその指標となる生物種を、生産効率型農地では農地依存の希少種の中から保全対象種を選定した（表6）。選定の基準として、現場の農家の方でも認識しやすい種とした。また、環境保全型農地の指標種は、毎回の調査で確認個体数の多い種とした。指標種や保全対象種が選定されたことで農地環境の評価が可能となるとともに、農地管理（生物多様性管理）の意識向上にもつながることが期待される。

・今回の調査研究から、南西諸島の農業生態系における生物多様性を保全して行く上で、以下のような農業生態系の管理が望まれる。また、その実施にあたっては農家や自治体の協力が必要不可欠である。

- 1) 湿田、小水路の維持管理による湿性環境の維持。
- 2) 減農薬、無農薬での耕作継続による植物遷移の抑制と耕作放棄地の増加抑制。
- 3) 周辺環境（樹林）を含めた生態系保全による水源の確保と農地依存種の発生源確保。
- 4) 外来種対策。

このような農業生態系管理が行われることで、多種多様な湿性植物や水生昆虫、農地依存性昆虫やクモ、両生爬虫類の生育・生息が可能となる。農地における生物多様性の豊かさは、農産物の安全性の指標となるとともに、ブランド化にもつながり、近年その重要性が高まっている。また、多様な生物種が存在することで、島の生態ピラミッドの頂点に位置するイリオモテヤマネコやカンムリワシといったアンブレラ種も農地を利用し、食物連鎖を通じた健全な生態系の維持管理につながる。さらに、これら2種はこの地域の象徴種（フラッグシップ種）でもあり、農業生態系を含めた島の環境保全の重要性をアピールするとともに、地域固有の観光資源ともなり得るため、野生動物ツーリズムなどによる地域の活性化にもつなげられる。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

昆虫やクモ類を中心に農地やその周辺環境から未記載種や未記録種が見つかっており、希少種の分布や生態に関する新知見や分類学的成果も得られていて、学術雑誌に報告した（学術論文：1, 3, 4, 5, 6）。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

・今回は、南西諸島の中でも先島諸島を対象に調査研究を実施したが、今後は同様な調査を、生物相の異なる南西諸島の他地域や国内他地域の島嶼部でも実施し、それぞれの地域に固有な農業生態系における生物多様性の実態を解明し、保全していく必要がある。

・島嶼部の貴重な生物多様性を保全していく上で、農地とその周辺環境を含めた保全が必要不可欠で、その適切な管理を持続的に行なっていくためにも、地元農家や自治体の理解と協力を要する。

## 10. 公表した成果一覧

学術論文

- 1) Yamamoto, M., S. Tachikake, N. Imai & H. Kojima, 2021. Additional record of *Parendymia pilipes* Kirsch (Coleoptera, Curculionidae), a potential pest of mangroves from Iriomote-jima Island, the Ryukyus, Japan. *Elytra*, n. ser., 11: 379-384.
- 2) 芳賀沙也花・佐々木剛, 2021. 八重山諸島の農業生態系における両生爬虫類相に関する研究. 東京農業大学農学集報, 66: 36-43.

- 3) Watanabe, K., T. Mitamura & T. Ishikawa, 2021. First record of the back swimmer species *Anisops elstoni* Brooks (Hemiptera: Notonectidae) in Japan, with a key to the Japanese species. Japanese Journal of Systematic Entomology, 27: 138-140.
- 4) Souma, J. & T. Ishikawa, 2021. A taxonomic review of the genus *Physopelta* (Hemiptera: Heteroptera: Largidae) from Japan, Korea, and Taiwan, with a new record of *Ph. parviceps* from China. Zootaxa, 4951: 461-491.
- 5) Souma, J., T. Nozaki, K. Otsui & T. Ishikawa, 2022. New records of the damsel bug *Alloeorhynchus reinhardi* Kerzhner & Günther, 1999 (Hemiptera, Heteroptera, Nabidae) from Japan. Check List, 18: 261-264.
- 6) Souma, J., Y. Sakai & T. Ishikawa, 2022. First record of *Urostylis hubeiensis* Ren (Hemiptera, Heteroptera, Urostylididae) from Japan, with an illustrated key to the Japanese urostylidid species. Biodiversity Data Journal, 10: e83656.
- 7) 山田晋, 2021. 雑草植生の形成と維持に及ぼす種間相互作用と土壌化学性の影響. 草と緑, 13 : 1-12.

#### 学会発表

- 1) 稲場一華, 栗城穂乃香, 福田滯季, 松林尚志, 2021. イリオモテヤマネコによる養鶏業被害状況の把握. 日本哺乳類学会 2021 年度大会 (東京農業大学) .

# 2021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 齊藤 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化学的アプローチ	SDGs 2 (飢餓)、 15 (陸上資源)	2,100,000

### 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	齊藤 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・准教授	遺伝子同定、アッセイ系確立
	石川 一憲	農学部・教授	接木効率の調査

### 3. 研究期間

2021年4月1日～2022年3月31日 (3年計画の3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  $\beta$ -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 をロ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

接木は園芸分野における収穫期間短縮、収量増、耐病性付与などを目的とした農業技術です。接木の親和性は古くから知られ、台木と穂木は遠縁になるほどお互いを「異物」と認識するために接木は成立しない。そこで本課題は生物学、化学、農学分野を融合することで、接木成立の可否が遺伝的距離に依存することから、細胞接着、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される。しかし、その分子および接木イベントの制御メカニズムの全容は現在も未解明である。植物ホルモンは接木イベントを司る重要な分子の一つであるが、その感受機構は異科属植物間においても共通性が高いことから、それ以外のコミュニケーション分子の存在が予想される。本研究では接木親和性を決定するメカニズムについて、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**と、② **維管束形成促進を誘導する化合物の創出**を目的とする。本年度は化合物のハイスループットスクリーニングを志向した評価系構築としてカルス接ぎ木について、野生種を含むトマト 7 系統の種々の外植体組織を用いてカルス形成、多芽体形成、そしてシュート再生を調査した。

## 6. 研究 (実験) 方法

植物材料はトマト野生種 5 種 (*Lycopersicon pississi*, *L. glandulosum*, *L. hirsutum*, *L. chilense*, *Solanum pennellii*), トマトのモデル植物である *S. lycopersicum* var. Micro-Tom、およびトマト栽培種の祖先種とされる (田淵・小林, 2019) *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec) を供試した (Table 1, Figure 1)。再分化に用いる外植体を得るためトマト種子は無菌播種した。

Table 1 供試植物一覧

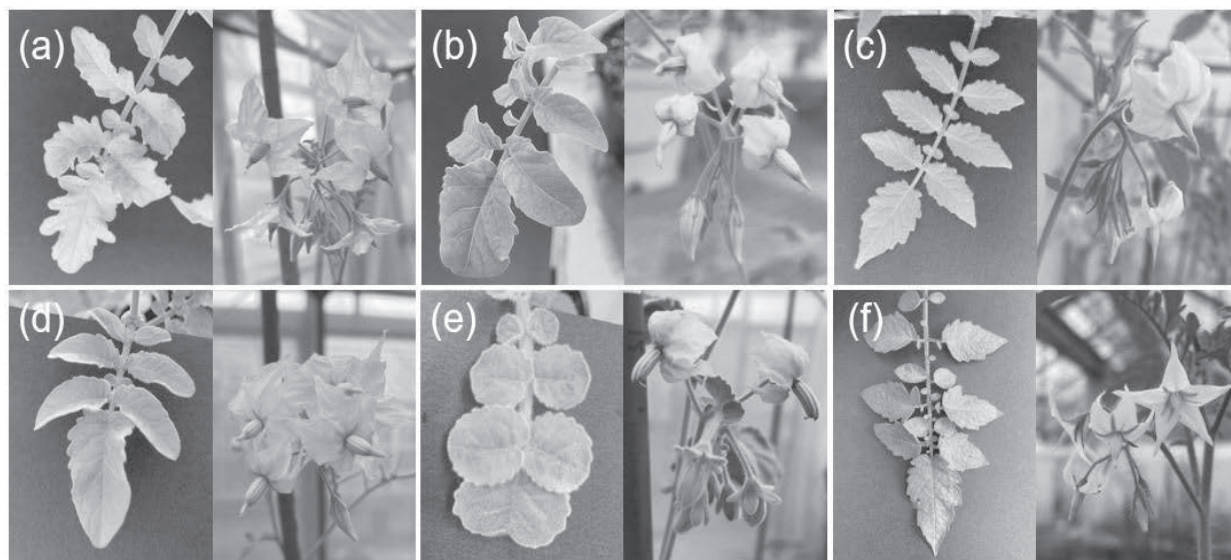
学名 (Genus Species)*	識別名
<i>Lycopersicon pississi</i>	TOMATO(WILD) 92
<i>Lycopersicon glandulosum</i>	LA 118
<i>Lycopersicon hirsutum</i>	PI 134417
<i>Lycopersicon chilense</i> (= <i>Solanum chilense</i> )	TOMATO(WILD) 94
<i>Solanum pennellii</i>	TOMJPF00008
<i>Solanum lycopersicum</i> var. <i>cerasiforme</i> (Lec)	TOMJPF00009
<i>Solanum lycopersicum</i> var. Micro-Tom	

\*学名の表記は種子の入手先に準ずる

トマトの種子を 70%EtOH に 20 秒浸漬したのち、次亜塩素酸ナトリウム溶液 30 ml (有効塩素濃度 0.5%) + Tween20 数滴添加したものに 15 分間浸漬して表面を殺菌した。その後、クリーンベンチにて滅菌水で 3 回洗浄した後、発芽をそろえるために洗浄 3 回目の滅菌水に種子を一晩浸漬し吸水させた。吸水した種子は、Murashige and Skoog (MS) 培地 (2% Sucrose, pH5.5, ホルモンフリー) に置床し、25°C 暗黒条件のインキュベーターにて発芽を誘導した。MS 培地の作成は、ムラシゲ・スクーグ培地用混合塩類 (Wako) および Murashige and Skoog Vitamin Solution (SIGMA) を用いた。Sucrose (Wako) を加えたのちに 0.2M HCl または 5M NaOH を用いて pH を調整し、最後に Gellan Gum (Wako) 4 g/l を加えた。これを 121 °C・15 分間加熱滅菌し、滅菌深型シャーレ (90Φ×20 mm) に

30 ml ずつ分注した。Sucrose 濃度および pH は各培地条件により調整した。

外植体に用いる胚軸と子葉は無菌播種から約 2 週間後の個体から採取した。胚軸は約 1 cm の長さに切り取ったものを、子葉は上下 2 枚に主脈を横断したものを供試した。外植体に用いる葉と節は、播種後に Plant box にて MS 培地 (2% Sucrose, pH5.5, ホルモンフリー) で正常に生育した個体から採取した。葉は生長点付近の葉を 0.5~1 cm<sup>2</sup> に切り取ったものを、節は脇芽を除く部位を約 1 cm の長さに切り取ったものを供試した。全ての培養物は東京農業大学花卉園芸学研究室の培養室内 (室温 23 °C, 16 時間日長, 100 μmol · m<sup>-2</sup> · s<sup>-1</sup>) で維持した。



**Figure 1.** 実験に用いたトマト系統 (a)*Lycopersicon pississi*, (b)*Lycopersicon glandulosum*, (c)*Lycopersicon hirsutum*, (d) *Lycopersicon chilense*, (e)*Solanum pennellii*, (f)*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec)

### <実験 1. トマト野生種の再分化系の検討>

トマト 7 系統の再分化系に適切な培地条件を調べるために、カルス形成を介する 2 ステップ法を検討した。基本培地は MS 培地とした。カルス誘導培地 A~F は 2% Sucrose, pH5.5 とし、シュート再生培地 G~J は 1% Sucrose, pH5.8 とした。カルス誘導およびシュート再生培地とした Z は 3% Sucrose, pH5.8 とし、植物ホルモンを添加し、pH 調整後、Gellan Gum 4 g/l を加えた。MS 培地に添加した植物ホルモンは、オーキシシンとして NAA (1-Naphthaleneacetic acid) あるいは IAA (Indole-3-acetic acid) を、サイトカイニンとして BA (N<sup>6</sup>-Benzyladenine) あるいは Zeatin を用いた。全ての培地条件における植物ホルモン濃度、Sucrose 濃度、pH は Table 2 に示した。葉および子葉は向軸面を下に、胚軸および節は培地に対して水平になるようカルス誘導培地に置床した。カルス誘導培地への置床から 2~3 週間後にカルス形成した外植体は、半分に切断してからシュート再生培地へ継代した。その際、カルスに付着した継代前の培地は滅菌水で洗い流し

**Table 2** 基本培地組成と添加する植物ホルモンの濃度条件

培地	NAA (mg/l)	IAA (mg/l)	BA (mg/l)	Zeatin (mg/l)
A	0.1	-	-	-
B	0.1	-	0.1	-
C	0.1	-	1.0	-
D	1.0	-	-	-
E	1.0	-	0.1	-
F	1.0	-	1.0	-
G	-	0.1	1.0	-
H	-	0.1	2.0	-
I	-	0.1	4.0	-
J	-	0.1	8.0	-
Z	-	-	-	1.5

A~F: MS, 2% Sucrose, pH5.5 (カルス誘導培地)

G~J: MS, 1% Sucrose, pH5.8 (シュート再生培地)

Z: MS, 3% Sucrose, pH5.8 (カルス誘導・シュート再生培地)

た。カルス形成数、発根数、多芽体形成数、およびシュート再生数は、外植体をカルス誘導培地に置床してから 1 週間ごとに 9 週間目まで調査した。再生したシュートは節基部から切り取り MS 培地 (2% Sucrose, pH5.8, ホルモンフリー) に移植し、発根率、発根までの日数および生育を調査した。胚軸を外植体として用いた実験では、*L. chilense* および *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec) において、カルス誘導期間を 3 週間区と 4 週間区を設け、シュート再生に適切なカルス誘導期間を検討した。

#### <実験 2. *in vitro* カルス接ぎ木の検討>

実験 1 でシュート再生した生育の良好なトマト 5 系統 (*L. pississi*, *L. chilense*, *S. pennellii*, *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec), および *S. lycopersicum* var. *Micro-Tom*) のカルスを用いてカルス接ぎ木試験を行った。培地はシュート再生培地 (Table 2, G, H, I) を用いた。培地に置床するカルス (下側) を台木カルス、上側を穂木カルスとした。カルスは 0.5~1 cm<sup>3</sup> に切り出し、穂木カルスと台木カルスそれぞれの接触面が平面になるように成形し、穂木カルスを台木カルスの上に乗せた。その際、固定器具は使用しなかった。カルス接ぎ木から 3~5 週間後、ピンセットでカルスに軽く触れ、穂木カルスと台木カルスの合着を確認した。

## 7. 研究成果

### <実験 1. トマト野生種の再分化系確立>

#### 胚軸を用いた再分化

トマト 3 系統、*L. chilense*, *S. pennellii*, および *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec) の胚軸を用いたカルス形成率、多芽体形成率、およびシュート再生率を Table 3 に示した。*L. chilense* および *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec) はカルス誘導培地 3 週間区および 4 週間区を設けて試験した。Table 3 には *L. chilense* は両方の結果を示し、*S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec) は 4 週間区のみ示した。これら 3 系統のカルス誘導培地におけるカルス形成率はすべての培地条件において 100.0%を示した。*L. chilense* のシュート再生率は、培地組み合わせ B-G において 3 週間区で 44.4%、4 週間区で 77.8%を示した。この 4 週間区 B-G のシュート再生率は *L. chilense* の胚軸を用いた再分化系において最も高かった。

**Table 3** 胚軸からのカルス誘導およびシュート再生における植物ホルモン条件の検討

	カルス誘導 培地 (*z)	シュート再生 培地 (*z)	供試数	カルス化 切片数	% *y	多芽体形成 切片数	% *x	シュート再生 切片数	% *w
<i>Lycopersicon chilense</i> カルス誘導3週間区	A (3w)	G (6w2d)	9	9	100.0%	4	44.4%	3	33.3%
	A (3w)	H (6w2d)	9	9	100.0%	7	77.8%	5	55.6%
	B (3w)	G (6w2d)	9	9	100.0%	7	77.8%	4	44.4%
	B (3w)	H (6w2d)	9	9	100.0%	8	88.9%	1	11.1%
	C (3w)	G (6w2d)	9	9	100.0%	6	66.7%	3	33.3%
	C (3w)	H (6w2d)	9	9	100.0%	8	88.9%	4	44.4%
	D (3w)	G (6w2d)	9	9	100.0%	1	11.1%	1	11.1%
	D (3w)	H (6w2d)	9	9	100.0%	1	11.1%	1	11.1%
	E (3w)	G (6w2d)	9	9	100.0%	2	22.2%	2	22.2%
	E (3w)	H (6w2d)	7	7	100.0%	2	28.6%	1	14.3%
	F (3w)	G (6w2d)	9	9	100.0%	1	11.1%	0	0.0%
	F (3w)	H (6w2d)	9	9	100.0%	2	22.2%	0	0.0%
<i>Lycopersicon chilense</i> カルス誘導4週間区	A (4w)	G (5w2d)	9	9	100.0%	8	88.9%	3	33.3%
	A (4w)	H (5w2d)	8	8	100.0%	7	87.5%	3	37.5%
	B (4w)	G (5w2d)	9	9	100.0%	9	100.0%	7	77.8%
	B (4w)	H (5w2d)	9	9	100.0%	8	88.9%	4	44.4%
	C (4w)	G (5w2d)	9	9	100.0%	7	77.8%	2	22.2%
	C (4w)	H (5w2d)	9	9	100.0%	9	100.0%	5	55.6%
	D (4w)	G (5w2d)	8	8	100.0%	7	87.5%	1	12.5%
	D (4w)	H (5w2d)	8	8	100.0%	5	62.5%	2	25.0%
	E (4w)	G (5w2d)	9	9	100.0%	4	44.4%	1	11.1%
	E (4w)	H (5w2d)	9	9	100.0%	2	22.2%	0	0.0%
	F (4w)	G (2w6d) <sup>*v</sup>	9	9	100.0%	5	55.6%	1	11.1%
	F (4w)	H (5w2d)	9	9	100.0%	6	66.7%	2	22.2%
<i>Solanum pennellii</i>	A (3w)	G (5w)	18	18	100.0%	1	5.6%	0	0.0%
	A (3w)	H (5w)	18	18	100.0%	2	11.1%	0	0.0%
	B (3w)	G (5w)	18	18	100.0%	1	5.6%	0	0.0%
	B (3w)	H (5w)	18	18	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	C (3w)	G (5w)	18	18	100.0%	2	11.1%	0	0.0%
	C (3w)	H (5w)	18	18	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	D (3w)	G (5w)	18	18	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	D (3w)	H (5w)	18	18	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	E (3w)	G (5w)	18	18	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	E (3w)	H (5w)	18	18	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	F (3w)	G (5w)	18	18	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	F (3w)	H (5w)	18	18	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
<i>Solanum lycopersicum</i> <i>var. cerasiforme</i> (Lec) カルス誘導4週間区	A (4w)	G (5w2d)	9	9	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	A (4w)	H (4w) <sup>*v</sup>	9	9	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	B (4w)	G (5w2d)	9	9	100.0%	0	0.0%	1	11.1%
	B (4w)	H (2w) <sup>*v</sup>	9	9	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	C (4w)	G (5w2d)	9	9	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	C (4w)	H (5w2d)	9	9	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	D (4w)	G (5w2d)	9	9	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	D (4w)	H (5w2d)	7	7	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	E (4w)	G (5w2d)	9	9	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	E (4w)	H (5w2d)	9	9	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	F (4w)	G (5w2d)	7	7	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	F (4w)	H (5w2d)	9	9	100.0%	0	0.0%	0	0.0%

\*z 培養期間 w: weeks

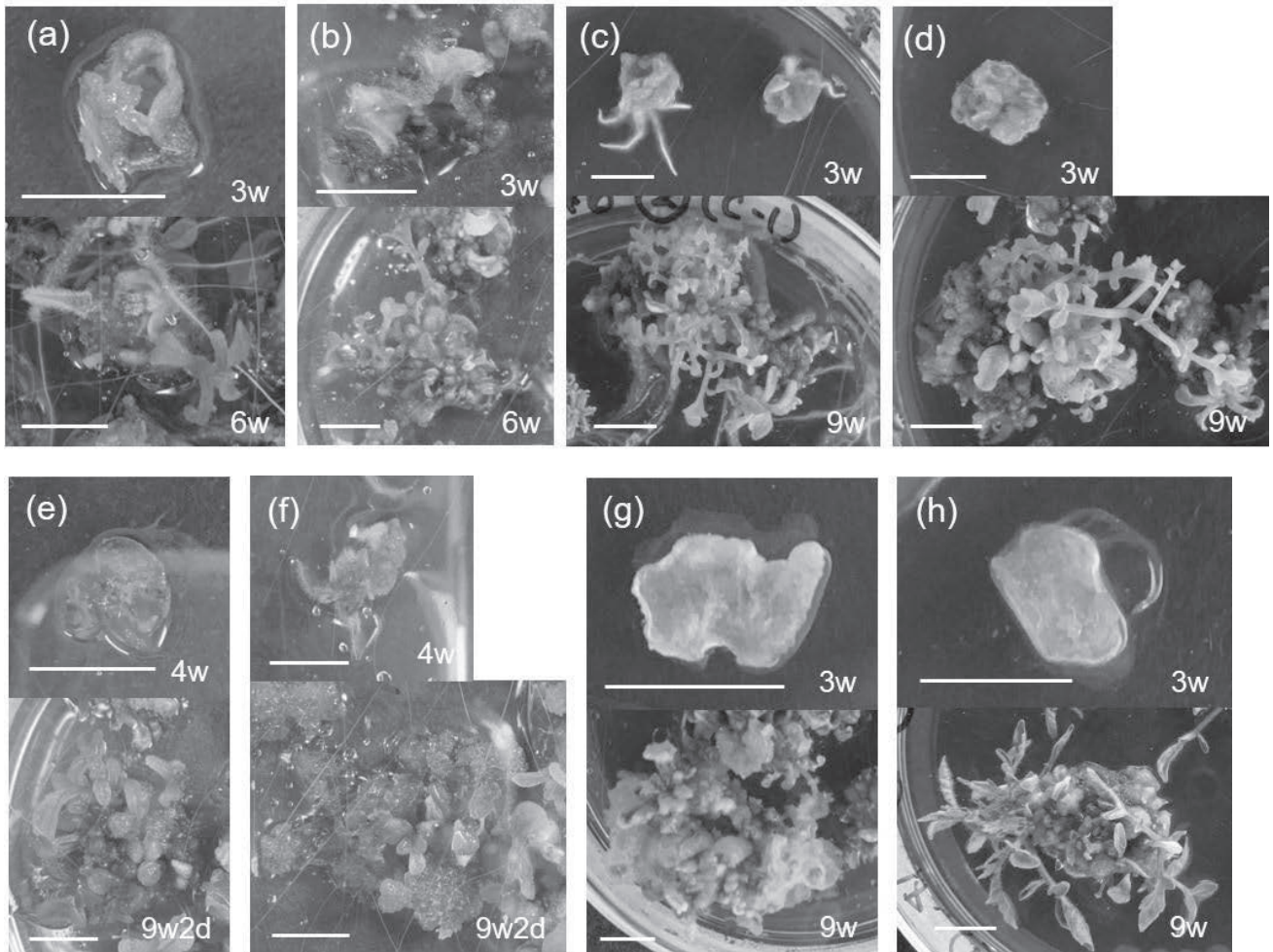
\*y カルス形成率=(カルス化切片数/供試数)×100

\*x 多芽体形成率=(多芽体形成切片数/供試数)×100

\*w シュート再生率=(シュート再生切片数/供試数)×100

\*v コンタミネーションにより試験終了

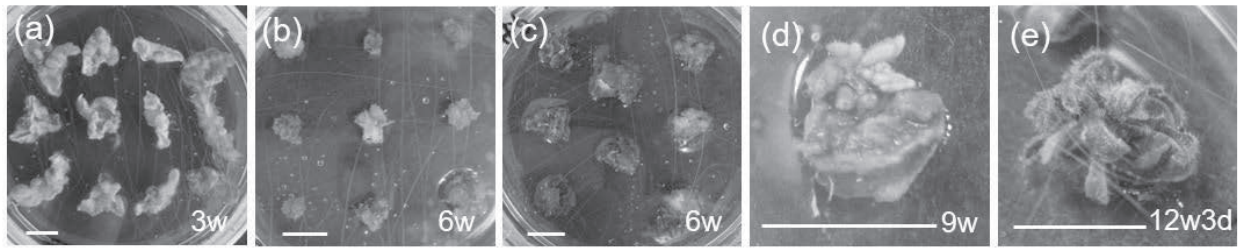
*L. chilense* のシュート再生の様子は Figure 2e に示した。*S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec) の 4 週間区は、すべての培地条件で多芽体の形成は確認されなかったが、B-G において 11.1% の割合でシュート再生が確認された。一方で 3 週間区ではシュート再生は認められなかった。*S. pennellii* の多芽体形成は A-G, A-H, B-G、および C-G の培地組み合わせにおいて、それぞれ 5.6%、11.1%、5.6%、および 11.1% の割合で生じていた。しかし、いずれにおいてもシュート再生は認められなかった。



**Figure 2.** カルス形成とシュート再生の様子。a) *L. pississi* (葉, F-G) , b) *L. glandulosum*, c) *L. chilense* (葉, C-Z) , d) *L. chilense* (葉, F-Z) , e) *L. chilense* (胚軸, B-G) , f) *L. chilense* (子葉, A-G) , g) *S. pennellii* (葉, Z-Z) , h) *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec) (節, Z-Z)

w および d は培養開始から経過した週および日を示す。カッコ内の大文字アルファベットはカルス誘導培地 (左側) および、シュート再生培地 (右側) の培地条件を示す。スケールバー=1cm

*L. hirsutum* は、多芽体形成およびシュート再生は認められなかった。*L. hirsutum* は培養開始から 6 週間後には全ての培地条件でカルス組織の褐変が生じた (Figure 3b)。



**Figure 3.** *L. hirsutum* の培養の様子. (a) 葉 F, 褐変の開始. (b) 胚軸 F-G, 褐変 (c) 子葉 C-H, 褐変. (d) 節 Z-Z, 多芽体形成. (e) 節 Z-Z, シュート再生.

w および d は培養開始から経過した週および日を示す。カッコ内の大文字アルファベットはカルス誘導培地（左側）および、シュート再生培地（右側）の培地条件を示す。スケールバー=1cm

### 子葉を用いた再分化

*L. chilense*, *S. pennellii*, および *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec) の子葉を用いたカルス形成率、多芽体形成率、およびシュート再生率を Table 4 に示した。これら 3 系統のカルス誘導培地におけるカルス形成はすべての培地条件において 100.0% の割合で生じていた。シュート誘導培地における多芽体形成は、*L. chilense* はすべての培地条件で認められ、その割合は 28.6~100.0% と培地条件により大きく異なっていた。*S. pennellii* の多芽体形成は A-G, A-H, C-G および C-H の培地組み合わせにおいて、それぞれ 25.0%, 18.2%, 25.0%, および 58.3% の割合で生じていた。一方で、カルス誘導培地に B, D, E, F を用いた場合、シュート再生培地 G および H では多芽体およびシュート再生は認められなかった。*S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec) は、すべての培地条件において多芽体の形成は認められなかった。

これら 3 系統で最も高いシュート再生率を示した培地組み合わせは、*L. chilense* で A-G (80.0%)、*S. pennellii* で C-G および C-H (8.3%)、*S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec) で A-G (11.1%) であった (Table 4)。それらシュートの再生の様子は、Figure 2f に示した。*L. hirsutum* はいずれの培地組み合わせにおいても多芽体形成およびシュート再生は認められず、培養開始から 6 週間後には全ての培地条件でカルス組織が褐変した (Figure 3c)。

**Table 4** 子葉からのカルス誘導およびシュート再生における植物ホルモン条件の検討

	カルス誘導 培地 (*z)	シュート再生 培地 (*z)	供試数	カルス化 切片数	% *y	多芽体形成 切片数	% *x	シュート再生 切片数	% *w
<i>Lycopersicon chilense</i>	A (3w)	G (6w2d)	5	5	100.0%	5	100.0%	4	80.0%
	A (3w)	H (6w2d)	8	8	100.0%	7	87.5%	5	62.5%
	B (3w)	G (6w2d)	5	5	100.0%	5	100.0%	2	40.0%
	B (3w)	H (6w2d)	8	8	100.0%	7	87.5%	5	62.5%
	C (3w)	G (3w2d) <sup>*v</sup>	9	9	100.0%	3	33.3%	1	11.1%
	C (3w)	H (6w2d)	9	9	100.0%	6	66.7%	4	44.4%
	D (3w)	G (6w2d)	9	9	100.0%	7	77.8%	3	33.3%
	D (3w)	H (3w2d) <sup>*v</sup>	9	9	100.0%	5	55.6%	3	33.3%
	E (3w)	G (2w2d) <sup>*v</sup>	7	7	100.0%	2	28.6%	1	14.3%
	E (3w)	H (6w2d)	9	9	100.0%	8	88.9%	3	33.3%
	F (3w)	G (6w2d)	9	9	100.0%	5	55.6%	1	11.1%
	F (3w)	H (6w2d)	9	9	100.0%	3	33.3%	1	11.1%
<i>Solanum pennellii</i>	A (3w)	G (5w)	12	12	100.0%	3	25.0%	0	0.0%
	A (3w)	H (5w)	11	11	100.0%	2	18.2%	0	0.0%
	B (3w)	G (5w)	12	12	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	B (3w)	H (5w)	12	12	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	C (3w)	G (5w)	12	12	100.0%	3	25.0%	1	8.3%
	C (3w)	H (5w)	12	12	100.0%	7	58.3%	1	8.3%
	D (3w)	G (5w)	12	12	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	D (3w)	H (5w)	12	12	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	E (3w)	G (5w)	12	12	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	E (3w)	H (5w)	12	12	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	F (3w)	G (5w)	12	12	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	F (3w)	H (5w)	11	11	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
<i>Solanum lycopersicum</i> var. <i>cerasiforme</i> (Lec)	A (4w)	G (5w2d)	9	9	100.0%	0	0.0%	1	11.1%
	A (4w)	H (5w2d)	9	9	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	B (4w)	G (5w2d)	7	7	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	B (4w)	H (5w2d)	9	9	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	C (4w)	G (5w2d)	9	9	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	C (4w)	H (5w2d)	9	9	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	D (4w)	G (5w2d)	9	9	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	D (4w)	H (5w2d)	7	7	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	E (4w)	G (5w2d)	9	9	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	E (4w)	H (5w2d)	9	9	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	F (4w)	G (5w2d)	3	3	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	F (4w)	H (5w2d)	9	9	100.0%	0	0.0%	0	0.0%

\*z 培養期間, w: weeks, d: days

\*y カルス形成率=(カルス化切片数/供試数)×100

\*x 多芽体形成率=(多芽体形成切片数/供試数)×100

\*w シュート再生率=(シュート再生切片数/供試数)×100

\*v コンタミネーションにより試験終了

## 葉を用いた再分化

トマト5系統 (*L. pississi*, *L. glandulosum*, *L. chilense*, *S. pennellii*, および *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec)) の葉を用いたカルス形成率、多芽体形成率、およびシュート再生率を Table 5 に示した。カルス誘導培地でのカルスの形成は一部のトマト系統におけるいくつかの培地条件を除き 100.0%の高い形成率を示した。*L. chilense* の葉で Z 培地をカルス誘導に用いた場合、カルス形成は認められなかった。*L.*

*pississi* の葉は A, B 培地をカルス誘導に用いた A-G, A-H, B-G, B-H において、それぞれ 50.0%、66.7%、66.7% および 77.8% のカルス形成率を示した。*S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec) は A 培地でカルス形成が認められず、D および Z 培地で 66.7% および 81.3% のカルス形成率を示した。シュート再生培地における多芽体の形成は、*L. pississi*, *L. glandulosum*, および *S. pennellii* において試験した全ての培地条件で確認され、9.1~100.0% の多芽体形成率を示した。*L. glandulosum* は、ほかの系統と比較して多芽体の形成が早い傾向が観察され、培養開始から 3 週間目のカルス誘導培地上で良好な多芽体を確認された (Figure 2b)。

各トマト系統で最も高いシュート再生率を示した培地組み合わせは、*L. pississi* は F-G (83.3%)、*L. glandulosum* は C-G (91.7%)、*L. chilense* は C-Z および F-Z (77.8%)、*S. pennellii* は Z-Z (100.0%)、そして *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec) は H-Z (11.1%) であった。シュート再生の様子は Figure 2a, b, c, d, g に示した。*L. chilense* の C-I, E-I, E-J, F-I, F-J, および Z-J の培地組み合わせ、*S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec) の C-G, C-H, E-G, E-H, F-G, F-H, F-I, F-Z, Z-I および Z-Z の培地組み合わせは多芽体形成率においても 0.0% を示し、これら 2 系統は培地組み合わせによりシュート再生率に顕著な差が認められた (Table 5)。

*L. chilense* の葉切片を Z 培地に置床から 3 週間後、カルス形成は認められなかったが、カルス未形成の葉切片をシュート再生培地, G, H, I, および Z 培地に継代したところ、それぞれ 100.0%, 71.4%, 33.3%, および 85.7% の割合で多芽体形成が認められ、Z-Z においてのみ 14.3% の割合でシュート再生が認められた。一方で、*L. chilense* のカルス誘導に C, E, F 培地を用いた後、Z 培地へ継代したところ、多芽体形成率は C-Z (88.9%), E-Z (37.5%), および F-Z (83.3%) を示し、シュート再生率はそれぞれ 77.8%, 37.5%, および 77.8% と高い値を示した。*S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec) は、H-H および H-Z の培地組み合わせにおいてのみ多芽体形成およびシュート再生が認められた。多芽体形成率は 55.6% (H-H) および 11.1% (H-Z) であり、シュート再生率は、それぞれ 5.6% および 11.1% だった。

*L. hirsutum* および *S. lycopersicum* var. *Micro-Tom* は全ての培地条件でカルス形成は認められたが、いずれもシュート再生には至らなかった。*L. hirsutum* は、試験開始から全ての培地条件において 3 週間後にはカルス組織の褐変がみられ、6 週間後には全ての培地条件でカルス組織が褐変した (Figure 3a)。



**Table 5** 葉からのカルス誘導およびシュート再生における植物ホルモン条件の検討

	カルス誘導 培地 (*z)	シュート再生 培地 (*z)	供試数	カルス化 切片数	% *y	多芽体形成 切片数	% *x	シュート再生 切片数	% *w
<i>Lycopersicon</i> <i>pisissii</i>	A (3w)	G (6w)	12	6	50.0%	6	50.0%	3	25.0%
	A (3w)	H (6w)	12	8	66.7%	11	91.7%	3	25.0%
	B (3w)	G (6w)	12	8	66.7%	8	66.7%	3	25.0%
	B (3w)	H (6w)	9	7	77.8%	7	77.8%	0	0.0%
	C (3w)	G (6w)	12	12	100.0%	11	91.7%	8	66.7%
	C (3w)	H (6w)	12	12	100.0%	12	100.0%	3	25.0%
	D (3w)	G (6w)	12	12	100.0%	8	66.7%	1	8.3%
	D (3w)	H (6w)	12	12	100.0%	7	58.3%	2	16.7%
	E (3w)	G (6w)	12	12	100.0%	9	75.0%	3	25.0%
	E (3w)	H (6w)	12	12	100.0%	8	66.7%	3	25.0%
	F (3w)	G (6w)	12	12	100.0%	10	83.3%	10	83.3%
	F (3w)	H (6w)	12	12	100.0%	10	83.3%	9	75.0%
	Z (3w)	I (2w) *v	11	11	100.0%	5	45.5%	0	0.0%
Z (3w)	J (6w)	11	11	100.0%	1	9.1%	0	0.0%	
Z (3w)	Z (6w)	10	10	100.0%	10	100.0%	5	50.0%	
<i>Lycopersicon</i> <i>glandulosum</i>	B (3w)	G (5w)	6	6	100.0%	6	100.0%	2	33.3%
	B (3w)	H (5w)	12	12	100.0%	12	100.0%	0	0.0%
	C (3w)	G (5w)	12	12	100.0%	12	100.0%	11	91.7%
	C (3w)	H (5w)	12	12	100.0%	12	100.0%	8	66.7%
	E (3w)	G (5w)	12	12	100.0%	9	75.0%	1	8.3%
	E (3w)	H (5w)	12	12	100.0%	8	66.7%	1	8.3%
	F (3w)	G (5w)	12	12	100.0%	12	100.0%	0	0.0%
	F (3w)	H (5w)	12	12	100.0%	12	100.0%	1	8.3%
<i>Lycopersicon</i> <i>chilense</i>	C (2w)	I (7w)	18	18	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	C (2w)	J (7w)	8	8	100.0%	1	12.5%	0	0.0%
	C (2w)	Z (7w)	9	9	100.0%	8	88.9%	7	77.8%
	E (2w)	I (7w)	16	16	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	E (2w)	J (7w)	12	12	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	E (2w)	Z (6w) *v	8	8	100.0%	3	37.5%	3	37.5%
	F (2w)	I (7w)	18	18	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	F (2w)	J (7w)	15	15	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	F (2w)	Z (7w)	18	18	100.0%	15	83.3%	14	77.8%
	Z (3w)	G (6w)	4	0	0.0%	4	100.0%	0	0.0%
	Z (3w)	H (6w)	7	0	0.0%	5	71.4%	0	0.0%
	Z (3w)	I (6w)	6	0	0.0%	2	33.3%	0	0.0%
	Z (3w)	J (6w)	12	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
Z (3w)	Z (6w)	7	0	0.0%	6	85.7%	1	14.3%	
<i>Solanum</i> <i>pennellii</i>	Z (3w)	I (6w)	11	11	100.0%	11	100.0%	0	0.0%
	Z (3w)	J (6w)	6	6	100.0%	6	100.0%	0	0.0%
	Z (3w)	Z (6w)	5	5	100.0%	5	100.0%	5	100.0%
<i>Solanum</i> <i>lycopersicum</i> var. <i>cerasiforme</i> (Lec)	A (3w) *u	-	12	0	0.0%	-	-	-	-
	B (3w) *u	-	12	12	100.0%	-	-	-	-
	C (3w)	G (6w)	11	11	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	C (3w)	H (6w)	11	11	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	D (3w) *u	-	12	8	66.7%	-	-	-	-
	E (3w)	G (6w)	12	12	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	E (3w)	H (6w)	10	10	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	F (3w)	G (6w)	11	11	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	F (3w)	H (6w)	11	11	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	F (2w)	I (7w)	18	18	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	F (2w)	Z (4w) *u	18	18	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	H (2w)	H (7w)	18	18	100.0%	10	55.6%	1	5.6%
	H (2w)	Z (7w)	18	18	100.0%	2	11.1%	2	11.1%
Z (3w)	I (2w) *u	16	13	81.3%	0	0.0%	0	0.0%	
Z (3w)	Z (2w) *u	18	15	83.3%	0	0.0%	0	0.0%	

\*z 培養期間 w: weeks

\*y カルス形成率=(カルス化切片数/供試数)×100

\*x 多芽体形成率=(多芽体形成切片数/供試数)×100

\*w シュート再生率=(シュート再生切片数/供試数)×100

\*v コンタミネーションにより試験終了

\*u 褐変したため試験終了

## 節を用いた再分化

葉、胚軸、子葉を用いた培養においてシュート再生が認められなかった *L. hirsutum*, およびシュート再生率が他の系統と比べて著しく低かった *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec) の 2 系統について、節を用いた試験を行った。これら 2 系統のカルス形成率、多芽体形成率、およびシュート再生率を Table 6 に示した。これら 2 系統のカルス形成率は全ての培地条件で 100.0% を示した。*L. hirsutum* は Z-I および Z-Z の培地組み合わせにおいて、それぞれ 5.6% および 16.7% の割合で多芽体形成が認められた。さらに、Z-Z において培養を続けたところ、培養開始から 12 週間と 3 日経過した時点で 1 個体から 3 本のシュート再生が確認され、シュート再生率は 5.6% を示した (Table 6, Table 7, Figure 3d, e)。 *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec) は、全ての培地条件で多芽体形成が認められ、Z-Z の培地組み合わせにおいて最大のシュート再生率 42.9% を示した (Table 6, Figure 2h)。

**Table 6** 節からのカルス誘導およびシュート再生における植物ホルモン条件の検討

	カルス誘導 培地 (*z)	シュート再生 培地 (*z)	供試数	カルス化 切片数	% *y	多芽体形成 切片数	% *x	シュート再生 切片数	% *w
<i>Lycopersicon hirsutum</i>	C (2w)	I (7w)	4	4	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	C (2w)	Z (7w)	8	8	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	E (2w)	G (7w)	12	12	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	E (2w)	H (7w)	12	12	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	E (2w)	I (7w)	9	9	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	E (2w)	Z (6w) <sup>*v</sup>	9	9	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	F (2w)	G (7w)	12	12	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	F (2w)	H (7w)	11	11	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	F (2w)	I (6w) <sup>*v</sup>	9	9	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	F (2w)	Z (7w)	8	8	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
	Z (2w)	I (7w)	18	18	100.0%	1	5.6%	0	0.0%
	Z (2w)	Z (10w2d)	18	18	100.0%	3	16.7%	1	5.6%
<i>Solanum lycopersicum</i> var. <i>cerasiforme</i> (Lec)	C (3w)	H (6w)	8	8	100.0%	2	25.0%	1	12.5%
	C (3w)	Z (6w)	8	8	100.0%	3	37.5%	3	37.5%
	Z (3w)	H (6w)	7	7	100.0%	1	14.3%	1	14.3%
	Z (3w)	Z (6w)	7	7	100.0%	3	42.9%	3	42.9%

\*z 培養期間 w: weeks, d: days

\*y カルス形成率=(カルス化切片数/供試数)×100

\*x 多芽体形成率=(多芽体形成切片数/供試数)×100

\*w シュート再生率=(シュート再生切片数/供試数)×100

\*v コンタミネーションにより試験終了

実験に用いたトマト各系統のそれぞれの外植体における高いシュート再生率を示した培地組み合わせを Table 7 にまとめた。最も高いシュート再生率は *S. pennellii* の葉を用いた Z-Z の培地組み合わせにおける 100.0% であった。また、1 外植体切片あたりのシュート数平均が最も高かったのは *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec) の節を用いた Z-Z の培地組み合わせにおける 13.67 本であった。

**Table 7** トマト6系統の各供試組織において最も高いシュート再生率を示した培地組み合わせ

	供試組織	カルス誘導培地 <sup>(*)z</sup>	シュート再生培地 <sup>(*)z</sup>	供試数	シュート形成切片数	シュート再生率 <sup>(*)y</sup>	シュート数(本)	1切片あたりのシュート数平均(本) <sup>(*)x</sup>
<i>Lycopersicon pississi</i>	葉	F (3w)	G (6w)	12	10	83.3%	24	2.40
<i>Lycopersicon glandulosum</i>	葉	C (3w)	G (5w)	12	11	91.7%	17	1.55
<i>Lycopersicon chilense</i>	胚軸	B (4w)	G (5w2d)	9	7	77.8%	14	2.00
	子葉	A (3w)	G (6w2d)	5	4	80.0%	7	1.75
	葉	C (2w)	Z (7w)	9	7	77.8%	41	5.86
	葉	F (2w)	Z (7w)	18	14	77.8%	71	5.07
<i>Solanum pennellii</i>	子葉	C (3w)	G (5w)	12	1	8.3%	2	2.00
	子葉	C (3w)	H (5w)	12	1	8.3%	1	1.00
	葉	Z (3w)	Z (6w)	5	5	100.0%	12	2.40
<i>Solanum lycopersicum</i> var. <i>cerasiforme</i> (Lec)	胚軸	B (4w)	G (5w2d)	9	1	11.1%	1	1.00
	子葉	A (4w)	G (5w2d)	9	1	11.1%	2	2.00
	葉	H (2w)	Z (7w)	18	2	11.1%	7	3.50
	節	Z (3w)	Z (6w)	7	3	42.9%	41	13.67
<i>Lycopersicon hirsutum</i> <sup>(*)w</sup>	胚軸	-	-	214	0	0.0%	0	-
PI 134417	子葉	-	-	96	0	0.0%	0	-
	葉	-	-	168	0	0.0%	0	-
	節	Z (2w)	Z (10w3d)	18	1	5.6%	3	3.00

<sup>(\*)z</sup> 培養期間, w: weeks, d: days

<sup>(\*)y</sup> シュート再生率=(シュート再生切片数/供試数)×100

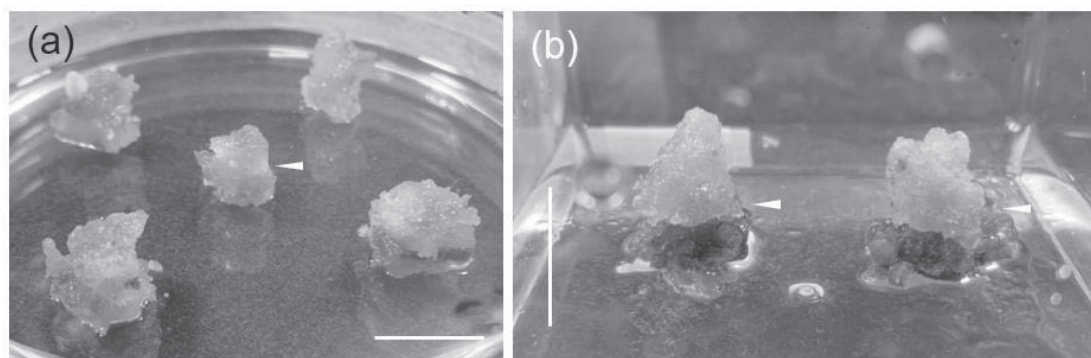
<sup>(\*)x</sup> 1切片あたりのシュート数平均=(シュート数/シュート形成切片数)

<sup>(\*)w</sup> シュート再生には至らず至適培地なし,供試数はすべての試験区の合計

## <実験 2. *in vitro* カルス接ぎ木の検討>

*L. chilense* および *L. pississi* のカルスを用いたセルフ接ぎ木においてそれぞれ 100.0%および 75.0%の高い成功率を示した。*S. pennellii*, *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec), および *S. lycopersicum* var. *Micro-Tom* のカルスを用いたセルフ接ぎ木の成功率は、いずれも 0.0%であった。

異なる系統間のカルスを用いた接ぎ木は、*L. chilense* /*S. pennellii* (穂木/台木) の組み合わせ、およびその逆において、それぞれ 60.0%および 40.0%の成功率を示した。また、*L. chilense* /*S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec)の組み合わせ、およびその逆において、それぞれ 60.0%および 20.0%の成功率を示した。*L. chilense* / *L. pississi*, *L. pississi* / *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec), そして *S. pennellii* /*S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Lec)の組み合わせ、およびそれぞれその逆において、カルス接ぎ木成功率はいずれも 0.0%であった。カルス接ぎ木に成功した個体 (*S. pennellii* / *L. chilense*) の写真は Figure 5b に示した。



**Figure 5.** カルス接ぎ木. (a) 試験開始時 (*L. chilense*/*L. chilense*). (b) 成功個体 (*S. pennellii*/*L. chilense*). カッコ内は穂木カルス (左側), 台木カルス (右側) を示す。写真白三角は接ぎ木部分を示す。スケールバー=1 cm

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

カルス接ぎ木は現在検討の初期段階であるが、方法論の確立できれば異科属間接ぎ木の簡易評価系に展開可能である。今後他の研究展開も視野に入れつつ、評価系確立を目指す。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

カルス接ぎ木は実験結果から、崩れやすいカルスや、長期間カルスの状態で継代維持したカルスの使用を避け、新鮮なカルスを用いることが重要であること、またカルス間の接ぎ木を行う際は、接触面を広くし、安定させることが重要であるなど技術面の改善点も見出しつつある。今後詳細なプロトコルを確立し、評価系構築を目指す。

## 10. 公表した成果一覧

### 学術論文

- 1) Disproof of the proposed structures of bradyoxetin a putative Bradyrhizobium japonicum signaling molecule and HMCP, a putative Ralstonia solanacearum quorum-sensing molecule  
Yajima, A.; Katsuta, R.; Shimura, M.; Yoshihara, A.; Saito, T.; Ishigami, K.; Kai, K.  
*J. Nat. Prod.* **84**, 495-502 (2021).

### 学会発表

- 1) トマト野生種4種におけるシュート再生条件の検討  
田崎啓介, 中島実乃里, 石川尚宏  
第38回日本植物バイオテクノロジー学会 (つくば) 大会 2021年09月

# 2021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	SDGs13 (気候変動)、15 (陸の豊かさ)、17 (パートナーシップ)	1,700,000

### 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
モンゴル側 研究協力者	Dr.Javkhlantuya Altansuvd	Mongolian State University of Life Science	Soil and plant analysis
	Dr.Lkham Davaa	Mongolian State University of Life Science	Soil and plant analysis
	Dr.Baatartsol Bumbaldai	Institute of Plant and Agricultural Science	Soil and plant analysis

### 3. 研究期間

2021年4月1日～2022年3月31日 (3年計画の3年目)

### 4. 研究の背景 (当初)

土壌劣化・砂漠化は全地球規模の問題であり、モンゴルにおいても、過放牧、過耕作による土壌劣化が、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

土壌劣化・砂漠化は食糧生産環境の劣化をもたらし、土壌の有機炭素貯留量を減少させることから、SDGsにおける1「飢餓をゼロに」および13「気候変動に具体的な対策を」および15「陸の豊かさも守ろう」に関わる地球規模の問題である。モンゴル国においても、過放牧、過耕作による土壌劣化が、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。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。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、この技術の評価・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が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。

ただし残念ながら、2020年より2021年にかけて、COVID-19によりモンゴルへの渡航が実質的に不可能となったことから、主としてインターネットを介した現地研究協力者との連携により研究を行っており、課題1に関する圃場試験が研究の主たる内容となっている。その中で得られた成果を以下に記述する。

## 6. 研究(実験)方法

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

ダルハン県IPAS附属農場(49°32'N-105°98'E)において、2019年より3カ年の圃場試験により、モンゴルにおいて開発された土壌保全技術である、植物残渣(刈り株)により土壌表面を被覆し、土壌保全を行う処理(straw-mulch)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(*Triticum aestivum* L.)の作付けを行った。処理区の状況を図1に示した。

Control) 従来型の栽培を行う

SM) 作物残渣(コムギ刈り株、わら)による地表被覆(straw-mulch)区。

両区ともに、3カ年継続してコムギ（品種 Darkhan 144）のみ作付けし、化学肥料により窒素、リン、カリウムをそれぞれ  $60 \text{ kg N ha}^{-1}$ ,  $45 \text{ kg P}_2\text{O}_5 \text{ ha}^{-1}$ ,  $30 \text{ kg of K}_2\text{O ha}^{-1}$  施用した。SM区についてはコムギ刈り株、わらを年間  $7000 \text{ kg/ha}$  使用して地表を被覆した。

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 Control, SM 両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した。土壌の水分量については、2020年に土壌水分センサーを埋設しデータロガーにより栽培期間中の変化をモニタリングした。

## 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。

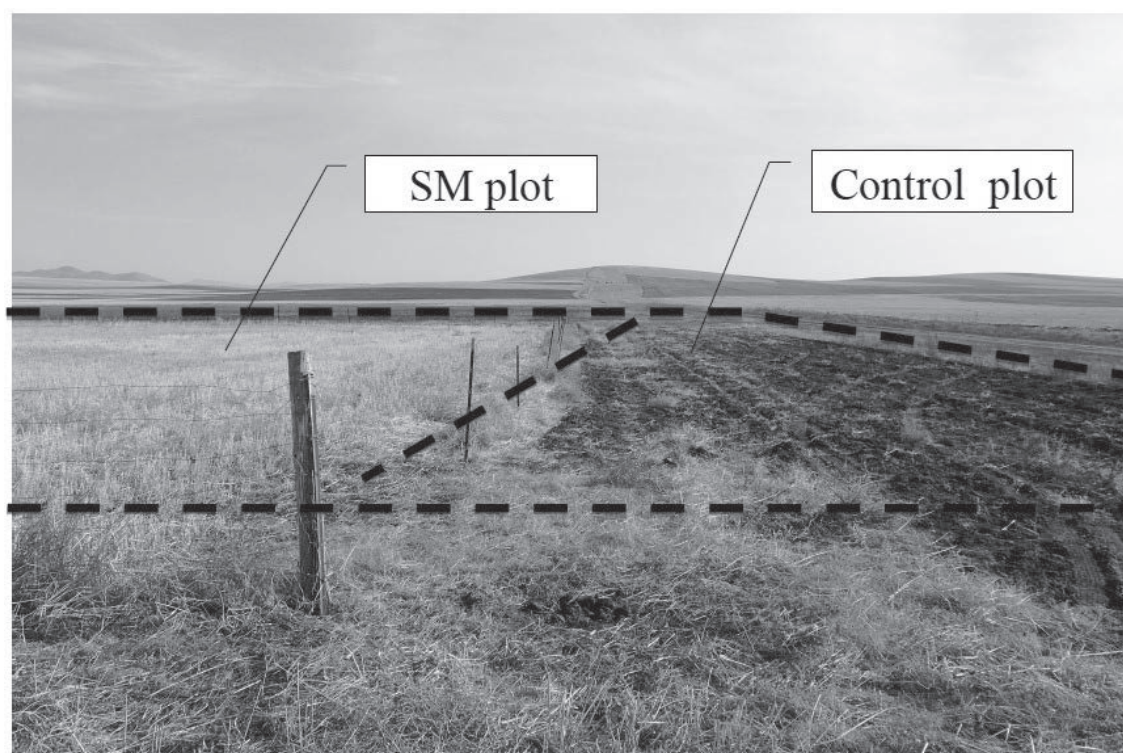


図 1. ダルハン試験圃場における control 区、straw-mulch(SM) 区の様子。

## 7. 研究成果

モンゴルにおける Straw Mulch を用いた土壌保全技術の検証

### 1) 土壌理化学性への影響

表 1 に Control 区および SM 区の土壌（表層 10cm）の物理性および化学性を示した。土壌の物理性について、水分含量および仮比重は、Control 区と SM 区について大きく異ならず、土壌保全処理による改善効果は認められなかった。しかしながら、有機炭素含量、交換性 Ca、交換性 Mg および可給態リン含量については SM 区が Control 区を上回り、土壌の炭素および植物養分量が増加し、生産性が高まったことが示された。栽培中の土壌の水分量の変化について、2020年に計測した結果を図 2 に示した。土壌水分吸引圧が高いほど水分量は少なく、乾燥していることを示す。世界的には Straw Mulch により水分量は増加するという報告が多いが、ここでは栽培期間中はむしろ SM 区の方が乾燥している傾向であり、これはコムギの生育が促進され、蒸発散量が増加した結果と見られた。

## 2) 収量への影響

過去3カ年の圃場試験におけるコムギの収量の変化を表2に示した。収量の年次間差は大木が、コムギの子実収量は3カ年を通じてSM区の方がControl区に比較して高い傾向であり、2021年には有意な増加が示された。従って植物残渣を用いた土壌保全技術が土壌の生産性を増加させることが検証された。しかしながらこの試験結果におけるコムギの収量が世界平均コムギ収量（3279 kg/ha from 2017 to 2019, FAO, 2021, FAOSTAT, <https://www.fao.org/faostat/en/>）に比べて半分以下であることを考えると、同国におけるコムギ生産には、さらなる改良の余地があると見られた。

## 3) 結論

3年間の圃場試験により、作物残さを用いた土壌保全技術として、Straw Mulchは土壌の肥沃度を改善し、コムギ収量を向上させる効果のあることが明らかとなった。以上の結果は、世界の多くの乾燥地域において応用が可能である。

表1 Control区およびSM区の表層10cmより採取された土壌の物理性および化学性\*1

	SM		Control			
水分含量 (g/100cm <sup>3</sup> )	12.93	±	5.41	13.77	±	7.97
仮比重 (g/cm <sup>3</sup> )	1.38	±	0.11	1.32	±	0.03
pH	6.6	±	0.46	6.27	±	0.29
塩分 (%)	0.033	±	0.015	0.027	±	0.006
有機炭素 (%)	3.0	±	0.5	2.4	±	0.3
交換性 Ca (mg Ca/100g)	15.7	±	1.2	14.7	±	0.6
交換性 Mg (mg Mg/100g)	9.0	±	1.7	11.0	±	1.7
可給態 P (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> /100g)	1.87	±	0.06	1.40	±	0.46

\*1 Soils were sampled in September 2020. Values were average and standard deviation of four replicated values.

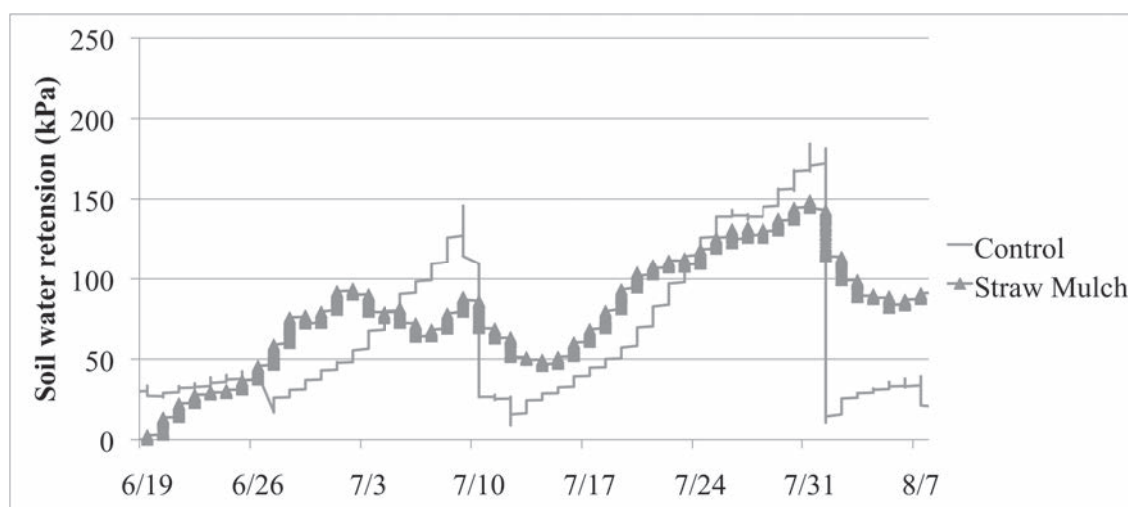


図2. 圃場試験におけるControl区およびStraw Mulch区の土壌水分吸引圧 (kPa) の変化 (2020年6月から2020年8月に測定)



表 2 圃場試験における Contro;区および Straw Mulch 区のコムギ収量の変化.

Year	Land management	Plot	Grain yield (Mg/ha)	
			Average	SD
2019 (n=4)	fallow-wheat	SM	1.300	± 0.120 NS
		Control	1.180	± 0.170 NS
2020 (n=4)	fallow-wheat-wheat	SM	1.620	± 0.207 NS
		Control	1.465	± 0.483 NS
2021 (n=4)	fallow-wheat-wheat-wheat	SM	0.860	± 0.050 a
		Control	0.520	± 0.079 b

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

乾燥地におけるコムギの残渣を利用した土壌保全技術を確立した。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

本プロジェクト研究により、当初予定された課題である、課題 1) モンゴルにおける土壌保全技術の評価、および課題 2) 分析技術の現地移転については成果を得ることができた。しかしながら課題 3) 耐乾燥性品種の形質の評価については、COVID-19 による影響下で本学スタッフのモンゴルへの渡航が全くできず、研究自体行うことができなかつた。しかしながら、オンラインでの情報交換のみでも、3 年間に渡り圃場試験の実施が継続でき、一定の成果が得られたことは、課題 2 である分析技術の現地移転が十分に実現されたことの証明であるとも言える。モンゴル側の研究協力者である Dr. Javkhlantuya Altansuvd、Dr. Lkham Davaa ならびに Dr. Baatartsol Bumbaldai には深く感謝する次第である。

今後の研究推進方策としては、COVID-19 によるパンデミック収束はまだ見通せないことから、国外での活動を前提とした研究計画は今の所現実的ではない。また本研究の課題である持続的な農業生産技術の開発は、世界のあらゆる農耕地に共通する。そこで、今後しばらくは北海道を中心に国内における有機物の施用とそれによる土壌保全についての研究を行うこととする。

## 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)
- 2) J Altansuvd, O Puntsag, J Otgon, L Davaa, B Bumbaldai, YM Nakamaru†. :Straw mulch application for soil conservation in Mongolia and its effect on wheat yield. Plant, Soil and Environment (投稿中)

### 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)

# 2021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 小松 憲治

### 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)
産官学連携による迅速なレタス新品種育成の核となるゲノム育種技術の開発	生物多様性, SDGs13 (気候変動 に具体的対策を)	3,300,000

### 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	小松 憲治	農学部 生物資源開発学科・准教授	総括およびバイオインフォマティクス解析
研究分担者	宇野 雄一	神戸大学大学院 農学研究科・教授	分子生物学実験
	関 功介	長野県野菜花き試験場 主任研究員	菌接種など圃場試験

### 3. 研究期間

2021年4月1日～2022年3月31日 (3年計画の2年目)

### 4. 研究の背景 (当初)

レタス根腐病は、フザリウム糸状菌 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae*) が引き起こす高温期に発生する土壌病害である。土壌病害に対し栽培管理技術によって対処するためには、広大な圃場全てを土消毒する必要があり、現実的な対応策とはいえない。一般には、抵抗性品種の導入が対応策として推奨されている。そのため官民挙げて、根腐病抵抗性品種の開発が行われてきたが、近年の気候変動による気温上昇によって既存品種の抵抗性が打破され問題となっている。日本の生産現場では根腐病を引き起こす3つの菌系統 (以下レースと呼ぶ) の存在が確認されており、複数レースに対し抵抗性を示す品種が求められている。申請者らは、これまでレース1,2に抵抗性を持つ遺伝資源から抵抗性に関わる遺伝子座 (QTL) を同定し、育種選抜マーカーを開発した。レース1については選抜マーカーを知財化し (特許第6969742号)、大手種苗メーカー4社と特許権実施契約を交わし、抵抗性品種の育成を進めている。一方、我々が見出した抵抗性育種素材 (以下 VII185) は、レース1,2に抵抗性を示すが、レース3には抵抗性を示さないという欠点があった。そこで、VII185に対し、既存のレース3抵抗性系統を掛け合わせ、全レースに抵抗性を有する品種の開発を試みたが、レース1と3抵抗性の両立ができないという問題が生じた。そこで申請者らは、レース1と3に抵抗性を示す遺伝資源の探索を新たに行い、両者に抵抗性を示す系統「98-830」を選抜することに成功した。この「98-830」は、レース2抵抗性も有し、3つのレー

ス全てに対し強力な抵抗性を示す非常に有望な育種素材である。

## 5. 研究目的

本研究では、この全レースに抵抗性を示す系統「98-830」が有するレース3抵抗性QTLの同定を試み、知財化を目的とした実用的な育種選抜マーカーの開発を行うことを目標とする。また、将来的には抵抗性遺伝子本体の同定と抵抗性の分子メカニズムの解明を目的とする研究へと発展させることを目標に、抵抗性遺伝子の同定に向けた予備的研究も本プロジェクトの中で行う。

## 6. 研究（実験）方法

### 根腐病レース3抵抗性QTLの同定

抵抗性系統「98-830」と、罹病性系統「晩抽レッドファイヤー」の掛け合わせにより得られたF2集団を対象にRAD-Seq法によるゲノムワイドな多型の検出を行うと共に、各F2系統をより得られたF3系統を用いた根腐病抵抗性試験を実施した。RAD-Seqにより得られた遺伝型のデータと、抵抗性の表現型データを用いてQTL解析を行った。

### 根腐病レース3抵抗性QTLのファインマッピング

上記のQTL解析で限定したゲノム領域内で組換えが生じている個体を、掛け合わせ系統の中からPCR法によって選抜した。さらに限定した領域内にPCRベースのDNA多型マーカーを設計し、領域内のゲノム構成を明らかにすると共に、組換えパターンの異なる個体の根腐病抵抗性試験を実施し、QTLのファインマッピングを試みた。

## 7. 研究成果

### 根腐病レース3抵抗性QTLの同定

あるゲノム領域にLODスコア25を超える単一のQTLが検出され、これを*qFOL8.3*と命名した。本解析によって全ゲノムサイズ約2 Gbから約6 Mbの領域にまでQTLを限定することに成功した。研究成果の知財化を検討していること、本報告書がウェブを通じて公開される性質ものであることから具体的な位置情報については明示しない。

### 根腐病レース3抵抗性QTLのファインマッピング

上記のQTLを限定するため、後代集団から*qFOL8.3*内で組み換えが生じている30個体の株を得ることに成功し、これら個体に対する抵抗性試験を実施した。また*qFOL8.3*内に新たに3つのDNA多型マーカーを設計し、上記の30個体の株の*qFOL8.3*内のゲノム構成を明らかにした。これらの情報を元にファインマッピングを試みたところ約6 Mbに渡っていた領域を、さらに0.98 Mbまで限定することに成功した。限定された領域には、レタスのリファレンスゲノムにおいて25個の遺伝子が座乗していた。これら25個の遺伝子の中には、エリシター受容体遺伝子に代表される典型的な病害抵抗性遺伝子は含まれていなかった。罹病性系統と抵抗性系統の間で遺伝子構造が異なる、リファレンスゲノム上で予測されていない遺伝子を1つ発見したが、この遺伝子と病害抵抗性との関連は現時点では不明である。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

ファインマッピングにより実用的な育種選抜マーカーを開発可能なレベルにまでQTLを限定することに成功した。また限定された領域内で、育種選抜マーカーになり得るDNA多型の候補を複数同定し、その中には一般的なPCRとアガロース電気泳動で容易に遺伝型を識別できる、実用性の高いDNA多型

も含まれていた。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

実用的なマーカーを設計できる程度にまで QTL を限定することに成功したことから、本課題のゴールに定めていた育種選抜マーカー開発に関して目処がたった。一方で、挑戦的な目標として定めていた抵抗性遺伝子候補の同定においては、課題が残されている。QTL をリファレンスゲノムベースで 25 個の遺伝子が座乗する範囲にまで限定することに成功したが、この 25 個の中から病害抵抗性遺伝子の候補となりうる遺伝子を同定するには至らなかった。25 個の遺伝子の中に典型的な病害抵抗性遺伝子は含まれておらず、また抵抗性系統「98-830」と、罹病性系統「晩抽レッドファイヤー」のゲノム配列を比較しても、病害抵抗性との関連を匂わせる、機能的差異を生じさせそうな配列の相違は認められなかった。このことは、希望的に捉えれば、過去に報告のない仕組みによって抵抗性と罹病性の違いが生じている可能性があり、学術的に見て、今後も続ける価値のある研究だと考えることができる。今後は、他のレース 3 抵抗性および罹病性レタス系統のゲノム配列を比較に加えることによって、抵抗性と関連の認められる配列構造を見出し、抵抗性の程度を決定する因子の本体に迫りたいと考えている。

## 10. 公表した成果一覧

研究成果の知財化を検討しているため、外部に向けた研究成果の公表を行っていない。

# 2021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 今井 伸夫

### 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)
生物多様性レジリエンスを踏まえた半自然草地の保全・再生手法の開発	生物多様性、 SDGs 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	今井 伸夫	地域環境科学部 森林総合科学科・准教授	研究統括、生物多様性
研究分担者	下嶋 聖	地域環境科学部 地域創成科学科・准教授	空間情報
	町田 怜子	地域環境科学部 地域創成科学科・准教授	地域連携
	加藤 拓	応用生物科学部 農芸化学科・准教授	土壌
	山田 晋	農学部 生物資源開発学科・教授	植生回復

### 3. 研究期間

2021年4月1日～2022年3月31日（3年計画の2年目）

### 4. 研究の背景（当初）

かつて里地里山に広く見られた半自然草地（カヤ場、緑肥の採草地、放牧草地など）は、草原性希少種の宝庫であった。多様な昆虫相を涵養する半自然草地は、害虫・雑草抑制サービスや送粉サービスを通して、環境保全型農業に対し莫大な経済的便益ももたらしてきた。しかし近年、多くの農地が放棄され樹林化が進み、伝統的な里地利用がほぼ無くなる一方、草地性種にとって生育不適な農地造成地が広がった。そのため、半自然草地の面積は急減し、草原性種の多くが絶滅の危機に瀕している。これまで、半自然草地の保全に関する多くの研究と、市民グループによる保全・再生活動が行われてきたが、その消失ペースの緩和には至っていない。

さらに、半自然草地の生物多様性保全において見過ごされてきた最も深刻な問題は、多くの半自然草地では既に生物多様性の回復力（レジリエンス）が損なわれている可能性である。先述のように、伝統的管理が行われている半自然草地は生物多様性が高い、と言われてきた。しかし、本研究グループは、こうした半自然草原でさえも実はその半分以上には草原性希少種が生育していないことを見出し、この

理由として数～数十年以上前の耕作履歴の影響を指摘した（東急財団 2018-19）。この伝統的管理草地における生物多様性レジリエンスの喪失が普遍的な現象であるならば、生物多様な半自然草地の再生を目指した保全活動の多くは失敗するだろう。まず生物多様性レジリエンス喪失の未然防止と管理計画策定のためにそのメカニズムを解明すること、そして草地復元が求められる場所では希少種を確実に再導入できるような手法を確立することが求められる。

半自然草地が放棄されることは、生物多様性にとってはマイナスだが、樹木バイオマスが増加するため、炭素貯留機能としてはプラスとなる。しかし、九州・阿蘇のように長年火入れによって維持されてきた半自然草地においては、草地放棄は炭素貯留にさえ負の影響を及ぼす可能性がある。火入れ草地の土壌は黒色で、微粒炭由来の炭素が大量に貯留されている。こうした草地が放棄されると、微粒炭由来の炭素供給が無くなる一方、樹木根量の増加に比例して根圏プライミング効果（樹木根から滲出される低分子有機酸が土壌微生物活性を促進すること）も増加するため、土壌が“淡色化”して土壌炭素量が減少する可能性がある。これまで、火入れ草地の土壌炭素量に関する研究は多く行われてきた。しかし、火入れ草地の放棄後の樹林化過程において土壌炭素量が減るのかどうか、また生態系全体としての炭素量も減るのかどうか（樹木バイオマス増加と相殺されてあまり変わらない可能性もある）を検証した例はない。

## 5. 研究目的

本研究は、以下の4つを目的とする。

- 1) 半自然草地における生物多様性レジリエンス喪失のメカニズム解明
- 2) レジリエンス消失草地における希少種の再導入手法の確立
- 3) 九州・阿蘇の火入れ草地における草地放棄後の生態系炭素貯留量の変化の解明
- 4) 阿蘇の草地管理に関わる多様な主体による持続的草地管理の達成支援

## 6. 研究（実験）方法

先述の目的 1,2,3,4 をそれぞれ、1)山梨県 小菅村、2)八王子市 陣馬山、3,4)熊本 阿蘇で行った。

### 1) 生物多様性レジリエンス喪失のメカニズム

昨年度、小菅村において、住民インタビューに基づく長期の土地利用変化、野外調査に基づく植物の種・系統的多様性、および埋土種子相について調べた。野外調査では、村内で見られた半自然草地を、過去の耕作履歴の有無、草刈り管理/放棄などに基づき 10 タイプに分けた。1×1m プロットを 12-22 プロット/タイプ設置し（計 130 プロット）、季節ごとに植生調査を行った。全体で 96 科 324 種、レッドリスト種 39 種が記録されている。本年度は、引き続き、a) 土壌環境、b) 植物の機能形質、c) 節足動物の多様性に関する野外調査を行った。

#### a) 土壌環境

各プロットにおいて、0-10 および 10-20 cm 深の土壌直径（直径 36 mm）を 1 サンプルずつ採取した。サンプル土壌は、土壌（2 mmメッシュ未満）、礫、細根、大径根（直径 2 mm以上）、枝などのゴミに分けた。含水率、bulk density、pH(1:2 H<sub>2</sub>O 及び CaCl<sub>2</sub>)を求めた。

#### b) 植物の機能形質

優占種（バイオマス比 10%以上、かつ 10 プロット以上に出現）83 種及びレッドリスト種 8 種の計 91 種について、各種につき 3 枚の健全葉をサンプリングした。サンプリング後ただちに、葉の厚さ、生重、

面積、葉緑素濃度、打ち抜きおよび引っ張り試験に基づく力学的強度を調べた。また、葉重/面積、葉の乾重/湿重、タンニン量を測定した。文献から、生活型、地下器官型、散布型を調べた。各植生タイプにおける種数/プロット、総種数、帰化率、レッドリスト・ポイントを求めた。各形質のプロット平均値を、種の相対的な存在量により重みづけする Community Weighted Mean (CWM) で示した。

### c) 節足動物の種多様性

既存の 1×1m プロットについてそれぞれを任意の方向に拡張した 1×3 m のプロットを設定し、1 プロット当たり 15 回のスウィーピングを行った。春、夏、秋に調査を行った。体長もしくは開張が 2 mm 以上のアブラムシ科を除く昆虫綱を対象に、実体顕微鏡を用いて形態的種同定を行った。これまでに、春と秋季の種同定を終え、それぞれ 1674 個体 449 種、916 個体 241 種を記録した。幼虫期の食性ギルドを、植物質食（外部葉食、内部組織食、腐植食）、動物質食（捕食、寄生、腐肉食）、菌類食、雑食、不明の 9 タイプに分類した。

## 2) 希少種の再導入手法の確立

陣馬山頂付近の開発で発生した現地の土壌を盛りつけた北東向き斜面の裸地「A 区」と、既存の南東向き斜面草地「B 区」を試験区とした。両区の表土とも、全窒素含量、有効態リン酸含量の点から貧栄養と判断され、土壌 pH は弱酸性であった。両試験区では、下述の 6 月植栽時および 10 月調査直後に地上植生の刈り取りを行った。アキノキリンソウ (*Solidago virgaurea* L. subsp. *asiatica*) とコオニユリ (*Lilium leichtlinii*) の種子は 2020 年 9 月～11 月に陣馬山頂で採取した。同年 10 月～11 月に培土（鹿沼土、腐葉土、緩効性肥料マグアンプ K の混合）を敷いたトレーに播種し、その後東京農業大学厚木キャンパス内の圃場で育成した。発芽した個体を 2021 年 3 月上旬にトレーから直径 12 cm のポットに移植し、両種それぞれ 60 個ほどの苗を用意した。

6 月 23 日に発育良好な個体を 2 種それぞれ 40 個体、計 80 個体選び、翌 24 日に A 区、B 区に各種 20 個体ずつ植栽した。A 区では 80 cm 幅の正方形グリッドを設定し、その交点に、2 種のいずれかをランダムに選んで 1 個体ずつ植栽した。B 区では 100 cm 幅グリッドを設定し、同じ方法で植栽した。植栽前に両種の葉数と最大葉長を計測した。7 月 15 日に植栽個体の残存状況を確認した。9 月 13 日に葉数と最大葉長、あれば地上シュート長と花の有無、各植栽個体の地際の相対光量子束密度を計測した。10 月 21 日にも相対光量子束密度を測定し、前月に比べ明らかに生育状況が変化した個体については上記の項目を再び計測した。

## 3) 草地放棄後の生態系炭素貯留量の変化

火入れ草地と管理放棄後の遷移過程（放棄直後の草地～低木林～高木林）に沿って、調査プロットを多数設置する。プロットサイズは、植生高に見合ったものにする（草地：1×1 m、低木林：5×5 m、高木林：10×10 m など）。アーバスキュラー（AM）性と外生菌根（EM）性という菌根菌タイプ間での栄養獲得特性の差から、土壌炭素量に両森林間で違いがあることが知られている（Averill et al. 2014 Nature）。そこで、管理放棄後に自然に遷移が進み EM 性樹種（ブナ科）が優占していく系と、管理放棄後に針葉樹（AM 性のスギ）植林をした系に、それぞれプロットを設置する。菌根菌タイプ間での栄養獲得特性の違いから、自然の遷移に委ねる系の方が針葉樹植林をする系よりも土壌炭素量が多くなると予想される。各プロットの植物と昆虫の多様性、植物バイオマス、表層土壌の炭素量を調べる。また少数のプロットにおいて、1 m 深の土壌断面観察と土壌炭素量の推定を行う。

本年度中、複数回にわたって熊本・阿蘇での野外調査を計画していたが、コロナ禍により何度も計画

がとん挫した。2022年2月8-11日にかけて、現地視察を行った。一方、来年度は阿蘇における野外調査が本格化すると予想される。そこで、阿蘇において長期滞在可能な研究拠点を形成するため、2022年3月27日に不動産会社を訪ねた。

#### 4) 草地管理に関わる多様な主体による持続的草地管理の達成支援

草地管理に関わる多様な主体による持続的草地管理の社会調査として、牧野組合 (a) と草原保全ボランティア (b) を対象にした2つの調査を実施した。

##### (a) 牧野組合

牧野組合への草地管理の支援を考察するため、2002年に創成された「風景地保護協定制」を対象に社会調査を行った。国立・国定公園の草原をはじめとした里地里山等の二次的な自然風景地で土地所有者による十分な管理が担うことが困難な場合に、環境大臣または地方公共団体もしくは「公園管理団体」が土地所有者と「風景地保護協定」を締結することで、土地所有者の代わりに自然風景地の管理を行うことができる。この風景地保護協定制は土地所有者に対し税制上優遇等のメリットがあるにもかかわらず、今現在（令和3年12月17日現在）風景地保護協定の認可状況は阿蘇くじゅう国立公園の（公財）阿蘇グリーンストックを含む全国で2団体に留まっている。

そこで、阿蘇くじゅう国立公園阿蘇地域の牧野組合と行政（農政局）に対し、風景地保護協定の認知や締結に向けた課題についてアンケート調査を実施した。2021年8月に環境省阿蘇自然保護事務所の協力の下『「風景地保護協定制」に関する意識調査』のアンケートを作成した。郵送で区・牧野組合にアンケートを配布し、牧野組合からは196人中39人の回答、行政は16機関中11機関から回答を得ることができた（回収率24%）。

##### (b) 草原保全ボランティア

草原保全ボランティアの意欲と愛着、組織への満足度、活動の制約要因、ボランティアが求める支援策を調査した。調査対象の草原保全ボランティア団体阿蘇グリーンストックには、841人の都市住民が野焼きボランティア会員に登録し、2020年度時点で延べ人数2,028人のボランティア会員が草原維持管理支援活動に参加している。阿蘇グリーンストックが年間で支援している牧野は66牧野であり、約22,000haの国立公園内の草原の内、約8分の1が阿蘇グリーンストックの活動により保全管理されている。

調査方法は、2020年10月6日に阿蘇グリーンストックボランティア会員（841名）に阿蘇グリーンストックの会報に調査票を同封する方法で郵送し、返信用封筒で回収した。2020年12月30日現在で482通の郵送解答が得られた（回収率57.3%）。さらに、重回帰分析に使用する設問が完全回答ではない42通を除外した。この結果、有効回答は440通となった（有効回答率91.2%）。

## 7. 研究成果

### 1) 生物多様性レジリエンス喪失のメカニズム

#### a) 土壌環境

地上植生の管理形態は同じでも、耕作履歴の有無によって土壌特性に差が見られた。耕作履歴のある方が無い方よりも、含水率は低かったが、礫重と bulk density は高かった。重たい礫や砂が多い土壌は bulk density が高くなりやすい一方、一般に粘土含有量は低い。粘土が少ない土壌は、保水力が低いため含水率は低くなりやすい。耕作履歴のある草地でこのような土壌が見られたのは、耕作に伴い粘土が流出し、礫など粒径の大きなものが選択的に残った可能性が考えられる。



耕作履歴のある方が無い方よりも、細根量は少なく、pHは高かった。植物は、根から有機酸を出すために根系周辺の土壌 pH は下がりやすい。植物バイオマス量が非常に低い耕作地の pH (0-10 cm、水抽出) が最も高く、その他の半自然草地はより低かった。耕作履歴のある草地は、かつては耕作地で草原植生が成立してから時間があまり経過していないため、土壌環境がより耕作地的であるため履歴なし草地よりも pH が高かったと考えられる。

### b) 植物の機能形質

耕作履歴は、葉の形態（葉の厚さや LMA）、光合成活性（葉緑素濃度）には影響を及ぼさなかったが、物理性（力学的強度）、化学性（タンニン濃度）、生活型に影響を及ぼしていた（図 1）。耕作履歴のある草地では、植物の力学的強度が高く、タンニン濃度が低く、一年生植物が多かった。このように、過去の土壌攪乱（耕作）は、現在同じ草刈り管理（地上部の攪乱）が行われていたとしても、短寿命で、被食防衛への化学的投資が低く（物理的投資は高い）、分散・競争能力が高い種の定着につながる事が分かった。

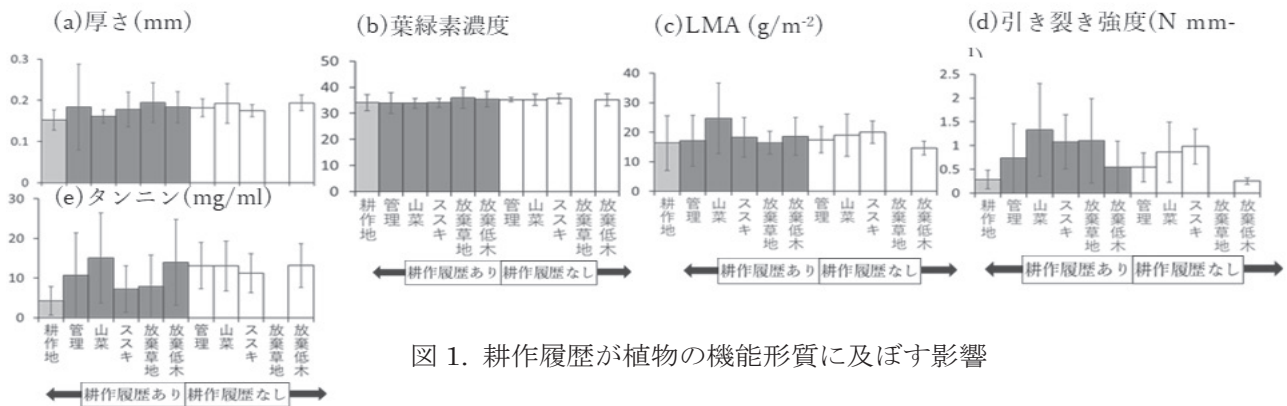


図 1. 耕作履歴が植物の機能形質に及ぼす影響

### c) 節足動物の種多様性

昆虫の種多様性は、耕作履歴のある草地で高かった。一方、食性ギルドの多様性は、内部組織食者など特定ギルドの個体数が増加したため耕作履歴のある草地で低下した。こうしたギルド構造の変化は、耕作履歴の有無に由来する、植物の種組成や機能的形質の変化（前節）が、昆虫群集の食性の一部に影響をもたらしたためであると考えられる。

また種多様性は、草刈り回数が最も多い景観維持草地で高く、山菜採集草地とススキ採集草地でやや低く、放棄草地で最低を示した。つまり、種多様性は攪乱強度の低下とともに低下した。しかし、放棄からさらに時間が経過すると放棄低木林になる

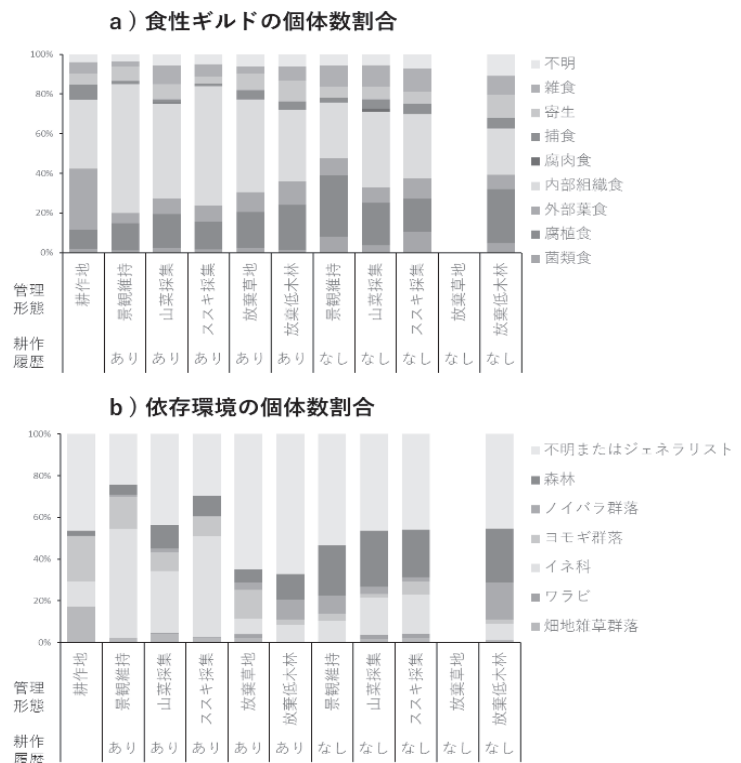


図 2. 昆虫の個体数の割合

が、ここではむしろ種多様性が増加した。これは、植生構造の発達によって空間的な複雑さが増したためだと考えられる。

## 2) 希少種の再導入手法の確立

春季に裸地だった A 区は、10 月には隣接地から侵入したイタドリやハナタデが優占し、A 区の大部分がこれらにより被覆された。B 区は、10 月にはカラムシ、トネアザミ、ハネガヤ、ミツバアケビなどによって、概ね裸地なく被覆された。7 月に植栽個体の残存状況を確認した際には、植栽した 80 個体すべての残存を確認することができた。アキノキリンソウについては、試験区間問わず残存率が 80%以上と高かった。両区とも植栽個体のうち 30%以上は 10 月に開花するに至った。コオニユリについては、A 区の残存率は両月とも 100%であったが、B 区の 10 月の残存率は 45%と低かった。9 月および 10 月のコオニユリの残存個体数には試験区間で有意差が認められた ( $p < 0.05$ )。

一般化線形モデルを用いた重回帰分析の結果から、アキノキリンソウの 10 月の葉数、最大葉長および最大葉長について試験区間で有意差が認められ ( $p < 0.05$ )、相対光量子束密度については有意差が認められなかった ( $p > 0.05$ )。全般に A 区よりも B 区の相対光量子束密度が高い傾向が見られた。

本研究において、アキノキリンソウは残存率が高く、植栽当年に開花に至るまで成長することがわかった。既往の知見では同種の植栽後の開花は植栽後 2 年目が主とされる。本研究において、潜在的に個体の成長が緩慢と考えられる貧栄養立地で成長が早かった一因として、緩効性肥料や腐葉土も使用して育苗した個体を植栽した効果が考えられる。

コオニユリについては、特に B 区において残存率の低下が顕著だった。初期地上部生育の緩慢なコオニユリは、周辺植生からの被陰のため、アキノキリンソウと比較して残存率が低くなることを想定していた。しかし、相対光量子束密度が全般に B 区よりも低い A 区で、2 種の残存率はともに相対的に高く、個体に届く光量の差からコオニユリの B 区における残存率の低さを説明できなかった。コオニユリはアキノキリンソウよりも土壌水分の多い立地を好むことが知られるため、北東向き斜面の A 区に対し、南東向き斜面の B 区は土壌の乾燥が生じやすく、それが残存率の低下を招いた可能性もある。

## 3) 草地放棄後の生態系炭素貯留量の変化

視察の結果、阿蘇に見られる主要な植生タイプとして、以下の 10 タイプが認められた(表 1)。1)毎年春に枯草を焼く火入れによって管理された大規模なススキ-ネザサ群落(火入れ草地)、2)火入れに加えて景観維持や植生保全の目的で刈払い機による草刈りを行っている、生物多様性の高い草地 2 (低強度草刈り草地)、3)火入れに加えて家畜の飼料収穫の目的で重機による草刈りを行っている、外来牧草が優占する草地(高強度草刈り草地)、4)火入れ管理の放棄から約 30 年経過し低木種が侵入しはじめた草地(放棄草地)、5)さらに年数が経ちニシキウツギやエゴノキなどが優占した低木林(若齢二次林)、6)コナラやクヌギが優占する中間的(中齢二次林)、および 7)発達した二次林(老齢二次林)、8)管理放棄と同時にスギを植林した、若(若齢植林地)、9)中(中齢植林地)、10)老齢の植林地(老齢植林地)。

今後、10 タイプにそれぞれ 5-8 個のプロットを設置し(表 1、図 1)、草地(1-4)では植生調査、森林(5-10)では毎木調査と下層

	植生タイプ	プロット数
1	火入れ草地	8
2	低強度草刈り草地	8
3	高強度草刈り草地	8
4	放棄草地	8
5	若齢二次林	5
6	中齢二次林	5
7	老齢二次林	5
8	若齢植林地	5
9	中齢植林地	5
10	老齢植林地	5

表 1. 阿蘇に見られる主要な 10 の植生タイプと設置予定プロット数

植生調査を行う。また、ピットフォールトラップを用いた地表徘徊性昆虫、スウィープ法やブランチックリップ法による地上性昆虫のサンプリング、表層土壌調査を行う予定である。

地下深部までの土壌炭素調査は、阿蘇外輪山東部の町古閑牧野にて行うこととした（図1 中央部）。具体的な調査区の位置も決めた。また、今後の長期での野外調査に備え、現地に研究拠点を形成した。

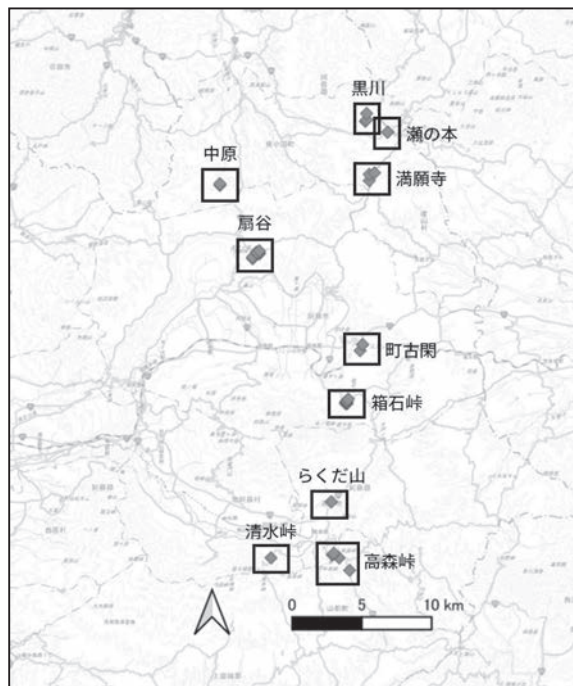


図3. 阿蘇における調査予定

#### 4) 草地管理に関わる多様な主体による持続的草地管理の達成支援

##### (a) 牧野組合

アンケート調査の結果、阿蘇くじゅう国立公園阿蘇地域における風景地保護協定制度は、牧野・行政ともに8割以上が「知らない」という結果となり、認知度の低さが明らかとなった。また風景地保護協定締結に向けて「手続きの簡素化」や「説明会」開催等の運用手続き支援を求めていることが明らかとなった。加えて、草原保全管理が持続している牧野組合は草原ボランティア等の草原管理の新規担い手を求めている傾向が高かった。

##### (b) 草原保全ボランティア

アンケート調査の結果、ボランティア会員は60代から70代が多く、ボランティア会員は草原保全管理や地域貢献への使命感が活動動機となっていた。また、ボランティア会員の組織や活動への満足度も高く、組織や仲間を信頼しながら草原維持管理活動に参加していることがわかった。重回帰分析からボランティア会員の活動継続要因は、「草原保全を担う活動意義や喜びを仲間と共有すること」、「交流の機会」が重要な要因であることが明らかとなった。このことから、先行研究で明らかになっている場所や組織の愛着の醸成を図る機会として、阿蘇グリーンストックが長年継続してきたボランティア会員同士の交流の場が重要な要因になっていたことがわかった。一方、活動を制約する要因として、先行研究と同様に「他の活動との調整」が挙げられた。加えて、阿蘇グリーンストックの場合、草原維持管理活動は体方面での負担も大きく「体力に自信がない」も要因であることが明らかとなった。

以上の結果から、公園管理団体が「活動の意義や喜びを共有し交流する」ことは、活動に長期的に参加する主体を確保でき、持続的な自然風景地の保全管理に寄与すると考えられる。一方、組織の高齢化が進む中、幅広い年齢層の参加促進と活動の共有や交流の機会を設けることにより、年齢層に応じた多様な活動の参加形態を創出することが今後の課題として考えられた。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

アウトリーチに至った成果はまだない。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

### 1) 生物多様性レジリエンス喪失のメカニズム

2年間の調査を経て、半自然草地における生物多様性レジリエンス喪失の実態を把握することができた。地上植生の草地管理法は同じでも、耕作履歴がある草地は、植物および昆虫の多様性が低下していた。住民インタビューとGIS解析からこうした草地がどのように生まれるのかを、土壌、埋土種子、植生調査から耕作がどのように植物相に影響するのかを、植物の機能形質（昆虫の摂食行動に影響）の調査から昆虫の多様性がなぜ変化するのか、をそれぞれ明らかにできた。今後はこれらの成果の論文化に取り組む。現在、住民インタビューとGIS解析に関する研究を *Agricultural Systems* (IF: 5.370) に投稿中である。

### 2) 希少種の再導入手法の確立

残存率が比較的高かったA区は昨年が造成初年であり、本年以降植被が急速に形成されると予想される。植被形成に伴い、本年残存した両種の植栽個体の生育環境が悪化する可能性もある。本年以降も継続的に植栽個体の残存・生育状況を追跡する必要がある。

### 3) 草地放棄後の生態系炭素貯留量の変化

コロナの影響で、今年度は調査候補地の選定と研究拠点の形成までで終わった。来年度は、生物多様性と炭素貯留量に関する野外調査を進める。

### 4) 草地管理に関わる多様な主体による持続的草地管理の達成支援

本プロジェクト成果を阿蘇地域の小中学生に発信するため、環境省阿蘇自然保護事務所の協力のもと、2022年2月11日に国立阿蘇青年の家でワークショップを開催予定としていた。しかし、新型コロナウイルスのまん延防止措置により2022年1月20日に中止の決定がされた。来年度は、これに準ずる発信活動を行いたい。

## 10. 公表した成果一覧

### 学術論文

- 1) 山田晋 (2021) 雑草植生の形成と維持に及ぼす種間相互作用と土壌化学性の影響. 草と緑 13:1-12
- 2) 町田怜子・愛甲哲也・松島 肇・武 正憲・庄子康・御手洗洋蔵・三上直之 (2022) 阿蘇くじゅう 国立公園における二次草原保全活動ボランティアの活動継続と制約の要因. ランドスケープ研究 85:637-640

### 学会発表

- 1) 加藤拓・池澤美紀・廣田充・大塚俊之・藤嶽暢英 (2021) リター由来の溶存有機物が黒ボク土試料

への炭素吸着・脱着に及ぼす影響. 日本土壌肥料学会 2021 年度北海道大会, オンライン開催, 2021 年 9 月 14 日

- 2) 町田怜子・佐藤天音 (2022) 風景地保護協定制度に対する認識と課題 ～阿蘇国立公園を事例として～. 第 133 回日本森林学会全国大会口頭発表

# 2021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 鈴木 伸治

### 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)
気候変動に伴う降雨パターンの変化が農地と作物に与えるリスクの評価と適応農法の確立に関する研究	SDGs 13(気候変動)	3,400,000

### 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	鈴木 伸治	地域環境科学部 生産環境工学科・教授	研究の総括、リスク評価、長期変動傾向の解析、適応農法開発
研究分担者	山崎 由理	地域環境科学部 生産環境工学科・助教	リスク評価、長期変動傾向解析、適応農法の開発
	真田 篤史	国際食料情報学部 国際農業開発学科・准教授	リスク評価、適応農法開発
	篠原 卓	国際食料情報学部 国際食農科学科・准教授	リスク評価、適応農法開発
	藤川 智紀	地域環境科学部 地域創成科学科・教授	リスク評価、適応農法開発
	岡澤 宏	地域環境科学部 生産環境工学科・教授	長期変動傾向の解析
	伊藤 博武	生物産業学部 北方圏農学科・教授	適応農法の開発
	渡邊 文雄	地域環境科学部 生産環境工学科・教授	適応農法の開発

### 3. 研究期間

2021年4月1日～2022年3月31日（3年計画の2年目）

### 4. 研究の背景（当初）

我が国において、大雨や短時間強雨の頻度が増加傾向にある一方で、雨が降らない日も増加しており、降雨パターンの極端化が懸念されている（気象庁、2020）。集中的な豪雨に関して、平成29年7月北九州豪雨や平成30年7月豪雨、また令和元年の台風15・19号による土砂災害・水害、さらに令和3年7月の伊豆山土砂災害は記憶に新しい。今後、世界的にも今後、大雨と干ばつの頻度がそれぞれ増加する

可能性があると改めて強調されるようになった（IPCC, 2021）。降雨を対象とした気象の極端現象が農業に及ぼす影響は、土壌侵食や肥料成分の流亡、あるいは作物への水ストレスなど無視できないにも関わらず、具体的な研究事例が少なく、対策を立てる際に支障となっている。気候変動は人類にとって避けられない大きな問題であり、農業に及ぼす影響と適応策の検討は、**本学で取り組むべき喫緊の課題**である。

## 5. 研究目的

本研究では、どの程度の降雨強度と連続干天で土壌侵食や肥料成分の流出、また作物の水ストレス等の被害が生じるのか、気候変動に対する影響評価の手法を確立し、その手法を用いてリスク評価に結びつけることを第1の目的とする（**目的①**）。この結果を踏まえたうえで、将来予測にも応用できるシミュレーションモデルを整え、我が国における降雨パターンの長期変動傾向を精査し、全国的な特徴を明らかにすることを第2の目的とする（**目的②**）。さらに、農地環境や作物生産に対するリスクを回避するため、雨水の浸透促進と土壌流亡の防止による農地保全、また土壌有機物の有効利用や根系の発達促進、および施肥方法の改良を目標とした、農家にとって実施可能な農法（技術）について検討することを第3の目的とする（**目的③**）。本研究の特徴は、第1に、単に気象の情報として降雨パターンの変動傾向を示すだけでなく、農地や作物に具体的にどのように影響を及ぼすのかを明らかにすること、第2に、単にリスクを提示するだけでなく、農家にとって実施可能な回避策（農法、技術）を検討することである。本研究は、その成果を最終的に農業生産の安定化に結び付けることに大きな意義がある。

## 6. 研究（実験）方法

本研究全体の計画について、3つの目的に対応させて以下に記す。

### 項目1. 降雨強度と連続干天のリスク判定（目的①に対応；鈴木・山崎・真田・篠原・藤川）

#### 1-1 土壌と作物に及ぼす影響の解明

前年度に開発した表面流（土壌侵食）の直接的な引き金となる湛水の発生（降雨強度が土壌の浸透能を超える瞬間）の直接観測手法について、土壌の種類を変えて検討を行うとともに、雨水の浸透／湛水のメカニズムに関する理論的な側面から検討を行った。また、作物（果樹を含む）の水ストレス状態の経時的測定手法について検討した。

#### 1-2 窒素流出に及ぼす影響の解明

土壌管理の違いが窒素成分の動態に与える影響をより詳細にかつ定量的に把握するために、前年度、土壌カラムを用いた土壌中の溶質移動に関する試験を開始した。今年度はこの手法の改良を試み、降雨量を制御した環境下で土壌中での窒素化合物の変化や、水移動に伴う窒素成分の溶脱特性について検討した。

### 項目2. 降雨パターンの長期変動傾向の解明（目的②に対応；鈴木・岡澤）

#### 2-1 水収支モデルの構築と水資源ポテンシャルの長期変動傾向の解明

昨年度に着手した作物生育モデルに水収支モデルを連結させ、また上記項目2-1の結果を踏まえ、降雨パターンの変化が作物の生育に及ぼす影響について、広域的なリスク評価が行えるよう検討を試みた。

#### 2-2 リスクとなる降雨強度と連続干天の長期変動傾向の解明

項目1-1で行う作物（果樹を含む）の水ストレスの測定結果をもとにした連続干天日の発生頻度について、過去の気象データを精査して長期変動傾向の検討を行った。

### 項目 3. リスク軽減農法の開発（目的③に対応；鈴木・真田・藤川・伊藤・渡邊）

干害のリスクは、雨水を土壌に積極的に浸透させて下層での貯留を促すとともに、さらに作物根の根を下層に発達させることによって低減できると考えられる。雨滴の衝撃を和らげ、浸透速度を緩和することは、土壌侵食の原因となる土粒子の飛散を防ぎ、肥料成分の流亡防止にも役立つ。そこで、以下の具体策について検討を行った。

#### 3-1 リスク軽減に適した土壌管理手法の検証

土壌微生物のコロニー（BSC；Biological Soil Crust）を利用した土壌流亡の抑制について、土壌の種類や水分状態等の条件を変化させて効果の検証を継続した。また、心土破砕（深耕）が雨水の浸透や土層内での保水に及ぼす効果について検討した。さらに、降雨パターンの変化に対応した適切な施肥管理の手法についても検討を試みた。

#### 3-2 作物の根系発達農法の検討

堆肥の施用方法が根系の発達に及ぼす影響を評価する試験の予備試験として、異なる堆肥の施用方法が野菜（ダイコン、ハクサイ、ホウレンソウ）の生育と収量に及ぼす影響を調査した。これにより、効果的な堆肥の施用方法について検討する。またより深く、より多く根が分布するソルガム圃場における土壌環境調査を継続し、短時間強雨や連続干天に対応した適切な土壌管理の在り方について検討する。

☞2021年度は、以下の項目について取り組んだ。

**項目 1：**昨年度構築した気象・土壌モニタリングシステムにより、観測を継続して行った。作物（果樹を含む）の水ストレス状態の経時的測定手法を検討した。降雨強度を変化させた場合の窒素成分の溶脱量を分析した。

**項目 2：**昨年度に引き続き、作物生長モデルに取り込むための作物データ（草丈やバイオマス量）の取得方法の検討を行った。これに加えて、農林地流域における河川データ、気象データを使用した水文モデルによる河川流量シミュレーションモデル（SWAT）や、土壌水分動態を予測するシミュレーションモデル（HYDRUS-1D）の適用を試みた。

**項目 3：**心土破砕、およびマルチや BSC が、表面流出の抑制や土壌の保水性に及ぼす長期的な効果について検討した。画像解析ソフトを用いた根系の評価手法について検討するとともに、堆肥の施用方法の違いが作物の根系発達に及ぼす影響について検討した。さらに、より深く、より多く作物の根が分布する圃場を探索し、土壌環境の特徴を明らかにした。

## 7. 研究成果

### 項目 1. 降雨強度と連続干天のリスク判定

#### 1-1 土壌と作物に及ぼす影響の解明

世田谷キャンパス内のライシメーターを用いて、ダイズの栽培試験を野外の自然な条件（天水）で行い、土壌水分の連続観測を行った。十分な降雨の後の無降雨日の連続によって、ダイズの生育に支障をきたす土壌水分（マトリックポテンシャル； $pF$ ）になるまでの無降雨日の日数を観測したところ、軽埴土では4日、埴壤土では5日であった。一方で、砂壤土では今年度の栽培期間中、生育に支障をきたす土壌水分には至らなかった（図1）（鈴木）。



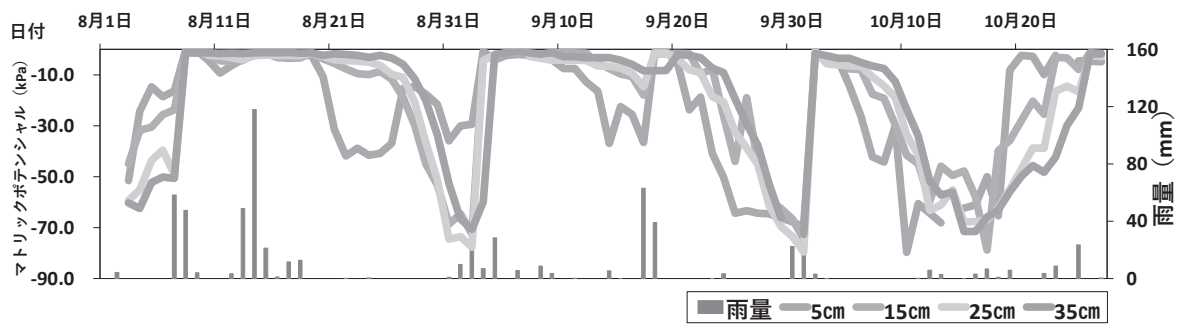


図1 ダイズを栽培したライシメーターにおけるマトリックポテンシャルの変化（軽埴土）

異なる土壤水分条件下でパッションフルーツを栽培した結果、 $pF$  1.2~1.5 程度で推移した処理区で SPAD 値が高くなり、根数も多くなった。一方で、栽培期間中の  $pF$  の値が 1.3~1.8 よりも高くなると、SPAD 値は低くなり、根数も少なくなったことから、茎葉の生育については  $pF$  の値が 1.2~1.5 程度で推移するよう土壤水分管理をすることが望ましいと考えられた。日本国内におけるパッションフルーツの栽培はハウス内で行われることが多いが、露地栽培が行われることもある。パッションフルーツは比較的乾燥に強い果樹であるが、干天が続いた場合の灌水の目安の一つとして  $pF$  値を経時的に確認することは有効であると考えられる（図2）（真田）。

またパッションフルーツの栽培中に、植物体を抜き取らずに評価した根数と、抜き取り後に測定した根の乾物重を、単回帰分析を行った結果、0.7131 の相関係数を得た。この結果から、一般的には抜き取らなければ評価が難しい根の発達を、抜き取ることなく推測できる可能性が示され、土壤水分と植物の生育の関係を評価する今後の調査手法の一つとして応用が期待される（図3）（真田）。

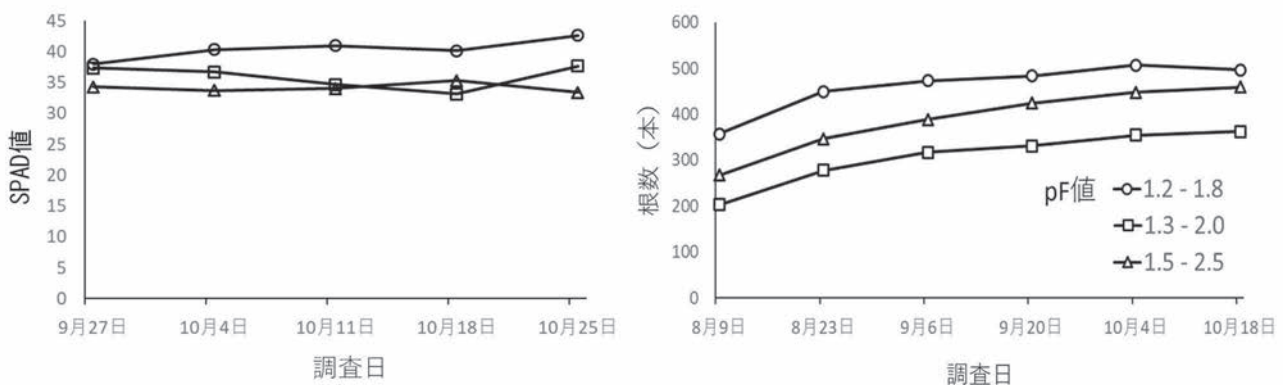


図2 異なる土壤水分条件下で栽培したパッションフルーツにおける SPAD 値（左）および根数（右）の推移

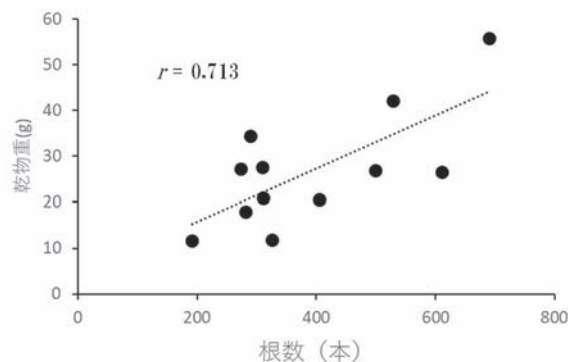


図3 異なる土壤水分条件下で栽培したパッションフルーツにおける根数と根の乾物重の相関関係

伊勢原農場果樹園場において、カキおよびウンシュウミカン栽培期間中の気温、降雨量および土壌水分条件を経時的に測定しデータを得た（図4）。8月に14日間の連続干天を記録したものの、2021年度は栽培期間を通してコンスタントに降雨を記録した。土壌水分センサーのケーブルがハクビシンに噛み切られるなど、来年度以降への課題もあった。これらの果樹の水分ストレス状態を把握するため、光合成測定装置を用いて葉の蒸散速度を測定した。また、水分ストレス状態を経時的に測定する手法として、色の変化で幾つかの果樹の蒸散速度を推定できる「水分ストレスシート」の利用を検討した。ウンシュウミカンでは、栽培期間中は軽度の水分ストレス状態にあることが示唆された。しかし、カキでは蒸散速度と水分ストレスシートの変色との間に有意な関係はみられなかった（図5）（篠原）。

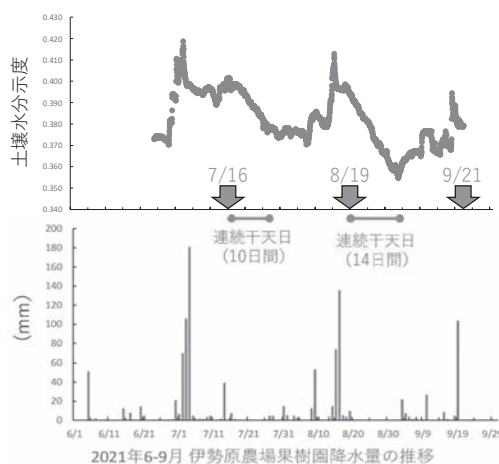


図4 2021年6～9月伊勢原農場果樹園日降水量（下）と土壌水分（上）の変化 ※矢印は計測日

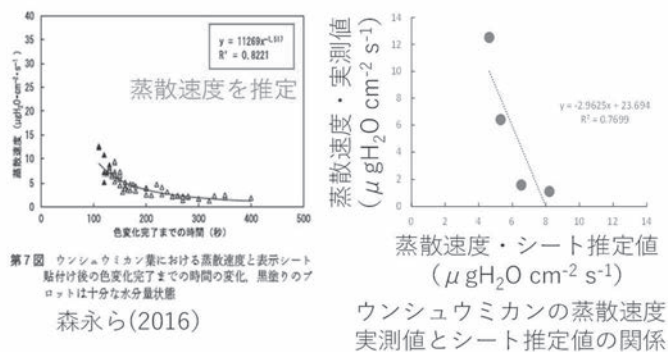


図5 LI-6800による蒸散速度の測定（左）と水分ストレスシートを利用した蒸散速度の推定（右）

### 1-2 窒素流出に及ぼす影響の解明

ポット栽培実験によって、降雨強度を変化させた場合の窒素溶脱を検証した。ポットからの排水中の全窒素濃度は、一定の灌水量（東京都における夏季の降雨量の日平均）を与えたポットと、降雨強度を大きくした灌水条件（1時間雨量20mmおよび日雨量100mm）で顕著な違いはみられなかった。ただし、降雨強度を大きくした灌水条件では、全窒素濃度の経時変化率が大きく、窒素成分が流出しやすい環境であったと推察された（図6）（山崎・藤川）。

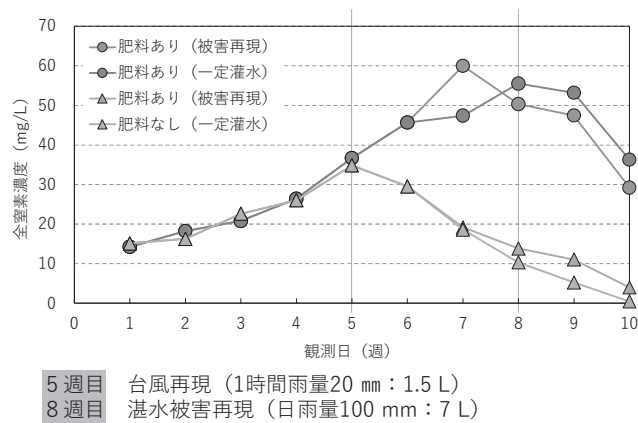


図6 ポットからの排水中の全窒素濃度

## 項目2. 降雨パターンの長期変動傾向の解明

### 2-1 水収支モデルの構築と水資源ポテンシャルの長期変動傾向の解明

昨年度から取り組んでいる UAV による作物生長（草丈）を評価するための画像処理方法の検討を行った。画像処理ソフト（PIX4D mapper）を使用することで、UAV 画像から点群データと DSM（Digital Surface Model）を作成することができる。これらのデータから作物生長を検討するための草丈のデータと地上バイオマスデータを抽出することができるが、従来から頻繁に行われている DSM データを使用するよりも、点群データを活用する方が草丈の計測精度が向上することが明らかになった。また、バイオマス量の計量については、どちらのデータから計算しても差がないことを確認した（図7）（岡澤）。

また、今年度から福島県三島町における水田を含む小流域で、水文モデルである SWAT による降雨と融雪に伴う河川流量予測の検討を始めた。土壌データが欠損していても、SWAT による自動補正機能を使用することで融雪流出時と積雪期を除く期間ではある程度の推定精度が得られることを確認した。今度は、作物モデルと水文モデルの融合によって、気候変動に伴う気象変動による流出変化と作物成長変化の検討を行う予定である（図8）（岡澤）。

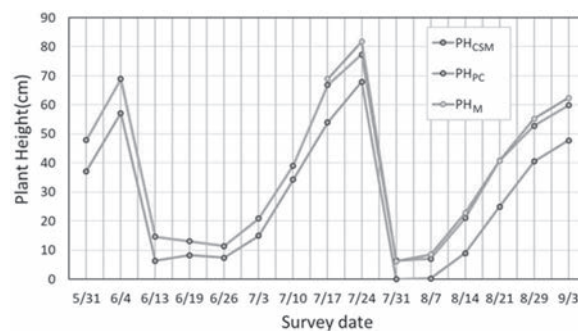


図7 UAVによる作物生長量の取得

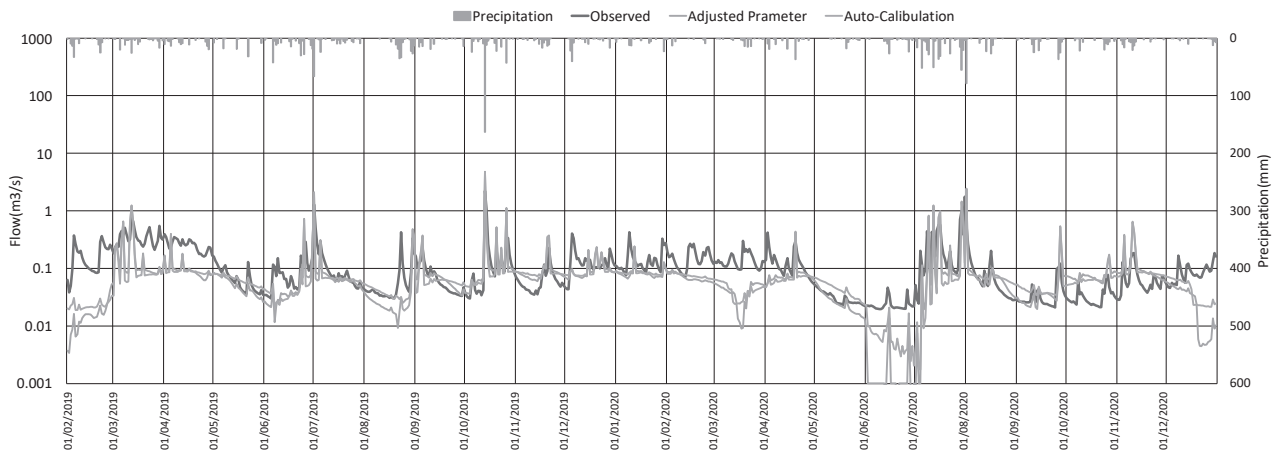


図8 小流域河川における SWAT の適用

後述 (3-1-1) する横浜市都筑区の畑圃場において、心土破碎が土壤の水分環境に及ぼす影響を予測するシミュレーションモデルを、1次元土中水分予測汎用プログラムである HYDRUS-1D を用いて構築した。その結果、シミュレーション上で 2019 年の台風 19 号に匹敵する降雨を与えたところ、心土破碎区では表面流出が生じるまでの時間に遅れを生じさせることが再現された。また連続した無降雨の条件で土壤水分のシミュレーションを行ったところ、8 日で作物の生育に支障をきたす土壤水分状態になったのに対し、心土破碎区ではその日数が 11 日となり、シミュレーション上で心土破碎による土壤の保水性と透水性の改善を評価することができた (図 9) (鈴木)。

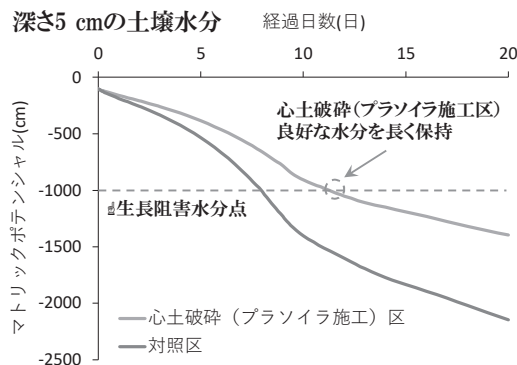


図9 HYDRUS-1D を用いた心土破碎による土壤の保水性の改善効果の評価

## 2-2 リスクとなる降雨強度と連続干天の長期変動傾向の解明

作物の生育に支障をきたす連続した無降雨日の発生頻度について、気象庁のアメダスデータ (世田谷) をもとに、1976～2021 年までの 46 年間の長期変動傾向を解析したところ、上記 1-1 により明らかになった、4～5 日以上連続無降雨日 (ダイズの生育に支障をきたす連続干天) の頻度は、むしろ減少傾向にあることが明らかとなった (図 10)。一方で、1-1-1 で示した異なる種類の土壤による比較から、連続干天がダイズの生育に及ぼす支障は土壤の保水性と関係があり、土壤の保水性の改善はリスクの軽減につながることを示唆された (鈴木)。

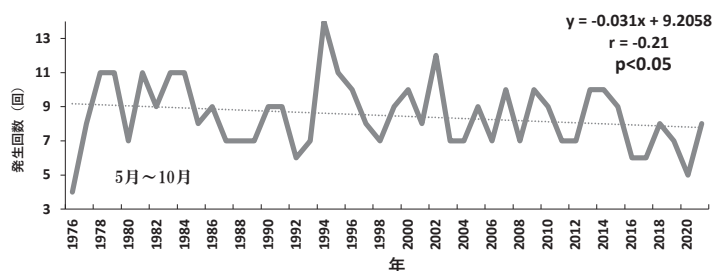


図 10 ダイズの生育に支障をきたす連続無降雨日（5 日以上）の発生頻度の推移

### 項目 3. リスク軽減農法の開発

#### 3-1 降雨パターンの変化に対応した土壌管理と作物栽培のあり方の検討

##### 3-1-1 心土破碎の効果検証

横浜市都筑区の畑圃場において、数年にわたって作付けを行っていない比較的平坦な 250 m<sup>2</sup> の圃場を 2 分し、2020 年 8 月 5 日に 2 分した区画の一方で心土破碎を行い、他方を対照区として、流出の有無と土壌水分センサーを用いた水分動態を継続して観測した。その結果、対照区では試験開始以降、降雨後の表面流出が数度観測された一方で、心土破碎区では 1 年以上にわたって表面流出を防ぐことができた。また同様に、全ての深さにおいて体積含水率が常に心土破碎区の方が対照区よりも低い値を示し、連続した無降雨があった場合には、心土破碎区の方が対照区よりもマトリックポテンシャルの減少が抑えられていた。この結果から、心土破碎によって 1 年以上にわたって良好な排水性と保水性を維持していたことが明らかとなった（図 12）（鈴木）。

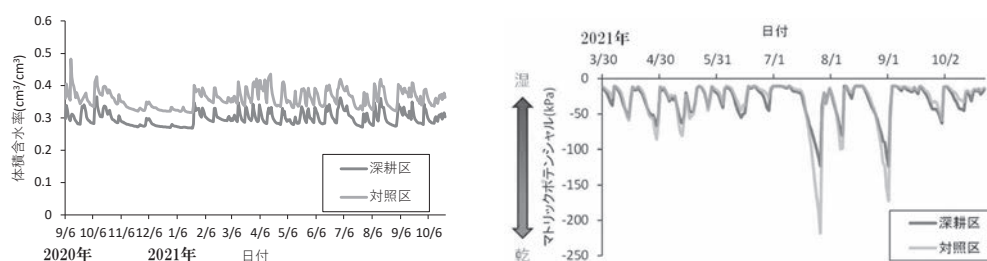


図 12 体積含水率の比較（深さ 5 cm）（左）とマトリックポテンシャルの比較（深さ 5 cm）（右）

上記 1-1 で明らかになった結果を踏まえ、土壌の保水性の改善への取り組みが、連続した無降雨日による作物生育へのリスク（水ストレス）を回避できることも示唆された（鈴木）。

##### 3-2 有機物によるマルチングと堆肥の施用および BSC による効果の検証

土壌侵食を防ぎ、土壌の水分、温度環境の変動を抑制する土壌被覆（マルチ）に注目した。未利用資源である竹のチップを用いたマルチをおこない、マルチ内およびマルチ直下の土壌表面の温度を計測した結果、9 月に竹チップを敷いた直後には 10 cm 厚さのマルチで約 5℃、30 cm 厚さで約 10℃の温度上昇がみられ、竹チップの発酵による発酵熱の影響が確認された。地表面温度低下の抑制効果は 3 ヶ月以上維持され、日最低気温は竹チップを 10 cm 厚さに敷いた区で裸地状態の区に比べて 5℃前後高く、地表面温度が 10℃以下になる日が 1 ヶ月以上遅くなった（図 13）（藤川）。

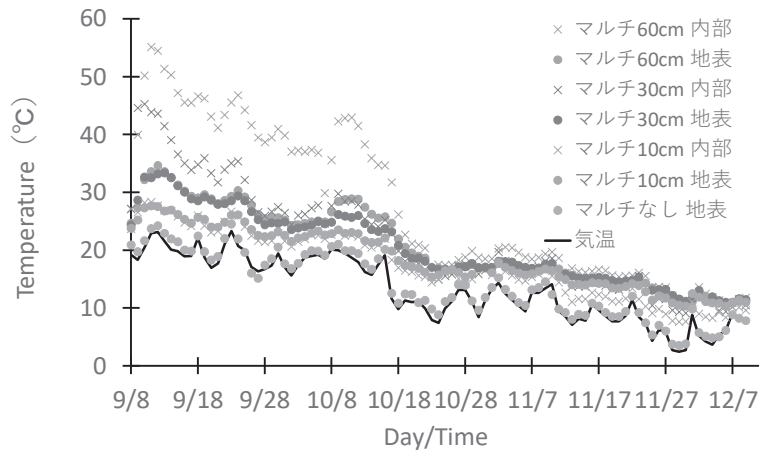


図 13 マルチ材による地温の変化

繁茂状態の異なる BSC が、水食抑制効果及ぼす影響や、雨滴侵食による土粒子飛散量と土壌の浸入度に及ぼす影響について検討した。その結果、繁茂が薄い BSC では表面流出量が 16% 減少し、土壌内排水量は 10% 増加、土壌流亡量は 1/8 に減少した。繁茂が濃い BSC では表面流出量は 34% 減少し、土壌内排水量は 30% 増加、土壌流亡量は 1/13 に減少した。BSC の繁茂状態により、水食抑制効果が大きく異なることを明らかにした。また、サンプリングした土壌に対する室内試験の結果から、BSC 繁茂状態の良、優の土壌の浸透量が裸地と比較してそれぞれ、1.3 倍、2.1 倍となった。さらに土粒子飛散量も BSC 被覆率が高いほど抑えられ、その結果、土壌の浸潤量の増加に寄与することも明らかになった (図 14) (渡邊)。

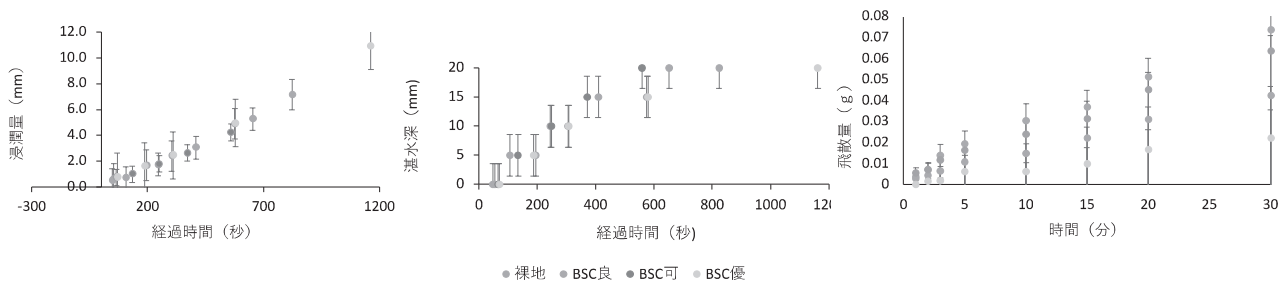


図 14 BSC の繁茂状態による浸潤量 (左)、湛水深 (中)、土壌飛散量 (右) の違い

### 3-3 作物の根系発達農法の検討

ダイコンの生育初期に抜き取り調査を行った結果、堆肥を施用した処理区で、化成肥料施用した処理区に比べて茎幅が大きくなった。また、堆肥を層状に施用した処理区で、堆肥や化成肥料を全層混和施用した処理区に比べて地上部乾物重が大きくなる傾向にあった。したがって、初期生育においては、堆肥の層状施用により植物体の生育が促進されたと考えられた。この結果は、堆肥が、特に層状で施用された際に土壌表層の水分含量を高め、養水分の吸収を促進した結果と推察された。一方で、ダイコンの収量調査の結果、地下部乾物重などすべての調査項目で、処理区による違いは見られなかった。ハクサイでも同様の調査を行ったが、生育処理の抜き取り調査、収量調査を通じて、処理区による違いは見られなかった。今回の栽培試験は、初期生育時に降天水に依存して栽培を行ったが、栽培期間を通じて極端な干天の継続が見られず、収穫時までには処理区間の生育が一樣となった。今後は、初期生育時について、根の発達を中心に詳細な調査を行うとともに、干天を想定した栽培条件下で栽培試験を行い、生育

や収量の調査を行う必要がある（表1）（真田）。

表1 堆肥の施用方法の違いがダイコンの初期生育に及ぼす影響

肥料の種類	施用方法	ダイコン		
		茎幅 (cm)	SPAD	乾物重 (g)
化成肥料	全層施肥	3.80 b	31.3	0.410
堆肥	全層施肥	4.13 a	30.3	0.381
	層状施肥	4.18 a	30.9	0.476

- \* 異なるアルファベットはTukeyの多重比較検定により5%水準で有意差があったことを示す
- \*\* 化成肥料および堆肥の全層施肥は、畝の全面、且つ表層から15cmの深さまでの土壤に化成肥料および堆肥を混和
- \*\*\* 堆肥の層状施肥は、畝の表面から深さ15cmの位置に、層状に堆肥を施用

また、ハウレンソウでも同様の試験を行ったが、化成肥料での栽培区で地上部乾物重が大きくなった。ハウレンソウはダイコンやハクサイに比べて生育期間が短いため、堆肥の土壤水分保持効果が表れるより早く、化成肥料区で速やかに植物体に養分が吸収され収穫に至ったことがその要因と考えられる（表2）（真田）。

表2 堆肥の施用方法の違いがダイコンおよびハウレンソウの収量に及ぼす影響

肥料の種類	施用方法	ハウレンソウ	ダイコン		
		地上部新鮮重 (g)	地下部新鮮重 (g)	根長 (cm)	根径 (cm)
化成肥料	全層施肥	73.6 a	1037	33.1	7.16
堆肥	全層施肥	50.6 b	1054	33.2	7.22
	層状施肥	46.6 b	1136	33.7	7.29

- \* 異なるアルファベットはTukeyの多重比較検定により5%水準で有意差があったことを示す
- \*\* 化成肥料および堆肥の全層施肥は、畝の全面、且つ表層から15cmの深さまでの土壤に化成肥料および堆肥を混和
- \*\*\* 堆肥の層状施肥は、畝の表面から深さ15cmの位置に、層状に堆肥を施用

北海道帯広市にて、カネコ種苗株式会社のソルガム品種「ターザン」と「スタックス緑肥用」の根系を調査した。「ターザン」はオホーツク地域の津別町での結果と同様に深さ1mまで根が観察された。一方、「スタックス緑肥用」を栽培した土壤は深さ70cmで1600 kPaに達しており根系発達の抑制が予測されたものの（図15）、根系の重心値は「ターザン」と遜色の無い値となった（図16）（伊藤）。

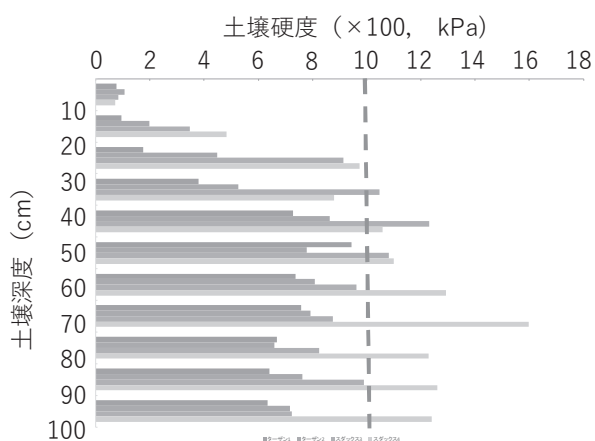


図15 「スタックス緑肥用」の根系調査の断面

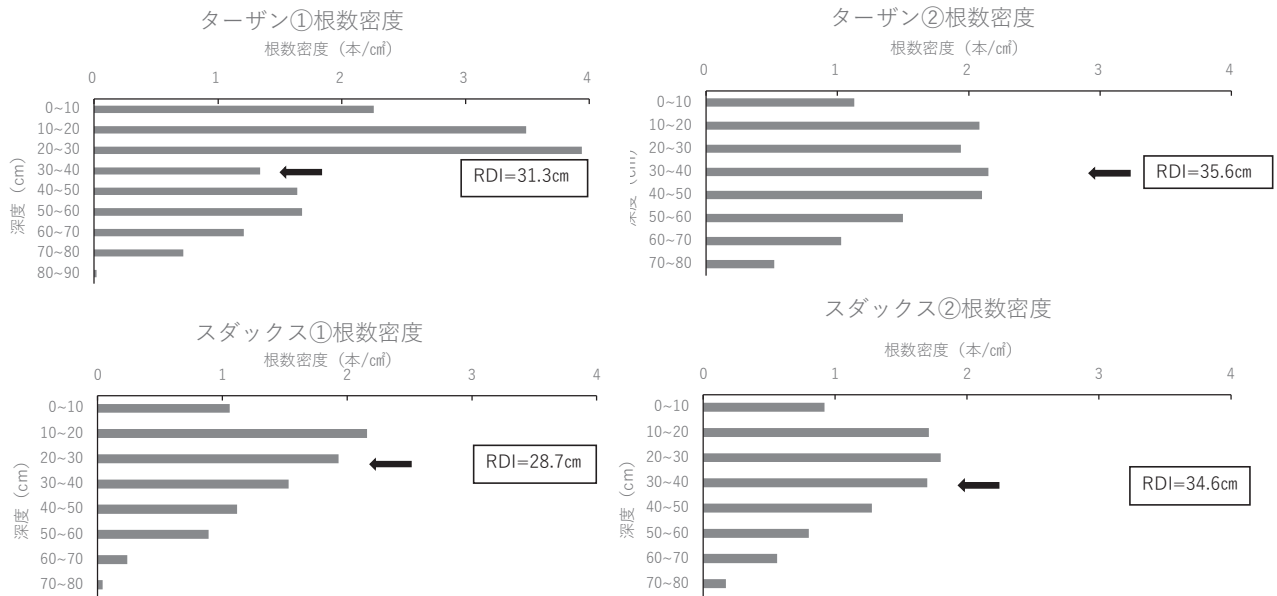


図 16 根数密度分布 (RDI=根の重心値)

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

UAV による作物生育情報の取得について、名古屋大学との共同研究において研究成果の一部を活用している。この共同研究では、誰でも手軽に地域環境評価を行うための WebGIS 型セマンティックモデルの開発に取り組んでおり、複数組み込まれているモデルの中の作物生長モデルに一部機能を活用している。

また、SWAT による水文モデルの成果について、国立環境研究所との共同研究で活用している。国立環境研究所との共同研究では、森林を主体とする小流域河川において小水力発電のポテンシャル評価に取り組んでいる。ここでも河川流量の予測が求められることから、本研究の成果が活用されている。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

☑2021 年度には、以下の内容について活動を行う予定である。

**項目 1**：それまでの観測結果を整理して不足分の実験を加えることにより、土壌侵食を招く降雨強度と、作物の水ストレスを引き起こす連続干天日、および降雨パターンの変化が窒素の流出過程に及ぼす影響についてまとめる。

**項目 2**：農地における水収支モデルを完成させ、水資源ポテンシャルのリスクとなる降雨パターンの長期変動傾向を明らかにする。また、気候変動予測値を入力することで、対象地における将来の水資源ポテンシャルを推定し、今後の営農パターンの変遷について提言する。

**項目 3**：適応農法の開発や評価の検討を続け、前年度までに得られた項目 1, 2, 3 の結果を総合し、想定される気候変動をパラメータとしてシミュレーションを行うことによって、最大の効果（土壌侵食と肥料成分の流出防止、作物の水ストレスの緩和）を発揮する農法（栽培方法や土壌の保全方法、施肥管理方法）を選択するアルゴリズムを見出す。

さらに、2021 年度は本プロジェクトの最終年度であるため、研究成果の発表や意見交換の場となるセミナーの開催について検討する予定である。



## 10. 公表した成果一覧

### 学術論文

- 1) Shinohara, T., S. Ducournau, S. Matthews, M.H. Wagner, and A. Powell (2021): Early counts of radicle emergence, counted manually and by image analysis, can reveal differences in the production of normal seedlings and the vigour of seed lots of cauliflower. *Seed Science and Technology* 49:219-235.
- 2) Viera, W., T. Shinohara, I. Samaniego, A. Sanada, N. Terada, L. Ron, A. Suarez-Tapia and K. Koshio (2021): Phytochemical composition and antioxidant activity of *Passiflora* spp. germplasm grown in Ecuador. *Plants* 11: 328. <https://doi.org/10.3390/plants11030328>
- 3) Ke Zhang, Hiromu Okazawa, Yuri Yamazaki, Kiichiro Hayashi, Osamu Tsuji (2022) : Relationship between NDVI and Canopy Cover sensed by small UAV under different ground resolution. *International Journal of Environmental and Rural Development*, 12, in press

### 学会発表等

- 1) 鈴木伸治 (2022) : 「GROUNDBREAKERS クボタ 2022 新春オンラインイベント 日本農業の未来へ」に出演, 2022年1月20日, <https://agriculture.kubota.co.jp/event/groundbreakers2022/>.
- 2) 張可・岡澤宏・山崎由理・辻修 (2022) : 小型 UAV 空撮画像による DSM データを用いた作物の草高推定—二種類の推定手法の比較—, 令和3年度農業農村工学会全国大会, オンライン開催, 2022年8月31日から9月2日
- 3) 鈴木伸治・福岡孝則・鈴木大輔・山崎由理・岡澤宏 (2021) : 横浜市における降雨パターンの変化に対応した都市農業の農地整備の取り組み. 令和3年度農業農村工学会全国大会, オンライン開催, 2022年8月31日から9月2日.
- 4) Ke Zhang, Hiromu Okazawa, Yuri Yamazaki, Kiichiro Hayashi, Masahiro Akimoto, Osamu Tsuji (2022) : Estimating Biomass of Pasture Grass using Digital Surface Models and Point Cloud Data Derived from UAV-Based RGB Imaging, ICMaSS2021 (持続性社会のための材料とシステムに関する国際会議 2021), オンライン開催, 2022年11月4日から6日
- 5) Ke Zhang, Hiromu Okazawa, Yuri Yamazaki, Ayako Sekiyama, Kiichiro Hayashi, Masahiro Akimoto, Osamu Tsuji (2022) : Comparison of Crop Surface Models and 3D Point Clouds by UAV Imagery on Estimating Plant Height and Biomass Volume of Pasture Grass, The 13th International Conference on Environmental and Rural Development (online), 4-5 March, 2022
- 6) SHOTARO KIKUCHI, HIROMU OKAZAWA, SARVESH MASKEY, SERGIO AZAEL MAY CUEVAS, MAKOTO OBA, SHOGO NAKAMURA, SEIJI HAYASHI (2022): Estimation of Long-term River Discharge in Forested Watershed in snowy region by SWAT, The 13th International Conference on Environmental and Rural Development (online), 4-5 March, 2022
- 7) SARVESH MASKEY, HIROMU OKAZAWA, SHOTARO KIKUCHI, MAKOTO OBA, SHOGO NAKAMURA, SEIJI HAYASHI (2022): Seasonal Evapotranspiration and its Sensitivity to Climatic Parameters in Cold region watershed of Fukushima, Japan, The 13th International Conference on Environmental and Rural Development (online), 4-5 March, 2022
- 8) 岡澤宏・張可・山崎由理・林希一郎・Ferdinando Villa・Stefano Balbi (2022) : K.LAB を活用した水文モデルと作物成長モデルの利用, 環境アセスメント学会第20回大会, 2021年9月3日~4日

- 9) K. Hayashi, H. Okazawa, Y. Yamazaki (2022) : ESP Training ARIES -Artificial Intelligence for Environment and Sustainability-, 3<sup>rd</sup> ESP Asia Conference (Online), 14-17 November 2022
- 10) 鈴木伸治 (2022) : 気候変動に伴う降雨パターンの変化が農地と作物に与える影響の評価と適応農法の確立に向けて. 土壌の物理性,150 : 57-58.
- 11) 藤川智紀 (2022) : 間隙構造と土壌物理性の関係. 土壌の物理性,150 : 76-77.

# 2021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 庫本 高志

### 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)
新たな肉用牛「無角黒毛」の創出—生産性とアニマルウェルフェアの向上を目指して—	SDGs9 (産業と技術革新の基盤をつくろう)	3,500,000

### 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	庫本 高志	農学部 動物科学科・教授	統括、ゲノム編集、ゲノム検査
研究分担者	岩田 尚孝	農学部 動物科学科・教授	人工授精、体外受精、体外培養
	野口 龍生	富士農場・准教授	胚移植、生体内卵子吸引、育成

### 3. 研究期間

2021年6月9日～2022年3月31日 (3年計画の1年目)

### 4. 研究の背景 (当初)

黒毛和種の肥育現場では、飼養管理の効率化のために、除角という人にも牛にも多大なストレスのかかる作業が行われている。本研究では、美味しいお肉の生産性の向上とアニマルウェルフェア (快適性に配慮した家畜の飼養管理) の向上を目指し、遺伝的に角のない黒毛和種「無角黒毛」を創り出すことを目的とする。具体的には、無角和種が持つ無角遺伝子を交配により黒毛和種に導入する。

### 5. 研究目的

2021年度は、無角和種の導入、並びに、黒毛和種と無角和種のF1交雑胚の採取と移植を目的とした。

### 6. 研究 (実験) 方法

#### F1交雑胚の作製

F1交雑胚の作製は以下2通りで行った。

- 1) 富士農場の黒毛和種の雌に無角和種の凍結精液を人工授精した。
- 2) 屠場で採取した黒毛和種の卵巣から卵子を摘出し、無角和種の凍結精子を用いて体外受精した。

## 胚の遺伝子診断

F1 胚を体外培養で胚盤胞まで発生させ、胚とその培養液をテンプレートにPCR法による遺伝子診断を行った。検出ゲノム領域は、無角遺伝子の変異である1番染色体上の約200塩基対の挿入とした。

## ゲノム多型情報の収集

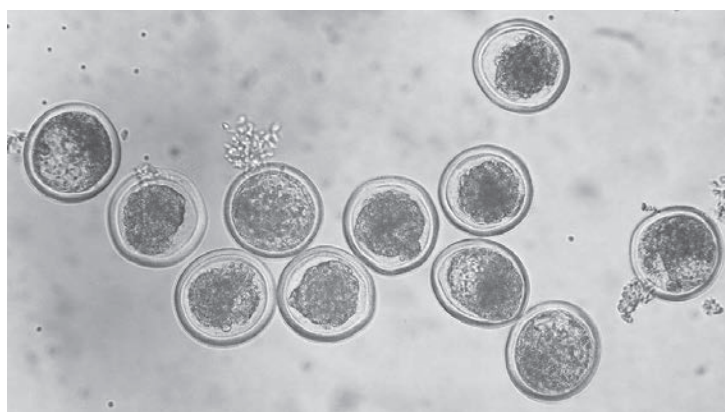
N2世代以降では、できるだけ黒毛和種のゲノムに置換わっている胚を選抜する。胚の選抜は、多型マーカーを用いて行う。多型マーカーの開発には黒毛と無角のゲノム多型情報を収集する必要がある。そのために、黒毛と無角のゲノムDNAを用いてシーケンシングを行った。実施場所は生物資源ゲノム解析センターとした。

## 7. 研究成果

### F1交雑胚の作製

- 1) 人工授精により11個の受精卵（桑実胚、胚盤胞）を採取し、凍結保存した（図1）。F1産子を得るために、凍結保存胚をホルスタインの子宮に移植した。2022年3月31日の時点で、1例の受胎を確認した。
- 2) 体外受精により20個の受精卵を作製し、凍結保存した。一部を以下の遺伝子診断に供した。

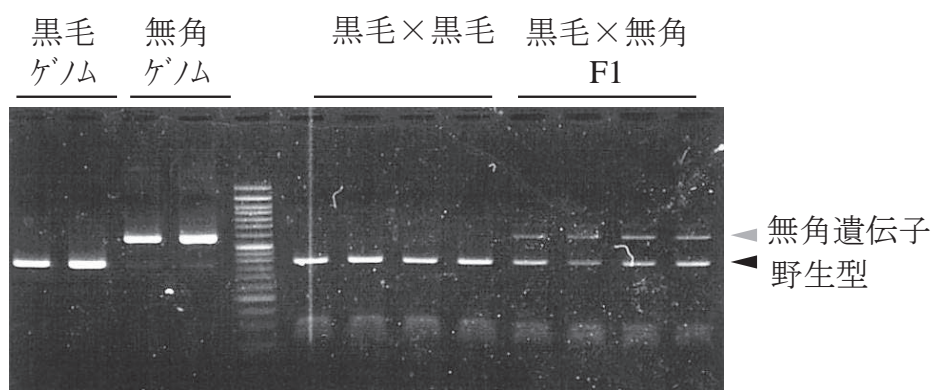
黒毛(かこ)×無角(生歌)



(図1) 黒毛卵子と無角の凍結精子から作製された受精卵

## 胚の遺伝子診断

F1交雑胚を培養し、胚盤胞まで発生させた。この胚盤胞1個を用いてPCRを行ったところ、無角遺伝子（約200塩基対の挿入）のヘテロ接合体であることが確認できた（図2）。一方、培養液をテンプレートにした場合はバンドを検出できなかった。



(図2) 胚盤胞を用いた無角遺伝子の遺伝子診断

### ゲノム多型情報の収集

黒毛と無角の凍結精子から抽出したゲノムDNAを用いて、全ゲノムシーケンスを行った。得られた配列を牛の参照配列 (ensemble ARS-UCD1.2) にマッピングし、多型情報を取得した。その結果、参照配列と無角 (生歌) 間の多型は、1504か所、参照配列と黒毛 (桜影富士) 間の多型は5317か所であった。

以上、本年度は当初の目標を達成でき、さらに、次年度の研究計画の一部を実行できた。よって、順調に研究を推進しているといえる。

## 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

- F1産子の作出については、申請時の予定通り、2023年度にF1産子を得る。確実にF1産子を得るために、富士農場だけではなく、富士農場近隣の牧場のホルスタインを利用する。
- 胚の遺伝子診断は、培養液を用いて遺伝子診断ができるよう、nested PCR法を行う。そのためのプライマーを選定する。
- 黒毛と無角の全ゲノム配列を比較することでゲノム多型情報を収集する。牛のゲノムサイズは2.7Gbと見積もられている。10Mbごとにおよそ300個の遺伝マーカーを開発する。
- F1産子妊娠雌の飼育管理、出産、F1の飼育管理は、富士農場で行う。飼育管理には人手が必要であるが、厚木キャンパス内に牛研究会のサークルが設立された。このサークルの学生の協力を得ながら牛の飼育管理を行う。

## 10. 公表した成果一覧

なし

# 2021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 山本 祐司

### 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)
玄米摂取が非アルコール性脂肪肝に及ぼす影響の分子機序の解析	SDGs3 (すべての人に健康と福祉を)	3,300,000

### 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	山本 祐司	応用生物科学部 農芸化学科・教授	玄米中の機能性活性法の確立・統括
研究分担者	藤巻 貴宏	応用生物科学部 農芸化学科・助教	玄米中の機能性の同定
	亀井 康富	京都府立大学 生命環境科学研究科・教授	玄米中の機能成分の解析
	重村 泰毅	東京家政大学 家政学部栄養科・准教授	玄米中の機能性ペプチドの解析
	本郷 篤一	応用生物科学研究科 農芸化学専攻・博士前期課程2年	玄米中の機能性活性法の確立

### 3. 研究期間

2021年6月9日～2022年3月31日 (3年計画の1年目)

### 4. 研究の背景 (当初)

玄米は、 $\gamma$ オリザノールなど脂質代謝改善作用を有する成分を含んでいることから、脂質代謝の抑制によって引き起こされる肥満症や糖尿病の予防・治療に有効な食品であると期待されている。先行研究において肥満や非アルコール性脂肪肝(AFLD)を呈するラットである Zucker fatty ラットに玄米を摂取させることで、肝臓での脂肪滴減少や、総脂質量・トリグリセロール量、総コレステロール量の減少が認められた。このことから、玄米に NAFLD の発症予防効果があることが示された。これまで、NAFLD の発症原因として肥満や腸内細菌叢の変化やインスリン抵抗性などが示されているが、その詳細なメカニズムについては不明である。申請者らはそのメカニズムの検証を試みたところ、脂質代謝変動との関連の報告が多数あるビタミンAの代謝がNAFLDで減弱しており、玄米の摂取で回復していることを明らかにした。特にレチノイン酸生合成経路が玄米の摂食により回復している可能性が示された。ビタミンA自体の摂取量が増加していることも想定されたが、玄米にはビタミンAを含まないため、玄米中

の未知の成分がビタミン A 代謝を亢進したと予想され NAFLD 発症予防に寄与した可能性が考えられる。さらに、玄米と糠で NAFLD の予防効果を同様の実験系で改めて検証したところ、糠摂取で玄米と同等の効果があることが明らかになったことから、玄米中に含まれる有効成分は糠に存在すると判断した。

## 5. 研究目的

そこで本研究では、ビタミン A 代謝の亢進を介して NAFLD 発症を予防する玄米成分の探索とした。米ぬかには脂溶性成分とタンパク質を含む水溶性成分および食物繊維が含まれていることから、本研究ではまず、脂溶性成分とタンパク質に着目して研究を展開した。研究チームではそれぞれ「NAFLD モデル細胞系の確立」、「米ぬかの脂溶性成分のビタミン A 代謝に及ぼす影響解析」「米ぬか抽出成分が転写因子 FOXO1 の活性に及ぼす影響の解析」そして「米ぬか成分中のタンパク質の生体内での挙動の解析」について調べた。

「NAFLD モデル細胞系の確立」：ビタミン A 代謝特に活性本体であるレチノイン酸生合成は厳密に制御されており、正常時におけるレチノイン酸の生合成を評価するのは困難であると考えられる。そこで、潜在的な低レチノイン酸状態を再現した NAFLD モデル細胞の確立を試みた。NAFLD のモデル細胞としてはこれまで、フルクトースを培養液に添加する系やパルミチン酸を添加して脂肪滴形成を観察する方法が報告されている。先行研究の Zucker ラットの NAFLD を反映した低レチノイン酸状態かについて検討するため、これらの細胞系を作成することとした。

「米ぬかの脂溶性成分のビタミン A 代謝に及ぼす影響解析」：Zucker モデルラットを用いた実験結果から米ぬか成分中にレチノイン酸生合成経路を変動させる因子が含まれる可能性が示された。そこで、培養細胞を用いたアッセイ系の確立を目的にレチノイン酸生合成酵素の RALDH およびレチノイン酸によって発現が誘導される RAR $\beta$  の遺伝子発現量を指標とする系の確立を試みた。

「米ぬか抽出成分が転写因子 FOXO1 の活性に及ぼす影響の解析」：

FOXO1 はフォークヘッド型の転写調節因子であり、肝臓では糖新生や脂質利用の遺伝子発現を促進することが知られる。米ぬかの中に、FOXO1 の転写活性を調節し、脂質利用活性化など生体の代謝調節に役立つ成分がある可能性を検討した。そのために、米ぬかの抽出物を *in vitro* での FOXO1 転写アッセイ系に供して解析を実施した。

「米ぬか成分中のタンパク質の生体内での挙動の解析」：

NAFLD 発症モデルでもある Zucker ラット、特に玄米摂取させることで、肝臓への脂肪蓄積の抑制効果が確認されている。この効果が玄米で顕著に見られたことから、予想される有効成分の一つとしてタンパク質、ペプチドが挙げられる。有効成分の手がかりを掴むため、白米、玄米、糠を添加した飼料摂取後のラット血中で変化する遊離アミノ酸と総アミノ酸量を調べ、摂取飼料間で変化する血中のアミノ酸組成を調べた。

## 6. 研究（実験）方法

### 1) NAFLD モデル細胞の確立

そこで、終濃度 50 および 100 $\mu$ M になるようにフルクトースをヒト肝癌由来細胞（Huh-7 細胞）に添加し、NAFLD モデル細胞の作製を試みた。また、同様の細胞にオレイン酸とパルミチン酸を 2:1 で混合した細胞も作成した。その後、細胞内脂肪滴の観察を Oil red O 染色を用いて行った。さらに、細胞内 TG 量蓄積の比較を行った。

### 2) 米ぬかの脂溶性成分のビタミン A 代謝に及ぼす影響解析

米ぬか 3 g をヘキサンにて脂溶性成分を抽出し、濃縮乾固した。抽出後 TLC にてスポットを確認したところ極性の高いものから低いものまで 7 つ程のスポットを確認することができた。ここでは通常状態で培養した Huh7 細胞を用いて、レチノイン酸合成酵素の RALDH およびレチノイン酸によって発現が誘導される RAR $\beta$  の遺伝子発現量が抽出した脂溶性画分に変動するか解析した。抽出したヘキサン抽出物 0.25mg/mL、0.5mg/ml、0.75mg/ml、1mg/mL となるように調整し、Huh-7 細胞に 6 時間添加し、RALDH および RAR $\beta$  の遺伝子発現量を定量的 PCR 法を用いて解析した。なお、試験区にはレチノイン酸添加区 (5 $\mu$ M) および、Control 区 (ethanol) を設けた。

### 3) 米ぬか抽出成分が転写因子 FOXO1 の活性に及ぼす影響の解析

細胞は HEK293T 細胞を使用した。細胞が 90 % 以上コンフルエントになったところでトランスフェクションに使用した。プラスミドは pM FOXO1 (GAL4-FOXO1 融合タンパク質発現プラスミド)、4 $\times$ UAS TK Luc (レポーターのホタルルシフェラーゼの上流に GAL4 認識配列である UAS を組み込んだプラスミド)、を使用した。

プラスミドのトランスフェクション 5 時間後、HEK293T 細胞をトリプシン/EDTA ではがし、細胞を  $1.0 \times 10^6$  cells/well になるように DMEM (10% FBS、1% PS) で懸濁し、100  $\mu$ L/well で 96 well plate に再播種した。米ぬか抽出物 (画分 No1~No10) 入りの培地を 75  $\mu$ L/well で細胞に添加した ( $\rightarrow$ 再播種から 24 時間後、米ぬか抽出物 (画分 No1~No10) を 1  $\mu$ L/well 添加した) (n=4)。その後 37 $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 中 (CO<sub>2</sub> インキュベーター) で 20 時間培養した。Luc 活性値はレポーターであるホタルルシフェラーゼ (FF-Luc) の活性値を内部標準であるウミシイタケルシフェラーゼ (RL-Luc) の活性値で割った値を示す。

Luc 活性値 = FF-Luc/RL-Luc

### 4) 米ぬか成分中のタンパク質の生体内での挙動の解析

標準飼料である AIN93、そして AIN93 に白米、玄米、糠、を添加させた飼料をそれぞれ 100 日間 Zucker ラット (n=10) に摂取させた。各飼料摂取後の Zucker ラットから調製した血漿に、エタノールを添加して血中タンパク質を沈殿除去した。イソシアン酸フェニル (PITC) を用いて、エタノール可溶性血漿試料中のアミノ酸を誘導体化し、HPLC によって 20 種類の遊離アミノ酸量を定量した。また同血漿試料を、6M HCl を用いて真空下で 120 $^{\circ}$ C、20 時間加熱による加水分解後、PITC 誘導体化を経て HPLC で 18 種類の総アミノ酸量を定量した。

その結果、肝臓脂肪蓄積 (AIN93) 群のラットの血中遊離アミノ酸濃度は、他群に比べて高い値を示した。なかでも Pro と Val は、白米、玄米、糠摂取群よりも AIN93 群で有意に高い値を示しており、特に Val においては AIN93、白米、玄米、糠摂取群の順に 0.2115、0.1546、0.1227、0.0310 $\mu$ mol/mL へと減少していた。総アミノ酸濃度は、多くのアミノ酸で他群に比べると白米群で低い傾向が見られた。糠摂取群は、他群に比べると血中総 Glu、His、Arg 濃度が有意に高い値を示した。

## 7. 研究成果

NAFLD モデル細胞の作成では、今回行った予備的試験で、脂肪滴の形成の増加と細胞内 TG 量の増加が確認された。また、ビタミン A 代謝関連因子の変動を指標とした米ぬか抽出成分の解析の結果、米ぬかヘキサン抽出物を終濃度 1 mg/ml で添加した試験区において RALDH、RAR $\beta$  の遺伝子発現量が有意に増加した。一方で RALDH は、レチノイン酸を 5 $\mu$ M で添加区では上昇せず、RAR $\beta$  の遺伝子では発現量が有意に増加した。

脂質代謝の要の転写因子である FOXO1 の米ぬか成分の影響の解析では、米ぬかの画分 No1 から No7 が FOXO1 の転写活性を有意に増加させた。一方、画分 No10 が FOXO1 の転写活性を有意に減少させた。



すなわち、米ぬか中に FOXO1 の活性を調節する成分が存在することが示唆された。

玄米摂取による生体内のタンパク質の挙動の変化の解析結果では、肝臓脂肪蓄積 (AIN93) 群のラットの血中遊離アミノ酸濃度は、玄米や白米、ぬか摂取の他群に比べて高い値を示した。なかでも Pro と Val は、白米、玄米、ぬか摂取群よりも AIN93 群で有意に高い値を示しており、特に Val においては AIN93、白米、玄米、ぬか摂取群の順に 0.2115、0.1546、0.1227、0.0310 $\mu\text{mol/mL}$  へと減少していた。総アミノ酸濃度は、多くのアミノ酸で他群に比べると白米群で低い傾向が見られた。糠摂取群は、他群に比べると血中総 Glu、His、Arg 濃度が有意に高い値を示した。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

特になし

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

**脂溶性成分の抽出**：玄米から抽出する脂溶性成分の抽出方法の検討が必要と考える。また、分画した脂溶性成分を NAFLD モデル細胞が高しくできた際には添加し、ビタミン A 代謝関連酵素の遺伝子発現を変動させる画分の同定を行う。

一方、**脂質代謝関連因子を変動させる成分の同定**には、米ぬか抽出成分の濃度を測定し、ある程度揃えたサンプルを用意する。そして、再度ルシフェラーゼアッセイにより転写活性の変化の再現性を調べる。さらには培養細胞に添加して FOXO1 の標的遺伝子の発現変動を検討する。今後の検討としては、米ぬか抽出成分の濃度を測定し、ある程度揃えたサンプルを用意する。そして、再度ルシフェラーゼアッセイにより転写活性の変化の再現性を調べる。さらには培養細胞に添加して FOXO1 の標的遺伝子の発現変動を検討する。また、玄米中に含まれる脂溶性画分に脂質代謝を改善する因子を検索する目的で、脂質代謝の中心的役割を有する転写共役因子である PGC1 $\alpha$  を活性化する成分の探索を試み、最終的には物質の同定を試みる

また、**水溶性成分の探索**ではペプチド態アミノ酸には遊離型とは異なる傾向を示しており、特に糠摂取群の血漿で Glu を含むペプチドが多く血中に含まれていることが明らかとなった。今後は、玄米由来脂肪肝改善有効成分の候補として、同血漿試料から Glu ペプチドのアミノ酸配列特定を試みる。

最後に、モデル細胞の構築には遊離脂肪酸のみならず、Fructose 添加による脂肪滴の増加をあらためて試みる必要があると考える。

## 10. 公表した成果一覧

学会発表

- 1) 玄米摂取による非アルコール性脂肪肝の改善はレチノイン酸生合成の回復による効果である  
東京農業大学 応用生物科学部農芸化学科 ○山本祐司 松本 雄宇 鈴木司 井上順 日本食生活学会 (盛岡大会) 令和3年11月5日
- 2) ビタミン A 代謝変動を介して NAFL 発症を予防する玄米成分の探索  
東京農業大学 応用生物科学部農芸化学科 ○本郷 篤一 松本 雄宇 鈴木司 井上順 山本祐司 日本農芸化学大会 2021 年度大会 令和3年3月18日~21日

# 2021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 小川 英彦

### 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)
動物個体生産向上を目指した胚の着床能獲得を支持する子宮液内因子の解明	SDGs3(すべての人に健康と福祉を)、7 (エネルギーをみんなに。そしてクリーンに)	3,366,000

### 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	小川 英彦	生命科学部 バイオサイエンス学科・教授	解析試料採取と胚や生体を用いた評価
研究分担者	川崎 信治	生命科学部 分子微生物学科・教授	プロテオーム・メタボローム解析
	樋浦 仁	生命科学部 バイオサイエンス学科・准教授	miRNA 解析
	佐藤 拓海	生命科学部 分子微生物学科・准教授	プロテオーム・メタボローム解析
	志波 優	生命科学部 分子微生物学科・准教授	全体のデータ解析

### 3. 研究期間

2021年6月9日～2022年3月31日 (3年計画の1年目)

### 4. 研究の背景 (当初)

哺乳類において、妊娠が成立するためには、①生殖細胞 (卵子・精子) の形成、②受精の成立、③受精卵の卵割開始、④胚盤胞期胚の子宮内膜への着床、⑤着床後の胎子・胎盤形成、の7つのステップが正常に遂行されることが必要である。これらのうちステップ④は、遺伝的背景が異なる母体と胚とが子宮腔内において相互のコミュニケーションを基盤にしてお互いの存在を認識する「妊娠認識」が不可欠である。ヒトの妊娠では、およそ70%の受精卵が産子に至らず妊娠喪失に陥るとされている。さらに、妊娠喪失のうち約75%がステップ④すなわち着床期に集中する。従って、着床効率を改善・向上させることは妊娠成立の高率化、産子率向上に必要である。

「妊娠認識」の過程において、子宮内膜は胚盤胞期胚を受容する能力を獲得する。一方、胚盤胞期胚は着床能を獲得し、子宮内膜に接触し、接着・浸潤の過程を進む（右図参照）。これらの過程で胚盤胞期胚と子宮内膜との間でシグナルの伝達が行われていると考えられているが不明な点が多い。我々はいくつかの点で、着床能獲得の初期段階で胚盤胞期胚の壁栄養外胚葉特異的に転写因子 CDX2 の発現が消失すること、また、体外培養系によりこの壁栄養外胚葉特異的 CDX2 の発現消失が胚以外の外的因子（ウシ胎児血清中に含まれる因子）で生じるという結果を得ている（論文投稿準備中）。従って、胚盤胞期胚の着床能獲得のトリガーとなる因子は子宮液中にあり、ウシ胎児血清中にも含まれる因子であると言える。

## 5. 研究目的

マウス胚盤胞期胚では、壁栄養外胚葉が分化することで着床能を獲得する。着床能獲得の初期段階では転写因子 CDX2 の発現低下が認められる。我々は、マウス胚盤胞の壁栄養外胚葉における CDX2 の発現動態を調べた結果、E3.5（受精後 3.5 日）の胚盤胞では壁栄養外胚葉で CDX2 が発現しているのに対し、E4.5 では完全に消失していた。これらの CDX2 の発現変化から、マウス胚盤胞期胚の着床能獲得のトリガーとなる因子は E3.5 から E4.0 の子宮液内に存在すると考えられる。そこで、E3.5、E4.0、E4.5 の妊娠子宮から回収した子宮内分泌液を用いて、胚盤胞期胚の着床能獲得のトリガーとなる因子を同定することを最終目標とする。

## 6. 研究（実験）方法

### （1）着床期の胚盤胞期胚における CDX2 の局在解析

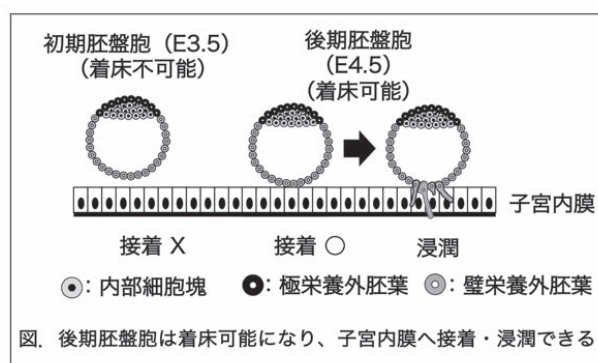
着床進行に伴う経時的な CDX2 の発現変化の詳細を把握するために、着床前 (E3.5) および着床期 (E4.0 および E4.5) 胚盤胞における CDX2 の局在を蛍光免疫染色法により観察した。共焦点レーザー顕微鏡観察により得られた蛍光輝度から、CDX2 の発現解析を行い各時期間で比較した。

### （2）FBS の処理方法の検討

子宮内分泌液から着床を誘導する因子を同定する前に、我々が CDX2 の発現低下を引き起こすことを見出した FBS 中に含まれる着床を誘導する因子の特徴を分子量または物質（タンパク質、代謝物、エクソソーム）から絞り込むために、FBS を以下の通り処理した。FBS 中に含まれる物質を分子量で分画するために、5 種類（公称分画分子量：100k、50k、30k、10k および 3kDa）の遠心式限外ろ過フィルターユニット（Merck）を用いた。また、100°C、10 分間加熱してタンパク質を変性させた FBS（HT-FBS）を準備した。さらに、市販のエクソソームを除去した FBS（Exosome-Depleted FBS; ED-FBS, System Biosciences）を購入した。これらの FBS を次の実験（3）に使用した。

### （3）胚の着床能の評価

ICR 系マウスから体外受精・体外培養、または自然交配後子宮灌流により得られた E3.5 の胚盤胞期胚を供試した。胚盤胞をプロナーゼで透明帯を除去し、上述通り処理した FBS を添加した KSOM 培地で培養した。FBS を添加していない KSOM で培養したものをコントロールとした。胚盤胞を 96 時間培養し、胚がディッシュ上に接着・伸展し成長していく現象（outgrowth）により、胚の着床能評価を行った。



#### (4) 子宮液の回収方法の検討

マウス子宮液を回収する方法を既知の2つの報告 (Harris ら 2005, Kawano ら 2014) を基に比較検討した。

Harris らの方法：子宮の両端をナイロン糸で縛り提出後、ミネラルオイル下へ誘導した。片方の糸を解き、ピンセットの先で穏やかに子宮に圧力をかけて子宮液を放出させ、毛細管現象により細いガラス管に回収した。

Kawano らの方法：ピペットマンにマウス用経口投与針を装着し、20 $\mu$ l の PBS と共に子宮内へ挿入し、灌流により子宮液を回収した。

## 7. 研究成果

### (1) 着床期の胚盤胞期胚における CDX2 の局在解析

E3.5 の胚盤胞では、極栄養外胚葉 (pTE)、壁栄養外胚葉 (mTE) 間で CDX2 の発現に差は認められなかった。E4.0 の胚盤胞では、pTE と比較して mTE において有意に CDX2 の発現が低下したが、その発現の低下は胚ごとで一様ではなく、細胞ごとでばらつきが見られた。さらに、E4.5 の胚盤胞では、CDX2 の発現は pTE では維持していたが mTE で消失した。以上の結果から mTE における CDX2 の発現低下は、E3.5 以降に開始し、E4.5 に完了していることが明らかとなった (公表した成果：学術論文1)。

### (2) FBS の処理方法が胚の着床能に及ぼす影響

100k、50k、30k、10k および 3kDa の遠心式限外ろ過フィルターユニットを用いて濃縮し分画した FBS を用いて outgrowth 実験を行った。その結果、100kDa の遠心式限外ろ過フィルターユニットを用いて濃縮された FBS でのみ outgrowth が認められた。そこで、濃縮された FBS を電気泳動し、CBB 染色をした結果、濃縮していない FBS と同程度に 100kDa 以下の物質が認められた。以上の結果から、遠心式限外ろ過フィルターユニットでは分画できないことが明らかとなり、FBS を分子量で分画して着床能を評価することは不可能であると判断した。

次に、100 $^{\circ}$ C、10 分間加熱してタンパク質を変性させた FBS (HT-FBS) とエクソソームを除去した FBS (ED-FBS) を用いて outgrowth 実験を行った。FBS 添加 KSOM 培地 (FBS 添加区) で培養後、24、48、72 および 96 時間に outgrowth の有無を観察した。その結果、培養後 24、48、72 および 96 時間に outgrowth した胚の割合は、FBS 添加区では、それぞれ 5.3%、21.1%、89.5%、94.7%であり、培養後 72 時間までにほぼ全ての胚が outgrowth することが明らかとなった。ED-FBS 添加 KSOM 培地 (ED-FBS 添加区) で培養した胚では、それぞれ 0%、15.8%、73.7%、94.7%であり、FBS 添加区と同様の結果となった。また、HT-FBS 添加 KSOM 培地 (HT-FBS 添加区) で培養した胚では、培養後 48 時間までは outgrowth 胚は認められず、72 および 96 時間では、それぞれ 26.1%、47.8%と FBS 添加区、ED-FBS 添加区と比較して低い割合であった。一方、KSOM 培地で培養した胚では、outgrowth は認められなかった。

最後に outgrowth の程度を評価するために、培養後 96 時間に outgrowth の面積を測定した。その結果、outgrowth の面積は FBS 添加区と比較して、ED-FBS 添加区では有意な差は認められなかったが、HT-FBS 添加区では有意に減少した。したがって HT-FBS は outgrowth 自体 (接着・伸展) は阻害しないものの、その後の成長を抑制することが明らかとなった。以上の結果から、胚の接着・伸展にはタンパク質以外の物質が関与していることが考えられた。さらに、HT-FBS 添加区で培養した胚盤胞では、FBS 添加区と同様 mTE 特異的な CDX2 の発現低下が認められたことから、胚盤胞期胚の着床能獲得のトリガーとなる因子はタンパク質以外の物質であると予想された。

### (3) 子宮液の回収方法の検討

既知の2つの報告を基に比較検討した結果、Kawanoらの方法の方が迅速にかつ確実に子宮液を回収できた。

## 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

本研究で実施した outgrowth 実験の結果から、outgrowth 自体（接着・伸展）はタンパク質以外の物質、outgrowth の成長にはタンパク質が必要であることが示された。したがって、胚盤胞期胚の着床能獲得のトリガーとなる因子はタンパク質以外の物質であり、その後の着床を維持・進行させる因子はタンパク質であると考えられ、着床の成立には物質の要求性が異なる少なくとも2つのステップが存在することが明らかとなった。したがって今後は、本研究の最終目標である着床獲得のトリガーとなる物質を同定するには、子宮灌流液を用いたメタボローム解析を行う必要があるが、個体生産向上を目指した着床能を上昇させる知見を得るにはプロテオーム解析も同時並行的に行う必要がある。

## 10. 公表した成果一覧

学術論文

- 1) Daisuke Suzuki, Keitaro Okura, Seina Nagakura, Hidehiko Ogawa. CDX2 downregulation in mouse mural trophectoderm during peri-implantation is heteronomous, dependent on the YAP-TEAD pathway and controlled by estrogen-induced factors. *Reproductive Medicine and Biology* 2022;21:e12446.  
doi:10.1002/rmb2.12446

# 2021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 佐藤 みずほ

### 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)
With/After COVID-19 の持続可能な Food Supply Chain に向けたシナリオ分析	COVID-19、サプライチェーン、野菜、食品ロス・廃棄、シナリオ分析	3,436,000

### 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	佐藤みずほ	国際食料情報学部 食料環境経済学科・准教授	研究統括・実態調査（小売・外食）、ゲーミング、ワークショップ設計
研究分担者	大浦 裕二	国際食料情報学部 食料環境経済学科・教授	実態調査（消費者・流通）
	野々村真希	国際食料情報学部 食料環境経済学科・助教	実態調査（消費者）・食品ロス
	菊島 良介	国際食料情報学部 食料環境経済学科・助教	実態調査（消費者・卸売・生産者）
	水山 元	青山学院大学理工学部 システム工学科・教授	シミュレーション・ゲーミング
	木下 裕介	東京大学大学院 工学系研究科・准教授	シナリオ分析
	中島 円	国際航業株式会社/慶應義塾大学・特任教授	ワークショップ設計

### 3. 研究期間

2021年6月9日～2022年3月31日（3年計画の1年目）

### 4. 研究の背景（当初）

2015年の国連サミットで採択された「持続可能な開発のための2030アジェンダ」に示された「持続可能な開発目標（SDGs）」において、小売・消費レベルでの食品廃棄を世界全体で半減するという目標が掲げられた。国際連合食糧農業機関（FAO）のデータによると食料の1/3（約13億トン）は毎年廃棄されており、金額にすると約7,500億ドルにもなっている。わが国も例外ではなく、2017年のデー

タによると、食品廃棄は年間約 2,600 万トンも発生しており、中でも食べられるにも関わらず廃棄される食品ロスの量は約 600 万トンとされている。さらに、これらの量は 2019 年に発生した新型コロナウイルス（COVID-19）の影響を受けて増加している可能性がある。例えば、COVID-19 の感染拡大防止のため、学校の休校、外出自粛、飲食店の営業時間短縮などの要請が出された影響により、食品サプライチェーンでは、利用されない食品が発生している。これらの食品は、他の用途に流用されなければ廃棄されてしまう。また、消費者でも、緊急事態宣言に伴い、大量に食品を購入したものの、食べきれずにそのまま廃棄されてしまったケースも見られる。

このような COVID-19 による食品サプライチェーンへの影響は一時的な変化で終わって将来的には元に戻るものもあれば、COVID-19 以前に戻らないものもあると考えられる。そのため、実態を把握した上で、今後の持続可能な食品サプライチェーンを考えていく必要がある。

## 5. 研究目的

本研究では、野菜のサプライチェーンに注目し、COVID-19 による食品サプライチェーンへの影響の実態調査を実施する。そして、その結果を踏まえ、持続可能な食品サプライチェーン構築のためのシナリオ分析をシステム・デザイン思考、シミュレーション・ゲーミングなどの技法を活用しながら行い、持続可能性を確保するための方策を提案することを目的とする。

## 6. 研究（実験）方法

本研究は Step1～Step4 で構成されており、学内プロジェクトでは Step1 および Step2 までを対象とする。1 年目は主に Step1 を実施した。

### Step 1 : サプライチェーンの各段階における COVID-19 の影響の実態調査

生産者、食品製造業（生産者を含む）、卸売業、小売業、外食産業、消費者の各段階で、COVID-19 が食品サプライチェーンに与えた影響（食品廃棄を含む）の実態についてインタビュー調査を実施する。

### Step 2 : Step1 の実態が今後どのように変化するかについてのシナリオ分析

Step1 での実態調査によって確認された Before/With COVID-19 の食品サプライチェーンの変化を説明する要因を整理し、それらの影響を①COVID-19 による一次的な変化、②変化した状態が維持されるもの、③変化自体が継続するものの 3 つに分類する。その際に、因果ループ図などを用いて After COVID-19 のシナリオを可視化する。さらに、それぞれのシナリオに対して、システム・デザイン思考、シミュレーション・ゲーミングなどの手法を使用して、持続可能なフードサプライチェーンを構築するためのシナリオ分析を実施する。

### Step3 : 各段階にあった食品廃棄低減化方法の提案

Step2 でのシナリオ分析から、After COVID-19 にも有効な食品廃棄低減化方法を開発する。具体的には、食品事業者とワークショップを行い、アイデアを抽出し低減化方法をまとめる。また、抽出されたアイデアからより効果のある低減化方法についてシミュレーション・ゲーミングの手法を使って分析する。

### Step4 : Step3 で出たアイデアの実装とその効果の評価

Step3 で出た食品廃棄低減化方法を実際の食品サプライチェーンで実装し、どの程度の食品廃棄削減効果が得られるかを評価する。

## 7. 研究成果

### 7.1.1 生産者（1）

- 調査期間：2022年1月14日（金）、2022年1月14日（金）14:00～15:00
- 調査対象：JA（福岡 にじの耳納の里（農産物直売所））

日本農業新聞の調査によると、2016年度、売上が10億円を超えた直売所は39店舗あり、にじの耳納の里は、第26位、約11億円の売上があり、日本の直売所の中でも売上額が高い。生産者は、商品を自ら毎日、直売所に納品に来る。コロナ禍での変化については、営業ができない外食店に商品を卸していた生産者は、外食店に卸せない分の商品を直売所に納品している様子が見受けられたが、直売所にとっては商品ラインナップ・量ともに豊富になるため良い影響であった。生産者によっては、コロナ禍に通常よりも約1.5倍多くの商品の納品している生産者もいた。にじの耳納の里では、直売所は生産者の所得向上が存在意義だと考えているため、生産者の商品を断ることはしないようにしている。また、商品の価格は生産者自身が決めており、売れ残った商品は生産者が引き取るため、直売所で食品ロス・廃棄が増えるということはなかったが、生産者での捨てられている可能性も伺えた。

### 7.1.2 生産者（2）

- 調査日：2021年9月3日（木）、2022年7月2日（土）11:00～12:00
- 調査対象：鹿追町農業協同組合（JA 鹿追町）

JA 鹿追町の主な産業として畑作・畜産に分けられる。生産高の7割が畜産、残りの3割を畑作が占めている。また、近年は、畑作の中でも加工用キャベツの生産が中心となっている。キャベツは収穫後、JA 鹿追町に納品され1～2日以内に出荷される。出荷先は主に首都圏、関西、九州地域である。納品の頻度は各取引先によるが、毎日、定量を納品することが取引を続けるためには重要である。また、JA 鹿追町の加工用キャベツのうち約6割が業務用、約4割が小売用である。業務用はファストフード、総菜などに利用されている。また、小売用のうち最も取引が多いのは㈱サラダクラブである。コロナ禍での変化は、居酒屋などの業務用は販売量が減少したが、ファストフードレストランなどでは増加し、結果的に販売量、食品ロス・廃棄への大きな影響は見られなかった。

## 7.2 卸売業者

- 調査日：2022年6月17日（金）14:00～15:00
- 調査対象：東京シティ青果株式会社（東京都中央卸売市場、豊洲市場）

野菜・果物を主に取り扱う卸売業者であり、2020年度の売上高は858億円であった。毎日、全国から商品が納品され、そのほとんどがその日にうちに取引される。やや日持ちする、ばれいしょ、玉ねぎなどは在庫を持つ場合もある。また、売上の約6割が業務用、残り約4割が小売用である。取引は主に年間契約である。コロナ禍では、2020年2月ごろから業務用の商品（大根のツマ）などは作付けを約5割減らすように生産者に指導を実施した。それ以外の特に外食で使用する野菜（菊の花、大葉など）については約2～3割削減するように生産者に指導をしていた。また、基本的に卸売業者では在庫を持たない。卸売業者でのロス・廃棄の変動はなかった。しかし、仲卸業者、生産者でのロス・廃棄が発生している可能性は示唆される。2022年現在、大勢での飲食ができないため業務用の売上は約10%減である。

また東京都中央卸売市場、大田市場で取引をしている東京青果株式会社にもインタビューを実施した（2022年6月24日 14:00～15:00）。こちらは、主に小売業者に販売する生鮮品を取り扱っている。こちらでも基本、在庫を持たない。COVI-19による販売量、食品ロス・廃棄への大きな影響は見られな



かったが、生産者、流通段階（仲卸業者）でのロス・廃棄の発生が考えられる。

### 7.3 製造メーカー

- 調査期間：2021年9月21日～2021年10月13日（調査を依頼し書面により回答を得た）
- 調査対象者：（株）グリーンメッセージ：神奈川県

キューピー株式会社 51%、全国農業協同組合連合会 49%出資した企業であり、主に業務用のカット野菜の製造を実施している。コロナ禍では、野菜単品別の特徴はないが、全体として2019年は104%（前年比）外食を中心に業務用が増え、2020年は91%（前年比）外食、交通系の需要が低下していた。仕入先の価格変動は、コロナの影響は見られなかった。全体として2019年は前年比微減、2020年は前年比微増であった。家庭用と業務用のカット野菜の製造量は変化がないが、家庭用注文が増加している。従って、販売形態の変化がみられる。また、野菜の利用効率率は60%前後で変化がない。廃棄量への変化も見られなかった。また、JA 鹿追町の販売先（小売用）である（株）サラダクラブの状況についてキューピーに確認した（2022年8月8日 15:00～16:30）。こちらの企業もキューピー株式会社 51% 三菱商事株式会社 49% 出資の企業である。売上金額は2020年、2021年ともに約270億円を推移しており、2019年に対して、約10%増加している。コロナ禍でカットキャベツの種類も増加しているが、食品ロス・廃棄量への大きな影響はみられなかった。

### 7.4 小売業

- 調査期間：2022年6月24日～2022年7月28日（調査を依頼し書面により回答を得た）
- 調査対象者：関東を中心に約180店舗展開している食品専門スーパー

生鮮品（野菜）の仕入方法は、主に生産者が収穫した青果物は、集出荷団体を通して地方の卸売市場、または産地卸に運ばれる。そして、市場では卸売業者、仲卸業者と流れ、物流センターへ運ばれ、各店舗へ配送されている。これ以外にも複数、仕入方法がある。COVID-19前（2019年）に比べてコロナ禍（2020年）は仕入れ量を約10%増やしているが、食品ロス・廃棄への大きな影響はなかった。また、カット野菜は、2020年の巣ごもり需要で需要が増え、発注量は対前年比16%増、また2021年は引き続き巣ごもり需要で、前年比15%以上増加した。

### 7.5 外食産業

- 調査期間：2021年11月27日（居酒屋でアルバイトをしている学生経由で調査）
- 調査対象者：関東を中心に約300店舗展開している居酒屋チェーン店

コロナ禍では緊急事態宣言が発令されていた期間は休業しており、時短営業等の要請にも従って運営していた。コロナ禍において営業を行っていた際に提供していたメニューはコロナ禍以前に提供していた102種から注文の少ない5種の提供を止め、注文数が少なく発注を減らしていたものや仕込みに時間のかかる23種は提供をしない日もあった。居酒屋やバーなどの酒類を提供する店は酒類を提供できる時間帯にも制限がかかっており、売り上げを落とす要因の一つになっていた。緊急事態宣言が解除されてからは営業を再開しており、客足も戻りつつあるがコロナ禍での営業自粛によって社員、アルバイト共にスタッフの数が減少しており、売り上げはコロナ禍以前よりも落ち込んでいる。これは、緊急事態宣言が解除され増えた客数に対してスタッフの数が足りていないことも一つの要因となっている。このスタッフの減少による影響はコロナ禍が終わってから、より深刻な問題になってくると考えられる。

## 7.6 消費者

消費者のコロナ禍でのライフスタイル、健康意識の変化、野菜の購買・消費・廃棄行動について地方と都市に在住の主婦（小学生以下の子どもがいる方）にグループインタビューを実施した。地方在住の方（3名）は、2022年3月3日13:00~15:00、都市在住の方（3名）は、2022年3月3日16:00~18:00、それぞれ2時間グループインタビューを実施した。その結果、地方と都市ではCOVID-19への意識に差がみられた。また、グループインタビューの発話記録から、Physicalなワードを抽出し、そこから考えられるMental的な内容について、因果ループ図を書きながら検討した。その結果、①家庭の食事を豊かにする、②健康を意識する、③節約意識が高まるなどといった内容が伺えた。今後は、この因果ループを基に消費者のCOVID-19の影響を分析する。

## 7.7 インタビュー結果のまとめ

上記のインタビュー結果の内容を図1にまとめた。にじの耳納の里（農産物直売所）のインタビュー結果から、一時的に直売所の販売量が約1.5倍増加していたことから、消費者への販売量も一時的に増加していたと予想される。直売所での売残り商品は、生産者が持ち帰るため直売所でのロス・廃棄は増加していなかった。しかし、生産者でのロス・廃棄が増加している可能性が伺えた。

卸売業者2社ともコロナ禍でロス・廃棄量には大きな影響が見られなかった。しかし、卸売業者（東京シテイ青果）のインタビューからは、作付けの調整をした野菜はロス・廃棄を抑えられたが、調整できなかった野菜については生産者や流通段階（仲卸業者など）でのロス・廃棄に影響が出ているのではないかと示唆された。また、業務用の売上がコロナ前に比べて9割程度しか戻っていないとの報告もあり、大勢で飲食をする居酒屋業態への流通量は回復していないことが伺えた。

その一方で小売用の販売量は、約10%増加しており、さらにカット野菜の販売も増加している。また、消費者のグループインタビューからもコロナ禍により①家庭の食事を豊かにする、②健康を意識する、③節約意識が高まるなどといった内容が伺え、家庭での調理・喫食する機会が増え、家庭での食品ロス・廃棄量も減少しているのではないかと示唆された。

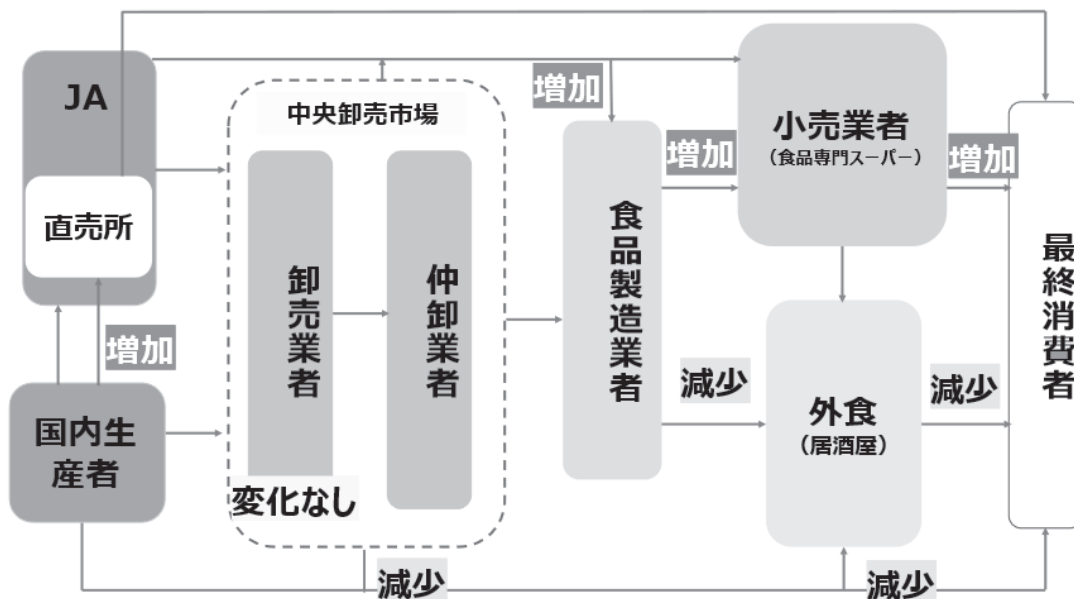


図1：COVID-19の野菜のサプライチェーンへの影響

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

富士通 AI 研究所との共同研究、「食品ロスの低減に向けて、消費者行動変容の方策を提案する AI」の中でコロナ禍の消費者行動について上記の内容を参考にしつつ検討を行った。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

今年度は、主にインタビュー調査による実態調査を実施してきたが、ロス・廃棄が増加したと考えられる生産者、販売量などの調整をしたと考えられる仲卸業者について可能な限り実施し、現状把握のための基礎資料収集を行う。また、消費者においては、デプスインタビューを基にアンケートを実施し、コロナ禍の食品ロス・廃棄への影響についてまとめる。グループインタビューの結果については、消費者を取り巻く因果関係について整理をし、現状把握とともに今後の施策や政策提言につなげる。

さらに Step 2 の内容を進める。具体的には、サプライチェーンの中での販売量が増加しているカット野菜を中心に、持続可能なフードサプライチェーン構築のための目標を「After-COVID-19 (2030 年)までに食品廃棄を半減する」と設定し、その目標達成のためのキーワードを①COVID-19 による一次的な変化、②変化した状態が維持されるもの、③変化自体が継続するものの3つに分類し、バックキャスト、フォアキャストのシナリオ分析を組み合わせ、持続可能なフードサプライチェーンを構築するためのシナリオ分析を実施する。

## 10. 公表した成果一覧

### 学術論文

- 1) N. Morita, H. Dan, K. Homma, H. Yanami, S. Suginochi, M. Sato, H. Mizuyama, and M. Ogawa: Equilibrium Search Technique Using Genetic Algorithm and Replicator Dynamics and its Application to Food Supply Chain Model, Intelligent Decision Technologies, Edited by R.J. Howlett, and L.C Jain, Smart Innovation, Systems and Technologies, Vol.309, Springer, pp.363–374 (2022)
- 2) H. Dan, N. Morita, K. Homma, H. Yanami, S. Suginochi, M. Sato, H. Mizuyama, and M. Ogawa: Effect Evaluation of Relaxing Shipping/Selling Deadline in the Food Supply Chain: An Evolutionary Game Theoretical Approach, The 29th International Annual EurOMA Conference, Berlin Germany (& Online), July (2022)

### その他

- 1) 木村由佳, 神武直彦, 佐藤みずほ: 家族構成の違いによる家庭の食品ロス発生原因のアンケート調査と分析, 第 32 回廃棄物資源循環学会研究発表会講演集, 第 32 巻 A4-4-O, 2021
- 2) 佐藤みずほ, 水山元, 小川雅俊, 松本和宏, 曾根田 弘光: 新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) による食形態の変化, 第 24 回感性工学会予稿集, 2A-1, 2022

# 2021年度 東京農業大学 海外協定校との共同研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 鈴木 貢次郎

## 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
アジア・モンスーン地域におけるグリーンインフラの実態と枠組みに関する研究	2,700,000

## 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	個別研究課題名
研究代表者	鈴木貢次郎	地域環境科学部 造園科学科・教授	全体統括, 植生構造の比較
研究分担者	國井 洋一	地域環境科学部 造園科学科・教授	GI の測定・比較
	荒井 歩	地域環境科学部 造園科学科・教授	GI 戦略・計画
	栗野 隆	地域環境科学部 造園科学科・教授	GI 計画 (歴史)
	福岡 孝則	地域環境科学部 造園科学科・准教授	全体統括補佐・GI 戦略・計画
	金澤 弓子	地域環境科学部 造園科学科・准教授	植生構造の比較
	田中 聡	地域環境科学部 造園科学科・助教	植生構造の比較
	張 平星	地域環境科学部 造園科学科・助教	GI の測定・比較
	雷 芸	北京林業大学園 林学部・副教授	GI 戦略・計画、GI の測定
	李 玉紅	上海交通大学 風景園林系・副教授	GI 戦略・計画、GI の測定
	Tae-Yeol Jung	慶北大学 農生命学部造園学科・教授	韓国の GI 戦略・計画, GI の測定
	Fernando Sanchez.	フィリピン大学ロスバニオス校・学長	GI の測定・比較
	Dirk Junker	オスナブリュック応用科学大学・教授	GI 戦略・計画、GI の測定

## 3. 研究期間

2021年4月1日～2022年3月31日 (3年計画の2年目)

## 4. 研究の背景 (当初)

気候変動時代に適応したグリーンインフラの実態と枠組みをアジア・モンスーン地域に立地する海外協定校を中心に協働で探求するのが本研究の目的である。グリーンインフラとは、都市・地域内の物的環境で、庭・公園・緑地帯・街路樹・河川・水路・田園などを含む多機能な緑地のネットワークであ

る。日本では、2015年の国土形成計画の中で「自然が有する多機能を活かして持続可能な国土づくり、地域づくりを進めるグリーンインフラ」と定義され、2019年に国土交通省よりグリーンインフラ推進宣言が展開された。1990年代以降欧州および北米では気候変動対応策や防減災などに資するグリーンインフラ、社会的共通資本としての都市緑地に関する研究や実践が進むが、さらに広くみたアジア・モンスーン地域における持続可能な都市づくりに資するグリーンインフラ実装のあり方が必要である。

本研究ではアジア5都市（横浜、北京、上海、マニラ、ソウル）を対象に(1)グリーンインフラ戦略・計画の把握、(2)グリーンインフラの測定（GISを用いた土地利用状況の把握）、(3)植生構造の類型化、(4)5都市の国際比較・考察を通して、アジア・モンスーン地域におけるグリーンインフラ実装に向けた枠組みを明らかにする。これらの共同研究は、SDGsにおける「13.気候変動に具体的な対策を」「11.住み続けられるまちづくりを」に直結する取り組みであり、本研究を通して大学間の研究者のみならず、国際ワークショップや交流を通じた学生への啓発も高められる。連携する大学と造園科学科は毎年教員・学生間の積極的な交流があり、協働体制が整っている。本研究で得られた知見は、アジア地域における気候変動に適応した持続可能な都市・地域づくりに強く貢献し、SDGsへの実践的な取り組みとする。

## 5. 研究目的

アジア・モンスーン地域における気候変動時代に対応したグリーンインフラ（Green Infrastructure、以下GI）の実態と枠組みを探求する。

GIとは、都市・地域内の物的環境で、庭・公園・緑地帯・街路樹・河川・水路・田園などを含む多機能な緑地のネットワークである。1990年代以降欧州および北米では気候変動適応策や防減災などに資するGI、社会的共通資本としての都市緑地に関する研究や実践が進むが、アジア・モンスーン地域における持続可能な都市づくりに資するGIの分析が必要とされている。本研究ではアジア5都市（横浜、北京、上海、マニラ、ソウル）を対象に(1)GI戦略・計画の把握、(2)GIの定量化、(3)GIの機能の考察を通して、アジア・モンスーン地域におけるGI実装に向けた枠組みを明らかにした。

## 6. 研究（実験）方法

研究2年度目である本年は、(1)GI戦略・計画の把握、(2)GIの定量化、(3)GIの機能の3つの柱に基づきGI研究を実施した。(1)GI戦略・計画の把握としては、諸外国のGI、国内のGI、関連研究及び用語の整理を実施した。(2)GIの定量化に関しては、土地利用や被覆と雨水流出抑制の関係性の解析、UAV近赤外撮影によるGI調査を実施した。(3)GIの機能に関しては、都市域の生物多様性、微地形と水循環調節、植物の特性と水害に関する調査・実験を実施した。

## 7. 研究成果

### (1) GI戦略・計画の把握、グリーンインフラとは何か？

#### (1.1) 国内のGIの把握

関係省庁(国土交通省・環境省)によるGIの定義：「自然環境が有する多様な機能を活用し、持続可能な国土・地域づくり」という広義にわたった定義設定を行った。これは基礎自治体や市民における地域特性を加味した施策や事業の展開を意図したものと推測される。横浜市におけるGI政策関連の具体的な施策は「水循環再生」の観点に特化していた。下水道事業、農地整備事業、都市整備事業に具体的な施策展開が確認されたが、雨水浸透・貯留を施設整備により改善する傾向が確認された。施策展開のため

には、水循環再生における地域に適した流域スケールの設定などのデータ構築が必要と考える。

## (1.2) 国外の GI の把握

フィリピンにおいては、GI に関する法制度や計画は未整備であることが確認できた。国土が広く、気候風土が多岐に渡る中国では、異なる地域でそれぞれの着眼点を持つ。南方の深圳や広州では雨水の排出、北方の北京や天津では内水氾濫、長江流域の上流では貯水と水循環が重要視されていた。また、中国の GI の特徴は、①国策として広範囲の水問題を解決するための国スケールの事例があること、②「海綿都市」に目指す都市スケールの事例が多いこと、③街区スケールや敷地スケールには、不動産開発の事例が多いことが挙げられる。中国協定校の共同研究により、植生の退行とゴルフ場の開発により水環境が悪化した北京永定河流域の生態修復、大運河→恵山→太湖の水体を繋ぐ江蘇省無錫市恵山地域の庭園群などの事例を把握した。成果としては国内外の都市域における GI 実装に関して、著書 *Towards Holistic Urban Green Infrastructure Implementation* にその一部を取りまとめ公表した。

## (2) GI の定量化、GIS を用いた土地利用状況の把握

### (2.1) 横浜市大岡川流域における GI 測定

大岡川上流域の 2 つの小流域を対象に、現状の土地利用、土地被覆、土地利用形態の 3 つの観点で面積の測定を行い、現状の雨水流出量および GI 導入のポテンシャルを把握した。また、施設型 GI 分散導入シナリオ、公有地集中導入シナリオの 2 つのシナリオの手法における GI 導入後の雨水流出量の変化から雨水流出抑制効果を検証した。土地利用形態（土地被覆の細分化）の分類設定を行い、GI 要素の導入量を中心とした GI 分析を行うことで、本手法が小流域スケールにおける GI 形成に有効であることを確認した。

### (2.2) 称名寺庭園および瀬谷市民の森における GI 測定

UAV（ドローン）を用いた空撮によるグリーンインフラ調査を行った。対象地には称名寺庭園（横浜市金沢区）および瀬谷市民の森（横浜市瀬谷区）を選定した。称名寺庭園は阿字ヶ池を中心とした浄土庭園であり、周辺には金沢三山を主体とした豊富な緑地がある。瀬谷市民の森は森林所有者から横浜市への借地であり、市民向けに散策路が整備されている。いずれの対象地においても豊富な緑地があり、グリーンインフラとしての有用性が期待できる環境といえる。UAV に近赤外カメラ（Yubaflex : Bizworks 社製）を搭載し、近赤外面像を取得した。これにより、撮影された範囲の NDVI（正規化植生指標）を算出することで、植生の活性度の定量的な把握を可能とした。また、両対象地においてはいずれの指標もほぼ同程度の成果が得られた。すなわち、本調査においては沿岸と内陸における緑地の差異は少ないことが認められた。

## (3) GI の機能

GI の機能としては、主に都市域の生物多様性、水循環調節、植物の特性と水害に着目して調べた。

### (3.1) 都市域の生物多様性

GI による効果の一つである生物（植物）多様性の確保について、神奈川県横浜市大岡川流域の緑地を事例に、面積、木本植物、草本植物の種組成を明らかにした。面積については公簿敷地面積、樹冠投影面積、土壤地面積を求め、その測定方法の妥当性を論じた。木本植物は高木、低木、ツル植物の緑地における意義、草本植物は一年草と多年草の割合、都市緑地における在来植物と外来植物の割合の違いなどを明らかにした。

### (3.2) 三溪園における GI の価値の検討

三溪園をケーススタディとした GI の価値の検討として、今年度は、園内に存在する 5 つの水面について、中池を除く池の水源を雨水とする点を聞き取り調査から特定し、水準測量により池底の標高を求

め、貯水量を計量的に導いた。次に、庭園の土地被覆分類（樹林地、草地・低木地、裸地、池水面、砂利面、舗装面、建築面）にもとづく雨水流出量を算出した。

### (3.3) 植物の特性と水害

首都圏及び西部における巨木の分布と水害地域との関係を明らかにする一方、タケ・ササの伝統的利用による水害減災効果について、現地調査と実験により明らかにした。現地調査では四国、九州地方の他、福島県、茨城県、栃木県に残されているタケの水害防備林を調べ、ハウライチク、カンチクなどによるササ垣の機能効果を地形から分析した。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

研究の社会実践面では、今年度横浜市及び国土交通省とのグリーンインフラ・ワークショップを複数回実施し、将来的な研究成果の反映に向けた意見・情報交換を実施した。加えて、本学客員研究員・ドーン内山氏（ポートランド市環境局）の GI 研究報告会を広く学内外に向けて実施した。本研究で今後得られる成果は対象とする基礎自治体などにフィードバックし、GI 実装に役立てることができると考えている。またアジア・モンスーン気候で伝統的に培われた水害防備・減災技術を保護するための基礎的知見となる一方、現代技術に適用した事例も散見され、今後の応用に期待できた。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

研究全般において、初年度と同様に海外渡航や調査の実施が適わず、主にオンラインによって研究を進めた。今後は現地調査やヒアリングなどの実施を通じて研究の内容を深化させる。個別の研究における課題としては、下記が挙げられる。①中国協定校の協力を得て調査を実施する。COVID-19 の沈静化した隙間を狙って短期間で展開する必要がある。そのため、調査可能な比較事例を厳選し、現地調査準備を早い段階で整えたい。また、比較事例について、同じ都市スケールや街区スケールの事例でも調査面積の差が大きいため、短時間で実施可能な調査方法の検討が必要となる。②UAV による観測においては、データ取得が秋季から冬季であったため、今後は夏季における調査を継続して実施することにより、成果に対する信頼性を向上させる。また、都市部の場合には街路樹等が植生として認識されるが、地盤は舗装面が大半となるため、グリーンインフラの観点においては誤差が生じることとなる。このような課題に対する解決策として、都市部においては樹木に対する地上レーザ測量や MMS (Mobile Mapping System) を用いた調査を進める。③三溪園の土地被覆分類にもとづく雨水流出量は、あくまでも庭園を平坦地として見た場合の数値であり、山や谷を有する本庭園の表面積の雨水流出量ではない。来年度はこの点についても明らかにし、日本庭園のグリーンインフラの価値を導く。

## 10. 公表した成果一覧

学術論文

- 1) 福岡孝則・片桐由希子・加藤禎久 (2021) : ニューヨーク市 BIG-U プロジェクトにみる減災デザイン実装展開の枠組み, ランドスケープ研究 84 巻 5 号, pp.587-590, 日本造園学会
- 2) Tomotsugu Watanabe, Kako Matsunaga, Yumiko Kanazawa, Kojiro Suzuki, Ian D. Rotherham (2021) Landforms and distribution patterns of giant *Castanopsis sieboldii* trees in urban areas and western suburbs of Tokyo, Japan. *Urban Forestry & Urban* 60 (126997), <https://doi.org/10.1016/j.ufug.2021.126997>

- 3) 國井洋一, 佐々木崇弘, 三間慎啓, 近藤盛大郎 (2021) : レーザスキャナを用いた浸透コンテナ栽培樹木の生育状況の把握, ランドスケープ研究 84 増刊, 技術報告集 11, 184-187
- 4) Nanako Killmann, Fumitaka Nishino, Kojiro Suzuki and Ian D. Rotherham (2021) Characteristics of urban greenspaces based on analysis of woody plants in Yokohama City, Japan. Landscape and Ecological Engineering. <https://doi.org/10.1007/s11355-021-00493-4>.

#### 学会発表

- 1) 井上琴海・松本恵樹・栗野隆(2021) : 三溪園の水の由来と行方, 2021 年度日本造園学会関東支部大会梗概集/事例・研究報告集(39), pp.66-67
- 2) Taisei KOGA, Yoichi KUNII (2021): Extraction and Quantification of Burn Marks of War-Damaged trees Using the Reflectance from Terrestrial Laser Scanner, The 42nd Asian Conference on Remote Sensing (ACRS2021) (Can Tho University, Vietnam)
- 3) Ying JIN, Yumiko KANAZAWA, Kojiro SUZUKI (2021) Soil Physical Condition For Growth of *Cerasus campanulata*. International Society of Arboriculture 2021 International Virtual Conference.
- 4) 舘川龍希, 國井洋一 (2021) 点群データを用いた造園空間に対する時系列変化の抽出, 令和3年度日本写真測量学会年次学術講演会発表論文集, pp.35-38
- 5) 松永佳子・鈴木貢次郎 (2021) 異なる温度下での滞水条件がスタジイとツブラジイの生育に及ぼす影響. 樹木医学会誌 (速報) , pp.81-82

#### その他

- 1) 横浜市環境創造局・東京農業大学造園科学科 グリーンインフラ・ワークショップ(2022):下水道政策, 公園緑地, 国際園芸博, 都市計画, 農政の部局とグリーンインフラに関する情報・意見交換を1月26日(水)に実施
- 2) ドーン内山氏最終報告会 (2022) :ポートランド市環境局次長で本学客員研究員のドーン内山氏の日本におけるGI研究の報告会を2月10日(木)に実施予定。



# 2021年度 海外協定校との共同研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 下嶋 聖

## 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・ヒマラヤにおける気候変動及び生活様式の変化による災害リスクと生物多様性への環境インパクトの包括的評価	2,400,000

## 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	個別研究課題名
研究代表者	下嶋 聖	地域環境科学部 地域創成科学科・准教授	研究統括・空間情報
研究分担者	武生 雅明	地域環境科学部 地域創成科学科・教授	生態調査・生物多様性
	本田 尚正	地域環境科学部 地域創成科学科・教授	地域防災・災害リスク評価
	橘 隆一	地域環境科学部 森林総合科学科・教授	森林水収支
	入江 満美	国際食料情報学部 国際農業開発科学科・准教授	土壌・水質調査
	大西 章博	応用生物科学部 醸造科学科・准教授	微生物生態系の解析
	土屋 薫	江戸川大学社会学部 現代社会学科・教授	生活様式の変容解析

## 3. 研究期間

2021年4月1日～2022年3月31日（3年計画の2年目）

## 4. 研究の背景（当初）

ヒマラヤが初登頂されてから約70年が経過し、高所登山は初期の冒険時代から大衆化時代を向かえた。世界最高峰のエベレストを含めヒマラヤ山域一帯は多くの登山者、観光客（トレッカー）が訪れる有数の観光地となっている。ヒマラヤの登山者やヒマラヤ山麓を利用するトレッカーは地域振興に寄与している一方、登山活動や観光利用に伴い直接・間接的に生じる環境インパクトによる農地を含めた社会環境への環境負荷が深刻化している。

一方でヒマラヤは地球の第3の極とも表現され、環境変化を示す一種のバロメーターである。地球規模の気候変動に伴い、氷河の後退や融解により形成された氷河湖の崩壊による下流地域への災害が懸念されている。これまで雪氷学分野において、氷河タイプや氷河融解モデルなどが明らかにされてきた。ヒマラヤ氷河には、氷河表面が岩窟に覆われるD型氷河(Dirty Type)と覆われないC型氷河(Clean Type)がある。D型氷河は表面の岩屑の存在が融解抑制しているとの指摘がされている(森林, 1974)。近年では、多時期の衛星画像を用いた氷河表面の岩窟分布特性を明らかにした研究やUAV(ドローン)空撮による氷河動態の把握を試みた研究がある(Immerzeel, W.W.et. al., 2014)。氷河挙動の解明に向け、降水量から氷河の物質収支を把握した研究もある(Wagnon, P.et. al., 2013)。このようにリモートセンシングを用いた広域スケールにおける氷河動態と気候変動の応答性については明らかにされつつある。

ネパール政府は、1980年代より雄大なヒマラヤの景観と地域に住む民族の独特の文化を資源として、観光開発に力を注いできた。しかし具体的な環境収容力が示されないまま、ヒマラヤ登山の大衆化と観光化が進んだことによって、極地ともいえるヒマラヤの脆弱な自然環境のバランスは崩れつつある。気候変動による自然環境の応答現象に加え、高所登山や観光化がもたらす地域社会の生活様式の変容により山岳生態系に大きなインパクトを与えている。

これまで研究代表者は、ネパール側の各ベースキャンプにおいて現地調査を実施し、登山活動によりベースキャンプ滞在中にヒトの便、尿や生活雑排水など大量の有機物が排出され水環境を汚染している実態を明らかにし、登山有史以来の環境負荷量の算出を試みた。

以上の背景から、ヒマラヤ登山やヒマラヤ山麓における観光利用による地域社会への環境負荷のメカニズムと水環境における環境負荷量を明らかにすることで、持続可能な山岳環境保全策を検討する上で必要な環境収容力の算出が可能であると考え、本研究を着想した。

## 5. 研究目的

本研究の目的は、ネパール・ヒマラヤ山岳地帯を対象に持続可能な山岳環境開発及び管理手法を確立するため、フィールドデータ並びに空間情報技術を両用し、気候変動及び地域住民の生活様式の変容による地域社会への環境負荷量と災害リスクの定量評価手法の確立である。

具体的には、1. 学術的に把握されていなかったヒマラヤにおける水環境及び微生物の挙動の応答面からの氷河の融解現象の解明、2. ヒマラヤ特有の垂直性及び隔離性を考慮した生物多様性の定量化、3. ヒマラヤにおける登山活動及び観光利用による水環境への応答について現地調査より数値化し、環境負荷量の算出を行う。4. 自然環境及び社会環境の両側面から地域の環境収容力の算出を行い、持続可能な山岳環境の利用及び管理手法を確立する。

ヒマラヤは地球の第3の極とも表現され、環境変化を示す一種のバロメーターである。造山運動により溪谷の浸食が進行することで両岸の山域が隔離され、陸域ながら固有動植物が多数存在しホットスポットを形成している。しかし地球規模の気候変動に伴い、氷河の後退、薪炭利用のための森林伐採、それによる下流地域への洪水が懸念されている。加えて登山やトレッキングによる観光利用は地域経済を発展させ、生活環境の向上に寄与する一方、自然環境に依存していた生活様式の衰退や地域特有の景観喪失が見受けられる。

学術的な課題として、ヒマラヤにおける氷河後退は温暖化といった気候変動による融解ですべて説明が可能であるか、加えて下流地域への災害リスクの可視化及び定量化という点が挙げられる。既往研究では、氷床環境下に存在するシアノバクテリアが鉱物を取り込み、有色粒が生成され太陽光を吸収し、結果氷河の表層融解が進行することが明らかにされている。当該地も同様な応答現象が存在する可能

性があるが、十分な解明がなされていない。

持続可能な山岳環境の保全のためには、山岳版のSDGsを提示することが必要となる。本研究では、現地調査を通じて日本及びネパール研究者の相互協力による実践的な研究活動により、「災害リスクと生物多様性への環境インパクトの包括的評価」の開発を行い、広域社会実装を目指す。

## 6. 研究（実験）方法

本研究は空間情報技術を援用した災害リスクと生物多様性への環境インパクトの包括的評価手法の確立を目的に、ネパール国内において①サガルマータ国立公園（ネパール北東部・クーンブ地方）、②マナスル保全地域（ネパール中央部・ゴルカ地方）、③ララ国立公園（ネパール北西部・ジュムラ及びムグ地方）の3調査地（図1）において、図2に示したフローにしたがい以下の4課題について取り組んだ。

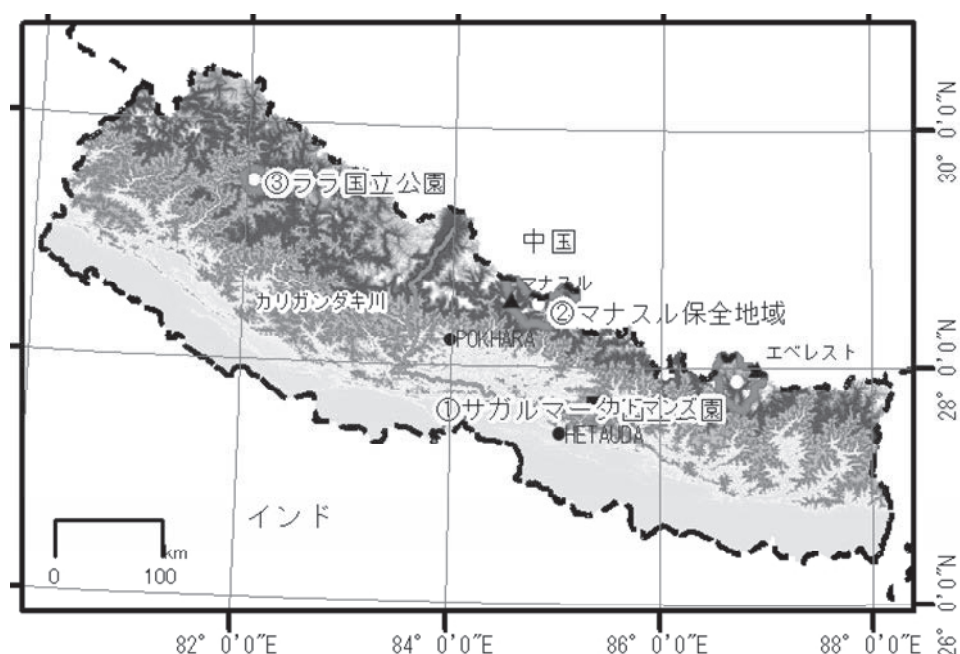


図1 本研究の対象地

### 1) ヒマラヤにおける水環境及び微生物の挙動の応答面からの氷河の融解現象の解明（調査地①②）

高所登山のシーズン中の各登山活動地点（ベースキャンプ）において、水場、川、池等と人為的影響のない氷河を対象に水質調査を行う。項目は全窒素、全リン、硝酸、亜硝酸、pH、EC値である。携行型多項目水質検査機を持ち込み、現場で測定を行うと同時にサンプルはカトマンズ（または日本）に持ち帰り、イオンクロマトグラフィーによる水質検査を実施する。併せて、採取したサンプル水に含まれる微生物の同定を行い、新規有用微生物の探索と微生物生態系の解析を行う。

### 2) ヒマラヤ特有の垂直性及び隔離性を考慮した生物多様性の定量化（調査地①②③）

ネパールは標高差 7,700m を持つ特有の垂直分布と河川の浸食作用による隔離性から、固有の種多様性が出現した。加えて農業により形成される半自然景観が広がる。これら伝統的な農地管理が行われている地域を対象として、生態系の現状把握を行い、立地条件や管理手法、それらの時間的変遷が、生態系の多様性に及ぼす影響を明らかにする。

### 3) ヒマラヤにおける登山活動及び観光利用による水環境への応答と環境負荷量の算出 (調査地①②)

UAV-SfM 手法による各ベースキャンプの微小地形の把握：RGB (カラー) 及び NIR (近赤外波長帯) が取得可能なマルチスペクトルカメラを搭載した UAV を用いて、各ベースキャンプにおいて鉛直画像を撮影し、撮影された画像を用いて SfM (Structure from Motion: 多視点画像からの 3 次元形状復元) ソフトにてオルソ画像及び DSM を生成し、ベースキャンプの微小地形の把握を行う。また地物 (テント、水場、池、トレイル等) の位置情報取得を行う。併せてテントの数と種別 (個人テント、ダイニングテント、トイレテント等) 及び登山隊の規模を把握し、環境負荷量の推定に資する。加えて、分光放射計により現場での水質サンプル地の反射特性を把握し、UAV で撮影された画像 (RGB、NIR) との関係性について解析を行う。

### 4) 災害リスクと生物多様性への環境インパクトの包括的評価 (調査地①②③)

GIS を用いて 3 対象地において流域単位で地形解析及び水文解析を行い、災害リスクの面的評価を行う。上記の課題で得られたデータをオーバーレイし、生物多様性への環境インパクトの包括的評価の可視化を行う。評価手法の広域実装及びモニタリング手法の確立のため、現地調査を実施した同時期の高分解能衛星画像を用いて、各種画像解析 (反射特性の把握や画像分類) を行う。現地調査で得られた値と比較をし、現地調査を頻繁に実施しなくても環境負荷量の推定が行える環境モニタリング手法の確立を行う。

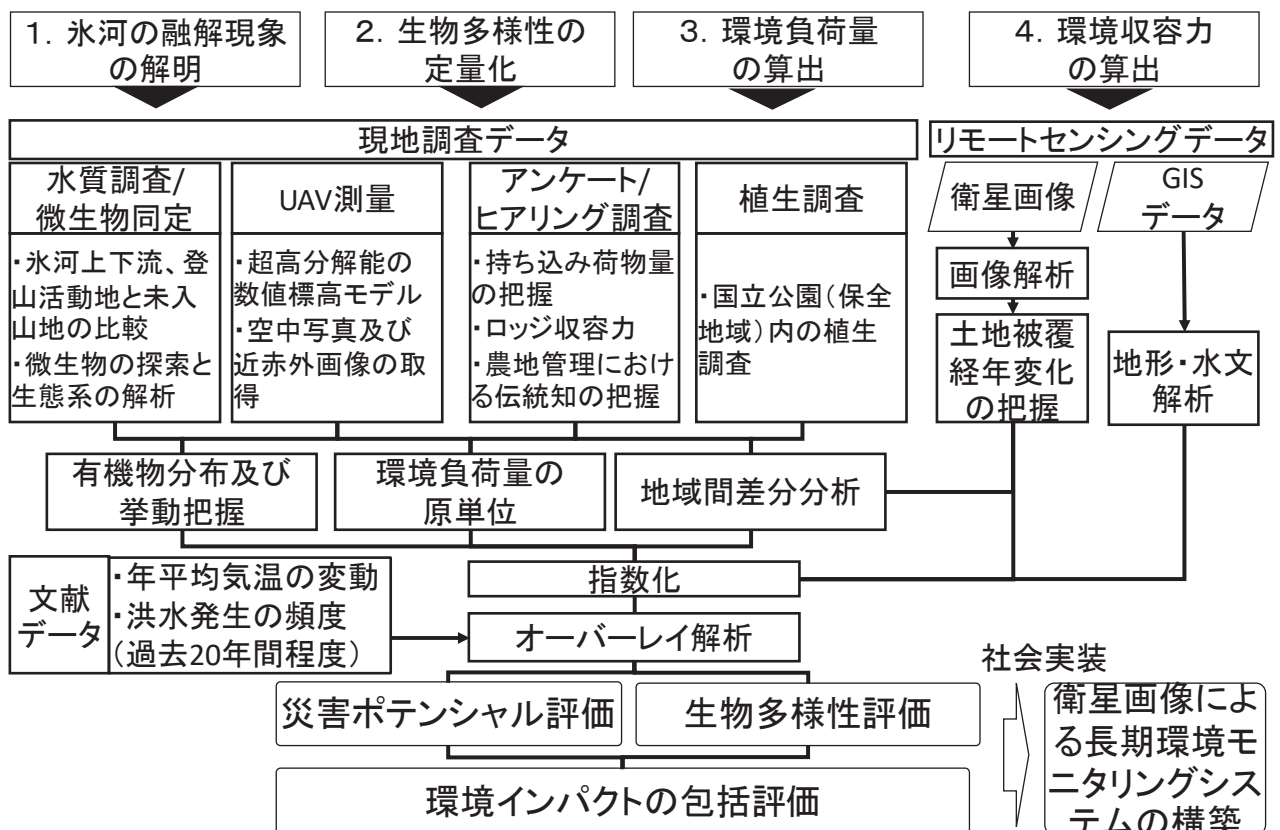


図 2 研究フロー

## 7. 研究成果

1) ヒマラヤにおける水環境及び微生物の挙動の応答面からの氷河の融解現象の解明

本年度は、昨年度に続きコロナ禍により現地調査を実施することができなかったため、水質調査及び微生物同定に供するサンプルの採取が行えず、研究成果はない。

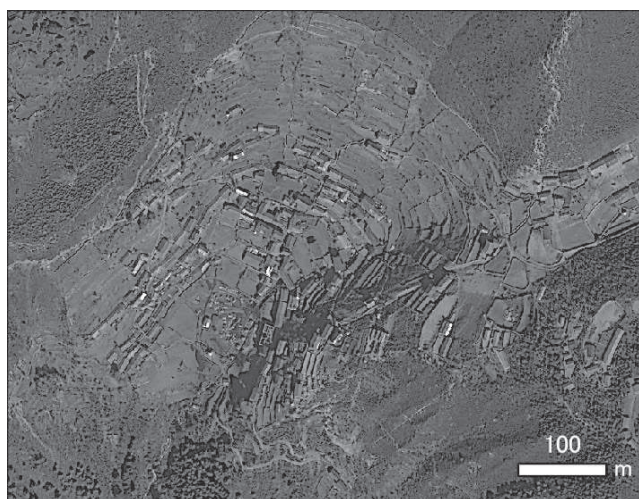
## 2) ヒマラヤ特有の垂直性及び隔離性を考慮した生物多様性の定量化

研究計画では、現地調査により調査対象地において植生調査及び地域住民・トレッキングコース上のロッジを対象にしたアンケート/ヒアリング調査)を実施する予定であった。しかしコロナ災禍のため現地調査の実施はできなかったため、エベレスト街道（サガルマータ国立公園）の中心地であるナムチェバザールを中心に、既存する高分解能衛星画像のアーカイブス検索と収集を行った。

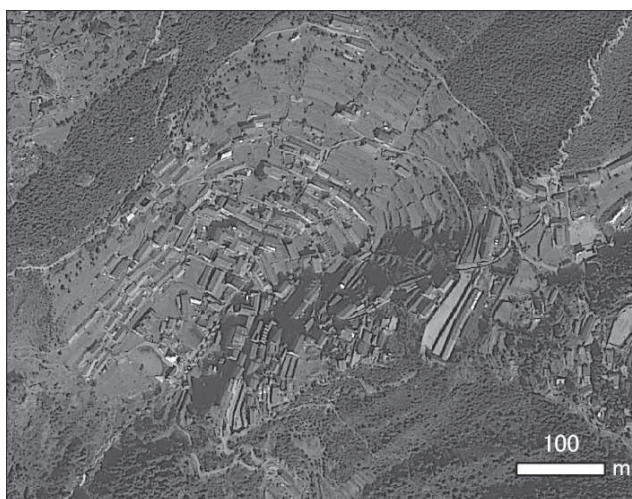
日本スペースイメージング社（JSI）が整備、提供している画像検索サービス ISS を用いて、本研究の対象地の一つであるサガルマータ国立公園内のナムチェバザール付近の画像検索を行った。商用ベースの高分解能衛星画像の撮影は 1999 年 9 月 24 日に打ち上げられた IKONOS（イコノス）に始まり、2000 年から画像のアーカイブが存在する。画像検索では 2000 年から 2021 年の 21 年間の毎時期において、大気が最も澄んでおり、晴天率が高い（画像上雲量率が低い）時期にあたる 9 月から翌年 4 月までの 8 ヶ月に絞り、検索を行った。その結果、トレッキングルート上に存在するロッジ等の地物の判読解析に供することが可能な高分解能衛星画像は、4 シーンであった（表 1）。

表 1 サガルマータ国立公園（ナムチェバザール周辺）における高分解能衛星画像アーカイブ状況（JSI：日本スペースイメージング・画像検索サービス ISS より）

撮影日	衛星種別	オフナディア角 (度)	撮影角度 (度)	撮影方位角 (度)	雲量率 (%)	パンクロセンサ 解像度 (m)	バンド数	所有 有無	
1 2001/11/29	IKONOS	3.53326761	86.0885	269.61453	0	0.82	4バンド	有	
2 2008/12/17	IKONOS	10.72053344	78.11767	272.97083	0	0.85	4バンド	有	
3 2013/3/15	WorldView-2		20	67	231.2363327	2	0.52301341	8バンド	有
4 2020/12/11	WorldView-2		26	61	72.52068	16	0.5581466	8バンド	有



・2001 年 11 月 29 日撮影



・2020 年 12 月 11 日撮影

図 3 ナムチェバザール付近の可視画像(2 時期)

入手した画像のうち 2 シーン（2001 年 11 月 29 日撮影、及び 2020 年 12 月 11 日撮影）について、図 3 に示す。入手した画像は、マルチスペクトル画像とパンクロマティック画像を有する。両者は異なる解像度を持つため、高解像度画像であるパンシャープン画像を生成した。いずれも地上分解能が 1m 未

満の解像度をもつため、馬蹄地形上に広がる建物等の地物の範読が可能である。コロナ災禍の制限下において現地調査のデータに依らず、リモートセンシングデータを用いた解析環境を整えることができた。

次に既存資料を基に、ナムチェバザールのロッジ数の変化について把握した。これを見ると、2001年は20軒を数える程度であったが、7年後の2009年には1.5倍の30軒に増加し、16年後の2018年は2.5倍の50軒に増加している。図3はサガルマータ国立公園の利用者数の推移を示したものである。これを見ると2001年の利用者数は18,440人であったが、2008年は31,201人、2018年は約3倍の56,303人に急増している。国立公園の利用者数の増加に呼応する形でロッジ数も増加した傾向がわかる。

表2 ナムチェバザールのロッジ数の変化

年	ロッジ数(軒)	前年比(%)
2002	20	
2009	30	150.0
2018	50	166.7

データ元) McGUINNESS, J.(2002):4<sup>th</sup> Edition TREKKING IN THE EVREST REGION:TRAILBLAZER, McGUINNESS, J.(2002):5<sup>th</sup> Edition TREKKING IN THE EVREST REGION:TRAILBLAZER, McGUINNESS, 及び J.(2002):6<sup>th</sup> Edition TREKKING IN THE EVREST REGION:TRAILBLAZER, より

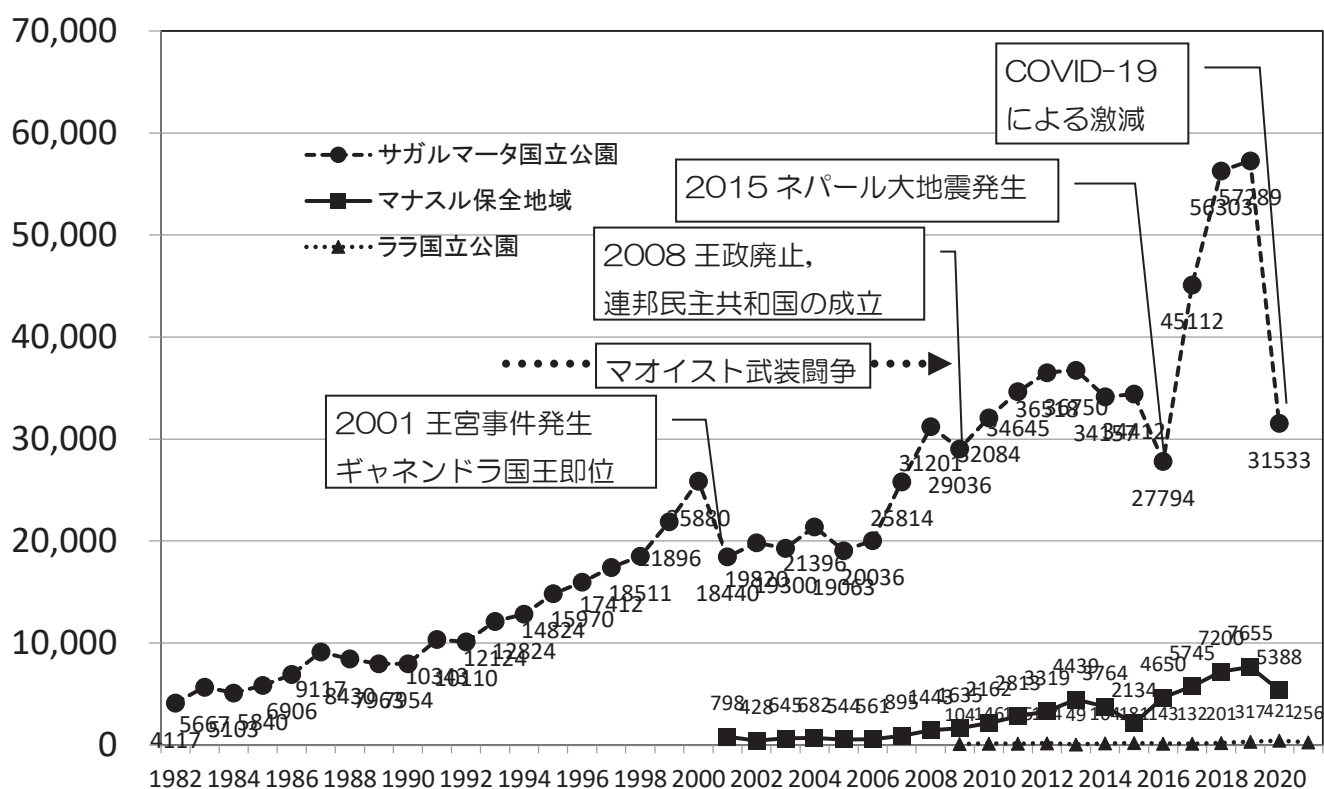


図4 サガルマータ国立公園、マナスル保全地域及びララ国立公園利用者数の推移

データ元) Government of Nepal, Ministry of Culture, Tourism & Civil Aviation(2021) : NEPAL TOURISM STATISTICS 2020, Government of Nepal, Ministry of Culture, Tourism & Civil Aviation(2021) : NEPAL TOURISM STATISTICS 2012

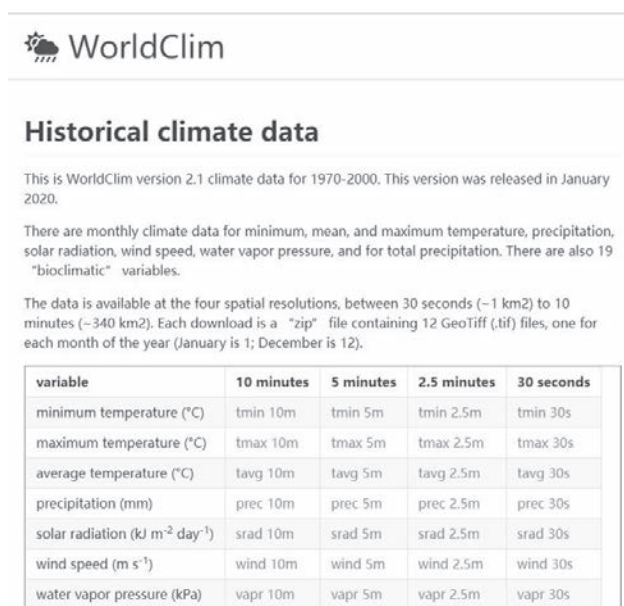
### 3) ヒマラヤにおける登山活動及び観光利用による水環境への応答と環境負荷量の算出

現地調査により調査対象地においてマルチスペクトルカメラを搭載した UAV (いわゆるドローン) を用いて、多バンド鉛直下画像の取得ができなかったため、研究成果はない。

#### 4) 災害リスクと生物多様性への環境インパクトの包括的評価

①

災害ポテンシャル評価に資することが可能な気象データの探索を行った。World Clim サイトにて、1970年から2000年までの月別気温（最低、最高、平均）、降水量、日射量、蒸気圧、風速の気象値（平年値）が公開されている。World Clim は米国カリフォルニア大学デービス校の Robert J. Hijmans らによって開発された気象データセットであり、全球陸域をカバーしながら、上記の観測項目の気象値について、9千000から6万の気象台のデータを用いて集計し、約1km<sup>2</sup>のメッシュデータで公開されている。コロナ災禍の制限下において現地調査のデータに依らず、災害ポテンシャル評価に資するデータの取得と解析環境を整えることができた。



The screenshot shows the WorldClim website interface. At the top is the WorldClim logo. Below it is the heading "Historical climate data". A paragraph states: "This is WorldClim version 2.1 climate data for 1970-2000. This version was released in January 2020." Another paragraph lists the variables: "There are monthly climate data for minimum, mean, and maximum temperature, precipitation, solar radiation, wind speed, water vapor pressure, and for total precipitation. There are also 19 'bioclimatic' variables." A third paragraph explains the spatial resolutions: "The data is available at the four spatial resolutions, between 30 seconds (~1 km<sup>2</sup>) to 10 minutes (~340 km<sup>2</sup>). Each download is a 'zip' file containing 12 GeoTiff (.tif) files, one for each month of the year (January is 1; December is 12)." Below this text is a table with 5 columns: variable, 10 minutes, 5 minutes, 2.5 minutes, and 30 seconds. The rows list variables such as minimum temperature, maximum temperature, average temperature, precipitation, solar radiation, wind speed, and water vapor pressure, each with its corresponding file naming convention for the different resolutions.

variable	10 minutes	5 minutes	2.5 minutes	30 seconds
minimum temperature (°C)	tmin 10m	tmin 5m	tmin 2.5m	tmin 30s
maximum temperature (°C)	tmax 10m	tmax 5m	tmax 2.5m	tmax 30s
average temperature (°C)	tavg 10m	tavg 5m	tavg 2.5m	tavg 30s
precipitation (mm)	prec 10m	prec 5m	prec 2.5m	prec 30s
solar radiation (kJ m <sup>-2</sup> day <sup>-1</sup> )	srad 10m	srad 5m	srad 2.5m	srad 30s
wind speed (m s <sup>-1</sup> )	wind 10m	wind 5m	wind 2.5m	wind 30s
water vapor pressure (kPa)	vapr 10m	vapr 5m	vapr 2.5m	vapr 30s

図5 World Clim の サイト<<https://www.worldclim.org/data/worldclim21.html>>

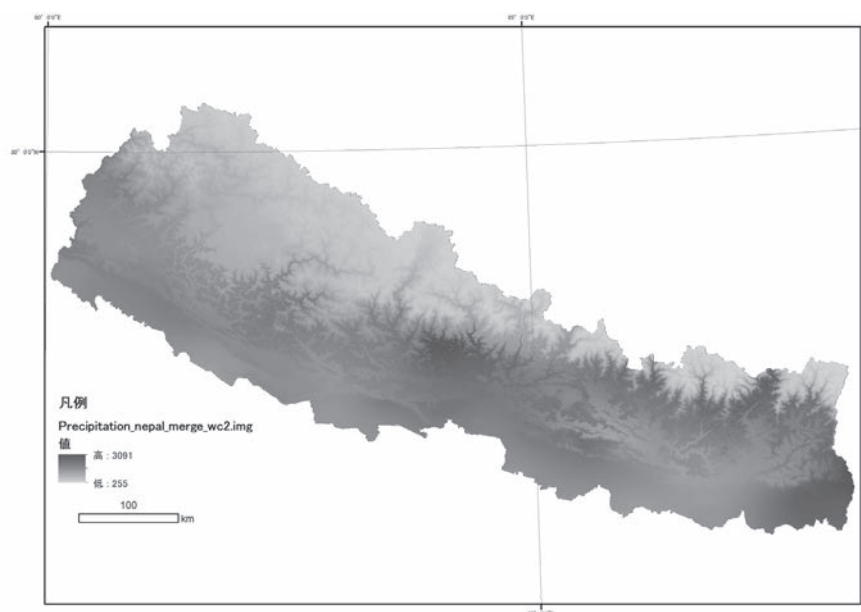


図6 ネパール全土における降水量（平年値）

## ②光学衛星画像を用いたトレイル沿いの崩壊地抽出

衛星リモートセンシング技術が災害リスクを評価する上で土砂災害発生時の被災状況把握に有効かどうかを確認するため、各種地球観測衛星（Landsat8）の画像を用いて、本研究の対象地の一つである、「②マナスル保全地域（ネパール中央部・ゴルカ地方）」のマナスルサーキットと呼ばれるトレイル沿いの崩壊地の抽出を試みた。ネパールでは2015年4月25日にゴルカ郡を震源とするMw7.8の規模の地震が発生した。光学衛星画像より地震後のトレイル沿いにおける新規崩壊地の抽出を行った。

### i) 光学センサによる崩壊地抽出に用いた指標

Landsat8の光学センサの画像を用いて、災害後の新規崩壊地を抽出した。崩壊地抽出方法は、植生域と裸地域の変化を災害前後の画像で比較し、植生の変化域である崩壊地を抽出した。崩壊地抽出に使用した指標は、植生域の指標としてはNDVI（Normalized Difference Vegetation Index：正規化植生指数）、裸地域の指標としてはGSI（Grain Size Index：粒度指数または粒径指数）を用いた。

$$NDVI = (NIR - Red) / (NIR + Red) \dots (1)$$

ただし、NIR：近赤外波長光、Red：赤波長光

$$GSI = (Red - Blue) / (Red + Green + Blue) \dots (2)$$

ただし、Red：赤波長光、Green：緑波長光、Blue：青波長光

### ii) 崩壊地抽出の手順

解析手順を図7の光学センサによる崩壊地の抽出フローに示す。NDVIおよびGSIの算出にあたり、異なる季節の画像を比較するため、NDVIおよびGSIの閾値は画像ごとに設定を行った。

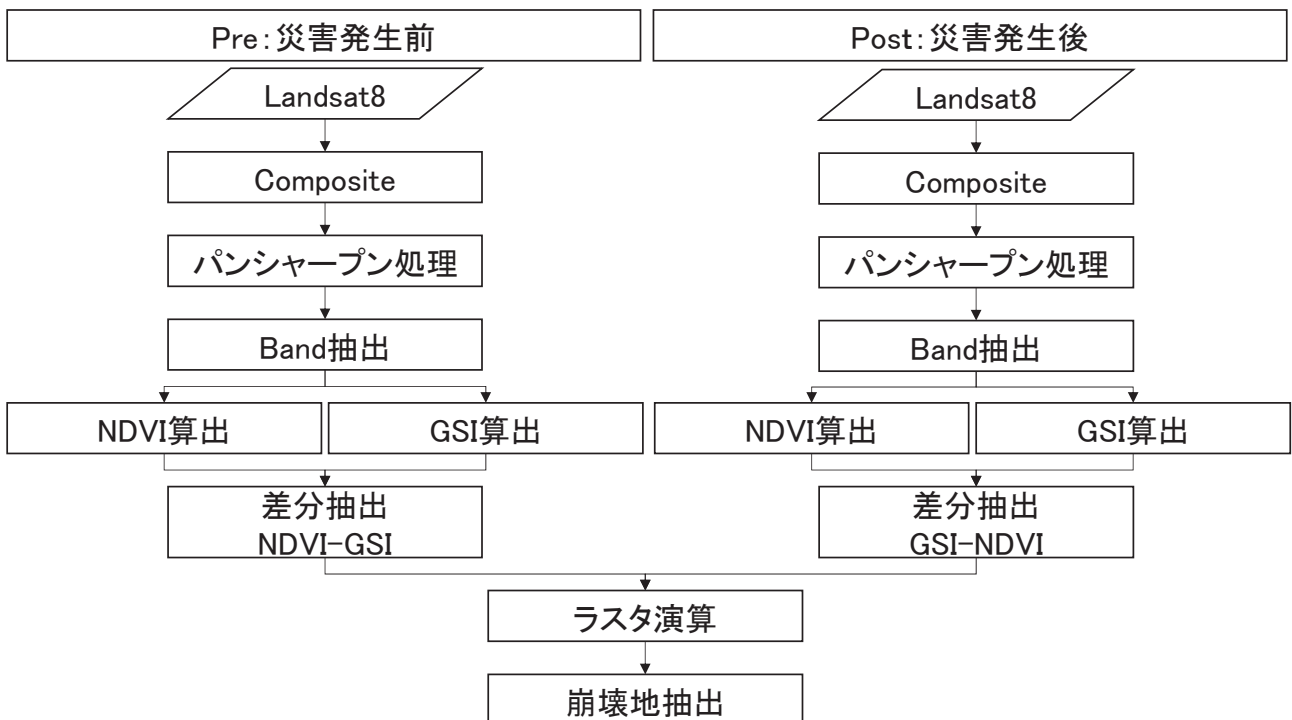


図7 光学センサ衛星画像を用いた崩壊地の抽出フロー



iii) 崩壊地の抽出

抽出の過程と結果を図 8, 9, 10 および図 11 に示す。あわせて、表 3 において解析に使用した光学衛星画像と各時期における NDVI および GIS の閾値を示す。

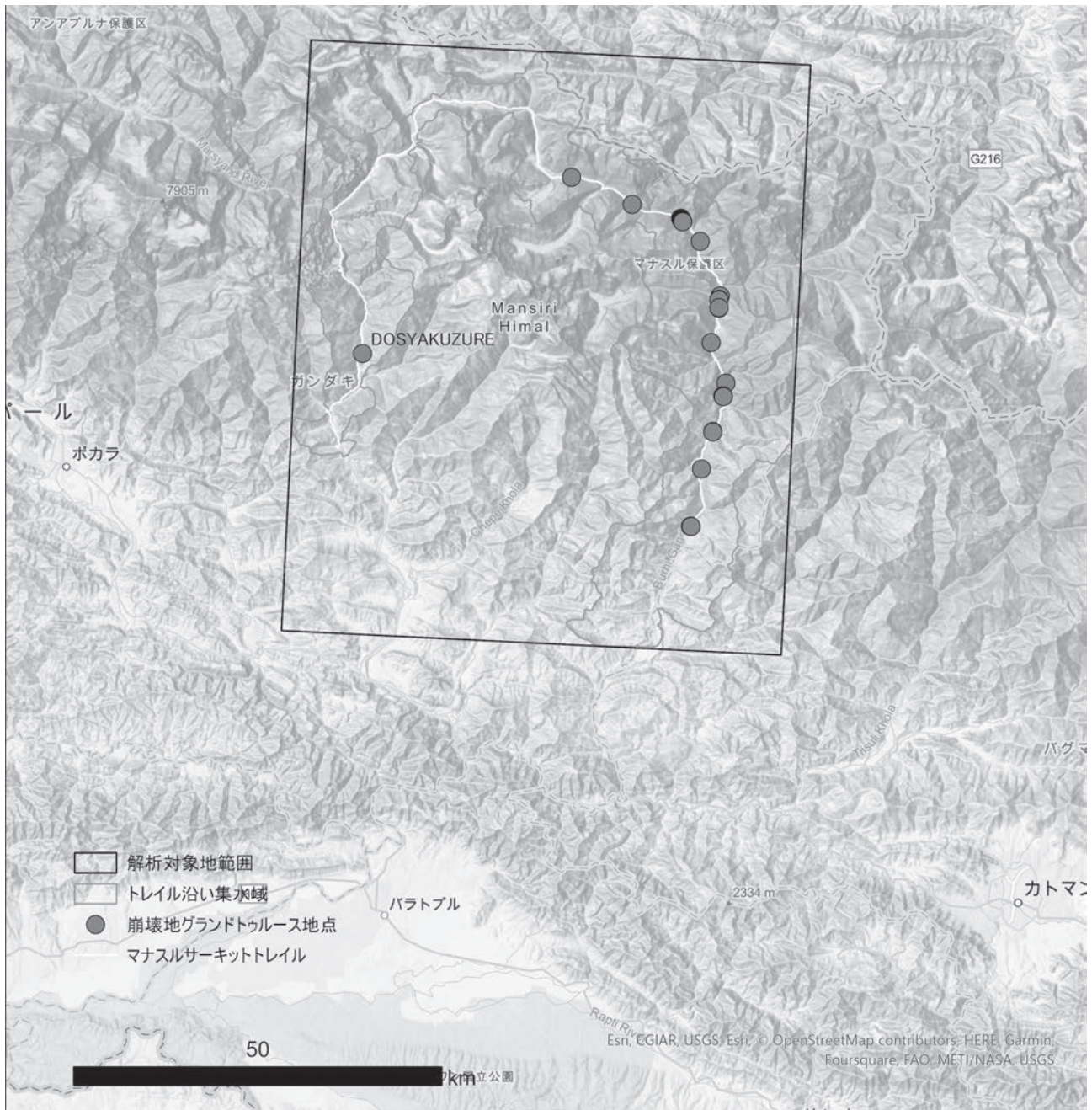


図 8 解析対象地（抽出エリア）

表 3 解析に使用した光学衛星画像と各時期における NDVI および GIS の閾値

災害前後	衛星名	撮影年月日	閾値		備考
			NDVI	GSi	
災害前	Landsat8	2015.04.05	0.3	-0.03	解析対象地南東側のみ使用
		2015.04.21	0.3	-0.02923	解析対象地の南東側は飛来コースの関係から欠ける
災害後	Landsat8	2015.06.08	0.35	-0.02	

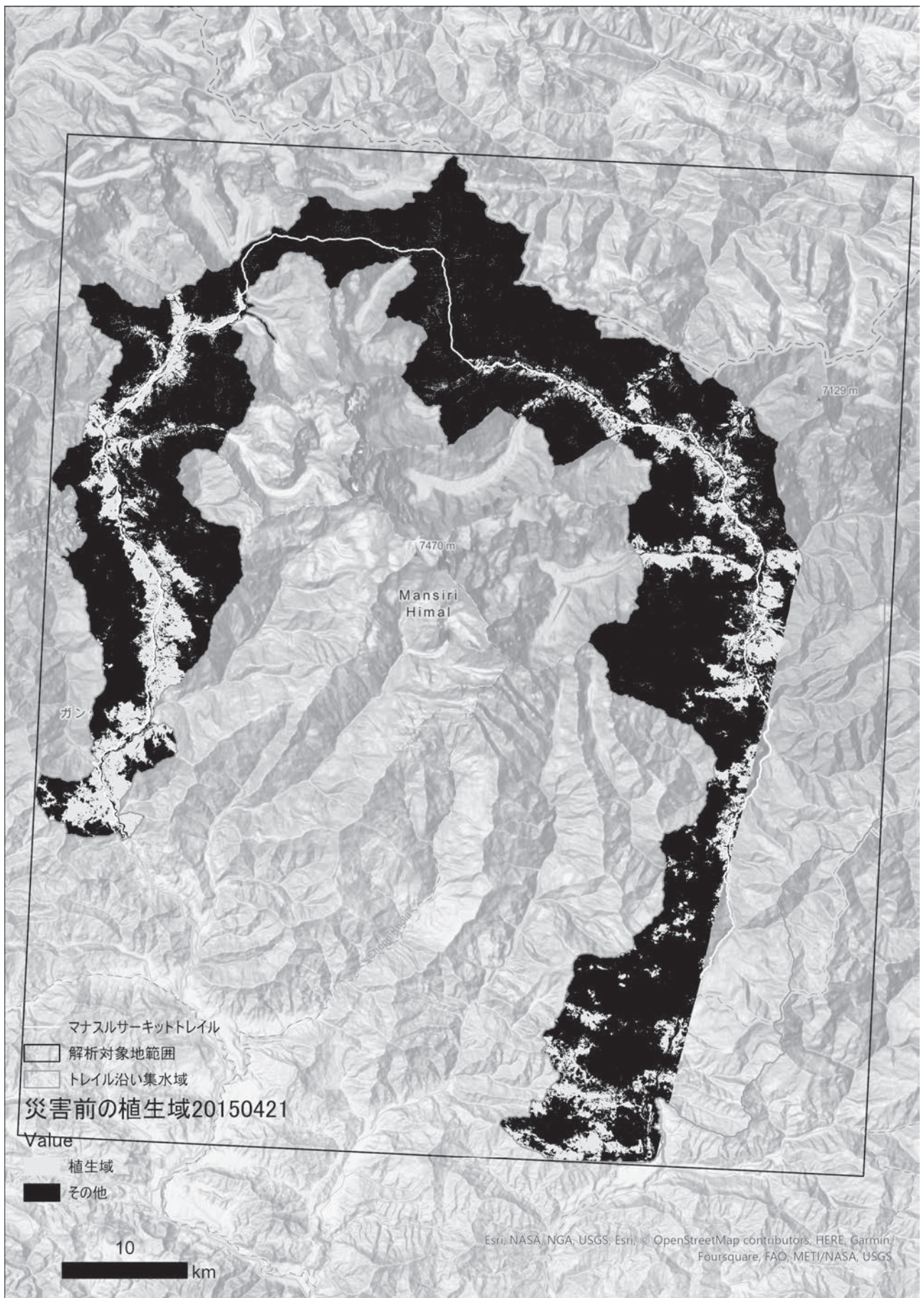


図9 災害（ネパール地震発生 2015.04.25）前の植生域（2015/04/21 および 04/05）

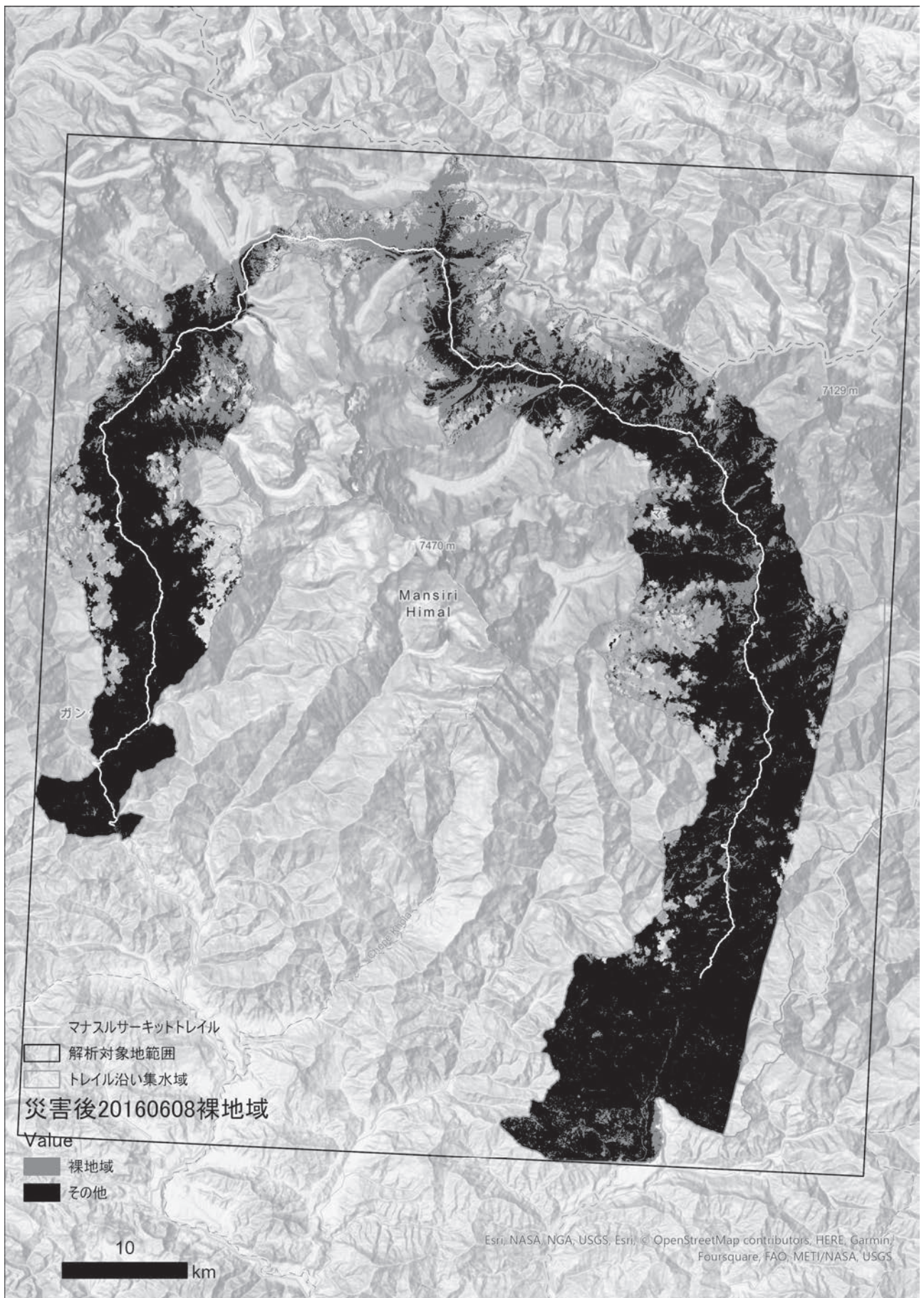


図 10 災害（ネパール地震発生 2015.04.25）後の裸地域（2015/06/08）

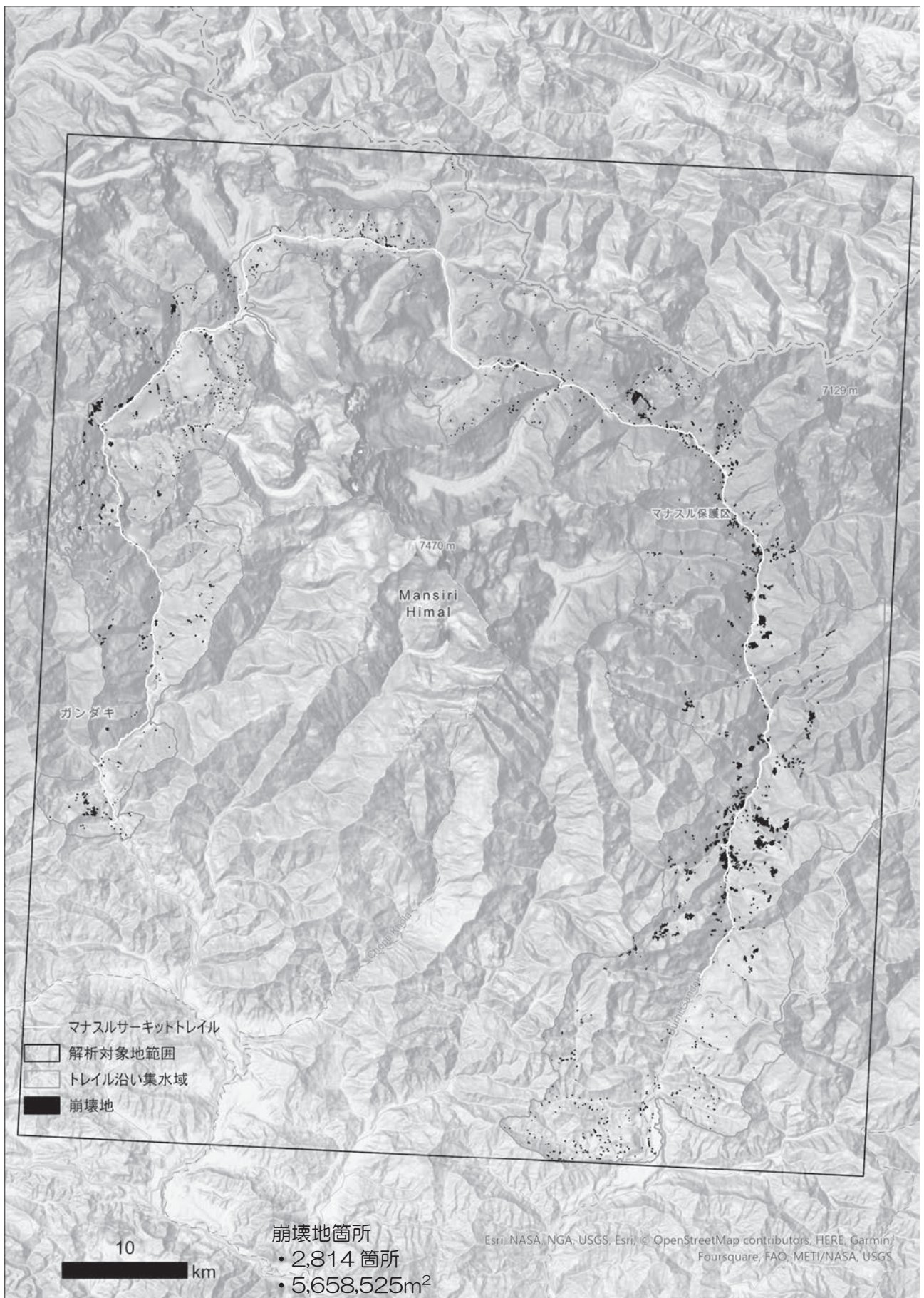


図 11 崩壊地の抽出結果（植生域→裸地域への変化箇所）


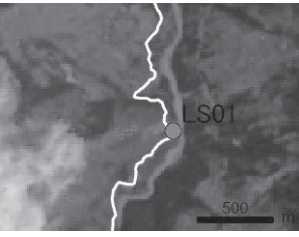
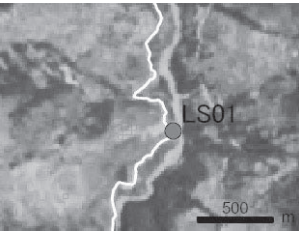

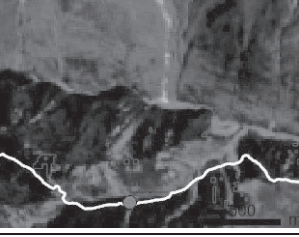
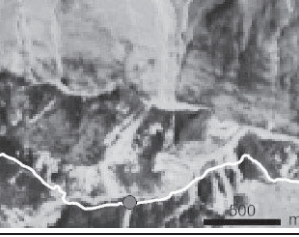

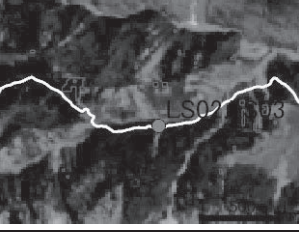
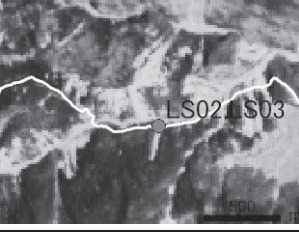

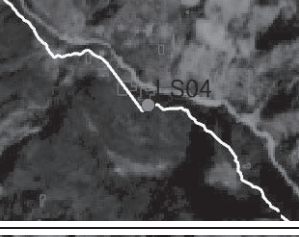
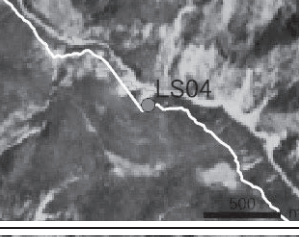

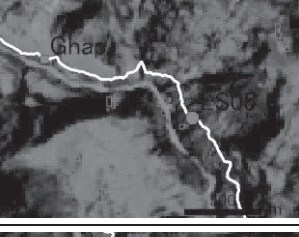
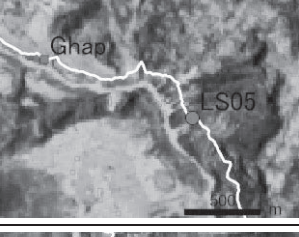

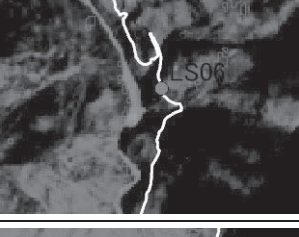
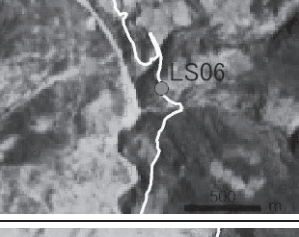

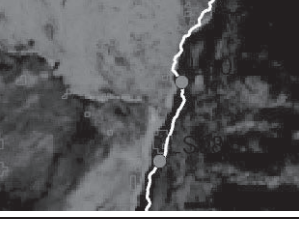
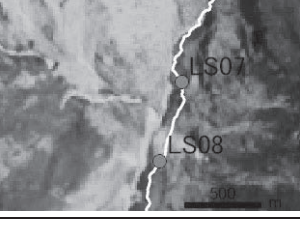
#### iv) 抽出精度の評価


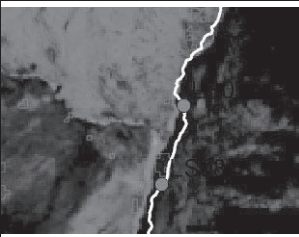
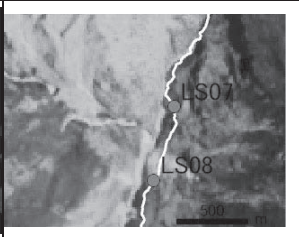

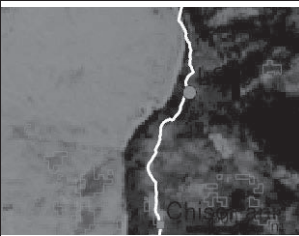
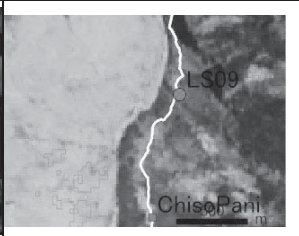

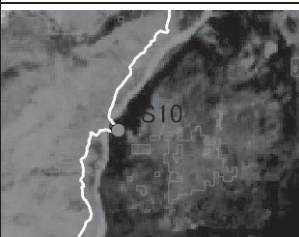
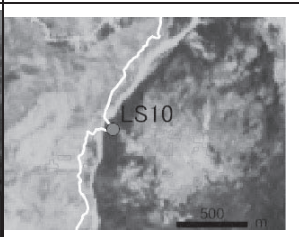

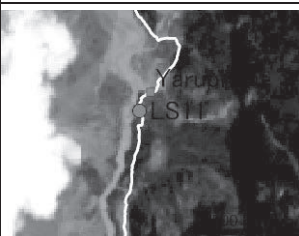
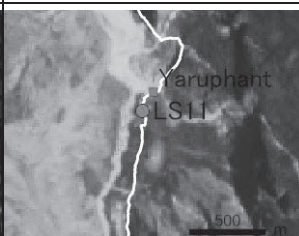

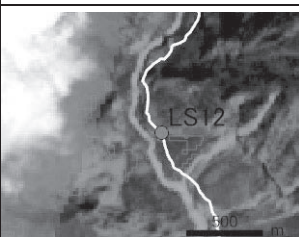
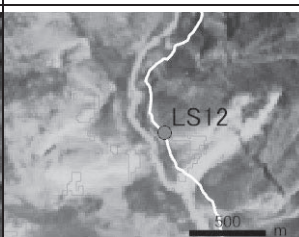

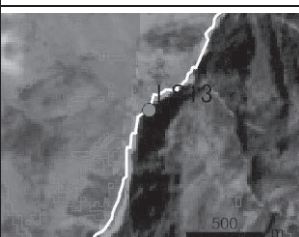
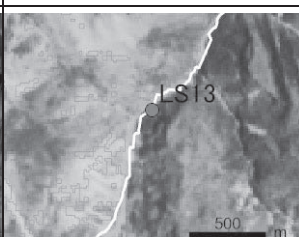

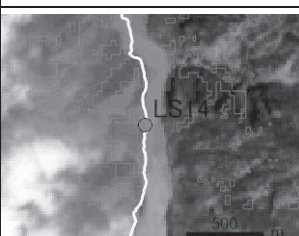
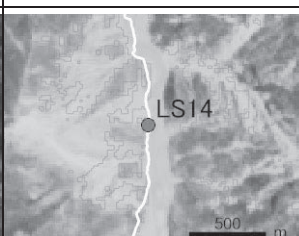

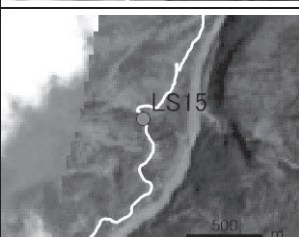
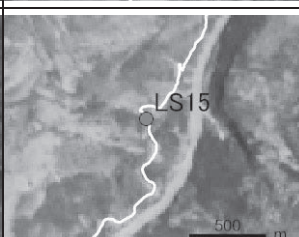
対象地の 2016 年 8 月 20 日から 9 月 6 日まで、マナスルサーキットトレイルを歩行し、ルート上にて目視で確認できた崩壊地をグランドトゥルースとして、先の光学衛星画像から抽出した崩壊地との抽出精度の評価を行った。ルート上目視で確認できた崩壊地および光学衛星画像から抽出した崩壊地の対比を表 4 に示した。

これをもとに、ルート上にて目視で確認できた崩壊地の周辺に、光学衛星画像からの抽出崩壊が 1 画素 (15m×15m) 以上含まれている場合は、その崩壊地を「抽出」と判定すると、全崩壊箇所数 (15 箇所) における、光学衛星画像からの崩壊箇所は 9 箇所であり、その抽出率は 60% であった。

今回解析において、衛星画像は DN 値を用いて行ったが、反射率に変換し、季節性の影響をなるべく除去し再度解析を行う。あわせて、2016 年におけるイベント前後 (例えばモンスーン期前後) の衛星画像より同様の手法を用いて、崩壊地の抽出を行い、マナスルサーキットトレイル上に発生した崩壊地の時期特定を試みる。

表4 ルート上目視で確認できた崩壊地および光学衛星画像から抽出した崩壊地の対比

No	写真	地震発生前	地震発生後	崩壊地抽出/備考
LS01				崩壊地抽出 2016.08.20 撮影 ベシサハール～ダラパニ間
LS02				抽出できず 2016.09.02 撮影 サマ～ギャップ間 ルートの対岸(左岸側)
LS03				抽出できず 2016.09.02 撮影 サマ～ギャップ間 ルートの対岸(左岸側)
LS04				崩壊地抽出 2016.09.02 撮影 サマ～ギャップ間
LS05				崩壊地抽出 2016.09.03 撮影 ギャップ～チソパニ間 ルートは高巻き
LS06				抽出できず 2016.09.03 撮影 ギャップ～チソパニ間 ルートは高巻き
LS07				崩壊地抽出 2016.09.03 撮影 ギャップ～チソパニ間 橋の上から撮影、ルート外

LS08				崩壊地抽出 2016.09.03 撮影 ギャップ～チソパニ間 休憩地点手前
LS09				抽出されず 2016.09.03 撮影 ギャップ～チソパニ間 ルート上
LS10				崩壊地抽出(対岸) 2016.09.04 撮影 チソパニ～ジャガット間 ルート下部および対岸
LS11				抽出できず 2016.09.05 撮影 ジャガット～マチャコー ラ間 ルート上
LS12				崩壊地抽出 2016.09.05 撮影 ジャガット～マチャコー ラ間 ルート上
LS13				崩壊地抽出 2016.09.05 撮影 ジャガット～マチャコー ラ間 ルート外対岸
LS14				崩壊地抽出 2016.09.06 撮影 マチャコーラ～ソチコー ラ間
LS15				抽出できず 2016.09.06 撮影 マチャコーラ～ソチコー ラ間

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

### 1) ヒマラヤ特有の垂直性及び隔離性を考慮した生物多様性の定量化

- ・高分解能衛星画像の収集及び地物判読によるトレッキングルート沿いのロッジ数の把握
- ・リモートセンシングデータを用いた収容力算出に向けたデータ解析手法と解析環境の整備

### 2) 災害リスクと生物多様性への環境インパクトの包括的評価

- ・気象データ整備状況の把握と災害ポテンシャル評価に資することが可能な気象データの探索（観測項目、データ取得頻度、公開形式、面的データの有無）。
- ・光学衛星画像を用いて、2015年4月25日に発生したネパール地震に伴う、マナスルサーキット取れる上で発生した崩壊地の抽出を試みた。その結果、ルート上にて目視で確認できた崩壊地の周辺に、光学衛星画像からの抽出崩壊が1画素（15m×15m）以上含まれている場合は、その崩壊地を「抽出」と判定すると、全崩壊箇所数（15箇所）における、光学衛星画像からの崩壊箇所は9箇所であり、その抽出率は60%であった。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

### 1) ヒマラヤにおける水環境及び微生物の挙動の応答面からの氷河の融解現象の解明

2020年及び2021年度に予定していた現地調査を実施し、氷河および周辺の水環境のサンプリングを行い、氷河融解の間接効果（ローカルモデル）の機構を明らかにする。

### 2) ヒマラヤ特有の垂直性及び隔離性を考慮した生物多様性の定量化

2020年及び2021年度に予定していた現地調査を実施し、植生調査及び地域住民・トレッキングコース上のロッジを対象にしたアンケート/ヒアリング調査のデータから当該地の景観構造を明らかにし、ヒマラヤ特有の垂直性及び隔離性を考慮した生物多様性の定量化を試みる。

### 3) ヒマラヤにおける登山活動及び観光利用による水環境への応答と環境負荷量の算出

2020年及び2021年度に予定していた現地調査を実施し、ヒマラヤ登山者一人あたりの環境負荷量の算出に資する、原単位基のデータの取得と算出時の係数（原単位）の精度向上が課題である。

### 4) 災害リスクと生物多様性への環境インパクトの包括的評価

流域単位を基調とした災害ポテンシャル評価に資することが可能な気温及び降水量の平年値データと災害履歴（洪水頻度）のアーカイブデータの探索を引き続き行う。あわせて広域的な災害リスク評価を行うため、光学衛星画像および合成開口レーダ衛星画像を用いた崩壊地抽出を行う。

### 5) 現地調査実施について

2022年4月にネパールに渡航し、カウンターパートナーであるネパール農林大学に訪問し、今後の研究方法について、意見交換を行った。その結果、3つの対象地のうち、③ララ国立公園（ネパール北西部・ジュムラ及びムグ地方）を対象に、2022年10月ないし11月に実施を検討することとした。

## 10. 公表した成果一覧

特になし



# 2021年度 海外協定校との共同研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 中塚 博子

## 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
熱帯地域への生物的土壌物理性改良システムの普及に向けた下層土の団粒化機構の解明	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	中塚 博子	農学部 農学科・助教	土壌・微生物分析、総括
研究分担者	Elke JBN Cardoso	サンパウロ大学・Brazilian Supervisor	微生物多様性解析
	岡田 紅葉	農学部 農学科・3年	シイタケ廃菌床施与及び緑肥栽培が下層土の生物性へ与える影響
	河邊 琴乃	農学部 農学科・4年	有機栽培路地畑におけるソルガムの施用が土壌の化学性に及ぼす影響
	上野 真聖	農学部 農学科・4年	緑肥ソルガム施用による土壌生物性の変化
	伊藤 瑛里	農学部 農学科・4年	有機野菜栽培圃場におけるソルガム施用が土壌物理性に及ぼす影響

## 3. 研究期間

2021年6月9日～2022年3月31日（3年目の1年目）

## 4. 研究の背景（当初）

地球規模での土壌劣化および人口爆発による将来の食糧問題等が顕在化する中、国際的な協力体制による持続可能な農業技術の発展・普及は必要不可欠である。特に、熱帯・亜熱帯地域は、作物生産に適した気候であり、将来の食糧生産拠点として重要な地域であるが、熱帯土壌の肥沃度は低く、土壌劣化も深刻である(FAO, 2011)。一方、申請者らの研究で、緑肥やキノコ廃菌床を利用した日本とブラジルの圃場で、表層から下層（約 0～100 cm）まで、土壌の団粒化が促進して土壌物理性が向上したことを発

見した(Nakatsuka et al., 2016 他)。さらに、上記圃場では下層土の物理性改善による作物根の伸長領域が増加したため、生産性が向上した(Nakatsuka and Tamura, 2016 他)。上記の緑肥やキノコ廃菌床などの生物による土壌団粒化メカニズムを利用して下層土の物理性を改善させる農業システムー生物的土壌物理性改良システムーを、土壌劣化が深刻で、かつ大型農業機械の普及が困難なアフリカ、南米、アジアの発展途上国で普及させることで、土壌劣化と食糧問題の双方を解決できると考えた。

土壌団粒の発達には、植物根や糸状菌などの生物要因が重要である(Tisdall and Oades, 1982)。申請者らは、上記実践圃場の下層に糸状菌が多く観察されたことから、下層土の団粒発達機構は、緑肥根や廃菌床によって増加した土着微生物の直接的(菌糸による団粒化)または間接的(菌体外に分泌された多糖類と粘土との相互作用)な影響に起因していると仮説を立てた(Nakatsuka et al., 2016)。

## 5. 研究目的

本研究は、日本およびブラジルの土壌で、直径 8 cm、高さ 30 cmの不攪乱土壌コアを用いた栽培試験を行い、下層土の団粒化機構を明らかにすることを目的とする。さらに、国際比較として東京農業大学と海外協定校であるサンパウロ大学(USP-ESALQ)の Professor Elke JBN Cardoso と協力して圃場での実証実験を行い、生物的土壌改良システムの国際的な普及に向けた生産性および土壌劣化抑制効果を評価する。

## 6. 研究（実験）方法

### 6.1. 緑肥栽培および廃菌床添加栽培試験

#### 6.1.1. 30 cm不攪乱土壌コアを用いた栽培試験（宮古亜熱帯農場の土壌）

2021年8月31日に東京農業大学宮古亜熱帯農場試験圃場(石灰岩とクチャが母材の富塩基土)において、直径 8 cm、高さ 30 cmの不攪乱土壌コア試料を採取し、緑肥栽培および廃菌床添加栽培試験を行った(図 1)。処理区は、緑肥区、廃菌床区、緑肥+廃菌床区、対照区を各 4 反復設けた。緑肥はデントコーン、廃菌床は 1cm 以下に粉碎したシイタケ廃菌床を用いた。栽培試験は 2021年9月から 2022年1月まで連作で 3 作行った。デントコーンは 1 コア 2 粒播種(催芽処理済み)、廃菌床は表層 0~7.5cm に 1 作目は 20g、2 作目は 0g、3 作目は 5g 添加した。栽培は、東京農業大学厚木キャンパスのガラス温室で行い、灌水は適宜行った。



図 1. 栽培試験の様子

### 6.1.2. 30 cmポットを用いた栽培試験（農大圃場下層土）

2021年6月に東京農業大学厚木キャンパス農地において、深さ30 cm以下の下層土(黒ボク土)を採取し、10mmの篩をかけて直径8 cm、高さ30 cmのプラスチックポットに充填し、緑肥栽培および廃菌床添加栽培試験を行った。処理区は、緑肥区、廃菌床区、緑肥+廃菌床区、対照区を各3反復設けた。緑肥はデントコーン、廃菌床は1cm以下に粉碎したシイタケ廃菌床を用いた。栽培期間は、2021年6月～7月の1カ月の栽培を行う試験（1作試験）と、2021年9月から2022年1月まで3作連作を行う試験（3連作試験）を実施した。デントコーンは1ポット1粒（催芽処理済み）、廃菌床は表層0～7.5cmに毎作1作あたり10g添加した。栽培は、東京農業大学厚木キャンパスのガラス温室で行い、灌水は適宜行った。

### 6.1.3. 植物の地上部収量調査

栽培試験5.1.1.および5.1.2の緑肥区および緑肥+廃菌床区の植物体（デントコーン）について、地上部生重量、地上部乾物重量、草丈、SPAD値を測定した。

### 6.1.4. 土壌の化学性および生物性分析

栽培試験5.1.1.および5.1.2の土壌（深さ20～27 cm）の土壌（未風乾、<2 mm）を用いて土壌の化学性および生物性分析を行った。生物性分析は、細菌+放線菌数、糸状菌数（希釈平板法）、土壌酵素活性（ $\beta$ -グルコシダーゼ活性、プロテアーゼ活性）、バイオマス炭素および窒素量（クロロホルムくん蒸法）を行った。化学性分析は、無機態窒素量（硝酸態窒素量、アンモニア態窒素量）、土壌pHの測定を行った。

### 6.1.5. 土壌薄片の作製

栽培試験5.1.1.の栽培試験後の不攪乱土壌コア試料の深さ17.5～22.5cmの部分を取り取り、液体窒素にて凍結乾燥を行った。凍結乾燥試料について、樹脂含浸を行い、固化後、土壌薄片を作製して観察・解析を行う。

## 6.2. 圃場での生物的土壌改良システムの実証試験（平塚緑肥圃場）

### 6.2.1 土壌断面調査およびサンプリング

神奈川県平塚市にある株式会社いかす所有の圃場（細粒質バンド質褐色森林土）において、緑肥施用試験を行った。処理区は緑肥区と対照区を設け、2020年より圃場試験を実施した。緑肥区は、前作が休耕草地である耕作放棄地に、ソルガム(*Sorghum bicolor*(L.) Moench、品種‘つちたろう’（雪印種苗）)を2020年5月初旬に播種し、8月にソルガム残渣をフレールモアで細断後、表層（1回目：0～10cm、2回目以降：0～15 cm）に4回に分けてすき込んだ。その後、9月中旬にダイコン(*Raphanus sativus* var. *Longipinnatus*、品種‘千都’（タキイ種苗）)を播種した。対照区は、前作と同様に休耕草地として保存し、年数回草刈りを行った。2020年11月にソルガム区及び対照区について土壌断面調査と土壌試料の採取を行った。なお、投入したソルガムの乾物重は3.4t/10a、ソルガムの組成はC/N比:40.23、C:41.62%、N:1.01%であった。2020年のダイコンの収量は、4769本/10aであり、ダイコンを1.2 kg/本と仮定すると5,756 kg/10aであった。

## 6.2.2. 一般理化学性分析

緑肥区および対照区の各層から採取した土壌を風乾させ、2 mmに篩い化学性分析に供した。化学性分析は、pH(H<sub>2</sub>O)、pH(KCl) (ガラス電極法)、pH(NaF)、全炭素量、全窒素量 (乾式燃焼法)、無機態窒素量 (フローインジェクション法)、交換性陽イオン (バッチ法)、CEC (セミ・マイクロ蒸留法)、可給態リン酸 (トルオーグ法)、リン酸吸収係数 (リン酸アンモニウム法) を行った。また、物理性測定用試料は、100ml ステンレスコアにて、緑肥区は、0～5cm、6～11cm、20～25cm、35～40cm、70～75cm、対照区は、0～5cm、6～11cm、30～35cm、55～60cm で採取した (n=3)。土壌物理性項目の測定は、飽和透水係数、仮比重、真比重、孔隙率および、三相分布を測定した。

## 6.2.3. 土壌生物性分析

2020年土壌調査の緑肥区および対照区の各層から採取した土壌を未風乾の状態2mmに篩い生物性分析に供した。生物性分析は、細菌+放線菌数、糸状菌数、リン溶解細菌+放線菌数、リン溶解糸状菌数 (希釈平板法)、土壌酵素活性 (ホスホモノエステラーゼ活性、ホスホジエステラーゼ活性、プロテアーゼ活性)、微生物量 (ATP 値) を測定した。

さらに、2021年は、緑肥区、対照区に加え、緑肥連用5～6年区 (ソルガム-キャベツ連用) の表層0～10 cmの土壌を採取し、緑肥分解期間での土壌生物性の変化について調査した。土壌採取は、2021年8月11日 (緑肥すき込み直後) と9月6日 (緑肥すき込み1カ月後) に行った。生物性分析項目は、2020年の生物性分析に加え、バイオマス炭素および窒素量 (クロロホルムくん蒸法) を分析した。さらに、同サンプルを風乾させ、無機態窒素量 (硝酸態窒素、アンモニア態窒素) を分析した。

## 6.2.4. 土壌薄片の作製、画像解析

土壌薄片は、永塚・田村の方法を改良して作成した。緑肥区および対照区の不攪乱土壌試料 (物理性分析と同様の深度で採取) を凍結乾燥させた。乾燥後、不飽和ポリエステル樹脂で土壌試料を固化させた。完全に固化した試料を、切断、研磨して土壌薄片を作製した。

土壌薄片の記載は土壌薄片記載ハンドブックに準じて行った。観察は三眼実体偏光顕微鏡 (メイジテクノ株式会社) を用いて行った。また、観察薄片の撮影には、顕微鏡用カメラ (BASLER POWERPACK -ACE 2.3MP, BASLER 社) を使用した。粗粒質画分と細粒質画分の境界 (c/f 境界) は全て 10 μm とし、c/f 境界は、直行ニコールによる視野の観察により判定した。

土壌薄片の画像をスキャナーで取り込み、画像解析を行った。孔隙面積、孔隙面積割合の計測は、二値化画像をもとに画像解析ソフト (Image J) を用いて行った。

# 7. 研究成果

## 7.1. 緑肥栽培および廃菌床添加栽培試験

### 7.1.1. 30 cm不攪乱土壌コアを用いた栽培試験 (宮古亜熱帯農場の土壌)

栽培試験後の各処理区の様子を図2に示した。

地上部生重量、乾物重量、草丈、および SPAD 値について、1作目では緑肥区で緑肥+廃菌床区よりも高い値を示したが、2～3作目では、緑肥区と緑肥+廃菌床区で差は認められなかった。プロテアーゼ活性は、緑肥+廃菌床区が他区よりも低い値となった。β-グルコシダーゼ活性は、処理区間で差は認められなかった。

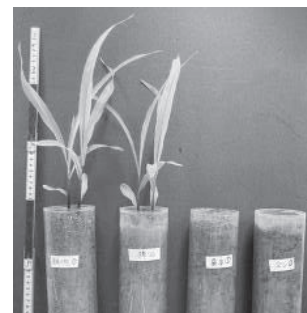


図2. 30 cmポット栽培試験後の各処理区の様子

窒素循環に関わる土壌酵素であるプロテアーゼ活性は、土壌中の無機態窒素量によって変化し、土壌中の硝酸態窒素量が高い場合は活性が低くなる傾向がある。緑肥+廃菌床区でプロテアーゼ活性が減少したのは、3作目では廃菌床が分解され、廃菌床由来の有機態窒素が放出されたため、無機態窒素含量が増加してプロテアーゼ活性が低下したと考えられた。

#### 7.1.2. 30 cmポットを用いた栽培試験（農大圃場下層土、1作目）

農大下層土を用いた30 cmポット栽培試験の1作目の試験結果について、デントコーンの地上部生重量、地上部乾物重量、地下部生重量ともに緑肥+廃菌床区が緑肥区と比較して高い値を示した。草丈およびSPAD値についても緑肥+廃菌床区>緑肥区となった。プロテアーゼ活性は、廃菌床を添加した表層では、緑肥+廃菌床区のみプロテアーゼ活性が検出された。また、下層土は廃菌床を添加した区（廃菌床区および緑肥+廃菌床区）でプロテアーゼ活性が検出され、廃菌床区>緑肥+廃菌床区となった。下層土の細菌+放線菌数および糸状菌数は、処理区間で差は認められなかった。バイオマス炭素、窒素量は、表層(0~5cm)は、対照区および緑肥区と比較して廃菌床区および緑肥+廃菌床区で高い値を示し、特に緑肥+廃菌床区で最も高い値を示した。下層(20~27cm)は、緑肥区で他区よりも高い値を示した。

### 7.2. 圃場での生物的土壌改良システムの実証試験（平塚緑肥圃場）

#### 7.2.1 土壌化学性

pH(H<sub>2</sub>O)、pH(KCl)は、緑肥区の表層(Ap1~Ap2層)で対照区の表層(A1~A2層)より低い値となった。これはソルガムとダイコンの栽培時に根から放出された有機酸や、硝酸態窒素の分析結果から、ソルガムの分解過程に生じた硝酸態窒素の増加によるものだと考えられる。

全炭素量と全窒素量は、全層位で緑肥区>対照区の傾向を示した。また、各試験区では土壌断面の表層から下層にかけて値が減少する傾向を示した。これはソルガムの投入に伴う有機態炭素及び有機態窒素の増加による影響と考えられる。

硝酸態窒素量は、緑肥区の表層(Ap1~Ap2層)で対照区の表層(A1~A2層)よりわずかに高い値を示した。本研究の圃場では、夏季にソルガムを投入しているため、微生物によるソルガムの分解が速く進み、サンプル採取時(11月)では硝酸態窒素の放出量が微生物への取り込み量を上回っていたことと、増加した微生物の遺体が分解されるのに伴い硝酸態窒素が放出されたことが考えられる。

CECは、試験区間の差は見られなかった。全炭素量が緑肥区>対照区の傾向を示したのにも関わらず試験区間でCECの差が見られなかったのは、投入したソルガム残渣が腐植化しておらず、未分解有機物が多く存在していたためと考えられる。

トルオーグ法で測定した可給態リン酸は、ソルガム区の表層(Ap1~A/Bw層)で対照区の表層(A1~A/Bw層)よりわずかに高い値を示した。また、交換性陽イオン、塩基飽和度は試験区間に差が見られなかった。

#### 7.2.2. 土壌物理性

表層および次表層(0~5cm, 6~11cm)について、緑肥区は対照区と比較して、固相率および仮比重が低下し、気相率および全孔隙率と粗孔隙率が高くなった。この結果から、ソルガム及びダイコン栽培における作物根伸長および耕耘によるソルガム残渣の鋤き込みにより、ソルガム区表層および次表層の物理性が改善されたと考えられる。

下層のA/Bw層(30~35cm)について、緑肥区は対照区と比較して、気相率および粗孔隙率が高くなった。

耕耘の影響は0~15cm深度と考えられるため、下層の改善効果は、ソルガムまたはダイコン根の伸長によるものだと考えられた。

透水係数に関して、対照区のA2層(6~11cm)とC2層(55~60cm)よりも、緑肥区のAp1層(6~11cm)とC1層(70~75cm)で透水性が高くなった。これは、孔隙率に関して得られた結果に起因しており、緑肥区の粗孔隙率の増加により透水性が改善されたと考えられた。

### 7.2.3. 土壌微細構造

本研究では、表層および次表層においては同深度の土壌薄片により比較し、下層においては、同層位の土壌薄片により比較した。

両処理区において一次鉱物(c)と細粒質画分(f)の比(c/f比)は、緑肥区のAp1(0-5cm)~A/Bw(35-40cm)で50:50、C2層(70-75cm)で80:20であり、対照区のA1層(0-5cm)~A/Bw層(35-40cm)で50:50、C1層(55-60cm)~C2(70-75cm)で80:20であり、両処理区に大きな違いは見られなかった。

c/f 相対分布は、緑肥区のAp1(0-5cm)~A/Bw(35-40cm)でダブルスペースポーフィリック、C2層(70-75cm)でクローズポーフィリックであり、対照区のA1層(0-5cm)~A/Bw層(35-40cm)でダブルスペースポーフィリック、C1層(55-60cm)、C2(70-75cm)でクローズポーフィリックであり、両処理区間で大きな違いは見られなかった。

微細構造は、緑肥区のAp1層(0-5cm,6-11cm)で軟粒状と小粒状の複合構造、Ap2層(20-25cm)で軟粒状構造、A/Bw層(35-40cm)で海綿状構造、C2層(70-75cm)でチャンネル孔隙を含むクラック構造が観察された。また、対照区では、A1、A2層(0-5cm,6-11cm①)で軟粒状と小粒状の複合構造、A2層(6-11cm②)で軟粒状構造、A/Bw層(35-40cm)で海綿状構造、C1層(55-60cm)、C2層(70-75cm)でチャンネル孔隙を含むクラック構造が観察された。緑肥区のAp1層(6-11cm)では軟粒状と小粒状の複合構造が観察されたのに対して、対照区のA2層(6-11cm)の一部では軟粒状構造が観察された。

ペッドの種類と発達程度については、緑肥区のAp1層(0-5cm,6-11cm)~A/Bw層(35-40cm)で軟粒状と小粒状が観察され、観察された全層において発達程度は強度であった。一方で、対照区では、A1層(0-5cm)~A/Bw層(30-35cm)において軟粒状と小粒状のペッドが観察されたものの、発達程度強度を示したのはA1層とA2層の一部のみであり、下層になるにつれて発達程度は低下する結果となった。

両区において、微細構造に関しては大きな差は見られなかったものの、構造の発達程度の結果も加味すると、表層と次表層(0-5cm, 6-11cm)においては、緑肥区のほうが構造が発達していると考えられる。これは、物理性実験で見られた傾向と一致しており、ソルガムおよびダイコン栽培における作物根伸長および耕耘によるソルガム残渣の鋤き込みによるものだと考えられる。

画像解析ソフトImage Jを用いた孔隙面積、孔隙面積割合の結果より、緑肥区は対照区と比較して、表層(0-5cm)を除いたすべての層で孔隙面積の増加が観察された。緑肥区で土壌構造の発達が見られた6-11cmと30-35cmの層では、対照区と比較して顕著に孔隙面積が増加し、特に30-35cmの層では、孔隙面積が2倍に増加した。さらに、耕耘による影響は0-15cm深度までと考えられる点から、緑肥区A/Bw層以下の下層における孔隙面積・割合の増加は、ソルガムおよびダイコン栽培における作物根伸長によるものだと考えられる。これらの土壌薄片の結果は、気相率や孔隙率の結果の傾向と一致した。

### 7.2.4. 土壌生物性

プロテアーゼ活性は対照区の表層(A1, A2層)と比べ、緑肥区の表層(Ap1, Ap2層)で高い数値を示した。一方、A/Bw~C2層ではプロテアーゼ活性が低く、検出限界以下となった。ホスホモノエステラ

一ゼ活性およびホスホジエステラーゼ活性は、対照区と比べ、緑肥区で表層から下層ともに増加傾向が認められた。また、ホスファターゼ活性は、下層よりも表層において処理区間の差が認められた。ATP 値では、対照区と比べ緑肥区の表層から下層で増加傾向が認められた。特に緑肥区表層の Ap1～Ap2 層で高い数値を示した。

全細菌＋放線菌数は対照区と比べ緑肥区の表層及び次表層（Ap1～A/Bw 層）で増加した。C1～C2 層は処理区間に差は認められなかった。全糸状菌数は対照区と比べ、緑肥区の A/Bw 層以外の表層及び下層（Ap1, Ap2, C1, C2 層）で増加した。リン溶解細菌＋放線菌数は、緑肥区の Ap1、Ap2 層、リン溶解糸状菌数は、緑肥区の Ap1 層で対照区の同層位と比較して高い傾向を示した。

2021 年 8 月 11 日に採取した土壌では、プロテアーゼ活性、ホスホジエステラーゼ活性、ATP 値、バイオマス C、バイオマス N、硝酸態窒素は、対照区に比べソルガムを施用した区で増加し、ソルガム施用年数が長い区で高くなる傾向があった。また、ソルガム-キャベツ 5～6 年区と比較すると、すき込み直後よりもすき込み 1 ヶ月後の方が値が高くなった。全糸状菌数は、ソルガム施用からの年数が長い区になるにつれて数値が高くなる傾向があった。ホスホモノエステラーゼ活性および全細菌＋放線菌数は、処理区に差が認められなかった。アンモニア態窒素は、ソルガム-ダイコン 2 年区で一番高い値となった。2021 年 9 月 6 日に採取した土壌では、ホスホモノエステラーゼ活性、ホスホジエステラーゼ活性、バイオマス C、バイオマス N で、対照区に比べ、ソルガムを施用した区で増加し、さらにソルガム施用年数が長い区で高くなる傾向があった。ATP 値、全細菌＋放線菌数は、対照区に比べソルガムを施用した区（2 年区、5～6 年区）で高くなったが、ソルガム施用年数では差がなかった。全糸状菌数には大きな変化が認められなかった。硝酸態窒素の風乾土、生土抽出の値とアンモニア態窒素の風乾土抽出の値ともに対照区に比べソルガムを施用した区で増加し、ソルガム施用年数が長い区で高くなる傾向があった。アンモニア態窒素の生土抽出の値は、対照区と比べソルガム-キャベツ 5～6 年区のみ差が認められた。

#### 7.2.5. 総括：緑肥ソルガム施用による 1 年間での土壌の諸性質の変化

いかす平塚圃場においてソルガム施用の導入により、植物の多量必須元素である硝酸態窒素、可給態リン酸のわずかな増加は見られた。しかし、硝酸態窒素は緑肥区および対照区とも大幅に基準値を下回っており、可給態リン酸は対照区で既に改善目標に達していた。そのため、わずか半年間の短い移行期間で慣行栽培に匹敵する収量を実現させていることに対する主な要因とは考えられなかった。生物性および物理性について、緑肥区で対照区と比較して表層の生物性（土壌酵素活性、ATP 値、土壌微生物数）が増加した。さらに、表層および次表層（0～5 cm、6～11 cm）の土壌微細構造が発達し、孔隙率の増加や仮比重の低下が認められた。また、下層土についても、ホスファターゼ活性や ATP 値が高くなり、30～40 cm の土壌微細構造が発達して孔隙率が増加した。従って、緑肥（ソルガム）およびダイコンの栽培と耕耘によるソルガム残渣のすき込みは、表層および下層土の物理性と生物性を早期に改善させ、耕作放棄地から有機農業実施農地への転換を、わずか半年間の短い移行期間で慣行栽培に匹敵する収量を実現させながら行うことが可能であると考えられた。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

本研究成果は、神奈川県平塚市にある株式会社いかすの圃場で実用しており、引き続き実証データを採取する。さらに、本研究の平塚圃場と同様の生物的土壌物理性改良システムは、冷涼な北海道名寄市および由仁町で実施しており、実用化に向けた一定の成果を得ている。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

宮古土壌の不攪乱コア栽培試験で得られた土壌微細形態観察試料を調整し、土壌微細構造の結果を明らかにし、土壌型で異なる傾向があるかどうか検討する。また、非生物的要因を解明する培養試験について、土壌の滅菌方法および廃菌床抽出液の抽出および希釈調整を検討しており、今後培養実験を行う予定である。

また、本研究により、宮古亜熱帯農場（富塩基土）と2018年に実施した農大厚木キャンパス圃場（黒ボク土）で同様のシイタケ廃菌床を使用したにも関わらず、土壌生物性について異なる傾向が認められた。今後は、さらにブラジルの熱帯土壌を検討し、土壌生物性を決定する土壌特性の詳細について検討する。

一方、実証試験については、神奈川県平塚市のいかす圃場で引き続き実証試験を行うとともに、新たにブラジルサンパウロ州の圃場においても実証試験を開始する予定である。

## 10. 公表した成果一覧

なし



# 2021年度 東京農業大学 博士支援テーマ重点化プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 須恵 雅之

## 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
オオムギ耐病性化合物グラミンの生合成に関する研究	3,000,000

## 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	須恵 雅之	応用生物科学部 農芸化学科・准教授	統括・グラミン生合成経路の解明
研究分担者	松島 芳隆	応用生物科学部 農芸化学科・教授	グラミン生合成基質の合成
	石川恵里加	応用生物科学研究科 農芸化学専攻・博士後期課程2年	グラミン生合成経路の解明
	金井 詞音	応用生物科学研究科 農芸化学専攻・博士前期課程2年	形質転換体を用いたグラミン生合成遺伝子の解析

## 3. 研究期間

2021年6月9日～2022年3月31日

## 4. 研究の背景（当初）

植物が生産する二次代謝産物は、病害虫に対する植物の自己防御物質としての機能のほか、医薬品、染料、香料など有用化合物のソースともなる。また、これまでに極めて多くの二次代謝産物が知られており、その構造・機能の多様性は植物の多様性の一因ともなっている。そのため、植物二次代謝産物に注目した育種は古くから行われ、それらの生合成について生化学、分子生物学的手法を用いた研究が多く行われている。

二次代謝生合成経路では、化合物の基本骨格の形成がまず重要なステップとなる。この過程では、環化、転位、炭素鎖の増加や減少、などが鍵となる反応であるが、多くの研究データが蓄積されている現在においても、いまだその機構が不明な代謝ステップが残されている。本研究の対象であるオオムギ二次代謝産物のグラミンもそのひとつである。グラミンは、オオムギの一部品種が特異的に生産蓄積するトリプトファン (Trp)由来の二次代謝化合物で、オオムギの耐病性に寄与している化合物である。グラミンは、Trp より生じたアミノメチルインドール(AMI)に *N*-メチルトランスフェラーゼ(HvNMT)が作用することにより生合成されるが、AMI から Trp が生成する過程でどのように炭素が短縮されるのかは不

明である(Fig 1)。

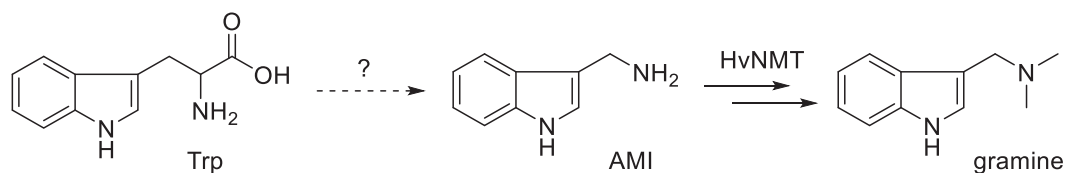


Fig 1. グラミンの生合成経路

当研究室で実施した安定同位体  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$  標識 Trp を用いたトレーサー試験により、グラミン生合成では Trp 側鎖アミノ基の脱離を経由しない減炭反応が起こっていることが強く示唆された。しかし、類似の反応を行う酵素はこれまでに知られていない。そこで、昨年度までに、グラミン生産能を指標にした RNA-seq による網羅的解析により、複数の候補遺伝子を取得し、そのうちの一つ(DN62993)を過剰発現させたシロイヌナズナで AMI の蓄積を確認したことから、DN62993 遺伝子が AMI 生合成に関与している可能性が示唆された。

## 5. 研究目的

グラミン生合成を担う遺伝子、酵素を特定し、グラミン生合成経路およびその機構を明らかにすることを目的として、本年度は、① オオムギと同じイネ科モデル植物のイネに DN62993 を導入してその代謝産物を測定することに加え、DN62993 のより詳細な機能解析を行うために、② 異種発現系を用いた DN62993 の *in vitro* 活性評価を実施した。また、DN62993 は一部のグラミン非生産品種でも遺伝子発現が確認されているが、なぜそれらの品種でグラミンが生産されないのかを明らかにするために、③ 様々なオオムギ品種から DN62993 遺伝子をクローニングし、その一次構造の比較および、*in vivo* と *in vitro* の両方で活性評価を実施した。

Trp-AMI 変換における減炭反応は極めて新規性の高い反応であるといえ、この過程の解明は医薬・農業など応用的分野だけでなく基礎科学分野においても価値がある。

## 6. 研究（実験）方法

### ① DN62993 遺伝子を導入したイネの作出

DN62993 および NMT 遺伝子をイネ発現用ベクターに組み込み、アグロバクテリウムを用いて胚盤由来カルスに遺伝子導入を行った。再分化誘導後、イネ中の二次代謝産物を LC/MS により解析した。

### ② ピキア酵母を宿主とした DN62993 組換えタンパク質の生産と活性評価

グラミン生産品種であるファイバースノウより単離した DN62993 (Fs62993) 遺伝子をピキア酵母 *Pichia pastoris* X-33 株に導入した。メタノール含有培地で Fs62993 タンパク質の発現を誘導した後にミクロソーム画分を調製した。抗 *c-Myc* 抗体を用いたウェスタンブロッティングにより、Fs62993 の発現を確認した。

得られたミクロソーム画分を用いて、Trp をはじめとした種々のインドール化合物と反応させ、反応生成物を LC/MS により解析した。

### ③ 様々なオオムギ品種における DN62993 の多型解析と、その機能の評価

種々のオオムギ栽培品種における DN62993 の構造と機能を解析するために、4 つのグラミン生産品種と 8 つのグラミン非生産品種より調製した cDNA を用いて遺伝子をクローニングし、その配列を品種間

で比較した。

また、これらの遺伝子について、Fs62993 と同様にシロイヌナズナ形質転換体の作出および *P. pastoris* における異種発現を行い、その機能評価を *in vitro* と *in vivo* の両方で実施した。

## 7. 研究成果

- ① Fig 2 で示す通り、DN62993 と NMT を導入したイネにおいて、シロイヌナズナと同様にグラミンおよび AMI およびグラミンの生産が認められたことから、DN62993 がグラミン生産に必須である Trp-AMI 間の反応に関与することが示された。

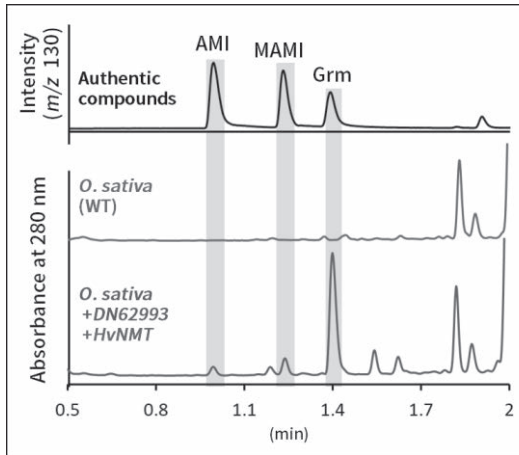


Fig 2.  
イネ形質転換体は AMI やグラミンを生産した

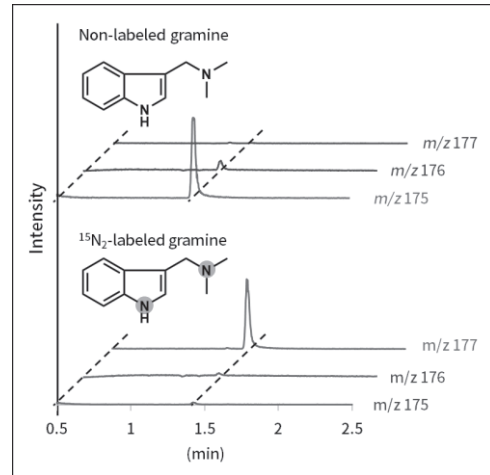


Fig 3.  
DN62993 と HvNMT を用いて、*in vitro* で Trp からグラミンを合成した

- ② 酵母 *P. pastoris* で DN62993 タンパク質を異種発現し、そこから調製したマイクロソーム画分と Trp を反応させたところ、AMI を生産することが示された。このことから、DN62993 の遺伝子産物が単独で Trp から AMI への反応を行っていることが示された。さらに、 $^{15}\text{N}_2$ -Trp から  $^{15}\text{N}_2$ -グラミン ( $m/z$  177) が生成されたことから (Fig 3)、DN62993 はアミノ基の脱離を伴わない Trp 側鎖の減炭反応を行っていることが強く示唆され、この機構として、これまでに知られていない分子内転位を触媒することが考えられた。

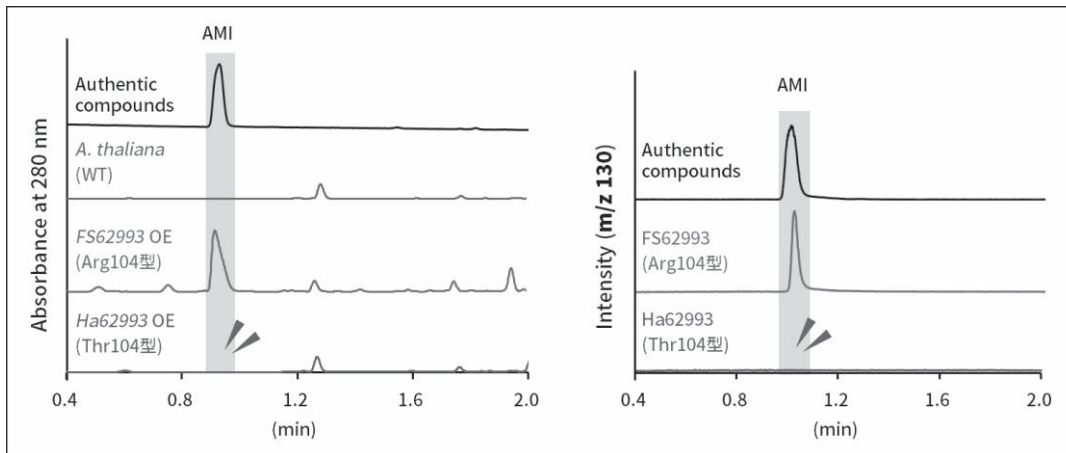


Fig 4. Thr104 型変異は 62993 を不活性にした

- ③ グラミンを生産しないオオムギ 8 品種のうち、リアルタイム PCR により DN62993 の増幅が確認されたものについてその cDNA の単離を行った。その結果、3 品種は遺伝子中に数百 bp の塩基挿入や 1 塩

基欠損が認められ、そのために適切なタンパク質翻訳が行われなかったことが明らかとなった。また、Fs62993 と同じサイズのタンパク質をコードしていた2つのグラミン非生産品種では、Fs62993 と比較して一塩基の変異が認められ、その結果として一箇所のアミノ酸変異(R104T)が起きていることが明らかとなった。この変異(Thr104 型)に関してその機能の評価を行ったところ、Thr104 型 DN62993 は酵素活性を示さなかったことから、一箇所のアミノ酸変異により Grm 生産能を失っていることが明らかとなり、このアミノ酸残基 (Arg104) が DN62993 の機能発現において必須の機能を果たしていることが示された(Fig 4)。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

現在、実用化された研究成果はない。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

DN62993 がアミノ基の脱離を伴わない減炭反応を触媒することが示唆されたが、この反応は前例のない反応であるため詳細な反応機構が不明である。この新規反応の全容解明のためには、反応機構を明らかにすることは必須である。反応機構予測の手がかりを得るため、Trp 類縁体をはじめとした種々の化合物に対する作用を評価することで、より詳細な DN62993 の基質特異性を明らかにする。また、その過程で阻害剤となりうる化合物の探索も行う。さらに、ホモロジーモデリングによる立体構造予測に基づき、DN62993 の活性部位の周辺のアミノ酸残基に変異を導入し、DN62993 活性への影響を調査する。

作出した形質転換体の病害抵抗性について検討する必要があるため、病原菌などを感染させて耐病性の評価を行う。現在、CaMV35S プロモーターを用いて DN62993 の過剰発現を行っているが、ここで得られた形質転換体は、野生株に比べて生育の不良が認められた。そこで、遺伝子の発現部位・時期をコントロールするために、必要に応じてプロモーターの変更を行う。

## 10. 公表した成果一覧

### 学会発表等

- 1) 石川恵里加、金井詞音、須恵雅之 オオムギにおけるグラミン生合成遺伝子の単離と解析、日本農芸化学会 2022 年度大会、講演番号 2I01-02
- 2) 金井詞音、石川恵里加、須恵雅之 オオムギにおけるグラミン生合成遺伝子の探索と解析、日本農芸化学会 2022 年度大会、講演番号 2I01-01

# 2021年度 東京農業大学 博士支援テーマ重点化プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 松島 芳隆

## 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
除草活性を有する抗生物質 Phosphonothrixin の合成研究	3,000,000

## 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	松島 芳隆	応用生物科学部 農芸化学科・教授	研究全体の実施・統括
研究分担者	中村 皓毅	応用生物科学研究科 農芸化学専攻・博士後期課程2年	合成研究の実施

## 3. 研究期間

2021年6月9日～2022年3月31日

## 4. 研究の背景（当初）

炭素—リン結合を有する C-P 化合物はリン酸エステルやカルボン酸を模倣 (mimicking) することで代謝酵素を阻害し、特異的な生物活性を示す。このことから医薬、農薬としての利用が期待されている。本研究課題のターゲット化合物である phosphonothrixin (PTX) は放線菌 *Saccharothrix* sp. ST-888 から単離された除草活性を示すホスホン酸である<sup>[1,2]</sup>。天然型の S 体を葉面投与した場合にのみ非選択的に葉にクロロシスを誘発することは分かっているが、その詳細なメカニズムは解明されていない。一般的な白化型除草剤とは異なる構造的特徴から、新たなターゲット酵素の阻害が期待されている。また、テルペノイド生合成に関与する非メバロン酸経路の基質である 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate に構造的に類似している点は興味深い特徴である。生合成経路に関する研究も行われており、生合成遺伝子クラスターの同定と推定生合成経路が報告されている<sup>[3]</sup>。

PTX の除草メカニズムの解明のためには継続的な化合物供給が必要である。しかし、化学合成<sup>[4]</sup>はいくつか報告されているが、光学活性体合成<sup>[4b]</sup>に関しては原料の調製が容易でなく再現性が取れないということが報告がされている<sup>[4c]</sup>。さらに、ST-888 株は PTX 生産能を失ってしまったため、現在化合物の入手は困難である。

[1] E. Takahashi, T. Kimura, K. Nakamura, M. Arahira, M. Iida, *J. Antibiot.*, **1995**, *48*, 1124–1129.

[2] T. Kimura, K. Nakamura, E. Takahashi, *J. Antibiot.*, **1995**, *48*, 1130–1133.

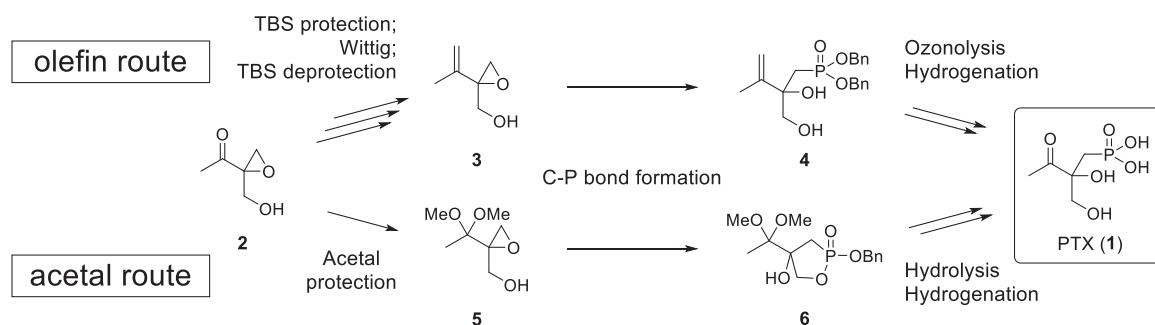
- [3] J. Lin, M. Nishiyama, T. Kuzuyama, *J. Antibiot.*, **2015**, *68*, 357–359.  
 [4] (a) K. Nakamura, T. Kimura, H. Kanno, E. Takahashi, *J. Antibiot.*, **1995**, *48*, 1134–1137.  
 (b) K. Nakamura, S. Yamamura, *Tetrahedron Lett.*, **1997**, *38*, 437–438.  
 (c) S. Fields, *Tetrahedron Lett.*, **1998**, *39*, 6621–6624.  
 (d) R. Chênevert, M. Simard, J. Bergeron, M. Dasser, *Tetrahedron Asymmetry*, **2004**, *15*, 1889–1892.

## 5. 研究目的

新規除草剤のリード化合物として期待されている PTX に関して、効率的な光学活性体合成経路を新たに確立することで、除草メカニズムの解明および新規除草剤開発に貢献すること。

## 6. 研究（実験）方法

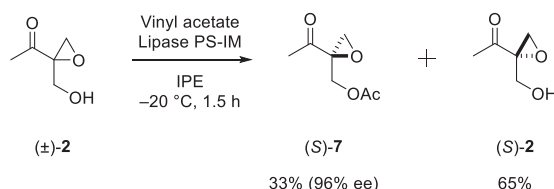
我々が確立した二通りのラセミ体合成経路（下図）を光学活性体合成に応用するために、高い光学純度でエポキシアルコール **2**（もしくは **3** または **5**）を調製する。その手法として不斉エポキシ化、ジアステレオマー法による光学分割、酵素法による速度論的光学分割を検討する。



## 7. 研究成果

検討の結果、リパーゼを用いたアセチル交換反応による速度論的光学分割が最も効果的であることが分かった。ラセミ体のエポキシアルコール **2** に対してリパーゼ PS「アマノ」IM を用いてアセチル化を行ったところ、変換率 3割強のとき 96% ee のエナンチオマー過剰率で所望の立体配置を有するアセチル化体 (*S*)-**7** が得られた (Scheme 1)。

Scheme 1. Lipase を用いた速度論的光学分割

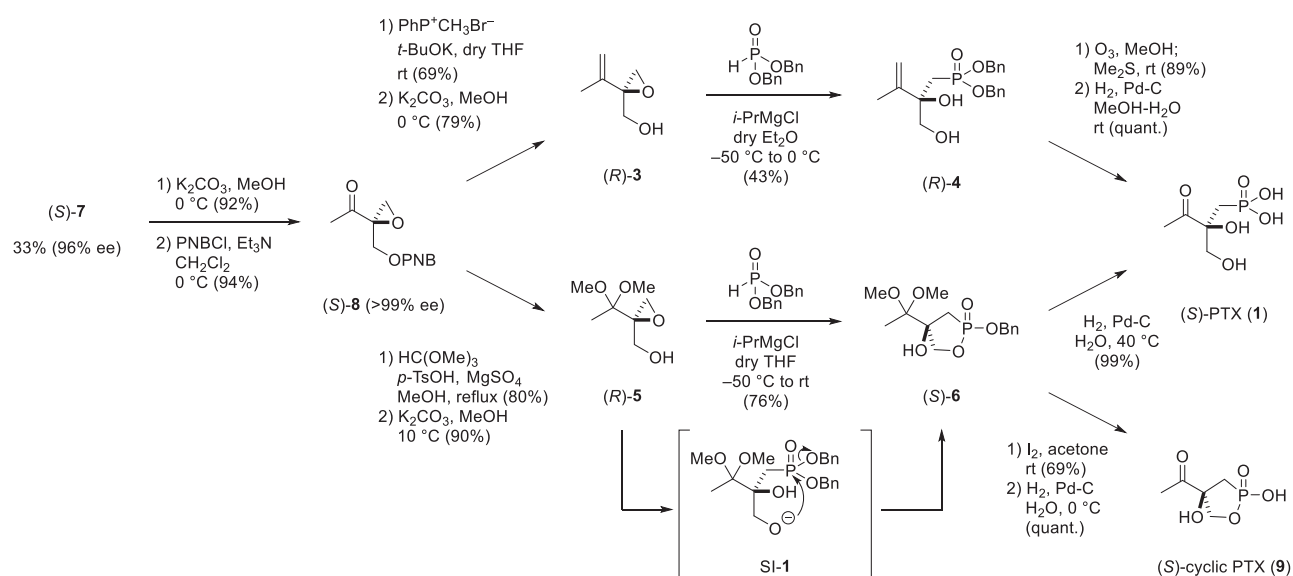


得られた (*S*)-**7** をメタノリシスと続く *p*-nitrobenzoyl chloride (PNBCl) によるエステル化によって PNB エステル (*S*)-**8** へと変換し、再結晶を行うことで >99% ee まで光学純度を高めることができた (Scheme 2)。得られた (*S*)-**8** に対して *t*-BuOK を塩基として用いた Wittig 反応によってケトン基を *exo*-オレフィンへと変換し、既知の三工程を経て目的とする (*S*)-PTX (**1**)へと導いた。

また、PNB エステル (S)-**8** のケトン基をアセタール保護した後、メタノリシスを行うことで、アセタール (R)-**5** を得た。その後、鍵反応である C-P 結合形成反応を行ったところ、エポキシドの開環により C-P を導入した後、連続的に環化が引き起こされ、phostone と称される環状ホスホン酸エステル (S)-**6** を得た。意図せず得られた (S)-phostone **6** は 40 °C で加水素分解を行うことで、速やかにベンジル (Bn) 基が除去され、得られたホスホン酸の酸性度を利用してゆっくりと phostone 構造の開環が進行した。これにより目的とする (S)-PTX (**1**) を得ることができた。

一方、(S)-phostone **6** に対するヨウ素を触媒に用いたアセトンとのアセタール交換反応を行った後、最終的に 0 °C で加水素分解を行うことで phostone 構造を有したまま Bn 基の除去を行うことができた。これにより、PTX の環化体ともいえる (S)-cyclic PTX (**9**) を合成することができた。

Scheme 2. (S)-PTX (**1**) および (S)-cyclic PTX (**9**) の合成



## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

興味深い除草メカニズム解明に向け、活性試験などのためにサンプル供与を行っている（東京大学大学院農学生命科学研究科分子育種学研究室・葛山智久教授、東京農業大学生命科学部バイオサイエンス学科機能性分子解析学研究室・矢嶋俊介教授との共同研究）。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

本研究で合成することができた (S)-PTX (**1**) と (S)-cyclic PTX (**9**) の除草活性に違いがあるかどうかは興味深い観点である。そのため、実際にシロイヌナズナなどの植物体に化合物を葉面投与することで除草活性を評価する予定である。また、除草活性の構造活性相関や、新たに発見した環化反応がどのような基質で起こるのかについて解明していくためにも、種々の PTX 類縁体合成を行っていく予定である。

## 10. 公表した成果一覧

### 学術論文

- 1) Y. Matsushima, K. Nakamura, *Results in Chemistry*, **2021**, 3, 100251.

### 学会発表

- 1) 中村皓毅, 松島芳隆. 除草活性を有する抗生物質ホスホトリキシンの光学活性体合成, 農芸化学会, 4E08-07, 京都 (オンライン), 2022年3月



# 2021年度 東京農業大学 博士支援テーマ重点化プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 原 珠里

## 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
ソーシャル・メディア上の農業者ネットワークを活用した女性活躍推進に関する研究	3,000,000

## 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	原 珠里	国際食料情報学部 国際食農科学科・教授	研究の総括と総合化
研究分担者	稲垣 京子	農学研究科 農業経済学専攻・博士後期課程2年	調査準備と実施、分析

## 3. 研究期間

2021年6月9日～2022年3月31日

## 4. 研究の背景

農業・農村において女性は、地域の女性農業者組織や公的機関の職員などの地域を基盤とした人的ネットワーク（以下、ネットワーク）から情報やサポートを得てきた。しかし人口減少や行政改革などを背景として、地域を基盤としたサポートの獲得が困難になりつつある。また農業関連の地域組織として、JA や農業委員会等が見られるものの、男性中心の組織として機能していることが現状である。

一方近年は、ソーシャル・メディアの普及に伴い、地域や性別を超えたネットワーク形成が可能な時代へと変化している。ソーシャル・メディアを使用し、オンライン上で農業者とのネットワークが形成可能になった現在、女性農業者が①ソーシャル・メディア上のネットワークでソーシャル・キャピタル（以下、SC）を形成できるのか、②ソーシャル・メディア上のネットワークから農業に関するどのようなサポートが獲得できるのかを解明することは、農業分野における女性活躍促進および男女平等な組織構造への変革の一方策となると考える。

## 5. 研究目的

本研究では、農業者がソーシャル・メディア上でネットワーク形成をするとき、そのジェンダー構成が『女性のみ、性別で区別されない』という2つの特徴を有するネットワークのうち、どちらに所属す

ることが女性農業者の SC 形成とサポート獲得により貢献するのかを明らかにする。

本研究で使用する用語について触れておく。まずジェンダー構成は「女性のみ」と「性別で区別しない」ネットワークとした。また、SC とは、ネットワークおよびそこから得られる信頼と互酬性を構成要素とする、人々の間に形成される目に見えない資本である。その形成は、経済活動の発展に貢献するものとしても注目されている。加えてソーシャル・サポートとは、個人を取巻く他者（家族・友人・同僚・専門家など）を通じて獲得できる多様な支援のことである。つまり、豊かな SC を形成することが、多くのソーシャル・サポートの獲得につながると理解できる。

具体的な研究計画は以下の通りである。

#### 調査1 Web アンケート調査

農業者ネットワークにおける SC 形成およびサポート獲得状況の実態把握を目的とした Web アンケート調査を実施する。ネットワークの特徴ごとに農業者ネットワークを Facebook 上から2つ以上選定し、各農業者ネットワーク Web アンケート調査を実施する。Web アンケート調査を実施する前に、代表者に対するヒアリング調査を行う。

#### 調査2 女性農業者に対するヒアリング調査

ソーシャル・メディア上の農業者ネットワークから得られる具体的な情報やサポートの内容についてヒアリング調査を実施する。ヒアリングの対象は、Web アンケート調査に回答した女性農業者とする。

#### 調査3 イギリスのソーシャル・メディアを利用した農業者ネットワークに関する調査

イギリスは、日本と同様の島国であり農業は男性中心的産業でありながらも積極的に女性の農業経営参画を促している国の一つである。そこで、イギリスにおいても女性農業者の活躍促進にソーシャル・メディアが活用されているのかどうか、日本国で実施したアンケート調査の結果を元に、ヒアリング調査を実施する。まず、イギリスの農業者ネットワークについて把握するため、EU の女性農業者組織に詳しいニューカッスル大学の Sally Shortall 教授にヒアリングを実施する。

## 6. 研究方法

本研究では、上述の通り3つの調査を実施する。ここでは、調査ごとの研究方法を説明する。

#### 調査1 Web アンケート調査

Web アンケート調査では、ソーシャル・メディア上の農業者ネットワークにおける女性農業者の SC 形成とサポート獲得について明らかにする。

SC の獲得状況については、世界価値観調査の質問をもとに農業者ネットワーク「信頼」と「互酬性」を測る。サポートの獲得状況については、一般に多く用いられている House(1985)の4種類のサポート指標を用いる。具体的なサポートの種類は、情動的サポート、道具的サポート、評価的サポート、情緒的サポートの4つである。

Web アンケート調査の主な項目は、以下の通りである；①回答者の属性、②ソーシャル・メディアの利用状況、③ソーシャル・キャピタルについて、④サポート獲得について、⑤自由記入欄。

調査対象は、Facebook を利用している農業者ネットワークを対象として選定した。農業者のソーシャ

ル・メディア利用状況について探求した稲垣・原（2020）では、我が国の農業者の多くが Facebook を利用している傾向を指摘している。

具体的な対象は、以下の4つである（表1）。

表1：調査対象とした農業者ネットワークの特徴

No.	ネットワーク名	ジェンダー構成	対象とする範囲	目的
1	農業女子プロジェクト (農業女子PJ)	女性のみ	全国	女性農業者の能力向上/女性ならではの視点の発見と活用/若手女性の担い手獲得
2	NJ 北信	女性のみ	地域（長野県）	女性農業者同士の情報交換（長野県内）/技術・能力向上/友人・知人作りなど
3	農の会	性別を問わない	全国	農業者同士の情報交換/農業技術向上/消費者との交流/農業に関連する情報発信など
4	秋田の農業	性別を問わない	地域（秋田県）	秋田の農業に関する情報交換/情報発信/消費者との関係構築/

#### 調査2 女性農業者に対するヒアリング調査

ソーシャル・メディアを利用して得られる情報とサポートの具体的内容を明らかにするため、女性農業者を対象とした半構造化ヒアリング調査を実施する。調査は、対象者一人当たり 1.5 時間～2 時間程度とした。

ヒアリング内容は、アンケート調査の自由記入欄のテキストマイニング分析から抽出したキーワードを聞き取り項目として設定する。アンケート調査の自由記入欄の分析から、以下のキーワードを抽出した。

利点：①情報獲得、②情報発信、③顧客獲得

課題：①個人情報、②利用時間、③利用方法

調査対象は、調査1のアンケート調査の分析結果を踏まえ、女性にとってサポートが得られやすい農業者組織に所属する女性農業者から聞き取り調査を実施する。その際に選定する対象者らは「アンケート調査にて聞き取り調査に協力しても良い」とした回答者の中から、年齢や居住地、参入経緯に偏りがないよう抽出する。

#### 調査3 イギリスのソーシャル・メディアを利用した農業者ネットワークに関する調査

調査1と調査2の結果を元に、国外におけるソーシャル・メディアを活用した女性農業者のネットワーク形成の状況とその意義に関する調査を実施した。調査は、イギリスの農村女性研究に取り組む Newcastle University の Sally Shortall 教授を対象に、3時間のヒアリングを実施した。

主なヒアリング内容は、以下3点である。

- 1) イギリスの農業者ネットワークとソーシャル・メディアの利用状況
- 2) 日本とイングランドの女性農業者ネットワーク構成の差異
- 3) イギリスの女性のみで構成される農業者ネットワークの意義と課題

## 7. 研究成果

3つの調査の結果について、それぞれの調査ごとに説明する。

### 調査1 Web アンケート調査

#### 1) 各農業者ネットワークの特徴

まず、各農業者ネットワークの年齢層と男女の割合について概観する。

図1は、各農業者グループの年齢層を示したものである。まず「平均」をみると、40代が最も多いことがわかる。性別で区別しない「農の会」の年齢層では40代が最も多く、「秋田の農業」では60代が最も多い。女性のみの農業者ネットワークについてみると、「農業女子PJ」では40代が最も多く、「NJ北信」では30代が最も多くなっている。

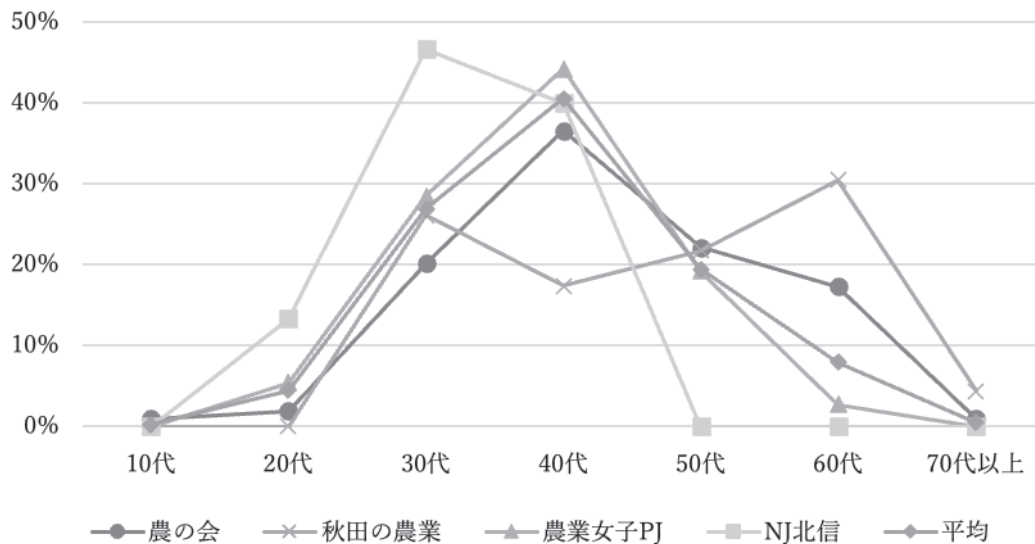


図1：各農業者グループの年齢層

表3：農業者ネットワークごとに見る回答者の男女の割合

	女性	男性
農の会	21.2%	78.8%
秋田の農業	13.0%	87.0%
農業女子PJ	100.0%	0.0%
NJ北信	100.0%	0.0%
合計	74.6%	25.4%

次に、各農業者ネットワークの男女構成について確認する（表3）。

「農の会」および「秋田の農業」は参加者を性別で区別しない農業者グループであり、両グループとも男性回答者の割合が高い傾向にある。一方、「農業女子プロジェクト」および「NJ北信」は参加者を

女性だけに制限しているため、両グループとも回答者は100%女性である。

## 2) SC 形成の特徴

ここでは、女性農業者のSC形成の特徴に関する結果についてみていく。

まず、世界価値観調査のSC調査で用いられる質問文をもとに、信頼については「ソーシャル・メディア上の【対面したことのない】農業者ネットワークのメンバーは『だいたいにおいて信用できる』と思いますか、それとも『用心するに越したことはない』とおもいますか?」、互酬性については「ソーシャル・メディア上の【対面したことのない】農業者ネットワークのメンバーは『メンバーを助ければ、今度は自分が困っているとき誰かが助けてくれる』と思いますか?」という質問を設定し回答を求めた。

信頼についてみると、女性だけのネットワークの方が性別で区別しないネットワークに比べ信頼が形成しやすいことがわかる。女性だけのネットワークでは「用心することに越したことはない」よりも「だいたい信用できる」を選択した割合が多い傾向が見られた。性別で区別しないネットワークでは「だいたい信用できる」よりも、「用心することに越したことはない」を選択した回答者の方が多い傾向が見られた。互酬性についてみると、女性だけの農業者ネットワークは性別で区別しない農業者ネットワークよりも互酬性が機能しやすい傾向が見られた。

以上から、女性のみで構成される農業者ネットワークの方が、女性農業者にとってSCが形成しやすい傾向が確認された。

## 3) ソーシャル・メディア上の農業者ネットワークから得られるサポートの特徴

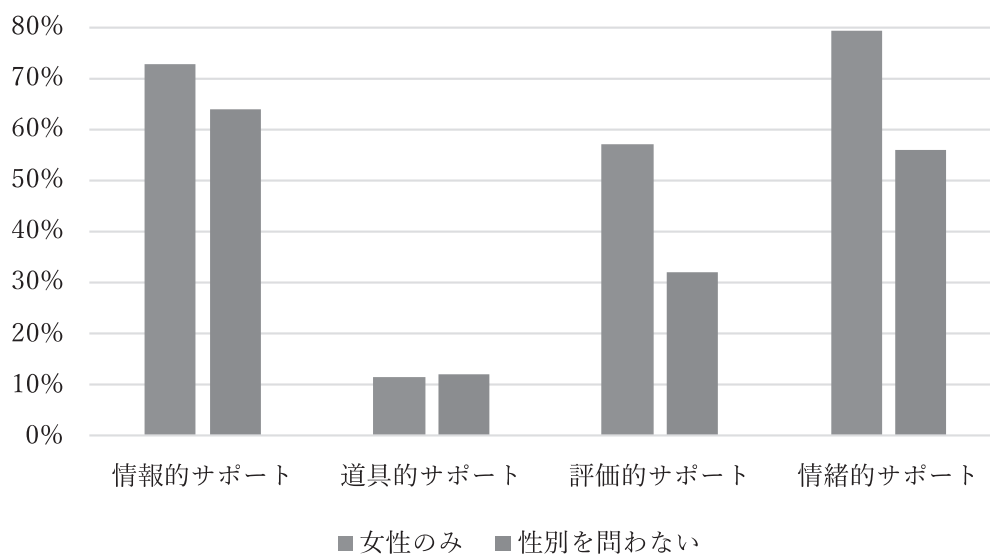


図2：農業者ネットワークから得られるソーシャル・サポート

注：それぞれのサポートについて「そう思う」「ややそう思う」

「あまりそう思わない」「そう思わない」の4段階で回答を得た結果を示している。

図2は、女性農業者がソーシャル・メディア上の農業者ネットワークから得られるサポートについて示したものである。「情報的サポート」と「道具的サポート」については、ジェンダー構成によって大きな差は見られなかった。一方で「評価的サポート」と「情緒的サポート」については、女性だけの農

業者ネットワークで「そう思う」と「ややそう思う」を選択した回答者が多くみられた。

以上から、ソーシャル・メディア上の農業者ネットワークのうち、女性のみに参加者が限定されていることによって評価や情緒などのサポートが得やすい特徴が明らかとなった。

## 調査2 女性農業者に対するヒアリング調査

調査1の結果から、ソーシャル・メディアを利用している女性のみ農業者ネットワークは、女性にとってサポートが獲得しやすい環境であることが明らかとなった。そこで、女性のみ農業者ネットワークに所属する6名の女性農業者に対するヒアリング調査を実施した。

調査対象は、調査1のアンケート調査で回答を得られた、農業女子プロジェクト（以下、農業女子PJ）のメンバーである。対象とした6名の女性農業者の概要を表2に示した。対象者らは「アンケート調査にて聞き取り調査に協力しても良い」とした回答者の中から、年齢や居住地、参入経緯に偏りがないよう抽出した。

表2：ヒアリング調査対象者の概要

	A氏	B氏	C氏	D氏	E氏	F氏
年齢	40代	40代	30代	40代	40代	20代
居住地	福岡県	福島県	広島県	山形県	奈良県	三重県
主な作目	野菜	果樹	果樹・野菜	果樹	花き・野菜	水稻
参入経緯	婚姻を機	婚姻を機	婚姻を機	実親の経営	実親の経営	新規参入
最終的意思決定権を有する部門	農産加工/広報/販売/経理・会計/労務管理	農産加工/広報/販売/経理・会計/労務管理	広報/経理・会計	農産加工/広報/経理・会計	農業生産/広報/販売	農業生産/農産加工/広報/販売/経理・会計/労務管理
主な販路	個別/イベント	個別/直売所	個別/ネット	個別/ネット	直売所	ネット

### 1) 女性農業者がソーシャル・メディアを利用することで得られるサポートの内容

女性農業者に対する半構造化ヒアリング調査では、女性農業者がソーシャル・メディアを利用することの利点と課題について、抽出したキーワードをもとに聞き取りを実施した。その結果、ソーシャル・メディアを利用することで得られる具体的なソーシャル・サポートの内容として以下の点が明らかとなった。

第一に、情動的サポートとして地域が離れていることにより栽培技術や他地域の商品を真似し合うなど、情報を相互に提供しあっている実態が明らかになった。対面の地域農業者ネットワークは、組織構成員が経営主を中心である。女性農業者が対面のネットワークから農業に関する情報は得られにくいと考えられる。

第二に、道具的サポートとして情報を発信することによって顧客の獲得だけでなく、ソーシャル・メディア上で短期アルバイトを募ることにより労働力の確保に貢献していることが明らかとなった。

第三に、女性のみネットワークの重要性として情緒的サポートの獲得に貢献している様子が明らかとなった。特に、六次産業化等の相談がしやすいことや参考になるといった発言が多く窺えた。

## 2) まとめ

アンケート調査および聞き取り調査の結果から、以下の点についてソーシャル・メディアを利用して女性のみの農業者ネットワークを形成することの意義と課題が明らかとなった。

### ① 利点

- ・居住地から距離が離れた相手とのやりとりを通じて農業経営に役立つ高度な情報を入手している（情動的サポート）
- ・ソーシャル・メディアを利用して労働人材の発見や新たな顧客を発見し、経営に直接的な利益をもたらすことで家族経営体内でのエンパワーメントを実現している（道具的サポート）
- ・女性のみであることで発言しやすく相談しやすい場となっている（情緒的サポート）

### ② 課題

- ・ソーシャル・メディアを利用し負担が増えることによって、生活と仕事の両立が困難になっている
- ・ソーシャル・メディアを利用することに対して家族からの理解が得られにくい
- ・写真等の投稿など個人情報等の流出に配慮する必要がある

## 調査3 イギリスのソーシャル・メディアを利用した農業者ネットワークに関する調査

### 1) 日本とイングランドの女性農業者ネットワーク構成の差異

比較のためまず、日本の女性農業者ネットワークについて説明する。日本では公的機関が女性農業者ネットワークの形成に寄与することが多く、さまざまな面で公的なサポートが得られる仕組みとなっている。現在は、農林水産省が「農業女子プロジェクト」を管理し、各都道府県庁や農林水産省の地方部署が地域ごとの女性農業者ネットワーク形成に積極的な姿勢である。

イングランドの女性農業者ネットワーク支援では、女性のみを支援する目立った公的施策はないことが明らかとなった。これに関して Shortall 教授は、イングランドには National Farmers Union (以下、NFU) と呼ばれる農業者組織が存在し、その一部に女性農業者組織があると述べている。NFU とは政府が管理しているわけではなく、農業者らが主体的に運営する団体であり、農業の栽培から販売まで幅広い情報提供を行なっている。また NFU には、地域（県域規模）の部署が存在し、地域に特化した情報発信・共有も実施している。加えて、NFU とは別に地域の農業者組織を形成している事例もあるが、女性のみのネットワークではなく女性部として存在している。

一方で、ソーシャル・メディア上には女性を中心に形成されている自主的な女性農業者ネットワークが存在する。また、それらの女性農業者ネットワークには男性もアクセスできる場合が多い点で、日本の女性組織とは異なる性質を有している。

さらに、オンラインという環境を活用し、同じ言語圏（アメリカ、オーストラリアなど）や EU 圏（オランダ、ドイツ、スペイン等）の女性農業者と交流し情報交換をしていることも明らかとなった。日本とイギリスは島国という点で共通しているが、日本は隣国や他国と異なる独自の言語を常用しているため、国際的なネットワーク形成では遅れをとっていることが明らかとなった。

### 2) 女性のみのネットワークの意義と課題

上述のように、イングランドでは女性のみの農業者ネットワークは日本に比べ少ないものの、女性農業者中心のネットワークが存在することが明らかになった。女性のみの農業者ネットワークの意義につ

いて Shortall 教授は、ネットワークへのアクセスのしやすさに意義があると述べた。また、女性農業者が農業者ネットワークにアクセスする際の窓口として、ソーシャル・メディアが契機となっていることも指摘している。

Shortall 教授は、イングランドの農業者ネットワークも日本と同様に構成員が男性中心であり、女性の希望に沿った情報が得にくいことや少数派であることの精神的負担について指摘した。女性の希望に沿った情報とは、女性に合った農業に関する知識のレベルに合った情報だけでなく、男性に比べ女性は環境や動物愛護に配慮した新たな農法に関する情報を積極的に入手する傾向にあると Shortall 教授は指摘している。

一方で Shortall 教授は、一定以上農業に関する知識・理解が深まった女性農業者は、男性中心のネットワークにも参加することが望ましいと考えている。これは、女性中心に構成される農業者ネットワークは、男性中心的な農業者ネットワーク参加するための段階的な措置と捉えることが重要であると言うことである。

### 3) まとめ

イングランドにおける女性農業者ネットワークの構成は日本と異なるものの、ソーシャル・メディア上の女性を中心とする農業者ネットワークから情報やサポートを獲得し農業経営の向上や自己実現に寄与していることは共通する点と言える。また Shortall 教授との議論から、女性農業者ネットワーク形成は、男女平等な農業者組織の実現に向けた第一歩であると言う認識を持つことができた。

一方で、女性農業者が男性中心に構成される農業者ネットワーク組織に参加するために身につけるべきことは何かを熟考していくことが求められる。具体的には以下の点が考えられる。

- ① 男性農業者はどのような知識・技術を習得していることで他者を認めているのか
- ② 女性農業者が男性中心のネットワークに所属する際の精神的負担を軽減する方法はあるのか
- ③ 成功事例を通じた女性農業者が男性中心のネットワークに所属し始めたタイミングの調査

## 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

今回の調査は、女性に対するソーシャル・メディアを利用した農業者ネットワークの効果を探求した。しかし、ソーシャル・メディア上の農業者ネットワークが男性に与える影響については確認できていない。今後の調査では、男性農業者に対するヒアリング調査を通じて、ソーシャル・メディア利用の目的や得られる情報の内容において女性との差異があるのかを確認したいと考えている。

さらに本研究を通じて、他国では国際的な農業者ネットワークの形成を通じて女性農業者が情報を入手していることが明らかとなった。しかし、国際的な農業者ネットワークからどのような情報やサポートが獲得できるのかは不確かである。他国の農業者とネットワーク形成をすることで、国内では得られない情報やサポートが入手できるのかアンケート調査やヒアリング調査を通じて明らかにすることは今後の課題である。



## 10. 公表した成果一覧

### 学術論文

- 1) 稲垣京子・原 珠里 (2021) 「ソーシャル・メディアを利用した女性農業者の社会関係資本形成：閉鎖的ネットワークから得られるサポートに注目して」『農業経済研究』農業経済学会 93(3), 319-324.

### その他

- 1) 稲垣京子・原 珠里 (2021) 「農業女子プロジェクトメンバーにとってのソーシャル・メディア利用の意義」『2021年度日本農村生活学会（第69回大会）』（口頭報告）
- 2) 稲垣京子 「ソーシャル・メディアを利用した女性農業者のネットワーク形成の意義と課題」『2021年度東京農業大学大学院生研究発表会』（ポスター発表）

# 2021年度 東京農業大学 持続可能な農業研究プロジェクト

## 研究成果報告書

研究代表者 トウ ナロン

### 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
有機栽培における微生物燃料電池技術効果の検証	1,600,000

### 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	トウ ナロン	地域環境科学部 生産環境工学科・ 准教授	研究全般

### 3. 研究期間

2021年6月9日～2022年3月31日（3年計画の1年目）

### 4. 研究の背景（当初）

近年では発酵生産分野において微生物を選択的に活性化させ、生産性を向上させる電気培養技術が着目されている。電気培養技術は好気性と嫌気性に依存せず、電極を通じて電流を流すことで微生物の呼吸に必要な酸化還元物質を供給できる技術である。電気培養技術による微生物の呼吸促進作用や代謝制御作用の効果が確認されているが、発酵生産分野において実用的な応用事例がなく、食料生産分野においても応用事例が報告されていない。

研究代表者は簡易な設備、小労力、かつ効率の高い微生物燃料電池技術（MFCT）の開発に成功しており、MFCTによる硫化水素の除去や土壌の還元性の改善、堆積泥内微生物の活性化、底生生物の生息回復などを明らかにしてきた。また、MFCTは牡蠣養殖場の底質・水質保全や下水方流口付近に堆積する汚泥の浄化に適用されており、実用性の高い技術である。MFCTは電気培養技術と多くの共通点があり、電気培養技術と同様に微生物条件の制御効果があると期待できる。これまでの実用的な研究実績から、MFCTは有機栽培における微生物の条件を制御できると確信している。しかしながら、食料生産分野においてMFCTの応用事例がない。

### 5. 研究目的

本研究では、有機栽培におけるMFCTの効果を解明し、MFCTを適用した農地土壌における作物の生産性の向上を評価することを目的としている（図-1）。具体的には、①養分生成と微生物の活性化（2021と2022年度）、および②作物の成長に対するMFCTの働きを解明する（2023年度）。本年度では、当初

計画した 2021 と 2022 年度の研究目標を達成しており、当初計画より研究が進行している。

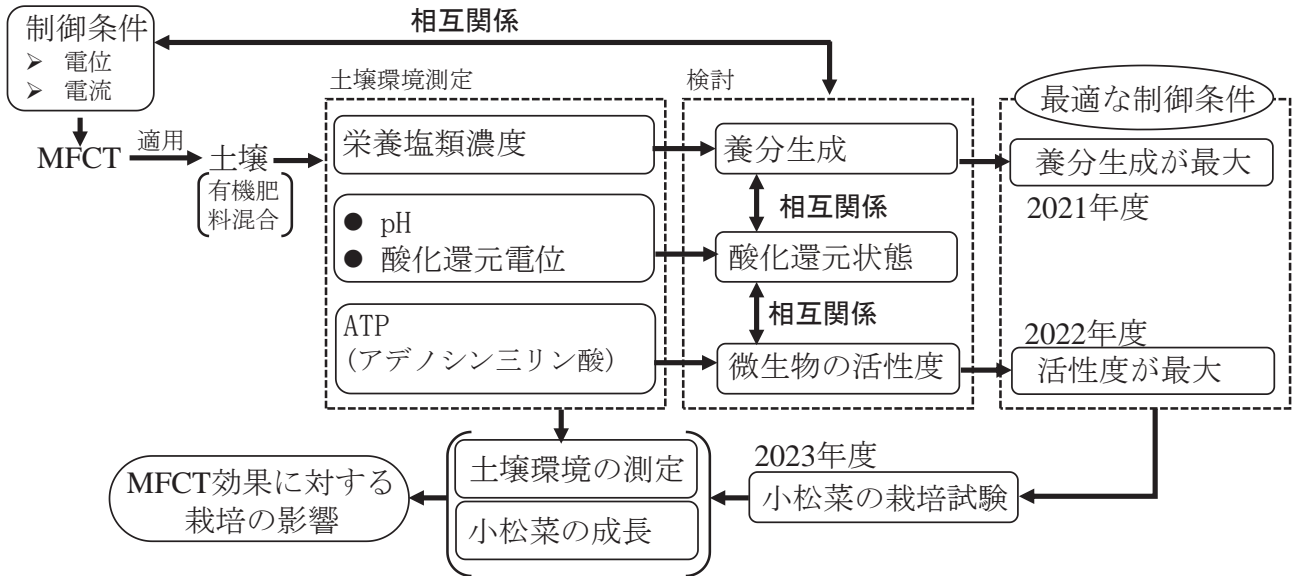


図-1 本研究の大まかな流れ

## 6. 研究（実験）方法

実験は図-2 に示した装置で行った。実験に用いた土壌は牛糞堆肥を混合した黒土（堆肥の混合率が47%）であった。土壌に酸化と還元反応用の電極（ブラシ型、面積が 0.02 m<sup>2</sup>）を設置し、通電を行った。電極に使用した材料は 10 cm×20 cm のカーボンクロス（News Company, PL200E）であった。なお、電極性能を向上させるために、カーボンクロスを 500°C-2 時間燃焼した後、カーボン繊維電極を作成した（図-2、右下写真）。制御回路の導線としてチタン線（ニラコ, TI-451465）が用いられた。

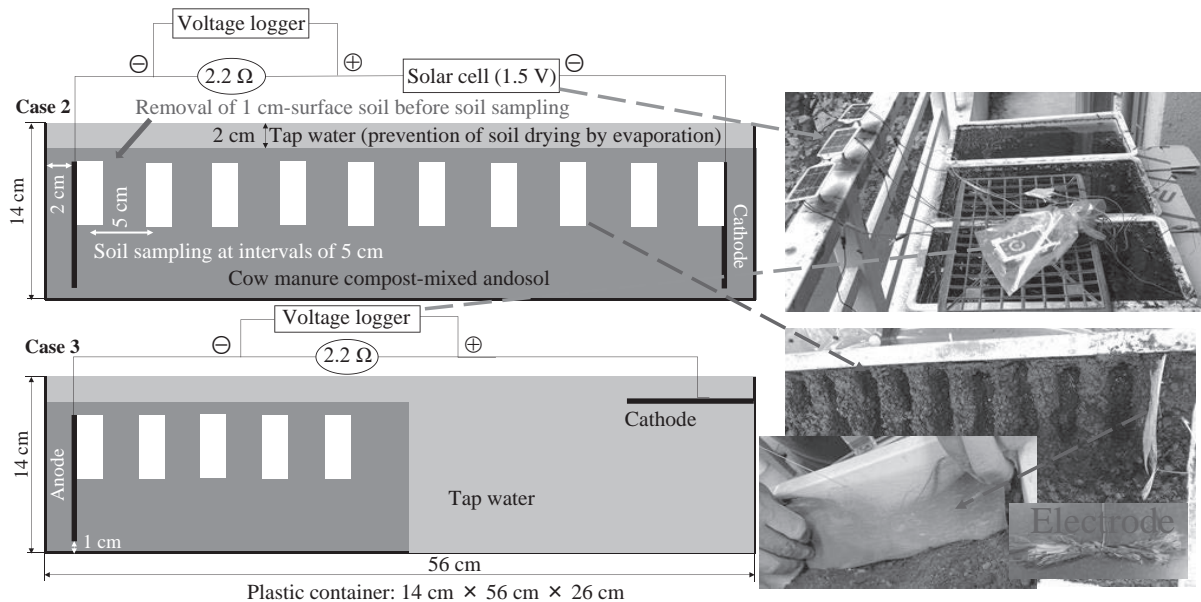


図-2 実験に用いた材料と実験方法

2つの通電条件、①両電極を 2.2 Ω の抵抗に接続する（SMFC）条件（図-2、Case 3）、および②両電極を 1.5 V 太陽電池（Tamiya, 1.5 V-500 mA）に接続し、アノードと太陽電池の間に 2.2Ω の抵抗を負荷する（SC-SMFC）条件（図-2、Case 2）で実験を行った。太陽電池を SMFC に併用したのは SMFC の電流を増大させることや有機物分解が促進されることが報告されているためである。通電による効果を検証

するために、無通電条件の試料も作成した。

通電期間中に抵抗両端の電圧を電圧計(T&D, MCR-4V)に接続して連続測定し、電流の算出に用いた。また、負電極と土層に設置した Ag/AgCl 参照電極 (Toyo, W-RE-7A) を電圧計に接続し、負電極の電位を連続測定した。

3ヶ月の通電後に上層水と1cmの表土を取り除き、負電極から5cm毎に土壌のpHと酸化還元電位(ORP)をpH/ORPメーター(堀場製作所, D-73)で測定した。pHとORPの測定後に土壌を採取し、遠心分離機(アズワン, CN2060)を用いて土壌の間隙水を抽出した(6000rpm, 5分)。抽出した土壌の間隙水に含まれる栄養塩類( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ )の濃度を測定し、通電に伴う養分生成を検討した。さらに、アデノシン三リン酸(ATP)をルミテスター(Kikkoman, ルミテスター Smart)で測定し、通電に伴う微生物の活性化を検討した。リン酸濃度の測定にはパックテスト(共立理化学研究所, DPM2-PO4-DとWAK-PO4(D))、アンモニウム濃度の測定にはパックテスト(共立理化学研究所, DPM2-NH4とKR-NH4-4)が用いられた。

## 7. 研究成果

### (1) 土壌の酸化還元状態に対する制御(通電)条件の効果

3ヶ月の通電後に測定された土壌の酸化還元電位(ORP)を図-3に示した。既往研究では、SMFCによる通電に伴って電極では酸化反応が起こる。その結果、堆積物のORPが上昇することが確認されている。本実験の結果では無通電の条件のORP(約-140mV)に比べ、SMFC条件のORPが約-160mV以下であり、SMFC条件においてORPの上昇が確認されていなかった。

これに対してSC-SMFC条件のORPが約-130mV以上であり、無通電の条件のORPに比べSC-SMFC条件ではORPの上昇が確認された。このことから、SC-SMFCは農地土壌の還元状態を効率に制御できることが明らかになった。これは、太陽電池をSMFCに直列接続することで電圧が増大し、それに伴って電流が増大したためである。電流の増大は電極での酸化反応を促進させ、土壌内に酸化物質が多く生成されるため、ORPが上昇(電極電位が増大)したと考えられる。

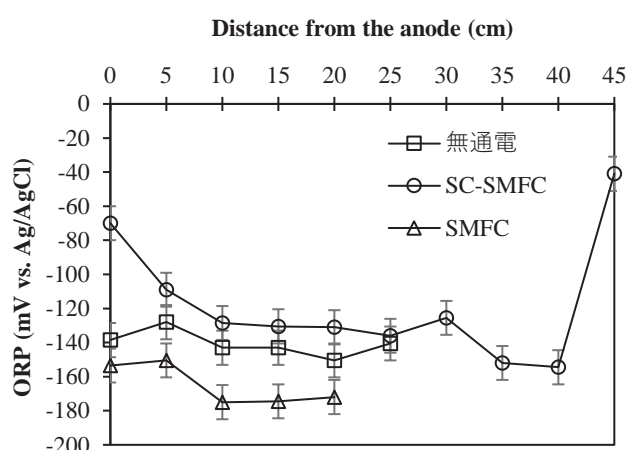


図-3 土壌の酸化還元電位の比較

### (2) 養分生成に対する制御(通電)条件の効果

土壌の間隙水中に含まれるアンモニウム( $\text{NH}_4^+$ )とリン酸( $\text{PO}_4^{3-}$ )濃度を図-4に示した。SMFC条件での無通電条件の $\text{NH}_4^+$ 濃度は7~10mg/Lであり、これに比べてSMFC条件での $\text{NH}_4^+$ 濃度は同程度であった。これに対して、SC-SMFC条件では $\text{NH}_4^+$ 濃度が約32mg/Lまで増加したことを確認した。負電

極から 10 cm までの範囲では  $\text{NH}_4^+$ 濃度は他条件と同程度であったが、負電極から 10~20 cm までの範囲では  $\text{NH}_4^+$ 濃度が増加し、20 cm 位置の  $\text{NH}_4^+$ 濃度が最も高かった。 $\text{NH}_4^+$ 濃度の変化は正電極（負電極から 45 cm の位置）からも同様な傾向が確認した。

この結果から、土壌内の  $\text{NH}_4^+$ は電極反応の影響を受けており、電極反応より  $\text{NH}_4^+$ の酸化が促進されると考えられる。すなわち、SC-SMFC 条件では  $\text{NH}_4^+$ が多く生成されるが、電極付近に  $\text{NH}_4^+$ 濃度が低いのは  $\text{NH}_4^+$ の酸化が生じたためと推定される。以上のことから、農地土壌内の  $\text{NH}_4^+$ の生成に対して SMFC の効果が小さく、SC-SMFC の効果が大きいことが明らかになった。これは、SC-SMFC が土壌の酸化還元状態を効率的に制御できるためである（図-3）。

一方、 $\text{PO}_4^{3-}$ 濃度に関してはすべての条件において同程度（0.14 mg/L 以下）であり、各条件の通電による効果が確認できなかった。今後、異なる SC-SMFC の通電条件（太陽電池の電圧）で  $\text{PO}_4^{3-}$ の生成特性を検討する必要がある。

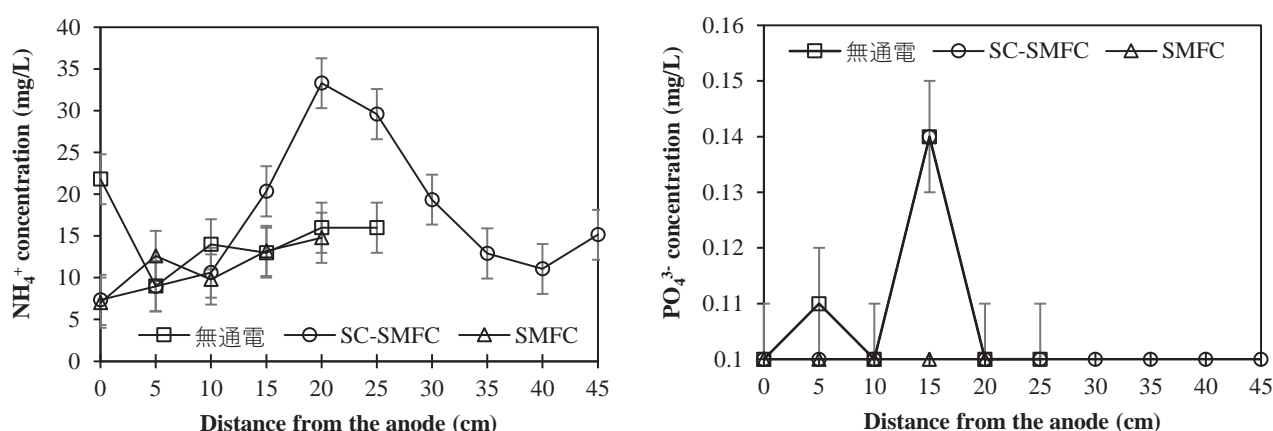


図-4 間隙水中に含まれるアンモニウムとリン酸濃度の比較

### (3) 微生物の活性化に対する制御（通電）条件の効果

図-5 に間隙水中 ATP の比較が示されている。ATP は生存する生物由来のリン酸の他に、有機物（死滅した生物）を表した値であり、微生物の増殖（活性化）の指標として広く用いられている。無通電条件では、ATP が 200~650 RLU であり、これに比較すると SMFC 条件の ATP は同程度であった。

これに対して、SC-SMFC 条件の ATP が 500~1300 RLU であり、ATP の増加を確認した。この結果から、SC-SMFC は微生物の活性化に対して高い効果が有ることが言える。以上このことから、SC-SMFC 条件では微生物の活性化により有機物分解が促進され、 $\text{NH}_4^+$ が多く生成される（図-4）要因として考えられる。

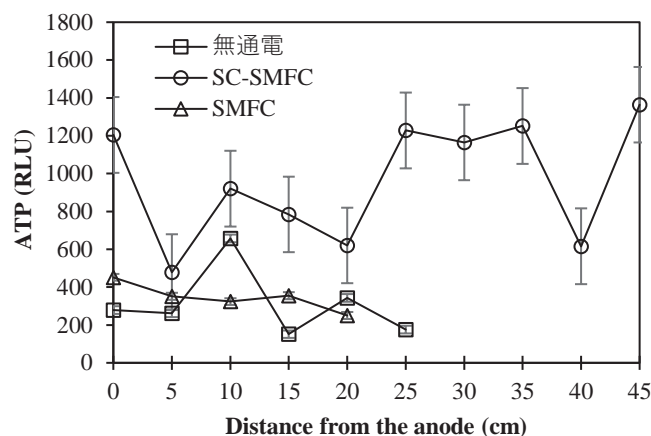


図-5 土壌間隙水中の ATP の比較

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

現時点で、本成果が実用ならびに他の研究に活用されていない。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

本年度では SC-SMFC の通電による  $\text{NH}_4^+$  の生成が確認されたが、 $\text{PO}_4^{3-}$  の生成が確認できなかった。これまでの研究成果から、負電極の電位を連続的に  $-3\text{ V}$  以下に設定すると、 $\text{PO}_4^{3-}$  の生成を確認している。したがって、2022 年度では SC の電圧を増大させて  $\text{PO}_4^{3-}$  を生成させるための電極電位を検討し、 $\text{PO}_4^{3-}$  の生成効果が高い SC-SMFC の通電条件（最適な太陽電池の電圧）を明らかにする。

## 10. 公表した成果一覧

### 学術論文

- 1) Touch N. and Nakamura T.: Benefits of applying microbial fuel cell technology in organic farming for sustainable agriculture, International Journal of Environmental and Rural Development, Vol. 13(2), 2022. (投稿中)

### 国際会議の口頭発表

- 1) Touch N.: Benefits of applying microbial fuel cell technology in organic farming for sustainable agriculture, 13<sup>th</sup> International Conference on Environmental and Rural Development (Online), 2022 年 3 月 5 日.

# 2021年度 東京農業大学 持続可能な農業研究プロジェクト

## 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	予算額(円)
機能性付与アメリカザリガニの代替タンパク質創出	2,500,000

### 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・教授	研究統括・餌作成・給餌試験・教育実践
研究分担者	高橋 信之	応用生物科学部 食品安全健康学科・教授	栄養成分分析
	美谷島克宏	応用生物科学部 食品安全健康学科・教授	安全性試験
	加藤 拓	応用生物科学部 農芸化学科・准教授	肥料成分分析
	浅井 俊光	地域環境科学部 地域創成科学科・准教授	水質分析・生態調査
	黒澤 亮	農学部 動物科学科・助教	餌の開発

### 3. 研究期間

2021年6月9日～2022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、東京農業大学戦略プロジェクトや科研費研究を通じて、アメリカザリガニの体色変化を観察する実験教材の開発に取り組み、その知見を活用した科学教育実践を行ってきた。

アメリカザリガニは子どもから大人までがよく知る馴染み深い生き物である一方で、在来の水生昆虫や水草群落など生態系への影響や稲苗の食害、水田の畔の崩壊など農業被害の要因でもあることから、環境省・農林水産省により、生態系被害防止外来種リストの緊急対策外来種に指定されている。よってアメリカザリガニは、対策の緊急性が高く、積極的に防除を行う必要のある生物である。さらに現在、特定外来生物としてのあり方についても検討されている。そのため、アメリカザリガニは有志団体により駆除されているが、その後の資源としての積極的な活用はほとんどされていないのが現状である。

上述したように日本ではザリガニを資源とした積極的な活用事例はほとんどないが、欧米や中国では

ザリガニは食用（タンパク源）として利用されている。すなわち、ザリガニ駆除とその後の活用は、その地域環境や他の地域資源を守るだけでなく、持続可能な農業資源としての新たな資源開発にもつながると考えられる。

## 5. 研究目的

本研究では、「環境、外来種、生命、資源、食料」について学ぶ環境&科学教育から、本学の主軸となる環境や食料に対する専門性を活かし、将来の食料問題の解決に向けた環境負荷低減の有用資源として、機能性付与ザリガニの食用・農業用資材への利活用を目的とする。

具体的には、地域の社会教育として、ザリガニをきっかけとした生態調査により、身近な生物への関心を高める環境教育を実施し、駆除活動による環境保全を行う。環境教育を通じて駆除したザリガニの観察や体色を変える実験を組み入れた科学教育に活用し、環境&科学教育を実践する。次に、水の循環を通じてザリガニと葉物野菜の水耕栽培とを組み合わせたアクアポニックスにおいて、両者を同時に育成することのできる餌を開発し、栽培・養殖する。そして栄養価を高め、機能性を付与したザリガニを栄養学的な視点から研究し、その安全性を評価することで、未来の代替タンパク質として人や動物の食用として活用する。また、殻は食品添加物、非食部は肥料に用いてザリガニを循環型農業資源に活かすことを目指している。

本研究で行う地域の社会教育から始まるザリガニを活用した機能性付与代替タンパク質創出は、SDGsにつながる新たな農大ブランドとして意義のある研究として発信し、持続可能な農業資源開発を行う。

## 6. 研究（実験）方法

本研究は、教育活動を通じ、本学の専門性を活かして開発するアメリカザリガニの資源化に向けた研究として、大きく3つのテーマで行う。1) **環境科学教育の実践**、2) **アクアポニックスにおけるザリガニ飼養餌の開発と飼育装置の改良**、3) **ザリガニの栄養価分析**に取り組む。

### 1) 環境科学教育の実践

環境科学教育として、ザリガニの生態調査や駆除活動を行う。駆除したザリガニは科学教育教材や研究資材として用いるほか、つくば市（荖崎地区）の小・中・高等学校との連携事業を通じた市民講座や学校での課外授業として、観察や体色変化の科学実験に利用する。また、「環境、外来種、生命、資源、食料」について、小学校や市民講座において実践を行い、その教育効果を測り、アメリカザリガニの食用・農業用資源としての考え方をはじめ、持続可能な農業資源としての意義を啓蒙する。

### 2) アクアポニックスにおけるザリガニ飼養餌の開発と飼育装置の改良

餌の開発については、農生命科学研究所プロジェクトの報告概要に記載した。

従来 of アクアポニックスでの水槽では、上部で植物を育成し、下部の水槽でザリガニを飼養することになる。アクアポニックスによるザリガニ飼養を目的としたスモールスケールの実験として、ザリガニを水槽（コトブキ工芸：レグラスポニックス 300）で飼育を予定していたが、ザリガニのいる下部の水槽から上部の植物の箇所ポンプで水を送液する際、ポンプのホースを利用したザリガニの脱走、ザリガニ水槽の汚れ、多頭飼育をしにくい、作物への食害などの問題が考えられた。これら問題を解決するために、飼育装置の改良を試みた。



### 3) ザリガニの栄養価分析

本学醸造科学科鈴木敏弘助教との共同研究により、アメリカザリガニに含まれる栄養成分の網羅的解析を行う。サンプルとして、茨城県小貝川で採集された食品用アメリカザリガニの未処理個体、塩茹でされた個体（どちらも冷凍保存）を解凍後、尾の可食部を少量採取し、凍結乾燥させる。凍結乾燥させたサンプル 10 mg から親水性化合物を溶媒抽出し、揮発性化合物に誘導体化（オキシム化、TMS 化）した後、島津製作所 トリプル四重極型ガスクロマトグラフ質量分析計（GC/MS）にて網羅的データ解析を行い、茹でる前と後で増減する物質の比較検討を行う（n=4）。さらに、茹でる前と後の甘えびを同様の実験手法で分析し、アメリカザリガニとの比較解析を行う。

上記の解析により、アメリカザリガニには、うまみ成分に関わる物質などの核酸系が多く含まれることから、HPLC による分析を行う。塩茹でされたアメリカザリガニの可食部を細かく砕いたのち、0.5 g（重量）を試験管チューブに量り入れ、5%過塩素酸 5 ml 加え、蓋をしてよく混ぜる。15 分間冷やししながら、スパチュラで攪拌しながらサンプルをたたく。1 M 水酸化カリウムを 4.3 ml 加え、pH を 2 から 3.5 に調整する。10 ml まで水を加え、蓋をしてよく混ぜる。その溶液を濾紙で濾過した溶液をサンプルとした。分析は「ことり e-HPLC」を用いて、カラム PEGASIL ODS SP100 AQ（φ6 mm x 30 mm）（センシュー科学）を 1ml/min の流速にて溶離液 200 mM リン酸緩衝液（pH 6.7）による平衡化を行い、0.45 μm のフィルターで濾過したサンプル 100 μl を打ち込み、UV 検出器（265 nm）で、イノシン酸、ATP、ADP、AMP、イノシンの検出を行う。

## 7. 研究成果

### 1) 環境&科学教育の実践

テーマ①：外来種問題・命の教育；アメリカザリガニについて考えてみよう！ ↓ 20分
テーマ②：環境調査・ザリガニ採集（駆除）；アメリカザリガニを探しに行こう！ ↓ 60分（つくば市荖崎地区のみ実施）
テーマ③：科学教育；生き物の色の意味について考えてみよう！ ↓ 30分
テーマ④：カラフルザリガニえさを作ってみよう！（黄色・オレンジ色） ↓ 60分
テーマ⑤：おいしいザリガニ作りの研究からまちづくりの資源としての活用 ↓ 15分 アンケート

図1 ザリガニから始める環境科学教育

図1に示した内容（環境調査・ザリガニ採集はつくば市のみ開催）を軸とした授業を、小学生、中学生、高校生の児童・生徒から大人（教員）を対象に実施した。実施時期と対象者は以下に記載した。

令和3年6月22、29日 東京農業大学稲花小学校3年生2クラス

令和3年7月3日荖崎地区交流センター、7月16日オンライン「ザリガニから始める環境科学教育」  
茨城県つくば市荖崎地区小中高校生・地域住民対象

令和3年8月5日 新・才能の芽を育てる体験学習 自然体験教室

令和3年9月17日 東京都教職員研修

令和3年12月12日 埼玉県立桶川市桶川東中学校 ザリガニ研究部への特別授業

授業実践を通じて、ザリガニをきっかけとして環境保全や生き物の命に対して改めて考える機会になっていること、資源としての捉え方のきっかけになることが、受講者の感想文から明らかとなった。また、本授業で扱っている7つのポイント（ザリガニの生息環境、特徴、導入の歴史、生息分布、外来種問題、カラフルザリガニ、資源活用）について、児童生徒、大人を対象に冊子を作成した。本冊子は、東京農業大学稲花小学校のHPで紹介される予定である。

## 2) アクアポニックスにおけるザリガニ飼養餌の開発と飼育装置の改良



図2 改良版アクアポニックス装置

図2に示したように、従来のアクアポニックス装置とは逆に、ザリガニ飼育部位を上部にし、最下層の部位で植物を育てる装置に改良した。このことで、水槽内に蓄積した汚れ（餌の食べ残しや糞）が水槽内に溜まりにくく、水槽を増やすことで大量飼育、脱走を防止し、作物への食害を防ぐことが可能となった。また、ポンプ以外は100円ショップでも揃えられる材料であることから、将来の教材としての活用においても、従来の水槽に比べて安価な装置が作成可能となった。

## 3) ザリガニの栄養価分析

GC/MSによる塩茹で（加熱）前後の栄養成分の比較解析を行った。加熱により、セリン、グルタミン、フェニルアラニン、トレオニン、乳酸、アロース、グルコース、ガラクトース、マルトース、ヒポキサンチン、ニコチン酸、アスコルビン酸、リボース、イノシン酸、イノシンの顕著な減少がみられる一方、グルタミン酸、アスパラギン酸、ピログルタミン酸、フルクトース、プシコース、トレハロースの顕著な増加がみられた。加熱により減少する成分はあるものの、「うま味（核酸関連物質・アミノ酸）」、「甘味（糖質）」、「機能性」に関わる成分が多く含まれていた。

甘エビとの比較では、ザリガニの方が高い物質として、タウリン、ヒポタウリン、クレアチン、グルコース、トレハロース、オルニチン、イノシン酸、アミノ酪酸、アスパラギン酸、グルタミン酸であった。甘エビの方が高い物質としては、アスコルビン酸、オルニチン、フルクトース、ガラクトース、マンノース、プシコース、ヒポキサンチン、イノシン、リボースであった。「うま味」、「甘味」の成分に違いが見られたが、加熱処理の有無にかかわらず共通する成分が多かった。なお、74成分が共通であった。

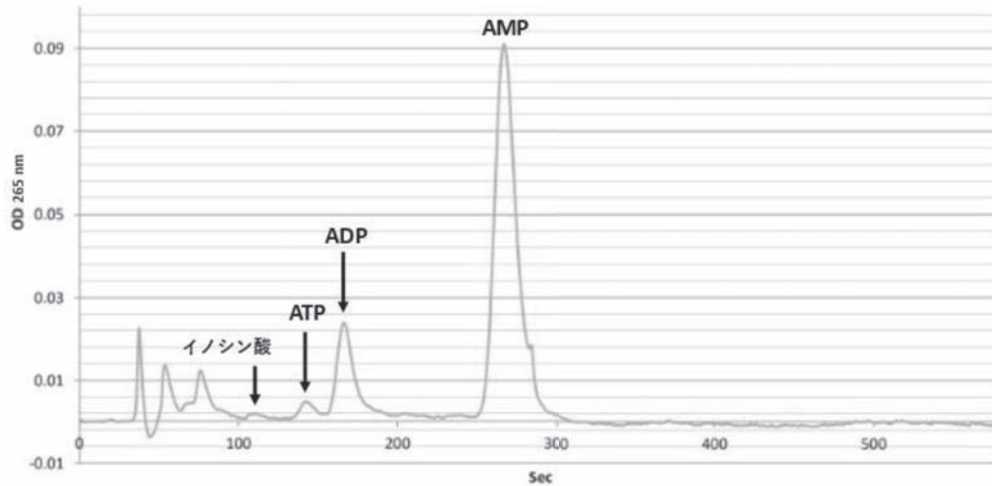


図3 アメリカザリガニの可食部における核酸系物質

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

本研究で推進しているアメリカザリガニの食用化に向けた取り組みが、茨城県茎崎高等学校の生徒から発案され、「ザリガニ使い街おこし」という題目で茨城新聞に掲載された。また、本取り組みは、茎崎高等学校だけでなく、地域の茎崎創生会との共創のもと進められている。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

今年度は自然界に存在するアメリカザリガニの栄養価分析を行ったが、来年度は高カロリーであり、水質を悪化させにくく、機能性物質を含んだ餌で飼養したアメリカザリガニの栄養成分の網羅的解析を行い、今回のアメリカザリガニとの栄養成分の比較解析を行う。また地域によって採集できるアメリカザリガニの栄養成分や水質との関係についても検討していきたい。

昨年、一般的な赤色のアメリカザリガニの全ゲノム配列が公表されたことから、他のゲノム配列のわかっている甲殻類との遺伝子レベルでの比較やザリガニのアミノ酸や核酸合成に関わる遺伝子レベルでの解析を行い、物質レベルとの相関を明らかにしていきたい。また、香気成分との関連性も検討していきたい。このような知見を基にアメリカザリガニの食用化のための餌の設計につなげる。

来年度は、教育実践を通じた啓蒙活動だけでなく、幅広い方に研究を知っていただくために、試食会と研究報告会をドッキングさせた独自のミニシンポジウムなどを開催することで、アメリカザリガニの資源活用に関する研究を学内外に広報していく予定である。

## 10. 公表した成果一覧

### 学術論文

- 1) 武田晃治・関正貴 (2022) 「地域創生・SDGs、人財養成の実学研究-『五感六育』の実践事例-」 外来種アメリカザリガニの教育資源から地域創生への有効活用 ―ザリガニを用いた SDGs の取り組み― 第1巻 pp.13-26. 五感六育文庫 東京農業大学出版会

その他

- 1) J-WAVE TOKYO MORNING RADIO (令和3年5月5日)
- 2) Takeda, k. et.al. (令和3年6月) An impact of biological pigments as teaching material. pp.262-263. OPEN ACCESS GOVERNMENT
- 3) 県立荃崎高校から発信！「カラフルザリガニ」で地域創生・SDGs～小中高大と地域の連携で人材育成～ 茨城県教育委員会フォトニュース (令和3年7月19日)
- 4) 渋谷クロスFM (令和3年8月19日)
- 5) エフエム世田谷 (令和3年9月17日)
- 6) 武田晃治 (令和3年10月23日) 「アクアポニックスによるザリガニ飼養に関する研究」日本地域創生学会発表
- 7) 東京FM あぐりずむ (令和3年11月30日)
- 8) Takeda, K., Jitsuno, M and Akaishi, Y. (令和4年1月) Utilisation of crayfish (*Procambarus clarkii*) in integrated inquiry activities. pp.218-219. OPEN ACCESS GOVERNMENT
- 9) 茨城新聞 (令和4年1月28日)
- 10) 武田晃治ら (令和4年2月) 今こそ知ってほしい アメリカザリガニのおはなしーアメリカザリガニから考える環境科学教育ー 絵本冊子 pp.1-8.

# 2021年度 東京農業大学 ポストコロナ社会対応・研究開発プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 杉山 立志

## 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
屋内栽培環境データ収集に基づいた適正植物種と管理スケジュールの提案による豊かな屋内緑化の実現	950,000

## 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	杉山 立志	農学部 植物園・准教授	研究統括、栽培環境情報の収集と整理、トウガラシ類の栽培
研究分担者	乗越 亮	農学部 教養分野・准教授	花卉類、観葉植物の栽培
	加納 一三	教職・学術情報課程・助教	多肉植物の栽培

## 3. 研究期間

2021年6月9日～2022年3月31日

## 4. 研究の背景（当初）

新型コロナウイルスの感染拡大防止として屋内で過ごすことが多くなった。外出自粛による屋内生活にストレスを感じる人も多い。ストレス緩和のために屋内で植物を育てることに効果があることは知られている。しかし、屋内環境は温室とは異なり均一ではない。そのため、園芸知識を持ち屋外を活用しながら照度や温度を適切に保つことができる人を除き、屋内での通年栽培は失敗事例が多い。

屋内栽培の失敗の原因の一つに、生産現場との環境のギャップがある。ギャップに関する研究としては弱光順化の研究蓄積が知られている。本研究では順化後の継続栽培における問題として、個々に異なる1年を通した屋内環境の大きい変化に着目した。一般家庭で栽培する時に屋内栽培環境を24時間、365日モニタリングすることはない。そのため、「カーテン越しに光を当てて」などの定性的な情報となり、適した栽培環境を判断するのは難しい。自宅の環境に適した植物を選ぶ基準となる屋内環境の情報はこれまでに存在していない。

## 5. 研究目的

屋内での植物管理は栽培環境の情報不足のため、環境に合わせた植物の選択・栽培手法を見出すには知識と経験を必要とする。本研究課題では、(1)異なる屋内栽培環境の環境情報を遠隔で収集し、環境をカテゴリー分けする、(2)試験栽培を行い屋内環境の違いが植物種に与える影響を評価する、(3)環境カテゴリーに応じた植物リストを作成する、(4)栽培方法を明らかにし、センサーを用いた環境

情報に基づく栽培アドバイスを配信するシステムをデザインする。このことにより、屋内での植物栽培を容易に成功させ、緑豊かな屋内環境の実現に貢献することを目的とした。

## 6. 研究（実験）方法

### （1）環境データの測定方法

無線温湿度照度計 HLT-100BT（CUSTOM 社）を用いて栽培環境の温度、湿度、照度を1時間おきに測定した。照明のオンオフから個人の生活が推定できるので、測定データを扱うのは研究代表者のみとし、積算値や平均値として加工した状態で分析に用いた。環境情報の収集には厚木植物研究会の学生の協力を得て住宅環境6ヶ所、職場環境4ヶ所、温室1、温室の屋外1の計12ヶ所について栽培環境情報を収集した。温室、屋外では屋内用の HLT-100BT の照度検出感度を超えたので「おんどとり」（T&D 社）を用いて環境情報を測定した。

### （2）栽培方法

トウガラシ2種、バジル（品種名バジリコナーノ（トキタ種苗）、パセリ（品種名パラマウントパセリ（タキイ種苗）、ミツバについては、直径9 cm もしくは7 cm のビニールポットを用いて、園芸用培土で栽培した。異なる栽培環境の灌水量を一定にすることは難しいため、土壌水分量をある程度一定とするために、底上げしたカゴに入れて栽培し、灌水は土が乾いたら鉢の下に流れ出るまで分量水を与えることとした。栽培後1ヶ月経過したら遅効性の固形肥料を散布した。栽培時の水やりや栽培中の変化については Google フォームで記録して収集した。

栽培時の管理負担を減らし、条件を均一にするため、観葉植物についてはハイドロカルチャーを用い、水受けの水が乾かないようにコントロールすることとした。スギゴケについては、3つの異なる大きさの密封容器を用いて栽培し、水やりなどの管理は行わないこととした。

### （3）栽培の評価

ハーブ・野菜類は栽培開始前にすべての植物の節数または葉数を計測した。試験栽培後に節数、葉数を計測し、その成長を確認した。ハーブ・野菜類とハイドロカルチャーは栽培開始時、終了時の植物の状態について写真を撮影するとともに、観察上の変化を記録した。スギゴケについては、孢子嚢の形成を指標とした。

## 7. 研究成果

### （1）環境情報収集方法の検討

当初想定した土壌水分、EC 等も同時測定するセンサーは高価かつ入手困難になりオンラインで複数の栽培環境の情報を得ることは出来なかった。そこで、共通した情報としては、温度、湿度、照度のみを測定することとした。また住宅環境については照明のオンオフに個人の生活パターンが反映されるというプライバシーの問題あったのでオンラインによる常時情報収集は行わないこととした。環境測定装置からのデータ収集は居住者が個別に行い、研究代表者のみが日変動を含むデータを扱うこととした。

温室については、「おんどとり」（T&D 社）を用いた。その後、温室にはプライバシーの問題はないので、farmo 社のハウスファーモを用いてオンラインで情報を収集する仕組みを導入した。

機器選定、育苗等の準備に時間がかかり測定開始が10月以降となったため、研究実施期間では夏の高温を測定出来ていない。2022年10月まで栽培を継続して、環境情報を収集している。

## (2) 積算照度による環境分類

ハーブ・野菜を10月から12月までの2ヶ月試験栽培した。環境測定を行った12ヶ所のうち、研究棟エントランス・契約上栽培できない協力者の賃貸住宅・屋外の3ヶ所を除く9ヶ所で栽培を行い、得られた温度、湿度、照度と栽培状態を比較した。コントロールとした温室と職場1の積算照度は極端に高かった。バジルの栽培限界、パセリの栽培限界を基準も参考にして、栽培期間の積算照度によって10万Lx未満、10~25万Lx、25~50万Lx、50万Lx以上の4つの環境に分類することが出来た(図3参照)。今後も環境情報の測定を継続し、冬の最低気温、夏の最高気温をもとに環境を分類することを検討する。また、50万Lxから130万Lxに該当する環境が得られなかったため、人工的に作って試験するなどが必要である。

## (3) 植物の選定

### (a) 観葉植物

本研究の中心である観葉植物は、管理しやすい小さいサイズで均質な苗を入手することが困難であった。さらに入手してみると、大きく2点の問題があった。一つは、同じ品種名がついているにも関わらず明らかに別系統のものであること。もう一つは小さい苗の出荷には、継続的に栽培してきた成長の遅いものと、出荷に合わせて挿し木したばかりのものなど、見かけ大きさは似ていても異なる生育状態のものが含まれることであった。品種が異なるものは、様々な環境で栽培するという本研究には使用できない。生育状態の異なるものは、本研究の背景にある屋内栽培で失敗する場合の原因の一つと考えられ、同一環境で育てていても、枯死するものが出てきた(図1)。これらでは根の成長は抑制され、出荷直前に挿し木や株分けをした可能性もある。温室で順化栽培を行い、成長の望ましいものだけ試験に用いた。

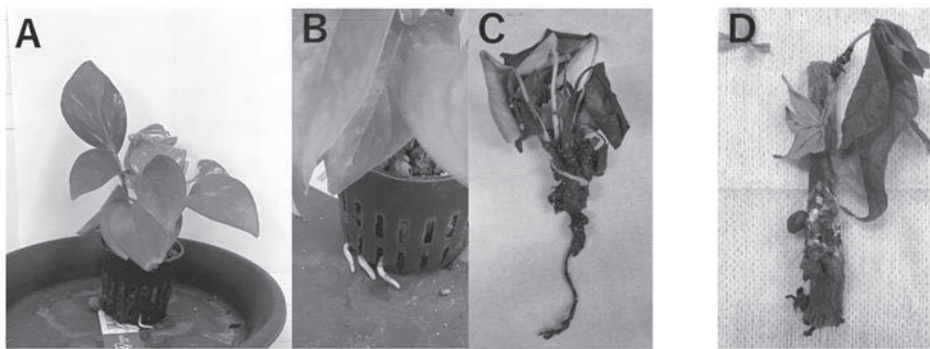


図1 A 健全なポトス、B 健全なポトスの根、C 枯死したポトス、D 枯死したパキラ(根はない)

### (b) ハーブ・野菜類

既存のハーブ栽培条件から(1)強い日当たりを必要としないもの、(2)少量で食卓を彩ることが可能な種類として、パセリ類、コリアンダー、ミツバ、ガーデンクレス、バジルを選定した。パセリは、カーリーパラマウント、イタリアンパセリ2系統、チャービルの合計4品種を試験栽培した。加えて、環境耐性の強いトウガラシ3品種の試験栽培も行った。

成長を揃えるために、市販の育苗培土を用いてLED光下で屋内育苗を行った。その結果、屋内で良好な栽培を示したカーリーパラマウントパセリ、ミツバ、バジル(矮化品種のバジリコナーノ)、トウガラシ2種(タカノツメ、キダチトウガラシ)の5種を屋内環境で継続的に栽培し、同一の成長を示す株を選抜し、異なる屋内環境の影響を調べる試験栽培に用いた。

### (c) 苔類の導入

当初の計画では多肉植物を候補としていたが、同一の成長状態の個体を複数入手することが困難であること、成長が遅く育苗が間に合わないことから断念した。別の植物として弱光下でも生育可能な苔に注目した。苔のうちスギゴケは必要量の均質な栽培品について入手可能であったので、試験栽培に導入した。

### (4) 試験栽培結果

5ヶ所の住宅環境と3ヶ所の職場環境（厚木キャンパス内）および温室をコントロールとした合計9の環境で、パセリ、ミツバ、バジル（矮化品種のバジリコナーノ）、タカノツメ、キダチトウガラシの5種を2021年10月から12月の2ヶ月間栽培した（図2）。栽培開始と栽培後の節数（トウガラシ2種、バジル）、葉枚数（パセリ、ミツバ）は、積算照度の量に依存した成長状態を示した（図3）。栽培期間の積算照度21万Lx以下では枯死をするバジルが目立った。一方、100万Lxを超えると屋内と温室での成長の差はあまり見られなかった。バジルは積算日照の多い環境では開花も見られ、枯死から開花で環境をモニタリングできる植物の候補として使用できる可能性が示された。パセリについては、7万Lxを下回った住宅5では枯死し、抵照度では生育出来ないことがわかった。これら、バジルとパセリによってある程度の環境を区分できる可能性が示された。

#### 栽培開始からの変化の例（職場1）

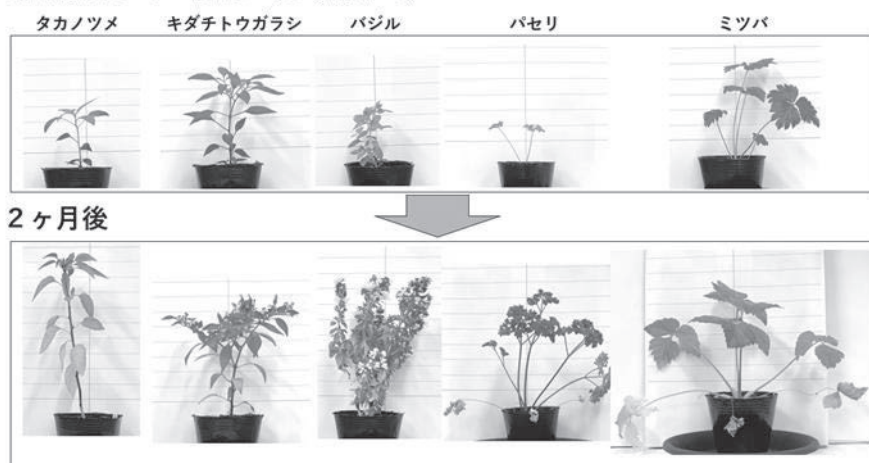


図2 ハーブ・野菜の屋内栽培試験での成長変化例（職場1で栽培した個体を示した）

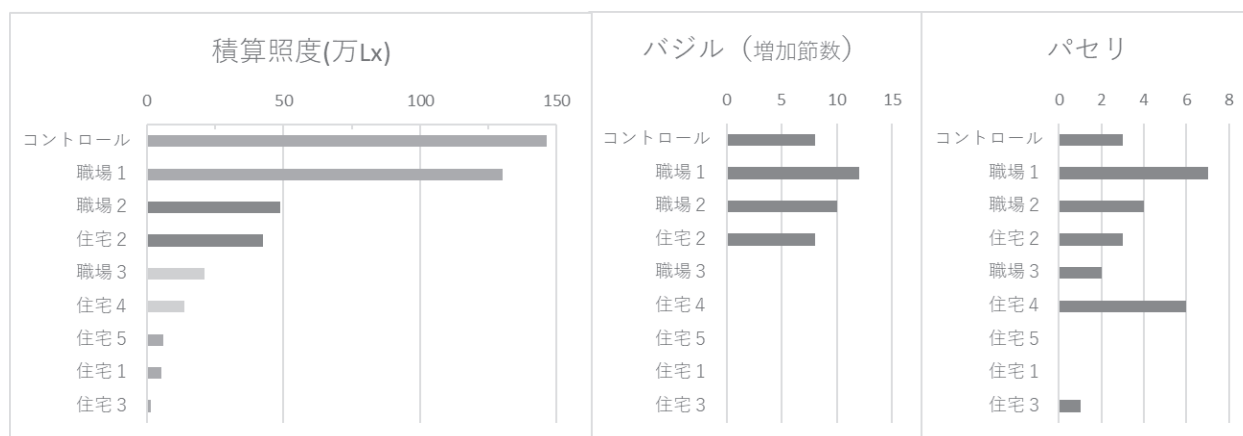


図3 栽培期間の積算照度とバジルの増加節数、パセリの増加葉枚数



## (5) 観葉植物・スギゴケの継続栽培

### (a) 観葉植物

ハイドロカルチャーを入手し、温室で約2週間栽培し、生育が均一な個体を選抜した。十分な個体数が得られず、以下のように分けて12月から栽培試験を開始した。4つの住宅環境については、コルジリネ、シェフレラ、パキラ、フィカスプミラ、プテリスの5種を用いた。3つの職場環境と1つの住宅環境については、アスパラガス、オキシカルディウム、シェフレラ、シンゴニウム、ドラセナ・コンパクト、トラディスカンチア、パキラ、ヒポエステス、ポトス、ポリシヤス2種、ミューレンベッキアの12種の栽培を開始した。1年を目標に栽培を継続する。半年経過した時点で複数の栽培環境で、シェフレラ、プテリス、ヒポエステス、ポリシヤス、ミューレンベッキアが枯死した。環境測定を継続し、1年の環境変化と枯死した種類との関連を今後解析する。

### (b) スギゴケ無灌水閉鎖栽培

スギゴケは28 mL, 100 mL, 750 mL容量の円筒形透明ガラス容器に赤玉土とそれぞれ水3 mL, 15 mL, 50 mLを加えて密封し、無灌水閉鎖栽培を行った。無灌水閉鎖栽培はハーブ・野菜類の栽培と同じ環境で同時に8ヶ所において2021年10月より開始した。コントロールとして屋外と温室では開放系の通常栽培を行い、適時灌水を行った。春から初夏にかけて、孢子嚢を形成する時期に栽培環境の違いを確認するまで栽培を続ける。一部カビなどが発生した容器もあるが、密封状態で問題なく栽培できることがわかった。

## (6) 害虫の発生（キノコバエ類、アブラムシ、コケガ）

ハーブ・野菜類の栽培では、土壌条件を揃えるために市販の培養土を用いた。これらは腐葉土を含む混合物となっていた。住宅2ヶ所、職場1ヶ所で、培養土や栽培環境が原因と推定されるキノコバエ類の害虫が発生した。またトウガラシの一部ではアブラムシ類の発生があった。発生後、農薬として粒状オルトランを散布して対処した。キノコバエ類はその後も継続して発生し、根本的な対処を検討する必要がある。ハイドロカルチャーでは購入時に付着していたモノアラガイと思われる巻き貝の発生が見られたが、栽培への影響は見られていない。またスギゴケの閉鎖栽培ではコケガが発生して枯死した容器もあった。病害対策はすべての栽培方法で検討すべき課題である。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

センサーの導入によって温度・湿度・照度の環境評価ができるようになった。プライバシーの問題のない温室については遠隔でデータを収集可能になった。遠隔データ収集では地温、土壌水分量、ECも測定できた。スギゴケの無灌水閉鎖栽培が可能であることが明らかになったので、生徒が自宅で栽培観察する理科教育用教材への発展できる可能性が示された。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

- (1) センサーの選定、観葉植物の問題点のため測定の開始が遅くなり、夏季の高温を測定できなかった。これまでに照度により少なくとも環境を4つに区分できた。1年間測定を継続し、これらの区分の中で高温、低温により分割してより細かい環境分類を作る。
- (2) 温度、照度などについては個人の生活を反映するため、プライバシーの問題が発生することがわかった。協力者を増やすためには、データ収集方法として、オリジナル測定データではなく、生活

パターンを推測できない積算値や平均値に容易に加工できる仕組みが必要である。

- (3) 観葉植物は想定以上に個体差や品種の混乱があり、試験栽培が遅れた。そのため想定していたマニュアルの整備対象を絞り込むことも出来なかった。栽培管理以前に、観葉植物の初期状態を揃える方策、すなわち苗作りについて検討する必要がある。サボテンのような生育の遅い植物では、環境影響が生育状態に反映されるのも遅く、実験材料には適していないこともわかった。一つの実験材料の候補として種からの栽培が可能な観賞用のアスパラガス類を検討している。
- (4) 観葉植物の栽培評価方法の再検討。当初光合成活性などを測定する予定であったが、観葉植物の価値は、「観賞価値」であるため、観賞価値を評価する方法を検討する必要がある。

## 10. 公表した成果一覧

なし

# 2021年度 東京農業大学 ポストコロナ社会対応・研究開発プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 上田 智久

## 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
船を利用した持続参加・体験型観光のモデル構築に関する研究	1,000,000

## 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	研究の役割
研究代表者	上田 智久	生物産業学部 自然資源経営学科・教授	研究総括、観光状況の把握、体験観光モデルの実施とその評価
研究分担者	小林 万里	生物産業学部 海洋水産学科・教授	持続参加・体験型観光の運用方法
	相根 善昌	生物産業学部 食香粧化学科・教授	総括を除き代表者と同じ

## 3. 研究期間

2021年6月9日～2022年3月31日

## 4. 研究の背景（当初）

通過型観光からの脱却を目指し、網走の活性化を図る。

## 5. 研究目的

観光客と地元住民を対象に、新たな観光の在り方（海域を中心に）として、「五感で感じる持続参加・体験型観光」を提示する。その際、当大学生・院生の教育・研究も同時並行的に進める。生物産業学部が中心となった「五感で感じる持続参加・体験型観光」の試験的運用を試みる。

\*しかしコロナの影響を受け、試験的運用まで実施できていない。こうした制約がある中での研究成果を報告する。

## 6. 研究（実験）方法

本研究の目的は、船を利用した持続参加・体験型観光（単に見るだけ観光からの脱却）の構築を目指すことにある。そこで、ネイチャークルーズ参加者の実態を調査（2011年～2021年）した。この実態調査は「単に見るだけ観光」の課題を抽出することにある。この課題を踏まえ、持続参加・体験型観光の試験的実施を検討する。さらに、ホエールウォッチングで先駆的と言われる奄美を対象にヒアリング

調査を行う。

## 7. 研究成果

### ① ネイチャークルーズの実態調査結果

以下の図は、自然資源経営学科 実務演習（一）（二）（三）を（テーマ＝船を利用した持続参加・体験型観光の模索）履修した学生三名とともに行ったアンケート調査結果である。

⇒現行のクルーズに参加した男女 117 名を対象に調査した。

図 1 男女比

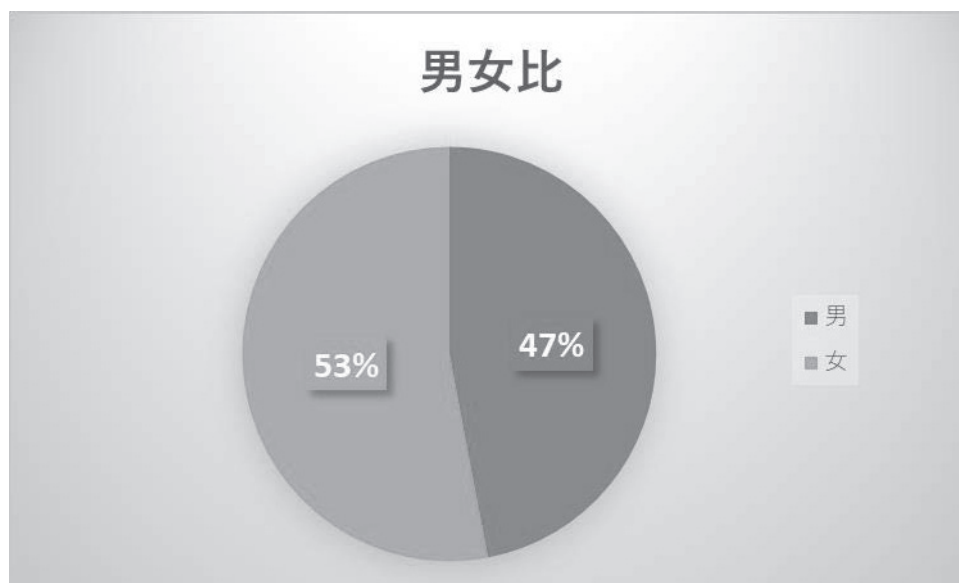


図 2 参加者の都道府県別人数

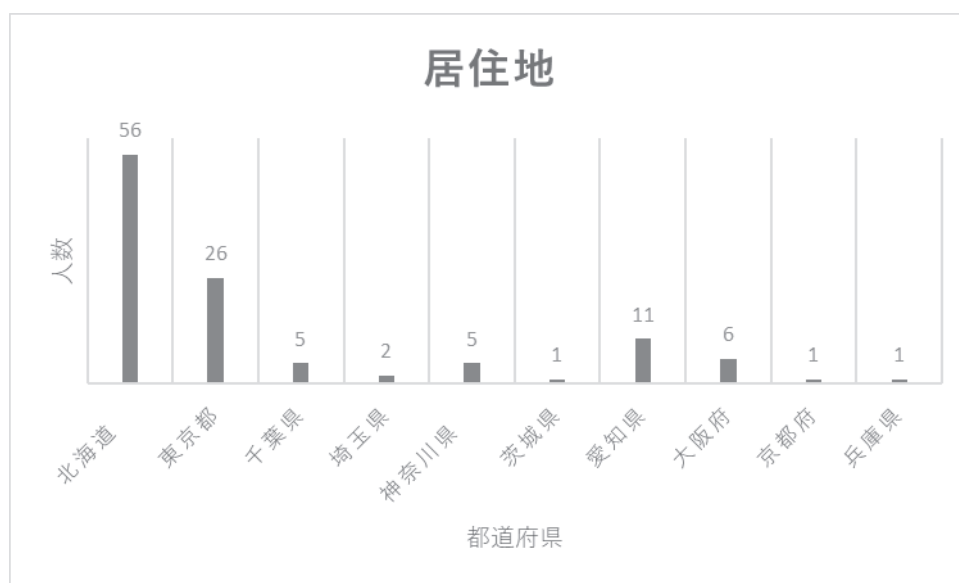
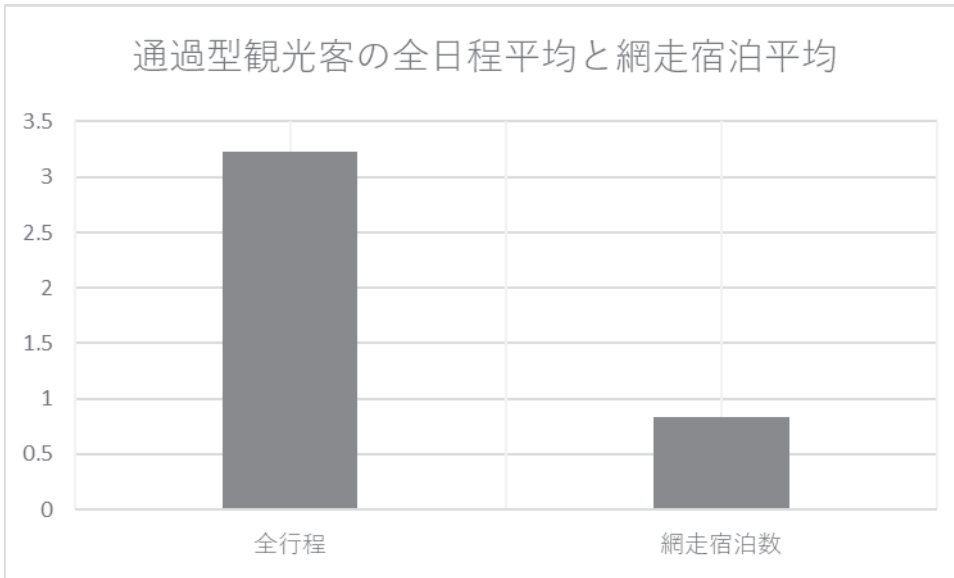


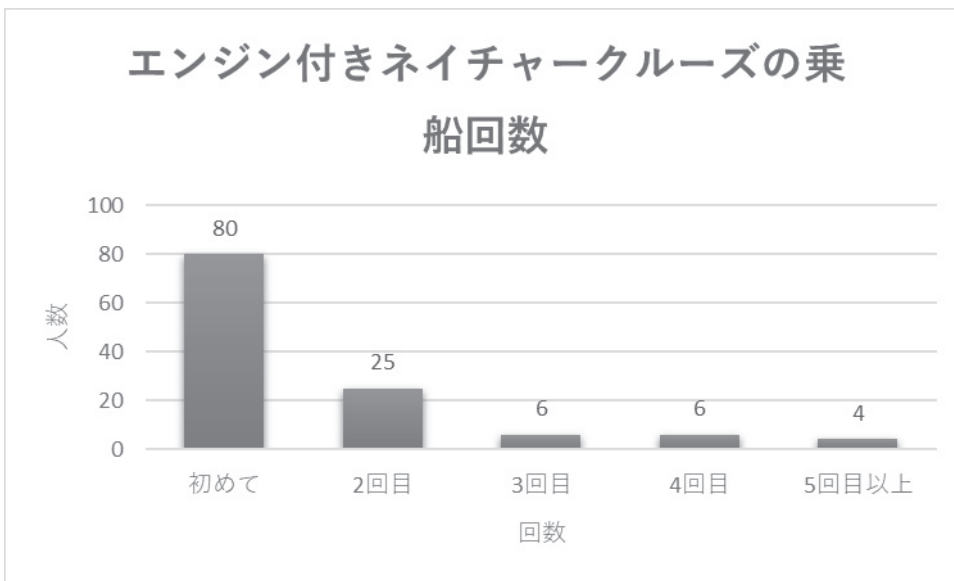
図 1、図 2 とも過去 10 年のデータとほぼ同様の傾向を示している。ネイチャークルーズの需要は、道内が多いことが分かる。

図3



クルーズ船の参加者は、平均して3.25泊であり、網走の宿泊数は0.8泊となっている。クルーズ観光においても、通過型観光の傾向が見られた。

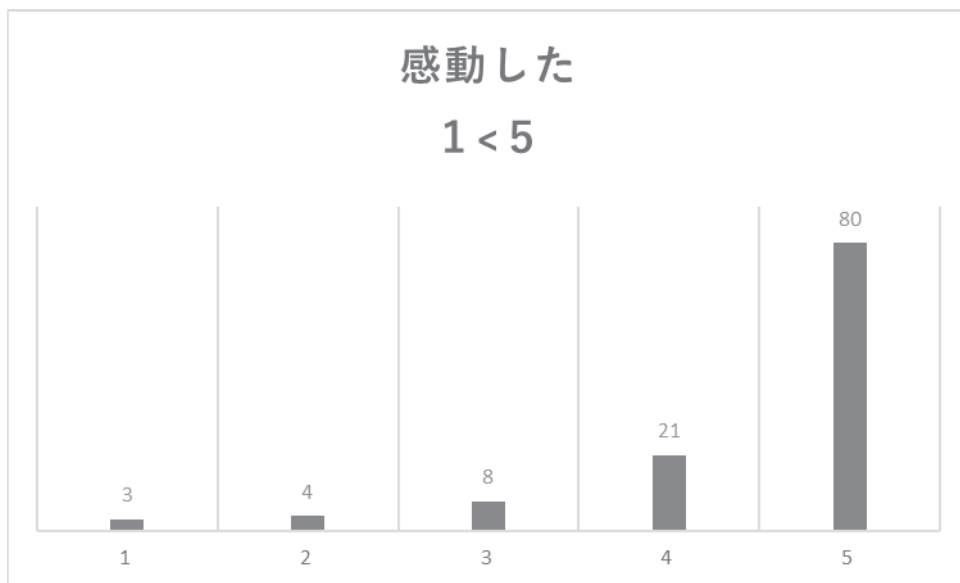
図4



参加者の大半が「初めて」と回答している。ネイチャークルーズは未開拓の市場と思われる。

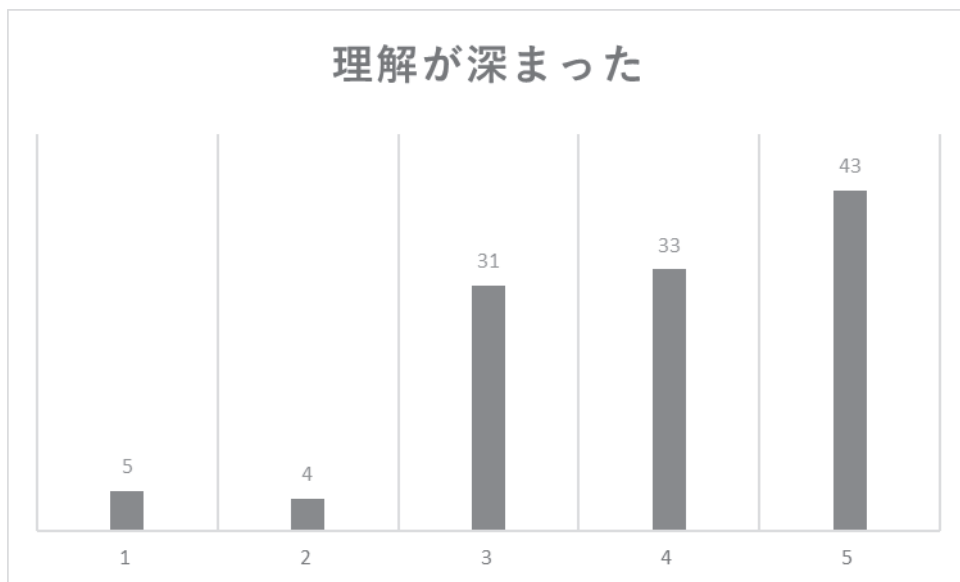
以下の回答は、ネイチャークルーズに参加した観光客の感想である。回答方法は、「そう思わない⇔  
そう思う」を1～5段階で乗客が評価している。今回の調査目的に重要と思われる項目のみ取りあげる。

図5 クジラやイルカ、鳥類の姿に感動したか？



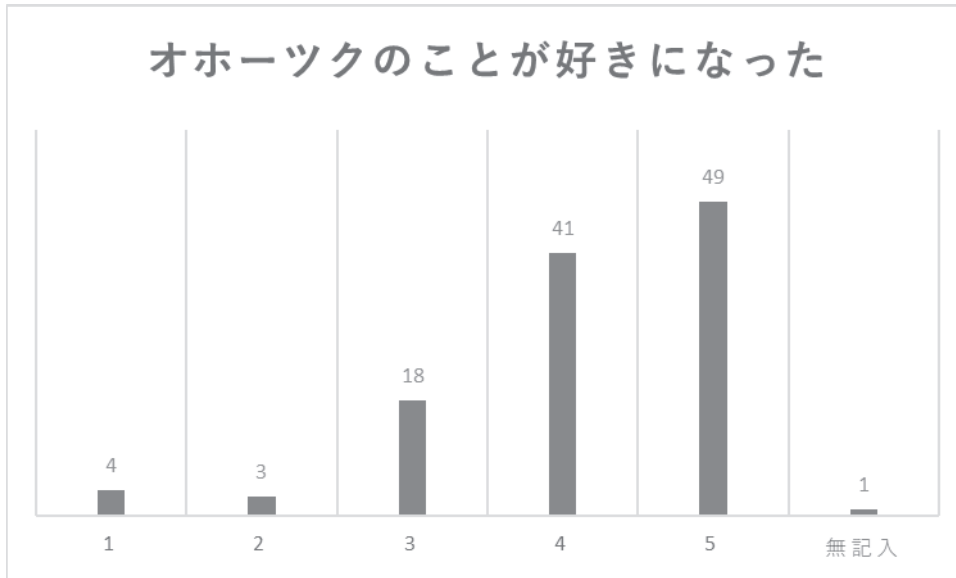
ネイチャークルーズの参加有無に関わらず、「感動した」と回答する参加者が多かった。

図6 海の生き物の生態や自然についての理解が深まった



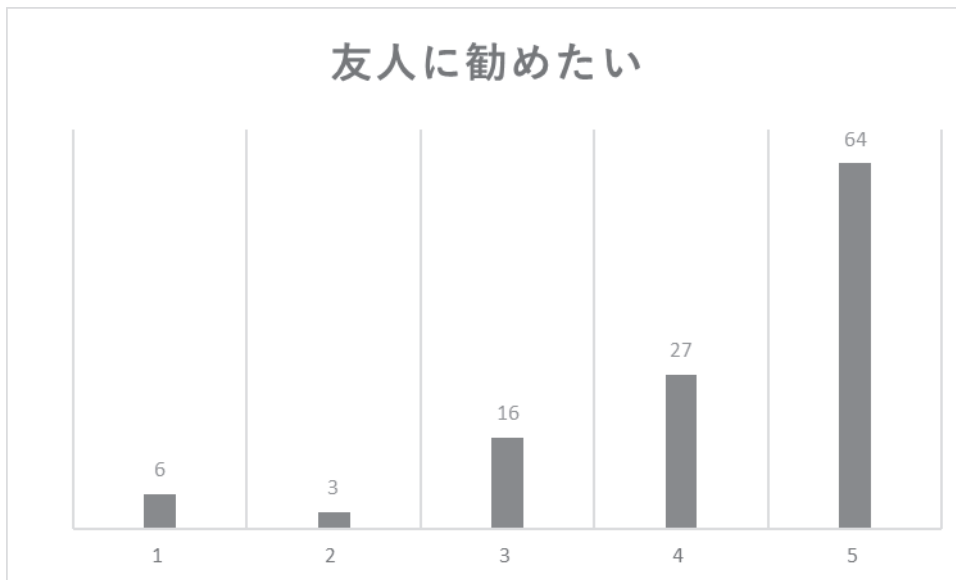
「そう思う」と回答した観光客が多い。しかし、船上にて理解を深めるようなガイドがあったわけではない。「生で見ること＝理解が深まる」と認識しているように考えられる。ここが問題であり、観光客は「すべてを知った気」になっている。屋久島などでは、専門ガイドが、自然を見る＝自然を理解するとはならないようガイドを行っている。こうした点が屋久島のリピート率の高さに影響している。今後を取り組む、持続参加型のクルーズ観光においても、こうした点の改良が必要になる。

図 7



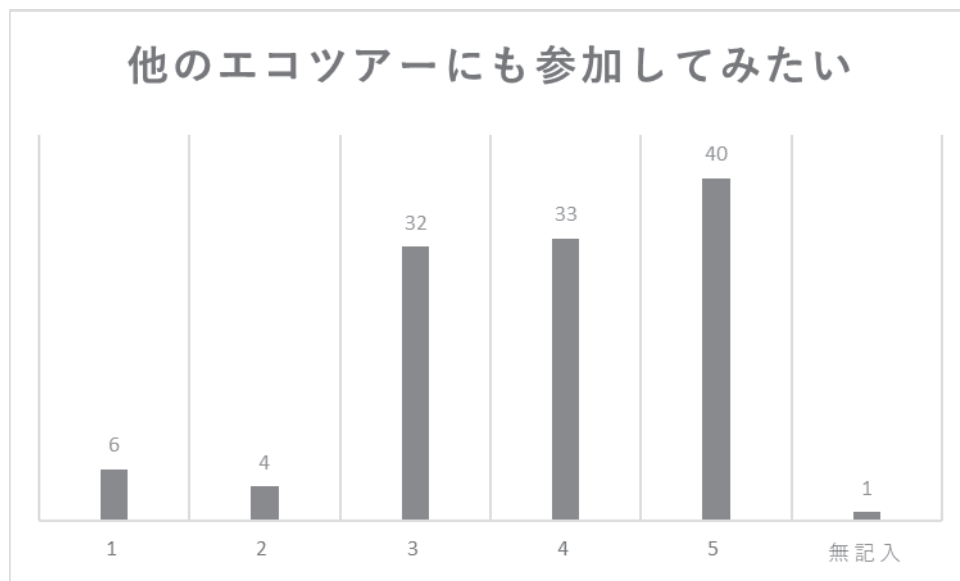
ネイチャークルーズを通じて、オホーツクに好印象を持つ観光客が多かった。「そう思わない」と回答した観光客の要因として、船酔いが考えられる。

図 8



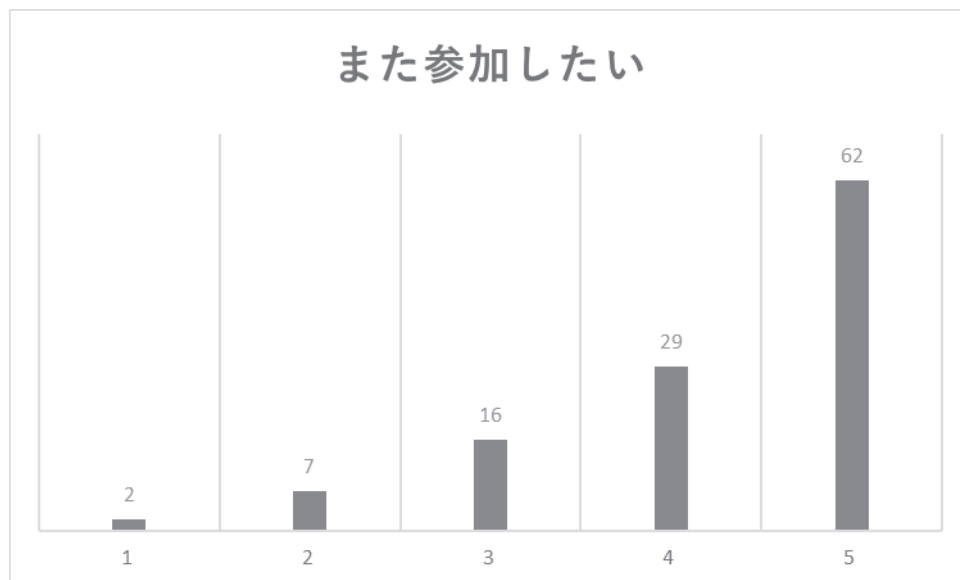
「勧めたくない」と考える観光客の大半が、船酔いと考えられる。

図9 森林や湖で行われるその他のエコツアーについても参加してみたい



ネイチャーツーリズムに対する興味・関心は高い。他のネイチャーツーリズムを組み合わせた観光の在り方も重要になる。

図10 またこのクルーズに参加したい



参加者は現行のネイチャークルーズに対して、十分な満足を得ていた。これは我々の予想と異なる形であった。これを踏まえ、2012年～2021年（8978名）のデータをもとに、リピーター率を調査した。



図 11 2011 年～2020 年のリピーター率

参加回数	居住地													道内	道外	合計
	網走	オホーツク	北海道	東北	関東	東京	中部	近畿	中国	四国	九州	海外	不明			
2	48	31	109	4	35	30	15	22	1	0	1	4	0	188	112	300
3	12	2	7	0	7	5	4	2	0	0	0	0	0	21	18	39
4	4	1	2	0	3	0	0	1	0	0	0	0	0	7	4	11
5	3	2	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	6	2	8
6	4	3	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	7	1	8
7	2	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	2	2	4
8	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	5
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	3	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	4
11	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	3
12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
14	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2
15	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2
16	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
18	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
21	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2
22	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
25	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
26回以上	2	3	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	7	1	8
合計	91	46	124	4	47	37	20	26	1	1	1	4	0	261	141	402

過去 10 年間の総参加者数 8978 名のうち、リピーターは 402 名であった。リピーター率は、極めて低い。参加後は、イルカ等を生で見ることができ、高揚していた結果、「また参加したい」と多くの参加者が回答したものと思われる。

## ② 滞在型ネイチャークルーズの模索

滞在型観光を実施するためには、エンジン音がある中で、双方向の会話が可能な環境を整えなければならぬ。そこで、この課題をクリアするため、試験的にイヤホンを購入した。イヤホンを用いることにより、双方向の会話が可能になったものの、場所によっては電波が届かず、会話が中断するなどの問題が起きた。そこで Wifi を船内に設置した。これによって、音の問題はほぼ解決した（8 月 6 日、10 月 1 日に事前準備を行い確認）。

モニターを募るため、網走市民、農大生などを対象に呼び掛けた。市民や農大生、近隣の清里中学校からも協力を得る体制が整ったが、コロナの影響により、中止となった。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

特になし

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

滞在型観光の準備を進めたが、コロナの影響で一度も実施することが出来なかった。したがって、準備を進めた滞在型体験型観光のモニター調査の遂行が残された課題である。

2022 年度の予定は、次のとおりである。週末の土曜日に 1 日 1 便で、上限を 10 名に実施したい。

- 1) ライトランセクト法による鯨の資源量調査（鯨に近づき種類や頭数、個体識別の写真撮影）およびポイントにおける採水や釣りによる魚類採取。途中、海洋ごみ採取。

航路を決めておいて、

- 2) 発信機装着およびバイオプシー調査。ポイントにおける採水や釣りによる魚類採取。途中、海洋ごみ採取。

ボーガンをとばして調査

- 3) 行動観察および音響調査。ポイントにおける採水や釣りによる魚類採取。途中、海洋ごみ採取。
- 4) イルカの個体数推定調査。ポイントにおける採水や釣りによる魚類採取。途中、海洋ごみ採取。
- 5) 荒天対応体験
  - ① 回収した海のごみ観察
  - ② 海水のプランクトン観察
  - ③ 魚の同定、計測や餌生物調査
  - ④ 海生哺乳類の解体・骨の仕組み体験
  - ⑤ 写真による海生哺乳類の個体識別体験
- 6) レクチャー(夜の部):これまでの調査結果の概要や色々なトピックスの講演を聞きながら、釣った魚を会食。
- 7) Zoom 参加については要検討。

※滞在型体験型観光では、海の環境問題の解決とモニタリングが最終目的であるため、ノープラを心掛け、ボトルに好きな飲み物を入れ、昼食もノープラ弁当で対応予定。

☞飲み物は、地元の飲食店の独自性が高いものを提供。

☞ノープラ弁当は、地元の食材を使った手軽に食べられる弁当

## 10. 公表した成果一覧

なし

# 2021年度 東京農業大学と東京情報大学との共同研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 若菜 宣明・大山 一志

## 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
うつ病患者における食事によるセロトニン量の変化と抑うつ症状の変化の検証	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	若菜 宣明	応用生物科学部 栄養科学科・准教授	研究統括、飼育、各種測定
研究代表者 (東京情報大学)	大山 一志	東京情報大学看護学部 看護学科・助教	研究総括、文献検討
研究分担者	福山 直人	応用生物科学部 栄養科学科・教授	解剖
	本間 和宏	応用生物科学部 栄養科学科・教授	解剖、データ解析
	市川 香織	東京情報大学看護学部 看護学科・教授	文献検討
	藤井 博英	東京情報大学看護学部 看護学科・教授	文献検討

## 3. 研究期間

2021年6月9日～2022年3月31日

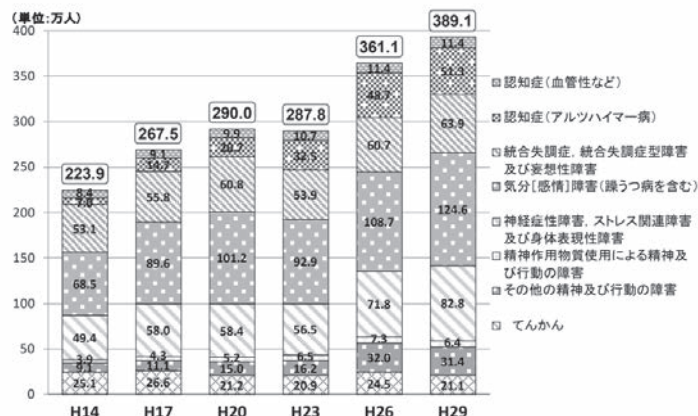


図1 精神疾患を有する外来患者数の推移 (疾病別内訳)  
(厚生労働省、平成29年患者調査の概況より引用)

## 4. 研究の背景 (当初)

日本における自殺者数は2006年に自殺対策基本法が施行されて以降、減少に転じている。自殺の原因・背景には、学校問題や勤務問題などのほかに、健康問題の一つとしてうつ病が関係している。厚生労働省の患者数調査によるとうつ病患者数は近年増加傾向にある(図1)。

うつ病の病態には、脳内における神経伝達物質であるセロトニン濃度の低下が関与することが報告されている。セロトニンは、

情緒行動や認知機能、食欲、脳への血流調節などに対して重要な役割を果たしている神経伝達物質であり、前駆物質は必須アミノ酸の一つであるトリプトファンである。うつ病治療の主たる治療は薬物療法であり、第一選択薬は、脳内のセロトニン濃度の不足を補うことで治療効果を得る選択的セロトニン再取り込み阻害薬 (Selective Serotonin Reuptake Inhibitor:以下、SSRI) である。しかし、SSRIによる薬物療法では、副作用として食欲不振や悪心などだけでなく、賦活化症候群による自殺などがみられるほか、病状が改善した際の減薬が難しい症例もみられる。SSRIによる食欲不振や悪心嘔吐などの副作用により、うつ病患者の栄養状態が低下する可能性があると考えられる。以上より、うつ病治療に必要な薬物療法によって患者の栄養状態が低下をきたす可能性があるため、食事療法はうつ病治療にかかすことができない治療法であると考えられる。

しかしながら、うつ病に対する食事療法はまだ確立していない。動物実験において食餌が脳内セロトニン濃度に与える影響を検討した先行研究では、トリプトファンの単独投与は夜間の脳内セロトニン濃度を上昇させること、ビタミン B<sub>6</sub> はトリプトファンからセロトニンを合成する際に関与することに加えて、脳内へのトリプトファンの取り込みを増加させることなどが示唆されている。さらに、ヒトを対象とした研究でも、男性うつ病患者においてビタミン B<sub>6</sub> の摂取量は抑うつ気分や意欲の低下などの精神症状と逆相関があることが示唆されている。しかしながら、うつ病患者が食事療法を行ううえで単独の栄養素を強化することは現実的ではないことから、様々な食材の組み合わせによって複数種類の栄養素を強化した食事が脳内セロトニン濃度に与える影響を検討する必要がある。

## 5. 研究目的

本研究では、うつ病患者における食事によるセロトニン量の変化と抑うつ症状の変化を検証することを最終目的として、基礎的研究として、実験動物を用いてトリプトファン強化食、ビタミン B<sub>6</sub>強化食、トリプトファンおよびビタミン B<sub>6</sub>強化食を投与し食餌が脳内セロトニン濃度に与える影響を検討した。

## 6. 研究（実験）方法

### 【食餌が脳内セロトニン濃度に与える影響の解析】

15 週齢の雄性 Wistar ラット 20 匹を、日本クレア社製の CE-2 (トリプトファン 0.24%、ビタミン B<sub>6</sub> 1.3mg/100g) を摂取させた Control 群、CE-2 にトリプトファンを添加したトリプトファン強化食 (トリプトファン 0.85%、ビタミン B<sub>6</sub> 1.3 mg/100g) を摂取させた HTRP 群、CE-2 にビタミン B<sub>6</sub> を添加したビタミン B<sub>6</sub> 強化食 (トリプトファン 0.24%、ビタミン B<sub>6</sub> 16.3mg/100g) を摂取させた HVB6 群、CE-2 にトリプトファンおよびビタミン B<sub>6</sub> を添加したトリプトファンおよびビタミン B<sub>6</sub> 強化食 (トリプトファン 0.85%、ビタミン B<sub>6</sub> 16.3mg/100g) を摂取させた HMIX 群の 4 群に分け、1 週間飼育した。飼育期間中は食餌と飲水は自由摂取とした。飼育後、採血した後に、肝臓、腎臓、ヒラメ筋、脳を摘出しそれぞれの重量を測定した。血清セロトニン濃度および血清キヌレニン濃度は ELISA 法により測定し、脳内セロトニン濃度は、脳組織をホモジナイズしたのち ELISA 法にて測定した。本実験は、東京農業大学動物実験委員会の承認を得て行った (No.2021027)。統計処理は、ビタミン B<sub>6</sub>強化とトリプトファン強化による各データへの影響を検討するため、それらを 2 要因とする二元配置分散分析により検討した。交互作用が認められた項目に関しては多重比較検定を行った。統計ソフトは EZR (ver.4.1.2) を使用し、有意水準は 5%とした。各種データは平均値±標準偏差で示した。

### 【うつ病患者への臨床研究実施方法の検討】

うつ状態の評価方法およびうつ病患者への食事療法実施方法について検討した。文献検討により、うつ状態の評価方法については、HAM-D (Hamilton Depression Scale) および MADRS (Montgomery- Asberg Depression Rating Scale) を評価尺度として採用することとした。いずれの尺度においても、信頼性が確保されており、臨床でも広く用いられている。うつ病患者の食事療法の実施方法としては、文献検討および臨床の精神科医との実行可能性についての検討をおこなった。SSRI 等の抗うつ薬投与による脳内セロトニン量の変化の影響を受けていない治療段階の患者を対象とすることが望ましく、精神療法にて治療を行う患者を対象とすることが妥当であると判断した。

表1 体重および各組織の重量

	Control (n=5)	HTRP (n=5)	HVB6 (n=5)	HMIX (n=5)
体重(g)	374.3±9.7	368.9±16.5	375.6±8.8	358.3±11.0
肝臓重量(g)	14.7±1.2	13.6±1.7	13.0±0.7	12.2±0.8*
腎臓重量(g)	2.9±0.4	2.6±0.3	2.6±0.3	2.5±0.2
ヒラメ筋重量(g)	4.9±0.5	4.7±0.3	4.8±0.1	4.4±0.3
脳重量(g)	2.0±0.2	1.9±0.1	2.0±0.1	2.0±0.1

\* $p < 0.05$  vs control group

解剖時体重には、各群間に有意な差は認められなかった。腎臓重量やヒラメ筋重量、脳重量では各群間に有意な差は認められなかった。肝臓重量は、Control 群に比較し HMIX 群が有意に低値であった ( $p < 0.05$ )。

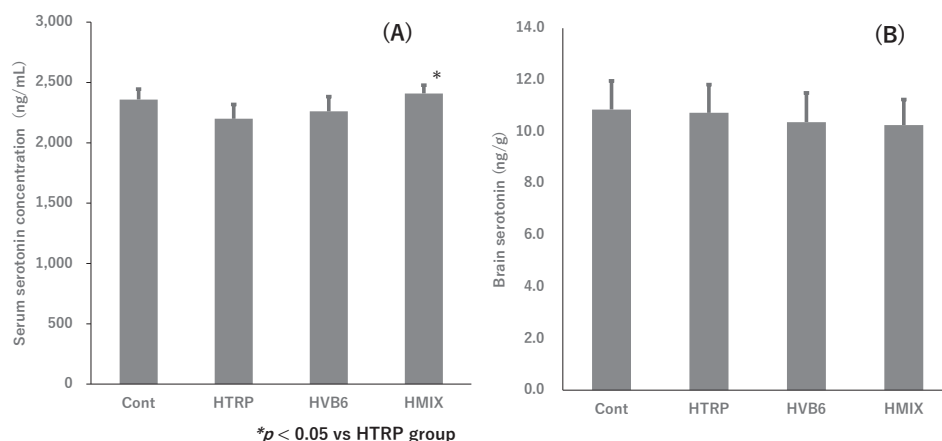


図2 食餌による血清セロトニン濃度(A)と脳内セロトニン濃度(B)の変動

濃度に与える影響を検討した先行研究と同様の結果であった。

セロトニンがトリプトファンから合成される際に関与する芳香族アミノ酸脱炭酸酵素の補酵素としてビタミン B<sub>6</sub> が利用される。したがって、トリプトファンからセロトニンへの変換酵素である芳香族アミノ酸脱炭酸酵素の基質としてのトリプトファンが添加されたことに加え、アミノ酸脱炭酸酵素の補酵素であるビタミン B<sub>6</sub> も添加されたことによって、セロトニンの合成が促されたことで、HTRP 群に比較し HMIX 群の血清セロトニン濃度が有意に上昇したと考えられた。一方で、脳内セロトニン濃度は各群間に有意な差は認められなかった (図 1-B)。トリプトファンを 125mg/mL/day を経口投与した先行研究では脳内セロトニン濃度は変化しておらず、2mg/mL のビタミン B<sub>6</sub> 腹腔内投与が脳内へのトリプトファンの取り込みを促すことを明らかにした先行研究でも脳内のセロトニン濃度は変化がなかったと報告しており、本研究も同様の結果であった。

食餌由来のトリプトファンの 95% がキヌレニンに代謝される。そのため、食餌による血清キヌレニン

## 7. 研究成果

【食餌が脳内セロトニン濃度に与える影響の解析】

体重および各組織の重量を表 1 に示す。飼育期間中の体重変動量および

食餌による血清および脳内セロトニン濃度に対する影響を検討した。血清セロトニン濃度は、HTRP 群に比較して HMIX 群が有意に高値であった ( $P < 0.05$ , 図 2-A)。HTRP 群は、トリプトファンを添加した食餌が血清セロトニン

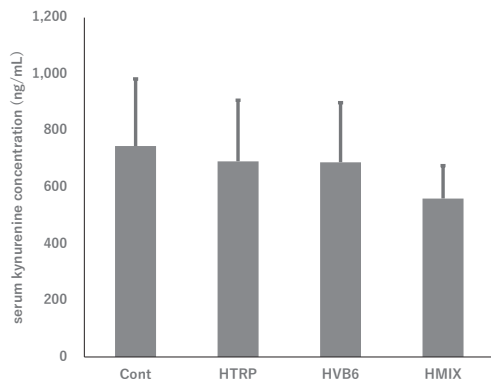


図3 食餌による血清キヌレニン濃度の変動

濃度への影響を検討したところ、各群間に有意な差は認められなかった(図3)。トリプトファンからキヌレニンへの代謝の90%は肝臓にて行われ、トリプトファンはインドール-2,3-ジオキシゲナーゼによりキヌレニンへ代謝される。その後、キヌレニンは、キヌレニン酸や3-ヒドロキシアントラニル酸などに代謝されたのちにキノレン酸を介してNADへと変換される。ビタミンB<sub>6</sub>は、キヌレニンをアントラニル酸に変換するキヌレニアーゼやキヌレニンからキヌレニン酸に変換するキヌレニンアミノ酸トランスフェラーゼの

補酵素として利用される。本研究では、各投与群間のキヌレニン濃度は有意な差が認められなかったが、他の群に比較しHMIX群の血清キヌレニン濃度が低い傾向がみられたことから、トリプトファンに加えてビタミンB<sub>6</sub>が添加された食餌によりキヌレニンの代謝が促された可能性があると考えられた。

本研究では、トリプトファンおよびビタミンB<sub>6</sub>を添加した食餌による脳内セロトニン濃度への影響は認められなかった。しかし、トリプトファンを単独で添加した食餌に比較してトリプトファンおよびビタミンB<sub>6</sub>を添加した食餌により血清セロトニン濃度は有意に上昇した。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

### 【食餌が脳内セロトニン濃度に与える影響の解析】

うつ病患者には高齢者や授乳婦もみられる。そのため、うつ病患者をとりまく栄養問題はその患者特性によって多岐にわたる可能性がある。これらのうつ病患者の食事療法を検討するために必要となる、特定の栄養素を強化した食餌が脳内セロトニン濃度に与える影響を検討するために必要となる実験手法を本研究では確立した。本研究では検討しえなかった栄養素の組み合わせや各種栄養素の投与量等を加味して脳内セロトニン濃度に与える影響をさらに詳細に検討することが必要であることから、本研究で確立した実験手法は有用であると考えられる。

さらに、セロトニンは情動以外にも、消化管の運動、知覚、分泌に大きく関係している。セロトニンの受容体は消化管にも数多く存在している。その中でも、5-HT<sub>1</sub>、5-HT<sub>2</sub>、5-HT<sub>3</sub>、5-HT<sub>4</sub>、5-HT<sub>7</sub>受容体が消化管の平滑筋に存在し、平滑筋の収縮と弛緩に関係する。炎症性腸疾患(Inflammatory Bowel Disease, IBD)の治療薬には、5-HT<sub>3</sub>、5-HT<sub>4</sub>受容体に作用する薬物が用いられている。したがって、本研究の実験手法は、血清セロトニン濃度を上昇させうる食餌組成を明らかにした点において、炎症性腸疾患に対する新しい治療法の検討にも活用できる可能性があると考えられた。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

### 【食餌が脳内セロトニン濃度に与える影響の解析】

本研究では、食餌による脳内セロトニン濃度への影響を検討するため、脳内セロトニン濃度に着眼して検討を行った。セロトニンはメラトニンへと代謝されるため、脳内メラトニン濃度の検討も必要であると考えられる。

今回の動物実験では、解剖を午前11時から開始したが、トリプトファンの単独投与による血中および脳内セロトニン濃度の上昇が確認された先行研究では、午後9時や10時といった時刻でも検討がなされていた。そのため、今後はサーカディアンリズムによる変動も視野にいれた実験計画が必要である

と考えられた。

今後の研究方針としては、うつ病をきたす可能性があると考えられる授乳婦や高齢者を想定し検討を行う。そのためには、これらの対象に不足する栄養素を欠乏させた食餌にて飼育したラットや実際のうつ病患者に近いと考えられるストレス負荷によりうつ病を発症させたモデルラットに対して不足した栄養素を強化した食餌などによる脳内セロトニン濃度への影響を検討する必要があると考えられた。

#### 【うつ病患者への臨床研究実施方法の検討】

臨床研究への応用にあたっては、うつ病患者への食事療法を行うこととなるが、精神療法による治療段階にあるうつ病患者を対象とした場合、対象者は自宅での食事摂取を行うことが想定される。そのため、食事療法の実施にあたっては、対象者が自身で実行できるよう、これらの栄養素を含む食材と栄養素の組み合わせが示されたレシピを提示していく必要がある。また、これら栄養素を含む食事の摂取量や摂取頻度等も示していくことが、対象者自身が実行可能なものとなると考えられる。

## 10. 公表した成果一覧

学会発表

- 1) 若菜宣明、稲葉咲子、部谷祐紀、本間和宏、福山直人（2022）トリプトファンとビタミン B6 が血清および脳内セロトニン濃度に与える影響 第31回日本健康医学会総会

# 2021年度 東京農業大学と東京情報大学との共同研究プロジェクト 研究成果報告書

研究代表者 町田 怜子・朴 鍾杰

## 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
Society5.0 社会におけるレジリエンス農業の確立に向けた多様な人々の能力を發揮するロボティック・プロセス・オートメーション (RPA) 実装の加速化	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	町田 怜子	地域環境科学部 地域創成科学科・教授	統括・農福連携における農作業と担い手マッチング評価
研究代表者 (東京情報大学)	朴 鍾杰	東京情報大学総合情報学部 総合情報学科・情報システム学系・教授	UAVによる農作物認識と農作物データベース作成
研究分担者	大見 嘉弘	東京情報大学総合情報学部 総合情報学科・情報システム学系・准教授	UGV 製作と IoT との遠距離無線通信確立
	内田 治	東京情報大学総合情報学部 総合情報学科・数理情報学系 准教授	収穫作物の官能評価
	茂籠 (池田) 幸代	東京情報大学総合情報学部 総合情報学科・社会情報学系・准教授	多様な人々の農作業支援における感情認識の評価
	高畑 健	農学部 農学科・教授	特定農作物の適栽探索と栽培技術評価
	鈴木 伸治	地域環境科学部 生産環境工学科・教授	農地土壌環境の評価
	関山 絢子	地域環境科学部 生産環境工学科・准教授	ハイパースペクトル画像を用いた収穫最適期の推定
	藤川 智紀	地域環境科学部 地域創成科学科・教授	有機物の利用による環境負荷低減と地域活性化
	下嶋 聖	地域環境科学部 地域創成科学科・准教授	MMS/3D レーザ測量を用いた超高精細農地基盤の解析
	大久保研治	国際食料情報学部 国際食農科学科・准教授	スマート農業及び農福連携による農作業の経済性評価
	谷岡 由梨	国際食料情報学部 国際食農科学科・准教授	収穫物の機能性と成分特性に関する研究



### 3. 研究期間

2021年6月9日～2022年3月31日

### 4. 研究の背景（当初）

本研究の目的は、農業革新をもたらすといわれ注目を浴びているスマート農業（精密農業）の技術導入において、経済性の確立を目指した現場の農家従事者が真に求める援用システムについて明らかにする実証評価手法の構築と農業の担い手不足解消にむけた農福連携による多様な主体の農業参画のプログラム導入のあり方の検証、評価である。

Society 5.0 で実現する社会は、IoT を用いた知識・情報の共有・連携強化、イノベーションによる地域の課題や高齢社会のニーズへの対応、AI による情報の探索・分析及びその提供、ロボットやMR（Mixed Reality：複合現実）を援用した多様な人々の就労支援や負担軽減の具現化である。一方、農業の現場では、依然として人手に頼る作業や熟練者でなければできない作業が多く、省力化、人手の確保、負担の軽減が重要な課題となっている。これらの課題克服に向け、スマート農業元年である 2018 年より内閣府は「戦略的イノベーション創造プログラム（SIP）」を掲げ、農業データ連携基盤（通称：WAGRI）のプロトタイプが構築され、「世界トップレベルのスマート農業の実現」を目指している。

スマート農業の各種実証実験や社会実装の検証が始まったが、一方で新技術の持続性を担保するための経済性評価や現場の農業従事者の立場に立った技術のアクセシビリティ検証は不十分なままである。加えて 2016（平成 28）年に、「障害を理由とする差別解消の推進に関する法律」が施行され、農福連携による多様な主体の参画が、農業の担い手不足の解決を図る方策として期待されている。農福連携関連の研究では実態調査や就労支援に関する報告は多いものの、本研究が解明しようとする多様な人々の能力・人材を支援する農業技術開発とそのマッチングシステムに関する研究は少ない。

### 5. 研究目的

本研究では、経済性の確立を目指した現場の農家従事者が真に求める援用システムについて明らかにし、農業の担い手不足解消にむけた農福連携による多様な主体の農業参画のプログラム導入のあり方の検証を行うことを目的とする。最終目標は栽培、管理、収穫に至る一連の農作業におけるロボティック・プロセス・オートメーション（RPA：事業プロセス自動化技術）実装化とその統合評価を行う。

### 6. 研究（実験）方法

本研究は、主要な研究の柱として、1.IoT センサーと無人機（UAV と UGV）との情報交換技術確立、2.多様な人々の能力・人材を活用した特定農作物の適栽探索とその官能・機能性評価、3.可視画像及びハイパースペクトル画像を用いた育成状況の判断アルゴリズム開発、4.レジリエンス農業の確立に向けた多様な人々の能力を發揮する栽培、管理、収穫に至る一連の農作業におけるロボティック・プロセス・オートメーションの実装化とその統合評価、を掲げ以下の通り実施する。

研究課題 1.IoT センサーと無人機（UAV と UGV）との情報交換技術確立（情報大：朴・大見、東京農大：関山・下嶋）

(1)機械学習のための基本データ収集とデータベースの構築（情報大：朴・大見・東京農大：鈴木・関山・下嶋）

機械学習のための基本データ収集とデータベースの構築。また、MMS（移動計測車両による測量システ

ム) /3D レーザ測量を用いた超高精細農地基盤の解析は MMS 及び 3D レーザ測量を併用して、UGV (無人車) の走行評価及び農作物生育評価に資する当該畑地及び水田の超高精細農地基盤 (数値標高モデル) の取得。

(2)UGV 製作と IoT との遠距離無線通信確立 (情報大・大見)

当該畑地及び水田において走行可能な UGV 製作と IoT センサーとドローン間の情報通信に関する実証実験。

研究課題 2. 多様な人々の能力・人材を活用した特定農作物の適栽探索とその機能性・官能評価 (東京農大：高畑・藤川・谷岡・町田、東京情報大：内田・池田)

多様な人々が自然や土にふれながら、一連の農業活動を安心・安全、且つ、持続的に従事できる特定農作物の適栽探索。さらに、東京農業大学が特許を所得した根量減少植物栽培方法 (特願 特願 2016-176107 特許 特許第 6197257) によるワッシャーを用いた簡易なペピーノ栽培を特定農作物の候補とした官能・機能性評価。

(1) 特定農作物の適栽探索と栽培技術評価 (東京農大：高畑・藤川・町田)

多様な人々の能力・人材を活用した円滑な農作物の選択とその農業支援システムの構築。

(2) 特定農作物の機能性と成分特性の把握 (東京農大：谷岡、東京情報大：内田・池田)

東京農業大学のブランド力を持ち農福連携の親和性が期待される農作物を対象にした機能性と成分性の評価。

(3) 特定農作物の官能評価 (情報大：内田・池田、東京農大：高畑・谷岡)

東京農業大学のブランド力を持ち農福連携の親和性が期待される農作物を対象にした農作物の官能評価。

研究課題 3. 可視画像及びハイパースペクトル画像を用いた育成状況の判断アルゴリズム開発 (東京農大：鈴木・関山・情報大：朴)

作物の成長ステージ推定アルゴリズム開発では機械画像を用いた農業カレンダーの自動作成。生育状況や農作物判別に対応した最適解像度や画像からみる糖度予測分析。

研究課題 4. レジリエンス農業の確立に向けた多様な人々の能力を発揮する栽培、管理、収穫に至る一連の農作業におけるロボティック・プロセス・オートメーションの実装化とその統合評価 (東京農大：大久保ら全員)

経済性の確立を目指した現場の農家従事者が真に求める援用システムの実証評価手法の構築と農業の担い手不足解消にむけた農福連携による多様な主体の農業参画のプログラム導入のあり方の検証、評価。

## 7. 研究成果

本プロジェクトでは月に一度定期研究会を行い、活発な研究議論と緊密な連携を図り研究課題を実施した

研究課題 1. IoT センサーと無人機 (UAV と UGV) との情報交換技術確立 (情報大: 朴・大見、東京農大: 関山・下嶋)

(1) 機械学習のための基本データ収集とデータベースの構築 (情報大: 朴・東京農大: 下嶋)

本研究は千葉市吉田町と中野町の農家と千葉市農政センターのご協力のもと水稻をはじめ 8 種類 (トウモロコシ、落花生、キャベツ、ブロッコリー、ニンジン、サツマイモ、ショウガ、ネギ) の農作物に対してドローン観測を行った (図-1)。2021 年 5 月から 12 月まで計 32 回観測を行い、1 回観測で 2000 枚以上の画像を取得し、各ほ場に対して SfM によるオルソモザイクを行った。オルソデータは RGB 画像以外にマルチスペクトルデータを用いた植生指数 (NDVI)、ストレス指数 (NDRE) および標高データ (DSM) を求めた。RGB 画像は機械学習による作物の識別、NDVI と NDRE は作物の健康診断のために用いる (図-3)。

研究成果は、1 年間のドローン観測結果空間解像度 5 mm 以下の画像を約 60000 枚取得した。今後データを整備し公開することで日本の精密農業の作物管理に非常に役に立つと考えられる (図-2)。

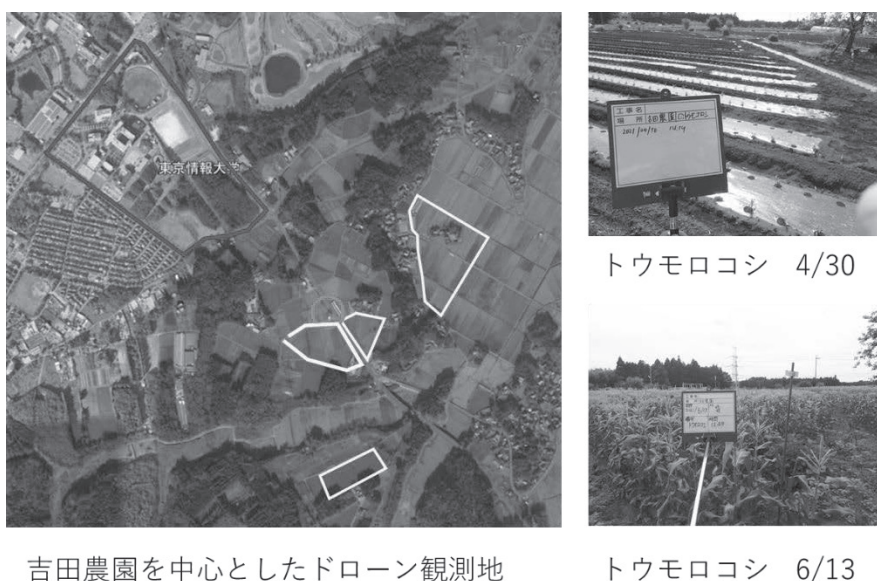


図-1 調査対象地

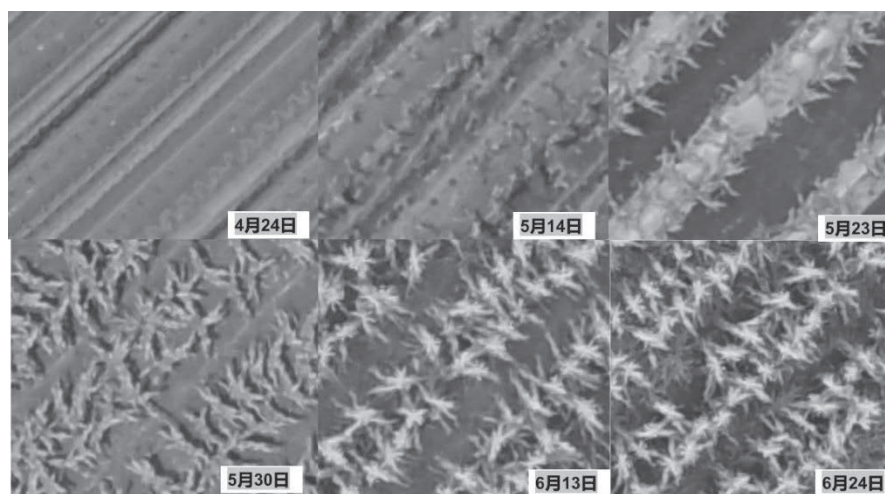


図-2 ドローン観測によるトウモロコシの生育過程

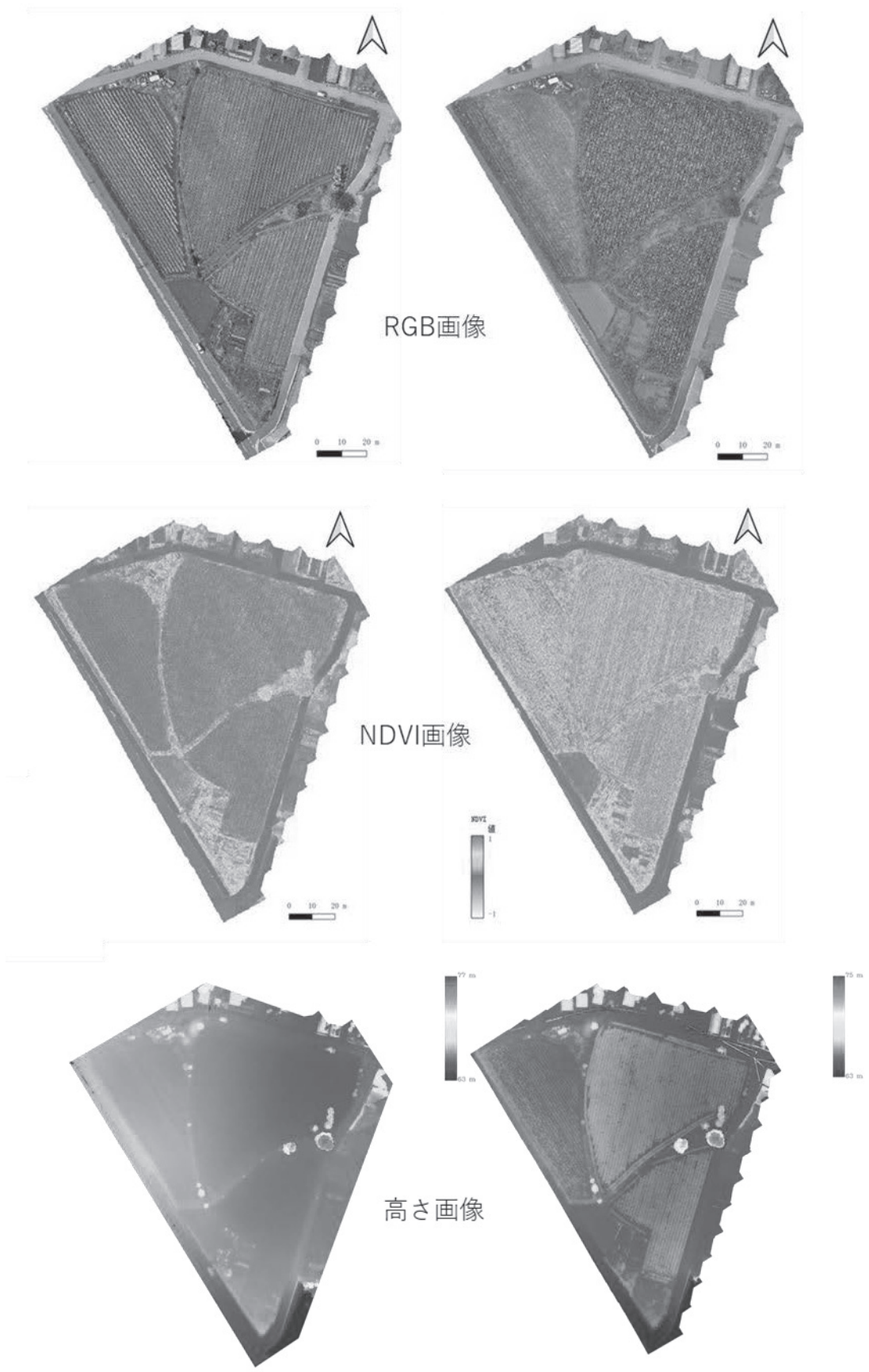


図-3 ドローン観測によるトウモロコシ画像データ

## (2)UGV 製作と IoT との遠距離無線通信確立 (情報大・大見)

農地において指定した場所まで自律運転を行い、各種のセンサーやカメラで農作物等の対象物を観測する UGV(無人車)を開発することを目標とする。このような農地向け UGV は開発があまり進んでおらず、あっても高価なものが多く、研究で利用するには障壁が高い。このため、安価に開発し手軽に利用できる UGV の開発を行った。

2021 年度は、農地の通路を走行できる性能の車体を製作し、手動で操縦する UGV を製作した。安価に開発するために、主にラジコン車の技術を用いた。また、自律走行車の研究で広く用いられている ROS(Robot Operation System)を採用した。ROS を用いることで自律走行に必要な豊富なライブラリが利用でき、今後の開発が円滑に行えることが期待できる。初年度は、無線ゲームコントローラを用いて人が操縦できる機能を実装した。また、今後の自律走行を見据えて GPS による位置情報取得機能を設けた。さらに、モバイルルータを搭載し、携帯電話網によるインターネット通信を可能にした。

農地の通路を走行し対象物を観測するのに適した UGV 車体の開発を行った。典型的な農作物を観測するために、地上から 70cm 程度の高さにセンサーやカメラを設置することを想定した。しかし、当初の車体ではタイヤの間隔が狭く重心が高くなり UGV が転倒することがあった。このため、車体幅 66cm、車体長 72cm の車体を製作し、転倒の恐れがないものにした。タイヤは、直径 17cm の溝の深いものを採用し、車体の地上高を 10cm 確保したため、多少の荒地でも走行可能になった (図-4)。

今後は、高精度 GPS、LiDAR、IMU などを搭載し本格的な自律運転を実現し、本プロジェクトの他分野と連携する予定である。

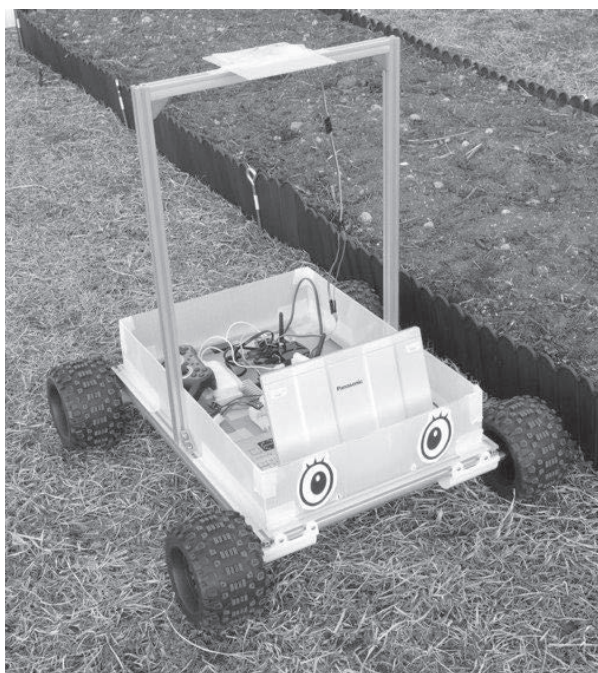


図-4 製作した UGV の外観

研究課題 2. 多様な人々の能力・人材を活用した特定農作物の適栽探索とその機能性・官能評価 (東京農大：高畑・藤川・谷岡・町田、東京情報大：内田・池田)

(1) 特定農作物の適栽探索と栽培技術評価 (東京農大・藤川・町田)

トウガラシの収穫適期や収穫後の品質選別に関する自動システムに関する研究

農福連携を実践している埼玉県合同株式会社十色の協力のもと、多様な人々の能力・人材を活用した特定農作物の適栽探索として、色や形で収穫適期を判断するトウガラシ (図-5) を対象に AI を用いた画像判断により収穫可否を判断することができないかを検討した。現場で 4 種類の形状の異なるトウガラシ (牛角大王、プサジュエラ、八房、ハラペーニョ) を対象に、それぞれスマートフォンを用いて 20 枚の写真を撮影し、実際に農家の用いる基準に従ってそれぞれの個体の収穫可否を判断した。この画像に対してブラウザからプログラミング言語「Python」を記述、実行できるサービスである Google Collaboratory をもちいて、収穫可否の情報を入力し、新たな画像に対して人間の判断を再現できるかどうか (正解率) を測定した。その結果、合計 80 枚では正解率が低かったが画像を回転 (90,180,270 度) させたり、反転させたりすることで 9 割以上の正解率となった (図-6・図-7・表-1))。また背景の影響を除くために、黒い板を後ろに置いて撮影した場合にも精度が上がった (図-8・表-2)。トウガラシの品種による差は見られなかったものの、上下が逆さになっている画像では正解率が下がるなど、より正解率を上げるためには写真の撮影方法にも改善の必要があることが示唆された。

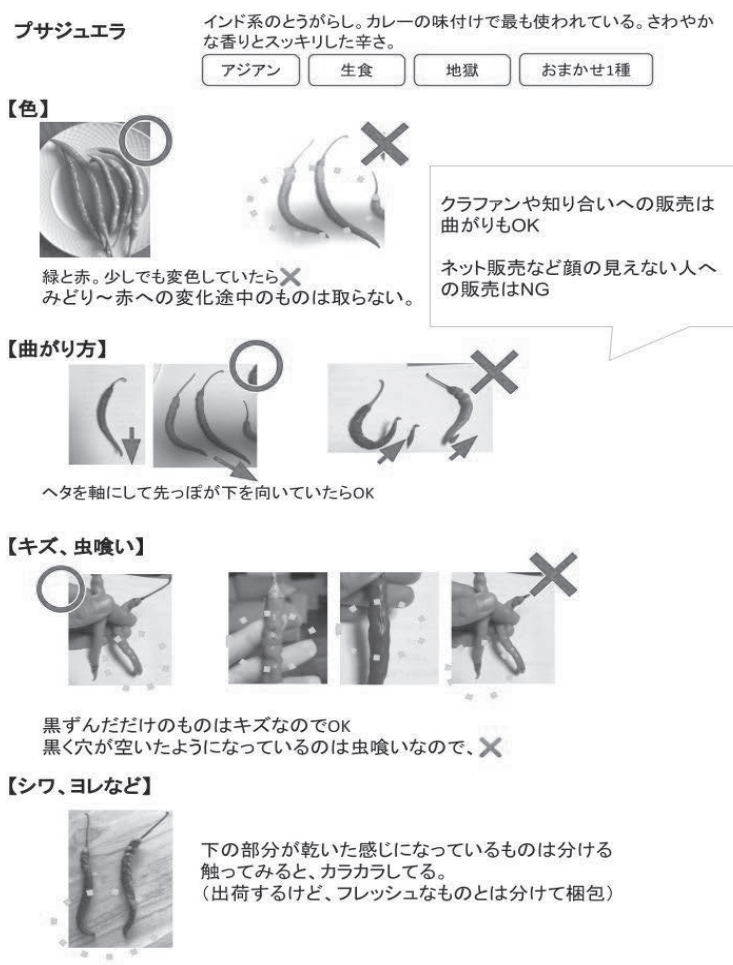


図-5 農福連携を実施している十色による収穫可否の判断例

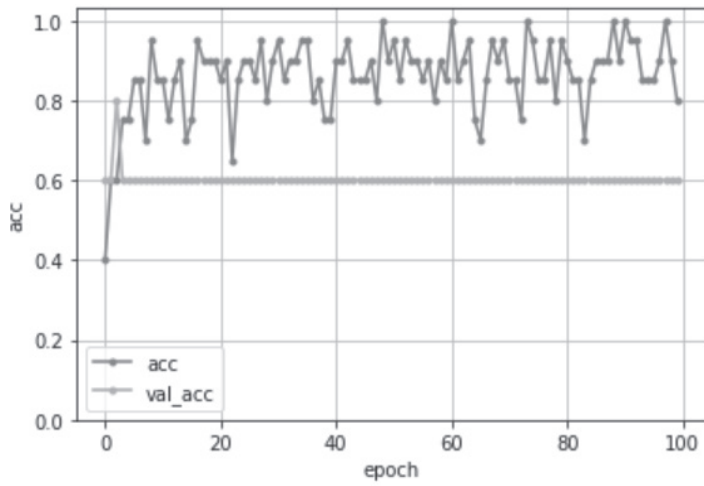


図-6 各トウガラシの正答率 (80 枚)

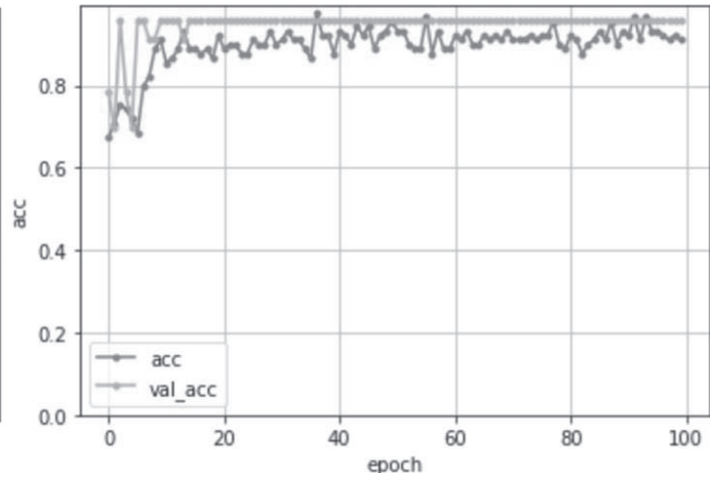


図-7 各トウガラシの正解率 (水増し枚数 160 枚)

表-1 各トウガラシの正解率

	80枚	160枚
プサジュエラ	85%	92%
ハラペーニョ	86%	92%
八房	87%	93%
牛角大王	83%	94%

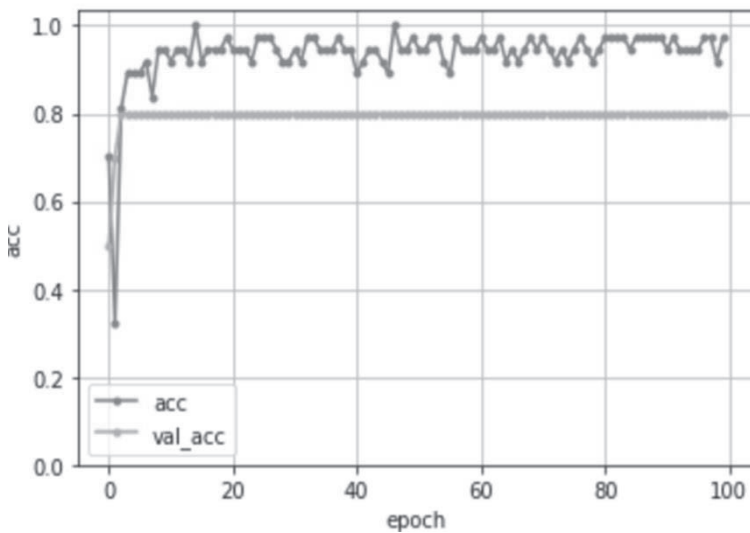


図-8 ハラペーニョ 背景黒の正解率

表-2 各トウガラシの正解率

背景に黒が入っているもの	80枚
プサジュエラ	90%
ハラペーニョ	89%
八房	89%
牛角大王	90%

## (2) 特定農作物の機能性と成分特性の把握（東京農大：谷岡・高畑）

特定農作物の候補に挙げたペピーノの栽培方法の違いによる成分及び味の特性について検討した。ペピーノは、栽培初期に主枝にワッシャーを取り付けることで、根からの水分吸収が抑制され、甘い果実の作出が可能であることが報告されている。また、アミノ酸や少糖類が増加すると報告されていることから、今年度は予備的検討として、露地栽培、温室栽培ワッシャー処理・未処理区、それぞれ3個体を提供頂き、果汁についてアミノ酸、少糖類（スクロース、グルコース、フルクトース）を分析し、さらに、味覚センサーを使用し味の特性を明らかにした。

いずれの個体も、果汁に含まれる遊離アミノ酸量は100mlあたり400mg以上含まれており、特にアスパラギン酸が90%を占めていた（図-9）。また、少糖類は、露地やワッシャー未処理区の果汁が、100mlあたり約6g程度だったのに対し、ワッシャー処理区は約9gであった。露地区果汁を基準に味覚センサーでワッシャー処理区の果汁を測定したところ、未処理区に比べ、酸味や旨味こくが強く、苦味が少ない傾向が見られた。また、各処理区果実の黄色の濃淡の違いが観察された。これは機能性成分であるカロテノイドであると推測されることから、今後、果実・果汁の機能性をさらに検討し、加工品開発につなげていきたいと考えている。

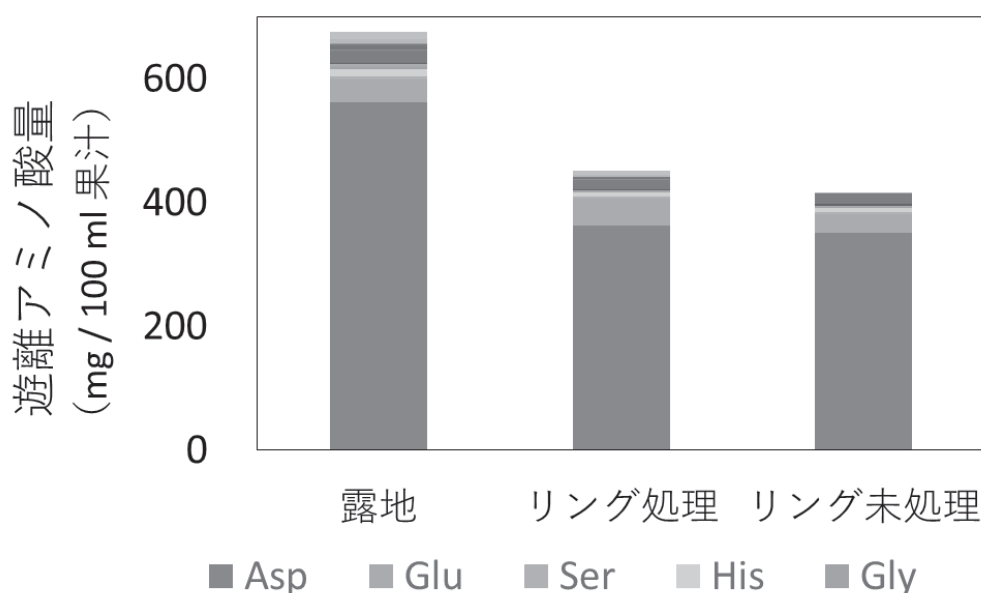


図-9 ペピーノアミノ酸分析

## (3) 特定農作物の官能評価（情報大：内田・池田・東京農大：谷岡）

ペピーノの収穫時期が5月~7月のため本年度の成果はない。しかし、2022年5月から7月での官能評価実施に向けて、ペピーノと比較し評価する農作物の検討（例メロン）や実験計画を準備している。



研究課題3. 可視画像及びハイパースペクトル画像を用いた育成状況の判断アルゴリズム開発 (東京農大: 農大・鈴木・関山、情報大: 朴)

(1) 機械画像を用いた農業カレンダーの自動作成 (情報大: 朴)

成長ステージ推定に関しては、千葉市吉田町と中野町のキャベツとブロッコリーにおける生育ステージを3段階に分け機械学習を行った(図-10)。植えて1か月以内(ステージ1)、成長期(ステージ2)、収穫適性期(ステージ3)に分けた。機械学習方法は物体検出と認識に優れたYOLO (You Only Look Once) を用いた。358個のキャベツと289個のブロッコリーを用いて学習(70%)と検証(30%)に分けた。学習データの正解率は84%であり、検証データは82%であった。主な誤分類はステージ1のキャベツとブロッコリーの識別が困難なことであった。農家の人でも芽が出て間もないステージ1の時期は区別が難しいとのことだった。その他、雑草によって結球した部分が隠れるとうまく個体検出できないことが明らかになった。

また、正解率を高めるために、YOLOとResNet (Residual Network) の2段階判別を行った(図-11・図-12)。YOLOのみの判別より、定植期では96%、生育期では91%、結球期では96%など分類精度が向上した(図-13)。

ResNetによるキャベツの生育ステージごとの分類結果である。精度はResNet50が98.5%、ResNet152が99.6%になった。ResNetの深度が深くなるほど精度が向上するが処理時間が増えることがわかった。

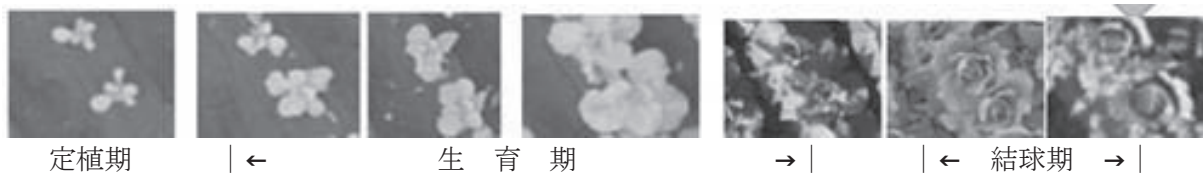
本研究ではキャベツの生育ステージを推定するため、1. YOLOv5を利用して直接キャベツ生育ステージの推定、2. YOLOv5とResNetによる2段階モデルでキャベツの生育ステージ推定を行った。2段階モデルを構築する理由として、物体の位置を検出するYOLOv5と物体認識に特化したResNetを用いることで精度を向上させることができた(表-3)。

今回の実験では、ドローンリモートセンシングの可視光カメラデータのみを使用した。今後はマルチスペクトル画像を加えることで認識精度への影響について検討する必要がある。

研究成果は、機械画像を用いて作物の生育ステージを簡単に推定でき、農業カレンダーも自動的に作成可能になった。また、キャベツの場合は結球の数を自動的に数えられるため収量も推定できるようになった。

今後は他の作物も学習を行い農作物の自動分類とほ場単位の株数と生育状況を自動的に評価し、WebGISを用いて管理できるようにする必要がある。

病虫害解析に関しては、農家は長年の経験から病虫害発生の前に作物に対して消毒を行うため病虫害が発生しない。本研究の目的の一つである病虫害の早期発見に関するデータの取得が困難であった。次年度からは東京情報大学の敷地内で畑と家庭菜園の農家に協力を得て病虫害の観測を行う予定である。



キャベツの生育ステージ  
 図-10 生育ステージの三段階

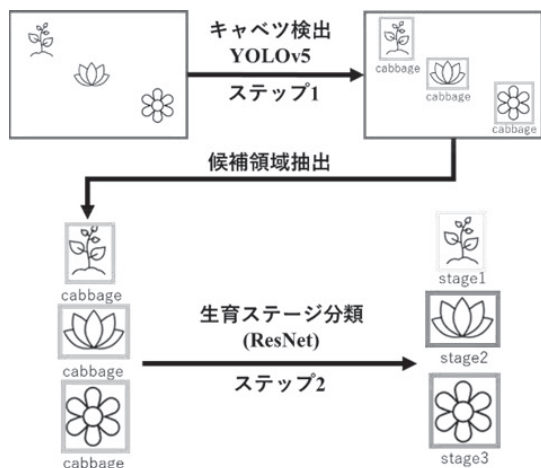


図-11 段階分類の概略図

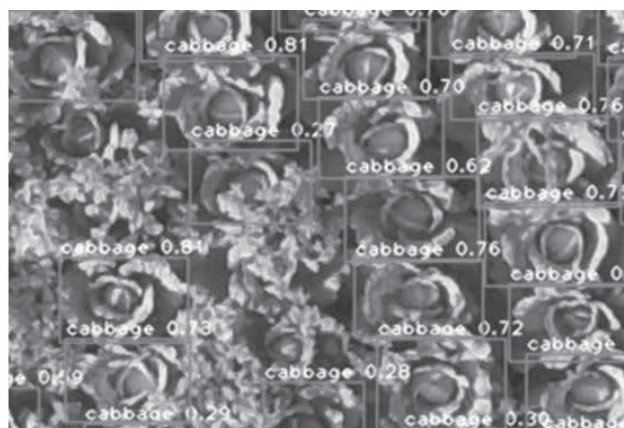


図-12 Step1によるキャベツ分類結果

真値 \ 予測値	定植期	生育期	結球収穫期	背景FN	合計
定植期	96%	0%	0%	4%	100%
生育期	0%	91%	0%	9%	100%
結球収穫期	0%	0%	96%	4%	100%
背景FP	27%	42%	31%	0%	100%

図-13 YOLOv5による検証データでの混同行列と YOLOv5による検出例（複数クラス）

表-3 ResNetによるキャベツの生育ステージごとの分類結果

Model	Validation Loss	Validation accuracy	Average Speed (ms)
ResNet50	0.0389	98.48%	7.62
ResNet101	0.0265	98.86%	13.916
ResNet152	0.0218	99.62%	19.586

## (2) ペピーノを対象にしたリモートセンシング技術を用いた糖度および収量予測（東京農大：高畑・関山・鈴木）

農業従事者の減少と高齢化において、スマート農業による省力化や農作物の高品質・多収を維持・増進することは不可欠である。特定農作物としてペピーノに着目し、リモートセンシング技術を用いた糖度および収量予測の可能性を検討した。マルチスペクトルデータは農作物のモニタリングにおいて、栽培作物の分類や健康状態の把握、バイオマス推定などの可能性が示されている。波長方向の情報量が更に多いハイパースペクトルデータを解析することで、作物の品質や収量予測のような篤農技術の代替あるいは補完が期待される。

今年度は、ペピーノの栽培において基礎的な情報を収集するための計測を行った。高糖度果実生産のため、主枝にワッシャーを施したリング処理区、何も施していない無処理区それぞれ 10 サンプルの全 20 サンプルのペピーノを温室で栽培した。マルチスペクトルカメラ（ペピーノ全体・草姿）とハイパースペクトルカメラ（果実）による撮影を行った。ハイパースペクトルカメラは、性能の制限から果実のみの撮影となった。ほかに、ペピーノ生育環境の基本的な情報として草丈や結実後の果実の大きさ、さらに、気温、湿度、日射量などの気象条件を計測した。収集したデータを用いてペピーノの糖度と収量の関係について検証した。

草丈について、いずれのサンプルも時間と共に一定の割合で成長した。しかしリング処理区のサンプルは無処理区サンプルと比較して成長率が小さく、定植後 1 か月後以降は平均 10cm 草丈が短かった（図-14）。実の大きさについて、結実後 1 か月程度は時間経過とともに一定割合で大きくなり、短径約 4.3cm となった。その後の 1 か月は登熟過程となり、実の大きさは短径約 5.0cm に成長する程度であった（図-15）。処理区による差は示されなかった。糖度と葉や実のスペクトルの関係について、スペクトル収集時の日射状況が異なり、標準化のために大幅な補正を行う必要があることが明らかになった。補正後、葉領域のスペクトルデータと収量や糖度との関係を明らかにしたい。

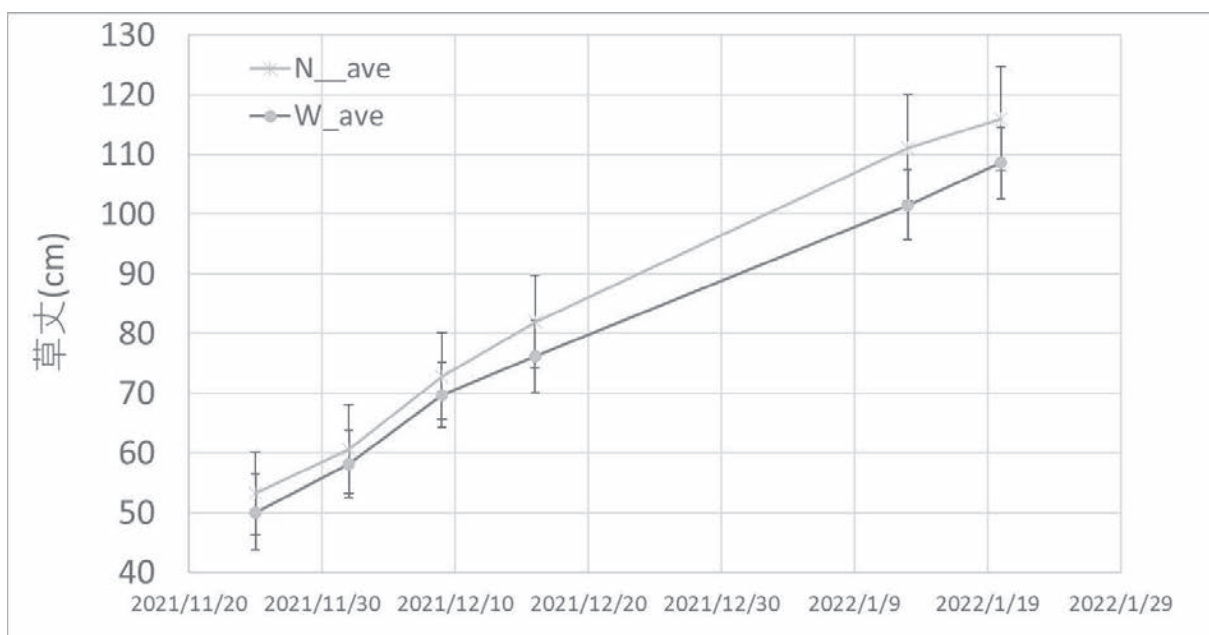


図-14 リング処理区と無処理区の成長率

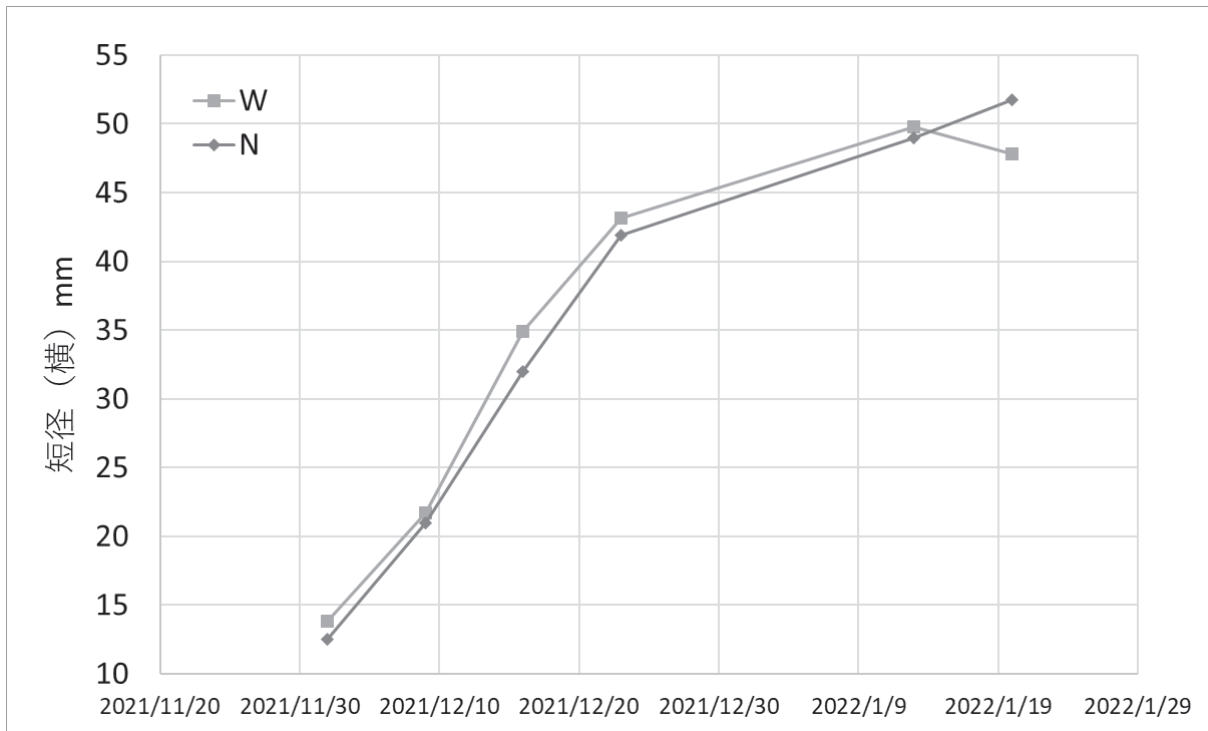


図-15 リング処理区と無処理区の結実

研究課題 4. レジリエンス農業の確立に向けた多様な人々の能力を発揮する栽培、管理、収穫に至る一連の農作業におけるロボティック・プロセス・オートメーションの実装化とその統合評価（東京農大：大久保ら全員）

2021 年度における研究課題 1~3 で得られた知見をもとに、2022 年度以降、経済性の観点からみた統合評価を行う。

## 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

研究課題 1. IoT センサーと無人機 (UAV と UGV) との情報交換技術確立（情報大：朴・大見、東京農大：関山・下嶋）

機械学習のための農作物データベース構築のための課題は、物体認識の精度を向上するためには機械学習のみではなく、専門家の知識を加える必要がある。今後は DSM 情報による物体形状を把握し分類の精度を向上に関して研究を行う。

機械学習アルゴリズムの開発の課題は、病虫害の早期発見のためにマルチスペクトルデータの正確な反射率変換が必要になる。作物の株ごとの解析の場合空間解像度 (2mm) が高いため精密幾何補正と大気補正が必要になる。今後はドローン観測と同時にデータ補正のための地上照度観測を行う必要がある機会学習のための基本的データの収集を継続し、次年度は対象とする農作物の種数を増やし研究データを蓄積する。

UGV の開発に向けての課題はカメラ機能や傾斜等にも対応できるロボティック・プロセス・オー

トメーションの研究開発を継続する。

研究課題 2. 多様な人々の能力・人材を活用した特定農作物の適栽探索とその機能性・官能評価（東京農大：高畑・藤川・谷岡・町田、東京情報大：内田・池田）

本年度の成果から、単純な構造を持つ農作物収穫は、多様な人々の能力を活かした農業支援システムの構築のモデルとなり得ることが示唆された。その中で、ペピーノは他のナス科の農作物と異なりトゲがなく、球形の単純な構造であり、且つ嗅覚で収穫時期を確認できる。そのため、ペピーノは東京農業大学が持つ知のストックを活用した農福連携を加速化させる農作物の一つとして期待できる。さらに、根量減少植物栽培方法は、ワッシャーの穴にペピーノの挿し穂を通して挿し芽をして栽培するだけの簡易な方法であり、だれもが甘いペピーノ栽培が可能となる。そこで、次年度はペピーノを対象に多様な人々の能力・人材を活用した円滑な農作物の選択とその栽培技術評価の研究を継続する。また、農福連携により生産されたペピーノの付加価値や市場性を高めるため、ペピーノの機能性と成分特性に関する解析も進め、官能評価の実験も実施する。

研究課題 3. 可視画像及びハイパースペクトル画像を用いた育成状況の判断アルゴリズム開発（東京農大：鈴木・関山・情報大：朴）

ペピーノを対象にしたハイパースペクトル画像を用いた育成状況の判断アルゴリズム開発の課題は、収量と糖度予測のためのパラメータ解析を進め、機械学習や DL（深層学習）による収量、糖予測のモデルを作成する。さらに、予測モデルは、新たにデータが蓄積されると機会学習のデータとなり、UGV への展開に向けた研究推進方策が考えられる。

研究課題 4. レジリエンス農業の確立に向けた多様な人々の能力を発揮する栽培、管理、収穫に至る一連の農作業におけるロボティック・プロセス・オートメーションの実装化とその統合評価（東京農大：大久保ら全員）

施設栽培、露地栽培など栽培方法別に、農福連携にマッチングしやすい農作物とその農業技術のヒアリング調査を実施し、農福連携による多様な主体の農業参画のプログラムの提案と経済評価を行う。

## 10. 公表した成果一覧

### 研究発表

- 1) 町田怜子・小林修己・サカール（吉田）祥子・入江彰昭・宮林茂幸（2021）農業経営別にみる農福連携の就労時期と農作業に関する研究、実践総合農学会個別研究報告（オンライン開催）、実践総合農学会。
- 2) 張九勻・朴 鍾杰（2021）、深層学習によるキャベツの株単位の生育ステージ推定、令和 4 年度年次学術講演会発表論文集（オンライン開催）、日本写真測量学会

# 2021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)
コムギコアコレクションおよび国内外の遺伝資源を利用した巨大胚コムギの探索とその選抜に最適な DNA 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・教授	研究総括・胚芽サイズ評価・DNA マーカー開発
研究代表者 (農研機構)	小林 史典	農研機構 作物研究部門・上級研究員	材料準備・多型分析と DNA マーカー開発
研究分担者	八田 浩一	農研機構 作物研究部門・グループ長補佐	巨大胚系統の選抜
	乙部千雅子	農研機構 作物研究部門・主席研究員	材料準備・巨大胚系統の選抜
	藤郷 誠	農研機構 作物研究部門・主任研究員	材料準備・胚芽サイズ評価

## 3. 研究期間

2021年6月9日～2022年3月31日

## 4. 研究の背景（当初）

令和2年度の農林水産省食料需給表によると、我が国の一人あたりの米の消費量は、1962年の118.3kgをピークに、2020年は50.7kgまで減少した一方、我が国の一人あたりの小麦の消費量は、1960年代から30kg強で堅調に推移している。近年は、需要の多いパンやラーメン、パスタ向けなどの国産小麦の新品種の開発が全国各地で進んだこともあり、米に次ぐ主食として小麦の存在感が高まっている。コムギやコメの可食部である種子には、やがて芽となって成長する部分である胚芽が存在する。胚芽には、胚乳には含まれていないビタミン、脂質やミネラルなどの栄養素が多く含まれており、特に脂質とビタミンEに富んでいる(長尾 2014)。しかし通常コムギの胚芽は、種子の質量のうち約2%と少なく希少性が高い。このためコムギの胚芽は、製粉工程において種皮部分であるふすまおよび胚乳部分であるコムギ粉から分離後、栄養分に富むコムギ胚芽油の原料や、健康補助食品の原料とされており、高価で取引

されている。わが国のイネの品種改良では、胚芽の大きなイネを選抜することにより、通常のイネ品種の約3倍の大きさの胚芽を有する巨大胚品種「はいみのり」等の、高い付加価値を有する品種が開発されている。一方、コムギの胚芽に含まれる栄養素の含有量を調べた報告は見られるが(Irmak et al. 2005、Zhu et al. 2005)、その含有量の品種間差について調べたものは報告されていない。

## 5. 研究目的

以上のように、コムギの胚芽サイズの品種間差や巨大胚に関する研究はほとんど報告されておらず、巨大胚品種も開発されていない。栄養摂取源としてコムギの重要性が高まっているわが国では、健康志向が年々高まる中で、コムギ胚芽由来の有用成分を多く含む全粒粉パンや菓子等の食品のさらなる需要の拡大が期待される。また、食料自給率が約10%強と低い国産コムギに対して巨大胚の特性を付与することが出来れば、海外からの輸入コムギに対して非常に高い競争力を付与することができる。そこで、本研究では一部のコムギ品種にみられる大きな胚を持つ特性に着目して研究を行う。具体的には、コアコレクションや国内外の様々なコムギ品種や遺伝資源を用いて、品種ごとの胚芽の大きさを調査し、選抜とその遺伝的要因を解明することにより、付加価値の高い胚芽の大きな既存品種を見出し、さらに胚芽の大きなコムギ品種の開発を目的として行う。

## 6. 研究（実験）方法

### 1. コムギコアコレクションおよび海外遺伝資源のサンプル調整と胚芽サイズの評価（農研機構作物研究部門・東京農業大学）

本研究には、農研機構・農業生物資源ジーンバンクの日本のコムギコアコレクション(96品種)およびジーンバンクに保存されている国内外の種々のコムギ遺伝資源、さらに作物研究部門で作出された突然変異体集団を用いた。コアコレクションの内訳は、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、将来的な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、古い品種は1900年代初頭から、比較的新しい品種は1990年代のものがある。栽培地域も北海道から九州まで幅広く分布する。このコムギコアコレクション96品種について、両機関で栽培したサンプルの胚芽を、東京農業大学において開発したペンタレットを用いた迅速な胚芽サイズの計測法を用いて評価した。コムギコアコレクションの胚芽の計測は2017年から2021年までの5年間のサンプルについて行った。Kojima et al.(2017)より、茨城県つくば市におけるJWCの出穂期(4/11~5/11)および登熟期(5/12~6/23)を抽出し、それぞれの期間の日平均降水量の積算値を算出したのち、胚芽データと比較を行った。また、茨城県つくば市の農研機構作物研究部門より提供されたコムギ品種「きたほなみ」に変異源処理( $\gamma$ 線照射、EMS処理)後に自殖を行った突然変異系統4,670系統を用いて目視による巨大胚系統の選抜試験を2度行い、選抜した系統および原品種については胚芽面積を測定した。

### 2. DNA マーカーを用いた多型分析および最適な巨大胚選抜用 DNA マーカーの開発（農研機構作物研究部門）

次世代シーケンサーを用いたコムギコアコレクションの一塩基多型の解析を行い、複数年の様々な環境において収穫されたコムギコアコレクションおよび国内外の遺伝資源について、コムギの胚芽サイズに関わるゲノムワイドアソシエーション解析等を行い、胚芽の大きさに関わるゲノム領域の特定を試みた。

### 3. コムギ胚芽由来有効成分の調査（東京農業大学・株式会社ニッポン中央研究所協力）

巨大な胚芽サイズを示した有望なコムギ品種について、様々な環境条件において栽培されたサンプルを調査し、遺伝的要因を解析した。また胚芽サイズを測定したサンプルについて、本研究プロジェクトに強い興味を示しており、東京農業大学と同じ厚木市内にある株式会社ニッポン中央研究所の全面的な協力を得て、テストミルによる製粉試験等を行い、製粉して得られた全粒粉を用いて全粒粉パンを焼成し、官能評価を実施した。また、胚芽由来の有効成分の含有量等の調査するため、日本食品分析センターに委託してビタミンE（ $\alpha$ -トコフェロール）含量を測定した。

## 7. 研究成果

### ・胚芽面積の測定

胚芽面積の計測が困難な種子を取り除くために1.8mmの縦目ふるいにかけて、無作為に10~20粒の種子をサンプリングし、種子の胚芽が正面を向くように油粘土に固定した。フラッドヘッドスキャナを用いてA4サイズ(210×297mm)、1200dpiで撮影した。次に、画像ファイルを画像解析ソフト「Image J」に取り込み、ペンタブレット（機種：HUION Kamvas Pro13）を用いて胚芽と種子の間を囲んで面積を測定し、各系統の平均値を算出した（図1）。

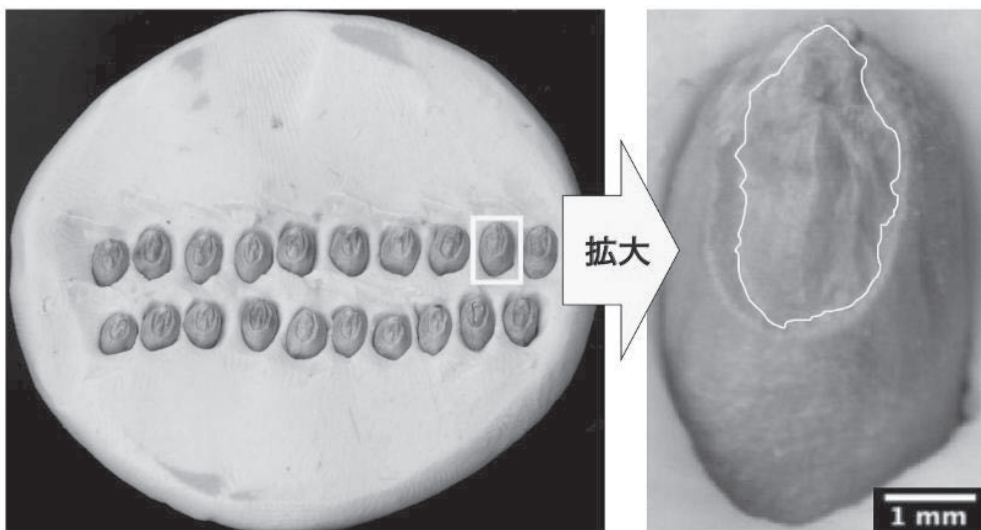


図1. コムギ胚芽のスキャンとペンタブレットによる胚芽面積の測定

### ・千粒重と胚重の測定

胚芽面積の測定に用いたものと同じ種子について、各系統10粒を45°Cの温水に24時間浸漬してからピンセットを用いて胚芽を取り出し、摘出した胚芽を60°Cで48時間以上乾燥させた後、乾燥胚芽重を測定した（図2）。測定は2017年産JWCを用いて、10粒の平均値を換算して用いた。千粒重(g)=粒重/粒数×1000で算出した。胚芽指数は千粒重あたりの胚芽面積の大きさを示し、胚芽指数=胚芽面積/千粒重×100、乾燥胚重率(%)=乾燥胚芽重/千粒重×100で算出した。乾燥胚芽重との相関係数は、胚芽面積が0.63(n=96)、胚芽指数が0.50(n=96)で、1%水準で有意であった。





図2. コムギ種子から摘出後に乾燥処理を行った胚芽 (40mm シャーレ)

・きたほなみ突然変異系統の選抜

突然変異系統の選抜試験の結果、巨大胚芽米のように劇的に胚芽が増大した系統は確認できなかったが、原品種と比較して胚芽の大きい5系統をそれぞれ選抜した(図3、表1)。γ線処理系統から選抜されたものはみられず、全てEMS処理系統から見いだされた。選抜した変異系統は2021年11月に農研機構作物研究部門の試験圃場に播種した。巨大胚の選抜から得られた突然変異体系統については、その生育特性を調査するとともに、収穫物が得られ次第、品質特性、栄養成分特性を明らかにする。

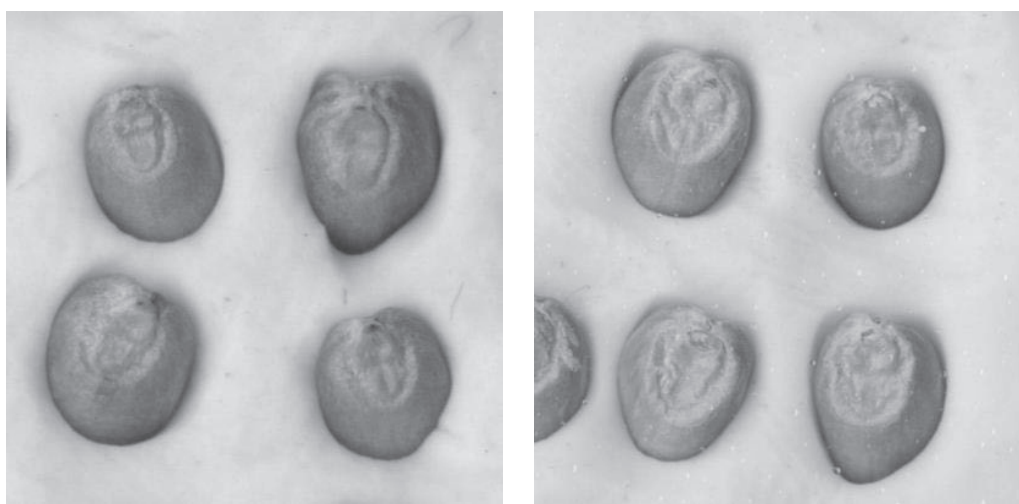


図3. きたほなみ原品種(左)と選抜した変異体変異体「KHEMS-15-0048」(右)

表1. きたほなみ原品種と選抜した変異体の胚芽面積および千粒重の測定結果

系統名	胚芽面積(mm <sup>2</sup> )	千粒重(g)	胚芽指数
2013きたほなみ	2.51±0.30	43.38	5.80
2014きたほなみ	2.27±0.30	36.97	6.15
KHEMS-15-0048	3.24±0.76	41.43	7.82
KHEMS-15-0089	2.74±0.54	33.62	7.77
KHEMS-15-0145	2.93±0.67	48.33	5.27
KHEMS-15-0149	3.34±0.60	51.85	6.15
KHEMS-15-0198	3.11±0.44	40.82	7.26

・日本のコムギコアコレクション(JWC)の形質調査

各収穫年のサンプルの胚芽関連形質を測定した結果を表2に示した。千粒重と胚芽面積の年次間の傾向は一致していたが、2017年は千粒重と比べて胚芽面積が小さく、2020年は千粒重と比べて胚芽面積が大きかった。胚芽面積、胚重、千粒重の間に、胚芽指数と胚重率の間にはそれぞれ有意な正の相関がみられ、特に胚芽面積と千粒重の相関は比較的強かった(図4)。

表2. JWC96品種の胚芽指数、胚芽面積、乾燥胚重、乾燥胚重率の平均値の推移

収穫年	2017	2018	2019	2020	2021
胚芽指数	6.73±0.81	7.17±0.77	7.28±0.78	8.12±1.01	7.34±0.77
胚芽面積(mm <sup>2</sup> )	2.57±0.38	2.90±0.40	2.61±0.33	3.01±0.42	2.85±0.39
千粒重(g)	38.56±6.05	40.68±5.23	36.08±4.75	37.55±6.22	39.02±5.36
乾燥千粒胚重(g)	1.29±0.28	-	-	-	-
乾燥胚重率(%)	3.38±0.63	-	-	-	-

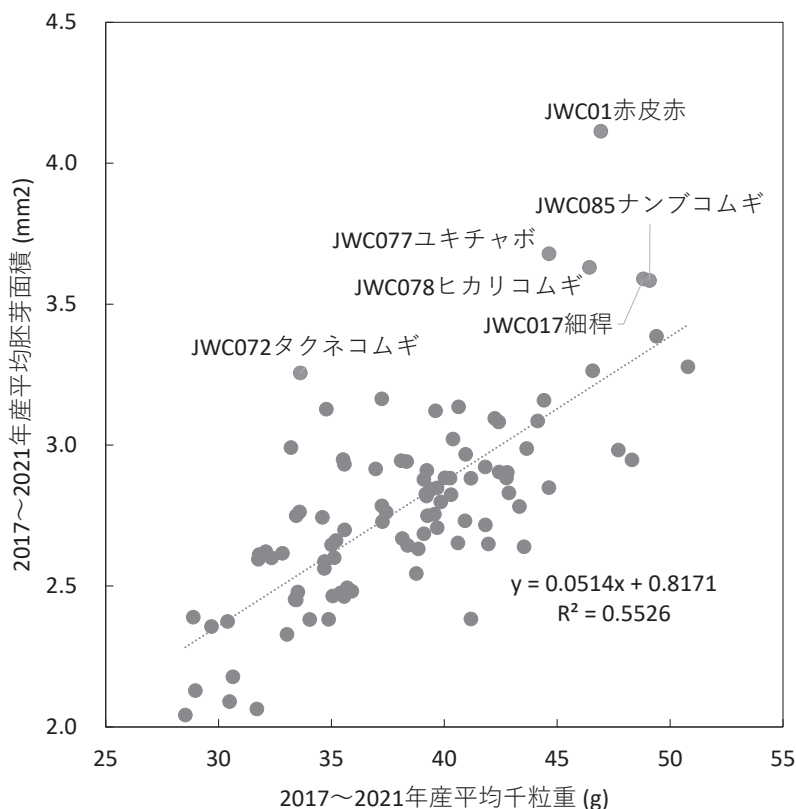


図4. 2017～2021年産のJWC96品種の平均胚芽面積と平均千粒重の関係

・胚芽面積および千粒重と出穂期および登熟期の降水量の関係

2017年～2021年に収穫した5年間のJWC96品種の種子の平均胚芽面積と出穂期から登熟期までの平均降水量の推移を図5に示した。2017年と2019年は降水量が少なく、2018年、2020年と2021年は降水量が多かったが、胚芽面積と降水量の間には正の相関関係がみられた。

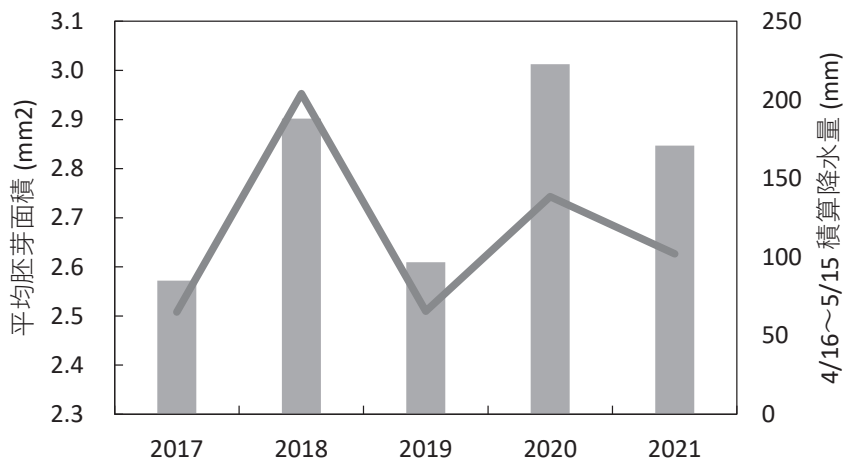
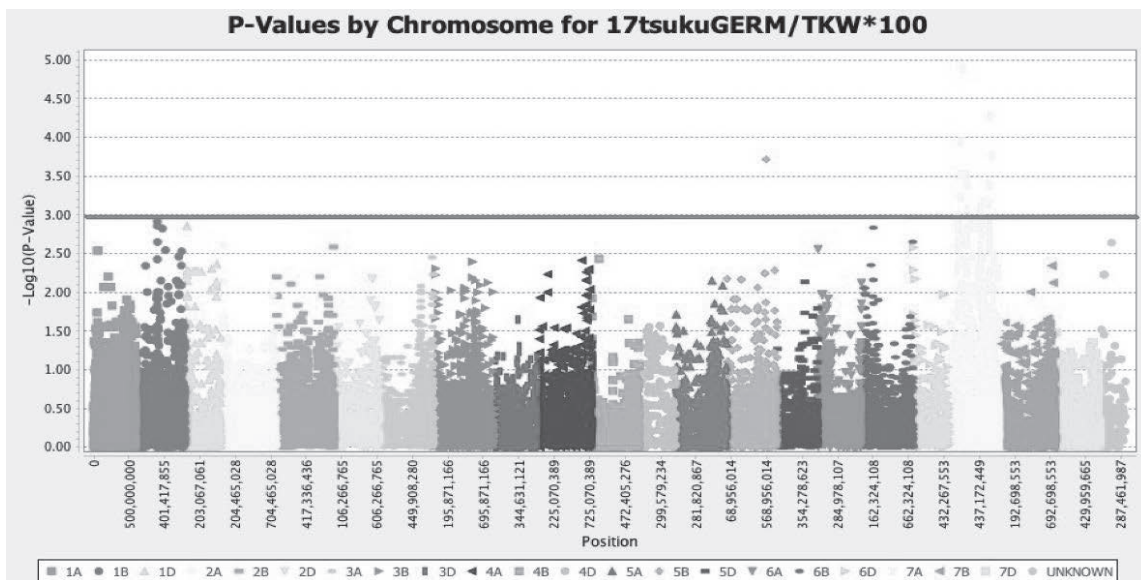


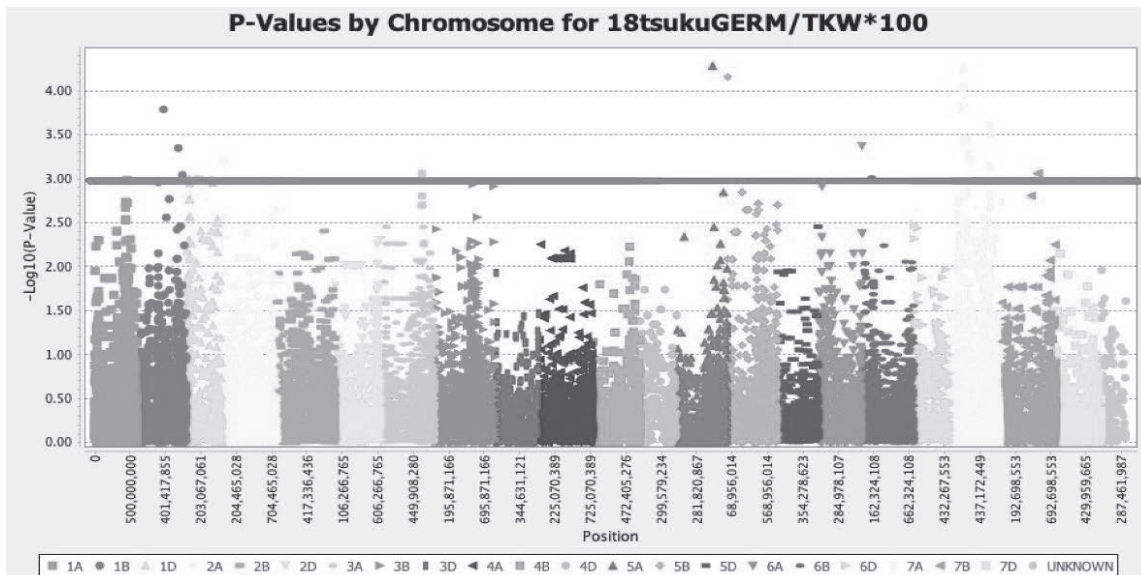
図5. 2017～2021年産のJWC96品種の平均胚芽面積と登熟期間の積算降水量の関係

・ゲノムワイド関連解析の結果

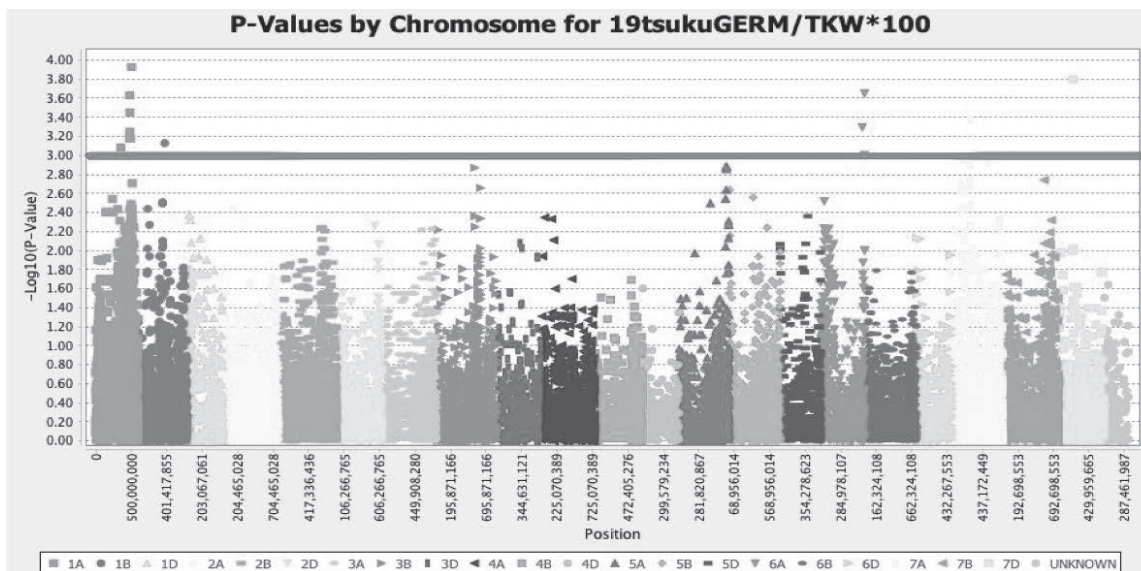
2017～2021年に収穫した5年間の胚芽指数(胚芽面積/千粒重\*100)についてゲノムワイド関連解析を行った結果、複数年のサンプルで1A、1B、7A染色体上に胚芽指数を有意に増加させるDNAマーカーを検出した(図6、表3)。農研機構作物研究部門が保有するJWC96品種のジェノタイプデータで行ったゲノムワイド関連解析でも同様に1A、1B、7A染色体上の同一位置に、複数年のサンプルでピークを検出した。検出された中で、1B染色体上の350Mb付近に検出されたマーカーAMP0099847は、JWCのうち25品種がCS(Chinese Spring)型、71品種が非CS型に分かれ、CS型の品種は有意に胚芽指数が大きく、胚芽指数に加えて胚重率も有意に増加していた。他の1A、7A染色体のマーカーはJWCにおける分離比が82:14と歪みが大きく、胚重率には関与していなかった。



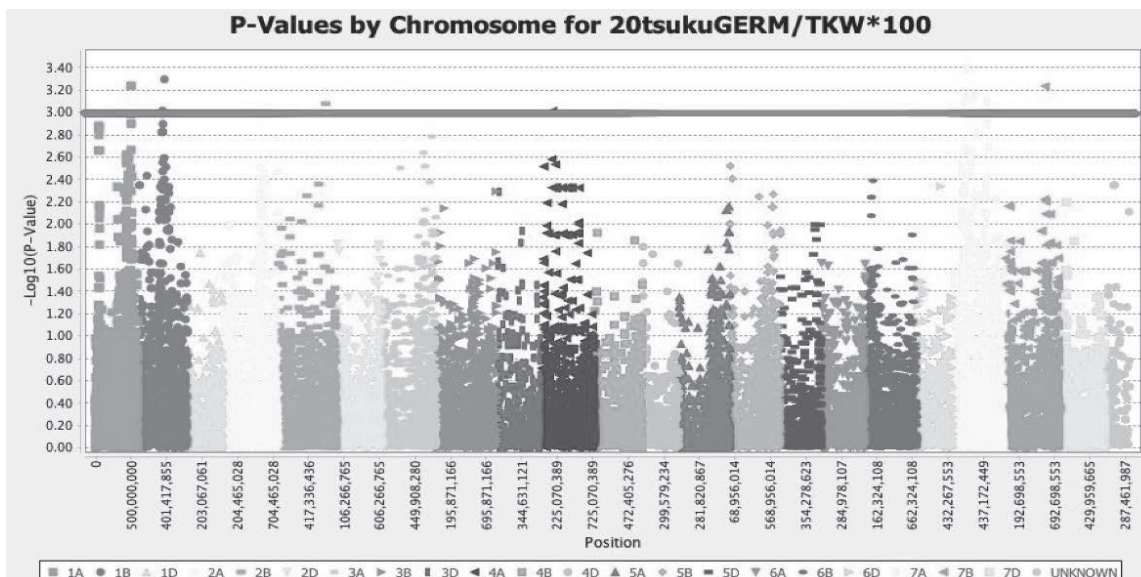
2017年産のJWC96品種の胚芽指数のゲノムワイド関連解析結果



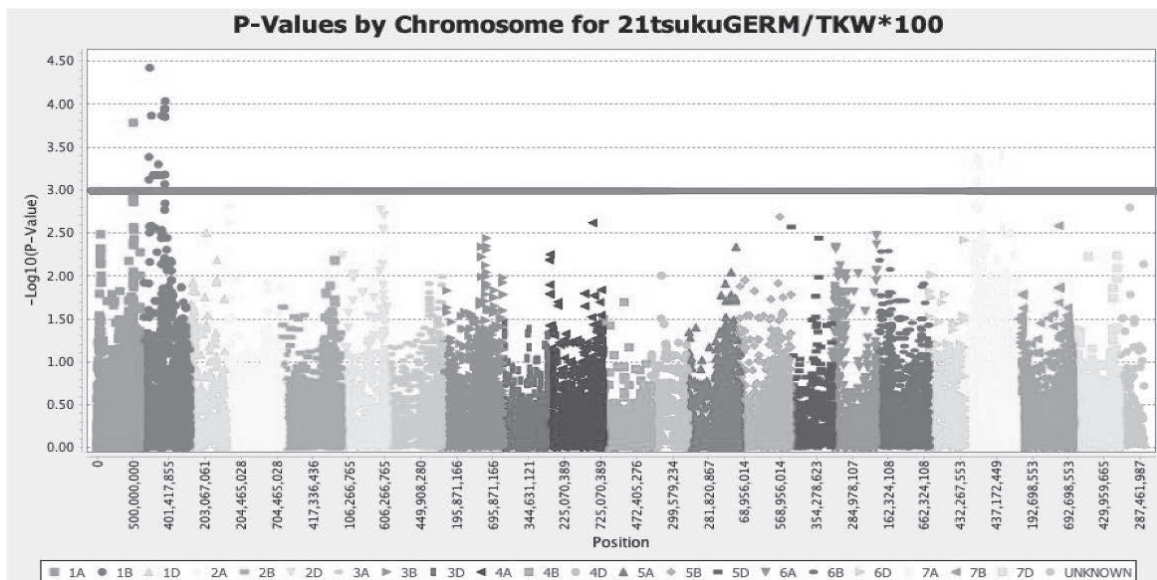
2018年産のJWC96品種の胚芽指数のゲノムワイド関連解析結果



2019年産のJWC96品種の胚芽指数のゲノムワイド関連解析結果



2020年産のJWC96品種の胚芽指数のゲノムワイド関連解析結果



2021年産のJWC96品種の胚芽指数のゲノムワイド関連解析結果

図6. 2017～2021年産のJWC96品種の胚芽指数についてのゲノムワイド関連解析結果

表3. JWC96品種の胚芽指数のゲノムワイド関連解析で複数年検出されたマーカーのリスト

検出年度	マーカー名	染色体	Position	検出年度	マーカー名	染色体	Position
2020	AMP0289673	1A	501423474	2017	AMP0074358	5B	560659233
2017, 2021	AMP0146792	1A	502597448	2018	AMP0283812	6A	618300887
2021	AMP0079746	1B	133146675	2019	AMP0099284	6A	621113495
2021	AMP0099847	1B	350385113	2021	AMP0051011	7A	172233313
2018, 2019, 2020	AMP0131725	1B	372587486	2017, 2018, 2020	AMP0045292	7A	203142441
2018	AMP0155232	2A	25384458	2019	AMP0006850	7A	263632147
2020	AMP0182258	2A	575821531	2021	AMP0113015	7A	514878991
2020	AMP0284302	2B	658118583	2018	AMP0086743	7A	579295160
2018	AMP0095412	3A	569662334	2017	AMP0098467	7A	589131152
2020	AMP0101384	4A	162775004	2018	AMP0295725	7B	513140376
2018	AMP0010838	5A	507142765	2020	AMP0201576	7B	562312649
2018	AMP0037552	5B	7215608	2019	AMP0171075	7D	214792711

これらのコムギ巨大胚性に関する DNA マーカーについて、戻し交配への適用を行うため、国内の主要コムギ品種の多型の調査を行うとともに、PCR 選抜用の CAPS マーカーの作製を行っている。

・コムギ品種の胚芽面積とビタミン E ( $\alpha$ -トコフェロール) 含量との関係

2021年の厚木産のコムギ品種の胚芽面積とビタミン E 含量を測定した結果、統計的に有意ではないものの胚芽面積とビタミン E 含量の間に弱い正の相関がみられた (図7)。

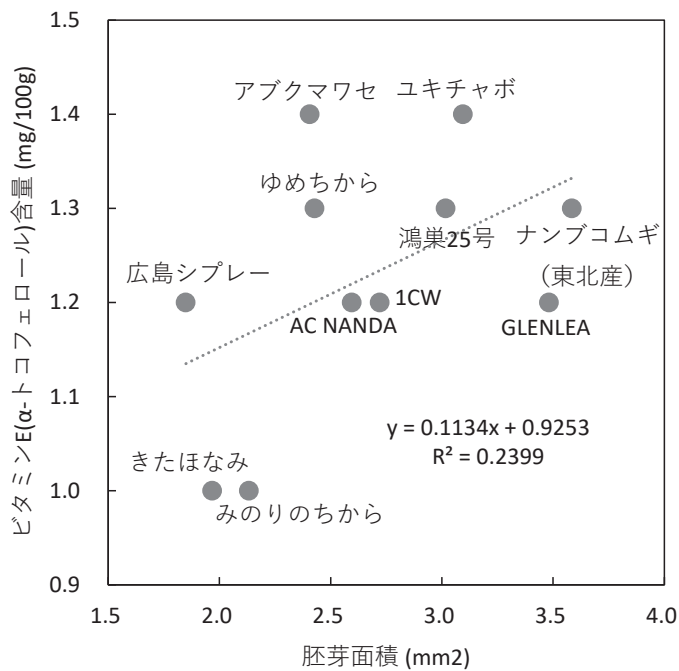


図7. コムギ品種の胚芽面積とビタミンE含量の関係（2021年厚木産）

・株式会社ニッポンによる製粉試験および全粒粉パン試験の結果

株式会社ニッポン中央研究所（厚木市）において、現在の国産コムギの主力品種およびこれまでに東京農大において選抜を行ってきた全粒粉パン用適性が高いと見られる品種とカナダ産の輸入コムギ品種を比較するため、製粉試験および全粒粉パン試験を実施した（表4，5）。古い品種の一部に製粉歩留が極端に低いものが見られたが、ストレート粉および全粒粉の灰分は最近の品種と同等であった。またNo.9 AC NANDAは白粒品種（種皮が白いタイプ）であるが、製粉歩留や灰分は、他の赤粒品種と変わらなかった。全粒粉パン試験の結果、現在国内栽培されている品種の中で胚芽が安定して大きいナンブコムギは、香味などが良好な評価であった。また、北海道で多く栽培される主力品種のきたほなみ、ゆめちからは、普段から食べ慣れており、違和感が少ないという評価であった。一方、これまで選抜を行ってきた古い品種については、それぞれの香味に特徴があるものの、穀物臭と例えられるいわゆるふすま臭は、比較的穏やかなものが多かった。コントロールとして用いたカナダ品種の全粒粉パンは以前から評価が高い傾向であったが、今回も同様の結果であった。

表4. 株式会社ニッポン中央研究所による製粉試験の結果 (内部資料)

試料	テストミル*1			ストレート粉			全粒粉*2		
	総回収量 (g)	粉歩留 (%)	ふすま歩留 (%)	水分 (g/100g)	灰分 (g/100g)	たんぱく質 (g/100g)	水分 (g/100g)	灰分 (g/100g)	たんぱく質 (g/100g)
1 ナンゾコムギ (東北農研)	233.3	64.2	35.8	13.6	0.57	14.3	12.7	1.62	14.8
2 鴻巣25号	239.2	72.9	27.1	12.1	0.70	13.0	11.5	1.49	13.5
3 ユキチャボ	238.6	72.1	27.9	12.0	0.79	13.6	11.3	1.72	14.5
4 広島シブレー	232.8	48.1	51.9	11.9	0.67	11.8	11.1	1.75	12.7
5 アヅクラマセ	232.1	60.6	39.4	12.1	0.59	11.5	11.4	1.50	12.8
6 ゆめちから	242.4	71.4	28.6	11.9	0.80	15.1	11.2	1.87	15.9
7 みのりのちから	243.1	75.4	24.6	12.3	0.70	11.9	11.6	1.60	12.8
8 きたほなみ	238.9	75.3	24.7	12.2	0.60	11.4	11.5	1.47	12.4
9 AC NANDA (CWSWS)	236.6	66.8	33.2	11.3	0.67	11.1	10.6	1.74	12.5
10 GLENLEA (CWES)	243.2	73.9	26.1	12.2	0.89	14.6	11.5	1.79	15.1
11 ICW	495.0	74.8	25.2	12.0	0.86	13.8	11.4	1.76	14.4

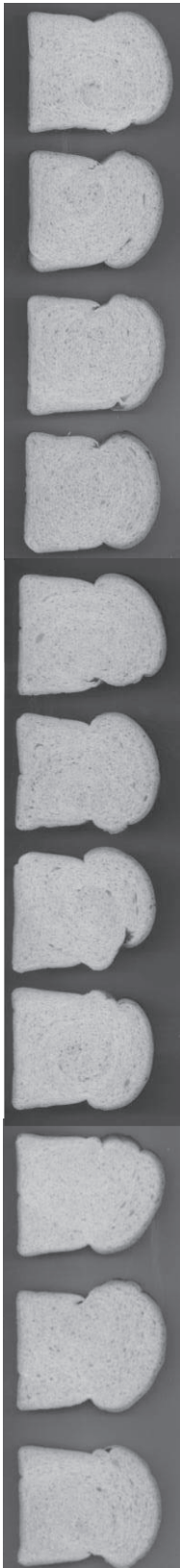
※水分:135°C 1h / たんぱく質:燃焼法 N=5.70

\*1 テストミル試験 (ブラベンダー製、Quadrumat Junior) は無加水で実施

\*2 全粒粉はテストミルで得られたふすま画分を超遠心粉砕機 (レッチェ製、スクリーン 0.75mm、14,000rpm) で粉砕し、ストレート粉と混合して調製

表5. 株式会社ニッポン中央研究所による全粒粉パン試験の結果 (内部資料)

		ストリート食パン試験：全粒粉30%+強力小麦粉70%														
#	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11					
試料名	フロンルギ (標準種粉)	薄集25号	ユキチヤボ	広島シルー	アラクマワセ	ゆめちから	みのりのちから	きたほなみ	AC NAMIDA (CWSWS)	GLENEA (CWES)	ICW					
捏上 (温度°C)	28.0	28.2	27.9	28.0	27.8	28.2	28.0	27.9	28.2	28.1	28.2					
生地性 (捏上)	やや弱い、若干ベタつく	若干弱い、若干ベタつく	弱い、若干ベタつく、伸展性あり	若干弱い、若干ベタつく	ややソフト	非常にソフト	ソフト	弱い	非常に弱い、伸展性あり	ソフト	ソフト					
生地性 (パンチ)	吹き良い	吹き良い	ベタつく、吹き劣る	吹き良い	若干ベタつく、吹き劣る	吹き良い	吹き良い	ベタつく、若干吹き劣る	ベタつく、若干吹き劣る	ベタつく、若干吹き劣る	吹き良い					
生地性 (分割)	ガス含み多い	若干ドライ、ガス含み多い	若干ガス含み多い	若干ソフト、ガス含み多い	若干ソフト、ガス含み多い	非常にドライ、ソフト	ややドライ	若干ソフト、若干ソフト	やや弱い	若干弱い	伸展性良い、適度なガス含み					
生地性 (成形)	維持ちよい	粘土様、ドライ	若干だれる、やや粘土用	非常に維持ちよい、若干粘土様	若干ソフト、ややだれる	ソフト	粘土様	伸展性あり、若干弱い	ドライ、若干ソフト	ややソフト	並み					
ホイロ時間 (分)	40	42	48	45	45	37	40	42	40	40	42					
フロンルギ (個別)	重量 (g) 387.3 容積 (cc) 1880 比容積 4.85	重量 (g) 385.1 容積 (cc) 1770 比容積 4.51	重量 (g) 389.1 容積 (cc) 1830 比容積 4.83	重量 (g) 388.6 容積 (cc) 1810 比容積 4.66	重量 (g) 389.0 容積 (cc) 1810 比容積 4.66	重量 (g) 387.5 容積 (cc) 1790 比容積 4.62	重量 (g) 388.0 容積 (cc) 1820 比容積 4.69	重量 (g) 387.2 容積 (cc) 1900 比容積 4.91	重量 (g) 386.6 容積 (cc) 1900 比容積 4.87	重量 (g) 384.2 容積 (cc) 1870 比容積 4.87	重量 (g) 387.3 容積 (cc) 1920 比容積 4.91	重量 (g) 384.6 容積 (cc) 1890 比容積 4.91	重量 (g) 390.1 容積 (cc) 1970 比容積 5.05	重量 (g) 385.7 容積 (cc) 1890 比容積 4.90	重量 (g) 385.5 容積 (cc) 1900 比容積 4.93	重量 (g) 384.8 容積 (cc) 1850 比容積 4.81
フロンルギ (平均)	重量 (g) 386 容積 (cc) 1885 比容積 4.88	重量 (g) 388 容積 (cc) 1760 比容積 4.54	重量 (g) 389 容積 (cc) 1855 比容積 4.77	重量 (g) 389 容積 (cc) 1785 比容積 4.59	重量 (g) 386 容積 (cc) 1855 比容積 4.80	重量 (g) 388 容積 (cc) 1805 比容積 4.66	重量 (g) 388 容積 (cc) 1840 比容積 4.74	重量 (g) 385 容積 (cc) 1885 比容積 4.89	重量 (g) 386 容積 (cc) 1905 比容積 4.94	重量 (g) 388 容積 (cc) 1930 比容積 4.98	重量 (g) 385 容積 (cc) 1875 比容積 4.87					
官能評価	外観	やや焼き色明るい				やや焼き色明るい					若干焼き色明るい					
	内相	若干白い	やや茶色、やや目が詰まる		やや茶色、目が詰まる				やや茶色		淡褐色(明るい)、伸び良い					
	食感 (物性)	やや硬い、口溶け良い	若干硬い、口溶け良い	ソフト、クチヤついで困子、口溶け良い	やや硬い、口溶け良い	硬い、クチヤついで困子、口溶け良い	やや硬い、弾力	ドライ、若干硬い	やや硬い、口溶け良い	ややソフト、困子、口溶け良い	若干ソフト、口溶けやや硬い	ソフトロール (硬い、やや口溶け悪い)				
食感 (味)	若干酸味、ふすま感	やや苦味、若干酸味		やや淡白	やや淡白	やや淡白、最後にわずかな酸味	やや淡白、最後にわずかな酸味	若干甘い	ふすま感少ない	やや淡白	ソフトロール (若干ふすま臭)					
食感 (香り)																





## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

本研究は、ビタミンや脂質を豊富に含むコムギの胚芽に着目し、国内で最も生産量の多い「きたほなみ」の突然変異体の巨大胚系統の選抜や、日本のコムギコアコレクションを用いて胚重および胚芽面積を測定し、胚芽面積および胚芽指数に関するゲノムワイド関連解析を行った。「きたほなみ」から選抜した突然変異系統の生育特性や栄養成分特性が今後判明すれば、直ちに、生産者から実需者までの有効活用に結びつく可能性がある。日本のコムギコアコレクションを用いた解析では、胚重と胚芽面積および千粒重、胚重率と胚芽指数の間にそれぞれ有意な正の相関がみられ、有望な遺伝資源として、赤皮赤、ナンブコムギ、タクネコムギ等の品種を複数見出した。また、コムギの登熟期間における日平均降水量と胚芽面積の間に有意な正の相関を見出した。胚芽指数および胚重率を表現型データとして行ったゲノムワイド関連解析では、複数の染色体上に胚芽指数および胚重率を増加させる新規の DNA マーカーを検出し、これらは今後の巨大胚品種の作出に有用であると考えられる。コムギ遺伝資源の中で、胚芽指数および胚重率の両方で上位であるタクネコムギは、ゲノムワイド関連解析で見出した胚芽サイズに係する複数の DNA マーカーについて胚芽サイズが大きくなる多型を示し、特に有用な遺伝資源であると考えられた。

胚芽指数に関するゲノムワイド関連解析で検出した 1A 染色体上の DNA マーカーの AMP0289673 および AMP0146792、1B 染色体上の AMP0099847 は、胚芽指数に加えて胚重率を有意に増加させたことから、これらのマーカー近傍には胚芽サイズに関わる遺伝子が存在するとみられる。また、1B 染色体上の DNA マーカー AMP0099847 は、5年間を通して一小穂粒数を有意に減少させ、この DNA マーカーの多型情報をもとに JWC96 品種を CS 型(胚芽大)および非 CS 型(胚芽小)に分類した結果、Sakuma et al.(2019)が報告したコムギの一小穂粒数を増加させ、多収になる *GNI-A1* 遺伝子の多型の分布と 96 品種中 83 品種が一致していた。以上の結果から、本研究で見出した胚芽サイズに関する DNA マーカーを用いて、今後、効率的に付加価値の高いコムギ品種を選抜することが可能になると考えられる。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

本研究は、ビタミンや脂質を豊富に含むコムギの胚芽に着目し、国内で最も生産量の多い「きたほなみ」の突然変異体の巨大胚系統の選抜や、日本のコムギコアコレクションを用いて胚重および胚芽面積を測定し、胚芽面積および胚芽指数に関するゲノムワイド関連解析を行った。「きたほなみ」から選抜した突然変異系統の生育特性や栄養成分特性が今後判明すれば、直ちに、生産者から実需者までの有効活用に結びつく可能性がある。日本のコムギコアコレクションを用いた解析では、胚重と胚芽面積および千粒重、胚重率と胚芽指数の間にそれぞれ有意な正の相関がみられ、有望な遺伝資源として、赤皮赤、ナンブコムギ、タクネコムギ等の品種を複数見出した。また、コムギの登熟期間における日平均降水量と胚芽面積の間に有意な正の相関を見出した。胚芽指数および胚重率を表現型データとして行ったゲノムワイド関連解析では、複数の染色体上に胚芽指数および胚重率を増加させる新規の DNA マーカーを検出し、これらは今後の巨大胚品種の作出に有用であると考えられる。コムギ遺伝資源の中で、胚芽指数および胚重率の両方で上位であるタクネコムギは、ゲノムワイド関連解析で見出した胚芽サイズに係する複数の DNA マーカーについて胚芽サイズが大きくなる多型を示し、特に有用な遺伝資源であると考えられた。

胚芽指数に関するゲノムワイド関連解析で検出した 1A 染色体上の DNA マーカーの AMP0289673 および AMP0146792、1B 染色体上の AMP0099847 は、胚芽指数に加えて胚重率を有意に増加させたことから、これらのマーカー近傍には胚芽サイズに関わる遺伝子が存在するとみられる。また、1B 染色体

上の DNA マーカーAMP0099847 は、5年間を通して一小穂粒数を有意に減少させ、この DNA マーカーの多型情報をもとに JWC96 品種を CS 型(胚芽大)および非 CS 型(胚芽小)に分類した結果、Sakuma et al.(2019)が報告したコムギの一小穂粒数を増加させ、多収になる *GNI-A1* 遺伝子の多型の分布と 96 品種中 83 品種が一致していた。以上の結果から、本研究で見出した胚芽サイズに関する DNA マーカーを用いて、今後、効率的に付加価値の高いコムギ品種を選抜することが可能になると考えられる。

## 10. 公表した成果一覧

学会発表

- 1) 岡田脩平・小林史典・水野信之・八田浩一・乙部(桐渕)千雅子・藤郷 誠・池田八起・西尾善太 (2022)  
コムギにおける胚芽サイズの測定とゲノムワイド関連解析. 育種学研究 24(別 1)印刷中

# 2021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 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)
“地域適応型根系” 大麦の開発にむけた根系の環境ストレス応答の研究	900,000

## 2. 研究組織

	氏名	所属・職名	個別研究課題名
研究代表者	伊藤 博武	生物産業学部 北方圏農学科・教授	大麦の根系評価法の開発・評価
研究代表者 (農研機構)	長嶺 敬	農研機構 中日本農業研究センター 水田利用研究領域品種開発グループ・グループ長	地域に適応した浅根性・深根性 遺伝子の育種素材化
研究分担者	中野 友貴	農研機構 中日本農業研究センター 水田利用研究領域品種開発グループ・研究員	大麦の根系形成遺伝子の解析

## 3. 研究期間

2021年6月9日～2022年3月31日

## 4. 研究の背景（当初）

土地利用型作物として重要な大麦は、健康機能性成分を多種多く含み、今後の生産増が期待されている。ただし、耐湿性に弱い大麦は北陸における重粘土壌での生産性向上が頭打ちとなっている。一方、北海道では新たにもち性オオムギの生産が始まり、新規作物としての生産拡大には収量性（収益性）の向上が鍵となっている。「オオムギ湿害」は日本固有の課題であり、耐湿性評価も限られた情報しかない。すなわち、大麦の生産性向上には根系制御が重要であり、理想根系は地域環境によって差異がある。湿害がしやすい地域環境である北陸では湿潤下での酸素不足によって根の活力低下が生産量低下の原因となり、排水性の優れる北海道では広く深い根域の確保が超多収化のキーとなる。そのため、根系を制御する育種（根系育種）が可能になれば、画期的な品種（多収性・安定性）の開発が可能になる。しかし、①目に見えない土壌中の根の観察は困難であること、②根系形成に関与する大麦遺伝子が不明であること、からこれまでは根系を対象とした大麦育種は出来なかった。

## 5. 研究目的

大麦の生産性向上には根系制御が重要であり、理想根系は地域環境によって差異がある。湿害がしやすい地域環境である北陸では湿潤下での酸素不足によって根の活力低下が生産量低下の原因となり、排水性の優れる北海道では広く深い根域の確保が超多収化のキーとなる。そのため、根系を制御する育種（根系育種）が可能になれば、画期的な品種（多収性・安定性）の開発が可能になる。しかし、①目に見えない土壌中の根の観察は困難であること、②根系形成に関与する大麦遺伝子が不明であること、からこれまでは根系を対象とした大麦育種は出来なかった。

ところが、東京農大が開発した「ハイドロゲルポリマー培地法」によって大麦の根系形成の簡易評価が可能になり、根系構造形成の重要形質である種子根伸長角度には大きな品種間差異があることを明らかにした。さらに、農研機構の遺伝子解析によって大麦の種子根伸長角度にはイネの深根性遺伝子 *O<sub>s</sub>DRO1* の相同遺伝子 (*HvDRO1*) が作用していることを明らかとした。

一方で、これまでの研究により植物は栄養欠乏等のストレスに対し根系を変化させて適応することが知られているが、低酸素や乾燥などの環境ストレスに対する根系の変化の品種間差異に関する研究例は少なく、それを制御する遺伝子についてもほとんど明らかとなっていない。そこで本課題では、根系の改良による高い環境適応能力を備えた大麦品種の選抜を目的とし、1) ハイドロゲルポリマー培地法を用いた根系の環境ストレス応答の評価 (東京農大)、2) 根系の環境応答を制御する遺伝子座の探索 (農研機構)、3) 遺伝子情報を用いた既存育種素材からの地域適応型 (北陸・北海道) 大麦の選抜 (東京農大・農研機構) を行う。

## 6. 研究（実験）方法

### 1) ハイドロゲルポリマー培地法を用いた根系の環境ストレス応答の評価 (東京農大)

約 50 系統の大麦について、ハイドロゲルポリマー法により根系の①低酸素、②乾燥、③低温ストレスへの応答を評価する。低酸素ストレス応答は脱気水を用いて作成したゲルにより評価し、乾燥ストレス応答はポリエチレングリコールを添加したゲルを用いて評価する。また、低温ストレス応答はゲルに播種した大麦を 4℃のインキュベータで栽培することで評価する。

- ① Skygel 2.75g をコレクションボックスに入れ、常温の蒸留水と煮沸した蒸留水を準備し、それぞれ 450ml をボックスに注ぎ作成した。常温の培地は固まるまで 20℃に設定したインキュベーターの中で 1 日静置した。高温の培地は室温に静置し、粗熱が取れるのを一日待つ。培地完成後、培地の酸素濃度は MicroxTX3 酸素メーターを用いて計測した。各培地に種子を 1 粒、腹面を下にして播種し、20℃に設定したインキュベーター内で 7 日間育成した。その後「種子根の根数」、「最長根の伸長角度」および「種子根の総根長」を計測した。その後に植物体を 80℃で 48 時間乾燥させ、「種子根の乾物重」を計測した。反復は品種当たり 10 個体とした。
- ② 培地はポリエチレングリコール（以下 PEG）無処理区、PEG 濃度 15% 区、PEG 濃度 20% 区の三処理区とし、発芽処理から 1 週間経過後と 2 週間経過後に各品種当たり 10 個体について「種子根総根長」、「種子根数」、「側根総根長」、「側根数」、「最長根の根角度」および「草丈」を調査した。
- ③ 常温の蒸留水によって培地を作成し、九州・四国、関東および北海道の、それぞれ 3 品種を選び供試した。それぞれの品種を 20℃と 4℃で生育させ、7 日後に「種子根総根長」、「種子根数」、「最長根の根角度」および「草丈」を調査した。反復は各品種当たり 10 個体とした。

## 2) 根系の環境ストレス応答を制御する関連遺伝子の探索 (農研機構)

獲得した根系形質の表現型を用いて、GWAS や QTL 解析により根系のストレス応答と関連する遺伝子座を検出する。さらに、大麦のゲノム情報を利用して他作物で同定されている根系制御遺伝子やストレス応答遺伝子の相同遺伝子を探索し、その品種間多型と根系形質の関連についても解析を行う。また、根系が異なる品種を複数選抜して各ストレス条件下における根のトランスクリプトームを RNAseq により獲得し、根系制御遺伝子やストレス応答遺伝子の発現量の比較を行う。以上の解析により根系の環境ストレス応答の品種間差異を生み出す原因遺伝子座を明らかにし、根系をターゲットとした分子育種での利活用を目指す。

## 3) 根系関連遺伝子情報を用いた既存育種素材からの地域適応型大麦の選抜 (東京農大・農研機構)

中日本農研北陸拠点で開発・選抜中の寒冷地向け大麦系統について、これまでに同定した HvDRO1 に加えて、本課題で同定する根系関連遺伝子座の DNA マーカー選抜を行う。具体的には、北陸・重粘土用に「浅根性」大麦を選抜し、北海道・畑作用に「深根性」大麦を選抜する。そのほかに、特徴的な遺伝子型をもつものを選定し、遺伝子の集積育種を開始する。選抜系統の種子根伸長角度の評価は東京農大が担当し、圃場での生育特性は中日本農研で行い、次年度以降の早期に「根系育種」大麦の品種化を目指す。

## 7. 研究成果

### 1) ハイドロゲルポリマー培地法を用いた根系の環境ストレス応答の評価

①各培地の酸素濃度は、常温の蒸留水の培地で 250  $\mu\text{M}$ 、煮沸した蒸留水の培地で 30  $\mu\text{M}$  であった。Arth と Frenzel(2000)によれば、稲の根が生育する微小生態系区画において、土壌深度が 5 mm 以下では酸素濃度は 0  $\mu\text{M}$  に近く、地表面では約 180  $\mu\text{M}$  であると報告している。低酸素条件では 0  $\mu\text{M}$  に至らなかったが、水田における高酸素条件と低酸素条件の差は 180  $\mu\text{M}$  であるのに対し、本研究での差は 220  $\mu\text{M}$  と水田条件よりも大きかった。すなわち、酸素に対する根の感受性を評価しうる条件であると判断された。本試験で供試した品種の中には、低酸素条件下において種子根の総根長の変化が大きい品種と小さい品種が混在した (表 1)。この違いは育成地によって選抜される品種の特徴の違いによるものであることが推測される。本試験において、北海道と北陸および四国の品種で低酸素時に総根長が伸長したが、関東の品種は処理間で総根長に変化は認められなかった。この結果から、北海道、北陸及び四国の品種は関東の品種に比べ地中の酸素欠乏への感受性が高いと推測できる。本試験によって大麦の種子根の伸長は酸素条件の影響を受けることが確認された。よって Skygel を用いた手法は、低酸素への応答を調査する方法として有用であることが示された。

表1 供試品種の種子根の諸形質について

品種	条性	総根長(cm)		根数(本)		平均根長(cm)		伸長角度(°)			根重(mg)	
		低酸素	高酸素	低酸素	高酸素	低酸素	高酸素	低酸素	高酸素	2021年度データ	低酸素	高酸素
りょうふう	二	53.7	39.6	7	7	7.7	5.5	43.2	24.1	30.6	5.2	5.5
春星	二	52.1	38.5	8	9	6.2	4.4	39.0	59.2	40.9	5.5	5.6
ほしまさり	二	49.2	34.8	8	8	6.4	4.6	38.8	33.3	33.4	7.2	4.3
ビューファイバー	二	40.2	35.1	5	5	7.5	7.0	64.2	59.2	57.5	4.7	3.8
ユメサキボシ	二	39.2	33.0	4	6	9.8	5.3	45.8	45.8	1.1	5.9	5.8
キラリモチ	二	51.8	45.6	6	7	8.9	6.6	46.0	41.0	12.9	7.0	6.7
AC Metcalfe	二	19.5	23.1	6	7	3.3	3.5	25.5	8.1	11.7	3.6	4.1
Carlsberg II	二	38.9	24.6	7	7	5.9	3.7	29.3	37.8	13.2	6.8	5.9
カシマムギ	六	13.3	15.0	5	5	2.8	3.3	17.2	21.3	36.5	4.6	3.7
マンネンボシ	六	25.0	16.8	5	5	5.1	3.4	50.0	42.6	36.0	4.5	3.3
大正麦	六	62.8	71.5	6	5	11.2	13.1	38.0	41.4	38.7	6.2	8.4
Karl	六	48.4	34.3	5	5	9.0	6.5	25.3	41.5	40.8	5.8	5.6
北陸皮48	六	28.1	22.8	5	6	5.2	3.9	30.0	4.3	0.0	4.9	5.0
北陸皮38号	六	42.5	25.5	5	5	8.7	5.1	46.7	25.4	35.8	4.3	3.4
シルキースノウ	六	47.1	35.4	5	6	8.7	5.9	39.9	23.1	19.8	6.2	5.4
シュンライ	六	13.3	11.4	5	5	2.8	2.3	32.7	29.3	0.0	4.1	3.9
平均		39.1	31.7	5.7	6.1	6.8	5.3	38.2	33.6	25.6	5.4	5.0

※ 黄色で着色したセルは処理間に5%水準で有意な差が認められた項目を示す。2021年度データとは、小西ら(2021)の結果を示し、赤色で着色したセルは本試験との間に有意な差が認められた項目を示す。

②本研究において、PEG濃度0%培地、15%培地および20%培地を作成した。マトリックポテンシャルを測定すると、それぞれのpFは「0」、「3.3」および「3.78」となり、それぞれ「乾燥ストレス無」、「成長阻害点」および「初期萎凋点」に相当することが明らかとなった。すなわち、Sky Gel培地にPEGを添加すると乾燥条件を作成でき、植物の根系研究に利用できると考えられた。

「種子根総根長」はPEG濃度20%の時に最も小さくなる傾向にあった(図1)。「種子根数」と「草丈」の間には5%水準で有意な正の相関関係が認められ、PEG濃度が高くなるにしたがって種子根数は減少し草丈は短くなった(図2と図3)。「側根総根長」と「側根数」の間には1%水準で有意な正の相関関係が認められ、PEG濃度15%、20%、0%の順に側根総根長が長く側根数は多くなった(図4)。以上の6品種の各濃度処理における「種子根総根長」、「種子根数」、「草丈」、「側根総根長」および「側根数」の調査結果により、大麦は乾燥条件になると種子根数の減少に伴い種子根総根長が短くなり、草丈も短くなることが分かった。そして、側根数の増加に伴い側根総根長が長くなることが分かった。このことから、培地内が乾燥条件になるにしたがって、水分を効率よく吸収するために側根を発生させ表面積を増やしていると考えられた。ただし、同じく水分吸収を担う根毛では「会津3号」、「北陸皮48号」および「シュンライ」の3処理区全てで確認できたが、処理間の差は見られなかった。

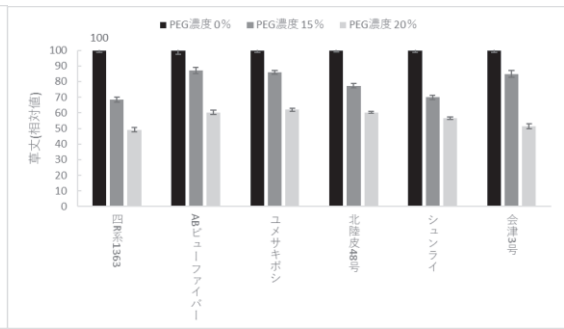
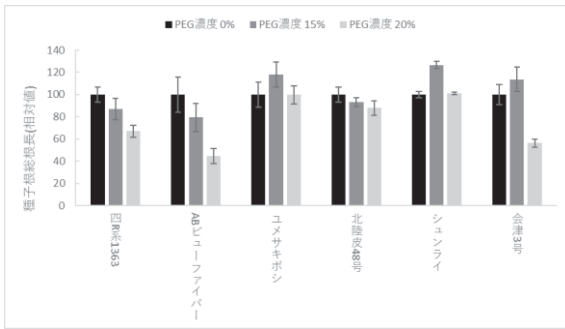


図 1.各濃度処理区における種子根総根長(相対値).PEG 濃度 0%を 100 とした時の相対値で表記.縦線は標準偏差(n=10)を示す.

図 2.各濃度処理区における草丈(相対値). PEG 濃度 0%を 100 とした時の相対値で表記.縦線は標準偏差(n=10)を示す.

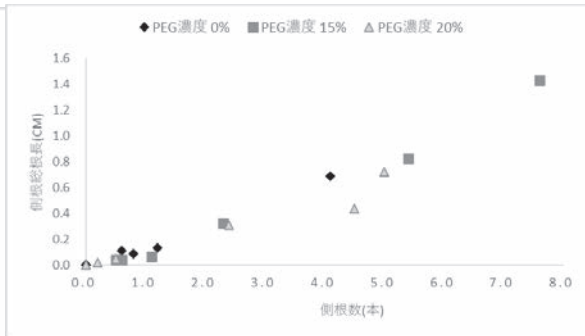
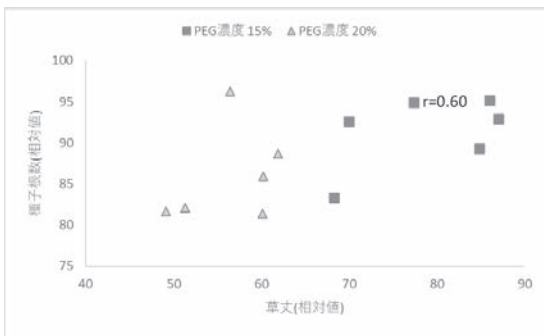


図 3.種子根数と草丈の相関関係  
PEG 濃度 0%を 100 とした時の相対値で表記.

図 4.側根総根長と側根数の相関関係

③ 本研究ではハイドロゲルポリマー培地に播種した大麦を4℃のインキュベータで栽培することで低温ストレス応答を評価した。供試品種には北海道産の「りょうふう」と九州産の「ミハルゴールド」を使用した。20℃であれば播種7日後の1本当たりの最大根長が約13cmであったのに対し、4℃では両品種とも役1cmよりも短かった(図5と図6)。さらに14日目まで観察を続けたものの大きな変化は観察出来なかった。低温の設定温度が低過ぎ、昼夜温や日変化なども考慮するなどして栽培温度を工夫すべきであった。



図 5. 「りょうふう」

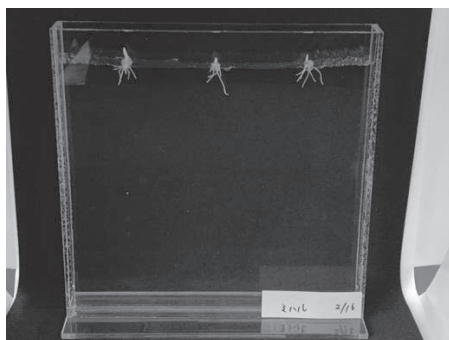


図 6. 「ミハルゴールド」

## 2) 根系の環境ストレス応答を制御する関連遺伝子の探索

イネで知られる根の伸長角度を制御する2遺伝子 *Dro1*, *qSOR1* と相同性をもつ大麦遺伝子 *HvDro1* *HvqSOR1* を見出し、その塩基配列変異を明らかにした(図7)。Skygel で調査した種子根伸長角度と両遺伝子型との関係を解析した結果、遺伝子型によって根の伸長角度が有意にちがう「浅根型」、「深根型」であることが明らかとなった。

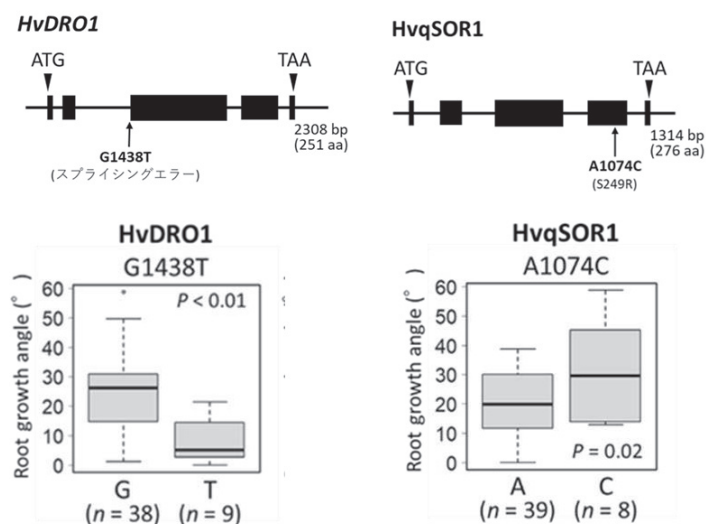


図7.大麦の根の伸長角度に関わる *HvDRO1*, *HvqSOR1* の遺伝子変異と種子根伸長角度の関係

湿害 ( $O_2$  欠乏) ストレスで発現する遺伝子の解析においては東農大課題で明らかにされた脱気水での培養を3品種(ファイバースノウ( $O_2$  欠乏ストレス: 弱)、大正麦(強)、ビューファイバー(強))で行い、処理0時間、6時間、48時間に根で発現する mRNA の解析(RNA-seq)を行った。現在データ解析中であるが、 $O_2$  欠乏ストレス耐性や根の伸長角度遺伝子構成が対照的なファイバースノウとビューファイバーの種子根横断面を観察したところ組織構造には大きな差異が明らかとなった(図8)。

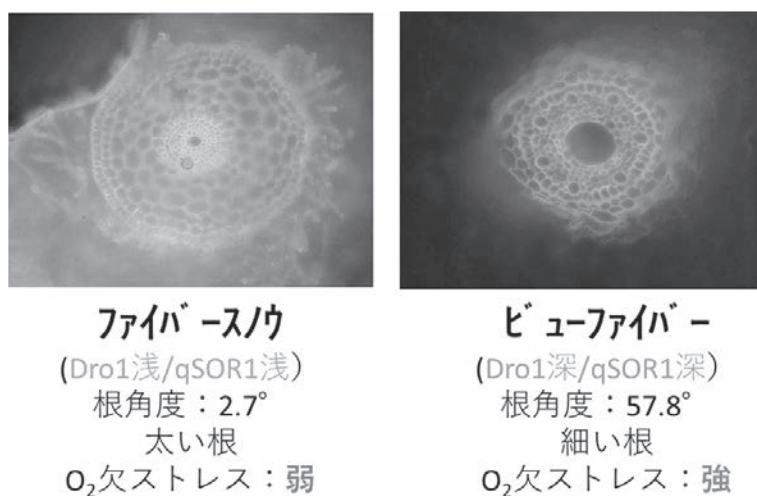


図8. 種子根の組織構造の品種間差異

## 3) 根系関連遺伝子情報を用いた既存育種素材からの地域適応型大麦の選抜

根の伸長角度を制御する2遺伝子 *HvDro1* *HvqSOR1* について、多様な遺伝資源を用いて遺伝子分



布や Skygel での種子根の伸長角度の地域間差異を明らかにした (図 9)。その結果、重粘土壌での大麦栽培がおこなわれている北陸地域に適応した北陸・長野育成品種・系統では HvDro1 遺伝子型が他地域と比べて「浅根型」が多く、種子根伸長角度も小さいことが示された。これは重粘土壌で顕著な湿害回避のために「浅根性」特性が選抜されてきた可能性を示唆するものである。

そこで、中日本農研大麦育種(上越市)で生産力検定に供試中の有望育成系統、新たな品質特性などを導入するための多様な交配母本・遺伝資源の HvDro1 HvqSOR1 遺伝子型について調査した結果、育成系統では両遺伝子とも「浅根型」となっている系統が 86.6%にのぼった一方、交配母本では 19.2%に過ぎなかった(表 2)。また、これまで見つからなかった新たな遺伝子組み合わせ (HvDro1 浅根型/HvqSOR1 深根型) をもつ系統(北陸二条裸 6 7 号)が発見された。今後、これらの遺伝子型に着目しつつ大麦の「地域適応性」について検討を行う。

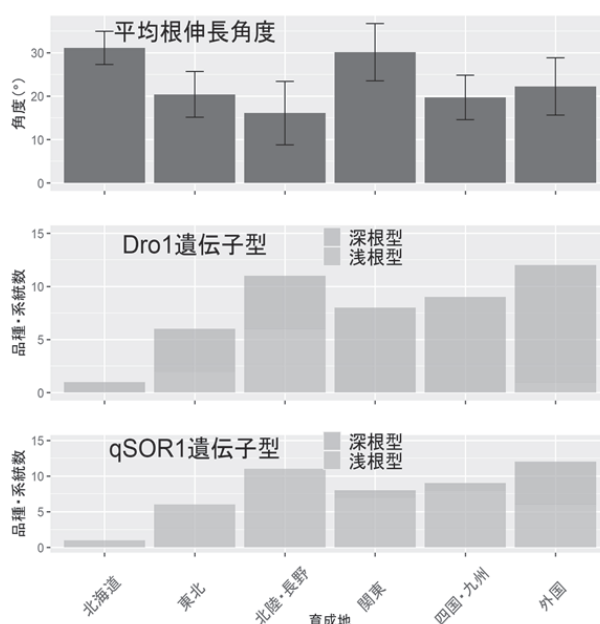


図 9. 大麦の育成地別の種子根伸長角度、種子根伸長角度関連遺伝子の差異

表 2. 中日本農業研究センターの大麦育種における育種母本・育成系統の遺伝子型変異

HvDro1	HvqSOR1	育種母本・遺伝資源 における比率 <sup>1)</sup>	中農研生産力検定 における比率 <sup>2)</sup>	おもな品種・系統
深根型	浅根型	66(71.7%)	8(11.9%)	ミノリムギ, ミユキオオムギ, カシマムギ, 小春二条
浅根型	浅根型	18(19.6%)	58(86.6%)	ファイバースノウ, シルキースノウ, シュンライ
深根型	深根型	8(8.7%)	0(0.0%)	ビューファイバー, キラリモチ, Harrington
浅根型	深根型	0(0.0%)	1(1.5%)	北陸二条裸67号

1) 交配母本などに供試した広範な遺伝資源 2) 上越拠点で選抜した育成系統

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

1) 研究の間で伸長角度に整合性の取れない場合もあり、個体差の大きい品種の判断には注意が必要であることがわかった。また、大麦の種子根から、酸素不足に対する感受性の試験では培地内に酸素が流出している可能性もあり、育成中に培地内の酸素濃度も計測を行う必要がある。

さらに、Skygel を湿害試験へ応用するためには、圃場やポットで土壌を用いた湿害試験を行い、培地内の環境がどの程度圃場の環境を再現出来ているのかを検討する必要もある。本件に関連して水分不足への感受性に対する試験でも圃場やポットで土壌を用いた乾燥ストレス試験を行う必要もある。

## 10. 公表した成果一覧

### 学術論文

- 1) 小西 隼平・中野 友貴・伊藤 博武・長嶺 敬 (2021)、オオムギ種子根の伸長角度の品種間差異、根の研究 30 巻 4 号 : 119-123.
- 2) Yuki Nakano・Junpei Konishi・Hirotake Ito・Tsuyoshi Tanaka・Masako Seki・Hideyuki Aoki・Takashi Nagamine(in press)、Polymorphism of HvDRO1 and HvqSOR1 Associated with Root Growth Angle in Barley Accessions、Plant Root

# 2021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      笠島 真也

## 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
窒素施肥方法の改善による穂数コントロールを活用したパン用小麦品種の高品質・多収栽培技術の確立	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	笠島 真也	生物産業学部 北方圏農学科・准教授	穂形質の検討
研究代表者 (農研機構)	松中 仁	農研機構 北海道農業研究センター・主任研究員	収量・品質の検討
研究分担者	辻 博之	農研機構 北海道農業研究センター・グループ長	収量・品質の検討
	寺沢 洋平	農研機構 北海道農業研究センター・主任研究員	収量・品質の検討
	川口 謙二	農研機構 北海道農業研究センター・研究員	収量・品質の検討
	西尾 善太	農学部 農学科・教授	穂形質の検討

## 3. 研究期間

2021年6月9日～2022年3月31日

## 4. 研究の背景（当初）

小麦は食料・農業・農村基本計画で、2018年度の76万トンから30年度に108万トンとする生産目標が定められているように、政府も小麦の増産を掲げており、米の需給均衡のため主食用米から作付け転換する品目として期待されている。19年度の小麦の自給率は16%で、輸入から国産への置き換えが求められている。国産小麦は8割強で中力粉（うどん用）向け品種が栽培される一方で、パン用の強力粉向け品種の国内産流通量は15%であり、消費量が多いにもかかわらず多くを輸入している。このため、国産小麦の需要拡大のための方策として、パン用品種の作付けを拡大することが極めて重要である。

現在、北海道向けのパン用小麦品種「ゆめちから」の後継品種として「北海266号」が育成されており、北海道の優良品種決定調査に供試されている。「北海266号」は「ゆめちから」と比べ、穂数が多くなりやすい特徴を有しており、過繁茂により収量減と子実タンパク質含有率の低下を招いてしまい、

優良品種の採用の課題として指摘されている。パン用小麦の生産拡大に向けて、「北海 266 号」の穂数を適切に管理し、収量とタンパク質含有率が「ゆめちから」並みとなるような栽培管理法の開発が求められている。

## 5. 研究目的

融雪後の追肥のタイミングと施用量によって穂数を制限しつつ、一穂の着粒を十分に確保する栽培法の開発を主目的とする。また、その多収要因と社会実装のための課題について遺伝育種、植物生理、栽培技術開発の複数の分野が協力して明らかにする。これによって、パン用小麦の栽培管理を開発するための基礎的な知見が得られ、国産小麦の増産と安定供給に資する。

## 6. 研究（実験）方法

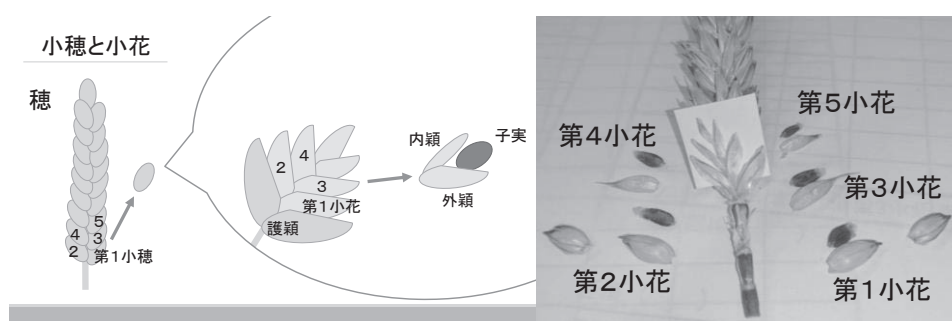
供試品種は、後継品種「北海 266 号」と対照品種「ゆめちから」の 2 品種とした。試験は、農研機構北海道農業研究センター芽室研究拠点（北海道河西郡芽室町）において行った。播種は 2020 年 9 月 22 日に行い、播種量は 200 粒/m<sup>2</sup>とした。試験区は 4 ブロック乱塊法（4 反復）で計 56 区を設けた。試験圃場において、窒素の施用時期と施肥量を変えた 7 処理区を設定し、適切な穂数管理を検討した（第 1 表）。基肥は N を 5 kg/10a、P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> を 8 kg/10a、K<sub>2</sub>O を 4.8 kg/10a 施用した。開花期追肥は全ての処理区で窒素施肥量を統一し、止葉期に窒素成分で 6g/m<sup>2</sup>と 9g/m<sup>2</sup>施用し、さらに起生期追肥を半減、もしくは幼穂形成期に遅らせた。また、起生期と幼穂形成期の窒素を分肥する区を設けた。また、6-0-6 は慣行区として設けた。以下、試験区を 6-0-6、6-0-9 と表記する。

北農研：施肥法が穂数や収量、タンパク質含有率に与える影響の解明

東農大：施肥法が主に穂形質（小穂内の粒数と粒重）に与える影響の解明（第 1 図）

第1表 処理区ごとの窒素の施用時期と施肥量 (g m<sup>-2</sup>)

基肥	起生期	幼穂形成期	止葉期	開花期
5	6	0	6	3
5	6	0	9	3
5	3	0	6	3
5	3	0	9	3
5	0	6	6	3
5	0	6	9	3
5	3	3	9	3



第1図 小麦の穂形質（小穂位置別・小花別に粒重を評価）。

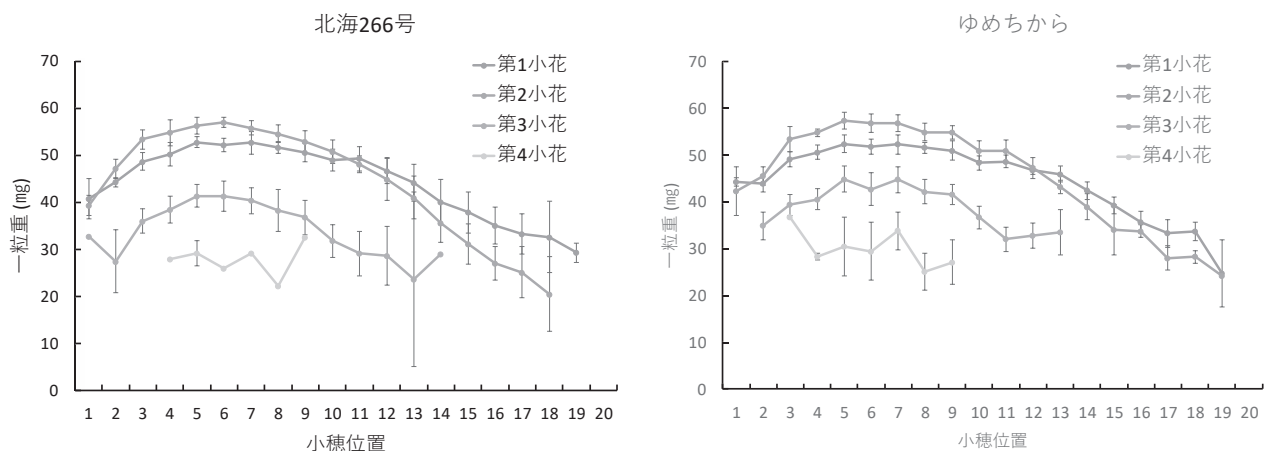
1 区当たり穂 20 本について調査した。

## 7. 研究成果

- ① 起生期と幼穂形成期の追肥量を減らし、止葉期に増肥することで、穂数が減少しても慣行区である6-0-6区の「ゆめちから」以上の収量が確保された(第2表)。
- ② 追肥をより生育後期にずらすことで、子実タンパク質含有率は0.5%程度向上した(第2表)。
- ③ 本年の気象条件(日射量・日照時間が多い)では、懸念された過繁茂による登熟不良は発生しなかった。
- ④ 千粒重の差が大きかった0-6-6区(ゆめちから>北海266号)における穂に着生する各小穂の小花別の一粒重を比較した結果、「北海266号」の第3小花に着生する粒の粒重が、「ゆめちから」より小さく、穂の先端(小穂位置15以上)で、第2小花の粒重が小さかった(第2図)。
- ⑤ 穂の各小穂の粒重分布をみると、「北海266号」は「ゆめちから」に比べて、追肥処理間の差が小さく、いずれの施肥量・時期においても慣行区並みの粒重となった(第3図)。

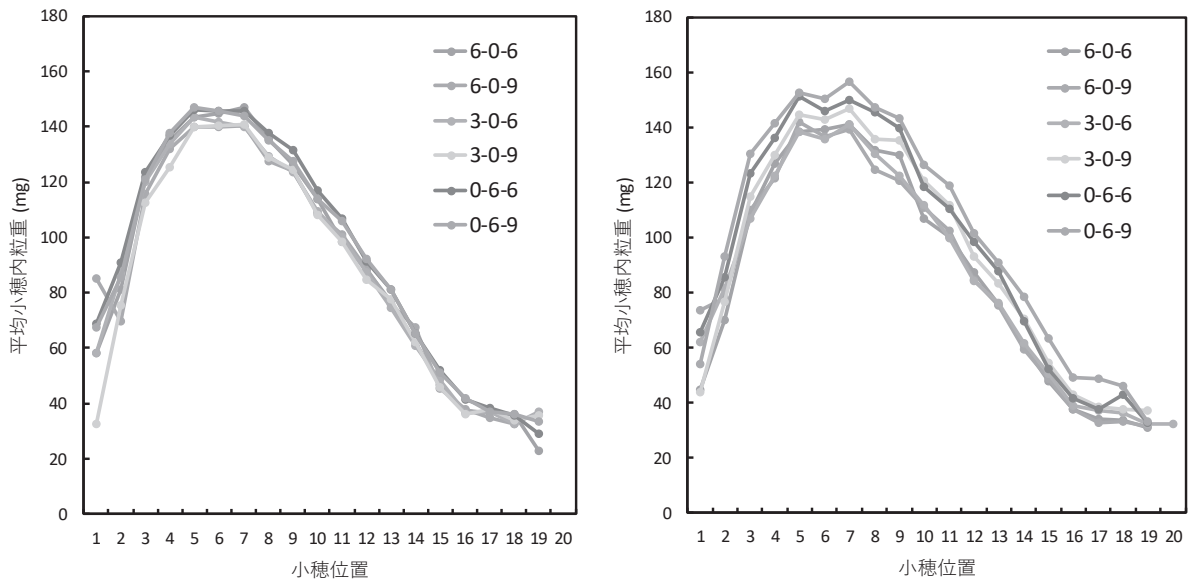
第2表 各処理区における収量関連形質および子実タンパク質含有率。

窒素施肥 起生-幼形-止葉	品種・系統	穂数 (本/m <sup>2</sup> )	子実重 (kg/10a)	2.2mm篩上率 (%)	千粒重 (g)	原粒タンパク 質含有率(%)
6-0-6	北海266号	827	862	98.6	46.0	12.8
	ゆめちから	705	871	99.6	47.8	14.4
6-0-9	北海266号	813	885	98.8	46.1	13.3
	ゆめちから	758	841	99.7	48.2	14.8
3-0-6	北海266号	903	866	98.6	46.4	12.7
	ゆめちから	728	781	99.7	48.9	13.9
3-0-9	北海266号	765	870	99.1	48.5	13.3
	ゆめちから	648	781	99.8	49.8	14.9
0-6-6	北海266号	842	883	98.4	44.7	13.0
	ゆめちから	723	838	99.7	48.1	14.5
0-6-9	北海266号	795	866	98.8	47.5	13.7
	ゆめちから	678	861	99.6	49.7	15.1
3-3-9	北海266号	942	935	98.8	46.7	13.5
	ゆめちから	813	841	99.6	47.9	15.0



第2図 (0-6-6) 区の各小穂位置における一粒重

横軸は、数字が小さいほど穂下部の小穂、数字が大きいくほど穂先端の小穂を示す。



第3図 各処理区における小穂位置別の平均小穂内粒重。

横軸は、数字が小さいほど穂下部の小穂、数字が大きいくほど穂先端の小穂を示す。

以上の結果から、「ゆめちから」の慣行施肥から、起生期を減らし止葉期を増肥することで、穂数が減っても「ゆめちから」並みの収量を確保し、倒伏のリスクを低減し、タンパク質含有率を向上させることができることが示された。また、過繁茂などで登熟不良となった場合に、改良すべき穂形質が明らかになった。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

本結果により、「北海 266 号」の穂数を制御するための施肥管理の方針が明らかとなった。今後の優良品種採用に向けた栽培試験として、「北海 266 号」のさらなるタンパク質含有率の向上に向けた生育後期重点施肥の効果を検証し、実用化に向けた実証試験を実施する。

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

本年の気象条件では、日射量、日照時間ともに平年以上あったため、穂数が 1000 本/m<sup>2</sup>を超えても過繁茂による登熟不良は発生しなかったため、過繁茂による登熟不良を引き起こす穂数についての解析が行えなかった。「北海 266 号」に最適な目標穂数を明らかにするために、気象条件に応じて遮光処理などにより過繁茂による登熟不良の影響を検討する。

## 10. 公表した成果一覧

なし

# 2021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      妙田 貴生

## 1. 研究課題名および予算額

研究課題名	予算額(円)
香り豊かな高品質ソバ創出に向けた重要香气成分の解析	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	妙田 貴生	生物産業学部 食香粧化学科・教授	研究統括 ソバの香气の官能評価
研究代表者 (農研機構)	石黒 浩二	農研機構 北海道農業研究センター 寒地畑作研究領域畑作物育種グループ・主席研究員	香气成分解析用ソバ栽培 および試料調製
研究分担者	原 尚資	農研機構 北海道農業研究センター 寒地畑作研究領域畑作物育種グループ・主任研究員	香气成分解析用ソバ栽培 および試料調製
	大塚しおり	農研機構 北海道農業研究センター 寒地畑作研究領域畑作物育種グループ・研究員	官能評価と香气成分の関 連性評価
	野島 聡	生物産業学部 食香粧化学科・教授	ソバ香气成分の解析
	金嶋 泰	生物産業学部 食香粧化学科・助教	ソバ香气成分の解析と官 能評価

## 3. 研究期間

2021年6月9日～2022年3月31日

## 4. 研究の背景（当初）

ソバは、古来より我が国で親しまれる作物で、麺や蕎麦がき、あるいは焼酎の原料として利用される。ソバの国内自給率は21%（平成30年度）で、多くを中国等からの輸入に頼っている。自給率を向上させるためには、高品質化によって外国産と差別化を図り、高品質化のメリットを生かした需要を開拓することが有効と考えられる。

現在の主力栽培品種は、北海道農業研究センターで育成された「キタワセソバ」で、後代品種として

収量性と子実容積重に優れる「キタミツキ」が育成されている。一方で、実需者や消費者からは良食味品種開発の要望が強く、その期待に答える品種育成が急務である。ソバの美味しさは風味や食感にあるが、とくに特有の香りが担う役割は大きい。これまでにソバの香りはグリーンな香調を示すヘキサナールやノナナールが重要といわれてきたものの、官能的にはソバラしさの決定的な香気成分では無いことが明らかになっている。つまり、ソバの香りに関しては、骨格となる成分の全容がつかめていないのが現状である。香りの骨格となる化合物は、良食味品種の選抜マーカーになると考えられることから、この情報こそ今後のそば育種の肝になるといえる。

## 5. 研究目的

本研究では、香りが優れる高品質ソバ品種の開発を目指して、官能評価による新鮮なそば粉あるいはそば切りにある特性とそのキーとなる香気成分の特定を試みた。

## 6. 研究（実験）方法

試料：常陸秋ソバ、常陸秋ソバ（2週間室温保存）、および北海道農業研究センターで育成されたキタワセ、キタミツキ、レラノカオリ、芽系38号の計6種とした。

官能評価：そば粉を試香瓶に入れ、そこから香る土感、グリーン感、ウッディ感および油感の強度をQDA法により評価した。そば切り（麺）はヌードルメーカーにて調製後、茹で麺の口腔内から鼻腔に抜ける香りを前述と同様に評価した。なお、パネルは訓練を受けた20代男女7-12名とした。

香気分析：そば粉を塩化メチレンに浸漬し、脂溶性成分を捕集した。これを高真空蒸留装置に供して不揮発成分を除去し、香気成分を得た。これらを匂い嗅ぎポート付きガスクロマトグラフィー（GC-O）およびガスクロマトグラフ質量分析計（GC-MS）に供した。

## 7. 研究成果

### 1. 新鮮なソバ粉およびそば切りの香気特性評価

新鮮なソバ粉の香り特性を明らかにするために、新鮮な状態で冷蔵保存された常陸秋とこれを2週間常温保存して劣化させたそば粉を官能評価した。常陸秋は、土感、グリーン感および油感が強く、ウッディ感は弱かった。一方、これを2週間常温放置したそば粉では逆の特性を示し、そば粉は劣化することで土感、グリーン感あるいは油感が消失すると考えられた（図1）。この傾向はそば切りでも同様であった（図1）。以上より、新鮮なそば粉の香りは土感、グリーン感、および油感のあることが特徴であり、さらに、そば粉を評価することでそば切りの品質も推定できると判断した。

### 2. 新鮮なソバ香にある香気成分の解析

常陸秋ソバおよびこれを2週間常温放置したソバ粉より香気成分を抽出し、これをGC-Oに供してニオイに寄与する成分を比較した。まず香気成分数を比較すると、常陸秋ソバは66成分であったのに対し2週間保存したそれは57成分であった。次に、各化合物の香気寄与度の指標となるFlavor Dilution（FD）値を表1に示した。新鮮なそば粉では、メタリック様であるMyrcene、キノコ様の1-Octen-3-one、桃様の $\delta$ -Decalactone、カラメル様のEthylfuranol、スパイシーな3-Propylphenolおよびキノコ様の1-Octen-3-olが高い値であり、その他、メタリックな1,8-cineolやソバの香りに類似したtrans-2,3-epoxyheptanal、グリーンやファッティな香調をもつ脂肪族アルデヒドやピラジンが検出された。一方、劣化タイプではEthylfuranolのFD値は低く、3-Propylphenol、1-Octen-3-olおよび1,8-cineolは検出さ



れず、ファッティな香りの(Z)-2-Decenal、足裏臭の Isovaleric acid、フェノリック様の 2-Methoxy-4-vinylphenol および 4-Propyl-2-methoxyphenol といった化合物がこのタイプでのみ検出された。

以上の結果より、新鮮なソバ粉の特徴となるにはグリーン感には myrcene や 1,8-cineole、土感には pyrazine 類、および油感には C<sub>9</sub>-C<sub>10</sub>aldehyde が寄与すると考えられた。

従来の研究において、有機化学的手法を活用した香气成分の網羅的な解析により数百種類の含有成分が明らかにされているが、人の嗅覚を組み合わせた分析法による日本そば香气に寄与する成分を整理したのは初の研究成果である。

### 3. 育種系統における新ソバ感の評価

北農研で育成された4品種について、上記と同様の評価を実施した。その結果、現状で嗜好性が最も高いキタミツキで新ソバに特徴的な香气評価が高く、次いでキタワセ、芽系38号と続き、レラノカオリが最も低かった(図2)。これらの結果は事前の品種評価と一致したことから、ソバ香におけるグリーン、土および油感は今後のソバ育種における重要形質になると示唆された。

## 8. 実用ならびに他の研究に活用された研究成果の内容

特になし

## 9. 残された問題点と今後の研究推進方策

今後の課題は、1) 本研究によって明らかとなった香气成分の簡易分析法の開発と、2) 育種時におけるマーカー選定となる。とくに1)については、固相マイクロ抽出法といった極一般的な分析手法の適用が望ましいが、本研究で明らかにされたそばの重要成分香气成分は、いずれも微量成分である可能性が高く、抽出法や解析法等さらなる検討が必要である。

## 10. 公表した成果一覧

学術論文

なし

学会発表

- 1) 柴郁織、金嶋泰、石黒浩二、原尚資、大塚しおり、野島聡、妙田貴生.ソバの香气成分に関する研究. 日本食品保蔵科学会第71回大会(6月、北海道文教大学)

表1 AEDA 法による新鮮・劣化常陸秋そば粉の香りに寄与する成分の比較

Retention Index	推定化合物	香調	FD値	
			常陸秋	常陸秋 2 W
1160	Myrcene	メタリック	64	64
1305	1-Octen-3-one	キノコ	64	64
2188	<u>δ-Decalactone</u>	もも、花	64	64
2088	<u>Ethylfuraneol</u>	カラメル	64	32
2233	3-Propylphenol	スパイシー	64	-
1415	1-Octen-3-ol	キノコ	64	-
1186	1,8-Cineole	メタリック	16	-
1430	(Z)-6-Nonenal	草	16	64
1527	2,5-Dimethyl-3-vinylpyrazine	土様	16	64
1823	3-Decen-2-one	ファッティ、青臭さ	16	8
1838	Geraniol	バラ、フローラル	16	64
1204	3-Methyl-1-butanol	麦芽	4	64
1459	trans-2,3-Epoxyheptanal	ソバ様	4	-
1488	(Z)-3-Nonenal	グリーン、ファッティ	4	-
1492	(Z)-2-Nonenal	グリーン、ファッティ	4	-
1583	4-Methyl-1-undecen-3-one	シトラス	4	-
1654	trans-2,3-Epoxy-nonanal	たみ	4	-
1763	(E,Z)-2,6-Nonadienal	青臭い	4	-
1951	5-Methyl-2-methoxyphenol	キノコ、ゴム	4	64
1987	Maltol	甘い醤油	4	64
2043	Furaneol	煙、カラメル	4	64
2214	β-Sinensal	スパイシー	4	64
2201	trans-4,5-Epoxy-(E)-2-decenal	コショウ	4	-
1512	2-Isobutyl-3-methoxypyrazine	ピーマン	1	-
1522	(E)-2-Nonenal	ファッティ	1	-
1213	Unidentified	革	-	64
1314	(E)-2-Heptanal	グリーン	-	64
1378	(Z)-1,5-Octadiene-3-one	鉄	-	64
1591	(Z)-2-Decenal	青臭い、ファッティ	-	64
1684	Isovaleric acid	足裏臭	-	64
1711	Benzylacetate	フルーティー	-	64
1885	Unidentified	ウッディ	-	64
2050	δ-Nonalactone	フルーティー	-	64
2194	2-Methoxy-4-vinylphenol	フェノリック	-	64
1230	α-Terpinene	テルペン	-	32
2114	4-Propyl-2-methoxyphenol	フェノリック	-	32
2174	Thymol	タイム様、ウッディー	-	32

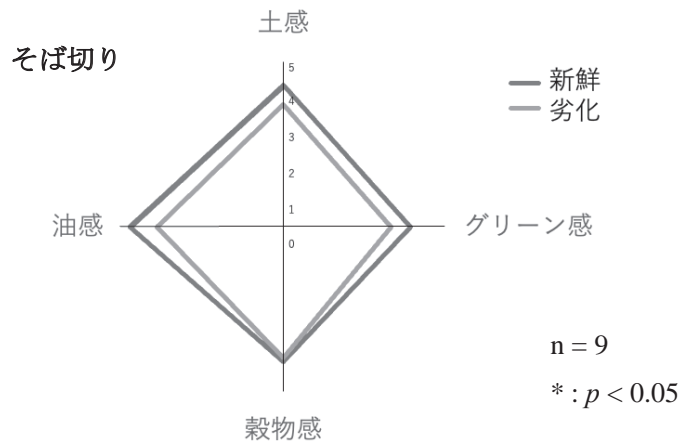
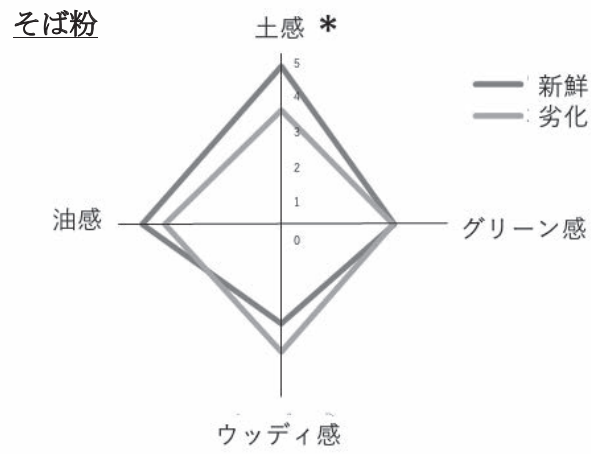


図1 官能評価による常陸秋そば粉およびそば切りの香り特性評価

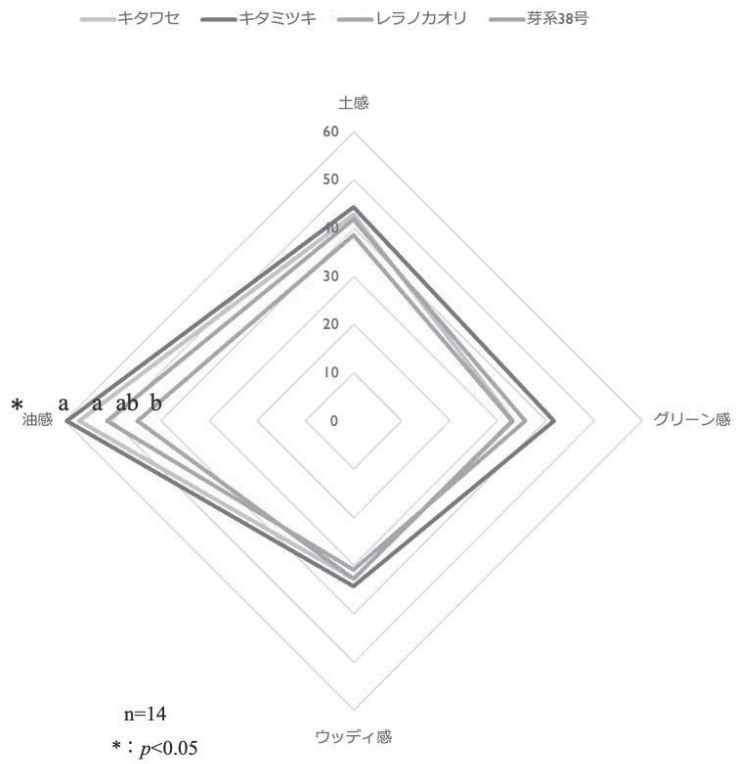


図2 官能評価による北農研育成4品種のそば粉香気特性の比較

# 研究所記事

## 東京農業大学総合研究所研究会 令和3年度事業報告

(令和3年4月1日～令和4年3月31日)

### 1. 概要

#### 1) フォーラム

令和3年度は総研フォーラムを1回、開催した。

#### 2) 研究会事務

農生命科学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

	R3. 3. 31 時点	入 会	退 会	R4. 3. 31 現在
顧 問	2			2
名誉会員	7			7
法人会員	179	16	12	183
個人会員	92	18	7	103
特別会員(A)：総研職員(客員を含む)	113	7	1	119
特別会員(B)：東京農大教職員	197	6		203
合 計	590	47	20	617

※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3年7月7日(水)

開催場所：農大サイエンスポート6F 国際食料情報学部会議室／オンライン

#### 2) 第40回 通常総会

開 催 日：令和3年7月7日(水)

開催場所：農大サイエンスポート8F Air Bridge／オンライン

#### 3) 特別講演

開催日：令和3年7月7日(水) (第40回 通常総会時に実施)

会 場：農大サイエンスポート8F Air Bridge／オンライン

テーマ：「きのこによるSDGs(持続可能な開発目標)の可能性」

講 師：東京農業大学学長・きのこ研究部会部会長 江口 文陽 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3年6月14日(月)

開催方法：オンライン

出席者：常任理事等12名

#### 5) 部会企画の特別活動

令和3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。

・環境緑化部会

「リカレントスクール造園2021 プログラムのネット配信事業」

### 4. フォーラムの開催

●食・農データサイエンス部会第1回公開シンポジウム

(主催：東京農業大学総合研究所研究会)

日 時：令和3年11月25日（木）13時00分～16時30分

開催方法：オンライン

テ ー マ：これから始めよう 食・農データサイエンス

プログラム：

1. 食・農データサイエンスことはじめ～「理数探究基礎」という視点も加えて～  
金谷重彦（奈良先端科学技術大学院大学）
2. 結果をみながら理解しよう～プログラミングでこんなこともできる・わかる～
  2. 1 話題1. 香気成分とサンプルの関係解析：主成分分析と2群の検定  
笹木哲也（石川県工業試験場）、芹野武（アジレント・テクノロジー株式会社）  
金谷重彦（奈良先端科学技術大学院大学）
  2. 2 話題2. 食品分析データの精度を考える：統計学的精度管理  
三宅大輔（日本食品分析センター）
  2. 3 話題3. お米の成分と呈味官能評価の関係モデルの構築：回帰モデル  
辻井良政（東京農業大学）、金谷重彦（奈良先端科学技術大学院大学）
  2. 4 課題4. 地域識別の機械学習（2値の統計処理）  
金谷重彦（奈良先端科学技術大学院大学）

## 5. 「東京農業大学農生命科学研究所 紀要 第32号」の刊行

- 1) 内 容：研究所記事として、総合研究所研究会令和2年度事業報告を掲載
- 2) 発行日：令和3年12月1日

## 6. 部会活動報告（33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3（2021）年度 活動報告

#### 1. 稲・コメ・ごはん部会 第10回ウェビナー開催

農生命科学研究所研究プロジェクトの「学部長主導型研究プロジェクト」として、応用生物科学部が「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）」を2018-2020年に実施した。このプロジェクトでは、生活習慣病の予防を目的として、玄米由来の機能性成分を高蓄積する「栄養強化米」の開発を目指した。本部会ではこのプロジェクト成果を中心に、科学的知見に基づいた東京農大独自の栄養強化米の実現に向けた研究内容の発表を以下の6題により行った。

2021年9月22日（水） 14:00～16:20

記念講演者および演題：

1. 農大の栄養強化米プロジェクトの概要  
辻井良政（東京農業大学 応用生物科学部 農芸化学科 食料資源理化学研究室）
2. 鉄高集積イネ突然変異体と紫黒米品種の交配後代から選抜した栄養強化米の特性  
齋藤 彰宏（東京農業大学 応用生物科学部 農芸化学科 植物生産化学研究室）
3. 栄養強化米安定生産への土壌肥料的アプローチ  
大島 宏行（東京農業大学 応用生物科学部 農芸化学科 土壌肥料学研究室）
4. 栄養強化米を使用した食品加工  
岡 大貴（東京農業大学 応用生物科学部 農芸化学科 食料資源理化学研究室）
5. 奄美大島のミキから分離した、コメの発酵に適した乳酸菌株の検討  
梶川 揚申（東京農業大学 応用生物科学部 農芸化学科 応用微生物学研究室）
6. 栄養強化米の食品機能  
鈴木 司（東京農業大学 応用生物科学部 農芸化学科 栄養生化学研究室）

#### 2. 第1回公開シンポジウム 「これから始めよう 食・農データサイエンス」の共催

東京農業大学農生命科学研究所ならびに東京農業大学総合研究所研究会、食・農データサイエンス部会と共催で第1回公開シンポジウムを以下の通り、オンライン開催した。

2021年11月25日（木）13:00～16:30

1. 食・農データサイエンスことはじめ ～「理数探究基礎」という視点も加えて～  
金谷重彦（奈良先端科学技術大学院大学）
2. 結果をみながら理解しよう ～プログラミングでこんなこともできる・わかる～
  - 2.1. 香気成分とサンプルの関係解析:主成分分析と2群の検定  
芹野武(アジレント・テクノロジー株式会社)、笹木哲也(石川県工業試験場)、金谷重彦（奈良先端科学技術大学院大学）
  - 2.2. 食品分析データの精度を考える:統計学的精度管理  
三宅大輔(日本食品分析センター)
  - 2.3. お米の成分と呈味官能評価の関係モデルの構築:回帰モデル  
辻井良政(東京農業大学)、金谷重彦（奈良先端科学技術大学院大学）
  - 2.4. 地域識別の機械学習(2値の統計処理)  
金谷重彦（奈良先端科学技術大学院大学）
3. 第11回セミナーに関しては、食・農データサイエンス部会の共催としてシンポジウムを開催したことで、開催を取りやめた。

#### ◆部会名：榎本・横井研究部会

◇部会長：原 珠里 連絡幹事：小形 浩道

◇令和3（2021）年度 活動報告

令和3年度の活動は、新型コロナウイルス感染症の状況が改善されなかったことから、令和2年度に開催できなかった第51回研究会の開催を見送る判断をした。

また、前年度榎本家より譲り受けた資料35点について、専門業者に表装や帙の作製を依頼し、納品まで完了している。

#### ◆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3（2021）年度 活動報告

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））を運営組織とし、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：一般社団法人おいしさの科学研究所）と共同運営において開催する企画の相談を行うべく、企画会議を開いた。新型コロナ感染拡大による社会情勢を鑑み、小田急複合施設「世田谷代田キャンパス」において下記の内容で開催することとした。

1. 企画の相談：2021年度の活動について、6・9・12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. 2022年度の活動について3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。
3. 開催企画の内容  
セミナー「江戸の酢料理～本朝食鑑の酢の再現～」
  - 1) 開催日時（3月29日火曜13時～15時30分）
  - 2) 場所：小田急複合施設「世田谷代田キャンパス」
  - 3) 参加費：会員無料、非会員（会場対面参加：1,000円、ZOOM参加無料）
  - 4) ①開会の挨拶 東京農業大学総合研究所 おいしさ研究部会長 松本信二  
②本朝食鑑の酢（再現試作品）を用いた酢料理のデモンストレーションと官能評価  
講演と料理のデモンストレーション 江戸懐石近茶流宗家 柳原尚之  
③閉会の挨拶 山野善正：一般社団法人おいしさの科学研究所理事長
4. 参加者 対面参加：一般14名（運営委員5名含む）、学生2名、  
ZOOM参加：一般14名
5. 会員登録者あて、上記講演会開催の報告を行った。

#### ◆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3（2021）年度 活動報告

1. キックオフとして第1回シンポジウムを行った。概要は以下の通り。

応用微生物部会シンポジウム「微生物学の基盤」

日 時：3月11日（金）13:00 - 15:40

開催方法：ZOOM 配信によるオンラインシンポジウム（事前登録により URL 連絡）

参加費：無 料

協 賛：日本微生物資源学会（広報の支援）本シンポジウムの案内をホームページに掲載するとともに会員にメールで配信した。

概要：新学科である分子微生物学科の研究概要紹介をプログラムに入れ、本学OBの多い部会員への認知度の向上を図るとともに、微生物を研究材料とする人たちに重要な、微生物学及び微生物取り扱いの最も基礎となるテーマを題材とし、分子微生物学科の先生方に講演をお願いした。

プログラム

1. 「分子微生物学科の研究概要」 内野昌孝 東京農業大学分子微生物学科教授
2. 「細菌分類学から得られる知見」 鈴木健一郎 東京農業大学醸造科学科客員教授
3. 「ゲノム情報から見える微生物」 藤田信之 東京農業大学分子微生物学科教授
4. 「細菌の酸素に対する挙動と代謝」 新村洋一 東京農業大学分子微生物学科客員教授
5. 「細菌の色素：機能、分布、生合成」 高市真一 東京農業大学分子微生物学科教授

（敬称略）

参加者 実数合計 133

農大教職員：26、農大学生：45、

総研研究会会員：43（うち応用微生物部会員 26）

非会員企業：5、非会員団体：5、非会員研究機関：4

外部大学教員：1、外部大学学生：4、

重複登録：2（登録総数から減じて上記実数を算出）

開催中は常時ほぼ100を超える聴講があり、成功であったと考えている。

支出：事前登録、Zoomによるリモートのシンポジウムは自前で運営したので経費負担なし。

講演者には部会長の鈴木を除いて謝金（税引き後10,000円）を支払った。

## 2. 部会員の新規登録

2021年12月に総研研究会に新規登録された2企業が当部会に登録いただいた。研究会事務局からの連絡を受けて、2社に（メールで）礼状を送り、1社からは返事をいただいた。

## ◆部会名：環境緑化部会

◇部会長：栗野 隆 連絡幹事：田丸 敬三

◇令和3（2021）年度 活動報告

1. 「リカレントスクール・造園・2021」の開催・運営  
（造園 CPD 認定プログラム）

※前年計画のプログラムが、5回全て中止・延期となったが、本年は、同プログラムをオンライン配信開催及び人数を制限した上で「グリーンアカデミーホール 大会議室」で検温・マスク着用等、感染拡大防止処置を徹底の上、対面開催のハイブリッドで運営試行した。

●メインテーマ：造園の新たな取り組み5題・令和の丑年に因み

- ・第1回：令和 3年 9月14日（火）「すべて再デザインの時代 - これからの造園 -」  
東京農業大学 名誉教授・RLAフェロー 蓑茂 壽太郎 氏
  - ・第2回：令和 3年10月12日（火）「公園長寿命化計画からP-PFIまで」  
国土交通省 都市局 公園緑地・景観課 課長 五十嵐 康之 氏
  - ・第3回：令和 3年11月16日（火）「指定管理者制度による公園管理の実際」  
（一財）公園財団 参与 長谷川 清弘 氏
  - ・第4回：令和 3年12月 7日（火）「ガーデンデザイン専門学校で学ぶ若人」  
（学法）湘南みどり学園 日本ガーデンデザイン専門学校 副校長 中村 文 氏
  - ・第5回：令和 4年 1月18日（火）「海外の日本庭園 その見所を知り訪ねよう」  
東京農業大学 名誉教授・東京農業大学グリーンアカデミー 校長 鈴木 誠 氏
- 開催場所：グリーンアカデミーホール・オンライン配信  
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

●延登録者数（646名（内、学生137名含む））・延参加者数（472名内、（学生69名））

2. 「東京農大 緑のフォーラム 2021の共催（造園CPD認定プログラム）

令和3年5月15日（土）10:00～12:30 世田谷キャンパス（オンラインで配信）

●MLA Award 受賞者講演

・「地上および空中撮影による近赤外画像を用いた樹木の衰退度診断への応用」

長谷川 彩季 氏

・「初期田園墓地の空間構成解析による田園墓地設計手法の体系化に向けた基礎的研究」

金子 将太 氏

●第47回造園大賞受賞者講演

・「市民向け植物観察の実践を通じた「まちのみどり」の普及啓発活動」

植物観察家/植物生態写真家（平成20年造園科学科卒）

鈴木 純 氏

●特別講演

・「米国ポートランド市におけるグリーンインフラの展開 -30年を振り返る 夢から実戦へ-」

ポートランド市環境局グリーンインフラ 担当次長

Dawn Uchiyama 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2021」」の共催

（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）

※本年も中止とした

4. 幹事会、委員会の開催 メール審議及び少人数での打合せを行った

令和3年4/20・5/10・5/15・5/18・6/4・7/7・7/29・8/4・9/9・9/14・9/22・10/12・

11/16・11/18・12/7、令和4年1/18・3/3・3/31

5. その他

・リカレントスクールオンライン配信データ編集等のために申請した令和3年度特別活動補助金は、企画の見直しにより、Zoom用カメラ等セットを購入させて頂いた。

#### ◆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3（2021）年度 活動報告

★幹事会については、新型コロナウイルス感染症予防対策として出張などを伴った対面での会議の開催実施を制限しながらオンラインで実施したが、部会長の福岡への出張時に現在宮崎県の南九州大学に所属する連絡幹事と対面で実施した。

★セミナー及び講演会について

① 7月7日東京農業大学総合研究所研究会主催のZoom特別講演会「きのこによるSDGsの可能性」が開催されたが部会長が講演するとともに講演内容をYouTubeにて総合研究所研究会が発信した。このイベントについてはきのこ研究部会の会員に配信するとともにきのこ研究部会のFacebookなどでリンクして会員への事後発信と社会貢献として広く周知した。さらに部会長による農大サイエンスポート内での研究紹介YouTubeの作製（総研研究会）に協力し制作された映像をきのこ研究部会の部会員ならびに会員外への周知公開も行った。

② 9月下旬に後期講義が開催されたのちに特用林産物の需要拡大に関するきのこサイエンストークを学内学生とコロナ感染症予防対策を考慮しオンラインで実施した（2021年10月3日参加者：Zoomによるカウント数42名）。なお、対面でのきのこ鑑定会などは宿泊を伴うことから実施を見送った。

③ 11月21日代田キャンパスにて開催された「学長と語ろう」のイベントにきのこ研究部会が協賛し部会の制作したレシピ集や記事などを提供した。さらにきのこ研究部会会員企業と団体からの協力をいただき生鮮きのこやきのこグッズを参加者に配布した（参加者：限定25名）。

④ 東京農業大学内で実施されているきのこ研究の発掘を意図して学内の教職員、院生、学生、研究員、研究生などを演者とした講演会およびポスターセッションを計画していたが新型コロナウイルス感染症対策を考え中止とした。

★その他

研究部会発行のきのこレシピ集の配布

多くのきのこ部会の会員やきのこ愛好者から過去に発刊したきのこレシピ集の再度の配布依頼が寄せられたため、無料配布と農大サポート、メルカードへの提供を実施した。きのこ研究部会としての啓蒙活動ときのこ普及促進などへの広報活動を実施した。

さらにきのこ研究部会の運営する Facebook を活用したきのこに関する情報発信を定期的に行った。また 16 件の野生きのこの鑑定やきのこに関する疑問や質問に対してメールや Messenger などを活用して情報交換および依頼への対応を実施した。

★研究部会への問い合わせなどを介したテレビや新聞取材の対応

テレビ番組や新聞記事への情報提供を部会長および幹事が対応し東京農業大学におけるきのこ研究について情報公開した。

★きのこ研究部会の令和 4 年度の部会長は食品安全健康学科阿部尚樹教授、連絡幹事を醸造科学科本間裕人准教授として運営することとした。

◆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、板垣 啓四郎

◇令和 3 (2021) 年度 活動報告

1) GIA ホームページ掲載文章アップデート。詳細は [gia-nodai.com](http://gia-nodai.com)

04/05/2021 “農学は何を目指して進むのか「農学の門をたたく君へ」“ 板垣啓四郎

05/03/2021 “阿蘇レポート (2) “ 上野裕治

06/03/2021 “米国グローバル・キャリアプログラム派遣学生・その後“ 鎌塚俊徳

07/01/2021 “東京オリンピック聖火リレーに参加して“ 塙健

07/06/2021 “GIA・GFS 報告 7-1 “ 鎌塚俊徳

10/09/2021 “代替タンパクと新ビジネス“ 武原タイ

2) 第 5 回 GIA コラボ「代替肉・代替タンパクに関するフードテックと新ビジネス」

09/27/2021 ウェビナー開催 (下記プログラム参照)

講演 1 「農大発 学生ベンチャーうつせみテクノについて」

講師：東京農業大学 地域環境科学部生産環境工 学科 教授 佐々木豊

講演 2 「代替タンパクの事業動向 グローバル先進事例をもとに業界を展望」

講師：野村アグリプランニング&アドバイザー株式会社 調査部長 佐藤光泰

話題提供「人工肉おいしさの評価法」

株式会社島津製作所 分析計測事業部グローバルマーケティング部 平尾美子

パネルディスカッション 武原幹事、講師お二人 (佐々木教授 佐藤部長)

総括 閉会挨拶 大門 龍博

\*第 6 回 GIA コラボ(ウェビナー)は延期

3) オンライン “GIA アルコー会“ 開催 (zoom)

05/22/2021 zoom 開催 コロナ禍の GIA 活動に関する懇談

07/07/2021 zoom 開催 GIA 出版実行委員会 発足

08/11/2021 zoom 開催 GIA 出版実行委員会ミーティング同時開催

01/10/2022 zoom 開催 新年会/GIA 出版実行委員会ミーティング同時開催

4) GIA 出版実行委員会

令和 4 年度出版予定の書籍「グローバルに未来を思考する」の執筆を産官学に広く応募し、原稿を 12/31/2021 までに提出して頂き編集作業に入った。

◆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 3 (2021) 年度 活動報告

昨年度に引き続き、活動を見合わせていた。新しい時代に即した昆虫機能利用の部会 (名称も変更する予定) に移行する予定で準備を進めている。

◆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3（2021）年度 活動報告

【幹事会】

令和3年12月11日、オンライン（zoom）にて行った。

【令和元年度活動報告会および令和二年度定時総会】

【令和二年度活動報告会および令和三年度定時総会】

新型コロナウイルスの感染予防に伴い、昨年度は活動報告会と定時総会の開催を中止したため、令和元年度活動報告会および令和二年度定時総会と令和二年度活動報告会に引き続き、令和三年度定時総会を合わせて行った。

令和3年12月23日、於東京農業大学、対面（1号館232教室）とオンライン（zoom）のハイブリットで開催した。

報告会：カナダ西岸への留学報告：橘 隆一（森林）

【講演会】

新型コロナウイルスの感染予防に伴い、開催を見送った。

【地球規模課題対応国際科学技術協力プログラム（SATREPS）の諸活動の支援】

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「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」について、研究部会として支援を行った（主に情報提供）。

現地研究者とリモートで情報交換を行った。

【後援】

日本緑化工学会乾燥地緑化研究部会オンラインシンポジウム2021「乾燥地における植物の生理生態と緑化」を後援した。

令和3年12月11日、オンライン（zoom）による開催

【その他：JICAカウンターパート研修生受入れ支援など】

とくになし。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3（2021）年度 活動報告

1. 幹事会の開催：令和3年5月、6月、10月にオンライン&メールで開催した。

2. 第14回シンポジウムを農協研究部会と連携しオンラインで実施（参加者：40名）

開催日時：2021年11月11日（木）

会場：オンライン開催（Zoom利用）

主催：東京農業大学 総合研究所研究会 農業協同組合研究部会・GIS研究部会

1) オンライン・シンポジウム入室開始

2) 開会挨拶 学長挨拶

3) 開催のねらい 白石正彦（農業協同組合研究部会長）、下嶋聖（GIS研究部会連絡幹事）

4) 基調報告

第1報告：持続可能な総合農協ビジョンと総合農協の営農経済面事業革新の展開方向（白石正彦）

第2報告：第29回JA全国大会議案（『持続可能な農業・地域共生の未来づくり～不断の自己改革によるさらなる進化～』）の要点と今後の実践について福園昭宏（全国農協中央会 参事）

第3報告：産・学、及び地域農協が連携したRPA（ロボティック・プロセス・オートメーション）型営農支援システムの開発概要—東京農業大学と（株）パスコとの包括連携協定を活用した次世代農業サポート研究会の取り組みを中心に—鈴木充夫（本学前教授・GIS研究部会長）

第4報告：衛星データを活用した新たな営農指導の取組みJA佐賀県域担い手サポートセンター濱野克錦

第5報告：ブランド茶+複合作目の多様な農業経営と総合農協の高付加価値型事業を基盤

とした持続可能な総合農協ビジョン 松永 大吾（静岡県掛川市農協組合長・静岡県経済農協連会長）

- 5) コメント、および、全体討論
- 6) 総括：鈴木充夫
- 7) 閉会の挨拶：畑中 勝守（本学教授・GIS 研究部会連絡幹事）
3. （一社）JET 経営研究所と連携した JA におけるスマート農業に関するセミナー開催  
7月下旬を予定していたが、JET 経営研究所が解散したため開催できなかった。
4. 包括連携協定（東京農大&株パスコ）を活用したスマート農業普及のための研修会の開催  
目的：次世代農業サポート研究会設立に向けての模擬研修会（参加者：40名）  
主催：（株）農大サポート・東京農大 GIS 研究部会・（株）パスコ  
共催：東京農業大学・全国共同出版（株）  
日時：2022年3月10日（木）13：00～17：00  
会場：Teams によるオンライン開催  
研修内容：新技術を活用した JA における新しい営農経済事業の創出  
第1研修：次世代農業サポート研究会の紹介  
—新技術を活用した JA における新しい営農経済事業創出のために—  
鈴木充夫（前東京農業大学教授）  
第2研修：農業と太陽光発電の組み合わせ事業の紹介  
頃安延幸（伊藤忠商事）  
第3研修：営農管理ソフトベンダーにおける事例紹介  
片桐 紀子（PwC Consulting）  
第4研修：センサネットワークを活用した低コストハウス管理について  
畑中勝守（東京農業大学教授）  
第5研修：JA 営農用地図作成のための農大メソッドの紹介  
河野誠忠（株）パスコ  
第6研修：リモートセンシングの話  
島田沢彦（東京農業大学教授）

#### ◆部会名：芝草部会

◇部長：高橋 新平 連絡幹事：大橋 邦雄

◇令和3（2021）年度 活動報告

- ・令和3年度 現地コース視察（東京農業大学グリーン研究会合同開催）参加者 24名

日時：令和3年4月13日（木）9：00～

場所：伊香保カントリークラブ 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会員各個人による視察所見・意見交換会（同クラブハウス内にて）

- ・令和3年度 第2回特別研究会（現地）開催（東京農大グリーン研究会合同開催）参加者 34名

日時：令和3年4月13日（木）14：30～

場所：伊香保カントリークラブ

内容：①「桜満開時に緑の野芝フェアウェイ（コース植栽計画と景観作り）」

（東京農業大学客員教授（社団）日本パブリックゴルフ協会理事 濱野周泰先生）

※芝草管理に関する問い合わせに対する協力・日本芝草学会研究部会活動への支援は、コロナ禍により活動を休止した。

#### ◆部会名：就農者推進教育研究部会

◇部長：平野 繁 連絡幹事：小池 安比古

◇令和3（2021）年度 活動報告

新型コロナウイルス感染拡大の影響により、当初の計画を変更して、下記の活動を行った。

【テーマ】農業ならびに農業関連産業をめざす学生のためのキャリアデザイン

On-line ワークショップ～コミュニケーション、チームワーク編～

【日時】2022年1月14日（金）13：30～15：30

【場 所】 対面による実施（農学部 1103 教室）

【参加者】 11名

【目 的】 農業関連の仕事を含め、社会で期待されるコミュニケーション力、チームワークについて学ぶ体験型ワークショップ。

【概 要】 ①チーム親睦を図るチーム内自己紹介

②自分のコミュニケーションの癖を理解するソーシャルスタイルチェック

③チームワークを体感する協働型課題解決ワーク

※アンケート結果：①満足度 100%（満足 11 人）

②今後への役立ち度 100%（満足 11 人）

【アンケートフリーコメント（一部抜粋）】

- ・自分の弱点や強みを知ることができた。グループワークで自分の立ち位置を確かめながら作業をこなす大切さを学んだ。
- ・コミュニケーションを取ることが、相手のことを知ることもできるし、行動や仕事・作業を共にするとなったときに役立つと思った。
- ・人見知りということもあって自分の強みはないんじゃないかと思っていたが、自分の強みがコミュニケーションの中で生かすことができるんだと自覚できた。
- ・自分のソーシャルスタイルを知ることができたことで、自分から話すことへの自信が少しついたように感じた。
- ・自分の欠点を把握することができた。

【所 感】

農業または農業関連の仕事を含め、どのような仕事でも、社会に出ると一人で完結する仕事は少なく、組織で他者とかがわりながら業務を進めていく必要があるため、コミュニケーション能力が求められる。

本講座ではジェネリックスキル測定 PROG の結果から、コミュニケーション系の力に苦手意を持っている学生が多いため、苦手な学生でも参加できるよう、チームビルディングの要素を用いて、対人興味や協働学習への期待を高めることを目的に実施した。

参加者は 11 名であったが、参加した学生の満足度や、今後の役立ち度は 100%と大変高い結果となった。また、アンケートのフリーコメントを見ると、積極的に話す事の重要性や、相手とコミュニケーション取れたことによる自信など、各々、自分への気づきを持ってもらう事ができた。

#### ◆部会名：醸造食品部会

◇部会長：舘 博 連絡幹事：穂坂 賢

◇令和 3（2021）年度 活動報告

##### 1. 部会総会の開催

令和 3 年 7 月 2 日（金）第 11 回総会をオンラインにて開催、参加会員は 37 名であった。

##### 2. 講演会の開催

講演会をオンライン・対面式（東京農業大学 1 号館、141・131 教室）にて 2 回開催した。

###### 1) 第 11 回講演会 令和 3 年 7 月 2 日（金）、13:50～17:00

オンラインと対面（東京農業大学 1 号館、141 教室）による方式にて開催した。

参加者は 118 名（学生参加を含む）であった。

講演者は以下の通り。

① 杉本琢真（兵庫県立農林水産技術総合センター 農業技術センター 農産園芸部 課長）

② 桐山裕史（全国農業協同組合連合会 兵庫県本部 米麦部 部長）

③ 上東治彦（高知県酒造組合顧問、前高知県工業技術センター）

###### 2) 第 12 回講演会 令和 3 年 11 月 5 日（金）、14:40～16:10

参加者は 64 名（学生参加を含む）であった。

講演者は以下の通り。

渡邊智子（学校法人食糧学院 東京栄養食糧専門学校 校長）

##### 3. 研修会（工場見学会）の開催

オンライン研修会（工場見学会）を 2 回開催した。

###### 1) 第 1 回オンライン工場見学会 令和 3 年 11 月 19 日（金）、15:00～17:00

見学先は白百合醸造（株）（山梨県甲州市）、参加者は47名であった。

2) 第2回オンライン工場見学会 令和4年2月25日（金）、15:00～16:30

見学先は福岡県醤油醸造協同組合（福岡県筑紫野市）、参加者は74名であった。

#### 4. 幹事会の開催

オンラインによる幹事会を3回開催した。

1) 第1回幹事会（第28回） 令和3年4月23日（金）、16:00～

出席者：館博部会長、茂木浩介（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）、  
石川森夫（学内） 以上9名

2) 第2回幹事会（第29回） 令和3年8月31日（火）、14:00～

出席者：館博部会長、茂木浩介（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）、  
石川森夫（学内） 以上9名

3) 第3回幹事会（第30回） 令和4年3月16日（水）、14:00～

出席者：館博部会長、小島賢（学外）、塚田孝（学外）、穂坂賢（学内）、門倉利守（学  
内）、前橋健二（学内）、石川森夫（学内） 以上7名

#### 5. 親睦会の開催

親睦会については、コロナ感染拡大に伴い開催を見送った。

なお、オンライン工場見学会に参加された会員においては、この機会に意見交換を行った。

#### 6. その他

部会創設10周年記念誌の刊行準備を行った。

### ◆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3（2021）年度 活動報告

令和3年度は例年通り東京農業大学「食と農」の博物館セミナールームにおける勉強会「食材の寺小屋講座」の開催、並びに年1～2回の現地勉強会「出前講座」を予定していたが、昨年同様にコロナ感染拡大に伴う移動・集会の自粛のため、予定のほとんどを止む無く中止とした。

状況を注視した上で秋に下記の講座を開催した。

① 2021年11月10日「遠くても実は身近な“代替肉“です」

講師：佐々木英之氏（ネクストミーツ株式会社代表取締役）

会場：日本記者クラブ内大会議室

参加人数：25名

② 2022年1月20日「コロナ禍！外食産業から見た『日本の食』」

講師：横川竟氏（株式会社きわむ元気塾 会長）

❖開催直前に関係者に新型コロナウイルスの濃厚接触者が出た為、急遽中止とした。

### ◆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3（2021）年度 活動報告

#### 1. 幹事会

・令和3年5月27日

令和3年度活動企画案の検討

・令和3年7月15日

研究会開催案の検討

・令和3年10月7日

研究会開催に関する当初計画の変更についての検討

・令和4年3月23日

令和3年度活動報告についての打合せ及び令和4年度の活動企画案の検討

#### 2. 活動報告

(1)当初計画

・現地打ち合わせ

目的：農業農村の震災復興と防災技術の役割に関する現地打ち合わせ

期日：令和3年8月・9月（予定）

場所：農林水産省東北農政局農村振興部、岩手県農林水産部、宮城県農政部、福島県農林水産部

・研究会開催

テーマ：農業農村の震災復興と防災技術の新たな展開（オンライン開催も検討）

開催期日：令和3年12月（予定）

場所：東京農業大学

(2)活動結果

①現地打ち合わせおよび研究会開催について

当初の計画では、令和2年度において東日本大震災から10年が経過することに鑑みて、東北地方の農業農村の震災復興と防災技術の役割に関する現地検討および研究会を開催することを計画したが、新型コロナウイルス感染対策のために実施できなかったことから、令和3年度において引き続いて検討することにした。そこで、現地検討調査を農水省、岩手県、宮城県、福島県を対象に8月と9月に予定していたが、令和2年度同様に新型コロナウイルス対策の影響を受けて中止した。また、令和3年12月に農大卒業生の震災復興に携わった経験を講演してもらうべく予定していた研究会の開催についても、関係者の都合が合わず見合わせることにした。そのため令和3年度は以下の通り令和2年度に引き続き資料と情報の収集を行った。

- ・目的：東北地方の農業農村の震災復興事業の実績と防災技術の役割に関する資料と情報の収集
- ・対象機関：農林水産省東北農政局農村振興部、岩手県農林水産部、宮城県農政部、福島県農水産部
- ・結果：対象機関における農業農村の震災復興事業の実績と効果に関する資料の収集と農大卒業生から現状について聞き取りを行った。その結果、最近では地震・津波被災から福島県での原子力発電所災害の避難指示区域内での復興事業が本格化する中、米生産の低コスト化や園芸作物推進による農業競争力強化のためのほ場整備や防災・減災事業が増加している状況を確認した。

②その他

グローバル情報研究部会から「グローバルに未来を思考する－Society5.0時代の食、農、環境、エネルギー」（仮題）を出版する計画において、当部会に原稿の執筆依頼があり、「生産基盤整備からみた農業と環境のこれから」について、当部会連絡幹事の藤川智紀教授を筆頭者として執筆協力を行った。

◆部会名：食の安全と安心部会

◇部会長：五十君 静信 連絡幹事：美谷島 克宏、煙山 紀子、田村 倫子

◇令和3（2021）年度 活動報告

【年間イベント】

(1) 第4回シンポジウムの開催

開催日時：2021年12月2日（木）13時から

開催方式：Zoomによるオンライン開催

参加費：一般参加者1,000円（事前登録必須）

総研研究会関係者及び学生は無料

概要：グローバル化を重視した改正食品衛生法の施行後、食の安全・安心はどのように展開していくか  
～重要となる製造者責任と食の安全に求められる課題～

2018年度第1回、2020年度第3回シンポジウムでは食品衛生法の改正施行に関するシンポジウムを行った。2021年度は改正食品衛生法施行後の食品のリスクマネージメントについて、日本食の海外展開戦略、並びに国際整合性で重要となる製造者責任と食の安全に求められる課題に関する内容を取り上げ、「改正食品衛生法施行後の食の安全」について考えるシンポジウムを開催した。

一般参加登録者 111 名、農大関係者 34 名  
学生 農芸化学科 164 名、栄養科学科 240 名、食品安全健康学科 161 名  
計 710 名が参加した。

#### 【会議】

##### (1) 部会運営会議

6 回開催し、令和 3 年度の活動方針と第 4 回シンポジウムの開催とその内容を総括した。

- 4 月 26 日 …… 本年度の活動方針の確認
- 7 月 1 日 …… シンポジウム開催を検討
- 7 月 29 日 …… シンポジウム開催方法とプログラムの検討
- 8 月 19 日 …… シンポジウム開催方法と演者の検討
- 9 月 13 日 …… シンポジウム開催方法と広報の検討
- 11 月 30 日 …… シンポジウム開催最終確認、事前準備

#### 【その他】

##### (1) 部会会員の獲得

部会の会員増を図るための母体の検討および呼びかけを積極的に行った。

#### ◆部会名：食・農データサイエンス部会

◇部会長：金谷 重彦 連絡幹事：辻井 良政、瀧川 義澄

#### ◇令和 3 (2021) 年度 活動報告

1. 部会設立2021年7月7日開催の総研研究会総会にて承認され、活動開始。  
部会キックオフ 2021年7月29日 約50名参加  
※新型コロナウイルス感染症対策としてウェビナー形式で実施した
2. 食・農データサイエンス勉強会  
部会単独の活動として、実データを用いた食・農データサイエンス勉強会を実施した。  
第1回 2021年9月30日 約30名参加  
テーマ「Rを使って食・農データサイエンス～缶コーヒー～」  
第2回 2021年10月28日 約50名参加  
テーマ「Rを使って食・農データサイエンス～棒茶（加賀棒茶）～」  
第3回 2022年1月27日 約30名参加  
テーマ「Rを使って食・農データサイエンス～統計学的精度管理～」  
第4回 2022年3月24日 約30名参加  
テーマ「Rを使って食・農データサイエンス～機械学習～」  
※勉強会の内容をより理解するための「寺子屋」も2回実施  
第1回：2021年9月21日、第2回：2022年1月20日  
※新型コロナウイルス感染症対策としてウェビナー形式で実施した  
※勉強会および寺子屋の録画はYouTubeで限定公開した。
3. 公開シンポジウム  
総研研究会および稲・コメ・お米部会と共催して開催した。  
開催日：2021年11月25日（木） 約260名参加  
プログラム  
1. 食・農データサイエンスことはじめ ～「理数探究基礎」という視点も加えて～  
2. 結果をみながら理解しよう ～プログラミングでこんなこともできる・わかる～  
2.1 話題1. 香気成分とサンプルの関係解析：主成分分析と2群の検定  
2.2 話題2. 食品分析データの精度を考える：統計学的精度管理  
2.3 話題3. お米の成分と呈味官能評価の関係モデルの構築：回帰モデル  
2.4 課題4. 地域識別の機械学習（2値の統計処理）  
※新型コロナウイルス感染症対策としてウェビナー形式で実施した
4. 部会状況  
会長1名、副会長1名、幹事（企画担当）5名、連絡幹事2名  
会員47名（うち個人会員17名、法人会員15機関） ※2022年3月現在



◆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3（2021）年度 活動報告

- ・植物工場(温室型、閉鎖型)、アグリビジネス最新動向などを会員向けに情報提供（個別面談方式）(書籍、資料購入)
- ・検討委員参加(2021年4月～2022年2月)「地域内エコシステム」モデル構築事業「地域内エコシステム」技術開発・実証事業、林野庁(木質バイオマス発電の排気CO2を温室型植物工場で活用するための実証実験)
- ・次世代育種研究センター内覧会 (2021年4月6日、20日～21日、全12回分散開催)  
参加：教職員、検討委員メンバー、総研研究会会員 のべ50名参加



～以下、コロナ禍により未実施～

植物工場見学会実施予定(2021年9月頃、東京都中央区銀座 銀座伊東屋 Farm)



◆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3（2021）年度 活動報告

1. 総会の開催

新型コロナウイルスの影響を受けて、対面で実施せず活動内容の報告にとどめた。(2021年12月21日、2022年3月29日)

2. 活動計画

1) 奥多摩演習林で生産され、新研究棟の階段などに設置された木材のトレーサビリティについて資料を作成および配布。

- ・調査した結果をまとめてきたが、完成に至っていないので資料作成および印刷までできなかった。

2) 森林文化に関連する資料作成、共同セミナーの開催など

- ・「農大アカデミアセンターに使用されている木材の魅力」のリーフレットを改定して印刷した。関連団体のほか、新入生ガイダンス、受験生への説明会などで配布した。
- ・「東京農業大学新入生への記念品を紹介-長野県木曾産の箸について-」のリーフレットを印刷した。作成したリーフレットは、関連団体へ配布、郵送した。木祖村の調査では、木地作成業者が変わっているなどの変化を確認した。
- ・共同セミナーは予算を印刷に活用し、具体的な計画に至らず実施しなかった。

3) その他：森林文化に関連する学会報告を行った。

○第4回 関東森林学会（2021年10月27日新潟県）で報告

- ・Christian Paul Kolonel, Satoshi Yoshino, Takayoshi Sato An analysis of the prospects of briquetting technologies for forest biomass
- ・佐藤孝吉・谷島陽一・江尻さおり・山田純稔 都市における里山の利用と管理 千葉県松戸市「関さんの森」の活動を事例として

○佐藤孝吉 薪利用がもたらす森林への効果－東京都多摩地域における薪生産から考えること－（2021年11月）森林技術 2-6

○佐藤孝吉・田坂陽介 弓道の的枠生産過程と森林文化（2021年11月）山林 1650号 43-50

#### ◆部会名：生物的防除部会

◇部長：河津 圭 連絡幹事：足達 太郎

◇令和3（2021）年度 活動報告

##### I 広報事業

①講演会の開催：農業病虫害の生物的防除などに関連する講演会をwebにて3回開催

第1回（2021/6/15）

- 演題1 「生物的防除部は昨今産地でどのように評価されているのか」  
柿元 一樹 氏 (株)Field Styled Lab
- 演題2 「二次植物栽植によるタマネギおよびキャベツ害虫の抑制効果」  
関根 崇行 氏 宮城県農業・園芸総合研究所
- 演題3 「環境に配慮した有害線虫の効果的防除技術の開発」  
奈良部 孝 氏 北海道農業研究センター
- 演題4 「バイオスティミュラントのEU、EPAでの法制化の現状などについて」  
和田 哲夫 氏 生物的防除部会 副会長

第2回（2021/11/9）

- 演題1 「トマトにおける雑食性カスミカメムシ類を用いた生物的防除：海外の事例と日本での研究開発」 中野 亮平 氏 静岡県／宮崎大学
- 演題2 「熊本県におけるタバコカスミカメの実用化」  
浦野 知 氏 株式会社ペコ IPMパイロット
- 演題3 「ビーフライ：医療分野で用いられるヒロズキンバエの農業利用」  
西本 登志 氏 奈良県農業研究開発センター
- 演題4 「欧米とブラジルのBCBSについて」  
アート・マーレル氏 オランダコパート社 通訳・解説 和田 哲夫氏 生物的防除部会副会長

第3回（2022/2/15）

- 演題1 「物理的防除資材によるIPMの社会実装：織物をベースとした新たな防虫シート・ネットの開発（紡績会社だから出来るIPMへの取組）」  
藤田 勇 氏 小泉製麻(株)ファブリック事業部
- 演題2 「ベミデタッチのコナジラミ類に対する忌避効果」  
加嶋 崇之 氏 石原産業(株)
- 演題3 「みどりの食料システム戦略における化学農薬低減のための研究開発について」  
松倉 啓一郎 氏 農林水産省 農林水産技術会議事務局 研究開発官(基礎・基盤、環境)室
- 演題4 「スマート農業の開発動向と化学農薬低減のための取り組み」

小島 陽一郎 氏 農林水産省 農林水産技術会議事務局 研究統括官(生産技術)室

演題5 「新たな物理的防除と天敵を利用した害虫被害ゼロ農業の実現」

日本 典秀 氏 京都大学大学院

②生物的防除部会ニュース発行

73号、74号、75号 PDFを送付、またはHP上で公開 希望者には印刷物を郵送(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](http://www.ipm-bio.jp/bukai_news.html)

II 情報収集および交流事業 学会・研究会へ参加して情報収集および交流

III 会議

① 通常幹事会：webにて実施(6/1、11/1、2/10、3/16)

講演会の演者選定、会則の改定など

② 総会：web 検討、承認(6/30 回答締切)

1) 2020年度事業報告および会計報告、監査報告

2) 2021年度事業計画案および予算案

3) 会則改正について

◆部会名：生命科学部会

◇部会長：角谷 直人 連絡幹事：太治 輝昭

◇令和3(2021)年度活動報告

・幹事会開催：年1回

第1回幹事会

日時：2021年12月6日(月)

・オンラインでの講演会開催

講演内容：最長寿齧歯類ハダカデバネズミ特有の老化耐性・発がん抑制機構の探求

講師：熊本大学 大学院先導機構/大学院生命科学部 老化・健康長寿学講座

三浦恭子 博士

日時：2021年12月20日(月) 16:20~17:50

Zoomでの参加者：78人

講演をお願いした三浦先生は京都大学の山中伸弥研究室で博士課程を終了後、ハダカデバネズミに興味をもち、アフリカから多数のデバネズミを収集し日本での飼育を開始し、本研究を立ち上げた。研究成果と今後の展望についても分かりやすく講演していただき大変好評であった。

◆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3(2021)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

2021年度は、講演会を開催予定であったが、対面での開催が制約されていた為、次年度に延期することとした。

3. 大学所有遺伝資源保全・利用活動

宮古亜熱帯農場と連携・協力し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年度からは、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。

◆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、町田 怜子

◇令和3(2021)年度活動報告

令和3年度は、コロナ禍において現地での活動が中止となった。その中で、現地とのオンラインによる検討会議・打ち合わせを行い、今後の対応を議論した。

## 1. 現地研究会の計画

① 神奈川県ゆるぎの里において4回のワークショップを計画  
いずれも、コロナ禍において中止となった。

② ゆるぎの里運営委員会1回オンラインで参加（2021年6月25日）

## 2. 幹事会

2022年3月7日から10日にゆるぎの里ガイドブックに関するメール審議を行った。

## 3. オンラインシンポジウムの共同開催

東京農業大学総合研究所地域再生研究部会、農村計画研究部会が共催となり、「新型コロナ（covid-19）後の森林活用を考える：“森林サービス産業”の観点から」シンポジウムを2021年9月10日に開催した。

2020年初頭からの新型コロナウイルス（covid-19）の世界的な感染拡大は、森林と社会との関係にも大きな変化をもたらしつつある。本シンポジウムでは、主に健康、観光、教育部門での森林利活用を掲げた施策「森林サービス産業」の観点から、現時点での変化を体系的に整理すると共に、COVID-19後の地域再生のあり方、連携について議論した。

【開催日時】2021年9月13日（月） 13:00～16:30

【開催形式】ZOOMを通じたオンラインシンポジウム（要事前登録・自由参加）

【スケジュール】

13:00 開会挨拶

<第1部：研究報告（発表25分、質疑5分）>

13:05 第一報告 田中伸彦（東海大学）

「新しい日常における森林活用の意向調査」の結果から

13:35 第二報告 木俣知大（前国土緑化推進機構）

新型コロナ下の森林関連の事業者・行政および海外の動向から

14:05 休憩

14:10 第三報告 高山範理（森林総合研究所）

新型コロナ後の健康管理における森林活用

14:40 第四報告 藤野正也（福島大学）

新型コロナが観光や登山道管理に及ぼす影響

15:10 休憩

<第2部：議論> 座長：宮林茂幸（東京農業大学名誉教授）

15:15 パネルディスカッション

論点1：森林サービス産業をめぐる政策過程

論点2：新型コロナの影響の見極め

論点3：今後の可能性と課題

16:30 閉会挨拶

企画運営：科研プロジェクト「農山村地域における観光施設の遊休化が及ぼす地域社会への影響と観光イノベーション」（代表者：宮林茂幸）

共催：林業経済学会、東京農業大学総合研究所農村計画研究部会、地域再生研究部会

※本シンポジウム事務局町田怜子（東京農業大学：r3machid@nodai.ac.jp）

## ◆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3（2021）年度 活動報告

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「産学官連携事業報告会」の開催（共催）を計画したが、昨年度に引き続き、コロナの影響により開催できなくなりました。

シンポジウム等の開催はできなかったが、年間を通して連携協定先の地方自治体、特に茨城県との連携事業を進めており、茨城県立太田西山高等学校より依頼を受け、「地産地消」をテーマに出張講義を開講した。

◆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3（2021）年度 活動報告

1. 幹事会・シンポジウム実行委員会の開催：令和3年5月、6月、10月に開催。
- 2-1. 第14回シンポジウムの開催：令和3年11月11日（木）に東京農業大学世田谷キャンパス国際食農科学科内にシンポジウム・リモート事務局を置き、「持続可能な総合農協ビジョンと先進的総合農協の営農経済面事業の革新プロセスを学ぶー第29回 JA 全国大会議案の基本的論点をふまえてー」をテーマに、総研研究会農業協同組合研究部会、GIS研究部会が主催してシンポジウムを開催した。
  - 第1報告：「持続可能な総合農協ビジョンと総合農協の営農経済面事業革新の展開方向」白石正彦（本学名誉教授・総研研究会農業協同組合研究部会長）・菊地哲夫（本学前教授・総研研究会農業協同組合研究部会員）・高梨子文恵（本学准教授）・原温久（本学准教授）・望月洋孝（本学准教授）
  - 第2報告：「第29回 JA 全国大会議案（『持続可能な農業・地域共生の未来づくり～不断の自己改革によるさらなる進化～』）の要点と今後の実践について」福園 昭宏（全国農協中央会 参事 JA 改革推進部）
  - 第3報告：「産・学、及び地域農協が連携したRPA（ロボティック・プロセス・オートメーション）型営農支援システムの開発概要ー東京農業大学と（株）パスコとの包括連携協定を活用した次世代農業サポート研究会の取り組みを中心にー」鈴木充夫（本学前教授・GIS研究部会長・株）協同経済経営研究所代表取締役）・畑中勝守（本学教授・GIS研究部会連絡幹事）・下嶋聖（本学准教授・GIS研究部会連絡幹事）
  - 第4報告：「衛星データを活用した新たな営農指導の取組みについて」濱野克錦（農協佐賀県域 担い手サポートセンター）
  - 第5報告：「ブランド茶＋複合作目の多様な農業経営と総合農協の高付加価値型事業を基盤とした持続可能な総合農協ビジョン」松永大吾（静岡県掛川市農協組合長・静岡県経済農協連 会長）

コメント：谷口信和（東京大学名誉教授）、藤井 晶啓（日本協同組合連携機構（JCA）常務理事）、後藤 逸男（全国土の会会長・東京農業大学名誉教授）、堀部 篤（東京農業大学教授・農業協同組合研究部会連絡幹事）が担当し、一般討論では活発な論議を深め成果を上げた。

農業協同組合研究部会では第1報告、第2報告、第5報告を中心に農協の戦略的役割発揮の理論と実践方策等の論議を深めることに貢献した。

- 2-2. 令和3年10月22日に日本農業労災学会・東京農業大学総研研究会農業協同組合研究部会など3研究部会の主催で、生産環境工学科内にシンポジウムのリモート事務局を置き、第8回農業労災に関するシンポジウムを行った。

テーマは、『農作業事故防止のために産官学と農協・社労士グループとの連携をどう進めるかー農作業安全対策の新たな展開方向を踏まえてー』で、第1報告は「農作業事故防止安全対策の現段階と今後の展望：田島淳（東京農業大学教授）、第2報告は「安全性検査の充実と受検率の向上・連携のあり方」藤井幸人（食品産業技術総合研究機構）、第3報告「JAグループの農作業安全とGAPの取組みについて」高橋昭博（全国農協中央会）、第4報告「北海道における農作業事故防止の取組みについて」瀬野俊彦（北海道農作業安全推進本部）、第5報告「JITCO保険にみる技能実習生の疾病について」成井貞行（茨城県農協グループ監理団体「協同組合エコ・リード」）、第6報告「兼業・副業に係わる農作業安全対策と農業労災制度の役割」中村仁（社労士）が報告し、コメンテーターには本田雅弘（小松市農協組合員）、由良竜一（神奈川県農協中央会）などが担当し、報告・コメントも農協グループの役割が大きく、一般討論も活発であった。また、農業協同組合研究部会では企画段階から参画し、農業労災事故防止における農協の役割発揮について論議を深めることに貢献した。

なお、コロナ禍で国際シンポは中止した。

◆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3（2021）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

2021年度は、講演会を開催予定であったが、対面での開催が制約されていた為、次年度に延期することとした。

3. 勉強会の開催

GAPの勉強会を実施し、学生向け教育用冊子を作成することとした。

◆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3（2021）年度 活動報告

令和3（2021）年度については、研究フォーラム・総会を企画したもののコロナ禍から中止した。そのような中で、幹事間での打ち合わせを数回開催した。

◆部会名：農薬部会

◇部会長：本山 直樹 連絡幹事：藪田 五郎、松島 芳隆

◇令和3（2021）年度 活動報告

会議

総会：令和3年5月21日（金） オンライン会議

幹事会：第136回（令和3年 5月21日） オンライン会議

第137回（令和3年 7月16日） オンライン会議

第138回（令和3年 9月24日） オンライン会議

第139回（令和3年 11月19日） オンライン会議

第140回（令和4年 3月18日） オンライン会議

特別講演

参加者 108名

総会 「最近の創農薬の動向その後」

梅津 憲治氏（吉備国際大学）

賀詞交歓会特別講演 令和4年1月21日（金）

参加者 120名

「バイオスティミュラントの現状と将来、作物保護への貢献」

鳴坂 義弘氏（岡山県生物科学研究所）

最近の話題から「宍道湖における漁獲量激減の原因はネオニコチノイド剤」報道から学ぶ教訓

「有機 JAS 適合資材の認証方法の課題」

本山 直樹氏（農薬部会長）

部会セミナー

第119回：令和3年7月16日（金）

参加者 80名

「新規除草剤シクロピリモレートの作用特性

門谷 淳二氏（三井化学アグロ）

「わが国で近年注目されている雑草開発戦略」

渡邊 寛明氏（日本植物調整剤研究協会研究所長）

第120回：令和3年9月24日（金）

参加者 118名

「日本の農薬企業の課題と展望」

小林 昭生氏（㈱国際マネージメントサポート）

「新規殺菌剤インピルフルキサムの生物活性」

倉橋 真氏（住友化学工業㈱）

第121回：令和3年11月19日（金）

参加者 89名

新規ウンカ防除剤ベンズピリモキサム（オーケストラ®）の生物特性と作用機構

中野 元文氏、深津浩介氏（日本農薬㈱研究本部総合研究所昆虫グループ）

新規水稲用除草剤トリアファモンの生物活性

伊藤 雅仁氏 (バイエルクロップサイエンス(株)開発本部生物開発部)  
第122回：令和4年3月18日(金) 参加者 91名  
新規トウモロコシ用除草剤トルピラレートの生物活性

菅沼 丈人氏 (石原産業(株))

みどりの食料システム戦略について

山原 洋佑氏 (農林水産省消費・安全局農産安全管理課)

#### ◆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3(2021)年度活動報告

##### 1. 共催フォーラムの実施

地域デザイン学会第8回農業文化フォーラム

①開催日時 2022年2月26日(土) 13:00~16:00 ※Zoomによるオンライン開催

②テーマ 『Well-beingを目指した福祉力を高める農福地域デザイン』

##### ③プログラム

開会の挨拶・座長解題 東京農業大学地域創成科学科 准教授 町田怜子

農林水産省農林水産技術会議事務局 研究専門官 大室健治

基調講演 「農福連携研究の動向」 農研機構西日本農業研究センター 研究員 中本英里

事例報告1 「見沼の農でつながる福祉」 合同株式会社十色 代表 サカール吉田祥子

事例報告2 「認知症共生社会に向けたケアファームの効果」

東京都健康長寿医療センター研究所 研究員 宇良千秋

事例報告3 「コロナ禍の地域福祉 キッチンカーの取組」

小菅村社会福祉協議会 職員 青柳慶一

総合討論 パネリスト 中本英里・サカール吉田祥子・宇良千秋・青柳慶一

コーディネータ 町田怜子

閉会の挨拶 東京農業大学国際食農科学科 准教授 大久保研治

##### 2. 地域食農ビジネスとの連携プロジェクト(国際食農科学科食農・文化政策研究室と共同実施)

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

①非常食および馬肉に関するグループインタビュー(協力企業：戸田建設株式会社)

##### 2) 地域食農ビジネスと連携した新商品開発

①ブレンド米開発：猪俣徳一商店との共同開発。

・パナソニックより炊飯機の貸し出し、ライスレディによる協力体制など支援を受けた。

・ブレンド米第3弾は開発を継続中

②非常食開発：猪俣徳一商店と共同開発。

・給食をテーマにした味付けをコンセプトに、カレー味、チキンライス味、ちりめんわかめごはん味の3種類の開発を継続中。

③馬刺しのタレ開発：竹原肉店と共同開発

・ふりかけ型の馬刺しのたれを継続して開発中。

④リキュールの開発：五ノ井酒店、曙酒造との共同開発。

・日本 酒ベースのヨーグルトリキュール「スノードロップ」のぶどう味を開発した。

・近日発売予定

#### ◆部会名：バイオマス・資源・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3(2021)年度活動報告

##### 【幹事会】

12月14日に開催した。

##### 【現地見学会】

コロナ禍のため中止した。

## 【講演会】

### ◆テーマ◆

醸造・発酵の科学 ～酒の分子を探る～

### ◆日時◆

2022年3月10日(木)10時00分～12時30分 (Zoom オンライン開催)

### ◆参加人数◆

94人

### ◆講演会概要◆

「日本酒好き必見。これを聞くだけで、今日から日本酒がひとあじ変わる！」  
醸造技術は、酒・味噌・醤油や発酵食品を生産する技術として、和食と日本の伝統的文化を支えています。清酒醸造では、麹(コウジ)菌が米から糖類を生成し、この糖類を酵母がエタノール発酵に利用します。このように複雑な微生物の連携で成り立つ酒造りには、未だに多くの謎が残されています。本講演会では、東京農業大学が明らかにした「清酒醸造の未知領域」をご紹介します。演者らの研究成果は2020年の最優秀論文賞※を受賞し、醸造・発酵産業の発展に寄与すると期待されています。(※ The Journal of Agricultural and Food Chemistry Research Article of the Year Award 2020)

### ◆プログラム◆

開会挨拶

- ・未知化合物の構造を解き明かす、核磁気共鳴分光法(NMR)と有機合成  
勝田 亮 准教授(分子生命化学科)
- ・高感度オリゴ糖分析法の構築とユニークな新規オリゴ糖の発見  
本田 千尋 助教(食品安全健康学科)

### 【論文賞受賞講演】

並行複醗酵の魅力～麹菌の糖転移で多様化する清酒成分

徳岡 昌文 准教授(醸造科学科)

総合討論

閉会挨拶

### ◆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3(2021)年度活動報告

会員勧誘：令和3年12月 人と生物圏研究部会への勧誘(WEB・TEL)

幹事会：令和3年11月 部会活動について(メール)

打合せ：令和4年3月 「ののあおやま」青山再開発緑地現地打合せ

観察会：以下の現地視察はコロナ禍の影響で実施することができなかった。

1. 都市のグリーンインフラ視察
  - ① 明治神宮林苑
  - ② 北青山再開発緑地(ののあおやま)
2. 樹木の種・資源保存地視察
  - ① 多摩森林科学園

### ◆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3(2021)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。本研究会員も多く所属する日本植木協会との連携による研修講座「植生アドバイザー」の開催のほか、環境省・農林水産省共管「人材認定等事業」における「植生管理士」の資格認定事業や補助講座として「スキルアップセミナー」を実施している。本年度は以下の行事計画を立案し実施する予定だったが、昨年度に続き新型コロナウイルス COVID-19によるパンデミックが収まらず、その感染防止のため主要な計画の実施が困難となった。一方で、「植生アドバイザー」に関する学び直しや新たに植生管理業務に興味を持つ



方々にオンラインによる講座を実施し、地方自治体や環境関連のNPO法人等から多くの参加を得た。加えて、「植生アドバイザー」のフィールド研修に用いる新植栽地について、地権者のご厚意により使用許可をいただいた。

したがって、今年度活動計画に沿った主要な活動は実施できなかったが、オンライン講座実施や研修用新植栽地の使用許可取得等を通じて、コロナ禍が収束した段階からすぐに迅速な活動が再開できるよう準備の質を高めた。

2021年度の主な活動計画

【セミナー】中止

開催日：令和3年6月26日～6月27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：新潟県燕市国上山ブナ林から新潟市佐潟の海岸砂丘植生等の調査

参加者：30名程度

【セミナー】中止

開催日：令和3年8月27日～8月30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：40名程度

【セミナー】実施

開催日：令和3年8月28日

テーマ：「植生アドバイザー」育成リモートオープン講座

方 法：ミーティングソフト ZOOM を使用したオンライン講座

参加者：81名

【認定試験】中止

開催日：令和3年10月17日

テーマ：「植生管理士」認定試験・筆記

場 所：東京農業大学・森林総合学科会議室

受験者：10名程度

【認定試験】中止

開催日：令和3年11月14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：5名程度

【幹事会】実施

第1回：令和3年11月9日～10日（1泊2日）

テーマ：ヒロイド原新植栽地使用許可を目的とした地権者訪問および現地視察、新植栽地の最適管理手法の検討

場 所：「世田谷区民健康村」「ホテル田園プラザ」群馬県川場村

参加者：9名

【幹事会】実施

第1回：令和4年2月18日

テーマ：令和4年度「植生アドバイザー」育成講座、「スキルアップセミナー」実施計画の詳細検討等について

方 法：ミーティングソフト ZOOM を使用したオンライン会議

参加者：12名

#### ◆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3（2021）年度 活動報告

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オンラインで開催した。

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：農作業事故防止のために産官学と農協・社労士グループとの連携をどう進めるか  
－農作業安全対策の新たな展開方向を踏まえて－

日時：2021年10月22日（金）13：00～16：50

会場：オンライン開催（Zoomによる）

座長解題：半杭 真一（東京農業大学 准教授）

宮永 均（JAはだの 代表理事組合長）

基調報告：

第1報告「農作業事故防止安全対策の現段階と今後の展望」

田島 淳（東京農業大学地域環境科学部 教授）

第2報告「安全性検査の充実と受検率の向上・連携のあり方」

藤井 幸人（農研機構 農業機械研究部門 安全検査部長）

第3報告「JAグループの農作業安全とGAPの取り組みについて」

高橋 昭博（全国農協中央会営農・くらし支援部 営農担い手支援課 考査役）

第4報告「北海道における農作業事故防止の取り組みについて」

瀬野 俊彦（北海道農作業安全運動推進本部 事務局長）

第5報告「JITCO保険にみる技能実習生の疾病について」

成井 貞行（茨城県JAグループ監理団体「協同組合エコ・リード」）

第6報告「兼業・副業に係わる農作業安全対策と農業労災制度の役割」

中村 仁（社会保険労務士法人シャイン 代表社員）

コメント：

本田 雅弘（石川県・農家）、由良 竜一（神奈川県農業協同組合中央会 営農企画部長）、

及川 次夫（タイ在住）

全体討論

座長総括



東京農業大学農生命科学研究so紀要 第 33 号

令和 4 年 12 月 22 日 印刷

令和 5 年 1 月 1 日 発行

発行人 矢嶋 俊介

発行所 東京農業大学総合研究所

〒156-8502 東京都世田谷区桜丘1-1-1